



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105175394 B

(45)授权公告日 2018.06.08

(21)申请号 201510578313.X

(22)申请日 2008.04.11

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105175394 A

(43)申请公布日 2015.12.23

(30)优先权数据

60/911,258 2007.04.11 US

(62)分案原申请数据

200880019414.1 2008.04.11

(73)专利权人 三井有限公司

地址 日本静岡

(72)发明人 河边拓己 石垣真知代 佐藤卓治

山本清香 长谷川容子

(74)专利代理机构 上海胜康律师事务所 31263

代理人 樊英如 李献忠

(51)Int.Cl.

C07D 401/12(2006.01)

A61K 31/4439(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 35/02(2006.01)

(56)对比文件

WO 9709325 A1,1997.03.13,

WO 0030445 A1,2000.06.02,

WO 0162087 A2,2001.08.30,

WO 2005024755 A2,2005.03.17,

审查员 郝小燕

权利要求书2页 说明书97页 附图6页

(54)发明名称

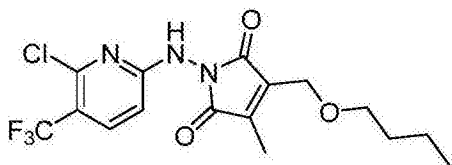
具有抗癌活性的化合物

(57)摘要

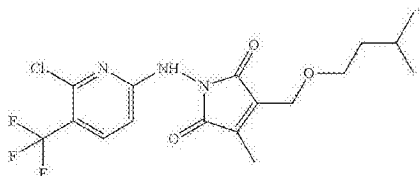
本发明提供了新型取代的吡咯二酮,其能够杀死细胞、抑制细胞增殖、抑制细胞生长、废除细胞周期G2关卡和/或导致对细胞周期停滞的适应。提供了制备和使用本发明化合物的方法。本发明提供了取代的吡咯二酮以治疗细胞增殖紊乱。本发明包括不经额外的抗癌治疗,取代的吡咯二酮选择性杀死或抑制癌细胞的用途。本发明包括可废除细胞周期G2-关卡的取代的吡咯二酮选择性地使癌细胞对DNA损伤剂、处理和/或其它类型的抗癌剂敏化的用途。

1. 选自如下的化合物或其药物可接受的盐：

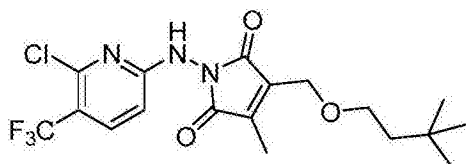
(a) 3-(丁氧基甲基)-1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基]-4-甲基唑啉-2,5-二酮 (S03518)



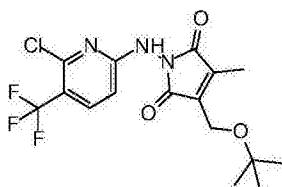
(b) 1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基]-4-甲基-3-[(3-甲基丁氧基)甲基]唑啉-2,5-二酮 (S03405)



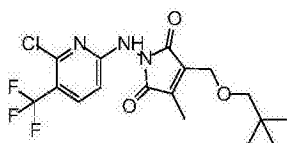
(c) 3-[(3,3-二甲基丁氧基)甲基]-1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基]-4-甲基唑啉-2,5-二酮 (S03747)



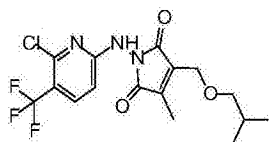
(d) 4-[(叔-丁氧基)甲基]-1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基]-3-甲基唑啉-2,5-二酮 (S03873)



(e) 3-[(2,2-二甲基丙氧基)甲基]-1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基]-4-甲基唑啉-2,5-二酮 (S03962)



(f) 1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基]-4-甲基-3-[(2-甲基丙氧基)甲基]唑啉-2,5-二酮 (S03963)



2. 包含了权利要求1所述的化合物以及药学可接受的赋形剂的药物组合物。
3. 权利要求1所述的化合物在制备治疗细胞增殖紊乱的药物中的用途。
4. 权利要求3所述的用途,其包括向对象施用有效量的所述化合物。

5. 权利要求3所述的用途,其包括体外施用有效量的所述化合物。
6. 权利要求3所述的用途,其包括间接体内施用有效量的所述化合物。
7. 权利要求3所述的用途,其中所述的细胞增殖紊乱是癌症。
8. 权利要求3所述的用途,其中所述的癌症是淋巴瘤。
9. 权利要求3所述的用途,其中所述的癌症是骨髓瘤。
10. 权利要求3所述的用途,其中所述的癌症是白血病。
11. 权利要求3所述的用途,进一步包括施用至少另外一种抗癌治疗。
12. 权利要求11所述的用途,其中所述的抗癌治疗是DNA-损伤剂或DNA-损伤处理。

具有抗癌活性的化合物

[0001] 本申请是申请号为200880019414.1,申请日为2008年4月11日,申请人为三井有限公司,发明创造名称为“具有抗癌活性的化合物”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请主张于2007年4月11日提交的美国临时申请60/911,258的优先权,其全文在此引用作为参考。

技术领域

[0004] 本发明涉及新型的取代的吡咯二酮化合物,其具有抗癌活性和/或针对增殖细胞的活性,还涉及制备和使用这些化合物的方法,其中该取代的吡咯二酮化合物废除了细胞周期G2关卡和/或导致对细胞周期停滞的适应。本发明包括经过或不经额外的抗癌治疗,取代的吡咯二酮选择性抑制或杀死癌细胞的用途。本发明包括此处提供的可废除细胞周期G2-关卡的取代的吡咯二酮化合物选择性地使癌细胞对DNA损伤剂、DNA-损伤处理和/或其它类型的抗癌剂敏化的用途。

背景技术

[0005] 细胞周期包括S期(DNA复制)、M期(有丝分裂)和介于S和M期之间的两个间隙期(G1和G2期)。在细胞周期中的关卡确保了通过细胞周期阶段的准确进展,并包括监测DNA完整性、DNA复制、细胞大小以及周围环境(Maller (1991) Curr. Opin. Cell Biol., 3:26)。监测基因组状态的细胞周期关卡包括在DNA复制开始之前的G1关卡和在有丝分裂开始之前的G2关卡。该G1关卡允许在进入S期之前检测和修复DNA损伤,从而提供关键的保护功能,因为当损伤的DNA被复制时常会产生突变(Hartwell (1992) Cell 71:543)。G2关卡允许在进入有丝分裂(M期)之前检测和修复DNA损伤,从而提供了关键功能,因为没有DNA修复的有丝分裂可能通过DNA-损伤的子细胞传播该损伤或者有丝分裂可能完全失效。不修复大范围的DNA损伤而进展通过G1和G2关卡通常导致细胞死亡。

[0006] 通过肽、肽类似物和“小分子”对细胞周期G2关卡的抑制已被用于选择性靶向癌细胞,因为多数癌细胞在保护细胞免受DNA损伤影响的细胞周期的两个主要关卡中的一个或两个具有缺陷,从而对G2关卡的抑制允许DNA-损伤的细胞重新进入细胞周期而不需修复DNA损伤。(Kawabe T. (2004) “G2checkpoint abrogators as anti-cancer drugs” Mol Cancer Ther 3:513-519)。尽管细胞周期G2关卡的分子机制得到了广泛的研究,在早期研究中并未建立治疗性G2关卡废除的单个分子靶标。已开发了基于表型的筛选方案来有效识别潜在G2关卡抑制剂。(Suganuma M. & Kawabe T., EP Application No. 00964563; Sha等人. (2007) Mol Cancer Ther 6:147-153),其中基于细胞周期表型对G2关卡废除肽的筛选鉴定了CBP501对细胞周期G2关卡具有独特的作用机制。(Sha等人. (2007) Mol Cancer Ther 6:147-153)。

发明内容

[0007] 发明综述

[0008] 本发明提供了化合物以治疗细胞增殖紊乱。具体而言,本发明提供的化合物包括:叔-丁基3-(1-{{6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)}氨基}-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基)丙酸酯(可互换地称为S001860、S01860或S1860,即, S001860=S01860=S1860);1-{{6-氯-3-(三氟甲基)(2-吡啶基)}氨基}-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S00109=S0109=S109);3-(丁氧基甲基)-1-{{6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)}氨基}-4-甲基唑啉-2,5-二酮(S03518);1-{{6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)}氨基}-4-甲基-3-[(3-甲基丁氧基)甲基]唑啉-2,5-二酮(S03405);3-[(3,3-二甲基丁氧基)甲基]-1-{{6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)}氨基}-4-甲基唑啉-2,5-二酮(S03747);以及相关的化合物,其中这些化合物在施用至细胞或对象时,具有包括杀死或抑制与细胞增殖紊乱相关的不想要的增殖性细胞的作用。

[0009] 本发明提供了杀死或抑制与细胞增殖紊乱相关的不想要的增殖细胞的化合物。本发明提供了废除细胞周期G2关卡和/或引起对G2细胞周期停滞的适应的化合物。本发明提供了废除细胞周期G2关卡和/或引起对细胞周期停滞的适应,导致不想要的增殖细胞的死亡或抑制的化合物。本发明提供了废除细胞周期G2关卡和/或引起对细胞周期停滞的适应,导致DNA-损伤细胞的死亡或抑制的化合物。本发明提供了对癌细胞具有细胞毒活性的化合物。本发明提供了对癌细胞(包括但不限于DNA-损伤的癌细胞)具有细胞毒活性的化合物。本发明提供了对癌细胞(包括但不限于由于DNA损伤而处于G2细胞周期停滞的癌细胞)具有细胞毒活性的化合物。本发明提供了对癌细胞具有细胞毒活性,但对正常细胞没有或具有很低的细胞毒活性的化合物。本发明提供了能够增加其它抗癌剂和治疗(特别是DNA-损伤抗癌剂和DNA-损伤抗癌治疗)的细胞毒活性的化合物。本发明提供了能够使细胞对其它抗癌剂和治疗(特别是DNA-损伤抗癌剂和DNA-损伤抗癌治疗)敏化的化合物。本发明提供了制备和使用此处所述化合物的方法。本发明提供了包含本发明化合物的药物组合物。

[0010] 本发明提供了用于治疗细胞增殖紊乱的化合物。本发明提供了用于治疗癌症(例如,用于治疗与良性和恶性肿瘤细胞、白血病细胞、淋巴瘤细胞或多发性骨髓瘤细胞相关的不想要的细胞增殖)的化合物。本发明提供了用于在不想要的增殖细胞如癌细胞(例如,良性和恶性肿瘤细胞、白血病细胞、淋巴瘤细胞或多发性骨髓瘤细胞)中废除细胞周期G2关卡的化合物。本发明提供了用于在不想要的增殖细胞如癌细胞(例如,良性和恶性肿瘤细胞、白血病细胞、淋巴瘤细胞或多发性骨髓瘤细胞)中引起对G2细胞周期停滞的适应的化合物。

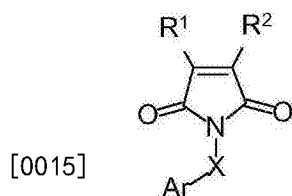
[0011] 本发明提供了通过体内、间接体内或体外施用有效量的本发明的化合物来治疗细胞增殖紊乱的方法。本发明提供了通过向对象施用有效量的本发明的化合物来治疗细胞增殖紊乱的方法。本发明提供了治疗细胞增殖紊乱的方法,其中该细胞增殖紊乱为癌症,包括但不限于淋巴瘤、骨髓瘤或白血病。本发明提供了通过施用有效量的化合物和施用至少一种额外的抗癌治疗(例如,DNA-损伤剂或DNA-损伤处理)来治疗癌症的方法。

[0012] 本发明提供了通过将细胞与联合DNA-损伤剂或处理的本发明的化合物或本发明的药物组合物相接触,来杀死或抑制细胞的方法。本发明提供了通过将细胞与联合DNA-损伤剂或处理的本发明的化合物或本发明的药物组合物相接触,使细胞对DNA-损伤剂和/或处理敏化的方法。本发明提供了在不想要的增殖细胞中诱导凋亡、坏死和/或有丝分裂突变的方法,其包括在施用或不施用其它治疗的情况下向该细胞施用本发明的化合物或本发明的药物组合物,该施用量足以杀死或抑制该不想要的增殖细胞。本发明提供了在对象中的

不想要的增殖细胞中诱导凋亡、坏死和/或有丝分裂灾变的方法,其包括在施用或不施用其它治疗的情况下向该对象施用本发明的化合物或本发明的药物组合物,该施用量足以杀死或抑制该不想要的增殖细胞。

[0013] 基于表型的筛选被用于测量本发明的化合物引起G2-停滞细胞中对G2细胞周期停滞的适应的能力。对G2细胞周期停滞的适应和重新进入该细胞周期可导致之前的G2-停滞细胞的死亡或对之前的G2-停滞细胞进一步增殖的抑制(阻抑)。在非限制性实施方式中,引起对G2细胞周期停滞的适应的能力可通过以下方式检测:将辐射(即, gamma (γ) 辐射或X-线辐射)诱导了G2停滞的细胞与不同浓度的本发明的化合物接触,对于每种浓度下的每种化合物,通过测定处于G1期的细胞的百分比,确定脱离G2停滞并重新进入细胞周期的细胞的百分比。每一种化合物的IC₅₀值被计算为引起针对该化合物测得的G1期细胞百分比增加量(G1增量)最大值一半的剂量(通常单位为 μ M)。部分的发明化合物通过上述针对G2-停滞细胞活性的基于表型的筛选从小分子库进行初始鉴别。

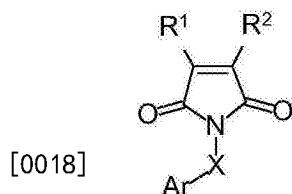
[0014] 本发明提供了具有结构(I)的式的化合物:



(I)

[0016] 其中R¹和R²独立地选自烷基、取代的烷基、可选地取代的烷氧基、可选地取代的烷硫基、卤素、可选地取代的芳基、可选地取代的芳氧基、可选地取代的芳硫基或H,其中R¹和R²还可作为形成稠环结构的环状亚烷基链的一部分,X为O、S、NR³或CR⁴R⁵,Ar为芳基或取代的芳基,包括碳环芳基、杂环芳基、单环芳基、多环芳基以及与非芳基(非芳香族)环耦合的芳基,R³为H、烷基、取代的烷基、可选地取代的酰基或作为将N与Ar环连接的结构的一部分,R⁴和R⁵独立地选自H、烷基、取代的烷基或两者都是形成环结构的环状亚烷基链的一部分,且R⁴和R⁵还可作为与该Ar环连接的结构的一部分,或者这些化合物中任意一种的盐。

[0017] 本发明提供了治疗细胞增殖紊乱的方法,其包括向对象施用有效量的具有结构(I)的式的化合物:



(I)

[0019] 其中R¹和R²独立地选自烷基、取代的烷基、可选地取代的烷氧基、可选地取代的烷硫基、卤素、可选地取代的芳基、可选地取代的芳氧基、可选地取代的芳硫基或H,其中R¹和R²还可作为形成稠环结构的环状亚烷基链的一部分,X为O、S、NR³或CR⁴R⁵,Ar为芳基或取代的

芳基,包括碳环芳基、杂环芳基、单环芳基、多环芳基以及与非芳基(非芳香族)环耦合的芳基, R^3 为H、烷基、取代的烷基、可选地取代的酰基或作为将N与Ar环连接的环结构的一部分, R^4 和 R^5 独立地选自H、烷基、取代的烷基或两者都是形成环结构的环状亚烷基链的一部分,且 R^4 和 R^5 还可作为与该Ar环连接的环结构的一部分,或者这些化合物中任意一种的盐。本发明提供了通过体内、间接体内或体外施用有效量的具有结构(I)的式的化合物来治疗细胞增殖紊乱的方法。

[0020] 本发明提供了废除细胞周期G2关卡和/或引起对细胞周期G2停滞的适应的化合物,其中这些化合物在施用至细胞或对象时具有包括杀死或抑制不想要的增殖性细胞的生长的作用,该化合物包括:

[0021] 叔-丁基3-(1-{[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基)丙酸酯(S01860);

[0022] 乙基3-(1-{[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基)丙酸酯(S01861);

[0023] 3,4-二甲基-1-[(4,7,8-三氯(2-喹啉基))氨基]唑啉-2,5-二酮(S01078);

[0024] 1-[(8-溴-4-氯(2-喹啉基))氨基]-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01247);

[0025] 叔-丁基4-({2-[(3,4-二甲基-2,5-二噁唑啉基)氨基]-7-溴-4-喹啉基}甲基)哌嗪羧酸酯(S01589);

[0026] 甲基3-(1-{[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基)丙酸酯(S01648);

[0027] 3-(1-{[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基)-N-甲氧基-N-甲基丙酰胺(S01796);

[0028] 1-{[7-溴-4-({4-[(2-甲氧基苯基)羰基]哌嗪基}甲基)(2-喹啉基)]氨基}-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01879);

[0029] 1-{[3-溴-6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01981);

[0030] 1-{[6-氯-3-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S00109);

[0031] 1-{[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]甲基氨基}-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S00170);

[0032] 1-{[6-溴-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]甲基氨基}-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01007);

[0033] 1-{[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-4-甲基-3-(3-甲基丁基)唑啉-2,5-二酮(S01554);

[0034] 1-{[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-3-(甲氧基甲基)-4-甲基唑啉-2,5-二酮(S01599);

[0035] 1-{[7,8-二氯-4-(三氟甲基)(2-喹啉基)]氨基}-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01455);

[0036] 3-(1-{[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基)-N,N-二乙基丙酰胺(S01711);

- [0037] 二乙基2-[(1-{[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基)甲基]丙烷-1,3-二酯(S01712)；
- [0038] N-(叔-丁基)-3-(1-{[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基)丙酰胺(S01758)；
- [0039] 1-{[7-溴-4-({4-[(3-甲氧基苯基)羰基]哌嗪基}甲基)(2-喹啉基)]氨基}-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01925)；
- [0040] 1-{[6-溴-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S00994)；
- [0041] 1-[(4,8-二氯(2-喹啉基))氨基]-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01005)；
- [0042] 3,4-二甲基-1-{[6-苯基-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}唑啉-2,5-二酮(S01266)；
- [0043] 1-{[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-3-(羟基甲基)-4-甲基唑啉-2,5-二酮(S01470)；
- [0044] N-(3,4-二甲基-2,5-二噁唑啉基)-N-[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]乙酰胺(S01473)；
- [0045] 1-{[7-溴-4-({4-[(2-氯苯基)羰基]哌嗪基}甲基)(2-喹啉基)]氨基}-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01878)；
- [0046] 3-(1-{[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基)-N-甲基丙酰胺(S01883)；
- [0047] 1-[(8-氯(2-喹啉基))氨基]-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S00585)；
- [0048] 3,4-二甲基-1-[(3,4,5-三氯苯基)氨基]唑啉-2,5-二酮(S00832)；
- [0049] 3,4-二甲基-1-{[4-(三氟甲基)(2-喹啉基)]氨基}唑啉-2,5-二酮(S00873)；
- [0050] 1-[(7-溴-4-氯(2-喹啉基))氨基]-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01311)；
- [0051] 1-{[6-(3-氯-4-氟苯基)-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-(3,4-二甲基(3,4-二甲基甲基)唑啉-2,5-二酮(S01313)；
- [0052] 3,4-二甲基-1-{[6-(2-甲基丙基)-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}唑啉-2,5-二酮(S01457)；
- [0053] 1-{[6-氯-4-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01737)；
- [0054] 甲基3-(1-{[4-({4-[(叔-丁基)氧基羰基]哌嗪基}甲基)-7-溴(2-喹啉基)]氨基}-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基)丙酸酯(S01865)；
- [0055] 1-({4-[(4-{[4-(二甲基氨基)苯基]羰基}哌嗪基)甲基]-7-溴(2-喹啉基)}氨基)-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01880)；
- [0056] 1-[(3-氯异喹啉基)氨基]-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01098)；
- [0057] 1-{[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-3-乙基-4-甲基唑啉-2,5-二酮(S01553)；
- [0058] 1-{[4-氯-6-苯基-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01734)；
- [0059] N-[1-({2-[(3,4-二甲基-2,5-二噁唑啉基)氨基]-7-溴(4-喹啉基)}甲基)吡咯

烷-3-基] (叔-丁氧基) 氨甲酰 (S01864) ;

[0060] 1- {[7-溴-4-({4-[(4-氟苯基) 羰基] 哌嗪基} 甲基) (2-喹啉基)] 氨基} -3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮 (S01877) ;

[0061] 6-[(3,4-二甲基-2,5-二噁唑啉基) 氨基] -3-(三氟甲基) 吡啶-2-腈 (S01475) ;

[0062] 2- {[6-氯-5-(三氟甲基) -2-吡啶基] 氨基} -4,5,6,7-四氢异吲哚-1,3-二酮 (S00186) ;

[0063] 1- {[4-溴-3-(三氟甲基) 苯基] 氨基} -3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮 (S00516) ;

[0064] 1-[(4-氯萘基) 氨基] -3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮 (S00738) ;

[0065] 1-[(4-氯-6-甲基 (2-喹啉基)) 氨基] -3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮 (S00935) ;

[0066] 1-[(4-溴萘基) 氨基] -3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮 (S00942) ;

[0067] 1- {[7-溴-4-(羟基甲基) (2-喹啉基)] 氨基} -3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮 (S01037) ;

[0068] {2-[(3,4-二甲基-2,5-二噁唑啉基) 氨基] -7-溴-4-喹啉基} 乙酸甲酯 (S01047) ;

[0069] 1- {[8-氯-4-(4-甲氧基苯基) (2-喹啉基)] 氨基} -3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮 (S01191) ;

[0070] 1-[(4-氯苯并[h]喹啉-2-基) 氨基] -3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮 (S01207) ;

[0071] 1-[(7-溴-4-{{4-苄基哌嗪基} 甲基) (2-喹啉基)) 氨基] -3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮 (S01268) ;

[0072] 1- {[6-(4-氯苯基) -5-(三氟甲基) (2-吡啶基)] 氨基} -3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮 (S01371) ;

[0073] 3,4-二甲基-1- {[6-(4-甲基苯基) -5-(三氟甲基) (2-吡啶基)] 氨基} 唑啉-2,5-二酮 (S01393) ;

[0074] 1- {[6-(3-氯苯基) -5-(三氟甲基) (2-吡啶基)] 氨基} -3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮 (S01474) ;

[0075] 1- {[6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)] 甲基氨基} -3-(甲氧基甲基) -4-甲基唑啉-2,5-二酮 (S01600) ;

[0076] 苯基甲基4-({2-[(3,4-二甲基-2,5-二噁唑啉基) 氨基] -7-溴-4-喹啉基} 甲基) 哌嗪羧酸酯 (S01683) ;

[0077] 1- {[6-氯-2-苯基-3-(三氟甲基) (4-吡啶基)] 氨基} -3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮 (S01688) ;

[0078] 3,4-二甲基-1- ({6-[3-(三氟甲基) 苯基] (2-吡啶基)} 氨基) 唑啉-2,5-二酮 (S01691) ;

[0079] 1-[(7-溴-4-{{4-(苯基羰基) 哌嗪基} 甲基) (2-喹啉基)) 氨基] -3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮 (S01699) ;

[0080] 3-(1- {[6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)] 氨基} -4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基) -N-甲基-N-苯基丙酰胺 (S01759) ;

[0081] 3,4-二甲基-1- {[6-苄基-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)] 氨基} 唑啉-2,5-二酮 (S01762) ;

[0082] 1- {[4-({4-[(2,4-二甲基苯基) 羰基] 哌嗪基} 甲基) -7-溴 (2-喹啉基)] 氨基} -3,

4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01800)；

[0083] 1-{{7-溴-4-({4-[(4-甲氧基苯基) 羰基] 哌嗪基} 甲基) (2-唑啉基)} 氨基}-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01801)；

[0084] N-[6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)]-N-[4-(羟基甲基)-3-甲基-2,5-二噁唑啉基]乙酰胺(S01820)；

[0085] 1-[(7-溴-4-{{4-(苯基磺酰基) 哌嗪基} 甲基} (2-唑啉基)) 氨基]-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01822)；

[0086] 1-[(4-氯-8-甲基(2-唑啉基)) 氨基]-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S00871)；

[0087] 叔-丁基4-[(2-[(3,4-二甲基-2,5-二噁唑啉基) 氨基]-7-溴-4-唑啉基) 甲基] 氨基] 哌啶羧酸酯(S01862)；

[0088] 叔-丁基4-[4-({2-[(3,4-二甲基-2,5-二噁唑啉基) 氨基]-7-溴-4-唑啉基} 甲基) 哌嗪基] 哌啶羧酸酯(S01928)；

[0089] 1-[(4-{{4-[(3,3-二甲基丁酰基) 哌嗪基] 甲基}-7-溴(2-唑啉基)) 氨基]-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮(S01929)；

[0090] 甲基乙基3-(1-{{6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)} 氨基}-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基) 丙酸酯(S02022)；

[0091] 甲基丙基3-(1-{{6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)} 氨基}-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基) 丙酸酯(S02264)；

[0092] 叔-丁基2-(1-{{6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)} 氨基}-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基) 乙酸酯(S02225)；

[0093] 1-{{6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)} 氨基}-3-(乙氧基甲基)-4-甲基唑啉-2,5-二酮(S02366)；

[0094] 3-丁基-1-{{6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)} 氨基}-4-甲基唑啉-2,5-二酮(S03448)；

[0095] 1-{{6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)} 氨基}-4-甲基-3-[2-(2-甲基(1,3-二氧戊环-2-基)) 乙基] 唑啉-2,5-二酮(S03456)；

[0096] 1-{{6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)} 氨基}-3-[(2-甲氧基乙氧基) 甲基]-4-甲基唑啉-2,5-二酮(S03742)；

[0097] 1-{{6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)} 氨基}-4-(3-羟基己基)-3-甲基唑啉-2,5-二酮(S03552)；

[0098] 1-{{6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)} 氨基}-4-(3-羟基戊基)-3-甲基唑啉-2,5-二酮(S03745)；

[0099] 1-{{6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)} 氨基}-4-甲基-3-[(3-甲基丁氧基) 甲基] 唑啉-2,5-二酮(S03405)；

[0100] 3-(丁氧基甲基)-1-{{6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)} 氨基}-4-甲基唑啉-2,5-二酮(S03518)；

[0101] 3-[(3,3-二甲基丁氧基) 甲基]-1-{{6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)} 氨基}-4-甲基唑啉-2,5-二酮(S03747)；

[0102] 1-{{6-氯-5-(三氟甲基) (2-吡啶基)} 氨基}-3-(2-乙氧基乙基)-4-甲基唑啉-2,

5-二酮(S03960)；

[0103] 1- {[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-4-甲基-3-[(2-甲基丙氧基)甲基]唑啉-2,5-二酮(S03963)；

[0104] 3-[(2,2-二甲基丙氧基)甲基]-1- {[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-4-甲基唑啉-2,5-二酮(S03962)；

[0105] 4-[(1,3-二甲基丁氧基)甲基]-1- {[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-3-甲基唑啉-2,5-二酮(S03964)；

[0106] 4-[(叔-丁氧基)甲基]-1- {[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-3-甲基唑啉-2,5-二酮(S03873)；

[0107] 1- {[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-4-甲基-3-[2-(2-甲基丙氧基)乙基]唑啉-2,5-二酮(S03955)；

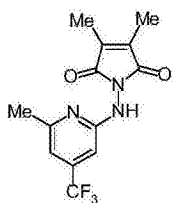
[0108] 1- {[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-4-甲基-3-[2-(3-甲基丁氧基)乙基]唑啉-2,5-二酮(S03956)；

[0109] 1- {[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基}-3-甲基-4-(2-丙氧基乙基)唑啉-2,5-二酮(S04034)；

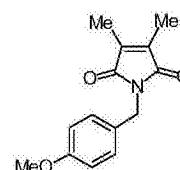
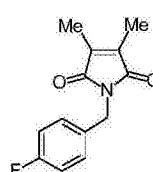
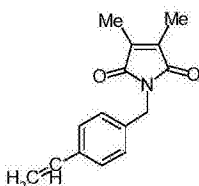
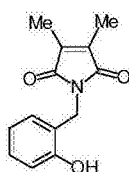
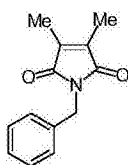
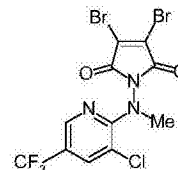
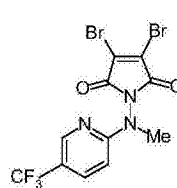
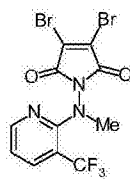
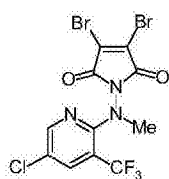
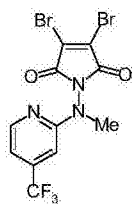
[0110] 或这些化合物中任意一种的盐。

[0111] 本发明的其它实施方式已经被合成和测试,细节将在说明书下文以及此处所示的实施例、表格和图中描述。从说明书、实施例、表格、图和权利要求中可显而易见地得到本发明的其它特征、目标和优势。

[0112] 不主张包含具有如下任意一个结构的化合物的组合物：



[0113]



附图说明

[0114] 图1显示了以所示剂量的化合物S00109 (空心菱形) 和S01860 (实心菱形) 处理24小时后,在G2期被X-线辐射 (10Gy) 预停滞的Jurkat细胞处于G1期的细胞百分比。

[0115] 图2显示了以1 μ M (空心方块) 和0.3 μ M (实心圆) 的化合物S00109处理达24小时的在G2期被X-线辐射 (10Gy) 预停滞的Jurkat细胞中组蛋白H3磷酸化的水平 (%)。

[0116] 图3是免疫印迹的图像,其显示了在依次以X-线辐射 (总剂量10Gy) 和1 μ M的化合物S00109处理Jurkat细胞所示时间后磷酸化 γ H2AX的水平,其中磷酸化 γ H2AX采用抗-磷酸-组蛋白H2AX和10分钟免疫印迹暴露进行检测,从左至右为:M显示了标记的分子量标准;第1道显示了未接受辐射且未经S00109处理的细胞 (对照细胞);第2道显示了辐射后24小时且未经S00109处理的辐射细胞;第3道显示了辐射后48小时且未经S00109处理的辐射细胞;第4道显示了0小时S00109处理的辐射细胞 (辐射后24小时);第5道显示了3小时S00109处理的辐射细胞 (辐射后27小时);第6道显示了9小时S00109处理的辐射细胞 (辐射后33小时);第7道显示了15小时S00109处理的辐射细胞 (辐射后39小时);第8道显示了21小时S00109处理的辐射细胞 (辐射后45小时);第9道显示了24小时S00109处理的辐射细胞 (辐射后48小时)。

[0117] 图4显示了以0-4 μ M浓度 (x-轴) 的化合物S00109处理HCT116细胞后,仅以化合物S00109处理且未经辐射 (0Gy,以空心圆表示) 和以化合物S00109处理结合X-线辐射的细胞 (总剂量1Gy,以实心圆表示;总剂量3Gy,以空心方块表示) 的集落计数 (y-轴),其中该集落计数的减少是细胞生长抑制和/或细胞死亡的量度。

[0118] 图5显示了参照如下以0-10 μ g/ml浓度 (x-轴) 的化合物S00109体外处理ARH-77后处于亚G1期的细胞百分比 (y-轴):仅以在x轴所示浓度的化合物S00109处理的ARH-77细胞 (“仅S109”,以实心菱形和实线表示);以在x轴所示浓度的化合物S00109联合2ng/ml的地塞米松处理的ARH-77细胞 (“Dex2ng/ml”,以空心方块和虚线表示);以在x轴所示浓度的化合物S00109联合20ng/ml的地塞米松处理的ARH-77细胞 (“Dex20ng/ml”,以空心三角和点划线表示);以及以在x轴所示浓度的化合物S00109联合200ng/ml的地塞米松处理的ARH-77细胞 (“Dex200ng/ml”,以空心圆和长虚线表示);其中亚G1期表示细胞死亡。

[0119] 图6显示了腹膜内移植了 1.9×10^6 ARH-77细胞的SCID小鼠在移植后80天的存活分析 (x-轴,移植后的天数;y-轴,小鼠存活%),在移植后第1天、第2天和第3天通过腹膜内注射按如下处理小鼠:对照小鼠以单独的溶媒处理 (“对照”虚线);以50mg/kg化合物S00109处理小鼠 (“S109”实线);和用2mg/kg地塞米松处理小鼠 (“Dexa”点划线)。

[0120] 图7显示了腹膜内移植了 0.8×10^6 ARH-77细胞的SCID小鼠在移植后85天的存活分析 (x-轴,移植后的天数;y-轴,小鼠存活%),在移植后第1天通过单次口服施用按如下处理小鼠:对照小鼠以单独的溶媒口服处理 (“对照”实线);以750mg/kg化合物S00109口服处理小鼠 (“S109”点线);和用750mg/kg化合物S001860口服处理小鼠 (“S1860”虚线)。

[0121] 图8显示了腹膜内移植了 4.1×10^6 ARH-77细胞的SCID小鼠在移植后50天的存活分析 (x-轴,移植后的天数;y-轴,小鼠存活%),在移植后第1天和第2天通过每天一次口服施用按如下处理小鼠:对照小鼠以单独的溶媒每天一次 (两天) 口服处理 (“CONT”实线);以250mg/kg化合物S003518每天一次 (两天) 口服处理小鼠 (“S3518”点线);以250mg/kg化合物S003405每天一次 (两天) 口服处理小鼠 (“S3405”虚线);和用250mg/kg化合物S003747每天

一次(两天)口服处理小鼠(“S3747”点划线)。

[0122] 发明详述

[0123] 定义

[0124] 除非另行说明,此处所用的技术和科学术语的含义等同于本发明所属领域技术人员的普遍理解。除非另行指明,此处所用的如下术语具有对其归纳的含义。

[0125] 此处引用的所有公布、专利和专利申请以及ATCC保藏在此明确地为所有目的引入作为参考。

[0126] 术语“DNA-损伤处理”和“DNA-损伤剂”指直接或间接损伤DNA的任意药剂或处理,包括但不限于,DNA-损伤药物(药剂)、DNA-损伤水平的X、gamma(γ)或UV辐射、各类环境冲击等。可以理解,DNA-损伤处理或DNA-损伤剂可直接作用于DNA(例如,破坏DNA结构或干扰DNA合成)或者可以通过其对DNA合成和复制中涉及的其它细胞系统的影响而间接作用于DNA(例如,破坏或抑制微管或DNA拓扑异构酶的功能)。DNA-损伤剂的具体范例包括但不限于烷化剂、亚硝基脲、抗代谢药物、植物生物碱、植物提取物、放射性同位素、类固醇激素。DNA-损伤剂的其它范例还包括但不限于被称为“DNA-损伤药物”或“抗癌药物”或“抗癌剂”或“DNA-损伤抗癌剂”,例如,5-氟尿嘧啶(5-FU)、卡培他滨、S-1(替加氟、5-氯-2,4-二羟基吡啶和氧嗪酸)、5-乙炔基尿嘧啶、阿拉伯糖胞嘧啶(ara-C)、5-氮胞苷(5-AC)、2',2'-二氟-2'-脱氧胞苷(dFdC)、嘌呤抗代谢物(巯基嘌呤、硫唑嘌呤、硫鸟嘌呤)、吉西他滨(Gemzar®)、硼替佐米(Velcade®)喷司他丁、别嘌呤醇、2-氟-阿糖基-腺嘌呤(2F-ara-A)、羟基脲、硫芥子气(磺酰氮芥)、氮芥、美法兰、美法仑、长春新碱、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、硫替派、AZQ、丝裂霉素C、二去水矛醇、二溴卫矛醇、烷基磺酸酯(白消安)、亚硝基脲(BCNU、CCNU、4-甲基CCNU或ACNU)、甲基苄肼、氮烯咪胺、蝴蝶霉素、蒽环类如阿霉素(亚德里亚霉素;ADR)、道诺红菌素(Cerubicine)、黄胆素(Idamycin)以及表柔比星(Ellence)、蒽环类似物如米托蒽醌、放线菌素D、非嵌入拓扑异构酶抑制剂如表鬼臼毒素(鬼臼亚乙苷=VP16、替尼泊甙=VM-26)、鬼臼毒素、博来霉素(Bleo)、戊糖苷、紫杉烷类、与核酸形成加成物的化合物包括铂衍生物如顺铂(CDDP)、顺铂的反式类似物、卡铂、异丙铂、四铂和奥沙利铂以及喜树碱、托泊替康、依立替康(CPT-11)和SN-38。DNA-损伤处理的具体范例包括辐射,例如,紫外(UV)、红外(IR)、X-线、 α -(alpha)、 β -(beta)或 γ -(gamma)辐射、以及环境冲击,例如,高温。本领域技术人员可以识别和使用其它DNA-损伤剂和处理。

[0127] 术语“本发明的化合物”意在表示具有此处披露的结构和活性的分子。本发明的化合物可以是分离的、纯化的、基本纯化的或者处于包含了其它成分的混合物的组合物中。包含本发明的化合物的组合物的纯度可通过,例如,分析化学技术如高压液相色谱(HPLC)或液相色谱-质谱(LC-MS)或气相色谱-质谱(GS-MS)或本领域技术人员已知的其它分析技术进行测定。此处提供的组合物可包含本发明的一种或多种化合物,并混合合适的溶媒、载体、赋形剂、惰性成分等。如果需要,此处提供的组合物可包含额外的活性成分,包括DNA-损伤剂等,以及本发明的一种或多种化合物,并混合合适的溶媒、载体、赋形剂、惰性成分等。

[0128] 术语“药物组合物”或“药剂”指适于作为例如抗癌剂等药学应用于对象的组合物。该对象可以是任意动物,其中本发明的化合物废除该细胞周期G2关卡和/或引起对G2停滞的适应。具体而言,该对象可以是哺乳动物,例如,马、牛、狗、猫或人。本发明的药物组合物是一种包含了药学有效量的本发明的至少一种化合物和药学可接受的载体的制剂。

[0129] 术语“细胞增殖紊乱”或“增殖性紊乱”或“细胞增殖性紊乱”或“增殖性病症”或“以不想要的细胞增殖为特征的病症”或者任意语法上等同的术语,应理解为表示任意以至少一种细胞的异常或不想要的增殖为特征的任意病理或非病理性生理病症,包括但不限于以不想要的或不良的或异常的细胞增殖为特征的病症,以不想要的或不良的或异常的细胞存活为特征的病症,以及以缺损或异常凋亡为特征的病症。术语“细胞增殖”及其任意语法上等同的术语应理解为同时包括由于细胞分裂而导致的细胞数量上升以及由于细胞生长(例如,通过有丝分裂后子细胞的生长)而导致的细胞总量的上升。“细胞增殖紊乱”或“增殖性紊乱”或“增殖性病症”或“以不想要的细胞增殖为特征的病症”的一个非限制性范例为癌症,例如,癌细胞(例如,与淋巴瘤、骨髓瘤、肉瘤、白血病或其它此处披露和本领域技术人员已知的新生物紊乱相关的细胞)的不想要的或不良的或异常的增殖和存活。

[0130] 术语“杀死或抑制细胞”或“杀死或抑制不想要的增殖细胞”或“杀死或抑制靶细胞”或其任意语法上等同的术语应理解为与有效量的本发明化合物接触的结果。术语“杀死”应理解为指由本发明的化合物对细胞的作用所导致的细胞死亡,特别是不想要的增殖细胞如癌细胞的死亡,其中死亡可由于凋亡、有丝分裂灾变、坏死或其它原因,这取决于细胞的环境。术语“抑制”理解为由本发明化合物对细胞的作用导致的细胞增殖的抑制,其中抑制可以是部分的或是完全的。本发明的化合物可引起细胞的部分抑制,使得细胞停止分裂但继续生长或者该细胞以慢得多的速度分裂或者该细胞以慢得多的速度生长或者癌细胞不能从转移前状态进展至转移性状态等。本发明的化合物可引起完全抑制,其中细胞既不分裂也不生长,特别地,其中不想要的增殖细胞既不分裂也不生长。

[0131] 术语“有效量”或“足量”或任意语法上等同的术语应理解为足以生成至少一种所需作用的本发明化合物的量。有效量可通过多种测量中的任意一种测定,该测量包括但不限于:细胞死亡;减少的细胞增殖;减少的细胞数量;细胞生长的抑制;细胞大小的减小;减少的细胞存活;减少的细胞代谢;凋亡;有丝分裂灾变;对细胞周期停滞的适应(即,从细胞周期停滞中脱离,通常导致重新进入细胞周期);细胞损伤或细胞毒性的标记;细胞损伤或细胞毒性的间接指标如肿瘤缩小;提高的对象存活;或者与不想要的、不良的或异常的细胞增殖相关的标记的消失。例如,当需要抑制特定细胞或细胞类型的不想要的增殖时,有效量将是该细胞或细胞类型可测地减少细胞分裂或减少细胞代谢或增加细胞死亡或减少细胞存活的量。所需的作用可以是选择性的作用,例如,“有效量”是杀死或抑制靶细胞同时对非靶细胞不具有或具有较少的细胞毒性作用的量或者在患有细胞增殖性紊乱的对象中产生所需的治疗性效果同时对该对象不具有或具有较少的副作用的量。细胞增殖紊乱可通过施用本发明的有效量的至少一种化合物进行治疗,其中该有效量的至少一种化合物可被体外施用或间接体内施用以处理细胞或该化合物可被体内施用至患有细胞增殖紊乱的对象。

[0132] 术语“细胞周期G2关卡”或“G2关卡”或任意语法上等同的术语指在细胞周期的G2期末期发生的G2关卡。在DNA合成(S期,DNA复制以准备有丝分裂)和有丝分裂(M期,细胞分裂以生成子细胞)之间的G2“间隙”期中,该细胞继续生长并生成新蛋白。在该G2期末期的该G2关卡为控制关卡,其中检查一系列的因子以确保该细胞准备好进入有丝分裂(M期)。该G2关卡的功能包括检测DNA损伤。如果通过该G2关卡,则启动进入M期。如果该G2关卡检测到DNA损伤,则该G2关卡将生成导致“细胞周期停滞”或“G2细胞周期停滞”或“G2停滞”的信号,该信号限制有丝分裂的发生,直至完成DNA复制和修复,从而防止将DNA损伤传递给子细胞。

可以理解,由于DNA损伤可以引发或激活该G2关卡和特定的G2关卡相关的细胞活动,术语“DNA损伤-诱导的G2关卡”及其语法上等同的术语还可用于特定的环境。可以进一步理解,该DNA损伤-诱导的G2关卡可被DNA-损伤剂或处理所诱导或引发。

[0133] 术语“废除G2关卡”或“废除细胞周期G2关卡”或“G2关卡的废除”或“G2废除”或“G2关卡废除”或“破坏G2关卡”或“抑制G2关卡”或“阻抑G2关卡”或其任意语法上等同的术语意指本发明的化合物废除、破坏、抑制、压制或阻抑该G2关卡的能力。该G2关卡被废除的细胞完全丧失了G2关卡的活性(G2关卡停滞或完全的G2关卡废除)。该G2关卡被废除的细胞可显示该细胞在G2关卡中的时间长度的减少,例如,在合适的条件下G2关卡的持续时间减少数分钟、数小时、数天、数周或更长。例如,G2关卡时间长度的减少将意味着正常在G2中特定时间例如,4小时的细胞,在与本发明化合物接触时,在G2中少于4小时,例如,3.5、3、2.5、2、1小时或更少的时间。因此,“G2关卡废除”指任意程度的对G2关卡的废除。可以理解,G2关卡废除的结果是该细胞将不经DNA修复而进入有丝分裂(M期),这将对未损伤(正常)的细胞没有有害作用或具有很少的有害作用,且这将导致对DNA-损伤细胞的严重副作用,通常导致细胞由于凋亡、有丝分裂灾变或坏死而死亡。

[0134] “细胞周期停滞”或“G2细胞周期停滞”或“G2停滞”或“G2-M细胞周期停滞”或其任意语法上等同的术语指细胞不退出G2进入有丝分裂(M期)从而使该细胞被认为“停滞”在G2期的状态。G2细胞周期停滞通常可在DNA-损伤细胞如许多癌细胞中观察到。G2细胞周期停滞可源于一系列细胞活性中的任意一种,包括但不限于该G2关卡的特定活性。在许多癌细胞中发现的DNA损伤可引发G2细胞周期停滞。G2细胞周期停滞可通过以DNA-损伤剂如亚德里亚霉素、多柔比星或苯达莫司汀(烷化剂)或DNA-损伤处理如以引发剂量的X、gamma(γ)或UV辐射进行照射(有时被称为“辐射-诱导的G2停滞”)以进行诱导或增强。

[0135] “适应”或“对细胞周期停滞的适应”或“对G2细胞周期停滞的适应”或“对G2停滞的适应”指消散或废除G2细胞周期停滞,从而使之前停滞的细胞重新进入细胞周期。对G2细胞周期停滞的适应同样指从G2细胞周期停滞中脱离。本发明的化合物可引起G2-停滞细胞中对G2细胞周期停滞的适应。根据本发明的一个方面,“适应”或“对细胞周期停滞的适应”或“对G2细胞周期停滞的适应”或“对G2停滞的适应”可指从由G2关卡激活引起的G2细胞周期停滞状态(具体而言,由DNA-损伤-诱导的G2关卡激活引起的G2细胞周期停滞)中脱离。可以理解,对G2细胞周期停滞的适应导致之前的G2-停滞细胞不经修复该引发G2停滞的DNA损伤而重新进入细胞周期。DNA-损伤细胞重新进入周期的对G2细胞周期停滞的适应通常导致细胞因凋亡、有丝分裂灾变或坏死而死亡。由于在DNA损伤后促进细胞周期G2停滞的机制在从酵母到人类的物种间较为保守,可以理解本发明的化合物可引起多种物种中对G2细胞周期停滞的适应,特别是在所有的真核物种中。

[0136] 尽管本发明化合物的G2关卡-废除活性与引起对G2细胞周期停滞适应的能力相关,可以理解本发明的化合物可通过其它与G2关卡废除无关的机制引起对G2细胞周期停滞的适应。因此,取决于具体的环境且不希望受限于本定义,G2关卡的废除可指(至少部分指)废除细胞将细胞周期停滞在G2关卡的能力,导致对G2细胞周期停滞的适应。具体而言,本发明的化合物在通常引发G2细胞周期停滞的条件下对该DNA损伤-诱导的G2关卡的废除可包括在引发G2细胞周期停滞中涉及的G2-关卡-生成信号的废除。

[0137] 如本领域所理解的,术语“凋亡”指程序性细胞死亡,以及相关的细胞生理的变化,

包括核酸片段化、半胱天冬酶激活、染色体凝聚等。

[0138] 术语“有丝分裂灾变”指由有丝分裂过程中的一个或多个错误导致的细胞死亡。

[0139] 术语“坏死”指通常由损伤或意外导致的细胞死亡,其特征通常为细胞肿胀、染色质消化、质膜和细胞器膜的破坏、DNA水解、内质网的液泡化、细胞器破坏以及细胞溶解。

[0140] 术语“对象”应理解为指动物,通常为哺乳动物,例如灵长动物(人、猿、长臂猿、黑猩猩、猩猩、猕猴),驯养动物(狗和猫),畜牧动物(马、牛、山羊、绵羊、猪)以及实验动物(小鼠、大鼠、兔子、豚鼠)。对象包括动物疾病模型(例如,肿瘤多发小鼠、肿瘤携带小鼠或接受异种移植物肿瘤的小鼠)。

[0141] 除非上下文另行明确指出,此处所用的单数形式的“一种”、“一个”和“该”包括复数含义。因此,例如,“一种化合物”包括多个化合物,而“残基”或“氨基酸”包括一种或多种残基和氨基酸。

[0142] 化学术语

[0143] “烷基”指脂肪族烃基团。烷基基团可被可选地取代。“取代的烷基”指被一个或多个取代基如卤素(C1、Br、F、I)、C3至C7环烷基、可选地取代的芳基、可选地取代的杂芳基、C1至C6烷氧基、可选地取代的芳氧基、羟基、可选地取代的氨基、可选地取代的环氨、硝基、硫代、氰基、氧代、C1至C7酰基、C1至C7酰氧基、羧基、C1至C6烷氧基羰基、可选地取代的氨甲酰基、可选地取代的环氨羰基、β-巯基、C1至C4烷硫基、C1至C4烷基亚磺酰基或C1至C4烷基磺酰基基团所取代的烷基基团。取代的烷基基团可具有一个、两个、三个、四个、五个或多个取代基,而多取代的烷基基团可被相同或不同的取代基所取代。该烷基基团可以是不具有任何烯或炔部分的饱和烷基,或者是具有至少一个烯或炔部分的不饱和烷基。“烯”部分指由至少两个碳原子和至少一个碳碳双键组成的基团,而“炔”部分指由至少两个碳原子和至少一个碳碳三键组成的基团。该取代的或未取代的、饱和或不饱和的烷基部分可以是带支链的、直链的或是环状的。典型的烷基基团包括,但绝不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、己基、乙炔基、丙炔基、丁炔基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基,等等。

[0144] “烷氧基”指OR基团,其中R为烷基或取代的烷基。优选地烷氧基基团为“C1至C6烷氧基”如甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基,以及类似基团。

[0145] 术语“烷硫基”指硫化物基团如甲硫基、乙硫基、正丙硫基、异丙硫基、正丁硫基、叔丁硫基,以及类似基团。术语“烷基亚砷”指甲基亚砷、乙基亚砷、正丙基亚砷、异丙基亚砷、正丁基亚砷、仲丁基亚砷,等等。术语“烷基磺酰基”包括例如甲基磺酰基、乙基磺酰基、正丙基磺酰基、异丙基磺酰基、正丁基磺酰基、叔丁基磺酰基等基团。

[0146] “酰基”包括通过羧基基团与其它基团偶联的烷基、杂烷基、烯基、杂烯基、炔基、杂炔基、芳基或杂芳基基团,例如-C(O)-烷基或-C(O)-芳基。优选的酰基基团为C1至C7酰基如甲酰基、乙酰基、丙酰基、丁酰基、戊酰基、特戊酰基、己酰基、庚酰基、苯甲酰基,等等。

[0147] 术语“酰胺”指具有式C(O)NHR或NHC(O)R的基团,其中R为可选地取代的并选自烷基、环烷基、芳基、杂芳基(通过环碳连接)以及杂脂环(通过环碳连接)。本发明的化合物上的任意胺、羟基或羧基侧链均可被酰胺化。

[0148] “芳基”或“芳香族”指至少一个环结构具有共轭pi电子系统(即,在通过环系统的电子分布上具有芳香性的特征)的基团。芳基可被可选地取代。典型地,该环系统在每个环

中包含5-12个环原子。芳基基团可以是单环或稠环多环芳基。芳基基团可以是碳环芳基,其中所有的环原子均为碳,例如,苯基。芳基基团可以是包含了至少一个环杂原子如氧、硫和/或氮的杂芳基或杂环芳基。杂环芳基基团可以是单环或者多环的。杂芳基的范例包括马来酰亚胺基、咪唑基、吡啶基、吡咯烷基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、吡咯基、呋喃基、噁唑基、二噁唑基、异噁唑基、酞酰亚胺基、噻唑基,等等。芳基基团可与其它芳基基团或非芳基(非芳香族)基团稠合。

[0149] 所述“可选地取代的氨基”和“可选地取代的氨甲酰基”的取代基的范例可以是苯基、取代的苯基、C1至C6烷基、C1至C6取代的烷基、C2至C7烯基、C2至C7取代的烯基、C2至C7炔基、C2至C7取代的炔基、C7至C12苯基烷基、C7至C12取代的苯基烷基、杂芳基、C1至C6烷基、C1至C6取代的烷基、C1至C7酰基、C1至C7烷氧基羰基、可选地取代的氨甲酰基、C1至C4烷基磺酰基,等等。该“可选地取代的氨基”和“可选地取代的氨甲酰基”为通过相同或不同的取代基单取代的或是双取代的。

[0150] “烷氧基羰基”指与羰基基团连接的“烷氧基”基团。

[0151] “环烷基”指仅包含碳和氢的单环或多环基团,该基团可以是饱和的、部分不饱和的或全不饱和的。环烷基基团可被可选地取代。优选的环烷基基团包括具有三至十二个环原子、更优选地5至10个环原子的基团。

[0152] “可选地取代的环氮”中的“环氮”指包含至少一个环氮的环状基团,包括哌嗪代、吗啉代、哌啶代、吡咯烷代,等等。

[0153] “可选地取代的环氮羰基”中的“环氮羰基”包括哌嗪代羰基、吗啉代羰基、哌啶代羰基、吡咯烷代羰基,等等。

[0154] “可选地取代的烷氧基”、“可选地取代的烷硫基”、“可选地取代的芳基”、“可选地取代的芳氧基”、“可选地取代的芳硫基”、“可选地取代的酰基”、“可选地取代的杂芳基”、“可选地取代的烷硫基”、“可选地取代的烷基亚磺酰基”、“可选地取代的烷基磺酰基”、“可选地取代的烷氧基羰基”、“可选地取代的环氮”和“可选地取代的环氮羰基”的取代基可采用与“取代的烷基”相同的方式定义取代基。

[0155] “卤素”指氟、氯、溴或碘原子。在化合物中可存在一个或多个卤素,其中该卤素可以相同或不同。

[0156] 本发明的化合物的实施方式可具有一个或多个手性中心且每个中心以R或S构型存在,因而本发明包括了所有的非对映的、对映的和差向异构形式及其合适的混合物。本发明的实施方式可作为几何异构体存在,从而使本发明包括了所有的顺式、反式、共、抗、异侧(E)和同侧(Z)异构体,及其合适的混合物。

[0157] 本发明的化合物可与药学可接受的溶剂如水、乙醇等以不溶解的和溶解的形式存在。一般而言,该溶解形式和该不溶解形式就本发明的目的而言被认为是等同的。

[0158] 此处披露的任意的盐包括无机碱的盐、有机碱的盐、无机酸的盐、有机酸的盐以及碱性或酸性氨基酸的盐。

[0159] 除非另行说明,当取代基被视为是“可选地取代的”,则表示该取代基为可被一种或多种此处所述或本领域技术人员已知的基团所取代的基团。

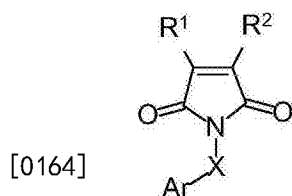
[0160] 本发明化合物的描述与本领域技术人员已知的化学键接的原理一致。相应地,当基团可被一系列取代基的一个或多个所取代时,该种取代基的选择应当符合化学键接的原

理并给予在环境条件(例如,水性、中性、生理条件)下并非天然不稳定的和/或本领域普通技术人员已知可能不稳定的化合物。

[0161] 应当理解,本发明的化合物可由本领域技术人员通过不同于此处所用的术语的用词进行描述,而不影响本说明书的准确性。化合物、结构、取代基、基团等等可通过如下任意的方式描述:IUPAC命名法;化学名“常用”或“通用”名称;商品名;CAS登记号;SMILES符号;或者其它的描述。例如,此处描述为“取代的吡咯二酮”或“取代的唑啉二酮”的本发明的化合物可以替代性地被描述为“取代的马来酰亚胺”或“取代的2,5-吡咯二酮”或“取代的吡咯”以及其它的描述,优选地参照标准化的化学术语,从而提供对一种或多种发明化合物的完整描述。

[0162] 取代的吡咯二酮化合物

[0163] 本发明提供了取代的吡咯(唑啉)二酮化合物,其可用于杀死或抑制DNA-损伤细胞或治疗以不想要或不良的细胞增殖为特征的细胞增殖紊乱,其中本发明的化合物可通过结构(I)的式进行描述:



(I)

[0165] 其中

[0166] 结构(I)包含唑啉二酮杂环;

[0167] R^1 和 R^2 独立地选自烷基、取代的烷基、可选地取代的烷氧基、可选地取代的烷硫基、卤素、可选地取代的芳基、可选地取代的芳氧基、可选地取代的芳硫基或H。 R^1 和 R^2 两者还可作为形成稠环结构的环状亚烷基链的一部分;

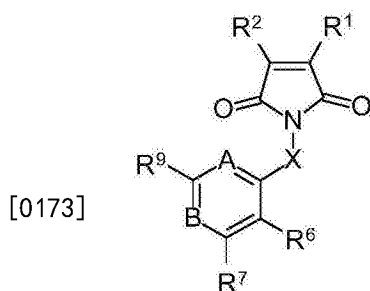
[0168] X为O、S、 NR^3 或 CR^4R^5 ;

[0169] Ar为芳基或取代的芳基,包括碳环芳基、杂环芳基、单环芳基、多环芳基以及与非芳基(非芳香族)环稠合的芳基;

[0170] R^3 为H、烷基、取代的烷基、可选地取代的酰基或作为将N与Ar环连接的结构的一部分;

[0171] R^4 和 R^5 独立地选自H、烷基、取代的烷基或两者都是形成环结构的环状亚烷基链的一部分; R^4 和 R^5 还可作为与该Ar环连接的结构的一部分;或其盐。

[0172] 一方面,本发明的化合物具有结构(II):



(II)

[0174] 其中

[0175] 结构(II)包含唑啉二酮杂环；

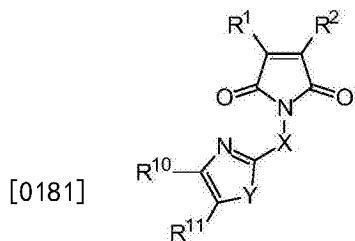
[0176] R^1 、 R^2 和X如上文定义；

[0177] A为N或CH；

[0178] B为 CR^8 或N；

[0179] R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 独立地选自H、烷基、取代的烷基、卤素、可选地取代的芳基、可选地取代的杂芳基、可选地取代的烷氧基、可选地取代的芳氧基、氰基、硝基、可选地取代的烷硫基、可选地取代的烷基亚磺酰基、可选地取代的烷基磺酰基、可选地取代的芳硫基、可选地取代的酰基、可选地取代的氨基、羧基、可选地取代的烷氧基羰基、可选地取代的氨甲酰基等；还包括这样的结构，其中两个邻近的取代基(R^6 和 R^7 或 R^7 和 R^8 或 R^8 和 R^9)为形成稠环结构的环状亚烃基基团的一部分；或其盐。

[0180] 一方面，本发明的化合物具有结构(III)：



(III)

[0182] 其中

[0183] 结构(III)包含唑啉二酮杂环；

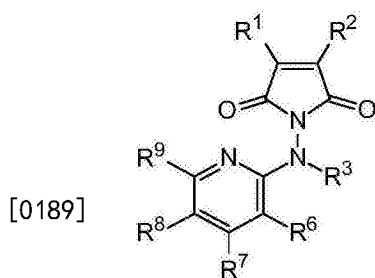
[0184] R^1 、 R^2 和X如上文定义；

[0185] Y为O、S或 NR^{12} ；

[0186] R^{10} 和 R^{11} 独立地选自H、烷基、取代的烷基、卤素、可选地取代的芳基、可选地取代的杂芳基、可选地取代的烷氧基、可选地取代的芳氧基、氰基、硝基、可选地取代的烷硫基、可选地取代的烷基亚磺酰基、可选地取代的烷基磺酰基、可选地取代的芳硫基、可选地取代的酰基、可选地取代的氨基、羧基、可选地取代的烷氧基羰基、可选地取代的氨甲酰基等； R^{10} 和 R^{11} 还可成为与杂环结构形成“稠”环的亚烃基基团；

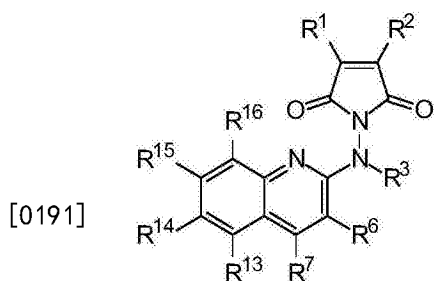
[0187] R^{12} 为H、烷基、取代的烷基、芳基、酰基或磺酰基基团；或其盐。

[0188] 在具有结构 (II) 的化合物的特定非限制性实施方式中, X为 NR^3 , A为N, 且B为 CR^8 , 且化合物具有结构 (IV), 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 如上文定义:



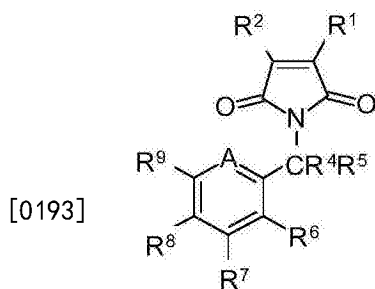
(IV)

[0190] 在具有结构 (II) 的化合物的特定非限制性实施方式中, X为 NR^3 , A为N, B为 CR^8 ; R^8 和 R^9 形成稠合并取代的苯环, 提供了具有结构 (V) 的化合物, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^6 和 R^7 如上文定义; R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 如上文对 R^6 - R^{11} 的定义:



(V)

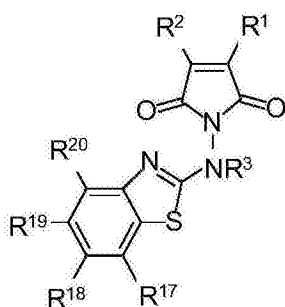
[0192] 在具有结构 (II) 的化合物的特定非限制性实施方式中, X为 CR^4R^5 , A为N或CH, 且B为 CR^8 , 提供了具有结构 (VI) 的化合物, 其中 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 如上文定义:



(VI)

[0194] 在具有结构 (III) 的化合物的特定非限制性实施方式中, X为 NR^3 , 且Y为S; R^{10} 和 R^{11} 形成稠合并取代的苯环, 提供了具有结构 (VII) 的化合物, 其中 R^1 、 R^2 和 R^3 如上文定义; R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 和 R^{20} 如上文对 R^6 - R^{11} 的定义:

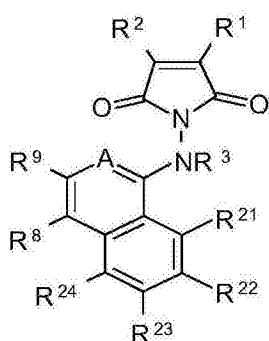
[0195]



(VII)

[0196] 在具有结构(II)的化合物的特定非限制性实施方式中, X为NR³, A为N或CH, 且B为CR⁸, ; R⁶和R⁷形成稠合并取代的苯环, 提供了具有结构(VIII)的化合物, 其中R¹、R²、R³、R⁸和R⁹如上文定义; R²¹、R²²、R²³和R²⁴如上文对R⁶-R¹¹的定义:

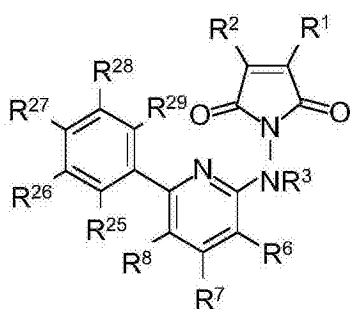
[0197]



(VIII)

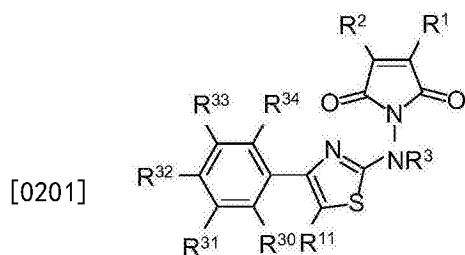
[0198] 在具有结构(II)的化合物的特定非限制性实施方式中, X为NR³, A为N, 且B为CR⁸; R⁹为取代的苯环, 提供了具有结构(IX)的化合物, 其中R¹、R²、R³、R⁶、R⁷和R⁸如上文定义; R²⁵、R²⁶、R²⁷、R²⁸和R²⁹如上文对R⁶-R¹¹的定义:

[0199]



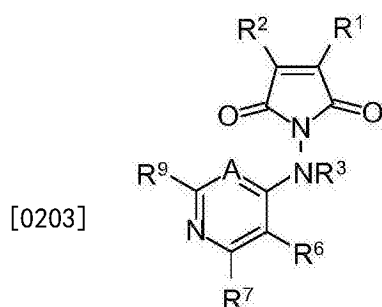
(IX)

[0200] 在具有结构(III)的化合物的特定非限制性实施方式中, X为NR³, 且Y为S; R¹⁰为取代的苯环, 提供了具有结构(X)的化合物, 其中R¹、R²、R³和R¹¹如上文定义; R³⁰、R³¹、R³²、R³³和R³⁴如上文对R⁶-R¹¹的定义:



(X)

[0202] 在具有结构 (II) 的化合物的特定非限制性实施方式中, X 为 NR^3 , A 为 N 或 CH, 且 B 为 N, 提供了具有结构 (IV) 的化合物, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^6 、 R^7 和 R^9 如上文定义:



(XI)

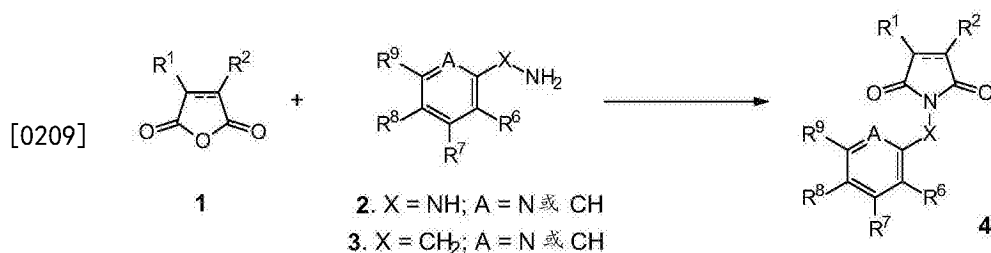
[0204] 代表性的化合物显示于此处的表 1、2 和 3 中。通常可以理解, 表 1、2 和 3 中所披露的化合物仅为阐述目的, 绝非限制本发明的范围。

[0205] 代表性的合成路线图

[0206] 用于合成具有结构 (I) 至 (XI) 中任意一个的本发明的化合物的代表性路线图显示于下文。此处所示的代表性路线图不以任何方式限制本发明的范围。可以理解, 本领域技术人员可采用此处提供的方法和/或本领域已知的不同的方法来合成本发明范围内的其它化合物, 包括具有不同取代作用或取代方式的类似物。进一步可以理解, 尽管观察到特定的取代作用可生成比其它结构具有更高活性的结构, 本发明提供了具有所有活性水平的所有取代作用的化合物。

[0207] 在方法 1 (路线图 1), 酸酐 (1) 与取代的肼 (2) 或苄基胺 (3) 反应形成具有下文 (4) 所示的一般结构的化合物:

[0208] 路线图 1

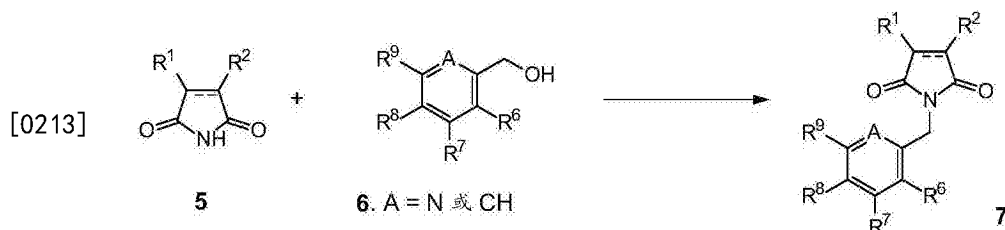


[0210] 该反应可在常见的有机溶剂如 THF、氯仿、DMF、乙酸等之中, 在环境温度至升高的温度范围内的温度下进行, 反应时间从数小时至数天。通常不需要其它的添加剂。所需的酸

酞和肼/苄基胺可从商业来源购买或者通过文献中已知的步骤合成。当起始原料不能从文献中获知时,可如实施例所述的特定合成开发合成方法。

[0211] 在方法2(路线图2)中,酰亚胺(5)与苯甲醇(6)在典型的Mitsunobu条件下反应形成具有下文(7)所示的一般结构的化合物:

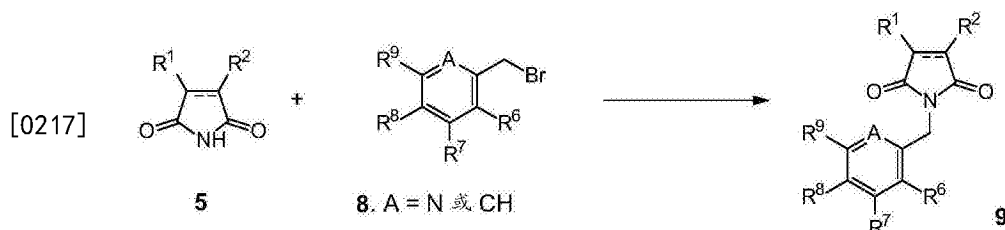
[0212] 路线图2



[0214] 典型的Mitsunobu条件包括使用膦(三苯基膦,三丁基膦等)和偶氮化合物(二乙基偶氮-二羧酸酯,二异丙基偶氮-二羧酸酯等)。该反应可添加碱(通常为三乙胺)或不添加碱在溶剂(如THF)中在环境温度或升高的温度下进行数小时。所需的酰亚胺和苯甲醇可从商业来源购买或者通过文献中已知的步骤合成。当起始原料不能从文献中获知时,可如实施例所述的特定合成开发合成方法。

[0215] 在方法3(路线图3)中,酰亚胺(5)与苄基溴(8)在典型的亲核取代反应条件下反应形成具有下文(9)所示的一般结构的化合物:

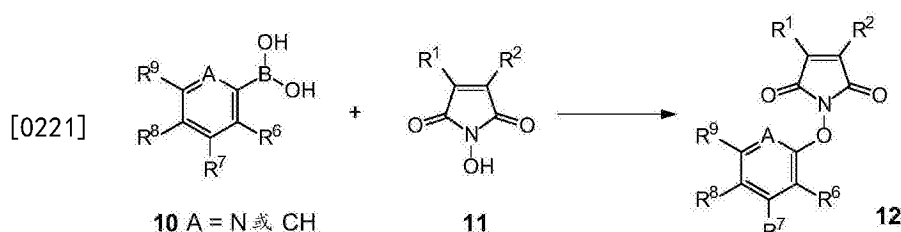
[0216] 路线图3



[0218] 典型的反应条件为:在添加的碱(碳酸钾、碳酸铯等)的存在下在合适的溶剂(丙酮、DMF等)中回流数小时至数天。所需的酰亚胺和苄基溴可从商业来源购买或者通过文献中已知的步骤合成。当起始原料不能从文献中获知时,可如实施例所述的特定合成开发合成方法。

[0219] 在方法4(路线图4)中,芳基硼酸(10)与N-羟基酰亚胺(11)在Cu(I)介导的偶联条件下反应形成具有下文(12)所示的一般结构的化合物:

[0220] 路线图4



[0222] 典型的反应条件为:在室温下于合适的溶剂(DCE、THF、DMF等)中在添加的碱(吡啶、三乙胺等)的存在下添加Cu(I)类物质如CuCl搅拌数小时至过夜。所需的芳基硼酸和N-羟基酰亚胺可从商业来源购买或者通过文献中已知的步骤合成。当起始原料不能从文献中

获知时,可如实施例中所所述的特定合成开发合成方法。

[0223] 特定实施方式的合成披露于实施例中。在表1和2中作为实施方式显示的代表性合成化合物仅为阐述目的,并非限制此处披露的发明的范围。

[0224] 本发明化合物的生物活性

[0225] 本发明提供了取代的化合物以治疗细胞增殖紊乱。本发明提供了能够用于杀死或抑制不想要的增殖细胞的化合物。本发明提供了能被用于通过选择性杀死或抑制不想要的增殖细胞来治疗细胞增殖紊乱的化合物。本发明提供了能被用于通过选择性杀死或抑制不想要的增殖细胞来治疗细胞增殖紊乱的化合物,其中该细胞具有累积的DNA损伤(“DNA损伤细胞”)。在正常细胞和不想要的增殖细胞的混合群体中,本发明的化合物可用于选择性地杀死或抑制不想要的增殖细胞,同时对正常细胞不具有或具有很小的细胞毒性作用。在正常细胞和不想要的增殖DNA-损伤细胞的混合群体中,本发明的化合物可用于选择性地杀死或抑制不想要的增殖DNA-损伤细胞,同时对正常细胞不具有或具有很小的细胞毒性作用。具体而言,本发明的化合物可用于选择性的杀死癌细胞或抑制癌细胞的增殖,同时对“正常”非癌细胞不具有或具有很小的细胞毒性作用。本发明提供了使用本发明的化合物选择性靶向DNA-损伤细胞的方法。本发明提供了使用本发明的化合物选择性靶向具有损伤的G1细胞周期关卡的细胞的方法。本发明提供了使用本发明的化合物选择性靶向癌细胞的方法。

[0226] 对细胞增殖紊乱的常规治疗通常包括本文别处所述的DNA-损伤剂和处理。这些常规治疗(通常用作抗癌治疗)被选择用于快速杀死循环(增殖)细胞,从而希望杀死该增殖紊乱特有的不想要的增殖细胞。该种常规治疗的方法包括,但不限于,细胞毒性剂和/或通过 α 、 β 、 γ 、X-和/或UV辐射的照射。然而,常规治疗通常导致患者遭受对通常增殖的正常细胞的副作用,例如,由于对肠道上皮细胞的损伤导致的腹泻、由于对毛囊细胞的损伤导致的脱发、由于对血液祖细胞的损伤引起的贫血,这些细胞都属于正常体内最快速增殖的细胞。这些副作用常常妨碍了治疗。因此,临床上一一直期待能够特异性靶向不想要的增殖细胞如癌细胞而不伤害正常细胞的药剂。

[0227] 尽管本发明不限于任意特定的作用机制,且不希望受限于该理论,本发明的化合物将通过在增殖细胞中废除G2关卡和/或在G2-停滞细胞中引起对G2细胞周期停滞的适应来杀死或抑制不想要的增殖细胞。因此,本发明提供了通过将不想要的增殖细胞与至少一种数量上足以废除G2细胞周期关卡和/或引起对G2细胞周期停滞的适应的本发明化合物相接触,以杀死或抑制该细胞的方法。

[0228] 不希望受限于该理论,对DNA-损伤细胞中G2关卡的废除将导致该DNA-损伤细胞不经DNA损伤修复而进展通过该细胞周期。同样地,在DNA-损伤细胞中对G2细胞周期停滞的适应将导致之前停滞的DNA-损伤细胞不经DNA损伤修复而进入有丝分裂。通常可以理解,正常细胞依赖于将G1关卡作为主要的关卡在细胞周期中检测DNA损伤或缺陷,且不常用G2关卡来检测DNA损伤或缺陷,而具有损伤或缺陷的G1关卡的细胞,例如,多数癌细胞,则依赖G2关卡检测DNA损伤或缺陷,并在细胞进入有丝分裂之前启动修复。因此,在G1关卡受损的细胞中对G2关卡的废除将导致该细胞不经对累积DNA损伤的任何修复而进展通过细胞周期。同样地,在具有受损G1关卡的细胞中对G2细胞周期停滞的适应将导致之前停滞的细胞不经对累积DNA损伤的任何修复而进入有丝分裂。术语“DNA损伤”应理解为包括与G1关卡无关的

DNA损伤以及由受损G1关卡导致的DNA损伤,因而具有受损G1关卡的细胞可被认为是“DNA-损伤细胞”。在所有上述情况下,不经修复DNA损伤而进展通过细胞周期预期会导致DNA-损伤细胞的抑制或死亡。

[0229] 尽管本发明不限于特定的作用机制,据观察本发明的化合物可以废除增殖细胞中的G2关卡,并能引起对G2细胞周期停滞的适应。对增殖DNA-损伤细胞中的G2关卡的废除允许该DNA-损伤细胞不经过充分的DNA损伤修复而进展通过G2并进入有丝分裂。对DNA-损伤细胞的G2停滞的适应导致之前停滞的DNA-损伤细胞重新进入该细胞周期,允许该DNA-损伤的细胞不经过充分的DNA损伤修复而进入有丝分裂。进一步可以理解,如果DNA-损伤细胞继续进展至具有受损的G1关卡的细胞周期中并进入S期,则可以预期额外的损伤、缺陷和错误。在所有上述情形下,损伤的累积将导致凋亡、有丝分裂灾变、坏死或细胞抑制。由于多数癌细胞具有DNA损伤和/或受损的(缺陷的)G1关卡,本发明的化合物可用于杀死或抑制癌细胞,因为对G2关卡的废除或对G2停滞的适应将对癌细胞具有细胞毒性作用,例如,癌细胞的死亡或抑制。

[0230] 对于没有DNA损伤的正常细胞,预期本发明化合物对细胞周期G2关卡的废除将没有或具有很小的细胞毒性作用。此外,没有DNA损伤的正常细胞不太可能处于G2停滞,可以预期本发明的化合物引起对G2停滞的适应的能力将不具有或具有很小的细胞毒性作用。因此,在包括了不想要的增殖DNA-损伤细胞和正常细胞的群体中,本发明的化合物可用于选择性地杀死或抑制DNA-损伤细胞,同时对正常细胞不具有或具有很小的细胞毒性作用。在包括了不想要的增殖癌细胞和正常细胞的群体中,本发明的化合物可用于选择性地杀死或抑制癌细胞,同时对正常细胞不具有或具有很小的细胞毒性作用。

[0231] 本发明化合物处理细胞的用途

[0232] 任意进行不想要的增殖的细胞可通过本发明的化合物进行体外、间接体内或体内处理。候选细胞可通过如下方式鉴定:将测试细胞与单独或联合DNA-损伤处理或其它抗癌处理的本发明的化合物相接触,测定该接触的细胞是否显示减少的增殖、增加的细胞死亡或对细胞周期停滞的适应。可用于鉴定候选细胞的特征包括但不限于,DNA损伤、异常生长或增殖(体内或体外)细胞形态或癌症标志物的表达。对增殖性紊乱如癌症的临床诊断可作为将通过本发明化合物进行体外、间接体内或体内处理的细胞的依据。

[0233] 细胞可通过本发明的化合物进行体外处理。细胞可从对象中取出,采用本发明的化合物进行间接体内处理,并返回该对象。细胞可采用本发明的化合物进行体内处理,其中本发明的化合物可全身(例如,口服或静脉)或通过靶向施用方法(例如,注射至肿瘤位点、腹腔内注射或将本发明的化合物与能够靶向至少一种待治疗细胞的传递装置如配体、抗体、笼状分子或脂质体相连接)施用至对象。

[0234] 本发明化合物治疗对象的用途

[0235] 适于通过本发明的化合物治疗的对象包括正进行细胞增殖紊乱治疗的对象或进行细胞增殖紊乱治疗的候选者,例如,正进行抗癌治疗或指定为抗癌治疗候选者的对象。适于治疗的对象包括患有细胞增殖紊乱(例如,诊断为癌症)的对象。候选对象包括易于形成细胞增殖紊乱的对象。因此,本发明的方法适用于治疗具有形成细胞增殖紊乱风险但尚未显示该紊乱的明显症状和/或尚未接受细胞增殖紊乱的诊断的对象。

[0236] 本发明化合物治疗细胞增殖紊乱的用途

[0237] 适于采用此处提供的组合物和方法进行治疗的细胞增殖紊乱包括良性和新生的病理病症(疾病)以及非病理性生理病症,其特征为异常的或不想要的细胞数量、细胞生长或细胞存活。病理性紊乱或病症可构成疾病状态,特别是所有类型的癌症,包括癌症性生长、致癌过程、转移、转移性细胞和组织以及恶性转化的细胞、组织或器官。细胞增殖紊乱可以是非病理性的,包括部分类型的纤维化组织生长(例如,在伤口修复留疤过程中)、特性的血管增殖性紊乱和特定的良性增生。本披露提供了充分的指导和示范性的实施方式,使得本领域技术人员能够识别适于采用此处提供的组合物和方法进行治疗的细胞增殖紊乱,并开发进行该种治疗的方案。

[0238] 包含增殖性紊乱的细胞可聚集在细胞团中或可分散。术语“实体肿瘤”指通常聚集在一起并形成团块的增生、新生或转移。具体的范例包括内脏肿瘤如胃或结肠癌、肝癌、肾癌、肺和脑肿瘤/癌症。“液态瘤”通常指造血系统的瘤形成,例如淋巴瘤、骨髓瘤和白血病或者性质上扩散的瘤形成,因为它们通常不形成实体团块。白血病的具体范例包括急性和慢性成淋巴细胞、成髓细胞和多发性骨髓瘤。

[0239] 该种紊乱包括新生物或癌症,其可实际上影响任意的细胞或组织类型,例如,癌、肉瘤、黑色素瘤、转移性紊乱或造血新生物紊乱。转移性肿瘤可源自多种原发瘤类型,包括但不限于,乳腺、肺、甲状腺、头部和颈部、脑、淋巴、胃肠道(口腔、食道、胃、小肠、结肠、直肠)、泌尿生殖道(子宫、卵巢、子宫颈、膀胱、睾丸、阴茎、前列腺)、肾、胰腺、肝脏、骨骼、肌肉、皮肤等。

[0240] 表示上皮或内分泌组织的恶性肿瘤的癌包括呼吸系统癌、胃肠系统癌、生殖泌尿系统癌、睾丸癌、乳腺癌、前列腺癌、内分泌系统癌和黑色素瘤。示范性的癌包括从子宫颈、肺、前列腺、乳腺、头和颈部、结肠、肝和卵巢形成的癌。该术语还包括癌肉瘤,例如,包括由癌瘤性和肉瘤性组织组成的恶性肿瘤的癌肉瘤。腺癌包括腺组织的癌,或者肿瘤形成腺状结构的癌。

[0241] 肉瘤指间质细胞来源的恶性肿瘤。示范性的肉瘤包括,例如,淋巴肉瘤、脂肪肉瘤、骨肉瘤和纤维肉瘤。

[0242] 此处所用的术语“造血增殖性紊乱”表示涉及造血来源的增生/新生细胞的疾病,例如,源于骨髓、淋巴或红细胞系或其前体细胞。通常而言,该疾病源自于分化较差的急性白血病,例如,成红细胞白血病和急性成巨核细胞白血病。其它的示范性骨髓紊乱包括,但不限于,急性早幼粒白血病(APML),急性骨髓性白血病(AML)以及慢性骨髓性白血病(CML);淋巴恶性肿瘤,包括但不限于,急性成淋巴细胞白血病(ALL),其包括B系ALL和T系ALL,慢性淋巴细胞白血病(CLL),幼淋巴细胞白血病(PLL),毛细胞白血病(HLL)以及沃尔登斯特伦氏巨球蛋白血症(WM)。其它的恶性淋巴瘤包括但不限于,非Hodgkin淋巴瘤及其变体、周边T细胞淋巴瘤、成年T细胞白血病/淋巴瘤(ATL)、皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL)、大颗粒淋巴细胞白血病(LGF)、Hodgkin疾病和Reed-Sternberg疾病。

[0243] 本发明提供了使用本发明的化合物治疗细胞增殖紊乱的组合物和方法。本发明提供了使用本发明的化合物治疗癌症的组合物和方法。本发明提供了使用本发明的化合物杀死或抑制癌细胞的组合物和方法。本发明提供了用于体内、体外和间接体内治疗细胞增殖紊乱的本发明的化合物。本发明提供了用于体内、体外和间接体内治疗癌症的本发明的化合物。本发明提供了用于体内、体外和间接体内杀死或抑制癌细胞的本发明的药物化合物。

本发明提供了用于此处所述所有用途 (包括但不限于, 治疗细胞增殖紊乱、杀死或抑制癌细胞和治疗癌症) 的包含本发明化合物的药物组合物 (药剂)。

[0244] 本发明提供了包括至少一种本发明的化合物联合至少一种额外的活性成分的组合物和方法。本发明提供了用于治疗细胞增殖紊乱的包含至少一种本发明的化合物和至少一种额外的活性成分的药物组合物 (药剂)。具体而言, 本发明提供了包括与至少一种抗癌治疗联合的本发明的化合物的组合物和方法。与本发明化合物联用的术语“抗癌治疗”包括此处披露的任意的抗癌、抗增殖性、DNA-损伤或抗肿瘤治疗, 包括上述引用的“DNA-损伤处理”和“DNA-损伤剂”或本领域已知的任意该种治疗。例如, 抗癌 (抗细胞增殖性、抗肿瘤) 治疗可包括辐射处理或手术切除, 可选地联合药物治疗。该治疗可包括施用化学物质, 例如放射性同位素、抗癌药物如化疗剂或者遗传治疗如抗癌基因 (例如, Rb、DCC、p53等)、显性阴性癌基因或对癌基因的反义。本发明的化合物可在其它治疗方案之前、同时或之后被施用。例如, 抗细胞增殖性疗法 (例如, 放射疗法、化学疗法、基因疗法、手术切除等) 的候选对象可在启动该抗细胞增殖性疗法之前施用本发明的化合物。因此, 可提供预防性治疗方法。

[0245] 如实施例和下文所述的示范性实施方式所示, 本发明的化合物可在体内、间接体内和体外单独或联合使用以治疗细胞增殖紊乱。如实施例和下文所述的示范性实施方式所示, 本发明的化合物可在体内、间接体内和体外单独或联合使用以治疗癌症。如实施例和下文所述的示范性实施方式所示, 本发明的化合物可在体内、间接体内和体外单独或联合使用以杀死或抑制癌细胞。

[0246] 本发明化合物的作用

[0247] 通常施用本发明化合物的“有效量”或“足量”, 其中该量 (浓度、剂量、水平) 足以产生所需的作用。有效量可通过多种量度中的任意一种进行确定, 其包括: 细胞死亡 (例如, 增加处于亚G1期的细胞的百分比)、减少的细胞增殖、减少的细胞数量、减少的细胞量、增加的凋亡、减少的存活或对细胞周期停滞的适应 (脱离细胞周期停滞)。例如, 当想要抑制细胞增殖时, 有效量可以是可测地减少细胞增殖或增加细胞死亡或减少细胞存活的量。因此该量足以减少靶细胞数量、稳定靶细胞数量或抑制靶细胞数量的增加。有效量可以是足以增加患有细胞增殖紊乱的对象的存活时间的量。

[0248] 例如, 当该紊乱包括实体肿瘤时, 本发明化合物的有效量可减少肿瘤大小、稳定肿瘤大小或增加带有该肿瘤的对象存活的时间。如实施例4的示范性实施方式所示, 通过肿瘤宿主存活的急剧增加说明了, 本发明的五 (5) 种代表性化合物显示了在体内对癌细胞的选择性细胞毒性, 且在体内没有对正常细胞的可测的细胞毒性。

[0249] 当该紊乱包括了“液态瘤”时, 本发明化合物的有效量能够减少肿瘤细胞的数量、稳定肿瘤细胞的数量、抑制肿瘤细胞数量的进一步增加或者引起细胞周期停滞的癌细胞重新进入细胞周期 (适应细胞周期停滞)。此外, 本发明化合物的有效量能够防止或抑制增殖性紊乱的进展, 例如, 减少、抑制或防止转移。

[0250] 本发明化合物的有效量可以是产生所需的作用而不产生不可接受的或是不想要的作用的量。本发明化合物的有效量可以是杀死或抑制靶细胞 (例如, 癌细胞) 同时对非靶细胞 (例如, 正常细胞) 不具有或具有较少的细胞毒性作用的量或者在患有增殖性紊乱的对象中产生所需的治疗性效果同时对该对象不具有或具有较少的副作用的量。此外, 本发明化合物的有效量可以是与另一治疗联合时产生所需的作用而不产生不可接受的或是不想

要的作用的量。如实施例7的示范性实施方式和下文的表4-11所示,化合物S00109在可以杀死或抑制癌细胞的浓度下对正常细胞不具有或具有较少的细胞毒性作用。进一步地,如实施例7的示范性实施方式和下文的表4-11所示,化合物S00109可与其它抗癌治疗联用,在对正常细胞不具有或具有较少的细胞毒性作用的S00109浓度下杀死或抑制癌细胞。

[0251] 本发明化合物的有效量可以客观或主观地减少或降低与该紊乱或病症相关的症状的严重性和频率。例如,本发明化合物的有效量可以减少疼痛、恶心或其它不适或者增加胃口或其它主观幸福感。

[0252] 本发明化合物的有效量能够减少另一方案的治疗的量(例如,剂量)和频率。例如,以本发明化合物治疗的癌症患者可能需要较少的抗癌DNA-损伤剂或处理来实现所需的对癌细胞增殖的抑制水平,即,所需的杀死或抑制增殖癌细胞的水平。

[0253] 本发明的方法可导致对象的病症或治疗效果的永久的、长时间的(例如,数月或数年)或者相对较短时间(例如,持续数小时、数天或数周)的改善。有效量不需要实现该病症或紊乱的任意或所有症状的完全消除。任意能够提供一种或多种此处所述或本领域已知的有益效果的有效量可被称为对对象的病症或对该对象的“治疗效果”的“改善”。

[0254] 本发明化合物的有效量可以通过动物研究或可选地通过人类临床试验进行确定。技术人员可以理解多种因素将会影响治疗特定对象所需的剂量和时机,该因素包括,例如,该对象的总体健康、年龄或性别,该紊乱或病症的严重性或阶段,之前的治疗,对不想要的副作用的易感性,所需的临床结果以及其它紊乱或病症的存在。这些因素可影响提供治疗效果的量所需的剂量和时机。给药方案还应当考虑药物代谢动力学,即药物组合物的吸收率、生物相容性、代谢和清除。此外,剂量或治疗方案可针对该对象特别地定制或根据药物基因组学数据进行修改。

[0255] 对DNA-损伤-诱导的G2细胞周期停滞的适应

[0256] 尽管本发明不限于特定的作用机制,据测定本发明的化合物可引起对G2细胞周期停滞的适应。因此,本发明提供了从G2细胞周期停滞中废除或脱离(特别是从由DNA损伤引发的G2细胞周期停滞)的组合物和方法。在DNA-损伤的细胞中,该DNA-损伤-诱导的G2关卡的功能被理解为包括识别DNA损伤和生成产生细胞周期停滞的信号,从而使DNA-损伤的细胞被停滞在G2期直至修复完成。本发明的化合物可引起处于G2细胞周期停滞的细胞重新进入细胞周期,这可能是通过在G2-停滞细胞中废除DNA-损伤-诱导的G2关卡得以实现。如实施例中的实施方式以及本披露的表格和图所示,本发明的化合物可诱导在G2细胞周期停滞的细胞(即,具有预先存在的DNA损伤的细胞)带着未修复的DNA损伤重新进入细胞周期,通过G2和M期并进入G1(DNA倍增)期,导致通常由有丝分裂突变或凋亡引起的细胞死亡或细胞抑制。

[0257] 在实施例1中所述并显示于图1的示范性实施方式中,Jurkat细胞(从人T细胞淋巴瘤-衍生的细胞系)通过X-线辐射被“预停滞”在G2期并以不同剂量的S00109或S01860进行处理。对G2细胞周期停滞的适应可通过测量处于G1期的细胞的百分比进行确定,其中处于G1的细胞可通过具有2N DNA进行鉴定。在这些实施方式中,暴露至S00109或S01860的细胞显示了处于G1期的细胞百分比的剂量依赖性增长(“G1增量”),这些结果显示暴露0.019 μ M至0.625 μ M浓度下的S00109或S01860引起G2-停滞细胞重新进入细胞周期并进展通过M期并进入G1期。相反地,在未处理(即,没有S00109或S01860暴露)的G2-停滞细胞的群体中仅少

量细胞进入了G1期。

[0258] 其它的由本发明的化合物引起的对G2细胞周期停滞适应的非限制性的示范性实施方式提供于实施例5和6并显示于表1、2和3,其中列举了本发明约144种化合物的结构和IC₅₀值(引起最大G1增量一半时的浓度)。在表1、2和3中提供的广泛数据允许进行结构活性确定。

[0259] 也可根据细胞周期活性的其它测量来显示本发明的化合物废除G2细胞周期和/或引起对DNA-损伤-诱导的细胞周期停滞的适应的能力。在实施例1所述并在图2中显示的示范性实施方式中测量了组蛋白H3磷酸化,其中组蛋白H3磷酸化的上升表示适应(脱离)DNA-损伤-诱导的细胞周期停滞。G2细胞周期停滞由DNA损伤在Jurkat细胞中诱导,即,通过提供10Gy剂量的X线以形成“预停滞”细胞。预停滞细胞被暴露至0.3 μ M或1 μ M的化合物S00109(也称为S109),并在24小时处理期间观察到组蛋白H3磷酸化的明显增加。不希望受限于该理论,推测本发明的化合物通过废除DNA-损伤-诱导的G2关卡引起对DNA-损伤-诱导的细胞周期停滞的适应(脱离)。

[0260] 本发明的化合物对癌细胞具有细胞毒性作用

[0261] 本发明的化合物不经其它的治疗对癌细胞具有细胞毒性作用。因此,本发明提供了不经任意其它的治疗杀死或抑制癌细胞的组合物和方法。在实施例2所述的和图4中所示的示范性实施方式中,人癌细胞暴露至单独的S00109对癌细胞具有剂量依赖性细胞毒性作用,这可通过集落形成测定进行测量(图4,“0Gy”空心圆、实线表示没有辐射处理)。

[0262] 在实施例4所述和图6、7和8所示的非限制性示范性实施方式中,本发明化合物不经其它的抗癌治疗对癌细胞具有细胞毒性作用,且对正常细胞没有细胞毒性作用。在图4的示范性实施方式中,小鼠通过腹腔内移植接受了人骨髓瘤细胞的异种移植物,并测量了本发明化合物对存活率的作用。如实施例4所述和图6、7和8所示,单独以S00109、S01860、S03518、S03405或S03747治疗足以延长具有人骨髓瘤细胞的异种移植物的小鼠的存活,显示S00109、S01860、S03518、S03405或S03747对该异种移植物中的移植癌细胞具有细胞毒性作用。如图6的实施方式所示,以S00109治疗(通过腹腔内注射)比“标准的”地塞米松治疗或不进行治疗对存活具有大得多的治疗效果。如图7和8所示,口服施用本发明的各个代表性化合物形成了存活率的显著上升,其中部分治疗在实验末期具有100%的存活率。如实施例4中测试的五(5)种不同的代表性化合物所示,这些结果证实了本发明的化合物能够具有对癌细胞的选择性细胞毒性,并对正常细胞没有可测的细胞毒性(即,该小鼠肿瘤移植宿主宿主的正常细胞)。如实施例4中测试的五(5)种不同的代表性化合物所示,这些体内结果证实本发明的化合物在体内对癌细胞具有选择性的细胞毒性,并在体内对正常细胞没有可测的细胞毒性。如实施例4中通过不同途径施用的本发明五(5)种不同的代表性化合物所示,这些结果证实本发明的化合物可以有效量施用至对象以治疗对象的增殖性紊乱。

[0263] 本发明的化合物可以使细胞对抗癌治疗敏化

[0264] 本发明的化合物可以增加或强化其它治疗的细胞毒性作用。因此,本发明提供了使细胞对抗癌治疗敏化,特别是使细胞对DNA损伤剂和处理敏化的组合物和方法。在实施例2所述和图4所示的示范性实施方式中,当通过X-线辐射被“预停滞”在G2的人癌细胞也被暴露至S00109时,通过集落形成测定测得该组合处理对细胞具有更高的细胞毒性作用。在图4中,本发明化合物的敏化作用在接受1Gy剂量(“1Gy”实心圆,虚线)并以不同剂量S00109处

理的细胞上得到了最好的体现,其中S00109显示了对细胞毒性的剂量依赖型加性作用。在实施例3所述和图5所示的示范性实施方式中,由处于亚G1期的细胞百分比(即,死亡细胞百分比)测得,S00109和地塞米松的组合处理比任何一种单独处理具有大得多的细胞毒性。

[0265] 在实施例2所述和图3所示的示范性实施方式中,磷酸化 γ -H2AX的表达作为细胞毒性的指标被测定。以单独的X-线-辐射处理的细胞在48小时期间内显示了磷酸化 γ -H2AX表达的上升。本发明化合物的敏化或“加性”作用可在以X-线-辐射处理后暴露至1 μ M S00109的细胞(在图示中显示为“S-109+”)中看到,该处理在48小时期间内导致了明显更高水平的磷酸化 γ -H2AX表达,显示由S00109施用导致的明显更高水平的细胞毒性。

[0266] 本发明的化合物对癌细胞具有选择性细胞毒性

[0267] 根据本发明的另一方面,本发明的化合物可以选择性杀死或抑制靶细胞,特别是癌细胞,而对正常(非靶向)细胞不具有或具有很少的细胞毒性作用。大多数常规的抗癌细胞靶向增殖细胞,而不管它们是癌细胞还是正常细胞,其结果是多数常规的抗癌药剂产生了如恶心、腹泻或脱发等副作用。相反地,本发明的化合物选择性地靶向具有例如受损的G1关卡、G2细胞周期停滞或其它类型的DNA损伤等病症的细胞,选择性地杀死或抑制该靶细胞,同时对正常细胞不具有或具有很小的细胞毒性作用。

[0268] 本发明化合物的选择性的非限制性的示范性实施方式描述于实施例7并显示于表4至11中,其中本发明的化合物在对癌细胞和DNA-损伤细胞(例如,辐射细胞)具有严重细胞毒性作用的浓度下对正常细胞不具有细胞毒性。因此,本发明提供了通过将细胞与量足以废除G2关卡的至少一种本发明的化合物相接触,选择性靶向DNA-损伤细胞如癌细胞,而对正常(未损伤)细胞不具有或具有很小的细胞毒性的方法。本发明提供了包含至少一种本发明的化合物的药物组合物,其适用于选择性靶向DNA-损伤细胞如癌细胞,而对正常(未损伤)细胞不具有或具有很小的细胞毒性的方法。

[0269] 本发明化合物在筛选中的用途

[0270] 本发明的化合物可用于基于细胞周期表型的筛选方案(例如,Sha等人.((2007) Mol Cancer Ther,6:147-153)披露的方案),以鉴别可与G2关卡和/或涉及适应G2细胞周期停滞的其它过程相互作用的候选化合物。本发明的化合物可用于筛选方案以鉴别用于治疗性G2关卡废除和/或治疗性G2停滞适应的候选化合物。该筛选方案可用于鉴别具有所需生物活性的化合物。由此鉴别的化合物可进一步评估对癌细胞的选择性细胞毒性。化合物可在与常规抗癌剂如地塞米松的联合治疗中进行评估。

[0271] 以下提供的实施例仅为阐述之用,而非限制所主张的发明。

实施例

[0272] 实施例1:测试化合物S00109和S01860对停滞在G2期的Jurkat细胞的作用

[0273] Jurkat细胞(人T细胞淋巴瘤衍生的细胞系)通过10Gy的X-线辐射停滞在G2期,并在10%胎牛血清(FCS)/RPMI1640中在37℃下和5%CO₂/空气中培养24小时。(FCS来自于Equitech-Bio,Kerrville,TX,RPMI1640来自于Sigma-Aldrich,St.Louis,MO)。测试化合物以指定的剂量加入该培养基,将该细胞在上述条件下继续培养24小时,并收集细胞。

[0274] 收集的细胞以Krishan's缓冲液(0.1%柠檬酸钠、50 μ g/ml碘化丙锭、20 μ g/ml RNase A、0.5%Nonidet P-40)染色,并通过流式细胞仪(BD Biosciences, Franklin

Lakes, NJ) 分析, 以识别样本中每个细胞的细胞阶段。处于G1期的细胞通过具有倍增 (2N) DNA含量进行识别。图1显示了以指定剂量的每种化合物处理后处于G1期的细胞的百分比。

[0275] 每一种化合物的IC₅₀值被计算为诱导处于G1期细胞百分比增加量 (G1增量) 的最大值一半的剂量。IC₅₀值被用于测量化合物的活性并确定结构-活性关系。

[0276] 如图1所示, 以化合物S00109或S01860处理24小时的预停滞Jurkat细胞群体显示了G1细胞数量的明显上升, 表明该细胞能够再次进入细胞周期。

[0277] 组蛋白H3磷酸化

[0278] 在X-线处理后处于G1期细胞数量 (通过2N DNA测得的“G1细胞”) 的增加表明由X-线处理激活该G2关卡 (即, 通过X-线处理激活DNA-损伤-诱导的G2关卡) 带来的该G2关卡已被废除和/或细胞对G2细胞周期停滞的适应 (脱离)。在以测试化合物处理的预停滞细胞中测量了组蛋白H3磷酸化的水平, 以确认该预停滞细胞已重新进入该细胞周期并在进展至G1期之前通过了M期。组蛋白H3磷酸化的增加表明了对损伤-诱导的细胞周期停滞的适应 (脱离) 或G2/M关卡废除。

[0279] Jurkat细胞以10Gy X-线辐射并在10%FCS-RPMI中培养24小时。测试化合物S00109以0.3或1μM的量添加至培养基, 并将细胞与测试化合物培养0至24小时的处理时间。将细胞以冷乙醇固定, 以0.1%皂甙/PBS处理, 以抗-磷酸-组蛋白H3 (Ser10) (Upstate Biotechnology, Uppsala, Sweden) 染色, 并通过流式细胞仪 (BD Biosciences) 进行分析。在图2中, X-轴表示处理时间, 即, S00109添加后的时间, Y-轴表示磷酸-组蛋白-H3-阳性的细胞的比例 (%)。在以X-线辐射 (10Gy) 以及1μM (空心方块) 和0.3μM (实心圆) 的化合物S00109依次处理的Jurkat细胞的组蛋白H3磷酸化水平 (%) 随处理时间增加至24小时而逐渐增加。

[0280] 实施例2: S00109单用或与辐射联用时的细胞毒性

[0281] 磷酸化组蛋白H2AX表达

[0282] 磷酸化组蛋白H2AX (γ H2AX在Ser139的磷酸化) 的表达可作为细胞毒性 (特别是DNA-损伤-相关的细胞毒性) 的指标进行测量。如上所述, Jurkat细胞以10Gy X-线辐射并在10%FCS-RPMI中培养24小时。然后, 向培养基添加1μM的S00109进行24小时的处理时间。将细胞在缓冲液 (100mM NaCl、10mM Tris-HCl (pH8.0)、1mM DTT、0.2%NP-40、10mM NaF、10mM Na₃VO₄、500nM冈田酸以及蛋白酶抑制剂) 中溶解。将溶解物的等分 (30μg蛋白) 在15%SDS page凝胶上电泳, 并转移至膜上进行Western印迹分析。抗-磷酸-组蛋白H2AX (Ser 139) Ab (Cell Signaling Technology, Beverly, MA) 被用于检测印迹膜上的γ-H2AX。如图3所示, γ H2AX水平随S00109的处理时间而增加, 表明S00109在辐射引起的DNA损伤之外引起了DNA损伤。

[0283] 集落形成分析

[0284] S00109的细胞毒性活性可通过采用HCT-116细胞 (一种人结肠癌细胞系) 的集落形成分析进一步确认, 其中集落计数的下降可作为细胞生长抑制和/或细胞死亡的量度。HCT-116人结肠癌细胞在具有10%FCS的McCoy's 5A (Invitrogen, Carlsbad, CA) 中, 在5%CO₂/空气中37℃下培养。该细胞以300细胞/6孔板重复三份接种, 以图示中所示的X线进行辐射, 并培养24小时, 然后以所示剂量的S00109处理并培养8小时。在第8天, 固定集落, 并以结晶紫 (Sigma-Aldrich) 染色, 并对集落数进行计数。图4显示了S00109剂量 (x-轴) 对第8天计数的集落数 (y-轴) 的作用。

[0285] 未接受辐射的细胞(在图4中为“0Gy”空心圆,实线)在与辐射细胞相同的条件下培养,并以S00109处理以显示单独的S00109的作用。因此,如图4所示,单独的S00109以剂量依赖方式抑制HCT-116细胞的集落形成,表明单独的S00109在足够高的剂量下能够抑制癌细胞的生长和/或杀死癌细胞。

[0286] 未处理对照的“正常”集落计数由0Gy和0 μ M S00109的值显示。

[0287] 接受1Gy剂量的辐射的细胞(实心圆,点线)显示了由于单独的辐射引起的集落形成的抑制。接受1剂量辐射并暴露至S00109的细胞显示了对集落形成进一步的抑制,表明S00109能够增强辐射处理的细胞毒性。在这些辐射和S00109处理的条件下,观察到了S00109较强的剂量依赖型加性作用。

[0288] 接受3Gy剂量(“3Gy”空心方块,实线)的辐射的细胞显示了由于单独的辐射引起的较强的集落形成抑制。S00109在最高浓度(4 μ M)下显示具有可测的加性抑制作用,再次表明了S00109能够增强辐射处理的细胞毒性。

[0289] 实施例3: S00109单用和与地塞米松联用时的细胞毒性

[0290] S00109单用和与地塞米松联用的细胞毒性可通过鉴定处理后处于亚G1期的细胞数进行测量,其中亚G1期表示细胞死亡,由此在处理后的细胞数量表示被该处理杀死的细胞。人多发性骨髓瘤衍生的细胞系ARH-77在S00109存在或缺失情况下,在具有或不具有地塞米松的10%胎牛血清(FCS)/RPMI1640中,在5%CO₂/空气中37℃下,采用上述材料和条件进行培养24小时。收集的细胞以Krishan's缓冲液(0.1%柠檬酸钠、50 μ g/ml碘化丙锭、20 μ g/ml RNase A、0.5%Nonidet P-40)染色,并通过流式细胞仪(BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ)分析。

[0291] 图5显示了以S00109(x-轴)单独或与地塞米松联合处理后处于亚G1期的ARH-77细胞的百分比(y-轴)。在未处理对照细胞群体中亚G1细胞的“正常”百分比由0 μ g/ml S00109下的单独S00109(图例中为实心菱形,实线,“仅S109”)的值显示。在以高达10 μ g/ml的浓度单独S00109处理引起了剂量依赖方式的细胞死亡。在没有S00109而单独使用2ng/ml(空心方块,点线)、20ng/ml(空心方块,点线/虚线)和200ng/ml(空心圆,虚线)的地塞米松的处理显示了略微上升的亚G1细胞水平,即,与对照相比略微上升的细胞毒性。然而,以S00109联合地塞米松处理导致了亚G1细胞水平的显著上升。这种组合效应显示了对S00109浓度的强烈依赖性,证明了S00109的剂量依赖性作用。S00109和地塞米松的组合导致了明显高于任一化合物单用时的细胞死亡水平。因此,S00109增强了地塞米松的细胞毒性。

[0292] 实施例4: 本发明的代表性化合物单用或联用时对具有ARH-77细胞异种移植物的小鼠的存活的作用

[0293] 以S00109、S01860、S03518、S03405或S03747或者以地塞米松处理(一种认可的“标准”处理)带有ARH-77(人多发性骨髓瘤衍生细胞系)异种移植物的鼠,测定它们的存活,并与溶媒处理的具有异种移植物的(对照)鼠的存活进行比较。处理延长存活的能力被认为是该处理对移植的癌细胞的细胞毒性且对体内正常(鼠)细胞没有明显有害活性的指标。

[0294] 对8周大的雄性重度联合免疫缺陷病(SCID)鼠(n=10)腹腔内移植 1.9×10^6 (图6)、 0.8×10^6 (图7)、 4.1×10^6 (图8)细胞/动物的ARH-77细胞。

[0295] 动物参照国际实验动物评估认证管理委员会的指南进行饲养,该方案得到了

CanBas Co.Ltd的机构动物照顾委员会的批准。

[0296] 对于实施例6所示的实验,小鼠通过腹腔内移植接受 1.9×10^6 ARH-77细胞。以S00109(“S109”)处理的小鼠接受了50mg/kg S00109的腹腔内注射。以地塞米松(“Dexa”)处理的小鼠接受了2mg/kg地塞米松的腹腔内注射。溶媒处理的对照动物接受了腹腔内溶媒注射。每次注射在ARH-77细胞移植后第1天、第2天和第3天进行。以单独溶媒处理的对照小鼠(“对照”虚线)、以50mg/kg化合物S00109处理的小鼠(“S109”实线)和以2mg/kg地塞米松处理的小鼠(“Dexa”点划线)在移植后80天中(x-轴)测定了存活(y-轴,小鼠存活%)。以S00109处理的小鼠具有比未处理的对照小鼠明显更长的生存时间。尽管以地塞米松处理的小鼠具有比未处理的对照小鼠更长的生存时间,地塞米松的治疗效果远小于S00109的治疗效果。

[0297] 对于实施例7所示的实验,小鼠通过腹腔内移植接受 0.8×10^6 ARH-77细胞。小鼠在移植后第1天参照如下通过单次口服施用化合物进行处理:以单独溶媒口服处理对照小鼠(“对照”实线);以750mg/kg的化合物S00109口服处理小鼠(“S109”点线);并以750mg/kg的化合物S01860口服处理小鼠(“S1860”虚线)。尽管以S00109处理的小鼠最初显示了比对照小鼠略低的存活,在约64天后,以S00109处理的小鼠显示了明显高于对照小鼠的存活,在85天时存活几乎为70%,而对照小鼠在85天时的存活仅为约20%。以S01860处理的小鼠相比对照小鼠或以S00109处理的小鼠显示了明显更高的存活率,其中直至移植后70天才观察到存活的第一次下降,且约90%的S01860处理小鼠在85天时存活。

[0298] 对于实施例8所示的实验,小鼠通过腹腔内移植接受 4.1×10^6 ARH-77细胞。小鼠参照如下在移植后第1天通过每天一次口服施用化合物并在第2天通过每天一次口服施用化合物进行处理:对照小鼠每天一次以单独溶媒口服处理两天(“CONT”实线);小鼠每天一次以250mg/kg的化合物S003518口服处理两天(“S3518”点线);小鼠每天一次以250mg/kg的化合物S003405口服处理两天(“S3405”虚线);小鼠每天一次以250mg/kg的化合物S003747口服处理两天(“S3747”点划线)。以S03518、S03405或S03747处理的小鼠均显示了比对照小鼠明显更高的存活率。对照小鼠在移植后约29天开始显示了降低的存活,在移植后50天仅为约30%的存活。相反地,以S03518、S03405或S03747处理的小鼠显示存活下降极少,并在移植后50天仍具有介于80-100%的极高存活率。

[0299] 这些结果证实了腹腔内或口服施用的S00109、S01860、S03518、S03405或S03747在体内对癌细胞(异种移植肿瘤的ARH 77细胞)具有选择性细胞毒性,而对正常细胞(小鼠移植宿主)没有可测的细胞毒性。这些结果证实了本发明的五种不同的化合物以有效量被施用至对象以治疗对象中的增殖性紊乱。

[0300] 实施例5:代表性化合物引起对G2细胞周期停滞的适应并诱导G2-停滞细胞重新进入细胞周期的能力

[0301] 代表性化合物可参照此处提供的方法合成得到。每种化合物的结构和其它属性可通过对每种合成化合物的 ^1H NMR光谱进行测定。

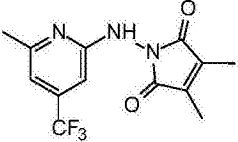
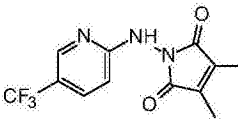
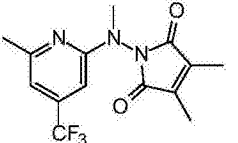
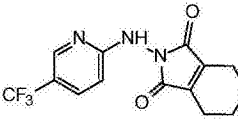
[0302] 预停滞Jurkat细胞可参照实施例1制备。简单而言,使Jurkat细胞接受10Gy剂量的X-线辐射,并在10%胎牛血清(FCS)/RPMI1640中在37°C下5%CO₂/空气中培养24小时,然后将细胞暴露至不同浓度的测试化合物,并在收集前在上述条件下继续培养24小时。收集的细胞以Krishan's缓冲液(0.1%柠檬酸钠、50μg/ml碘化丙锭、20μg/ml RNase A、0.5%

Nonidet P-40) 染色, 并通过流式细胞仪 (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ) 分析, 以识别样本中每个细胞的细胞阶段。处于G1期的细胞通过具有倍增 (2N) DNA含量进行识别。

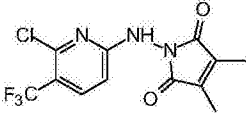
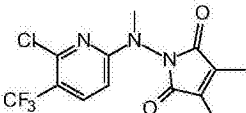
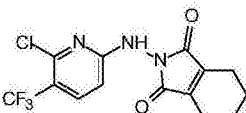
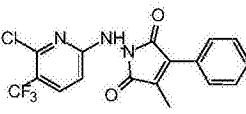
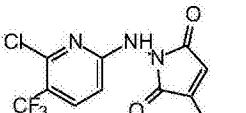
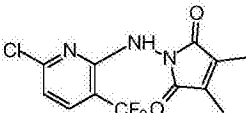
[0303] 每一种化合物的IC₅₀值被计算为引起针对该测试化合物测得的G1期细胞百分比增加量 (G1增量) 最大值一半的剂量 (浓度单位为μM)。下文表1显示了代表性化合物的结构、质量、¹H NMR值和IC₅₀值。

[0304] 表1. 代表性化合物和IC₅₀值

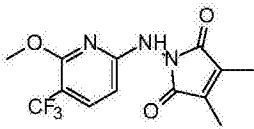
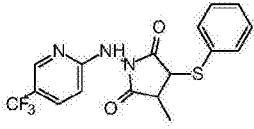
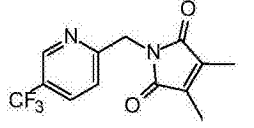
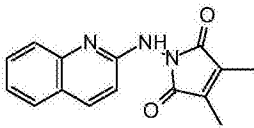
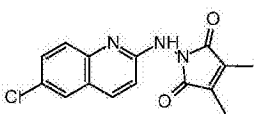
[0305]

	SCID	结构	MS (m/e)	¹ H NMR	IC ₅₀ (μM)
1	S00069		300.5 (M+1)	(CDCl ₃ , 400 MHz) δ: 6.89 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.07 (s, 6H)	5
2	S00073		286.4 (M+1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 8.37 (s, 1H), 7.70-7.60 (dd, J= 1.8, 8.7 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.60 (d, J= 8.4 Hz, 1H), 2.05 (s, 6H)	2.5
3	S00084		314.4 (M+1)	(CDCl ₃ , 400 MHz) δ: 6.79 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 3.42 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 2.06 (s, 6H)	5
4	S00200			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 8.37-8.39 (m, 1H), 7.64-7.67 (m, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.61-6.64 (d, J= 8.6	5

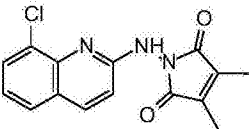
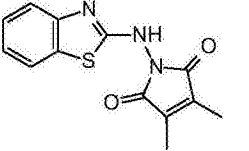
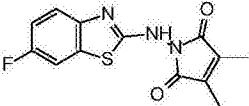
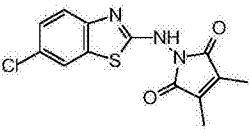
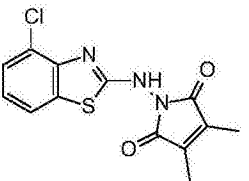
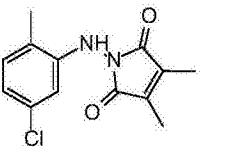
[0306]

	SCID	结构	MS (m/e)	¹ H NMR	IC ₅₀ (μM)
				Hz, 1H), 2.41 (m, 4H), 1.80-1.84 (m, 4H)	
5	S00109		318.0 (M-1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.70 (d, J= 8.7 Hz, 1H), 7.10 (s, 1H), 6.45 (d, J= 8.7 Hz, 1H), 2.07 (s, 6H)	0.12
6	S00170			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.70 (d, J= 8.4 Hz, 1H), 6.40 (d, J= 8.7 Hz, 1H), 3.44 (s, 3H), 2.08 (s, 6H)	0.12
7	S00186			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.70 (d, J= 8.7 Hz, 1H), 6.45 (d, J= 8.7 Hz, 1H), 2.50-2.30 (m, 4H), 1.90-1.75 (m, 4H)	0.63
8	S00257			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.79 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.65-7.62 (m, 2H), 7.53-7.48 (m, 3H), 7.14 (s, 1H), 6.56 (d, J=8.4 Hz, 1H), 2.31 (s, 3H)	10
9	S00333		304.2 (M-1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 8.85-8.75 (br, 1H), 7.95-7.85 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.20-6.15 (m, 1H), 2.28 (s, 3H). HPLC-MS (m/e): 304.2 (M-1).	15
10	S00108		319.7 (M+1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.80-7.70 (dd, J=0.6, 7.8 Hz, 1H), 6.95-6.85 (dd, J=0.6, 7.8 Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 2.07 (s, 6H). HPLC-MS (m/e): 318.0 (M-1, negative mode)	20

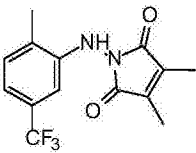
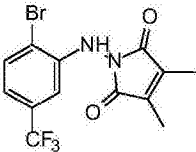
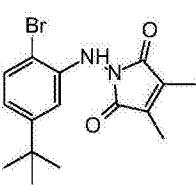
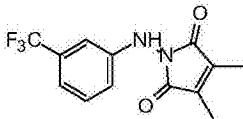
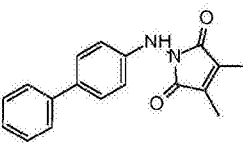
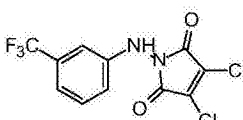
[0307]

	SCID	结构	MS (m/e)	¹ H NMR	IC ₅₀ (μM)
11	S00451		314.2 (M-1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.63 (d, J=8.4 Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.26 (d, J=8.4 Hz, 1H), 3.61 (s, 3H), 2.05 (s, 6H). HPLC-MS (m/e): 314.2 (M-1)	60
12	S00145	 异构体混合物	382.1 (M+1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 8.30 (d, J=16.6 Hz, 1H), 7.75-7.65 (m, 1H), 7.60-7.50 (m, 2H), 7.50-7.30 (m, 3H), 6.80-6.60 (br, 1H), 6.60-6.45 (dd, J=8.0, 18.4 Hz, 1H), 3.70 (d, J=5.6 Hz, 0.5H), 3.20-2.95 (t, J=18.4, 46.4 Hz, 1H), 2.95-2.90 (t, J=5.6, 7.6 Hz, 0.5H), 1.72 (s, 1.5H), 1.55-1.45 (d, J=7.2 Hz, 1.5H). HPLC-MS (m/e): 382.1 (M++1)	30
13	S00110			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 8.79 (s, 1H), 7.85-7.89 (dd, J=2.2, 8.3 Hz, 1H), 7.33-7.36 (d, J=8.0 Hz, 1H), 4.87 (s, 2H), 2.01 (s, 6H)	60
14	S00362		268.2 (M+1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.91 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.69-7.62 (m, 2H), 7.58-7.55 (m, 1H), 7.34-7.29 (m, 1H), 6.79 (d, J=8.7 Hz, 1H), 2.08 (s, 6H)	5
15	S00622		302.15 (M+1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.88 (d, J=8.7 Hz, 1H), 7.62 (m, 2H), 7.51 (d, J=2.4 Hz, 1H), 6.84 (d, J=9	5

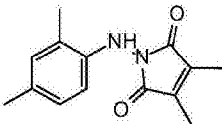
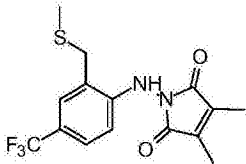
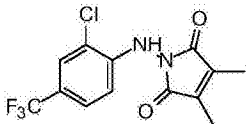
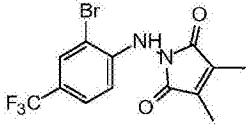
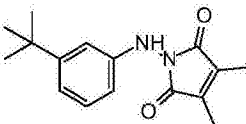
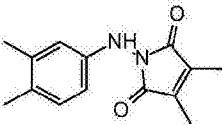
[0308]

	SCID	结构	MS (m/e)	¹ H NMR	IC ₅₀ (μM)
				Hz, 1H), 5.38 (m, 1H), 2.09 (s, 6H)	
16	S00585		302.13 (M+1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.90 (d, J=6.9 Hz, 1H), 7.64-7.66 (dd, J=0.8, 5.4 Hz, 1H), 7.53-7.56 (dd, J=0.8, 6.3 Hz, 1H), 7.19-7.23 (dd, J=5.7, 6 Hz, 1H), 6.86 (d, J=6.6 Hz, 1H), 2.10 (s, 6H)	0.45
17	S00295			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.51 – 7.55 (m, 2H), 7.29 – 7.35 (m, 1H), 7.12 – 7.17 (m, 1H), 2.07(s, 6H)	5
18	S00454		292.2 (M+1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.50 (dd, J= 4.8, 9.0 Hz, 1H), 7.28 (m, 1H), 7.05 (td, J= 2.1, 9.0, 17.7 Hz, 1H), 2.02 (s, 6H)	4
19	S00590		307.8 (M+1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.53 (d, J=1.2 Hz, 1H), 7.48 (d, J=6.3 Hz, 1H), 7.30 (d, J=1.5 Hz, 1H), 2.07 (s, 6H)	5
20	S00756			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 2.02 (s, 6H), 7.07 (d, J=12 Hz, 1H), 7.32 (d, J=6.9 Hz, 1H), 7.46(d, J=6.9 Hz, 1H)	1.25
21	S00319			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.05-6.95 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.90-6.80 (dd, J=2.1, 7.8 Hz, 1H), 6.50-6.45 (d, J=2.1 Hz, 1H), 5.77 (s, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.04 (s, 6H)	10

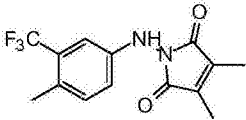
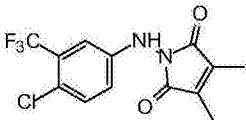
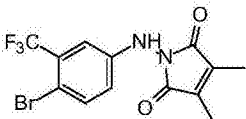
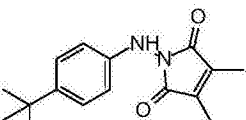
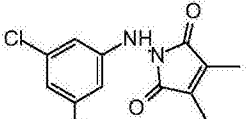
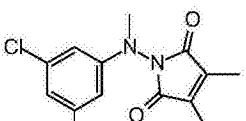
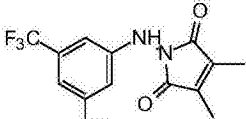
[0309]

	SCID	结构	MS (m/e)	¹ H NMR	IC ₅₀ (μM)
22	S00512		297.1 (M-1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.18 (d, J=8.1 Hz, 1H), 7.10 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.70 (s, 1H), 5.87 (s, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.07 (s, 6H)	5
23	S00623			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.60 (dd, J=0.3, 6.3 Hz, 1H), 7.04-7.07 (m, 1H), 6.75 (d, J=1.8 Hz, 1H), 6.44 (s, 1H), 2.08 (s, 6H)	10
24	S00649		350.9 (M+1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.36 (d, J=8.4 Hz, 1H), 6.85-6.82 (dd, J=2.4, 8.4 Hz, 1H), 6.54 (d, J=2.4 Hz, 1H), 6.32 (s, 1H), 2.06 (s, 6H), 1.20 (s, 9H)	10
25	S00305			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.34 (t, J=8.1 Hz, 1H), 7.20 (d, J=8.1 Hz, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.90 (dd, J=2.4, 8.1 Hz, 1H), 6.02 (s, 1H), 2.06 (s, 6H)	5
26	S00515		292.9 (M+1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.52-7.37 (m, 6H), 7.39 (d, J=7.2 Hz, 1H), 6.83-6.80 (dd, J=2.1, 6.6 Hz, 2H), 5.98 (s, 1H), 2.05 (s, 6H). HPLC-MS (m/e): 292.9 (M+1).	20
27	S00406			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.30 (m, 1H), 7.26 (d, J=9.3 Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.94 (d, J=8.1 Hz, 1H), 6.16 (s, 1H)	80

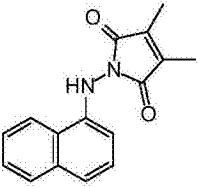
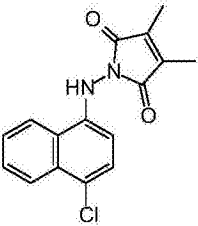
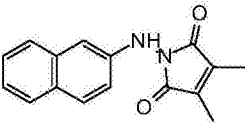
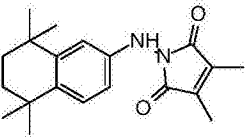
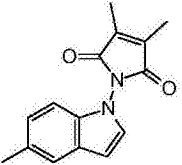
[0310]

	SCID	结构	MS (m/e)	¹ H NMR	IC ₅₀ (μM)
28	S00294			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 6.91 (s, 1H), 6.87 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.44 (d, J=7.8 Hz, 1H), 5.75 (s, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.03 (s, 6H)	5
29	S00499			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.60 (s, 1H), 7.40 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.61 (d, J=8.4 Hz, 1H), 3.88 (s, 2H), 2.03 (s, 6H), 1.59(s, 3H)	5
30	S00699			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 2.05 (s, 6H), 6.50 (s, 1H), 6.62 (d, J=8.7 Hz, 1H), 7.36 (d, J=8.4, 1H), 7.59 (s, 1H)	10
31	S00624			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.75 (d, J=1.2 Hz, 1H), 7.39-7.42 (m, 1H), 6.59 (d, J=8.7 Hz, 1H), 6.50 (s, 1H), 2.06 (s, 6H)	10
32	S00627		271.1 (M-1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.16-7.11 (t, J=8.1 Hz, 1H), 6.95 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.84-6.82 (t, J=7.8 Hz, 1H), 6.45 (d, J=8.1 Hz, 1H), 5.90 (s, 1H), 2.04 (s, 6H), 1.27 (s, 9H)	2
33	S00452		245.0 (M+1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 6.95 (d, J=8.4 Hz, 1H), 6.56 (d, J=2.4 Hz, 1H), 6.52-6.48 (dd, J=2.4, 7.8 Hz, 1H), 5.81 (s, 1H), 2.18 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 2.03 (s, 6H)	10

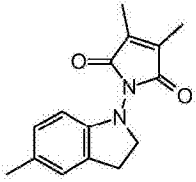
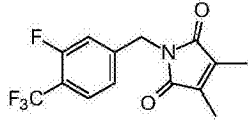
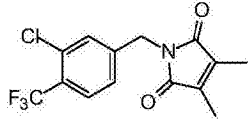
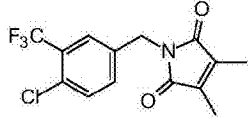
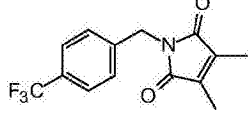
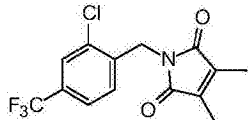
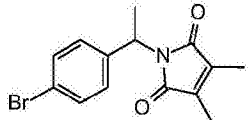
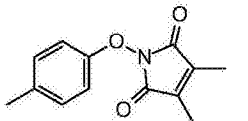
[0311]

	SCID	结构	MS (m/e)	¹ H NMR	IC ₅₀ (μM)
34	S00697			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.12 (d, J=8.1 Hz, 1H), 6.99 (d, J=2.4 Hz, 1H), 6.79 (d, J=8.4 Hz, 1H), 5.93 (s, 1H), 2.37 (s, 3H), 2.05 (s, 6H)	2.5
35	S00405			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.33 (m, 1H), 7.04 (m, 1H), 6.82 (m, 1H), 6.01 (s, 1H), 2.05 (s, 6H)	2.5
36	S00516			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.50 (d, J=9.0 Hz, 1H), 7.05 (d, J=3.0 Hz, 1H), 6.76-6.72 (dd, J=2.7, 8.4 Hz, 1H), 6.10 (s, 1H), 2.05 (s, 6H)	1.25
37	S00479		273 (M+1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.24 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.67 (s, 1H), 5.87 (s, 1H), 2.03 (s, 6H), 1.25 (s, 9H)	2.5
38	S00456			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 6.90 (s, 1H), 6.59 (s, 2H), 6.05 (s, 1H), 2.05 (s, 6H)	2.5
39	S00587		296.9 (M-1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 6.86-6.85 (t, J=1.5 Hz, 1H), 6.55 (d, J=1.2 Hz, 2H), 3.24 (s, 3H), 2.03 (s, 6H)	2.5
40	S00474			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.42 (s, 1H), 7.11 (s, 2H), 6.24 (s, 1H), 2.08 (s, 6H)	2.5

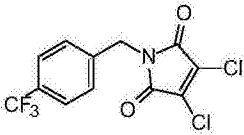
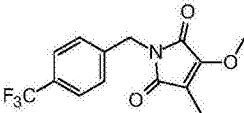
[0312]

	SCID	结构	MS (m/e)	¹ H NMR	IC ₅₀ (μM)
41	S00475		267.5 (M+1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.96-7.99 (t, J=4.5, 5.1 Hz, 1H), 7.82-7.85 (m, 1H), 7.46-7.52 (m, 3H), 7.27-7.32 (t, J=7.8, 8.1 Hz, 1H), 6.62 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.57 (s, 1H), 2.07 (s, 6H)	3.75
42	S00738			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 8.24-8.27 (dd, J=0.6, 8.1 Hz, 1H), 7.97-8.00 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.52-7.64 (m, 2H), 7.35-7.38 (d, J=8.4 Hz, 1H), 6.60 (s, 1H), 6.54-6.56 (d, J=8.4 Hz, 1H), 2.07 (s, 6H)	0.63
43	S00651			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.73 (d, J=8.7 Hz, 1H), 7.63 (d, J=8.1 Hz, 1H), 7.28-7.42 (m, 2H), 7.02-7.07 (dd, J=2.1, 8.7 Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.07 (s, 1H), 2.07 (s, 6H)	10
44	S00698		326.9 (M+1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.13 (d, J=8.4 Hz, 1H), 6.73 (s, 1H), 6.46 (d, J=7.8 Hz, 1H), 5.82 (s, 1H), 2.03 (s, 6H), 1.63 (s, 4H), 1.20-1.24 (m, 12H)	5
45	S00663			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 9.96 (s, 1H), 6.84 (d, J=7.5 Hz, 1H), 6.33 (d, J=8.1 Hz, 1H), 3.80 (m, 2H), 3.09 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 2.02 (s, 6H)	40

[0313]

	SCID	结构	MS (m/e)	¹ H NMR	IC ₅₀ (μM)
46	S00662			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.42 (d, J=0.9 Hz, 1H), 7.04 (d, J=8.4 Hz, 1H), 6.95 (d, J=14.7 Hz, 2H), 6.56 (d, J=4.2 Hz, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.12 (s, 6H)	60
47	S00412			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.51-7.56 (m, 1H), 7.14-7.21 (m, 2H), 4.66 (s, 2H), 2.00 (s, 6H)	10
48	S00513			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.60 (d, J=8.1 Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.30 (d, J=8.1 Hz, 1H), 4.64 (s, 2H), 1.98 (s, 6H)	5
49	S00201			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.65 (s, 1H), 7.45 (d, J=3 Hz, 2H), 4.64 (s, 2H), 1.97 (s, 6H)	10
50	S00088			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.50 (d, J=8.1 Hz, 2H), 7.40 (d, J=8.7 Hz, 2H), 4.69 (s, 2H), 1.97 (s, 6H)	10
51	S00408			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.63 (s, 1H), 7.44-7.46 (d, J=8.0 Hz, 1H), 7.26-7.27 (d, J=6.2 Hz, 2H), 4.82 (s, 2H), 2.01 (s, 6H)	10
52	S00543			(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.43 (m, 2H), 7.30 (m, 2H), 5.25 (m, 1H), 1.92 (s, 6H), 1.77 (d, J=5.4 Hz, 3H)	60
53	S00628		230.0 (M-1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.09 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.00 (d, J=9.0 Hz, 2H), 2.30 (s,	60

[0314]

	SCID	结构	MS (m/e)	¹ H NMR	IC ₅₀ (μM)
				3H), 2.02 (s, 6H). HPLC-MS (m/e): 230.0 (M-1).	
54	S00409		324.1 (M+1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.60 (d, J=8.1 Hz, 2H), 7.48 (d, J=8.4 Hz, 2H), 4.78 (s, 2H)	20
55	S00410		299.3 (M+1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.56 (d, J=8.1 Hz, 2H), 7.44 (d, J=8.1 Hz, 2H), 4.67 (s, 2H), 4.16 (s, 3H), 1.98 (s, 3H)	10

[0315] 实施例6:代表性化合物引起对G2细胞周期停滞的适应并诱导G2-停滞细胞重新进入细胞周期的能力

[0316] 代表性化合物可参照此处提供的方法合成得到。每种化合物的结构和其它物理化学属性可通过对每种合成化合物的¹H NMR光谱进行测定。

[0317] 预停滞Jurkat细胞可参照实施例1制备。简单而言,使Jurkat细胞接受10Gy剂量的X-线辐射,并在10%胎牛血清(FCS)/RPMI1640中在37℃下5%CO₂/空气中培养24小时,然后将细胞暴露至不同浓度的测试化合物,并在收集前在上述条件下继续培养24小时。收集的细胞Krishan's以缓冲液(0.1%柠檬酸钠、50μg/ml碘化丙锭、20μg/ml RNase A、0.5% Nonidet P-40)染色,并通过流式细胞仪(BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ)分析,以识别样本中每个细胞的细胞阶段。处于G1期的细胞通过具有倍增(2N)DNA含量进行识别。

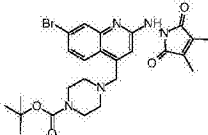
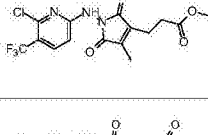
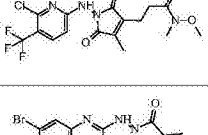
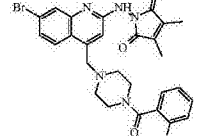
[0318] 每一种化合物的IC₅₀值被计算为引起针对该测试化合物测得的G1期细胞百分比增加量(G1增量)最大值一半的剂量(浓度单位为μM)。下文表2显示了代表性化合物的结构、IUPAC命名、分子式、ID号(“SCID”)、质量、¹H NMR值和IC₅₀值。表3显示了其它代表性化合物的结构、IUPAC命名、分子式、ID号(“SCID”)、质量、¹H NMR值和IC₅₀值。

[0319] 表2.代表性化合物和IC₅₀值

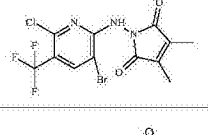
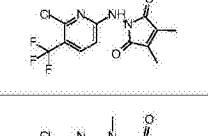
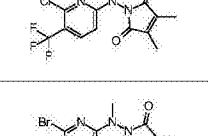
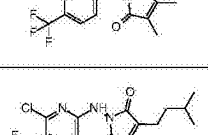
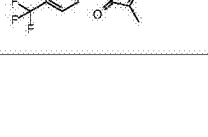
[0320] 物理化学特征

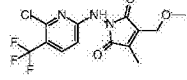
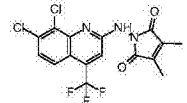
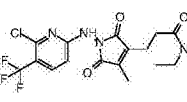
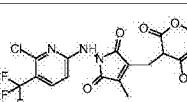
[0321]

SCID	结构	IUPAC 命名	质量 (m/e)	¹ H NMR	IC ₅₀ (μM)
S01860		叔-丁基 3-(1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基]-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基)丙酸酯	432.2(M ⁺ -1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.79 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.77 (s, 1H), 6.50 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 2.75 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.58 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.43 (s, 9H).	0.03
S01861		乙基 3-(1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基]-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基)丙酸酯	404.1(M ⁺ -1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.79 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.50 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.14 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 2.79-2.65 (m, 4H), 2.12 (s, 3H), 1.26 (t, J = 7.1 Hz, 3H).	0.05
S01078		3,4-二甲基-1-[(4,7,8-三氯(2-喹啉基))氨基]吡啶-2,5-二酮	370.2(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.88-7.84 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.45-7.41 (d, J=9.3Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 2.10 (s, 6H)	0.078
S01247		1-[(8-溴-4-氯(2-喹啉基))氨基]-3,4-二甲基吡啶-2,5-二酮	380.1(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 8.00-7.96 (dd, J=8.4 Hz, 1.2 Hz, 1H), 7.92-7.89 (dd, J=7.8 Hz, 1.2 Hz, 1H), 7.23-7.20 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.07 (br, 1H), 6.96 (s, 1H), 2.08 (s, 6H).	0.078

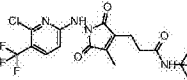
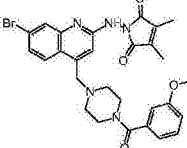
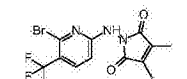
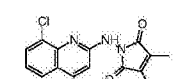
S01589		叔-丁基-4-((2-((3,4-二甲基-2,5-二噁唑啉基)氨基)-7-溴-4-喹啉基)甲基)哌嗪羧酸酯	544.3(M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.86-7.83 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.40-7.37 (dd, J=8.7Hz, 2.1Hz, 1H), 7.00-6.80 (br, 1H), 6.85 (s, 1H), 3.65 (s, 2H), 3.41-3.38 (m, 4H), 2.40-2.35 (m, 4H), 2.09 (s, 6H), 1.46 (s, 9H)	0.078
S01648		甲基-3-(1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基)-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基)丙酸酯	390(M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.78 (d, J=8.8 Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.50 (d, J=8.5 Hz, 1H), 2.81-2.66 (m, 4H), 2.11 (s, 3H).	0.078
S01796		3-(1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基)-4-甲基-2,5-二噁唑啉-3-基)-N-甲氧基-N-甲基丙酰胺	419.2(M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.76 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.27 (s, 1H), 6.51 (d, J=8.5 Hz, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.17 (s, 3H), 2.81 (s, 4H), 2.11 (s, 3H).	0.078
S01879		1-((7-溴-4-((4-((2-甲氧基苯基)羧基)哌嗪基)甲基)(2-喹啉基)氨基)-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮	578 (M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.89-7.83 (m, 2H), 7.41-7.31 (m, 2H), 7.25-7.22 (m, 1H), 7.01-6.98 (m, 1H), 6.96-6.87 (m, 2H), 3.86-3.72 (m, 7H), 3.26-3.20 (m, 2H), 2.63-2.52 (m, 2H), 2.42-2.31 (m, 2H), 2.10 (s, 6H)	0.078

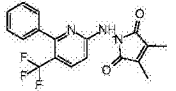
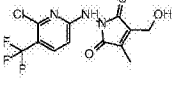
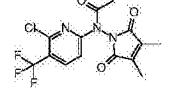
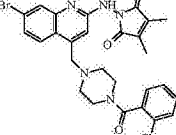
[0322]

S01981		1-((3-溴-6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基)-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮	396 (M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.97(s, 1H), 7.07(s, 1H), 2.07(s, 6H)	0.078
S00109		1-((6-氯-3-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基)-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮	318.0 (M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.89-7.70(d, J=8.7Hz, 1H), 7.10(s, 1H), 6.55-6.45(d, J=8.7Hz, 1H), 2.07(s, 6H)	0.12
S00170		1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基)-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮	318.0 (M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300 MHz) δ: 7.70 (d, J=8.4 Hz, 1H), 6.40 (d, J=8.7 Hz, 1H), 3.44 (s, 3H), 2.08 (s, 6H)	0.12
S01007		1-((6-溴-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基)-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮	375.9(M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.70-7.67(d, J=8.7Hz, 1H), 6.48-6.45(d, J=8.7Hz, 1H), 3.44(s, 3H), 2.06(s, 6H)	0.12
S01554		1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基)-4-甲基-3-(3-甲基丁基)唑啉-2,5-二酮	374(M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.81-7.77(d, J=8.7Hz, 1H), 6.73(s, 1H), 6.51-6.47(d, J=8.7Hz, 1H), 2.50-2.44(m, 2H), 2.07(s, 3H), 1.50-1.42(m, 3H), 0.97-0.94(d, J=6.6Hz, 6H)	0.12

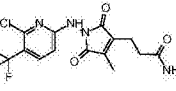
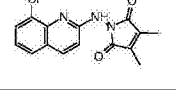
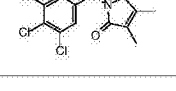
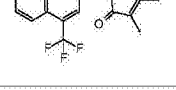
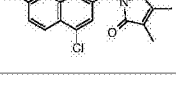
S01599		1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基)-3-(甲氧基甲基)-4-甲基咪唑-2,5-二酮	348(M ⁺)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.80-7.77(d, J=8.4Hz, 1H), 6.92(s, 1H), 6.53-6.50(d, J=8.7Hz, 1H), 4.38(s, 2H), 3.44(s, 3H), 2.20(s, 3H)	0.12
S01455		1-((7,8-二氯-4-(三氟甲基)(2-喹啉基)氨基)-3,4-二甲基咪唑-2,5-二酮	404(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.78-7.72(m, 1H), 7.47-7.44(d, J=9.4Hz, 1H), 7.35(br, 1H), 7.16(s, 1H), 2.12(s, 6H)	0.156
S01711		3-(1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基)-4-甲基-2,5-二咪唑-3-基)-N,N-二乙基丙酰胺	431(M ⁺)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.77(d, J=8.7Hz, 1H), 7.13(s, 1H), 6.52(d, J=8.4Hz, 1H), 3.40-3.26(m, 4H), 2.84-2.67(m, 4H), 2.13(s, 3H), 1.18-1.08(m, 6H)	0.156
S01712		二乙基 2-((1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基)-4-甲基-2,5-二咪唑-3-基)丙烷-1,3-二酯	476(M ⁺)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.79(d, J=8.6 Hz, 1H), 6.94(s, 1H), 6.50(d, J=8.2 Hz, 1H), 4.25-4.16(m, 4H), 3.86(t, J=7.9 Hz, 1H), 3.05(d, J=7.9 Hz, 2H), 2.11(s, 3H), 1.27(t, J=7.1 Hz, 6H)	0.156

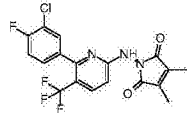
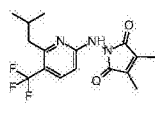
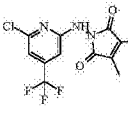
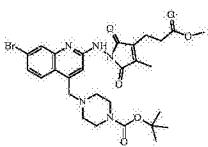
[0323]

S01758		N-(叔-丁基)-3-(1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基)-4-甲基-2,5-二咪唑-3-基)丙酰胺	431.3(M ⁺)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.79(d, J=8.6 Hz, 1H), 7.12(s, 1H), 6.53(d, J=8.6 Hz, 1H), 5.33(s, 1H), 2.79(t, J=7.2 Hz, 2H), 2.43(t, J=7.3 Hz, 2H), 2.10(s, 3H), 1.32(s, 9H)	0.156
S01925		1-((7-溴-4-((4-(3-甲氧基苯基)氨基)-2-喹啉基)氨基)-3,4-二甲基咪唑-2,5-二酮	576.3(M ⁺)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.87-7.83(m, 2H), 7.41-7.37(dd, J=1.2Hz, 1.4Hz, 1H), 7.33-7.27(m, 1H), 6.96-6.93(m, 3H), 6.85(s, 1H), 3.90-3.60(br, 2H), 3.82(s, 3H), 3.69(s, 2H), 3.42(br, 2H), 2.54(br, 2H), 2.41(br, 2H), 2.09(s, 6H)	0.156
S00994		1-((6-溴-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基)-3,4-二甲基咪唑-2,5-二酮	362.0(M ⁺)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.76-7.73(d, J=8.4Hz, 1H), 6.77(br, 1H), 6.53-6.50(d, J=8.7Hz, 1H), 2.08(s, 6H)	0.2
S01005		1-((4,8-二氯(2-喹啉基)氨基)-3,4-二甲基咪唑-2,5-二酮	336.4(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.95-7.91(dd, J=8.4Hz, 1.5Hz, 1H), 7.73-7.69(dd, J=7.8Hz, 1.5Hz, 1H), 7.33-7.29(d, J=8.1Hz, 1H), 6.94(s, 1H), 2.11(s, 6H)	0.2

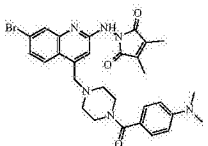
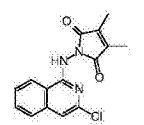
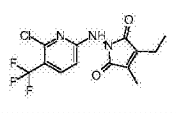
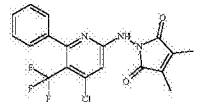
S01266		3,4-二甲基-1-([6-苯基-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基)-2,5-二酮	360.2(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.86-7.82 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.45-7.35(m, 5H), 6.48-6.44(d, J=9.0Hz, 1H), 2.02(s, 6H)	0.2
S01470		1-([6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基)-3-(羟基甲基)-4-甲基咪唑-2,5-二酮	336(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.93-7.90(d, J=8.5Hz, 1H), 7.69(s, 1H), 6.28-6.25(d, J=8.5Hz, 1H), 3.69(s, 2H), 2.90-2.70(br, 1H), 2.14(s, 3H)	0.2
S01473		N-(3,4-二甲基-2,5-二咪唑基)-N-[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]乙酰胺	360.0(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 8.28-8.25 (m, 1H), 7.99-7.97(d, J=6.6Hz, 1H), 2.28(s, 3H), 2.11(s, 6H)	0.2
S01878		1-([7-溴-4-([4-(2-氯苯基)羰基]哌嗪基)甲基)(2-噻吩基)]氨基)-3,4-二甲基咪唑-2,5-二酮	582 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.87-7.83 (m, 2H), 7.41-7.26 (m, 5H), 6.85 (s, 1H), 3.84-3.80 (m, 2H), 3.71 (s, 2H), 3.26-3.18 (m, 2H), 2.61-2.57 (m, 2H), 2.47-2.44 (m, 1H), 2.37-2.34 (m, 1H), 2.10 (s, 6H)	0.234

[0324]

S01883		3-(1-([6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基)-4-甲基-2,5-二咪唑基)-N-甲基丙酰胺	389.1(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.80-7.77 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.56-6.53 (d, J=8.4Hz, 1H), 5.60-5.50 (br, 1H), 2.90-2.75 (m, 5H), 2.55-2.50(t, J=7.2Hz, 2H), 2.10(s, 3H)	0.234
S00585		1-([8-(2-噻吩基)]氨基)-3,4-二甲基咪唑-2,5-二酮	302.1(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.92-7.89 (d, J=6.9Hz, 1H), 7.66-7.63 (dd, J=8.4Hz, 1.2Hz, 1H), 7.56-7.53 (dd, J=6.3Hz, 1.2Hz, 1H), 7.24-7.19 (m, 1H), 6.87-6.84 (d, J=6.6Hz, 1H), 2.10 (s, 6H)	0.3
S00832		3,4-二甲基-1-([3,4,5-三氯苯基]氨基)咪唑-2,5-二酮	No Mass	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 6.75 (s, 2H), 6.04 (s, 1H), 2.06 (s, 6H)	0.3
S00873		3,4-二甲基-1-([4-(三氟甲基)(2-噻吩基)]氨基)咪唑-2,5-二酮	336.0(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.97-7.73 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.78-7.74 (m, 1H), 7.67-7.61 (m, 1H), 7.47-7.41 (m, 1H), 7.13 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 2.11 (s, 6H)	0.3
S01311		1-([7-溴-4-氯(2-噻吩基)]氨基)-3,4-二甲基咪唑-2,5-二酮	380.2(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.89-7.84 (m, 2H), 7.50-7.48 (m, 1H), 6.90 (s, 1H), 2.11 (s, 6H)	0.3

S01313		1-([6-(3-氯-4-氟苯基)-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基)-(3,4-二甲基甲基噻唑-2,5-二酮	414.0 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.89-7.85 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.51-7.47 (dd, J=7.5Hz, 2.1Hz, 1H), 7.40-7.35 (br, 1H), 7.18-7.12 (m, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.62-6.58 (d, J=8.7Hz, 1H), 2.05 (s, 6H)	0.3
S01457		3,4-二甲基-1-([6-(2-甲基丙基)-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基)噻唑-2,5-二酮	340.3 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.70-7.67 (d, J=6.3Hz, 1H), 6.65 (br, 1H), 6.47-6.44 (d, J=6.6Hz, 1H), 2.61 (d, J=5.4Hz, 2H), 2.07 (s, 6H), 0.85 (s, 3H), 0.84 (s, 3H)	0.3
S01737		1-([6-氯-4-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基)-3,4-二甲基噻唑-2,5-二酮	320 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.03 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 6.62 (s, 1H), 2.07 (s, 6H)	0.312
S01865		甲基 3-(1-([4-([4-((叔-丁基)氧基羰基)哌嗪基]甲基)-7-溴-(2-噻唑基)]氨基)-4-甲基-2,5-二噻唑-3-基)丙酸酯	616 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.86-7.79 (m, 2H), 7.40-7.37 (d, J ₁ =8.7Hz, J ₂ =2.1Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.65 (s, 2H), 3.42-3.39 (m, 4H), 2.83-2.81 (t, 2H), 2.74-2.72 (t, 2H), 2.40 (m, 4H), 2.14 (s, 3H), 1.46 (s, 9H)	0.312

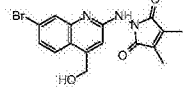
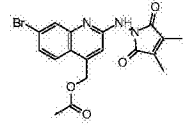
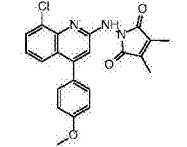
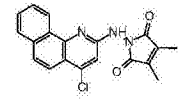
[0325]

S01880		1-([4-([4-([4-(二甲基氨基)苯基]硫基)哌嗪基]甲基)-7-溴-(2-噻唑基)]氨基)-3,4-二甲基噻唑-2,5-二酮	591 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.89-7.84 (m, 2H), 7.42-7.33 (m, 3H), 6.88 (s, 1H), 6.67-6.64 (d, J ₁ =7.2Hz, J ₂ =2.1Hz, 2H), 3.74 (s, 2H), 3.63 (m, 4H), 2.99 (s, 6H), 2.50 (m, 4H), 2.10 (s, 6H)	0.312
S01098		1-[(3-氯异噻唑基)氨基]-3,4-二甲基噻唑-2,5-二酮	302.2 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.78-7.74 (m, 2H), 7.56-7.47 (m, 2H), 7.38-7.32 (m, 1H), 7.04 (s, 1H), 2.10 (s, 6H)	0.45
S01553		1-([6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基)-3-乙基-4-甲基噻唑-2,5-二酮	332 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.79-7.76 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.50-6.47 (d, J=8.4Hz, 1H), 2.54-2.46 (m, 2H), 2.07 (s, 3H), 1.27-1.17 (m, 3H)	0.45
S01734		1-([4-氯-6-苯基-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]氨基)-3,4-二甲基噻唑-2,5-二酮	396.3 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.52 (br, 1H), 7.37-7.33 (m, 5H), 6.49 (s, 1H), 2.02 (s, 6H)	0.45

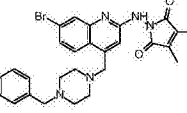
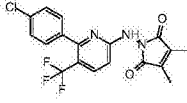
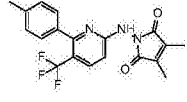
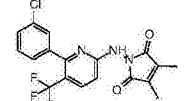
S01864		N-[1-({2-[(3,4-二甲基-2,5-二噁唑啉基)氨基]-7-溴-4-喹啉基})甲基]吡咯烷-3-基)-(叔-丁氧基)羧甲酰胺	542.2 (M ⁺ -1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.82-7.70 (m, 3H), 7.40-7.35 (dd, J=9.0Hz, 2.1Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 4.90-4.80 (br, 0.5H), 4.20-4.10 (br, 0.5H), 3.80 (s, 2H), 2.90-2.80 (m, 1H), 2.70-2.55 (m, 2H), 2.40-2.20 (m, 2H), 2.00 (s, 6H), 1.70-1.50 (m, 2H), 1.43 (s, 9H)	0.468
S01877		1-([7-溴-4-({4-[(4-氟苯基)羰基]哌嗪基})甲基](2-噻唑基))氨基]-3,4-二甲基吡啶-2,5-二酮	566 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.86-7.83 (m, 2H), 7.43-7.37 (m, 3H), 7.11-7.06 (m, 2H), 6.82 (s, 1H), 3.77-3.44 (m, 6H), 2.52-2.11 (m, 4H), 2.10 (s, 6H)	0.468
S01475		6-[(3,4-二甲基-2,5-二噁唑啉基)氨基]-3-(三氟甲基)吡啶-2-腈	309.2 (M ⁺ -1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.83-7.81 (d, J=6.6Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.86-6.84 (d, J=6.6Hz, 1H), 2.08 (s, 6H)	0.5
S00186		2-([6-氯-5-(三氟甲基)-2-吡啶基]氨基)-4,5,6,7-四氢异喹啉-1,3-二酮		(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.80-7.70 (d, J=8.7Hz, 1H), 6.55-6.45 (d, J=8.7Hz, 1H), 2.50-2.30 (m, 4H), 1.90-1.75 (m, 4H)	0.625

[0326]

S00516		1-([4-溴-3-(三氟甲基)苯基]氨基)-3,4-二甲基吡啶-2,5-二酮	360.9 (M ⁺ -1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.54-7.50 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.07-7.05 (d, J=3.0Hz, 1H), 6.76-6.72 (dd, J=8.7Hz, 2.7Hz, 1H), 6.10 (s, 1H), 2.08 (s, 6H)	0.625
S00738		1-[(4-氯萘基)氨基]-3,4-二甲基吡啶-2,5-二酮	No Mass	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 8.27-8.23 (dd, J=8.7Hz, 1.5Hz, 1H), 8.01-7.97 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.65-7.52 (m, 2H), 7.38-7.35 (d, J=8.1Hz, 1H), 6.60 (s, 1H), 6.57-6.53 (d, J=8.4Hz, 1H), 2.09 (s, 6H)	0.625
S00935		1-[(4-氯-6-甲基(2-噻唑基))氨基]-3,4-二甲基吡啶-2,5-二酮	315.9 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.79 (s, 1H), 7.61-7.57 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.45-7.42 (d, J=8.7Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.08 (s, 6H)	0.625
S00942		1-[(4-溴萘基)氨基]-3,4-二甲基吡啶-2,5-二酮	342.9 (M ⁺ -1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 8.25-8.21 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.99-7.95 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.65-7.52 (m, 3H), 6.56 (s, 1H), 6.52-6.49 (d, J=8.4Hz, 1H), 2.08 (s, 6H)	0.625

S01037		1-([7-溴-4-(羟基甲基)(2-喹啉基)氨基]-3,4-二甲基咪唑-2,5-二酮	376.1(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.85-7.84 (d, J=1.8Hz, 1H), 7.52-7.49 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.40-7.36 (dd, J=8.7Hz, 1.8Hz, 1H), 6.99 (s, 1H), 4.99 (s, 2H), 2.11 (s, 1H), 2.10 (s, 6H)	0.625
S01047		{2-[(3,4-二甲基-2,5-二噁咪基)氨基]-7-溴-4-喹啉基}乙酸甲酯	418.0(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.86-7.85 (d, J=1.8Hz, 1H), 7.58-7.54 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.45-7.41 (dd, J=9.0Hz, 2.1Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 5.27 (s, 2H), 2.13 (s, 3H), 2.02 (s, 6H)	0.625
S01191		1-([8-氯-4-(4-甲氧基苯基)(2-喹啉基)氨基]-3,4-二甲基咪唑-2,5-二酮	408.2(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.67-7.60 (m, 2H), 7.37-7.32 (m, 2H), 7.18-7.13 (m, 1H), 7.05-7.01 (m, 2H), 6.84 (br, 1H), 6.78 (s, 1H), 3.88 (s, 1H), 2.10 (s, 6H)	0.625
S01207		1-([4-氯苯并[h]喹啉-2-基)氨基]-3,4-二甲基咪唑-2,5-二酮	352.2(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 8.81-8.78 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.99-7.96 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.87-7.83 (d, 9.0Hz, 1H), 7.73-7.69 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.67-7.55 (m, 2H), 7.00 (s, 1H), 6.84 (br, 1H), 2.02 (s, 6H)	0.625

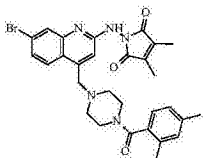
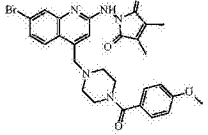
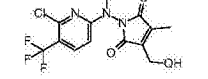
[0327]

S01268		1-([7-溴-4-([4-苄基哌嗪基]甲基)(2-喹啉基)氨基]-3,4-二甲基咪唑-2,5-二酮	534.3(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.88-7.82 (m, 2H), 7.40-7.25 (m, 6H), 6.89 (s, 1H), 3.73 (s, 2H), 3.51 (s, 2H), 2.60-2.40 (m, 8H), 2.09 (s, 6H)	0.625
S01371		1-([6-(4-氯苯基)-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基]-3,4-二甲基咪唑-2,5-二酮	394.4(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.85-7.81 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.57 (br, 1H), 7.38-7.31 (m, 4H), 6.47-6.44 (d, J=8.4Hz, 1H), 2.04 (s, 6H)	0.625
S01393		3,4-二甲基-1-([6-(4-甲基苯基)-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基]咪唑-2,5-二酮	374.3 (M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.87-7.84 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.36-7.33 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.21-7.18 (d, J=8.1Hz, 2H), 6.81 (s, 1H), 6.54-6.51 (d, J=8.7Hz, 1H), 2.39 (s, 3H), 2.04 (s, 6H)	0.625
S01474		1-([6-(3-氯苯基)-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基]-3,4-二甲基咪唑-2,5-二酮	394(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.87-7.84 (d, J=6.6Hz, 1H), 7.41-7.31 (m, 4H), 7.21 (br, 1H), 6.56-6.54 (d, J=6.6Hz, 1H), 2.04 (s, 6H)	0.625

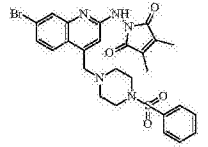
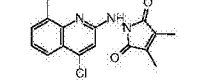
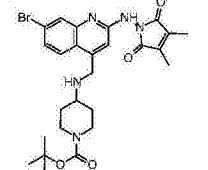
S01600		1-([6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]甲基氨基)-3-(甲氧基甲基)-4-甲基咪唑-2,5-二酮	362(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.77-7.74 (d, <i>J</i> =8.6Hz, 1H), 6.47-6.44 (d, <i>J</i> =8.4Hz, 1H), 4.37 (s, 2H), 3.45 (s, 3H), 3.44 (s, 3H), 2.20 (s, 3H)	0.625
S01683		苯基甲基 4-([2-[(3,4-二甲基-2,5-二咪唑基)氨基]-7-溴-4-喹啉基]甲基)哌嗪羧酸酯	578(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.84 (m, 2H), 7.41 (m, 1H), 7.37-7.30 (m, 5H), 6.86 (s, 1H), 6.76 (br, 1H), 5.14 (s, 2H), 3.70 (s, 2H), 3.50 (m, 4H), 2.44 (m, 4H), 2.09 (s, 6H)	0.625
S01688		1-([6-氯-2-苯基-3-(三氟甲基)(4-吡啶基)氨基]-3,4-二甲基咪唑-2,5-二酮	394.3(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.39-7.35 (m, 5H), 7.26 (s, 1H), 6.55 (d, <i>J</i> =6.0Hz, 1H), 2.03 (s, 6H)	0.625

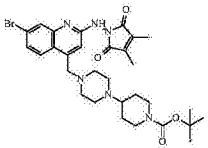
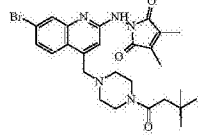
[0328]

S01691		3,4-二甲基-1-([6-(3-(三氟甲基)苯基)(2-吡啶基)氨基]咪唑-2,5-二酮	362.3(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 8.13 (br, 1H), 8.00-7.97 (d, <i>J</i> =7.8Hz, 1H), 7.63-7.58 (m, 2H), 7.52-7.47 (t, 1H), 7.33-7.31 (d, <i>J</i> =7.5Hz, 1H), 6.63-6.63 (t, 2H), 2.07 (s, 6H)	0.625
S01699		1-([7-溴-4-([4-(苯基羧基)哌嗪基]甲基)(2-喹啉基)氨基]-3,4-二甲基咪唑-2,5-二酮	548(M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.88-7.84 (m, 2H), 7.41-7.38 (m, 6H), 6.86 (s, 1H), 3.79-3.73 (m, 4H), 3.42 (m, 2H), 2.54 (m, 4H), 2.09 (s, 6H)	0.625
S01759		3-(1-([6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基]-4-甲基-2,5-二咪唑-3-基)-N-甲基-N-苯基丙酰胺	465.3(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.94 (s, 1H), 7.73 (d, <i>J</i> =8.6 Hz, 1H), 7.43-7.33 (m, 3H), 7.19-7.16 (m, 2H), 6.51 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H), 3.24 (s, 3H), 2.70 (t, <i>J</i> =7.1 Hz, 2H), 2.41 (t, <i>J</i> =7.2 Hz, 2H), 2.06 (s, 3H)	0.625
S01762		3,4-二甲基-1-([6-苯基-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基]咪唑-2,5-二酮	374.3(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.67-7.63 (d, <i>J</i> =8.4Hz, 1H), 7.22-7.12 (m, 5H), 6.84 (s, 1H), 6.45-6.41 (d, <i>J</i> =8.7Hz, 1H), 4.08 (s, 2H), 2.00 (s, 6H)	0.625

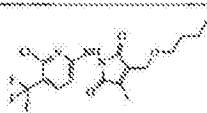
S01800		1-([4-([4-(2,4-二甲基苯基)羰基]咪唑基)甲基]-7-溴(2-噻啉基)氨基)-3,4-二甲基咪啉-2,5-二酮	576 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.87-7.83 (m, 2H), 7.41-7.37 (d, J ₁ =8.7Hz, J ₂ =2.1Hz, 1H), 7.05-7.00 (m, 3H), 6.85 (s, 1H), 3.81 (m, 2H), 3.72 (s, 2H), 3.22 (m, 2H), 2.58-2.55 (m, 2H), 2.36-2.33 (m, 2H), 2.31 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.10 (s, 6H)	0.625
S01801		1-([7-溴-4-([4-(4-甲氧基苯基)羰基]咪唑基)甲基]-2-噻啉基)氨基)-3,4-二甲基咪啉-2,5-二酮	578 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.90-7.82 (m, 2H), 7.41-7.36 (m, 3H), 6.92-6.88 (m, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.78 (s, 2H), 3.62 (m, 4H), 2.51 (m, 4H), 2.10 (s, 6H)	0.625
S01820		N-[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)]-N-[4-(羧基甲基)-3-甲基-2,5-二噻唑咪啉基]乙酰胺	376 (M ⁺ -1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 8.27-8.26 (m, 1H), 8.02-7.99 (t, 1H), 4.69-4.67 (d, J=5.1Hz, 2H), 2.31 (s, 3H), 2.28 (s, 3H)	0.625

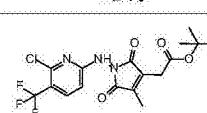
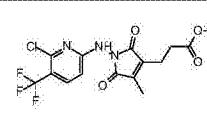
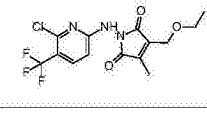
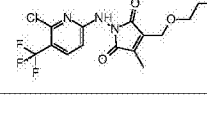
[0329]

S01822		1-([7-溴-4-([4-(苯基磺酰基)咪唑基)甲基]-2-噻啉基)氨基)-3,4-二甲基咪啉-2,5-二酮	584 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.80-7.71 (m, 4H), 7.62-7.52 (m, 3H), 7.34-7.31 (d, J ₁ =8.7Hz, J ₂ =2.1Hz, 1H), 6.75 (s, 1H), 3.65 (s, 2H), 3.01 (m, 4H), 2.56-2.53 (m, 4H), 2.07 (s, 6H)	0.625
S00871		1-([4-氯-8-甲基(2-噻啉基)氨基]-3,4-二甲基咪啉-2,5-二酮	316.0 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.91-7.88 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.47-7.44 (d, J=6.6Hz, 1H), 7.32-7.28 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.78 (br, 1H), 2.42 (s, 3H), 2.10 (s, 6H)	0.625
S01862		叔-丁基 4-([2-([3,4-二甲基-2,5-二噻唑咪啉基)氨基]-7-溴-4-噻啉基)甲基)氨基]哌啶羧酸酯	556.2 (M ⁺ -1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.81-7.80 (d, J=1.8Hz, 1H), 7.60-7.55 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.40-7.35 (dd, J=8.7Hz, 2.1Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 4.10-3.90 (m, 2H), 3.76 (s, 2H), 2.90-2.80 (m, 2H), 2.70-2.55 (m, 1H), 2.09 (s, 6H), 1.90-1.80 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.40-1.30 (m, 2H)	0.937

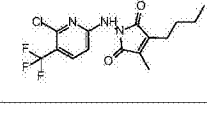
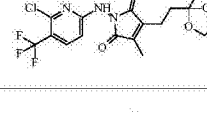
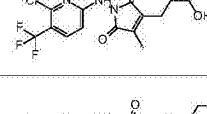
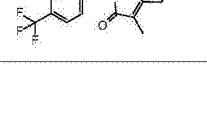
S01928		叔-丁基 4-[4-([2-([3,4-二甲基-2,5-二噻唑咪啉基)氨基]-7-溴-4-噻啉基)甲基)咪唑基]哌啶羧酸酯	627 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.88-7.83 (m, 2H), 7.40-7.36 (m, 1H), 6.87 (s, 1H), 4.15-4.08 (m, 1H), 3.68 (s, 2H), 2.73-2.65 (m, 2H), 2.54-2.52 (m, 8H), 2.36 (m, 2H), 2.06 (s, 6H), 1.81-1.77 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.42-1.35 (m, 2H)	0.9375
S01929		1-([4-([4-(3,3-二甲基丁酰基)咪唑基)甲基]-7-溴(2-噻啉基)氨基)-3,4-二甲基咪啉-2,5-二酮	542 (M ⁺ +1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.89-7.84 (m, 2H), 7.42-7.38 (m, 1H), 6.87 (s, 1H), 3.72 (s, 2H), 3.67-3.63 (m, 2H), 3.49-3.46 (m, 2H), 2.50-2.41 (m, 4H), 2.25 (s, 2H), 2.10 (s, 6H), 1.05 (s, 9H)	0.9375

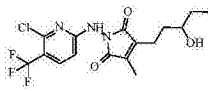
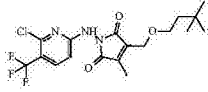
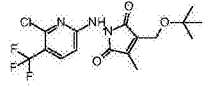
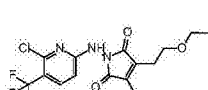
[0330] 表3. 代表性化合物和IC₅₀值

SCID	结构	IUPAC 命名	质量 (m/e)	¹ H NMR	IC ₅₀ (μ M)
S03518		3-(4-叔丁基-1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基]-4-甲基-2,5-二噁唑基]-4-甲基吡啶-2,5-二酮	396.2(M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ : 0.90-0.95 (t, J=7.2Hz, 3H), 1.35-1.43 (m, 3H), 1.54-1.63 (m, 2H), 2.20-2.3H (s, 3H), 3.50-3.55 (q, J=6.6Hz, 2H), 4.41 (s, 2H), 6.48-6.52 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 7.77-7.79 (d, J=8.4Hz, 1H)	0.02

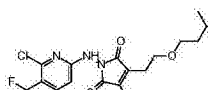
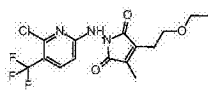
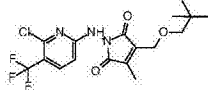
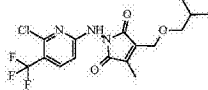
SCID	结构	IUPAC 命名	质量 (m/e)	¹ H NMR	IC ₅₀ (μ M)
S02225		叔丁基 2-(1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基]-4-甲基-2,5-二噁唑基]-3-基)乙酸酯	418.0(M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ : 7.79-7.76 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.51-6.48 (d, J=8.7Hz, 1H), 3.45 (s, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.25 (s, 9H)	0.03
S02264		甲基丙基 3-(1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基]-4-甲基-2,5-二噁唑基]-3-基)丙酸酯	433.9(M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ : 7.78-7.75 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.50-6.47 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.85-4.83 (m, 1H), 2.79-2.66 (m, 4H), 1.59-1.52 (m, 2H), 1.21-1.18 (d, J=6.3Hz, 3H), 0.90-0.86 (t, 3H)	0.04
S02366		1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基]-3-(乙氧基甲基)-4-甲基吡啶-2,5-二酮	364.0(M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ : 1.23-1.28 (t, J=6.9Hz, 3H), 2.21 (t, J=1.2Hz, 3H), 3.56-3.63 (q, J=6.9Hz, 2H), 4.41 (q, J=1.2Hz, 2H), 6.48-6.51 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.0 (s, 1H), 7.75-7.78 (d, J=8.4Hz, 1H)	0.04
S03405		1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基]-4-甲基-3-[(3-甲基丁氧基)甲基]吡啶-2,5-二酮	404.2(M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ : 0.87-0.95 (m, 6H), 1.47-1.54 (m, 2H), 1.66-1.75 (m, 1H), 2.19 (s, 3H), 3.53-3.57 (t, J=7.2Hz, 2H), 4.41 (s, 2H), 6.49-6.52 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.90 (s, 1H), 7.77-7.80 (d, J=8.4Hz, 1H)	<0.019

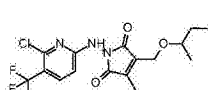
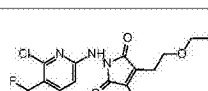
[0331]

S03448		3-丁基-1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基]-4-甲基吡啶-2,5-二酮	360.0(M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ : 7.78-7.74 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.50-6.46 (d, J=8.7Hz, 1H), 2.51-2.45 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.07 (s, 3H), 1.60-1.52 (m, 2H), 1.42-1.34 (m, 2H), 0.97-0.92 (t, J=7.2Hz, 3H)	0.156
S03456		1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基]-4-甲基-3-[2-(2-甲基(1,3-二氧戊环-2-基))乙基]吡啶-2,5-二酮	418.2(M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ : 1.35 (s, 3H), 1.98-2.03 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.07 (s, 3H), 2.56-2.61 (t, J=7.2Hz, 2H), 3.88-4.00 (m, 4H), 6.47-6.50 (d, J=8.7Hz, 1H), 6.78 (s, 1H), 7.76-7.79 (d, J=8.7Hz, 1H)	0.156
S03552		1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基]-4-(3-羟基乙基)-3-甲基吡啶-2,5-二酮	404.2(M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ : 7.77-7.74 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.21 (br, 1H), 6.51-6.48 (d, J=8.7Hz, 1H), 3.61-3.59 (m, 1H), 2.65-2.60 (t, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.77-1.62 (m, 3H), 1.47-1.25 (m, 4H), 0.94-0.90 (m, 3H)	0.06
S03742		1-[[6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基)氨基]-3-[(2-甲氧基乙氧基)甲基]-4-甲基吡啶-2,5-二酮	392.0(M ⁺ ·1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ : 7.77-7.74 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.20 (s, 1H), 6.52-6.49 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.48 (s, 1H), 3.72-3.69 (m, 2H), 3.60-3.56 (m, 2H), 3.39 (s, 3H), 2.20 (s, 3H)	0.12

S03745		1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基))氨基)-4-(3-羟基丙基)-3-甲基咪唑-2,5-二酮	390.0(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.76-7.73 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.36 (br, 1H), 6.51-6.48 (d, J=8.7Hz, 1H), 3.52-3.51 (m, 1H), 2.64-2.59 (t, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.83-1.62 (m, 2H), 1.55-1.42 (m, 2H), 0.94-0.90 (m, 3H)	0.06
S03747		3-((3,3-二甲基丁氧基)甲基)-1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基))氨基)-4-甲基咪唑-2,5-二酮	418.1(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.77-7.80 (d, J=8.7Hz, 1H), 6.77 (s, 1H), 6.49-6.52 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.40 (s, 2H), 3.55-3.60 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.53-1.58 (t, J=6.9Hz, 2H), 0.92-0.96 (s, 9H)	<0.019
S03873		4-(叔-丁氧基)甲基)-1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基))氨基)-3-甲基咪唑-2,5-二酮	390.2(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.80-7.77 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.85 (br, 1H), 6.51-6.49 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.37 (s, 2H), 2.21 (s, 3H), 1.28 (s, 9H)	0.02
S03955		1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基))氨基)-4-甲基-3-[2-(2-甲基丙氧基)乙基]咪唑-2,5-二酮	404.1(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 0.86-0.88 (d, J=8.4Hz, 6H), 1.79-1.83 (m, 1H), 2.21 (s, 3H), 2.72-2.76 (t, J=6.6Hz, 2H), 3.17-3.19 (d, J=6.6Hz, 2H), 3.60-3.64 (t, J=6.6Hz, 2H), 6.45-6.48 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.03 (s, 1H), 7.75-7.78 (d, J=8.4Hz, 1H)	0.06

[0332]

S03956		1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基))氨基)-4-甲基-3-[2-(3-甲基丁氧基)乙基]咪唑-2,5-二酮	418.3(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 0.85-0.92 (d, J=6.6Hz, 6H), 1.39-1.46 (m, 2H), 1.60-1.69 (m, 1H), 2.09 (s, 3H), 2.72-2.76 (t, J=6.6Hz, 2H), 3.41-3.46 (d, J=6.6Hz, 2H), 3.60-3.64 (t, J=6.6Hz, 2H), 6.45-6.47 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.73-7.76 (d, J=8.4Hz, 1H)	0.156
S03960		1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基))氨基)-3-(2-乙氧基乙基)-4-甲基咪唑-2,5-二酮	376.2(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.76-7.73 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.41 (s, 1H), 6.48-6.45 (d, J=8.4Hz, 1H), 3.65-3.61 (t, 2H), 3.52-3.45 (q, 2H), 2.76-2.72 (t, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.19-1.14 (t, 3H)	0.04
S03962		3-((2,2-二甲基丙氧基)甲基)-1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基))氨基)-4-甲基咪唑-2,5-二酮	404.2(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.80-7.77 (d, J=8.7Hz, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.53-6.50 (d, J=8.7Hz, 1H), 4.43 (s, 2H), 3.17 (s, 2H), 2.22 (s, 3H), 0.94 (s, 9H)	<0.019
S03963		1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基))氨基)-4-甲基-3-[(2-甲基丙氧基)甲基]咪唑-2,5-二酮	390.2(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.78-7.75 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 6.51-6.48 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.41 (s, 2H), 3.50-3.28 (d, J=6.6Hz, 2H), 2.21 (s, 3H), 1.95-1.86 (m, 1H), 0.94-0.91 (d, J=6.6Hz, 6H)	<0.019

S03964		4-((1,3-二甲基丁氧基)甲基)-1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基))氨基)-3-甲基咪唑-2,5-二酮	418.1(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.77-7.74 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.15 (br, 1H), 6.50-6.47 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.51-4.30 (m, 2H), 3.64-3.57 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 1.76-1.69 (m, 1H), 1.56-1.49 (m, 1H), 1.27-1.23 (m, 1H), 1.21-1.18 (m, 3H), 0.92-0.88 (m, 6H)	0.04
S04034		1-((6-氯-5-(三氟甲基)(2-吡啶基))氨基)-3-甲基-4-(2-丙氧基乙基)咪唑-2,5-二酮	390.3(M-1)	(CDCl ₃ , 300MHz) δ: 7.73 (s, 1H), 7.70 (br, 1H), 6.47-6.44 (d, J=8.7Hz, 1H), 3.64-3.60 (t, 2H), 3.39-3.50 (t, 2H), 2.76-2.72 (t, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.61-1.49 (m, 2H), 0.91-0.86 (t, 3H)	0.04

[0333] 实施例7: 单独的S00109和S00109联合其它的抗癌处理对正常细胞和对癌细胞的作用

[0334] 测定了单独的S00109和S00109联合公知的抗癌处理对正常人真皮层纤维母细胞(NHDF)和人脐带内皮细胞(HUVEC)以及对MIAPaCa2细胞(胰腺癌衍生细胞系)、HCT116细胞(结肠癌衍生细胞系)、IM9细胞(多发性骨髓瘤衍生细胞系)、ARH-77细胞(多发性骨髓瘤衍

生细胞系)、RPMI-8226细胞(多发性骨髓瘤衍生细胞系)、NCI-H929细胞(多发性骨髓瘤衍生细胞系)的作用。

[0335] 细胞如表4-11所述进行处理,然后收集,以碘化丙锭染色以允许测量DNA含量,并通过流式细胞仪分析以测定在处理后的每个群体中存在的每个细胞的细胞周期阶段。因此,“表型”或“主要表型”或“细胞周期类型”可在处于不同细胞周期阶段(G1、S、G2、M、亚G1(死亡)等)的细胞百分比的基础上测定。表4-11报导了与每种处理组合对应的主要的细胞周期类型或细胞周期类型中最相关的变化。例如,一种处理组合的结果可以被报道为对于相同的抗癌处理,与暴露至较低S00109浓度所导致的主要表型相比,暴露至特定S00109浓度后处于G2期的细胞数量的增加。类似地,在S00109处理缺失情况下的抗癌处理的结果可报道为与相应对照(无抗癌处理,无S00109,相同培养条件)相比处于S期的细胞数量的增加。

[0336] 正常人细胞和人癌细胞被暴露至从没有S00109至100 μ M S00109之间的各种浓度下的S00109(在表4-11中简写为S109),如每一栏的标题所示。

[0337] 正常人细胞和人癌细胞被暴露至各种抗癌处理,包括X-线辐射和抗癌剂(“抗癌药物”)氨甲喋呤、CPT-11(依立替康, **Camptosar®**)、5-FU(5-氟尿嘧啶)、CDDP(顺铂)、亚德里亚霉素、**Gemzar®**(吉西他滨)、紫杉醇、**Velcade®**(硼替佐米)、长春新碱、地塞米松和美法仑。处理包括以抗癌剂和所示剂量的S00109同时处理,以及交错的处理组合,其中细胞首先进行抗癌处理,然后以所示剂量的S00109进行处理。下文显示了表4-11中每一行的图例(legend)所述的处理的关键条件。

[0338] 对照实验包括细胞以指定剂量的S109处理且没有其它的处理的实验,在表4-11中显示为“单独”,其中“所示剂量的S109”包括每一栏顶部标题所示的没有S00109或最高100 μ M的各种S00109浓度。对照实验包括设计用于测试24小时和48小时培养时间的作用,以及例如在3小时更换培养基或在随后的步骤中添加S00109等额外的步骤的作用的实验。

[0339]

表 4-11 中处理的关键词	
单独 24hr	细胞在具有指定剂量 S109 的培养基中被培养 24 小时而没有任何其它的抗癌处理,其中“指定剂量 S109”包括“无 S109”对照处理
X-线 10Gy 24hr 同时 刺激	细胞在实验开始以总剂量 10Gy 的 X-线辐射(需要约 5-10 分钟),并在具有指定剂量 S109 的培养基中培养 24 小时
X-线 10Gy 预辐射	细胞在实验开始以总剂量 10Gy 的 X-线辐射(约 5-10 分钟)并在单独的培养基中培养 24 小时,在辐射后 24 小时,将指定剂量的 S109 添加至培养基,并继续培养细胞 24 小时
MTX 0.4 24hr	将细胞培养于含有 0.4 μ g/ml 氨甲喋呤和指定剂量 S109 的培养基中培养 24 小时

[0340]

表 4-11 中处理的关键词		
MTX	2	将细胞培养于含有 2 $\mu\text{g/ml}$ 氨甲喋呤和指定剂量 S109 的培养基中培养 24 小时
MTX	10	将细胞培养于含有 10 $\mu\text{g/ml}$ 氨甲喋呤和指定剂量 S109 的培养基中培养 24 小时
单独	3hr 24hr 培养	将细胞在含有指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时，在第 3 小时，以不含 S109 的新鲜培养基置换该培养基，并将细胞在该新鲜培养基中继续培养 24 小时
CPT-11	50	将细胞在含有 50 $\mu\text{g/ml}$ CPT-11 (依立替康, Camptosar®)和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时，在第 3 小时，以不含 CPT-11 或 S109 的新鲜培养基置换该培养基，并将细胞在该新鲜培养基中继续培养 24 小时
5-FU	20	将细胞在含有 20 $\mu\text{g/ml}$ 5-FU (5-氟尿嘧啶)和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时，在第 3 小时，以不含 5-FU 或 S109 的新鲜培养基置换该培养基，并将细胞在该新鲜培养基中继续培养 24 小时
单独	3hr 48hr 培养	将细胞在含有指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时，在第 3 小时，以不含 S109 的新鲜培养基置换该培养基，并将细胞在该新鲜培养基中继续培养 48 小时
CDDP	3	将细胞在含有 3 $\mu\text{g/ml}$ CDDP (顺铂)和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时，在第 3 小时，以不含 CDDP 或 S109 的新鲜培养基置换该培养基，并将细胞继续培养 48 小时
CDDP	10	将细胞在含有 10 $\mu\text{g/ml}$ CDDP 和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时，在第 3 小时，以不含 CDDP 或 S109 的新鲜培养基置换该培养基，并将细胞继续培养 48 小时
ADR	1	将细胞在含有 1 $\mu\text{g/ml}$ 亚德里亚霉素和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时，在第 3 小时，以不含亚德里亚霉素或 S109 的新鲜培养基置换该培养基，并将细胞继续培养 48 小时

[0341]

表 4-11 中处理的关键词	
Gemzar 0.016	将细胞在含有 0.016 μ g/ml Gemzar® (吉西他滨) 和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时, 在第 3 小时, 以不含 Gemzar®或 S109 的新鲜培养基置换该培养基, 并将细胞继续培养 48 小时
Gemzar 0.08	将细胞在含有 0.08 μ g/ml Gemzar® (吉西他滨) 和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时, 在第 3 小时, 以不含 Gemzar®或 S109 的新鲜培养基置换该培养基, 并将细胞继续培养 48 小时
Gemzar 0.4	将细胞在含有 0.04 μ g/ml Gemzar® (吉西他滨) 和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时, 在第 3 小时, 以不含 Gemzar®或 S109 的新鲜培养基置换培养基, 并将细胞继续培养 48 小时
Gemzar 2	将细胞在含有 2 μ g/ml Gemzar® (吉西他滨) 和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时, 在第 3 小时, 以不含 Gemzar®或 S109 的新鲜培养基置换该培养基, 并将细胞继续培养 48 小时
Gemzar 10	将细胞在含有 10 μ g/ml Gemzar® (吉西他滨) 和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时, 在第 3 小时, 以不含 Gemzar®或 S109 的新鲜培养基置换该培养基, 并将细胞继续培养 48 小时
Gemzar 50	将细胞在含有 50 μ g/ml Gemzar® (吉西他滨) 和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时, 在第 3 小时, 以不含 Gemzar®或 S109 的新鲜培养基置换该培养基, 并将细胞继续培养 48 小时
紫 杉 醇 0.0032	将细胞在含有 0.0032 μ g/ml 紫杉醇和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时, 在第 3 小时, 以不含紫杉醇或 S109 的新鲜培养基置换该培养基, 并将细胞继续培养 48 小时
紫 杉 醇 0.016	将细胞在含有 0.016 μ g/ml 紫杉醇和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时, 在第 3 小时, 以不含紫杉醇或 S109 的新鲜培养基置换该培养基, 并将细胞继续培养 48 小时

[0342]

表 4-11 中处理的关键词	
紫杉醇 0.08	将细胞在含有 0.08 μ g/ml 紫杉醇和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时，在第 3 小时，以不含紫杉醇或 S109 的新鲜培养基置换该培养基，并将细胞继续培养 48 小时
紫杉醇 0.4	将细胞在含有 0.4 μ g/ml 紫杉醇和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时，在第 3 小时，以不含紫杉醇或 S109 的新鲜培养基置换该培养基，并将细胞继续培养 48 小时
紫杉醇 2	将细胞在含有 2 μ g/ml 紫杉醇和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时，在第 3 小时，以不含紫杉醇或 S109 的新鲜培养基置换该培养基，并将细胞继续培养 48 小时
紫杉醇 10 24hr	将细胞在含有 10 μ g/ml 紫杉醇和指定剂量 S109 的培养基中培养 3 小时，在第 3 小时，以不含紫杉醇或 S109 的新鲜培养基置换该培养基，并将细胞继续培养 48 小时 将细胞不经其它的抗癌处理培养 24 小时（与之前的“单独，24hr”相同）
Velcade 3	将细胞在含有 3 μ g/ml Velcade®（硼替佐米）和指定剂量 S109 的培养基中培养 24 小时
Velcade 6	将细胞在含有 6 μ g/ml Velcade®（硼替佐米）和指定剂量 S109 的培养基中培养 24 小时
长春新碱 2	将细胞在含有 2 μ g/ml 长春新碱和指定剂量 S109 的培养基中培养 24 小时
长春新碱 20	将细胞在含有 20 μ g/ml 长春新碱和指定剂量 S109 的培养基中培养 24 小时
地塞米松 2	将细胞在含有 2 μ g/ml 地塞米松和指定剂量 S109 的培养基中培养 24 小时
地塞米松 20	将细胞在含有 20 μ g/ml 长春新碱和指定剂量 S109 的培养基中培养 24 小时
地塞米松 200	将细胞在含有 200 μ g/ml 长春新碱和指定剂量 S109 的培养基中培养 24 小时
同时 24hr ADR0.1	将细胞在 0.1 μ g/ml 亚德里亚霉素和指定剂量 S109 存在下（即，同时地）培养 24 小时

[0343]

表 4-11 中处理的关键词	
同时 24hr ADR0.5	将细胞在 0.5 μ g/ml 亚德里亚霉素和指定剂量 S109 存在下（即，同时地）培养 24 小时
同时 24hr Melph 1	将细胞在 1 μ g/ml 美法仑和指定剂量 S109 存在下（即，同时地）培养 24 小时
同时 24hr Melph 4	将细胞在 4 μ g/ml 美法仑和指定剂量 S109 存在下（即，同时地）培养 24 小时
48hr	将细胞在没有任何其它的抗癌处理且在指定剂量 S109 的存在下培养 48 小时
同时 48hr ADR0.1	将细胞在 0.1 μ g/ml 亚德里亚霉素和指定剂量 S109 存在下（即，同时地）培养 48 小时
同时 48hr ADR0.5	将细胞在 0.5 μ g/ml 亚德里亚霉素和指定剂量 S109 存在下（即，同时地）培养 48 小时
同时 48hr Melph 1	将细胞在 1 μ g/ml 美法仑和指定剂量 S109 存在下（即，同时地）培养 48 小时
同时 48hr Melph 4	将细胞在 4 μ g/ml 美法仑和指定剂量 S109 存在下（即，同时地）培养 48 小时
在 24hr 添加	将细胞在单独培养基中培养 24 小时，然后在第 24 小时，向该培养基添加指定剂量的 S109 并将细胞继续培养 24 小时
预 先 ADR0.1 24hr 添加	将细胞在含有 0.1 μ g/ml 亚德里亚霉素的培养基中培养 24 小时，然后在第 24 小时，向该含亚德里亚霉素的培养基添加指定剂量的 S109，并将细胞在亚德里亚霉素和 S109 存在下继续培养 24 小时
预 先 ADR0.5 24hr 添加	将细胞在含有 0.5 μ g/ml 亚德里亚霉素的培养基中培养 24 小时，然后在第 24 小时，向该含亚德里亚霉素的培养基添加指定剂量的 S109，并将细胞在亚德里亚霉素和 S109 存在下继续培养 24 小时
预先 Mel 1 24hr 添加	将细胞在含有 1 μ g/ml 美法仑的培养基中培养 24 小时，然后在第 24 小时，向该含美法仑的培养基添加指定剂量的 S109，并将细胞在美法仑和 S109 存在下继续培养 24 小时

[0344]

表 4-11 中处理的关键词	
预先 Mel 4 24hr 添加	将细胞在含有 4μg/ml 美法仑的培养基中培养 24 小时，然后在第 24 小时，向该含美法仑的培养基添加指定剂量的 S109，并将细胞在美法仑和 S109 存在下继续培养 24 小时
在 48hr 添 加	将细胞在单独培养基中培养 48 小时，然后在第 48 小时，添加指定剂量的 S109 并将细胞继续培养 24 小时
预 先 ADR0.1 48hr 添加	将细胞在含有 0.1μg/ml 亚德里亚霉素的培养基中培养 48 小时，然后在第 48 小时，添加指定剂量的 S109，并将细胞在亚德里亚霉素和 S109 存在下继续培养 24 小时
预 先 ADR0.5 48hr 添加	将细胞在含有 0.5μg/ml 亚德里亚霉素的培养基中培养 48 小时，然后在第 48 小时，添加指定剂量的 S109，并将细胞在亚德里亚霉素和 S109 存在下继续培养 24 小时
预先 Mel 1 48hr 添加	将细胞在含有 1μg/ml 美法仑的培养基中培养 48 小时，然后在第 48 小时，添加指定剂量的 S109，并将细胞在美法仑和 S109 存在下继续培养 24 小时
预先 Mel 4 48hr 添加	将细胞在含有 4μg/ml 美法仑的培养基中培养 48 小时，然后在第 48 小时，添加指定剂量的 S109，并将细胞在美法仑和 S109 存在下继续培养 24 小时

[0345] 在表4-11中，其结果以如下方式描述。

[0346]

表 4-11 中结果的关键词	
水平箭头 →	在该处理后所见的细胞周期类型（表型）与相应条件下的对照（未处理的）细胞类型相同或者该 S00109 剂量下的类型与下一较低 S00109 剂量下所见的类型相同

[0347]

表 4-11 中结果的关键词	
G2 略微地↑ 或 G2 略微↑	处于 G2 期（G2 细胞群体）的细胞百分比略微增加约 5-10%
死亡略微地↑ 或 死亡略微↑	处于亚 G1 细胞群体的细胞百分比（其中亚 G1 为死亡细胞的表型）略微上升，即，亚 G1 群体约 5-10%的上升
G2↑	G2 细胞群体的细胞百分比上升（10%-20%）
G1 缓和	在绘制由流式细胞仪的细胞分选结果时，代表 G1 细胞群体的峰型与其它细胞群体中所见的“尖”峰相比变得“缓和”（更圆滑、分布更分散，通常具有更长的尾部）
S 迟滞	处于 S 期（S 期群体）的细胞百分比上升
G2↑死亡↑	G2 细胞群体上升约 10%-20%，亚 G1 群体（即，死亡细胞）也上升
冻结 或 冻结？	该处理组合所观察到的细胞周期类型与未处理对照（无抗癌处理和无 S00109，相同培养条件）相同，即使在这些细胞接受特定的处理组合之后。
G1 缓和 G2↓	代表 G1 细胞群体的峰型变得“缓和”（见上文），处于 G2 期（“G2 细胞群体”）的细胞百分比下降
G2↓	G2 细胞群体下降
G2	G2 细胞群体略微地上升
S/G2	处于 S/G2 期（“S/G2 细胞群体”）的细胞百分比略微的上升
S/G2↑	处于 S/G2 期（“S/G2 细胞群体”）的细胞百分比明显地上升
死亡	亚 G1 细胞群体（死亡细胞）增加
NON 或周期	尽管细胞群体进行了所示的处理，该细胞群体的细胞周期类型与相应的未处理的对照细胞相同。

[0348]

表 4-11 中结果的关键词	
缓和	在绘制由流式细胞仪的细胞分选结果时，处于不同细胞周期阶段的细胞对应的所有的峰型均“缓和”（圆滑、分布分散，不“尖”）

[0349] 结果

[0350] 这些结果显示S00109对癌细胞具有强烈的细胞毒性作用，对正常细胞不具有或具有很小的细胞毒性作用。换言之，这些结果显示多数的癌细胞比多数的正常细胞对S00109更敏感。这些结果与实施例4的ARH-77异种移植肿瘤移植实验的结果一致，其中该以S00109、S01860、S03518、S03405或S03747治疗携带异种移植肿瘤的小鼠导致该携带肿瘤小鼠的存活率的显著上升，表明S00109、S01860、S03518、S03405或S03747特异性杀死或抑制异种移植肿瘤中的ARH-77（多发性骨髓瘤）细胞，而对该小鼠宿主的正常细胞或器官不具有细胞毒性作用。

[0351] A. 正常人真皮层纤维母细胞 (NHDF)

[0352] 正常人真皮层纤维母细胞 (NHDF) 参照表4每一行第一单元格所述进行处理，且不暴露至S00109 (第2栏) 或暴露至3-9栏所示浓度的S00109。每种处理组合的主要表型描述于相应的单元格中。

[0353] 表4. 以单独或联合了抗癌处理的S00109处理的正常人真皮层纤维母细胞 (NHDF) 的表型

[0354]

NHDF 处理	无 S10 9	0.006 4 μ M S109	0.03 2 μ M S10 9	0.16 μ M S109	0.8 μ M S109	4 μ M S109	20 μ M S109	100 μ M S109
单独 24hr		→	→	→	G2 略 微地↑	G2 略 微地↑	G2 略 微地↑	死亡略 微地
X- 线 10Gy 24hr 同时刺激	G2↑	→	→	→	→	→	→	→
X- 线 10Gy 预 辐射	G2↑	→	→	→	→	→	→	→
MTX 0.4 24hr	G1 缓和	→	→	→	G2 略 微地↑	G2 略 微地↑	G2 略 微地↑	G2 略 微地↑
MTX 2 24hr	G1 缓和	→	→	→	G2 略 微地↑	G2 略 微地↑	G2 略 微地↑	G2 略 微地↑
MTX 10 24hr	G1 缓和	→	→	→	G2 略 微地↑	G2 略 微地↑	G2 略 微地↑	G2 略 微地↑
单独 3hr 24hr 培养		→	→	→	→	→	→	死亡略 微地
CPT-11 50	S 迟 滞	→	→	→	→	→	→	→
5-FU 20	G2 略 微↑	→	→	→	→	→	→	→
单独 3hr 48hr 培养		→	→	→	→	G2↑ 死亡↑	G2↑ 死 亡↑	G2↑ 死 亡↑
CDDP 3	G2 略 微↑	→	→	→	G2↑	G2↑	G2↑ 死 亡↑	G2↑ 死 亡↑
CDDP 10	G2↑	→	→	→	G2↓	冻结	冻结	冻结
ADR 1	G2↑	→	→	→	→	→	→	→
Gemzar 0.016	G1 缓和 G2↓	→	→	→	→	冻结	冻结	G2↑

[0355]

NHDF 处理	无 S10 9	0.006 4 μ M S109	0.03 2 μ M S10 9	0.16 μ M S109	0.8 μ M S109	4 μ M S109	20 μ M S109	100 μ M S109
Gemzar 0.08	G2↓	→	→	→	→	→	→	G2↑
Gemzar 0.4	S/G 2	→	→	→	→	→	→	G2
Gemzar 2	S/G 2↑	→	→	→	→	→	→	→
Gemzar 10	S/G 2↑	→	→	→	→	→	→	→
Gemzar 50	S/G 2↑	→	→	→	→	→	→	→
紫杉醇 0.0032	死亡	→	→	→	→	→	M↑	M↑
紫杉醇 0.016	死亡	→	→	→	→	→	M↑	M↑
紫杉醇 0.08	死亡	→	→	→	→	→	M↑	M↑
紫杉醇 0.4	死亡	→	→	→	→	冻结	冻结	
紫杉醇 2	死亡	→	→	→	→	冻结	冻结	
紫杉醇 10	死亡	→	→	→	→	冻结	冻结	

[0356] B. 正常人脐带内皮细胞 (HUVEC)

[0357] 正常人脐带内皮细胞 (HUVEC) 参照表5每一行第一单元格所述进行处理,且不暴露至S00109(第2栏)或暴露至3-9栏所示浓度的S00109。每种处理的主要表型描述于相应的单元格中。

[0358] 表5. 以单独或联合了抗癌处理的S00109处理的正常人脐带内皮细胞 (HUVEC) 的表型

[0359]

HUVEC 处理	无 S10 9	0.006 4 μ M S109	0.03 2 μ M S10 9	0.16 μ M S109	0.8 μ M S109	4 μ M S109	20 μ M S109	100 μ M S109
单独 24hr		→	→	→	G2 略 微地↑	G2 略 微地↑	G2 略 微地↑	死亡略 微地
X- 线 10Gy 24hr 同时刺激	G2↑	→	→	→	→	→	→	→
X- 线 10Gy 预 辐射	G2↑	→	→	→	→	→	→	→
MTX 0.4 24hr	S/G 2↑	→	→	周 期?	周 期?	周 期?	周期?	死亡略 微地
MTX 2 24hr	S/G 2↑	→	→	→	周 期?	周 期?	周期?	死亡略 微地
MTX 10 24hr	S/G 2↑	→	→	→	→	→	→	→
单 独 3hr 24hr 培养		→	→	→	→	→	→	→
CPT-11 50	S 迟 滞	→	→	→	→	→	→	→
5-FU 20	G2 略 微↑	→	→	→	→	→	→	→
单 独 3hr 48hr 培养		→	→	→	→	→	→	→
CDDP 3	G2 略 微↑	→	→	→	→	G2↑	G2↑	G2↑
CDDP 10	G2↑	→	→	→	→	→	冻结?	冻结?
ADR 1	死 亡 G2↑	→	→	→	→	→	→	死亡
Gemzar 0.016	死 亡	→	→	→	→	冻结?	冻结?	冻结?
Gemzar 0.08	死 亡	→	→	→	→	→	冻结?	冻结?

[0360]

HUVEC 处理	无 S10 9	0.006 4 μ M S109	0.03 2 μ M S10 9	0.16 μ M S109	0.8 μ M S109	4 μ M S109	20 μ M S109	100 μ M S109
Gemzar 0.4	死亡	→	→	→	→	→	冻结?	冻结?
Gemzar 2	死亡	→	→	→	→	→	冻结?	冻结?
Gemzar 10	死亡	→	→	→	→	→	冻结?	冻结?
Gemzar 50	死亡	→	→	→	→	→	冻结?	冻结?
紫杉醇 0.0032	死亡	→	→	→	→	→	→	→
紫杉醇 0.016	死亡	→	→	→	→	→	→	→
紫杉醇 0.08	死亡	→	→	→	→	→	→	冻结?
紫杉醇 0.4	死亡	→	→	→	→	→	冻结?	冻结?
紫杉醇 2	死亡	→	→	→	→	→	冻结?	冻结?
紫杉醇 10	M 停滞	→	→	→	→	→	冻结?	冻结?

[0361] C. 人胰腺癌衍生细胞系MIAPaCa2

[0362] 人胰腺癌衍生细胞系MIAPaCa2的细胞参照表6每一行第一单元格所述进行处理，且不暴露至S00109 (第2栏) 或暴露至3-7栏所示浓度的S00109。每种处理的主要表型描述于相应的单元格中。表6. 以单独或联合了抗癌处理的S00109处理的人胰腺癌衍生细胞系(MIAPaCa2) 的表型

[0363]

MIAPaCa2 处理	无 S109	0.032 μ M S109	0.16 μ M S109	0.8 μ M S109	4 μ M S109	20 μ M S109
单独 24hr	NON	NON	NON	SG2↓	SG2↓	SG2↓
X- 线 2Gy 24hr 同时刺激	NON	NON	NON	SG2↓	SG2↓	SG2↓
X- 线 10Gy 24hr 同时刺激	G2↑	→	→	→	G1↑ G2↓	G1↑ G2↓
X-线 2Gy 预辐射	G2↑	→	SG2↓	SG2↓	SG2↓	SG2↓
X- 线 10Gy 预辐射	G2↑	→	G1↑	G1↑ G2↓	G1↑ G2↓	G1↑ G2↓
MTX 0.12 24hr	SG2↓	→	→	→	→	→
MTX 0.6 24hr	SG2↓	→	→	→	→	→
MTX 3 24hr	SG2↓	→	→	→	→	→
单独 3hr 24hr 培养	NON	NON	NON	NON	NON	SG2↓
CPT-11 50	G2↑	→	→	→	→	G1↑ G2↓
5-FU 20	SG2↓	→	→	→	→	→
单独 3hr 48hr 培养	NON	NON	NON	NON	NON	NON
CDDP 3	G2 略微↑	→	→	→	→	→
CDDP 10	G2↑	→	→	→	→	G2↓
ADR 1	SG2↑	→	→	→	→	G2↓ 死亡↑
Gemzar 2	SG2↓	→	→	→	→	SG2↓
Gemzar 10	G1↓	→	→	→	→	SG2↓
Gemzar 50	缓和	→	死亡	→	→	SG2↓
紫杉醇 0.4	死亡	→	→	→	G2↑	G2↑
紫杉醇 2	死亡	→	→	→	→	G2↑
紫杉醇 10	死亡	→	→	G2↑	G2↑	G2↑

[0364] D. 人结肠癌衍生细胞系HCT116

[0365] 人结肠癌衍生细胞系HCT116的细胞参照表7每一行第一单元格所述进行处理,且不暴露至S00109(第2栏)或暴露至3-8栏所示浓度的S00109。每种处理的主要表型描述于相应的单元格中。

[0366] 表7. 以单独或联合了抗癌处理的S00109处理的人结肠癌衍生细胞系(HCT116)的表型

[0367]

HCT116 处理	无 S109	0.032 μ M S109	0.16 μ M S109	0.8 μ M S109	4 μ M S109	20 μ M S109	100 μ M S109
单独 24hr	NON	NON	NON	S↓	G2↑	G2↑ 死亡↑	ND
X-线 2Gy 24hr 同时刺激	NON	NON	NON	S↓	G2↑↑	G2↑ 死亡↑	
X-线 10Gy 24hr 同时刺激	G2↑	→	→	→	→	→	
X-线 2Gy 预辐射	NON	NON	NON	死亡↑	G2↑ 死亡↑	G2↑ 死亡↑	
X-线 10Gy 预辐射	G2↑	→	→	→	死亡	死亡	
MTX 0.12 24hr	G2↓	→	→	→	→	→	
MTX 0.6 24hr	G2↓	→	→	→	→	→	
MTX 3 24hr	G2↓	→	→	→	→	→	
单独 3hr 24hr 培养	NON	NON	NON	G2↑	G2↑	S↓	
CPT-11 50	G2↑	→	→	→	G1	G1↑	
5-FU 20	NON	NON	NON	NON	NON	NON	
单独 3hr 48hr 培养	NON	NON	NON	NON	NON	NON	
CDDP 3	G2 略微↑	→	→	→	→	→	
CDDP 10	G2↑	→	→	→	→	死亡	

[0368]

HCT116 处理	无 S109	0.032 μ M S109	0.16 μ M S109	0.8 μ M S109	4 μ M S109	20 μ M S109	100 μ M S109
ADR 1	G2 $\uparrow$			死亡 $\uparrow$	G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	
Gemzar 2	死亡 G2 $\downarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	死亡	
Gemzar 10	死亡 G2 $\downarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	死亡	死亡	
Gemzar 50	死亡 G2 $\downarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	死亡	死亡	
紫杉醇 0.4	死亡			死亡 $\uparrow$	M $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	M $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	
紫杉醇 2	死亡			M $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	M $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	M $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	
紫杉醇 10	死亡				M $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	M $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	

[0369] E. 人多发性骨髓瘤衍生细胞系IM9

[0370] 人多发性骨髓瘤衍生细胞系IM9的细胞参照表8每一行第一单元格所述进行处理，且不暴露至S00109(表8A, 第2栏)或暴露至表8A 3-7栏和表8B 2-7栏所示浓度的S00109。每种处理组合的主要表型描述于相应的单元格中。

[0371] 表8. 以单独或联合了抗癌处理的S00109处理的人多发性骨髓瘤细胞系(IM9)的表型

[0372] 表8A无S00109以及0.02至0.3125 μ M S00109的结果

[0373]

IM9 处理	无 S109	0.02 μ M S109	0.039 μ M S109	0.078 μ M S109	0.156 μ M S109	0.3125 μ M S109
X-ray 10Gy pre irradi.	G2 $\uparrow$ 死亡	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$
24hr			S/G2 $\downarrow$	S/G2 $\downarrow$	S/G2 $\downarrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
Velcade 3	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	G1 $\uparrow$ S $\downarrow$
Velcade 6	$\rightarrow$	S/G2 $\downarrow$	S/G2 $\downarrow$	S/G2 $\downarrow$	S/G2 $\downarrow$	S/G2 $\downarrow$
长春新碱 2	$\rightarrow$	$\rightarrow$	G1 $\uparrow$	G1 $\uparrow$ S $\downarrow$	G1 $\uparrow$ S $\downarrow$	G1 $\uparrow$ S $\downarrow$
长春新碱 20	死亡 S $\downarrow$	G1 $\uparrow$	G1 $\uparrow$	G1 $\uparrow$	G1 $\uparrow$	G1 $\uparrow$

[0374]

IM9 处理	无 S109	0.02 μ M S109	0.039 μ M S109	0.078 μ M S109	0.156 μ M S109	0.3125 μ M S109
地塞米松 2	→	→	→	→	→	S/G2↓ 死亡↑
地塞米松 20	→	→	→	G1↑	G1↑S↓	S↓死亡↑
地塞米松 200	→	→	→	→	G1↑S↓	S↓死亡↑
同时 24hr ADR0.1	G2↑		G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	S/G2↓死亡↑	S/G2↓ 死亡↑
同时 24hr ADR0.5	G2↑死亡		G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	S/G2↓死亡↑	S/G2↓ 死亡↑
同时 24hr Melp 1	S/G2↑		G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	S/G2↓死亡↑	S/G2↓ 死亡↑
同时 24hr Melp 4	S/G2↑		G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	S/G2↓死亡↑	S/G2↓ 死亡↑
48hr			→	→	死亡↑	死亡↑
同时 48hr ADR0.1	G2↑死亡		G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	S/G2↓死亡↑	S/G2↓ 死亡↑
同时 48hr ADR0.5	G2↑死亡		G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓
同时 48hr Melp 1	→		G2↑	G2↑死亡↑	G2↑死亡↑	S/G2↓ 死亡↑
同时 48hr Melp 4	G2↑死亡		S/G2↓死亡↑	S/G2↓死亡↑	S/G2↓死亡↑	S/G2↓ 死亡↑
在 24hr 添加			→	→	G1↑	G1↑
预先 ADR0.1 24hr 添加	G2↑死亡		→	→	→	→
预先 ADR0.5 24hr 添加	死亡		→	G2↓	G2↓	→
预先 Mel 1 24hr 添加	→		→	G2↑	G2↑	G2↑
预先 Mel 4 24hr 添加	G2↑死亡		→	→	→	S/G2↓ 死亡↑
预先 S109 24hr 添加 ADR0.1	G2↑死亡		→	→	→	→
预先 S109 24hr 添加 ADR0.5	死亡		→	→	→	→
预先 S109 24hr 添加 Mel 1	→		→	→	→	→
预先 S109 24hr 添加 Mel 4	→		→	→	→	→

[0375] 表8B从0.625至20 μ M S00109的结果

[0376]

IM9 处理	0.625 μ M S109	1.25 μ M S109	2.5 μ M S109	5 μ M S109	10 μ M S109	20 μ M S109
X- 线 10Gy 预辐射	→	→	→	→	→	→
24hr	S/G2↓ 死 亡↑	S↓死亡 ↑	S↓死亡↑	S↓死亡↑	S↓死亡↑	S↓死亡↑
Velcade 3	G1↑S↓ 死 亡↑	G1↑S↓ 死亡↑	G1↑S↓ 死亡↑	G1↑S↓ 死 亡↑	G1↑S↓ 死 亡↑	G1↑S↓ 死 亡↑
Velcade 6	S↓死亡↑	S↓死亡 ↑	S↓死亡↑	S↓死亡↑	S↓死亡↑	S↓死亡↑
长春新碱 2	S↓死亡↑	S↓死亡 ↑	S↓死亡↑	S↓死亡↑	S↓死亡↑	S↓死亡↑
长春新碱 20	死亡↑	死亡↑	死亡↑	死亡↑	死亡↑	死亡↑
地塞米松 2	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死亡↑	S/G2↓死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑
地塞米松 20	S↓死亡↑	S↓死亡 ↑	S↓死亡↑	S↓死亡↑	S↓死亡↑	S↓死亡↑
地塞米松 200	S↓死亡↑	S↓死亡 ↑	S↓死亡↑	S↓死亡↑	S↓死亡↑	S↓死亡↑
同时 24hr ADR0.1	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死亡↑	S/G2↓死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑
同时 24hr ADR0.5	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死亡↑	S/G2↓死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑
同时 24hr Melfh 1	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死亡↑	S/G2↓死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑
同时 24hr Melfh 4	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死亡↑	S/G2↓死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑
48hr	死亡↑	死亡↑	死亡↑	死亡↑	死亡↑	死亡↑
同时 48hr ADR0.1	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死亡↑	S/G2↓死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑
同时 48hr ADR0.5	G1↑S/G2 ↓	G1↑S/G 2↓	G1↑S/G 2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2 ↓	S/G2↓ 死 亡↑
同时 48hr Melfh 1	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死亡↑	S/G2↓死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑
同时 48hr Melfh 4	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死亡↑	S/G2↓死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑
在 24hr 添加	G1↑	non	non	non	G1↓G2↑ 死亡↑	G1↓G2↑ 死亡↑

[0377]

IM9 处理	0.625 μ M S109	1.25 μ M S109	2.5 μ M S109	5 μ M S109	10 μ M S109	20 μ M S109
预 先 ADR0.1 24hr 添加	→	→	→	→	→	G2↓
预 先 ADR0.5 24hr 添加	→	→	→	死亡↑	死亡↑	死亡↑
预先 Mel 1 24hr 添加	G2↑死亡 ↑	→	→	→	→	→
预先 Mel 4 24hr 添加	→	→	→	→	→	→
预 先 S109 24hr 添 加 ADR0.1	→	→	→	→	→	→
预 先 S109 24hr 添 加 ADR0.5	→	→	→	→	→	→
预 先 S109 24hr 添 加 Mel 1	→	→	→	→	→	→
预 先 S109 24hr 添 加 Mel 4	→	→	→	→	→	死亡

[0378] F. 人多发性骨髓瘤衍生细胞系ARH-77

[0379] 人多发性骨髓瘤衍生细胞系ARH-77的细胞参照表9每一行第一单元格所述进行处理,且不暴露至S00109(表9A,第2栏)或暴露至表9A 3-7栏和表9B 2-7栏所示浓度的S00109。每种处理组合的主要表型描述于相应的单元格中。

[0380] 表9.以单独或联合了抗癌处理的S00109处理的人多发性骨髓瘤细胞系 (ARH-77) 的表型

[0381] 表9A无S00109以及0.02至0.3125 μ M S00109的结果

[0382]

ARH-77 处理	无 S109	0.02 μM S109	0.039 μM S109	0.078 μM S109	0.156 μM S109	0.3125 μM S109
X-线 10Gy 预辐射	G2 $\uparrow$ 死亡	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$
24hr			G1 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	G1 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	G1 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$
Velcade 3	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	G1 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	G1 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
Velcade 6	死亡	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$
长春新碱 2	死亡	G1 $\uparrow$	G1 $\uparrow$	G1 $\uparrow$	G1 $\uparrow$	G1 $\uparrow$
长春新碱 20	死亡 M $\uparrow$	G1 $\uparrow$	G1 $\uparrow$	G1 $\uparrow$	G1 $\uparrow$	死亡 $\uparrow$
地塞米松 2	死亡	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$
地塞米松 20	死亡	$\rightarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$
地塞米松 200	死亡	$\rightarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$
同时 24hr ADR0.1	G2 $\uparrow$		G1 $\uparrow$ S/G2 $\downarrow$	G1 $\uparrow$ S/G2 $\downarrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
同时 24hr ADR0.5	G2 $\uparrow$ 死亡		G1 $\uparrow$ S/G2 $\downarrow$	G1 $\uparrow$ S/G2 $\downarrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
同时 24hr Melph 1	S/G2 $\uparrow$		$\rightarrow$	G1 $\uparrow$ S/G2 $\downarrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
同时 24hr Melph 4	S/G2 $\uparrow$		$\rightarrow$	G1 $\uparrow$ S/G2 $\downarrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
48hr			$\rightarrow$	$\rightarrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
同时 48hr ADR0.1	G2 $\uparrow$		$\rightarrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
同时 48hr ADR0.5	G2 $\uparrow$ 死亡		G1 $\uparrow$ S/G2 $\downarrow$	G1 $\uparrow$ S/G2 $\downarrow$	G1 $\uparrow$ S/G2 $\downarrow$	G1 $\uparrow$ S/G2 $\downarrow$
同时 48hr Melph 1			$\rightarrow$	$\rightarrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡

[0383]

					亡↑
同时 48hr Melph 4	G2↑死亡	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死亡↑	S/G2↓ 死 亡↑
在 24hr 添加	→	→	→	→	→
预 先 ADR0.1 24hr 添加	G2↑死亡	→	→	→	→
预 先 ADR0.5 24hr 添加	G2↑死亡	→	→	G2↓	→
预先 Mel 1 24hr 添加	→	→	G2↑	G2↑	G2↑死亡 ↑
预先 Mel 4 24hr 添加	G2↑死亡	G2↓死亡 ↑	→	→	→
在 48hr 添加	→	→	→	→	→
预 先 ADR0.1 48hr 添加	G2↑死亡	→	→	→	→
预 先 ADR0.5 48hr 添加	G2↑死亡	→	→	→	→
预先 Mel 1 48hr 添加	→	→	→	→	→
预先 Mel 4 48hr 添加	G2↑死亡	→	→	→	→

[0384] 表9B从0.625至20μM S00109的结果

[0385]

ARH-77 处 理	0.625 μM S109	1.25 μM S109	2.5 μM S109	5 μM S109	10 μM S109	20 μM S109
X-线 10Gy 预辐射	→	→	→	→	死亡	死亡
24hr	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓
Velcade 3	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死亡↑	S/G2↓ 死 亡↑
Velcade 6	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓
长春新碱 2	G1↑	G1↑	G1↑	G1↑	G1↑	G1↑
长春新碱 20	死亡↑	死亡↑	死亡↑	死亡↑	死亡↑	死亡↑

[0386]

ARH-77 处理	0.625 μ M S109	1.25 μ M S109	2.5 μ M S109	5 μ M S109	10 μ M S109	20 μ M S109
地塞米松 2	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$
地塞米松 20	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$
地塞米松 200	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$	死亡 $\uparrow$ G2 $\downarrow$
同时 24hr ADR0.1	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
同时 24hr ADR0.5	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
同时 24hr Melfh 1	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
同时 24hr Melfh 4	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
48hr	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
同时 48hr ADR0.1	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
同时 48hr ADR0.5	G1 $\uparrow$ S/G2 $\downarrow$	G1 $\uparrow$ S/G 2 $\downarrow$	G1 $\uparrow$ S/G2 $\downarrow$	G1 $\uparrow$ S/G2 $\downarrow$	G1 $\uparrow$ S/G 2 $\downarrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
同时 48hr Melfh 1	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
同时 48hr Melfh 4	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	S/G2 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$
在 24hr 添加	$\rightarrow$	$\rightarrow$	G2 $\uparrow$ 死亡 $\uparrow$	G2 $\uparrow$ 死亡 $\uparrow$	G2 $\uparrow$ 死亡 $\uparrow$	G2 $\uparrow$ 死亡 $\uparrow$
预 先 ADR0.1 24hr 添加	$\rightarrow$	G1 $\downarrow$ 死亡 $\uparrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$
预 先 ADR0.5 24hr 添加	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$
预先 Mel 1 24hr 添加	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$
预先 Mel 4 24hr 添加	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$
在 48hr 添加	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$
预 先 ADR0.1	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$

[0387]

ARH-77 处理	0.625 μ M S109	1.25 μ M S109	2.5 μ M S109	5 μ M S109	10 μ M S109	20 μ M S109
48hr 添加						
预先 ADR0.5 48hr 添加	→	→	→	→	→	→
预先 Mel 1 48hr 添加	→	→	→	→	死亡↑	死亡↑
预先 Mel 4 48hr 添加	→	→	死亡↑	→	→	→

[0388] G. 人多发性骨髓瘤衍生细胞系RPMI-8226

[0389] 人多发性骨髓瘤衍生细胞系RPMI-8226的细胞参照表10每一行第一单元格所述进行处理,且不暴露至S00109(表10A,第2栏)或暴露至表10A 3-7栏和表10B 2-7栏所示浓度的S00109。每种处理组合的主要表型描述于相应的单元格中。

[0390] 表10.以单独或联合了抗癌处理的S00109处理的人多发性骨髓瘤细胞系(RPMI-8226)的表型

[0391] 表10A无S00109以及0.02至0.3125 μ M S00109的结果

[0392]

RPMI-8226 处理	无 S109	0.02 μ M S109	0.039 μ M S109	0.078 μ M S109	0.156 μ M S109	0.3125 μ M S109
X-线 10Gy 预辐射	G2↑ 死亡	→	→	→	→	→
24hr			→	G2↓	G1↑G2↓	G1↑G2↓
同时 24hr ADR0.1	→		→	→	G2↓	G2↓
同时 24hr Melph 1	S 停滞		→	→	→	G1↑S/G2↓
同时 24hr Melph 4	S 停滞		→	→	→	G1↑
48hr			→	G1↑S/G2↓	死亡 G1↑S/G	S/G2↓ 死亡↑

[0393]

RPMI-8226 处理	无 S109	0.02 μM S109	0.039 μM S109	0.078 μM S109	0.156 μM S109	0.3125 μM S109
					2↓	
Velcade 3	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡
Velcade 6	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡
长春新碱 2	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡
长春新碱 20	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡
地塞米松 2			死亡↑	死亡↑	S/G2↓ 死亡↑	S/G2↓ 死 亡↑
地塞米松 20	S/G2↓ 死亡↑		G1↑	G1↑	G1↑	G1↑
地塞米松 200	死亡		S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死亡↑	S/G2↓ 死亡↑	S/G2↓ 死 亡↑
同时 48hr ADR0.1	G2↑		→	→	→	G1↑S/G2 ↓
同时 48hr Melf 1	→		→	→	→	→
同时 48hr Melf 4	G2↑		→	→	G1↑S/G 2↓	G1↑S/G2 ↓
在 48hr 添加 预先	G2↑		→	→	→	→
预先 ADR0.1 48hr 添加	G2↑		→	→	→	→
预先 Mel 1 48hr 添加	→		→	→	→	→
预先 Mel 4 48hr 添加	G2↑		→	→	→	→

[0394] 表10B从0.625至20 μM S00109的结果

[0395]

RPMI-8226 处理	0.625 μM S109	1.25 μM S109	2.5 μM S109	5 μM S109	10 μM S109	20 μM S109
X-线 10Gy 预辐射	→	→	→	→	→	→
24hr	G1↑G2↓	G1↑G2 ↓	G1↑G2↓	G1↑G2 ↓	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓
同时 24hr ADR0.1	G2↓	G2↓	G2↓	G2↓	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓
同时 24hr	G1↑S/G2↓	G1↑S/G	G1↑S/G2↓	G1↑S/G	G1↑S/G	G1↑S/G2

[0396]

RPMI-8226 处理	0.625 μ M S109	1.25 μ M S109	2.5 μ M S109	5 μ M S109	10 μ M S109	20 μ M S109
Melph 1		2↓		2↓	2↓	↓
同时 24hr Melph 4	G1↑	G1↑	G1↑	G1↑	G1↑	G1↑
48hr	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡 ↑	S/G2↓ 死 亡 ↑	S/G2↓ 死 亡 ↑	S/G2↓ 死 亡 ↑
Velcade 3	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡
Velcade 6	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡
长春新碱 2	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡
长春新碱 20	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡
地塞米松 2	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡 ↑	S/G2↓ 死 亡 ↑	S/G2↓ 死 亡 ↑	S/G2↓ 死 亡 ↑	S/G2↓ 死 亡 ↑
地塞米松 20	G1↑	G1↑	G1↑死亡↑	G1↑ 死 亡↑	G1↑ 死 亡↑	G1↑死亡 ↑
地塞米松 200	S/G2↓ 死 亡↑	S/G2↓ 死 亡 ↑	S/G2↓ 死 亡 ↑	S/G2↓ 死 亡 ↑	S/G2↓ 死 亡 ↑	S/G2↓ 死 亡 ↑
同时 48hr ADR0.1	G1↑S/G2↓	G1↑S/G 2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G 2↓	G1↑S/G 2↓	G1↑S/G2 ↓
同时 48hr Melph 1	→	→	死亡	死亡	死亡	死亡
同时 48hr Melph 4	G1↑S/G2↓	G1↑S/G 2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G 2↓	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓
在 48hr 添 加	→	→	→	→	→	→
预 先 ADR0.1 48hr 添加	→	→	→	→	→	→
预先 Mel 1 48hr 添加	→	→	→	→	→	→
预先 Mel 4 48hr 添加	→	→	→	→	→	→

[0397] H. 人骨髓瘤衍生细胞系NCI-H929

[0398] 人骨髓瘤衍生细胞系NCI-H929的细胞参照表11每一行第一单元格所述进行处理，且不暴露至S00109(表11A, 第2栏)或暴露至表11A 3-7栏和表11B 2-7栏所示浓度的S00109。每种处理组合的主要表型描述于相应的单元格中。

[0399] 表11. 以单独或联合了抗癌处理的S00109处理的人多发性骨髓瘤细胞系 (NCI-H929) 的表型

[0400] 表11A无S00109以及0.02至0.3125 μ M S00109的结果

[0401]

NCI-H929 处理	无 S109	0.02 μM S109	0.039 μM S109	0.078 μM S109	0.156 μM S109	0.3125 μM S109
X-线 10Gy 预辐射	G2 略微↑ 死亡	→	→	→	→	→
24hr			→	→	→	→
同时 24hr ADR0.1	G2↑		→	→	G1↑S/G 2↓	G1↑S/G 2↓
同时 24hr ADR0.5	SG2↑		→	→	→	→
同时 24hr Melp 0.25	→		→	→	→	→
同时 24hr Melp 1	→		→	→	→	→
同时 24hr Melp 4	SG2↑		→	G1↑S/G 2↓	G1↑S/G 2↓	G1↑S/G 2↓
48hr			→	→	死亡	死亡
同时 48hr ADR0.1	G2↑		→	→	→	S/G2↓
同时 48hr ADR0.5	死亡		→	→	→	→
同时 48hr Melp 0.25	→		→	→	→	死亡
同时 48hr Melp 1	→		→	→	→	死亡
同时 48hr Melp 4	G2↑		→	→	→	死亡
在 48hr 添 加			→	→	→	→
预 先 ADR0.1 48hr 添加	死亡 G2↑		→	→	→	S/G2↓ 死 亡↑
预 先	死亡		→	→	→	→

[0402]

NCI-H929 处理	无 S109	0.02 μM S109	0.039 μM S109	0.078 μM S109	0.156 μM S109	0.3125 μM S109
ADR0.5 48hr 添加						
预 先 Mel0.25 48hr 添加	→		→	→	→	→
预先 Mel 1 48hr 添加	→		→	→	→	→
预先 Mel 4 48hr 添加	SG2↑		→	→	→	→

[0403] 表11B从0.625至20 μM S00109的结果

[0404]

NCI-H929 处理	0.625 μM S109	1.25 μM S109	2.5 μM S109	5 μM S109	10 μM S109	20 μM S109
X-线 10Gy 预辐射	死亡↑G2↓	死 亡 ↑G2↓	死亡↑G2↓	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓
24hr	→	→	→	死亡	死亡	死亡
同 时 24hr ADR0.1	G1↑S/G2↓	G1↑S/G 2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G 2↓	G1↑S/G 2↓	G1↑S/G2 ↓
同 时 24hr ADR0.5	→	→	→	→	→	→
同 时 24hr Melph 0.25	→	→	死亡	死亡	死亡	死亡
同 时 24hr Melph 1	→	→	→	→	死亡	死亡
同 时 24hr Melph 4	G1↑S/G2↓	G1↑S/G 2↓	死亡	死亡	死亡	死亡
48hr	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡
同 时 48hr ADR0.1	S/G2↓	死 亡 ↑G2↓	死亡↑G2↓	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓	死 亡 ↑G2↓
同 时 48hr ADR0.5	→	→	→	→	→	→
同 时 48hr Melph 0.25	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡
同 时 48hr Melph 1	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡
同 时 48hr Melph 4	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡
在 48hr 添加	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡

[0405]

预 先 ADR0.1 48hr 添加	→	→	→	→	→	→
预 先 ADR0.5 48hr 添加	→	→	→	→	→	死亡
预 先 Mel0.25 48hr 添加	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡
预先 Mel 1 48hr 添加	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	死亡
预先 Mel 4 48hr 添加	→	→	→	→	死亡	死亡

[0406] 实施例8:代表性化合物的合成

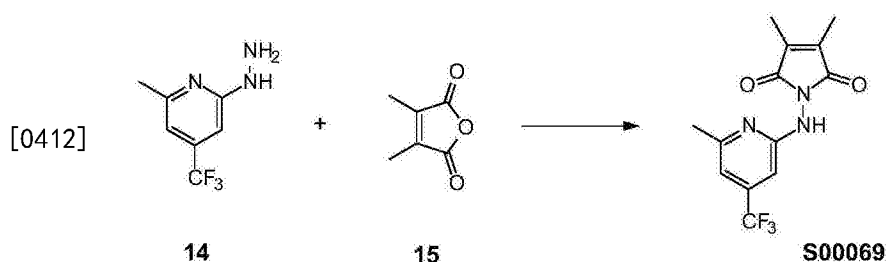
[0407] 以下的实施例意在进行说明,本发明所有的化合物可通过与这些实施例中所述类似的方法进行合成。

[0408] 取代的2-吡啶基肼的一般合成步骤



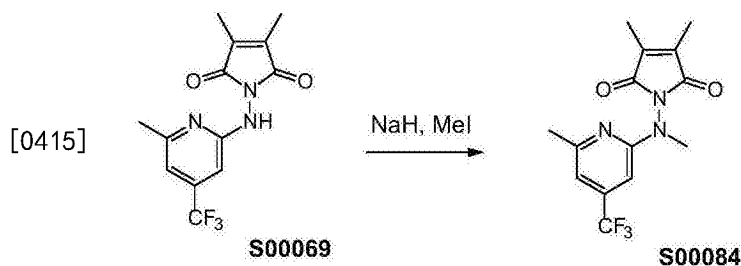
[0410] 此处4-(三氟甲基)-6-甲基-2-吡啶基肼(14)的合成代表了取代的2-吡啶基肼的合成的一般步骤。一当量的2-氯-4-(三氟甲基)-6-甲基吡啶(13)和1.5当量的水合肼在乙醇中混合。该溶液在搅拌数分钟后变黄。将反应混合物回流,直至TLC分析显示没有起始原料剩余。然后真空去除溶剂,并用醚提取所得浆液三次。合并的醚溶液用无水MgSO₄干燥,并蒸发得到粗制产物,其从乙醇重结晶得到化合物14。

[0411] S00069的合成



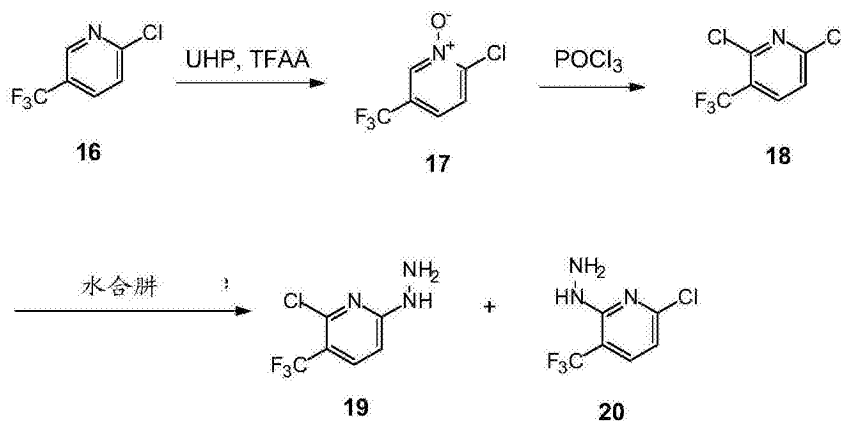
[0413] 将酸酐15(1eq.)加入肼14(1.0mmol)的氯仿溶液并回流搅拌4小时。通过TLC(石油醚:乙酸乙酯=3:1)确定反应完全。蒸发该溶剂,通过快速层析(石油醚:乙酸乙酯=2:1)纯化残留物以得到该产物。

[0414] S00084的合成

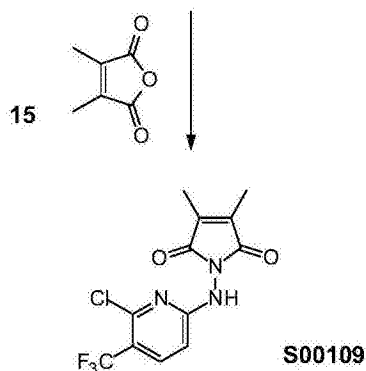


[0416] 向S00069 (35mg, 0.117mmol) 的THF (6mL) 溶液在0℃下添加NaH (60% 含于矿物油, 8mg, 0.12mmol)。将混合物搅拌30分钟, 然后添加MeI (20mg)。将反应混合物在室温下搅拌2小时, 并注入饱和的NH₄Cl水溶液。以CHCl₃萃取。用无水Na₂SO₄干燥有机层。去除溶剂, 通过制备TLC (5:1石油醚/二乙醚) 纯化残留物以提供S00084 (3mg)。

[0417] S00109的合成



[0418]



[0419] 步骤1: 2-氯-5-三氟甲基-吡啶-N-氧化物 (17) 的合成:

[0420] 将2-氯-5-三氟甲基-吡啶 (16, 10mmol) 溶解于CH₂Cl₂ (20mL) 并添加UHP (脲-过氧化氢加成化合物, 21mmol)。将混合物冷却至0℃, 然后向反应混合物缓慢添加三氟乙酸酐 (20mmol)。升温至室温, 并搅拌至由TLC判断反应完全。将反应以Na₂SO₃水溶液淬灭, 搅拌4小时, 用饱和NaHCO₃水溶液洗涤, 并以无水MgSO₄干燥。柱层析提供成为油的1.8g化合物17。

[0421] 步骤2: 2,6-二氯-5-三氟甲基-吡啶 (18) 的合成:

[0422] 将2-氯-5-三氟甲基-吡啶-N-氧化物 (17, 4mmol) 溶解于新鲜蒸馏的POCl₃ (4.5mL)。将反应混合物加热至80℃达17小时。冷却至室温后, 减压除去溶剂。加入冰, 将混合物静置4小时。将混合物在CH₂Cl₂ (50mL) 和饱和NaHCO₃水溶液之间分配。柱层析提供了成为黄色油的化合物18 (产率: 50%)。

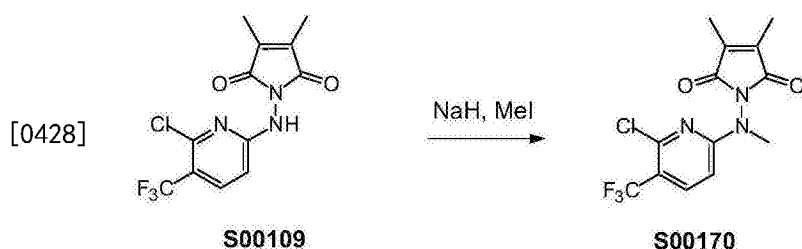
[0423] 步骤3:6-氯-5-三氟甲基-2-吡啶基肼(19)的合成:

[0424] 向2,6-二氯-5-三氟甲基-吡啶(18,2g,9.26mmol)的乙醇(30mL)溶液添加水合肼(2.9g,46mmol)。将反应混合物在室温下搅拌4小时,然后浓缩除去溶剂,并添加乙酸乙酯,用水洗涤。用无水Na₂SO₄干燥有机层。柱层析(硅石,石油醚/乙酸乙酯=4/1~3/1)提供成为白色固体的化合物19(产率:56%)和另一异构体20(产率:18%)。

[0425] 步骤4:S00109的合成:

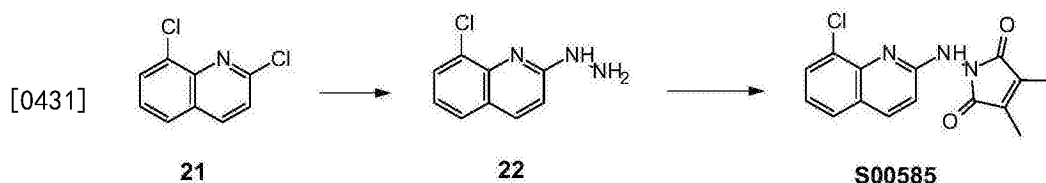
[0426] 将2,3-二甲基马来酸酐(15,0.126g,1.0mmol)加入6-氯-5-三氟甲基-2-吡啶基肼(19,0.211g,1.0mmol)的5mL氯仿溶液,并将该混合物回流4小时。去除该溶剂,通过快速层析(5:1至2:1石油醚/乙酸乙酯)纯化残留物以得到该产物S00109(0.21g)。

[0427] S00170的合成



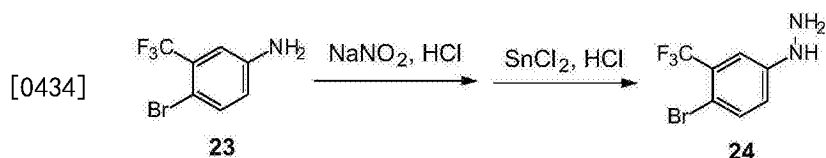
[0429] 将化合物S00109(40mg,0.125mmol)和NaH(60%含于矿物油,7mg,0.188mmol)悬浮于2mL无水THF,并将混合物在0℃下搅拌30分钟。在相同温度下向溶液中缓慢加入甲基碘(21mg,0.150mmol),并将该混合物升温至25~30℃,搅拌过夜。蒸发该溶剂,加入醋酸使溶液为pH=4。用氯仿萃取三次,先后用1N HCl和饱和NaHCO₃水溶液洗涤合并的有机相。然后用无水Na₂SO₄干燥。去除溶剂,通过制备TLC(4:1石油醚/二乙醚)纯化残留物以提供化合物S00170(4.2mg)。

[0430] S00585的合成



[0432] 化合物21可采用与实施例1所述类似的步骤转化为化合物22。化合物22采用与实施例2所述类似的步骤转化为化合物S00585。

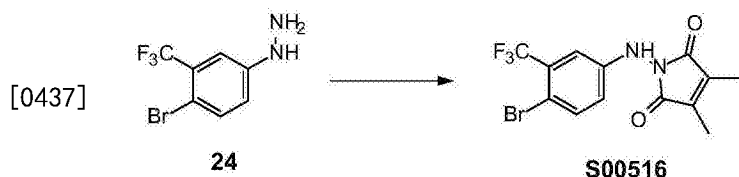
[0433] 取代的苯基肼合成的一般步骤



[0435] 此处3-(三氟甲基)-4-溴苯基肼(24)的合成代表了取代的苯基肼的合成的一般步骤。相应的苯基胺23(0.08mol)被添加至浓HCl(40mL)。该混合物用冰和盐在搅拌中冷却至-5℃。然后添加溶于水(20mL)的亚硝酸钠(5.52g,0.08mol)。继续搅拌1小时,在两小时的期间内缓慢添加含于浓HCl(30mL)的氯化亚锡(30g),同时保持温度在0℃以下。在添加后将混合物再搅拌一小时,并过滤。用稀释的氢氧化钠水溶液处理滤出的固体,然后用醚萃取。用

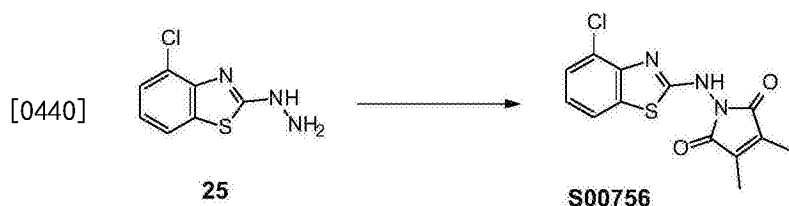
水洗涤醚层,用无水Na₂SO₄干燥。去除溶剂,从己烷结晶该残留物以提供化合物24。

[0436] S00516的合成



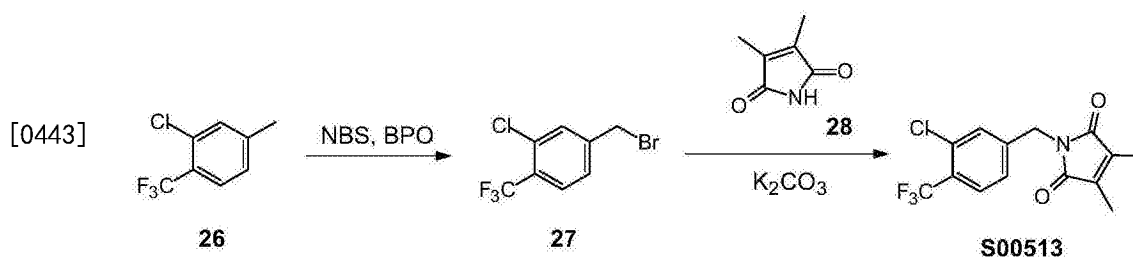
[0438] 化合物S00516可通过与实施例2所述类似的步骤采用相应的肼24合成得到。

[0439] S00756的合成



[0441] 化合物25可参照文献(Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther. 1997, 32 (5), 397-408)中的步骤合成。它可通过与实施例2所述类似的方法转化为化合物S00756。

[0442] S00513的合成



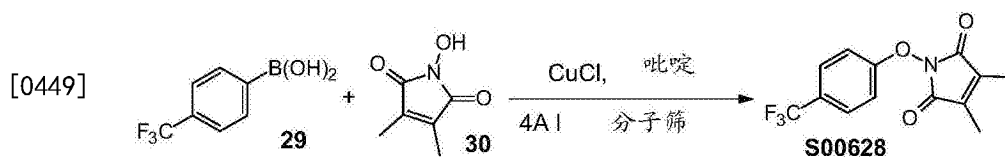
[0444] 步骤1: 3-氯-4-三氟甲基苄基溴27:

[0445] 将含于四氯化碳(2mL)的2-氯-4-甲基-1-三氟甲基苯26(0.20g, 1mmol)、N-溴琥珀酰亚胺(0.17g, 1mmol)和过氧化苯甲酰(7.4mg, 0.03mmol)的混合物加热至回流2小时。添加另一份过氧化苯甲酰(20mg, 0.08mmol)。加热混合物至再度回流0.5小时。将反应混合物在室温下继续搅拌16小时。过滤去除固体。减压去除该溶剂。通过在以石油醚为洗脱剂在硅石上进行的快速层析纯化该粗制产物提供0.22g (80%) 化合物27。

[0446] 步骤2: 化合物S00513

[0447] 向3,4-二甲基马来酰亚胺28(43mg, 0.34mmol)的1.3mL丙酮溶液添加无水碳酸钾(50mg, 0.37mmol)和化合物27(100mg, 0.37mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜。添加水,并以乙酸乙酯萃取该混合物。用盐水洗涤该有机萃取物,干燥(Na₂SO₄),并减压浓缩。通过在以石油醚/乙酸乙酯(10:1)为洗脱剂在硅石上进行的层析纯化该粗制产物提供70mg (60%) 化合物S00513。

[0448] S00628的合成



[0450] 向1-羟基-3,4-二甲基唑啉-2,5-二酮30(56mg, 0.39mmol, 1当量)的1,2-二氯乙烷

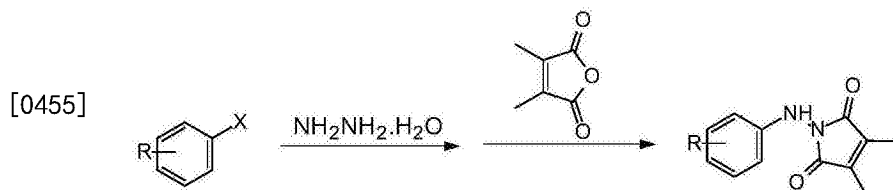
(2.5mL) 溶液添加CuCl (39mg, 0.39mmol, 1当量)、新鲜活化的 4 Å 分子筛 (~100mg) 以及4-三氟甲基苯基硼酸29 (150mg, 0.78mmol, 2当量), 然后添加吡啶 (34mg, 0.43mmol, 1.1当量)。将所得的浅棕色悬浮液搅拌16小时。过滤该反应混合物。对滤出液的层析 (石油醚/乙酸乙酯=7:1) 提供成为白色固体的化合物S00628 (65mg, 59%)。

[0451] 实施例9: 合成步骤

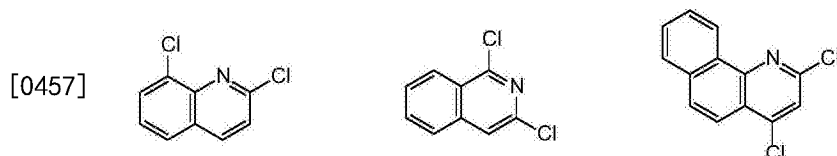
[0452] 表1、2和3中列举的所有化合物均采用与下文实施例中所述相同或类似的方法合成。

[0453] 从卤化物-取代的吡啶类似物合成目标化合物的一般步骤

[0454] 路线图1



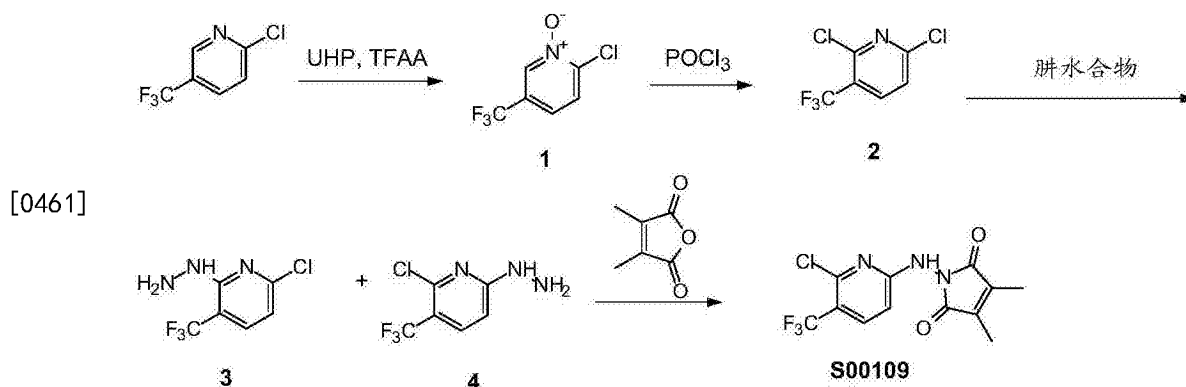
[0456] 将起始原料溶解于乙醇并添加水合肼 (10.0eq) 形成混合物, 将混合物在50-60℃ (油温) 下搅拌数小时 (通过TLC检查完成), 蒸发溶剂, 添加水并用乙酸乙酯萃取所得的混合物, 干燥并浓缩形成粗制制备物, 其可不经进一步纯化用于下一步骤。将该粗制制备物溶解于氯仿 (或甲苯、乙酸或另一合适的溶剂), 添加酸酐 (1.0eq), 将混合物加热至50-60℃ (油温) 数小时 (以TLC检查完成), 蒸发溶剂, 通过制备-TLC纯化该制备物以提供所需的化合物。



[0458] 该起始原料可从市场获得, 因此化合物S00585、S01098、S01207的合成途径与一般步骤类似。

[0459] 化合物S00109

[0460] 路线图2



[0462] 中间体1

[0463] 将2-氯-5-三氟甲基-吡啶 (10mmol) 溶解于CH₂Cl₂ (20mL) 并添加UHP (脲-过氧化氢加成化合物, 21mmol)。将混合物冷却至0℃, 然后向反应混合物缓慢添加三氟乙酸酐 (20mmol)。升温至室温, 并搅拌至由TLC监测反应完全。将反应以Na₂SO₃水溶液淬灭, 搅拌4小

时,用饱和 NaHCO_3 水溶液洗涤,并以无水 MgSO_4 干燥。柱层析提供成为油的1.8g化合物1。

[0464] 中间体2

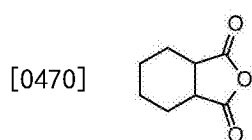
[0465] 将1 (4mmol) 溶解于新鲜蒸馏的 POCl_3 (4.5mL)。将反应混合物加热至 80°C 达17小时。冷却至室温后,减压除去溶剂。加入冰,将混合物静置4小时。将混合物在 CH_2Cl_2 (50mL) 和饱和 NaHCO_3 水溶液之间分配。柱层析提供了成为黄色油的化合物2 (产率:50%)。

[0466] 中间体4

[0467] 向2 (2g, 9.26mmol) 的乙醇 (30mL) 溶液添加水合肼 (2.9g, 46mmol)。将反应混合物在室温下搅拌4小时,然后浓缩除去溶剂,并添加乙酸乙酯,用水洗涤。用无水 Na_2SO_4 干燥有机层。柱层析 (硅石,石油醚/乙酸乙酯=4/1~3/1) 提供成为白色固体的化合物4 (产率:56%) 和另一异构体3 (产率:18%)。

[0468] 化合物S00109

[0469] 该合成步骤与一般步骤类似。



[0471] 化合物S00186

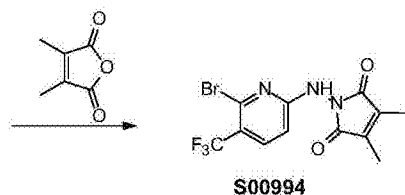
[0472] 该起始原料 (酸酐) 可从市场获得,因此化合物S00186的合成途径与一般步骤类似 (酸酐与中间体4反应)。

[0473] 化合物S00994

[0474] 路线图3



[0475]



[0476] 中间体5

[0477] 将1 (4mmol) 溶解于新鲜蒸馏的 POBr_3 (4.5mL)。将反应混合物加热至 80°C 达17小时。冷却至室温后,减压除去溶剂。加入冰,将混合物静置4小时。将混合物在 CH_2Cl_2 (50mL) 和饱和 NaHCO_3 水溶液之间分配。柱层析提供了成为黄色油的化合物5 (产率:50%)。

[0478] 中间体6

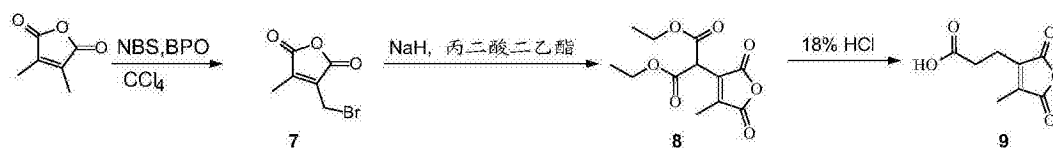
[0479] 向5的乙醇溶液添加水合肼。将反应混合物在室温下搅拌4小时,然后浓缩除去溶剂,并添加乙酸乙酯,用水洗涤该混合物。用无水 Na_2SO_4 干燥有机层。柱层析 (硅石,石油醚/乙酸乙酯=4/1~3/1) 提供成为白色固体的化合物6。

[0480] 化合物S00994

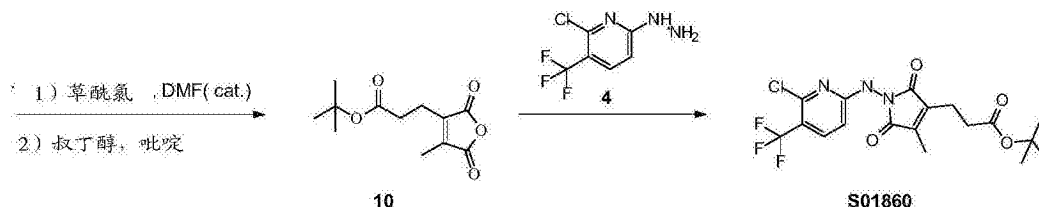
[0481] 该合成步骤与一般步骤类似。

[0482] 化合物S01860

[0483] 路线图4



[0484]



[0485] 中间体7

[0486] 将起始原料 (5.0g, 0.040mol)、NBS (10.6g, 0.059mol)、BPO (296mg) 的 300ml CCl_4 溶液回流搅拌5小时。然后将该反应混合物冷却至室温,并添加另一份BPO (296mg),将该反应物再回流搅拌5小时。该反应混合物在室温下保持过夜。然后将其过滤并以 CCl_4 洗涤残留物三 (3) 次,用水和盐水洗涤合并的有机层,干燥并浓缩,通过柱层析 (PE:EA=4:1) 纯化提供粗制产物,然后将其通过蒸馏纯化。在 $128^\circ\text{C}\sim 135^\circ\text{C}$ (3mmHg) 下获得的第二组分为中间体7。

[0487] 中间体8

[0488] 向氢化钠 (60mg, 1.5mmol) 在苯 (5mL) 中的浆液在室温下逐滴添加丙二酸二乙酯 (320mg, 2.0mmol)。将反应混合物搅拌5分钟,然后添加7 (210mg, 1.0mmol) 的苯 (5mL) 溶液。将该混合物在室温下再行搅拌8小时。然后用稀HCl酸化该混合物,并以EtOAc (2×15mL) 萃取。以水、盐水洗涤合并的有机层并以无水 Na_2SO_4 干燥。真空浓缩该有机层,然后通过硅胶柱层析纯化该残留物 (石油醚:EtOAc=4:1) 得到成为稠油的产物。产率为200mg (74.0%)。

[0489] 中间体9

[0490] 将8 (80mg, 0.3mmol) 在稀释盐酸 (2mL, 18%) 中的溶液回流搅拌12小时。将反应混合物冷却至室温,并通过添加固体氯化钠进行饱和。用EtOAc萃取过滤的水层,用无水 Na_2SO_4 干燥并浓缩得到纯酸。产率为50mg (90.6%)。

[0491] 中间体10

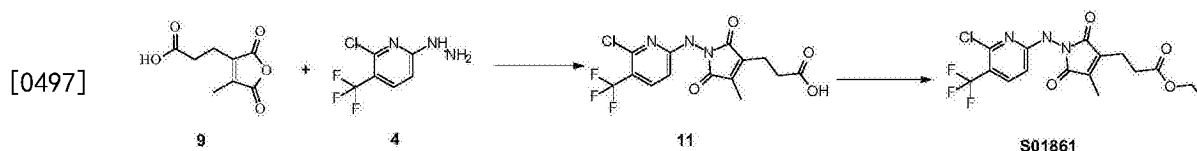
[0492] 向搅拌中9 (0.46g, 2.5mmol) 的和两滴DMF的DCM (10mL) 溶液逐滴添加草酰氯 (0.48g, 3.75mmol)。将混合物在室温下 (油温 $20\sim 30^\circ\text{C}$) 搅拌两小时,然后蒸发溶剂。将残留物和叔丁醇 (0.22g, 3mmol) 溶解于10mL DCM,在室温下向该溶液逐滴添加吡啶 (0.3g, 3.75mmol)。将所得混合物在室温下搅拌一小时。添加饱和 NH_4Cl 以淬灭该反应,用1N HCl将pH调整为2,并用乙酸乙酯萃取,用 Na_2SO_4 干燥合并的有机层,过滤并蒸发。通过快速层析纯化该残留物以得到成为白色固体的10 (0.42g, 70%)。

[0493] 化合物S01860

[0494] 将中间体10 (119mg, 0.45mmol) 和4 (95mg, 0.49mmol) 加入5mL DCM并回流过夜,然后蒸发溶剂,并通过制备-TLC纯化残留物以提供产物 (产率=150mg, 77%)。

[0495] 化合物S01861

[0496] 路线图5



[0498] 中间体11

[0499] 将9 (1.0g, 5.43mmol) 和4 (1.15g, 5.43mmol) 溶解于20ml氯仿, 回流48小时, 然后蒸发溶剂, 将残留物重结晶得到11 (1.4g, 68.2%)。

[0500] 化合物S01861

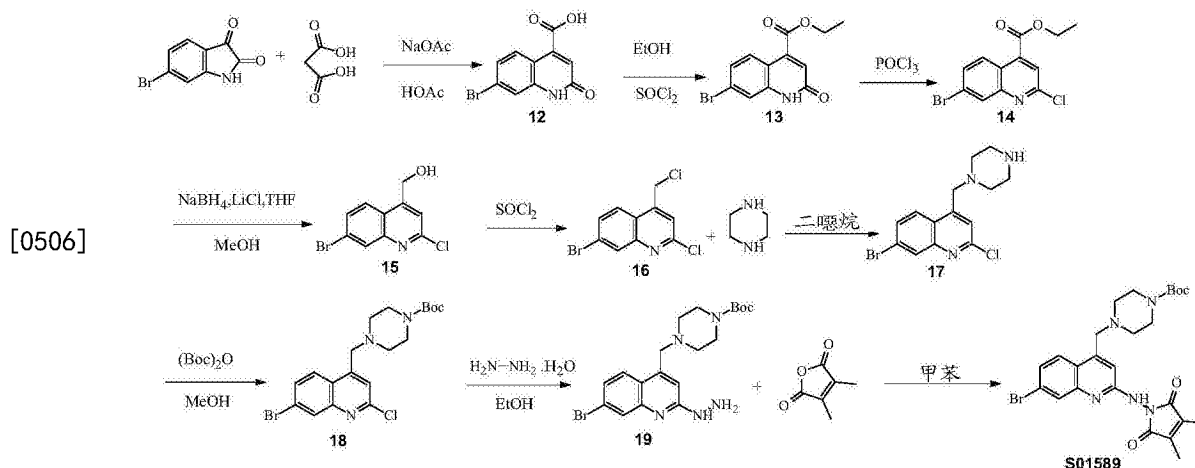
[0501] 将中间体11 (15mg, 0.04mmol)、EDCI (45mg, 0.24mmol)、Et₃N (1滴) 和乙醇 (1mL) 在室温下搅拌约3小时。然后真空去除溶剂。通过制备-TLC分离产物。产率为12mg, (76.7%)。

[0502] 化合物S01648、S01796、S01711、S01758、S01883和S01759

[0503] 化合物S01648、S01796、S01711、S01758、S01883和S01759的合成途径与S01861类似 (即, 中间体11偶联至不同化学物质)

[0504] 化合物S01589

[0505] 路线图6



[0507] 中间体12

[0508] 将起始原料 (6.5g, 28.7mmol)、丙二酸 (3.3g, 31.7mmol)、HOAc (60ml)、NaOAc (2.95g, 36mmol) 的混合物在室温下搅拌。6-7小时后, 添加额外的NaOAc (2.95g, 36mmol), 然后回流过夜。冷却后, 将混合物过滤, 用水和乙酸乙酯洗涤滤出液, 然后减压干燥。收集得到5g薄褐固体 (产率=65.4%)。

[0509] 中间体13

[0510] 在冰浴中将四 (4) ml SOCl₂逐滴加入化合物12和EtOH的悬浮液, 将混合物在室温下搅拌30分钟, 然后回流6小时。冷却后, 将混合物过滤并以冷EtOH洗涤, 真空干燥得到5.25g浅灰色粉末 (产率=95%)。

[0511] 中间体14

[0512] 将化合物13和POCl₃ (15ml) 的混合物在室温下搅拌15分钟, 然后回流2小时。将混合物真空浓缩。用冷水淬灭残留物并以乙酸乙酯萃取, 用饱和NaHCO₃和盐水洗涤, 用MgSO₄干燥, 浓缩和收集4.68g薄褐固体。

[0513] 中间体15

[0514] 在冰盐浴中向THF和MeOH的溶液添加化合物14 (4.68g, 14.9mmol) 和LiCl, 分批添加NaBH₄。添加后, 将反应混合物在室温下搅拌, 通过TLC检查, 真空浓缩, 并在冰浴上向残留物缓慢添加稀释HCl直至混合物达到pH7。然后用乙酸乙酯萃取该混合物并用饱和NaHCO₃、NH₄Cl、NaCl溶液 (按顺序) 洗涤, 用MgSO₄干燥, 浓缩, 并收集得到4.15g薄褐固体。

[0515] 中间体16

[0516] 将化合物15 (4.15g) 溶解于SOCl₂并回流过夜。蒸发溶剂, 向残留物中加水, 用乙酸乙酯萃取该混合物, 用无水Na₂SO₄干燥合并的有机层, 蒸发溶剂, 收集得到4.0g化合物16。

[0517] 中间体17

[0518] 将化合物16 (200mg, 0.69mmol) 溶解于二噁烷, 并添加无水哌嗪 (177mg, 2.05mmol), 将混合物搅拌过夜。过滤该混合物, 将滤出液真空浓缩, 收集得到250mg粗制产物。

[0519] 中间体18

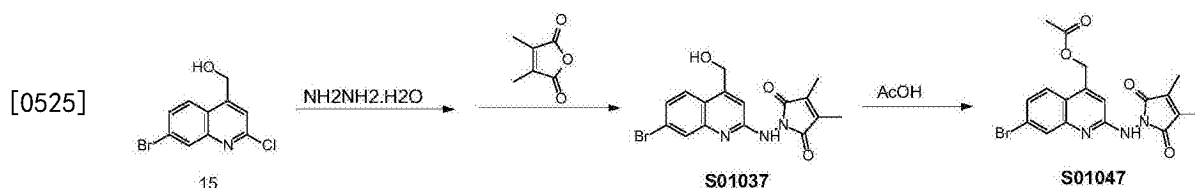
[0520] 将二-叔-丁基重碳酸酯 (0.246g, 1.13mmol) 的MeOH溶液在室温下逐滴添加至含于MeOH的化合物17 (0.35g, 1.03mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜。蒸发溶剂, 通过上述一般方法萃取该残留物, 并通过色谱柱纯化该萃取物 (EA:PE=1:10)。所得的产物为白色固体。

[0521] 化合物S01589

[0522] 从中间体18至化合物S01589的合成步骤类似于此处所述的一般步骤。

[0523] 化合物S01037和S01047

[0524] 路线图7



[0526] 化合物S01037

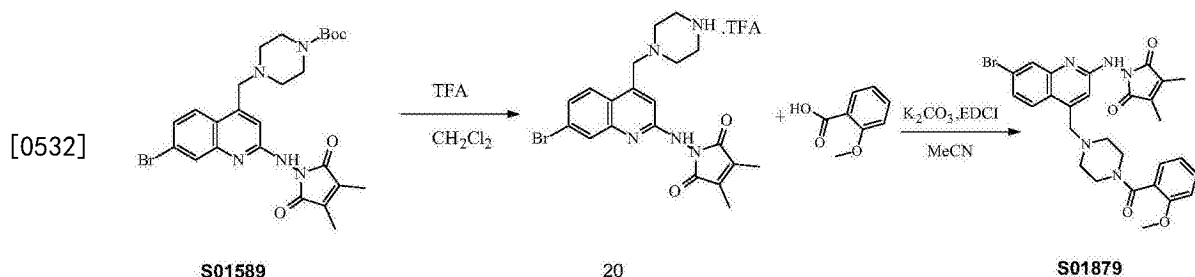
[0527] 从中间体15至化合物S01037的合成步骤类似于一般步骤。

[0528] 化合物S01047

[0529] 将起始原料 (0.145g, 0.54mmol) 溶解于5ml乙酸, 将该混合物加热回流1小时, 然后蒸发并通过制备TLC (石油醚:乙酸乙酯=1:1) 纯化, 以得到该产物。

[0530] 化合物S01879

[0531] 路线图8



[0533] 中间体20

[0534] 将起始原料 (50mg, 0.09mmol) 溶解于5ml的CH₂Cl₂,并在冰浴上向该搅拌的混合物逐滴添加TFA (5ml)。将所得的混合物在室温下搅拌1小时,并通过TLC检查。将溶解蒸发以提供成为黄色固体的产物 (40mg),其可不经进一步纯化被使用。

[0535] 化合物S01879

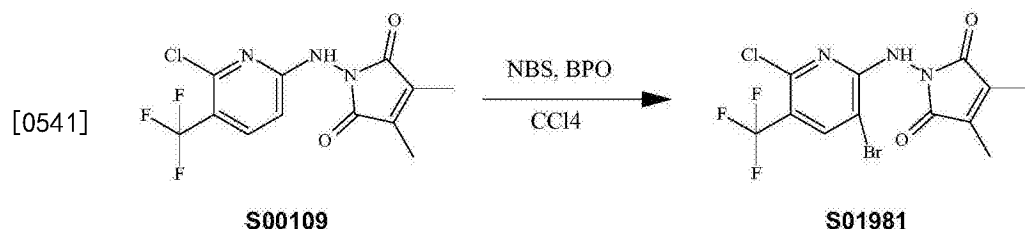
[0536] 将化合物20溶解于MeCN,添加K₂CO₃ (3eq),然后将混合物搅拌约30分钟,添加苯甲酸 (1eq) 和EDCI (2eq),并将混合物搅拌过夜,然后浓缩并以上述一般方式处理。最终的制备物通过制备板TLC纯化,获得薄黄固体产物。

[0537] 化合物S01925、S01878、S01877、S01699、S01800、S01801、S01822、S01880、S01683、S01928、S01929

[0538] 化合物S01925、S01878、S01877、S01699、S01800、S01801、S01822、S01880、S01683、S01928、S01929的合成路径类似于S01879 (中间体20与不同化合物偶联)

[0539] 化合物S01981

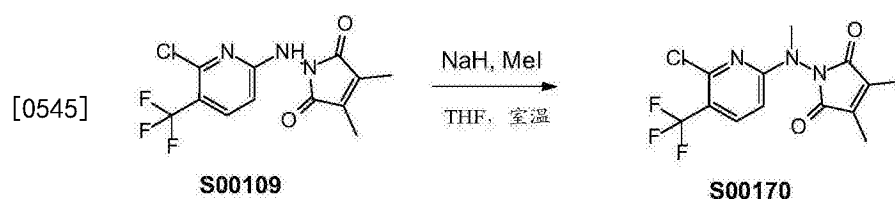
[0540] 路线图9



[0542] 将起始原料 (100mg, 0.314mmol) 溶解于CCl₄,添加NBS (112mg, 0.629mmol) 和BPO (1.5mg, 0.0062mmol),并将该混合物回流约4小时。用水淬灭该反应混合物,用乙酸乙酯萃取,用盐水洗涤有机层,用MgSO₄干燥并真空浓缩,然后通过制备板纯化获得产物。

[0543] 化合物S00170

[0544] 路线图10



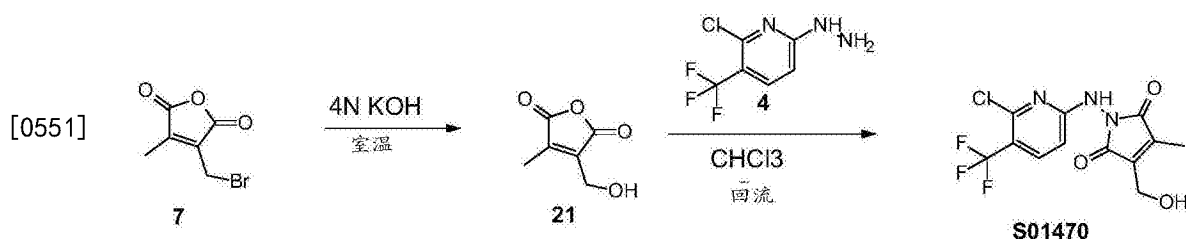
[0546] 在0℃下将NaH (8mg, 0.12mmol) 逐滴加入肼 (35mg, 0.117mmol) 的THF (6mL) 溶液。将混合物搅拌30分钟,然后添加MeI (20mg)。将反应混合物在室温下搅拌2小时,并注入饱和的NH₄Cl水溶液;用CHCl₃萃取。用Na₂SO₄干燥有机层,然后层析 (PE/AE, 5/1) 得到产物 (3mg)。

[0547] 化合物S01007、S01473

[0548] 化合物S01007、S01473的合成途径与类似S00170。

[0549] 化合物S01470

[0550] 路线图11



[0552] 中间体21

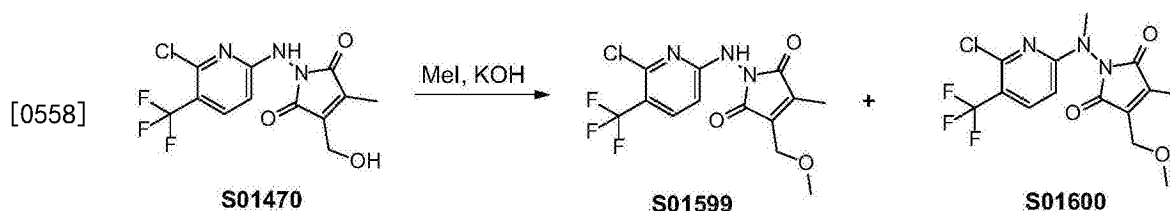
[0553] 将化合物2 (1g, 4.9mmol) 加入冰冷的4N KOH (5ml) 水溶液, 将混合物在室温下搅拌5分钟。用6N H₂SO₄ (5ml) 缓慢酸化该混合物, 然后用固体NaCl饱和, 并在室温下搅拌30分钟。用乙酸乙酯萃取水层, 用盐水洗涤有机层并干燥。真空浓缩有机层, 将浓缩物应用于硅胶 (PE:EA=1:1) 以得到355mg产物。

[0554] 化合物S01470

[0555] 该合成步骤与一般步骤类似。

[0556] 化合物S01599和S01600

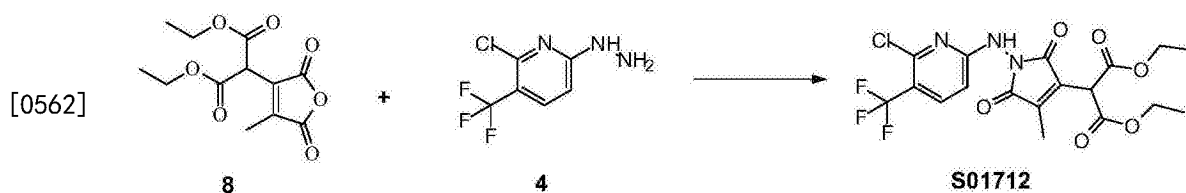
[0557] 路线图12



[0559] 将起始原料 (80mg, 0.24mmol)、MeI (40μL, 0.64mmol) 和KOH (30mg, 0.54mmol) 在DMSO (5mL) 中在室温下搅拌1小时, 然后以EtOAc稀释, 用水、盐水洗涤, 用无水Na₂SO₄干燥。真空去除溶剂, 并通过制备-TLC纯化该残留物以得到两种目标化合物。

[0560] 化合物S01712

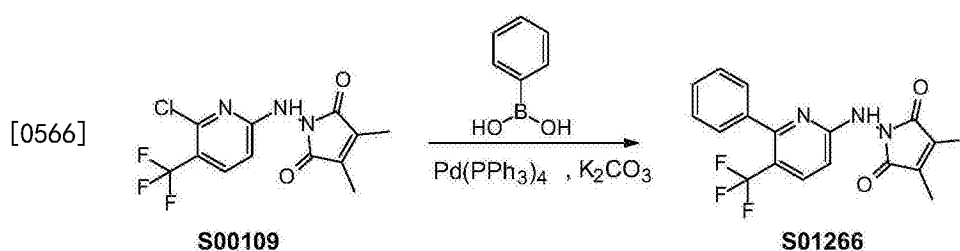
[0561] 路线图13



[0563] 该合成步骤与一般步骤类似。

[0564] 化合物S01266

[0565] 路线图14



[0567] 在氮气下将Pd (PPh₃)₄ (16mg) 加入起始原料 (50mg, 0.14mmol), 苯硼酸 (19mg, 0.15mmol)、碳酸钾 (59mg, 0.43mmol) 在10ml甲苯中的混合物。将所得的混合物回流16小时,

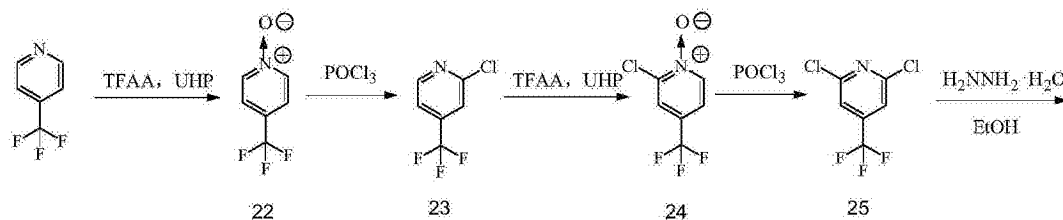
然后蒸发溶剂,通过制备TLC纯化残留物以得到4mg产物。

[0568] 化合物S01313,S01457,S01691,S01371,S01393,S01474

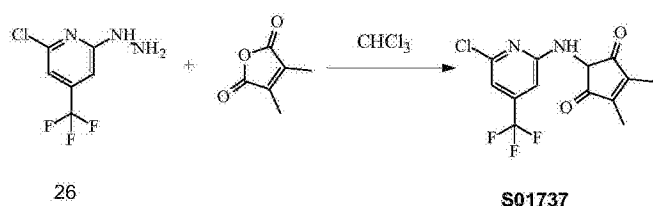
[0569] 化合物S01313,S01457,S01691,S01371,S01393,S01474的合成途径与S01266相似。

[0570] 化合物S01737

[0571] 路线图15



[0572]



[0573] 中间体22

[0574] 将吡啶 (500mg, 3.4mmol) 溶解于CH₂Cl₂并添加UHP (700mg, 7.4mmol), 冷却至0℃, 向反应混合物缓慢添加TFAA (1.43g, 6.8mmol)。当TLC显示起始原料被消耗, 采用常规方式处理以提供420mg目标化合物。

[0575] 中间体23

[0576] 将化合物22 (420mg, 2.57mmol) 溶解于POCl₃ (3ml), 然后加热至90℃过夜。将反应混合物小心在水中淬灭, 用CH₂Cl₂萃取, 用盐水洗涤并用MgSO₄干燥, 真空浓缩。通过层析柱 (CH₂Cl₂:PE=1:3) 纯化后得到300mg目标化合物。

[0577] 中间体24

[0578] 该反应和处理步骤与中间体22相同, 并可得到170mg目标化合物。

[0579] 中间体25

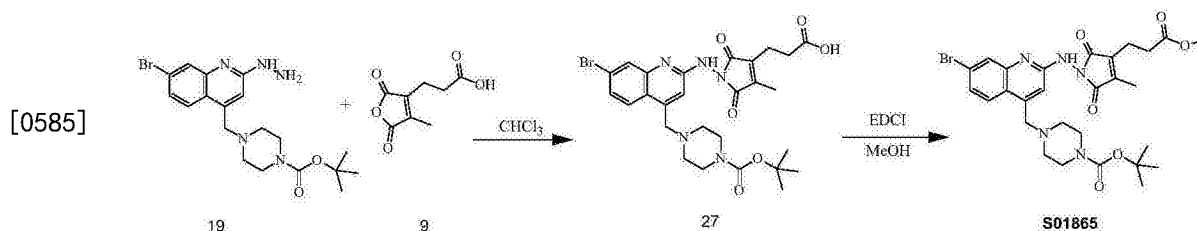
[0580] 该反应和处理步骤与中间体23相同, 并可得到120mg目标化合物。

[0581] 化合物S01737

[0582] 从中间体25至目标化合物的合成步骤类似于一般步骤。

[0583] 化合物S01865

[0584] 路线图16



[0586] 中间体27

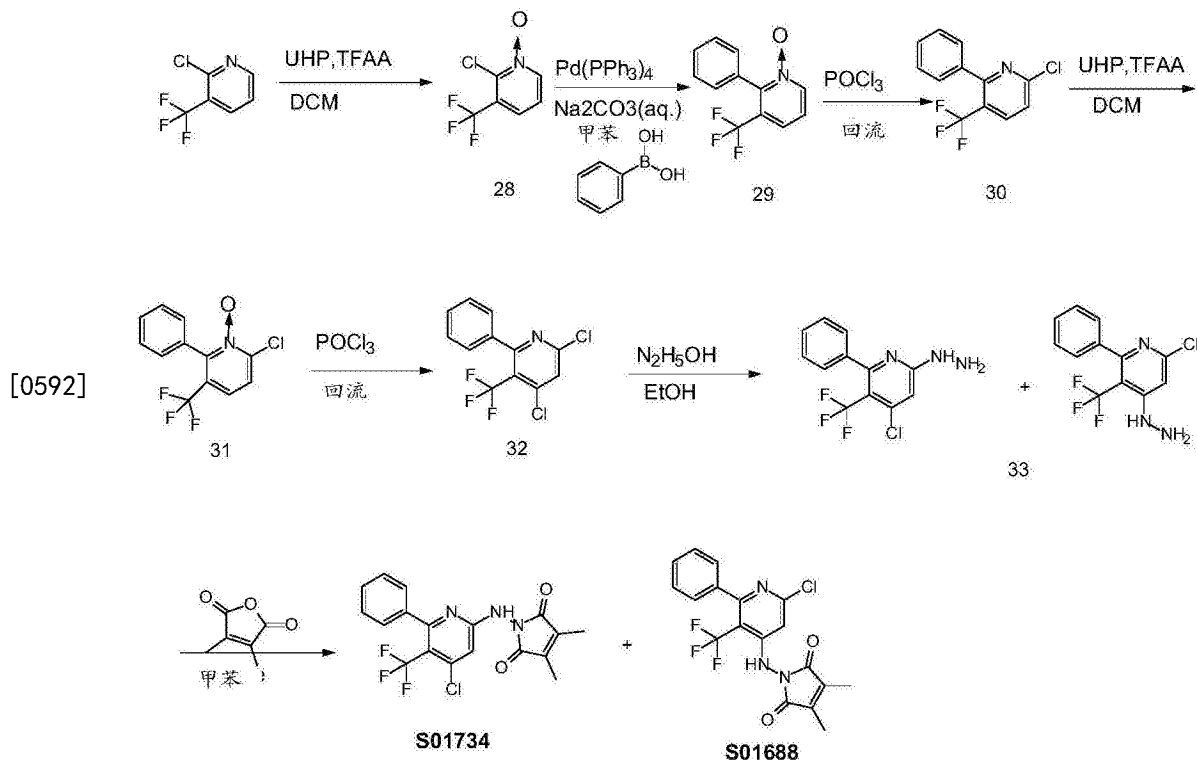
[0587] 将两种起始原料溶解于 CHCl_3 并回流过夜,然后浓缩并通过层析柱(EA:PE=1:1)纯化。所得的产物为浅黄色固体。

[0588] 化合物S01865

[0589] 将化合物27溶解于无水MeOH,添加EDCI,然后搅拌过夜。真空浓缩,采用一般方式处理并通过制备-TLC纯化,以得到成为浅黄色固体的终产物。

[0590] 化合物S01734和S01688

[0591] 路线图17



[0593] 中间体28

[0594] 向起始原料(9.26g,0.05mol)的溶液添加UHP(9.9g,0.105mol)。在冰浴中逐滴添加TFAA(21g,0.100mol)。添加后,将反应在室温下保持4小时。以 $\text{Na}_2\text{CO}_3(\text{aq.})$ 中和该反应,并以DCM萃取该混合物3次。收集有机层,干燥并浓缩,通过快速层析(PE:EA=3:1)纯化得到纯产物8.1g。

[0595] 中间体29

[0596] 将化合物28(0.8g,4.07mmol)在2ml $\text{Na}_2\text{CO}_3(\text{aq. } 2\text{N})$ 和3ml甲苯中的溶液在 N_2 气氛和室温下搅拌。然后添加 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ 。将混合物在 N_2 气氛下回流搅拌3小时。真空去除溶剂。用水处理残留物并以EA萃取,收集有机相,干燥并浓缩以通过重结晶纯化得到成为浅黄色粉末的0.75g产物。

[0597] 中间体31

[0598] 将化合物29(0.75g,3.15mmol)溶于5ml POCl_3 并将该混合物回流搅拌5小时。然后将该反应混合物注入冰中,用乙酸乙酯萃取水层3次。然后收集有机相,用 Na_2CO_3 水溶液洗涤并干燥,浓缩并通过柱层析纯化得到800mg中间体30,将其溶解于5ml DCM和UHP,然后在冰浴下向上述混合物添加TFAA。将反应混合物在室温下搅拌过夜。然后通过 Na_2CO_3 水溶液中和该反应混合物,通过DCM萃取该水相3次。收集有机相,干燥,浓缩并通过柱层析(PE:EA=5:

1) 纯化得到350mg纯产物31。

[0599] 中间体32

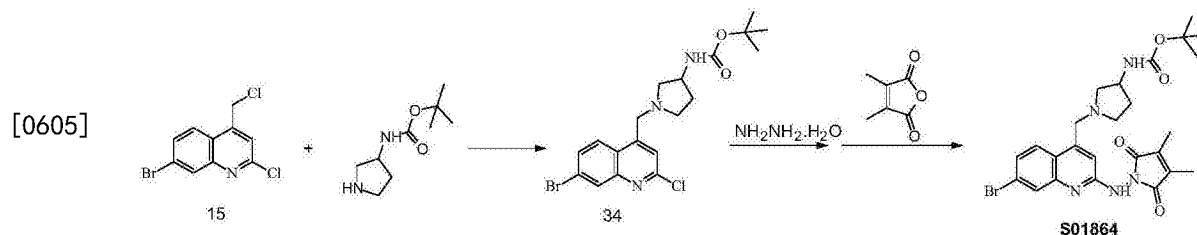
[0600] 将化合物31 (350mg, 1.28mmol) 的5ml POCl_3 溶液回流搅拌4小时。然后将混合物注入冰水中并以乙酸乙酯萃取。用 Na_2CO_3 水溶液洗涤有机层并干燥, 浓缩并纯化得到180mg纯化合物32。

[0601] 化合物S01734和S01688

[0602] 从中间体32至目标化合物的合成步骤类似于一般步骤。

[0603] 化合物S01864

[0604] 路线图18



[0606] 中间体34

[0607] 将起始原料和中间体15溶解于乙腈并在室温下搅拌过夜, 然后过滤并蒸发溶剂。通过制备TLC纯化该残留物以提供该产物。

[0608] 化合物S01864

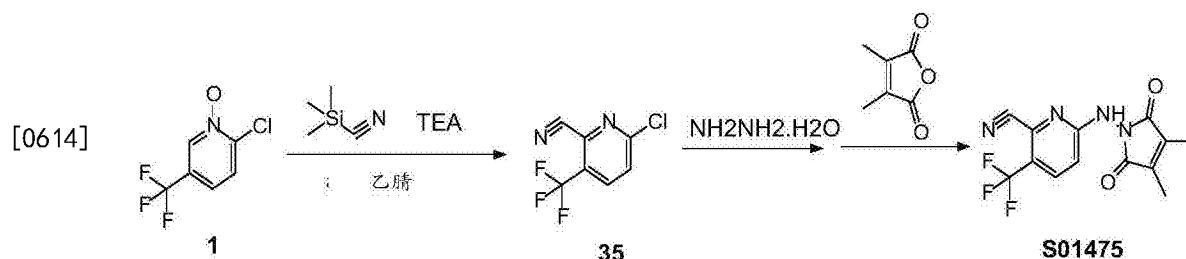
[0609] 从中间体34至目标化合物的合成步骤类似于一般步骤。

[0610] 化合物S01268和S01862

[0611] 化合物S01268和S01862的合成路径类似于化合物S01864。

[0612] 化合物S01475

[0613] 路线图19



[0615] 中间体35

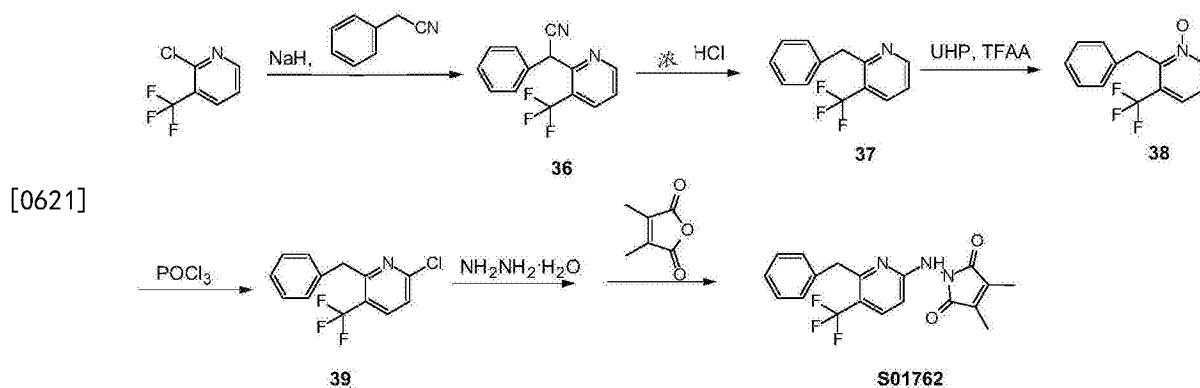
[0616] 将三甲基硅烷基氰化物 (7.44g, 75mmol, 10ml) 在室温下添加至搅拌中的中间体35 (5.92g, 30mmol) 和TEA (4.55g, 45mmol, 6.3ml) 的25ml乙腈溶液。然后将混合物加热至110 $^{\circ}\text{C}$ (油浴温) 达12小时, 冷却至室温, 并蒸发该溶剂。添加DCM和饱和 NaHCO_3 (aq.), 并分离水层。用无水 Na_2SO_4 干燥有机层并蒸发。用醚洗涤该残留物并过滤, 然后蒸发得到成为黑色油的粗制产物, 然后通过快速层析得到成为黄色油的产物。产率为4.4g (71%)。

[0617] 化合物S01475

[0618] 从中间体35至化合物S01475的合成步骤类似于一般步骤。

[0619] 化合物S01762

[0620] 路线图20



[0622] 中间体36

[0623] 将氢化钠(0.264g, 6.6mmol, 60%) 在室温下加入搅拌中的氰化苄基(0.645g, 5.5mmol) 的10ml DMF溶液。30分钟后向该混合物加入起始原料(1.0g, 5.5mmol), 并将所得的混合物在室温下搅拌2小时。加入盐水以淬灭反应, 将混合物用乙酸乙酯萃取。用无水硫酸钠干燥合并的有机层并蒸发。通过快速层析(用石油醚: 乙酸乙酯=8:1至5:1洗脱) 纯化残留物以得到0.475g产物(产率=33%)。

[0624] 中间体37

[0625] 将中间体36(0.15g, 0.57mmol) 与5ml浓HCl混合并回流过夜。然后将混合物冷却至室温, 加入15ml水, 用碳酸钠将pH调节至8-9, 并用乙酸乙酯(10ml) 萃取该混合物。用无水硫酸钠干燥合并的有机层, 蒸发得到0.14g产物(产率=100%), 其可不经进一步纯化用于下一步骤。

[0626] 中间体38

[0627] 将中间体37(0.14g, 0.57mmol) 溶解于5ml DCM, 然后添加UHP(0.17g, 1.77mmol), 随后通过冰浴冷却逐滴添加TFAA(0.36g, 1.71mmol, 0.24ml)。然后将该混合物升温至室温, 并在相同温度下搅拌过夜。添加五(5) ml水, 通过碳酸钠将该混合物中和至pH 8-9, 然后以DCM萃取。用无水硫酸钠干燥合并的有机层, 蒸发得到0.14g粗制产物(产率=95%), 其可不经进一步纯化用于下一步骤。

[0628] 中间体39

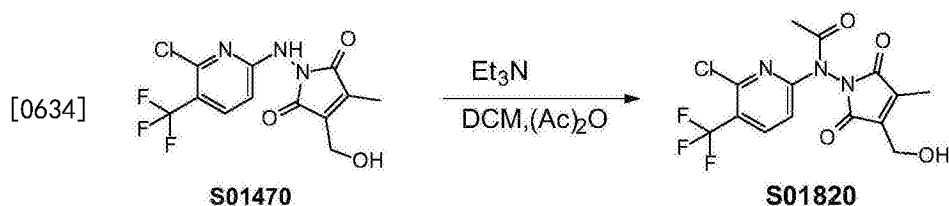
[0629] 将中间体38(0.14g, 0.55mmol) 溶解于5ml POCl₃并将该混合物加热至80-90℃达2小时。然后将混合物冷却至室温, 注入冰水, 并以乙酸乙酯萃取。用饱和NaHCO₃洗涤合并的有机层, 用Na₂SO₄干燥并蒸发。通过制备TLC纯化该残留物以提供0.13g产物(产率=87%)。

[0630] 化合物S01762

[0631] 从中间体39至化合物S01762的合成步骤类似于一般步骤。

[0632] 化合物S01820

[0633] 路线图21

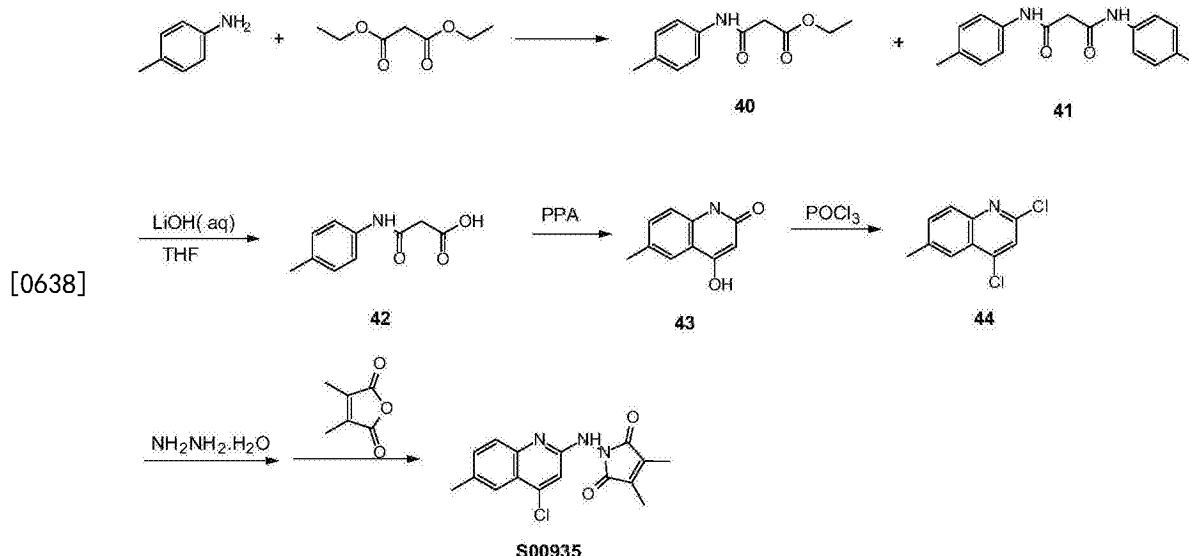


[0635] 在室温下搅拌S01470的3ml DCM溶液并添加Et₃N。然后在冰浴下添加Ac₂O。将反应

混合物升温至室温并搅拌过夜。然后淬灭该反应并以上述的一般方式处理。通过制备-TLC (PE:EA=3:1) 纯化该残留物以得到纯化合物S01820。

[0636] 化合物S00935

[0637] 路线图22



[0639] 中间体40

[0640] 将起始原料 (9.08g, 84.4mmol) 添加至19.2ml 丙二酸二乙酯, 将混合物加热至150℃ (油浴温度) 达6小时, 蒸发, 过滤并以乙酸乙酯洗涤以得到3.7g白色固体, 其为中间体41 (通过LC-MS检查), 蒸发该滤出液, 将残留物冷却以提供第二批固体, 用5:1的石油醚: 乙酸乙酯溶液洗涤, 通过LC-MS检查, 其为中间体40 (5.42g)。

[0641] 中间体42

[0642] 向搅拌中的中间体40 (5.42g, 24.5mmol) 的THF溶液添加60ml 2N LiOH, 并在室温下搅拌所得的混合物3小时。蒸发溶剂, 以乙酸乙酯洗涤残留物, 过滤, 并往滤饼中加入10mL的浓缩HCl并搅拌30分钟, 然后过滤该滤饼并干燥以得到3.1g产物。

[0643] 中间体43

[0644] 将中间体42 (3.1g, 16mmol) 添加至20ml PPA并将混合物加热至150℃达4小时。将该混合物在搅拌下注入冰水中, 然后过滤, 用水洗涤该滤饼, 并干燥得到2.92g产物。

[0645] 中间体44

[0646] 将中间体43 (0.47g, 2.7mmol) 加入10ml POCl_3 , 将混合物加热回流5小时。将所得混合物冷却至室温, 注入冰水, 然后以乙酸乙酯萃取。用 Na_2SO_4 干燥合并的有机层, 并蒸发得到粗制产物 (0.45g), 其可不经进一步纯化进行使用。

[0647] 化合物S00935

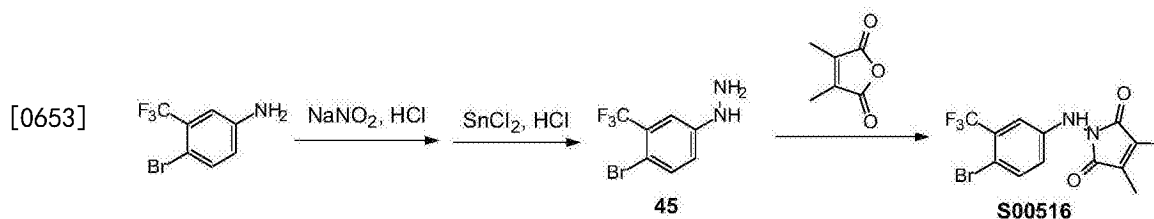
[0648] 从中间体43至化合物S00935的合成步骤类似于一般步骤。

[0649] 化合物S00871、S01005、S01078、S01247和S01311

[0650] 化合物S00871、S01005、S01078、S01247和S01311的合成路径与化合物S00935类似。

[0651] 化合物S00516

[0652] 路线图23

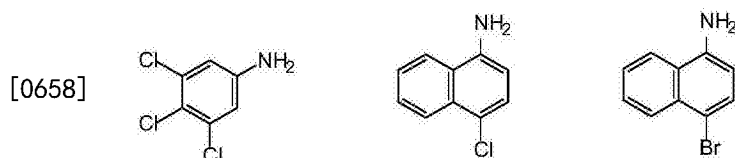


[0654] 中间体45

[0655] 起始原料(0.08mol)被添加至浓HCl(40mL)。该混合物用冰和盐在搅拌中冷却至-5℃。然后添加溶于水(20mL)的亚硝酸钠(5.52g,0.08mol)。继续搅拌1小时,在两小时的期间内缓慢添加含于浓HCl(30mL)的氯化亚锡(30g),同时保持温度在0℃以下。在添加后将混合物再搅拌一小时,并过滤。用稀释的氢氧化钠水溶液处理滤出的固体,然后用醚萃取。用水洗涤醚层,用无水Na₂SO₄干燥。去除溶剂,从己烷结晶该残留物以提供该化合物45。

[0656] 化合物S00516

[0657] 该合成步骤与一般步骤类似。

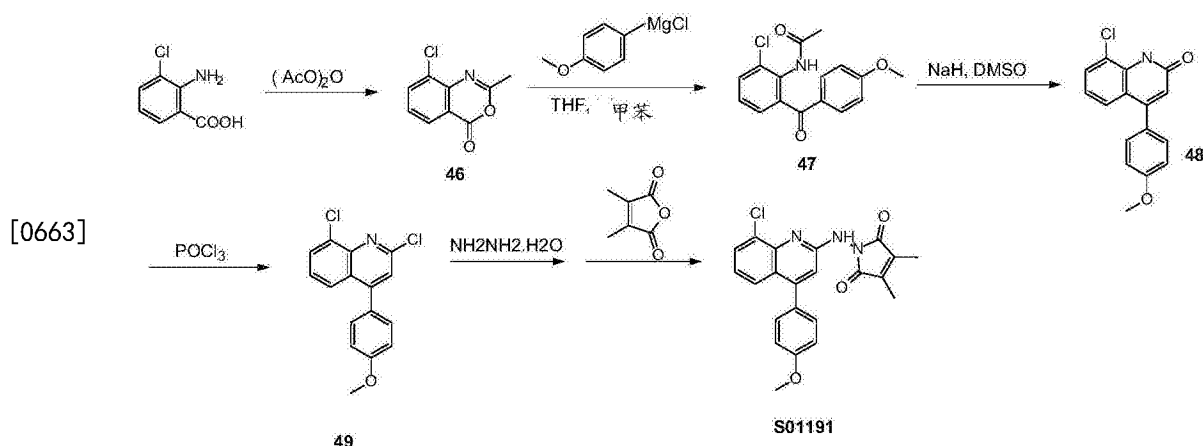


[0659] 化合物S00738, S00832, S00942

[0660] 该起始原料可从市场获得,因此化合物S00738、S00832、S00942的合成途径与S00516类似。

[0661] 化合物S01191

[0662] 路线图24



[0664] 中间体46

[0665] 将2-氨基-3-氯苯甲酸(500mg,2.91mmol)和乙酸酐(1.2mL的混合物加热回流1小时,真空去除过量的乙酸酐。冷却该残留物并以二乙醚处理得到大量沉淀,将沉淀滤走,用冷醚洗涤并干燥得到550mg成为浅黄色固体的目标产物(产率=97%)。

[0666] 中间体47

[0667] 在烘箱干燥并通N₂的三口烧瓶中,向含于0.5mL干THF的镁(59mg,2.47mmol)的混合物中添加小量的I₂。混合物变为无色后,向该混合物添加1.5mL 4-溴苯甲醚(440mg,

2.35mmol)的干THF溶液。在室温下搅拌该反应混合物直至没有Mg。

[0668] 将来自含于2mL THF的4-溴苯甲醚的Grignard试剂以含于4.5mL干甲苯的化合物46 (460mg, 2.35mmol) 在0℃下处理1小时,并在30℃下再处理1小时。用稀硫酸小心酸化该溶液,并用NaHCO₃水溶液和水洗涤。用无水Na₂SO₄干燥有机层并蒸发以得到油。通过硅胶层析(石油醚/乙酸乙酯=4:1)纯化残留物以得到450mg的成为浅褐色固体的目标产物(产率=63%)。

[0669] 中间体48

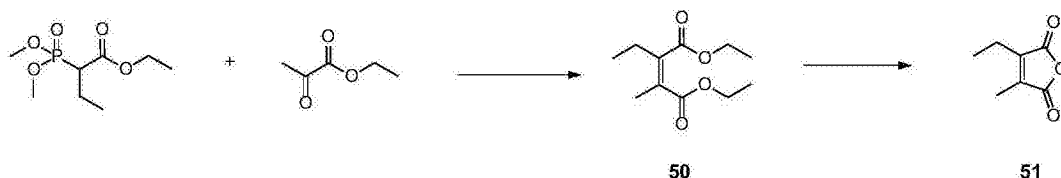
[0670] 将化合物47 (400mg, 1.32mmol)、NaH (60%含于油中, 316mg, 13.20mmol) 在1mL DMSO中的混合物加热至60-70℃过夜。将反应混合物注入冰水,并以乙酸乙酯萃取,用水和盐水洗涤。将有机层用无水Na₂SO₄干燥并蒸发至干燥。从乙醇重结晶该残留物以得到80mg成为褐色固体的目标化合物48 (产率=21%)。

[0671] 化合物S01191

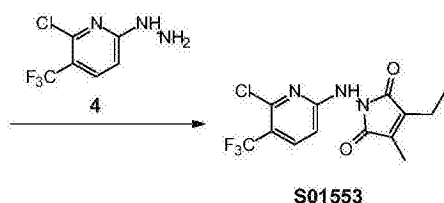
[0672] 从中间体48至目标化合物的合成步骤类似于一般步骤。

[0673] 化合物S01553

[0674] 路线图25



[0675]



[0676] 中间体50

[0677] 将乙基2-(二甲氧基磷酰基)丁酸酯 (1.0g, 4.0mmol) 的1,2-二甲氧基乙烷 (5mL) 溶液添加至搅拌中的氢化钠在1,2-二甲氧基乙烷 (10mL) 中的浆液。当不再产生氢气时,向该溶液添加含于1,2-二甲氧基乙烷 (5mL) 的丙酮酸乙酯 (480mg, 4.1mmol)。将该混合物在50℃下搅拌过夜。然后用EtOAc (100mL) 稀释该溶液,用水和盐水洗涤,并用无水Na₂SO₄干燥。真空去除溶剂,通过层析纯化该残留物以得到产物。产率为710mg (87.2%)。

[0678] 中间体51

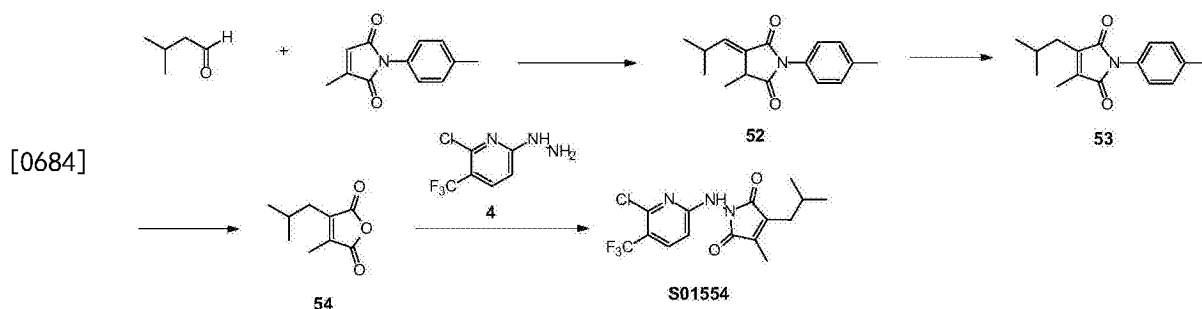
[0679] 将二乙基2-乙基-3-马来酸甲酯 (75mg, 0.35mmol) 的乙醇 (0.8mL) 溶液逐滴加至NaOH (2M, 0.4mL) 水溶液。将混合物在室温下搅拌30分钟,然后用水 (10mL) 洗涤并用醚 (5mL) 洗涤。用5% HCl水溶液酸化水层,然后用EtOAc萃取。用盐水洗涤有机层,用无水Na₂SO₄干燥。真空去除溶剂,通过在硅胶柱上层析纯化该残留物。产率为41mg (83.7%)。

[0680] 化合物S01553

[0681] 从中间体51至化合物S01553的合成步骤类似于一般步骤。

[0682] 化合物S01554

[0683] 路线图26



[0685] 中间体52

[0686] 将柠康酰亚胺 (200mg, 1.0mmol) 和 PPh_3 (320mg, 1.2mmol) 在冰 AcOH (7mL) 中的混合物在室温下搅拌1小时。向该反应混合物添加异戊醛 (160 μl , 1.5mmol) 并回流搅拌24小时。真空蒸馏去除 HOAc , 将残留物溶解于 EtOAc (30mL), 并用 H_2O 、盐水洗涤有机层, 用无水 Na_2SO_4 干燥。真空去除溶剂, 通过在硅胶柱上层析纯化该残留物。产率 (90mg, 35.0%)。

[0687] 中间体53

[0688] 向搅拌中的52 (90mg) 的 THF (2mL) 溶液添加 Et_3N (0.4mL)。将反应混合物回流48小时, 然后真空浓缩。将残留物溶解于 EtOAc , 并用水、盐水洗涤有机层, 用无水 Na_2SO_4 干燥。真空去除溶剂, 通过在硅胶柱上层析纯化该残留物。产率 (85mg, 94.4%)。

[0689] 中间体54

[0690] 向53 (50mg, 0.19mmol) 在 THF (0.3mL) 和 MeOH (0.6mL) 中的溶液添加 KOH (1mL, 30%) 水溶液并将该反应混合物回流搅拌12小时。然后将该反应混合物真空浓缩, 通过稀 HCl 水溶液酸化所得的残留物, 用 EtOAc (20mL) 萃取。用水、盐水洗涤有机层, 用无水 Na_2SO_4 干燥。真空去除溶剂, 通过在硅胶柱上层析纯化该残留物。产率 (26mg, 81.3%)。

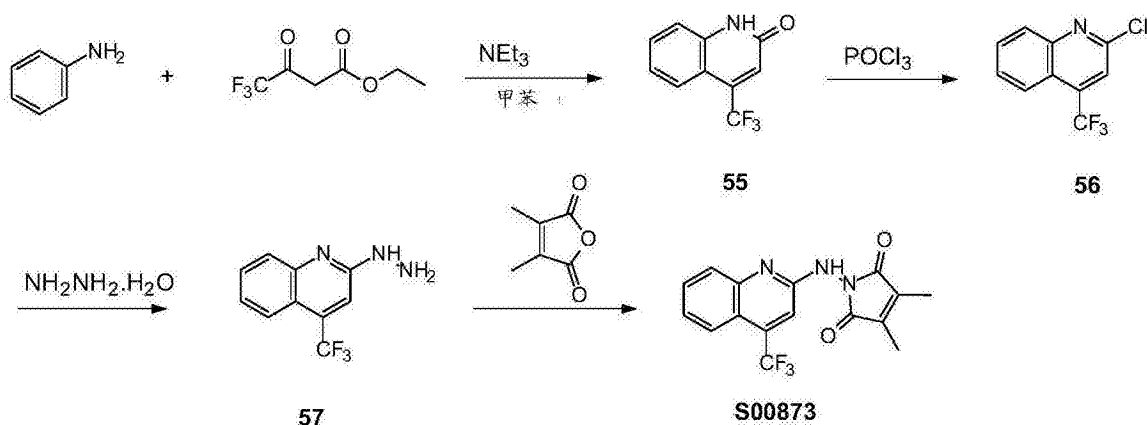
[0691] 化合物S01554

[0692] 从中间体54至化合物S01554的合成步骤类似于一般步骤。

[0693] 化合物S00873

[0694] 路线图27

[0695]



[0696] 中间体55

[0697] 在室温下向酯 (5.46mmol) 和三乙胺 (101g, 10.86mmol) 的甲苯 (5mL) 溶液添加苯胺 (6.52mmol) 的甲苯 (2mL) 溶液。将反应混合物回流至反应完全。处理后得到化合物56, 其纯度足以在下一步骤使用。

[0698] 中间体57

[0699] 将55和POCl₃ (5mL) 的混合物回流5小时, 然后注入冰水。用盐水洗涤醚萃取物并用无水Na₂SO₄干燥, 然后浓缩提供化合物56, 其可直接用于下一步骤。

[0700] 将56和水合肼在5mL乙醇中的混合物回流数小时, 直至起始原料消失。处理后得到化合物57。

[0701] 化合物S00873

[0702] 从中间体57至化合物S00873的合成步骤类似于一般步骤。

[0703] 化合物S01455

[0704] 化合物S01455的合成路径与化合物S00873类似。

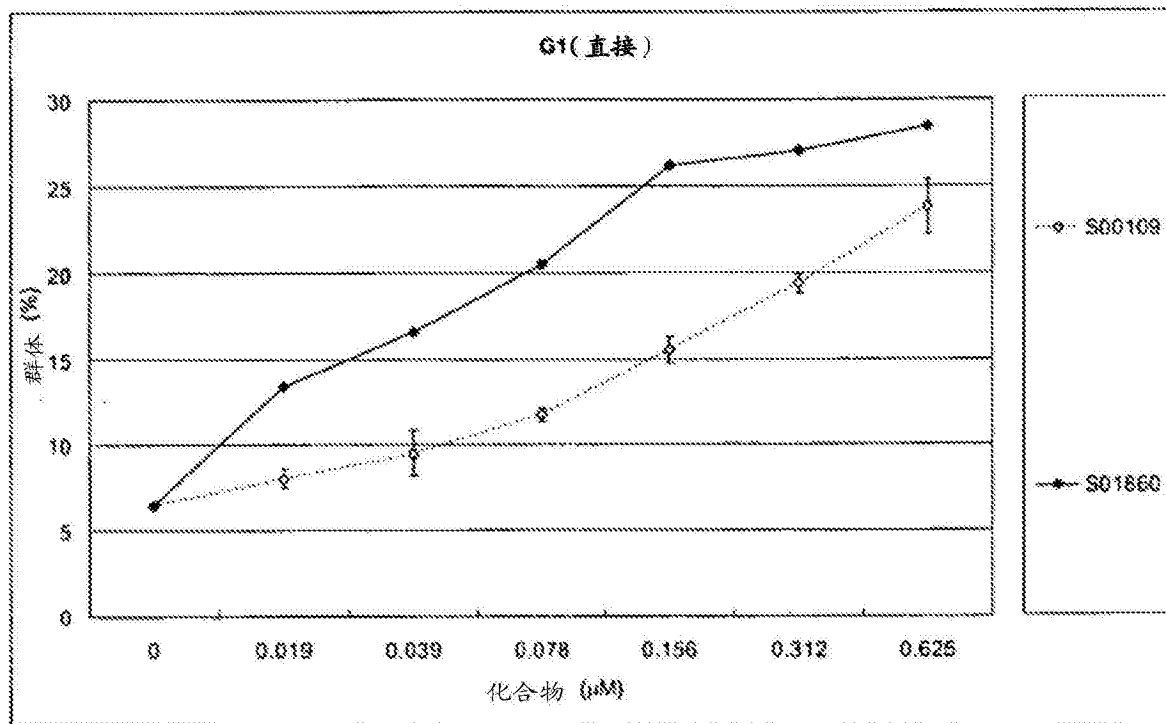


图1

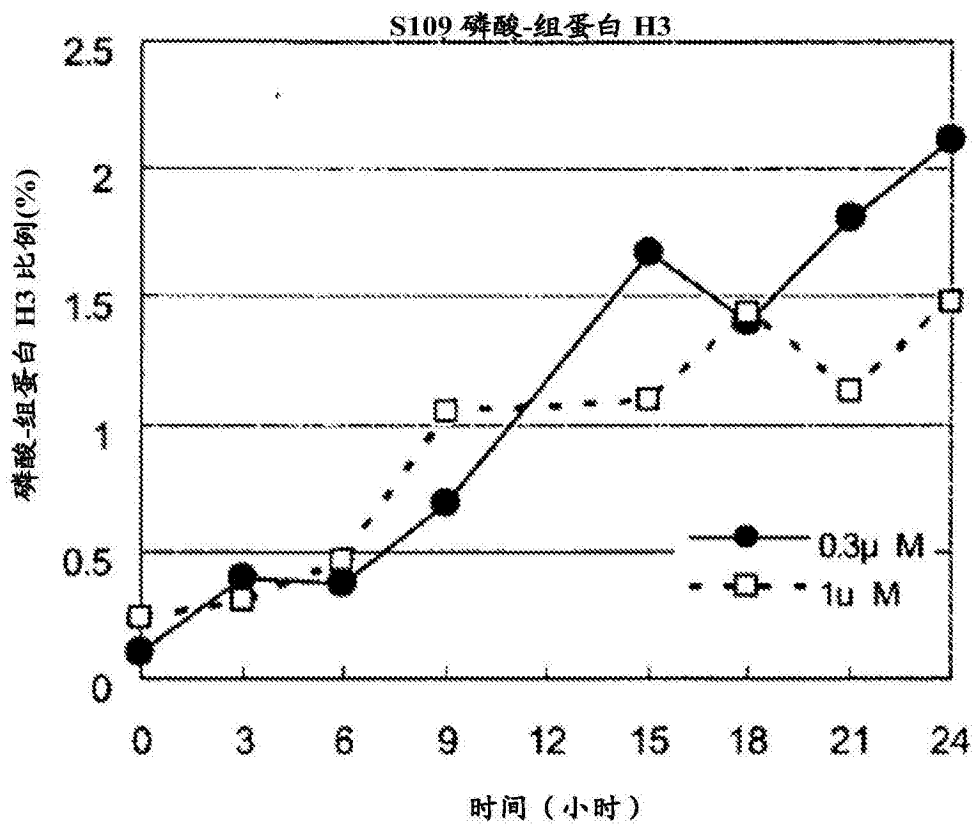


图2

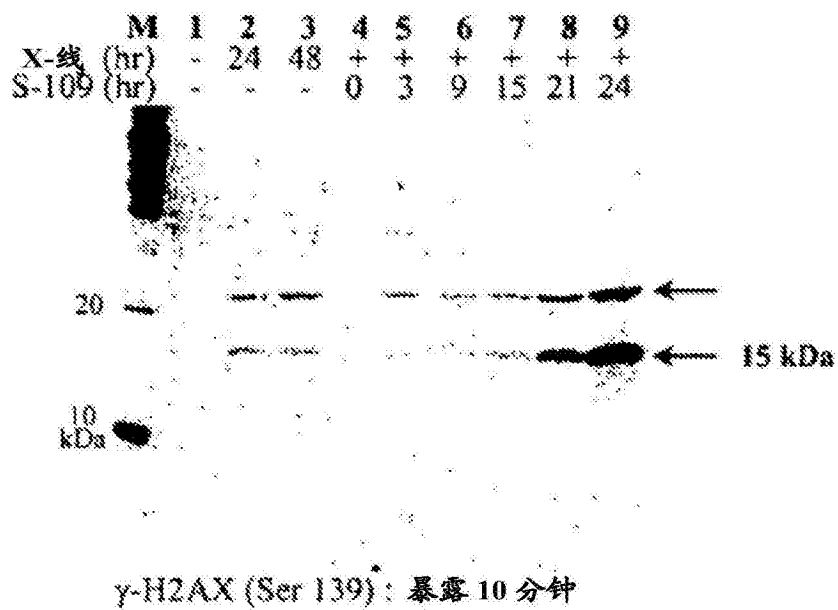


图3

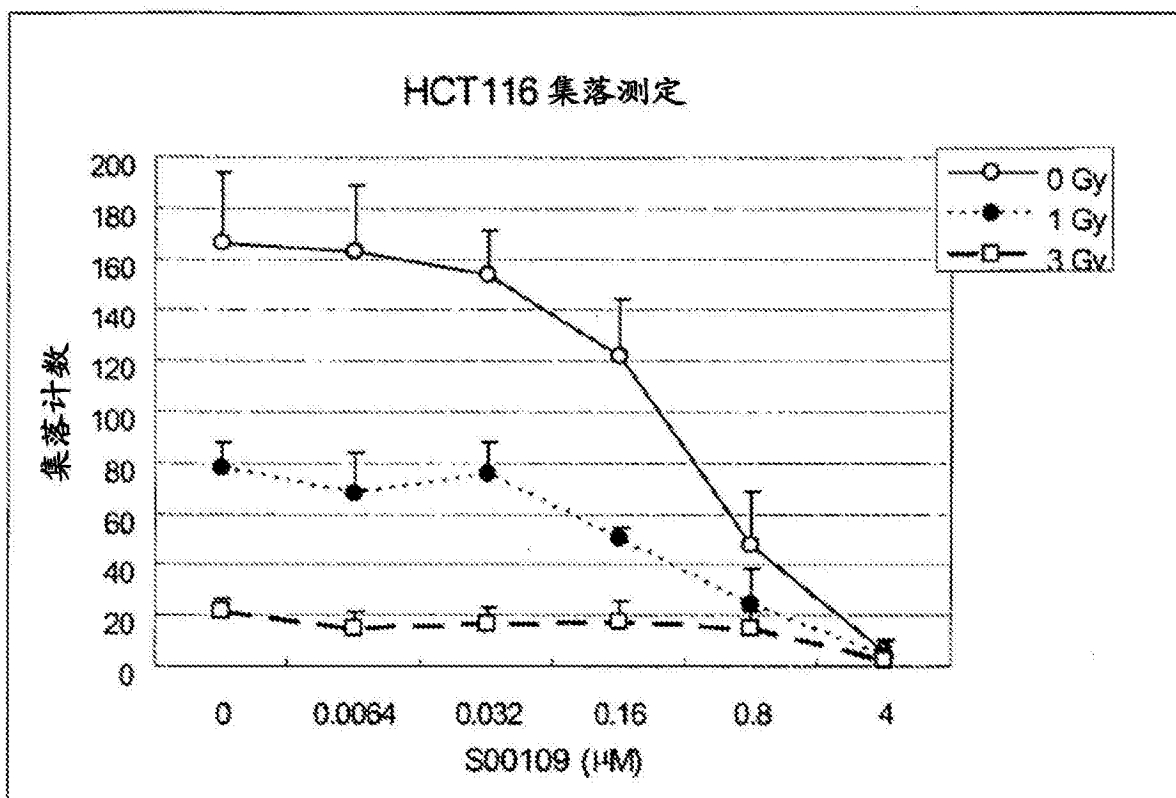


图4

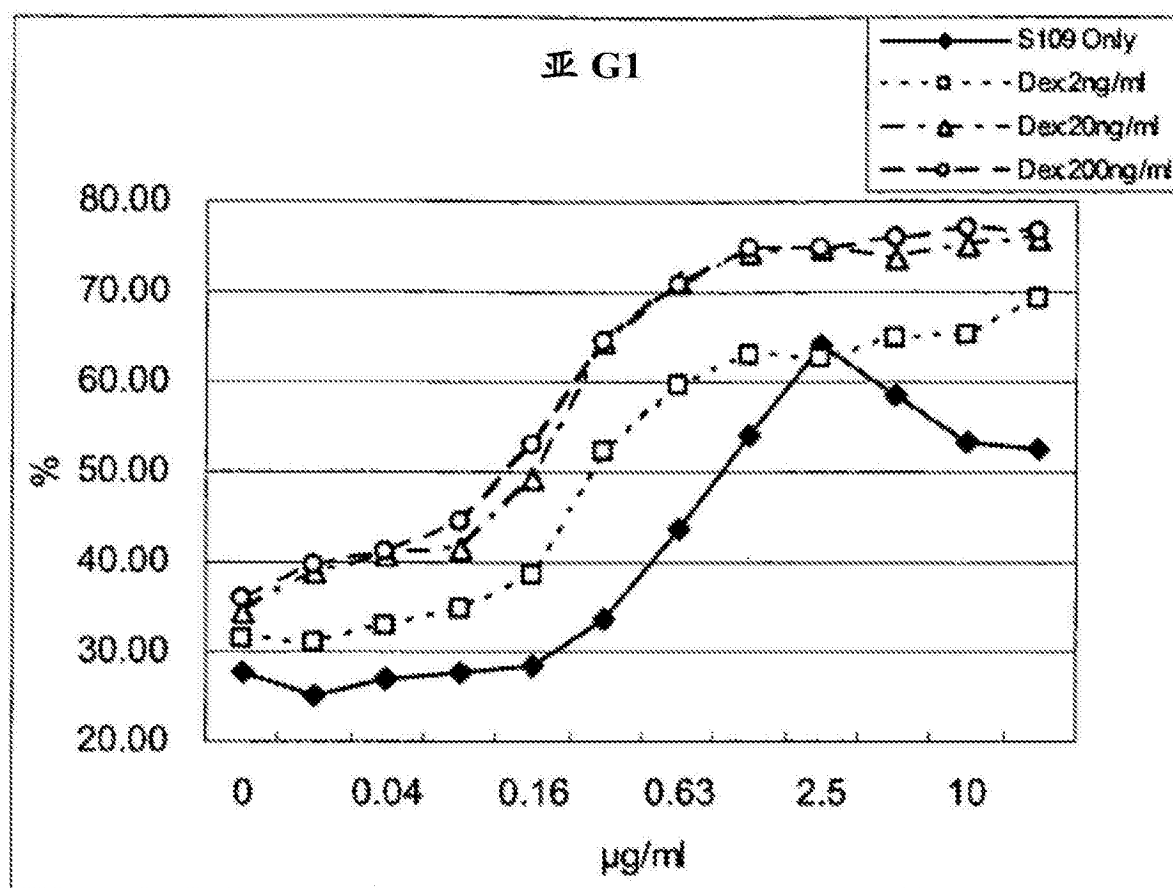


图5

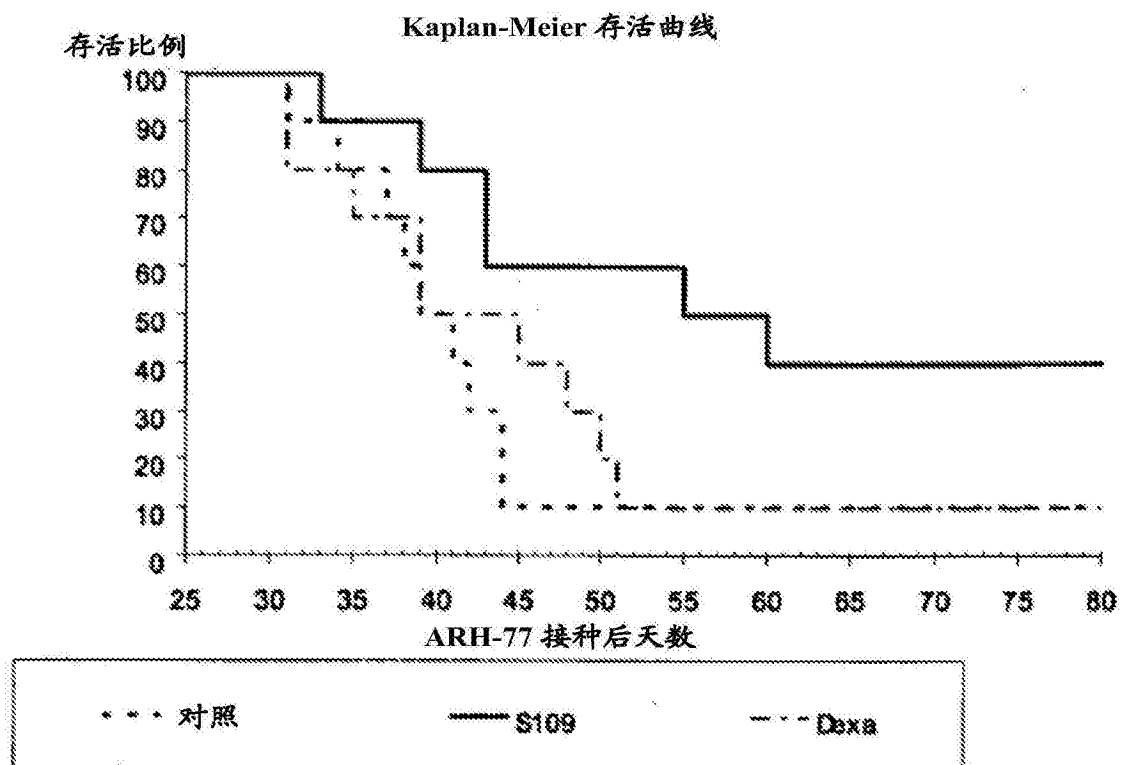


图6

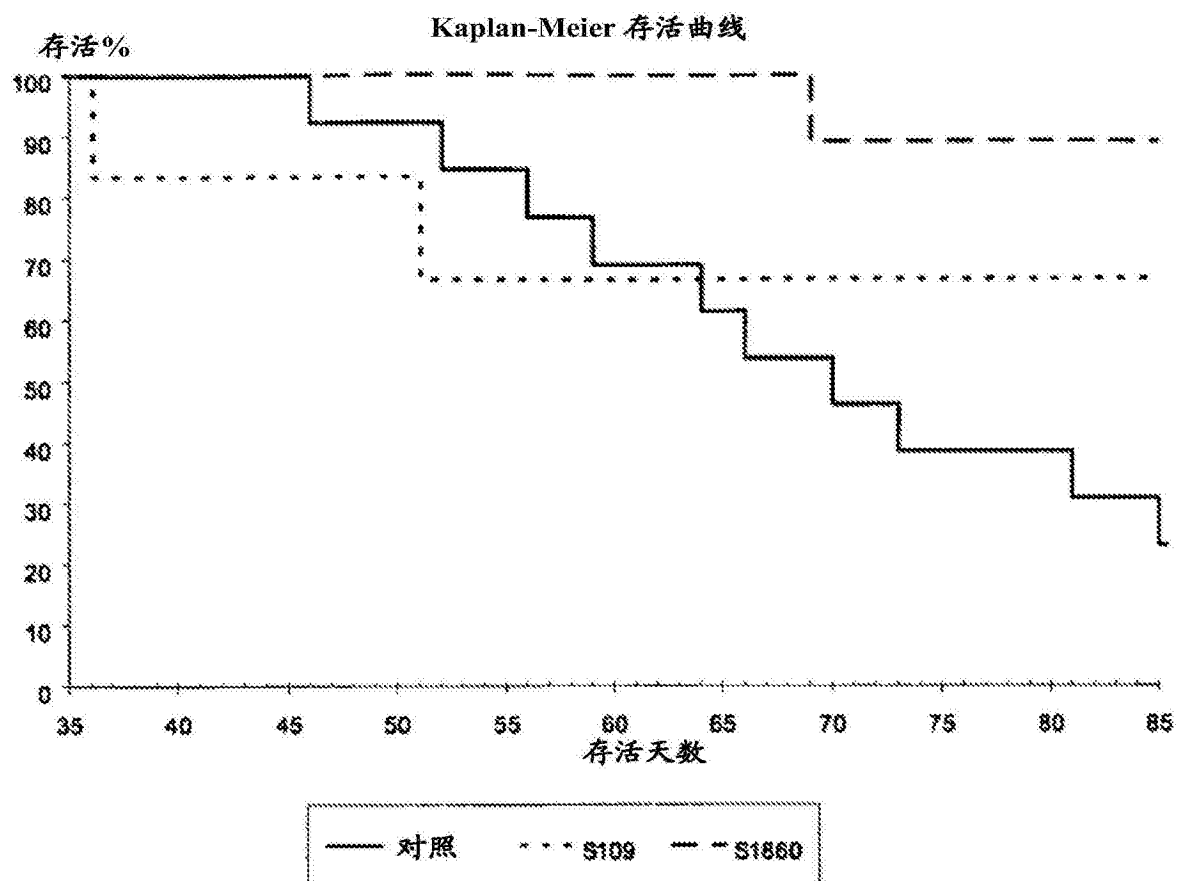


图7

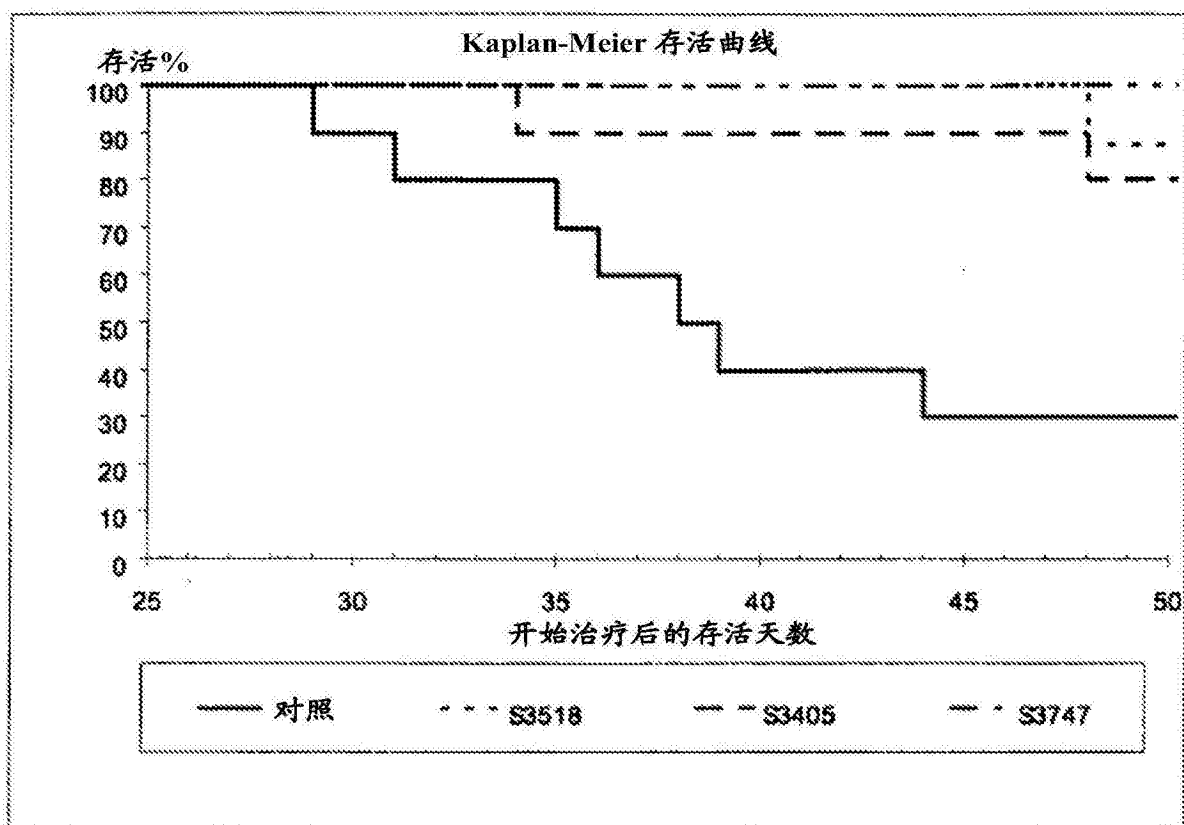


图8