

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020 年 11 月 19 日 (19.11.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/228513 A1

(51) 国际专利分类号:

C07D 311/30 (2006.01) A61K 31/496 (2006.01)
C07D 405/12 (2006.01) A61K 31/541 (2006.01)
C07D 407/12 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07D 417/12 (2006.01) A61P 35/02 (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01) A61P 31/18 (2006.01)
C07D 405/04 (2006.01) A61P 31/16 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01) A61P 31/20 (2006.01)
A61K 31/551 (2006.01) A61P 31/14 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2020/086917

(22) 国际申请日: 2020 年 4 月 26 日 (26.04.2020)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201910392404.2 2019 年 5 月 13 日 (13.05.2019) CN

(71) 申请人: 中国药科大学 (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。

(72) 发明人: 卞金磊 (BIAN, Jinlei); 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。李志裕 (LI, Zhiyu); 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。赵腾腾 (ZHAO, Tengting); 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。王举波 (WANG, Jubo); 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。吴体智 (WU, Tizhi); 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。田于成 (TIAN, Yucheng); 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。

(74) 代理人: 南京苏高专利商标事务所 (普通合伙) (NANJING SUGAO PATENT AND TRADEMARK FIRM (ORDINARY PARTNERSHIP)); 中国江苏省南京市白下区中山东路 198 号龙台国际大厦 1912 室, Jiangsu 210005 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,

(54) Title: NOVEL CDK9 INHIBITOR BASED ON BENZOPYRAN STRUCTURE, PREPARATION METHOD THEREFOR AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 基于苯并吡喃结构的新型 CDK9 抑制剂、其制备方法及应用

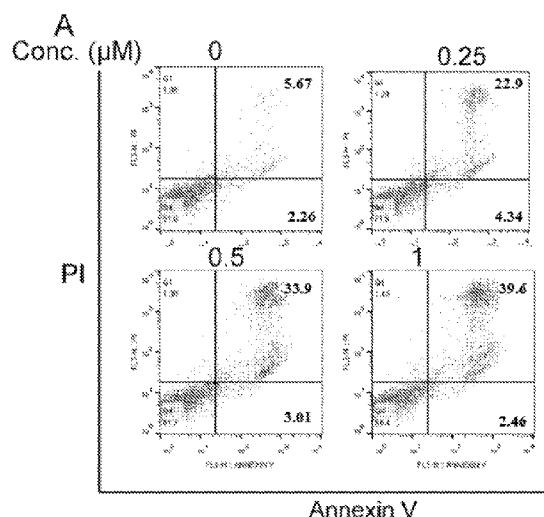


图 1

(57) Abstract: The present invention relates to the field of biomedicine, and specifically comprises a series of derivatives of a novel CDK9 inhibitor having a benzopyran structure and use thereof. In view of the disadvantages of low anti-tumor activity and poor druggability of wogonin, the present invention modifies the mother nucleus thereof to synthesize a series of compounds, especially introduces N-containing cyclic substituents at the 3- or 4-position. These compounds are all novel, and have not been reported in the literature. At the same time, the inventors carried out a series of biological activity evaluation on the synthesized compounds. In particular, most of the compounds of the present invention have good selectivity for CDK9, and have better inhibitory activity against cancer cells.

(57) 摘要: 本发明涉及到生物医药领域, 具体包括苯并呋喃结构的新型 CDK9 抑制剂一系列衍生物和其用途; 本发明针对汉黄芩素抗肿瘤活性低, 成药性差的缺点, 对其母核进行改造合成了一系列化合物, 特别是针对 3' 或 4' 位引入含 N 环状取代基, 该类化合物是全新化合物, 未见文献报道, 同时发明人针对合成的化合物进行了一系列生物活性评价, 具体来说本发明大部分化合物对 CDK9 具有良好的选择性, 并对癌细胞具有较好的抑制活性。

GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(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, 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)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。

基于苯并吡喃结构的新型CDK9抑制剂、其制备方法及应用

技术领域

本发明涉及到生物医药领域，具体包括苯并呋喃结构的新型 CDK9 抑制剂一系列衍生物和其用途，具有涉及到作为 CDK9 抑制剂的化合物、上述化合物在药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或前药，及上述化合物的药物组合物的用途。

技术背景

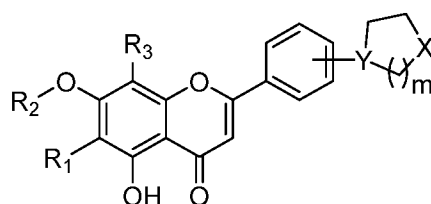
细胞周期蛋白依赖性激酶（Cyclin-dependent kinases, CDKs）是丝氨酸/苏氨酸激酶家族的一员，与调节亚基细胞周期蛋白形成异二聚体来发挥其催化功能。CDKs 家族成员根据其功能的差异可以分为周期性 CDKs 和转录性 CDKs，前者主要包括 CDK1/2/4/6，控制细胞的周期进程；后者主要包括 CDK7/8/9，调节 mRNA 的转录和加工（Malumbres M. *et al. Genome Biol.*, **2014**, 15: 122）。转录性 CDKs 的过表达或者功能增强会造成其下游特定基因的表达明显增加，特别是抗凋亡蛋白 Mcl-1，从而引起肿瘤的发生（Morales F. *et al. Cell Cycle*, **2016**, 15: 519-27）。近年来发现非选择性的 CDK 抑制剂可以通过抑制 CDK9 的功能来达到抗肿瘤效应，因此对 CDK 抑制剂的研究也得到了人们的关注（Krystof V. *et al. Target, Curr. Pharm. Des.*, **2012**, 18: 2883-2890）。研究发现 CDK9 的过表达与多种肿瘤的发生、炎症的发生及病毒的复制有关，例如急性髓性白血病、乳腺癌、结肠癌和前列腺癌等及人类免疫缺陷病毒和腺病毒等（Franco L.C. *et al. J. Cell Biochem.*, **2017**, 119: 1273-1284）。这些发现表明了 CDK9 是治疗癌症的有效靶标。现在已经进入临床的 CDK9 抑制剂包括 Flavopiridol、Dinaciclib、SNS-032 和 CYC065 等，但都缺乏对 CDK9 的选择性。还有目前处于临床前研究的 CDK9 选择性抑制剂如 LY2857785、LDC000067、BAY-1143572 等。

目前研究较多的含苯并呋喃骨架的化合物主要有汉黄芩素和 Flavopiridol。汉黄芩素是从汉黄芩中分离出来的，体内外药理学实验都表明汉黄芩素具有抗炎、抗氧化及抗肿瘤活性且毒性较低，在对其抗肿瘤活性的机制进行研究时发现其主要靶标是 CDK9，并于 2014 年获得 CFDA 的临床批件，但汉黄芩素的抗肿瘤活性较弱（CDK9: $IC_{50} = 198 \mu M$ ）并且其成药性较差。Flavopiridol 是非选择性的 CDK 抑制剂，对 CDK9 有较强的抑制活性（ $IC_{50} = 20 nM$ ）。Flavopiridol 对慢性淋巴细胞白血病、乳腺癌、肝癌及前列腺癌等多种癌症都具有一定的治疗作用，现在被 FDA 批准为治疗慢性淋巴细胞白血病的孤儿药，但 Flavopiridol 容易引起腹泻等副作用。为了进一步提高苯并呋喃类化合物对 CDK9 的选择性，改善其成药性，我们设计并合成了一系列含苯并呋喃类结构的 CDK9 小分子抑制剂。

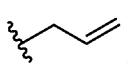
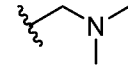
发明内容

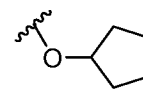
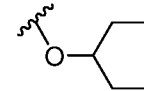
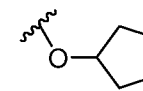
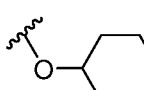
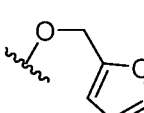
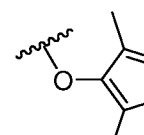
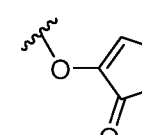
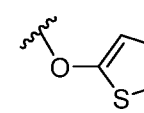
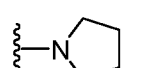
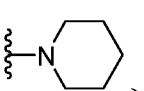
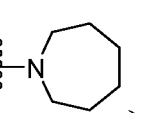
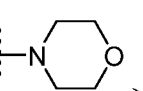
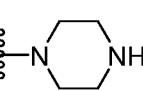
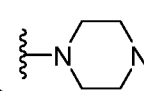
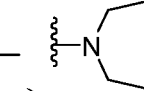
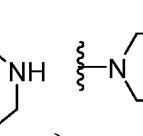
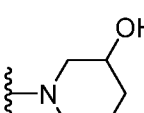
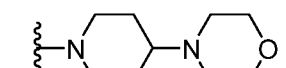
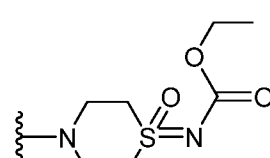
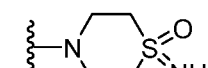
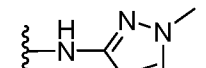
本发明的主要目的是寻找一类含苯并呋喃结构的，高效低毒且具有优良药物代谢性质的 CDK9 小分子抑制剂，用于疾病的预防和/或治疗。

本发明提供了通式（I）所示的化合物、其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或前药。



(I)

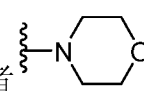
其中, 所述 R_1 为氢、、;
 所述 R_2 为氢、甲基、乙基;

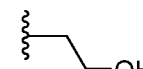
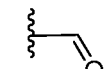
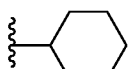
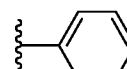
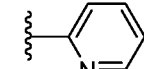
所述 R_3 为甲基、乙基、异丙基、、、、
、、、、、、
、、、、、、、
、、、、;

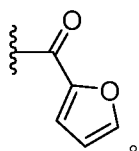
所述 Y 为 N, Y 的位置为所在苯环的 3' 位或者 4' 位;

所述 m 为 1、2 或者 3;

所述 X 为 O、 CR^a 或者 NR^b ;

所述 R^a 为氢、羟基或者 ;

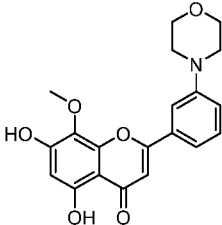
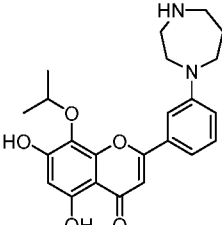
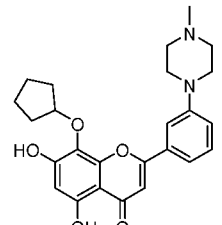
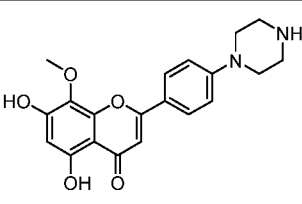
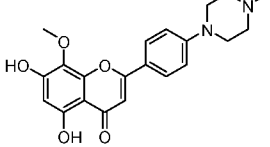
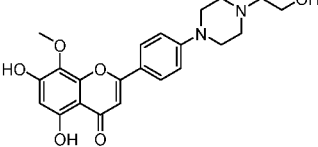
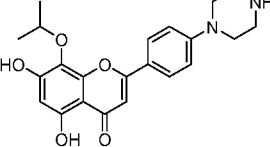
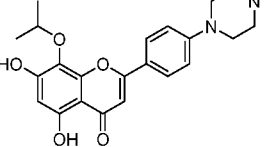
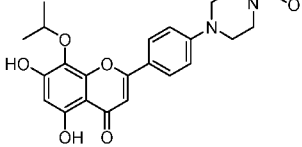
所述 R^b 为氢、甲基、乙基、异丙基、、、、、、

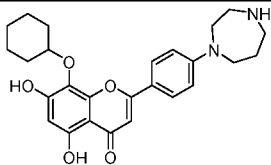
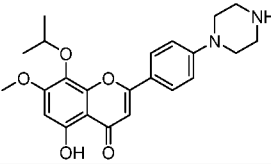
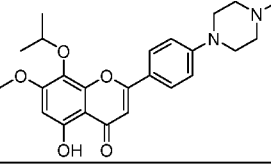
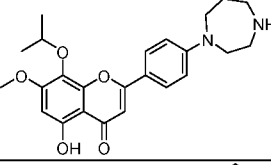
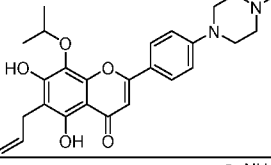
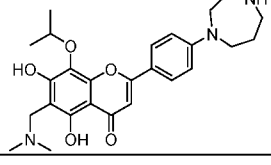
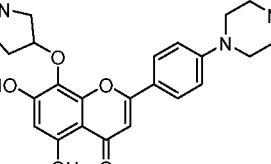
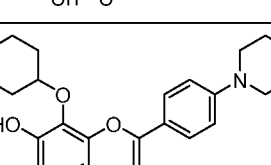
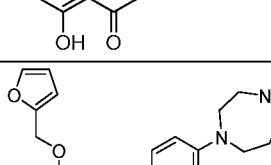


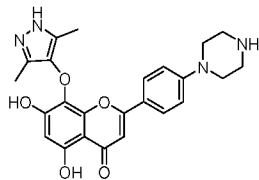
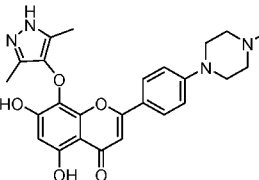
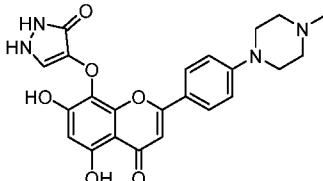
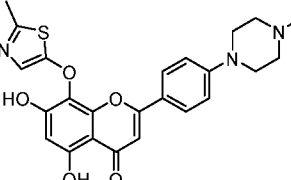
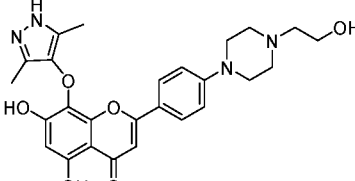
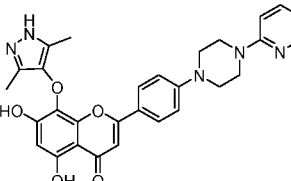
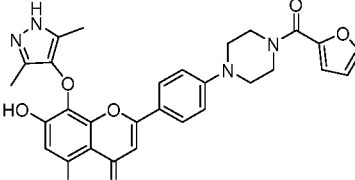
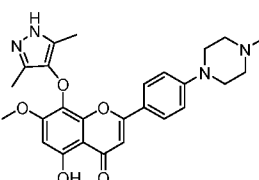
本发明所述的通式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或前药, 其特征在于, 药学上可接受的盐是指通式 I 的化合物和药学上可接受的酸形成的盐包括无机酸盐, 所述的无机酸包括: 碳酸、碳酸氢根、硫酸、硫酸氢根、磷酸、磷酸一氢根、磷酸二氢根、硝酸、氯化氢、溴化氢、氢碘酸等; 以及有机酸盐, 所述的有机酸包括乙酸、草酸、乳酸、琥珀酸、酒石酸、柠檬酸、甲磺酸、丙酮酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、阿魏酸、马来酸、异丁酸、丙二酸、辛二酸、扁桃酸、反丁烯二酸等类似的酸; 还包括与氨基酸形成的盐等。

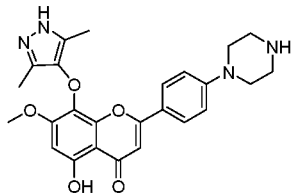
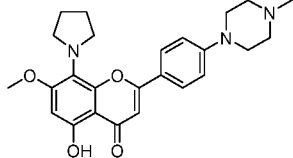
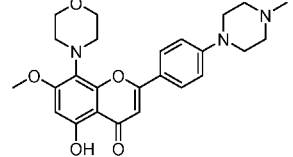
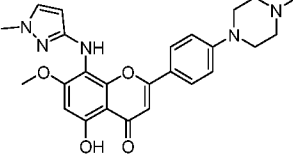
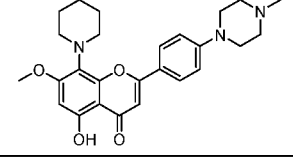
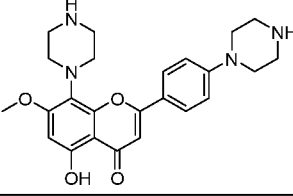
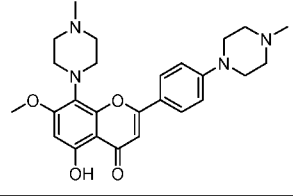
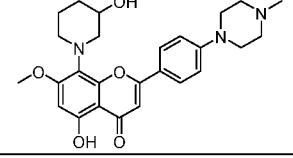
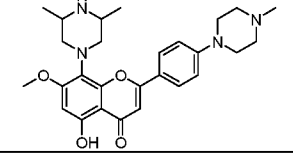
本发明中所优选的部分化合物结构如下:

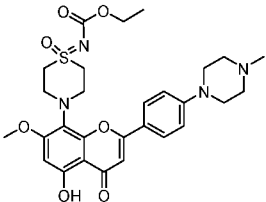
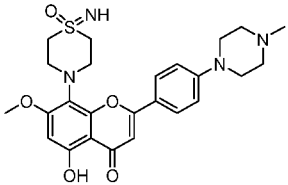
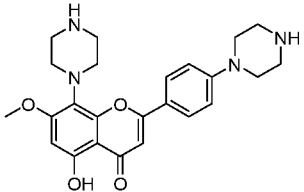
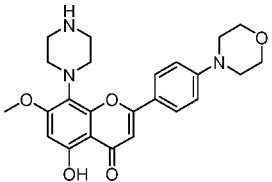
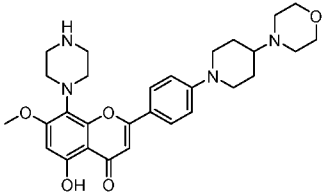
化合物序号	结构式	分子式	分子量
-------	-----	-----	-----

L1		$C_{20}H_{19}NO_6$	369.1212
L2		$C_{23}H_{26}N_2O_5$	410.1842
L3		$C_{25}H_{28}N_2O_5$	436.1998
L4		$C_{20}H_{20}N_2O_5$	368.1373
L5		$C_{21}H_{22}N_2O_5$	382.1529
L6		$C_{22}H_{24}N_2O_6$	412.1634
L7		$C_{22}H_{24}N_2O_5$	396.1685
L8		$C_{23}H_{26}N_2O_5$	410.1842
L9		$C_{23}H_{24}N_2O_6$	424.1634

L10		$C_{26}H_{30}N_2O_5$	450.2155
L11		$C_{23}H_{26}N_2O_5$	410.1842
L12		$C_{24}H_{28}N_2O_5$	424.1998
L13		$C_{24}H_{28}N_2O_5$	424.1998
L14		$C_{26}H_{30}N_2O_5$	450.2155
L15		$C_{26}H_{33}N_3O_5$	467.2420
L16		$C_{23}H_{25}N_3O_5$	423.1794
L17		$C_{26}H_{31}N_3O_5$	465.2264
L18		$C_{25}H_{24}N_2O_6$	448.1634

L19		$C_{24}H_{24}N_4O_5$	448.1747
L20		$C_{25}H_{26}N_4O_5$	462.1903
L21		$C_{23}H_{22}N_4O_6$	450.1539
L22		$C_{24}H_{23}N_3O_5S$	465.1358
L23		$C_{26}H_{28}N_4O_6$	492.2009
L24		$C_{29}H_{27}N_5O_5$	525.2012
L25		$C_{29}H_{26}N_4O_7$	542.1801
L26		$C_{26}H_{28}N_4O_5$	476.2060

L27		$C_{25}H_{26}N_4O_5$	462.1903
L28		$C_{25}H_{29}N_3O_4$	435.2158
L29		$C_{25}H_{29}N_3O_5$	451.2107
L30		$C_{25}H_{27}N_5O_4$	461.2063
L31		$C_{26}H_{31}N_3O_4$	449.2315
L32		$C_{24}H_{28}N_4O_4$	436.2111
L33		$C_{26}H_{32}N_4O_4$	464.2424
L34		$C_{26}H_{31}N_3O_5$	465.2264
L35		$C_{27}H_{34}N_4O_4$	478.2580

L36		$C_{28}H_{34}N_4O_7S$	570.2148
L37		$C_{25}H_{30}N_4O_5S$	498.1937
L38		$C_{24}H_{28}N_4O_4$	436.2111
L39		$C_{24}H_{27}N_3O_5$	437.1951
L40		$C_{29}H_{36}N_4O_5$	520.2686

本发明所述的通式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或前药用于开发以 CDK9 为靶点的小分子抑制剂。

一种药物组合物，其特征在于，本发明所述的通式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或前药，和药学上可接受的载体。

所述的一种药物组合物，其特征在于，本发明所述的通式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或前药和药学上可接受的辅料。

本发明所述的通式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或前药，或一种药物组合物，在制备预防和治疗抗病毒药物和抗肿瘤药物中的用途。

本发明所述的通式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或前药在制备预防和治疗抗病毒药物和抗肿瘤药物中的用途，其特征在于，所述的病毒包括人类免疫缺陷病毒、巨细胞病毒、EB 病毒、腺病毒、疱疹、人 T 细胞淋巴细胞病毒、甲型流感病毒和登革热病毒。

本发明所述的通式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或前药在制备预防和治疗抗病毒药物和抗肿瘤药物中的用途，其特征在于，所述的肿瘤包括神经系统癌症、血液癌症、肝癌、肌肉癌、乳腺癌、生殖系统癌症、肺癌、胃肠癌、皮肤癌、泌尿系统癌症和食管癌。

有益效果

本发明针对汉黄芩素抗肿瘤活性低，成药性差的缺点，本发明对其母核进行改造合

成了一系列的化合物，特别是针对 3' 或 4' 位引入含 N 环状取代基，含氮环状取代基的引入既提高了化合物对 CDK9 的选择性，同时改善了化合物的理化性质。该类化合物是全新化合物，未见文献报道，同时发明人针对合成的化合物做了一系列活性，具体来说本发明大部分化合物对癌细胞均有较好的抑制活性，相对于汉黄芩素有很大的提高，活性较为突出的化合物主要有 L26、L27、L32 和 L38。

本发明部分化合物相对汉黄芩素对 CDK9 具有较好的抑制活性，与 Flavopiridol 相当，但对 CDK9 的选择性得到了明显的提高。特别是化合物 L26 对 CDK9 的抑制活性与 Flavopiridol 基本相当，其 IC_{50} 值达到了 3.0 nM，化合物 L32 对 CDK9/CDK2 的选择性是汉黄芩 53 倍，是 Flavopiridol 的 45 倍。

相对于 CDK 家族其他 CDK 来说，本发明部分化合物对 CDK9 具有较好的抑制活性且对 CDK9 的选择性也优于 Flavopiridol。

本发明优选化合物 L27 的溶解度较好，特别是在酸性条件下 (pH = 4.5) 的溶解度相对于其他化合物得到了大幅度的提高在相同条件下其溶解度是汉黄芩素的 500 倍，Log D 值也是处于合理的范围内。

选择活性较好化合物 L26 能通过抑制 CDK9 的活性，使得 2 位 Ser 磷酸化的 RNA 聚合酶 II 的表达量明显减少，并能使其下游的短促凋亡蛋白 Mcl-1 的表达量呈浓度依赖性的减少，使 Cleaver caspase 3 的表达量呈浓度依赖性的增加。这表明了化合物 L26 是通过抑制 CDK9 的活性，使得下游的促凋亡蛋白的表达增加，进而引起细胞发生凋亡的。

附图说明

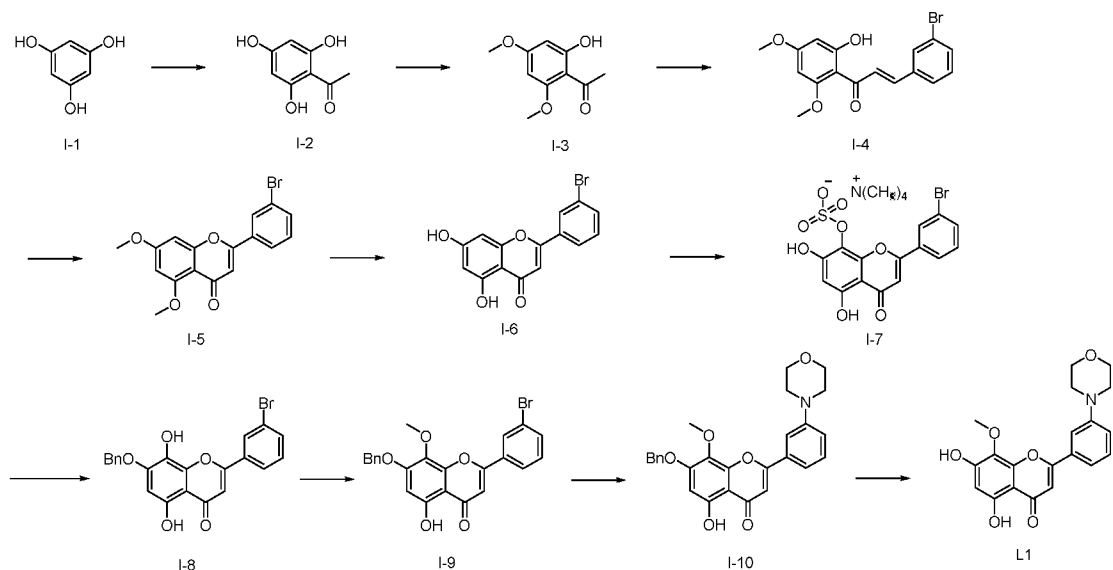
图 1 本发明中化合物 L38 诱导 MV4-11 细胞凋亡实验结果；

图 2 本发明中化合物 L38 对 CDK9 及其下游蛋白及凋亡蛋白表达量的影响。

具体实施方式

下面通过具体的实施例对本发明做进一步的详细说明，但并不将本发明限制在所举的实施例范围之内。

实施例 1



一步：中间体 I-2 的制备

将间苯三酚 I-1 (63 g, 0.5 mol) 加入到 300 mL 无水乙醚中，室温搅拌溶解，再依次加入无水 $ZnCl_2$ (13.4 g, 0.1 mol) 和无水乙腈 (50 g, 1.25 mol)，0 °C 下通入干燥的 HCl 气体反应 40 h，TLC 检测 ($V_{\text{石油醚}}: V_{\text{乙酸乙酯}} = 1:2$) 反应完全，静止待反应液温度升

至室温，抽滤，滤饼烘干至恒重后溶于 200 mL 水中，加热回流 6 h，析出大量固体，冷却至室温，抽滤，烘干，得白色固体 60 g，收率 71%。m.p. 119~121 °C。

第二步：中间体 I-3 的制备

将中间体 I-2 (33.6 g, 0.2 mol) 加入到 350 mL 无水丙酮，室温搅拌溶解，再加入 63.48 g K_2CO_3 (0.46 mol)，室温条件下滴加硫酸二甲酯 (39.78 mL, 0.42 mol)，1 h 左右滴加完毕，45 °C 继续反应 4 h，TLC 检测 ($V_{\text{石油醚}}: V_{\text{乙酸乙酯}} = 3:1$) 反应完全，静止冷却至室温，抽滤，滤液倒入 5 倍体积的水中，用 1 M HCl 调 pH = 3 - 4，析出大量固体。抽滤，干燥得白色固体 32.5 g，收率 83%。m.p. 80~82 °C。

第三步：中间体 I-4 的制备

将中间体 I-3 (30 g, 15 mmol) 加入到 450 mL 乙醇，室温搅拌溶解，再加入 11.39 g 间溴苯甲醛 (92 mmol)，冰浴条件下滴加 7% KOH 水溶液 280 mL (0.21 mol)，滴加过程中保持温度小于 5 °C。1 h 左右滴加完毕，40 °C 继续反应 10 h，TLC 检测 ($V_{\text{石油醚}}: V_{\text{乙酸乙酯}} = 6:1$) 反应完全，静止冷却至室温，反应液倒入 10 倍体积的水中，用 6 M HCl 调 pH = 3 - 4，析出大量固体。抽滤，烘干，得黄色固体 50.1 g，收率 90%。m.p. 190~193 °C。

第四步：中间体 I-5 的制备

中间体 I-4 (16.7 g, 46 mmol) 加入到 43 mL 无水 DMSO，升温至 60 °C，搅拌溶解，再加入催化量的 I_2 (0.36 g, 1.4 mmol)，升温至 130 °C 继续反应 5 h，TLC 检测 ($V_{\text{石油醚}}: V_{\text{乙酸乙酯}} = 3:1$) 反应完全，反应液趁热倒入 10 倍体积的饱和硫代硫酸钠水溶液中，析出大量固体。抽滤，烘干，得淡黄色固体 16.3 g，收率 97%。m.p. 278~280 °C。

第五步：中间体 I-6 的制备

将中间体 I-5 (20 g, 55 mmol) 加入到 48% 的氢溴酸 300 mL 中，回流反应 60 h，TLC 检测 ($V_{\text{石油醚}}: V_{\text{乙酸乙酯}} = 2:1$) 反应完全，静止冷却至室温，反应液倒入 10 倍体积的冰水中，析出大量固体。抽滤，滤饼用水多次洗涤至 pH 呈中性，干燥得粗品 20.9 g，聚酰胺柱层析 ($V_{\text{石油醚}}: V_{\text{乙酸乙酯}} = 2:1$) 得淡黄色固体 15 g，收率 83%。m.p. 192~196 °C。

第六步：中间体 I-7 的制备

将中间体 I-6 (21 g, 64 mmol) 和氢氧化四甲铵 (69 g, 38 mmol) 加入到 450 mL 水中，室温搅拌溶解，再每隔 20 min 分 8 次加入过硫酸钾 (43 g, 169 mmol)，加入过程中保持温度低于 30 °C，室温继续反应 3 h，TLC 检测 ($V_{\text{石油醚}}: V_{\text{乙酸乙酯}} = 2:1$) 反应完全，抽滤，滤液用磷酸二氢钾 (约 30 g) 调 pH = 6 - 7，析出固体，再每隔 5 min 分 3 次加入 45 g 氯化钠，室温搅拌过夜。抽滤，滤饼用 20 mL 甲醇洗涤，烘干，得土黄色固体 19 g，收率 60%。

第七步：中间体 I-8 的制备

将中间体 I-7 (7.8 g, 17.7 mmol) 加入到 55 mL DMF，室温搅拌溶解，再加入 4.9 g K_2CO_3 (35.5 mmol)，室温条件下滴加溴化苄 (2.8 mL, 23 mmol)，5 min 左右滴加完毕，60 °C 继续反应 5 h，TLC 检测 ($V_{\text{二氯甲烷}}: V_{\text{甲醇}} = 10:1$) 反应完全，静止冷却至室温，抽滤，滤饼用 20 mL 甲醇洗涤，滤液用 6 M HCl 调 pH = 1 - 2，室温搅拌过夜，析出固体。抽滤，滤饼用 10 mL 甲醇洗涤，烘干，得橙黄色固体 2.6 g，收率 38.8%。m.p. 290~292 °C。 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 12.69 (s, 1H, 5-OH), 9.13 (s, 1H, 8-OH), 7.92 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 7.45 (m, 5H, Ar-H), 7.12 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.93 (s, 1H, CHCO), 6.79 (s, 1H, Ar-H), 5.34 (s, 2H, OCH_2 -Ar) ppm.

第八步：中间体 I-9 的制备

将中间体 I-8 (720 mg, 1.9 mmol) 加入到 60 mL 乙腈，室温搅拌溶解，再加入 660 mg K_2CO_3 (4.8 mmol) 和 240 mg 硫酸二甲酯 (2.1 mmol)，回流反应 4.5 h，TLC 检测

($V_{\text{石油醚}}:V_{\text{乙酸乙酯}}=2:1$) 反应完全, 静止冷却至室温, 抽滤, 滤饼用 20 mL 二氯甲烷洗涤, 滤液减压蒸除溶剂, 粗品用正己烷和二氯甲烷混合溶剂重结晶, 得黄色固体 685 mg, 收率 92%。m.p. 210~212 °C。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta=12.70$ (s, 1H, 5-OH), 7.93 (d, 2H, $J=9.00$ Hz, Ar-H), 7.46 (m, 5H, Ar-H), 7.10 (d, 2H, $J=9.00$ Hz, Ar-H), 6.94 (s, 1H, CHCO), 6.80 (s, 1H, Ar-H), 5.33 (s, 2H, $\text{OCH}_2\text{-Ar}$), 3.85 (s, 3H, ArOCH_3) ppm.

第九步: 中间体 **I-10** 的制备

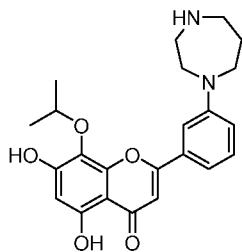
将中间体 **I-9** (185 mg, 0.47 mmol) 加入到 10 mL 无水 DMSO, 升温至 60 °C, 搅拌溶解, 再在 N_2 保护下依次加入 410.7 mg 吗啉 (4.8 mmol) 和 121.9 mg DIEA (0.94 mmol), 90 °C 反应 10 h, TLC 检测 ($V_{\text{石油醚}}:V_{\text{乙酸乙酯}}=4:1$) 反应完全, 反应液趁热倒入 10 mL 饱和食盐水中, 静止 3 h, 抽滤, 滤饼用 10 mL 水洗涤, 最终得到黄色固体 178 mg, 产率 74.9%。m.p. 220~225 °C。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta=12.79$ (s, 1H, 5-OH), 7.86 (d, 2H, $J=9.00$ Hz, Ar-H), 7.44 (m, 5H, Ar-H), 6.97 (d, 2H, $J=9.00$ Hz, Ar-H), 6.55 (s, 1H, CHCO), 6.46 (s, 1H, Ar-H), 5.23 (s, 2H, $\text{OCH}_2\text{-Ar}$), 3.92 (s, 3H, ArOCH_3), 3.30 (s, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NH}$), 2.95 (s, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NH}$) ppm.

第十步: 化合物 **L1** 的制备

将中间体 **I-10** (185 mg, 0.27 mmol) 和 Pd/C (60 mg) 加入到 10 mL 四氢呋喃和 10 mL 甲醇, 密闭体系通入氢气, 35 °C 反应 6 h, TLC 检测 ($V_{\text{乙酸乙酯}}:V_{\text{甲醇}}=10:1$) 反应完全, 静止冷却至室温, 抽滤, 滤液减压蒸除溶剂, 硅胶柱层析 ($V_{\text{乙酸乙酯}}:V_{\text{甲醇}}=15:1$) 最终得到黄色固体 78 mg, 产率 77%。m.p. 204~206 °C. HRMS (ESI), $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculated for $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_6$ 369.1212, found 369.1271. ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta=12.53$ (s, 1H, 5-OH), 10.81 (s, 1H, 7-OH), 7.48 (m, 3H, Ar-H), 7.20 (d, 1H, $J=7.50$ Hz, Ar-H), 7.05 (s, 1H, CHCO), 6.30 (s, 1H, Ar-H), 3.85 (s, 3H, ArOCH_3), 3.77 (s, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{O}$), 3.23 (s, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{O}$) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta=182.1, 163.4, 157.3, 156.2, 151.5, 149.6, 131.6, 129.8, 127.6, 118.7, 116.7, 112.2, 105.0, 103.7, 99.0, 66.0, 61.0 (2 \times \text{C}), 48.0 (2 \times \text{C})$ ppm. IR (KBr) ν 3245, 2829, 1657, 1586, 1507, 1444, 1356, 1251, 1163, 1023, 1010, 863, 837, 699, 671 cm^{-1} .

实施例 2-实施例 10 所述化合物的制备, 可参考实施例 1 中所描述的方法和路线制备得到。

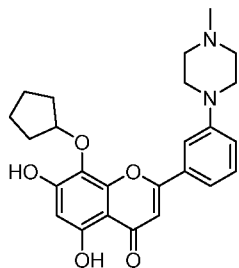
实施例 2: 化合物 **L2**



m.p. 150~153 °C. HRMS (ESI), $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$ 410.1842, found 410.1907. ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta=12.62$ (s, 1H, 5-OH), 7.32 (m, 3H, Ar-H), 6.95 (d, 1H, $J=6.0$ Hz, Ar-H), 6.91 (s, 1H, CHCO), 6.26 (s, 1H, Ar-H), 4.45 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3.60 (s, 4H, $\text{Ar-N}(\text{CH}_2)_2$), 2.95 (s, 2H, NHCH_2), 2.73 (s, 2H, NHCH_2), 1.89 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$), 1.28 (d, 6H, $J=6.00$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta=181.8, 163.5, 159.8, 156.0, 150.0, 148.6, 131.9, 130.0, 125.2, 114.9, 113.2, 108.1, 104.5, 102.8, 99.5, 73.9, 50.7, 48.6, 47.2, 46.8, 28.0, 22.3 (2 \times \text{C})$ ppm. IR (KBr) ν

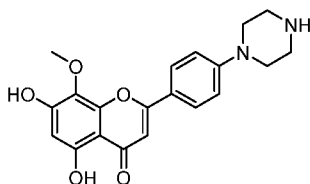
3445, 2970, 1652, 1593, 1497, 1370, 1322, 1192, 1109, 1031, 842, 699, 576, 548 cm^{-1} .

实施例 3: 化合物 L3



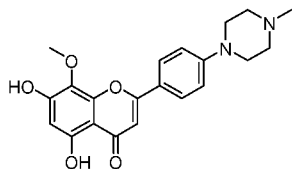
m.p. 240~242 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5$ 436.1998, found 436.2065. ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 12.58 (s, 1H, 5-OH), 10.73 (s, 1H, 7-OH), 7.44 (m, 3H, Ar-H), 7.18 (d, 1H, J = 7.2 Hz, Ar-H), 7.03 (s, 1H, CHCO), 6.33 (s, 1H, Ar-H), 4.83 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_2)_4$), 3.25 (s, 4H, Ar-N(CH_2CH_2) $_2$ N), 2.50 (s, 4H, Ar-N(CH_2CH_2) $_2$ N), 2.26 (s, 3H, NCH_3), 1.68 (m, 8H, $\text{CH}(\text{CH}_2)_4$) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 182.1, 163.4, 157.8, 155.8, 151.4, 150.0, 131.5, 129.8, 125.4, 118.8, 116.6, 112.4, 104.9, 103.7, 99.1, 84.0, 54.4 ($2 \times \text{C}$), 47.7 ($2 \times \text{C}$), 45.6, 32.3 ($2 \times \text{C}$), 23.2 ($2 \times \text{C}$) ppm. IR (KBr) ν 3441, 2952, 1651, 1597, 1496, 1432, 1375, 1328, 1260, 1006, 930, 862, 788, 700, 571 cm^{-1} .

实施例 4: 化合物 L4



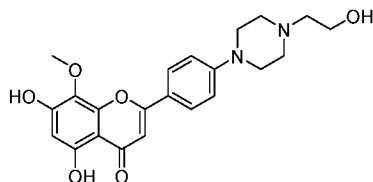
m.p. 190~195 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5$ 368.1372, found 368.1439. ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 12.56 (s, 1H, 5-OH), 7.89 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 7.14 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.82 (s, 1H, CHCO), 6.35 (s, 1H, Ar-H), 3.98 (s, 3H, ArOCH_3), 3.20 (s, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NH}$), 2.90 (s, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NH}$) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 182.1, 163.3, 158.5, 156.2, 151.8, 149.6, 127.8 ($2 \times \text{C}$), 118.8, 116.3, 113.3 ($2 \times \text{C}$), 104.8, 103.1, 99.3, 60.8, 48.6 ($2 \times \text{C}$), 45.2 ($2 \times \text{C}$) ppm. IR (KBr) ν 3537, 2953, 1643, 1605, 1575, 1482, 1443, 1386, 1215, 1186, 1124, 992, 837, 670, 553 cm^{-1} .

实施例 5: 化合物 L5



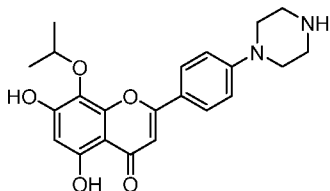
m.p. 190~195 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$ 382.1529, found 382.1599. ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 12.70 (s, 1H, 5-OH), 10.91 (s, 1H, 7-OH), 7.82 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.99 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.57 (s, 1H, CHCO), 6.43 (s, 1H, Ar-H), 4.05 (s, 3H, ArOCH_3), 3.44 (s, 4H, Ar-N(CH_2CH_2) $_2$ N), 3.01 (s, 3H, NCH_3), 2.43 (s, 4H, Ar-N(CH_2CH_2) $_2$ N) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 182.3, 167.8, 157.5, 156.1, 150.9, 149.6, 127.3 ($2 \times \text{C}$), 118.5, 116.4, 113.0 ($2 \times \text{C}$), 105.1, 103.7, 99.1, 61.0, 52.1 ($2 \times \text{C}$), 45.5 ($2 \times \text{C}$), 42.2 ppm. IR (KBr) ν 3430, 2854, 2648, 1653, 1454, 1367, 1228, 1210, 1026, 921, 837, 780, 692, 583 cm^{-1} .

实施例 6: 化合物 L6



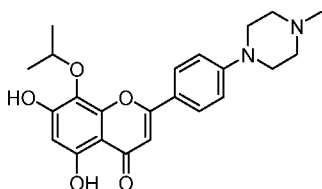
m.p. 207~210 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $C_{22}H_{24}N_2O_6$ 412.1634, found 412.1701. 1H NMR (300MHz, DMSO- d_6): δ = 12.76 (s, 1H, 5-OH), 7.92 (d, 2H, J = 8.90 Hz, Ar-H), 7.10 (d, 2H, J = 8.90 Hz, Ar-H), 6.80 (s, 1H, CHCO), 6.31 (s, 1H, Ar-H), 3.88 (s, 3H, ArOCH₃), 3.59 (t, 2H, J = 6.00 Hz, NCH₂CH₂OH), 3.37 (s, 4H, Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 2.60 (s, 4H, Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 2.49 (t, 2H, J = 6.00 Hz, NCH₂CH₂OH) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 181.7, 163.6, 157.0, 156.2, 153.1, 149.3, 127.7, 127.5 (2 × C), 118.9, 114.0, 113.9, 103.4, 101.8, 98.9, 60.9, 60.1, 58.5, 52.8 (2 × C), 46.6 (2 × C) ppm. IR (KBr) ν 3380, 2825, 1656, 1608, 1580, 1505, 1392, 1235, 1207, 1163, 1102, 1015, 946, 819, 663 cm^{-1} .

实施例 7: 化合物 L7



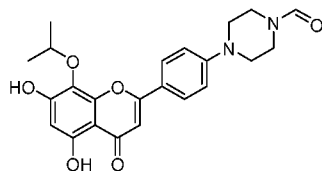
m.p. 210~213 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $C_{22}H_{24}N_2O_5$ 396.1685, found 396.1710. 1H NMR (300MHz, DMSO- d_6): δ = 12.75 (s, 1H, 5-OH), 7.90 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 7.08 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.76 (s, 1H, CHCO), 6.27 (s, 1H, Ar-H), 4.38 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.28 (s, 4H, N(CH₂CH₂)₂NH), 2.84 (s, 4H, N(CH₂CH₂)₂NH), 1.30 (d, 6H, J = 6.09 Hz, CH(CH₃)₂) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 182.0, 164.4, 156.3, 152.1, 151.1, 149.8, 127.6 (2 × C), 125.1, 119.0, 113.1 (2 × C), 103.4, 101.7, 98.8, 73.8, 50.7 (2 × C), 46.6 (2 × C), 22.3 (2 × C) ppm. IR (KBr) ν 3379, 2813, 1616, 1525, 1506, 1368, 1262, 1237, 1119, 1026, 821, 663, 595 cm^{-1} .

实施例 8: 化合物 L8



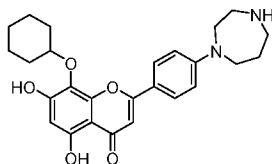
m.p. 240~242 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $C_{23}H_{26}N_2O_5$ 410.1842, found 410.1890. 1H NMR (300MHz, DMSO- d_6): δ = 12.76 (s, 1H, 5-OH), 10.59 (s, 1H, 7-OH), 7.92 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 7.11 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.79 (s, 1H, CHCO), 6.28 (s, 1H, Ar-H), 4.37 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.34 (s, 4H, Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 3.34 (s, 3H, NCH₃), 2.45 (s, 4H, Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 1.30 (d, 6H, J = 6.09 Hz, CH(CH₃)₂) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 181.0, 167.8, 157.5, 156.1, 150.9, 149.6, 127.3 (2 × C), 118.5, 116.4, 113.0 (2 × C), 105.1, 103.7, 99.1, 74.0, 52.1 (2 × C), 45.5 (2 × C), 42.2, 22.1 (2 × C) ppm. IR (KBr) ν 3430, 2854, 2648, 1653, 1454, 1367, 1228, 1210, 1026, 921, 837, 780, 692, 583 cm^{-1} .

实施例 9: 化合物 L9



m.p. 265~268 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $C_{23}H_{24}N_2O_6$ 424.1634, found 424.1707. 1H NMR (300MHz, DMSO- d_6): δ = 12.73 (s, 1H, 5-OH), 10.56 (s, 1H, 7-OH), 8.11 (s, 1H, NCH₃O), 7.94 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 7.15 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.81 (s, 1H, CHCO), 6.29 (s, 1H, Ar-H), 4.38 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.52 (s, 4H, Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 3.40 (m, 4H, Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 1.30 (d, 6H, J = 6.15 Hz, CH(CH₃)₂) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 181.9, 164.1, 163.5, 161.0, 157.6, 155.9, 152.8, 127.8, 127.6 (2 × C), 119.6, 114.6 (2 × C), 103.4, 102.0, 98.9, 74.8, 47.7, 46.4, 44.1 (2 × C), 22.3 (2 × C) ppm. IR (KBr) ν 3080, 2972, 1656, 1574, 1516, 1433, 1368, 1277, 1230, 1202, 1098, 1003, 968, 847, 825, 658, 559 cm^{-1} .

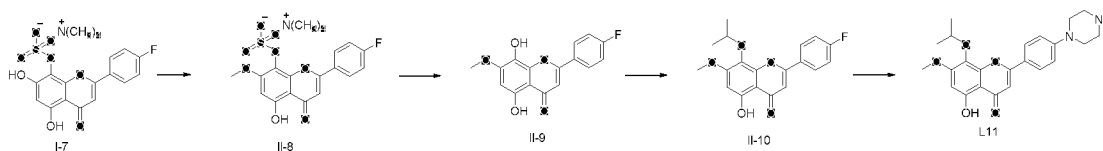
实施例 10: 化合物 L10



m.p. 160~168 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $C_{26}H_{30}N_2O_5$ 450.2188, found 450.2243. 1H NMR (300MHz, DMSO- d_6): δ = 12.90 (s, 1H, 5-OH), 7.88 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.90 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.72 (s, 1H, CHCO), 6.30 (s, 1H, Ar-H), 4.10 (m, 1H, CH(CH₂)₅), 3.65 (s, 4H, Ar-N(CH₂)₂), 3.00 (s, 2H, NHCH₂), 2.83 (s, 2H, NHCH₂), 1.90 (m, 2H, NCH₂CH₂CH₂NH), 1.77 (m, 4H, CH(CH₂)₅), 1.52 (m, 2H, CH(CH₂)₅), 1.23 (m, 4H, CH(CH₂)₅) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 181.5, 163.6, 158.6, 155.3, 153.6, 149.5, 127.8 (2 × C), 125.1, 118.8, 113.3, 111.4, 109.0, 103.6, 98.9, 81.0, 60.1, 50.9 (2 × C), 47.2, 46.9, 33.9, 27.8, 26.3 (2 × C), 23.9 ppm. IR (KBr) ν 3217, 1654, 1516, 1400, 1105, 859, 546 cm^{-1} .

实施例 11-实施例 15 所述化合物的前七步中间体的制备, 可参考实施例 1 中所描述的方法和路线制备得到。

实施例 11: 化合物 L11



第八步: 中间体 II-9 的制备

将中间体 I-7 (6 g, 13.6 mmol) 加入到 30 mL DMF, 室温搅拌溶解, 再加入 5.7 g K_2CO_3 (41 mmol), 室温条件下滴加硫酸二甲酯 (1.9 g, 15 mmol), 5 min 左右滴加完毕, 80 °C 继续反应 10 h, TLC 检测 ($V_{二氯甲烷} : V_{甲醇} = 10 : 1$) 反应完全, 静止冷却至室温, 抽滤, 滤饼用 20 mL 甲醇洗涤, 滤液用 6 M HCl 调 pH = 1 - 2, 室温搅拌过夜, 用 300 mL 冰水稀释, 析出大量固体。抽滤, 滤饼烘干, 粗品用甲醇和二氯甲烷的混合溶剂重结晶得黄色固 1.0 g, 收率 28%。m.p. 155~158 °C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 12.56 (s, 1H, 5-OH), 9.02 (s, 1H, 8-OH), 8.26 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 7.46 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 7.01 (s, 1H, CHCO), 6.60 (s, 1H, Ar-H), 3.96 (s, 3H, OCH₃) ppm.

第九步：中间体 **II-10** 的制备

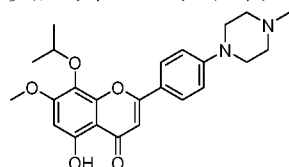
将中间体 **II-9** (3 g, 10 mmol) 加入到 20 mL DMF, 室温搅拌溶解, 再加入 3.45 g K_2CO_3 (25 mmol) 和 1.85 g 溴代异丙烷 (15 mmol), $80^\circ C$ 反应 8 h, TLC 检测 ($V_{\text{石油醚}}: V_{\text{乙酸乙酯}} = 1:1$) 反应完全, 反应液趁热倒入 10 倍体积的冰水中, 析出固体, 静止 2 h, 抽滤, 烘干, 粗品用乙醚和丙酮的混合溶剂重结晶, 得黄色固体 1.8 g, 收率 52.3%。
m.p. $158\sim 160^\circ C$. 1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$): $\delta = 12.59$ (s, 1H, 5-OH), 8.15 (d, 2H, $J = 9.00$ Hz, Ar-H), 7.50 (d, 2H, $J = 9.00$ Hz, Ar-H), 7.02 (s, 1H, CHCO), 6.62 (s, 1H, Ar-H), 4.30 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 3.89 (s, 3H, OCH_3), 1.36 (d, 6H, $J = 6.00$ Hz, $CH(CH_3)_2$) ppm.

第十步：化合物 **L11** 的制备

将中间体 **II-10** (100 mg, 0.29 mmol) 加入到 10 mL 无水 DMSO, 升温至 $60^\circ C$, 搅拌溶解, 再在 N_2 保护下依次加入 250 mg 哌嗪 (2.90 mmol) 和 375 mg DIEA (2.90 mmol), $80^\circ C$ 反应 8 h, TLC 检测 ($V_{\text{石油醚}}: V_{\text{乙酸乙酯}} = 2:1$) 反应完全, 反应液趁热倒入 10 mL 饱和食盐水中, 静止 3 h, 抽滤, 滤饼用 10 mL 水洗涤, 烘干得粗品 90 mg, 粗品用甲醇和丙酮的混合溶剂重结晶, 得黄色固体 64 mg, 收率 54%。m.p. $190\sim 192^\circ C$. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $C_{23}H_{26}N_2O_5$ 411.1914, found 411.1917. 1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$): $\delta = 12.89$ (s, 1H, 5-OH), 7.91 (d, 2H, $J = 9.00$ Hz, Ar-H), 7.07 (d, 2H, $J = 9.00$ Hz, Ar-H), 6.79 (s, 1H, CHCO), 6.55 (s, 1H, Ar-H), 4.32 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 3.90 (s, 3H, OCH_3), 3.28 (s, 4H, $N(CH_2CH_2)_2NH$), 2.82 (s, 4H, $N(CH_2CH_2)_2NH$), 1.30 (d, 6H, $J = 6.00$ Hz, $CH(CH_3)_2$) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, $DMSO-d_6$): $\delta = 181.9, 164.0, 158.6, 156.4, 153.6, 149.1, 127.7$ ($2 \times C$), 126.0, 118.5, 113.8 ($2 \times C$), 103.8, 101.5, 95.8, 75.2, 56.4, 47.7 ($2 \times C$), 45.3 ($2 \times C$), 22.4 ($2 \times C$) ppm. IR (KBr) ν 3350, 2938, 1650, 1606, 1580, 1513, 1380, 1265, 1204, 1105, 1069, 1001, 828, 667, 590 cm^{-1} .

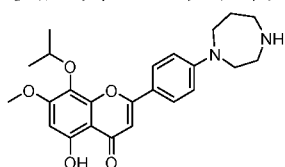
实施例 12-实施例 13 所述化合物的制备, 可参考实施例 11 中所描述的方法和路线制备得到。

实施例 12: 化合物 **L12**



m.p. $160\sim 168^\circ C$. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $C_{24}H_{28}N_2O_5$ 425.2071, found 425.2074. 1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$): $\delta = 12.88$ (s, 1H, 5-OH), 7.92 (d, 2H, $J = 9.00$ Hz, Ar-H), 7.10 (d, 2H, $J = 9.00$ Hz, Ar-H), 6.80 (s, 1H, CHCO), 6.55 (s, 1H, Ar-H), 4.32 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 3.89 (s, 3H, OCH_3), 3.63 (s, 4H, $N(CH_2CH_2)_2NH$), 3.35 (s, 4H, $N(CH_2CH_2)_2NH$), 2.27 (s, 3H, NCH_3), 1.29 (d, 6H, $J = 6.00$ Hz, $CH(CH_3)_2$) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, $DMSO-d_6$): $\delta = 181.9, 164.0, 158.6, 156.4, 153.2, 149.1, 127.7$ ($2 \times C$), 126.0, 118.8, 114.0 ($2 \times C$), 103.8, 101.2, 95.8, 74.6, 56.4, 54.4 ($2 \times C$), 47.8 ($2 \times C$), 45.6, 22.2 ($2 \times C$) ppm. IR (KBr) ν 3455, 2971, 2851, 1654, 1581, 1519, 1365, 1323, 1276, 1253, 1103, 1006, 944, 850, $806, 591\text{ cm}^{-1}$.

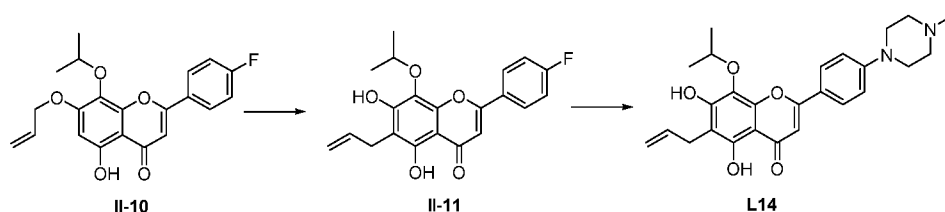
实施例 13: 化合物 **L13**



m.p. 200~202 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $C_{24}H_{28}N_2O_5$ 425.2071, found 425.2074. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 13.04 (s, 1H, 5-OH), 7.87 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.87 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.72 (s, 1H, CHCO), 6.53 (s, 1H, Ar-H), 4.32 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.63 (s, 4H, Ar-N(CH_2)₂), 3.56 (s, 2H, $NHCH_2$), 2.86 (s, 2H, $NHCH_2$), 2.63 (m, 2H, $NCH_2CH_2CH_2NH$), 1.29 (d, 6H, J = 6.00 Hz, $CH(CH_3)_2$) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 181.8, 163.5, 159.8, 156.0, 151.0, 149.6, 128.7 (2 × C), 126.0, 118.8, 114.0 (2 × C), 103.8, 101.2, 95.8, 73.9, 56.4, 50.7, 48.6, 47.2, 46.8, 28.0, 22.3 (2 × C) ppm. IR (KBr) ν 3217, 1654, 1516, 1400, 1105, 859, 546 cm^{-1} .

实施例 14 所述化合物的前九步中间体的制备,可参考实施例 1 和实施例 11 中所描述的方法和路线制备得到。

实施例 14: 化合物 L14



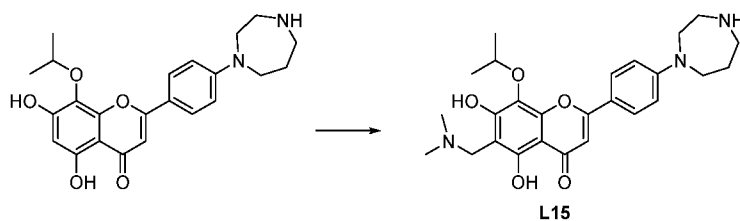
第十步: 中间体 II-11 的制备

中间体 19 (500mg, 1.35 mmol) 和 5 mL DMF 加入 10 mL 耐压瓶中,室温搅拌溶解,微波反应(功率: 300 W),升温至 240°C 反应 30 min。TLC 检测 (V_{石油醚}: V_{乙酸乙酯} = 2 : 1) 反应完全,反应液倒入 10 mL 冰水中,静止 3 h,析出固体,抽滤,滤饼烘干的黄色固体 400 mg,收率 80%。 1H NMR (300MHz, DMSO- d_6): δ = 12.90 (s, 1H, 5-OH), 10.59 (s, 1H, 7-OH), 7.89 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 7.21 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.94 (s, 1H, CHCO), 5.90 (m, 1H, $-CH=CH_2$), 5.43 (m, 2H, $-CH=CH_2$), 4.45 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 3.31 (d, J = 5.70 Hz, 2H, $-CH_2CH=CH_2$), 1.29 (d, 6H, J = 6.00 Hz, $CH(CH_3)_2$) ppm.

第十步: 化合物 L14 的制备

将中间体 II-11 (100 mg, 0.27 mmol) 加入到 8 mL 无水 DMSO 中,升温至 60 °C,搅拌溶解,再在 N₂ 保护下依次加入 116 mg 4-甲基哌嗪 (3.5 mmol) 和 70 mg DIEA (0.54 mmol), 80 °C 反应 24 h, TLC 检测 (V_{石油醚}: V_{乙酸乙酯} = 2 : 1) 反应完全,反应液趁热倒入 10 mL 饱和食盐水中,静止 3 h,抽滤,滤饼用 10 mL 水洗涤,烘干得粗品 120 mg,粗品用甲醇和二氯甲烷的混合溶剂重结晶,得黄色固体 66 mg,收率 56%。 m.p. 203~208 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $C_{26}H_{30}N_2O_5$ 451.2188, found 451.2263. 1H NMR (300MHz, DMSO- d_6): δ = 13.1 (s, 1H, 5-OH), 10.59 (s, 1H, 7-OH), 7.90 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.89 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.80 (s, 1H, CHCO), 5.91 (m, 1H, $-CH=CH_2$), 4.96 (m, 2H, $-CH=CH_2$), 4.40 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 3.35 (s, 4H, N(CH_2CH_2)₂NH), 3.31 (d, J = 5.70 Hz, 2H, $-CH_2CH=CH_2$), 2.48 (s, 4H, N(CH_2CH_2)₂NH), 2.25 (s, 3H, NCH₃), 1.32 (d, 6H, J = 6.00 Hz, $CH(CH_3)_2$) ppm. ^{13}C NMR (75MHz, DMSO- d_6): δ = 181.6, 163.2, 158.3, 155.5, 153.7, 151.1, 147.6, 135.8, 127.5, 124.4, 118.9, 116.4, 114.5, 113.9, 111.4, 109.2, 101.8, 75.2, 51.8, 51.3, 49.3, 48.7, 46.6, 27.7, 22.1, 21.8 ppm. IR (KBr) ν 3128, 1647, 1605, 1582, 1514, 1480, 1400, 1224, 1108, 1007, 823, 546 cm^{-1} .

实施例 15 所述化合物的前十步中间体的制备,可参考实施例 1 和实施例 11 中所描述的方法和路线制备得到。

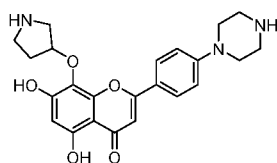


实施例 15: 化合物 **L15**

m.p.165~170 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $C_{26}H_{33}N_3O_5$ 468.2454, found 468.2496. 1H NMR (300MHz, $DMSO-d_6$): δ = 13.5 (s, 1H, 5-OH), 7.86 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.86 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.60 (s, 1H, CHCO), 4.46 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 3.87 (s, 2H, $CH_2N(CH_3)_2$), 3.60 (s, 4H, Ar- $N(CH_2)_2$), 2.82 (s, 2H, $NHCH_2$), 2.77 (s, 2H, $NHCH_2$), 2.56 (s, 6H, $CH_2N(CH_3)_2$), 1.91 (m, 2H, $NCH_2CH_2CH_2NH$), 1.27 (d, 6H, J = 6.00 Hz, $CH(CH_3)_2$) ppm. ^{13}C NMR (75MHz, $DMSO-d_6$): δ = 181.5, 163.1, 153.8, 153.1, 149.2, 133.3, 130.5, 127.6, 127.3, 127.1, 119.5, 114.0, 102.9, 101.1, 99.8, 73.5, 53.6, 52.3, 51.8, 50.6, 48.2, 47.0, 45.6, 28.9, 22.5, 22.4 ppm. IR (KBr) ν 3126, 1654, 1577, 1517, 1400, 1112, 859, 545 cm^{-1} .

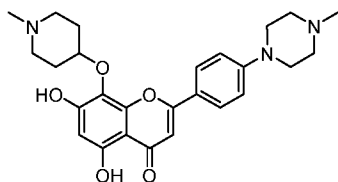
实施例 16-实施例 25 所述化合物的制备,可参考实施例 1 中所描述的方法和路线制备得到。

实施例 16: 化合物 **L16**



m.p.200~205 °C. 1H NMR (300MHz, $DMSO-d_6$): δ = 12.75 (s, 1H, 5-OH), 7.92 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 7.07 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.76 (s, 1H, CHCO), 6.30 (s, 1H, Ar-H), 4.87 (m, 1H, $OCH(CH_2)_2$), 3.42 (m, 4H, $CHCH_2N$ & $CHCH_2CH_2N$), 3.20 (s, 4H, $N(CH_2CH_2)_2NH$), 3.07 (s, 4H, $N(CH_2CH_2)_2NH$), 2.10 (m, 2H, $CHCH_2CH_2N$). ^{13}C NMR (75 MHz, $DMSO-d_6$): 182.0, 163.1, 159.0, 156.0, 151.9, 150.0, 131.6, 129.8, 125.2, 118.8, 116.4, 112.2, 104.7, 103.2, 99.3, 74.3, 48.8 ($2 \times C$), 45.2 ($2 \times C$), 22.3 ($2 \times C$) ppm. IR (KBr) ν 3132, 2970, 1654, 1603, 1512, 1073, 547 cm^{-1} .

实施例 17: 化合物 **L17**



m.p.250~252 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $C_{26}H_{32}N_3O_5$ 466.2338, found 466.2335. 1H NMR (300MHz, $DMSO-d_6$): δ = 12.70 (s, 1H, 5-OH), 7.77 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 3.96 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.52 (s, 1H, CHCO), 6.28 (s, 1H, Ar-H), 4.29 (m, 1H, Ar-OCH), 3.38 (s, 4H, Ar- $N(CH_2CH_2)_2N$), 2.97 (s, 4H, Ar- $N(CH_2CH_2)_2N$), 2.59 (t, 2H, J = 6.00 Hz, CH_2NCH_3), 2.37 (s, 3H, NCH_3), 2.09 (s, 3H, CH_2NCH_3), 2.60 (t, 2H, J = 6.00 Hz, CH_2NCH_3), 1.76 (m, 4H, $OCH(CH_2)_2$) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, $DMSO-d_6$): δ = 182.28, 163.82, 157.90, 157.49, 153.27, 149.77, 127.58, 124.75, 120.52, 114.46, 104.48, 103.04, 99.46, 77.24, 54.69, 52.63, 47.30, 46.11, 45.45, 30.75 ppm. IR (KBr) ν 3441, 2952, 1597,

1496, 1432, 1375, 1328, 1260, 1006, 930, 862, 788, 699 cm^{-1} .

实施例 18: 化合物 L18

m.p. 190~195 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$ 449.1707, found 449.1702. ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 12.78 (s, 1H, 5-OH), 7.81 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 7.34 (s, 1H, Ar-H), 6.72 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.64 (s, 1H, CHCO), 6.38 (s, 1H, Ar-H), 6.26 (m, 2H, Ar-H), 4.98 (s, 2H, $\text{OCH}_2\text{-Ar}$), 3.66 (s, 4H, $\text{Ar-N}(\text{CH}_2)_2$), 3.07 (s, 2H, NHCH_2), 2.86 (s, 2H, NHCH_2), 1.95 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 181.98, 163.60, 157.56, 156.24, 153.42, 151.76, 148.70, 143.74, 127.74, 124.60, 119.72, 112.76, 110.66, 107.52, 104.36, 101.39, 99.30, 66.82, 58.02, 49.24, 48.44, 47.12, 28.96 ppm. IR (KBr) ν 3440, 2927, 1652, 1598, 1499, 1368, 1026, 838, 772, 690, 591 cm^{-1} .

实施例 19: 化合物 L19

m.p. 195~198 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_5$ 449.1780, found 449.1792. ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 12.80 (s, 1H, 5-OH), 11.88 (s, 1H, -NH-N=), 10.84 (s, 1H, 7-OH), 7.63 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 7.00 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.78 (s, 1H, CHCO), 6.31 (s, 1H, Ar-H), 3.41 (s, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NH}$), 2.51 (s, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NH}$), 2.00 (s, 6H, Ar-CH₃) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 181.6, 163.6, 156.6, 156.5, 153.1, 148.5, 138.2, 127.6 (2 $\times$ C), 125.0, 118.8, 113.9 (2 $\times$ C), 103.0, 102.1, 98.9, 54.2 (2 $\times$ C), 46.4 (2 $\times$ C), 9.8 ppm. IR (KBr) ν 3407, 1653, 1587, 1567, 1514, 1375, 1222, 1203, 1107, 1000, 823, 566, 450 cm^{-1} .

实施例 20: 化合物 L20

m.p. 177~180 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_5$ 463.1937, found 463.1972. ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 12.80 (s, 1H, 5-OH), 11.85 (s, 1H, -NH-N=), 7.63 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 7.01 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.78 (s, 1H, CHCO), 6.33 (s, 1H, Ar-H), 3.40 (s, 4H, $\text{Ar-N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}$), 2.44 (s, 4H, $\text{Ar-N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}$), 2.23 (s, 3H, NCH_3), 1.98 (s, 6H, Ar-CH₃) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 181.6, 163.6, 156.6, 156.5, 153.1, 148.5, 138.2, 127.6 (2 $\times$ C), 125.0, 118.8, 113.9 (2 $\times$ C), 103.0, 102.1, 98.9, 54.2 (2 $\times$ C), 46.4 (2 $\times$ C), 9.8 (2 $\times$ C) ppm. IR (KBr) ν 3419, 1654, 1587, 1567, 1383, 1236, 1221, 1106, 1001, 882, 566, 453 cm^{-1} .

实施例 21: 化合物 L21

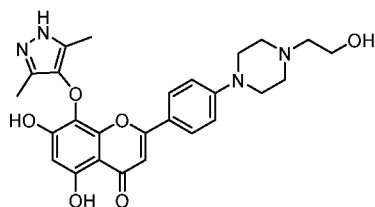
m.p. 200~202 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_6$ 451.1573, found 451.1596. ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 12.70 (s, 1H, 5-OH), 10.97 (s, 1H, 7-OH), 7.88 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 7.07 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.64 (s, 1H, CHCO), 6.51 (s, 1H, Ar-H), 5.94 (s, 1H, -NH-CH=C), 4.52 (s, 1H, -NH-CH=C), 3.33 (s, 4H, $\text{Ar-N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}$), 2.44 (s, 4H, $\text{Ar-N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}$), 2.22 (s, 3H, NCH_3) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 182.1, 165.9, 163.6, 159.0, 150.3, 147.7, 131.0, 128.8, 127.3 (2 $\times$ C), 121.7, 111.7 (2 $\times$ C), 104.5, 103.7, 99.0, 57.2 (2 $\times$ C), 52.0 (2 $\times$ C), 46.6 ppm. IR (KBr) ν 3415, 2972, 1652, 1587, 1514, 1379, 1235, 1203, 1051, 1004, 827, 664, 559 cm^{-1} .

实施例 22: 化合物 L22

m.p. 178~180 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ 467.1344, found 467.1362. ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 12.99 (s, 1H, 5-OH), 10.70 (s, 1H, 7-OH), 7.93 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 7.12 (d, 2H, J = 9.00 Hz, Ar-H), 6.93 (s, 1H, CHCO), 6.74 (s, 1H, Ar-H), 6.61 (m, 3H, Ar-H & NH_2), 3.44 (s, 4H, $\text{Ar-N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}$), 2.59 (s, 4H,

Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 2.32 (s, 3H, NCH₃) ppm. ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): 182.1, 168.9, 163.6, 161.8, 160.8, 152.7, 137.7, 130.5, 126.9, 127.3 (2 × C), 111.7 (2 × C), 108.0, 104.5, 104.0, 99.3, 57.2 (2 × C), 52.0 (2 × C), 46.6 ppm. IR (KBr) ν 3392, 1655, 1601, 1512, 1356, 1209, 1109, 825, 701, 467 cm⁻¹.

实施例 23: 化合物 L23



m.p. 164~168 °C. HRMS (ESI), [M + H]⁺ calculated for C₂₆H₂₈N₄O₆ 493.2042, found 493.2083. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 12.80 (s, 1H, 5-OH), 11.92 (s, 1H, -NH-N=), 10.93 (s, 1H, 7-OH), 7.63 (d, 2H, *J* = 9.00 Hz, Ar-H), 7.00 (d, 2H, *J* = 9.00 Hz, Ar-H), 6.78 (s, 1H, CHCO), 6.30 (s, 1H, Ar-H), 4.50 (s, 1H, NCH₂CH₂OH), 3.54 (m, 2H, NCH₂CH₂OH), 3.33 (s, 4H, Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 2.55 (s, 4H, Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 2.44 (t, 2H, *J* = 6.00 Hz, NCH₂CH₂OH), 1.97 (s, 6H, Ar-CH₃) ppm. ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): 181.6, 163.7, 156.6, 156.5, 153.1, 148.5, 138.0, 127.6 (2 × C), 125.0, 118.7, 113.7 (2 × C), 103.0, 101.9, 98.9, 60.1, 58.5, 52.8 (2 × C), 48.6, 46.5 (2 × C), 10.1 (2 × C) ppm. IR (KBr) ν 3412, 2914, 1654, 1584, 1513, 1370, 1223, 1203, 1106, 1000, 824, 562 cm⁻¹.

实施例 24: 化合物 L24

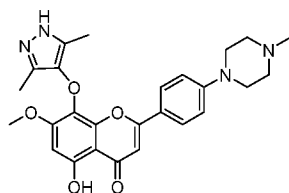
m.p. 250~258 °C. HRMS (ESI), [M + H]⁺ calculated for C₂₉H₂₇N₅O₅ 526.2012, found 526.2083. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 12.80 (s, 1H, 5-OH), 11.91 (s, 1H, -NH-N=), 10.95 (s, 1H, 7-OH), 8.15 (m, 1H, Ar-H), 7.66 (d, 2H, *J* = 9.00 Hz, Ar-H), 7.57 (m, 1H, Ar-H), 7.06 (d, 2H, *J* = 9.00 Hz, Ar-H), 6.89 (m, 1H, Ar-H), 6.80 (s, 1H, CHCO), 6.68 (m, 1H, Ar-H), 6.32 (s, 1H, Ar-H), 3.66 (s, 4H, Ph-N(CH₂CH₂)₂N), 3.48 (s, 4H, Ph-N(CH₂CH₂)₂N), 1.99 (s, 6H, Ar-CH₃) ppm. ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): 181.6, 163.7, 158.7, 156.5 (2 × C), 153.0, 148.5, 147.6, 137.9, 137.6, 127.7 (2 × C), 124.9, 118.9, 113.8, 113.2, 107.2, 103.1, 102.0, 98.8, 46.2 (2 × C), 44.1 (2 × C), 8.4 (2 × C) ppm. IR (KBr) ν 3411, 3167, 2360, 1652, 1584, 1563, 1508, 1434, 1354, 1227, 1202, 1103, 998, 953, 844, 818, 773 cm⁻¹.

实施例 25: 化合物 L25

m.p. 200~202 °C. HRMS (ESI), [M + H]⁺ calculated for C₂₉H₂₆N₄O₇ 543.1835, found 543.1861. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 12.79 (s, 1H, 5-OH), 11.92 (s, 1H, -NH-N=), 10.96 (s, 1H, 7-OH), 7.88 (s, 1H, Ar-H), 7.65 (d, 2H, *J* = 9.00 Hz, Ar-H), 7.04 (m, 3H, Ar-H), 6.80 (s, 1H, CHCO), 6.66 (m, 1H, Ar-H), 6.31 (s, 1H, Ar-H), 3.82 (s, 4H, Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 3.47 (s, 4H, Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 1.98 (s, 6H, Ar-CH₃) ppm. ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): 181.6, 163.6, 158.3, 156.6, 156.5, 152.7, 148.5, 146.9, 144.9, 137.9, 127.7 (2 × C), 124.9, 119.1, 119.0, 115.9, 114.0, 113.8, 111.4, 103.1, 102.1, 98.9, 59.9 (2 × C), 46.5 (2 × C), 10.0 (2 × C) ppm. IR (KBr) ν 3392, 3163, 2923, 1581, 1515, 1433, 1368, 1279, 1227, 1103, 1012, 825, 755, 559 cm⁻¹.

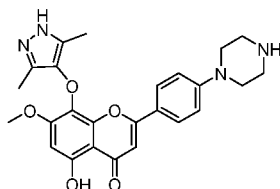
实施例 26-实施例 27 所述化合物的制备, 可参考实施例 1 和实施例 11 中所描述的方法和路线制备得到。

实施例 26: 化合物 L26



m.p.200~203 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $C_{26}H_{28}N_4O_5$ 477.2093, found 477.2124. 1H NMR (300MHz, $DMSO-d_6$): δ = 12.94 (s, 1H, 5-OH), 11.90 (s, 1H, -NH-N=), 7.72 (d, 2H, J = 8.60 Hz, Ar-H), 7.04 (d, 2H, J = 8.60 Hz, Ar-H), 6.86 (s, 1H, CHCO), 6.61 (s, 1H, Ar-H), 3.88 (s, 3H, ArOCH₃), 3.40 (s, 4H, Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 2.60 (s, 4H, Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 2.35 (s, 3H, NCH₃), 1.96 (s, 6H, Ar-CH₃) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, $DMSO-d_6$): 182.3, 172.5, 164.4, 158.2, 157.5, 148.3, 138.3, 137.0, 128.7, 128.2, 126.1, 123.5, 114.5, 104.0, 102.5, 96.4, 57.1, 54.2 ($2 \times C$), 46.4 ($2 \times C$), 9.1 ($2 \times C$) ppm. IR (KBr) ν 3425, 2936, 1656, 1600, 1514, 1432, 1375, 1339, 1223, 1206, 1126, 999, 816, 661, 567 cm^{-1} .

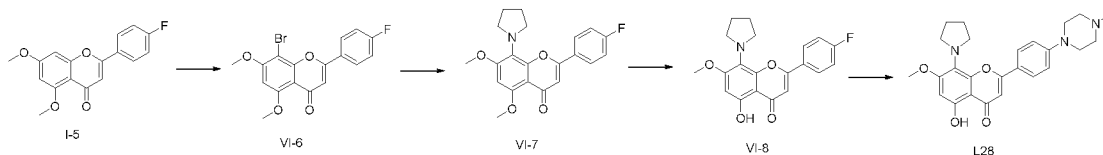
实施例 27: 化合物 L27



m.p.210~212 °C. HRMS (ESI), $[M + H]^+$ calculated for $C_{25}H_{26}N_4O_5$ 463.1937, found 463.1973. 1H NMR (300MHz, $DMSO-d_6$): δ = 12.94 (s, 1H, 5-OH), 11.89 (s, 1H, -NH-N=), 7.72 (d, 2H, J = 8.60 Hz, Ar-H), 7.02 (d, 2H, J = 8.60 Hz, Ar-H), 6.85 (s, 1H, CHCO), 6.61 (s, 1H, Ar-H), 3.88 (s, 3H, ArOCH₃), 3.32 (s, 4H, Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 2.90 (s, 2H, Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 2.71 (s, 2H, Ar-N(CH₂CH₂)₂N), 1.95 (s, 6H, Ar-CH₃) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, $DMSO-d_6$): 181.8, 163.8, 157.7, 157.0, 147.8, 137.8, 127.9, 127.7 ($2 \times C$), 125.6, 118.9, 114.0, 103.5, 102.0, 95.9, 56.5, 46.1, 45.5, 45.4, 44.1, 9.5 ($2 \times C$) ppm. IR (KBr) ν 3410, 2923, 1655, 1598, 1513, 1373, 1224, 1205, 1124, 999, 825, 567 cm^{-1} .

实施例 28-实施例 40 所述化合物的前四步中间体的制备, 可参考实施例 1 中所描述的方法和路线制备得到。

实施例 28: 化合物 L28



第五步: 中间体 VI-6 的制备

将中间体 I-5 (15 g, 50 mmol) 加入到 75 mL 无水 DMF, 冰浴至 0 °C, 搅拌溶解, 再加入 NBS (8.93 g, 50 mmol), 缓慢升温至室温继续反应 2 h, TLC 检测 (V_{石油醚}: V_{乙酸乙酯} = 1:2) 反应完全, 抽滤, 滤饼用 10 mL 甲醇洗涤。取出滤饼用 20 mL 甲醇打浆, 抽滤, 滤饼干燥至恒重的白色固体 15.36 g, 收率 80%。

第六步: 中间体 VI-7 的制备

将中间体 VI-6 (2 g, 4.26 mmol)、吡咯烷 (8.72 mmol)、CsCO₃ (2.84 g, 8.72 mmol)、(Pd)₂(dba)₃ (120 mg, 0.13 mmol) 和 rac-BINAP (244 mg, 0.39 mmol) 加入 50 mL 甲苯中, 在 N₂ 保护下回流 36 h。TLC 检测 (V_{乙酸乙酯}: V_{二氯甲烷} = 20:1) 反应完全, 缓慢冷却至室

温，减压蒸馏得到深棕色粘稠固体。固体用 20ml 二氯甲烷分散，用甲磺酸水溶液调至 pH = 4 - 5，静置，分液得水层。水层用 NaHCO₃ 水溶液调至 pH = 8 - 9，用 20 mL 二氯甲烷萃取，二氯甲烷层用无水 Na₂SO₄ 干燥，抽滤，滤液减压蒸馏得到黄棕色固体，干燥至恒重得黄棕色固体 218 mg，收率 10.73%。

第七步：中间体 **VI-8** 的制备

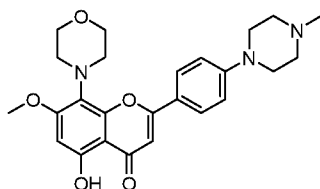
将中间体 **VI-7** (218 mg, 0.57 mmol) 溶于 2 mL 二氯甲烷中，冰浴降至 0 °C 以下。在 N₂ 保护下加入三溴化硼 (0.27 mL, 2.85 mmol)，撤去冰浴，缓慢升至室温反应 1 h。TLC 检测 (V_{二氯甲烷}: V_{甲醇} = 15 : 1) 反应完全。在冰浴条件下缓慢滴加 10 mL 甲醇淬灭反应，减压蒸馏得棕色粗品。粗品用 10 mL 二氯甲烷溶解，用 NaHCO₃ 水溶液调至 pH = 8 - 9，静置分液，二氯甲烷层用 10 mL 饱和 NaCl 水溶液洗涤，无水 Na₂SO₄ 干燥，抽滤，滤液减压蒸馏，得淡黄色固体 183 mg，收率 86.8%；HRMS (ESI), [M+H]⁺ calculated for C₂₀H₂₀FN₂O₄ 371.1407, found 371.1397; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ(ppm): 8.23(q, *J* = 6.00 Hz, 2H, Ar-H), 7.48 (t, *J* = 9.00 Hz, 2H, Ar-H), 7.03 (s, 1H, Ar-H), 6.55 (s, 1H, Ar-H), 3.91 (s, 3H, -OCH₃), 3.02 (m, 8H, -CH₂-).

第八步：化合物 **L28** 的制备

将中间体 **VI-8** (174 mg, 0.49 mmol), 1-甲基哌嗪 (490 mg, 4.9 mmol), DIPEA (632 mg, 4.9 mmol) 溶于 2 mL DMSO 中，升温至 120-130 °C 反应 1.5 h。TLC 检测 (V_{二氯甲烷}: V_{甲醇} = 10: 1) 反应完全。冷却至室温，缓慢滴加 10 mL H₂O 淬灭反应，用二氯甲烷萃取，二氯甲烷层用 10 mL 饱和食盐水洗涤，无水 Na₂SO₄ 干燥，抽滤，滤液减压蒸馏，过柱纯化的淡黄色固体 163 mg，收率 73.9%；HRMS (ESI), [M+H]⁺ calculated for C₂₅H₃₀N₃O₄ 436.2236, found 436.2243; 76.5%; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ(ppm): 13.10 (d, 1H, Ar-OH), 7.91 (q, *J* = 6.00 Hz, 2H, Ar-H), 7.08(t, *J* = 9.00 Hz, 2H, Ar-H), 6.80 (t, *J* = 12.00 Hz, 1H, Ar-H), 6.44 (d, *J* = 42.00 Hz, 1H, Ar-H), 3.88 (s, 3H, -OCH₃), 3.35 (m, 8H, -N-CH₂-), 3.21(s, 2H, -CH₂-), 2.50 (d, 4H, -CH₂-), 2.25 (s, 3H, -CH₃), 1.97 (s, 2H, -CH₂-).

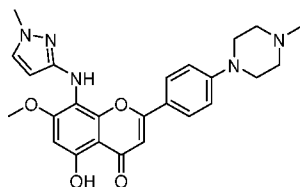
实施例 29-实施例 40 所述化合物的制备，可参考实施例 28 中所描述的方法和路线制备得到。

实施例 29：化合物 **L29**



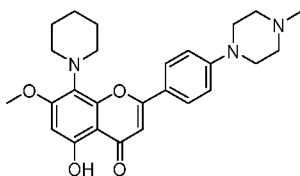
HRMS (ESI), [M+H]⁺ calculated for C₂₅H₃₀N₃O₅ 452.2185, found 452.2196; ¹H NMR (300 MHz, chloroform-*d*) δ(ppm): 13.02 (s, 1H, Ar-OH), 7.93 (d, *J* = 6.00 Hz, 2H, Ar-H), 7.03 (d, *J* = 9.00 Hz, 2H, Ar-H), 6.58 (s, 1H, Ar-H), 6.40 (s, 1H, Ar-H), 3.92 (s, 3H, O-CH₃), 3.89 (t, *J* = 3.00 Hz, 4H, -O-CH₂-), 3.50 (t, *J* = 6.00 Hz, 4H, -N-CH₂-), 3.20 (t, *J* = 9.00 Hz, 4H, -N-CH₂-), 2.70 (t, *J* = 6.00 Hz, 4H, -N-CH₂-), 2.47 (s, 3H, -CH₃).

实施例 30：化合物 **L30**



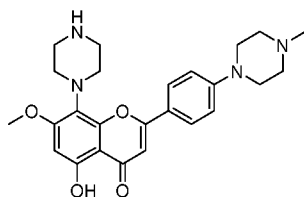
HRMS (ESI), $[M+H]^+$ calculated for $C_{25}H_{28}N_5O_4$ 462.2141, found 462.2158; 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 7.53 (d, $J = 9.00$ Hz, 2H, Ar-H), 7.35 (s, 1H, N-CH=), 6.90 (d, $J = 9.00$ Hz, 2H, Ar-H), 6.69 (s, 1H, Ar-H), 6.54 (s, 1H, -C-CH=), 5.48 (d, $J = 3.00$ Hz, 1H, Ar-H), 3.85 (s, 3H, -N-CH₃), 3.53 (s, 3H, -OCH₃), 3.29 (m, 4H, -CH₂-), 2.51 (m, 4H, -CH₂-), 2.21 (s, 3H, -CH₃).

实施例 31: 化合物 **L31**



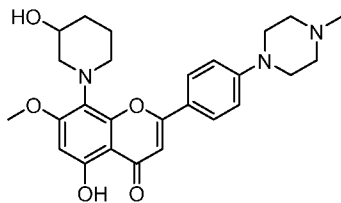
HRMS (ESI), $[M+H]^+$ calculated for $C_{26}H_{32}N_3O_4$ 450.2393, found 450.2392; 1H NMR (300 MHz, MeOH- d) δ (ppm): 7.85 (d, $J = 9.00$ Hz, 2H, Ar-H), 6.98 (d, $J = 9.00$ Hz, 2H, Ar-H), 6.47 (s, 1H, Ar-H), 6.36 (s, 1H, Ar-H), 3.85 (s, 3H, -OCH₃), 3.32 (s, 4H, -N-CH₂-), 3.25 (d, $J = 3.00$ Hz, 4H, -N-CH₂-), 3.00 (s, 4H, -N-CH₂-), 2.54 (d, $J = 3.00$ Hz, 4H, -N-CH₂-), 2.30 (s, 3H, -NCH₃).

实施例 32: 化合物 **L32**



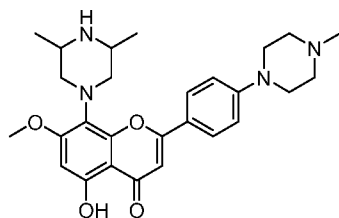
HRMS (ESI), $[M+H]^+$ calculated for $C_{25}H_{31}N_4O_4$ 451.2345, found 451.2330; 1H NMR (300 MHz, chloroform- d) δ (ppm): 12.99 (s, 1H, Ar-OH), 7.94 (d, $J = 9.00$ Hz, 2H, Ar-H), 7.02 (d, $J = 9.00$ Hz, 2H, Ar-H), 6.95 (s, 1H, Ar-H), 6.37 (s, 1H, Ar-H), 3.90 (s, 3H, -OCH₃), 3.45 (s, 4H, -N-CH₂-), 3.10 (s, 4H, -N-CH₂-), 2.66 (s, 4H, -N-CH₂-), 2.43 (s, 3H, -N-CH₃), 1.71 (m, 6H, -CH₂-).

实施例 34: 化合物 **L34**



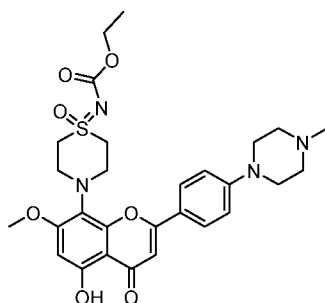
HRMS (ESI), $[M+H]^+$ calculated for $C_{21}H_{21}FNO_5$ 386.1404, found 386.1418; 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 12.88 (s, 1H, Ar-OH), 8.21 (q, $J = 6.00$ Hz, 2H, Ar-H), 7.49 (t, $J = 9.00$ Hz, 2H, Ar-H), 7.02 (s, 1H, Ar-H), 6.55 (s, 1H, Ar-H), 4.67 (s, 1H, -C-OH), 3.90 (s, 3H, -OCH₃), 3.71 (m, 1H, -CH-), 2.92 (m, 4H, -CH₂-), 1.71 (m, 4H, -CH₂-).

实施例 35: 化合物 **L35**



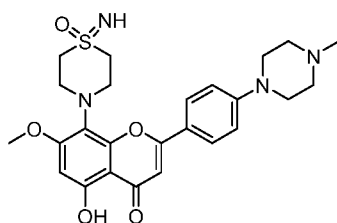
HRMS (ESI), $[M+H]^+$ calculated for $C_{22}H_{24}FN_2O_4$ 399.1720, found 399.1731; 1H NMR (300 MHz, chloroform-*d*) δ (ppm): 12.80 (s, 1H, Ar-OH), 8.02(t, $J = 6.00$ Hz, 2H, Ar-H), 7.25 (d, $J = 9.00$ Hz, 2H, Ar-H), 6.63 (s, 1H, Ar-H), 6.40 (s, 1H, Ar-H), 3.91 (s, 3H, -OCH₃), 3.05 (m, 4H, -CH₂-), 2.85(m, 2H, -CH-), 1.12 (d, $J = 6.00$ Hz, 6H, -CH₃), 0.89 (d, $J = 9.00$ Hz, 1H, -NH-).

实施例 36: 化合物 **L36**



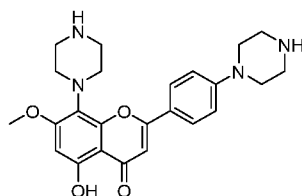
HRMS (ESI), $[M+H]^+$ calculated for $C_{23}H_{24}FN_2O_7S$ 491.1288, found 491.1293; 1H NMR (300 MHz, chloroform-*d*) δ (ppm): 12.87 (s, 1H, Ar-OH), 7.94(d, $J = 6.00$ Hz, 2H, Ar-H), 7.34 (d, $J = 9.00$ Hz, 2H, Ar-H), 6.65 (s, 1H, Ar-H), 6.43 (s, 1H, Ar-H), 4.19 (m, 2H, -OCH₂CH₃), 3.96 (s, 3H, -OCH₃), 3.50 (m, 8H, -CH₂-), 1.37(t, $J = 9.00$ Hz, 3H, -CH₃).

实施例 37: 化合物 **L37**



HRMS (ESI), $[M+H]^+$ calculated for $C_{20}H_{20}FN_2O_5S$ 419.1077, found 419.1091; 1H NMR (300 MHz, chloroform-*d*) δ (ppm): 12.85 (s, 1H, Ar-OH), 7.97(q, $J = 3.00$ Hz, 2H, Ar-H), 7.29 (d, $J = 18.00$ Hz, 2H, Ar-H), 6.64 (s, 1H, Ar-H), 6.43 (s, 1H, Ar-H), 3.95 (s, 3H, -OCH₃), 3.65 (t, $J = 9.00$ Hz, 4H, -CH₂-), 3.28(d, $J = 6.00$ Hz, 4H, -CH₂-).

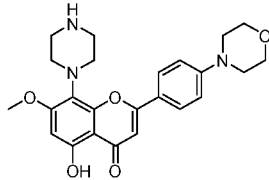
实施例 38: 化合物 **L38**



HRMS (ESI), $[M+H]^+$ calculated for $C_{24}H_{29}N_4O_4$ 437.2189, found 437.2154; 1H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 7.96 (d, $J = 12.00$ Hz, 2H, Ar-H), 7.08 (d, $J = 9.00$ Hz, 2H,

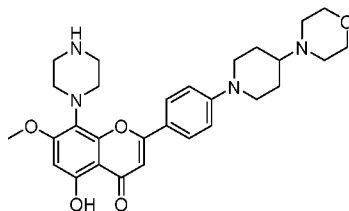
Ar-H), 6.72 (s, 1H, Ar-H), 6.47 (s, 1H, Ar-H), 3.88 (s, 3H, -OCH₃), 3.75 (s, 8H, -CH₂-), 3.86 (d, $J = 18.00$ Hz, 8H, -CH₂-).

实施例 39: 化合物 **L39**



HRMS (ESI), $[M+H]^+$ calculated for C₂₄H₂₈N₃O₅ 438.2029, found 438.2041; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 8.00 (d, $J = 12.00$ Hz, 2H, Ar-H), 7.09 (t, $J = 6.00$ Hz, 2H, Ar-H), 6.77 (s, 1H, Ar-H), 6.48 (s, 1H, Ar-H), 3.87 (s, 3H, -OCH₃), 3.74 (m, 4H, -O-CH₂-), 3.03 (t, $J = 6.00$ Hz, 4H, -N-CH₂-), 2.86 (t, $J = 3.00$ Hz, 4H, -N-CH₂-), 2.51 (s, 4H, -N-CH₂-).

实施例 40: 化合物 **L40**



¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 8.00 (d, $J = 9.00$ Hz, 2H, Ar-H), 7.00 (d, $J = 9.00$ Hz, 3H, Ar-H), 6.79 (s, 1H, Ar-H), 6.49 (s, 1H, Ar-H), 3.89 (s, 3H, -OCH₃), 3.55 (t, $J = 6.00$ Hz, 5H, -N-CH₂-), 3.00 (m, 4H, -N-CH₂-), 2.90 (q, $J = 6.00$ Hz, 8H, -CH₂-), 2.48 (q, $J = 6.00$ Hz, 4H, -CH₂-), 1.85 (d, $J = 12.00$ Hz, 2H, -CH₂-), 1.45 (m, 2H, -CH₂-).

下面是此发明部分化合物的生物药理学实验和结果:

一、本发明部分化合物对癌细胞的生长抑制活性

实验材料:

a. MTT 溶液的配制

将 250 mg MTT, 加入到 50 mL 灭菌后的 1 × PBS (0.01 mol/L pH = 7.4) 中, 避光搅拌 30 min, 用 0.22 μ m 的微孔滤膜过滤, 然后分装于 EP 管中, -20 °C 避光保存。

b. 细胞培养:

细胞株: HepG2、A549、HCT116 和 THP-1

细胞培养材料: DMEM 液体培养基, 1640 液体培养基, 10%胎牛血清, 0.25%胰酶, 1 × PBS

c. 其他:

分析纯 DMSO 溶液, 细胞计数板, 96 孔细胞培养板

实验仪器:

酶联免疫检测仪

实验步骤:

(1) 铺板

接种细胞: 用 0.25%胰酶将细胞消化, 用含 10% FBS 的细胞培养基配成单个细胞悬液。以每孔 $4 \times 10^3 \sim 10^4$ 个细胞接种于 96 孔培养板中, 每孔体积 100 μ L。

培养细胞: 将培养板放入细胞培养箱, 37 °C、5%二氧化碳及饱和湿度条件下, 培养 24 小时。

(2) 加药

显微镜下观察细胞已贴壁且呈正常生长形态,即可进行给药:吸弃培养板中的旧培养液,加入含药物的培养液继续在细胞培养箱内培养 72 h。

(3) 呈色

培养 72h 后,每孔加入 20 μ LMTT 溶液 (5 mg/mL), 37 $^{\circ}$ C 继续孵育 4 h, 去除上清液,每孔加入 150 μ L DMSO, 震荡 10 min, 使甲瓚充分溶解。

(4) 比色

492 nm 波长,在酶联免疫检测仪上测定各孔光吸收值,记录实验结果。

(5) 实验结果分析

实验结果如下表所示。

表 1 本发明部分化合物对癌细胞的生长抑制活性

化合物序号	细胞生长抑制活性(IC ₅₀ : μ M)			
	HepG2	A549	HCT-116	THP-1
L1	>100	>100	67.4	24.5
L2	10.0	7.8	5.3	4.9
L3	25.5	28.3	17.7	17.2
L4	17.8	12.0	13.9	17.1
L5	6.6	13.1	15.5	19.9
L6	24.5	21.5	16.8	10.7
L7	18.0	5.5	3.4	6.1
L8	14.7	9.6	7.1	9.3
L9	15.3	9.7	8.5	7.0
L10	23.2	22.2	19.8	18.6
L11	8.5	2.0	3.6	4.5
L12	17.7	4.1	12.8	6.3
L13	5.0	1.35	3.8	5.5
L14	67.3	41.2	39.9	33.8
L15	41.6	20.1	27.2	29.0
L16	>100	23.3	35.5	28.4
L17	6.6	7.1	4.2	10.1
L18	20.8	7.1	12.3	14.9
L19	8.6	5.1	4.8	4.4
L20	6.3	2.5	3.2	2.2
L21	>100	>100	>100	>100
L22	19.1	22.9	17.6	15.7
L23	>100	>100	17.5	5.2
L24	5.5	1.9	1.2	3.0
L25	13.4	9.9	5.8	4.5
L26	2.7	1.8	0.4	0.8
L27	2.0	0.9	0.4	0.6
L28	10.6	9.6	10.1	17.4
L29	21.1	2.9	3.7	19.0
L30	>100	13.8	10.5	26.9

L31	>100	>100	87.7	51.0
L32	1.8	0.7	0.5	4.4
L33	4.4	1.1	1.2	4.3
L34	>100	>100	5.4	13.7
L35	2.1	1.0	0.8	2.2
L36	73.7	9.8	13.3	>100
L37	18.6	44.3	5.0	18.7
L38	1.5	0.7	0.3	1.6
L39	4.5	1.6	0.5	2.9
L40	3.1	1.4	0.4	2.7
汉黄芩素	17.6	42.3	27.3	31.8

由表 1 可见, 本发明大部分化合物对癌细胞均有较好的抑制活性, 相对于汉黄芩素有很大的提高, 活性较为突出的化合物主要有 L26、L27、L32 和 L38。

二、本发明部分化合物对激酶 CDK9 和 CDK2 的抑制活性

实验原理和实验方法:

CDK9/cyclinT、CDK2/CyclinA 复合物与底物肽 8 mM MOPS、0.2 mM EDTA、10 mM 醋酸镁和 10 μ M γ -[33 P]-ATP 一起孵育。加入 Mg-ATP 混合物后, 室温反应 40 分钟, 加入 3%磷酸溶液中中止反应。将反应液等分点样到 P30 滤垫上, 用 75 mM 磷酸洗涤 3 次, 每次 5 min; 用甲醛洗涤 1 次。然后干燥并闪烁计数。通过在不同浓度的化合物存在的情况下, 在 60 mM 的 HEPES-氢氧化钠 (pH 7.5) 中 3 mM 的氯化镁, 3mM 的氯化锰, 3 μ M 的钠-原钒, 1.2mM DTT, 50 μ g/mL PEG20000 和 1 μ M 的 ATP 中将 CDK9-cyclin T、CDK2-Cyclin A 复合物与重组底物 RBERCHK tide 在 30 $^{\circ}$ C 条件下孵育 2 h。通过使用磷酸化特异性抗体和 western blot 分析检测磷酸化底物。

实验结果如下表所示。

表 2 本发明部分化合物对激酶 CDK9 和 CDK2 的 IC₅₀ 值

化合物序号	酶抑制 IC ₅₀ (nM)		
	CDK9	CDK2	CDK2/ CDK9
L4	428	NA	>100
L5	1450	NA	>100
L7	94	NA	>100
L8	179	NA	>100
L11	705	NA	>100
L12	737	NA	>100
L13	560	NA	>100
L19	1.3	104	80
L20	1.1	83	75
L26	2.0	104	52
L27	3.0	94	31
L32	3.0	1180	390
L38	6.6	2007	30
L39	6.4	592	93
L40	5.2	517	99
汉黄芩素	198	1460	7.4

Flavopiridol	3.5	30	8.6
--------------	-----	----	-----

NA 表示化合物对 CDK2 没有抑制活性。

由表 2 可见, 本发明部分化合物相对汉黄芩素对 CDK9 具有较好的抑制活性, 与 Flavopiridol 相当, 但对 CDK9 的选择性得到了明显的提高。特别是化合物 L26 对 CDK9 的抑制活性与 Flavopiridol 基本相当, 其 IC_{50} 值达到了 3.0nM, 化合物 L32 对 CDK9/CDK2 的选择性是汉黄芩 53 倍, 是 Flavopiridol 的 45 倍。

三、本发明部分化合物对不同 CDKs 的选择性

表 3 本发明部分化合物对不同 CDKs 的选择性

化合物序号	IC_{50} (nM)				
	CDK1	CDK2	CDK4	CDK7	CDK9
L26	432	910	254	56	2
L38	8180	2006	84	2061	6.5
L39	3534	593	257	7367	6.3
L40	3475	516	44	1719	5.1
汉黄芩素	2250	1460	228	1050	198
Flavopiridol	18	30	9	148	3.5

由表 3 可见, 相对于 CDK 家族其他激酶, 本发明部分化合物对 CDK9 具有较好的抑制活性且对 CDK9 的选择性也优于汉黄芩素以及临床 II 期药物 Flavopiridol。

四、本发明部分化合物的类药性参数

表 4 本发明部分化合物的类药性参数

化合物序号	Log D (pH = 7.4)	固有溶解度 ($\mu\text{g/mL}$)	溶解度 (pH = 4.5) ($\mu\text{g/mL}$)
L20	2.2	4.5	111
L24	2.1	2.5	61
L26	2.0	28	1334
L27	1.2	36	4000
汉黄芩素	2.85	3	8

由表 4 可见, 本发明优选化合物 L27 的溶解度较好, 特别是在酸性条件下 (pH = 4.5) 的溶解度相对于其他化合物得到了大幅度的提高在相同条件下其溶解度是汉黄芩素的 500 倍, Log D 值也是处于合理的范围内。

五、我们选取了活性较好的化合物 L26, 对其进行了诱导 MV4-11 细胞凋亡的实验。

实验方法: 将处于对数生长期的 MV4-11 细胞接种于 6 孔板内, 将 L26 化合物配制成不同的浓度梯度并给与细胞, 24 小时后收集细胞, PBS 洗涤一次, 然后加入细胞凋亡染色液, 30 分钟后用流式细胞仪进行检测。

结果如下:

图 1 本发明中化合物 L26 诱导 MV4-11 细胞凋亡实验结果

由图 1 可见, 化合物 L26 能够以浓度依赖性的方式诱导 MV4-11 细胞凋亡, 当化合物 L26 的浓度为 1 μM 时可以使约 40% 的细胞发生凋亡。

六、我们用 WB 的方法对化合物 L26 的抗肿瘤作用机制进行了研究, 我们考察了化合物 L26 对 CDK9 及其下游蛋白表达量的影响。

实验方法: 将处于对数生长期的 MV4-11 细胞接种于 6 孔板内, 并给与不同浓度梯

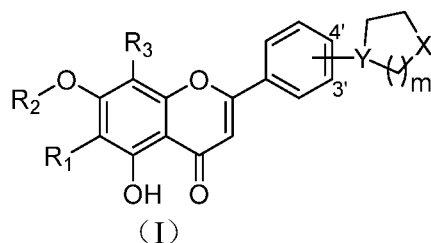
度的化合物 L26, 4 小时后收集细胞, 提取蛋白, 以 DMSO 作为阴性对照, β -actin 作为内参。

结果如下:

由图 2 可见, 化合物 L26 能通过抑制 CDK9 的活性, 使得 2 位 Ser 磷酸化的 RNA 聚合酶 II 的表达量明显减少, 并能使其下游的短促凋亡蛋白 Mcl-1 的表达量呈浓度依赖性的减少, 使 Cleaver caspase 3 的表达量呈浓度依赖性的增加。这表明了化合物 L26 是通过抑制 CDK9 的活性, 使得下游的促凋亡蛋白的表达增加, 进而引起细胞发生凋亡的。

权 利 要 求 书

1、一种如通式 (I) 所示的化合物、其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或前药



其中, 所述 R_1 为氢、 或 ;
 所述 R_2 为氢、甲基或乙基;

所述 R_3 为甲基、乙基、异丙基、、、、
、、、、、、
、、、、、、、
、、、、或 ;

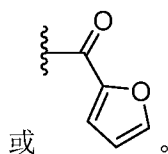
所述 Y 为 N, Y 的位置为所在苯环的 3' 位或 4' 位;

所述 m 为 1、2 或者 3;

所述 X 为 O、 CR^a 或 NR^b ;

所述 R^a 为氢、羟基或 ;

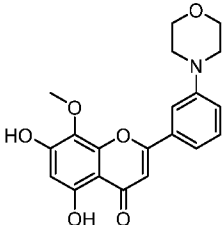
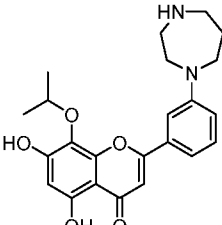
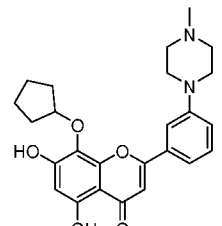
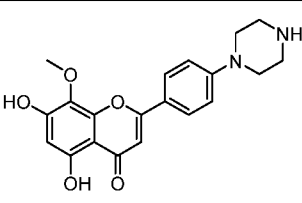
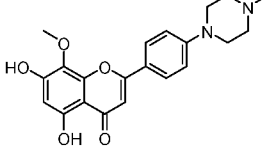
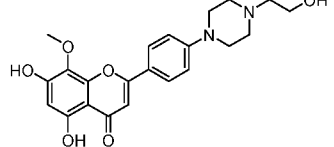
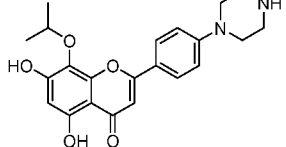
所述 R^b 为氢、甲基、乙基、异丙基、、、、、、



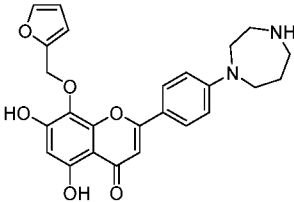
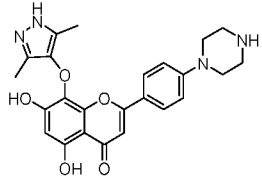
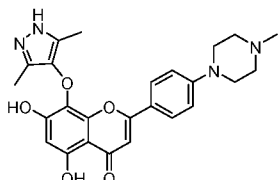
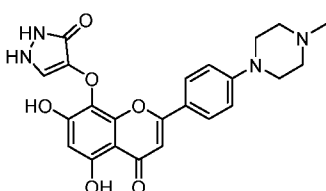
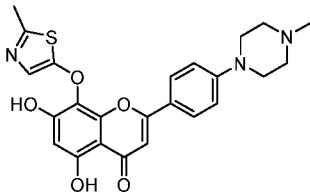
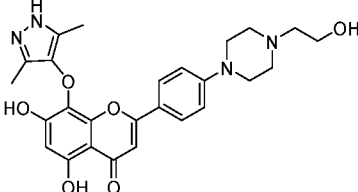
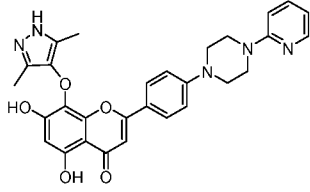
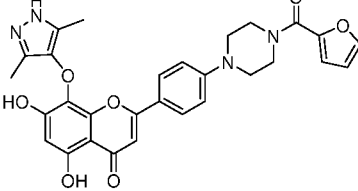
2、根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于药学上可接受的盐是指通式 (I) 的化合物和药学上可接受的酸形成的盐, 包括无机酸盐和有机酸盐; 其中所述的无机酸包括:

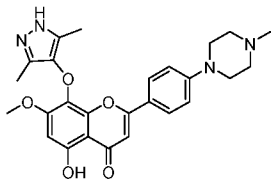
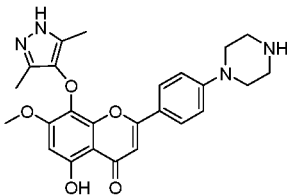
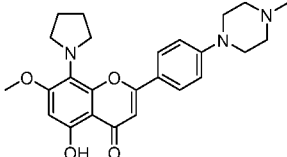
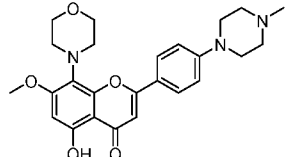
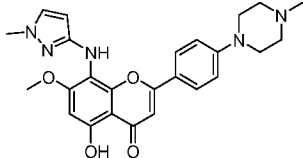
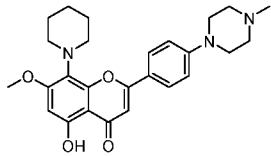
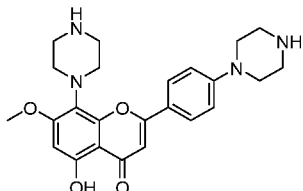
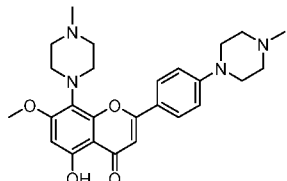
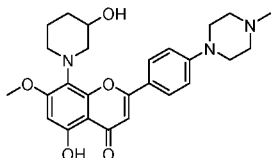
碳酸、碳酸氢根、硫酸、硫酸氢根、磷酸、磷酸一氢根、磷酸二氢根、硝酸、氯化氢、溴化氢或氢碘酸；所述的有机酸包括乙酸、草酸、乳酸、琥珀酸、酒石酸、柠檬酸、甲磺酸、丙酮酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、阿魏酸、马来酸、异丁酸、丙二酸、辛二酸、扁桃酸、反丁烯二酸或氨基酸。

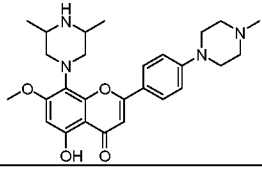
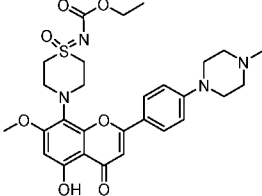
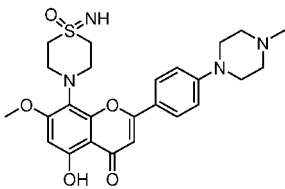
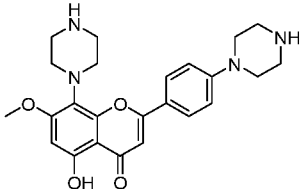
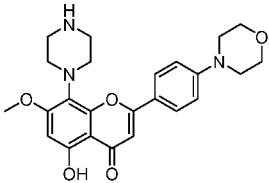
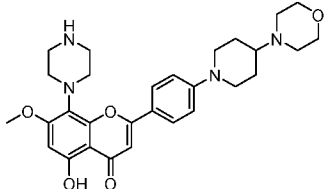
3、根据权利要求 1 或 2 所述的化合物，其特征在于：所述的化合物为如下结构任意一项：

化合物序号	结构式	分子式	分子量
L1		$C_{20}H_{19}NO_6$	369.1212
L2		$C_{23}H_{26}N_2O_5$	410.1842
L3		$C_{25}H_{28}N_2O_5$	436.1998
L4		$C_{20}H_{20}N_2O_5$	368.1373
L5		$C_{21}H_{22}N_2O_5$	382.1529
L6		$C_{22}H_{24}N_2O_6$	412.1634
L7		$C_{22}H_{24}N_2O_5$	396.1685

L8		$C_{23}H_{26}N_2O_5$	410.1842
L9		$C_{23}H_{24}N_2O_6$	424.1634
L10		$C_{26}H_{30}N_2O_5$	450.2155
L11		$C_{23}H_{26}N_2O_5$	410.1842
L12		$C_{24}H_{28}N_2O_5$	424.1998
L13		$C_{24}H_{28}N_2O_5$	424.1998
L14		$C_{26}H_{30}N_2O_5$	450.2155
L15		$C_{26}H_{33}N_3O_5$	467.2420
L16		$C_{23}H_{25}N_3O_5$	423.1794
L17		$C_{26}H_{31}N_3O_5$	465.2264

L18		$C_{25}H_{24}N_2O_6$	448.1634
L19		$C_{24}H_{24}N_4O_5$	448.1747
L20		$C_{25}H_{26}N_4O_5$	462.1903
L21		$C_{23}H_{22}N_4O_6$	450.1539
L22		$C_{24}H_{23}N_3O_5S$	465.1358
L23		$C_{26}H_{28}N_4O_6$	492.2009
L24		$C_{29}H_{27}N_5O_5$	525.2012
L25		$C_{29}H_{26}N_4O_7$	542.1801

L26		$C_{26}H_{28}N_4O_5$	476.2060
L27		$C_{25}H_{26}N_4O_5$	462.1903
L28		$C_{25}H_{29}N_3O_4$	435.2158
L29		$C_{25}H_{29}N_3O_5$	451.2107
L30		$C_{25}H_{27}N_5O_4$	461.2063
L31		$C_{26}H_{31}N_3O_4$	449.2315
L32		$C_{24}H_{28}N_4O_4$	436.2111
L33		$C_{26}H_{32}N_4O_4$	464.2424
L34		$C_{26}H_{31}N_3O_5$	465.2264

L35		$C_{27}H_{34}N_4O_4$	478.2580
L36		$C_{28}H_{34}N_4O_7S$	570.2148
L37		$C_{25}H_{30}N_4O_5S$	498.1937
L38		$C_{24}H_{28}N_4O_4$	436.2111
L39		$C_{24}H_{27}N_3O_5$	437.1951
L40		$C_{29}H_{36}N_4O_5$	520.2686

4、一种药物组合物，其特征在于，权利要求 1-3 任意一种化合物或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或前药，和药学上可接受的辅料。

5、根据权利要求 1-4 任意一项所述的化合物在制备以 CDK9 为靶点的小分子抑制剂药物中的应用。

6、根据权利要求 1-4 任意一项所述的化合物在制备预防或治疗抗病毒药物和抗肿瘤药物中的应用。

7、根据权利要求 6 所述的应用，其特征在于：所述的病毒包括 HIV 病毒、巨细胞病毒、EB 病毒、腺病毒、疱疹、人 T 细胞淋巴细胞病毒、甲型流感病毒和登革热病毒。

8、根据权利要求 6 所述的应用，其特征在于：所述的肿瘤包括神经胶质瘤、白血病、淋巴瘤、肝癌、肌肉癌、乳腺癌、前列腺癌、肺癌、胃肠癌、皮肤癌、卵巢癌和食管癌。

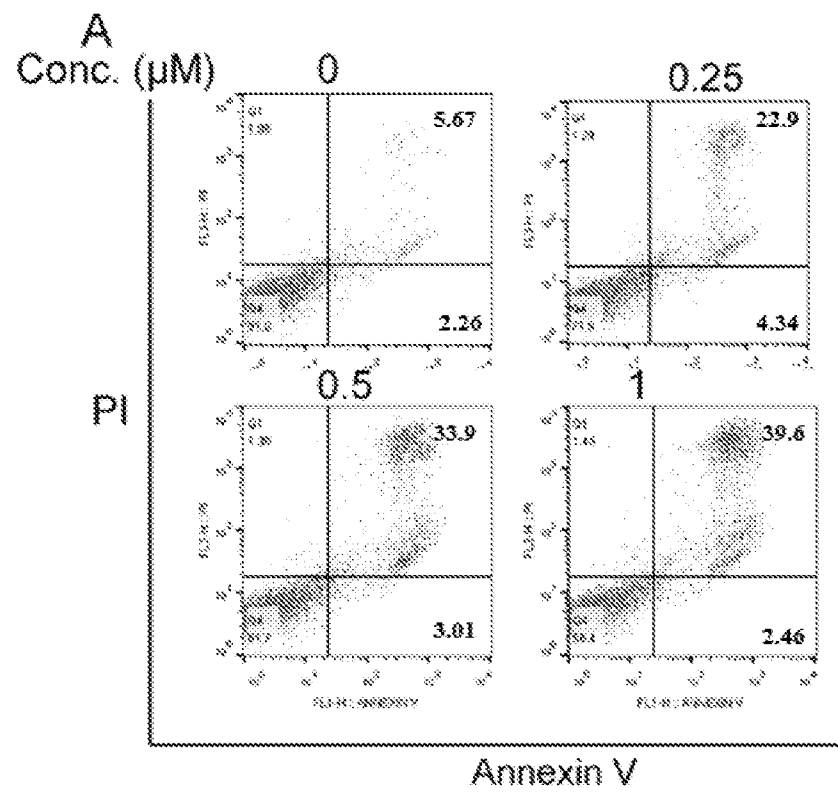


图 1

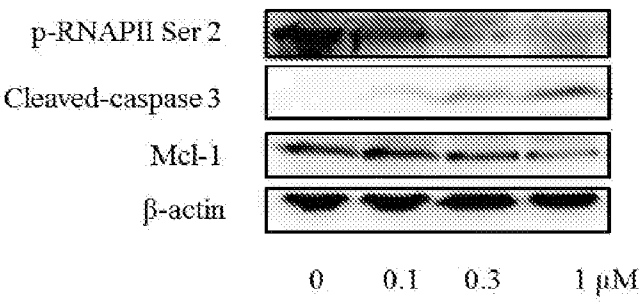


图 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/086917

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 311/30(2006.01)i; C07D 405/12(2006.01)i; C07D 407/12(2006.01)i; C07D 417/12(2006.01)i; C07D 405/14(2006.01)i; C07D 405/04(2006.01)i; A61K 31/5377(2006.01)i; A61K 31/551(2006.01)i; A61K 31/496(2006.01)i; A61K 31/541(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 35/02(2006.01)i; A61P 31/18(2006.01)i; A61P 31/16(2006.01)i; A61P 31/20(2006.01)i; A61P 31/14(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)

C07D311/-; C07D405/-; C07D407/-; C07D417/-; A61K31/-; A61P35/-; A61P31/-

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)

DWPI, SIPOABS, CNABS, CPRSABS, CNKI, REGISTRY, CAPLUS(STN), 中国药科大学, 卞金磊, 李志裕, 赵腾腾, 王举波, 吴体智, 田于成, 苯并吡喃, 黄酮, 细胞周期蛋白依赖性激酶, 汉黄芩素, 弗拉平度, 癌, 肿瘤, 抗病毒, CDK9, benzopyr+, chromene, flavone, wogonin, Flavopiridol, cancer, tumor, antivir+, structural search according to general formula (I)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 1668613 A (NICHOLAS PIRAMAL INDIA LTD.) 14 September 2005 (2005-09-14) description, page 53, compound No. 12, claims 1, 12-20	1-8
PX	CN 110028475 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 19 July 2019 (2019-07-19) claims 1-8	1-8
A	CN 101472888 A (PIRAMAL LIFE SCIENCES LTD.) 01 July 2009 (2009-07-01) entire document	1-8
A	EP 0366061 A1 (HOECHST AG) 02 May 1990 (1990-05-02) entire document	1-8



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“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
 “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)
 “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

“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
 “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
 “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
 “&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 June 2020

Date of mailing of the international search report

15 July 2020

Name and mailing address of the ISA/CN

**China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China**

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/086917

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	1668613	A	14 September 2005	TW	I331034	B	01 October 2010
				EP	1556375	B1	25 June 2008
				CN	1668613	B	04 July 2012
				MX	PA05000388	A	30 September 2005
				AU	2003272070	A1	23 January 2004
				NZ	537518	A	29 February 2008
				WO	2004004632	A8	24 March 2005
				DE	60321808	D1	07 August 2008
				ES	2309338	T3	16 December 2008
				JP	4860148	B2	25 January 2012
				JP	2006502109	A	19 January 2006
				IL	166153	A	18 November 2009
				DK	1556375	T3	03 November 2008
				IL	166153	D0	15 January 2006
				KR	100991920	B1	04 November 2010
				EP	1556375	A2	27 July 2005
				ZA	200500138	B	22 February 2006
				RU	2334746	C2	27 September 2008
				ZA	200500138	A	22 February 2006
				TW	200406202	A	01 May 2004
				WO	2004004632	A2	15 January 2004
				CA	2492130	A1	15 January 2004
				PT	1556375	E	03 October 2008
				AR	041184	A1	04 May 2005
				WO	2004004632	A3	16 September 2004
				KR	20050017110	A	21 February 2005
				AT	399162	T	15 July 2008
				BR	0312633	A	19 July 2005
				AU	2003272070	B2	26 February 2009
				RU	2005102939	A	10 September 2005
				CA	2492130	C	06 September 2011
CN	110028475	A	19 July 2019	None			
CN	101472888	A	01 July 2009	DK	2046738	T3	04 August 2014
				EP	2046738	B1	11 June 2014
				KR	101209397	B1	06 December 2012
				CA	2655789	C	01 April 2014
				JP	5498782	B2	21 May 2014
				CN	101472888	B	26 February 2014
				AU	2006344987	B2	15 November 2012
				US	2010179210	A1	15 July 2010
				ES	2491140	T3	05 September 2014
				WO	2007148158	A1	27 December 2007
				KR	20090023705	A	05 March 2009
				AR	061567	A1	03 September 2008
				JP	2009541294	A	26 November 2009
				EP	2046738	A1	15 April 2009
				NZ	574266	A	28 October 2011
				CA	2655789	A1	27 December 2007
				MX	2008016398	A	21 January 2009
				AU	2006344987	B8	11 July 2013

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/086917

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				TW	I461420	B	21 November 2014
				AU	2006344987	A2	29 January 2009
				US	8563596	B2	22 October 2013
				ZA	200810756	B	29 May 2013
				BR	PI0621777	A2	12 March 2013
				TW	200813030	A	16 March 2008
				IL	195850	D0	01 September 2009
				PT	2046738	E	29 August 2014
				AU	2006344987	A1	27 December 2007
				HK	1126761	A1	22 May 2015
EP	0366061	A1	02 May 1990	IE	69982	B1	16 October 1996
				GR	3018739	T3	30 April 1996
				IE	893481	L	28 April 1990
				CY	2026	A	20 February 1998
				AU	628409	B2	17 September 1992
				DE	3836676	A1	03 May 1990
				AT	133170	T	15 February 1996
				EP	0366061	B1	17 January 1996
				DK	175228	B1	19 July 2004
				JP	H02178225	A	11 July 1990
				AU	4384189	A	03 May 1990
				JP	2879910	B2	05 April 1999
				CA	1336715	C	15 August 1995
				PT	92145	A	30 April 1990
				DK	537289	A	29 April 1990
				PT	92145	B	30 June 1995
				KR	900006325	A	07 May 1990
				ES	2084593	T3	16 May 1996
				HK	1006167	A1	12 February 1999
				DK	537289	D0	27 October 1989

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/086917

A. 主题的分类

C07D 311/30(2006.01)i; C07D 405/12(2006.01)i; C07D 407/12(2006.01)i; C07D 417/12(2006.01)i;
C07D 405/14(2006.01)i; C07D 405/04(2006.01)i; A61K 31/5377(2006.01)i; A61K 31/551(2006.01)i;
A61K 31/496(2006.01)i; A61K 31/541(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 35/02(2006.01)i; A61P
31/18(2006.01)i; A61P 31/16(2006.01)i; A61P 31/20(2006.01)i; A61P 31/14(2006.01)i

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)

C07D311/-; C07D405/-; C07D407/-; C07D417/-; A61K31/-; A61P35/-; 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))

DWPI, SIPOABS, CNABS, CPRSABS, CNKI, REGISTRY, CAPLUS(STN), 中国药科大学, 卞金磊, 李志裕, 赵腾腾, 王举波, 吴体智, 田于成, 苯并吡喃, 黄酮, 细胞周期蛋白依赖性激酶, 汉黄芩素, 弗拉平度, 癌, 肿瘤, 抗病毒, CDK9, benzopyr+, chromene, flavone, wogonin, Flavopiridol, cancer, tumor, antivir+, 根据通式(I)的结构检索

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 1668613 A (尼古拉斯 皮拉马尔印度有限公司) 2005年 9月 14日 (2005 - 09 - 14) 说明书第53页化合物No. 12, 权利要求1、12-20	1-8
PX	CN 110028475 A (中国药科大学) 2019年 7月 19日 (2019 - 07 - 19) 权利要求1-8	1-8
A	CN 101472888 A (皮拉玛生命科学有限公司) 2009年 7月 1日 (2009 - 07 - 01) 全文	1-8
A	EP 0366061 A1 (HOECHST AG) 1990年 5月 2日 (1990 - 05 - 02) 全文	1-8

☐ 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

2020年 6月 29日

国际检索报告邮寄日期

2020年 7月 15日

ISA/CN的名称和邮寄地址

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

传真号 (86-10)62019451

授权官员

徐永幸

电话号码 010-62084366

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/086917

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	1668613	A	2005年 9月 14日	TW	1331034	B	2010年 10月 1日
				EP	1556375	B1	2008年 6月 25日
				CN	1668613	B	2012年 7月 4日
				MX	PA05000388	A	2005年 9月 30日
				AU	2003272070	A1	2004年 1月 23日
				NZ	537518	A	2008年 2月 29日
				WO	2004004632	A8	2005年 3月 24日
				DE	60321808	D1	2008年 8月 7日
				ES	2309338	T3	2008年 12月 16日
				JP	4860148	B2	2012年 1月 25日
				JP	2006502109	A	2006年 1月 19日
				IL	166153	A	2009年 11月 18日
				DK	1556375	T3	2008年 11月 3日
				IL	166153	D0	2006年 1月 15日
				KR	100991920	B1	2010年 11月 4日
				EP	1556375	A2	2005年 7月 27日
				ZA	200500138	B	2006年 2月 22日
				RU	2334746	C2	2008年 9月 27日
				ZA	200500138	A	2006年 2月 22日
				TW	200406202	A	2004年 5月 1日
				WO	2004004632	A2	2004年 1月 15日
				CA	2492130	A1	2004年 1月 15日
				PT	1556375	E	2008年 10月 3日
				AR	041184	A1	2005年 5月 4日
				WO	2004004632	A3	2004年 9月 16日
				KR	20050017110	A	2005年 2月 21日
				AT	399162	T	2008年 7月 15日
				BR	0312633	A	2005年 7月 19日
				AU	2003272070	B2	2009年 2月 26日
				RU	2005102939	A	2005年 9月 10日
				CA	2492130	C	2011年 9月 6日
CN	110028475	A	2019年 7月 19日	无			
CN	101472888	A	2009年 7月 1日	DK	2046738	T3	2014年 8月 4日
				EP	2046738	B1	2014年 6月 11日
				KR	101209397	B1	2012年 12月 6日
				CA	2655789	C	2014年 4月 1日
				JP	5498782	B2	2014年 5月 21日
				CN	101472888	B	2014年 2月 26日
				AU	2006344987	B2	2012年 11月 15日
				US	2010179210	A1	2010年 7月 15日
				ES	2491140	T3	2014年 9月 5日
				WO	2007148158	A1	2007年 12月 27日
				KR	20090023705	A	2009年 3月 5日
				AR	061567	A1	2008年 9月 3日
				JP	2009541294	A	2009年 11月 26日
				EP	2046738	A1	2009年 4月 15日
				NZ	574266	A	2011年 10月 28日
				CA	2655789	A1	2007年 12月 27日
				MX	2008016398	A	2009年 1月 21日
				AU	2006344987	B8	2013年 7月 11日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/086917

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)
				TW	I461420	B	2014年 11月 21日
				AU	2006344987	A2	2009年 1月 29日
				US	8563596	B2	2013年 10月 22日
				ZA	200810756	B	2013年 5月 29日
				BR	PI0621777	A2	2013年 3月 12日
				TW	200813030	A	2008年 3月 16日
				IL	195850	D0	2009年 9月 1日
				PT	2046738	E	2014年 8月 29日
				AU	2006344987	A1	2007年 12月 27日
				HK	1126761	A1	2015年 5月 22日
EP	0366061	A1	1990年 5月 2日	IE	69982	B1	1996年 10月 16日
				GR	3018739	T3	1996年 4月 30日
				IE	893481	L	1990年 4月 28日
				CY	2026	A	1998年 2月 20日
				AU	628409	B2	1992年 9月 17日
				DE	3836676	A1	1990年 5月 3日
				AT	133170	T	1996年 2月 15日
				EP	0366061	B1	1996年 1月 17日
				DK	175228	B1	2004年 7月 19日
				JP	H02178225	A	1990年 7月 11日
				AU	4384189	A	1990年 5月 3日
				JP	2879910	B2	1999年 4月 5日
				CA	1336715	C	1995年 8月 15日
				PT	92145	A	1990年 4月 30日
				DK	537289	A	1990年 4月 29日
				PT	92145	B	1995年 6月 30日
				KR	900006325	A	1990年 5月 7日
				ES	2084593	T3	1996年 5月 16日
				HK	1006167	A1	1999年 2月 12日
				DK	537289	D0	1989年 10月 27日