

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 98812812.8

C07D498/22
A61K 31/55 C07H 7/06
/(C07D498/22
C07D307: 00,273: 00,
209: 00,209: 00,
209: 00)

[43] 公开日 2001 年 2 月 28 日

[11] 公开号 CN 1285836A

[22] 申请日 1998.12.30 [21] 申请号 98812812.8

[30] 优先权

[32] 1997.12.31 [33] US [31] 60/070,263

[86] 国际申请 PCT/US98/27644 1998.12.30

[87] 国际公布 WO99/33836 英 1999.7.8

[85] 进入国家阶段日期 2000.6.30

[71] 申请人 赛福伦公司

地址 美国宾夕法尼亚州

共同申请人 协和发酵工业株式会社

[72] 发明人 罗伯特·L·赫德金斯

黛安娜·E·金里奇

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任公司

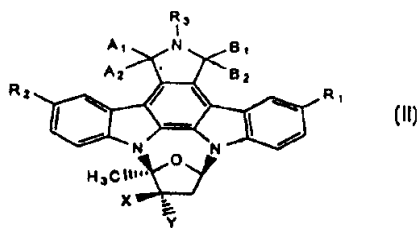
代理人 丁业平 王维玉

权利要求书 6 页 说明书 25 页 附图页数 6 页

[54] 发明名称 3'-差向异构的 K-252a 衍生物

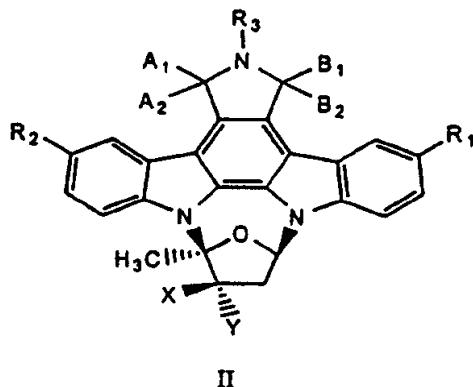
[57] 摘要

本文公开了通式结构(II)定义的化合物,这些化合物显示出药物活性,包括抑制酪氨酸激酶的活性以及增强营养因子应答细胞(如胆碱能细胞)的功能和/或存活。



I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 下式表示的化合物或其可药用盐:



其中:

R^1 和 R^2 各自独立地是

氢、低级烷基、卤素、酰基、硝基、磺酸,

$-\text{CH}=\text{NR}^4$, 其中 R^4 是胍基、杂环或 $-\text{NR}^5\text{R}^6$, 其中是 R^5 或 R^6 是氢或低级烷基, 而另一个是氢、低级烷基、酰基、芳基、杂环、氨基甲酰基或低级烷基氨基羰基,

$-\text{NR}^5\text{R}^6$,

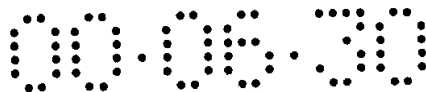
$-\text{CH}(\text{SR}^7)_2$, 其中 R^7 是低级烷基或链烯基,

$-(\text{CH}_2)_j\text{R}^8$, 其中 j 是 1-6, R^8 是

卤素、取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基、未取代的杂芳基、 N_3 ,

$-\text{CO}_2\text{R}^9$, 其中 R^9 是氢、取代的低级烷基、未取代的低级烷基、取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基或未取代的杂芳基,

$-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{10}\text{R}^{11}$, 其中 R^{10} 和 R^{11} 各自独立地是氢、取代的低级烷基、未取代的低级烷基、取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基、未取代的杂芳基、取代的芳烷基、未取代的芳烷基、低级烷基氨基羰基或低级烷氧羰基, 或者 R^{10} 和 R^{11} 与氮原子结合形成杂环基,



- 5 -OR¹², 其中 R¹² 是氢、取代的低级烷基、未取代的低级烷基、取代的芳基、未取代的芳基, 或者是
-C(=O)R¹³, 其中 R¹³ 是氢、NR¹⁰R¹¹、取代的低级烷基、未取代的低级烷基、取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基、未取代的杂芳基、取代的芳烷基或未取代的芳烷基,
- 10 - NR¹⁰R¹¹,
-C(=O)R¹⁴, 其中 R¹⁴ 是氢、低级烷基、取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基或未取代的杂芳基,
-S(=O)_rR¹⁵, 其中 r 为 0-2, R¹⁵ 是氢、取代的低级烷基、未取代的低级烷基、取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基、未取代的杂芳基、取代的芳烷基、未取代的芳烷基、噻唑啉基、(CH₂)_aC(=O)NR¹⁰R¹¹ 或 (CH₂)_aCO₂R¹⁶, 其中 a 为 1 或 2, 而 R¹⁶ 是氢或低级烷基,
- 15 -OR¹⁷, 其中 R¹⁷ 是氢、低级烷基或 -C(=O)R¹⁸, 其中 R¹⁸ 是取代的低级烷基、未取代的低级烷基、取代的芳基或未取代的芳基,
-C(=O)(CH₂)_jR¹⁹, 其中 R¹⁹ 是氢、卤素、NR¹⁰R¹¹、N₃、SR¹⁵ 或 OR²⁰, 其中 R²⁰ 是氢、取代的低级烷基、未取代的低级烷基或 C(=O)R¹⁴,
- 20 -CH(OH)(CH₂)_jR¹⁹,
-(CH₂)_dCHR²¹CO₂R^{16A}, 其中 d 为 0-5, R²¹ 是氢、CONR¹⁰R¹¹ 或 CO₂R^{16A}, 其中 R^{16A} 同 R¹⁶,
- 25 -(CH₂)_dCHR²¹CONR¹⁰R¹¹,
-CH=CH(CH₂)_mR²², 其中 m 为 0-4, R²² 是氢、低级烷基、CO₂R⁹、取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基、未取代的杂芳基、OR¹² 或 NR¹⁰R¹¹,
-CH=C(CO₂R^{16A})₂,
- 30 -C≡C(CH₂)_mR²²,

-SO₂NR²³R²⁴, 其中 R²³ 和 R²⁴ 各自独立地是氢、低级烷基, 或者是与连接的氮原子所形成的杂环基,

-OCO₂R^{13A}, 其中 R^{13A} 同 R¹³, 或

-OC(=O)NR¹⁰R¹¹;

5 R³ 是氢、低级烷基、氨基甲酰基、氨基、四氢吡喃基、羟基、C(=O)H、芳烷基、低级烷酰基, 或者是 CH₂CH₂R²⁵, 其中 R²⁵ 是卤素、氨基、二-低级烷基氨基、羟基或羟基取代的低级烷基氨基;

10 X 是氢、甲酰基、羧基、低级烷氧羰基、低级烷基胼基羰基、-CN、低级烷基,

-C(=O)NR²⁶R²⁷, 其中 R²⁶ 和 R²⁷ 各自独立地是氢、未取代的低级烷基或未取代的芳基, 或者 R²⁶ 和 R²⁷ 与氮原子结合形成杂环基,

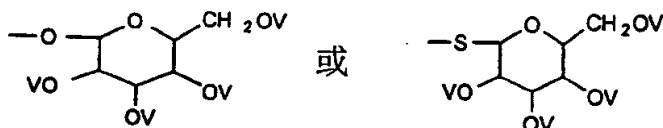
15 -CH(=R³⁴)W, 其中 R³⁴ 是氢或低级烷基, W 是-N=CHN(烷基)₂、胍基、N₃ 或 NR²⁸R²⁹, 其中 R²⁸ 或 R²⁹ 是氢或低级烷基, 另一个是氢、烯丙基、烷酰基、芳氧羰基、未取代的烷基、或羧基基团的羟基被除去了的α-氨基酸残基、-CO₂R⁹、-C(=O)NR¹⁰R¹¹、-S(=O)_rR³⁰ 或 OR³¹, 其中 R³⁰ 是取代或未取代的低级烷基、芳基或杂芳基, R³¹ 是

20 氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烷酰基,

-CH=N-R³², 其中 R³² 是羟基、低级烷氧基、氨基、胍基、脲基、咪唑基氨基、氨基甲酰基氨基或 NR^{26A}R^{27A}, 其中 R^{26A} 同 R²⁶, 其中 R^{27A} 同 R²⁷, 或

-CH₂Q, 其中 Q 是由

25



表示的糖残基, 其中 V 表示氢、甲基、乙基、苄基、乙酰基或三氟乙酰基;

30 Y 是氢、-OH、-OC(=O)R³³ (其中 R³³ 是烷基、芳基或氨基)、

OCH₂O-烷基、-O-烷基、芳基烷氧基；或者 X 和 Y 结合为-X-Y-，形成-CH₂OCO₂-或-CH₂N(R^{16B})CO₂-，其中 R^{16B} 同 R¹⁶；

A¹ 和 A² 为氢或两者结合表示 O；

B¹ 和 B² 为氢或两者结合表示 O；

5 其前提条件是，A¹、A² 或 B¹、B² 至少之一表示 O，并且 X 和 Y 不同时为氢。

2. 权利要求 1 的化合物，其中 X 是 -C(=O)NR²⁶R²⁷、羧基、低级烷氧羰基、甲酰基、低级烷基、-CH₂OR³¹、-CH₂NR²⁸R²⁹ 或 -CH₂S(=O)_rR³⁰。

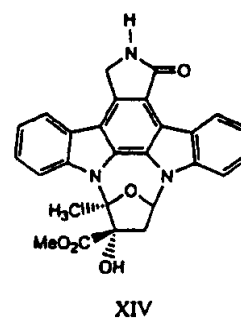
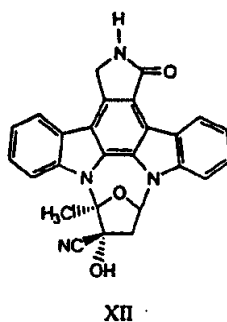
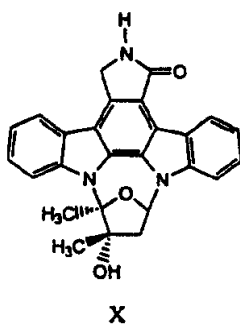
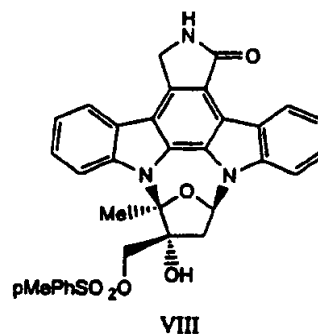
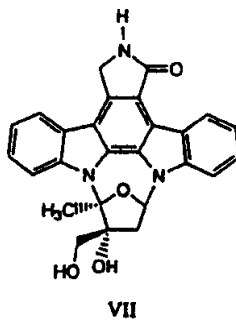
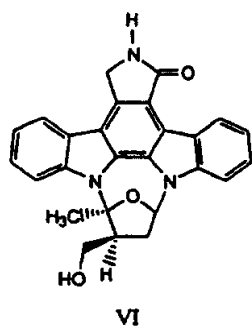
10

3. 权利要求 1 的化合物，其中 R¹ 和 R² 为 H。

4. 权利要求 1 的化合物，其中 R³ 为氢或保护基。

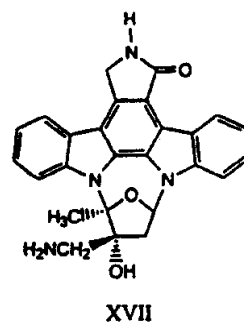
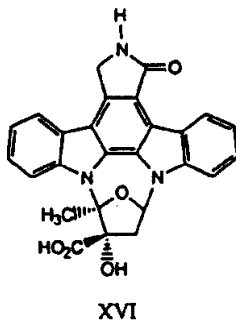
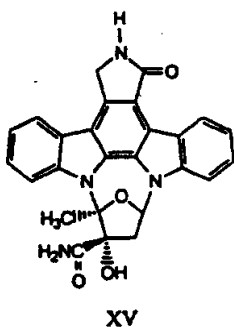
15

5. 权利要求 1 的化合物，该化合物选自化合物 VI、VII、VIII、X、XII、XIV、XV、XVI、XVII、XVIII、XIX、XXV 和 XXVII：

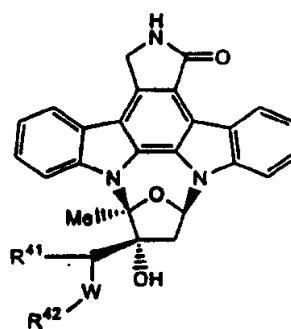
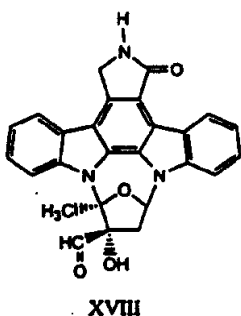


30

5



10

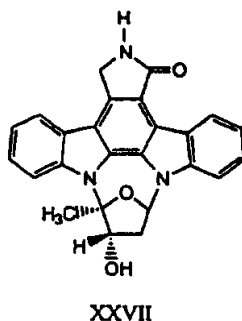
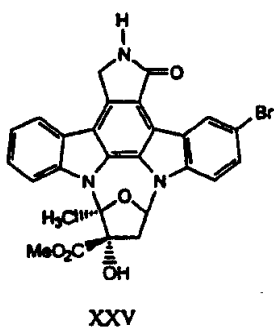


W=CH₂、O、S、NH 或 R⁴²W=H

R⁴¹=H 或低级烷基

R⁴²=低级烷基

15



20

6. 一种含权利要求 1 化合物的药物组合物。

25

7. 一种抑制酪氨酸激酶活性的方法，包括将权利要求 1 的化合物与酪氨酸激酶接触。

8. 权利要求 7 的方法，其中的酪氨酸激酶是蛋白激酶 C。

30

9. 权利要求 7 的方法，其中的酪氨酸激酶是 trkA。

00:05:30

10. 一种抑制酪氨酸激酶通过第二种激酶的磷酸化作用的方法，包括将第二种激酶与权利要求 1 的化合物接触。

5 11. 一种增强胆碱能神经元功能的方法，包括将胆碱能神经元与权利要求 1 的化合物接触。

12. 一种通提高胆碱能神经元存活的方法，包括将胆碱能神经元与权利要求 1 的化合物接触。

10

说明书

3'-差向异构的 K-252a 衍生物

5 本申请要求享受申请日为 1997 年 12 月 31 日、序号为 No.60/070263 的临时申请的利益。

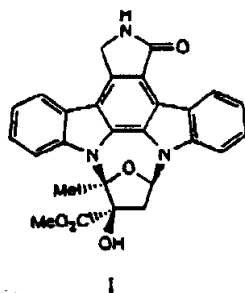
发明领域

 本发明属于药物化学领域。

10

发明背景

 K-252a 是一种吲哚并呋唑，其立体化学如下所示（式 I）：



15

 K-252a 能抑制蛋白激酶 C (PKC)，后者在调整细胞功能方面具有作用。K-252a 具有各种各样的活性，例如，抑制平滑肌收缩(Jap. J. Pharmacol. 43 (suppl): 248, 1987); 抑制 5-羟色胺分泌 (Biochem. Biophys. Res. Commun. 144:35, 1987); 抑制轴索(neuraxone)的伸长(J. Neurosci. 8:715, 1988); 抑制组胺释放(Allergy 43:100, 1988) ; 抑制平滑肌 MLCK (J. Biol. Chem. 263:6215, 1988) ; 抗炎作用(Acta Physiol. Hung. 80:423, 1992), 以及促进细胞存活 (J. Neurochem. 64:1502, 1995) 。 K-252a 还抑制 IL-2 的产生(Exper. Cell Res. 193:175-182, 1991)。现已经实现了 K-252a 的天然(+)异构体及其对映(-)异构体（糖部分的三个手性碳都反转）的全合成(Wood 等人, J. Am. Chem. Soc. 117:10413,1995; 和 WO 97/07081)。

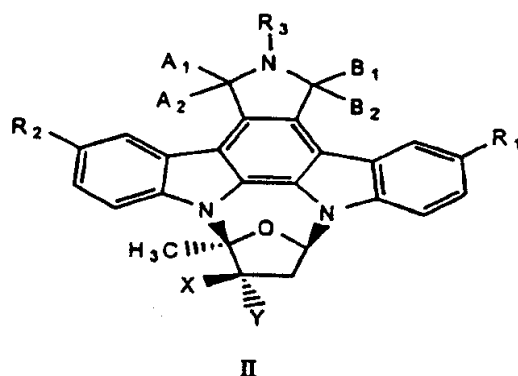
20

25

30

发明概要

我们已经发现，K-252a 的一些 3'-差向异构衍生物具有生物活性，这些化合物具有下面的通式（式 II）：



其中：

R^1 和 R^2 各自独立地是

氢、低级烷基、卤素、酰基、硝基、磺酸；

$-\text{CH}=\text{NR}^4$ ，其中 R^4 是胍基、杂环或 $-\text{NR}^5\text{R}^6$ ，其中是 R^5 或 R^6 是氢或低级烷基，而另一个是氢、低级烷基、酰基、芳基、杂环、氨基甲酰基或低级烷基氨基羰基；

$-\text{NR}^5\text{R}^6$ ；

$-\text{CH}(\text{SR}^7)_2$ ，其中 R^7 是低级烷基或链烯基；

$-(\text{CH}_2)_j\text{R}^8$ ，其中 j 是 1-6， R^8 是

卤素、取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基、未取代的杂芳基、 N_3 ；

$-\text{CO}_2\text{R}^9$ ，其中 R^9 是氢、取代的低级烷基、未取代的低级烷基、取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基或未取代的杂芳基；

$-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{10}\text{R}^{11}$ ，其中 R^{10} 和 R^{11} 各自独立地是氢、取代的低级烷基、未取代的低级烷基、取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基、未取代的杂芳基、取代的芳烷基、未取代的芳烷基、低级烷基氨基羰基或低级烷氧羰基，或者 R^{10} 和 R^{11} 与氮原子结合形成杂环基；

$-\text{OR}^{12}$ ，其中 R^{12} 是氢、取代的低级烷基、未取代的低级

- 烷基、取代的芳基、未取代的芳基，或者是
 $-C(=O)R^{13}$ ，其中 R^{13} 是氢、 $NR^{10}R^{11}$ 、取代的低级烷基、未取代的低级烷基、取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基、未取代的杂芳基、取代的芳烷基或未取代的芳烷基；
- 5 $-NR^{10}R^{11}$ ；
- $-C(=O)R^{14}$ ，其中 R^{14} 是氢、低级烷基、取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基或未取代的杂芳基，
- 10 $-S(=O)_rR^{15}$ ，其中 r 为 0-2， R^{15} 是氢、取代的低级烷基、未取代的低级烷基、取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基、未取代的杂芳基、取代的芳烷基、未取代的芳烷基、噻唑啉基、 $(CH_2)_aCO_2R^{16}$ （其中 a 为 1 或 2，而 R^{16} 是氢或低级烷基）、或 $(CH_2)_aC(=O)NR^{10}R^{11}$ ；
- 15 $-OR^{17}$ ，其中 R^{17} 是氢、低级烷基或 $-C(=O)R^{18}$ ，其中 R^{18} 是取代的低级烷基、未取代的低级烷基、取代的芳基或未取代的芳基；
- $-C(=O)(CH_2)_jR^{19}$ ，其中 R^{19} 是氢、卤素、 $NR^{10}R^{11}$ 、 N_3 、 SR^{15} 或 OR^{20} ，其中 R^{20} 是氢、取代的低级烷基、未取代的低级烷基或 $C(=O)R^{14}$ ；
- 20 $-CH(OH)(CH_2)_jR^{19}$ ；
- $-(CH_2)_dCHR^{21}CO_2R^{16A}$ ，其中 d 为 0-5， R^{21} 是氢、 $CONR^{10}R^{11}$ 或 CO_2R^{16A} ，其中 R^{16A} 同 R^{16} ；
- $-(CH_2)_dCHR^{21}CONR^{10}R^{11}$ ；
- 25 $-CH=CH(CH_2)_mR^{22}$ ，其中 m 为 0-4， R^{22} 是氢、低级烷基、 CO_2R^9 、取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基、未取代的杂芳基、 OR^{12} 或 $NR^{10}R^{11}$ ；
- $-CH=CH(CO_2R^{16A})_2$ ；
- $-C\equiv C(CH_2)_mR^{22}$ ；
- 30 $-SO_2NR^{23}R^{24}$ ，其中 R^{23} 和 R^{24} 各自独立地是氢、低级烷基，或

者是与连接的氮原子所形成的杂环基；

-OCO₂R^{13A}，其中 R^{13A} 同 R¹³；或

-OC(=O)NR¹⁰R¹¹；

R³ 是氢、低级烷基、氨基甲酰基、氨基、四氢吡喃基、羟基、
C(=O)H、芳烷基、低级烷酰基或 CH₂CH₂R²⁵，其中 R²⁵ 是卤
素、氨基、二-低级烷基氨基、羟基或羟基取代的低级烷基氨
基；

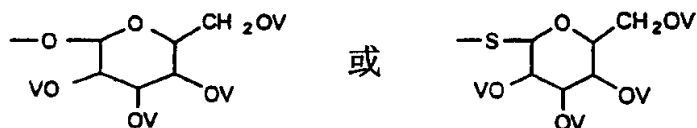
X 是氢、甲酰基、羧基、低级烷氧羰基、低级烷基胍基羰基、-CN、
低级烷基；

-C(=O)NR²⁶R²⁷，其中 R²⁶ 和 R²⁷ 各自独立地是氢、未取代的低
级烷基或未取代的芳基，或者 R²⁶ 和 R²⁷ 与氮原子结合形
成杂环基；

-CH(R³⁴)W，其中 R³⁴ 是氢或低级烷基，W 是 -N=CHN(烷基)₂、
胍基、N₃、NR²⁸R²⁹，其中 R²⁸ 或 R²⁹ 是氢或低级烷基，
另一个是氢、烯丙基、烷酰基、芳氧羰基、未取代的烷
基、或羧基基团的羟基被除去的氨基酸残基、-CO₂R⁹、
-C(=O)NR¹⁰R¹¹、-S(=O)_rR³⁰（其中 R³⁰ 是取代或未取代的
低级烷基、芳基或杂芳基）、或 OR³¹（其中 R³¹ 是氢、
取代或未取代的烷基、取代或未取代的烷酰基）；

-CH=N-R³²，其中 R³² 是羟基、低级烷氧基、氨基、胍基、脲
基、咪唑基氨基、氨基甲酰基氨基或 NR^{26A}R^{27A}（其中
R^{26A} 同 R²⁶，其中 R^{27A} 同 R²⁷）；或

-CH₂Q，其中 Q 是由



表示的糖残基，其中 V 表示氢、甲基、乙基、苄基、乙酰基
或三氟乙酰基；

Y 是氢、-OH、-OC(=O)R³³（其中 R³³ 是烷基、芳基或氨基）、
OCH₂O-烷基、-O-烷基、芳基烷氧基，或者 X 和 Y 结合为-

X-Y-, 形成-CH₂OCO₂-、或-CH₂N(R^{16B})CO₂- (其中 R^{16B} 同 R¹⁶);

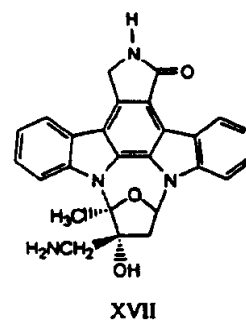
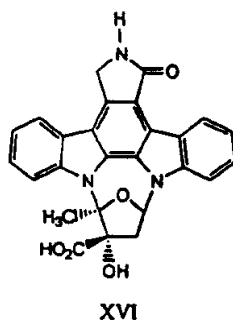
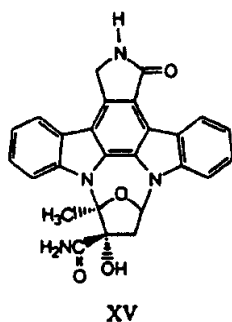
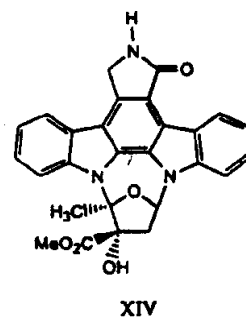
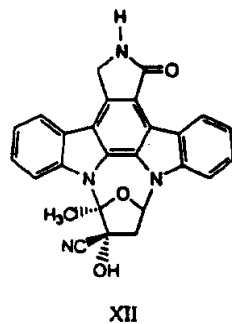
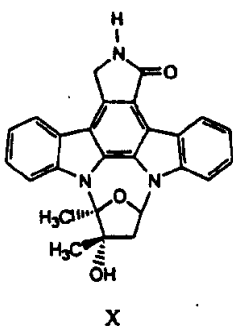
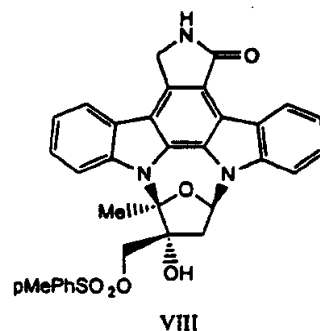
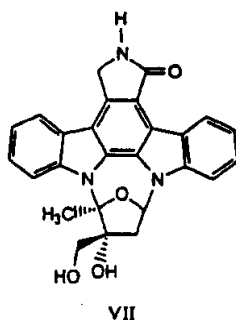
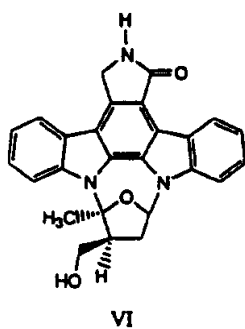
A¹ 和 A² 为氢或两者结合表示 O;

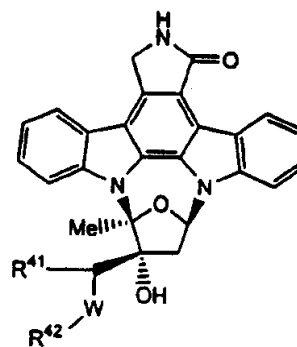
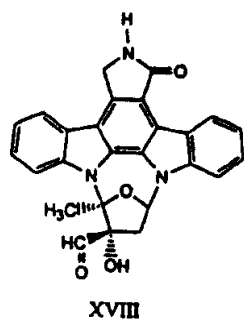
B¹ 和 B² 为氢或两者结合表示 O;

或者它们的可药用盐;

- 5 其前提条件是, A¹、A² 或 B¹、B² 至少一组表示 O, 并且 X 和 Y 不同时为氢。

10 优选 X 是 -C(=O)NR²⁶R²⁷、羧基、低级烷氧羰基、甲酰基、低级烷基、-CH₂OR³¹、-CH₂NR²⁸R²⁹ 或-CH₂S(=O)_rR³⁰。优选 R¹ 和 R² 为 H。优选 R³ 为氢或保护基。特别优选的是化合物 VI、VII、VIII、X、XII、XIV、XV、XVI、XVII、XVIII、XIX、XXV 和 XXVII, 如下所示:

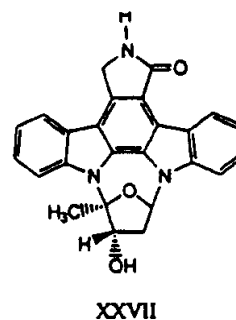
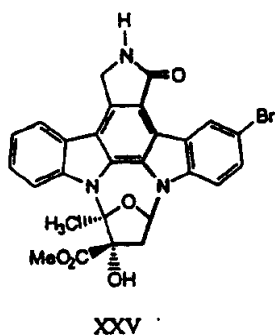




W=CH₂、O、S、NH 或 R⁴²W=H

R⁴¹=H 或低级烷基

R⁴²=低级烷基



在本发明的一些实施方案中，3'-差向异构的 K252a 衍生物被制成药物组合物。

本发明还提供了抑制酪氨酸激酶，如蛋白激酶 C (PKC) 活性的方法，该方法包括将酪氨酸激酶与权利要求 1 的化合物相接触。所述酪氨酸激酶可以在体外或体内。

本发明还提供了通过第二种激酶抑制酪氨酸激酶磷酸化的方法，该方法包括将第二种激酶与权利要求 1 的化合物相接触。所述酪氨酸激酶可以在体外或体内。

本发明还提供了增强胆碱能神经元机能的方法，该方法包括将胆

碱能神经元与权利要求 1 的化合物相接触。所述胆碱能神经元可以在体外或体内。

5 本发明还提供了增强胆碱能神经元存活的方法，该方法包括将胆碱能神经元与权利要求 1 的化合物相接触。所述胆碱能神经元可以在体外或体内。

10 除非有另外定义，本文使用的所有技术和科学术语的含义与本发明所属技术领域普通技术人员的一般理解相同。在有冲突的情况下，以本申请为准，包括定义。本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其它参考文献均引作参考。

15 尽管与本文所述相似或等价的方法和物质均可用于本发明的实施和试验，但下述方法和物质是优选的，这些物质、方法和实施例仅仅是说明性的，而不是用来限定的。从说明书详述部分和权利要求，本发明的其它特征和优点是显而易见的。

附图的简要说明

20 附图 1 是从已知的吲哚并咔唑 IIIa 合成 3'-差向异构的吲哚并咔唑 VI 和 VII 的线路图。

附图 2 所示是，由按照附图 1 所示制备的 3'-差向异构的吲哚并咔唑 VII 合成 3'-差向异构的吲哚并咔唑 X 的线路图。

附图 3 所示是，由中间产物酮 XIa 合成 3'-差向异构的吲哚并咔唑 XIIa、XIV、XV、XVI、XVII 和 XVIII 的线路图。

25 附图 4 所示是，由中间产物环氧化物 XIa 合成 3'-差向异构的吲哚并咔唑 XIX 的线路图。

附图 5 所示是，由中间产物酮 XI 合成 3'-差向异构的吲哚并咔唑 XIX 另一种线路。

30 附图 6 所示是，由中间产物酮 XI，或者通过已知的 3'-羟基吲哚并咔唑 XXVI 的差向异构化来合成差向异构的 3'-羟基吲哚并咔唑

XXVII 的线路。

附图 7 所示是，由相应的 3'-差向异构的吲哚并呋唑 XIV 合成环-溴代的 3'-差向异构的吲哚并呋唑 XXV 的线路图。

5 附图 8 表示测定化合物 XIV 对富含运动神经元的培养物中的神经元存活作用的试验数据的一览图。以细胞存活力（用相对于对照样的百分比表示）对化合物 XIV 在细胞培养基中的浓度作图。

10 本发明差向异构的 K-252a 衍生物显示出药物活性，包括对酪氨酸激酶活性的抑制作用，例如抑制 PKC 或 trk 酪氨酸激酶，这种抑制作用可用于治疗疾病，包括癌症。本发明的化合物能用于提高营养因子应答细胞（如胆碱能神经元）的功能和/或存活，对神经元的作用可以通过以下试验证明：（1）培养脊髓的胆碱乙酰基转移酶（“ChAT”）试验；（2）培养基础前脑神经元（“BFN”）的 ChAT 活性试验。

15 ChAT 是得到乙酰胆碱的生物合成途径中的一种酶，ChAT 的活性与胆碱能神经元有关，并显示该神经元的功能。神经元的存活可以通过测定神经元对染料（如，钙黄绿素 AM）的吸收和酶转化来进行分析。

20 各种神经疾病可表征为神经元细胞的损伤、功能构成、进行性轴索退化、死亡或有死亡的危险。这些疾病包括：阿尔茨海默疾病，运动神经元疾病如肌萎缩性侧索硬化、帕金森氏疾病，脑血管疾病如中风或局部缺血、亨廷顿氏舞蹈病、AIDS 痴呆、癫痫、多发性硬化，外周神经疾病，兴奋性氨基酸诱发的疾病，与大脑或脊髓的震荡性或
25 穿透性损伤相关的疾病。

由于本发明化合物能提高营养因子应答细胞的营养因子诱发的活性，所以它们可用作治疗剂，以增强哺乳动物（如，人）的神经元系细胞的功能和/或存活。它们特别适用于治疗与 ChAT 活性降低或脊髓
30 运动神经元损伤有关的疾病。

化学合成

本发明的化合物可以按照下述（附图 1-7）方法制备，化合物的制备可以从适当保护的 K-252a 衍生物开始，K-252a 可以在其内酰胺氮原子上进行保护，如以乙酸盐或以甲硅烷基衍生物形式。

硫羰基碳酸酯 IVa（附图 1）可以采用如美国专利号 US 4923986 所述的方法从二醇 IIIa 制备，将 IVa 用亚磷酸三甲酯处理，得到外向环(exocyclic)烯烃 V，可以使用硼氢化条件将烯烃 V 转化为(S)-甲醇衍生物 VI，或者在四氢呋喃（THF）中使用四氧化锇将其转化为(R)-二醇 VII。在化合物 VII 中，糖 3'-位的构型与美国专利号 US 4923986 报道的(S)-二醇 III 的构型相反。

(R)-环氧化物 IXa（附图 2）的制备可以通过将(R)-二醇 VII 转化为甲苯磺酰基中间产物 VIII，然后与碱如氢化钠或氢氧化钠作用。(R)-环氧化物 IXa 与氢化物还原剂如三乙基硼氢化锂相作用，脱去叔丁基二甲基甲硅烷基（TBDMS）保护基后，得到(S)-叔醇 X。手性醇衍生物如化合物 VI、VII 或 X 可以采用常规技术，与碱和卤化物或甲苯磺酰基化合物一起反应而转化为醚衍生物，这些醇衍生物还可以通过已知方法，与酰氯或酸酐反应转化为酯衍生物，或者与适当的异氰酸酯反应转化为氨基甲酸酯。例如，化合物 VI 或 VII 的卤化物或磺酸酯衍生物可以用各种不同的 O、S、N 或 C 亲核试剂替换以制备适当的衍生物。

3'-(R)-K-252a XIV(附图 3)的制备由酮 XI 开始。化合物 XIV 与天然 K-252a 异构体的不同仅仅在于 3'糖位。酮 XIa 与氰酸盐（氰化钠、氰化钾、四丁基铵氰化物或 TMSCN）作用，得到氰醇 XII 和 XIII 的混合物。该氰醇异构体的混合物可以通过色谱分离，或者在甲醇中用 HCl 直接转化为酯 XIV 和酰胺 XV。3'-表位-K-252a XIV 可以采用适于天然 K-252a 的方法（参见如，J. Antibiot. 39:1072, 1980），将其水解为羟

基酸 XVI。采用适于与所述 K-252a 的描述相似的方法（参见如，美国
 专利号 US 4923986、5461164 和 5654427），可将酸 XVI 转化为不同的
 的酯或酰胺衍生物。可以采用适于转化天然 K-252a 的所述方法，将
 酰胺 XV 还原为相应的甲胺衍生物 XVII，而 XVII 可用于制备诸多甲
 5 基酰胺和甲基脲衍生物，参见，如美国专利号 US 4923986、5461164
 和 5654427。3'-表位-K-252a 可以还原为醛 XVIII 而与各种不同的胺、
 肼或羟氨缩合形成相应的类似物。醛 XVIII 可以与各种不同的烷基、
 芳烷基、芳基或杂芳基烷基金属试剂，如锂、镁、锌或铜试剂相作用，
 形成相应的醇加成物。醛 XVIII 可以与磷内盐(Quart Rev. 17:406,
 10 1963 ; Angew Int. 16:423, 1977)、磷酸酯(Horner-Wadsworth-Emmons 试
 剂: Chem. Ber. 91:61, 1958 ; J. Am. Chem. Soc. 83:1733, 1961 ; Org.
 React. 25:73, 1977)、硅烷(J. Org. Chem. 33:780, 1968 ; Synthesis 384,
 1984)、碲试剂(Tetrahedron Lett. 28:801, 1987)或硼试剂(Tetrahedron
 Lett. 24:635, 1983)作用转化为官能化的烯烃，然后通过烯烃的还原，
 15 如催化氢化，得到它们的还原产物。由醛 XVIII 衍生的烯烃可以转化
 为环氧化物，并可再与所述的适于环氧化物 IX 的亲核试剂作用。

环氧化物 IX（附图 4）可以和各种不同的亲核试剂作用，形成结
 构如 XIX 的叔醇，所述亲核试剂可以是取代的。另一种制备环氧化物
 20 和 3'-表-OH 构型叔醇的方法（附图 5）是采用常规成烯反应，例如，
 所述的适于醛 XVIII 的方法，将酮 XI 转化为结构如 XX 的烯烃。

结构如 XXI 的环氧化物可采用已知方法进行不对称合成制备(参
 见，如 J. Org. Chem. 32:1363 , Synthesis 89, 1986 ; 1967; J. Org. Chem.
 25 60:3693, 1995 ; J. Am. Chem. Soc. 112:2801, 1990 ; J. Am. Chem. Soc.
 116:6937, 1994 ; J. Org. Chem. 58:7615, 1993)。按照对环氧化物 IX 所用
 的相似方法，进行环氧化物的亲核开环，得到具有 3'-表位构型羟基的
 取代叔醇。

30 采用反转仲醇构型的常规方法，可以将已知的(R)-醇 XXVI(附图

6)转化为(S)-醇 XXVII, (参见, 如 Tetrahedron Lett. 34:6145, 1996 ;
Synthesis Letters, 1995, 336)。另外, XXVII 可以通过环氧化物 XXIV
与氢化物试剂如三乙基硼氢化锂作用进行制备。酮 XI (附图 6) 可以
转化为三氟甲磺酸酯 XXII, 然后与三丁基锡氢化物作用得到烯烃
XXIII。

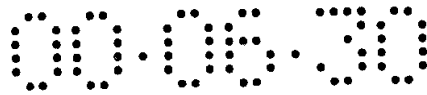
用于制备在位置 R_1 和 R_2 具有取代基的 K252a 衍生物的已知方
法, 可用以在 3'-表位-K-252a 上获得相应的 R_1 和 R_2 取代基, 参见, 如
美国专利号 US 4923986、5461164 和 5654427。例如 XIV (附图 7) 与
一当量的 N-溴代丁二酰亚胺 (NBS) 作用得到衍生物 XXV, 其中的 R_1
是溴。用二当量的 NBS 得到的衍生物中 R_1 和 R_2 均为溴。

由(S)-甲醇 VI 生成醛或羧酸衍生物的氧化反应可以使用适当的氧
化剂 (如 “有机化学中的氧化反应”, 美国化学协会专刊 186, ACS
Washington DC 1990 所述) 进行, 还可以采用制备衍生物 XVI 和 XVIII
(附图 3) 所述的方法, 使醛或羧酸衍生物实现进一步转化。

药物组合物

本发明化合物可以作为单独的活性成分或者与其它治疗剂结合,
对哺乳动物, 如病人给药。本发明化合物可以与药学上可接受的赋
型剂和载体混合制成药物组合物。这些药物组合物可以制成适于任何
给药途径的制剂, 如非肠道给药、口服、鼻部或局部给药, 组合物可
以通过常规方法制备, 以单位剂量形式给药, 参见, 如 “Remington's
Pharmaceutical Science” (Mack 出版公司, Easton, PA)。活性成分的浓
度和剂量是可以变化的, 所述浓度取决于如下因素如活性成分的总剂
量、所用化合物的化学性质 (如疏水性)、给药途径、病人的年龄、
病人的体重以及所治疗的疾病状况。

本发明化合物可以以, 例如含有 0.1-10%w/v 化合物的生理缓冲溶
液的形式提供, 用于非肠道给药。一般剂量范围为约每天 $1\mu\text{g/kg}$ -约



1g/kg 体重；优选的剂量范围是约每天 0.01mg/kg-约 100mg/kg 体重；
优选约 0.1-20mg/kg，每天 1-4 次。

5 本发明包括 3'-差向异构的 K252a 衍生物的可药用盐。可药用盐包
括药理学上可接受的酸加成盐、金属盐、铵盐、有机胺加成盐和氨基酸
加成盐。酸加成盐包括无机酸加成盐（如盐酸盐、硫酸盐和磷酸盐）
和有机酸加成盐（如乙酸盐、马来酸盐、富马酸盐、酒石酸盐、柠檬
酸盐和乳酸盐）；金属盐的例子是碱金属盐如锂盐、钠盐和钾盐，碱
土金属盐如镁盐和钙盐，铝盐和锌盐；铵盐的例子是铵盐和四甲基铵
10 盐；有机胺加成盐的例子是与吗啉和哌啶所形成的盐；氨基酸加成盐
的例子是与甘氨酸、苯丙氨酸、谷氨酸和赖氨酸所形成的盐。

本文所用的‘低级烷基’是指 1-6 个碳原子的烷基。本文所用的
‘芳基’（单独使用或在术语如芳基羰基和芳基氨基羰基所使用的）
15 是指具有 6-12 个碳原子的、单环或两个稠合环形式的基团，芳基的例
子是苯基、联苯基和萘基。杂芳基至少含有一个杂原子，优选的杂原
子是 O、S 或 N，杂芳基的例子是吡啶基、嘧啶基、吡咯基、呋喃基、
噻吩基、咪唑基、三唑基、四唑基、喹啉基、异喹啉基、苯并咪唑基、
噻唑基和苯并噻唑基。取代的烷基具有 1-3 个独立选择的取代基，烷
20 基的优选取代基是羟基、低级烷氧基、取代或未取代的芳基烷氧基-低
级烷氧基、取代或未取代的杂芳基烷氧基-低级烷氧基、卤素、羧基、
低级烷氧羰基、硝基、氨基、一或二低级烷基氨基、二氧戊环、二氧
六环、二硫戊环和二硫六环。取代的芳基、杂芳基或芳烷基具有 1-3
个独立选择的取代基，优选取代基是低级烷基、羟基、低级烷氧基、
25 羧基、低级烷氧羰基、硝基、氨基、一或二低级烷基氨基和卤素。

本文所用的‘胆碱能神经元’是指以乙酰胆碱作为神经递质的神
经元，胆碱能神经元的例子是基础前脑神经元、纹状体神经元和脊髓
神经元。本文所用的‘感觉神经元’是指对环境刺激如温度或运动产
30 生应答的神经元，可找到感觉神经元的组织包括皮肤、肌肉和关节。

脊神经节神经元是一个感觉神经元的例子。本文所用的‘营养因子应答细胞’是指与营养因子结合的细胞，营养因子应答细胞包括胆碱能神经元、感觉神经元、单核细胞和肿瘤细胞。

5 本发明提供以下实施例进一步阐明，决不能将这些实施例决看成是对本发明范围或内容的限定。

试验实施例

对酪氨酸激酶活性的抑制作用

10 采用 Angeles 等人(Anal. Biochem. 263:49-55, 1996)所述的以酶联吸附测定为基础的(ELISA-Based)试验，测定差向异构的 K252a 衍生物对杆状病毒表达的人 trkA 胞质结构域的激酶活性的抑制作用。在 96-孔的微量滴定板上，涂以底物溶液(重组人磷脂酶 C- γ /谷胱甘肽 S-转移酶融合蛋白；Rotin 等人，EMBO J., 11:559-567, 1992)，测量抑制作用所用的 100ml 试验混合物中含有 50mM 的 Hepes(pH7.4)、40 μ M 的 ATP、10mM 的 MnCl₂、0.1% BSA、2% DMSO 和不同浓度的抑制剂；加入 trkA 激酶以引发反应，然后使其在 37℃进行反应 15 分钟，然后加入磷酸酪氨酸(UBI)抗体，随后加入次级酶结合抗体，碱性磷酸酶标记的山羊抗鼠 IgG(Bio-Rad)。

20 使用放大探测系统(Gibco-BRL)测量结合酶的活性，以 GraphPad Prism 的剂量-响应(斜率为可变参数)S 型曲线(sigmoidal)方程对抑制作用数据进行解析，激酶活性受到 50%抑制的浓度称为 IC₅₀，结果列于表 1 中。

25

表 1

3'-差向异构的 K-252a 衍生物

对 trkA 激酶活性的抑制作用

化合物	trk IC ₅₀ (nM)
VI	2
VII	2
X	2
XIV	1.4
XV	21
XXIX (对照)	7

5

对 NGF-激活的 trk 磷酸化作用的抑制

10

采用经改进的、美国专利号 5516771 所述方法，测量所选用的差向异构 K-252a 衍生物对 NGF-激活的 trk 的磷酸化作用的抑制。用 trkA 转染的 NIH3T3 细胞在 100 mm 培养皿中进行培养，在 37℃ 用含有化合物(1-100 nM)或 DMSO(加入到对照试样)的、无血清 0.05%BSA-DMEM 替换培养液，使分会合的细胞(subconfluent cells)受到血清饥饿 (serum-starved) 1 小时，然后以 10ng/ml 的浓度向细胞中加入 NGF (Harlan/Bioproducts for Science) 5 分钟，将细胞溶解于含有去污剂和蛋白酶抑制剂的缓冲液中，用 BCA 方法将澄清的细胞溶解液进行蛋白归一化，并用抗-trk 抗体进行免疫沉淀。

15

20

针于与 trk 羧基端的 14 个氨基酸相应的肽，制备多克隆抗-trk 抗体(Martin-Zanca 等人, Mol. Cell. Boil. 9:24-33, 1989) 。将免疫复合物收集到蛋白 A 琼脂糖凝胶珠(Sigma)上,通过 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)进行分离，并转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。该膜用抗磷酸酪氨酸抗体(UBI)进行免疫印迹，然后与辣根过氧化物酶偶合的山羊抗鼠 IgG(Bio-Rad)进行温育，用 ECL(Amersham)目测检验磷酸化的蛋白。

测量 trk 蛋白带的面积，并与 NGF 激活的对照试样相比较，根据 trk 蛋白带减少百分比，采用如下的抑制作用记分系统：0=不减少，1=1-25%；2=26-49%，3=50-75%，4=76-100%。

5

trk 抑制数据（表 2）表明 3'-表-OH 异构体在全细胞制品中对 trk 的抑制作用比相应的天然异构体更强。3'-表-K-252a（XIV）给出的 $IC_{50} < 10$ nM，而 K-252a 给出的 IC_{50} 约为 50 nM。化合物 X 在 < 50 nM 浓度时已表现出对 trkA 的完全抑制，且在细胞中的 $IC_{50} < 10$ nM，天然异构体 XXIX 在 100 nM 浓度仍未显示完全抑制；二醇 VII 对 NIH3T3 细胞中的 trkA 抑制作用比天然异构体 III 显示出更强的效力。

10

表 2

3'-差向异构的 K-252 衍生物对 NIH3T3 细胞中
NGF-激活的 trkA 磷酸化作用的影响

15

化合物	抑制作用的分值			
	1 nM	10 nM	50 nM	100 nM
K-252a (对照)	1	2	3	3
XIV	2	4	4	4
VII	1	2	4	4
III (对照)	1	2	3	4
X	2	3	4	4
XXIX (对照)	2	3	3	3

对 VEGF 受体激酶活性的抑制作用

20

采用上述方法，测定 3'-差向异构的 K252a 衍生物对杆状病毒表达的 VEGF 受体激酶功能域的激酶活性的抑制作用。激酶反应混合物中含有 50mM 的 HEPES(pH7.4)、40 μ M 的 ATP、10mM 的 $MnCl_2$ 、0.1% BSA、2% DMSO 和不同浓度的抑制剂，将其转移至涂有 PLC- γ /GST 的滴定板上，加入 VEGFR 激酶，使反应在 37 $^{\circ}C$ 进行 15 分钟，用磷酸

酪氨酸(UBI)抗体检测磷酸化产物,用次级酶结合的抗体捕获抗体-磷酸化 PLC- γ /GST 复合物。使用放大探测系统(Gibco-BRL)测量结合酶的活性,以 GraphPad Prism 的剂量-响应(斜率为可变参数)S 型曲线方程对抑制作用数据进行解析,结果列于表 3 中。

5

表 3

3'-差向异构的 K-252a 衍生物
对 VEGF 受体激酶活性的抑制作用

化合物	VEGFR 激酶 IC ₅₀ (nM)
VI	7
VII	8
X	17
XIV	19
XXIX (对照)	146

10 对蛋白激酶 C 活性的抑制作用

采用 Millipore Multiscreen TCA 平板内试验,测量蛋白激酶 C 的活性(Pitt 等人, J. Biomol Screening, 1:47-51, 1996)。试验在 96-孔 Multiscreen-DP 板(Millipore)上进行,每 40-ml 测定混合物中含有 20mM 的 Hepes(pH7.4)、10mM 的 MgCl₂、2.5mM 的 EGTA、2.5mM 的氯化钙、80mg/ml 的磷脂酰基丝氨酸、3.2mg/ml 的甘油二油酸酯、200mg/ml 的组蛋白 H-1 (Fluka)、5mM 的[γ -³²P]ATP、1.5ng 的蛋白激酶 C (UBI; 混合的同功酶 a、b、g)、0.1% BSA、2% DMSO 和 3'-差向异构的 K-252a 衍生物。让反应在 37℃进行 10 分钟,加入冰冷的 50% 三氯乙酸(TCA)以终止反应,将滴定板于 4℃下平衡 30 分钟,然后用冰冷的 25%三氯乙酸洗涤,将闪烁混合物加至板上,用 Wallac MicroBeta 1450 PLUS 闪烁计数器测定放射性。将数据代入 GraphPad Prism 的剂量-响应(斜率为可变参数)S 型曲线方程,计算出 IC₅₀ 值,结果列于表 4 中。

15

20

表 4

3'-差向异构的 K-252a 衍生物

对蛋白激酶 C 活性的抑制作用

化合物	PKC IC ₅₀ (nM)
VI	95
VII	79
X	>1000
XIV	114
XXIX (对照)	310

5

对脊髓 ChAT 活性的增强作用

ChAT 被用作有功能的胆碱能神经元的生物化学标志, ChAT 的活性已经被用来研究神经营养蛋白(如 NGF 或 NT-3)对胆碱能神经元存活和/或功能的影响。ChAT 的测定还被用来指示胆碱能神经元中的 ChAT 浓度的调节。

10

在离体的鼠胚胎脊髓培养试验中, 3'-差向异构的 K-252a 衍生物能增强 ChAT 活性(表 5)。在细胞经过 2-3 小时的平板培养, 使其附着并占据组织培养皿后, 化合物 XVII 增强 ChAT 活性为对照培养(不用 3'-差向异构的 K-252a 衍生物处理)的 195%。在这些试验中, 化合物直接加到离体的鼠胚胎脊髓培养物上。增强 ChAT 的活性至少是为对照试样的 120%的化合物, 才视为是具有活性的。单独使用所选择的 3'-差向异构的 K-252a 衍生物, 即可观察到增强 ChAT 活性。结果列于表 5 中。

15

20

表 5

3'-差向异构的 K-252a 衍生物
对脊髓 ChAT 活性的增强作用

脊髓 ChAT (%对照)		
化合物	50nM 时的活性	最大活性
VI	<120	125
VII	<120	122
X	<120	127
XIV	147	195
XV	-	129

5

基本上按照 Smith 等人(J. Cell Biology 101:1608-1621, 1985)和 Glicksman 等人(J. Neurochem. 61:210-221, 1993)所述的方法进行胎鼠脊髓细胞的分离和进行试验。用常规的胰蛋白酶解离技术, 从大鼠(胎龄 14-15 天)中解剖下来的脊髓制备分离的细胞。用加有 0.05% 的牛血清白蛋白(BSA)的无血清 N2 培养液(Bottenstein 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76:514-517, 1979), 将细胞以 6×10^5 细胞/cm² 铺板于涂有聚-L-鸟氨酸的塑料的组织培养皿中。培养物在 37℃、5%二氧化碳和 95% 空气的湿润气氛下温育 48 小时, 2 天后进行 ChAT 活性的体外测定, 所用的方法是根据 McManaman 等人(Developmental Biology 125:311-320, 1988)和 Glicksman 等人(同上)对 Fonnum 方法(Fonnum 等人, J. Neurochem. 24:407-409, 1975)改进后的方法。

10

15

用大鼠脊髓运动神经元进行的存活试验

20

对所选的 3'-差向异构的 K-252a 衍生物, 用大鼠脊髓运动神经元进行了增强存活性的试验。化合物 XVI 显著提高了脊髓运动神经元的存活(附图 8)。

从胎龄(E)为 14.5-15 天的 Sprague-Dawley 大鼠胎儿(Charles River

实验室, Wilmington, MA)剖割出脊髓, 只从脊髓的腹侧部分剥离细胞, 进一步以 6.5% 节距的甲泛葡胺梯度通过离心富集运动神经元, 用低亲和性的神经营养蛋白受体抗体(IgG-192, Boehringer-Mannheim)着色, 进行纯度分析。采用以化学方法确定的无血清 N2 培养液 (Bottenstein 和 Sato, 1979), 将细胞以 6×10^4 细胞/cm² 的密度, 接种于预先涂有聚-L-鸟氨酸和层粘连蛋白(各为 5 μ g/ml)的 96-孔滴定板中。为了将附着作用与影响存活的作用加以区别, 在开始附着 1-3 小时后, 将 3,9-二[(乙硫基)甲基]-K-252a (Kaneko 等人, J. Med. Chem. 40:1863-1869, 1997)加入到培养物中。

4 天后, 用钙黄绿素 AM (Molecular Probes, Eugene, OR) 进行荧光生存力试验 (Bozyczko-Coyne 等人, J. Neurosci. Meth. 50:205-216, 1993), 以确定神经元的存活力。培养液连续用 Dulbeccos 磷酸盐缓冲生理盐水 (DPBS) 稀释, 将终浓度为 6 μ M 的钙黄绿素 AM 储液加入到各个孔, 滴定板于 37 $^{\circ}$ C 温育 30 分钟, 然后用 DPBS 连续稀释液洗涤, 用读板荧光计(Cytofluor 2350)(激发波长= 485 nm, 发射波长=538nm)读出荧光信号强度。对每一块板, 从所有试验值中扣除掉从加有钙黄绿素但不含细胞的试样所得到的平均背景值, 在上述细胞密度范围内, 证明荧光强度对浓度和温育时间是线性的。神经元的显微计数与相关的荧光值直接相关。

化合物 V 的制备

将化合物 IVb(US 专利 4,923,986)溶解于亚磷酸三甲基酯(2ml), 加热回流 3 小时。将反应混合物冷至室温, 通过闪式硅胶柱用氯仿-甲醇 (20:1)冲洗以除去亚磷酸三甲基酯, 用闪式色谱(硅胶, 乙酸乙酯: 己烷, 1:1)纯化产物, 得到浅黄色固体化合物 V (15mg, 95%产率)。

MS (ESI⁺): m/e 406 (M+H)⁺, ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 2.62 (s, 3H), 2.85 (d, 1H), 3.37-3.45 (m, 1H), 4.95 (s, 1H), 5.00 (s, 2H), 5.09 (s, 1H), 6.29 (s, 1H), 6.90 (d, 1H), 7.33-7.53 (m, 5H), 7.91 (d, 1H), 9.41 (d, 1H).

化合物 VI 的制备

在 0℃、氮气气氛下，往化合物 V (161mg, 0.397mmol) 的 THF (80mL) 搅拌溶液中加入 BH_3 的 THF 溶液 (1.59mL 的 1M 溶液, 1.59mmol), 将反应混合物于 0℃ 搅拌 30 分钟, 然后温热到室温过夜, 将混合物再冷却至 0℃, 加入 10% 氢氧化钠 (0.1 mL), 剧烈释放出气体。然后滴加过氧化氢 (80mL), 于 0℃ 搅拌 30 分钟后, 以乙酸乙酯 (15 mL) 稀释反应物并用水洗涤 (3×10mL), 有机层用硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩得到浅绿色固体, 该产物以色谱法提纯 (硅胶; 己烷: 乙酸乙酯; 1:1), 得到白色固体化合物 VI (0.12g, 产率 71%)。MS (ESI⁺): m/e 424 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 2.54 (s, 3H), 2.51 (m, 1H), 2.99-3.01 (m, 2H), 3.47 (m, 1H), 3.8 (m, 1H), 5.049 (s, 2H), 6.21 (broad 2, 1H), 6.98 (m, 1H), 7.13 - 7.49 (m, 6H), 7.94-8.02 (m, 2H), 9.34 (d, 1H)。

化合物 VII 的制备

在室温、氮气气氛下, 往化合物 Va (TBDMS-V) (350mg, 0.673mmol) 的 THF (10mL) 搅拌溶液中加入吡啶 (0.435mL, 5.39mmol), 然后加入四氧化锇 (6.73mL, 0.673mmol, 0.1M 四氯化碳溶液), 将反应混合物于室温下搅拌 36 小时, 在此期间反应混合物由黄色变为暗橙红色, 将亚硫酸钠水溶液 (30mL) 加入到反应混合物中, 搅拌反应物 30 分钟, 反应混合物以乙酸乙酯萃取 (2×20mL), 硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩得到浅棕色膜状物, 该混合物用乙酸乙酯在硅胶上通过闪式色谱提纯, 得到黄色固体化合物 VIIa (TBDMS-VII) (280mg, 产率 76%)。

MS (ESI⁺): m/e 544 (M+H)⁺, ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 0.56 (d, 6H), 1.079 (s, 9H), 2.04 (dd, 1H), 2.12 (broad s, 1H), 2.40 (s, 3H), 2.86 (dd, 1H), 3.52 (broad s, 3H), 4.99 (s, 2H), 6.98 (dd, 1H), 7.32 (t, 1H), 7.39-7.46 (m, 4H), 7.97 (dd, 2H), 9.35 (d, 1H)。

在 0℃、氮气气氛下, 往盛有甲醇 (2mL) 的烧瓶中加入乙酰氯

(4 滴)，将化合物 VIIa (40mg, 0.072mmol) 的甲醇 (1mL) 溶液滴加到上述 HCl 甲醇溶液中。将反应混合物于 0℃ 搅拌 1 小时，然后温热到室温过夜，真空除去溶剂，得到黄褐色固体化合物 VII (21mg, 产率 66%)。

5

MS(ESI⁺): m/e 440 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 2.052 (dd, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.90 (dd, 1H), 3.57 (s, 1H), 3.61 (s, 2H), 5.04 (s, 2H), 6.28 (s, 1H), 7.02 (dd, 1H), 7.33-7.54 (m, 6H), 7.95 (d, 1H), 8.02 (d, 1H), 9.32 (d, 1H).

10 化合物 X 的制备

在 0℃、氮气气氛下，往中间产物 VIIa (附图 2, 0.23g, 0.415mmol) 的 THF(10mL) 搅拌溶液中，加入三乙胺 (57.9mL, 0.415mmol)、DMAP (25.4mg, 0.208mmol) 和对甲苯磺酰氯 (71.9mg, 0.415mmol)，将反应混合物于 0℃ 搅拌 1 小时，然后缓慢温热至室温过夜。将反应混合物温热 1 小时，同时用薄层色谱 (己烷:乙酸乙酯, 2:1) 监测，以乙酸乙酯 (30mL) 稀释反应混合物并用水洗涤 (3×15mL)，有机层用硫酸钠干燥，过滤，真空浓缩得到黄色膜状物甲苯磺酰基中间产物 VIIIa，该反应混合物用己烷:乙酸乙酯 (2:1) 在硅胶上通过闪式色谱进一步提纯，得到浅黄色膜状物 (0.16g, 产率 55%)。

20

MS(APCI): m/e 708 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 0.57 (d, 6H), 1.08 (s, 9H), 2.01 (dd, 1H), 2.33 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 3.88 (dd, 1H), 3.86 (dd, 2H), 4.98 (s, 2H), 6.97 (dd, 1H), 7.14 (d, 2H), 7.24-7.49 (m, 7H), 7.75 (d, 1H), 7.91 (d, 1H), 9.35 (d, 1H).

25

在 0℃、氮气气氛下，往中间产物 VIIIa (0.14g, 0.198mmol) 的 THF(5mL) 搅拌溶液中，加入氢化钠 (15.8mg, 0.395mmol)，可观察到气体剧烈地放出，反应混合物变得浑浊，另外加入氢化钠 (2 当量)，将烧瓶中的反应物再搅拌 2 小时，然后轻轻温热 4 小时，将反应混合物再冷至 0℃，用水终止反应，以乙酸乙酯稀释反应混合物，并用水和盐水洗涤。有机层用硫酸镁干燥，过滤，真空浓缩得到黄色膜状物化合

30

物 IXa (100.2mg, 产率 95%)。 MS (APCI): m/e 536 ($M+H$)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 0.56 (d, 6H), 1.08 s, 9H), 2.32-2.38 (m, 4H), 2.57 (d, 2 H), 3.01 (dd, 1H), 4.99 (s, 2H), 7.01 (d, 1H), 7.33-7.56 (m, 5H), 7.73 (d, 1H), 7.94 (d, 1H), 9.46 (d, 1H).

5

在 0℃、氮气气氛下，往化合物 IXa (100mg, 0.187mmol) 的 THF(5mL) 搅拌溶液中，滴加入三乙基硼氢化锂(0.37mL 的 1M THF 溶液, 0.374mmol)，并有气体放出，于 0℃加入另外的三乙基硼氢化锂 (2 当量)，并在 0℃搅拌反应 30 分钟，然后温热至室温；将反应混合物冷至 0℃，用水终止反应，以乙酸乙酯稀释反应混合物，并用水和盐水洗涤。有机层用硫酸镁干燥，过滤，真空浓缩；该反应混合物用己烷：乙酸乙酯 (1:1) 在硅胶上通过闪式色谱提纯，得到浅黄色膜状物 Xa (R = TBDMS)。在 0℃、氮气气氛下，往化合物 Xa 的甲醇搅拌溶液中，加入由乙酰氯(5 滴)在甲醇中制成的溶液，将反应混合物于 0℃搅拌 30 分钟，然后温热到室温过夜，真空除去溶剂得到黄色固体，该固体经硅胶色谱 (己烷：乙酸乙酯, 1:1) 纯化得到化合物 X (30mg, 产率 42%)。

10

15

MS (ESI⁺): m/e 424 ($M+H$)⁺, ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 1.39 (s, 3H), 2.29 (dd, 1H), 2.37 (s, 3H), 2.91 (dd, 1H), 5.05 (s, 2H), 6.19 (s, 1H), 6.97 (t, 1H), 7.32-7.50 (m, 5H), 7.78 (d, 1H), 7.95 (d, 1H), 9.33 (d, 1H).

20

化合物 XIV 和 XV 的制备

于室温在氮气气氛下，往酮 XI (US 4923986) (附图 5, 451mg, 1.11mmol) 于二氯甲烷-二噁烷混合物(6mL; 5:1) 的搅拌溶液中，加入四丁基铵氰化物(740mg, 2.77 mmol) 和乙酸(95mL, 1.66mmol)，将黑色的反应混合物搅拌 24 小时，然后进行真空浓缩，将黑色油状物溶解于乙酸乙酯(20mL) 和二噁烷(2mL) 中，并用水(3×10mL) 和盐水(1×10mL) 洗涤，有机层用硫酸镁干燥，过滤，真空浓缩得到棕色固体，HPLC 分析表明，存在两种氰醇中间产物，XIIa 和 XIIIb。

25

30

往盛有甲醇(4mL)的烧瓶中, 通入氯化氢气体 10 分钟, 在 0℃, 将步骤 1 的氰醇混合物(450mg, 1.04mmol)于甲醇:二噁烷(2:1, 3mL)的溶液加入到上述氯化氢甲醇溶液中, 将反应混合物密封, 并于 0℃搅拌 2 小时, 然后置于冰箱中 48 小时。将烧瓶温热至室温, 小心加入 6N HCl, 将混合物搅拌 30 分钟, 浓缩至干, 将残留物溶解于 50%的甲醇:水中, 室温下搅拌过夜, 形成沉淀物, 将反应混合物浓缩至干, 在硅胶上用己烷:乙酸乙酯 (1:1) 通过闪式色谱纯化残留物, 得到灰白色固体化合物 XIV。

MS (ESI⁺): m/e 468 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 2.416 (s, 3H), 2.77 (dd, 1H), 2.91 (s, 3H), 2.952 (dd, 1H), 4.99 (s, 2H), 7.13 (dd, 1H), 7.33 (t, 1H), 7.44 (dd, 2H), 7.64 (t, 2H), 7.98 (d, 1H), 9.16 (d, 1H).

用乙酸乙酯洗脱色谱柱得到浅橙色产物, 酰胺 XV(13mg)。

MS (ESI): m/e 453 (M+H)⁺; ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) δ 2.33 (s, 3H), 2.37 (m, 2H), 4.94 (s, 2H), 6.58 (s, 1H), 7.19-7.64 (m, 6H), 7.81 (m, 3H), 7.96 (d, 1H), 8.59 (s, 1H), 9.17 (d, 1H).

化合物 XXIII 的制备

在-78℃、氮气气氛下, 往酮 XIa (附图 6; R=TBDMS) (95.4mg, 0.183mmol)的 THF (5mL)搅拌溶液中, 加入二乙基氨基锂(0.12mg, 1.5M 环己烷溶液), 将反应混合物于-78℃搅拌 30 分钟, 向反应混合物中滴加入 N-苯基三氟甲磺酰胺 (71.9mg, 0.201mmol) 的 THF (1.5mL) 溶液, 并于-78℃搅拌该混合物 30 分钟。使反应混合物温热至 0℃, 搅拌 1 小时, 然后温热至室温过夜, 用氯化铵 (饱和水溶液 2mL) 终止反应, 以乙酸乙酯稀释并用水洗涤。混合物在硅胶上用己烷:乙酸乙酯 (2:1) 通过闪式色谱纯化, 得到灰白色固体化合物 XXIIa (R=TBDMS) (66mg, 产率 61%)

MS (ESI⁺): m/e 654 (M+H)⁺, ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 0.58 (s, 6H), 1.12 (s, 9H), 2.66 (s, 3H), 5.02 (dd, 2H), 6.14 (s, 1H), 7.31-7.62 (m, 6H), 7.83 (d, 1H), 7.98 (d, 1H), 9.44 (d, 1H).

往步骤 1 的所得产物（化合物 XXIIa）(75mg, 0.115mmol)的 THF (10mL)搅拌溶液中，加入氯化锂(14.6mg, 0.115mmol)和四（三苯基膦）钯(0) (2.6mg, 0.0023mmol)，滴加三丁基氢化锡（37mL, 0.139mmol），将该混合物加热至 60℃。继续加热反应混合物 4 小时，在此期间反应物的颜色由黄色变为暗红色。真空浓缩反应混合物，并在硅胶上用己烷:乙酸乙酯（2:1）通过闪式色谱纯化，分离出两种产物：被三丁基锡污染的、TBDMS-保护的产物 XXIIIa (60mg)和脱保护的产物 XXIII (10mg, 产率 22%)。

MS (ESI): m/e 392 (M+H)⁺, ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz):

δ 2.65 (s, 3H), 4.978 (s, 2H), 6.19 (d, 1H), 6.28 (d, 1H), 6.41 (s, 1H), 7.26-7.62 (m, 5H), 7.65-7.69 (m, 1H), 7.87 (dd, 2H), 9.39 (d, 1H).

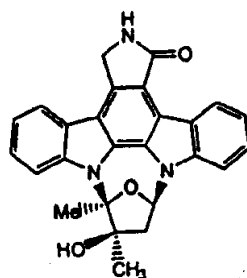
在上述试验中，化合物 XXIII 显示出如下的 IC₅₀ 值：抑制 trkA 激酶，4nM；抑制 VEGF 受体激酶，25nM；抑制蛋白激酶 C，>1000nM。

化合物 XXV 的制备

在室温、氮气气氛下，往化合物 XIV (30.4mg, 0.065mmol)的 THF (5mL)搅拌溶液中，一次性加入 N-溴代丁二酰亚胺(11.6mg, 0.065mmol)，反应混合物逐渐由开始的浅橙色变为浅紫色，将反应混合物于室温搅拌过夜，真空除去溶剂，所得固体在硅胶上用己烷-乙酸乙酯（2:1）通过闪式色谱纯化，得到灰白色固体化合物 XXV (31.2mg, 产率 88%)。MS (ESI): m/e 547 (M+H)⁺, ¹H NMR

(CDCl₃, 300 MHz): δ 2.42 (s, 3H), 2.77-2.83 (m, 1H), 2.86 (3H, s), 3.1.66 (dd, 1H), 4.105 (s, 1H), 5.07 (s, 2H), 6.39 (s, 1H), 7.01 (dd, 1H), 7.95 (d, 1H), 7.58 (d, 1H), 7.34-7.57 (m, 4H), 9.50 (s, 1H).

化合物 XXIX 的制备



XXIX

方法 A

在 0℃、氮气气氛下，往环氧化物 XXVIII (US 4,923,980, 化合物 I-27) (90.1mg, 0.152mmol) 的 THF(4mL) 搅拌溶液中，滴加三乙基硼氢化锂(0.455mL 的 1M THF 溶液, 0.455mmol)，将反应混合物于 0℃ 搅拌 1 小时，然后使其温热至室温过夜；将反应混合物冷至 0℃，缓慢加入

10 甲醇以终止反应，0℃ 下继续搅拌 15 分钟后将反应混合物温热至室温，真空除去溶剂，得到黄色油状物，该油状物在硅胶上用乙酸乙酯:己烷 (1:1) 通过闪式色谱纯化，得到白色固体化合物 XXIX (75mg, 产率 83%)。 MS (ESI): m/e 424 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300

15 MHz): δ 1.69 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 2.86 (dd, 1H), 3.03 (dd, 1H), 4.37 (m, 3H), 4.93 (s, 2H), 6.43 (t, 1H), 6.95 (d, 1H), 7.03 (t, 1H), 7.18 (t, 1H), 7.44 (t, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.99 (d, 1H), 8.69 (d, 1H).

方法 B

20 在 0℃、氮气气氛下，往酮 XI (附图 3, R=H) (212mg, 0.41mmol) 的 THF (6mL) 搅拌溶液中，滴加甲基碘化镁(0.27mL, 0.82mmol)，将反应混合物于 0℃ 搅拌 1 小时，然后温热至室温过夜；将反应混合物加热回流 24 小时，然后冷却至室温，加入氯化铵 (饱和水溶液) 以终止反应，以乙酸乙酯(20mL)稀释并用水洗涤(3×10mL)，有机相以硫酸钠

25 干燥，过滤，真空浓缩得到黄色残留物，该产物在硅胶上用己烷:乙酸乙酯(1:1)通过闪式色谱纯化，得到黄褐色固体化合物 XXIX (0.11g, 产率 50%)，其 ¹H NMR 和质谱数据与方法 A 所得产物相一致。

其它实施方案在下面的权利要求中。

图1

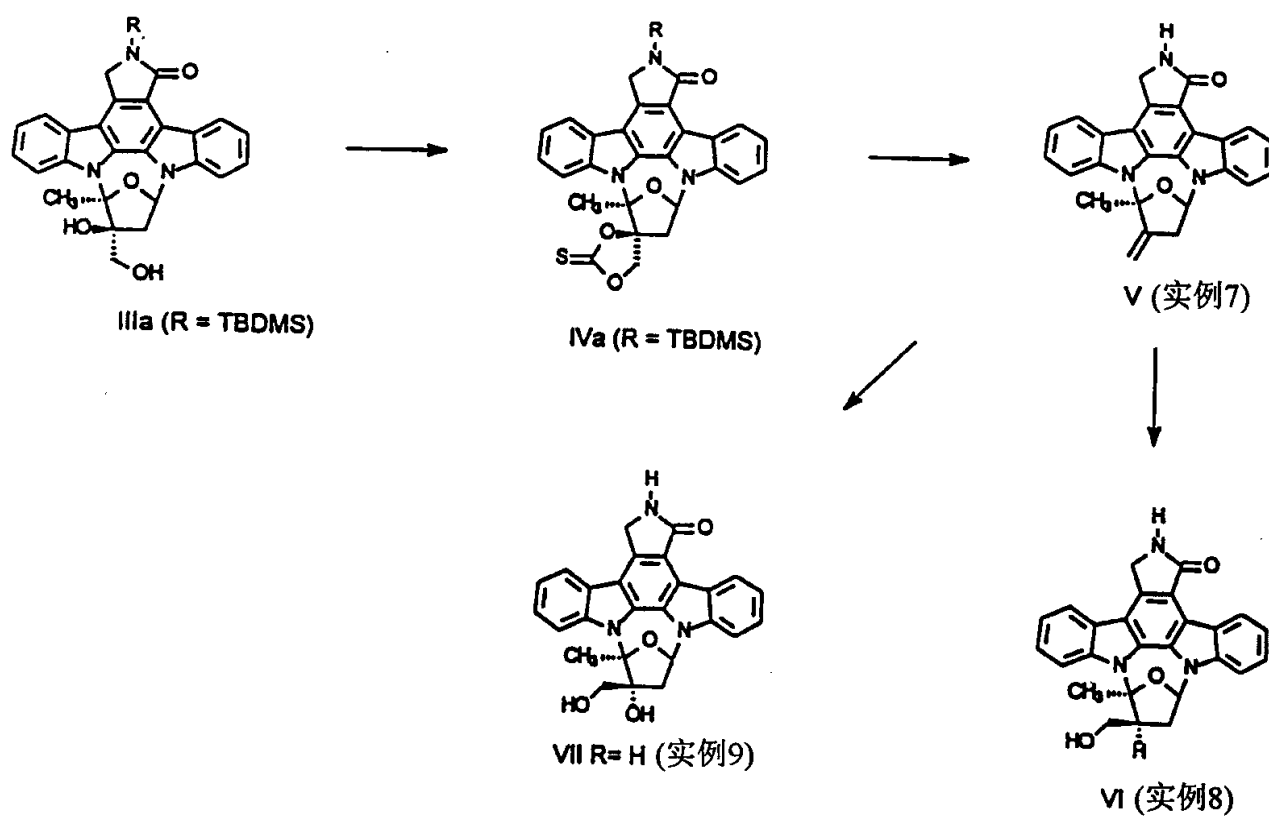


图2

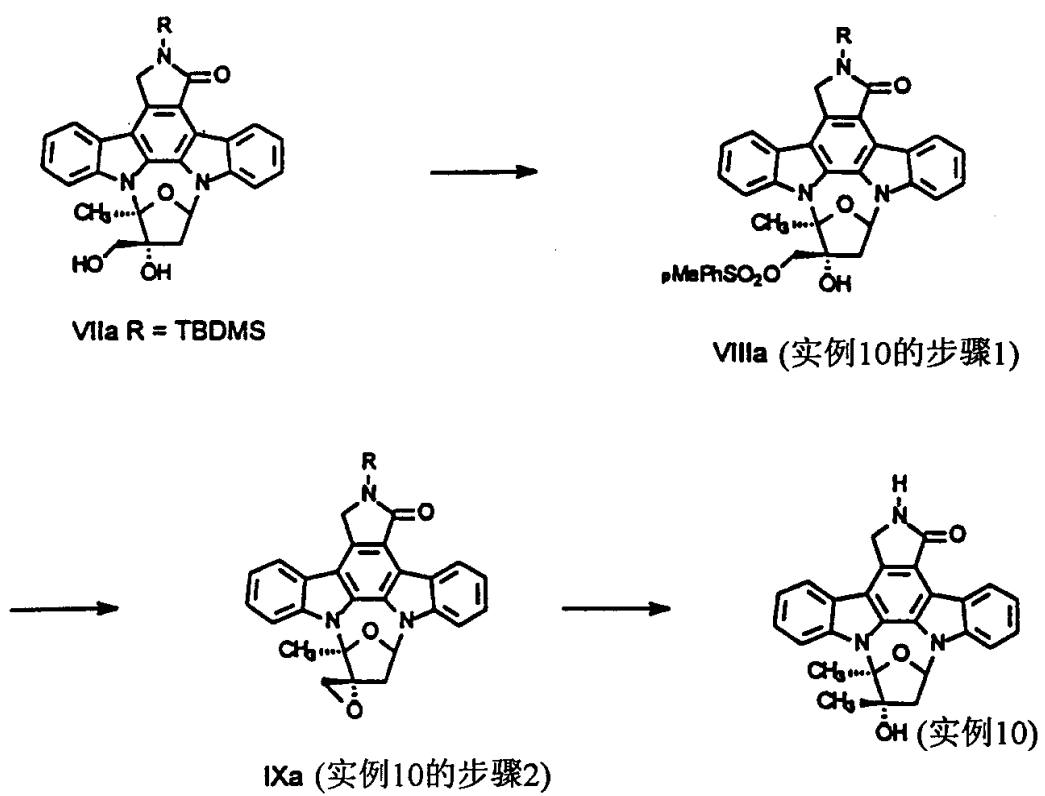


图3

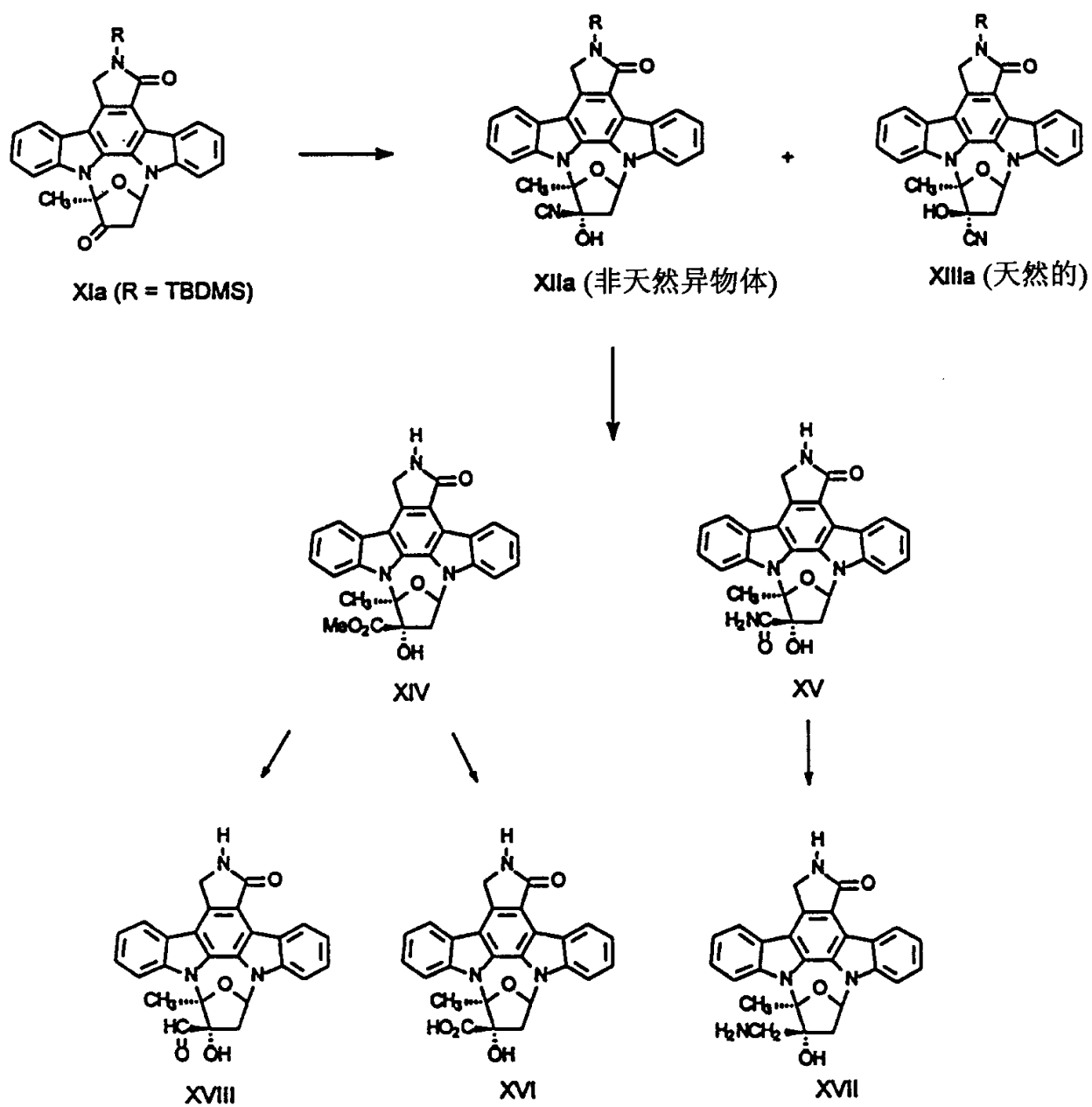


图4

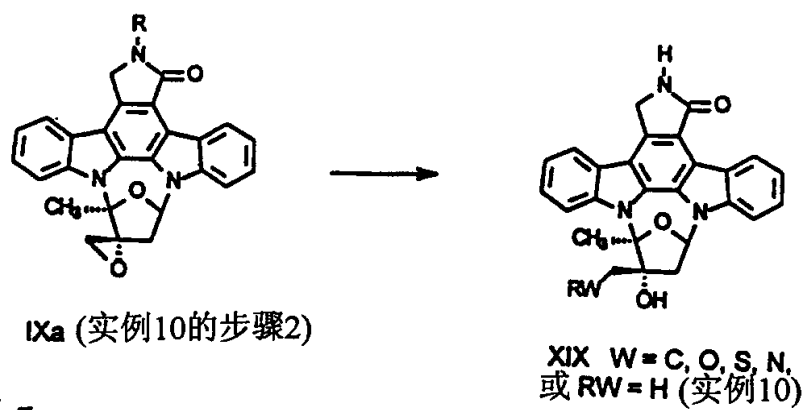


图5

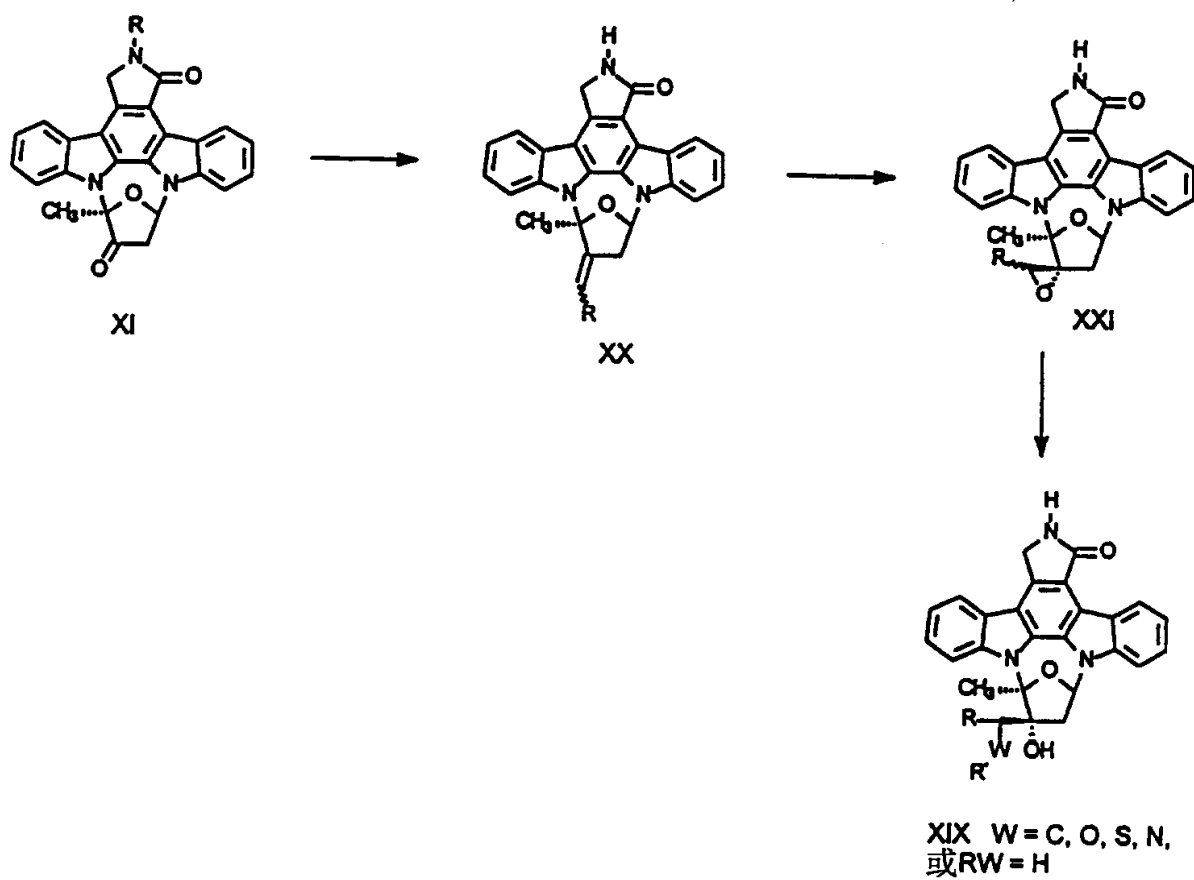


图6

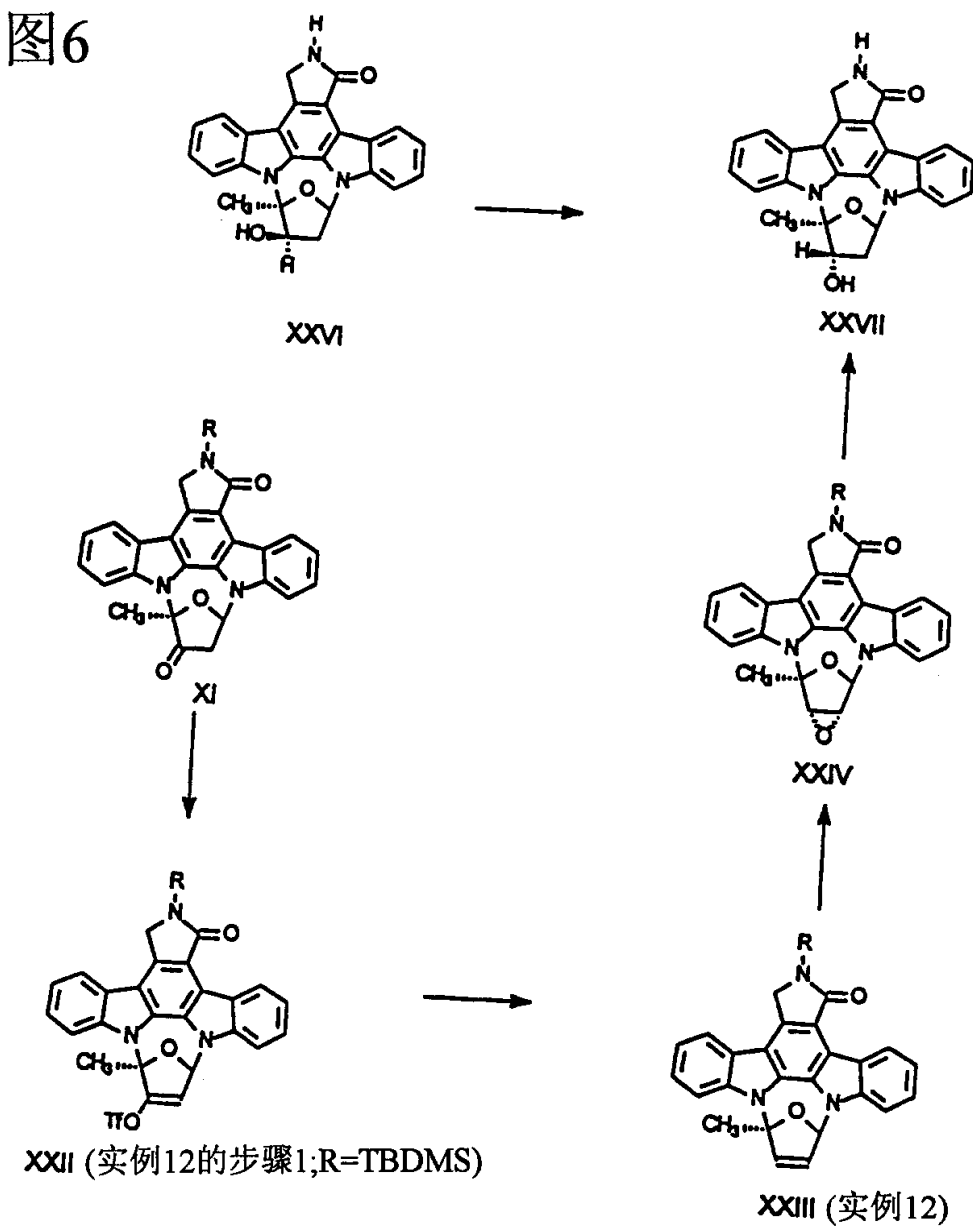


图7

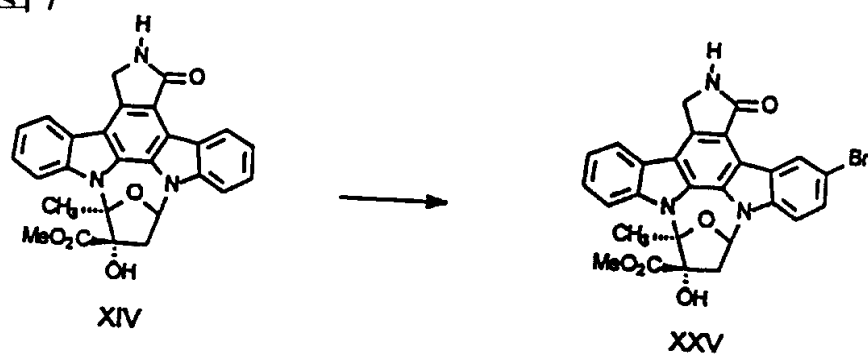


图8

