

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200480035848.2

[51] Int. Cl.

C07C 69/716 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

A61K 31/215 (2006.01)

[43] 公开日 2007年1月24日

[11] 公开号 CN 1902156A

[22] 申请日 2004.12.1

[21] 申请号 200480035848.2

[30] 优先权

[32] 2003.12.2 [33] US [31] 60/526,081

[86] 国际申请 PCT/IL2004/001098 2004.12.1

[87] 国际公布 WO2005/054172 英 2005.6.16

[85] 进入国家阶段日期 2006.6.2

[71] 申请人 雷蒙特亚特特拉维夫大学有限公司

地址 以色列特拉维夫

[72] 发明人 以色列·弗莱舍 约尔·卡什曼

朵瑞特·里斯彻 西瑞·奚模尼

[74] 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司

代理人 卢素华 郑霞

权利要求书5页 说明书31页 附图8页

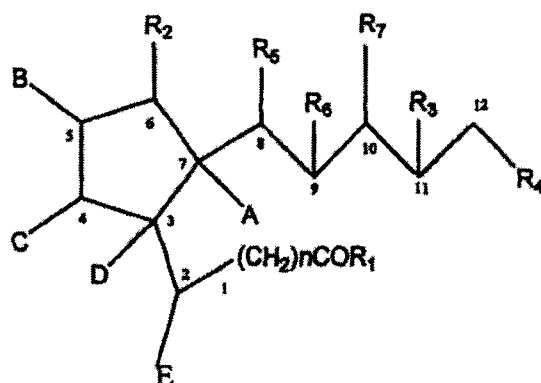
[54] 发明名称

茉莉酮酸酯衍生化合物、药物组合物及其使用方法

[57] 摘要

本发明提供了新的茉莉酮酸酯衍生化合物、其制备方法、包含这些化合物的药物组合物、以及使用这些化合物和组合物的方法，特别是作为治疗癌瘤，尤其是哺乳动物的癌瘤的化疗药物。

1. 一种通式为 I 的化合物:



通式 I

其中:

n 为 0、1 或 2;

R_1 为 OH、 C_1 到 C_{12} 烷氧基、 C_1 到 C_{12} 取代的烷氧基、芳氧基、O-葡萄糖基或亚氨基;

R_2 为 OH、 C_1 到 C_{12} 烷氧基、 C_1 到 C_{12} 取代的烷氧基、O-葡萄糖基、氧代、烷基或亚氨基;

R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、A、B、C、D 和 E 为各自独立的 H、卤素、OH、 C_1 到 C_{12} 烷氧基、 C_1 到 C_{12} 取代的烷氧基、芳氧基、O-葡萄糖基、 C_1 到 C_{12} 烷基或 C_1 到 C_{12} 取代的烷基;

其中 R_1 和 R_2 、或 R_1 和 R_4 可共同形成选择性取代的内酯;

其中 $C_3:C_7$ 、 $C_4:C_5$ 、及 $C_9:C_{10}$ 间的键各自可为双键或单键;

只要 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、A、B、C、D 和 E 中至少一种为一种卤素; 并且只要, 如果 A 是化合物中唯一的卤素, 那么 A 不是氟;

或者该通式的一种衍生物, 其中此衍生物至少具有下述之一:

位于 C_3 的低级酰基侧链 (游离酸或酯或共轭物), 位于 C_6 的酮或羟基 (游离羟基或酯) 部分, 或位于 C_7 的正戊烯基或正戊基侧链;

包括盐类、水合物、溶剂化物、多晶型物、光学异构体、对映体、非对映体、及它们的混合物。

2. 根据权利要求1所述的化合物，其中 C₉ 与 C₁₀ 之间的键为单键。
3. 根据权利要求1所述的化合物，其中 R₂ 为氧代。
4. 根据权利要求1所述的化合物，其中 R₆ 和 R₇ 至少有一个选自溴、碘、氟和氯。
5. 根据权利要求1所述的化合物，其中 R₆ 和 R₇ 都选自溴、碘、氟和氯。
6. 根据权利要求1所述的化合物，其中 R₆ 和 R₇ 都为溴。
7. 根据权利要求1所述的化合物，其中 A、B、R₆ 和 R₇ 为溴、碘、氟和氯。
8. 根据权利要求1所述的化合物，其中 A、B、R₆ 和 R₇ 各自为溴。
9. 根据权利要求1所述的化合物，其中 R₁ 为烷氧基。
10. 根据权利要求1所述的化合物，其中 R₃、R₄ 和 R₅ 各自为 H。
11. 根据权利要求1所述的化合物，其中 C、D 和 E 各自为 H。
12. 根据权利要求1所述的化合物，其中：n 为 0；C₃:C₇、C₄:C₅、及 C₉:C₁₀ 之间的键为单键；R₁ 为甲氧基；R₂ 为氧代；R₃、R₄、R₅、A、B、C、D 和 E 各自为 H；及 R₆ 和 R₇ 各自为溴。
13. 根据权利要求1所述的化合物，其中：n 为 0；C₃:C₇、C₄:C₅、及 C₉:C₁₀ 之间的键为单键；R₁ 为甲氧基；R₂ 为 O 通过一个双键与 6 位的碳相连从而形成一个羰基；R₃、R₄、R₅、C、D 和 E 各自为 H；及 A、B、R₆ 和 R₇ 各自为溴。
14. 一种药物组合物，其包含一种药学上可接受的载体，及权利要求1所述的一种化合物作为有效成分。
15. 一种药物组合物，其包含一种药学上可接受的载体，及权利要求12所述的一种化合物作为有效成分。
16. 一种药物组合物，其包含一种药学上可接受的载体，及权利要求

13 所述的一种化合物作为有效成分。

17. 根据权利要求 14 所述的药物组合物，其中所述有效成分溶解于一种药学上可接受的脂质载体中。

18. 一种减少癌细胞生长的方法，包含将癌细胞暴露于有效治疗量的权利要求 1 所述的化合物。

19. 根据权利要求 18 所述的方法，其中所述癌瘤指哺乳动物的癌瘤。

20. 根据权利要求 19 所述的方法，其中所述哺乳动物指人类。

21. 根据权利要求 18 所述的方法，其中所述化合物为权利要求 4 所述的化合物。

22. 根据权利要求 18 所述的方法，其中所述化合物为权利要求 12 所述的化合物。

23. 根据权利要求 18 所述的方法，其中所述化合物为权利要求 13 所述的化合物。

24. 根据权利要求 18 所述的方法，其中所述癌瘤选自以下组成的组：癌 (carcinoma)、肉瘤、腺瘤、肝细胞癌、肝毒细胞瘤、横纹肌肉瘤、食道癌、甲状腺癌、恶性神经节瘤、纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肉瘤、软骨肉瘤、骨肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、滑膜瘤 (synovioama)、尤因瘤 (Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、横纹上皮内肉瘤 (rhabdotherliosarcoma)、结肠癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、肾细胞癌、血肿、胆管癌、黑素瘤、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、维尔姆斯肿瘤 (Wilms' tumor)、子宫颈癌、睾丸肿瘤、肺癌、小细胞和非小细胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神经胶质瘤、星形细胞瘤、成神经管细胞癌、颅咽管瘤、室管膜细胞瘤 (ependynoma)、松果体瘤、视网膜母细胞瘤、直肠癌、甲状腺癌、头颈癌、脑肿瘤、末梢神经系统癌、中枢神经系统癌、成神经细胞癌、子宫内膜癌、淋巴细胞增生性疾病、包括各种类型的白血球过多症 (leukemia) 的造血系统恶性肿瘤 (hematopoietic malignancies)，以及淋巴瘤，其包括：急性骨髓性白血病、急性髓细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、慢性髓细

胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、肥大细胞白血病、多发性骨髓瘤、骨髓淋巴瘤 (myeloid lymphoma)、何杰金淋巴瘤 (Hogkin's lymphoma)、非何杰金淋巴瘤 (non-Hogkin's lymphoma)。

25. 根据权利要求 18 所述的方法, 其中所述癌瘤选自以下组成的组: 前列腺癌、乳腺癌、皮肤癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、淋巴瘤、白血球过多症 (leukemia)、头颈癌、肾癌、卵巢癌、骨癌、肝癌及甲状腺癌。

26. 根据权利要求 18 所述的方法, 其中所述癌瘤选自白血球过多症 (leukemia)、肺癌、黑素瘤和结肠癌组成的组。

27. 一种治疗癌瘤的方法, 包括向需要其治疗的患者给予一种药物组合物, 所述药物组合物含有作为有效成分的一种有效治疗量的根据权利要求 1-13 中的任一项的化合物。

28. 一种根据权利要求 1-13 中的任一项的化合物应用于制造一种治疗癌瘤的药剂。

29. 根据权利要求 28 所述的应用, 其中所述癌瘤选自以下组成的组: 癌 (carcinoma)、肉瘤、腺瘤、肝细胞癌、肝毒细胞瘤、横纹肌肉瘤、食道癌、甲状腺癌、恶性神经节瘤、纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肉瘤、软骨肉瘤、骨肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、滑膜瘤 (synovioama)、尤因瘤 (Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、横纹上皮内肉瘤 (rhabdotherliosarcoma)、结肠癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、肾细胞癌、血肿、胆管癌、黑素瘤、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、维尔姆斯肿瘤 (Wilms' tumor)、子宫颈癌、睾丸肿瘤、肺癌、小细胞和非小细胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神经胶质瘤、星形细胞瘤、成神经管细胞癌、颅咽管瘤、室管膜细胞瘤 (ependynoma)、松果体瘤、视网膜母细胞瘤、直肠癌、甲状腺癌、头颈癌、脑肿瘤、末梢神经系统癌、中枢神经系统癌、成神经细胞癌、子宫内膜癌、淋巴细胞增生性疾病、包括各种类型的白血球过多症 (leukemia) 的造血系统恶性肿瘤 (hematopoietic malignancies), 及淋巴瘤, 其包括: 急性骨髓性白血病、急性髓细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、肥大细胞白血病、多发性骨髓瘤、骨

髓淋巴瘤 (myeloid lymphoma)、何杰金淋巴瘤 (Hogkin's lymphoma)、非何杰金淋巴瘤 (non-Hogkin's lymphoma), 以及上述所有癌瘤的转移。

30. 根据权利要求 28 所述的应用, 其中所述癌瘤选自以下组成的组: 前列腺癌、乳腺癌、皮肤癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、淋巴瘤、白血球过多症 (leukemia)、头颈癌、肾癌、卵巢癌、骨癌、肝癌及甲状腺癌。

31. 根据权利要求 28 所述的应用, 其中所述癌瘤选自白血球过多症 (leukemia)、肺癌、黑素瘤和结肠癌组成的组。

茉莉酮酸酯衍生化合物、药物组合物及其使用方法

技术领域

本发明涉及茉莉酮酸酯衍生化合物的领域、其制备方法、包含这些化合物的药物组合物、以及使用这些化合物和组合物的方法，特别是作为治疗癌瘤，尤其是哺乳动物的癌瘤的化疗药物。

背景技术

茉莉酮酸酯类是植物胁迫激素的一个家族，其通过硬脂酸途径从亚麻酸衍生得到，并在很多可食用的植物中发现以微量存在。胁迫激素如茉莉酮酸酯家族，已在植物中进化，并在例如过度的紫外辐射、渗透刺激、热激和病原体攻击等情况下释放以启动各种结果为合适的响应的级联。茉莉酮酸酯家族成员的例子是对于响应损伤的细胞内信号转导是决定性的茉莉酸，以及引起蛋白酶抑制因子的诱导使其响应创伤和致病攻击并在低浓度累积的茉莉酮酸甲酯。茉莉酮酸酯类已因其在植物生长和农作物改良方面的许多用途取得了专利权，但作为药物方面的应用还不是先前已知的。茉莉酮酸酯类作为治疗哺乳动物癌症的用途已公开在美国专利 No. 6,469,061 中，以引用的方式完全并入本文。在美国专利 No. 6,469,061 中，已显示出茉莉酮酸酯类对从乳腺、前列腺、皮肤和血癌得到的不同类型的人类癌瘤细胞具有直接的细胞毒性。虽然茉莉酮酸酯类致使人类白血病的 Molt-4 细胞死亡，但它们不损伤正常的淋巴细胞。

后面收集的资料同样显示了茉莉酮酸酯类不损伤健康的红细胞（见 WO 02/080890）。在美国专利 No. 6,469,061 中，尤其是一种茉莉酮酸酯化合物茉莉酮酸甲酯，显示出在阻止鼠淋巴瘤的发育中有效。也可见 Fingrut, O. 和 E. Flescher. 2002. “植物胁迫激素抑制人类癌瘤细胞的增殖和诱导凋亡”，白血病 16: 608-616(2002) (“Plant stress hormones suppress the

proliferation and induce apoptosis in human cancer cells", *Leukemia* 16: 608-616 (2002)) 。

茉莉酮酸酯类化合物的药理活性使其成为癌瘤治疗的治疗药物中有吸引力的候选药。因为只有少数茉莉酮酸酯衍生物被报道(例见于: Ishii 等人, 白血病, 1-7(2004) (Ishii et al., *Leukemia*, 1-7 (2004))), 所以本领域存在开发有效的化疗药物并具有针对癌细胞的高度特异性的茉莉酮酸酯衍生化合物的需要。

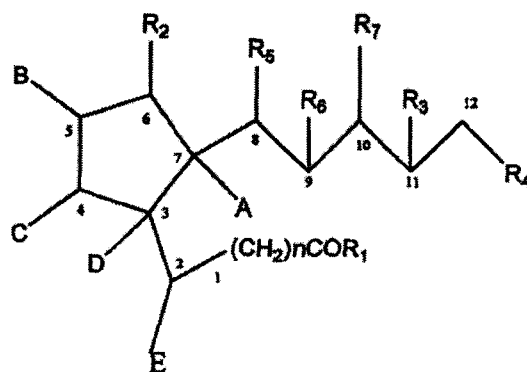
本发明致力于这种需要, 并同时提供其他益处。

发明概述

本发明是指茉莉酮酸酯衍生的化合物, 尤其是那些被卤化的。这样的化合物包括“二溴茉莉酮酸甲酯”或“MJDB”, 及“四溴茉莉酮酸甲酯”或“MJTB”。这些化合物比美国专利 No. 6,469,061 中公开的最有效的茉莉酮酸酯, 即茉莉酮酸甲酯, 显著地更有效。如下所述, 茉莉酮酸酯衍生物, 诸如 MJDB 和 MJTB, 对来自病人的癌性淋巴细胞施加选择性细胞毒性, 同时留下正常的淋巴细胞。

本发明也包括本发明的化合物尤其是 MJDB 和 MJTB 的盐类、水合物、溶剂化物、多晶型物、光学异构体、非对映体, 及它们的任意混合物。

本发明的化合物具有以下通式:



通式 I

其中:

n 为 0、1 或 2;

R_1 为 OH、 C_1 到 C_{12} 烷氧基、 C_1 到 C_{12} 取代的烷氧基、芳氧基、O-葡萄糖基或亚氨基;

R_2 为 OH、 C_1 到 C_{12} 烷氧基、 C_1 到 C_{12} 取代的烷氧基、O-葡萄糖基、氧代、烷基或亚氨基;

R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、A、B、C、D 和 E 为各自独立的 H、卤素、OH、 C_1 到 C_{12} 烷氧基、 C_1 到 C_{12} 取代的烷氧基、芳氧基、O-葡萄糖基、 C_1 到 C_{12} 烷基或 C_1 到 C_{12} 取代的烷基;

其中 R_1 和 R_2 、或 R_1 和 R_4 可共同形成选择性取代的内酯;

其中 $C_3:C_7$ 、 $C_4:C_5$ 、及 $C_9:C_{10}$ 间的键可独立地为双键或单键;

只要 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、A、B、C、D 和 E 至少之一为一种卤素; 并且只要, 如果 A 是化合物中唯一的卤素, A 不是氟;

或者所述通式的一种衍生物, 其中此衍生物至少具有下述之一:

位于 C_3 的低级酰基侧链 (游离酸或酯或共轭物), 位于 C_6 的酮或羧基 (游离羧基或酯) 部分, 或位于 C_7 的正戊烯基或正戊基侧链;

包括盐类、水合物、溶剂化物、多晶型物、光学异构体、对映体、非对映体, 及它们的混合物。

更具体的, 本发明 (通式 I) 优选的化合物是那些 C_9 与 C_{10} 间的键为单键的。其他优选的化合物是 R_2 为氧代的。别的仍然优选的化合物是至少 R_6 和 R_7 之一为溴、碘、氟或氯的。甚至更优选的是 R_6 和 R_7 都选自溴、碘、氟或氯的化合物。然而更加优选的是 R_6 和 R_7 都为溴的化合物。

本发明进一步优选的方面是 A、B、 R_6 和 R_7 为溴、碘、氟或氯的化合物。甚至更加优选的是 A、B、 R_6 和 R_7 各自为溴的化合物。

本发明的其他优选的化合物是 R_1 为烷氧基的。而另一方面, R_3 、 R_4 和 R_5 各自为 H (氢)。同时, C、D 和 E 各自为 H。

本发明最优选的化合物之一是二溴茉莉酮酸甲酯(MJDB)。根据通式

I, MJDB 是: n 为 0; C₃:C₇、C₄:C₅、及 C₉:C₁₀之间的键为单键; R₁ 为甲氧基; R₂ 为氧代; R₃、R₄、R₅、A、B、C、D 和 E 各自为 H; R₆ 和 R₇ 各自为溴。

本发明另一个最优的化合物是四溴茉莉酮酸甲酯(MJTB)。根据通式 I, MJDB 是: n 为 0; C₃:C₇、C₄:C₅、及 C₉:C₁₀之间的键为单键; R₁ 为甲氧基; R₂ 为氧代; R₃、R₄、R₅、C、D 和 E 各自为 H; 且 A、B、R₆ 和 R₇ 各自为溴。

发明的其他优选的化合物中 n 为 0; C₃:C₇、C₄:C₅、及 C₉:C₁₀之间的键为单键; R₁ 为甲氧基; R₂ 为氧代; R₃、R₄、R₅、A、B、C、D 和 E 各自为 H; 以及以下任一:

- e) R₆ 和 R₇ 各自为氟(命名为化合物“MJS99”);
- b) R₆ 和 R₇ 各自为碘(命名为化合物“MJS85f14”);
- c) R₆ 和 R₇ 各自为氯(命名为化合物“MJS81f13”);
- d) R₆ 和 R₇ 一个为溴, 另一个为羟基(命名为化合物“NJ-63”); 或者
- e) R₆ 和 R₇ 一个为碘, 另一个为甲氧基(命名为化合物“MJS72f5”).

本发明还指药物组合物, 其含有一种药学上可接受的载体并以如上所述的本发明的化合物作为有效成分。优选的组合物具有一种有效成分 MJDB 或 MJTB。优选的, 在药物组合物中, 有效成分溶于任何可接受的脂质载体中。进一步地, 依照本发明的优选的实施方案, 该组合物还至少包含一种其他的化疗药物。

本发明还提供了一种减少癌细胞生长的方法, 其包含将癌细胞暴露于有效治疗量的此处所述的本发明化合物。

进一步地, 本发明提供了一种治疗癌瘤的方法, 其包括向患者进行一种药物组合物的给药, 此药物组合物含有作为有效成分的有效治疗量的此处所述的本发明化合物。依照优选的实施方案, 癌症为温血脊椎动物的癌症, 更优选的为哺乳动物, 最优的为人类。

癌瘤包括: 癌 (carcinoma)、肉瘤、腺瘤、肝细胞癌、肝毒细胞瘤、横纹肌肉瘤、食道癌、甲状腺癌、恶性神经节瘤、纤维肉瘤、粘液肉瘤、

脂肉瘤、软骨肉瘤、骨肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、滑膜瘤 (synovioama)、尤因瘤(Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、横纹上皮内肉瘤(rhabdotherliosarcoma)、结肠癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、肾细胞癌、血肿、胆管癌、黑素瘤、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、维尔姆斯肿瘤 (Wilms' tumor)、子宫颈癌、睾丸肿瘤、肺癌、小细胞和非小细胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神经胶质瘤、星形细胞瘤、成神经管细胞癌、颅咽管瘤、室管膜细胞瘤 (ependynoma)、松果体瘤、视网膜母细胞瘤、直肠癌、甲状腺癌、头颈癌、脑肿瘤、末梢神经系统癌、中枢神经系统癌、成神经细胞癌、子宫内膜癌、淋巴细胞增生性疾病、包括各种类型的白血球过多症 (leukemia) 的造血系统恶性肿瘤 (hematopoietic malignancies)、及淋巴瘤, 其包括: 急性骨髓性白血病、急性髓细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、肥大细胞白血病、多发性骨髓瘤、骨髓淋巴瘤 (myeloid lymphoma)、何杰金淋巴瘤 (Hogkin's lymphoma)、非何杰金淋巴瘤 (non-Hogkin's lymphoma), 以及上述所有癌瘤的转移。

结合接下来的附图、具体实施方式及权利要求, 将更好的理解本发明的这些及更多的特征。

附图说明

本发明只通过示例的方式在此描述, 并参考附图, 其中:

图 1 表示 MJDB 的细胞毒性, 其针对: a) 人类 CLL 淋巴细胞(标为“患者 1”、“患者 2”和“患者 3”); 以及 b) 来自健康的捐赠者的淋巴细胞(标为“正常”)。

图 2 表示 MJDB 和茉莉酮酸甲酯(MJ)作用在四种人类癌细胞系: 成淋巴细胞白血病(Molt-4)、肺癌(3LL)、黑素瘤(B16) 及结肠癌(HCT116)的毒性水平比较。

图 3 表示 MJDB 对于表达野生型或突变型 p53 的细胞的细胞毒性。

图 4 表示在 Molt-4 白血病细胞中 MJDB 和 MJ 对 ATP 水平的效果比较。

图5表示MJTB对显示出多药耐药的细胞系：Molt4 (白血病)、D122 (肺癌)、B16 (黑素瘤)及B16MDR (黑素瘤)的细胞毒性。

图6比较了MJTB和MJ的细胞毒性。细胞毒性是计算对作为对照的未处理的培养基的百分比(%)，平均值±标准误(mean±SE)。n=3。
***表示比较MJ和MJTB的效果，P<0.001。

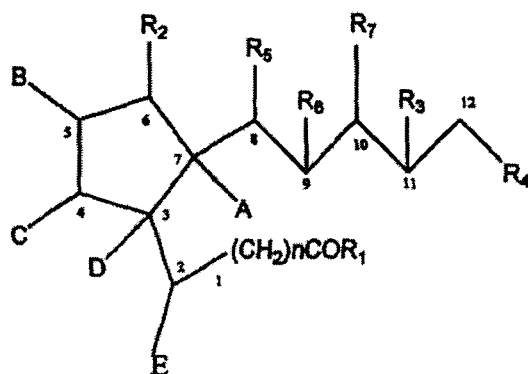
图7比较了MJTB对正常淋巴细胞与白血病细胞的效果。对比MJTB对正常淋巴细胞与白血病细胞的效果，*表示P<0.05，**表示P<0.01，***表示P<0.001。细胞毒性是计算对作为对照的未处理的培养基的百分比(%)，平均值±标准误(mean±SE)。n=3。

图8表示本发明的其他MJ衍生物对白血病细胞的细胞毒性。

发明详述

本发明提供了新的茉莉酮酸酯衍生物、包含这些化合物的组合物以及使用这些组合物治疗癌症的方法。

本发明的化合物具有如下通式：



通式 I

其中：

n 为 0、1、或 2；

R₁ 为 OH、C₁ 到 C₁₂ 烷氧基、C₁ 到 C₁₂ 取代的烷氧基、芳氧基、O-葡萄糖基或亚氨基；

R₂ 为 OH、C₁ 到 C₁₂ 烷氧基、C₁ 到 C₁₂ 取代的烷氧基、O-葡萄糖基、

氧代、烷基或亚氨基;

R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、A、B、C、D和E为各自独立的H、卤素、OH、 C_1 到 C_{12} 烷氧基、 C_1 到 C_{12} 取代的烷氧基、芳氧基、O-葡萄糖基、 C_1 到 C_{12} 烷基或 C_1 到 C_{12} 取代的烷基;

其中 R_1 和 R_2 、或 R_1 和 R_4 可共同形成选择性取代的内酯;

其中 $C_3:C_7$ 、 $C_4:C_5$ 、及 $C_9:C_{10}$ 间的键可独立地为双键或单键;

只要 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、A、B、C、D和E至少之一为一种卤素;并且只要,如果A是化合物中唯一的卤素,A不是氟;

或者所述通式的一种衍生物,其中此衍生物至少具有下述之一:

位于 C_3 的低级酰基侧链(游离酸或酯或共轭物),位于 C_6 的酮或羟基(游离羟基或酯)部分,或位于 C_7 的正戊烯基或正戊基侧链;

包括盐类、水合物、溶剂化物、多晶型物、光学异构体、对映体、非对映体,及它们的混合物。

更具体的,本发明(通式I)优选的化合物是那些 C_9 与 C_{10} 间的键为单键的。其他优选的化合物是 R_2 为氧代的。别的仍然优选的化合物是至少 R_6 和 R_7 之一为溴、碘、氟或氯的。甚至更优选的是 R_6 和 R_7 都选自溴、碘、氟或氯的化合物。然而更加优选的是 R_6 和 R_7 都为溴的化合物。

本发明进一步优选的方面是A、B、 R_6 和 R_7 为溴、碘、氟或氯的化合物。更加优选的是A、B、 R_6 和 R_7 各自为溴的化合物。

本发明的其他优选的化合物是 R_1 为烷氧基的。而另一方面, R_3 、 R_4 和 R_5 各自为H(氢)。同时,C、D和E各自为H。

本发明最优选的化合物之一是二溴茉莉酮酸甲酯(MJDB)。根据通式I,MJDB是: n 为0; $C_3:C_7$ 、 $C_4:C_5$ 、及 $C_9:C_{10}$ 之间的键为单键; R_1 为甲氧基; R_2 为氧代; R_3 、 R_4 、 R_5 、A、B、C、D和E各自为H;及 R_6 和 R_7 各自为溴。

本发明另一个最优选的化合物是四溴茉莉酮酸甲酯(MJTB)。根据通式I,MJTB是: n 为0; $C_3:C_7$ 、 $C_4:C_5$ 、及 $C_9:C_{10}$ 之间的键为单键; R_1 为甲氧基; R_2 为氧代; R_3 、 R_4 、 R_5 、C、D和E各自为H;及A、B、 R_6 和

R₇各自为溴。

本发明的其他优选的化合物中 n 为 0; C₃:C₇、C₄:C₅、及 C₉:C₁₀ 之间的键为单键; R₁ 为甲氧基; R₂ 为氧代; R₃、R₄、R₅、A、B、C、D 和 E 各自为 H; 以及以下任一:

- a) R₆ 和 R₇ 各自为氟(命名为化合物“MJS99”);
- b) R₆ 和 R₇ 各自为碘(命名为化合物“MJS85f14”);
- c) R₆ 和 R₇ 各自为氯(命名为化合物“MJS81f13”);
- d) R₆ 和 R₇ 一个为溴, 另一个为羟基(命名为化合物“NJ-63”); 或者
- e) R₆ 和 R₇ 一个为碘, 另一个为甲氧基(命名为化合物“MJS72f5”).

本发明还指药物组合物, 其含有一种药学上可接受的载体并以如上所述的本发明化合物作为有效成分。优选的组合物具有一种有效成分 MJDB 或 MJTB。优选的, 在药物组合物中, 有效成分溶于任何可接受的脂质载体中。进一步地, 依照本发明的优选实施方案, 该组合物还至少包含一种其他的化疗药物。

本发明还提供了一种减少哺乳动物癌细胞生长的方法, 其包含将此处所述有效治疗量的本发明化合物应用于癌细胞。

进一步地, 本发明提供了一种治疗温血脊椎动物的癌瘤, 尤其是哺乳动物的癌瘤的方法, 其包括向患者进行一种药物组合物的给药, 该药物组合物含有一种作为有效成分的有效治疗量的此处所述的本发明化合物。术语“哺乳动物”包括非人类的哺乳动物和人类。

将理解的是, 当在说明书和权利要求中出现术语“治疗或抑制癌细胞增生疾病或紊乱”, “治疗或抑制非实性癌瘤 (non-solid cancer)”, “治疗或抑制肿瘤”时, 它们的意思是指包括肿瘤形成、原发性肿瘤、肿瘤发展或肿瘤转移。

在本发明上下文中的关于癌瘤细胞的术语“减少生长”指的是至少下述一种的减少: 与对照相比的细胞数目 (由于细胞死亡的, 其可能是坏死的、凋亡的或其他任何类型的细胞死亡或它们的组合); 细胞生长速率的下降, 即: 细胞总数可能增长但与对照相比是在一个低水平或低速率增长的; 与

对照相比细胞侵袭力的下降（如通过例如软琼脂分析确定的），即使它们的总数未变；从较多分化细胞型发展到较少变异细胞型；瘤形成的速度减慢；或者减慢了癌细胞从一个阶段到下一阶段的进程。

减少癌细胞的生长可用作治疗癌症，通过向需要这种治疗的个体给予有效治疗量的此处所述的本发明化合物。

在一个优选的实施方案中，本发明的方法包含使用通式 I，其中至少 R_6 和 R_7 之一为 Br。在进一步优选的实施方案中，化合物为 MJDB 或 MJTB。

如上所述，本发明还公开了使用通式 I 的组合物来制备治疗哺乳动物癌瘤的一种药剂。

在本发明的上下文中的术语“癌瘤的治疗”至少包括下述之一：癌瘤生长率的下降（即：癌瘤虽然仍在生长，但以减慢的速率生长）；癌性生长（cancerous growth）的生长停止，即：肿瘤生长的停滞，以及，在优选的例子中，肿瘤减少或者尺寸减小。该术语还包括减少转移灶（metastasis）的数目，减少新形成的转移灶数目，减慢癌瘤从一个阶段到另一阶段的进程和减少由癌瘤诱导的血管发生。在最优选的例子中，肿瘤被完全清除了。此术语还包括延长正在接受治疗的患者的生存时间。这个术语也包括用于预防性情况（prophylactic situations）或那些易于感染肿瘤的个体的预防。进行本发明化合物的给药将降低个体感染疾病的可能性。在最佳情况下，给药个体不会感染疾病。

在本发明的上下文中的术语“癌瘤”包括所有类型的肿瘤，不论其是来自各种起源的实性还是非实性瘤的形式，并同时包括恶性的或恶化前的情况及它们的转移。这一术语尤其指：癌（carcinoma）、肉瘤、腺瘤、肝细胞癌、肝毒细胞瘤、横纹肌肉瘤、食道癌、甲状腺癌、恶性神经节瘤、纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肉瘤、软骨肉瘤、骨肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、synovioama、尤因瘤(Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、横纹上皮内肉瘤(rhabdotherliosarcoma)、结肠癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、肾细胞癌、血肿、胆管癌、黑素瘤、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、维尔姆斯肿瘤（Wilms' tumor）、子宫颈癌、睾丸肿瘤、肺癌、小细胞和非小细胞癌、膀胱癌、上皮癌、神

经胶质瘤、星形细胞瘤、成神经管细胞癌、颅咽管瘤、室管膜细胞瘤 (ependynoma)、松果体瘤、视网膜母细胞瘤、直肠癌、甲状腺癌、头颈癌、脑肿瘤、末梢神经系统癌、中枢神经系统癌、成神经细胞癌、子宫内膜癌、淋巴细胞增生性疾病、包括各种类型的白血球过多症 (leukemia) 的造血系统恶性肿瘤 (hematopoietic malignancies)、及淋巴瘤, 其包括: 急性骨髓性白血病、急性髓细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、肥大细胞白血病、多发性骨髓瘤、骨髓淋巴瘤 (myeloid lymphoma)、何杰金淋巴瘤 (Hogkin's lymphoma)、非何杰金淋巴瘤 (non-Hogkin's lymphoma), 以及上述所有癌瘤的转移。

更优选的, 癌瘤选自前列腺癌、乳腺癌、皮肤癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、淋巴瘤、白血球过多症 (leukemia)、头颈癌、肾癌、卵巢癌、骨癌、肝癌或甲状腺癌组成的组。更优选的, 癌症选自包括淋巴细胞白血病的白血球过多症 (leukemia)、肺癌、黑素瘤和结肠癌。另外, 在本方法优选的实施方案中, 化合物的给药剂量选自 $1\mu\text{g}$ - $1000\text{mg}/\text{kg}$ 体重。

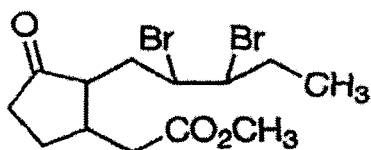
在制备一种药剂的用途的其他实施例中, 该药剂除了含有通式 I 的化合物外, 还含有至少一种有效的化疗药物。在某些实施例中, 新化合物可与传统的有效但具有不可忽视的副作用的化疗药物合用。本发明的化合物与传统药物的合用可使传统药物的给药量减少, 及因此患者体验到的副作用可明显降低, 但仍能达到足够的化疗效果。

本发明还公开了一种治疗需要其治疗的癌瘤患者的方法, 包括向哺乳动物给予一种有效治疗量的药物组合物, 其含有如上所述的作为有效成分的本发明的一种化合物。

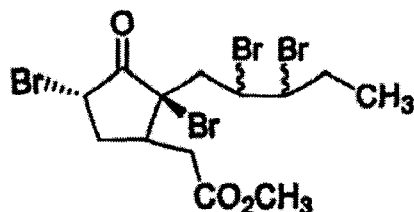
本发明还提供了一种用于治疗哺乳动物的癌瘤的药物组合物, 其包括如上所述的作为有效成分的有效治疗量的本发明的一种化合物。

本发明还提供了使用本发明化合物制备减少癌瘤细胞生长的一种药剂, 如此处所述的。

本发明进一步公开了一种方法, 用于制备 MJDB



或 MJTB



包含:

- i. 在茉莉酮酸甲酯的 CCl_4 溶液中加入溴; 然后
- ii. 蒸去 CCl_4 。

本发明的其他茉莉酮酸酯衍生物可如以下实施例所述制得。作为进一步说明, 一个烷基部分可加在 R_2 处, 例如: 通过在低温使用格式试剂 (Grignard reagent)。

另外, 使用过氧酸可从茉莉酮酸甲酯得到 9,10-环氧化物。该环氧化物可与一种通式为 RMgX 的化合物反应得到 9 位和 10 位 (分别为, R_6 和 R_7) 为羟基和烷基的化合物。取代的烷基可以相似的方式加入。

此外, 在酸性或碱性条件下, 环氧化物与通式为 ROH 或 ArOH 的化合物反应, 其中 R 为烷基同时 Ar 为芳基, 可在 9 位和 10 位 (分别为, R_6 和 R_7) 得到羟基和烷氧基或酰氧基。而且, 制备茉莉酮酸甲酯的 5,6-烯胺将在 C_5 位 (B 位) 得到烷基。取代的烷基可以相似的方式加入。

本发明还提供了一种治疗哺乳动物癌瘤的药物组合物, 其包括此处所述的作为有效成分的有效治疗量的本发明化合物, 以及一种药学上可接受的载体。

术语“药学上可接受的”表示被联邦或州政府的管理机构所认可的, 或记载在美国药典或其他通常公认的药典中的可用于动物, 尤其是人类。

术语“载体”指的是与治疗的化合物一起给药的一种稀释剂、佐剂、赋形剂、或载体。这种药学上的载体可以是无菌液体, 如水和油脂, 包括那些石油的、动物的、植物的或合成来源的, 如花生油、豆油、矿物油、芝麻油及类似油脂、聚乙二醇、丙三醇、丙二醇或其他合成的溶剂。当药物组合

合物被静脉给药时，水是首选的载体。盐水溶液和含水葡萄糖及丙三醇溶液也可用作液体载体，尤其是作为可注射的溶液。适合的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、丙三醇、丙二醇、水、乙醇和类似物。

如果需要，该组合物也可含有少量的润湿剂或乳化剂、或 pH 缓冲剂如醋酸盐类、柠檬酸盐类或磷酸盐类。也可以考虑抗菌剂如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯类；抗氧化剂如抗坏血酸或亚硫酸氢钠；螯合剂如乙二胺四乙酸；以及调节张度（tonicity）的试剂如氯化钠或葡萄糖。

这些组合物可采用溶液、悬浮液、乳剂、片剂、丸剂、胶囊、粉末、缓释剂型和类似的形式。组合物可与传统粘合剂及载体如甘油三酯、微晶纤维素、黄芪树胶（gum tragacanth）或明胶被制成栓剂。口服剂型（Oral formulation）可包括标准的载体如制药级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁，等等。合适的药学上载体的例子描述于 E. W. Martin 的《雷氏药学大全》（“Remington's Pharmaceutical Sciences”）。这样的药物组合物将含有一种有效治疗量的本发明化合物，优选地在被充分纯化的形式下，与一种合适量的载体一起以便向患者提供适当的给药。

有时候，可以根据期望的剂型形式选择载体。有时候，载体也可以促进有效成分向靶组织的传递和穿透作用，同时提高药物的稳定性，降低清除率，赋予药物缓释特性，减少不期望的副作用等。载体也可以是一种能使剂型稳定的物质（如一种防腐剂），使剂型具有可以食用的味道等。

载体可以是那些通常使用的并仅被化学物理的（chemical-physical）考虑因素所限定，诸如溶解性及不与本发明中的化合物反应，及给药途径。载体的选择将通过习惯用于药物组合物的特定给药方法来确定。相应的，载体可包括添加剂、着色剂、稀释剂、缓冲剂、崩解剂、湿润剂、防腐剂、调味剂，以及药理学上可配伍的载体。另外，载体可以是一种佐剂，其定义是按可预知的方式影响有效成分作用的物质。

引入含有本发明化合物的药物组合物的方法包括，但不限于：局部的、皮内的、肌内的、腹膜内的、静脉的、皮下的、鼻内的、硬膜外的、

眼的，和口服途径。化合物可通过任何方便的途径给药，例如通过输注或快速浓注、通过粘膜上皮吸收（如：口腔粘膜、直肠和肠粘膜等），以及可与其他的治疗活性剂一起给药。给药最好是局部的，但也可以是全身的。另外，理想的是通过任何适宜的给药途径，包括脑室内和鞘内注射将本发明的药物组合物引入中枢神经系统；脑室内注射可通过一个如：连接到一个贮器（reservoir）上的脑室内导管而简化。也可以采用肺部给药，通过如：使用一种吸入器或喷雾器，以及具有雾化剂的剂型而完成。

在需要治疗的区域局部的给予本发明的药物组合物将是令人期望的；这可以通过但不限于例如：手术中的局部输注，局部应用，如在手术后与伤口敷剂相结合，通过注射，借助于导管，借助于栓剂，或借助于植入物，所述植入物为多孔的、非多孔的、或凝胶状的材料。依照一些优选的实施方案，可以通过在肿瘤位点或肿瘤组织或肿瘤发生前的组织直接注射，如：使用注射器来给药。

适于口服给药的药物组合物可由以下组成：(a)液态溶液，其中有效量的活性物质溶解在如：水、盐水、天然果汁、醇类、糖浆剂等稀释剂中；(b)固体剂型如胶囊（如普通的硬或软壳的明胶类型，其含有，例如：表面活性剂、润滑剂，及惰性填料）、片剂、锭剂（其中有效物质用如蔗糖和阿拉伯树胶或黄芪树胶加味，或活性物质在例如明胶或丙三醇的惰性基质中）、以及糖锭，各自含有预定量的活性成分作为固体或颗粒；(c)粉末剂型；(d)在适当液体中的悬浮液；(e)合适的乳剂；(f)脂质体剂型；及其他剂型。

然而在另一实施方案中，该组合物被用于局部给药，如作为一种软膏剂、凝胶剂、滴剂或霜剂。本发明的化合物可被制备和应用在生理上可接受的具有或没有药物载体的稀释剂中，以作为身体表面的局部用药，如：霜剂、凝胶剂、滴剂、软膏剂和类似物。本发明可用于局部或经皮治疗癌症，如黑素瘤。用于局部的佐剂或凝胶基质形式也包括，例如：羟甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯类、聚氧乙烯聚氧丙烯嵌段聚合物类、聚乙二醇及木蜡醇类。

对于指向体内的局部应用，药物组合物可采用片剂或胶囊的形式，其

可包含下述任何成分, 或具有类似性质的化合物: 一种粘合剂如微晶纤维素、黄芪树胶或明胶; 一种赋形剂如淀粉或乳糖; 一种崩解剂如褐藻酸、Primogel、或玉米淀粉; 一种润滑剂如硬脂酸镁或 Sterotes; 或一种助流剂如二氧化硅胶体。当单元剂量形式是胶囊时, 它除了上述类型的物质外, 可以含有一种液态载体如脂肪油。另外, 单元剂量形式可含有许多能改良单元剂量的物理形式的其他物质, 例如: 糖、虫胶的包衣, 或其他肠内吸收剂。

本发明的化合物可通过一个控释系统释放。在一个实施方案中, 输注泵可用于进行本发明的化合物的给药, 如用于释放化疗药物到特定器官或肿瘤的输注泵(见 Buchwald 等人, 1980, Surgery(《外科》)88: 507; Saudek 等人, 1989, N. Engl. J. Med.(《新英格兰医学杂志》)321: 574)。在首选的形式中, 本发明化合物的给药被与一种可生物降解的、生物相容的聚合的植入物相结合, 其在一个选择位点在一段可控的时间内释放该化合物。优选的聚合材料的例子包括聚酞类、聚原酸酯类、聚乙醇酸、聚乳酸、聚乙烯乙酸乙酯、以及它们的共聚物和掺合物(见 Medical applications of controlled release (控释的医药应用), Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Fla.)。然而在另一个实施方案中, 控释系统可被置于靠近治疗靶, 这就只需要全身剂量的一部分。

有时候, 活性化合物可被制成气雾剂通过吸入给药。这些气雾剂型, 例如二氯二氟甲烷、丙烷、氮气, 和类似物可被置于加压的可接受的推进剂中。它们也可被制成不加压剂型的药物制剂, 如在喷雾器或雾化器中。

此外, 有时, 该药物组合物可被制成肠外给药的剂型(皮下的、静脉的、动脉内的, 或肌肉注射), 并可以包括含水的及非水的、等渗无菌注射液, 其可含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂, 和能使剂型与目标受体的血液等渗的溶质, 以及含水或非水灭菌悬浮液, 包括悬浮剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂, 和防腐剂。油脂类比如石油、动物的、植物的, 或者合成的油脂以及脂肪酸盐类例如脂肪碱金属、铵、和三乙醇胺盐类, 以及合适的去垢剂也可用于肠外给药。上述剂型也可用于直接瘤内注射。此外, 为了将在注射部位的刺激降至最低或消除, 该组合物可含一种或多种非离子型

表面活性剂。合适的表面活性剂包括聚乙烯山梨糖醇脂肪酸酯，例如山梨糖醇单油酸酯以及具有一个疏水基 (base) 的环氧乙烷的高分子量加合物，其由环氧丙烷与丙二醇缩合形成。

肠外剂型可置于单位剂量或多剂量的密闭容器中，比如安瓿和小瓶，并可储存在冷冻干燥(低压冻干)的条件中，仅需要在使用前立即加入用于注射液的无菌液态载体，例如水。临时的注射溶液和悬浮液可从前述的和本领域中已知的类型的无菌粉末、颗粒、及片剂制备。

本发明的化合物将有效治疗特殊紊乱或病症包括癌症的用量，将取决于紊乱或病症的性质，并可通过标准的临床技术决定。另外，可选择使用体外分析以助确定理想剂量范围。制剂中将要使用的精确剂量也将依赖给药途径，以及紊乱或病症的严重度，并应该根据医生的判断和每个病人的情况确定。优选的剂量将在 0.01-1000mg/kg 体重的范围内，更优选的，0.1mg/kg 到 100mg/kg 以及还要优选的为 1mg/kg 到 10mg/kg。有效剂量可从由体外或动物模型试验的生物测定或系统 (systems) 得到的剂量效应曲线推知。

“治疗学的”处理是向表现出病理学征兆的病人给药的治疗，其目的是为了缩小或排除那些征兆。本发明的“有效治疗量”的化合物是足以向进行该化合物给药的患者提供有益效果的化合物的量。

需要治疗的病人可能遭受一种疾病如癌症的痛苦或者已被确定对这些疾病非常易感。因此，根据本发明的方法包含治疗和预防的用途。

本发明的化合物还可在体内试验期望的治疗或预防活性，并确定有效治疗剂量。例如：这些化合物可在进行人体内试验前，先在合适的动物模型系统进行试验，包括，但不限于：鼠、小鼠、小鸡、乳牛、猴子、兔子、及类似动物。在对人类给药之前的体内试验，可使用本领域中已知的任何动物模型系统。

当上述化合物包括一个或多个手性中心时，这些手性中心的立体化学可以独立的为 R 或 S 构型，或两者的混合物。手性中心可进一步被指定为 R 或 S 或 R,S 或 d,D,l,L 或 d,l,D,L。

术语“C₁到C₁₂烷基”表示这样的基团如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、叔戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基和类似物。优选的“C₁到C₁₂烷基”基团是甲基、乙基、异丁基、仲丁基和异丙基。类似的，术语“C₁到C₁₂烯基”表示在化合物中连接两个其他部分的1到12个碳的基团。

术语“C₁到C₁₂取代烷基”表示被一个或多个取代的基团，同时优选的一个或两个取代基选自卤素、羟基、受保护的羟基、氧代、受保护的氧代、C₃到C₇的环烷基、苯基、取代苯基、萘基、氨基、受保护的氨基、(单取代)氨基、受保护的(单取代)氨基、(二取代)氨基、胍基、受保护的胍基、杂环、取代杂环、咪唑基、吡啶基、吡咯烷基、C₁到C₁₂烷氧基、C₁到C₁₂酰基、C₁到C₁₂酰氧基、硝基、羧基、受保护的羧基、氨甲酰基、羧酰胺基、受保护的羧酰胺基、N-(C₁到C₁₂烷基)羧酰胺基、受保护的N-(C₁到C₁₂烷基)羧酰胺基、N,N-二(C₁到C₁₂烷基)羧酰胺基、氰基、甲磺酰胺基、巯基、C₁到C₁₀的烷硫基或C₁到C₁₀的烷磺酰基基团。取代烷基可被相同的或不同的取代基取代一次或多次，优选的是一次或两次。优选的取代基是卤素。

术语“受保护的氧代”表示一个碳原子与两个烷氧基成键，从而形成一个非环状的或环状的缩醛或缩酮部分。此处所用的术语“C₁到C₁₂烷氧基”表示例如甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基及类似的基团。首选的烷氧基为甲氧基。术语“C₁到C₁₂的取代烷氧基”表示烷氧基的烷基部分可被与C₁到C₁₂的取代烷基有关同样的方式取代。优选的取代基是卤素。类似的，此处所用的术语“C₁到C₁₂苯基烷氧基”表示“C₁到C₁₂的烷氧基”与一个苯基成键。

此处的术语“C₁到C₁₂酰氧基”表示如甲酰氧基、乙酰氧基、丙酰氧基、丁酰氧基、戊酰氧基、新戊酰氧基、己酰氧基、庚酰氧基、辛酰氧基、壬酰氧基、癸酰氧基、十一烷酰氧基、十二烷酰氧基和类似基团。

类似的，此处的术语“C₁到C₁₂酰基”包括基团如甲酰基、乙酰基、丙酰基、丁酰基、戊酰基、新戊酰基、己酰基、庚酰基、辛酰基、壬酰基、癸酰基、十一烷酰基、十二烷酰基、苯甲酰基和类似基团。优选的酰基基团

为乙酰基和苯甲酰基。

术语“C₁到C₁₂取代酰基”表示酰基基团被一个或多个，而优选的是一个或两个上述确定的对于烷基的取代基所取代。取代基的术语“C₃到C₇环烷基”包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基或环庚基环。类似的，取代基可以是“C₃到C₇环烷基”，也可以是“C₅到C₇环烷基”，其包括环戊基、环己基或环庚基环。

取代基的术语“C₃到C₇取代的环烷基”或“C₅到C₇取代的环烷基”表示上述环烷基环被一个或两个上述确定的对于烷基的取代基所取代。术语“环烷烯”是指一种如上所述的环烷基，该环烷基在两个位置成键，共同连接两个各自独立的另外的基团。类似的，术语“取代的环烷烯”是指一种环烷烯，该环烷基在两个位置成键，共同连接两个各自独立的基团并且至少具有一个另外的取代基。

类似的，术语“取代的C₅到C₇环亚烯基”是指一种环亚烯基进一步被卤素、羟基、受保护的羟基、C₁到C₁₀的烷硫基、C₁到C₁₀的烷亚砷基、C₁到C₁₀的烷磺酰基、C₁到C₁₀取代的烷硫基、C₁到C₁₀取代的烷亚砷基、C₁到C₁₀取代的烷磺酰基、C₁到C₁₂烷基、C₁到C₁₂烷氧基、C₁到C₁₂取代烷基、C₁到C₁₂烷氧基、氧代、受保护的氧代、(单取代)氨基、(二取代)氨基、三氟甲基、羧基、受保护的羧基、苯基、取代苯基、苯硫基、苯亚砷基、苯磺酰基、氨基、或受保护的氨基基团。

术语“杂环”或“不同环式的环”表示任意地取代的五元至八元环，其具有1至4个杂原子，如氧、硫和/或氮，尤其是氮，其或是单独或是与硫或氧原子结合成环。这些五元至八元环可以是饱和的、完全不饱和的或部分不饱和的，以完全饱和的环为最佳。优选的杂环包括吗啉代、哌啶基、哌嗪基、2-氨基-咪唑基、四氢呋喃并、吡咯并、四氢苯硫基、己基亚甲基亚氨基和庚基亚甲基亚氨基。

术语“取代的杂环”或“取代的不同环式的环”是指上述杂环被例如一种或多种，优选的是一种或两种上述确定的对于烷基的取代基所取代。术语“芳杂基”是指一种芳杂环衍生物，其为五元环或六元环系统，具有1至4个杂原子，如氧、硫和/或氮，尤其是氮，其或是单独或是与硫或氧原子

结合成环。芳杂基的例子包括吡啶基、嘧啶基，及吡嗪基、哒嗪基、吡咯并、呋喃并、噁唑并、异噁唑并、苯二甲酰亚胺基、噻唑基和类似物。

术语“取代的芳杂基”是指上述芳杂基被例如：一种或多种，优选的是一种或两种相同或不同的上述确定的对于烷基的取代基所取代。术语“取代苯基”指定了一种苯基基团，其被一种或多种，优选的是一种或两种选自上述确定的对于烷基的取代基的部分所取代。

术语“苯氧基”表示一个苯基与一个氧原子成键，其中分子的其余部分是通过氧原子结合。术语“取代的苯氧基”指定了一种被一种或多种，优选的是一种或两种选自上述确定的对于烷基的取代基的部分所取代的苯氧基基团。

术语“芳基”指的是具有至少一个碳环的芳香基团或杂环的芳香基团的芳香基团，其可以是非取代的或被选自卤素、卤烷基、羟基、烷氧羰基、酰氨基、烷酰氨基、二烷基酰氨基、硝基、氨基、烷氨基、二烷基氨基、羧基或硫代或烷硫代中的一种或多种基团所取代。芳环的非限制的例子是苯基、萘基、吡喃基、吡咯基、吡嗪基、嘧啶基、吡唑基、吡啶基、呋喃基、噻吩基、噻唑基、咪唑基、异噁唑基和类似物。术语“芳氧基”指的是一种“芳”基与一个氧原子成键，其中分子的其余部分是通过氧原子结合。

术语“卤”和“卤素”指的是氟、氯、溴或碘原子。可以有一种或多种相同或不同的卤素。

术语“(单取代)氨基”指的是一个氨基基团具有一个选自由苯基、取代苯基、 C_1 到 C_{12} 烷基、 C_1 到 C_{12} 取代烷基、 C_1 到 C_{12} 酰基、 C_1 到 C_{12} 取代酰基、 C_2 到 C_{12} 链烯基、 C_2 到 C_{12} 取代链烯基、 C_2 到 C_{12} 炔基、 C_2 到 C_{12} 取代炔基、 C_7 到 C_{18} 苯烷基、 C_7 到 C_{18} 取代苯烷基、杂环、取代杂环、 C_1 到 C_{12} 杂环烷基及 C_1 到 C_{12} 取代杂环烷基基团组成的组的取代基。(单取代)氨基可另外具有一个氨基保护基，如术语“受保护的(单取代)氨基”所包含的。

术语“(双取代)氨基”指的是一个氨基基团具有两个选自由苯基、取代苯基、 C_1 到 C_{12} 烷基、 C_1 到 C_{12} 取代烷基、 C_1 到 C_{12} 酰基、 C_2 到 C_{12} 链烯基、 C_2 到 C_{12} 炔基、 C_7 到 C_{18} 苯烷基、 C_7 到 C_{18} 取代苯烷基、 C_1 到 C_{12} 杂

环烷基及 C₁ 到 C₁₂ 取代杂环烷基基团组成的组的取代基。两个取代基可以是相同或不同的。

此处使用的术语“氨基保护基”指的是当分子的其他官能团反应时通常用以封闭或保护氨基官能团的氨基的取代基。术语“受保护的(单取代)氨基”意思是在单取代氨基的氮原子上有一个氨基的保护基。另外，术语“受保护的羧酰胺基”意思是有一个氨基保护基在羧酰胺基的氮上。类似的，术语“受保护的 N-(C₁ 到 C₁₂ 烷基)羧酰胺基”意思是有一个氨基保护基在羧酰胺基的氮上。

使用的氨基保护基的种类不重要，只要衍生的氨基基团对其后的反应条件是稳定的并可以在合适的位点被除去而不必断裂化合物的剩余部分。优选的氨基保护基是 Boc、Cbz 和 Fmoc。被上述术语包括的氨基保护基的更多实施例是在有机合成与肽技术中为人们熟知的，并描述于例如：T. W. Greene 和 P.G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis," (《有机合成中的保护基团》) 2nd ed., John Wiley and Sons, New York, NY, 1991, Chapter 7, M. Bodanzsky, "Principles of Peptide Synthesis," (《肽合成的原理》) 1st and 2nd revised ed., Springer-Verlag, New York, NY, 1984 and 1993, and Stewart and Young, "Solid Phase Peptide Synthesis," (《固相肽合成》) 2nd ed., Pierce Chemical Co., Rockford, IL, 1984, 中，它们都被在此引作参考。相关术语“受保护的氨基”定义为一个被上述讨论的氨基保护基取代的氨基基团。

用于此处的术语“受保护的胍基”指的是在一个或两个胍基的氮原子上的“氨基保护基”。“受保护的胍基”的例子被 T. W. Greene 和 P. G. M. Wuts; M. Bodanzsky; 及 Stewart 和 Young, 在先描述过。

术语“硫代”指的是 -SH 或，如果在两个其他基团间：-S-。术语“C₁ 到 C₁₀ 的硫代烯基”指的是沿着链在任意位置 (point) 上具有一个硫的 1 到 10 个碳的烯基链。术语“C₁ 到 C₁₀ 取代的硫代烯基”指的是一个 C₁ 到 C₁₀ 的硫代烯基被在一个或多个烯基位置取代 (如上所述，与“取代烯基”相同的方法)。

术语“磺酰基”指的是 -S(O)₂-。术语“C₁ 到 C₁₀ 磺酰烯基”指的是 1 到 10

个碳的烯基链具有一个沿着链在任意位置 (point) 上的磺酰基。术语“C₁ 到 C₁₀ 取代的磺酰烯基”指的是一个 C₁ 到 C₁₀ 的磺酰烯基在一个或多个烯基位置被取代 (如上所述, 与“取代烯基”相同的方法)。

术语“亚磺酰基”指的是-S(O)-。术语“C₁ 到 C₁₀ 亚磺酰烯基”指的是 1 到 10 个碳的烯基链具有一个沿着链在任意位置 (point) 上的亚磺酰基。术语“C₁ 到 C₁₀ 取代的亚磺酰烯基”指的是一个 C₁ 到 C₁₀ 的亚磺酰烯基在一个或多个烯基位置被取代 (如上所述, 与“取代烯基”相同的方法)。

术语“氧代”指的是-O-。术语“C₁ 到 C₁₀ 氧代烯基”、“C₁ 到 C₁₀ 二氧代烯基”以及“C₁ 到 C₁₀ 三氧代烯基”指的是 1 到 10 个碳的烯基链, 在沿着链的任意位置, 分别具有一个、两个或三个-O-, 只要没有两个氧原子是相邻的, 并且只要任何两个氧原子至少被两个碳隔开。术语“C₁ 到 C₁₀ 取代的氧代烯基”、“C₁ 到 C₁₀ 取代的二氧代烯基”以及“C₁ 到 C₁₀ 取代的三氧代烯基”分别指的是被在一个或多个烯基位置取代 (如上所述, 与“取代烯基”相同的方法) 的“C₁ 到 C₁₀ 氧代烯基”、“C₁ 到 C₁₀ 二氧代烯基”以及“C₁ 到 C₁₀ 三氧代烯基”。

用于此处的术语“羧基保护基”指的是羧酸基团的一种酯衍生物, 当化合物上的其他官能团被进行反应时其通常用以封闭或保护羧酸基团。这些基团的例子在 E. Haslam, "Protective Groups in Organic Chemistry," (《有机化学中的保护基团》) J.G. W. McOmie, Ed., Plenum Press, New York, NY, 1973, Chapter 5, 及 T. W. Greene 和 P.G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis," (《有机合成中的保护基团》) 2nd ed., John Wiley and Sons, New York, NY, 1991, Chapter 5 中可找到, 它们都被在此引作参考。相关术语“受保护的羧基”指的是羧基基团被上述之一的羧基保护基取代。

术语“羟基保护基”指的是与羟基成键的易于裂解的基团。羟基保护基的种类不是很重要, 只要衍生的羟基基团对其后的反应条件是稳定的并可以在合适的位点被除去而不必断裂分子的剩余部分。羟基保护基的例子被分别描述在 C. B. Reese 和 E. Haslam, "Protective Groups in Organic Chemistry," (《有机化学中的保护基团》) J.G. W. McOmie, Ed., Plenum Press, New York, NY, 1973, Chapters 3 and 4, 以及 T. W. Greene

和 P.G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis," (《有机合成中的保护基团》) 2nd ed., John Wiley and Sons, New York, NY, 1991, Chapters 2 and 3 中。相关术语是“受保护的羟基”与“受保护的羟甲基”，其指的是羟基或羟甲基被上述之一的羟基保护基取代。

术语“C₁ 到 C₁₀ 烷硫基”指的是硫化基团，如：甲硫基、乙硫基、正丙硫基、异丙硫基、正丁硫基、叔丁硫基和类似基团。

术语“C₁ 到 C₁₀ 烷亚砷基”表示亚砷基团，如：甲基亚砷、乙基亚砷、正丙基亚砷、异丙基亚砷、正丁基亚砷、仲丁基亚砷和类似物。术语“C₁ 到 C₁₀ 烷磺酰基”包括基团如：甲磺酰基、乙磺酰基、正丙磺酰基、异丙磺酰基、正丁磺酰基、叔丁磺酰基和类似物。应该理解，上述硫代、亚砷或磺酰基团能在烷基链上的任何位置（如：2-甲硫基乙基）。

术语“C₁ 到 C₁₀ 取代的烷硫基”、“C₁ 到 C₁₀ 取代的烷亚砷基”及“C₁ 到 C₁₀ 取代的烷磺酰基”，表示这些基团的 C₁ 到 C₁₀ 烷基部分可以如上述关于“取代的烷基”那样被取代。

术语“苯硫基”、“苯亚砷基”及“苯磺酰基”分别指定了含有一个苯基的硫基、亚砷基，或砷基。术语“取代的苯硫基”、“取代的苯亚砷基”及“取代的苯磺酰基”意思是这些基团的苯基可如上述有关的“取代苯基”那样被取代。

术语“C₁ 到 C₁₂ 烷氨基羰基”意思是一个 C₁ 到 C₁₂ 的烷基结合到一个氨基羰基基团的氮上。C₁ 到 C₁₂ 烷氨基羰基的例子包括甲氨基羰基、乙氨基羰基、丙氨基羰基及丁氨基羰基。术语“C₁ 到 C₁₂ 取代的烷氨基羰基”表示一个取代烷基与氨基羰基的氮原子成键，烷基可如上述与 C₁ 到 C₁₂ 取代烷基有关的那样被取代。

术语“C₁ 到 C₁₂ 烷氧羰基”意思是一个“C₁ 到 C₁₂ 的烷氧基”基团结合到一个羰基上。术语“C₁ 到 C₁₂ 取代的烷氧羰基”表示一个取代烷氧基与一个羰基成键，烷氧基可如上述与“C₁ 到 C₁₂ 取代烷基”有关的那样被取代。

术语“苯基氨基羰基”意思是一个苯基与一个氨基羰基的氮原子成键。术语“取代的苯基氨基羰基”表示一个取代苯基与一个氨基羰基的氮原子成键，苯基

可如上述与取代苯基有关的那样被取代。

术语“ C_1 到 C_{12} 烷氨硫羰基”意思是一个 C_1 到 C_{12} 的烷基结合到一个氨硫羰基上，其中烷基具有如上确定的相同的含义。

术语“ C_1 到 C_{12} 取代的烷氨硫羰基”表示一个取代烷基与一个氨硫羰基成键，其中烷基可如上述与 C_1 到 C_{12} 取代烷基有关的那样被取代。

术语“苯氨硫羰基”意思是一个苯基结合到一个氨硫羰基上，其中苯基具有如上确定的相同的含义。

术语“取代的苯氨硫羰基”表示一个取代苯基与一个氨硫羰基成键，其中苯基可如上述与取代苯基有关的那样被取代。

术语“取代的 C_1 到 C_{12} 烯基”意思是一个 C_1 到 C_{12} 的烷基，该烷基在两个位置成键，共同连接另外两个各自独立的基团，并另外具有一个取代基。

术语“环状的 C_2 到 C_7 烯基”、“取代的环状 C_2 到 C_7 烯基”、“环状的 C_2 到 C_7 杂烯基”以及“取代的环状 C_2 到 C_7 杂烯基”确定了这样一种环状基团与苯基成键（“稠合”）得到一种双环系统。该环状基团可被饱和或含有一个或两个双键。而且，该环状基团可有一个或两个被一个或两个氧、氮或硫原子取代的亚甲基或次甲基，那就是环状的 C_2 到 C_7 杂烯基。

环烯基或杂烯基可被相同或不同的取代基取代一或两次，取代基如果合适的话，可与化合物的另一部分（如：烯基）连接，此化合物选自下列基团组成的组：羟基、受保护的羟基、羧基、受保护的羧基、氧代、受保护的氧代、 C_1 到 C_4 酰氧基、甲酰基、 C_1 到 C_{12} 酰基、 C_1 到 C_{12} 烷基、 C_1 到 C_7 烷氧基、 C_1 到 C_{10} 的烷硫基、 C_1 到 C_{10} 的烷亚砷基、 C_1 到 C_{10} 的烷磺酰基、卤素、氨基、受保护的氨基、(单取代)氨基、受保护的(单取代)氨基、(二取代)氨基、羟甲基或受保护的羟甲基。

与苯基稠合的环烯基或杂烯基可含有二到十元环，但优选的是含有三至六元。这些饱和环状基团的实施例是当得到的双环系统是2,3-二氢化茚基和一个四氢化萘环的情况。当环状基团是不饱和的，实施例是当得到的双环系统是一个萘环或吲哚环的情况。当苯基与吡啶并、吡喃并、吡咯并、吡啶基、二氢吡咯并或二氢吡啶基相稠合时，稠合的环状基团实施例都含

有一个氮原子和一个或多个双键，最好是一个或两个双键。当苯基与咪唑并、吡唑并、二氢咪唑并或二氢吡唑并环相稠合时，稠合的环状基团的实施例都含有一个氧原子和一或两个双键。当苯环与噻吩并、硫代吡唑并、二氢噻吩并或二氢硫代吡唑并环相稠合时，稠合的环状基团的实施例都含有一个硫原子和一或两个双键。当苯环与噻唑酮、异噻唑酮、二氢噻唑酮或二氢异噻唑酮环相稠合时，环状基团的实施例含有两个选自硫和氮的两个杂原子以及一或两个双键。当苯环与噁唑酮、异噁唑酮、二氢噁唑酮或二氢异噁唑酮环相稠合时，环状基团的实施例含有两个选自氧和氮的两个杂原子以及一或两个双键。当苯环与吡唑酮、咪唑酮、二氢吡唑酮或二氢咪唑酮环或吡嗪基相稠合时，环状基团的实施例含有两个氮杂原子以及一或两个双键。

术语“氨基甲酰基”意思是-NC(O)-基团，该基团在两个位置成键，分别与另外两个基团连接。

本发明的一个或多个化合物可作为盐存在。术语“盐”包括那些与羧酸阴离子和胺氮（amine nitrogens）形成的盐，同时包括与下面讨论的有机的和无机的阴离子和阳离子形成的盐。此外，该术语包括通过标准的酸碱反应与碱性基团（如氨基）和有机酸类或无机酸类反应形成的盐。这样的酸包括盐酸、氢氟酸、三氟乙酸、硫酸、磷酸、乙酸、琥珀酸、柠檬酸、乳酸、顺丁烯二酸、反丁烯二酸、棕榈酸、胆酸、双羧萘酸、半乳糖二酸、D-谷氨酸、D-樟脑酸、戊二酸、邻苯二甲酸、酒石酸、月桂酸、硬脂酸、水杨酸、甲磺酸、苯磺酸、山梨酸、苦味酸、苯甲酸、肉桂酸、及类似的酸。

术语“有机的或无机的阳离子”指的是一种羧酸盐的羧酸阴离子的反离子。这种反离子选自碱金属和碱土金属，（例如：锂、钠、钾、钡、铝与钙）；铵及单、双和三烷基胺如三乙胺、环己胺；以及有机阳离子，如二苄基铵、苄铵、2-羟乙铵、双(2-羟乙基)铵、苄乙基苄铵、二苄乙基二铵，及类似的阳离子。例见：“Pharmaceutical Salts,” (“药用盐类”) Berge 等人, J. Pharm. Sci., 66: 1-19 (1977), 在此引作参考。其他阳离子包括上述术语包含的质子化形式的普鲁卡因、奎宁及 N-甲基葡萄糖胺，以及质子化形式的碱性氨基酸如甘氨酸、鸟氨酸、组氨酸、苄基甘氨酸、赖氨酸与

精氨酸。此外，任何通过一个羧基和一个氨基形成的两性离子形式的瞬时化合物也适用于此术语。例如：当一个位置被一个季铵甲基基团取代时，对羧酸阴离子的一种阳离子将存在。对于羧酸阴离子，首选的阳离子是钠离子。

本发明的化合物也作为溶剂化物和水合物存在。因此，这些化合物可以用例如：水合的水、或一种、多种，或母液溶剂分子中的任何馏分结晶。化合物的这些溶剂化物和水合物被包括在本发明的范围内。

本发明的一种或多种化合物，甚至在一个库 (library) 中时，可以一种生物学上有效的酯的形式，如：非毒性的、易于代谢的 (metabolically-labile) 的酯的形式存在。这些酯的形式致使血中浓度增加和延长化合物相应的非酯形式的效力。可用的酯基包括低级烷氧甲基基团，如：甲氧甲基、乙氧甲基、异丙氧甲基等；-(C₁到C₁₂)烷氧乙基基团，如：甲氧乙基、乙氧乙基、丙氧乙基、异丙氧乙基等；2-氧-1,3-二氧戊环-4-基甲基基团，如：5-甲基-2-氧-1,3-二氧戊环-4-基甲基、5-苯基-2-氧-1,3-二氧戊环-4-基甲基等；C₁到C₁₀的烷硫甲基基团，如：二甲硫醚、乙基硫甲基、异丙基硫甲基等；酰氧甲基基团，如：新戊酰氧甲基、新戊酰氧乙基、-乙酰氧甲基等；乙氧羰基-1-甲基基团；-乙酰氧乙基；1-(C₁到C₁₂烷氧羰氧基 (alkyloxycarbonyloxy))乙基基团如1-乙氧羰氧基乙基基团；1-(C₁到C₁₂烷氨羰氧基 (alkylaminocarbonyloxy))乙基基团如1-甲氨羰氧基乙基基团。

应该理解为本发明要求的任何位置可达到三个连续的“取代”。例如：一个“取代烷基”被一个“取代苯基”取代，依次地，该“取代苯基”被另一个“取代烷基”取代，依次地，这个“取代烷基”又能被一个基团取代并且不能再被取代了。然而，这也可以理解为，如果(条件)合适，本发明意在超过三个的平行取代。例如：如果(条件)合适，一个烷基部分上超过三个的氢可被任何一个或多个不同基团取代，包括卤素和羟基。

实施例

实验步骤

MJDB 的合成

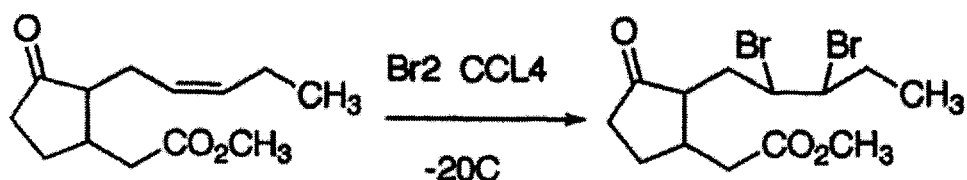
在 -20°C ，茉莉酮酸甲酯的四氯化碳(CCl_4)溶液与溴反应直至黄色保持5分钟。接着蒸去溶剂，并将黄色残留物在甲醇(MeOH)洗过的硅胶柱(VLC)上进行色谱分离，用己烷/5-10%乙酸乙酯洗脱。

得到两种可能的的外消旋化合物的 1: 1 的混合物。

Mass spectra (质谱): m/z 384 (Br_2), $R_f = 0.8$ 在硅胶上用己烷/乙酸乙酯 1:1 洗脱。

C NMR (CDCl_3): (C-1 至 C-13): 172.1/172.3; 37.1/37.3; 38.0/38.3; 29.5/29.6; 38.8/39.1; 218.4/219.1; 51.7 (两个都是); 27.0/27.2; 57.8/55.8; 60.7/60.2; 35.7/36.1; 12.4 (两个都是); 51.1/51.3 ppm。

H NMR (CDCl_3): 2.39-2.41 (H-2 与 3); 1.94-2.14 (H-4, H-7 与 H-11); 2.74-2.75 (H-5); 1.61 (H-8); 4.62 与 4.89 (H-9); 4.14 (H-10); 1.12 (H-12); 3.75 (OMe) ppm。



2) 色谱分析

茉莉酮酸甲酯

二溴茉莉酮酸甲酯

MJTB 的合成

在 CCl_4 中，MJ 与 10 当量的溴反应过夜。在真空下蒸去溶剂和过量的溴。从异丙醇($i\text{PrOH}$)中重结晶得到一个四溴异构体并从乙醇(EtOH)中从结晶得到第二个异构体。化合物通过 NMR、MS 鉴定，同时一个异构体通过 X 射线衍射分析鉴定。

MJS72f5 的合成

在 0℃，向搅拌的(±)-MJ (111mg, 0.49mmol)的甲醇(5mL)溶液中滴加碘(I₂)(580mg, 2.28mmol)的甲醇(15mL)溶液。混合物避光在 0℃搅拌 0.5 小时后，加热至室温并继续搅拌 48 小时。接着蒸去溶剂，向残留物中加入饱和的亚硫酸钠(Na₂SO₃)水溶液(10mL)，并用乙醚(2×10mL)萃取。合并的有机层用硫酸镁(MgSO₄)干燥并真空浓缩。残留物通过 VLC (乙酸乙酯/石油醚 1:4)纯化得到为无色油状物的产物(42mg, 22%)。

MJS99f7 的合成

氟以在氮气(N₂)中 3%的浓度按一种缓慢的气流通过一个冷的(-75℃)并剧烈搅拌的溶解了底物(±)-MJ (2.1gr, 9.37mmol)的 250mL 三氯氟甲烷(CFCl₃)、200mL 三氯甲烷(CHCl₃)、和 50mL 乙醇的溶液中。反应进行 3 小时，接着将混合物倒入 500mL 水中，用饱和碳酸氢钠(NaHCO₃)水溶液洗涤并用二氯甲烷(CH₂Cl₂)萃取。合并的有机层用 MgSO₄干燥并真空浓缩。残留物通过 VLC (乙酸乙酯/石油醚 1:9)纯化得到为红色油状物的非对映体混合物(950mg, 39%)。

MJS85f4 的合成

在 0℃，向搅拌的(±)-MJ (246mg, 1.10mmol)的干燥四氢呋喃(THF)(6mL)溶液中滴加 I₂ (1.17gr, 4.6mmol)的 THF(15mL)溶液。混合物避光在 0℃搅拌 3 小时后，加热至室温并继续搅拌 48 小时。当完成后，向残留物中加入饱和的 Na₂SO₃水溶液(10mL)，并用乙醚(2×10mL)萃取。合并的有机层用 MgSO₄干燥并真空浓缩。残留物通过 VLC (乙酸乙酯/石油醚 1:4)纯化得到碘化作用的产物。

MJS81f3 的合成

在-10℃，向搅拌的(±)-MJ (78mg, 0.348mmol)的 CCl₄ (5mL)中通入从由浓盐酸(5mL)和高锰酸钾(KMnO₄) (800 mg)现制的氯气(Cl₂)。混合物在

-10℃搅拌 2 小时。接着蒸去溶剂，残留物通过 VLC（乙酸乙酯/石油醚 1:19）纯化得到氯化作用的产物。

用于实施例的细胞毒性分析

测量活细胞的数量减少是通过细胞滴定 96 孔非放射性细胞增殖分析（the Cell Titer 96 Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay）（Promega, Madison, WI）确定的。在完成了给定的实验后，MTS（一种四唑化合物）在 333µg/ml+酚嗪硫酸甲酯（在 25µM）在 37℃加至 96 孔板的各个孔反应 1 小时。这考虑到发生在颜色反应中，脱氢酶还原了代谢活性细胞中的 MTS。因为细胞在加入 MTS 前不被洗涤，所以没有可能存在有问题的潜在的松散贴壁的或非贴壁细胞。可溶的 MTS 甲(月替)产物使用 CERES 900 HDI ELISA reader (Bio-Tek Instruments, Inc, Highland Park, VT) 在波长 490nm 测量。光密度与培养基中的活细胞数是直接成比例的。细胞毒性(%)用下面的方法计算：[(对照细胞的吸光度-药物治疗的细胞的吸光度)/对照细胞的吸光度]×100。

实施例 1: MJDB 对于白血病细胞具有高细胞毒性，而对于健康淋巴细胞无毒

为了测试 MJDB 对人类白血病细胞的毒性，从慢性淋巴细胞性白血病 (CCL) 病人身上采集了外周血淋巴细胞。这些细胞事实上表现出含有 100% 的癌细胞，正如通过对细胞表面 CD5 和 CD19 标记的流式细胞检测分析所确定的。同样采集了来自健康供体的外周血淋巴细胞。细胞以 1.5×10^4 孔种在 96 孔板中，同时 MJDB 按表示于图 1 的几个浓度加入达一天。代表存活细胞的吸光度通过 the Cell Titer 96 Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (Promega, Madison, WI) 确定；如上所述，在测定中存活细胞产生一种有色产物。这种分析是定量的，如使用 ELISA reader（酶标仪）读出颜色的量。细胞毒性被按对未处理的培养基对照的百分数计算，平均值±标准偏差（mean±SD）；n = 3。

标绘出 MJDB 对于来自 CCL 病人的外周血淋巴细胞的细胞毒性，与其对于来自健康供体(用菱形表示)的外周血淋巴细胞的细胞毒性相比较。见于图 1。MJDB 是清楚和显著的 ($P < 0.05$) 对于来自慢性淋巴细胞性白血病(CCL)病人的外周血淋巴细胞比来自健康供体的外周血淋巴细胞的细胞毒性更大。MJDB 对于来自 CCL 病人的癌细胞是高度和选择性的细胞毒性的，而对于来自健康供体的淋巴细胞，其细胞毒性是极微小的。

实施例 2: MJDB 的细胞毒性远大于先前研究的茉莉酮酸酯，如其抑制人类的四种不同的癌细胞系所示

MJDB 的细胞毒性被与先前研究的茉莉酮酸酯，即在美国专利 No. 6,469,061 中公开的最有效的茉莉酮酸酯类-茉莉酮酸甲酯(MJ)比较。这些化合物的细胞毒性被比较，如所见的每个都被用于源于成淋巴细胞的白血病、肺癌、黑素瘤或结肠癌的四种人类癌细胞系。

Molt-4 成淋巴细胞的白血病细胞(以 1.5×10^4 /孔)、3LL 肺癌细胞(以 4×10^3 /孔)、B16 黑素瘤细胞(以 4×10^3 /孔)、或 HCT116 结肠癌细胞(以 4×10^3 /孔)种在 96 孔板上，茉莉酮酸甲酯(MJ)或 MJDB 以 0.5mM 被加入 1 天。代表存活细胞的吸光度由 the Cell Titer 96 Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (上述)确定。细胞毒性被按对未处理的培养基对照的百分数计算，平均值 \pm 标准偏差 (mean \pm SD)；n = 3。

茉莉酮酸甲酯(MJ, 白色柱)或 MJDB (填充柱)的细胞毒性的百分数被图解说明。图 2 清楚的表明新合成的化合物 MJDB 在其对于不同癌细胞系的细胞毒性效果上，与先前研究的茉莉酮酸甲酯相比，是大大具有优势的。(这些结果的统计学研究显示 $P < 0.05$)。

实施例 3: MJDB 有效对抗野生型或突变型 p53 的细胞表达

显示出 MJDB 对于前细胞凋亡的肿瘤抑制基因、p53 的一种变异形式的细胞表达的效果。异常的 p53 表达发生在大约 50%的人类肿瘤中并致使耐药性和接踵而来的对肿瘤病人化疗和放疗的失败。因此，杀死突变

的 p53 表达细胞的能力具有高度的临床意义。

使用源自相同的细胞系(29M4.1)的两个 B 淋巴瘤克隆系统。这些克隆区别仅在于表达野生型或突变型 p53。更具体的, 29M4.1 细胞以 2.5×10^4 /孔种在 96 孔板中, 同时 MJDB 按几个浓度加入达一天。代表存活细胞的吸光度由 the Cell Titer 96 Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (Promega, Madison, WI) 确定。细胞毒性被按对未处理的培养基对照的百分数计算, 平均值 \pm 标准偏差 (mean \pm SD); $n = 3$ 。MJDB 显示出对表达野生型或突变型 p53 的 B 淋巴瘤细胞同样的细胞毒性, 暗示了 MJDB 对抗耐药肿瘤的潜在的临床使用。见于图 3。

实施例 4: MJDB 降低癌细胞中的 ATP 水平

使用一种 ATP 测定分析以评价 MJDB 降低癌细胞中的 ATP 水平的效果。更具体的, Molt-4 细胞(以 1×10^4 /孔)种在 96 孔不透明壁的板上, 同时 MJ 以 3mM 或 MJDB 以 1mM 在 37°C 加入 10、30 或 60 分钟。培育在培养基中的未处理的细胞用作对照。ATP 水平通过 the Cell Titer-Glo™ Luminescent Cell Viability Assay (细胞 Titer-Glo™ 发光细胞活力分析) 测定; 其中的细胞产生一种发光信号等价于细胞中的 ATP 浓度。ATP 消耗被按对未处理的培养基对照的百分数计算, 平均值 \pm 标准偏差 (mean \pm SD); $n = 3$ 。

如图 4 所见, MJDB 在 Molt-4 白血病细胞中引起了迅速有力的 ATP 消耗, 其程度大于茉莉酮酸甲酯引起的。重要的需要指出的是, MJDB 以低于茉莉酮酸甲酯 3 倍的浓度给药。因此, 在 MJDB 的优越的细胞毒性效应 (与茉莉酮酸甲酯比较) 及其降低细胞内 ATP 水平的能力之间存在相关性。

实施例 5: MJTB 对于人类的四种不同的癌细胞系具有细胞毒性

Molt-4(白血病, 以 2.5×10^4 /mL)、D122(肺癌, 以 5×10^3 /mL)、B16(黑色素瘤, 以 2×10^3 /mL)、与 B16MDR(显示出多药耐药性的黑色素瘤, 以 2×10^3 /mL)

细胞在不同浓度的 MJTB 存在下，在 96 孔板中培育一天。如上所述，代表存活细胞的吸光度由 the Cell Titer 96 Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (Promega, Madison, WI) 确定。细胞毒性被按对未处理的培养基对照的百分数计算，平均值±标准偏差 (mean±SD)；n = 3。MJTB 对于这些细胞系的 IC₅₀ 水平示于下表：

	Molt-4	D122	B16	B16MDR
IC₅₀ (mM)	0.008	0.05	0.08	0.08

可从该表和图 5 看出，MJTB 可有效对抗白血病细胞以及源自各种实体瘤的癌细胞。另外，MJTB 能杀死表现出多药耐药性的细胞，使其在抗药性是成功化疗的主要障碍的临床情况中可能有用。

实施例 6: MJ 与 MJTB 的比较

对上述四溴异构体的 1: 1 的混合物进行生物测定。更明确的，Molt-4 白血病细胞(以 2.5×10^4 /ml) 在不同浓度的 MJ 或 MJTB 存在下，在 96 孔板中培养一天。如上所述，代表存活细胞的吸光度由 the Cell Titer 96 Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (Promega, Madison, WI) 确定。细胞毒性被按对未处理的培养基对照的百分数计算，平均值±标准偏差 (mean±SD)；n = 3。MJTB 和 MJ 的 IC₅₀ 水平示于下表：

	MJTB	MJ
IC₅₀ (mM)	0.008	0.5

可从该表和图 5 看出，MJTB 具有的 IC₅₀ (显示出 50% 细胞毒性的浓度) 约比 MJ (至今最有效的茉莉酮酸酯衍生物) 的小 60 倍。因此，MJTB

比 MJ 超过一个数量级的更加有效。

实施例 7: MJTB 为选择性的对抗癌细胞

Molt-4(白血病)细胞(以 2.5×10^4 /ml), 与正常的外周血淋巴细胞(PBL, (以 2×10^5 /ml)在不同浓度的 MJTB 存在下, 在 96 孔板中培养一天。PBL 用 $0.8 \mu\text{g/ml}$ 植物凝血素 + 5ng/ml TPA 预培养 48 小时, 以诱导进入细胞周期。这些细胞增殖并因此在此方面与癌细胞相似, 使得该比较更加有效。如上所述, 代表存活细胞的吸光度由 the Cell Titer 96 Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (Promega, Madison, WI)确定。IC50 水平示于下表:

	Molt-4	PBL
IC50 (mM)	0.008	0.25

可从该表和图 7 看出, 存在一个令人满意的治疗窗, 它使得 MJTB 杀死白血病细胞而不对正常细胞施加实际效果。事实上, 正常外周血淋巴细胞的 IC50 比白血病细胞的高出一个数量级。应该指出的是, 使用更高 MJTB 浓度确定的 PBL 的 IC50 没有在图 7 中出现。

实施例 8: 本发明其他化合物的细胞毒性

Molt-4(白血病)细胞(以 1.5×10^4 /ml) 在不同浓度的 MJ 卤代衍生物存在下培养 1 天。具体的, 这些衍生物为 MJS72f5 (R6 与 R7 一个为碘代, 另一个为甲氧基)、MJS99 (R6 与 R7 都为氟代)以及 NJ-63 (R6 与 R7 一个为溴代, 另一个为羟基)。如上所述, 代表存活细胞的吸光度由 the Cell Titer 96 Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (Promega, Madison, WI) 确定。如图 8 所示, 所有这些衍生物都表现出大于 MJ 的细胞毒性。另一个衍生物为: MJS813, 也有细胞毒活性。

所有在此引用的参考文献都整体地引用。需要理解的是, 以上所述的详细说明只意在说明本发明的某些优选的实施方案。并非意为限制本发明范围, 本发明范围如随后的权利要求所列出的。

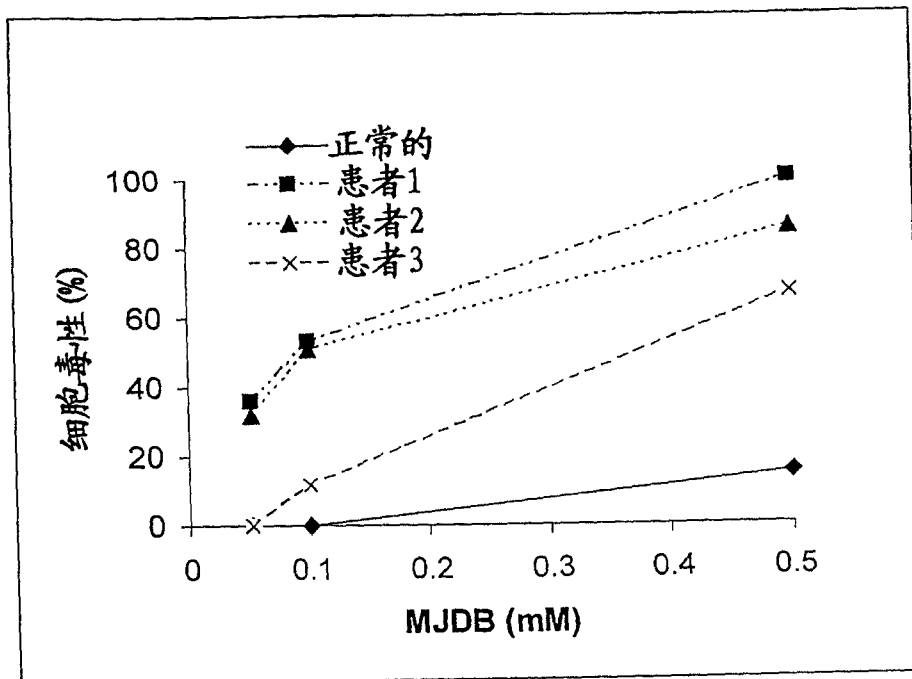


图 1

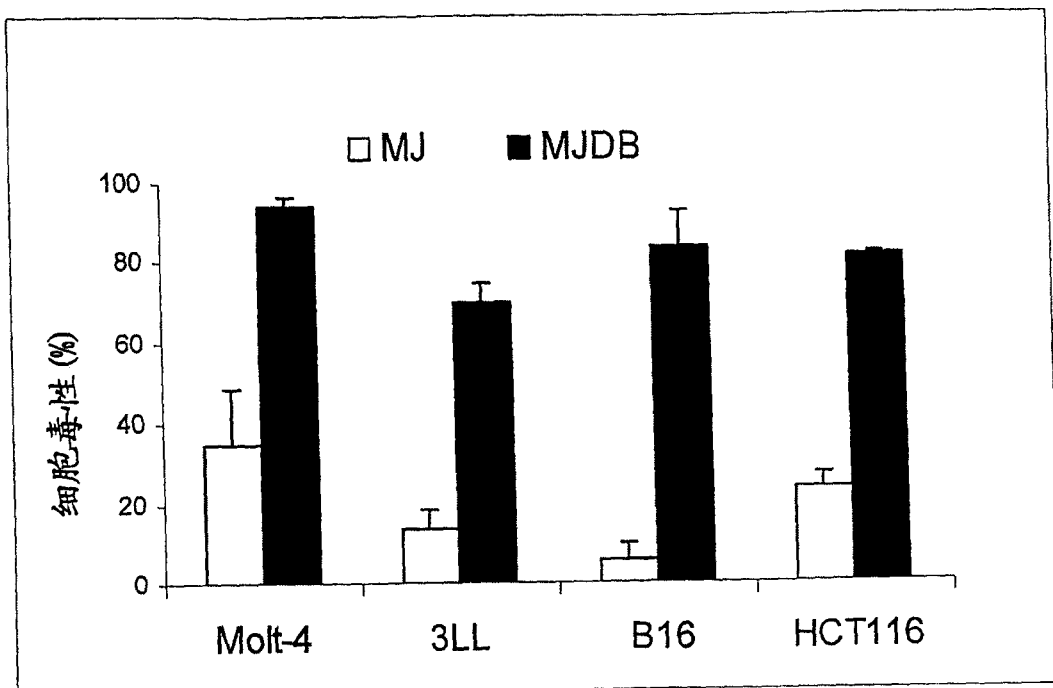


图 2

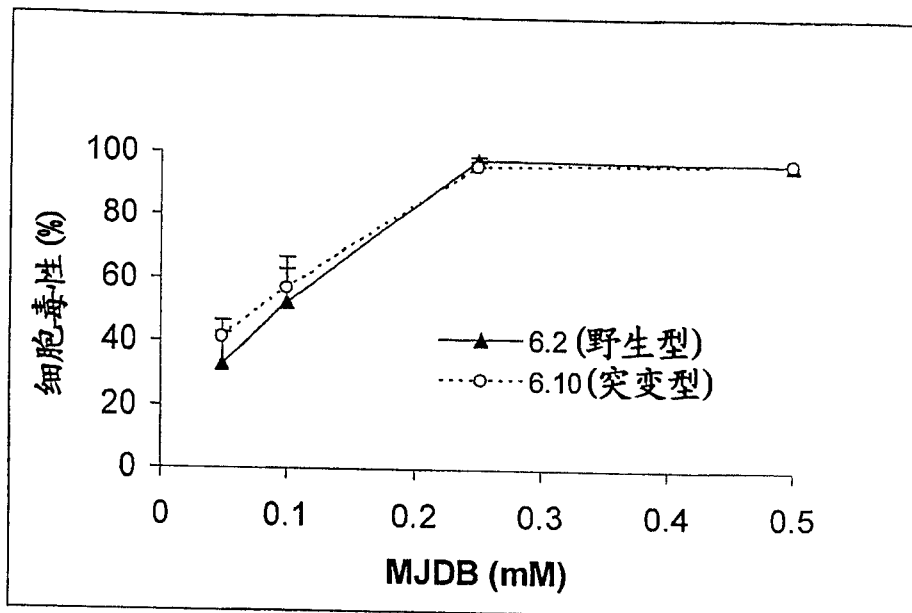


图 3

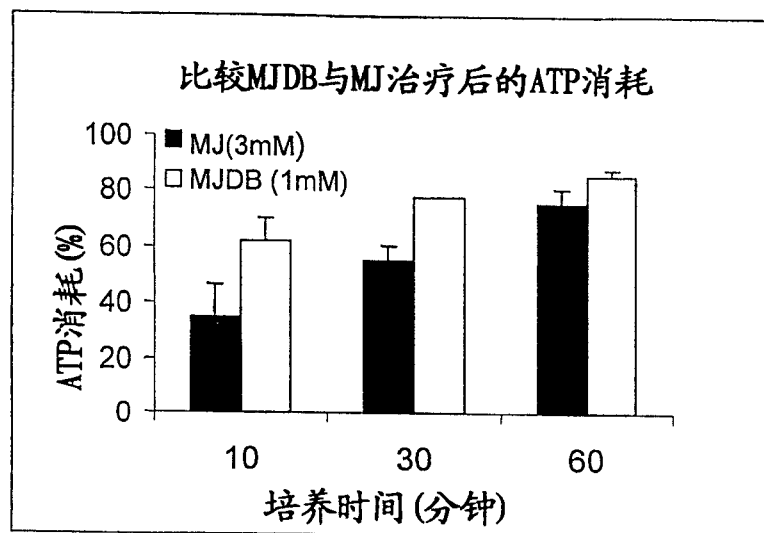


图 4

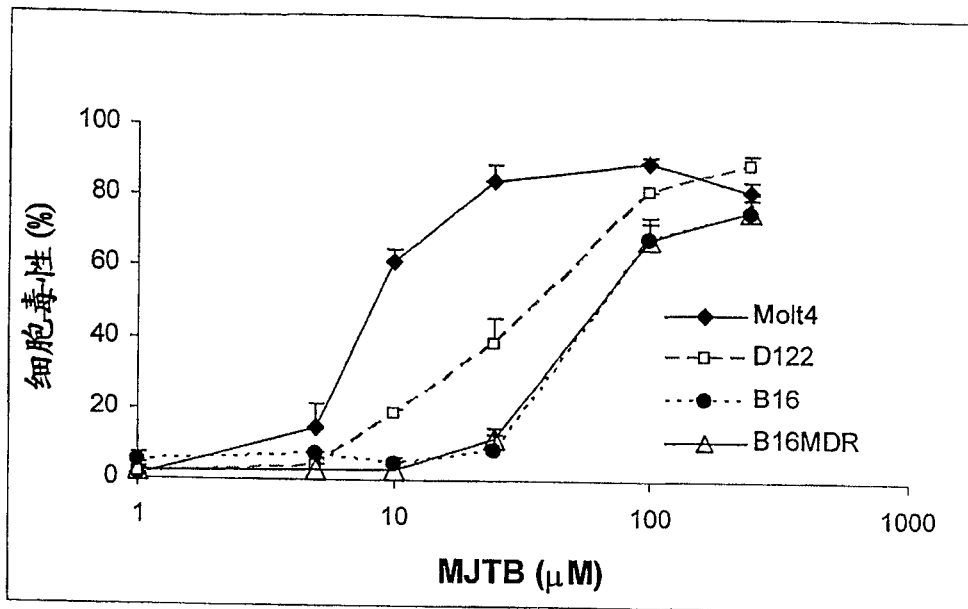


图 5

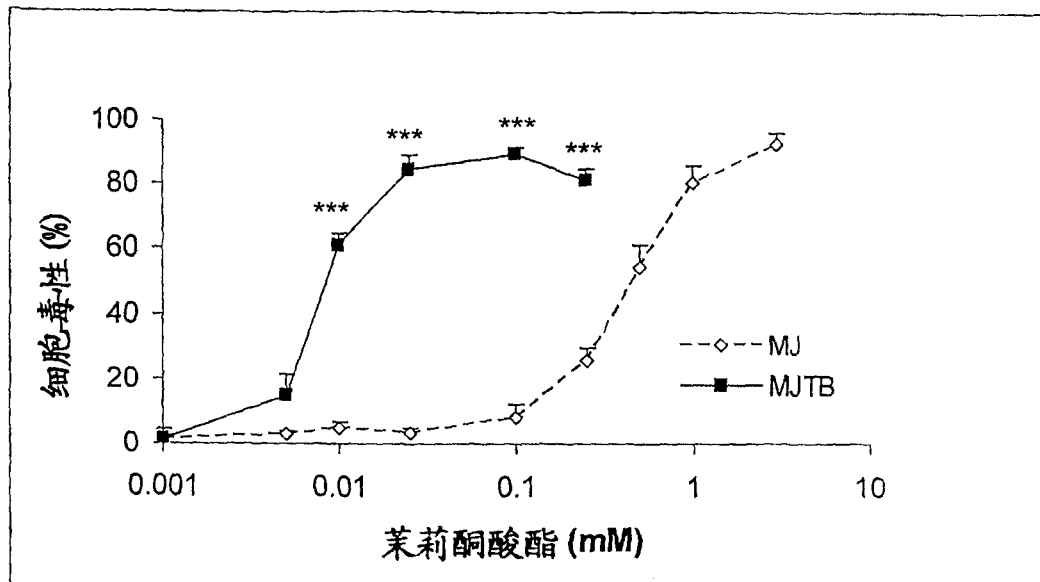


图 6

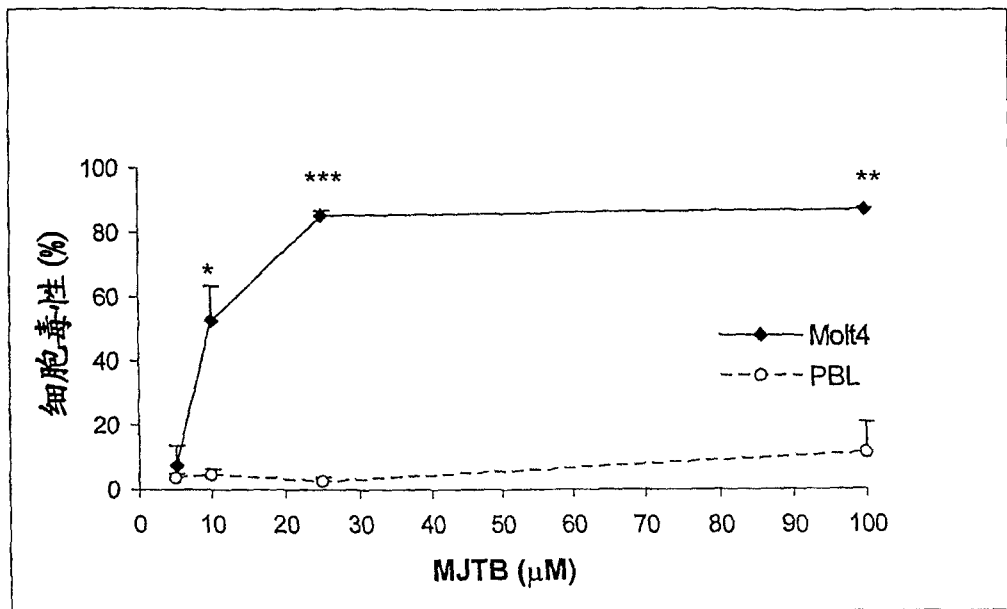


图 7

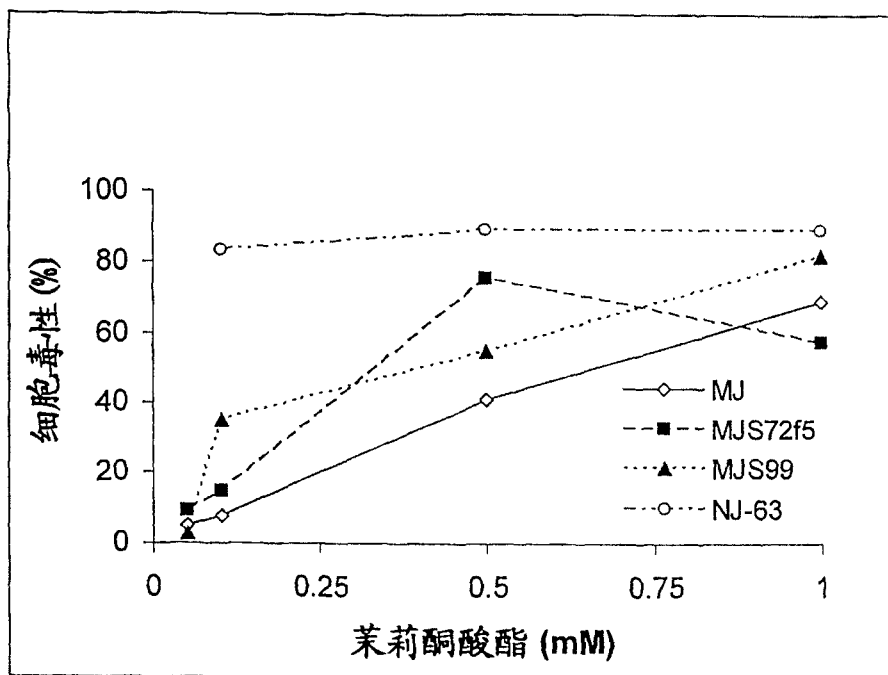


图 8