



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1894215 B

(45) 授权公告日 2012.03.21

(21) 申请号 200480037045.0

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2004.12.13

C07D 213/61 (2006.01)

(30) 优先权数据

审查员 徐奇

60/528,877 2003.12.11 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2006.06.12

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2004/041712 2004.12.13

(87) PCT申请的公布数据

W02005/058829 EN 2005.06.30

(73) 专利权人 得克萨斯州大学系统董事会

地址 美国得克萨斯州

(72) 发明人 W·普里伯 N·多纳托

M·塔尔帕兹 S·希曼斯基

I·福克特 A·列维茨基

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

司 31100

代理人 范征

权利要求书 3 页 说明书 28 页 附图 9 页

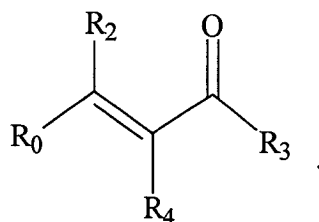
(54) 发明名称

治疗细胞增殖疾病的化合物

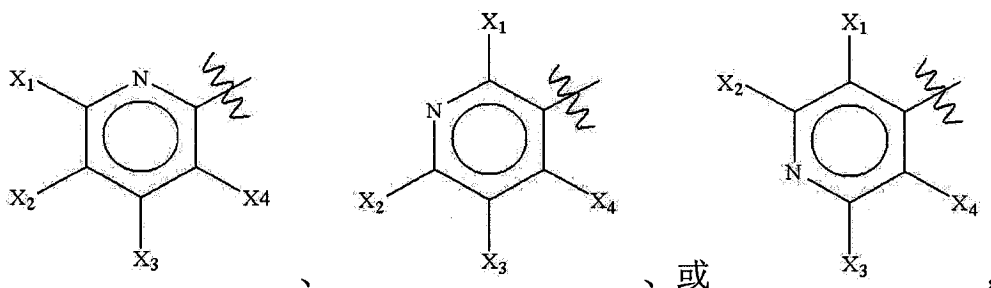
(57) 摘要

本发明涉及治疗细胞增殖疾病如癌症的化合物及其应用。本发明化合物作为激酶抑制剂具有明显效能,可下调 c-myc 和抑制癌细胞系的生长和存活。

1. 一种具有以下化学通式的化合物：

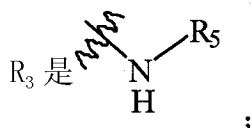


式中, R_0 选自：

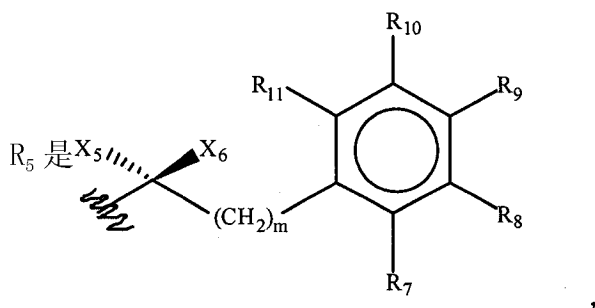


上式中, X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 各自独立地选自：氢、卤素、OH 和 NO_2 ；

R_2 选自 C_{1-7} 烷基和氢；



R_4 是 CN；



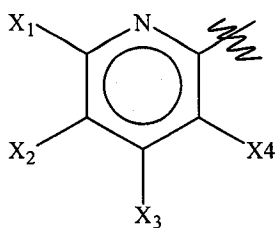
其中 $m = 0$, 和

X_5 和 X_6 各自独立选自氢和 C_{1-7} 烷基, 和

R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 和 R_{11} 各自独立选自氢和 C_{1-7} 烷基。

2. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中, R_2 是氢。

3. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中, R_0 是：

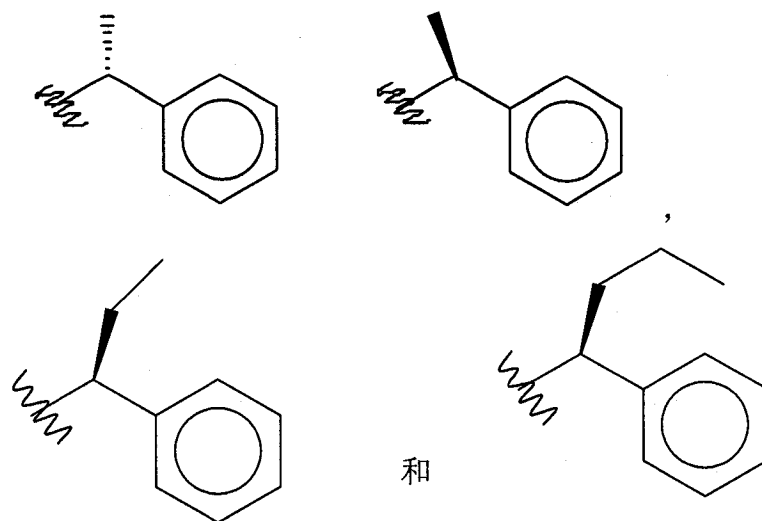


4. 如权利要求 3 所述的化合物, 其中, X_1 是卤素。

5. 如权利要求 4 所述的化合物, 其中, X_1 是 Br。

6. 如权利要求 3 所述的化合物, 其中, X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 是氢。

7. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中, R_5 选自:

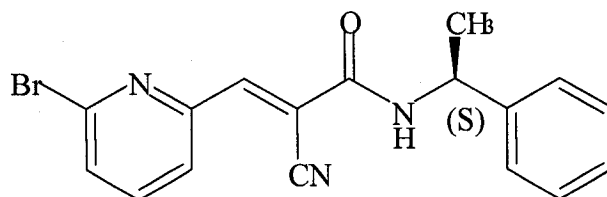


8. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_2 是氢。

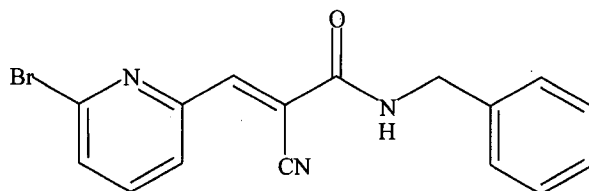
9. 如权利要求 3 所述的化合物, 其中, X_1 是卤素。

10. 如权利要求 9 所述的化合物, 其中, X_1 是 Br。

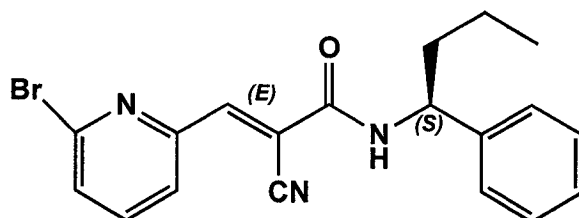
11. 如权利要求 1 所述的化合物, 具有以下通式:



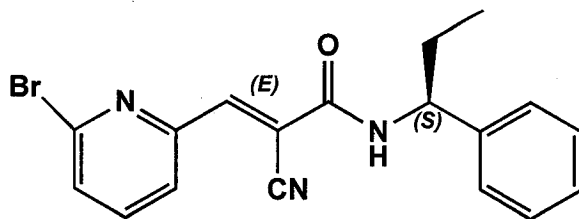
12. 如权利要求 1 所述的化合物, 具有以下通式:



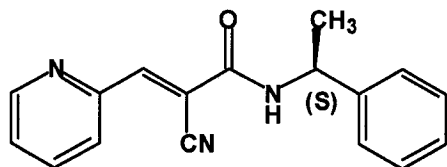
13. 如权利要求 1 所述的化合物, 具有以下通式:



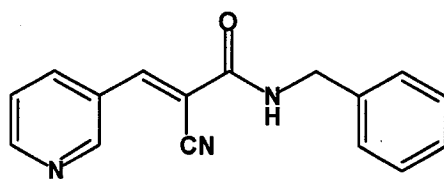
14. 如权利要求 1 所述的化合物, 具有以下通式:



15. 如权利要求 1 所述的化合物,具有以下通式:



16. 如权利要求 1 所述的化合物,具有以下通式:



17. 权利要求 1-16 中任一项所述的化合物在制备治疗对象的细胞增殖疾病用的药物中的用途。

18. 如权利要求 17 所述的用途,其特征在于,所述对象是哺乳动物。

19. 如权利要求 18 所述的用途,其特征在于,所述哺乳动物是人。

20. 如权利要求 17 所述的用途,其特征在于,所述化合物包含在药学上可接受的赋形剂、稀释剂或运载体中。

21. 如权利要求 17 所述的用途,其特征在于,所述细胞增殖疾病是癌。

22. 如权利要求 21 所述的用途,其特征在于,所述癌是黑色素瘤、肺癌、肝癌、成视网膜细胞瘤、星形细胞瘤、成胶质细胞瘤、白血病、血癌、脑癌、皮肤癌、眼癌、舌癌、胶质瘤、成神经细胞瘤、头癌、颈癌、乳房癌、胰腺癌、肾癌、骨癌、睾丸癌、卵巢癌、间皮瘤、宫颈癌、胃肠癌、淋巴瘤、结肠癌或膀胱癌。

23. 如权利要求 17 所述的用途,其特征在于,所述细胞增殖疾病是类风湿性关节炎、炎症性肠病、骨关节炎、平滑肌瘤、腺瘤、脂肪瘤、血管瘤、纤维瘤、血管闭塞、再狭窄、动脉硬化、瘤前病变、原位癌、口腔毛状白斑或银屑病。

24. 如权利要求 17 所述的用途,其特征在于,在所述对象的细胞中 stat3 活性降低。

25. 如权利要求 17 所述的用途,其特征在于,在所述对象的细胞中 c-myc 表达减少。

26. 如权利要求 21 所述的用途,其特征在于,所述癌是非小细胞肺癌或小细胞肺癌。

治疗细胞增殖疾病的化合物

[0001] 本申请要求 2003 年 12 月 11 日提交的美国临时申请 60/528,877 的优先权,该申请的全部内容尤其被引入本文作为参考。

[0002] 发明背景

[0003] 1. 发明领域

[0004] 本发明一般涉及细胞增殖疾病如癌症的治疗。更具体地涉及用于治疗细胞增殖疾病如癌症的酪氨酸磷酸化抑制剂和酪氨酸磷酸化抑制剂样化合物,合成这些化合物的方法,以及应用这些化合物的治疗方法。

[0005] 2. 相关领域的描述

[0006] AG490 是抑制 Jak2/Stat3 信号发放的激酶抑制剂。用 AG490 靶向抑制 Jak/Stat 通路可抑制肿瘤细胞生长并增加对细胞凋亡刺激的敏感性;因此,该通路的抑制剂可能是癌症治疗的潜在治疗法 (Catlett-Falcone 等,1999;Alas 和 Bonavida,2003;Burdelya 等,2002)。因为 IL-6 通过 STAT3 的磷酸化来促进某些癌细胞系的存活和增殖 (Bharti 等,Verma 等,Kerr 等),激酶抑制剂类似于 AG490,具有作为抗癌药物的可能性。

[0007] AG490 结构上分类为酪氨酸磷酸化抑制剂。美国专利 6,596,828B2 和美国专利申请 2003/0013748 描述了结构类似 AG490 的化合物。

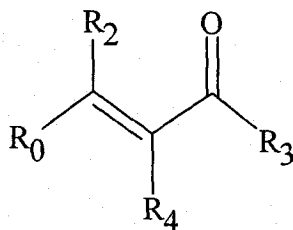
[0008] 然而,AG490 在动物试验中活性有限,必须施用高浓度 (~ 50 到 $100 \mu\text{M}$) 以抑制 Jak2/Stat3 信号发放和实现抗肿瘤作用,AG490 的这种低效能不足以保证该化合物治疗癌症的临床效果 (Burdelya 等,2002;Meydan 等,1996;Constantin 等,1998)。因此,需要在低治疗浓度下通过类似的机制具有强抗增殖作用的治疗剂。

[0009] 发明概述

[0010] 本发明通过提供与 AG490 相比具有改进的药理特征 (例如,效能增加) 的化合物,克服技术上的限制;这些化合物在低浓度 ($\sim 1 \mu\text{M}$) 下阻断 IL-6 介导的 Stat3 活化,并快速抑制 c-myc 原癌基因的表达,在许多恶性肿瘤中原癌基因常常过量表达、重排或突变 (Hallek 等,1998;Selvanayagam 等,1988;Jernberg-Wiklund 等,1992;Kuehl 等,1997)。此外,本发明化合物还可在 c-myc 过量表达肿瘤细胞中伴随其 c-myc 下调活性来诱导凋亡。本发明涉及可用作抗肿瘤和 / 或化学治疗药物的化合物,合成这些化合物的方法,以及使用这些化合物治疗癌症患者的方法。

[0011] 本发明的一方面涉及具有以下化学通式的化合物:

[0012]

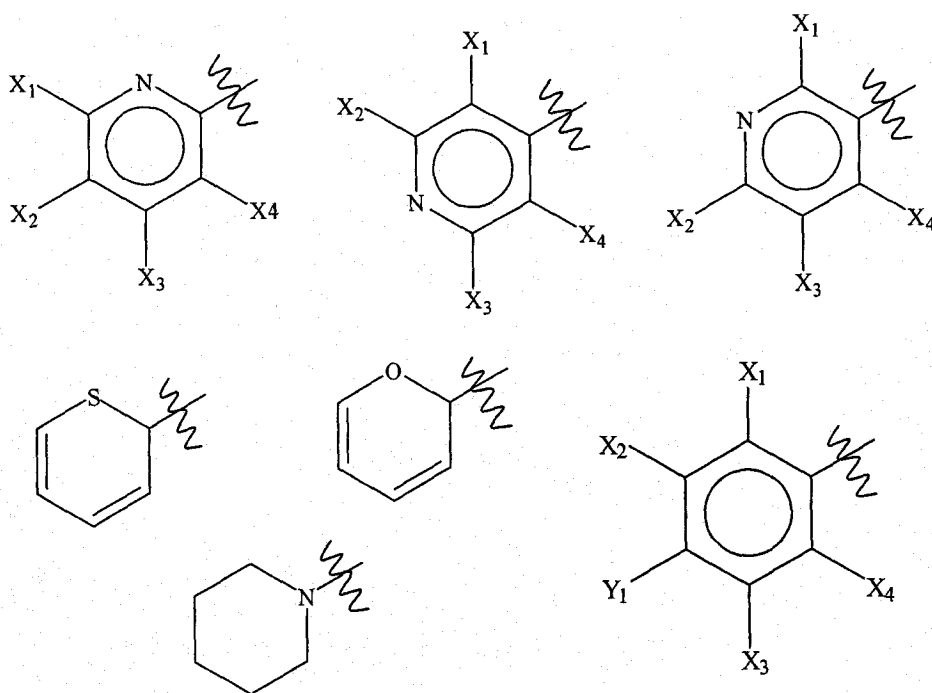


[0013] 式中, R_0 选自 R_1 和 $\text{R}_1\text{-Z}_1\text{-}$;而

[0014] 其中, Z_1 是烷基;

[0015] R_1 选自：

[0016]



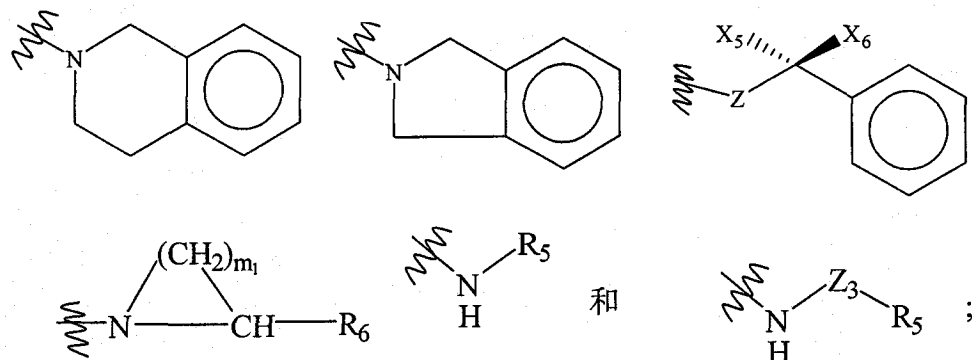
[0017] 上式中, X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 各自独立地选自：氢、卤素、烷基、烷氧基、OH、三卤代甲基和 NO_2 ；

[0018] Y_1 选自卤素和 O_2N ；和

[0019] R_2 选自：烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷芳基、卤素、氢、OH、 NO_2 、硫醚、胺、SH 和 NH_2 ；

[0020] R_3 选自：

[0021]



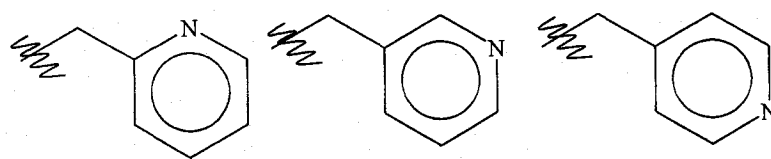
[0022] 上式中, Z_3 是烷基；和

[0023] $m_1 = 1, 2, 3$ 或 4 ；

[0024] R_4 选自：CN、取代胺、 CH_2S -烷基、烷基和 CH_2N_3 ；

[0025] 上式中, R_5 和 R_6 各自独立地选自：

[0026]



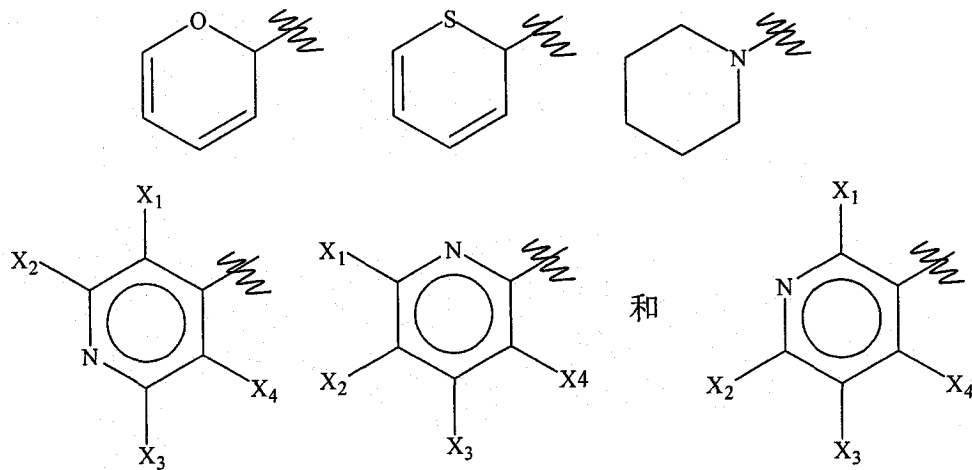
[0027] 单糖、单糖衍生物、多糖、多糖衍生物、芳基和烷芳基；

[0028] Z 选自 :NH、S 和 O，

[0029] X_5 和 X_6 各自独立地选自氢或低级烷基。

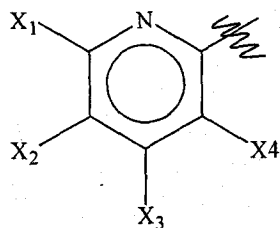
[0030] 在本发明的某些实施方式中， R_4 是 CN。在一些实施方式中， R_1 选自：

[0031]



[0032] 在更具体的实施方式中， R_1 是：

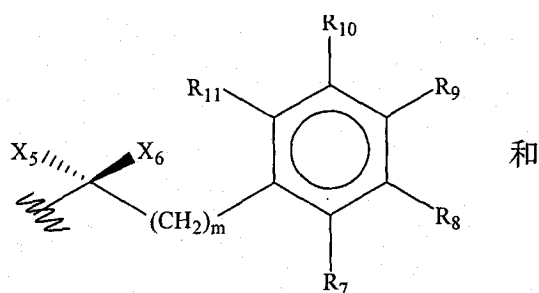
[0033]



[0034] 在一些实施方式中， X_1 是卤素如 Br。

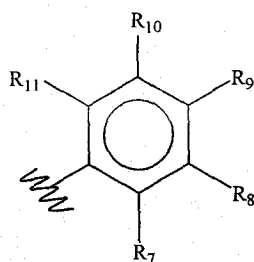
[0035] R_5 可选自具有以下结构的烷芳基：

[0036]



[0037] 具有以下结构的芳基：

[0038]



[0039] 式中, $m = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6$ 或 7 ,

[0040] X_5 和 X_6 各自独立地选自氢和烷基,

[0041] R_7, R_8, R_9, R_{10} 和 R_{11} 各自独立地选自: 氢、卤素、烷基、烷氧基、OH、三卤代甲基和 NO_2 。

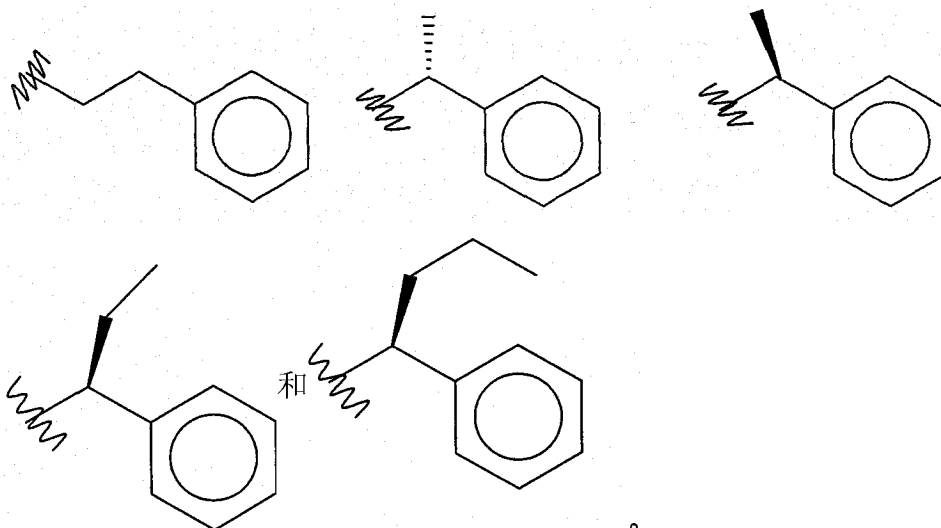
[0042] 在更具体的实施方式中, R_5 是烷芳基。 X_1, X_2, X_3 和 X_4 选自氢。 Z_1 可以是低级烷基, 低级烷基可以是 $-(CH_2)_{m3}-$, 式中 $M3 = 0, 1, 2, 3$ 或 4 。

[0043] Z_3 可以是低级烷基, 低级烷基可以是 $-(CH_2)_{m4}-$, 式中 $M4 = 0, 1, 2, 3$ 或 4 。

[0044] Y_1 可以是 O_2N 或卤素如 Cl 或 Br。

[0045] 在某些实施方式中, R_5 选自:

[0046]

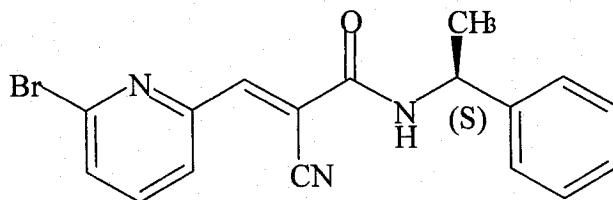


[0047]

[0048] R_2 可以是氢。 Y_1 可选自: O_2N 和卤素如 Br 或 Cl。

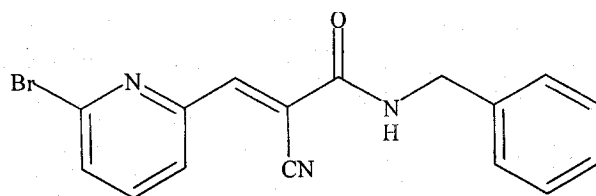
[0049] 本发明某些实施方式涉及具有以下通式的化合物:

[0050]



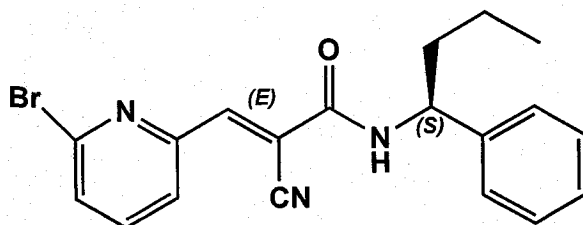
[0051] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物:

[0052]



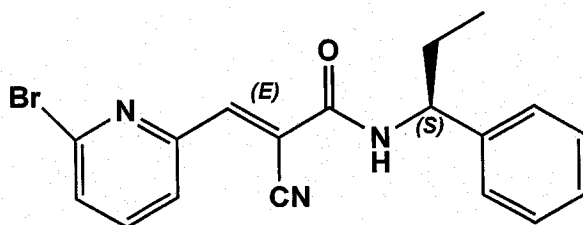
[0053] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0054]



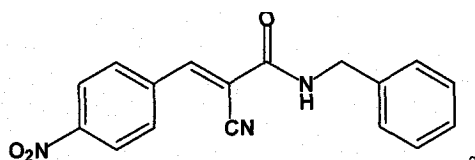
[0055] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0056]



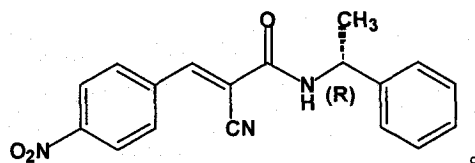
[0057] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0058]



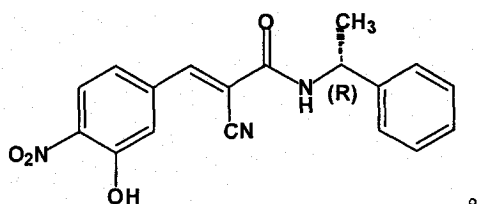
[0059] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0060]



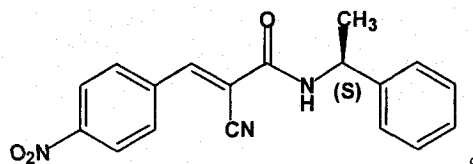
[0061] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0062]



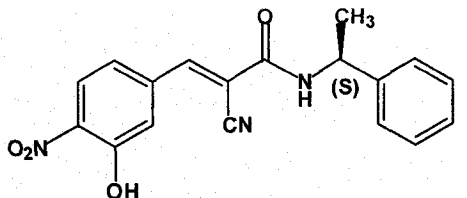
[0063] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0064]



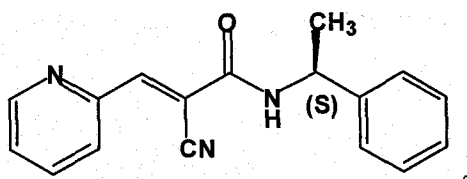
[0065] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0066]



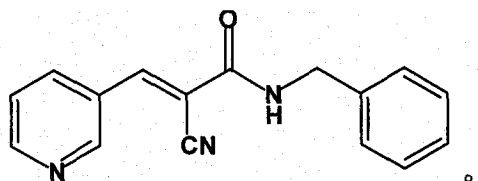
[0067] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0068]



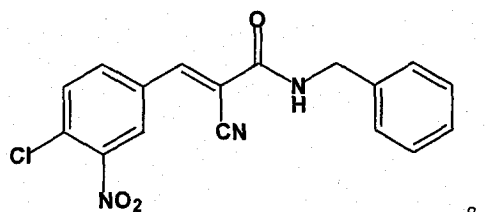
[0069] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0070]



[0071] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0072]



[0073] 本发明的另一方面涉及治疗细胞增殖疾病的方法，该方法包括将治疗相关量的本发明第一化合物给予对象。对象可以是哺乳动物，哺乳动物可以是人。第一化合物可包含在药学上可接受的赋形剂、稀释剂或运载体中。细胞增殖疾病可以是癌。癌可以是黑色素瘤、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、肺癌、肝癌、成视网膜细胞瘤、星形细胞瘤、成胶质细胞瘤、白血病、血癌、脑癌、皮肤癌、眼癌、舌癌、胶质瘤、成神经细胞瘤、头癌、颈癌、乳房癌、胰腺癌、肾癌、骨癌、睾丸癌、卵巢癌、间皮瘤、宫颈癌、胃肠癌、淋巴瘤、结肠癌或膀胱癌。

[0074] 细胞增殖疾病可以是类风湿性关节炎、炎性肠病、骨关节炎、平滑肌瘤、腺瘤、脂肪瘤、血管瘤、纤维瘤、血管闭塞、再狭窄、动脉硬化 (atherosclerosis)、瘤前病变、原位癌、口腔毛状白斑或银屑病。

[0075] 在某些实施方式中，对象的细胞中 stat3 活性降低。对象的细胞中 c-myc 表达减

少。可与治疗相关量的第二化合物联合给予第一化合物。第二化合物可以是抗癌化合物。第一化合物可与外科手术、放射治疗或基因治疗联合给予。

[0076] 附图简要说明

[0077] 下面的附图构成本说明书的一部分,以进一步说明本发明的某些方面。通过参考这些附图中的一幅或多幅,结合本文所述具体实施方式的详细描述,可更好地理解本发明。

[0078] 图 1:化合物 AG490、AG1801 和 AG 2019 对 MM 集落形成的抑制。AG1801 (12 μ M) 和 AG 2019 (12 μ M) 完全抑制 MM 集落形成,而 AG490 (25 μ M) 在较高浓度下不大有效。

[0079] 图 2A-C:抑制 MM 细胞系生长和存活。图 2A,化合物在 MM-1MM 细胞中的剂量反应关系。MM 细胞用指定浓度的 AG 或 WP 化合物培养 72 小时后,用 MTT 试验测定细胞生长和存活。化合物 AG1801、AG490 和 WP1034 可有效减少 MM1 细胞的生长和存活。图 2B,化合物在 OCI MM 细胞中的剂量反应关系。化合物 AG1801、AG490 和 WP1034 可有效减少 OCI 细胞的生长和存活。图 2C,化合物在 U266MM 细胞中的剂量反应关系。化合物 AG1801、AG490 和 WP1034 可有效减少 U266 细胞的生长和存活。

[0080] 图 3A-C:AG 和 WP 化合物对 MM 细胞生长/存活的作用。为确定 AG 和 WP 化合物对 MM 细胞生长/存活的作用,将 MM 细胞用指定浓度的 AG 或 WP 培养 72 小时后,用 MTT 试验测定细胞生长和存活。可观察到与 AG490 相比,AG1801、WP1034 和 WP1050 的效能明显增加。图 3A,AG1801、WP1034 和 WP1050 抑制 MM1 细胞的生长和存活,与 AG490 相比效能增加。图 3B,AG1801、WP1034 和 WP1050 抑制 OCI 细胞的生长和存活,与 AG490 相比效能增加。图 3C,AG1801、WP1034 和 WP1050 抑制 U266 细胞的生长和存活,与 AG490 相比效能增加。

[0081] 图 4:显示 WP1015 和 WP1066 的结构。

[0082] 图 5:WP1066 对多种癌细胞系的作用。WP1066 在多种细胞系中可有效减少细胞增殖,显示强抗癌作用。

[0083] 图 6:显示 WP1066、WP1130 和 WP1129 的结构。显示了这些化合物抗 MM-1 骨髓瘤的 IC₅₀ 值。该图说明这些化合物活性得到改进。

[0084] 图 7:用 WP1066、WP1130 和 WP1129 提高对 c-myc/Stat3 的抑制。比较这些化合物在 MM-1 细胞中的 Stat3/c-myc 抑制活性。观察到 WP1066、WP1130 和 WP1129 对 c-myc/Stat3 的强抑制作用。

[0085] 图 8:WP1066 减小体内肿瘤大小。显示了人 A375 黑色素瘤在裸鼠中生长,肿瘤达到可触摸大小后用 WP1066 处理的动物试验的结果。每隔一天 (QID) 使动物接受 40mg/kg WP1066,共注射 8 次。第 21 天终止试验,这时对照组达到最大肿瘤负荷。这些结果表明,WP1066 可降低体内肿瘤体积。

[0086] 图 9:显示 WP1119、WP1026 和 WP1127 的结构。WP1119、WP1026 和 WP1127 的结构示例性说明了可包含在本发明化合物结构中的单糖(例如,半乳糖)和单糖衍生物(例如,乙酰化单糖如乙酰化半乳糖,1,2,3,4-二异亚丙基(ideno)-D-半乳糖)的例子。

[0087] 说明性实施方式的描述

[0088] 过去研究表明,在多种肿瘤类型中,激活转录因子(例如, NF- κ B, Stat 3)的细胞因子通路因遗传损伤或自分泌/旁分泌机制未被调节或激活(Hallek 等,1998;Hideshima 等,2002)。这些通路有助于致肿瘤性和癌症进程。在本发明中,合成了几种化合物,体内筛选表明,这些化合物在低浓度($\sim 1 \mu$ M)下可完全阻断 IL-6 介导的 Stat3 活化。此外,这

些化合物可快速抑制 c-myc 原癌基因的表达, c-myc 原癌基因在许多恶性肿瘤中常常过量表达、重排或突变 (Hallek 等, 1998 ; Selvanayagam 等, 1988 ; Jernberg-Wiklund 等, 1992 ; Kuehl 等, 1997)。本发明描述了酪氨酸磷酸化抑制剂和酪氨酸磷酸化抑制剂样的化合物的结构和活性关系。这些化合物在 IL-6 处理细胞中抑制 Jak2/Stat3 信号发放的活性是 AG490 的 20-50 倍, 并具有快速 c-myc 下调活性。在相应于其 c-myc 下调活性的浓度下, 这些化合物还可诱导过量表达 c-myc 的肿瘤细胞凋亡。本发明揭示了可使对肿瘤细胞存活和增殖重要的基因和信号通路失活的化合物, 这些化合物可单独使用或与治疗癌症的其它试剂联合使用。

[0089] 化学定义

[0090] 根据长期存在的专利法公约, 说明书和权利要求书中使用的术语“一”和“一个”指一个或多个。

[0091] “烷基”指饱和脂族烃, 包括直链、支链、和环状烷基。优选地, 烷基具有 1-12 个碳原子。更优选地, 烷基是具有 1-7 个碳原子的低级烷基, 更优选具有 1-4 个碳原子。烷基可取代或未取代。如果取代, 取代基优选是羟基、氰基、烷氧基、= O、= S、NO₂、N(CH₃)₂、氨基或 SH。

[0092] “烯基”指具有至少一个碳碳双键的不饱和烃基, 包括直链、支链和环状基团。优选地, 烯基具有 1-12 个碳原子。更优选是具有 1-7 个碳原子的低级烯基, 更优选具有 1-4 个碳原子。烯基可取代或未取代。如果取代, 取代基优选是羟基、氰基、烷氧基、= O、= S、NO₂、N(CH₃)₂、卤素、氨基或 SH。

[0093] “炔基”指具有至少一个碳碳三键的不饱和烃基, 包括直链、支链和环状基团。优选地, 炔基具有 1-12 个碳原子。更优选是具有 1-7 个碳原子的低级炔基, 更优选具有 1-4 个碳原子。炔基可取代或未取代。如果取代, 取代基优选是羟基、氰基、烷氧基、= O、= S、NO₂、N(CH₃)₂、氨基或 SH。

[0094] “烷氧基”指“-O- 烷基”, 其中, “烷基”如上述定义。

[0095] “芳基”指具有至少一个共轭 pi 电子系统的环的芳族基团, 包括碳环芳基、杂环芳基和联芳基, 所有这些基团可任选地被取代。优选地, 芳基是取代或未取代的苯基或吡啶基。优选的芳基取代基为卤素、三卤代甲基、羟基、SH、OH、NO₂、胺、硫醚、氰基、烷氧基、烷基和氨基。

[0096] “烷芳基”指烷基 (如上所述), 共轭结合芳基 (如上所述)。优选地, 烷基是低级烷基。

[0097] “碳环芳基”指所有芳环上的原子都是碳原子的基团。碳原子可任选地被如上文芳基所述的优选基团所取代。

[0098] “杂环芳基”指芳环的环原子中具有 1-3 个杂原子、其余环原子为碳原子的基团。合适的杂原子包括氧、硫和氮, 包括呋喃基、噻吩基、吡啶基、吡咯基、N- 低级烷基吡咯并、嘧啶基、吡嗪基、咪唑基等, 所有基团可任选地被取代。

[0099] “酰胺”指 -C(O)-NH-R, 其中 R 为烷基、芳基、烷芳基或氢。

[0100] “硫代酰胺”指 -C(S)-NH-R, 其中, R 为烷基、芳基、烷芳基或氢。

[0101] “酯”指 -C(O)-OR', 其中, R' 为烷基、芳基或烷芳基。

[0102] “胺”指 -N(R'')R''' , 其中, R'' 和 R''' 各自独立地为氢、烷基、芳基或烷芳基, 前提

是 R'' 和 R''' 不都是氢。

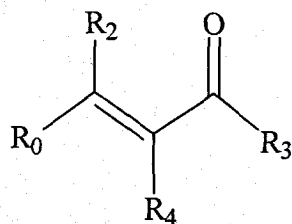
[0103] “硫醚”指 $-S-R$, 其中, R 为烷基、芳基或烷芳基。

[0104] “磺酰基”指 $-S(O)_2-R$, 其中, R 为芳基、 $C(CN)=C$ -芳基、 CH_2-CN 、烷芳基、NH-烷基、NH-烷芳基或 NH-芳基。

[0105] 酪氨酸磷酸化抑制剂和酪氨酸磷酸化抑制剂样的化合物

[0106] 本发明提供酪氨酸磷酸化抑制剂和酪氨酸磷酸化抑制剂样的化合物, 用于治疗细胞增殖疾病如癌症。本发明化合物包括具有以下化学通式的化合物:

[0107]

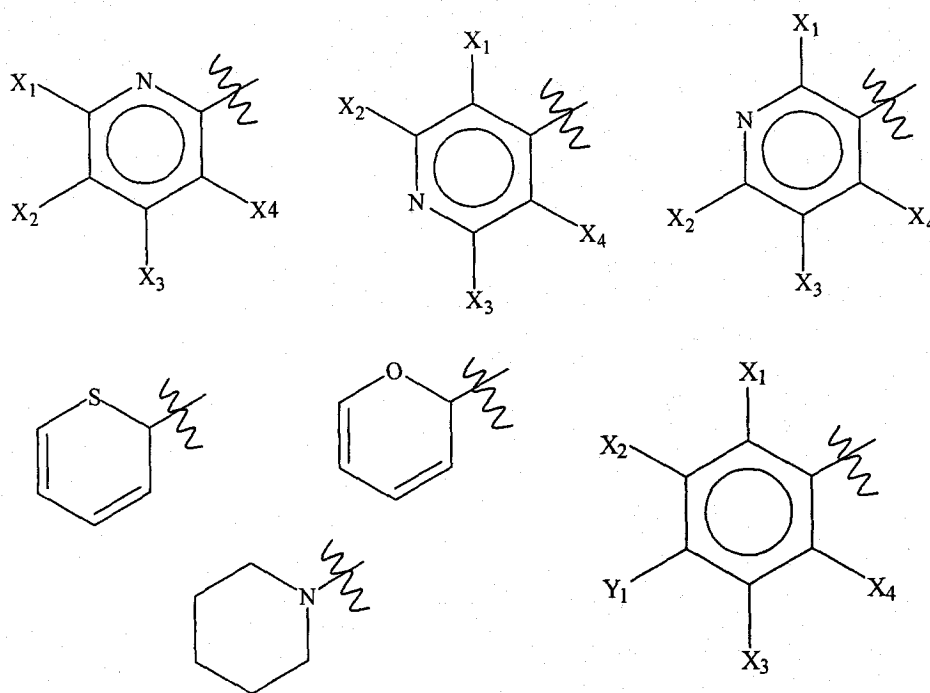


[0108] 式中, R_0 选自 R_1 和 R_1-Z_1- ; 而

[0109] 其中, Z_1 是烷基; 和

[0110] 式中, R_1 选自:

[0111]



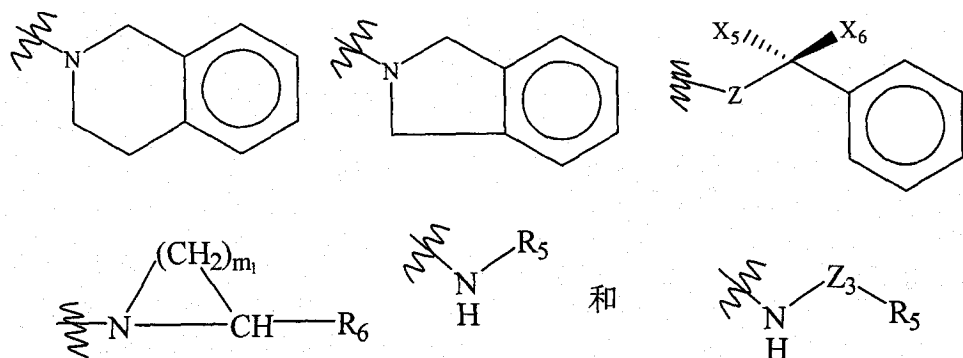
[0112] 上式中, X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 各自独立地选自: 氢、卤素、烷基、烷氧基、OH、三卤代甲基和 NO_2 ;

[0113] Y_1 选自卤素和 O_2N ; 和

[0114] R_2 选自: 烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷芳基、卤素、氢、OH、 NO_2 、硫醚、胺、SH 和 NH_2 ;

[0115] R_3 选自:

[0116]



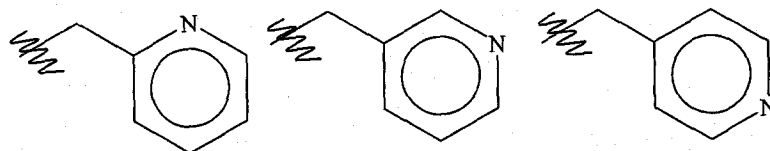
[0117] 上式中, Z_3 是烷基 ; 和

[0118] $m_1 = 1, 2, 3$ 或 4 ; 和

[0119] R_4 选自 : CN 、取代胺、 CH_2S - 烷基、烷基和 CH_2N_3 ;

[0120] 上式中, R_5 和 R_6 各自独立地选自 :

[0121]



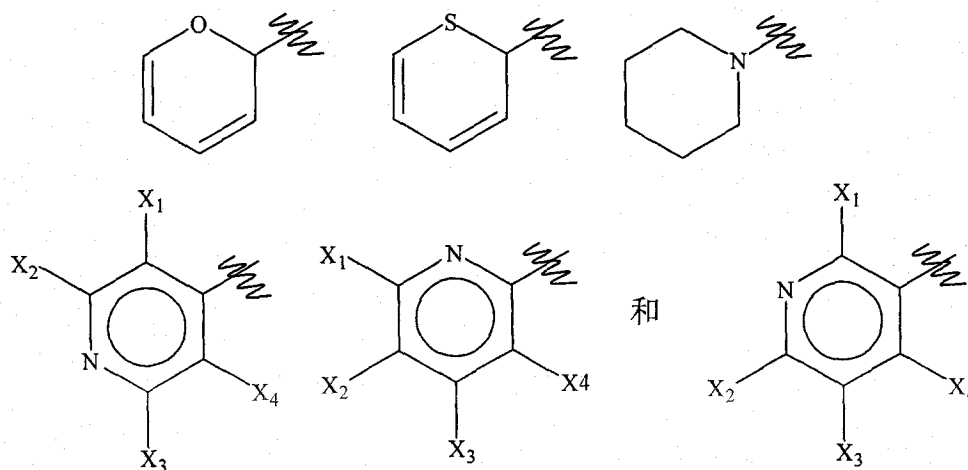
[0122] 单糖 (例如, 葡萄糖、果糖、半乳糖等)、多糖、单糖衍生物 (例如, 乙酰化单糖如乙酰化半乳糖, 1, 2, 3, 4- 二异亚丙基 -D- 半乳糖) 取代和未取代的芳基和取代和未取代的烷芳基 ;

[0123] Z 选自 : NH 、 S 和 O , 和

[0124] X_5 和 X_6 各自独立地选自氢和低级烷基。

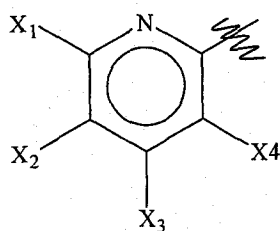
[0125] 在本发明的某些实施方式中, R_4 是 CN 。在某些实施方式中, R_1 可选自 :

[0126]



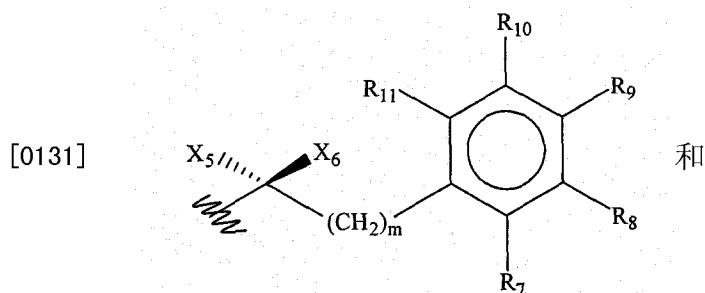
[0127] 在更具体的实施方式中, R_1 是 :

[0128]

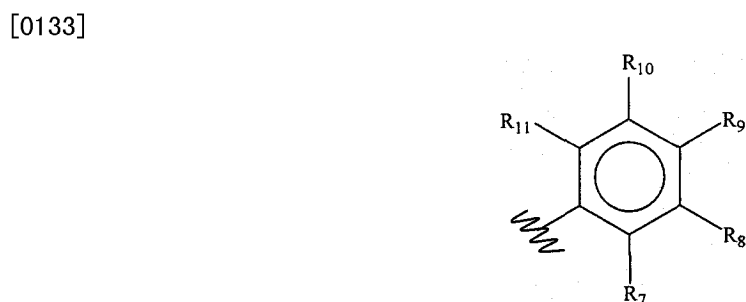


[0129] 在某些实施方式中, X_1 是卤素如 Br。

[0130] R_5 可选自具有以下结构的烷基：



[0132] 具有以下结构的芳基：



[0134] 式中, $m = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6$ 或 7, 和

[0135] X_5 和 X_6 各自独立地选自氢和烷基, 和

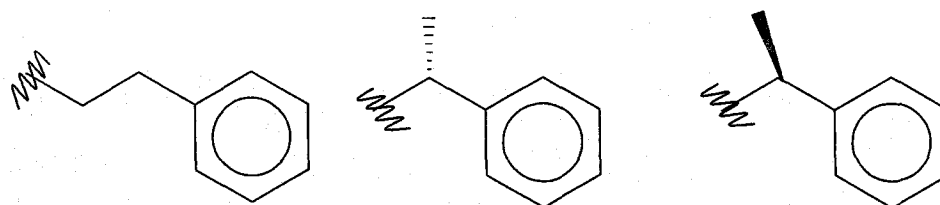
[0136] R_7, R_8, R_9, R_{10} 和 R_{11} 各自独立地选自氢、卤素、烷基、烷氧基、OH、三卤代甲基和 NO_2 。

[0137] 在更具体的实施方式中, R_5 是烷基。 X_1, X_2, X_3 和 X_4 可以是氢。 Z_1 可以是低级烷基, 低级烷基可以是 $-(CH_2)_{m3}-$, 式中, $M3 = 0, 1, 2, 3$ 或 4。

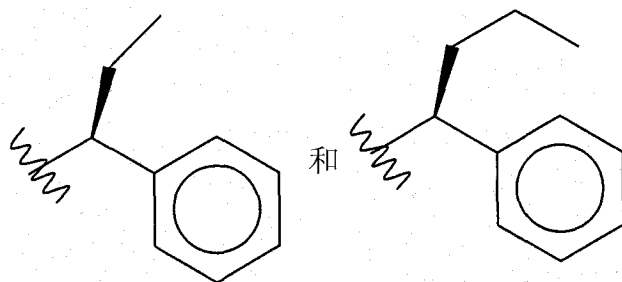
[0138] Z_3 可以是低级烷基, 低级烷基可以是 $-(CH_2)_{m4}-$, 式中, $M4 = 0, 1, 2, 3$ 或 4。 Y_1 可以是 O_2N 或卤素如 Cl 或 Br。

[0139] 在某些实施方式中, R_5 选自：

[0140]

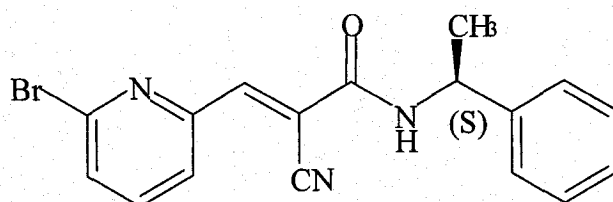


[0141]

[0142] R_2 可以是氢。Y₁ 可选自 O₂N 和卤素如 Br 或 Cl。

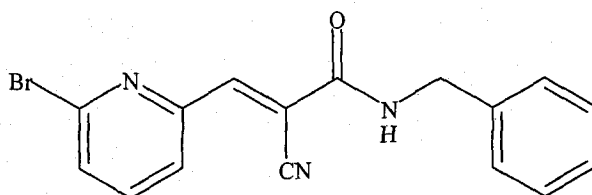
[0143] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0144]



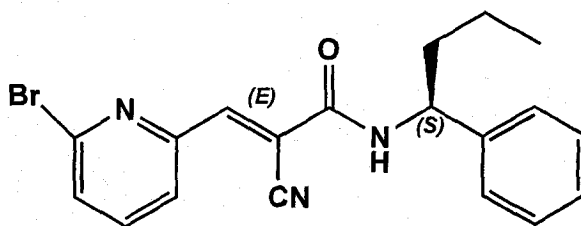
[0145] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0146]



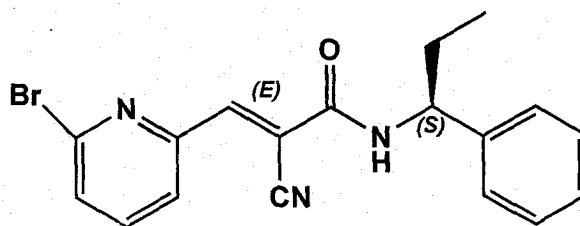
[0147] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0148]



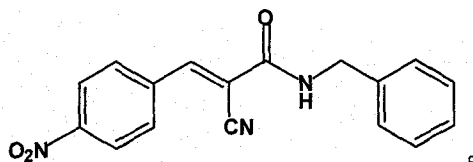
[0149] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0150]



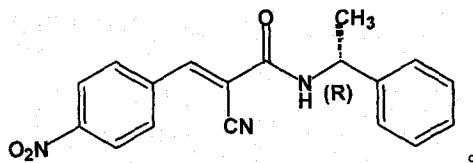
[0151] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0152]



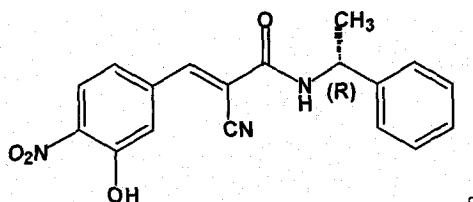
[0153] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0154]



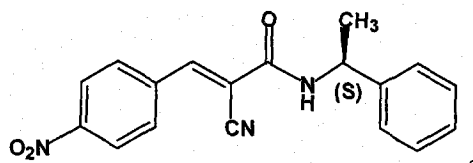
[0155] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0156]



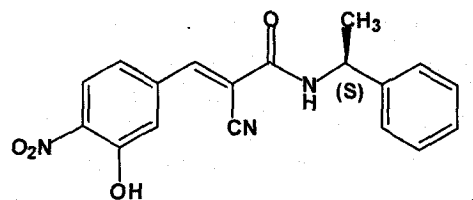
[0157] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0158]



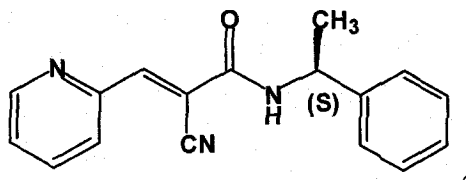
[0159] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0160]



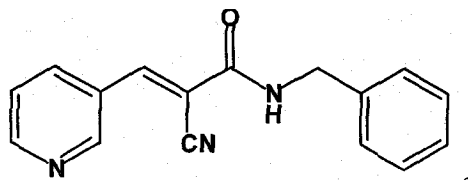
[0161] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0162]



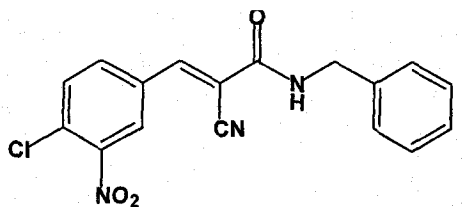
[0163] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0164]



[0165] 本发明的某些实施方式涉及具有以下通式的化合物：

[0166]



[0167] 细胞增殖疾病

[0168] 术语“细胞增殖疾病”指在多细胞生物体中，由于异常增加和 / 或不受控制的细胞生长导致多细胞生物体损伤（例如，不适或预期寿命降低）的疾病。细胞增殖疾病可在动物或人中发生。癌症是细胞增殖疾病的一个例子，本发明的某些实施方式针对癌症的治疗。

[0169] 在某些实施方式中，可使用本发明化合物和方法治疗多种癌性状态，包括（例如）黑色素瘤、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、肺癌、肝癌、成视网膜细胞瘤、星形细胞瘤、成胶质细胞瘤、白血病、血癌、脑癌、皮肤癌、眼癌、舌癌、胶质瘤、成神经细胞瘤、头癌、颈癌、乳房癌、胰腺癌、肾癌、骨癌、睾丸癌、卵巢癌、间皮瘤、宫颈癌、胃肠癌、淋巴瘤、结肠癌和 / 或膀胱癌。癌症包括癌细胞组成的肿瘤。这些癌性状态包括癌、癌变前和 / 或恶性的细胞。

[0170] 还期望将本发明化合物用于治疗除癌症外的细胞增殖疾病。本发明某些实施方式中治疗的其它细胞增殖疾病包括（例如）类风湿性关节炎、炎性肠病、骨关节炎、平滑肌瘤、腺瘤、脂肪瘤、血管瘤、纤维瘤、血管闭塞、再狭窄、动脉硬化、瘤前病变（例如，腺瘤增生、前列腺上皮内瘤形成）、原位癌、口腔毛状白斑和 / 或银屑病。

[0171] 此外，本发明化合物可用于治疗除过度增殖以外的疾病。例如，某些酪氨酸磷酸化抑制剂可用于治疗肥大和局部缺血（美国专利 6, 433, 018）以及乙型肝炎感染（美国专利 6, 420, 338）。因此，本发明化合物还可用于治疗其它疾病，包括肥大、局部缺血和病毒感染（例如，乙型肝炎感染）。

[0172] 药物组合物

[0173] 通过可使活性成分与肿瘤中的试剂作用位点接触的任何方法给予本发明抗肿瘤化合物，来杀死某些与细胞增殖疾病有关的细胞，例如肿瘤细胞。可通过与药物联用的任何常规方法给予这些化合物，这些化合物作为单独的治疗性活性成分或与治疗活性成分组合。这些化合物可单独给予，但通常与根据给药途径和标准药物操作所选的药学上可接受的载体一起给予。

[0174] 本发明水性组合物包含有效量的化合物，以杀死癌细胞或减缓癌细胞的生长。这些组合物通常溶解或分散在药学上可接受的载体或水性介质中。

[0175] 术语“AG 化合物”和“WP 化合物”指本发明的具体实施例。例如，化合物 WP1015 是 WP 化合物的一个例子，AG1801 是 AG 化合物的一个例子。

[0176] 短语“药学上或药理上可接受的”指给予动物、人（适当时）时，不产生副反应、

过敏反应或其它不良反应的分子实体或组合物。如本文所用,“药学上可接受的载体”包括任何及所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟试剂等。对药物活性物质使用这些介质和试剂是本领域公知的。除非常规介质或试剂与活性成分不相容,考虑其用于治疗组合物。组合物中也可包含补充的活性成分,如其它抗癌剂。

[0177] 除配制成胃肠道外给药,例如静脉内或肌肉注射的化合物以外,其它药学上可接受的形式包括,例如片剂或其它口服固体剂型;缓释胶囊;以及目前使用的任何其它形式,包括乳膏、洗剂、漱口剂、吸入剂、脂质载体、脂质体等。

[0178] A. 胃肠道外给药

[0179] 常常将活性化合物配制用于胃肠道外给药,例如,配制用于静脉内、肌肉、皮下、甚至是腹腔内注射。根据本说明书,本领域技术人员将了解含本发明蒽环霉素作为活性成分的水性组合物的制剂。典型地,将这些组合物制备成可注射的,作为液体溶液或混悬液;也可制备成适合在注射前加入液体制成溶液或混悬液的固体形式;也可乳化制剂。

[0180] 可在适当混有表面活性剂如羟丙基纤维素的水中制备作为游离碱或药学上可接受的盐形式的活性化合物溶液。也可在甘油、液体聚乙二醇、及其混合物和油中制备分散体。在普通储存和使用条件下,这些制剂含有防腐剂以防止微生物生长。

[0181] 在一些情况下,需要配制盐形式的化合物,通常为了改善溶解性和生物利用度,以提供更易于吸收的活性药物形式。如本文所用,术语“药学上可接受的盐”指,用生理上容许的酸酸化取代的蒽环霉素溶液所形成的化合物。合适的生理上容许的酸是有机酸或无机酸,例如盐酸、硫酸、磷酸、醋酸、柠檬酸、草酸、丙二酸、水杨酸、马来酸、甲磺酸、异苏氨酸、乳酸、葡糖酸、葡糖醛酸、酰胺硫酸、苯甲酸、酒石酸和双羟萘酸(pamoic acid)。通常,使用前提供或混合这些活性化合物的盐形式。

[0182] 适合注射使用的药物形式包括无菌水溶液或分散体;包括芝麻油、花生油、丙二醇的制剂;用于当场制备无菌注射用溶液或分散体的无菌粉末。在所有情况下,剂型必须是无菌的,必须具有一定程度的流动性易于在注射器中存在。在生产和储存条件下必须稳定,必须在抗微生物如细菌或真菌污染作用的条件下保存。

[0183] 活性化合物可以中性或盐形式配制到组合物中。药学上可接受的盐包括酸加成盐,它们用无机酸如盐酸或磷酸,或有机酸如醋酸、草酸、酒石酸、扁桃酸等形成。

[0184] 本发明化合物还可配制成含脂质体或任何其它脂质载体的组合物。脂质体包括:多泡脂质体、多层脂质体、单层脂质体。

[0185] 载体还可以是溶剂或分散介质,包括(例如)水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等)、其合适的混合物以及植物油。例如,通过使用合适的包衣如卵磷脂来维持适当流动性,对于分散体,通过使用表面活性剂来维持所需的粒度。通过各种抗菌剂或抗真菌剂如对羟基苯甲酸酯、三氯叔丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等来防止微生物的作用。在许多情况下,优选包含等渗剂,例如糖类或氯化钠。通过在组合物中使用延迟吸收的试剂如单硬脂酸铝和明胶,来实现注射用组合物的延迟吸收。

[0186] 将所需量的活性化合物和上述各种其它成分(如果需要)加入适当溶剂中,然后无菌过滤,制备无菌注射用溶液。通常,将各种无菌活性成分加入到含有碱性分散介质和所需的上述其它成分的无菌运载体中,制备分散体。在制备无菌注射用溶液的无菌粉末时,优选制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术,得到活性成分和来自前述无菌过滤溶液的任何其

它所需成分的粉末。

[0187] 在某些情况下,也可制备适合局部给药的本发明治疗制剂,例如乳膏和洗剂。这些制剂可用于治疗皮肤相关疾病,如各种肉瘤。

[0188] 配制成制剂后,可以与剂型相容的方式,以治疗有效量给予该溶液。制剂易于以多种剂型给予,例如上述可注射的溶液,也可采用药物释放胶囊等。

[0189] 例如,对于胃肠道外给药的水溶液,需要时应适当缓冲该溶液,并用足够的盐水或葡萄糖首先使稀释液成为等渗的。这些具体的水溶液尤其适合静脉内、肌肉、皮下和腹腔内给药。在这方面,根据本说明书,可采用的无菌水性介质对本领域技术人员来说将是已知的。例如,将一剂量溶解在 1mL 等渗 NaCl 溶液中,加入到 1000mL 皮下输液中或在输注的适当位点注射(例如参见"Remington's Pharmaceutical Sciences"第 15 版,第 1035-1038 和 1570-1580 页)。当然根据受治疗者的条件,剂量会有些变化。在任何情况下,负责给药的人决定各个受治疗者的适当剂量。

[0190] B. 口服给药

[0191] 在某些实施方式中,可口服给予活性化合物。对于那些通常耐受消化酶的蛋白酶解,或已产生耐受的试剂可考虑这种方式。这些化合物包括所有市售片剂形式的化合物或药物、及其衍生物和类似物。

[0192] 对于口服给药,活性化合物可与惰性稀释剂或与吸收性可食用载体混合,或可包含入硬或软壳明胶胶囊中,或压制成片剂,或直接与食物混合给药。对口服治疗给药,活性化合物可与赋形剂混合,以可摄食片剂、含化片、含片、胶囊、酏剂、混悬剂、糖浆剂、糯米纸囊剂等形式使用。这种组合物和制剂应至少含有 0.1% 的活性化合物。当然,组合物和制剂的百分比可变化,一般适合约为单位重量的 2-60%。这些治疗用组合物中活性化合物的量应使得可得到合适的剂型。

[0193] 片剂、含片、小丸、胶囊等还可含有以下成分:粘合剂,如西黄蓍胶、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶;赋形剂,如磷酸二钙;崩解剂,如玉米淀粉、马铃薯淀粉、海藻酸等;润滑剂,如硬脂酸镁;甜味剂,如蔗糖、乳糖和糖精;芳香剂,如薄荷、冬青油或樱桃香料。当剂量单位形式为胶囊时,除上述类型的物质以外,还可含有液体载体。可存在多种其它物质作为包衣或用于改进剂量单位的物理形式。例如,可用虫胶、糖或两者对片剂、小丸或胶囊包衣。酏剂糖浆可包含活性化合物、作为甜味剂的蔗糖、作为防腐剂的尼泊金甲酯和尼泊金丙酯、染料和矫味剂如樱桃和橙香料。当然,用于制备任何单位剂型的所有物质都应是药学上纯的,且在用量上基本无毒。此外,活性化合物也可包含入缓释制剂和配方中。

[0194] 配制成制剂后,可以与剂型相容的方式、以治疗有效量给予化合物。可以各种剂型,如下面具体实施例中描述的剂型,容易地给予该制剂。

[0195] IV. 疗法

[0196] 现代肿瘤学的主要挑战之一是给定肿瘤的有效治疗。肿瘤常常耐传统疗法。因此,在寻找有效治疗癌症的方法方面进行了许多努力。一种方法是新药与传统疗法联合应用。在本发明的内容中,考虑应用本发明化合物的治疗法与外科手术、化学治疗、放射治疗和/或基因疗法联用。

[0197] "有效量"或"治疗相关量"指足以产生治疗效果的化合物的量(例如,对可重复地抑制、降低、减少、抑制或终止癌细胞的生长有效)。在治疗对象的情况下,有效量足以产

生治疗效果。在这里使用的术语“治疗效果”指针对对象的细胞增殖疾病的医学治疗,可促进或提高对象健康的任何情况。非完全的例子包括患者寿命延长一段时间;减少或延迟疾病的瘤性发展;减少过度增殖;减慢肿瘤生长;延缓转移;降低癌细胞、肿瘤细胞或任何其它过度增殖细胞的增殖速率;在任何处理细胞或受处理细胞影响的细胞中诱导凋亡;和/或降低对象的造成患者疾病的痛苦。

[0198] 通过下面的实施例来说明本发明优选的实施方式。本领域技术人员应理解,按照本发明技术的实施例中所公开的技术是发明者发现的,在实施本发明时起良好的作用,因此认为其构成了本发明的优选实施方式。然而,根据本发明,本领域技术人员应理解,在不偏离本发明的精神和范围的情况下,在所公开的具体实施方式中可进行许多改变,仍然得到相同或类似的结果。

[0199] 实施例 1

[0200] 合成化合物的一般方法

[0201] 根据一般步骤制备 N-(苄基烷基)肉桂酰胺。将苄胺 (3.0g, 28mmol) 和氰基醋酸乙酯 (4.7g, 42mmol) 的乙腈 (20mL) 溶液搅拌并回流 4 小时。该一般步骤中的苄胺可被上述 R₃ 中描述了任何其它取代基所取代。真空除去溶剂,得到油,静置固化。沉淀 (EtOAc) 得到 3.28g (68%) 米色粉末,其为 N-苄基氰基乙酰胺中间体。将 N-苄基氰基甲酰胺 (1.3, 7.5mmol)、3,4-二羟基苯甲醛 (1.1g, 8.2mmol) 和哌啶 (催化, 5 滴) 搅拌回流 3 小时。急骤色谱法 (EtOAc) 后,两次重结晶 (H₂O/EtOH), 得到白色粉末产物 0.8g (36%)。

[0202] 实施例 2

[0203] 合成化合物

[0204] 使用实施例 1 所述方法,合成下面的化合物,并列出了关于合成这些化合物的数据。

[0205] AG1801 的合成。¹H-NMR (CDCl₃, 500MHz, δ): 8.49 (s, 1H, H-3), 7.39 (d, 2H, J = 8.7Hz, H-3', 5'), 8.12 (d, 2H, J = 7.5Hz, H-2', 6'), 7.43-7.39 (5H, 来自苄基的芳族 H), 6.75 (bs, 1H, NH), 4.68 (d, 2H, J = 5.7Hz, CH₂)。对 C₁₇H₁₃N₃O₃ 的元素分析计算,理论值: C; 66.44, H; 4.26, N; 13.67, 实测值: C; 65.70, H; 4.27, N; 13.45。熔点 165-166°C。

[0206] WP1002 的合成。¹H-NMR (CDCl₃, 500MHz, δ): 8.23 (s, 1H, H-3), 7.83 (d, 2H, J = 8.6Hz, H-2', 6'), 7.39-7.28 (5H, 来自苄基的芳族 H), 6.69 (d, 2H, J = 8.6Hz, H-3', 5'), 6.58 (bs, 1H, NH), 4.62 (d, 2H, J = 5.7Hz, CH₂), 4.30 (bs, 2H, NH₂)。

[0207] WP1003 的合成。¹H-NMR (CDCl₃, 500MHz, δ): 8.30 (s, 1H, H-3), 7.92 (d, 2H, J = 8.7Hz, H-2', 6'), 7.71 (s, 1H, NH), 7.66 (d, 2H, J = 8.4Hz, H-3', 5'), 7.42-7.28 (5H, 来自苄基的芳族 H), 6.70 (bs, 1H, NH), 4.62 (d, 2H, J = 5.7Hz, CH₂), 2.22 (s, 3H, CH₃)。

[0208] WP1004 的合成。¹H-NMR (CDCl₃, 500MHz, δ): 8.30 (s, 1H, H-3), 7.94 (d, 2H, J = 8.7Hz, H-2', 6'), 7.68 (d, 2H, J = 8.6Hz, H-3', 5'), 7.51 (s, 1H, NH), 7.43-7.39 (5H, 来自苄基的芳族 H), 6.67 (t, 1H, J = 5.3Hz, NH), 4.62 (d, 2H, J = 5.7Hz, CH₂), 2.41 (t, 2H, J = 7.4Hz, CH₂), 1.73 (m, 2H, CH₂), 1.42 (m, 2H, CH₂), 0.96 (t, 3H, J = 7.4Hz, CH₃)。

[0209] WP1005 的合成。¹H-NMR (CDCl₃, 500MHz, δ): 8.31 (s, 1H, H-3), 7.94 (d, 2H, J = 8.7Hz, H-2', 6'), 7.68 (d, 2H, J = 8.6Hz, H-3', 5'), 7.41 (s, 1H, NH), 7.40-7.28 (5H, 来自苄基的芳族 H), 6.66 (t, 1H, J = 5.7Hz, NH), 5.35 (m, 2H, CH = CH), 4.62 (d, 1H, J = 5.7Hz,

CH_2), 2.40 (t, 2H, $J = 7.4\text{Hz}$, CH_2), 1.73 (m, 4H, CH_2), 1.75 (m, 2H, CH_2), 1.31 (m, 22H, CH_2), 0.89 (t, 3H, $J = 7.0\text{Hz}$, CH_3)。

[0210] WP1009 的合成。 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 400\text{MHz}, \delta)$: 11.88 (bs, 1H, H-1'), 8.64 (t, 1H, $J = 5.8\text{Hz}$, NH), 8.07 (s, 1H, H-3), 7.36–7.22 (m, 7H, H-3', 5' 和来自苄基的芳 2H), 6.41 (bs, 1H, H-4'), 4.39 (d, 2H, $J = 6.0\text{Hz}$, CH_2)。熔点 216–217°C。

[0211] WP1010 的合成。 $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-d}_6, 500\text{MHz}, \delta)$: 10.42 (bs, 1H, $\text{NH}\text{SO}_2\text{Me}$), 8.94 (bs, 1H, NH), 8.15 (s, 1H, H-3), 7.98 (d, 2H, $J = 8.5\text{Hz}$, H-2', 6'), 7.43–7.39 (7H, H-3', 5' 和来自苄基的芳族 H), 4.43 (d, 1H, $J = 5.4\text{Hz}$, CH_2), 3.15 (s, 3H, Me)。

[0212] WP1006 的合成。 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 500\text{MHz}, \delta)$: 8.35 (s, 1H, H-3), 7.98 (ddd, 2H, $J = 8.6\text{Hz}$, $J = 5.4\text{Hz}$, $J = 5.1\text{Hz}$, H-2', 6'), 7.40–7.31 (5H, 来自苄基的芳族 H), 7.20 (dd, 2H, $J = 8.5\text{Hz}$, $J = 11.5\text{Hz}$, H-3', 5'), 6.71 (bs, 1H, NH), 4.62 (d, 2H, $J = 5.8\text{Hz}$, CH_2)。对 $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{O}$ 的元素分析计算, 理论值: C; 72.85, H; 4.67, F; 6.78, N; 9.99, 实测值: C; 72.86, H; 4.65, F; 6.68, N; 9.80。熔点 150–151°C。

[0213] WP1007 的合成。 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 500\text{MHz}, \delta)$: 8.33 (s, 1H, H-3), 8.00 (d, 2H, $J = 8.6\text{Hz}$, H-3', 5'), 7.40–7.27 (5H, 来自苄基的芳族 H), 7.14 (dd, 2H, $J = 7.0\text{Hz}$, $J = 1.9\text{Hz}$, H-2', 6'), 6.66 (bs, 1H, NH), 4.63 (d, 1H, $J = 5.8\text{Hz}$, CH_2)。熔点 147–149°C。

[0214] WP1011 的合成。 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 300\text{MHz}, \delta)$: 8.31 (s, 1H, H-3), 7.98 (d, 2H, $J = 8.6\text{Hz}$, H-3', 5'), 7.63 (d, 2H, $J = 8.5\text{Hz}$, H-2', 6'), 7.40–7.26 (5H, 来自苄基的芳族 H), 6.67 (bs, 1H, NH), 4.61 (d, 2H, $J = 5.8\text{Hz}$, CH_2)。熔点 177–178°C。

[0215] WP1012 的合成。 $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-d}_6, 300\text{MHz}, \delta)$: 11.58 (bs, 1H, H-1'), 8.86 (t, 1H, $J = 5.7\text{Hz}$, NH), 8.28 (s, 1H, H-3), 8.25 (bs, 1H, H-4'), 7.83 (dd, 1H, $J = 8.6\text{Hz}$, $J = 1.7\text{Hz}$, H-8'), 7.57 (d, 1H, $J = 8.7\text{Hz}$, H-7'), 7.50 (dd, 1H, $J = 2.8\text{Hz}$, H-2'), 7.35–7.21 (m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 6.60 (bs, 1H, H-3'), 4.44 (d, 2H, $J = 5.7\text{Hz}$, CH_2)。熔点 199–200°C。

[0216] WP1013 的合成。 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 400\text{MHz}, \delta)$: 10.93 (s, 1H, OH), 8.66 (d, 1H, $J = 2.3\text{Hz}$, H-6), 8.31 (s, 1H, H-7), 8.26 (dd, 1H, $J = 8.9\text{Hz}$, $J = 2.2\text{Hz}$, H-2), 7.40–7.29 (6H, H-3 和来自苄基的芳族 H), 6.66 (bs, 1H, NH), 4.61 (d, 1H, $J = 5.7\text{Hz}$, CH_2)。熔点 158–159°C。

[0217] WP1014 的合成。 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 400\text{MHz}, \delta)$: 10.56 (s, 1H, OH), 8.33 (s, 1H, H-3), 8.23 (d, 1H, $J = 8.8\text{Hz}$, H-3'), 7.63 (d, 2H, $J = 2.0\text{Hz}$, H-6'), 7.51 (dd, 1H, $J = 8.8\text{Hz}$, $J = 2.0\text{Hz}$, H-2'), 7.40–7.31 (5H, 来自苄基的芳族 H), 6.71 (bs, 1H, NH), 4.62 (d, 2H, $J = 6.0\text{Hz}$, CH_2)。对 $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4$ 的元素分析计算, 理论值: C; 63.16, H; 4.05, N; 13.00, 实测值: C; 62.88, H; 4.15, N; 12.80。熔点 171–172°C。

[0218] WP1015 的合成。 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 400\text{MHz}, \delta)$: 8.26 (s, 1H, H-3), 7.67 (dd, 1H, $J = 7.6\text{Hz}$, H-5'), 7.60 (dd, 1H, $J = 7.4\text{Hz}$, $J = 1\text{Hz}$, H-4'), 7.58 (dd, 1H, $J = 7.7\text{Hz}$, $J = 1\text{Hz}$, H-6'), 7.40–7.26 (m, 5H, H, 来自苄基的芳族 H), 6.91 (bs, 1H, NH), 4.62 (d, 2H, $J = 5.8\text{Hz}$, CH_2)。熔点 182–183°C。

[0219] WP1016 的合成。 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 400\text{MHz}, \delta)$: 8.50 (s, 1H, H-3), 8.43 (dd, 1H, $J = 6.8\text{Hz}$, $J = 2.2\text{Hz}$, H-6'), 7.81 (ddd, 1H, $J = 8.7\text{Hz}$, $J = 5.2\text{Hz}$, $J = 2.0\text{Hz}$, H-3'), 7.40–7.31 (m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 6.96 (dd, 1H, $J = 9.7\text{Hz}$, $J = 8.7\text{Hz}$, H-4'), 6.68 (bs, 1H, NH), 4.62 (d, 2H, $J = 5.7\text{Hz}$, CH_2)。对 $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{FIN}_2\text{O}$ 的元素分析计算, 理论值: C; 50.27, H;

2.98, F ;4.68, I ;31.24, N ;6.90, 实测值 :C ;50.68, H ;3.22, N ;6.73, F ;4.46, I ;30.33。熔点 138-139℃。

[0220] WP1017 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 400MHz, δ) :8.50(s, 1H, H-3), 8.43(dd, 1H, J = 6.8Hz, J = 2.2Hz, H-6'), 7.81(ddd, 1H, J = 8.7Hz, J = 5.2Hz, J = 2.0Hz, H-3'), 7.40-7.31(m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 6.96(dd, 1H, J = 9.7Hz, J = 8.7Hz, H-4'), 6.68(bs, 1H, NH), 4.62(d, 2H, J = 5.7Hz, CH₂)。熔点 183-184℃。

[0221] WP1018 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 400MHz, δ) :8.38(s, 1H, H-3), 8.06(d, 2H, J = 8.6Hz, H-2', 6'), 7.93(s, 1H, H-2''), 7.53(d, 2H, J = 8.6Hz, H-3', 5'), 7.40-7.30(6H, H-5' 和来自苄基的芳族 H), 7.25(d, 1H, J = 4.1Hz, H-4''), 6.77(d, 1H, J = 6.2Hz, NH), 4.62(d, 2H, J = 5.8Hz, CH₂)。熔点 187-188℃。

[0222] WP1019 的合成。¹H-NMR(DMSO-d₆ 400MHz, δ) :9.04(t, 1H, J = 6.0Hz, NH), 8.29(bs, 2H, OH), 8.22(s, 1H, H-3), 7.94(d, 2H, J = 8.5Hz, H-2', 6'), 7.90(d, 2H, J = 8.4Hz, H-3', 4'), 7.37-7.24(m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 4.43(d, 2H, J = 5.8Hz, CH₂)。

[0223] WP1020 的合成。¹H-NMR(DMSO-d₆ 300MHz, δ) :12.87(bs, 1H, NH), 12.45(bs, 1H, NH), 7.82(s, 1H, H-3), 7.49(s, 1H, H-3'), 7.26-7.11(m, 6H, H-5' 和来自苄基的芳族 H), 4.37(d, 2H, J = 5.5Hz, CH₂)。熔点 230-231℃。

[0224] WP1021 的合成。¹H-NMR(DMSO-d₆, 400MHz, δ) :12.42(bs, 1H, H-1'), 8.83(dd, 1H, J = 5.7Hz, NH), 8.49, 8.47(2s, 1H ea, H-2', 3), 8.01(d, 1H, J = 2.0Hz, H-4'), 7.56(d, 1H, J = 8.5Hz, H-7'), 7.33-7.32(5H, 来自苄基的芳族 H), 7.26(dd, 1H, J = 8.6Hz, J = 2.1Hz, H-6'), 4.44(d, 2H, J = 6.0Hz, CH₂)。对 C₁₉H₁₄ClN₃O 的元素分析计算, 理论值 :C ;67.96, H ;4.20, Cl ;10.56, N ;12.51, 实测值 :C ;68.15, H ;4.34, Cl ;10.78, N ;12.31。熔点 229-230℃。

[0225] WP1022 的合成。¹H-NMR(DMSO-d₆, 300MHz, δ) :12.46(bs, 1H, H'), 8.87(dd, 1H, J = 5.9Hz, NH), 8.50(s, 1H, H-3), 8.49(d, 1H, J = 2.6Hz, H-2'), 8.17(d, 1H, J = 1.7Hz, H-4'), 7.53(d, 1H, J = 8.6Hz, H-7'), 7.40(dd, 1H, J = 8.5Hz, J = 2Hz, H-6'), 7.36-7.23(5H, 来自苄基的芳族 H), 4.43(d, 2H, J = 5.9Hz, CH₂)。熔点 224-225℃。

[0226] WP1026 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 300MHz, δ) :8.30(s, 1H, H-3), 8.01(s, 1H, H-6'), 7.89(d, 1H, J = 8.0Hz, H-4'), 7.66(d, 1H, J = 8.1Hz, H-2'), 7.40-7.30(m, 6H, H-3' 和来自苄基的芳族 H), 6.68(bs, 1H, NH), 4.61(d, 2H, J = 5.7Hz, CH₂)。熔点 150-151℃。

[0227] WP1027 的合成。¹H-NMR(DMSO-d₆ 300MHz, δ) :8.81(bs, 1H, OH), 8.74(t, 1H, J = 5.8Hz, NH), 7.32-7.09(m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 6.66(d, 1H, J = 2.3Hz, H-2'), 6.64(d, 1H, J = 8.3Hz, H-5'), 6.50(dd, 1H, J = 8.1Hz, J = 2.1Hz, H-6'), 4.32(dd, 1H, J = 15.2Hz, J = 6.3Hz, CH₂), 4.22(dd, 1H, J = 15.2Hz, J = 5.5Hz, CH₂), 3.87(dd, 1H, J = 7.1Hz, CH), 2.98(dd, 1H, J = 13.4Hz, J = 7.3Hz, 3-CH₂), 2.90(dd, 1H, J = 13.4Hz, J = 8.2Hz, 3-CH₂)。熔点 131-132℃。

[0228] WP1034 的合成。¹H-NMR(DMSO-d₆, 400MHz, δ) :8.41(s, 1H, H-3), 8.33(d, 2H, J = 8.8Hz, H-3', 5'), 8.05(d, 2H, J = 8.7Hz, H-2', 6'), 7.41-7.26(m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 6.60(d, 1H, J = 7.6Hz, NH), 5.28-5.21(m, 1H, CH), 1.62(d, 3H, J = 6.9Hz, CH₃)。熔点 172-173℃。

[0229] WP1035 的合成。¹H-NMR(DMSO-d₆, 300MHz, δ) :11.07(s, 1H, OH), 8.90(t, 1H, J =

5.8Hz, NH), 8.10 (s, 1H, H-3), 7.85 (dd, 1H, $J = 12.5\text{Hz}$, $J = 2.1\text{Hz}$, H-6'), 7.69 (dd, 1H, $J = 8.5\text{Hz}$, $J = 2.0\text{Hz}$, H-5'), 7.37-7.22 (m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 7.12 (d, 1H, $J = 8.8\text{Hz}$, H-2'), 4.41 (d, 2H, $J = 5.9\text{Hz}$, CH₂)。熔点 211-212°C。

[0230] WP1036 的合成。¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz, δ): 10.71 (bs, 1H, OH), 8.86 (t, 1H, $J = 6.2\text{Hz}$, NH), 8.05 (s, 1H, H-3), 7.96 (d, 1H, $J = 1.9\text{Hz}$, H-2'), 7.66 (d, 1H, $J = 2.0\text{Hz}$, H-6'), 7.34-7.21 (m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 4.40 (d, 2H, $J = 5.8\text{Hz}$, CH₂), 3.85 (s, 3H, OMe)。熔点 206-207°C。

[0231] WP1037 的合成。¹H-NMR (CDCl₃, 500MHz, δ): 7.37-7.21 (m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 7.11 (d, 1H, $J = 11.4\text{Hz}$, H-3), 6.40 (bs, 1H, NH), 4.56 (d, 1H, $J = 5.8\text{Hz}$, CH₂), 2.10-2.03 (m, 1H, H-1'), 1.30 (ddd, 2H, $J = 12.8\text{Hz}$, $J = 7.6\text{Hz}$, $J = 5.0\text{Hz}$, CH₂), 0.98 (ddd, 2H, $J = 8.9\text{Hz}$, $J = 7.3\text{Hz}$, $J = 4.6\text{Hz}$, CH₂)。熔点 106-107°C。

[0232] WP1038 的合成。¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz, δ): 10.54 (s, 1H, OH), 8.27 (s, 1H, H-3), 8.21 (d, 1H, $J = 8.8\text{Hz}$, H-5'), 7.60 (d, 1H, $J = 2.2\text{Hz}$, H-2'), 7.50 (dd, 1H, $J = 8.9\text{Hz}$, $J = 2.0\text{Hz}$, H-6'), 7.40-7.20 (5H, 来自苄基的芳族 H), 6.60 (d, 1H, $J = 6.5\text{Hz}$, NH), 5.28-5.21 (m, 1H, CH), 1.60 (d, 1H, $J = 6.9\text{Hz}$, CH₃)。熔点 178-179°C。

[0233] WP1040 的合成。¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz, δ): 10.07, 9.54 (2s, 1H ea, OH), 8.62 (d, 1H, $J = 7.8\text{Hz}$, NH), 7.92 (s, 1H, H-3), 7.52 (d, 1H, $J = 2.0\text{Hz}$, H-2'), 7.37-7.20 (5H, 来自苄基的芳族 H), 7.26 (dd, 1H, $J = 8.3\text{Hz}$, $J = 2.1\text{Hz}$, H-6'), 6.86 (d, 1H, $J = 8.3\text{Hz}$, H-5'), 5.06-4.99 (m, 1H, CH), 1.45 (d, 1H, $J = 7\text{Hz}$, CH₃)。熔点 141-142°C。

[0234] WP1041 的合成。¹H-NMR (CDCl₃, 500MHz, δ): 8.20 (s, 1H, H-3), 7.98 (d, 2H, $J = 9\text{Hz}$, H-2', 6'), 7.37-7.28 (m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 6.69 (d, 2H, $J = 9\text{Hz}$, H-3', 5'), 6.54 (bs, 1H, NH), 4.59 (d, 2H, $J = 5.7\text{Hz}$, CH₂), 3.09 (s, 6H, CH₃N)。熔点 185-186°C。

[0235] WP1042 的合成。¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz, δ): 8.27 (s, 1H, H-3), 7.69 (d, 1H, $J = 2.1\text{Hz}$, H-6'), 7.44-7.26 (12H, H-2', 5' 和来自苄基的芳族 Hs), 6.95 (d, 1H, $J = 8.4\text{Hz}$, H-3'), 6.6 (t, 1H, $J = 5.7\text{Hz}$, NH), 5.24 (s, 2H, H-7'), 4.61 (d, 2H, $J = 5.7\text{Hz}$, CH₂), 3.94 (s, 3H, OMe)。熔点 132-133°C。

[0236] WP1043 的合成。¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz, δ): 8.72 (d, 1H, $J = 1.7\text{Hz}$, H-4'), 8.55 (s, 1H, H-3), 8.15 (m, 2H, H-5, H-2'), 7.54 (ddd, 1H, $J = 8.2\text{Hz}$, $J = 1.3\text{Hz}$, H-6'), 7.46 (m, 2H, H-1', 8'), 7.38-7.29 (m, 6H, H-7' 和来自苄基的芳族 H), 6.66 (t, 1H, $J = 5.0\text{Hz}$, NH), 4.65 (d, 2H, $J = 5.7\text{Hz}$, CH₂), 4.40 (q, 2H, $J = 7.3\text{Hz}$, H-10'), 1.47 (t, 3H, H-11')。熔点 182-183°C。

[0237] WP1044 的合成。¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz, δ): 8.25 (s, 1H, H-3), 8.00 (s, 1H, H-2'), 7.54 (d, 1H, $J = 2\text{Hz}$, H-5'), 7.39-7.29 (5H, 来自苄基的芳族 H), 7.18 (d, 1H, $J = 2\text{Hz}$, H-4'), 6.56 (bs, 1H, NH), 4.59 (d, 2H, $J = 5.7\text{Hz}$, CH₂)。熔点 188-189°C。

[0238] WP1049 的合成。¹H-NMR (DMSO-d₆, 500MHz, δ): 8.75 (t, 1H, $J = 5.8\text{Hz}$, NH), 8.26 (dd, 2H, $J = 8.8\text{Hz}$, $J = 1.9\text{Hz}$, H-3', 5'), 7.84 (dd, 2H, $J = 8.7\text{Hz}$, $J = 2.4\text{Hz}$, H-2', 6'), 7.59 (d, 1H, $J = 15.9\text{Hz}$, H-3), 7.38-7.24 (m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 6.89 (d, 1H, $J = 15.9\text{Hz}$, H-2), 4.43 (d, 2H, $J = 5.9\text{Hz}$, CH₂)。熔点 193-194°C。

[0239] WP1050 的合成。¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz, δ): 8.38 (s, 1H, H-3), 8.33 (d, 2H, $J =$

8.9Hz, H-3', 5'), 8.04(d, 2H, $J = 8.9\text{Hz}$, H-2', 6'), 7.41-7.29(5H, 来自苄基的芳族 H), 6.60(d, 1H, $J = 8.2\text{Hz}$, NH), 5.28-5.21(m, 1H, CH), 1.62(d, 3H, $J = 7.0\text{Hz}$, CH₃)。熔点 173-174℃。

[0240] WP1051 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 400MHz, δ): 10.56(bs, 1H, OH), 8.28(s, 1H, H-3), 8.21(d, 1H, $J = 8.8\text{Hz}$, H-5'), 7.61(d, 1H, $J = 1.8\text{Hz}$, H-2'), 7.50(dd, 1H, $J = 8.8\text{Hz}$, $J = 1.8\text{Hz}$, H-6'), 7.41-7.30(5H, 来自苄基的芳族 H), 6.62(d, 1H, $J = 8.0\text{Hz}$, NH), 5.27-5.21(m, 1H, CH), 1.61(d, 3H, $J = 6.9\text{Hz}$, CH₃)。熔点 176-177℃。

[0241] WP1052 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 400MHz, δ): 10.93(s, 1H, OH), 8.64(d, 1H, $J = 2.3\text{Hz}$, H-2'), 8.25(s, 1H, H-3), 8.24(dd, 1H, $J = 8.9\text{Hz}$, $J = 2.3\text{Hz}$, H-6'), 7.40-7.28(6H, H-5' 和来自苄基的芳族 H), 6.54(d, 1H, $J = 6.4\text{Hz}$, NH), 5.28-5.21(m, 1H, CH), 1.61(d, 3H, $J = 6.9\text{Hz}$, CH₃)。熔点 182-183℃。

[0242] WP1053 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 400MHz, δ): 8.34(s, 1H, H-3), 8.57(dd, 1H, $J = 2.1\text{Hz}$, H-6'), 7.50(d, 1H, $J = 7.8\text{Hz}$, H-2'), 7.40-7.30(10H, 来自苄基的芳族 H), 7.16(dd, 1H, $J = 7.5\text{Hz}$, $J = 2.4\text{Hz}$, H-3'), 6.67(bs, 1H, NH), 5.12(s, 2H, H-7'), 4.62(d, 2H, $J = 5.7\text{Hz}$, CH₂)。熔点 190-191℃。

[0243] WP1054 的合成。¹H-NMR(DMSO-d₆, 500MHz, δ): 11.4(s, 1H, OH), 8.89(t, 1H, $J = 5.8\text{Hz}$, NH), 8.09(s, 1H, H-3), 8.05(d, 1H, $J = 2.2\text{Hz}$, H-2'), 7.83(dd, 1H, $J = 8.7\text{Hz}$, $J = 2.2\text{Hz}$, H-6'), 7.40-7.22(5H, 来自苄基的芳族 H), 7.12(d, 1H, $J = 8.6\text{Hz}$, H-5'), 4.41(d, 1H, $J = 5.9\text{Hz}$, CH₂)。熔点 213-214℃。

[0244] WP1055 的合成。¹H-NMR(DMSO-d₆, 300MHz, δ): 9.06(t, 1H, $J = 5.8\text{Hz}$, NH), 8.77(d, 1H, $J = 4.6\text{Hz}$, H-3'), 8.18(s, 1H, H-3), 7.99(ddd, 1H, $J = 7.8\text{Hz}$, $J = 2.2\text{Hz}$, H-5'), 7.85(d, 1H, $J = 7.7\text{Hz}$, H-6'), 7.55(dd, $J = 7.5\text{Hz}$, $J = 4.9\text{Hz}$, H-4'), 7.38-7.23(5H, 来自苄基的芳族 H), 4.44(d, 1H, $J = 5.9\text{Hz}$, CH₂)。熔点 184-185℃。

[0245] WP1060 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 300MHz, δ): 8.13(dd, 2H, $J = 8.7\text{Hz}$, $J = 2.4\text{Hz}$, H-3', 5'), 7.42(d, 2H, $J = 8.7\text{Hz}$, H-2', 6'), 7.37-7.17(m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 6.78(bs, 1H, NH), 4.69(dd, 1H, $J = 7.1\text{Hz}$, $J = 4.5\text{Hz}$, H-2), 4.49(dd, 1H, $J = 14.7\text{Hz}$, $J = 6.1\text{Hz}$, CH₂), 4.39(dd, 1H, $J = 14.7\text{Hz}$, $J = 5.7\text{Hz}$, CH₂), 3.55(dd, 1H, $J = 14.2\text{Hz}$, $J = 4.5\text{Hz}$, H-3), 3.46(dd, 1H, $J = 14.2\text{Hz}$, $J = 7.1\text{Hz}$, H-3)。熔点 129-130℃。

[0246] 合成了 WP1063 和 WP1064。¹H-NMR(DMSO-d₆, 300MHz, δ): 8.23(t, 1H, $J = 6.1\text{Hz}$, NH), 8.16(d, 2H, $J = 8.8\text{Hz}$, H-3', 5'), 7.64(d, 2H, $J = 8.6\text{Hz}$, H-2', 6'), 7.29-7.18(m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 5.68(d, 1H, $J = 6.2\text{Hz}$, OH), 5.49(d, 1H, $J = 6.9\text{Hz}$, OH), 5.07(dd, 1H, $J = 6.1\text{Hz}$, $J = 2.9\text{Hz}$, CH), 4.31(d, 2H, $J = 3.9\text{Hz}$, CH₂), 4.09(dd, 1H, $J = 7.0\text{Hz}$, $J = 2.9\text{Hz}$, CH)。熔点 160-161℃。

[0247] WP1065 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 300MHz, δ): 8.81(d, 1H, $J = 4.3\text{Hz}$, H-3'), 8.30(s, 1H, H-3), 7.80(ddd, 1H, $J = 7.7\text{Hz}$, $J = 0.8\text{Hz}$, H-5'), 7.61(d, 1H, $J = 7.7\text{Hz}$, H-6'), 7.42-7.28(m, 6H, H-4' 和来自苄基的芳族 H), 6.79(d, 1H, $J = 6.8\text{Hz}$, NH), 5.30-5.21(m, 1H, CH), 1.61(d, 3H, $J = 6.9\text{Hz}$, CH₃)。熔点 153-154℃。

[0248] WP1066 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 300MHz, δ): 8.20(s, 1H, H-3), 7.66(dd, 1H, $J = 7.6\text{Hz}$, H-5'), 7.59-7.56(m, 2H, H-4', 6'), 7.37-7.26(m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 6.80(d,

1H, $J = 7.0\text{Hz}$, NH), 5.29–5.20 (m, 1H, CH), 1.61 (d, 3H, $J = 6.9\text{Hz}$, CH₃)。熔点 143–44℃。

[0249] WP1067 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 400MHz, δ): 8.80 (s, 1H, H-3), 8.27 (dd, 1H, $J = 7.8\text{Hz}$, $J = 0.6\text{Hz}$, H-3'), 7.80–7.76 (m, 2H, H-5', 6'), 7.72–7.67 (m, 1H, H-4'), 7.41–7.26 (m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 6.69 (bs, 1H, NH), 4.62 (d, 1H, $J = 5.7\text{Hz}$, CH₂)。

[0250] WP1069 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 300MHz, δ): 9.09 (d, 1H, $J = 2.2\text{Hz}$, H-3'), 8.80 (s, 1H, H-3), 8.62 (dd, 1H, $J = 8.5\text{Hz}$, $J = 2.3\text{Hz}$, H-5'), 7.97 (d, 1H, $J = 8.5\text{Hz}$, H-6'), 7.42–7.31 (m, 6H, 来自苄基的芳族 H), 6.69 (bs, 1H, NH), 4.63 (d, 2H, CH₂)。

[0251] WP1076 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 400MHz, δ): 8.59 (s, 1H, H-3), 8.01 (d, 1H, $J = 9.0\text{Hz}$, H-6'), 7.39–7.31 (m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 4.77 (d, 1H, $J = 2.7\text{Hz}$, H-3'), 6.89 (dd, 1H, $J = 8.9\text{Hz}$, $J = 2.7\text{Hz}$, H-5'), 6.58 (bs, 1H, NH), 4.60 (d, 2H, $J = 5.7\text{Hz}$, CH₂), 3.13 (s, 6H, 2CH₃)。

[0252] WP1074 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 400MHz, δ): 8.71 (dd, 1H, $J = 1.9\text{Hz}$, H-2'), 8.44 (s, 1H, H-3), 8.38 (ddd, 1H, $J = 8.2\text{Hz}$, $J = 2.1\text{Hz}$, $J = 0.8\text{Hz}$, H-4'), 8.27 (d, 1H, $J = 7.8\text{Hz}$, H-6'), 7.72 (dd, $J = 8.0\text{Hz}$, H-5'), 7.40–7.30 (m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 6.71 (bs, 1H, NH), 4.63 (d, 1H, $J = 5.8\text{Hz}$, CH₂)。

[0253] WP1073 的合成。¹H-NMR(DMSO-d₆, 400MHz, δ): 11.44 (bs, 1H, OH), 9.07 (dd, 1H, $J = 5.9\text{Hz}$, NH), 8.59 (s, 1H, H-3), 8.22 (d, 1H, $J = 9.0\text{Hz}$, H-3'), 7.38–7.25 (m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 7.12 (d, 1H, $J = 2.6\text{Hz}$, H-6'), 7.08 (dd, $J = 9.1\text{Hz}$, $J = 2.6\text{Hz}$, H-4'), 4.44 (d, 2H, $J = 5.9\text{Hz}$, CH₂)。

[0254] WP1077 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 400MHz, δ): 8.35 (d, 1H, $J = 2\text{Hz}$, H-2'), 8.34 (s, 1H, H-3), 8.09 (dd, 1H, $J = 8.4\text{Hz}$, $J = 2.4\text{Hz}$, H-6'), 7.70 (d, 1H, $J = 8.4\text{Hz}$, H-5'), 7.40–7.26 (m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 6.68 (bs, 1H, NH), 4.62 (d, 2H, $J = 5.6\text{Hz}$, CH₂)。

[0255] WP1075 的合成。¹H-NMR(DMSO-d₆, 400MHz, δ): 9.08 (dd, 1H, $J = 6.1\text{Hz}$, NH), 8.98 (d, 1H, $J = 2.3\text{Hz}$, H-2'), 4.96 (dd, 1H, $J = 4.8\text{Hz}$, $J = 1.6\text{Hz}$, H-4'), 8.37 (ddd, 1H, $J = 8.2\text{Hz}$, $J = 2.0\text{Hz}$, H-6'), 8.26 (s, 1H, H-3), 7.60 (dd, 1H, $J = 8.2\text{Hz}$, $J = 4.8\text{Hz}$, H-5'), 7.35–7.23 (m, 5H, 来自苄基的芳族 H), 4.43 (d, 2H, $J = 6.0\text{Hz}$, CH₂)。

[0256] WP1119 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 300MHz, δ): 8.20 (s, 1H, H-3), 7.70–7.62 (m, 2H, H-4', H-6'), 7.59–7.56 (m, 1H, H-5'), 7.14 (m, 1H, NH), 5.54 (d, 1H, H-1'', $J = 4.97\text{Hz}$), 4.63 (dd, 1H, H-3'', $J = 2.23$, $J = 7.94\text{Hz}$), 4.32 (dd, 1H, H-2'', $J = 2.23$, $J = 4.97\text{Hz}$), 4.29–4.26 (m, 1H, H-4''), 4.03–4.00 (m, 1H, H-5''), 3.93–3.85 (m, 1H, H-6''), 3.54–3.45 (m, 1H, H-6''), 1.51 (s, 3H, CH₃''), 1.49 (s, 3H, CH₃''), 1.36 (s, 3H, CH₃''), 1.32 (s, 3H, CH₃'')。

[0257] WP1126 的合成。¹H-NMR(DMSO, 300MHz, δ): 8.42 (m, 1H, NH), 8.10 (s, 1H, H-3), 7.97–7.88 (m, 2H, H-4', H-6'), 7.82–7.79 (m, 1H, H-5'), 5.75–6.50 (bs, 1H, OH), 4.94 (d, 1H, H-1'', $J = 2.66\text{Hz}$), 4.49–3.77 (m, 3H, OH), 4.02–3.98 (m, 1H), 3.67 (m, 1H), 3.60–3.50 (m, 2H), 3.40–3.36 (m, 2H, H-6'')。

[0258] WP1127 的合成。¹H-NMR(CDCl₃, 300MHz, δ): 8.21 (s, 1H, H-3), 7.72–7.59 (m, 3H, H-4', H-5', H-6'), 6.95–6.91 (m, 1H, NH), 6.41 (m, 1H, H-1''), 5.48 (m, 1H), 5.37 (m, 2H), 4.34–4.29 (m, 1H, H-5''), 3.66–3.47 (m, 2H, H-6''), 2.24 (s, 3H, CH₃), 2.17 (s, 3H, CH₃), 2.04 (s, 3H, CH₃), 2.03 (s, 3H, CH₃)。

[0259] 实施例 3**[0260] 显示强抗癌作用的化合物**

[0261] 在多发性骨髓瘤 (MM) 和非 Hodgkin's 淋巴瘤 (NHL) 细胞中 IL-6 刺激 Stat3 磷酸化。图 1 中,用 IL-6 (10ng/ml) 处理 MM 细胞 (MM-1, 8226, 8226/S, U266) 或 NHL (DBr, DB, DS, LP, LR, Mino, MS, FN, Jeko, JM) 细胞 10 分钟后,制备细胞溶解产物,用免疫印迹 (来自细胞信号发放的抗 -pY705-Stat3) 评价 Stat3 酪氨酸磷酸化。IL-6 在所有 MM 细胞系及 10 种 NHL 细胞系中的 5 种 (具体地说,DB,DS,LP,FN 和 JM 细胞) 中刺激 Stat3 磷酸化。应指出 U266 细胞组成型表达受外源性加入的 IL-6 进一步刺激的活化 Stat3。

[0262] 为了研究新合成的 AG 和 WP 化合物对细胞因子介导的 Stat 激活的作用,用 2.5、12 和 25 μ M 浓度的 (持续 2 小时)AG490 或 AG1801 预处理多发性骨髓瘤 (MM-1) 细胞后,用 IL-6 或 IFN- α 刺激 10 分钟。用免疫印迹分析 Stat3 和 Stat1 的表达和活化。AG1801 (12 和 25 μ M) 可有效抑制 IL-6 信号发放而不影响 IFN- α 信号发放。AG2019 在 12 和 25 μ M 下具有类似的活性。在这些条件下 AG490 无活性。

[0263] 为了测定 AG1801 是否影响 MM 细胞中的半胱天冬酶活化,如上所述处理 OCI-My5 细胞后,分析细胞溶解产物的半胱天冬酶活化和 PARP 分裂。在 12.5 和 25 μ M,AG1801 活化上游和下游半胱天冬酶 (即,半胱天冬酶 3 和半胱天冬酶 8),AG1801 增加 PARP 分裂。12.5 和 25 μ M 下,AG490 在这些细胞的半胱天冬酶活化和 PARP 分裂上不起作用。

[0264] 为了测定这些化合物是否影响原始 MM 集落生长,从 MM 患者抽取的骨髓经磁珠分离法部分纯化,用 PCR 分析免疫球蛋白重链基因重排。在存在或不存在所指出的 AG 化合物的条件下,细胞在甲基纤维素中以集落生长 7-10 天。测定对照集落的 Ig 重链基因重排,以证实细胞群体的集落性质。如图 1 所示,AG1801 和 AG2019 完全抑制 MM 集落形成,而 AG490 在较高浓度下不大有效。

[0265] 为了测定化合物对 Stat3 活化和 c-myc 蛋白表达的影响,将 MM-1、OCI-My5 和 U266 细胞用 25 μ M AG1801、AG490、WP1038、WP1039、WP1051 或 WP1052 培养 2 小时后,用 2ng/ml IL-6 刺激细胞 10 分钟。制备细胞溶解产物,用免疫印迹分析 p-Stat3、Stat3、c-myc 和肌动蛋白 (作为对照)。Stat3 活化和 c-myc 表达都受到 WP 和 AG 化合物的影响。IL-6 刺激 Stat3 活化,但不明显影响 c-myc 的表达。

[0266] 为了测定 AG 和 WP 化合物对 MM 细胞生长 / 存活的影响,将 MM 细胞用指定浓度的 AG 或 WP 培养 72 小时后,用 MTT 试验测定细胞生长和存活。如图 2A-C 所示,具有下调 c-myc 和阻断 IL-6 介导的 Stat3 活化的活性的化合物在减少 MM 细胞系的生长和存活方面是有效的。

[0267] 为了测定在 MM 细胞中 AG490 和 AG1801 对 c-myc 表达的暂时作用和作用机制,将 MM-1 细胞用 0、25 或 50 μ M 的 AG490 或 AG1801 培养,第 30、60 或 120 分钟收集。用免疫印迹分析溶解产物的 c-myc 或作为加蛋白样对照的肌动蛋白。在所有测定的培养时间内,25 和 50 μ M 的 AG1801 可快速减少在 MM-1 细胞中的 c-myc 表达。相反,在试验浓度和培养时间内,AG490 完全不能影响 c-myc 的表达。采用半定量 PCR 测定从用 25 μ M AG1801 处理 30 分钟的细胞中提取的 c-myc mRNA 的变化。GAPDH PCR 用作对照。用上述技术评价时,AG1801 对 c-myc mRNA 的表达的影响最小。

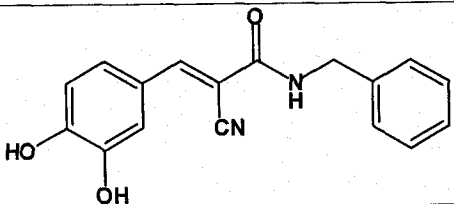
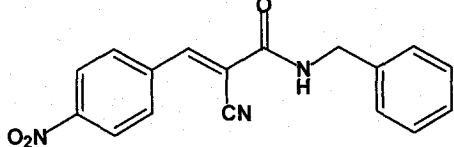
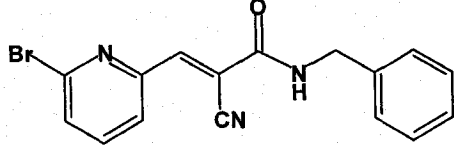
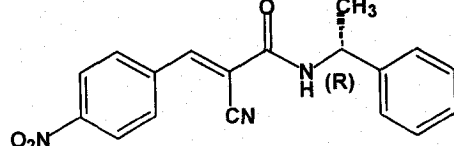
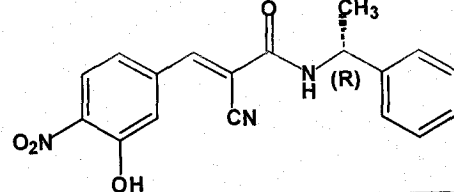
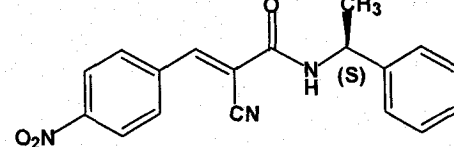
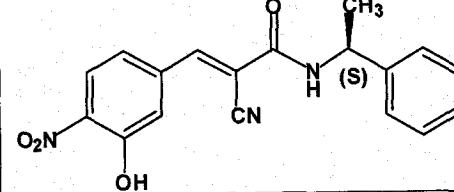
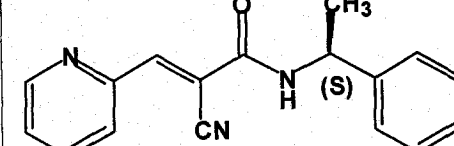
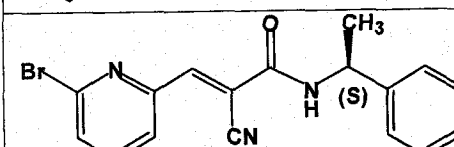
[0268] 为了测定 AG 和 WP 化合物对 MM 细胞生长 / 存活的影响,将 MM 细胞用指定浓度的

AG 或 WP 培养 72 小时后,用 MTT 试验评价细胞生长和存活。本试验的结果如图 3A-C 所示。

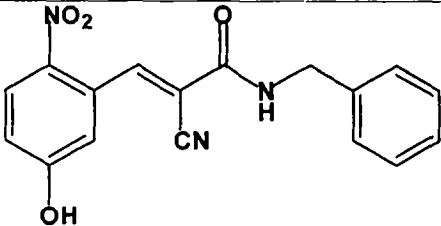
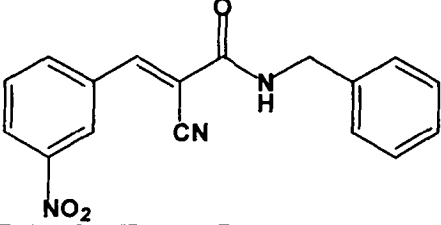
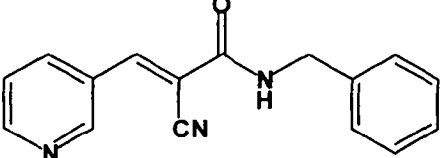
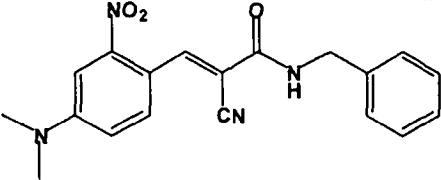
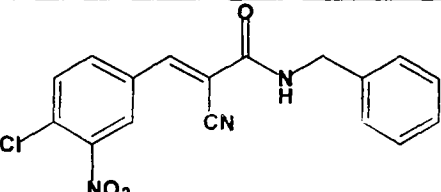
[0269] 最新的表格总结了本发明其它化合物的附加数据,如表 1 所示。下表 1 中显示了对于每种化合物,c-myc 下调和 Stat3 抑制与 IC₅₀ 值的 SAR。

[0270] 表 1 :激酶抑制剂酪氨酸磷酸化抑制剂 - 生物评价

[0271]

结构		IC ₅₀ (μ M) OCI	IC ₅₀ (μ M) MM1	IC ₅₀ (μ M) U266	C-Myc	③-Stat 3
	AG 490	>12.5	>12.5	>12.5	↓	>25 μ M ↓
	AG 1801	12.0	7.5	9.0	↓	↓
	WP 1015	ND	1.9	ND	↓	ND
	WP 1034	6.3	3.5	4.5	↓	ND
	WP 1038	>12.5	6.2	11.8	↓	↓
	WP 1050	>12.5	2.1	5.0	↓	ND
	WP 1051	>12.5	5.5	11.1	↓	↓
	WP 1065	ND	3.0	ND	ND	ND
	WP 1066	ND	1.3	ND	↓	ND

[0272]

	WP 1073	ND	>2.5	ND	ND	ND
	WP 1074	ND	>2.5	ND	ND	ND
	WP 1075	ND	>2.5	ND	ND	ND
	WP 1076	ND	>2.5	ND	ND	ND
	WP 1077	ND	2.5	ND	ND	ND

[0273] 符号：

[0274] (大于) = >

[0275] (小于) = <

[0276] (未测) = ND

[0277] (抑制) = ↓

[0278] (无作用) = -

[0279] 基于前述 SAR 研究,合成了两种新化合物 (WP1015 和 WP1066),如图 4 所示。在多发
性骨髓瘤、淋巴瘤和慢性髓细胞性白血病细胞系中评价这些化合物的信号抑制和抗增殖/
凋亡性质。采用免疫印迹法,在一系列浓度 (6、12 和 25 μ M) 下试验 WP1015、WP1034、AG1801
和 AG490 抑制 c-myc 表达的能力。WP1015 比先前合成的 WP 化合物在抑制 c-myc 蛋白的表
达上活性大。AG490 在高达 50 μ M 浓度下,对 c-myc 表达几乎没有或没有影响。类似地,在
MM-1 细胞中,WP1015 比现有化合物更有效地抑制 Stat3 磷酸化。

[0280] 然后合成了 WP1066;WP1066 中的进一步修饰 (与 WP1015 相比) 可改善活性。如
上所述采用免疫印迹法评价,WP1066 比 WP1015 在抑制 c-myc 蛋白的表达上活性大。这些
免疫印迹测定了一系列浓度 (WP 化合物, 1.56-25 μ M),采用 β -肌动蛋白作为对照。也用
强的翻译抑制剂环己酰亚胺 (CHX) 处理细胞 0-30 分钟,以测定 WP1066 是否对 c-myc 蛋白
表达介导类似作用。CHX 在高得多的浓度下得不到在 WP1066 处理的细胞中所见的快速减少

c-myc 的结果,提示 WP1066 可能对 c-myc 翻译和 / 或降解两者有作用。

[0281] 研究其它细胞类型对用 WP1066 处理的反应。如上所示使用免疫印迹法测定,WP1066 可快速下调 LP 非 Hodgkin' 淋巴瘤细胞和 MM 细胞的 c-myc 蛋白,表明 c-myc 下调活性并不只限于多发性淋巴瘤细胞。对 WP1066 试验多种培养时间 (5、15、30、60 分钟);最短 (5 分钟) 培养时间时观察到 c-myc 大幅度减少。

[0282] 进行进一步的研究,测定这些新化合物对 LP 和其它细胞类型的 IL-6 介导的 Stat3 活化、c-myc 蛋白表达以及抗增殖的剂量和时间依赖性作用。如所示,采用免疫印迹法和一系列浓度 (3-25 μ M 的 WP 化合物),WP1066 和 WP1015 都在 LP 细胞中阻断 IL-6 介导的 Stat3 活化并减少 c-myc 的表达。WP1066 的活性稍微优于 WP1015,显示该化合物一致改善对多种细胞类型的作用。

[0283] 还在已知过量表达 c-myc 的细胞系中研究 WP1066 的抗增殖 / 凋亡作用。如图 5 所示,WP1066 处理可诱导对多发性骨髓瘤 (MM-1)、套细胞淋巴瘤 (Mino) 和 CML (WDT-2、WDT-3、K562、K562-R) 细胞系的与剂量有关的抗肿瘤作用,包括那些耐激酶抑制剂甲磺酸伊马替尼 (K562-R) 的细胞系。因此,WP1066 在多种癌细胞系中可强效抑制细胞增殖和 / 或存活,WP1066 将用作治疗剂。

[0284] 根据本发明,无需过多实验即可制备和完成本文公开和要求的所有组合物。虽然用优选实施方式描述了本发明组合物和方法,本领域技术人员将明白,在不偏离本发明的概念、精神和范围情况下,对本文所述组合物、方法的步骤或方法步骤的顺序可进行许多改变。更具体地说,应明白,某些化学和生理学上相关的试剂可代替本文所述试剂,而达到相同或类似的结果。所有这些类似的取代和变化对本领域技术人员是显而易见的,认为在如所附权利要求书所述的本发明的精神、范围和概念内。

[0285] 实施例 4

[0286] 显示体内强抗癌作用的化合物

[0287] 根据实施例 1 所述方法合成化合物 WP1129 和 WP1130。WP1129 和 WP1130 的结构如图 6 所示。这些化合物抗 MM-1 骨髓瘤的 IC_{50} 值如图 6 所示,这些化合物的 IC_{50} 值甚至要优于化合物 WP1066。WP1129 和 WP1130 增加的效能支持采用这些化合物来治疗细胞增殖疾病如癌症。

[0288] 观察到用 WP1066、WP1130 和 WP1129 提高了对 c-myc/Stat3 的抑制 (图 7)。比较这些化合物在 MM-1 细胞中的 Stat3/c-myc 抑制活性。发现 WP1066、WP1130 和 WP1129 可强效抑制 c-myc/Stat3。

[0289] 发现 WP1066 可减小体内肿瘤大小。人 A375 黑色素瘤接种裸鼠中,肿瘤达到可触摸大小后用 WP1066 处理的动物实验的结果如图 8 所示。采用下面的动物模型来评价化合物的抗肿瘤和抗癌作用:第 0 天,将 A375 细胞以 20×10^6 细胞 /ml 悬浮在 RPMI 1640 培养基中。第 0 天,将 0.2ml 含 A375 细胞的该悬浮液注射 (s. c.) 到 6-7 周龄的雌性瑞士裸鼠中。第 7 天,将在 0.1ml DMSO/PEG300 (50/50) 的悬浮液中的 40mg/kg WP1066 注射 (i. p.) 到上述裸鼠中,每隔一天注射一次,共 8 次。每个试验组 5 只小鼠,包括载体 (DMSO/PEG300) 对照组。每隔一天 (QID) 动物接受 40mg/kg WP1066,共 8 次注射。第 21 天对照组达到最大肿瘤负荷,因而终止实验。WP1066 显示体内强抗癌和抗肿瘤作用。这些结果表明 WP1066 和本文所述其它化合物可用于治疗过度增殖疾病如癌症。

[0290] 参考文献

[0291] 下面的参考文献在这样的范围内,即它们提供示例性的方法,或是本文所述内容的详细补充,具体包括在此作为参考。

[0292] 美国专利 6,596,828B2

[0293] 美国专利 6,433,018

[0294] 美国专利 6,420,338

[0295] 美国专利申请 2003/0013748

[0296] Alas 和 Bonavida, Clin. Cancer Res. ,9(1) :316-26,2003.

[0297] Arbel 等, Am. J. Obstet. Gynecol,188(5) :1283-90,2003.

[0298] Bharti 等, J. Immunol. ,171(7) :3863-3871,2003.

[0299] Burdelya 等, Mol. Cancer Ther. ,1(11) :893-9,2002.

[0300] Catlett-Falcone 等, Immunity,10(1) :105-15,1999.

[0301] Constantin 等, Eur. J. Immunol. ,28(11) :3523-9,1998.

[0302] Hallek 等, Blood,91(1) :3-21,1998.

[0303] Hideshima 等, J. Biol. Chem. ,277(19) :16639-47,2002.

[0304] Jernberg-Wiklund 等, Int. J. Cancer,51(1) :116-23,1992.

[0305] Kerr 等, FEBS Lett. ,546(1) :1-5,2003.

[0306] Kuehl 等, Curr. Top Microbiol. Immunol,224 :277-82,199

[0307] Meydan 等, Nature,379(6566) :645-8,1996.

[0308] Remington' s Pharmaceutical Sciences" 第15版,第1035-1038和1570-1580页.

[0309] Selvanayagam 等, Blood,71(1) :30-5,1988.

[0310] Verma 等, Cancer Metastasis Rev. ,22(4) :423-34,2003.

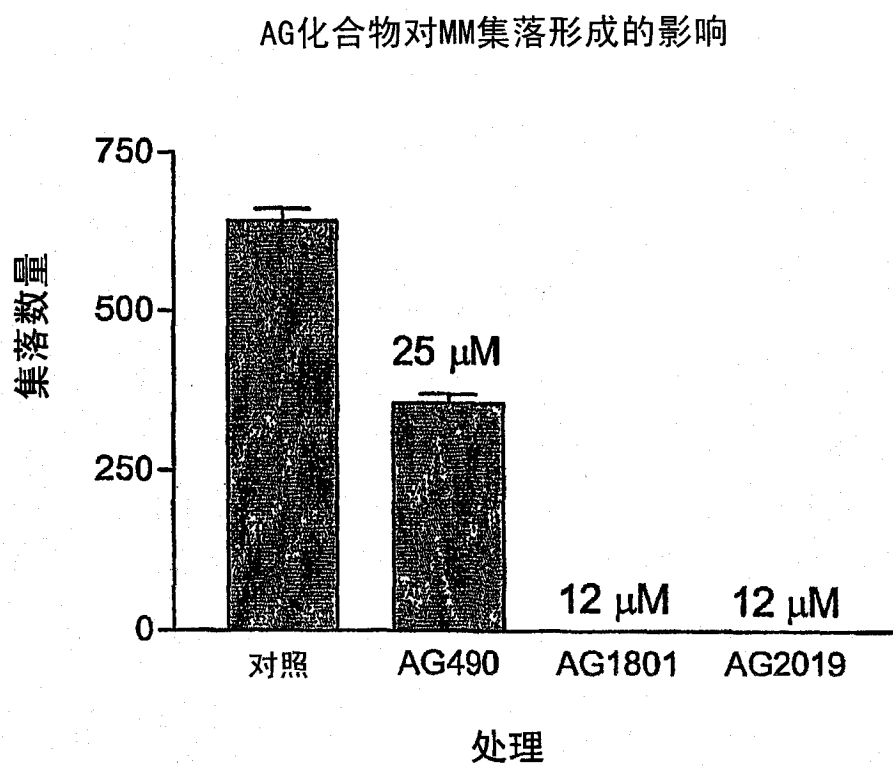


图 1

图 2A

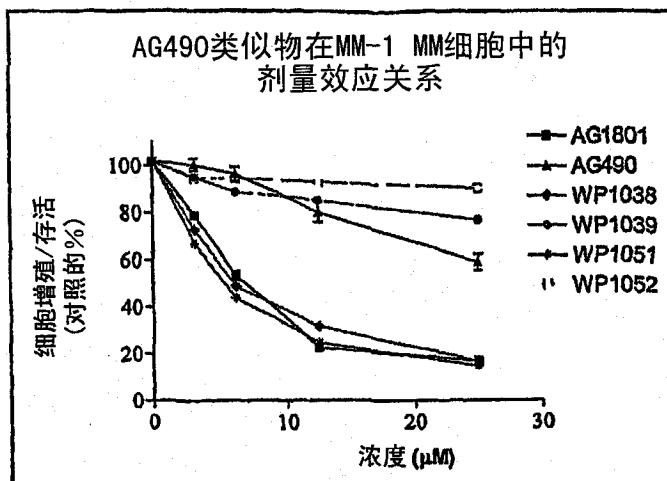


图 2B

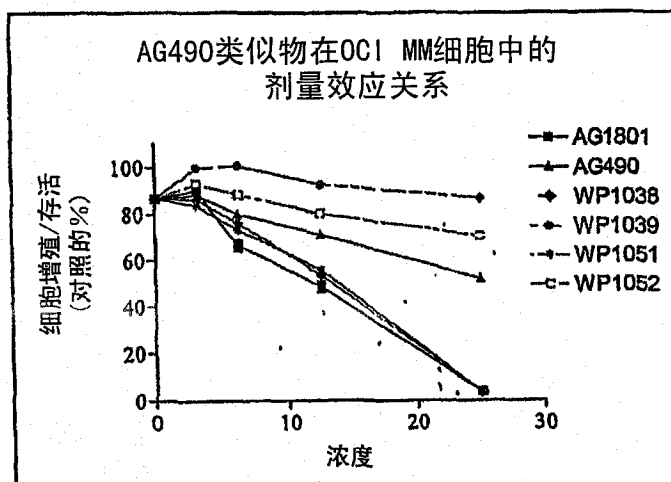


图 2C

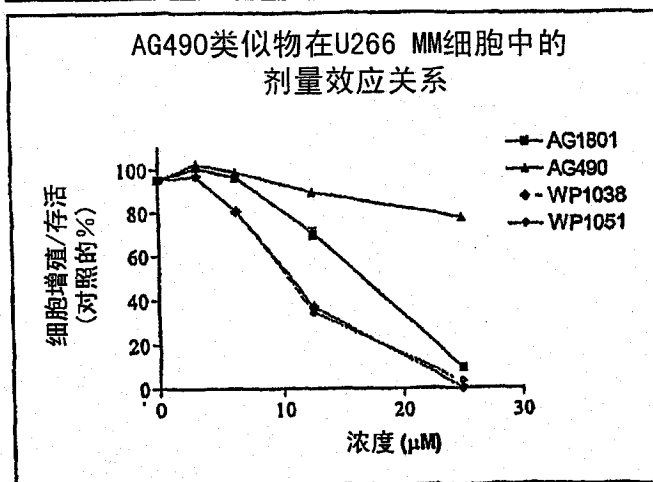


图 2A-C

图 3A

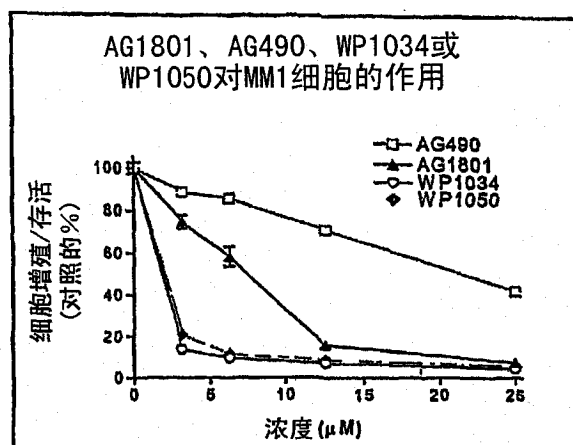


图 3B

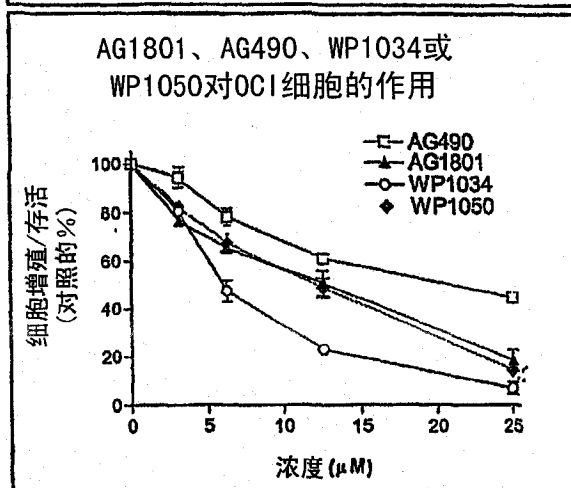


图 3C

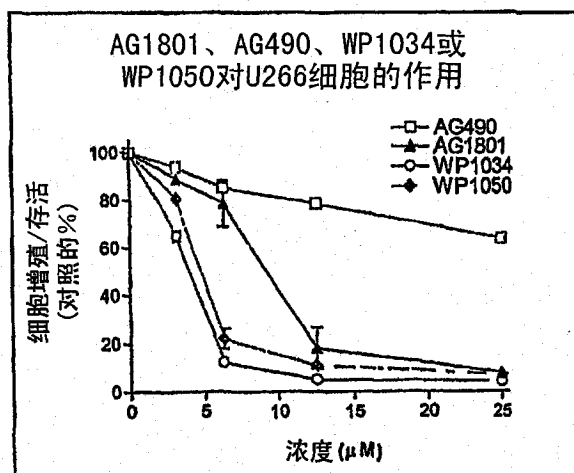


图 3A-C

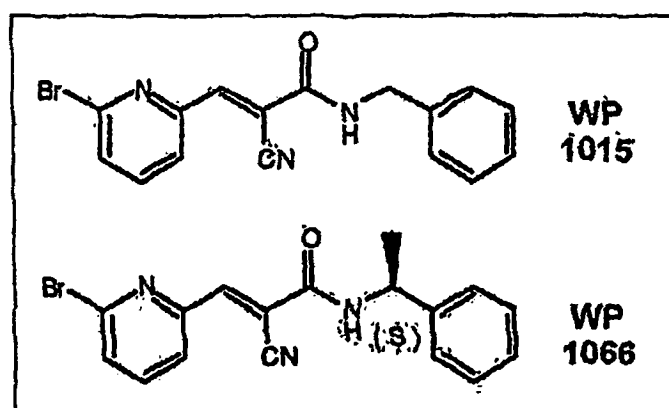


图 4

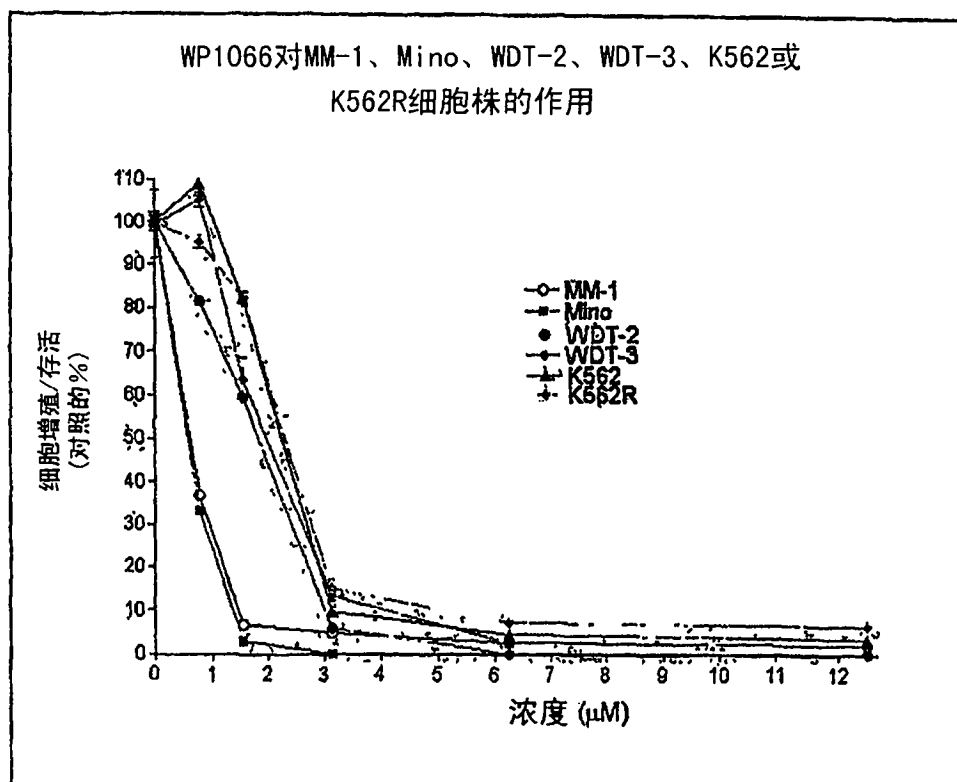


图 5

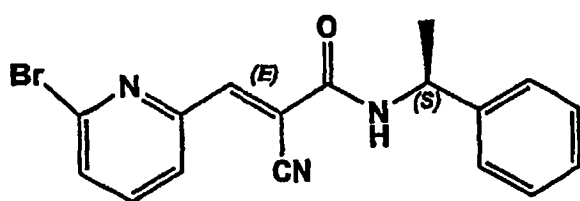
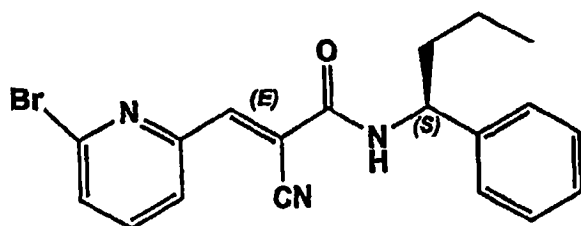
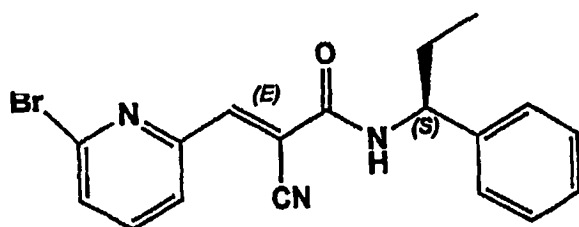
 $IC_{50} = \sim 1300 \text{ nM}$ **WP1066** $C_{17}H_{14}BrN_3O$
分子量: 356.217 $IC_{50} = \sim 950 \text{ nM}$ **WP1130** $C_{19}H_{18}BrN_3O$
分子量: 384.27 $IC_{50} = \sim 800 \text{ nM}$ **WP1129** $C_{18}H_{16}BrN_3O$
分子量: 370.243

图 6

伴随c-myc/Stat3抑制的提高，活性提高

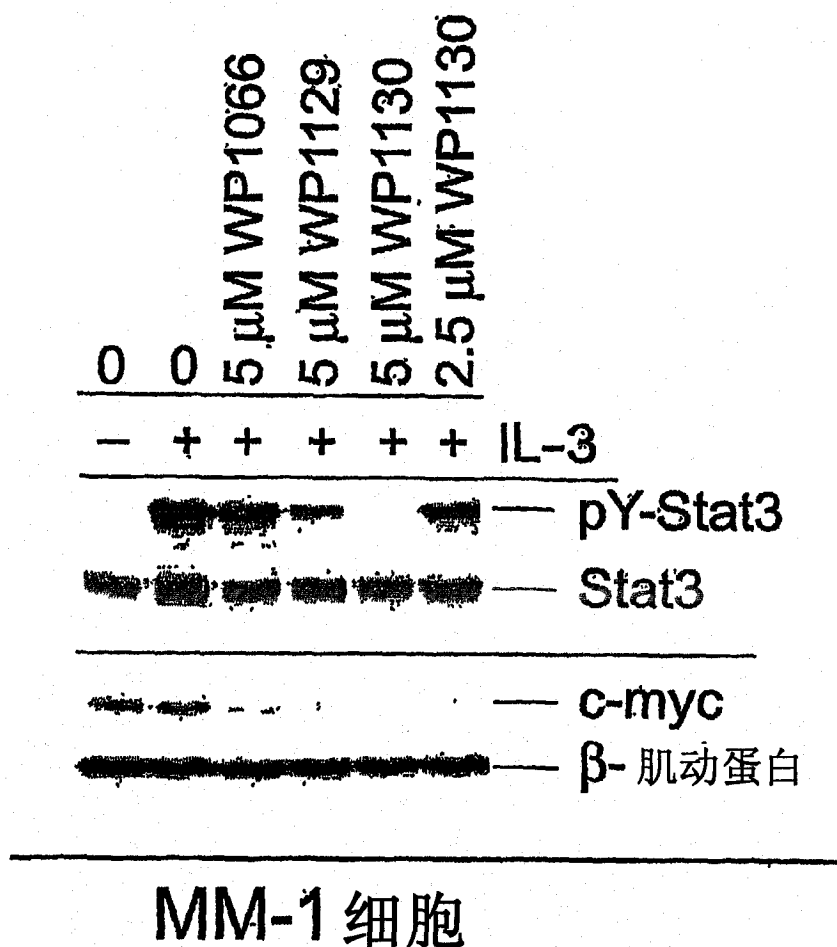


图 7

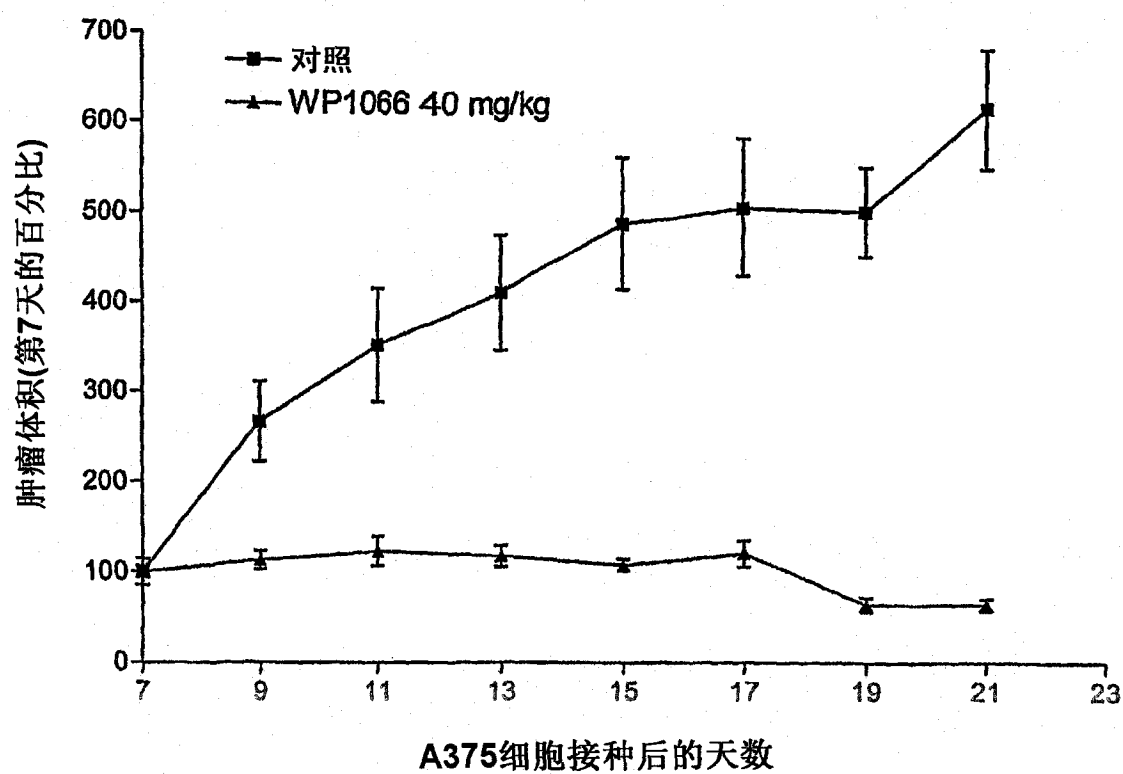
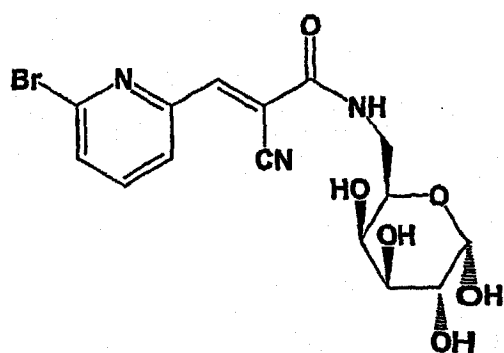
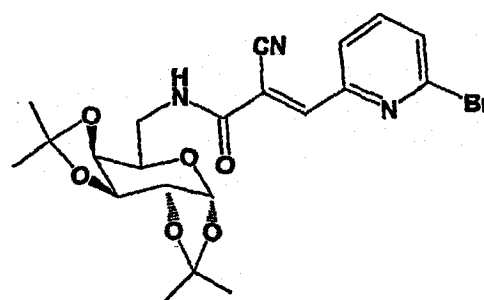


图 8

**WP 1126**

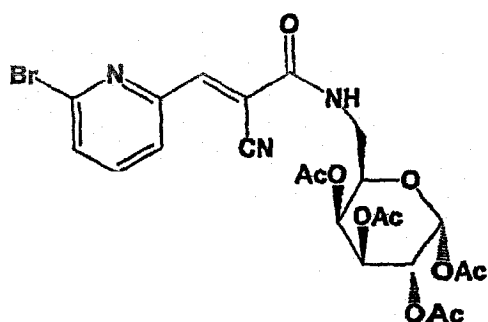
$C_{15}H_{16}BrN_3O_6$
分子量: 414.21

C, 43.50; H, 3.89; Br, 19.29; N, 10.14; O, 23.18

**WP 1119**

$C_{21}H_{24}BrN_3O_6$
分子量: 494.34

C, 51.02; H, 4.89; Br, 16.16;
N, 8.50; O, 19.42

**WP 1127**

$C_{23}H_{24}BrN_3O_{10}$
分子量: 582.35

C, 47.44; H, 4.15; Br, 13.72; N, 7.22; O, 27.47

图

9