



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119192065 A

(43) 申请公布日 2024.12.27

(21) 申请号 202411327076.5

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2016.01.29

*C07D 213/61* (2006.01)

(30) 优先权数据

*C07D 215/14* (2006.01)

2015900287 2015.01.30 AU

*C07D 239/26* (2006.01)

2015903380 2015.08.20 AU

*C07D 239/34* (2006.01)

(62) 分案原申请数据

*C07D 213/56* (2006.01)

201680008137.9 2016.01.29

*C07C 233/29* (2006.01)

(71) 申请人 悉尼大学

*C07C 233/11* (2006.01)

地址 澳大利亚新南威尔士州

*C07C 237/20* (2006.01)

(72) 发明人 L·穆诺茨 F·M·S·戈吉斯

*A61K 31/495* (2006.01)

M·艾克菲尔特 M·卡修

*A61K 31/4418* (2006.01)

*A61K 31/167* (2006.01)

*A61P 35/00* (2006.01)

(74) 专利代理机构 上海一平知识产权代理有限

公司 31266

专利代理师 高一平 徐迅

权利要求书2页 说明书27页 附图15页

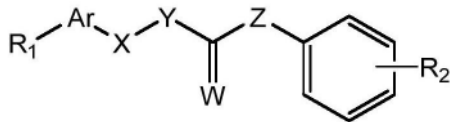
(54) 发明名称

抗癌化合物

(57) 摘要

本发明涉及新的药剂以及它们在增生性疾病(如癌症(特别是脑癌))的治疗中的用途。

1. 一种式 (I) 化合物、



(I)

或其药学上可接受的盐或前药,其中:

X是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基;

Y是CH<sub>2</sub>、NH、N-烷基、N-烯基、S或O;

W是O、S或NH;

Z是CH<sub>2</sub>、NH、N-烷基、N-烯基、S或O;

R<sub>1</sub>是卤素、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基,其中环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选地被取代;

Ar是芳基或杂芳基;

R<sub>2</sub>是H、OH、NH<sub>2</sub>或NO<sub>2</sub>。

2. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,X是C<sub>2</sub>烷基或C<sub>2</sub>烯基。

3. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于,Y是CH<sub>2</sub>。

4. 如前述权利要求任一所述的化合物,其特征在于,Z是NH。

5. 如权利要求1-3任一所述的化合物,其特征在于,Z是O。

6. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于,Y是NH。

7. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于,Y是O。

8. 如权利要求1、2、6或7所述的化合物,其特征在于,Z是CH<sub>2</sub>。

9. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于,Y和Z均是NH。

10. 如前述权利要求任一所述的化合物,其特征在于,W是O。

11. 如前述权利要求任一所述的化合物,其特征在于,R<sub>1</sub>是卤素。

12. 如权利要求11所述的化合物,其特征在于,所述卤素是Br。

13. 如权利要求1-10任一所述的化合物,其特征在于,R<sub>1</sub>是芳基。

14. 如权利要求13所述的化合物,其特征在于,所述芳基是单环或双环。

15. 如权利要求13或14所述的化合物,其特征在于,所述芳基是苯基或萘基。

16. 如权利要求13-15任一所述的化合物,其特征在于,所述芳基是取代的。

17. 如权利要求16所述的化合物,其特征在于,所述取代基选自卤素和杂烷基。

18. 如权利要求17所述的化合物,其特征在于,所述卤素是F。

19. 如权利要求17所述的化合物,其特征在于,所述杂烷基是O-烷基。

20. 如权利要求19所述的化合物,其特征在于,O-烷基是-OCH<sub>3</sub>。

21. 如权利要求17所述的化合物,其特征在于,所述杂烷基是氨基烷基。

22. 如权利要求21所述的化合物,其特征在于,氨基烷基是-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>。

23. 如权利要求1-10任一所述的化合物,其特征在于,R<sub>1</sub>是杂芳基。

24. 如权利要求23所述的化合物,其特征在于,所述杂芳基是单环或双环。

25. 如权利要求23或24所述的化合物,其特征在于,所述杂芳基包括一个或多个氮原子。

26. 如权利要求25所述的化合物,其特征在于,所述杂芳基是吡唑、异噁唑、三唑、吡啶、嘧啶、喹啉、苯并咪唑或吲哚。
27. 如权利要求23-26任一所述的化合物,其特征在于,所述杂芳基是取代的。
28. 如权利要求27所述的化合物,其特征在于,所述取代基选自卤素和杂烷基。
29. 如权利要求28所述的化合物,其特征在于,所述卤素是F。
30. 如权利要求28所述的化合物,其特征在于,所述杂烷基是O-烷基。
31. 如权利要求30所述的化合物,其特征在于,O-烷基是-OCH<sub>3</sub>。
32. 如权利要求28所述的化合物,其特征在于,所述杂烷基是氨基烷基。
33. 如权利要求32所述的化合物,其特征在于,氨基烷基是-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>。
34. 如权利要求1-10任一所述的化合物,其特征在于,R<sub>1</sub>是杂环烷基。
35. 如权利要求34所述的化合物,其特征在于,所述杂环烷基包括一个或多个氮原子。
36. 如权利要求35所述的化合物,其特征在于,所述杂环烷基是哌嗪。
37. 如权利要求34或35所述的化合物,其特征在于,所述杂环烷基包括一个或多个氧原子。
38. 如权利要求37所述的化合物,其特征在于,所述杂环烷基是吗啉。
39. 如权利要求34-38任一所述的化合物,其特征在于,所述杂环烷基是取代的。
40. 如权利要求39所述的化合物,其特征在于,所述取代基选自卤素和杂烷基。
41. 如权利要求40所述的化合物,其特征在于,所述卤素是F。
42. 如权利要求40所述的化合物,其特征在于,所述杂烷基是O-烷基。
43. 如权利要求42所述的化合物,其特征在于,O-烷基是-OCH<sub>3</sub>。
44. 如权利要求40所述的化合物,其特征在于,所述杂烷基是氨基烷基。
45. 如权利要求44所述的化合物,其特征在于,氨基烷基是-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>。
46. 如前述权利要求任一所述的化合物,其特征在于,Ar是芳基。
47. 如权利要求46所述的化合物,其特征在于,所述芳基是苯基。
48. 如权利要求1-45任一所述的化合物,其特征在于,Ar是杂芳基。
49. 如权利要求48所述的化合物,其特征在于,所述杂芳基包括一个或多个氮原子。
50. 如权利要求48或49所述的化合物,其特征在于,所述杂芳基具有4或5个环碳原子。
51. 如权利要求48-50任一所述的化合物,其特征在于,所述杂芳基是吡啶或嘧啶。
52. 如前述权利要求任一所述的化合物,其特征在于,R<sub>2</sub>是H或OH。
53. 如前述权利要求任一所述的化合物,其特征在于,R<sub>2</sub>在对位。
54. 一种药物组合物,包含如前述权利要求任一所述的式(I)化合物,以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。
55. 一种治疗或预防受试者增生性疾病的方法,包括给受试者施用治疗有效量的如权利要求1-53中任一所述的式(I)化合物。
56. 一种治疗或预防受试者中增生性疾病的方法,包括给受试者施用权利要求54所述的药物组合物。
57. 如权利要求55或56所述的方法,其特征在于,所述增生性疾病是癌症。
58. 如权利要求57所述的方法,其特征在于,所述癌症是脑癌。

## 抗癌化合物

### 发明领域

[0001] 本发明涉及药剂以及它们在增生性疾病(如癌症(特别是脑癌))的治疗中的用途。

### 发明背景

[0003] 现有的治疗大脑实体癌症(即脑肿瘤)的方法涉及外科手术、放射治疗和化疗中的一种或多种。例如,使用Stupp方案治疗成胶质细胞瘤(其是人类中最常见的脑癌)。这涉及放射/替莫唑胺化疗一起,以及接着单独使用替莫唑胺的辅助化疗,并是在肿瘤的外科手术最大程度切除术后进行。替莫唑胺使生存期延长约3个月(与单独放疗相比),且成胶质细胞瘤患者的平均生存期为15个月。阿瓦斯汀(Avastin)已被批准用于复发性成胶质细胞瘤,但就生存率其几乎没有改善。

[0004] 此外,即使50%的成胶质细胞瘤依赖于表皮生长因子受体(EGFR)信号传导,临床上可用的EGFR抑制剂在成胶质细胞瘤临床试验中已失败。一些抑制剂没有足够的血脑屏障(BBB)渗透性。最近的研究也显示成胶质细胞瘤仅对II型EGFR抑制剂作出反应,而I型抑制剂被试验。成胶质细胞瘤的极度异质性和侵袭性也导致作为用于脑癌的有效疗法的分子靶向治疗的失败。

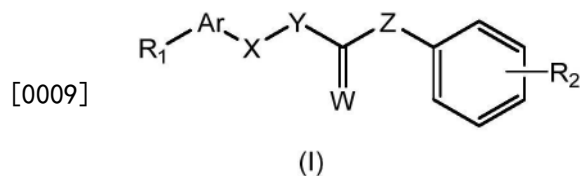
[0005] 已经显示在许多非脑癌中有效的另一类化合物是微管蛋白靶向化学治疗剂。然而,临床使用的所述微管蛋白抑制剂(例如紫杉醇)是不能穿透血脑屏障的非常大的分子。此外,紫杉醇和其他的微管蛋白靶向的化学治疗剂(如长春碱和长春新碱)具有严重的副作用(如化疗诱发的周围神经病变)。

[0006] 因此,需要寻找用于增生性疾病(如癌症)的新疗法,特别是寻找用于脑癌的有效疗法。

[0007] 在本说明书中对任何现有技术的提及不是承认或暗示在任何管辖范围内该现有技术构成普通通用知识的一部分,或者该现有技术可以被合理地预期会被本领域技术人员理解为相关的和/或与其他现有技术组合。

### 发明概要

[0008] 本发明寻求解决上述问题中的一个或多个,和/或提供癌症治疗的改进,并且在第一方面,提供式(I)化合物:



[0010] 或其药学上可接受的盐或前药,其中:

[0011] X是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基;

[0012] Y是CH<sub>2</sub>、NH、N-烷基、N-烯基、S或O;

[0013] W是O、S或NH;

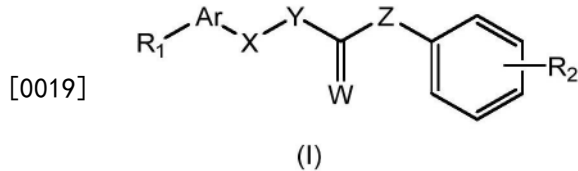
[0014] Z是CH<sub>2</sub>、NH、N-烷基、N-烯基、S或O；

[0015] R<sub>1</sub>是卤素、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，该环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选地被取代；

[0016] Ar是芳基或杂芳基；

[0017] R<sub>2</sub>是H、OH、NH<sub>2</sub>或NO<sub>2</sub>。

[0018] 该化合物可以是式(I)化合物：



[0020] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0021] X是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基；

[0022] Y是CH<sub>2</sub>、NH、N-烷基、N-烯基、S或O；

[0023] W是O、S或NH；

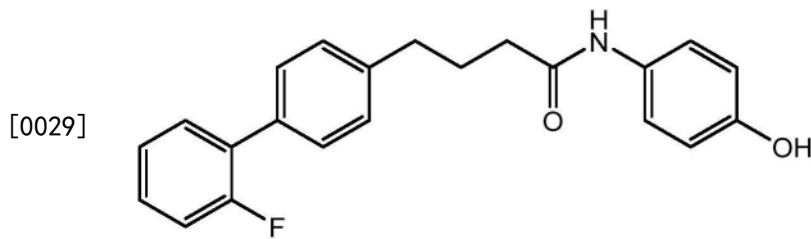
[0024] Z是CH<sub>2</sub>、NH、N-烷基、N-烯基、S或O；

[0025] R<sub>1</sub>是卤素、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，该环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选地被取代；

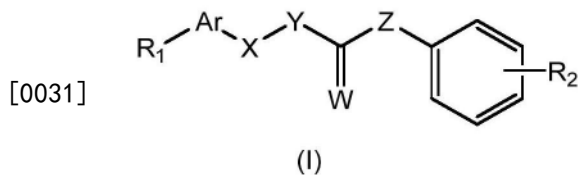
[0026] Ar是芳基或杂芳基；

[0027] R<sub>2</sub>是H、OH、NH<sub>2</sub>或NO<sub>2</sub>。

[0028] 条件是该化合物不具有以下结构：



[0030] 该化合物可以是式(I)化合物：



[0032] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0033] X是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基；

[0034] Y是CH<sub>2</sub>、NH、N-烷基、N-烯基、S或O；

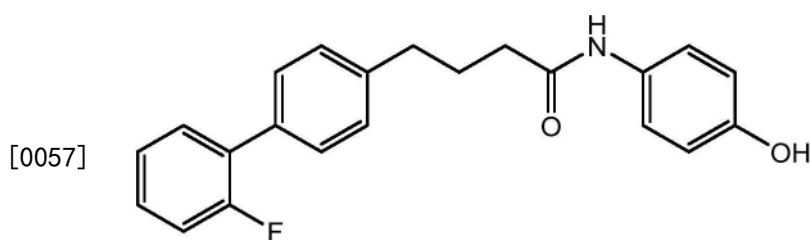
[0035] W是O、S或NH；

[0036] Z是CH<sub>2</sub>、NH、N-烷基、N-烯基、S或O；

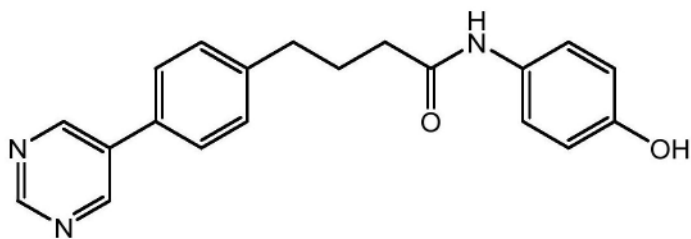
[0037] R<sub>1</sub>是卤素、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，该环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选地被取代；

[0038] Ar是芳基或杂芳基；

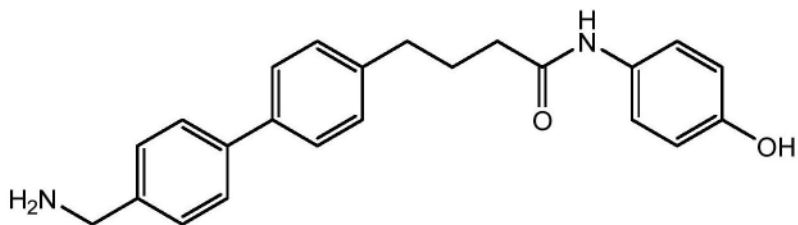
- [0039]  $R_2$ 是H、OH、 $NH_2$ 或 $NO_2$ 。
- [0040] 条件是当 $R_1$ 是芳基(特别是苯基)时, $R_1$ 不被F取代。
- [0041] X可以是 $C_2$ 烷基或 $C_2$ 烯基。
- [0042] Y可以是 $CH_2$ 。Z可以是NH。Z可以是O。Z可以是 $CH_2$ 。
- [0043] Y可以是NH。Y可以是O。
- [0044] Y和Z都可以是NH。
- [0045] Y可以是 $CH_2$ 且Z可以是NH。
- [0046] Z可以是 $CH_2$ 且Y可以是NH。
- [0047] Y可以是 $CH_2$ 且Z可以是O。
- [0048] Y可以是O且Z可以是 $CH_2$ 。
- [0049] W可以是O。
- [0050]  $R_1$ 可以是卤素基团(例如Br)。 $R_1$ 可以是芳基。所述芳基可以是单环或双环。所述芳基可以是苯基或萘基。
- [0051] 所述芳基可以被取代。所述取代基可以选自卤素基团和杂烷基。所述卤素基团可以是F,所述杂烷基可以是O-烷基(例如-O $CH_3$ )或氨基烷基(例如- $CH_2NH_2$ )。
- [0052]  $R_1$ 可以是杂芳基。所述杂芳基可以是单环或双环。所述杂芳基可以包括一个或多个氮原子。例如,所述杂芳基可以是吡唑、异噁唑、三唑、吡啶、嘧啶、喹啉、苯并咪唑或吲哚。所述杂芳基可以被取代。例如,所述取代基可以是卤素基团(例如F)或杂烷基(例如O-烷基,如-O $CH_3$ ,或氨基烷基,如- $CH_2NH_2$ )。
- [0053]  $R_1$ 可以是杂环烷基。所述杂环烷基可以包括一个或多个氮原子。所述杂环烷基可以是哌嗪。所述杂环烷基可以包括一个或多个氧原子(除了一个或多个氮原子外,或作为一个或多个氮原子的替代物)。所述杂环烷基可以是吗啉。所述杂环烷基可以被例如卤素基团(例如F)或杂烷基(例如O-烷基,如-O $CH_3$ ,或氨基烷基,如- $CH_2NH_2$ )取代。
- [0054] Ar可以是芳基。所述芳基可以是苯基。在一个实施方式中,Ar是杂芳基。所述杂芳基可以包括一个或多个氮原子和/或NH基团。所述杂芳基可以具有4或5个环碳原子。所述杂芳基可以是吡啶或嘧啶。
- [0055]  $R_2$ 可以是H或OH。 $R_2$ 可以在对位。
- [0056] 式(I)化合物可以选自:



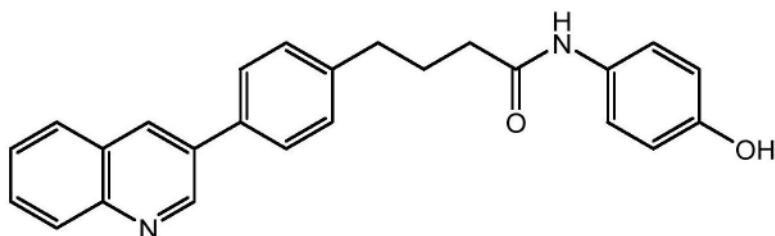
SC-38



1-01

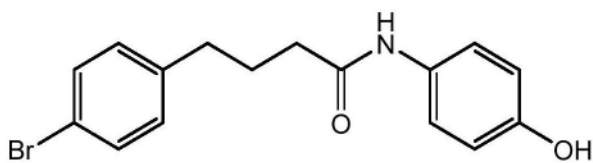


1-07

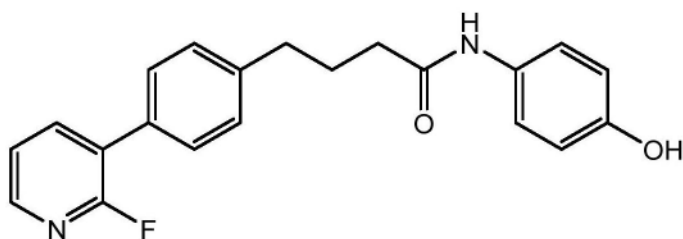


[0058]

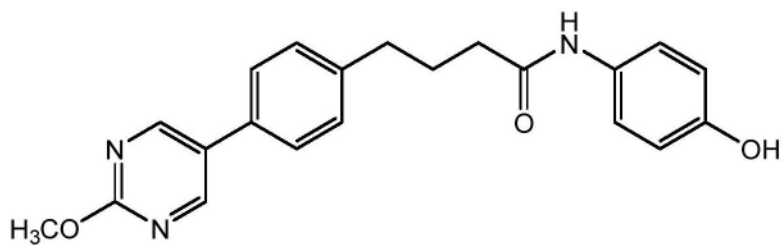
1-08



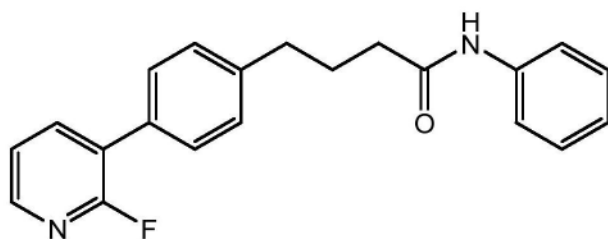
1-17



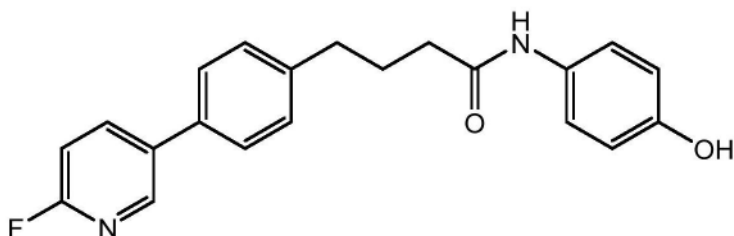
1-18



1-19

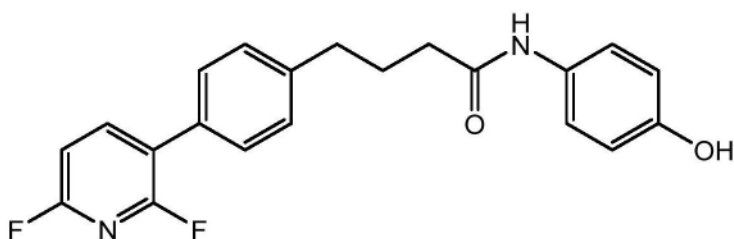


1-20

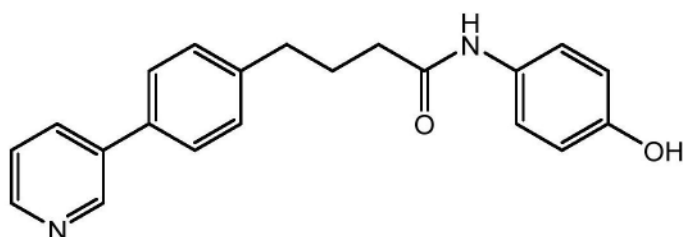


1-21

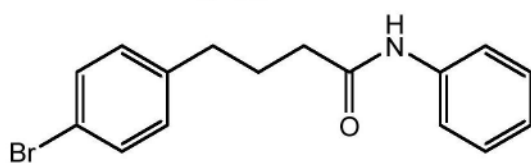
[0059]



1-22



1-38



20

[0060] 式(I)化合物可以选自:

[0061] 4-(4-溴苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺

[0062] 4-(4-(2-氟吡啶-3-基)苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺

[0063] 4-(4-(2,6-二氟吡啶-3-基)苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺

[0064] 4-(4-(6-氟吡啶-3-基)苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺

[0065] N-(4-羟基苯基)-4-(4-(吡啶-3-基)苯基)丁酰胺

[0066] N-(4-羟基苯基)-4-(4-(2-甲氧基嘧啶-5-基)苯基)丁酰胺

[0067] 4-(4-溴苯基)-N-苯基丁酰胺

[0068] 4-(4-(2-氟吡啶-3-基)苯基)-N-苯基丁酰胺

[0069] N-(4-羟基苯基)-4-(4-(嘧啶-5-基)苯基)丁酰胺

[0070] 4-(4'-(氨基甲基)-[1,1'-联苯]-4-基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺

[0071] N-(4-羟基苯基)-4-(4-(喹啉-3-基)苯基)丁酰胺。

[0072] 在第二方面,本发明涉及包含式(I)化合物(根据本发明的第一方面)与药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0073] 本发明的化合物和药物组合物可适用于增生性疾病的治疗或预防。因此,在另一方面,本发明涉及一种治疗或预防受试者的增生性疾病的方法,所述方法包括给该受试者施用有效量的本发明第一方面的式(I)化合物或本发明第二方面的药物组合物。

[0074] 在另一方面,本发明涉及本发明第一方面的式(I)化合物或本发明第二方面的药物组合物在制备用于治疗或预防增生性疾病的药物中的用途。

[0075] 在另一方面,本发明涉及本发明第一方面的式(I)化合物或本发明第二方面的药物组合物在治疗或预防受试者增生性疾病中的用途。

[0076] 在另一方面,本发明涉及本发明第一方面的式(I)化合物或本发明第二方面的药物组合物用于治疗或预防受试者增生性疾病。

[0077] 在一个实施方式中,所述增生性疾病是癌症。所述癌症可以选自:脑癌、乳腺癌、肺癌、前列腺癌、卵巢癌、子宫癌、皮肤癌、结肠癌和膀胱癌。

[0078] 所述癌症可以是原发的。所述癌症可以是转移性的。所述癌症可以是良性的。所述癌症可以是恶性的。

[0079] 所述癌症可以是脑癌(例如间变性星形细胞瘤、星形细胞瘤、中枢神经细胞瘤、脉络丛瘤、脉络丛乳头状瘤、脉络丛肿瘤、弥漫性内脑桥神经胶质瘤、胚胎发育不良性神经上皮肿瘤、室管膜肿瘤、纤维性星形细胞瘤、巨细胞成胶质细胞瘤、多形性成胶质细胞瘤、大脑胶质瘤病、神经胶质肉瘤、血管外皮细胞瘤、髓母细胞瘤、髓上皮瘤、脑膜瘤、成神经细胞瘤、神经细胞瘤、少突星形细胞瘤、少突神经胶质瘤、视神经鞘膜脑瘤、儿科室管膜瘤、纤维性星形细胞瘤、成松果体细胞瘤、松果体细胞瘤、多型的间变的成神经细胞瘤、多形性黄色星形细胞瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、蝶骨嵴脑膜瘤、室管膜下巨细胞星形细胞瘤、亚室管膜瘤、三边视网膜母细胞瘤)。所述脑癌可以是原发性癌症(例如神经胶质瘤、脑膜瘤、垂体腺瘤或神经鞘瘤)。所述脑癌可以是转移性癌症(例如黑素瘤或肺癌的结果)。

[0080] 在另一方面,本发明涉及一种完全或部分地预防受试者中实体瘤复发的方法,所述方法包括给受试者施用有效量的本发明第一方面的式(I)化合物或本发明第二方面的药物组合物。

[0081] 在另一方面,本发明涉及本发明第一方面的化合物或本发明第二方面的药物组合物在制备用于完全或部分地预防实体瘤复发的药物中的用途。

[0082] 在另一方面,本发明涉及本发明第一方面的式(I)化合物或本发明第二方面的药物组合物用于完全或部分地预防受试者实体瘤复发的用途。

[0083] 在另一方面,本发明涉及本发明第一方面的式(I)化合物或本发明第二方面的药物组合物用于完全或部分地预防受试者实体瘤复发。

[0084] 所述实体瘤可以是脑癌(例如成胶质细胞瘤、星形细胞瘤或神经胶质瘤)。所述脑癌可以是原发性癌症。所述脑癌可以是转移性癌症。

[0085] 所述式(I)化合物可以在疗法中单独使用或与一种或多种其它治疗剂组合使用,

例如作为联合疗法的一部分。

[0086] 从通过实施例并参照附图给出的以下描述,前述段落中描述的本发明的其它方面以及其实施方式将变得显而易见。

### 附图说明

[0087] 图1.用SC-38治疗各种癌细胞系的结果以测试SC-38的癌细胞活力和细胞毒性。

[0088] 图2.用SC-38治疗各种癌细胞系的结果以测试SC-38对于恶性细胞的细胞毒性。

[0089] 图3.化合物1-18的脑摄取。

[0090] 图4.在U87和U87vIII细胞中SC-38诱导的细胞凋亡。

[0091] 图5.在SC-38治疗后在U87和U87vIII细胞中PARP切割的蛋白质印迹分析。(A)用1和5 $\mu$ m的SC-38处理U87(泳道1-3)和U87vIII(泳道4-6)细胞48小时。显示3个独立实验的代表性印迹。GAPDH用作加载对照。(B) 定量化PARP切割并将其对GAPDH进行归一化(表示为倍数变化)。结果是来自3个独立实验的平均值 $\pm$ SEM。先后使用单因素方差分析和Dunnet后测试确定统计显著性(\* $P$ <0.05,\*\*\* $P$ <0.001,\*\*\*\* $P$ <0.0001)。

[0092] 图6.在U87和U87vIII细胞中化合物1-08诱导的细胞凋亡。用化合物1-08处理U87(A-B)和U87vIII(C-D)细胞48小时,并用Annexin-FITC/7-AAD染色。使用MUSE细胞分析仪(密理博公司)(Millipore)显现凋亡细胞。结果是3次独立实验的平均值 $\pm$ SEM。先后使用单因素方差分析和Dunnet后测试计算统计显著性(\*\*\* $P$ <0.001)。

[0093] 图7.在化合物1-08治疗后在U87和U87vIII细胞中PARP切割的蛋白质印迹分析。(A)用1和5 $\mu$ m化合物1-08处理U87(泳道1-3)和U87vIII(泳道4-6)细胞48小时。显示3个独立实验的代表性印迹。GAPDH用作加载对照。(B) 定量化PARP切割并将其对GAPDH进行归一化(表示为倍数变化)。结果是来自3个独立实验的平均值 $\pm$ SEM。先后使用单因素方差分析和Dunnet后测试确定统计显著性(\* $P$ <0.05,\*\*\*\* $P$ <0.0001)。

[0094] 图8.在U87、U87vIII和U251中SC-38处理对Bcl-2家族蛋白的影响。

[0095] 图9.在U87、U87vIII和U251中化合物1-08处理对Bcl-2家族蛋白的影响。U87(泳道1-3)、U87vIII(泳道4-6)和U251(泳道7-9)细胞。代表性印迹示于(A),且量化示于(B-E),显示为相对蛋白表达。结果为来自2次独立实验的平均值 $\pm$ SEM,且使用未配对t-检验确定统计显著性(\* $P$ <0.05,\*\* $P$ <0.01)。

[0096] 图10.化合物1-08(称为“化合物13”和“化合物13”)表现出与微管破坏一致的作用机制。(A)化合物1-08在体外抑制微管蛋白聚合。数据表示为来自至少3次独立实验的平均值;每个数据点进行三次。(B)用Alexa488标记的抗 $\beta$ -微管蛋白抗体(绿色)或DAPI(蓝色)染色用化合物1-08(24小时)处理的U87细胞。治疗深深地扰乱了微管网络,并导致多核细胞的形成(白色箭头)。白色比例尺表示50 $\mu$ m。手动计数多核细胞,且对每个样品计数至少200个细胞。条形图(C)中的数据表示为平均值 $\pm$ SEM( $n=3$ ; \* $P$ <0.05,\*\*\* $P$ <0.001;单因素方差分析,随后是Newman-Keuls后测试)。(D)用化合物1-08处理U87细胞(48小时),微管蛋白和DNA如(B)中染色。用1-08治疗导致有缺陷的有丝分裂纺锤体形成。显示了来自3个独立实验的代表性图像。白色比例尺表示2 $\mu$ m。

[0097] 图11. SC-38(简称“CMPD1”)、化合物1-08(简称“化合物13”)、化合物1-18(简称“化合物7”)和化合物1-38(简称“化合物10”)在代表两个成胶质细胞瘤亚型的原发性神经胶质

瘤球中的功效。(A) RN1, 经典和 (B) WK1, 间充质。在药物治疗72小时后, 使用阿尔玛蓝细胞活力测定法确定测试化合物的细胞功效 ( $EC_{50}$ )。数据是来自3次独立的一式三份进行的实验的平均值  $\pm$  SEM。

### 具体实施方式

[0098] 本发明基于式 (I) 化合物在增生性疾病 (如癌症, 特别是脑癌) 的治疗中具有出乎意料的改进这一令人惊奇的发现。

[0099] 本文通常使用标准命名法来描述化合物。对于具有不对称中心的化合物, 应当理解, 除非另有说明, 否则包括所有光学异构体及其混合物。具有两个或更多个不对称要素的化合物也可以非对映异构体的混合物存在。此外, 具有碳-碳双键的化合物可以以Z和E形式存在, 除非另有说明, 化合物的所有异构体形式都包括在本发明中。当化合物以各种互变异构形式存在时, 所列举的化合物不限于任何一种特定的互变异构体, 而是旨在包括所有互变异构形式。所列举的化合物进一步旨在包括其中一个或多个原子被同位素 (即具有相同原子数但质量数不同的原子) 替代的化合物。作为一般实施例, 但不限于此, 氢的同位素包括氕和氘, 且碳的同位素包括 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$ 和 $^{14}\text{C}$ 。

[0100] 具有一个或多个立体异构中心的根据本文提供的所述化学式的化合物具有至少50%的对映体过量。例如, 这样的化合物可具有至少60%、70%、80%、85%、90%、95%或98%的对映体过量。所述化合物的一些实施方式具有至少99%的对映体过量。显而易见的是, 可以通过不对称合成、源自光学纯前体的合成、生物合成或通过外消旋体的拆分 (例如酶拆分或通过常规方法 (如在拆分剂存在下的结晶化, 或色谱法, 使用例如手性HPLC柱) 的拆分) 获得单一的对映异构体 (光学活性形式)。

[0101] 本文使用包括诸如 $R_1$ 、 $R_2$ 、Ar、W、X、Y和Z的变量的通式描述某些化合物。除非另有说明, 否则在该式中的每个变量的定义独立于任何其它变量, 并且在公式中出现超过一次的任何变量在每次出现时都独立定义。因此, 例如, 如果一个基团被0、1或2个R\*取代, 该基团可以是未被取代的或被至多两个R\*基团取代, 并且每次出现的R\*独立地选自R\*的定义。此外, 取代基和/或变量的组合只有在这种组合产生稳定的化合物 (即化合物可被分离、表征和测试生物活性) 时才允许。

[0102] 本文公开的化合物的“药学上可接受的盐”是本领域通常认为适合用于与人类或动物的组织接触而没有过度毒性或致癌性, 优选没有刺激性、过敏反应或其他问题或并发症的酸或碱盐。特别地, 本发明的药学上可接受的盐是不会不利地影响化合物穿过BBB的能力的那些。这样的盐包括碱性残基 (如胺) 的矿物和有机酸盐, 以及酸性残基 (如羧酸) 的碱或有机盐。

[0103] 适合的药学上可接受的盐包括但不限于: 例如盐酸、磷酸、氢溴酸、苹果酸、乙醇酸、富马酸、硫酸、氨基磺酸、对氨基苯磺酸、甲酸、甲苯磺酸、甲磺酸、苯磺酸、乙烷二磺酸、2-羟乙基磺酸、硝酸、苯甲酸、2-乙酰氧基苯甲酸、柠檬酸、酒石酸、乳酸、硬脂酸、水杨酸、谷氨酸、抗坏血酸、双羟萘酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、丙酸、羟基马来酸、氢碘酸、苯乙酸、链烷酸 (如乙酸、 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$  (其中n是0至6的任何整数, 即0、1、2、3、4、5或6) 等酸的盐。类似地, 药学上可接受的阳离子包括但不限于: 钠、钾、钙、铝、锂和铵。本领域技术人员将认可到本文提供的化合物的其它药学上可接受的盐。通常, 药学上可接受的酸或碱盐可以通

过任何常规的化学方法由含有碱性或酸性部分的母体化合物合成。简言之,这些盐可以通过使这些化合物的游离酸或碱形式与化学计量的适当的碱或酸在水或有机溶剂(例如醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈)或两者的混合物中反应来制备。

[0104] 显而易见的是,式(I)的每种化合物可以但不必以水合物、溶剂合物或非共价复合物形式存在。此外,各种晶型和多晶型物以及本文提供的式(I)化合物的前药也在本发明的范围内。

[0105] “前药”是一种可能不完全满足本文提供化合物的结构要求的化合物,但在给受试者或患者施用后在体内进行修饰以产生本文提供的式(I)化合物。例如,前药可以是本文提供的化合物的酰化衍生物。前药包括其中羟基、羧基、胺或巯基键合到任何基团(当给予哺乳动物受试者时,这些基团分别切割形成游离羟基、羧基、氨基或巯基)的化合物。前药的例子包括但不限于:本文提供的化合物中的醇和胺官能团的乙酸盐、甲酸盐、磷酸盐和苯甲酸盐衍生物。本文提供的化合物的前药可以通过以这样的方式(即使得该修饰在体内被切割以产生母体化合物)修饰化合物中的官能团来制备。

[0106] 如本文所用的“取代基”是指共价键合到目的分子内的原子的分子部分。例如,“环取代基”可以是如卤素、烷基、杂烷基、卤代烷基或其它本文所述的取代基的部分,其共价键合到是环成员的原子上(优选碳原子或氮原子)上。如本文所用,术语“取代的”是指指定原子上的任一个或多个氢被选自所指示的取代基取代,条件是不超过指定的原子的正常价态,并且所述取代形成稳定的化合物,即可以被分离、表征和测试生物活性的化合物。当取代基是氧代,即=O时,所述原子上的两个氢被取代。作为芳香族碳原子的取代基的氧代基导致-CH-转化为-C(=O)-和丧失芳香性。例如,被氧代的吡啶基是吡啶酮。合适的取代基的实例是烷基(包括卤代烷基,例如CF<sub>3</sub>)、杂烷基(例如-OCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>NHCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)、卤素(例如氟、氯、溴或碘原子)、OH、=O、SH、SO<sub>3</sub>H、NH<sub>2</sub>、=NH、N<sub>3</sub>和NO<sub>2</sub>基团。

[0107] 术语“烷基”是指饱和的、直链或支链的烃基。烷基的具体实例是甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、正己基和2,2-二甲基丁基。

[0108] 术语“杂烷基”是指含有一个或多个选自氧、氮和硫(特别是氧和氮)的杂原子的如上定义的烷基。杂烷基的具体实例是O-烷基(例如甲氧基、三氟甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、丁氧基和叔丁氧基)、甲氧基甲基、乙氧基甲基、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>OH、甲氧基乙基、1-甲氧基乙基、1-乙氧基乙基、2-甲氧基乙基或2-乙氧基乙基、氨基烷基(如-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>等)甲基氨基、乙基氨基、丙基氨基、异丙基氨基、二甲基氨基、二乙基氨基、异丙基乙基氨基、甲基氨基甲基、乙基氨基甲基、二异丙基氨基乙基、甲硫基、乙硫基、异丙硫基、烯醇醚、二甲基氨基甲基、二甲基氨基乙基、乙酰基、丙酰基、丁酰氧基、乙酰氧基、甲氧基羰基、乙氧基羰基、丙酰氧基、乙酰氨基、丙酰氨基、羧甲基、羧乙基、羧丙基、N-乙基-N-甲基氨基甲酰基和N-甲基氨基甲酰基。杂烷基的其它实例是腈、异腈、氰酸酯、硫氰酸酯、异氰酸酯、异硫氰酸酯和烷基腈基团。

[0109] 术语“烯基”是指至少部分不饱和的、含有至少两个碳原子的直链或支链烃基(即C<sub>2</sub>烯基)。烯基的具体实例是乙烯基、丙烯基(烯丙基)、异丙烯基、丁烯基、乙炔基、丙炔基、丁炔基、乙炔基、炔丙基、异戊二烯基和己-2-烯基。优选地,烯基具有一个或两个双键。

[0110] 术语“环烷基”是指含有一个或多个环(优选1或2个)的饱和或部分不饱和(例如环烯基)的环基,并且含有3至14个环碳原子,优选3至10(特别是3、4、5、6或7)个环碳原子。环

烷基的具体实例是环丙基、环丁基、环戊基、螺[4,5]癸基、降冰片基(norbornyl)、环己基、环戊烯基、环己二烯基、十氢化萘基、双环[4.3.0]壬基、四氢萘基、金刚烷(即三环[3.3.1.1.3,7]癸烷)、环戊基环己基和环己-2-烯基。

[0111] 术语“杂环烷基”是指如上定义的环烷基,其中一个或多个(优选1、2或3)个环碳原子各自独立地被氧、氮、硅、硒、磷或硫原子替代(优选被氧、硫或氮原子)。这包括含有如NH这些原子的基团。杂环烷基优选具有1或2个环,其包含3至10(特别是3、4、5、6或7)个环原子(优选选自C、O、N和S)。具体实例是哌啶基、脯氨酸基(prolinyl)、咪唑烷基、哌嗪基、吗啉基、六亚甲基四胺基(urotropinyl)、吡咯烷基、四氢噻吩基、四氢吡喃基、四氢呋喃基和2-吡啶基以及内酰胺、内酯、环状酰亚胺和环状酸酐。

[0112] 术语“芳基”是指含有一个或多个环的芳族基团,该环含有6至14个环碳原子,优选6至10(特别是6)个环碳原子。实例是苯基、萘基和联苯基。

[0113] 术语“杂芳基”是指含有一个或多个环的芳族基团,该环含有5至14个环原子,优选5至10(特别是5或6)个环原子,并且含有一个或多个(优选1、2、3或4个)氧、氮、磷或硫原子(优选O、S或N)。这包括O、S或含N的基团,如NH。实例是吡啶基(例如4-吡啶基)、咪唑基(例如2-咪唑基)、苯基吡咯基(例如3-苯基吡咯基)、噻唑基、异噻唑基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、噁二唑基(oxadiazolyl)、噻二唑基(thiadiazolyl)、吡啶基、吡唑基、四唑基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、噁唑基、异噁唑基、三唑基、四唑基、异噁唑基、吡唑基、吡啶基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、苯并异噁唑基、苯并噻唑基、哒嗪基、喹啉基、异喹啉基、吡咯基、嘌呤基、咪唑基、吡啶基、嘧啶基、2,3'-二呋喃基和吡唑基(例如3-吡唑基)。

[0114] 如本文所用的术语“卤素”或“卤素原子”是指氟、氯、溴或碘。

[0115] 术语“任选地取代的”是指基团中一个、两个、三个或更多个氢原子彼此独立地被卤素(例如氟、氯、溴或碘原子)和/或被例如OH、=O、SH、SO<sub>3</sub>H、NH<sub>2</sub>、N-烷基、NH-烷基、N<sub>3</sub>或NO<sub>2</sub>基团取代。该表达还指被一个、两个、三个或更多个烷基、烯基或杂烷基(例如-OCH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>NHCH<sub>3</sub>和-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)取代的基团。这些基团本身可以被取代。例如,烷基取代基可以被一个或多个卤素原子取代(即可以是卤代烷基)。术语“卤代烷基”是指被一个或多个卤素原子(如上定义)取代的烷基(如上定义)。卤代烷基的具体实例是三氟甲基、二氯乙基、二氯甲基和碘乙基。

[0116] 如本文所用,定义长度范围界限的用词如,例如“从1至5”指1至5的任何整数,即1、2、3、4和5。换句话说,明确提及的两个整数定义的任何范围意指包括并公开定义所述界限的任何整数以及包含在所述范围内的任何整数。

[0117] 优选的式(I)化合物是其中X是C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>或C<sub>3</sub>烷基或C<sub>2</sub>或C<sub>3</sub>烯基(例如C<sub>2</sub>烷基或C<sub>2</sub>烯基)的那些。X也可以是C<sub>1</sub>烷基。

[0118] Y可以是CH<sub>2</sub>。Z可以是NH。Z可以是O。Z可以是CH<sub>2</sub>。

[0119] Y可以是NH。Y可以是O。

[0120] Y和Z都可以是NH。

[0121] Y可以是CH<sub>2</sub>且Z可以是NH。

[0122] Z可以是CH<sub>2</sub>且Y可以是NH。

[0123] Y可以是CH<sub>2</sub>且Z可以是O。

[0124] Y可以是O且Z可以是CH<sub>2</sub>。

[0125]  $R_1$ 可以是卤素基团(例如Br)。 $R_1$ 可以是芳基。所述芳基可以是单环或双环。所述芳基可以是苯基或萘基。

[0126] 所述芳基可以被取代。所述取代基可以选自卤素基团和杂烷基。所述卤素基团可以是F,且所述杂烷基可以是O-烷基(例如 $OCH_3$ 或 $OCH_2CH_3$ )或氨基烷基(例如 $-CH_2NH_2$ 或 $-CH_2CH_2NH_2$ )。

[0127]  $R_1$ 可以是杂芳基。所述杂芳基可以是单环或双环。所述杂芳基可以包括一个或多个氮原子。例如,所述杂芳基可以是吡唑、异噁唑、三唑、吡啶、嘧啶、喹啉、苯并咪唑或吲哚。所述杂芳基可以被取代。例如,所述取代基可以是卤素基团(例如F)或杂烷基(例如O-烷基,如 $-OCH_3$ 或 $OCH_2CH_3$ ,或氨基烷基,如 $-CH_2NH_2$ 或 $-CH_2CH_2NH_2$ )。

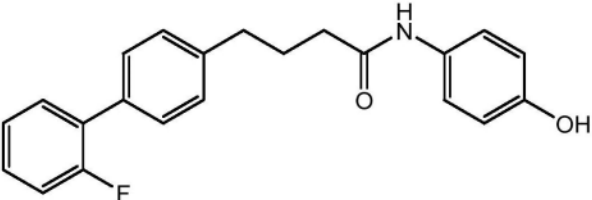
[0128]  $R_1$ 可以是杂环烷基。所述杂环烷基可以包括一个或多个氮原子。所述杂环烷基可以是哌嗪。所述杂环烷基可以包括一个或多个氧原子。所述杂环烷基可以是吗啉。所述杂环烷基可以被例如卤素基团(例如F)或杂烷基(例如O-烷基,例如 $-OCH_3$ 或 $OCH_2CH_3$ ,或氨基烷基,例如 $-CH_2NH_2$ 或 $-CH_2CH_2NH_2$ )取代。

[0129] Ar可以是芳基。所述芳基可以是苯基。Ar可以是杂芳基。所述杂芳基可以包括一个或多个氮原子。所述杂芳基可以具有4或5个环碳原子。所述杂芳基可以是吡啶或嘧啶。

[0130]  $R_2$ 可以是H或OH。 $R_2$ 可以在对位。

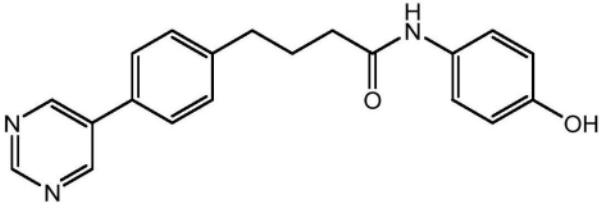
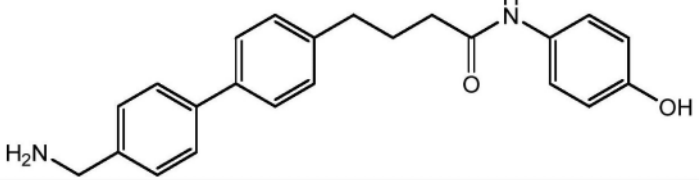
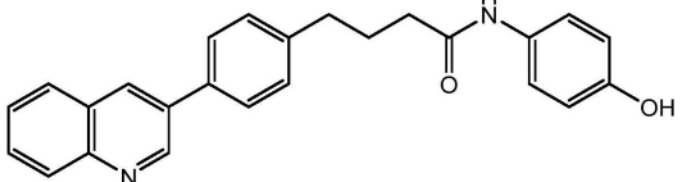
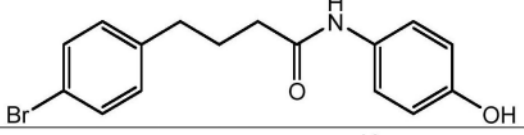
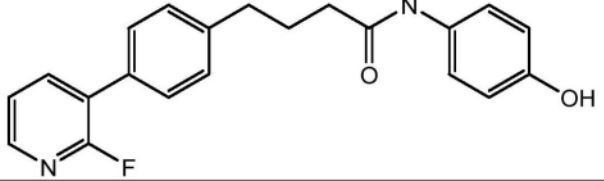
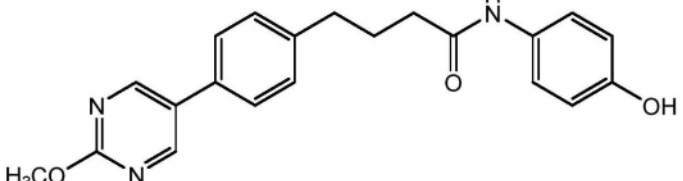
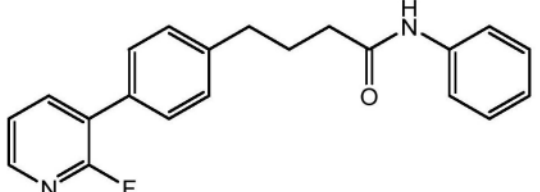
[0131] 本发明化合物的具体实例列于下表1中。

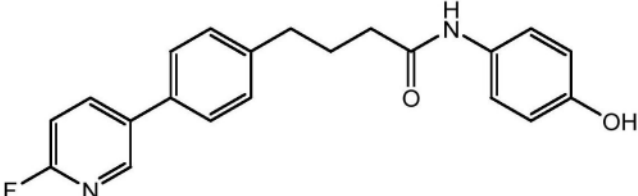
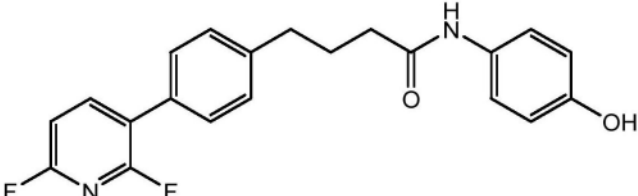
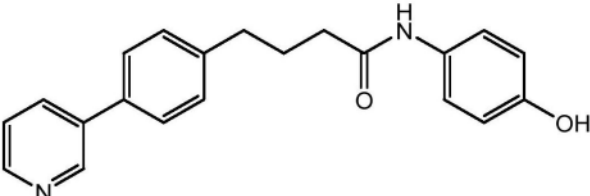
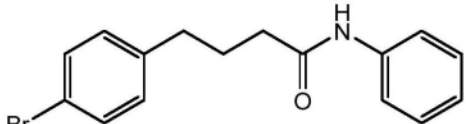
[0132] 表1. 本发明化合物的实例

化合物	结构
SC-38	

[0133]

[0134]

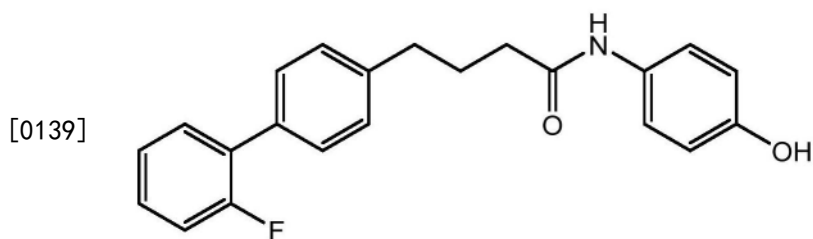
1-01	
1-07	
1-08	
1-17	
1-18	
1-19	
1-20	

1-21	
[0135] 1-22	
1-38	
20	

[0136] 在一个实施方式中,所述式(I)化合物选自来自上表1的化合物1-01、1-07、1-08、1-17、1-18、1-19、1-20、1-21、1-22、1-38和20。

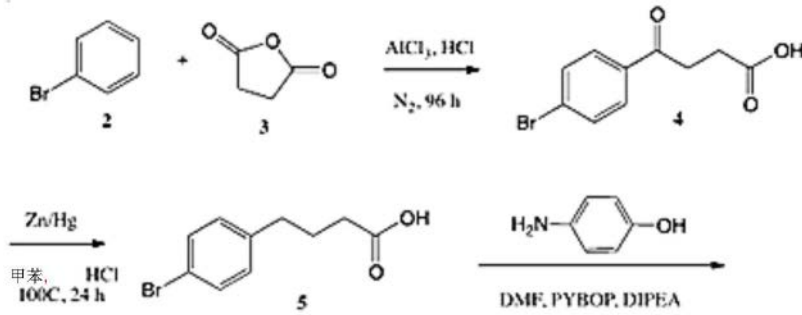
[0137] 在另一个实施方式中,所述式(I)化合物不包括来自上表1中的化合物SC-38。

[0138] 在一个实施方式中,本发明的化合物是如本文所述的式(I)化合物,条件是该化合物不具有以下结构:

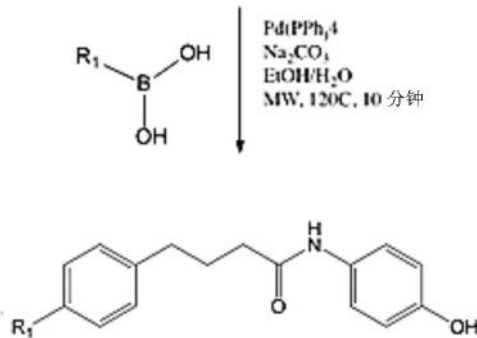
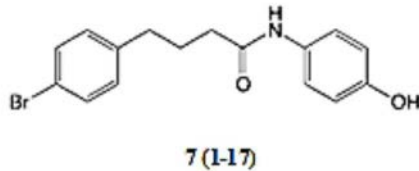


[0140] 在一个实施方式中,本发明的化合物是本文所述的式(I)化合物,条件是当 $R_1$ 为芳基(特别是苯基)时, $R_1$ 不被F取代。

[0141] 本发明的化合物可以通过本领域技术人员已知的任何合适的方法合成。下面在方案1中给出常规合成。



[0142]



[0143] 方案1. 本发明化合物的常规合成的示例

[0144] 本发明的化合物可表现出高的抗增殖活性,特别是对脑癌的高功效。具体地,在本文的实施例中,具体化合物显示诱导凋亡并且也能够穿过BBB。

[0145] 式(I)化合物、其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、前药以及制剂和药物组合物(包括式(I)化合物的混合物)的治疗用途在本发明的范围内。因此,本发明还涉及包含治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物或前药以及一种或多种药学上可接受的赋形剂的药物组合物。

[0146] “药物载体、稀释剂或赋形剂”包括但不限于任何生理缓冲的(即pH约7.0至7.4)介质,包括合适的水溶性载体、常规溶剂、分散介质、填料、固体载体、涂层、抗菌和抗真菌剂、等渗和吸收延迟剂。合适的水溶性载体包括但不限于:盐水、葡萄糖、玉米油、二甲亚砜和明胶胶囊。其它常规添加剂包括乳糖、甘露醇、玉米淀粉、马铃薯淀粉、粘结剂(如结晶纤维素、纤维素衍生物、阿拉伯胶、明胶)、崩解剂(如羧甲基纤维素钠)和润滑剂(如滑石粉或硬脂酸镁)。

[0147] 药物组合物可以配制用于任何合适的给药途径,包括例如局部(例如透皮或眼部)、口服、面颊、鼻腔、阴道、直肠或肠胃外给药。如本文所用的术语“肠胃外”包括皮下、皮内、血管内(例如静脉内)、肌肉内、脊髓、颅内、鞘内、眼内、眼周、眶内、滑膜内和腹膜内注射以及任何类似的注射或输注技术。在某些实施方式中,适于口服使用或肠胃外使用的形式的组合物是优选的。合适的口服形式包括:例如片剂、锭剂、糖锭、水性或油性的悬浮液、可

分散的粉末或颗粒、乳剂、硬或软胶囊、或糖浆或酞剂。对于静脉内、肌内、皮下或腹膜内给药,可以将一种或多种化合物与无菌水溶液组合,所述无菌水溶液优选与受体血液等渗。这样的制剂可以通过将固体活性成分溶解在含有生理上相容的物质(如氯化钠或甘氨酸)的水中,并使其具有与生理条件相容的缓冲pH以产生水溶液,并使所述溶液无菌的方法制备。所述制剂可以存在于单或多剂量容器中,例如密封的安瓿瓶或小瓶。合适的组分的实例描述于马丁代尔-大药典(The Extra Pharmacopoeia)(医药出版社(Pharmaceutical Press),伦敦,1993年)和马丁(编),雷明顿的制药科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)。

[0148] 对于增生性疾病的治疗,本发明的生物活性化合物的剂量可以在宽范围内变化,并且可以根据个体需要进行调整。本发明的活性化合物通常以治疗有效量施用。优选的剂量范围为每天每千克体重约0.1mg至约140mg(例如,每位患者每天约0.5mg至约7g)。日剂量可以以单一剂量或以多个剂量施用。可以与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将根据所治疗的宿主和特定给药方式而变化。剂量单位形式通常含有约1mg至约500mg的活性成分。

[0149] 然而,应当理解,任何特定患者的具体剂量水平将取决于多种因素,包括所用具体化合物的活性、年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、给药时间、给药途径和排泄速率、药物组合(即用于治疗患者的其他药物)、进行治疗的特定病症的严重程度以及不想要的增生细胞的位置。如果化合物在局部施用而不是全身施用,并且用于预防而不是用于治疗,则剂量通常较低。这样的治疗可以根据需要尽可能多地给药和经治疗医师判断在必要的时间段内给药。本领域技术人员将理解,可能需要针对每个个体优化待施用的式(I)化合物的剂量方案或治疗有效量。

[0150] 应当理解,治疗不同疾病可能需要不同的剂量。药物的有效量是导致肿瘤细胞计数、生长或大小统计地显著降低的量。对本发明的药物有反应的肿瘤性疾病包括但不限于脑癌。

[0151] 术语“治疗有效量”或“有效量”是指导致预防、改善或修复增生性病征症状的式(I)化合物的量。本发明化合物或药物组合物的剂型和剂量可以通过参考已知的治疗或预防方案容易地确定。

[0152] 本发明优选的化合物将具有一定的药理学性质。这些性质包括但不限于:口服生物利用度和BBB通透性,从而使得上述讨论的优选的口服剂型可以在体内提供化合物的治疗有效水平。

[0153] 本发明的化合物优选经口或肠胃外给药于患者(例如人),并且存在于患者的至少一个体液或组织中。因此,本发明还提供了用于治疗患有增生性疾病(包括癌症,例如脑癌)的患者的方法。

[0154] 术语“治疗”、“治法”和“疗法”在本文中用于指治疗疗法。因此,在本文上下文中,术语“治疗”包括治愈和改善癌症或其相关症状的严重性。

[0155] 如果在施用本发明的化合物或药物组合物后癌症发展,“防止”或“预防”是指防止癌症的发生或缓解癌症的严重性。这完全防止临床明显的不期望的细胞增生的发生或者防止处于危险中的个体中不期望的快速细胞增生的临床前明显阶段的发生。

[0156] 患者可以包括但不限于:具有如本文所述的剂量的灵长类动物,特别是人类、驯养

的伴侣动物(如狗、猫、马)和家畜(如牛、猪、绵羊)。

[0157] 本发明的化合物可用于治疗和/或预防与细胞增生相关的病症和病症(包括癌症,例如脑癌)。因此,本发明还涉及一种治疗或预防患者的增生性疾病的方法,包括向患者施用治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药。本发明还涉及治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药用于治疗或预防增生性病症的用途。在本说明书中描述的任何实施方式中,本发明还提供了用于治疗或预防增生性病症的药物组合物。本发明还涉及治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药在制备用于治疗或预防增生性病症的药物中的用途。

[0158] 当用于治疗或预防增生性病症的方法中时,本发明还涉及式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药。本发明还涉及具有用于治疗或预防增生性病症的活性成分的组合物,其中所述活性成分是式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药。本发明还涉及含有式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药的药物组合物在治疗或预防增生性病症(如上所述)中的用途。在一个实施方式中,式(I)化合物基本上是组合物的唯一活性成分。在一个实施方式中,所述增生性病症是癌症。在一个实施方式中,癌症是脑癌(例如实体瘤)。

[0159] 本发明的式(I)化合物及其药物组合物可用于治疗或预防增生性疾病,优选癌症。本发明的化合物和组合物可用于治疗多种癌症(肿瘤),包括但不限于:实体瘤,例如脑癌、乳腺癌、肺癌、前列腺癌、卵巢癌、子宫癌、脑癌、皮肤癌、结肠癌和膀胱癌。

[0160] 本发明可适用于治疗的癌症或肿瘤细胞的类型包括:例如乳腺癌、结肠癌、肺癌和前列腺癌、胃肠癌(包括食管癌、胃癌、结肠直肠癌、与结肠直肠肿瘤相关的息肉、胰腺癌和胆囊癌)、肾上腺皮质癌、产生ACTH的肿瘤、膀胱癌、脑癌(包括下文讨论的那些)、尤因氏肉瘤(Ewing's sarcoma)、包括口腔癌和喉癌的头颈癌、包括肾细胞癌的肾癌、肝癌、包括小细胞和非小细胞肺癌的肺癌、恶性腹膜积液、恶性胸腔积液、包括恶性黑色素瘤的皮肤癌、人皮肤角质形成细胞的肿瘤进展、鳞状细胞癌、基底细胞癌和血管外皮细胞瘤、间皮瘤、卡波氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、包括骨瘤和肉瘤(如纤维肉瘤和骨肉瘤)的骨癌、女性生殖道癌(包括子宫癌、子宫内膜癌、卵巢癌、卵巢(生殖细胞)癌和卵巢卵泡中的实体瘤、阴道癌、外阴癌和子宫颈癌)、乳腺癌(小细胞和导管)、阴茎癌、视网膜母细胞瘤、睾丸癌、甲状腺癌、滋养细胞肿瘤和维尔姆斯氏肿瘤(Wilms' tumor)。在一个实施方式中,所述癌症是原发的。在一个实施方式中,所述癌症是转移性的。在一个实施方式中,所述癌症是良性的。在一个实施方式中,所述癌症是恶性的。

[0161] 在一个实施方式中,待治疗和/或预防的增生性病症是脑癌。所述脑癌可以选自:间变性星形细胞瘤、星形细胞瘤、中枢神经细胞瘤、脉络丛癌、脉络丛乳头状瘤、脉络丛肿瘤、弥漫性内分泌神经胶质瘤、胚胎发育不良的神经上皮瘤、室管膜肿瘤、纤维性星形细胞瘤、巨细胞成胶质细胞瘤、多形性成胶质细胞瘤、大脑胶质瘤、神经胶质肉瘤、血管外皮细胞瘤、髓母细胞瘤、髓上皮瘤、脑膜癌、成神经细胞瘤、神经细胞瘤、少突星形细胞瘤(oligoastrocytoma)、少突神经胶质瘤(oligodendroglioma)、视神经鞘膜脑膜瘤、儿科室管膜瘤、纤维性星形细胞瘤、成松果体细胞瘤、松果体细胞瘤、多型的间变的成神经细胞瘤、多形性黄色星形细胞瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、蝶骨嵴脑膜瘤、室管膜下巨细胞星形细胞瘤、亚室管膜瘤和三边视网膜母细胞瘤。因此,优选地,所述脑癌是肿瘤(优选为实体

瘤)。所述脑癌可以是原发性癌症(例如神经胶质瘤、脑膜瘤、垂体腺瘤或神经鞘瘤)或转移性癌症(即由于身体其他部位的癌症引起的脑癌,如黑素瘤或肺癌)。

[0162] 或者或除此之外,所述化合物可以与其它试剂(例如化学治疗或免疫刺激药物或治疗剂)组合施用。

[0163] 术语“联合疗法”或“辅助治疗”在定义本发明化合物和一种或多种其它药剂的用途中意图包括在一种方案中以顺序方式施用每种药剂,提供所述药物组合的有益效果,并且还旨在包括以基本上同时的方式共同施用这些药剂,例如以具有固定比例的这些活性药剂的单一制剂或以每种药剂的多个分开的制剂。

[0164] 本发明的各种实施方式,一种或多种式(I)化合物可以与一种或多种其它治疗剂组合配制或施用。因此,本发明的各种实施方式,一种或多种式(I)化合物可与手术和/或其它已知的治疗或治疗剂(如其他抗癌剂,特别是化学治疗剂、放射治疗剂和/或佐剂或预防剂)包括在联合治疗方案中。

[0165] 在商业用途、临床评估和临床前开发中有大量可用的抗肿瘤药物,可通过联合药物化疗选择其用于癌症或其他肿瘤的治疗。这种抗肿瘤药物分为几个主要的类别,即抗生素型药、抗代谢药、激素剂、免疫剂、干扰素型药和各种各样的药物。或者,可以使用其它抗肿瘤药物(例如金属基蛋白酶抑制剂)。本领域技术人员将认知可用于联合疗法的合适的药物。合适的试剂列于例如默克索引(Merck Index),化学百科全书(An Encyclopedia of Chemicals),药物和生物制剂(Drugs and Biologicals),第12版编,1996。

[0166] 联合方案可以包括活性剂,其在每种情况下酌情一起、依次或间隔施用。包括本发明化合物的活性剂的组合可以是协同的。

[0167] 式(I)化合物的共同给药可以通过式(I)化合物与化疗剂或其他抗癌剂在相同单位剂量中实现,或式(I)化合物和化疗剂或其他抗癌剂可以单独和分散的单位剂量存在,在相同或相似的时间给药。顺序给药可以要求的任何顺序,并且当施用第二种或后来的化合物时,特别是在需要累积或协同效应的情况下,可能需要存在第一种或初始的化合物的持续的生理作用。

[0168] 对于各种应用,本发明的化合物可以用同位素、荧光或发光标记物、抗体或抗体片段、任何其他亲和标记(如纳米抗体、适体、肽等)、酶或酶底物进行标记。本发明的这些被标记的化合物用于在体内、离体、体外和原位(例如在组织切片中)通过放射自显影定位受体的位置,以及作为正电子发射断层扫描(PET)成像、单光子发射计算机断层扫描(SPECT)等的放射性示踪剂,以在活体或其他材料中表征那些受体。本发明的被标记的化合物可用于治疗、诊断和其它应用,例如体内和体外的研究工具,特别是本文公开的应用。

[0169] 应当理解,在本说明书中公开和定义的发明延伸到文本或附图中提到或显而易见的两个或更多个个别特征的所有替代组合。所有这些不同的组合构成了本发明的各种替代方面。

[0170] 现在将参考实施例来更详细地讨论本发明的实施方式,这些实施例仅为了举例并且不应以任何方式认为其限制本发明的范围。

[0171] 实施例

[0172] 所有化学药品均从Sigma-Aldrich(圣路易斯,密苏里州,美国)获得,除了购自Frontiers Scientific(洛根,犹他州,美国)的硼酸。使用CEM-Discover微波反应器(坎普-

林特福尔特,德国)进行微波照射。在BRUKER“Avance 300”300MHz NMR光谱仪(Bruker公司,比尔里卡,马萨诸塞州,美国)上获得 $^1\text{H}$ -NMR光谱。 $d_6$ -DMSO或 $\text{CDCl}_3$ 得自剑桥同位素实验室。在设有安捷伦1260无限二进制泵(Agilent 1260Infinity binary pump)和集成真空脱气机、自动进样器和二极管阵列检测器(安捷伦科技,圣克拉拉,加利福尼亚,美国)的安捷伦系列1200LC系统上进行高效液相色谱。使用40分钟内0至100%梯度的乙腈:水在安捷伦C18柱(粒径:5 $\mu\text{m}$ ,150 $\times$ 4.6mm内径)上以0.2mL/分的流速分析样品。使用安捷伦6120四极杆质谱仪分析洗脱样品。使用安捷伦OpenLAB色谱数据系统(CDS)化学工作站版(ChemStation Edition)用于数据采集和处理。

[0173] 从细胞信号技术(Cell Signaling Technology)公司(丹弗斯,马萨诸塞州,美国)获得针对Bcl-2、PARP(#95425)、第二抗兔(#7074)和抗小鼠(#7076)HRP连接的抗体的一抗。EGFR(#sc03)和GAPDH(#sc737179)抗体来自圣克鲁斯生物技术(Santa Cruz Biotechnology)公司(达拉斯,得克萨斯州,美国)。针对 $\beta$ -微管蛋白的抗体(#ab11308)购自艾博抗公司(Abcam)。Alexa488缀合的抗小鼠二抗和DAPI(4',6'-二氨基-2-苯基吲哚)来自生命科技公司(Life Technologies)。CMPD1(#sc-203138)获自圣克鲁斯生物技术(Santa Cruz Biotechnology)。紫杉醇和长春碱购自西格玛公司(Sigma)。

[0174] 合成

[0175] 化合物的制备另见方案1。

[0176] 4-(4-溴苯基)-4-氧代丁酸4

[0177] 将琥珀酸酐3(5.0g,50mmol)和溴苯2(48g,300mmol)冷却至0 $^{\circ}\text{C}$ 。加入氯化铝(13.3g,100mmol),混合物在0 $^{\circ}\text{C}$ ,氮气氛下搅拌4小时。使反应温热至室温,并在氮气氛下搅拌96小时。将反应冷却至0 $^{\circ}\text{C}$ ,加入浓HCl(125mL),并在氮气下再搅拌1小时。将反应物过滤并用水(1L)洗涤以得到浅黄色固体,将其从甲苯中重结晶得到4-(4-溴苯基)-4-氧代丁酸4(12g,46.68mmol,93.4%)。

[0178] MS(ESI-四极杆)m/z: $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{BrO}_3$ 计算:255.97,257.97;发现:258.0(11),257.0(98),256.0(12),255.0(100),213.0(18),211.0(17)(负离子)。

[0179] HPLC: $t_r$ =24.4分钟

[0180]  $^1\text{H}$  NMR(500MHz, $d_6$ -DMSO) $\delta$ :2.59(2H,t,J=6.5Hz, $\text{CH}_2$ ),3.21(2H,t,J=6.5Hz, $\text{CH}_2$ ),7.88(2H,d,J=8.8Hz,ArH),7.96(2H,d,J=8.8Hz,ArH),12.19(1H,br s,OH)。

[0181] 4-(4-溴苯基)丁酸5

[0182] 将锌(13.0g,200mmol)和氯化汞(1.00g,480mmol)与水(10mL)和浓HCl(0.6mL)一起搅拌5分钟。倾出液体,连续加入甲苯(20mL)、浓HCl(20mL)和水(8mL)。加入4-(4-溴苯基)-4-氧代丁酸4(2.55g,10.5mmol),在100 $^{\circ}\text{C}$ 加热回流24小时,每6小时加入HCl(1mL)。使反应冷却至室温,过滤并从有机层中除去溶剂,得到透明液体,冷却后得到白色晶体。用硅胶色谱(乙酸乙酯:己烷,1:3)纯化,得到4-(4-溴苯基)丁酸5(2.33g,9.63mmol,91.4%)。

[0183] MS(ESI-四极杆)m/z: $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{BrO}_2$ 计算:241.99,243.99;发现:244.0(10),243.0(98),242.0(11),241.0(100)(负离子)。

[0184] HPLC: $t_r$ =27.7分钟

[0185]  $^1\text{H}$  NMR(300MHz, $\text{CDCl}_3$ ) ( $\delta$ /ppm)7.40(2H,d,J=8.4Hz,ArH),7.06(2H,d,J=8.4Hz,ArH),2.63(2H,t,J=7.8Hz, $\text{CH}_2$ ),2.36(2H,t,J=7.2Hz, $\text{CH}_2$ ),1.97,(2H,dt,J=7.2,7.8Hz,

CH<sub>2</sub>), 未观测到OH。

[0186] 4-(4-溴苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺7(1-17)

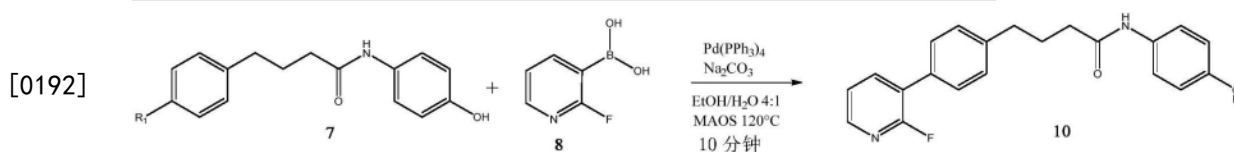
[0187] 将4-(4-溴苯基)丁酸4(0.5g, 2.07mmol)和六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基三吡咯烷基磷(PyBOP)(1.07g, 2.07mmol)溶于二甲基甲酰胺(10mL)中。加入二异丙基乙胺(710μL, 4.14mmol), 在0℃下搅拌反应30分钟。加入4-氨基苯酚6(0.269mg, 2.48mmol), 在室温下搅拌反应12小时。反应物用水(90mL)稀释, 并用二氯甲烷(3×50mL)萃取产物。除去溶剂, 产物通过硅胶色谱法(乙酸乙酯:己烷, 梯度35:65至60:40)纯化, 得到4-(4-溴苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺7, 为白色固体(350mg, 1.05mmol, 51%)。

[0188] MS(ESI-四极杆)m/z:C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>BrNO<sub>2</sub>计算:333.04, 335.04;发现:334.0(100), 335.0(18), 336.0(93), 337.0(17)。

[0189] HPLC:t<sub>r</sub>=28.2分钟

[0190] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, d<sub>6</sub>-DMSO)(δ/ppm)9.59(1H, br s, NH), 9.15(1H, br s, OH), 7.47(2H, d, J=8.1Hz, ArH), 7.33(2H, d, J=9.0Hz, ArH), 7.18(2H, d, J=8.4Hz, ArH), 6.67(2H, d, J=8.7Hz, ArH), 2.59(2H, t, J=7.8Hz, CH<sub>2</sub>), 2.24(2H, t, J=7.2Hz, CH<sub>2</sub>), 1.85(2H, dt, J=7.2, 7.8Hz, CH<sub>2</sub>)。

[0191] 4-(4-(2-氟吡啶-3-基)苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺10(1-18)



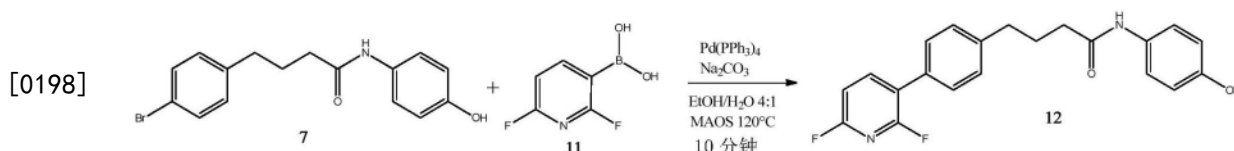
[0193] 将4-(4-溴苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺7(100mg, 0.3mmol)、(2-氟吡啶-3-基)硼酸8(50.9mg, 0.361mmol)、碳酸钠(63.8mg, 0.6mmol)和四(三苯基膦)钯(0)(17mg, 0.015mmol)溶于乙醇:水(4:1v/v, 2mL)中。将溶液用氮气吹扫, 并在密封管中在120℃下用微波照射(动力调节50W起始, 压力不受控制)加热10分钟。将反应冷却, 除去溶剂, 得到黄色固体。产物通过硅胶色谱法(乙酸乙酯:己烷, 梯度45:100至60:40)纯化, 得到4-(4-(2-氟吡啶-3-基)苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺10, 为灰白色固体(40mg, 0.11mmol, 38%)。

[0194] MS(ESI-四极杆)m/z:C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>计算:350.14;发现:351.2(100), 352.2(24)。

[0195] HPLC:t<sub>r</sub>=26.1分钟。

[0196] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, d<sub>6</sub>-DMSO)(δ/ppm)9.61(1H, br s, NH), 9.12(1H, br s, OH), 8.23(1H, d, J=2.4Hz, ArH), 8.09(1H, tt, J=8.4Hz, 2.4, ArH), 7.54(2H, d, J=8.4Hz, ArH), 7.47(4H, d, J=8.7Hz, ArH), 7.44(1H, d, J=4.2Hz, ArH), 6.68(2H, d, J=8.7Hz, ArH), 2.68(2H, t, J=7.8Hz, CH<sub>2</sub>), 2.30(2H, t, J=7.5Hz, CH<sub>2</sub>), 1.93(2H, dt, J=7.8, 7.5Hz, CH<sub>2</sub>)。

[0197] 4-(4-(2,6-二氟吡啶-3-基)苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺12(1-22)



[0199] 将4-(4-溴苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺7(100mg, 0.3mmol)、(2,6-二氟吡啶-3-基)硼酸11(50.9mg, 0.36mmol)、碳酸钠(63.8mg, 0.6mmol)和四(三苯基膦)钯(0)(17mg, 0.015mmol)溶于乙醇:水(4:1v/v, 2mL)中。将溶液用氮气吹扫, 并在密封管中在120℃下用

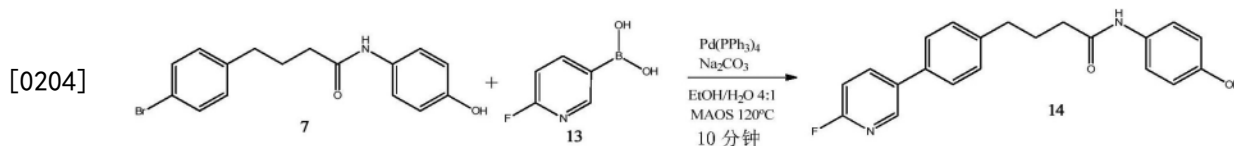
微波照射(动力调节50W起始,压力不受控制)加热10分钟。将反应冷却,除去溶剂,得到黄色固体。产物通过硅胶色谱法(乙酸乙酯:己烷,梯度25:100至50:50)纯化,得到4-(4-(2,6-二氟吡啶-3-基)苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺12,为灰白色固体(30mg,0.08mmol,27%)。

[0200] MS(ESI-四极杆)m/z: $C_{21}H_{18}F_2N_2O_2$ 计算:368.13;发现:369.1(100),370.1(23)。

[0201] HPLC: $t_r$ =28.6分钟。

[0202]  $^1H$  NMR(300MHz, $d_6$ -DMSO) ( $\delta$ /ppm) 9.62(1H,br s,NH),9.17(1H,br s,OH),8.29(1H,dt,J=7.5,5.0Hz,ArH),7.52(2H,d,J=6.6Hz,ArH),7.35(4H,m,ArH),7.27(1H,dd,J=8.4,2.7Hz,ArH),6.67(2H,d,J=9Hz,ArH),2.67(2H,t,J=7.8Hz, $CH_2$ ),2.29(2H,t,J=7.5Hz, $CH_2$ ),1.91(2H,dt,J=7.8,7.5Hz, $CH_2$ )。

[0203] 4-(4-(6-氟吡啶-3-基)苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺14(1-21)



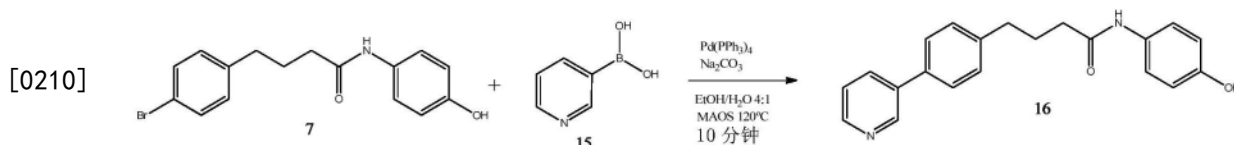
[0205] 将4-(4-溴苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺7(100mg,0.299mmol)、(6-氟吡啶-3-基)硼酸13(50.96mg,0.359mmol)、碳酸钠(63.8mg,0.600mmol)和四(三苯基膦)钯(0)(17mg,0.015mmol)溶于乙醇:水(4:1v/v,2mL)中。将溶液用氮气吹扫,并在密封管中在120°C下用微波照射(动力调节50W起始,压力不受控制)加热10分钟。将反应冷却,除去溶剂,得到黄色固体。产物通过硅胶色谱法(乙酸乙酯:己烷,梯度25:100至50:50)纯化,得到4-(4-(6-氟吡啶-3-基)苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺14,为灰白色固体(30mg,0.09mmol,29%)。

[0206] MS(ESI-四极杆)m/z: $C_{21}H_{19}FN_2O_2$ 计算:350.14;发现:351.1(100),352.1(23)。

[0207] HPLC: $t_r$ =26.8分钟。

[0208]  $^1H$  NMR(300MHz, $d_6$ -DMSO) ( $\delta$ /ppm) 9.61(1H,br s,NH),9.16(1H,br s,OH),8.52(1H,d,J=2.4Hz,ArH),8.25(1H,tt,J=8.4Hz,2.4,ArH),7.64(2H,d,J=8.4Hz,ArH),7.34(4H,d,J=8.7Hz,ArH),7.26(1H,dd,J=4.2,3.0Hz,ArH),6.66(2H,d,J=8.7Hz,ArH),2.66(2H,t,J=7.8Hz, $CH_2$ ),2.28(2H,t,J=7.5Hz, $CH_2$ ),1.90(2H,dt,J=7.8,7.5Hz, $CH_2$ )。

[0209] N-(4-羟基苯基)-4-(4-(吡啶-3-基)苯基)丁酰胺16(1-38)



[0211] 将4-(4-溴苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺7(100mg,0.3mmol)、吡啶-3-基硼酸15(67.1mg,0.36mmol)、碳酸钠(63.8mg,0.6mmol)和四(三苯基膦)钯(0)(17mg,0.015mmol)溶于乙醇:水(4:1v/v,2mL)中。将溶液用氮气吹扫,并在密封管中在120°C下用微波照射(动力调节50W起始,压力不受控制)加热10分钟。将反应冷却,除去溶剂,得到黄色固体。产物通过硅胶色谱法(乙酸乙酯:己烷,梯度25:100至50:50)纯化,得到N-(4-羟基苯基)-4-(4-(吡啶-3-基)苯基)丁酰胺16,为灰白色固体(40mg,0.11mmol,35%)。

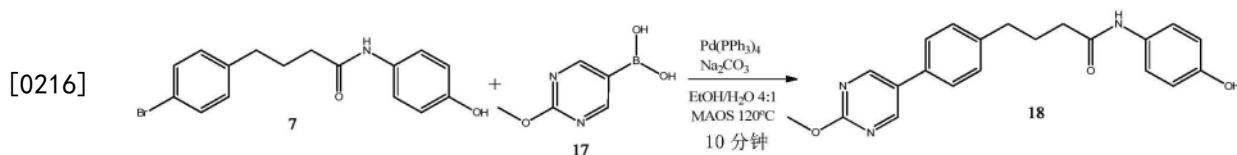
[0212] MS(ESI-四极杆)m/z: $C_{21}H_{20}N_2O_2$ 计算:332.15;发现:333.2(100),334.1(23)。

[0213] HPLC: $t_r$ =17.3分钟。

[0214]  $^1H$  NMR(300MHz, $d_6$ -DMSO) ( $\delta$ /ppm) 9.62(1H,br s,NH),9.16(1H,br s,OH),8.88

(1H, s, ArH) , 8.55 (1H, d, J=4.5Hz, ArH) , 8.05 (1H, d, J=7.8Hz, ArH) , 7.66 (2H, d, J=7.8Hz, ArH) , 7.48 (1H, q, J=4.8Hz, ArH) , 7.35 (4H, d, J=8.4Hz, ArH) , 6.67 (2H, d, J=8.7) , 2.68 (2H, t, J=6.9Hz, CH<sub>2</sub>) , 2.29 (2H, t, J=7.5Hz, CH<sub>2</sub>) , 1.92 (2H, dt, J=6.9, 7.5Hz, CH<sub>2</sub>) 。

[0215] N-(4-羟基苯基)-4-(4-(2-甲氧基嘧啶-5-基)苯基)丁酰胺18(1-19)

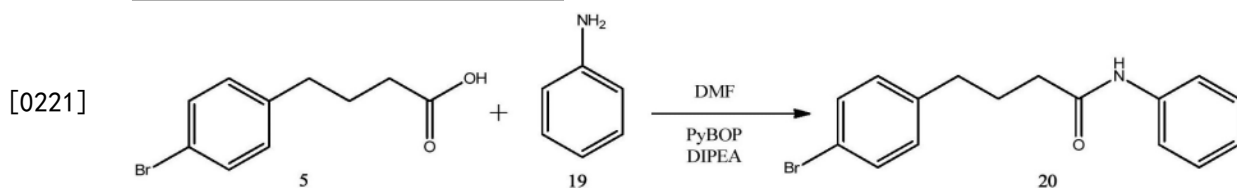


[0217] 将4-(4-溴苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺7(100mg, 0.299mmol)、(2-甲氧基嘧啶-5-基)硼酸17(55.25mg, 0.359mmol)、碳酸钠(63.8mg, 0.600mmol)和四(三苯基膦)钯(17mg, 0.015mmol)溶于乙醇:水(4:1v/v, 2mL)中。将溶液用氮气吹扫,并在密封管中在120℃下用微波照射(动力调节50W起始,压力不受控制)加热10分钟。反应通过薄层色谱法确定具有低转化率,因此用如前所述微波照射再加热20分钟。除去溶剂,产物通过硅胶色谱法(乙酸乙酯:己烷,梯度25:100至50:50)纯化,得到4-(4-(6-氟吡啶-3-基)苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺18,为灰白色固体(3mg, 0.08mmol, 3%)。

[0218] MS(ESI-四极杆)m/z:C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>计算:363.16;发现:364.2(100), 365.2(24)。

[0219] HPLC:t<sub>r</sub>=24.3分钟。

[0220] 4-(4-溴苯基)-N-苯基丁酰胺20



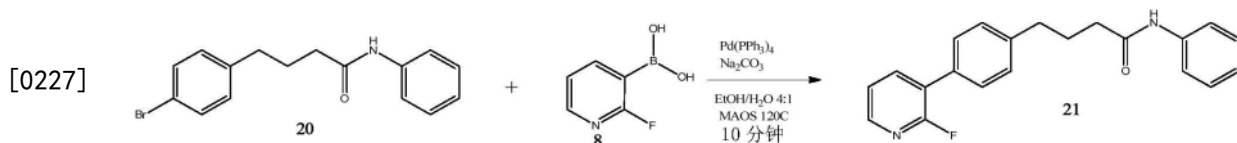
[0222] 将4-(4-溴苯基)丁酸5(0.5g, 2mmol)和六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基三吡咯烷基磷(PyBOP)(1.07g, 2.07mmol)溶于二甲基甲酰胺(10mL)中。加入二异丙基乙胺(710μL, 4.14mmol),在0℃下搅拌反应30分钟。加入苯胺19(225.0μL, 2.47mmol),将反应物在室温下搅拌12小时。然后将反应物用水(90mL)稀释,产物用二氯甲烷(3×50mL)萃取。除去溶剂,产物通过硅胶色谱法(乙酸乙酯:己烷,梯度20:80至40:60)纯化,得到4-(4-溴苯基)-N-苯基丁酰胺20,为白色固体(500mg, 1.57mmol, 76%)。

[0223] MS(ESI-四极杆)m/z:C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>BrNO计算:317.04, 319.04;发现:318.1(100), 319.1(19), 320.1(96), 321.1(17), 340.0(33), 341.0(6), 342.0(33), 343.0(5)。

[0224] HPLC:t<sub>r</sub>=35.7分钟。

[0225] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, d<sub>6</sub>-DMSO)(δ/ppm)9.85(1H, br s, NH), 7.57(2H, d, J=7.5Hz, ArH), 7.46(2H, d, J=8.4Hz, ArH), 7.27(2H, t, J=8.1Hz, ArH), 7.18(2H, d, J=8.4Hz, ArH), 7.01(1H, t, J=7.2Hz, ArH), 2.60(2H, t, J=7.2Hz, CH<sub>2</sub>), 2.30, (2H, t, J=7.5Hz, CH<sub>2</sub>), 1.87(2H, dt, J=7.2, 7.5Hz, CH<sub>2</sub>)。

[0226] 4-(4-(2-氟吡啶-3-基)苯基)-N-苯基丁酰胺21(1-20)



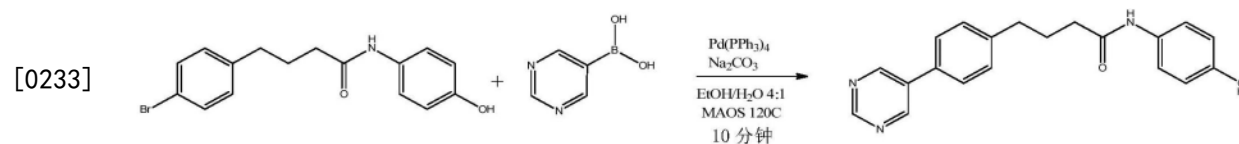
[0228] 将4-(4-溴苯基)-N-苯基丁酰胺20 (100mg, 0.314mmol)、(2-氟吡啶-3-基)硼酸8 (52.8mg, 0.377mmol)、碳酸钠 (66.7mg, 0.628mmol) 和四(三苯基膦)钯(0) (17mg, 0.015mmol) 溶于乙醇:水(4:1v/v, 2mL)中。将溶液用氮气吹扫,并在密封管中在120°C下用微波照射(动力调节50W起始,压力不受控制)加热10分钟。将反应冷却,除去溶剂,得到黄色固体。产物通过硅胶色谱法(乙酸乙酯:己烷,梯度30:100至60:40)纯化,得到4-(4-(2-氟吡啶-3-基)苯基)-N-苯基丁酰胺21,为黄色固体(30mg, 0.11mmol, 38%)。

[0229] MS (ESI-四极杆) m/z: C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>FN<sub>2</sub>O: 334.15; 发现335.2(100), 336.2(23), 357.2(14)。

[0230] HPLC: t<sub>r</sub> = 31.1分钟。

[0231] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) (δ/ppm) 9.85 (1H, br s, NH), 8.22 (1H, d, J=4.8Hz, ArH), 8.09 (1H, ddd, J=10.2, 4.8, 1.8Hz, ArH), 7.56 (4H, m, ArH), 7.36 (2H, d, J=8.4Hz, ArH), 7.28 (2H, t, J=8.4Hz, ArH), 7.01 (1H, t, J=7.2Hz, ArH), 2.68 (2H, t, J=7.5Hz, CH<sub>2</sub>), 2.35 (2H, t, J=7.5Hz, CH<sub>2</sub>), 1.94 (2H, q, J=7.5, 7.5Hz, CH<sub>2</sub>)。

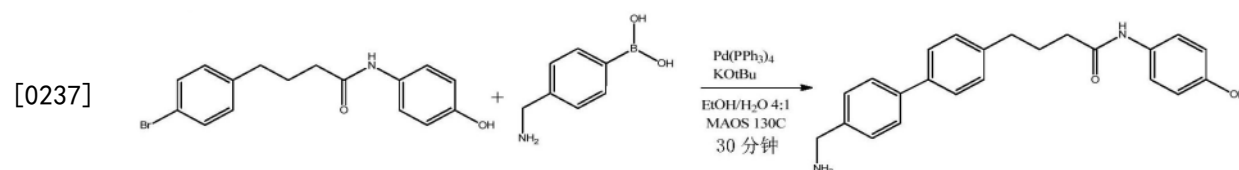
[0232] N-(4-羟基苯基)-4-(4-(嘧啶-5-基)苯基)丁酰胺 (1-01)



[0234] 将4-(4-溴苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺(100mg, 0.3mmol)、嘧啶-5-基硼酸(44.8mg, 0.361mmol)、碳酸钠(64mg, 0.6mmol)和四(三苯基膦)钯(0)(21mg, 0.018mmol)溶于乙醇:水(4:1v/v, 2mL)中。将溶液用氮气吹扫,并在密封管中在120°C下用微波照射(动力调节50W起始,压力不受控制)加热10分钟。将反应冷却,除去溶剂,得到黄色固体。产物通过硅胶色谱法(乙酸乙酯:己烷,梯度35:75至85:15)纯化,得到N-(4-羟基苯基)-4-(4-(嘧啶-5-基)苯基)丁酰胺,为灰白色固体(20mg, 0.06mmol, 20%)。

[0235] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) (δ/ppm) 9.61 (1H, br s, NH), 9.16 (1H, br s, OH), 9.13 (3H, m, ArH), 7.74 (2H, d, J=8.1Hz, ArH), 7.38 (4H, m, ArH), 6.66 (2H, d, J=8.7Hz, ArH), 2.68 (2H, t, J=7.2Hz, CH<sub>2</sub>), 2.29 (2H, t, J=7.2Hz, CH<sub>2</sub>), 1.92 (2H, m, CH<sub>2</sub>)。

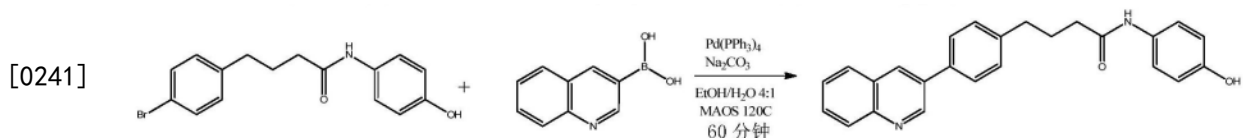
[0236] 4-(4'-(氨基甲基)-[1,1'-联苯]-4-基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺 (1-07)



[0238] 将4-(4-溴苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺(101mg, 0.3mmol)、4-(氨基甲基)苯基硼酸(71mg, 0.38mmol)、叔丁醇钾(75mg, 0.45mmol)和四(三苯基膦)钯(0)(27mg, 0.02mmol)溶于乙醇:水(4:1v/v, 2mL)中。将溶液用氮气吹扫,并在密封管中在130°C下用微波照射(动力调节50W起始,压力不受控制)加热30分钟。将反应冷却,除去溶剂,得到黄色固体。产物通过硅胶色谱法(甲醇:二氯甲烷,梯度5:95至15:85)纯化,得到4-(4'-(氨基甲基)-[1,1'-联苯]-4-基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺,为灰白色固体(30mg, 0.08mmol, 30%)。

[0239] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) (δ/ppm) 9.62 (1H, br s, OH), 7.57 (4H, m, ArH), 7.34 (6H, m, ArH), 6.67 (2H, d, J=8.7Hz, ArH), 3.75 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 2.64 (2H, t, J=7.5Hz, CH<sub>2</sub>), 2.28 (2H, t, J=7.5Hz, CH<sub>2</sub>), 1.896 (2H, m, CH<sub>2</sub>)。

[0240] N-(4-羟基苯基)-4-(4-(喹啉-3-基)苯基)丁酰胺(1-08)



[0242] 将4-(4-溴苯基)-N-(4-羟基苯基)丁酰胺(105mg,0.31mmol)、喹啉-3-基硼酸(65mg,0.38mmol)、碳酸钠(55mg,0.52mmol)和四(三苯基膦)钯(0)(21mg,0.018mmol)溶于乙醇:水(4:1v/v,2mL)中。将溶液用氮气吹扫,并在密封管中在120℃下用微波照射(动力调节50W起始,压力不受控制)加热60分钟。将反应冷却,除去溶剂,得到黄色固体。产物通过快速硅胶色谱(乙酸乙酯:己烷,60分钟内梯度0:100至100:0)纯化,得到N-(4-羟基苯基)-4-(4-(喹啉-3-基)苯基)丁酰胺,为灰白色固体(30mg,0.08mmol,25%)。

[0243]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $d_6$ -DMSO) ( $\delta$ /ppm) 9.61(1H, br s, NH), 9.25(1H, s, ArH), 9.11(1H, br s, OH), 8.62(1H, s, ArH), 8.05(2H, d,  $J=8.4\text{Hz}$ , ArH), 7.82(2H, d,  $J=8.4\text{Hz}$ , ArH), 7.77(1H, t,  $J=8.0\text{Hz}$ , ArH), 7.61(1H, m, ArH), 7.38(4H, m, ArH), 6.67(2H, d,  $J=8.8\text{Hz}$ , ArH), 2.70(2H, t,  $J=7.6\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_2$ ), 2.31(2H, t,  $J=7.6\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_2$ ), 1.95(2H, m,  $\text{CH}_2$ )。

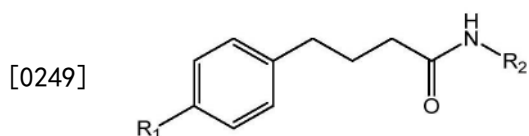
[0244] 生物学评价


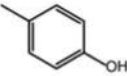
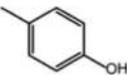

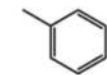

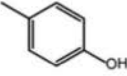

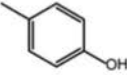

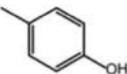

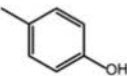

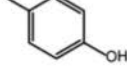

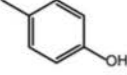

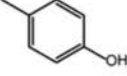

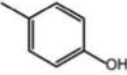
[0245] U87和U251细胞系通过澳大利亚细胞银行(CellBank)从欧洲细胞株/微生物保藏中心(European Collection of Cell Cultures)(ECACC)获得。从其原籍实验室获得U87-EGFRvIII细胞系(Nishikawa等人,1994,Proc Natl Acad Sci USA 91:7727-7731),并通过免疫印迹和流式细胞术检测EGFR扩增和突变。细胞在37℃和5% $\text{CO}_2$ 下在补充有10%FBS(西格玛-奥德里奇)的DMEM培养基(生命科技公司的英杰生命技术有限公司(Invitrogen by Life Technologies),卡尔斯巴德,加利福尼亚,美国)中培养。原发性的神经胶质瘤球(RN1,经典的;WK1,间充质的)衍生自成胶质细胞瘤样本(Day等,2013,癌症5:357-371;Day等人,2013,癌细胞23:238-248),保持在补充有EGF和FGF(均为生命科技公司)的StemPro NSC无血清培养基中,并在基质胶包被的烧瓶上生长(Pollard等人,2009,细胞干细胞(Cell Stem Cell)4:568-580)。

[0246] 本发明化合物的 $\text{EC}_{50}$ 值。

[0247] 在处理72小时后使用阿尔玛蓝(Alamar blue)测定法确定细胞活力(表2)。在Graph Pad Prism版本5上使用非线性回归计算 $\text{EC}_{50}$ 值。使用ChemBioDraw软件计算 $\text{cLogP}$ 值。结果是一式三份的三次独立实验的平均值 $\pm$ SEM。

[0248] 表2. 本发明化合物的 $\text{EC}_{50}$ 值



化合物	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	c LogP	EC <sub>50</sub> ± SEM (μM)		
				U87	U87vIII	U251
SC-38			5.0	0.38 ± 0.1	0.68 ± 0.1	0.43 ± 0.1
SB-1-17	Br—		3.8	>10	>10	>10
SB-1-20			4.3	6.6 ± 0.9	>10	4.6 ± 0.4
SB-1-18			3.6	1.4 ± 0.2	1.7 ± 0.1	1.6 ± 0.2
SB-1-21			4.3	4.8 ± 1.2	>10	>10
SB-1-22			3.7	2.9 ± 0.9	3.4 ± 0.4	1.65 ± 0.1
SB-1-38			3.4	4.6 ± 0.8	4.3 ± 0.3	1.2 ± 0.1
AD-1-01			2.4	>10	>10	>10
SB-1-19			3.3	>10	>10	>10
AD-1-07			3.8	1.8 ± 0.3	3.1 ± 1.0	1.5 ± 0.3
AD-1-08			4.7	0.65 ± 0.3	1.3 ± 0.4	0.98 ± 0.2

[0251] 进一步分析

[0252] 如图1所示,SC-38降低了神经胶质瘤细胞系的活力,并且是选择性细胞毒性的。用SC-38 (10nM-10μM) 处理细胞72小时。将细胞进行活力测试(左,阿尔玛蓝活力测定,英杰公司)和收获的上清液用于生物发光细胞毒性分析(右,ToxiLight™生物测定试剂盒,龙沙集团(Lonza))。

[0253] 如图2所示,SC-38对恶性细胞是选择性有毒的。细胞用SC-38 (1μM) 处理72小时,并进行活力测定(阿尔玛蓝,MTT或PI染色)以确定恶性(U87,原发性的神经胶质瘤)和非恶性

(小神经胶质细胞,神经元,星形胶质细胞,巨噬细胞)细胞的活力。

[0254] 如图3所示,化合物1-18容易穿过BBB。BALB/c小鼠腹腔内注射测试的抑制剂(10mg/kg),并在30分钟和60分钟收集脑。使用脑匀浆物进行固相萃取,并用HPLC测定测试化合物的量。拉帕替尼(Lapatinib)数据来自Polli, J.W.等人,“外排和吸收转运蛋白在N-{3-氯-4-[(3-氟苄基)氧基]苯基}-6-[5-({[2-(甲基磺酰基)乙基]氨基}甲基)-2-呋喃基]-4-喹唑啉胺(GW572016,拉帕替尼)处方和药物相互作用中的作用(The Role of Efflux and Uptake Transporters in N-{3-Chloro-4-[(3-fluorobenzyl)oxy]phenyl}-6-[5-({[2-(methylsulfonyl)ethyl]amino}methyl)-2-furyl]-4-quinazolinamine(GW572016,Lapatinib)Disposition and Drug Interactions)”,药物代谢与处置(Drug Metabolism and Disposition)36,695-701(2008)。

[0255] 如图4所示,SC-38诱导U87和U87vIII细胞凋亡。U87(图4,A-B)和U87vIII(图4,C-D)细胞用SC-38处理48小时,并用Annexin-FITC/7-AAD染色。使用MUSE细胞分析仪(密理博公司)显现凋亡细胞。结果是3次独立实验的平均值±SEM。先后使用单因素方差分析和Dunnet后测试计算统计显著性(\*\*P<0.01,\*\*\*P<0.001)。

[0256] 还进行了用SC-38处理后的U87和U87vIII细胞中PARP切割的蛋白质印迹分析(参见图5)。U87(泳道1-3)和U87vIII(泳道4-6)细胞用1和5 $\mu$ M的SC-38处理48小时。显示3个独立实验的代表性印迹(图5A)。GAPDH用作加载对照。量化PARP切割并将其对GAPDH进行归一化(表示为倍数变化),参见图5B。结果是来自3个独立实验的平均值±SEM。先后使用单因素方差分析和Dunnet后测试确定统计显著性(\*P<0.05,\*\*\*P<0.001,\*\*\*\*P<0.0001)。

[0257] 如图6所示,化合物1-08在U87和U87vIII细胞中诱导细胞凋亡。用化合物1-08处理U87(图6,A-B)和U87vIII(图6,C-D)细胞48小时,并用Annexin-FITC/7-AAD染色。使用MUSE细胞分析仪(密理博公司)显现凋亡细胞。结果是来自三个独立实验的平均值±SEM。先后使用单因素方差分析和Dunnet后测试计算统计显著性(\*\*\*P<0.001)。

[0258] 化合物1-08处理U87和U87vIII细胞后,还进行了细胞中PARP切割的蛋白质印迹分析(图7)。U87(泳道1-3)和U87vIII(泳道4-6)细胞用1和5 $\mu$ M化合物1-08处理48小时。显示3个独立实验的代表性印迹(参见图7A)。GAPDH用作加载对照。量化PARP切割并将其对GAPDH进行归一化(表示为倍数变化),参见图7B。结果是来自3个独立实验的平均值±SEM。先后使用单因素方差分析和Dunnet后测试确定统计显著性(\*P<0.05,\*\*\*P<0.0001)。

[0259] 还测试了在U87、U87vIII和U251中SC-38处理对Bcl-2家族蛋白的影响(参见图8)。用SC-38(1和5 $\mu$ M)处理U87(泳道1-3)、U87vIII(泳道4-6)和U251(泳道7-9)细胞24小时,并进行蛋白质印迹分析,其中使用GAPDH作为加载对照。代表性印迹示于图8A,并且对GAPDH的量化归一化示于图8B-E中,显示为倍数变化。结果是来自三次独立实验的平均值±SEM,且使用不配对t-检验(unpaired t-test)确定统计显著性(\*P<0.05,\*\*P<0.01,\*\*\*P<0.0001)。

[0260] 还研究了在U87、U87vIII和U251中化合物1-08处理对Bcl-2家族蛋白的影响(参见图9)。用化合物1-08(1和5 $\mu$ M)处理U87(泳道1-3)、U87vIII(泳道4-6)和U251(泳道7-9)细胞24小时,并进行蛋白质印迹分析,其中GAPDH用作加载对照。代表性印迹示于图9A,且量化示于图9B-E,显示为相对蛋白质表达。结果为来自2次独立实验的平均值±SEM,且使用未配对t-检验确定统计显著性(\*P<0.05,\*\*P<0.01)。

[0261] 化合物1-08在10和50 $\mu$ M下的激酶分布由ProQinase公司(弗里堡,德国)进行。使用放射蛋白激酶测定(<sup>33</sup>PanQinase<sup>®</sup>活性测定)和非放射ADP-Glo<sup>™</sup>测定(普洛麦格公司(Promega),麦迪逊,威斯康辛,美国)分别测量387个蛋白激酶和13个脂质激酶的激酶活性。结果显示在表3中(仅列出前10个激酶,且在所有测试的激酶中选择性评分描述抑制超过50%的激酶的部分)。

[0262] 表3. 化合物1-08的激酶组结果

激酶	在化合物 13 存在下的 残余活性 (%)	
	10 $\mu$ M	50 $\mu$ M
ALK	76	21
BRK	74	29
CSK	89	21
[0263] EPHB1	57	20
IGF1R	73	15
LYN	87	21
MERK	49	12
RON	84	18
SRC	57	21
ZAP90	60	14
<b>选择性评分</b>	<b>0.003</b>	<b>0.203</b>

[0264] 在10 $\mu$ M时,化合物1-08以51%的水平抑制MERTK。其他几种激酶在50 $\mu$ M浓度下被抑制。

[0265] 还研究了化合物1-08对微管蛋白聚合和有丝分裂纺锤体形成的影响。根据制造商的说明书,使用微管蛋白聚合测定试剂盒(Cytoskeleton公司,科罗拉多州,美国),在55 $\mu$ L的最终体积中进行基于荧光的微管蛋白聚合测定。在37 $^{\circ}$ C下将猪脑微管蛋白与测试化合物(紫杉醇、长春碱和化合物1-08)一起温育,并使用FLUOstar Omega酶标仪(BMG Labtech公司,奥尔滕贝格,德国;在355nm激发和在460nm发射)测量荧光。与对照相比,紫杉醇增强微管蛋白聚合,而长春碱和化合物1-08以剂量依赖性方式抑制微管蛋白聚合(图10A)。为了测试化合物1-08是否在体内改变微管,用化合物1-08处理U87成胶质细胞瘤细胞,并通过 $\beta$ -微管蛋白的免疫荧光染色测定对微管的影响。化合物1-08(1和5 $\mu$ M)对U87细胞的处理导致微管的分解(图10B)和多核细胞数量的剂量依赖性增加(图10B和10C)。由化合物13诱导的微管解聚的结果是扰乱纺锤体组装(图10D)。在经历有丝分裂的未经处理的U87细胞中,微管组装成双极纺锤体(对照图)。然而,化合物1-08的处理导致有缺陷的纺锤体形成和染色体错位。这些结果表明化合物1-08是破坏有丝分裂纺锤体形成并引起多核细胞形成的微管

蛋白解聚剂。

[0266] 还研究了SC-38和化合物1-08、1-18和1-38在采用取自患者的神经胶质瘤球的细胞活力测定中的作用。代表经典亚型的成胶质细胞瘤的RN1神经胶质瘤球对治疗反应最为敏感(图11,其中SC-38被称为“CMPD1”,化合物1-08被称为“化合物13”,化合物1-18被称为“化合物7”,和化合物1-38被称为“化合物10”)。SC-38和化合物1-08减弱RN1神经胶质瘤球的活力, $EC_{50}$ 分别为0.26和0.54 $\mu$ M(图11A)。SC-38也有效地减弱间充质WK1神经胶质瘤球的生长( $EC_{50}$ =0.91 $\mu$ M,图11B)。在间充质神经胶质瘤球中,当与化合物1-08( $EC_{50}$ =3.82 $\mu$ M)相比时,化合物1-18更有效( $EC_{50}$ =2 $\mu$ M)。

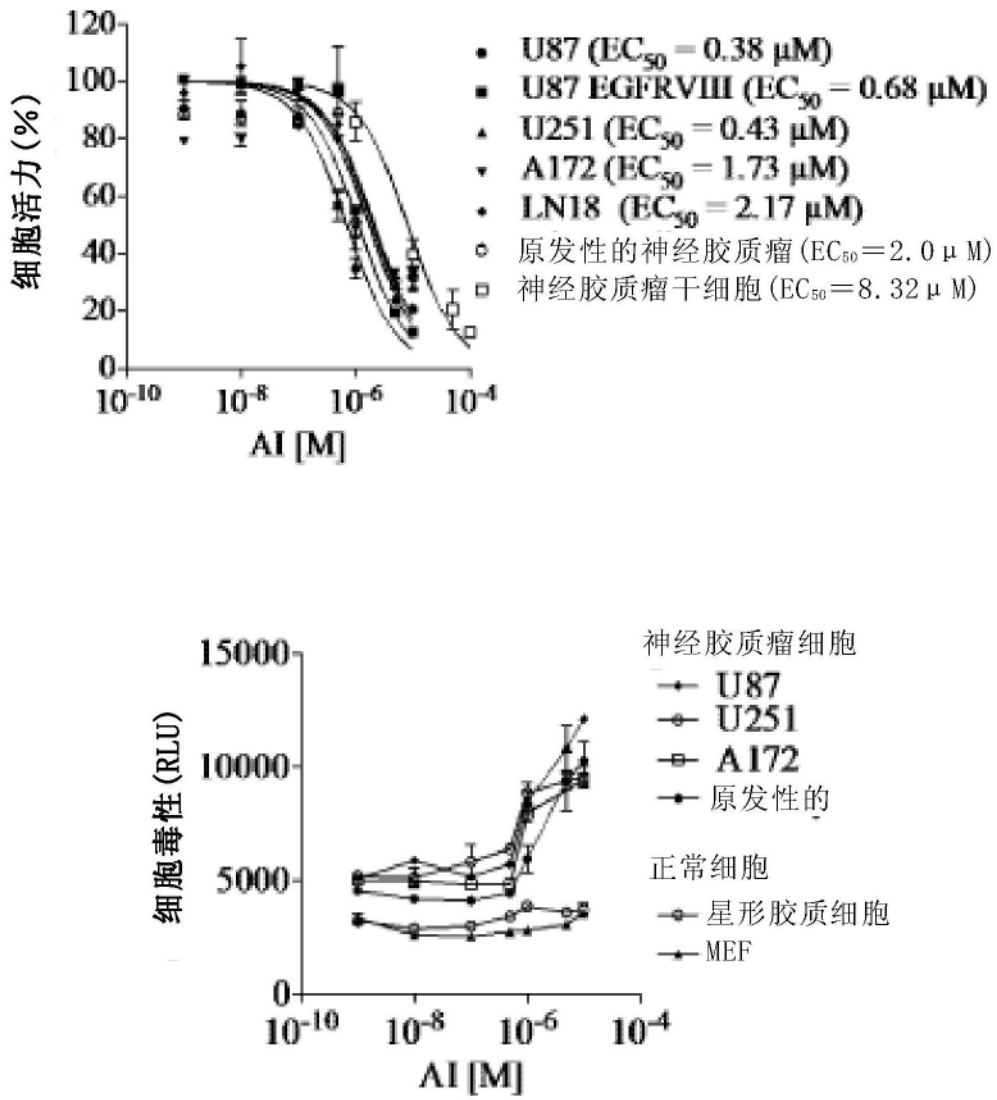


图1

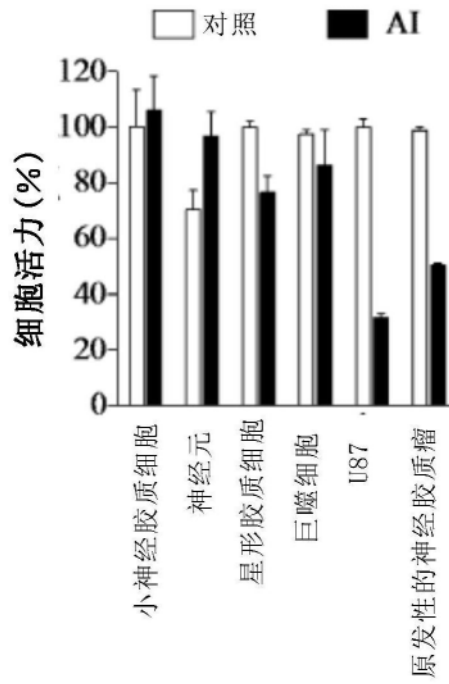


图2

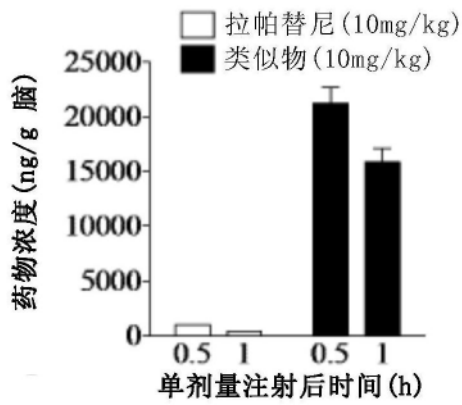


图3

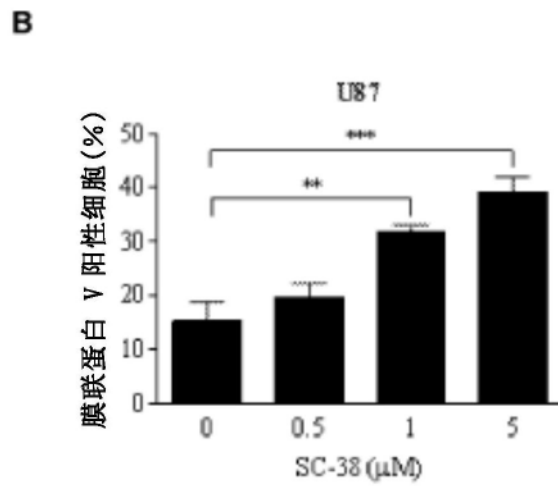
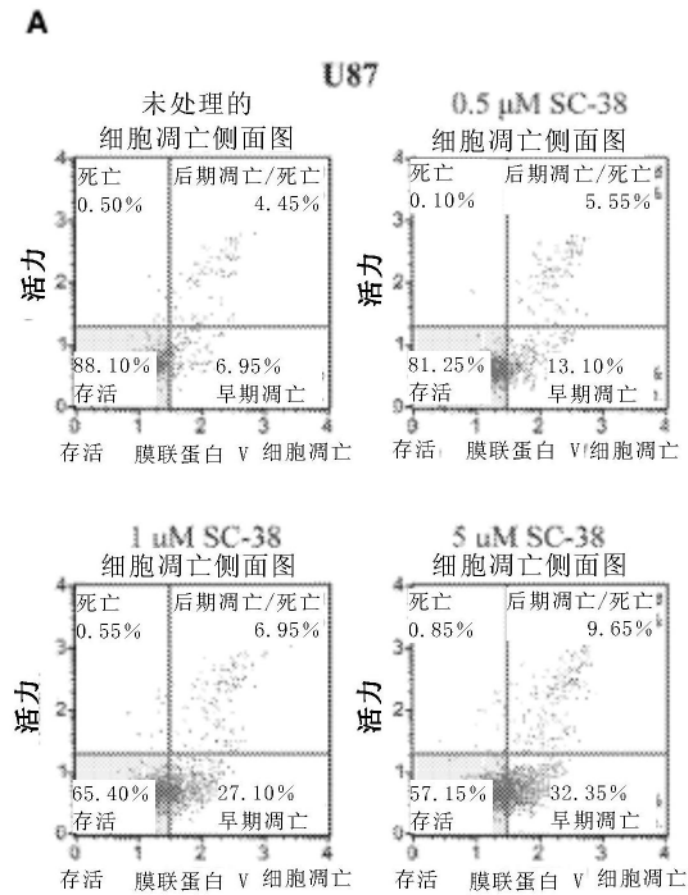


图4

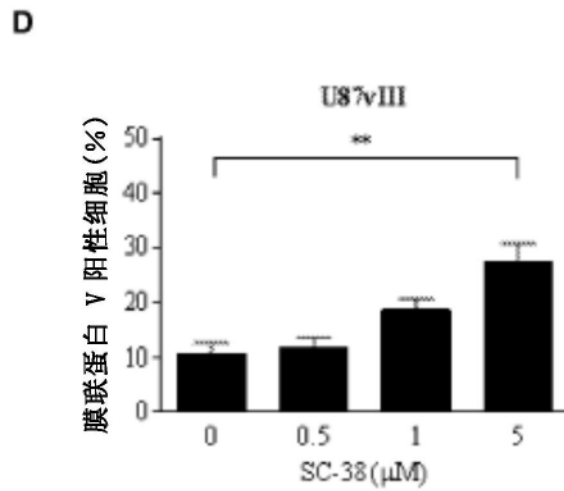
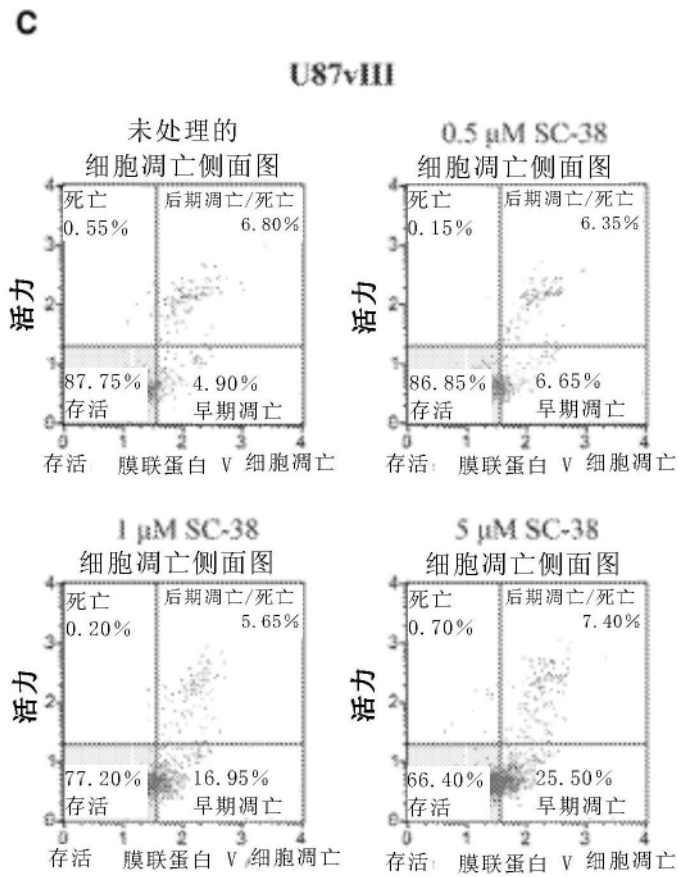


图4续

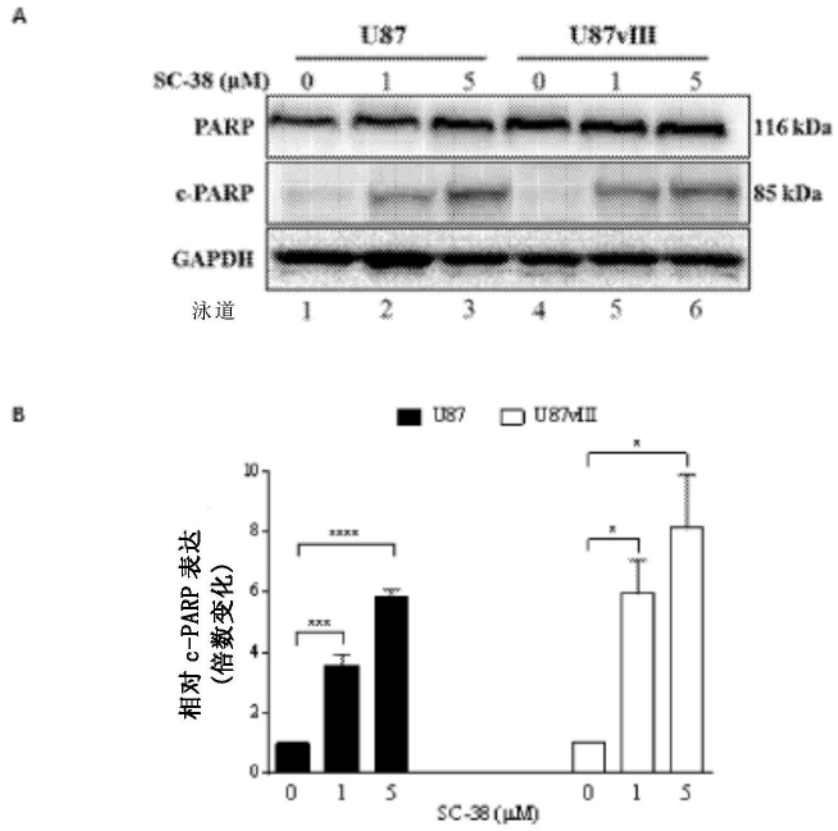


图5

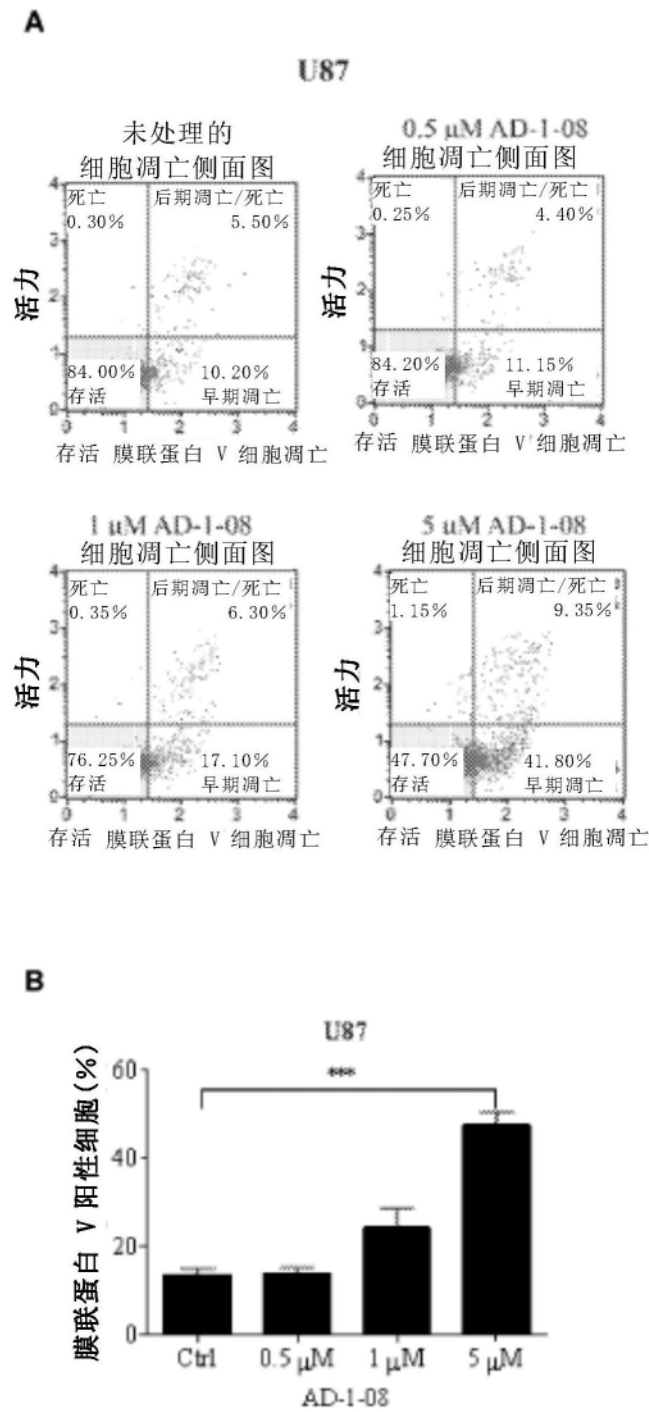


图6

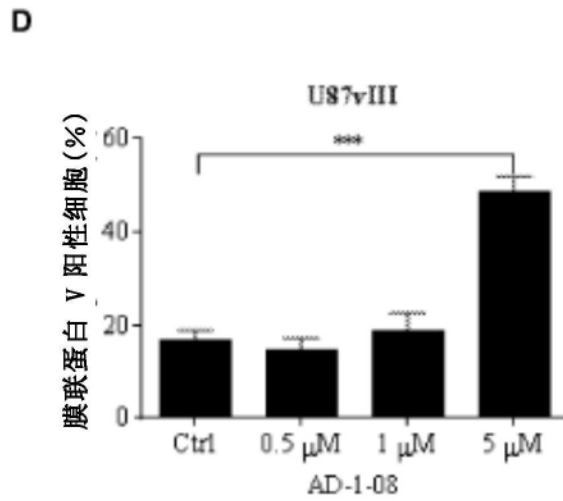
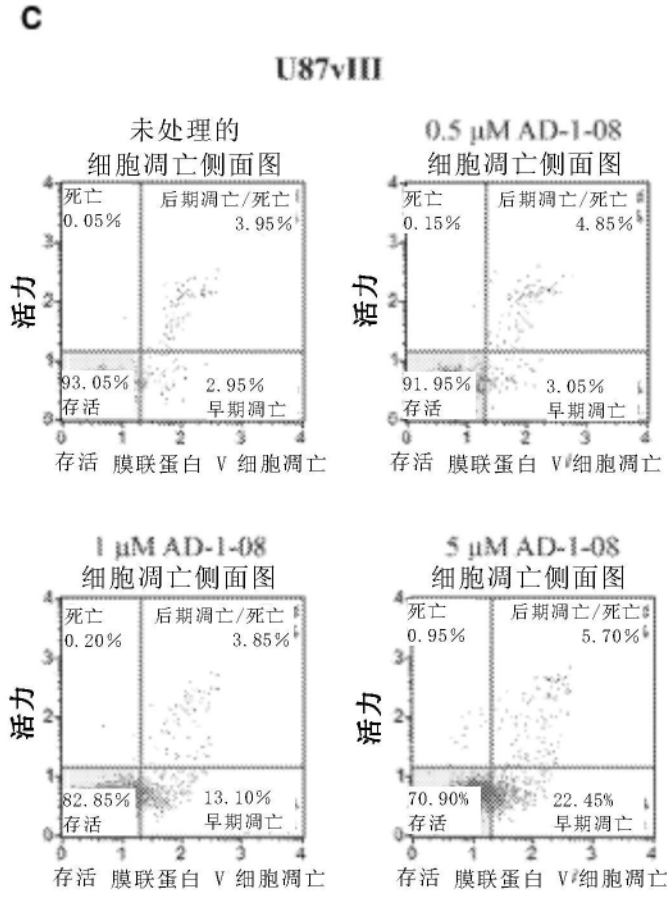


图6续

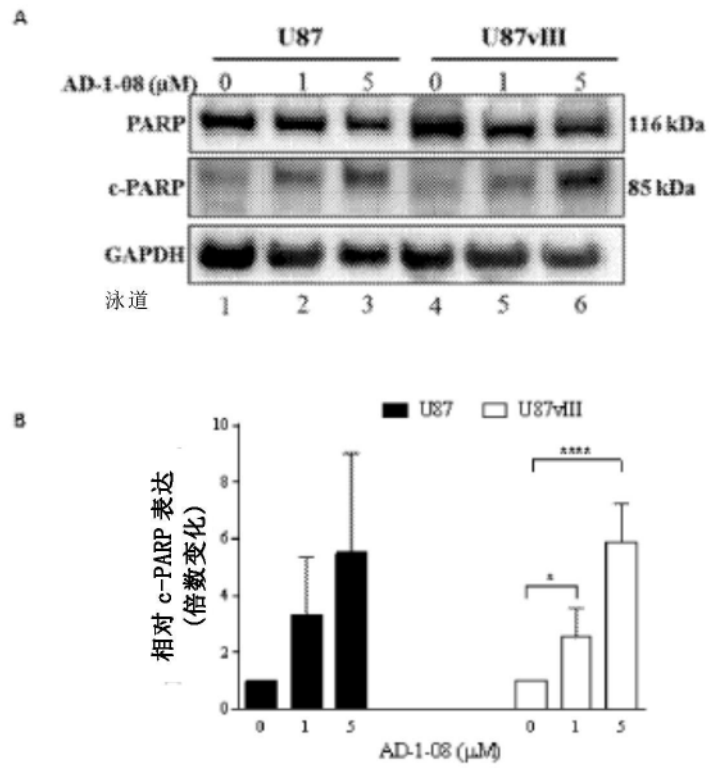


图7

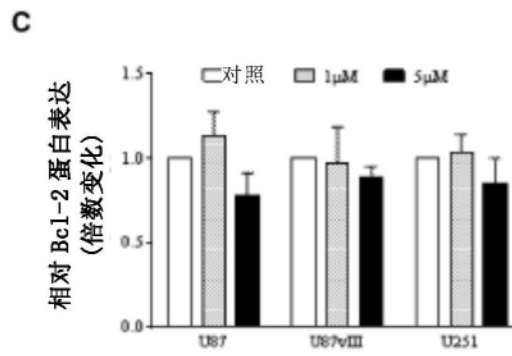
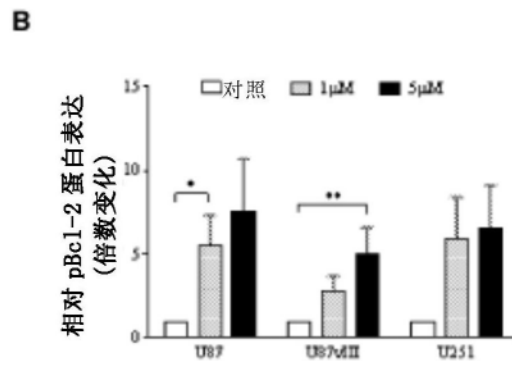
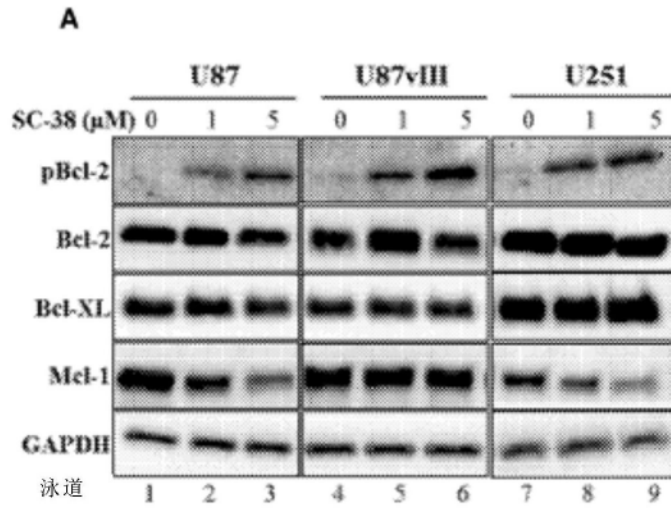
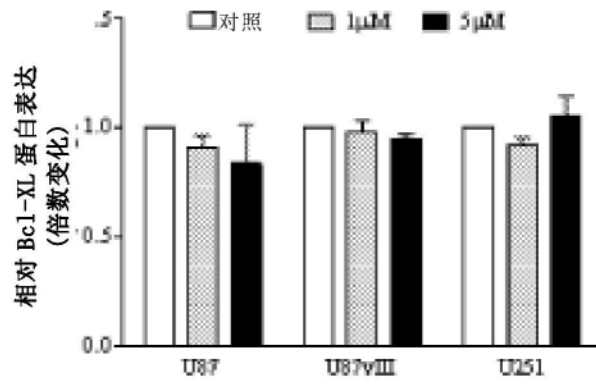


图8

D



E

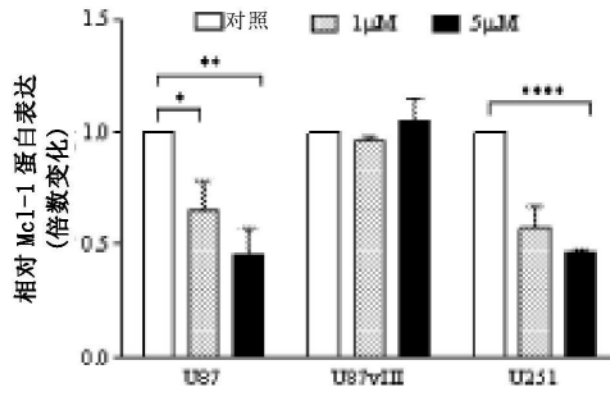


图8续

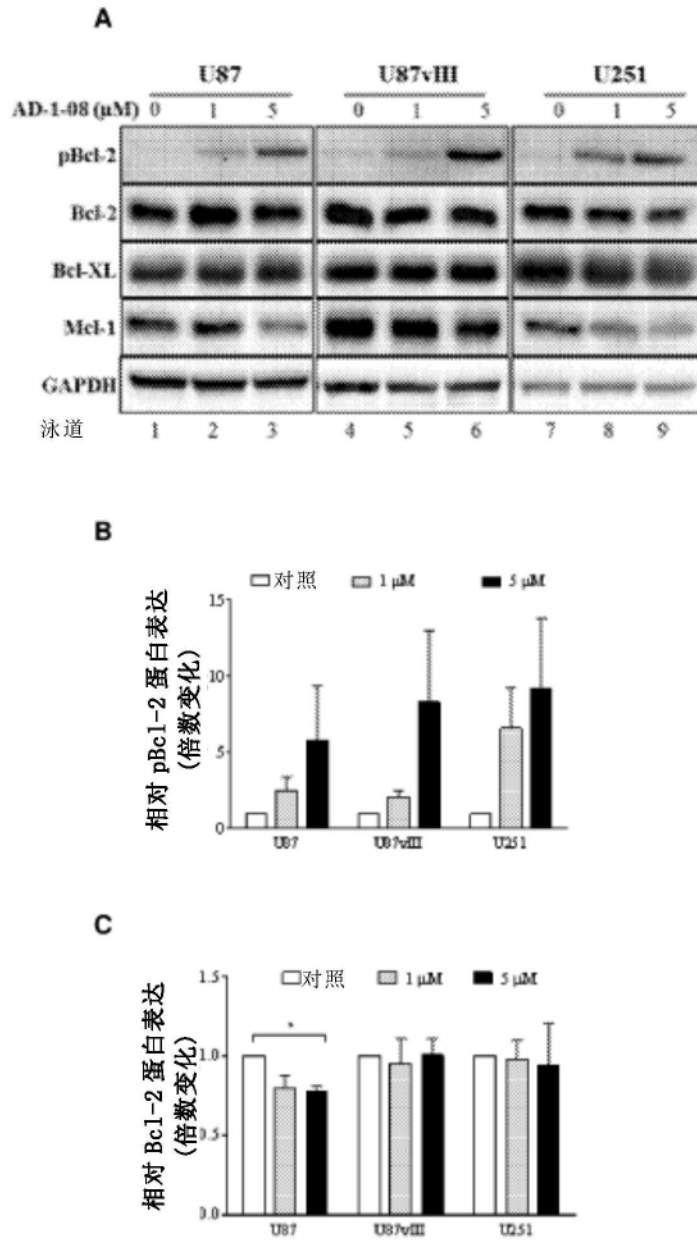
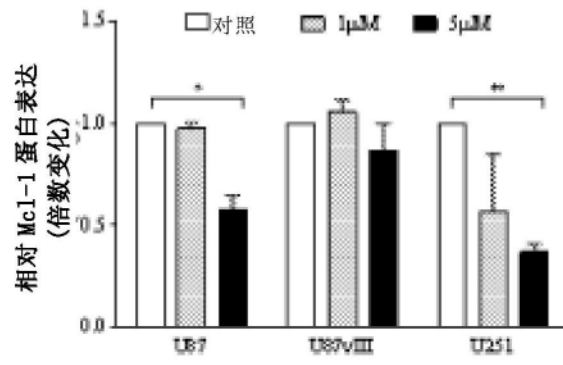


图9

D



E

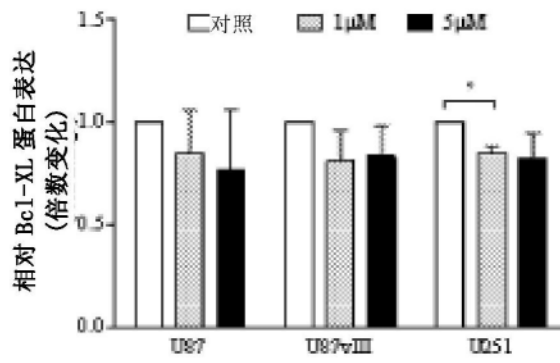


图9续

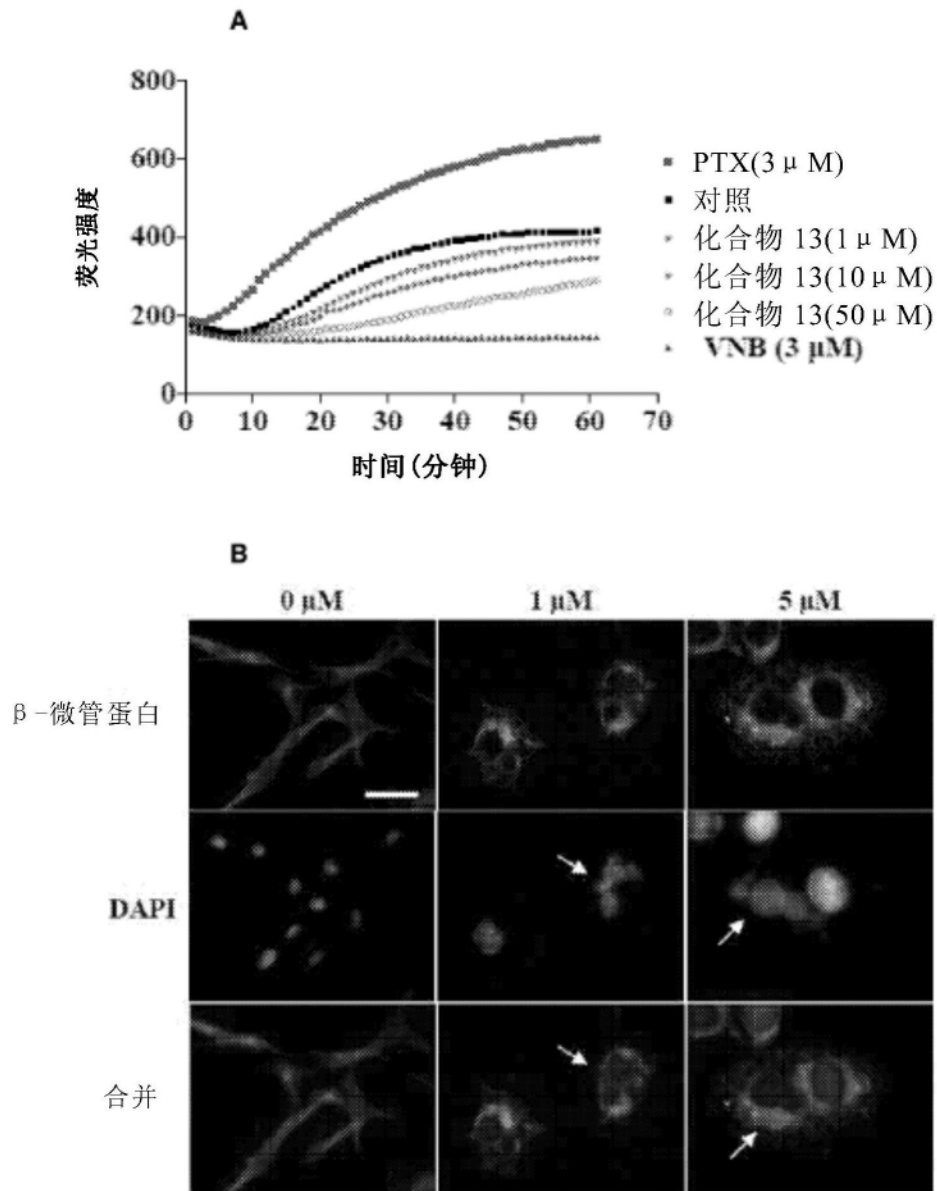
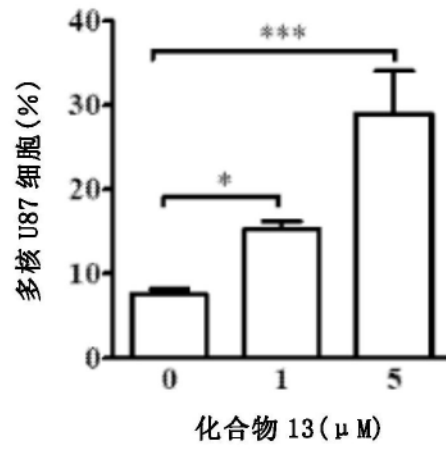


图10

C



D

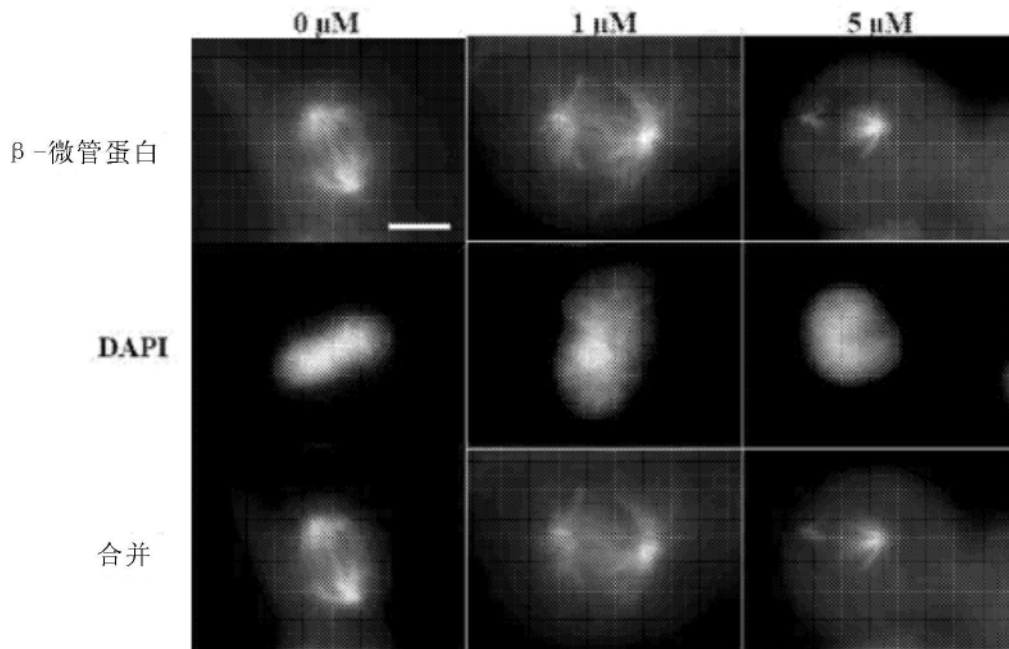
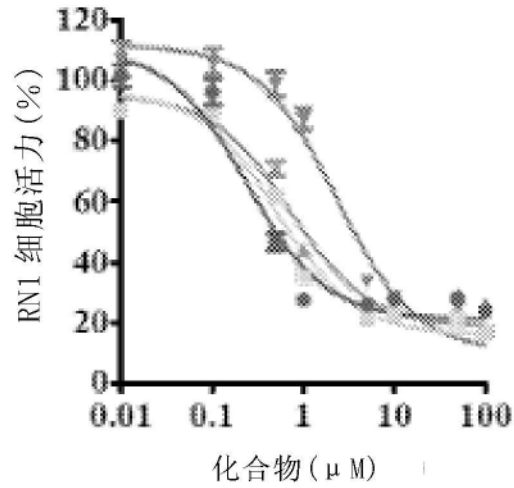


图10续

**A**

经典亚型

- **CMPD1** ( $EC_{50} = 0.26 \pm 0.04 \mu M$ )
- ▲ 化合物 7 ( $EC_{50} = 0.78 \pm 0.09 \mu M$ )
- ▼ 化合物 10 ( $EC_{50} = 2.72 \pm 0.5 \mu M$ )
- 化合物 13 ( $EC_{50} = 0.54 \pm 0.05 \mu M$ )

**B**

间充质亚型

- **CMPD1** ( $EC_{50} = 0.91 \pm 0.4 \mu M$ )
- ▲ 化合物 7 ( $EC_{50} = 2.00 \pm 0.3 \mu M$ )
- ▼ 化合物 10 ( $EC_{50} = 5.37 \pm 1.8 \mu M$ )
- 化合物 13 ( $EC_{50} = 3.82 \pm 0.3 \mu M$ )

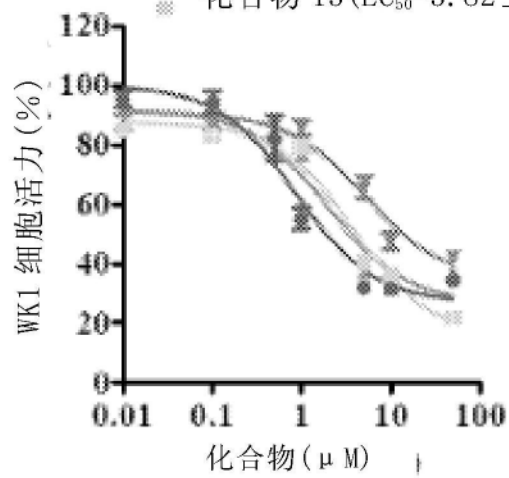


图11