

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：096131151

※ 申請日期：96 年 8 月 22 日

※IPC 分類：

C07C 57/44 (2006.01)
A61K 31/05 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

咖啡酸之抗癌使用及衍生物/Anti Cancer Use of Caffeic Acid and Derivatives

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

尼古拉斯皮拉馬爾印度有限公司/ NICHOLAS PIRAMAL INDIA LIMITED

代表人：(中文/英文) 史瓦蒂·巴爾坦波/Swati BAL-TEMBE

住居所或營業所地址：(中文/英文)

印度馬哈拉施特拉省孟買 400013 洛爾沛勒岡帕特拉卡達姆馬格半島公園尼古拉斯皮拉馬爾大樓/Nicholas Piramal Tower, Peninsula Corporate Park, Ganpatrao Kadam Marg, Lower Parel, Mumbai 400 013, State of Maharashtra, India

國 籍：(中文/英文) 印度/IN

三、發明人：(共 7 人)

1. 姓 名：卡潘那·珊傑·約希/Kalpana Sanjay Joshi

國 籍：印度/IN

2. 姓 名：米納可許·斯娃庫瑪/Meenakshi Sivakumar

國 籍：印度/IN

3. 姓 名：法米克·索潘·阿瓦爾/Valmik Sopan Aware

國 籍：印度/IN

4. 姓 名：畢拉斯·山帕特爾羅·瓦夫/Vilas Sampatrao Wagh

國 籍：印度/IN

5. 姓 名：艾密特·德許番德/Amit Deshpande
國 籍：印度/IN
6. 姓 名：安庫許·岡格朗·沙德/Ankush Gangaram Sarde
國 籍：印度/IN
7. 姓 名：索莫許·沙拉瑪/Somesh Sharma
國 籍：美國/US

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國 US；2006/09/01；60/842,060
- 2.

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係相關於咖啡酸、或其衍生物、或其鹽類在治療對 Gleevec (Glivec, Imatinib, 或 ST1571) 之治療有抗性的慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 上，或是在減少對 Gleevec 有抗性之細胞的增殖上的使用。本發明亦相關於包括分子式 (1) 所示之咖啡酸、或其衍生物、或其鹽類之藥物成分在治療對 Gleevec 的治療有抗性之慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 上，或是在減少對 Gleevec 有抗性之細胞的增殖上的使用。本發明更進一步相關於一種治療對 Gleevec 之治療有抗性的慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 的方法。

【先前技術】

慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 的特徵是，惡性脊髓前驅細胞的無性增殖導致脊髓細胞在所有形成階段都過量，其中，CML的發展是相關於一特殊的染色體異位，已知為費城染色體 (Philadelphia (Ph) chromosome)，在費城染色體中的體細胞突變是源自於第9對以及第22對染色體的長臂之間的相互異位 (reciprocal translocation)，而此異位的分子變異則是會造成產生融合蛋白質 (fusion protein) Bcr-Abl，其係為在此疾病的整個過程中都偵測得到的一持續活化的酪氨酸激酶 (tyrosine kinase)，該Ph染色體會產生在異常細胞生長以及分裂中扮演一中心角色的一酵素，其中，該酵素 (會加強酪氨酸激

酶活性的一融合蛋白質 (Bcr-Abl)) 會改變細胞的正常基因指令，此異常酵素會在細胞中透過多重的路徑發送訊號，導致身體中之白血球細胞的過度產生，而這樣的結果是，當健康血液每立方公釐是包含4,000至10,000個白血球時，CML病患之血液中的白血球會是這個量的10至25倍，所以，CML的特徵就是這樣的白血球數量大量增加。除了CML之外，亞型 (subset) 急性淋巴白血病 (acute lymphoid leukemia, ALL) 以及急性骨髓性白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 也都是Ph陽性白血病。

Gleevec (Glivec, Imatinib, 或ST1571)，一Abl激酶抑制劑，乃是現在CML病人的第一線治療，而Gleevec則是顯示必須對具有費城染色體陽性CML之病患在慢性期 (chronic phase)、加速期 (accelerated phase)、或是急性轉化期 (blast crisis) 的治療。在某些例子中，Gleevec的使用會是在干擾素- α 治療失敗以後，另外，在某些例子中，則是干擾素- α 的治療會在Gleevec失敗之後才進行。Gleevec在CML中之效力的基礎在於整體血液以及細胞的反應速率，Gleevec是一種新的療法，其為遭受先前已經在療法選擇上受到限制之CML的病患提供另一種新的選擇，此外，其亦為研究者提供了對於癌症之生理機制的新的洞悉。

大部分利用Gleevec進行治療的病患在某些時候都會經歷不利的情形。大部分的情形是輕微到中等等級，但在CML的階段II臨床追蹤中，2%的慢性期病患、3%加速期的病患、以及5%急性轉化期的病患中會因不良的情形而停止用藥，

其中，最常見的副作用包括，噁心，水液積留（fluid retention），嘔吐，腹瀉，出血，肌肉痙攣，皮膚起疹子，疲勞，頭痛，消化不良，以及呼吸困難，同時還有嗜中性白血球減少症（neutropenia）以及血小板減少症（thrombocytopenia），嚴重劇烈的副作用，例如，肝毒（hepatotoxicity）（1%至4%），水液積留症（fluid retention syndrome）（3%至12%），嗜中性白血球減少症（neutropenia）（8%至48%），以及血小板減少症（thrombocytopenia）（1%至33%），亦已被報導出現在一些病患身上。到目前為止，沒有相關於Gleevec療法的長期安全性資料。雖然大部分接收Gleevec治療的CML病患都表現出顯著的血液以及細胞上的反應，但對於Gleevec治療有抗性仍然是處於此疾病之病患在加速期、或是急性轉化期的主要問題。

一份發表於Nature之有關白血病（Leukemia）的文章（2004, 1-11）中提到，對於Gleevec療法發展出抗性的可能理由。病患對於Gleevec療法產生抗性已經被發現相關於從非特性之多抗藥性分佈至Bcr-Abl之內在基因改變的機制的一異種陣列，其中，最常被定義之Gleevec抗性機制是，的Bcr-Abl激酶域點突變（domain point mutations），其會藉由干擾一Gleevec結合位置而損害Gleevec結合、或是藉由穩定一Bcr-Abl結構來降低Gleevec之親和力進而損害Gleevec結合。

US20060057157 A1亦揭示對Gleevec療法發展出抗性的可能理由。根據該份參考文獻，又發細胞凋亡（apoptosis）

是主要的機制，藉此，化療藥品可以發揮它們的功用，因此，產生細胞凋亡的失敗，就可能是腫瘤中產生藥物抗性的機制。

Human T3151是最常見之Bcr-Abl變種形式，而其對Gleevec就具有抗性。T3151是由於Bcr-Abl蛋白之激酶域（kinase domain）中，位於315位置處之蘇氨酸（threonine residue）成為白氨酸（isoleucine）之點突變所造成的。

Blood, 2003, 101, 690 – 698中敘述了K-562-R抗性細胞株。K-562是人類白血病細胞株的其中之一，其包含了一野生型Bcr-Abl蛋白，而K-562-R則為藉由連續暴露至Gleevec（2 µg/mL）數段時間而對Gleevec產生抗性的K-562細胞株。

Hematology, 2005, 183-187揭示了二種研究用的小分子ABL激酶抑制劑，Dasatinib（BMS-354825）以及AMN107，它們在對於利用imatinib（Gleevec）進行治療-- 抗性CML的階段I臨床追蹤中顯現出了效果，並且正在進行更進一步地臨床評估。這些新抑制劑的長期效果仍然有待商榷。

Cancer Res., 2006, 66(2), 1007-1014以及Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS), 2005, 102(6), 1992-1997揭示了二種化合物VX-680以及ON-12380，其對Gleevec抗性CML（T3151）具有對抗活性。

Cancer Res., 2005, 65(11), 4500-4505敘述了Bcr-Abl抑制劑，AMN107以及BMS-354825，在臨床上對抗imatinib抗性Abl激酶域突變的相關體外活性。文章中敘述了各種的imatinib 抗性細胞株，Ba/F3 Bcr-Abl/T3151，Ba/F3

Bcr-Abl/E255K , Ba/F3 Bcr-Abl/H396P , Ba/F3
 Bcr-Abl/M351T , Ba/F3 Bcr-Abl/F359V , Ba/F3
 Bcr-Abl/E255V , Ba/F3 Bcr-Abl/F317L , Ba/F3
 Bcr-Abl/H396R , Ba/F3 Bcr-Abl/M244V , Ba/F3
 Bcr-Abl/Q252H , Ba/F3 Bcr-Abl/Y253F , 以及 Ba/F3
 Bcr-Abl/Y253H。

植物化學咖啡酸 (3,4-dihydroxy cinnamic acid (3,4-二羥基肉桂酸)) 是咖啡、水果蔬菜、穀類、以及蜜蜂蜂蠟的組成物，咖啡酸已知具有各種的藥學上的活性，例如，抗氧化性以及抗病毒效果，咖啡酸以及或是其衍生物，例如，酯，已經被報導具有抗癌活性，接下來的報導即指出了咖啡酸及其衍生物的特殊抗癌特性。

Breast Cancer Res., 2004, 6, R63-R74敘述了咖啡酸對於T47人類乳癌細胞的抗增殖以及產生細胞凋亡的效果。

Bull. Korean Chem., 2001, 22(10), 1131-1135敘述個咖啡酸甲基酯 (caffeic acid methyl ester) 對於Fos-Jun-DNA複合物形成之抑制效果以及對癌症細胞生長的抑制。該篇文章敘述了對抗人類癌症細胞株 (A549以及K-562) 的細胞毒素效果。

Biol., Pharm. Bull., 2005, 28(12), 2338-2341敘述了藉由辛基咖啡酸 (octylcaffeate)，而經由細胞凋亡機制抑制人類淋巴瘤U937細胞的成長。

Cancer Letters, 1996, 108, 211-214敘述了咖啡酸苯乙酯 (caffeic acid phenethyl ester) 對於人類白血病HL-60細胞的

抑制效果。

J. Nutritional Biochemistry, 2006, 17(5), 356-362敘述了咖啡酸苯乙酯對於癌細胞轉移的抑制效果，其乃是藉由向下調節人類HT1080肌纖維惡性腫瘤（fibrosarcoma）細胞的基質金屬蛋白酶表達（matrix metalloproteinase expression）而達成。

接下來的專利申請則是揭示了包含咖啡酸、或其衍生的組成物。

WO9105543敘述了包含作為活性成分之咖啡酸、或其酯或其胺類其中之一的藥物、或化妝品組成物。

JP60013712敘述了包含咖啡甲基酯作為活性成分的藥物，以用於抑制5-脂氧合酶（5-lipoxygenase）活性。

基於Bcr-Abl的突變，因此，需要一種能治療對於Gleevec之治療具有抗性之慢性骨髓性白血病（chronic myeloid leukemia, CML）的藥劑。

【發明內容】

本發明係相關於咖啡酸、或其衍生物、或其鹽類在治療對Gleevec之治療有抗性的慢性骨髓性白血病（chronic myeloid leukemia, CML）上的使用，本發明亦相關於一種治療對Gleevec之治療有抗性之慢性骨髓性白血病（chronic myeloid leukemia, CML）的方法，另外，本發明的化合物可以被使用在抑制包括K-562-R以及32Dcl^{Bcr-Abl T3151}，Ba/F3 Bcr-Abl/T3151，Ba/F3 Bcr-Abl/E255K，Ba/F3 Bcr-Abl/H396P，Ba/F3 Bcr-Abl/M351T，Ba/F3

Bcr-Abl/F359V , Ba/F3 Bcr-Abl/E255V , Ba/F3
Bcr-Abl/F317L , Ba/F3 Bcr-Abl/H396R , Ba/F3
Bcr-Abl/M244V , Ba/F3 Bcr-Abl/Q252H , Ba/F3
Bcr-Abl/Y253F, 以及Ba/F3 Bcr-Abl/Y253H之對Gleevec之治
療具抗性之細胞株的生長抑制。

本發明亦相關於一種治療對Gleevec之治療具抗性之慢
性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 的方法，
該方法包括提供具治療效果之量的咖啡酸、或其如分子式
(1) 之衍生物、或其鹽類。

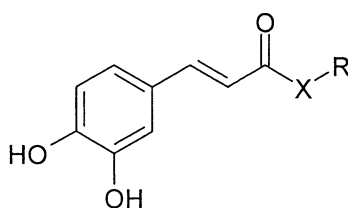
本發明亦相關於一種降低對Gleevec之治療具抗性之細
胞的增殖的方法，該方法包括將該等細胞接觸咖啡酸、或
其如分子式 (1) 之衍生物、或其鹽類。

再者，本發明提供一種治療對Gleevec的治療有抗性之
慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 的藥
物組成物，該藥物組成物包括具治療效果之量的咖啡酸、
或其如分子式 (1) 之衍生物、或其鹽類。

更進一步地，本發明提供咖啡酸、或其衍生物、或其
鹽類在治療對 Gleevec 之治療具抗性之慢性骨髓性白血病
(chronic myeloid leukemia, CML) 的藥劑上的使用。

【實施方式】

本發明提供咖啡酸、或其如下列分子式 (1) 所示的衍
生物，



分子式 (1)

其中，

X表示氧 (O)、或雜環基 (heterocyclyl)；以及

R可以存在、或是不存在，若存在的話，代表氫 (H)，烷基 (alkyl)，芳基 (aryl)，或雜環基 (亦即，R為氫，烷基，芳基，雜環基，或不存在)；

可以是其所有立體異構物以及互變異構物形式，以及其所有比例的混合物，其於藥理上可接受之鹽類，其於藥理上可接受之溶劑，其於藥理上可接受之同質異像體 (polymorph)，或是其前驅藥 (prodrug)。

定義

如下所列為在整份說明書以及所附申請專利範圍所使用之詞句的定義。

正如於此所使用，該詞“烷基 (alkyl)”表示脂肪基 (aliphatic group)，包括直鏈、或是支鏈脂肪基，再者，除非特別敘述，該詞“烷基”是包括未被取代的脂肪基，以及被一或多個取代基所取代的脂肪基。

在一實施例之中，一直鏈、或是支鏈烷基會在其骨架之中具有20個、或更少的碳原子 (例如，對直鏈而言， C_1-C_{20} ，以及對支鏈而言， C_3-C_{20})，舉例而言，15個、或更少的碳原子。包括1至20個碳原子之烷基的實例包括，甲

基，乙基，丙基，丁基，戊基，己基，庚基，辛基，壬基，癸基，十一烷基，十二烷基，十四烷基，十六烷基，十八烷基，以及二十烷基，這些烷基的正同分異構物，異丙基 (isopropyl)、異丁基 (isobutyl)、1-甲基丁基 (1-methylbutyl)、異戊基 (isopentyl)、新戊基 (neopentyl)、2, 2-二甲基丁基 (2,2-dimethylbutyl)、2-甲基戊基 (2-methylpentyl)、3-甲基戊基 (3-methylpentyl)、異己基 (isohexyl)、2, 3, 4-三甲基己基 (2,3,4-trimethylhexyl)、異癸基 (isodecyl)、二級丁基 (sec-butyl)、或三級丁基 (tert-butyl)，適合的烷基包括1至6個碳原子，舉例而言，1至4個碳原子，例如，甲基，乙基，丙基，異丙基，正丙基，三級丁基，正丁基，二級丁基，或異丁基。

該等烷基可以具取代基、或是不具取代基。除非特別聲明，烷基可以為不具取代基、或是具有一、或多個（舉例而言，1、2、3、4、或5個）相同、或不同之取代基。出現在烷基中的取代基可以為任何種類以及任何位置，只要不造成不穩定的分子結構即可。一具取代基的烷基表示，其中的一、或多個（舉例而言，1、2、3、4、或5個）的氫原子被取代基所取代，舉例而言，烷基、鹵素、氫氧基、羰基 (carbonyl)、烷氧基 (alkoxyl)、環烷基 (cycloalkyl)、酯、醚、氰基、胺基、單或雙烷氨基 (mono- or di-alkylamino)、醯胺基 (amido)、亞胺基 (imino)、硝基 (nitro)、芳烷基 (aralkyl) 醯氧基 (acyloxy)、雜環基 (heterocyclyl)、芳基 (aryl)、或是雜芳基 (heteroaryl)。

正如在此所使用，該詞“芳基 (aryl)”表示具有最多 14 個碳原子環的一單環、或是多環碳氫基，舉例而言，最多 10 個碳原子環，其中，至少一碳環會具有一共軛 π 電子系統，($C_6 - C_{14}$) 芳基包括，苯基 (phenyl)、萘基 (naphthyl)、聯苯基 (biphenyl)、芴基 (fluorenyl) 或蒽基 (anthracenyl)，特別是苯基以及萘基，除非特別聲明，任何的芳基，舉例而言，苯基、萘基、或是芴基，都可以具有、或不具有一、或多個取代基，舉例而言，最多 5 個選自包含鹵素，烷基，氟烷基 (fluoroalkyl)，氫氧基，烷氧基 (alkoxyl)，芳氧基 (aryloxy)，胺基 (amino)，氰基 (cyano)，硝基 (nitro)，硫醇 (thiol)，亞胺 (imine)，醯胺 (amide)，羰基，芳基，以及雜環基之群組的相同、或不同取代基。

該詞“雜環基 (heterocyclyl)”表示一包括最多 14 個原子環之飽和、部分未飽和、或是芳香族的單環、或多環系統，其中，1，2 或是 3 個環具有選自下列群組之相同的、或是不同的雜原子：氮、氧、或硫。該雜環基可以在環中，舉例而言，具有 1 或 2 個氧原子，及/或 1 或 2 個硫原子，及/或 1 至 4 個氮原子，再者，於環中的雜原子可以是任何的數量，以及相對於彼此的任何位置，只要所得出的雜環系統在習知技術中為已知，且作為一藥物之子群為穩定及適合即可。雜環基的適當例子包括，哌嗪基 (piperazinyl)、哌啶基 (piperidinyl)、咪唑基 (imidazolyl)、吡咯烷基 (pyrrolidinyl)、嗎啉基 (morpholinyl)、甲苯噁唑基 (benzoxazolyl)、喹啉基 (quinolyl)、異喹啉基

(isoquinolyl)、呋唑基 (carbazolyl)、吲哚基 (indolyl)、異吲哚基 (isoindolyl)、苯噁唑基 (phenoxazinyl)、(benzothiazolyl)、甲苯噁唑基 (benzimidazolyl)、甲苯噁二唑雜環 (benzoxadiazolyl)、或甲苯呋咕基 (benzofurazanyl)。

該等雜環基可以具有、或不具有取代基。除非特別聲明，並且不管結合至分子式 (1) 所定義之組成物中之雜環基的任何取代基，該雜環基可以在碳原子環上具有、或不具有一、或多個舉帶基，最多 5 個相同、或不同的取代基。適合碳原子環以及氮原子環的取代基包括，烷基、芳烷基 (aralkyl)、烷氧基 (alkoxyl) 鹵素、氫氧基、羥烷基 (hydroxyalkyl)、氟烷基 (fluoroalkyl)、aryloxyl 胺基、氰基、硝基 (nitro)、硫醇 (thiol)、亞胺 (imine)、醯胺 (amide)、碳基 (carbonyl)、烷羰基 (alkylcarbonyl)、芳羰基 (arylcarbonyl)、芳基 (aryl)、或是雜環基 (heterocyclyl)。該等取代基可以出現在一、或多個位置，只要能得出穩定的分子即可。

正如在此所使用，該詞“芳烷基 (aralkyl)”表示一具有芳基、或是雜芳基 (heteroaryl) 作為取代基的烷基，其中，該等詞烷基、芳基、以及雜芳基已經於先前進行定義。芳烷基的例子包括， $-(CH_2)_p$ - 苯基 (phenyl)、或 $-(CH_2)_p$ - 吡啶基 (pyridyl)，其中， p 代表自 1 至 3 的整數，該芳烷基係可以更進一步地具有烷基、氫氧基、鹵素、氰基、硝酸基、胺基、芳基、雜芳基、或是類似者作為取代基。

該詞“鹵素 (halogen)”表示氟、氯、溴、或碘。

正如於此所使用，該等詞句“治療 (treatment)”“對待 (treat)”以及“治療 (therapy)”以及類似者是表示對於既存疾病（例如，對 Gleevec 之治療具有抗性之慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML)）的發展減緩、減慢，預防，減弱、或治癒，再者，“避免 (prevent)”，正如在此所使用，表示延遲、減慢、抑制、降低、或是改善對 Gleevec 之治療具有抗性之慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 的攻擊。

正如於此所使用，該等詞句“藥理上可接受 (pharmaceutically acceptable)”表示，載體、稀釋液、賦形劑、及/或鹽類可以相容於該配方中的其他組成成分，並且對其接收者而言為無毒。

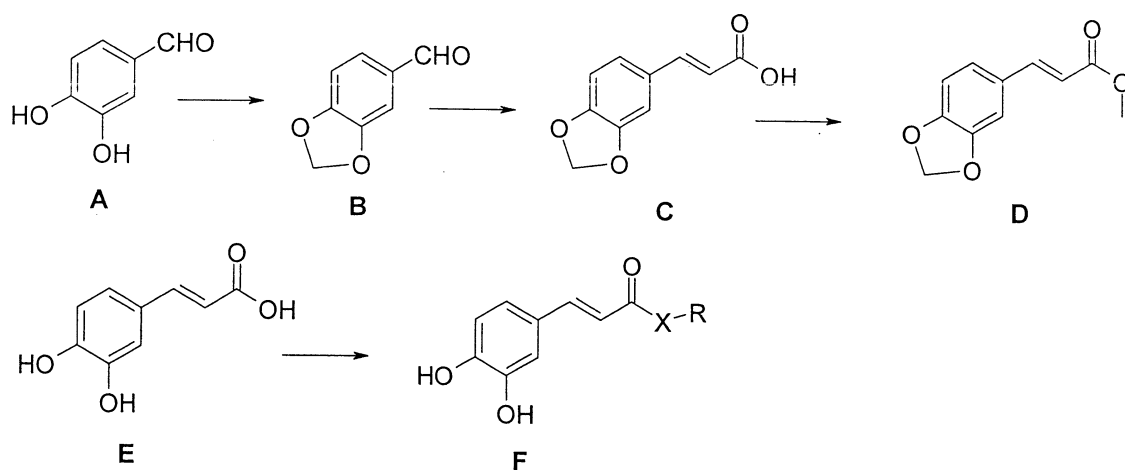
正如於此所使用，該等詞句“有效治療量 (therapeutically effective amount)”表示，於合理醫療判定範圍內，在進行調節、或治療的情形下，足以顯著地誘發一正向減輕、但足夠低到能避免任何副作用，若有的話（在一合理的利益/風險比 (benefit/risk ratio) 之下），之化合物、或組合物（例如，咖啡酸、或其如分子式 (1) 的衍生物）的量。該化合物、或組合物的有效治療量將會隨著特殊的治療情形、使用者之年齡及生理狀況、欲治療/避免之條件的嚴重性、治療的持續期間、共同治療的性質、所使用的特殊組合物或化合物、所使用的特殊藥理上可接受載體、以及類似的因子而有所改變。

咖啡酸化合物以及利用該化合物之方法

咖啡酸或其如分子式 (1) 的衍生物在文獻中為已知，且可藉由下述的規劃而進行合成，並也可以具選擇性地被轉變成為其於藥理上可接受的鹽類。

如 Tetrahedron 2003, 59, 4383-4387 所敘述的方法，在乾式二甲基甲醯胺 (N, N-dimethylformamide) 中之碳酸銫 (cesium carbonate) 的存在下，3,4 二羥基苯甲醛 (3,4-Dihydroxybenzaldehyde) (A) 可以藉由添加二溴甲烷 (dibromomethane) 而被轉換成為胡椒醛 (piperonal) (B)，因此，藉由於 Eur. J. Med. Chem. 2002, 37, 979 - 984 之中所敘述的方法，所獲得的胡椒醛 (B) 可以與丙二酸 (malonic acid) 進行 Knoevenagel 縮合反應 (Knoevenagel condensation)，以產生 3, 4-(亞甲二氧)肉桂酸 (3,4-(methylenedioxy)cinnamic acid) (C)，然後，藉由與亞硫酸氯 (thionyl chloride) 以及甲醇反應，該酸 (C) 可以被轉變成為其本身的甲基酯 (methyl ester) (D)，再者，藉由在 J. Org. Chem. 1974, 39, 1427 - 1429 中所敘述的程序，就可以實行利用三溴化硼 (boron tribromide) 而脫去保護甲基酯的亞甲二氧基 (methylenedioxy group)，接著，反應混合物的激化造成酯類水解，進而產生咖啡酸 (E)，而藉由在適當之 0 °C 酒精存在下添加亞硫酸氯、或是乙二醯氯 (oxalyl chloride)，並緊接著如反應所需要的讓混合物恢復至室溫、或是在水浴中加熱，咖啡酸 (E) 就可以被轉變成為酯 (F) (X = 氧，以及 R = 烷基、芳基、或雜環基)，

此外，利用在 Bioorg. Med. Chem. Lett. 2004, 14, 4677 – 4681 中所敘述的程序，咖啡酸（E）可以利用在室溫二氯甲烷（Methylene chloride）中之 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亞胺鹽酸鹽（1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethyl carbodiimide hydrochloride (EDC)），羥基苯三唑（1-hydroxy benzotriazole（HOBT）），



X = O, NH or heterocyclyl
R = H, alkyl, aryl, heterocyclyl or absent

以及三乙胺（triethylamine）而與一適當的胺類發生耦接，進而轉變成為氨基化合物（F）。在另外一個方法中，咖啡酸可以藉由添加亞硫酸氯、或是乙二醯氯而轉變成為其氯酸，然後再接著藉由添加所選擇的胺類而轉變成為氨基化合物（F）（X = 氮，以及 R = 氫、烷基、芳基、或雜環基）。

咖啡酸、或其如分子式（1）的衍生物也可以從自然資源中獲得，例如，植物萃取物。

本發明之咖啡酸、或其如分子式（1）的衍生物對於治

療對 Gleevec 之治療具有抗性之慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 而言是有用的。

分子式 (1) 之化合物的抗增殖活性可以藉由 Gleevec 抗性變異細胞株而進行評估，例如，K-562-R 以及 32Dcl Bar-Abl T3151，而其他數種造血細胞株亦可以被用來研究該等化合物的抗增殖活性，該等細胞株包括，Ba/F3 Bcr-Abl/T3151，Ba/F3 Bcr-Abl/E255K，Ba/F3 Bcr-Abl/H396P，Ba/F3 Bcr-Abl/M351T，Ba/F3 Bcr-Abl/F359V，Ba/F3 Bcr-Abl/E255V，Ba/F3 Bcr-Abl/F317L，Ba/F3 Bcr-Abl/H396R，Ba/F3 Bcr-Abl/M244V，Ba/F3 Bcr-Abl/Q252H，Ba/F3 Bcr-Abl/Y253F，或是 Ba/F3 Bcr-Abl/Y253H。

本發明的一個觀點是，一種治療一患有對 Gleevec 之治療具有抗性之慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 的哺乳動物 (例如，人類) 的方法，其是藉由提供如該分子式 (1) 之化合物之一有效治療量、或是該化合物的一藥理上可接受鹽類給該哺乳動物而達成治療。

本發明的另一個觀點是，一種避免、降低、或最小化對 Gleevec 之治療具有抗性之慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 所造成之傷害的方法，其是藉由提供一受感染之哺乳動物 (例如，一女性、或男性人類) 如該分子式 (1) 之化合物之一有效治療量、或是該化合物的一藥理上可接受鹽類而達成治療。

本發明亦提供一種降低對 Gleevec 之治療具抗性之細胞的增殖的方法，該方法包括，將該等細胞接觸咖啡酸、其衍生物、或是其鹽類。本發明的一個觀點是，咖啡酸、其衍生物、或其鹽類是如分子式 (1) 的一化合物，並且，該等化合物可以被提供一有效治療量，以降低該等 Gleevec 抗性細胞的增殖。

根據本發明，在對 Gleevec 之治療具有抗性之慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 的治療上有用的代表性化合物包括：

3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸 (3-(3, 4-Dihydroxy - phenyl)-acrylic acid) (咖啡酸)，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸甲基酯 (3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-acrylic acid methyl ester)，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸乙酯 (3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-acrylic acid ethyl ester)，(E)-3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸-2-硝基-乙酯 ((E)- 3-(3, 4-dihydroxy-phenyl)-acrylic acid 2-nitro-ethyl ester)，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸正丙酯 (3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-acrylic acid n-propyl ester)，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸異丙酯 (3-(3, 4-Dihydroxy- phenyl)-acrylic acid i-propyl ester)，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸丁酯 (3-(3, 4-Dihydroxy -phenyl)-acrylic acid butyl ester)，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基) -1- 哌啶-1-基 - 丙烯酮 ((E)-3-(3, 4-dihydroxy-phenyl)-1-piperidin-1-yl-propenone)，3-(3, 4-二羥基苯基) - 1 -(4-乙基-哌嗪-1-基) - 丙烯酮 (3-(3,

4-Dihydroxy-phenyl)-1-(4-ethyl-piperazin-1-yl)-propenone), 1-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(3,4-二羟基苯基)-丙烯酮 (1-(4-Benzyl-piperazin-1-yl)-3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-propenone), (E)-3-{4-[3-(3,4-二羟基苯基)-丙烯酰基]-哌嗪-1-基}丙腈 ((E)-3-{4-[3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-acryloyl]-piperazin-1-yl}propionitrile), (E)-3-(3,4-二羟基苯基)-1-[4-(1-甲基-哌啶-4-基)哌嗪-1-基]-丙烯酮 ((E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-1-[4-(1-methyl-piperidin-4-yl)piperazin-1-yl]-propenone), (E)-3-(3,4-二羟基苯基)-1-(4-苯基哌嗪-1-基)-丙烯酮 ((E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-1-(4-phenylpiperazin-1-yl)-propenone), (E)-1-(4-乙酰基哌嗪-1-基)-3-(3,4-二羟基苯基)-丙烯酮 ((E)-1-(4-acetyl-piperazin-1-yl)-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-propenone), (E)-3-(3,4-二羟基苯基)-1-(4-苯乙基哌嗪-1-基)-丙烯酮 ((E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-1-(4-phenethyl-piperazin-1-yl)-propenone), (E)-3-(3,4-二羟基苯基)-1-吗啉-4-基-丙烯酮 ((E)-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-1-morpholin-4-yl-propenone), 3-(3,4-二羟基苯基)-N-(3-二甲基氨基-丙基)-丙烯酰胺 (3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-N-(3-dimethylamino-propyl)-acrylamide), (E)-3-(3,4-二羟基苯基)-N-异丙基-丙烯酰胺 ((E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-N-isopropyl-acrylamide), 或 1-(4-甲基哌啶-1-基)-3-(3,4-二羟基苯基)-丙烯酮 (1-(4-Benzyl-piperidin-1-yl)-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-

propenone)。

根據本發明，適合用於治療對 Gleevec 之治療具有抗性之慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 的化合物包括：

3-(3, 4-二羥基苯基)-丙烯酸甲基酯 (3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-acrylic acid methyl ester)，3-(3, 4-二羥基苯基)-丙烯酸乙酯 (3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-acrylic acid ethyl ester)，3-(3, 4-二羥基苯基)-丙烯酸正丙酯 (3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-acrylic acid n-propyl ester)，3-(3, 4-二羥基苯基)-丙烯酸異丙酯 (3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-acrylic acid i-propyl ester)，1-(4-甲苯基-哌嗪-1-基)-3-(3, 4-二羥基苯基)-丙烯酮 (1-(4-Benzyl-piperazin-1-yl)-3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-propenone)，(E)-3-(3, 4-二羥基苯基)-N-異丙基-丙烯醯胺 ((E)-3-(3, 4-dihydroxyphenyl)-N-isopropyl-acrylamide)，或 1-(4-甲苯基-哌啶-1-基)-3-(3, 4-二羥基苯基)-丙烯酮 (1-(4-Benzyl-piperidin-1-yl)-3-(3, 4-dihydroxy-phenyl)-propenone)。

再者，本發明相關於包含該分子式 (1) 之至少一化合物、或是 (除了習知之藥理可接受載體之外) 其生理容許鹽類之有效治療量的藥物成分，以及亦相關於產生一藥物的生產程序，其包括利用一藥理上適合及生理容許之賦形劑，以及適當的話，更進一步之適當的活性化合物、添加物、或輔助物，而將該分子式 (1) 之至少一化合物變為一適當之服用形式。

本發明的該等化合物對於治療對Gleevec之治療具有抗性之慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 是有用的，據此，本發明相關於利用如分子式 (1) 所示之化合物製造來一用於避免、或治療癌症，例如，對Gleevec治療沒有反應之慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML)，的藥劑。

在一實施例之中，本發明相關於一種製造一用於治療、或避免對Gleevec之治療具抗性之慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 的藥劑的方法，其特徵在於，如分子式 (1) 的至少一化合物會被使用作為藥理活性物質。

本發明更進一步相關於一種製造一包括如分子式 (1) 之至少一化合物、以用於降低對Gleevec之治療具抗性之細胞之增殖的藥劑的方法。

本發明的化合物亦相關於使用如分子式 (1) 的一化合物、或該化合物的一藥理上可接收鹽類與其他藥理有效的化合物相結合，舉例而言，一包括如分子式 (1) 之一化合物、或一藥理可接受鹽類的藥理有效成分，其可以以彼此混合、或為藥品調劑的形式，而與能夠對抗具Gleevec抗性細胞、或腫瘤的任何其他化合物、或已知在治療上述病症其中之一為有效的任何其他藥理活性化合物一起提供給哺乳動物，特別是人類。

本發明的該等化合物可以被使用在一種降低體外之Gleevec敏感 (K-562、或 Ba/F3 Bcr-Abl/WT) 以及 Gleevec

抗性(K-562-R 以及 32Dcl^{Bcr-Abl T3151}, Ba/F3 Bcr-Abl/T3151, Ba/F3 Bcr-Abl/E255K, Ba/F3 Bcr-Abl/H396P, Ba/F3 Bcr-Abl/M351T, Ba/F3 Bcr-Abl/F359V, Ba/F3 Bcr-Abl/E255V, Ba/F3 Bcr-Abl/F317L, Ba/F3 Bcr-Abl/H396R, Ba/F3 Bcr-Abl/M244V, Ba/F3 Bcr-Abl/Q252H, Ba/F3 Bcr-Abl/Y253F, 或 Ba/F3 Bcr-Abl/Y253H) 慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 細胞之族群的方法之中。

本發明之該等化合物在Gleevec敏感以及Gleevec抗性腫瘤模型中的體內效果可以藉由使用細胞株，例如，Ba/F3 轉染 (transfectants) 表現全長 (full-length) 野生型Bcr-Abl (Ba/F3 Bcr-Abl/WT)、或是於SCID (Severely Combined Immune-Deficient, 嚴重聯合免疫缺陷) 鼠之異種皮移植 (xenograft) 模型中的變種 Bcr-Abl (Ba/F3 Bcr-Abl/T3151)，而進行評估。

據此，本發明會相關於使用如分子式(1)的一化合物來製造用於避免、或治療癌症，特別是對Gleevec治療沒有反應的慢性骨髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML)，的一藥劑。

根據本發明一方面的構想，該等治療方法以及該等用以降低在此所敘述之細胞增殖的方法，其於上述所使用的藥性成分可以藉由下列的實施路徑、模式等而加以提供。

藥性成分以及方法

藥物可以提供為口服，例如，藥丸、藥片、膜衣錠、

膠囊、粒狀、或藥酏 (elixirs) 的形式，然而，也可以實施為直腸用，舉例而言，栓劑的形式、或是非腸胃吸收，舉例而言，靜脈、肌肉、或皮下地，可注射之無菌溶液、或懸浮液的形式、或局部用，舉例而言，溶液、或皮膚藥貼形式、或是其他的方式，舉例而言，煙霧、或鼻噴霧的形式。

根據本發明的藥物調製是利用已知的方式進行準備，且對具此通常知識之人皆為熟悉。除了如分子式 (1) 所示的該化合物、及/或其生理容許鹽類以外，藥理上可接受之惰性無機、及/或有機載體、及/或添加物也可以被使用。而為了生產藥丸、藥片、膜衣錠、以及硬式明膠膠囊，就有可能使用，舉例而言，乳糖，玉米澱粉、或其衍生物，阿拉伯膠 (gum arabica)，氧化鎂，或葡萄糖等。用於軟式明膠膠囊以及栓劑的載體則為，舉例而言，脂肪、蠟、天然或硬化油 (hardened oils) 等。生產溶液，舉例而言，注射溶液，或是乳化物、或糖漿的適當載體為，舉例而言，水、生理食鹽水、或醇類，舉例而言，乙醇，丙醇或甘油，糖溶液，例如，葡萄糖溶液、或甘露醇溶液，或是所提及之各種溶劑的混合。

通常，藥物調製會包含，重量百分比1%至99%，舉例而言，大約5%至7%、或是大約10至大約30%，之如分子式 (1) 所示之化合物、或其生理容許鹽類，通常，該分子式 (1) 之活性組成、或其生理容許鹽類在該藥物調劑中的量會大約為5至500 mg，而本發明所提供之化合物的劑量可以

涵蓋很廣的範圍，每日提供的劑量可以選擇為適合所需的效果，一適合的劑量大約在0.001至100 mg/kg/day之如分子式(1)所示的化合物、或其生理容許鹽類之間，舉例而言，大約0.01至50 mg/kg/day之如分子式(1)所示的化合物、或其生理容許鹽類，但若有需要的話，也可以提供較高、或是較低的每日劑量。本發明之藥性組成中的活性成分的實際劑量標準可以有所變化，以獲得對一特別病患能達成所需治療反應之效果之活性成分的量、組合物、以及在對病患沒有毒性之情形下的供應模式。

該所選擇的劑量標準將是取決於各種因子，包括本發明所使用之特殊化合物、或其酯類、鹽類、或胺類之活性，提供的路徑，提供之時間，所使用之特殊化合物的排泄速率，治療的持續期間，與所使用之特殊化合物一起使用的其他藥物、化合物、及/或原料，待治療之病患的年齡、性別、重量、狀況、健康及先前病史，以及在醫療領域中已知之類似的因子。

除了如分子式(1)所示的化合物、或其生理可接受鹽類及載體物質之外，該等藥物調劑亦可以包含添加物，例如，舉例而言，填充物，抗氧化劑，分散劑，乳化劑，消泡劑，香料，防腐劑，增溶劑，或是著色劑，並且，它們亦可以包含二、或多種如分子式(1)所示的化合物、或其生理容許鹽類，再者，除了至少一如分子式(1)所示的化合物、或其生理容許鹽類之外，該等藥物調劑亦可以包含一、多種其他具療效、或具生理活性的成分。

應該要瞭解的是，未實質影響本發明之各種實施例之活性的修飾都包含在本發明於此所揭示的範圍之中，據此，接下來的實例僅是用以舉例說明，而非限制本發明。

實例

實例1

3-(3, 4- 二 羥 基 苯 基)- 丙 烯 酸 (3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-acrylic acid) (咖啡酸) (化合物1)

實例1c的化合物 (6.0 g, 0.029 mol) 被溶解在氯仿 (20 mL) 之中，然後，添加溶於氯仿 (90 mL) 中之25% w/v三溴化硼，並於25 °C攪拌16小時，之後，藉由滴加10%碳酸氫鈉水溶液 (於25 °C，並攪拌) 而冷卻反應混合物，最後達到pH 7。然後，分離有機層，並利用水 (100 mL)，鹽鹵 (brine) (100 mL) 洗滌，並於無水硫酸鈉中乾燥，並於減壓條件下進行濃縮，進而得到標題所示之化合物。

產量：2.0 g (38.3%)，¹H NMR (CDCl₃ + DMSO-d₆) : δ 6.83 (d, 1H, J = 15.6 Hz)，6.41 (d, 1H)，6.25 (dd, 1H)，6.18 (d, 1H)，6.52 (d, 1H, J = 15.6 Hz)。

實例1a

甲 苯 [1, 3] 二 氧 雜 環 戊 烯 -5- 羧 醛 (Benzo[1,3]dioxole-5-carbaldehyde) (胡椒醛 (piperonal))

3,4-Dihydroxy benzaldehyde (25g, 0.181 mol)，碳酸銫 (cesium carbonate) (88.29 g, 0.271 mol)，以及二溴甲烷 (dibromomethane) (19.0 mL, 0.271 mol) 溶解在二甲基甲醯胺 (N,N-dimethylformamide) (400 mL) 之中，然後，此

反應混合物加熱至110 °C持續1.5個小時，並在減壓條件下蒸發二甲基甲醯胺，接著，利用乙酸乙酯(ethyl acetate)(500 mL)稀釋反應混合物，並利用水(2 x 250 mL)以及鹽鹵(brine)(2 x 100 mL)洗滌，之後，於無水硫酸鈉中乾燥有機層，並於減壓條件下進行濃縮，進而得到標題所示之化合物。

產量：23.0 g(84.6%)，¹H NMR(CDCl₃): δ 9.8(s, 1H), 7.42(d, 1H), 7.34(d, 1H), 6.94(d, 1H), 6.09(s, 2H)。

實例1b

甲 苯 [1, 3] 二 氧 雜 環 戊 -5- 基 - 丙 烯 酸
(Benzo[1,3]dioxol-5-yl-acrylic acid)

將實例1a之化合物(23 g, 0.153 mol)與丙二酸(malonic acid)(31.77 g, 0.305 mol)的混合物溶解於吡啶(pyridine)(69 mL)之中，攪拌，再添加哌啶(piperidine)，之後，反應混合物加熱至85 °C持續1個小時，再接著將溫度上升至105°C，並維持3小時。然後，冷卻反應混合物，利用水(500 mL)稀釋，並利用10%氫氧化鈉水溶液使其鹼化(至pH 9)。利用乙酸乙酯(2 x 250 mL)萃取該混合物。利用50%鹽酸水溶液酸化水層(至pH 2)，過濾得到的固體，以水洗滌，乾燥，即可得到標題所示之化合物。

產量：20.0 g(68%)；¹H NMR(DMSO-d₆): δ 7.42(d, 1H, J=15.9 Hz), 7.31(s, 1H), 7.10(d, 1H), 6.92(d, 1H), 6.37(d, 1H, J=15.9 Hz), 6.04(s, 2H)；MS(ES-)：191(M-1)。

實例1c

甲 苯 [1, 3] 二 氧 雜 環 戊 -5- 基 - 丙 烯 酸 甲 基 酯
(Benzo[1,3]dioxol-5-yl-acrylic acid methyl ester)

將實例1b之化合物(25 g, 0.13 mol)溶解甲醇(200 mL)之中，冷卻至0 – 5 °C，接著滴加亞硫醯氯(Thionyl chloride)(14.2 mL, 0.195 mol)，混合物於0 °C攪拌30分鐘，之後，反應混合物恢復至室溫(25 °C)，再攪拌16小時。反應的最後，混合物在減壓條件下進行濃縮。剩餘物利用10%重碳酸鈉(sodium bicarbonate)稀釋至pH 7，再利用乙酸乙酯(2 x 250 mL)進行萃取。有機層利用水(100 mL)以及鹽鹵(brine)(100 mL)洗滌，之後，於無水硫酸鈉中乾燥有機層，並於減壓條件下進行濃縮，進而得到為白色固體之標題所示的化合物。

產量：20.0 g (74.6%)，¹H NMR (DMSO-d₆): δ 7.55 (d, 1H, J=15.9 Hz)，7.38 (d, 1H)，7.17 (dd, 1H)，6.93 (d, 1H)，6.48 (d, 1H, J = 15.9 Hz)，6.05 (s, 2H)，3.68 (s, 3H)。

實例2

3-(3, 4- 二 羥 基 苯 基)- 丙 烯 酸 甲 基 酯 (3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-acrylic acid methyl ester) (化合物2)

化合物1 (8.0 g, 0.044 mol) 溶解於甲醇 (70 mL) 之中，冷卻至0°C，接著，滴加亞硫醯氯(4.84 mL, 0.066 mol)，在0°C維持30分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫(25°C)，並攪拌16小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮，剩餘物利用10%重碳酸鈉(sodium bicarbonate)稀釋至pH 7，再利用乙酸乙酯(2 x 100 mL)進行萃取。有機層利

用水 (50 mL) 以及鹽鹵 (brine) (50 mL) 洗滌，於無水硫酸鈉中乾燥，並於減壓條件下進行濃縮，進而得到為白色固體之標題所示化合物。

產量：7.5 g (87.8%)； ^1H NMR (DMSO- d_6)： δ 7.45 (d, 1H, $J=15.9$ Hz)，7.02 (s, 1H)，6.98 (d, 1H)，6.73 (d, 1H)，6.24 (d, 1H, $J=15.9$ Hz)，3.7 (s, 3H)；MS(ES-)：193 (M-1)。

實例3

3-(3, 4-二羥基苯基)-丙烯酸乙酯 (3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-acrylic acid ethyl ester) (化合物3)

化合物1 (0.2 g, 1.11 mol) 溶解於乙醇 (15 mL) 之中，冷卻至 0°C ，接著，滴加亞硫醯氯 (0.1 mL, 1.41 mmol)，在 0°C 維持30分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25°C)，再加熱至 50°C ，並維持在該溫度攪拌過夜 (16小時)，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮，剩餘物利用10%重碳酸鈉 (sodium bicarbonate) 稀釋至pH 7，再利用乙酸乙酯 (2 x 10 mL) 進行萃取。有機層利用水 (5 mL) 以及鹽鹵 (brine) (5 mL) 洗滌，於無水硫酸鈉中乾燥，並於減壓條件下進行濃縮，該剩餘物利用快速色層分析 (flash chromatography) (silica gel, 5 % ethyl acetate in pet ether) 進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量：0.11 g (47.5%)； ^1H NMR (DMSO- d_6)： δ 9.31 (bs, 2H)，7.44 (d, 1H, $J=15.9$ Hz)，7.00 (s, 1H)，6.97 (d, 1H)，6.73 (d, 1H)，6.24 (d, 1H, $J=15.9$ Hz)，4.12 (q, 2H)，1.24 (t, 3H)；MS(ES-)：207 (M-1)。

實例4

(E)-3-(3, 4-二羥基苯基)- 丙烯酸-2-硝基-乙酯 ((E)- 3-(3, 4-dihydroxy-phenyl)-acrylic acid 2-nitro-ethyl ester) (化合物 4)

化合物 1 (0.400 g, 2.22 mmol) 溶解於四氫呋喃 (tetrahydrofuran) (30 mL) 之中，冷卻至 0°C，接著，滴加亞硫醯氯 (0.49 mL, 6.88 mmol)，在 0°C 維持 30 分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25 °C)，攪拌 2 小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮，剩餘物溶解於四氫呋喃 (5 mL) 之中，並冷卻至 0°C，滴加 2-硝基乙醇 (2-Nitroethanol) (1.59 mL, 22.20 mmol)，反應混合物恢復至室溫 (25 °C)，攪拌過夜 (16 小時)。反應的最後，該混合物於減壓條件下進行濃縮，剩餘物利用 10% 重碳酸鈉 (sodium bicarbonate) 稀釋至 pH 7，再利用乙酸乙酯 (2 x 15 mL) 進行萃取。有機層利用水 (10 mL) 以及鹽鹵 (brine) (10 mL) 洗滌，於無水硫酸鈉中乾燥，並於減壓條件下進行濃縮。該剩餘物利用矽膠 (1 % methanol in chloroform) 之快速色層分析 (flash chromatography) 進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量：0.170 g (30.35%)；¹H NMR (CDCl₃)：δ 7.55 (d, 1H, J=15.9 Hz)，7.03 (d, 1H)，6.94 (dd, 1H)，6.76 (d, 1H)，6.24 (d, 1H, J = 15.9 Hz)，4.79 (m, 2H)，4.66 (m, 2H)。

實例5

3-(3, 4-二羥基苯基)- 丙烯酸正丙酯 (3-(3,

4-Dihydroxy-phenyl)-acrylic acid n-propyl ester) (化合物 5)

化合物1 (0.25 g, 1.38 mmol) 溶解於1-丙醇 (propan-1-ol) (20 mL) 之中，冷卻至0°C，接著，滴加亞硫醯氯 (0.12 mL, 1.65 mmol)，在0°C維持30分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25 °C)，再加熱至50 °C，並維持在該溫度過夜 (16 小時)，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮，剩餘物利用10%重碳酸鈉 (sodium bicarbonate) 稀釋至pH 7，再利用乙酸乙酯 (2 x 10 mL) 進行萃取。有機層利用水 (5 mL) 以及鹽鹵 (brine) (5 mL) 洗滌，再於無水硫酸鈉中乾燥，並於減壓條件下進行濃縮，該剩餘物利用快速色層分析 (flash chromatography) (silica gel, 5 % ethyl acetate in pet ether) 進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量：0.2 g (65.2%)；¹H NMR (DMSO-d₆)：δ 9.5 (bs, 2H)，7.40 (d, 1H, J = 15.9 Hz)，7.02 (s, 1H)，6.98 (d, 1H)，6.73 (d, 1H)，6.21 (d, 1H, J = 15.9 Hz)，4.04 (t, 2H)，1.61 (m, 2H)，0.89 (t, 3H)；MS(ES-)：221 (M-1)。

實例6

3-(3, 4-二羥基苯基)-丙烯酸異丙酯 (3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-acrylic acid i-propyl ester) (化合物 6)

化合物1 (0.3 g, 1.66 mmol) 溶解於2-丙醇 (propan-2-ol) (20 mL) 之中，冷卻至0°C，接著，滴加亞硫醯氯 (0.18 mL, 2.5 mmol)，在0°C維持30分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25 °C)，再加熱至70 °C，並維持在該溫度過夜 (16 小時)，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮，剩餘

物利用10%重碳酸鈉 (sodium bicarbonate) 稀釋至pH 7，再利用乙酸乙酯 (2 x 10 mL) 進行萃取。有機層利用水 (5 mL) 以及鹽鹵 (brine) (5 mL) 洗滌，再於無水硫酸鈉中乾燥，並於減壓條件下進行濃縮，該剩餘物利用快速色層分析 (flash chromatography) (silica gel, 3 % propan-2-ol in chloroform) 進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量：0.2 g (54.2%)； ^1H NMR (DMSO- d_6)： δ 9.33 (bs, 2H)，7.42 (d, 1H, $J=15.9$ Hz)，7.00 (s, 1H)，6.97 (d, 1H)，6.73 (d, 1H)，6.20 (d, 1H, $J=15.9$ Hz)，4.96 (m, 1H)，1.21 (d, 2H)；MS(ES-)：221 (M-1)。

實例7

3-(3, 4-二羥基苯基)-丙烯酸丁酯 (3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-acrylic acid butyl ester) (化合物7)

化合物1 (0.1 g, 5.5 mol) 溶解於正-丁醇 (n-butanol) (10 mL) 之中，冷卻至0°C，接著，滴加亞硫醯氯 (0.04 mL, 8.3 mmol)，在0°C維持30分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25 °C)，並攪拌16小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮，剩餘物利用10%重碳酸鈉 (sodium bicarbonate) 稀釋至pH 7，再利用乙酸乙酯 (2 x 25 mL) 進行萃取。有機層利用水 (10 mL) 以及鹽鹵 (brine) (10 mL) 洗滌，於無水硫酸鈉中乾燥，並於減壓條件下進行濃縮，然後，所獲得的未加工產品利用快速色層分析 (flash chromatography) (silica gel, 5 % ethyl acetate in pet ether) 進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量：50 mg (38.4%)； ^1H NMR (CDCl_3)： δ 7.56 (d, 1H, $J=15.9$ Hz)，7.08 (s, 1H)，7.01 (d, 1H)，6.87 (d, 1H)，6.25 (d, 1H, $J=15.9$ Hz)，5.86 (bs, 1H)，5.80 (bs, 1H)，4.19 (t, 2H)，1.70 (m, 2H)，1.44 (m, 2H)，0.95 (t, 3H)；MS (ES-)235 (M-1)。

實例8

(E)-3-(3,4-二羥基苯基)-1-哌啶-1-基-丙烯酮((E)-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-1-piperidin-1-yl-propenone)(化合物8)

化合物1 (0.500 g, 2.77 mmol) 溶解於四氫呋喃(tetrahydrofuran) (30 mL) 之中，冷卻至 0°C ，接著，滴加亞硫醯氯(1 mL, 13.85 mmol)，在 0°C 維持30分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫(25°C)，攪拌2小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮至乾，剩餘物溶解於四氫呋喃(10 mL)之中，並冷卻至 0°C ，滴加哌啶(piperidine) (1.1 mL, 11.08 mmol)，反應混合物恢復至室溫(25°C)，攪拌過夜(16小時)。反應的最後，該混合物於減壓條件下進行濃縮，剩餘物利用10%重碳酸鈉(sodium bicarbonate)稀釋至pH 7，再利用乙酸乙酯(2 x 25 mL)進行萃取。有機層利用水(10 mL)以及鹽鹵(brine) (10 mL)洗滌，於無水硫酸鈉中乾燥，並於減壓條件下進行濃縮。該剩餘物利用矽膠(2 % methanol in chloroform)之快速色層分析(flash chromatography)進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量：0.350 g (51.02%)； ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$)： δ 7.27 (d, 1H, $J=15.3$ Hz)，7.04 (d, 1H)，6.95 (dd, 1H)，6.89 (d, 1H,

$J = 15.3 \text{ Hz}$), 6.71 (d, 1H), 3.53 (m, 4H), 1.57 (m, 6H);
MS (ES-) : 246.11。

實例9

3-(3, 4-二羥基苯基)-1-(4-乙基-哌嗪-1-基)-丙烯酮
(3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-1-(4-ethyl-piperazin-1-yl)-propenone) (化合物 9)

化合物 1 (0.3 g, 1.66 mmol) 溶解於四氫呋喃 (tetrahydrofuran) (5 mL) 之中，冷卻至 0°C ，接著，滴加亞硫醯氯 (0.36 mL, 5.1 mmol)，在 0°C 維持 30 分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25°C)，並攪拌 2 小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮至乾，剩餘物溶解於四氫呋喃 (5 mL) 之中，並冷卻至 0°C ，滴加 1-乙基-哌嗪 (1-Ethyl-piperazine) (1.1 mL, 8.62 mmol)，反應混合物恢復至室溫 (25°C)，攪拌過夜 (16 小時)。該反應混合物於減壓條件下進行濃縮，剩餘物利用 10% 重碳酸鈉 (sodium bicarbonate) 稀釋至 pH 7，再利用乙酸乙酯 (2 x 25 mL) 進行萃取。有機層利用水 (10 mL) 以及鹽鹵 (brine) (10 mL) 洗滌，於無水硫酸鈉中乾燥，並於減壓條件下進行濃縮。該剩餘物利用快速色層分析 (flash chromatography) (silica gel, 5 % methanol in chloroform) 進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量 : 180 mg (39.2%); $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) : δ 9.43 (s, 2H), 8.97 (s, 1H), 7.45 (d, 1H, $J = 15.9 \text{ Hz}$), 7.05 (d, 1H), 6.96 (dd, 1H), 6.89 (d, 1H, $J = 15.9 \text{ Hz}$), 6.71 (d, 1H), 3.56 (m,

4H), 2.32 (m, 6H), 0.99 (t, 3H); MS(ES⁺): 277 (M+1)。

製備鹽酸鹽 (hydrochloride salt):

4-[3-(3, 4-二羥基苯基)- 丙烯醯基]-1-乙基-哌嗪-1-氯

(4-[3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-acryloyl]-1-ethyl-piperazine-1-ium chloride)

化合物9 (2.0 g, 7.29 mol) 溶解於10 mL 甲醇之中，溶液冷卻至0-5 °C，接著，添加5%鹽酸醚溶液 (ethereal hydrochloric acid solution) (25 mL)，攪拌10分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25 °C)，並攪拌1小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮，所得之固體完全乾燥後即可得所需之產品。

產量: 2.1 g (93.3%); ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 10.88 (s, 1H), 7.35 (d, 1H, J=15.3 Hz), 7.10 (d, 1H, J=1.5 Hz), 6.99 (d, 1H, J=1.5 Hz), 6.97 (d, 1H, J=15.3 Hz), 6.74 (d, 1H, J=8.4 Hz), 4.48 (m, 2H), 3.46 (m, 2H), 3.11 (m, 4H), 2.91 (m, 2H), 1.23 (t, 3H)。

實例10

1-(4-甲苯基-哌嗪-1-基)-3-(3, 4-二羥基苯基)-丙烯酮
(1-(4-Benzyl-piperazin-1-yl)- 3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-propenone) (化合物 10)

化合物 1 (0.3 g, 1.66 mol) 溶解於四氫呋喃 (tetrahydrofuran) (5 mL) 之中，冷卻至0°C，接著，滴加亞硫醯氯 (0.6 mL, 8.5 mmol)，在0°C維持30分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25 °C)，並攪拌2小時，接著，該

反應混合物在減壓條件下進行濃縮至乾，剩餘物溶解於四氫呋喃（5 mL）之中，並冷卻至0°C，滴加1-苯甲基-哌嗪（1-Benzyl-piperazine）（0.9 mL，5.2 mmol），反應混合物恢復至室溫（25 °C），攪拌過夜（16小時）。該反應混合物於減壓條件下進行濃縮，剩餘物利用10%重碳酸鈉（sodium bicarbonate）稀釋至pH 7，再利用乙酸乙酯（2 x 25 mL）進行萃取。有機層利用水（10 mL）以及鹽鹵（brine）（10 mL）洗滌，於無水硫酸鈉中乾燥，並於減壓條件下進行濃縮。該剩餘物利用快速色層分析（flash chromatography）（silica gel，5 % methanol in chloroform）進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量：160 mg（28.4%）；¹H NMR（CD₃OD）：δ 7.44（d，1H，J=15.3 Hz），7.32（m，5H），7.03（d，1H），6.96（dd，1H），6.85（d，1H，J = 15.3 Hz），6.75（d，1H），3.71（bs，4H），3.56（s，2H），2.49（bs，4H）；MS（ES⁺）：277（M+1）。

製備鹽酸鹽（hydrochloride salt）：

4-[3-(3,4-二羥基苯基)- 丙烯醯基]-1-哌嗪-1-氯

（4-[3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-acryloyl]-1-benzyl-piperazin-1-ium chloride）

化合物10（0.5 g，1.49 mol）溶解於15 mL 甲醇之中，溶液冷卻至0-5 °C，接著，添加5%鹽酸醚溶液（ethereal hydrochloric acid solution）（25 mL），攪拌10分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫（25 °C），並攪拌1小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮，所得之固體完全乾燥

後即可得所需之產品。

產量：0.52 g (94.54%)； ^1H NMR (DMSO- d_6)： δ 9.56 (s, 1H)，7.56 (m, 2H)，7.32 (d, 1H, $J=15.3$ Hz)，9.06 (d, 1H)，6.95 (m, 1H)，6.89 (d, 1H, $J=15.3$ Hz)，6.72 (d, 1H)，4.43 (m, 2H)，4.27 (m, 2H)，3.26 (m, 3H)，2.89 (m, 3H)。

實例11

(E)-3-{4-[3-(3, 4-二羥基苯基)- 丙烯醯基]- 哌嗪-1-基} 丙腈 (E)-3-{4-[3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-acryloyl]-piperazin-1-yl}propionitrile) (化合物 11)

化合物 1 (0.400 g, 2.22 mmol) 溶解於四氫呋喃 (tetrahydrofuran) (30 mL) 之中，冷卻至 0°C ，接著，滴加乙二醯氯 (oxalyl chloride) (0.57 mL, 6.66 mmol)，在 0°C 維持 30 分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25°C)，攪拌 2 小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮至乾，剩餘物溶解於四氫呋喃 (15 mL) 之中，並在氮氣中冷卻至 0°C ，並於 0°C 滴加 3-哌嗪-1-基-丙腈 (3-piperazin-1-yl-propionitrile) (0.37 g, 2.66 mmol) 以及三乙胺 (triethylamine) (0.67 mL, 48.8 mmol) 溶於四氫呋喃中的一溶液，反應混合物恢復至室溫 (25°C)，攪拌過夜 (16 小時)。反應的最後，該混合物於減壓條件下進行濃縮，並利用矽膠 (1 % methanol in chloroform) 之快速色層分析 (flash chromatography) 進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量：0.130 g (19.43%)； ^1H NMR (CD_3OD)： δ 7.45 (d,

1H, J = 15 Hz), 7.04 (d, 1H), 6.97 (dd, 1H), 6.86 (d, 1H, J = 15.3 Hz), 6.76 (d, 1H), 3.75 (m, 4H), 2.71 (m, 4H), 2.66 (m, 4H); MS (ES⁺): 302.14。

實例12

(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基)-1-[4-(1-甲基-哌啶-4-基) 哌嗪-1-基] - 丙烯 酮 ((E)-3-(3, 4-dihydroxyphenyl)-1-[4-(1-methyl-piperidin-4-yl)piperazin-1-yl]-propenone) (化合物 12)

化合物 1 (0.500 g, 2.77 mmol) 溶解於四氫呋喃 (tetrahydrofuran) (30 mL) 之中，冷卻至 0°C，接著，滴加乙二醯氯 (oxalyl chloride) (0.52 mL, 6.09 mmol)，在 0°C 維持 30 分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25 °C)，攪拌 3 小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮至乾，剩餘物溶解於四氫呋喃 (10 mL) 之中，並在氮氣中冷卻至 0°C，並於 0°C 滴加 1-(1-甲基哌啶-4-基) 哌嗪 (1-(1-methylpiperidin-4-yl) piperazine) (0.37 g, 2.66 mmol) 以及三乙胺 (triethylamine) (0.84 mL, 6.09 mmol) 溶於四氫呋喃中的一溶液，反應混合物恢復至室溫 (25 °C)，攪拌過夜 (16 小時)。反應的最後，該混合物於減壓條件下進行濃縮，並利用矽膠 (1 % methanol in chloroform) 之快速色層分析 (flash chromatography) 進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量：0.170 g (17.74%); ¹H NMR (CD₃OD): δ 7.47 (d, 1H, J = 15.3 Hz), 7.06 (d, 1H), 6.98 (dd, 1H), 6.87 (d, 1H, J =

15.3 Hz), 6.79 (d, 1H), 3.76 (bs, 4H), 3.18 (m, 2H), 2.63 (bs, 4H), 2.51 (s, 3H), 2.45 (m, 3H), 1.96 (m, 2H), 1.69 (m, 2H); MS (ES⁺): 346.21。

實例13

(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基)-1-(4-苯基哌嗪-1-基) -丙烯酮
(
(E)-3-(3, 4-dihydroxyphenyl)-
1-(4-phenylpiperazin-1-yl)-propenone) (化合物 13)

化合物 1 (0.500 g, 2.77 mmol) 溶解於四氫呋喃 (tetrahydrofuran) (30 mL) 之中，冷卻至 0°C，接著，滴加乙二醯氯 (oxalyl chloride) (0.71 mL, 8.31 mmol)，在 0°C 維持 30 分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25 °C)，攪拌 3 小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮至乾，剩餘物溶解於四氫呋喃 (10 mL) 之中，並在氮氣中冷卻至 0°C，並於 0°C 滴加 N-苯基-哌嗪 (N-phenyl-piperazine) (0.54 mL, 3.60 mmol) 以及三乙胺 (triethylamine) (0.84 mL, 6.09 mmol) 溶於四氫呋喃中的一溶液，反應混合物恢復至室溫 (25 °C)，攪拌過夜 (16 小時)。反應的最後，該混合物於減壓條件下進行濃縮，並利用矽膠 (1 % methanol in chloroform) 之快速色層分析 (flash chromatography) 進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量：0.100 mg (11.11%); ¹H NMR (CD₃OD): δ 7.47 (d, 1H, J=15.3 Hz), 7.23 (t, 2H), 7.05 (d, 1H), 6.98 (d, 2H), 6.91 (1H, J = 15.3 Hz), 6.84 (m, 1H), 6.77 (d, 1H), 3.85 (bs, 4H), 3.19 (bs, 4H); MS (ES⁻): 323.12。

實例14

(E)-1-(4-乙醯-哌嗪-1-基)-3-(3,4-二羥基苯基)-丙烯酮
(
(E)-1-(4-acetyl-piperazin-1-yl)-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-propenone) (化合物 14)

化合物 1 (0.500 g, 2.77 mmol) 溶解於四氫呋喃 (tetrahydrofuran) (30 mL) 之中，冷卻至 0°C，接著，滴加乙二醯氯 (oxalyl chloride) (0.52 mL, 6.09 mmol)，在 0°C 維持 30 分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25 °C)，攪拌 3 小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮至乾，剩餘物溶解於四氫呋喃 (10 mL) 之中，並在氮氣中冷卻至 0°C，並於 0°C 滴加 N-乙醯基-哌嗪 (N-acetyl-piperazine) (0.35 mL, 2.77 mmol) 以及三乙胺 (triethylamine) (0.84 mL, 6.09 mmol) 溶於四氫呋喃中的一溶液，反應混合物恢復至室溫 (25 °C)，攪拌過夜 (16 小時)。反應的最後，該混合物於減壓條件下進行濃縮，並利用矽膠 (1 % methanol in chloroform) 之快速色層分析 (flash chromatography) 進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量：0.3 g (37.26%)；¹H NMR (DMSO-d₆)：δ 8.93 (bs, 1H)，7.34 (d, 1H, J=15.3 Hz)，6.99 (dd, 1H)，7.09 (d, 1H, J=15 Hz)，6.75 (d, 1H)，3.85 (m, 8H)，2.03 (s, 3H)；MS (ES+)：291.15 (M+1)。

實例15

(E)-3-(3,4-二羥基苯基)-1-(4-苯乙基-哌嗪-1-基)-丙烯

酮 (E)-3-(3, 4-dihydroxy-phenyl)-1-(4-phenethyl-piperazin-1-yl)-propenone) (化合物 15)

化合物 1 (0.500 g, 2.77 mol) 溶解於四氫呋喃 (tetrahydrofuran) (30 mL) 之中，冷卻至 0°C，接著，滴加乙二醯氯 (oxalyl chloride) (0.35 mL, 4.15 mmol)，在 0°C 維持 30 分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25 °C)，攪拌 3 小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮至乾，剩餘物溶解於四氫呋喃 (10 mL) 之中，並在氮氣中冷卻至 0°C，並於 0°C 滴加 1-苯乙基-哌嗪 (1-phenylethyl-piperazine) (0.52 g, 2.77 mmol) 以及三乙胺 (triethylamine) (0.84 mL, 6.09 mmol) 溶於四氫呋喃中的一溶液，反應混合物恢復至室溫 (25 °C)，攪拌過夜 (16 小時)。反應的最後，該混合物於減壓條件下進行濃縮，並利用矽膠 (1 % methanol in chloroform) 之快速色層分析 (flash chromatography) 進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量：0.150 g (15.33%)；MS (ES+)：353.24。

實例16

(E)-3-(3, 4-二羥基苯基)-1-嗎啉-4-基-丙烯酮 ((E)-3-(3, 4-dihydroxy-phenyl)-1-morpholin-4-yl-propenone) (化合物 16)

化合物 1 (0.4 g, 2.22 mol) 溶解於四氫呋喃 (tetrahydrofuran) (30 mL) 之中，冷卻至 0°C，接著，滴加亞硫醯氯 (thionyl chloride) (0.51 mL, 7.10 mmol)，在 0°C

維持 30 分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25 °C)，攪拌 2 小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮至乾。剩餘物溶解於四氫呋喃 (10 mL) 之中，並冷卻至 0 °C，滴加嗎啉 (Morpholine) (0.77 mL, 8.88 mmol)，反應混合物恢復至室溫 (25 °C)，攪拌過夜 (16 小時)。反應的最後，該混合物於減壓條件下進行濃縮，並利用矽膠 (1 % methanol in chloroform) 之快速色層分析 (flash chromatography) 進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量：0.200 g (28.94%)；¹H NMR (DMSO-d₆)：δ 7.31 (d, 1H, J=15 Hz)，7.06 (bs, 1H)，6.96 (d, 1H)，6.89 (d, 1H, J = 15.3 Hz)，6.71 (d, 1H)，3.60 (m, 8H)。

實例17

3-(3, 4-二羥基苯基)-N-(3-二甲基氨基-丙基)- 丙烯醯胺
(3-(3, 4-dihydroxy-phenyl)- N-(3-dimethylamino-propyl)-acrylamide) (化合物 17)

化合物1 (0.2 g, 1.11 mol)，N, N-二甲基丙烷-1,3-二胺 (N,N-dimethyl-propane-1,3-diamine) (0.13 mL, 1.11 mmol) 以及HOBT (0.2 g, 1.32 mol) 的一混合物溶解於二甲基甲醯胺 (N,N-dimethylformamide) (5 mL) 之中，並於0 °C下添加三乙胺 (triethylamine) (0.4 mL, 3.3 mmol)，10分鐘之後，於0 °C下添加EDC (0.25 g, 1.3 mmol)，之後，反應混合物於室溫 (25 °C) 下攪拌24小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮，剩餘物利用乙酸乙酯 (25 mL) 進行稀釋。有機層利用水 (10 mL) 以及鹽鹵 (brine) (10 mL)

洗滌，並於減壓條件下進行濃縮。所獲得的未加工產品利用快速色層分析 (flash chromatography) (silica gel, 0.3 % methanol in chloroform) 進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量：190 mg (64.7%)；MS(ES-)：263 (M-1)。

實例18

(E)-3-(3,4-二羥基苯基)-N-異丙基-丙烯醯胺 ((E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-N-isopropyl-acrylamide) (化合物 18)

化合物 1 (0.500 g, 2.77 mol) 溶解於四氫呋喃 (tetrahydrofuran) (30 mL) 之中，冷卻至 0°C，接著，滴加乙二醯氯 (oxalyl chloride) (0.71 mL, 8.31 mmol)，在 0°C 維持 30 分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25 °C)，攪拌 3 小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮至乾，剩餘物溶解於四氫呋喃 (10 mL) 之中，並在氮氣中冷卻至 0°C，並於 0°C 下滴加異丙胺 (isopropyl amine) (0.30 mL, 3.60 mmol) 以及三乙胺 (triethylamine) (0.84 mL, 6.09 mmol) 溶於四氫呋喃中的一溶液，反應混合物恢復至室溫 (25 °C)，攪拌過夜 (16 小時)。反應的最後，該混合物於減壓條件下進行濃縮，並利用矽膠 (1 % methanol in chloroform) 之快速色層分析 (flash chromatography) 進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量：0.150 g (24.42%)。¹H NMR (CD₃OD)：δ 7.36 (d, 1H, J=15.6 Hz)，6.98 (d, 1H)，6.88 (dd, 1H)，6.74 (d, 1H)，6.32 (d, 1H, J=15.6 Hz)，4.06 (m, 1H)，1.17 (d, 6H)。

實例19

1-(4-甲基哌啶-1-基)-3-(3,4-二羥基苯基)-丙烯酮
(1-(4-Benzyl-piperidin-1-yl)-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-propenone) (化合物 19)

化合物 1 (5 g, 27.7 mol) 溶解於四氫呋喃 (tetrahydrofuran) (60 mL) 之中，冷卻至 0°C，接著，滴加乙二醯氯 (oxalyl chloride) (5.26 mL, 61.0 mmol)，在 0°C 維持 30 分鐘，之後，反應混合物回溫至室溫 (25 °C)，攪拌 3 小時，接著，該反應混合物在減壓條件下進行濃縮至乾，剩餘物溶解於四氫呋喃 (20 mL) 之中，並在氮氣中冷卻至 0°C，並於 0°C 下滴加苯甲基哌啶 (benzylpiperidine) (5.35 g, 30.5 mmol) 以及三乙胺 (triethylamine) (5.52 mL, 41.6 mmol) 溶於四氫呋喃中的一溶液，反應混合物恢復至室溫 (25 °C)，攪拌過夜 (16 小時)。反應的最後，該混合物於減壓條件下進行濃縮，並利用快速色層分析 (flash chromatography) (silica gel, 1 % methanol in chloroform) 進行純化，進而得到標題所示化合物。

產量: 2.2 g (23.50 %). ^1H NMR (CD_3OD): δ 7.41 (d, 1H, $J=15.3$ Hz), 7.25 (m, 2H), 7.15 (m, 3H), 7.02 (d, 1H), 6.95 (dd, 1H), 6.85 (d, 1H, $J=15.3$ Hz), 6.76 (d, 1H), 4.57 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 3.08 (m, 1H), 2.67 (m, 1H), 2.56 (d, 2H), 1.85 (m, 1H), 1.73 (m, 2H), 1.18 (m, 2H); MS (ES-): 336.1 (M-1).

本發明之化合物對抑制 Gleevec 敏感細胞株 K-562，

Ba/F3 Bcr-Abl/WT 以及 Gleevec 抗性細胞株 K-562-R 以及 32Dcl^{Bar-Abl T3151} , Ba/F3 Bcr-Abl/T3151 , Ba/F3 Bcr-Abl/E255K , Ba/F3 Bcr-Abl/H396P , Ba/F3 Bcr-Abl/M351T , Ba/F3 Bcr-Abl/F359V , Ba/F3 Bcr-Abl/E255V , Ba/F3 Bcr-Abl/F317L , Ba/F3 Bcr-Abl/H396R , Ba/F3 Bcr-Abl/M244V , Ba/F3 Bcr-Abl/Q252H , Ba/F3 Bcr-Abl/Y253F , 以及 Ba/F3 Bcr-Abl/Y253H 的效果,可以藉由下列的藥性試驗的數字而加以決定。下列所舉例的藥性試驗已經藉由 imatinib mesylate, 以及本發明的化合物、或其鹽類而加以實行(此後,稱之為測試化合物)。

下列為所使用的縮寫：

ATCC : American Type Culture Collection

OGSU : Oregon Health And Science University,
Oregon, USA

NPRC : Nicholas Piramal Research Centre, Mumbai,
India

FBS : Fetal Bovine Serum

IMDM : Iscove'S Modified Dulbecco'S Medium

RPMI : Rosewell Park Memorial Institute

SDS-PAGE : Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide
Gel Electrophoresis

PBS : Phosphate Buffered Saline

EDTA : Ethylene Diamine Tetra Acetate

NP-40 : Nonidet P-40

HEPES : (N-[2-Hydroxy ethyl] piperazine-N'-[2-ethane sulphonic acid])

DTT : Dithiothreitol

EGTA : Ethylene glycol bis(2-aminoethyl ether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid

IL3 : Interleukin 3

實例20

細胞增殖試驗

氚-胸嘧啶吸收試驗 (^3H -Thymidine uptake assay) : 氚-胸嘧啶結合就直接正比於在培養皿中分裂的細胞數。

實驗設計 (Protocol)

將來自不同來源 (表1) 的細胞株進行預先培養，並使其維持在供應者所建議的最適生長條件之下，以指數成長的培養會接受如下所示之不同濃度的測試化合物以及標準。

編號	細胞株	細胞株敘述	來源	Ph 狀態	增殖培養基 (FBS %)
1.	K-562	人類 Bcr-Abl 白血病細胞株	ATCC	+ve	IMDM (10%)
2.	K-562-R	對 Gleevec 具抗性之人類 Bcr-Abl 白血病	NPRC	+ve	RPMI-1640 (10%)

		細胞株			
3.	32DC13 Bcr-Abl	具 T3151 變異 Bcr-Abl 之老鼠 纖維組織母細胞	-	+ve	IMDM (10%)

方法：

在透明的96凹槽組織培養盤（NCNU, USA）中，細胞會以每個凹槽以 3×10^3 至 5×10^3 的密度（在0.180 mL之中）進行接種，然後，在5%二氧化碳培養箱中，以37 °C培養2 – 6小時。測試化合物利用培養基（具有10% FBS的RPMI1640）稀釋為各種的濃度，0.02 mL的10x 儲存液以三倍的量加入每一個凹槽之中，培養盤在5%二氧化碳培養箱中，以37 °C培養72小時。

在72小時的培養之後，培養盤在一盤式離心機中以1000 rpm進行離心10分鐘，將懸浮物小心的吸走，在所有的凹槽（wells）中添加在0.1 mL完全培養基中之濃度為0.5 μ Ci/well的氘-胸嘧啶（ 3 H -Thymidine），將培養盤再於5%二氧化碳培養箱中，以37 °C培養6 – 14小時。

在培養末期，在細胞收集器（cell harvester）（Packard, USA）的幫助下，可以在96個凹槽的玻璃過濾盤（Cat # 6005177, Unifilter-96, GF/B, Packard, USA）上收集到來自96個凹槽的細胞株，然後，該過濾盤進行完全地乾燥，於60 °C下1小時、或是於室溫（25 °C）下整夜（16小時），在乾燥之後，該盤的底部利用封條堵住，加入0.05 mL/well的閃光

液體 (Microscint-O, Packard)，然後，該盤再由上方封住，由閃光計數器 (scintillation counter) (TopCount, Packard) 進行讀取，最後計算出相較於控制數值的抑制率以及 IC_{50} 。

表2：化合物2對於各種細胞株的抗增殖活性

編號	化合物	IC_{50} μM		
		K-562	K-562-R	32Dcl ^{Bar-Abl} T3151
1	Imatinib mesylate	0.21 ± 0.05	1.0	>3.0
2	化合物 2	13.6 ± 2.3	23.0	36.0

結論：本發明的化合物2會抑制具Gleevec抗性細胞株 K-562，K-562-R，以及32Dcl Bar-Abl T3151的增殖。

實例21

利用體外抗增殖活性決定測試化合物對imatinib抗性細胞株的特異性

預先培養數個imatinib抗性細胞株，來自 Dr. Brain Druker's laboratory, Howard Hughes Medical Institute, Oregon Health and Science University (OHSU), Cancer Institute, Portland, Oregon, USA，其詳細資料如表3所提供。這些細胞株被維持在供應者所建議的較佳生長條件之下。

表3：各種imatinib敏感及imatinib抗性細胞株的敘述

編號	細胞株	來源	Ph狀態	增殖培養基 (FBS %)
1	Ba/F3 Bcr-Abl/WT	OHSU	+ ve野生株	RPMI - 1640 (10%)
2	Ba/F3 Bcr-Abl/T3151	OHSU	+ ve變異株	RPMI - 1640 (10%)
3	Ba/F3 Bcr-Abl/E255K	OHSU	+ ve變異株	RPMI - 1640 (10%)

4	Ba/F3 Bcr-Abl/H396P	OHSU	+ ve變異株	RPMI – 1640 (10%)
5	Ba/F3 Bcr-Abl/M351T	OHSU	+ ve變異株	RPMI – 1640 (10%)
6	Ba/F3 Bcr-Abl/F359V	OHSU	+ ve變異株	RPMI – 1640 (10%)
7	Ba/F3 Bcr-Abl/E255V	OHSU	+ ve野生株	RPMI – 1640 (10%)
8	Ba/F3 Bcr-Abl/F317L	OHSU	+ ve野生株	RPMI – 1640 (10%)
9	Ba/F3 Bcr-Abl/H396R	OHSU	+ ve變異株	RPMI – 1640 (10%)
10	Ba/F3 Bcr-Abl/M244V	OHSU	+ ve變異株	RPMI – 1640 (10%)
11	Ba/F3 Bcr-Abl/Q252H	OHSU	+ ve變異株	RPMI – 1640 (10%)
12	Ba/F3 Bcr-Abl/Y253F	OHSU	+ ve變異株	RPMI – 1640 (10%)
13	Ba/F3 Bcr-Abl/Y253H	OHSU	+ ve變異株	RPMI – 1640 (10%)
14	Ba/F3*	OHSU	- ve野生株	IMDM (10%) + IL3**

* Ba/F3細胞包含的載體僅(Ba/F3 - pSR α)

**IL³作為生長因子

在表3中所敘述的細胞株會被用於測試欲測試之化合物的抗增殖活性，而利用CCK-8試驗，該等測試化合物作為一抗增殖劑的活性則是可以與Imatinib mesylate在imatinib抗性細胞中的活性相比較。

細胞增殖以及細胞毒素 (cytotoxicity) CCK-8試驗

細胞計數試劑-8 (CCK-8) 藉由利用Dojindo的高度水溶性四唑鹽類 (tetrazolium salt) 而使得試驗變得相當地簡便。CCK-8，無放射性，利用敏感的色度測定來決定在細胞增殖以及細胞毒素試驗中之可活細胞的數量，藉由在細

胞中之脫氫酶（dehydrogenases）所產生之formazan染劑（formazan dye）的量會直接正比於存活細胞的數量，因此，該CCK-8試驗亦可以取代氘-胸嘧啶結合試驗。

化合物準備

Imatinib mesylate是購自Natco Pharma, India，為了測試化合物以及標準Imatinib mesylate，10 mM儲存液準備於DMSO之中。

方法

細胞以每個凹槽至多 5×10^3 (0.09 mL) 的密度接種於透明的96凹槽組織培養盤（NUCU, USA）之中，並於5%二氧化碳培養箱中，以37 °C培養2 – 6小時，不同濃度的測試化合物以及一標準imatinib被添加三倍至每一個凹槽之中，之後，培養盤再次地於5%二氧化碳培養箱中，以37 °C培養72小時。10 μ L的CCK-8溶液添加至每一個凹槽之中，並將培養盤於培養箱中再培養1 – 4小時，利用一微量盤偵測器測量450 nm的吸光值。

A. 計算相較於控制組的抑制比例以及IC₅₀，結果顯示於下列表4以及表5之中。

B. 該等測試化合物對於imatinib敏感（Ba/F3 Bcr-Abl/WT）以及抗性（Ba/F3 Bcr-Abl/T3151）（如臨床所見）的抗增殖活性（表示為 μ M的IC₅₀數值）係以圖例方式顯示於第1圖之中。

化合物對於五個低突變率imatinib抗性細胞株（Ba/F3 Bcr-Abl/E255K，Ba/F3 Bcr-Abl/H396P，Ba/F3

Bcr-Abl/E255V，Ba/F3 Bcr-Abl/M244V，以及Ba/F3 Bcr-Abl/Q252H) (如臨床所見) 的抗增殖活性 (表示為 μM 的 IC_{50} 數值) 係以圖例方式顯示於第2圖之中。

化合物對於七個高突變率imatinib抗性細胞株 (Ba/F3 Bcr-Abl/T3151，Ba/F3 Bcr-Abl/M351T，Ba/F3 Bcr-Abl/F359V，Ba/F3 Bcr-Abl/F317L，Ba/F3 Bcr-Abl/H396R，Ba/F3 Bcr-Abl/Y253F，以及Ba/F3 Bcr-Abl/Y253H) (如臨床所見) 的抗增殖活性 (表示為 μM 的 IC_{50} 數值) 係以圖例方式顯示於第2圖之中。

表4：本發明之化合物對imatinib敏感及imatinib抗性細胞株的抑制濃度 (inhibitory concentrations, IC_{50})

編號	化合物	$\text{IC}_{50} \mu\text{M}$		
		K-562	Ba/F3 Bcr-Abl/WT	Ba/F3 Bcr-Abl/T3151
1	化合物 1	> 100	> 100	>3.0
2	化合物 2	13.3 ± 2.1	7.9 ± 2.1	36.0
3	化合物 3	11.8 ± 8.8	3.3 ± 0.9	2.3 ± 1.9
4	化合物 4	13.5 ± 2.1	2.4 ± 0.8	0.7 ± 0.1
5	化合物 5	16.5 ± 2.1	2.3 ± 1.1	1.7 ± 1.1
6	化合物 6	59.5	40.6 ± 16.4	43.1 ± 27.9
7	化合物 7	18.0	2.8 ± 0.4	2.5 ± 1.5
8	化合物 8	> 30	> 30	> 30
9	化合物 9	33.5	27.0 ± 8.5	26.6 ± 6.5
10	化合物 10	32.1	19.4 ± 8.8	9.5 ± 4.1

11	化合物 11	5.7	4.2 ± 1.3	2.7 ± 0.5
12	化合物 12	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.1	20.8 ± 6.1

表5: 本發明之化合物對imatinib抗性細胞株的細胞毒素抑制活性

編號	細胞株	細胞毒素抑制活性 (IC ₅₀) μ M							
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	Ba/F3 Bcr-Abl/ E255K	> 100	15.0	6.7	2.9	5.1	2.4	1.5	8.7
2	Ba/F3 Bcr-Abl/ E255V	> 100	18.9	10.2	3.4	9.9	2.1	0.8	8.4
3	Ba/F3 Bcr-Abl/ F317L	> 100	23.5	12.3	1.6	11.3	1.2	1.1	2.0
4	Ba/F3 Bcr-Abl/ F359V	> 100	18.4	13.4	2.5	14.6	2.6	2.4	2.1
5	Ba/F3 Bcr-Abl/ H396R	> 100	26.2	16.6	5.6	10.8	3.7	2.8	4.3
6	Ba/F3 Bcr-Abl/ H396P	> 100	18.8	8.6	1.1	7.0	1.0	1.4	2.1
7	Ba/F3 Bcr-Abl/ M244V	> 100	30.1	15.2	3.0	9.8	1.3	1.0	1.8
8	Ba/F3 Bcr-Abl/ M351T	> 100	16.1	8.7	2.2	5.1	2.2	2.1	2.1
9	Ba/F3 Bcr-Abl/ Q252H	> 100	15.4	8.4	1.7	5.9	1.5	1.1	2.0
10	Ba/F3 Bcr-Abl/Y253F	> 100	17.0	6.4	1.7	5.2	1.1	1.0	3.9
11	Ba/F3 Bcr-Abl/Y253H	> 100	14.5	13.2	3.3	13.3	2.5	1.0	9.2
12	Ba/F3 Bcr-Abl/T3151	> 100	6.3	1.1	0.6	2.0	3.1	2.1	27.0

I—化合物1, II—化合物2, III—化合物3, IV—化合物5,
V—化合物6, VI—化合物10, VII—化合物19, VIII—Imatinib

mesylate。

結論：其結果證明了本發明的化合物存在有對Bcr-Abl變異之imatinib抗性細胞株的顯著抑制活性。

實例22

Bcr-Abl激酶 (kinase) 試驗

目的

為了研究Bcr-Abl的自磷酸化 (autophosphorylation) 抑制性，而其實行則是利用從K-562的細胞溶解產物中免疫沈澱 (immunoprecipitation) 出p210^{bcr-abl}酪胺酸激酶 (tyrosine kinase)，以進行激酶酵素試驗。然後，反應混合物會跑SDS-PAGE，並進行自動放射顯影照相。

介紹

免疫沈澱 (Immunoprecipitation) 是利用特殊之抗體而自粗細胞溶解產物中純化出特殊蛋白質的技術，在此，主要的抗體不是已經結合至瓊膠 (agarose) 的形式，就是可以在程序期間結合至蛋白-A-瓊脂糖凝膠粒 (protein-A-sepharose beads) 的形式，因而從剩下的樣品中物理地分離出抗體-抗原複合體。

方法：

為了檢查本發明之化合物對於自磷酸化p210^{bcr-abl}酪胺酸激酶的抑制性，係使用表現為野生型之Bcr-abl的K-562細胞株。2 x 10⁶的K-562細胞被施以濃度為IC₅₀以及3倍IC₅₀的化合物（以實例20中所描述之關於K-562的抗增殖活性資料為依據），並在濕潤的5% CO₂培養箱中培養24小時。細胞

係用PBS溶液洗滌，並利用分解緩衝液（CellLytic M Cell Lysis reagent, Sigma Aldrich, USA）在冷環境下分解2-3小時，再者，為了能夠從所有的樣品中得到相同的免疫沈澱量，蛋白質可以藉由Bradford方法（Bradford reagent, Sigma Aldrich, USA）進行評估。p210^{bcr-abl}蛋白是利用多株抗-c-abl抗體（Santa Cruz Biotechnologies, USA）而進行免疫沈澱，接著，在蛋白A-Sepharose存在下於4 °C培養整夜，分離出免疫複合物，並以NET-N緩衝液（20 mM Tri-HCl pH 7.5，100 mM NaCl，1mM EDTA，以及0.5% NP40）沖洗三次，接著，將其重新懸浮於激酶緩衝溶液（50 mM HEPES pH 7.5，1 mM DTT，2.5 EGTA，10 mM β -glycerophosphate，1 mM NaF，以及10 mM MgCl₂）之中。

激酶反應的執行是利用0.5 μ Ci (γ ³²P) -三磷酸腺苷（adenosine triphosphate）（每個反應），接著，在室溫（25 °C）培養30分鐘。藉由添加SDS樣品緩衝液而停止激酶反應，而在95 °C加熱5分鐘之後，自磷酸化反應產物就會重新溶解於SDS-PAGE之中，而可為自動放射顯影照相所偵測。

結果：經由SDS-PAGE以及自動放射顯影照相的顯示，Bcr-abl自動磷酸化的免疫沈澱會逐漸減少，正如不斷減少的帶密度所示，化合物2被判定是一具有影響力的Bcr-abl酪氨酸激酶抑制劑。

實例23

藉由流式細胞技術（Flow cytometry）評估本發明化合物對Bcr-abl變異imatinib抗性細胞株之細胞循環以及細胞凋

亡的影響

用於流式細胞技術的細胞以 10×10^4 cells/mL的密度進行接種，並與測試化合物/imatinib ($5 \mu\text{M}$) 一起於5% CO_2 培養箱中，以 37°C 培養24小時。培養完後，1000 rpm離心10分鐘，以獲得細胞，利用PBS (phosphate buffered saline, 磷酸緩衝液) 洗滌二次，洗滌後之細胞粒逐漸重新懸浮於冰的70%乙醇之中，以有利於染劑的滲透，在利用PI(propidium iodide, 碘化丙錠) 染色之前，細胞懸浮液最少要先存放4小時。已固定的細胞在RNase A ($50 \mu\text{g/mL}$) 存在下，利用PI ($80 \mu\text{g/mL}$) 進行染色，然後，利用BD FACS caliber (流式細胞儀) 讀取數值，以進行細胞循環分析。此研究的結果顯示於第4圖之中。

結論：藉由本發明的化合物在imatinib抗性細胞株中所誘發的細胞凋亡是很顯著的。

實例24

本發明之化合物在體內對imatinib抗性以及imatinib敏感腫瘤模型的影響測試是藉由細胞株，例如，Ba/F3轉染(transfectants)表現全長(full-length)野生型Bcr-Abl(Ba/F3 Bcr-Abl/WT)、或是變種Bcr-Abl (Ba/F3 Bcr-Abl/T3151)，而進行研究。

目的

測試咖啡酸衍生物在體內對imatinib抗性以及imatinib敏感腫瘤模型的影響

細胞株

在此研究中使用細胞株Ba/F3轉染 (transfectants) 表現全長 (full-length) 野生型Bcr-Abl (Ba/F3 Bcr-Abl/WT)、或是變種Bcr-Abl (Ba/F3 Bcr-Abl/T3151) 這些重組細胞株乃是授權自 Dr. Brian Druker's laboratory, Howard Hughes Medical Institute, Oregon Health and Science University (OHSU), Cancer Institute, Portland, Oregon, USA (Cancer Research, 2003, 62, 7149-7153)。

化合物儲存

所有的化合物，包括標準品，皆置於一琥珀色瓶中，並儲存於4 -8°C。在溶液中的化合物也是於冰箱中維持在4 - 8 °C。動物注射樣品則是每日新鮮製作，剩餘的量會依照化學棄置的標準操作程序 (SOP) 而進行收集及丟棄。

劑量準備

所需的化合物進行秤重，並與0.5 % (w/v) CMC (carboxymethylcellulose，羧甲基纖維) 相混合，然後，在逐漸加水的情形下，利用Tween-20 (*secundum artum*) 磨成粉末，以形成最終的濃度。

在SCID老鼠中的效果

使用一群110隻具嚴重聯合免疫缺陷 (Severely Combined Immune-Deficient) (SCID strain-CBySmn.Cb17-Prkdcscid/J, The Jackson Laboratory, Stock # 001803)、6 - 9週，重約20 g的老鼠。

Ba/F3 Bcr-Abl/WT細胞株以及Ba/F3 Bcr-Abl/T3151細胞株生長於包含10% (fetal calf serum) 之RPMI1640培養

基，並於5% CO₂培養箱中，以37 °C進行培養。1000 rpm離心10分鐘取得細胞粒，重新懸浮於鹽水之中，以形成每mL具有80 – 100 x 10⁶個細胞，然後，利用皮下（subcutaneous，s.c.）注射的方式，將0.2 mL的此細胞懸浮液注射入SCID老鼠之中。隔天觀察老鼠的可觸摸腫瘤塊，一旦腫瘤直徑尺寸到達5 – 7 mm，動物就隨機地分為個別的治療群組。控制組、或是測試化合物的藥劑會每天提供，每2-5天記錄腫瘤的尺寸，腫瘤的重量則是根據細長橢球的方程式（長度（mm）x [寬度（mm）]² x 0.5）而進行評估，其中，假設比重為1，以及 π 為3。接受化合物治療之動物體內的腫瘤生長則是被計算為 T/C (Treated /Control) x 100%，以及生長抑制率 (GI%) 為 [100 – T/C %]。分別的治療群組顯示於表6之中。

結果則是以圖例的方式顯示於第5A圖以及第5B圖之中。

表6：異種皮移植（xenograft）模型（SET I以及SET II）中的治療族群

（SET I）選定：Ba/F3 Bcr-Abl/T3151

群組	樣品	劑量	路徑	治療數量	n =
I	控制組 (未受試)	溶劑	p.o.	q1d x 12	8
II	化合物2	200 mg/kg	p.o.	q1d x 12	8
III	化合物3	200 mg/kg	p.o.	q1d x 12	8

IV	化合物5	200 mg/kg	p.o.	q1d x 12	8
V	化合物6	200 mg/kg	p.o.	q1d x 12	8
VI	化合物10	200 mg/kg	p.o.	q1d x 12	7
VII	Imatinib Mesylate	200 mg/kg	p.o.	q1d x 12	7

p.o. = 經口服 (per oral) ; n = 動物數量

q1d x 12 = 單獨實行12天

(SET II) 選定 : Ba/F3 Bcr-Abl/WT

群組	樣品	劑量	路徑	治療數量	n =
I	控制組 (未受 試)	溶劑	p.o.	q1d x 14	8
II	化合物2	200 mg/kg	p.o.	q1d x 14	8
III	化合物3	200 mg/kg	p.o.	q1d x 14	8
IV	化合物5	200 mg/kg	p.o.	q1d x 14	8
V	化合物6	200 mg/kg	p.o.	q1d x 14	8
VI	化合物10	200 mg/kg	p.o.	q1d x 14	8
VII	Imatinib Mesylate	200 mg/kg	p.o.	q1d x 14	7

p.o. = 經口服 (per oral) ; n = 動物數量

q1d x 14 = 單獨實行14天

結論：在第 5A 圖以及第 5B 圖中所呈現的資料證實，
比起 imatinib mesylate，當以與表現異種皮移植 (xenograft)
之野生型 Bcr-Abl，亦即，Ba/F3 Bcr-Abl/WT，相同之劑量

進行測試時，在抑制最具支配性之變種形式 Bcr-Abl，亦即，Ba/F3 Bcr-Abl/T3151，方面，本發明的化合物展現了顯著較佳的體內效果。

應該要注意的是，正如在此說明書以及所附申請專利範圍中所使用的，單一形式“一個 (a, an)”以及“該個 (the)”包括複數個所指的對象，除非有特別聲明，因此，舉例而言，一包含“一化合物”的組成是包括了二、或多個化合物的混合。亦應該要注意地是，該詞“或”一般被使用於句子中時，除非有特別地聲明，其是用於包括“及/或”。

在此說明書中的所有出版品以及專利申請案被視為相關於本發明的習知技術。

雖然本發明已以各式特殊及較佳實施例及技術做為參考而進行敘述，但應該要瞭解地是，在不脫離本發明之精神及範疇的情形下，仍可有許多的變化以及修飾。

【圖式簡單說明】

第1圖：其係顯示本發明之組成物在imatinib敏感(Ba/F3 Bcr-Abl/WT) 以及imatinib抗性 (Ba/F3 Bcr-Abl/T3151) 細胞株中的抗增殖活性；

第2圖：其係顯示本發明之組成物在具imatinib抗性且低突變率之細胞株 (Ba/F3 Bcr-Abl/E255K , Ba/F3 Bcr-Abl/H396P , Ba/F3 Bcr-Abl/E255V , Ba/F3 Bcr-Abl/M244V, 以及Ba/F3 Bcr-Abl/Q252H) 中 (正如於臨床中所見者) 的抗增殖活性，其係表示為以 μM 為單位的平均 IC_{50} 數值；

第3圖：其係顯示本發明之組成物在具imatinib抗性且高突變率之細胞株 (Ba/F3 Bcr-Abl/T3151 , Ba/F3 Bcr-Abl/M351T , Ba/F3 Bcr-Abl/F359V , Ba/F3 Bcr-Abl/F317L , Ba/F3 Bcr-Abl/H396R , Ba/F3 Bcr-Abl/Y253F, 以及Ba/F3 Bcr-Abl/Y253H) 中 (正如於臨床中所見者) 的抗增殖活性，其係表示為以 μM 為單位的平均 IC_{50} 數值；

第4圖：其係顯示在藉由本發明之化合物 (5 μM) 在 imatinib敏感 以及 imatinib抗性細胞株中誘發細胞凋亡 (apoptosis) 48小時之後的情形；

第5A圖：其係顯示本發明之化合物在imatinib抗性 (Ba/F3 Bcr-Abl/T3151) 異種皮移植 (xenograft) 模型中之 SCID 老鼠體內的功效表現；以及

第 5B 圖：其係顯示本發明之化合物在 imatinib 敏感

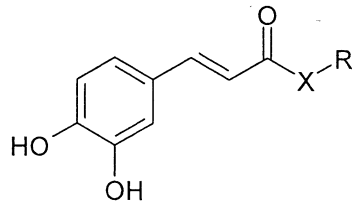
(Ba/F3 Bcr-Abl/WT) 異種皮移植 (xenograft) 模型中之
SCID 老鼠體內的功效表現。

【主要元件符號說明】

無

五、中文發明摘要：

本發明相關於將咖啡酸、或其如下列分子式(1)所示之衍生物使用在治療對 Gleevec 之治療具抗性之慢性骨髓性白血病之中，



分子式(1)

其中，

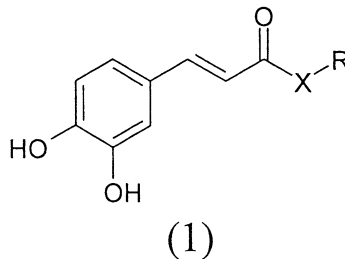
X 表示氧(O)、NH、或雜環基；以及

R 可以存在、或是不存在，若存在的話，代表氫，烷基，芳基，或雜環基；

可以是其所有立體異構物以及互變異構物形式，以及其所有比例的混合物，其藥理上可接受之鹽類，其藥理上可接受之溶劑，其藥理上可接受之同質異像體(polymorph)，或是其前驅藥。本發明亦相關於一種降低對 Gleevec 具抗性之細胞的增殖的方法，其透過將該等細胞接觸一如分子式(1)所示之化合物而達成。本發明亦相關於包括咖啡酸、或其如分子式(1)所示之衍生物、或鹽類的藥物組成，以用於治療對 Gleevec 之治療具抗性之慢性骨髓性白血病，或是用於降低對 Gleevec 具抗性之細胞的增殖。本發明更相關於一種治療對 Gleevec 之治療具抗性之慢性骨髓性白血病的方法。

六、英文發明摘要：

The present invention relates to the use of caffeic acid or a derivative thereof represented by the following general formula (1)



wherein

X is O, NH, or heterocyclyl;

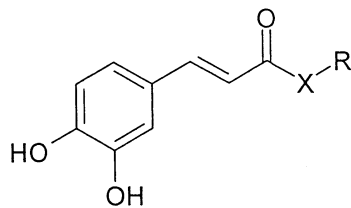
R may be present or absent and if present, is H, alkyl, aryl, or heterocyclyl;

in all its stereoisomeric and tautomeric forms, and mixtures thereof in all ratios, and a pharmaceutically acceptable salt, pharmaceutically acceptable solvate, pharmaceutically acceptable polymorph or a prodrug, in the treatment of chronic myeloid leukemia (CML) which is resistant to treatment with Gleevec. The invention also relates to a method for reducing the proliferation of cells that are resistant to Gleevec by contacting the cells with a compound of general formula (1). The present invention also relates to pharmaceutical compositions (for the manufacture of the medicament) including caffeic acid or a derivative or a salt thereof represented by the general formula (1) for the treatment of chronic myeloid leukemia (CML) that is resistant to

treatment with Gleevec, or for reducing the proliferation of cells that are resistant to Gleevec. The present invention further relates to a method of treatment of chronic myeloid leukemia (CML) that is resistant to treatment with Gleevec.

十、申請專利範圍：

1. 一種用於治療對基力克 (Gleevec) 之治療具抗性之慢性骨髓性白血病的方法，包括對一有需要之哺乳動物提供一有效治療量之一咖啡酸、或其如分子式 (1) 之一衍生物，



分子式 (1)

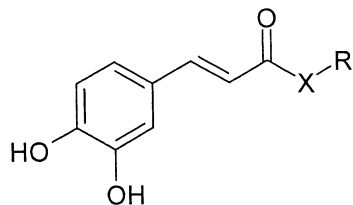
其中，

X 表示氧 (O)、NH、或雜環基；以及

R 為氫 (H)，烷基，芳基，雜環基，或不存在；

可以是其所有立體異構物以及互變異構物的形式，以及其所有比例的混合物，其藥理上可接受之鹽類，其藥理上可接受之溶劑，其藥理上可接受之同質異像體 (polymorph)，或是其前驅藥。

2. 一種用於降低對基力克 (Gleevec) 之治療具抗性之細胞的增殖的方法，包括對一有需要之哺乳動物提供一有效治療量之一咖啡酸、或其如分子式 (1) 之一衍生物，



分子式 (1)

其中，

X 表示氧 (O)、NH、或雜環基；以及

R 為氫 (H)，烷基，芳基，雜環基，或不存在；

可以是其所有立體異構物以及互變異構物的形式，以及其所有比例的混合物，其藥理上可接受之鹽類，其藥理上可接受之溶劑，其藥理上可接受之同質異像體 (polymorph)，或是其前驅藥。

3. 如申請專利範圍第 1 或第 2 項所述之方法，其中，該咖啡酸、或其衍生物是：

3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸 (咖啡酸)，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸甲基酯，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸乙酯，(E)-3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸-2-硝基-乙酯，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸正丙酯，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸異丙酯 (3-(3, 4-Dihydroxy-phenyl)-acrylic acid i-propyl ester)，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸丁酯，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基) -1- 哌啶-1-基-丙烯酮，3-(3, 4-二羥基苯基) - 1 -(4-乙基-哌嗪-1-基) - 丙烯酮，1 -(4-甲苯基-哌嗪-1-基) -3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酮，(E)-3-{4-[3-(3, 4-二羥基苯基)- 丙烯醯基]- 哌嗪-1-基} 丙腈，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基)-1-[4-(1-甲基-哌啶-4-基) 哌嗪-1-基] -丙烯酮，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基)-1-(4-苯基哌嗪-1-基) -丙烯酮，(E)-1-(4-乙醯-哌嗪-1-基)- 3-(3, 4-二羥基苯基) -丙烯酮，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基) -1-(4-苯乙基-哌嗪-1-基) -丙烯酮，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基) -1-嗎啉-4-基-丙烯酮，3-(3, 4-二羥基苯基)-N-(3-二甲基氨基-丙基)- 丙烯醯胺，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基) -N-異

丙基-丙烯醯胺，或 1-(4-甲基苯基-哌啶-1-基)-3-(3,4-二羥基苯基)-丙烯酮。

4. 如申請專利範圍第 1 或第 2 項所述之方法，其中，咖啡酸的衍生物是：

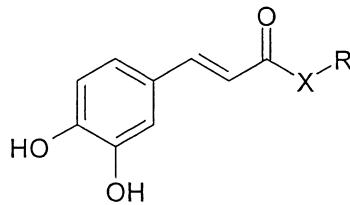
3-(3,4-二羥基苯基)-丙烯酸甲基酯，3-(3,4-二羥基苯基)-丙烯酸乙酯，3-(3,4-二羥基苯基)-丙烯酸正丙酯，3-(3,4-二羥基苯基)-丙烯酸異丙酯，1-(4-甲基苯基-哌嗪-1-基)-3-(3,4-二羥基苯基)-丙烯酮，(E)-3-(3,4-二羥基苯基)-N-異丙基-丙烯醯胺，或 1-(4-甲基苯基-哌啶-1-基)-3-(3,4-二羥基苯基)-丙烯酮。

5. 如申請專利範圍第 1 或第 2 項所述之方法，其中，該咖啡酸、或其如分子式 (1) 的衍生物是合成、或源自一自然資源。

6. 如申請專利範圍第 1 或第 2 項所述之方法，其中，該對基力克 (Gleevec) 之抗性是由 Bcr-Abl 變異所造成。

7. 如申請專利範圍第 2 項所述之方法，其中，該細胞包括：K-562-R，32Dcl^{Bcr-Abl T3151}，Ba/F3 Bcr-Abl/T3151，Ba/F3 Bcr-Abl/E255K，Ba/F3 Bcr-Abl/H396P，Ba/F3 Bcr-Abl/M351T，Ba/F3 Bcr-Abl/F359V，Ba/F3 Bcr-Abl/E255V，Ba/F3 Bcr-Abl/F317L，Ba/F3 Bcr-Abl/H396R，Ba/F3 Bcr-Abl/M244V，Ba/F3 Bcr-Abl/Q252H，Ba/F3 Bcr-Abl/Y253F，或 Ba/F3 Bcr-Abl/Y253H 細胞株。

8. 一種包含一有效治療量之咖啡酸、或其如分子式(1)之衍生物的藥物組成，



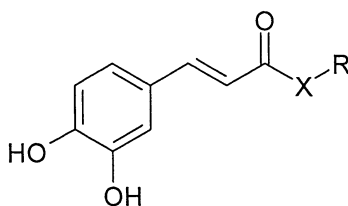
分子式(1)

其中，

X表示氧(O)、NH、或雜環基(heterocyclyl)；以及
R為氫(H)，烷基，芳基，雜環基，或不存在；

可以是其所有立體異構物以及互變異構物的形式，以及其所有比例的混合物，其於藥理上可接受之鹽類，其於藥理上可接受之溶劑，其於藥理上可接受之同質異像體(polymorph)，或是其前驅藥；以及
以單獨、或與至少一藥理可接受賦形劑一起作為治療對基力克(Gleevec)之治療具抗性之慢性骨髓性白血病的一活性成分。

9. 一種治療對基力克(Gleevec)的治療具抗性之慢性骨髓性白血病的方法，包括對一有需要之哺乳動物提供申請專利範圍第8項之該藥物組成的一有效治療量。
10. 一種咖啡酸、或其如分子式(1)之衍生物的用途，



分子式(1)

其中，

X表示氧(O)、NH、或雜環基(heterocyclyl)；以及

R為氫(H)，烷基，芳基，雜環基，或不存在；

可以是其所有立體異構物以及互變異構物的形式，以及其所有比例的混合物，其藥理上可接受之鹽類，其藥理上可接受之溶劑，其於藥理上可接受之同質異像體(polymorph)，或是其前驅藥；以及

用於製造一種治療對基力克(Gleevec)之治療具抗性之慢性骨髓性白血病的藥品。

11. 如申請專利範圍第 8 項所述之藥物組成，更包括另一抗癌劑。

12. 如申請專利範圍第 10 項所述之用途，其中，該咖啡酸、或其衍生物是：

3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸(咖啡酸)，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸甲基酯，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸乙酯，(E)-3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸-2-硝基-乙酯，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸正丙酯，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸異丙酯，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸丁酯，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基) - 1- 哌啶-1-基-丙烯酮，3-(3, 4-二羥基苯基) - 1 -(4-乙基-哌嗪-1-基) - 丙烯酮，1 -(4-甲基-哌嗪-1-基) - 3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酮，(E)-3-{4-[3-(3, 4-二羥基苯基)- 丙烯醯基]- 哌嗪-1-基} 丙腈，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基)-1-[4-(1-甲基-哌啶-4-基) 哌嗪-1-基] - 丙烯酮，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基)-1-(4-苯基

哌嗪-1-基) -丙烯酮 (E)-1-(4-乙醯-哌嗪-1-基)- 3-(3, 4-二羥基苯基) -丙烯酮, (E)- 3-(3, 4-二羥基苯基) -1-(4-苯乙基-哌嗪-1-基) -丙烯酮, (E)- 3-(3, 4-二羥基苯基) -1-嗎啉-4-基-丙烯酮, 3-(3, 4-二羥基苯基)-N-(3-二甲基氨基-丙基)- 丙烯醯胺, (E)- 3-(3, 4-二羥基苯基) -N-異丙基-丙烯醯胺, 或 1-(4-甲苯基-哌啶-1-基)-3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酮。

13. 如申請專利範圍第 10 項所述之用途, 其中, 咖啡酸的衍生物是:

3-(3, 4-二羥基苯基)- 丙烯酸甲基酯, 3-(3, 4-二羥基苯基)- 丙烯酸乙酯, 3-(3, 4-二羥基苯基)- 丙烯酸正丙酯, 3-(3, 4-二羥基苯基)- 丙烯酸異丙酯, 1-(4-甲苯基-哌嗪-1-基)-3-(3, 4-二羥基苯基) -丙烯酮, (E)- 3-(3, 4-二羥基苯基)-N-異丙基-丙烯醯胺, 或 1-(4-甲苯基-哌啶-1-基)-3-(3, 4-二羥基苯基) -丙烯酮。

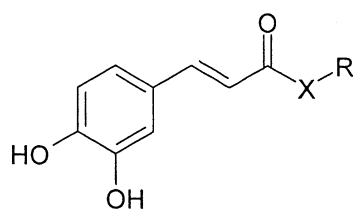
14. 如申請專利範圍第 10 項所述之用途, 其中, 該咖啡酸、或其如分子式 (1) 的衍生物是合成、或源自一自然資源。

15. 如申請專利範圍第 10 項所述之用途, 其中, 該對基力克 (Gleevec) 之抗性是由 Bcr-Abl 變異所造成。

16. 如申請專利範圍第 10 項所述之用途, 其中, 該抗性的產生是源自於發生變異的: K-562-R, 32Dcl^{Bcr-Abl T3151}, Ba/F3 Bcr-Abl/T3151, Ba/F3 Bcr-Abl/E255K, Ba/F3 Bcr-Abl/H396P, Ba/F3 Bcr-Abl/M351T, Ba/F3

Bcr-Abl/F359V , Ba/F3 Bcr-Abl/E255V , Ba/F3
 Bcr-Abl/F317L , Ba/F3 Bcr-Abl/H396R , Ba/F3
 Bcr-Abl/M244V , Ba/F3 Bcr-Abl/Q252H , Ba/F3
 Bcr-Abl/Y253F , 或 Ba/F3 Bcr-Abl/Y253H 細胞株。

17. 如申請專利範圍第 1 項所述之方法，其中，該抗性的產生是源自於發生變異的：K-562-R，32Dcl^{Bcr-Abl T3151}，Ba/F3 Bcr-Abl/T3151，Ba/F3 Bcr-Abl/E255K，Ba/F3 Bcr-Abl/H396P，Ba/F3 Bcr-Abl/M351T，Ba/F3 Bcr-Abl/F359V，Ba/F3 Bcr-Abl/E255V，Ba/F3 Bcr-Abl/F317L，Ba/F3 Bcr-Abl/H396R，Ba/F3 Bcr-Abl/M244V，Ba/F3 Bcr-Abl/Q252H，Ba/F3 Bcr-Abl/Y253F，或 Ba/F3 Bcr-Abl/Y253H 細胞株。
18. 一種用於降低對基力克 (Gleevec) 之治療具抗性之細胞的增殖的方法，包括將該細胞接觸一有效治療量之一咖啡酸、或其如分子式 (1) 之一衍生物，



分子式 (1)

其中，

X表示氧 (O)、NH、或雜環基；以及

R為氫 (H)，烷基，芳基，雜環基，或不存在；

可以是其所有立體異構物以及互變異構物的形式，以及其所有比例的混合物，其藥理上可接受之鹽類，其

藥理上可接受之溶劑，其藥理上可接受之同質異像體 (polymorph)，或是其前驅藥。

19. 如申請專利範圍第 18 項所述之方法，其中，該咖啡酸、或其衍生物是：

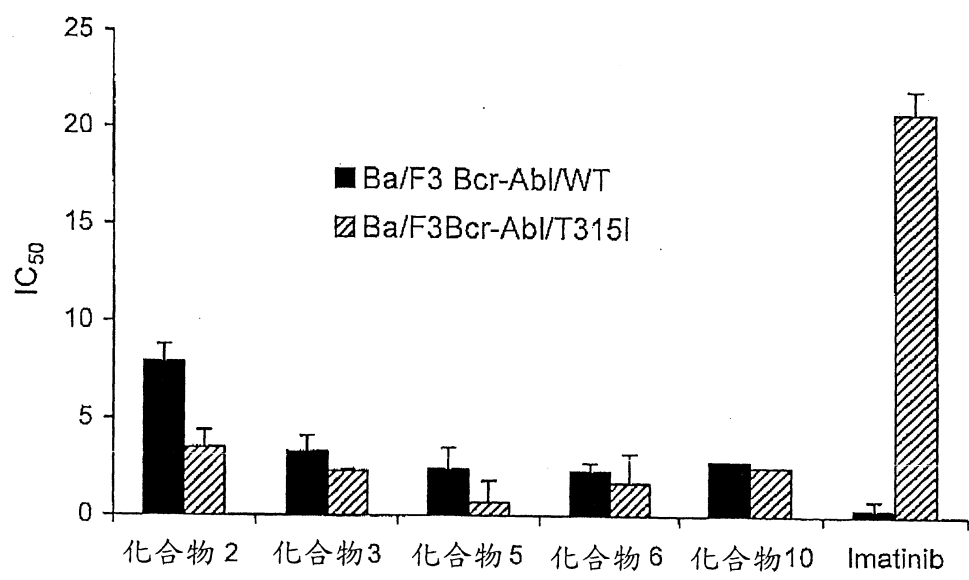
3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸 (咖啡酸)，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸甲基酯，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸乙酯，(E)-3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸-2-硝基-乙酯，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸正丙酯，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸異丙酯，3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酸丁酯，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基) -1- 哌啶-1-基-丙烯酮，3-(3, 4-二羥基苯基) - 1 -(4-乙基-哌嗪-1-基) - 丙烯酮，1 -(4-甲苯基-哌嗪-1-基) -3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酮，(E)-3-{4-[3-(3, 4-二羥基苯基)- 丙烯醯基]- 哌嗪-1-基} 丙腈，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基)-1-[4-(1-甲基-哌啶-4-基) 哌嗪-1-基] -丙烯酮，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基)-1-(4-苯基 哌嗪-1-基) -丙烯酮，(E)-1-(4-乙醯-哌嗪-1-基)- 3-(3, 4-二羥基苯基) -丙烯酮，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基) -1-(4-苯乙基-哌嗪-1-基) -丙烯酮，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基) -1-嗎啉-4--基-丙烯酮，3-(3, 4-二羥基苯基)-N-(3-二甲基氨基-丙基)- 丙烯醯胺，(E)- 3-(3, 4-二羥基苯基) -N-異丙基-丙烯醯胺，或 1 -(4-甲苯基-哌啶-1-基) -3-(3, 4-二羥基苯基) - 丙烯酮。

20. 如申請專利範圍第 18 項所述之方法，其中，咖啡酸的衍生物是：

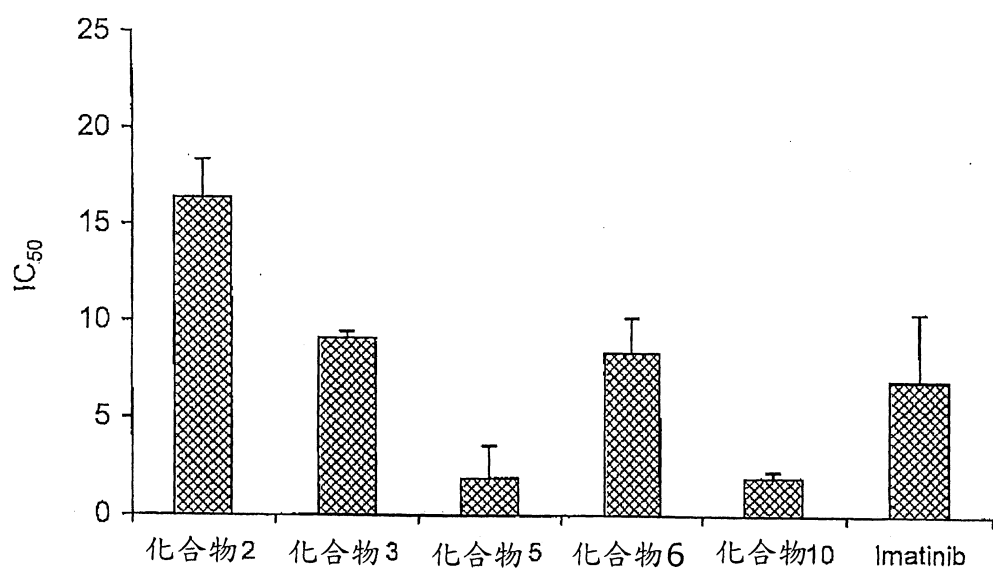
3-(3, 4-二羥基苯基)- 丙烯酸甲基酯，3-(3, 4-二羥基苯基)- 丙烯酸乙酯，3-(3, 4-二羥基苯基)- 丙烯酸正丙酯，3-(3, 4-二羥基苯基)- 丙烯酸異丙酯，1-(4-甲苯基-哌嗪-1-基)-3-(3, 4-二羥基苯基)-丙烯酸，(E)-3-(3, 4-二羥基苯基)-N-異丙基-丙烯醯胺，或 1-(4-甲苯基-哌啶-1-基)-3-(3, 4-二羥基苯基)-丙烯酸。

21. 如申請專利範圍第 18 項所述之方法，其中，該咖啡酸、或其如分子式 (1) 的衍生物是合成、或源自一自然資源。
22. 如申請專利範圍第 18 項所述之方法，其中，該對基力克 (Gleevec) 之抗性是由 Bcr-Abl 變異所造成。
23. 如申請專利範圍第 18 項所述之方法，其中，該抗性的產生是源自於發生變異的：K-562-R，32Dcl^{Bcr-Abl T3151}，Ba/F3 Bcr-Abl/T3151，Ba/F3 Bcr-Abl/E255K，Ba/F3 Bcr-Abl/H396P，Ba/F3 Bcr-Abl/M351T，Ba/F3 Bcr-Abl/F359V，Ba/F3 Bcr-Abl/E255V，Ba/F3 Bcr-Abl/F317L，Ba/F3 Bcr-Abl/H396R，Ba/F3 Bcr-Abl/M244V，Ba/F3 Bcr-Abl/Q252H，Ba/F3 Bcr-Abl/Y253F，或 Ba/F3 Bcr-Abl/Y253H 細胞株。

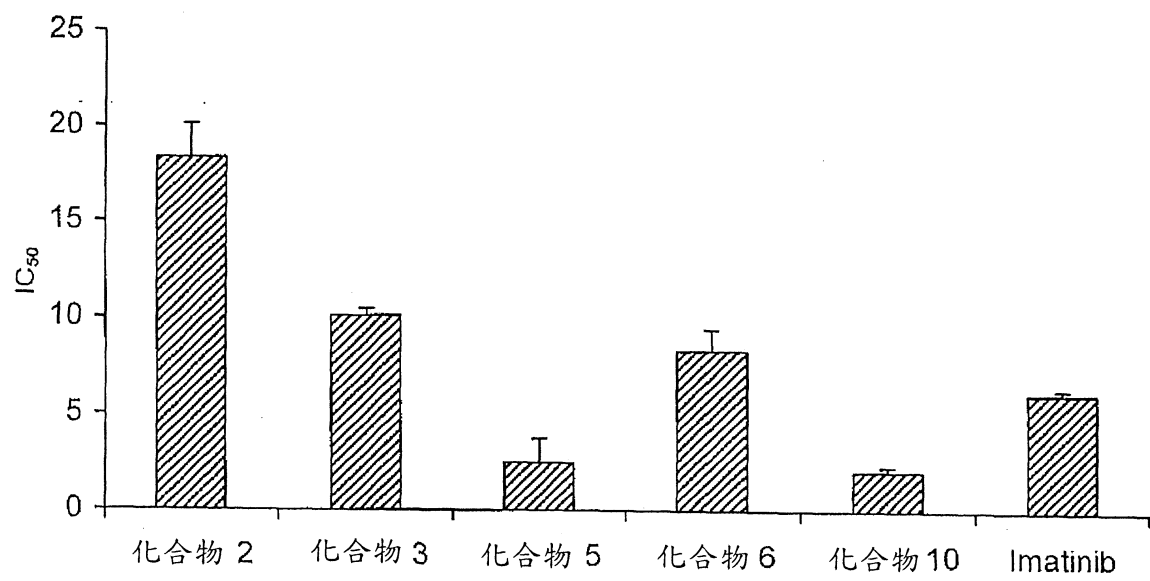
十一、圖式：



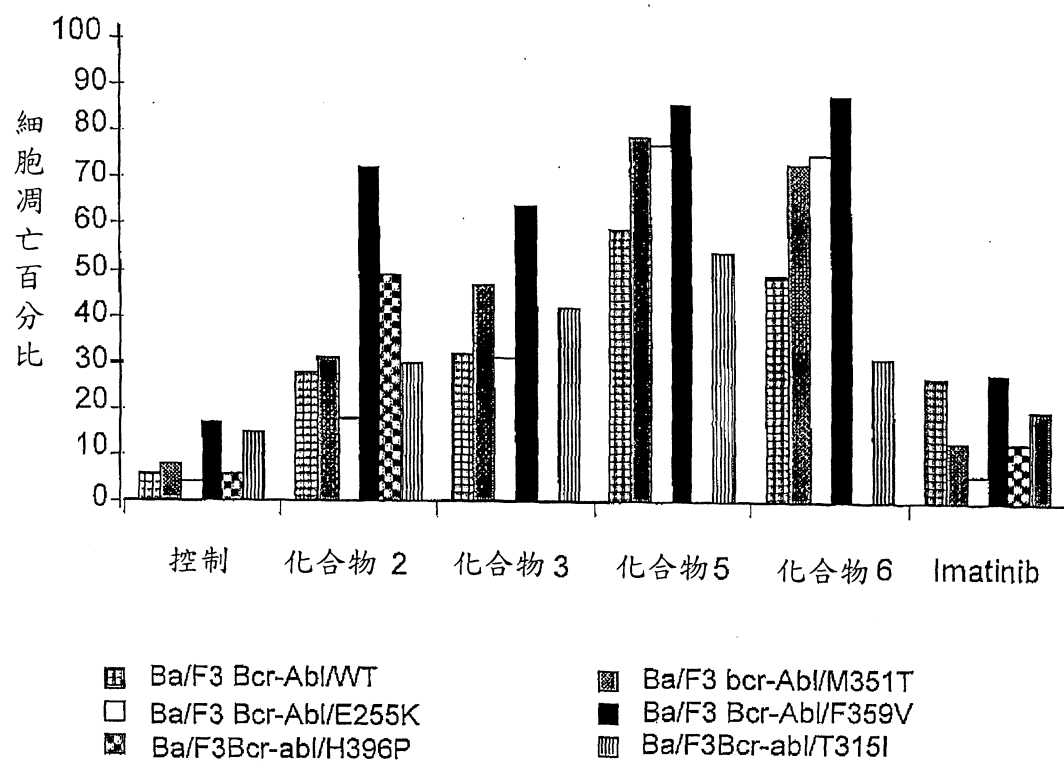
第 1 圖



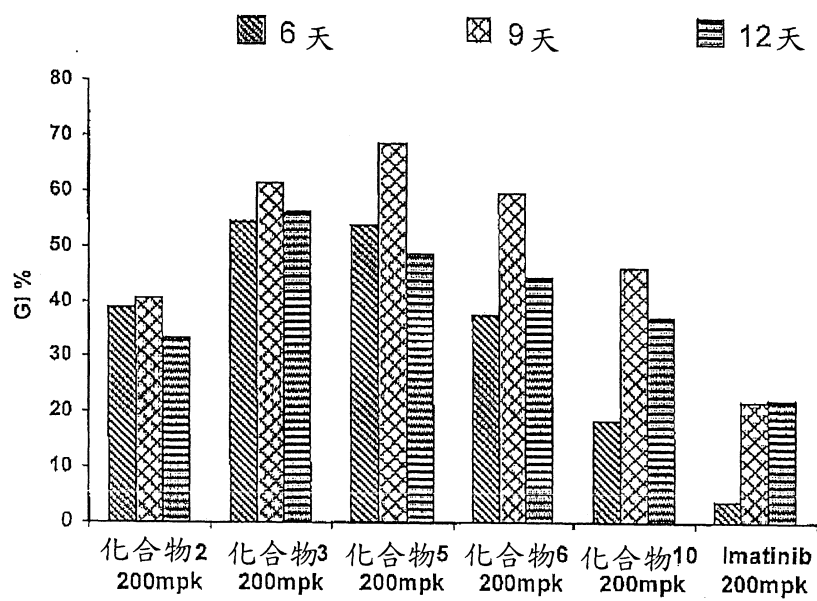
第 2 圖



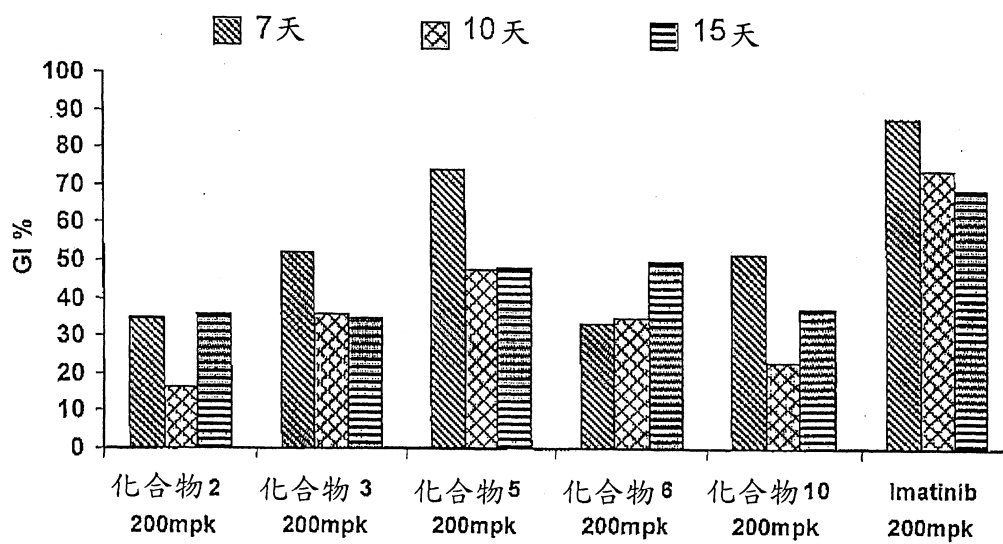
第 3 圖



第 4 圖



第5A 圖



第5B 圖

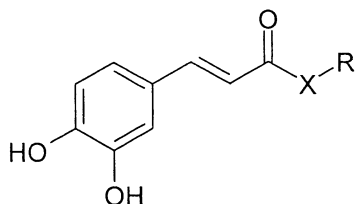
七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 () 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



分子式(1)