



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102532020 B

(45) 授权公告日 2015. 02. 25

(21) 申请号 201110411212. 5

(22) 申请日 2007. 11. 16

(30) 优先权数据

60/866, 269 2006. 11. 17 US

(62) 分案原申请数据

200780042599. 3 2007. 11. 16

(73) 专利权人 瑞沙恩医药公司

地址 美国马里兰州

(72) 发明人 李永福 安昌浩 赵元济

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 顾晋伟 王春伟

(51) Int. Cl.

C07D 217/22(2006. 01)

A61K 31/472(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

(56) 对比文件

KR 20020074568 A, 2002. 10. 04, 说明书第 2 页, 第 14 页表 1.

KR 20020074568 A, 2002. 10. 04, 说明书第 2 页, 第 14 页表 1.

US 4942163 A, 1990. 07. 17, 说明书第 2 栏.

CN 101573337 B, 2012. 02. 08, 权利要求 7、8 的技术方案 a 和 b.

Won-Jea Cho et al.. Molecular Modeling of 3-Arylisoquinoline Antitumor Agents Active Against A-549. A Comparative Molecular Field Analysis Study. 《Bioorganic & Medicinal Chemistry》. 2002, 第 10 卷 2954-2956.

Won-Jea Cho et al.. Synthesis of New 3-Arylisoquinolinamines: Effect on Topoisomerase I Inhibition and Cytotoxicity. 《Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters》. 2003, 第 13 卷 4451-4454.

审查员 原悦

权利要求书 5 页 说明书 27 页

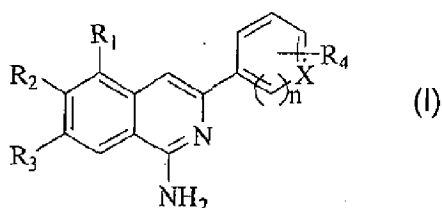
(54) 发明名称

作为抗肿瘤剂的 5、6 或 7-取代-3-(杂)芳基-异喹啉胺衍生物

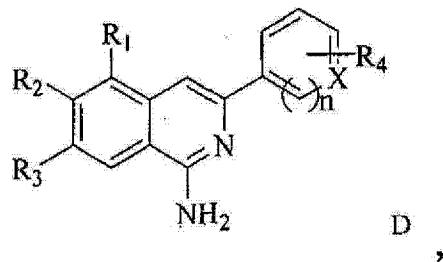
(57) 摘要

本发明涉及通式 D 所代表的 5、6 或 7 取代-3-(杂)芳基异喹啉胺衍生物, 其药学上可接受的盐, 以及含有这些化合物的组合物。本发明还包括通过施用所述化合物来治疗过度增殖性病症

的方法。



1. 式 D 的化合物或其药学上可接受的盐：



其中, n 是 1；

X 是 C；

并且：

(1) R₂ 是 H；

R₁ 是 H；

R₃ 是卤素、或者 C₁-C₆ 烷基；

R₄ 是甲基和任选地选自卤素、-O-R₅ 以及 C₁-C₆ 烷基中的另外一个取代基；

R₅ 是 C₁-C₆ 烷基；

或者：

(2) R₁ 是氢；

R₂ 和 R₃ 是 -O-CH₃；

R₄ 是 3- 甲氧基。

2. 权利要求 1 的化合物或其盐, 选自：

(a) R₁ = R₂ = H, R₃ = 氯, 并且 R₄ = 5- 氯 -2- 甲基；

(b) R₁ = H, R₂ = R₃ = 甲氧基, 并且 R₄ = 3- 甲氧基；以及

(c) R₁ = R₂ = H, R₃ = 甲基, 并且 R₄ 选自 2- 甲基、4- 甲氧基 -2- 甲基、5- 甲氧基 -2- 甲基和 2,6- 二甲基。

3. 权利要求 1 的化合物或其盐, 其中 R₁ = R₂ = H, R₃ = 甲基, 并且 R₄ 选自 2- 甲基、4- 甲氧基 -2- 甲基、5- 甲氧基 -2- 甲基和 2,6- 二甲基。

4. 权利要求 1 的化合物或其盐,

其中, R₁ = R₂ = H, R₃ = 甲基, 并且 R₄ = 2,6- 二甲基。

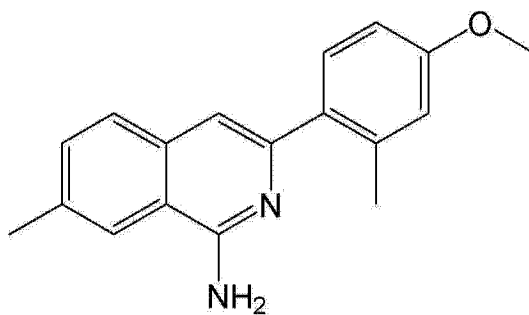
5. 权利要求 1 的化合物或其盐, 其对选自乳腺癌、前列腺肿瘤、结肠肿瘤、卵巢肿瘤、肾肿瘤、胰腺肿瘤、成胶质细胞瘤和黑素瘤中的肿瘤的至少一种细胞系的 IC₅₀ 不大于 0.2 μM。

6. 权利要求 5 的化合物或盐, 其中所述细胞系选自人 MDA-MB-231、PC3、HCT116、HCT-15、OVCAR-3、Caki-1、PANC-1、SNB-19 和 SK-MEL-28。

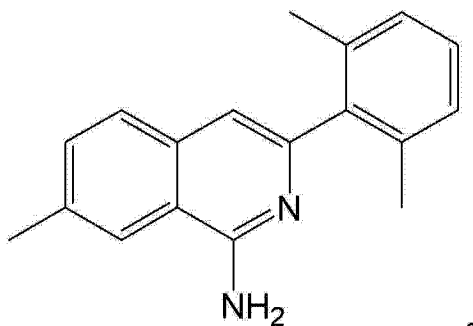
7. 权利要求 1 的化合物或其盐, 其对选自乳腺癌、前列腺肿瘤、结肠肿瘤、卵巢肿瘤、肾肿瘤、胰腺肿瘤、成胶质细胞瘤和黑素瘤中的肿瘤的至少一种细胞系的 IC₅₀ 不大于 0.1 μM。

8. 权利要求 7 的化合物或盐, 其中所述细胞系选自人 MDA-MB-231、PC3、HCT116、HCT-15、OVCAR-3、Caki-1、PANC-1、SNB-19 和 SK-MEL-28。

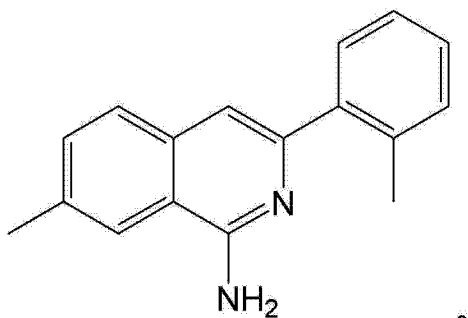
9. 下式的权利要求 1 中所述的化合物或其盐：



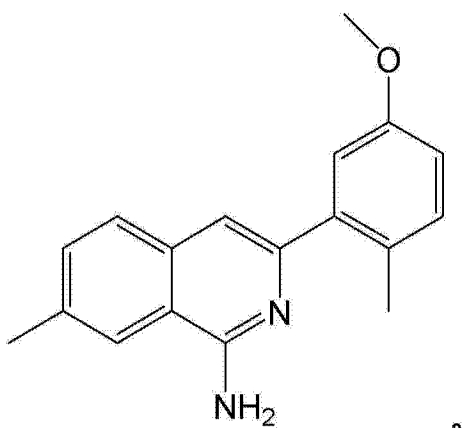
10. 下式的权利要求 1 中所述的化合物或其盐：



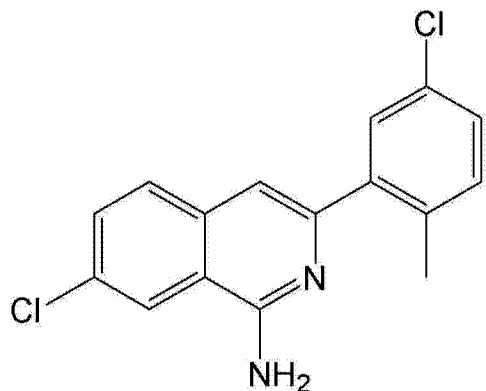
11. 下式的权利要求 1 中所述的化合物或其盐：



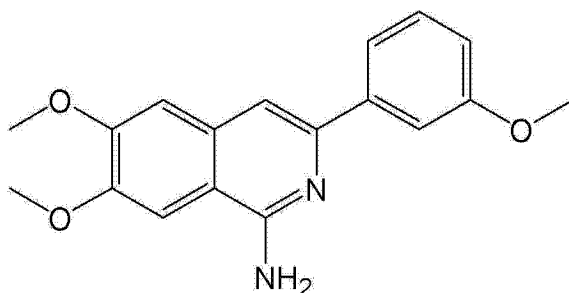
12. 下式的权利要求 1 中所述的化合物或其盐：



13. 下式的权利要求 1 中所述的化合物或其盐：



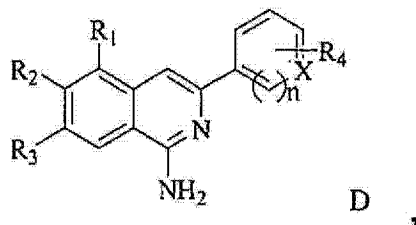
14. 下式的权利要求 1 中所述的化合物或其盐：



15. 一种药物组合物,其包含治疗有效量的权利要求 1 化合物或其药学上可接受盐以及药学上可接受载体。

16. 一种药物组合物,其包含治疗有效量的权利要求 1 化合物或其药学上可接受盐以及药学上可接受稀释剂。

17. 式 D 的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗过度增殖性病症的药物中的用途,



其中, n 是 1 ;

X 是 C ;

并且 :

(1) R_2 是 H ;

R_3 是卤素、或者 C_1-C_6 烷基 ;

R_1 是 H ;

R_4 是甲基和任选地选自卤素、 $-O-R_5$ 以及 C_1-C_6 烷基中的另外一个取代基 ;

R_5 是 C_1-C_6 烷基 ;或者

(2) R_1 是 H, R_2 和 R_3 是 $-O-CH_3$; R_4 是 3- 甲氧基。

18. 权利要求 17 的用途,其中所述化合物或其盐选自 :

(a) $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = \text{氯}$, 并且 $R_4 = 5\text{-氯-2-甲基}$;

(b) $R_1 = H$, $R_2 = R_3 = \text{甲氧基}$, 并且 $R_4 = 3\text{-甲氧基}$;以及

(c) $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = \text{甲基}$, 并且 R_4 选自 2- 甲基、4- 甲氧基 -2- 甲基、5- 甲氧基 -2- 甲基和 2,6- 二甲基。

19. 权利要求 17 的用途, 其中所述化合物或其盐选自:

$R_1 = R_2 = H$, $R_3 = \text{甲基}$, 并且 R_4 选自 2- 甲基、4- 甲氧基 -2- 甲基、5- 甲氧基 -2- 甲基和 2,6- 二甲基。

20. 权利要求 17 的用途, 其中

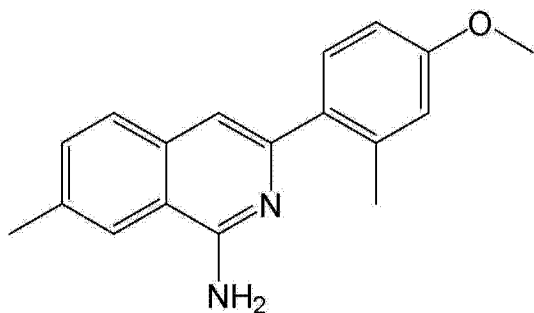
$R_1 = R_2 = H$, $R_3 = \text{甲基}$, 并且 R_4 选自 2,6- 二甲基。

21. 权利要求 17 的用途, 其中所述过度增殖性病症包括肿瘤。

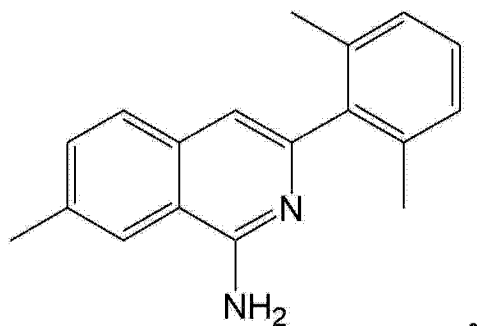
22. 权利要求 21 的用途, 其中所述肿瘤选自乳腺肿瘤、前列腺肿瘤、结肠肿瘤、卵巢肿瘤、肾肿瘤、胰腺肿瘤、成胶质细胞瘤和黑素瘤。

23. 权利要求 17 的用途, 其中所述化合物或其盐任选地通过连接剂与靶标部分相缀合。

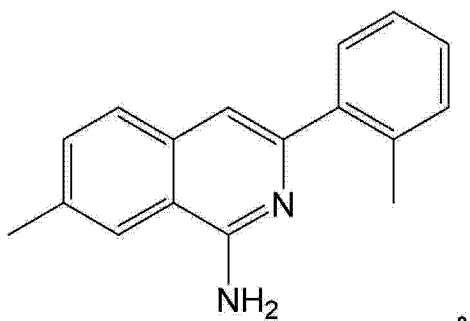
24. 权利要求 17 的用途, 其中所述化合物为:



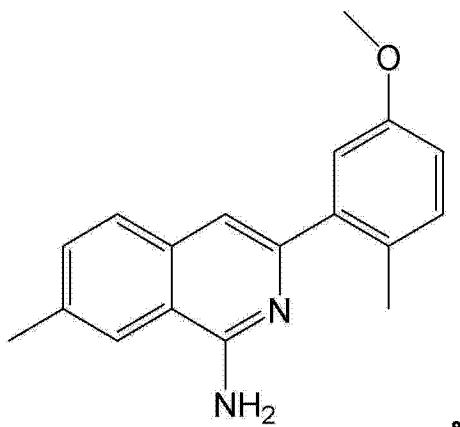
25. 权利要求 17 的用途, 其中所述化合物为:



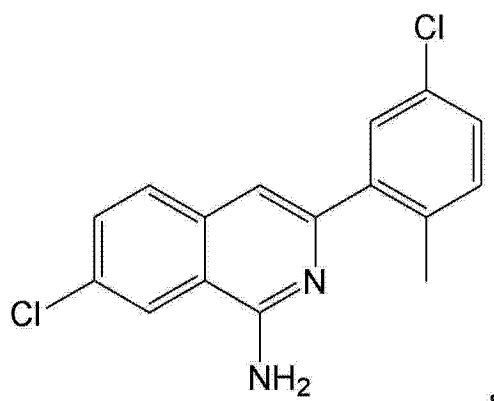
26. 权利要求 17 的用途, 其中所述化合物为:



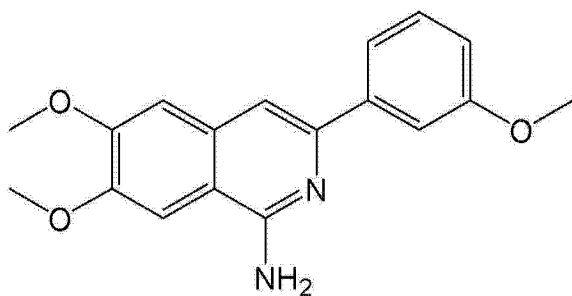
27. 权利要求 17 的用途, 其中所述化合物为:



28. 权利要求 17 的用途,其中所述化合物为:



29. 权利要求 17 的用途,其中所述化合物为:



30. 一种缀合物,其包含与权利要求 1 中的化合物共价键合的靶标部分,任选的通过连接剂共价键合。

作为抗肿瘤剂的 5,6 或 7- 取代 -3-(杂) 芳基 - 异喹啉胺 衍生物

[0001] 本申请是申请日为 2007 年 11 月 16 日、申请号为“200780042599.3”、发明名称为“作为抗肿瘤剂的 5,6 或 7- 取代 -3-(杂) 芳基 - 异喹啉胺衍生物”的中国专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及新的 5,6 或 7- 取代 -3-(杂) 芳基 - 异喹啉胺化合物、其药学上可接受盐和含有这些化合物的组合物,以及通过施用 5,6 或 7- 取代 -3-(杂) 芳基 - 异喹啉胺化合物来治疗过度增殖性病症(包括癌症)的治疗方法。

背景技术

[0003] 化学治疗剂通过干扰细胞分裂过程中的多个阶段而杀死肿瘤细胞。存在多种类别的化学治疗剂,包括烷化剂(例如环磷酰胺、卡氮芥、顺铂),抗代谢物(例如氨甲喋呤、5-FU、吉西他滨),细胞毒性抗生素(例如阿霉素、丝裂霉素)和植物衍生物(例如紫杉醇、长春新碱、依托泊苷)。化疗用作白血病、其它血液癌症以及不宜进行手术或转移性的实体癌症的主要治疗。

[0004] 当前的化学治疗剂存在着几个问题,包括效力有限、虚弱不良副作用和产生多重耐药性。

发明内容

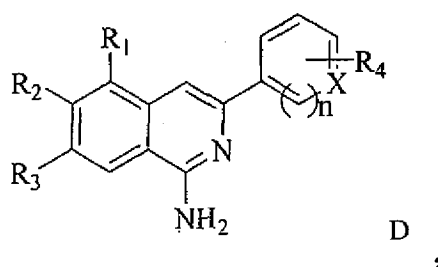
[0005] 本发明合成了一系列的 5,6 或 7- 取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺化合物并分析了治疗活性,包括抗癌活性。本发明的 5,6 或 7- 取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺化合物被证实可用于治疗过度增殖性病症,包括肿瘤,例如前列腺肿瘤、结肠肿瘤、胰腺肿瘤和卵巢肿瘤。

[0006] 本发明涉及新的 5,6 或 7- 取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺化合物和衍生物。本发明还涉及 5,6 或 7- 取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺衍生物作为抗肿瘤剂的用途。

[0007] 本发明还涉及以下方面

[0008] 1. 式 D 的化合物或其药学上可接受的盐:

[0009]



[0010] 其中, n 是 0 或 1;

[0011] X 独立地是 N、C、O 或 S; R₁、R₂ 和 R₃ 独立地是 H、卤素、NH₂、NHR₅、N(R₅)₂、-O-R₅ 或者

任选地被 $-OR_5$ 取代的 R_5 ;

[0012] R_4 是独立地选自 H、3,4- 亚甲基二氧化物、卤素、 $-OR_5$ 以及任选地被 $-OR_5$ 取代的 R_5 中的一个或两个取代基 ;

[0013] R_5 是 C_1-C_6 烷基 ; 并且

[0014] 当存在超过一个的 R_5 基团时, R_5 基团各自可以相同或不同 ;

[0015] 前提是所述化合物不是以下化合物 :

[0016] (a) $R_1 = R_2 = R_3 = H, n = 1, X = C$ 并且 $R_4 = H$ 、2- 甲基、3- 甲基或 4- 甲基, 或者

[0017] (b) $R_1 = R_3 = H, R_2 = \text{甲基}, n = 1, X = C$ 并且 $R_4 = H$ 、2- 甲基或 3- 甲基。

[0018] 2. 项目 1 的化合物或其盐, 选自 :

[0019] (a) $n = 0, X = O$ 或 S , 并且 $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H$;

[0020] (b) $n = 1, X = N$ 并且 $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H$;

[0021] (c) $n = 1, X = C, R_1 = R_2 = R_3 = H$, 并且 R_4 选自 2- 氯、3- 氯、4- 氯、3- 甲氧基、3,4- 二甲氧基和 3,4- 亚甲基二氧化物 ;

[0022] (d) $n = 1, X = C, R_1 = R_2 = H, R_3 = \text{氯}$, 并且 $R_4 = 5\text{- 氯}-2\text{- 甲基}$;

[0023] (e) $n = 1, X = C, R_1 = R_3 = H, R_2 = \text{甲氧基}$, 并且 $R_4 = \text{氢}$ 或 3,4- 二甲氧基 ;

[0024] (f) $n = 1, X = C, R_1 = \text{甲基}, R_2 = R_3 = H$, 并且 $R_4 = 3,4\text{- 二甲氧基}$;

[0025] (g) $n = 1, X = C, R_1 = R_3 = H, R_2 = \text{甲基}$, 并且 R_4 选自 4- 甲基、2- 甲氧基、3- 甲氧基、4- 甲氧基、3,4- 二甲氧基、3,4- 亚甲基二氧化物、4- 乙氧基、3,5- 二甲氧基、4- 甲氧基-2- 甲基、3,4,5- 三甲氧基、2- 氟和 2,6- 二甲基 ;

[0026] (h) $n = 1, X = C, R_1 = R_2 = H, R_3 = \text{甲基}$, 并且 R_4 选自 2- 甲基、3- 甲基、2- 甲氧基、3- 甲氧基、4- 甲氧基、4- 乙氧基、2- 氟、4- 甲氧基-2- 甲基、5- 甲氧基-2- 甲基、2,6- 二甲基、3,4- 二甲氧基、3,4- 亚甲基二氧化物、3,5- 二甲氧基和 3,4,5- 三甲氧基 ;

[0027] (i) $n = 1, X = C, R_1 = \text{二甲基氨基}, R_2 = R_3 = H$, 并且 R_4 选自氢、2- 甲基、3,4- 二甲氧基和 2,6- 二甲基 ;

[0028] (j) $n = 1, X = C, R_1 = R_3 = H, R_2 = \text{二甲基氨基}$, 并且 $R_4 = 3\text{- 甲氧基}$;

[0029] (k) $n = 1, X = C, R_1 = H, R_2 = R_3 = \text{甲氧基}$, 并且 $R_4 = \text{氢}$ 、2- 甲基、3- 甲基、2,6- 二甲基、3- 甲氧基或 3,5- 二甲氧基 ; 以及

[0030] (l) $n = 1, X = C, R_1 = R_2 = H, R_3 = \text{二甲基氨基}$, 并且 R_4 选自 3- 甲氧基、3- 甲基、3,4- 二甲氧基和 3,5- 二甲氧基。

[0031] 3. 项目 1 的化合物或其盐, 选自 :

[0032] (a) $n = 1, X = C, R_1 = R_2 = H, R_3 = \text{氯}$, 并且 $R_4 = 5\text{- 氯}-2\text{- 甲基}$;

[0033] (b) $n = 1, X = C, R_1 = R_3 = H, R_2 = \text{甲基}$, 并且 R_4 选自 4- 甲基、3- 甲氧基、4- 甲氧基-2- 甲基、2,6- 二甲基和 3,4- 亚甲基二氧化物 ;

[0034] (c) $n = 1, X = C, R_1 = R_3 = H, R_2 = \text{二甲基氨基}$, 并且 $R_4 = 3\text{- 甲氧基}$;

[0035] (d) $n = 1, X = C, R_1 = H, R_2 = R_3 = \text{甲氧基}$, 并且 $R_4 = 3\text{- 甲氧基}$;

[0036] (e) $n = 1, X = C, R_1 = R_2 = H, R_3 = \text{二甲基氨基}$, 并且 R_4 选自 3- 甲氧基、3- 甲基、3,4- 二甲氧基和 3,5- 二甲氧基 ; 以及

[0037] (f) $n = 1, X = C, R_1 = R_2 = H, R_3 = \text{甲基}$, 并且 R_4 选自 2- 甲基、4- 甲氧基-2- 甲基、5- 甲氧基-2- 甲基、2,6- 二甲基和 3,4- 亚甲基二氧化物。

[0038] 4. 项目 1 的化合物或其盐,选自:

[0039] (a) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_3 = H$, $R_2 =$ 二甲基氨基, 并且 $R_4 = 3$ - 甲氧基;

[0040] (b) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_2 = H$, $R_3 =$ 二甲基氨基, 并且 R_4 选自 3- 甲氧基、3- 甲基和 3,5- 二甲氧基; 以及

[0041] (c) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_2 = H$, $R_3 =$ 甲基, 并且 R_4 选自 2- 甲基、4- 甲氧基-2- 甲基、5- 甲氧基-2- 甲基和 2,6- 二甲基。

[0042] 5. 项目 1 的化合物或其盐,选自:

[0043] $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_2 = H$, $R_3 =$ 二甲基氨基, 并且 R_4 选自 3- 甲氧基和 3 甲基。

[0044] 6. 项目 1 的化合物或其盐,其对选自乳腺癌、前列腺肿瘤、结肠肿瘤、卵巢肿瘤、肾肿瘤、胰腺肿瘤、成胶质细胞瘤和黑素瘤中的肿瘤的至少一种细胞系的 IC_{50} 不大于 $0.2 \mu M$ 。

[0045] 7. 项目 6 的化合物或盐,其中所述细胞系选自人 MDA-MB-231、PC3、HCT116、HCT-15、OVCAR-3、Caki-1、PANC-1、SNB-19 和 SK-MEL-28。

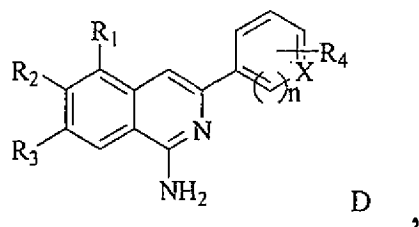
[0046] 8. 项目 1 的化合物或其盐,其对选自乳腺癌、前列腺肿瘤、结肠肿瘤、卵巢肿瘤、肾肿瘤、胰腺肿瘤、成胶质细胞瘤和黑素瘤中的肿瘤的至少一种细胞系的 IC_{50} 不大于 $0.1 \mu M$ 。

[0047] 9. 项目 8 的化合物或盐,其中所述细胞系选自人 MDA-MB-231、PC3、HCT116、HCT-15、OVCAR-3、Caki-1、PANC-1、SNB-19 和 SK-MEL-28。

[0048] 10. 一种药物组合物,其包含治疗有效量的项目 1 化合物或其药学上可接受盐以及药学上可接受载体或稀释剂。

[0049] 11. 一种治疗过度增殖性病症的方法,其包括施用包含式 D 的化合物或其药学上可接受盐的组合物:

[0050]



[0051] 其中, n 是 0 或 1;

[0052] X 独立地是 N、C、O 或 S; R_1 、 R_2 和 R_3 独立地是 H、卤素、 NH_2 、 NHR_5 、 $N(R_5)_2$ 、 $-O-R_5$ 或者任选地被 $-O-R_5$ 取代的 R_5 ;

[0053] R_4 是独立地选自 H、3,4- 亚甲基二氧化物、卤素、 $-O-R_5$ 以及任选地被 $-O-R_5$ 取代的 R_5 中的一个或两个取代基;

[0054] R_5 是 C_1 - C_6 烷基; 并且

[0055] 当存在超过一个的 R_5 基团时, R_5 基团各自可以相同或不同;

[0056] 前提是所述化合物不是以下化合物:

[0057] (a) $R_1 = R_2 = R_3 = H$, $n = 1$, $X = C$ 并且 $R_4 = H$ 、2- 甲基、3- 甲基或 4- 甲基, 或者

[0058] (b) $R_1 = R_3 = H$, $R_2 =$ 甲基、 $n = 1$, $X = C$ 并且 $R_4 = H$ 、2- 甲基或 3- 甲基。

[0059] 12. 项目 11 的方法,其中所述化合物或其盐选自:

- [0060] (a) $n = 0$, $X = O$ 或 S , 并且 $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H$;
- [0061] (b) $n = 1$, $X = N$ 并且 $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H$;
- [0062] (c) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_2 = R_3 = H$, 并且 R_4 选自 2- 氯、3- 氯、4- 氯、3- 甲氧基、3, 4- 二甲氧基和 3, 4- 亚甲基二氧化物;
- [0063] (d) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = \text{氯}$, 并且 $R_4 = 5\text{- 氯-}2\text{- 甲基}$;
- [0064] (e) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_3 = H$, $R_2 = \text{甲氧基}$, 并且 $R_4 = \text{氢或 } 3, 4\text{- 二甲氧基}$;
- [0065] (f) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = \text{甲基}$, $R_2 = R_3 = H$, 并且 $R_4 = 3, 4\text{- 二甲氧基}$;
- [0066] (g) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_3 = H$, $R_2 = \text{甲基}$, 并且 R_4 选自 4- 甲基、2- 甲氧基、3- 甲氧基、4- 甲氧基、3, 4- 二甲氧基、3, 4- 亚甲基二氧化物、4- 乙氧基、3, 5- 二甲氧基、4- 甲氧基-2- 甲基、3, 4, 5- 三甲氧基、2- 氟和 2, 6- 二甲基;
- [0067] (h) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = \text{甲基}$, 并且 R_4 选自 2- 甲基、3- 甲基、2- 甲氧基、3- 甲氧基、4- 甲氧基、4- 乙氧基、2- 氟、4- 甲氧基-2- 甲基、5- 甲氧基-2- 甲基、2, 6- 二甲基、3, 4- 二甲氧基、3, 4- 亚甲基二氧化物、3, 5- 二甲氧基和 3, 4, 5- 三甲氧基;
- [0068] (i) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = \text{二甲基氨基}$, $R_2 = R_3 = H$, 并且 R_4 选自氢、2- 甲基、3, 4- 二甲氧基和 2, 6- 二甲基;
- [0069] (j) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_3 = H$, $R_2 = \text{二甲基氨基}$, 并且 $R_4 = 3\text{- 甲氧基}$;
- [0070] (k) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = H$, $R_2 = R_3 = \text{甲氧基}$, 并且 $R_4 = \text{氢、} 2\text{- 甲基、} 3\text{- 甲基、} 2, 6\text{- 二甲基、} 3\text{- 甲氧基或 } 3, 5\text{- 二甲氧基}$; 以及
- [0071] (l) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = \text{二甲基氨基}$, 并且 R_4 选自 3- 甲氧基、3- 甲基、3, 4- 二甲氧基和 3, 5- 二甲氧基。
- [0072] 13. 项目 11 的方法, 其中所述化合物或其盐选自:
- [0073] (a) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = \text{氯}$, 并且 $R_4 = 5\text{- 氯-}2\text{- 甲基}$;
- [0074] (b) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_3 = H$, $R_2 = \text{甲基}$, 并且 R_4 选自 4- 甲基、3- 甲氧基、4- 甲氧基-2- 甲基、2, 6- 二甲基和 3, 4- 亚甲基二氧化物;
- [0075] (c) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_3 = H$, $R_2 = \text{二甲基氨基}$, 并且 $R_4 = 3\text{- 甲氧基}$;
- [0076] (d) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = H$, $R_2 = R_3 = \text{甲氧基}$, 并且 $R_4 = 3\text{- 甲氧基}$;
- [0077] (e) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = \text{二甲基氨基}$, 并且 R_4 选自 3- 甲氧基、3- 甲基、3, 4- 二甲氧基和 3, 5- 二甲氧基; 以及
- [0078] (f) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = \text{甲基}$, 并且 R_4 选自 2- 甲基、4- 甲氧基-2- 甲基、5- 甲氧基-2- 甲基、2, 6- 二甲基和 3, 4- 亚甲基二氧化物。
- [0079] 14. 项目 11 的方法, 其中所述化合物或其盐选自:
- [0080] (a) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_3 = H$, $R_2 = \text{二甲基氨基}$, 并且 $R_4 = 3\text{- 甲氧基}$;
- [0081] (b) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = \text{二甲基氨基}$, 并且 R_4 选自 3- 甲氧基、3- 甲基和 3, 5- 二甲氧基; 以及
- [0082] (c) $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = \text{甲基}$, 并且 R_4 选自 2- 甲基、4- 甲氧基-2- 甲基、5- 甲氧基-2- 甲基和 2, 6- 二甲基。
- [0083] 15. 项目 11 的方法, 其中所述化合物或其盐选自:
- [0084] $n = 1$, $X = C$, $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = \text{二甲基氨基}$, 并且 R_4 选自 3- 甲氧基和 3 甲基。
- [0085] 16. 项目 11 的方法, 其中所述过度增殖性病症包括肿瘤。

[0086] 17. 项目 16 的方法, 其中所述肿瘤选自乳腺肿瘤、前列腺肿瘤、结肠肿瘤、卵巢肿瘤、肾肿瘤、胰腺肿瘤、成胶质细胞瘤和黑素瘤。

[0087] 18. 项目 11 的方法, 其中所述化合物或其盐任选地通过连接剂与靶标部分相缀合。

具体实施方式

[0088] 在本申请中, 术语“5、6 或 7- 取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺”、“5、6 或 7- 取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺化合物”以及“5、6 或 7- 取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺衍生物”可互换使用, 意指如下定义的式 D 化合物。除非另外说明, 本申请中所用的所有科技术语均具有其在本领域中所通常使用的含义。如本申请中所使用的, 以下词语和短语具有特定的含义。

[0089] 本文中所用的“药学上可接受载体”意指当与本发明的化合物组合时允许化合物保留生物活性 (例如加强肥大细胞和巨噬细胞抗菌活性的能力) 的任何固体或液体材料。实例包括但不限于任何标准药物载体, 比如磷酸盐缓冲液、水、乳液 (比如水包油型乳液) 以及各种润湿剂。通过众所周知的常规方法配制包含这些载体的组合物 (参见例如 Remington' s Pharmaceutical Sciences, Chapter 43, 14th Ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa.) 。

[0090] 术语“缀合物”意指在两种或更多种分子间形成的作为复合物的化合物。更具体地, 在本发明中, 所述 5、6 或 7- 取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺衍生物可与细胞特异性靶标部分键合 (例如共价键合) 而形成可有效且特异性将所述药剂递送至感兴趣细胞的缀合化合物。

[0091] 术语“靶标部分”意指适于将本发明化合物递送至期望产生作用的特定部位的分子。靶标部分包括例如与特定细胞表面的分子特异性结合的分子。可用于本发明中的这些靶标部分包括抗细胞表面抗原抗体。细胞因子 (包括白细胞介素和比如粒细胞 / 巨噬细胞刺激因子 (GM-CSF) 的因子) 也是特异性的靶标部分, 已知其与表达其高水平受体的特异性细胞结合。

[0092] 术语“前药部分”是促进本发明化合物利用的取代基团, 例如促进药物进入细胞或促进化合物的施用。所述前药部分可在体内例如借助裂解酶从所述化合物上断裂下来。前药部分的实例包括可在体内水解的磷酸基、肽连接物和糖。

[0093] 术语“过度增殖性病症”指特征在于细胞的异常或病理性增殖的病症, 例如肿瘤, 癌症, 肿瘤组织和其它癌变前和非肿瘤性或非恶性过度增殖性病症。

[0094] 可通过本发明治疗的肿瘤、癌症和肿瘤组织的实例包括但不限于恶性病症如乳腺癌; 骨肉瘤; 血管肉瘤; 纤维肉瘤和其它肉瘤; 白血病; 淋巴瘤; 窦瘤; 卵巢癌; 尿道癌; 膀胱癌; 前列腺癌和其它泌尿生殖器癌; 结肠癌、食道癌、胃癌以及其它胃肠道癌症; 肺癌; 骨髓瘤; 胰腺癌; 肝癌; 肾癌; 内分泌癌; 皮肤癌; 以及脑或中枢神经系统 (CNS) 和外周神经系统的恶性或良性肿瘤, 包括胶质瘤和神经母细胞瘤。

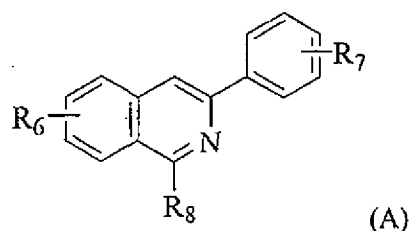
[0095] 癌变前和非肿瘤性或非恶性过度增殖性病症的实例包括但不限于骨髓增生异常病症; 原位宫颈癌; 家族性肠息肉如加德纳综合征; 口腔白斑; 组织细胞增生病; 瘢痕疙瘩; 血管瘤; 过度增殖性动脉狭窄; 炎性关节炎; 角化过度 and 丘疹鳞屑性疹包括关节炎。还包括

病毒诱发的过度增殖性疾病,比如疣和 EBV 诱发的疾病(例如感染性单核细胞增多症),瘢痕形成等。本文中公开的治疗方法可施用给任何已知或怀疑患有如本文中所定义的过度增殖性病症或处于形成所述病症风险中的对象。

[0096] 本文中所用的对过度增殖性病症的“治疗”指杀死、抑制或延缓过度增殖性细胞或肿瘤个体或群体的生长或体积增加或延缓癌性生长,减少过度增殖性细胞的数目,或者防止向其它解剖部位的传播,以及减小过度增殖性生长的体积或减少过度增殖性细胞的数目的方法。本文中所用的“治疗”并非必须旨在包括治愈或完全消除过度增殖性生长。本文中所用的治疗有效量是可有效导致杀死过度增殖性细胞、延缓过度增殖性细胞的生长速率、减小过度增殖性细胞的个体大小、和 / 或减少过度增殖性细胞的数目的量。包括足以增加所述第一化合物活性使得所述两种(或更多种)化合物一起具有比单独给予各化合物更大的疗效(例如,由于协同作用、组合毒性降低等)的量的增强性药剂。

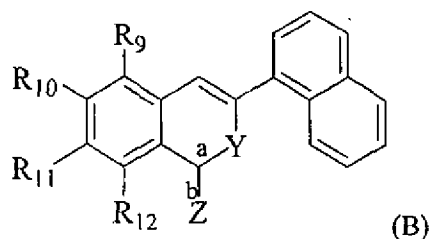
[0097] 新的 5,6 或 7- 取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物可提供用于治疗病症(例如肿瘤)的潜在新型治疗分子。与抗肿瘤剂的新进展有关,韩国专利 No. 0412319 公开了具有式 (A) 的 3-芳基异喹啉胺化合物,其中 R_6 是氢或 6-甲基, R_7 是氢、单 2- 或 3- 或 4- 甲基, R_8 是胺或苄胺或 4-甲氧基苄胺或哌啶或三甲基乙二胺或吗啉或 4-甲基哌啶或 4-甲基高哌啶。在韩国专利 No. 0412319 所公开的化合物中,6-甲基-3-(2-甲基苯基)-1-异喹啉胺被声称对 A549 肺癌、人 HCT-15 结肠腺癌、人 SK-OV-3 卵巢腺癌和人 SK-MEL-2 黑素瘤具有显著治疗活性的抗癌剂。

[0098]



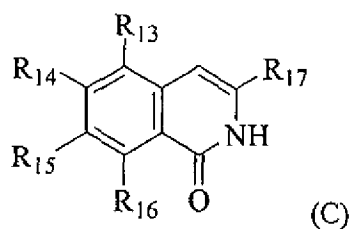
[0099] 1990 年 7 月 17 日颁布给 Carl H. Behrens 等的美国专利 No. 4,942,163 公开了可用作癌症化疗剂的式 (B) 的 3-(1-萘基)-1-(2H) 异喹啉酮和 3-(1-萘基)-1-异喹啉胺。

[0100]



[0101] 此外,在 PCT 国际申请 WO 2005/075431 和 WO 2005/075432 中,给出了式 (C) 的 1-(2H)-异喹啉酮衍生物的制备。

[0102]

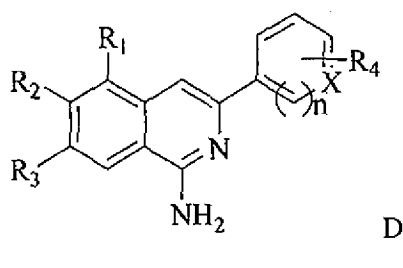


[0103] 本发明涉及具有显著抗肿瘤活性、极低毒性和良好水溶性的 5,6 或 7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺衍生物,并提供了在韩国专利 No. 0412319 和美国专利 No. 4,942,163 中所未记载的新的 5,6 或 7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺衍生物以及制备方法和这些新化合物的强抗肿瘤活性。

[0104] 更具体地,本发明涉及 5,6 或 7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺化合物和它们在治疗对象(例如人患者或其它动物对象)中过度增殖性病症、疾病或病况中的用途。本发明的方法包括给对象施用有效量的本发明的 5,6 或 7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺化合物。这样的治疗可以例如预防、改善和/或抑制过度增殖性病症的症状,和/或可以预防或抑制例如肿瘤(比如恶性肿瘤)中的细胞增殖或生长。本发明的治疗策略至少在可测量的程度上减轻肿瘤负荷,提高患有所述过度增殖性病症的患者的生存。对本发明的药剂治疗敏感的疾病、病症和病况是肿瘤,更具体地是各种来源的肿瘤(肺癌、结肠癌、胃癌、平滑肌癌、食管癌、非霍奇金淋巴瘤、非小细胞肺癌等)。

[0105] 可用于本发明方法中的化合物包括式 D 的 5,6 或 7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺:

[0106]



[0107] 其中

[0108] n 是 0 或 1;

[0109] X 独立地是 N、C、O 或 S;

[0110] R₁、R₂ 和 R₃ 独立地是 H、卤素、NH₂、NHR₅、N(R₅)₂、-O-R₅ 或者任选地被 -OR₅ 取代的 R₅;

[0111] R₄ 是独立地选自 H、3,4-亚甲基二氧化物、卤素、-O-R₅ 或者任选地被 -O-R₅ 取代的 R₅ 中的一个或两个取代基;

[0112] R₅ 是 C₁-C₆ 烷基。当化合物包括超过一个的 R₅ 基团时, R₅ 基团各自可以相同或不同。

[0113] 在上述定义中,名称“卤素”代表 F、Cl、Br 或 I。

[0114] 本文中所用的 C₁-C₆ 烷基表示具有 1~6 个碳原子的直链、支链和环状的烷基,包括甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、正己基、异己基和环己基。

[0115] 从本发明的范围中具体排除的是以下的化合物：(a) $R_1 = R_2 = R_3 = H$, $n = 1$, $X = C$ 并且 $R_4 = H$, 2-甲基、3-甲基或 4-甲基, 和 (b) $R_1 = R_3 = H$, $R_2 = \text{甲基}$, $n = 1$, $X = C$ 并且 $R_4 = H$, 2-甲基或 3-甲基。

[0116] 本发明还包括这些化合物的药学上可接受的盐。通式 (D) 化合物的药学上可接受盐是药学上可接受的无机酸盐、有机酸盐、碱金属盐和铵盐；例如与无机酸比如盐酸、氢溴酸、硫酸、硫酸氢钠、磷酸、硝酸、碳酸所成的盐；与有机酸比如甲酸、乙酸、丙酸、草酸、琥珀酸、苯甲酸、柠檬酸、马来酸、丙二酸、酒石酸、葡萄糖酸、乳酸、富马酸、乳糖酸、水杨酸、乙酰水杨酸（阿司匹林）所成的盐；与氨基酸比如甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丝氨酸、半胱氨酸、胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、赖氨酸、精氨酸、酪氨酸、脯氨酸所成的盐；与磺酸比如甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、甲苯磺酸所成的盐；碱金属盐，例如钠盐或钾盐；碱土金属盐，例如钙盐或镁盐；铵盐；与生理上可接受的有机碱所成的盐，例如与甲胺、二甲胺、三甲胺、哌啶、吗啉或三-(2-羟乙基)胺所成的盐等。

[0117] 本发明的化合物可以非常有效地对抗多种过度增殖性疾病（包括肿瘤），并且可用作抗肿瘤剂。例如，本发明的化合物可有效对抗卵巢肿瘤、前列腺肿瘤、乳腺肿瘤、肾脏肿瘤、结肠肿瘤、胰腺肿瘤、脑肿瘤和黑素瘤。非常有效意指化合物针对特定肿瘤的至少一种细胞系的 IC_{50} 可以为 $5.0 \mu M$ 或更小、 $2.0 \mu M$ 或更小、 $1.0 \mu M$ 或更小、 $0.5 \mu M$ 或更小、 $0.2 \mu M$ 或更小、或者 $0.1 \mu M$ 或更小。

[0118] 通式 (D) 的新化合物及其药学上可接受盐可以与无毒的药学上可接受运载体 (vehicle)（如载体）、辅助剂和 / 或赋形剂相组合，并且然后该混合物可以片剂、胶囊、锭剂、溶液、混悬剂的形式口服或胃肠外施用以预防或治疗人或动物的各种肿瘤。

[0119] 可在制备含有作为活性成分的通式 (D) 化合物的药物组合物中使用的运载体可包括甜味剂、粘合剂、溶解剂 (dissolving agent)、助溶剂 (aids for dissolution)、润湿剂、乳化剂、等渗剂、吸收剂、降解剂 (degrading agent)、抗氧化剂、防腐剂、润滑剂、填充剂、芳香剂等；比如乳糖、葡萄糖、蔗糖、甘露醇、山梨醇、纤维素、甘氨酸、二氧化硅、滑石、硬脂酸、硬脂精 (stearin)、硬脂酸镁、硬脂酸钙、硅酸镁铝、淀粉、明胶、黄耆胶、甘氨酸、二氧化硅、藻酸、藻酸钠、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、琼脂、水、乙醇、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、氯化钠、氯化钾、柑橙香精、草莓香精、香草香料等。

[0120] 可将本发明的 5,6 或 7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺化合物以适于所选施用途径的各种形式（例如口服或胃肠外，通过静脉内、肌肉内、局部或皮下途径，或者直接注射进过度增殖性组织或细胞内）配制成药物组合物并施用给需要治疗的对象，例如哺乳动物，比如人患者。

[0121] 因此，本发明的 5,6 或 7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺化合物可以全身施用，例如与药学上可接受的运载体（如惰性稀释剂或可吸收的食用性载体）一起口服或者通过吸入或喷洒而施用。它们可被包封进硬壳或软壳明胶胶囊中，可被压进片剂中，或者可被直接掺入患者膳食的食物中。对于口服治疗施用而言，所述 5,6 或 7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺化合物可与一种或多种赋形剂组合并且可以咀嚼片、口含片、锭剂、胶囊、酞剂、混悬剂、糖浆、薄片 (wafer) 等的形式使用。所述 5,6 或 7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺化合物可以与微细的惰性粉末载体一起组合并由对象吸入或喷洒。这些组合物和制剂应包含至少 0.1% 的 5,6 或 7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺化合物。当然，所述组合物和制剂的百分数

可以变化,通常可以是给定单位剂型重量的约 2%至约 60%。在此可用于治疗的组合物中 5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化物的量是将获得有效剂量水平的量。

[0122] 所述片剂、锭剂、丸剂、胶囊等还可包含以下物质:粘合剂比如黄蓍胶、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶;赋形剂比如磷酸二钙;崩解剂比如玉米淀粉、马铃薯淀粉、藻酸等;润滑剂比如硬脂酸镁;甜味剂比如蔗糖、果糖、乳糖或天冬甜素;或者调味剂比如薄荷、冬青油,或者可加入樱桃调味剂。当所述单位剂型是胶囊时,除了上述类型物质以外,其还可包含液体载体,比如植物油或聚乙二醇。多种其它物质可用作包衣或修饰所述固体单位剂型的物理形式。例如,可利用明胶、蜡、虫胶或糖等将片剂、丸剂或胶囊等包衣。糖浆或酞剂可包含活性化合物、作为甜味剂的蔗糖或果糖、作为防腐剂的 对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯、染料和调味剂比如樱桃或柑橙风味的调味剂。当然,在制备任何单位剂型中所使用的任何物质都应当是药学上可接受的,并且在所施用量下是基本上无毒的。此外,可将所述 5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物掺入持续释放制剂和装置中。

[0123] 还可通过输注或注射静脉内或腹膜内施用所述 5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物。可在水中(任选地与无毒的表面活性剂混合)制备所述 5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物的溶液。还可以在甘油、液体聚乙二醇、三醋精、其混合物以及油中制备分散液(dispension)。在通常的贮存和使用条件下,这些制剂可以含有防腐剂以防止微生物的生长。

[0124] 适于注射或输注的药物剂型可包括含有 5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物的无菌水溶液或分散液(dispension)或无菌粉末,其适于即时制备任选地包封在脂质体中的无菌注射溶液或输注溶液或分散液。在所有情形下,最终剂型都应当是无菌流体并且在生产和贮存条件下都应当是稳定的。所述液体载体或运载体可以是溶剂或液体分散介质,其包含例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等)、植物油、无毒甘油酯以及其合适的混合物。可以例如通过形成脂质体、通过在分散体情形下保持所需粒度或者通过使用表面活性剂来保持合适的流动性。可通过多种抗菌剂和抗真菌剂来防止微生物的作用,所述抗菌剂和抗真菌剂例如对羟基苯甲酸酯类、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等。在多种情况下,优选包含等张剂例如糖、缓冲剂或氯化钠。可通过在组合物中使用延缓吸收剂(例如单硬脂酸铝和明胶)来实现注射用组合物的延长吸收。

[0125] 通过将所需量的所述 5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物与多种上述列举的其它成分(如果需要的话)掺入到合适的溶剂中然后过滤除菌而制备无菌注射溶液。在用于制备无菌注射溶液的无菌粉末的情形下,优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术,其得到存在于前述无菌过滤溶液中的所述活性成分和任何其它所需成分的粉末。

[0126] 对于局部施用而言,可以纯形式施用所述 5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物。然而,将其与皮肤学可接受的载体(其可以是固体或液体)一起作为组合物或制剂而施用于皮肤通常是所期望的。

[0127] 可用的固体载体包括微细固体,比如滑石、粘土、微晶纤维素、二氧化硅、氧化铝等。其它的固体载体包括无毒的聚合物纳米颗粒或微粒。可用的液体载体包括水、醇或二醇或水/醇/二醇混合物,所述 5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物可以有效水平(任选地借助无毒表面活性剂)溶解或分散其中。可加入辅助剂(比如香料和其它抗微生物剂)以优化针对给定用途的性质。所得的液体组合物可以用于浸渍绷带和其它敷料的

吸收垫形式施用,或者利用泵式喷雾器或气雾喷雾器喷到感染区域上。

[0128] 增稠剂比如合成聚合物、脂肪酸、脂肪酸盐和酯、脂肪醇、改性纤维素或改性矿物质也可与液体载体一起施用以形成可涂敷的糊剂、凝胶、软膏、肥皂 (soap) 等,以直接施用给使用者的皮肤。

[0129] 可用于将所述 5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物递送至皮肤的可用的皮肤用组合物的实例是本领域中已知的,例如参见 Jacquet et al. (美国专利 No. 4, 608, 392)、Geria (美国专利 No. 4, 992, 478)、Smith et al. (美国专利 No. 4, 559, 157) 和 Wortzman (美国专利 No. 4, 820, 508)。

[0130] 可通过比较 5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物在动物模型中的体外活性和体内活性而确定其可用剂量。将在小鼠和其它动物中的有效剂量推算为人的有效剂量的方法是本领域中已知的;例如参见美国专利 No. 4, 938, 949。

[0131] 通常,5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物在液体组合物(比如洗剂)中的浓度是约 0.1-25wt. %,或约 0.5-10wt. %。在半固体或固体组合物(比如凝胶或粉末)中的浓度可以是约 0.1-5wt. %,或约 0.5-2.5wt. %。

[0132] 用于治疗所需的 5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物的量将根据所选的特定盐和施用途径、所治疗病症的性质以及患者的年龄和状况而变化,并最终由巡诊医师或临床医师来判断。

[0133] 本发明药剂的有效剂量和施用途径是常用的。5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物的确切量(有效剂量)将因对象而不同,其取决于例如对象的种属、年龄、体重和一般或临床状况、所治疗的任何病症的严重程度或机制、所用的具体药剂或运载体、施用方法和施用方案等。治疗有效量可凭经验通过本领域技术人员已知的常规方法确定。参见例如 The Pharmacological Basis of Therapeutics, Goodman and Gilman, eds., Macmillan Publishing Co., New York。例如,有效剂量最初可在细胞培养方法中或者在合适的动物模型中进行确定。动物模型还可用来确定合适的浓度范围和施用途径。然后可将这些信息用于确定在人中的可用剂量和施用途径。治疗剂量还可通过由可比治疗剂剂量的类推来选择。

[0134] 具体施用方式和给药方案将由巡诊医师考虑病例的详细情况(例如对象、疾病、涉及的疾病状态、以及所述治疗是否是预防性的)来选择。治疗可包括在几天到几个月或者甚至几年的时间段中每日一次或每日多次给予一种或多种化合物。

[0135] 然而,通常合适的剂量为约 0.5 至约 100mg/kg 接受者体重/天,例如约 10 至约 75mg/kg 接受者体重/天,比如 3 至约 50mg/kg 接受者体重/天、6 至 90mg/kg/天,或者在 15-60mg/kg/天的范围内。例如,合适的剂量可以是 0.5、5、10、25、50、100、250 或 500mg/kg 体重/天。

[0136] 所述 5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物便利地以单位剂型施用,例如每单位剂型中含有 5-1000mg、10-750mg 或 50-500mg 活性成分。

[0137] 可施用所述 5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物以达到约 0.5 至约 75 μ M、约 1 至 50 μ M 或约 2 至约 30 μ M 的峰值血浆浓度。示例性的所期望血浆浓度包括至少或不超过 0.25、0.5、1、5、10、25、50、75、100 或 200 μ M。这可以例如通过静脉内注射 0.05-5% 的 5、6 或 7-取代 -3-(杂)芳基异喹啉胺化合物(任选地在盐水中)的溶液,或者

口服施用含有约 1-100mg 的 5,6 或 7-取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺化合物的大丸剂 (bolus) 而实现。所期望的血液水平可通过连续输注以提供约 0.01-5.0mg/kg/ 小时、例如至少或不超过 0.005、0.01、0.1、2.5、5.0 或 10.0mg/kg/ 小时而维持。或者,这些水平可通过间歇性输注含有约 0.4-15mg/kg、例如至少或不超过 0.25、0.5、1.0、5.0、10.0、15.0 或 25.0mg/kg 的 5,6 或 7-取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺化合物而达到。

[0138] 所述 5,6 或 7-取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺化合物可便利地以单剂量或以适当间隔施用的分开的剂量而提供,例如,每日两次、三次、四次或更多次给药。所述分剂量 (sub-dose) 本身可以进一步分割,例如分为空间上松散的多个离散剂量施用;比如由喷雾器多次吸入或者通过多次滴入眼中而施用。

[0139] 使 5,6 或 7-取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺化合物靶向细胞

[0140] 在一个示例性实施方案中,使 5,6 或 7-取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺化合物靶向至需要进行治疗的细胞,例如人的癌细胞。通过使所述化合物与和所期望细胞特异性结合的靶标部分相缀合而使所述化合物靶向至所述期望细胞,从而引导缀合分子的施用。可用的靶标部分是与细胞抗原特异性结合的配体或细胞表面配体,例如抗 B 细胞抗原抗体、CD 19(例如 B43) 等。

[0141] 为形成本发明的缀合物,使靶标部分与 5,6 或 7-取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺化合物上的位点共价键合。所述靶标部分(其常常是多肽分子)与本发明化合物在反应部位键合,所述反应部位包括 NH_2 、SH、CHO、COOH 等。使用特异性的连接剂来连接化合物。根据待与所述靶标部分连接的反应部位选择连接剂。

[0142] 选择合适连接剂的方法和用于连接所述靶标部位与本发明化合物的反应部位是已知的,并描述于例如 Hermanson, et al., Bioconjugate Techniques, Academic Press, 1996; Hermanson, et al., Immobilized Affinity Ligand Techniques, Academic Press, 1992; 以及 Pierce Catalog and Handbook, 1996, pp. T155-T201 中。

[0143] 实施例

[0144] 参考以下实施例,本发明将得到更清楚的说明,所述实施例用于举例说明某些优选的实施方案,而不是以任何方式限制本发明。

[0145] 实施例 1-3. 异喹啉胺衍生物的合成

[0146] 所有化学品均为试剂纯级,均购自 Aldrich Chemical Company (Milwaukee, Wis.) 或 Sigma Chemical Company (St. Louis, MO.) 或 TransWorld Chemicals (Rockville, MD)。在使用前对溶剂进行常规蒸馏。在使用前以钠 / 二苯甲酮对无水 THF 进行蒸馏。

[0147] 熔点在 Electrothermal IA9200 熔点仪上测定并且未校正。利用四甲基硅烷 (TMS) 作为 0ppm 的内标物,在 Varian 300 光谱仪上记录核磁共振谱;化学位移报告为百万分比 (ppm),耦合常数 (J) 以赫兹给出,缩写 s、d、t、q 和 m 分别指单峰、双峰、三重峰、四重峰和多重峰。

[0148] 利用 KBr 小球在 Perkin-Elmer 783 分光计和 Nicolet 仪器上记录 IR 光谱。在 CaHo Erba 元素分析仪上进行元素分析。在 Merck 硅胶 60 (70-230 目) 上进行柱色谱。利用购自 Merck Co. 的涂覆有硅胶 60 F254 的板进行 TLC。

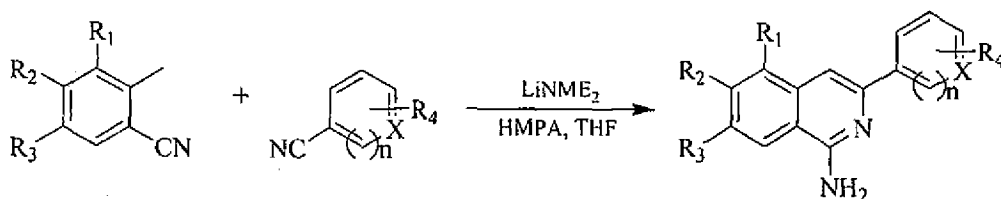
[0149] 实施例 1. 化合物 1 至化合物 12 的一般合成方法

[0150] 如方案 1 所述,对化合物 1 至化合物 12 进行合成和表征。结构和物理数据如下所

示：

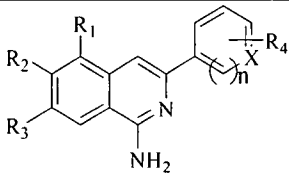
[0151] 方案 1

[0152]



[0153] 表 1

[0154]

						
化合物编号	R ₁	R ₂	R ₃	n	X	R ₄
1	H	H	H	1	C	2- 氯
2	H	H	H	1	C	3- 氯
3	H	H	H	1	C	4- 氯
4	H	H	H	1	C	3- 甲氧基
5	H	H	H	1	C	3,4- 二甲氧基
6	H	H	H	1	C	3,4- 亚甲基二氧化物
7	H	H	H	1	N	H
8	H	H	H	0	S	H
9	H	H	H	0	O	H
10	H	H	Cl	1	C	5- 氯 -2- 甲基
11	H	-OCH ₃	H	1	C	H
12	H	-OCH ₃	H	1	C	3,4- 二甲氧基

[0155] 3-(2- 氯苯基) 异喹啉 -1- 胺 (化合物 1) 的制备 - 在 -70℃ 下向无水 THF (20mL) 中加入 LiNMe₂ (5mL, 5% 在己烷中的混悬液, 3.3mmol)。加入 HMPA (590mg, 3.3mmol) 后, 利用在无水 THF (10mL) 中的邻甲基苯甲腈 (350mg, 3mmol) 处理反应混合物。搅拌所得的红紫色溶液 30 分钟, 然后利用在 THF 中的 2- 氯苄腈 (825mg, 6mmol) 溶液处理。将反应混合物在 60℃ 加热 1 小时并利用 10% HCl (20mL) 水解。将所得盐酸盐的混悬液利用乙醚清洗三次。然后利用 NaOH 中和混悬液并以乙酸乙酯提取。以水清洗合并的有机提取物并通过硫酸钠干燥。除去溶剂后, 将残留物通过柱色谱以正己烷 - 乙酸乙酯 (1 : 1) 纯化, 得到 1- 氨基化合物。向 1- 氨基化合物在丙酮中的溶液 (5mL) 中加入浓盐酸 (c-HCl) 以得到沉淀。收集沉淀, 以丙酮清洗, 得到胺盐酸盐 (183.4mg, 21%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ : 7.80-7.29 (m, 9H), 5.41 (s, 2H)。

[0156] 根据与制备化合物 1 类似的方式, 制备下述化合物 2 至 12。

[0157] 3-(3- 氯苯基) 异喹啉 -1- 胺 (化合物 2) 的制备 - 邻甲基苯甲腈与 3- 氯苄腈反应得到化合物 2 (白色固体, 53%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ : 8.05-7.29 (m, 9H), 5.49 (s, 2H)。

[0158] 3-(4- 氯苯基) 异喹啉 -1- 胺 (化合物 3) 的制备 - 邻甲基苯甲腈与 4- 氯苄腈反应得到化合物 3 (白色固体, 32%)¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ : 8.00 (m, 2H), 7.78 (m, 2H),

7.61 (m, 1H), 7.49–7.40 (m, 4H), 5.26 (s, 2H)。

[0159] 3-(3-甲氧基苯基)异喹啉-1-胺(化合物4)的制备-邻甲基苯甲腈与3-甲氧基苄腈反应得到化合物4(白色固体,36%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.99(d, 1H), 7.95–7.30(m, 7H), 6.96(d, 1H), 5.26(s, 2H), 3.90(s, 3H)。

[0160] 3-(3,4-二甲氧基苯基)异喹啉-1-胺(化合物5)的制备-邻甲基苯甲腈与3,4-二甲氧基苄腈反应得到化合物5(黄色固体,52%)。

[0161] ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :8.04(d, 1H), 7.71–7.46(m, 5H), 7.21(s, 1H), 6.96(d, 1H), 5.24(s, 2H), 4.02(s, 3H), 3.94(s, 3H)。

[0162] 3-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-6-基)异喹啉-1-胺(化合物6)的制备-邻甲基苯甲腈与苯并[1,3]二氧杂环戊烯-5-腈反应得到化合物6(黄色固体,30%)。

[0163] ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.71(m, 2H), 7.59–7.54(m, 3H), 7.40(m, 1H), 7.35(s, 1H), 6.89(m, 1H), 5.98(s, 2H), 5.25(s, 2H)。

[0164] 3-(吡啶-3-基)异喹啉-1-胺(化合物7)的制备-邻甲基苯甲腈与3-氰基吡啶反应得到化合物7(黄色固体,62%)。

[0165] ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :9.24(s, 1H), 8.58(d, 1H), 8.32(m, 1H), 7.81–7.45(m, 6H), 5.57(s, 2H)。

[0166] 3-(噻吩-2-基)异喹啉-1-胺(化合物8)的制备-邻甲基苯甲腈与噻吩-2-腈反应得到化合物8(黄色固体,20%)。

[0167] ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.58(m, 3H), 7.49(m, 1H), 7.35(s, 1H), 7.29(m, 2H), 7.07(m, 1H), 5.35(s, 2H)。

[0168] 3-(呋喃-2-基)异喹啉-1-胺(化合物9)的制备-邻甲基苯甲腈与2-呋喃腈反应得到化合物9(黄色固体,20%)。

[0169] ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.73–7.70(m, 2H), 7.49–7.57(m, 2H), 7.43(s, 1H), 7.26(m, 1H), 6.99(m, 1H), 6.47(m, 1H), 5.47(s, 2H)。

[0170] 7-氯-3-(5-氯-2-甲基苯基)异喹啉-1-胺(化合物10)的制备-5-氯-2-甲基苄腈与5-氯-2-甲基苄腈反应得到化合物10(黄色固体,22%)。

[0171] ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.81(s, 1H), 7.68(d, 1H), 7.61(d, 1H), 7.44(d, 1H), 7.23(m, 2H), 7.09(s, 1H), 5.19(s, 2H), 2.53(s, 3H)。

[0172] 6-甲氧基-3-苯基异喹啉-1-胺(化合物11)的制备-4-甲氧基-2-甲基苄腈与苄腈反应得到化合物11(黄色固体,33%)。

[0173] ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :8.02(m, 2H), 7.57(d, 1H), 7.44–7.30(m, 4H), 6.93(m, 2H), 5.40(s, 2H), 3.79(s, 3H)。

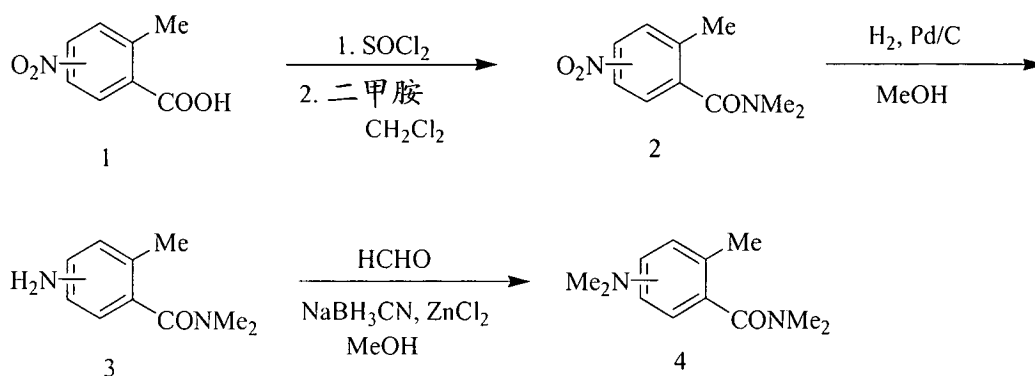
[0174] 6-甲氧基-3-(3,4-二甲氧基苯基)异喹啉-1-胺(化合物12)的制备-4-甲氧基-2-甲基苄腈与3,4-二甲氧基苄腈反应得到化合物12(黄色固体,35%)。

[0175] ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.72(s, 1H), 7.60–7.52(m, 2H), 7.25(s, 1H), 6.92–6.81(m, 3H), 5.69(s, 2H), 3.87(s, 3H), 3.77(s, 3H), 3.74(s, 3H)。

[0176] 实施例2. 取代2-甲基-N,N-二甲基苯甲酰胺的合成

[0177] 方案2

[0178]



[0179] a) 2, N, N- 三甲基 -5- 硝基苯甲酰胺 (2) 的制备

[0180] 采用美国专利 No. 4, 942, 163 中所述方法制备 2, N, N- 三甲基 -5- 硝基苯甲酰胺。使 2- 甲基 -5- 硝基苯甲酸 (5g, 27.6mmol) 和亚硫酰氯 (16.4g, 138mmol) 的混合物回流过夜。通过真空蒸馏除去过量的亚硫酰氯, 得到 2- 甲基 -5- 硝基苯甲酰氯的固体残留物。将该物质溶于二氯甲烷 (30mL) 中, 并在搅拌下逐滴加入到商购的 40% 二甲胺溶液 (30g, 270mmol) 中, 保持温度为 0 至 12℃。滴加完成后, 将反应混合物在室温下搅拌 2 小时。以水稀释反应混合物并以二氯甲烷提取。以水清洗合并的有机提取物, 干燥并浓缩。将残留物通过柱色谱以正己烷 - 乙酸乙酯 (3 : 1) 纯化, 得到固体的酰胺 (5.46g, 95%)。通过 ¹H NMR 进行鉴定。

[0181] b) 5- 氨基 -2, N, N- 三甲基苯甲酰胺 (3) 的制备

[0182] 在 60psi H₂ 和 5% Pd/C (0.3g) 的存在下, 利用 Parr 氢化装置将酰胺 (5.45g, 26.2mmol) 在甲醇 (30mL) 中的溶液氢化过夜。使反应混合物通过硅藻土过滤, 以甲醇清洗滤饼。浓缩后, 通过柱色谱以正己烷 - 乙酸乙酯 (1 : 1) 纯化残留物, 得到固体化合物 (4.63g, 99%)。通过 ¹H NMR 进行鉴定。

[0183] c) 5- 二甲基氨基 -2, N, N- 三甲基苯甲酰胺 (4) 的制备

[0184] 在 0℃ 下, 向酰胺 (4.63g, 26mmol) 和 HCHO (7.02g, 78mmol) 在甲醇 (40mL) 中的溶液中逐滴加入 NaBH₃CN (3.22g, 52mmol) 和 ZnCl₂ (3.53g, 26mmol) 在甲醇 (30mL) 中的溶液。滴加完成后, 将反应混合物温热至室温。以 1.0N NaOH (100mL) 淬灭反应混合物并除去甲醇。以乙酸乙酯提取残留物, 将合并的有机提取物以水清洗, 干燥并浓缩。通过柱色谱以正己烷 - 乙酸乙酯 (3 : 1) 纯化残留物, 得到油状的酰胺 (5.04g, 94%)。通过 ¹H NMR 进行鉴定。

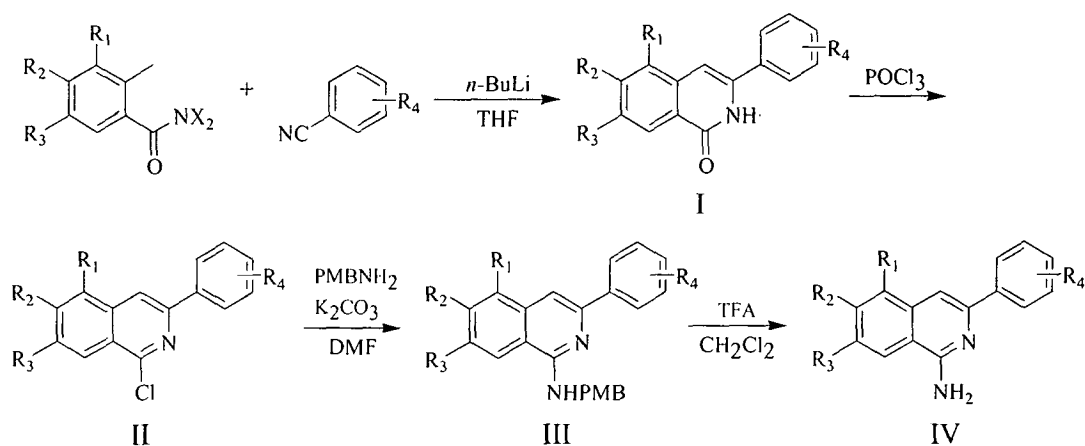
[0185] 根据与制备 5- 二甲基氨基 -2, N, N- 三甲基苯甲酰胺 (4) 类似的方式制备其它 3 或 4- 二甲基氨基 -2, N, N- 三甲基苯甲酰胺。3- 二甲基氨基 -2, N, N- 三甲基苯甲酰胺的合成描述于 Bioorganic & Medicinal Chemistry paper (vol. 6, 2449 (1998)) 中。4- 二甲基氨基 -2, N, N- 三甲基苯甲酰胺的合成描述于 W02005/075432 中。5- 二甲基氨基 -2, N, N- 三甲基苯甲酰胺的合成描述于美国专利 No. 4, 942, 163 中。

[0186] 实施例 3. 化合物 13 至化合物 56 的合成

[0187] 如方案 3 所述进行化合物 13 至化合物 56 的合成和表征。结构和物理数据如下所示:

[0188] 方案 3

[0189]

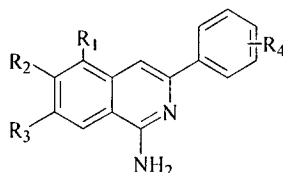


X = 甲基或乙基

[0190] 表 2

化合物编号	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
13	H	H	-N(CH ₃) ₂	3-甲氧基
14	H	H	-N(CH ₃) ₂	3-甲基
15	H	H	-N(CH ₃) ₂	3, 4-二甲氧基
16	H	H	-N(CH ₃) ₂	3, 4-二甲氧基
17	-N(CH ₃) ₂	H	H	H
18	-N(CH ₃) ₂	H	H	2-甲基
19	-N(CH ₃) ₂	H	H	3, 4-二甲氧基
20	-N(CH ₃) ₂	H	H	2, 6-二甲基
21	H	-N(CH ₃) ₂	H	3-甲氧基
22	-CH ₃	H	H	3, 4-二甲氧基
23	H	-CH ₃	H	2-甲基
24	H	-CH ₃	H	2-甲氧基
25	H	-CH ₃	H	3-甲氧基
26	H	-CH ₃	H	4-甲氧基
27	H	-CH ₃	H	3, 4-二甲氧基
28	H	-CH ₃	H	3, 4-亚甲基二氧化物
29	H	-CH ₃	H	4-乙氧基
30	H	-CH ₃	H	3, 5-二甲氧基
31	H	-CH ₃	H	4-甲氧基-2-甲基

[0191]



[0192]

化合物编号	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
32	H	-CH ₃	H	3, 4, 5-三甲氧基
33	H	-CH ₃	H	2-氟
34	H	-CH ₃	H	2, 6-二甲基
35	H	-CH ₃	H	3-甲基
36	H	-CH ₃	H	4-甲基
37	H	H	-CH ₃	2-甲氧基
38	H	H	-CH ₃	3-甲氧基
39	H	H	-CH ₃	4-甲氧基
40	H	H	-CH ₃	4-乙氧基
41	H	H	-CH ₃	2-氟
42	H	H	-CH ₃	4-甲氧基-2-甲基
43	H	H	-CH ₃	2, 6-二甲基
44	H	H	-CH ₃	3, 4-二甲氧基
45	H	H	-CH ₃	3, 4-亚甲基二氧化物
46	H	H	-CH ₃	3, 5-二甲氧基
47	H	H	-CH ₃	3, 4, 5-三甲氧基
48	H	H	-CH ₃	2-甲基
49	H	H	-CH ₃	3-甲基
50	H	H	-CH ₃	5-甲氧基-2-甲基
51	H	-OCH ₃	-OCH ₃	H
52	H	-OCH ₃	-OCH ₃	3-甲氧基
53	H	-OCH ₃	-OCH ₃	2, 6-二甲基
54	H	-OCH ₃	-OCH ₃	3-甲基
55	H	-OCH ₃	-OCH ₃	3, 5-二甲氧基
56	H	-OCH ₃	-OCH ₃	2-甲基

[0193] 3-(3-甲氧基苯基)-N⁷,N⁷-二甲基异喹啉-1,7-二胺盐酸盐(化合物13)的制备

[0194] a) 7-二甲基氨基-3-(3-甲氧基苯基)-2H-异喹啉-1-酮(I)

[0195] 在-78℃下向二异丙基胺(1.5g, 15mmol)在无水THF(10mL)中的溶液中加入n-BuLi(6mL, 2.5M在己烷中, 15mmol)。30分钟后,在-78℃下逐滴加入5-二甲基氨基-2, N, N-三甲基苯甲酰胺(2.06g, 10mmol)在THF(15mL)中的溶液,在同样温度下搅拌橙红色溶液1小时。加入3-甲氧基苄腈(1.7g, 13mmol)在无水THF(10mL)中的溶液并在-78℃下搅拌反应混合物2小时。将反应溶液以水淬灭,以乙酸乙酯提取并以硫酸钠干燥。除去溶剂后,通过柱色谱以正己烷-乙酸乙酯(3:1)纯化残留物,得到黄色固体的化合物I(596mg, 20%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ: 9.73(s, 1H), 7.61(s, 1H), 7.50(d, J = 8.7Hz, 1H), 7.38(m, 1H), 7.23-7.22(m, 3H), 6.96(m, 1H), 6.74(s, 1H), 3.90(s, 3H), 3.09(s, 6H)。

[0196] b) [1-氯-3-(3-甲氧基苯基)异喹啉-7-基]二甲胺(II)

[0197] 将3-芳基异喹啉酮I(550mg, 1.9mmol)和POCl₃(10mL)的反应混合物在50℃下搅拌过夜。通过真空蒸馏除去POCl₃,将残留物以乙酸乙酯提取。将合并的有机层以水、盐水清洗,以硫酸钠干燥。除去溶剂后,通过柱色谱以正己烷-乙酸乙酯(3:1)纯化残留物,

得到黄色固体的化合物 II (530mg, 90%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ : 7.85 (s, 1H), 7.72 (d, J = 8.7Hz, 1H), 7.64-7.62 (m, 2H), 7.39-7.35 (m, 2H), 7.22 (d, J = 2Hz, 1H), 6.92 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.13 (s, 6H)。

[0198] c) N¹-(4-甲氧基苄基)-3-(3-甲氧基苯基)-N⁷, N⁷-二甲基异喹啉-1,7-二胺 (III)

[0199] 将 1-氯亚胺异喹啉 II (500mg, 1.6mmol)、4-甲氧基苄胺 (877mg, 6.4mmol) 和碳酸钾 (2g, 15mmol) 在 DMF 中的混合物回流过夜。将反应混合物冷却至室温, 以水稀释, 以乙酸乙酯提取。将合并的有机提取物以水清洗, 干燥并浓缩。通过柱色谱在硅胶上以正己烷-乙酸乙酯 (3 : 1) 纯化残留物, 得到化合物 III (310mg, 47%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ : 7.74-7.62 (m, 3H), 7.45-7.33 (m, 4H), 7.22 (m, 1H), 6.92 (m, 3H), 6.66 (m, 1H), 5.24 (s, 1H), 4.91 (d, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.09 (s, 6H)。

[0200] d) 3-(3-甲氧基苯基)-N⁷, N⁷-二甲基异喹啉-1,7-二胺盐酸盐 (IV, 化合物 13)

[0201] 使 N¹-(4-甲氧基苄基)-异喹啉胺化合物 III (300mg, 0.73mmol) 和三氟乙酸 (5mL) 在二氯甲烷 (5mL) 中的反应混合物回流 2 天。加入 NaHCO₃ 溶液并以二氯甲烷提取反应混合物。将合并的有机提取物以水清洗, 干燥并浓缩。通过柱色谱在硅胶上以正己烷-乙酸乙酯 (1 : 1) 纯化残留物, 得到 1-氨基异喹啉 (151mg, 71%)。将所述 1-氨基化合物溶解在丙酮 (5mL) 中, 加入 5 滴浓盐酸。将盐酸盐过滤并用丙酮清洗滤饼。干燥后, 得到 120mg 1-氨基异喹啉盐酸盐 (化合物 13, 50%)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ : 13.57 (s, 1H), 9.37 (s, 2H), 7.79 (d, 1H), 7.55-7.39 (m, 6H), 7.02 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.06 (s, 6H)。

[0202] 除了在制备化合物 22-56 的步骤 (a) 中不使用异丙基胺以外, 根据与制备化合物 13 相似的方式制备以下化合物 14 至 56。

[0203] N⁷, N⁷-二甲基-3-间-甲苯异喹啉-1,7-二胺盐酸盐 (化合物 14)-5-二甲基氨基-2, N, N-三甲基苯甲酰胺与间甲基苯甲腈反应得到化合物 14 (黄色固体, 62%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ : 7.85 (s, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.63 (d, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.35-7.24 (m, 2H), 7.15 (m, 1H), 6.76 (m, 1H), 5.30 (s, 2H), 3.06 (s, 6H), 2.43 (s, 3H)。

[0204] 3-(3,4-二甲氧基苯基)-N⁷, N⁷-二甲基异喹啉-1,7-二胺盐酸盐 (化合物 15)-5-二甲基氨基-2, N, N-三甲基苯甲酰胺与 3,4-二甲氧基苄腈反应得到化合物 15 (黄色固体, 63%)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ : 13.56 (s, 1H), 9.34 (s, 2H), 7.75 (d, 1H), 7.58-7.46 (m, 5H), 7.06 (d, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.06 (s, 6H)。

[0205] 3-(3,5-二甲氧基苯基)-N⁷, N⁷-二甲基异喹啉-1,7-二胺盐酸盐 (化合物 16)-5-二甲基氨基-2, N, N-三甲基苯甲酰胺与 3,5-二甲氧基苄腈反应得到化合物 16 (黄色固体, 76%)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ : 13.50 (s, 1H), 9.31 (s, 2H), 7.79 (d, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.54-7.47 (m, 2H), 7.14 (d, 2H), 6.58 (t, 1H), 3.84 (s, 6H), 3.07 (s, 6H)。

[0206] N⁵, N⁵-二甲基-3-苯基异喹啉-1,5-二胺 (化合物 17)-3-二甲基氨基-2, N, N-三甲基苯甲酰胺与苄腈反应得到化合物 17 (黄色固体, 73%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ : 8.08 (m, 2H), 7.82 (s, 1H), 7.48-7.33 (m, 5H), 7.18 (m, 2H), 5.24 (s, 2H), 2.89 (s, 6H)。

[0207] N⁵, N⁵-二甲基-3-邻甲苯异喹啉-1,5-二胺 (化合物 18)-3-二甲基氨基-2, N, N-三甲基苯甲酰胺与邻甲基苯甲腈反应得到化合物 18 (黄色固体, 60%)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ : 13.87 (s, 1H), 8.42 (d, 1H), 7.82-7.71 (m, 2H), 7.50-7.33 (m, 5H), 2.91 (s, 6H),

2. 42(s, 3H)。

[0208] 3-(3,4-二甲氧基苯基)-N⁵,N⁵-二甲基异喹啉-1,5-二胺(化合物19)-3-二甲基氨基-2,N,N-三甲基苯甲酰胺与3,4-二甲氧基苄腈反应得到化合物19(黄色固体,40%)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ :9.69(s, 2H), 8.40(d, 1H), 7.93-7.91(m, 2H), 7.75-7.67(m, 3H), 7.13(d, 1H), 3.94(s, 3H), 3.82(s, 3H), 3.03(s, 6H)。

[0209] N⁵,N⁵-二甲基-3-(2,6-二甲基苯基)异喹啉-1,5-二胺(化合物20)-3-二甲基氨基-2,N,N-三甲基苯甲酰胺与2,6-二甲基苄腈反应得到化合物20(黄色固体,60%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.46-7.41(m, 2H), 7.29-7.09(m, 5H), 5.58(s, 2H), 2.83(s, 6H), 2.14(s, 6H)。

[0210] 3-(3-甲氧基苯基)-N⁶,N⁶-二甲基-异喹啉-1,6-二胺(化合物21)-4-二甲基氨基-2,N,N-三甲基苯甲酰胺与3-甲氧基苄腈反应得到化合物21(褐色固体,35%)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ :7.70(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.57-7.51(m, 2H), 7.38(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.22(s, 1H), 7.03(dd, J = 8.1Hz, J = 2.8Hz, 1H), 6.94(m, 1H), 6.74(d, J = 2.8Hz, 1H), 3.86(s, 3H), 3.11(s, 6H)。

[0211] 3-(3,4-二甲氧基苯基)-5-甲基异喹啉-1-胺(化合物22)-N,N-二乙基-2,3-二甲基苯甲酰胺与3,4-二甲氧基苄腈反应得到化合物22(黄色固体,65%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.70(m, 1H), 7.57-7.62(m, 2H), 7.48(s, 1H), 7.40(m, 1H), 7.28(m, 1H), 6.94(d, J = 8.4Hz, 1H), 5.42(s, 2H), 3.98(s, 3H), 3.88(s, 3H), 2.63(s, 3H)。

[0212] 6-甲基-3-邻甲苯异喹啉-1-胺盐酸盐(化合物23)-N,N-二乙基-2,4-二甲基苯甲酰胺与邻甲基苯甲腈反应得到化合物23(黄色固体,67%)。Mp 269.1-270.2°C IR(cm⁻¹):3300,1650。¹H NMR(DMSO-d₆) δ :13.84(s, 1H), 9.40(s, 1H), 8.79-7.57(m, 7H), 7.38(s, 1H), 2.75(s, 3H), 2.61(s, 3H)。¹³C NMR(DMSO-d₆) δ :153.4,144.4,137.0,135.9,134.8,131.6,129.4,128.7,128.5,128.4,125.7,124.8,124.0,113.0,109.5。MS,m/e(%) :248(M⁺,100),232(87),230(54)。分析为C₁₇H₁₇ClN₂(C, H, N) 计算值:71.70,6.02,9.84。实测值:71.58,6.27,9.58。

[0213] 3-(2-甲氧基苯基)-6-甲基异喹啉-1-胺(化合物24)-N,N-二乙基-2,4-二甲基苯甲酰胺与2-甲氧基苄腈反应得到化合物24(黄色固体,64%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :8.03(d, J = 8.5Hz, 1H), 7.64(m, 1H), 7.45(s, 1H), 7.35-7.23(m, 3H), 7.05-6.97(m, 2H), 3.88(s, 3H), 2.47(s, 3H)。

[0214] 3-(3-甲氧基苯基)-6-甲基异喹啉-1-胺(化合物25)-N,N-二乙基-2,4-二甲基苯甲酰胺与3-甲氧基苄腈反应得到化合物25(黄色固体,68%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.67-7.59(m, 3H), 7.51(s, 1H), 7.38-7.24(m, 3H), 6.94-6.90(m, 1H), 5.26(bs, 2H), 3.88(s, 3H), 2.48(s, 3H)。

[0215] 3-(4-甲氧基苯基)-6-甲基异喹啉-1-胺(化合物26)-N,N-二乙基-2,4-二甲基苯甲酰胺与4-甲氧基苄腈反应得到化合物26(黄色固体,60%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :8.04(d, J = 8.1Hz, 2H), 7.65(d, J = 8.5Hz, 1H), 7.42(s, 1H), 7.24(s, 1H), 7.17(d, J = 8.2Hz, 1H), 6.95(d, J = 8.5Hz, 2H), 3.81(s, 3H), 2.43(s, 3H)。

[0216] 3-(3,4-二甲氧基苯基)-6-甲基异喹啉-1-胺(化合物27)-N,N-二乙基-2,4-二甲基苯甲酰胺与3,4-二甲氧基苄腈反应得到化合物27(黄色固体,79%)。¹H NMR(300MHz,

CDCl_3) δ :7.67-7.64(m, 2H), 7.54(m, 1H), 7.45(s, 1H), 7.27(s, 1H), 7.18(m, 1H), 6.91(d, J = 8.5Hz, 1H), 5.76(s, 2H), 3.96(s, 3H), 3.89(s, 3H), 2.50(s, 3H)。

[0217] 3-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-6-基)-6-甲基异喹啉-1-胺(化合物28)-N,N-二乙基-2,4-二甲基苯甲酰胺与苯并[1,3]二氧杂环戊烯-5-腈反应得到化合物28(黄色固体, 71%)。 ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ :7.63(d, J = 8.5Hz, 1H), 7.54(m, 2H), 7.45(s, 1H), 7.22(m, 2H), 6.88(d, J = 8.5Hz, 1H), 5.98(s, 2H), 5.40(s, 2H), 2.46(s, 3H)。

[0218] 3-(4-乙氧基苯基)-6-甲基异喹啉-1-胺(化合物29)-N,N-二乙基-2,4-二甲基苯甲酰胺与4-乙氧基苄腈反应得到化合物29(黄色固体, 67%)。 ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ :7.96(m, 2H), 7.66(d, J = 8.5Hz, 1H), 7.47(s, 1H), 7.30(s, 1H), 7.23(m, 1H), 6.97(m, 2H), 5.36(s, 2H), 4.05(q, J = 7.0Hz, 2H), 2.48(s, 3H), 1.43(t, J = 7.0Hz, 3H)。

[0219] 3-(3,5-二甲氧基苯基)-6-甲基异喹啉-1-胺(化合物30)-N,N-二乙基-2,4-二甲基苯甲酰胺与3,5-二甲氧基苄腈的反应得到化合物30(黄色固体, 90%)。 ^1H NMR(300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ :8.42(d, J = 8.5Hz, 1H), 7.72(s, 1H), 7.60(m, 2H), 7.11(m, 2H), 6.62(s, 1H), 3.45(s, 6H), 2.49(s, 3H)。

[0220] 3-(4-甲氧基-2-甲基苯基)-6-甲基异喹啉-1-胺(化合物31)-N,N-二乙基-2,4-二甲基苯甲酰胺与4-甲氧基-2-甲基苄腈反应得到化合物31(黄色固体, 67%)。 ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ :7.97(d, J = 8.5Hz, 1H), 7.42(s, 1H), 7.37-7.28(m, 2H), 7.15-6.91(b, 2H), 6.85(s, 1H), 6.76(m, 2H), 3.78(s, 3H), 2.47(s, 3H), 2.37(s, 3H)。

[0221] 3-(3,4,5-三甲氧基苯基)-6-甲基异喹啉-1-胺(化合物32)-N,N-二乙基-2,4-二甲基苯甲酰胺与3,4,5-三甲氧基苄腈反应得到化合物32(黄色固体, 26%)。 ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ :7.73(d, 1H), 7.54(s, 1H), 7.32-7.25(m, 3H), 6.97-6.71(m, 1H), 5.63(s, 2H), 4.04(s, 6H), 3.90(s, 3H), 2.52(s, 3H)。

[0222] 3-(2-氟苯基)-6-甲基异喹啉-1-胺(化合物33)-N,N-二乙基-2,4-二甲基苯甲酰胺与2-氟苄腈反应得到化合物33(黄色固体, 69%)。 ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ :8.00(m, 1H), 7.70(d, 1H), 7.54(s, 1H), 7.48(d, 1H), 7.34-7.14(m, 4H), 5.39(s, 2H), 2.51(s, 3H)。

[0223] 6-甲基-3-(2,6-二甲基苯基)异喹啉-1-胺(化合物34)-N,N-二乙基-2,4-二甲基苯甲酰胺与2,6-二甲基苄腈反应得到化合物34(黄色固体, 68%)。 ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ :7.72(d, 1H), 7.48(s, 1H), 7.32(d, 1H), 7.20-7.08(m, 3H), 6.89(s, 1H), 5.26(s, 2H), 2.52(s, 3H), 2.12(s, 6H)。

[0224] 6-甲基-3-间甲苯异喹啉-1-胺(化合物35)-N,N-二乙基-2,4-二甲基苯甲酰胺与间甲基苯甲腈反应得到化合物35(白色固体, 89%)。 ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ :9.36(s, 2H), 8.44(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.83-7.79(m, 2H), 7.55(s, 1H), 7.46-7.39(m, 2H), 7.28(d, J = 8.1Hz, 1H), 7.14(s, 1H), 2.57(s, 3H), 2.46(s, 3H)。

[0225] 6-甲基-3-对甲苯异喹啉-1-胺(化合物36)-N,N-二乙基-2,4-二甲基苯甲酰胺与对甲基苯甲腈反应得到化合物36(白色固体, 75%)。 ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ :7.94(d, J = 8.1Hz, 2H), 7.70(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.51(s, 1H), 7.35(s, 1H), 7.29-7.24(m, 3H), 5.43(s, 2H), 2.50(s, 3H), 2.40(s, 3H)。

[0226] 3-(2-甲氧基苯基)-7-甲基异喹啉-1-胺(化合物37)-N,N-二乙基-2,5-二甲基苯甲酰胺与2-甲氧基苄腈反应得到化合物37(黄色固体, 38%)。 ^1H NMR(300MHz, CDCl_3)

δ :8.00 (s, 1H), 7.63–7.50 (m, 3H), 7.41 (m, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.06–7.00 (m, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.50 (s, 3H)。

[0227] 3-(3-甲氧基苯基)-7-甲基异喹啉-1-胺(化合物 38)-N,N-二乙基-2,5-二甲基苯甲酰胺与 3-甲氧基苄腈反应得到化合物 38(黄色固体,92%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.74 (s, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.54–7.45 (m, 3H), 7.37 (t, 1H), 7.29 (s, 1H), 6.93 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 2.49 (s, 3H)。

[0228] 3-(4-甲氧基苯基)-7-甲基异喹啉-1-胺(化合物 39)-N,N-二乙基-2,5-二甲基苯甲酰胺与 4-甲氧基苄腈反应得到化合物 39(黄色固体,54%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.97 (d, 2H), 7.63 (d, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.46 (m, 1H), 7.35 (s, 1H), 6.97 (d, 2H), 3.86 (s, 3H), 2.51 (s, 3H)。

[0229] 3-(4-乙氧基苯基)-7-甲基异喹啉-1-胺(化合物 40)-N,N-二乙基-2,5-二甲基苯甲酰胺与 4-乙氧基苄腈反应得到化合物 40(黄色固体,67%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.97 (d, 2H), 7.62 (d, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.43 (m, 1H), 7.36 (s, 1H), 6.96 (d, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.06 (q, 2H), 2.49 (s, 3H), 1.43 (t, 3H)。

[0230] 3-(2-氟苯基)-7-甲基异喹啉-1-胺(化合物 41)-N,N-二乙基-2,5-二甲基苯甲酰胺与 2-氟苄腈反应得到化合物 41(黄色固体,79%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :8.05 (m, 1H), 7.67 (d, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.48 (m, 1H), 7.31–7.06 (m, 3H), 5.17 (s, 2H), 2.52 (s, 3H)。

[0231] 3-(4-甲氧基-2-甲基苯基)-7-甲基异喹啉-1-胺(化合物 42)-N,N-二乙基-2,5-二甲基苯甲酰胺与 4-甲氧基-2-甲基苄腈反应得到化合物 42(黄色固体,90%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.93 (s, 2H), 7.57–7.55 (d, 2H), 7.32 (d, 1H), 6.82–6.78 (m, 3H), 3.82 (s, 3H), 2.53 (s, 3H), 2.36 (s, 3H)。

[0232] 7-甲基-3-(2,6-二甲基苯基)异喹啉-1-胺(化合物 43)-N,N-二乙基-2,5-二甲基苯甲酰胺与 2,6-二甲基苄腈反应得到化合物 43(黄色固体,68%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.63–7.46 (m, 3H), 7.19–7.08 (m, 3H), 6.93 (s, 1H), 5.17 (s, 2H), 2.54 (s, 3H), 2.12 (s, 6H)。

[0233] 3-(3,4-二甲氧基苯基)-7-甲基异喹啉-1-胺(化合物 44)-N,N-二乙基-2,5-二甲基苯甲酰胺与 3,4-二甲氧基苄腈反应得到化合物 44(黄色固体,46%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.80 (s, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.55–7.46 (m, 3H), 7.19 (s, 1H), 6.94 (d, 1H), 4.02 (s, 1H), 3.93 (s, 3H), 2.52 (s, 3H)。

[0234] 3-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-6-基)-7-甲基异喹啉-1-胺(化合物 45)-N,N-二乙基-2,5-二甲基苯甲酰胺与苯并[1,3]二氧杂环戊烯-5-腈反应得到化合物 45(黄色固体,70%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.62–7.55 (m, 4H), 7.45 (m, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.90 (m, 1H), 6.00 (s, 2H), 5.16 (s, 2H), 2.51 (s, 3H)。

[0235] 3-(3,5-二甲氧基苯基)-7-甲基异喹啉-1-胺(化合物 46)-N,N-二乙基-2,5-二甲基苯甲酰胺与 3,5-二甲氧基苄腈反应得到化合物 46(黄色固体,71%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.85 (s, 1H), 7.50 (d, 1H), 7.38 (d, 1H), 6.86 (d, 1H), 6.69–6.67 (d, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 2.52 (s, 3H)。

[0236] 3-(3,4,5-三甲氧基苯基)-7-甲基异喹啉-1-胺(化合物 47)-N,N-二乙基-2,

5-二甲基苯甲酰胺与 3,4,5-三甲氧基苄腈反应得到化合物 47(黄色固体,95%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.66(d,1H),7.57(s,1H),7.48(d,1H),7.40(s,1H),7.29(s,2H),3.96(s,6H),3.89(s,3H),2.52(s,3H)。

[0237] 7-甲基-3-邻甲苯异喹啉-1-胺(化合物 48)-N,N-二乙基-2,5-二甲基苯甲酰胺与邻甲基苯甲腈反应得到化合物 48(黄色固体,91%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.63-7.58(m,2H),7.47-7.40(m,2H),7.27-7.20(m,3H),7.05(s,1H),5.41(s,2H),2.51(s,3H),2.38(s,3H)。

[0238] 7-甲基-3-间甲苯异喹啉-1-胺(化合物 49)-N,N-二乙基-2,5-二甲基苯甲酰胺与间甲基苯甲腈反应得到化合物 49(黄色固体,97%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.82(s,1H),7.78(d,J=8.1Hz,1H),7.63-7.58(m,2H),7.43-7.32(m,3H),7.17(d,J=8.1Hz,1H),5.86(s,2H),2.47(s,3H),2.42(s,3H)。

[0239] 3-(5-甲氧基-2-甲基苯基)-7-甲基-异喹啉-1-胺(化合物 50)-N,N-二乙基-2,5-二甲基苯甲酰胺与 5-甲氧基-2-甲基苄腈反应得到化合物 50(黄色固体,77%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.64-7.60(m,2H),7.46(d,J=8.1Hz,1H),7.46(d,J=8.1Hz,1H),7.06(s,1H),7.02(d,J=2.8Hz,1H),6.83(dd,J=8.1Hz,J=2.8Hz,1H),5.41(s,2H),3.81(s,3H),2.52(s,3H),2.31(s,3H)。

[0240] 6,7-二甲氧基-3-苯基异喹啉-1-胺(化合物 51)-N,N-二乙基-4,5-二甲氧基-2-甲基苯甲酰胺与苄腈反应得到化合物 51(黄色固体,71%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.97-7.95(m,2H),7.45-7.30(m,4H),7.05(s,1H),6.94(s,1H),5.29(s,2H),3.94(s,3H),3.82(s,3H)。

[0241] 6,7-二甲氧基-3-(3-甲氧基苯基)异喹啉-1-胺(化合物 52)-N,N-二乙基-4,5-二甲氧基-2-甲基苯甲酰胺与 3-甲氧基苄腈反应得到化合物 52(黄色固体,60%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.53-7.46(m,2H),7.30(m,1H),7.22(s,1H),7.18(s,1H),6.90(s,1H),6.88(m,1H),3.92(s,3H),3.89(s,3H),3.82(s,3H)。

[0242] 6,7-二甲氧基-3-(2,6-二甲基苯基)异喹啉-1-胺(化合物 53)-N,N-二乙基-4,5-二甲氧基-2-甲基苯甲酰胺与 2,6-二甲基苄腈反应得到化合物 53(黄色固体,56%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.23-7.07(m,4H),7.01(s,1H),6.90(s,1H),5.07(s,2H),4.03(s,3H),4.02(s,3H),2.12(s,6H)。

[0243] 6,7-二甲氧基-3-间甲苯异喹啉-1-胺(化合物 54)-N,N-二乙基-4,5-二甲氧基-2-甲基苯甲酰胺与 3-甲基苄腈反应得到化合物 54(黄色固体,43%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :8.93(s,2H),7.92(s,1H),7.68-7.64(m,2H),7.37-7.20(m,2H),7.11(s,1H),7.07(s,1H),3.98(s,3H),3.97(s,3H),2.38(s,3H)。

[0244] 6,7-二甲氧基-3-(3,5-二甲氧基苯基)异喹啉-1-胺(化合物 55)-N,N-二乙基-4,5-二甲氧基-2-甲基苯甲酰胺与 3,5-二甲氧基苄腈反应得到化合物 55(黄色固体,48%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.38(s,1H),7.24(s,1H),7.21(s,1H),7.06(s,1H),7.04(s,1H),6.49(s,1H),5.10(s,2H),4.00(s,3H),3.98(s,3H),3.86(s,6H)。

[0245] 6,7-二甲氧基-3-邻甲苯异喹啉-1-胺(化合物 56)-N,N-二乙基-4,5-二甲氧基-2-甲基苯甲酰胺与 2-甲基苄腈反应得到化合物 56(黄色固体,68%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ :7.45-7.03(m,7H),5.01(s,2H),4.02(s,3H),4.02(s,3H),2.40(s,3H)。

[0246] 药物制剂

[0247] 下面举例说明含有式 (D) 化合物或其药学上可接受盐 (下文的化合物 X) 用于人的治疗性或预防性用途的代表性药物剂型。这些制剂可通过药学领域中众所周知的常规方法获得,并且不限于这些代表性药物剂型。

[0248] 1) 片剂 (直接压片)

[0249] 将筛分的化合物 X (5.0mg) 与乳糖 (14.1mg)、交联聚维酮 USNF (0.8mg) 和硬脂酸镁 (0.1mg) 混合。将所述混合物压制成片。

[0250] 2) 片剂 (湿法制粒 (Hydroassembly))

[0251] 将筛分的化合物 X (5.0mg) 与乳糖 (16.0mg)、淀粉 (4.0mg) 和聚山梨醇酯 80 (0.3mg) 混合。向混合物中加入纯水,混合物溶解。使混合物制成颗粒,使颗粒干燥,过筛并与胶体二氧化硅 (2.7mg) 和硬脂酸镁 (2.0mg) 混合。将所述颗粒压制成片。

[0252] 3) 粉末和胶囊

[0253] 将筛分的化合物 X (5.0mg) 与乳糖 (14.8mg)、聚乙烯吡咯烷酮 (10.0mg) 和硬脂酸镁 (0.2mg) 混合。利用合适的设备将所述混合物填充进 5 号明胶胶囊中。

[0254] 4) 注射剂

[0255] 将化合物 X (100mg)、甘露醇 (180mg) 和 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (26mg) 溶解在约 2974ml 蒸馏水中。

[0256] 生物学试验

[0257] 1) 癌细胞系的生长

[0258] 用于测定 5,6 或 7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺化合物的作用的癌细胞系得自以下来源:人 MDA-MB-231 (乳腺)、PC3 (前列腺)、HCT-15 (结肠)、HCT 116 (结肠)、OVCAR-3 (卵巢)、Caki-1 (肾)、PANC-1 (胰腺)、SNB-19 (成胶质细胞瘤) 和 SK-MEL-28 (黑色素瘤),来自美国模式菌种收集中心 (American Type Culture Collection) (ATCC) (Manassas, VA)。将 PC3、OVCAR-3、SK-MEL-28 和 SNB-19 培养于添加有 10% 胎牛血清 (“FBS”)、1mM 丙酮酸钠、10mM HEPES 和 100U/ml 青霉素以及 100 $\mu\text{g/ml}$ 链霉素 (“P/S”) 的 RPMI 1640 培养基 (Invitrogen, Carlsbad, CA) 中。将 MDA-MB-231、Caki-1、HCT-15 (结肠) 和 PANC-1 细胞维持在添加有 10% FBS、P/S 和 10mM HEPES 的 Dulbecco's modified Eagle's 培养基 (“DMEM”, Invitrogen) 中。将 HCT116 细胞维持在用于体外细胞增殖测试的添加有 10% FBS、P/S 和 10mM HEPES 的 DMEM 中,以及用于体外细胞周期分析的添加有 10% FBS、1mM 丙酮酸钠、10mM HEPES 和 P/S 的 RPMI 1640 培养基中。所有细胞均在增湿的 5% CO_2 下和 37°C 下进行孵育。

[0259] 2) 抗人癌细胞系的体外细胞增殖测试

[0260] 评价了所述 5,6 或 7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺衍生物对多种人肿瘤细胞的生长抑制作用以研究化合物上特定取代基的相对重要性。以 DMSO 为对照,测试上述制备的 5,6 或 7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺衍生物。

[0261] 利用磺基罗丹明 B (“SRB”) 法 (Skehan et al., J. National Cancer Institute, 82:1107-1112 (1990)) 进行代表性的 5,6 或 7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺衍生物对人肿瘤细胞系的生长抑制试验。简而言之,将按指数规律生长的肿瘤细胞以 $2-3 \times 10^3$ 细胞/孔的密度接种到 96 孔板中并在第二天以 5,6 或 7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺化合物处理。

对每一种处理进行 3 个孔。将细胞与不同化合物在 37℃ 下于增湿的 5% CO₂ 气氛中孵育 96 小时。孵育 96 小时后,以 10%三氯乙酸 (“TCA”) 将细胞固定,在 4℃ 下孵育 1 小时,以自来水清洗 3 遍。然后,以在 1%乙酸中的 0.4%磺基罗丹明 B 将细胞染色 30 分钟,以 1%乙酸清洗 4 次,并再次晾干。在 10mM Tris 溶液中搅拌 5 分钟后,利用 Benchmark Plus 微孔板读数仪 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) 在 530nm 测量每一孔的吸收度。

[0262] 为将所述 OD₅₃₀ 值转化成每一孔中活细胞的数目,将所述 OD₅₃₀ 值与针对每一种细胞系所生成的标准 OD₅₃₀ 对细胞数目曲线上的值进行比较。利用下式计算存活百分数:

[0263] $\text{存活率}\% = \text{活细胞数}[\text{测试}] / \text{活细胞数}[\text{对照}] \times 100$

[0264] IC₅₀ 值通过非线性回归分析而计算得到。

[0265] 采用 QSAR 和药物化学技术,合成了大量的化合物,包括上述表 1-2 中所示的化合物。对这些合成的化合物以约 1 μM 的浓度进行了抗至少四种癌细胞系 PANC-1、MDA-MB-231、HCT 116 和 Caki-1 的筛选。选择出对在这些细胞系中至少一种显示出活性的化合物进行进一步筛选。从这些化合物中,选择出三十种化合物进一步评价广谱抗增殖剂,如下表 3 所示。

[0266] 表 3

[0267]

化合物	5, 6或7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺化合物对人癌细胞系细胞生长的抑制作用 (IC ₅₀ , μ M)							
	MDA-MB-231	PANC-1	HCT116	PC3	OVCAR3	SK-MEL-28	Caki-1	SNB19
10	0.11	0.17	0.14	0.26	0.071	0.14	0.15	0.19
11	0.34	0.65	0.45	0.77	0.27	0.46	0.47	0.63
13	0.021	0.019	0.017	0.019	0.014	0.032	0.022	0.032
14	0.021	0.018	0.023	0.024	0.016	0.032	0.023	0.028
15	0.15	0.19	0.18	0.23	0.14	0.33	0.17	0.25
16	0.027	0.026	0.029	0.048	0.025	0.045	0.038	0.057
21	0.059	0.11	0.064	0.19	0.071	0.11	0.068	0.094
23	0.15	0.24	0.19	0.24	0.15	0.35	0.12	0.26
24	0.44	0.93	0.67	>3.0	0.49	0.80	0.35	1.13
25	0.14	0.31	0.19	0.25	0.18	0.34	0.13	0.29
26	0.93	2.27	1.36	2.98	0.79	1.80	0.75	2.23
27	0.66	1.75	0.85	2.69	0.57	1.41	0.51	2.15
28	0.13	0.22	0.16	0.19	0.16	0.22	0.11	0.23
30	0.18	0.38	0.24	0.43	0.18	0.41	0.16	0.47
31	0.15	0.24	0.17	0.25	0.17	0.29	0.12	0.28
33	0.55	1.59	0.70	1.84	0.57	1.07	0.46	1.51
34	0.14	0.21	0.17	0.24	0.16	0.23	0.12	0.24
35	0.57	1.28	0.59	1.19	0.47	0.72	0.69	0.75
36	0.15	0.20	0.18	0.22	0.15	0.25	0.16	0.21
37	0.32	0.68	0.47	1.01	0.51	0.67	0.22	0.78
38	0.17	0.47	0.21	0.42	0.24	0.41	0.14	0.48
41	0.72	2.14	1.22	2.76	0.91	1.62	0.59	2.20
42	0.079	0.18	0.12	0.20	0.13	0.21	0.065	0.20
43	0.051	0.079	0.074	0.12	0.075	0.12	0.048	0.12
45	0.15	0.37	0.18	0.25	0.23	0.42	0.13	0.38
48	0.075	0.20	0.12	0.26	0.10	0.18	0.14	0.16
49	0.21	0.69	0.28	0.71	0.29	0.50	0.44	0.53
50	0.030	0.058	0.042	0.070	0.042	0.051	0.047	0.052

化合物	5, 6或7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺化合物对人癌细胞系细胞生长的抑制作用 (IC ₅₀ , μ M)							
	MDA-MB-231	PANC-1	HCT116	PC3	OVCAR3	SK-MEL-28	Caki-1	SNB19
[0268]	51	0.44	0.67	0.52	0.58	0.27	0.75	0.59
	52	0.14	0.19	0.16	0.18	0.074	0.23	0.17
	53	0.25	0.54	0.79	0.68	0.16	0.63	0.53
	54	0.79	2.27	2.32	2.50	0.58	1.12	1.78
	55	0.40	0.70	0.77	0.72	0.19	0.69	0.54
	56	0.54	0.83	0.78	1.25	0.38	0.91	0.67

[0269] 表3中所示的本发明的5,6或7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺衍生物具有广谱抗肿瘤细胞系的活性。这些化合物中的很多具有活性,其测定的IC₅₀值显著小于1 μ M或0.5 μ M或甚至0.1 μ M。与韩国专利No. 0412319中要求保护的化合物23即6-甲基-3-(2-甲基苯基)-1-异喹啉胺相比较而言,表3的化合物中有17种化合物比如化合物10、化合物13、化合物14、化合物15、化合物16、化合物21、化合物25、化合物28、化合物31、化合物34、化合物36、化合物42、化合物43、化合物45、化合物48、化合物50和化合物52在人癌细胞生长抑制方面显示出相等或更好的活性。具体地,在所测细胞系中,化合物13和化合物14的活性是化合物23的5~13倍。从表3中可以看出,对于多种细胞系而言,很多其它所测化合物表现出IC₅₀ < 1 μ M,有几种IC₅₀ < 0.3 μ M。小于或等于2.0 μ M、1.5 μ M、1.0 μ M或0.5 μ M的IC₅₀值可以反映出明显的治疗活性。因此,表3化合物的IC₅₀反映出明显的治疗活性。

[0270] 3) 体外细胞周期分析

[0271] 该试验用于测定5,6或7-取代-3-(杂)芳基异喹啉胺化合物在细胞周期的特定阶段中抑制细胞的能力。在药物处理的前一天,将HCT 116细胞以50-70%的饱和度铺板于在含有10% FBS的RPMI 1640培养基中的10cm皿上,然后在增湿的含有5%的CO₂的37℃培养箱中孵育过夜。第二天,将含有溶解在DMSO中的适当浓度的测试化合物的RPMI 1640培养基(含有10% FBS)添加至所述皿中。也包括不含化合物的对照处理(0.25% DMSO)。然后将细胞孵育12小时并通过在7,000rpm下离心5分钟而收获细胞。将细胞团块重新悬于0.2ml含有0.1%葡萄糖和2% FBS的PBS中。然后,在振摇下逐滴加入5ml冰冷的70%乙醇,并将处理后的细胞在-20℃下贮存至少30分钟。将细胞于2,000rpm离心5分钟,以1ml含有0.1%葡萄糖和2% FBS的PBS清洗一次。移去上清液后,将细胞重新悬于0.5ml含有0.1% Triton X-100、40mM柠檬酸钠的pH7.4的70 μ M碘化丙啶(propidium iodide) (PI) 溶液中。加入RNA酶至50 μ g/ml的最终浓度,将细胞在37℃下孵育30分钟。通过Guava PCA-AFP仪器并利用其细胞周期软件程序(Guava Technologies, Hayward, CA)分析PI染色的细胞,以细胞周期中G1、S和G2/M阶段的细胞百分数表示。下表4显示了当以化合物14或43处理HCT 116细胞时细胞周期中百分数的变化。

[0272] 表4

[0273]

处理	G1 期中的细胞 (%)	S 期中的细胞 (%)	G2/M 期中的细胞 (%)
DMSO(对照)	39.4	20.5	40.1
化合物 14, 0.3uM	10.3	7.6	82.1
化合物 43, 0.3uM	15.3	10.8	73.9

[0274] 4) 对具有紫杉醇耐药性的 HCT-15 人结肠直肠癌细胞的体外抗肿瘤作用

[0275] 在结肠癌细胞中测试了化合物 13 和 14 并将其抗肿瘤活性与紫杉醇 (**Taxol**[®]) 进行了比较。如表 5 所示, 化合物 13 和 14 在体外显示出有效的抗增殖活性, 在两种细胞中的 IC₅₀ 值均在低的纳摩尔每升范围内, 并且显示出对具有紫杉醇耐药性的 HCT-15 人结肠直肠癌细胞的比紫杉醇更高的抗肿瘤活性。当在两种直肠癌细胞中比较 IC₅₀ 值时, 紫杉醇在 HCT-15 细胞中活性降低了 70 倍, 但化合物 13 和 14 仍均显示出对该细胞生长的强抑制作用。

[0276] 表 5

化合物	对细胞生长的抑制作用, IC ₅₀ (μM)	
	HCT-15	HCT116
化合物 13	0.015	0.017
化合物 14	0.021	0.023
紫杉醇	0.14	0.0020

[0278] 5) 离体异种移植研究

[0279] 为观察对动物模型中肿瘤生长的抑制作用, 利用化合物 13 进行了裸小鼠的离体异种移植研究。在第 0 天, 将对紫杉醇具有抗药性的 HCT15 细胞悬液 (在 0.2ml RPMI 中有 1×10^6 细胞) 皮下注射到 6 周龄雌性无胸腺小鼠 (BALB/c nu/nu) 的右侧腹部内。给足够数量的小鼠注射 HCT 15 细胞悬液, 从而选择出尽可能窄的体积范围的肿瘤用于处理开始当天的试验。将具有适当大小范围的肿瘤的动物归为不同的处理组。将紫杉醇用作阳性对照。将化合物 13 和紫杉醇溶于含有 5% Cremophor 和 5% 乙醇的 PBS 中, 并将溶剂单独用作运载体对照。从接种 HCT 15 细胞后第 10 天开始到第 29 天, 每周 3 次通过腹膜内注射给予所有的研究药物 (运载体对照、紫杉醇: 10mg/kg/天, 化合物 13: 10mg/kg/天)。为定量肿瘤生长, 每 3-5 天利用测径仪测量肿瘤的 3 个垂直直径, 并监测小鼠的体重以监测毒性。利用下式计算肿瘤体积: 肿瘤体积 (mm³) = (宽度) × (长度) × (高度) × π/6。

[0280] 表 5 中显示了每组动物的肿瘤体积 (平均值 ± SEM), 表明肿瘤体积的测量值作为化合物 13 抗 HCT 15 人结肠癌异体移植的效力指标。化合物 13 处理具有良好的耐受性, 没有引起死亡, 也没有观察到超过 1g 的体重波动。作为在第 29 天测量抗裸小鼠中 HCT-15 人结肠直肠癌的抗肿瘤活性的结果, 发现化合物 13 比对照药物紫杉醇 (抑制率 48.8%) 具有更高的抗肿瘤效力 (抑制率 69.2%), 如下表 6 所示。

[0281] 表 6

[0282]	处理	在29天对小鼠中HCT-15人结肠 直肠癌的抑制作用 (%)
	化合物 13, 10 mg/kg	69.2
	紫杉醇, 10 mg/kg	48.8

[0283] 本发明的新化合物是 5、6 或 7- 取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺衍生物或其药学上可接受盐, 通过施用 5、6 或 7- 取代 -3-(杂) 芳基异喹啉胺化合物, 其具有强抗增殖作用并且可用于治疗过度增殖性病症, 包括癌症。本说明书中所举例说明和叙述的实施方案仅旨在教导本领域技术人员本发明人所知的实施和利用本发明的最佳方式。不应将本说明书中的任何内容看做是对本发明范围的限制。给出的所有实例都是代表性的而非限定性的。本领域技术人员应当理解, 在不背离本发明的情形下可以根据上述教导对本发明的上述实施方案进行改变或变动。因此, 应当理解, 在所述权利要求及其等价物的范围内, 可以不同于所具体描述的方式来实施本发明。