



NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

- (84) **指定国** (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT,

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

本发明提供通式 I 化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物, 及其用于制备预防和/或治疗耐药性肿瘤或与耐药性细菌引起的疾病或病症的药物或用于制备预防和/或治疗肿瘤、神经退行性疾病、异源移植的排斥反应、与感染有关的疾病或症状的药物中的用途; 优选地, 所述肿瘤、神经退行性疾病、异源移植的排斥反应、与感染有关的疾病或症状为热休克蛋白 70(Hsp70)引起的疾病或症状。本发明化合物是一类具有全新结构的高活性的 Hsp70 抑制剂, 用以克服肿瘤耐药的难题、提高肿瘤治疗效果, 为临床肿瘤治疗提供新的医学策略。

新型脲类化合物、制备方法及其用途

技术领域

本发明涉及医药领域，具体涉及新型脲类化合物、制备方法及其用途。

背景技术

热休克蛋白 70 (Heat shock protein 70, Hsp70) 广泛存在于细胞核、细胞质、内质网、线粒体和叶绿体细胞中，参与细胞内蛋白质从头合成、定位、蛋白质成熟以及错误折叠蛋白质的降解过程，因而影响细胞的生长和代谢功能。在细胞中，Hsp70 与核糖体上新生多肽结合能够防止新生多肽错误折叠；Hsp70 在哺乳动物细胞的胞饮作用过程中对网格蛋白的重塑是必需的；与非天然构象的蛋白质结合能够促进蛋白质的正确折叠和装配，并能维持蛋白质前体的伸展构象和防止其聚集变性和降解，使之易于向细胞器中运输。

研究表明，Hsp70 与许多疾病有关，如癌症、神经退行性疾病、异源移植的排斥、感染等。在肿瘤细胞中，Hsp70 主要通过影响以下几个途径影响细胞凋亡：(1) 线粒体途径。在线粒体前期，Hsp70 通过阻断 Bax 的迁移，降低线粒体外膜的通透性，从而抑制线粒体释放 cytc 与 AIF；在线粒体后期，Hsp70 直接与 Apaf1 结合，阻断 procaspase-9 的聚集，使凋亡小体不能形成，下游的 caspase-3 不能被激活；(2) 死亡受体途径。Hsp70 通过抑制 JNK 的激活、与 Akt 和 PKC 结合，引发激酶的去磷酸化，使蛋白稳定、细胞存活；同样，Hsp70 还可与 DR4 与 DR5 结合，抑制 TRAIL 诱导的 DISC 聚集与活性；(3) DNA 降解途径。Hsp70、Hsp40、ICAD 复合物能抑制 DNase CAD 的活性与折叠效应，使凋亡晚期的染色体 DNA 不能被降解，从而达到抗凋亡的作用。

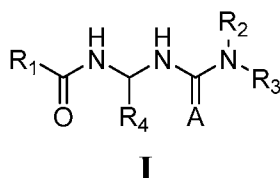
Hsp70 用于肿瘤治疗的研究已成为近年来的热点，但至今未发现高活性的抑制剂，其作用机制也未明确。在肿瘤细胞中 Hsp70 及其相关蛋白表达异常增高，实验证明，加药刺激后肿瘤细胞通过 Hsp70 蛋白发挥潜在的防御机制，产生抗药性，造成药物活性下降。而 Hsp70 抑制剂有望逆转肿瘤细胞株对抗肿瘤药物的耐药性。

发明内容

本发明的发明人设计合成了一类全新结构的化合物，在实验中发现这

类化合物作为 Hsp70 抑制剂能够抑制肿瘤细胞的生长，并且能有效逆转肿瘤细胞的耐药性，本发明即是基于以上发现完成的。

本发明的第一方面涉及通式 I 化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物，



其中：

A 代表 S、Se；

R₁ 代表烷基、取代烷基、环烷基、取代环烷基、芳基、取代芳基、芳基烷基、取代芳基烷基、芳基烯基、取代芳基烯基、杂环基、取代杂环基、杂环基烷基、取代杂环基烷基；

R₂、R₃ 代表氢、烷基、环烷基、取代环烷基、烷氧基烷基、氨基烷基、单取代或二取代氨基烷基、芳香杂环基、取代芳香杂环基、芳基烷基、取代芳基烷基、杂环基烷基、取代杂环基烷基、芳香杂环基烷基、取代芳香杂环基烷基、芳基、取代芳基、杂环基、取代杂环基，其中 R₂ 和 R₃ 可以合环；

R₄ 代表氢、卤代烷基、脂肪族基团，其中所述脂肪族基团选自烷基、环烷基、烯基、链烯基烷基、烷氧基烷基、烷氧基羰基、炔基。

在本发明的实施方案中，R₄ 中所述卤代烷基选自：CF₃、CCl₃、CBr₃、CI₃。

在本发明的实施方案中，R₄ 中所述烷基选自甲基、乙基、丙基、环丙基、新戊基、特戊基、叔丁基、异丁基。

根据本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物，其中，

A 代表 Se、S；

R₁ 选自 3-10 个碳原子的环烷基；芳基烯基或取代芳基烯基，所述烯基包含一个或两个以上的碳碳双键，并且所述烯基与芳基成共轭体系；其中所述环烷基、芳基可任选地被一个或多个以下基团取代：C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、氰基、卤素、羟基、氨基、硝基、单 C₁₋₆ 烷基氨基、二 C₁₋₆ 烷基氨基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基、C₁₋₆ 卤代烷基或 C₁₋₆ 卤代烷氧基；

R₂、R₃ 选自氢、C₁₋₁₀ 烷基，优选 C₁₋₆ 烷基；C₁₋₆ 烷氧基 C₁₋₆ 烷基；C₁₋₆ 氨基烷基、C₁₋₆ 单取代或二取代氨基烷基；3-10 个碳原子的环烷基；芳基

或取代芳基；芳香杂环基或取代芳香杂环基；芳基烷基或取代芳基烷基；其中，R₂、R₃可以合环成选自C、N、O或S的3-8元环；所述芳基选自苯基、萘基、1,2,3,4-四氢萘基和茚基；所述芳香杂环基包含被至少一个独立选自N、O或S的杂原子取代的单环或双环的5-10元芳香环系；R₂、R₃可任选地被一个或多个以下基团所取代：C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、氰基、卤素、羟基、氨基、硝基、单C₁₋₆烷基氨基、二C₁₋₆烷基氨基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、C₁₋₆卤代烷基或C₁₋₆卤代烷氧基；

R₄选自三卤甲基、C₁₋₁₀烷基和C₃₋₈环烷基。

根据本发明第一方面任一项所述的通式I化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物，其中

A代表Se、S；

R₁代表环烷基、苯乙烯基、取代苯乙烯基；

R₂、R₃代表氢、甲基、丙基、丁基、异丁基、2-甲氧基乙基、3-异丙氧基丙基、2-N,N-二甲基乙基、环己基、环庚基、苯基、2-甲氧基苯基、4-甲氧基苯基、4-氟苯基、2-氯苯基、4-氯苯基、2-溴苯基、3-溴苯基、4-溴苯基、2-甲基苯基、2,3-二甲基苯基、苄基、2-氯苄基、3-硝基苯基、2,4-二氟苯基、3-氯-2-甲基苯基、2,3-二氯苯基、4-羟基苯基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基，其中R₂和R₃可以合环成哌啶环、吗啉环、N-甲基哌嗪环；

R₄代表CF₃、CCl₃、CBr₃、CI₃、环丙基、丙基、异丙基、新戊基、特戊基、叔丁基、异丁基、3,3-二甲基丁基。

根据本发明第一方面任一项所述的通式I化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物，其中

A代表Se、S；

R₁代表环丙基、苯乙烯基、3,4,5-甲氧基苯乙烯基；

R₂、R₃代表氢、甲基、丙基、丁基、异丁基、2-甲氧基乙基、3-异丙氧基丙基、2-N,N-二甲基乙基、环己基、环庚基、苯基、2-甲基苯基、2-甲氧基苯基、4-甲氧基苯基、4-氟苯基、2-氯苯基、4-氯苯基、2-溴苯基、3-溴苯基、4-溴苯基、2,3-二甲基苯基、苄基、2-氯苄基、3-硝基苯基、2,4-二氟苯基、3-氯-2-甲基苯基、2,3-二氯苯基、4-羟基苯基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基，其中R₂和R₃可以合环成哌啶环、吗啉环、N-甲基哌嗪环；

R₄代表CF₃、CCl₃、CBr₃、CI₃、环丙基、丙基、异丙基、新戊基、

特戊基、叔丁基、异丁基、3, 3-二甲基丁基。

根据本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物，选自以下化合物：

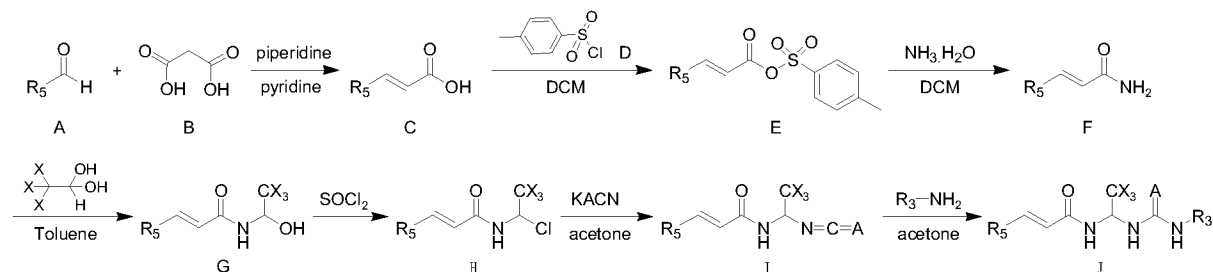
- (1) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(4-氟苯基)硒脲]乙基}-肉桂酰胺；
- (2) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2-甲氧基苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺；
- (3) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2-甲氧基苯基)硒脲]-乙基}-环丙基甲酰胺；
- (4) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[(吗啉-4-磺代甲酰基)氨基]-乙基}肉桂酰胺；
- (5) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(3-硝基苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺；
- (6) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2,4-二氟苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺；
- (7) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[(哌啶-1-磺代甲酰基)氨基]-乙基}肉桂酰胺；
- (8) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(4-氟苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺；
- (9) (2E)-N-[2,2,2-三氯-1-(3-正丁基硒脲)-乙基]肉桂酰胺；
- (10) (2E)-N-[2,2,2-三氯-1-(3-苄基硒脲)-乙基]肉桂酰胺；
- (11) (2E)-N-[2,2,2-三氯-1-(3-正丙基硒脲)-乙基]肉桂酰胺；
- (12) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(3-氯-2-甲基苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺；
- (13) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2,4-二氯苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺；
- (14) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(4-甲氧基苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺；
- (15) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2-溴苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺；
- (16) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2,3-二甲基苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺；
- (17) (2E)-N-[2,2,2-三氯-1-(3-苯基硒脲)-乙基]肉桂酰胺；
- (18) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2-氯苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺；
- (19) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(3-溴苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺；
- (20) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2-氯苄基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺；
- (21) (2E)-N-[2,2,2-三氯-1-(3-异丁基硒脲)-乙基]肉桂酰胺；

- (22) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(4-羟基苯基)硫脲]-乙基}肉桂酰胺;
- (23) (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(4-溴苯基)硫脲]-乙基}肉桂酰胺;
- (24) (2E)-N-[3-甲基-1-(3-苯基硫脲基)丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (25) (2E)-N-[3-甲基-1-(3-吡啶-3-基硫脲基)丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (26) (2E)-N-[2,2-二甲基-1-(3-苯基硫脲基)丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (27) (2E)-N-[2,2-二甲基-1-(3-吡啶-3-基硫脲基)丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (28) (2E)-N-[环丙基-(3-苯基硫脲基)-甲基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (29) (2E)-N-[环丙基-(3-吡啶-3-基硫脲基)-甲基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (30) (2E)-N-[环丙基-(3-吡啶-2-基硫脲基)-甲基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (31) (2E)-N-[3-甲基-1-(3-吡啶-2-基硫脲基)丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (32) (2E)-N-[3,3-二甲基-1-(3-苯基硫脲基)丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (33) (2E)-N-[3,3-二甲基-1-(3-吡啶-3-基硫脲基)丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (34) (2E)-N-[3,3-二甲基-1-(3-吡啶-2-基硫脲基)丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (35) (2E)-N-[2-甲基-1-(3-吡啶-2-基硫脲基)丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (36) (2E)-N-[2-甲基-1-(3-苯基硫脲基)丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (37) (2E)-N-[环丙基-(3-吡啶-2-基硫脲基)-甲基]肉桂酰胺;
- (38) (2E)-N-[3-甲基-1-(3-苯基硫脲基)丁基]肉桂酰胺;
- (39) (2E)-N-[3,3-二甲基-1-(3-苯基硫脲基)丁基]肉桂酰胺;
- (40) (2E)-N-[2,2-二甲基-1-(3-苯基硫脲基)丙基]肉桂酰胺;
- (41) (2E)-N-[环丙基-(3-苯基硫脲基)-甲基]肉桂酰胺;

- (42) (2E)-N-[2-甲基-1-(3-苯硫脲基)丙基]肉桂酰胺;
- (43) (2E)-N-[3-甲基-1-(3-甲硫脲基)丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (44) (2E)-N-[2,2-二甲基-1-(3-邻-甲苯硫脲基)丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (45) (2E)-N-[环丙基-(3-邻-甲苯硫脲基)-甲基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (46) N-[3,3-二甲基-1-(3-邻-甲苯硫脲基)丁基]肉桂酰胺;
- (47) N-[3-甲基-1-(3-邻-甲苯硫脲基)丁基]肉桂酰胺;
- (48) N-[2,2-二甲基-1-(3-邻-甲苯硫脲基)丙基]肉桂酰胺;
- (49) N-[环丙基-(3-邻-甲苯硫脲基)-甲基]肉桂酰胺;
- (50) (2E)-N-{1-[3-(4-甲氧基苯基)硫脲基]-2-甲基丙基}-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (51) (2E)-N-[1-(3-环己基硫脲基)-3-甲基丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (52) (2E)-N-[1-(3-环己基硫脲基)-2,2-二甲基丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (53) (2E)-N-[1-(3-环己基硫脲基)-2-甲基丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (54) N-[1-(3-环己基硫脲基)-3-甲基丁基]肉桂酰胺;
- (55) N-[1-(3-环己基硫脲基)-2-甲基丙基]肉桂酰胺;
- (56) N-[1-(3-环己基硫脲基)-2,2-二甲基丙基]肉桂酰胺;

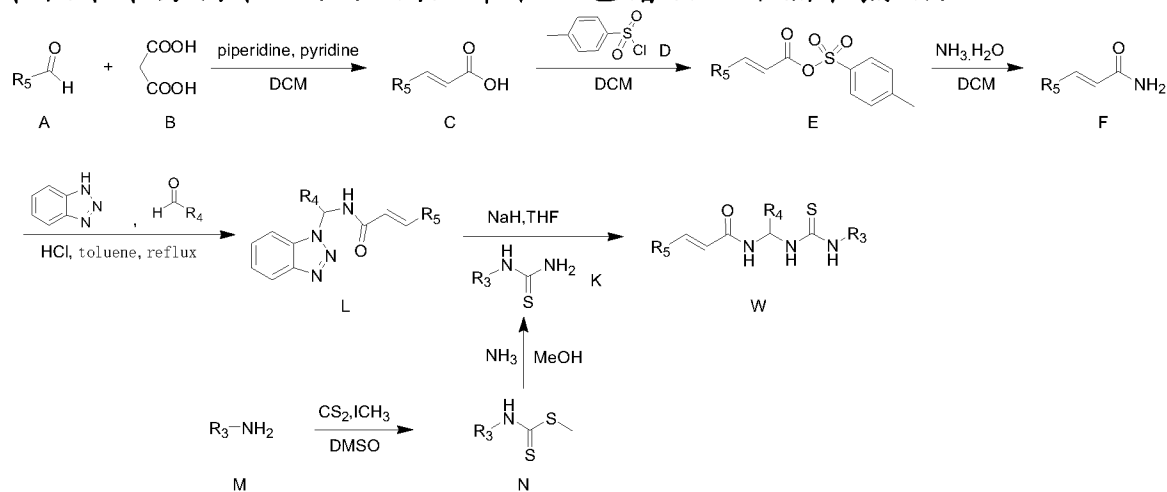
本发明第二方面涉及本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物的制备方法,其中, R_4 为卤代烷基时,其包括如下反应路线,即首先用相应的醛与丙二酸在吡啶溶液中 80°C 下反应制得化合物 C, C 与酰氯,如对甲苯磺酰氯在 DCM 中常温或加热下生成活性酯 E, E 再与氨水在回流下制得化合物 F; 或 C 在无水二氯甲烷中,以 DMF 为催化剂,冰水浴下与草酰氯反应完后,再滴入 0°C 的浓氨水制得 F, F 与三卤甲基取代的醛的水合物,如三卤乙醛在甲苯为溶剂回流反应制得中间体 G, G 再经过氯化亚砷以无水 THF 为溶剂, DMF 为催化剂室温下滴入 SOCl_2 加热至 60°C 反应制备氯代物 H, 然后与 KACN , 其中 A 定义与权利要求 1 中相同, 在无水丙酮 40°C 反应生成相应的异氰酸酯 I, I 与相应的取代氨在

无水丙酮或是无水 THF 60℃反应制得本发明化合物 J，反应的产物可以采用本领域中的标准技术来分离和纯化，例如萃取、色谱法、结晶和蒸馏，



其中， $R_1 = R_5$ ， R_1 定义与权利要求 1 中相同。

根据本发明第二方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物的制备方法，其中， R_4 为氢或脂肪族基团时，其包括如下反应路线，即首先用相应的醛与丙二酸在吡啶溶液中 80℃下反应制得化合物 C，C 与酰氯，如对甲苯磺酰氯在 DCM 中常温或加热下生成活性酯 E，E 再与氨水在回流下制得化合物 F，或 C 在无水二氯甲烷中，以 DMF 为催化剂，冰水浴下与草酰氯反应完后再，滴入 0℃的浓氨水制得 F，F 在甲苯中与苯并三氮唑及相应的脂肪醛回流下发生 mannich 反应制得中间体 L，中间体 L 与中间体 K 以 NaH 为催化剂，无水 THF 为溶剂室温下进行取代反应制得本发明化合物 W，中间体 K 由相应的氨与 CS_2 ， ICH_3 在 DMSO 或 DMF 中加入碱 KOH, NaOH, 或是 NaH 条件下加热反应生成中间体 N，再在甲醇或是乙醇回流条件下加入氨水氨解制得，反应的产物可以采用本领域中的标准技术来分离和纯化，例如萃取、色谱法、结晶和蒸馏，



其中，当 R_1 不为环烷基时， $R_1 = R_5$ ；当 R_1 为环烷基时，起原料直接为上述路线中的环烷基甲酰胺 F； R_1 定义与权利要求 1 中相同。

本发明第三方面涉及药物组合物，其包含本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物，以及药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂。

本发明第四方面涉及本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物用于制备预防和/或治疗耐药性肿瘤或与耐药性细菌引起的疾病或病症的药物中的用途。

本发明第五方面涉及本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物用于制备预防和/或治疗肿瘤、神经退行性疾病、异源移植的排斥反应、与感染有关的疾病或症状的药物中的用途；优选地，所述肿瘤、神经退行性疾病、异源移植的排斥反应、与感染有关的疾病或症状为热休克蛋白 70 (Hsp70) 引起的疾病或症状。

根据本发明第四方面或第五方面任一项所述的用途，其中所述肿瘤选自乳腺癌、前列腺癌、肝癌、食道癌、胃癌、皮肤癌。

根据本发明第五方面任一项所述的用途，其中，所述神经退行性疾病选自阿尔兹海默症、肌肉萎缩性侧索硬化症、共济失调毛细血管扩张症、克雅二氏病、亨廷顿氏病、小脑萎缩症、多发性硬化症、帕金森氏病、原发性侧索硬化、脊髓性肌萎缩症。

本发明第六方面涉及一种预防和/或治疗耐药性肿瘤或有耐药性细菌引起的疾病或病症的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予预防和/或治疗有效量的本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物。

本发明第七方面涉及一种预防和/或治疗肿瘤、神经退行性疾病、异源移植的排斥反应、与感染有关的疾病或症状的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予预防和/或治疗有效量的本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，优选地，所述肿瘤、神经退行性疾病、异源移植的排斥反应、与感染有关的疾病或症状与为热休克蛋白 70 (Hsp70) 引起的疾病或症状。

根据本发明第六方面或第七方面任一项所述的方法，其中所述肿瘤选自乳腺癌、前列腺癌、肝癌、食道癌、胃癌、皮肤癌。

根据本发明第七方面任一项所述的方法，其中所述神经退行性疾病选自阿尔兹海默症、肌肉萎缩性侧索硬化症、共济失调毛细血管扩张症、克雅二氏病、亨廷顿氏病、小脑萎缩症、多发性硬化症、帕金森氏病、原发性侧索硬化、脊髓性肌萎缩症。

本发明第八方面涉及本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，其用于预防和/或治疗耐药性肿瘤或由耐药性细菌引起的疾病。

本发明第九方面涉及本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，其用于预防和/或治疗肿瘤、神经退行性疾病、异源移植的排斥反应、与感染有关的疾病或症状，优选地，所述肿瘤、神经退行性疾病、异源移植的排斥反应、与感染有关的疾病或症状与为热休克蛋白 70 (Hsp70) 引起的疾病或症状。

根据本发明第八方面或第九方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，其中所述肿瘤选自乳腺癌、前列腺癌、肝癌、食道癌、胃癌、皮肤癌。

根据本发明第九方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，其中所述神经退行性疾病选自阿尔兹海默症、肌肉萎缩性侧索硬化症、共济失调毛细血管扩张症、克雅二氏病、亨廷顿氏病、小脑萎缩症、多发性硬化症、帕金森氏病、原发性侧索硬化、脊髓性肌萎缩症。

本发明第十方面涉及用于抵抗/逆转细胞中细菌耐药或肿瘤细胞耐药的方法，其包括给所述细胞施用有效量的本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物。

本发明第十一方面涉及用于抑制细胞中热休克蛋白 70 (Hsp70) 表达的方法，其包括给所述细胞施用有效量的本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物。

根据本发明第十方面或第十一方面任一项所述的方法，其中所述细胞为细胞系，或者来自受试者的细胞。

根据本发明第十方面或第十一方面任一项所述的方法，其中所述肿瘤细胞选自乳腺癌细胞、前列腺癌细胞、肝癌细胞、食道癌细胞、胃癌细胞、

皮肤癌细胞。

根据本发明第十方面或第十一方面所述的方法，其中所述方法在体外进行。

根据本发明第十方面或第十一方面所述的方法，其中所述方法在体内进行。

本发明第十二方面涉及本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物用于制备试剂的用途，所述试剂用于抵抗/逆转细胞中细菌耐药或肿瘤细胞耐药。

本发明第十三方面涉及本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物用于制备试剂的用途，所述试剂用于抑制细胞中热休克蛋白 70 (Hsp70) 活性。

根据本发明第十二方面或第十三方面任一项所述的用途，其中所述细胞为细胞系，或者来自受试者的细胞。

根据本发明第十二方面或第十三方面任一项所述的用途，其中所述肿瘤细胞选自乳腺癌细胞、前列腺癌细胞、肝癌细胞、食道癌细胞、胃癌细胞、皮肤癌细胞。

根据本发明第十二方面或第十三方面任一项所述的用途，其中所述试剂用于体外方法中。

根据本发明第十二方面或第十三方面任一项所述的用途，其中所述试剂用于体内方法中。

本发明第十四方面涉及本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，其用于抵抗/逆转细胞中细菌耐药或肿瘤细胞耐药。

本发明第十五方面涉及本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，其用于抑制细胞中热休克蛋白 70 (Hsp70) 活性。

根据本发明第十四方面或第十五方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，其中所述细胞为细胞系，或者来自受试者的细胞。

根据本发明第十四方面或第十五方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，其中所述肿瘤细胞选自乳腺癌细胞、前列腺癌细胞、肝癌细胞、食道癌细胞、胃癌细胞、皮肤癌细胞。

根据本发明第十四方面或第十五方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，其用于体外方法中。

根据本发明第十四方面或第十五方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，其用于体内方法中。

本发明第十六方面涉及一种抵抗/逆转细胞中细菌耐药或肿瘤细胞耐药的试剂盒，所述试剂盒包括本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，且，任选地还包括使用说明。

本发明第十七方面涉及一种抑制细胞中热休克蛋白 70 (Hsp70) 活性的试剂盒，所述试剂盒包括本发明第一方面任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，且，任选地还包括使用说明。

发明的有益效果

本发明提供了一种全新结构类型的化合物，实验证明本发明化合物与 Lapatinib 具有协同作用，能很好抑制肿瘤生长，且在体外有效逆转 Lapatinib 耐药。本发明提供了一类高活性的全新结构的 Hsp70 抑制剂，用以克服肿瘤耐药的难题、提高肿瘤治疗效果，为临床肿瘤治疗提供了新的医学策略。

现将本申请说明书和权利要求书中出现的用于描述本发明的术语定义如下。对于特定的术语，如果本申请中定义的含义与本领域技术人员通常理解的含义不一致，则以本申请中定义的含义为准；如果在本申请中没有定义，则其具有本领域技术人员通常理解的含义。

本发明中化合物名称与其结构式为对应关系，当化合物名称与结构式不一致时，以结构式为准，或根据本发明具体情况结合本领域技术人员知识推断得出。

本发明中使用的术语“烷基”是指直链或支链一价饱和烃基。“C1-10 烷基”是指具有 1~10 个碳原子的直链或支链烷基，例如甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、2-戊基、异戊基、新

戊基、己基、2-己基、3-己基、3-甲基戊基、庚基和辛基等。术语“C1-6 烷基”意指具有 1~6，即 1、2、3、4、5 或 6 个碳原子的直链或支链烷基，典型地为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、新戊基、戊基和己基等。相似地，术语“C1-3 烷基”意指具有 1、2 或 3 个碳原子的直链或支链烷基，即甲基、乙基、正丙基和异丙基。本发明中的烷基优选是 C1-10 烷基，更优选是 C1-6 烷基，更优选是 C1-3 烷基。

本发明中使用的术语“取代烷基”是指上述定义的烷基被选自以下的一个、两个或三个取代基取代后得到的基团：C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、氰基、卤素、羟基、氨基、硝基、单 C1-6 烷基氨基、二 C1-6 烷基氨基、C2-6 烯基、C2-6 炔基、C1-6 卤代烷基或 C1-6 卤代烷氧基。本发明中的取代烷基的实例包括三氯甲烷。

本发明中使用的术语“C2-6 烯基”是指具有 2-6 个碳原子的烯基，所述烯基具有 1、2 或 3 个碳碳双键，当具有一个以上的碳碳双键时，所述碳碳双键共轭或非共轭。本发明中的 C2-6 烯基的实例包括乙烯基，丙烯基。

本发明中使用的术语“C2-6 炔基”是指具有 2-6 个碳原子的炔基，所述炔基具有 1、2 或 3 个碳碳三键，当具有一个以上的碳碳三键时，所述碳碳三键共轭或非共轭。本发明中的 C2-6 炔基的实例包括乙炔基，丙炔基。

本发明中使用的术语“C1-6 烷氧基”是指具有 1-6 个碳原子的烷氧基。本发明中的 C1-6 烷氧基的实例包括甲氧基。

本发明中使用的术语“卤素”是指氟、氯、溴以及碘原子。

本发明中使用的术语“芳基”是指包含至少一个不饱和芳环的单环或双环芳香系统，优选具有 6~10，即 6、7、8、9 或 10 个碳原子的芳基。本发明中的芳香基的实例包括苯基、萘基、1,2,3,4-四氢萘基和茚基等。

本发明中使用的术语“取代芳基”是指上述定义的芳基被选自以下的一个、两个或三个取代基取代后得到的基团：C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、氰基、卤素、羟基、氨基、硝基、单 C1-6 烷基氨基、二 C1-6 烷基氨基、C2-6 烯基、C2-6 炔基、C1-6 卤代烷基或 C1-6 卤代烷氧基。本发明中取代芳基的实例包括 2-氯苯基、4-氯苯基、2-甲氧基苯基、4-甲氧基苯基、3-硝基苯基、2,4-二氯苯基、4-氟苯基、2-甲基-3-氯苯基、2,4-二氯苯基、2-溴苯基、3-溴苯基、4-溴苯基、2-甲基苯基、2,3-二甲基苯基、4-羟基苯基等。

本发明中使用的术语“芳香杂环基”是指任选地被至少一个独立地选自 N、O 或 S 的杂原子取代的单环或双环不饱和芳环系统，优选具有 5~10，即 5、6、7、8、9 或 10 个原子的芳香杂环基。“芳香杂环基”的实例包括但

不限于噻吩基、2-吡啶基、3-吡啶基、噻唑基、异噻唑基、呋喃基、吡咯基、三唑基、咪唑基、三嗪基、恶二唑基、恶唑基、异恶唑基、吡唑基、咪唑酮基、恶唑、噻唑酮基、四唑基、噻二唑基、苯并咪唑基、苯并恶唑基、苯并噻唑基、四氢三唑并吡啶基、四氢三唑并嘧啶基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、硫茛基、吲哚基、异吲哚基、吡啶酮基、哒嗪基、吡嗪基、嘧啶基、喹啉基、酞嗪基、喹喔啉基、喹唑啉基、咪唑并吡啶基、恶唑并吡啶基、噻唑并吡啶基、咪唑并哒嗪基、恶唑并哒嗪基、噻唑并哒嗪基、蝶啶基、呋咱基、苯并三唑基、吡唑并吡啶基和嘌呤基等。

本发明中使用的术语“取代芳香杂环基”是指上述定义的芳香杂环基被选自以下的一个、两个或三个取代基取代后得到的基团：C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、氰基、卤素、羟基、氨基、硝基、单 C1-6 烷基氨基、二 C1-6 烷基氨基、C2-6 烯基、C2-6 炔基、C1-6 卤代烷基或 C1-6 卤代烷氧基。

本发明中使用的术语“环烷基”是指 3、4、5、6、7、8、9 或 10 个碳原子的饱和碳环基团。该环烷基可以是单环或者多环稠合系统，而且可以稠合在芳环上。这些基团的实例包括环丙基、环丁基、环戊基和环己基等。

本发明中使用的术语“取代环烷基”是指上述定义环烷基被选自以下的一个、两个或三个取代基取代后得到的基团：C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、氰基、卤素、羟基、氨基、硝基、单 C1-6 烷基氨基、二 C1-6 烷基氨基、C2-6 烯基、C2-6 炔基、C1-6 卤代烷基或 C1-6 卤代烷氧基。

本发明中使用的术语“杂环基”是指任选地被至少一个和最多四个独立地选自 N、O 或 S 的杂原子取代的单环或双环饱和、部分饱和或不饱和的环状系统，优选具有 4~10，即 4、5、6、7、8、9 或 10 个原子的杂环基，条件是该杂环基的环不含两个相邻的 O 或 S 原子。优选的杂环基包括但不限于吡咯烷基、四氢呋喃基、二氢呋喃基、四氢噻吩基、哌啶基、吗啉基或哌嗪基等。

本发明中使用的术语“取代杂环基”是指上述定义的杂环基被选自以下的一个、两个或三个基团取代后得到的基团：C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、氰基、卤素、羟基、氨基、硝基、单 C1-6 烷基氨基、二 C1-6 烷基氨基、C2-6 烯基、C2-6 炔基、C1-6 卤代烷基或 C1-6 卤代烷氧基。

本发明中使用的术语“芳基烷基”是指被一个或多个如上定义的芳基取代的如上定义的烷基。优选的芳基烷基是芳基-C1-3 烷基。本发明中的芳基烷基的实例包括苄基和苯基乙基等。

本发明中使用的术语“取代芳基烷基”是指被一个或多个如上定义的取

代芳基取代的如上定义的烷基。本发明中的取代芳基烷基的实例包括 2-氯苄基。

本发明中使用的术语“芳基烯基”是指被一个或多个如上定义的芳基取代的烯基。其中，所述烯基具有一个或两个以上与上述芳基共轭的碳碳双键。优选的芳基烯基是芳基-C2-6 烯基。本发明中的芳基烯基的实例包括苯基乙烯基等。

本发明中使用的术语“取代芳基烯基”是指被一个或多个如上定义的取代芳基取代的烯基。其中，所述烯基具有一个或两个以上与上述取代芳基共轭的碳碳双键。优选的取代芳基烯基是取代芳基-C2-6 烯基。本发明中的芳基烯基的实例包括 3,4,5-三甲氧基苯基乙烯基等。

本发明中使用的术语“芳香杂环基烷基”是指被如上定义的芳香杂环基取代的如上定义的烷基。更优选的芳香杂环基烷基是 5-或 6-元杂芳基-C1-3-烷基。本发明中的杂芳基烷基的实例包括吡啶基乙基等。

本发明中使用的术语“取代芳香杂环基烷基”是指被如上定义的取代芳香杂环基取代的如上定义的烷基。

本发明中使用的术语“杂环基烷基”是指被如上定义的杂环基取代的如上定义的烷基。更优选的杂环基烷基是 5 或 6 元杂环基-C1-3-烷基。本发明中的杂环基烷基的实例包括四氢吡喃基甲基。

本发明中使用的术语“取代杂环基烷基”是指被如上定义的取代杂环基取代的如上定义的烷基。

本发明中使用的术语“可药用盐”意指在制药上可接受的并且具有母体化合物的所需药理学活性的本发明化合物的盐。这类盐包括：与无机酸或与有机酸形成的酸加成的盐，所述的无机酸诸如盐酸，氢溴酸，硫酸，硝酸，磷酸等；所述的有机酸诸如乙酸，丙酸，己酸，环戊丙酸，乙醇酸，丙酮酸，乳酸，丙二酸，琥珀酸，苹果酸，马来酸，富马酸，酒石酸，柠檬酸，苯甲酸，肉桂酸，扁桃酸，甲磺酸，乙磺酸，苯磺酸，萘磺酸，樟脑磺酸，葡庚糖酸，葡糖酸，谷氨酸，羟基苯甲酸，水杨酸，硬脂酸，粘康酸等；或在母体化合物上存在的酸性质子被金属离子，例如碱金属离子或碱土金属离子取代时形成的盐；或与有机碱形成的配位化合物，所述的有机碱诸如乙醇胺，二乙醇胺，三乙醇胺，N-甲基葡糖胺等。

本发明中使用的术语“溶剂化物”意指本发明化合物与制药上可接受的溶剂结合形成的物质。制药上可接受的溶剂包括水，乙醇，乙酸等。溶剂化物包括化学计算量的溶剂合物和非化学计算量的溶剂合物，优选为水合

物。本发明的化合物可以用水或各种有机溶剂结晶或重结晶，在这种情况下，可能形成各种溶剂化物。

本发明中使用的术语“受试者”包括哺乳动物和人，优选为人。

本领域的技术人员能够理解，本发明的化合物存在立体异构现象，例如存在顺反异构体和光学异构体，如对映异构体和非对映异构体等。因此，本说明书中当提及本发明的化合物时，本发明化合物包括所述式 I 化合物及其药学上可接受的盐、立体异构体和溶剂化物。本发明的化合物还包括本发明化合物在哺乳动物体内的活性代谢物。

在本发明中，所述耐药性(drug resistance)是指微生物、寄生虫或肿瘤细胞对于化学治疗药物作用产生的耐受性，即敏感性降低，耐药性一旦产生，药物的化学治疗作用就明显下降。

在本发明的实施方案中，所述耐药是指对 Lapatinib 耐药。

在本发明中，所述抵抗/逆转细胞中细菌耐药或肿瘤细胞耐药是指恢复或提高细菌或肿瘤细胞对药物的敏感性。

说明书的“具体实施方式”部分举例说明了本发明化合物的制备方法及其抗肿瘤的作用。

本发明的药物组合物包括有效剂量的本发明式 I 化合物或其异构体、药学上可接受的盐、溶剂化物如水合物，和一种或多种适宜的药学上可接受的载体。这里的药用载体包括但不限于：离子交换剂，氧化铝，硬脂酸铝，卵磷脂，血清蛋白如人血白蛋白，缓冲物质如磷酸盐，甘油，山梨酸，山梨酸钾，饱和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物，水，盐或电解质，如硫酸鱼精蛋白，磷酸氢二钠，磷酸氢钾，氯化钠，锌盐，胶态氧化硅，三硅酸镁，聚乙烯吡咯烷酮，纤维素物质，聚乙二醇，羧甲基纤维素钠，聚丙烯酸酯，蜂蜡，羊毛脂。

本发明化合物的药物组合物可以以下面的任意方式施用：口服，喷雾吸入，直肠用药，鼻腔用药，颊部用药，局部用药，非肠道用药，如皮下，静脉，肌肉，腹膜内，鞘内，心室内，胸骨内和颅内注射或输入，或借助一种外植储器用药。其中优选口服、腹膜内或静脉内给药方式。

当口服用药时，本发明化合物可制成任意口服可接受的制剂形式，包括但不限于片剂、胶囊、水溶液或水悬浮液。其中，片剂使用的载体一般包括乳糖和玉米淀粉，另外也可加入润滑剂如硬脂酸镁。胶囊制剂使用的稀释剂一般包括乳糖和干燥玉米淀粉。水悬浮液制剂则通常是将活性成分与适宜的乳化剂和悬浮剂混合使用。如果需要，以上口服制剂形式中还可

加入一些甜味剂、芳香剂或着色剂。

当局部用药时，特别是治疗局部外敷容易达到的患面或器官，如眼睛、皮肤或下肠道神经性疾病时，可根据不同的患面或器官将本发明化合物制成不同的局部用药制剂形式，具体说明如下：

当眼部局部施用时，本发明化合物可配制成一种微粉化悬浮液或溶液的制剂形式，所使用载体为等渗的一定 pH 的无菌盐水，其中可加入也可不加防腐剂如氯化苄基乙醇盐。对于眼用，也可将化合物制成膏剂形式如凡士林膏。

当皮肤局部施用时，本发明化合物可制成适当的软膏、洗剂或霜剂制剂形式，其中将活性成分悬浮或溶解于一种或多种载体中。软膏制剂可使用的载体包括但不限于：矿物油，液体凡士林，白凡士林，丙二醇，聚氧化乙烯，聚氧化丙烯，乳化蜡和水；洗剂或霜剂可使用的载体包括但不限于：矿物油，脱水山梨糖醇单硬脂酸酯，吐温 60，十六烷酯蜡，十六碳烯芳醇，2-辛基十二烷醇，苄醇和水。

本发明化合物还可以无菌注射制剂形式用药，包括无菌注射水或油悬浮液或无菌注射溶液。其中，可使用的载体和溶剂包括水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。另外，灭菌的非挥发油也可用作溶剂或悬浮介质，如单甘油酯或二甘油酯。

对受试者给予的本发明化合物的量取决于所述疾病或病况的类型和严重程度以及受试者的特征，如一般健康状况、年龄、性别、体重和对药物的耐受度，还取决于制剂的类型和药物的给药方式，以及给药周期或时间间隔等因素。本领域技术人员能够根据这些因素和其它因素来确定适当的剂量。一般而言，本发明的化合物用于治疗肿瘤的日剂量可为大约 1~800 毫克，该日剂量可以视情况一次或分多次给予。本发明化合物可以在剂量单位中提供，在剂量单位中的含量可以为 0.1~200 毫克，例如 1~100 毫克。

附图说明

图 1 阳性对照药 AZ 抑制 Hsp70 ATPase 酶活性的量效关系图

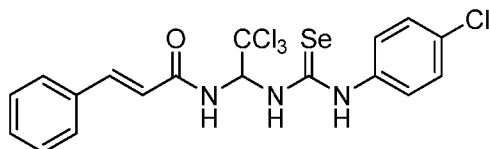
图 2 阳性对照药 VER155008 抑制 Hsp70 ATPase 酶活性的量效关系图

具体实施方式

下面将结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述,但是本领域技术人员将会理解,下列实施例仅用于说明本发明,而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体条件者,按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市购获得的常规产品。

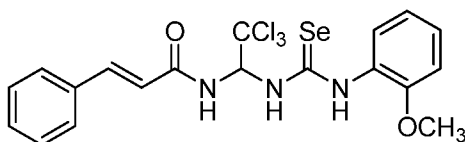
化合物的熔点由 RY-1 熔点仪测定,温度计未校正。质谱由 Micromass ZabSpec 高分辨率质谱仪(分辨率 1000)测定。¹H NMR 由 JNM-ECA-400 超导 NMR 仪测定,工作频率 ¹H NMR 400MHz, ¹³C NMR 100MHz。

实施例 1 (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(4-氯苯基)硒脲]乙基}-肉桂酰胺



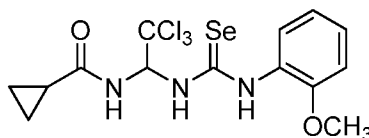
将 0.7g (2E)-3-苯基丙烯酰胺与 1.20g 三氯乙醛水合物加入 30ml 甲苯中,回流 8 小时,冷却至室温析出大量淡黄色片状晶体,收集上述晶体得 (2E)-N-(1-羟基-2,2,2-三氯乙基)-3-苯基丙烯酰胺 1.20g。将得到的产品溶于 20ml 无水 THF 中,加入 1 滴 DMF 催化反应,室温下滴入 SOCl₂ 1.2ml,滴毕后将反应液加热至 60℃反应 2 小时。蒸干溶剂后得灰黄色固体,在 30ml 冷石油醚中研磨,过滤得灰白色粉末,真空干燥过夜。氮气保护下用无水丙酮溶解所得白色粉末,快速加入 0.30g KSeCN,室温下搅拌 15 分钟,再一次性加入 0.50g 对氯苯胺,室温下反应 30 分钟。在反应液中加入 4g 粗硅胶拌样,用洗脱剂为二氯甲烷:甲醇 = 200:1 的混合溶剂洗脱,得到 0.6g 白色絮状物 (2E)-N-[2,2,2-三氯-1-[3-(4-氯苯基)硒脲]乙基]-肉桂酰胺,用 THF 重结晶得纯品 0.4g。¹H-NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ6.72-6.76 (d,1H);δ7.42-7.61 (m,12H);δ8.44-8.46 (d,1H);δ8.90-8.92 (d,1H);δ1D0.77 (s,1H)。MS (TOF) 510.1 (M⁺)。

实施例 2 (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2-甲氧基苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺



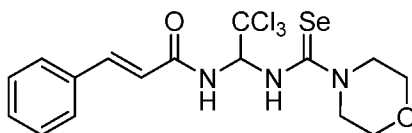
采用实施例 1 的方法, 将其中的对氯苯胺改为 2-甲氧基苯胺, 得白色固体 0.20g. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 3.82 (s, 3H); δ 6.71-6.75 (d, 1H); δ 6.94-6.98 (t, 1H); δ 7.10-7.12 (d, 1H); δ 7.26 (t, 1H); δ 7.38-7.62 (m, 8H); δ 8.99-9.01 (d, 1H); δ 10.29 (s, 1H). MS (TOF) 506.2 (M^+).

实施例 3 (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2-甲氧基苯基)硒脲]-乙基}-环丙基甲酰胺



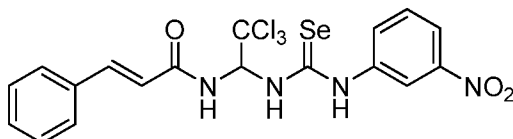
采用实施例 1 的方法, 将其中的 (2E)-3-苯基丙烯酰胺改为环丙基甲酰胺, 得白色固体 60mg. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 0.64 (m, 2H); δ 0.89 (m, 2H); δ 1.16 (m, 1H); δ 3.82 (s, 3H); 6.71-6.75 (d, 1H); δ 6.94-6.98 (t, 1H); δ 7.10-7.12 (d, 1H); δ 7.26 (t, 1H); δ 7.38-7.62 (m, 8H); δ 8.99-9.01 (d, 1H); δ 10.29 (s, 1H). MS (TOF) 443.6 (M^+).

实施例 4 (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[(吗啉-4-硒代甲酰基)氨基]-乙基}肉桂酰胺



采用实施例 1 的方法, 将其中的对氯苯胺改为吗啡啉, 得白色固体 0.23g. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 3.60-3.65 (dd, 4H); δ 3.90-3.96 (dd, 4H); δ 6.78-6.82 (d, 1H); δ 7.41-7.46 (m, 3H); δ 7.53-7.57 (m, 2H); δ 7.65-7.67 (m, 2H); δ 7.75-7.80 (t, 1H); δ 8.09-8.11 (d, 1H); δ 8.36-8.38 (d, 1H). MS (TOF) 472.0 (M^+).

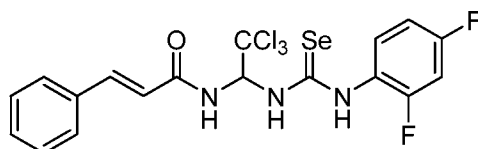
实施例 5 (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(3-硝基苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺



采用实施例 1 的方法, 将其中的对氯苯胺改为 3-硝基苯胺, 得白色固

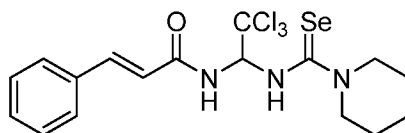
体 0.12g. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 6.78-6.82 (d, 1H); δ 7.42-7.45 (m, 3H); δ 7.55-7.67 (m, 5H); δ 7.89-7.91 (dd, 1H); δ 8.06-8.07 (dd, 1H); δ 8.67 (s, 1H); δ 8.83-8.85 (d, 1H); δ 9.00-9.02 (d, 1H); δ 11.04 (s, 1H). MS (TOF) 521.2 (M^+).

实施例 6 (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2,4-二氟苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺



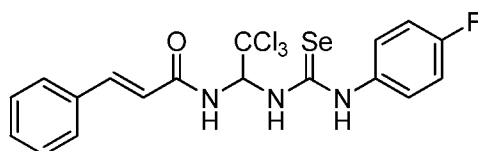
采用实施例 1 的方法, 将其中的对氯苯胺改为 2,4-二氟苯胺, 得白色固体 0.20g. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 6.78-6.85 (d, 1H); δ 7.12-7.21 (t, 2H); δ 7.40-7.64 (m, 8H); δ 8.99-9.12 (m, 2H); δ 10.05 (s, 1H). MS (TOF) 512.1 (M^+).

实施例 7 (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[(哌啶-1-基)硒代甲酰基]氨基}-乙基}肉桂酰胺



采用实施例 1 的方法, 将其中的对氯苯胺改为哌啶, 得白色固体 0.19g. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 1.55-1.65 (m, 6H); δ 3.91 (m, 4H); δ 6.73-6.77 (d, 1H); δ 7.42-7.46 (m, 3H); δ 7.53-7.57 (d, 1H); δ 7.60-7.68 (m, 2H); δ 7.72-7.77 (s, 1H); δ 7.87-7.89 (d, 1H); δ 8.39-8.41 (d, 1H). MS (TOF) 468.3 (M^+).

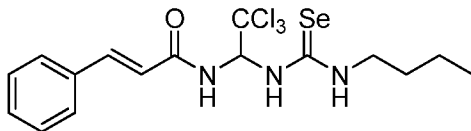
实施例 8 (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(4-氟苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺



采用实施例 1 的方法, 将其中的对氯苯胺改为 4-氟苯胺, 得白色固体 0.30g. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 6.71-6.75 (d, 1H); δ 7.23-7.27

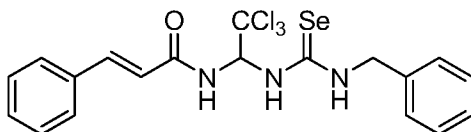
(t,2H) ; δ 7.39-7.46 (m,5H) ; δ 7.53-7.63 (m,4H) ; δ 8.34 (s,1H) ; δ 8.94 (d,1H) ; δ 10.71 (s,1H) 。 MS (TOF) 494.2 (M⁺) 。

实施例 9 (2E) -N-[2,2,2-三氯-1-(3-正丁基硒脲)-乙基]肉桂酰胺



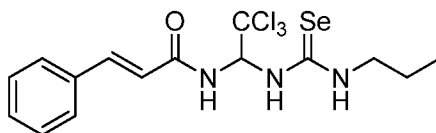
采用实施例 1 的方法,将其中的对氯苯胺改为正丁胺,得黄色固体 0.05g。 ¹H-NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ 0.88-0.92 (t,3H) ; δ 1.29-1.35 (m,2H) ; δ 1.48-1.53 (m,2H) ; δ 3.48-3.54 (m,2H) ; δ 6.76-6.80 (d,1H); δ 7.38-7.60(m,7H); δ 8.12-8.14(d,1H); δ 8.67-8.68(t,1H); δ 8.89-8.91 (d,1H) 。 MS (TOF) 456.2 (M⁺) 。

实施例 10 (2E) -N-[2,2,2-三氯-1-(3-苄基硒脲)-乙基]肉桂酰胺



采用实施例 1 的方法,将其中的对氯苯胺改为苄胺,得白色固体 0.16g。 ¹H-NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ 4.79-4.80 (d,2H) ; δ 6.78-6.82 (d,1H) ; δ 7.34-7.44 (m,8H) ; δ 7.53-7.60 (m,4H) ; δ 8.31-8.33 (d,1H); δ 9.02-9.04 (d,1H); δ 9.09 (m,1H) 。 MS (TOF) 490.2 (M⁺) 。

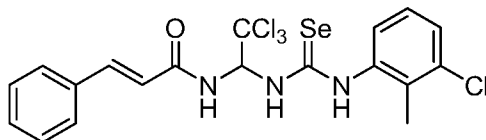
实施例 11 (2E) -N-[2,2,2-三氯-1-(3-正丙基硒脲)-乙基]肉桂酰胺



采用实施例 1 的方法,将其中的对氯苯胺改为正丙胺,得白色固体 0.08g。 ¹H-NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ 0.89-0.91 (t,3H) ; δ 1.52-1.56 (m,2H) ; δ 3.44-3.93 (m,2H) ; δ 6.76-6.80 (d,1H) ; δ 7.42-7.44 (m,4H); δ 7.51-7.61(m,3H); δ 8.15-8.18(d,1H); δ 8.70-8.72(t,1H); δ 8.93-8.95 (d,1H) 。 MS (TOF) 442.2 (M⁺) 。

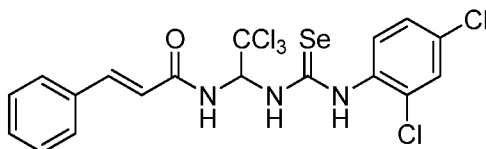
实施例 12 (2E) -N-{2,2,2-三氯-1-[3-(3-氯-2-甲基苯基)硒脲]-乙基}

肉桂酰胺



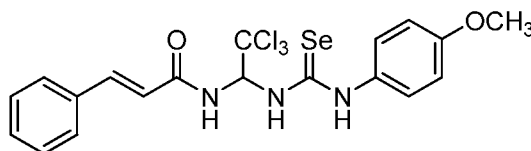
采用实施例 1 的方法，将其中的对氯苯胺改为 2-甲基-3-氯苯胺，得白色固体 0.15g。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz,DMSO- d_6) δ 2.21 (s,3H); δ 6.70-6.74 (d,1H); δ 7.21-7.31 (m,2H); δ 7.41-7.46 (m,4H); δ 7.54-7.58 (d,1H); δ 7.62-7.64 (m,3H); δ 8.94 (s,1H); δ 10.49 (s,1H)。MS (TOF) 424.7 (M^+)。

实施例 13 (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2,4-二氯苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺



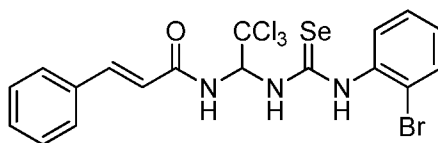
采用实施例 1 的方法，将其中的对氯苯胺改为 2,4-二氯苯胺，得白色固体 0.15g。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz,DMSO- d_6) δ 6.76-6.80 (d,1H); δ 7.40-7.45 (m,4H); δ 7.54-7.63 (m,3H); δ 7.78-7.91 (m,3H); δ 8.84-8.86 (d,1H); δ 8.96-8.98 (d,1H); δ 11.04 (s,1H)。MS (TOF) 545.1 (M^+)。

实施例 14 (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(4-甲氧基苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺



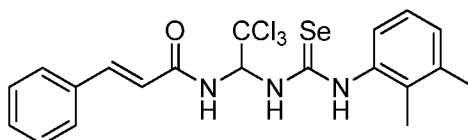
采用实施例 1 的方法，将其中的对氯苯胺改为 4-甲氧基苯胺，得白色固体 0.15g。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz,DMSO- d_6) δ 3.76 (s,3H); δ 6.69 (s,1H); δ 6.98-6.99 (d,1H); δ 7.28 (s, 2H); δ 7.41-7.45 (m,5H); δ 8.94 (s,1H); δ 10.61 (s,1H)。MS (TOF) 506.2 (M^+)。

实施例 15 (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2-溴苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺



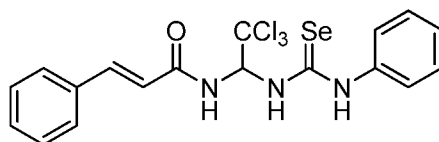
采用实施例 1 的方法，将其中的对氯苯胺改为邻溴苯胺，得白色固体 0.10g。¹H-NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ6.75-6.79 (d,1H); δ7.23-7.27 (t,1H); δ7.41-7.45 (m,5H); δ7.54-7.63 (m,4H); δ7.69-7.71 (d,1H); δ8.64 (s,1H); δ9.07-9.09 (d, 1H); δ10.40 (s, 1H)。MS (TOF) 556.1 (M⁺)。

实施例 16 (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2,3-二甲基苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺



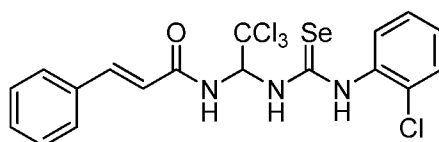
采用实施例 1 的方法，将其中的对氯苯胺改为 2,3-二甲基苯胺，得白色固体 0.15g。¹H-NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ2.08 (s,3H); δ2.28 (s,3H); δ6.67 (s,1H); δ7.02-7.04 (d,1H); δ7.17 (s,2H); δ7.39-7.46 (m, 3H); δ7.52-7.56 (d, 1H); δ7.61-7.64 (dd, 4H); δ8.96 (s,1H); δ10.64 (s,1H)。MS (TOF) 503.1 (M⁺)。

实施例 17 (2E)-N-[2,2,2-三氯-1-(3-苯基硒脲)-乙基]肉桂酰胺



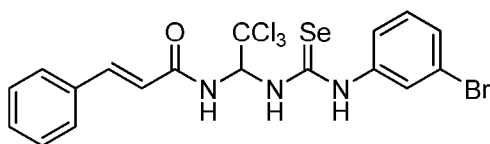
采用实施例 1 的方法，将其中的对氯苯胺改为苯胺，得白色固体 0.17g。¹H-NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ6.68-6.72 (d,1H); 7.26-7.28 (t,1H); δ7.40-7.46 (m,7H); δ7.53-7.59 (m,2H); δ7.61-7.63 (dd,2H); δ8.30 (s,1H); δ8.92-8.94 (d,1H); δ10.79 (s,1H)。MS (TOF) 475.0 (M⁺)。

实施例 18 (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2-氯苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺



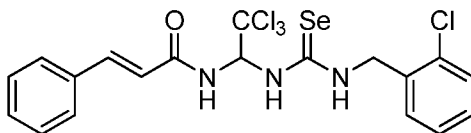
采用实施例 1 的方法, 将其中的对氯苯胺改为邻氯苯胺, 得白色固体 0.17g。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ6.76-6.80 (d, 1H); 7.32-7.46 (m, 5H); δ7.54-7.63 (m, 6H); δ8.66 (s, 1H); δ9.06-9.08 (d, 1H); δ10.43 (s, 1H)。MS (TOF) 509.5 (M⁺)。

实施例 19 (2E) -N-{2,2,2-三氯-1-[3-(3-溴苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺



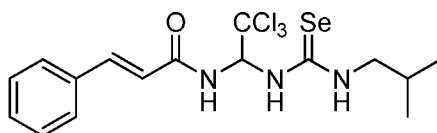
采用实施例 1 的方法, 将其中的对氯苯胺改为 3-溴苯胺, 得白色固体 0.17g。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ6.73-6.77 (d, 1H); 7.36-7.45 (m, 6H); δ7.54-7.64 (m, 4H); δ7.85 (s, 1H); δ8.57-8.59 (d, 1H); δ8.89-8.91 (d, 1H); δ10.84 (s, 1H)。MS (TOF) 475.0 (M⁺)。

实施例 20 (2E) -N-{2,2,2-三氯-1-[3-(2-氯苄基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺



采用实施例 1 的方法, 将其中的对氯苯胺改为邻氯苄胺, 得白色固体 0.15g。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ4.86-4.89 (t, 2H); δ6.78-6.82 (d, 1H); δ7.34-7.37 (m, 2H); δ7.41-7.51 (m, 6H); δ7.53-7.61 (m, 3H); δ8.48-8.50 (d, 1H); δ9.03-9.08 (m, 2H)。MS (TOF) 524.1 (M⁺)。

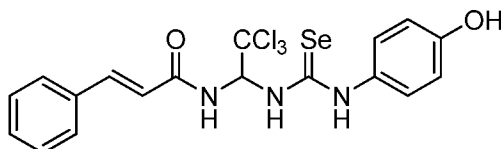
实施例 21 (2E) -N-[2,2,2-三氯-1-(3-异丁基硒脲)-乙基]肉桂酰胺



采用实施例 1 的方法, 将其中的对氯苯胺改为异丁胺, 得白色固体 0.09g。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ0.85-0.91 (d, 6H); 1.86-1.89 (m, 1H); δ3.36-3.38 (m, 2H); δ6.77-6.81 (d, 1H); δ7.42-7.59 (m, 7H); δ8.18-8.21 (d, 1H); δ8.68-8.71 (t, 1H); δ8.90-8.92 (d, 1H)。

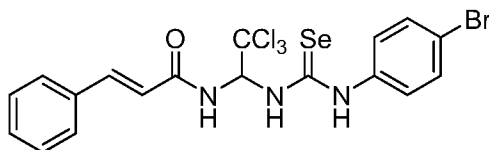
MS (TOF) 455.0 (M⁺)。

实施例 22 (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(4-羟基苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺



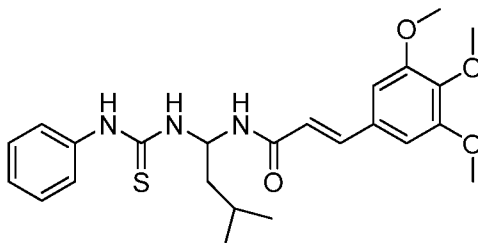
采用实施例 1 的方法，将其中的对氯苯胺改为对羟基苯胺，得白色固体 0.15g。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ5.59-5.62 (d, 1H); 5.78 (s, 1H); δ5.97-5.99 (m, 7H); δ6.58-6.60 (d, 2H); δ6.69-6.71 (d, 2H); δ6.78-6.82 (d, 1H); δ7.39-7.44 (m, 3H); δ7.51-7.59 (m, 3H); δ8.71 (s, 1H); δ8.81-8.83 (d, 1H)。MS (TOF) 491.0 (M⁺)。

实施例 23 (2E)-N-{2,2,2-三氯-1-[3-(4-溴苯基)硒脲]-乙基}肉桂酰胺



采用实施例 1 的方法，将其中的对氯苯胺改为对溴苯胺，得白色固体 0.13g。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ6.72-6.76 (d, 1H); 7.41-7.64 (m, 11H); δ8.48-8.50 (d, 1H); δ8.92-8.94 (d, 1H); δ10.79 (s, 1H)。MS (TOF) 553.9 (M⁺)。

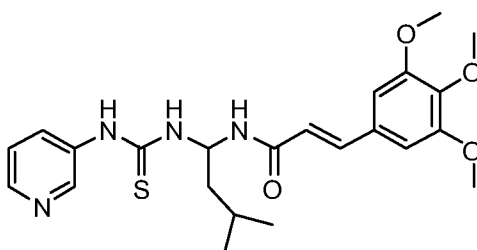
实施例 24 (2E)-N-[3-甲基-1-(3-苯基硫脲基)丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



称量化合物 3,4,5-三甲氧基苯甲醛 100g, 丙二酸 64.5g, 置于三颈瓶中, 加入 500ml 吡啶, 10ml 哌啶, 80℃回流反应 24 小时后停止, NaOH 调 PH 值至 12, 水、乙酸乙酯萃取 3 次, 收集水层, 水层调 PH 值至 3, 大量白

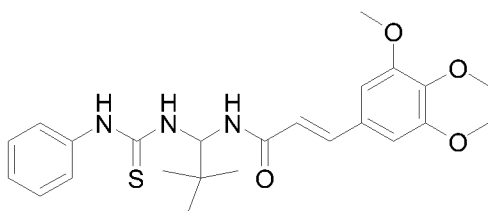
色固体析出, 过滤, 红外烘干, 得固体 3-(3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酸 93g。称量 3-(3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酸 2.4g, 对甲苯磺酰氯 3.1g, 碳酸钾 4.0g, 四甲基氯化铵 5.2g 置于 50ml 圆底烧瓶中, 加入 30ml DCM, 40℃ 反应。1 小时后, 停止反应, 过滤除去无机盐, 旋干, 甲醇溶解, 过滤得到 3-(3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酸对甲苯磺酸酯 2.73g。称量 3-(3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酸对甲苯磺酸酯 2.7g 加到 100ml 圆底烧瓶中, 加入 40ml DCM, 2ml DIEA, 20ml 浓氨水。滴加完毕, 升温到 40 度反应 2 小时停止, 过滤除去不溶物, 旋干, 乙酸乙酯重结晶得化合物 3-(3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺 1g。称量苯并三氮唑 4g, 异戊醛 2ml, 3-(3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺 2g 加到三颈瓶中, 加入 20ml 甲苯, 滴加 3 滴浓 HCl 回流反应 10 小时后停止。旋干甲苯, 硅胶柱色谱纯化, 得 N-(1-苯并三氮唑-1-基-3-甲基-丁基)-3-(3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺 1g。取苯胺 930mg, CS₂ 880mg, KOH 880mg 加到 100ml 三颈瓶中, 加入 20ml DMSO 30℃ 反应 12 小时后, 冷却, 加入 ICH₃ 1420g 冰浴下反应 15 小时后停止, 将反应液慢慢滴加入水中, 析出固体, 硅胶柱色谱纯化, 得白色固体苯氨基二硫代甲酸甲酯 500mg。称量白色固体苯氨基二硫代甲酸甲酯 500mg 加到圆底烧瓶中, 加入 20ml 甲醇, 2.5ml 氨水, 回流反应 2 小时后结束, 旋干甲醇, 析出固体苯基硫脲 200mg。取固体 K 苯基硫脲 270mg, NaH 150mg 于反应瓶中, 加入 6ml THF, 室温反应 1h 后, 将 N-(1-苯并三氮唑-1-基-3-甲基-丁基)-3-(3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺 720mg 溶于 4ml THF 中, 所得溶液加入反应瓶中。室温反应 3h, 停止反应。乙酸乙酯/水洗 3 次, 饱和食盐水洗 2 次, 无水硫酸钠干燥, 旋干, 硅胶柱色谱纯化, 得固体 200mg。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ0.90-0.94 (m, 6H); δ1.48-1.71 (m, 4H); δ3.68 (s, 2H); δ3.80 (s, 6H); δ6.48-6.52 (d, 2H); δ6.86 (s, 2H); δ7.02 (s, 1H); δ7.38-7.48 (m, 4H); δ8.08 (s, 1H)。MS (TOF) 457.6 (M⁺)。

实施例 25 (2E)-N-[3-甲基-1-(3-吡啶-3-基硫脲基) 丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺



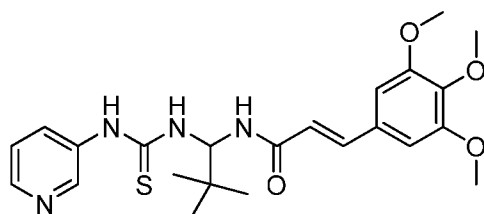
采用实施例 24 的方法, 将其中的苯胺改成 3 氨基-吡啶, 得化合物 210mg. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, $\text{CCl}_3\text{D-d}$) δ 0.94 (s, 6H); δ 1.71-1.78 (m, 3H); δ 3.80 (m, 1H); δ 3.87-3.89 (s, 10H); δ 5.66 (s, 1H); δ 6.39-6.43 (d, 1H); δ 6.75 (s, 2H); δ 6.92-6.94 (d, 1H); δ 7.30-7.33 (m, 1H); δ 7.65-7.67 (d, 1H); δ 8.21-8.23 (d, 1H); δ 8.41-8.42 (d, 1H); δ 8.82 (s, 1H); δ 10.95 (s, 1H). MS (TOF) 458.6 (M^+).

实施例 26 (2E)-N-[3,3-二甲基-1-(3-苯基硫脲基)丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



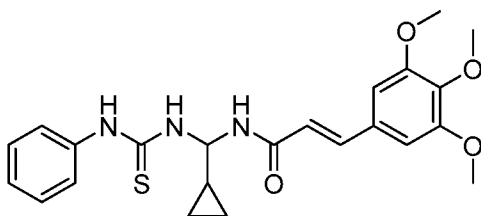
采用实施例 24 的方法, 将其中的异戊醛改成特戊醛, 得化合物 150mg. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 0.92-1.01 (s, 9H); δ 1.76 (m, 1H); δ 3.69 (s, 3H); δ 3.82 (s, 6H); δ 6.05 (d, 1H); δ 6.57-6.59 (m, 1H); δ 6.91 (d, 2H); δ 7.10-7.13 (m, 1H); δ 7.30-7.35 (m, 2H); δ 7.48 (s, 1H); δ 7.93 (s, 1H); δ 8.55 (d, 1H); δ 8.82 (s, 1H); δ 9.70 (s, 1H). MS (TOF) 458.6 (M^+).

实施例 27 (2E)-N-[2,2-二甲基-1-(3-吡啶-3-基硫脲基)丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



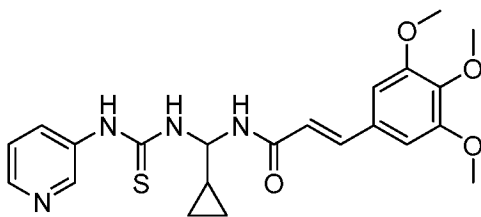
采用实施例 24 的方法, 将其中的苯胺换成 3-氨基吡啶, 异戊醛改成特戊醛, 得化合物 230mg. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, $\text{CCl}_3\text{D-d}$) δ 0.90-1.15 (s, 9H); δ 3.84-3.90 (s, 9H); δ 5.42 (m, 1H); δ 6.44-6.46 (m, 1H); δ 6.49-6.53 (d, 1H); δ 6.64-6.66 (d, 1H); δ 6.78 (s, 2H); δ 7.29-7.32 (t, 1H); δ 7.69-7.73 (d, 1H); δ 8.26-8.42 (d, 1H); δ 8.42-8.43 (d, 1H); δ 8.74-8.75 (d, 1H); δ 10.55 (s, 1H). MS (TOF) 458.6 (M^+).

实施例 28 (2E)-N-[环丙基-(3-苯基硫脲基)-甲基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



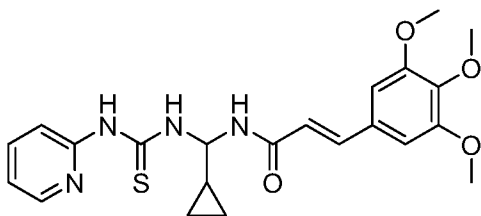
采用实施例 24 的方法, 将其中的异戊醛改成环丙基甲醛, 得化合物 250mg. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 0.91 (m, 1H); δ 2.05-2.07 (m, 2H); δ 3.75 (s, 4H); δ 3.79-3.80 (m, 2H); δ 3.88 (s, 6H); δ 6.03 (m, 1H); δ 6.71-6.75 (d, 1H); δ 7.03 (s, 2H); δ 7.16-7.22 (m, 1H); δ 7.36-7.40 (t, 2H); δ 7.59-7.61 (d, 2H); δ 9.24 (s, 1H); δ 10.60 (s, 1H). MS (TOF) 441.5 (M^+).

实施例 29 (2E)-N-[环丙基-(3-吡啶-3-基硫脲基)-甲基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



采用实施例 24 的方法, 将其中的苯胺改成 3-氨基吡啶, 异戊醛改成环丙基甲醛, 得化合物 210mg. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 - d) δ 0.51-0.57 (m, 4H); δ 1.25-1.26 (m, 1H); δ 2.45 (s, 1H); δ 3.87 (s, 9H); δ 4.99 (s, 1H); δ 6.43-6.47 (d, 1H); δ 6.74 (s, 1H); δ 7.27-7.31 (m, 2H); δ 7.41-7.43 (d, 1H); δ 7.63-7.67 (d, 1H); δ 8.18 (s, 2H); δ 8.39-8.40 (d, 1H); δ 8.79 (s, 1H); δ 10.78 (s, 1H). MS (TOF) 442.5 (M^+).

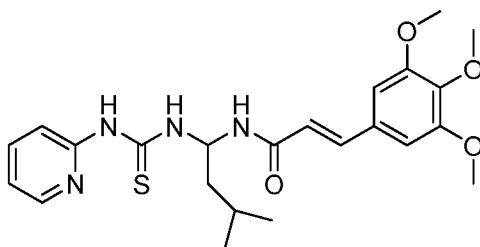
实施例 30 (2E)-N-[环丙基-(3-吡啶-2-基硫脲基)-甲基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



采用实施例 24 的方法, 将其中的苯胺改成 2-氨基吡啶, 异戊醛改成环丙基甲醛, 得化合物 170mg. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 0.45-0.50

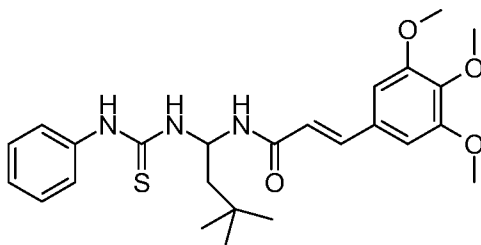
(m, 4H) ; δ 1.45-1.47 (m, 1H) ; δ 3.68 (s, 3H) ; δ 3.81 (s, 6H) ; δ 5.92-5.94 (m, 1H) ; δ 6.55-6.59 (d, 1H) ; δ 6.91 (s, 1H) ; δ 7.06-7.09 (dd, 1H) ; δ 7.17-7.19 (d, 1H) ; δ 7.37-7.41 (d, 1H) ; δ 7.79-7.80 (t, 1H) ; δ 8.61-8.63 (d, 1H) ; δ 10.66 (s, 1H) ; δ 12.17-12.19 (d, 1H) 。 MS (TOF) 442.5 (M⁺) 。

实施例 31 (2E)-N-[3-甲基-1-(3-吡啶-2-基硫脲基)丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



采用实施例 24 的方法，将其中的苯胺改成 2-氨基吡啶，得化合物 210mg。 ¹H-NMR (400MHz, CCl₃D-d) δ 1.00-1.01 (s, 6H) ; δ 1.73- 1.76 (m, 2H) ; δ 2.16 (s, 2H) ; δ 3.87 (s, 9H) ; δ 5.88 (s, 1H) ; δ 6.32-6.36 (d, 1H) ; δ 6.71-6.76 (m, 3H) ; δ 6.98-7.00 (m, 1H) ; δ 7.09 (m, 1H) ; δ 7.51-7.55 (d, 1H) ; δ 7.64 (m, 1H) ; δ 8.24-8.25 (m, 1H) ; δ 10.32 (s, 1H) 。 MS (TOF) 458.6 (M⁺) 。

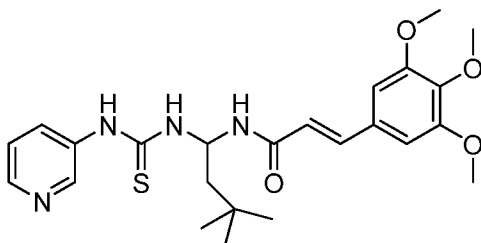
实施例 32 (2E)-N-[3,3-二甲基-1-(3-苯基硫脲基)丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



采用实施例 24 的方法，将其中的异戊醛改成 3, 3-二甲基丁醛，得化合物 170mg。

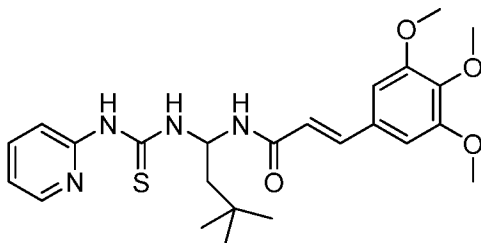
¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 0.92-0.99 (m, 9H) ; δ 1.78 (s, 2H) ; δ 3.68 (s, 3H) ; δ 3.81 (s, 6H) ; δ 6.06 (m, 1H) ; δ 6.57-6.59 (d, 1H) ; δ 6.91 (s, 2H) ; δ 7.09-7.13 (m, 1H) ; δ 7.31-7.35 (m, 5H) ; δ 7.92 (s, 1H) ; δ 8.55 (s, 1H) ; δ 9.70 (s, 1H) ; MS (TOF) 471.6 (M⁺) 。

实施例 33 (2E)-N-[3,3-二甲基-1-(3-吡啶-3-基硫脲基)丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



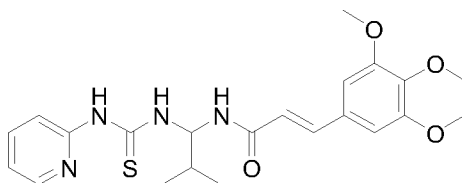
采用实施例 24 的方法, 将其中的苯胺改成 3-氨基吡啶, 异戊醛改成 3, 3-二甲基丁醛, 得化合物 160mg。¹H-NMR (400MHz, CCl₃D-d) δ1.01 (s, 9H); δ1.79-1.82 (m, 1H); δ2.05 (m, 2H); δ3.89 (s, 9H); δ5.71 (s, 1H); δ6.37-6.41 (d, 1H); δ6.76 (m, 2H); δ7.15 (m, 1H); δ7.31-7.34 (m, 1H); δ7.67-7.71 (d, 1H); δ8.24-8.26 (d, 1H); δ8.42-8.43 (d, 1H); δ8.83 (s, 1H); δ10.92 (s, 1H)。MS (TOF) 472.6 (M⁺)。

实施例 34 (2E)-N-[3,3-二甲基-1-(3-吡啶-2-基硫脲基)丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



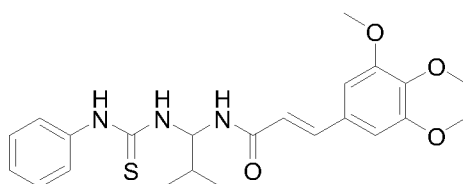
采用实施例 24 的方法, 将其中的苯胺改成 2-氨基吡啶, 异戊醛改成 3, 3-二甲基丁醛, 得化合物 170mg。¹H-NMR (400MHz, CCl₃D-d) δ1.02 (s, 9H); δ1.74 (s, 1H); δ2.17-2.31 (m, 2H); δ3.87 (s, 9H); δ5.90 (s, 1H); δ6.30-6.34 (d, 1H); δ6.70-6.77 (m, 3H); δ6.98-7.00 (m, 1H); δ7.17 (s, 1H); δ7.50-7.54 (d, 1H); δ7.64 (m, 1H); δ8.25-8.26 (d, 1H); δ8.43 (s, 1H); δ12.39 (s, 1H)。MS (TOF) 458.6 (M⁺)。

实施例 35 (2E)-N-[2-甲基-1-(3-吡啶-2-基硫脲基)丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



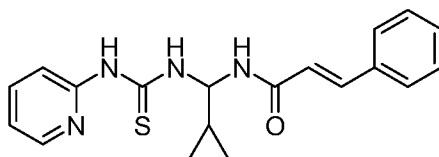
采用实施例 24 的方法, 将其中的苯胺改成 2-氨基吡啶, 异戊醛改成异丁醛, 得化合物 170mg。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ0.95-0.99 (m, 6H); δ2.21-2.24 (m, 1H); δ3.68 (s, 3H); δ3.81 (s, 6H); δ6.02-6.04 (m, 1H); δ6.61-6.64 (d, 1H); δ6.90 (s, 2H); δ7.08-7.12 (m, 1H); δ7.18-7.20 (m, 1H); δ7.36-7.40 (d, 5H); δ7.78-7.80 (m, 1H); δ8.24-8.25 (m, 1H); δ8.50-8.52 (m, 1H); δ10.70 (s, 1H); δ12.16-12.18 (d, 1H); MS (TOF) 428.5 (M⁺)。

实施例 36 (2E)-N-[2-甲基-1-(3-苯基硫脲基)丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



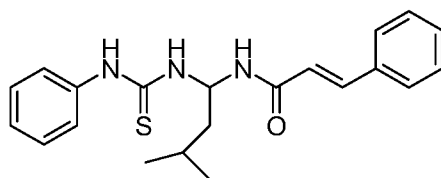
采用实施例 24 的方法, 将其中的异戊醛改成异丁醛, 得化合物 170mg。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ0.93-0.95 (m, 6H); δ2.20 (m, 1H); δ3.69 (s, 3H); δ3.82 (s, 6H); δ5.86 (m, 1H); δ6.78-6.80 (d, 1H); δ6.92 (s, 2H); δ7.11-7.13 (m, 1H); δ7.30-7.54 (m, 6H); δ7.97 (s, 1H); δ8.30 (m, 1H); δ9.91 (m, 1H); MS (TOF) 428.5 (M⁺)。

实施例 37 (2E)-N-[环丙基-(3-吡啶-2-基硫脲基)-甲基]肉桂酰胺



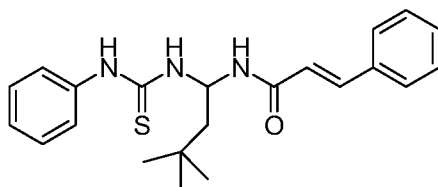
采用实施例 24 的方法, 将其中的苯胺改成 2-氨基吡啶, 异戊醛改成环丙基甲醛, 3,4,5-三甲氧基苯甲醛换成苯甲醛, 得化合物 170mg。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ0.93-0.95 (m, 6H); δ1.91-2.29 (m, 4H); δ3.68-3.71 (m, 1H); δ3.82 (s, 6H); δ6.62-6.65 (m, 1H); δ7.00-7.53 (m, 8H); δ7.70-7.80 (m, 3H); δ8.23-8.24 (m, 1H); δ10.86-10.87 (m, 1H); δ12.47-12.49 (m, 1H); MS (TOF) 352.5 (M⁺)。

实施例 38 (2E)-N-[3-甲基-1-(3-苯硫脲基)丁基]肉桂酰胺



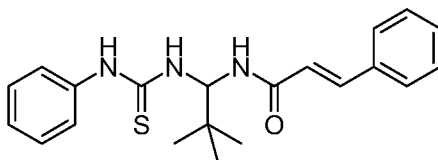
采用实施例 24 的方法，将其中的 3,4,5-三甲氧基苯甲醛换成苯甲醛，得化合物 180mg。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ0.91-0.92 (m, 6H); δ1.67-1.73 (m, 3H); δ6.03 (s, 1H); δ6.66 (s, 1H); δ7.10-7.13 (t, 1H); δ7.30-7.60 (m, 10H); δ7.96 (s, 1H); δ8.56 (s, 1H); δ9.67 (s, 1H); MS (TOF) 367.5 (M⁺)。

实施例 39 (2E)-N-[3,3-二甲基-1-(3-苯硫脲基)丁基]肉桂酰胺



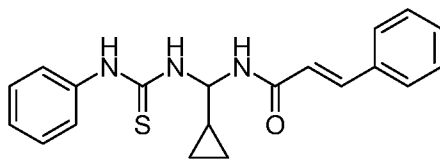
采用实施例 24 的方法，将其中的异戊醛改成 3, 3-二甲基丁醛，3,4,5-三甲氧基苯甲醛换成苯甲醛，得化合物 170mg。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ0.92-0.95 (m, 9H); δ1.78 (m, 2H); δ6.06 (s, 1H); δ6.60-6.64 (d, 1H); δ7.10-7.13 (t, 1H); δ7.31-7.57 (m, 10H); δ7.97 (s, 1H); δ8.65 (s, 1H); δ9.71 (s, 1H). MS (TOF) 381.5 (M⁺)。

实施例 40 (2E)-N-[2,2-二甲基-1-(3-苯硫脲基)丙基]肉桂酰胺



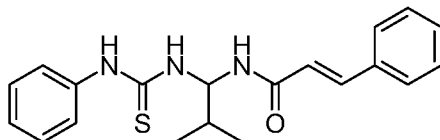
采用实施例 24 的方法，将其中的异戊醛改成 3,3-二甲基丙醛，3,4,5-三甲氧基苯甲醛换成苯甲醛。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ0.98 (m, 9H); δ6.15 (s, 1H); δ6.69-6.72 (d, 1H); δ7.11-7.15 (t, 1H); δ7.32-7.59 (m, 10H); δ7.63-7.67 (d, 1H); δ8.17 (s, 1H); δ9.86 (s, 1H). MS (TOF) 367.5 (M⁺)。

实施例 41 (2E)-N-[环丙基-(3-苯硫脲基)环丙基甲基]肉桂酰胺



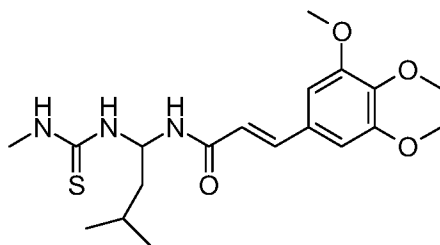
采用实施例 24 的方法, 将其中的异戊醛改成环丙基甲醛, 3,4,5-三甲氧基苯甲醛换成苯甲醛, 得化合物 170mg. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 1.89-2.19 (m, 4H); δ 3.57-3.58 (m, 1H); δ 6.58-6.62 (t, 1H); δ 7.07-7.11 (t, 1H); δ 7.20-7.54 (m, 10H); δ 7.69-7.71 (dd, 2H); δ 9.11 (d, 1H); δ 10.01 (s, 1H). MS (TOF) 351.5 (M^+).

实施例 42 (2E)-N-[2-甲基-1-(3-苯硫脲基)丙基]肉桂酰胺



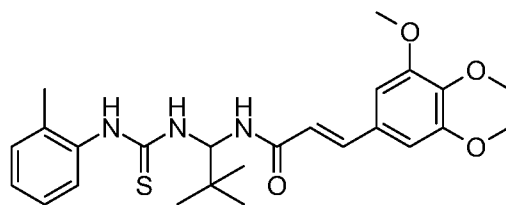
采用实施例 24 的方法, 将其中的异戊醛改成异丁醛, 3,4,5-三甲氧基苯醛换成苯醛, 得化合物 170mg. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 0.92-0.94 (m, 6H); δ 2.22 (s, 1H); δ 5.83 (s, 1H); δ 6.70 (d, 1H); δ 7.09-7.13 (t, 1H); δ 7.31-7.58 (m, 10H); δ 7.85 (s, 1H); δ 8.43 (s, 1H); δ 9.77 (s, 1H). MS (TOF) 353.5 (M^+).

实施例 43 (2E)-N-[3-甲基-1-(3-甲硫脲基)丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



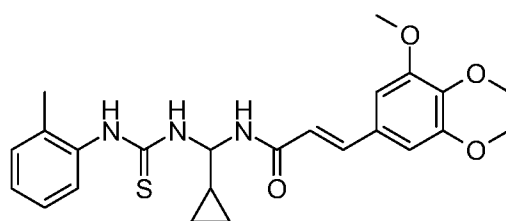
采用实施例 24 的方法, 将其中的苯胺改成甲胺, 得化合物 190mg. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 0.94-0.97 (m, 7H); δ 1.66-1.70 (m, 3H); δ 2.93 (s, 3H); δ 3.75 (s, 3H); δ 3.78 (s, 6H); δ 5.95-5.99 (d, 1H); δ 6.64-6.68 (d, 1H); δ 6.97 (s, 2H); δ 7.47-7.52 (d, 1H); δ 8.01 (s, 1H); δ 8.74 (t, 1H). MS (TOF) 442.5 (M^+).

实施例 44 (2E)-N-[2,2-二甲基-1-(3-邻-甲苯硫脲基)丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



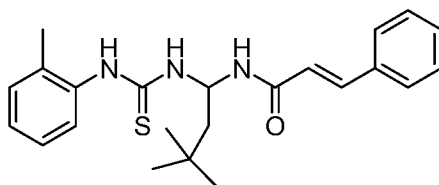
采用实施例 24 的方法,将其中的苯胺改成 2-甲基苯胺,异戊醛改成特戊醛,得化合物 170mg。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz,DMSO- d_6) δ 0.94 (m,9H); δ 2.19 (s,3H); δ 3.68 (s,3H); δ 3.81 (s,6H); δ 6.19 (s,1H); δ 6.61-6.65 (d,1H); δ 6.92 (s,2H); δ 7.16-7.52 (m,6H); δ 8.61 (d,1H); δ 9.46 (s,1H)。MS (TOF) 471.6 (M^+)。

实施例 45 (2E)-N-[环丙基-(3-邻-甲苯硫脲基)-甲基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



采用实施例 24 的方法,将其中的苯胺改成 2-甲基苯胺,异戊醛改成环丙基甲醛,得化合物 170mg。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz,DMSO- d_6) δ 0.38-0.46 (m,4H); δ 1.42 (s,1H); δ 2.18 (s,3H); δ 3.68 (s,3H); δ 3.81 (s,6H); δ 5.72 (s,1H); δ 6.57-6.63 (d,1H); δ 6.92 (s,2H); δ 7.14-7.40 (m,5H); δ 7.76 (s,1H); δ 8.36 (s,1H); δ 9.346 (s,1H)。MS (TOF) 455.6 (M^+)。

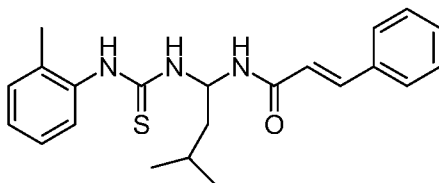
实施例 46 N-[3,3-二甲基-1-(3-邻-甲苯硫脲基)丁基]肉桂酰胺



采用实施例 24 的方法,将其中的苯胺改成 2-甲基苯胺,异戊醛改成 3,3-二甲基丁醛,3,4,5-三甲氧基苯甲醛换成苯甲醛,得化合物 170mg。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz,DMSO- d_6) δ 0.95 (m,9H); δ 1.69-1.80 (m,2H); δ 2.16

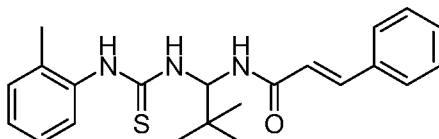
(s,3H); δ 6.06 (s,1H); δ 6.59-6.63 (d,1H); δ 7.13-7.24 (m,4H); δ 7.41-7.44 (m,4H); δ 7.57-7.59 (d,3H); δ 8.59 (s,1H); δ 9.24 (s,1H). MS (TOF) 395.6 (M⁺).

实施例 47 N-[3-甲基-1-(3-邻-甲苯硫脲基)丁基]肉桂酰胺



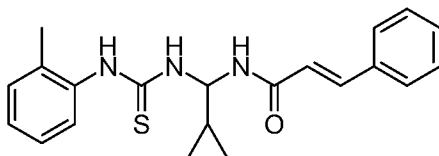
采用实施例 24 的方法，将其中的苯胺改成 2-甲基苯胺，3,4,5-三甲氧基苯甲醛换成苯甲醛，得化合物 170mg。¹H-NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ 0.86-0.92 (m,6H); δ 1.24-1.25 (m,1H); δ 1.67-1.68 (m,2H); δ 2.16 (s,3H); δ 6.05 (s,1H); δ 5.47-5.52 (s,1H,N-H); δ 6.06 (s,1H); δ 6.64-6.69 (m,1H); δ 7.15-7.18 (m,4H); δ 7.41-7.43 (m,3H); δ 7.58-7.59 (d,2H); δ 8.47 (s,1H); δ 9.20 (s,1H) δ 9.95 (s,1H,N-H); MS (TOF) 381.5 (M⁺).

实施例 48 N-[2,2-二甲基-1-(3-邻-甲苯硫脲基)丙基]肉桂酰胺



采用实施例 24 的方法，将其中的苯胺改成 2-甲基苯胺，异戊醛改成特戊醛，3,4,5-三甲氧基苯甲醛换成苯甲醛，得化合物 170mg。¹H-NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ 0.94 (m,9H); δ 2.18 (s,3H); δ 6.15 (s,1H); δ 6.71 (s,1H); δ 7.17-7.26 (m,4H); δ 7.38-7.45 (m,4H); δ 7.57-7.59 (d,2H); δ 8.19 (s,1H). MS (TOF) 381.5 (M⁺).

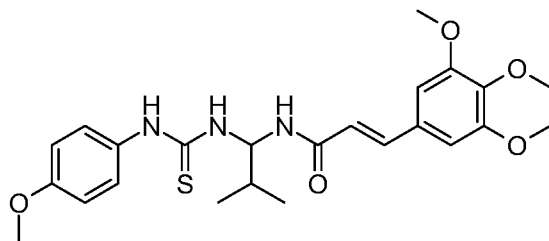
实施例 49 N-[环丙基-(3-邻-甲苯硫脲基)-甲基]肉桂酰胺



采用实施例 24 的方法，将其中的苯胺改成 2-甲基苯胺，异戊醛改成环丙基甲醛，3,4,5-三甲氧基苯甲醛换成苯甲醛，得化合物 170mg。¹H-NMR

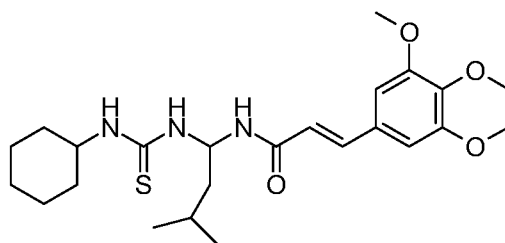
(400MHz,DMSO-d₆) δ 1.93-1.95 (m,2H) ; δ 2.08 (s,3H) ; δ 2.30 (m,1H); δ 3.71-3.73 (m,2H); δ 5.90 (s,1H); δ 6.66-6.70 (s,1H); δ 7.10-7.20 (m,4H); δ 7.38-7.57 (m,6H) ; δ 9.16 (s,1H) ; δ 9.66 (s,1H) .MS (TOF) 365.5 (M⁺) .

实施例 50 (2E) -N-{1 - [3 - (4 - 甲氧基苯基) 硫脲基]-2 - 甲基丙基}-3 - (3,4,5 - 三甲氧基苯基) 丙烯酰胺



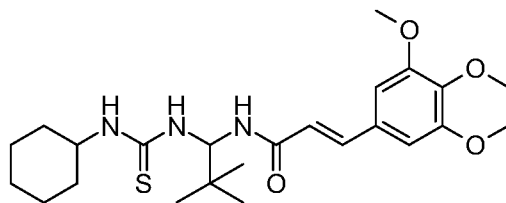
采用实施例 24 的方法,将其中的苯胺改成 4-甲氧基苯胺,异戊醛改成异丁醛,得化合物 170mg。1H-NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ 0.91-0.98 (m,6H); δ 2.18 (s,1H); δ 3.68 (s,3H); δ 3.74 (s,3H); δ 3.81 (s,6H); δ 5.86 (s,1H); δ 6.60-6.64 (d,1H); δ 6.90-6.92 (d,2H); δ 7.32-7.38 (m,3H); δ 8.30 (s,1H) ; δ 9.60 (s,1H) . MS (TOF) 473.6 (M⁺) .

实施例 51 (2E) -N-[1- (3-环己基硫脲基) -3-甲基丁基]-3- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺



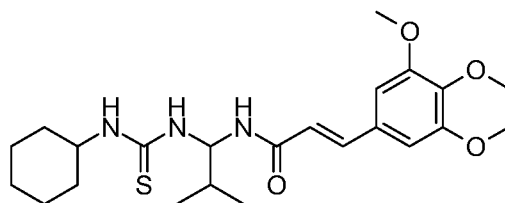
采用实施例 24 的方法,将其中的苯胺改成环己胺,得化合物 170mg。1H-NMR (400MHz, CCl₃D-d) δ 0.90-0.93 (m,6H); δ 1.29-1.35 (m,5H); δ 1.61-1.77 (m,5H); δ 1.92-2.15 (m,2H); δ 3.89 (m,9H); δ 4.09-4.11 (m,1H); δ 5.44-5.48 (m,1H); δ 6.19 (s,1H); δ 6.47-6.51 (d,1H); δ 6.76-6.85 (m,2H); δ 7.27-7.34 (d,1H); δ 7.57-7.61 (d,1H); δ 8.27 (s,1H) . MS (TOF) 463.6 (M⁺) .

实施例 52 (2E) -N-[1- (3-环己基硫脲基) -2,2-二甲基丙基]-3- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺



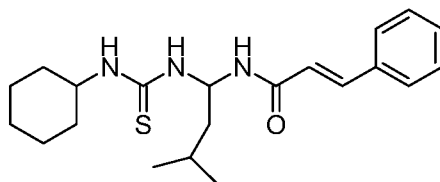
采用实施例 24 的方法, 将其中的苯胺改成环己胺, 异戊醛改成特戊醛, 得化合物 170mg。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, $\text{CCl}_3\text{D}-d$) δ 1.02-1.28 (m, 13H); δ 1.68-2.10 (m, 6H); δ 3.87-3.95 (M, 9H) δ 4.11-4.14 (M, 1H); δ 5.21-5.23 (t, 1H); δ 6.01-6.03 (d, 1H); δ 6.67-6.61 (m, 1H); δ 6.75-6.80 (m, 2H); δ 7.58-7.62 (m, 1H); δ 7.72-7.74 (d, 1H). MS (TOF) 463.6 (M^+)。

实施例 53 (2E)-N-[1-(3-环己基硫脲基)-2-甲基丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺



采用实施例 24 的方法, 将其中的苯胺改成环己胺, 异戊醛改成异丁醛, 得化合物 170mg。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, $-d$) δ 1.02-1.34 (m, 11H); δ 1.63-2.05 (m, 6H); δ 3.87-3.89 (m, 9H); δ 4.09-4.11 (m, 1H); δ 5.14-5.18 (m, 1H); δ 6.17 (s, 1H); δ 6.55-6.59 (d, 1H); δ 6.74-6.78 (m, 2H); δ 7.57-7.61 (d, 1H); δ 8.02 (s, 1H). MS (TOF) 449.6 (M^+)。

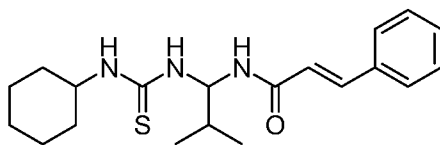
实施例 54 N-[1-(3-环己基硫脲基)-3-甲基丁基]肉桂酰胺



采用实施例 24 的方法, 将其中的苯胺改成环己胺, 3,4,5-三甲氧基苯甲醛改成苯甲醛, 得化合物 170mg。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0.90-0.94 (m, 6H); δ 1.25-1.39 (m, 4H); δ 1.63-2.13 (m, 8H); δ 4.12-4.13 (d, 1H); δ 5.49-5.50 (m, 1H); δ 6.48-6.52 (m, 1H); δ 7.38-7.40

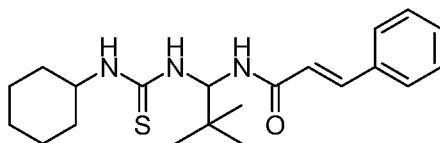
(m, 3H); δ 7.52-7.54 (m, 2H); δ 7.66-7.70 (d, 1H). MS (TOF) 373.6 (M⁺).

实施例 55 N-[1-(3-环己基硫脲基)-2-甲基丙基]肉桂酰胺



采用实施例 24 的方法, 将其中的苯胺改成环己胺, 异戊醛改成异丁醛, 3,4,5-三甲氧基苯甲醛改成苯甲醛, 得化合物 170mg。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 0.87-0.92 (m, 6H); δ 1.10-1.29 (m, 6H); δ 1.56-1.87 (m, 5H); δ 2.12 (s, 1H); δ 3.98 (s, 1H); δ 6.68-6.72 (d, 1H); 7.39-7.44 (q, 4H); δ 7.57-7.66 (d, 2H). MS (TOF) 359.6 (M⁺).

实施例 56 N-[1-(3-环己基硫脲基)-2,2-二甲基丙基]肉桂酰胺



采用实施例 24 的方法, 将其中的苯胺改成环己胺, 异戊醛改成特戊醛, 3,4,5-三甲氧基苯甲醛改成苯甲醛, 得化合物 170mg。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 0.98-1.35 (m, 14H); δ 1.57-2.10 (m, 5H); δ 4.10-4.12 (d, 1H); δ 5.19-5.24 (m, 1H); δ 5.61 (s, 1H); δ 6.03-6.05 (s, 1H); δ 6.47-6.59 (d, 1H); δ 7.35-7.38 (t, 2H); δ 7.50-7.54 (d, 2H); δ 7.65-7.70 (d, 2H). MS (TOF) 373.6 (M⁺).

实施例 57 本发明化合物逆转肿瘤耐药作用

1. 实验材料

细胞: (BT474、SK-BR3 是 Lapatinib 敏感的人乳腺癌细胞株, BT/LapR、SK/LapR 是用 Lapatinib 刺激后, 对 Lapatinib 继发耐药的人乳腺癌细胞株, MDA-MB-361、MDA-MB-453 是 Lapatinib 天然耐药的人乳腺癌细胞株。BT474, MDA-MB-361, SK-BR3 和 MDA-MB-453 均来源于美国菌种中心 ATCC)

名称	代次	活率%
BT474	P103	100
BT/Lap ^R 1.0	/	97.12
MDA-MB-361	F72	97.76
SK-BR3	F28	95.95
SK/Lap ^R 1.0	/	93.35
MDA-MB-453	F8	96.8

拉帕替尼(Lapatinib): 10mM in DMSO, BioVision, Cat: 1624-100, Lot: 50324;

ATPlit 试剂盒: CellTiter-Glo Substrate, Promega, Part: G755B, Lot:32513501, EXP: 2014-05.

2. 实验流程

(1) 细胞铺板

将长满贴壁细胞的 100mm 培养皿, 用 1ml0.25%胰酶 (GIBCO) 37℃ 消化 5min, 2ml 培养基 (含 10%FBS,GIBCO) 终止反应, 吹散收集细胞, 计数后稀释成 1×10^5 cells/ml, 50 μ l/孔, 5000 细胞/孔, 接种到 96 孔板中, 外围一圈去除不加细胞, 加入 PBS, 总共 60 个孔, 37℃、孵育 24 小时贴壁。

(2) 加化合物和 Lapatinib

在上述细胞板上分别设置待测样品组、合用组和对照组。

待测样品组为将待测样品用 DMSO 稀释至终浓度为 5 μ M, 对照孔为加入相应化合物溶剂浓度的培养基, 每孔化合物浓度保持一致, 每个浓度设 5 个平行孔, 每孔 25 μ L, 补上 25 μ L 培养基 (合用组加上 25 μ L Lapatinib 至终浓度 1 μ M), 37℃孵育 72h;

(3) 检测

每孔加入 50 μ L 的 ATPlite 试剂盒底物液, 震荡 3min, 避光静置 10min, 吸取裂解上清 100 μ L/孔, 置于发光板中; 将孵育好的发光板放入发光仪, 读取发光值。

数据处理

细胞存活率 (%) = 实验组 RLU/空白对照组 RLU $\times 100\%$

利用 GraphPad 软件对实验数据进行数据分析及处理。

采用药物相互作用指数 (coefficient of drug interaction, CDI) 评价两药相互作用性质, CDI 按下列公式 计算: $CDI = AB / (A \times B) \times 100\%$ 。根据活细胞数 (发光值) 进行计算, 当 $CDI < 1$ 时, 两药作用性质为协同; 当 $CDI < 0.7$ 时, 协同作用非常显著; $CDI = 1$ 则两药作用性质为相加; $CDI > 1$ 则两药作用性质为拮抗。

测试实施例化合物与 Lapatinib 两药相互作用指数 (coefficient of drug interaction, CDI) 如表 1 所示:

表 1 实施例化合物与 Lapatinib 药物相互作用指数

化合物编号	分子量	BT474	BT/Lap R _{1.0}	MDA-M B-361	SK-BR 3	SK/Lap R _{1.0}	MDA-M B-453
实施例 24	457.6	1.03	0.98	0.92	1.04	1	1.12
实施例 25	458.6	0.94	0.97	0.93	1.04	0.93	1.2
实施例 26	457.6	1.02	0.96	0.99	1.03	1.02	0.89
实施例 27	458.6	0.98	1.01	0.96	1	0.97	1.32
实施例 28	441.5	1.07	0.99	0.93	1.06	0.95	1.21
实施例 29	442.5	1.05	0.99	1	0.98	1.26	1.05
实施例 30	442.5	0.94	0.93	0.85	0.94	0.82	1.28
实施例 31	458.6	1.01	1.2	0.85	1	0.95	1.38
实施例 32	471.6	0.65	1.25	0.91	1.13	0.89	1.42
实施例 33	472.6	0.81	0.97	0.89	0.96	0.88	1.19
实施例 34	472.6	0.98	1	0.87	0.98	0.85	1.41
实施例 35	428.5	0.96	1.04	0.86	0.99	0.9	1.37
实施例 36	427.5	0.97	0.96	0.98	1.07	0.94	1.3
实施例 37	352.5	0.98	1.02	0.99	0.99	1.03	1.34
实施例 38	367.5	0.86	0.93	1	1.16	0.93	1.21
实施例 39	381.5	0.79	1.19	0.92	1.2	0.95	1.2
实施例 40	367.5	0.85	0.95	0.95	1.14	0.99	1.37
实施例 41	351.5	0.91	0.99	0.91	1.09	1.02	1.07
实施例 42	353.5	0.92	0.99	0.96	1.14	0.99	1.15
实施例 43	395.5	1.03	1	0.95	1	0.93	1.28
实施例 44	471.6	0.94	0.93	0.93	0.96	0.98	1.12
实施例 45	455.6	1.59	0.79	0.93	1.05	1.04	0.98
实施例 46	395.6	0.74	0.79	0.94	1.29	1.25	1.64
实施例 47	381.5	0.84	0.97	1.05	1.15	0.98	1.39
实施例 48	381.5	0.92	0.96	1.15	1.15	0.99	1.2
实施例 49	365.5	0.9	0.96	0.95	1.08	0.99	1.2

实施例 50	473.6	1.02	1.02	0.97	1.06	0.96	1.4
实施例 51	463.6	0.73	0.94	1.09	0.96	1.38	1.27
实施例 52	463.6	0.56	0.86	0.92	0.88	1.11	1.18
实施例 53	449.6	0.82	0.8	1.19	0.97	1.23	1.33
实施例 54	373.6	0.77	0.98	0.9	1.16	1.14	1.2
实施例 55	359.6	0.89	1.01	0.94	1.2	1.8	1.41
实施例 56	373.6	0.77	1.21	0.96	1.19	1	1.32

实施例 58 评价本发明化合物对 Hsp70 ATPase 酶活性的抑制效果

1. 材料与试剂

(1) 蛋白：人源 Hsp70、Hsp40，由大肠杆菌表达。

(2) 待检样品：26 种化合物固体，颜色状态不一。阳性药物 AZ (CAS: 1054543-47-3)、VER 155008 (CAS: 1134156-31-2) 为本室合成。

(3) ATPase 检测试剂：ATP、孔雀绿、聚乙烯醇、四水钼酸铵购自 SIGMA 公司，柠檬酸钠为国药化学生产。

(4) ATPase Assay buffer:

0.017% Triton X-100;

100 mM Tris-HCl;

20 mM KCl;

6 mM MgCl₂, pH 7.4.

(5) 实验条件：细胞实验于军事医学科学院毒物药物研究所 BSL-2 级实验室内进行。

(6) ATPase 实验涉及的溶液配方：

1) 孔雀绿染液：

① 0.081% w/v malachite green: 0.0081g 孔雀绿 (SIGMA M6880-25G) 溶于 10ml ddH₂O ; ;

② 5.7% w/v ammonium molybdate: 0.57g 四合水钼酸铵; (SIGMA, V900224-100G) 溶于 6M HCl 盐酸溶液 (5ml ddH₂O+5mL 浓盐酸); (

③ polyvinyl alcohol (2.3% w/v): 2.3g 聚乙烯醇 (SIGMA, V900501-100G) 加热溶于 10 mL ddH₂O;

④ ddH₂O;

⑤ ①、②、③、④按 2:1:1:2 比例混合后，室温放置 2 h，待颜色由深褐色变为金黄色时方可采用 0.22 μM 滤膜过滤后使用，现用现配；

2) 25 mM ATP (A2383-5G, SIGMA) : 0.069 g ATP /5 mL ddH₂O ;

3) 耗材及仪器

NC 膜 0.22 μ M, (Milipore);

Costar 96 well plate;

Molecular Device, M5;

2. 实验方法

(1) 实验步骤:

1) 13.08 μ L DnaK (0.15mg/mL, 2.14 μ M), 1.96 μ L DnaJ (1mg/mL, 25 μ M) 溶于 7.96 μ L Assay Buffer (0.017% Triton X-100, 100 mM Tris-HCl, 20 mM KCl, and 6 mM MgCl₂, pH 7.4), 加至 96 孔板中每孔;

2) 96 孔板中每孔加入 1 μ L 待检样品(5 mM) 或 DMSO (溶剂), Vortex 涡旋震荡 10 min; 37 °C, 30 min;

3) 每孔加入 1 μ L 25 mM ATP, 启动酶活反应; (反应终体积 25 μ L, 1.12 μ M DnaK, 1.96 μ M DnaJ, 4% DMSO, 0.01% Triton X-100, 1 mM ATP 及 200 μ M 待检样品), 37 °C, 3h;

4) 然后每孔加入 80 μ L 孔雀绿染液, 轻轻涡旋;

5) 随后立即加入 10 μ L of 34% 柠檬酸钠, 轻轻涡旋震荡, 终止非 ATPase 引起的 ATP 水解反应;

6) 充分混匀, 37 °C, 15 min, 测 OD₆₂₀。

(2) 数据分析

按照以下公式计算药物对 Hsp70 ATPase activity 的抑制率:

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{\text{DMSO孔OD} - \text{实验孔OD}}{\text{DMSO孔OD} - \text{Blank孔OD}} \times 100$$

1) 实验结果

初筛判定标准: 初筛中, 任何一种实施例化合物在 200 μ M 时对 Hsp70 ATPase 活性抑制率大于 20%, 即判有效抑制。

初筛过程中, AZ、VER155008 孵育 30 min 后, 阳性对照药物在 200 μ M 浓度下能有效抑制 Hsp70 ATPase 活性, 抑制率分别为 53.13%和 38.18%, 与文献报道数据一致, 证实了该实验体系成立。

首次初筛中, AZ、VER155008 分别以 200 μ M、100 μ M、50 μ M、25 μ M、12.5 μ M 与 Hsp70/Hsp40 共同孵育后, 其对 Hsp70 ATPase 酶活性抑制呈现明显的量效关系(如图 1、2), 再次证实了该实验体系的稳定性。

经 2 次重复筛选, 发现以 200 μ M 浓度处理后, 对 Hsp70 ATPase 活性抑制率大于 20%的实施例化合物如表 2 所示。

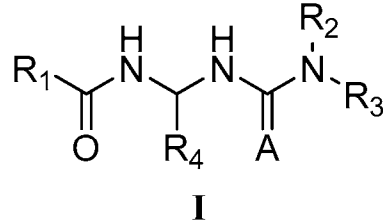
表 2 实施例化合物对 Hsp70 ATPase 活性抑制率统计

ID	抑制率 (%)	标准差 (SD)
AZ	53.04	0.89
VER155008	43.03	3.00
实施例 24	50.42	3.91
实施例 25	38.46	5.64
实施例 26	4.55	5.07
实施例 27	2.17	8.90
实施例 28	50.45	13.04
实施例 29	2.55	0.54
实施例 30	-5.66	4.35
实施例 31	10.54	0.16
实施例 32	44.12	1.96
实施例 33	47.13	1.72
实施例 34	9.36	4.91
实施例 35	-6.135	2.30
实施例 37	1.51	1.34
实施例 38	2.51	0.51
实施例 39	18.42	47.73
实施例 40	27.28	4.72
实施例 41	22.52	6.53
实施例 42	-4.2	2.36
实施例 43	7.62	4.09
实施例 44	50.51	1.01
实施例 45	19.28	2.01
实施例 46	40.95	4.99
实施例 47	61.26	14.29
实施例 48	-0.88	3.51
实施例 49	65.36	8.30
实施例 50	28.77	10.25
实施例 51	46.23	5.818
实施例 52	35.78	14.98
实施例 53	24.40	11.16
实施例 54	58.37	9.22
实施例 55	25.89	10.63
实施例 56	21.40	4.33

尽管本发明的具体实施方式已经得到详细的描述，本领域技术人员将会理解。根据已经公开的所有教导，可以对那些细节进行各种修改和替换，这些改变均在本发明的保护范围之内。本发明的全部范围由所附权利要求及其任何等同物给出。

权 利 要 求

1. 通式 I 化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物，



其中：

A 代表 S、Se；

R₁ 代表烷基、取代烷基、环烷基、取代环烷基、芳基、取代芳基、芳基烷基、取代芳基烷基、芳基烯基、取代芳基烯基、杂环基、取代杂环基、杂环基烷基、取代杂环基烷基；

R₂、R₃ 代表氢、烷基、环烷基、取代环烷基、烷氧基烷基、氨基烷基、单取代或二取代氨基烷基、芳香杂环基、取代芳香杂环基、芳基烷基、取代芳基烷基、杂环基烷基、取代杂环基烷基、芳香杂环基烷基、取代芳香杂环基烷基、芳基、取代芳基、杂环基、取代杂环基，其中 R₂ 和 R₃ 可以合环；

R₄ 代表氢、卤代烷基、脂肪族基团，其中所述脂肪族基团选自烷基、环烷基、烯基、链烯基烷基、烷氧基烷基、烷氧基羰基、炔基。

2. 权利要求 1 所述的通式 I 化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物，其中

R₁ 选自 3-10 个碳原子的环烷基；芳基烯基或取代芳基烯基，所述烯基包含一个或两个以上的碳碳双键，并且所述烯基与芳基成共轭体系；其中所述环烷基、芳基可任选地被一个或多个以下基团取代：C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、氰基、卤素、羟基、氨基、硝基、单 C1-6 烷基氨基、二 C1-6 烷基氨基、C2-6 烯基、C2-6 炔基、C1-6 卤代烷基或 C1-6 卤代烷氧基；

R₂、R₃ 选自氢、C1-10 烷基，优选 C1-6 烷基；C1-6 烷氧基 C1-6 烷基；C1-6 氨基烷基、C1-6 单取代或二取代氨基烷基；3-10 个碳原子的环烷基；芳基或取代芳基；芳香杂环基或取代芳香杂环基；芳基烷基或取代芳基烷基；其中，R₂、R₃ 可以合环成选自 C、N、O 或 S 的 3-8 元环；所述芳基选自苯基、萘基、1,2,3,4-四氢萘基和茚基；所述芳香杂环基包含被至少一个独立选自 N、O 或 S 的杂原子取代的单环或双环的 5-10 元芳香环

系；R2、R3可任选地被一个或多个以下基团所取代：C1-6烷基、C1-6烷氧基、氰基、卤素、羟基、氨基、硝基、单C1-6烷基氨基、二C1-6烷基氨基、C2-6烯基、C2-6炔基、C1-6卤代烷基或C1-6卤代烷氧基；

R4选自三卤甲基、C1-10烷基和C3-8环烷基。

3. 权利要求1或2所述的通式I化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物，其中

A代表Se，S；

R1代表环烷基、苯乙烯基、取代苯乙烯基；

R2、R3代表氢、甲基、丙基、丁基、异丁基、2-甲氧基乙基、3-异丙氧基丙基、2-N,N-二甲基乙基、环己基、环庚基、苯基、2-甲氧基苯基、4-甲氧基苯基、4-氟苯基、2-氯苯基、4-氯苯基、2-溴苯基、3-溴苯基、4-溴苯基、2-甲基苯基、2,3-二甲基苯基、苄基、2-氯苄基、3-硝基苯基、2,4-二氟苯基、3-氯-2-甲基苯基、2,3-二氯苯基、4-羟基苯基，2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基，其中R2和R3可以合环成哌啶环、吗啉环、N-甲基哌嗪环；

R4代表CF₃、CCl₃、CBr₃、CI₃、环丙基、丙基、异丙基、新戊基、特戊基、叔丁基、异丁基、3,3-二甲基丁基。

4. 权利要求1-3任一项所述的通式I化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物，其中A代表Se，S；

R1环丙基、苯乙烯基、3,4,5-甲氧基苯乙烯基；

R2、R3代表氢、甲基、丙基、丁基、异丁基、2-甲氧基乙基、3-异丙氧基丙基、2-N,N-二甲基乙基、环己基、环庚基、苯基、2-甲基苯基、2-甲氧基苯基、4-甲氧基苯基、4-氟苯基、2-氯苯基、4-氯苯基、2-溴苯基、3-溴苯基、4-溴苯基、2,3-二甲基苯基、苄基、2-氯苄基、3-硝基苯基、2,4-二氟苯基、3-氯-2-甲基苯基、2,3-二氯苯基、4-羟基苯基，2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基，其中R2和R3可以合环成哌啶环、吗啉环、N-甲基哌嗪环；

R4代表CF₃、CCl₃、CBr₃、CI₃、环丙基、丙基、异丙基、新戊基、特戊基、叔丁基、异丁基、3,3-二甲基丁基；

5. 权利要求1所述的通式I化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物，

选自以下化合物:

- (1) (2E) -N- {2,2,2-三氯-1-[3-(4-氯苯基) 哌啶]-乙基} -肉桂酰胺;
- (2) (2E) -N- {2,2,2-三氯-1-[3-(2-甲氧基苯基) 哌啶]-乙基} 肉桂酰胺;
- (3) (2E) -N- {2,2,2-三氯-1-[3-(2-甲氧基苯基) 哌啶]-乙基} -环丙基甲酰胺;
- (4) (2E) -N- {2,2,2-三氯-1-[(吗啉-4-酰基) 氨基]-乙基} 肉桂酰胺;
- (5) (2E) -N- {2,2,2-三氯-1-[3-(3-硝基苯基) 哌啶]-乙基} 肉桂酰胺;
- (6) (2E) -N- {2,2,2-三氯-1-[3-(2,4-二氟苯基) 哌啶]-乙基} 肉桂酰胺;
- (7) (2E) -N- {2,2,2-三氯-1-[(哌啶-1-酰基) 氨基]-乙基} 肉桂酰胺;
- (8) (2E) -N- {2,2,2-三氯-1-[3-(4-氯苯基) 哌啶]-乙基} 肉桂酰胺;
- (9) (2E) -N-[2,2,2-三氯-1-(3-正丁基哌啶)-乙基] 肉桂酰胺;
- (10) (2E) -N-[2,2,2-三氯-1-(3-苄基哌啶)-乙基] 肉桂酰胺;
- (11) (2E) -N-[2,2,2-三氯-1-(3-正丙基哌啶)-乙基] 肉桂酰胺;
- (12) (2E) -N- {2,2,2-三氯-1-[3-(3-氯-2-甲基苯基) 哌啶]-乙基} 肉桂酰胺;
- (13) (2E) -N- {2,2,2-三氯-1-[3-(2,4-二氯苯基) 哌啶]-乙基} 肉桂酰胺;
- (14) (2E) -N- {2,2,2-三氯-1-[3-(4-甲氧基苯基) 哌啶]-乙基} 肉桂酰胺;
- (15) (2E) -N- {2,2,2-三氯-1-[3-(2-溴苯基) 哌啶]-乙基} 肉桂酰胺;
- (16) (2E) -N- {2,2,2-三氯-1-[3-(2,3-二甲基苯基) 哌啶]-乙基} 肉桂酰胺;
- (17) (2E) -N-[2,2,2-三氯-1-(3-苯基哌啶)-乙基] 肉桂酰胺;
- (18) (2E) -N- {2,2,2-三氯-1-[3-(2-氯苯基) 哌啶]-乙基} 肉桂酰胺;
- (19) (2E) -N- {2,2,2-三氯-1-[3-(3-溴苯基) 哌啶]-乙基} 肉桂酰胺;

(20) (2E) -N- { 2,2,2-三氯-1-[3- (2-氯苄基) 硫脲]-乙基 } 肉桂酰胺;

(21) (2E) -N-[2,2,2-三氯-1-(3-异丁基硫脲)-乙基]肉桂酰胺;

(22) (2E) -N- { 2,2,2-三氯-1-[3- (4-羟基苯基) 硫脲]-乙基 } 肉桂酰胺;

(23) (2E) -N- { 2,2,2-三氯-1-[3- (4-溴苯基) 硫脲]-乙基 } 肉桂酰胺;

(24) (2E) -N-[3-甲基-1- (3-苯基硫脲基) 丁基]-3- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺; (25) (2E) -N-[3-甲基-1- (3-吡啶-3-基硫脲基) 丁基]-3- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺;

(26) (2E) -N-[2,2-二甲基-1- (3-苯基硫脲基) 丙基]-3- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺;

(27) (2E) -N-[2,2-二甲基-1- (3-吡啶-3-基硫脲基) 丙基]-3- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺;

(28) (2E) -N-[环丙基- (3-苯基硫脲基) -甲基]-3- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺;

(29) (2E) -N-[环丙基- (3-吡啶-3-基硫脲基) -甲基]-3- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺;

(30) (2E) -N-[环丙基- (3-吡啶-2-基硫脲基) -甲基]-3- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺;

(31) (2E) -N-[3-甲基-1- (3-吡啶-2-基硫脲基) 丁基]-3- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺;

(32) (2E) -N-[3,3-二甲基-1- (3-苯基硫脲基) 丁基]-3- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺;

(33) (2E) -N-[3,3-二甲基-1- (3-吡啶-3-基硫脲基) 丁基]-3- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺;

(34) (2E) -N-[3,3-二甲基-1- (3-吡啶-2-基硫脲基) 丁基]-3- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺;

(35) (2E) -N-[2-甲基-1- (3-吡啶-2-基硫脲基) 丙基]-3- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺;

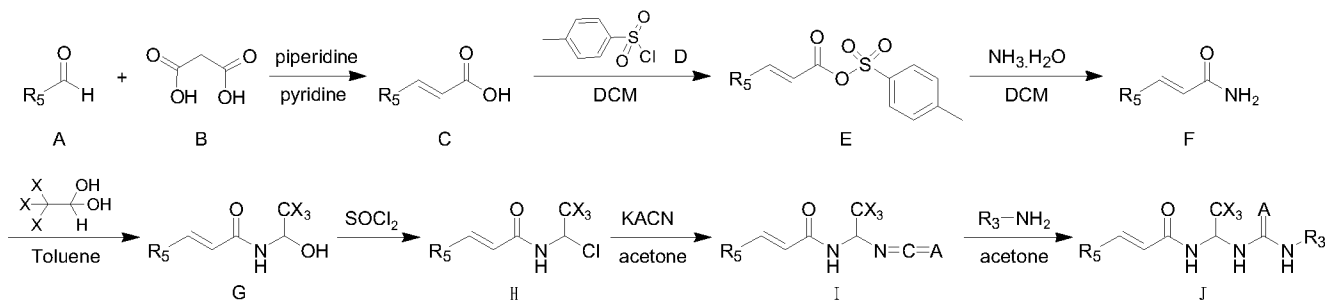
(36) (2E) -N-[2-甲基-1- (3-苯基硫脲基) 丙基]-3- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丙烯酰胺;

(37) (2E) -N-[环丙基- (3-吡啶-2-基硫脲基) -甲基]肉桂酰胺;

- (38) (2E) -N-[3-甲基-1-(3-苯硫脲基)丁基]肉桂酰胺;
- (39) (2E) -N-[3,3-二甲基-1-(3-苯硫脲基)丁基]肉桂酰胺;
- (40) (2E) -N-[2,2-二甲基-1-(3-苯硫脲基)丙基]肉桂酰胺;
- (41) (2E) -N-[环丙基-(3-苯硫脲基)-甲基]肉桂酰胺;
- (42) (2E) -N-[2-甲基-1-(3-苯硫脲基)丙基]肉桂酰胺;
- (43) (2E) -N-[3-甲基-1-(3-甲硫脲基)丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (44) (2E) -N-[2,2-二甲基-1-(3-邻-甲苯硫脲基)丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (45) (2E) -N-[环丙基-(3-邻-甲苯硫脲基)-甲基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (46) N-[3,3-二甲基-1-(3-邻-甲苯硫脲基)丁基]肉桂酰胺;
- (47) N-[3-甲基-1-(3-邻-甲苯硫脲基)丁基]肉桂酰胺;
- (48) N-[2,2-二甲基-1-(3-邻-甲苯硫脲基)丙基]肉桂酰胺;
- (49) N-[环丙基-(3-邻-甲苯硫脲基)-甲基]肉桂酰胺;
- (50) (2E) -N-{1-[3-(4-甲氧基苯基)硫脲基]-2-甲基丙基}-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (51) (2E) -N-[1-(3-环己基硫脲基)-3-甲基丁基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (52) (2E) -N-[1-(3-环己基硫脲基)-2,2-二甲基丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (53) (2E) -N-[1-(3-环己基硫脲基)-2-甲基丙基]-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙烯酰胺;
- (54) N-[1-(3-环己基硫脲基)-3-甲基丁基]肉桂酰胺;
- (55) N-[1-(3-环己基硫脲基)-2-甲基丙基]肉桂酰胺;
- (56) N-[1-(3-环己基硫脲基)-2,2-二甲基丙基]肉桂酰胺;

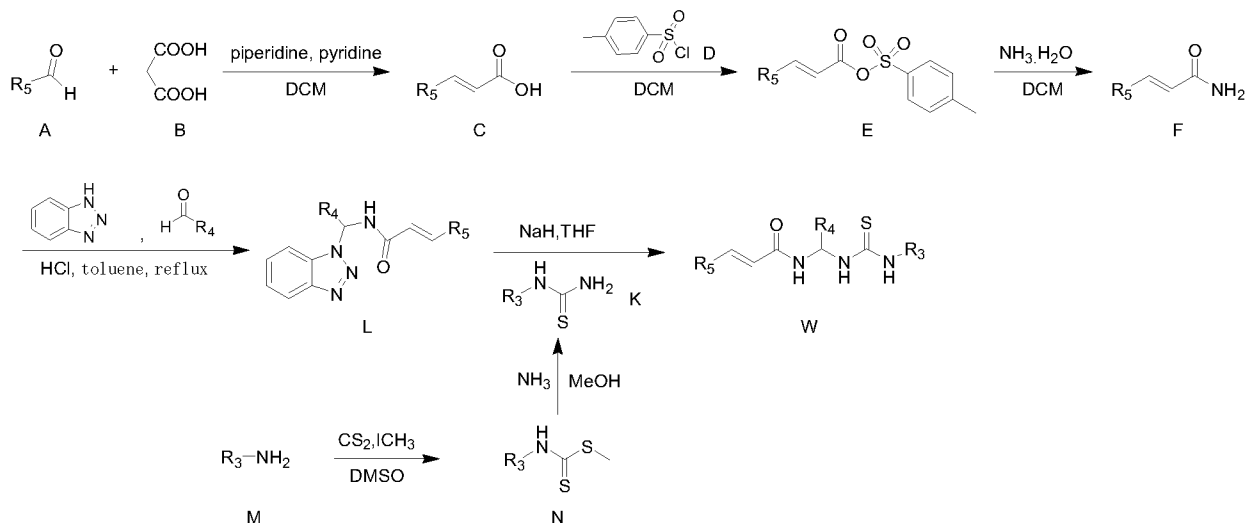
6. 权利要求 1 所述的通式 I 化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物的制备方法, 其中, R₄ 为卤代烷基时, 其包括如下反应路线, 即首先用相应的醛与丙二酸在吡啶溶液中 80℃下反应制得化合物 C, C 与酰氯, 如对甲苯磺酰氯在 DCM 中常温或加热下生成活性酯 E, E 再与氨水在回流下制得化合物 F; 或 C 在无水二氯甲烷中, 以 DMF 催化剂, 冰水浴下与草酰氯反应完后, 再滴入 0℃的浓氨水制得 F, F 与三卤甲基取代的醛的水合物,

如三卤乙醛在甲苯为溶剂回流反应制得中间体 G, G 再经过氯化亚砷以无水 THF 为溶剂, DMF 为催化剂室温下滴入 SOCl₂ 加热至 60℃ 反应制备氯代物 H, 然后与 KACN, 其中 A 定义与权利要求 1 中相同, 在无水丙酮 40℃ 反应生成相应的异氰酸酯 I, I 与相应的取代氨在无水丙酮或是无水 THF 60℃ 反应制得本发明化合物 J, 反应的产物可以采用本领域中的标准技术来分离和纯化, 例如萃取、色谱法、结晶和蒸馏,



其中, $R_1 = R_5 - \text{CH}=\text{CH}-$, R_1 定义与权利要求 1 中相同。

7. 权利要求 1 所述的通式 I 化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物的制备方法, 其中, R_4 为氢或脂肪族基团时, 其包括如下反应路线, 即首先用相应的醛与丙二酸在吡啶溶液中 80℃ 下反应制得化合物 C, C 与酰氯, 如对甲苯磺酰氯在 DCM 中常温或加热下生成活性酯 E, E 再与氨水在回流下制得化合物 F, 或 C 在无水的二氯甲烷中, 以 DMF 为催化剂, 冰水浴下与草酰氯反应完后再, 滴入 0℃ 的浓氨水制得 F, F 在甲苯中与苯并三氮唑及相应的脂肪醛回流下发生 mannich 反应制得中间体 L, 中间体 L 与中间体 K 以 NaH 为催化剂, 无水 THF 为溶剂室温下进行取代反应制得本发明化合物 W, 中间体 K 由相应的氨与 CS₂, ICH₃ 在 DMSO 或 DMF 中加入碱 KOH, NaOH, 或是 NaH 条件下加热反应生成中间体 N, 再在甲醇或是乙醇回流条件下加入氨水氨解制得, 反应的产物可以采用本领域中的标准技术来分离和纯化, 例如萃取、色谱法、结晶和蒸馏,



其中，当 R_1 不为环烷基时， $R_1 = R_5$ ；当 R_1 为环烷基时，起原料直接为上述路线中的环烷基甲酰胺 F； R_1 定义与权利要求 1 中相同。

8. 药物组合物，其包含权利要求 1-5 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体、可药用盐或溶剂化物，以及药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂。

9. 权利要求 1-5 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物用于制备预防和/或治疗耐药性肿瘤或与耐药性细菌引起的疾病或病症的药物中的用途。

10. 权利要求 1-5 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物用于制备预防和/或治疗肿瘤、神经退行性疾病、异源移植的排斥反应、与感染有关的疾病或症状的药物中的用途；优选地，所述肿瘤、神经退行性疾病、异源移植的排斥反应、与感染有关的疾病或症状为热休克蛋白 70 (Hsp70) 引起的疾病或症状。

11. 权利要求 9 或 10 所述的用途，其中所述肿瘤选自乳腺癌、前列腺癌、肝癌、食道癌、胃癌、皮肤癌。

12. 权利要求 10 所述的用途，其中所述神经退行性疾病选自阿尔兹海默症、肌肉萎缩性侧索硬化症、共济失调毛细血管扩张症、克雅二氏病、亨廷顿氏病、小脑萎缩症、多发性硬化症、帕金森氏病、原发性侧索硬化、脊髓性肌萎缩症。

13. 一种预防和/或治疗耐药性肿瘤或有耐药性细菌引起的疾病或病症的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予预防和/或治疗有效量的权利要求 1-5 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物。

14. 一种预防和/或治疗肿瘤、神经退行性疾病、异源移植的排斥反应、与感染有关的疾病或症状的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予预防和/或治疗有效量的权利要求 1-5 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，优选地，所述肿瘤、神经退行性疾病、异源移植的排斥反应、与感染有关的疾病或症状与为热休克蛋白 70 (Hsp70) 引起的疾病或症状。

15. 权利要求 13 或 14 所述的方法，其中所述肿瘤选自乳腺癌、前列腺癌、肝癌、食道癌、胃癌、皮肤癌。

16. 权利要求 14 所述的方法，其中所述神经退行性疾病选自阿尔兹海默症、肌肉萎缩性侧索硬化症、共济失调毛细血管扩张症、克雅二氏病、亨廷顿氏病、小脑萎缩症、多发性硬化症、帕金森氏病、原发性侧索硬化、脊髓性肌萎缩症。

17. 权利要求 1-5 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，其用于预防和/或治疗耐药性肿瘤或由耐药性细菌引起的疾病。

18. 权利要求 1-5 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，其用于预防和/或治疗肿瘤、神经退行性疾病、异源移植的排斥反应、与感染有关的疾病或症状，优选地，所述肿瘤、神经退行性疾病、异源移植的排斥反应、与感染有关的疾病或症状与为热休克蛋白 70 (Hsp70) 引起的疾病或症状。

19. 权利要求 17 或 18 所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，其中所述肿瘤选自乳腺癌、前列腺癌、肝癌、食道癌、胃癌、皮肤癌。

20. 权利要求 18 所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物，其中所述神经退行性疾病选自阿尔兹海默症、肌肉萎缩性侧索硬化症、共济失调毛细血管扩张症、克雅二氏病、亨廷顿氏病、小脑萎缩症、多发性硬化症、帕金森氏病、原发性侧索硬化、脊髓性肌萎缩症。

21. 用于抵抗/逆转细胞中细菌耐药或肿瘤细胞耐药的方法，其包括给所述细胞施用有效量的权利要求 1-5 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物。

22. 用于抑制细胞中热休克蛋白 70 (Hsp70) 表达的方法，其包括给所述细胞施用有效量的权利要求 1-5 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物。

23. 权利要求 21 或 22 所述的方法，其中所述细胞为细胞系，或者来自受试者的细胞。

24. 权利要求 21-23 任一项所述的方法，其中所述肿瘤细胞选自乳腺癌细胞、前列腺癌细胞、肝癌细胞、食道癌细胞、胃癌细胞、皮肤癌细胞。

25. 权利要求 21 或 22 所述的方法，其中所述方法在体外进行。

26. 权利要求 21 或 22 所述的方法，其中所述方法在体内进行。

27. 权利要求 1-5 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物用于制备试剂的用途，所述试剂用于抵抗/逆转细胞中细菌耐药或肿瘤细胞耐药。

28. 权利要求 1-5 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体，可药用盐或溶剂化物用于制备试剂的用途，所述试剂用于抑制细胞中热休克蛋白 70 (Hsp70) 活性。

29. 权利要求 27 或 28 所述的用途，其中所述细胞为细胞系，或者来自受试者的细胞。

30. 权利要求 27-29 任一项所述的用途,其中所述肿瘤细胞选自乳腺癌细胞、前列腺癌细胞、肝癌细胞、食道癌细胞、胃癌细胞、皮肤癌细胞。

31. 权利要求 27 或 28 任一项所述的用途,其中所述试剂用于体外方法中。

32. 权利要求 27 或 28 任一项所述的用途,其中所述试剂用于体内方法中。

33. 权利要求 1-5 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体,可药用盐或溶剂化物,其用于抵抗/逆转细胞中细菌耐药或肿瘤细胞耐药。

34. 权利要求 1-5 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体,可药用盐或溶剂化物,其用于抑制细胞中热休克蛋白 70 (Hsp70) 活性。

35. 权利要求 33 或 34 所述的通式 I 化合物、其异构体,可药用盐或溶剂化物,其中所述细胞为细胞系,或者来自受试者的细胞。

36. 权利要求 33-35 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体,可药用盐或溶剂化物,其中所述肿瘤细胞选自乳腺癌细胞、前列腺癌细胞、肝癌细胞、食道癌细胞、胃癌细胞、皮肤癌细胞。

37. 权利要求 33 或 34 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体,可药用盐或溶剂化物,其用于体外方法中。

38. 权利要求 33 或 34 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体,可药用盐或溶剂化物,其用于体内方法中。

39. 一种抵抗/逆转细胞中细菌耐药或肿瘤细胞耐药的试剂盒,所述试剂盒包括权利要求 1-5 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体,可药用盐或溶剂化物,且,任选地还包括使用说明。

40. 一种抑制细胞中热休克蛋白 70 (Hsp70) 活性的试剂盒, 所述试剂盒包括权利要求 1-5 任一项所述的通式 I 化合物、其异构体, 可药用盐或溶剂化物, 且, 任选地还包括使用说明。

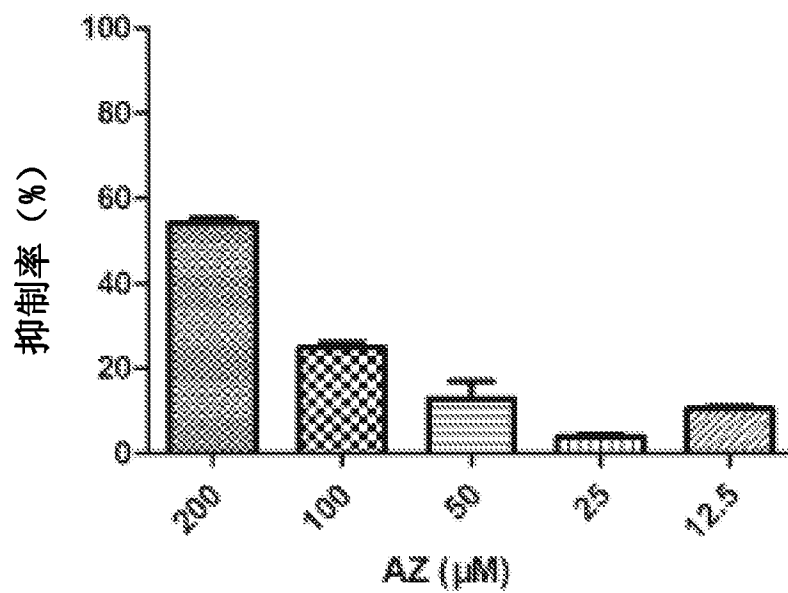


图 1

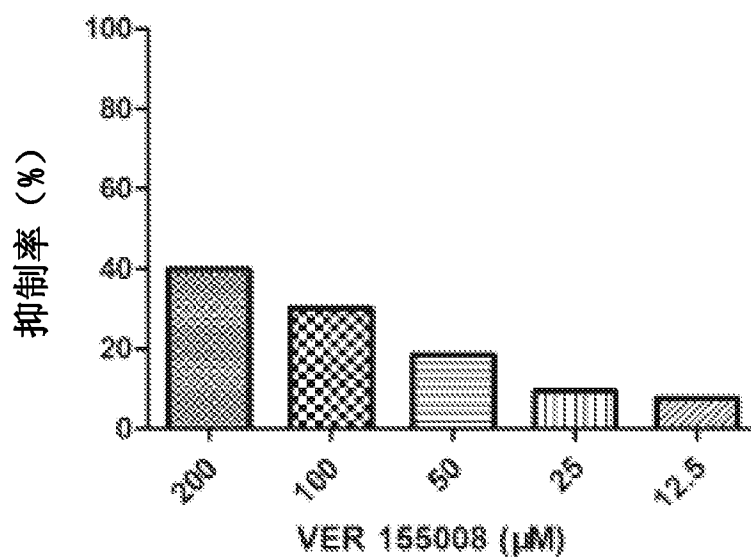


图 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2014/094162

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 13-16 and 21-26
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
[1] Claims 13-16 and 21-26 relate to a method for preventing and/or treating diseases, which is a method for treating a human body or animal body (PCT Rule 39.1 (iv)), and falls within the subject matter for which a search is not required.

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2014/094162

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07C 391/00 (2006.01) i; C07D 295/16 (2006.01) i; C07C 335/16 (2006.01) i; C07D 213/75 (2006.01) i; C07C 335/08 (2006.01) i; C07C 335/18 (2006.01) i; C07C 335/14 (2006.01) i; A61K 31/165 (2006.01) i; A61K 31/5375 (2006.01) i; A61K 31/4453 (2006.01) i; A61K 31/17 (2006.01) i; A61K 31/4406 (2006.01) i; A61K 31/4402 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i; A61P 25/28 (2006.01) i; A61P 37/06 (2006.01) i; A61P 31/04 (2006.01) i
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07C 391/-; C07D 295/-; C07C 335/-; C07D 213/-; A61K 31/-; A61P 35/-; A61P 25/-; A61P 37/-; A61P 31/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, STN(REG, CAPLUS, CASREACT): Hsp70, infect, urea, carbamide, heat w shock w protein, HSP, cancer, tumour, tumor, nerv+, inflec+, inflam+

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 102241673 A (THE GENERAL HOSPITAL OF CHINESE PEOPLE'S LIBERATION ARMY), 16 November 2011 (16.11.2011), claims 1-9, and embodiments 1-17	1-12, 17-20, 27-40
X	CN 102241628 A (THE GENERAL HOSPITAL OF CHINESE PEOPLE'S LIBERATION ARMY), 16 November 2011 (16.11.2011), claims 1-2	1-2, 8, 17-20, 33-38
X	CN 102028689 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY), 27 April 2011 (27.04.2011), claims 1-4	1-2, 8, 33-38
X	CN 101489542 A (CENIX BIOSCIENCE GMBH, INSTITUTO DE MEDICINA MOLECULAR, FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE LISBOA), 22 July 2009 (22.07.2009), description, table 1	1-4, 17-20, 33-38
X	WO 2007015632 A1 (CGK CO., LTD. et al.), 08 February 2007 (08.02.2007), description, table 1, and claims 1-30	1-11, 17-20, 27-40

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 12 March 2015 (12.03.2015)	Date of mailing of the international search report 24 March 2015 (24.03.2015)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer MA, Liangxiao Telephone No.: (86-10) 62086312

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2014/094162**C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2005033288 A2 (UNIV JOHNS HOPKINS et al.), 14 April 2005 (14.04.2005), description, compounds 45 and 54, and claims 33-56	1-2, 8-11, 17-20, 27, 29-40
X	WO 0222581 A1 (GLIATECH INC. et al.), 21 March 2002 (21.03.2002), description, table 1, and claims 1-8	1-2, 8, 17-20, 33-38
X	WO 2004032716 A2 (MASSACHUSETTS INST TECHNOLOGY et al.), 22 April 2004 (22.04.2004), description, table 1	1-4, 17-20, 33-38
X	WO 2006110724 A3 (UNIV YALE et al.), 22 March 2007 (22.03.2007), description, compound 9	1-2, 17-20, 33-38
X	WO 2008066576 A3 (GEN HOSPITAL CORP. et al.), 20 November 2008 (20.11.2008), description, pages 5-6 and 18	1-2, 17-20, 33-38

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2014/094162

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102241673 A	16 November 2011	None	
CN 102241628 A	16 November 2011	None	
CN 102028689 A	27 April 2011	CN 102028689 B	23 May 2012
		WO 2012075754 A1	14 June 2012
CN 101489542 A	22 July 2009	EP 1832283 A1	12 September 2007
		CN 101489542 B	26 June 2013
WO 2007015632 A1	08 February 2007	None	
WO 2005033288 A2	14 April 2005	US 2007232661 A1	04 October 2007
		WO 2005033288 A3	13 October 2005
		US 8067608 B2	29 November 2011
WO 0222581 A1	21 March 2002	JP 2004518628 A	24 June 2004
		AU 9078601 A	26 March 2002
		US 6946474 B2	20 September 2005
		US 2002082283 A1	27 June 2002
		EP 1324986 A1	09 July 2003
		CA 2422044 A1	21 March 2002
		US 2004034069 A1	19 February 2004
WO 2004032716 A2	22 April 2004	WO 2004032716 A9	19 August 2004
		JP 2006515274 A	25 May 2006
		AU 2003288925 A1	04 May 2004
		EP 1562605 A4	12 July 2006
		EP 1562605 A2	17 August 2005
		US 2004171073 A1	02 September 2004
		WO 2004032716 A3	30 September 2004
		CA 2501685 A1	22 April 2004
WO 2006110724 A3	22 March 2007	JP 5266042 B2	21 August 2013
		WO 2006110724 A2	19 October 2006
		US 8492418 B2	23 July 2013
		EP 1871165 A2	02 January 2008
		EP 1871165 A4	21 October 2009
		AU 2006235400 A1	19 October 2006
		IL 186018 D0	20 January 2008
		US 2009215842 A1	27 August 2009
		CA 2602626 A1	19 October 2006
		JP 2008535864 A	04 September 2008
WO 2008066576 A3	20 November 2008	US 2010216852 A1	26 August 2010
		WO 2008066576 A2	05 June 2008

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2014/094162

A. 主题的分类

C07C 391/00(2006.01)i; C07D 295/16(2006.01)i; C07C 335/16(2006.01)i; C07D 213/75(2006.01)i;
C07C 335/08(2006.01)i; C07C 335/18(2006.01)i; C07C 335/14(2006.01)i; A61K 31/165(2006.01)i;
A61K 31/5375(2006.01)i; A61K 31/4453(2006.01)i; A61K 31/17(2006.01)i; A61K 31/4406(2006.01)i;
A61K 31/4402(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 25/28(2006.01)i; A61P 37/06(2006.01)i; A61P
31/04(2006.01)

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07C391/-; C07D295/-; C07C335/-; C07D213/-; A61K31/-; A61P35/-; A61P25/-; A61P37/-; A61P31/-

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, STN(REG, CAPLUS, CASREACT): 脘, Hsp70, 热休克蛋白, 癌, 神经, 感染, 炎症, 肿瘤,
urea, carbamide, heat w shock w protein, HSP, cancer, tumour, tumor, nerv+, inflec+, inflam+

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 102241673 A (中国人民解放军总医院) 2011年 11月 16日 (2011 - 11 - 16) 权利要求1-9, 实施例1-17	1-12、17-20、27-40
X	CN 102241628 A (中国人民解放军总医院) 2011年 11月 16日 (2011 - 11 - 16) 权利要求1-2	1-2、8、17-20、33-38
X	CN 102028689 A (中国药科大学) 2011年 4月 27日 (2011 - 04 - 27) 权利要求1-4	1-2、8、33-38
X	CN 101489542 A (塞尼科斯生物科学股份有限公司 里斯本大学医学院分子医学研究 所) 2009年 7月 22日 (2009 - 07 - 22) 说明书表1	1-4、17-20、33-38
X	WO 2007015632 A1 (CGK CO LTD等) 2007年 2月 8日 (2007 - 02 - 08) 说明书表1、权利要求1-30	1-11、17-20、27-40

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2015年 3月 12日

国际检索报告邮寄日期

2015年 3月 24日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
北京市海淀区蓟门桥西土城路6号
100088 中国

传真号 (86-10)62019451

受权官员

马良晓

电话号码 (86-10)62086312

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	WO 2005033288 A2 (UNIV JOHNS HOPKINS等) 2005年 4月 14日 (2005 - 04 - 14) 说明书化合物45、54, 权利要求33-56	1-2、8-11、17-20、27、29-40
X	WO 0222581 A1 (GLIATECH INC等) 2002年 3月 21日 (2002 - 03 - 21) 说明书表1、权利要求1-8	1-2、8、17-20、33-38
X	WO 2004032716 A2 (MASSACHUSETTS INST TECHNOLOGY等) 2004年 4月 22日 (2004 - 04 - 22) 说明书表1	1-4、17-20、33-38
X	WO 2006110724 A3 (UNIV YALE等) 2007年 3月 22日 (2007 - 03 - 22) 说明书化合物9	1-2、17-20、33-38
X	WO 2008066576 A3 (GEN HOSPITAL CORP等) 2008年 11月 20日 (2008 - 11 - 20) 说明书第5-6、18页	1-2、17-20、33-38

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. ☒ 权利要求： 13-16、21-26
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 权利要求13-16、21-26涉及预防和/或治疗疾病的方法，是对人体或动物体进行处置的方法(PCT细则39.1(iv))，属于不被检索的主题。
2. ☐ 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3. ☐ 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2014/094162

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	102241673	A	2011年 11月 16日	无			
CN	102241628	A	2011年 11月 16日	无			
CN	102028689	A	2011年 4月 27日	CN	102028689	B	2012年 5月 23日
				WO	2012075754	A1	2012年 6月 14日
CN	101489542	A	2009年 7月 22日	EP	1832283	A1	2007年 9月 12日
				CN	101489542	B	2013年 6月 26日
WO	2007015632	A1	2007年 2月 8日	无			
WO	2005033288	A2	2005年 4月 14日	US	2007232661	A1	2007年 10月 4日
				WO	2005033288	A3	2005年 10月 13日
				US	8067608	B2	2011年 11月 29日
WO	0222581	A1	2002年 3月 21日	JP	2004518628	A	2004年 6月 24日
				AU	9078601	A	2002年 3月 26日
				US	6946474	B2	2005年 9月 20日
				US	2002082283	A1	2002年 6月 27日
				EP	1324986	A1	2003年 7月 9日
				CA	2422044	A1	2002年 3月 21日
				US	2004034069	A1	2004年 2月 19日
WO	2004032716	A2	2004年 4月 22日	WO	2004032716	A9	2004年 8月 19日
				JP	2006515274	A	2006年 5月 25日
				AU	2003288925	A1	2004年 5月 4日
				EP	1562605	A4	2006年 7月 12日
				EP	1562605	A2	2005年 8月 17日
				US	2004171073	A1	2004年 9月 2日
				WO	2004032716	A3	2004年 9月 30日
				CA	2501685	A1	2004年 4月 22日
WO	2006110724	A3	2007年 3月 22日	JP	5266042	B2	2013年 8月 21日
				WO	2006110724	A2	2006年 10月 19日
				US	8492418	B2	2013年 7月 23日
				EP	1871165	A2	2008年 1月 2日
				EP	1871165	A4	2009年 10月 21日
				AU	2006235400	A1	2006年 10月 19日
				IL	186018	D0	2008年 1月 20日
				US	2009215842	A1	2009年 8月 27日
				CA	2602626	A1	2006年 10月 19日
				JP	2008535864	A	2008年 9月 4日
WO	2008066576	A3	2008年 11月 20日	US	2010216852	A1	2010年 8月 26日
				WO	2008066576	A2	2008年 6月 5日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)