



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103108880 B

(45)授权公告日 2016.08.03

(21)申请号 201180030556.X

A61K 31/00(2006.01)

(22)申请日 2011.04.15

(56)对比文件

(30)优先权数据

1006762.7 2010.04.22 GB

WO 2008017855 A1, 2008.02.14,

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2012.12.20

Anna F. A. Peacock等, .Chloro Half-Sandwich Osmium(II) Complexes: Influence of Chelated N,N-Ligands on Hydrolysis, Guanine Binding, and Cytotoxicity.《Inorg. Chem.》.2007,第4049-4059页.

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/GB2011/000591 2011.04.15

Anna F. A. Peacock等, .Chloro Half-Sandwich Osmium(II) Complexes: Influence of Chelated N,N-Ligands on Hydrolysis, Guanine Binding, and Cytotoxicity.《Inorg. Chem.》.2007,第4049-4059页.

(87)PCT国际申请的公布数据

W02011/131925 EN 2011.10.27

(73)专利权人 华威大学

地址 英国考文垂

Wolfgang F. Schmid等, .Metal-Based Paullones as Putative CDK Inhibitors for Antitumor Chemotherapy.《J. Med. Chem.》.2007,第6343-6355页.

(72)发明人 傅颖 彼得·约翰·萨德勒

阿布拉哈·哈布特马里亚姆

Wolfgang F. Schmid等, .Metal-Based Paullones as Putative CDK Inhibitors for Antitumor Chemotherapy.《J. Med. Chem.》.2007,第6343-6355页.

(74)专利代理机构 北京三高永信知识产权代理有限公司 11138

代理人 何文彬

(续)

(51)Int.Cl.

C07F 15/00(2006.01)

C07F 17/02(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

审查员 梁清刚

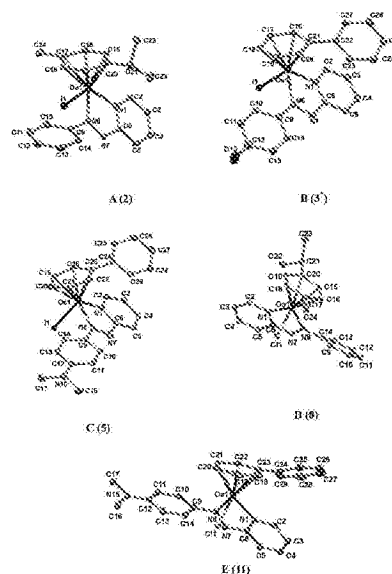
权利要求书2页 说明书34页 附图7页

(54)发明名称

钌(II)芳烃偶氮和亚氨基抗癌络合物

(57)摘要

本发明涉及特定含钌络合物作为细胞毒素剂特别用于治疗癌症的用途。还提供新型含钌络合物,以及包含此类络合物的药物制剂。



[接上页]

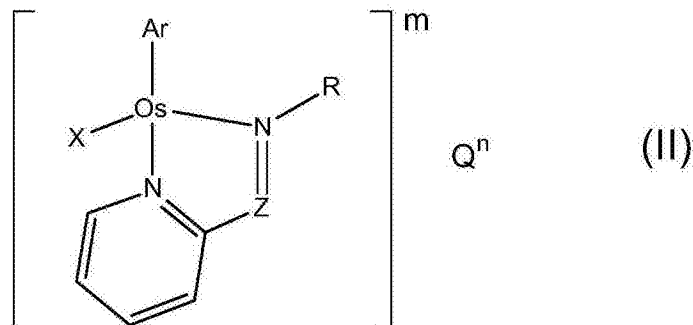
(56)对比文件

Ying Fu等,.Organometallic Osmium
Arene Complexes with Potent Cancer Cell
Cytotoxicity.《J. Med. Chem.》.2010,第8192-
8196页.

Frank Baumann等,.Widely Separated

Reduction Processes of abpy-Coupled
Areneosmium(II) Reaction Centers (abpy=2,
2-Azobispyridine): Stabilization of the
Radical Intermediate and of the Os(0)sII
State.《Organometallics》.2005,第1966-1973
页.

1. 式(II)的化合物在制备用作抗癌剂的药物方面的应用:



其中

Ar是任选通过下述取代的苯环:分支或未分支的取代或未取代的线性烷基、取代或未取代的单环或多环芳基或杂芳基;

X是I;

吡啶环任选由C₁-C₄烷基、NH₂、NO₂、卤素或肽取代;

Z是N;

R是取代或未取代的苯基;当R是取代的苯基时,所述苯基在环中的一个或多个碳上由下述取代:C₁-C₄烷基、OH、氨基或取代的氨基、羧酸酯或取代的羧酸酯、醚或聚醚、硝基、卤素或三氟甲基;

Q是离子且是存在或不存在的;

m和n是电荷,独立地不存在或选自正或负整数成员。

2. 根据权利要求1所述的应用,其中所述吡啶环由长度2-20个氨基酸的肽取代。

3. 根据权利要求1所述的应用,其中所述吡啶环由寡聚-精氨酸肽取代。

4. 根据权利要求3所述的应用,其中所述寡聚-精氨酸肽是包含4-9个线性重复精氨酸分子的寡聚-精氨酸肽。

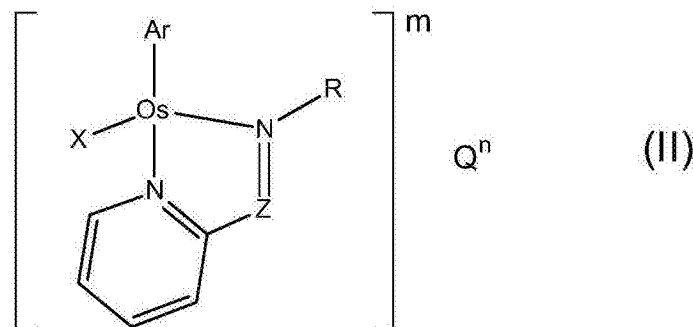
5. 根据权利要求1所述的应用,其中Ar是联苯。

6. 根据权利要求1所述的应用,其中所述取代的氨基为二烷基氨基。

7. 根据权利要求6所述的应用,其中所述二烷基氨基为二甲基氨基。

8. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1-7中任一项所述的化合物连同其药学可接受的载体。

9. 一种根据式(II)的化合物:



其中

Ar是任选通过下述取代的苯环:分支或未分支的取代或未取代的线性烷基、取代或未

取代的单环或多环芳基或杂芳基；

X是I；

吡啶环任选由C₁-C₄烷基、NH₂、NO₂、卤素或肽取代；

Z是N；

R是取代或未取代的苯基；当R是取代的苯基时，所述苯基在环中的一个或多个碳上由下述取代：C₁-C₄烷基、OH、氨基或取代的氨基、羧酸酯或取代的羧酸酯、醚或聚醚、硝基、卤素或三氟甲基；

Q是离子且是存在或不存在的；

m和n是电荷，独立地不存在或选自正或负整数成员。

10. 根据权利要求9所述的化合物，其中所述吡啶环由长度2-20个氨基酸的肽取代。

11. 根据权利要求9所述的化合物，其中所述吡啶环由寡聚-精氨酸肽取代。

12. 根据权利要求11所述的化合物，其中所述寡聚-精氨酸肽是包含4-9个线性重复精氨酸分子的寡聚-精氨酸肽。

13. 根据权利要求9所述的化合物，其中Ar是联苯。

14. 根据权利要求9所述的化合物，其中所述取代的氨基为二烷基氨基。

15. 根据权利要求14所述的化合物，其中所述二烷基氨基为二甲基氨基。

16. 一种制备根据权利要求9-15中任一项所述的化合物的方法，所述方法包括在第一个步骤中提供式[ArOsX₂]₂的化合物，并且随后在第二个步骤中使所述化合物与含偶氮吡啶配体反应，以提供根据式(II)的化合物。

铱(II)芳烃偶氮和亚氨基抗癌络合物

发明领域

[0001] 本发明涉及特定含铱络合物作为细胞毒素剂特别用于治疗癌症的用途。还提供新型含铱络合物,以及包含此类络合物的药物制剂。

[0002] 发明背景

[0003] 铂络合物例如顺铂和卡铂作为抗癌药的成功是众所周知的,但这些具有有限的活性谱,可能具有毒性副作用,并且可能发展成铂抗性肿瘤。¹由于这些原因,研究设计基于其他过渡金属的抗癌药是值得做的。近来,两种八面体Ru^{III}络合物已进入临床试验。^{2,3}Ru^{III}络合物被认为在体内还原成活性Ru^{II}种类。Ru^{II}可以通过 π -键合的芳烃配体得到稳定化,并且其中XY=螯合二胺,Z=C1的一系列类型[(η^6 -芳烃)Ru(XY)Z)]的Ru^{II}芳烃络合物显示在体外和体内都具有抗癌活性。^{4,5}这些络合物可以经历经由水解的活化且与DNA(潜在的靶)强烈结合。更重的同种Os^{II}的芳烃络合物可以具有与Ru^{II}那些几乎等价的几何学,但略有不同。例如,Os^{II}氯络合物约40x更缓慢地水解,并且相关含水加合物具有的Os-OH₂的pK_a值,其比类似Ru^{II}络合物的含水加合物低约1.5pK_a单位(更酸性)。尽管显示出癌细胞细胞毒性的Os^{II}芳烃络合物目前已得到报道,^{6,7}但一般而言它们比Ru芳烃络合物更低效。

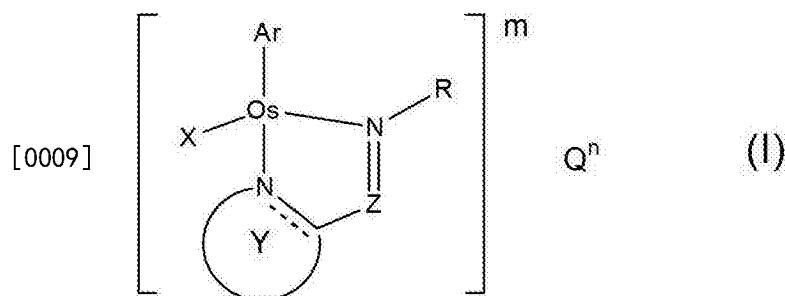
[0004] 近来,开发了包含偶氮吡啶配体的特定铱络合物。⁸然而,两种化合物[(η^6 -p伞花烃)Os(Azpy-NMe₂)Cl]PF₆和[(η^6 -bip)Os(Azpy-NMe₂)Cl]PF₆展示出在水中的弱水溶性,并且未显示针对A549癌细胞系的显著细胞毒性。尽管在本发明中使用的一些亚氨基吡啶配体已得到报道且用于金属配位络合物中,但铱芳烃络合物的唯一先前报道是Schmid等人(JMed Chem2007,50,6343-6355中的络合物4b)的关于特异性Paullone衍生物,所述衍生物针对A549、CH1和SW480是活性的。本发明显示亚氨基吡啶的性质可以具有出乎意料的对癌细胞细胞毒性的作用。

[0005] Organometallic 2005,24,8,1966-1973报道了包含2,2'-偶氮吡啶配体的铱络合物,但该报道没有公开任何药理学活性的内容。

[0006] 发明概述

[0007] 本发明基于进一步的含铱偶氮和亚氨基络合物的开发及其作为细胞毒素剂尤其是作为抗癌剂的潜在用途。

[0008] 因此,在第一个方面,提供了用于用作细胞毒素剂,尤其是抗癌剂或用作免疫抑制剂的式(I)的化合物:



[0010] 或其二核或多核形式,其中

[0011] Ar是芳烃部分;

[0012] X是卤素或供体配体；

[0013] Y代表环状或二环环状结构，例如三、四、五、六、七或八元饱和或不饱和的杂环，其可以任选在环的一个或多个位置上取代，并且其中所述虚线代表和任选的双键；

[0014] Z是N或CR'，其中R'可以是H、CN、N₃、C₁-C₁₀烷基或芳基；

[0015] R是取代或未取代的环状环或杂环，例如五或六元的，或链，例如取代或未取代的C₁-C₁₀烷基、C₂-C₁₀烯基或C₂-C₁₀烷基，任选地该环可以通过间隔物基团例如C₁-C₄烷基与它与之附着的氮分开；

[0016] Q是离子且是存在或不存在的；

[0017] m和n是电荷，独立地不存在或选自正或负整数成员，或其溶剂化物或前药及其生理学活性衍生物。

[0018] 在第二个方面，还提供了包含如上文定义的与第一个方面有关的根据式(I)的化合物，连同其药学可接受的载体的药物组合物。

[0019] 在第三个方面，本发明还涉及如上文定义的与第一个方面有关的根据式(I)的新型化合物，排除化合物： $[(\eta^6\text{-p伞花烩})\text{Os}(\text{Azpy-NMe}_2)\text{Cl}]\text{PF}_6$ 、 $[(\eta^6\text{bip})\text{Os}(\text{Azpy-NMe}_2)\text{Cl}]\text{PF}_6$ 和 $(\text{abpy})\text{OsCl}(\text{C}_6\text{Me}_6)\text{PF}_6$ 。

[0020] 在进一步方面，本发明提供了治疗或预防涉及异常细胞增殖的疾病例如癌症的方法，所述方法包括施用治疗或预防有用量的根据本发明的第一个方面的化合物，任选地排除化合物： $[(\eta^6\text{-对-伞花烩})\text{Os}(\text{Azpy-NMe}_2)\text{Cl}]\text{PF}_6$ 和 $[(\eta^6\text{-bip})\text{Os}(\text{Azpy-NMe}_2)\text{Cl}]\text{PF}_6$ 。

[0021] 还提供了如本文定义的化合物在制备用于治疗增殖性疾病例如癌症或用于免疫抑制的药物中的用途。

[0022] 不饱和或饱和的环Y可以由一个或多个基团取代，或稠合或以其他方式取代至一个或多个另外的不饱和或饱和的环，其可以是或不是杂环的。合适的取代基包括C₁-C₄烷基、OH、NH₂、NO₂和卤素例如I、Cl或Br。取代基还可以是肽，例如包含4-9个、例如6-8个线性重复精氨酸基团的寡聚-精氨酸肽。技术读者所关注的来自其他钌芳烩抗癌络合物的证据(Bioconjugate Chemistry, 2011, 22, 218-226)已显示，缀合肽例如寡聚-精氨酸肽，以这种方式可以具有对细胞摄取、内在化和/或细胞毒性的作用。任选地，环状结构Y可以包括在环Y或与之稠合的环中的一个或多个进一步的杂原子。

[0023] 优选的Y环状结构是饱和的含N-五或六元环，例如吡啶环。

[0024] 优选地，Z是N或CH。

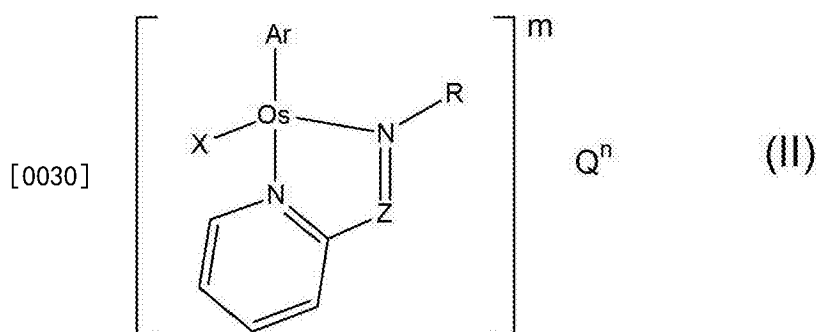
[0025] R优选是未取代或取代的苯基，当取代时，苯基可以在环中的一个或多个碳上由下述取代：C₁-C₄烷基、OH、氨基或取代的氨基，例如二烷基氨基如二甲基氨基、羧酸酯或取代的羧酸酯例如酯、醚或聚醚、硝基、卤素、三氟甲基。

[0026] R自身还可以是杂环，例如吡啶。

[0027] 在R上的取代基可以是另一个环，例如苯基或取代的苯基，5-或6-元杂环。

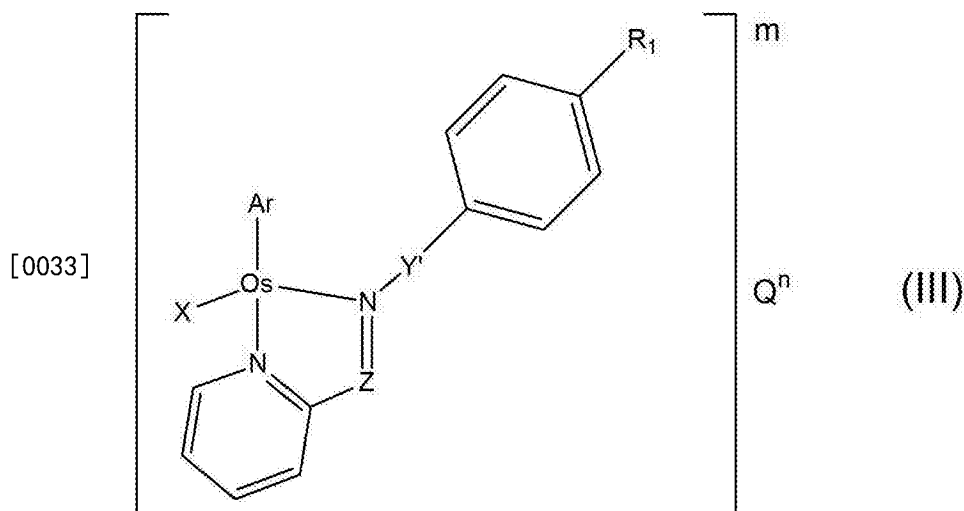
[0028] 优选地，X是I。

[0029] 在优选实施方案中，如第一个、第二个和第三个方面中定义的化合物根据式II，



[0031] 其中取代基Ar、X和R如先前在上文定义的。优选地，X是I和/或R是取代或未取代的苯基(如先前定义的)、或C₁-C₄烷基苯基。

[0032] 在进一步优选的实施方案中，如第一个、第二个和第三个方面中定义的化合物根据式(III)，



[0034] 其中取代基X和Ar如先前定义的，并且Z是N或CH，R₁是H、C₁-C₄烷基、OH、氨基或取代的氨基，例如二烷基氨基如二甲基氨基、羧酸酯或取代的羧酸酯例如酯、醚或聚醚、硝基、卤素、三氟甲基，或可以是另一个环，例如苯基或取代的苯基，5-或6-元杂环；Y'不存在或是C(R')(R'')基团，其中R'是H，并且R''是CH₃，或反之亦然。

[0035] 取代基可以附着至这个位置用于修饰稳定性、可溶性、选择性和靶向(例如使用肽)的目的。

[0036] 最优选的化合物依照式(III)，其中Z是N或CH，X是I，R₁是OH或N(CH₃)₂，R'和R''独立地是H或甲基，并且Q是PF₆或如本文定义的另一种负电荷抗衡离子。

[0037] 芳烃基团(Ar)可以是任何芳烃，其可以是取代或未取代的。示例性结构是可以任选通过下述取代的苯环：分支或未分支的取代或未取代的线性或环状烷基、分支或未分支的取代或未取代的线性或环状烯基、分支或未分支的取代或未取代的线性或环状炔基、或取代或未取代的单环或多环芳基或杂芳基、羧基、烷氧基羰基羟基、氨基、硝基、烷氧基、烷硫基、甲酰基、氰基、氨基甲酰基、卤素(例如氟、氯、溴或碘)、-S(O)NR¹²R¹³或-S(O)R¹⁴。

[0038] 芳烃基团的例子包括苯、萘、蒽、菲、荧蒽、芘、苯并菲、芴、茚等。合适芳烃基团的其他例子包括联苯、枯烯、苯乙烯、均三甲基苯、伞花烃、甲苯、二甲苯等。再进一步的芳烃基团包括部分氢化芳烃基团，例如二氢萘(C₁₀H₁₀)、二氢蒽、四氢蒽等。优选的芳烃是联苯和伞花烃，其中联苯是最优选的。

[0039] 本发明还延伸至其中芳烃基团栓系至配体部分的化合物。栓系可以在任何位置附着至配体,包括例如在配体上的取代基或环基团。

[0040] 例如,在具有上文结构(I)的化合物中,栓系可以附着至环Y的碳原子。

[0041] 栓系还可以用于提供包含至少一个Os(II)的二核和多核络合物。存在的所有金属原子可以是Os(II),或备选地,可以选择除了至少一个Os(II)外的金属(例如在周期表中的其他VIII族过渡金属),从而提供多异核络合物。

[0042] 一般地,在此类化合物中,其他金属是Ru(II)或Pt(IV)。

[0043] 在此类二核和多核络合物中,栓系可以是以许多独立方式中的任何一种在各个络合物之间形成的桥。例如,栓系可以形成芳烃(Ar)或Y或R基团中的任何一个,直接从第一种络合分子中的Os到第二种络合分子中的那些相同位置基团中的任何一个之间的连接,从而使其连接或栓系至第一种分子。

[0044] 由于各自栓系的Os(II)和Ru(II)络合物的不同性质和反应性,含有Os(II)和Ru(II)的二或多核络合物可以是有利的。

[0045] 栓系可以选自任何合适基团,以提供在待连接的络合物的各自所需基团之间的连接。

[0046] 一般的栓系可以选自亚烷基、亚烯基、亚炔基、含芳香族基团,其中芳香族基团可以任选含有杂原子;以及含杂原子基团例如肽、酯和醚键。

[0047] 根据式(I)的化合物中的基团X可以选自卤素,即氟、氯、溴或碘,特别是氯和碘。备选地,基团X可以选自任何合适的供体配体,其例子是其中其供体原子选自氮、氧、硫或磷的配体。

[0048] 一般地,此类配体基团可以选自吡啶(及其衍生物)、水、羟基(hydroxo)(即OH⁻)、叠氮化合物、或拟卤素等。

[0049] 当本文描述的化合物存在于生物环境中时,基团X可以替换为其他基团,例如其中X是水或羟基的种类可以在生物环境中形成。

[0050] 在根据式(I)的化合物中的离子,Q,充当抗衡离子以络合且平衡络合物中的电荷,以一般提供具有总体电荷零的分子种类。

[0051] 带负电荷的抗衡离子可以是例如选自BF₄⁻、BPh₄⁻、PF₆⁻、三氟甲烷磺酸酯、trisphat和卤化物的任何合适的离子。

[0052] 带正电荷的抗衡离子可以是任何合适的离子,例如碱金属阳离子例如Na⁺和K⁺,或碱土金属阳离子例如Mg²⁺和Ca²⁺。正抗衡离子还可以包括有机阳离子、其他金属络合物、质子化的杂环化合物和取代或未取代的铵离子,即NH₄⁺。

[0053] 抗衡离子可以选择用于特定用途,例如非亲核阴离子例如BPh₄⁻可以是优选的,其趋于提供不可溶络合物,从而在化合物制备物的回收阶段过程中提供有用的优点,例如用于分离出溶液或液体培养基。通过提供这样的络合物,PF₆⁻可以具有相似效应,所述络合物比具有BPh₄⁻抗衡离子的相应络合物更可溶,而保持比具有氯化物作为抗衡离子的相应络合物更不可溶。然而,这些抗衡离子不一定以其最终可使用形式从化合物中排除。

[0054] 抗衡离子可以选择为提供有用的可溶性用于络合物的制备,并且相同的抗衡离子可以保留或交换另一种抗衡离子,以提供更好的适合于药学/医学用途的化合物。

[0055] 例如,可以选择三氟甲烷磺酸酯,或氯化物、溴化物或碘化物以提供更容易溶解的

化合物。

[0056] 本发明的化合物的生理学功能衍生物是可以在体内转换为母体化合物的衍生物。此类生理学功能衍生物还可以被称为“前药”或“生物前体”。本发明的化合物的生理学功能衍生物包括体内可水解酯。另外，本发明的化合物自身可以视为前药，其在体内转换为生理学活性形式。例子是水(或含水)络合物，即其中X是H₂O，不受理论束缚，其被认为是生物环境中的活性种类。

[0057] 制备、纯化和/或处理本文描述的化合物的相应溶剂化物可以是方便或希望的，其可以用于所述用途/方法中的任何一种。术语溶剂化物在本文中用于指溶质例如化合物或化合物的盐和溶剂的络合物。如果溶剂是水，那么溶剂化物可以称为水合物，例如一水合物、二水合物、三水合物等，取决于每个底物分子存在的水分子数目。

[0058] 应当理解，本发明的化合物可以以多种立体异构形式存在，并且如上文定义的本发明的化合物包括所有立体异构形式及其混合物，包括对映异构体和外消旋混合物。本发明包括在其范围内的任何此类立体异构形式或立体异构体的混合物的用途，包括本文叙述的化合物的个别对映异构体，以及此类对映异构体的全部或部分外消旋混合物。

[0059] 本发明的化合物可以使用本领域可容易获得和如下文描述的试剂和技术进行制备。在用于制备本发明的化合物的合成途径中的新型中间体化合物可以是用于制备本发明的分子的一般应用的重要分子。相应地，本发明延伸至包括这些新型中间体化合物。

[0060] 本发明还延伸至制备本文描述的化合物的方法。一般地，该方法包括在第一个步骤中提供式[ArOsX₂]₂的化合物，并且随后在第二个步骤中使该化合物与含偶氮或亚氨基配体例如含偶氮吡啶或亚氨基吡啶配体反应，以提供根据式(I)的化合物。

[0061] 基团Ar和X具有与上文叙述相同的含义。

[0062] 优选地，在制备中，在原材料中的X是卤素，例如氯或碘。

[0063] 在制备过程中，可以包括将络合物的抗衡离子交换不同优选抗衡离子的步骤。

[0064] 优选的制备条件包含

[0065] i)提供具有配体/配体前体的化合物[ArOsX₂]₂，并将其溶解在可以包括一定量水的醇溶剂例如甲醇中，伴随或不伴随搅拌任选将溶液加热或回流可由技术人员确定的一段时间；

[0066] ii)将合适的化合物引入所得到的混合物中，以将优选的抗衡离子加入形成的络合物中。

[0067] 例如，用于引入抗衡离子PF₆的合适化合物是NH₄PF₆。

[0068] 如上所述，本发明提供了本文叙述的疾病、病理学或病状的治疗或预防，其包括给有此需要的患者施用本文叙述的化合物。

[0069] 涉及细胞的异常增殖的疾病可用本文叙述的化合物治疗。此类疾病的例子包括癌症和过度增殖病症。

[0070] 可以通过活性化合物治疗的癌症的例子包括但不限于癌，例如下述的癌：膀胱、乳腺、结肠(例如结肠直肠癌，例如结肠腺癌和结肠腺瘤)、肾、表皮、肝、肺例如腺癌、小细胞肺癌和非小细胞肺癌、食道、胆囊、卵巢、胰腺例如外分泌胰腺癌、胃、宫颈、甲状腺、前列腺或皮肤，例如鳞状细胞癌；淋巴样谱系的造血肿瘤例如白血病、急性淋巴细胞性白血病、B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、何杰金氏淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤、毛细胞淋巴瘤或伯基特氏淋巴

瘤；髓样谱系的造血肿瘤，例如急性和慢性髓样白血病、骨髓发育不良综合征或前髓细胞性白血病；甲状腺毛囊癌；间质起源的肿瘤，例如纤维肉瘤或横纹肌肉瘤；中枢或外周神经系统的肿瘤，例如星形细胞瘤、成神经细胞瘤、神经胶质瘤或神经母细胞瘤；黑色素瘤；精原细胞瘤；畸胎瘤；骨肉瘤；着色性干皮病；角化棘皮瘤；甲状腺毛囊癌；或卡波济氏肉瘤。特别优选的癌症可以包括白血病、结肠癌、黑色素瘤和乳腺癌。

[0071] 不希望受理论束缚，呈现的证据暗示本发明的化合物可以充当微管蛋白抑制剂。这不仅加强且支持其作为抗癌剂的效用，它还支持其在治疗与不希望有的细胞增殖相关的其他疾病，以及潜在的免疫抑制剂的用途，其可以在下述中有益：预防移植器官和组织（例如骨髓、心脏、肾、肝）的排斥、治疗例如最可能具有自身免疫起源的一种或多种自身免疫疾病（例如类风湿性关节炎、多发性硬化、重症肌无力、系统性红斑狼疮、局灶性节段性肾小球硬化症、克罗恩氏病、贝切特氏病（Behcet's Disease）、天疱疮和溃疡性结肠炎）和治疗一些其他非自身免疫炎性疾病（例如长期变应性哮喘控制）。

[0072] 可以与式(I)的化合物一起（无论是同时还是以不同时间间隔）施用的其他治疗剂的例子包括但不限于拓扑异构酶抑制剂、烷化剂、抗代谢药、DNA结合剂和微管抑制剂（微管蛋白靶试剂），例如顺铂、环磷酰胺、多柔比星、伊立替康、氟达拉滨、5FU、紫杉烷、丝裂霉素C或放射疗法。对于与其他疗法组合的活性化合物的情况，两种或多种治疗可以在个体改变的剂量方案中和经由不同途径给予。

[0073] 上文列出的试剂与本发明的化合物的组合将凭医生自行处理，所述医生将使用他的普通常识和技术人员已知的给药方案选择剂量。

[0074] 当式(I)的化合物与一种、两种、三种、四种或更多种，优选一种或两种、优选一种其他治疗剂一起在联合治疗中施用，所述化合物可同时或顺序施用。当顺序施用时，它们可以以密集的间隔施用（例如经过5-10分钟的时期）或以更长的间隔（例如1、2、3、4个或更多个小时的间隔，或当需要时甚至更长时期的间隔）施用，精确给药方案与一种或多种治疗剂的性质相称。

[0075] 本发明的化合物还可以与非化学疗法治疗例如放射疗法、光动力学疗法、基因疗法结合；手术和控制饮食结合施用。

[0076] 患者一般是动物，例如哺乳动物，尤其是人。

[0077] 对于根据本发明的用途，本文描述的化合物或生理学可接受的盐、酯或其他生理学功能衍生物可以作为药物制剂呈现，所述药物制剂包含化合物或生理学可接受的盐、酯或其他生理学功能衍生物，连同为此的一种或多种药学可接受的载体和任选的其他治疗和/或预防成分。载体必须在与制剂的其他成分相容的意义上是可接受的并且对于其接受者是无害的。

[0078] 药物制剂包括适合于经口、局部（包括皮肤、经颊和舌下）、直肠或肠胃外（包括皮下、真皮内、肌内和静脉内）、例如通过吸入的鼻和肺施用的那些药物制剂。当合适时，制剂可以以不连续剂量单位方便地呈现，并且可以通过药学领域众所周知的任何方法进行制备。所有方法包括使活性化合物与液体载体或精细分开的固体载体或两者接触，并且随后需要时，使产物成型为所需制剂的步骤。

[0079] 其中载体是固体的适合于经口施用的药物制剂最优选作为单位剂量制剂例如各自含有预定量的活性化合物的弹丸、胶囊或片剂呈现。片剂可以通过任选与一种或多种辅

助成分一起压缩或模塑进行制备。压缩片剂可以通过在合适机器中压缩以自由流动的形式活性化合物进行制备,例如任选与结合剂、润滑剂、惰性稀释剂、润滑剂、表面活性试剂或分散剂混合的粉末或颗粒剂。模制片可以通过使活性化合物与惰性液体稀释剂一起塑模进行制备。片剂可以任选是包被的,并且如果是未包被的,可以任选是刻痕的(scored)。胶囊可以通过下述进行制备:将单独或与一种或多种辅助成分混合的活性化合物一起填充到胶囊壳内,并且随后以通常方式将它们密封。扁囊剂类似于胶囊,其中活性化合物连同任何辅助成分一起密封在米纸信封中。活性化合物还可以配制为可分散颗粒剂,其可以例如在施用前悬浮于水中,或喷洒在食物上。颗粒剂可以例如包装在小袋中。其中载体是液体的适合于经口施用的制剂可以作为在水或非水液体中的溶液或悬液、或作为水包油液体乳剂呈现。

[0080] 用于经口施用的制剂包括控制释放的剂量形式,例如其中活性化合物在合适的释放控制基质中配制,或用合适的释放控制薄膜包被的片剂。此类制剂对于预防用途可以是特别方便的。

[0081] 其中载体是固体的适合于直肠施用的药物制剂最优选作为单位剂量栓剂呈现。合适载体包括可可脂和本领域通常使用的其他材料。栓剂可以通过活性化合物与软化或熔化载体的混合,随后为冷却和在模子中成型方便地形成。

[0082] 适合于肠胃外施用的药物制剂包括活性化合物在水或含油媒介物中的无菌溶液或悬液。

[0083] 有利地,可以制备溶液且在避光容器例如密封瓶、安瓿、泡罩包装等中贮存于容易使用的条件中(例如无需进一步配制例如稀释成可使用的浓度)。此类容器优选在无菌条件中提供。

[0084] 可注射制备物可以适合于弹丸注射或连续输注。此类制备物方便地在单位剂量或多剂量容器中呈现,其在引入制剂后密封直至需要用于使用时。备选地,活性化合物可以以粉末形式,其在使用前用合适媒介物例如无菌、无热原水重构。

[0085] 活性化合物还可以配制为长效沉积制备物,其可以通过肌肉注射或通过例如皮下或肌肉植入进行施用。沉积制备物可以包括,例如合适的聚合或疏水材料、或离子交换树脂。此类长效制剂对于预防用途是特别方便的。

[0086] 适合于经由口腔的肺施用的制剂这样呈现,从而使得含有活性化合物且希望地具有在0.5-7微米范围中的直径的颗粒在接受者的支气管树中递送。

[0087] 作为一种可能性,此类制剂以精细粉碎的粉末的形式,其可以方便地在适当的例如明胶可穿透胶囊中呈现,用于在吸入装置中使用,或备选地作为包含活性化合物、合适的液体或气体推进剂和任选的其他成分例如表面活性剂和/或固体稀释剂的自推进制剂。合适的液体推进剂包括丙烷和氯氟碳,并且合适的气体推进剂包括二氧化碳。还可以采用其中活性化合物以溶液或悬液小滴的形式分配的自推进制剂。

[0088] 此类自推进制剂类似于本领域已知的那些,并且可以通过确定程序制备。适当地,它们与具有所需喷雾特征的可用手操作或自动起作用的阀一起提供在容器中呈现;有利地,在其每次操作后,阀是递送固定体积例如25-100微升的计量类型。

[0089] 作为进一步可能性,活性化合物可以以用于在喷雾器或雾化器中使用的溶液或悬液的形式,由此采用加速气流或超声搅拌以产生用于吸入的细微小滴薄雾。

[0090] 适合于鼻施用的制剂包括一般类似于上文对于肺施用描述的那些的制备物。当分配时,此类制剂应希望地具有在范围10-200微米中的粒径,以使得能够保留在鼻腔中;适当时,这可以通过使用合适粒子大小的粉末或选择合适阀来实现。其他合适的制剂包括具有在范围20-500微米中的粒径的粗粉,用于通过经由鼻道来自紧靠鼻举起的容器的快速吸入施用,和包含在水或油性溶液或悬液中的0.2-5%w/v活性化合物的滴鼻剂。

[0091] 应当理解,除了上述载体成分外,上文描述的药物制剂可以包括合适的一种或多种另外的载体成分,例如稀释剂、缓冲剂、调味剂、结合剂、表面活性试剂、增稠剂、润滑剂、防腐剂(包括抗氧化剂)等,并且包括用于致使制剂与预期接受者的血液等渗目的的物质。

[0092] 药学可接受的载体是本领域技术人员众所周知的,并且包括但不限于0.1M且优选0.05M磷酸盐缓冲液或0.8%盐水。另外,此类药学可接受的载体可以是水或非水溶液、悬液和乳状液。非水溶剂的例子是丙二醇、聚乙二醇、植物油例如橄榄油、和可注射有机酯例如油酸乙酯。水载体包括水、醇/水溶液、乳状液或悬液,包括盐水和缓冲介质。肠胃外媒介物包括氯化钠溶液、林格氏右旋糖、右旋糖和氯化钠、乳酸林格氏或不挥发性油。还可以存在防腐剂及其他添加剂,例如抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂、惰性气体等。

[0093] 可以提供例如作为凝胶、乳膏或软膏的适合于局部制剂的制剂。此类制备物可以例如直接在伤口或溃疡的表面上扩展或在合适载体上携带应用于伤口或溃疡,所述合适载体例如可以应用于且经过待处理的面积的绷带、纱布、网筛等。

[0094] 还可以提供液体或粉末制剂,其可以直接喷射或喷洒在待处理的部位例如伤口或溃疡上。备选地,载体例如绷带、纱布、网筛等可以与制剂一起喷射或喷洒,并且随后应用于待处理的部位。

[0095] 用于兽医学用途的治疗制剂可以方便地以粉末或液体浓缩形式。依照标准兽医学配制实践,常规水溶性赋形剂例如乳糖或蔗糖可以掺入粉末中,以改善其物理性质。因此,本发明的特别合适的粉末包含50-100%w/w且优选60-80%w/w的一种或多种活性成分,和0-50%w/w且优选20-40%w/w的常规兽医学赋形剂。这些粉末可以例如借助于中间预混合料加入动物性饲料,或在动物饮水中稀释。

[0096] 本发明的液体浓缩物适当地含有化合物或其衍生物或盐,并且任选可以包括兽医学可接受的水可混合溶剂,例如聚乙二醇、丙二醇、甘油、甘油缩甲醛或与高达30%v/v的乙醇混合的此类溶剂。液体浓缩物可以施用于动物的饮用水。

[0097] 本发明的实施方案目前应参考下述非限制性附图、实施例和表进行描述,其中:

[0098] 图1显示根据本发明的化合物的X射线结构;

[0099] 图2显示在根据本发明的化合物施用后,含有人肿瘤异种移植物的小鼠的平均体重实验的结果;

[0100] 图3显示 $[(\eta^6\text{-p-cym})\text{OsI}_2]_2$ 的X射线结构;

[0101] 图4显示在水和本发明的络合物上的酚盐配体之间的示意性氢键形成;

[0102] 图5、6和7显示络合物6、8和12的水解和稳定性研究;

[0103] 图8显示在施用根据本发明的化合物前和连同施用根据本发明的化合物一起时,含/不含N-乙酰基-L-半胱氨酸(NAC)处理的细胞的细胞生存测定的结果;

[0104] 图9显示具有NAC的络合物6的研究;和

[0105] 图10显示本发明的化合物针对多种细胞系的 IC_{50} 和比较分析。

[0106] 表1显示本发明的化合物的IC₅₀值;

[0107] 表2显示本发明的化合物的X射线结构的选定的键长。

[0108] 实验部分

[0109] 合成。如下所述,通过使合适的偶氮吡啶衍生物与[(η^6 -bip)OsCl₂]₂、[(η^6 -bip)OsI₂]₂、[(η^6 -p-cym)OsCl₂]₂或[(η^6 -p-cym)OsI₂]₂反应,制备络合物[(η^6 -bip)Os(Azpy)I]PF₆(1)、[(η^6 -p-cym)Os(Azpy)I]PF₆(2)、[(η^6 -bip)Os(Azpy-OH)I]PF₆(3)、[(η^6 -p-cym)Os(Azpy-OH)I]PF₆(4)、[(η^6 -bip)Os(azpy-NMe₂)I]PF₆(5)、[(η^6 -p-cym)Os(Azpy-NMe₂)I]PF₆(6)、[(η^6 -bip)Os(Azpy)Cl]PF₆(7)、[(η^6 -p-cym)Os(Azpy)Cl]PF₆(8)、[(η^6 -bip)Os(azpy-OH)Cl]PF₆(9)、[(η^6 -p-cym)Os(Azpy-OH)Cl]PF₆(10)、[(η^6 -bip)Os(azpy-NMe₂)Cl]PF₆(11)和[(η^6 -p-cym)Os(Azpy-NMe₂)Cl]PF₆(12),具有>95%的纯度。

[0110] 如下所述,-通过相似程序但使用合适的亚氨基吡啶配体来合成络合物13-16。

[0111] 材料。OsCl₃·3H₂O和4-(2-吡啶基偶氮)-N,N-二甲基苯胺(Azpy-NMe₂)购自Alfa-Aesar。将乙醇和甲醇在Mg/I₂上干燥或使用无水质量(Aldrich)。使用的所有其他试剂得自商业供应商且如收到的使用。Azpy-OH是来自Dr. Sarah Dougan的赠予。原材料[(η^6 -bip)OsCl₂]₂和[(η^6 -p-cym)OsCl₂]₂的制备基于文献报道。⁸A2780人卵巢癌细胞系购自European Collection of Cell Cultures, RPMI-1640培养基和胰蛋白酶来自Invitrogen,牛血清来自Biosera,青霉素、链霉素、TCA和SRB来自Sigma-Aldrich,并且三[羟甲基]氨基甲烷来自Formedium。

[0112] 偶氮配体的合成。azpy的合成基于文献报道。⁹

[0113] 络合物的合成

[0114] [(η^6 -bip)OsI₂]₂

[0115] 将悬浮于水(200mL)中的二聚体[(η^6 -bip)OsCl₂]₂(100.4mg, 0.12mmol)在353K搅拌1小时。随后将溶液热过滤,并且将KI(1039.8mg, 6.26mmol)加入溶液中。立即形成深橙色沉淀物。将溶液在277K静置2小时。通过过滤收集沉淀物且用冷乙醇和二乙醚洗涤,随后在干燥器中干燥过夜。得率:95.4mg(66.0%)。模拟¹H NMR(DMSO-d₆) δ 7.74(d, 4H, J=8Hz), 7.45(m, 6H), 6.84(d, 4H, J=6Hz), 6.56(t, 2H, J=6Hz), 6.34(t, 4H, J=6Hz)。CHN分析:发现C, 24.33%;H, 1.64%,对于C₂₄H₂₀I₄O₂计算的:C, 24.09%;H, 1.68%。

[0116] [(η^6 -p-cym)OsI₂]₂

[0117] 将二聚体[(η^6 -p-cym)OsCl₂]₂(103.8mg, 0.135mmol)在353K搅拌1小时,以允许其溶解于水(50mL)中。随后将KI(2683.9mg, 16.18mmol)加入溶液中,并且在回流下加热1小时。立即形成深橙色沉淀物。将溶液在277K静置2小时。通过过滤收集沉淀物且用少许冷乙醇和二乙醚洗涤,随后在干燥器中干燥过夜。得率:112.6mg(67.9%)。模拟¹H NMR(DMSO-d₆) δ 6.10(d, 8H), 3.04(m, 2H), 2.43(s, 6H), 1.25(d, 12H, J=8Hz)。CHN分析:发现:C, 20.78%;H, 2.35%,关于C₂₀H₂₈I₄O₂的计算:C, 20.77%;H, 2.44%。

[0118] [(η^6 -bip)Os(Azpy)I]PF₆(1)

[0119] 将溶于甲醇(30mL)和水(10mL)中的[(η^6 -bip)OsI₂]₂(30mg, 0.025mmol)在回流下,在353K在氮下加热2小时。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的Azpy(9.15mg, 0.05mmol)。溶液颜色立即从橙色变成红色。在回流下进一步加热2小时;将溶液热过滤,并且在旋转蒸发器上减少至约10ml。加入六氟磷酸铵(40.0mg, 0.25mmol)。将溶液在277K静置2小时。沉淀出褐色

粉末。通过过滤收集粉末且用少许冷乙醇和二乙醚洗涤,随后在干燥器中干燥过夜。得率:20mg(61.1%)。关于 $C_{23}H_{19}IN_3Os$ 的模拟ESI-MS计算: m/z 656.0,发现655.9。 1H NMR($(CD_3)_2CO$) δ 9.44(d, 1H, $J=8Hz$), 9.01(d, 1H, $J=8Hz$), 8.38(t, 1H, $J=8Hz$), 7.98(d, 2H, $J=8Hz$), 7.76(m, 3H), 7.47(m, 6H), 7.12(d, 1H, $J=6Hz$), 6.98(t, 1H, $J=6Hz$), 6.83(m, 2H), 6.72(t, 1H, $J=5Hz$)。发现的CHN分析:C, 35.41%; H, 2.40%; N, 5.55%, 关于 $C_{23}H_{19}F_6IN_3OsP$ 的计算:C, 34.55%; H, 2.40%; N, 5.26%。

[0120] $[(\eta^6\text{-p-cym})Os(Azpy)I]PF_6(2)$

[0121] 将 $[(\eta^6\text{-p-cym})OsI_2]_2$ (30.5mg, 0.0264mmol)溶解于甲醇(20mL)中,并且逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的Azpy(9.6mg, 0.053mmol)。溶液颜色逐步从黄色变成褐色,并且在环境温度搅拌3小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇,将体积减少至约10ml。加入六氟磷酸铵(17.7mg, 0.11mmol)。随后将溶液在253K静置24小时;沉淀深色粉末,将其通过过滤收集且用冷乙醇和二乙醚洗涤,随后最后在真空中干燥。得率:14.5mg(35.3%)。关于 $C_{21}H_{23}IN_3Os$ 的模拟计算: m/z 636.1,发现636.0。 $^1HNMR((CD_3)_2CO)\delta$ 9.66(d, 1H, $J=6Hz$), 9.04(d, 1H, $J=8Hz$), 8.41(t, 1H, $J=8Hz$), 8.20-8.19(m, 2H), 7.87-7.75(m, 4H), 6.77(d, 1H, $J=6Hz$), 6.43(d, 1H, $J=6Hz$), 6.38(d, 1H, $J=5Hz$), 6.32(d, 1H, $J=5Hz$), 2.67(s, 3H), 2.62(m, 1H), 1.02(d, 6H)。发现的CHN分析:C, 32.19%; H, 2.85%; N, 5.34%, 关于 $C_{21}H_{23}F_6IN_3OsP$ 的计算:C, 32.36%; H, 2.97%; N, 5.39%。适合于X射线衍射的单晶通过在环境温度缓慢蒸发络合物2的甲醇溶液获得。

[0122] $[(\eta^6\text{-bip})Os(Azpy-OH)I]PF_6(3)$

[0123] 将溶于甲醇(30mL)和水(10mL)混合物中的 $[(\eta^6\text{-bip})OsI_2]_2$ (86.1mg, 0.072mmol)在回流下在353K在氮下加热2小时。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的Azpy-OH(19.0mg, 0.096mmol),溶液颜色立即从橙色变成红色,将溶液在回流下进一步加热2小时,热过滤,并且通过在旋转蒸发器上去除甲醇,将体积减少至约10ml。加入六氟磷酸铵(118.5mg, 0.73mmol),并且将溶液在277K静置2小时。沉淀深褐色粉末,将其过滤掉且用冷乙醇和二乙醚洗涤,随后在干燥器中干燥过夜。得率:63.1mg(53.7%)。关于 $C_{23}H_{19}IN_4OOs$ 的模拟ESI-MS计算: m/z 672.02,发现671.9。 $^1HNMR((CD_3)_2CO)\delta$ 9.30(d, 1H, $J=9Hz$), 8.80(d, 1H, $J=8Hz$), 8.31-9.27(m, 1H), 8.02(d, 2H, $J=9Hz$), 7.66-7.63(m, 1H), 7.46(m, 5H), 7.01(d, 1H, $J=6Hz$), 6.93(d, 2H, $J=6Hz$), 6.82(m, 2H), 6.72(t, 1H, $J=6Hz$), 6.66(d, 1H, $J=6Hz$)。发现的CHN分析:C, 34.07%; H, 2.34%; N, 5.03%, 关于 $C_{23}H_{19}F_6IN_4OOsP$ 的计算:C, 33.87%; H, 2.34%; N, 5.03%。适合于X射线衍射的 $[(\eta^6\text{-bip})Os(Azpy-O)I] \cdot 0.5H_2O(3^*)$ 单晶通过在环境温度缓慢蒸发络合物3的甲醇溶液获得。

[0124] $[(\eta^6\text{-p-cym})Os(Azpy-OH)I]PF_6(4)$

[0125] 将 $[(\eta^6\text{-p-cym})OsI_2]_2$ (50.5mg, 0.0437mmol)溶解于甲醇(50mL)中;逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的Azpy-OH(17.4mg, 0.087mmol)。伴随10滴1M HCl溶液,将溶液在环境温度搅拌24小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇,将体积减少至约2ml。通过在Sephadex LH20柱上的色谱来纯化络合物。加入六氟磷酸铵(28.6mg, 0.18mmol)。随后将溶液在277K静置0.5小时。沉淀出深色粉末,将其通过过滤收集且用冷乙醇和二乙醚洗涤,随后最后在真空中干燥。得率:30.6mg(43.2%)。关于 $C_{21}H_{23}IN_3Os$ 的模拟ESI-MS计算: m/z 652.1,发现652.0。 $^1HNMR((CD_3)_2CO)\delta$ 9.75(bs, 1H), 9.58(d, 1H, $J=6Hz$), 9.93(d, 1H, $J=8Hz$), 8.40-8.38(m, 1H), 8.19

(d, 2H, J=9Hz), 7.83-7.82(m, 1H), 7.15(d, 2H, J=9Hz), 6.72(d, 1H, J=6Hz), 6.43(m, 2H), 6.34(d, 1H, J=6Hz), 3.35(s, 3H), 2.63(m, 1H), 1.00(d的d, 6H)。发现的CHN分析: C, 31.04%; H, 3.05%; N, 5.28%, 关于C₂₁H₂₃F₆IN₃O₀S_P的计算: C, 31.71%; H, 2.91%; N, 5.28%。

[0126] $[(\eta^6\text{-bip})\text{Os}(\text{azpy-NMe}_2)\text{I}]\text{PF}_6(5)$

[0127] 将溶于甲醇(30mL)和水(10mL)中的 $[(\eta^6\text{-bip})\text{OsI}_2]_2(100\text{mg}, 0.037\text{mmol})$ 在回流下在348K在氮下加热2小时。随后逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的Azpy-NMe₂(37.9mg, 0.074mmol), 溶液颜色立即从橙色变成暗红色, 随后逐步转为深蓝色。将它在回流下进一步加热1小时, 热过滤, 并且通过在旋转蒸发器上去除甲醇, 将体积减少至约10mL, 并且加入六氟磷酸铵(135.1mg, 0.37mmol)。随后将溶液在277K静置1小时。沉淀深色粉末并且通过过滤收集, 用冷乙醇和二乙醚洗涤, 随后在真空中干燥。得率: 22mg(42.6%)。关于C₂₅H₂₄IN₄O₀S_P的模拟ESI-MS计算: m/z 699.07, 发现699.0, ¹HNMR((CD₃)₂CO) δ 9.12(d, 1H, J=6Hz), 8.54(d, 2H, J=8Hz), 8.14(m, 3H), 7.49-7.40(m, 6H), 7.02(d, 1H, J=6Hz), 6.82(d, 2H), 6.77(d, 1H), 6.75-6.67(m, 2H), 3.40(s, 6H)。发现的CHN分析: C, 36.22%; H, 2.93%; N, 6.81%, 关于C₂₅H₂₄F₆IN₄O₀S_P的计算: C, 35.65%; H, 2.87%; N, 6.65%。适合于X射线衍射的单晶通过在环境温度缓慢蒸发络合物5的甲醇溶液获得。

[0128] $[(\eta^6\text{-p-cym})\text{Os}(\text{Azpy-NMe}_2)\text{I}]\text{PF}_6(6)$

[0129] 在313K将 $[(\eta^6\text{-p-cym})\text{OsI}_2]_2(100.0\text{mg}, 0.086\text{mmol})$ 溶解于甲醇(50mL)中; 逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的Azpy-NMe₂(39.5mg, 0.175mmol), 溶液颜色立即从橙色变成蓝色。将溶液在环境温度搅拌3小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇, 将体积减少至约10mL, 并且加入六氟磷酸铵(141.8mg, 0.87mmol)。随后将溶液在冰箱中静置24小时。沉淀深色粉末, 将其通过过滤收集, 用冷乙醇和二乙醚洗涤, 随后在真空中干燥。得率: 122.7mg(86.7%)。关于C₂₃H₂₈IN₄O₀S_P的模拟ESI-MS计算: m/z 679.1, 发现679.0, ¹HNMR((CD₃)₂CO) δ 9.43(d, 1H, J=6Hz), 8.65(d, 1H, J=8Hz), 8.29-8.22(m, 3H), 7.64(m, 1H), 6.97(d, 2H, J=9Hz), 6.59(d, 1H, J=6Hz), 6.30(m, 3H), 3.41(s, 3H), 2.80(s, 6H), 2.63-2.56(m, 1H), 1.00(d的d, 6H)。发现的CHN分析: C, 33.42%; H, 3.28%; N, 6.72%, 关于C₂₃H₂₈F₆IN₄O₀S_P的计算: C, 33.58%; H, 3.43%; N, 6.81%。

[0130] $[(\eta^6\text{-bip})\text{Os}(\text{Azpy})\text{Cl}]\text{PF}_6(7)$

[0131] 将溶于甲醇(40mL)和水(10mL)中的 $[(\eta^6\text{-bip})\text{OsCl}_2]_2(100.7\text{mg}, 0.121\text{mmol})$ 在回流下在氮下加热2小时。将溶液热过滤以去除黑色残渣, 随后逐滴加入溶于甲醇(5mL)中的Azpy(55mg, 0.3mmol), 溶液颜色立即从橙色变成黑色。将溶液搅拌且静置冷却至室温1小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇, 将体积减少至约10mL, 并且加入六氟磷酸铵(215.0mg, 1.32mmol)。将溶液在277K静置过夜。沉淀褐色粉末, 将其过滤掉, 用二乙醚洗涤, 随后在干燥器中干燥过夜。得率: 109.4mg(77.9%)。关于C₂₃H₁₉ClN₃O₀S_P的模拟ESI-MS计算: m/z 564.09, 发现564.0, ¹HNMR((CD₃)₂CO) δ 9.47(d, 1H, J=6Hz), 8.98(d, 1H, J=8Hz), 8.46(t, 1H, J=6Hz), 7.97(d, 2H, J=8Hz), 7.97(t, 1H, J=8Hz), 7.74(t, 1H, J=8Hz), 7.61(m, 4H), 7.51(m, 3H), 6.96(d, 1H, J=6Hz), 6.89(d, 1H, J=6Hz), 6.77(t, 1H, J=6Hz), 6.70(t, 1H, J=6Hz), 6.45(t, 1H, J=6Hz)。发现的CHN分析: C, 39.56%; H, 2.90%; N, 6.48%, 关于C₂₃H₁₉F₆ClN₃O₀S_P的计算: C, 39.80%; H, 3.07%; N, 5.81%。

[0132] $[(\eta^6\text{-p-cym})\text{Os}(\text{Azpy})\text{Cl}]\text{PF}_6(8)$

[0133] 将 $[(\eta^6\text{-p-cym})\text{OsCl}_2]_2(40.7\text{mg}, 0.0515\text{mmol})$ 溶解于甲醇(20mL)中。逐滴加入溶于

5mL甲醇中的Azpy(21.1mg,0.116mmol)。溶液颜色逐步从黄色变成褐色,将它在环境温度搅拌1小时;通过在旋转蒸发器上去除甲醇,将体积减少至约10mL。加入六氟磷酸铵(52.2mg,0.32mmol)。随后将溶液在冰箱中静置24小时;沉淀出暗色粉末,将其过滤掉,用冷乙醇和二乙醚洗涤,随后最后在真空中干燥。得率:60.5mg(85.4%)。关于 $C_{21}H_{23}ClN_3O_s$ 的模拟ESI-MS计算: m/z 544.1,发现544.1。 1H NMR($(CD_3)_2CO$) δ 9.65(d,1H, $J=6Hz$),9.01(d,1H, $J=9Hz$),8.50-8.48(m,1H),8.16(d,2H, $J=8Hz$),8.02-7.99(m,1H),7.78(m,3H),6.79(d,1H, $J=6Hz$),6.39(d,1H, $J=6Hz$),6.32(m,2H),2.54(m,1H),2.43(s,3H),0.98(d(d,6H))。发现的CHN分析:C,36.61%;H,3.21%;N,6.10%,关于 $C_{21}H_{23}F_6ClN_3O_sP$ 的计算:C,36.66%;H,3.37%;N,6.61%。适合于X射线衍射的单晶通过在环境温度缓慢蒸发络合物8的甲醇溶液获得。

[0134] $[(\eta^6-bip)Os(azpy-OH)Cl]PF_6(9)$

[0135] 将溶于甲醇(40mL)和水(10mL)中的 $[(\eta^6-bip)OsCl_2]_2$ (51mg,0.061mmol)在回流下在氮下加热2小时。加入溶于甲醇(2mL)中的Azpy-OH(30.1mg,0.15mmol),溶液从橙色转为深褐色-红色。随后将溶液热过滤,并且静置冷却至环境温度,同时搅拌1小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇,将体积减少至约10mL。加入六氟磷酸铵(100.6mg,1.11mmol)。将溶液在277K静置0.5小时。沉淀褐色固体,将其通过过滤收集,用二乙醚洗涤,并且在干燥器中干燥过夜。得率:42.0mg(47.9%)。关于 $C_{23}H_{19}ClN_3O_s$ 的模拟ESI-MS计算: m/z 580.08,发现580.0。 1HNMR ($(CD_3)_2CO$) δ 9.37(d,1H, $J=9Hz$),8.83(d,1H, $J=8Hz$),8.39-8.34(m,1H),8.01(d,2H, $J=9Hz$),7.80-7.50(m,1H),7.61-7.59(m,2H),7.50(m,3H),7.02(d,2H, $J=6Hz$),6.86(d,1H, $J=6Hz$),6.76(d,1H, $J=6Hz$),6.72(m,2H),6.45(t,1H)。发现的CHN分析:C,38.15%;H,3.04%;N,5.19%,关于 $C_{23}H_{19}F_6ClN_3O_sP$ 的计算:C,38.15%;H,2.64%;N,5.80%。

[0136] $[(\eta^6-p-cym)Os(Azpy-OH)Cl]PF_6(10)$

[0137] 将 $[(\eta^6-p-cym)OsCl_2]_2$ (50.1mg,0.063mmol)溶解于甲醇(50mL)中。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的Azpy-OH(32.8mg,0.16mmol)。伴随4滴1M HCl溶液,将溶液在环境温度搅拌24小时。通过在Sephadex LH20柱上的色谱来纯化络合物。加入六氟磷酸铵(54.3mg,0.33mmol)。在旋转蒸发器上去除溶剂。通过过滤收集褐色固体,且用冷乙醇和二乙醚洗涤,随后最后在真空中干燥。得率:16.5mg(18.6%)。关于 $C_{21}H_{23}ClN_3O_s$ 的模拟ESI-MS计算: m/z 560.1,发现560.1。 1HNMR ($(CD_3)_2CO$) δ 9.58(d,1H, $J=6Hz$),9.93(d,1H, $J=8Hz$),8.39(t,1H, $J=8Hz$),8.19(d,2H, $J=9Hz$),7.82(t,1H, $J=6Hz$),7.15(d,2H, $J=9Hz$),6.72(d,1H, $J=6Hz$),6.43(m,2H),6.34(d,1H, $J=6Hz$),3.35(s,3H),2.63(m,1H),1.00(d(d,6H))。发现的CHN分析:C,35.13%;H,3.40%;N,4.84%,关于 $C_{21}H_{23}F_6ClN_3O_sP$ 的计算:C,35.82%;H,3.29%;N,5.97%。

[0138] $[(\eta^6-bip)Os(azpy-NMe_2)Cl]PF_6(11)$

[0139] 将 $[(\eta^6-bip)OsCl_2]_2$ (104mg,0.12mmol)溶解于甲醇(40mL)和水(10mL)中,将溶液在回流下在氮下在248K下加热2小时。随后逐滴加入溶于5mL甲醇中的Azpy-NMe₂(70.626mg,0.3121mmol)。溶液从橙色转为紫色,将它热过滤,并且静置冷却至环境温度,同时搅拌1小时。随后在旋转蒸发器上蒸发溶剂,并且加入六氟磷酸铵(182.23mg,1.11mmol)。将溶液在277K静置过夜。沉淀紫色固体且过滤掉,用二乙醚洗涤,并且在干燥器中干燥过夜。得率:135.5mg(89%)。关于 $C_{25}H_{24}ClN_4O_s$ 的模拟ESI-MS计算: m/z 607.13,发现607.0。 1H NMR($(CD_3)_2CO$) δ 9.16(d,1H, $J=6Hz$),8.51(d,1H, $J=8Hz$),8.23-8.20(m,1H),8.14(d,2H, $J=$

6Hz), 7.69–7.47(m, 6H), 6.94(d, 1H, J=6Hz), 6.87(d, 2H, J=6Hz), 6.77(d, 1H, J=6Hz), 6.68–6.63(m, 2H), 6.44(t, 1H, J=6Hz), 3.40(s, 6H)。发现的CHN分析: C, 39.99%; H, 3.16%; N, 7.45%, 关于 $C_{25}H_{24}F_6ClN_4O_5P$ 的计算: C, 39.98%; H, 3.22%; N, 7.46%。适合于X射线衍射的单晶在277K, 二乙醚扩散到在甲醇中的络合物11的溶液内获得。

[0140] $[(\eta^6\text{-p-cym})Os(\text{Azpy-NMe}_2)Cl]PF_6$ (12)

[0141] 将 $[(\eta^6\text{-p-cym})OsCl_2]_2$ (100.0mg, 0.126mmol)溶解于甲醇(40mL)中。逐滴加入溶于甲醇(5mL)中的Azpy-NMe₂(57.4mg, 0.254mmol)。溶液颜色立即从黄色变成蓝色, 将它在环境温度搅拌1小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇, 将体积减少至约10ml。加入六氟磷酸铵(205.8mg, 1.26mmol)。随后将溶液在冰箱中静置24小时; 沉淀深色粉末, 将其通过过滤收集, 并且用冷乙醇和二乙醚洗涤, 随后最后在真空中干燥。得率: 148.5mg(80.6%)。关于 $C_{23}H_{28}ClN_4O_5$ 的模拟ESI-MS计算: m/z 587.2, 发现587.4。¹H NMR((CD₃)₂CO) δ 9.04(d, 1H, J=6Hz), 8.58(d, 1H, J=8Hz), 8.31–8.23(m, 3H), 7.70(m, 3H), 6.58(d, 1H, J=6Hz), 6.32–6.26(m, 3H), 2.80(s, 6H), 2.48–2.45(m, 1H), 2.47(s, 3H), 0.96(d, 6H)。发现的CHN分析: C, 37.72%; H, 3.72%; N, 7.69%, 关于 $C_{23}H_{28}F_6ClN_4O_5P$ 的计算: C, 37.78%; H, 3.86%; N, 7.66%。

[0142] $[(\eta^6\text{-p-cym})Os(\text{pp-NMe}_2)I]PF_6$ (13)。在313K将 $[(\eta^6\text{-p-cym})OsI_2]_2$ (50.0mg, 0.043mmol)溶解于甲醇(30mL)中。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的pp-NMe₂(19.5mg, 0.086mmol), 溶液颜色立即从橙色变成红色。将溶液在环境温度搅拌2小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇, 将体积减少至约10ml, 并且加入六氟磷酸铵(141.8mg, 0.87mmol)。随后将溶液在冰箱中静置24小时。沉淀深色粉末, 将其通过过滤收集, 用冷乙醇和二乙醚洗涤, 随后最后在真空中干燥。得率: 50.7mg(72.9%)。关于 $C_{24}H_{28}IN_3O_5$ 的ESI-MS计算: m/z 821.6, 发现821.6。¹H NMR((CD₃)₂CO): δ 9.55(d, 1H, J=5Hz), 9.12(s, 1H), 8.45(d, 1H, J=7Hz), 8.24(t, 1H, J=7Hz), 7.83(d, 2H, J=9Hz), 7.73(t, 1H, J=5Hz), 6.89(d, 2H, J=9Hz), 6.38(d, 1H, J=6Hz), 6.04(d, 1H, J=6Hz), 5.92–5.87(m, 2H), 3.15(s, 6H), 2.65(s, 3H), 2.21–2.23(m, 1H), 1.08(d, 6H)。CHN分析: 发现: C, 34.53%; H, 3.36%; N, 5.06%。关于 $C_{24}H_{28}F_6IN_3O_5P$ 的计算: C, 35.08%; H, 3.56%; N, 5.11%。

[0143] $[(\eta^6\text{-bip})Os(\text{pp})I]PF_6$ (14)。这种络合物以与化合物 $[(\eta^6\text{-p-cym})Os(\text{pp-NMe}_2)I]PF_6$ 类似的方式由 $[(\eta^6\text{-bip})OsI_2]_2$ 制备。得率: 78.1%。关于 $C_{24}H_{20}F_6IN_2O_5P$ 的模拟计算: C36.10, H2.52, N3.51发现: C34.91, H2.41, N3.34。

[0144] $[(\eta^6\text{-p-cym})Os(\text{pp})Cl]PF_6$ (15)。这种络合物以与化合物 $[(\eta^6\text{-p-cym})Os(\text{pp-NMe}_2)I]PF_6$ 类似的方式由 $[(\eta^6\text{-p-cym})OsCl_2]_2$ 制备。得率: 77.4%。关于 $C_{22}H_{24}ClF_6N_2O_5P$ 的模拟计算: C38.46, H3.52, N4.08发现: C38.44, H3.38, N4.06。

[0145] $[(\eta^6\text{-p-cym})Os(\text{pp-NMe}_2)I]PF_6$ (16)。。这种络合物以与化合物 $[(\eta^6\text{-p-cym})Os(\text{pp-NMe}_2)I]PF_6$ 类似的方式由 $[(\eta^6\text{-p-cym})OsI_2]_2$ 制备。得率: 85.6%。关于 $C_{24}H_{29}ClF_6N_3O_5P$ 的模拟计算: C39.48, H4.00, N5.75发现: C39.43, H3.89, N5.75。

[0146] 使用仪器。

[0147] NMR光谱法。在Bruker DPX-400、Bruker DRX-500或Bruker AV II700上, 在298在5mmNMR管中获得¹H NMR光谱。¹H NMR化学位移对于丙酮-d₆(2.09ppm)进行参考。所有数据处理使用MestReC或TOPSPIN版本2.0(Bruker U.K.Ltd.)执行。

[0148] 电喷雾电离质谱法(ESI-MS)。通过在50%CH₃CN和50%H₂O(v/v)中制备样品且输注到

质谱仪(Varian4000)内获得光谱。对于阳离子用 m/z 500–1000的扫描范围记录质谱。

[0149] 元素分析。使用Exeter分析元素分析仪(CE440)通过Warwick Analytical Service执行元素分析(碳、氢和氮)。

[0150] UV-Vis光谱法。通过使用1-cm径长石英比色杯(0.5mL)和PTP1Peltier温度控制器,在Cary50-Bio分光计上记录UV-vis光谱。在双蒸水中从800到200nm在约310K记录光谱。

[0151] 方法

[0152] N-乙酰基-L-半胱氨酸(NAC)处理。将A2780细胞用5mM NAC预处理2小时,以增加其GSH(谷胱甘肽)水平,并且随后加入以超过其IC₅₀值的浓度的络合物:2(0.25 μ M)、5(0.25 μ M)、12(2.5 μ M)、6(0.25 μ M)和顺铂(5.0 μ M)用于另一个24小时处理。随后同时去除NAC和钼络合物,并且用PBS洗涤一次,将细胞温育72小时用于回收。通过与用于IC₅₀测试一样的SRB测试来测试细胞活力。

[0153] X射线晶体学。使用Mo K α 放射,在具有Ruby CCD平面检测器的Oxford Diffraction Gemini 四圆系统上,获得关于[(η^6 -p-cym)Os(Azpy)I]PF₆(2)、[(η^6 -bip)Os(Azpy-0)I]•0.5H₂O(3*)、[(η^6 -p-cym)Os(Azpy-NMe₂)I]PF₆(5)、[(η^6 -p-cym)Os(Azpy)I]PF₆(8)、[(η^6 -p-cym)Os(Azpy-NMe₂)Cl]PF₆(11)和关于[(η^6 -p-cym)OsI₂]I₂的X射线衍射数据。使用ABSPACK应用吸收校正。¹⁰将晶体固定在油中,且用Oxford Cryosystem Cryostream Cobra保持在100(2)K。使用SHELXS(TREF)¹¹通过直接方法解出结构,具有通过傅里叶(Fourier)方法发现的另外光原子。精炼使用SHELXL97。¹²将H原子置于几何计算的位置上,并且在亲本原子上精炼。3*中的溶剂水在50%占据时精炼为经过反转中心混乱的。氢位于差异图中,且允许自由精炼,但给出等于它们与之附着的氧的等价各向同性值1.5倍的热参数。水形成桥接两个附近络合物的酚盐的短氢键(图1)。

[0154] pH*测量。在环境温度测量磷酸盐缓冲液的pH*(pH仪读数而无对于在玻璃电极上的氘作用的校正)值。在记录NMR光谱前,使用配备由以pH4、7和10的Aldrich缓冲溶液校正的微复合电极的corning240pH仪。

[0155] IC₅₀值的测定。

[0156] SRB生长抑制测定

[0157] 通过磺酰罗丹明B测试来测定抑制50%人卵巢A2780癌细胞增殖的钼络合物浓度。将A2780细胞以5000个细胞/孔种植到96孔板(Falcon)中,在温育48小时后,将络合物溶解于DMSO(Sigma)中,以提供10mM母液。将母液通过细胞培养基连续稀释,以给出比用于测定法的终浓度四倍的浓度。将在细胞培养基中的络合物稀释物一式三份加入具有细胞的96孔板,以实现终浓度。在每个孔中的最终DMSO浓度不超过1%(v/v)。在24小时后去除络合物。将细胞用磷酸盐缓冲盐水洗涤一次,并且加入150 μ L细胞培养基/孔。72小时回收细胞。通过加入150 μ L50%(w/v)三氯乙酸/孔来固定存活细胞,并且在277K(277K)温育1小时。将板用自来水洗涤三次,并且在暖空气流下干燥,0.4%磺酰罗丹明B(Sigma)溶液100 μ L/孔,随后用1%乙酸洗涤五次,并且暖空气流下干燥。将染料溶解于10mM Tris缓冲液200 μ L/孔中。通过Multiskan Ascent板阅读器(Labsystems)在540nm处获得每个孔的吸光度。SRB在每个孔中的吸光度值与细胞数目成正比。随后可以针对通过使用Origin软件测定的浓度和IC₅₀标绘吸光度。

[0158] MTT生长抑制测定法。使用MTT测定法评估肿瘤细胞生长抑制。¹³将2 $\times$ 10³细胞接种

到96孔板内,并且在37℃在含有5%CO₂的加湿大气中温育过夜。如上将络合物溶解于DMSO中,并且随后在完全细胞培养基中稀释,以给出宽范围的浓度。顺铂包括在筛选中作为比较物。从每个孔中去除培养基并且替换为络合物或对照溶液,并且随后将板进一步温育96小时。在96小时后,去除培养基,并且将溶于完全培养基中的200μL的0.5mg mL⁻¹MTT溶液(Sigma)加入每个孔中。在进一步的4小时温育后,从每个孔中去除溶液并且加入150μL DMSO(Sigma),以溶解起因于MTT转换的甲臜晶体。在微板阅读器上在550nm处读出关于所得到的溶液的吸光度值,并且细胞存活计算为处理细胞的吸光度除以对照。结果就IC₅₀值(即,杀死50%细胞所需的化合物浓度)而言表达,并且所有实验一式三份地执行。

[0159] 细胞系。下述人癌细胞系在补充有1mM丙酮酸钠、2mM L-谷氨酰胺和10%胎牛血清(都来自Sigma)的RPMI1640细胞培养基中培养:A549非小细胞肺癌、HCT-116结肠、MCF-7乳腺、PC-3前列腺(都来自LGC Promochem,Teddington,UK)、A2780/cis卵巢(顺铂抗性的)和RT-112膀胱(两者都来自ECACC,Salisbury,UK)。

[0160] 动物。使用6-12周龄的雌性Balb/c免疫缺陷裸鼠(Harlan,Loughborough,UK)。小鼠随意接受Harlan2018饮食(Harlan)和水。小鼠维持在笼中在具有光和暗的有规律交替循环的空调房中。所有动物程序在由UK Home Office颁发的计划许可证下执行,并且自始至终遵循UKCCCR指导(Workman P, Twentyman P, Balkwill F等人:United Kingdom Coordinating Committee on Cancer Research(UKCCCR)Guidelines for the Welfare of Animals in Experimental Neoplasia(第二版).Br J Cancer77:1-10,1998)。

[0161] 体内毒性的评估。HCT-116用于该研究中。从供体动物中切除肿瘤,置于含有抗生素的无菌生理盐水中,并且切割成约2mm³的小片段。在短暂的一般吸入麻醉后,使用套针将片段植入每只小鼠的左右腹部肋腹中。一旦肿瘤可以使用测径器进行精确测量时(约50mm³的平均肿瘤体积),就开始处理。将络合物3和6溶解于10%DMSO;5%Tween-80;85%盐水中,并且在第0天时静脉内施用于具有2只小鼠的组。动物频繁称重,并且经过15天的监控任何有害作用。施用以不具有明显毒性的2mg kg⁻¹开始的增加剂量的络合物,直至实现40mg kg⁻¹的最大限度可溶剂量。

[0162] GSH反应。将含有[(η⁶-p-cym)Os(Azpy-NMe₂)I]PF₆(6)(100μM)和GSH(10mM)的溶液在310K在95%磷酸盐缓冲液(10mM)和5%甲醇中温育,并且通过¹H-NMR光谱法监控24小时的时期。

[0163] 结果与讨论

[0164] 先前我们报道了具有芳烃=联苯(11)和对-伞花烃(12)的两种Os^{II}偶氮吡啶络合物[(η⁶-arene)Os(azpy-NMe₂)Cl]PF₆的合成。¹⁴关于这些络合物的细胞毒性测试被其低可溶性和在使用的测试条件下沉淀的出现妨碍。高到100μM的浓度都未检测到针对人A549肺癌细胞的活性。在目前的工作中,我们已研究用碘化物替换氯化物,在苯偶氮基吡啶螯合配体的苯环上具有二甲胺或羟基取代基的络合物,并且还检查络合物在测试条件下保留在溶液中并且不沉淀(参见下文)。

[0165] 化学。用PF₆作为抗衡离子以良好得率合成含有螯合的苯偶氮基吡啶配体(Azpy、Azpy-OH和Azpy-NMe₂)的六种新型碘钨芳烃络合物。一般而言,它们具有弱含水可溶性,其中联苯络合物比对-伞花烃络合物水溶性更小。通过X射线晶体学测定碘Azpy络合物2、Azpy-OH络合物3和Azpy-NMe₂5的结构。为了比较,合成六种氯类似物,并且同样通过X射线

晶体学测定Azpy络合物8和Azpy-NMe₂络合物11的结构。我们先前已报道12的X射线结构。¹⁴我们还测定二聚体[(η^6 -p-cym)OsI₂]₂的结构,其是这个工作中的重要合成中间体(图3)。

[0166] 所有铱络合物在结晶状态都采用具有在预期范围内的键长和角度的熟悉的假八面体‘钢琴凳’结构(图1)。通过络合物3[(η^6 -bip)Os(Azpy-OH)I]PF₆的甲醇溶液的缓慢蒸发获得的晶体[(η^6 -bip)Os(azpy-O)I]·0.5H₂O(3*)不具有抗衡离子,且具有短O15-C12键长(1.258(4)Å),说明OH基团的去质子化,具有碘化物平衡在Os^{II}上的变化。在晶格中的水分子与酚盐基团形成短H-键且桥接附近络合物的两个酚盐。这提供关于不含抗衡离子的去质子化铱芳烃络合物的以这类结构的罕见例子(图4)。3的羟基的pK_a测定为小于7(可与关于钌类似物的值6.48比较)¹⁵,并且因此络合物预期在细胞毒性测定法的条件下(pH7)是去质子化的,如在X射线结构中。关于这些结构的所选键长和角度在支持信息中列出(表2)。

[0167] 细胞毒性。

[0168] 在此处使用的条件下,且与关于络合物11和12的先前研究形成对比,¹⁴络合物看起来在测试的浓度下在培养基中是可溶的,并且在24小时后未观察到沉淀。偶氮吡啶配体自身无一在高达100μM的浓度下,显示针对A2780人卵巢癌细胞系的任何抗增殖活性。具有苯偶氮基吡啶衍生物作为螯合配体的铱络合物的IC₅₀值范围,对于具有Azpy-OH和Azpy-NMe₂配体的碘联苯络合物3和5的0.14μM到对于含有Azpy的氯络合物8的超过50μM。

[0169] 关于络合物1-12针对A2780人卵巢癌细胞系的IC₅₀值在表1A中给出。关于络合物13-16针对A2780人卵巢癌细胞系的IC₅₀值在表1B中给出。

[0170] 根据针对A2780细胞系的初步结果,选择3种络合物用于针对不同组织型的癌细胞系,以及针对A2780的顺铂抗性亚系A2780/cis的进一步评估。如由表1C可见的,络合物3和6证实针对测试的所有细胞系比顺铂大至少10倍的效力,除了对于络合物3证实3倍差异的RT-112外。络合物12证实超过实验对象组与顺铂相似的效力。对于PC-3细胞系可见关于所有3种络合物的最大差异。

[0171] 体内毒性的评估。基于其有希望的体外活性,选择络合物3和6用于进一步的体内评估。关于其在裸鼠肿瘤HCT-116异种移植模型中的毒性的评估,络合物证实在高到且包括其40mg kg⁻¹的最大限度可溶剂量的剂量下,可忽略不计的有害作用。这个剂量比相同肿瘤模型中顺铂的最大限度耐受剂量高约6倍,并且暗示由于络合物相对缺乏毒性,可能存在宽得多的治疗窗口。这将在广泛的体内药物代谢动力学和功效研究中进行研究。

[0172] 稳定性和水解。我们研究了这些偶氮吡啶络合物的水解(水合),因为这是关于卤素铱芳烃络合物在其与生物学靶例如DNA的反应中的潜在活化机制。⁶

[0173] 在310K超过24小时研究高活性络合物6、中等活性络合物12和失活络合物8的含水行为。如通过下述观察到的:其在95%氧化的磷酸盐缓冲液(10mM)/5%MeOD-d₄中保持未改变的¹H NMR光谱(图5),显示对应于氯和碘络合物的离子的质谱和同样显示无变化的UV-vis光谱(图6),判断出络合物6和12保持稳定并且超过24小时的时期不水解。

[0174] 相比之下,溶于95%10mM D₂O磷酸盐缓冲液/5%MeOD-d₄中的络合物8的50μM溶液的¹H NMR光谱显示对应于偶氮吡啶配体的峰的消失,暗示该络合物比碘络合物更不稳定。通过使其与硝酸银在回流下反应过夜,从络合物12中去除氯化物的尝试,不会导致含水产物,仅氯络合物显示于质谱中(图7),说明Os-Cl键很强。

[0175] 我们因此得出结论,最活性的络合物是稳定的且针对水解相对惰性的。

[0176] N-乙酰基-L-半胱氨酸对细胞毒性的作用

[0177] 用NAC预处理细胞可以通过抑制细胞内活性氧种类(ROS)的累积且维持细胞内GSH水平,来阻断顺铂依赖性半胱天冬酶-3活化和凋亡。¹⁶为了研究ROS在苯偶氮基吡啶Os^{II}芳烃络合物的细胞毒性中的可能牵涉,我们因此研究用NAC预处理细胞的作用。顺铂用作阳性对照,而未用钼络合物处理的细胞充当阴性对照。

[0178] 用下述浓度的碘络合物3、5和6和氯络合物12处理A2780细胞,所述浓度比其IC₅₀值高1.2-1.8x和在顺铂的情况下高2.5x。这些剂量使细胞生长减少至<对照值的30%(图8)。当细胞用5mM N-乙酰基-L-半胱氨酸预处理2小时,以增加细胞内谷胱甘肽浓度时,¹⁵所有络合物的抗增殖效应得到显著抑制。恢复>70%的生长水平。例外是氯络合物12,对于其NAC预处理仅对恢复生长具有小作用(图8)。暗示与这些偶氮吡啶钼芳烃碘络合物或顺铂不同,氯络合物不依赖于ROS的产生用于其细胞毒性机制。

[0179] 因为可能络合物可以与NAC直接反应或该效应不仅是由于对细胞中的硫醇水平的作用,所以在310K监控在30%丙酮-d₆和70%磷酸盐缓冲液(10mM pH=7.0)中含有1.0mM[(η^6 -p-cym)Os(Azpy-NMe₂)I]PF₆(6)和过量(7.35mM)NAC的溶液的¹H NMR光谱共24小时的时期。在NMR光谱中未出现新峰(图9),暗示这个碘钼偶氮吡啶络合物不能容易地与NAC反应。

[0180] 与GSH反应。因为一些苯偶氮基吡啶钼芳烃络合物看起来催化氧化GSH,所以对于钼类似物研究相似反应。含有高度细胞毒性碘络合物[(η^6 -p-cym)Os(Azpy-NMe₂)I]PF₆(6)(100 μ M)和100x摩尔过量的GSH(10mM,以模拟可能的细胞内条件)的溶液的¹H NMR光谱显示经过24小时时期的很少变化。这暗示络合物6不催化氧化GSH,与将GSH催化氧化为GSSG的类似Ru^{II}络合物的行为不同,¹⁵这些Os^{II}偶氮吡啶络合物的细胞毒性机制因此看起来不同于Ru^{II}类似物的细胞毒性机制,这可能解释了Os^{II}络合物为何更有效。

[0181] 结论

[0182] 有机金属钼芳烃络合物具有用于作为抗癌络合物研究的潜力。它们的配体取代率及其氧化还原性质(金属或配体位于中心的)通过配体的选择加以控制。假八面体‘钢琴凳’芳烃络合物是有吸引力的,因为它们提供顺应广泛多样的取代连同3个其他的可变配位位置的疏水芳烃面。芳烃及其他配体都可以对测定在络合物内的电子分布具有主要作用。在现有的情况下,整合的偶氮吡啶配体是 σ -供体和强 π -受体,即存在电子从Os^{II}到偶氮吡啶配体上的强反馈作用,其对反应性具有大作用。碘络合物比氯络合物更有活性,并且在苯偶氮基吡啶整合配体上含有对-羟基或对-二甲基氨基取代基的那些(例如络合物3和6)在纳摩尔浓度针对卵巢、肺、乳腺、结肠、前列腺和膀胱癌细胞是细胞毒性的,比顺铂以及(出乎意料地)比其Ru^{II}类似物更有效一个数量级。它们还对于水解是惰性的,但与其Ru^{II}类似物不同,不催化氧化GSH。通过用N-乙酰基-L-半胱氨酸预处理细胞抑制细胞毒性,暗示活性氧种类(ROS)涉及其作用机制。这些Os^{II}络合物在HCT-116肿瘤异种移植物模型中显示出低毒性和可忽略不计的有害作用,这可以为它们提供宽治疗窗口。

[0183] 更多的络合物和研究

[0184] 本发明人已合成更多的络合物且还进行进一步的研究,其细节显示于下文:

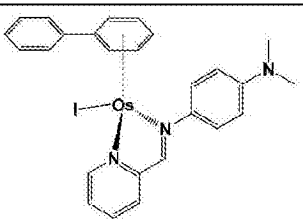
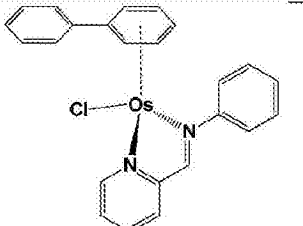
[0185] 配体名称:

[0186]

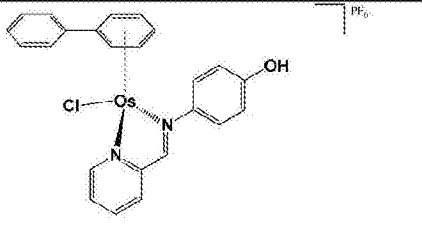
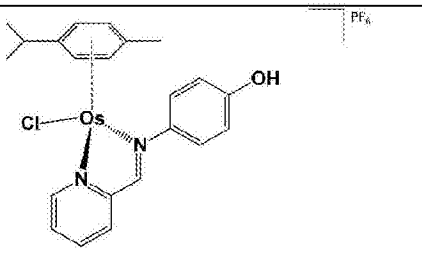
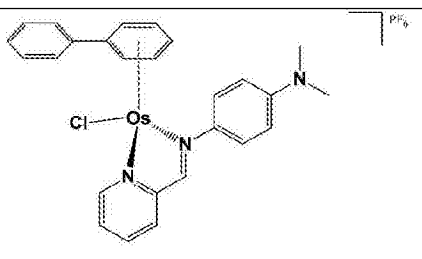
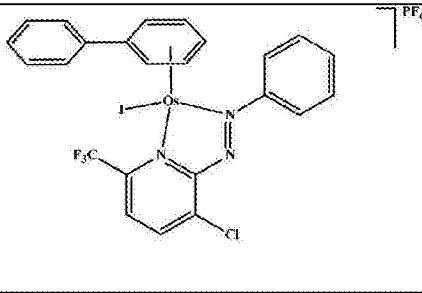
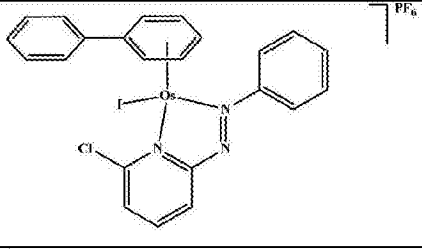
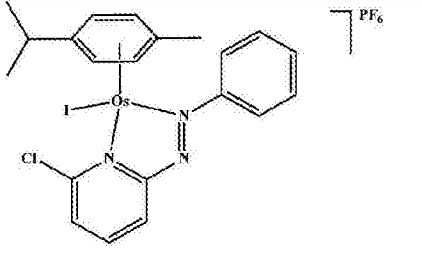
1-CF ₃ -4-Cl-Azpy	2-氯-5-三氟甲基-2-(苯偶氮基)吡啶
------------------------------	-----------------------

1-Cl-Azpy	5-氯-2-(苯偶氮基)吡啶
2-F-Azpy	4-氟-2-(苯偶氮基)吡啶
2-Cl-Azpy	4-氯-2-(苯偶氮基)吡啶
2-Br-Azpy	4-溴-2-(苯偶氮基)吡啶
2-I-Azpy	4-碘-2-(苯偶氮基)吡啶
3-Cl-Azpy	3-氯-2-(苯偶氮基)吡啶
OH-Azpy-NO ₂	5-羟基-2-(4-硝基苯偶氮基)吡啶
亚胺-S	N-(2-吡啶基亚甲基)-(S)-1-苯乙胺
亚胺-R	N-(2-吡啶基亚甲基)-(R)-1-苯乙胺

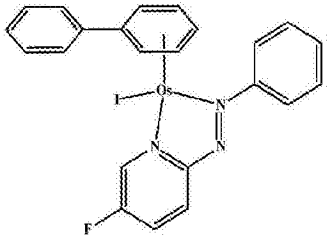
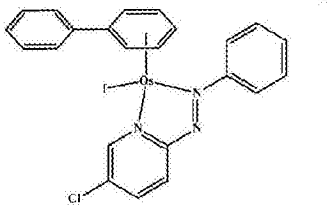
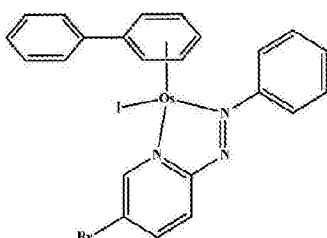
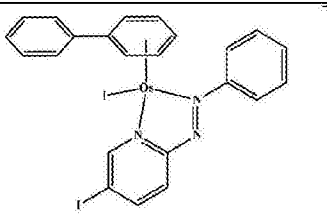
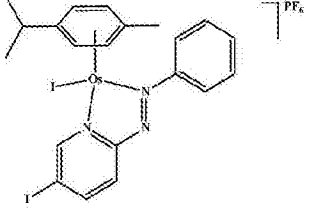
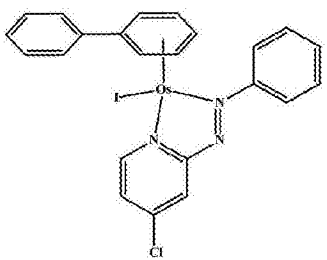
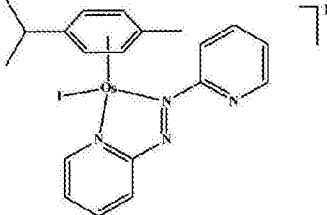
[0187]

化学名称	结构	对于 A2780 细胞系的IC ₅₀ /μM
[Os (η ⁶ -bip) (pp-NMe ₂) I]PF ₆ FY012		0.14 (±0.01)
[Os (η ⁶ -bip) (pp) Cl]PF ₆ FY098		4.6 (±0.4)

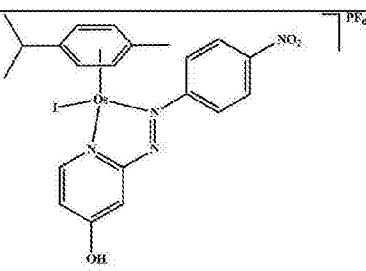
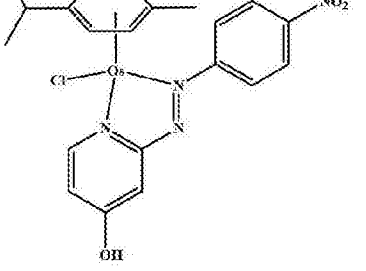
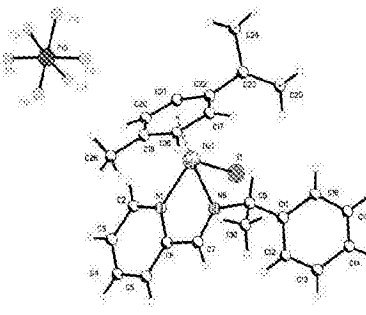
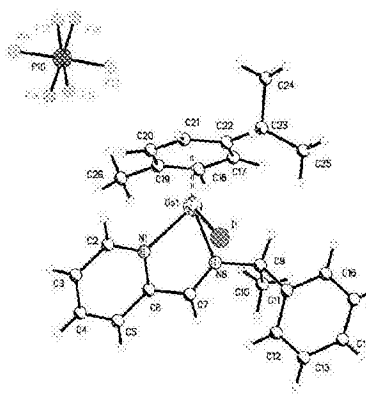
[0188]

[Os (η^6-bip) (pp-OH) Cl]PF₆ FY150		2.4 (±1.1)
[Os (η^6-<i>p</i>-cym) (pp-OH) Cl]PF₆ FY119		5.5 (±0.6)
[Os (η^6-bip) (pp-NMe₂) Cl]PF₆ FY093		0.44 (±0.01)
[Os (η^6-bip) (1-CF₃-4-Cl-Azpy) I]PF₆ FY107		5.7 (±1.0)
[Os (η^6-bip) (1-Cl-azpy) I]PF₆ FY110		3.7 (±0.3)
[Os (η^6-<i>p</i>-cym) (1-Cl-Azpy) I]PF₆ FY112		9.0 (±4.5)

[0189]

[Os (η^6-bip) (2-F-Azpy) I]PF₆ FY069		0.63 (±0.1)
[Os (η^6-bip) (2-Cl-Azpy) I]PF₆ FY078		1.0 (±0.1)
[Os (η^6-bip) (2-Br-Azpy) I]PF₆ FY061		0.59 (±0.02)
[Os (η^6-bip) (2-I-Azpy) I]PF₆ FY070		0.22 (±0.02)
[Os (η^6-<i>p</i>-cym) (2-I-Azpy) I]PF₆ FY067		2.4 (±0.5)
[Os (η^6-bip) (3-Cl-Azpy) I]PF₆ FY052		22.0 (±2.0)
[Os (η^6-<i>p</i>-cym) (abpy) I]PF₆ FY043		10.8 (±0.11)

[0190]

[Os (η^6-<i>p</i>-cym) (OH-Azpy-NO₂) I]PF₆ FY036		0.29 (±0.04)
[Os (η^6-<i>p</i>-cym) (OH-Azpy-NO₂) Cl]PF₆ FY033		0.30 (±0.05)
[(η^6-<i>p</i>-cym) Os (亚胺-S) I]PF₆ FY175A		6.9 (±0.2)
[(η^6-<i>p</i>-cym) Os (亚胺-R) I]PF₆ FY178A		0.30 (±0.02)

[0191] 细胞毒性研究如先前在上文描述执行。

[0192] 合成和表征：

[0193] (FY012)[(η^6 -bip)Os(pp-NMe₂)I]PF₆在353K将[(η^6 -bip)OsI₂]₂(50.0mg, 0.042mmol)溶解于甲醇(30mL)中。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的pp-NMe₂(18, 8mg, 0.84mmol),溶液颜色立即从橙色变成红色。将溶液在353K搅拌4小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇,将体积减少至约10ml,并且加入六氟磷酸铵(27.3mg, 0.17mmol)。随后将溶液在

冰箱中静置24小时。沉淀红色粉末,将其通过过滤收集,用冷乙醇和二乙醚洗涤,随后最后在真空中干燥。得率:35.1mg(49.8%)。关于 $C_{26}H_{25}IN_3O_s$ 的ESI-MS计算: m/z 698.1,发现698.1。 1H NMR($(CD_3)_2CO$): δ 9.29(d,1H, $J=5$ Hz),9.02(s,1H),8.42(d,1H, $J=8$ Hz),8.18(t,1H, $J=8$ Hz),7.65(d,2H, $J=9$ Hz),7.51-7.38(m,7H).6.88(d,1H, $J=6$ Hz),6.74(d,2H, $J=9$ Hz),6.62(t,1H, $J=6$ Hz),6.55(d,1H, $J=6$ Hz),6.50(t,1H, $J=6$ Hz),6.34(t,1H, $J=6$ Hz),CHN分析:发现:C,41.54%;H,3.31%;N,5.61%。关于 $C_{24}H_{29}ClF_6N_3O_sP$ 的计算:C,41.63% H ,3.36% N ,5.60%。

[0194] (FY098) $[(\eta^6\text{-bip})Os(pp)Cl]PF_6$ 在353K将 $[(\eta^6\text{-bip})OsCl_2]_2$ (50.0mg,0.060mmol)溶解于甲醇(30mL)中。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的pp(21.9mg,0.12mmol),溶液颜色立即从橙色变成红色。将溶液在353K搅拌4小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇,将体积减少至约10ml,并且加入六氟磷酸铵(39.1mg,0.24mmol)。随后将溶液在冰箱中静置24小时。沉淀暗色粉末,将其通过过滤收集,用冷乙醇和二乙醚洗涤,随后最后在真空中干燥。得率:64.0mg(75.3%)。关于 $C_{24}H_{20}ClN_2O_s$ 的ESI-MS计算: m/z 563.1,发现563.0。 1H NMR($(CD_3)_2CO$): δ 9.42(d,1H, $J=5$ Hz),9.28(s,1H),8.53(d,1H, $J=8$ Hz),8.34(t,1H, $J=8$ Hz),7.80(t,1H, $J=8$ Hz),7.62(d,2H, $J=9$ Hz),7.58(d,2H, $J=9$ Hz),7.54-7.45(m,6H).6.71(d,1H, $J=6$ Hz),6.45(d,1H, $J=6$ Hz),5.45-5.40(m,2H).6.36(t,1H, $J=6$ Hz),CHN分析:发现:C,40.77%; H ,2.79%; N ,3.91%。关于 $C_{24}H_{20}ClF_6N_2O_sP$ 的计算:C,40.77% H ,2.85% N ,3.96%。

[0195] (FY150) $[(\eta^6\text{-bip})Os(pp\text{-}OH)Cl]PF_6$ 在353K将 $[(\eta^6\text{-bip})OsCl_2]_2$ (50.0mg,0.060mmol)溶解于甲醇(20mL)和水(10mL)混合物中。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的pp-OH(23.8mg,0.012mmol)。将溶液在353K搅拌4小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇,将体积减少至约10ml,并且加入六氟磷酸铵(97.8mg,0.6mmol)。随后将溶液在冰箱中静置24小时。沉淀暗色粉末,将其通过过滤收集,用冷乙醇和二乙醚洗涤,随后最后在真空中干燥。得率:15.3mg(17.2%)。关于 $C_{24}H_{20}ClN_2O_0s$ 的ESI-MS计算: m/z 579.1,发现579.0。 1H NMR($(CD_3)_2CO$): δ 9.36(d,1H, $J=6$ Hz),9.18(s,1H),8.47(d,1H, $J=8$ Hz),8.29(t,1H, $J=8$ Hz),7.76(t,1H, $J=9$ Hz),7.58(d,2H, $J=8$ Hz),7.54-7.43(m,5H),6.92(d,2H, $J=9$ Hz),6.74(d,1H, $J=6$ Hz),6.64(d,1H, $J=6$ Hz),6.45(t,1H, $J=6$ Hz),6.42(t,1H, $J=6$ Hz),6.35(t,1H, $J=6$ Hz),CHN分析:发现:C,39.44%; H ,2.84%; N ,3.71%。关于 $C_{24}H_{20}ClF_6N_2O_0sP$ 的计算:C,39.87% H ,2.79% N ,3.87%。

[0196] (FY119) $[(\eta^6\text{-p-cym})Os(pp\text{-}OH)Cl]PF_6$ 在313K将 $[(\eta^6\text{-p-cym})OsCl_2]_2$ (50.0mg,0.063mmol)溶解于甲醇(30mL)中。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的pp-OH(25.0mg,0.12mmol),溶液颜色立即从橙色变成红色。将溶液在环境温度搅拌2小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇,将体积减少至约10ml,并且加入六氟磷酸铵(41.2mg,0.25mmol)。随后将溶液在冰箱中静置24小时。沉淀暗色粉末,将其通过过滤收集,用冷乙醇和二乙醚洗涤,随后最后在真空中干燥。得率:53.8mg(63.7%)。关于 $C_{22}H_{24}ClN_2O_0s$ 的ESI-MS计算: m/z 559.1,发现559.1。 1H NMR($(CD_3)_2CO$): δ 9.60(d,1H, $J=5$ Hz),9.35(s,1H),8.50(d,1H, $J=7$ Hz),8.34(t,1H, $J=7$ Hz),7.84(t,1H, $J=6$ Hz),7.75(d,2H, $J=9$ Hz),7.08(d,2H, $J=9$ Hz),6.46(d,1H, $J=6$ Hz),6.00(d,1H, $J=6$ Hz),5.84(d,1H, $J=6$ Hz),2.81(s,3H),2.65-2.55(m,1H),2.41(s,6H),1.09(d(d,6H)。CHN分析:发现:C,37.82%; H ,3.33%; N ,3.91%。关于 $C_{22}H_{24}ClF_6N_2O_0sP$ 的计算:C,37.58% H ,3.44% N ,3.98%。

[0197] (FY093) $[(\eta^6\text{-bip})Os(pp\text{-}NMe_2)Cl]PF_6$ 在313K将 $[(\eta^6\text{-bip})OsCl_2]_2$ (50.0mg,0.060mmol)溶解于甲醇(20mL)中。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的pp-NMe₂(27.1mg,

0.12mmol), 溶液颜色立即从橙色变成红色。将溶液在353K搅拌12小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇, 将体积减少至约10ml, 并且加入六氟磷酸铵(39.1mg, 0.24mmol)。随后将溶液在冰箱中静置24小时。沉淀红色粉末, 将其通过过滤收集, 用冷乙醇和二乙醚洗涤, 随后最后在真空中干燥。得率: 52.0mg (57.8%)。关于 $C_{24}H_{20}ClN_2O_s$ 的ESI-MS计算: m/z 563.1, 发现563.0。 1H NMR($(CD_3)_2CO$): δ 9.31(d, 1H, $J=5$ Hz), 9.09(s, 1H), 8.39(d, 1H, $J=8$ Hz), 8.25(t, 1H, $J=8$ Hz), 7.70(t, 1H, $J=9$ Hz), 7.61-7.44(m, 7H), 6.77(d, 2H, $J=9$ Hz), 6.74(d, 1H, $J=6$ Hz), 6.62(d, 1H, $J=6$ Hz), 6.63-6.45(m, 2H), 6.34(t, 1H, $J=6$ Hz), CHN分析: 发现: C, 41.54%; H, 3.31%; N, 5.61%。关于 $C_{24}H_{20}ClF_6N_2O_sP$ 的计算: C, 41.63% H, 3.36% N, 5.60%。

[0198] (FY107) $[Os(\eta^6-bip)(1-CF_3-4-Cl-azpy)I]PF_6$ 。在353K将 $[Os(\eta^6-bip)I_2]_2$ (50.0mg, 0.042mmol) 溶解于甲醇(40mL)中。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的1- CF_3 -4-Cl-azpy (24.0mg, 0.084mmol)。将溶液在353K搅拌16小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇, 将体积减少至约10ml, 并且加入六氟磷酸铵(27.7mg, 0.17mmol)。随后将溶液在冰箱中静置24小时。沉淀暗色粉末, 将其通过过滤收集, 用冷乙醇和二乙醚洗涤, 随后最后在真空中干燥。得率: 43.1mg (57.1%)。关于 $C_{24}H_{17}ClF_3IN_3O_s$ 的ESI-MS计算: m/z 758.0, 发现757.8。 1H NMR($(CD_3)_2CO$): δ 9.80(s, 1H), 8.71(d, 1H, $J=2$ Hz), 7.96(d, 2H, $J=8$ Hz), 7.72(t, 1H, $J=8$ Hz), 7.56-7.44(m, 6H), 7.42-7.38(m, 2H), 7.27(t, 1H, $J=6$ Hz), 7.22(d, 1H, $J=6$ Hz), 6.98(t, 1H, $J=6$ Hz), 6.88(d, 1H, $J=6$ Hz), 6.77(t, 1H, $J=6$ Hz), CHN分析: 发现: C, 31.98%; H, 2.08%; N, 4.34%。关于 $C_{24}H_{17}ClF_9IN_3O_sP$ 的计算: C, 31.96% H, 1.90% N, 4.66%。

[0199] (FY110) $[Os(\eta^6-bip)(1-Cl-azpy)I]PF_6$ 。在353K将 $[Os(\eta^6-bip)I_2]_2$ (30.0mg, 0.025mmol) 溶解于甲醇(40mL)中。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的1-Cl-azpy (10.8mg, 0.050mmol)。将溶液在353K搅拌2小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇, 将体积减少至约10ml, 并且加入六氟磷酸铵(16.3mg, 0.10mmol)。随后将溶液在冰箱(253K)中静置24小时。沉淀暗色粉末, 将其通过过滤收集, 用冷乙醇和二乙醚洗涤, 随后最后在真空中干燥。得率: 22.0mg (52.8%)。关于 $C_{23}H_{18}ClIN_3O_s$ 的ESI-MS计算: m/z 690.0, 发现689.9。 1H NMR($(CD_3)_2CO$): δ 8.56(d, 1H, $J=6$ Hz), 8.33(t, 1H, $J=8$ Hz), 8.19(d, 1H, $J=6$ Hz), 7.87(d, 2H, $J=8$ Hz), 7.66(t, 1H, $J=8$ Hz), 7.52-7.39(m, 7H), 7.19(d, 1H, $J=6$ Hz), 7.00(t, 2H, $J=6$ Hz), 6.99-6.78(m, 2H)。CHN分析: 发现: C, 32.82%; H, 2.08%; N, 4.75%。关于 $C_{23}H_{18}ClF_6IN_3O_sP$ 的计算: C, 33.12%; H, 2.18%; N, 5.04%。

[0200] (FY112) $[Os(\eta^6-p-cym)(1-Cl-azpy)I]PF_6$ 。将 $[Os(\eta^6-p-cym)I_2]_2$ (50.0mg, 0.043mmol) 溶解于甲醇(30mL)中。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的1-Cl-azpy (18.7mg, 0.086mmol)。将溶液在353K搅拌4小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇, 将体积减少至约10ml, 并且加入六氟磷酸铵(28.0mg, 0.17mmol)。随后将溶液在冰箱(253K)中静置24小时。沉淀暗色粉末, 将其通过过滤收集, 用冷乙醇和二乙醚洗涤, 随后最后在真空中干燥。得率: 28.0mg (40.0%)。关于 $C_{21}H_{22}ClIN_3O_s$ 的ESI-MS计算: m/z 670.0, 发现669.9。 1H NMR($(CD_3)_2CO$): δ 9.01(d, 1H, $J=6$ Hz), 8.20(d, 1H, $J=8$ Hz), 8.14-8.02(m, 3H), 7.81(m, 1H), 7.14(d, 2H, $J=9$ Hz), 6.61(m, 2H), 6.46(d, 1H, $J=6$ Hz), 6.16(m, 4H), 2.39(s, 3H), 2.69-2.64(m, 1H), 1.03(d of the d, 6H)。CHN分析: 发现: C, 30.38%; H, 2.62%; N, 5.11%。关于 $C_{21}H_{22}ClF_6IN_3O_sP$ 的计算: C, 30.99%; H, 2.72%; N, 5.16%。

[0201] (FY069) $[Os(\eta^6-bip)(2-F-azpy)I]PF_6$ 。在313K将 $[Os(\eta^6-bip)I_2]_2$ (25.0mg,

0.021mmol)溶解于甲醇(20mL)中。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的2-F-Azpy(8.4mg, 0.042mmol),溶液颜色立即从黄色变成褐色。将溶液在回流下(353K)加热12小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇,将体积减少至约10mL,并且加入六氟磷酸铵(13.7mg,0.084mmol)。随后将溶液在冰箱(253K)中静置24小时。沉淀暗色粉末,将其通过过滤收集,用冷乙醇和二乙醚洗涤,随后最后在真空中干燥。得率:15.5mg(45.0%)。关于C₂₃H₁₈FIN₃O_s的ESI-MS计算:m/z674.0,发现674.1。¹HNMR((CD₃)₂CO): δ 9.50(t,1H,J=2Hz),8.88(d的d,1H),8.91(d的d,2H),8.32(t的d,1H),8.02(d的d,1H),7.95-7.92(m,2H),7.73-7.41(m,5H),7.13-7.09(m,2H),6.96(t,1H,J=7Hz),6.79(d,1H,J=7Hz),6.65(t,1H,J=7Hz)。CHN分析:发现:C,34.17%;H,2.28%;N,5.04%。关于C₂₃H₁₈F₇IN₃O_sP的计算:C,33.79%;H,2.22%;N,5.14%。

[0202] (FY078)[Os(η^6 -bip)(2-Cl-azpy)I]PF₆。在353K将[Os(η^6 -bip)I₂]₂(30.0mg, 0.025mmol)溶解于甲醇(10mL)中,并且在回流下加热1小时。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的2-Cl-azpy(10.8mg,0.050mmol)。将溶液在353K搅拌2小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇,将体积减少至约10mL,并且加入六氟磷酸铵(16.3mg,0.10mmol)。随后将溶液在冰箱(253K)中静置24小时。沉淀暗色晶体,将其通过过滤收集,用冷乙醇和二乙醚洗涤,随后最后在真空中干燥。得率:24.5mg(29.3%)。关于C₂₃H₁₈ClIN₃O_s的ESI-MS计算:m/z690.0,发现689.9。¹H NMR((CD₃)₂CO): δ 9.46(d,1H,J=3Hz),8.99(d,1H,J=9Hz),8.40(d的d,1H),7.91(d,2H,J=8Hz),7.69(t,1H,J=8Hz),7.55-7.47(m,3H),7.44-7.39(m,4H),7.13(d,1H,J=6Hz),7.09(t,1H,J=6Hz),6.89(t,1H,J=6Hz),6.82(d,1H,J=6Hz),6.72(t,1H,J=6Hz)。CHN分析:发现:C,32.92%;H,2.06%;N,5.03%。关于C₂₃H₁₈ClF₆IN₃O_sP的计算:C,33.21%;H,2.18%;N,5.04%。

[0203] (FY061)[Os(bip)(2-Br-azpy)I]PF₆。将[Os(bip)I₂]₂(30.0mg,0.025mmol)溶解于甲醇(30mL)和水(10mL)中,并且将溶液在回流下(T=353K)加热1.5小时。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的2-Br-azpy(13.1mg,0.05mmol),溶液颜色立即从橙色变成褐色。将溶液搅拌且进一步在回流下加热1.5小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇,将体积减少至约10mL,并且加入六氟磷酸铵(16.4mg,0.2mmol)。随后将溶液在冰箱中静置24小时。沉淀暗色粉末,将其通过过滤收集,用冷乙醇和二乙醚洗涤,随后最后在真空中干燥。得率:22.5mg(51.2%)。关于C₂₃H₁₈BrIN₃O_s的ESI-MS计算:m/z733.9,发现733.7。¹HNMR((CD₃)₂CO): δ 9.50(d,1H,J=2Hz),8.91(d,1H,J=9Hz),8.52(d的d,1H),7.92(d,2H,J=8Hz),7.69(t,1H,J=8Hz),7.55-7.44(m,2H),7.43-7.39(m,5H),7.16-7.19(m,2H),6.87(t,1H,J=6Hz),6.81(d,1H,J=6Hz),6.71(t,1H,J=6Hz)。CHN分析:发现:C,31.94%;H,1.97%;N,4.74%。关于C₂₃H₁₈BrF₆IN₃O_sP的计算:C,31.45%;H,2.07%;N,4.78%。

[0204] (FY070)[Os(η^6 -bip)(2-I-azpy)I]PF₆。将[Os(η^6 -bip)I₂]₂(26.0mg,0.022mmol)溶解于甲醇(20mL)和水(5mL)中,并且将溶液在回流下(T=353K)加热1小时。逐滴加入溶于甲醇(5mL)中的2-Br-azpy(13.4mg,0.043mmol),溶液颜色立即从橙色变成褐色。将溶液搅拌且进一步在回流下加热1小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇,将体积减少至约10mL,并且加入六氟磷酸铵(14.3mg,0.088mmol)。随后将溶液在冰箱中静置24小时。沉淀暗色粉末,将其通过过滤收集,用冷乙醇和二乙醚洗涤,随后最后在真空中干燥。得率:19.2mg(52.0%)。关于C₂₃H₁₈F₆IN₃O_s的ESI-MS计算:m/z781.9,发现781.8。¹HNMR((CD₃)₂CO): δ 9.54(d,1H,J=2Hz),8.74(d,1H,J=9Hz),8.64(d的d,1H),7.92(d,2H,J=8Hz),7.70(t,1H,J=8Hz),7.52-7.46(m,3H),7.44-7.41(m,4H),7.15(d,1H,J=6Hz),7.09(d,1H,J=6Hz),6.83-6.78(m,2H),

6.69(t, 1H, J=6Hz)。CHN分析:发现:C, 29.90%;H, 1.87%;N, 4.51%。关于C₂₃H₁₈F₆I₂N₃O₃SP的计算:C, 29.85%;H, 1.96%;N, 4.54%。

[0205] (FY067)[Os(η^6 -p-cym)(2-I-azpy)I]PF₆。在313K将[Os(η^6 -p-cym)I₂]₂(25.0mg, 0.022mmol)溶解于甲醇(40mL)中。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的2-I-Azpy(13.4mg, 0.043mmol), 溶液颜色立即从橙色变成蓝色。将溶液在环境温度搅拌4小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇, 将体积减少至约10mL, 并且加入六氟磷酸铵(14.0mg, 0.086mmol)。随后将溶液在冰箱(253K)中静置24小时。沉淀暗色粉末, 将其通过过滤收集, 用冷乙醇和二乙醚洗涤, 随后最后在真空中干燥。得率: 27.4mg(70.4%)。关于C₂₁H₂₂F₆I₂N₃O₃的ESI-MS计算:m/z 762.0, 发现761.8。¹H NMR((CD₃)₂CO): δ 9.89(s, 1H), 9.13(m, 1H), 8.71(d, 1H), 8.18(m, 2H), 7.82-7.73(m, 2H), 6.91(d, 1H, J=6Hz), 6.59(d, 1H, J=6Hz), 6.41(d, 1H, J=6Hz), 6.35(d, 1H, J=6Hz), 2.83(s, 3H), 2.65-2.61(m, 1H), 1.02(d, 6H)。CHN分析:发现:C, 27.62%;H, 2.27%;N, 4.64%。关于C₂₁H₂₂F₆I₂N₃O₃SP的计算:C, 27.86%;H, 2.45%;N, 4.64%。

[0206] (FY052)[Os(η^6 -bip)(3-Cl-Azpy)I]PF₆。将溶于甲醇(30mL)和水(10mL)中的[Os(η^6 -bip)I₂]₂(30.0mg, 0.025mmol)在回流下(T=348K)加热1.5小时。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的3-Cl-Azpy(11.2mg, 0.052mmol)。溶液颜色立即从橙色变成暗红色, 将它在348K搅拌1.5小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇, 将体积减少至10mL, 并且加入六氟磷酸铵(41.0mg, 0.25mmol)。随后将溶液在冰箱中静置24小时。沉淀暗色粉末, 将其过滤掉, 用冷甲醇和二乙醚洗涤, 在真空中干燥。得率: 28.4mg(68.1%)。关于C₂₃H₁₈ClI₂N₃O₃的模拟ESI-MS计算:m/z 690.0, 发现689.9。¹H NMR((CD₃)₂CO) δ 9.41(d, 1H, J=6Hz), 9.14(d, 1H, J=2Hz), 7.96-7.90(m, 3H), 7.74(t, 1H, J=5Hz), 7.59-7.41(m, 7H), 7.13(d, 1H, J=6Hz), 7.05(t, 1H, J=6Hz), 6.92-6.85(m, 2H), 6.74(t, 1H, J=6Hz)。发现的CHN分析:C, 33.12%;H, 2.18%;N, 5.04%, 关于C₂₃H₁₈ClF₆I₂N₃O₃SP的计算:C, 32.89%;H, 2.89%;N, 5.48%。

[0207] (FY043)[Os(η^6 -p-cym)(Abpy)I]PF₆。在313K将[Os(η^6 -p-cym)I₂]₂(40.0mg, 0.035mmol)溶解于50mL甲醇中;逐滴加入溶于甲醇(5mL)中的Abpy(16.1mg, 0.087mmol), 溶液颜色立即从橙色变成粉红色;将它在环境温度搅拌16小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇, 将体积减少至10mL。加入六氟磷酸铵(56.2mg, 0.35mmol)。随后将溶液在冰箱(253K)中静置24小时。沉淀暗色粉末, 将其过滤掉, 用冷乙醇和二乙醚洗涤, 随后最后在真空中干燥。得率: 35.2mg(64.5%)。关于C₂₀H₂₂I₂N₄O₃的模拟ESI-MS计算:m/z 637.0, 发现637.0。¹H NMR((CD₃)₂CO) δ 9.74(d, 1H, J=6Hz), 9.12(m, 1H), 8.90(d, 1H, J=5Hz), 8.41(m, 1H), 8.22(m, 2H), 7.86(m, 2H), 6.78(d, 1H, J=6Hz), 6.72(d, 1H, J=6Hz), 6.57(d, 1H, J=6Hz), 6.51(d, 1H, J=6Hz), 2.72(s, 3H), 2.39(m, 1H), 0.93(d, 6H)。CHN分析发现:C, 30.91%;H, 2.74%;N, 7.28%, 关于C₂₀H₂₂F₆I₂N₄O₃SP的计算:C, 30.78%;H, 2.84%;N, 7.18%。

[0208] (FY036)[Os(η^6 -p-cym)(OH-Azpy-NO₂)I]PF₆。将[Os(η^6 -p-cym)I₂]₂(23.8mg, 0.020mmol)溶解于甲醇(30mL)中。逐滴加入溶于甲醇(5mL)中的OH-Azpy-NO₂(10.5mg, 0.043mmol)。伴随7滴HCl(1M)溶液, 将溶液在环境温度搅拌48小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇, 将体积减少至2mL。通过在Sephadex LH20柱上的色谱来纯化络合物。加入六氟磷酸铵(10.0mg, 0.61mmol)。随后将溶液在冰箱中静置0.5小时。将暗色沉淀物过滤掉, 用冷乙醇和二乙醚洗涤, 随后最后在真空中干燥。得率: 12.7mg(37.8%)。关于C₂₁H₂₂I₂N₄O₃O₃的模拟ESI-MS计算:m/z 697.0, 发现696.9。¹H NMR((CD₃)₂CO) δ 9.87(d, 1H, J=2Hz), 9.68(d, 1H, J=

9Hz), 9.39(d, 2H, J=9Hz), 9.73(d, 2H, J=9Hz), 8.57(m, 1H), 7.38(d, 1H, J=8Hz), 7.04(d, 1H, J=8Hz), 6.57(s, 1H), 4.50(m, 1H), 3.60(s, 3H), 1.86(d的d, 6H)。CHN分析发现: C, 31.06%; H, 2.83%; N, 6.44%, 关于 $C_{21}H_{22}F_6IN_4O_3OsP$ 的计算: C, 30.01%; H, 2.64%; N, 6.67%。

[0209] (FY033) $[Os(\eta^6\text{-p-cym})(OH\text{-Azpy-NO}_2)Cl]PF_6$ 。将 $[Os(\eta^6\text{-p-cym})Cl_2]_2$ (31.5mg, 0.040mmol) 溶解于甲醇(30mL)中。逐滴加入溶于甲醇(约10mL)中的OH-Azpy-NO₂ (19.7mg, 0.081mmol), 溶液颜色立即从黄色变成褐色。将溶液在环境温度搅拌4小时。通过在旋转蒸发器上去除甲醇, 将体积减少至约2mL。通过在Sephadex LH20柱上的色谱来纯化络合物。加入六氟磷酸铵(26.2mg, 0.16mmol)。随后将溶液在冰箱(253K)中静置1小时; 沉淀暗色粉末, 将其过滤掉, 用二乙醚洗涤, 最后在真空中干燥。得率: 25.1mg (41.8%)。关于 $C_{21}H_{22}ClN_4O_3Os$ 的模拟ESI-MS计算: 605.1, 发现605.1。¹H NMR((CD₃)₂CO) δ 9.06(d, 1H, J=2Hz), 8.79(d, 1H, J=9Hz), 8.56(d, 2H, J=9Hz), 8.33(d, 2H, J=9Hz), 7.80(d, 1H, J=8Hz), 6.74(d, 1H, J=8Hz), 6.36(d, 2H, J=8Hz), 6.22(d, 1H, J=8Hz), 2.57-2.52(m, 1H), 2.47(s, 3H), 1.00(d的d, 6H)。CHN分析发现: C, 34.35%; H, 2.95%; N, 7.35%, 关于 $C_{21}H_{22}ClF_6N_4O_3OsP$ 的计算: C, 33.67%; H, 2.96%; N, 7.48%。

[0210] (FY175A) $[(\eta^6\text{-p-cym})Os(\text{亚胺-S})I]PF_6$ 。在313K将 $[(\eta^6\text{-p-cym})OsI_2]_2$ (50.0mg, 0.043mmol) 溶解于甲醇(20mL)中。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的亚胺-S (19.3mg, 0.086mmol), 溶液颜色立即从橙色变成红色。将溶液在环境温度搅拌24小时。加入六氟磷酸铵(28.0mg, 0.17mmol)。随后将溶液在冰箱中静置24小时。沉淀暗色晶体, 将其通过过滤收集, 用冷乙醇和二乙醚洗涤, 随后最后在真空中干燥。得率: 47.8mg (67.7%)。¹H NMR((CD₃)₂CO): δ 9.57(d, 1H, J=6Hz), 9.43(s, 1H), 8.48(d, 1H, J=8Hz), 8.25(t, 1H, J=6Hz), 7.77(t, 2H, J=6Hz), 7.52-7.48(m, 3H), 6.49(d, 1H, J=6Hz), 6.26(d, 1H, J=6Hz), 6.08(qd, 1H, J=6Hz), 6.04(d, 1H, J=6Hz), 5.83(d, 1H, J=6Hz), 2.84(s, 3H), 2.67-2.602(m, 1H), 2.65(s, 6H), 2.13(d, 3H, J=7Hz), 1.02(d的d, 6H, J=7Hz)。

[0211] (FY178A) $[(\eta^6\text{-p-cym})Os(\text{亚胺-R})I]PF_6$ 。在313K将 $[(\eta^6\text{-p-cym})OsI_2]_2$ (50.0mg, 0.043mmol) 溶解于甲醇(20mL)中。逐滴加入溶于甲醇(10mL)中的亚胺-R (19.3mg, 0.086mmol), 溶液颜色立即从橙色变成红色。将溶液在环境温度搅拌24小时。加入六氟磷酸铵(28.0mg, 0.17mmol)。随后将溶液在冰箱中静置24小时。沉淀暗色晶体, 将其通过过滤收集, 用冷乙醇和二乙醚洗涤, 随后最后在真空中干燥。得率: 50.4mg (71.3%)。¹H NMR((CD₃)₂CO): δ 9.57(d, 1H, J=6Hz), 9.43(s, 1H), 8.48(d, 1H, J=8Hz), 8.25(t, 1H, J=6Hz), 7.77(t, 2H, J=6Hz), 7.52-7.48(m, 3H), 6.49(d, 1H, J=6Hz), 6.26(d, 1H, J=6Hz), 6.08(qd, 1H, J=6Hz), 6.04(d, 1H, J=6Hz), 5.83(d, 1H, J=6Hz), 2.84(s, 3H), 2.67-2.602(m, 1H), 2.65(s, 6H), 2.13(d, 3H, J=7Hz), 1.02(d的d, 6H, J=7Hz)。

[0212] 结构-活性关系:

[0213] 结构活性研究显示:

[0214] (1) 作为单齿配体的碘化物显示超过氯化物的抗癌活性改善, 迄今为止测试的碘化物络合物平均起来在体外25倍更有活性。

[0215] (2) 当联苯是芳烃时, 络合物一般而言比对-伞花烃络合物约10倍更有活性。

[0216] IC₅₀和比较分析的2-NCI数据:

[0217] 钌化合物: $[Os(\eta^6\text{-p-cym})(azpy-NMe_2)I]PF_6$ (FY026)

[0218]

化合物	GI ₅₀ / μM	TGI/ μM	LC ₅₀ / μM
[Os (η ⁶ - <i>p</i> -cym) (azpy-NMe ₂) I]PF ₆ (FY026)	0.28	1.17	6.3
顺铂	10.3	50.7	90.5

[0219] 来自NCI/DTP筛选的顺铂数据:2009年10月,48小时温育。

[0220] 选择[Os(η⁶-*p*-cym)(azpy-NMe₂)I]PF₆(FY026)用于研究针对国家肿瘤研究所的开发治疗项目的人肿瘤60种细胞系实验对象组的活性,其包括九个肿瘤类型亚实验对象组。

[0221] 细胞以范围为0.01-100μM的五个浓度处理48小时。

[0222] 计算三个终点:GI₅₀(使细胞生长抑制50%的浓度):

[0223] TGI(使细胞生长抑制100%的浓度)

[0224] LC₅₀(将原始细胞杀死50%的浓度)

[0225] MG-MID(全实验对象组平均图表中点)。

[0226] 结果显示于图10中。

[0227] [Os(η⁶-*p*-cym)(azpy-Nme₂)I]PF₆显示广谱活性,其中MG-MID值比关于顺铂的MG-MID值低得多。它显示对于白血病、结肠癌、黑素瘤和乳腺癌的特定选择性,并且针对白血病HL-60(TB)、白血病MOLT-4和结肠癌OoL0205特别有活性,给出小于50nM的GI₅₀值。

[0228] 使用NCI/DTP标准试剂数据库的比较结果

[0229]

化合物	终点	相关性	名称	机制	顺铂
[Os (η ⁶ - <i>p</i> -cym) (azpy-NMe ₂) I]PF ₆	GI ₅₀	0.787	硫酸长春碱	抗微管剂	-0.356
	TGI	0.813	硫酸长春碱	抗微管剂	-0.291
	LC ₅₀	0.54	硫酸长春碱	抗微管剂	-0.258

[0230] 为了获得[Os(η⁶-*p*-cym)(azpy-Nme₂)I]PF₆的可能作用机制的了解,执行针对NCI/DTP标准试剂数据库171种已知抗癌化合物的集合执行比较分析。三个终点(GI₅₀、TGI和LC₅₀)。

[0231] 具有最佳相关性[皮尔森相关系数(PCC)]的分子是硫酸长春碱,并且还给出了关于与顺铂比较的值。关于每个终点的最佳PCCs属于抑制微管蛋白聚合的硫酸长春碱。

[0232] 关于顺铂的比较负得分显示作用机制完全不同于顺铂。

[0233] 微管蛋白聚合的抑制

[0234]

以 10 μ M 的钽化合物	微管蛋白聚合的抑制/ %
[Os (η^6 -bip) (1-CF ₃ -4-Cl-Azpy) I]PF ₆	13.0
[Os (η^6 -bip) (1-Cl-Azpy) I]PF ₆	11.4
[Os (η^6 -bip) (2-F-Azpy) I]PF ₆	21.0
[Os (η^6 -p-cym) (Azpy-NMe ₂) I]PF ₆	28.6

[0235] 在体外微管聚合的预防。为了跟踪通过比较(COMPARE)指出的抗癌机制,我们已研究钽络合物是否可以与微管蛋白直接相互作用。我们使纯化的、未聚合的微管蛋白与钽化合物一起温育,并且在37℃监控聚合过程60分钟。发现[Os(η^6 -bip)(2-F-Azpy)I]PF₆以剂量依赖性方式减少聚合的微管蛋白的量,而最佳抑制剂[Os(η^6 -bip)(2-F-Azpy)I]PF₆显示在约20 μ M的微管蛋白聚合IC₅₀[我并不明确化合物[Os(η^6 -bip)(2-F-Azpy)I]PF₆来自哪里]。还列出了所有其他抑制率,[Os(η^6 -p-cym)(Azpy-NMe₂)I]PF₆显示抑制微管蛋白聚合的最佳潜力,这与比较的结果一致。

[0236] [Os(η^6 -bip)(2-F-Azpy)I]PF₆在A2780人卵巢癌细胞系中解聚微管。我们观察到在[Os(η^6 -p-cym)(Azpy-NMe₂)I]PF₆的24小时处理后的抗增殖效应。大多数细胞具有遍及对照细胞中的细胞质分散的长微管片段,在以1 μ M的低浓度观察到形成微管的抑制。

[0237] 微管蛋白聚合测定。细胞骨架微管蛋白聚合测定试剂盒(目录号BK004)用于微管蛋白聚合研究中。简言之,将含有钽化合物、秋水仙碱或泰素的10 μ L通用微管蛋白缓冲液(80mM PIPES, pH6.9、2mM MgCl₂和0.5mM EGTA)吸取到预温的96孔微板内。微管蛋白(从-80℃解冻至室温且随后在使用前置于冰上)用具有1mM GTP的微管蛋白聚合缓冲液稀释至4mgmL⁻¹的终浓度。将稀释的微管蛋白(100 μ L)加入含有钽化合物、秋水仙碱或泰素的孔内。与通用微管蛋白缓冲液(10 μ L)混合的稀释的微管蛋白(100 μ L)充当对照。立即用Tecan微板阅读器读出在340nm处的吸光度。

[0238] 通过共焦显微镜检查的免疫荧光。将A2780细胞10,000细胞/室种植到Lab-Tek™ Chamber Slides(Thermo Scientific Nunc)上,在24小时温育后,加入以不同浓度的钽化合物[Os(η^6 -bip)(2-F-Azpy)I]PF₆,并且温育另一个24小时。用溶于PBS中的4%甲醛固定细胞(20分钟,310K),随后用PBS(3×2mL×2分钟)清洗,并且用0.1%Triton X-100溶液(PBS溶液)在环境温度渗透化处理15分钟。将细胞用封闭缓冲液封闭(2mg/mL BSA,在269K过夜),并且随后将单层细胞与单克隆抗- α -微管蛋白-Alexa488(4 μ g/mL)(Invitrogen Molecular Probes,目录号32-2588)一起温育(1小时,310K)。在温育后,将细胞用PBS洗涤,并且使用Leica SP5荧光共焦显微镜,用100×物镜检测免疫荧光。

[0239] 体内研究

[0240] 我们研究当以其40mg/kg的最大限度可溶剂量作为单次静脉内注射施用,络合物[Os (η^6 -p-cym)(Azpy-NMe₂)I]PF₆在体内与皮下植入的HCT-116异种移植物模型比较的抗癌功效[Biochemical Pharmacology, 68, 2004, 2107-16]。该试剂具有可忽略不计的毒性,其中观察到的最大限度重量减轻完全在正常限制内。与未处理的对照(p<0.01)和阳性对照化合物、标准试剂顺铂(p<0.05)相比较,可见络合物[Os(η^6 -p-cym)(Azpy-NMe₂)I]PF₆

在HCT-116模型中诱导统计上显著的肿瘤生长延迟,参见下表。有利的肿瘤分布和可见的毒性缺乏暗示存在以重复剂量时间表施用这种化合物的显著范围,以增强其治疗能力。我们还已显示当钽化合物以4个分开的10mg/kg剂量施用时的相似结果。

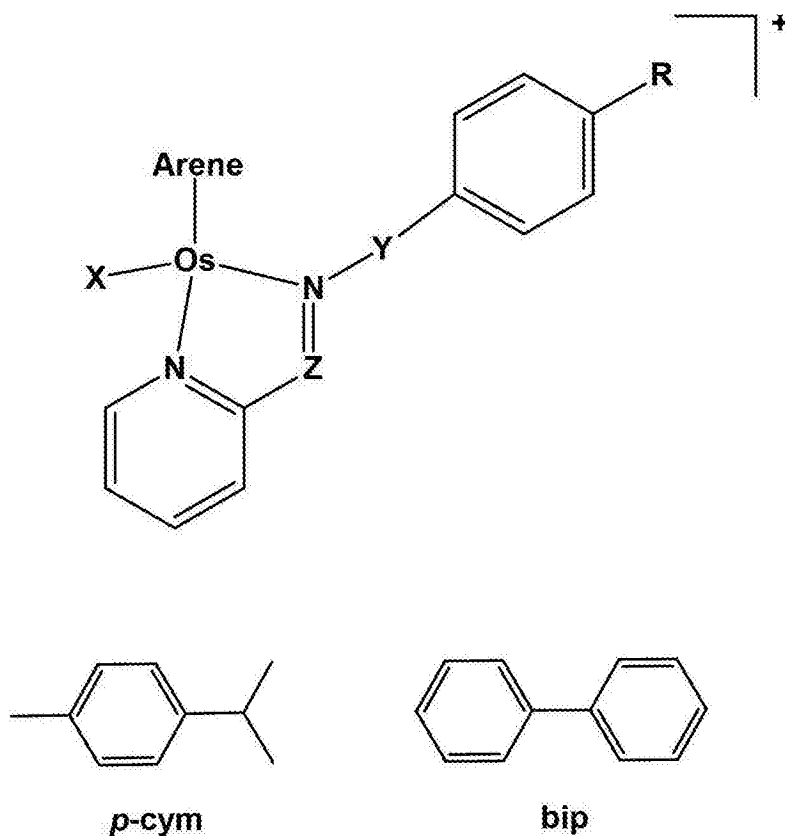
[0241] $[\text{Os}(\eta^6\text{-}p\text{-cym})(\text{Azpy-NMe}_2)\text{I}]\text{PF}_6$ 在HCT-116结肠腺癌s.c.异种移植模型中的体内功效的评估

[0242]

化合物 (以 mg kg^{-1} 的剂量)	中值肿瘤倍增时间 (天)	显著性	最大限度% 重量减轻 (天)
未处理的对照	3.9		8 (8)
$[\text{Os}(\eta^6\text{-}p\text{-cym})(\text{Azpy-NMe}_2)\text{I}]\text{PF}_6$ (40.0)	6.2	$p < 0.01$	8 (1)
顺铂 (8.0)	6.4	$p = 0.05$	8 (6)

[0243] 图表1.在这个工作中研究的钽Azo-和亚氨基-吡啶芳烃络合物。

[0244]



[0245] 下文列出的络合物都不存在Y:

	络合物	芳烃	R	X	Z
	1	bip	H	I	N
	2	<i>p</i> -cym	H	I	N
	3	bip	OH	I	N
	4	<i>p</i> -cym	OH	I	N
	5	bip	NMe ₂	I	N
	6	<i>p</i> -cym	NMe ₂	I	N
	7	bip	H	Cl	N
[0246]	8	<i>p</i> -cym	H	Cl	N
	9	bip	OH	Cl	N
	10	<i>p</i> -cym	OH	Cl	N
	11	bip	NMe ₂	Cl	N
	12	<i>p</i> -cym	NMe ₂	Cl	N
	13	<i>p</i> -cym	NMe ₂	I	CH
	14	bip	H	I	CH
	15	<i>p</i> -cym	H	Cl	CH
	16	<i>p</i> -cym	NMe ₂	I	CH

[0247] 偶氮吡啶配体缩写采取形式：

[0248] R=NMe₂:Azpy-NMe₂等

[0249] 对于亚氨基吡啶配体：

[0250] R=NMe₂:pp-NMe₂,等

[0251] 表1(A).关于偶氮吡啶络合物针对A2780卵巢癌细胞的IC₅₀值

络合物	IC ₅₀ (μM)
[(η ⁶ -bip) Os (Azpy) I]PF ₆ (1)	5.4
[(η ⁶ - <i>p</i> -cym) Os (Azpy) I]PF ₆ (2)	10.2
[(η ⁶ -bip) Os (Azpy-OH) I]PF ₆ (3)	0.14
[(η ⁶ - <i>p</i> -cym) Os (Azpy-OH) I]PF ₆ (4)	0.3
[(η ⁶ -bip) Os (Azpy-NMe ₂) I]PF ₆ (5)	0.14
[(η ⁶ - <i>p</i> -cym) Os (Azpy-NMe ₂) I]PF ₆ (6)	0.2
[(η ⁶ -bip) Os (Azpy) Cl]PF ₆ (7)	13.9
[(η ⁶ - <i>p</i> -cym) Os (Azpy) Cl]PF ₆ (8)	>50
[(η ⁶ -bip) Os (Azpy-OH) Cl]PF ₆ (9)	0.8
[(η ⁶ - <i>p</i> -cym) Os (Azpy-OH) Cl]PF ₆ (10)	1.3
[(η ⁶ -bip) Os (Azpy-NMe ₂) Cl]PF ₆ (11)	3.9
[(η ⁶ - <i>p</i> -cym) Os (Azpy-NMe ₂) Cl]PF ₆ (12)	1.8
顺铂	2

[0252] 表1(B).关于亚氨基吡啶络合物针对A2780卵巢癌细胞的IC₅₀值

络合物	IC ₅₀ (μM)
13[(η ⁶ - <i>p</i> -cym) Os (pp-NMe ₂) I]PF ₆	0.4
14[(η ⁶ -bip) Os (pp) I]PF ₆	18.6
15[(η ⁶ - <i>p</i> -cym) Os (pp) Cl]PF ₆	26.2
16[(η ⁶ - <i>p</i> -cym) Os (pp-NMe ₂) Cl]PF ₆	3.5
顺铂	2

[0253] (C)表1(C)关于络合物3、12、6针对A2780/cis、A549、HCT-116、MCF-7、PC-3和RT-112细胞系的IC₅₀值。

[0256]

络合物/ IC ₅₀ (μM)	A2780/cis	A549	HCT-116	MCF-7	PC-3	RT-112
$[(\eta^6\text{-bip})\text{Os}(\text{Azpy-OH})\text{I}]\text{PF}_6$ (3)	<0.3	0.4	<0.3	0.25	<0.3	0.4
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Os}(\text{Azpy-NMe}_2)\text{I}]\text{PF}_6$ (6)	<0.3	<0.3	<0.3	0.079	0.6	<0.3
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Os}(\text{Azpy-NMe}_2)\text{Cl}]\text{PF}_6$ (12)	1.8	5.2	0.9	1.1	6.8	2.2
顺铂	4	4.1	2.6	3	21.5	1.4

[0257] 表2. 关于 $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Os}(\text{Azpy})\text{I}]\text{PF}_6$ (2)、 $[(\eta^6\text{-bip})\text{Os}(\text{Azpy-O})\text{I}](3^*)$ 、 $[(\eta^6\text{-bip})\text{Os}(\text{Azpy-NMe}_2)\text{I}]\text{PF}_6$ (5)、 $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Os}(\text{Azpy})\text{Cl}]\text{PF}_6$ (8)、 $[(\eta^6\text{-bip})\text{Os}(\text{Azpy-NMe}_2)\text{Cl}]\text{PF}_6$ (11)的所选键长(Å)和角度(deg)。

[0258] (A)

键长/角度	2	3	5
Os (1) -N (8)	2.010 (3)	2.080 (2)	2.1017 (18)
Os (1) -N (1)	2.052 (3)	2.054 (2)	2.0804 (18)
Os (1) -C (15)	2.186 (3)	2.206 (3)	2.189 (2)
Os (1) -C (19)	2.206 (3)	2.211 (3)	2.199 (2)
Os (1) -C (18)	2.225 (3)	2.211 (3)	2.205 (2)
Os (1) -C (16)	2.244 (3)	2.215 (3)	2.206 (2)
Os (1) -C (20)	2.246 (3)	2.217 (3)	2.211 (2)
Os (1) -C (17)	2.284 (3)	2.225 (3)	2.222 (2)
			2.70798
Os (1) -I (1)	2.6856 (3)	2.7185 (2)	(19)
N (7) -N (8)	1.293 (4)	1.323 (3)	1.314 (3)
N (8) -Os (1) -N (1)			
(1)	74.85 (11)	75.12 (9)	76.74 (7)
N1-Os-I	87.81 (8)	87.59 (6)	86.00 (5)
I-Os-N8	83.07 (8)	87.83 (6)	86.60 (5)

[0260] (B)

	键长/角度	8	11
	Os (1) -N (8)	2.0225 (15)	2.072 (2)
	Os (1) -N (1)	2.0543 (15)	2.049 (2)
	Os (1) -C (15)	2.1843 (18)	2.198 (3)
	Os (1) -C (19)	2.2196 (18)	2.205 (3)
	Os (1) -C (18)	2.2313 (18)	2.205 (3)
	Os (1) -C (16)	2.2381 (18)	2.214 (3)
[0261]	Os (1) -C (20)	2.2474 (19)	2.218 (3)
	Os (1) -C (17)	2.2619 (18)	2.218 (2)
	Os (1) -Cl (1)	2.3817 (5)	2.3992 (6)
	N (7) -N (8)	1.290 (2)	1.297 (3)
	N (8) -Os (1) -N		
	(1)	74.84 (6)	75.23 (9)
	N1-Os-Cl	84.35 (5)	85.12 (6)
	Cl-Os-N8	86.59 (5)	83.82 (6)

[0262] 参考文献:

[0263] 1.Schaake-Koning,C.;van den Bogaert,W.;Dalesio,O.;Festen,J.;Hoogenhout,J.;van Houtte,P.;Kirkpatrick,A.;Koolen,M.;Maat,B.;Nijs,A.;et al.Effects of concomitant cisplatin and radiotherapy on inoperable non-small-cell lung cancer.N Engl J Med 1992,326,524-530.

[0264] 2.Hartinger,C.G.;Zorbas-Seifried,S.;Jakupec,M.A.;Kynast,B.;Zorbas,H.;Keppler,B.K.From bench to bedside-preclinical and early clinical development of the anticancer agent indazolium trans-[tetrachlorobis(1H-indazole)ruthenate(III)](KP1019 or FFC14A).J. Inorg.Biochem2006,100,891-904.

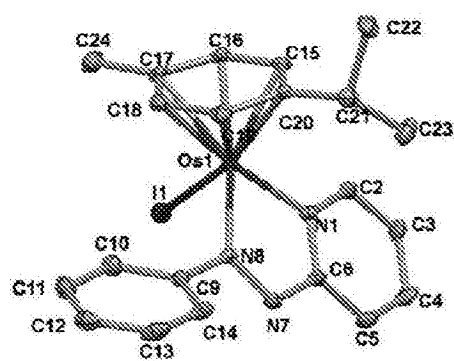
[0265] 3.Rademaker-Lakhai,J.M.;van den Bongard,D.;Pluim,D.;Beijnen,J.H.;Schellens,J.H.A Phase I and pharmacological study with imidazolium-trans-DMSO-imidazole-tetrachlororuthenate,a novel ruthenium anticancer agent.CLIN CANCER RES 2004,10,3717-27.

[0266] 4.Wang,F.;Habtemariam,A.;van der Geer,E.P.;Fernandez,R.;Melchart,M.;Deeth,R.J.;Aird,R.;Guichard,S.;Fabbiani,F.P.;Lozano-Casal,P.;Oswald,I.D.;Jodrell,D.I.;Parsons,S.;Sadler,P.J.Controllingligand substitution reactions of organometallic complexes:tuning cancer cell cytotoxicity.Proc NatlAcad Sci2005,102,18269-74.

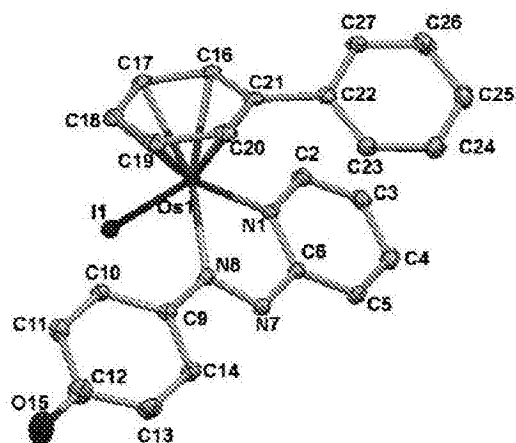
[0267] 5.Aird,R.E.;Cummings,J.;Ritchie,A.A.;Muir,M.;Morris,R.E.;Chen,H.;Sadler,P.J.;Jodrell,D.I.In vitro and in vivo activity and cross resistance profiles of novel ruthenium(II)organometallic arene complexes in human ovarian cancer.BrJCancer2002,86,1652-7.

[0268] 6.Peacock,A.F.A.;Parsons,S.;Sadler,P.J.Tuning the Hydrolytic Aqueous Chemistry of Osmium Arene Complexes with N,O-Chelating Ligands to Achieve Cancer Cell Cytotoxicity.JA CS 2007,129,3348-3357.

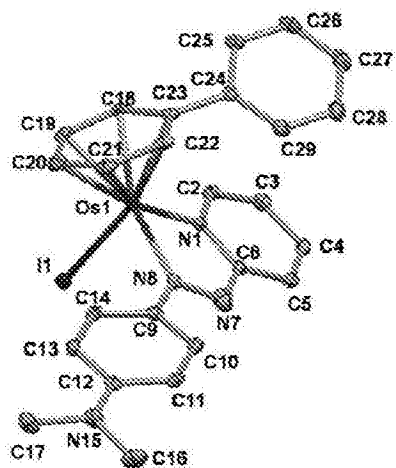
- [0269] 7. van Rijt, S.H.; Hebden, A.J.; Amaresekera, T.; Deeth, R.J.; Clarkson, G.J.; Parsons, S.; McGowan, P.C.; Sadler, P.J. Amide Linkage Isomerism As an Activity Switch for Organometallic Osmium and Ruthenium Anticancer Complexes. *J. Med. Chem* 2009, 52, 7753–7764.
- [0270] 8. Peacock, A.F.A.; Habtemariam, A.; Fernández, R.; Walland, V.; Fabbiani, F.P.A.; Parsons, S.; Aird, R.E.; Jodrell, D.I.; Sadler, P.J. Tuning the Reactivity of Osmium(II) and Ruthenium(II) Arene Complexes under Physiological Conditions. *JACS* 2006, 128, 1739–1748.
- [0271] 9. Dougan, S.J.; Melchart, M.; Habtemariam, A.; Parsons, S.; Sadler, P.J. Phenylazo-pyridine and Phenylazo-pyrazole Chlorido Ruthenium(II) Arene Complexes: Arene Loss, Aquation, and Cancer Cell Cytotoxicity. *Inorg. Chem* 2006, 45, 10882–10894.
- [0272] 10. CrysAlisPro 2007, 171, 5.
- [0273] 11. Sheldrick, G.M. *Acta Cryst* 1990, A46, 467–473.
- [0274] 12. Sheldrick, G.M. SHELX97 1997, Programs for Crystal Structure Analysis (Release 97-2); University of Göttingen, Germany.
- [0275] 13. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* 1983, 65, 55–63.
- [0276] 14. Peacock, A.F.A.; Habtemariam, A.; Moggach, S.A.; Prescimone, A.; Parsons, S.; Sadler, P.J. Chloro Half-Sandwich Osmium(II) Complexes: Influence of Chelated N,N-Ligands on Hydrolysis, Guanine Binding, and Cytotoxicity. *Inorg. Chem* 2007, 46, 4049–4059.
- [0277] 15. Dougan, S.J.; Habtemariam, A.; McHale, S.E.; Parsons, S.; Sadler, P.J. Catalytic organometallic anticancer complexes. *Proc Natl Acad Sci* 2008, 105, 11628–33.
- [0278] 16. Godbout, J.P.; Pesavento, J.; Hartman, M.E.; Manson, S.R.; Freund, G.G. Methylglyoxal enhances cisplatin-induced cytotoxicity by activating protein kinase C δ . *JBC* 2002, 277, 2554–61.



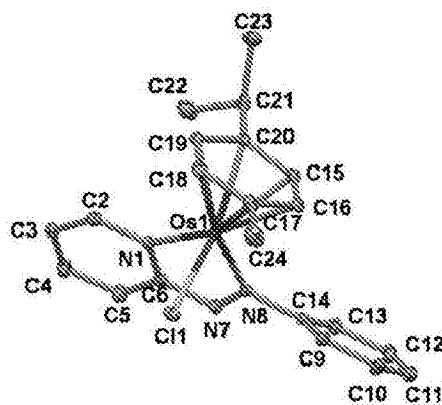
A (2)



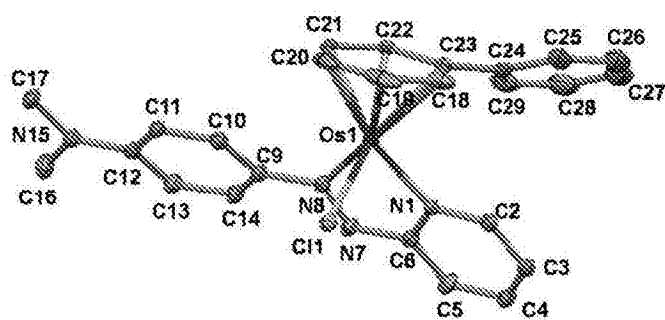
B (3*)



C (5)



D (8)



E (11)

图1

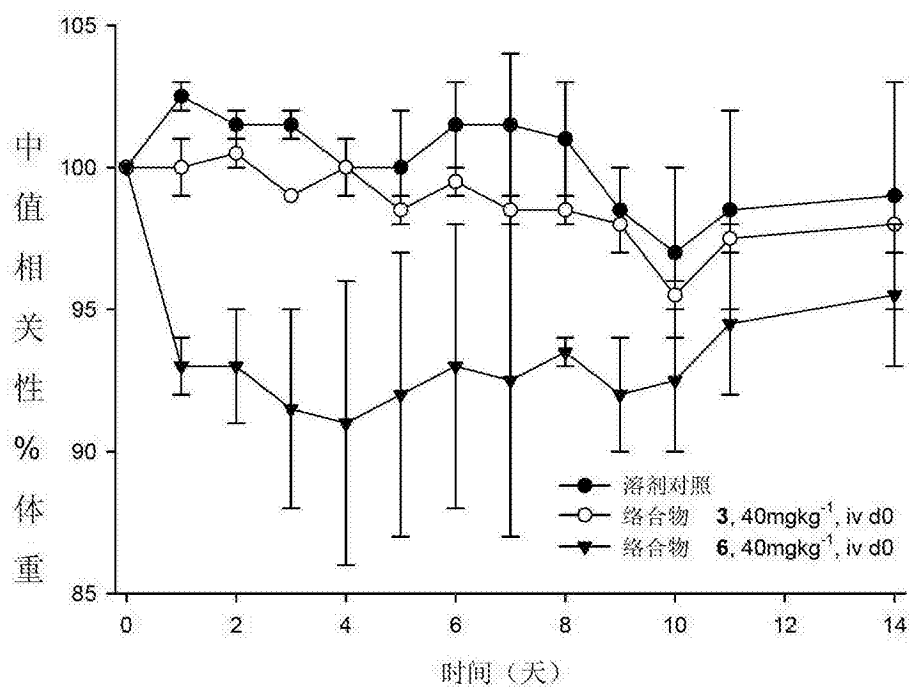


图2

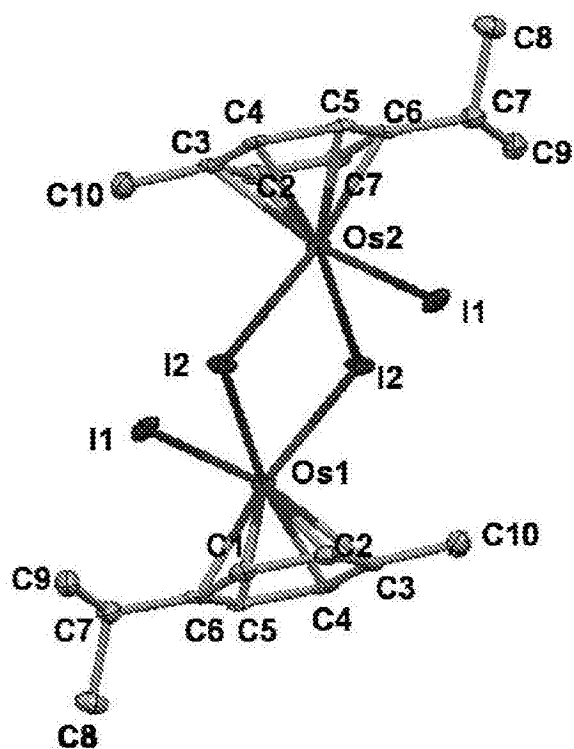


图3

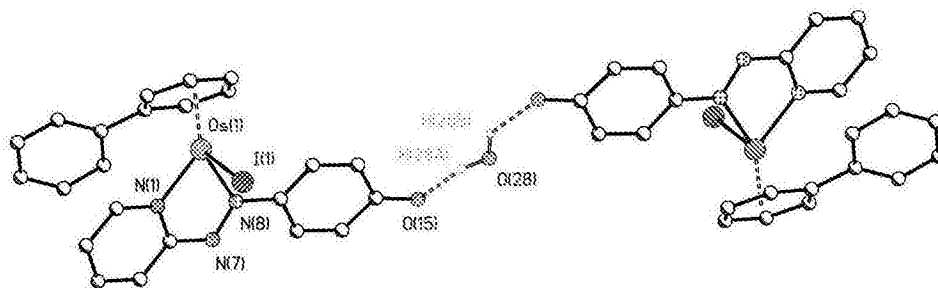


图4

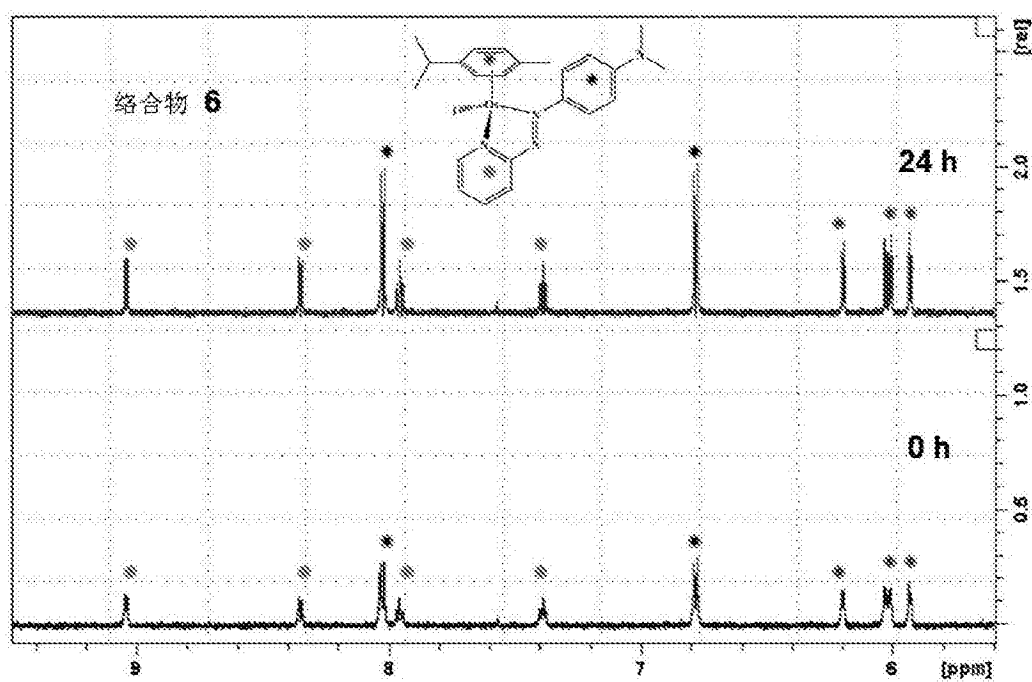


图5(A)

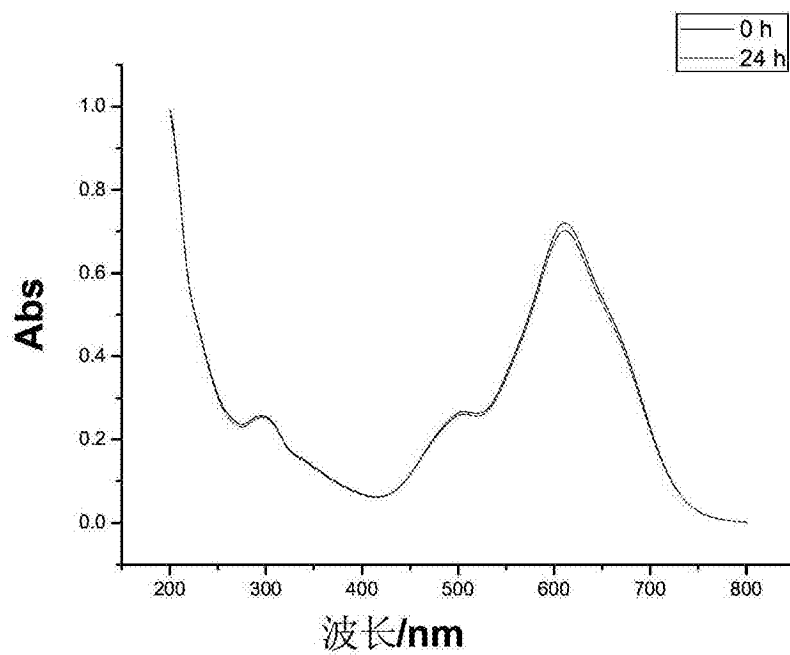


图6

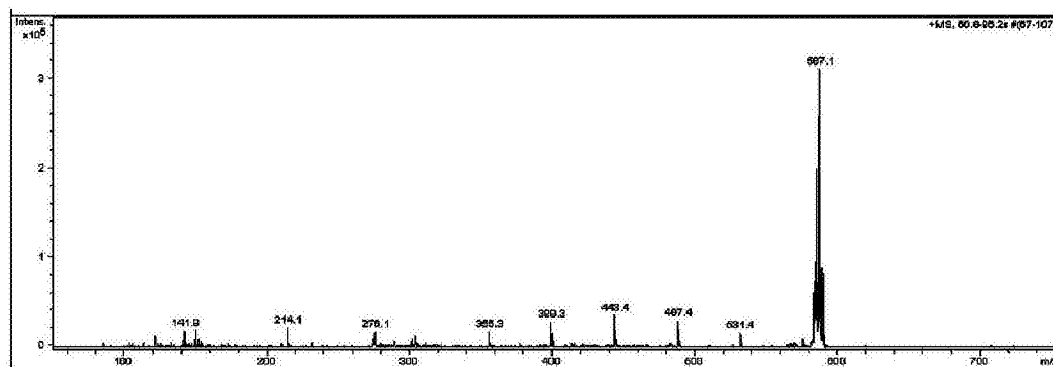


图7

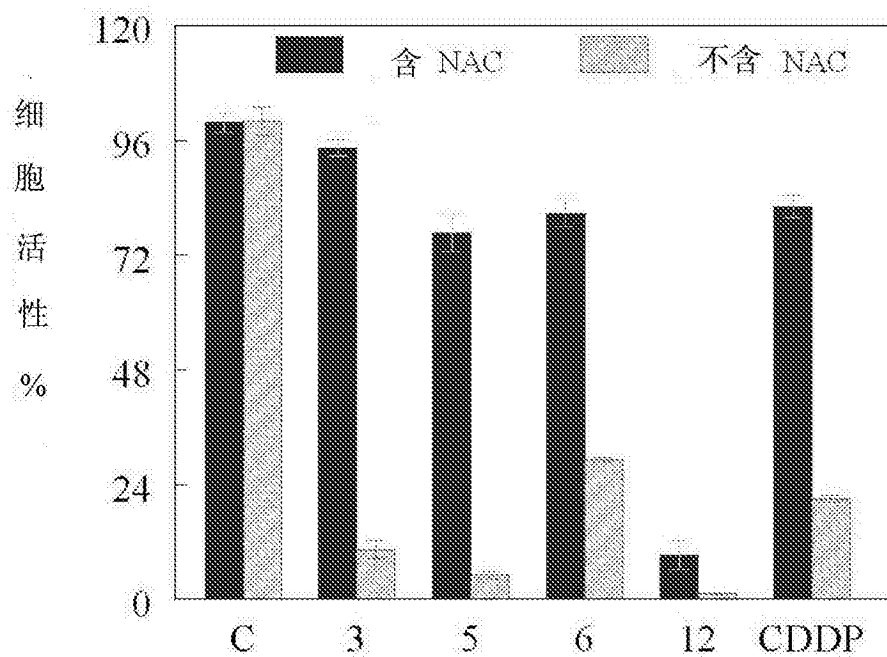


图8

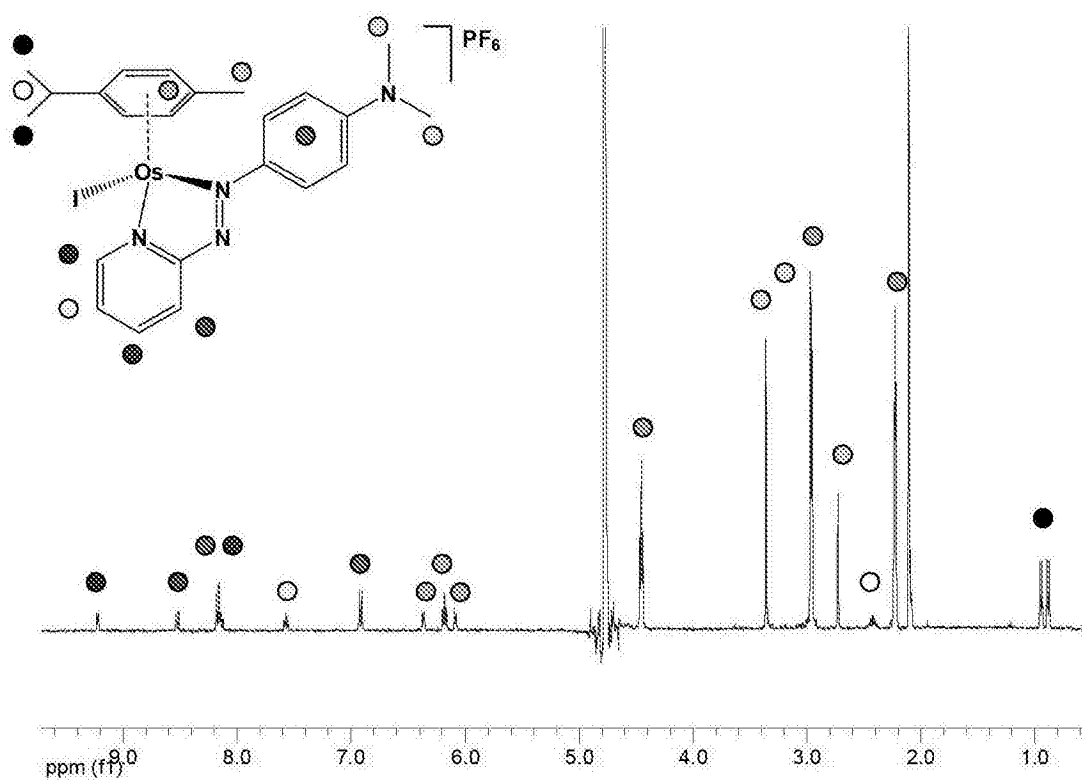


图9

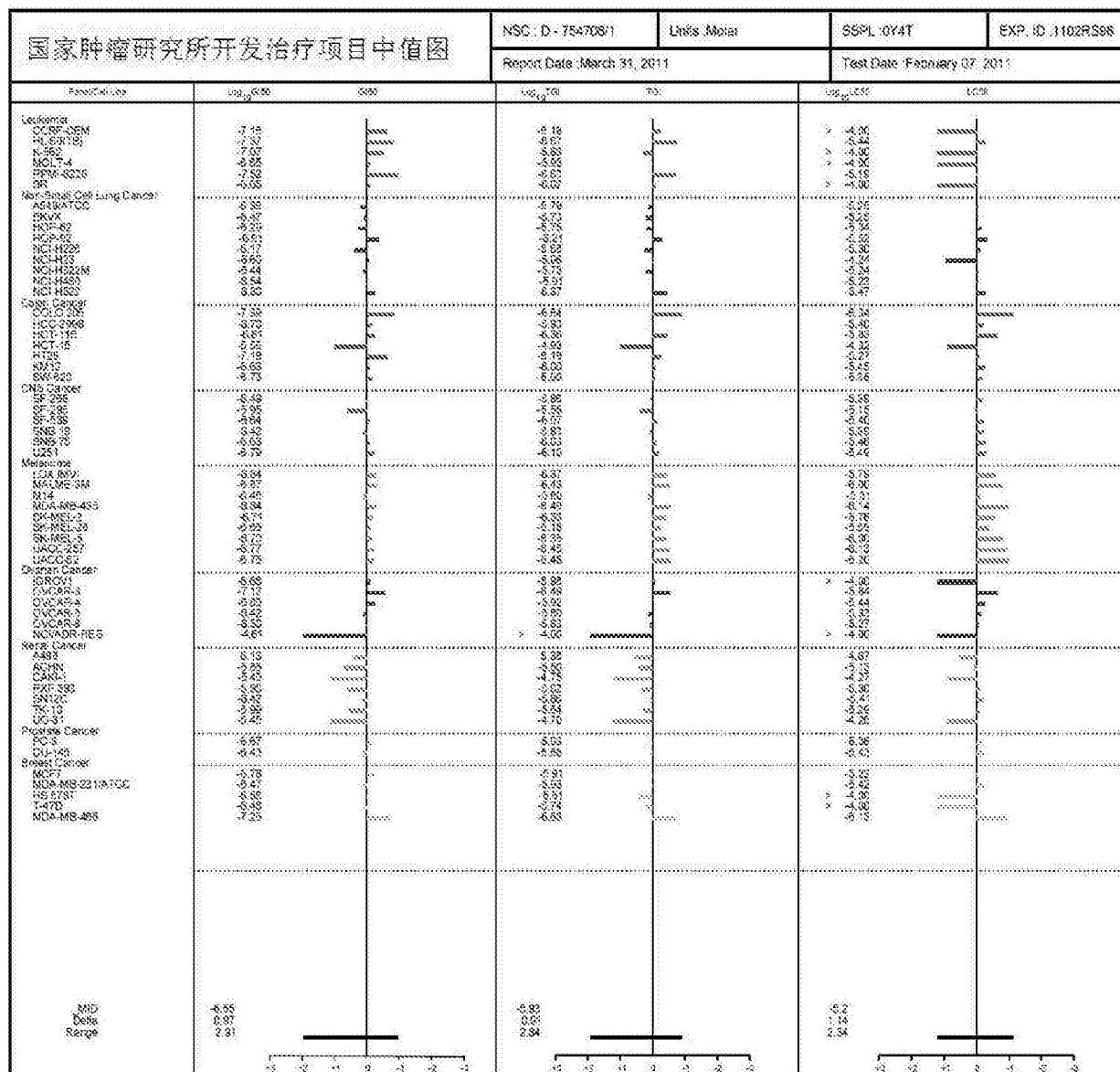


图 10