



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 115485259 A

(43) 申请公布日 2022. 12. 16

(21) 申请号 202080097333.4	(51) Int. Cl.
(22) 申请日 2020.12.23	C07C 41/30 (2006.01)
(30) 优先权数据 2019904976 2019.12.23 AU	C07C 43/23 (2006.01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2022.08.22	C07C 51/367 (2006.01)
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/AU2020/051431 2020.12.23	C07C 65/19 (2006.01)
(87) PCT国际申请的公布数据 W02021/127743 EN 2021.07.01	C07C 201/12 (2006.01)
(71) 申请人 凯楠公爵IP有限责任公司 地址 美国北卡罗来纳州	C07C 205/37 (2006.01)
(72) 发明人 科林·查尔斯·杜克 鲁吉·基卡吉·杜克 范·霍安·德兰	C07C 209/68 (2006.01)
(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所 有限公司 11038 专利代理师 谭玮	C07C 211/45 (2006.01)
	C07C 227/16 (2006.01)
	C07C 279/18 (2006.01)
	C07C 303/40 (2006.01)
	C07C 311/08 (2006.01)
	C07C 319/20 (2006.01)
	C07C 231/12 (2006.01)
	C07C 233/25 (2006.01)
	A61P 35/00 (2006.01)
	A61P 17/00 (2006.01)
	A61P 17/06 (2006.01)
	权利要求书29页 说明书144页 附图26页

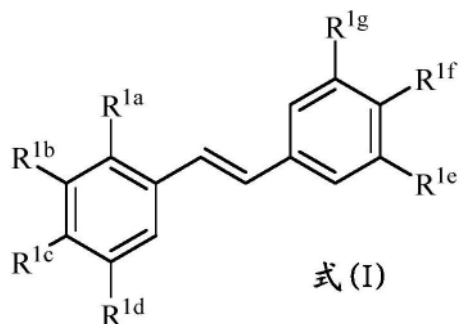
(54) 发明名称

被取代的羟基均二苯乙烯化合物和衍生物、
合成及其用途

(57) 摘要

本公开内容涉及被取代的羟基均二苯乙烯化合物和衍生物,特别是2-取代的羟基均二苯乙烯化合物和衍生物,这样的化合物的合成,以及它们在治疗中的用途。

1. 一种合成式 (I) 的化合物的方法：



其中：

R^{1a} 独立地是烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基或2-炔基；

R^{1b} 独立地是 CF_3 、OH、 OR^2 、 NO_2 、NHEt、NMe₂、NMeEt、NHR³、NMeR³、NHC=NH (NH₂) 或 COOR²；

R^{1c} 独立地是 H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基；

R^{1d} 独立地是 CF_3 、OH、 OR^2 、NHR³、 NO_2 、NMeR³、NHC=NH (NH₂) 或 COOR²；

R^{1e} 独立地是 H、C₁-C₆ 烷基、OH、 OR^2 、 NO_2 、NMe₂、NHR³ 或 NMeR³、NHC(O)H、SR²；

R^{1f} 独立地是 H、OH、 OR^2 、 NO_2 、NHR³、NHC=NH (NH₂)、COOR²、COOH；

R^{1g} 独立地是 H、烷基、 CF_3 、OH 或 OR^2 ；

且 R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的不超过一个可以是 H；

或当 R^{1e} 独立地是 OH、NH₂ 或 NHMe 且 R^{1f} 是 NH₂ 时， R^{1e} 和 R^{1f} 形成含有羰基基团或 (CO)CH₂ 基团的 5 或 6 元杂环，使得用羰基基团或 (CO)CH₂ 基团将 R^{1f} 的氮桥连至 R^{1e} 的氧或氮；

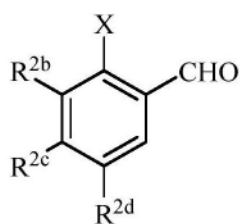
R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、COCOR⁴ 或当 R^2 连接至 O 时是 O-保护基；

R^3 独立地是 H、CH₃、OH、(CO)H、(CO)Me、SO₂Me、CH₂COOH、CH₂COOR²、CO(CH₂)_nNH₂、CONH₂、CO(CH₂)_nCOOH 或 COCOCOR⁴，其中 n 是 0、1 或 2；

R^4 是 C₁-C₆ 烷基；且

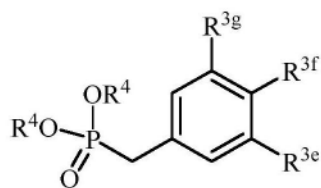
所述方法包含：

i) 将式 (II) 的化合物 (模块 A) 与式 (III) 的化合物 (模块 B) 偶联以提供式 (IV) 的化合物 (模块 C) 的步骤：



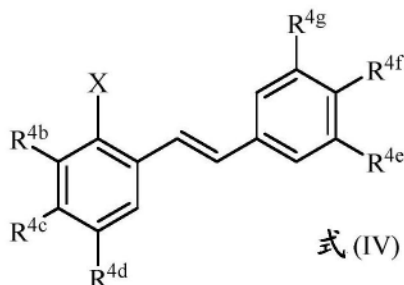
式 (II)

模块 A



式 (III)

模块 B



式 (IV)

模块 C

其中,

在式II (模块A) 中:

R^{2b} 独立地是 CF_3 、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 $NHEt$ 、 $NMeEt$ 、 NHR^3 或 $NMeR^3$;

R^{2c} 独立地是 H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基;

R^{2d} 独立地是 CF_3 、OH 或 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

X 是卤基或羟基基团, 其中所述卤基选自 F、Cl、Br、I 和 At;

R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至 O 时是 O-保护基; 且

R^3 独立地是 H、OH、 CH_3 、 $(CO)H$ 、 $COMe$ 、 SO_2Me 、 $COCH_2NH_2$ 或 CH_2COOR^2 ; 且

在式III (模块B) 中:

R^{3e} 独立地是 H、 C_1-C_6 烷基、OH、 OR^2 、 NO_2 、 $NHMe$ 、 NMe_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ;

R^{3f} 独立地是 H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOH$ 或 $COOR^2$;

R^{3g} 独立地是 H、烷基、 CF_3 、OH 或 OR^2 ;

且 R^{3e} 、 R^{3f} 或 R^{3g} 中的不超过一个可以是 H;

或当 R^{3e} 是 OH、 NH_2 或 $NHMe$ 且 R^{3f} 是 NH_2 时, R^{3e} 和 R^{3f} 形成含有羰基基团或 $(CO)CH_2$ 基团的 5 或 6 元杂环, 使得用羰基基团或 $(CO)CH_2$ 基团将 R^{3f} 的氮桥连至 R^{3e} 的氧或氮;

R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至 O 时是 O-保护基,

R^3 独立地是 H、 CH_3 、OH、 $(CO)H$ 、 $COMe$ 、 SO_2Me 、 $COCH_2NH_2$ 、 CH_2COOH 或 CH_2COOR^2 ; 且

在式IV (模块C) 中:

R^{4b} 独立地是 CF_3 、OH 或 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 $NHEt$ 、 $NMeEt$ 、 NHR^3 或 $NMeR^3$;

R^{4c} 独立地是 H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基;

R^{4d} 独立地是 CF_3 、OH、 OR^2 、 OR^3 、 NO_2 或 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

R^{4e} 独立地是 H、 C_1-C_6 烷基、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 $NHC(=O)H$ 或 SR^2 ;

R^{4f} 独立地是 H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOH$ 或 $COOR^2$;

R^{4g} 独立地是H、烷基、 CF_3 、OH或 OR^2 ;

且 R^{4e} 、 R^{4f} 或 R^{4g} 中的不超过一个可以是H;

或当 R^{4e} 是OH、 NH_2 或NHMe且 R^{4f} 是 NH_2 时, R^{4e} 和 R^{4f} 形成含有羰基基团或(CO) CH_2 基团的5或6元杂环,使得用羰基基团或(CO) CH_2 基团将 R^{4f} 的氮桥连至 R^{4e} 的氧或氮;

R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基;

R^3 独立地是H、 CH_3 、OH、(CO) H、COMe、 SO_2Me 、 $COCH_2NH_2$ 、 CH_2COOH 或 CH_2COOR^2 ;且

X是卤基羟基基团,其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At;

其中所述O-保护基选自COMe、t-BuSi(CH_3)₂、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基(SEM)、CH(OEt) CH_3 、四氢吡喃基或C(OEt)(CH_3)₂。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中在式(II)和(IV)中的X是卤基。

3. 根据权利要求1所述的方法,其中在式(II)和(IV)中的X是羟基。

4. 根据权利要求2所述的方法,其中式(IV)的化合物经历与以下之一的偶联反应:

a) R^{1a} -取代的硼酸化合物或酯;

b) R^{1a} -取代的三氟硼酸盐化合物;或

c) R^{1a} -取代的有机锡烷化合物;

以形成式(I)的化合物,

其中 R^{1a} 选自烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基或2-炔基。

5. 根据权利要求3所述的方法,其中所述羟基基团被转化成三氟甲基磺酸酯(三氟甲磺酸酯)基团以形成式(IV)的三氟甲基磺酸酯,且式(IV)的三氟甲基磺酸酯经历与以下之一的偶联反应:

a) R^{1a} -取代的硼酸化合物或酯;

b) R^{1a} -取代的三氟硼酸盐化合物;或

c) R^{1a} -取代的有机锡烷化合物

以形成式(I)的化合物,

其中 R^{1a} 选自烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基或2-炔基。

6. 根据权利要求4或5所述的方法,其中所述 R^{1a} -取代的硼酸化合物是 R^{1a} -取代的硼酸频哪醇酯。

7. 根据权利要求4或5所述的方法,其中所述 R^{1a} -取代的有机锡烷化合物是 R^{1a} -取代的三丁基锡烷。

8. 根据权利要求4或5所述的方法,其中所述 R^{1a} -取代的三氟硼酸盐化合物是 R^{1a} -取代的三氟硼酸钾。

9. 根据权利要求4-8中的任一项所述的方法,其中 R^{1a} 选自烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、苄基或2-烯基。

10. 根据权利要求4-9中的任一项所述的方法,其中 R^{1a} 是选自 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 和 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 的异戊二烯基基团。

11. 根据权利要求4-6中的任一项所述的方法,其中所述 R^{1a} -取代的硼酸化合物选自3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯、巴豆基硼酸频哪醇酯、烯丙基硼酸频哪醇酯和苄基硼酸频哪醇酯。

12. 根据权利要求4-10中的任一项所述的方法,其中所述偶联反应由钯化合物催化。

13. 根据权利要求4-12中的任一项所述的方法,其中所述偶联反应由选自四(三苯基膦)钯(0)和1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)的钯化合物催化。

14. 根据权利要求4-13中的任一项所述的方法,其中所述偶联反应在有碱存在下由钯催化剂催化。

15. 根据权利要求14所述的方法,其中所述碱选自碱金属碳酸盐,包括碳酸钾(K_2CO_3);碳酸氢盐;碳酸钙;碳酸镁;和烷基胺,包括三乙胺。

16. 根据权利要求4-5和6中的任一项所述的方法,其中式(IV)的化合物在有碱、优选碳酸钾存在下经历由四(三苯基膦)钯(0)催化的与 R^{1a} -取代的硼酸频哪醇酯的偶联反应,其中 R^{1a} 选自异戊二烯基、巴豆基、烯丙基或苄基基团。

17. 根据权利要求4-5和7中的任一项所述的方法,其中式(IV)的化合物经历由1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)催化的与 R^{1a} -取代的三丁基锡烷的偶联反应,其中 R^{1a} 选自异戊二烯基、巴豆基、烯丙基或苄基基团。

19. 根据权利要求1-17中的任一项所述的方法,其中

在式(I)中:

R^{1a} 独立地是烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、苄基或2-烯基;

R^{1b} 独立地是OH、 OR^2 或NHC(O)Me;

R^{1c} 是H;

R^{1d} 独立地是OH、 NHR^3 、NHC(O)H或 NO_2 ;

R^{1e} 独立地是OH、 OR^2 、 NMe_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、NHC(O)H或 SR^2 ;

R^{1f} 独立地是H、OH、 NO_2 、 OR^2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或COOH;

R^{1g} 独立地是H、烷基、OH或 OR^2 ;

且 R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的不超过一个可以是H;

或当 R^{1e} 是OH、 NH_2 或NHMe且 R^{1f} 是 NH_2 时, R^{1e} 和 R^{1f} 形成含有羰基基团的5或6元杂环,使得用羰基基团将 R^{1f} 的氮桥连至 R^{1e} 的氧或氮;

R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基或当 R^2 连接至O时是O-保护基,其中所述O-保护基选自COMe、t-BuSi(CH₃)₂、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基(SEM)、CH(OEt)CH₃、四氢吡喃基或C(OEt)(CH₃)₂;

R^3 独立地是H、CH₃、OH、(CO)H、(CO)Me、SO₂Me、CO(CH₂)_nNH₂、CH₂COOR²、CO(CH₂)_nCOOH或COCOR⁴,其中n是0、1或2;且

R^4 是C₁-C₆烷基;

在式II(模块A)中:

R^{2b} 是OH或 OR^2 ;

R^{2c} 是H;

R^{2d} 独立地是OH或 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 或COOR²;

X是卤基或羟基基团,其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At;

R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或O-保护基;

R^3 独立地是H、OH、CH₃、(CO)H、COMe、SO₂Me、COCH₂NH₂或CH₂COOR²;且

在式III(模块B)中:

R^{3e} 独立地是OH、 OR^2 、 NO_2 、NHMe、NMe₂、NHR³NMeR³或SR²;

R^{3f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、NHR³、NHC=NH(NH₂)、COOH或COOR²;

R^{3g} 独立地是H、烷基、OH或 OR^2 ;

且 R^{3e} 、 R^{3f} 或 R^{3g} 中的不超过一个可以是H;

或当 R^{3e} 是OH、NH₂或NHMe且 R^{3f} 是NH₂时, R^{3e} 和 R^{3f} 形成含有羰基基团或(CO)CH₂基团的5或6元杂环,使得用羰基基团或(CO)CH₂基团将 R^{3f} 的氮桥连至 R^{3e} 的氧或氮;

R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基;

R^3 独立地是H、CH₃、OH、(CO)H、COMe、SO₂Me、COCH₂NH₂、CH₂COOH或CH₂COOR²;且

在式IV(模块C)中:

R^{4b} 是OH或 OR^2 、NHC(O)Me;

R^{4c} 是H;

R^{4d} 独立地是OH或 OR^2 、 NO_2 或NHR³、NMeR³;

R^{4e} 独立地是OH、 OR^2 、 NO_2 、NMe₂、NHR³或NMeR³、NHC(O)H或SR²;

R^{4f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、NHR³、NHC=NH(NH₂)、COOH或COOR²;

R^{4g} 独立地是H、烷基、CF₃、OH或 OR^2 ;

且 R^{4e} 、 R^{4f} 或 R^{4g} 中的不超过一个可以是H;

或当 R^{4e} 是OH、NH₂或NHMe且 R^{4f} 是NH₂时, R^{4e} 和 R^{4f} 形成含有羰基基团或(CO)CH₂基团的5或6元杂环,使得用羰基基团或(CO)CH₂基团将 R^{4f} 的氮桥连至 R^{4e} 的氧或氮;

R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基;

R^3 独立地是H、CH₃、OH、(CO)H、COMe、SO₂Me、COCH₂NH₂、CH₂COOH或CH₂COOR²;且

X是卤基或羟基基团,其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At。

20. 根据权利要求1-17中的任一项所述的方法,其中

在式(I)中:

R^{1a} 独立地是巴豆基、异戊二烯基、苄基、2-烯基;

R^{1b} 独立地是CF₃或 OR^2 或NHC(O)Me;

R^{1c} 是H;

R^{1d} 独立地是OH、NHR³或 NO_2 ;

R^{1e} 独立地是 OR^2 、NHR³或NMeR³或SR²;

R^{1f} 独立地是H、OH、 NO_2 、NHR³、NHC=NH(NH₂)或COOH;

R^{1g} 独立地是H、烷基、OH或 OR^2 ;

或当 R^{1e} 是OH、NH₂或NHMe且 R^{1f} 是NH₂时, R^{1e} 和 R^{1f} 形成含有羰基基团的5或6元杂环,使得用羰基基团将 R^{1f} 的氮桥连至 R^{1e} 的氧或氮;

R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基,

R^3 独立地是H、Me、(CO)H、(CO)Me、SO₂Me、CH₂COOR²、COCH₂NH₂或CO(CH₂)_nCOOH,其中n=0、1或2;且

在式II(模块A)中:

R^{2b} 独立地是CF₃、OH、 OR^2 、 NO_2 、NMe₂、NHEt、NMeEt、NHR³或NMeR³;

R^{2c} 独立地是H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苜基；

R^{2d} 独立地是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$ ；

X是卤基或羟基基团，其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At；

R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或O-保护基；

R^3 独立地是H、OH、 CH_3 、(CO)H、COMe、 SO_2Me 、 $COCH_2NH_2$ 或 CH_2COOR^2 ；且

在式III中：

R^{3e} 独立地是OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、(CO)H、 $NHC(O)H$ 或 SR^2 ；

R^{3f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 ；

R^{3g} 独立地是H、烷基、OH或 OR^2 ；

R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 保护O时是O-保护基，其中所述O-保护基选自COMe、t-BuSi(CH_3)₂、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEM)、CH(OEt) CH_3 、四氢吡喃基或C(OEt)(CH_3)₂；且

R^3 独立地是H、 CH_3 、(CO)H、COMe、 SO_2Me 、 CH_2COOR^2 或 $COCH_2NH_2$ ；且

在式IV中：

R^{4b} 独立地是 CF_3 、OH、 OR^2 或 $NHC(O)Me$ ；

R^{4c} 是H；

R^{4d} 独立地是OH、 NH_2 或 $NH(CO)H$ ；

R^{4e} 独立地是OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 或 SR^2 ；

R^{4f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 或 NHR^3 ；

R^{4g} 独立地是H、烷基、OH或 OR^2 ；

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基，其中所述O-保护基选自COMe、t-BuSi(CH_3)₂、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEM)、CH(OEt) CH_3 、四氢吡喃基或C(OEt)(CH_3)₂；

R^3 独立地是H、(CO)H、COMe、 SO_2Me 或 CH_2COOR^2 ；且

X是卤基或羟基基团，其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At。

21. 根据权利要求1-17中的任一项所述的方法，其中

在式(I)中：

R^{1a} 独立地是烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、苜基；

R^{1b} 独立地是 OR^2 或 $NHC(O)Me$ ；

R^{1c} 是H；

R^{1d} 独立地是OH、 NH_2 、 $NHC(O)H$ ；

R^{1e} 独立地是OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、(CO)H、SMe；

R^{1f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、COOH；

R^{1g} 是H、烷基、OH、 OR^2 ；

R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基，其中所述O-保护基选自COMe、t-BuSi(CH_3)₂、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEM)、CH(OEt) CH_3 、四氢吡喃基或C(OEt)(CH_3)₂；

R^3 独立地是H、 CH_3 、OH、(CO)H、(CO)Me、 SO_2Me 、 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ ，其中n是0、1或2；且

在式II中:

R^{2b} 独立地是 CF_3 、OH或 OR^2 ;

R^{2c} 是H,

R^{2d} 独立地是OH或 NH_2 或 $NHC(O)H$;

X是卤基或羟基基团,其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At;

卤基选自F、Cl、Br、I和At;

R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基,其中所述O-保护基选自 $(CO)Me$ 、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEM)、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$;且

在式III中:

R^{3e} 独立地是OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 或 SR^2 ;

R^{3f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 或 NHR^3 ;

R^{3g} 独立地是H、烷基、OH或 OR^2 ;

R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 保护O时是O-保护基,其中所述O-保护基选自 $(CO)Me$ 、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEM)、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$;且

R^3 独立地是H、 CH_3 、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOR^2 或 $COCH_2NH_2$;且

在式IV中:

R^{4b} 独立地是 CF_3 、OH或 OR^2 ;

R^{4c} 是H;

R^{4d} 独立地是OH、 NH_2 、或 $NH(CO)H$;

R^{4e} 独立地是OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 或 SR^2 ;

R^{4f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 或 NHR^3 ;

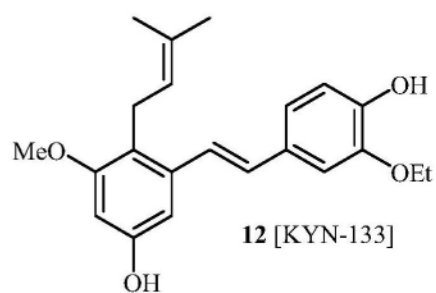
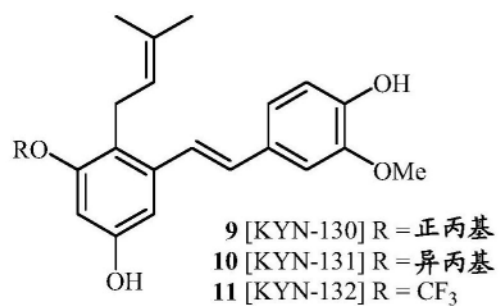
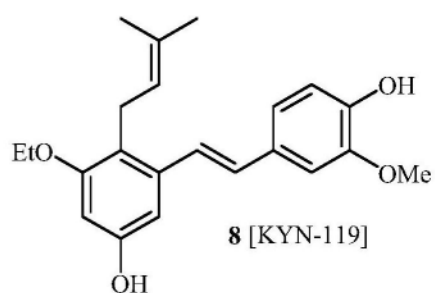
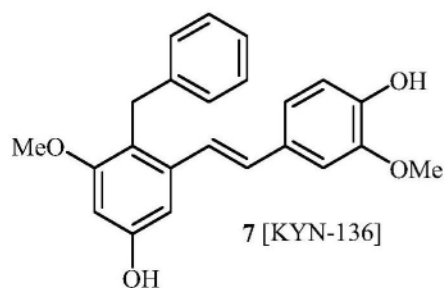
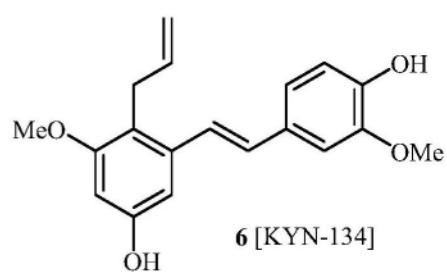
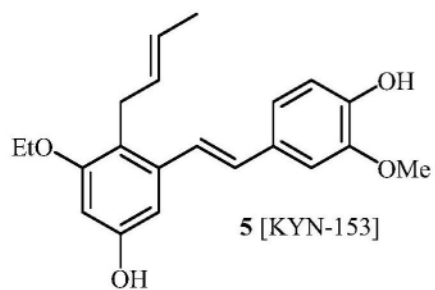
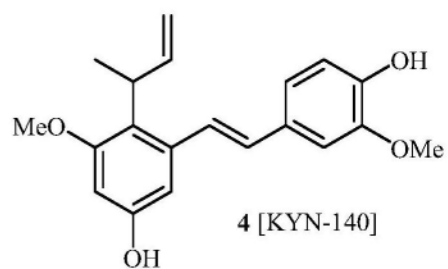
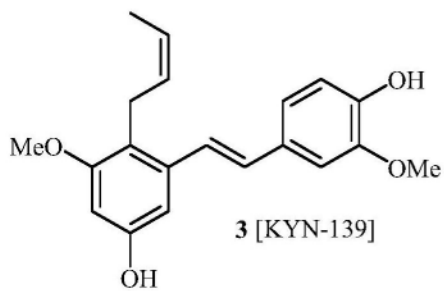
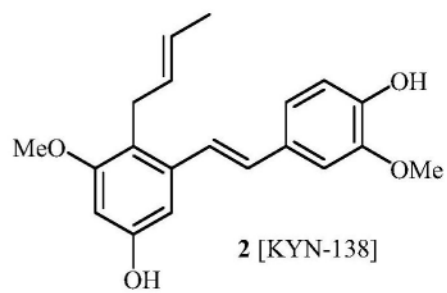
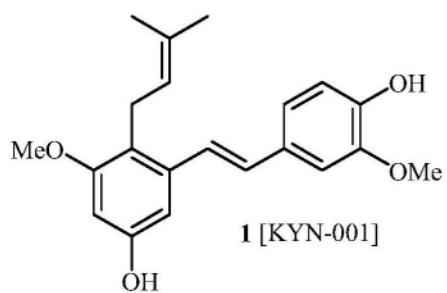
R^{4g} 独立地是H、烷基、OH或 OR^2 ;

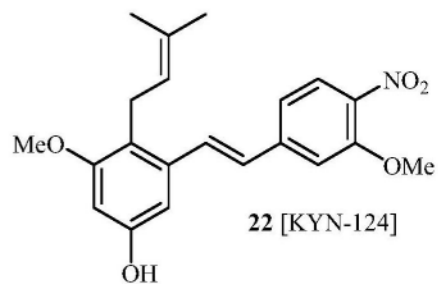
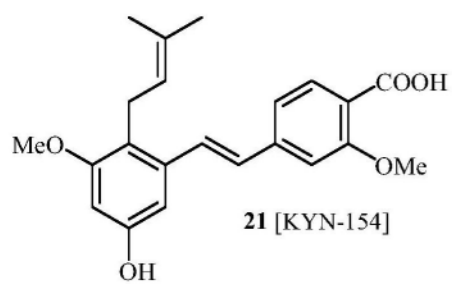
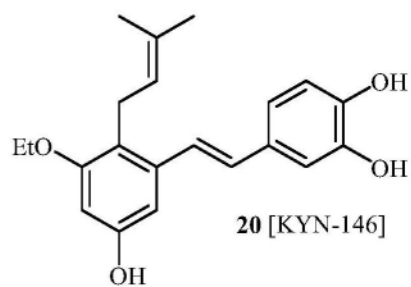
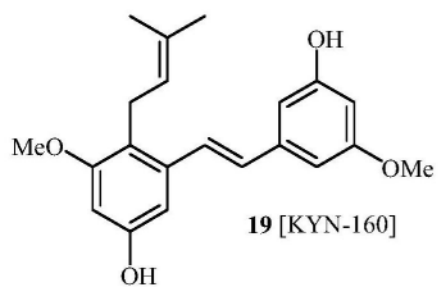
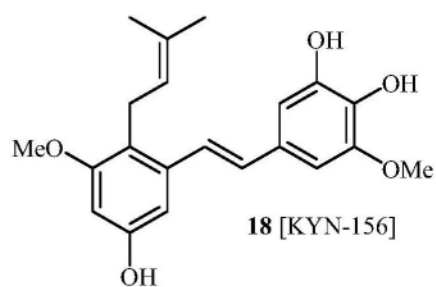
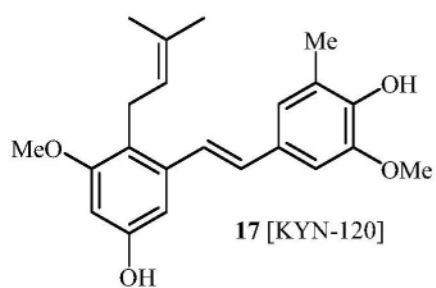
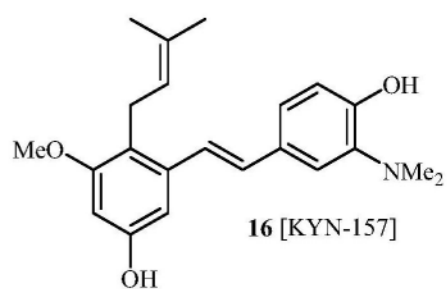
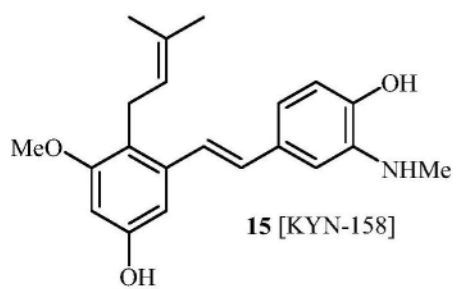
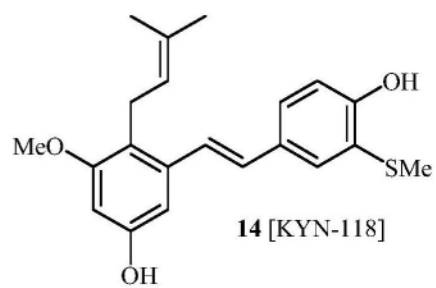
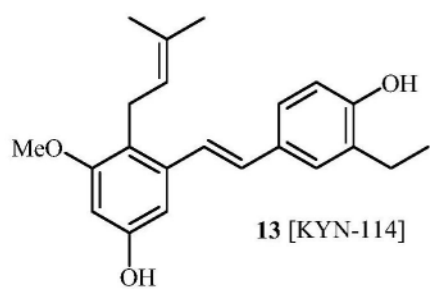
R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基,其中所述O-保护基选自 $(CO)Me$ 、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEM)、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$;

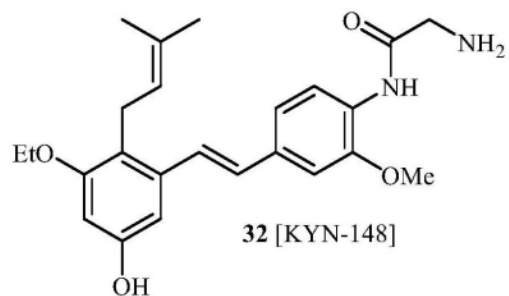
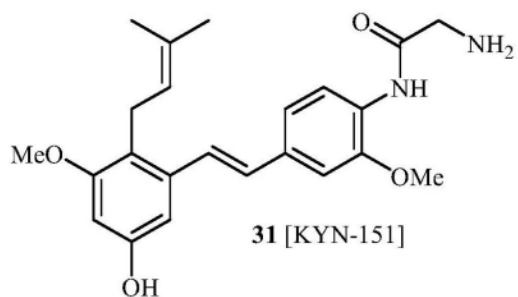
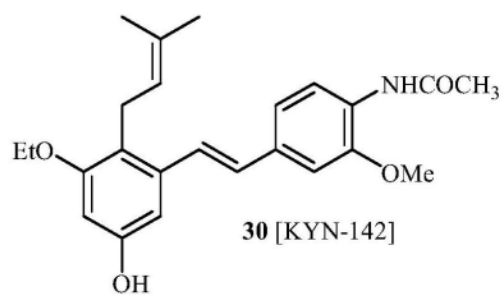
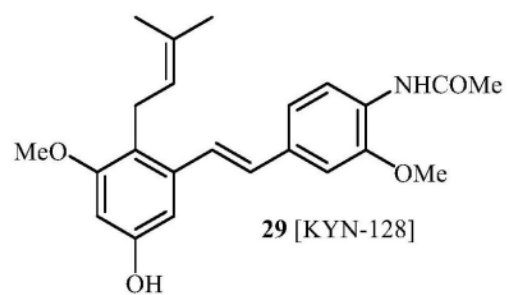
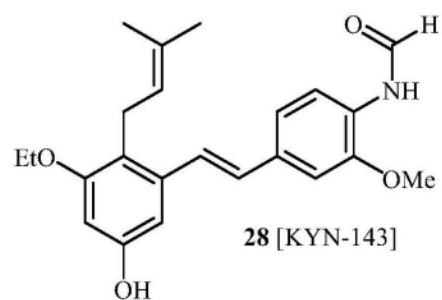
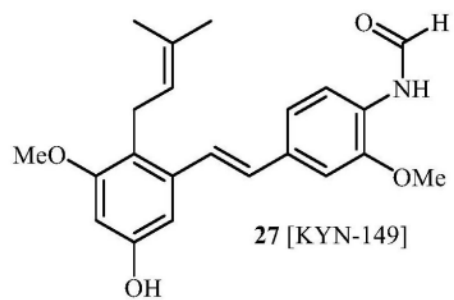
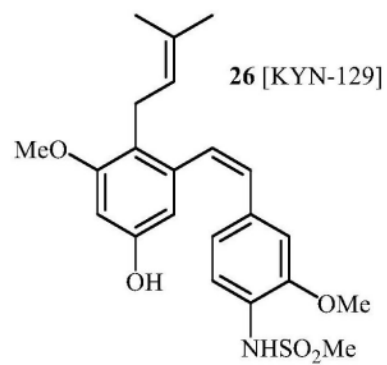
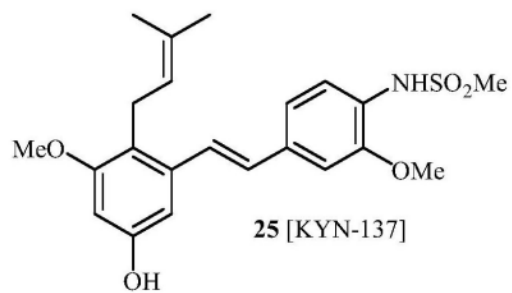
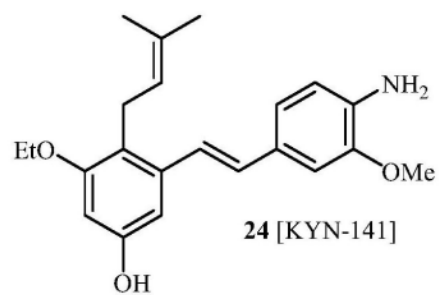
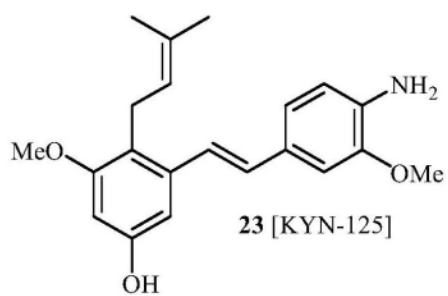
R^3 独立地是H、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 或 CH_2COOR^2 ;且

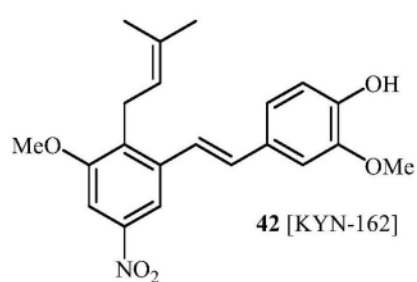
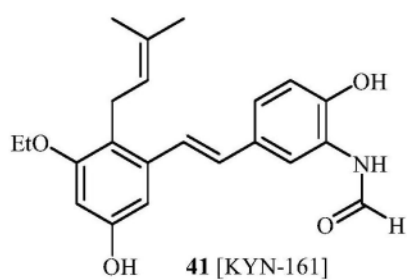
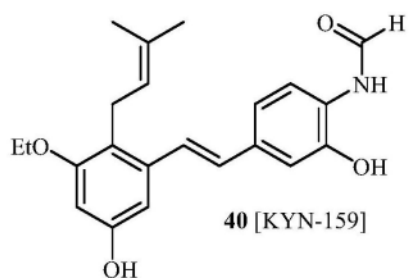
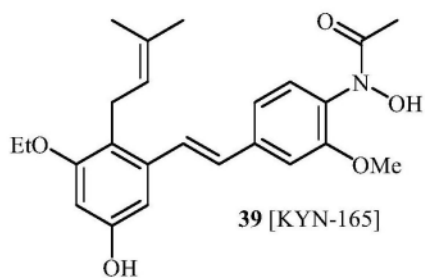
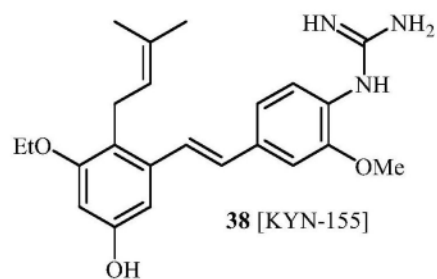
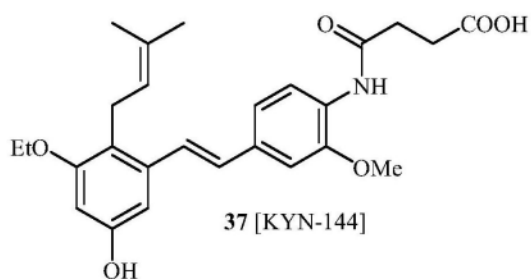
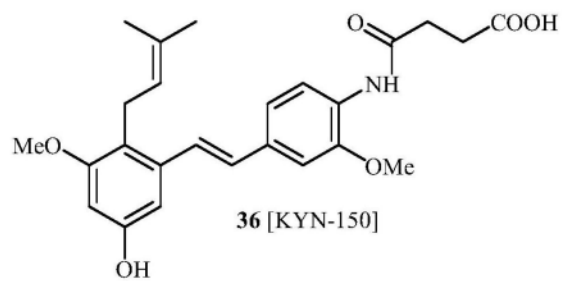
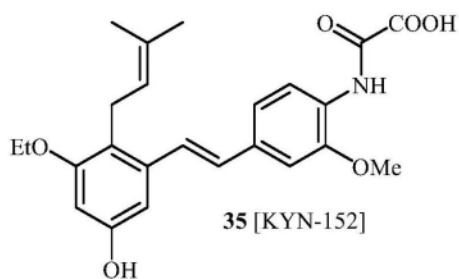
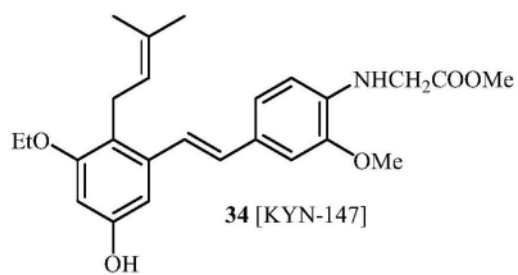
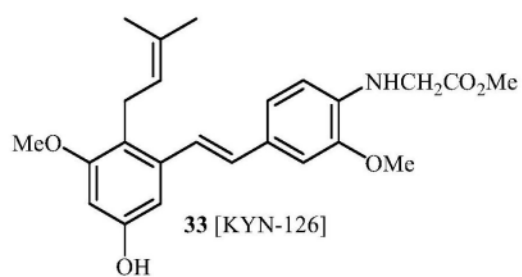
X是卤基(Hal)或羟基基团,其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At。

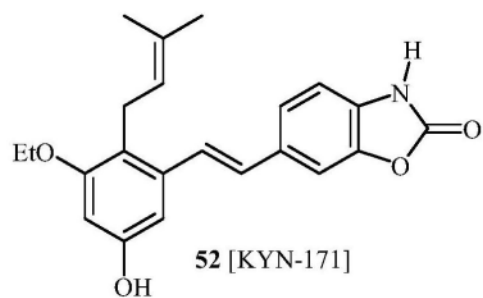
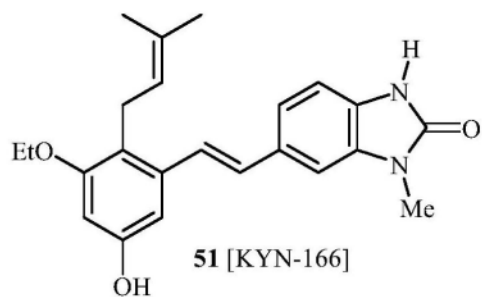
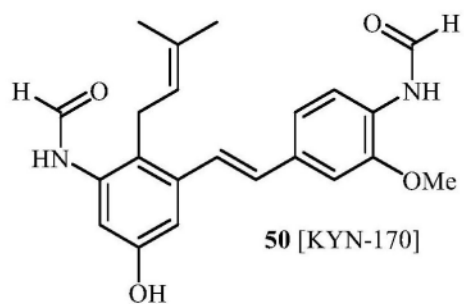
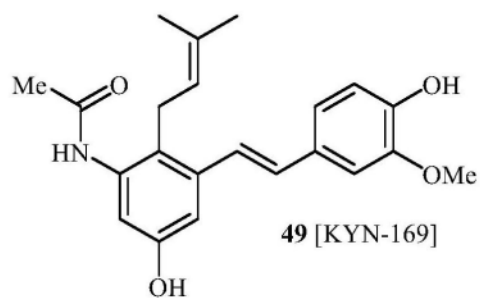
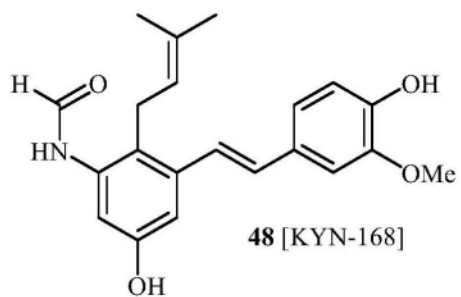
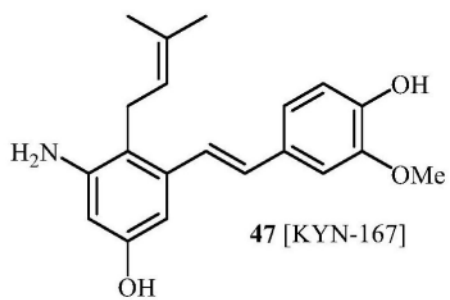
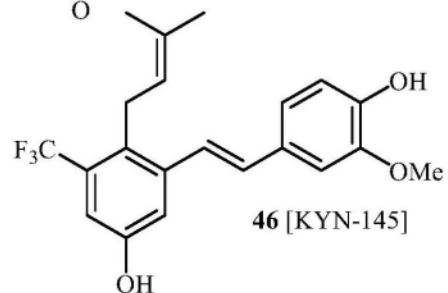
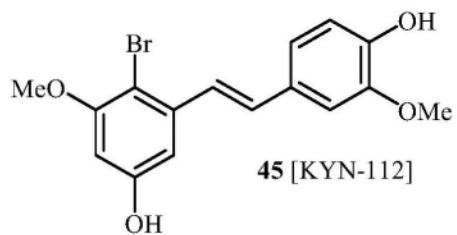
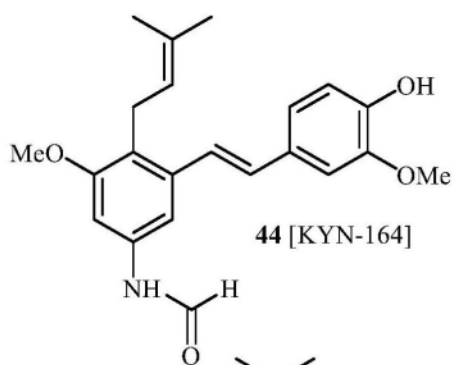
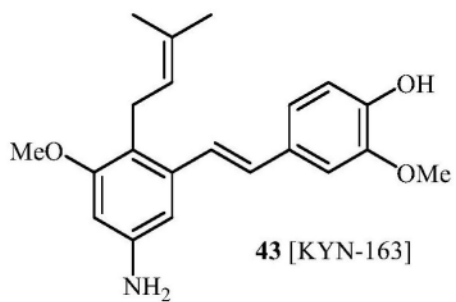
22. 根据权利要求1-17中的任一项所述的方法,其中根据式(I)的化合物选自:











23. 根据权利要求1-17中的任一项所述的方法，
其中在式(I)中：

R^{1a} 是烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、苄基或2-烯基

R^{1b} 是 OR^2 或 $NHC(O)H$,

R^{1c} 是H;

R^{1d} 是OH;

R^{1e} 是 OR^2 ;

R^{1f} 是 NO_2 、 NHR^3 或 $NHC=NH(NH_2)$;

R^{1g} 是H;

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基或叔丁基;

R^3 是H、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 或 $CO(CH_2)_nCOOH$ (其中 $n=0,1$ 或 2);

在式II中:

R^{2b} 是 CF_3 、OH或 OR^2 ;

R^{2c} 是H,

R^{2d} 是OH或 NH_2 、 $NH(CO)H$;

Hal是选自F、Cl、Br、I和At的卤基;

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基,其中所述O-保护基选自COMe、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEM)、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$;且

在式III中:

R^{3e} 是OH、 OR^2 ;

R^{3f} 是 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$;

R^{3g} 是H;

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基,且

R^3 是H、 $(CO)H$ 、COMe、 SO_2Me 或 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ (其中 $n=0,1$ 或 2);且

在式IV中:

R^{4b} 是 OR^2 、 $NHC(O)Me$;

R^{4c} 是H;

R^{4d} 是OH;

R^{4e} 是 OR^2 ;

R^{4f} 是 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$;

R^{4g} 是H;

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基,

R^3 是H、 $(CO)H$ 、COMe、 SO_2Me 或 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$,且

Hal是选自F、Cl、Br、I和At的卤基;

其中在有碱存在下在钨催化剂催化下,使式IV与选自3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯、巴豆基硼酸频哪醇酯、烯丙基硼酸频哪醇酯和苄基硼酸频哪醇酯的 R^{1a} 硼酸频哪醇酯偶联,以产生式(I)的化合物。

24. 根据权利要求22所述的方法,其中

在式(I)中:

R^{1a} 是巴豆基、异戊二烯基、;

R^{1b} 是 OR^2 ;

R^{1c} 是 H;

R^{1d} 是 OH;

R^{1e} 是 OR^2 ;

R^{1f} 是 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$;

R^{1g} 是 H;

R^2 是甲基、乙基;

R^3 是 H、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ (其中 $n=0,1$ 或 2);

在式 II 中:

R^{2b} 是 OH 或 OR^2 ;

R^{2c} 是 H;

R^{2d} 是 OH;

Hal 是 Br;

R^2 是甲基、乙基; 且

在式 III 中:

R^{3e} 是 OH、 OR^2 ;

R^{3f} 是 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$;

R^{3g} 是 H;

R^2 是甲基、乙基, 且

R^3 是 H、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 或 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ (其中 $n=0,1$ 或 2); 且

在式 IV 中:

R^{4b} 是 OR^2 ;

R^{4c} 是 H;

R^{4d} 是 OH;

R^{4e} 是 OR^2 ;

R^{4f} 是 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$;

R^{4g} 是 H;

R^2 是甲基、乙基,

R^3 是 H、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 或 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$, 且

卤基是 Br;

其中在有碱存在下在钨催化剂催化下, 使式 IV 与选自 3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯、巴豆基硼酸频哪醇酯、烯丙基硼酸频哪醇酯和苄基硼酸频哪醇酯的 R^{1a} 硼酸频哪醇酯偶联, 以产生式 (I) 的化合物。

25. 根据权利要求 22 或 23 所述的方法, 其中根据式 (I) 的化合物选自:

化合物 22、23、24、25、27、28、29、30、31、36、24、33、34、35、36、37、38、39、40、50。

26. 根据权利要求 1-17 中的任一项所述的方法, 其中所述式 (IV) 或 (I) 的化合物经历一个或多个进一步的反应, 所述反应选自以下中的一个或多个:

与式 (IV) 或式 (I) 上的一个或多个 $-NH_2$ 、 NO_2 和/或 $-OH$ 取代基反应;

通过在有碱, 诸如三乙胺存在下含有 OH 取代基的化合物与氯代氧代乙酸甲酯的反应,

将-OH取代基转化成甲氧基氧代乙酰氨基 (-NHC(O)C(O)OCH₃) 取代基;

通过在有碱, 诸如三乙胺存在下含有NH₂取代基的化合物与氯代氧代乙酸甲酯的反应, 将一个或多个-NH₂取代基转化成草酸甲酯取代基;

通过含有N甲氧基氧代乙酰氨基取代基的化合物与碱, 例如LiOH的反应, 将一个或多个甲氧基氧代乙酰氨基取代基水解成-NHC(O)C(O)OH取代基;

通过含有草酸甲酯取代基的化合物与碱, 例如LiOH的反应, 将一个或多个草酸甲酯取代基水解成-OH取代基;

通过在有酸, 诸如对甲苯磺酸存在下含有NH₂取代基的化合物与氰胺的反应, 将一个或多个-NH₂取代基转化成胍 (-NHC(NH)NH₂) 取代基;

通过含有NH₂取代基的化合物与甲酸乙酯的反应, 将一个或多个-NH₂取代基转化成甲酰胺 (-NHC(O)H) 取代基;

通过在有碱诸如DIPEA (二异丙基乙胺) 存在下含有NH₂取代基的化合物与乙酸酐的反应, 将一个或多个-NH₂取代基转化成乙酰氨基 (-NHC(O)CH₃) 取代基;

通过在有碱诸如DIPEA (二异丙基乙胺) 存在下含有NH₂取代基的化合物与琥珀酸酐的反应, 将一个或多个-NH₂取代基转化成酰胺衍生物 (-NHC(O)CH₂CH₂C(O)OH) 取代基;

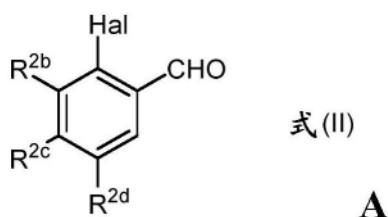
通过在有三乙酰氧基硼氢化物存在下含有NH₂取代基的化合物与甲醛的反应, 将一个或多个-NH₂取代基转化成甲胺取代基 (-NHMe);

通过在有碱诸如DIPEA (二异丙基乙胺) 存在下含有-OH取代基的化合物与乙酸酐的反应, 将一个或多个-OH取代基转化成乙酸酯 (-OC(O)CH₃) 取代基;

通过含有乙酸酯取代基的化合物与碱, 例如LiOH的反应, 将一个或多个乙酸酯取代基水解以形成-OH取代基;

通过例如在有氯化铵存在下含有NO₂取代基的化合物与Zn的反应, 将一个或多个-NO₂取代基还原成胺取代基。

27. 根据权利要求1-26中的任一项所述的方法, 其中根据式(II)的化合物是



其中

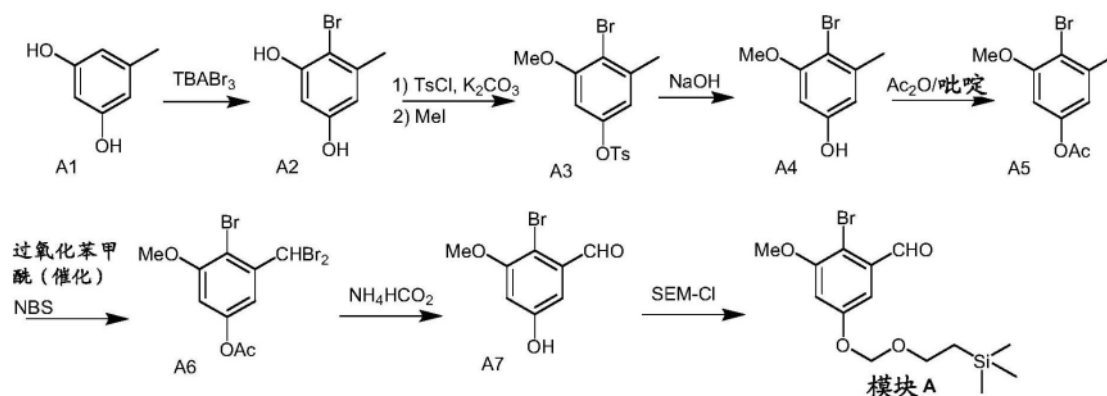
R^{2b} = OMe

R^{2d} = OH或OSEM

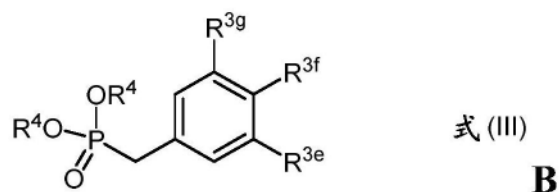
R^{2c} = H

Hal是Br。

28. 根据权利要求27所述的方法, 其中根据式(II)的化合物是模块A并根据下述方法来制备:



29. 根据权利要求1-26中的任一项所述的方法, 其中根据式(III)的化合物是



其中

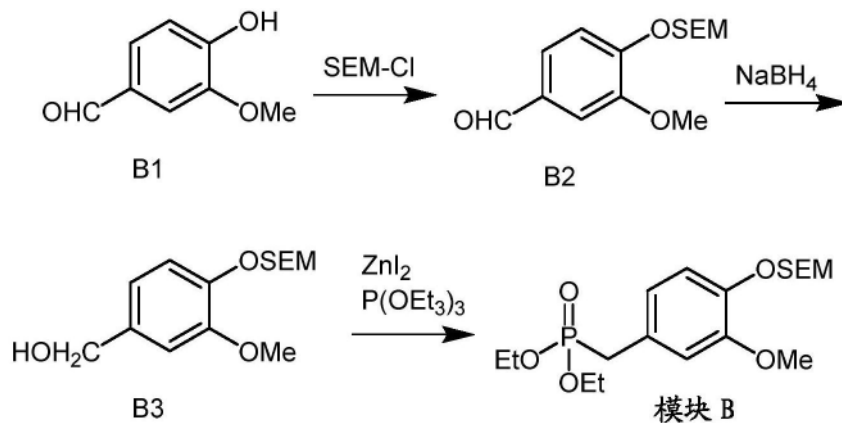
$R^{3g} = H$

$R^{3f} = OSEM$

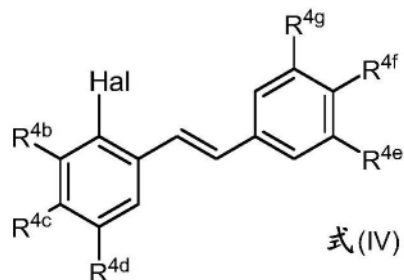
$R^{3e} = OMe$

$R^4 = Et$ 。

30. 根据权利要求29所述的方法, 其中根据式(III)的化合物是模块B并根据下述方法来制备:



31. 根据权利要求1-26中的任一项所述的方法, 其中根据式(IV)的化合物是



其中

$R^{4b} = \text{OMe}$

$R^{4c} = \text{H}$

$R^{4d} = \text{OSEM}, \text{OH}$

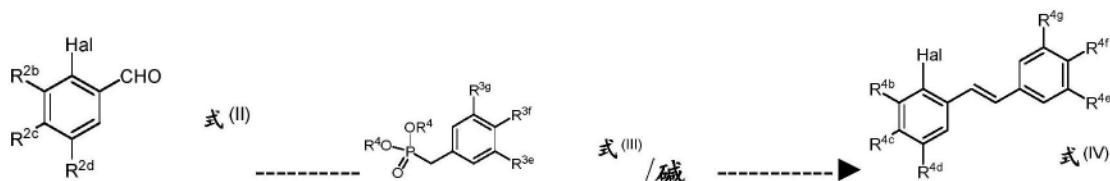
$R^{4g} = \text{H}$

$R^{4e} = \text{OMe}$

$R^{4f} = \text{OSEM}$

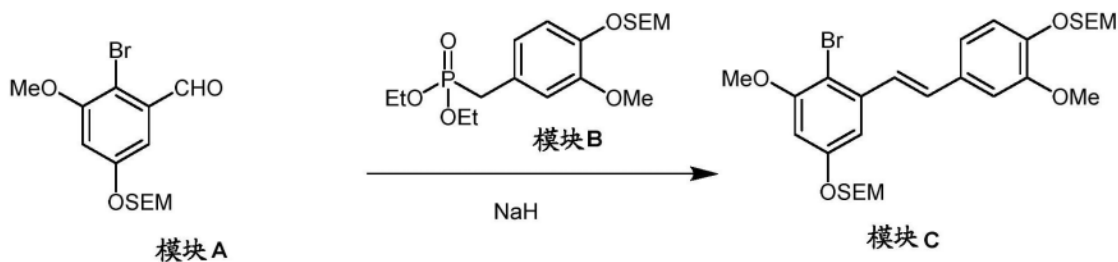
$\text{Hal} = \text{Br}$ 。

32. 根据权利要求1-26中的任一项所述的方法, 其中根据下述方法制备根据式(IV)的化合物:



其中所述碱选自NaH。

33. 根据权利要求31所述的方法, 其中根据以下, 式(II)是模块A, 式(III)是模块B, 且式(IV)是模块C:

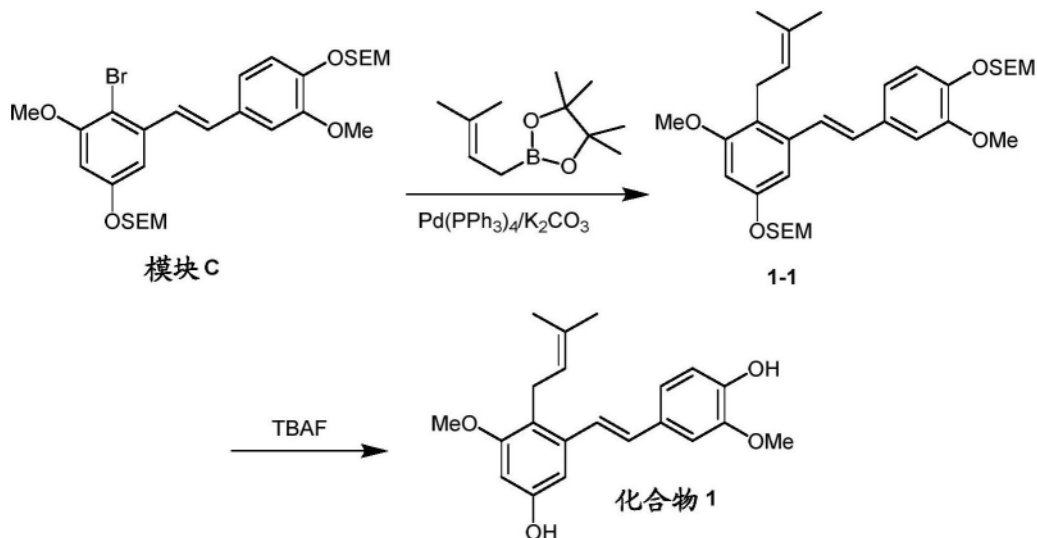


34. 根据权利要求33所述的方法, 其中:

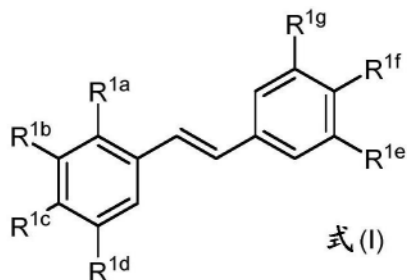
根据以下

i) 在有四(三苯基膦)钯(0)和碳酸钾存在下使模块C与3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯偶联以提供化合物1.1;

ii) 将化合物1.1用四丁基氟化铵处理以提供化合物1,



35. 通过根据权利要求1-34中的任一项所述的方法制备的根据式(I)的化合物



其中:

R^{1a} 是Ha1、烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基、2-炔基;

R^{1b} 是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NO_2 、 $NHEt$ 、 NMe_2 、 $NMeEt$ 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

R^{1c} 是H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基;

R^{1d} 是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NHR^3 、 NO_2 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

R^{1e} 是H、 C_1-C_6 烷基、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ;

R^{1f} 是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOR^2$ 、 $COOH$;

R^{1g} 是H、烷基、 CF_3 、OH或 OR^2 ;

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、 $COCOR^4$ 或O-保护基,其中所述O-保护基选自 $COMe$ 、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基(SEM)缩醛、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$;

R^3 是H、 CH_3 、OH、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOH 、 CH_2COOR^2 、 $CO(CH_2)_nNH_2$ 、 $CONH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ 或 $COCOR^4$ (其中 $n=0,1$ 或 2);

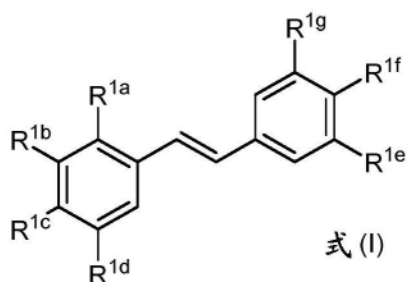
R^4 是 C_1-C_6 烷基;且

Ha1是选自F、Cl、Br、I和At的卤基;

R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是H;且

当 R^{1e} 是OH、 NH_2 或 $NHMe$ 且 R^{1f} 是 NH_2 时, R^{1f} 的氮与羰基基团或 $(CO)CH_2$ 基团一起桥连至 R^{1e} 的氧或氮以形成5或6元杂环。

36. 根据式(I)的化合物



其中:

R^{1a} 是Ha1、烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基、2-炔基;

R^{1b} 是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NO_2 、 $NHEt$ 、 NMe_2 、 $NMeEt$ 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

R^{1c} 是H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基;

R^{1d} 是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

R^{1e} 是H、 C_1-C_6 烷基、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ;

R^{1f} 是 H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOR^2$ 、 $COOH$;

R^{1g} 是 H、烷基、 CF_3 、OH 或 OR^2 ;

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、 $COCOR^4$ 或 O-保护基, 其中所述 O-保护基选自 $COMe$ 、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基 (SEM) 缩醛、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$;

R^3 是 H、 CH_3 、OH、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOH 、 CH_2COOR^2 、 $CO(CH_2)_nNH_2$ 、 $CONH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ 或 $COCOR^4$ (其中 $n=0, 1$ 或 2);

R^4 是 C_1-C_6 烷基; 且

Hal 是选自 F、Cl、Br、I 和 At 的卤基;

R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是 H,

当 R^{1e} 是 OH、 NH_2 或 $NHMe$ 且 R^{1f} 是 NH_2 时, R^{1f} 的氮与羰基基团或 $(CO)CH_2$ 基团一起桥连至 R^{1e} 的氧或氮以形成 5 或 6 元杂环;

前提条件是,

当 R^{1a} 或 R^{1c} 是异戊二烯基、 R^{1d} 是 OH、 R^{1f} 是 OH、 R^{1g} 是 H 且 R^{1e} 是 OH、OMe 或 OEt 时, 则 R^{1b} 不可以是 OR, 其中 R=甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基或苄基。

37. 根据权利要求 36 所述的式 (I) 的化合物, 其中:

R^{1a} 是烯丙基、异戊二烯基、苄基、2-烯基;

R^{1b} 是 CF_3 、OH 或 OR^2 ;

R^{1c} 是 H;

R^{1d} 是 OH、 NH_2 、 $N(CO)H$;

R^{1e} 是 OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 $(CO)H$ 、 SMe ;

R^{1f} 是 H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOH$;

R^{1g} 是 H、烷基、OH;

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基;

R^3 是 H、 CH_3 、OH、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ (其中 $n=0, 1$ 或 2);

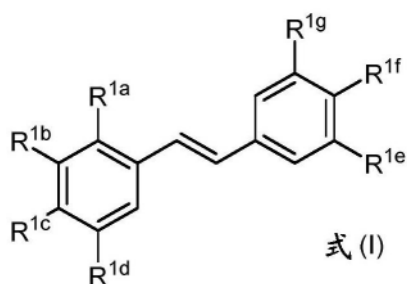
前提条件是,

当 R^{1a} 或 R^{1c} 是异戊二烯基, R^{1d} 是 OH, R^{1f} 是 OH, R^{1g} 是 H 且 R^{1e} 是 OH、OMe 或 OEt 时, 则 R^{1b} 不可以是 OR, 其中 R=甲基、乙基、异丙基、丙基、丁基、异丁基、叔丁基或苄基。

38. 根据权利要求 36 或 37 所述的化合物, 其中式 (I) 是选自以下的化合物:

化合物 KYN 154、132、145、138、139、140、153、134、136、124、125、126、128、129、137、149、150、151、141、147、143、142、144、148、152、155、114、118、158、157、120、156、160、159、161、S16、S17。

39. 根据式 (I) 的化合物



其中：

R^{1a} 是 $Ha1$ 、烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基、2-炔基；

R^{1b} 是 CF_3 、 OH 或 OR^2 、 NO_2 、 $NHEt$ 、 NMe_2 、 $NMeEt$ 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$ ；

R^{1c} 是 H 、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基；

R^{1d} 是 CF_3 、 OH 或 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$ ；

R^{1e} 是 H 、 C_1-C_6 烷基、 OH 、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ；

R^{1f} 是 H 、 OH 、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOR^2$ 、 $COOH$ ；

R^{1g} 是 H 、烷基、 CF_3 、 OH 或 OR^2 ；

其中 R^{1b} 或 R^{1d} 中的至少一个是 CF_3 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$ ；

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、 $COCOR^4$ 或 O -保护基，其中所述 O -保护基选自 $COMe$ 、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基 (SEM) 缩醛、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$ ；

R^3 是 H 、 CH_3 、 OH 、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOH 、 CH_2COOR^2 、 $CO(CH_2)_nNH_2$ 、 $CONH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ 或 $COCOR^4$ (其中 $n=0, 1$ 或 2)；

R^4 是 C_1-C_6 烷基；且

$Ha1$ 是选自 F 、 Cl 、 Br 、 I 和 At 的卤基；

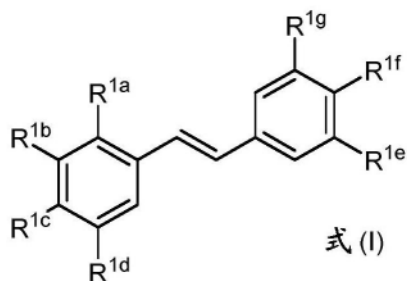
R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是 H ，

当 R^{1e} 是 OH 、 NH_2 或 $NHMe$ 且 R^{1f} 是 NH_2 时， R^{1f} 的氮与羰基基团或 $(CO)CH_2$ 基团一起桥连至 R^{1e} 的氧或氮以形成 5 或 6 元杂环。

40. 根据权利要求 39 所述的化合物，其中式 (I) 是选自以下的化合物：

KYN-132、145、S16、S17。

41. 式 (I) 的化合物



其中：

R^{1a} 是 $Ha1$ 、烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基、2-炔基；

R^{1b} 是 CF_3 、 OH 或 OR^2 、 NO_2 、 $NHMe$ 、 $NHEt$ 、 NMe_2 、 $NMeEt$ 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$ 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$ ；

R^{1c} 是 H 、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基；

R^{1d} 是 CF_3 、OH 或 OR^2 、 NHR^3 、 NO_2 、 NH_2 、 $NHMe$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

R^{1e} 是 OH、 OR^2 ;

R^{1f} 是 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOR^2$ 、 $COOH$ 、 $NHSO_2Me$ 、 $NHC(O)(CH_2)COOH$ 、 $NHC(O)COOH$ 、 $NHC(O)(CH_2)NNH_2$ 、 $NHC(O)CH_2NH_2$ 、 $NHCH_2COOMe$ 、 $NHC(O)H$ 、 $NHC(O)CH_3$ 、 $NHC(O)(CH_2)_2COOH$ 、 $NHC(NH)NH_2$;

R^{1g} 是 H;

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或 O-保护基, 其中所述 O-保护基选自 $COMe$ 、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基 (SEM) 缩醛、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$;

R^3 是 H、 CH_3 、OH、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOH 、 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CONH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ 、 $CO(CH_2)_nCOOR^4$ (其中 $n=0, 1$ 或 2);

R^4 是 C1-C6 烷基;

Hal 是选自 F、Cl、Br、I 和 At 的卤基;

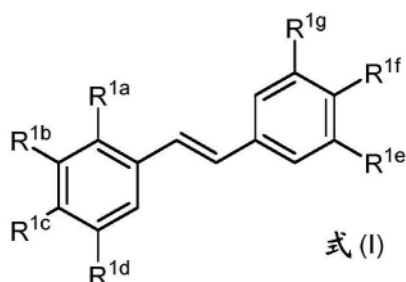
R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是 H, 且

当 R^{1e} 是 OH、 NH_2 或 $NHMe$ 且 R^{1f} 是 NH_2 时, R^{1f} 的氮与羰基基团或 $(CO)CH_2$ 基团一起桥连至 R^{1e} 的氧或氮以形成 5 或 6 元杂环。

42. 根据权利要求 41 所述的化合物, 其中式 (I) 是选自以下的化合物:

化合物 KYN-154、124、125、126、128、129、137、149、150、151、141、147、143、142、144、148、152、155、159。

43. 根据式 (I) 所述的化合物



其中:

R^{1a} 是 Hal、烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基、2-炔基;

R^{1b} 是 CF_3 、OH 或 OR^2 、 NO_2 、 $NHMe$ 、 $NHEt$ 、 NMe_2 、 $NMeEt$ 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$ 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

R^{1c} 是 H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基;

R^{1d} 是 CF_3 、OH 或 OR^2 、 NHR^3 、 NO_2 、 NH_2 、 $NHMe$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

R^{1e} 是 C_1-C_6 烷基、 NO_2 、 NH_2 、 $NHMe$ 、 NMe_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ;

R^{1f} 是 OH、 OR^2 ;

R^{1g} 是 H;

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或 O-保护基, 其中所述 O-保护基选自 $COMe$ 、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基 (SEM) 缩醛、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$;

R^3 是 H、 CH_3 、OH、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOH 、 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CONH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$

(其中 $n=0,1$ 或 2) ; 且

Ha1 是选自 F 、 Cl 、 Br 、 I 和 At 的卤基;

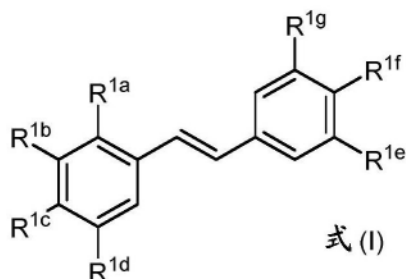
R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是 H ,

当 R^{1e} 是 OH 、 NH_2 或 NHMe 且 R^{1f} 是 NH_2 时, R^{1f} 的氮与羰基基团或 $(\text{CO})\text{CH}_2$ 基团一起桥连至 R^{1e} 的氧或氮以形成5或6元杂环。

44. 根据权利要求43所述的化合物, 其中式(I)是选自以下的化合物:

化合物KYN-114、118、158、157、161。

45. 根据式(I)所述的化合物



其中:

R^{1a} 是 Ha1 、烯丙基、巴豆基、香叶基、法呢基、苜基、2-烯基、2-炔基;

R^{1b} 是 CF_3 、 OH 或 OR^2 、 NO_2 、 NHMe 、 NHEt 、 NMe_2 、 NMeEt 、 NHR^3 、 NMeR^3 、 $\text{NHC}=\text{NH}(\text{NH}_2)$ 或 COOR^2 ;

R^{1c} 是 H 、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、香叶基、法呢基或苜基;

R^{1d} 是 CF_3 、 OH 或 OR^2 、 NHR^3 、 NO_2 、 NH_2 、 NHMe 、 $\text{NHC}=\text{NH}(\text{NH}_2)$ 或 COOR^2 ;

R^{1e} 是 H 、 OH 、 OR^2 、 NO_2 、 NH_2 、 NHMe 、 NMe_2 、 NHR^3 或 NMeR^3 、 SR^2 ;

R^{1f} 是 H 、 OH 、 OR^2 、 NO_2 、 NH_2 、 NHMe 、 NHR^3 、 $\text{NHC}=\text{NH}(\text{NH}_2)$ 、 COOR^2 、 COOH ;

R^{1g} 是 H 、烷基、 CF_3 、 OH 或 OR^2 ;

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、 $\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{OR}^4$ 或 O -保护基, 其中所述 O -保护基选自 COMe 、 $\text{t-BuSi}(\text{CH}_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基(SEM)缩醛、 $\text{CH}(\text{OEt})\text{CH}_3$ 、四氢吡喃基或 $\text{C}(\text{OEt})(\text{CH}_3)_2$;

R^3 是 H 、 CH_3 、 OH 、 $(\text{CO})\text{H}$ 、 $(\text{CO})\text{Me}$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOH 、 CH_2COOR^2 、 COCH_2NH_2 、 CONH_2 、 $\text{CO}(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ (其中 $n=0,1$ 或 2);

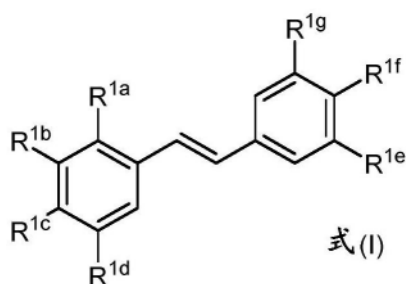
R^4 是 C1-C6 烷基; 且

Ha1 是选自 F 、 Cl 、 Br 、 I 和 At 的卤基;

R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是 H , 且

当 R^{1e} 是 OH 、 NH_2 或 NHMe 且 R^{1f} 是 NH_2 时, R^{1f} 的氮与羰基基团或 $(\text{CO})\text{CH}_2$ 基团一起桥连至 R^{1e} 的氧或氮以形成5或6元杂环。

46. 根据权利要求40所述的式(I)的化合物,



其中：

R^{1a} 是烯丙基、巴豆基、香叶基、法呢基、苜基、2-烯基、2-炔基；

R^{1b} 是 CF_3 、OH、 OR^2 ；

R^{1c} 是 H；

R^{1d} 是 OH 或 OR^2 、 NH_2 、 $NH(CO)H$ ；

R^{1e} 是 OR^2 、 R^4 、 NO_2 、 NH_2 、 $NHMe$ 、 NMe_2 、 SR^2 ；

R^{1f} 是 OH、 OR^2 、 NO_2 、 NH_2 、 $NHMe$ 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOR^2$ 、 $COOH$ ；

R^{1g} 是 H；

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、 $C(O)C(O)OR^4$ 或 O-保护基，其中所述保护基选自 $COMe$ 、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基 (SEM) 缩醛、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$ ；

R^3 是 H、 CH_3 、OH、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOH 、 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CONH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ (其中 $n=0, 1$ 或 2)；

R^4 是 C1-C6 烷基，

且

Hal 是选自 F、Cl、Br、I 和 At 的卤基；

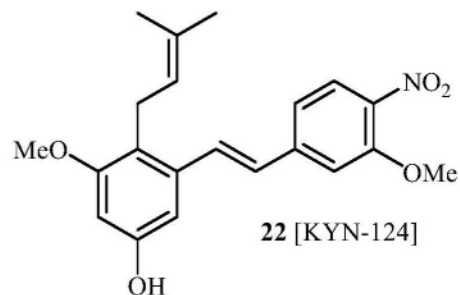
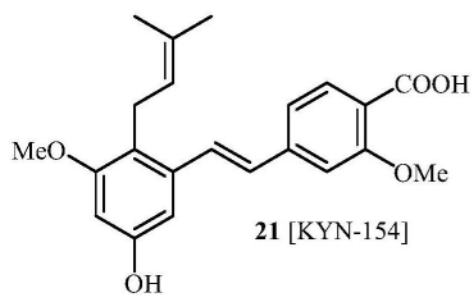
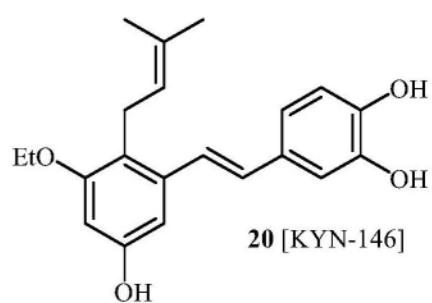
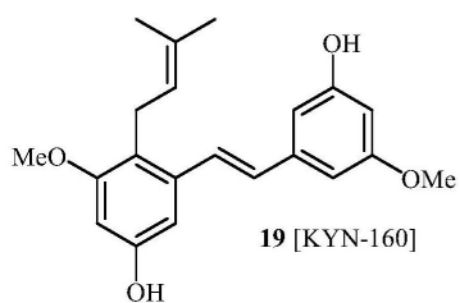
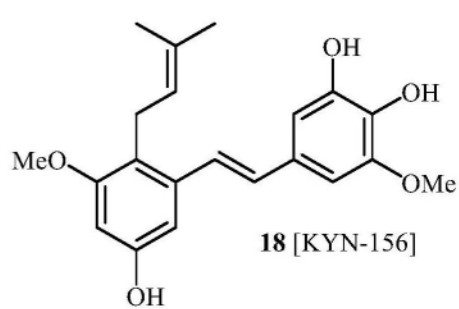
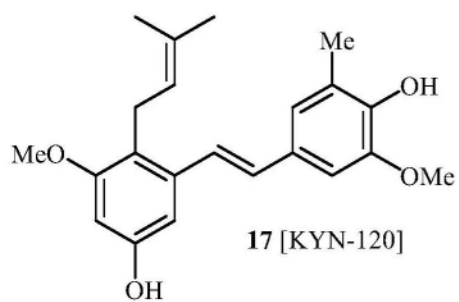
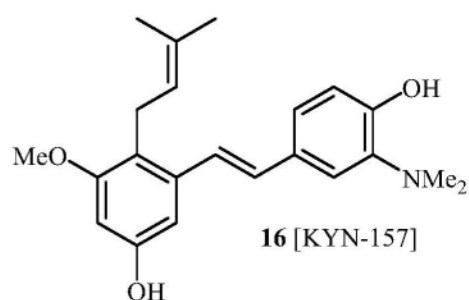
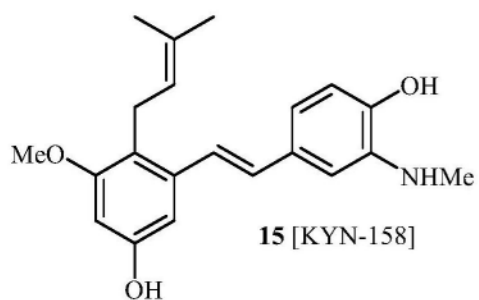
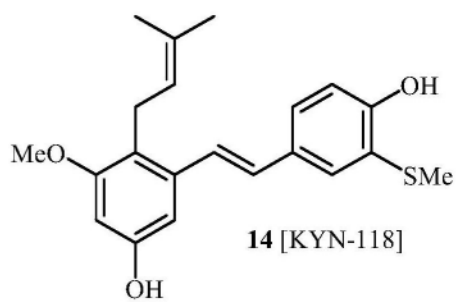
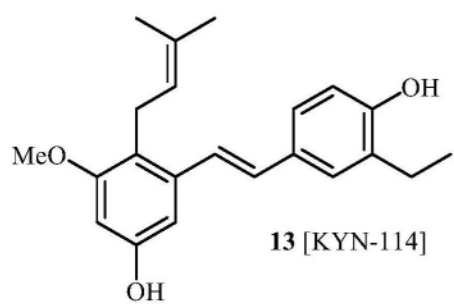
R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是 H，

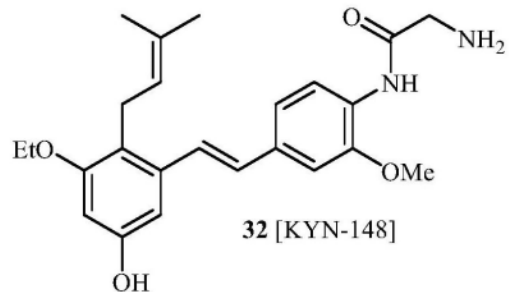
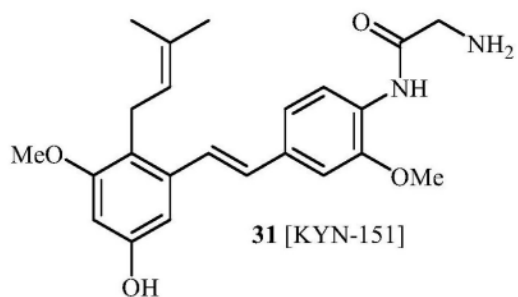
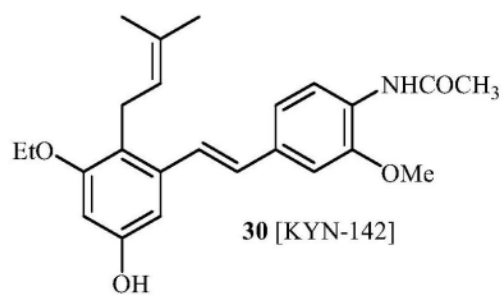
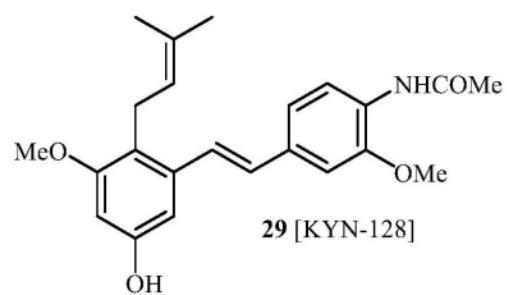
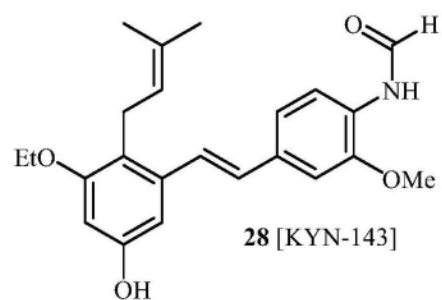
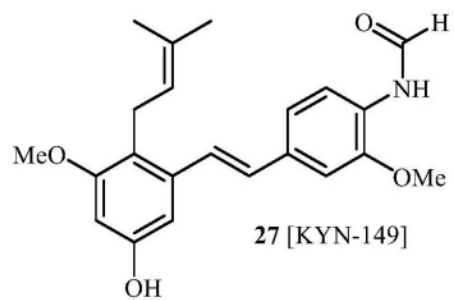
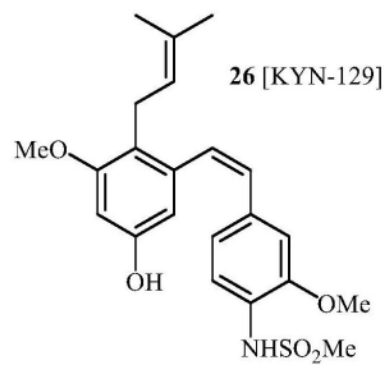
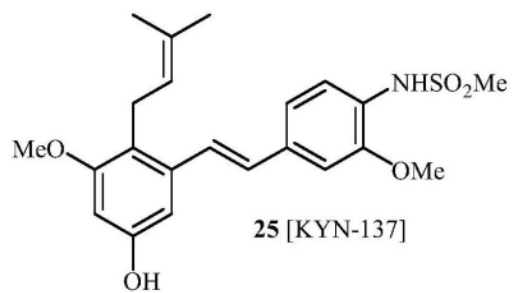
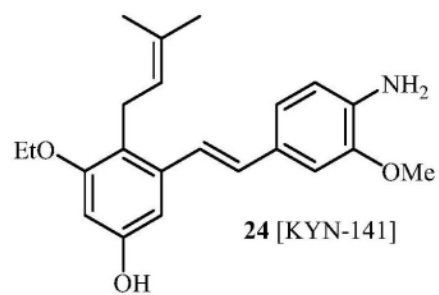
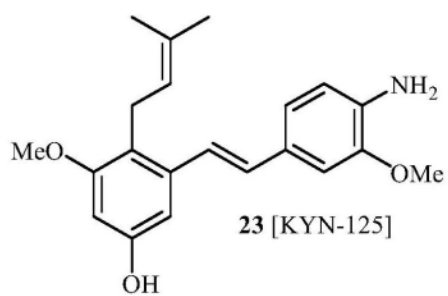
当 R^{1e} 是 OH、 NH_2 或 $NHMe$ 且 R^{1f} 是 NH_2 时， R^{1f} 的氮与羰基基团或 $(CO)CH_2$ 基团一起桥连至 R^{1e} 的氧或氮以形成 5 或 6 元杂环。

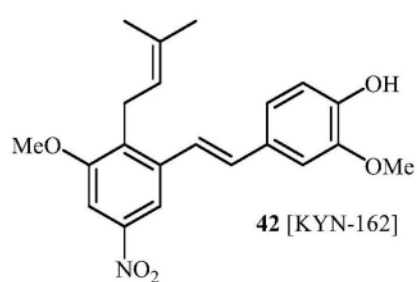
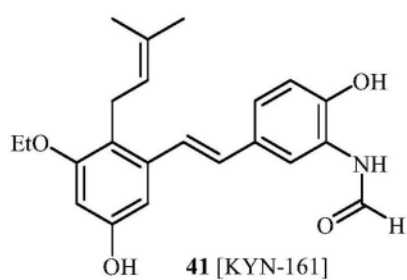
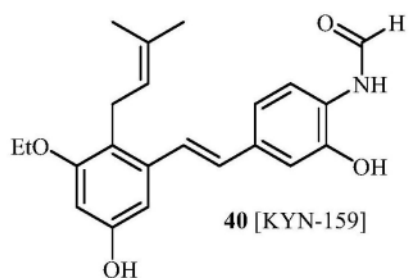
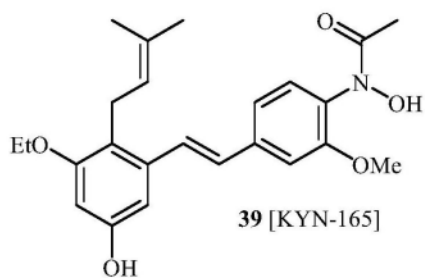
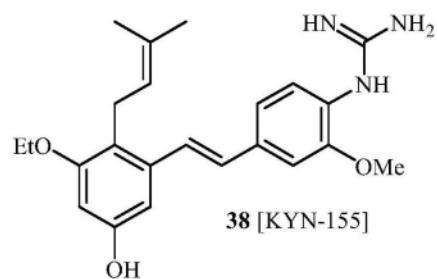
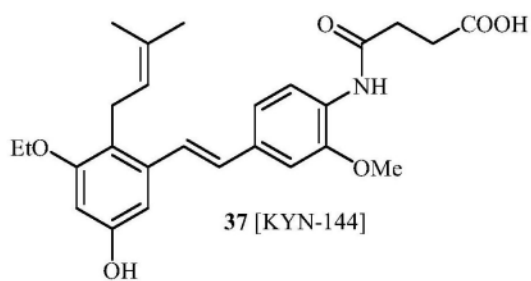
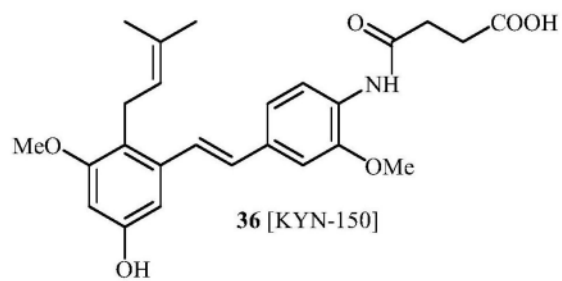
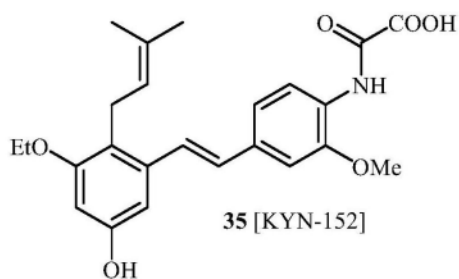
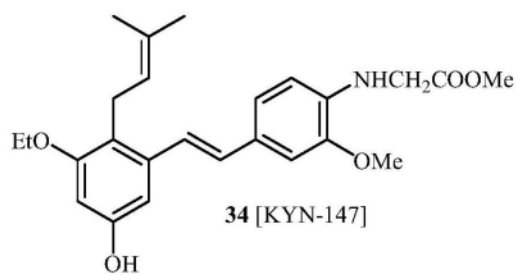
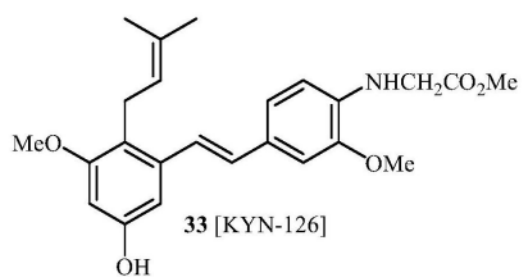
47. 根据权利要求 45 或 46 所述的化合物，其中式 (I) 是选自以下的化合物：

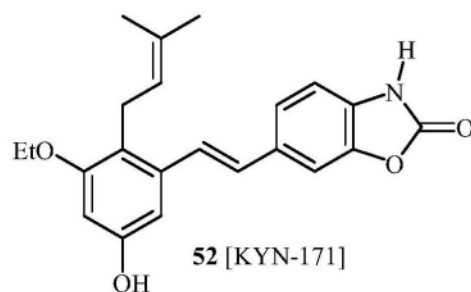
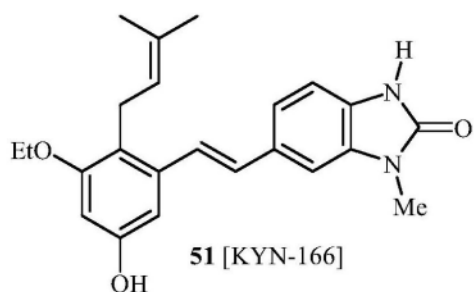
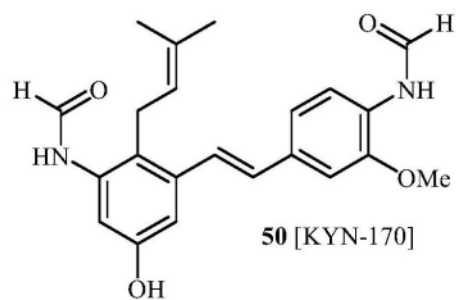
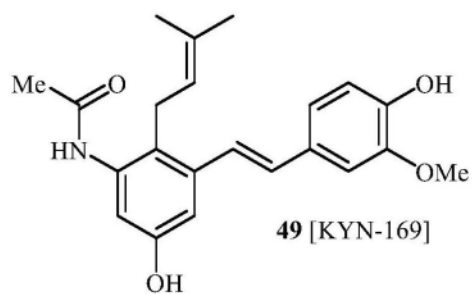
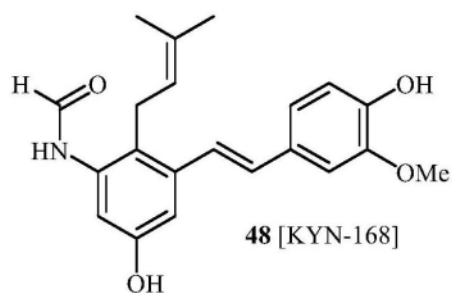
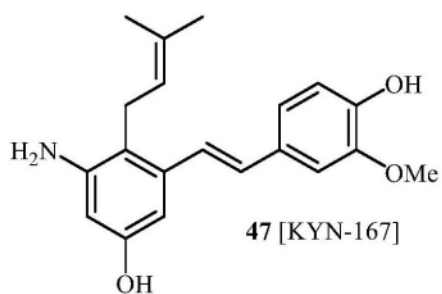
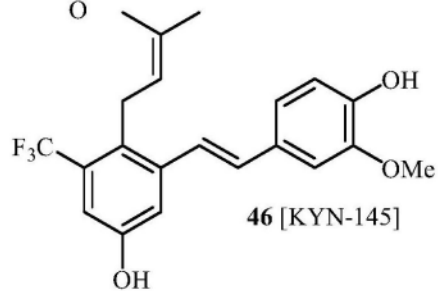
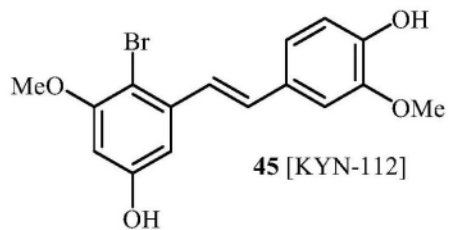
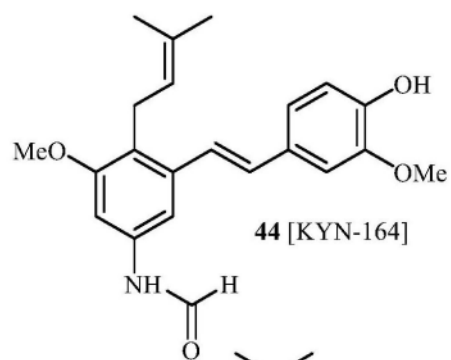
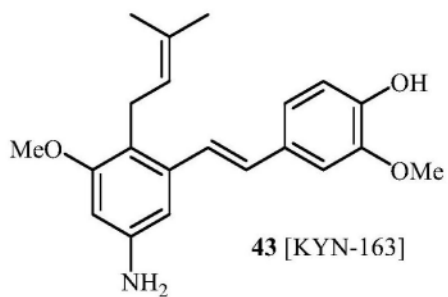
KYN-138、139、140、153、134、136。

48. 根据权利要求 35 所述的式 (I) 的化合物，其中所述化合物选自：









49. 根据权利要求35、36、37、39或41中的任一项所述的式(I)的化合物,其中:

R^{1a}是异戊二烯基;

R^{1b}是OR²;

R^{1c} 是H;

R^{1d} 是OH;

R^{1e} 是 OR^2 ;

R^{1f} 是 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$;

R^{1g} 是H;

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基;且

R^3 是H、 CH_3 、OH、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ (其中 $n=0,1$ 或2)。

50. 根据权利要求35、36、37或39中的任一项所述的式(I)的化合物,其中:

R^{1a} 是异戊二烯基;

R^{1b} 是 OR^2 ;

R^{1c} 是H;

R^{1d} 是OH;

R^{1e} 是 OR^2 ;

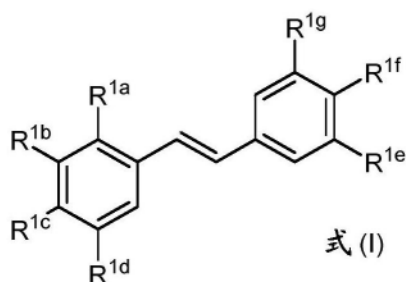
R^{1f} 是OH;

R^{1g} 是烷基、OH;

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基;

烷基是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基。

51. 根据式(I)的化合物



其中:

R^{1a} 是Ha1、烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苺基、2-烯基、2-炔基;

R^{1b} 是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NO_2 、 $NHEt$ 、 NMe_2 、 $NMeEt$ 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

R^{1c} 是H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苺基;

R^{1d} 是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

R^{1e} 是H、 C_1-C_6 烷基、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ;

R^{1f} 是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOR^2$ 、 $COOH$;

R^{1g} 是H、烷基、 CF_3 、OH或 OR^2 ;

R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、 $COCOR^4$ 或O-保护基,其中所述O-保护基选自 $COMe$ 、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基(SEM)缩醛、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$;

R^3 是H、 CH_3 、OH、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOH 、 CH_2COOR^2 、 $CO(CH_2)_nNH_2$ 、 $CONH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ 或 $COCOR^4$ (其中 $n=0,1$ 或2);

R^4 是 C_1-C_6 烷基;且

Hal是选自F、Cl、Br、I和At的卤基；

R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是H；

其中 R^{1e} 或 R^{1f} 中的至少一个是-NHC(O)H。

52. 根据权利要求51所述的化合物，其中 R^{1b} 或 R^{1d} 中的至少一个是EtO。

53. 一种用于治疗癌症的方法，所述方法包含给有需要的患者施用治疗有效量的根据权利要求36-50中的任一项所述的化合物或药学上可接受的盐、溶剂化物或包括所述化合物的药物组合物。

54. 一种用于治疗皮肤疾病和障碍的方法，所述方法包含给有需要的患者施用治疗有效量的根据权利要求36-50中的任一项所述的化合物或药学上可接受的盐、溶剂化物或包括所述化合物的药物组合物。

55. 根据权利要求54所述的方法，其中所述皮肤疾病和障碍是特应性皮炎和银屑病。

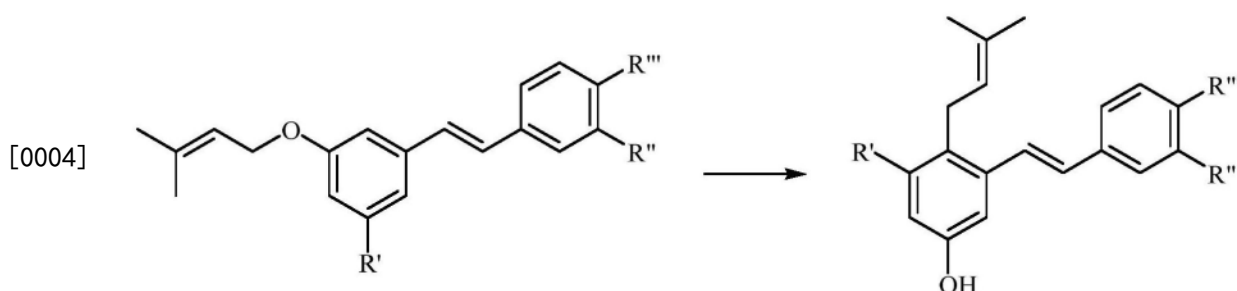
被取代的羟基均二苯乙烯化合物和衍生物、合成及其用途

技术领域

[0001] 本公开内容涉及被取代的羟基均二苯乙烯化合物和衍生物,具体地涉及2-取代的羟基均二苯乙烯化合物和衍生物、这样的化合物的合成和它们在治疗中的用途。

[0002] 背景

[0003] W02012/149608公开了新颖的异戊二烯基化的聚羟基均二苯乙烯衍生物和通过多个步骤制备这样的化合物的方法。步骤之一是通常如下概述的O-至C-异戊二烯基重排步骤:



[0005] 在W02012/149608中公开的方法具有许多缺点。从常见的中间体到最终的异戊二烯基化的聚羟基均二苯乙烯化合物的合成步骤的数目很多。重排步骤是有问题的,因为它主要对异戊二烯基基团和对相对窄范围的其它取代基类型是特异性的。重排方法需要色谱分离并且通常具有低产率。因此,现有技术的方法不适用于生产异戊二烯基化的聚羟基均二苯乙烯化合物的宽范围的合成衍生物,并且不适用于大规模合成。W02012/149608的内容完整并入本文。

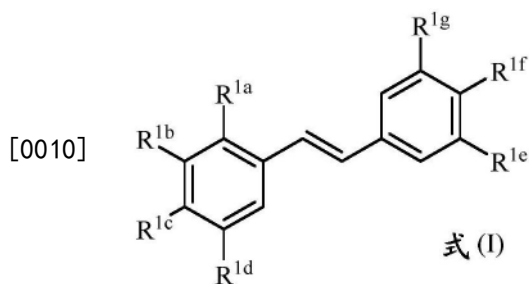
[0006] 需要生产被取代的羟基均二苯乙烯化合物和衍生物、特别是2-取代的羟基均二苯乙烯化合物和衍生物的替代方法。

[0007] 对本说明书中已经包含的文件、行为、材料、装置、物品等的任何讨论不应因为它在所附权利要求中的每一项的优先权日期之前存在就被视为承认这些事项中的任一个或全部形成现有技术基础的一部分或为与本公开内容相关的领域中的普通一般知识。

发明内容

[0008] 在导致本公开内容的工作中,发明人已经通过一种新方法合成了宽范围的2-取代的羟基均二苯乙烯化合物,所述方法为许多在医学治疗中具有重要性的化合物提供了有效且商业上可行的途径。所述新方法还提供了获得一系列新化合物的途径,所述新化合物已被证明是用于治疗中的潜在候选物,诸如用于治疗癌症和皮肤疾病和障碍。

[0009] 本公开内容涉及式(I)的化合物的合成:



[0011] 其中：

[0012] R^{1a} 独立地是烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基或2-烯基、2-炔基；

[0013] R^{1b} 独立地是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NO_2 、 $NHEt$ 、 NMe_2 、 $NMeEt$ 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$ ；

[0014] R^{1c} 独立地是H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基；

[0015] R^{1d} 独立地是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NHR^3 、 NO_2 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$ ；

[0016] R^{1e} 独立地是H、 C_1-C_6 烷基、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC(O)H$ 或 SR^2 ；

[0017] R^{1f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOR^2$ 、 $COOH$ ；

[0018] R^{1g} 独立地是H、烷基、 CF_3 、OH或 OR^2 ；

[0019] 且 R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的不超过一个可以是H；

[0020] 或当 R^{1e} 独立地是OH、 NH_2 或 $NHMe$ 且 R^{1f} 是 NH_2 时， R^{1e} 和 R^{1f} 形成含有羰基基团或 $(CO)CH_2$ 基团的5或6元杂环，使得用羰基基团或 $(CO)CH_2$ 基团将 R^{1f} 的氮桥连至 R^{1e} 的氧或氮；

[0021] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、 $COCOR^4$ 或当 R^2 连接至O时是O-保护基，其中所述O-保护基选自 $COMe$ 、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基(SEM)、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$ ；

[0022] R^3 独立地是H、 CH_3 、OH、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOH 、 CH_2COOR^2 、 $CO(CH_2)_nNH_2$ 、 $CONH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ 或 $COCOR^4$ ，其中 $n=0,1$ 或 2 ；且

[0023] R^4 是 C_1-C_6 烷基。

[0024] 如本文提及的，根据式(I)的2-取代的羟基均二苯乙烯化合物由命名为A环和B环的两个苯环表示。本文所提及的A环代表带有取代基 R^{1a} 、 R^{1b} 、 R^{1c} 和 R^{1d} 的苯环，且本文所提及的B环代表带有取代基 R^{1e} 、 R^{1f} 和 R^{1g} 的苯环。

[0025] 本公开内容利用模块方案来合成根据式(I)的化合物。2-取代的羟基均二苯乙烯化合物的A环和B环分别由两个单独模块(模块A和模块B)形成。模块A是卤代或羟基苯甲醛衍生物，且模块B是芳族膦酸酯衍生物。根据本公开内容，卤代/羟基苯甲醛(模块A)与芳族膦酸酯(模块B)的偶联提供2-卤代或2-羟基取代的羟基均二苯乙烯衍生物(模块C)，如上所提及的。

[0026] 在本说明书中，2-卤代或2-羟基取代的羟基均二苯乙烯衍生物(模块C)可以被称作2-卤代/羟基取代的羟基均二苯乙烯衍生物、2-卤代/羟基羟基均二苯乙烯衍生物、2-卤代/羟基羟基均二苯乙烯或模块C，且包括2-卤代取代的羟基均二苯乙烯衍生物和2-羟基取代的羟基均二苯乙烯衍生物和如前所述的等同名称变体。

[0027] 本公开的发明人已经令人惊讶地发现，所述方法允许2-取代的羟基均二苯乙烯化合物的替代合成和2-取代的羟基均二苯乙烯化合物在2-位的取代的通用性，使得在2-位取代的基团可以延伸超出异戊二烯基基团。因此，本公开内容提供了制备如上所述的式(I)的

2-取代的羟基均二苯乙烯化合物的方法,其中2-烯基或苄基基团在 R^{1a} 位置的添加通过含有它们的硼酸/衍生物或有机锡烷化合物的2-烯基或苄基基团与2-卤代/羟基取代的羟基均二苯乙烯衍生物的直接偶联而发生。

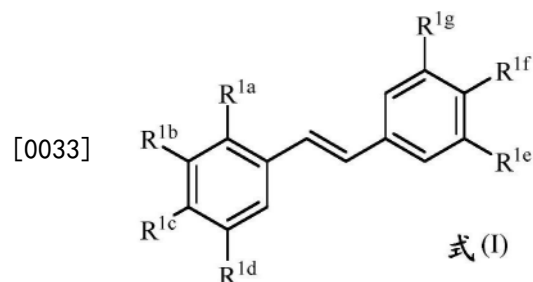
[0028] 在一个实施方案中,上述式(I)的化合物的合成在具有从制备的起始模块起的少量合成步骤以及在制备宽范围的合成的衍生物中应用的通用性和灵活性方面有利地是有效的。在另一个实施方案中,从制备的模块开始的每个合成步骤是高产率的。

[0029] 在一个实施方案中,当 R^{1a} 是异戊二烯基基团时,与在W02012/149608中公开的产生产物混合物的步骤相比,制备如上定义的式(I)的化合物的方法导致产率的提高。

[0030] 本公开内容的一个实施方案提供了一种合成方法,其中在W02012/149608中公开的O-至C-异戊二烯基重排步骤被异戊二烯基基团与芳族环的直接偶联替代,所述直接偶联经由异戊二烯基硼酸/酯或异戊二烯基三丁基锡烷与2-卤代或2-羟基取代的羟基均二苯乙烯衍生物的偶联。有利地,除异戊二烯基之外的基团可以添加在羟基均二苯乙烯结构的 R^{1a} 位置。

[0031] 有利地,发明人能够采用本文公开的通用方法来高效地制备先前鉴定的2-异戊二烯基羟基均二苯乙烯化合物,其在商业规模的医学治疗中是重要的。由于本文公开的方法的通用性,发明人已经能够制备宽范围的根据式(I)的2-取代的羟基均二苯乙烯化合物,它们在以前不能使用重排方法制备。发明人已经令人惊讶地发现,通过本文公开的方法制备的根据式(I)的2-取代的羟基均二苯乙烯化合物是开发新治疗剂以治疗疾病诸如癌症和皮肤疾病和障碍诸如特应性皮炎和银屑病的强候选物。

[0032] 在第一方面,本公开内容提供了合成根据式(I)的化合物的方法,



[0034] 其中:

[0035] R^{1a} 独立地是烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基或2-烯基、2-炔基;

[0036] R^{1b} 独立地是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NO_2 、 $NHEt$ 、 NMe_2 、 $NMeEt$ 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

[0037] R^{1c} 独立地是H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基;

[0038] R^{1d} 独立地是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NHR^3 、 NO_2 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

[0039] R^{1e} 独立地是H、 C_1-C_6 烷基、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC(O)H$ 或 SR^2 ;

[0040] R^{1f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOR^2$ 、 $COOH$;

[0041] R^{1g} 独立地是H、烷基、 CF_3 、OH或 OR^2 ;

[0042] 且 R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的不超过一个可以是H;

[0043] 或当 R^{1e} 独立地是OH、 NH_2 或 $NHMe$ 且 R^{1f} 是 NH_2 时, R^{1e} 和 R^{1f} 形成含有羰基基团或 $(CO)CH_2$ 基团的5或6元杂环,使得用羰基基团或 $(CO)CH_2$ 基团将 R^{1f} 的氮桥连至 R^{1e} 的氧或氮;

[0044] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、 $COCOR^4$ 或

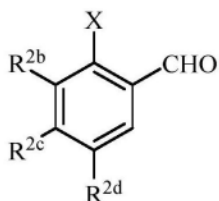
当 R^2 连接至O时是O-保护基；

[0045] R^3 独立地是H、 CH_3 、OH、(CO)H、(CO)Me、 SO_2Me 、 CH_2COOH 、 CH_2COOR^2 、 $CO(CH_2)_nNH_2$ 、 $CONH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ 或 $COCOR^4$ ，其中n是0、1或2；且

[0046] R^4 是 C_1-C_6 烷基；

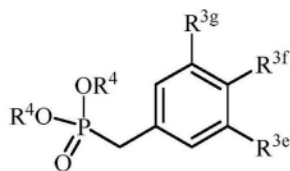
[0047] 所述方法包含：

[0048] i) 将式(II)的化合物(模块A)与式(III)的化合物(模块B)偶联以提供式(IV)的化合物(模块C)的步骤：



模块 A

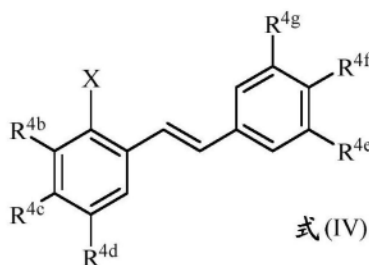
式 (II)



式 (III)

模块 B

[0049]



式 (IV)

模块 C

[0050] 其中，

[0051] 在式II (模块A) 中：

[0052] R^{2b} 独立地是 CF_3 、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 $NHEt$ 、 $NMeEt$ 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ ；

[0053] R^{2c} 独立地是H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苜基；

[0054] R^{2d} 独立地是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$ ；

[0055] X是卤基 (halide) 或羟基基团，其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At；

[0056] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基；且

[0057] R^3 独立地是H、OH、 CH_3 、(CO)H、COMe、 SO_2Me 、 $COCH_2NH_2$ 或 CH_2COOR^2 ；且

[0058] 在式III (模块B) 中：

[0059] R^{3e} 独立地是H、 C_1-C_6 烷基、OH、 OR^2 、 NO_2 、NHMe、 NMe_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ；

[0060] R^{3f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、COOH或 $COOR^2$ ；

[0061] R^{3g} 独立地是H、烷基、 CF_3 、OH或 OR^2 ；

[0062] 且 R^{3e} 、 R^{3f} 或 R^{3g} 中的不超过一个可以是H；

[0063] 或当 R^{3e} 是OH、 NH_2 或NHMe且 R^{3f} 是 NH_2 时， R^{3e} 和 R^{3f} 形成含有羰基基团或(CO) CH_2 基团的5或6元杂环，使得用羰基基团或(CO) CH_2 基团将 R^{3f} 的氮桥连至 R^{3e} 的氧或氮；

[0064] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基，

[0065] R^3 独立地是H、 CH_3 、OH、(CO)H、COMe、 SO_2Me 、 $COCH_2NH_2$ 、 CH_2COOH 或 CH_2COOR^2 ；且

[0066] 在式IV (模块C) 中:

[0067] R^{4b} 独立地是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 $NHEt$ 、 $NMeEt$ 、 NHR^3 或 $NMeR^3$;

[0068] R^{4c} 独立地是H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基;

[0069] R^{4d} 独立地是 CF_3 、OH或 OR^2 、 OR^3 、 NO_2 或 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

[0070] R^{4e} 独立地是H、 C_1-C_6 烷基、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ;

[0071] R^{4f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOH$ 或 $COOR^2$;

[0072] R^{4g} 独立地是H、烷基、 CF_3 、OH或 OR^2 ;

[0073] 且 R^{4e} 、 R^{4f} 或 R^{4g} 中的不超过一个可以是H;

[0074] 或当 R^{4e} 是OH、 NH_2 或 $NHMe$ 且 R^{4f} 是 NH_2 时, R^{4e} 和 R^{4f} 形成含有羰基基团或(CO) CH_2 基团的5或6元杂环,使得用羰基基团或(CO) CH_2 基团将 R^{4f} 的氮桥连至 R^{4e} 的氧或氮;

[0075] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基;

[0076] R^3 独立地是H、 CH_3 、OH、(CO) H、 $COMe$ 、 SO_2Me 、 $COCH_2NH_2$ 、 CH_2COOH 或 CH_2COOR^2 ;且

[0077] X是卤基或羟基基团,其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At。

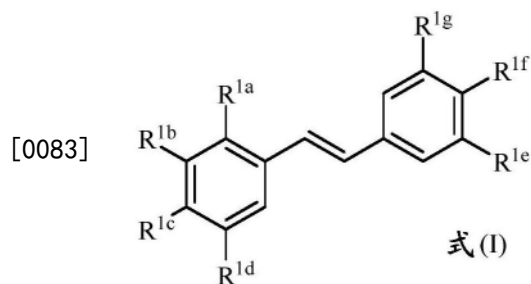
[0078] 根据式(IV)的2-取代的卤代/羟基羟基均二苯乙烯化合物(模块C)经历另一个反应以提供如本文所述的式(I)的化合物。

[0079] 在一个实施方案中,根据式(IV)的2-取代的卤代羟基均二苯乙烯化合物(模块C)经历与2-烯基或苄基硼酸或酯、2-烯基或苄基三氟硼酸盐化合物或2-烯基或苄基有机锡烷化合物的进一步偶联反应以提供式(I)的化合物

[0080] 在另一个实施方案中,当式(IV)中的X是羟基时,在与2-烯基或苄基硼酸或酯、2-烯基或苄基三氟硼酸盐化合物或2-烯基或苄基有机锡烷化合物偶联以提供式(I)的化合物之前,需要将羟基活化成三氟甲基磺酸酯基团(OTf,三氟甲磺酸酯)。

[0081] 式(IV)或(I)的化合物可以任选地经历一个或多个进一步的反应,包括、但不限于与式(IV)或式(I)上的一个或多个 $-NH_2$ 、 NO_2 和/或 $-OH$ 取代基的反应。

[0082] 在第二方面,本公开内容提供了根据式(I)的化合物



[0084] 其中:

[0085] R^{1a} 独立地是烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基或2-炔基;

[0086] R^{1b} 独立地是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NO_2 、 $NHEt$ 、 NMe_2 、 $NMeEt$ 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

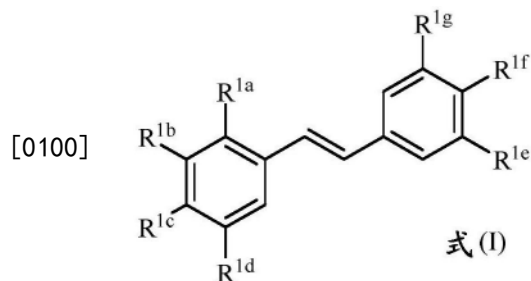
[0087] R^{1c} 独立地是H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基;

[0088] R^{1d} 独立地是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NHR^3 、 NO_2 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

[0089] R^{1e} 独立地是H、 C_1-C_6 烷基、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 $NHC(O)H$ 或 SR^2 ;

[0090] R^{1f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOR^2$ 或 $COOH$;

- [0091] R^{1g} 独立地是H、烷基、 CF_3 、OH或 OR^2 ；
- [0092] 且 R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是H；
- [0093] 或当 R^{1e} 是OH、 NH_2 或NHMe且 R^{1f} 是 NH_2 时， R^{1e} 和 R^{1f} 形成含有羰基基团或(CO) CH_2 基团的5或6元杂环，使得用羰基基团或(CO) CH_2 基团将 R^{1f} 的氮桥连至 R^{1e} 的氧或氮；
- [0094] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、 $COCOR^4$ 或当 R^2 连接至O时是O-保护基，其中所述O-保护基选自COMe、t-BuSi(CH₃)₂、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基(SEM)、CH(OEt)CH₃、四氢吡喃基或C(OEt)(CH₃)₂；
- [0095] R^3 独立地是H、CH₃、OH、(CO)H、(CO)Me、SO₂Me、CH₂COOH、CH₂COOR²、CO(CH₂)_nNH₂、CONH₂、CO(CH₂)_nCOOH或COCOR⁴，其中n=0、1或2；
- [0096] R^4 是C₁-C₆烷基；且
- [0097] 卤基选自F、Cl、Br、I和At；
- [0098] 其中通过根据本文公开的第一方面的方法制备式(I)的化合物。
- [0099] 在第三方面，本公开内容提供了根据式(I)的化合物



- [0101] 其中：
- [0102] R^{1a} 独立地是烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苜基、2-烯基或2-炔基；
- [0103] R^{1b} 独立地是 CF_3 、OH、 OR^2 、 NO_2 、NHEt、NMe₂、NMeEt、NHR³、NMeR³、NHC=NH(NH₂)或COOR²；
- [0104] R^{1c} 独立地是H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苜基；
- [0105] R^{1d} 独立地是 CF_3 、OH、 OR^2 、 NO_2 、NHR³、NMeR³、NHC=NH(NH₂)或COOR²；
- [0106] R^{1e} 独立地是H、C₁-C₆烷基、OH、 OR^2 、 NO_2 、NMe₂、NHR³或NMeR³、NHC(O)H和SR²；
- [0107] R^{1f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、NHR³、NHC=NH(NH₂)、COOR²、COOH；
- [0108] R^{1g} 独立地是H、烷基、 CF_3 、OH或 OR^2 ；
- [0109] 且 R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是H；
- [0110] 或当 R^{1e} 是OH、 NH_2 或NHMe且 R^{1f} 是 NH_2 时， R^{1e} 和 R^{1f} 形成含有羰基基团或(CO) CH_2 基团的5或6元杂环，使得用羰基基团或(CO) CH_2 基团将 R^{1f} 的氮桥连至 R^{1e} 的氧或氮；
- [0111] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、 $COCOR^4$ 或当 R^2 连接至O时是O-保护基，其中所述O-保护基选自COMe、t-BuSi(CH₃)₂、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基(SEM)缩醛、CH(OEt)CH₃、四氢吡喃基或C(OEt)(CH₃)₂；
- [0112] R^3 独立地是H、CH₃、OH、(CO)H、(CO)Me、SO₂Me、CH₂COOH、CH₂COOR²、CO(CH₂)_nNH₂、CONH₂、CO(CH₂)_nCOOH或COCOR⁴，其中n是0、1或2；
- [0113] R^4 是C₁-C₆烷基；
- [0114] 卤基选自F、Cl、Br、I和At；且
- [0115] R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是H，

[0116] 前提条件是,

[0117] 当 R^{1a} 和/或 R^{1c} 是异戊二烯基、 R^{1d} 是OH、 R^{1f} 是OH、 R^{1g} 是H且 R^{1e} 是OH、OMe或OEt时,则 R^{1b} 不可以是OH或 OR^2 ,其中R是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基或苄基。

[0118] 在第四方面,本公开内容提供了用于治疗癌症的方法,其包含给有需要的患者施用治疗有效量的根据本公开内容的第二或第三方面所述的化合物或药学上可接受的盐、溶剂化物或包括所述化合物的药物组合物。

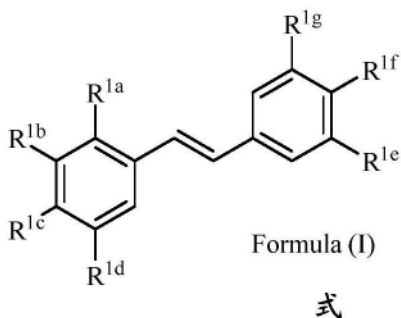
[0119] 在第五方面,本公开内容提供了用于治疗皮肤疾病或障碍的方法,其包含给有需要的患者施用治疗有效量的根据本公开内容的第二或第三方面所述的化合物或药学上可接受的盐、溶剂化物或包括所述化合物的药物组合物。

[0120] 实施方案的描述

本文中公开了合成式

(I)的化合物的方法:

[0121]



[0122] 其中:

[0123] R^{1a} 独立地是烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基或2-炔基;

[0124] R^{1b} 独立地是 CF_3 、OH、 OR^2 、 NO_2 、NHEt、NMe₂、NMeEt、NHR³、NMeR³、NHC=NH(NH₂)或COOR²;

[0125] R^{1c} 独立地是H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基;

[0126] R^{1d} 独立地是 CF_3 、OH、 OR^2 、NHR³、 NO_2 、NMeR³、NHC=NH(NH₂)或COOR²;

[0127] R^{1e} 独立地是H、C₁-C₆烷基、OH、 OR^2 、 NO_2 、NMe₂、NHR³或NMeR³、NHC(O)H、SR²;

[0128] R^{1f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、NHR³、NHC=NH(NH₂)、COOR²、COOH;

[0129] R^{1g} 独立地是H、烷基、 CF_3 、OH或 OR^2 ;

[0130] 且 R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的不超过一个可以是H;

[0131] 或当 R^{1e} 独立地是OH、NH₂或NHMe且 R^{1f} 是NH₂时, R^{1e} 和 R^{1f} 形成含有羰基基团或(CO)CH₂基团的5或6元杂环,使得用羰基基团或(CO)CH₂基团将 R^{1f} 的氮桥连至 R^{1e} 的氧或氮;

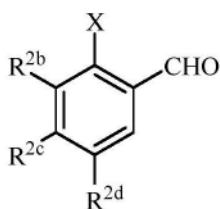
[0132] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、COCOR⁴或当 R^2 连接至O时是O-保护基;

[0133] R^3 独立地是H、CH₃、OH、(CO)H、(CO)Me、SO₂Me、CH₂COOH、CH₂COOR²、CO(CH₂)_nNH₂、CONH₂、CO(CH₂)_nCOOH或COCOR⁴,其中n是0、1或2;且

[0134] R^4 是C₁-C₆烷基;

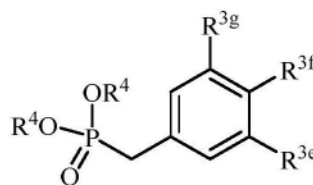
[0135] 所述方法包含:

[0136] i) 将式(II)的化合物(模块A)与式(III)的化合物(模块B)偶联以提供式(IV)的化合物(模块C)的步骤:



模块 A

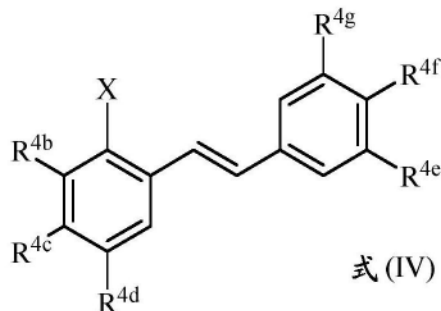
式 (II)



式 (III)

模块 B

[0137]



式 (IV)

模块 C

[0138] 其中,

[0139] 在式II (模块A) 中:

[0140] R^{2b} 独立地是 CF_3 、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、NHEt、NMeEt、 NHR^3 或 $NMeR^3$;[0141] R^{2c} 独立地是H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基;[0142] R^{2d} 独立地是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;

[0143] X是卤基或羟基基团,其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At;

[0144] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或O-保护基;[0145] R^3 独立地是H、OH、 CH_3 、(CO)H、COMe、 SO_2Me 、 $COCH_2NH_2$ 或 CH_2COOR^2 ;且

[0146] 在式III (模块B) 中:

[0147] R^{3e} 独立地是H、 C_1-C_6 烷基、OH、 OR^2 、 NO_2 、NHMe、 NMe_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ;[0148] R^{3f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、COOH或 $COOR^2$;[0149] R^{3g} 独立地是H、烷基、 CF_3 、OH、 OR^2 ;[0150] 且 R^{3e} 、 R^{3f} 或 R^{3g} 中的不超过一个可以是H[0151] 或当 R^{3e} 是OH、 NH_2 或NHMe且 R^{3f} 是 NH_2 时, R^{3e} 和 R^{3f} 形成含有羰基基团或(CO) CH_2 基团的5或6元杂环,使得用羰基基团或(CO) CH_2 基团将 R^{3f} 的氮桥连至 R^{3e} 的氧或氮;[0152] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基,[0153] R^3 是H、 CH_3 、OH、(CO)H、COMe、 SO_2Me 、 $COCH_2NH_2$ 、 CH_2COOH 和 CH_2COOR^2 ;且

[0154] 在式IV (模块C) 中:

[0155] R^{4b} 独立地是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、NHEt、NMeEt、 NHR^3 或 $NMeR^3$;[0156] R^{4c} 独立地是H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基;[0157] R^{4d} 独立地是 CF_3 、OH、 OR^2 、 OR^3 、 NO_2 或 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$;[0158] R^{4e} 独立地是H、 C_1-C_6 烷基、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、NHC(O)H或 SR^2 ;[0159] R^{4f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、COOH或 $COOR^2$;

[0160] R^{4g} 独立地是H、烷基、 CF_3 、OH或 OR^2 ;

[0161] 或当 R^{4e} 是OH、 NH_2 或NHMe且 R^{4f} 是 NH_2 时, R^{4e} 和 R^{4f} 形成含有羰基基团或(CO) CH_2 基团的5或6元杂环,使得用羰基基团或(CO) CH_2 基团将 R^{4f} 的氮桥连至 R^{4e} 的氧或氮;

[0162] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基;

[0163] R^3 独立地是H、 CH_3 、OH、(CO) H、COMe、 SO_2Me 、 $COCH_2NH_2$ 、 CH_2COOH 或 CH_2COOR^2 ;且

[0164] X是卤基或羟基基团,其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At。

[0165] 所述O-保护基可以选自本领域已知的那些。适用于本申请的合适的保护性O-保护基是本领域技术人员已知的。

[0166] 所述O-保护基可以是COMe、t-BuSi(CH_3)₂-2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基(SEM)、CH(OEt) CH_3 、四氢吡喃基或C(OEt)(CH_3)₂。

[0167] 根据本文由式(I)、式(III)和式(IV)定义的化合物,当 $R^{1e,3e,4e}$ 是OH、 NH_2 或NHMe且 $R^{1f,3f,4f}$ 是 NH_2 时, $R^{1e,3e,4e}$ 和 $R^{1f,3f,4f}$ 可以形成含有羰基基团或(CO) CH_2 基团的5或6元杂环,使得用羰基基团或(CO) CH_2 基团将 $R^{1f,3f,4f}$ 的氮桥连至 $R^{1e,3e,4e}$ 的氧或氮。在一个实施方案中, $R^{1f,3f,4f}$ 的氮与羰基基团或(CO) CH_2 基团一起桥连至 $R^{1e,3e,4e}$ 的氧或氮以形成选自以下基团中的任一个的基团:-NH-C(O)-O-、-NH-C(O)- CH_2 -O-、-NH- CH_2 C(O)-O-、-NH-C(O)-NH-、-NH-C(O) CH_2 -NH-、-NH- CH_2 C(O)-NH-、-NH-C(O)-N(Me)-、-NH-C(O) CH_2 -NMe-或-NH- CH_2 C(O)-N(Me)-。在一个实施方案中, $R^{1f,3f,4f}$ 是 NH_2 且 $R^{1e,3e,4e}$ 是NHMe且 $R^{1f,3f,4f}$ 的氮与羰基基团一起桥连至 $R^{1e,3e,4e}$ 的氮以形成-NH-C(O)-N(Me)-,使得 $R^{1e,3e,4e}$ 和 $R^{1f,3f,4f}$ 形成5元杂环。在另一个实施方案中, $R^{1f,3f,4f}$ 是 NH_2 且 $R^{1e,3e,4e}$ 是OH且 $R^{1f,3f,4f}$ 的氮与羰基基团一起桥连至 $R^{1e,3e,4e}$ 的氧以形成-NH-C(O)-O-,使得 $R^{1e,3e,4e}$ 和 $R^{1f,3f,4f}$ 形成5元杂环。

[0168] 根据式(IV)的2-取代的卤代/羟基羟基均二苯乙烯化合物(模块C)经历另一个反应以提供如本文所述的式(I)的化合物。

[0169] 在模块A和C中,基团X是卤基或羟基基团。在一个实施方案中,X是卤基。当X是卤基时,式(II)和(IV)可以被称作式(II)的卤化物和式(IV)的卤化物。在另一个实施方案中,X是羟基基团。当X是羟基时,式(II)和(IV)可以被称作式(II)的羟基和式(IV)的羟基。式(IV)的羟基可以被活化成对应的三氟甲基磺酸酯(三氟甲磺酸酯)基团且可以被称作式(IV)的三氟甲基磺酸酯或式(IV)的2-取代的三氟甲基磺酸酯羟基均二苯乙烯。

[0170] 羟基基团向三氟甲基磺酸酯基团的转化可以根据本领域已知的方法实现。在一个实施方案中,当X是羟基时,在有N-甲基吗啡存在下将式(IV)的羟基用三氟甲磺酸酐处理以提供式(IV)的三氟甲基磺酸酯。

[0171] 在一个实施方案中,当式(IV)中的X是卤化物(式(IV)的卤化物)时,其经历与以下之一的偶联反应:

[0172] a) R^{1a} -取代的硼酸化合物或酯;

[0173] b) R^{1a} -取代的三氟硼酸盐化合物;或

[0174] c) R^{1a} -取代的有机锡烷化合物;

[0175] 以形成式(I)的化合物。

[0176] 在一个实施方案中,根据式(IV)的2-取代的卤代羟基均二苯乙烯化合物(模块C)经历与2-烯基或苄基硼酸或酯的另一个偶联反应,以提供式(I)的化合物。在一个实施方案

中,根据式(IV)的2-取代的卤代羟基均二苯乙烯化合物(模块C)经历与2-烯基或苄基三氟硼酸盐化合物的另一个偶联反应,以提供式(I)的化合物。在另一个实施方案中,根据式(IV)的2-取代的卤代羟基均二苯乙烯化合物(模块C)经历与2-烯基或苄基有机锡烷化合物的另一个偶联反应,以提供式(I)的化合物。

[0177] 在一个实施方案中,当式(IV)中的X是羟基(式(IV)的羟基)时,在偶联可以发生之前需要将羟基活化成三氟甲基磺酸酯基团(OTf,三氟甲磺酸酯)。在一个实施方案中,式(IV)的羟基基团被转化成三氟甲基磺酸酯(三氟甲磺酸酯)基团以形成式(IV)的三氟甲基磺酸酯,且式(I)的三氟甲基磺酸酯经历与以下之一的偶联反应:

[0178] a) R^{1a} -取代的硼酸化合物或酯;

[0179] b) R^{1a} -取代的三氟硼酸盐化合物;或

[0180] c) R^{1a} -取代的有机锡烷化合物

[0181] 以形成式(I)的化合物。

[0182] 在一个实施方案中,根据式(IV)的2-取代的羟基羟基均二苯乙烯化合物(模块C)被活化成2-取代的三氟甲基磺酸酯羟基均二苯乙烯,其然后可以经历与2-烯基或苄基硼酸或酯的偶联反应以提供式(I)的化合物。在另一个实施方案中,式(IV)的三氟甲基磺酸酯经历与2-烯基或苄基三氟硼酸盐化合物的另一个偶联反应以提供式(I)的化合物。在另一个实施方案中,式(IV)的三氟甲基磺酸酯经历与2-烯基或苄基有机锡烷化合物的另一个偶联反应以提供式(I)的化合物。

[0183] 在一个实施方案中,如本文所述的根据式(IV)的卤化物化合物或式(IV)的三氟甲基磺酸酯经历与 R^{1a} -取代的硼酸化合物的偶联反应以形成式(I)的化合物,其中 R^{1a} 选自烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基和2-炔基。

[0184] 在另一个实施方案中,如本文所述的根据式(IV)的卤化物化合物或式(IV)的三氟甲基磺酸酯经历与 R^{1a} -取代的有机锡烷化合物的偶联反应以形成式(I)的化合物,其中 R^{1a} 选自烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基和2-炔基。

[0185] 在另一个实施方案中,如本文所述的根据式(IV)的卤化物化合物或式(IV)的三氟甲基磺酸酯经历与 R^{1a} -取代的三氟硼酸盐的偶联反应以形成式(I)的化合物,其中 R^{1a} 选自烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基和2-炔基。

[0186] 在另一个实施方案中,式(II)和(IV)中的 R^{1a} 取代基选自烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、苄基或2-烯基。在另一个实施方案中, R^{1a} 选自烯丙基、巴豆基、异戊二烯基或苄基。

[0187] 如本文中所述的式(IV)的化合物或式(IV)的三氟甲基磺酸酯与 R^{1a} -取代的硼酸化合物、 R^{1a} -取代的有机锡烷化合物或 R^{1a} -取代的三氟硼酸盐的偶联反应可以由合适的催化剂(包括钯化合物)催化。所述钯催化剂包括、但不限于四(三苯基膦)钯(0)和1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)。本文描述的偶联反应也可以在有碱存在下实现,所述碱包括、但不限于碱金属碳酸盐,诸如碳酸钾(K_2CO_3)、碳酸氢盐、碳酸钙、碳酸镁和烷基胺,包括三乙胺。

[0188] 在一个实施方案中,所述 R^{1a} -取代的硼酸化合物是烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、苄基、2-烯基硼酸频哪醇酯。所述异戊二烯基硼酸频哪醇酯包括、但不限于3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯、巴豆基硼酸频哪醇酯、烯丙基硼酸频哪醇酯、苄基硼酸频哪醇酯。

[0189] 在一个实施方案中,如本文中定义的根据式(IV)的卤化物化合物或式(IV)的三氟

甲基磺酸酯经历在有碱存在下由钯催化剂催化的与 R^{1a} -取代的硼酸频哪醇酯的偶联反应。在另一个实施方案中,根据式(IV)的卤化物化合物经历由四(三苯基膦)钯(0)催化的与 R^{1a} -取代的三丁基锡烷的偶联反应。

[0190] 在另一个实施方案中,如本文中定义的根据式(IV)的卤化物化合物或式(IV)的三氟甲基磺酸酯经历与 R^{1a} -取代的三氟硼酸盐的偶联反应。在一个具体实施方案中,根据式(IV)的卤化物或三氟甲基磺酸酯化合物经历由1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)和三乙胺催化的与烯丙基三氟硼酸钾的偶联反应。该偶联方法提供在A环上的 R^{1a} 位置处的烯丙基基团。

[0191] 在一个实施方案中,提供了合成式(I)的化合物的方法

[0192] 其中在式(I)中:

[0193] R^{1a} 独立地是烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、苄基或2-烯基;

[0194] R^{1b} 独立地是OH、 OR^2 或NHC(O)Me;

[0195] R^{1c} 是H;

[0196] R^{1d} 独立地是OH、 NHR^3 、 $NH(CO)H$ 或 NO_2 ;

[0197] R^{1e} 独立地是OH、 OR^2 、 NMe_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、NHC(O)H或 SR^2 ;

[0198] R^{1f} 独立地是H、OH、 NO_2 、 OR^2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或COOH;

[0199] R^{1g} 独立地是H、烷基、OH或 OR^2 ;

[0200] 且 R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的不超过一个可以是H;

[0201] 或当 R^{1e} 是OH、 NH_2 或NMe且 R^{1f} 是 NH_2 时, R^{1e} 和 R^{1f} 形成含有羰基基团的5或6元杂环,使得用羰基基团将 R^{1f} 的氮桥连至 R^{1e} 的氧或氮;

[0202] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基或当 R^2 连接至O时是O-保护基,其中所述O-保护基选自COMe、t-BuSi(CH₃)₂、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基(SEM)、CH(OEt)CH₃、四氢吡喃基或C(OEt)(CH₃)₂;

[0203] R^3 独立地是H、CH₃、OH、(CO)H、(CO)Me、SO₂Me、CO(CH₂)_nNH₂、CH₂COOR²、CO(CH₂)_nCOOH或COCOR⁴,其中n是0、1或2;且

[0204] R^4 是C₁-C₆烷基;

[0205] 在式II(模块A)中:

[0206] R^{2b} 是OH或 OR^2 ;

[0207] R^{2c} 是H;

[0208] R^{2d} 独立地是OH或 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 或COOR²;

[0209] X是卤基(Hal)或羟基基团,其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At;

[0210] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或O-保护基;

[0211] R^3 独立地是H、OH、CH₃、(CO)H、COMe、SO₂Me、COCH₂NH₂或CH₂COOR²;且

[0212] 在式III(模块B)中:

[0213] R^{3e} 独立地是OH、 OR^2 、 NO_2 、NMe、 NMe_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 或 SR^2 ;

[0214] R^{3f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、COOH、COOR²;

[0215] R^{3g} 独立地是H、烷基、OH、 OR^2 ;

[0216] 且 R^{3e} 、 R^{3f} 或 R^{3g} 中的不超过一个可以是H;

[0217] 或当 R^{3e} 是OH、 NH_2 或NHMe且 R^{3f} 是 NH_2 时, R^{3e} 和 R^{3f} 形成含有羰基基团或(CO) CH_2 基团的5或6元杂环,使得用羰基基团或(CO) CH_2 基团将 R^{3f} 的氮桥连至 R^{3e} 的氧或氮;

[0218] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基,

[0219] R^3 独立地是H、 CH_3 、OH、(CO) H、COMe、 SO_2Me 、 $COCH_2NH_2$ 、 CH_2COOH 或 CH_2COOR^2 ;且

[0220] 在式IV (模块C) 中:

[0221] R^{4b} 是OH或 OR^2 、NHC (O) Me;

[0222] R^{4c} 是H;

[0223] R^{4d} 独立地是OH或 OR^2 、 NO_2 或 NHR^3 、 $NMeR^3$;

[0224] R^{4e} 独立地是OH、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、NHC (O) H或 SR^2 ;

[0225] R^{4f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、NHC=NH (NH_2)、 $COOH$ 或 $COOR^2$;

[0226] R^{4g} 独立地是H、烷基、 CF_3 、OH或 OR^2 ;

[0227] 且 R^{4e} 、 R^{4f} 或 R^{4g} 中的不超过一个可以是H;

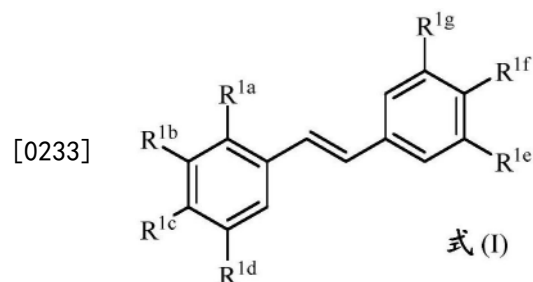
[0228] 或当 R^{4e} 是OH、 NH_2 或NHMe且 R^{4f} 是 NH_2 时, R^{4e} 和 R^{4f} 形成含有羰基基团或(CO) CH_2 基团的5或6元杂环,使得用羰基基团或(CO) CH_2 基团将 R^{4f} 的氮桥连至 R^{4e} 的氧或氮;

[0229] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基;

[0230] R^3 独立地是H、 CH_3 、OH、(CO) H、COMe、 SO_2Me 、 $COCH_2NH_2$ 、 CH_2COOH 或 CH_2COOR^2 ;且

[0231] X是卤基或羟基基团,其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At。

[0232] 在一个实施方案中,提供了式(I)的化合物的合成:



[0234] 其中在式(I)中:

[0235] R^{1a} 独立地是巴豆基、异戊二烯基、苄基或2-烯基;

[0236] R^{1b} 是 CF_3 、 OR^2 或NHC (O) Me;

[0237] R^{1c} 是H;

[0238] R^{1d} 独立地是OH、 NHR^3 或 NO_2 ;

[0239] R^{1e} 独立地是 OR^2 、 NMe_2 、 NHR^3 或 SR^2 ;

[0240] R^{1f} 独立地是H、OH、 NO_2 、 NHR^3 、NHC=NH (NH_2) 或 $COOH$;

[0241] R^{1g} 独立地是H、烷基、OH或 OR^2 ;

[0242] 或当 R^{1e} 是OH、 NH_2 或NHMe且 R^{1f} 是 NH_2 时, R^{1e} 和 R^{1f} 形成含有羰基基团的5或6元杂环,使得用羰基基团将 R^{1f} 的氮桥连至 R^{1e} 的氧或氮;

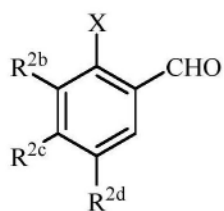
[0243] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基;

[0244] R^3 独立地是H、Me、(CO) H、(CO) Me、 SO_2Me 、 $CO(CH_2)_nNH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ 或 $COCOR^4$ (其中 $n=0,1$ 或2);且

[0245] R^4 是 C_1-C_6 烷基；

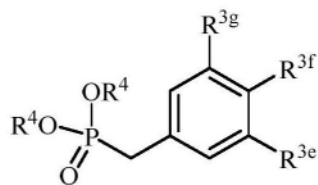
[0246] 其中所述合成包含：

[0247] i) 将式(II)的化合物(模块A)与式(III)的化合物(模块B)偶联以提供式(IV)的化合物(模块C)的步骤：



式(II)

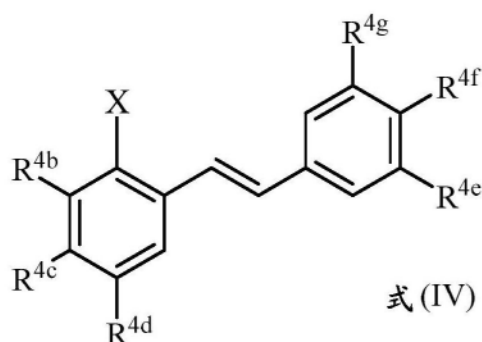
模块 A



式(III)

模块 B

[0248]



式(IV)

模块 C

[0249] 其中，

[0250] 在式II(模块A)中：

[0251] R^{2b} 是 CF_3 、OH、 OR^2 、 NO_2 、NMe₂、NHEt、NMeEt、NHR³或NMeR³；

[0252] R^{2c} 是H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基；

[0253] R^{2d} 是 CF_3 、OH或 OR^2 、 NO_2 、NHR³、NMeR³、NHC=NH(NH₂)或COOR²；

[0254] X是卤基(Hal)或羟基基团，其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At；

[0255] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或O-保护基；

[0256] R^3 是H、OH、CH₃、(CO)H、COMe、SO₂Me、COCH₂NH₂或CH₂COOR²；且

[0257] 在式III(模块B)中：

[0258] R^{3e} 独立地是OH、 OR^2 、 NO_2 、NHMe、NMe₂、NHR³或NMeR³、(CO)H、NHC(O)H或SR²；

[0259] R^{3f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、NHR³；

[0260] R^{3g} 独立地是H、烷基、OH、 OR^2 ；

[0261] 且 R^{3e} 、 R^{3f} 或 R^{3g} 中的不超过一个可以是H；

[0262] 或当 R^{3e} 是OH、NH₂或NHMe且 R^{3f} 是NH₂时， R^{3e} 和 R^{3f} 形成含有羰基基团或(CO)CH₂基团的5或6元杂环，使得用羰基基团或(CO)CH₂基团将 R^{3f} 的氮桥连至 R^{3e} 的氧或氮；

[0263] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基，

[0264] R^3 是H、CH₃、(CO)H、COMe、SO₂Me、COCH₂NH₂或CH₂COOR²；且

[0265] 在式IV(模块C)中：

[0266] R^{4b} 独立地是 CF_3 、OH或 OR^2 、NHC(O)Me；

[0267] R^{4c} 是H;

[0268] R^{4d} 是OH、 NH_2 、 $N(CO)H$;

[0269] R^{4e} 独立地是OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ;

[0270] R^{4f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 ;

[0271] R^{4g} 独立地是H、烷基、 CF_3 、OH、 OR^2 ;

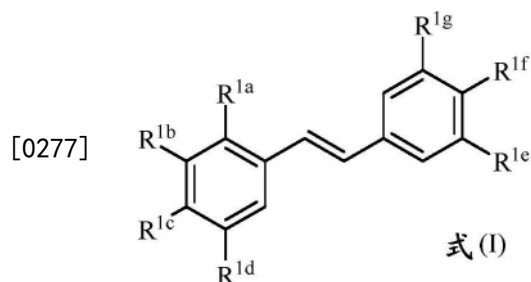
[0272] 且 R^{4e} 、 R^{4f} 或 R^{4g} 中的仅一个可以是H;

[0273] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基;

[0274] R^3 独立地是H、 $(CO)H$ 、 $COMe$ 、 SO_2Me 或 CH_2COOR^2 ;且

[0275] X是卤基或羟基基团,其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At。

[0276] 在一个实施方案中,提供了合成式(I)的化合物的方法:



[0278] 其中在式(I)中:

[0279] R^{1a} 独立地是烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、苄基;

[0280] R^{1b} 独立地是 OR^2 或 $NHC(O)Me$;

[0281] R^{1c} 是H;

[0282] R^{1d} 独立地是OH、 NH_2 、 $N(CO)H$;

[0283] R^{1e} 独立地是OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 $(CO)H$ 、 SMe ;

[0284] R^{1f} 独立地是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOH$;

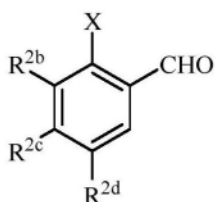
[0285] R^{1g} 独立地是H、烷基、OH、 OR^2 ;

[0286] R^2 独立地是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基,其中所述O-保护基选自 $COMe$ 、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEM)缩醛、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$;

[0287] R^3 独立地是H、 CH_3 、OH、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ (其中 $n=0,1$ 或 2);

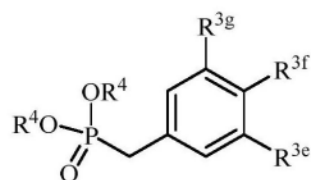
[0288] 其中所述合成包含:

[0289] i) 将式(II)的化合物(模块A)与式(III)的化合物(模块B)偶联以提供式(IV)的化合物(模块C)的步骤:



模块 A

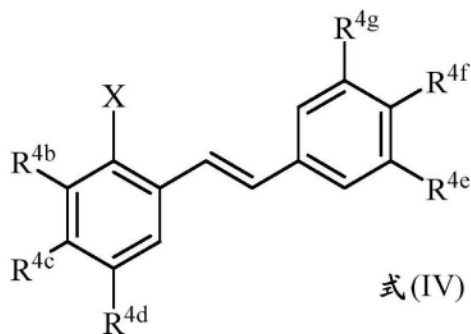
式 (II)



模块 B

式 (III)

[0290]



式 (IV)

模块 C

[0291] 其中

[0292] 在式II中:

[0293] R^{2b} 是 CF_3 、OH 或 OR^2 ;[0294] R^{2c} 是 H,[0295] R^{2d} 是 OH 或 NH_2 、 $N(CO)H$;

[0296] X 是卤基 (Hal) 或羟基基团, 其中所述卤基选自 F、Cl、Br、I 和 At;

[0297] 卤基选自 F、Cl、Br、I 和 At;

[0298] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至 O 时是 O-保护基, 其中所述 O-保护基选自 COMe、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基 (SEM) 缩醛、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$; 且

[0299] 在式III中:

[0300] R^{3e} 是 OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ;[0301] R^{3f} 是 H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 ;[0302] R^{3g} 是 H、烷基、OH、 OR^2 ;

[0303] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 保护 O 时是 O-保护基, 其中所述 O-保护基选自 COMe、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基 (SEM) 缩醛、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$; 且

[0304] R^3 是 H、 CH_3 、 $(CO)H$ 、COMe、 SO_2Me 或 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$; 且

[0305] 在式IV中:

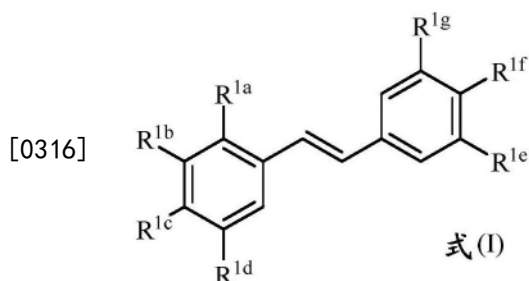
[0306] R^{4b} 是 CF_3 、OH 或 OR^2 ;[0307] R^{4c} 是 H;[0308] R^{4d} 是 OH、 NH_2 、 $N(CO)H$;[0309] R^{4e} 是 OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ;[0310] R^{4f} 是 H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 ;[0311] R^{4g} 是 H、烷基、OH、 OR^2 ;

[0312] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基,其中所述O-保护基选自COMe、t-BuSi(CH₃)₂、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEM)缩醛、CH(OEt)CH₃、四氢吡喃基或C(OEt)(CH₃)₂;

[0313] R^3 是H、(CO)H、COMe、SO₂Me或CH₂COOR²;且

[0314] X是卤基(Hal)或羟基基团,其中所述卤基选自F、Cl、Br、I和At。

[0315] 在一个实施方案中,提供了合成式(I)的化合物的方法:



[0317] 其中在式(I)中:

[0318] R^{1a} 是烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、苄基;

[0319] R^{1b} 是OR²、NHC(O)Me

[0320] R^{1c} 是H;

[0321] R^{1d} 是OH;

[0322] R^{1e} 是OR²、NO₂;

[0323] R^{1f} 是NO₂、NHR³、NHC=NH(NH₂);

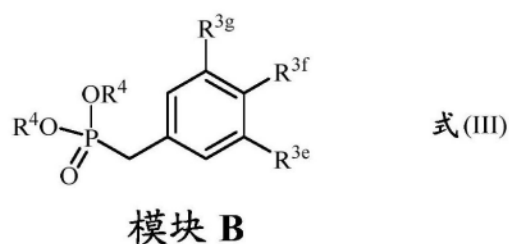
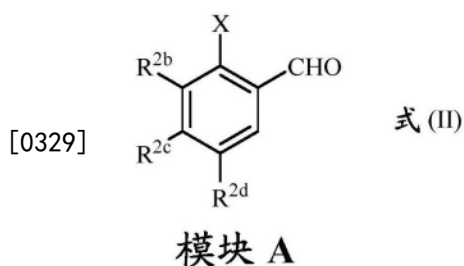
[0324] R^{1g} 是H、烷基、OH、OR²;

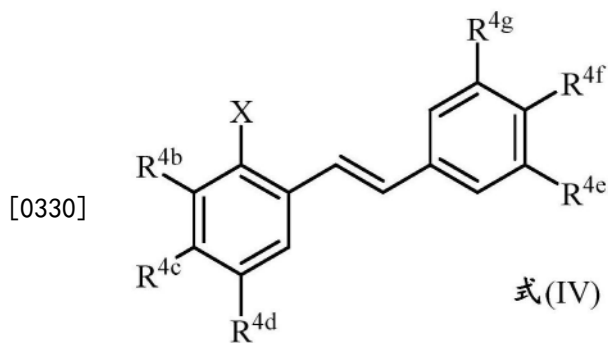
[0325] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基;

[0326] R^3 是H、(CO)H、(CO)Me、SO₂Me、CH₂COOR²、COCH₂NH₂、CO(CH₂)_nCOOH(其中n=0、1或2);

[0327] 其中所述合成包含:

[0328] i) 将式(II)的化合物(模块A)与式(III)的化合物(模块B)偶联以提供式(IV)的化合物(模块C)的步骤:





模块 C

[0331] 其中

[0332] 在式II中:

[0333] R^{2b} 是 CF_3 、OH或 OR^2 ;

[0334] R^{2c} 是H,

[0335] R^{2d} 是OH或 NH_2 、 $N(CO)H$;

[0336] Hal是选自F、Cl、Br、I和At的卤基;

[0337] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基,其中所述O-保护基选自COMe、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEM)缩醛、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$;且

[0338] 在式III中:

[0339] R^{3e} 是OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ;

[0340] R^{3f} 是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 ;

[0341] R^{3g} 是H、烷基、OH、 OR^2 ;

[0342] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 保护O时是O-保护基,其中所述O-保护基选自COMe、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEM)缩醛、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$;且

[0343] R^3 是H、 CH_3 、 $(CO)H$ 、COMe、 SO_2Me 或 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$;且

[0344] 在式IV中:

[0345] R^{4b} 是 CF_3 、OH或 OR^2 ;

[0346] R^{4c} 是H;

[0347] R^{4d} 是OH、 NH_2 、 $N(CO)H$;

[0348] R^{4e} 是OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ;

[0349] R^{4f} 是H、OH、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 ;

[0350] R^{4g} 是H、烷基、OH、 OR^2 ;

[0351] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或当 R^2 连接至O时是O-保护基,其中所述O-保护基选自COMe、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEM)缩醛、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$;

[0352] R^3 是H、 $(CO)H$ 、COMe、 SO_2Me 或 CH_2COOR^2 ;且

[0353] Hal是选自F、Cl、Br、I和At的卤基;

[0354] 其中在有碱存在下在钯催化剂催化下,式IV与选自3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇

酯、巴豆基硼酸频哪醇酯、烯丙基硼酸频哪醇酯和苄基硼酸频哪醇酯的 R^{1a} 硼酸频哪醇酯偶联,以产生式(I)的化合物。

[0355] 在一个实施方案中,提供了合成式(I)的化合物的方法:其中

[0356] 在式(I)中:

[0357] R^{1a} 是巴豆基、异戊二烯基;

[0358] R^{1b} 是 OR^2 ;

[0359] R^{1c} 是H;

[0360] R^{1d} 是OH;

[0361] R^{1e} 是 OR^2 ;

[0362] R^{1f} 是 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$;

[0363] R^{1g} 是H;

[0364] R^2 是甲基、乙基;

[0365] R^3 是H、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ (其中 $n=0,1$ 或 2);

且

[0366] 在式II中:

[0367] R^{2b} 是OH或 OR^2 ;

[0368] R^{2c} 是H;

[0369] R^{2d} 是OH、OSEM;

[0370] 卤基是Br;

[0371] R^2 是甲基或乙基;且

[0372] 在式III中:

[0373] R^{3e} 是OH、 OR^2 ;

[0374] R^{3f} 是 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$;

[0375] R^{3g} 是H;

[0376] R^2 是甲基、乙基,且

[0377] R^3 是H、 $(CO)H$ 、 $COMe$ 、 SO_2Me 或 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 或 $CO(CH_2)_nCOOH$,其中 n 是0、1或2;且

[0378] 在式IV中:

[0379] R^{4b} 是 OR^2 ;

[0380] R^{4c} 是H;

[0381] R^{4d} 是OH;

[0382] R^{4e} 是 OR^2 ;

[0383] R^{4f} 是 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$;

[0384] R^{4g} 是H;

[0385] R^2 是甲基、乙基,

[0386] R^3 是H、 $(CO)H$ 、 $COMe$ 、 SO_2Me 或 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$,且

[0387] 卤基是Br;

[0388] 其中在有碱存在下在钯催化剂催化下,式IV与选自3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯、巴豆基硼酸频哪醇酯、烯丙基硼酸频哪醇酯和苄基硼酸频哪醇酯的 R^{1a} 硼酸频哪醇酯偶联,以产生式(I)的化合物。

[0389] 在以上方法的一个实施方案中,在式(I)中的 R^{1f} 是 NO_2 。式(I)的化合物可以进一步与还原剂反应以将 NO_2 基团转化成 NH_2 基团。这允许胺化合物诸如化合物23和24的形成。在一个实施方案中,使式(I)的化合物(其中 R^{1f} 是 NH_2)进一步在有碱(诸如三乙胺)存在下与甲磺酰氯反应,以形成式(I)的化合物,其中 R^{1f} 是 NHSO_2Me 。这允许胺化合物诸如化合物25和24的形成。在另一个实施方案中,使式(I)的化合物(其中 R^{1f} 是 NH_2)进一步与甲酸乙酯反应以形成式(I)的化合物,其中 R^{1f} 是 $\text{NH}(\text{CO})\text{H}$ 。这允许胺化合物诸如化合物27和28的形成。初步的结果已经指示,化合物27和28是用于治疗特应性皮炎和银屑病的治疗用途的潜在先导候选物。

[0390] 在一个实施方案中,提供了合成式(I)的化合物的方法:其中

[0391] 在式(I)中:

[0392] R^{1a} 是巴豆基、异戊二烯基;

[0393] R^{1b} 是 OR^2 ,

[0394] R^{1c} 是H;

[0395] R^{1d} 是OH;

[0396] 当 R^{4e} 是OH或 NH_2 且 R^{4f} 是 NH_2 时, R^{4e} 和 R^{4f} 形成含有羰基基团的5或6元杂环,使得用羰基基团将 R^{4f} 的氮桥连至 R^{4e} 的氧或氮;

[0397] R^{1g} 是H;

[0398] R^2 是甲基、乙基;

[0399] R^3 是H、 $(\text{CO})\text{H}$ 、 $(\text{CO})\text{Me}$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOR^2 、 COCH_2NH_2 或 $\text{CO}(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ (其中 $n=0,1$ 或 2);

[0400] 在式II中:

[0401] R^{2b} 是 OR^2 ;

[0402] R^{2c} 是H;

[0403] R^{2d} 是OSEM;

[0404] Hal是Br;

[0405] R^2 是甲基或乙基,且

[0406] 在式III中:

[0407] 当 R^{3e} 是OH或 NH_2 且 R^{3f} 是 NH_2 时, R^{3e} 和 R^{3f} 形成含有羰基基团的5或6元杂环,使得用羰基基团将 R^{3f} 的氮桥连至 R^{3e} 的氧或氮;

[0408] R^{3g} 是H;且

[0409] 在式IV中:

[0410] R^{4b} 是 OR^2 ;

[0411] R^{4c} 是H;

[0412] R^{4d} 是OSEM;

[0413] 当 R^{4e} 是OH或 NH_2 且 R^{4f} 是 NH_2 时, R^{4e} 和 R^{4f} 形成含有羰基基团的5或6元杂环,使得用羰基基团将 R^{4f} 的氮桥连至 R^{4e} 的氧或氮;

[0414] R^{4g} 是H;

[0415] R^2 是甲基、乙基;

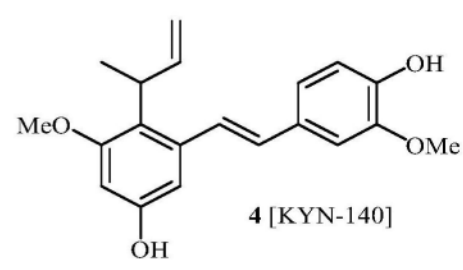
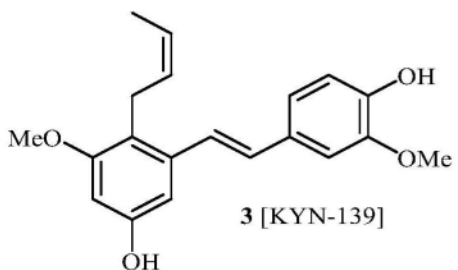
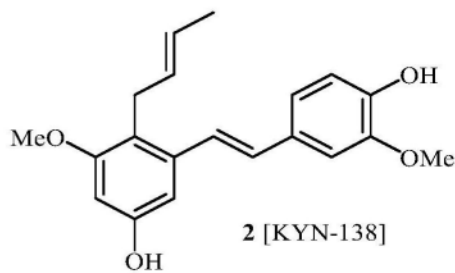
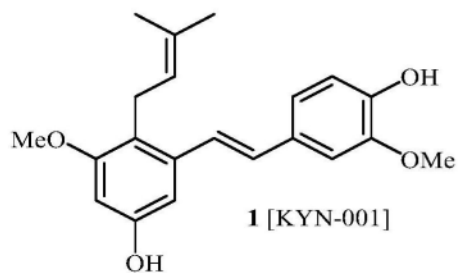
[0416] 且

[0417] 卤基是Br;

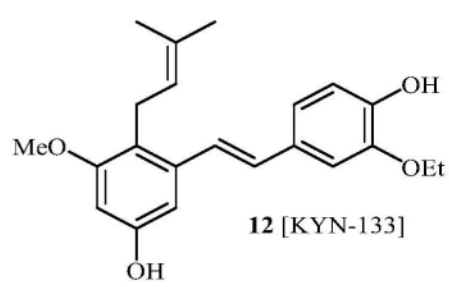
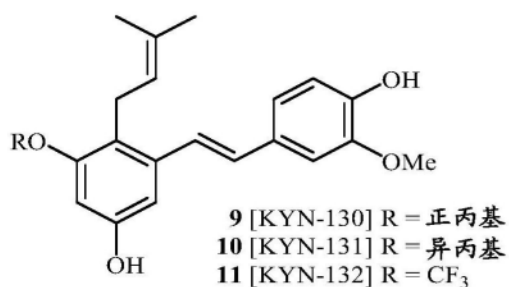
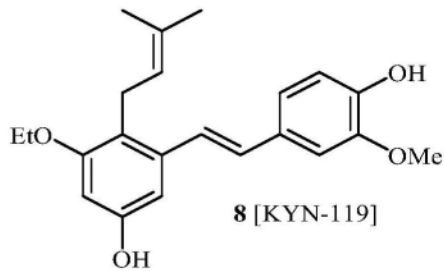
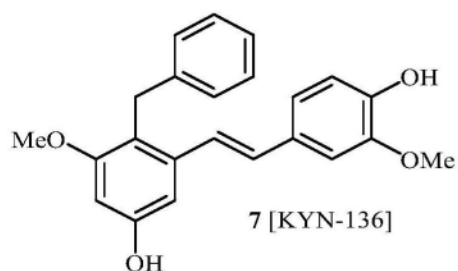
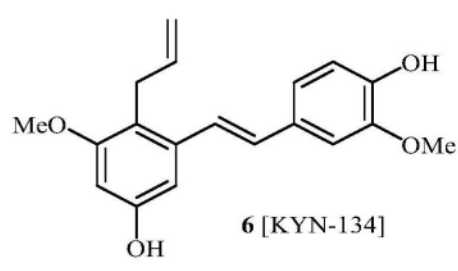
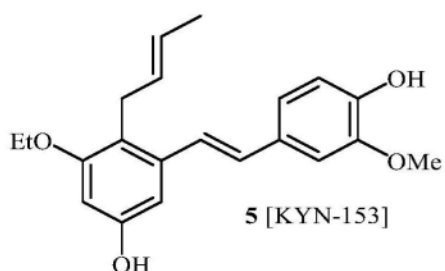
[0418] 其中在有碱存在下在钯催化剂催化下,式(IV)与选自3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯、巴豆基硼酸频哪醇酯、烯丙基硼酸频哪醇酯和苄基硼酸频哪醇酯的 R^{1a} 硼酸频哪醇酯偶联,以产生式(I)的化合物。

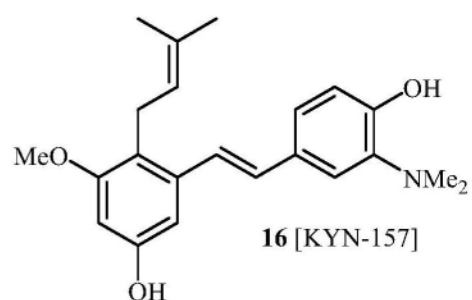
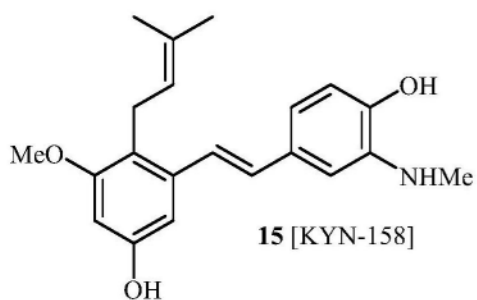
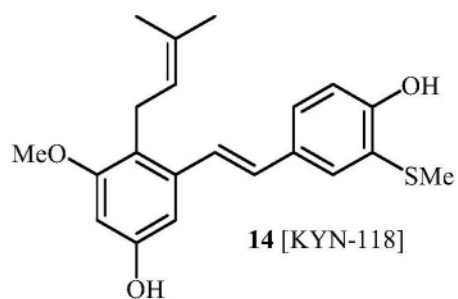
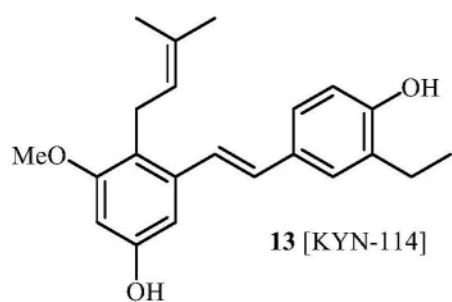
[0419] 在以上方法的一个具体实施方案中,式(IV)与3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯偶联,且在有碳酸钾存在下由四(三苯基膦)钯(0)催化。在一个实施方案中,所述式(I)的化合物选自化合物51和52。

[0420] 在合成式(I)的化合物的方法的一个实施方案中,根据式(I)的化合物选自:

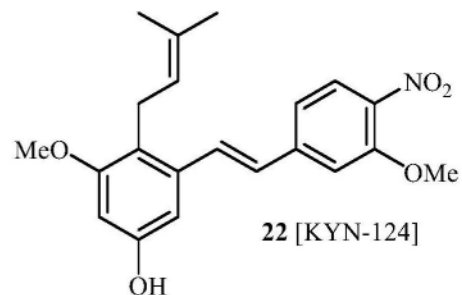
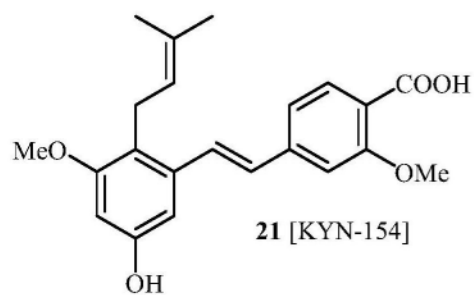
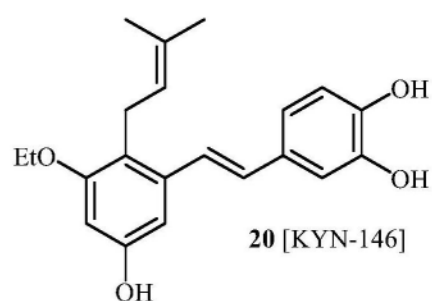
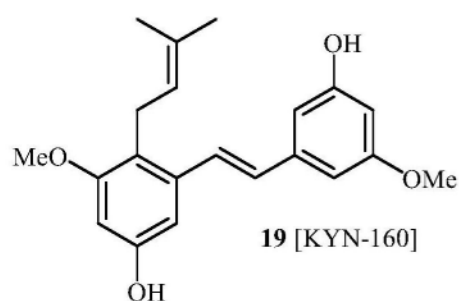
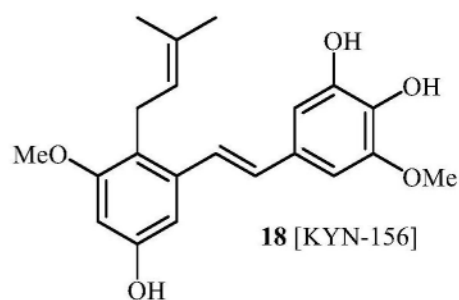
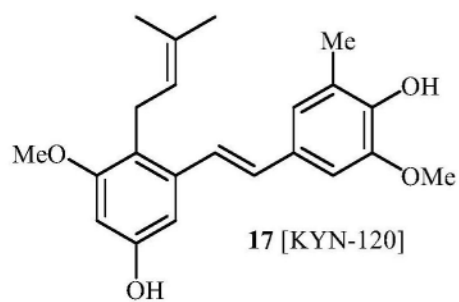


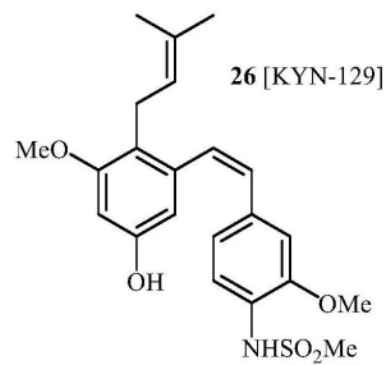
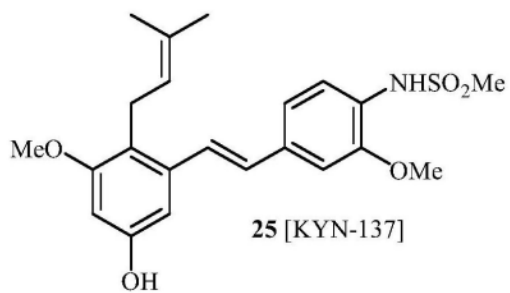
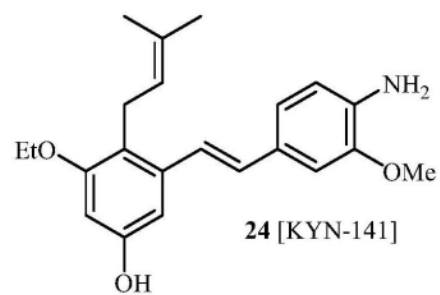
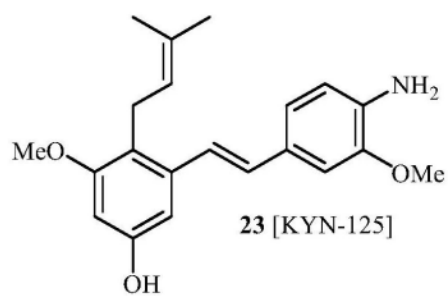
[0421]



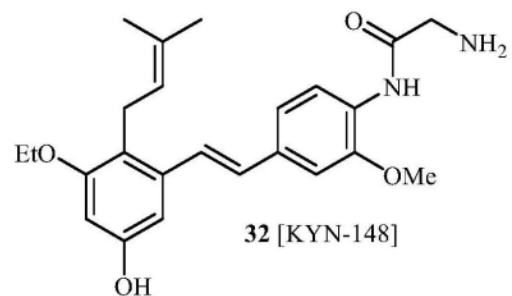
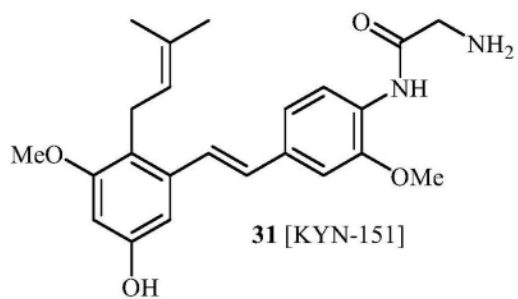
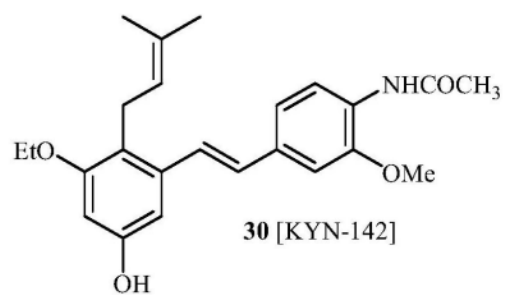
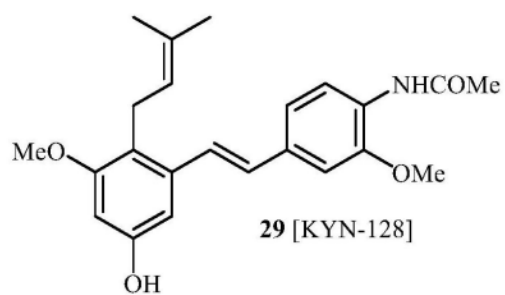
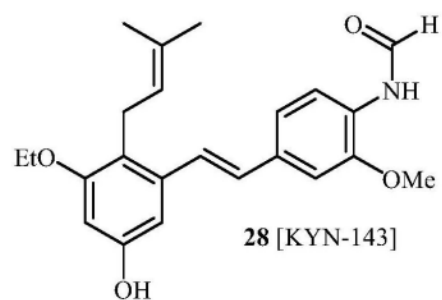
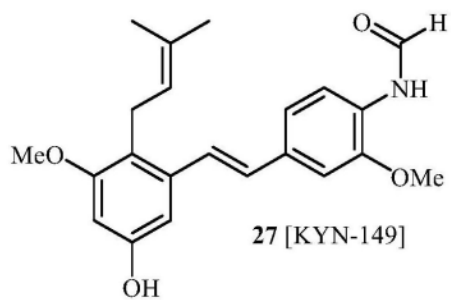


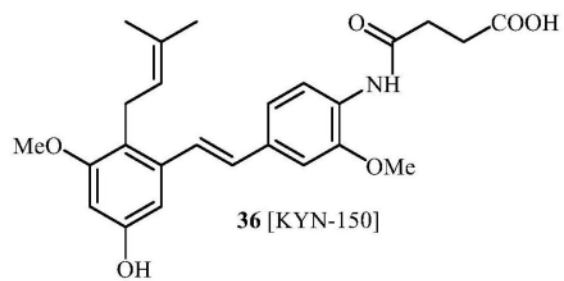
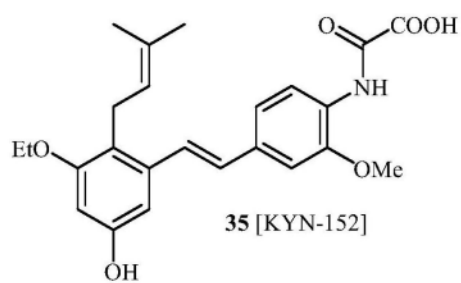
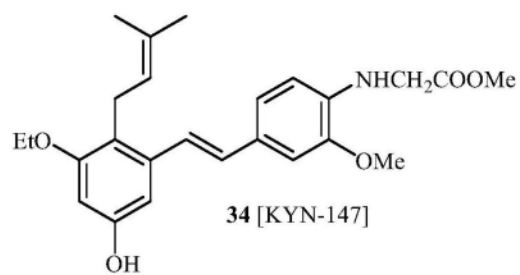
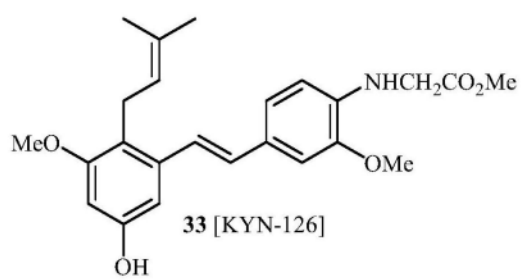
[0422]



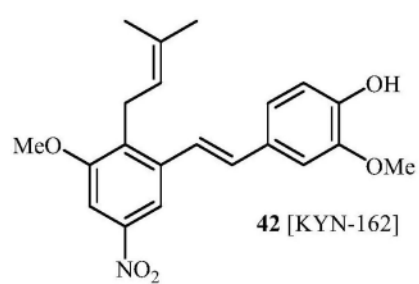
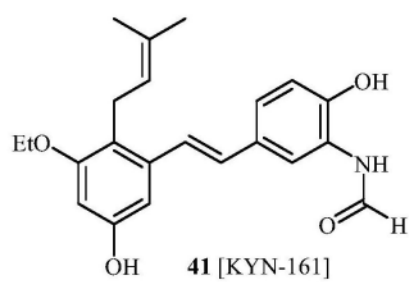
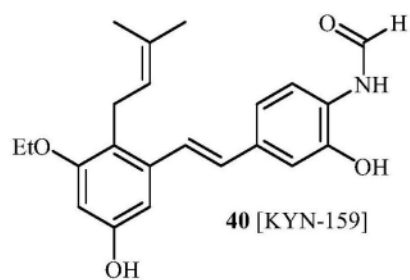
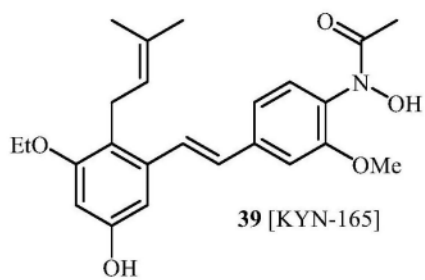
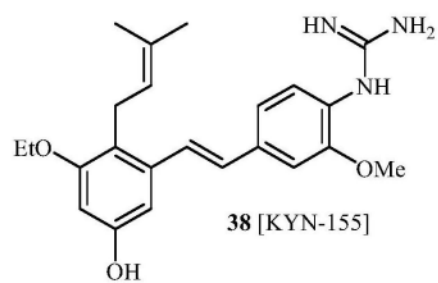
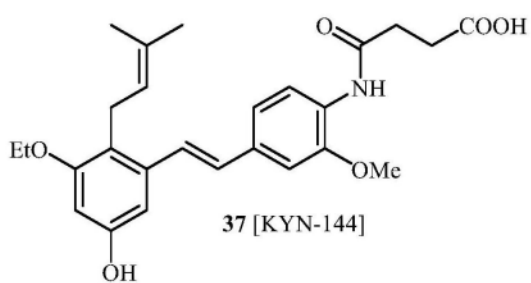


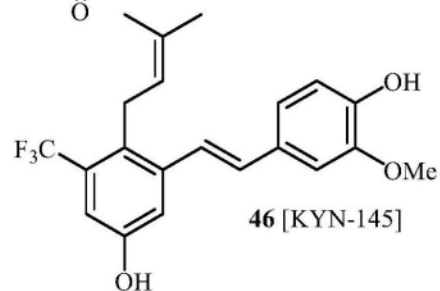
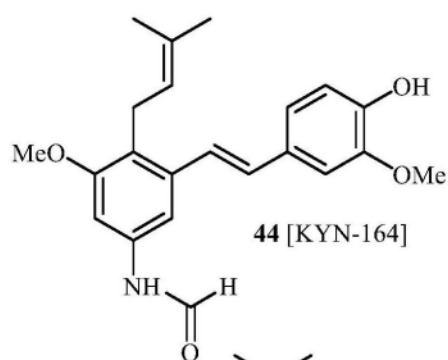
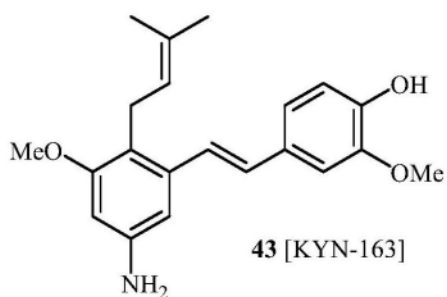
[0423]



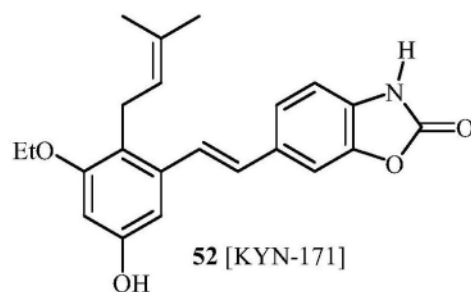
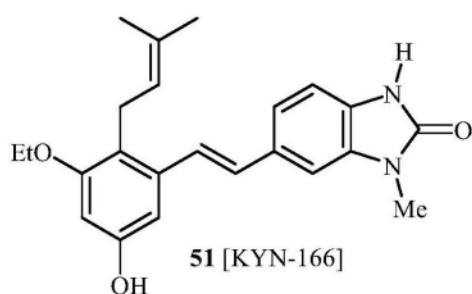
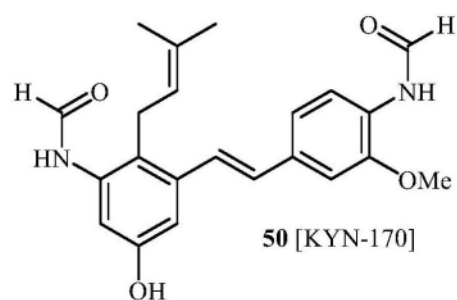
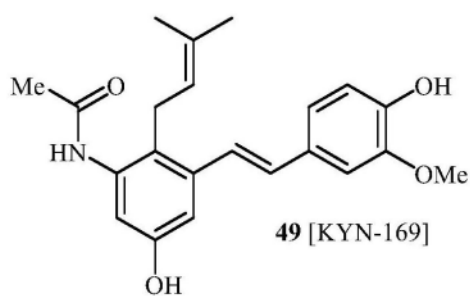
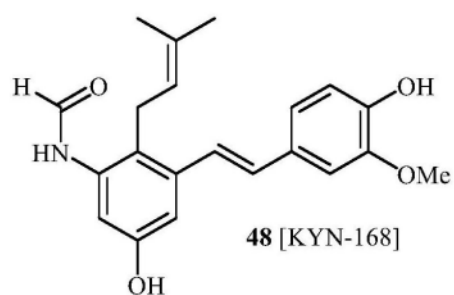
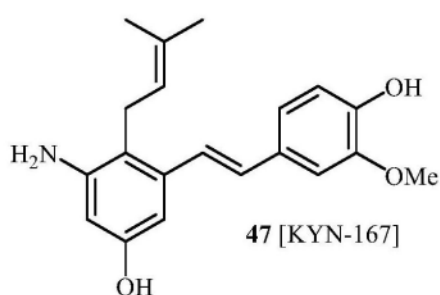


[0424]





[0425]



[0426] 在合成式(I)的化合物的方法的一个实施方案中,根据式(I)的化合物选自:

[0427] 化合物22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、36、24、33、34、35、36、37、38、39、40,

[0428] 式(IV)或(I)的化合物可以任选地经历一个或多个进一步的反应,包括、但不限于

与式 (IV) 或式 (I) 上的一个或多个 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 和/或 $-\text{OH}$ 取代基的反应。在一个实施方案中,该进一步的反应发生在式 (I) 的 R^{1f} 取代基处。在一个实施方案中,通过在有碱 (诸如三乙胺) 存在下含有 $-\text{OH}$ 取代基的化合物与氯代氧代乙酸甲酯的反应,可以将式 (IV) 或式 (I) 上的一个或多个 $-\text{OH}$ 取代基转化成甲氧基氧代乙酰氨基 ($-\text{NHC}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$) 取代基。在一个实施方案中,该进一步的反应发生在式 (I) 的 R^{1f} 取代基处。

[0429] 在一个实施方案中,通过在有碱 (诸如三乙胺) 存在下含有 NH_2 取代基的化合物与氯代氧代乙酸甲酯的反应,可以将一个或多个 $-\text{NH}_2$ 取代基转化成草酸甲酯取代基。在一个实施方案中,该进一步的反应发生在式 (I) 的 R^{1f} 取代基处。

[0430] 在一个实施方案中,通过含有 N 甲氧基氧代乙酰氨基取代基的化合物与碱 (例如 LiOH) 的反应,将一个或多个甲氧基氧代乙酰氨基取代基水解成 $-\text{NHC}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 取代基。在一个实施方案中,该进一步的反应发生在式 (I) 的 R^{1f} 取代基处。

[0431] 在一个实施方案中,通过含有草酸甲酯取代基的化合物与碱 (例如 LiOH) 的反应,可以将一个或多个草酸甲酯取代基水解成 $-\text{OH}$ 取代基。在一个实施方案中,该进一步的反应发生在式 (I) 的 R^{1f} 取代基处。

[0432] 在一个实施方案中,通过在有酸 (诸如对甲苯磺酸) 存在下含有 NH_2 取代基的化合物与氰胺的反应,可以将一个或多个 $-\text{NH}_2$ 取代基转化成胍 ($-\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$) 取代基。在一个实施方案中,该进一步的反应发生在式 (I) 的 R^{1f} 取代基处。

[0433] 在一个实施方案中,通过含有 NH_2 取代基的化合物与甲酸乙酯的反应,可以将一个或多个 $-\text{NH}_2$ 取代基转化成甲酰胺 ($-\text{NHC}(\text{O})\text{H}$) 取代基。在一个实施方案中,该进一步的反应发生在式 (I) 的 R^{1f} 取代基处。

[0434] 在一个实施方案中,通过在有碱诸如 DIPEA (二异丙基乙胺) 存在下含有 NH_2 取代基的化合物与乙酸酐的反应,可以将一个或多个 $-\text{NH}_2$ 取代基转化成乙酰氨基 ($-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_3$) 取代基。在一个实施方案中,该进一步的反应发生在式 (I) 的 R^{1f} 取代基处。

[0435] 在一个实施方案中,通过在有碱诸如 DIPEA (二异丙基乙胺) 存在下含有 NH_2 取代基的化合物与琥珀酸酐的反应,可以将一个或多个 $-\text{NH}_2$ 取代基转化成酰胺衍生物 ($-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}$) 取代基。在一个实施方案中,该进一步的反应发生在式 (I) 的 R^{1f} 取代基处。

[0436] 在一个实施方案中,通过在有三乙酰氧基硼氢化物存在下含有 NH_2 取代基的化合物与甲醛的反应,可以将一个或多个 $-\text{NH}_2$ 取代基转化成甲胺取代基 ($-\text{NHMe}$)。在一个实施方案中,该进一步的反应发生在式 (I) 的 R^{1f} 取代基处。

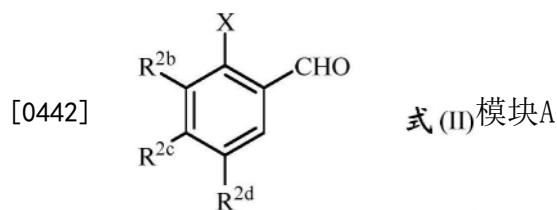
[0437] 在一个实施方案中,通过在有碱诸如 DIPEA (二异丙基乙胺) 存在下含有 $-\text{OH}$ 取代基的化合物与乙酸酐的反应,可以将一个或多个 $-\text{OH}$ 取代基转化成乙酸酯 ($-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$) 取代基。在一个实施方案中,该进一步的反应发生在式 (I) 的 R^{1f} 取代基处。

[0438] 在一个实施方案中,通过含有乙酸酯取代基的化合物与碱 (例如, LiOH) 的反应,可以将一个或多个乙酸酯取代基水解以形成 $-\text{OH}$ 取代基。在一个实施方案中,该进一步的反应发生在式 (I) 的 R^{1f} 取代基处。

[0439] 在一个实施方案中,通过例如在有氯化铵存在下含有 $-\text{NO}_2$ 取代基的化合物与 Zn 的反应,可以将一个或多个 $-\text{NO}_2$ 取代基还原成胺取代基。在一个实施方案中,该进一步的反应发生在式 (I) 的 R^{1f} 取代基处。

[0440] 模块 A

[0441] 在本文公开的方法的一个实施方案中,根据式(II)的化合物是



[0443] 其中

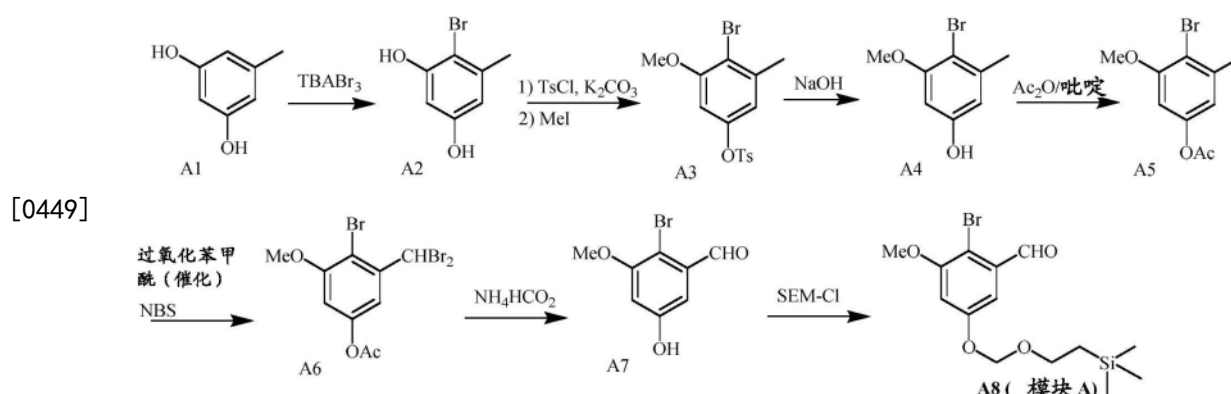
[0444] $R^{2b} = \text{OMe}$

[0445] $R^{2d} = \text{OH}$ 或 OSEM

[0446] $R^{2c} = \text{H}$

[0447] Hal是Br

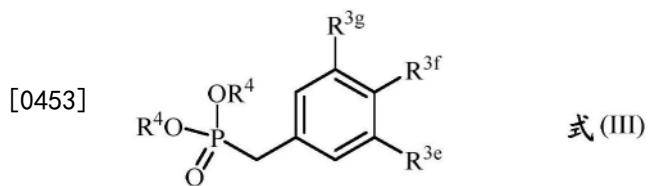
[0448] 在本文公开的方法的一个实施方案中,根据包含以下内容的步骤可以制备根据式(II)的化合物:i)单-或二-羟基取代的甲苯化合物的溴化;ii)一个羟基基团的保护和/或其它羟基基团的烷基化;iii)保护基的除去;iv)羟基基团的酰化;v)芳族甲基的二溴化;vi)二溴甲基的水解以形成醛;和vii)羟基的保护。在一个实施方案中,在步骤i)中提供了二-羟基取代的甲苯化合物的溴化。在本文公开的方法的一个实施方案中,根据包含以下内容的步骤可以制备根据式(II)的化合物:i)用溴化剂溴化在邻近C-键合的取代基的位置处的二-羟基取代的甲苯化合物;ii)用O-保护基保护羟基基团,随后用C1-C3烷基卤素烷基化;iii)在有碱存在下除去O-保护基;iv)在有碱存在下使用乙酸酐酰化羟基基团;v)使用溴化剂将芳族甲基基团二溴化以形成二溴甲基基团;vi)水解二溴甲基基团以形成醛;和vii)通过与能够提供O-保护基的合适化合物反应来保护羟基基团,所述O-保护基包括、但不限于 COMe 、 $t\text{-BuSi}(\text{CH}_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEM)、 $\text{CH}(\text{OEt})\text{CH}_3$ 、四氢吡喃基或 $\text{C}(\text{OEt})(\text{CH}_3)$ 。在一个实施方案中,在步骤vii)中提供了通过与2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEM)氯化物反应以提供2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEM)缩醛保护基来保护羟基基团。在一个具体实施方案中,根据式(II)的化合物是模块A并根据下述方法来制备:



[0450] 模块B

[0451] 在本文公开的方法的一个实施方案中,根据包含以下内容的步骤,可以从二-或三-取代的羟基和/或烷氧基取代的苯甲醛化合物开始制备根据式(III)的化合物:i)保护羟基基团;ii)将芳族醛还原成苯甲醇;iii)将苯甲醇与三烷基膦酸酯和碘化锌(II)偶联以形成二烷基苄基膦酸酯。

[0452] 在一个实施方案中,根据式(III)的化合物是模块B:



[0454] 模块B

[0455] 其中

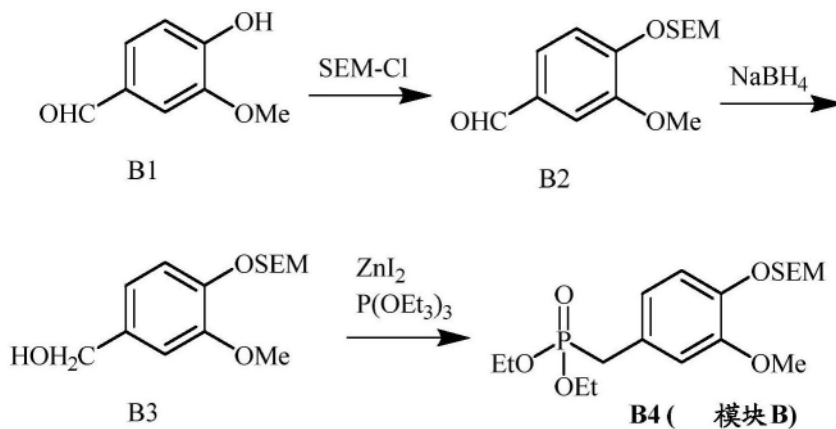
[0456] $R^{3g} = H$

[0457] $R^{3f} = OSEM$

[0458] $R^{3e} = OMe$

[0459] $R^4 = Et$

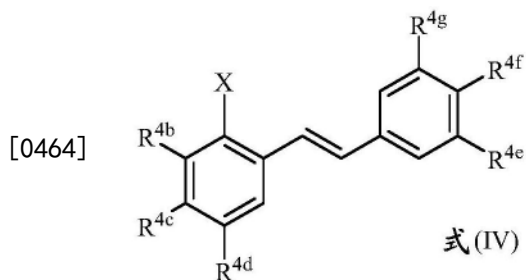
[0460] 在本文公开的方法的一个实施方案中,根据式(III)的化合物是模块B并根据下述方法来制备:



[0461]

[0462] 模块C

[0463] 在一个实施方案中,根据式(IV)的化合物是模块C:



[0465] 模块C

[0466] 其中

[0467] $R^{4b} = OMe$

[0468] $R^{4c} = H$

[0469] $R^{4d} = OSEM, OH$

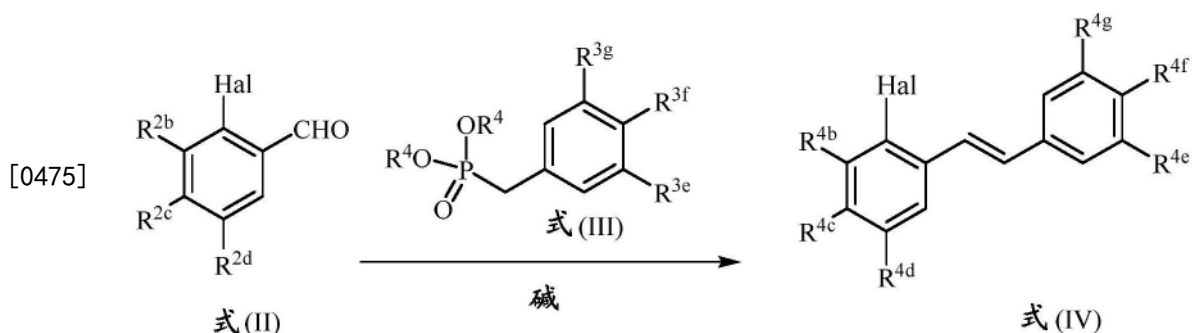
[0470] $R^{4g} = H$

[0471] $R^{4e} = OMe$

[0472] $R^{4f} = OSEM$

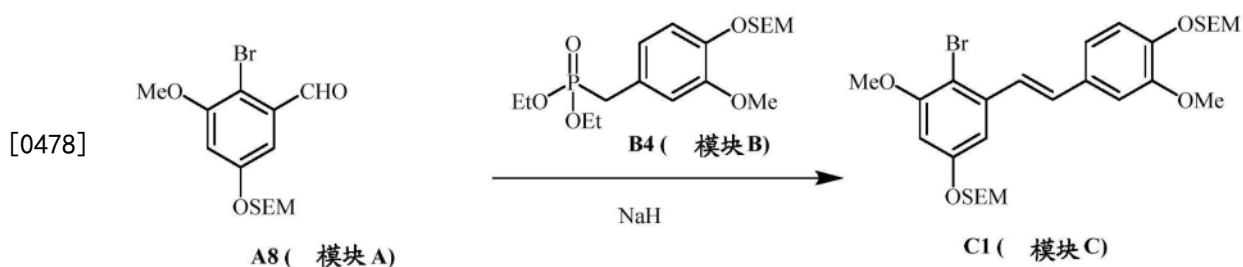
[0473] Hal=Br

[0474] 在本文公开的方法的一个实施方案中,根据下述方法制备根据式(IV)的化合物:



[0476] 其中所述碱可以是、但不限于NaH,且其中式(II)、(III)和(IV)如本文中定义。

[0477] 在本文公开的方法的一个实施方案中,根据以下,式(II)是模块A,式(III)是模块B,且式(IV)是模块C:

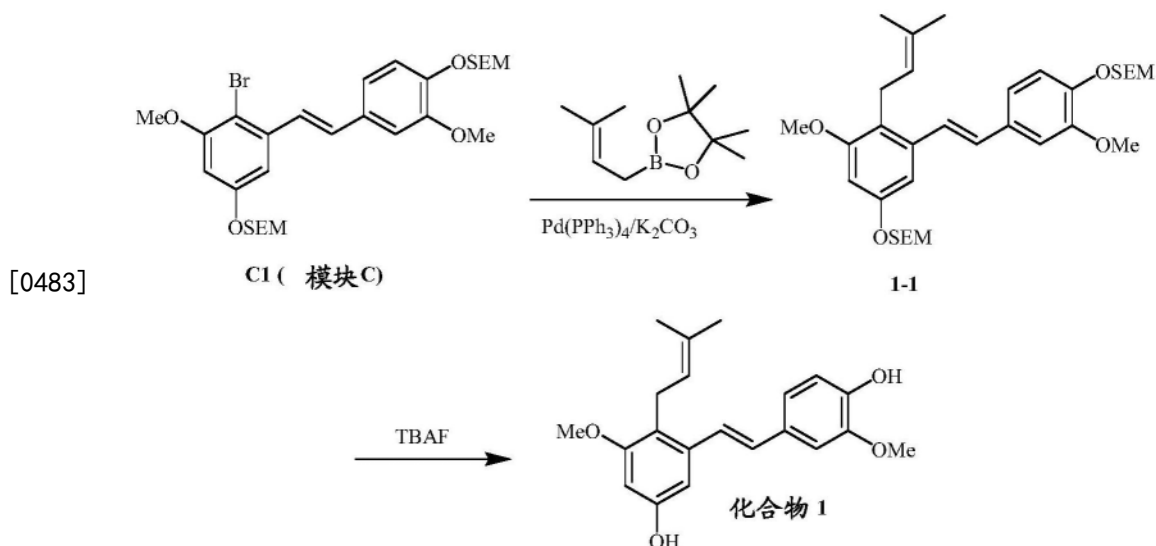


[0479] 芳基卤(模块C)的交叉偶联烷基化可以用例如烷基硼酸实现。作为本文公开的方法的一个例子,提供了下述实施方案:

[0480] 根据以下:

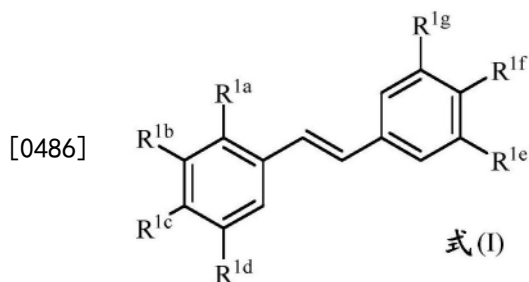
[0481] i) 在有四(三苯基膦)钯(0)和碳酸钾存在下使模块C与3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯偶联以提供化合物1.1;

[0482] ii) 将化合物1.1用四丁基氟化铵处理以提供化合物1,



[0484] 化合物和组合物

[0485] 本文中公开了通过本文公开的方法制备的根据式(I)的化合物,



[0487] 其中：

[0488] R^{1a} 是 Hal 、烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基、2-炔基；

[0489] R^{1b} 是 CF_3 、 OH 或 OR^2 、 NO_2 、 $NHEt$ 、 NMe_2 、 $NMeEt$ 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$ ；

[0490] R^{1c} 是 H 、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基；

[0491] R^{1d} 是 CF_3 、 OH 或 OR^2 、 NHR^3 、 NO_2 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$ ；

[0492] R^{1e} 是 H 、 C_1-C_6 烷基、 OH 、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ；

[0493] R^{1f} 是 H 、 OH 、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOR^2$ 、 $COOH$ ；

[0494] R^{1g} 是 H 、烷基、 CF_3 、 OH 或 OR^2 ；

[0495] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、 $COCOR^4$ 或当连接至 O 时是 O -保护基，其中所述 O -保护基选自 $COMe$ 、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基(SEM)缩醛、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$ ；

[0496] R^3 是 H 、 CH_3 、 OH 、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOH 、 CH_2COOR^2 、 $CO(CH_2)_nNH_2$ 、 $CONH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ 或 $COCOR^4$ (其中 $n=0,1$ 或 2)；

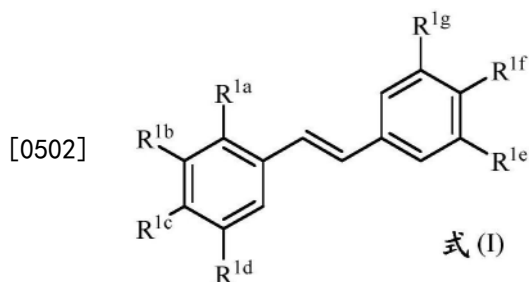
[0497] R^4 是 C_1-C_6 烷基；且

[0498] Hal 是选自 F 、 Cl 、 Br 、 I 和 At 的卤基；

[0499] R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是 H ；且

[0500] 当 R^{1e} 是 OH 、 NH_2 或 $NHMe$ 且 R^{1f} 是 NH_2 时， R^{1f} 的氮与羰基基团或 $(CO)CH_2$ 基团一起桥连至 R^{1e} 的氧或氮以形成5或6元杂环。

[0501] 本文中公开了根据式(I)的化合物：



[0503] 其中：

[0504] R^{1a} 是 Hal 、烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基、2-炔基；

[0505] R^{1b} 是 CF_3 、 OH 或 OR^2 、 NO_2 、 $NHEt$ 、 NMe_2 、 $NMeEt$ 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$ ；

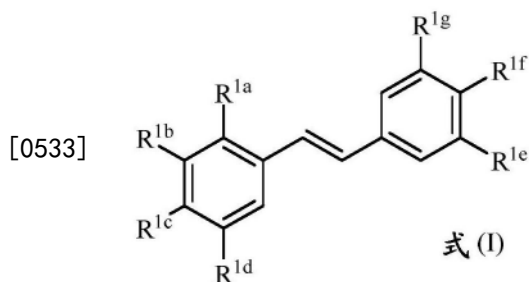
[0506] R^{1c} 是 H 、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基；

[0507] R^{1d} 是 CF_3 、 OH 或 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NMeR^3$ 、 $NHC=NH(NH_2)$ 或 $COOR^2$ ；

[0508] R^{1e} 是 H 、 C_1-C_6 烷基、 OH 、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 NHR^3 或 $NMeR^3$ 、 SR^2 ；

[0509] R^{1f} 是 H 、 OH 、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOR^2$ 、 $COOH$ ；

- [0510] R^{1g} 是H、烷基、 CF_3 、OH或 OR^2 ;
- [0511] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、 $COCOR^4$ 或当连接至O时是O-保护基,其中所述O-保护基选自COMe、t-BuSi(CH₃)₂、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基(SEM)缩醛、CH(OEt)CH₃、四氢吡喃基或C(OEt)(CH₃)₂;
- [0512] R^3 是H、CH₃、OH、(CO)H、(CO)Me、SO₂Me、CH₂COOH、CH₂COOR²、CO(CH₂)_nNH₂、CONH₂、CO(CH₂)_nCOOH或COCOR⁴(其中n=0、1或2);
- [0513] R^4 是C₁-C₆烷基;且
- [0514] Hal是选自F、Cl、Br、I和At的卤基;
- [0515] R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是H,
- [0516] 当 R^{1e} 是OH、NH₂或NHMe且 R^{1f} 是NH₂时, R^{1f} 的氮与羰基基团或(CO)CH₂基团一起桥连至 R^{1e} 的氧或氮以形成5或6元杂环;
- [0517] 前提条件是,
- [0518] 当 R^{1a} 和/或 R^{1c} 是异戊二烯基、 R^{1d} 是OH、 R^{1f} 是OH、 R^{1g} 是H且 R^{1e} 是OH、OMe或OEt时,则 R^{1b} 不可以是OH、OR,其中R=甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基或苄基。
- [0519] 在一个具体实施方案中,提供了式(I)的化合物,其中:
- [0520] R^{1a} 是烯丙基、异戊二烯基、苄基、2-烯基;
- [0521] R^{1b} 是 CF_3 、OH或 OR^2 ;
- [0522] R^{1c} 是H;
- [0523] R^{1d} 是OH、NH₂、N(CO)H;
- [0524] R^{1e} 是OH、 OR^2 、NO₂、NHR³或NMeR³、(CO)H、SMe;
- [0525] R^{1f} 是H、OH、 OR^2 、NO₂、NHR³、NHC=NH(NH₂)、COOH;
- [0526] R^{1g} 是H、烷基、OH;
- [0527] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基;
- [0528] R^3 是H、CH₃、OH、(CO)H、(CO)Me、SO₂Me、CH₂COOR²、COCH₂NH₂、CO(CH₂)_nCOOH(其中n=0、1或2)。
- [0529] 前提条件是,
- [0530] 当 R^{1a} 或 R^{1c} 是异戊二烯基、 R^{1d} 是OH、 R^{1f} 是OH、 R^{1g} 是H且 R^{1e} 是OH、OMe或OEt时,则 R^{1b} 不可以是OR,其中R=甲基、乙基、异丙基、丙基、丁基、异丁基、叔丁基或苄基。
- [0531] 在一个实施方案中,式(I)是选自如本文公开的化合物2-7、11、13-19、21-44、46-49、50、51、52[KYN 138、139、140、153、134、136、132、114、118、158、157、120、156、160、154、124、125、141、137、129、149、143、128、142、151、148、126、147、152、150、144、155、165、159、161、162、163、164、145、167、168、169、166、171、KYN-170]的化合物。
- [0532] 本文还公开了实施方案,其中式(I)的 R^{1b} 和 R^{1d} 之一是除了OH或 OR^2 之外的取代基。在一个实施方案中, R^{1b} 或 R^{1d} 中的至少一个是 CF_3 、NO₂、NHR³、NMeR³、NHC=NH(NH₂)或COOR。因此,还提供了根据式(I)的化合物:



[0534] 其中：

[0535] R^{1a} 是 Hal 、烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基、2-炔基；

[0536] R^{1b} 是 CF_3 、 OH 或 OR^2 、 NO_2 、 NHEt 、 NMe_2 、 NMeEt 、 NHR^3 、 NMeR^3 、 $\text{NHC}=\text{NH}(\text{NH}_2)$ 或 COOR^2 ；

[0537] R^{1c} 是 H 、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基；

[0538] R^{1d} 是 CF_3 、 OH 或 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 NMeR^3 、 $\text{NHC}=\text{NH}(\text{NH}_2)$ 或 COOR^2 ；

[0539] R^{1e} 是 H 、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、 OH 、 OR^2 、 NO_2 、 NMe_2 、 NHR^3 或 NMeR^3 、 SR^2 ；

[0540] R^{1f} 是 H 、 OH 、 OR^2 、 NO_2 、 NHR^3 、 $\text{NHC}=\text{NH}(\text{NH}_2)$ 、 COOR^2 、 COOH ；

[0541] R^{1g} 是 H 、烷基、 CF_3 、 OH 或 OR^2 ；

[0542] 其中 R^{1b} 或 R^{1d} 中的至少一个是 CF_3 、 NO_2 、 NHR^3 、 NMeR^3 、 $\text{NHC}=\text{NH}(\text{NH}_2)$ 或 COOR^2 ；

[0543] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、 COCOR^4 或 O-保护基 ，其中所述 O-保护基 选自 COMe 、 $\text{t-BuSi}(\text{CH}_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基 (SEM) 缩醛、 $\text{CH}(\text{OEt})\text{CH}_3$ 、四氢吡喃基或 $\text{C}(\text{OEt})(\text{CH}_3)_2$ ；

[0544] R^3 是 H 、 CH_3 、 OH 、 $(\text{CO})\text{H}$ 、 $(\text{CO})\text{Me}$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOH 、 CH_2COOR^2 、 $\text{CO}(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$ 、 CONH_2 、 $\text{CO}(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ 或 COCOR^4 (其中 $n=0, 1$ 或 2)；

[0545] R^4 是 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基；且

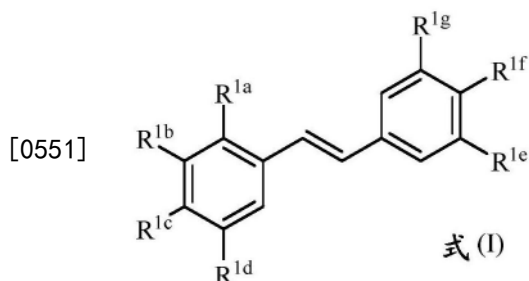
[0546] Hal 是选自 F 、 Cl 、 Br 、 I 和 At 的卤基；

[0547] R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是 H ，

[0548] 当 R^{1e} 是 OH 、 NH_2 或 NHMe 且 R^{1f} 是 NH_2 时， R^{1f} 的氮与羰基基团或 $(\text{CO})\text{CH}_2$ 基团一起桥连至 R^{1e} 的氧或氮以形成 5 或 6 元杂环。

[0549] 在一个实施方案中，式 (I) 是选自如本文公开的化合物 11、43、44、46、47、48、49、50 [KYN-132、163、164、145、167、168、169 [KYN-170] 的化合物。

[0550] 本文还公开了实施方案，其中在 B 环上的取代基 R^{1f} 不是 H 、 OH 或 OR^2 且 R^{1e} 不是 H 。在一个实施方案中，提供了式 (I) 的化合物



[0552] 其中：

[0553] R^{1a} 是 Hal 、烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基、2-炔基；

[0554] R^{1b} 是 CF_3 、 OH 或 OR^2 、 NO_2 、 NHMe 、 NHEt 、 NMe_2 、 NMeEt 、 NHR^3 、 NMeR^3 、 $\text{NHC}=\text{NH}(\text{NH}_2)$ 或

COOR^2 、 NHR^3 、 NMeR^3 、 $\text{NHC}=\text{NH}(\text{NH}_2)$ 或 COOR^2 ;

[0555] R^{1c} 是 H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基;

[0556] R^{1d} 是 CF_3 、OH 或 OR^2 、 NHR^3 、 NO_2 、 NH_2 、 NHMe 、 $\text{NHC}=\text{NH}(\text{NH}_2)$ 或 COOR^2 ;

[0557] R^{1e} 是 OH、 OR^2 ;

[0558] R^{1f} 是 NO_2 、 NHR^3 、 $\text{NHC}=\text{NH}(\text{NH}_2)$ 、 COOR^2 、 COOH 、 NHSO_2Me 、 $\text{NHC}(\text{O})(\text{CH}_2)\text{COOH}$ 、 $\text{NHC}(\text{O})\text{COOH}$ 、 $\text{NHC}(\text{O})(\text{CH}_2)\text{NNH}_2$ 、 $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、 $\text{NHCH}_2\text{COOMe}$ 、 $\text{NHC}(\text{O})\text{H}$ 、 $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $\text{NHC}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ 、 $\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$;

[0559] R^{1g} 是 H;

[0560] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或 O-保护基, 其中所述 O-保护基选自 COMe 、 $\text{t-BuSi}(\text{CH}_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基 (SEM) 缩醛、 $\text{CH}(\text{OEt})\text{CH}_3$ 、四氢吡喃基或 $\text{C}(\text{OEt})(\text{CH}_3)_2$;

[0561] R^3 是 H、 CH_3 、OH、 $(\text{CO})\text{H}$ 、 $(\text{CO})\text{Me}$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOH 、 CH_2COOR^2 、 COCH_2NH_2 、 CONH_2 、 $\text{CO}(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ 、 $\text{CO}(\text{CH}_2)_n\text{COOR}^4$ (其中 $n=0, 1$ 或 2);

[0562] R^4 是 C1-C6 烷基;

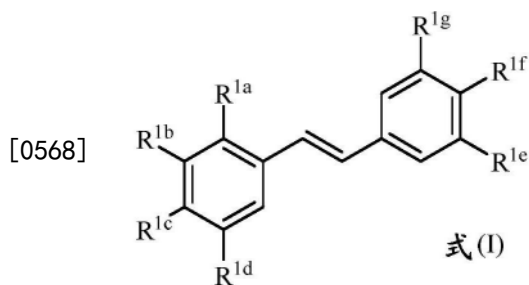
[0563] Hal 是选自 F、Cl、Br、I 和 At 的卤基;

[0564] R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是 H, 且

[0565] 当 R^{1e} 是 OH、 NH_2 或 NHMe 且 R^{1f} 是 NH_2 时, R^{1f} 的氮与羰基基团或 $(\text{CO})\text{CH}_2$ 基团一起桥连至 R^{1e} 的氧或氮以形成 5 或 6 元杂环。

[0566] 在一个实施方案中, 式 (I) 是选自如本文公开的化合物 21-40、50、51、52 [KYN-154、124、125、141、137、129、149、143、128、142、151、148、126、147、152、150、144、155、165、159、166、170、171] 的化合物。

[0567] 本文还公开了实施方案, 其中在 B 环上的取代基 R^{1e} 不是 H、OH 或 OR^2 且 R^{1f} 不是 H。在一个实施方案中, 提供了式 (I) 的化合物:



[0569] 其中:

[0570] R^{1a} 是 Hal 、烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基、2-炔基;

[0571] R^{1b} 是 CF_3 、OH 或 OR^2 、 NO_2 、 NHMe 、 NHEt 、 NMe_2 、 NMeEt 、 NHR^3 、 NMeR^3 、 $\text{NHC}=\text{NH}(\text{NH}_2)$ 或 COOR^2 、 NHR^3 、 NMeR^3 、 $\text{NHC}=\text{NH}(\text{NH}_2)$ 或 COOR^2 ;

[0572] R^{1c} 是 H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、异戊二烯基、香叶基、法呢基或苄基;

[0573] R^{1d} 是 CF_3 、OH 或 OR^2 、 NHR^3 、 NO_2 、 NH_2 、 NHMe 、 $\text{NHC}=\text{NH}(\text{NH}_2)$ 或 COOR^2 ;

[0574] R^{1e} 是 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、 NO_2 、 NH_2 、 NHMe 、 NMe_2 、 NHR^3 或 NMeR^3 、 SR^2 ;

[0575] R^{1f} 是 OH、 OR^2 ;

[0576] R^{1g} 是 H;

[0577] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基或 O-保护基, 其中

所述O-保护基选自COMe、t-BuSi(CH₃)₂、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基(SEM)缩醛、CH(OEt)CH₃、四氢吡喃基或C(OEt)(CH₃)₂;

[0578] R³是H、CH₃、OH、(CO)H、(CO)Me、SO₂Me、CH₂COOH、CH₂COOR²、COCH₂NH₂、CONH₂、CO(CH₂)_nCOOH(其中n=0、1或2);且

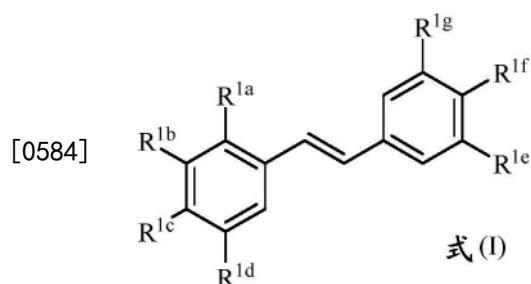
[0579] Hal是选自F、Cl、Br、I和At的卤基;

[0580] R^{1e}、R^{1f}或R^{1g}中的仅一个可以是H,

[0581] 当R^{1e}是OH、NH₂或NHMe且R^{1f}是NH₂时,R^{1f}的氮与羰基基团或(CO)CH₂基团一起桥连至R^{1e}的氧或氮以形成5或6元杂环。

[0582] 在一个实施方案中,式(I)是选自如本文公开的化合物13-16、41[KYN-114、118、158、157、161]的化合物。

[0583] 本文还公开了实施方案,其中在A或B环上不存在异戊二烯基基团。在一个实施方案中,提供了式(I)的化合物:



[0585] 其中:

[0586] R^{1a}是Hal、烯丙基、巴豆基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基、2-炔基;

[0587] R^{1b}是CF₃、OH或OR²、NO₂、NHMe、NHEt、NMe₂、NMeEt、NHR³、NMeR³、NHC=NH(NH₂)或COOR²;

[0588] R^{1c}是H、烷基、烯基、炔基、烷烃二烯基、香叶基、法呢基或苄基;

[0589] R^{1d}是CF₃、OH或OR²、NHR³、NO₂、NH₂、NHMe、NHC=NH(NH₂)或COOR²;

[0590] R^{1e}是H、OH、OR²、NO₂、NH₂、NHMe、NMe₂、NHR³或NMeR³、SR²;

[0591] R^{1f}是H、OH、OR²、NO₂、NH₂、NHMe、NHR³、NHC=NH(NH₂)、COOR²、COOH;

[0592] R^{1g}是H、烷基、CF₃、OH或OR²;

[0593] R²是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、C(O)C(O)OR⁴或O-保护基,其中所述O-保护基选自COMe、t-BuSi(CH₃)₂、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基(SEM)缩醛、CH(OEt)CH₃、四氢吡喃基或C(OEt)(CH₃)₂;

[0594] R³是H、CH₃、OH、(CO)H、(CO)Me、SO₂Me、CH₂COOH、CH₂COOR²、COCH₂NH₂、CONH₂、CO(CH₂)_nCOOH(其中n=0、1或2);

[0595] R⁴是C1-C6烷基;且

[0596] Hal是选自F、Cl、Br、I和At的卤基;

[0597] R^{1e}、R^{1f}或R^{1g}中的仅一个可以是H,且

[0598] 当R^{1e}是OH、NH₂或NHMe且R^{1f}是NH₂时,R^{1f}的氮与羰基基团或(CO)CH₂基团一起桥连至R^{1e}的氧或氮以形成5或6元杂环。

[0599] 在一个具体实施方案中,提供了根据式(I)的化合物,其中:

[0600] R^{1a}是烯丙基、巴豆基、香叶基、法呢基、苄基、2-烯基、2-炔基;

- [0601] R^{1b} 是 CF_3 、 OH 、 OR^2 ;
- [0602] R^{1c} 是 H ;
- [0603] R^{1d} 是 OH 或 OR^2 、 NH_2 、 $NH(CO)H$;
- [0604] R^{1e} 是 OR^2 、 R^4 、 NO_2 、 NH_2 、 $NHMe$ 、 NMe_2 、 SR^2 ;
- [0605] R^{1f} 是 OH 、 OR^2 、 NO_2 、 NH_2 、 $NHMe$ 、 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$ 、 $COOR^2$ 、 $COOH$;
- [0606] R^{1g} 是 H ;
- [0607] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、三氟甲基、 $C(O)C(O)OR^4$ 或 O -保护基,其中所述保护基选自 $COMe$ 、 $t-BuSi(CH_3)_2$ 、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基 (SEM) 缩醛、 $CH(OEt)CH_3$ 、四氢吡喃基或 $C(OEt)(CH_3)_2$;
- [0608] R^3 是 H 、 CH_3 、 OH 、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOH 、 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CONH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ (其中 $n=0,1$ 或 2);
- [0609] R^4 是 $C1-C6$ 烷基;
- [0610] 且
- [0611] Hal 是选自 F 、 Cl 、 Br 、 I 和 At 的卤基;
- [0612] R^{1e} 、 R^{1f} 或 R^{1g} 中的仅一个可以是 H ;
- [0613] 当 R^{1e} 是 OH 、 NH_2 或 $NHMe$ 且 R^{1f} 是 NH_2 时, R^{1f} 的氮与羰基基团或 $(CO)CH_2$ 基团一起桥连至 R^{1e} 的氧或氮以形成 5 或 6 元杂环。
- [0614] 在一个实施方案中,式 (I) 是选自如本文公开的化合物 2、3、4、5、6、7 [KYN-138、139、140、153、134、136] 的化合物。
- [0615] 在另一个实施方案中,提供了式 (I) 的化合物,其中:
- [0616] R^{1a} 是异戊二烯基;
- [0617] R^{1b} 是 OR^2 ;
- [0618] R^{1c} 是 H ;
- [0619] R^{1d} 是 OH ;
- [0620] R^{1e} 是 OR^2 ;
- [0621] R^{1f} 是 NHR^3 、 $NHC=NH(NH_2)$;
- [0622] R^{1g} 是 H ;
- [0623] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基;且
- [0624] R^3 是 H 、 CH_3 、 OH 、 $(CO)H$ 、 $(CO)Me$ 、 SO_2Me 、 CH_2COOR^2 、 $COCH_2NH_2$ 、 $CO(CH_2)_nCOOH$ (其中 $n=0,1$ 或 2)。
- [0625] 在另一个实施方案中,提供了式 (I) 的化合物,其中:
- [0626] R^{1a} 是异戊二烯基;
- [0627] R^{1b} 是 OR^2 ;
- [0628] R^{1c} 是 H ;
- [0629] R^{1d} 是 OH ;
- [0630] R^{1e} 是 OR^2 ;
- [0631] R^{1f} 是 OH ;
- [0632] R^{1g} 是烷基、 OH ;
- [0633] R^2 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基;且

[0634] 烷基是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基。

[0635] 本文中公开了根据式(I)的化合物,其具有在A和/或B环上的至少一个甲酰胺基团和/或乙氧基(ethoxide)基团。在一个实施方案中,所述A环具有至少一个乙氧基(ethoxide)取代基。所述乙氧基(ethoxide)取代基可以是在A环的R^{1b}或R^{1d}位置处。在另一个实施方案中,所述A环具有甲酰胺取代基。在另一个实施方案中,所述B环具有甲酰胺取代基。在另一个实施方案中,所述A环具有至少一个乙氧基(ethoxide)取代基且所述B环具有甲酰胺取代基。在一个具体实施方案中,式(I)的化合物可以选自化合物8、20、24、27、28、30、32、34、35、37-41、50、51[KYN-119、146、141、149、143、142、148、147、152、144、155、165、159、161、170]。

[0636] 治疗方法

[0637] 提供了一种用于治疗癌症的方法,其包含给有需要的患者施用治疗有效量的如本文公开的式(I)的化合物或药学上可接受的盐、溶剂化物或包括所述化合物的药物组合物。

[0638] 初步结果

[0639] 讨论

[0640] W02012/149608公开了特定的异戊二烯基化的聚羟基均二苯乙烯衍生物的抗癌活性。具体地,发现如在本文公开的化合物1[KYN-001]在癌性细胞的抑制中具有有效活性。已经将本公开内容的化合物的活性与化合物1进行了对比。

[0641] 初步研究指示,化合物(其中R^{1b}=OEt和/或至少一个酚OH被甲酰胺基团替换)是非常有效的癌症抑制剂。从表6可见,42种癌细胞系的IC₅₀值(平均活性),效力顺序为28>27>8>20>1。具有甲酰胺和OEt的化合物28最有活性,其次是具有R^{1b}=OMe和甲酰胺的27。

[0642] 附图简述

[0643] 图1是在分离之前LM-6-44(化合物2、3和4的混合物)的色谱图。

[0644] 图2是在分离之后LM-6-44-P1(化合物4)的色谱图。

[0645] 图3是在分离之后LM-6-44-P2(化合物2)的色谱图。

[0646] 图4是在分离之后LM-6-44-P3(化合物3)的色谱图。

[0647] 图5是在分离之前LM-6-85(化合物5、E-5-4和E-5-5的混合物)的色谱图。

[0648] 图6是在分离之后LM-6-85-P2(化合物5)的色谱图。

[0649] 图7是在分离之后LM-6-85-P1(化合物5-5)的色谱图。

[0650] 图8是在分离之后LM-6-85-P3(化合物5-4)的色谱图。

[0651] 图9显示了不同浓度的化合物28对CCL2释放的抑制和细胞生存力的抑制的%效应。

[0652] 图10显示了不同浓度的化合物28对IL-8释放的抑制和细胞生存力的抑制的%效应。

[0653] 图11显示了不同浓度的化合物28对IL-17A释放的抑制和细胞生存力的抑制的%效应。

[0654] 图12显示了不同浓度的化合物28对IL-2和IL-4释放的抑制和细胞生存力的抑制的%效应。

[0655] 图13显示了化合物1、8、20、27、28、31和35的浓度-应答图。

[0656] 图13.1显示了化合物1对以下方面的影响:A.来自在人角质形成细胞中由IL-4、

IL-13、IL-22和IFN- γ 诱导的炎症的CCL2释放,B.来自在人角质形成细胞中由IL-17和TNF- α 诱导的炎症的IL-8释放,C.来自在人PBMC中由CD3、CD28和IL-23诱导的炎症的IL-17A释放,D.来自在T-细胞中由CD2、CD3和CD28诱导的炎症的IL-4和IL-2释放。平行评估了在每个测定中化合物1对细胞生存力的影响。

[0657] 图13.2显示了化合物8对以下方面的影响:A.来自在人角质形成细胞中由IL-4、IL-13、IL-22和IFN- γ 诱导的炎症的CCL2释放,B.来自在人角质形成细胞中由IL-17和TNF- α 诱导的炎症的IL-8释放,C.来自在人PBMC中由CD3、CD28和IL-23诱导的炎症的IL-17A释放,D.来自在T-细胞中由CD2、CD3和CD28诱导的炎症的IL-4和IL-2释放。平行评估了在每个测定中化合物8对细胞生存力的影响。

[0658] 图13.3显示了化合物20对以下方面的影响:A.来自在人角质形成细胞中由IL-4、IL-13、IL-22和IFN- γ 诱导的炎症的CCL2释放,B.来自在人角质形成细胞中由IL-17和TNF- α 诱导的炎症的IL-8释放,C.来自在人PBMC中由CD3、CD28和IL-23诱导的炎症的IL-17A释放,D.来自在T-细胞中由CD2、CD3和CD28诱导的炎症的IL-4和IL-2释放。平行评估了在每个测定中化合物20对细胞生存力的影响。

[0659] 图13.4显示了化合物27对以下方面的影响:A.来自在人角质形成细胞中由IL-4、IL-13、IL-22和IFN- γ 诱导的炎症的CCL2释放,B.来自在人角质形成细胞中由IL-17和TNF- α 诱导的炎症的IL-8释放,C.来自在人PBMC中由CD3、CD28和IL-23诱导的炎症的IL-17A释放,D.来自在T-细胞中由CD2、CD3和CD28诱导的炎症的IL-4和IL-2释放。平行评估了在每个测定中化合物27对细胞生存力的影响。

[0660] 图13.5显示了化合物28对以下方面的影响:A.来自在人角质形成细胞中由IL-4、IL-13、IL-22和IFN- γ 诱导的炎症的CCL2释放,B.来自在人角质形成细胞中由IL-17和TNF- α 诱导的炎症的IL-8释放,C.来自在人PBMC中由CD3、CD28和IL-23诱导的炎症的IL-17A释放,D.来自在T-细胞中由CD2、CD3和CD28诱导的炎症的IL-4和IL-2释放。平行评估了在每个测定中化合物28对细胞生存力的影响。

[0661] 图13.6显示了化合物31对以下方面的影响:A.来自在人角质形成细胞中由IL-4、IL-13、IL-22和IFN- γ 诱导的炎症的CCL2释放,B.来自在人角质形成细胞中由IL-17和TNF- α 诱导的炎症的IL-8释放,C.来自在人PBMC中由CD3、CD28和IL-23诱导的炎症的IL-17A释放,D.来自在T-细胞中由CD2、CD3和CD28诱导的炎症的IL-4和IL-2释放。平行评估了在每个测定中化合物31对细胞生存力的影响。

[0662] 图13.7显示了化合物35对以下方面的影响:A.来自在人角质形成细胞中由IL-4、IL-13、IL-22和IFN- γ 诱导的炎症的CCL2释放,B.来自在人角质形成细胞中由IL-17和TNF- α 诱导的炎症的IL-8释放,C.来自在人PBMC中由CD3、CD28和IL-23诱导的炎症的IL-17A释放,D.来自在T-细胞中由CD2、CD3和CD28诱导的炎症的IL-4和IL-2释放。平行评估了在每个测定中化合物35对细胞生存力的影响。

[0663] 图14.化合物1[KYN-001]、20[KYN-146]和27[KYN-149]对三个患者衍生的多形性胶质母细胞瘤 (GBM) 细胞样品的浓度依赖性抑制,所述样品被命名为A.BNA99、B.BNB04和C.BNB18。

[0664] 图15.从治疗的小鼠分离的不同组织样品中的化合物27的浓度。

[0665] 图16.来自治疗的1和2号小鼠的肿瘤样品的组织化学分析。

[0666] 图17.来自治疗的3、4和5号小鼠的样品的组织化学分析。

[0667] 图18.化合物27对在BALB/c小鼠中异种移植的黑素瘤B16F10的影响。

[0668] 定义

[0669] 除非另外明确定义,否则在本文中使用的所有技术和科学术语应视为具有与本领域(例如,化学、生物化学、药物化学、微生物学等)的普通技术人员通常理解的相同的含义。尽管与本文描述的那些类似或等效的方法和材料都可以用于实践或试验本发明,但是下面描述了适合的方法和材料。在冲突的情况下,以本说明书(包括定义)为准。另外,所述的材料、方法和实施例仅仅是示例性的,无意成为限制性的。

[0670] 本文中使用的术语“和/或”例如“X和/或Y”应被理解是指“X和Y”或“X或Y”,并应被视为提供对这两种含义或对任一种含义的明确支持,例如A和/或B包括选项i) A、ii) B或iii) A和B。

[0671] 如本文中使用的,除非有相反说明,否则术语“约”表示指定值的 $\pm 20\%$,典型地 $\pm 10\%$,典型地 $\pm 5\%$ 。

[0672] 本文中使用的术语“一个/种(a)”、“一个/种(an)”和“所述”包括单数和复数方面,除非上下文另外清楚地指出。

[0673] 应当明白,为了清楚起见,本文在单独实施方案的上下文中描述的某些特征也可以在单个实施方案中组合地提供。相反,为简洁起见,在单个实施方案的上下文中描述的各种特征也可以单独地或以任何子组合提供。

[0674] 贯穿本说明书,本发明的各个方面和组件可以以范围格式呈现。范围格式为方便起见而被包括,并且不应被解释为对本发明范围的不灵活限制。因此,除非特别指出,否则范围的描述应被认为已经具体公开了所有可能的子范围以及在所述范围内的各个数值。例如,对范围诸如从1至5的描述应被视为已经具体公开了子范围诸如从1至3、从1至4、从1至5、从2至4、从2至5、从3至5等,以及在所述范围内的个别和部分数字,例如、1、2、3、4、5、5.5和6,除非需要整数或从上下文中隐含。无论公开范围的广度如何,这都适用。如果需要特定值,这些将在说明书中指出。

[0675] 贯穿本说明书,词语“包含”或变体诸如“包括”或“含有”应当理解为暗示包括所述要素、整数或步骤,或者要素、整数或步骤的集合,但不排除任何其它要素、整数或步骤,或者要素、整数或步骤的集合。

[0676] 本文中使用的术语“卤素(halogen)”是指氟、氯、溴、碘或砹。

[0677] 本文中使用的术语“烃”包括由氢和碳原子组成的化学化合物。

[0678] 本文中使用的术语“烷基”包括直链(即,线性)和支链烷基。烷基的例子包括、但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基、仲丁基、戊基和己基基团。在一个实施例中,所述烷基基团具有1-6个碳原子(即 C_{1-6} 烷基)。

[0679] 本文中使用的术语“烷氧基”表示基团-O-烷基,其中“烷基”是如上所述。烷氧基基团的例子包括、但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基和丁氧基基团。在一个实施例中,所述烷氧基基团具有1-6个碳原子(即-O- C_{1-6} 烷基)。

[0680] 本文中使用的术语“烯基”表示具有至少一个碳-碳双键的直链和支链不饱和烃基。烯基基团的例子包括、但不限于乙烯基、丙烯基、丁烯基、戊烯基和己烯基基团。在一个实施例中,所述烯基基团具有2-6个碳原子(即 C_{2-6} 烯基)。术语“2-烯基”表示从其连接点的2

位具有双键的烯烃取代基。它包括烯丙基、巴豆基、异戊二烯基、香叶基和法呢基基团。

[0681] 本文中使用的术语“炔基”表示具有至少一个碳-碳三键的直链和支链不饱和烃基。炔基基团的例子包括、但不限于乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基和己炔基基团。在一个实施例中,所述炔基基团具有2-6个碳原子(即 C_{2-6} 炔基)。

[0682] 本文中使用的术语“卤代烷基”表示具有至少一个卤素取代基的烷基基团,其中“烷基”和“卤素”如上所述。类似地,术语“二卤代烷基”是指具有两个卤素取代基的烷基基团,且术语“三卤代烷基”是指具有三个卤素取代基的烷基基团。卤代烷基基团的例子包括氟甲基、氯甲基、溴甲基、碘甲基、氟丙基和氟丁基基团。二卤代烷基基团的例子包括二氟甲基和二氟乙基基团。三卤代烷基基团的例子包括三氟甲基和三氟乙基基团。在一个实施例中,所述卤代烷基基团具有1-6个碳原子(即 C_{1-6} 卤代烷基)。

[0683] 本文中使用的术语“杂环基”表示芳族或非芳族环状基团,其类似于碳环基团,但是其中1-3个碳原子被独立地选自氮、氧或硫的一个或多个杂原子替代。杂环基基团可以例如是单环或多环(例如二环)。杂原子可以是N、O或S。

[0684] 在可能的情况下,对于用在治疗中,治疗有效量的本文定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物可以作为粗制化学品施用;在本发明的一个方面,所述活性成分作为药物组合物呈现。因而,在另一个实施方案中,本发明提供了一种药物组合物,其包含与一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂混合的如在本文公开的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物。所述载体、稀释剂或赋形剂必须是可接受的,其含义是,与制剂的其它成分相容且对其接受者无害。

[0685] 当适用时,本发明的化合物,包括式(I)的化合物,可以是药学上可接受的盐的形式和/或可以作为药学上可接受的盐施用。

[0686] 本文中使用的术语“药学上可接受的盐”表示对于全身施用而言毒理学上安全的盐。药学上可接受的盐可以选自碱金属或碱土金属盐,包括钠、锂、钾、钙、镁等以及无毒的铵、季铵和胺阳离子,包括、但不限于铵、四甲基铵、四乙基铵、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺、乙胺、三乙醇胺等。

[0687] 本文中使用的术语“药学上可接受的赋形剂”表示可以安全用于全身施用的固体或液体填充剂、稀释剂或包封物质。取决于特定施用途径,可以使用本领域众所周知的各种载体。这些载体或赋形剂可以选自糖、淀粉、纤维素及其衍生物、麦芽、明胶、滑石、硫酸钙、植物油、合成的油、多元醇、海藻酸、磷酸盐缓冲溶液、乳化剂、等渗盐水和无热原水。

[0688] 本文中使用的术语“溶剂化物”表示由溶质(在本发明中,式(I)或(Ia)的化合物或其盐或生理学功能衍生物)和溶剂形成的可变化学计量的复合物。就本发明的目的而言,这样的溶剂不可以干扰溶质的生物活性。合适的溶剂的例子包括、但不限于水、甲醇、乙醇和乙酸。特别地,所使用的溶剂是药学上可接受的溶剂。合适的药学上可接受的溶剂的例子包括、而限于水、乙醇、乙酸、甘油、液体聚乙二醇及其混合物。一种特定的溶剂是水。

[0689] 式(I)的化合物的施用可以是“前药”的形式。前药是在体内转化为活性形式的无活性形式的化合物。合适的前药包括活性形式的化合物的酯、磷酸酯等。

[0690] 应当理解,除了以上具体提到的成分以外,制剂可以包括本领域中考虑到所讨论的制剂类型的其它常规试剂。

[0691] 本公开内容的化合物可以适用于治疗人或动物患者中的疾病。在一个实施方案

中,所述患者是哺乳动物,包括人、马、狗、猫、绵羊、牛或灵长类动物。在一个实施方案中,所述患者是人。在另一个实施方案中,所述患者不是人。

[0692] 本文中使用的术语“有效量”是指药物或药学试剂的量,其将引起组织、系统、动物或人的生物学或医学应答,所述应答是例如研究人员或临床医师所追求的。此外,术语“治疗有效量”是指这样的任何量:与没有接受这种量的相应受试者相比,其导致疾病、障碍或副作用的改进的治疗、治愈、预防或改善,或者疾病或障碍的进展速度的下降。该术语在其范围内也包括有效地增强正常生理功能的量。

[0693] 本文中使用的术语“治疗”表示,与不施用包含本发明化合物的药物组合物相比,防御或抑制症状、治疗症状、延迟症状的出现、降低症状发展的严重程度和/或减少个体所遭受的症状的数目或类型。术语“治疗”包括在姑息场合中的使用。

[0694] 本领域技术人员会明白,在本发明化合物的制备中,可能需要和/或希望保护分子中的一个或多个敏感基团以防止不希望的副反应。根据本发明使用的合适保护基是本领域技术人员众所周知的,并且可以以常规方式使用。参见,例如,T.W.Greene和P.G.M.Wuts的“Protective groups in organic synthesis”(John Wiley&sons 1991)或P.J.Kocienski的“Protecting Groups”(Georg Thieme Verlag 1994)。合适的氨基保护基的例子包括酰基型保护基(例如甲酰基、三氟乙酰基、乙酰基)、芳族氨基甲酸酯型保护基(例如苄氧基羰基(Cbz)和被取代的Cbz)、脂族氨基甲酸酯保护基(例如9-苄基甲氧基羰基(Fmoc)、叔丁基氧基羰基(Boc)、异丙氧基羰基、环己氧基羰基)和烷基型保护基(例如苄基、三苯甲基、氯三苯甲基)。

[0695] 根据本公开内容的第四方面,根据式(I)的化合物适用于治疗癌症。要治疗的癌症包括白血病、非小细胞肺癌、结肠癌、中枢神经系统癌、黑素瘤、卵巢癌、肾癌、前列腺癌或乳腺癌。最优选地,要治疗的癌症是白血病或黑素瘤。

[0696] 本发明化合物的抗肿瘤作用可以作为单独疗法应用,或者可以另外涉及一种或多种其它物质和/或治疗。这样的联合治疗可以通过同时、依次或分开施用治疗的各个组分来实现。在医学肿瘤学领域中,通常的实践是使用不同形式的治疗组合来治疗每位癌症患者,诸如外科手术、放射疗法和/或化学疗法的组合。具体而言,已知辐照或用抗血管生成剂和/或血管通透性降低剂的治疗可以增加肿瘤内缺氧组织的量。因此,本发明化合物的有效性可以通过与放射疗法和/或抗血管生成剂的联合治疗来提高。

[0697] 这样的组合的各个组分可以在治疗过程中的不同时间分别施用,或以分开或单一组合形式同时施用。因此,本发明应被理解为包括所有这样的同时或交替治疗方案,并且术语“施用”应被相应地解释。应当理解,本发明化合物与其它抗肿瘤(anti-neoplastic)剂的组合范围原则上包括与任何可用于治疗癌症的药物组合物的任何组合。

[0698] 当在相同的制剂中组合时,应当理解,两种化合物必须是稳定的并且彼此相容以及与制剂的其它组分相容,并且可以被配制用于施用。当单独配制时,它们可以以任何方便的制剂提供,方便地以本领域中对这样的化合物已知的方式提供。

[0699] 本发明的药物组合物可以被配制用于通过任何合适的途径施用,例如通过口服(包括含服或舌下)、直肠、鼻、局部(包括含服、舌下或透皮)、阴道或胃肠外(包括皮下、肌肉内、静脉内或真皮内)途径。因此,本发明的药物组合物可以被配制成例如片剂、胶囊剂、粉剂、颗粒剂、锭剂、乳膏剂或液体制备物,诸如口服或无菌胃肠外溶液或悬浮液。这样的药物

制剂可以通过药学领域已知的任何方法制备,例如通过将活性成分与载体或赋形剂结合。这样的药物制剂可以被制备成适合用于口服施用的肠溶包衣颗粒、片剂或胶囊剂和延迟释放制剂。

[0700] 当一种化合物与对相同疾病有活性的第二种治疗剂联合使用时,每种化合物的剂量可能不同于单独使用所述化合物时的剂量。本领域技术人员将容易地理解适当的剂量。

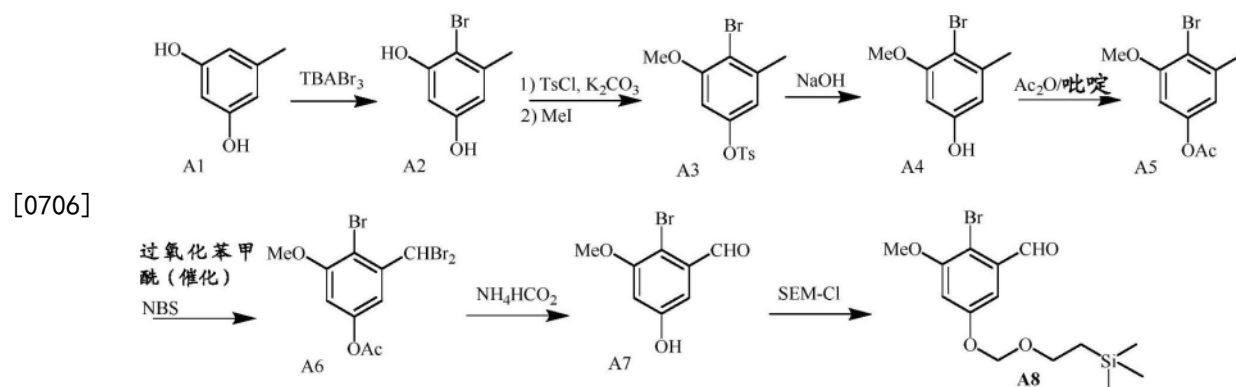
[0701] 实施本发明的方式

[0702] 为了更好地理解本发明的本质,现在将如下描述许多实施例:

[0703] 模块A的制备

[0704] 模块A由如本文所述的本公开内容的式(II)表示。

[0705] 在一个实施方案中,模块A由A7和A8表示并根据下述方法来制备:



[0706] 4-溴-5-甲基苯-1,3-二醇(A2):

[0707] 在15℃历时3小时将在二氯甲烷和甲醇的3:2混合物(300mL)中的四丁基三溴化铵(120g,248mmol,1.0当量)逐滴加入化合物A1(30g,242mmol,1.0当量)在二氯甲烷和甲醇的3:2混合物(200mL)中的溶液中。将得到的混合物缓慢地温热至室温并搅拌16小时。在减压下除去溶剂。将水(200mL)加入残余物中。将混合物用乙酸乙酯(2x250mL)和甲基叔丁基醚(500mL)萃取。将合并的有机层用2.5%碳酸氢钠(3x500mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物经硅胶(2.5kg)纯化,用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为灰白色固体的化合物A2(36.83g,75%收率)。(LM-1-96)。

[0708] 以相同方式处理另外的化合物A1(270g,2175mmol,1.0当量)。将反应混合物在减压下浓缩。将残余物溶解在二氯甲烷(3L)中并经硅胶(6kg)纯化,用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生部分地纯化的化合物A2(407g,约70%纯度)。将该粗产物在甲醇和水的1:3混合物(1.2L)中重结晶2次。将固体过滤,用水(500mL)冲洗并在高真空下在45℃干燥16小时以产生作为灰白色固体的化合物A2(163.78g 37%收率)。(LM-1-100)。

[0709] 4-甲基苯磺酸4-溴-3-甲氧基-5-甲基苯酯(A3):

[0710] 将碳酸钾(886g,6402mmol,6.5当量)加入化合物A2(200g,985mmol,1.0当量)在丙酮(15L)中的溶液中。搅拌30分钟以后,加入对甲苯磺酰氯(187.8g,985mmol,1.0当量)并将得到的混合物回流16小时。将碘代甲烷(166mL,2660mmol,2.7当量)加入反应物并继续回流另外24小时。将反应混合物冷却至室温,过滤并将固体用丙酮(4L)冲洗。将滤液在减压下浓缩。将残余物溶解在二氯甲烷(2L)中并穿过硅胶(6kg),用0-15%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度(16L)洗脱以产生化合物A3(350g,约60%纯度),将其随后使用。(LM-6-1)。

[0711] 4-溴-3-甲氧基-5-甲基苯酚(A4):

[0713] 将6M氢氧化钠(108mL, 8.0当量)加入粗制化合物A3(30g, 1.0当量)在四氢呋喃和甲醇的1:1混合物(400mL)中的溶液中。回流16小时以后, LCMS指示反应结束。将另一批粗制化合物A3(300g)以相同方式处理, 并将两批合并用于后处理(work-up)。将混合物冷却至室温以后, 加入乙腈(4L)并将混合物用庚烷类(2x4L)洗涤。将庚烷层抛弃。将四氢呋喃/甲醇/乙腈/水混合物用1N盐酸(约6.2L)酸化至pH=7, 用氯化钠(3kg)饱和, 并用乙酸乙酯(2x4L)萃取。将合并的有机层在减压下浓缩。将残余物在水(500mL)中稀释, 并用乙酸乙酯(3x1L)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物用乙腈(1L)和庚烷类(500mL)稀释并分离各层。将庚烷类层抛弃。将乙腈层穿过硅胶垫(300g), 将其用乙酸乙酯(2L)洗脱。将滤液在减压下浓缩。将得到的固体与10%乙酸乙酯在庚烷类中的溶液(1.1L)一起研磨以产生作为灰白色固体的化合物A4(96.6g, 经2步45%收率)。(LM-6-12, LM-6-14)

[0714] 乙酸4-溴-3-甲氧基-5-甲基苯酯(A5):

[0715] 在室温将乙酸酐(63.1mL, 668mmol, 1.5当量)加入化合物A4(96.6g, 445mmol, 1.0当量)在吡啶(377mL)和二氯甲烷(1000mL)的混合物中的溶液中。将得到的混合物搅拌16小时。将冰水(500mL)加入以淬灭反应。将有机层用冰冷的1N HCl(3x500mL)、饱和碳酸氢钠(500mL)、饱和盐水(500mL)洗涤, 经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在高真空下在45℃进一步干燥16小时, 以产生作为灰白色固体的化合物A5(114.53g, 99%收率), 将其随后使用。(LM-6-15)。

[0716] 乙酸4-溴-3-(二溴甲基)-5-甲氧基苯酯(A6):

[0717] 将N-溴琥珀酰亚胺(82.6g, 464mmol, 2.1当量)和过氧化苯甲酰(5.35g, 22.1mmol, 0.1当量)依次加入化合物A5(57.27g, 221mmol, 1.0当量)在四氯化碳(1L)中的溶液中。将得到的混合物回流24小时, 在此时LCMS分析指示反应结束。将另一批化合物A5(57.27g)以相同方式处理, 并将两批合并用于后处理。将混合物冷却至室温以后, 加入亚硫酸氢钠(250g)并将反应混合物在室温搅拌24小时(在湿淀粉纸上的试验表明没有过氧化物)。将得到的混合物穿过硅藻土(200g)过滤, 将其用二氯甲烷(2L)冲洗。将滤液在减压下浓缩以产生作为黄色固体的粗制化合物A6, 将其随后使用。(LM-6-17)

[0718] 2-溴-5-羟基-3-甲氧基苯甲醛(A7):

[0719] 在50℃将甲酸铵(153g, 2431mmol, 5.5当量)和乙醇和水的1:1混合物(600mL)加入化合物A6(约442mmol, 1.0当量)在乙醇(800mL)中的溶液中。将得到的混合物回流70小时。LCMS分析指示反应结束。将反应混合物冷却至室温, 并加入浓盐酸(15mL)。在减压下除去溶剂。将残余物在水(500mL)中稀释, 用乙酸乙酯(2x1L)和甲基叔丁基醚(2x1L)萃取。将水层穿过硅藻土垫(50g)过滤, 将其用乙酸乙酯(2L)冲洗。将有机层分离。将所有有机层合并, 经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物穿过硅胶垫(300g), 将其用四氢呋喃(3L)和乙酸乙酯(4L)洗脱。将滤液在减压下浓缩, 以产生作为黑色油的粗制化合物A7(141g), 将其随后使用。(LM-6-18)

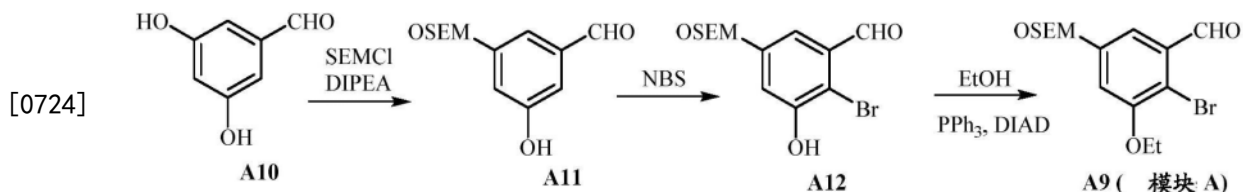
[0720] 2-溴-3-甲氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲醛(代表模块A的A8):

[0721] 在室温将二异丙基乙胺(16.5mL, 94.7mmol, 1.5当量)和2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯(13.4mL, 75.6mmol, 1.2当量)依次加入粗制化合物A7(20g, 约63mmol, 1.0当量)在无水四氢呋喃和二氯甲烷的1:1混合物(200mL)中的溶液中。在室温搅拌16小时以后, LCMS

分析指示反应的约65%转化。加入另外的二异丙基乙胺(16.5mL, 94.7mmol, 1.5当量)和2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯(13.4mL, 75.6mmol, 1.2当量)并将混合物搅拌另外24小时。将饱和碳酸氢钠(250mL)加入以淬灭反应并将有机溶剂在减压下除去。将剩余的水层用甲基叔丁基醚(500mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化系统(330g柱)上纯化, 用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为白色固体的A8(模块A的代表)(8.44g)。(LM-6-20)将另外的粗制化合物7(120g)以相同方式处理。将饱和碳酸氢钠(250mL)加入以淬灭反应并在减压下除去溶剂。将剩余的水层用水(250mL)、饱和盐水(250mL)稀释, 并用甲基叔丁基醚(2x1L)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物穿过硅胶垫(1kg)过滤, 将其用20%乙酸乙酯在庚烷类中的溶液洗脱。将滤液在减压下浓缩。将残余物均匀分成6份。将每份在Interchim自动化系统(330g柱)上纯化, 用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。将所有分离的化合物中间体A通过与5%二氯甲烷在己烷类中的溶液(300mL)一起研磨进一步纯化, 在真空下在45℃干燥16小时以后产生作为白色固体的A8(模块A的代表)(26.73g, 99%纯度, 和42.72g, 约90%纯度)。合并的产率为经3步43%。(LM-6-21)

[0722] 白色固体, 熔点58.3-59.1℃; HPLC分析: 99.6%纯度; 波长254nm, 带宽4; 柱: SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3μm; 保留时间: 10.80min; 流动相: ACN/甲酸/水; 质谱图(正模式) $m/z = 378.0 (M+H_2O)^+$; $C_{14}H_{21}BrO_4Si$; ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) $\delta = 10.40$ (s, 1H), 7.20 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 5.25 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.78-3.73 (m, 2H), 0.97-0.93 (m, 2H), 0.00 (s, 9H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) $\delta = 191.82, 157.76, 157.12, 134.85, 109.31, 107.49, 106.62, 93.06, 66.72, 56.65, 18.02, -1.43$ 。

[0723] 在另一个实施方案中, 模块A由根据下述方法制备的A9表示。



[0725] 3-羟基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲醛(A11):

[0726] 在室温将N,N-二异丙基乙胺(122mL, 700mmol, 1.4当量)加入化合物A10(69.06g, 500mmol, 1.0当量)在无水二甲基甲酰胺(400mL)中的溶液中。历时30分钟逐滴加入2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯(106.2mL, 600mmol, 1.2当量)。将得到的混合物在室温搅拌70小时。加入水(1.5L)并将混合物用甲基叔丁基醚(2x2.5L)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物分成3等份。将每份在Interchim自动化系统(330g柱)上纯化, 用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为黄色油的化合物A11(49.64g, 26%收率, 71%纯度, 通过QNMR)。(LM-6-84)

[0727] 2-溴-3-羟基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲醛(A12):

[0728] 将化合物A11(49.64g, 71%纯度, 通过QNMR, 131.3mmol, 1.0当量)在高真空下(0.5Torr)在50℃放置2小时以除去残余的2-(三甲基甲硅烷基)乙醇。冷却至室温以后, 加入无水二氯甲烷(700mL)并将混合物冷却至-17℃。历时1小时逐滴加入在无水二氯甲烷(1L)中的N-溴琥珀酰亚胺(25.12g, 141.1mmol, 1.07当量), 同时保持温度在-15℃至-20℃之间。加入以后, NMR分析指示反应不完全(剩余16%化合物A11)。历时10分钟逐滴加入另外

的在无水二氯甲烷 (200mL) 中的N-溴琥珀酰亚胺 (4.62g, 26mmol, 0.2当量)。将得到的混合物在-17℃搅拌另外30分钟。加入水 (800mL) 并将混合物温热至室温。将有机层用饱和盐水 (1L) 洗涤, 经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物分成5等份。将每份在Interchim自动化系统 (2x120g柱堆积 (column stack)) 上纯化, 用0-12% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色油的化合物A12 (35.84g, 79%收率)。(LM-6-87)

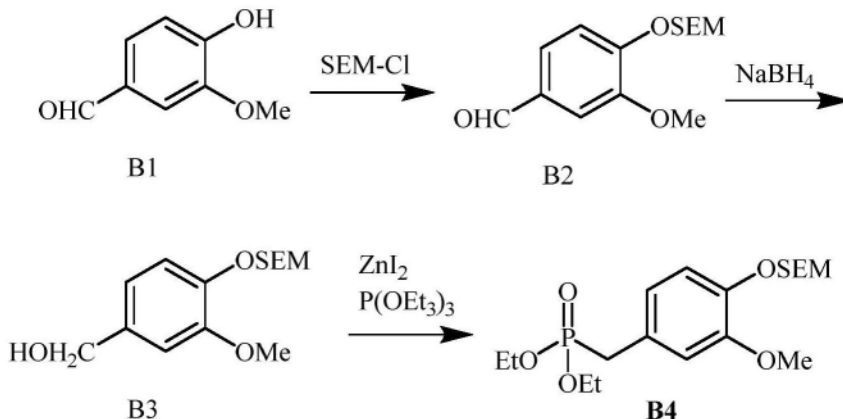
[0729] 2-溴-3-乙氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲醛 (A9, 模块A):

[0730] 将三苯基磷 (40.6g, 154.8mmol, 1.5当量) 和乙醇 (9mL, 154.8mmol, 1.5当量) 加入化合物A12 (35.84g, 103.2mmol, 1.0当量) 在无水四氢呋喃 (1L) 中的溶液中。冷却至0℃保持10分钟以后, 历时15分钟逐滴加入偶氮二甲酸二异丙酯 (31mL, 154.8mmol, 1.5当量)。将得到的混合物缓慢地温热至室温并搅拌16小时。在减压下除去溶剂。将残余物分成5等份。将每份在Interchim自动化系统 (2x120g柱堆积) 上纯化, 用5% 乙酸乙酯在庚烷类中的溶液洗脱以产生作为黄色固体的A9 (17.5g, 45%收率)。(LM-6-88)

[0731] 模块B的制备

[0732] 模块B由如本文所述的本公开内容的式 (III) 表示。

[0733] 在一个实施方案中, 模块B由根据以下方法制备的B4表示:



[0734]

[0735] 3-甲氧基-4-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲醛 (B2):

[0736] 将N,N-二异丙基乙胺 (1224g, 9.47mol, 1.2当量) 和2-(三甲基甲硅烷基)-乙氧基甲基氯 (1315g, 7.89mol, 1.0当量) 依次加入到化合物B1 (1200g, 7.84mol, 1.0当量) 在无水二氯甲烷 (12L) 中的溶液中。在室温搅拌过夜以后, 将混合物倒入含有饱和碳酸氢钠 (20L) 的分液漏斗中。分离各层并将水层用二氯甲烷 (2x5L) 萃取。将合并的有机层在减压下浓缩。将残余物与2个等规模的其它反应合并, 并经硅胶 (2kg) 纯化, 用0-50% MTBE在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为浅黄色油的化合物B2 (2200g, 99%收率)。(EK-22-137)

[0737] (3-甲氧基-4-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯基)甲醇 (B3):

[0738] 在保持温度低于20℃的同时, 将硼氢化钠 (250g, 6.61mol) 历时20分钟逐份加入化合物B2 (2000g, 7.10mol) 在甲醇 (8L) 中的溶液中。搅拌过夜以后, 历时20分钟缓慢地加入水 (1L)。将混合物与等规模的反应合并, 并在减压下浓缩以除去大部分甲醇。将浆倒入分液漏斗中并用MTBE (8L) 稀释。分离各层并将水层用MTBE (2x4L) 反萃取。将合并的有机层用饱和盐水 (4L) 洗涤, 经硫酸钠 (200g) 干燥并在减压下浓缩以产生作为黄色油的化合物B3 (1970g, 98%收率), 将其随后使用。(EK-22-153)

[0739] (3-甲氧基-4-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯基)膦酸二乙酯 (B4, 模块

B) :

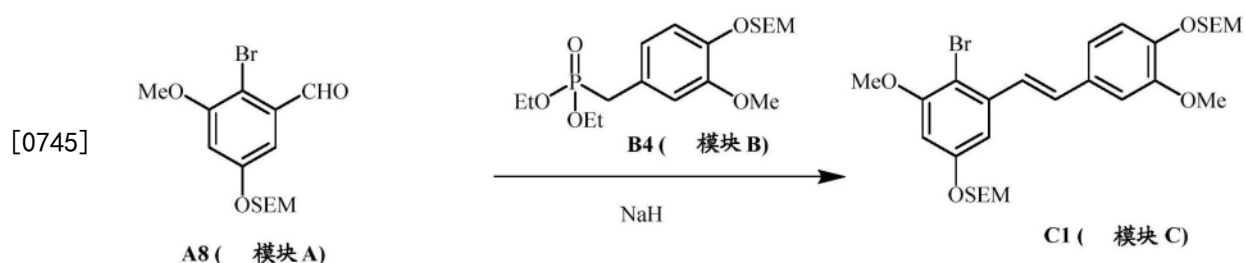
[0740] 给22L烧瓶装入THF (7L) 和碘化锌 (II) (2.24kg, 2.03mol, 2当量), 添加放热至40℃。依次加入亚磷酸三乙酯 (1.17kg, 7.03mol, 2当量) 和在THF (1L) 中的化合物B3 (1000g, 3.52mol, 1当量)。在65℃加热16小时以后, 将反应物冷却至室温, 并用水 (5L) 稀释。历时5分钟逐份加入碳酸钾 (1.2kg, 8.68mol, 2.47当量), 将pH调至9。在添加过程中没有观察到起泡。将盐过滤并将滤饼用MTBE (2x4L) 洗涤。将合并的滤液用饱和盐水 (4L) 洗涤, 经硫酸钠 (500g) 干燥并在减压下浓缩。将得到的油在硅胶 (2.0kg) 上纯化, 用25-100% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为黄色油的B4 (1035g, 72% 收率)。 (EK-22-154) $C_{18}H_{33}PSiO_6$

[0741] ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ = 7.11 (d, J = 8.2Hz, 1H), 6.89 (m, 1H), 6.80 (dm, J = 8.2Hz, 1H), 5.26 (s, 2H), 4.08-3.98 (m, 4H), 3.88 (s, 3H), 3.82 (m, 2H), 3.10 (d, J = 21.1Hz, 2H), 1.26 (t, J = 7.1Hz, 6H), 0.98-0.93 (m, 2H), 0.00 (s, 9H)。

[0742] 模块C的制备

[0743] 模块C由如本文所述的本公开内容的式 (IV) 表示。

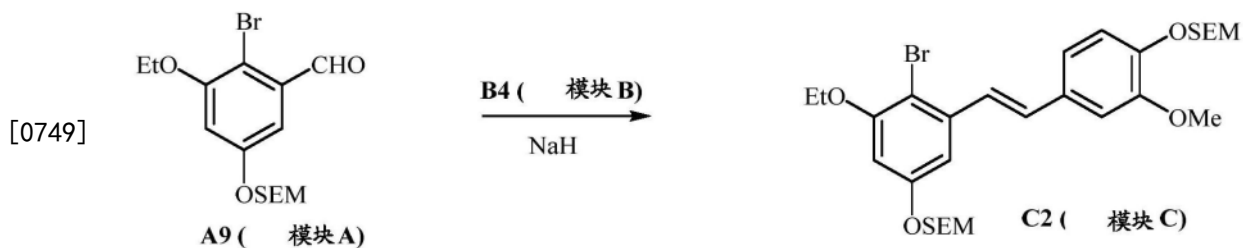
[0744] 在一个实施方案中, 模块C由根据以下方法制备的C1表示:



[0746] (E) - (2 - ((4 - (2 - 溴 - 3 - 甲氧基 - 5 - ((2 - (三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲氧基) 苯乙烯基) - 2 - 甲氧基苯氧基) 甲氧基) 乙基) 三甲基硅烷 (C1) :

[0747] 在0℃将氢化钠在矿物油中的60%分散体 (1.07g, 26.7mmol, 2当量) 一次性加入B4 (5.4g, 13.4mmol, 1.0当量) 在无水四氢呋喃 (120mL) 中的溶液中。将混合物温热至室温并搅拌30分钟。然后逐滴加入A8 (4.82g, 13.4mmol, 1当量) 在无水四氢呋喃 (30mL) 中的溶液, 并将混合物在室温搅拌16小时, 在此时LCMS分析指示向模块C的约30%转化。加入另外的氢化钠在矿物油中的60%分散体 (1.07g, 26.7mmol, 2当量), LCMS分析表明在8小时以后产生约50%转化。加入另外的氢化钠在矿物油中的60%分散体 (2.14g, 53.4mmol, 4当量), LCMS分析表明在16小时以后产生完全转化。在0℃用饱和盐水 (100mL, 对于前5mL盐水为1滴/分钟) 小心地淬灭反应。将混合物用乙酸乙酯 (2x500mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (220柱) 上纯化, 用0-20% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为黄色油的C1 (5.2g, 64% 收率)。 (LM-6-27)

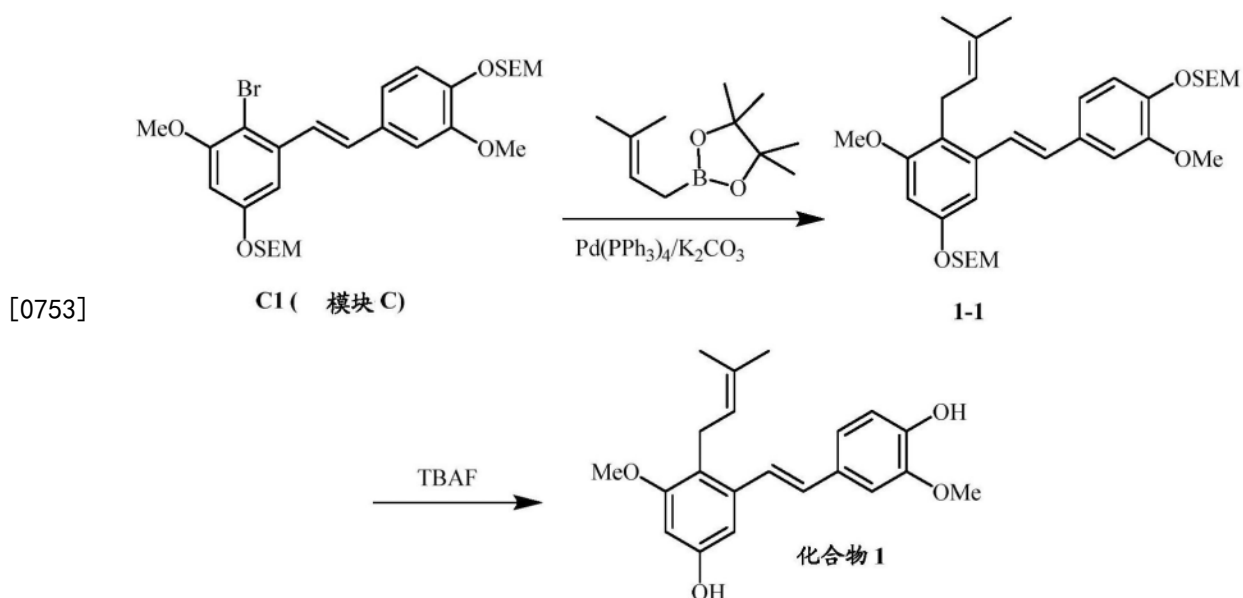
[0748] $C_{28}H_{43}BrSiO_6$ ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ = 7.39 (d, J = 16.1Hz, 1H), 7.17 (d, J = 8.3Hz, 1H), 7.09 (d, J = 1.7Hz, 1H), 7.07 (dd, J = 2.0, 8.6Hz, 1H), 6.99 (d, J = 2.4Hz, 1H), 6.96 (d, J = 16.2Hz, 1H), 6.56 (d, J = 2.7Hz, 1H), 5.29 (s, 2H), 5.25 (s, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.83-3.77 (m, 4H), 1.00-0.94 (m, 4H), 0.02 (s, 9H), 0.00 (s, 9H)。在另一个实施方案中, 模块C由根据以下方法制备的C2表示:



[0750] (E) - (2 - ((4 - (2 - 溴 - 3 - 乙氧基 - 5 - ((2 - (三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲氧基) 苯乙炔基) - 2 - 甲氧基苯氧基) 甲氧基) 乙基) 三甲基硅烷 (C2) :

[0751] 在0℃将氢化钠在矿物油中的60%分散体 (750Mg, 18.8mmol, 2当量) 一次性加入化合物B4 (3.8g, 9.4mmol, 1.0当量) 在无水四氢呋喃 (150mL) 中的溶液中。将混合物温热至室温并搅拌30分钟。然后逐滴加入D4 (3.52g, 9.4mmol, 1当量) 在无水四氢呋喃 (50mL) 中的溶液, 并将混合物在室温搅拌16小时。在0℃用饱和盐水 (150mL, 对于前5mL为1滴/分钟) 小心地淬灭反应。将混合物用甲基叔丁基醚 (2x150mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (120柱) 上纯化, 用0-15% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色油的C2 (1.69g, 29%收率)。(LM-6-80)。

[0752] 化合物1 [KYN-001] 的制备



[0754] (E) - (2 - ((2 - 甲氧基 - 4 - (3 - 甲氧基 - 2 - (3 - 甲基丁 - 2 - 烯 - 1 - 基) - 5 - ((2 - (三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲氧基) 苯乙炔基) 苯氧基) 甲氧基) 乙基) 三甲基硅烷 (1-1) :

[0755] 将四 (三苯基膦) 钯 (0) (29mg, 0.025mmol, 0.05当量)、碳酸钾 (138mg, 1mmol, 2当量)、3 - 甲基丁 - 2 - 烯基硼酸频哪醇酯 (147mg, 0.75mmol, 1.5当量) 和水 (5mL) 依次加入C1 (306mg, 0.5mmol, 1当量) 在四氢呋喃 (5mL) 中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后, 将反应物在50℃加热20小时。冷却至室温以后, 将混合物用乙酸乙酯 (15mL) 萃取并将有机层在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (40g柱) 上纯化, 用0-20% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色油的化合物1-1 (190mg, 63%收率)。(LM-6-29)

[0756] (E) - 3 - (4 - 羟基 - 3 - 甲氧基苯乙炔基) - 5 - 甲氧基 - 4 - (3 - 甲基丁 - 2 - 烯 - 1 - 基) 苯酚 (1) :

[0757] 在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液 (4.43mL, 4.43mmol, 14当量) 加

入到化合物1-1 (190mg, 0.32mmol, 1当量) 中。在67℃加热16小时以后, 将混合物冷却至室温, 并用水 (4mL) 稀释。将混合物用乙酸乙酯 (15mL) 萃取并将有机层在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (2x25柱) 上纯化两次, 每次用0-60% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以在真空下在40℃干燥16小时以后产生作为灰白色固体的化合物1 (60mg, 56% 收率)。(LM-6-30)

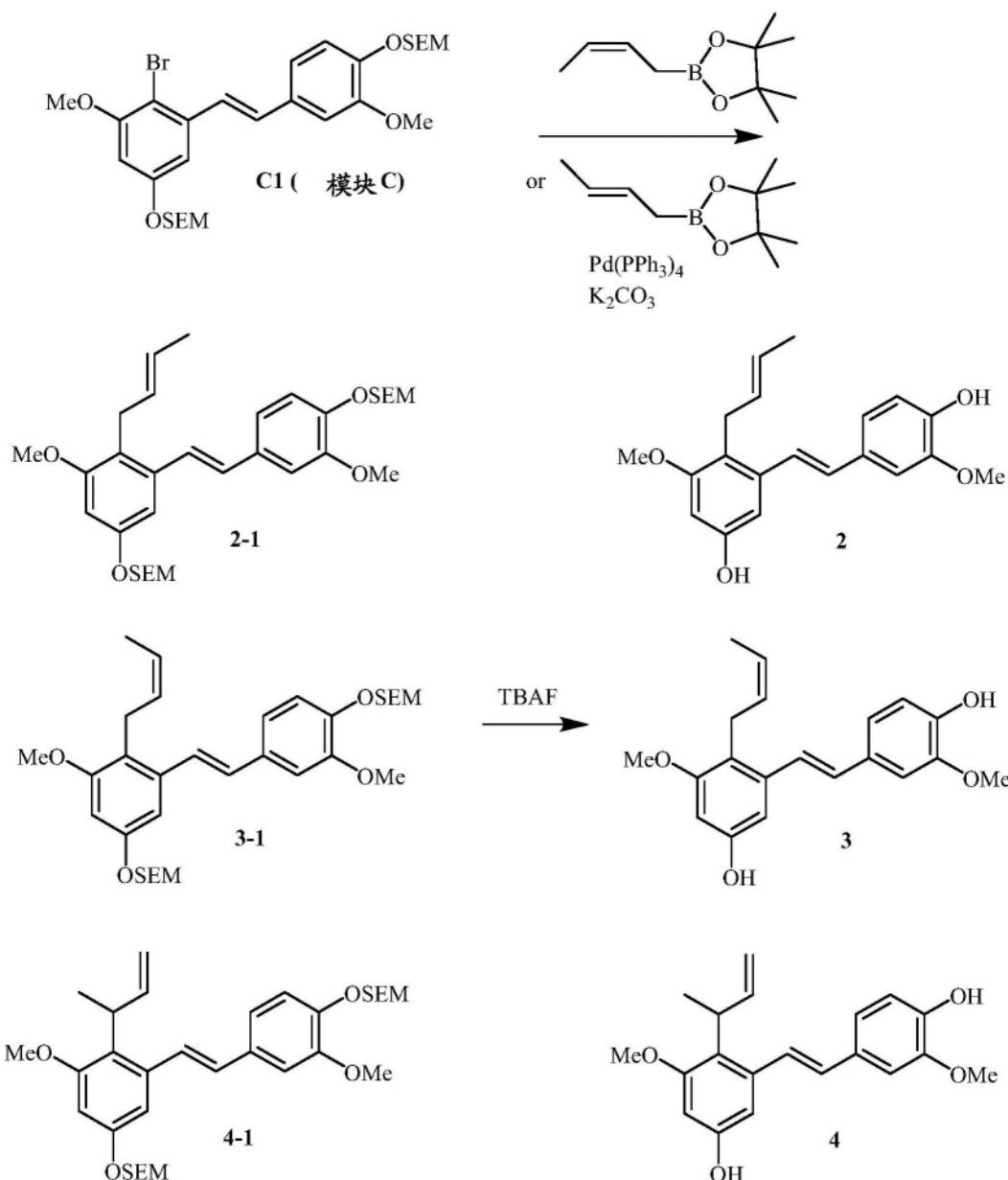
[0758] 白色固体, 熔点132.3-134.0℃; HPLC分析: 96.3% 纯度; 波长254nm, 带宽4; 柱: SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3μm; 保留时间: 8.4min; 流动相: ACN/甲酸/水; 质谱图 (正模式) $m/z = 341.2 (M+H)^+$; $C_{21}H_{24}O_4$; ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) $\delta = 7.15 (d, J = 16.0Hz, 1H), 7.00 (br s, 1H), 6.99 (dd, J = 2.0, 8.2Hz, 1H), 6.90 (d, J = 8.2Hz, 1H), 6.85 (d, J = 16.1Hz, 1H), 6.66 (d, J = 2.6Hz, 1H), 6.36 (d, J = 2.4Hz, 1H), 5.12 (tm, J = 6.8Hz, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.41 (br d, J = 6.7Hz, 2H), 1.81 (s, 3H), 1.68 (d, J = 1.1Hz, 3H)$; ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) $\delta = 158.52, 154.37, 146.65, 145.54, 138.13, 130.59, 130.40, 130.24, 124.24, 123.63, 120.65, 120.55, 114.53, 108.22, 103.85, 98.17, 55.86, 55.69, 25.78, 24.45, 17.97$ 。

[0759] 化合物2、3和4的制备:

[0760] 4-((E)-丁-2-烯-1-基)-3-((E)-4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基苯酚 (2) [KYN-138]

[0761] 4-((Z)-丁-2-烯-1-基)-3-((E)-4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基苯酚 (3) [KYN-139]

[0762] (E)-4-(丁-3-烯-2-基)-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基苯酚 (4) [KYN-140]



[0764] (2-((4-((E)-2-((E)-丁-2-烯-1-基)-3-甲氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(2-1)/

[0765] (2-((4-((E)-2-((Z)-丁-2-烯-1-基)-3-甲氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(3-1)

[0766] (E)-2-((4-(2-(丁-3-烯-2-基)-3-甲氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(4-1)：

[0767] 将四(三苯基膦)钯(0)(116mg, 0.1mmol, 0.05当量)、碳酸钾(553mg, 4mmol, 2当量)、反式-巴豆基硼酸频哪醇酯(728mg, 4mmol, 2当量)和水(10mL)依次加入到C1(1.22g, 2mmol, 1当量)在四氢呋喃(10mL)中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后,将反应物在77℃加热20小时。将另一批C1(1.22g)与顺式-巴豆基硼酸频哪醇酯(2当量)以相同方式处理,并将两批合并用于后处理。冷却至室温以后,将混合物用乙酸乙酯(2x50mL)萃取并将有机层在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(80柱)上纯化,用0-15%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色油的化合物2-1、3-1和4-1的混合物(2.2g, 94%收

率)。(LM-6-42,LM-6-43)

[0768] 4-((E)-丁-2-烯-1-基)-3-((E)-4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基苯酚(2)/4-((Z)-丁-2-烯-1-基)-3-((E)-4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基苯酚(3)/(E)-4-(丁-3-烯-2-基)-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基苯酚(4):

[0769] 在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(52.5mL,52.5mmol,14当量)加入到化合物2、3和4的混合物(2.2g,3.75mmol,1当量)中。在67℃加热16小时以后,将混合物冷却至室温,并用水(50mL)稀释。将混合物用二氯甲烷(2x150mL)萃取并将有机层在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(3x80柱)上纯化3次,每次用0-60%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以得到作为黄色油的化合物2、3和4的混合物(760mg)。对该油混合物进行超临界流体色谱法(Lotus Separations),以产生三种化合物,其显示为黑色残余油。将这些残余物单独在InterChim自动化色谱法系统(25柱)上重纯化,用0-60%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以在真空下在40℃干燥16小时以后分别产生作为灰白色固体的化合物2(90mg,7%收率)、3(60mg,5%收率)和4(290mg,24%收率)。(LM-6-44)

[0770] 下述SFC分离(下面列出的条件)产生400mg的峰-1(4,LM-6-44-P1)、108mg的峰-2(2,LM-6-44-P2)和110mg的峰-3(3,LM-6-44-P3)。在该报告中包括色谱图。

[0771] **制备方法:**

分析方法:

SFC-B (2 x 25 cm)

SFC-B(15 x 0.46 cm)

40% 甲醇(无添加剂)/CO₂, 100

40% 甲醇(无添加剂)/CO₂, 100

巴

巴

[0772]

65 mL/min, 220 nm

3.5 mL/min, 220, 254 和 280 nm

进样体积: 0.5 mL, 15 mg/mL 乙

醇

[0773] 图1显示了在分离之前的LM-6-44(化合物2、3和4的混合物)

[0774] 图2显示了在分离之后的LM-6-44-P1(化合物4)。

[0775] 图3显示了在分离之后的LM-6-44-P2(化合物2)。

[0776] 图4显示了在分离之后的LM-6-44-P3(化合物3)。

[0777] 结构数据:

[0778] 4-((E)-丁-2-烯-1-基)-3-((E)-4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基苯酚(化合物2)[KYN-138]:

[0779] 灰白色固体;HPLC分析:96.3%纯度;波长254nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ, 2.1x50mm,3μm;保留时间:8.1min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式)m/z=327.2(M+H)⁺; C₂₀H₂₂O₄; ¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ=7.17(d,J=16.1Hz,1H),7.03-6.98(m,2H),6.93-6.89(m,1H),6.86(d,J=16.1Hz,1H),6.67(d,J=2.3Hz,1H),6.36(d,J=2.4Hz,1H),5.67(s,1H),5.59-5.49(m,1H),5.47-5.36(m,1H),4.73(s,1H),3.94(s,3H),3.80(s,3H),3.41(td,J=1.3,5.9Hz,2H),1.63(qd,J=1.4,6.2Hz,3H); ¹³C NMR(100MHz,CDCl₃) δ=158.63,154.50,146.67,145.59,138.42,130.41,130.31,129.67,124.93,124.34,120.35,119.57,114.59,108.56,103.91,98.24,55.89,55.78,28.29,17.91。

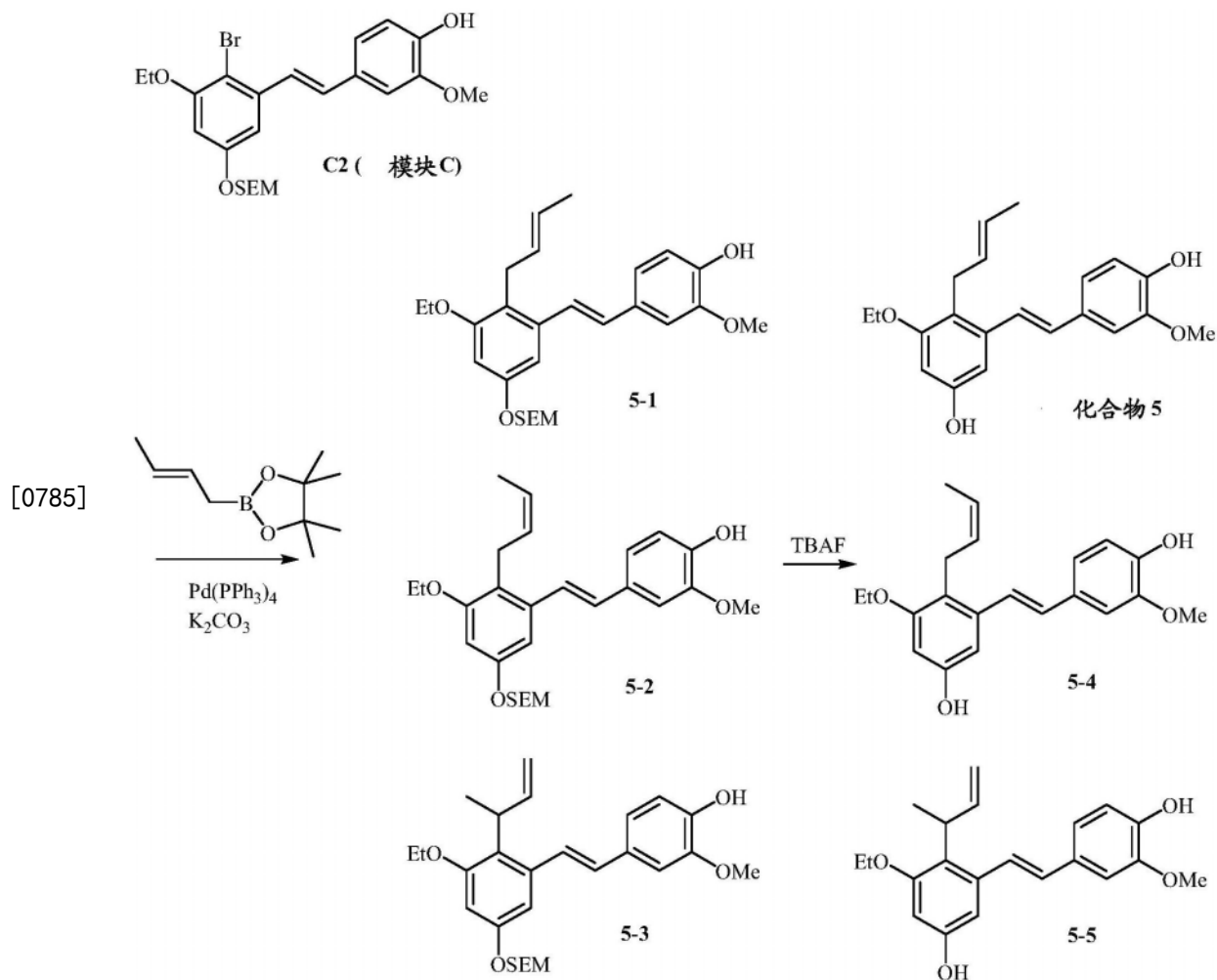
[0780] 4-((Z)-丁-2-烯-1-基)-3-((E)-4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基苯酚(化合物3) [KYN-139]:

[0781] 灰白色固体;HPLC分析:98.8%纯度;波长254nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3 μ m;保留时间:8.2min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式)m/z=327.2 (M+H)⁺; C₂₀H₂₂O₄; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ =7.15 (d, J=16.0Hz, 1H), 7.01-6.97 (m, 2H), 6.90 (d, J=7.9Hz, 1H), 6.85 (d, J=16.0Hz, 1H), 6.66 (d, J=2.3Hz, 1H), 6.36 (d, J=2.4Hz, 1H), 5.68 (s, 1H), 5.53-5.32 (m, 2H), 4.87 (s, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.48 (d, J=6.7Hz, 2H), 1.81 (qd, J=1.2, 6.4Hz, 3H); ¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ =158.60, 154.49, 146.68, 145.58, 138.29, 130.56, 130.24, 129.71, 124.20, 122.99, 120.59, 120.16, 114.56, 108.29, 104.00, 98.23, 55.86, 55.69, 23.37, 12.99。

[0782] (E)-4-(丁-3-烯-2-基)-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基苯酚(化合物4) [KYN-140]:

[0783] 灰白色固体;HPLC分析:96.1%纯度;波长254nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3 μ m;保留时间:8.2min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式)m/z=327.2 (M+H)⁺; C₂₀H₂₂O₄; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ =7.32 (d, J=16.0Hz, 1H), 6.99-6.95 (m, 2H), 6.92-6.89 (m, 1H), 6.74 (d, J=16.0Hz, 1H), 6.61 (d, J=2.4Hz, 1H), 6.37 (d, J=2.4Hz, 1H), 6.22 (ddd, J=4.8, 10.5, 17.4Hz, 1H), 5.67 (s, 1H), 5.10-5.03 (m, 2H), 4.85 (s, 1H), 4.15 (tdq, J=2.1, 4.6, 7.0Hz, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 1.39 (d, J=7.1Hz, 3H); ¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ =158.72, 154.52, 146.69, 145.51, 143.90, 138.85, 130.37, 130.14, 125.60, 124.11, 120.38, 114.56, 111.76, 108.30, 105.18, 98.73, 55.86, 55.70, 34.49, 18.55。

[0784] 4-((E)-丁-2-烯-1-基)-3-乙氧基-5-((E)-4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)苯酚(化合物5) [KYN-153]



[0786] 2-((4-((E)-2-((E)-丁-2-烯-1-基)-3-乙氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷 (5-1) :

[0787] 将四(三苯基膦)钯(0) (156mg, 0.14mmol, 0.05当量)、碳酸钾 (1.12g, 8.1mmol, 3当量)、反式-巴豆基硼酸频哪醇酯 (1.48g, 8.1mmol, 3当量) 和水 (10mL) 依次加入C2 (1.69g, 2.7mmol, 1当量) 在1,4-二氧杂环己烷 (15mL) 中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后,将反应物在95℃加热16小时。冷却至室温以后,将混合物用甲基叔丁基醚 (2x20mL) 萃取并将合并的有机层在减压下浓缩。将残余物在Interchim-自动化色谱法系统 (40g柱) 上纯化,用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色油的化合物5-1、5-2和5-3的混合物 (1.54g, 89%收率)。(LM-6-82)

[0788] 4-((E)-丁-2-烯-1-基)-3-乙氧基-5-((E)-4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)苯酚 (5) :

[0789] 在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液 (33.5mL, 33.5mmol, 14当量) 加入到在四氢呋喃 (50mL) 中的化合物5-1、5-2和5-3的混合物 (1.44g, 2.4mmol, 1当量) 中。在67℃加热16小时以后,将混合物冷却至室温,并用乙酸乙酯 (200mL) 稀释。将混合物用饱和盐水 (50mL) 洗涤并将有机层经硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (2x40g柱堆积, 2x25g柱堆积) 上纯化两次,每次用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以得到作为黄色油的化合物5、5-4和5-5的混合物 (610mg)。对该油混合物进行超临界流体色谱法 (Lotus Separations),以产生三种化合物,其显示为黑色残余油。将LM-6-85-P2残余物在InterChim自动化色谱法系统 (25柱) 上重纯化,用0-60%乙酸乙

酯在己烷类中的梯度洗脱以在真空下在40℃干燥16小时以后产生作为灰白色固体的化合物5 (60mg, 7% 收率)。(LM-6-85) 下述SFC分离(下面列出的条件)产生425mg的峰-1 (5-5, LM-6-85-P1)、88mg的峰-2 (5, LM-6-85-P2)、和70mg的峰-3 (5-4, LM-6-85-P3)。对峰-2进行重新加工以提高纯度。

[0790] 在该报告中包括色谱图。

制备方法:

SFC-B (2 x 25 cm)

45% 甲醇/CO₂, 100 巴

80 mL/min, 220 nm

进样体积: 0.5 mL, 20 mg/mL 乙

醇

分析方法:

SFC-B(15 x 0.46 cm)

40% 甲醇/CO₂, 120 巴

3 mL/min, 220, 254 和 280 nm

[0791]

[0792] 1

[0793] 图5显示了在分离之前的LM-6-85 (化合物5、E-5-4和E-5-5的混合物)。

[0794] 图6显示了在分离之后的LM-6-85-P2 (化合物5)。

[0795] 图7显示了在分离之后的LM-6-85-P1 (化合物5-5)。

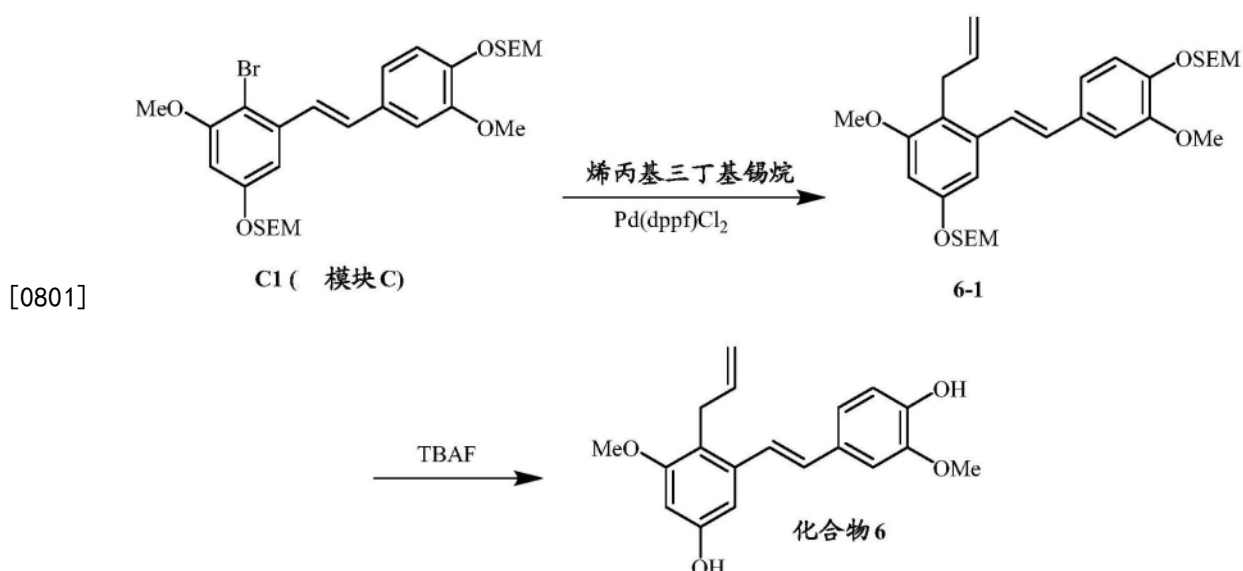
[0796] 图8显示了在分离之后的LM-6-85-P3 (化合物5-4)。

[0797] 结构数据:

[0798] 化合物5 [KYN-153]

[0799] 灰白色固体; HPLC分析: 97.7% 纯度; 波长254nm, 带宽4; 柱: SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3μm; 保留时间: 8.6min; 流动相: ACN/甲酸/水; 质谱图 (正模式) m/z = 341.2 (M+H)⁺; C₂₁H₂₄O₄; NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 7.19 (d, J = 16.1Hz, 1H), 7.03-6.98 (m, 2H), 6.92 (d, J = 8.2Hz, 1H), 6.85 (d, J = 16.1Hz, 1H), 6.65 (d, J = 2.4Hz, 1H), 6.34 (d, J = 2.4Hz, 1H), 5.66 (s, 1H), 5.59-5.40 (m, 2H), 4.70 (s, 1H), 4.00 (q, J = 7.0Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.42 (br d, J = 5.9Hz, 2H), 1.65-1.61 (m, 3H), 1.41 (t, J = 7.0Hz, 3H); ¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ = 157.95, 154.40, 146.68, 145.57, 138.31, 130.35, 130.29, 129.79, 124.88, 124.43, 120.34, 119.89, 114.59, 108.54, 103.84, 99.17, 63.99, 55.89, 28.49, 17.90, 14.87。

[0800] (E)-4-烯丙基-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基苯酚 (6) [KYN-134] 的制备



[0802] (E)-2-((4-(2-烯丙基-3-甲氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙基)-2-甲氧基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷 (6-1) :

[0803] 将[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II) (46mg, 0.063mmol, 0.25当量)和烯丙基三丁基锡烷 (248mg, 0.75mmol, 3当量) 加入到化合物C1 (模块C) (153mg, 0.25mmol, 1当量) 在无水的二甲基甲酰胺 (3mL) 中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后, 将反应物在100℃加热16小时。将反应混合物冷却至室温, 加载至12g含有硅胶 (10g) 的干负荷筒并在Interchim自动化色谱法系统 (25柱) 上纯化, 用0-40%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色油的化合物6-1 (140mg, 98%收率)。(LM-6-33)

[0804] (E)-4-烯丙基-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙基)-5-甲氧基苯酚 (6) [KYN-134] :

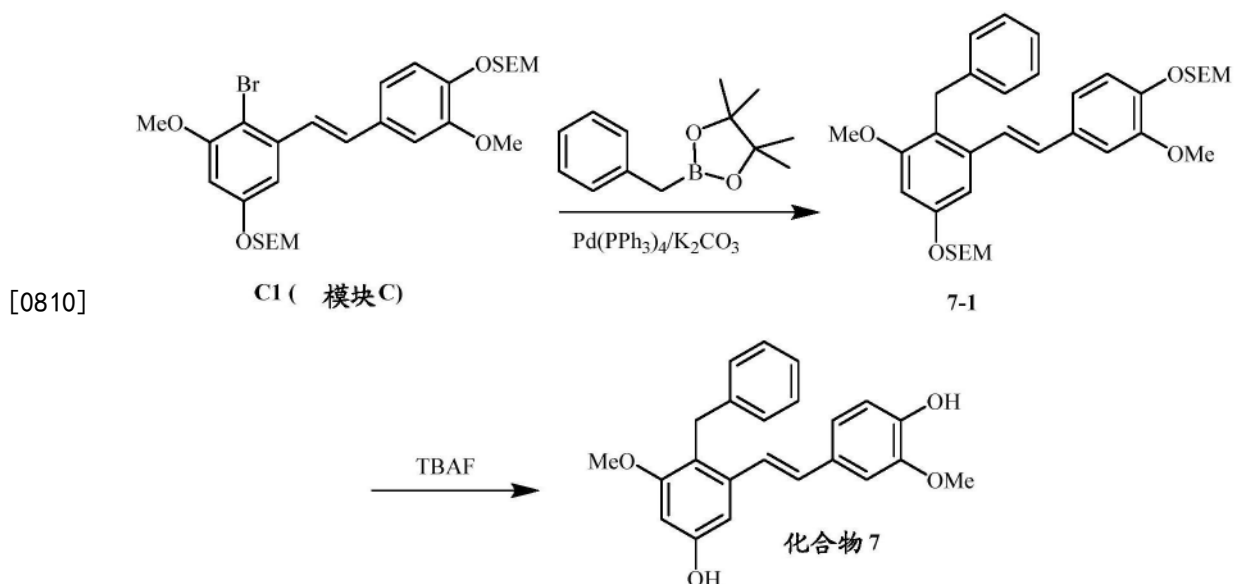
[0805] 在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液 (3.5mL, 3.5mmol, 14当量) 加入到化合物6-1 (140mg, 0.25mmol, 1当量) 中, 并将混合物在67℃加热16小时。将混合物冷却至室温以后, 将水 (4mL) 加入以淬灭反应。将混合物用乙酸乙酯 (15mL) 萃取并将有机层在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (2x25柱) 上纯化两次, 每次用0-60%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以在真空下在35℃干燥16小时以后产生作为灰白色固体的化合物6 (34mg, 45%收率)。(LM-6-34)

[0806] 白色固体; HPLC分析: 96.3%纯度; 波长254nm, 带宽4; 柱: SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3μm; 保留时间: 7.48min; 流动相: ACN/甲酸/水; 质谱图 (正模式) $m/z = 313.1$ ($M+H$)⁺; $C_{19}H_{20}O_4$

[0807] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) $\delta = 7.14$ (d, $J = 16.2\text{Hz}$, 1H), 7.00 (dd, $J = 1.5, 7.7\text{Hz}$, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.90 (d, $J = 7.8\text{Hz}$, 1H), 6.85 (d, $J = 16.1\text{Hz}$, 1H), 6.67 (d, $J = 2.5\text{Hz}$, 1H), 6.36 (d, $J = 2.2\text{Hz}$, 1H), 5.94 (ddt, $J = 5.9, 10.2, 17.0\text{Hz}$, 1H), 5.66 (br s, 1H), 4.99 (dq, $J = 1.7, 8.5\text{Hz}$, 1H), 4.96 (dq, $J = 1.7, 17.1\text{Hz}$, 1H), 4.76 (br s, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.48 (dt, $J = 1.7, 5.8\text{Hz}$, 2H)。

[0808] ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) $\delta = 158.73, 154.70, 146.70, 145.64, 138.71, 137.25, 130.63, 130.26, 124.22, 120.43, 118.57, 114.61, 114.40, 108.56, 104.03, 98.25, 55.92, 55.80, 29.50$ 。

[0809] (E)-4-苄基-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙基)-5-甲氧基苯酚 (7) [KYN-136] 的制备



[0811] (E)-2-((4-(2-苄基-3-甲氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙炔基)-2-甲氧基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(化合物7-1):

[0812] 将四(三苯基膦)钯(0) (16mg, 0.014mmol, 0.05当量)、碳酸钾(77mg, 0.56mmol, 2当量)、苄基硼酸频哪醇酯(122mg, 0.56mmol, 2当量)和水(5mL)依次加入到化合物C1 (170mg, 0.28mmol, 1当量)在四氢呋喃(5mL)中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后,将反应物在77℃加热16小时。冷却至室温以后,将混合物用乙酸乙酯(15mL)萃取并将有机层在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(40g柱)上纯化,用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为黄色油的化合物7-1 (172mg, 99%收率)。 (LM-6-35)

[0813] (E)-4-苄基-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙炔基)-5-甲氧基苯酚(7) [KYN-136]:

[0814] 在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(3.92mL, 3.92mmol, 14当量)加入到化合物7-1 (172mg, 0.28mmol, 1当量)中。在67℃加热16小时以后,将混合物冷却至室温,并用水(4mL)稀释。将混合物用乙酸乙酯(15mL)萃取并将有机层在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(40和25柱)上纯化两次,每次用0-60%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以在真空下在35℃干燥16小时以后产生作为灰白色固体的化合物7 (37mg, 37%收率)。 (LM-6-36)

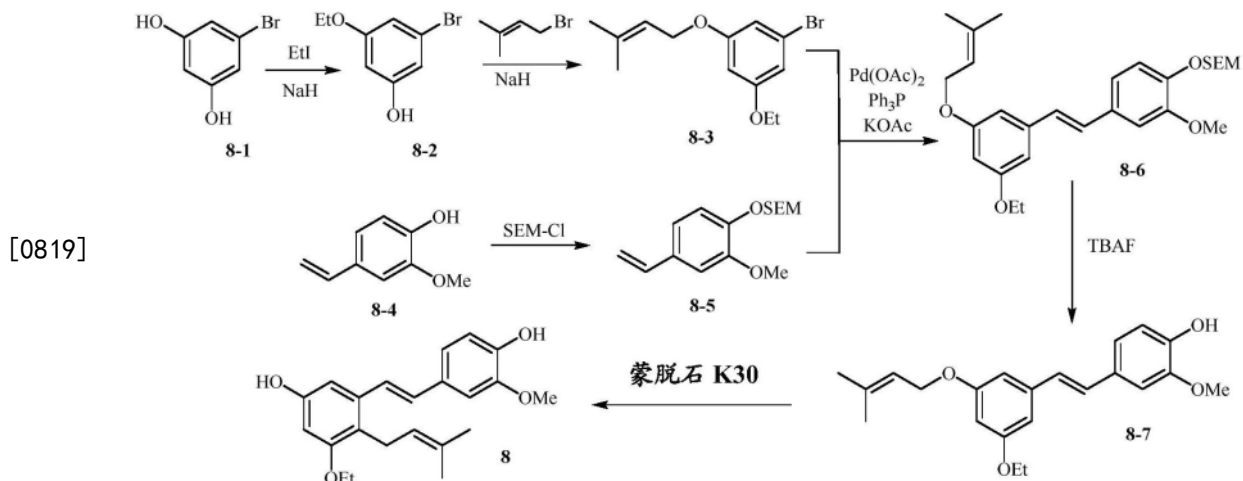
[0815] 灰白色固体;HPLC分析:96.4%纯度;波长254nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3μm;保留时间:8.09min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式) $m/z=363.1$ ($M+H$)⁺; $C_{23}H_{22}O_4$;

[0816] ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) $\delta=7.24-7.00$ (m, 2H), 7.18-7.10 (m, 3H), 7.09 (d, $J=16.1$ Hz, 1H), 6.89 (dd, $J=1.7, 8.6$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J=1.7$ Hz), 6.82 (d, $J=15.9$ Hz), 6.68 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 6.39 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 5.65 (br s, 1H), 4.87 (br s, 1H), 4.10 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.77 (s, 3H)。

[0817] ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) $\delta=159.03, 154.85, 146.63, 145.58, 141.66, 138.83, 130.62, 130.12, 128.22, 128.16, 125.55, 124.31, 120.60, 119.60, 114.48, 108.23, 104.06, 98.21, 55.83, 55.72, 30.92$ 。

[0818] (E)-3-乙氧基-5-(4-羟基-3-甲氧基苯乙炔基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚

(8) [KYN-119]的制备



[0820] 3-溴-5-乙氧基苯酚 (8-2) :

[0821] 在室温将氢化钠 (2.9g, 73.62mmol, 1.1当量) 在矿物油中的60%分散体分成几份加入化合物8-1 (12.65g, 66.93mmol, 1当量) 在无水四氢呋喃 (700mL) 中的溶液中。在室温搅拌15分钟以后, 加入乙基碘 (5.38mL, 66.93mmol, 1当量)。将得到的溶液在50℃加热8小时。将反应物冷却至室温并转移至含有饱和氯化铵溶液 (500mL) 的分液漏斗。加入乙酸乙酯 (1L) 并分离有机层。将水层用乙酸乙酯 (3x400mL) 萃取并将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (Sorbtech 120g柱) 上纯化, 用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色油的化合物8-2 (4.37g, 31%收率)。(TA-1-107)

[0822] 1-溴-3-乙氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯 (8-3) :

[0823] 将氢化钠 (1.1g, 28.64mmol, 1.1当量) 在矿物油中的60%分散体和3,3-二甲基烯丙基溴 (4.27g, 28.6mmol, 1.1当量) 依次加入化合物8-2 (5.65g, 26.03mmol, 1当量) 在无水THF (500mL) 中的溶液中。将反应混合物在50℃加热并搅拌过夜。将反应物冷却至室温并转移至含有饱和氯化铵溶液 (400mL) 的分液漏斗。将乙酸乙酯 (700mL) 加入并将有机层分离。将水层用乙酸乙酯 (3x200mL) 萃取并将合并的有机层用硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (Sorbtech 120g柱) 上纯化, 用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色油的化合物8-3 (6.8g, 88%收率)。(TA-1-102)。

[0824] (2-((2-甲氧基-4-乙烯基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷 (8-5) :

[0825] 在室温将N,N-二异丙基乙胺 (8.8mL, 50mmol, 1.5当量) 和2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯 (7.1mL, 40mmol, 1.2当量) 依次加入化合物8-4 (5g, 33.33mmol, 1.0当量) 在无水二氯甲烷 (50mL) 中的溶液中。在室温搅拌过夜以后, 将饱和氯化铵 (50mL) 加入以淬灭反应。将水层用二氯甲烷 (2x50mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (Sorbtech 24g柱) 上纯化, 用0-10%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为澄清油的化合物8-5 (6.5g, 70%收率)。(NK-1-45)

[0826] (E)-2-((4-(3-乙氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯)乙烯基)-2-甲氧基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷 (8-6) :

[0827] 将化合物8-5 (1.49g, 5.32mmol, 1.2当量)、三苯基膦 (110mg, 0.443mmol, 0.1当量)、乙酸钾 (868mg, 8.86mmol, 2当量) 和乙酸钡 (50mg, 0.221mmol, 0.05当量) 加入化合物8-

3 (1.26g, 4.43mmol, 1.0当量) 在无水甲苯 (30mL) 中的溶液中。将反应混合物用氮气鼓泡15分钟。回流 (110℃) 16小时以后, 将反应混合物冷却至室温并穿过硅藻土 (约5g) 过滤。将滤液转移至含有饱和碳酸氢钠 (30mL) 的分液漏斗。将有机层分离并将水层用乙酸乙酯 (2X20mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。以类似方式处理使用化合物3 (1.26g) 的另一批次。将合并的残余物在Interchim自动化色谱法系统 (Sorbtech 24g柱) 上纯化, 用0-20% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为淡黄色油的化合物8-6 (960mg, 22%收率)。(NK-1-49)

[0828] (E)-4-(3-乙氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯酚(8-7):

[0829] 在室温将1M四丁基氟化铵在THF中的溶液 (14.0mL, 13.88mmol, 7当量) 加入化合物8-6 (960mg, 1.98mmol, 1当量) 在无水THF (40mL) 中的溶液中。将混合物回流过夜 (66℃), 在此时LCMS指示反应完全。将混合物冷却至室温以后, 将水 (10mL) 加入以淬灭反应。在减压下除去挥发物, 随后加入乙酸乙酯 (15mL)。将有机层分离并将水层用乙酸乙酯 (2x15mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (Sorbtech 12g柱) 上纯化, 用0-50% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为黄色油的化合物8-7 (503mg, 71%收率)。(NK-1-44)

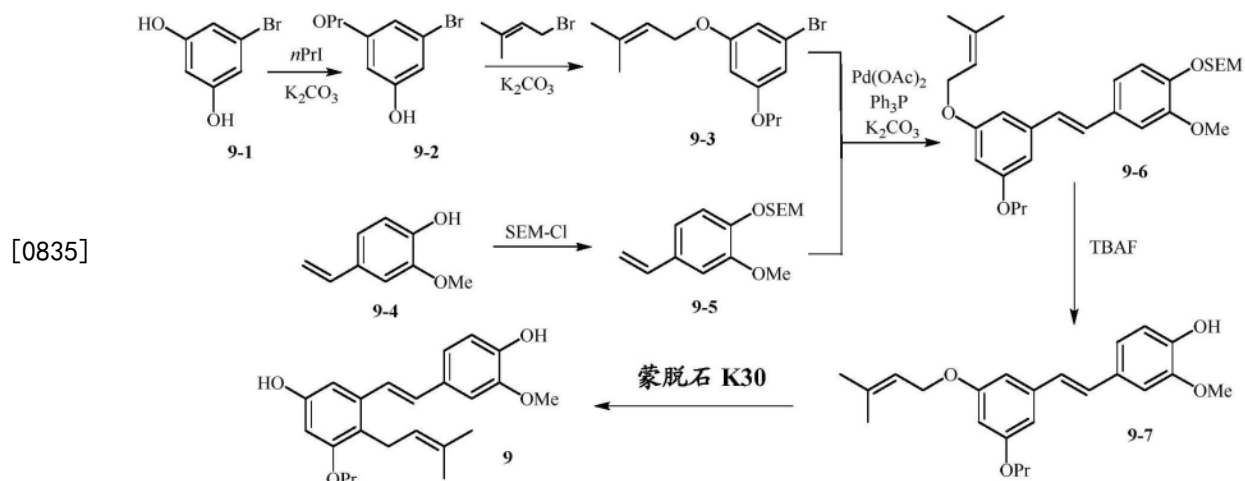
[0830] (E)-3-乙氧基-5-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(8) [KYN-119]:

[0831] 在室温将蒙脱石K30粉末 (500mg) 加入化合物8-7 (500mg, 1.41mmol) 在无水二氯甲烷 (20mL) 中的溶液中, 并将混合物在室温搅拌过夜。通过LCMS没有观察到产物形成。将混合物过滤并加入新鲜蒙脱石K30粉末 (500mg), 并将混合物在室温搅拌过夜, 在此时LCMS指示形成30-40%的期望化合物8, 以及两种位置异构体和未反应的起始化合物7作为副产物。将混合物过滤并将固体用二氯甲烷 (2x15mL) 洗涤。将滤液在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (Sorbtech 24g柱) 上纯化, 用0-50% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。与30%的二氯甲烷在庚烷类中的溶液 (10mL) 一起研磨产生作为白色固体的纯化化合物8 [KYN-119] (60mg, 12%收率)。(NK-1-52-C)

[0832] 米色固体, 熔点133.9-134.7℃; HPLC分析: 96.7%纯度; 波长254nm, 带宽4; 柱: SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3μm; 保留时间: 9.10min; 流动相: ACN/甲酸/水; 质谱图 (正模式) $m/z = 355.2 (M+H)^+$; $C_{22}H_{26}O_4$; ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) $\delta = 7.16 (d, J = 16.1Hz, 1H)$, $7.00 (br s, 1H)$, $6.99 (dd, J = 1.9, 9.0Hz, 1H)$, $6.90 (d, J = 8.4Hz, 1H)$, $6.84 (d, J = 16.1Hz, 1H)$, $6.64 (d, J = 2.4Hz, 1H)$, $6.33 (d, J = 2.4Hz, 1H)$, $5.13 (tm, J = 1.4, 7.0Hz, 1H)$, $3.98 (q, J = 7.0Hz, 2H)$, $3.93 (s, 3H)$, $3.43 (d, J = 7.0Hz, 2H)$, $1.81 (d, J = 1.0Hz, 3H)$, $1.67 (d, J = 1.2Hz, 3H)$, $1.41 (t, J = 7.0Hz, 3H)$; ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) $\delta = 157.88, 154.27, 146.68, 145.53, 138.12, 130.40, 130.34, 130.32, 124.39, 123.74, 120.89, 120.55, 114.56, 108.32, 103.86, 99.12, 63.94, 55.88, 25.78, 24.54, 18.01, 14.89$ 。

[0833] 通过本公开内容的模块方法使用模块A、B和C的等同物并随后进行芳基卤的交叉偶联烷基化也可以合成化合物8 (KYN-119)。

[0834] (E)-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-丙氧基苯酚(9) [KYN-130]的制备



[0836] 3-溴-5-丙氧基苯酚 (9-2) :

[0837] 在室温将碳酸钾 (21.9g, 158.73mmol, 1.2当量) 和丙基碘 (15mL, 158.73mmol, 1.2当量) 依次加入化合物9-1 (10.0g, 52.91mmol, 1当量) 在乙腈 (300mL) 中的溶液中。将得到的悬浮液回流 (80℃) 16小时。冷却至室温以后, 将反应混合物过滤并将滤液在减压下浓缩。将残余物溶解在乙酸乙酯 (150mL) 中并转移至含有1M盐酸溶液 (100mL) 的分液漏斗。分离各层并将水层用乙酸乙酯 (2x100mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统 (Sorbtech 40g柱) 上纯化, 用0-30%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以得到作为浅棕色油的化合物9-2 (11.3g, 37%收率) (NRK-1-89)。

[0838] 1-溴-3-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)-5-丙氧基苯 (9-3) :

[0839] 在室温将碳酸钾 (10.1g, 73.36mmol, 1.5当量) 和3,3-二甲基烯丙基溴 (6.8mL, 58.70mmol, 1.2当量) 依次加入化合物9-2 (11.3g, 48.91mmol, 1当量) 在乙腈 (200mL) 中的溶液中。将得到的悬浮液回流 (80℃) 16小时。冷却至室温以后, 将反应混合物过滤并将滤液在减压下浓缩以得到作为浅棕色油的化合物9-3 (16.0g, 99%收率) (NRK-1-90), 将其随后使用。

[0840] (E)-(2-((2-甲氧基-4-(3-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)-5-丙氧基苯乙烯基)苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷 (9-6) :

[0841] 在室温将 (2-((2-甲氧基-4-乙基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷 (9-5, 关于制备参见8-5) (12.3g, 4.15mmol, 1.1当量)、三苯基膦 (2.1g, 8.02mmol, 0.2当量)、碳酸钾 (11g, 80.26mmol, 2当量) 和乙酸钯 (910mg, 4.01mmol, 0.1当量) 加入化合物9-3 (12.0g, 40.13mmol, 1.0当量) 在无水甲苯 (300mL) 中的溶液中。将反应混合物用氮气鼓泡15分钟。回流 (110℃) 16小时以后, 将反应混合物冷却至室温并穿过硅藻土 (约30g) 过滤。将滤液转移至含有饱和碳酸氢钠溶液 (200mL) 的分液漏斗。分离各层并将水层用乙酸乙酯 (2x100mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统 (Sorbtech 80g柱) 上纯化, 用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为浅棕色油的化合物9-6 (6.25g, 31%收率)。(NRK-1-91)

[0842] (E)-2-甲氧基-4-(3-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)-5-丙氧基苯乙烯基)苯酚 (8-7) :

[0843] 在室温将1M四丁基氟化铵在THF中的溶液 (139mL, 138.59mmol, 7当量) 加入化合物9-6 (9.86g, 19.8mmol, 1当量) 在无水THF (200mL) 中的溶液中。将混合物回流 (66℃) 16小时,

在此时LCMS指示反应完全。将混合物冷却至室温以后,加入水(20mL)。在减压下除去挥发物,随后加入乙酸乙酯(150mL)。分离各层并将水层用乙酸乙酯(2x100mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 80g柱)上纯化,用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色固体的化合物9-7(6.66g,92%收率)。(NRK-1-92)

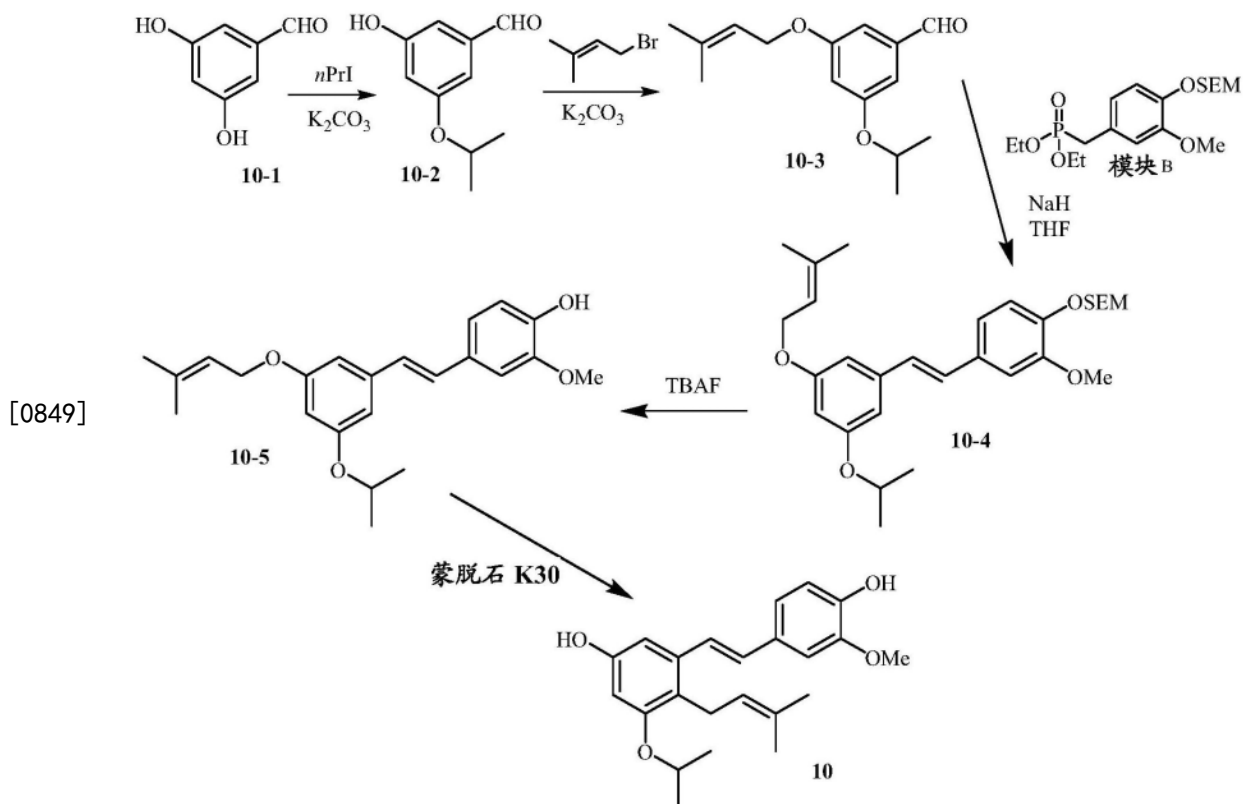
[0844] (E)-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-丙氧基苯酚(9) [KYN-130]:

[0845] 在室温将蒙脱石K30粉末(6.66g)加入化合物8-7(6.66g,18.09mmol)在无水二氯甲烷(200mL)中的溶液中。在室温搅拌过夜以后,LCMS指示已经形成30-40%的期望化合物9,以及两种位置异构体和未反应的起始化合物9-7作为副产物。将混合物穿过硅藻土过滤,将其用二氯甲烷(2x50mL)洗涤。将滤液在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 80g柱)上纯化,用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。将产物与30%的二氯甲烷在庚烷类中的溶液(20mL)一起研磨,以产生作为白色固体的纯化合物9[KYN-130](1.02g,15%收率)。(NRK-1-95-C)

[0846] 白色固体,熔点141.6-142.8°C;HPLC分析:99.48%纯度;波长254nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ,2.1x50mm,3μm;保留时间:9.4min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(负模式) $m/z=367.2$ (M-H)⁻;C₂₃H₂₈O₄; ¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ=7.16(d,J=16.1Hz,1H),7.00(br s,1H),6.99(dd,J=2.0,8.2Hz,1H),6.90(d,J=8.3Hz,1H),6.84(d,J=15.9Hz,1H),6.64(d,J=2.5Hz,1H),6.33(d,J=2.4Hz,1H),5.14(tm,J=7.0Hz,1H),3.93(s,3H),3.88(t,6.4Hz,2H),3.43(d,J=6.8Hz,2H),1.83(m,J=6.4,7.6Hz,2H),1.81(d,J=1.0Hz,3H),1.67(d,J=1.2Hz,3H),1.04(t,J=7.5Hz,3H); ¹³C NMR(100MHz,CDCl₃) δ=158.02,154.27,146.68,145.57,138.14,130.36,130.33,130.31,124.42,123.84,120.88,120.55,114.56,108.32,103.75,98.97,69.90,55.90,25.78,24.57,22.68,18.01,10.68。

[0847] 通过本公开内容的模块方法使用模块A、B和C的等同物并随后进行芳基卤的交叉偶联烷基化也可以合成化合物9(KYN-130)。

[0848] 3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-异丙氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(10) [KYN-131]的制备



[0850] 3-羟基-5-异丙氧基苯甲醛 (10-2) :

[0851] 将化合物10-1 (3g, 21.7mmol, 1当量)、碳酸钾 (4.5g, 32.6mmol, 1.5当量) 和异丙基碘 (2.1mL, 21.7mmol, 1当量) 在N,N'-二甲基甲酰胺 (60mL) 中的混合物在70℃加热16小时。加入另外的异丙基碘 (1.05mL, 10.9mmol, 0.5当量), 并继续反应2小时。冷却至室温以后, 用6N HCl将pH调至4。通过过滤除去剩余的固体。将滤液用乙酸乙酯 (4x50mL) 萃取。将合并的有机层用饱和盐水 (50mL) 洗涤, 经硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将残余物在InterChim自动化色谱法系统 (40g SorbTech柱) 上纯化, 用0-70%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为棕色固体的化合物10-2 (1.13g, 29%收率)。(QZH-RCI-4)。

[0852] 3-异丙氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯甲醛 (10-3) :

[0853] 将化合物10-2 (1.13g, 6.27mmol, 1当量)、碳酸钾 (1.73g, 12.5mmol, 2当量) 和1-溴-3-甲基丁-2-烯 (0.87mL, 7.53mmol, 1.2当量) 在丙酮 (35mL) 中的混合物回流16小时。冷却至室温以后, 将反应物用水 (50mL) 稀释, 并用乙酸乙酯 (2x50mL) 萃取。将合并的有机层用饱和盐水 (30mL) 洗涤, 经硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将残余物在Büchi自动化色谱法系统 (24g SorbTech柱) 上纯化, 用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色油的化合物10-3 (1.33g, 86%收率)。(QZH-RCI-6)。

[0854] 2-((4-(3-异丙氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷 (10-4) :

[0855] 在0℃将模块B (2.17g, 5.36mmol, 1当量) 在四氢呋喃 (10mL) 中的溶液加入氢化钠在矿物油中的60%分散体 (0.43g, 10.7mmol, 2当量) 在四氢呋喃 (30mL) 中的悬浮液中。将反应物在0℃搅拌1小时。加入化合物10-3 (1.33g, 5.36mmol, 1当量) 在四氢呋喃 (10mL) 中的溶液, 并使反应物温热至室温过夜。将反应物用水 (50mL) 稀释, 并用乙酸乙酯 (3x30mL) 萃取。将合并的有机层用饱和盐水 (50mL) 洗涤, 经硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将残余物

在Büchi自动化色谱法系统(24g RediSep柱)上纯化,用0-10%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色油的化合物10-4(1.65g,62%收率)。(QZH-RCI-9)。

[0856] 4-(3-异丙氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯酚(10-5):

[0857] 将化合物10-4(1.65g,3.3mmol,1当量)和1.0M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(16.5mL,16.5mmol,5当量)在四氢呋喃(20mL)中的溶液回流过夜。冷却至室温以后,将反应物用水(100mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x100mL)萃取。将合并的有机层用饱和盐水(50mL)洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物在Büchi自动化色谱法系统(12g RediSep柱)上纯化,用0-30%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为棕色油的化合物10-5(0.85g,70%收率)。(QZH-RCI-10)

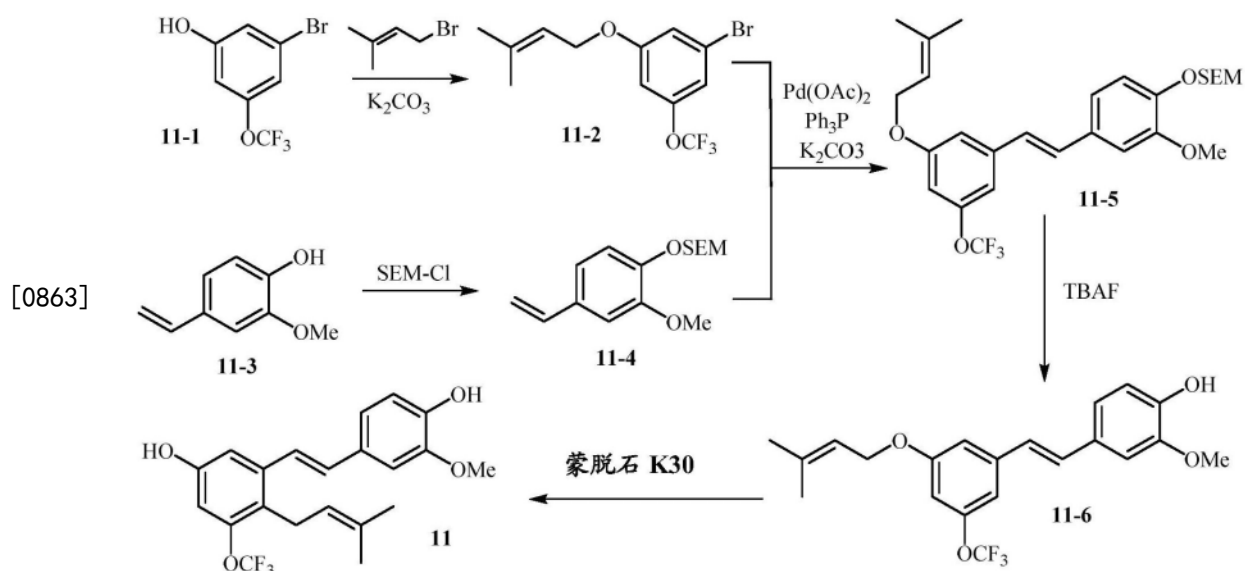
[0858] 3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-异丙氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(10)[KYN-131]:

[0859] 将蒙脱石K10粉末(1g,Sigma-Aldrich,目录号69866)加入化合物10-5(0.85g,2.3mmol,1当量)在无水二氯甲烷(10mL)中的溶液中。将反应物在室温搅拌16小时,在此时LC/MS指示起始材料的>90%转化。将固体通过过滤除去并将滤饼用二氯甲烷(100mL)冲洗。将滤液在减压下浓缩。将残余物在Büchi自动化色谱法系统(25g SorbTech柱)上初步纯化,用0-30%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。收集含有产物(>85%纯度,通过LC/MS)的级分并再次在InterChim自动化色谱法系统(25g InterChim 20-45微米硅胶柱)上纯化,用0-30%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为灰白色固体的化合物10[KYN-131](75mg,9%收率,99.2%纯度,通过HPLC)。(QZH-RCI-12)。

[0860] 灰白色固体;HPLC分析:99.2%纯度;波长254nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ,2.1x50mm,3 μ m;保留时间:9.2min;流动相:ACN/甲酸/水; $C_{23}H_{28}O_4$; ^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ = 7.15(d, J=16.1Hz,1H), 7.00(br s,1H), 6.99(dd, J=2.0,8.0Hz,1H), 6.90(d, J=8.3Hz,1H), 6.85(d, J=16.1Hz,1H), 6.64(d, J=2.4Hz,1H), 6.35(d, J=2.2Hz,1H), 5.12(tm, J=1.4,7.0Hz,1H), 4.49(七重峰, J=6.0Hz,1H), 3.94(s,3H), 3.41(d, J=6.9Hz,2H), 1.82(d, J=1.0Hz,3H), 1.67(d, J=1.2Hz,3H), 1.34(d, J=6.1Hz,6H); ^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ = 156.75,154.19,146.68,145.57,138.37,130.34,130.27,130.23,124.52,123.87,121.87,120.55,114.55,108.32,103.95,100.46,70.35,55.90,25.78,24.69,22.17,18.10。

[0861] 通过本公开内容的模块方法使用模块A、B和C的等同物并随后进行芳基卤的交叉偶联烷基化也可以合成化合物10(KYN-131)。

[0862] (E)-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-(三氟甲氧基)苯酚(11)[KYN-132]的制备



[0864] 1-溴-3-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)-5-(三氟甲氧基)苯(11-2)：

[0865] 在室温将碳酸钾(5.36g, 38.9mmol, 2当量)和3,3-二甲基烯丙基溴(2.9mL, 23.34mmol, 1.2当量)依次加入化合物11-1(5.0g, 19.45mmol, 1当量)在乙腈(100mL)中的溶液中。将得到的悬浮液加热至回流(80℃)16小时。冷却至室温以后,将反应混合物过滤并将滤液在减压下浓缩。将粗残余物溶解在乙酸乙酯(100mL)中,并用1M盐酸溶液(2x50mL)洗涤。将有机层经硫酸钠干燥并在减压下蒸发以得到作为淡黄色油的化合物11-2(5.0g, 79%收率)(NRK-1-96),将其随后使用。

[0866] (E)-2-((2-甲氧基-4-(3-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)-5-(三氟甲氧基)苯乙基)苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(11-5)：

[0867] 在室温将2-((2-甲氧基-4-乙基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(11-4,关于制备参见8-5)(4.30g, 15.38mmol, 1.0当量)、三苯基膦(800mg, 3.07mmol, 0.2当量)、碳酸钾(4.25g, 30.76mmol, 2当量)和乙酸钯(350mg, 1.6mmol, 0.1当量)加入化合物11-2(5.0g, 15.38mmol, 1.0当量)在无水甲苯(150mL)中的溶液中。将反应混合物用氮气鼓泡15分钟。回流(110℃)16小时以后,将反应混合物冷却至室温并穿过硅藻土(约20g)过滤。将滤液转移至含有饱和碳酸氢钠(100mL)的分液漏斗。分离各层并将水层用乙酸乙酯(2x50mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 80g柱)上纯化,用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为浅棕色油的化合物11-5(4.89g, 61%收率)。(NRK-1-97)

[0868] (E)-2-甲氧基-4-(3-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)-5-(三氟甲氧基)苯乙基)苯酚(11-6)：

[0869] 在室温将1M四丁基氟化铵在THF中的溶液(66mL, 65.24mmol, 7当量)加入化合物11-5(4.89g, 9.32mmol, 1当量)在无水THF(200mL)中的溶液中。回流(66℃)16小时以后,LCMS分析指示反应完全。将混合物冷却至室温,并用水(20mL)稀释。在减压下除去挥发物并将残余物用乙酸乙酯(150mL)稀释。分离各层并将水层用乙酸乙酯(2x100mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 80g柱)上纯化,用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为淡黄色油的化合物11-6(3.2g, 87%收率)。(NRK-1-98)

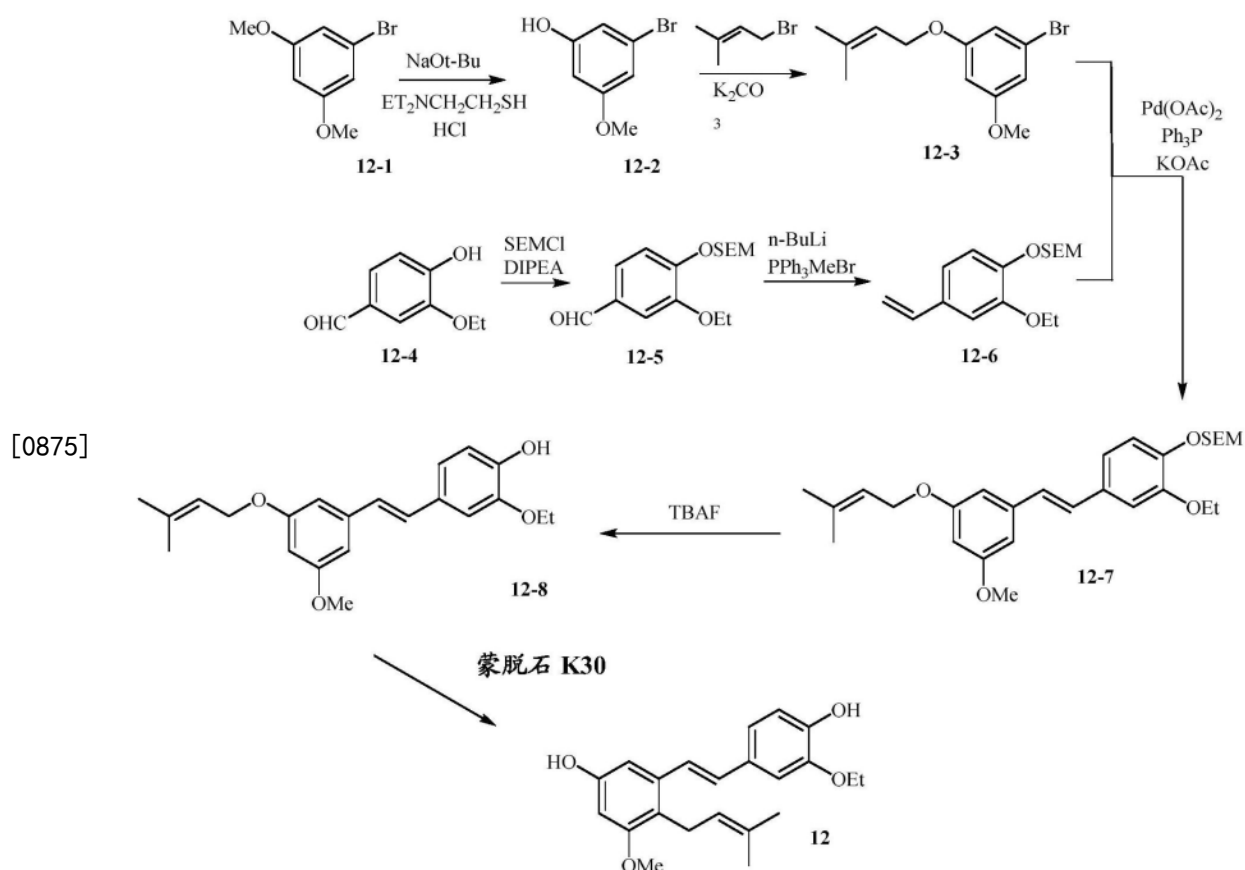
[0870] (E)-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-(三氟甲氧基)苯酚(11) [KYN-132]:

[0871] 在室温将蒙脱石K30粉末(3.2g)加入化合物11-6(3.2g, 8.89mmol)在无水二氯甲烷(100mL)中的溶液中,并将混合物在室温搅拌过夜。LCMS指示形成10-15%的期望化合物11,以及两种位置异构体和未反应的起始化合物11-6作为副产物。将混合物过滤并在室温用新鲜蒙脱石K30粉末(3.2g)处理另外24小时。将反应混合物过滤并将固体用二氯甲烷(2x50mL)洗涤。将合并的滤液在减压下浓缩。将残余物首先在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 80g柱)上纯化,用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生几个含有化合物11的混合级分。将所述级分合并在一起并将得到的物质在Reveleris自动化色谱法系统(Redisep Rf Gold HP C18, 100g柱)上纯化,用0-80%乙腈在水中的梯度洗脱。将产物与30%的二氯甲烷在庚烷类中的溶液(10mL)一起研磨以产生作为白色固体的纯化合物11(60mg, 1.7%收率)。(NRK-1-99-C)

[0872] 白色固体,熔点141.6-142.6°C;HPLC分析:98.81%纯度;波长254nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3μm;保留时间:9.8min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(负模式) $m/z = 393.0$ (M-H)⁻; $C_{21}H_{21}F_3O_4$; ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) $\delta = 7.09$ (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.00 (dd, $J = 1.8, 7.1$ Hz, 1H), 6.99 (br s, 1H), 6.99 (m, 1H), 6.92 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.69 (m, 1H), 5.07 (tm, $J = 6.9$ Hz, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.42 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 1.80 (s, 3H), 1.69 (s, 3H); ^{19}F NMR (376MHz, $CDCl_3$) $\delta = -56.88$ (s, 3F); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) $\delta = 153.95, 148.13, 146.73, 145.92, 139.81, 131.69, 131.66, 129.80, 124.31, 123.25, 122.29, 120.77, 114.64, 110.74, 108.43, 106.97, 55.90, 25.68, 25.02, 17.93$ 。

[0873] 通过本公开内容的模块方法使用模块A、B和C的等同物并随后进行芳基卤的交叉偶联烷基化也可以合成化合物11 (KYN-132)。

[0874] 3-(3-乙氧基-4-羟基苯乙烯基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(12) [KYN-133]的制备:



[0876] 3-溴-5-甲氧基苯酚 (12-2) :

[0877] 将2-(二乙基氨基)乙硫醇盐酸盐 (46.92g, 276.5mmol, 1.2当量) 在DMF (1000mL) 中的混合物在冰浴中冷却, 并逐份加入叔丁醇钠 (55.3g, 576mmol, 2.5当量), 同时保持温度低于25℃。搅拌5分钟以后, 将反应物温热至室温。5分钟以后, 加入化合物12-1 (50g, 230.4mmol, 1.0当量), 并将混合物回流 (138℃) 3小时, 在此时LCMS分析指示反应完全。将反应混合物冷却至0℃并用1M HCl (约1000mL) 调至pH 1, 同时维持温度低于20℃。将混合物用乙酸乙酯 (4x1L) 萃取并将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将另外的化合物1 (25g) 以类似方式处理并与上述残余物组合。将合并的残余物在Interchim自动化色谱法系统 (Sorbtech 330g柱) 上纯化, 用10-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为浅棕色固体的化合物12-2 (60g, 86%收率)。(NK-1-5)

[0878] 1-溴-3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯 (12-3) :

[0879] 在室温将碳酸钾粉末 (82g, 594.20mmol, 2当量) 和3,3-二甲基烯丙基溴 (53g, 355.7mmol, 1.2当量) 依次加入化合物12-2 (60g, 297.02mmol, 1.0当量) 在丙酮 (500mL) 中的溶液中。回流 (55℃) 过夜以后, 将反应物冷却至室温并过滤。将滤液在减压下浓缩并将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (Sorbtech 220g柱) 上纯化, 用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为浅棕色油的化合物12-3 (60g, 75%收率)。(NK-1-8)

[0880] 3-乙氧基-4-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲醛 (12-5) :

[0881] 在室温将2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯 (3.4mL, 19mmol, 1.05当量) 加入化合物12-4 (3g, 18.1mmol, 1当量) 和N,N'-二异丙基乙胺 (9.5mL, 54.3mmol, 3当量) 在二氯甲烷 (60mL) 中的溶液中。将反应物搅拌16小时, 在此时LC/MS分析指示反应完全。将反应混合物

依次用水 (100mL)、饱和氯化铵 (100mL) 和饱和盐水 (50mL) 洗涤。将有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩以产生作为橙色油的化合物12-5 (6g, >理论值), 将其随后使用。(QZH-RCI-34)。

[0882] (2-((2-乙氧基-4-乙烯基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(12-6):

[0883] 在0℃将2.5M正丁基锂在己烷中的溶液(8mL, 20mmol, 1.1当量)加入甲基三苯基溴化磷(7.1g, 20mmol, 1.1当量)在四氢呋喃(90mL)中的混合物中。搅拌30分钟以后, 以维持反应内部温度低于5℃的速率加入化合物12-5 (6g, 18.1mmol, 1当量)在四氢呋喃(20mL)中的溶液。加入己烷(150mL)并将得到的固体过滤。将滤液在减压下浓缩。将残余物在Büchi自动化色谱法系统(80g柱)上纯化, 用0-30%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为澄清油的化合物12-6 (4.43g, 84%收率)。(QZH-RCI-35)。

[0884] ((2-((2-乙氧基-4-(3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯乙烯基)苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(12-7):

[0885] 将化合物12-6 (4.43g, 15mmol, 1当量)、1-溴-3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯(12-3) (4.3g, 15.8mmol, 1.05当量)、乙酸钡(II) (0.34g, 1.5mmol, 0.1当量)、三苯基磷(0.79g, 3mmol, 0.2当量)和碳酸钾(4.14g, 30mmol, 2当量)在甲苯(130mL)中的混合物用氮气鼓泡10分钟。回流16小时以后, 将反应物冷却至室温, 并用庚烷类(150mL)稀释。将固体过滤除去并抛弃。将滤液在减压下浓缩并将残余物在Büchi自动化色谱法系统(120g柱)上纯化, 用0-25%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为棕色油的化合物12-7 (3.18g, 44%收率)。(QZH-RCI-37)。

[0886] 2-乙氧基-4-(3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯乙烯基)苯酚(12-8):

[0887] 将化合物12-7 (3.18g, 6.56mmol, 1当量)和1.0M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(45.9mL, 45.9mmol, 7当量)在四氢呋喃(32mL)中的溶液回流过夜。冷却至室温以后, 加入水(100mL)和饱和氯化铵(200mL)。将反应混合物用乙酸乙酯(3x100mL)萃取。将合并的有机层用饱和盐水(50mL)洗涤, 经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物在Büchi自动化色谱法系统(24g柱)上纯化, 用0-35%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为黄色油的化合物12-8 (1.76g, 76%收率)。(QZH-RCI-38)。

[0888] 3-(3-乙氧基-4-羟基苯乙烯基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(12)(KYN-133):

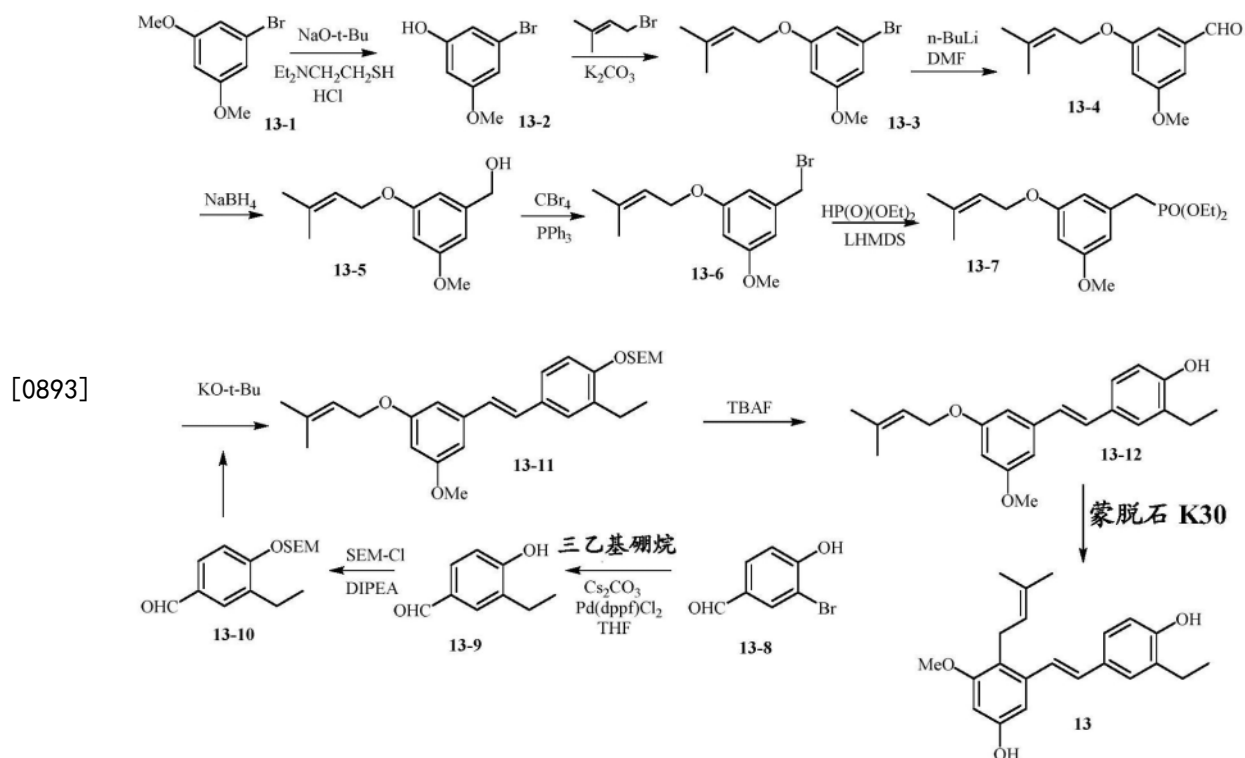
[0889] 将蒙脱石K10粉末(1.76g, Sigma-Aldrich, 目录号69866)加入化合物12-8 (1.76g, 4.96mmol, 1当量)在无水二氯甲烷(10mL)中的溶液中。将反应物在室温搅拌24小时, 在此时LC/MS分析指示起始材料的>90%转化。将反应混合物直接吸附在硅藻土(25g)上并在Büchi自动化色谱法系统(80g柱)上纯化, 用0-35%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为灰白色固体的化合物12[KYN-133] (0.17g, 10%收率, 99.4%纯度, 通过HPLC%)。(QZH-RCI-38)。

[0890] 灰白色固体, 熔点126.6-129.1℃; HPLC分析: 99.4%纯度; 波长254nm, 带宽4; 柱: SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3μm; 保留时间: 9.1min; 流动相: ACN/甲酸/水; 质谱图(正模式) $m/z = 355.2 (M+H)^+$; $C_{22}H_{26}O_4$; ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) $\delta = 7.12$ (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.97 (dd, $J = 2.0, 8.5$ Hz, 1H), 6.90 (dm, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.34 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 5.74 (s, 1H), 5.13 (tm, $J = 1.4, 6.9$ Hz, 1H), 4.85

(s, 1H), 4.14 (q, J=6.9Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.40 (d, J=6.9Hz, 2H), 1.80 (d, J=0.8Hz, 3H), 1.67 (d, J=1.2Hz, 3H), 1.46 (t, J=7.1Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ =158.54, 154.34, 145.93, 145.65, 138.17, 130.58, 130.46, 130.24, 124.19, 123.66, 120.71, 120.44, 114.50, 109.28, 103.94, 98.23, 64.49, 55.68, 25.74, 24.45, 17.93, 14.87。

[0891] 通过本公开内容的模块方法使用模块A、B和C的等同物并随后进行芳基卤的交叉偶联烷基化也可以合成化合物12 (KYN-133)。

[0892] (E)-3-(3-乙基-4-羟基苯乙烯基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(13) [KYN-114]的制备



[0894] 3-溴-5-甲氧基苯酚(13-2)：

[0895] 在保持温度低于25℃的同时将叔丁醇钠(332.05g, 3455.3mmol, 2.5当量)逐份加入在冰浴中的2-(二乙基氨基)乙硫醇盐酸盐(281.48g, 1658.5mmol, 1.2当量)在DMF(3000mL)中的混合物中。5分钟以后,将反应物温热至室温并搅拌另外5分钟。加入化合物13-1(300g, 1382.1mmol, 1.0当量),并将混合物回流(138℃)3小时,在此时LCMS指示反应完全。冷却至室温以后,将混合物在冰浴中冷却并加入1M HCl(约3000mL)以调至pH 1。将混合物用乙酸乙酯(3x5L)萃取并将合并的有机层用饱和盐水(4L)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩。将残余物经硅胶(2.6kg)纯化,用0-25%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为棕色固体的化合物13-2(257.1g, 92%收率)。(GB-27-172)

[0896] 1-溴-3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯(13-3)：

[0897] 在室温将粉末状碳酸钾(350.0g, 2532.5mmol, 2当量)和3,3-二甲基烯丙基溴(226.45g, 1519.5mmol, 1.2当量)依次加入化合物13-2(257.1g, 1266.2mmol, 1.0当量)在丙酮(7500mL)中的溶液中。回流过夜以后,将反应物冷却至室温并过滤。将滤液在减压下浓缩并将残余物在Biotage-150柱上纯化,用0-10%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为棕色油的化合物13-3(358.0g, >100%收率)。(GB-27-174)

[0898] 3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯甲醛(13-4):在保持温度低于-70℃的同时,将2.5M正丁基锂在己烷类中的溶液(557mL,1392.6mmol,1.1当量)逐滴加入在-75℃的化合物13-3(358.0g,约1266.2mmol,1.0当量)在无水THF(7000mL)中的溶液中。在-75℃搅拌30分钟以后,在保持温度低于-70℃的同时逐滴加入无水DMF(147mL,1899.0mmol,1.5当量)。将得到的混合物缓慢地温热至室温过夜。将冰冷的水(500mL)加入以淬灭反应。将混合物用乙酸乙酯(5L)稀释并分离各层。将有机层用饱和盐水(500mL)洗涤。将合并的水层用乙酸乙酯(2x500mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Biotage-150柱上纯化,用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色油的化合物13-4(221.5g,2步总收率为79%)。(GB-27-175)

[0899] (3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苄基)甲醇(13-5):

[0900] 在保持温度低于10℃的同时将硼氢化钠(38.04g,1005.6mmol,1.0当量)逐份加入在0℃的化合物13-4(221.5g,1005.6mmol,1.0当量)在甲醇(3500mL)中的溶液中。在5-10℃搅拌1小时以后,将水(200mL)加入以淬灭反应。将混合物在减压下浓缩以除去大部分甲醇。将残余物用乙酸乙酯(2.5L)稀释,并用饱和盐水(600mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯(2x500mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩以产生作为黄色油的化合物13-5(218.61g,98%收率),将其随后使用。(GB-27-178)

[0901] 1-(溴甲基)-3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苄基(13-6):

[0902] 在室温将四溴化碳(358.76g,1081.84mmol,1.1当量)加入化合物13-5(218.61g,983.49mmol,1.0当量)在二氯甲烷(4400mL)中的溶液中。将得到的混合物冷却至0℃,并逐份加入三苯基膦(283.76g,1081.84mmol,1.1当量)。在室温搅拌4小时以后,将混合物在减压下浓缩。将残余物在Biotage-150柱上纯化,用0-10%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色油的化合物13-6(273.76g,97%收率)。(GB-27-181)注:当在某些预填充的硅胶柱上纯化时,化合物13-6显得不稳定。

[0903] (3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苄基)膦酸二乙酯(13-7):

[0904] 在0℃将1M六甲基二甲硅烷基叠氮化锂在THF中的溶液(6.57mL,6.57mmol,1.8当量)加入亚磷酸二乙酯(0.94mL,7.3mmol,2.0当量)在无水THF(20mL)中的溶液中。在0℃搅拌30分钟以后,加入化合物13-6(1.04g,3.65mmol,1.0当量)在无水THF(10mL)中的溶液,并将混合物在室温搅拌过夜。将反应物用水(30mL)淬灭并将混合物用饱和盐水(30mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯(2x60mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(400g柱)上纯化,用0-10%甲醇在二氯甲烷中的梯度洗脱,以产生作为棕色油的化合物13-7(1.10g,88%收率)。(LM-1-41)

[0905] 3-乙基-4-羟基苯甲醛(13-9):将[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)(2.18g,2.98mmol,0.05当量)和碳酸铯(38.9g,119.4mmol,2当量)加入3-溴-4-羟基苯甲醛(13-8)(12g,59.7mmol,1当量)在无水THF(150mL)中的溶液中。加入1M的三乙基硼烷在THF中的溶液(119.4mL,119.4mmol,1.8当量)并将混合物回流(66℃)过夜。冷却至室温以后,将反应物用水(100mL)稀释,并用乙酸乙酯(2x250mL)萃取。将合并的有机层用饱和盐水(200mL)洗涤,经硫酸钠干燥,并在减压下浓缩。将粗残余物在InterChim自动化色谱法系统(220g柱)上初步纯化,用0-40%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。在InterChim自动化色谱法系统(80g柱)上第二次纯化,用0-40%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为棕色

油的化合物13-9 (5.21g, 58% 收率)。(LM-1-2)

[0906] 3-乙基-4-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲醛(13-10):将2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯化物(6.1mL, 34.52mmol, 1.1当量)加入化合物13-9(4.71g, 31.38mmol, 1当量)在无水二氯甲烷(120mL)中的溶液中。加入二异丙基乙胺(8.2mL, 47.07mmol, 1.5当量)并将混合物在室温搅拌2小时。将反应混合物用饱和碳酸氢钠(50mL)淬灭,并用乙酸乙酯(2x100mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将粗残余物在InterChim自动化色谱法系统(220g柱)上初步纯化,用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。在InterChim自动化色谱法系统(120g柱)上第二次纯化,用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为澄清油的化合物13-10(6.77g, 77% 收率)。(LM-1-4)

[0907] (E)-2-((2-乙基-4-(3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯乙烯基)苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(13-11):

[0908] 在0℃将1.0M叔丁醇钾在THF中的溶液(11.7mL, 11.68mmol, 2当量)逐滴加入冷却的(3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苄基)膦酸二乙酯(13-7)(2g, 5.84mmol, 1当量)在无水THF(20mL)中的溶液中。在室温搅拌15分钟以后,逐滴加入化合物9(2.5g, 8.76mmol, 1.5当量)在无水THF(5mL)中的溶液。将反应混合物在室温搅拌过夜,然后用饱和盐水(50mL)淬灭,并用乙酸乙酯(200mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将粗残余物在Interchim自动化色谱法系统(80g柱)上纯化,用0-30%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为澄清油的化合物13-11(1.32g, 48% 收率)。(CSK-2-97)

[0909] (E)-2-乙基-4-(3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯乙烯基)苯酚(13-12):

[0910] 将1.0M四丁基氟化铵在THF中的溶液(19.7mL, 19.7mmol, 7当量)加入化合物13-11(1.32g, 2.81mmol, 1当量)在无水THF(20mL)中的溶液中并将得到的混合物回流过夜。将反应混合物冷却至室温,并用水(25mL)稀释。将混合物用乙酸乙酯(100mL)萃取。将有机层用饱和盐水(25mL)洗涤,经硫酸钠干燥,并在减压下浓缩。将粗残余物在InterChim自动化色谱法系统(80g柱)上初步纯化,用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。在InterChim自动化色谱法系统(40g柱)上第二次纯化,用0-30%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,得到作为稠澄清油的化合物13-12(770mg, 80% 收率)。(CSK-2-98)

[0911] (E)-3-(3-乙基-4-羟基苯乙烯基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(13-[KYN-114]):

[0912] 将蒙脱石K30(620mg)加入化合物13-12(620mg, 1.83mmol, 1当量)在无水二氯甲烷(12mL)中的溶液中,并将得到的混合物在室温搅拌过夜。将混合物穿过硅藻土垫过滤,将其用二氯甲烷(50mL)冲洗。将滤液在减压下浓缩。将粗残余物在Interchim自动化色谱法系统(25g柱)上纯化,用0-30%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为灰白色固体的化合物13[KYN-114](120mg, 19% 收率)。(CSK-2-99)

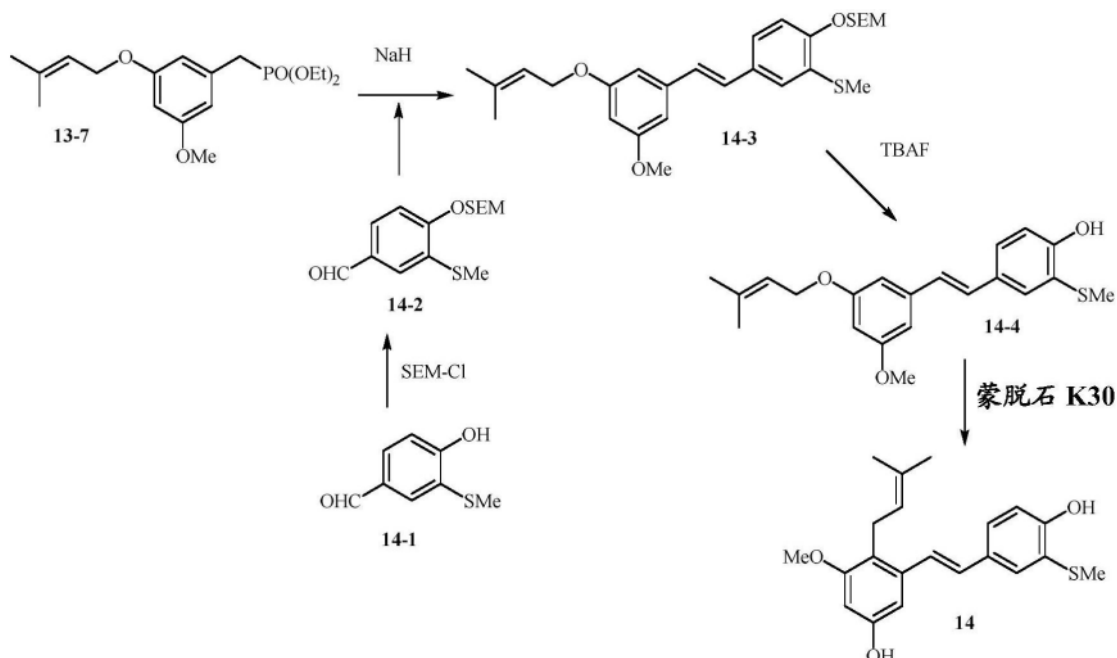
[0913] ^1H NMR(400MHz, 甲醇- d_3) δ =7.22(d, J =2.2Hz, 1H), 7.13(dd, J =2.0, 8.3Hz, 1H), 7.11(d, J =16.1Hz, 1H), 6.83(d, J =16.1Hz, 1H), 6.72(d, J =8.3Hz, 1H), 6.63(d, J =2.2Hz, 1H), 6.33(d, J =2.2Hz, 1H), 5.06(七重峰, J =1.4, 6.8Hz, 1H), 3.77(s, 3H), 3.37(br d, J =6.6Hz, 2H), 2.62(q, J =7.5Hz, 2H), 1.80(d, J =1.0Hz, 3H), 1.67(d, J =1.2Hz, 3H), 1.21(t, J =7.5Hz, 3H); ^{13}C NMR(100MHz, 甲醇- d_3) δ =159.69, 157.12, 156.09, 139, 51,

131.92, 131.12, 130.70, 128.30, 126.20, 125.49, 124.54, 115.95, 104.67, 98.95, 55.96, 25.87, 25.09, 24.26, 18.06, 14.68。

[0914] 通过本公开内容的模块方法使用模块A、B和C的等同物并随后进行芳基卤的交叉偶联烷基化也可以合成KYN-114的化合物。

[0915] (E)-3-(4-羟基-3-(甲硫基)苯乙烯基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚 (14) [KYN-118]的制备

[0916]



[0917] 3-(甲硫基)-4-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲醛 (14-2) :

[0918] 在室温将N,N-二异丙基乙胺 (0.78mL, 4.46mmol, 1.5当量) 和2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯 (0.63mL, 3.57mmol, 1.2当量) 依次加入化合物14-1 (0.50g, 2.97mmol, 1.0当量) 在无水二氯甲烷 (30mL) 中的溶液中, 并在室温搅拌过夜。将等规模的另一个反应合并, 并用饱和碳酸氢钠 (50mL) 淬灭。分离各层并将水层用二氯甲烷 (2x50mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (80g柱) 上纯化, 用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为淡黄色油的化合物14-2 (1.67g, 94%收率)。(LM-1-39和LM-1-40)

[0919] (E)-2-((4-(3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯乙烯基)-2-(甲硫基)苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷 (14-3) :

[0920] 在0℃将化合物13-7 (1.1g, 3.2mmol, 1.0当量) 在无水THF (10mL) 中的溶液逐滴加入在无水THF (20mL) 中的氢化钠在矿物油中的60%分散体 (257mg, 6.4mmol, 2.0当量)。将混合物温热至室温并搅拌30分钟。然后逐滴加入化合物14.2 (0.955g, 3.2mmol, 1.0当量) 在无水THF (10mL) 中的溶液并将混合物在室温搅拌过夜。将反应物用水 (30mL) 淬灭并将混合物用饱和盐水 (70mL) 洗涤。

[0921] 将水层用乙酸乙酯 (2x100mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (40g柱) 上纯化, 用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色油的化合物14-3 (1.01g, 收率为79% (基于0.17g回收的起始材料化合物14.2))。(LM-1-42)

[0922] (E)-4-(3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯乙炔基)-2-(甲硫基)苯酚(14.4):

[0923] 在室温将1M四丁基氟化铵在THF中的溶液(7mL,7mmol,7当量)加入化合物14.3(0.486g,1.0mmol,1.0当量)在无水THF(10mL)中的溶液中。回流过夜以后,将混合物冷却至室温,并用水(20mL)和乙酸乙酯(50mL)稀释。分离各层并将有机层用饱和盐水(30mL)洗涤。将合并的水层用乙酸乙酯(2x50mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(25g柱)上纯化,用0-30%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为棕色油的化合物14.4(0.25g,70%收率)。(LM-1-43)

[0924] (E)-3-(4-羟基-3-(甲硫基)苯乙炔基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(14):在室温将蒙脱石K30粉末(Aldrich#69866,0.25g)加入化合物14.4(0.25g,0.7mmol)在无水二氯甲烷(15mL)中的溶液中,并将混合物在室温搅拌过夜,在此时LCMS指示反应完全。将混合物过滤并将固体用二氯甲烷(2x15mL)冲洗。将合并的滤液在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(25g柱,20-45um)上纯化,用0-40%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生化合物14A、14B和14的混合物(0.18g,70%组合收率)。(LM-1-44)

[0925] 将另外的化合物14-4(0.27g)(使用的11的(of 11used))以相同方式处理,并产生化合物14A、14B和14的混合物(0.22g,81%组合收率)。(LM-1-46)

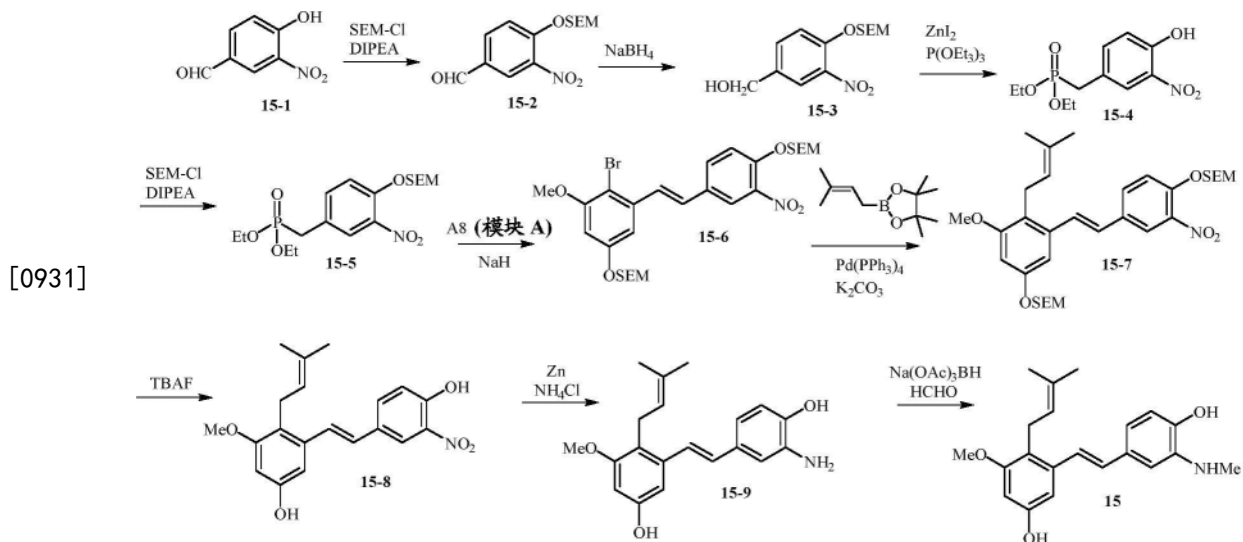
[0926] 将粗制化合物14A、14B和14(LM-1-44和LM-1-46)在Interchim自动化色谱法系统(25g柱,20-45um)上进一步纯化,用0-40%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为浅黄色固体的化合物14B(50mg,10%收率)、作为浅黄色固体的化合物14B(100mg,19%收率)和作为白色固体的化合物14(170mg,33%收率)。(LM-1-54A、LM-1-54B和LM-1-54C)。注:在佛罗里达大学通过NMR确定三种化合物结构。

[0927] 通过本公开内容的模块方法使用模块A、B和C的等同物并随后进行芳基卤的交叉偶联烷基化也可以合成化合物14。

[0928] (E)-3-(4-羟基-3-(甲硫基)苯乙炔基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(14)[KYN-118]:

[0929] 白色固体,熔点124.5-125.2℃;HPLC分析:98.9%纯度;波长254nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ,2.1x50mm,3μm;保留时间:9.00min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式)m/z=357.1(M+H)⁺;C₂₁H₂₄O₃S;¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ=7.60(d,J=2.2Hz,1H),7.37(dd,J=2.2,8.3Hz,1H),7.17(d,J=16.2Hz,1H),6.98(d,J=8.3Hz,1H),6.82(d,J=16.1Hz,1H),6.66(s,1H),6.65(d,J=2.5Hz,1H),6.36(d,J=2.5Hz,1H),5.11(七重峰,J=1.3,6.8Hz,1H),4.71(br s,1H),3.80(s,3H),3.41(br d,J=6.8Hz,2H),2.36(s,3H),1.81(d,J=1.0Hz,3H),1.68(d,J=1.2Hz,3H);¹³C NMR(100MHz,CDCl₃)δ=158.61,155.89,154.39,138.04,132.98,131.00,130.83,129.29,128.98,125.01,123.58,121.37,120.92,115.13,103.93,98.39,55.74,25.79,24.47,19.90,17.98。

[0930] (E)-3-(4-羟基-3-(甲基氨基)苯乙炔基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(15)[KYN-158]



[0932] 3-硝基-4-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲醛 (15-2) :

[0933] 在室温将2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯 (17.9g, 166.70mmol, 1.2当量) 和N,N-二异丙基乙胺 (24.0mL, 134.73mmol, 1.5当量) 依次加入化合物15-1 (15.0g, 89.82mmol, 1.0当量) 在二氯甲烷 (150mL) 中的溶液中。搅拌16小时以后, 将反应混合物用饱和碳酸氢钠 (150mL) 稀释。分离各层并将水层用二氯甲烷 (2x100mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统 (Sorbtech 80g柱) 上纯化, 用0-20% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色油的化合物15-2 (23.5g, 88% 收率) (NRK-1-179)。

[0934] (3-硝基-4-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苄基) 甲醇 (15-3) :

[0935] 在0℃将硼氢化钠 (2.92g, 79.12mmol, 1.0当量) 分成两份加入化合物15-2 (23.5g, 79.12mmol, 1.0当量) 在甲醇中的溶液中。将得到的溶液在室温搅拌1小时。将反应混合物用水 (20mL) 淬灭。在减压下除去挥发物并将得到的粗残余物溶解在乙酸乙酯 (150mL) 中, 并用饱和氯化铵 (100mL) 洗涤。将水层用乙酸乙酯 (2x100mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在减压下蒸发以产生作为橙色油的化合物15-3 (23.7g, 99% 收率), 将其随后使用 (NRK-1-120)

[0936] (4-羟基-3-硝基苄基) 膦酸二乙酯 (15-4) :

[0937] 将碘化锌 (21.31g, 66.80mmol, 2.0当量) 加入亚磷酸三乙酯 (11.5mL, 66.80mmol, 2.0当量) 中。在室温搅拌15分钟以后, 加入化合物15-3 (10.0g, 33.40mmol, 1.0当量) 在无水四氢呋喃 (100mL) 中的溶液。将得到的溶液回流 (66℃) 4小时。冷却至室温以后, 在减压下除去挥发物。将粗残余物溶解在乙酸乙酯 (150mL) 中, 并用1M 氢氧化钠 (150mL) 洗涤。将水层用1M HCL (250mL) 中和。将得到的水层用乙酸乙酯 (3x200mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在减压下蒸发以产生作为黄色油的化合物15-4 (7.12g, 76% 收率), 将其随后使用 (NRK-1-187)

[0938] (3-硝基-4-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苄基) 膦酸二乙酯 (15-5) :

[0939] 在室温将2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯 (4.1g, 24.63mmol, 1.0当量) 和N,N-二异丙基乙胺 (6.5mL, 36.94mmol, 1.5当量) 依次加入化合物15-4 (7.12g, 24.63mmol, 1.0当量) 在二氯甲烷 (100mL) 中的溶液中。搅拌20小时以后, 将反应混合物用饱和碳酸氢钠

(100mL) 稀释。分离各层并将水层用二氯甲烷 (2x50mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以产生作为黄色油的化合物15-5 (9.45g, 92% 收率), 将其随后使用. (NRK-1-189)

[0940] (E) - (2 - ((4 - (2 - 溴 - 3 - 甲氧基 - 5 - ((2 - (三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲氧基) 苯乙烯基) - 2 - 硝基苯氧基) 甲氧基) 乙基) 三甲基硅烷 (15-6) :

[0941] 在0℃将氢化钠在矿物油中的60%分散体 (3.6g, 90.24mmol, 4当量) 分成5份加入化合物15-5 (9.45g, 22.56mmol, 1.0当量) 在无水四氢呋喃 (100mL) 中的溶液中。将混合物温热至室温并搅拌30分钟。逐滴加入A8 (模块A) (8.15g, 22.56mmol, 1当量) 在无水四氢呋喃 (20mL) 中的溶液, 并将混合物在室温搅拌16小时。在0℃用饱和盐水 (20mL, 对于前5mL盐水为1滴/分钟) 小心地淬灭反应。在减压下除去挥发物。加入饱和氯化铵 (100mL)。将混合物用乙酸乙酯 (2x50mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物首先在Reveleris自动化色谱法系统 (Sorbtech 330g柱) 上纯化, 用0-10% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。将产物在Reveleris自动化色谱法系统 (Sorbtech 330g柱) 上进一步纯化, 用0-10% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色油的化合物15-6 (1.63g, 12% 收率) . (NRK-1-190)

[0942] (E) - (2 - ((4 - (3 - 甲氧基 - 2 - (3 - 甲基丁 - 2 - 烯 - 1 - 基) - 5 - ((2 - (三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲氧基) 苯乙烯基) - 2 - 硝基苯氧基) 甲氧基) 乙基) 三甲基硅烷 (15-7) :

[0943] 在密闭试管中将四 (三苯基膦) 钯 (0) (300mg, 0.26mmol, 0.1当量)、碳酸钾 (710mg, 5.2mmol, 2当量)、3 - 甲基丁 - 2 - 烯基硼酸频哪醇酯 (1.01g, 5.2mmol, 2当量) 和水 (2mL) 依次加入化合物15-6 (1.6g, 2.60mmol, 1当量) 在1,4 - 二氧杂环己烷 (20mL) 中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后, 将反应物在100℃加热16小时。冷却至室温以后, 将反应混合物穿过硅藻土过滤。将滤液在减压下蒸发。将残余物悬浮于饱和碳酸氢钠 (100mL) 中, 并用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统 (Sorbtech 80g柱) 上纯化, 用0-10% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为橙色油的化合物15-7 (1.8g, >100% 收率) . (NRK-6-25)

[0944] (E) - 3 - (4 - 羟基 - 3 - 硝基苯乙烯基) - 5 - 甲氧基 - 4 - (3 - 甲基丁 - 2 - 烯 - 1 - 基) 苯酚 (15-8) :

[0945] 在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液 (41mL, 40.92mmol, 14当量) 加入化合物15-7 (1.8g, 2.92mmol, 1当量) 在四氢呋喃 (20mL) 中的溶液中。在67℃加热16小时以后, 将混合物冷却至室温, 并用水 (20mL) 和饱和氯化铵 (100mL) 稀释。在减压下除去挥发物并将剩余的水层用乙酸乙酯 (2x50mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统 (Sorbtech 80g柱) 上纯化, 用0-80% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为黄色固体的化合物15-8 (370mg, 36% 收率) . (NRK-6-26)

[0946] (E) - 3 - (3 - 氨基 - 4 - 羟基苯乙烯基) - 5 - 甲氧基 - 4 - (3 - 甲基丁 - 2 - 烯 - 1 - 基) 苯酚 (15-9) :

[0947] 在室温将活化的锌粉 (680mg, 10.4mmol, 10.0当量)、氯化铵 (560mg, 10.4mmol, 10.0当量) 和水 (6mL) 依次加入化合物15-8 (370mg, 1.04mmol, 1.0当量) 在四氢呋喃 (20mL) 中的溶液中。将得到的悬浮液在室温搅拌16小时。将悬浮液穿过硅藻土过滤并将固体用乙

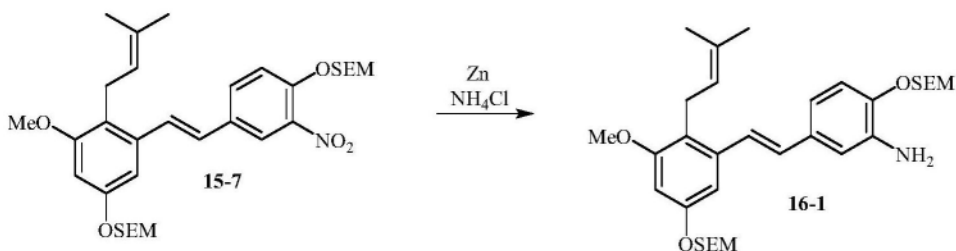
酸乙酯 (20mL) 洗涤。将滤液在减压下蒸发至干燥。将残余物悬浮于饱和氯化铵 (50mL) 中, 并用乙酸乙酯 (2x30mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩以产生作为灰白色固体的化合物15-9 (270mg, 81% 收率), 将其随后使用. (NRK-6-32)

[0948] (E)-3-(4-羟基-3-(甲基氨基)苯乙烯基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚 (15):

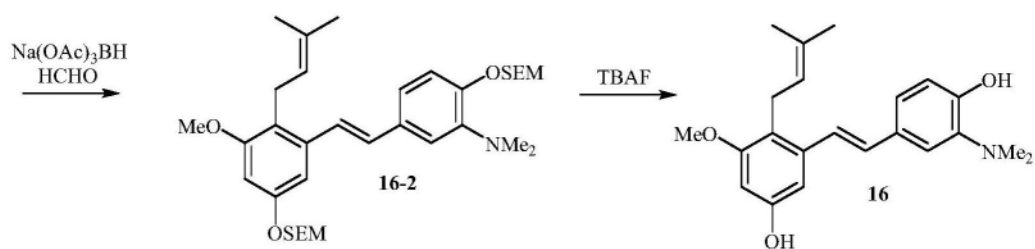
[0949] 将37重量%甲醛水溶液 (52 μ L, 0.62mmol, 2.0当量) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (262mg, 1.24mmol, 4.0当量) 依次加入化合物15-9 (100mg, 0.31mmol, 1.0当量) 在二氯甲烷 (10mL) 中的溶液中。将反应混合物在室温搅拌16小时。将反应混合物用二氯甲烷 (20mL) 稀释, 并用饱和碳酸氢钠 (15mL) 洗涤。将水层用二氯甲烷 (2x10mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统 (Sorbtech 24g 柱) 上初步纯化, 用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为灰白色固体的化合物15 [KYN-158] (52mg, 52% 收率). (NRK-6-40)

[0950] 注: 在试运行中, 使用如上所述的条件将化合物15-9 (50mg) 转化为化合物15。在Reveleris自动化色谱法系统 (Redisep Rf Gold HP C18, 50g柱) 上纯化从该反应获得的粗制物15, 用0-80%乙腈在水中的梯度洗脱, 导致杂质的形成 (质量 m/z =2M-1)。LCMS分析指示, 该杂质的比例超过15, 随着时间的推移而增加。当使化合物15的溶液在甲醇中静置16小时时获得了类似的结果, 从而提示化合物15可能在溶液中不稳定。

[0951] (E)-3-(3-(二甲基氨基)-4-羟基苯乙烯基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚 (16) [KYN-157]



[0952]



[0953] (E)-5-(3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯胺 (16-1):

[0954] 在室温将活化的锌粉 (1.89g, 29.1mmol, 10.0当量)、氯化铵 (1.57g, 29.1mmol, 10.0当量) 和水 (3mL) 依次加入化合物15-7 (1.79g, 2.91mmol, 1.0当量) 在四氢呋喃 (50mL) 中的溶液中。将得到的悬浮液在室温搅拌16小时。将悬浮液过滤并将固体用乙酸乙酯 (20mL) 洗涤。将滤液在减压下蒸发至干燥。将残余物悬浮于饱和氯化铵 (30mL) 中, 并用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩以产生作为浅黄色油的化合物16-1 (1.7g, 99% 收率), 将其随后使用. (NRK-1-199)

[0955] (E)-5-(3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-N,N-二甲基-2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯胺(16-2):

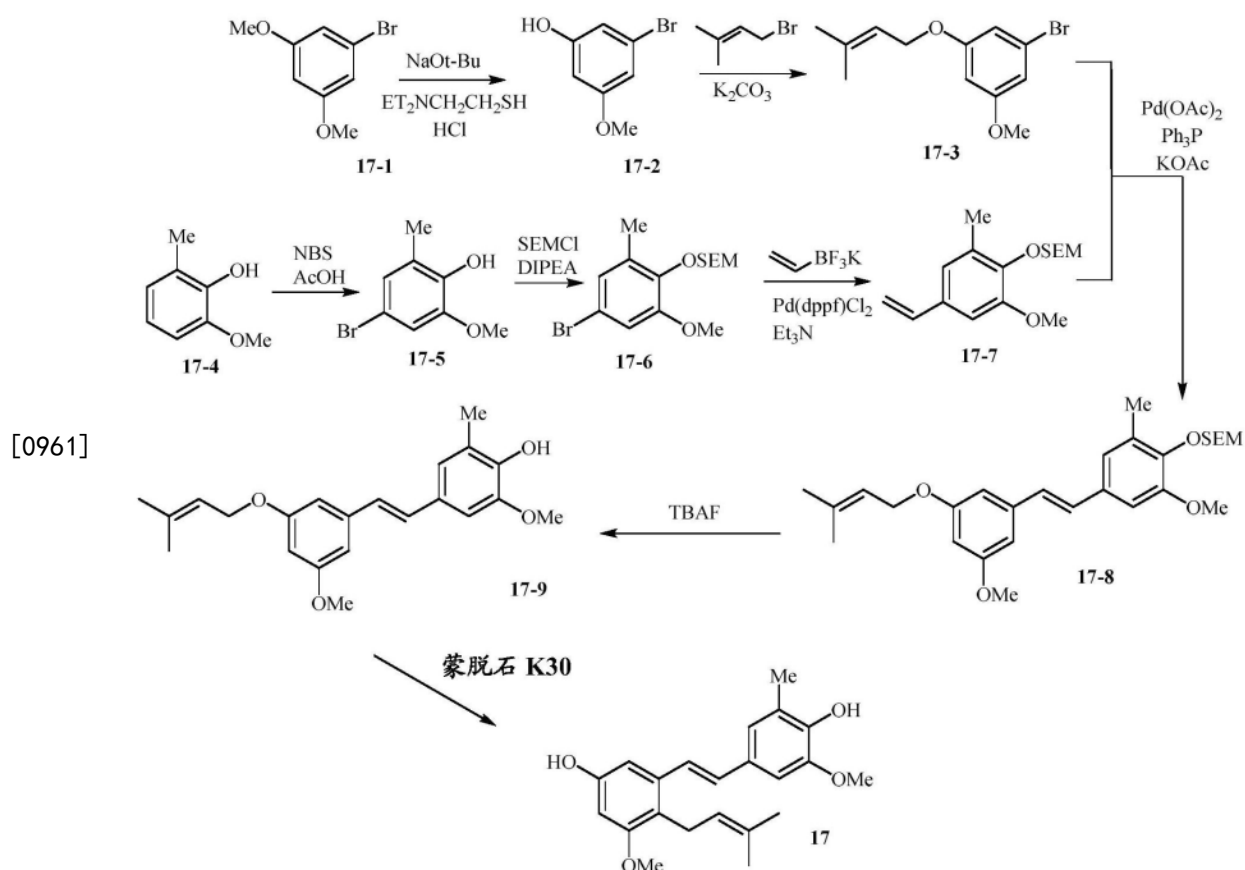
[0956] 将37重量%甲醛水溶液(37 μ L, 0.46mmol, 1.0当量)和三乙酰氧基硼氢化钠(196mg, 0.92mmol, 2.0当量)依次加入化合物16-1(267mg, 0.46mmol, 1.0当量)在二氯甲烷(10mL)中的溶液中。将反应混合物在室温搅拌30分钟。LCMS分析指示单和二N-甲基化产物的形成。将另外的甲醛溶液(0.5mL, 过量)加入反应混合物中并在室温搅拌16小时。将反应混合物用二氯甲烷(20mL)稀释,并用饱和碳酸氢钠(20mL)洗涤。将水层用二氯甲烷(2x20mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 24g柱)上初步纯化,用0-15%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。将得到的产物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 24g柱)上进一步纯化,用0-15%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为浅黄色油的化合物16-2(194mg, 69%收率)。(NRK-1-198)

[0957] (E)-3-(3-(二甲基氨基)-4-羟基苯乙烯基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(16)[KYN-157]:在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(4.5mL, 4.42mmol, 14当量)加入化合物16-2(194mg, 0.32mmol, 1当量)在四氢呋喃(10mL)中的溶液中。在67℃加热8小时以后,将混合物冷却至室温,并用水(20mL)和饱和氯化铵(20mL)稀释。在减压下除去挥发物并将剩余的水层用乙酸乙酯(3x30mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Redisep Rf Gold HP C18, 50g柱)上纯化,用0-60%乙腈在水中的梯度洗脱,以产生作为淡黄色固体的化合物16[KYN-157](40mg, 36%收率)。(NRK-1-201)

[0958] 淡黄色固体,熔点45-53℃;HPLC分析:97.0%纯度;波长210nm,带宽4;柱:Water Atlantis T3, 2.1x50mm, 3 μ m;保留时间:5.75min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式)m/z=354.2(M+H)⁺;C₂₂H₂₇NO₃; ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ =7.31(d, J=2.0Hz, 1H), 7.17(dd, J=2.0, 8.3Hz, 1H), 7.14(d, J=16.1Hz, 1H), 6.92(d, J=8.3Hz, 1H), 6.84(d, J=16.0Hz, 1H), 6.67(d, J=2.3Hz, 1H), 6.37(d, J=2.3Hz, 1H), 5.12(七重峰, J=1.3, 6.8Hz, 1H), 3.79(s, 3H), 3.41(br d, J=6.8Hz, 2H), 2.69(s, 6H), 1.82(s, 3H), 1.69(d, J=1.0Hz, 3H); ¹³C NMR(100MHz, CDCl₃) δ =158.55, 154.55, 151.23, 140.76, 138.25, 130.52, 130.27, 130.07, 124.75, 124.06, 123.76, 120.54, 118.70, 114.21, 103.93, 98.24, 55.69, 45.14(2C), 25.77, 24.47, 17.98。

[0959] 化合物17[KYN-120]的制备

[0960] (E)-4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基-6-甲基苯酚(17)



[0962] 4-溴-2-甲氧基-6-甲基苯酚 (17-5) :

[0963] 在室温将N-溴琥珀酰亚胺 (5.15g, 28.98mmol, 1当量) 加入化合物17-4 (4g, 28.98mmol, 1.0当量) 在乙酸 (60mL) 中的溶液中。在室温搅拌过夜以后, 在减压下除去挥发物。将残余物用水 (200mL) 稀释, 并用乙酸乙酯 (3x60mL) 萃取。将合并的有机层用饱和碳酸氢钠 (100mL) 洗涤, 经硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (Sorbtech 12g柱) 上纯化, 用0-20% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为无色油的化合物17-5 (7g, 99%收率)。(NK-1-35)

[0964] (2-((4-溴-2-甲氧基-6-甲基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷 (17-6) :

[0965] 在室温将N,N-二异丙基乙胺 (3.6mL, 20.73mmol, 1.5当量) 和2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯 (2.9mL, 16.58mmol, 1.2当量) 依次加入化合物17-5 (3g, 13.82mmol, 1.0当量) 在无水二氯甲烷 (60mL) 中的溶液中。搅拌过夜以后, 加入饱和氯化铵 (100mL)。将水层用二氯甲烷 (3x50mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (Sorbtech 12g柱) 上纯化, 用0-20% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为浅黄色油的化合物17-6 (2.37g, 88%收率)。(NK-1-29)

[0966] (2-((2-甲氧基-6-甲基-4-乙烯基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷 (17-7) :

[0967] 将乙烯基三氟硼酸钾 (1.08g, 8.06mmol, 1.4当量)、三乙胺 (1.3mL, 9.2mmol, 1.6当量) 和Pd(dppf)Cl₂ (210mg, 0.029mmol, 0.05当量) 加入化合物17-6 (2.0g, 5.75mmol, 1.0当量) 在2-丙醇 (40mL) 中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后, 将混合物回流 (80℃) 16小时。将反应物冷却至室温并穿过硅藻土 (约5g) 过滤。将滤液在减压下浓缩, 用饱和碳酸氢钠 (20mL) 稀释, 并用乙酸乙酯 (3x20mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下

浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(Sorbtech 24g柱)上纯化,用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为无色油的化合物17-7(1.06g,65%收率)。(NK-1-34)

[0968] (E)-(2-((2-甲氧基-4-(3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯乙烯基)-6-甲基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(17-8):

[0969] 将1-溴-3-甲氧基-5-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)苯(17-3)(1.49g,5.26mmol,1.2当量)、三苯基膦(114mg,0.438mmol,0.1当量)、乙酸钾(850mg,8.76mmol,2当量)和乙酸钡(50mg,0.219mmol,0.05当量)加入化合物17-7(1.29g,4.38mmol,1.0当量)在无水甲苯(60mL)中的溶液中。用氮气鼓泡15分钟以后,将混合物回流(110℃)16小时。将反应混合物冷却至室温并穿过硅藻土(约5g)过滤。将滤液转移至含有饱和碳酸氢钠(20mL)的分液漏斗。将有机层分离并将水层用乙酸乙酯(2x20mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(Sorbtech 24g柱)上纯化,用0-30%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为无色油的化合物17-8(420mg,20%收率)。(NK-1-40)

[0970] 在室温将1M四丁基氟化铵在THF中的溶液(6.1mL,6.06mmol,7当量)加入化合物17-8(420mg,0.86mmol,1当量)在无水THF(40mL)中的溶液中。回流过夜(66℃)以后,LCMS指示反应完全。将混合物冷却至室温,并用水(10mL)稀释。将有机挥发物在减压下除去并用乙酸乙酯(20mL)稀释。将有机层分离并将水层用乙酸乙酯(2x20mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(Sorbtech 14g柱)上纯化,用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色油的化合物17-9(220mg,73%收率)。(NK-1-41)

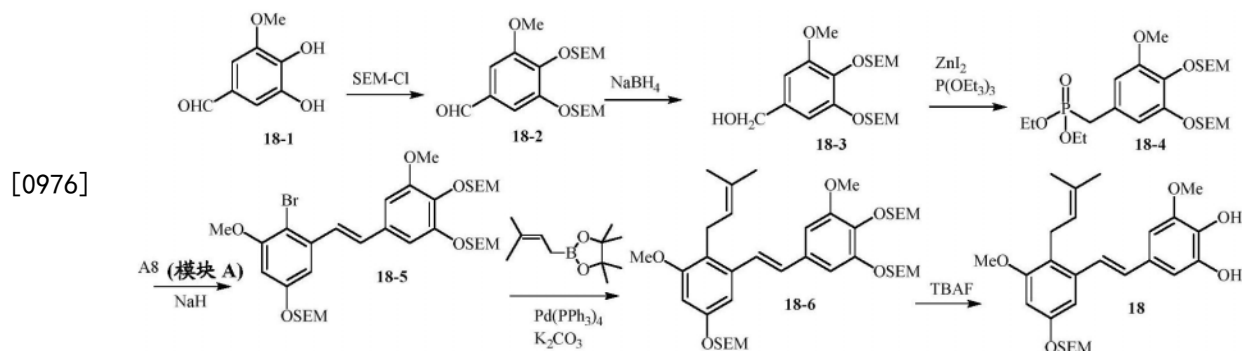
[0971] (E)-4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基-6-甲基苯酚(17)[KYN-120]:

[0972] 在室温将蒙脱石K30粉末(220mg)加入化合物17-9(220mg,0.45mmol)在无水二氯甲烷(20mL)中的溶液中。在室温搅拌过夜以后,LCMS指示形成30-40%的期望化合物10,以及两种位置异构体和未反应的起始化合物9。将混合物过滤,用二氯甲烷(2x15mL)洗涤并将滤液在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(Sorbtech 12g柱)上纯化,用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。与30%的二氯甲烷在庚烷类中的溶液(10mL)一起研磨产生作为白色固体的纯化化合物17[KYN-120](38mg,17%收率)。(NK-1-42-S3)

[0973] 白色固体,熔点140.3-140.4℃;HPLC分析:97.6%纯度;波长210nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ,2.1x50mm,3μm;保留时间:9.29min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式)m/z=355(M+H)⁺;C₂₂H₂₆O₄; ¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ=7.14(d,J=16.1Hz,1H),6.88(m,1H),6.87(m,1H),6.83(d,J=16.1Hz,1H),6.65(d,J=2.5Hz,1H),6.35(d,J=2.5Hz,1H),5.72(d,J=0.5Hz,1H),5.13(tm,J=1.4,6.9Hz,1H),4.60(s,1H),3.92(s,3H),3.80(s,3H),3.42(br d,J=6.9Hz,2H),2.27(s,3H),1.82(d,J=1.0Hz,3H),1.69(d,J=1.2Hz,3H); ¹³C NMR(100MHz,CDCl₃) δ=158.58,154.34,146.37,143.77,138.32,130.62,130.53,129.17,124.00,123.87,123.73,122.35,120.71,105.96,103.87,98.13,56.00,55.71,25.78,24.49,17.97,15.45。

[0974] 通过本公开内容的模块方法使用模块A、B和C的等同物并随后进行芳基卤的交叉偶联烷基化也可以合成化合物17。

[0975] (E)-5-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-3-甲氧基苯-1,2-二醇(18) [KYN-156]



[0977] 3-甲氧基-4,5-双((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲醛(18-2):

[0978] 在室温将N,N-二异丙基乙胺(3.14mL,18mmol,3.0当量)和2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯(2.53mL,14.3mmol,2.4当量)依次加入化合物18-1(1.0g,6mmol,1.0当量)在无水四氢呋喃/二甲基甲酰胺/二氯甲烷的1:1:2混合物(80mL)中的溶液中。在室温搅拌16小时以后,将饱和碳酸氢钠(100mL)加入以淬灭反应。分离各层并将水层用甲基叔丁基醚(2x250mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(80g柱)上纯化,用0-35%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为无色油的化合物18-2(2g,78%收率)。(LM-6-96)

[0979] (3-甲氧基-4,5-双((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯基)甲醇(18-3):

[0980] 在0℃将硼氢化钠(176mg,4.66mmol,1.0当量)一次性加入化合物18-2(2g,4.66mmol,1.0当量)在甲醇(50mL)中的溶液中。在0℃搅拌1小时以后,将水(50mL)加入以淬灭反应。将混合物在减压下浓缩以除去大部分甲醇。将残余物用饱和盐水(50mL)稀释,并用乙酸乙酯(2x100mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩以产生作为无色油的化合物18-3(2g),将其随后使用。(LM-6-104)。

[0981] (3-甲氧基-4,5-双((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苄基)膦酸二乙酯(18-4):

[0982] 在室温将碘化锌(2.97g,9.32mmol,2.0当量)和亚磷酸三乙酯(1.6mL,9.32mmol,2.0当量)依次加入化合物18-3(2g,4.66mmol,1.0当量)在无水四氢呋喃(100mL)中的溶液中。将混合物回流(68℃)16小时。冷却至室温以后,依次加入水(50mL)、碳酸钾(1.61g,2.5当量)和甲基叔丁基醚(200mL)。将混合物穿过硅藻土垫(20g)过滤,将其用乙酸乙酯(300mL)冲洗。分离各层并将有机层用饱和盐水(100mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(80g柱)上纯化,用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生化合物4A和4B的混合物(1g)。在室温将N,N-二异丙基乙胺(2.52mL,14.4mmol,6当量)和2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯(2.04mL,11.2mmol,4.8当量)接连地加入化合物4A和4B(1g,2.4mmol,1.0当量)在无水二氯甲烷(100mL)中的溶液中。在室温搅拌16小时以后,将饱和碳酸氢钠(100mL)加入以淬灭反应。分离各层并将水层用二氯甲烷(2x100mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(80g柱)上纯化,用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为无色油的化合物18-4(1.15g,经3步为45%收率)。(LM-8-4,LM-8-5)

[0983] (E)-((((5-(2-溴-3-甲氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-3-甲氧基-1,2-亚苯基)双(氧基))双(亚甲基))双(氧基))双(乙烷-2,1-二基))双(三甲基硅烷)(18-5):

[0984] 在0℃将氢化钠在矿物油中的60%分散体(168mg, 4.2mmol, 2当量)一次性加入化合物18-4(1.15g, 2.1mmol, 1.0当量)在无水四氢呋喃(50mL)中的溶液中。将混合物温热至室温并搅拌30分钟。逐滴加入中间体A(754mg, 2.1mmol, 1当量)在无水四氢呋喃(20mL)中的溶液,并将混合物在室温搅拌16小时。在0℃用饱和盐水(20mL,对于前5mL盐水为1滴/分钟)小心地淬灭反应。将混合物用甲基叔丁基醚(2x150mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(80g柱)上纯化,用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为无色油的化合物18-5(1.18g, 75%收率)。(LM-8-6)

[0985] (E)-((((3-甲氧基-5-(3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-1,2-亚苯基)双(氧基))双(亚甲基))双(氧基))双(乙烷-2,1-二基))双(三甲基硅烷)(18-6):

[0986] 将四(三苯基膦)钯(0)(90mg, 0.078mmol, 0.05当量)、碳酸钾(428mg, 3.1mmol, 2当量)、3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯(611mg, 3.1mmol, 2当量)和水(4mL)依次加入化合物18-5(1.18g, 1.56mmol, 1当量)在1,4-二氧杂环己烷(12mL)中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后,将反应物在95℃加热16小时。冷却至室温以后,将混合物用甲基叔丁基醚(2x20mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(80g柱)上纯化,用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为无色油的化合物18-6(1g, 86%收率)。(LM-8-7)

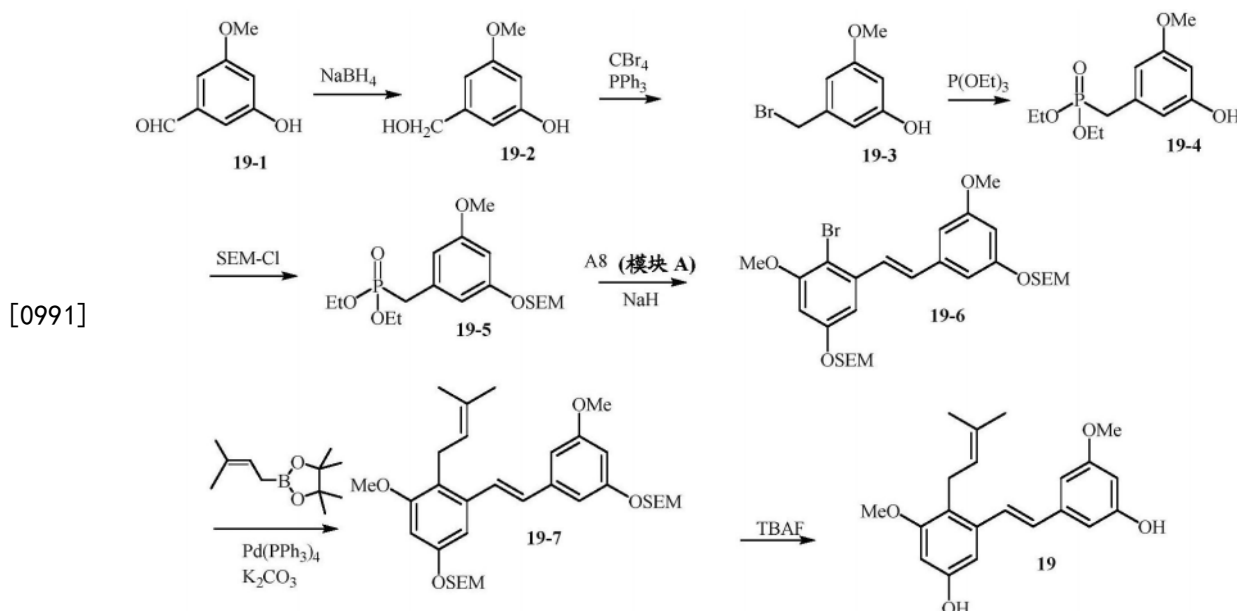
[0987] (E)-5-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-3-甲氧基苯-1,2-二醇(18)[KYN-156]:

[0988] 在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(25.3mL, 25.3mmol, 21当量)加入化合物18-6(900mg, 1.2mmol, 1当量)在四氢呋喃(25mL)中的溶液中。在67℃加热16小时以后,将混合物冷却至室温,并用水(20mL)和饱和盐水(20mL)稀释。将混合物用乙酸乙酯(300mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(80g柱, 2x40g堆叠的柱, 2x25g堆叠的柱)上纯化3次,每次用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生化合物18(70mg, 约85%纯度)。将该粗制化合物18均匀分成7份。将每份在反向ACCQPrep HP125自动化色谱法系统(SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x250mm柱)上纯化,用0-100%乙腈在水中的梯度洗脱,以产生化合物18(50mg)。将该物质在Interchim自动化色谱法系统(25g柱)上进一步纯化,用0-100%乙酸乙酯在己烷类中的梯度洗脱以在真空下在40℃干燥16小时以后产生作为灰白色固体的化合物18[KYN-156](27mg, 6.3%收率)。(LM-8-9)。

[0989] 灰白色固体;HPLC分析:96.0%纯度;波长254nm,带宽4;柱:Luna C18(2), 2.0x20mm, 3μm;保留时间:7.7min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式)m/z=357.1(M+H)⁺; C₂₁H₂₄O₅; ¹H NMR(400MHz, 丙酮-d₆) δ=8.08(s, 1H), 7.72-7.41(m, 2H), 7.19(d, J=16.1Hz, 1H), 6.84(d, J=16.0Hz, 1H), 6.75-6.72(m, 2H), 6.72(d, J=2.3Hz, 1H), 6.40(d, J=2.2Hz, 1H), 5.09(七重峰, J=1.3, 7.0Hz, 1H), 3.86(s, 3H), 3.78(s, 3H), 3.41(br d, J=7.0Hz,

2H), 1.82 (d, J=0.7Hz, 3H), 1.64 (d, J=1.1Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, 丙酮- d_6) δ =158.88, 156.66, 148.63, 145.92, 138.33, 134.46, 130.72, 129.84, 129.52, 124.69, 124.46, 119.36, 107.91, 104.14, 102.28, 98.62, 55.95, 55.38, 25.38, 24.37, 17.58。

[0990] (E)-3-(3-羟基-5-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚 (19) [KYN-160]



[0992] 3-(羟基甲基)-5-甲氧基苯酚 (19-2) :

[0993] 在0℃将硼氢化钠 (263mg, 4.66mmol, 1.0当量) 一次性加入化合物19-1 (1.06g, 7mmol, 1.0当量) 在甲醇 (70mL) 中的溶液中。在0℃搅拌1小时以后, 将水 (50mL) 加入以淬灭反应。将混合物在减压下浓缩以除去大部分甲醇。将残余物用饱和盐水 (50mL) 稀释, 并用乙酸乙酯 (2x100mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (40g柱) 上纯化, 用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为白色固体的化合物19-2 (1.07g, 99%收率)。(LM-8-17)

[0994] 3-(溴甲基)-5-甲氧基苯酚 (19-3) :

[0995] 在室温将四溴化碳 (2.55g, 7.7mmol, 1.1当量) 加入化合物19-2 (1.06g, 7mmol, 1.0当量) 在无水四氢呋喃和二氯甲烷的1:2混合物 (75mL) 中的溶液中。将混合物在冰浴中冷却, 并一次性加入三苯基膦 (2.02g, 7.7mmol, 1.1当量)。然后将混合物温热至室温并搅拌2小时。在减压下除去溶剂。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (80g柱) 上纯化, 用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为灰白色固体的化合物19-3 (1.18g, 79%收率)。(LM-8-18)

[0996] (3-羟基-5-甲氧基苄基) 膦酸二乙酯 (19-4) :

[0997] 在室温将亚磷酸三乙酯 (2.8mL, 16.3mmol, 3当量) 加入化合物19-3 (1.18g, 5.4mmol, 1.0当量) 在无水甲苯 (100mL) 中的溶液中。回流 (110℃) 16小时以后, 将反应物冷却至室温并在减压下除去溶剂。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (80g柱) 上纯化, 用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为无色油的化合物19-4 (1.32g, 89%收率)。(LM-8-19)

[0998] (3-甲氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苄基) 膦酸二乙酯 (19-5) :

[0999] 在室温将N,N-二异丙基乙胺(3.1mL,24mmol,5当量)和2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯(3.4mL,19.3mmol,4当量)依次加入化合物19-4(1.32g,4.8mmol,1.0当量)在无水二氯甲烷(50mL)中的溶液中。在室温搅拌16小时以后,将饱和碳酸氢钠(50mL)加入以淬灭反应。分离各层并将水层用二氯甲烷(2x200mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(80g柱)上纯化,用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为无色油的化合物19-5(1.27g,65%收率)。(LM-8-20)

[1000] (E)-(2-((3-(2-溴-3-甲氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-5-甲氧基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(19-6):

[1001] 在0℃将氢化钠在矿物油中的60%分散体(204mg,5.1mmol,2当量)一次性加入化合物19-5(1.03g,2.55mmol,1.0当量)在无水四氢呋喃(50mL)中的溶液中。将混合物温热至室温并搅拌30分钟。逐滴加入A8(模块A)(0.92mg,2.55mmol,1当量)在无水四氢呋喃(20mL)中的溶液,并将混合物在室温搅拌16小时。在0℃用饱和盐水(20mL,对于前5mL盐水为1滴/分钟)小心地淬灭反应。将混合物用甲基叔丁基醚(2x150mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(80g柱)上纯化,用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为无色油的化合物19-6(1.23g,79%收率)。(LM-8-21)

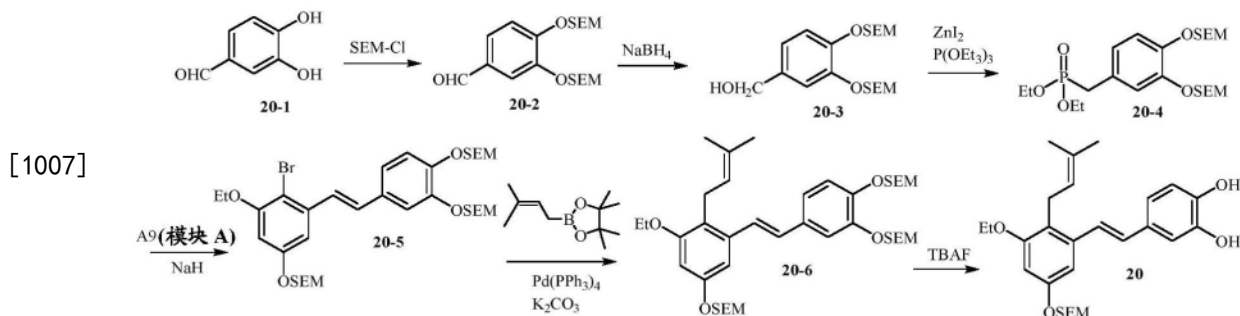
[1002] (E)-(2-((3-甲氧基-5-(3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基))-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙炔基)苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(19-7):

[1003] 将四(三苯基膦)钯(0)(116mg,0.1mmol,0.05当量)、碳酸钾(553mg,4mmol,2当量)、3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯(785mg,4mmol,2当量)和水(5mL)依次加入化合物19-6(1.23g,2mmol,1当量)在1,4-二氧杂环己烷(15mL)中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后,将反应物在95℃加热16小时。冷却至室温以后,将混合物用甲基叔丁基醚(2x20mL)萃取并将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(80g柱)上纯化,用0-15%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为无色油的化合物19-7(1.1g,91%收率)。(LM-8-22)

[1004] (E)-3-(3-羟基-5-甲氧基苯乙炔基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(19)[KYN-160]:

[1005] 在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(25.6mL,25.6mmol,14当量)加入化合物19-7(1.1g,1.83mmol,1当量)在四氢呋喃(25mL)中的溶液中。在67℃加热16小时以后,将混合物冷却至室温,并用水(20mL)和饱和盐水(20mL)稀释。将混合物用乙酸乙酯(300mL)萃取并将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在InterChim自动化色谱法系统(120g柱,2x25g堆叠的柱)上纯化两次,每次用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以在真空下在40℃干燥16小时以后产生作为灰白色固体的化合物19(110mg,17%收率)。(LM-8-23)。

[1006] E)-4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙炔基)苯-1,2-二醇(20)[KYN-146]



[1008] 3,4-双((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲醛(20-2):在室温将N,N-二异丙基乙胺(37.8mL,217.2mmol,3.0当量)和2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯(29.0g,173.8mmol,2.4当量)依次加入化合物20-1(10.0g,72.4mmol,1.0当量)在无水二氯甲烷(200mL)中的溶液中。在室温搅拌16小时以后,加入饱和碳酸氢钠溶液(150mL)。分离各层并将水层用二氯甲烷(2x150mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(120g柱)上纯化,用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以产生作为黄色油的化合物20-2(28.03g,97%收率)。(LM-1-75)

[1009] (3,4-双((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苄基)甲醇(20-3):在0℃将硼氢化钠(2.66g,70.3mmol,1.0当量)一次性加入化合物20-2(28.03g,70.3mmol,1.0当量)在甲醇(200mL)中的溶液中。在0℃搅拌1小时以后,将水(75mL)加入以淬灭反应。将混合物在减压下浓缩以除去大部分甲醇。将残余物用饱和盐水(75mL)稀释,并用乙酸乙酯(2x200mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(120g柱)上纯化,用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色油的化合物20-3(26.84g,95%收率)。(LM-1-80)

[1010] (3,4-双((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苄基)膦酸二乙酯(20-4):

[1011] 在室温将碘化锌(42.77g,134.0mmol,2.0当量)和亚磷酸三乙酯(23mL,134.0mmol,2.0当量)依次加入化合物20-3(26.84g,67.0mmol,1.0当量)在无水四氢呋喃(400mL)中的溶液中。将混合物回流(68℃)4小时,在此时LCMS分析指示反应完全。冷却至室温以后,将混合物在减压下浓缩以除去大部分四氢呋喃。将残余物用饱和碳酸氢钠(150mL)稀释,并用甲基叔丁基醚(2x400mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(220g柱)上纯化,用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色油的化合物20-4(24.18g,69%收率)。(LM-1-82)

[1012] (E)-((((4-(2-溴-3-乙氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-1,2-亚苯基)双(氧基))双(亚甲基))双(氧基))双(乙烷-2,1-二基))双(三甲基硅烷)(20-5):

[1013] 在0℃将氢化钠在矿物油中的60%分散体(2.43g,60.6mmol,2当量)一次性加入化合物20-4(15.76g,30.3mmol,1.0当量)在无水四氢呋喃(300mL)中的溶液中。将混合物温热至室温并搅拌30分钟。逐滴加入含有化合物A9(模块A)(11.36g,30.3mmol,1当量)在无水四氢呋喃(100mL)中的溶液,并将混合物在室温搅拌16小时。在0℃用饱和盐水(250mL,对于前5mL盐水为1滴/分钟)小心地淬灭反应。将混合物用甲基叔丁基醚(2x500mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(330柱)上纯化,用0-15%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色油的化合物20-5

(15.5g, 69%收率). (LM-6-89)

[1014] (E)-((((4-(3-乙氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-1,2-亚苯基)双(氧基))双(亚甲基))双(氧基))双(乙烷-2,1-二基))双(三甲基硅烷)(20-6):

[1015] 将四(三苯基膦)钯(0)(1.21g, 1.05mmol, 0.05当量)、碳酸钾(5.78g, 41.8mmol, 2当量)、3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯(8.2g, 41.8mmol, 2当量)和水(50mL)依次加入化合物20-5(15.5g, 20.9mmol, 1当量)在1,4-二氧杂环己烷(150mL)中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后,将反应物在95℃加热16小时。冷却至室温以后,将混合物用甲基叔丁基醚(2x300mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(330柱)上纯化,用0-15%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色油的化合物20-6(15.28g, 99%收率). (LM-6-90)

[1016] (E)-4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)苯-1,2-二醇(20)[KYN-146]:

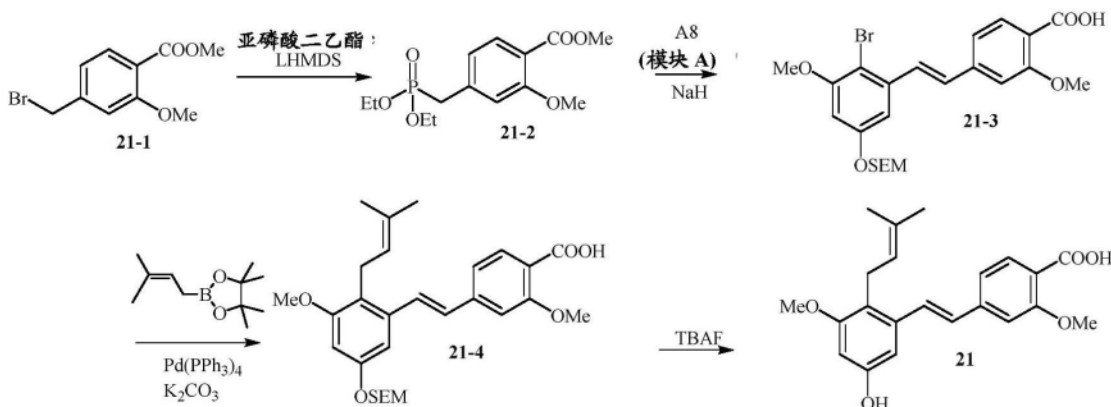
[1017] 在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(513mL, 513mmol, 21当量)加入化合物20-6(17.86g, 24.4mmol, 1当量)在四氢呋喃(500mL)中的混合物中。在67℃加热16小时以后,将混合物冷却至室温,并用水(350mL)和饱和盐水(350mL)稀释。将混合物用甲基叔丁基醚(1.5L)和乙酸乙酯(1.5L)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(2x40g堆叠的柱, 2x80g堆叠的柱, 2x40g堆叠的柱)上纯化3次,每次用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生SEM保护的化合物(3.94g)和化合物20(1.5g, 约70%纯度)的混合物。将该粗制化合物20在反向Interchim自动化色谱法系统(300g柱)上进一步纯化,用0-100%乙腈在水中的梯度洗脱,以产生化合物20(480mg)。将SEM-保护的化合物的混合物(3.94g)用1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(58.7mL, 58.7mmol, 7.0当量)处理,并以相同方式处理,以产生化合物20(450mg)。将所有SEM-保护的物质组合(480mg、450mg和130mg, LM-6-69)并在Interchim自动化色谱法系统(40g柱)上纯化,用0-55%乙酸乙酯在己烷类中的梯度洗脱,以在真空下在40℃干燥16小时以后产生作为灰白色固体的化合物20[KYN-146](1.0g, 10%总收率). (LM-6-91)。

[1018] 结构数据:

[1019] 化合物20[KYN-146]

[1020] 灰白色固体;HPLC分析:96.3%纯度;波长254nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3μm;保留时间:8.3min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式)m/z=341.2(M+H)⁺; C₂₁H₂₄O₄; ¹H NMR(400MHz, 丙酮-d₆) δ=7.98(br s, 2H), 7.18(d, J=16.1Hz, 1H), 7.08(d, J=2.1Hz, 1H), 6.90(ddd, J=0.4, 2.1, 8.1Hz, 1H), 6.87-6.80(m, 2H), 6.70(d, J=2.3Hz, 1H), 6.37(d, J=2.3Hz, 1H), 5.11(七重峰, J=1.3, 7.0Hz, 1H), 3.99(q, J=7.0Hz, 2H), 3.42(d, J=7.0Hz, 2H), 1.81(d, J=0.9Hz, 3H), 1.64(d, J=1.1Hz, 3H), 1.38(t, J=7.0Hz, 3H); ¹³C NMR(100MHz, 丙酮-d₆) δ=158.18, 156.56, 145.65, 145.59, 138.34, 130.60, 130.33, 129.87, 124.65, 124.23, 119.52, 119.50, 115.75, 113.29, 104.08, 99.43, 63.86, 25.40, 24.44, 17.65, 14.75。

[1021] (E)-4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯甲酸(21)[KYN-154]



[1022]

[1023] 4-((二乙氧基磷酰基)甲基)-2-甲氧基苯甲酸甲酯(21-2)：

[1024] 在0℃将1M双(三甲基硅烷基)氨基锂在四氢呋喃中的溶液(7mL, 7mmol, 1.8当量)加入亚磷酸二乙酯(1mL, 7.7mmol, 2.0当量)在无水四氢呋喃(30mL)中的溶液中。在0℃搅拌30分钟以后, 逐滴加入化合物21-1(1g, 3.9mmol, 1当量)在无水四氢呋喃(10mL)中的溶液, 并将混合物在室温搅拌16小时。将反应物用饱和盐水(50mL)稀释, 并用乙酸乙酯(2x300mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(40柱)上纯化, 用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为无色油的化合物21-2(1.22g, 99%收率)。(LM-6-92)

[1025] (E)-4-(2-溴-3-甲氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯甲酸(21-3)：

[1026] 在0℃将氢化钠在矿物油中的60%分散体(160mg, 4mmol, 2当量)一次性加入化合物21-2(0.63g, 2mmol, 1.0当量)在无水四氢呋喃(30mL)中的溶液中。将混合物温热至室温并搅拌30分钟。逐滴加入A8(模块A)(0.72g, 2mmol, 1当量)在无水四氢呋喃(10mL)中的溶液, 并将混合物在室温搅拌16小时。在0℃将反应物用饱和盐水(20mL, 对于前5mL盐水为1滴/分钟)稀释。将混合物用甲基叔丁基醚(2x50mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(40柱)上纯化, 用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色固体的化合物21-3(0.55g, 55%收率)。(LM-6-93)

[1027] (E)-2-甲氧基-4-(3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)苯甲酸(21-4)：

[1028] 将四(三苯基膦)钯(0)(58mg, 0.05mmol, 0.05当量)、碳酸钾(415mg, 3mmol, 3当量)、3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯(392mg, 2mmol, 2当量)和水(4mL)依次加入化合物21-3(509mg, 1mmol, 1当量)在1,4-二氧化杂环己烷(12mL)中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后, 将反应物在95℃加热16小时。冷却至室温以后, 将混合物用乙酸乙酯(2x20mL)萃取, 并将合并的有机层在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(25g柱)上纯化, 用0-80%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色油的化合物21-4(490mg, 98%收率)。(LM-6-94)

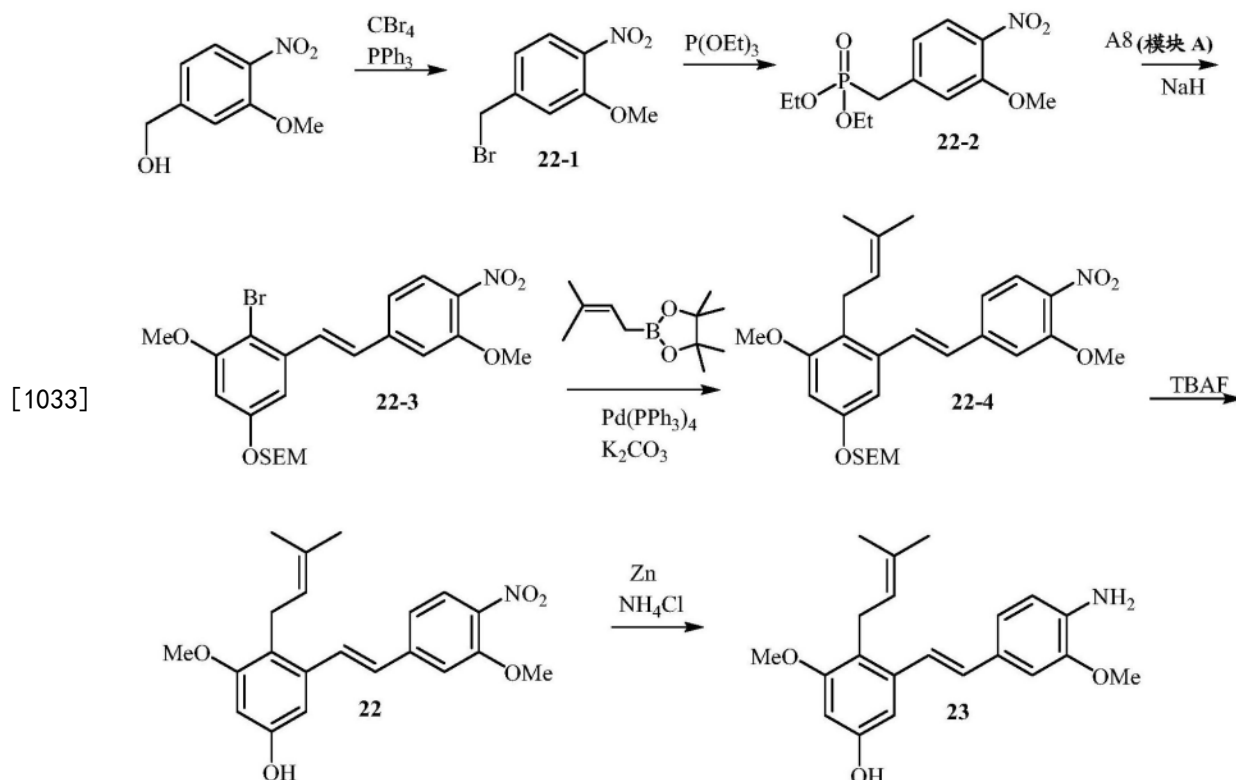
[1029] (E)-4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯甲酸(21)[KYN-154]：

[1030] 在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(7mL, 7mmol, 7当量)加入化合物

21-4 (490mg, 1mmol, 1当量) 在四氢呋喃 (20mL) 中的混合物中。在67℃加热16小时以后, 将混合物冷却至室温, 并用乙酸乙酯 (200mL) 稀释。将混合物用饱和盐水 (50mL) 洗涤并将有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (2x25g堆叠的柱) 上纯化两次, 每次用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 并在反向Interchim自动化色谱法系统 (50g柱) 上纯化两次, 每次用0-100%乙腈在水中的梯度洗脱, 以产生化合物S10 (70mg, 约70%纯度)。将该物质等分成8份。将每份在反向ACCQPrep HP125自动化色谱法系统 (SunFire Prep C18 OBD 5 μ m 19x250mm柱) 上纯化, 用0-100%乙腈在水中的梯度洗脱, 以在低压冻干16小时以后产生作为灰白色固体的化合物21 [KYN-154] (30mg, 8%收率)。(LM-6-95)。

[1031] 灰白色固体; HPLC分析: 98.8%纯度; 波长254nm, 带宽4; 柱: SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3 μ m; 保留时间: 8.4min; 流动相: ACN/甲酸/水; 质谱图 (正模式) $m/z = 369.2 (M+H)^+$; $C_{22}H_{24}O_5$; ^1H NMR (400MHz, 丙酮- d_6) $\delta = 7.92$ (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.38 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H), 7.30 (dd, $J = 1.2, 8.2$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 6.48 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 5.08 (七重峰, $J = 1.3, 7.0$ Hz, 1H), 4.09 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.45 (br d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 1.81 (s, 3H), 1.64 (d, $J = 1.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, 丙酮- d_6) $\delta = 165.55, 159.48, 158.97, 156.82, 144.29, 137.40, 133.08, 130.20, 130.14, 129.15, 124.52, 120.27, 119.38, 118.33, 110.57, 104.49, 99.64, 56.36, 55.46, 25.36, 24.36, 17.57$ 。

[1032] 化合物22 [KYN-124] 和化合物23 [KYN-125] 的制备



[1034] 4-(溴甲基)-2-甲氧基-1-硝基苯 (22-1):

[1035] 在0℃将四溴化碳 (21.7g, 65.5mmol, 1.2当量) 分成5份加入3-甲氧基-4-硝基苯甲醇 (10g, 54.5mmol, 1.0当量) 和三苯基膦 (17.2g, 65.5mmol, 1.2当量) 在二氯甲烷 (300mL) 中

的溶液中。在室温搅拌16小时以后,将反应混合物在减压下浓缩。将残余物在InterChim自动化色谱法系统(330g柱)上纯化,用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色固体的化合物22-1(12.8g,95%收率)(CH-LM-02-26)

[1036] (3-甲氧基-4-硝基苄基)膦酸二乙酯(22-2):

[1037] 将亚磷酸三乙酯(26.8mL,156mmol,3.0当量)加入化合物22-1(12.8g,52mmol,1.0当量)在甲苯(400mL)中的溶液中。回流(110℃)40小时以后,NMR分析指示反应完全。将反应混合物冷却至室温,并在减压下浓缩。将残余物在InterChim自动化色谱法系统(330g柱)上纯化,用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,随后用10%甲醇在二氯甲烷中的溶液洗脱,以产生作为淡黄色油的化合物22-2(15.5g,98%收率)(CH-LM-02-27)。

[1038] (E)-(2-((4-溴-3-甲氧基-5-(3-甲氧基-4-硝基苯乙烯基)苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(22-3):

[1039] 在0℃将氢化钠在矿物油中的60%分散体(6.1g,153.3mmol,3.0当量)分成3份加入化合物22-2(15.5g,51.1mmol,1.0当量)在无水四氢呋喃(450mL)中的溶液中。将混合物温热至室温并搅拌30分钟。逐滴加入中间体A(18.5g,51.1mmol,1.0当量)在无水四氢呋喃(150mL)中的溶液,并将混合物在室温搅拌16小时。在0℃用水(500mL,对于前5mL水为1滴/分钟)小心地淬灭反应,并用甲基叔丁基醚(1.5L)和乙酸乙酯(1L)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物分成三等份在InterChim自动化色谱法系统(3x330g柱)上纯化,用10-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色固体的化合物22-3(9.9g,38%收率)。(CH-LM-02-28)

[1040] (E)-(2-((3-甲氧基-5-(3-甲氧基-4-硝基苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(22-4):

[1041] 在密闭试管中将四(三苯基膦)钯(0)(2.1g,1.8mmol,0.05当量)、碳酸钾(10g,72mmol,2.0当量)、3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯(14.1g,72mmol,2.0当量)和水(90mL)依次加入化合物22-3(18.3g,36mmol,1.0当量)在1,4-二氧杂环己烷(270mL)中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后,将反应物在100℃加热16小时。冷却至室温以后,将反应混合物用甲基叔丁基醚(500mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物分成两等份在InterChim自动化色谱法系统(2x220g柱)上纯化,用0-12%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色固体的化合物22-4(15.1g,84%收率)。(CH-LM-02-29)

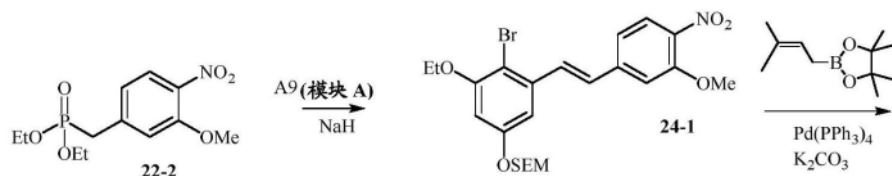
[1042] (E)-3-甲氧基-5-(3-甲氧基-4-硝基苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(22):在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(366mL,366mmol,7.0当量)加入化合物22-4(26.1g,52.3mmol,1.0当量)在四氢呋喃(400mL)中的溶液中。在68℃加热16小时以后,将混合物冷却至室温,并用水(100mL)稀释。在减压下除去挥发物。将残余物用饱和氯化铵(250mL)稀释,并用乙酸乙酯(2x500mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物分成三等份在InterChim自动化色谱法系统(3x330g柱)上纯化,用30-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色固体的化合物22(17.1g,89%收率)。(CH-LM-02-30)黄色固体,熔点167.1-169.0℃;HPLC分析:99.2%纯度;波长210nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ,2.1x50mm,3μm;保留时间:9.77min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式)m/z=370.1(M+H)⁺;C₂₁H₂₃NO₅; ¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ=7.91(d,J=8.3Hz,1H), 7.43(d,J=16.1Hz,1H), 7.12(ddd,J=0.5,1.7,8.3Hz,1H), 7.11(br d,J=1.5Hz,1H),

6.91 (d, $J=16.1\text{Hz}$, 1H), 6.68 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 6.42 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 5.09 (tm, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 4.76 (s, 1H), 4.01 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.43 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 2H), 1.80 (d, $J=0.7\text{Hz}$, 3H), 1.68 (d, $J=1.2\text{Hz}$, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) $\delta=158.67, 154.55, 153.70, 144.15, 138.12, 136.81, 130.97, 130.89, 128.38, 126.57, 123.42, 121.71, 118.09, 111.20, 104.15, 99.44, 56.45, 55.76, 25.74, 24.46, 17.99$ 。

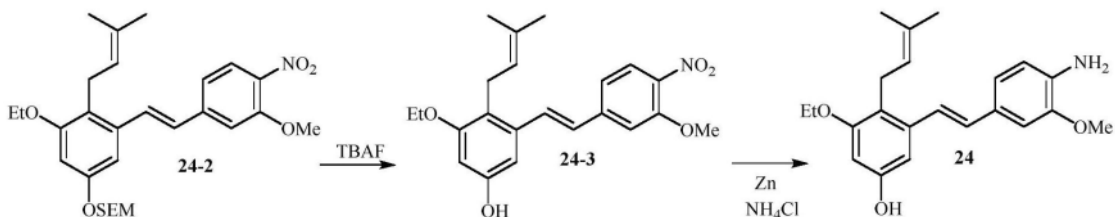
[1043] (E)-3-(4-氨基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚 (23) [KYN-125]:

[1044] 在室温将锌粉 (30.3g, 463mmol, 10.0当量)、氯化铵 (25g, 463mmol, 10.0当量) 和水 (70mL) 依次加入化合物22 (17.1g, 46.3mmol, 1.0当量) 在四氢呋喃 (700mL) 中的溶液中。将得到的悬浮液在室温搅拌4小时。将悬浮液过滤并将固体用乙酸乙酯 (1L) 洗涤。将滤液在减压下蒸发至干燥。将残余物分成五等份在InterChim自动化色谱法系统 (5x120g柱) 上纯化, 每次用0-40% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为灰白色固体的化合物23 (10.5g, 67% 收率)。(CH-LM-02-31)。熔点159.3-163.3℃; HPLC分析: 94.8% 纯度; 波长210nm, 带宽4; 柱: SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3 μm ; 保留时间: 7.80min; 流动相: ACN/甲酸/水; 质谱图 (正模式) $m/z=340.2 (\text{M}+\text{H})^+$; $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_3$; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) $\delta=7.10$ (d, $J=16.1\text{Hz}$, 1H), 6.95 (d, $J=1.7\text{Hz}$, 1H), 6.92 (dd, $J=1.9, 7.9\text{Hz}$, 1H), 6.81 (d, $J=15.9\text{Hz}$, 1H), 6.69 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 6.62 (d, $J=2.5\text{Hz}$, 1H), 6.34 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 5.12 (tm, $J=1.5, 6.9\text{Hz}$, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.41 (d, $J=6.6\text{Hz}$, 2H), 1.81 (d, $J=1.0\text{Hz}$, 3H), 1.67 (d, $J=0.9\text{Hz}$, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) $\delta=158.56, 154.40, 147.42, 138.48, 136.08, 130.88, 130.49, 128.67, 123.77, 122.88, 120.54, 120.50, 114.86, 108.07, 103.83, 97.97, 55.69, 55.45, 25.77, 24.48, 17.97$ 。

[1045] (E)-3-(4-氨基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-乙氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚 (24) [KYN-141]



[1046]



[1047] (E)-(2-((4-溴-3-乙氧基-5-(3-甲氧基-4-硝基苯乙烯基)苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷 (24-1):

[1048] 在0℃将氢化钠在矿物油中的60%分散体 (2.7g, 67.3mmol, 3.0当量) 分成3份加入化合物22-2 (6.8g, 22.4mmol, 1.0当量) 在无水四氢呋喃 (200mL) 中的溶液中。将混合物温热至室温并搅拌30分钟。逐滴加入化合物A9 (模块A) (8.4g, 22.4mmol, 1.0当量) 在无水四氢呋喃 (50mL) 中的溶液, 并将混合物在室温搅拌16小时。在0℃用水 (200mL, 对于前5mL水为1滴/分钟) 小心地淬灭反应, 并用甲基叔丁基醚 (1L) 和乙酸乙酯 (500mL) 萃取。将合并的有机层

经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(220g柱)上纯化,用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色固体的化合物24-1(9.04g,77%收率)。(LM-8-98)。

[1049] (E)-(2-((3-乙氧基-5-(3-甲氧基-4-硝基苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(24-2):

[1050] 在密闭试管中将四(三苯基膦)钯(0)(1g,0.86mmol,0.05当量)、碳酸钾(4.76g,34.47mmol,2.0当量)、3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯(6.76g,34.47mmol,2.0当量)和水(30mL)依次加入化合物24-1(9.04g,17.24mmol,1.0当量)在1,4-二氧杂环己烷(120mL)中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后,将反应物在100℃加热16小时。冷却至室温以后,将反应混合物用甲基叔丁基醚(200mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在InterChim自动化色谱法系统(2x200g堆叠的柱)上纯化,用0-7%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色油的化合物24-2(8.84g,99%收率)。(LM-8-99)。

[1051] (E)-3-乙氧基-5-(3-甲氧基-4-硝基苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(24-3):

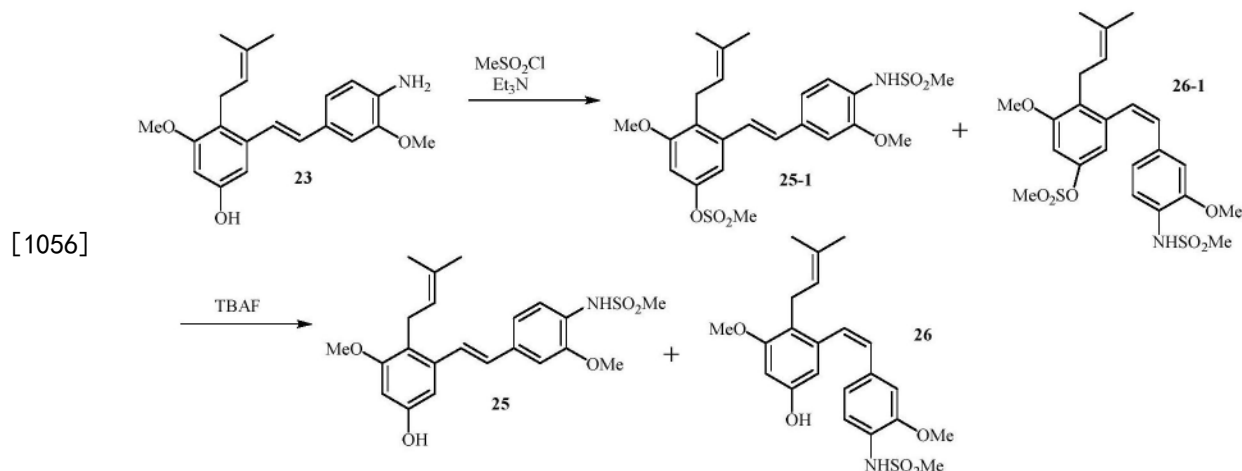
[1052] 在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(130mL,130mmol,7.0当量)加入化合物24-2(9.53g,18.55mmol,1.0当量)在四氢呋喃(200mL)中的溶液中。在68℃加热16小时以后,将混合物冷却至室温,并用水(50mL)稀释。在减压下除去挥发物。将残余物用饱和氯化铵(250mL)稀释,并用乙酸乙酯(2x400mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在InterChim自动化色谱法系统(330g柱)上纯化,用0-60%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色固体的化合物24-3(5.05g,71%收率)。(LM-8-100)。

[1053] (E)-3-(4-氨基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-乙氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(24):在室温将锌粉(8.61g,131.7mmol,10.0当量)、氯化铵(7.1g,131.7mmol,10.0当量)和水(20mL)依次加入化合物24-3(5.05g,13.17mmol,1.0当量)在四氢呋喃(200mL)中的溶液中。将得到的悬浮液在室温搅拌16小时。将悬浮液穿过硅藻土垫(50g)过滤,将其用乙酸乙酯(400mL)冲洗。将滤液在减压下蒸发至干燥。将残余物在InterChim自动化色谱法系统(2x120g堆叠的柱)上纯化两次,每次用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为灰白色固体的化合物24(4.56g,98%收率)。(LM-8-101)。灰白色固体,熔点187-196℃;HPLC分析:97.9%纯度;波长210nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ,2.1x50mm,3μm;保留时间:8.3min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式)m/z=354.2(M+H)⁺;C₂₂H₂₇NO₃; ¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ=7.11(br d,J=16.0Hz,1H),6.95(br s,1H),6.92(br d,J=7.7Hz,1H),6.80(br d,J=16.0Hz,1H),6.70(br d,J=7.9Hz,1H),6.59(br s,1H),6.31(br s,1H),5.14(br t,J=5.9Hz,1H),4.90(br s,1H),3.99(q,J=6.6Hz,2H),3.90(s,5H),3.42(br d,J=6.1Hz,2H),1.91-1.74(m,3H),1.74-1.61(m,3H),1.41(br t,J=6.8Hz,3H); ¹³C NMR(100MHz,CDCl₃) δ=157.88,154.28,147.40,138.44,136.10,130.80,130.30,128.66,123.84,122.96,120.67,120.51,114.83,108.10,103.74,98.82,63.90,55.46,25.79,24.55,18.03,14.93。

[1054] (E)-N-(4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)甲磺酰胺(25)[KYN-137]和(Z)-N-(4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯

乙烯基)-2-甲氧基苯基)甲磺酰胺(26) [KYN-129]

[1055] (E*Z*)-3-甲氧基-5-(3-甲氧基-4-(甲基磺酰氨基)苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯基甲磺酸酯(25和26):



[1057] 在室温将三乙胺(0.15mL, 1.08mmol, 3当量)和甲磺酰氯(0.1mL, 0.70mmol, 2当量)依次加入化合物23(120mg, 0.36mmol, 1.0当量)在无水THF(10mL)中的溶液中。回流(66℃)16小时以后,将反应混合物冷却至室温并在减压下除去挥发物。将残余物溶解在乙酸乙酯(20mL)中,并用饱和碳酸氢钠(20mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯(2x15mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(Sorbtech 24g柱)上纯化,用0-30%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为白色固体的化合物25-1和26-1(100mg, 66%收率)。(NRK-1-74)

[1058] 在室温将1M四丁基氟化铵在THF中的溶液(2mL, 1.63mmol, 7当量)加入化合物25-1和26-1(100mg, 0.234mmol, 1当量)在无水THF(10mL)中的溶液中。回流(66℃)16小时以后,LCMS分析指示反应完全。将混合物冷却至室温以后,并用饱和氯化铵(10mL)稀释。在减压下除去挥发物并将残余物用乙酸乙酯(20mL)稀释。分离各层并将水层用乙酸乙酯(2x15mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Redisep Rf Gold HP C18, 50g柱)上纯化,用0-40%乙腈在水中的梯度洗脱,以产生作为灰白色固体的化合物25[KYN-137](15.0mg)和作为浅棕色油的化合物26[KYN-129](19mg, 22%收率)。

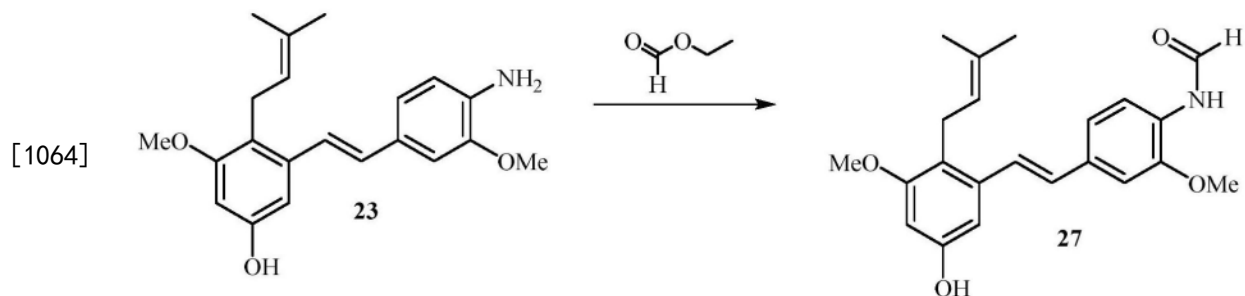
[1059] (E)-N-(4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)甲磺酰胺(25) [KYN-137]

[1060] 灰白色固体;熔点170.7-173.5℃;HPLC分析:92.4%纯度;波长210nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3μm;保留时间:8.4min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式) $m/z=418.1$ ($\text{M}+\text{H}^+$); $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_5\text{S}$; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) $\delta=7.50$ (d, $J=8.2\text{Hz}$, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.25-7.22 (m, 1H), 7.02 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 6.88 (d, $J=16.0\text{Hz}$, 1H), 6.68 (d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 6.39 (d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 5.11 (tseptets, $J=1.3, 6.8\text{Hz}$, 1H), 4.92 (br s, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.42 (br d, $J=6.7\text{Hz}$, 2H), 2.97 (s, 3H), 1.81 (s, 3H), 1.68 (d, $J=1.0\text{Hz}$, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) $\delta=158.60, 154.52, 149.51, 137.63, 135.35, 130.67, 129.64, 126.58, 125.48, 123.62, 120.99, 120.75, 120.06, 108.33, 104.01, 98.68, 55.77, 55.72, 39.14, 25.76, 24.47, 17.99$ 。

[1061] (Z)-N-(4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)甲磺酰胺(26) [KYN-129]

[1062] 浅棕色油;HPLC分析:97.8%纯度;波长254nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ, 2.1x50mm,3 μ m;保留时间:9.2min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式)m/z=418.1 (M+H)⁺; C₂₂H₂₇NO₅S; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ =7.31 (d, J=8.3Hz, 1H), 6.77 (dd, J=1.7, 8.4Hz, 1H), 6.66 (d, J=1.7Hz, 1H), 6.63 (d, J=12.3Hz, 1H), 6.50 (d, J=12.2Hz, 1H), 6.35 (d, J=2.5Hz, 1H), 6.19 (d, J=2.2Hz, 1H), 5.08 (tm, J=1.4, 6.9Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.50 (s, 3H), 3.27 (br d, J=7.1Hz, 2H), 2.90 (s, 3H), 1.68 (s, 3H), 1.58 (d, J=0.9Hz, 3H); ¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ =158.87, 154.74, 148.69, 138.86, 134.39, 130.97, 129.90, 129.71, 124.78, 122.90, 122.67, 120.75, 120.01, 111.24, 107.31, 98.13, 55.65, 55.32, 39.14, 25.75, 25.66, 17.87。

[1063] (E)-N-(4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)甲酰胺(27) [KYN-149]

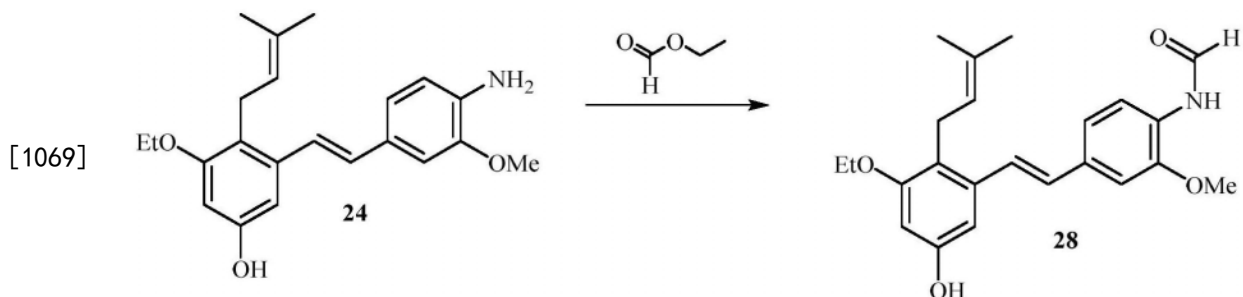


[1065] 将化合物23 [KYN-125] (120mg, 0.35mmol, 1.0当量) 加入甲酸乙酯(15mL) 中以得到混浊溶液, 将其在55℃加热20小时(加热后得到澄清溶液)。将反应混合物冷却至室温并在减压下蒸发至干燥。将残余物溶解在乙酸乙酯(20mL) 中, 并用饱和氯化铵(20mL) 洗涤。将水层用乙酸乙酯(2X20mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 24g柱) 上初步纯化, 用0-60%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。将产物与10%乙酸乙酯在庚烷类中的溶液(10mL) 一起研磨以提供作为灰白色固体的化合物27 (50mg, 38%收率)。 (NRK-1-159)。

[1066] (E)-N-(4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)甲酰胺(27) [KYN-149]

[1067] 白色固体, 熔点181.2-181.7℃;HPLC分析:99.6%纯度;波长210nm, 带宽4;柱:SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3 μ m;保留时间:8.4min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(负模式)m/z=733.3 (2M-H)⁻; C₂₂H₂₅NO₄; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ =9.69 (s, 1H), 9.24 (s, 1H), 8.30 (d, J=1.8Hz, 1H), 8.16 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.31-7.22m, 2H, 7.09 (d, J=8.6Hz, 1H), 6.90 (d, J=16.1Hz, 1H), 6.64 (d, J=2.1Hz, 1H), 6.35 (d, J=2.2Hz, 1H), 5.00 (septt, J=1.4, 6.8Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.36 (br d, J=6.7Hz, 2H), 1.76 (s, 3H), 1.60 (s, 3H); ¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ =160.45, 158.45, 156.69, 149.10, 137.43, 133.78, 129.85, 127.03, 125.99, 124.50, 120.63, 119.75, 118.74, 109.00, 104.13, 99.16, 56.25, 55.91, 25.96, 24.28, 18.21。

[1068] (E)-N-(4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)甲酰胺(28) [KYN-143]

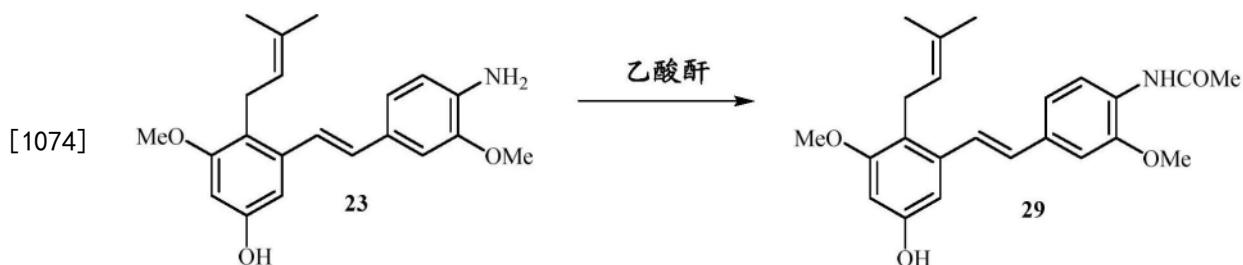


[1070] (E)-N-(4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙基)-2-甲氧基苯基)甲酰胺(28) [KYN-143]:

[1071] 将化合物24(100mg, 0.29mmol, 1.0当量)加入甲酸乙酯(10mL)中以得到混浊溶液, 将其在55℃加热20小时(加热后得到澄清溶液)。将反应混合物冷却至室温并在减压下蒸发至干燥。将残余物溶解在乙酸乙酯(20mL)中, 并用饱和氯化铵(20mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯(2X20mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 12g柱)上初步纯化, 用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。将产物与10%乙酸乙酯在庚烷类中的溶液(10mL)一起研磨以提供作为灰白色固体的化合物28[KYN-143](45mg, 64%收率)。(NRK-1-145)。

[1072] 灰白色固体, 熔点173-176℃; HPLC分析: 98.9%纯度; 波长210nm, 带宽4; 柱: SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3μm; 保留时间: 9.0min; 流动相: ACN/甲酸/水; 质谱图(负模式) $m/z = 761.3$ (M-H)⁻; C₂₃H₂₇NO₄; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ = 9.69 (s, 1H), 9.20 (s, 1H), 8.30 (d, J = 1.7Hz, 1H), 8.16 (d, J = 8.3Hz, 1H), 7.29 (d, J = 16.1Hz, 1H), 7.25 (d, J = 1.1Hz, 1H), 7.10 (br d, J = 8.3Hz, 1H), 6.90 (d, J = 16.0Hz, 1H), 6.62 (d, J = 2.1Hz, 1H), 6.32 (d, J = 2.0Hz, 1H), 5.01 (br t, J = 7.0Hz, 1H), 3.95 (q, J = 7.0Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.37 (br d, J = 6.7Hz, 2H), 1.76 (s, 3H), 1.60 (s, 3H), 1.33 (t, J = 6.9Hz, 3H); ¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ = 160.44, 157.71, 156.59, 149.09, 137.40, 133.79, 129.74 (2C), 127.01, 126.04, 124.52, 120.62, 119.72, 118.90, 109.03, 104.1, 99.96, 63.74, 56.27, 25.99, 24.34, 18.25, 15.25。

[1073] (E)-N-(4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙基)-2-甲氧基苯基)乙酰胺(29) [KYN-128]:

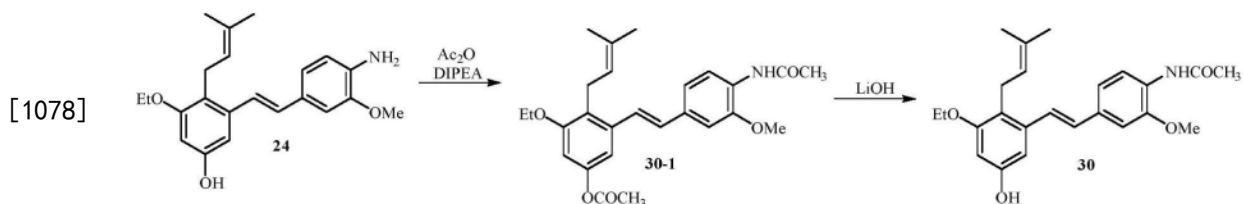


[1075] 在室温将N,N-二异丙基乙胺(0.1mL, 0.38mmol, 2当量)和乙酸酐(0.1mL, 0.38mmol, 2当量)依次加入化合物23[KYN-125](65mg, 0.19mmol, 1.0当量)在无水THF(10mL)中的溶液中。回流(66℃)16小时以后, 将反应混合物冷却至室温并在减压下除去挥发物。将残余物溶解在乙酸乙酯(20mL)中, 并用饱和碳酸氢钠(20mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯(2X10mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(RediSep Rf Gold HP C18, 50g柱)上纯化, 用0-80%乙腈在水中的梯度洗脱, 以产生相对纯的化合物29, 将其通过与30%的二氯甲烷在庚烷类中的溶

液(10mL)一起研磨进一步纯化,以产生作为白色固体的纯化合物29[KYN-128](17mg,23%收率)。(NRK-1-66)

[1076] 灰白色固体,熔点205.7-205.9℃;HPLC分析:97.4%纯度;波长210nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ,2.1x50mm,3μm;保留时间:8.4min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式) $m/z=382.2 (M+H)^+$; $C_{23}H_{27}NO_4$; ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) $\delta=8.40$ (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.23 (d, $J=16.1$ Hz, 1H), 7.04 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.03 (dd, $J=1.7, 6.0$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J=16.1$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J=2.3$ Hz, 1H), 6.39 (d, $J=2.3$ Hz, 1H), 6.24 (s, 1H), 5.12 (tm, $J=1.4, 6.8$ Hz, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.42 (d, $J=6.7$ Hz, 2H), 2.24 (s, 3H), 1.81 (d, $J=0.6$ Hz, 3H), 1.67 (d, $J=1.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) $\delta=168.65, 158.58, 155.07, 147.91, 137.68, 133.65, 130.42, 129.84, 127.11, 125.77, 123.86, 120.71, 120.44, 119.67, 106.87, 103.98, 98.62, 55.68, 55.65, 25.75, 24.88, 24.45, 17.98$ 。

[1077] (E)-N-(4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)乙酰胺(30)[KYN-142]



[1079] (E)-乙酸3-(4-乙酰氨基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-乙氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酯(30-1):

[1080] 在室温将N,N-二异丙基乙胺(0.25mL,1.36mmol,4当量)和乙酸酐(0.1mL,0.75mmol,2.2当量)依次加入化合物24(120mg,0.34mmol,1.0当量)在无水THF(20mL)中的溶液中。回流(66℃)16小时以后,将反应混合物冷却至室温并在减压下除去挥发物。将残余物溶解在乙酸乙酯(20mL)中,并用饱和碳酸氢钠(20mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯(2X10mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩,以产生作为淡黄色固体的化合物30-1(136mg,92%收率),将其随后使用。(NRK-1-133)

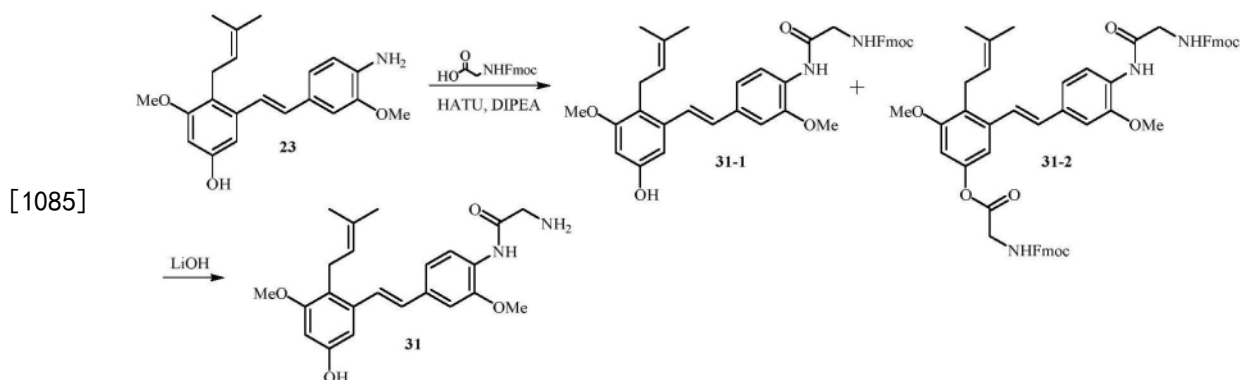
[1081] (E)-N-(4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)乙酰胺(30)[KYN-142]:

[1082] 在室温将1M氢氧化锂(1.6mL,1.55mmol,5.0当量)加入化合物30-1(136mg,0.31mmol,1.0当量)在四氢呋喃(10mL)中的溶液中。将得到的溶液在室温搅拌4小时。在减压下除去挥发物。将残余物溶解在乙酸乙酯(20mL)中,并用饱和氯化铵(10mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯(2X10mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 12g柱)上纯化,用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。将产物与乙醚(5mL)一起研磨,以产生作为白色固体的纯化合物30[KYN-142](20mg,17%收率)。(NRK-1-135)

[1083] 灰白色固体,熔点188-189℃;HPLC分析:99.3%纯度;波长210nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ,2.1x50mm,3μm;保留时间:9.0min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式) $m/z=396.2 (M+H)^+$; $C_{24}H_{29}NO_4$; ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) $\delta=8.41$ (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.26-7.22 (m, 1H), 7.06-7.00 (m, 2H), 6.88 (d, $J=16.0$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J=2.1$ Hz, 1H),

6.42-6.31 (m, 2H), 5.14 (七重峰, $J=1.2, 6.8\text{Hz}$, 1H), 4.00 (q, $J=6.9\text{Hz}$, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.44 (br d, $J=6.7\text{Hz}$, 2H), 2.24 (s, 3H), 1.82 (s, 3H), 1.68 (s, 3H), 1.42 (t, $J=7.0\text{Hz}$, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) $\delta=168.71, 157.91, 155.05, 147.92, 137.60, 133.73, 130.22, 129.71, 127.06, 125.90, 123.96, 120.78, 120.55, 119.67, 106.82, 103.91, 99.52, 63.88, 55.68, 25.79, 24.88, 24.53, 18.04, 14.93$ 。

[1084] (E)-2-氨基-N-(4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)乙酰胺(31) [KYN-151]



[1086] (E)-2-((4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯:

[1087] 将Fmoc甘氨酸(520mg, 1.76mmol, 3.0当量)、N,N-二异丙基乙胺(0.5mL, 2.95mmol, 5.0当量)和1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐(HATU)(900mg, 2.36mmol, 4.0当量)依次加入(E)-3-(4-氨基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(化合物23) [KYN-125] (200mg, 0.59mmol, 1.0当量)在二氯甲烷(10mL)中的溶液中。将得到的溶液在室温搅拌16小时。LC-MS分析指示化合物11和化合物12的形成。将反应混合物用二氯甲烷(20mL)稀释,并用饱和碳酸氢钠(30mL)洗涤。将水层用二氯甲烷(2x20mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 24g柱)上纯化,用0-60%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为灰白色固体的化合物31-1和化合物31-2的混合物(330mg) (NRK-1-161)。

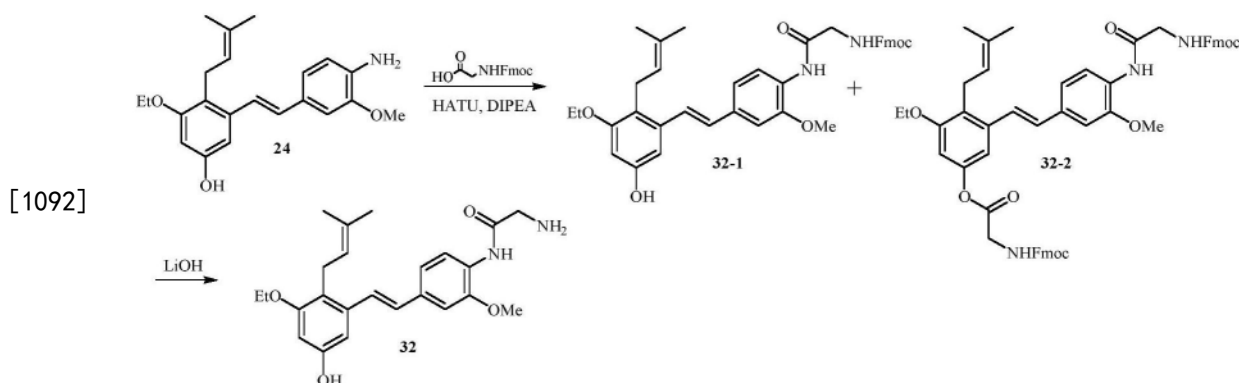
[1088] (E)-2-氨基-N-(4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)乙酰胺(31):在室温将1M氢氧化锂(5mL)加入化合物31-1和化合物31-2(330mg)在四氢呋喃中的溶液中。搅拌16小时以后,在减压下除去挥发物。将残余物溶解在乙酸乙酯(30mL)中,并用饱和氯化铵(30mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯(2x20mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 24g柱)上纯化,用0-5%甲醇在二氯甲烷中的溶液(含有1%的7M氨在甲醇中的溶液)梯度洗脱,以产生作为灰白色固体的化合物31(25.0mg, 经2步23%收率) (NRK-1-164)。

[1089] (E)-2-氨基-N-(4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)乙酰胺(31) [KYN-151]

[1090] 灰白色固体,熔点196.0-201.9°C;HPLC分析:98.7%纯度;波长210nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3 μm ;保留时间:5.78min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式) $m/z=397.2 (\text{M}+\text{H})^+$; $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) $\delta=10.10$ (br s, 1H), 9.24 (s,

1H), 8.29 (d, J=8.3Hz, 1H), 7.30-7.23 (m, 2H), 7.10 (dd, J=1.7, 8.4Hz, 1H), 6.90 (d, J=16.0Hz, 1H), 6.63 (d, J=2.2Hz, 1H), 6.35 (d, J=2.2Hz, 1H), 5.00 (septt, J=1.2, 7.0Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.38-3.33 (m, 2H), 3.28-3.24 (m, 2H), 2.33 (br s, 2H), 1.76 (s, 3H), 1.60 (s, 3H); ¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ=171.88, 158.45, 156.68, 148.71, 137.47, 133.12, 129.92, 129.83, 127.42, 125.67, 124.51, 119.96, 118.87, 118.69, 108.71, 104.09, 99.11, 56.30, 55.91, 45.67, 25.95, 24.28, 18.20。

[1091] (E)-2-氨基-N-(4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)乙酰胺 (32) [KYN-148]



[1093] (E)-2-((4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯 (12) :

[1094] 将Fmoc甘氨酸(500mg, 1.71mmol, 3.0当量)、N,N-二异丙基乙胺(0.5mL, 2.85mmol, 5.0当量)和1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐(HATU)(860mg, 2.28mmol, 4.0当量)依次加入化合物24(200mg, 0.57mmol, 1.0当量)在二氯甲烷(10mL)中的溶液中。将得到的溶液在室温搅拌16小时。LC-MS分析指示化合物32-1和化合物32-2的形成。将反应混合物用二氯甲烷(20mL)稀释,并用饱和碳酸氢钠(30mL)洗涤。将水层用二氯甲烷(2x20mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 24g柱)上纯化,用0-60%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为灰白色固体的化合物32-1和化合物32-2的混合物(550mg) (NRK-1-158)。

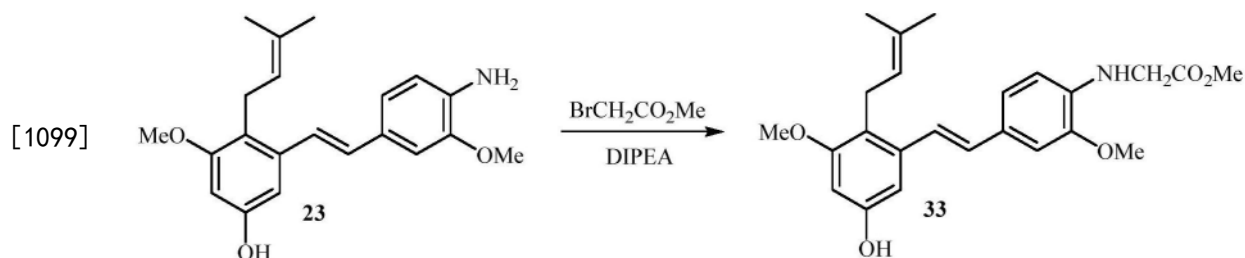
[1095] (E)-2-氨基-N-(4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)乙酰胺 (32) [KYN-148]:

[1096] 在室温将1M氢氧化锂溶液(5mL)加入化合物32-1和化合物32-2(550mg)在四氢呋喃(20mL)中的溶液中。搅拌16小时以后,在减压下除去挥发物。将粗制物溶解在乙酸乙酯(30mL)中,并用饱和氯化铵(30mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯(2x20mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物首先与30%乙酸乙酯在庚烷类中的溶液(30mL)一起研磨以提供米色固体,将其在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 24g柱)上进一步纯化,用0-5%甲醇在二氯甲烷中的溶液(含有1%的7M氨在甲醇中的溶液)的梯度洗脱,以产生作为灰白色固体的化合物32[KYN-148](30.0mg, 经2步13%收率) (NRK-1-162)。

[1097] 灰白色固体,熔点200.0-203.7℃;HPLC分析:99.5%纯度;波长210nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3μm;保留时间:8.25min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模

式) $m/z = 411.2 (M+H)^+$; $C_{24}H_{30}N_2O_4$; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) $\delta = 10.08$ (br s, 1H), 9.20 (s, 1H), 8.29 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.32-7.23 (m, 2H), 7.11 (dd, $J = 1.5, 8.4$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 6.32 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 5.01 (br t, $J = 7.0$ Hz, 1H), 3.95 (q, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.40-3.34 (m, 2H), 3.29-3.24 (m, 2H), 2.33 (br s, 2H), 1.77 (s, 3H), 1.61 (s, 3H), 1.33 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) $\delta = 171.88, 157.72, 156.59, 148.71, 137.46, 133.14, 129.87, 129.73, 127.41, 125.74, 124.54, 119.93, 118.86, 108.74, 104.08, 99.92, 63.74, 56.32, 45.67, 25.99, 24.35, 18.25, 15.25$ 。

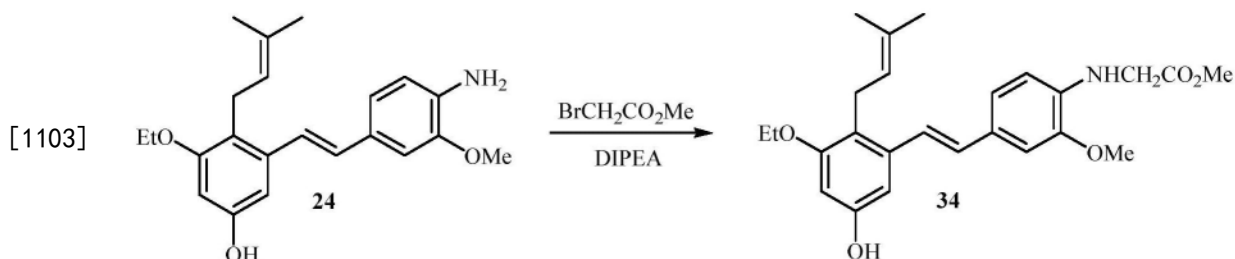
[1098] (E) - (4 - (5 - 羟基 - 3 - 甲氧基 - 2 - (3 - 甲基丁 - 2 - 烯 - 1 - 基) 苯乙烯基) - 2 - 甲氧基苯基) 甘氨酸甲酯 (33) [KYN-126]:



[1100] 在室温将N,N-二异丙基乙胺(0.5mL, 2.92mmol, 4当量)和溴乙酸甲酯(0.2mL, 2.21mmol, 3当量)依次加入化合物23[KYN-125]在无水THF(10mL)中的溶液中。回流(66℃)16小时以后,将反应物冷却至室温并在减压下除去挥发物。将残余物溶解在乙酸乙酯(30mL)中,并用饱和碳酸氢钠(20mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯(2X30mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(RediSep Rf Gold HP C18, 50g柱)上纯化,用0-70%乙腈在水中的梯度洗脱,以产生作为灰白色固体的化合物33[KYN-126](180mg, 59%收率)。(NRK-1-65-1)。

[1101] 灰白色固体,熔点147.3-160.2℃;HPLC分析:98.1%纯度;波长210nm,带宽4;柱:Luna C18(2), 2.0x20mm, 3μm;保留时间:3.84min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式) $m/z = 412.2 (M+H)^+$; $C_{24}H_{29}NO_5$; ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) $\delta = 7.10$ (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.97 (dd, $J = 1.6, 6.7$ Hz, 1H), 6.96 (br s, 1H), 6.84 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.45 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.34 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 5.13 (tm, $J = 1.5, 6.9$ Hz, 1H), 4.92 (br t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 4.75 (br s, 1H), 3.98 (d, $J = 5.1$ Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.41 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H), 1.82 (d, $J = 0.7$ Hz, 3H), 1.68 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) $\delta = 171.44, 158.55, 154.37, 147.19, 138.52, 137.00, 130.88, 130.47, 127.54, 123.79, 122.63, 120.85, 120.50, 109.64, 107.10, 103.78, 97.92, 55.69, 55.47, 52.26, 45.43, 25.76, 24.47, 17.98$ 。

[1102] (E) - (4 - (3 - 乙氧基 - 5 - 羟基 - 2 - (3 - 甲基丁 - 2 - 烯 - 1 - 基) 苯乙烯基) - 2 - 甲氧基苯基) 甘氨酸甲酯 (34) [KYN-147]

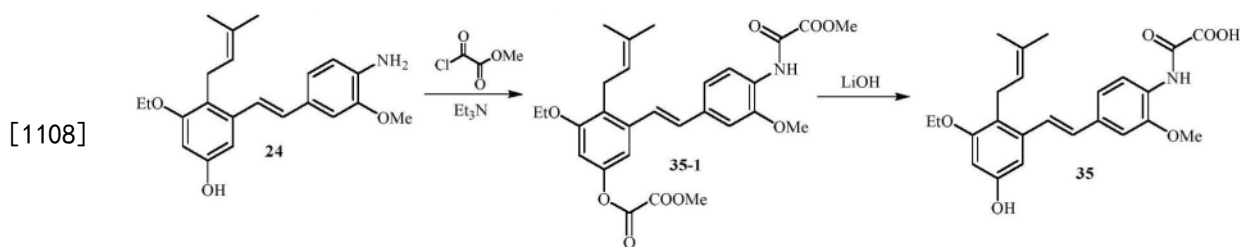


[1104] (E)-4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)甘氨酸甲酯(34) [KYN-147]:

[1105] 在室温将N,N-二异丙基乙胺(0.4mL,2.24mmol,4当量)和溴乙酸甲酯(0.21mL,1.68mmol,3当量)依次加入化合物24(200mg,0.56mmol,1.0当量)在无水THF(20mL)中的溶液中。回流(66℃)16小时以后,将反应混合物冷却至室温并在减压下除去挥发物。将残余物溶解在乙酸乙酯(30mL)中并转移至含有饱和碳酸氢钠溶液(20mL)的分液漏斗。分离各层并将水层用乙酸乙酯(2X30mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Redisep Rf Gold HP C18,50g柱)上初步纯化,用0-60%乙腈在水中的梯度洗脱。将产物与10%乙酸乙酯在庚烷类中的溶液(10mL)一起研磨,以产生作为灰白色固体的化合物34[KYN-147](40mg,17%收率)。(NRK-1-151)

[1106] 灰白色固体,熔点144-169℃;HPLC分析:97.3%纯度;波长254nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ,2.1x50mm,3μm;保留时间:10.06min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式)m/z=426.2(M+H)⁺;C₂₅H₃₁NO₅; ¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ=7.11(d,J=16.0Hz,1H),6.99-6.94(m,2H),6.84(br d,J=16.0Hz,1H),6.63(d,J=2.3Hz,1H),6.45(d,J=8.6Hz,1H),6.31(d,J=2.4Hz,1H),5.14(七重峰,J=1.3,7.0Hz,1H),4.92(br s,1H),4.73(br s,1H),3.99(q,J=7.0Hz,2H),3.97(s,2H),3.91(s,3H),3.79(s,3H),3.43(br d,J=6.8Hz,2H),1.82(s,3H),1.68(d,J=0.9Hz,3H),1.41(t,J=7.0Hz,3H); ¹³C NMR(100MHz,CDCl₃) δ=171.44,157.88,154.27,147.20,138.45,136.96,130.77,130.28,127.59,123.86,122.74,120.82,120.65,109.66,107.14,103.69,98.79,63.91,55.48,52.25,45.44,25.79,24.54,18.04,14.92。

[1107] (E)-2-((4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)氨基)-2-氧代乙酸(35) [KYN-152]



[1109] (E)-草酸3-乙氧基-5-(3-甲氧基-4-(2-甲氧基-2-氧代乙酰氨基)苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯基甲基酯(35-1):

[1110] 在5℃将氯代氧代乙酸甲酯(0.1mL,0.85mmol,2.5当量)加入三乙胺(0.25mL,1.7mmol,5.0当量)和化合物24[KYN-141](120mg,0.34mmol,1.0当量)在四氢呋喃(20mL)中的溶液中。将反应混合物温热至室温并搅拌16小时。将反应混合物过滤并将滤液在减压下浓缩。将残余物溶解在乙酸乙酯(20mL)中,并用饱和氯化铵(20mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯

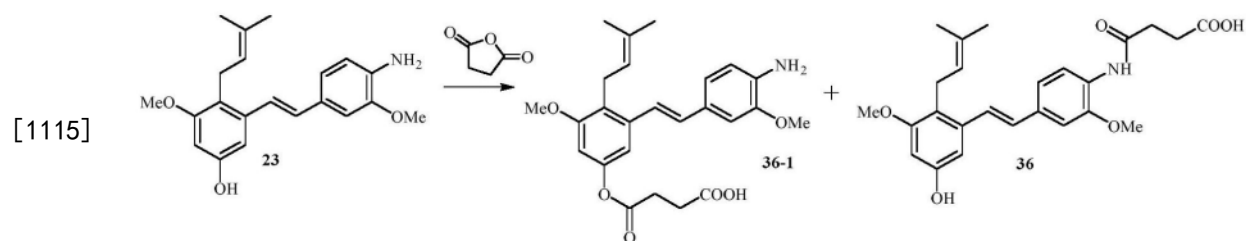
(2X20mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在 Reveleris 自动化色谱法系统 (Sorbtech 24g 柱) 上纯化, 用 0-60% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为米色固体的化合物 35-1 (130.0mg, 73%) (NRK-1-168)。

[1111] (E)-2-((4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙炔基)-2-甲氧基苯基)氨基)-2-氧代乙酸 (35) [KYN-152]:

[1112] 在室温将 1M 氢氧化锂 (0.75mL, 0.75mmol, 3.0 当量) 加入化合物 35-1 (130mg, 0.25mmol, 1.0 当量) 在四氢呋喃 (20mL) 中的溶液中。搅拌 16 小时以后, 在减压下除去挥发物。将残余物溶解在乙酸乙酯 (30mL) 中, 并用 1M HCl (10mL) 洗涤。将水层用乙酸乙酯 (2X30mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物与 10% 乙酸乙酯在庚烷类中的溶液 (20mL) 一起研磨, 以产生作为灰白色固体的化合物 35 [KYN-152] (42.0mg, 38% 收率) (NRK-1-170)。

[1113] 灰白色固体, 熔点 207.8-207.9°C; HPLC 分析: 99.1% 纯度; 波长 210nm, 带宽 4; 柱: SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3μm; 保留时间: 8.24min; 流动相: ACN/甲酸/水; 质谱图 (负模式) $m/z = 424.1$ (M-H)⁻; C₂₄H₂₇NO₆; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ = 9.63 (s, 1H), 9.21 (br s, 1H), 8.10 (d, J = 8.3Hz, 1H), 7.38-7.29 (m, 2H), 7.18 (br d, J = 8.4Hz, 1H), 6.93 (d, J = 16.1Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.0Hz, 1H), 6.33 (d, J = 2.1Hz, 1H), 5.01 (br t, J = 7.0Hz, 1H), 4.06-3.91 (m, 5H), 3.38 (br d, J = 6.8Hz, 2H), 1.76 (s, 3H), 1.60 (s, 3H), 1.33 (t, J = 6.9Hz, 3H); ¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ = 162.25, 157.73, 156.61, 156.08, 149.59, 137.30, 135.11, 129.78, 129.62, 126.77, 125.77, 124.51, 120.32, 119.82, 119.04, 109.14, 104.17, 100.10, 63.75, 56.53, 25.99, 24.35, 18.26, 15.25。

[1114] (E)-4-((4-(5-羟基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙炔基)-2-甲氧基苯基)氨基)-4-氧代丁酸 (化合物 36) [KYN-150]

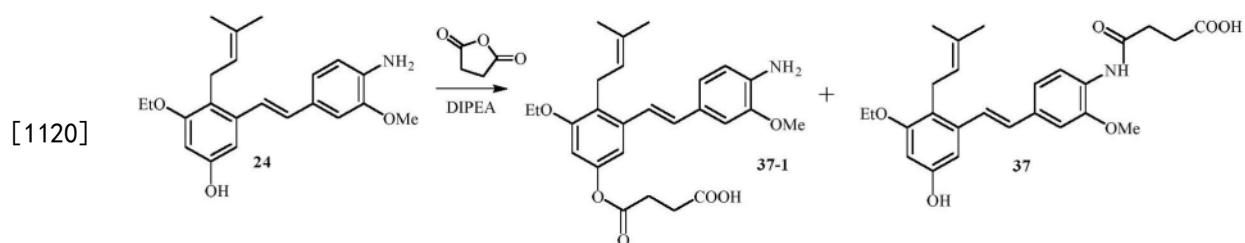


[1116] 将琥珀酸酐 (140mg, 1.4mmol, 4.0 当量) 和 N,N-二异丙基乙胺 (0.36mL, 2.1mmol, 6.0 当量) 依次加入 (E)-3-(4-氨基-3-甲氧基苯乙炔基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚 (化合物 23) [KYN-125] (120mg, 0.35mmol, 1.0 当量) 在甲苯 (20mL) 中的溶液中。将得到的混浊溶液回流 (110°C) 16 小时 (加热后得到澄清溶液)。将反应混合物冷却至室温, 并用乙酸乙酯 (20mL) 稀释。将有机层用饱和氯化铵 (20mL) 洗涤。将水层用乙酸乙酯 (2X20mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以产生作为浅棕色油的化合物 36-1 和化合物 36 的混合物 (210mg)。将残余物溶解在四氢呋喃 (10mL) 中并用 1M 氢氧化锂 (1.0mL) 在室温处理 16 小时。将反应混合物蒸发至干燥, 并将得到的残余物溶解在乙酸乙酯 (20mL) 中。将有机层用饱和氯化铵 (20mL) 洗涤。将有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物与 10% 乙酸乙酯在庚烷类中的溶液 (10mL) 一起研磨。将产物悬浮于乙醚 (10mL) 中并在室温搅拌 16 小时。将悬浮液过滤以提供作为浅灰色固体的化合物 36 (60mg, 经 2 步 40% 收率)。(NRK-1-163)。

[1117] (E)-N-((4-(3-甲氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)氨基)-4-氧代丁酸(化合物36) [KYN-150]

[1118] 浅灰色固体,熔点169.4-175.7℃;HPLC分析:97.8%纯度;波长210nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ,2.1x50mm,3μm;保留时间:7.98min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(负模式)m/z=438.2 (M-H)⁻;C₂₅H₂₉NO₆; ¹H NMR(400MHz,乙腈-d₃) δ=8.25(br s,1H),8.21(br d,J=8.3Hz,1H),7.28(d,J=16.1Hz,1H),7.17(d,J=1.7Hz,1H),7.07(dd,J=1.8,8.4Hz,1H),6.94(d,J=16.1Hz,1H),6.68(d,J=2.3Hz,1H),6.39(d,J=2.3Hz,1H),5.05(septt,J=1.4,6.8Hz,1H),3.92(s,3H),3.77(s,3H),3.41(br d,J=6.8Hz,2H),2.70-2.65(m,2H),2.64-2.60(m,2H),1.80(d,J=0.7Hz,3H),1.64(d,J=1.1Hz,3H); ¹³C NMR(100MHz,乙腈-d₃) δ=174.42,171.50,159.61,156.96,138.79,131.50,130.93,128.74,126.52,124.90,120.85,120.77,120.69,109.17,104.80,99.68,56.67,56.39,32.51,29.64,25.88,24.99,18.23。

[1119] (E)-4-((4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)氨基)-4-氧代丁酸(37) [KYN-144]



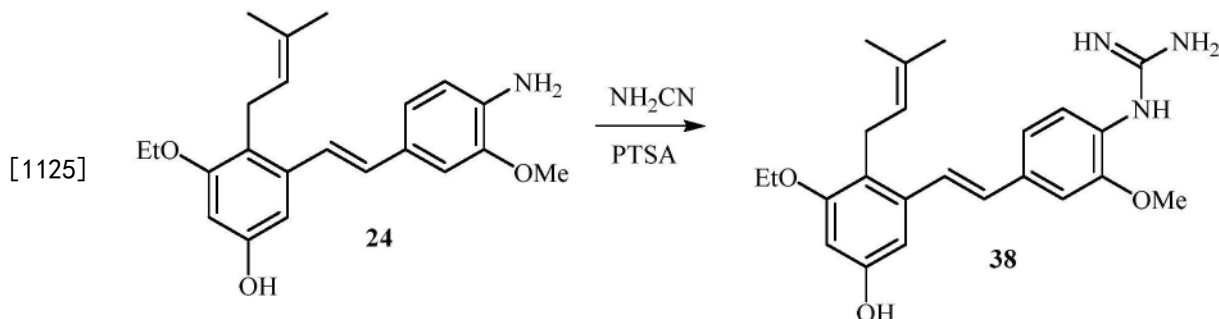
[1121] (E)-4-((4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)氨基)-4-氧代丁酸(化合物37) [KYN-144]:

[1122] 将琥珀酸酐(58mg,0.58mmol,2.0当量)和N,N-二异丙基乙胺(0.15mL,0.87mmol,3.0当量)依次加入化合物24(100mg,0.29mmol,1.0当量)在甲苯(20mL)中的溶液中。将得到的混浊溶液回流(110℃)16小时(加热后得到澄清溶液)。将反应混合物冷却至室温,并用乙酸乙酯(20mL)稀释。将有机层用饱和氯化铵(20mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯(2X20mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩,以产生作为浅棕色固体的化合物37-1和化合物37的混合物(165mg)。将残余物溶解在四氢呋喃(10mL)中并用1M氢氧化锂溶液(1.0mL)在室温处理16小时。将反应混合物蒸发至干燥,并将得到的残余物溶解在乙酸乙酯(20mL)中。将有机层用饱和氯化铵(20mL)洗涤。将有机层收集,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物与10%乙酸乙酯在庚烷类中的溶液(10mL)一起研磨。将产物悬浮于乙醚(10mL)中并在室温搅拌16小时。将悬浮液过滤以提供作为浅灰色固体的化合物37 [KYN-144] (40mg,经2步31%收率)。(NRK-1-148)

[1123] 浅灰色固体,熔点173-180℃;HPLC分析:96.4%纯度;波长254nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ,2.1x50mm,3μm;保留时间:8.52min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(负模式)m/z=452.2 (M-H)⁻;C₂₆H₃₁NO₆; ¹H NMR(400MHz,乙腈-d₃) δ=8.25(br s,1H),8.21(br d,J=8.3Hz,1H),7.29(d,J=16.1Hz,1H),7.17(d,J=1.7Hz,1H),7.07(dd,J=1.7,8.3Hz,1H),6.94(d,J=16.1Hz,1H),6.67(d,J=2.3Hz,1H),6.36(d,J=2.3Hz,1H),5.07(七重峰,J=1.5,7.0Hz,1H),3.99(q,J=7.0Hz,2H),3.92(s,3H),3.43(br d,J=7.0Hz,2H),2.70-2.65(m,2H),2.64-2.60(m,2H),1.80(s,3H),1.64(d,J=1.0Hz,3H),1.37(t,J=7.0Hz,

3H); ^{13}C NMR (100MHz, 乙腈- d_3) $\delta=174.41, 171.48, 158.91, 156.86, 149.80, 138.77, 134.49, 131.38, 130.85, 128.72, 126.61, 124.95, 120.95, 120.84, 120.68, 109.18, 104.74, 100.55, 64.93, 55.67, 32.52, 29.64, 25.90, 25.07, 18.32, 15.30$ 。

[1124] (E)-1-(4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)胍 (38) [KYN-155]



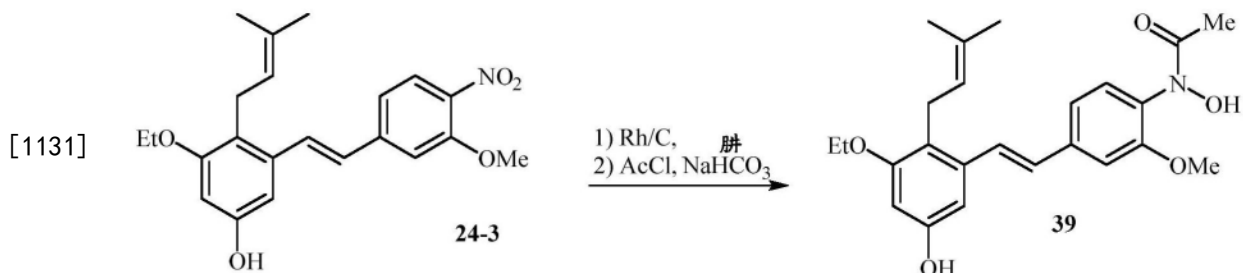
[1126] (E)-1-(4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)胍 (38) [KYN-155]:

[1127] 将氰胺 (237mg, 5.66mmol, 20.0当量) 和对甲苯磺酸 (1.07g, 5.66mmol, 20.0当量) 加入化合物24 (100mg, 0.28mmol, 1.0当量) 在乙醇 (50mL) 中的溶液中。

[1128] 回流 (79°C) 16小时以后, 将另外的氰胺 (237mg, 5.66mmol, 20.0当量) 和对甲苯磺酸 (1.07g, 5.66mmol, 20.0当量) 加入反应混合物, 将其回流另外16小时。将反应混合物冷却至室温并在减压下除去挥发物。将残余物溶解在乙酸乙酯 (50mL) 中, 并用饱和碳酸氢钠 (50mL) 洗涤。将水层用乙酸乙酯 (2X30mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将另外的化合物24 (100mg) 以类似的方式转化成化合物38。将合并的残余物首先在Reveleris自动化色谱法系统 (Sorbtech 24g柱) 上纯化, 用0-15% 甲醇在二氯甲烷中的溶液 (含有5%的7M氨在甲醇中的溶液) 梯度洗脱以提供相对纯的38。将产物在Reveleris自动化色谱法系统 (Redisep Rf Gold HP C18, 50g柱) 上进一步纯化, 用0-45% 乙腈在水中的溶液 (含有10mM碳酸氢铵和5% 甲醇) 梯度洗脱以提供作为白色固体的化合物38 [KYN-155] (37.0mg, 16% 收率) (NRK-1-177)。

[1129] 白色固体, 熔点130.5-130.6°C; HPLC分析: 99.7% 纯度; 波长210nm, 带宽4; 柱: SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3 μm ; 保留时间: 6.45min; 流动相: ACN/甲酸/水; 质谱图 (正模式) $m/z=396.2$ ($\text{M}+\text{H}^+$); $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_3$; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-\text{d}_6$) $\delta=7.20$ (d, $J=16.0\text{Hz}$, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.01 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 6.96-6.80 (m, 2H), 6.62 (d, $J=2.2\text{Hz}$, 1H), 6.30 (d, $J=2.2\text{Hz}$, 1H), 5.06-4.98 (m, 1H), 3.94 (q, $J=6.9\text{Hz}$, 2H), 3.82-3.72 (m, 3H), 3.35 (br d, $J=6.8\text{Hz}$, 2H), 1.77 (s, 3H), 1.61 (s, 3H), 1.33 (t, $J=6.9\text{Hz}$, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $\text{DMSO}-\text{d}_6$) $\delta=157.70, 156.60, 153.04, 137.68, 130.36, 129.71, 124.83, 124.59, 124.37, 120.26, 118.60, 110.05, 103.97, 99.72, 63.74, 55.76, 25.99, 24.34, 18.27, 15.27$ 。

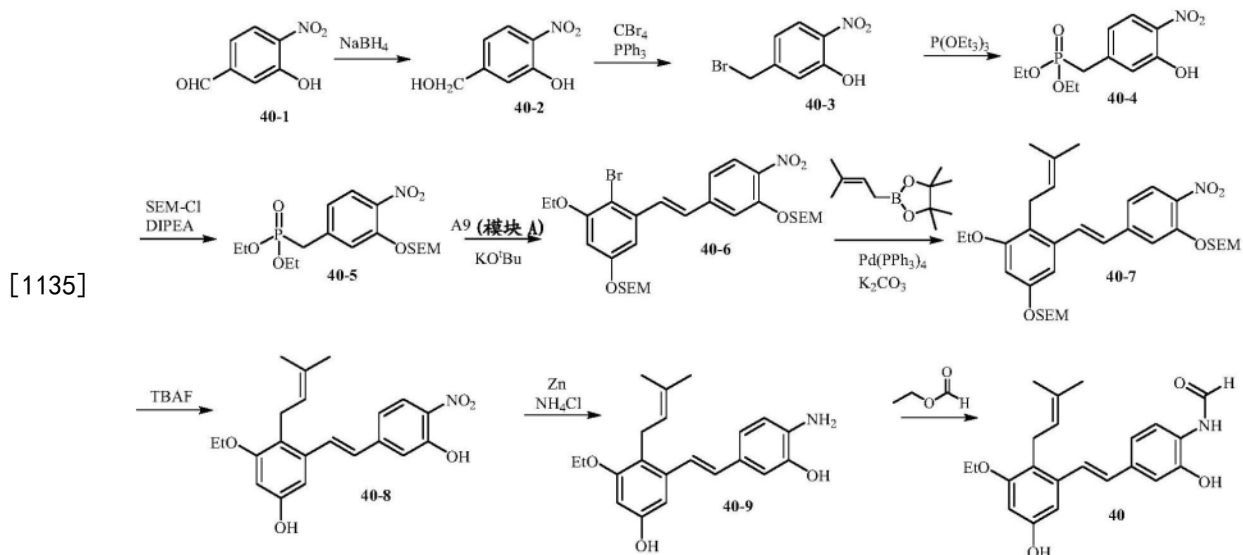
[1130] (E)-N-(4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯基)-N-羟基乙酰胺 (化合物39) [KYN-165]



[1132] 在0℃将在活性炭上的5%铑(5mg, 0.672μmol, 0.003当量)和肼一水合物(27mg, 0.27mmol, 1.2当量)加入化合物24-3(86mg, 0.224mmol, 1.0当量)在四氢呋喃(8mL)中的溶液中。在0℃搅拌1小时以后,将碳酸氢钠(75mg, 0.896mmol, 4当量)和乙酰氯(53mg, 0.672mmol, 3当量)依次加入反应物中。将混合物温热至室温并搅拌1小时。将悬浮液用乙酸乙酯(30mL)稀释,并用饱和氯化铵(10mL)洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(25g柱)上纯化,用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为灰白色油的化合物39(44mg, 44%收率)。(LM-8-65)

[1133] HPLC分析:97.2%纯度;波长254nm,带宽4;柱:Waters Atlantis T3, 2.1x50mm, 3μm;保留时间:8.3min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式) $m/z=412.2$ (M+H)⁺; C₂₄H₂₉NO₅; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ=9.69-7.44 (m, 1H), 7.40-7.28 (m, 2H), 7.08 (br d, J=6.6Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.87 (br d, J=15.4Hz, 1H), 6.70 (br s, 1H), 6.41 (br s, 1H), 5.12 (br t, J=6.7Hz, 1H), 3.98 (q, J=6.9Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.43 (br d, J=6.5Hz, 2H), 1.97 (br s, 3H), 1.80 (s, 3H), 1.67 (s, 3H), 1.40 (t, J=6.9Hz, 3H); ¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ=167.75, 157.86, 155.23, 154.91, 141.36, 136.98, 130.47, 130.07, 128.96, 126.01, 123.73, 120.97, 119.27, 109.83, 104.13, 100.11, 63.93, 55.75, 25.75, 24.48, 19.41, 18.01, 14.87。

[1134] (E)-N-(4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-羟基苯基)甲酰胺(40) [KYN-159]



[1136] 5-(羟基甲基)-2-硝基苯酚(40-2):在0℃将硼氢化钠(2.27g, 59.88mmol, 1.0当量)分成两份加入化合物40-1(10.0g, 59.88mmol, 1.0当量)在甲醇中的溶液中。将得到的溶液在室温搅拌1小时。将反应混合物通过加入水(20mL)淬灭。在减压下除去挥发物并将得到的粗残余物溶解在乙酸乙酯(150mL)中,并用1M HCl(100mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯

(2x100mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在减压下蒸发,以产生作为黄色固体的化合物40-2 (9.98g, 98%收率) (NRK-1-202), 将其随后使用。

[1137] 5-(溴甲基)-2-硝基苯酚(40-3): 在0℃将四溴化碳(4.05g, 12.18mmol, 2.0当量)分成4份加入化合物40-2 (1.0g, 6.09mmol, 1.0当量) 和三苯基膦(3.19g, 12.18mmol, 2.0当量) 在二氯甲烷(50mL) 中的溶液中。将得到的溶液在室温搅拌16小时。将反应混合物通过加入1M HCl (40mL) 淬灭。分离各层并将水层用二氯甲烷(2x20mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在减压下蒸发。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 40g柱) 上纯化, 用0-40%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色固体的化合物40-3 (1.5g, 92%收率) (NRK-6-23)。

[1138] (3-羟基-4-硝基苄基) 膦酸二乙酯(40-4): 将亚磷酸三乙酯(3.3mL, 19.39mmol, 3.0当量) 加入化合物40-3 (1.5g, 6.46mmol, 1.0当量) 在甲苯(30mL) 中的溶液中。将得到的溶液回流(110℃) 20小时。冷却至室温以后, 在减压下除去挥发物。将粗残余物溶解在二氯甲烷(50mL) 中, 并用1M氢氧化钠(100mL) 洗涤。将水层用1M盐酸(150mL) 中和。将得到的水层用乙酸乙酯(3x100mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在减压下蒸发, 以产生作为黄色固体的化合物40-4 (1.0g, 56%收率), 将其随后使用。(NRK-6-24)

[1139] (4-硝基-3-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苄基) 膦酸二乙酯(40-5): 在室温将2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯(0.6mL, 3.46mmol, 1.0当量) 和N,N-二异丙基乙胺(0.9mL, 5.19mmol, 1.5当量) 依次加入化合物40-4 (1.0g, 3.46mmol, 1.0当量) 在二氯甲烷(50mL) 中的溶液中。搅拌20小时以后, 将反应混合物用饱和碳酸氢钠(30mL) 稀释。分离各层并将水层用二氯甲烷(2x20mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以产生作为黄色油的化合物5 (1.02g, 71%收率), 将其随后使用。(NRK-6-29)

[1140] (E)-(2-((5-(2-溴-3-乙氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-2-硝基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(40-6): 在0℃将叔丁醇钾(800mg, 7.06mmol, 2当量) 分成3份加入化合物5 (1.02g, 3.53mmol, 1.0当量) 在无水四氢呋喃(50mL) 中的溶液中。将混合物温热至室温并搅拌30分钟。逐滴加入模块D (1.32g, 3.53mmol, 1当量) 在无水四氢呋喃(20mL) 中的溶液, 并将混合物在室温搅拌16小时。在0℃用饱和盐水(20mL, 对于前5mL盐水为1滴/分钟) 小心地淬灭反应。在减压下除去挥发物。加入饱和氯化铵(50mL) 并将混合物用乙酸乙酯(2x60mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 40g柱) 上纯化, 用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色油的化合物40-6 (867mg, 39%收率)。(NRK-6-31)

[1141] (E)-(2-((5-(3-乙氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基))-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-2-硝基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(40-7): 在密闭试管中将四(三苯基膦)钯(0) (156mg, 0.14mmol, 0.1当量)、碳酸钾(373mg, 2.7mmol, 2当量)、3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯(530mg, 2.7mmol, 2当量) 和水(3mL) 依次加入化合物40-6 (867mg, 1.4mmol, 1当量) 在1,4-二氧杂环己烷(30mL) 中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后, 将反应物在100℃加热16小时。LCMS分析指示期望化合物40-7的形成(70%转化率)。加入另外的3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯(530mg, 2.7mmol, 2当量), 并将反应混合物在100℃加热16小时。冷却至室温以后, 将反应混合物穿过硅藻土过滤并将滤液在减压下蒸发。将残余物悬浮于饱和氯化铵(20mL) 中, 并用乙酸乙酯(3x30mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干

燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 40g柱)上纯化,用0-30%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色油的化合物40-7(852mg, 99%收率)。(NRK-6-37)

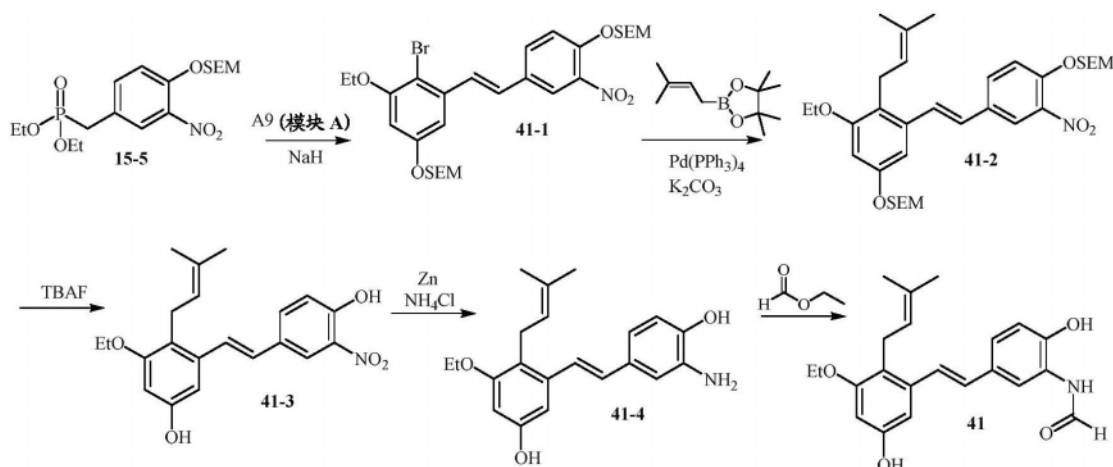
[1142] (E)-3-乙氧基-5-(3-羟基-4-硝基苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(40-8):在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(19mL, 18.90mmol, 14当量)加入化合物40-7(852mg, 1.36mmol, 1当量)在四氢呋喃(20mL)中的溶液中。在67℃加热16小时以后,将混合物冷却至室温,并用水(10mL)和饱和氯化铵(30mL)稀释。在减压下除去挥发物并将剩余的水层用乙酸乙酯(3x20mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 40g柱)上纯化,用0-80%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色固体的化合物40-8(410mg, 83%收率)。(NRK-6-26)

[1143] (E)-3-(4-氨基-3-羟基苯乙烯基)-5-乙氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(40-9):在室温将活化的锌粉(730mg, 11.1mmol, 10.0当量)、氯化铵(590mg, 11.1mmol, 10.0当量)和水(5mL)依次加入化合物40-8(410mg, 1.11mmol, 1.0当量)在四氢呋喃(20mL)中的溶液中。将得到的悬浮液在室温搅拌16小时。将悬浮液过滤并将固体用乙酸乙酯(20mL)洗涤。将滤液在减压下蒸发至干燥。将残余物悬浮于饱和氯化铵(20mL)中,并用乙酸乙酯(3x20mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 24g柱)上纯化,用0-80%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为淡黄色固体的化合物40-9(234mg, 63%收率)。(NRK-6-39)

[1144] (E)-N-(4-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-羟基苯基)甲酰胺(40) [KYN-159]:将化合物40-9(100mg, 0.3mmol, 1.0当量)加入甲酸乙酯(10mL)中并将反应物在55℃加热20小时。将反应混合物冷却至室温并在减压下蒸发至干燥。将残余物溶解在乙酸乙酯(20mL)中,并用饱和氯化铵(20mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯(2x15mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 24g柱)上纯化,用0-80%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。将产物与10%乙酸乙酯在庚烷类中的溶液(10mL)一起研磨以提供作为灰白色固体的化合物40(74mg, 69%收率)。(NRK-6-41)。

[1145] 灰白色固体;熔点157.9-162.9°;HPLC分析:97.0%纯度;波长210nm,带宽4;柱:Waters Atlantis T3, 2.1x50mm, 3μm;保留时间:8.4min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式)m/z=368.2 (M+H)⁺; C₂₂H₂₅NO₄; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ=10.04 (br s, 1H), 9.63 (s, 1H), 9.19 (br s, 1H), 8.28 (d, J=1.7Hz, 1H), 8.04 (d, J=8.3Hz, 1H), 7.16 (d, J=16.1Hz, 1H), 7.05 (d, J=1.7Hz, 1H), 6.97 (dd, J=1.7, 8.3Hz, 1H), 6.83 (d, J=16.1Hz, 1H), 6.62 (d, J=2.2Hz, 1H), 6.31 (d, J=2.1Hz, 1H), 5.02 (br t, J=7.0Hz, 1H), 3.94 (q, J=6.9Hz, 2H), 3.34 (br s, 2H), 1.75 (s, 3H), 1.62 (s, 3H), 1.33 (t, J=6.9Hz, 3H); ¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ=160.41, 157.69, 156.59, 147.23, 137.32, 133.69, 130.08, 129.78, 126.32, 125.48, 124.32, 121.06, 118.76, 118.45, 112.80, 104.10, 99.93, 63.75, 25.99, 24.29, 18.28, 15.25。

[1146] (E)-N-(5-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-羟基苯基)甲酰胺(41) [KYN-161]



[1147]

[1148] (E) - (2 - ((4 - (2 - 溴 - 3 - 乙氧基 - 5 - ((2 - (三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲氧基) 苯乙烯基) - 2 - 硝基苯氧基) 甲氧基) 乙基) 三甲基硅烷 (41-1) :

[1149] 在0℃将氢化钠在矿物油中的60%分散体 (1.09g, 45.52mmol, 4当量) 分成2份加入化合物15-5 (3.29g, 11.38mmol, 1.0当量) 在无水四氢呋喃 (60mL) 中的溶液中。将混合物温热至室温并搅拌30分钟。逐滴加入模块D (4.3g, 11.38mmol, 1当量) 在无水四氢呋喃 (20mL) 中的溶液, 并将混合物在室温搅拌16小时。在0℃用饱和盐水 (20mL, 对于前5mL盐水为1滴/分钟) 小心地淬灭反应。在减压下除去挥发物。加入饱和氯化铵 (60mL) 并将混合物用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统 (Sorbtech 80g柱) 上纯化, 用0-10% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色油的化合物41-1 (740mg, 16%收率)。(NRK-6-48)

[1150] (E) - (2 - ((4 - (3 - 乙氧基 - 2 - (3 - 甲基丁 - 2 - 烯 - 1 - 基) - 5 - ((2 - (三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲氧基) 苯乙烯基) - 2 - 硝基苯氧基) 甲氧基) 乙基) 三甲基硅烷 (41-2) :

[1151] 在密闭试管中将四 (三苯基膦) 钯 (0) (120mg, 0.1mmol, 0.1当量)、碳酸钾 (276mg, 2.0mmol, 2当量)、3 - 甲基丁 - 2 - 烯基硼酸频哪醇酯 (400mg, 2.0mmol, 2当量) 和水 (2mL) 依次加入化合物41-1 (640mg, 1.0mmol, 1当量) 在1,4 - 二氧杂环己烷 (10mL) 中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后, 将反应物在100℃加热16小时。冷却至室温以后, 将反应混合物穿过硅藻土过滤。将滤液在减压下浓缩。将残余物悬浮于饱和碳酸氢钠 (30mL) 中, 并用乙酸乙酯 (3x30mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统 (Sorbtech 40g柱) 上纯化, 用0-20% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色油的化合物41-2 (525mg, 71%收率)。(NRK-6-53)

[1152] (E) - 3 - 乙氧基 - 5 - (4 - 羟基 - 3 - 硝基苯乙烯基) - 4 - (3 - 甲基丁 - 2 - 烯 - 1 - 基) 苯酚 (41-3) :

[1153] 在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液 (12mL, 11.68mmol, 14当量) 加入化合物41-2 (525mg, 0.84mmol, 1当量) 在四氢呋喃 (12mL) 中的溶液中。在67℃加热16小时以后, 将混合物冷却至室温, 并用水 (20mL) 和1M HCL (30mL) 稀释。在减压下除去挥发物并将剩余的水层用乙酸乙酯 (3x30mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统 (Sorbtech 80g柱) 上纯化, 用0-60% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为黄色固体的化合物41-3 (120mg, 40%收率)。(NRK-6-54)

[1154] (E) - 3 - (3 - 氨基 - 4 - 羟基苯乙烯基) - 5 - 乙氧基 - 4 - (3 - 甲基丁 - 2 - 烯 - 1 - 基) 苯酚 (41-

4) :

[1155] 在室温将活化的锌粉 (210mg, 3.26mmol, 10.0当量)、氯化铵 (176mg, 3.26mmol, 10.0当量) 和水 (2mL) 依次加入化合物41-3 (120mg, 0.326mmol, 1.0当量) 在四氢呋喃 (10mL) 中的溶液中。将得到的悬浮液在室温搅拌16小时。将悬浮液穿过硅藻土过滤, 将其用乙酸乙酯 (20mL) 洗涤。将滤液在减压下浓缩至干燥。将残余物悬浮于饱和氯化铵 (20mL) 中, 并用乙酸乙酯 (3x30mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在 Reveleris 自动化色谱法系统 (Sorbtech 24g柱) 上纯化, 用0-60% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为淡黄色固体的化合物41-4 (100mg, 91%收率)。(NRK-6-55)

[1156] (E)-N-(5-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基) 苯乙烯基)-2-羟基苯基) 甲酰胺 (41) [KYN-161] :

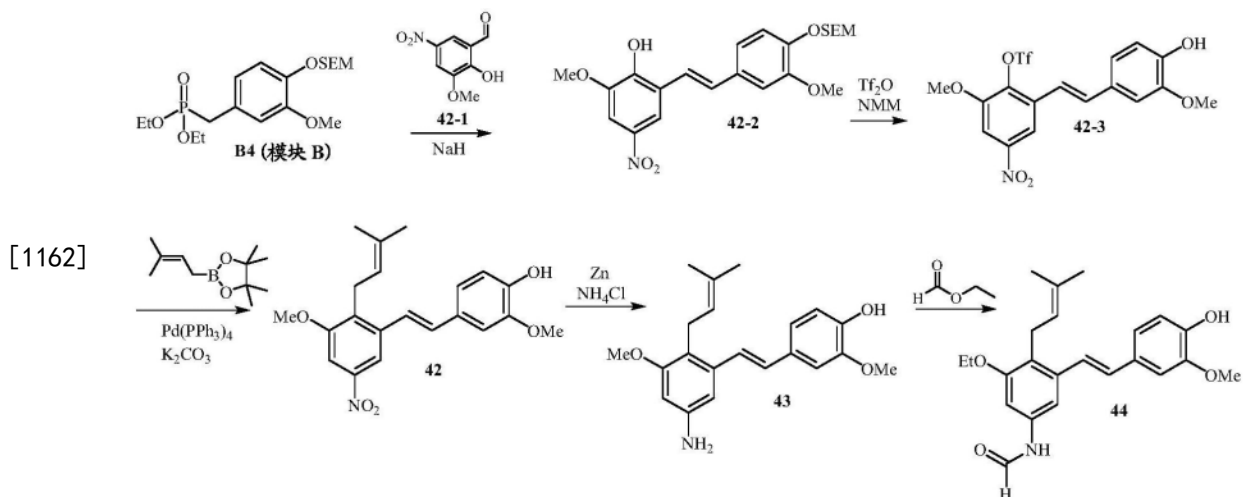
[1157] 将化合物41-4 (100mg, 0.3mmol, 1.0当量) 在甲酸乙酯 (10mL) 中的溶液在55℃加热20小时。将反应混合物冷却至室温, 并在减压下浓缩至干燥。将残余物溶解在乙酸乙酯 (30mL) 中, 并用饱和氯化铵 (30mL) 洗涤。将水层用乙酸乙酯 (2x30mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物在 Reveleris 自动化色谱法系统 (Sorbtech 24g柱) 上纯化, 用0-60% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱以提供作为淡黄色固体的化合物41 (80mg, 73%收率)。(NRK-6-57)。

[1158] 淡黄色固体; HPLC分析: 97.5%纯度; 波长254nm, 带宽4; 柱: Waters Atlantis T3, 2.1x50mm, 3μm; 保留时间: 8.3min; 流动相: ACN/甲酸/水; 质谱图 (正模式) $m/z = 368.2 (M+H)^+$; $C_{22}H_{25}NO_4$; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) $\delta = 10.08$ (br s, 1H), 9.58 (s, 1H), 9.16 (br s, 1H), 8.31 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 8.28 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.20-7.02 (m, 2H), 6.91-6.78 (m, 2H), 6.63-6.58 (m, 1H), 6.30 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 5.00 (br t, $J = 7.0$ Hz, 1H), 3.94 (q, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.35 (br s, 1H), 3.31-3.28 (m, 1H), 1.77-1.70 (m, 3H), 1.67-1.47 (m, 3H), 1.33 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) $\delta = 160.55, 157.67, 156.57, 147.20, 137.62, 130.08, 128.90, 126.77, 124.51, 124.29, 123.97, 123.49, 118.83, 118.52, 115.61, 103.97, 99.69, 63.74, 25.96, 24.34, 18.24, 15.26$ 。

[1159] (E)-2-甲氧基-4-(3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-硝基苯乙烯基) 苯酚 (42) [KYN-162]

[1160] (E)-4-(5-氨基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基) 苯乙烯基)-2-甲氧基苯酚 (S16) (43) [KYN-163]

[1161] (E)-N-(3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基) 苯基) 甲酰胺 (S17) (44) [KYN-164]



[1163] (E)-2-甲氧基-6-(3-甲氧基-4-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-4-硝基苯酚 (42-2): 在0℃将氢化钠在矿物油中的60%分散体(14.2g, 356mmol, 9当量)一次性加入B4(模块B)(16g, 39.5mmol, 1当量)在无水的四氢呋喃(400mL)中的溶液中。将混合物温热至室温并搅拌30分钟。逐滴加入化合物42-1(11.7g, 59.3mmol, 1.5当量)在无水的四氢呋喃(100mL)中的溶液,并将混合物回流(68℃)16小时。LCMS分析指示向产物的约15%转化。加入另外的氢化钠在矿物油中的60%分散体(4.7g, 119mmol, 3当量),并将混合物回流(68℃)另外24小时。将反应物冷却至0℃并用水(40mL, 对于前10mL为1滴/分钟)小心地淬灭,并然后用饱和氯化铵溶液(2L)稀释。将混合物用甲基叔丁基醚(2L)和乙酸乙酯(3L)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(2x120g柱,堆叠)上纯化两次,每次用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色固体的化合物42-2(2.8g, 16%收率)。(LM-8-46)

[1164] (E)-三氟甲磺酸2-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-6-甲氧基-4-硝基苯酯(42-3): 在将反应温度维持在0℃的同时,将三氟甲烷磺酸酐(1.9g, 6.7mmol, 1.07当量)历时5分钟逐滴加入在0℃的化合物42-2(2.8g, 6.26mmol, 1.0当量)和N-甲基吗啉(1.03mL, 9.4mmol, 1.5当量)在二氯甲烷(100mL)中的溶液中。在0℃搅拌3小时以后,在维持反应温度低于5℃的同时,通过历时15分钟加入10%柠檬酸(100mL),将反应混合物淬灭。分离各层并将水层用二氯甲烷(2x100mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(80g柱)上纯化,用0-60%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色固体的化合物42-3(2.26g, 80%收率)。(LM-8-47)

[1165] (E)-2-甲氧基-4-(3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-硝基苯乙烯基)苯酚(42) [KYN-162]: 将四(三苯基膦)钯(0)(237mg, 0.2mmol, 0.05当量)、碳酸钾(1.2g, 8.2mmol, 2当量)、3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯(1.6g, 8.2mmol, 2当量)和水(11mL)依次加入化合物42-3(1.83g, 4.1mmol, 1当量)在1,4-二氧杂环己烷(33mL)中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后,将反应物在95℃加热16小时。冷却至室温以后,将混合物用饱和氯化铵溶液(30mL)稀释,并用甲基叔丁基醚(2x100mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(120g柱)上纯化,用0-60%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色油的化合物42(0.82g, 54%收率)。HPLC分析: 97.3%纯度;波长254nm,带宽4;柱:Waters Atlantis T3, 2.1x50mm, 3μm;保留时间:

10.7min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式) $m/z=370.2 (M+H)^+$; $C_{21}H_{23}NO_5$; ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) $\delta=8.10$ (d, $J=2.2Hz$, 1H), 7.59 (d, $J=2.2Hz$, 1H), 7.18-7.13 (m, 1H), 7.08-7.01 (m, 3H), 6.94 (d, $J=8.2Hz$, 1H), 5.71 (s, 1H), 5.07 (sptt, $J=1.3, 6.8Hz$, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.55 (br d, $J=6.8Hz$, 2H), 1.84 (d, $J=0.9Hz$, 3H), 1.70 (d, $J=1.1Hz$, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) $\delta=157.84, 147.03, 146.73, 146.17, 138.48, 135.17, 132.87, 132.61, 129.45, 122.31, 121.10, 120.63, 114.73, 113.29, 108.83, 103.38, 56.10, 55.91, 25.75, 25.52, 18.09$ 。

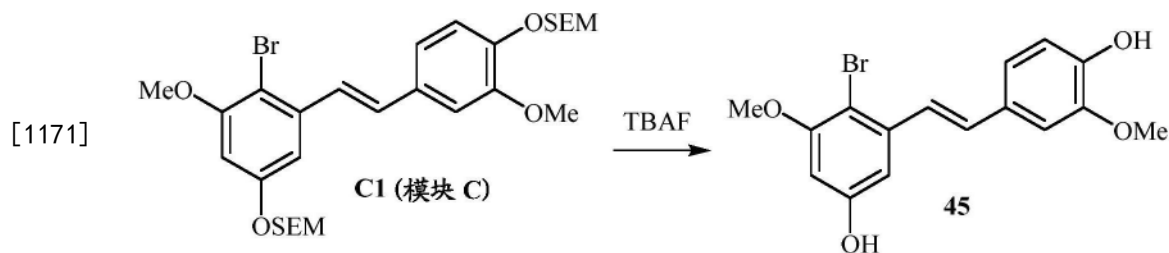
[1166] (E)-4-(5-氨基-3-甲氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯酚(43) [KYN-163]:在室温将水(6mL)、氯化铵(613mg, 11.4mmol, 10当量)和锌粉(743mg, 11.4mmol, 10当量)依次加入化合物42(420mg, 1.14mmol, 1当量)在四氢呋喃(60mL)中的溶液中。将得到的悬浮液在室温搅拌3小时。将悬浮液穿过硅藻土过滤,将其用乙酸乙酯(50mL)洗涤。将滤液在减压下蒸发至干燥。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(80g柱)上纯化,用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以在真空下在40℃干燥16小时以后产生作为灰白色固体的化合物43(60mg, >95%纯度,和180mg, 约90%纯度;62%收率)。(LM-8-53)。

[1167] 灰白色固体;HPLC分析:97.6%纯度;波长254nm,带宽4;柱:Waters Atlantis T3, 2.1x50mm, 3 μ m;保留时间:6.7min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式) $m/z=340.2 (M+H)^+$; $C_{21}H_{25}NO_3$; ^1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$) $\delta=9.08$ (s, 1H), 7.12-7.04 (m, 2H), 6.91 (dd, $J=1.9, 8.3Hz$, 1H), 6.81-6.73 (m, 2H), 6.43 (d, $J=2.0Hz$), 6.17 (d, $J=2.0Hz$), 4.99 (sptt, $J=1.3, 6.8Hz$, 1H), 4.88 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.28 (br d, $J=7.0Hz$, 2H), 1.75 (d, $J=0.6Hz$, 3H), 1.60 (d, $J=0.7Hz$, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $DMSO-d_6$) $\delta=158.21, 148.28, 147.79, 146.99, 137.40, 129.49, 129.22, 125.10, 124.35, 120.35, 116.08, 115.59, 110.09, 103.11, 97.74, 55.99, 55.68, 55.36, 25.97, 24.18, 18.18$ 。

[1168] (E)-N-(3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯基)甲酰胺(44) [KYN-164]:将化合物43(90mg, 0.27mmol, 1.0当量)在甲酸乙酯(10mL)中的溶液在55℃加热20小时。将反应混合物冷却至室温并在减压下蒸发至干燥。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(25g柱)上纯化,用0-60%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以在真空下在40℃干燥16小时以后产生作为灰白色固体的化合物44(80mg, 82%收率)。(LM-8-57)。

[1169] 灰白色固体;HPLC分析:97.3%纯度;波长254nm,带宽4;柱:Waters Atlantis T3, 2.1x50mm, 3 μ m;保留时间:6.7min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式) $m/z=368.2 (M+H)^+$; $C_{22}H_{25}NO_4$; ^1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$) $\delta=10.08$ (s, 1H), 9.98 (d, $J=11.1Hz$, 1H), 9.15 (s, 1H), 8.90-8.80 (m, 1H), 8.27 (d, $J=1.8Hz$, 1H), 7.42 (d, $J=1.8Hz$), 7.22-7.11 (m, 2H), 7.07-6.91 (m, 2H), 6.87-6.70 (m, 2H), 5.04-4.96 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.78-3.74 (m, 3H), 3.40 (br d, $J=6.7Hz$, 2H), 1.77 (s, 3H), 1.61 (s, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $DMSO-d_6$) $\delta=163.17, 159.99, 157.64, 148.30, 147.31, 137.64, 137.56, 137.52, 130.91, 130.48, 129.07, 123.75, 123.72, 123.52, 123.08, 120.66, 120.60, 116.09, 110.38, 108.53, 101.90, 56.19, 56.03, 56.00, 25.94, 24.56, 18.24$ 。

[1170] (E)-4-溴-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基苯酚(45) [KYN-112]:

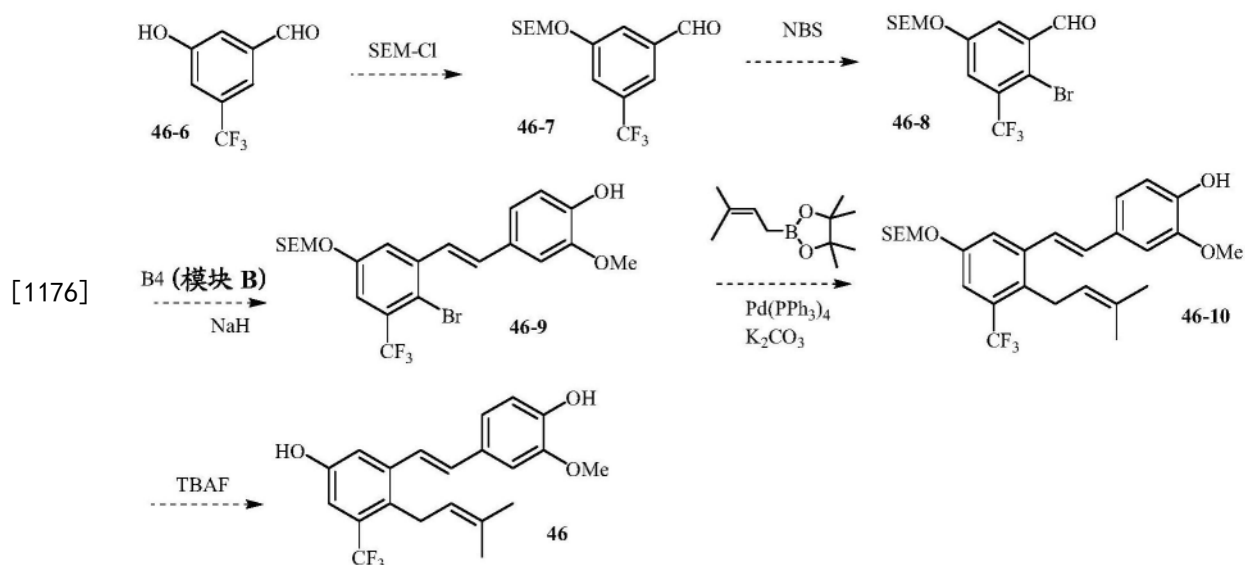


[1172] 将1.0M四丁基氟化铵在THF中的溶液(2.3mL, 2.29mmol, 7当量)加入(E)-(2-(4-(2-溴-3-甲氧基-5-(2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-2-甲氧基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(C1)(200mg, 0.327mmol, 1当量)在无水THF(5mL)中的溶液中并回流过夜。冷却至室温以后,将反应混合物用水(25mL)淬灭,并用乙酸乙酯(100mL)萃取。将有机层用饱和盐水(25mL)洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物在AnaLogixs自动化系统(12g柱)上纯化两次,每次用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为棕色薄膜的化合物45[KYN-112](21mg, 18%收率)。(CSK-2-95)

[1173] HPLC分析:94.3%纯度;波长210nm,带宽4;柱:SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3 μ m;保留时间:7.0min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(负模式) $m/z=349/351$ (M-H)⁻; C₁₆H₁₅BrO₄; ¹H NMR(400MHz, 甲醇-d₃) $\delta=7.31$ (d, J=16.2Hz, 1H), 7.10 (d, J=2Hz, 1H), 7.00 (dd, J=2.0, 8.1Hz, 1H), 6.93 (d, J=16.1Hz, 1H), 6.79 (d, J=8.0Hz, 1H), 6.75 (d, J=2.7Hz, 1H), 6.40 (d, J=2.7Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.82 (s, 3H); ¹³C NMR(100MHz, 甲醇-d₃) $\delta=158.69, 158.32, 149.15, 148.08, 140.14, 132.49, 130.67, 126.01, 121.41, 116.38, 110.75, 105.77, 103.89, 100.20, 56.57, 56.37$ 。

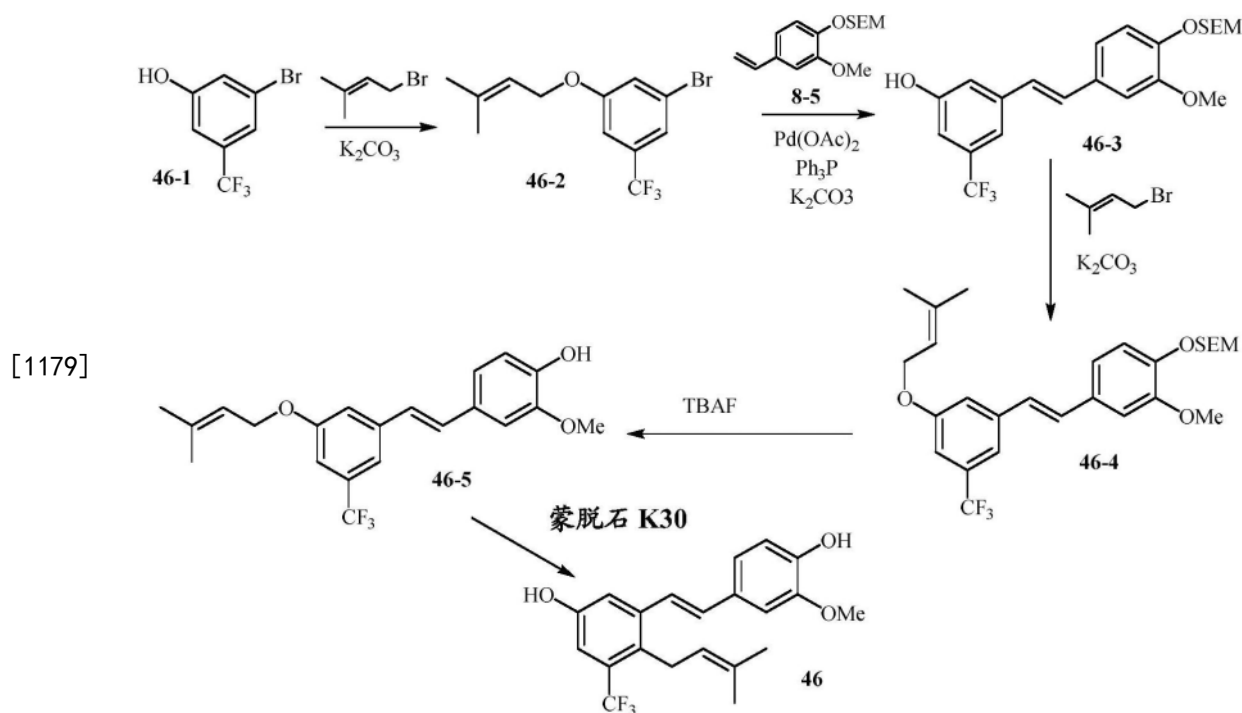
[1174] 化合物46[KYN-145]-(E)-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-(三氟甲基)苯酚(46)[KYN-145]的制备

[1175] 提出的模块合成



[1177] 如下提出模块合成的下述关键步骤。在有氢化钠存在下使2-溴-3-三氟甲基-5-(2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲醛(模块A)与B4(模块B)反应,以产生模块C产物,可以将其在2个步骤中转化成化合物46。

[1178] 通过重排方法的制备



[1180] 1-溴-3-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)-5-(三氟甲基)苯(46-2)：

[1181] 在室温将碳酸钾(28g, 206mmol, 2当量)和3,3-二甲基烯丙基溴(18.5g, 124.48mmol, 1.2当量)依次加入化合物46-1(25.0g, 107.73mmol, 1当量)在乙腈(100mL)中的溶液中。将得到的悬浮液回流(80℃)16小时。冷却至室温以后,将反应混合物过滤并将滤液在减压下浓缩。将粗残余物溶解在乙酸乙酯(300mL)中,并用1M盐酸溶液(2x70mL)洗涤。将有机层经硫酸钠干燥并在减压下蒸发以得到作为淡黄色油的化合物46-2(31.0g, 99%收率)(NRK-1-106),将其随后使用。

[1182] (E)-3-(3-甲氧基-4-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-5-(三氟甲基)苯酚(46-3)：

[1183] 在室温将(2-((2-甲氧基-4-乙烯基苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(8-5)(3.97g, 14.20mmol, 1.0当量)、三苯基膦(750mg, 2.84mmol, 0.2当量)、碳酸钾(4.25g, 30.76mmol, 2当量)和乙酸钯(320mg, 1.42mmol, 0.1当量)加入化合物46-2(5.0g, 14.20mmol, 1.0当量)在无水甲苯(100mL)中的溶液中。将反应混合物用氮气鼓泡15分钟。回流(110℃)16小时以后,将反应混合物冷却至室温并穿过硅藻土(约20g)过滤。将滤液转移至含有饱和碳酸氢钠(150mL)的分液漏斗。分离各层并将水层用乙酸乙酯(2x50mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 40g柱)上纯化,用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为淡黄色油的化合物46-3(5.25g, 85%收率)。(NRK-1-107)

[1184] (E)-2-((2-甲氧基-4-(3-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)-5-(三氟甲基)苯乙烯基)苯氧基)甲氧基)乙基)三甲基硅烷(46-4)：

[1185] 在室温将碳酸钾(3.36g, 24.40mmol, 2当量)和3,3-二甲基烯丙基溴(2.18g, 14.64mmol, 1.2当量)接连地加入化合物46-3(5.25g, 12.20mmol, 1当量)在乙腈(150mL)中的溶液中。回流(80℃)16小时以后,将反应物冷却至室温并过滤。将滤液在减压下浓缩。将粗残余物溶解在乙酸乙酯(100mL)中,并用1M盐酸溶液(2x50mL)洗涤。将有机层经硫酸钠干

燥并在减压下蒸发,以产生作为淡黄色油的化合物46-4 (5.0g, 80%收率), 将其随后使用. (NRK-1-111)

[1186] (E)-2-甲氧基-4-(3-((3-甲基丁-2-烯-1-基)氧基)-5-(三氟甲基)苯乙烯基)苯酚(46-5):

[1187] 在室温将1M四丁基氟化铵在THF中的溶液(69mL, 68.78mmol, 7当量)加入化合物46-4 (5.0g, 9.82mmol, 1当量)在无水THF (200mL) 中的溶液中。回流(66℃) 16小时以后, LCMS分析指示反应完全。将混合物冷却至室温, 并用水(20mL) 稀释。在减压下除去挥发物。将混合物用乙酸乙酯(150mL) 稀释。分离各层并将水层用乙酸乙酯(2x100mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将残余物在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 80g柱)上纯化, 用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为淡黄色固体的化合物46-5 (3.25g, 87%收率)。 (NRK-1-113)

[1188] (E)-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-(三氟甲基)苯酚(46) [KYN-145]:

[1189] 在室温将蒙脱石K30粉末(3.25g)加入化合物46-7 (3.2g, 8.89mmol)在无水二氯甲烷(200mL)中的溶液中。搅拌过夜以后, LCMS分析指示形成10-15%的期望化合物46, 以及两种位置异构体和未反应的起始化合物46-5作为副产物。将混合物过滤并用新鲜蒙脱石K30粉末(3.2g)在室温处理另外24小时。将反应混合物过滤并将固体用二氯甲烷(2x50mL)洗涤。将合并的滤液在减压下浓缩。将残余物首先在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 80g柱)上纯化, 用0-50%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生几个含有化合物46的混合级分。将级分收集并再次在Reveleris自动化色谱法系统(Sorbtech 24g柱)上纯化, 用0-40%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。将所有含有化合物46(与另一种异构体一起)的级分收集并再次在Reveleris自动化色谱法系统(Redisep 100g C-18柱)上纯化, 用0-100%乙腈在水中的梯度洗脱, 以产生作为黄色固体的化合物46 (118mg, 85%纯度, 通过HPLC, 3%收率)。将该物质溶解在乙酸乙酯(3mL)和庚烷类(7mL)中, 并将溶液在室温缓慢地蒸发过夜至约3mL的体积, 以产生在溶液底部的晶体层。将固体收集, 以产生作为灰白色固体的化合物46 [KYN-145] (34mg, 96.5%纯度, 通过HPLC)。 (NRK-1-115) 和 (QZH-RCI-47)。

[1190] 灰白色固体; HPLC分析: 96.5%纯度; 波长210nm, 带宽4; 柱: SorbTech C18AQ, 2.1x50mm, 3μm; 保留时间: 11.9min; 流动相: ACN/甲酸/水; 质谱图(正模式) m/z = 379.1 (M+H)⁺; C₂₁H₂₁F₃O₃; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ = 7.33 (d, J = 16.1Hz, 1H), 7.21 (br m, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.12 (br m, 1H), 6.88 (d, J = 16.2Hz, 1H), 6.88 (br m, 1H), 6.64 (s, 1H), 5.21 (tm, J = 1.5, 7.1Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.36 (br d, J = 7.1Hz, 2H), 1.78 (d, J = 1.0Hz, 3H), 1.73 (d, J = 0.9Hz, 3H); ¹⁹F NMR (376MHz, CD₃OD) δ = -64.35 (s, 3F); ¹³C NMR (100MHz, CD₃OD) δ = 159.66, 148.18, 147.81, 142.37, 134.79, 133.34, 133.01, 132.66, 129.41, 128.29, 127.12, 126.81, 125.22, 117.72, 117.28, 114.99, 114.95, 111.53, 111.49, 110.19, 56.78, 32.91, 25.99, 18.15。

[1191] 通过本公开内容的模块方法使用模块A、B和C的等同物并随后进行芳基卤的交叉偶联烷基化也可以合成46的化合物KYN-145。

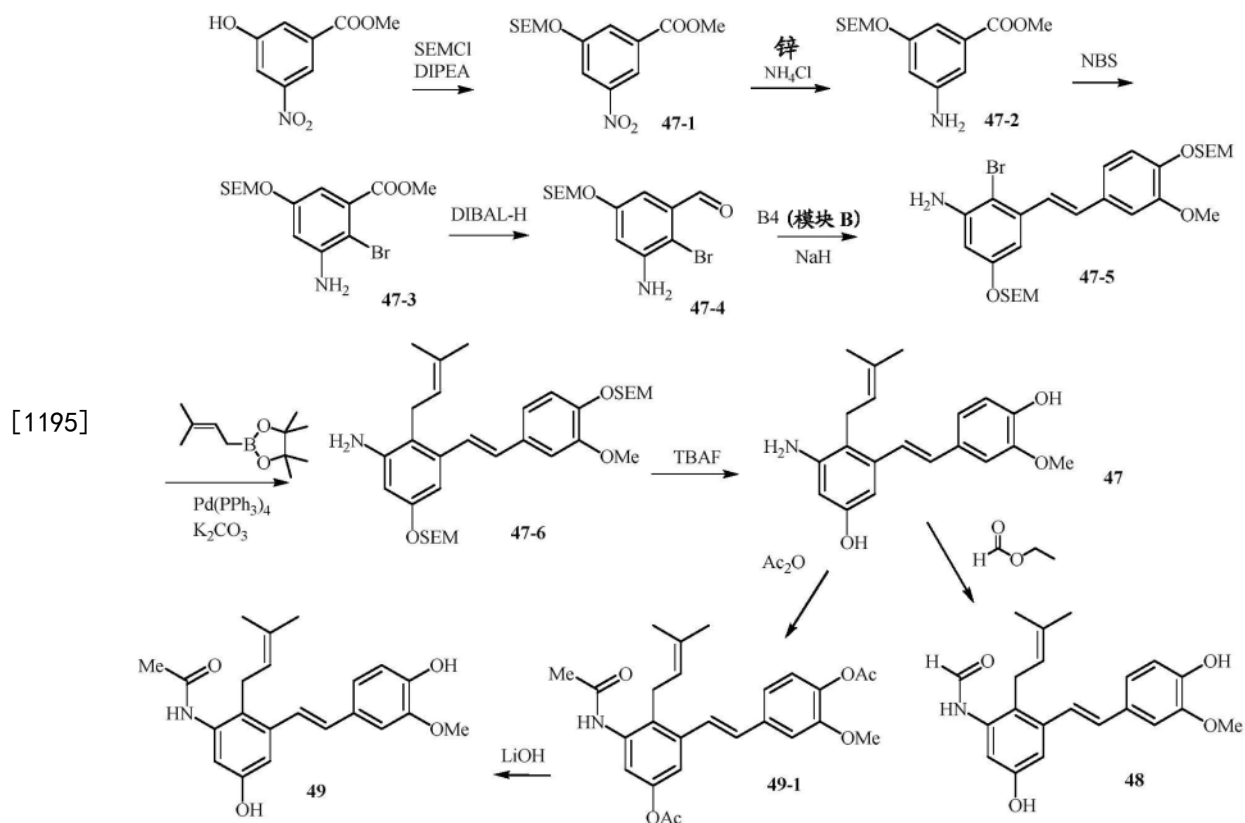
[1192] (E)-3-氨基-5-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(47)

[1193] (E)-N-(5-羟基-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯基)

甲酰胺 (48)

[1194] (E)-N-(5-羟基-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯基)

乙酰胺 (49)



[1196] 3-硝基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲酸甲酯 (47-1): 将N,N-二异丙基乙胺 (10.3mL, 59mmol, 3当量) 和2-(三甲基甲硅烷基)-乙氧基甲基氯 (5.2mL, 29.6mmol, 1.5当量) 依次加入3-硝基-5-羟基苯甲酸甲酯 (3.88g, 19.7mmol, 1.0当量) 在无水二氯甲烷 (200mL) 中的溶液中。在室温搅拌16小时以后, 加入饱和碳酸氢钠 (250mL)。分离各层并将水层用二氯甲烷 (250mL) 萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤, 在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (120g柱) 上纯化, 用0-30% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为无色油的化合物47-1 (6.12g, 95%收率)。 (CHLM-02-9)。

[1197] 3-氨基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲酸甲酯 (47-2): 在室温将锌粉 (18.33g, 280mmol, 15.0当量)、氯化铵 (15.1g, 280mmol, 15.0当量) 和水 (20mL) 依次加入化合物47-1 (6.12g, 18.7mmol, 1.0当量) 在四氢呋喃 (200mL) 中的溶液中。将得到的悬浮液回流 (68℃) 5小时。将悬浮液冷却至室温, 用乙酸乙酯 (500mL) 稀释, 穿过硅藻土过滤, 将其用乙酸乙酯 (500mL) 洗涤。将滤液在减压下蒸发至干燥。将残余物在InterChim自动化色谱法系统 (2x120g堆叠的柱) 上纯化, 用0-60% 乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱, 以产生作为淡黄色油的化合物47-2 (4.76g, 86%收率)。 (CH-LM-02-10)。

[1198] 3-氨基-2-溴-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲酸甲酯 (47-3): 在0℃将N-溴琥珀酰亚胺 (2.85g, 16mmol, 1.0当量) 逐份加入化合物47-2 (4.76g, 16mmol, 1.0当量) 在无水二氯甲烷 (500mL) 中的溶液中。在0℃搅拌1小时以后, 加入冰冷的水 (500mL) 并将混合物温热至室温。分离各层并将有机层用饱和碳酸氢钠 (500mL) 洗涤, 经硫酸钠干燥, 过

滤并在减压下浓缩。将残余物在InterChim自动化色谱法系统(2x120g堆叠的柱)上纯化,用0-20%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为淡黄色油的化合物47-3(5.05g,84%收率)。(CH-LM-02-14)。

[1199] 3-氨基-2-溴-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯甲醛(47-4):在-78℃将1M二异丁基氢化铝在甲苯中的溶液(26.84mL,26.84mmol,2.0当量)逐滴加入化合物47-3(5.05g,13.42mmol,1.0当量)在甲苯(250mL)中的溶液中。将得到的混合物在-78℃搅拌3小时。逐滴加入饱和酒石酸钾钠(120mL),并将混合物缓慢地温热至室温。搅拌16小时以后,加入甲基叔丁基醚(300mL)。分离各层并将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在InterChim自动化色谱法系统(2x120g堆叠的柱)上纯化,用0-60%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色油的化合物47-4(3.25g,70%收率)。(CH-LM-02-16)。

[1200] (E)-2-溴-3-(3-甲氧基-4-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯胺(47-5):在0℃将氢化钠在矿物油中的60%分散体(1.34g,33.6mmol,4.0当量)一次性加入模块B(3.4g,8.4mmol,1.0当量)在无水四氢呋喃(150mL)中的溶液中。将混合物温热至室温并搅拌30分钟。逐滴加入化合物47-4(3.25g,9.4mmol,1.12当量)在无水四氢呋喃(50mL)中的溶液,并将混合物在室温搅拌16小时。在0℃用水(250mL,对于前5mL水为1滴/分钟)小心地淬灭反应,并用甲基叔丁基醚(400mL)和乙酸乙酯(400mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在InterChim自动化色谱法系统(2x120g堆叠的柱)上纯化,用0-30%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色固体的化合物47-5(2.6g,52%收率)。(CH-LM-02-17)

[1201] (E)-3-(3-甲氧基-4-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯胺(47-6):在密闭试管中将四(三苯基膦)钯(0)(252mg,0.22mmol,0.05当量)、碳酸钾(1.2g,8.71mmol,2.0当量)、3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯(1.71g,8.71mmol,2.0当量)和水(15mL)依次加入化合物47-5(2.6g,4.36mmol,1.0当量)在1,4-二氧杂环己烷(45mL)中的溶液中。用氮气鼓泡10分钟以后,将反应物在100℃加热16小时。冷却至室温以后,将反应混合物用甲基叔丁基醚(100mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(120g柱)上纯化,用0-35%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱,以产生作为黄色固体的化合物47-6(2.07g,81%收率)。(CH-LM-02-18)

[1202] (E)-3-氨基-5-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯酚(47-[KYN-167]):在室温将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(35mL,35mmol,14.0当量)加入化合物47-6(1.47g,2.51mmol,1.0当量)在四氢呋喃(120mL)中的溶液中。在68℃加热16小时以后,将混合物冷却至室温,并用水(50mL)稀释。在减压下除去挥发物。将残余物用饱和氯化铵(150mL)稀释,并用乙酸乙酯(2x300mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(80g柱)上纯化,用0-100%乙酸乙酯在庚烷类中的梯度洗脱。将产物级分合并,在减压下浓缩并在InterChim自动化色谱法系统(RediSep Rf GOLD 100g HP C18柱)上进一步纯化,用0-100%乙腈在水中的梯度洗脱,以产生作为灰白色固体的化合物47(148mg,18%收率)。(CH-LM-02-22)将另一批化合物11(400mg)以相同方式处理,以产生作为灰白色固体的化合物47(15mg,7%收率)。(CH-LM-02-19)HPLC分析:99.2%纯度;波长254nm,带宽4;柱:Waters Atlantis T3,2.1x50mm,3μm;

保留时间:6.1min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式) $m/z=326.2 (M+H)^+$; $C_{20}H_{23}NO_3$; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) $\delta=9.06$ (br s, 1H), 8.72 (br s, 1H), $7.12-7.05$ (m, 2H), 6.91 (dd, $J=1.9, 8.3$ Hz, 1H), $6.77-6.70$ (m, 2H), 6.27 (d, $J=2.3$ Hz), 6.06 (d, $J=2.3$ Hz), 4.99 (sptt, $J=1.3, 6.7$ Hz, 1H), 4.62 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), $3.24-3.17$ (m, 2H), 1.77 (s, 3H), 1.64 (s, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) $\delta=156.14, 148.25, 147.75, 146.90, 137.67, 129.92, 129.60, 129.53, 124.97, 124.23, 120.36, 116.04, 114.60, 110.16, 101.93, 101.72, 56.03, 25.98, 25.57, 18.26$ 。

[1203] (E)-N-(5-羟基-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯基)甲酰胺(48):将化合物47(49mg, 0.15mmol, 1.0当量)加入甲酸乙酯(10mL)中以得到混浊溶液,将其在55℃加热(加热后得到澄清溶液)。24小时以后,将反应混合物冷却至室温并在减压下蒸发至干燥。将残余物在InterChim自动化色谱法系统(RediSep Rf GOLD 100g HP C18柱)上纯化,用0-100%乙腈在水中的梯度洗脱,以在低压冻干以后产生作为灰白色固体的化合物48(25mg, 47%收率)。(CH-LM-02-23)HPLC分析:99.8%纯度;波长254nm,带宽4;柱:Waters Atlantis T3, 2.1x50mm, 3 μ m;保留时间:6.6min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式) $m/z=354.2 (M+H)^+$; $C_{21}H_{23}NO_4$; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) $\delta=9.66-9.45$ (m, 1H), 9.23 (br s, 2H), $8.26-8.19$ (m, 1H), $7.17-7.06$ (m, 3H), $6.99-6.85$ (m, 2H), 6.83 (d, $J=2.7$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J=8.1$ Hz), 6.49 (d, $J=2.3$ Hz, 1H), 4.95 (br s, 1H), 3.81 (s, 3H), $3.39-3.33$ (m, 2H), $1.78-1.73$ (m, 3H), $1.64-1.59$ (m, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) $\delta=163.08, 159.42, 155.17, 154.60, 147.22, 146.16, 137.35, 135.29, 130.02, 129.59, 129.53, 129.34, 128.21, 128.11, 122.94, 122.89, 122.79, 122.64, 122.56, 121.68, 119.68, 119.63, 115.00, 110.26, 109.37, 109.21, 108.56, 55.00, 54.96, 24.88, 17.32$ 。

[1204] (E)-3-乙酰氨基-5-(4-乙酰氧基-3-甲氧基苯乙烯基)-4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯基乙酸酯(49-1):

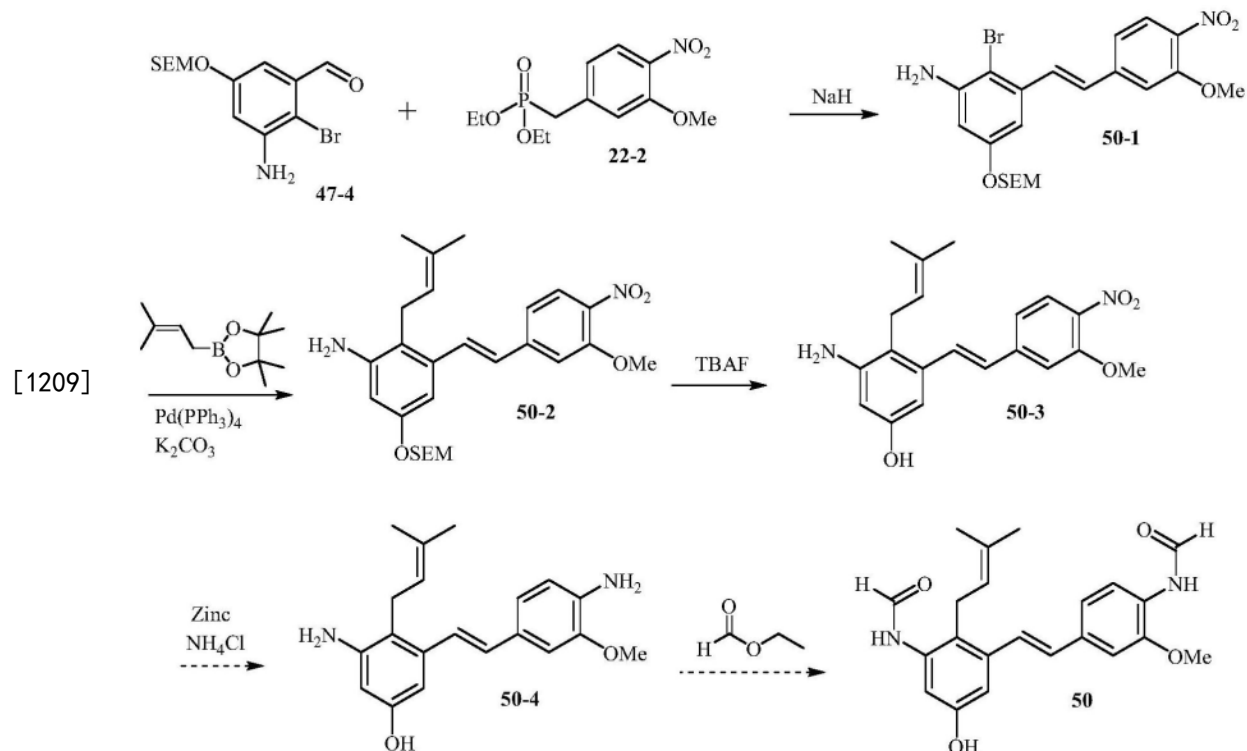
[1205] 在室温将N,N-二异丙基乙胺(0.32mL, 1.8mmol, 6当量)和乙酸酐(0.1mL, 1mmol, 3.3当量)依次加入化合物47(98mg, 0.3mmol, 1.0当量)在无水四氢呋喃(50mL)中的溶液中。回流(66℃)16小时以后,将反应混合物冷却至室温并在减压下除去挥发物。将残余物溶解在乙酸乙酯(20mL)中,并用饱和碳酸氢钠(20mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯(2x10mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩,以产生作为淡黄色固体的化合物49-1(135mg, 99%收率),将其随后使用。(CH-LM-02-24)

[1206] (E)-N-(5-羟基-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯基)乙酰胺(49) [KYN-169]:

[1207] 在室温将1M氢氧化锂(1.27mL, 1.27mmol, 5.0当量)加入化合物49-1(115mg, 0.255mmol, 1.0当量)在四氢呋喃和甲醇的5:1混合物(30mL)中的溶液中。将得到的溶液在室温搅拌1小时。将另一批化合物49-1(20mg)以相同方式处理。将两批合并和在减压下除去挥发物。将残余物溶解在乙酸乙酯(50mL)中,并用饱和氯化铵(30mL)洗涤。将水层用乙酸乙酯(2x50mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物在InterChim自动化色谱法系统(RediSep Rf GOLD 100g HP C18柱)上纯化,用0-100%乙腈在水中的梯度洗脱,以在低压冻干以后产生作为灰白色固体的化合物49(50mg, 46%收率)。(CH-LM-02-25)灰白色固体熔点87.3-193.8℃(分解);HPLC分析:99.3%纯度;波长254nm,

带宽4;柱:Waters Atlantis T3,2.1x50mm,3 μ m;保留时间:6.6min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式)m/z=368.2(M+H)⁺;C₂₂H₂₅NO₄; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ =9.19(s, 2H), 9.14(br s, 1H), 7.18-7.09(m, 2H), 6.95(dd, J=1.8, 8.2Hz, 1H), 6.91-6.79(m, 2H), 6.76(d, J=8.1Hz, 1H), 6.70(d, J=2.2Hz, 1H), 4.94(sptt, J=1.2, 6.8Hz, 1H), 3.81(s, 3H), 3.37-3.32(m, 2H), 2.01(s, 3H), 1.75(s, 3H), 1.60(s, 3H); ¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ =168.82, 155.54, 148.27, 147.17, 138.26, 137.47, 130.43, 129.96, 129.34, 124.94, 124.37, 123.98, 120.64, 116.05, 113.45, 110.34, 109.99, 56.06, 26.29, 25.98, 23.67, 18.29。

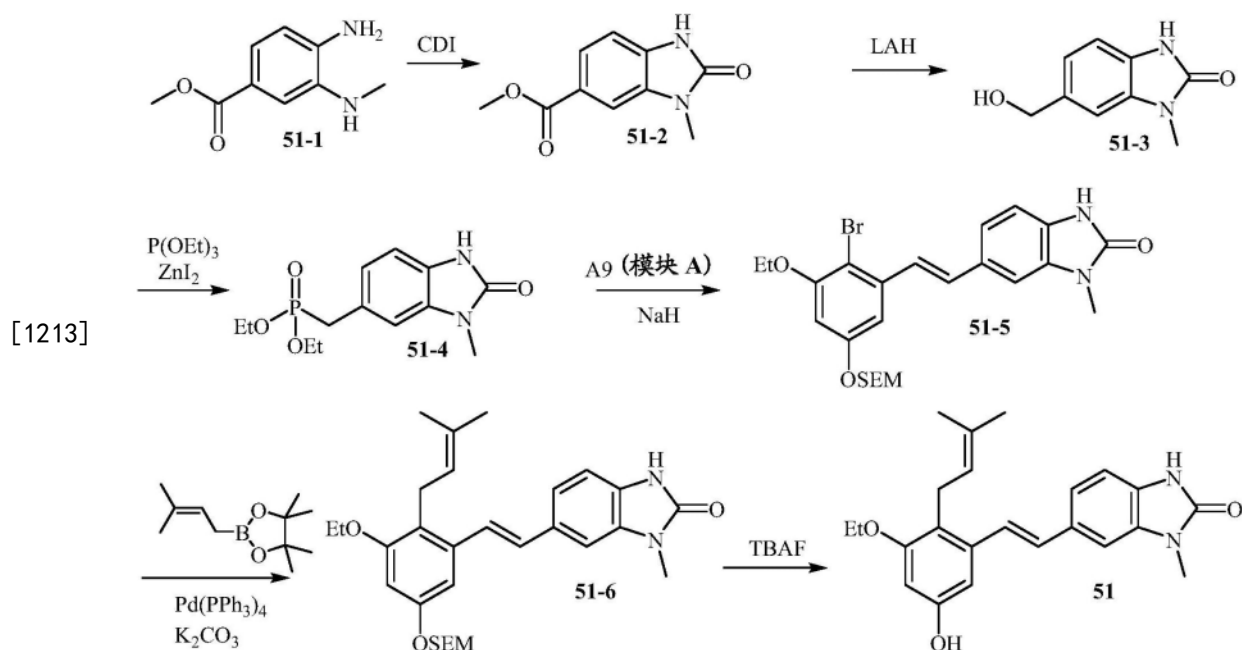
[1208] (E)-N-(5-羟基-3-(4-甲酰氨基-3-甲氧基苯乙烯基)-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯基)甲酰胺(50) [KYN-170]:



[1210] 在室温在四氢呋喃中将化合物47-4(3.8g)用氢化钠(7.2当量)和化合物22-2(1.8当量)处理16小时,以产生化合物50-1(4.6g,85%收率)。

[1211] 在100℃在二氧杂环己烷/水的3:1混合物中将化合物50-1(4.6g)用四(三苯基膦)钯(0)(0.05当量)、碳酸钾(2当量)和3-甲基丁-2-烯基硼酸频哪醇酯(2当量)处理,得到化合物50-2(3.99g,89%收率)。在68℃将化合物50-2(0.79g)用在四氢呋喃中的1M四丁基氟化铵(7当量)处理16小时,得到化合物50-3。

[1212] (E)-6-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-1-甲基-1,3-二氢-2H-苯并[d]咪唑-2-酮(51) [KYN-166]:



[1214] 3-甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-甲酸甲酯(51-2):将化合物51-1(10.4g,57.7mmol,1当量)、羰基二咪唑(14.0g,86.5mmol,1.5当量)在N,N'-二甲基甲酰胺(104mL)中的混合物加热至80℃保持2小时,在此时LC/MS分析指示反应完全。冷却至室温以后,在减压下除去溶剂。将1N HCl(100mL)和水(80mL)加入残余物中,并将得到的混合物在室温搅拌1小时。将固体过滤并在40℃在真空下干燥16小时,以产生作为白色固体的化合物51-2(11.5g,97%收率)。(YZ-3-165)。

[1215] 6-(羟基甲基)-1-甲基-1,3-二氢-2H-苯并[d]咪唑-2-酮(51-3):在-79℃将1M氢化铝锂在四氢呋喃中的溶液(83.7mL,83.7mmol,1.5当量)缓慢地加入化合物51-2(11.5g,55.8mmol,1当量)在无水四氢呋喃(230mL)中的溶液中。将反应物历时4小时逐渐温热至室温并搅拌过夜,在此时LC/MS分析指示反应完全。将水(10mL)、1N氢氧化钠水溶液(5mL)依次加入反应混合物中。将混合物在室温搅拌30分钟并过滤。将滤液在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(330g Sorbtech硅胶柱)上纯化,用0-10%甲醇在二氯甲烷中的梯度洗脱,以产生作为白色固体的化合物51-3(7.2g,72%收率)。(YZ-3-166)。

[1216] ((3-甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)甲基)膦酸二乙酯(51-4):将亚磷酸三乙酯(13.8mL,13.4g,40.4mmol,2当量)加入化合物51-3(7.2g,40.4mmol,1当量)和碘化锌(25.8g,80.8mmol,2当量)在无水四氢呋喃(72mL)中的溶液中。将反应混合物在70℃搅拌4小时。1H-NMR分析指示反应完全。冷却至室温以后,将反应混合物用甲基叔丁基醚(200mL)稀释并过滤。将滤液在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统(330g Sorbtech硅胶柱)上纯化,用0-6%甲醇在二氯甲烷中的溶液梯度洗脱,以产生作为白色固体的化合物51-4(2.7g,22%收率)。(YZ-3-167)。

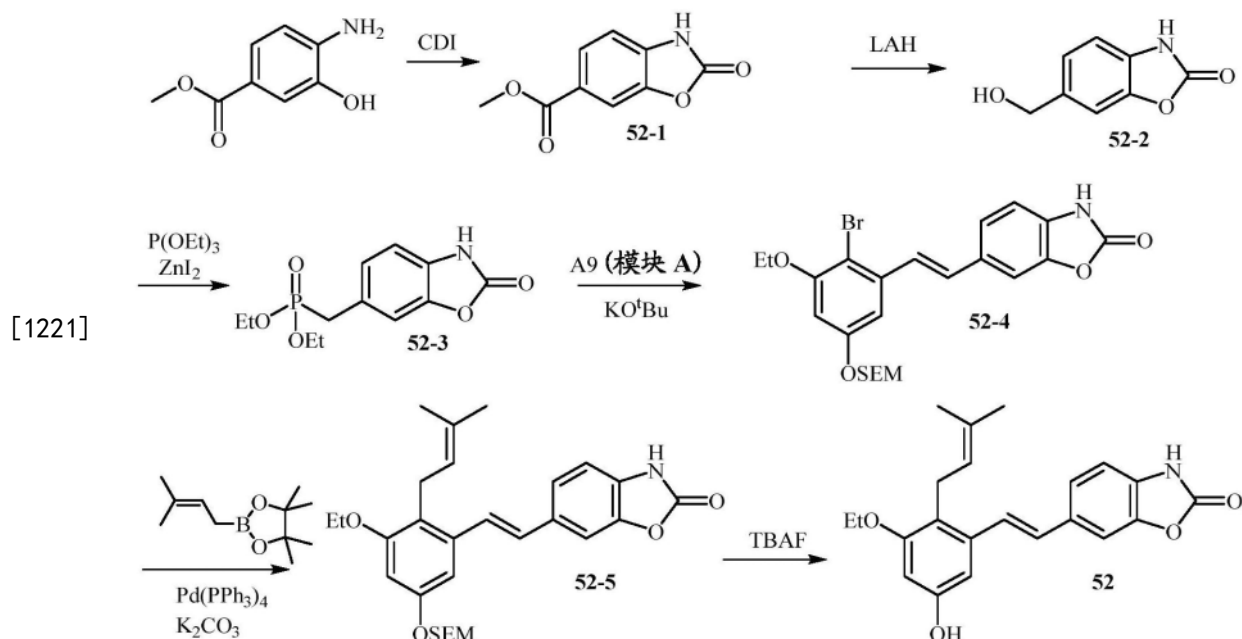
[1217] (E)-6-(2-溴-3-乙氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-1-甲基-1,3-二氢-2H-苯并[d]咪唑-2-酮(51-5):在0℃将叔丁醇钾(3.0g,27.2mmol,3当量)加入化合物51-4(2.7g,9.0mmol,1当量)在无水二甲氧基乙烷(35mL)中的溶液中。在0℃搅拌30分钟以后,逐份加入模块D(3.7g,10.0mmol,1.1当量)的溶液。将反应混合物逐渐温热至室温并搅拌20小时。LC/MS分析指示反应完全。将反应混合物用甲基叔丁基醚(200mL)和

饱和氯化铵(200mL)稀释。分离各层并将水层用另外的甲基叔丁基醚(200mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将粗产物在Biotage自动色谱法系统(330g Sorbtech硅胶柱)上纯化,用25-60%乙酸乙酯在庚烷中的梯度洗脱,以产生作为灰白色固体的化合物51-5(300mg,6%收率)。(YZ-3-168)。

[1218] (E)-6-(3-乙氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)-1-甲基-1,3-二氢-2H-苯并[d]咪唑-2-酮(51-6):将二氧杂环己烷和水的3:1混合物(16mL)用氮气鼓泡30分钟。依次加入化合物51-5(290mg,0.56mmol,1当量)、碳酸钾(32mg,1.12mmol,2当量)、四(三苯基膦)钯(0)(32mg,0.03mmol,0.05当量)和4,4,5,5-四甲基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷(220g,1.12mmol,2当量)。将反应混合物在100℃搅拌7小时。LC/MS分析指示反应完全。将反应混合物用甲基叔丁基醚(100mL)和水(100mL)稀释。分离各层并将水层用另外的甲基叔丁基醚(100mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将粗产物在Biotage自动色谱法系统(40g Sorbtech硅胶柱)上纯化,用10-40%乙酸乙酯在庚烷中的梯度洗脱,以产生作为灰白色固体的化合物51-6(160mg,56%收率)。(YZ-3-170)。

[1219] (E)-6-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)-1-甲基-1,3-二氢-2H-苯并[d]咪唑-2-酮(51)[KYN-166]:将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(2.0mL,2.0mmol,7当量)加入化合物51-6(145mg,0.29mmol,1当量)在四氢呋喃(3mL)中的溶液中。在70℃搅拌24小时以后,LC/MS分析指示反应完全。将反应混合物冷却至室温,并用乙酸乙酯(100mL)和饱和盐水(100mL)稀释。分离各层并将水层用另外的乙酸乙酯(100mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将粗产物在Interchim自动化色谱法系统(80g Sorbtech硅胶柱)上纯化,用0-5%甲醇在二氯甲烷中的溶液梯度洗脱,以产生作为灰白色固体的化合物51(29mg,27%收率,98.4%纯度)。(YZ-3-172)。HPLC分析:97.3%纯度;波长254nm,带宽4;柱:Waters Atlantis T3,2.1x50mm,3μm;保留时间:8.4min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式) $m/z=379.2(M+H)^+$; $C_{23}H_{26}N_2O_3$; ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) $\delta=7.32(s, 1H)$, $7.27(d, J=16.1Hz, 1H)$, $7.16(d, J=7.9Hz, 1H)$, $6.97(s, 1H)$, $6.94(d, J=6.6Hz, 1H)$, $6.63(d, J=2.1Hz, 1H)$, $6.31(d, J=2.0Hz, 1H)$, $5.02(br\ t, J=6.8Hz, 1H)$, $4.25-3.69(m, 4H)$, $3.42-3.34(m, 2H)$, $1.77(s, 3H)$, $1.61(s, 3H)$, $1.33(t, J=6.9Hz, 3H)$; ^{13}C NMR(100MHz, DMSO- d_6) $\delta=157.77, 156.49, 155.02, 137.69, 132.04, 130.90, 130.62, 129.79, 128.52, 124.59, 121.14, 118.77, 109.10, 105.26, 103.95, 99.67, 63.77, 26.89, 26.03, 24.37, 18.27, 18.28$ 。

[1220] (E)-6-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)苯并[d]噁唑-2(3H)-酮(52)[KYN-171]:



[1222] 2-氧代-2,3-二氢苯并[d]噁唑-6-甲酸甲酯 (52-1): 将4-氨基-3-羟基苯甲酸甲酯 (10g, 59.8mmol, 1当量)、羰基二咪唑 (14.5g, 89.7mmol, 1.5当量) 在N,N'-二甲基甲酰胺 (100mL) 中的混合物加热至80℃保持2小时, 在此时LC/MS分析指示反应完全。冷却至室温以后, 在减压下除去溶剂。将1N HCl (120mL) 加入残余物中并将得到的混合物在室温搅拌3小时。将固体过滤并在40℃在真空下干燥16小时, 以产生作为灰白色固体的化合物52-1 (11.6g, 99%收率, 97%纯度)。(CH-QZH-01-17)。

[1223] 6-(羟基甲基)苯并[d]噁唑-2(3H)-酮 (52-2): 在0℃以维持反应温度低于5℃的速率将1M氢化铝锂在四氢呋喃中的溶液 (39mL, 39mmol, 1.5当量) 加入化合物52-1 (5g, 25.6mmol, 1当量) 在四氢呋喃 (120mL) 中的混合物中。将反应物在室温搅拌过夜, 在此时LC/MS分析指示反应完全。将反应物冷却至5℃, 将水 (1.5mL)、4N氢氧化钠溶液 (3mL) 和水 (6mL) 依次加入。将混合物在室温搅拌30分钟并过滤。将滤液在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (220g Sorbtech硅胶柱) 上纯化, 用0-10%甲醇在二氯甲烷中的梯度洗脱, 以产生作为黄色固体的化合物52-2 (1.03g, 24%收率)。(CH-QZH-01-021)。

[1224] ((2-氧代-2,3-二氢苯并[d]噁唑-6-基)甲基)膦酸二乙酯 (52-3): 将亚磷酸三乙酯 (3.8mL, 3.73g, 22.48mmol, 2当量) 加入化合物52-2 (1.86g, 11.24mmol, 1当量) 和碘化锌 (7.18g, 22.48mmol, 2当量) 在四氢呋喃 (55mL) 中的溶液中。将反应混合物在70℃搅拌3小时。1H-NMR分析指示反应完全。冷却至室温以后, 将反应物用甲基叔丁基醚 (200mL) 稀释并过滤。将滤液在减压下浓缩。将残余物在Interchim自动化色谱法系统 (220g Sorbtech硅胶柱) 上纯化, 用0-5%甲醇在二氯甲烷中的溶液梯度洗脱, 以产生作为灰白色固体的化合物52-3 (1.9g, 59%收率)。(YZ-3-151)。

[1225] (E)-6-(2-溴-3-乙氧基-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)苯并[d]噁唑-2(3H)-酮 (52-4): 在0℃将叔丁醇钾 (2.10g, 18.96mmol, 3当量) 加入化合物52-3 (1.8g, 6.30mmol, 1当量) 在无水二甲氧基乙烷 (53mL) 中的溶液中。在0℃搅拌1小时以后, 缓慢地加入模块D (2.61g, 6.96mmol, 1.1当量) 在无水二甲氧基乙烷 (10mL) 中的溶液。将反应混合物逐渐温热至室温并搅拌2天。LC/MS分析指示反应完全。将反应混合物用甲基叔丁基

醚(200mL)和饱和氯化铵水溶液(200mL)稀释。分离各层并将水层用另外的甲基叔丁基醚(200mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将粗产物在Biotage自动色谱法系统(220g Sorbtech硅胶柱)上纯化,用5-30%乙酸乙酯在庚烷中的梯度洗脱,以产生作为灰白色固体的化合物52-4(0.94g,29%收率)。(YZ-3-155)。

[1226] (E)-6-(3-乙氧基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-5-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲氧基)苯乙烯基)苯并[d]噻唑-2(3H)-酮(52-5):将二氧杂环己烷/水(45mL/15mL)的混合物用氮气鼓泡30分钟。依次加入化合物52-4(0.94g,1.86mmol,1当量)、碳酸钾(0.51g,3.72mmol,2当量)、四(三苯基膦)钯(0)(0.11g,0.08mmol,0.05当量)和4,4,5,5-四甲基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷(0.73g,3.72mmol,2当量)。将反应混合物在100℃搅拌20小时。LC/MS分析指示反应完全。将反应混合物用甲基叔丁基醚(200mL)和水(200mL)稀释。分离各层并将水层用另外的甲基叔丁基醚(200mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将粗产物在Biotage自动色谱法系统(220g Sorbtech硅胶柱)上纯化,用5-30%乙酸乙酯在庚烷中的梯度洗脱,以产生作为白色固体的化合物52-5(0.54g,59%收率)。(YZ-3-156)。

[1227] (E)-6-(3-乙氧基-5-羟基-2-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯乙烯基)苯并[d]噻唑-2(3H)-酮(52):将1M的四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(4.9mL,4.94mmol,7当量)加入化合物52-5(0.35g,0.71mmol,1当量)在无水四氢呋喃(5mL)中的溶液中。将反应混合物在70℃搅拌24小时。LC/MS分析指示产生痕量产物,但是大部分起始材料保持未反应。将反应混合物的体积在减压下浓缩至约1mL并在70℃搅拌另外24小时。LC/MS分析指示反应完全。将反应混合物用乙酸乙酯(100mL)和饱和盐水(100mL)稀释。分离各层并将水层用另外的乙酸乙酯(100mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将粗产物在Interchim自动化色谱法系统(80g Sorbtech硅胶柱)上纯化,用0-2%甲醇在二氯甲烷中的溶液梯度洗脱,以产生作为白色固体的化合物52(58mg,>95%纯度,和78mg,约70%纯度,53%总收率)。(YZ-3-158)。HPLC分析:97.0%纯度;波长254nm,带宽4;柱:Waters Atlantis T3,2.1x50mm,3μm;保留时间:8.9min;流动相:ACN/甲酸/水;质谱图(正模式)m/z=366.2(M+H)⁺;C₂₂H₂₃NO₄; ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ=11.65(br s,1H),9.20(br s,1H),7.56(s,1H),7.38-7.23(m,2H),7.07(d,J=8.1Hz,1H),6.95(d,J=16.0Hz,1H),6.66-6.58(m,1H),6.36-6.27(m,1H),5.01(br t,J=6.4Hz,1H),3.94(q,J=6.8Hz,2H),3.41-3.34(m,2H),1.74(s,3H),1.60(s,3H),1.33(t,J=6.8Hz,3H); ¹³C NMR(100MHz,DMSO-d₆) δ=157.70,156.57,154.94,144.44,137.36,132.39,130.35,129.81,129.71,125.91,124.51,123.41,118.94,110.22,107.20,104.16,99.96,63.74,25.98,24.27,18.25,15.25。

[1228] 细胞研究

[1229] 在人癌细胞系中与化合物1-15有关的体外研究

[1230] 简介

[1231] 评价了化合物1-15,并在针对多种癌症类型的细胞生存力测定中检查了它们对癌症生长的影响(表1-5)。在使用前通过短串联重复序列基因组分析验证了得自ATCC(美国典型培养物保藏中心)的癌细胞,包括胰腺癌、膀胱癌、肾癌、结肠癌、乳腺癌、肺癌、肝癌和骨肉瘤(Reid Y,Storts D,Riss T和Minor L.Authentication of Human Cell Lines by STR DNA Profiling Analysis.2013年5月1日.见:Markossian S,Sittampalam GS,

Grossman A, 等人, 编. Assay Guidance Manual. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company 和 National Center for Advancing Translational Sciences; 2004.)。对每种癌细胞系的实验方案在使用前根据文献报告进行了验证和优化(表1-3)。

[1232] 细胞培养/分子生物学方案

[1233] 哺乳动物细胞系的冷冻保存

[1234] 根据生产商的说明, 使癌细胞在100mm平板上生长。除去培养基后, 通过在PBS (1x) 中洗涤来分开细胞, 然后加入胰蛋白酶 (1mL), 然后在37℃温育2-5分钟。将细胞重新悬浮在细胞培养基中, 然后转移进15mL Falcon管中, 并然后在室温 (RT) 以1,000rpm离心5分钟。除去上清液, 并将细胞沉淀物重新悬浮在胎牛血清 (900μL) 中。将细胞悬浮液 (900μL) 转移进含有DMSO (100μL) 的1mL冷冻小瓶中。小心确保冷冻培养基中的细胞在室温具有最小暴露 (< 10min)。然后将冷冻小瓶转移到含有异丙醇的CoolCell1中并在-80℃储存。CoolCell1确保温度以1℃/分钟的速度稳定下降。24h后将冷冻小瓶从CoolCell1取出, 然后转移到液氮中进行长期储存。对于每个细胞系, 将至少4个等分试样储存在LN2中。

[1235] 将癌细胞解冻和传代

[1236] 从LN2罐中取出冷冻小瓶并保持在室温, 直到侧面解冻但中心保持冷冻。将温热培养基 (9mL) 逐滴添加给部分冷冻的细胞。将细胞悬浮液在室温以1,000rpm离心5分钟。除去上清液, 将细胞沉淀物重新悬浮在1mL培养基中。将悬浮液转移进100mm培养板, 并在37℃温育24h。在强烈附着后, 给细胞提供新鲜培养基。每3天重复培养基更换, 直到细胞密度达到汇合。当细胞达到大约80%汇合 (烧瓶表面的80%被细胞单层覆盖) 时进行继代培养。将1:3至1:10的分流比用于确保细胞准备好进行实验。进行继代培养至10代或更少。

[1237] 细胞生存力测定

[1238] 将 1.7×10^3 个细胞/孔在铺板后一式四份接种在96孔板中。以5μM和18个浓度 (0.000038146-5μM浓度范围) 的2倍稀释度添加药物以生成剂量-应答曲线。根据生产商的方案, 使用CellTiter Glo发光细胞生存力测定 (Promega) 在药物处理后的第1、3和5天评估细胞生长。将Thermo Scientific Varioskan LUX Multimode Microplate仪器用于平板读出。将数据表示为平均发光 (任意单位) $\pm$ S.D.

[1239] IC_{50} 计算

[1240] 采用细胞生存力测定来确定当应答降低一半时化合物1 (KYN-001) 和类似物的浓度。对于癌细胞的每次处理, 应用1、2、5、10和20μM的化合物溶液。将GraphPad Prism 7软件用于拟合剂量应答曲线。将相对发光单位相对于所用剂量的对数值作图, 并将非线性回归模型用于数据分析。

[1241] 结果

[1242] 化合物1 (KYN-001) 和类似物对癌细胞的生存力的影响

[1243] 使用CellTiter Glo发光细胞生存力测定评估了外源添加的化合物对癌细胞增殖的时间和剂量依赖性影响。在所有情况下计算应答减半时的药物浓度 (IC_{50})。与母体化合物1 (KYN-001) 的抑制作用相比, 化合物1 (KYN-001) 类似物 (8 (KYN-119) 和27 (KYN-149)) 的抑制作用显示在表1-5中。

[1244] 在表1和2中试验的所有细胞系中评价的化合物中, 化合物8 [KYN-119] 是最有效的 (最低 IC_{50})。化合物17 [KYN-120]、23 (KYN-125)、29 (KYN-128) 和33 (KYN-126) 的效力略低于

母体化合物1。在化合物22 (KYN-124) 的情况下观察到抗增殖作用的丧失。

[1245] 针对化合物8 (KYN-119) 优化了细胞增殖方案,以更准确地评估其低 IC_{50} 值。在该方案中,将18个剂量(2倍稀释度,范围为0.000038146-5 μ M)应用于接种在96孔板中的细胞,并在处理后1、3和5天后测量发光。值得注意的是,在剂量<1 μ M处理后第1天,1和8均不影响细胞生存力。这一观察结果表明,在<1 μ M剂量,化合物1 (KYN-001) 和8 (KYN-119) 对细胞没有毒性。

[1246] 对83个癌细胞系进行了关于1 [KYN-001] 和8 [KYN-119] 的比较研究(表3)。1 [KYN-001] 对以下细胞系显示出有效活性,具有在0.01-0.1 μ M范围内的 IC_{50} 值:舌SCC-15,CAL 27,UPCI:SCC090,SCC-4;平滑肌肉瘤SK-UT-1B,SK-LMS-1;膀胱UMUC_3,SCABER,5637,RT-112;乳房MDA-MB-231;肝SNU-423,SNU-398,Huh7;结缔组织肉瘤TE 381.T,HT-1080;骨肉瘤MG3,KHOS_N/P;肺NCI-H661,NCI-H1299,NCI-H2126,BEAS-2B,NCI-H1048;下咽UPCI:SCC152;纤维肉瘤SW 684;脂肪肉瘤93T449,94T778;咽FADU;横纹肌肉瘤SJCRH30,CCL 166;肾CCL 166。平均而言,8 [KYN-119] 的活性是1 [KYN-001] 的10倍。8 [KYN-119] 对以下细胞系表现出非常有效的活性,具有在0.001-0.01 μ M范围内的 IC_{50} 值:肺NCI-H2126,NCI-H1299;膀胱RT-112,5637,UMUC_3;骨肉瘤T1-73,MG3;纤维肉瘤SW 684;横纹肌肉瘤CCL 166;肝SNU-398;乳房MDA-MB-231;肾Caki-1;胰腺CAPAN-2。8 [KYN-119] 对以下细胞系表现出有效活性,具有在0.01-0.1 μ M范围内的 IC_{50} 值:膀胱SCABER,HT-1197,T24,J82;结肠SW_480,HT_116;结缔组织肉瘤HT-1080;尤因肉瘤HTB-166;下咽UPCI:SCC152;肾ACHN,SK-NEP-1,769-P,786-0;平滑肌肉瘤SK-LMS-1;脂肪肉瘤93T449,94T778;肝HepG2,Huh7,SNU-475,JHH-6;肺NCI-H661,NCI-H1048,BEAS-2B,NCI-H1437,NCI-H1563,NCI-H1573,A549;骨肉瘤KHOS_N/P,SAOS-2,Hs888.T,HOS_CRL_1543,KHOS_312H,U2OS;胰腺PANC-1,MIA PaCa-2,CFPAC;咽FADU;横纹肌肉瘤TE 159.T,A-204,SJCRH30,Hs 729;舌SCC-15,SCC-4,UPCI:SCC090,CAL 27,SCC-9。

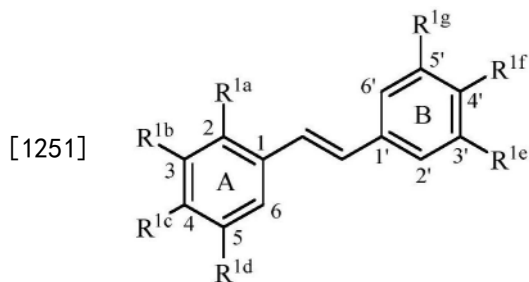
[1247] 使用经优化的细胞增殖方案试验了化合物1 [KYN-001] 的类似物(包括化合物8 [KYN-129]、12 [KYN-130] 和13 [KYN-131]) 对癌细胞生存力的效力,以及化合物1 [KYN-001] 和9 [KYN-119] 对癌细胞生存力的效力,并将结果显示在表4中。这些化合物的效力都没有超过9 [KYN-119]。在处理3天后,化合物12 [KYN-130] 和13 [KYN-131] 对癌细胞生长抑制表现出与1 [KYN-001] 类似的活性。在化合物8 [KYN-129] 中观察到抗增殖作用的完全丧失。

[1248] 在8个实验中进行了1 [KYN_001] 和8 [KYN-119] 和它们的类似物的比较评估,即对A498和MIA PaCa-2癌细胞系的 IC_{50} 值(μ M) (表5A和5B)。

[1249] 仅对于化合物30 [KYN-142] 观察到在 IC_{50} 值小于0.1 μ M的有效范围内的对A498细胞表现出的活性。在0.1-1 μ M的中等有效范围内的化合物的活性顺序(高至低)如下:2、3、4、7、8、9、10、11、12、17、20、23、27、28、29、33、34、38 [KYN-155、131、138、120、130、143、136、132、125、128、119、139、146、140、133、147、149、126]。仅对于28 [KYN-143] 观察到在小于0.001 μ M的 IC_{50} 值的非常有效范围内对MIA PaCa-2细胞表现出的活性。具有在非常有效的0.01-0.1 μ M范围内的 IC_{50} 值的化合物的活性顺序如下:1、5、8、10、20、27、30 [KYN-149、119、153、146、142、001、131]。具有在有效0.1-1 μ M范围内的 IC_{50} 值的化合物如下:2、3、4、9、11、23、29、32、34 [KYN-130、138、147、132、125、128、139、148、140]。

[1250] 基于表1-5中的 IC_{50} 值的化合物1-49和51 [KYN-001、KYN-119、KYN-120、KYN-124、KYN-125、KYN-126、KYN-128至KYN-134、KYN-136至KYN-169] 的癌细胞生存力抑制构效关系

(SAR)。



[1252] 基于先导化合物1 [KYN-001], 制备了在化学结构中具有变化的类似物以改变在均二苯乙烯核心上的取代基, 从而改善和优化生物活性、生物利用度和溶解度性能。

[1253] 通过有机合成进行1 [KYN-001] (R^{1a} =异戊二烯基) 的异戊二烯基取代基的变化, 以产生下述类似物: 45 [KYN-112] (R^{1a} =Br), 7 [KYN-136] (R^{1a} =苄基), 6 [KYN-134] (R^{1a} =烯丙基), 2 [KYN-138] (R^{1a} =E-巴豆基 ((E)-丁-2-烯-1-基)), 3 [KYN-139] (R^{1a} =Z-巴豆基 ((Z)-丁-2-烯-1-基)), 4 [KYN-140] (R^{1a} =异巴豆基 (丁-3-烯-2-基))。一般而言, 除了具有E-巴豆基基团的2 [KYN-138] 显示出与1 [KYN-001] 相当的生物活性以外, 所有变体都显示出降低的生物活性 (表1、4和5)。2 [KYN-138] 被计算为具有较低亲脂性, 且水溶性是1 [KYN-001] 的约3倍, 表明它可能具有更好的生物利用度和药代动力学性能。

[1254] 制备以下类似物, 其具有对1 [KYN-001] (R =OMe) 的 R^{1b} 取代基的变化: 8 [KYN-119] (R =OEt), 9 [KYN-130] (R =丙氧基), 10 [KYN-131] (R =异丙氧基), 11 [KYN-132] (R =三氟甲氧基), 46 [KYN-145] (R =三氟甲基)。用三氟甲基基团对甲氧基基团的替代导致对所试验细胞系的生物活性的完全丧失。具有乙氧基基团的8 [KYN-119] 在83种细胞系中显示出癌细胞生存力抑制的平均10倍增强 (表3)。对于9 [KYN-130] (R =丙氧基) 和10 [KYN-131] (R =异丙氧基), 烷基基团大小的进一步延伸导致相当的或更弱的生物活性, 而且, 这些化合物被计算为比1 [KYN-001] 显著更亲脂和低得多的水溶性。

[1255] 来自试验细胞系的1 [KYN-001] (R^{1e} =OMe) 类似物12 [KYN-133] (R^{1e} =OEt) 显示癌细胞生存力抑制的约10倍降低。这与具有从1 [KYN-001] 的乙氧基基团变化的8 [KYN-119] 的10倍增强形成鲜明对比。其它1 [KYN-001] (R^{1e} =OMe) 类似物15 [KYN-158] (R^{1e} =NHMe)、16 [KYN-157] (R^{1e} =NHMe)、41 [KYN-161] (R^{1e} =NHMe) 被试验为无活性或弱活性。

[1256] 制备1 [KYN-001] 类似物, 其具有对1 [KYN-001] (R^{1f} =OH) 的 R^{1f} 取代基的变化。用氨基基团对羟基基团的替代会为额外化学结构的添加提供额外价。具有氨基基团的类似物23 [KYN-125] 显示出与1 [KYN-001] 相比在试验的细胞系上相似但总体上降低的活性。由于通过氮可获得的额外价, 将23 [KYN-125] 的一系列氨基衍生物制备为化合物25、26、27、29、31、33、36 [KYN-126、128、129、137、149、150、151]。乙酰胺衍生物29 [KYN-128] (R^{1f} =-(CO)CH₃) 显示出与1 [KYN-001] 相似的活性, 且在两种细胞系上试验的甲酰胺衍生物27 [KYN-149] (R^{1f} =-(CO)H) 显示对MIA PaCa-2细胞的0.015 μ M的IC₅₀值, 其有效性是1 [KYN-001] 的约5倍。总体而言, 所有大于乙酰胺的氨基衍生物都显示出更弱的抑制或无活性。用羧基基团对1 [KYN-001] 的 R^{1f} 羟基基团的替代产生类似物21 [KYN-154] (R^{1f} =COOH), 其在两种细胞系A498和MIA PaCa-2上具有大于3 μ M的IC₅₀。用甲基基团替代1 [KYN-001] 的 R^{1g} 氢原子以产生类似物17 [KYN-120] (R^{1g} =CH₃), 导致对所试验的六种细胞系的抑制活性的约3倍降低 (表2)。对于具有额外羟基基团的类似物18 [KYN-156] (R^{1g} =OH), 观察到类似的活性损失 (表

5A)。像在类似物19[KYN-160] ($R^{1g}=OH$) 中一样移动1[KYN-001]的 R^{1f} 羟基基团也强烈削弱了试验的细胞系中的活性。

[1257] 对1[KYN-001]化学结构进行单个取代基变化的情况下,发现两种取代基变化独立增强癌细胞生存力抑制,如用化合物8[KYN-119] ($R^{1b}=OEt$) 观察到的 $R^{1d}=OEt$,和用化合物27[KYN-149] ($R^{1f}=-NH(CO)H$) 观察到的 $R^{1f}=NH(CO)H$ 。制备了具有这两种取代基变化的化合物28[KYN-143] ($R^{1b}=OEt$; $R^{1f}=NH(CO)H$), 并发现其对A498 (IC_{50} 0.18 μM) 和MIA PaCa-2 (IC_{50} 0.00094 μM) 细胞系的增强了的许多的抑制。这些抑制值与化合物8[KYN-119]相比更优,后者对A498 (IC_{50} 0.36 μM) 和MIA PaCa-2 (IC_{50} 0.025 μM) 细胞系表现出更少的抑制。如在类似物40[KYN-159] ($R^{1e}=OH$) 中用羟基基团替代28[KYN-143]的 R^{1e} 甲氧基基团会非常强烈地削弱在所试验的两种细胞系中的活性(表5A)。如在类似物39[KYN-165] ($R^{1f}=N(OH)(CO)H$) 中,28[KYN-143]的羟基基团的N-羟基衍生物导致在所试验的两种细胞系中抗癌活性的几乎完全丧失(表5B)。

[1258] 用硝基对1[KYN-001]的 R^{1d} 羟基基团的替代产生了类似物42[KYN-162] ($R^{1d}=NO_2$), 这导致对两种细胞系的抗癌活性的几乎完全丧失(表5A)。当将 R^{1d} 硝基转化成氨基43[KYN-163] ($R^{1d}=NH_2$) 并进一步转化成甲酰胺基团44[KYN-164] ($R^{1d}=NH(CO)H$) 时,没有观察到活性的显著增强(表5A)。

[1259] 用氨基基团对1[KYN-001]的 R^{1b} 羟基基团的替代产生了类似物47[KYN-167] ($R^{1b}=NH_2$), 它对两种细胞系产生了不确定的抗癌活性应答(表5B)。将甲酰胺和乙酰胺衍生物分别制备为48[KYN-168] ($R^{1b}=NH(CO)H$) 和49[KYN-169] ($R^{1b}=NH(CO)Me$), 它们经测定对两种癌细胞系具有与1[KYN-001]相当的抗癌活性(表5A)。

[1260] 具有通过连接 R^{1e} 和 R^{1f} 而耦合的5元杂环的8[KYN-119]类似物即化合物51[KYN-166]和化合物52[KYN-171]对试验的两种细胞系没有表现出显著活性(表5A)。

[1261] 表1. 在药物处理后第3天化合物1、13、14、45[KYN-001、112、114、118]的 IC_{50} 值(μM) (基于在0.0001-20 μM 范围内的10个剂量) [2018年10月31日]

化合物 编号	癌症	结肠	胰腺	乳房	膀胱	肾
	细胞系 /KYN 代码	SW_480	MIA PaCa-2	MDA-MB-231	RT-112	CRL-1611
1	KYN-001	0.298	0.204	0.0293	0.105	0.0937
13	KYN-114	26.47	3.003	N/A	0.949	2.12
14	KYN-118	N/A	3.47	约 10.6	1.33	2.96
45	KYN-112	10.8	20.4	约 10.3	N/A	N/A

[1263] 表2. 在药物处理后第5天化合物1、17、22、23、29、33的 IC_{50} 值(μM) (基于在0.0001-20 μM 范围内的10个剂量,且对于化合物8,在0.000038146-5 μM 范围内的18个剂量) [2018年10月31日,2019年6月9日校正]

[1264]

	癌症	膀胱	膀胱	乳房	结肠	肾	胰腺
化合物	细胞系	5637	RT-112	MDA-MB-231	HCT_116	ACHN	MIA PaCa-2
1	KYN-001	0.0306	0.0287	0.0573	0.165	0.0897	0.0507
8	KYN-119	约 0.00943	约 0.00565	约 0.00000253	0.028	约 0.0000135	约 0.00047
17	KYN-120	0.104	0.115	0.246	0.353	0.283	0.182
22	KYN-124	N/A	N/A	6.2	N/A	N/A	N/A
23	KYN-125	0.0653	0.0682	0.138	0.474	0.26	0.18
29	KYN-128	0.0674	0.0764	0.155	0.627	0.281	0.185
33	KYN-126	0.0859	0.0955	0.169	0.68	2.84	0.0968

[1265] 表3.通过CellGlow Titer Assay评估的1[KYN-001]和8[KYN-119]化合物对癌细胞的生存力的影响,计算为 IC_{50} μ M。将细胞在铺板后24h用18个(2倍)稀释度(浓度范围:5-0.00003 μ M)处理,并在处理3天后进行发光测量。报告了7个实验的组合结果;18年10月31日、18年12月19日、19年5月15日、19年6月4日、19年6月6日、19年6月8日、19年6月19日。

[1266]

癌症	细胞系	化合物 1 [KYN-001]			化合物 8 [KYN-119]			IC ₅₀ 倍数
		平均 IC ₅₀ μM	标准偏差	n	平均	标准偏差	n	
膀胱	5637	0.0347	0.0044	2	0.00391	0.00064	2	8.9
膀胱	HT_1376	N/A		0	0.610		1	
膀胱	HT-1197	0.258		1	0.0115		1	22
膀胱	J82	0.184		1	0.0465		1	4.0
膀胱	RT-112	0.0529	0.045	3	0.00363	0.00066	2	15
膀胱	RT4	N/A		0	1.67		1	
膀胱	SCABER	0.0337		1	0.0101		1	3.3
膀胱	SW780	0.712		1	0.217		1	3.3
膀胱	T24	0.129		1	0.0225		1	5.8
膀胱	TCCSUP	0.294		1	0.112		1	2.6
膀胱	UMUC_3	0.0313		1	0.00548		1	5.7
膀胱	UMUC-14	1.16		1	0.563		1	2.1
乳房	MCF7	0.694	0.19	2	0.136	0.028	2	5.1
乳房	MDA-MB-231	0.0326	0.0046	3	0.00848	0.0050	2	3.8
结肠	HCT_116	0.416	0.077	2	0.0355	0.020	2	12
结肠	SW_480	0.179	0.11	3	0.0179	0.0030	2	10
结缔组织肉瘤	HT-1080	0.0367		1	0.0173		1	2.1
结缔组织肉瘤	TE 381.T	0.0357		1	0.00750		1	4.8
尤因肉瘤	HTB-166	0.257		1	0.0492		1	5.2
纤维肉瘤	SW 684	0.0552		1	0.00463		1	12
下咽	UPCI:SCC152	0.0463		1	0.0230		1	2.0
肾	769-P	N/A		0	0.0337		1	
肾	786-O	0.334		1	0.0648		1	5.1
肾	A-498	2.81	4.8	5	0.329	0.25	4	8.5
肾	ACHN	0.494	0.0027	2	0.0104	0.0011	3	48
肾	Caki-1	0.103		1	0.00890		1	12
肾	Caki-2	1.12		1	0.281		1	4.0
肾	CRL-1611	0.0937		1				
肾	HTB-45	1.73		1	0.463		1	3.7
肾	SK-NEP-1	0.158		1	0.0178		1	8.9
平滑肌肉瘤	SK-LMS-1	0.0659		1	0.0175		1	3.8
平滑肌肉瘤	SK-UT-1B	0.0226		1	0.00639		1	3.5
脂肪肉瘤	93T449	0.0555		1	0.0151		1	3.7
脂肪肉瘤	94T778	0.0845		1	0.0257		1	3.3

[1267]

肝	HepG2	0.212	0.0030	2	0.0202	0.00005	2	11
肝	Huh7	0.0789	0.0017	2	0.0206	0.00049	2	3.8
肝	JHH-5	N/A		0	4.37	3.5	2	
肝	JHH-6	0.172	0.0008	2	0.0364	0.0022	2	4.7
肝	JHH-7	0.696	0.87	2	0.519	0.16	2	1.3
肝	SNU-398	0.0429	0.0002	2	0.00815	0.00014	2	5.3
肝	SNU-423	0.0338	0.0002	2	0.00623	0.00029	2	5.4
肝	SNU-475	0.239	0.21	2	0.0324	0.00037	2	7.4
肺	A549	0.163	0.039	2	0.0309	0.00066	2	5.3
肺	BEAS-2B	0.0764	0.0017	2	0.0150	0.00054	2	5.1
肺	NCI-H1048	0.0917		1	0.0145	0.0035	2	6.3
肺	NCI-H1299	0.0624	0.0026	2	0.00856	0.00001	2	7.3
肺	NCI-H1437	0.347		1	0.0166		1	21
肺	NCI-H1563	0.449		1	0.0195		1	23
肺	NCI-H1573	0.217	0.016	2	0.0205	0.00080	2	11
肺	NCI-H2126	0.0754		1	0.00173		1	44
肺	NCI-H596	0.303	0.12	2	0.115	0.034	2	2.6
肺	NCI-H661	0.0366	0.0025	2	0.0115	0.0011	2	3.2
骨肉瘤	HOS_CRL 1543	0.358	0.32	3	0.0320	0.0023	3	11
骨肉瘤	Hs888.T	0.210	0.049	2	0.0261	0.0020	2	8.1
骨肉瘤	KHOS_312H	0.356	0.25	2	0.0367	0.00071	3	9.7
骨肉瘤	KHOS_N/P	0.0687	0.0090	3	0.0105	0.00011	3	6.6
骨肉瘤	MG3	0.0359	0.0041	3	0.00688	0.00039	3	5.2
骨肉瘤	SAOS-2	0.110	0.046	2	0.0154	0.0020	3	7.2
骨肉瘤	SJSA_1	2.30		1	9.58	6.7	2	0.2
骨肉瘤	T1-73	0.804		1	0.00393	0.00022	2	205
骨肉瘤	U2OS	0.325	0.25	3	0.0368	0.0040	3	8.8
胰腺	AsPC-1n	N/A		0	2.00	1.4	3	
胰腺	BxPC3	1.06	0.48	2	0.355	0.082	2	3.0
胰腺	CAPAN-1	6.22	6.7	2	4.69		1	1.3
胰腺	CAPAN-2	0.182	0.12	3	0.00975	0.00062	3	19
胰腺	CFPAC	0.492	0.15	3	0.0824	0.013	3	6.0
胰腺	HPAC	4.99	5.2	2	1.97	1.4	2	2.5
胰腺	HPAFII	1.07	0.63	2	0.403	0.15	3	2.7
胰腺	MIA PaCa-2	0.127	0.057	6	0.0181	0.015	4	7.0
胰腺	PANC-1	0.107	0.043	2	0.0115	0.0025	2	9.3
咽	DETROIT	1.17		1	0.438		1	2.7
咽	FADU	0.0744		1	0.0371		1	2.0

[1268]

横纹肌肉瘤	A-204	N/A		0	0.0307		1	
横纹肌肉瘤	CCL 166	0.0960		1	0.00605		1	16
横纹肌肉瘤	Hs 729	0.383		1	0.0649		1	5.9
横纹肌肉瘤	SJCRH30	0.0823		1	0.0434		1	1.9
横纹肌肉瘤	TE 159.T	0.147		1	0.0196		1	7.5
舌	CAL 27	0.0568		1	0.0383		1	1.5
舌	SCC-15	0.0170		1	0.0149		1	1.1
舌	SCC-25	0.744		1	0.276		1	2.7
舌	SCC-4	0.100		1	0.0239		1	4.2
舌	SCC-9	0.181		1	0.0755		1	2.4
舌	UPCI:SCC090	0.0901		1	0.0260		1	3.5

平均倍数

10.0

[1269] 将0.005%-4.88x10⁻⁶%-3x10⁻⁸%DMSO浓度在测定中用作阴性对照,因为这些稀释度对应于在试验的18个药物浓度范围内DMSO的最高、中间和最低浓度。

[1270] IC₅₀ (μM) 值对应于log (抑制剂) vs. 应答 (四个参数), 并使用GraphPad Prism8产生剂量-应答图。

[1271] 表4.通过CellGlow Titer Assay评估的化合物对癌细胞的生存力的影响,计算为IC₅₀ μM。将细胞在铺板后24h用18个 (2倍) 稀释度 (浓度范围:5-0.00003μM) 处理,并在处理3天后进行发光测量。报告了实验的组合结果;19年6月4日,19年6月6日,19年6月8日。

[1272]

化 合 物		癌症	膀胱	肾	肾	胰腺	胰腺	肺
	KYN #	细胞系	RT-112	ACHN	A-498	MIA PaCa-2	CAPAN-1	NCI-H1299
1	KYN-001	平均	0.027	0.496	0.888	0.109	1.46	0.0642
		标准偏差	0.0029		0.733	0.0437		
		n	2	1	3	3	1	1
8	KYN-119	平均	0.00409	0.0098	0.2099	0.0103	2.45	0.00856
		标准偏差		0.0004		0.0005	3.17	
		n	1	2	1	2	2	1

[1273]

2	KYN-138	实验 D			0.119	0.117		
4	KYN-139	实验 D			0.381	0.361		
5	KYN-140	实验 D			0.755	0.667		
6	KYN-134	实验 C	0.862			1.59		
7	KYN-136	实验 C	0.17			0.288		
9	KYN-130	实验 A	0.022	0.609		0.019	N/A	
10	KYN-131	实验 A	0.0256	0.0409		0.0371	2.237	
11	KYN-132	实验 B	0.0392		0.665	0.104		0.193
12	KYN-133	实验 B	0.347		N/A	0.822		0.827
25	KYN-137	实验 D			7.74	N/A		
26	KYN-129	实验 A	N/A	N/A		N/A	N/A	
46	KYN-145	实验 C	N/A			N/A		

[1274] 表5A.通过CellGlow Titer Assay评估的化合物对癌细胞的生存力的影响。1 [KYN-001]和27 [KYN-149]、及其类似物的IC₅₀ (μM) 的比较评估。将细胞用11个稀释度 (浓度范围:3-0.00001μM) 处理。报告了7个实验的组合结果;

[1275]

		癌症	肾	胰腺
化合物		细胞系	A-498	MIA PaCa-2
1	KYN-001	实验 E	0.0522	0.0645
		实验 F	1.354	0.0697
		实验 G	1.596	0.0847
		实验 H	1.271	0.0663
		实验 I	1.612	0.1054
		实验 J	1.557	0.0725
		实验 K	0.5509	0.1012
		平均	1.1419	0.0806
		标准偏差	0.6052	0.0169

		癌症	肾	胰腺
化合物		细胞系	A-498	MIA PaCa-2
2	KYN-138	实验 E	0.132	0.135
3	KYN-153	实验 G	1.194	0.0275
4	KYN-139	实验 E	0.545	0.52
5	KYN-140	实验 E	0.754	0.746
6	KYN-134	实验 E	1.09	1.28
7	KYN-136	实验 E	0.199	N/A
9	KYN-130	实验 E	0.147	0.115
10	KYN-131	实验 E	0.126	0.0812
11	KYN-132	实验 E	0.202	0.207
12	KYN-133	实验 E	0.91	1.09
15	KYN-158	实验 J	> 3	>3

[1276]

8	KYN-119	实验 E	0.0404	0.0408
		实验 F	0.414	0.0152
		实验 G	0.604	0.0243
		实验 H	0.37	0.0178
		实验 I	0.721	0.0345
		平均	0.43	0.0265
		标准偏差	0.26	0.0109

27	KYN-149	实验 G	0.932	0.0147
		实验 J	0.9844	0.01341
		实验 K	0.2688	0.0168
		平均	0.7284	0.0150
		标准偏差	0.3989	0.0017

[1277]

16	KYN-157	实验 I	> 3	> 3
17	KYN-120	实验 E	0.142	1.15
18	KYN-156	实验 I	约 3	约 1
19	KYN-160	实验 J	> 3	0.9213
20	KYN-146	实验 F	0.714	0.0473
21	KYN-154	实验 H	约 3	> 3
22	KYN-124	实验 E	N/A	N/A
23	KYN-125	实验 E	0.234	0.352
24	KYN-141	实验 E	N/A	N/A
25	KYN-137	实验 E	15	N/A
26	KYN-129	实验 E	N/A	N/A
28	KYN-143	实验 F	0.181	0.000936
29	KYN-128	实验 E	0.27	0.491
30	KYN-142	实验 E	0.0479	0.0608
31	KYN-151	实验 G	> 3	3.18
32	KYN-148	实验 G	1.835	0.54
33	KYN-126	实验 E	0.988	2.04
34	KYN-147	实验 F	0.915	0.173
35	KYN-152	实验 G	> 3	N/A
36	KYN-150	实验 G	N/A	N/A
37	KYN-144	实验 F	N/A	> 3
38	KYN-155	实验 H	约 0.1	> 3
40	KYN-159	实验 J	2.926	> 3
41	KYN-161	实验 J	N/A	> 3
42	KYN-162	实验 K	约 3	N/A
43	KYN-163	实验 K	约 3	约 3
44	KYN-164	实验 K	2.042	1.157
46	KYN-145	实验 E	N/A	N/A

[1278] 表5B.通过CellGlow Titer Assay评估的化合物对癌细胞的生存力的影响.1 [KYN-001]和27[KYN-149]、及其类似物的 IC_{50} (μM) 的比较评估。将细胞用11个稀释度(浓度范围:3-0.00001 μM)处理。报告了3个实验的组合结果;

		癌症	胰腺	脑	乳房
		细胞系	MIA PaCa-2	U-87 MG	4T1
化合物		实验	CRL-1420	HTB-14	
1	KYN-001	实验 N	0.07244	0.1867	0.1171
27	KYN-149	实验 N	0.01474	0.03007	0.02923
1	KYN-001	实验 L	0.1432	0.2812	
1	KYN-001	实验 M	0.7713	1.603	
27	KYN-149	实验 L	0.002868	0.00986	
27	KYN-149	实验 M	0.01052	0.02182	
39	KYN-165	实验 L	> 3	约 3	
47	KYN-167	实验 M	N/A	N/A	
48	KYN-168	实验 M	0.4856	0.555	
49	KYN-169	实验 M	0.5312	1.405	
51	KYN-166	实验 L	N/A	约 3	

[1280] 表6.通过CellGlow Titer Assay评估的化合物对癌细胞的生存力的影响。化合物1 [KYN-001]和化合物8[KYN-119]、及其类似物的 IC_{50} (μM) 的比较评估。将细胞用11个稀释度(浓度范围:3-0.00001 μM)处理;

癌症类型	癌细胞系	化合物/ IC_{50} (μM)				
		1	8	20	27	28
肉瘤		KYN-001	KYN-119	KYN-146	KYN-149	KYN-143
骨肉瘤	MG-63/CRL-1427	0.0441	0.0182	0.0313	0.0825	0.0048
骨肉瘤	Saos-2/HTB-85	0.173	0.0791	0.1291	0.0424	0.0233
肌肉尤因肉瘤	A-673/CRL-1598	0.471	0.1573	0.3116	0.2291	0.1117
骨尤因肉瘤	RD-ES/HTB-166	0.3098	0.1629	0.3379	0.133	0.0651
肌肉横纹肌肉瘤	A-204/HTB-82	0.1987	0.0678	0.131	0.0524	0.0253
横纹肌肉瘤	TE 159.T/CRL-7752	N/A	N/A	N/A	0.031	N/A

[1282]

头颈癌						
鳞状细胞癌-下咽	UPCI:SCC152/CRL-3240	0.1404	0.0549	0.1491	0.0366	0.0205
鳞状细胞癌-舌基底	UPCI:SCC090/CRL-3239	0.0009	0.0005	0.0478	0.02	0.0561
鳞状细胞癌-咽	Fadu/HTB-43	0.1386	0.0541	0.0801	0.0286	0.0118
咽癌	Detroit 562/CCL-138	0.131	0.0766	0.1224	0.0203	0.0114
鳞状细胞癌-舌	CAL 27/CRL-2095	0.0894	0.0309	0.0409	0.015	0.005
鳞状细胞癌-舌	SCC-4/CRL-1624	0.0395	0.0232	0.0313	0.0114	0.0031
神经母细胞瘤						
	CHP-212/CRL-2273	0.0281	0.0098	0.0261	0.0057	0.003
	BE(2)-C/CRL-2268	0.0671	0.0259	0.0548	0.0136	0.0112
	SK-N-DZ/CRL-2149	0.132	0.0501	0.1401	0.0326	0.0164
	SK-N-FI/CRL-2142	0.1157	0.0266	0.0485	0.0157	0.0097
胰腺癌						
	MIA PaCa-2/CRL-1420	0.1089	0.0234	0.0549	0.0214	0.0129
	PANC-1/CRL-1469	0.1101	0.0314	0.0416	0.0288	0.0178
	BxPC-3/CRL-1687	0.9436	0.3873	1.412	0.3021	0.1747
	Capan-1/HTB-79	2.67	2.319	2.237	0.7918	0.7348
	HPAF-II/CRL-1997	0.417	0.242	0.6378	0.1019	0.1106
肺癌						
	NCI-H1437/CRL-5872	0.1428	0.0327	0.0732	0.0322	0.0259
	NCI-H2126/CCL-256	0.1055	0.0331	0.097	0.031	0.0107
	NCI-H1563/CRL-5875	0.1838	0.0545	0.0741	0.0598	0.0159
	NCI-H1573/CRL-5877	0.2728	0.0335	0.0558	0.048	0.0212
肝癌						
	Hep G2/HB-8065	0.5773	0.296	0.2345	0.2514	0.0991
	SNU-398/CRL-2233	0.2077	0.0746	0.1105	0.054	0.0327
	SNU-423/CRL-2238	0.2033	0.0797	0.1194	0.0535	0.0275
	SNU-449/CRL-2234	0.0818	0.0325	0.064	0.0151	0.0102
肾癌						
	769-P/CRL-1933	0.3627	0.109	0.1737	0.1101	0.0401
	A-498/HTB-44	1.073	0.4012	0.6204	0.6418	0.198
	ACHN/CRL-1611	0.2412	0.0757	0.0834	0.0267	0.0188
	Caki-1/HTB-46	0.12	0.0279	0.0963	0.0154	0.0072
	Caki-2/HTB-47	0.4263	0.5236	0.3023	1.553	0.0698
结肠癌						
	SW480/CCL-228	0.2246	0.1086	0.1577	0.0896	0.03
	SW620/CCL-227	0.1209	0.0355	0.1027	0.0317	0.018
	HT-29/HTB-38	1.563	0.9394	1.992	0.4315	0.3248
膀胱癌						
	UM-UC-3/CRL-1749	0.3327	0.0548	0.1258	0.0302	0.0213
	RT4/HTB-2	1.384	0.9682	2.012	0.4529	0.463
	T24/HTB-4	0.1823	0.0611	0.1113	0.0325	0.0221
	HT-1197/CRL-1473	0.1081	0.0485	0.0617	0.0171	0.0122
	SCaBER/HTB-3	0.065	0.0273	0.0537	0.0109	0.006

[1283]

[1284] 处理MIA PaCa_2胰腺癌细胞后第3天,在铺板(11个稀释度)后24h,通过CellTiter Glow Assay进行评估。

[1285] IC_{50} (μM) 值对应于log(抑制剂) vs. 应答(四个参数),并使用GraphPad Prism8产生剂量-应答图。

[1286] 制备了化合物23、29和33以产生与先导抗癌化合物1和8相比具有改进的生物利用度药代动力学性能(更佳的logP和水溶性)的化合物。

[1287] 本领域技术人员将理解,可以对上述实施方案做出众多变化和/或修改,而不背离本公开内容的广泛一般范围。因此,本发明的实施方案在所有方面都被视作示例性的和非限制性的。

[1288] 化合物1治疗皮肤疾病的评价

[1289] 目的

[1290] 为了用皮肤疾病有关的体外测定评价化合物1、8、20、27、28、31和35。通过LEO Pharma Open Innovation, USA进行评价。

[1291] 具体目标

[1292] 1. 测定IL-4、IL-13、IL-22和IFN- γ 刺激的原代人角质形成细胞的CCL2释放的抑制[测定编号1280]和测定对细胞生存力的影响[测定编号1243]。

[1293] 2. 测定IL-17A和TNF α 诱导的原代人角质形成细胞的IL-8释放的抑制[测定编号1250]和测定对细胞生存力的影响[测定编号1244]。

[1294] 3. 测定用抗CD3/抗CD28包被的珠子刺激的人PBMC的IL-17A分泌的抑制[测定编号1321]和测定对细胞生存力的影响[测定编号1322]。

[1295] 4. 测定用抗CD2/抗CD3/抗CD28包被的珠子刺激的人CD4阳性T-细胞的IL-4和IL-2分泌的抑制[测定编号1297, 1298]和测定对细胞生存力的影响[测定编号1299]。

[1296] 疾病关联性总结

[1297] 1. 可以预期抑制角质形成细胞CCL2分泌的化合物对特应性皮炎具有效力。

[1298] 2. 可以预期抑制角质形成细胞IL-8分泌的化合物对银屑病具有效力。

[1299] 3. 可以预期抑制IL-17A分泌的化合物对银屑病具有效力。

[1300] 4. 可以预期抑制IL-4分泌的化合物对特应性皮炎具有效力。还抑制IL-2分泌的化合物具有更广泛的免疫抑制作用,因为IL-2是T-细胞的自分泌生长因子。

[1301] 结果

[1302] 化合物28[KYN-143]实施例浓度影响图:

[1303] 1. CCL2释放

[1304] 图9显示了不同浓度的化合物28对CCL2释放的抑制和细胞生存力的抑制的%效应。

[1305] 讨论:化合物28表现出中等效力的CCL2释放降低,细胞生存力也有类似的降低。不受理论的束缚,发明人认为,由于细胞生存力从最大值到部分水平的平台可能不是由于细胞毒性,而可能是分子/靶MoA的一部分。

[1306] 2. IL-8释放

[1307] 图10显示了不同浓度的化合物28对IL-8释放的抑制和细胞生存力的抑制的%效应。

[1308] 讨论:化合物28表现出中等效力的IL-8释放减少,类似于CCL2释放的减少所获得的效果。但是,在该测定中,化合物28在IL-8和细胞生存力的降低方面表现出相似的效果。不受理论束缚,发明人认为,这可能指示角质形成细胞相关的机制,但对IL-8释放的效力低于如上所述和图9所示的CCL2。

[1309] 3. IL-17A释放

[1310] 图11显示了不同浓度的化合物28对IL-17A释放的抑制和细胞生存力的抑制的%效应。

[1311] 讨论:化合物28显示出低效力的IL-17A释放降低。

[1312] 4. IL-2和IL-4释放

[1313] 图12显示了不同浓度的化合物28对IL-2和IL-4释放的抑制和细胞生存力的抑制的%效应。

[1314] 讨论:化合物28特别对IL-4释放表现出中等效力效应,并对IL-2和细胞增殖表现出更低效力效应。不受理论的束缚,发明人认为,似乎对T细胞中的IL-4释放存在特异性影响。

[1315] 图13显示了化合物1、8、20、27、28、31和35的浓度-应答图。

[1316] 讨论:化合物1 (KYN-001)、8 (KYN-119)、20 (KYN-146)、27 (KYN-149)、28 (KYN-143)、31 (KYN-151) 和35 (KYN-152) 具有相似的特性,其中在CCL2-释放测定中可以注意到具有更低 EC_{50} 值的更明显效果,其次是IL-8和IL-4;除化合物8和化合物31外,细胞生存力降低小于100% (表7,图13)。一般的细胞毒性效应在试验的分子中是常见的,并可能达到100%,但这些化合物并非如此。这可能表明一种特定作用模式正在影响细胞生存力而不具有细胞毒性。此外,似乎对T-细胞中的IL-4释放存在特异性影响,但效力较低。化合物28 (KYN-143) 和27 (KYN-149) 在这些测定中作为更有效的分子脱颖而出,紧随其后的是8 (KYN-119) (表7)。

[1317] 化合物28 (KYN-143) 抑制角质形成细胞CCL2分泌 (在 EC_{50} 40nM具有100%最大效力) 和细胞生存力 (在 EC_{50} 124nM具有细胞生存力的68%最大降低)。化合物27 [KYN-149] 抑制角质形成细胞CCL2分泌 (在 EC_{50} 32nM具有100%最大效力) 和细胞生存力 (在 EC_{50} 41nM具有细胞生存力的67%最大降低)。

[1318] 化合物28 [KYN-143] 抑制IL-17A和 $TNF\alpha$ 诱导的原代人角质形成细胞的IL-8释放 (在 EC_{50} 44nM具有85%最大效力) 和细胞生存力 (在 EC_{50} 35nM具有细胞生存力的81%最大降低)。化合物27 [KYN-149] 抑制IL-17A和 $TNF\alpha$ 诱导的原代人角质形成细胞的IL-8释放 (在 EC_{50} 46nM具有75%最大效力) 和细胞生存力 (在 EC_{50} 32nM具有细胞生存力的83%最大降低)。

[1319] 化合物28 [KYN-143] 抑制用抗CD3/抗CD28包被的珠子刺激的人PBMC的IL-17A分泌 (在 EC_{50} 526nM具有73%最大效力) 和细胞生存力 (在 EC_{50} 659nM具有细胞生存力的54%最大降低)。化合物27 [KYN-149] 和其它候选化合物的有效性明显更低。

[1320] 对于用抗CD2/抗CD3/抗CD28包被的珠子刺激的人CD4阳性T-细胞的IL-2分泌的抑制,没有候选化合物在该测定中有效。

[1321] 化合物28 [KYN-143] 抑制用抗CD2/抗CD3/抗CD28包被的珠子刺激的人CD4阳性T-细胞的IL-4分泌 (在 EC_{50} 278nM具有80%最大效力) 和细胞生存力 (在 EC_{50} 2360nM具有细胞生存力的60%最大降低)。化合物27 [KYN-149] 抑制用抗CD2/抗CD3/抗CD28包被的珠子刺激

的人CD4阳性T-细胞的IL-4分泌(在EC₅₀ 507nM具有79%最大效力)和细胞生存力(在EC₅₀ 4350nM具有细胞生存力的52%最大降低)。

[1322] 总体而言,结果表明,化合物28[KYN-143]和27[KYN-149]是有效治疗特应性皮炎和银屑病的先导候选物。

[1323] 表7.关于抑制细胞对CC12、IL-8、IL-17、IL-2和IL-4的释放/分泌和化合物对细胞生存力的影响,化合物1、8、20、27、28、31和35测定结果。

		CCL2			
		nM	%	nM	%
		绝对 EC ₅₀ : CCL2 (1280)	最大效 应: CCL2 (1280)	绝对 EC ₅₀ : 生 存力 (1243)	最大效 应: 生存 力(1243)
名称					
1	KYN-001	123	101	202	77

[1325]

8	KYN-119	50	102	235	99
20	KYN-146	108	99	442	61
27	KYN-149	32	100	41	67
28	KYN-143	40	100	124	68
31	KYN-151	445	100	431	86
35	KYN-152	1130	79	5000	30
		IL-8			
		nM	%	nM	%
名称		绝对 EC ₅₀ : IL-8 (1250)	最大效 应: IL-8 (1250)	绝对 EC ₅₀ : 生 存力 (1244)	最大效 应: 生存 力(1244)
1	KYN-001	80	94	90	92
8	KYN-119	37	107	32	101
20	KYN-146	321	93	221	76
27	KYN-149	46	75	32	83
28	KYN-143	44	85	35	81
31	KYN-151	364	105	416	100
35	KYN-152	2950	77	5000	72
		IL-17			
		nM	%	nM	%
名称		绝对 EC ₅₀ : IL-17 (1321)	最大效 应: IL-17 (1321)	绝对 EC ₅₀ : 生 存力 (1322)	最大效 应: 生存 力(1322)
1	KYN-001	4430	54	5000	50
8	KYN-119	1550	69	582	57
20	KYN-146	1650	85	5000	47
27	KYN-149	2120	65	5000	52
28	KYN-143	526	73	659	54
31	KYN-151	4870	53	5000	32
35	KYN-152	5000	19	5000	18

[1326] 绝对EC₅₀: 相对于对照的半数最大有效浓度 (nM)

[1327] 最大效应: 作为对照最大效应的百分比的最高分子效应

		名称	IL-2		IL-4		nM	%
			nM	%	nM	%		
			绝对 EC ₅₀ : IL-2 (1297)	最大效 应: IL-2 (1297)	绝对 EC ₅₀ : IL-4 (1298)	最大效 应: IL-4 (1298)	绝对 EC ₅₀ : 生 存力 (1299)	最大效 应: 生存 力(1299)
[1328]	1	KYN-001	5000	42	2930	70	5000	35
	8	KYN-119	5000	51	503	82	5000	46
	20	KYN-146	5000	34	5000	54	5000	15
	27	KYN-149	5000	46	507	79	4350	52
	28	KYN-143	4260	55	278	80	2360	60
	31	KYN-151	5000	36	5000	29	5000	19
	35	KYN-152	5000	16	5000	11	5000	7

[1329] 绝对EC₅₀: 相对于对照的半数最大有效浓度 (nM)

[1330] 最大效应: 作为对照最大效应的百分比的最高分子效应

[1331] 方法

[1332] 1. 角质形成细胞CCL2释放

[1333] IL-4、IL-13、IL-22和IFN- γ 刺激的原代人角质形成细胞的CCL2释放的抑制, LEO Pharma Open Innovation测定编号1280

[1334] 疾病关联性

[1335] 炎症性皮肤病疾病特应性皮炎 (AD) 的特征在于T-细胞细胞因子, 包括IL-4、IL-13、IL-22和IFN- γ 。在本测定中, 用这些细胞因子的混合物刺激角质形成细胞, 并通过近似均相时间分辨荧光 (HTRF) 在培养上清液中测量CCL2 (也称为单核细胞趋化蛋白1 (MCP-1)) 的释放。所述测定的目的是测量试验化合物是否抑制角质形成细胞释放的CCL2的水平。可以预期抑制角质形成细胞CCL2分泌的化合物对特应性皮炎具有效力。

[1336] 一种已知的类固醇倍他米松在该测定中抑制CCL2释放, 具有大约15nM的EC₅₀和大约60%的Emax (拟合曲线的平台)。高Emax表明, 所述化合物抑制大部分分泌的CCL2。低EC₅₀值指示, 所述化合物是有效的并且在低浓度执行抑制。

[1337]

关键测定参数	描述
人原代角质形成细胞(HEKa)	在第 2 代冷冻细胞。在第 3-6 代使用细胞
IL-4、IL-13、IL-22 和 IFN- γ	特应性皮炎-样刺激: 重组人白介素(IL) 4、13 和 22 在 10 ng/mL 和干扰素- γ 在 1 ng/mL
效应	AD 刺激诱导的 HEKa 细胞的 CCL2 释放的抑制
阳性对照(约 100%效应)	AD-样刺激+ 特非那定(CAS: 50679-08-8)在 10 μ M
阴性对照(约 0%效应)	AD-样刺激和 0.1% DMSO
参考化合物	倍他米松(CAS: 378-44-9)
温育时间	48h
容量、运行时间和要求	测定用 3 天进行。

[1338] 方法描述

[1339] 细胞培养:

[1340] HEKa是从成人皮肤中分离出来的人表皮角质形成细胞。所述细胞已在原代培养阶段结束时冷冻保存在含有10%DMSO的培养基中。无菌细胞培养工作适用。

[1341] 从冷冻保存的HEKa细胞开始培养:

[1342] • 在37°C水/珠浴中解冻一小瓶冷冻的HEKa储备物。

[1343] • 将细胞悬浮液转移到30ml T75细胞培养瓶中。

[1344] • 取出15ml并分配到2xT75(每个15ml)中。

[1345] • 设置在5-6天后进行测定或继续传代(pass it on)。

[1346] 储备培养物的维持

[1347] • 在从冷冻保存的细胞建立继代培养后24-36小时,将培养基更换为新补充的培养基。对于后续的继代培养,在建立继代培养以后48-72小时更换培养基。

[1348] • 在测定中仅传代至多3-5次。

[1349] HEKa的继代培养

[1350] • 查看并确认80%汇合。

[1351] • 从烧瓶中取出所有培养基。

[1352] • 向烧瓶中加入3ml的TrypLE Express溶液。摇动烧瓶以确保覆盖整个表面。

[1353] • 立即从烧瓶中取出所有3ml的TrypLE Express溶液。

[1354] • 向烧瓶中加入1 $\frac{1}{2}$ ml (T75) (3ml T175) 的新鲜TrypLE Express溶液。

[1355] • 在显微镜下观察培养物。在室温温育烧瓶,直到细胞已经变成完全圆形,大约8-10分钟。

[1356] • 非常温柔地敲击烧瓶,使细胞从烧瓶表面脱落。

[1357] • 向烧瓶中加入3-4ml (T75) (7ml T175) 的胰蛋白酶中和剂溶液,并将脱离的细胞转移到无菌锥形管。

[1358] • 以170x g离心细胞7-10分钟。观察到细胞沉淀物。

[1359] • 从试管中取出上清液,注意不要取出细胞沉淀物。

[1360] • 将细胞沉淀物重新悬浮于15ml培养基中,所述培养基补充了HKGS(目录号S-

001-K), 但不含氢化可的松(当用于测定时)。用10ml移液器上下移取细胞, 以确保均匀的细胞悬浮。

[1361] • 确定悬浮液中细胞的浓度。

[1362] • 在补充的培养基中稀释细胞, 并在T175烧瓶中接种新的培养物。在37℃、5% CO₂/95%空气、控湿细胞培养箱中温育培养物。

[1363] 测定第0天:

[1364] • 如上所述对细胞进行胰蛋白酶处理。

[1365] • 在10ml测定培养基(EpiLife Medium, 含有HKGS Kit, 但不含氢化可的松)中重新悬浮沉淀物

[1366] • 通过37μm滤网过滤细胞。

[1367] • 使用细胞计数器计数细胞。

[1368] • 在384-孔观察平板3500c/w/40μL中接种HEKα细胞。

[1369] • 将带盖的平板放在带盖的湿度箱(24.5x24.5cm盒子, 在底部添加了H₂O)中。

[1370] • 在37℃、5% CO₂/95%空气下温育平板过夜

[1371] 测定第1天:

[1372] • 制备含有化合物的源平板, 即将DMSO中的滴定液转移到测定板。

[1373] • 将80nL化合物和对照从源平板添加到测定板(含细胞)。

[1374] • 在含有补充物但不含氢化可的松的培养基中加入40μL刺激物(重组人白介素(IL) 4、13、22在10ng/mL和干扰素-γ在1ng/mL)。

[1375] • 将平板在37℃、5% CO₂/95%空气中温育2天。

[1376] 测定第3天:

[1377] • 从温育中取出平板并平衡至室温30分钟。

[1378] • 将8μL上清液转移到白色proxix 384-孔平板中用于CCL2检测。

[1379] • 向检测板中加入8μL培养基。

[1380] • 添加4μL CCL2 HTRF检测试剂(至白色proxix 384w)。

[1381] • 密封并温育4小时, 并在平板读数器中读数。

[1382] 数据分析和计算

[1383] 使用均相时间分辨荧光共振(TR-FRET)测量上清液中的CCL2浓度。通过测量在665nm(与CCL2浓度成比例)和620nm(对照)处的荧光来量化所述测定。计算比率665/620*1000。

[1384] %效应:

[1385] 将试验化合物的抑制CCL2释放的能力标准化为对照孔中的信号, 其中将角质形成细胞与0.1%DMSO(0%)和10μM特非那定(100%)一起温育, 这完全抑制CCL2释放。

[1386] 2. 角质形成细胞IL-8释放

[1387] IL-17A和TNFα诱导的原代人角质形成细胞的IL-8释放的抑制, LEO Pharma Open Innovation测定编号1250

[1388] openinnovation.leo-pharma.com

[1389] 疾病关联性

[1390] 炎症性皮肤病疾病银屑病的特征在于细胞因子IL-17A和TNFα。在本测定中, 用这些

细胞因子的混合物刺激原代人角质形成细胞,并通过近似均相时间分辨荧光 (HTRF) 在培养上清液中测量IL-8 (也称为CXCL8) 的释放。所述测定的目的是测量试验化合物是否能够抑制角质形成细胞释放的IL-8的水平,表明它能够抑制在细胞中发生的部分炎症。

[1391] 可以预期抑制角质形成细胞IL-8分泌的化合物对银屑病具有效力。

[1392] 一种已知的类固醇倍他米松在该测定中抑制IL-8释放,具有大约10nM的 EC_{50} 和大约50%的 E_{max} (拟合曲线的平台)。高 E_{max} 指示,化合物抑制大部分的IL-8分泌。低 EC_{50} 值指示,化合物是有效的并且在低浓度执行抑制。

关键测定参数	描述
人表皮角质形成细胞, 成人 (HEKa)	在第 2 代冷冻细胞。在第 3-5 代使用细胞
IL-17A 和 TNF α	银屑病-样刺激: 重组人白介素(IL) 17A 和肿瘤坏死因子 α (TNF α)都是在 10 ng/mL
[1393] 效应	抑制 IL-17A/TNF α 诱导的 HEKa 对 IL-8 的释放
阳性对照(约 100%效应)	无刺激和 0.1% DMSO
阴性对照(约 0%效应)	IL-17A/TNF α 刺激和 0.1% DMSO
参考化合物	倍他米松(CAS: 378-44-9)
温育时间	72h
容量、运行时间和要求	测定用 3 天进行。

[1394] 方法描述

[1395] 细胞培养:

[1396] HEKa是从成人皮肤分离的人表皮角质形成细胞 (参见上面关于角质形成细胞CCL2释放描述的细胞培养方法)。

[1397] 测定第0天:

[1398] • 如上所述脱离细胞。

[1399] • 将沉淀物重新悬浮在10ml 含有HKGS Kit但不含氢化可的松的EpiLife Medium 中

[1400] • 通过37 μ m滤网过滤细胞。

[1401] • 使用细胞计数器计数细胞。

[1402] • 将人表皮角质形成细胞、成年 (HEKa) 细胞接种在384-孔观察平板3500c/w/40 μ L 中。使用含有补充物但不含氢化可的松的细胞培养基作为测定培养基。

[1403] • 将带盖的平板放在带盖的湿度箱 (24.5x24.5cm盒子,在底部添加了H₂O) 中。

[1404] • 在37℃、5%CO₂/95%空气中温育平板过夜。

[1405] 测定第1天:

[1406] • 制备含有化合物的源平板,即将DMSO中的滴定液转移到测定板。

[1407] • 清空测定板,并重新加入25 μ L测定培养基。

[1408] • 将75nL化合物和对照从源平板添加到测定板 (含细胞)。

[1409] • 添加25 μ L测定培养基并温育2小时。

[1410] • 在测定培养基(重组人白介素17A和肿瘤坏死因子- α)中加入25 μ L刺激混合物,以产生10ng/mL的两种细胞因子的终浓度。

[1411] • 在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂/95%空气中温育平板3天。

[1412] 测定第4天:

[1413] • 从温育中取出平板并平衡至室温30分钟。

[1414] • 将2 μ L上清液转移到proxi 384-孔平板进行IL-8检测。

[1415] • 添加2 μ L测定培养基

[1416] • 制备IL-8HTRF混合物(根据生产商方案)并每孔加入2 μ L。

[1417] • 密封并温育3小时,并然后在平板读数器中读出荧光。

[1418] 数据分析和计算

[1419] 使用均相时间分辨荧光共振(TR-FRET)测量上清液中的IL-8浓度。通过测量在665nm(与IL8浓度成比例)和620nm(对照)处的荧光来量化所述测定。计算比率665/620*1000作为上清液中IL-8的量的表示。

[1420] %效应:

[1421] 将试验化合物的抑制IL-8释放的能力标准化为阴性对照孔中的信号,其中将角质形成细胞与0.1%DMSO(0%)和10 μ M特非那定(100%)一起温育,这完全抑制IL-8释放。

[1422] 3.PBMC IL-17测定

[1423] 用抗CD3/抗CD28包被的珠子刺激的人PBMC的IL-17A分泌的抑制。LEO Pharma Open Innovation测定编号1321

[1424] 疾病关联性

[1425] 炎症性皮肤病银屑病特征在于细胞因子IL-17A和TNF α 。在本测定中,用涂有抗CD3和CD28抗体的珠子刺激人外周血单核细胞(PBMC)以活化T-细胞受体,并用IL-23刺激以促进T-辅助17活性。将细胞温育三天,然后使用AlphaLISA测量培养上清液中IL-17A的分泌水平,并通过加入刃天青(**PrestoBlue®**)来测量活细胞的量,以鉴定抑制细胞增殖或生存力的化合物。该测定的目的是测量试验化合物是否抑制PBMC对IL-17A的分泌。可以预期抑制IL-17A分泌的化合物对银屑病具有效力。

[1426] 在该测定中的参考化合物是钙调磷酸酶抑制剂他克莫司,并且抑制IL-17A释放,具有大约0.34nM的EC₅₀和具有大约90%的Emax(拟合曲线的平台)。高Emax表明,化合物抑制大部分的分泌的IL-17。低EC₅₀值指示,化合物是有效的并且在低浓度执行抑制。

[1427] 关键测定参数

[1428]

参数	描述
细胞	从血沉棕黄层分离的人 PBMC, 并保持在-150℃直到测定当天
刺激	用抗 CD3 和 CD28 抗体包被的珠子(T-细胞活化/增殖试剂盒 Miltenyi Biotec 目录号 130-091-441), 一个珠子/细胞。
效应	IL-17A 释放的抑制
试验化合物的 0%效应	珠子刺激, 0.1% DMSO
试验化合物的 100%效应	珠子刺激, 0.1% DMSO, 特非那定 10 uM
参考化合物	他克莫司(目录号 104987-11-3-P)
温育时间	3 天
容量、运行时间和要求	测定用 3 天进行。

[1429] 方法描述

[1430] PBMC分离:

[1431] • 按照 **Sebmate®** 的说明, 通过在 **lymphoprep®** 上离心从新鲜人血沉棕黄层中分离PBMC

[1432] • 将细胞旋转下来 (spun down) 并重新悬浮于冷冻培养基 (RPMI1640+20%FBS+5%DMSO) 中

[1433] • 将细胞以 8×10^7 个细胞/小瓶的等分试样冷冻, 与一个384板匹配。将细胞置于Coolcell盒中, 并在-80℃冰箱中放置一天。将小瓶移至预冷箱中的-150℃冰箱中。

[1434] 测定第1天:

[1435] • 制备测定培养基: RPMI1640+10%热灭活的FBS和1%青霉素/链霉素, 补充了人IL-23, 20ng/mL (R&D systems, 目录号1290-IL-010)

[1436] • 试验化合物: 制备含有化合物的源平板, 即将DMSO中的滴定液转移到测定板。

[1437] • 将70nL化合物和对照从源平板添加到测定板。

[1438] • 通过将1小瓶加入20ml温热的测定培养基中, 解冻细胞

[1439] • 在10分钟内以170G离心细胞, 除去上清液并重新悬浮于新培养基中。

[1440] • 通过37μm滤网过滤细胞。

[1441] • 在细胞计数器中计数细胞。

[1442] • 珠子 (T细胞活化/增殖试剂盒-人, Miltenyi Biotec, 目录号130-091-441): 根据试剂盒程序用抗体 (抗CD3和抗CD28) 包被珠子。

[1443] • 将珠子加给细胞,每个细胞一个珠子,2.1e+06个细胞/ml。使用移液器小心地混合细胞和珠子。

[1444] • 将细胞/珠子混合物接种到测定板中,70μL/孔(1.3e+05个细胞/孔)

[1445] • 将平板放在带盖的湿度箱中(24.5x24.5cm盒子,在底部添加了H₂O)。

[1446] • 在37℃、5%CO₂/95%空气中温育平板3天。

[1447] 测定第4天:

[1448] • 使用alphaLISA试剂盒(Perkin Elmer,目录号AL219F)测量上清液中的IL-17A浓度。

[1449] • 预试验以找到样品的最佳稀释度:试验来自对照孔的5μL上清液,并运行IL-17A alphaLISA测定,仅温育2小时。

[1450] • 当可得到数据时,将测定板从温育中取出并平衡至室温30分钟。

[1451] • 将5μL或校正量的上清液转移到384-代理板

[1452] • 添加5μL alphaLISA受体珠子。

[1453] • 在室温温育1小时

[1454] • 添加5μL供体珠子

[1455] • 避光在室温温育过夜。

[1456] • 将7μL PrestoBlue试剂(刃天青)/孔添加到测定板中,并在37℃/5%CO₂温育2-4小时。测量孔中的荧光(激发615/发射535)。

[1457] 测定第5天:

[1458] • 在平板读数器中读出alphaLISA板

[1459] 数据分析和计算

[1460] 使用alphaLISA试剂盒(Perkin Elmer,目录号AL219F)测量上清液中的IL-17A浓度。

[1461] 对IL-17的%效应:

[1462] 将试验化合物的抑制IL-17A释放的能力标准化为用有毒化合物特非那定处理的阴性对照孔中的信号。

[1463] 通过添加**PrestoBlue®**测量孔中活细胞的水平,并测量活细胞中从刃天青到试卤灵(荧光)的转化。

[1464] 对生存力/增殖的%效应:

[1465] 将试验化合物对生存力/增殖的效应标准化为用有毒化合物特非那定处理的阴性对照孔中的PrestoBlue信号。

[1466] 4和5.T-细胞IL-2和IL-4测定

[1467] 用抗CD2/抗CD3/抗CD28包被的珠子刺激的人CD4阳性T-细胞的IL-4和IL-2分泌的抑制。LEO Pharma Open Innovation测定编号1297、1298、1299。

[1468] 疾病关联性

[1469] 炎症性皮肤病疾病特应性皮炎的特征在于T-细胞细胞因子IL-4、IL-13和IL-22。在本测定中,用涂有抗CD2、CD3和CD28抗体的珠子刺激人T-细胞以活化T-细胞受体。然后使用电化学发光(MSD试剂盒,Meso Scale Discovery)测量培养上清液中IL-4的分泌水平,通过近似均相时间分辨荧光(HTRF)测量IL-2,并通过加入刃天青(**PrestoBlue®**)测量活细胞

的量,以鉴定抑制T-细胞增殖或生存力的化合物。该测定的目的是测量试验化合物是否能够抑制T-细胞对IL-4的分泌,表明它能够抑制皮肤中发生的部分炎症。

[1470] 可以预期抑制IL-4分泌的化合物对特应性皮炎具有效力。还抑制IL-2分泌的化合物具有更广泛的免疫抑制作用,因为IL-2是T-细胞的自分泌生长因子。已知的类固醇倍他米松在该测定中抑制IL-4释放,具有大约15nM的 EC_{50} 且具有大约80%的 E_{max} (拟合曲线的平台)。高 E_{max} 表明,所述化合物能够抑制大部分分泌的IL-4。低 EC_{50} 值指示,化合物是有效的并且能够在低浓度进行抑制。

[1471] 关键测定参数

从血沉棕黄层分离的人 CD4 阳性 T-细胞, 并保持在-150℃直到测定当天	
[1472] 刺激	用抗 CD2、CD3 和 CD28 抗体包被的珠子 (T-细胞活化/增殖试剂盒 Miltenyi Biotec 目录号 130-091-441)每个细胞一个珠子。
效应	T-细胞的 IL-4 释放的抑制
试验化合物的 0%效应	
珠子刺激, 0.1% DMSO	
试验化合物的 100%效应	
未刺激的细胞, 0.1% DMSO	
[1473] 参考化合物	倍他米松(CAS: 378-44-9)
温育时间	48h
容量、运行时间和要求	测定用 3 天进行。

[1474] 方法描述

[1475] CD4+T-细胞分离:

[1476] • 按照Sebmate™ (Stemcell) 的说明,通过在lymphoprep®上离心从新鲜人血沉棕黄层分离外周血单核细胞(PBMC)。

[1477] • 将细胞重新悬浮在30ml的PBS+2%血清中并计数。

[1478] • 使用EasySep™人CD4+T-细胞分离试剂盒(目录号17952)和按照生产商的方案,从新鲜分离的PBMC中分离CD4阳性T-细胞。

[1479] • 将细胞旋转下来(spun down)并重新悬浮于冷冻培养基(X-vivo15+10%FBS+5%DMSO)中

[1480] • 将细胞以 3×10^7 个细胞/小瓶的等分试样冷冻,与一个384板匹配。将细胞置于Coolcell盒中,并在-80℃冰箱中放置一天,然后转移至预冷箱中的-150℃冰箱中。

[1481] 测定第1天:

- [1482] • 制备测定培养基:500ml X-Vivo 15+5ml Glutamax (2mM最终)+5ml青霉素/链霉素(100U/ml最终)。
- [1483] • 在384孔板 (Greiner目录号788986) 的孔中加入5μL培养基
- [1484] • CD4⁺细胞:在37℃浴中解冻来自-150℃冰箱的冷冻细胞,并然后将细胞移入10ml培养基中。在170g旋转10分钟。
- [1485] • 在3.5ml/2.5x10⁷细胞将沉淀物重新悬浮,以10μL/孔加入到平板中(40000个细胞/孔)
- [1486] • 试验化合物:制备含有化合物的源平板,即将DMSO中的滴定液转移到测定板。
- [1487] • 将25nL化合物和对照从源平板添加到测定板(含细胞)。
- [1488] • 珠子(T细胞活化/增殖试剂盒-人,Miltenyi Biotec,目录号130-091-441):根据试剂盒程序用抗体包被珠子。
- [1489] • 除阴性对照外,向每孔加入10μL珠子。每个细胞一个珠子。在阴性对照中加入10μL培养基。
- [1490] • 在37℃、5%CO₂/95%空气中温育平板2天。
- [1491] 测定第3天:
- [1492] • 从温育中取出平板并平衡至室温30分钟。
- [1493] • 使用MSD IL-4 384-平板试剂盒(定制)根据生产商方案测量10μL上清液中的IL-4浓度。
- [1494] • 通过IL-2HTRF试剂盒,CisBio,目录号62HIL02PEH,测量上清液中的IL-2浓度
- [1495] • 向白色proxi 384-孔平板中加入4μL培养基
- [1496] • 添加1μL上清液。
- [1497] • 添加4μL mHTRF混合物(各自在2/3重构缓冲液和1/3测定培养基中1:300稀释)。
- [1498] • 将平板以170g离心1分钟
- [1499] • 密封并温育过夜并在平板读数器中读出荧光
- [1500] • 通过**PrestoBlue®**试剂测量活细胞的量
- [1501] • 将对应于2.5μL Prestoblue/孔的15μL稀释的**PrestoBlue®**试剂(刃天青)添加到测定板中。
- [1502] • 在37℃/5%CO₂下温育过夜。测量孔中的荧光(激发615/发射535)。
- [1503] 数据分析和计算
- [1504] 使用电化学发光(MSD试剂盒,Meso Scale Discovery)测量上清液中的IL-4浓度。使用均相时间分辨荧光共振(TR-FRET)测量上清液中的IL-2浓度。通过测量在665nm(与IL-2浓度成比例)和620nm(对照)处的荧光来量化所述测定。计算比率665/620*1000。
- [1505] IL-2和IL-4的%效应:
- [1506] 将试验化合物抑制IL-4和IL-2释放的能力标准化为具有未刺激的T-细胞的阴性对照孔中的信号。
- [1507] 通过加入**PrestoBlue®**测量孔中活细胞的水平,并测量活细胞中刃天青到试卤灵(荧光)的转化。
- [1508] 生存力/增殖的%效应:
- [1509] 将试验化合物对生存力/增殖的效应标准化为用有毒化合物特非那定处理的阴性

对照孔中的PrestoBlue信号。

[1510] 离体研究:预测患者对肿瘤学药物的应答

[1511] ROK-DRPS-001-药物应答总结 (2020年6月19日)

[1512] 多形性胶质母细胞瘤 (GBM) 药物应答试验

[1513] KIYATEC, Inc., Greenville, South Carolina, USA

[1514] 1. 项目描述/总结

[1515] 该项目涉及对3种ROKiT Pharma试验剂和替莫唑胺在3个先前解离和冷冻保存的GBM样品中的离体药物应答筛选。

[1516] 2. 技术指导

[1517] 2.1选择三个先前处理过的GBM患者样品用于本研究。

[1518]	ID	新的或 复发	IDH1 状 态	MGMT	等级
	BNA99	新的	野生型	甲基化	高
	BNB04	复发的	野生型	未知	高
	BNB18	新的	野生型	未甲基化	高

[1519] IDH1: 异柠檬酸脱氢酶-1;MGMT: (O[6]-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶)

[1520] 2.2解冻每个样品的1-2个小瓶,并将细胞作为3D球状体接种在每个样品的一个384-孔板中。

[1521] 2.3在接种后24小时,拍摄所有孔的图像并添加药物/对照。

[1522] • 试验化合物:KYN-001,KYN-146,KYN-149,从100 μ M开始到0.005 μ M结束的1:3稀释度的10-点剂量曲线

[1523] • 媒介物:培养基+0.5%DMSO,培养基+1%DMSO

[1524] • 阳性对照:10%DMSO和2%DMSO

[1525] • 仅含有媒介物且没有细胞的孔用作空白

[1526] 2.4在药物处理后4天用CellTiter-Glo 3D测定法测量细胞生存力。

[1527] • 在添加CellTiter Glo试剂之前拍摄所有孔的图像。

[1528] 2.5在原始数据的清空 (blanking) 和离群值的除去 (由软件分析定义并在原始数据文件中以红色突出显示) 以后,在GraphPad Prism中使用非线性回归 (标准化为未处理的对照) 确定IC₅₀值。

[1529] • 将IC₅₀值以 μ M表示,并定义为在细胞生存力减半时的药物浓度。

[1530] 3. 实验结果的总结

[1531] 3.1对试验化合物和TMZ的药物应答列出在下表中:

药物	IC ₅₀ (μM)		
	BNA99	BNB04	BNB18
[1532] 1 [KYN-001]	14.95	10.89	1.329
20 [KYN-146]	19.13	23.67	4.556
27 [KYN-149]	8.867	4.31	0.6343
[1533] TMZ	NR	MR	R

[1534] 3.2来自每个GBM样品的细胞的RLU (相对光单位) 是高的, 表明在整个测定持续期间的增殖/生存力。

[1535] 3.3Z-因子反映了所有样品和药物的成功测定。

[1536] 3.4TMZ应答:

[1537] NR: 无应答者

[1538] MR: 中应答者

[1539] R: 应答者

[1540] 讨论

[1541] 在本研究中使用的三个GBM细胞样品, 即BNA99、BNB04和BNB18, 在长成3D球状体时显示出三种不同的生长特征, 如图14所示。这些细胞对临床药物替莫唑胺 (TMZ) 的应答范围从耐药 (BNA99) 到中度耐药 (BNB04) 和敏感 (BNB18)。在试验化合物1、20和27的存在下, 所有三个细胞系的球状体都被破坏, 导致细胞死亡并分散到培养基中。在添加CellTiter Glo试剂之前拍摄的图像 (图14) 清楚地证明了这些事件, 所述试剂用于通过测量活细胞的ATP水平来量化细胞生存力。

[1542] 试验化合物对这些GBM 3D球状体细胞样品表现出中度至强效抑制, 27在敏感系BNB18中具有在亚微摩尔范围内IC₅₀值 (IC₅₀=0.63μM)。正如预测的那样, 试验化合物对敏感的GBM系BNB18有活性, 但对BNB04球状体的活性较低, 且对BNA99球状体的活性要低得多。尽管如此, 试验化合物, 特别是27, 被证实对TMZ抗性细胞 (BNA99) 具有相对活性, IC₅₀值为8.86μM, 而TMZ对该细胞系没有表现出应答。

[1543] 该研究的结果表明, 试验化合物, 特别是27, 是开发新抗癌药物的有前途的候选物。

[1544] 总结

[1545] • 基于z-因子和RLU信号对所有药物和样品的测定是成功的

[1546] • IC₅₀值表明所有3个样品对KYN-001、KYN-146和KYN-149的不同敏感性。

[1547] • 在所有3个应答类别中, 所有3个样品的TMZ应答各不相同。

[1548] • 球状体的明视野图像与CellTiterGlo结果 (数据未显示) 匹配。

[1549] • 对于所有三个GBM 3D-球状体样品类型 (NR、MR和R), 27 [KYN-149] 比1 [KYN-001] 和20 [KYN-146] 更有效。

[1550] 参考文献:

[1551] Shuford, S., 等人, 2019. Prospective Validation of an Ex Vivo, Patient-

Derived 3D Spheroid Model for Response Predictions in Newly Diagnosed Ovarian Cancer, Nature Scientific Reports, 9:11153 | <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47578-7>

[1552] 化合物27 [KYN-149] 最大耐受剂量-LD/50 单剂量口服施用报告

[1553] 由 Kynan Pharma, USA 进行评价

[1554] 研究目的:

[1555] 确定有关化合物27的毒性和耐受性的初步信息。

[1556] 研究设计:

[1557] 将口服配制的最大剂量2000mg/kg 单次施用给5只BalbC小鼠。观察进行了5天。

[1558] 实验者: Tiziana Palumbo, Matt Kiosea

[1559] 试验日期: 2020年6月8日至12日

[1560] 方法:

[1561] 称量化合物27并稀释到用于S1的相同 SEDDS 媒介物中。SEDDS 媒介物由以下组分组成:

[1562] • Labrasol (30%)

[1563] • PEG-400 (20%)

[1564] • Kolliphore RH-40 (30%)

[1565] • Labrafil (20%)

[1566] 在 SEDDS 中的 27 的浓度为 200mg/mL, 对于施用 200 μ l 的 20g 小鼠, 这将转化为 2000mg/kg 口服剂量。对 5 只小鼠进行口服施用, 并在第一个小时内仔细观察动物的毒性征象, 然后在 5 天内偶尔观察。

[1567] 结果:

[1568] 所有五只小鼠都活了下来, 且没有表现出痛苦的立即征象。在剩余的观察天中, 没有记录到痛苦或任何其它不适。

[1569] 结论:

[1570] LD/50 研究的结果指示, 化合物 27 在给定制剂中具有高度的口服耐受性。2000mg/kg 是根据 FDA 建议推荐用于试验毒理学效应的最大剂量。

[1571] 化合物 27 [KYN-149] 在 B16F10 异种移植小鼠中的作用的初步研究。

[1572] 由 Kynan Pharma, USA 进行评价。

[1573] 目的

[1574] • 观察和评估 27 的口服施用对动物健康的影响。

[1575] • 量化组织 (血浆、肿瘤、肝、脾和脑) 中 27 的水平, 以评估化合物生物积累和分布。

[1576] 方法

[1577] 将 B16F10 细胞 (25 $\times$ 10⁵ 个细胞/小鼠) 皮下注射进 7-8 周龄的雌性 BALB/c 小鼠的右肋腹中。将小鼠 (n=10) 分成 2 组, 并每天施用 27 的口服悬浮液 (治疗组) 或媒介物 (对照组) 持续 15 天。给治疗组口服施用 900mg/kg 的 27 的悬浮液。给对照组施用媒介物悬浮液 (SEDDS)。仅在第 0、9 和 15 天进行测量。在最终处理的 3 小时内收获组织 (血浆、肿瘤、肝、脾和脑)。随后获得用于组织病理学的肿瘤组织的活组织检查。

[1578] 用福尔马林固定来自治疗小鼠和对照小鼠的肿瘤的组织样品。这些肿瘤样品的组

织病理学检查由Lore Laboratory,CA,USA进行。

[1579] 使用LC/MS/MS光谱测定法测定不同组织中27的浓度。

[1580] 结果

[1581] 在900mg/kg的27,小鼠没有表现出毒性效应的征象。如表1所示确定不同组织中27的浓度,并以图形方式显示,如在图1A和B中所示。

[1582] 表8.使用质谱法测量小鼠组织中的化合物27

[1583]

动物	组织中化合物 27 的浓度				
	血浆 (ng/mL)	肿瘤 (μg/mg)	肝(μg/mg)	脾(μg/mg)	脑(μg/mg)
对照 1	0.0	NA	0	0	0
对照 2	0.0	0	0	NA	0
对照 3	0.0	0	0	0	0
治疗 1	0.0	0	12.6	2	156
治疗 2	0.0	NA	10.2	0	77
治疗 3	8.4	0	1.0	0	35
治疗 4	0.4	0	0.0	0	170
治疗 5	0.0	11.6	0.0	0	48
P-值对照 vs 治疗	0.22	0.54	0.36	0.65	0.004

[1584] NA=未获得

[1585] 图15.从治疗的小鼠分离出的不同组织样品中的27的浓度。给小鼠每天口服施用SEDSS悬浮液中的900mg/kg的27或媒介物(对照),持续15天。

[1586] 发现在不同组织中不同分布的化合物27的浓度,如图1所示。化合物27的低血浆水平可以被解释为所述化合物与血浆蛋白诸如白蛋白结合。

[1587] 肿瘤样品的组织化学分析。

[1588] 初步研究揭示,来自用27治疗的五只小鼠的五个活组织检查样品中的2个显示黑素瘤,详情如下。

[1589] 治疗1.

[1590] 发现病变位于真皮和膜的深处。有一层多形性圆形细胞,偶尔有色素沉着的细胞质。这些细胞主要退化或坏死,邻近溶解性坏死区域(图16)。在外周注意到混合的炎症细胞。

[1591] 治疗2.

[1592] 发现病变位于真皮浅层和真皮中部。有一层多形圆形细胞,偶尔有色素沉着的细胞质,周围有溶解性坏死(图16)。在外周注意到混合的炎症细胞。

[1593] 来自治疗的1和2号小鼠的肿瘤样品的组织化学分析。

[1594] 这两个肿瘤含有从第0天到第9天快速生长的黑素瘤。肿瘤随后在第10天后减少,表明它可能是化合物27的作用(图16)。

[1595] 来自治疗的3、4和5号小鼠的样品的组织化学分析。

[1596] 这些样品的组织化学分析显示主要是黑素细胞,它们在皮下和膜中扩张并伴有轻

度单核炎症(图17)。如在表8和图18中所示,这些发现与肿瘤生长的缺乏一致。

[1597] 表8.在用化合物27治疗的小鼠中的肿瘤体积(mm³)

[1598]	化合物 27	第 0 天 (mm ³)	第 9 天 (mm ³)	第 15 天 (mm ³)
	治疗编号 1	109.29	132.59	5.31
	治疗编号 2	52.18	178.68	19.93
[1599]	治疗编号 3	58.45	37.38	35.03
	治疗编号 4	82.97	60.93	42.35
	治疗编号 5	66.82	47.3	39.44

[1600] 图18.化合物27对在BALB/c小鼠中异种移植的黑素瘤B16F10的效应。

[1601] 组织病理学结论

[1602] • 除了两个施用药物的肿瘤(治疗1和治疗2)外,其它样品是高度色素沉着的黑素细胞,具有圆形拉长的细胞核,且没有有丝分裂活性。

[1603] • 在组织学上未观察到恶性肿瘤的那些样品中,可能从一开始就没有发展恶性肿瘤,或者没有对恶性组织进行取样和收集。

[1604] • 尽管分析的大多数组织由黑素细胞组成,但两个治疗过的组织含有坏死和退化的黑素瘤,可能指示治疗的效果。黑素瘤在对照未治疗组织中的缺乏混淆了这些发现。

[1605] 总体结论

[1606] 总之,所述研究表明,化合物27当口服施用时具有低毒性,并且在脑中具有高的积累倾向。这可以通过所述化合物的高度亲脂性来解释。

[1607] 肿瘤样品的组织化学分析显示,在用27治疗的五只小鼠中的两只中异种移植的黑素瘤细胞被裂解和/或发生坏死,表明化合物27在治疗体内黑素瘤中的可能有效性。

[1608] 但是,需要进一步的研究来确定27的药代动力学的其它细节并评估体内抗癌效力。

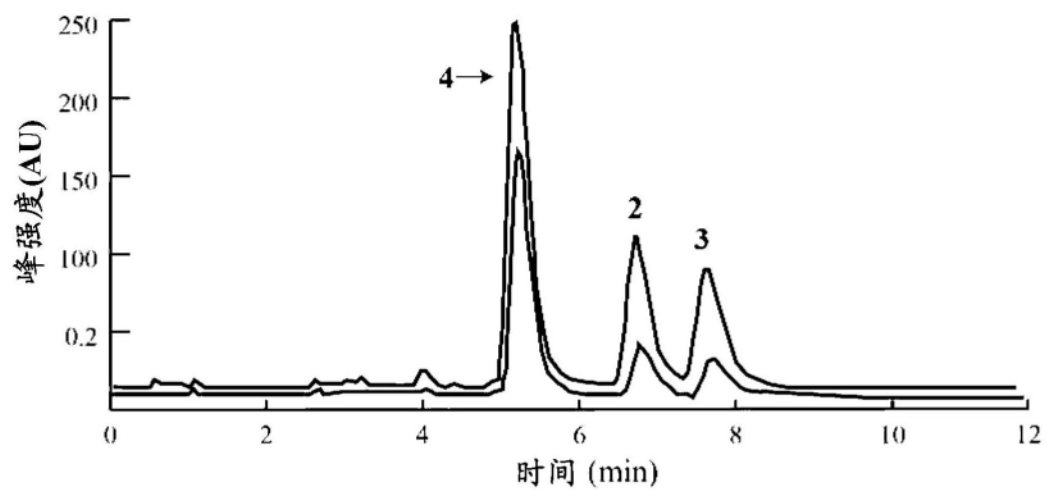


图1

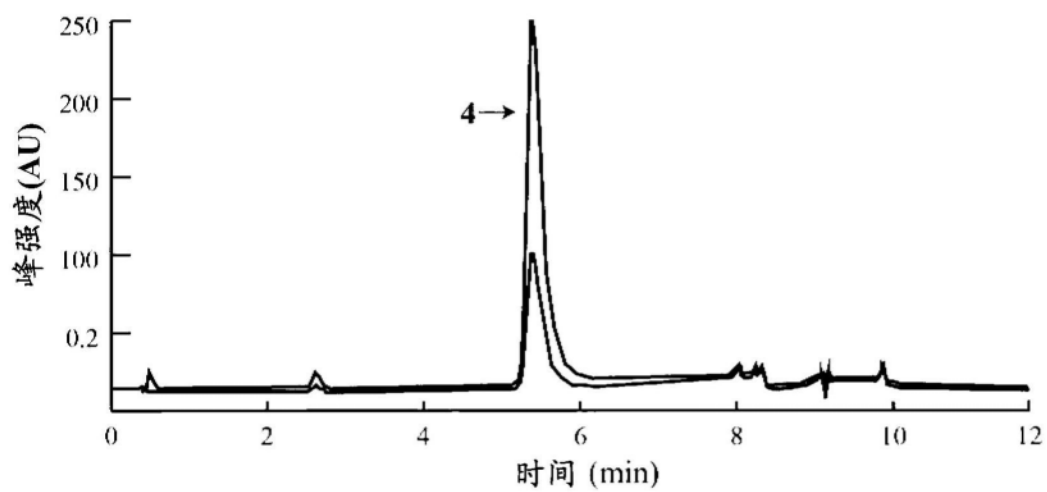


图2

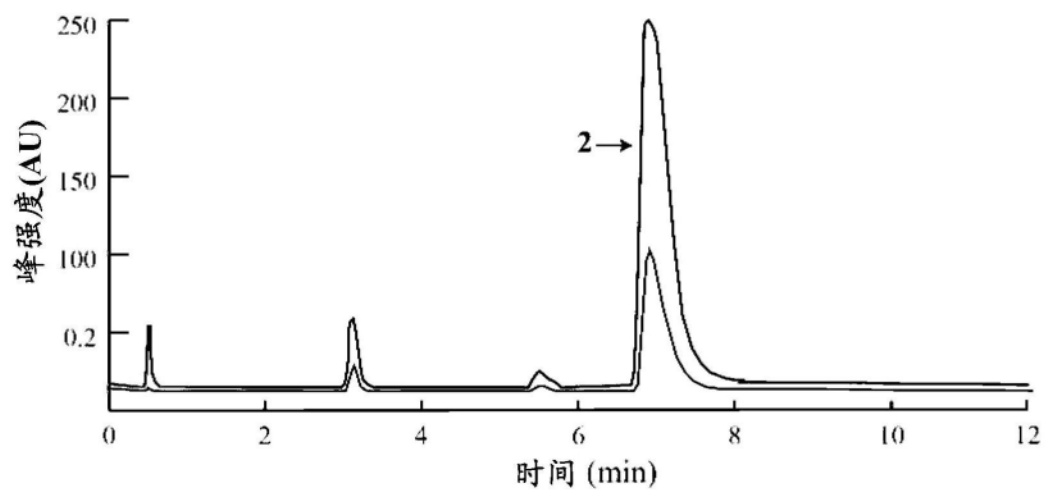


图3

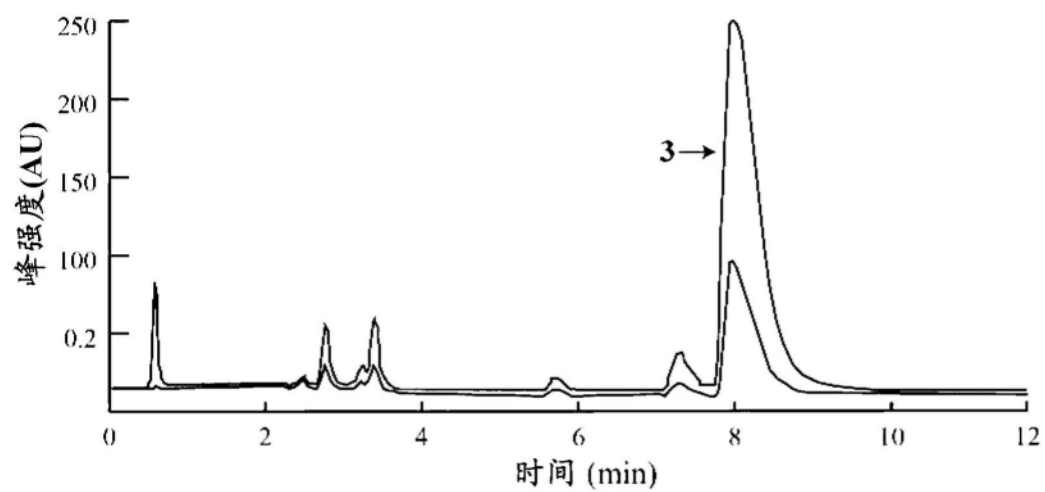


图4

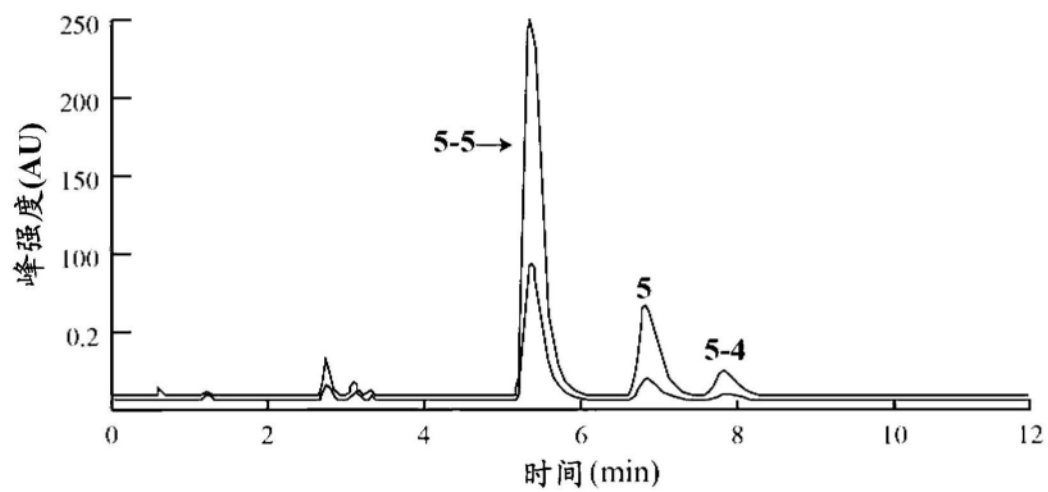


图5

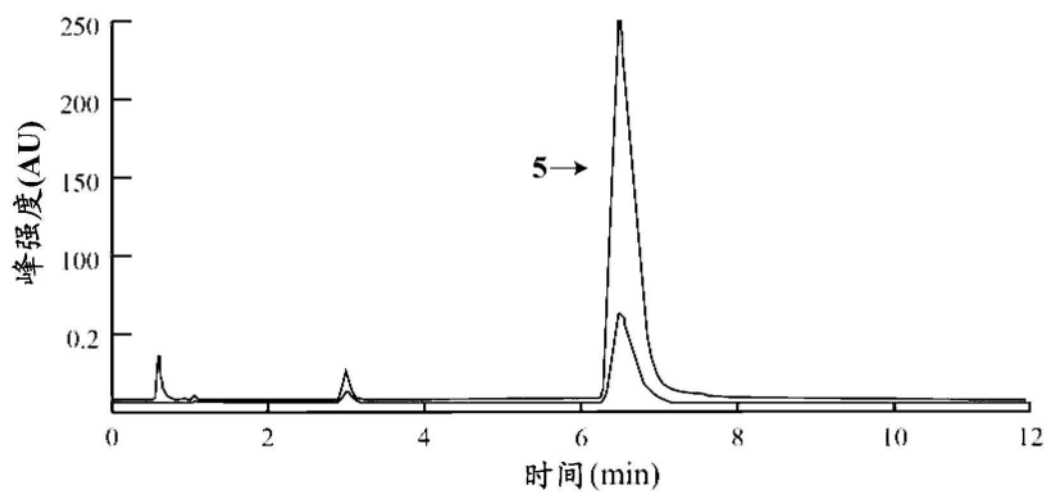


图6

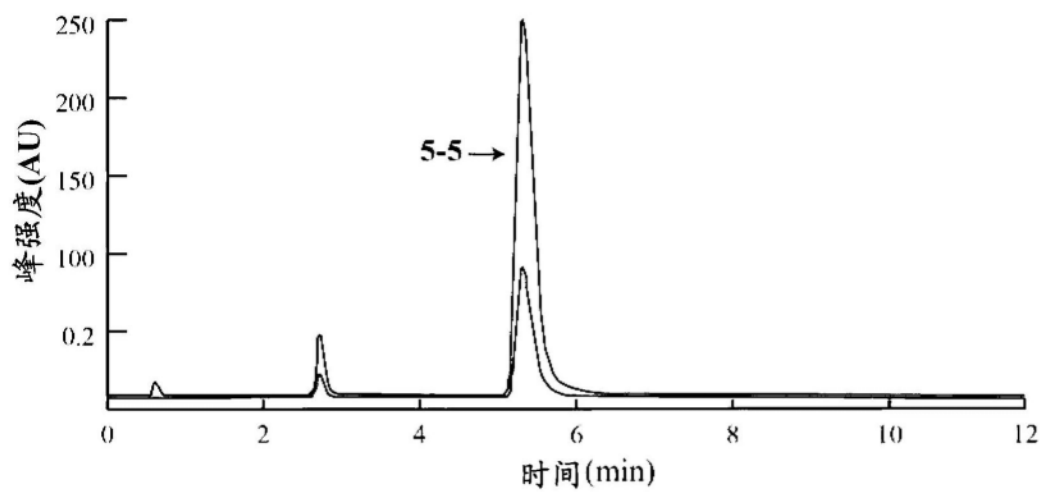


图7

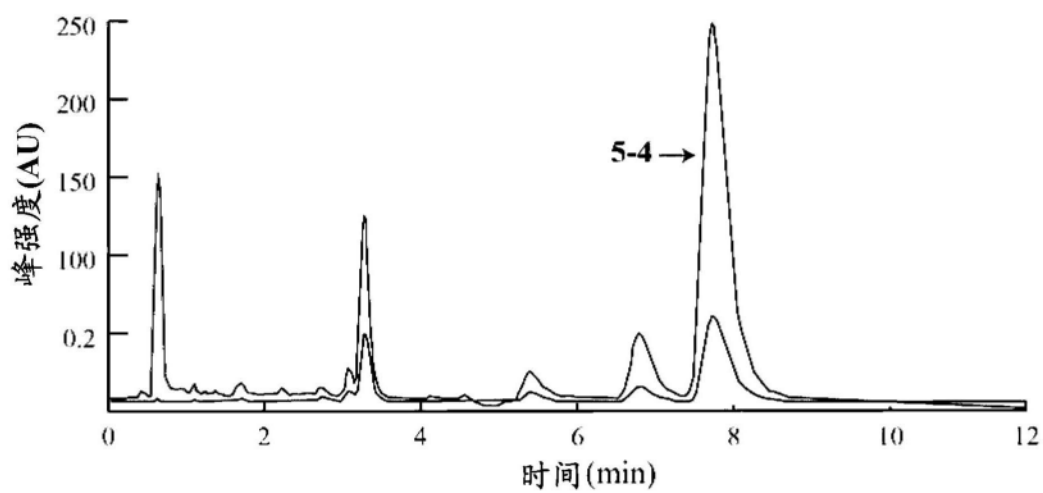


图8

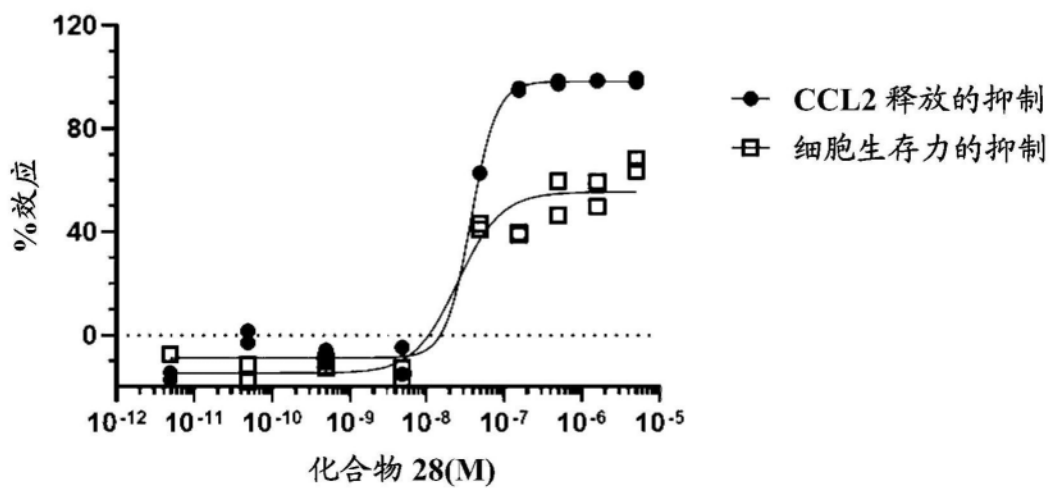


图9

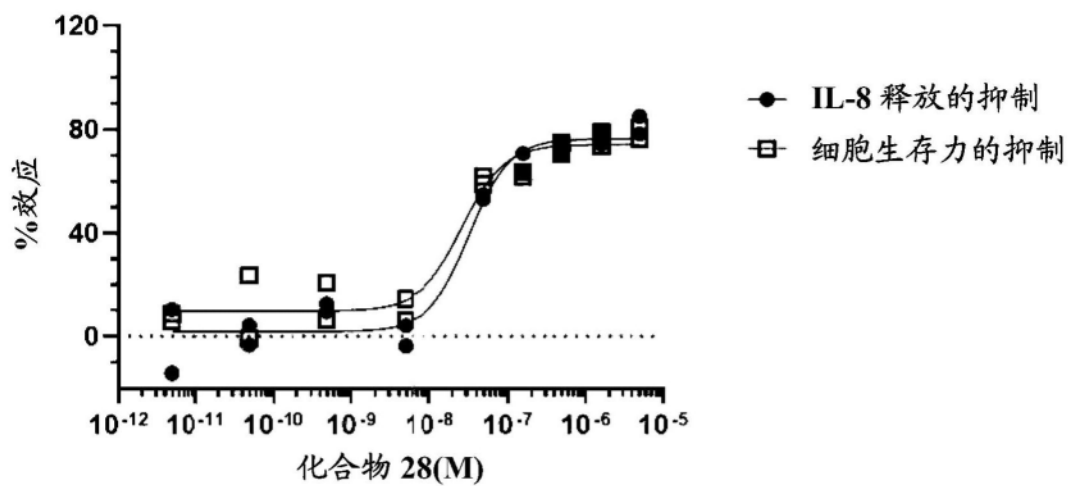


图10

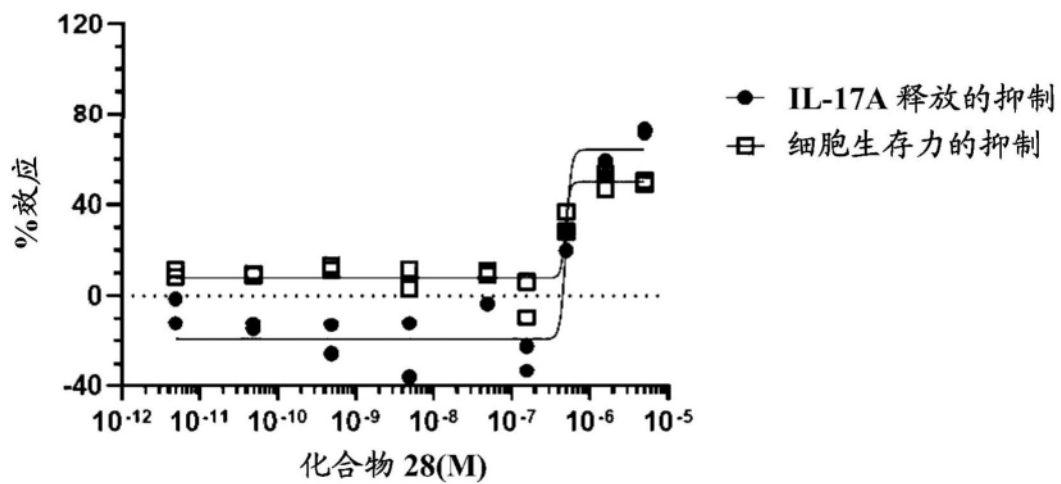


图11

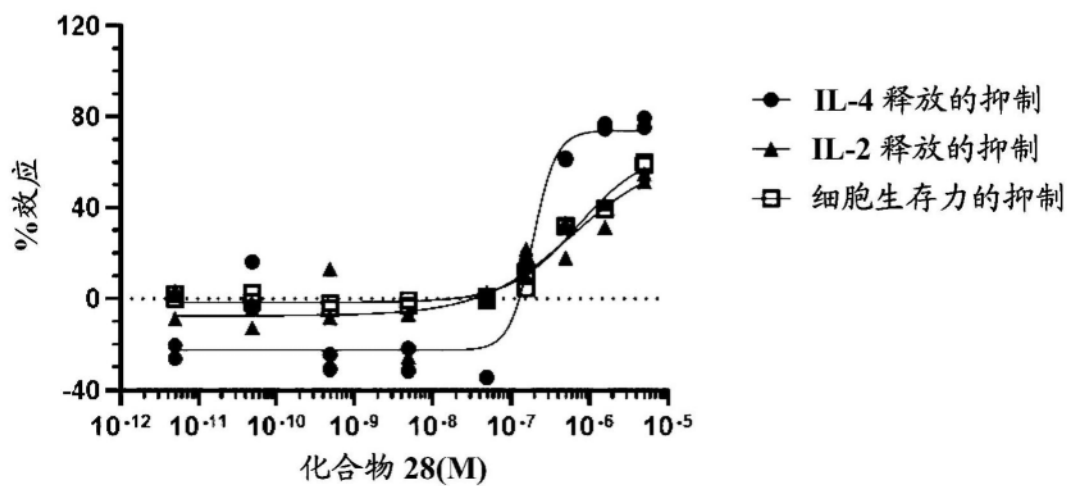
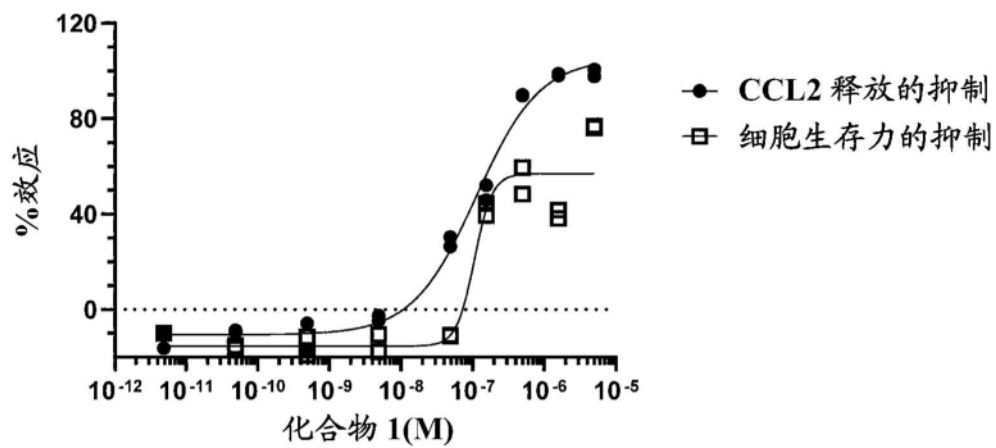


图12

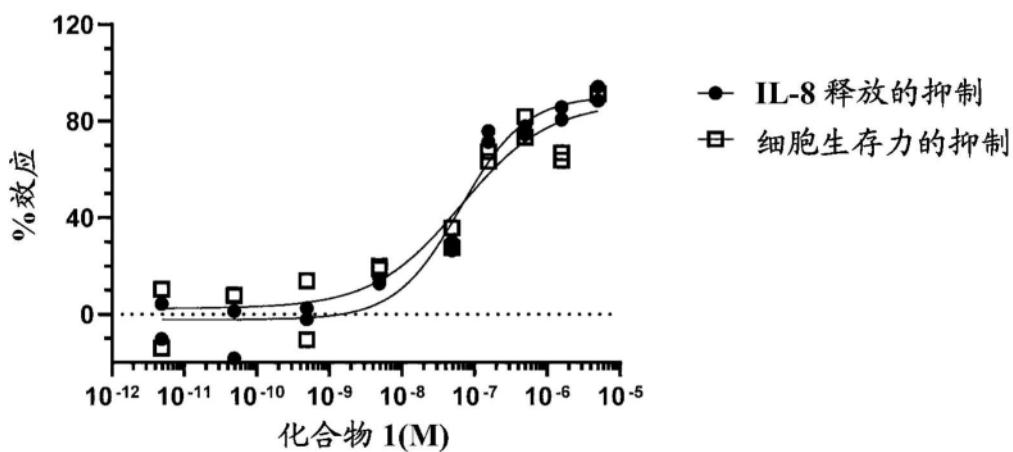
图 13.1

化合物 1 的效应:

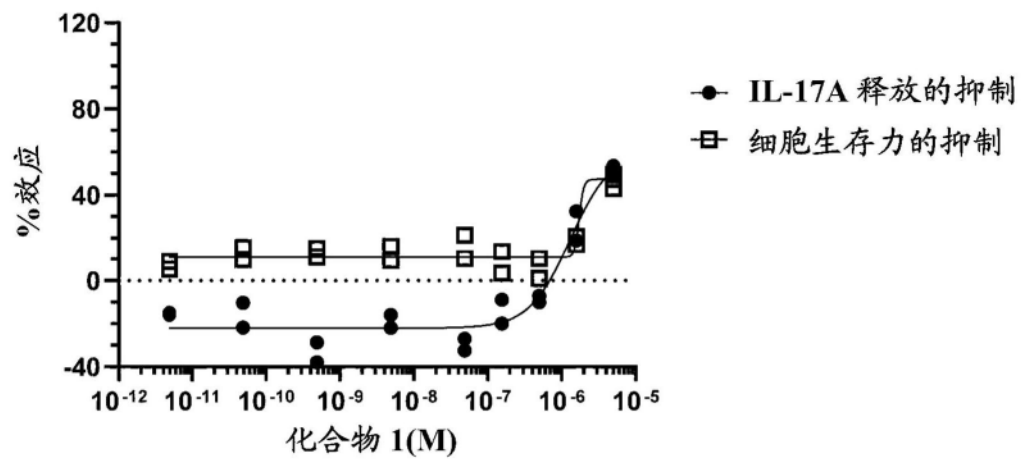
A.



B.



C.



D.

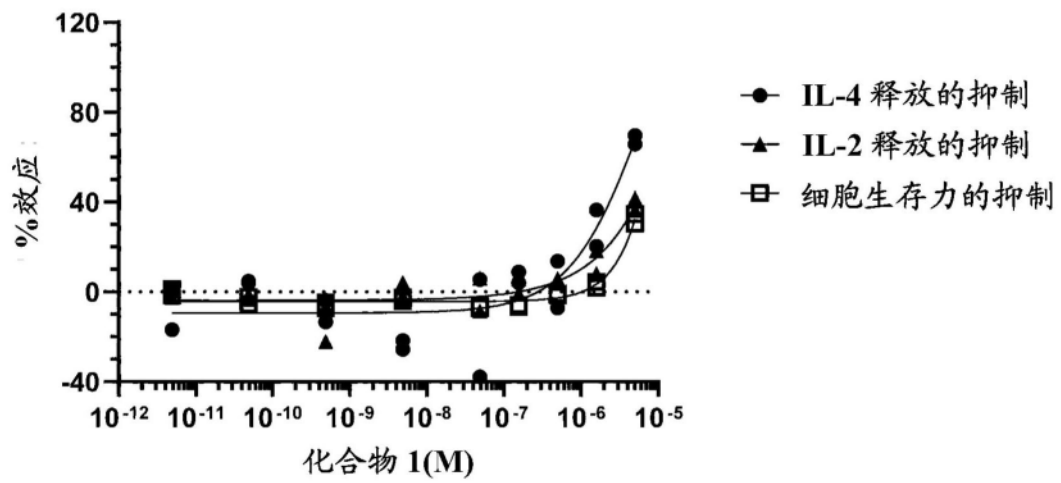
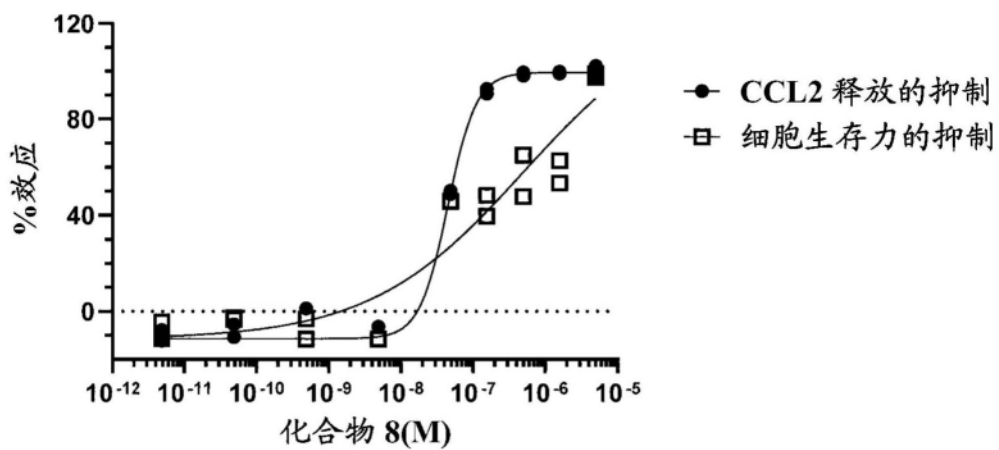


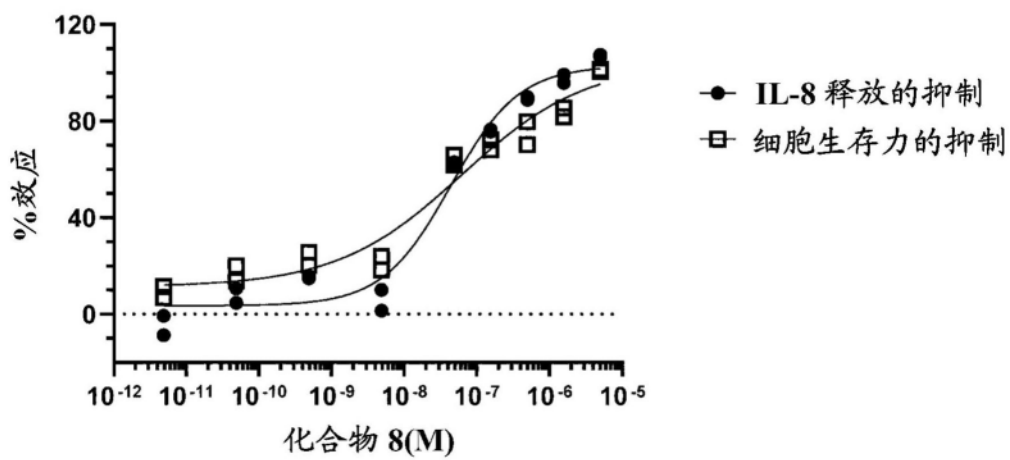
图 13.2 :

化合物 8 的效应:

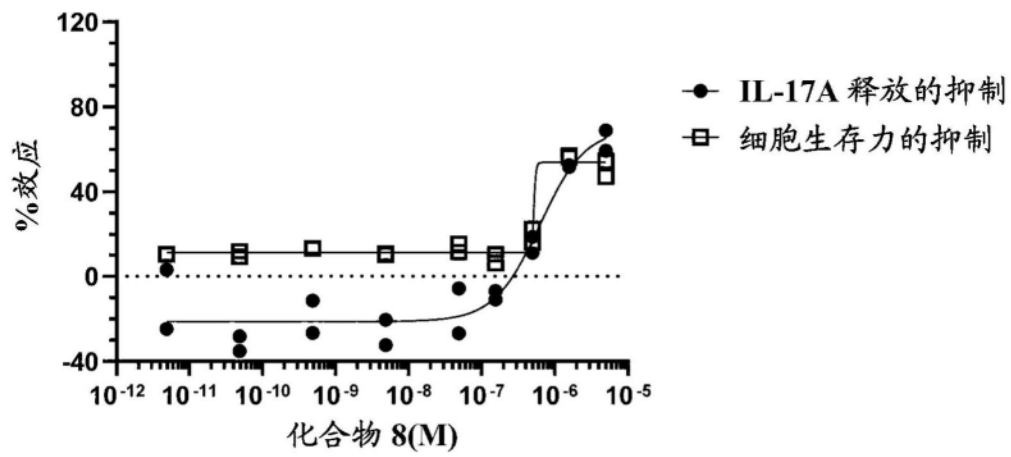
A.



B.



C.



D.

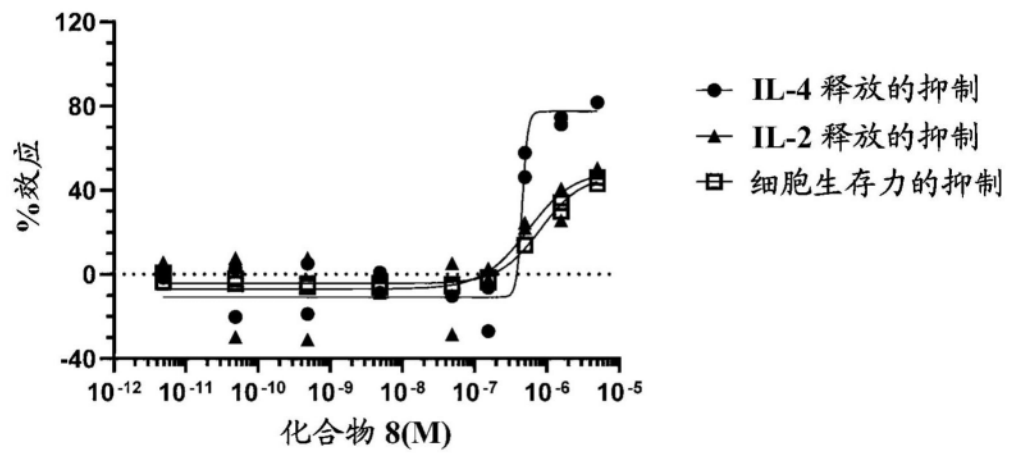
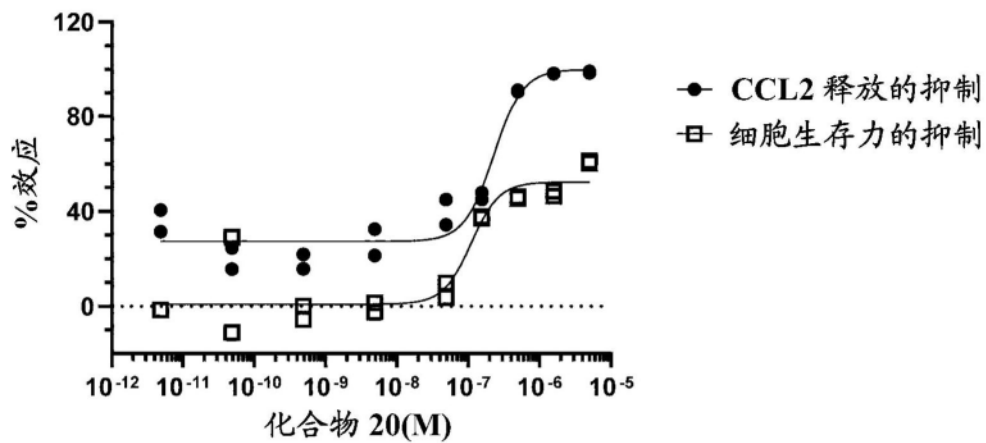
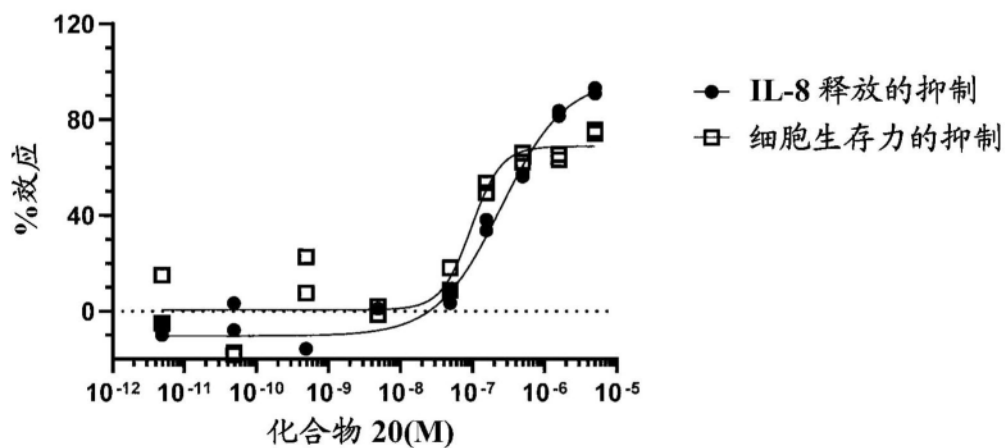


图 13.3:
化合物 20 的效应:

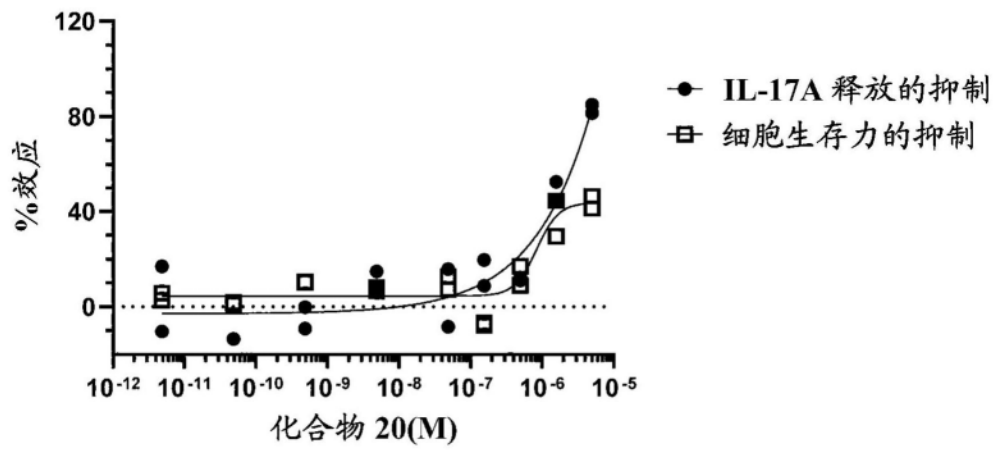
A.



B.



C.



D.

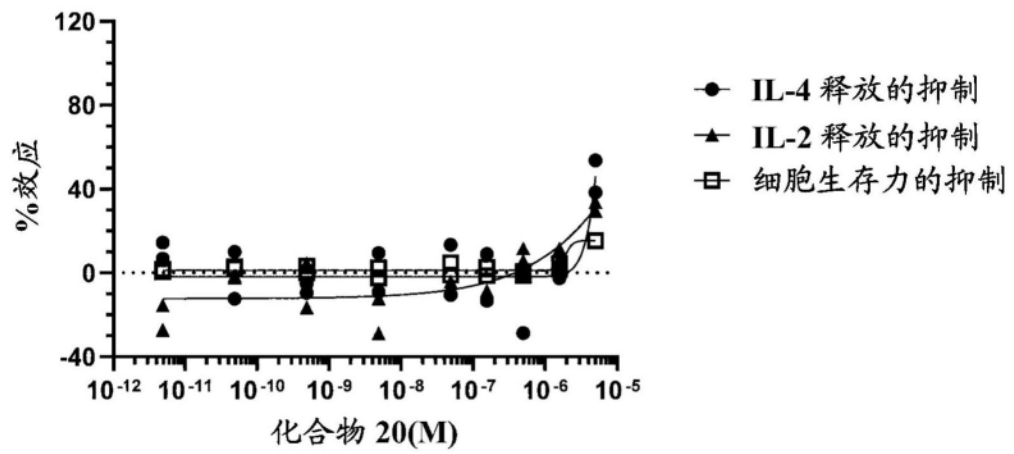
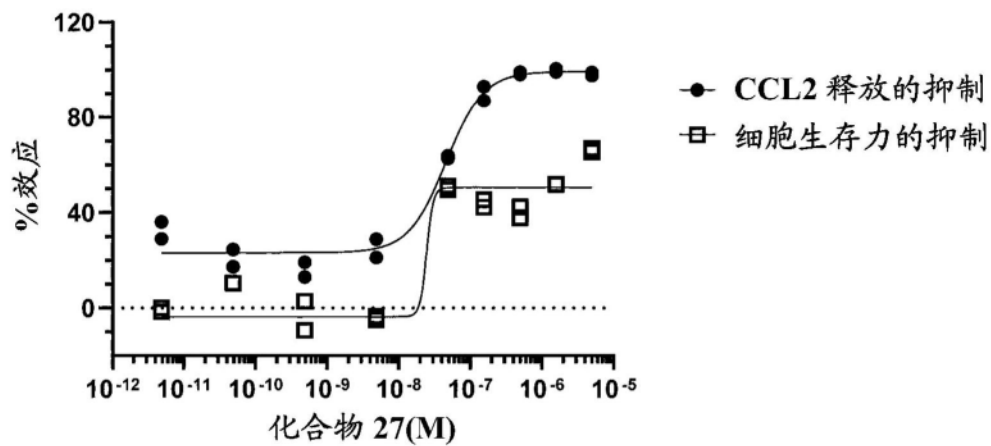
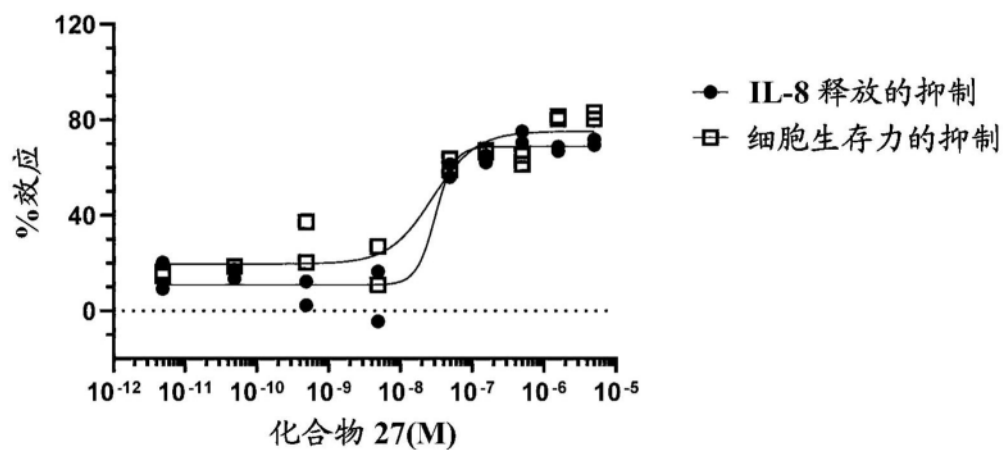


图 13.4:
化合物 27 的效应

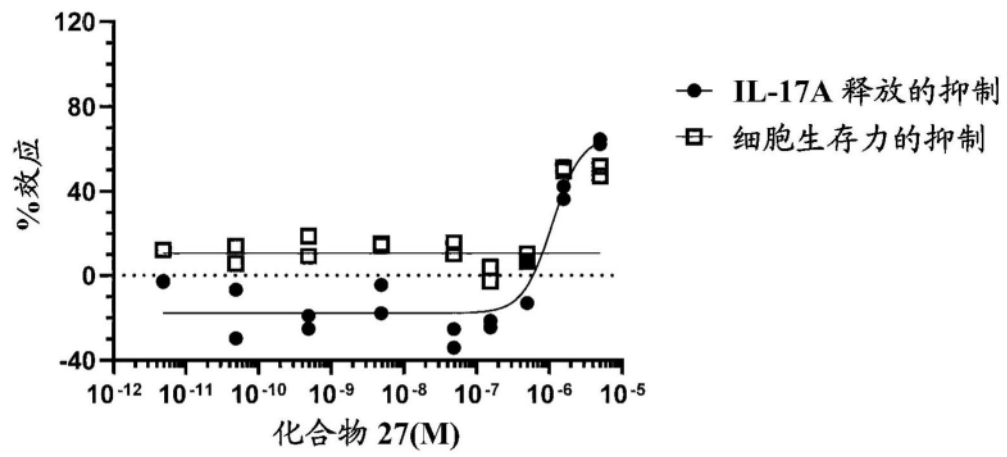
A.



B.



C.



D.

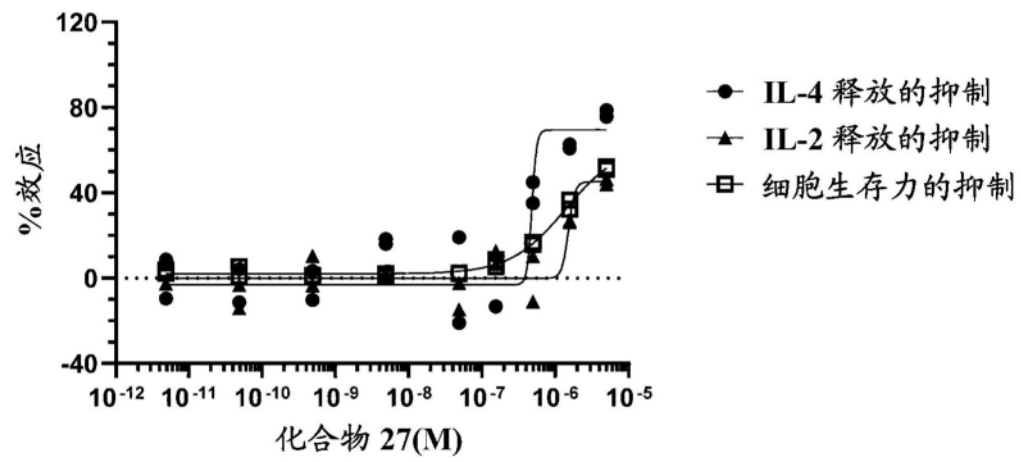
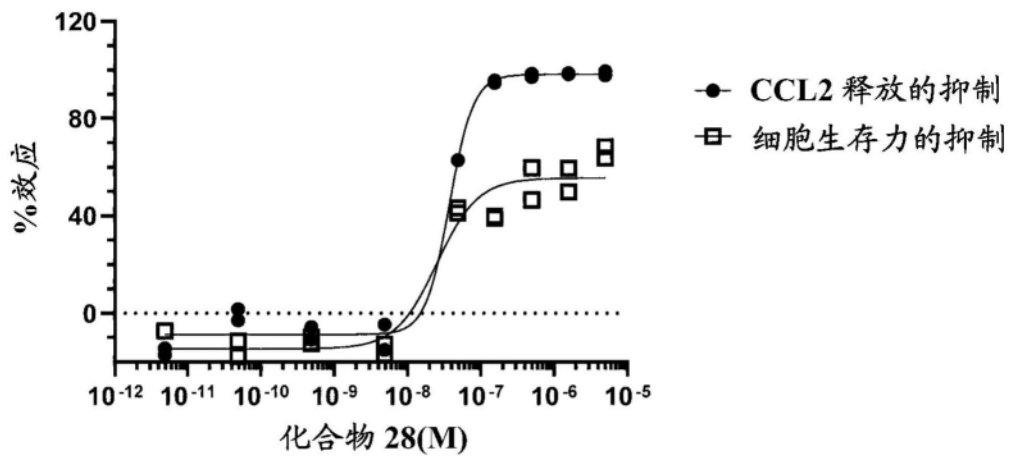
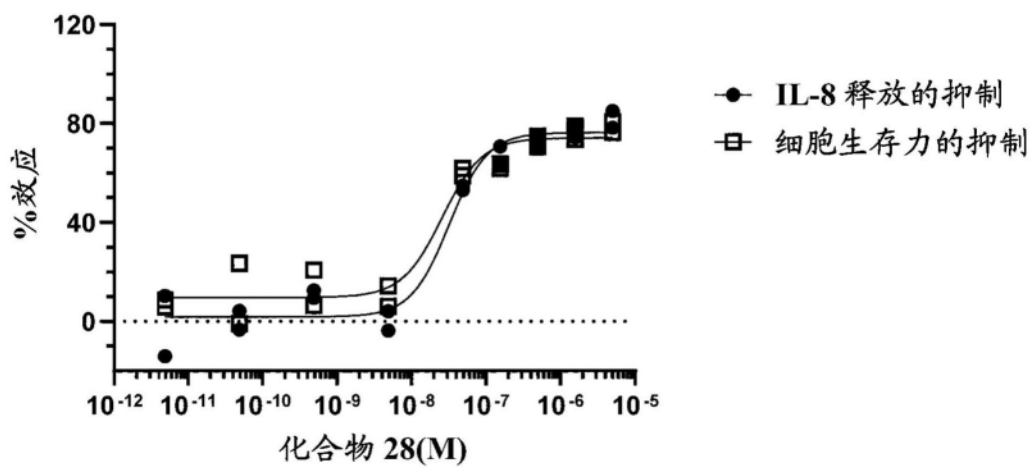


图 13.5:
化合物 28 的效应

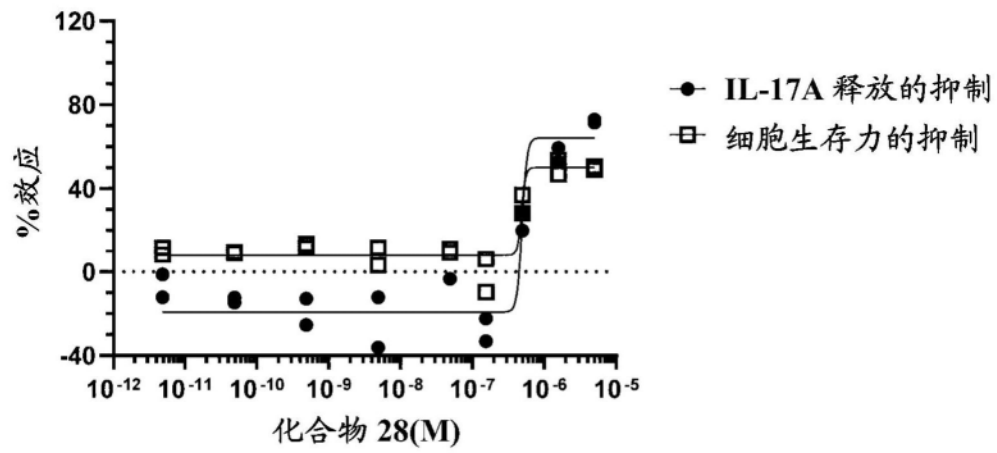
A.



B.



C.



D.

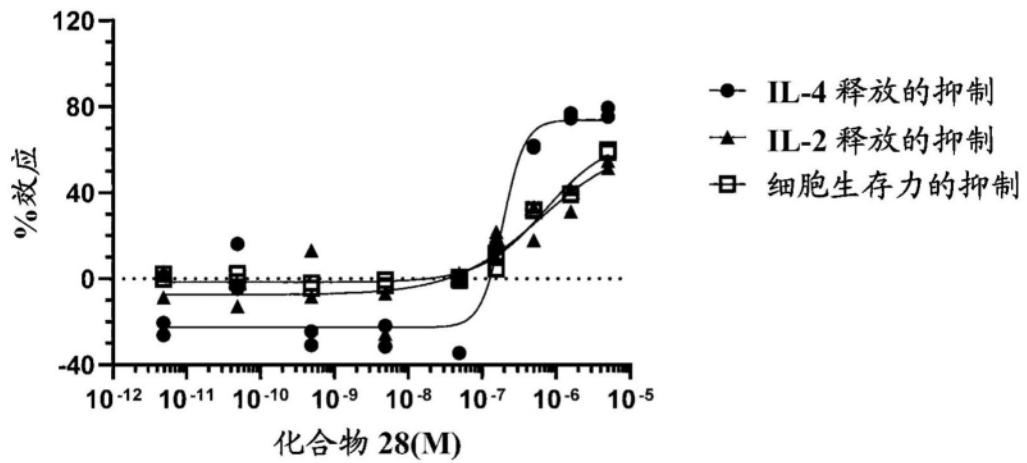
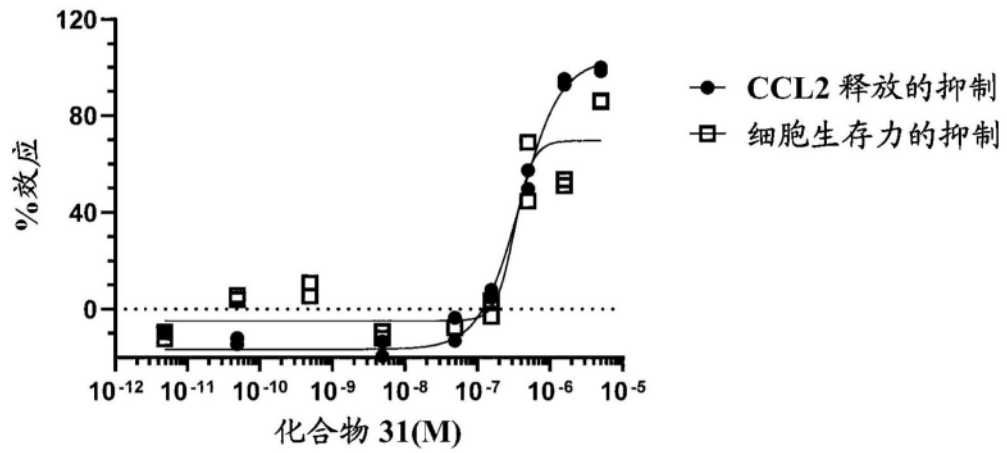
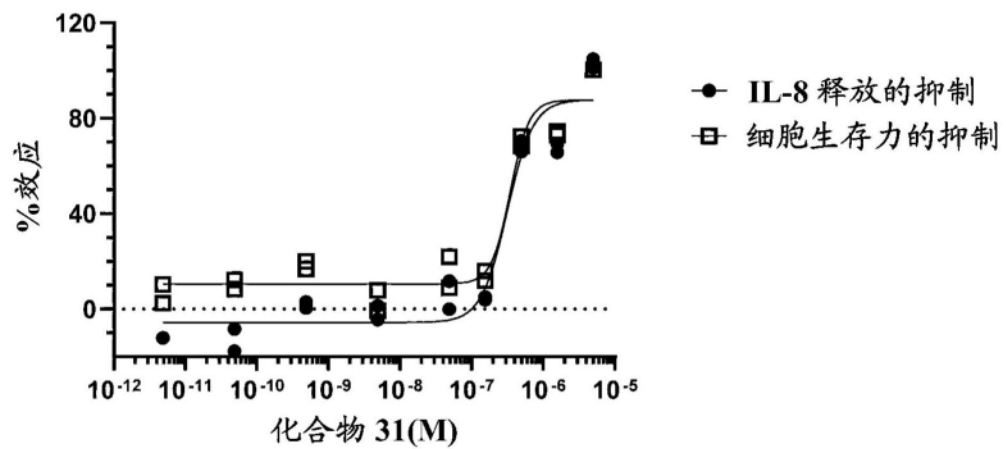


图 13.6:
化合物 31 的效应

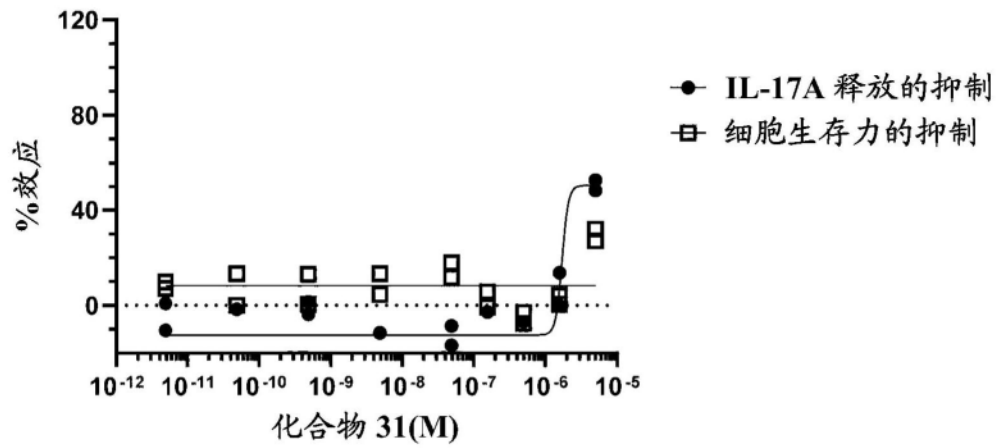
A.



B.



C.



D.

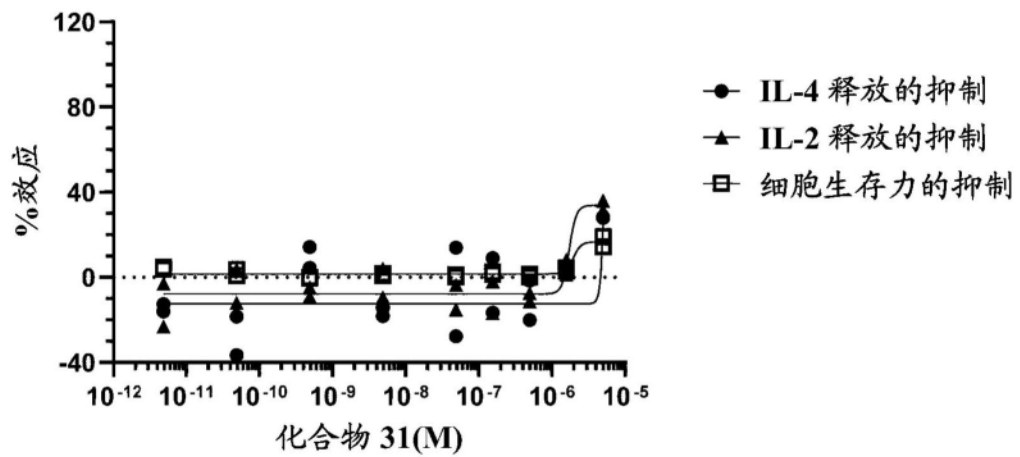
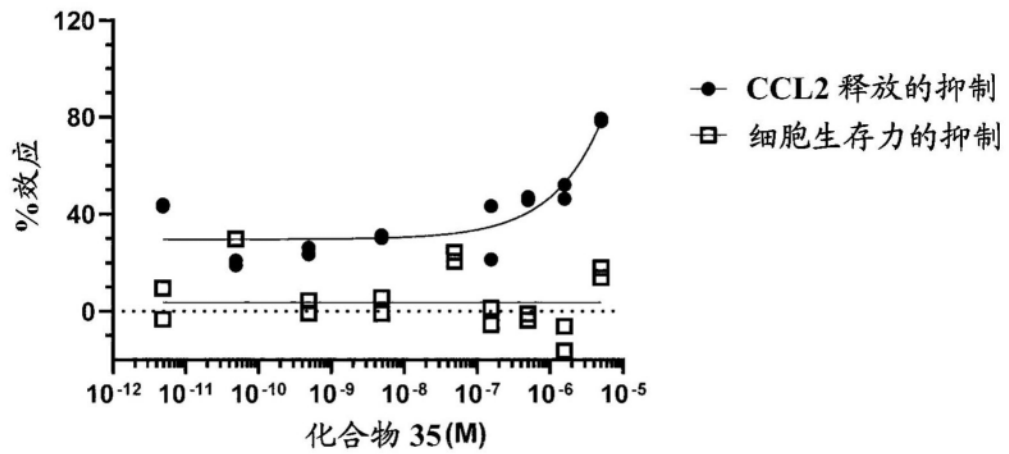
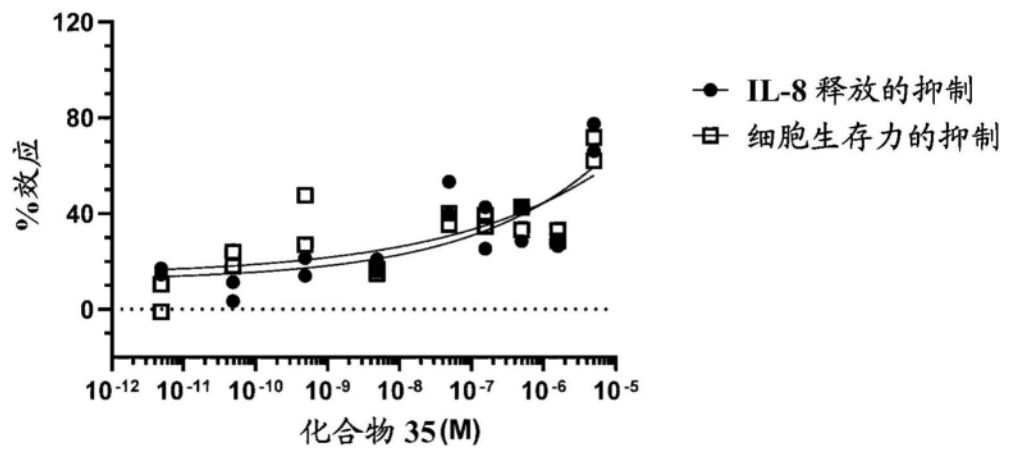


图 13.7:
化合物 35 的效应

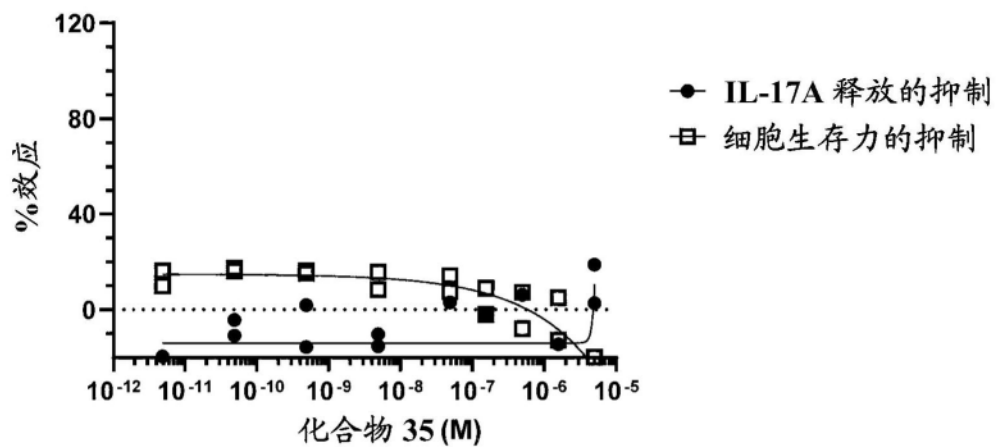
A.



B.



C.



D.

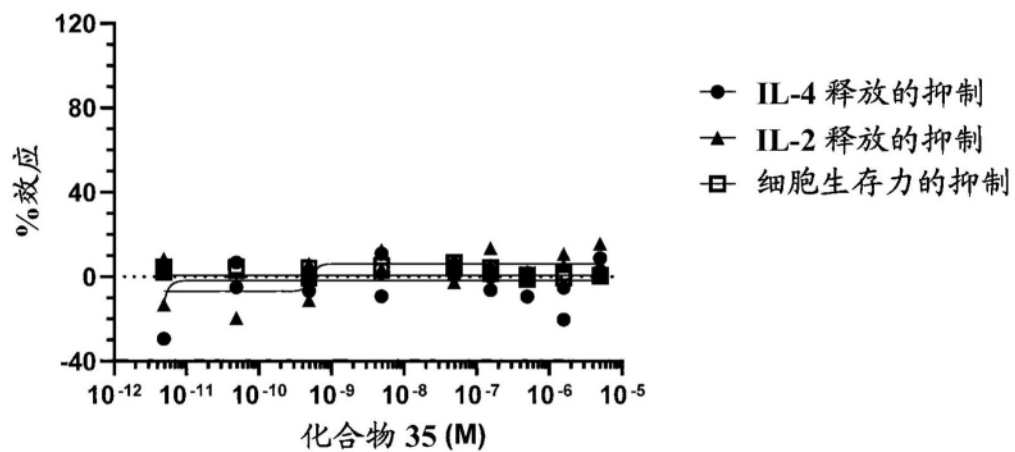
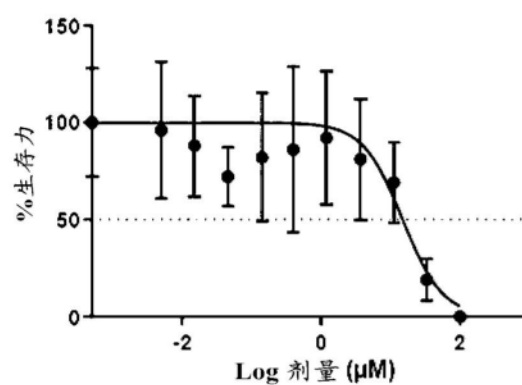


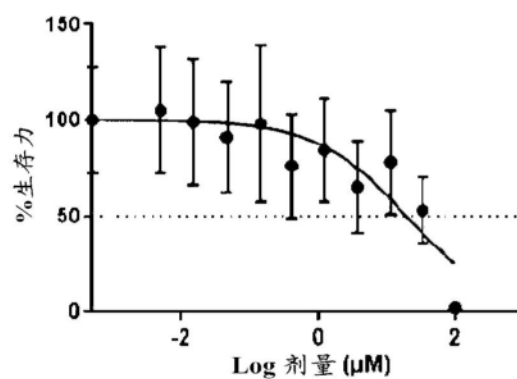
图13:化合物1、8、20、27、28、31和35的浓度-应答图

A. BNA99 结果

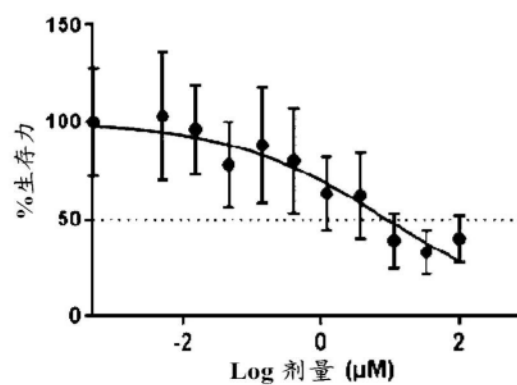
化合物 1 [KYN-001]

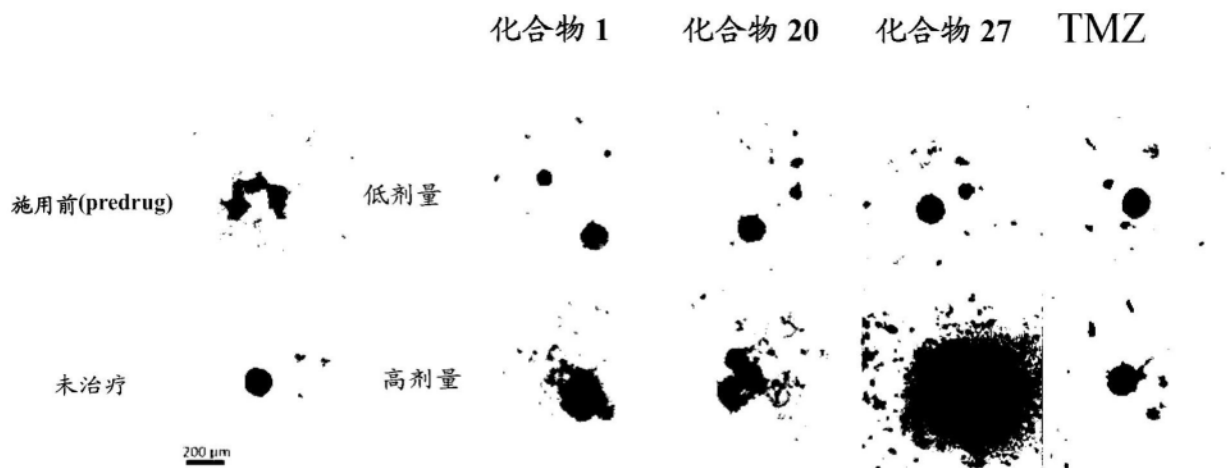


化合物 20 [KYN-146]



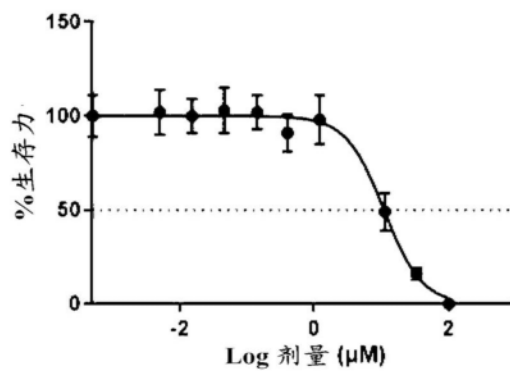
化合物 27 [KYN-149]



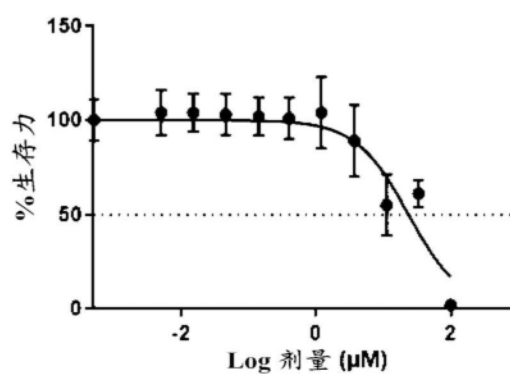


B. BNB04 结果

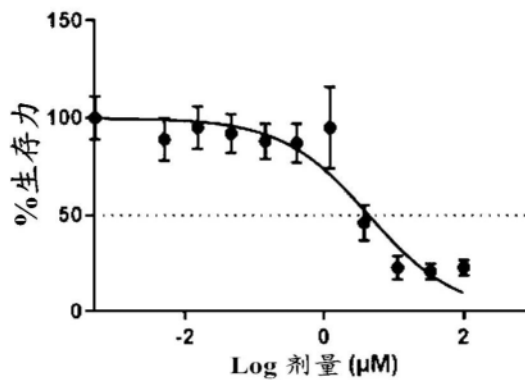
化合物 1



化合物 20



化合物 27

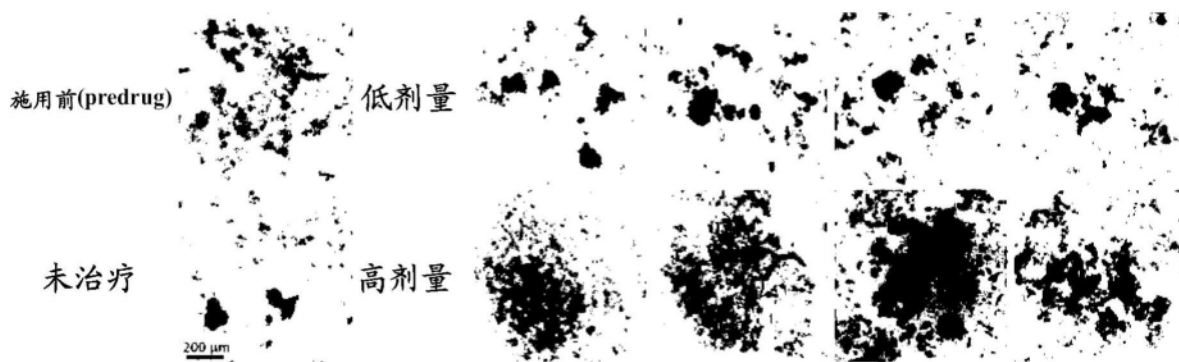


化合物 1

化合物 20

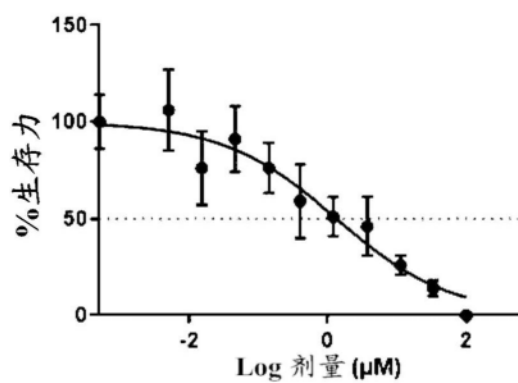
化合物 27

TMZ

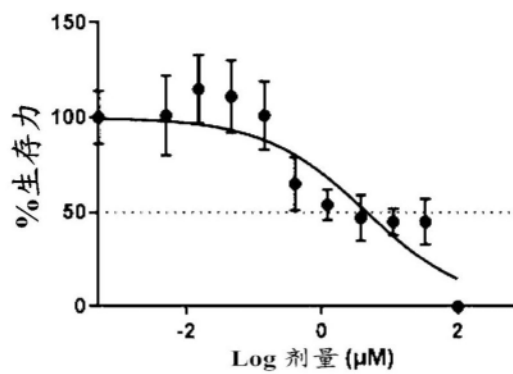


C. BNB18 结果

化合物 1



化合物 20



化合物 27

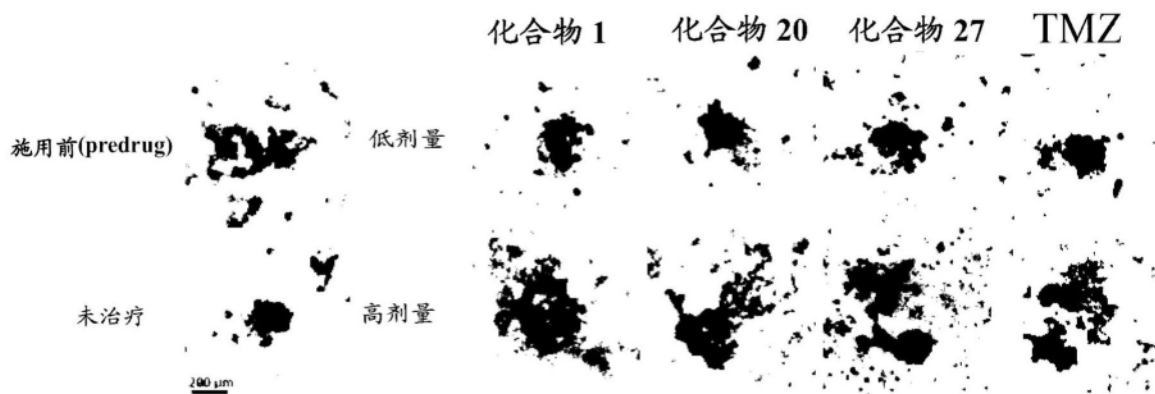
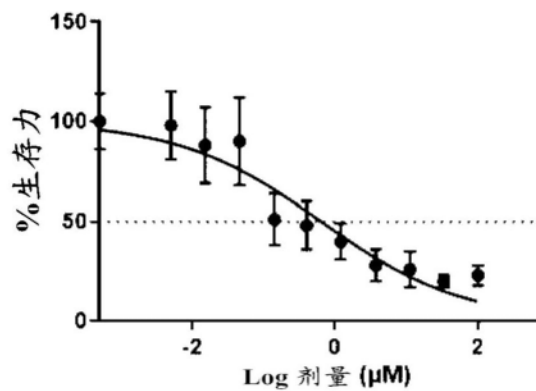
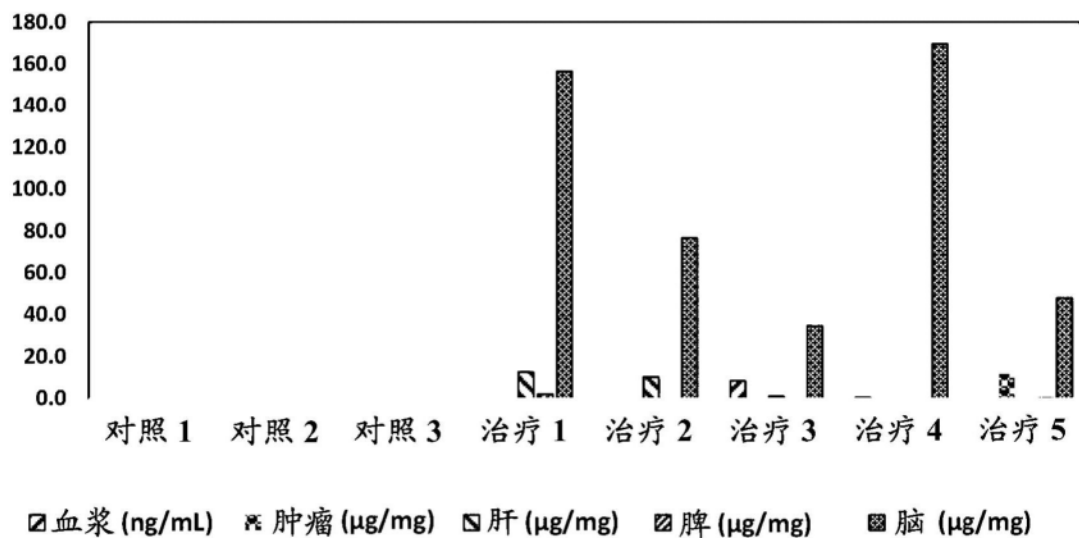


图14

A. 来自实验小鼠的不同组织中的 27 的浓度



B. 来自治疗组的分离组织中的 27 的浓度

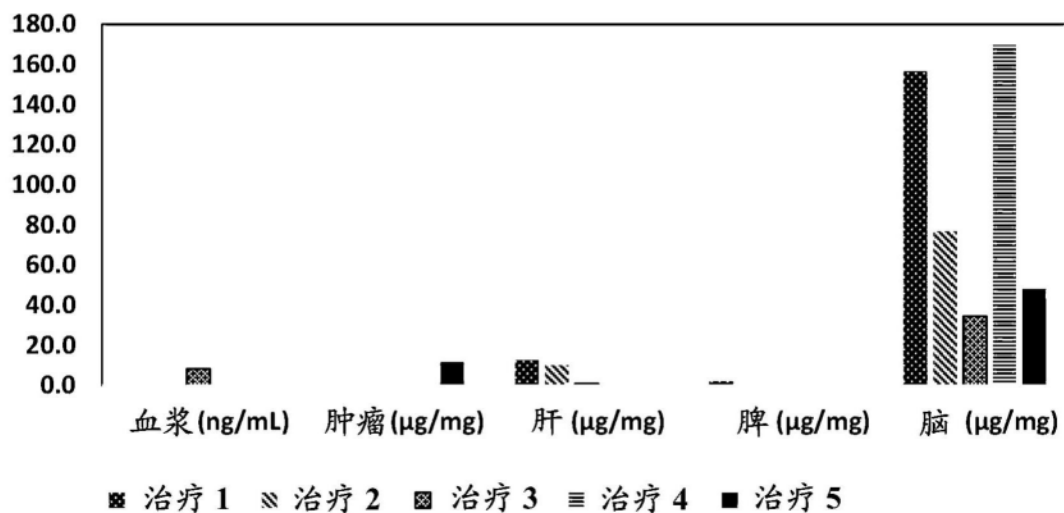


图15

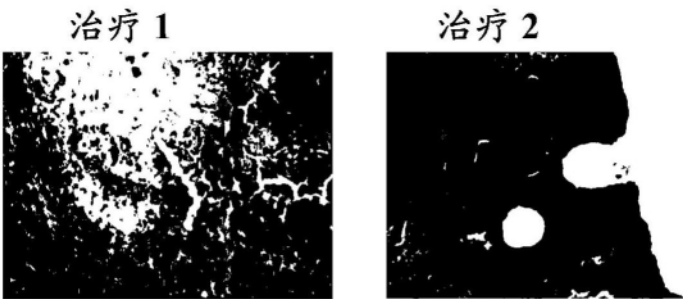


图16

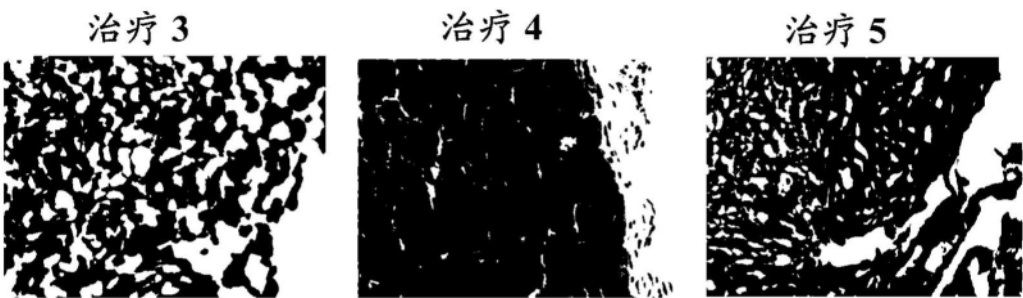


图17

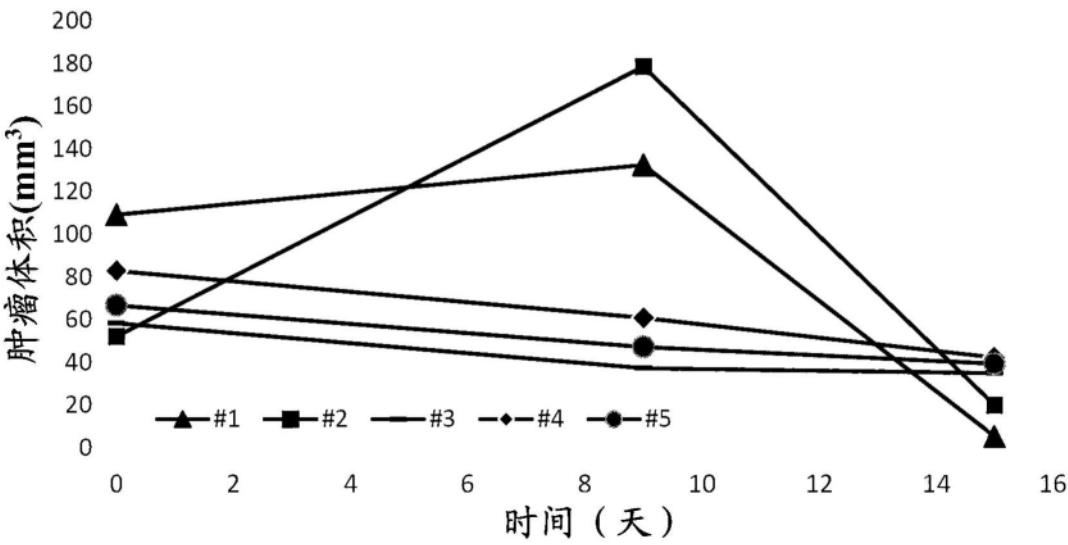


图18