



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110003104 A

(43)申请公布日 2019.07.12

(21)申请号 201910222566.1

(74)专利代理机构 北京康信知识产权代理有限公司 11240

(22)申请日 2013.05.24

代理人 李海霞

## (30)优先权数据

61/651,757 2012.05.25 US

## (51)Int.Cl.

C07D 215/36(2006.01)

## (62)分案原申请数据

C07D 233/84(2006.01)

201380038486.1 2013.05.24

C07D 257/04(2006.01)

(71)申请人 多伦多大学管理委员会

C07C 311/19(2006.01)

地址 加拿大安大略省

C07C 311/21(2006.01)

申请人 UTI合伙人有限公司

C07F 9/38(2006.01)

印第安纳大学研究及科技公司

C07F 9/40(2006.01)

(72)发明人 梅利莎·L·菲谢尔

A61P 35/00(2006.01)

帕特里克·托马斯·贡宁

A61P 35/02(2006.01)

西纳·哈夫特舍纳里

A61K 31/662(2006.01)

布伦特·戴维·乔治·帕盖

A61K 31/4164(2006.01)

塞谬尔·韦斯

A61K 31/18(2006.01)

赫马·阿蒂·卢奇曼

A61K 31/47(2006.01)

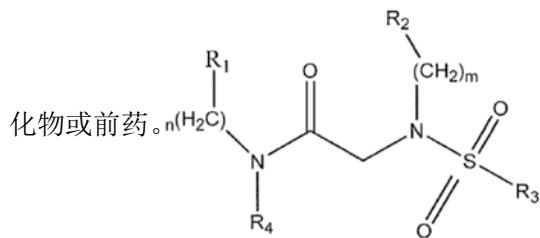
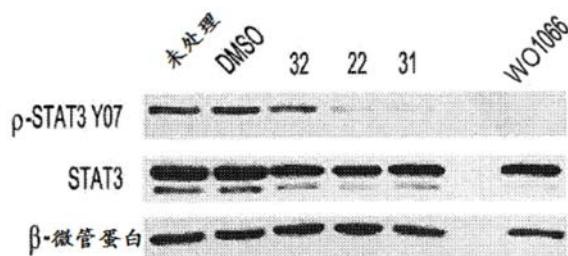
A61K 31/41(2006.01)

## (54)发明名称

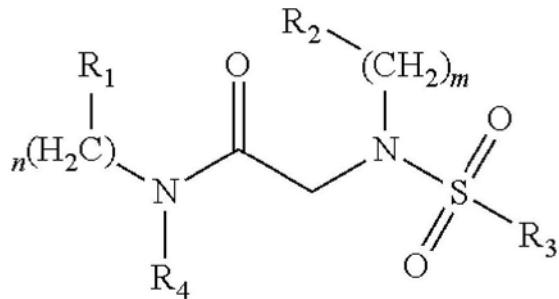
水杨酸衍生物、其药学上可接受的盐、其组合物以及其使用方法

## (57)摘要

本申请提供水杨酸衍生物、其药学上可接受的盐、其组合物以及其使用方法。本发明涉及新型化合物、含有其的组合物和使用所述化合物抑制STAT3和/或STAT5活性或治疗STAT3或STAT5依赖性癌症的方法；或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。



## 1. 一种式I化合物：



(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-卤烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷基硫基、CO<sub>2</sub>H、(C=O) R<sup>9</sup>、(C=O) OR<sup>9</sup>和(C=O) NHR<sup>9</sup>；

其中A<sup>6</sup>选自C<sub>3-6</sub>环烷基、C<sub>3-6</sub>杂环烷基和芳基，且经0-3个选自以下各基的基团取代：卤基、羟基、氨基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>多卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷基硫基、C<sub>1-6</sub>卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基、C<sub>1-6</sub>二烷基氨基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-卤烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷基硫基、CO<sub>2</sub>H、(C=O) R<sup>10</sup>、(C=O) OR<sup>10</sup>和(C=O) NHR<sup>10</sup>；

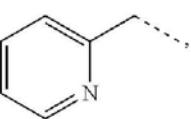
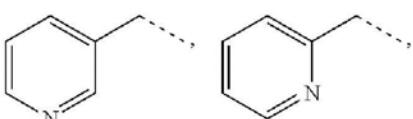
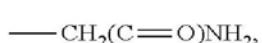
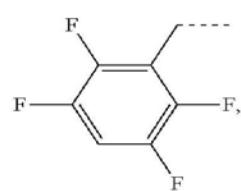
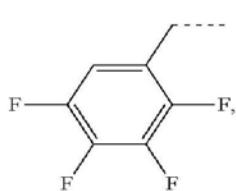
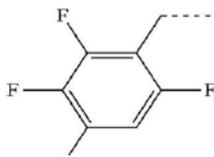
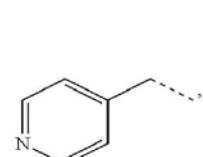
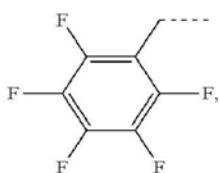
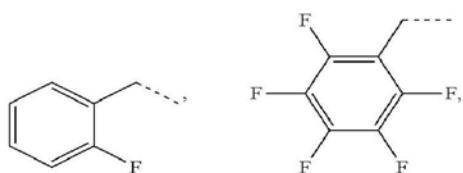
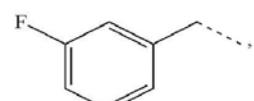
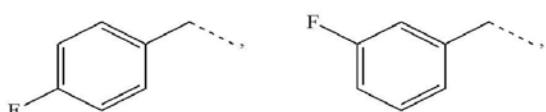
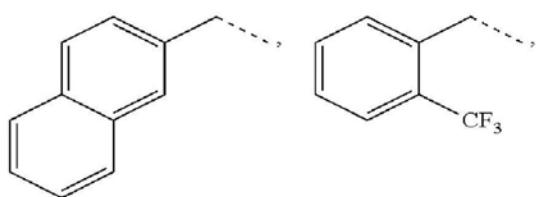
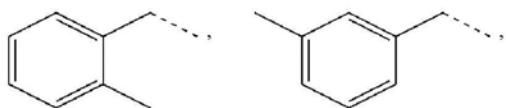
其中A<sup>7</sup>选自C<sub>3-6</sub>环烷基、C<sub>3-6</sub>杂环烷基和芳基，且经0-3个选自以下各基的基团取代：卤基、羟基、氨基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>多卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷基硫基、C<sub>1-6</sub>卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基、C<sub>1-6</sub>二烷基氨基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-卤烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷基硫基、CO<sub>2</sub>H、(C=O) R<sup>11</sup>、(C=O) OR<sup>11</sup>和(C=O) NHR<sup>11</sup>；

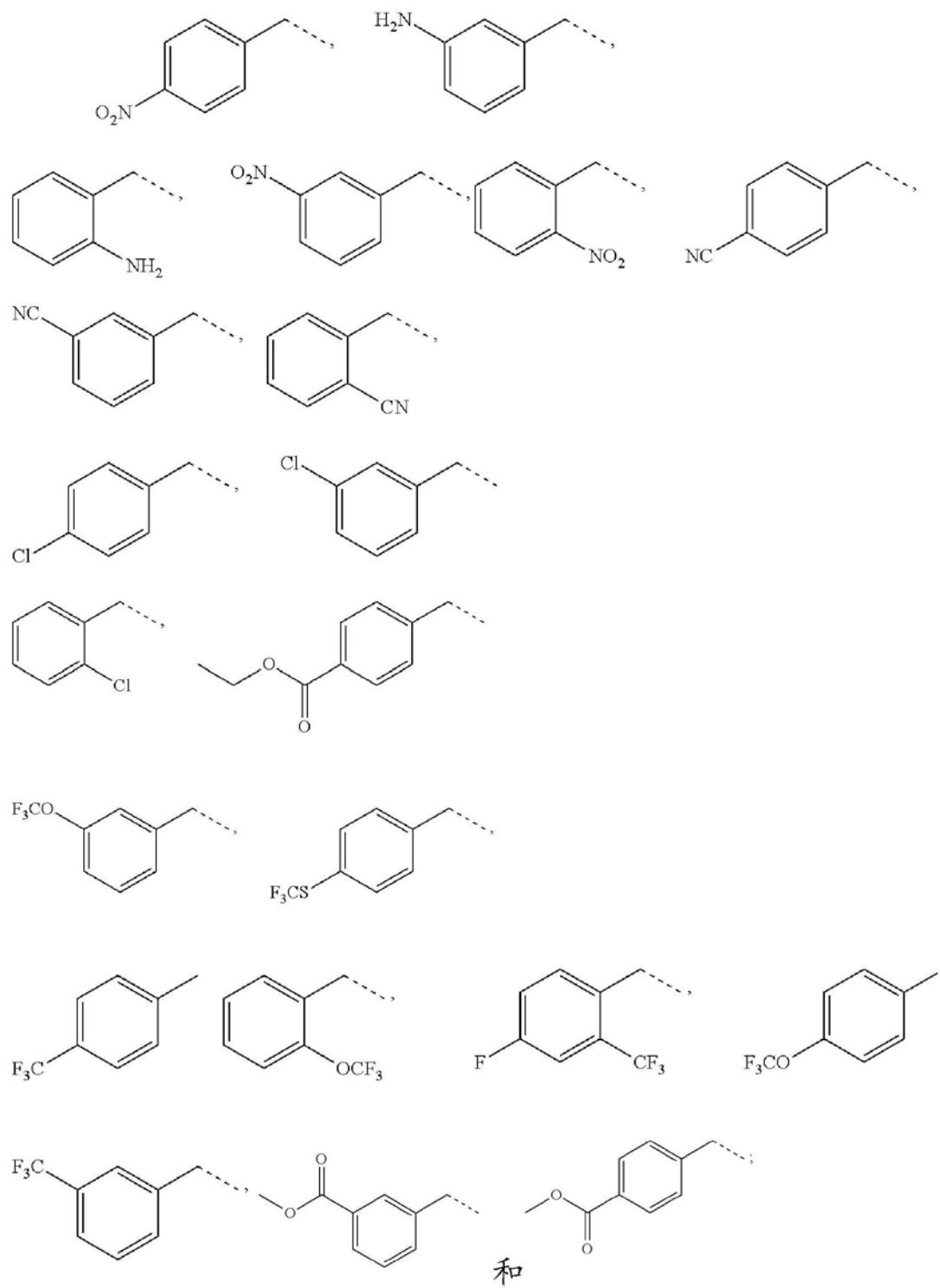
其中A<sup>8</sup>选自C<sub>3-6</sub>环烷基、C<sub>3-6</sub>杂环烷基和芳基，且经0-3个选自以下各基的基团取代：卤基、羟基、氨基、硝基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>多卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷基硫基、C<sub>1-6</sub>卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基、C<sub>1-6</sub>二烷基氨基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-卤烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) 烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷基硫基、CO<sub>2</sub>H、(C=O) R<sup>12</sup>、(C=O) OR<sup>12</sup>和(C=O) NHR<sup>12</sup>；

其中L选自-(C=O)-和-SO<sub>2</sub>-；

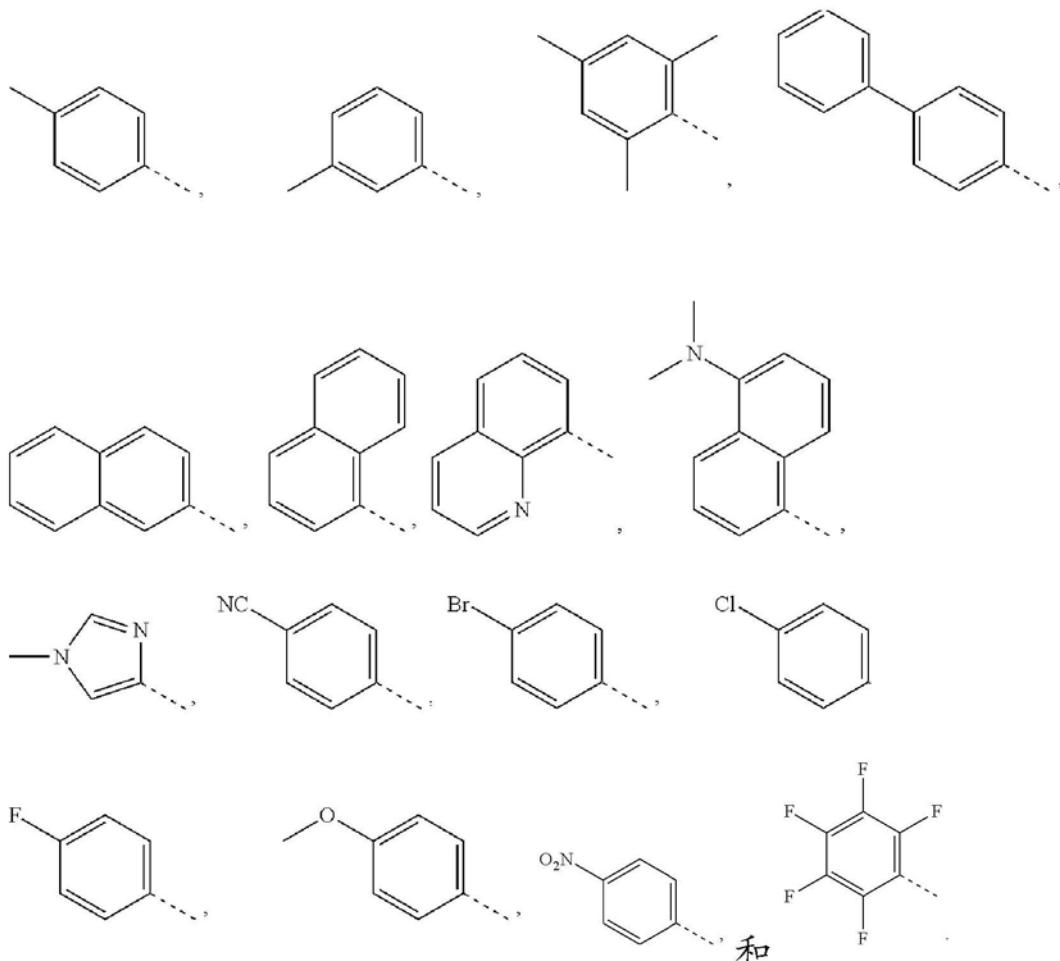
其中R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、R<sup>9</sup>、R<sup>10</sup>、R<sup>11</sup>和R<sup>12</sup>中的每一个独立地选自氢、C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>1-6</sub>卤烷基和C<sub>1-6</sub>多卤烷基；或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或多晶型物，

其中R<sup>2</sup>选自由以下组成的组：

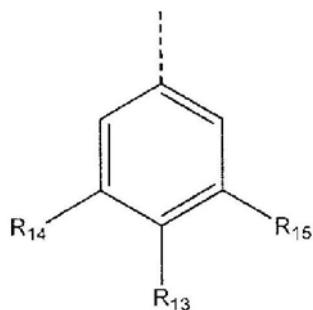




其中R<sub>3</sub>选自由下式表示的结构：



其中R<sup>4</sup>为由下式表示的结构：



其中R<sup>13</sup>选自由-H、-OH、-COR<sup>16</sup>、-CN、-CH<sub>2</sub>PO(OH)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>P(O)<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-NO<sub>2</sub>、-NHR<sup>17</sup>和1H-四唑组成的组；

R<sup>16</sup>选自由-OH、-O-C<sub>(1-2)</sub>烷基、-OCH<sub>2</sub>OC(0)CH<sub>3</sub>和-OCH<sub>2</sub>OC(0)叔丁基组成的组；

R<sup>17</sup>选自由-H、-C(0)C(0)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-C(0)C(0)OH和-C(0)CH<sub>2</sub>-1H-四唑组成的组；

R<sup>14</sup>为-H或-COOH，或当R<sup>13</sup>为-COR<sup>16</sup>且R<sup>16</sup>为OH时，R<sup>14</sup>为-F、或-OC(0)CH<sub>3</sub>；以及

R<sup>15</sup>为-H、-OH或-COOH，或当R<sup>13</sup>为-COR<sup>16</sup>且R<sup>16</sup>为OH时，R<sup>15</sup>为-F、或-OC(0)CH<sub>3</sub>；

其中当R<sup>15</sup>为-OH或R<sup>14</sup>与R<sup>15</sup>二者都为-COOH时，R<sup>13</sup>为-H，以及

当R<sub>3</sub>为 且R<sup>13</sup>为-OH时，R<sup>14</sup>和R<sup>15</sup>为-H。

2. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药，其中m=0且R<sup>2</sup>

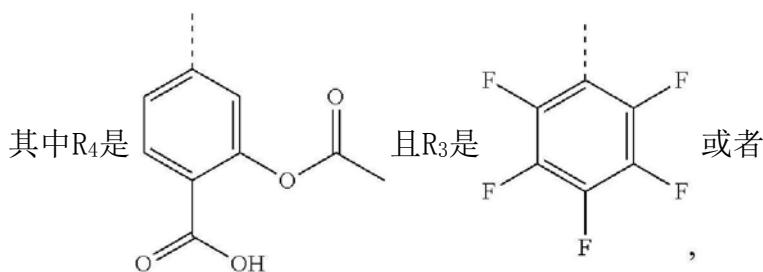
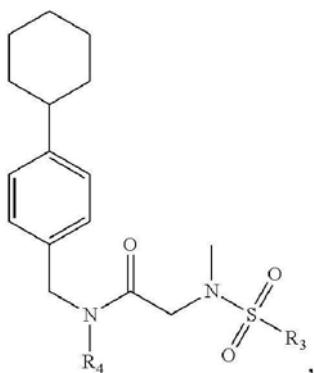
为-CH<sub>3</sub>。

3. 如权利要求1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药,其中R<sup>1</sup>为-(A<sup>3</sup>)-(A<sup>2</sup>),A<sup>2</sup>和A<sup>3</sup>都具有如权利要求1中的定义。

4. 如权利要求3所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药,其中n为1,A<sup>2</sup>为环己基且A<sup>3</sup>为芳基。

5. 如权利要求1、2或3所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药,其中R<sup>3</sup>为五氟苯。

6. 一种化合物,其为来自表1的化合物22或33,或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药,所述化合物具有以下结构:



7. 一种药物组合物,其包含如权利要求1到6中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药,和可接受的赋形剂。

8. 如权利要求1到6中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药在制备用于抑制STAT3和/或STAT5活性的药物中的用途。

9. 如权利要求1到6中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药在制备用于减少具有含活化STAT3或STAT5的癌细胞的肿瘤生长的药物中的用途。

10. 如权利要求9所述的用途,其中所述癌细胞来自实体或血液肿瘤。

11. 如权利要求10所述的用途,其中所述癌细胞来自选自由乳腺癌、脑癌、肝癌、前列腺癌、胰腺癌、血癌、皮肤癌、头癌、颈癌、成胶质细胞瘤、多发性骨髓瘤、急性骨髓性白血病(AML)和急性成淋巴细胞性白血病组成的组的癌症。

12. 如权利要求7所述的药物组合物在制备用于抑制STAT3和/或STAT5活性的药物中的用途。

13. 如权利要求7所述的药物组合物在制备用于治疗具有含活化STAT3或STAT5的癌细胞的癌症的药物中的用途。

14. 如权利要求13所述的用途,其中所述癌症来自实体或血液肿瘤。

15. 如权利要求14所述的用途,其中所述癌症选自由乳腺癌、脑癌、肝癌、前列腺癌、胰腺癌、血癌、皮肤癌、头癌、颈癌、成胶质细胞瘤、多发性骨髓瘤、急性骨髓性白血病(AML)和急性成淋巴细胞性白血病组成的组。

## 水杨酸衍生物、其药学上可接受的盐、其组合物以及其使用方法

[0001] 本申请是申请日为2013年5月24日的题为“新水杨酸衍生物、其药学上可接受的盐、其组合物以及其使用方法”的中国专利申请No.201380038486.1的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2012年5月25日提交的美国临时申请61/651757的优先权，所述临时申请以引用的方式整体并入本文中。

### 技术领域

[0004] 本发明涉及新型水杨酸衍生物、含有其的组合物和使用所述化合物抑制STAT3活性或治疗例如头癌、乳癌、结肠癌、血癌、肺癌、卵巢癌和前列腺癌等与STAT3/5有关的癌症的方法。

### 背景技术

[0005] STAT3在超过一打类型的人类癌症中持续活化，所述癌症包括所有严重的瘤，包括乳癌、脑癌、结肠癌、胰腺癌、卵巢癌和头颈部鳞状细胞癌(SCCHN)和黑素瘤以及一些血液肿瘤(Bowman T等人(2000)Oncogene19, 2474-88, 和Darnell, J.E. (2005) Nat. Med. 11, 595-596)。因而，越来越有兴趣发展经由抑制持续活性的STAT3的抗癌疗法，尤其是作为一种处理癌症的策略，其中医师期望改善结果和/或其中在患者护理、生活质量和结果方面，甚至建立一种令人满意的护理标准也存在挑战。

[0006] 成胶质细胞瘤(GBM)被认为是最具侵袭性和致命的脑癌，在治疗后，具有约15个月的中位存活期。令人震惊地，此等中度结果只能在相对年轻的(即<70岁)和其它方面健康的患者中实现。较老的GBM患者，其中有许多人和在诊断时体力状态差的人在同样的疗法后具有短得多的存活期。另外，GBM在老年人口中的发生频率渐增。此外，不像更常见的癌症，例如肺癌、乳癌和结肠癌，GBM既不可预防，也不可在可能预期早期治疗基本上更有效的阶段检测到。此外，尽管已经集中研究了数十年，但仍然难以较大地提高整体存活率。因而，关键的是发展满足此未满足需求的治疗方法。

[0007] 已经证明脑瘤含有稀少的脑瘤干细胞(BTSC)亚群，其具有克隆源性自我更新的主要干细胞特性、多潜能性和致肿瘤性。BTSC的广泛自我更新和增殖能力与其对常规的放射和化学疗法不敏感联合表明，其与GBM生长和治疗后复发是一体的。因而，BTSC代表需要新型治疗方法以有效消除，从而改善GBM结果的“一组疾病”。

[0008] STAT蛋白质最初是作为介导细胞因子与生长因子反应的潜在细胞质转录因子而发现的(Darnell, J.E., Jr. (1996) Recent Prog. Norm. Res. 51, 391-403; Darnell, J.E. (2005) Nat. Med. 11, 595-596)。该家族的七个成员STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a和STAT5b以及STAT6介导若干生理效应，包括生长和分化、存活、发育和发炎。STAT是含有SH2结构域的蛋白质。配体结合于细胞因子或生长因子受体后，STAT在关键Tyr残基(STAT3的Tyr705)上通过生长因子受体、细胞质杰纳斯激酶(Jak)或Src家族激酶磷酸化。两个磷酸化

和活化STAT单体经由互逆pTyr-SH2结构域相互作用而二聚,移位到核,并与标靶基因的特定DNA反应元件结合,由此诱发基因转录(Darnell,J.E.,Jr.(1996)Recent Prog.Norm.Res.51,391-403;Darnell,J.E.(2005)Nat.Med.11,595-596)。与正常的STAT信号传导对比,许多人类实体和血液肿瘤具有异常的STAT3活性(Turkson,J.Expert Opin.Ther.Targets 2004,8,409-422;Darnell,J.E.,Jr.(1996)Recent Prog.Norm.Res.51,391-403;Darnell,J.E.(2005)Nat.Med.11(6),595-596;Bowman,T.等人(2000)Oncogene19(21),2474-2488;Buettner等人(2002)Clin.Cancer Res.8(4),945-954;Yu,H.和Jove.R.(2004)Nat.Rev.Cancer4(2),97-105;Haura,E.B.等人(2005)Nat.Clin.Pract.Oncol.2(6),315-324)。

[0009] 值得注意地,STAT3蛋白质是转录因子蛋白质的STAT家族的七个家族成员之一。STAT3是通过酪氨酸705(Y705)磷酸化而活化,其引发了两个磷酸化STAT3单体(pSTAT3)的复合。pSTAT3同二聚体通过互逆STAT3 Src同源性2(SH2)结构域-pY705 STAT3相互作用介导。pSTAT3:pSTAT3同二聚体移位到核并结合DNA,促进STAT3标靶基因转录。先前已经用显性阴性构筑体、寡核苷酸或最通常模拟原生含pY705的结合序列的磷酸化肽剂实现靶向STAT3。不幸地,这些抑制剂在体内快速降解,此限制了其在临床上的使用。为了解决这些问题,设计小分子STAT3抑制剂来治疗具有过度活化STAT3蛋白质的癌症。已经在W02012/018868中鉴别出有效并选择性地阻断STAT3二聚和DNA结合活性的基于酸的抑制剂,即化合物450,也称为BP-1-102(本文中有时称为化合物1)。W02012018868中的化合物450有效地抑制多种培养癌细胞(乳房、肺、胰腺、前列腺、肺)中的多种致瘤特性,包括:细胞增殖、停泊不依赖性细胞生长、迁移、侵入和运动性。其对于STAT3是选择性的,是对与93%同源的STAT蛋白STAT1的结合的10倍以上。其显示对Shc、Src、Jak-1/2、Erk1/2或Akt的磷酸化几乎没有影响,且对非转化细胞(NIH3T3细胞、STAT3裸小鼠胚胎成纤维细胞或小鼠胸腺基质细胞,其也不影响不具有活化STAT3的转化细胞)没有影响。此外,BP-1-102显示在肺或乳癌的鼠科异种移植模型中体内惊人的抗肿瘤作用,引起肿瘤体积急剧消退。来自经处理小鼠的残余肿瘤的蛋白质印迹展示pSTAT3、cMyc、细胞周期蛋白D1、Bcl-xL、存活素和VEGF以剂量依赖性方式抑制。

[0010] 此外,基因和其它分子证据揭露STAT3的持续Tyr磷酸化通过异常上游Tyr激酶介导并显示为了肿瘤维持和进展,癌细胞对组成活性和二聚STAT3的需要。因此,在许多的概念验证研究中(Turkson,J.,等人Mol.Cancer Ther.2004,3(3),261-269;Turkson,J.,等人J.Biol.Chem.2001,276(48),45443-45455;Siddiquee,K.;等人Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.2007,104,7391-7396.;Turkson,J.;等人Mol.Cancer Ther.2004,3,1533-1542;和Turkson,J.;等人J.Biol.Chem.2005,280(38),32979-32988),STAT3活化的抑制或二聚的破坏诱发癌细胞死亡和肿瘤消退。因此,小分子STAT3抑制剂提供了用于探查STAT3的细胞加工的分子动力学的工具,以了解STAT3作为引起致癌和恶性进展的事件的信号传导中间物和分子介体的作用。此外,因为STAT3通路在超过一打类型的人类癌症中是关键的致瘤驱动通路,包括所有严重的癌瘤,包括乳癌、脑癌、结肠癌、胰腺癌、卵巢癌和头颈部鳞状细胞癌(SCCHN)和黑素瘤以及一些血液肿瘤(Bowman T等人(2000)Oncogene19,2474-88,和Darnell,J.E.(2005)Nat.Med.11,595-596),所以STAT3的直接抑制将提供一条有效管理这些癌症和尤其例如GBM等侵袭性形式的分子靶向途径。

[0011] 在研讨论文中,Carro等人(Nature,463(7279):318-325,2010)证明在GBM中是异常活性的信号转导和转录活化因子3(STAT3)基因是GBM中肿瘤生长和治疗抗性的关键重要介体。疗效差的脑癌,例如神经胶质瘤、星形细胞瘤和成胶质细胞瘤,具有组成性活化的STAT3。另外,使用通过靶向例如JAK家族成员等上游分子而间接抑制STAT3的多种不同小分子集聚的一组增长的新证据强烈表明,STAT3信号传导对于体外和体内BTSC和GBM存活和增殖来说是关键的。然而,由于其具有广泛的靶向性,所以用于治疗GBM的现有药物由于许多副作用而具有有限的翻译潜能。因此,能够更特异地阻断STAT3活性的药物可以为GBM患者提供有效的治疗。

[0012] STAT5信号传导像STAT3信号传导一样,在正常细胞中短暂活化,并通过许多不同的细胞溶质和核调节剂而去活化,包括磷酸酶、SOCS、PIAS和蛋白酶体降解。像STAT3一样,STAT5已因其在人类癌症和肿瘤生成中的异常作用而出名,已经发现在包括乳癌、肝癌、前列腺癌、血癌、皮肤癌、头颈癌在内的许多癌症中组成性活化。(Muller,J.等人ChemBioChem 2008,9,723-727)。癌细胞中,STAT5通常组成性磷酸化,引起STAT5标靶基因的异常表达,导致恶性转化。具有持续活化的STAT5的癌细胞过度表达抗细胞凋亡蛋白质,例如Bcl-xL、Myc和MCL-1,赋予对天然细胞凋亡提示和投与的化学治疗剂的显著抗性。特别令人感兴趣的是,STAT5已经被鉴别为急性骨髓性(AML)和急性成淋巴细胞性白血病的发展和进展中的关键调节因子(ALL;Gouilleux-Gruart,V.等人,Leukemia and Lymphoma1997,28,83-88;Gouilleux-Gruart,V.等人,Blood1996,87,1692-1697;Weber-Nordt,R.M.等人,Blood1996,88,809-816)。此外,上游STAT5活化剂(例如JA和FLT3)的抑制剂已经显示展现有希望的抗癌特性(Pardanani等人,A.,Leukemia2011,25,218-225;Quintas-Cardama,A.等人,Nature Reviews Drug Discovery2011,10,127-140)。

[0013] 应注意,抑制STAT3/5的医疗益处不局限于本文中描述的这些标靶组成性活化的各种癌症形式,还将适用于治疗已知这些通路起到关键作用的其它病状,例如(但不限于)自体免疫病状(Harris,T.J.等人;Immunol.(2007)179(7):4313-4317)、与关节炎有关之发炎(Miyamoto.T等人,Arthritis Research&Therapy(2012),14(增刊1):P43)、发炎性肠病(IBD)(World J Gastroenterol.(2008)14(33):5110-5114.)、糖尿病(Mashili,F.等人;(2013)Diabetes62(2),457-465)、过敏性肠综合征(IBS);肾病(Weimbs,T.,(2013)JAK-STAT,2(2),0-1)和器官移植(Debonera,F.等人;(2001)J.Surg.Res.96(2),289-295)。

[0014] 尽管针对鉴别STAT蛋白质活性抑制剂的药物发现有所发展,但仍然缺乏作为STAT3和STAT5的有力、有效和选择性活化剂且还有效治疗癌症和其它与STAT3、STAT5或两种蛋白质功能异常有关的疾病和STAT3与STAT5中的一个或两者有所相关的疾病的化合物。此外,仍然需要现有化合物的效力最佳化且降低药物动力学不稳定性。本发明满足这些需要和其它需要。

## 发明内容

[0015] 根据本发明的目的,如本文中具体化和广泛描述,在一个方面,本发明涉及适用作STAT3抑制剂的化合物。

[0016] 在另一个方面,所公开的化合物和所公开的制造方法的产物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或多晶型物为STAT3和/或STAT5活性的调节剂、其制造方法、包含其的

药物组合物和使用其治疗与STAT3活性功能异常有关的病症的方法。

[0017] 在另一个方面,本发明涉及结合于STAT3蛋白质且反向调节STAT3活性的化合物。

[0018] 在另一个方面,本发明涉及结合于STAT5蛋白质且反向调节STAT5活性的化合物。

[0019] 还公开包含治疗有效量的公开化合物和药学上可接受的载剂的药物组合物。

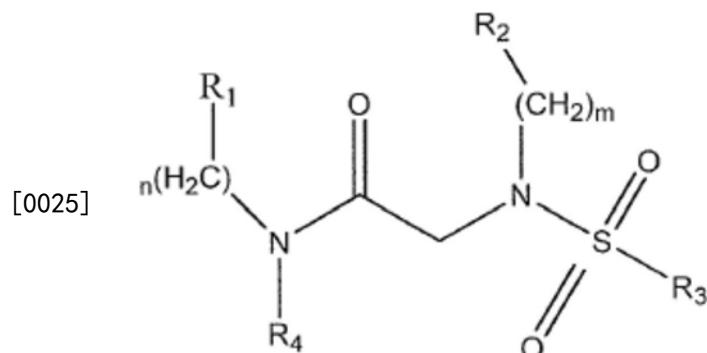
[0020] 公开用于治疗哺乳动物中与STAT3/STAT5活性功能异常、优先地过度活性或过度表达有关的病症的方法,其包括向所述哺乳动物投与治疗有效量的公开化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或多晶型物的步骤。

[0021] 还公开用于抑制哺乳动物中STAT3和/或STAT5活性的方法,其包括向所述哺乳动物投与治疗有效量的至少一种公开化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或多晶型物的步骤。

[0022] 还公开用于抑制至少一种细胞中STAT3和/或STAT5活性的方法,其包括使所述至少一种细胞与有效量的至少一种公开化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或多晶型物接触的步骤。

[0023] 还公开至少一种公开化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或多晶型物的用途。

[0024] 在一个方面,提供一种如本文中定义的式I化合物。



式 I

[0026] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药,其中

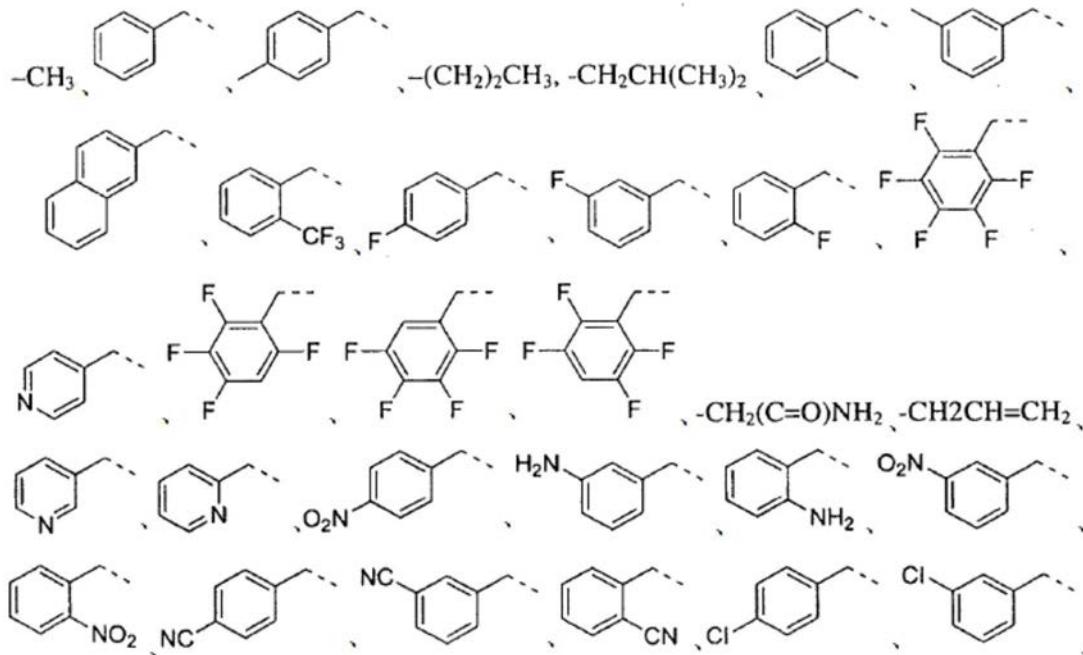
[0027] 其中m和n中的每一个独立地为0-3的整数;

[0028] 其中R<sup>1</sup>选自A<sup>1</sup>、A<sup>2</sup>、-(A<sup>1</sup>)-(A<sup>2</sup>)、-(A<sup>2</sup>)-(A<sup>3</sup>)、-(A<sup>3</sup>)-(A<sup>2</sup>)、-(A<sup>3</sup>)-(A<sup>4</sup>)、-(A<sup>5</sup>)-(A<sup>1</sup>)-(A<sup>7</sup>)、-(A<sup>5</sup>)-(A<sup>2</sup>)-(A<sup>8</sup>)、-(A<sup>5</sup>)-(A<sup>3</sup>)-(A<sup>7</sup>)和-(A<sup>5</sup>)-(A<sup>6</sup>)-L-(A<sup>7</sup>);其中A<sup>1</sup>为C<sub>3-6</sub>环烷基,且经0-3个选自以下各基的基团取代:卤基、羟基、氨基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>多卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷基硫基、C<sub>1-6</sub>卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基、C<sub>1-6</sub>二烷基氨基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)烷氧基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-卤烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷基硫基、CO<sub>2</sub>H、(C=O)R<sup>5</sup>、(C=O)OR<sup>5</sup>和(C=O)NHR<sup>5</sup>;其中A<sup>2</sup>为C<sub>3-6</sub>环烷基或杂环烷基,经0-3个选自以下各基的基团取代:卤基、羟基、氨基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>多卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷基硫基、C<sub>1-6</sub>卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基、C<sub>1-6</sub>二烷基氨基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-烷氧基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-卤烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷基硫基、CO<sub>2</sub>H、(C=O)R<sup>6</sup>、(C=O)OR<sup>6</sup>和(C

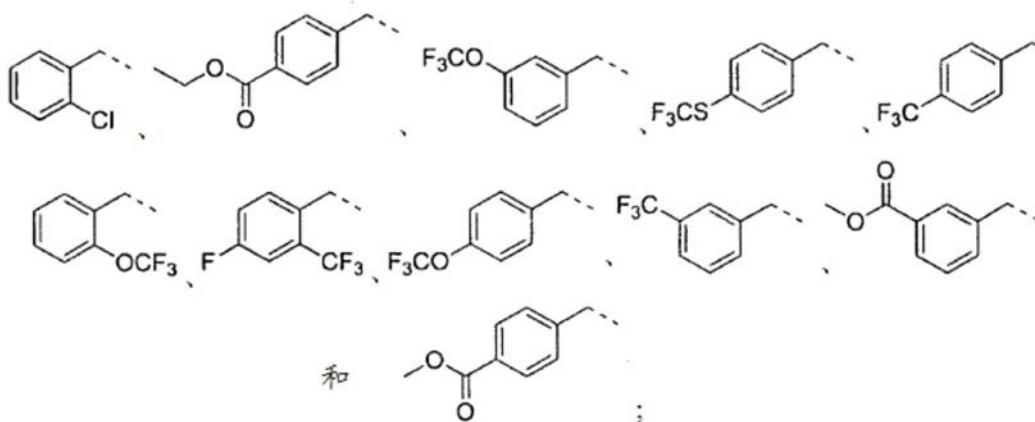


基、CO<sub>2</sub>H、(C=O)OR<sub>12</sub>和(C=O)NHR<sub>12</sub>;其中R<sup>3</sup>为芳基,经0-5个独立地选自以下各基的基团取代:卤基、羟基、氨基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>多卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基、C<sub>1-6</sub>二烷基氨基、(C<sub>1-6</sub>)<sub>2</sub>-烷基-(C<sub>1-6</sub>)<sub>2</sub>-烷氧基、(C<sub>1-6</sub>)<sub>2</sub>-烷基-(C<sub>1-6</sub>)<sub>2</sub>-卤烷氧基和(C<sub>1-6</sub>)<sub>2</sub>-烷基-(C<sub>1-6</sub>)<sub>2</sub>-多卤烷氧基;其中R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>、R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub>、R<sub>9</sub>、R<sub>10</sub>、R<sub>11</sub>和R<sup>11</sup>一个中的每一个独立地选自氢、C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>1-6</sub>卤烷基和C<sub>1-6</sub>多卤烷基;或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或多晶型物,

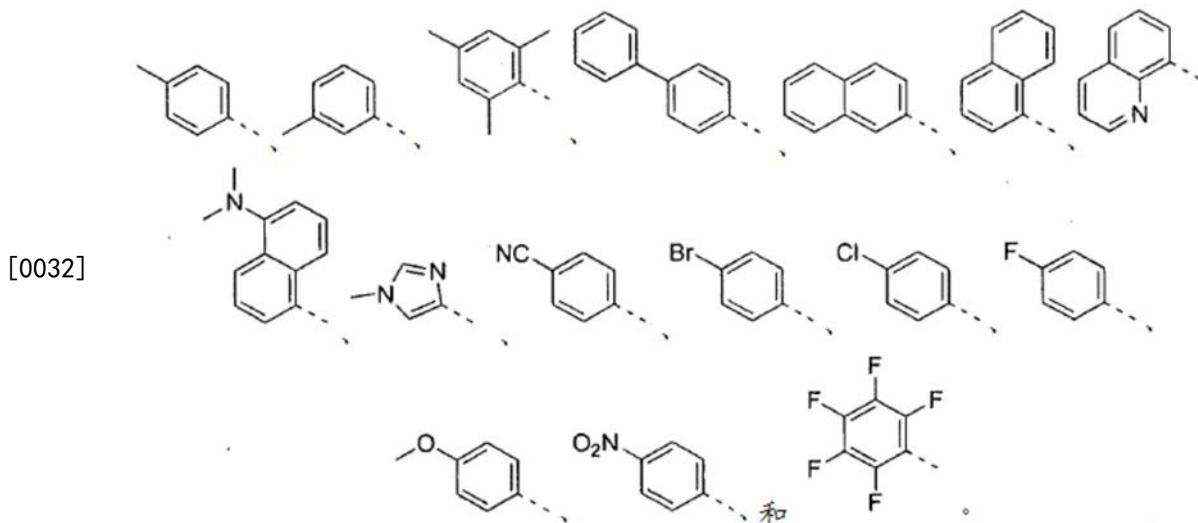
[0029] 其中R<sup>2</sup>选自由以下组成的组：



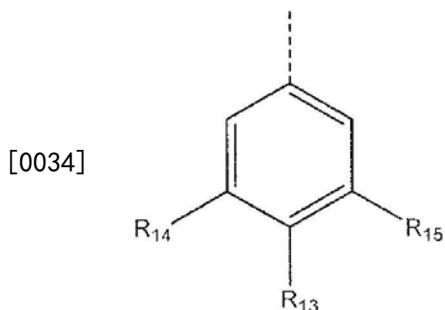
[0030]



[0031] 其中R<sub>3</sub>选自由下式表示的结构：



[0033] 其中R<sup>4</sup>为由下式表示的结构：



[0035] 其中R<sup>13</sup>选自由-OH、-COR<sup>16</sup>、-CN、-CH<sub>2</sub>PO(OH)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>P(O)<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-NO<sub>2</sub>、-NHR<sup>17</sup>和1H-四唑组成的组；

[0036] R<sup>16</sup>选自由-OH、-O-C<sub>(1-2)</sub>烷基、-OCH<sub>2</sub>OC(O)CH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>OC(O)叔丁基和-NHOH组成的组；

[0037] R<sup>17</sup>选自由-H、-C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-C(O)COOH和-C(O)CH<sub>2</sub>-1H-四唑组成的组；

[0038] R<sup>14</sup>为-H或当R<sup>13</sup>为-COR<sup>16</sup>且R<sup>16</sup>为OH时，R<sup>14</sup>为-F、-OC(O)CH<sub>3</sub>；且

[0039] R<sup>15</sup>为H或当R<sup>13</sup>为-COR<sup>16</sup>，R<sup>16</sup>为OH且R<sup>14</sup>为H时，R<sup>15</sup>为-F、-OC(O)CH<sub>3</sub>；

[0040] 当R<sup>14</sup>为-OH或R<sup>14</sup>与R<sup>15</sup>都为-COOH时R<sup>13</sup>为-H。

[0041] 在另一个方面，本发明涉及药物组合物，其包含药学上可接受的载剂和有效量的公开化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或多晶型物。

[0042] 在本公开的另一个方面，提供一种药物组合物，其包含如本文中定义的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药，和可接受的赋形剂。

[0043] 在本公开的另一个方面，提供一种用于抑制STAT3和/或STAT5活性的方法，其包括向患者投与治疗有效量的如本文中定义的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0044] 在本公开的又一个方面，提供一种用于治疗或预防与STAT3/STAT5活性功能异常(优选地其过度活性或其过度表达)有关的癌症的方法，其包括向患者投与治疗有效量的如本文中定义的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。在替代方面，癌症来自实体或血液肿瘤。在其它方面，癌症是具有活化STAT3和/或STAT5的癌症。此类癌症可以为例如乳癌、肝癌、前列腺癌、血癌、皮肤癌、头癌、颈癌、成胶质细胞瘤或急性骨髓性(AML)和急性

成淋巴细胞性白血病。

[0045] 在本公开的另一个方面,提供如本文中定义的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药的用途,其用于制造供抑制STAT3和/或STAT5活性的药剂。

[0046] 在本公开的另一个方面,提供如本文中定义的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药的用途,其用于制造供治疗或预防具有活化STAT3和/或STAT5的癌症的方法,例如癌症来自实体或血液肿瘤、乳癌、肝癌、前列腺癌、血癌、皮肤癌、头癌、颈癌、成胶质细胞瘤或急性骨髓性(AML)和急性成淋巴细胞性白血病。

[0047] 在本公开的另一个方面,提供如本文中定义的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药的用途,其用于抑制STAT3和/或STAT5活性。

[0048] 在本公开的另一个方面,提供如本文中定义的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药的用途,其用于治疗或预防具有活化STAT3和/或STAT5的癌症,例如癌症来自实体或血液肿瘤、乳癌、肝癌、前列腺癌、血癌、皮肤癌、头癌、颈癌、成胶质细胞瘤或急性骨髓性(AML)和急性成淋巴细胞性白血病,与STAT3/STAT5活性功能异常相关,例如乳癌、前列腺癌或脑癌。

[0049] 在本公开的另一个方面,提供一种如本文中定义的药物组合物,其用于抑制STAT3和/或STAT5活性。

[0050] 在本公开的另一个方面,提供如本文中定义的药物组合物,其用于治疗或预防具有活化STAT3和/或STAT5的癌症,例如癌症来自实体或血液肿瘤、乳癌、肝癌、前列腺癌、血癌、皮肤癌、头癌、颈癌、成胶质细胞瘤或急性骨髓性(AML)和急性成淋巴细胞性白血病。

[0051] 还公开用于制造药剂的方法,其包括将至少一种公开化合物或至少一种公开产物与药学上可接受的载剂或稀释剂组合。在另一个方面,本发明涉及公开化合物的用途,其用于制造供治疗与STAT3/STAT5活性功能异常(例如过度活性或过度表达)有关的病症的药剂。在另一个方面,本发明涉及公开化合物的用途,其用于制造供治疗具有活化STAT3和/或STAT5的癌症的药剂,例如癌症来自实体或血液肿瘤、乳癌、肝癌、前列腺癌、血癌、皮肤癌、头癌、颈癌、成胶质细胞瘤或急性骨髓性(AML)和急性成淋巴细胞性白血病。

[0052] 本发明的其它优点将在随后描述中部分地阐述,且部分地将从该描述显而易见,或可以通过实践本发明来获悉。本发明的优点将借助于随附权利要求书中特别指出的要素和组合来实现和获得。应了解,以上概述和以下详细描述仅仅是示例性和说明性的,且不限制所要求的本发明。

[0053] 本发明可以通过参考本发明的以下详细描述和其中包括的实施例更容易地理解。

## 附图说明

[0054] 图1A是展示化合物1与来自文库BTSC30M的化合物22、31、32和33的比较的图;

[0055] 图1B是展示来自图1A中测试的化合物针对BTSC25EF、67EF、73E、84EF和127EF的IC<sub>50</sub>值的表;

[0056] 图2A展示许多化合物对多种激酶和结构蛋白质的不敏感;

[0057] 图2B展示SPR曲线,所述曲形显示最佳命中与STAT3/5蛋白质的结合亲和力;

[0058] 图3展示一种树点树状图,其显示化合物27未抑制所测试的101种激酶中的任一个,命中定义为>35%抑制。

- [0059] 图4展示前三种化合物针对BTSC147M的蛋白质印迹分析和其与广为接受的Jak2抑制剂WP1066在 $1\mu M$ 下针对BTSCM73M的比较；
- [0060] 图5展示对照(十字孢碱(Staurosporine))针对所选激酶的 $IC_{50}$ 测定；
- [0061] 图6是展示通过qPCR量测洗脱液中的激酶浓度的表；
- [0062] 图7是在10%最终DMSO浓度下使用10nM Fam-pYLPQTV和STAT3和STAT1蛋白质稀释液(5.0 $\mu L$ 到2.4nM)进行的校准曲线；
- [0063] 图8展示化合物22、31、32和33针对许多BTSC的筛选，其中每种化合物在各浓度下筛选两次
- [0064] 图9展示用STAT3抑制剂治疗的胰腺10.05患者细胞的存活率；
- [0065] 图10展示用STAT3抑制剂预先治疗1小时并接着用IL6细胞因子刺激15分钟的Pa03C低继代患者细胞的作用；
- [0066] 图11展示有和没有癌症相关成纤维细胞下，STAT3抑制剂31对涂铺在96孔板中的低继代的来源于患者的胰腺癌细胞系(Pa03C)的作用，该板用含3%基质胶的培养基中的1%高贵级琼脂涂布；
- [0067] 图12展示如MTT分析所评估，化合物31在15种不同多发性骨髓瘤肿瘤细胞系中的12种中有效降低细胞活力，其中计算的 $ED_{50}$ 在2–6 $\mu M$ 之间的范围内；
- [0068] 图13展示苏木精/曙红染色-(A)无和(B)有抑制剂31下在BT73细胞中用苏木精将细胞过多肿瘤致密区染色(白色)；
- [0069] 图14展示用BT73脑癌细胞原位异种移植的小鼠中化合物31减少pSTAT表达的作用；
- [0070] 图15展示BT73脑瘤中化合物31减少增殖的作用；
- [0071] 图16展示用化合物31治疗的小鼠中增加的细胞凋亡(TUNEL染色)；
- [0072] 图17展示如通过LCMS评估，在不同剂量(10mg/kg和25mg/kg)下，在脑中发现的存在的化合物31的浓度；
- [0073] 图18展示如通过LCMS评估，在脑中发现的化合物31的浓度；
- [0074] 图19展示如通过LCMS评估，在脑中发现的化合物32的浓度；
- [0075] 图20展示用化合物31(SH-04-54)或用BP1-102处理的2071 NIC细胞系的荧光；以及
- [0076] 图21展示用化合物31(SH-04-54)或用BP1-102处理的各种NIC细胞系的荧光。

## 具体实施方式

[0077] 在公开和描述本发明的化合物、组合物、物品、系统、装置和/或方法前，应了解，除非另作说明，否则其不局限于特定的合成方法，或除非另作说明，否则不局限于具体的试剂，因而当然可以变化。还应了解，本文中使用的术语仅仅是为了描述具体的方面，且不意图限制性的。虽然与本文中描述的方法和材料类似或等效的任何方法和材料都可以用于实践或测试本发明，但是现在描述示例方法和材料。

[0078] 本文中提及的所有公布都以引用的方式并入本文中以公开和描述引用公布所有有关的方法和/或材料。在本申请提交日期前，本文中论述的公布仅仅针对其公开提供。本文中不应理解为承认根据先前发明，本发明没有资格先于此类公布。此外，本文中提供的公布

的日期可以与真实的公布日期不同,真实的公布日期可能需要独立证实。

[0079] 如本文中所用,包括有机化合物在内的化合物的命名可以使用普通名称、IUPAC、IUBMB或CAS命名建议给出。当存在一个或多个立体化学特征时,用于立体化学的卡恩-英戈尔德-普雷洛格(Cahn-Ingold-Prelog)规则可以用以指定立体化学优先权、EIZ详细说明等等。如果通过使用命名规则将化合物结构系统还原,或通过市售软件,例如CHEMDRAW<sup>TM</sup>(CambridgeSoft Corporation, U.S.A.),给出名称,那么本领域技术人员可以容易地确定化合物的结构。

[0080] 如本说明书和随附权利要求书中所用,除非上下文另外清楚规定,否则单数形式“一(a/an)”和“所述”包括复数个指示物。因此,举例来说,提及“官能团”、“烷基”或“残基”包括两种或两种以上此类官能团、烷基或残基的混合物等等。

[0081] 范围在本文中可以表示为“约”一个特定值和/或到“约”另一个特定值。当表示此类范围时,另一个方面包括从一个特定值和/或到另一个特定值。类似地,当值表示为近似值时,通过利用前述“约”,将了解特定值形成另一个方面。将进一步了解每个范围的终点相对于另一个终点为有效的,且独立于另一个终点。还了解本文中公开许多值,且每个值在本文中除该值本身之外还公开为“约”该特定值。举例来说,如果公开值“10”,那么还公开“约10”。还了解,还公开两个特定单元之间的每个单元。举例来说,如果公开10和15,那么还公开11、12、13和14。

[0082] 本说明书和总结性权利要求书中对组合物中特定要素或组分的重量份的提及意味着表示重量份的组合物或物品中要素或组分与任何其它要素或组分之间的关系。因此,在含有2重量份组分X和5重量份组分Y的化合物中,X和Y以2:5的重量比存在,且不管化合物中是否含有其它组分,都以此比率存在。

[0083] 除非明确地相反说明,否则组分的重量百分比(wt.%)基于包括该组分的调配物或组合物的总重量。

[0084] 如本文中所用,术语“任选的”或“任选地”意指后面描述的事件或情形可能发生或可能不发生,且该描述包括所述事件或情形发生的情况和其未发生的情况。

[0085] 如本文中所用,术语“STAT3”、“信号转导和转录活化因子3(急性相反应)”和“信号转导和转录活化因子3”可以互换使用,且是指由人类中称为STAT3基因的基因编码的转录因子,该基因具有17q21的人类基因图基因座并由Entrez基因细胞遗传群:17q21.31;Ensembl细胞遗传群:17q21.2;和HGNC细胞遗传群:17q21描述。术语STAT3是指具有770个氨基酸且具有约88,068 Da的分子量的人类蛋白质。该术语包括剪接同功异型物或变异体,且还包括通过如下替代名称提及的蛋白质:APRF、MGC16063、急性相反应因子、DNA结合蛋白APRF、HIES,如本领域技术人员用于由人类基因STAT3编码的蛋白质的。该术语还包括其非人类直系同源物或同源物。

[0086] 如本文中所用,“STAT5”是指STAT5A和/或STAT5B。如果需要明确提及STAT5A或STAT5B,那么本文中将使用专用术语。

[0087] 如本文中所用,术语“STAT5A”和“信号转导和转录活化因子5A”可以互换使用,且是指由人类中称为STAT5A基因的基因编码的转录因子,该基因具有由Entrez基因细胞遗传群:17q11.2;Ensembl细胞遗传群:17q21.2;和HGNC细胞遗传群:17q11.2描述的人类基因图基因座。术语STAT5A是指具有794个氨基酸且具有约90,647 Da的分子量的人类蛋白质。该

术语包括剪接同功异型物或变异体,且还包括通过如下替代名称提及的蛋白质:MGF和STAT5,如本领域技术人员用于由人类基因STAT5A编码的蛋白质的。该术语还包括其非人类直系同源物或同源物。

[0088] 如本文中所用,术语“STAT5B”和“信号转导和转录活化因子5B”可以互换使用,且是指由人类中称为STAT5B基因的基因编码的转录因子,该基因具有由Entrez基因细胞遗传群:17q11.2;Ensembl细胞遗传群:17q21.2;和HGNC细胞遗传群:17q11.2描述的人类基因图基因座。术语STAT5A是指具有787个氨基酸且具有约89,866 Da的分子量的人类蛋白质。该术语包括剪接同功异型物或变异体,且还包括通过例如转录因子STAT5B的替代名称提及的蛋白质,如本领域技术人员用于由人类基因STAT5A编码的蛋白质的。该术语还包括其非人类直系同源物或同源物。

[0089] 如本文中所用,术语“受试者”可以为脊椎动物,例如哺乳动物、鱼、鸟、爬虫动物或两栖动物。因此,本文中公开的方法的受试者可以是人类、非人类灵长类动物、马、猪、兔子、狗、绵羊、山羊、母牛、猫、天竺鼠或啮齿类动物。该术语不表示特定年龄或性别。在一个方面,受试者是哺乳动物。患者在本文中是指罹患癌症、优选地成胶质细胞瘤的受试者。术语“患者”包括人类和兽医受试者。

[0090] 如本文中所用,术语“治疗”是指对患者的医学管理,意图治愈、改善、稳定或预防疾病、病理性病状或病症。此术语包括积极治疗,即特定针对疾病、病理性病状或病症改善之治疗,且还包括病因治疗,即针对相关疾病、病理性病状或病症之病因去除的治疗。另外,此术语包括舒减治疗,即旨在缓解症状而非治愈疾病、病理性病状或病症的治疗;预防治疗,即针对最小化或部分或完全抑制相关疾病、病理性病状或病症的发展的治疗;和支持治疗,即用以补充针对相关疾病、病理性病状或病症的改善的另一特定疗法的治疗。在各个方面,该术语涵盖包括哺乳动物(例如人类)在内的受试者的任何治疗,且包括:(i)预防疾病在易患病但还没有被诊断为患病的受试者中发生;(ii)抑制疾病,即阻止其发展;或(iii)减轻疾病,即引起疾病消退。在一个方面,受试者是哺乳动物,例如灵长类动物,且在另一个方面,受试者是人类。术语“受试者”还包括家养动物(例如猫、狗等)、家畜(例如牛、马、猪、绵羊、山羊等)和实验动物(例如小鼠、兔、大鼠、天竺鼠、果蝇等)。

[0091] 如本文所用,术语“预防(prevent)”或“预防(preventing)”是指杜绝、防止、避免、预先阻止、终止或阻碍某些事情发生,尤其是通过预先作用。应了解,在本文中使用降低、抑制或预防的情况下,除非另外特别指示,否则还明确地公开另两个词的使用。

[0092] 如本文所用,术语“诊断”意指已经由例如医师等技术人员进行身体检查,且发现患有可以通过本文公开的化合物、组合物或方法诊断或治疗的病状。举例来说,“经诊断患有能通过STAT3抑制治疗的病症”意指已经由例如医师等技术人员进行身体检查,且发现患有可以通过可以抑制或负面调节STAT3的化合物或组合物诊断或治疗的病状。作为另一个实例,“经诊断需要抑制STAT3”是指已经由例如医师等技术人员进行身体检查,且发现患有特征为STAT3活性功能异常的病状。此类诊断可以是关于如本文中论述,例如致癌病症或疾病、癌症和/或细胞增殖不受控制的病症等病症。举例来说,术语“经诊断需要抑制STAT3活性”是指已经由例如医师等技术人员进行身体检查,且发现患有可以通过抑制STAT3活性诊断或治疗的病状。举例来说,术语“经诊断需要调节STAT3活性”意指已经由例如医师等技术人员进行身体检查,且发现患有可以通过调节STAT3活性,例如负调节来诊断或治疗的病

状。举例来说，“经诊断需要治疗一种或多种与STAT3功能异常相关的细胞增殖不受控制的病症”意指已经由例如医师等技术人员进行身体检查，且发现患有一种或多种例如癌症等与STAT3功能异常相关的细胞增殖不受控制的病症。

[0093] 如本文所用，表述“STAT3或STAT5依赖性癌症”是指具有组成性活化STAT3或STAT5的癌症。

[0094] 如本文所用，短语“经鉴别需要治疗病症”等等是指基于治疗病症的需要选择受试者。举例来说，受试者可以基于早先由技术人员的诊断被确定为需要治疗病症（例如与STAT3活性相关的病症），且此后经受对此病症的治疗。预期在一个方面，鉴别可以通过不同于进行诊断的人进行。还预期在另一个方面，投药可以通过随后进行投药的人进行。

[0095] 如本文所用，术语“投与(administering)”和“投药(administration)”是指将药物制剂提供给受试者的任何方法。此类方法是本领域技术人员众所周知的，并包括(但不限于)经口投药、经皮投药、通过吸入投药、经鼻投药、局部投药、阴道内投药、经眼投药、耳内投药、脑内投药、直肠投药、舌下投药、经颊投药和肠胃外投药，包括注射，例如静脉内投药、动脉内投药、肌肉内投药和皮下投药。投药可以是持续性的或间歇性的。在各个方面，制剂可以治疗性投与；也就是说，投与以治疗所存在的疾病或病状。在其它各个方面，制剂可以预防性投与；也就是说，投与以预防疾病或病状。

[0096] 如本文所用，术语“接触”是指使公开的化合物和细胞、靶标STAT3蛋白质或其它生物实体以一种方式放在一起，使得化合物可以直接影响靶标（例如剪接体、细胞等等）的活性，即通过与靶标本身相互作用；或间接影响，即通过与靶标活性所依赖的另一分子、辅因子、因子或蛋白质相互作用。

[0097] 如本文所用，术语“有效量”和“有效的量”是指足够实现所希望的结果或对不希望的病状有影响的量。举例来说，“治疗有效量”是指足够实现所希望的治疗结果或对不希望的症状有影响，但一般不足以引起不良副作用的量。任何特定患者的特定治疗有效剂量水平将取决于各种因素，包括所治疗的病症和病症的严重程度；采用的特定组合物；患者的年龄、体重、整体健康、性别和饮食；投药时间；投药途径；所采用的特定化合物的排泄速率；治疗的持续时间；与所采用的特定化合物组合或同时使用的药物以及医药领域中众所周知的类似因素。举例来说，技术人员一般以水平低于实现所希望的治疗作用所需水平的化合物的剂量为开始，且逐渐增加剂量，直到实现所期望的作用。需要时，有效日剂量可以被分成多剂量以达成投药的目的。因此，单剂量组合物可以含有此类量或其分倍数来组成日剂量。倘若有任何禁忌症，剂量可以由个别医师进行调整。剂量可以变化，并可以分一个或多个剂量投药每日投与，持续1天或若干天。关于既定类别的药品的适当剂量的指导可见于文献中。在其它各个方面，制剂可以按“预防有效量”投与；也就是说，有效预防疾病或病状的量。

[0098] 如本文所用，“EC<sub>50</sub>”意图是指使生物过程或过程组分（包括蛋白质、次单元、细胞器、核糖核蛋白等等）50%促效或活化所需的物质（例如化合物或药物）的浓度。在一个方面，EC<sub>50</sub>可以是指如本文中的其它地方所进一步定义，体内50%促效或活化所需的物质的浓度。在另一个方面，EC<sub>50</sub>是指激起基线与最大反应之间的半途反应的促效剂或活化剂的浓度。

[0099] 如本文所用，“IC<sub>50</sub>”意图是指使生物过程或过程组分（包括蛋白质、次单元、细胞器、核糖核蛋白等等）50%抑制所需的物质（例如化合物或药物）的浓度。在一些情况下，IC<sub>50</sub>

可以是指如本文中的其它地方所进一步定义,体内50%抑制所需的物质的血浆浓度。更通常地,IC<sub>50</sub>是指体外抑制过程或活性所需的物质的半最大(50%)抑制浓度(IC)。

[0100] 如本文所用,“STAT3 IC<sub>50</sub>”是指STAT3活性50%抑制所需的物质(例如化合物或药物)的浓度。在一些情况下,IC<sub>50</sub>可以是指如在本文中的其它地方进一步定义,例如动物或人类中肿瘤生长等体内活性或过程抑制50%所需的物质的血浆浓度。在其它情况下,STAT3 IC<sub>50</sub>是指在体外情况下,例如无细胞或基于细胞的分析中,抑制过程或活性所需的物质或化合物的半最大(50%)抑制浓度(IC)。举例来说,STAT3 IC<sub>50</sub>可以是在抑制细胞生长所需的半最大浓度的情况下。如以下论述,反应在具有异常STAT3活性的细胞系中测量。或者,反应在具有持续活性的STAT3的细胞系中测量。反应可以使用来源于人类乳癌、人类胰腺癌和人类前列腺癌的细胞系测定。举例来说,反应可以在选自MDA-MB-231、Panc-1和DU-145的细胞系中测量。也可以使用经特定基因转染的细胞系。举例来说,反应可以在经v-Src转染的细胞系中测量。或者,用v-Src转染的细胞系是永久细胞系。在一些情况下,STAT3 IC<sub>50</sub>是在例如电泳迁移率改变分析(“EMSA”)等无细胞分析中抑制STAT3活性所需的半最大浓度。或者,STAT3 IC<sub>50</sub>是抑制细胞生长、细胞活力或细胞迁移活性所需的半最大浓度。

[0101] 如本文所用,术语“STAT3 K<sub>D</sub>”是指在体外分析中测定的化合物或物质对STAT3的结合亲和力。物质对蛋白质的K<sub>D</sub>可以通过本领域技术人员已知的各种方法,例如平衡透析、分析超离心和表面等离子体激元共振(“SPR”)分析测定。如本文中通常使用,STAT3 K<sub>D</sub>定义为使用经纯化的STAT3蛋白质,使用SPR分析测定的缔合速率与解离速率的比率。

[0102] 如本文所用,术语“STAT3 K<sub>i</sub>”是指STAT3 SH2探针从STAT3蛋白质置换的抑制常数。举例来说,STAT3 SH2可以是荧光标记的GpYLPQTV。如本文中描述,荧光标记是5-羧基荧光素,不过可以使用如确定本领域技术人员适用和便利的其它适合的荧光探针。

[0103] 术语“药学上可接受”描述了一种材料在生物学上或其它方面并非不合乎需要,即不以有害的方式产生无法接受的水平的不合乎需要的生物作用或相互作用。

[0104] 如本文所用,术语“衍生物”是指具有来源于母体化合物(例如本文公开的化合物)结构的结构且结构足够类似于本文公开的化合物,并基于此类似性,本领域技术人员将预期显示与所要求的化合物相同或类似的活性和效用,或作为前驱体,诱发与所要求的化合物相同或类似的活性和效用的化合物。示例性衍生物包括母体化合物的盐、酯、酰胺、酯或酰胺的盐和N-氧化物。

[0105] 如本文所用,术语“药学上可接受的载剂”是指无菌的水性或非水性溶液、分散液、悬浮液或乳液,以及临用方复原成无菌可注射的溶液或分散液的无菌粉末。适合的水性和非水性载剂、稀释剂、溶剂或媒介物的实例包括水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、聚乙二醇等等)、羧甲基纤维素和其适合的混合物、植物油(例如橄榄油)和可注射的有机酯,例如油酸乙酯。可以例如通过使用例如卵磷脂等包衣材料,在分散液情况下通过维持所需粒度,且通过使用表面活性剂来维持适当的流动性。这些组合物也可以含有佐剂,例如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。可以通过包括例如对羟基苯甲酸酯、氯代丁醇、苯酚、山梨酸等各种抗细菌剂和抗真菌剂来预防微生物的作用。包括例如糖、氯化钠等等张剂也可能是合乎需要的。可注射药物形式的延长吸收可以通过包括例如单硬脂酸铝和明胶等延迟吸收的试剂来产生。通过形成药物于例如聚丙交酯-聚乙交酯、聚(原酸酯)和聚(酸酐)等可生物可降解的聚合物中的微囊封基质来制成可注射的储槽形式。取决于药物与聚合物的比率和所采用

的特定聚合物的性质,可以控制药物释放的速率。储槽式可注射调配物还通过将药物捕集在与身体组织相容的脂质体或微乳液中来制备。可注射调配物可以例如通过经细菌截留过滤器过滤或通过并有灭菌剂来灭菌,呈无菌固体组合物形式,该等无菌固体组合物临用时可以溶解或分散于无菌水或其它无菌可注射介质中。适合的惰性载体可以包括例如乳糖等糖。理想地,至少95重量%的活性成分粒子具有在0.01到10微米范围内的有效粒径。

[0106] 如本说明书和归纳性权利要求书中所用,化学物质的残基是指在特定的反应方案或随后调配物或化学产品中作为化学物质所得到的产物的部分,无论所述部分是否实际上从化学物质中获得。

[0107] 如本文所用,术语“取代”预期包括有机化合物的所有可允许的取代基。在广泛方面,可允许的取代基包括有机化合物的非环状和环状、分支链和未分支、碳环和杂环以及芳香族和非芳香族取代基。示例性取代基包括例如下文所述者。可允许的取代基对于适当的有机化合物来说可以是一个或多个且相同或不同的。为达成本公开的目的,例如氮等杂原子可以具有氢取代基和/或满足杂原子价数的本文所述的有机化合物的任何可允许的取代基。本公开不意图以任何方式受有机化合物的可允许的取代基限制。并且,术语“取代”或“经取代”包括隐含的附带条件,即此类取代是根据经取代的原子和取代基的允许价数,且取代产生稳定的化合物,例如不会例如通过重排、环化、消除等自然地转化的化合物。还预期,除非相反明确地指示,否则在某些方面,个别取代基可以进一步任选地取代(即进一步取代或未取代)。

[0108] 在定义各种术语时,“A<sup>1</sup>”、“A<sup>2</sup>”、“A<sup>3</sup>”和“A<sup>4</sup>”在本文中用作通用符号来表示各种特定的取代基。这些符号可以是任何取代基,不局限于本文公开的取代基,且当在一种情况下其被定义为某些取代基时,其在另一情况下可以被定义为一些其它取代基。

[0109] 如本文所用,术语“烷基”是具有1到24个碳原子的分支链或未分支的饱和烃基,例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、异丁基、正戊基、异戊基、异戊基、新戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十二烷基、十四烷基、十六烷基、二十烷基、二十四烷基等等。烷基可以是环状或非环状的。烷基可以是分支链或未分支的。烷基也可以是取代或未取代的。举例来说,烷基可以经一个或多个如本文中描述的基团取代,包括(但不限于)烷基、环烷基、烷氧基、氨基、醚、卤化物、羟基、硝基、硅烷基、磺酸基-氧代基或硫醇。“低级烷基”是含有一个到六个(例如一个到四个)碳原子的烷基。

[0110] 本说明书中,“烷基”一般用于指未取代的烷基和经取代的烷基;然而,经取代的烷基在本文中还特别地通过鉴别烷基上的特定取代基来提及。举例来说,术语“卤化烷基”或“卤烷基”特别是指经一个或多个卤素,例如氟、氯、溴或碘取代的烷基。术语“烷氧基烷基”特别是指经一个或多个如下所述的烷氧基取代的烷基。术语“烷基氨基”特别是指经一个或多个如下所述的氨基取代的烷基等等。当在一种情况下使用“烷基”且在另一种情况下使用例如“烷基醇”等特定术语时,此并不意味着暗示术语“烷基”也不是指例如“烷基醇”等特定术语。

[0111] 此惯例也用于本文中描述的其它基团。也就是说,虽然例如“环烷基”等术语是指未取代和经取代的环烷基部分,但经取代的部分可以另外在本文中特别鉴别;举例来说,特定的经取代的环烷基可以被称为例如“烷基环烷基”。类似地,经取代的烷氧基可以被特别称为例如“卤化烷氧基”,特定的经取代的烯基可以是例如“烯基醇”等等。再次,使用例如

“环烷基”等通称和例如“烷基环烷基”等特定术语的惯例并不意味着暗示通称也不包括特定术语。

[0112] 如本文所用,术语“环烷基”是由至少三个碳原子构成的非芳香族碳基环。环烷基的实例包括(但不限于)环丙基、环丁基、环戊基、环己基、降冰片烷基等等。术语“杂环烷基”是如上定义的环烷基的一种类型,并包括在术语“环烷基”的含义内,其中环的至少一个碳原子经例如(但不限于)氮、氧、硫或磷等杂原子置换。环烷基和杂环烷基可以是取代或未取代的。环烷基和杂环烷基可以经一个或多个如本文中描述的基团取代,包括(但不限于)烷基、环烷基、烷氧基、氨基、醚、卤化物、羟基、硝基、硅烷基、磺酸基-氧代基或硫醇。

[0113] 如本文所用,术语“聚亚甲基”是具有两个或两个以上彼此键联的CH<sub>2</sub>基团的基团。聚亚甲基可以由式-(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-表示,其中“a”是2到500的整数。

[0114] 如本文所用,术语“烷氧基(alkoxy)”和“烷氧基(alkoxyl)”是指经由醚键键结的烷基或环烷基;也就是说,“烷氧基”可以被定义为-0A<sup>1</sup>,其中A<sup>1</sup>是如上定义的烷基或环烷基。“烷氧基”还包括如刚刚描述的烷氧基的聚合物;也就是说,烷氧基可以是聚醚,例如-0A<sup>1</sup>-0A<sup>2</sup>或-0A<sup>1</sup>-(0A<sup>2</sup>)<sub>a</sub>-0A<sup>3</sup>,其中“a”是1到200的整数,且A<sup>1</sup>、A<sup>2</sup>和A<sup>3</sup>是烷基和/或环烷基。

[0115] 如本文所用,术语“烯基”是具有2到24个碳原子且具有含有至少一个碳碳双键的结构式的烃基。例如(A<sup>1</sup>A<sup>2</sup>)C=C(A<sup>3</sup>A<sup>4</sup>)等不对称结构意图包括E和Z异构体。此可以在本文中存在不对称烯的结构式中假定,或其可以通过键符号C=C明确地指示。烯基可以经一个或多个如本文中描述的基团取代,包括(但不限于)烷基、环烷基、烷氧基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、芳基、杂芳基、醛、氨基、羧酸、酯、醚、卤化物、羟基、酮、叠氮化物、硝基、硅烷基、磺酸基-氧代基或硫醇。

[0116] 如本文所用,术语“环烯基”是由至少三个碳原子构成且含有至少一个碳碳双键(即C=C)的非芳香族碳基环。环烯基的实例包括(但不限于)环丙烯基、环丁烯基、环戊烯基、环戊二烯基、环己烯基、环己二烯基、降冰片烯基等等。术语“杂环烯基”是如上定义的环烯基的一种类型,并包括在术语“环烯基”的含义内,其中环的至少一个碳原子经例如(但不限于)氮、氧、硫或磷等杂原子置换。环烯基和杂环烯基可以是取代或未取代的。环烯基和杂环烯基可以经一个或多个如本文中描述的基团取代,包括(但不限于)烷基、环烷基、烷氧基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、芳基、杂芳基、醛、氨基、羧酸、酯、醚、卤化物、羟基、酮、叠氮化物、硝基、硅烷基、磺酸基-氧代基或硫醇。

[0117] 如本文所用,术语“炔基”是具有2到24个碳原子且具有含有至少一个碳碳三键的结构式的烃基。炔基可以未经取代或经一个或多个如本文中描述的基团取代,包括(但不限于)烷基、环烷基、烷氧基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、芳基、杂芳基、醛、氨基、羧酸、酯、醚、卤化物、羟基、酮、叠氮化物、硝基、硅烷基、磺酸基-氧代基或硫醇。

[0118] 如本文所用,术语“环炔基”是由至少七个碳原子构成且含有至少一个碳碳三键的非芳香族碳基环。环炔基的实例包括(但不限于)环庚炔基、环辛炔基、环壬炔基等等。术语“杂环炔基”是如上定义的环炔基的一种类型,并包括在术语“环炔基”的含义内,其中环的至少一个碳原子经例如(但不限于)氮、氧、硫或磷等杂原子置换。环炔基和杂环炔基可以是取代或未取代的。环炔基和杂环炔基可以经一个或多个如本文中描述的基团取代,包括(但不限于)烷基、环烷基、烷氧基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、芳基、杂芳基、醛、氨基、羧酸、酯、醚、卤化物、羟基、酮、叠氮化物、硝基、硅烷基、磺酸基-氧代基或硫醇。

[0119] 如本文所用,术语“芳基”是含有任何碳基芳族基的基团,包括(但不限于)苯、萘、苯基、联苯、苯氧基苯等等。术语“芳基”也包括“杂芳基”,其被定义为含有在芳族基的环内具有至少一个杂原子的芳族基的基团。杂原子的实例包括(但不限于)氮、氧、硫和磷。同样地,术语“非杂芳基”也包括在术语“芳基”内,定义含有不含杂原子的芳族基的基团。芳基可以是取代或未取代的。芳基可以经一个或多个如本文中描述的基团取代,包括(但不限于)烷基、环烷基、烷氧基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、芳基、杂芳基、醛、氨基、羧酸、酯、醚、卤化物、羟基、酮、叠氮化物、硝基、硅烷基、磺酸基-氧代基或硫醇。术语“联芳基”是芳基的一种特定类型且包括在“芳基”的定义中。联芳基是指经由稠环结构结合在一起的两个芳基,如萘中,或经由一个或多个碳碳键连接的两个芳基,如联苯中。

[0120] 如本文所用,术语“醛”由式-C(0)H表示。本说明书中,“C(0)”是羰基的速记表示法,即C=O。

[0121] 如本文所用,术语“胺”或“氨基”由式-NA<sup>1</sup>A<sup>2</sup>表示,其中A<sup>1</sup>和A<sup>2</sup>可以独立地是氢或烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、芳基或杂芳基,如本文中描述。

[0122] 如本文所用,术语“烷基氨基”由式-NH(-烷基)表示,其中烷基如本文中描述。代表性实例包括(但不限于)甲基氨基、乙基氨基、丙基氨基、异丙氨基、丁基氨基、异丁基氨基、(仲丁基)氨基、(叔丁基)氨基、戊基氨基、异戊基氨基、(叔戊基)氨基、己基氨基等等。

[0123] 如本文所用,术语“二烷基氨基”由式-N(-烷基)2表示,其中烷基如本文中描述。代表性实例包括(但不限于)二甲基氨基、二乙基氨基、二丙基氨基、二异丙氨基、二丁基氨基、二异丁基氨基、二(仲丁基)氨基、二(叔丁基)氨基、二戊基氨基、二异戊基氨基、二(叔戊基)氨基、二己基氨基、N-乙基-N-二乙基氨基、N-甲基-N-丙基氨基、N-乙基-N-丙基氨基等等。

[0124] 如本文所用,术语“羧酸”由式-C(0)OH表示。

[0125] 如本文所用,术语“酯”由式-OC(0)A<sup>1</sup>或-C(0)OA<sup>1</sup>表示,其中A<sup>1</sup>可以是烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、芳基或杂芳基,如本文中描述。如本文所用,术语“聚酯”由式-(A<sup>1</sup>O-(0)C-A<sup>2</sup>-C(0)O)<sub>a</sub>-或-(A<sup>1</sup>O(0)C-A<sup>2</sup>-OC(0))<sub>a</sub>-表示,其中A<sup>1</sup>和A<sup>2</sup>可以独立地是本文中描述的烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、芳基或杂芳基,且“a”是1到500的整数。“聚酯”是用于描述由具有至少两个羧酸基的化合物与具有至少两个羟基的化合物之间的反应产生的基团的术语。

[0126] 如本文所用,术语“醚”由式A<sup>1</sup>OA<sup>2</sup>表示,其中A<sup>1</sup>和A<sup>2</sup>可以独立地是本文中描述的烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、芳基或杂芳基。如本文所用,术语“聚醚”由式-(A<sup>1</sup>O-A<sup>2</sup>O)<sub>a</sub>-表示,其中A<sup>1</sup>和A<sup>2</sup>可以独立地是本文中描述的烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、芳基或杂芳基,且“a”是1到500的整数。聚醚的实例包括聚氧化乙烯、聚氧化丙烯和聚氧化丁烯。

[0127] 如本文所用,术语“卤化物”是指卤素氟、氯、溴和碘。

[0128] 如本文所用,术语“杂环”是指其中至少一个环成员不是碳的单环和多环芳香族或非芳香族环系统。杂环包括氮杂环丁烷、二噁烷、呋喃、咪唑、异噻唑、异噁唑、吗啉、噁唑、噁唑(包括1,2,3-噁二唑、1,2,5-噁二唑和1,3,4-噁二唑)、哌嗪、哌啶、吡嗪、吡唑、哒嗪、吡啶、嘧啶、吡咯、吡咯烷、四氢呋喃、四氢哌啶、四嗪(包括1,2,4,5-四嗪)、四唑(包括1,2,3,4-四唑和1,2,4,5-四唑)、噻二唑(包括1,2,3-噻二唑、1,2,5-噻二唑和1,3,4-噻二唑)、噻唑、噻吩、三嗪(包括1,3,5-三嗪和1,2,4-三嗪)、三唑(包括1,2,3-三唑、1,3,4-三唑)等等。

- [0129] 如本文所用,术语“羟基”由式-OH表示。
- [0130] 如本文所用,术语“酮”由式 $A^1C(O)A^2$ 表示,其中 $A^1$ 和 $A^2$ 可以独立地是如本文中描述的烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、芳基或杂芳基。
- [0131] 如本文所用,术语“叠氮化物”由式-N<sub>3</sub>表示。
- [0132] 如本文所用,术语“硝基”由式-NO<sub>2</sub>表示。
- [0133] 如本文所用,术语“腈”由式-CN表示。
- [0134] 如本文所用,术语“磺酸基-氧代基”由式-S(0)A<sup>1</sup>、-S(0)<sub>2</sub>A<sup>1</sup>、-OS(0)<sub>2</sub>A<sup>1</sup>或-OS(0)<sub>2</sub>O<sup>1</sup>表示,其中A<sup>1</sup>可以是氢或如本文中描述的烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、芳基或杂芳基。本说明书中,“S(0)”是S=0的速记表示法。术语“磺酰基”在本文中用以指由-S(0)<sub>2</sub>A<sup>1</sup>表示的磺酸基-氧代基,其中A<sup>1</sup>可以是氢或如本文中描述的烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、芳基或杂芳基。如本文所用,术语“砜”由式A<sup>1</sup>S(0)<sub>2</sub>A<sup>2</sup>表示,其中A<sup>1</sup>和A<sup>2</sup>可以独立地是如本文中描述的烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、芳基或杂芳基。如本文所用,术语“亚砜”由式A<sup>1</sup>S(0)A<sup>2</sup>表示,其中A<sup>1</sup>和A<sup>2</sup>可以独立地是如本文中描述的烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、芳基或杂芳基。
- [0135] 如本文所用,术语“硫醇”由式-SH表示。
- [0136] 如本文所用,“R<sup>1</sup>”、“R<sup>2</sup>”、“R<sup>3</sup>”、“R<sup>n</sup>”其中n是整数,可以独立地具有以上列出的基团中的一个或者者。举例来说,如果R<sup>1</sup>是直链烷基,那么烷基的一个氢原子可以任选地经羟基、烷氧基、烷基、卤素等取代。取决于所选的基团,第一基团可以并入第二基团内,或者第一基团可以悬垂(即附接)于第二基团。举例来说,在短语“包含氨基的烷基”下,氨基可以并入烷基的主链内。或者,氨基可以附接到烷基的主链。所选的基团的性质将确定第一基团是嵌入还是附接到第二基团。
- [0137] 如本文中描述,本发明的化合物可以含有“任选地取代的”部分。一般说来,术语“取代”无论前面是否有术语“任选地”都意指所表示的部分的一个或多个氢经适合的取代基置换。除非另外指明,否则“任选地取代的”基团可以在基团每个可取代的位置具有适合的取代基,且当任何既定结构中的超过一个位置可以经超过一个选自所说明的基团的取代基取代时,每个位置的取代基可以是相同的或者不同的。本发明所预期的取代基组合优选地是形成稳定的或化学上可能的化合物的取代基组合。还预期,在某些方面,除非相反明确地指示,否则个别取代基可以进一步任选地取代(即进一步取代或未取代)。
- [0138] 如本文所用,术语“稳定的”是指化合物在经受允许其产生、检测和在某些方面其回收、纯化和用于达成本文公开的一个或多个目的的条件时基本上不改变。
- [0139] “任选地取代”的基团的可取代碳原子上适合的单价取代基独立地为卤素;-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>R<sup>0</sup>;-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>OR<sup>0</sup>;-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>R<sup>0</sup>、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>C(O)OR<sup>0</sup>;-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>CH(OR<sup>0</sup>)<sub>2</sub>;-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>Ph,其可以经R<sup>0</sup>取代;-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-1</sub>Ph,其可以经R<sup>0</sup>取代;-CH=CHPh,其可以经R<sup>0</sup>取代;-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-1</sub>-吡啶基,其可以经R<sup>0</sup>取代;-NO<sub>2</sub>; -CN; -N<sub>3</sub>; -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>N(R<sup>0</sup>)<sub>2</sub>; -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>N(R<sup>0</sup>)C(O)R<sup>0</sup>; -N(R<sup>0</sup>)C(S)R<sup>0</sup>; -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>N(R<sup>0</sup>)C(O)NR<sup>0</sup><sub>2</sub>; -N(R<sup>0</sup>)C(S)NR<sup>0</sup><sub>2</sub>; -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>N(R<sup>0</sup>)C(O)OR<sup>0</sup>; -N(R<sup>0</sup>)N(R<sup>0</sup>)C(O)R<sup>0</sup>; -N(R<sup>0</sup>)N(R<sup>0</sup>)C(O)NR<sup>0</sup><sub>2</sub>; -N(R<sup>0</sup>)N(R<sup>0</sup>)C(O)OR<sup>0</sup>; -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>C(O)R<sup>0</sup>; -C(S)R<sup>0</sup>; -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>C(O)OR<sup>0</sup>; -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>C(O)SR<sup>0</sup>; -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>C(O)Os<sub>2</sub>R<sup>0</sup><sub>3</sub>; -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>OC(O)R<sup>0</sup>; -OC(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>SR-; SC(S)SR<sup>0</sup>; -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>SC(O)R<sup>0</sup>; -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>C(O)NR<sup>0</sup><sub>2</sub>; -C(S)NR<sup>0</sup><sub>2</sub>; -C(S)SR<sup>0</sup>; -SC(S)SR<sup>0</sup>; -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>OC(O)NR<sup>0</sup><sub>2</sub>; -C(O)N(OR<sup>0</sup>)R<sup>0</sup>; -C(O)C(O)R<sup>0</sup>; -C(O)CH<sub>2</sub>C(O)R<sup>0</sup>; -C(NOR<sup>0</sup>)R<sup>0</sup>; -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-</sub>

$4SSR^0$ ;  $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^0$ ;  $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR^0$ ;  $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R^0$ ;  $-S(O)_2NR^0_2$ ;  $-(CH_2)_{0-4}S(O)R^0$ ;  $-N(R^0)S(O)_2NR^0_2$ ;  $-N(R^0)S(O)_2R^0$ ;  $-N(OR^0)R^0$ ;  $-C(NH)NR^0_2$ ;  $-P(O)_2R^0$ ;  $-P(O)R^0_2$ ;  $-OP(O)R^0_2$ ;  $-OP(O)(OR^0)_2$ ;  $SiR^0_3$ ;  $-(C_{1-4}\text{直链或分支链亚烷基})O-N(R^0)_2$ ; 或  $-(C_{1-4}\text{直链或分支链亚烷基})C(O)ON(R^0)_2$ , 其中每个  $R^0$  可以如下文所定义来取代, 且独立地是氢、 $C_{1-6}$  脂肪族基、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 、 $-CH_2-$ (5-6元杂芳基环) 或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环, 或不管以上定义, 两个独立出现的  $R^0$  连同其插入原子一起形成具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的3-12元饱和、部分不饱和或芳基单环或双环, 其可以如下文所定义来取代。

[0140]  $R^0$  (或藉由两个独立出现的  $R^0$  连同其插入原子一起形成的环) 上的适合的单价取代基独立地是卤素、 $-(CH_2)_{0-2}R^*$ 、 $-(\text{卤基 } R^*)$ 、 $-(CH_2)_{0-2}OH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}OR^*$ 、 $-(CH_2)_{0-2}CH(OR^*)_2$ 、 $-O(\text{卤基 } R^*)$ 、 $-CN$ 、 $-N_3$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)R^*$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)OR^*$ 、 $-(CH_2)_{0-2}SR^*$ 、 $-(CH_2)_{0-2}SH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NH_2$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NHR^*$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NR^0_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SiR^0_3$ 、 $-OSiR^0_3$ 、 $-C(O)SR^*$ 、 $-(C_{1-4}\text{直链或分支链亚烷基})C(O)OR^*$  或  $-SSR^*$ , 其中每个  $R^*$  未经取代或在前面放有“卤基”的情况仅经一个或多个卤素取代, 并独立地选自  $C_{1-4}$  脂肪族基、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$  或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环。 $R^*$  的饱和碳原子上的适合二价取代基包括=0和=S。

[0141] “任选地取代”的基团的饱和碳原子上适合的二价取代基包括以下: =0、=S、=NNR^0\_2、=NNHC(O)R^\*、=NNHC(O)OR^\*、=NNHS(O)\_2R^\*、=NR^\*、=NOR^\*、-O(C(R^0\_2))\_{2-3}O-或-S(C(R^0\_2))\_{2-3}S-, 其中每个独立出现的  $R^*$  选自氢、可以如下文所定义来取代的  $C_{1-6}$  脂肪族或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未取代的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环。结合于“任选地取代的”基团的附近可取代碳的适合二价取代基包括: $-O(CR^0_2)_{2-3}O-$ , 其中每个独立出现的  $R^*$  选自氢、可以如下文所定义来取代的  $C_{1-6}$  脂肪族或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未取代的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环。

[0142]  $R^*$  的脂肪族基上的适合取代基包括卤素、 $-R^*$ 、 $-(\text{卤基 } R^*)$ 、 $-OH$ 、 $-OR^*$ 、 $-O(\text{卤基 } R^*)$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OR^*$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^*$ 、 $-NR^0_2$  或  $-NO_2$ , 其中每个  $R^*$  未经取代或在前面放有“卤基”的情况仅经一个或多个卤素取代, 并独立地是  $C_{1-4}$  脂肪族基、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$  或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环。

[0143] “任选地取代”的基团的可取代氮上适合的取代基包括 $-R^+$ 、 $-NR^{+2}$ 、 $-C(O)R^+$ 、 $-C(O)OR^+$ 、 $-C(O)C(O)R^+$ 、 $-C(O)CH_2C(O)R^+$ 、 $-S(O)_2R^+$ 、 $-S(O)_2NR^0_2$ 、 $-C(S)NR^0_2$ 、 $-C(NH)NR^0_2$  或  $-N(R^+)S(O)_2R^+$ ; 其中每个  $R^+$  独立地是氢、可以如下文所定义来取代的  $C_{1-6}$  脂肪族、未经取代的-OPh 或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未取代的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环, 或不管以上定义, 两个独立出现的  $R^+$  连同其插入原子连在一起形成具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的3-12元饱和、部分不饱和或芳基单环或双环。

[0144]  $R^*$  的脂肪族基上的适合取代基独立地是卤素、 $-R^*$ 、 $-(\text{卤基 } R^*)$ 、 $-OH$ 、 $-OR^*$ 、 $-O(\text{卤基 } R^*)$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OR^{+*}$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^*$ 、 $-NR^0_2$  或  $-NO_2$ , 其中每个  $R^*$  未经取代或在前面放有“卤基”的情况仅经一个或多个卤素取代, 并独立地选自  $C_{1-4}$  脂肪族基、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$  或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环。

[0145] 术语“离去基”是指具有吸电子能力的原子(或一组原子), 其可以与成键电子一起, 被替换为稳定的物质。适合的离去基的实例包括卤化物, 包括氯基、溴基和碘基; 和假卤

化物(磺酸酯),包括三氟甲磺酸酯、甲磺酸酯、甲苯磺酸酯和对溴苯磺酸酯。还预期羟基部分可以经由光延反应(Mitsunobu reaction)转变为离去基。

[0146] 术语“可水解基团”和“可水解部分”是指例如在碱性或酸性条件下能够进行水解的官能团。可水解残基的实例包括但不限于酸卤化物、活化羧酸和本领域中已知的各种保护基(参见例如"Protective Groups in Organic Synthesis,"T.W.Greene,P.G.M.Wuts,Wiley-Interscience,1999)。

[0147] 术语“有机残基”定义含碳残基,即包含至少一个碳原子的残基,且包括(但不限于)在上文定义的含碳基团、残基或基。有机残基可以含有各种杂原子,或经由杂原子,包括氧、氮、硫、磷等与另一分子键结。有机残基的实例包括但不限于烷基或经取代的烷基、烷氧基或经取代的烷氧基、单或二取代氨基、酰胺基等等。有机残基可以优选地包含1到18个碳原子、1到15个碳原子、1到12个碳原子、1到8个碳原子、1到6个碳原子或1到4个碳原子。在另一个方面,有机残基可以包含2到18个碳原子、2到15个碳原子、2到12个碳原子、2到8个碳原子、2到4个碳原子或2到4个碳原子。

[0148] 与术语“残基”非常接近的同义词是术语“基”,如本说明书和归纳性权利要求书中所用,其是指本文中描述的分子的片段、基团或亚结构,无论分子如何制备。在一些实施例中,基(例如烷基)可以通过与一个或多个“取代基”键结而进一步改性(即经取代的烷基)。除非在本文的其它地方相反地指示,否则给出的基中的原子数目对本发明来说不是关键的。

[0149] “有机基”在该术语在本文中定义和使用时含有一个或多个碳原子。有机基可以具有例如1-26个碳原子、1-18个碳原子、1-12个碳原子、1-8个碳原子、1-6个碳原子或1-4个碳原子。在另一个方面,有机基可以具有例如2-26个碳原子、2-18个碳原子、2-12个碳原子、2-8个碳原子、2-6个碳原子或2-4个碳原子。有机基常常具有结合于有机基的至少一些碳原子的氢。在一些实施例中,有机基可以含有1-10个结合于其或在其中的无机杂原子,包括卤素、氧、硫、氮、磷等等。有机基的实例包括(但不限于)烷基、经取代的烷基、环烷基、经取代的环烷基、单取代的氨基、二取代的氨基、酰氧基、氰基、羧基、烷氧羰基、烷基羧酰胺、经取代的烷基羧酰胺、二烷基羧酰胺、经取代的二烷基羧酰胺、烷基磺酰基、烷基亚磺酰基、硫烷基、硫卤烷基、烷氧基、经取代的烷氧基、卤烷基、卤烷氧基、芳基、经取代的芳基、杂芳基、杂环基或经取代的杂环基,其中术语在本文中的其它地方定义。包括杂原子的有机基的几个非限制性实例包括烷氧基、三氟甲氧基、乙酰氧基、二甲基氨基等。

[0150] “无机基”在该术语在本文中定义和使用时不含碳原子,因此只包含除碳以外的原子。无机基包含选自氢、氮、氧、硅、磷、硫、硒和卤素(例如氟、氯、溴和碘)的原子的键结组合,其可以个别地存在或以其化学上稳定的组合键结在一起。无机基具有10个或少于10个,或优选地一个到六个或一个到四个如上所列出的键结在一起的无机原子。无机基的实例包括(但不限于)氨基、羟基、卤素、硝基、硫醇、硫酸酯、磷酸酯和类似的通常已知的无机基。无机基不具有键结于其中的周期表金属元素(例如碱金属、碱土金属、过渡金属、镧系金属或锕系金属),不过此类金属离子可以有时用作阴离子无机基(例如硫酸根、磷酸根或类似的阴离子无机基)的药学上可接受的阳离子。除非在本文中的其它地方另外特别指示,否则无机基不包含类金属元素,例如硼、铝、镓、锗、砷、锡、铅或碲或稀有气体元素。

[0151] 本文中描述的化合物可以含有一个或多个双键,并因此可能产生顺式/反式(E/Z)

异构体以及其它构象异构体。除非相反陈述,否则本发明包括所有这类的可能异构体以及此类异构体的混合物。

[0152] 除非相反陈述,否则具有仅仅显示为实线且不显示为楔形物或虚线的化学键的式涵盖每种可能的异构体,例如每种对映异构体和非对映异构体,以及异构体的混合物,例如外消旋或呈比例混合物。本文中描述的化合物可以含有一个或多个不对称中心并因此可能产生非对映异构体和光学异构体。除非相反陈述,否则本发明包括所有这类可能的非对映异构体以及其外消旋混合物、其基本上纯的解析对映异构体、所有可能的几何异构体和其药学上可接受的盐。还包括立体异构体的混合物以及分离的特定立体异构体。在用于制备此类化合物的合成程序的过程中,或在使用本领域技术人员已知的外消旋化或差向异构化程序中,此类程序的产物可以是立体异构体的混合物。

[0153] 许多有机化合物以能够使平面偏振光之平面旋转的光学活性形式存在。在描述光学活性化合物时,前缀D和L或R和S用以表示分子绕其手性中心的绝对构型。前缀d和l或(+)和(-)用以表示化合物使平面偏振光旋转的方向,其中(-)或l意指该化合物是左旋的。前缀为(+)或d的化合物是右旋的。对于既定化学结构,这些被称为立体异构体的化合物除彼此互为不能重叠的镜像外都是一致的。特定立体异构体也可以称为对映异构体,且此类异构体的混合物时常称为对映异构体混合物。对映异构体的50:50混合物称为外消旋混合物。本文中描述的许多化合物都可以具有一个或多个手性中心,因此可以呈不同的对映异构体形式存在。必要时,手性碳可以用星号(\*)表示。当在公开的式中与手性碳的键被描绘成直线时,应了解手性碳的(R)和(S)构型和由此其两种对映异构体和混合物都涵盖于式内。如本领域中所用,当希望说明绕手性碳的绝对构型时,与手性碳的键之一可以描绘成楔形物(与平面以上的原子的键),且另一个可以描绘成短平行线的系列或楔形物(与平面以下的原子的键)。卡恩-英格尔-普雷洛格系统(Cahn-Ingold-Prelog system)可以用于将(R)或(S)构型分配到手性碳。

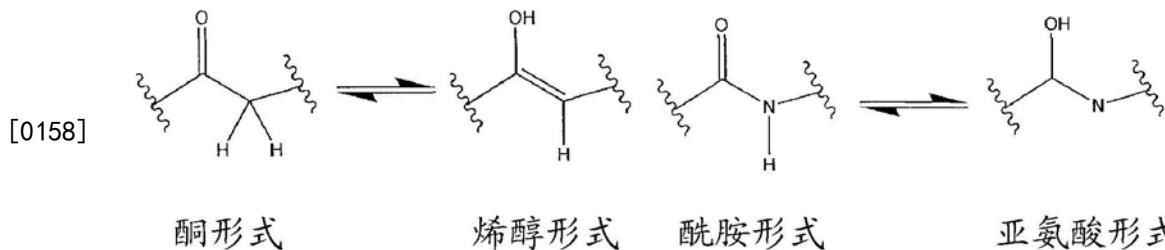
[0154] 本文中描述的化合物包含呈其天然同位素丰度和非天然丰度的原子。公开的化合物可以是同位素标记或同位素取代的化合物,这些化合物与所描述的化合物一致,除了一个或多个原子经原子质量或质量数不同于在自然界中通常发现的原子质量或质量数的原子置换。可以并入本发明化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素,分别例如<sup>2</sup>H、<sup>3</sup>H、<sup>13</sup>C、<sup>14</sup>C、<sup>15</sup>N、<sup>16</sup>O、<sup>17</sup>O、<sup>35</sup>S、<sup>18</sup>F和<sup>36</sup>Cl。化合物进一步包含含有上述同位素和/或其它原子的其它同位素的其前药和所述化合物或所述前药的药学上可接受的盐,在本发明的范围内。本发明的某些同位素标记的化合物,例如如H和C等放射性同位素并入的化合物适用于药物和/或底物组织分布分析。氟化(即<sup>3</sup>H)和碳14(即<sup>14</sup>C)同位素因其易于制备和检测能力而特别优选。此外,经例如氘(即<sup>2</sup>H)等重同位素取代可以提供某些由代谢稳定性更大产生的治疗优点,例如体内半衰期延长或所需剂量降低,因此在一些情况下可能优选。本发明的同位素标记的化合物和其前药一般可以通过进行以下程序,用可易得到的同位素标记试剂取代未经同位素标记的试剂来制备。

[0155] 本发明中描述的化合物可以呈溶剂化物形式存在。在一些情况下,用于制备溶剂化物的溶剂是水溶液,且接着溶剂化物常常称为水合物。化合物可以呈水合物形式存在,其可以例如通过从溶剂或从水溶液结晶来获得。就此而论,一个、两个、三个或任何任意数目的溶剂化物或水分子都可以与根据本发明的化合物组合,形成溶剂化物和水合物。除非相

反陈述，否则本发明包括所有这类可能的溶剂化物。

[0156] 术语“共晶体”意指两个或两个以上具有稳定性的分子经由非共价相互作用的物理缔合。此分子复合物的一个或多个组分在晶格中提供稳定的构架。在某些情况下，客体分子并入晶格中，如脱水酶或溶剂化物，参见例如“Crystal Engineering of the Composition of Pharmaceutical Phases. Do Pharmaceutical Co-crystals Represent a New Path to Improved Medicines?” Almarsson, O. 等人, The Royal Society of Chemistry, 1889–1896, 2004。共晶体的实例包括对甲苯磺酸和苯磺酸。

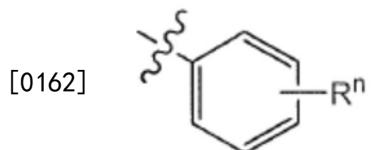
[0157] 还了解，本文中描述的某些化合物可以呈互变异构体的平衡存在。举例来说，具有 $\alpha$ -氢的酮可以呈酮形式与烯醇形式的平衡存在。



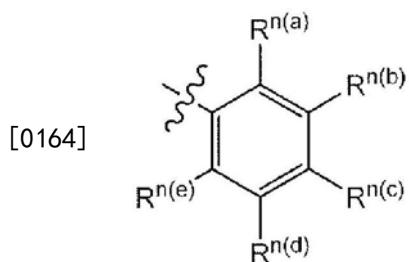
[0159] 同样，具有N-氢的酰胺可以呈酰胺形式与亚氨酸形式的平衡存在。除非相反陈述，否则本发明包括所有这类可能的互变异构体。

[0160] 已知化学物质形成呈不同有序状态存在的固体，称为多晶型物或变体。多晶型物的不同变体的物理特性极大地不同。根据本发明的化合物可以呈不同的多晶型物存在，其中特定变体有可能是亚稳的。除非相反陈述，否则本发明包括所有这类可能的多晶型物。

[0161] 在一些方面，化合物的结构可以由下式表示：



[0163] 应了解其相当于下式：



[0165] 其中n通常为整数。也就是说，应了解R^n代表五个独立的取代基R^n<sup>(a)</sup>、R^n<sup>(b)</sup>、R^n<sup>(c)</sup>、R^n<sup>(d)</sup>和R^n<sup>(e)</sup>。“独立的取代基”意指每个R取代基都可以独立地定义。举例来说，如果在一种情况下R^n<sup>(a)</sup>是卤素，那么在该情况下R^n<sup>(b)</sup>不一定是卤素。

[0166] 公开用于制备本发明的组合物的组分以及自身用于本文公开的方法内的组合物。本文公开这些和其它材料，且应了解，当公开这些材料的组合、子集、相互作用、群组等时，虽然可能未明确地公开这些化合物的每一个不同的个别和集体组合和置换的特定提及，但本文中明确地涵盖和描述每一个。举例来说，除非明确地相反指示，否则如果公开和论述特定的化合物且论述包括化合物在内的许多分子可以进行的许多修改，那么明确地涵盖化合物

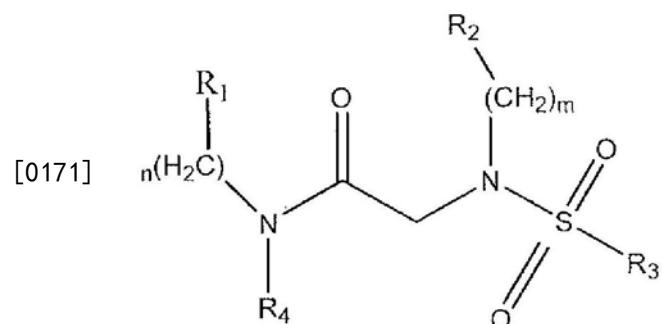
的每个组合和置换和可能的修改。此概念适用于本申请的所有方面，包括(但不限于)本发明的组合物制造和使用方法中的步骤。因此，如果存在可以进行的各种其它步骤，那么应了解这些其它步骤的每一个可以在本发明的方法的任何特定实施方案或实施方案的组合下进行。

[0167] 在一个方面，本发明涉及适用作STAT3/STAT5抑制剂的化合物。在另一个方面，公开的化合物和公开的制造方法的产物是STAT3/STAT5活性的调节剂。在各个方面，本发明涉及结合于STAT3蛋白质并负调节STAT3活性的化合物。在其它各个方面，本发明涉及结合于STAT5蛋白质并负调节STAT5活性的化合物。在另一个方面，公开的化合物显示抑制STAT3/5活性。

[0168] 在一个方面，本发明的化合物适用于治疗与STAT3/STAT5活性功能异常相关联的癌症，例如乳癌、前列腺癌或脑癌和成胶质细胞瘤，以及STAT3/5蛋白质相关的其它疾病，如本文中进一步描述。

[0169] 预期每种公开的衍生物可以任选地进一步经取代。还预期任一种或多种衍生物可以任选地从本发明省略。应了解，公开的化合物通过公开的方法提供。还应了解公开的化合物可以用于公开的使用方法中。

[0170] 在本公开的一个方面，提供一种式I化合物



[0172] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药，

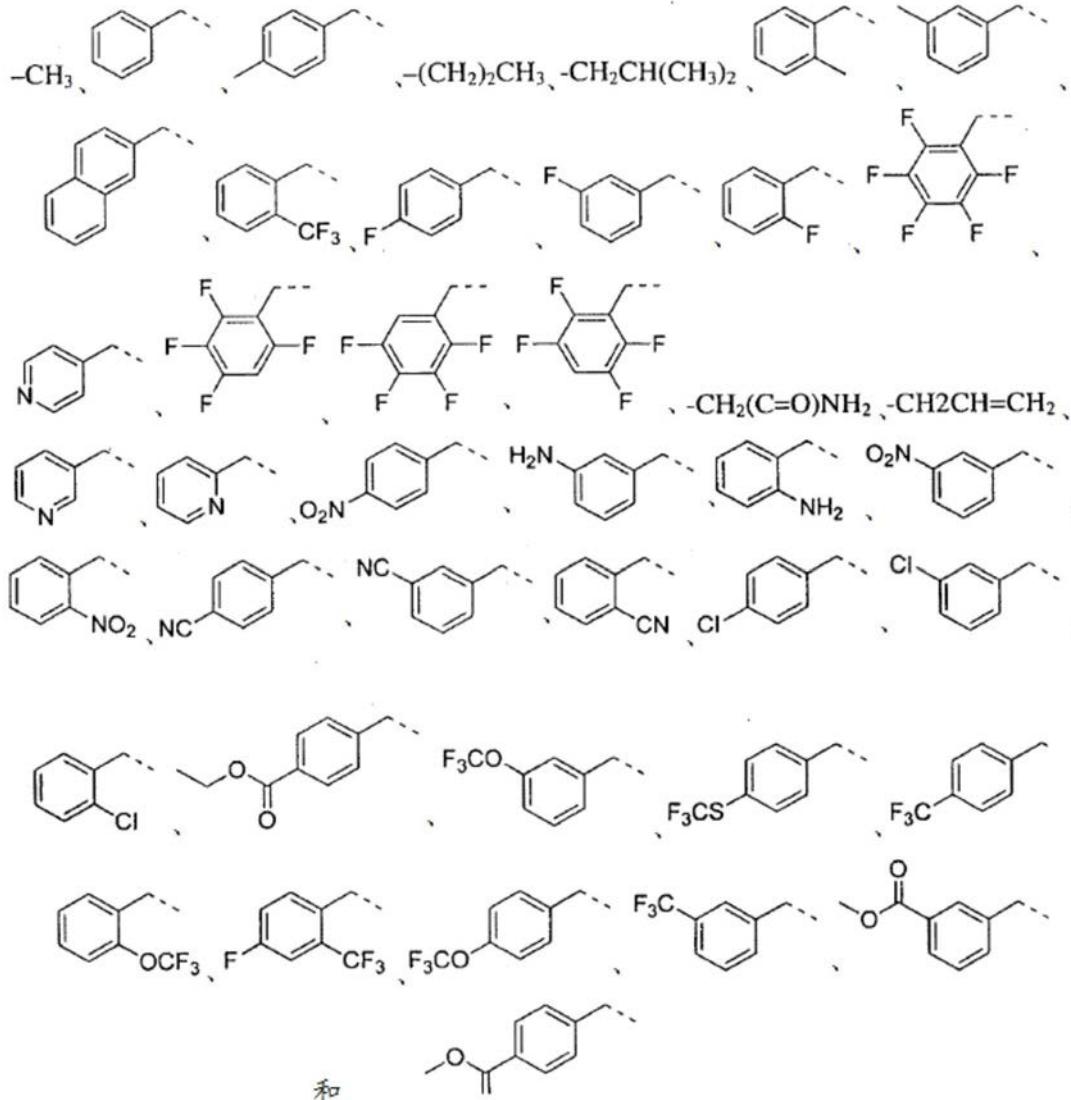
[0173] 其中m和n中的每一个独立地为0-3之整数；

[0174] 其中R<sup>1</sup>选自A<sup>1</sup>、A<sup>2</sup>、-(A<sup>1</sup>)-(A<sup>2</sup>)、-(A<sup>2</sup>)-(A<sup>3</sup>)、-(A<sup>3</sup>)-(A<sup>2</sup>)、-(A<sup>3</sup>)-(A<sup>4</sup>)、-(A<sup>5</sup>)-(A<sup>1</sup>)-(A<sup>7</sup>)、-(A<sup>5</sup>)-(A<sup>2</sup>)-(A<sup>8</sup>)、-(A<sup>5</sup>)-(A<sup>3</sup>)-(A<sup>7</sup>)和-(A<sup>5</sup>)-(A<sup>6</sup>)-L-(A<sup>7</sup>)；其中A<sup>1</sup>为C<sub>3-6</sub>环烷基，且经0-3个选自以下各基的基团取代：卤基、羟基、氨基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>多卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷基硫基、C<sub>1-6</sub>卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基、C<sub>1-6</sub>二烷基氨基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-烷氧基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-卤烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷基硫基、CO<sub>2</sub>H、(C=O)R<sup>5</sup>、(C=O)OR<sup>5</sup>和(C=O)NHR<sup>5</sup>；其中A<sup>2</sup>为C<sub>3-6</sub>环烷基或杂环烷基，经0-3个选自以下各基的基团取代：卤基、羟基、氨基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>多卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷基硫基、C<sub>1-6</sub>卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基、C<sub>1-6</sub>二烷基氨基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-烷氧基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-卤烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>)-烷基-(C<sub>1-6</sub>)-多卤烷基硫基、CO<sub>2</sub>H、(C=O)R<sup>6</sup>、(C=O)OR<sup>6</sup>和(C=O)NHR<sup>6</sup>；其中A<sup>3</sup>为芳基，且经0-3个选自以下各基的基团取代：卤基、羟基、氨基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>多卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基。"

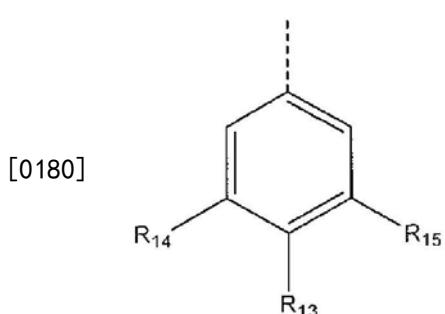
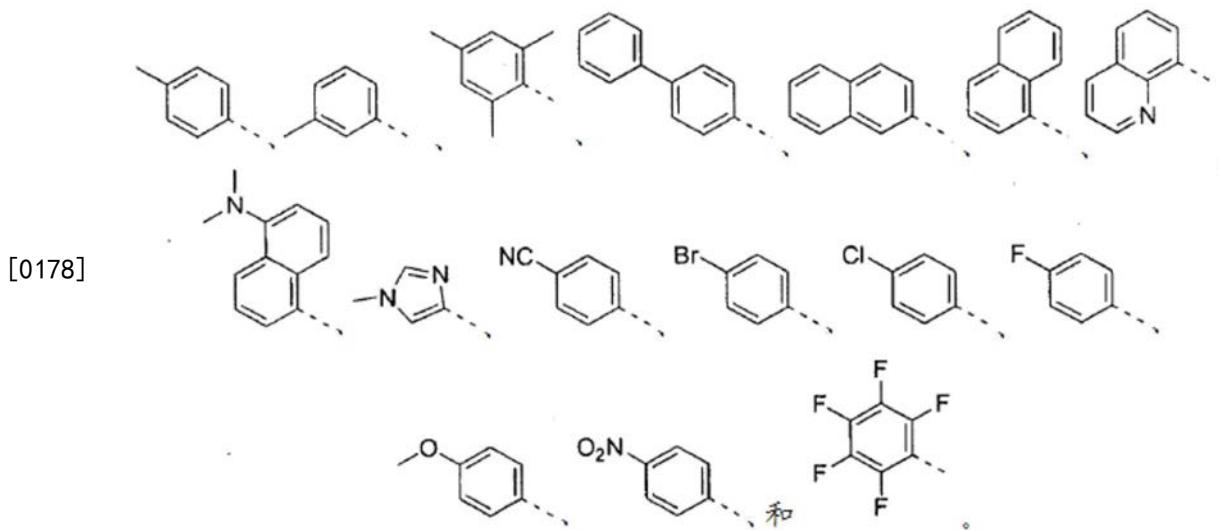
基硫基、C<sub>1-6</sub>卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基、C<sub>1-6</sub>二烷基氨基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -多卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -卤烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -多卤烷基硫基、CO<sub>2</sub>H、(C=O) R7、(C=O) OR7和(C=O) NHR7；其中A<sup>4</sup>为芳基，且经1-3个选自以下各基的基团取代：卤基、羟基、氨基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>多卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷基硫基、C<sub>1-6</sub>卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基、C<sub>1-6</sub>二烷基氨基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -多卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -卤烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -多卤烷基硫基、CO<sub>2</sub>H、(C=O) R8、(C=O) OR8和(C=O) NHR8；其中A<sup>5</sup>选自C<sub>3-6</sub>环烷基、C<sub>3-6</sub>杂环烷基和芳基，且经0-3个选自以下各基的基团取代：卤基、羟基、氨基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>多卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷基硫基、C<sub>1-6</sub>卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基、C<sub>1-6</sub>二烷基氨基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -多卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -卤烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -多卤烷基硫基、CO<sub>2</sub>H、(C=O) R9、(C=O) OR9和(C=O) NHR9；其中A<sup>6</sup>选自C<sub>3-6</sub>环烷基、C<sub>3-6</sub>杂环烷基和芳基，且经0-3个选自以下各基的基团取代：卤基、羟基、氨基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>多卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷基硫基、C<sub>1-6</sub>卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基、C<sub>1-6</sub>二烷基氨基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -多卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -卤烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -多卤烷基硫基、CO<sub>2</sub>H、(C=O) R10、(C=O) OR10和(C=O) NHR10；其中A<sup>7</sup>选自C<sub>3-6</sub>环烷基、C<sub>3-6</sub>杂环烷基和芳基，且经0-3个选自以下各基的基团取代：卤基、羟基、氨基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>多卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷基硫基、C<sub>1-6</sub>卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基、C<sub>1-6</sub>二烷基氨基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -多卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -卤烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -多卤烷基硫基、CO<sub>2</sub>H、(C=O) R11、(C=O) OR11和(C=O) NHR11；其中A<sup>8</sup>选自C<sub>3-6</sub>环烷基、C<sub>3-6</sub>杂环烷基和芳基，且经0-3个选自以下各基的基团取代：卤基、羟基、氨基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>多卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷基硫基、C<sub>1-6</sub>卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基、C<sub>1-6</sub>二烷基氨基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -多卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -卤烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -多卤烷基硫基、CO<sub>2</sub>H、(C=O) R12、(C=O) OR12和(C=O) NHR12；其中L选自-(C=O)-和-SO<sub>2</sub>-；其中R<sup>2</sup>选自C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>2-6</sub>烯基、C<sub>2-6</sub>炔基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>2-6</sub>卤烯基、C<sub>2-6</sub>卤炔基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>2-6</sub>多卤烯基、C<sub>2-6</sub>多卤炔基；或其中R<sup>2</sup>为芳基，且经0-5个独立地选自以下各基的基团取代：卤基、羟基、氨基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>多卤烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷基硫基、C<sub>1-6</sub>卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基硫基、C<sub>1-6</sub>烷基氨基、C<sub>1-6</sub>二烷基氨基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -多卤烷氧基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -卤烷基硫基、(C<sub>1-6</sub>) -烷基-(C<sub>1-6</sub>) -多卤烷基硫基、CO<sub>2</sub>H、(C=O) OR12和(C=O) NHR12；其中R<sup>3</sup>为经0-5个独立地选自以下各基的基团取代之芳基：卤基、羟基、氨基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>1-6</sub>卤烷基、C<sub>1-6</sub>多卤烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>卤烷

氧基、C<sub>1</sub>-6多卤烷氧基、C<sub>1</sub>-6烷基氨基、C<sub>1</sub>-6二烷基氨基、(C<sub>1</sub>-6)-烷基-(C<sub>1</sub>-6)-烷氧基、(C<sub>1</sub>-6)-烷基-(C<sub>1</sub>-6)-卤烷氧基和(C<sub>1</sub>-6)-烷基-(C<sub>1</sub>-6)-多卤烷氧基；其中R5、R6、R7、R8、R9、R10、R11和R<sup>11</sup>一个中的每一个独立地选自氢、C<sub>1</sub>-6烷基、C<sub>1</sub>-6卤烷基和C<sub>1</sub>-6多卤烷基；或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或多晶型物，

[0175] 其中R<sup>2</sup>选自由以下组成的组：



[0176] 其中R<sub>3</sub>选自由下式表示的结构：



[0181] 其中R<sup>13</sup>选自由-OH、-COR<sup>16</sup>、-CN、-CH<sub>2</sub>PO(OH)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>P(O)<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-NO<sub>2</sub>、-NHR<sup>17</sup>和1H-四唑组成的组；

[0182] R<sup>16</sup>选自由-OH、-O-C<sub>(1-2)</sub>烷基、-OCH<sub>2</sub>OC(0)CH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>OC(0)叔丁基和-NHOH组成的组；

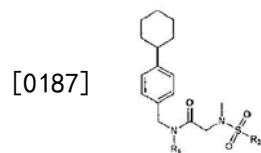
[0183] R<sup>17</sup>选自由-H、-C(0)C(0)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-C(0)C(0)OH和-C(0)CH<sub>2</sub>-1H-四唑组成的组；

[0184] R<sup>14</sup>为-H或当R<sup>13</sup>为-COOH时，R<sup>14</sup>为-F、-OC(0)CH<sub>3</sub>；且

[0185] 当R<sup>14</sup>为-OH或R<sup>15</sup>都为-COOH时R<sup>13</sup>为-H。

[0186] 在本公开的一个方面，提供具有前药、潜在生物电子等排体以及被认为适合于模拟水杨酸的功能性的4-(2-(苯基磺酰胺基)乙酰胺基)水杨酸类似物的集中文库。测试这些化合物的STAT3/5抑制活性。此两种蛋白质已经展示与各种癌症相关。本文中将证明，本发明的化合物与已知可用于治疗各种癌症的其它化合物相比，实际上更有效。在考虑提高细胞和BBB渗透率下，合成本文中设计的前药以隐藏水杨酸基团的阴离子羟基和羧酸中的任一个或两者。在此子族中，制备水杨酸的烷基(39-40)、乙酰氨基甲基(AOM)(26)、特戊酰氨基甲基(POM)(27)和乙酰化前药(22、23)增强细胞透性(表1)。除水杨酸外，制备1的磷酸化酪氨酸类膦酸酯衍生物21和前药类似物20。为了研发结构活性关系，羟基和羧酸酯基的相对环位置是反的(38)，羟基取代基经氟置换(33、43)或完全去除和经氢原子置换(31、42)。制备负电性氟化类似物33、43以通过减小羧酸酯上的电荷并因此提高细胞透性而降低抑制剂极性。作为额外的益处，羟基缺失或经氟置换将排除II期葡萄糖酸化。为了进一步研究水杨酸在结合STAT3中的作用，制备N-羟基氨基(32、44)、磺酰胺(12-15)、磺胺(16)、四唑(35、41)和N-羟基-草氨酸(28、46)衍生物。还制备生物电子等排体的所选前药类似物(17-18)。

合成分别具有庞大疏水性萘基或苯的缺乏关键水杨酸的化合物12-13和36作为阴性对照。本文中报导所有显示化合物的化学合成途径。



[0188]

#	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>									
8			17			29			38		
9			18			30			39		
10			20			31			40		
11			21			32			41		
12			22			33			42		
13			23			34			43		
14			26			35			44		
15			27			36			45		
16			28			37			46		

[0189] 表1.由水杨酸功能性的前药和生物电子等排体组成的抑制剂的集中文库

[0190] 首先,对一组三种来源于GBM患者的代表性GBM BTSC,包括极具侵袭性的GBM BTSC细胞系BTSC73M、BTSC30M和BTSC68EF,针对生物活性筛选文库。解离的BTSC球以1500个细胞/96孔接种并在涂铺一天后用药物化合物或媒介物(DMSO)处理。在72小时后,使用alamarBlue™分析(Invitrogen),根据制造商的说明书,评估药物处理后的细胞活力。所有培养实验都一式三份进行,每种条件最少三个孔。从这些实验的结果获得的IC<sub>50</sub>值与作为参考的BP-1-102化合物(在这些实验中又称为化合物1)和葫芦素(一种JAK2抑制剂和迄今为止最有效的BTSC抑制剂)相比(表2)。

[0191] 表2: IC<sub>50</sub>(μM)数据

	30M	73M
[0192]	WP1066 1.8 ± 0.22	2.1-粗大误差
	葫芦素1 0.63 ± 0.08	0.70 ± 0.06
	化合物 31 0.432 ± 0.022	1.031 ± 0.031

[0193] 然而,不良BBB渗透率否定了葫芦素的临床适当性。与在具有活化STAT3的其它肿瘤细胞中的发现一致,化合物1显示低 $\mu\text{M}$ 活性(图1A)。最鼓舞人心地,所制备的文库显示许多更有效的抑制剂,这些抑制剂显示针对BTSC低纳摩尔(nM) IC<sub>50</sub>细胞毒性值,包括针对73M的空前活性。重要地,甲苯基类似物(R<sub>2</sub>=甲苯基、18、23、42-46)可溶性差,且与产生同质溶液的五氟苯R<sub>2</sub>对应物比较,活性降低许多。针对代表人类GBM的分子异质性的BTSC、25M、67EF、73EF、84EF和127EF,进一步研究前四种化合物22、31、32和33,这些化合物显示在100nM到3.8 $\mu\text{M}$ 范围内的IC<sub>50</sub>值(图1A和1B)。跨越所有8种评估的BTSC,化合物22和31-33显示显著的活性,EC<sub>50</sub>在66-1145nM范围内。然而,在评估的前四种药剂中,装备有苯甲酸取代基的化合物31显示针对较大多数的BTSC显著更高的效能。最显著地,针对127EF,EC<sub>50</sub>为66±33.9nM的31代表BTSC的最有效的小分子抑制剂,甚至比葫芦素更有效(对比30M和73M,分别地,EC<sub>50</sub>=630nM和700nM)。

[0194] 假定nM细胞毒性,在健康细胞中分析这些化合物的生物效应。一系列正常的人类胎儿星形细胞经受高达5 $\mu\text{M}$ 的前三种抑制剂(比报导的针对BTSC的IC<sub>50</sub>高10-20倍)。如图2A中所示,化合物22、31和32在正常人类细胞中在高达5 $\mu\text{M}$ 浓度下显示最小毒性,确定了这些药剂在GBM中的明确治疗窗口。

[0195] 接着,为了证实STAT3结合亲和力的滞留,使用ProteOn XPR36(Bio-rad)进行表面等离子体激元共振(SPR)结合实验。简单地说,使全长His标签STAT3蛋白质(SignalChem)固定到THE传感器芯片(bio-Rad, Ontario, Canada)上。为了确定动力学缔合和解离速率常数(k<sub>on</sub>和k<sub>off</sub>),在变化浓度下评估药物蛋白结合。最鼓舞人心地,所有四种化合物显示有效的nM结合效能(图2B)。化合物31显示是最有效的结合剂,K<sub>D</sub>(k<sub>off</sub>/k<sub>on</sub>)=300±27nM。因此,在以上报导的结果下,当与现有技术中存在的结果相比时,化合物31代表迄今为止所报导的最有效的未磷酸化STAT3抑制剂,具有低的针对STAT3蛋白质的nM K<sub>D</sub>值。图2B上报导的研究在多个浓度,即5.000、1.667、0.556和0.185 $\mu\text{M}$ 下进行。

[0196] 接着,为了检验磷酸化肽:STAT3 SH2结构域复合事件的破坏,化合物进行荧光偏振(FP)分析,如Schust, J.等人(Anal.Biochem. 330, 114-118, 2004)和Wu, P.等人(Anal.Biochem. 249, 29-36, 1997)先前所报导。简单地说,荧光素标记的肽探针(5-FAM-GpYLPQTV-NH<sub>2</sub>(CanPeptide))与STAT3蛋白质(SignalChem)和抑制剂一起培育30分钟,接着在Tecan M1000荧光计(Tecan)上分析。偏振荧光针对抑制剂浓度绘图,并通过与剂量反应曲线拟合来确定IC<sub>50</sub>值。相对于化合物1,许多新的衍生物显示提高的结合活性。正如所料,在细胞外背景下,前药类似物17-20、22、26-27和39-40未显示结合活性。另外,缺乏水杨酸结合基团的阴性对照36未显示STAT3:磷酸化肽相互作用的破坏。具有中性酰胺基磺酰胺取

代基的化合物显示较低的抑制效能。经羟基胺取代(32)显示抑制效能显著的提高。最后,且与SPR数据相符,化合物27是最有效的STAT3抑制剂。另外,31显示对STAT3和STAT5的选择性比对STAT1选择性大5倍,其具有抗肿瘤作用。

[0197] 使用蛋白质印迹分析,针对磷酸化STAT3,确定活化STAT3活性的细胞水平,包括Y705以及pSTAT3 S727和下游标靶基因Bcl-xL和周期素D1。STAT3 SH2结构域的阻断不应抑制S727磷酸化,仅仅Y705。对于药物处理后的蛋白质分析,将BTSC球解离成单细胞并用不同浓度的药物或媒介物(DMSO)在不同的时间点处理 $1 \times 10^6$ 个细胞。将15μg蛋白质负载在7.5%或10%SDS-PAGE凝胶上并反向转印到硝化纤维膜。印迹用抗体:磷酸化Y705、磷酸化S727、Bcl-xL、周期素D1、PARP和肌动蛋白染色。用ECL Plus™蛋白质印迹检测系统和Hyperfilm™(Amersham)目测亮带。最鼓舞人心地,在1μM下,前四种化合物显示有效抑制pSTAT3(Y705),对总STAT3浓度或对pSTAT3 S727(水平)无作用。另外,针对包括MAPK或EGFR以及结构蛋白质β-微管蛋白在内的激酶标靶,未观测到脱靶效应。显著地,化合物22、31和32显示最抑制pSTAT3(Y705)。为了确定观测到的生物反应是否依赖于STAT3浓度,且进一步地,为了确定精确pSTAT3抑制效能,所选BTSC用变化浓度的主要抑制剂(0、0.1、0.5、1.0和5.0μM)处理,且溶解产物经受蛋白质印迹分析。最鼓舞人心地,观测到剂量依赖性的pSTAT3水平降低,以及有效抑制与细胞生长和存活有关的下游标靶周期素D1和Bcl-xL。最显著地,对BTSC最有效的化合物31显示浓度依赖性的pSTAT3水平降低,此与观测到的细胞毒性和下游标靶抑制非常相关。确切地说,用500nM化合物31处理使pSTAT3信号传导完全沉默。化合物22和32虽然效能略微较小,但仍然显示pSTAT3的nM抑制。

[0198] 为进一步评估潜在的脱靶效应,对五种癌症相关激酶c-Src、ERK1、AKT、JaK1和JaK2,在5μM下,针对活性体外筛选化合物22、31和32(比报导的针对BTSC的IC<sub>50</sub>高10-15倍)。简单地说,此分析采用辐射测量检测系统来测量激酶磷酸基转移活性。前三种抑制剂显示中等到可以忽略的针对激酶组的活性。举例来说,所有三种化合物显示可以忽略的对Akt1、Erk1和JaK1的抑制,同时仅仅显示少量抑制c-Src和JaK2(激酶活性约50%抑制)。因此,因为引起有效激酶抑制所需的抑制剂浓度比BTSC中的IC<sub>50</sub>值高15倍,因此,其展示生物活性不是上游JaK激酶抑制的结果。

[0199] 为更全面地研究潜在脱靶效应,31进行激酶组筛选(101种各种激酶,DiscoveRx™KINOMEscan)以及蛋白质和受体筛选(21种生物学上重要的G蛋白偶合受体(GPCR))。对于激酶组筛选,将用DNA标记的激酶用化合物31(500nM)处理并与设计成能捕捉标靶激酶的固定配体一起培育。超灵敏的定量PCR(qPCR)用以量测用化合物31处理后固定激酶的水平。固定激酶水平与对照样品相比,且当俘获激酶的量低于35%阈值时表示命中。GPCR筛选采用广泛应用的PathHunterβ-阻抑素GPCR分析台(DiscoveRx)以评估化合物31的活性。GPCR被广泛认为是最重要的膜受体家族,因为其在细胞内信号转导中具有主要的调节作用。因此,GPCR在制药工业中最大量研究的药物标靶之一。鼓舞人心地,化合物32未显示针对任何测试的21个GPCR的脱靶活性(500nM)。此外,相同浓度(500nM)的化合物31显示可以忽略的针对包括大量含有SH2(JaK1和JaK2)和SH3(Fes、Fer、Fyn)结构域的激酶在内的代表性激酶家族的效果。脱靶激酶活性的缺乏在TreeSpot树状图中展示(图3)。因为据估计存在117个SH2和约300个SH3结构域,所以重要的是化合物31显示对标靶STAT3SH2结构域的相对选择性,使不希望的脱靶生物效应最小。总的来说,化合物31跨越一系列人类BTSC显示

空前的细胞毒性，在人类胎儿星形细胞中在比 $IC_{50}$ 高15–20倍的浓度下未显示毒性，在nM浓度下有效抑制pSTAT3，与体外nM  $K_D$ 值(SPR)非常相关，抑制STAT3下游标靶，且在治疗剂量下未显示可辨别的脱靶效应，如通过激酶组和GPCR筛选所评估。

[0200] 最后，为了确定抑制剂的临床适当性，在最具侵袭性的BTSC之一73M中化合物31的活性与主导JaK2抑制剂WP1066比较(图4)。比较蛋白质印迹分析证明在1 $\mu$ M抑制剂浓度下等效的pSTAT3抑制。然而，应注意上游JaK激酶抑制剂缺乏激酶选择性且体内功效差，包括血脑屏障渗透率差。如先前所述，本文中报导的化合物在治疗剂量下不抑制JaK且似乎经由STAT3直接抑制来起作用。

[0201] 总之，本文中已经合成最有效的未磷酸化的直接结合的STAT3SH2结构域抑制剂并进行测试。此外，已经验证其在近来报导具有高水平的超活化STAT3的GBM BTSC中的应用，关键地，STAT3已经显示是脑瘤肿瘤产生和BTSC药物抗性中的主要驱动子。化合物31显示对未磷酸化的类药物小分子抑制剂最高的STAT3结合亲和力(SPR,  $K_D$ =315nM)，且其显示有效地破坏STAT3/磷酸化肽相互作用。另外，在全细胞研究中，本文中呈现的抑制剂有效地抑制STAT3磷酸化和其下游蛋白质标靶(周期素D1和Bcl-xL)。现在已经第一次清楚地证明STAT3抑制剂治疗BTSC的潜能和其在GBM临床应用中的临床功效。

[0202] 本文中已经发现新的有效STAT3抑制剂，其中测试水杨酸的模拟物。然而，本发明者还测试了如W02012/018868中所报导的其它STAT3抑制剂。这些特定化合物是来自以上式1的R<sup>4</sup>上的取代基。然而，已经界定位置R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>，并展示获得的化合物是STAT3抑制剂，本领域技术人员还将了解，在本发明下，除本文中R<sup>4</sup>上建议的改性外，如W02012/018868中建议的其它取代还将产生具有STAT3抑制活性的化合物。然而，将了解本文中建议的改性提供对STAT3的抑制活性优良得多的新化合物。

[0203] 应了解，在治疗中使用所需要的本发明化合物的量不仅随着所选特定化合物变化，而且还随着投药途径、需要治疗的病状的性质和患者的年龄与条件而变化，且最终将由主治医师决定。一般地，投与的量将凭经验确定，通常在每公斤接受者的体重约10 $\mu$ g到100mg范围内。

[0204] 所希望的剂量宜以单次剂量或分次剂量呈现，分次剂量以适当的时间间隔，例如以每日两次、三次、四次或四次以上的剂量投与。药物组合物包括(不限于)适于经口(包括经颊和舌下)、经皮或肠胃外(包括肌肉内、皮下和静脉内)投药或呈适于通过吸入投药的形式的组合物。

[0205] 调配物在适当时间，宜以不连续的剂量单元呈现且可以通过制药领域中众所周知的任何方法制备。用于制备药物组合物的方法可以包括使如本文中定义的化合物与药学上可接受的赋形剂结合，接着必要时使产物成形为所希望的调配物，包括需要时施加包衣的步骤。

[0206] 适于经口投药的药物组合物宜呈以下形式呈现：不连续的单元，例如胶囊、扁囊剂或片剂，每一个含有预定量的活性成分；粉末或颗粒；溶液、悬浮液或乳液。经口投药的片剂和胶囊可以含有常规赋形剂，例如结合剂、填充剂、润滑剂、崩解剂或润湿剂。片剂可以根据此项技术中众所周知的方法涂布。口服液体制剂可以呈例如水性或油性悬浮液、溶液、乳液、糖浆或酏剂的形式，或可以呈干燥产物呈现以在使用前用水或其它适合媒介物复原。此类液体制剂可以含有常规添加剂，例如悬浮剂、乳化剂、非水性媒介物(其可以包括食用油)

或防腐剂。

[0207] 如本文中定义的化合物和组合也可以调配用于肠胃外投药(例如通过注射,例如快速注射或连续输注),并可以呈单位剂型呈现于添加有防腐剂之安瓿、预先填充的注射器、小体积输液或多剂量容器中。组合物可以呈例如于油性或水性媒介物中的悬浮液、溶液或乳液的形式,并可以含有例如悬浮、稳定和/或分散剂等调配试剂。或者,活性成分可以呈粉末形式,通过无菌固体的无菌分离或通过从溶液冻干来获得,以在使用前用例如无菌水或生理盐水等适合媒介物复原。

[0208] 适于局部投与口中的组合物包括包含活性成分子调味基质(通常蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍胶)中的口含锭;包含活性成分子惰性基质(例如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶)中的片剂;以及包含活性成分子适合液体载剂中的漱口水。

[0209] 对于通过吸入投药,如本文中定义的化合物和组合可以采取干粉组合物的形式,例如化合物与例如乳糖或淀粉等适合的粉末基质的粉末混合物。粉末组合物可以呈单位剂型呈现于例如胶囊或滤筒或例如明胶或泡壳包装中,粉末可以从其中借助于吸入器或吹入器投与。

[0210] 如本文中定义的化合物可以包括产生对映异构体的手性中心。因此化合物可以呈两种不同的光学异构体形式存在,即(+)或(-)对映异构体。所有这类的对映异构体和其混合物,包括个别对映异构体的外消旋或其它比率混合物在内,都包括在本发明的范围内。单个对映异构体可以通过本领域技术人员众所周知的方法获得,例如手性HPLC、酶促解析和手性辅助衍生化。

[0211] 还了解根据本发明的化合物可以含有超过一个的手性中心。本发明的化合物因此可以呈不同的非对映异构体形式存在。所有这类的非对映异构体和其混合物都包括在本发明的范围内。单个非对映异构体可以通过本领域众所周知的方法获得,例如HPLC、结晶化和色谱法。

[0212] 术语“溶剂化物”意谓如本文中定义的化合物并有一个或多个药学上可接受的溶剂,包括水在内,产生水合物。溶剂化物可以每个化合物分子含有一个或多个溶剂分子,或可以每个溶剂分子含有一个或多个化合物分子。水合物的例示性非限制性实例包括单水合物、二水合物、三水合物和四水合物或半水合物。在一个实施例中,溶剂可以呈多种方式保持于晶体中,因此溶剂分子可以占据晶体中的晶格位置,或其可以与如本文中描述的化合物的盐形成键。在其接受者无害的意义上,溶剂化物必须是“可接受的”。溶剂化可以通过本领域中已知的方法评估,例如干燥失重技术(LOD)。

[0213] 用于描述本发明化合物制备的缩写:

[0214] Bu 丁基

[0215] CDCl<sub>3</sub> 氯化氯仿

[0216] DCM 二氯甲烷

[0217] DMAP N,N-二甲基氨基吡啶

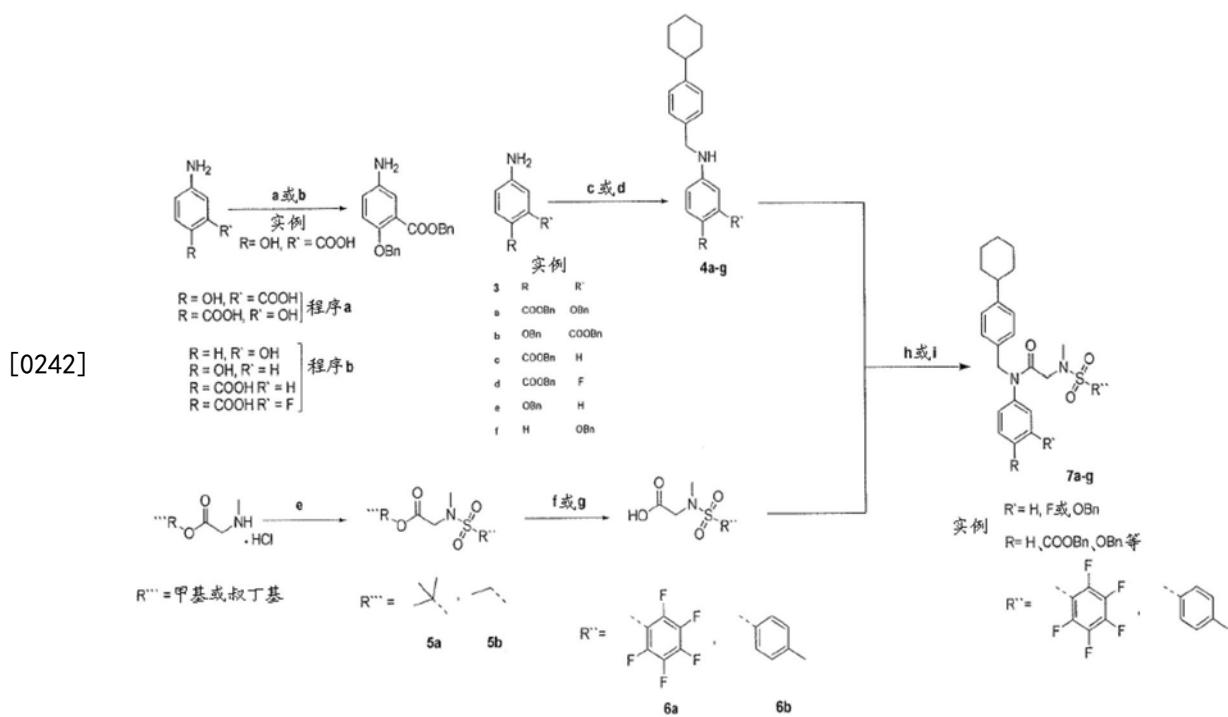
[0218] DME 1,2-二甲氧基乙烷

[0219] DMEM 达伯克改良伊格尔培养基(Dulbecco's Modified Eagle Medium)

[0220] DMF N,N-二甲基甲酰胺

[0221] DMSO 二甲亚砜

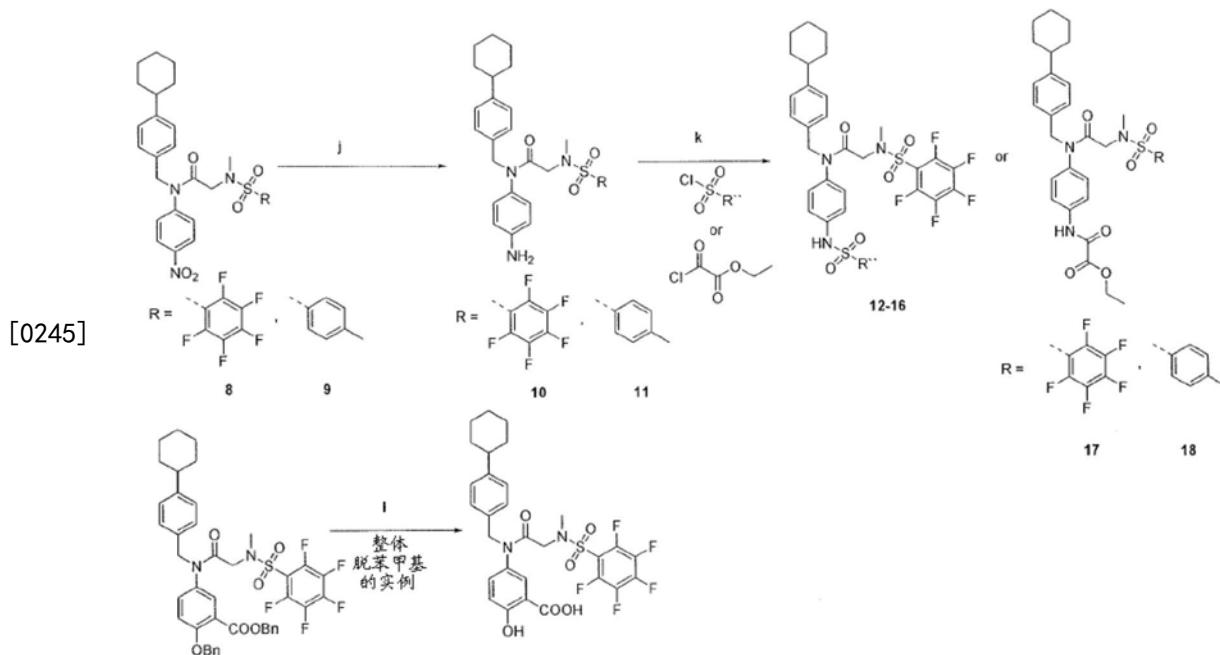
- [0222] Et 乙基  
 [0223] EtOAc 乙酸乙酯  
 [0224] HMQC 异核多级量子相干  
 [0225] mCPBA 间氯过苯甲酸  
 [0226] HRMS 高分辨率质谱  
 [0227] Me 甲基  
 [0228] MeOH 甲醇  
 [0229] NET<sub>3</sub> 三乙胺  
 [0230] NFSI N-氟苯磺酰胺  
 [0231] NMR 核磁共振  
 [0232] Ph 苯基  
 [0233] RT 室温  
 [0234] THF 四氢呋喃  
 [0235] TBAF 氟化四丁铵  
 [0236] TFA 三氟乙酸  
 [0237] TMSBr 三甲基溴硅烷  
 [0238] RBF 圆底烧瓶  
 [0239] 制备本发明的化合物  
 [0240] 本发明的化合物可以根据以下反应方案1和2和其实施例或修改中所示的程序,使用合成有机化学领域的技术人员众所周知的容易得到的起始物质、试剂和常规程序或其变体制备。方案中变量的特定定义仅仅是为了例示而给出,且不打算限制所描述的程序。  
 [0241] 方案1:



- [0243] 方案1中:a) BnBr、K0tBu、DMF, 0℃→室温, 5小时;接着BnBr、K0tBu、DMF, 0℃→室

温,16小时,61%;b)BnBr、KOtBu、DMF,0℃→室温,16小时(74%);c)醛,AcOH,4ÅMS,MeOH,45℃,3小时;2.NaCNBH<sub>3</sub>,室温,12小时,74~91%;d)醛,AcOH,4ÅMS,CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,30分钟;接着Na(OAc)<sub>3</sub>BH,室温,12小时,77~98%;e)C<sub>5</sub>F<sub>5</sub>SO<sub>2</sub>Cl或p-TsCl,DIPEA,CH<sub>3</sub>CN,0℃,室温,1小时,92~95%;f)DCM:TFA,2:1,室温,1小时,95%;g)LiOH·H<sub>2</sub>O,THF/H<sub>2</sub>O,3:1,室温,1小时,80~85%;h)PPh<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub>,100℃微波辅助加热,CHCl<sub>3</sub>,30分钟,60~87%;i)(COCl)<sub>2</sub>,DMF<sub>(cat)</sub>,DIPEA,CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,室温,16小时,71~80%。p-TsCl=对甲苯磺酰氯;DIPEA=N,N-二异丙基乙胺;DMF=N,N-二甲基甲酰胺;TFA=三氟乙酸;(COCl)<sub>2</sub>=乙二酰氯;THF=四氢呋喃,LiOH·H<sub>2</sub>O,氢氧化锂水合物。

[0244] 方案2:



[0246] 方案2中:j) SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, MeOH,回流,16小时,78%;k) "R-SO<sub>2</sub>Cl,吡啶,DCM,0℃→室温,16小时,81%;l) H<sub>2</sub>,10%Pd/C,MeOH/THF,1:1,室温,1~16小时,85~99%。SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O=氯化锡二水合物,DCM=二氯甲烷。

[0247] 化学方法

[0248] 无水溶剂甲醇、DMSO、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>、THF和DMF直接从其Sure-Seal瓶中使用并从Sigma Aldrich购买。4Å分子筛也是从Sigma Aldrich购买,通过在真空下加热到300℃过夜而活化。所有反应都在烘干玻璃器皿中进行并通过薄层色谱法(TLC)使用硅胶监测完成情况(通过紫外光目测,或通过用KMnO<sub>4</sub>染色或Hanessian染色处理来显影)。400 MHz Bruker NMR用于在CDCl<sub>3</sub>、CD<sub>3</sub>OD或d<sub>6</sub>-DMSO中获得<sup>1</sup>H和<sup>13</sup>C NMR谱。所有NMR化学位移( $\delta$ )都以相对于残余同位素溶剂校准后的百万分率报导,且耦合常数(J)以Hz报导。在生物测试前,抑制剂纯度通过Water的逆相HPLC(rpHPLC)评估。rpHPLC分析使用Microsorb-MV 300 Å C18 250mm×4.6mm柱,使用定在1mL/min的洗脱剂流速并使用(A)含0.1%TFA的水与(B)含10%H<sub>2</sub>O和0.1%TFA的乙腈溶液的梯度混合物进行。在100%A的初始2分钟时期后,使用50%A和50%B到100%B的线性梯度和100%A到100%B的第二线性梯度证实配体纯度。线性梯度由(I)每分钟5.2%和254nm下UV检测或(II)每分钟1.8%和254nm下检测的改变溶剂组成来组成,每

个以100% B5分钟结束。当报导HPLC结果时,以相应次序,书写每一条件的滞留时间,接着书写其纯度。如通过HPLC测量,生物学上评估的化合物>95%化学纯度。HPLC结果的描绘图提供于支持信息中。

[0249] 通用程序a(醇或酸的单苯甲基化)。在0℃下向搅拌的氨基苯甲醇或4-氨基苯甲酸(1.0当量)于DMF(0.1 M)中的溶液中添加KOtBu(1.1当量)。15分钟后,逐滴添加苯甲基溴(1.1当量)且反应物静置过夜,接着用H<sub>2</sub>O淬灭。接着溶液重复用乙酸乙酯萃取且合并有机物。接着用H<sub>2</sub>O和盐水洗涤有机物,接着浓缩,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并真空浓缩。所得残余物使用Biotage Isolera自动柱色谱仪,在EtOAc和己烷梯度中纯化,并接着在减压下干燥。

[0250] 通用程序b(水杨酸的二苯甲基化)。在0℃下向搅拌的4-氨基水杨酸(6.00g,39.2mmol)于DMF(0.1 M)中的溶液中添加KOtBu(4.84g,43.2mmol)。15分钟后,逐滴添加苯甲基溴(5.14mL,43.2mmol)。使悬浮液在室温下再搅拌4小时,接着反应容器再冷却到0℃。再添加1.1当量KOtBu(2.84g,43.2mmol),接着逐滴添加苯甲基溴(5.14mL,43.2mmol)。接着搅拌反应物过夜,接着用H<sub>2</sub>O淬灭。接着溶液重复用乙酸乙酯萃取并合并有机物。接着有机物用H<sub>2</sub>O和盐水洗涤,接着浓缩,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并真空浓缩。所得残余物使用Biotage Isolera自动柱色谱仪,在EtOAc和己烷梯度中纯化,并接着在减压下干燥。

[0251] 通用程序c(使用氰基硼氢化钠还原胺化)。向在无水MeOH(0.1M)中用4 Å分子筛搅拌的伯苯胺(1当量)和乙酸(1.1当量)的溶液中添加4-环己基苯甲醛(1.5当量)。接着溶液加热到45℃,保持3小时并接着使其冷却到室温。接着,添加NaCNBH<sub>3</sub>(1.5当量)且在室温下搅拌反应物过夜。当TLC指示反应完成时,反应物真空浓缩并直接吸收到二氧化硅上以使用EtOAc和己烷的梯度进行柱色谱纯化。

[0252] 通用程序d(使用三乙酰氧基硼氢化钠还原胺化)。向在无水二氯乙烷(0.1 M)中用4 Å分子筛搅拌的伯苯胺(1当量)和乙酸(1.1当量)的溶液中添加4-环己基苯甲醛(1.5当量)。接着溶液在室温下搅拌5分钟,然后添加Na(OAc)<sub>3</sub>BH(1.5当量)且在室温下搅拌反应物过夜。当TLC指示反应完成时,反应物真空浓缩并直接吸收到二氧化硅上以使用EtOAc和己烷的梯度进行柱色谱纯化。

[0253] 通用程序e(仲胺的磺酰化)。甲氨(1当量)和DIPEA(3当量)的溶液溶解于无水乙腈中并冷却到0℃,接着添加2,3,4,5,6-五氟苯-1-磺酰氯或TsCl(1.1当量),得到所需产物。使所得溶液在室温下搅拌过夜。去除溶剂且残余物再溶解于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中。接着将有机物依序用0.1 M HC1、饱和NaHCO<sub>3</sub>和盐水洗涤。接着有机物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并真空浓缩,得到6a或6b。物质未经任何纯化即用于下一步。

[0254] 2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酸(f)。6a的溶液溶解于TFA中并立即用DCM稀释,形成1:1 TFA:DCM(0.1 M)溶液。将反应物在室温下搅拌一小时并接着与MeOH(3次)、接着CHCl<sub>3</sub>(4次)共同蒸发到几乎干燥。残余物再溶解于EtOAc和己烷中,湿装载到Biotage Isolera柱上并使用MeOH和DCM的梯度纯化。

[0255] 通用程序g(使用氢氧化锂的酯水解)。甲基或乙基酯(1.0当量)溶解于THF:H<sub>2</sub>O的3:1混合物中。接着添加LiOH(1.1当量)并在30分钟后,通过TLC证实反应完成。反应混合物用水稀释,用KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>酸化(约pH5.5)并用EtOAc连续萃取。有机层用盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在减压下浓缩。通过快速柱色谱法使用等度溶剂系统(35:7:1 DCM:MeOH:H<sub>2</sub>O),纯化

反应物。

[0256] 通用程序h (PPh<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub>促进的肽酰胺偶合)。向搅拌的酸(1.1当量)于CHCl<sub>3</sub>(0.1 M)中的溶液中添加PPh<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub>(2.5当量)。在室温下搅拌五分钟后,一次性添加胺(1.0当量)并将反应物在微波中在125℃下加热15分钟。反应物真空浓缩并直接吸收到二氧化硅上以使用EtOAc和己烷的梯度进行柱色谱纯化。

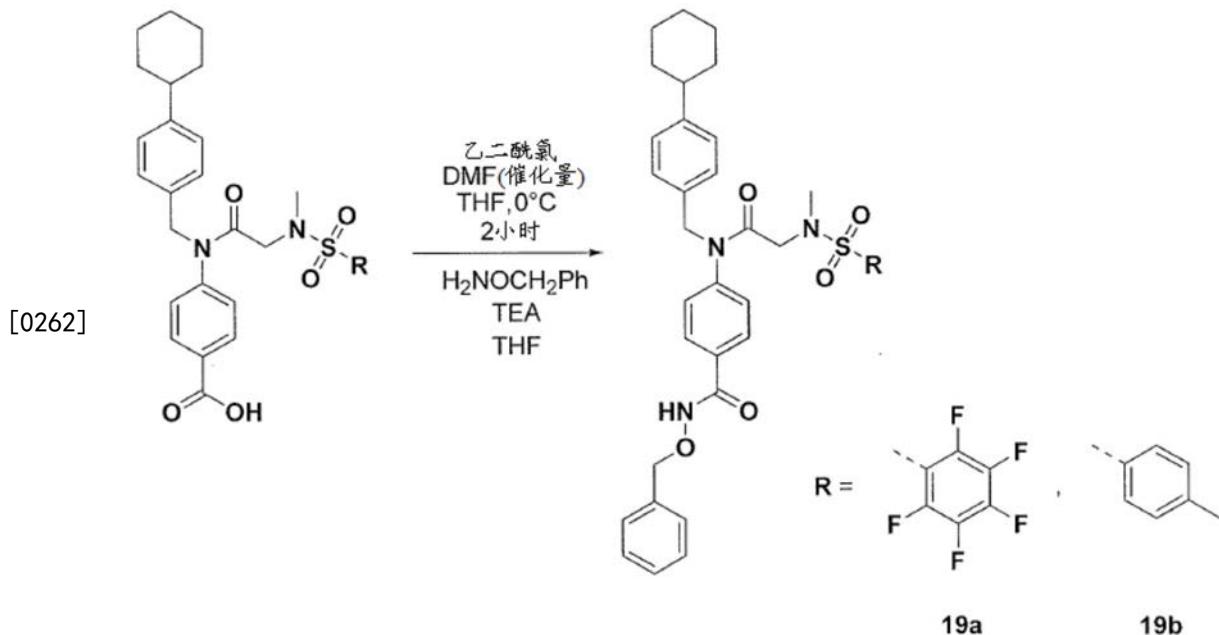
[0257] 通用程序i(乙二酰氯介导的缩合)。在0℃下向酸(1.0当量)于无水CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(0.1 M)中的溶液中添加乙二酰氯(1.2当量),接着添加一滴DMF。将反应物在干燥氮气气氛下在0℃下搅拌1小时,接着终止反应并真空浓缩。接着反应通过溶解于无水CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(0.1 M)中重新开始。在搅拌5分钟后,在0℃下添加胺(1.2当量)和三乙胺(2.5当量)到反应物并在室温下搅拌两小时,接着反应物用H<sub>2</sub>O淬灭且水层重复用乙酸乙酯萃取。接着合并的有机层用盐水洗涤并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥且在减压下去除溶剂。粗产物通过硅胶柱色谱法(己烷/乙酸乙酯)纯化,得到所需产物。

[0258] 硝基还原成胺(j)。将搅拌的(硝基名称)(143mg, 0.4mmol)和氯化锡(II)二水合物(445mg, 1.97mmol)于DCM/MeOH(2:1)(0.1 M)中的溶液在70℃下加热直到TLC测得完成。反应物真空浓缩并用水稀释且重复用乙酸乙酯萃取。接着将收集的有机层合并,用饱和NaHCO<sub>3</sub>洗涤且经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下去除溶剂。物质使用Biotage Isolera在50%EtOAc:己烷梯度中纯化,得到白色固体(91%)。

[0259] 通用程序k(苯胺官能团的磺酰化)。游离胺官能团溶解于1:1DCM/吡啶的混合物(0.1 M)中并冷却到0℃。逐滴添加所需磺酰氯或2-氯-2-氧代基乙酸乙酯并搅拌反应物直到通过TLC,看起来完成。将溶剂蒸发且所得残余物从CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>吸附到硅胶上并使用Biotage Isolera在EtOAc:己烷梯度中进行柱色谱法。

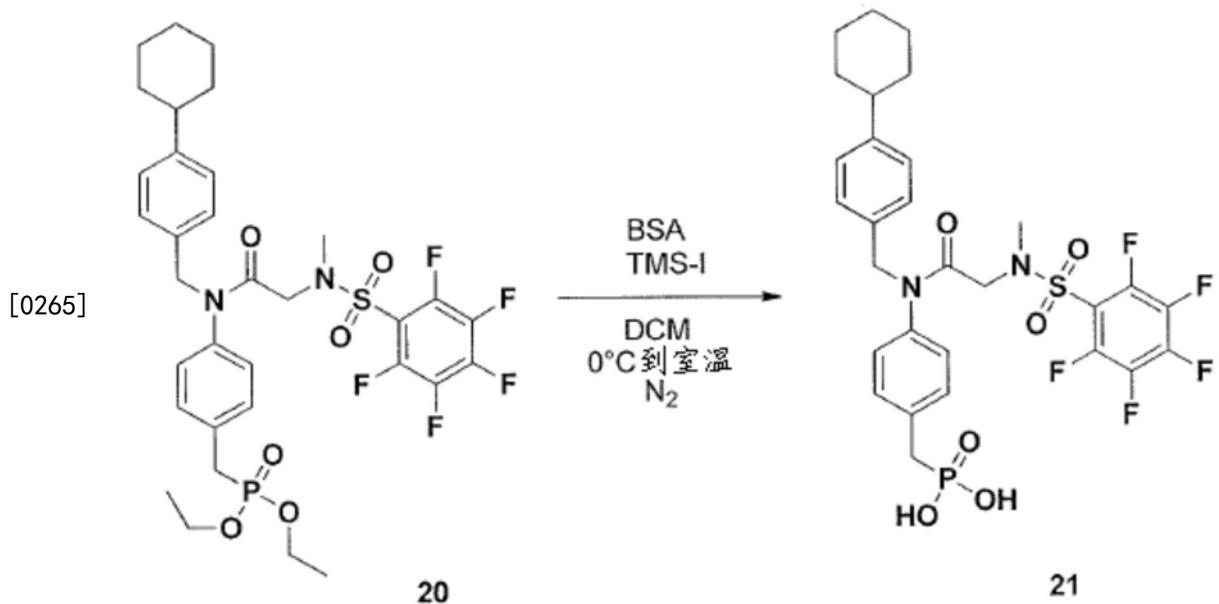
[0260] 通用程序l(苯甲酯和苯甲醚的水解)。经苯甲基保护的(1当量)酸、醇或水杨酸溶解于搅拌的MeOH/THF溶液(1:2)(0.1 M)中。将溶液彻底脱气并将10%Pd/C(10mg/mmol)小心添加到反应物中。H<sub>2</sub>鼓泡通过溶剂5分钟,接着将反应物放于H<sub>2</sub>气氛下并连续搅拌3小时。将H<sub>2</sub>抽空且反应物经硅藻土过滤以去除Pd催化剂并接着在减压下浓缩。所得残余物从CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>吸附到硅胶上并使用Biotage Isolera在MeOH和DCM梯度中进行柱色谱法。

[0261] 合成苯甲基羟基胺衍生物(m)。



[0263] 在0℃下向酸(50mg, 0.09mmol)于无水THF(1mL)中的溶液中添加乙二酰氯(25.6μM, 0.32mmol)和一滴DMF。将反应物在0℃下搅拌2小时，并接着真空浓缩且放在高真空下15分钟。接着通过再溶解于THF(1mL)中，接着添加0-苯甲基羟基胺(21.7μM, 0.18mmol)和三乙胺(52μM, 0.37mmol)来重新开始反应。将反应物在室温下搅拌1小时并接着用H<sub>2</sub>O淬灭且水层用乙酸乙酯重复萃取。接着合并的有机层用盐水洗涤并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥且在减压下去除溶剂。粗产物通过硅胶柱色谱法(50%己烷/乙酸乙酯)纯化，得到呈白色固体状的所需产物(13)(51mg, 79%)。

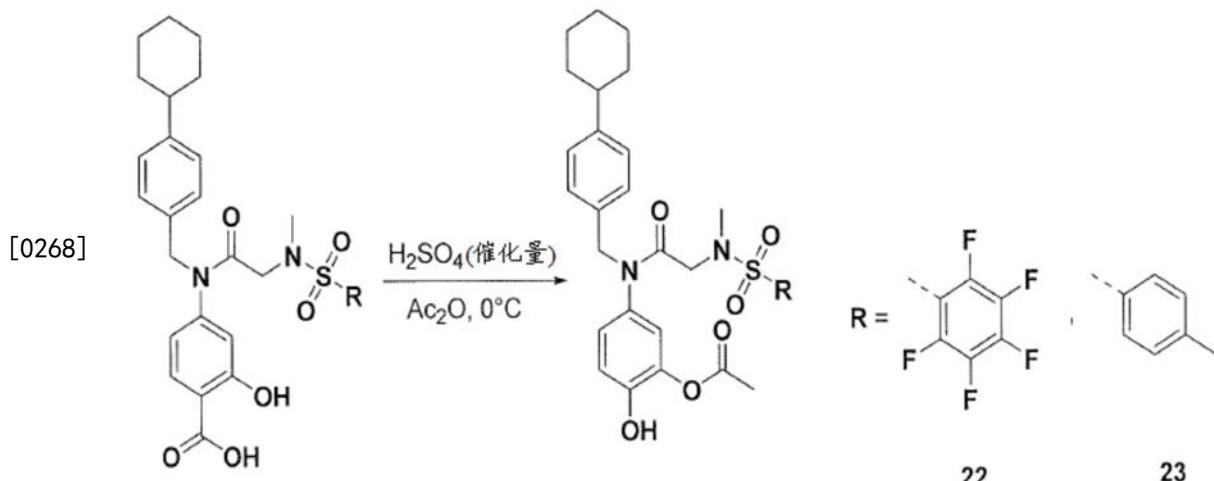
[0264] 合成(4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N甲基苯基磺酰胺)乙酰胺基)苯甲基)膦酸(n)。



[0266] 在0℃下碘代三甲基硅烷(11.94μM, 0.084mmol)逐滴添加到膦酸酯(30mg, 0.042mmol)和双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(11.25μM, 0.046mmol)于无水DCM中的溶液。反应混合物保持在氮气下并在0℃下搅拌1小时且缓慢达到室温并再搅拌1小时。溶液真空

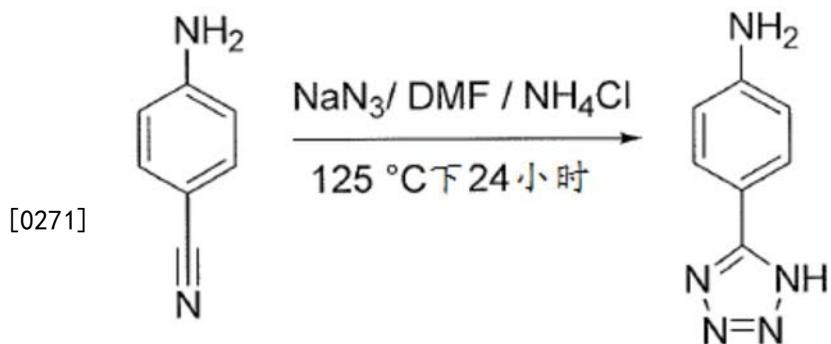
浓缩且经由HPLC纯化,得到所需产物(20mg,74%)。

[0267] 水杨酸乙酰化(o)。



[0269] 在0℃下及在干燥氮气气氛下将一滴浓硫酸添加到所需水杨酸(30mg, 0.05mmol)于乙酸酐(0.5ml)中的溶液中。反应物在室温下搅拌直到通过TLC, 反应完成, 此后反应物冷却到0℃且用冰冷水淬灭。物质真空浓缩并通过硅胶柱色谱法(5%甲醇/二氯甲烷)纯化, 得到乙酰化产物(21mg, 60%)。

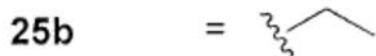
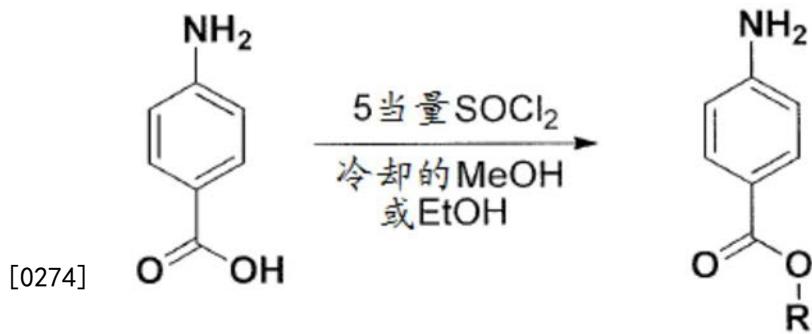
[0270] 合成4-(1H-四唑-5-基)苯胺(p)。



24

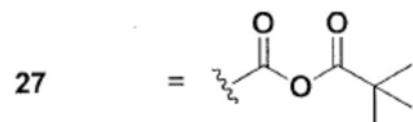
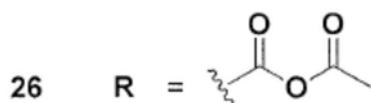
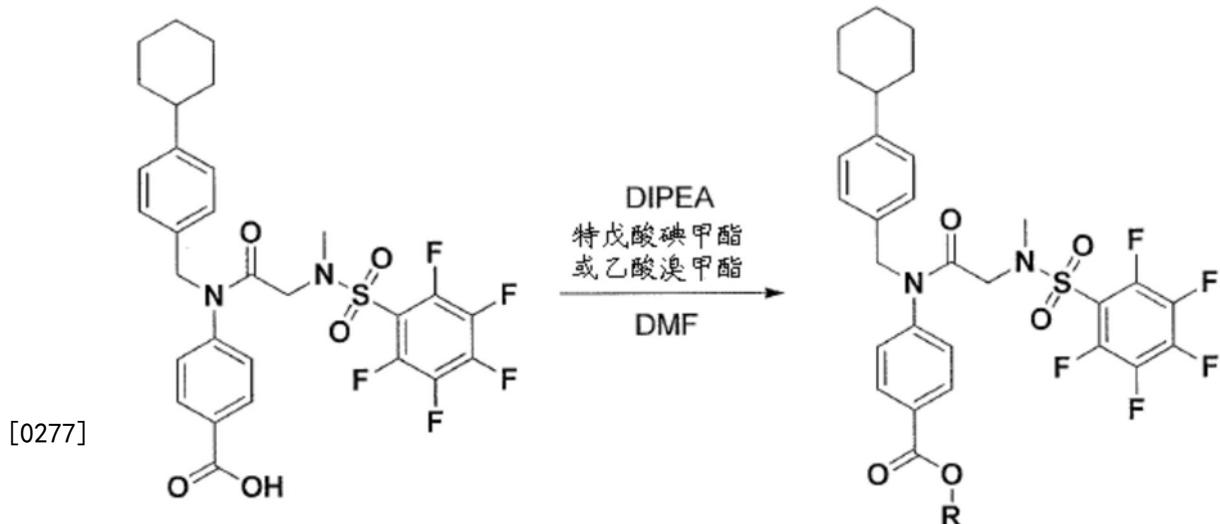
[0272] 将4-氨基苯甲腈(100mg, 0.85mmol)、叠氮化钠(110.2mg, 1.69mmol)、DMF(8.5mL)和氯化铵(45.3mg, 0.85mmol)的混合物在油浴中在125°C下加热24小时。当通过TLC, 反应看起来完成时, 混合物用1N HCl酸化并用乙酸乙酯萃取(3次)。合并的乙酸乙酯用盐水洗涤并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤且浓缩, 得到粗产物。四唑化合物通过硅胶柱色谱法(90%CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH)纯化, 得到所需产物(102mg, 74%)。

[0273] 合成甲基和乙基酯(q)。



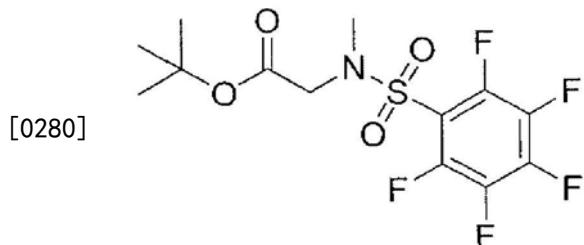
[0275]  $\text{SOCl}_2$  (5当量) 逐滴添加到冷却的4-氨基苯甲酸(1当量)于醇( $\text{MeOH}$ 或 $\text{EtOH}$ )中的溶液。接着反应混合物在室温下搅拌30分钟。当通过TLC确定完成时,反应物真空浓缩并直接吸收到二氧化硅上进行柱色谱纯化。

[0276] 合成特戊酰基和乙酰氧基甲基酯(r)。



[0278] 游离酸(1.0当量)溶解于无水DMF中。一次性添加再蒸馏之DIPEA(2.1当量),接着添加特戊酸碘甲酯或乙酸溴甲酯(2.0当量)。用锡箔覆盖反应物且使其在室温下反应24小时。此刻,反应物用水稀释并重复萃取到 $\text{EtOAc}$ 中。将合并的有机物用水和盐水洗涤,经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并在减压下浓缩。浓缩产物再溶解于HPLC溶液条件B中。此溶液使用制备型HPLC纯化并立即从洗脱溶液冻干。

[0279] 实施例1-化合物5a



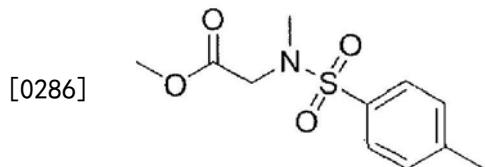
[0281] 2-(2,3,4,5,6-五氟-4-甲基苯基磺酰胺基)乙酸叔丁酯

[0282] 化学式: C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>F<sub>5</sub>N<sub>0</sub>4S

[0283] 分子量: 375.31

[0284] 化合物5a根据通用程序a合成,得到呈白色固体状的最终产物5a (93%)。δ<sub>H</sub> (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.37 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3.03 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.10 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) ; δ<sub>C</sub> (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 27.5, 35.3, 51.5, 82.8, 115.6, 136.4, 144.8, 145.9, 167.0; LRMS (ES+) [C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>F<sub>5</sub>N<sub>0</sub>4S+H] 的计算值376.06实验值376.09

[0285] 实施例2-化合物5b



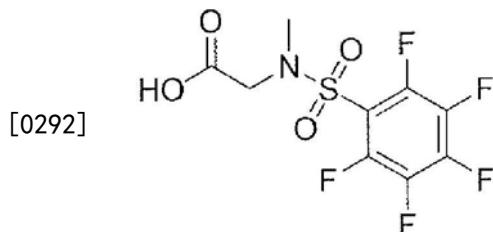
[0287] 2-(N,4-二甲基苯基磺酰胺基)乙酸甲酯

[0288] 化学式: C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>0</sub>4S

[0289] 分子量: 257.31

[0290] 化合物5b根据通用程序a合成,得到呈白色固体状的最终产物5b (91%)。δ<sub>H</sub> (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 2.42 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.87 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.65 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.96 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.30 (d, J=8.0 Hz, 2H, CH), 7.68 (d, J=8.2 Hz, 2H, CH); δ<sub>C</sub> (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 21.1, 35.2, 50.3, 52.0, 126.9, 134.6, 143.0, 168.3; LRMS (ES+) [C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>0</sub>4S+H] 的计算值258.08实验值258.29。

[0291] 实施例3-化合物6a



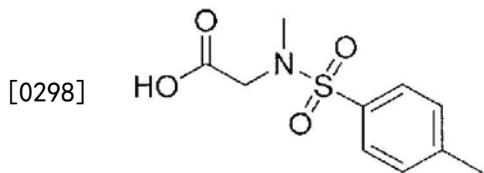
[0293] 2-(2,3,4,5,6-五氟-4-甲基苯基磺酰胺基)乙酸

[0294] 化学式: C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>F<sub>5</sub>N<sub>0</sub>4S

[0295] 分子量: 319.21

[0296] 化合物6a根据通用程序a合成,得到呈棕色固体状的最终产物6a (95%)。δ<sub>H</sub> (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 2.86 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.10 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); δ<sub>C</sub> (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 35.4, 51.8, 115.3, 136.4, 144.8, 145.9, 167.1; LRMS (ES+) [C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>F<sub>5</sub>N<sub>0</sub>4S+H] 的计算值320.00实验值319.97

[0297] 实施例4-化合物6b



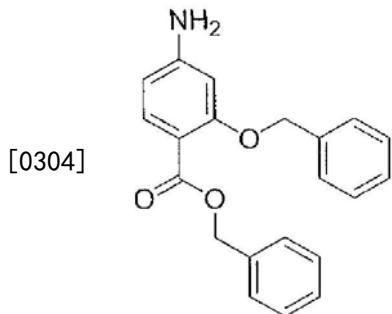
[0299] 2-(N,N-二甲基苯基磺酰胺基)乙酸

[0300] 化学式: C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>0</sub><sub>4</sub>S

[0301] 分子量: 243.28

[0302] 化合物6b根据通用程序g合成,得到呈白色固体状的最终产物6b(84%)。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 2.32(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.76(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.86(s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.21(d, J=8.0 Hz, 2H, CH), 7.68(d, J=8.2 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 20.8, 35.1, 50.0, 126.7, 129.0, 134.2, 143.1, 172.9; LRMS (ES+) [C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>0</sub><sub>4</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值244.06实验值244.28。

[0303] 实施例5-化合物3a



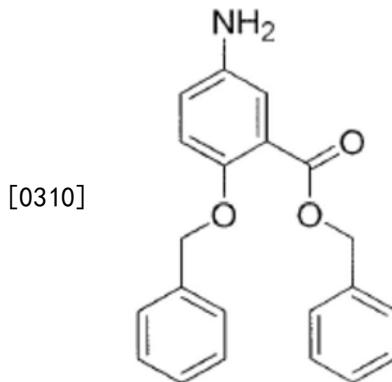
[0305] 4-氨基-2-(苯甲氧基)苯甲酸苯甲酯

[0306] 化学式: C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>N<sub>0</sub><sub>3</sub>

[0307] 分子量: 333.3805

[0308] 化合物3a根据通用程序a合成,得到呈橙色固体状的最终产物3a(71%)。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 4.13(brs, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.05(s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.35(s, 2H, CH), 6.19-6.23(m, 2H, CH), 7.31-7.49(m, 10H, CH), 7.81-7.86(m, 1H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 65.8, 70.3, 99.1, 106.7, 108.8, 126.9, 127.6, 127.8, 128.0, 128.4, 134.4, 136.6, 136.7, 152.5, 160.8, 165.8; LRMS (ES+) [C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>N<sub>0</sub><sub>3</sub>+Na]<sup>+</sup> 的计算值356.13实验值356.33。

[0309] 实施例6-化合物3b



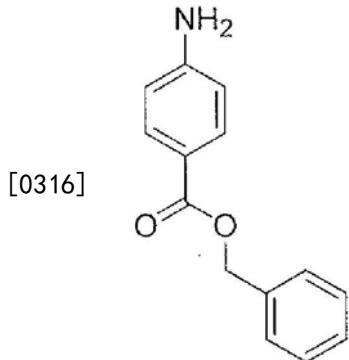
[0311] 5-氨基-2-(苯甲氧基)苯甲酸苯甲酯

[0312] 化学式: C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>N<sub>0</sub><sub>3</sub>

[0313] 分子量:333.38

[0314] 化合物3b根据通用程序a合成,得到呈黄色固体状的最终产物3b(75%)。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 4.21(brs, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.10(s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.33(s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.35-7.48(m, 10H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 67.1, 70.8, 100.1, 105.4, 110.2, 126.4, 127.3, 127.9, 128.2, 128.1, 134.8, 136.3, 136.5, 152.5, 160.2, 165.7; LRMS (ES+) [C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>N0<sub>3</sub>+Na] 的计算值356.13 实验值356.14。

[0315] 实施例7-化合物3c



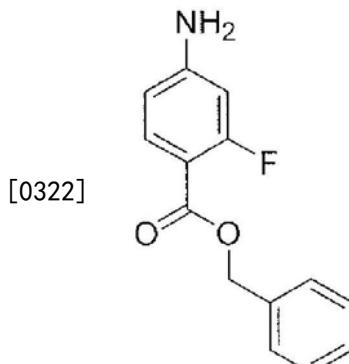
[0317] 4-氨基苯甲酸苯甲酯

[0318] 化学式:C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>N0<sub>2</sub>

[0319] 分子量:227.26

[0320] 化合物3c根据通用程序b合成,得到呈白色固体状的最终产物3c(82%)。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 4.25(brs, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.38(s, 2H, CH), 6.63(d, J=8.2 Hz, 2H, CH), 7.33-7.51(m, 5H, CH), 7.96(d, J=8.2 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 66.1, 113.7, 118.9, 127.9, 128.0, 128.7, 131.7, 136.6, 151.5, 166.6; LRMS (ES+) [C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>N0<sub>2</sub>+Na] 的计算值250.08实验值250.07。

[0321] 实施例8-化合物3d



[0323] 4-氨基-2-氟苯甲酸苯甲酯

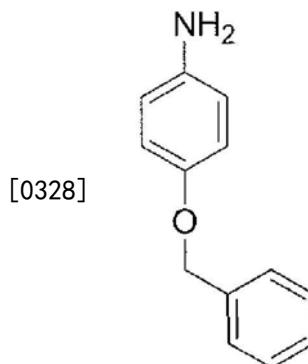
[0324] 化学式:C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>FN0<sub>2</sub>

[0325] 分子量:245.25

[0326] 化合物3d根据通用程序b合成,得到呈白色固体状的最终产物3d(98%)。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 4.15(brs, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.34(s, 2H, CH), 6.31-6.36(m, 1H, CH), 6.38-6.43(m, 1H, CH), 7.28-7.45(m, 5H, CH), 7.76-7.82(m, 1H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 66.1, 113.7, 118.9, 127.9, 128.0, 128.7, 131.7, 136.6, 151.5, 166.6; LRMS (ES+) [C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>FN0<sub>2</sub>+Na] 的计算值

268.07 实验值 268.06。

[0327] 实施例9-化合物3e



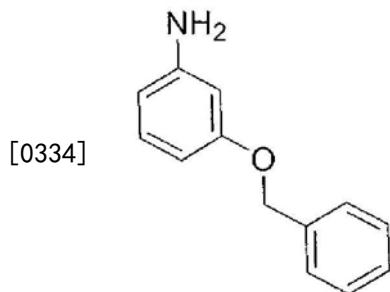
[0329] 4-(苯甲氨基)苯胺

[0330] 化学式: C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N0

[0331] 分子量: 199.25

[0332] 化合物3e根据通用程序b合成,得到呈灰色固体状的最终产物3e (84%)。δ<sub>H</sub> (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 3.66 (brs, 2H, NH<sub>2</sub>) , 5.03 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.29–6.35 (m, 2H, CH) , 6.38–6.44 (m, 2H, CH) , 7.03–7.1 (m, 1H, CH) , 7.29–7.45 (m, 5H, CH) ; δ<sub>C</sub> (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 68.1, 114.2, 116.6, 125.0, 127.5, 127.5, 127.9, 128.1, 136.9; LRMS (ES+) [C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N0+H] 的计算值 199.19 实验值 199.23。

[0333] 实施例10-化合物3f



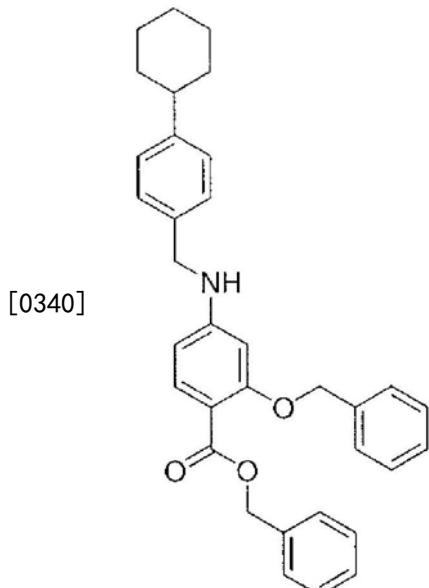
[0335] 3-(苯甲氨基)苯胺

[0336] 化学式: C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N0

[0337] 分子量: 199.2484

[0338] 化合物3f根据通用程序b合成,得到呈白色固体状的最终产物3f。δ<sub>H</sub> (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 3.66 (brs, 2H, NH<sub>2</sub>) , 5.03 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.29–6.34 (m, 2H, CH) , 6.38–6.43 (m, 1H, CH) , 7.03–7.1 (m, 1H, CH) , 7.31–7.45 (m, 5H, CH) ; δ<sub>C</sub> (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 70.9, 102.7, 105.6, 107.3, 126.5, 127.5, 127.7, 128.1, 130.1, 151.2, 160.4; LRMS (ES+) [C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N0+H] 的计算值 199.19 实验值 199.23。

[0339] 实施例11-化合物4a



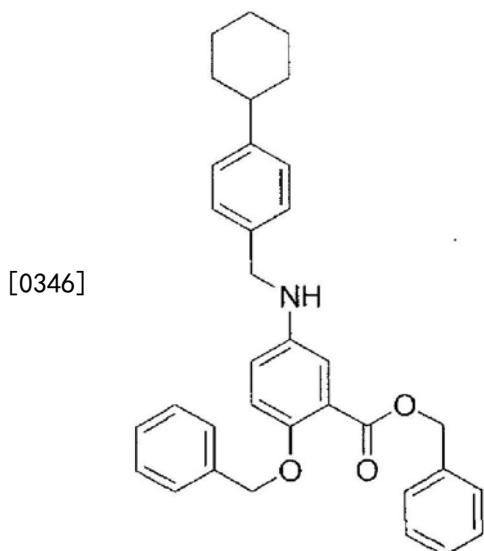
[0341] 2-(苯甲氨基)-4-((4-环己基苯甲基)氨基)苯甲酸苯甲酯

[0342] 化学式: C<sub>34</sub>H<sub>35</sub>N<sub>0</sub><sub>3</sub>

[0343] 分子量: 505.65

[0344] 化合物4a根据通用程序c合成,得到呈橙色固体状的最终产物4a (81%)。δ<sub>H</sub> (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.25–1.48 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.73–1.94 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.48–2.52 (m, 1H, CH), 4.30 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.05 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.35 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.68–6.75 (m, 1H, CH), 6.19–6.23 (m, 2H, CH), 6.86–6.92 (m, 1H, CH), 7.16–7.22 (m, 2H, CH), 7.30–7.48 (m, 10H, CH), 7.37–7.4 (m, 2H, CH); δ<sub>C</sub> (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.1, 26.6, 34.3, 44.1, 47.1, 65.5, 70.2, 97.3, 104.9, 108.1, 125.9, 126.8, 127.2, 127.4, 127.5, 127.8, 128.1, 128.3, 133.9, 134.8, 135.2, 136.6, 136.8, 147.3, 152.8, 160.6, 165.7; LRMS (ES+) [C<sub>34</sub>H<sub>35</sub>N<sub>0</sub><sub>3</sub>+Na]<sup>+</sup> 的计算值 528.65 实验值 528.35。

[0345] 实施例12-化合物4b



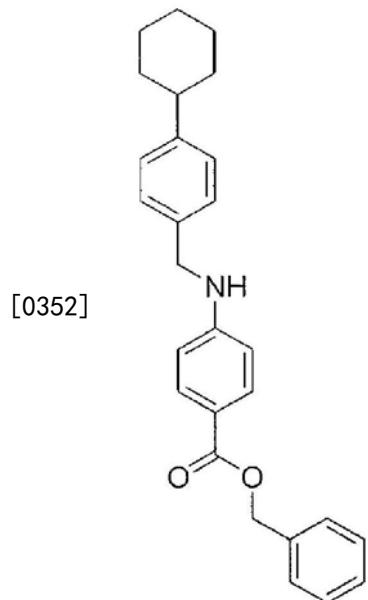
[0347] 2-(苯甲氨基)-5-((4-环己基苯甲基)氨基)苯甲酸苯甲酯

[0348] 化学式: C<sub>34</sub>H<sub>35</sub>N<sub>0</sub><sub>3</sub>

[0349] 分子量: 505.65

[0350] 化合物4b根据通用程序c合成,得到呈橙色固体状的最终产物4b(86%)。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.29–1.49 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.72–1.95 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.44–2.56 (m, 1H, CH), 4.25 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.05 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.4 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.68–6.75 (m, 1H, CH), 6.86–6.92 (m, 1H, CH), 7.16–7.22 (m, 3H, CH), 7.25–7.36 (m, 10H, CH), 7.37–7.4 (m, 2H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.1, 26.8, 34.4, 44.2, 48.6, 66.6, 72.2, 115.6, 116.8, 117.6, 121.7, 126.9, 127.2, 127.5, 127.9, 128.1, 128.3, 128.6, 136.1, 136.3, 137.2, 142.4, 147.2, 150.5, 166.6; LRMS (ES+) [C<sub>34</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>3</sub>+Na]的计算值528.65实验值528.35。

[0351] 实施例13-化合物4c



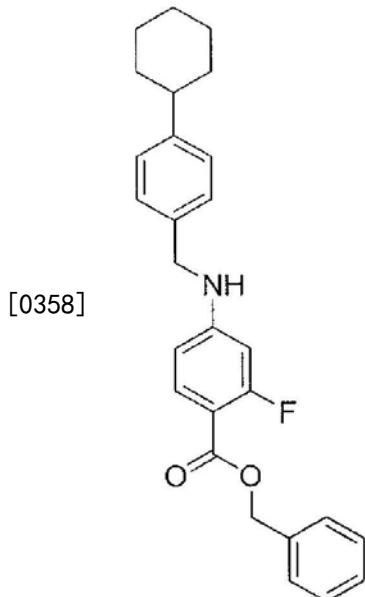
[0353] 4-((4-环己基苯甲基)氨基)苯甲酸苯甲酯

[0354] 化学式:C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>2</sub>

[0355] 分子量:399.52

[0356] 化合物4c根据通用程序d合成,得到呈白色固体状的最终产物4c(88%)。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.28–1.48 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71–1.93 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.42–2.55 (m, 1H, CH), 4.35 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.36 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.87 (d, J=8.0 Hz, 2H, CH), 7.10–7.16 (m, 4H, CH), 7.33–7.47 (m, 5H, CH), 8.10 (d, J=8.0 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.2, 26.5, 34.1, 44.1, 46.8, 66.9, 126.9, 128.2, 128.2, 128.4, 128.5, 128.4, 131.3, 133.4, 135.1, 147.8, 165.1, 165.7; LRMS (ES+) [C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>2</sub>+H]的计算值399.22实验值399.16。

[0357] 实施例14-化合物4d



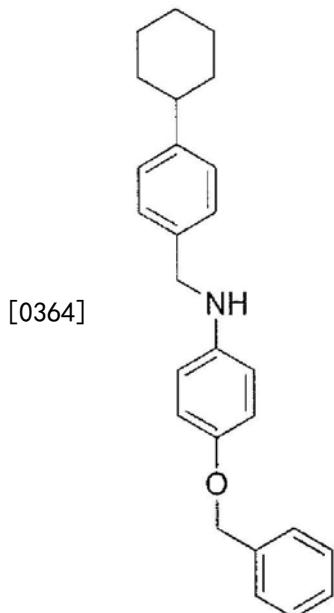
[0359] 4-((4-环己基苯甲基)氨基)-2-氟苯甲酸苯甲酯

[0360] 化学式:  $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{FNNO}_2$

[0361] 分子量: 417.52

[0362] 化合物4d根据通用程序d合成,得到呈白色固体状的最终产物4d(98%)。 $\delta_{\text{H}}$ (400 MHz, d- $\text{CDCl}_3$ ) 1.26–1.49 (m, 5H,  $\text{CH}_2$ ) , 1.72–1.95 (m, 5H,  $\text{CH}_2$ ) , 2.48–2.56 (m, 1H,  $\text{CH}$ ) , 4.31 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ) , 4.72 (brs, 1H, NH) , 5.34 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ) , 6.27–6.32 (m, 1H,  $\text{CH}$ ) , 6.36–6.41 (m, 1H,  $\text{CH}$ ) , 7.22 (d,  $J=8.1$  Hz, 2H,  $\text{CH}$ ) , 7.27 (d,  $J=8.1$  Hz, 2H,  $\text{CH}$ ) , 7.32–7.49 (m, 5H,  $\text{CH}$ ) , 7.78–7.84 (m, 1H,  $\text{CH}$ ) ;  $\delta_{\text{C}}$ (100 MHz, d- $\text{CDCl}_3$ ) 25.9, 26.8, 34.3, 44.1, 47.3, 65.9, 106.2, 108.3, 127.2, 127.4, 127.8, 128.4, 133.4, 134.9, 136.4, 147.6, 153.5, 153.6, 162.9, 164.3, 165.6; LRMS (ES+) [ $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{FNNO}_2+\text{H}$ ] 的计算值418.21实验值419.38。

[0363] 实施例15-化合物4e



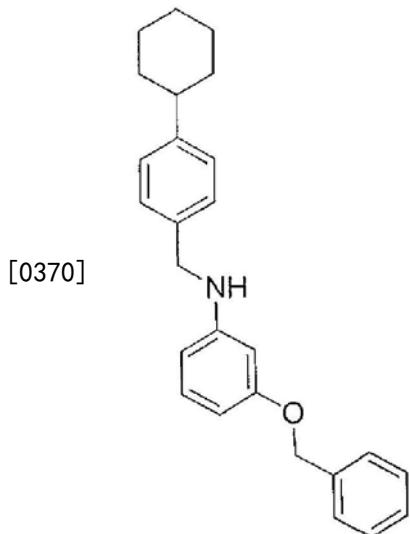
[0365] 4-(苯甲氧基)-N-(4-环己基苯甲基)苯胺

[0366] 化学式:C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>NO

[0367] 分子量:371.51

[0368] 化合物4e根据通用程序c合成,得到呈黄色固体状的最终产物4e (86%)。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.32–1.50 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.29–1.48 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.43–2.56 (m, 1H, CH), 4.25 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.01 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.58–6.65 (m, 2H, CH), 6.84–6.90 (m, 2H, CH), 7.20 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH), 7.31 (d, J=8.2 Hz, 2H, CH), 7.33–7.46 (m, 5H, CH);  $\delta_C$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.2, 26.9, 34.5, 44.3, 49.0, 70.9, 113.9, 116.2, 127.0, 127.5, 127.6, 127.7, 128.5, 136.9, 137.7, 142.9, 147.1, 151.4; LRMS (ES+) [C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>NO+H] 的计算值371.23实验值372.25。

[0369] 实施例16-化合物4f



[0371] 3-(苯甲氧基)-N-(4-环己基苯甲基)苯胺

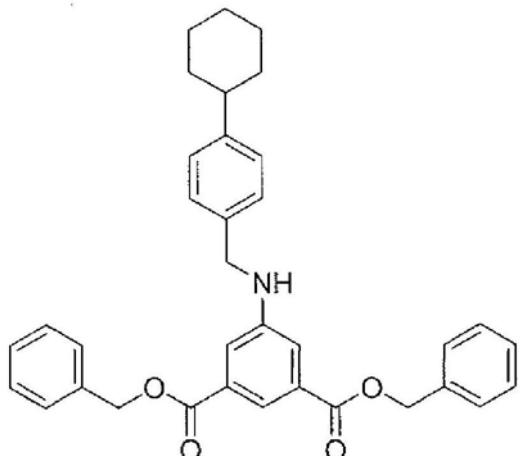
[0372] 化学式:C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>NO

[0373] 分子量:371.51

[0374] 化合物4f根据通用程序d合成,得到呈黄色固体状的最终产物4f (76%)。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.22–1.42 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71–1.91 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.43–2.54 (m, 1H, CH), 4.26 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.01 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.27–6.33 (m, 2H, CH), 6.35–6.40 (m, 1H, CH), 7.06–7.13 (m, 1H, CH), 7.19 (d, J=8.1 Hz, 2H, CH), 7.28 (d, J=8.1 Hz, 2H, CH), 7.31–7.45 (m, 5H, CH);  $\delta_C$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.2, 26.5, 34.1, 44.1, 49.5, 70.1, 103.1, 106.8, 106.9, 114.1, 116.4, 127.3, 127.5, 127.6, 127.7, 128.5, 136.9, 137.7, 147.1; LRMS (ES+) [C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>NO+H] 的计算值371.23实验值372.28。

[0375] 实施例17-化合物4g

[0376]



[0377] 5-((4-环己基苯甲基)氨基)间苯二甲酸二苯甲酯

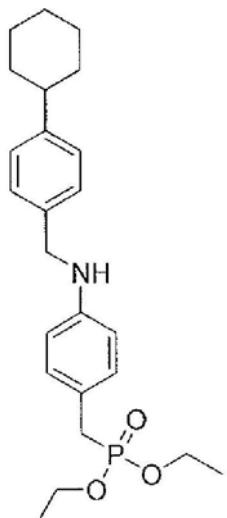
[0378] 化学式:C<sub>35</sub>H<sub>35</sub>N<sub>0</sub><sub>4</sub>

[0379] 分子量:533.6567

[0380] 化合物4g根据通用程序d合成,得到呈白色固体状的最终产物4g (88%)。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.31–1.42 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.74–1.89 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.41–2.50 (m, 1H, CH), 4.94 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.31 (s, 4H, CH<sub>2</sub>), 7.01–7.14 (m, 4H, CH), 7.37–7.52 (m, 10H, CH), 7.81–7.86 (m, 2H, CH), 8.42 (s, 1H, CH);  $\delta_C$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.1, 26.5, 34.1, 35.1, 49.1, 67.2, 68.1, 116.1, 118.5, 119.1, 126.1, 126.3, 127.1, 127.5, 127.9, 138.4, 138.7, 141.2, 144.3, 147.5, 161.4, 166.1; LRMS (ES+) [C<sub>35</sub>H<sub>35</sub>N<sub>0</sub><sub>4</sub>+H]<sup>+</sup> 的计算值534.32实验值534.17。

[0381] 实施例18-化合物4h

[0382]



[0383] 4-((4-环己基苯甲基)氨基)苯甲基膦酸二乙酯

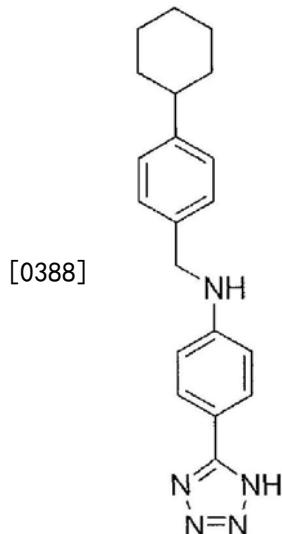
[0384] 化学式:C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>N<sub>0</sub><sub>3</sub>P

[0385] 分子量:415.5054

[0386] 化合物4h根据通用程序c合成,得到呈黄色油状的最终产物4h (78%)。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.24 (t, J=7.1 Hz, 6H, CH<sub>3</sub>), 1.34–1.45 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.70–1.89 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.43–2.54 (m, 1H, CH), 3.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.10 (s, 1H, CH), 3.16 (s, 1H, CH), 3.93–4.04 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 4.25 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.58 (d, J=8.2 Hz, 2H, CH), 7.10 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH), 7.17 (d, J=

8.0 Hz, 2H, CH) , 7.27 (d, J=8.0 Hz, 2H, CH) ;  $\delta_{\text{C}}$  (100MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 16.2, 16.3, 26.0, 26.8, 44.2, 48.0, 61.8, 61.9, 112.9, 113.0, 126.9, 127.5, 130.4, 130.5, 136.5, 147.0; HRMS (ES+) [C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>N<sub>3</sub>P+H] 的计算值416.24实验值416.32。

[0387] 实施例19-化合物4i



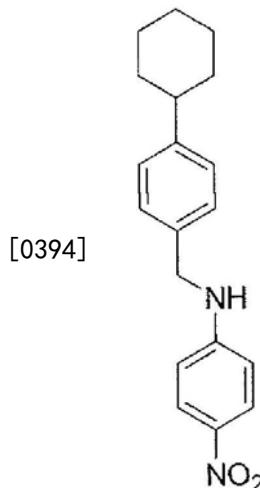
[0389] N-(4-环己基苯甲基)-4-(1H-四唑-5-基)苯胺

[0390] 化学式:C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>

[0391] 分子量:333.43

[0392] 化合物4i根据程序d合成,得到呈白色固体状的最终产物4i (89%)。 $\delta_{\text{H}}$  (400 MHz, d-MeOD<sub>3</sub>) 1.23–1.45 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71–1.91 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.45–2.55 (m, 1H, CH), 4.31 (d, J=5.3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.71 (br s, 1H, NH), 6.55 (d, J=8.8 Hz, 2H, CH), 7.20–7.28 (m, 4H, CH), 8.10 (d, J=8.8 Hz, 2H, CH);  $\delta_{\text{C}}$  (100 MHz, d-C<sub>2</sub>D<sub>6</sub>CO) 113.1, 121.5, 126.6, 143.2, 154.3; LRMS (ES+) [C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>+H] 的计算值334.20实验值334.31。

[0393] 实施例20-化合物4j



[0395] N-(4-环己基苯甲基)-4-硝基苯胺

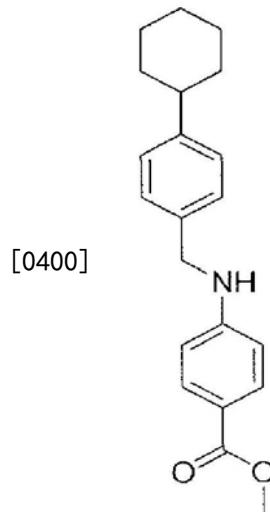
[0396] 化学式:C<sub>9</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

[0397] 分子量:310.39

[0398] 化合物4j根据通用程序c合成,得到呈黄色固体状的最终产物4j (85%)。 $\delta_{\text{H}}$  (400

MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.21–1.47 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.72–1.92 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.45–2.57 (m, 1H, CH), 4.28 (d, J=5.3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.78 (brs, 1H, NH), 6.57 (d, J=8.9 Hz, 2H, CH), 7.19–7.29 (m, 4H, CH), 8.10 (d, J=8.9 Hz, 2H, CH); δ<sub>C</sub> (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 25.2, 26.1, 34.1, 43.2, 48.7, 113.5, 126.2, 127.5, 128.5, 136.9, 137.7, 145.1, 154.4; LRMS (ES+) [C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+H] 的计算值 311.16 实验值 311.21。

[0399] 实施例21-化合物4k



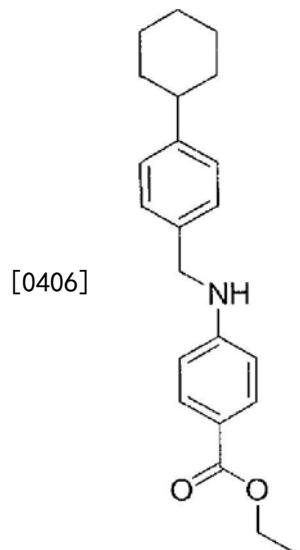
[0401] 4-((4-环己基苯甲基)氨基)苯甲酸甲酯

[0402] 化学式:C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>N0<sub>2</sub>

[0403] 分子量:323.43

[0404] 化合物4k根据通用程序c合成,得到呈棕色固体状的最终产物4k (81%)。δ<sub>H</sub> (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.26–1.47 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.64–1.91 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.37–2.54 (m, 1H, CH), 3.91 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.32 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.79 (d, J=7.4 Hz, 2H, CH), 7.01–7.14 (m, 4H, CH), 7.89 (d, J=8.0 Hz, 2H, CH); δ<sub>C</sub> (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 25.2, 26.1, 34.3, 43.6, 48.1, 51.8, 112.3, 122.1, 126.4, 128.1, 131.2, 137.3, 147.6, 152.4, 165.8; LRMS (ES+) [C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>N0<sub>2</sub>+Na] 的计算值 346.18 实验值 345.88。

[0405] 实施例22-化合物4l



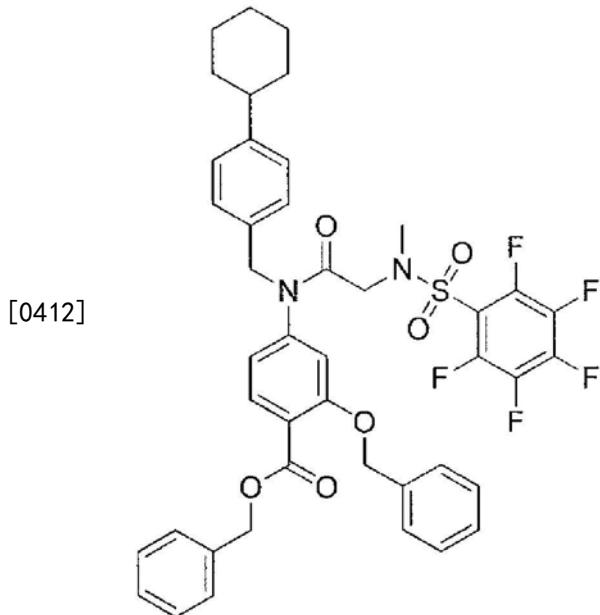
[0407] 4-((4-环己基苯甲基)氨基)苯甲酸乙酯

[0408] 化学式:C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>N<sub>0</sub><sub>2</sub>

[0409] 分子量:337.46

[0410] 化合物41根据通用程序c合成,得到呈白色固体状的最终产物41(81%)。 $\delta_{\text{H}}$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.24-1.46 (m, 8H, CH<sub>2</sub>), 1.64-1.91 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.38-2.54 (m, 1H, CH), 4.31 (q, J=7.1 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.32 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.64 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH), 7.01-7.14 (m, 4H, CH), 7.86 (d, J=8.1 Hz, 2H, CH);  $\delta_{\text{C}}$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 14.3, 25.4, 26.1, 34.5, 44.1, 48.1, 60.3, 112.3, 122.1, 126.4, 128.1, 131.8, 136.9, 147.6, 151.4, 166.8; LRMS (ES+) [C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>N<sub>0</sub><sub>2</sub>+Na]<sup>+</sup> 的计算值360.19实验值359.89。

[0411] 实施例23-化合物7a



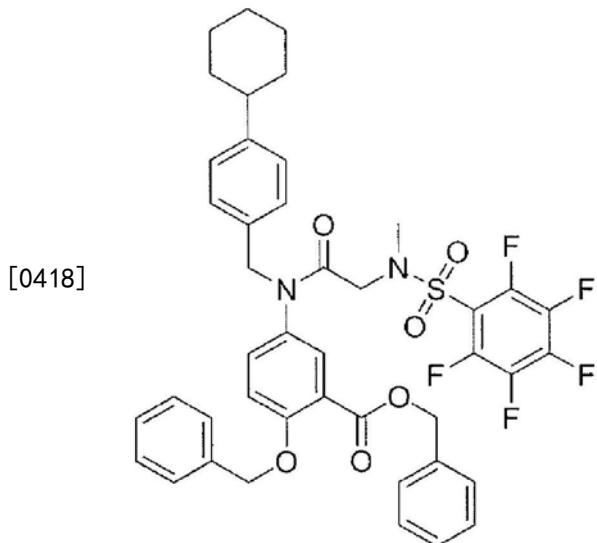
[0413] 2-(苯甲氧基)-4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯甲酸苯甲酯

[0414] 化学式:C<sub>43</sub>H<sub>39</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S

[0415] 分子量:806.84

[0416] 化合物7a根据通用程序d合成,得到呈黄色油状的最终产物7a(81%)。 $\delta_{\text{H}}$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.33-1.41 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.70-1.85 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.42-2.51 (m, 1H, CH), 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.84 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.47 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.38 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.43 (s, 1H, CH), 6.68 (d, J=8.0 Hz, 1H, CH), 6.95 (d, J=7.0 Hz, 2H, CH), 7.10 (d, J=7.2 Hz, 2H, CH), 7.30-7.41 (m, 10H, CH), 7.85 (dd, J=8.0和1.2 Hz, 1H, CH);  $\delta_{\text{C}}$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.1, 26.7, 34.3, 35.3, 44.2, 51.9, 52.7, 67.1, 70.7, 112.0, 114.1, 115.9, 119.8, 121.0, 127.1, 127.2, 128.1, 128.3, 128.5, 128.6, 128.7, 133.3, 133.4, 135.6, 135.7, 137.8, 141.6, 142.9, 144.2, 147.9, 158.7, 165.2, 165.8; LRMS (ES+) [C<sub>43</sub>H<sub>39</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值807.84实验值807.79。

[0417] 实施例24-化合物7b



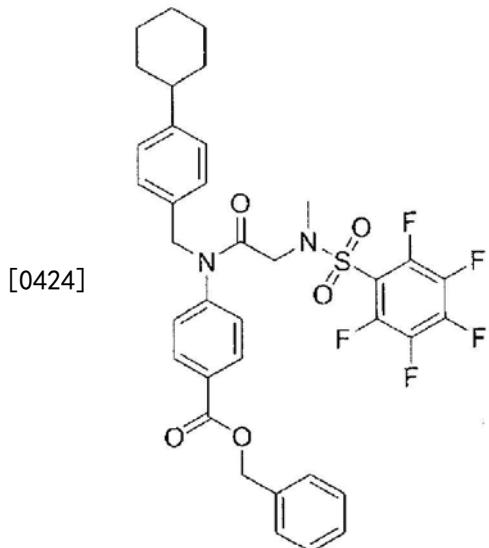
[0419] 2-(苯甲氧基)-5-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯甲酸苯甲酯

[0420] 化学式: C<sub>43</sub>H<sub>39</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S

[0421] 分子量: 806.84

[0422] 化合物7b根据通用程序h合成,得到呈橙色固体状的最终产物7b(68%)。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.33–1.43 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.72–1.89 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.42–2.52 (m, 1H, CH), 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.94 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.67 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.15 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.33 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.93–6.99 (m, 4H, CH), 7.06–7.12 (m, 2H, CH), 7.31–7.45 (m, 10H, CH), 7.53–7.56 (m, 1H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.0, 26.7, 34.3, 35.8, 44.1, 52.3, 53.1, 67.1, 70.9, 34.4, 44.2, 48.6, 66.6, 72.2, 114.6, 121.9, 126.8, 127.1, 127.5, 127.9, 128.1, 128.3, 128.5, 128.6, 131.3, 132.3, 133.2, 133.4, 135.5, 135.7, 147.6, 157.9, 165.1, 166.3; LRMS (ES+) [C<sub>43</sub>H<sub>39</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S+Na]<sup>+</sup>] 的计算值829.84实验值829.28。

[0423] 实施例25-化合物7c



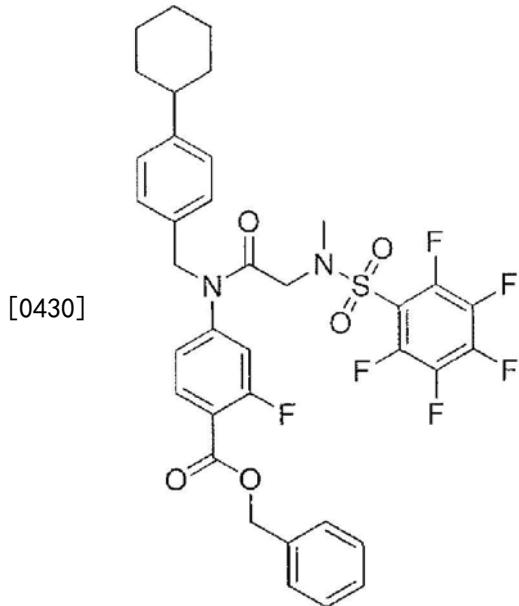
[0425] 4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯甲酸苯甲酯

[0426] 化学式: C<sub>36</sub>H<sub>33</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S

[0427] 分子量: 700.71

[0428] 化合物7c根据通用程序h合成,得到呈白色固体状的最终产物7c(78%)。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.28–1.48 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71–1.93 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.42–2.55 (m, 1H, CH), 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.96 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.79 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.38 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.90 (d, J=8.0 Hz, 2H, CH), 7.10–7.16 (m, 4H, CH), 7.33–7.47 (m, 5H, CH), 8.10 (d, J=8.0 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.1, 26.8, 34.3, 35.8, 44.1, 52.2, 53.0, 66.9, 126.9, 128.2, 128.3, 128.4, 128.5, 128.6, 131.4, 133.1, 135.5, 147.8, 165.1, 165.7; LRMS (ES+) [C<sub>36</sub>H<sub>33</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值 723.19 实验值 723.13。

[0429] 实施例26–化合物7d



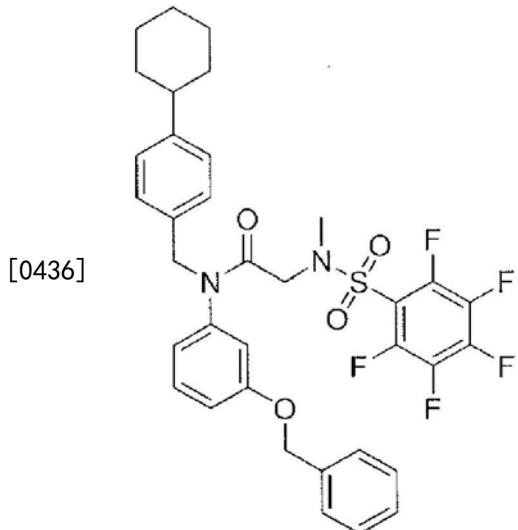
[0431] 4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)-2-氟苯甲酸苯甲酯

[0432] 化学式: C<sub>36</sub>H<sub>32</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S

[0433] 分子量: 718.7051

[0434] 化合物7d根据通用程序h合成,得到呈无色油状的最终产物7d。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.23–1.46 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71–1.91 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.42–2.52 (m, 1H, CH), 3.1 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.98 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.21 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.38 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.81–6.91 (m, 2H, CH), 6.98 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH), 7.32–7.47 (m, 5H, CH), 7.93–7.99 (m, 1H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 25.9, 26.8, 34.2, 35.8, 44.2, 52.1, 52.9, 67.2, 106.5, 108.3, 116.9, 123.9, 127.2, 127.4, 127.7, 128.1, 128.4, 128.6, 132.7, 133.2, 135.1, 147.5, 162.9, 165.6; LRMS (ES+) [C<sub>36</sub>H<sub>32</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值 718.19 实验值 719.32。

[0435] 实施例27–化合物7f



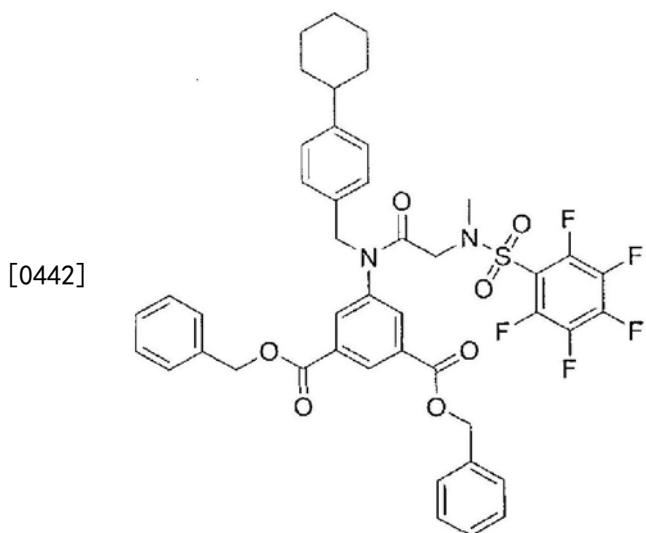
[0437] N- (3- (苯甲氧基) 苯基) -N- (4-环己基苯甲基) -2- (2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基) 乙酰胺

[0438] 化学式: C<sub>35</sub>H<sub>33</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S

[0439] 分子量: 672.7045

[0440] 化合物7f根据通用程序h合成,得到呈白色固体状的最终产物7f。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.26–1.44 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.72–1.91 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.42–2.51 (m, 1H, CH) , 3.11 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.96 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.65 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 5.02 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.74–6.82 (m, 2H, CH) , 6.89–6.93 (m, 1H, CH) , 6.95 (d, J=8.0 Hz, 2H, CH) , 7.12 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH) , 7.31–7.45 (m, 5H, CH) ;  $\delta_C$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.2, 25.9, 34.1, 35.3, 44.11, 51.2, 52.2, 71.3, 115.4, 123.5, 127.1, 128.1, 128.2, 128.9, 129.1, 132.5, 133.1, 136.1, 147.4, 157.8, 165.1; LRMS (ES+) [C<sub>35</sub>H<sub>33</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S+Na] 的计算值 695.21 实验值 696.30。

[0441] 实施例28-化合物7g



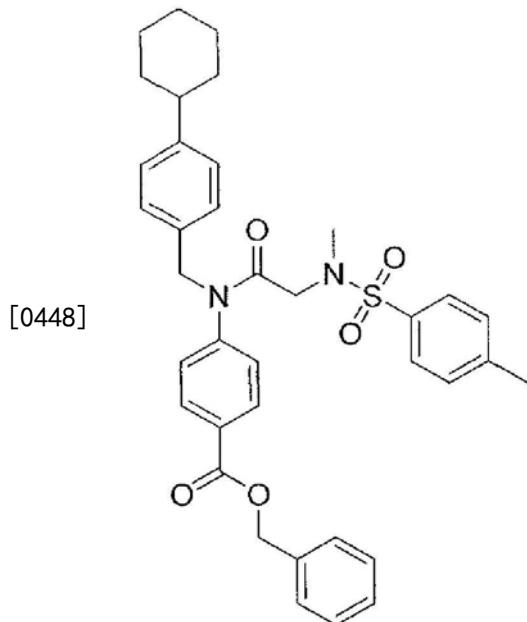
[0443] 5- (N- (4-环己基苯甲基) -2- (2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基) 乙酰胺基) 间苯二甲酸二苯甲酯

[0444] 化学式: C<sub>44</sub>H<sub>39</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S

[0445] 分子量: 834.8467

[0446] 化合物7g根据通用程序h合成,得到呈白色固体状的最终产物7g。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.38–1.51 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.75–1.81 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.43–2.52 (m, 1H, CH), 3.11 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.91 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.69 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.31 (s, 4H, CH<sub>2</sub>), 7.13–7.18 (m, 4H, CH), 7.37–7.52 (m, 10H, CH), 7.79–7.85 (m, 2H, CH), 8.40 (s, 1H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.3, 26.6, 34.5, 35.1, 35.6, 48.2, 49.3, 67.1, 68.4, 117.2, 118.1, 120.2, 126.3, 126.8, 127.3, 127.7, 127.9, 134.5, 138.1, 138.4, 140.3, 141.1, 144.5, 147.7, 165.1, 166.4, 166.9; LRMS (ES+) [C<sub>44</sub>H<sub>39</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S+H] 的计算值835.61实验值836.17。

[0447] 实施例29–化合物7h



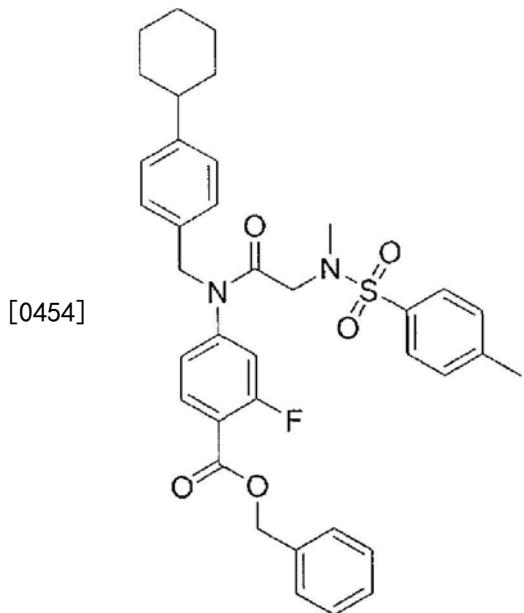
[0449] 4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(N,4-二甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯甲酸苯甲酯

[0450] 化学式:C<sub>37</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S

[0451] 分子量:624.79

[0452] 化合物7h根据通用程序h合成,得到呈白色固体状的最终产物7h(91%)。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.26–1.46 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.70–1.93 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.40 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.43–2.53 (m, 1H, CH), 2.87 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.82 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.38 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.04 (d, J = 8.0 Hz, 2H, CH), 7.11 (s, J = 8.1 Hz, 2H, CH), 7.26 (d, J = 8.0 Hz, 2H, CH), 7.32–7.43 (m, 5H, CH), 7.45 (d, J = 8.0 Hz, 2H, CH), 7.63 (d, J = 8.3 Hz, 2H, CH), 8.10 (d, J = 8.3 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 21.4, 26.0, 26.8, 34.3, 35.7, 44.1, 51.5, 52.9, 66.9, 70.2, 126.9, 127.4, 128.2, 128.3, 128.6, 129.4, 129.4, 131.2, 133.5, 135.2, 135.6, 143.3, 144.9, 147.5, 165.3, 166.6 LRMS (ES+) [C<sub>37</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S+H] 的计算值625.27实验值625.31。

[0453] 实施例30–化合物7i



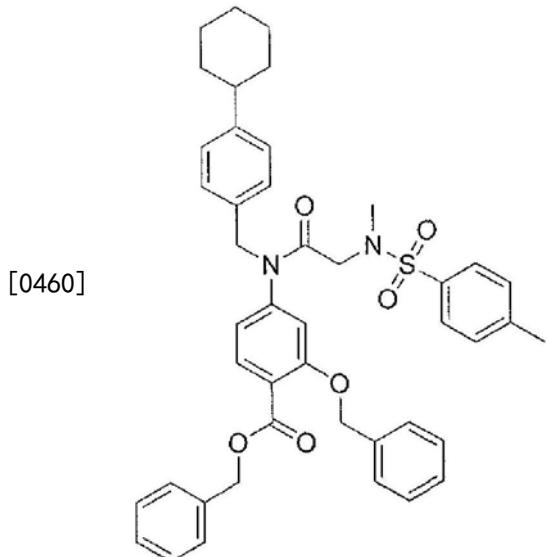
[0455] 4- (N- (4-环己基苯甲基) -2- (N,4-二甲基苯基磺酰胺基) 乙酰胺基) -2-氟苯甲酸苯甲酯

[0456] 化学式: C<sub>37</sub>H<sub>39</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S

[0457] 分子量: 642.78

[0458] 化合物7i根据通用程序h合成,得到呈白色固体状的最终产物7i (80%)。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.28–1.46 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.70–1.93 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.41 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 2.45–2.51 (m, 1H, CH) , 2.86 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.82 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 5.38 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.82–6.93 (m, 2H, CH) , 7.03 (d, J=8.2 Hz, 2H, CH) , 7.12 (d, J=8.2 Hz, 2H, CH) , 7.27 (s, J=8.0 Hz, 2H, CH) , 7.30–7.46 (m, 5H, CH) , 7.63 (d, J=8.0 Hz, 2H, CH) , 7.93–7.98 (m, 1H, CH) ;  $\delta_C$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 21.4, 26.0, 26.7, 34.2, 35.8, 44.1, 51.6, 52.9, 67.2, 71.3, 126.9, 127.4, 128.1, 128.3, 128.4, 128.6, 129.4, 133.2, 135.1, 135.3, 143.3, 147.3 147.8, 163.1, 163.4, 166.6; LRMS (ES+) [C<sub>37</sub>H<sub>39</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值 643.26 实验值 643.39。

[0459] 实施例31-化合物7j



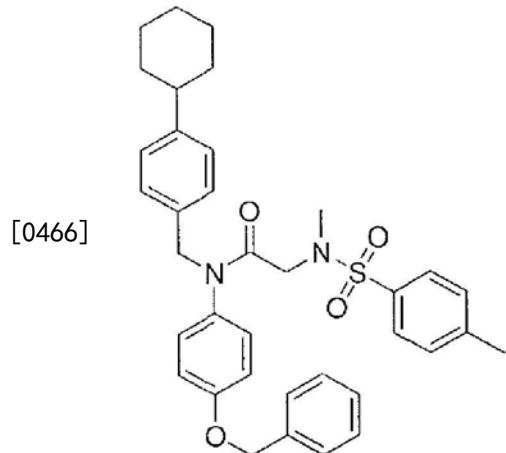
[0461] 2-(苯甲氧基)-4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(N,4-二甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯甲酸苯甲酯

[0462] 化学式:C<sub>44</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S

[0463] 分子量:730.91

[0464] 化合物7j根据通用程序h合成,得到呈黄色油状的最终产物7j。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.21-1.41 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71-1.88 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.30 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.40-2.48 (m, 1H, CH), 3.1 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.58 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.57 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.79 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.28 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.59 (dd, J=8.2和1.5 Hz, 1H, CH), 6.93 (d, J=8.0 Hz, 2H, CH), 7.02 (d, J=8.0Hz, 2H, CH), 7.14-7.35 (m, 12H, CH), 7.52 (d, J=8.2 Hz, 2H, CH), 7.75 (d, J=8.2 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 21.4, 25.9, 26.4, 34.2, 35.7, 44.1, 51.1, 52.3, 66.5, 70.4, 114.1, 119.9, 120.5, 126.8, 126.9, 127.3, 127.8, 128.0, 128.1, 128.4, 128.5, 128.7, 129.3, 133.0, 133.8, 135.2, 135.6, 135.7, 143.1, 144.9, 147.6, 158.6, 165.2, 166.6。LRMS (ES+) [C<sub>44</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S+H]<sup>+</sup>] 的计算值731.32实验值731.28。

[0465] 实施例32-化合物7k



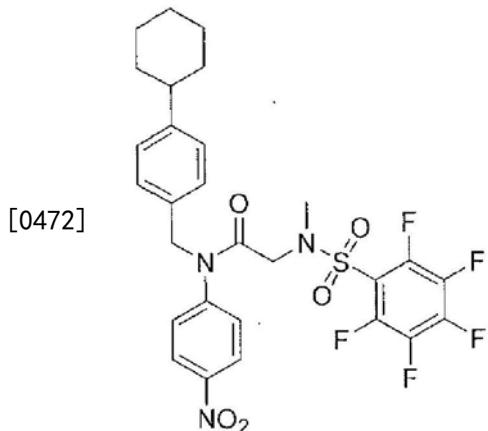
[0467] N-(4-(苯甲氧基)苯基)-N-(4-环己基苯甲基)-2-(N,4-二甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺

[0468] 化学式:C<sub>36</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S

[0469] 分子量:596.78

[0470] 化合物7k根据通用程序h合成,得到呈白色固体状的最终产物。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.31-1.46 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71-1.91 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.42 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.44-2.51 (m, 1H, CH), 2.89 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.74 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.73 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.05 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.89 (d, J=8.8 Hz, 2H, CH), 6.93 (s, J=8.8 Hz, 2H, CH), 7.05 (d, J=8.0 Hz, 2H, CH), 7.10 (d, J=8.0 Hz, 2H, CH), 7.27 (d, J=8.2 Hz, 2H, CH), 7.31-7.45 (m, 5H, CH), 7.67 (d, J=8.2 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 21.4, 26.1, 26.8, 34.3, 35.7, 44.1, 51.3, 53.1, 70.2, 115.7, 126.7, 127.4, 128.1, 128.5, 128.7, 129.3, 129.4, 133.5, 134.2, 135.6, 136.2, 143.1, 147.3, 158.5, 167.2; LRMS (ES+) [C<sub>36</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S+Hg/5]<sup>+</sup>] 的计算值597.28实验值597.34。

[0471] 实施例33-化合物8



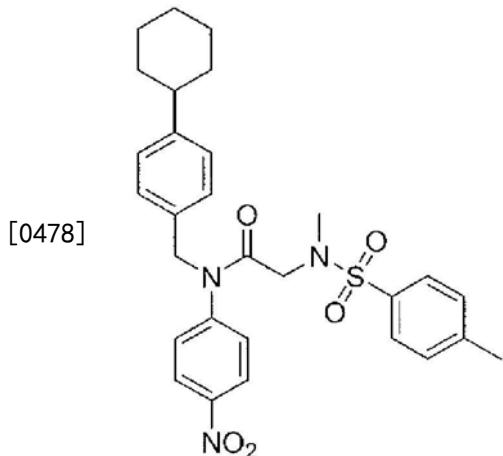
[0473] N-(4-环己基苯甲基)-N-(4-硝基苯基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺)乙酰胺

[0474] 化学式:C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S

[0475] 分子量:611.5802

[0476] 化合物8根据通用程序h合成,得到呈黄色油状的最终产物8。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.26–1.44 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.69–1.86 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.41–2.53 (m, 1H, CH) , 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.98 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.78 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.97 (d, J=7.5 Hz, 2H, CH) , 7.13 (d, J=7.5 Hz, 2H, CH) , 7.21 (d, J=8.3 Hz, 2H, CH) , 8.24 (d, J=8.6 Hz, 2H, CH) ;  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 25.9, 26.6, 34.2, 35.8, 44.1, 52.2, 53.1, 125.2, 127.2, 128.4, 129.2, 132.5, 148.2, 146.9, 147.8, 165.6; HRMS (ES+) [C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值612.5881实验值612.1582; HPLC (I) t<sub>R</sub>=31.615分钟(100.0%) , (II) t<sub>R</sub>=48.560分钟(100.0%)。

[0477] 实施例34-化合物9



[0479] N-(4-环己基苯甲基)-2-(N,N-二甲基苯基磺酰胺基)-N-(4-硝基苯基)乙酰胺

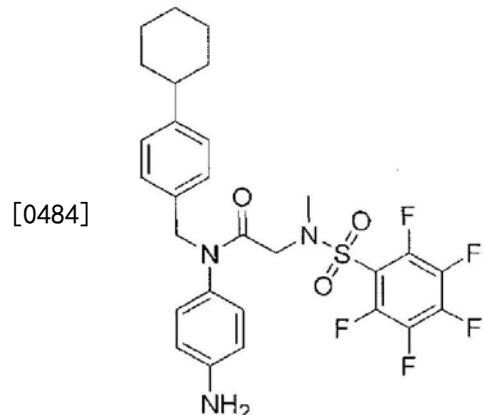
[0480] 化学式:C<sub>29</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S

[0481] 分子量:535.6544

[0482] 化合物9根据通用程序h合成,得到呈黄色油状的最终产物9。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.27–1.44 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.68–1.89 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.41 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 2.43–2.50 (m, 1H, CH) , 2.83 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.86 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 7.04 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH) , 7.11 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH) , 7.21–7.29 (m, 4H, CH) , 7.61 (d, J=8.3 Hz, 2H, CH) , 8.21 (d, J=8.3 Hz, 2H, CH) ;

$\delta_{\text{C}}$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 21.4, 25.7, 26.6, 34.3, 35.8, 44.2, 52.1, 53.1, 124.9, 127.1, 127.4, 128.4, 128.9, 129.5, 133.1, 134.6, 143.4, 146.6, 146.9, 147.8, 166.6; HRMS (ES+) [C<sub>29</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S+H] 的计算值 536.6624 实验值 536.2222; HPLC (I)  $t_{\text{R}}=28.939$  分钟 (100.0%) , (II)  $t_{\text{R}}=46.607$  分钟 (100.0%)。

[0483] 实施例35-化合物10



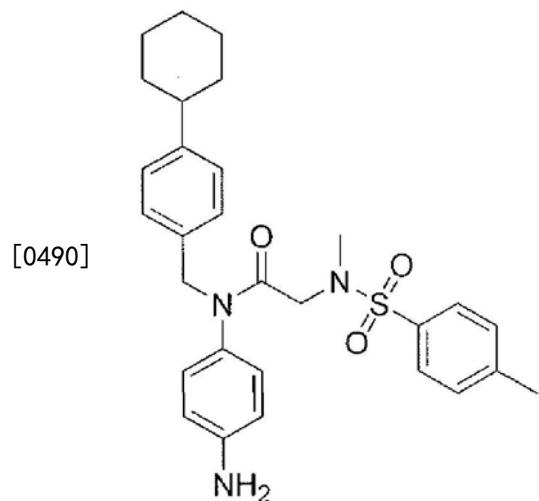
[0485] N-(4-氨基苯基)-N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺

[0486] 化学式:C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S

[0487] 分子量:581.5972

[0488] 化合物10根据通用程序j合成,得到呈无色油状的最终产物10。 $\delta_{\text{H}}$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.25–1.43 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.70–1.88 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.41–2.52 (m, 1H, CH), 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.78 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.96 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.63 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.59 (d, J=8.3 Hz, 2H, CH), 6.71 (d, J=8.3 Hz, 2H, CH), 6.97 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH), 7.10 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH);  $\delta_{\text{C}}$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 25.9, 26.3, 34.1, 35.6, 44.2, 51.5, 53.2, 120.9, 126.2, 127.7, 129.1, 131.3, 135.1, 136.9, 147.1, 165.8; HRMS (ES+) [C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S+H] 的计算值 582.6052 实验值 582.1859; HPLC (I)  $t_{\text{R}}=20.503$  分钟 (94.4%) , (II)  $t_{\text{R}}=40.315$  分钟 (95.3%)。

[0489] 实施例36-化合物11



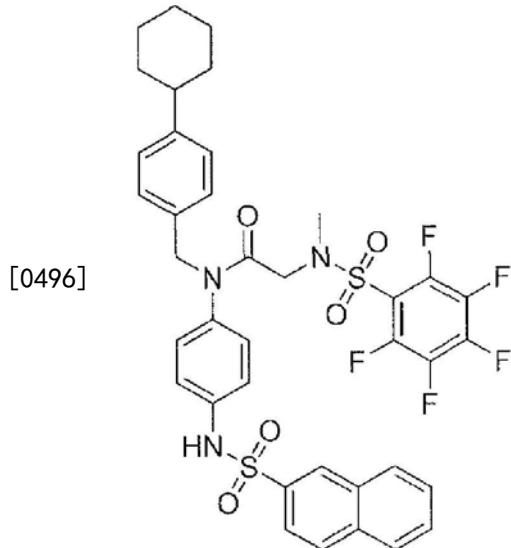
[0491] N-(4-氨基苯基)-N-(4-环己基苯甲基)-2-(N,N-二甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺

[0492] 化学式:C<sub>29</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S

[0493] 分子量:505.6715

[0494] 化合物11根据通用程序j合成,得到呈黄色油状的最终产物11。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.25–1.45 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71–1.89 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.40 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.42–2.53 (m, 1H, CH), 2.87 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.74 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.71 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.57 (d, J=8.6 Hz, 2H, CH), 6.71 (d, J=8.6 Hz, 2H, CH), 7.02–7.11 (m, 4H, CH), 7.25 (d, J=7.0 Hz, 2H, CH), 7.65 (d, J=8.2 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 21.4, 26.1, 26.7, 34.3, 35.7, 44.1, 51.2, 53.1, 115.5, 126.6, 127.4, 128.8, 129.1, 129.3, 130.9, 134.4, 135.6, 143.0, 146.6, 147.1, 167.4; HRMS (ES+) [C<sub>29</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值 506.6794 实验值 506.2467; HPLC (I)  $t_R$ =15.995分钟 (100.0%), (II)  $t_R$ =36.789分钟 (100.0%)。

[0495] 实施例37-化合物12



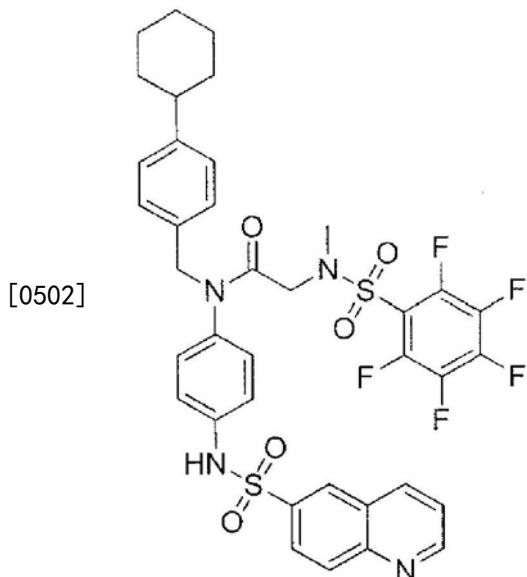
[0497] N-(4-环己基苯甲基)-N-(4-(萘-2-磺酰胺基)苯基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺

[0498] 化学式:C<sub>38</sub>H<sub>34</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>

[0499] 分子量:771.8157

[0500] 化合物12根据通用程序d合成,得到呈黄色油状的最终产物12。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.30–1.43 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71–1.90 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.37–2.48 (m, 1H, CH), 3.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.75 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.58 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.79 (d, J=8.3 Hz, 2H, CH), 6.84 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH), 6.99 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH), 7.09 (d, J=8.4 Hz, 2H, CH), 7.43 (brs, 1H, NH), 7.59–7.71 (m, 2H, CH), 7.74–7.79 (m, 1H, CH), 7.86–7.95 (m, 3H, CH), 8.35–8.41 (m, 1H, CH);  $\delta_C$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.0, 26.7, 34.2, 35.7, 44.0, 52.1, 52.9, 121.8, 122.0, 126.7, 127.7, 127.8, 128.4, 128.8, 129.1, 129.2, 129.5, 131.8, 133.2, 134.9, 135.5, 136.6, 137.1, 147.6, 165.9; HRMS (ES+) [C<sub>38</sub>H<sub>34</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup> 的计算值 772.8236 实验值 772.1938; HPLC (I)  $t_R$ =32.086分钟 (95.8%), (II)  $t_R$ =47.265分钟 (96.9%)。

[0501] 实施例38-化合物13



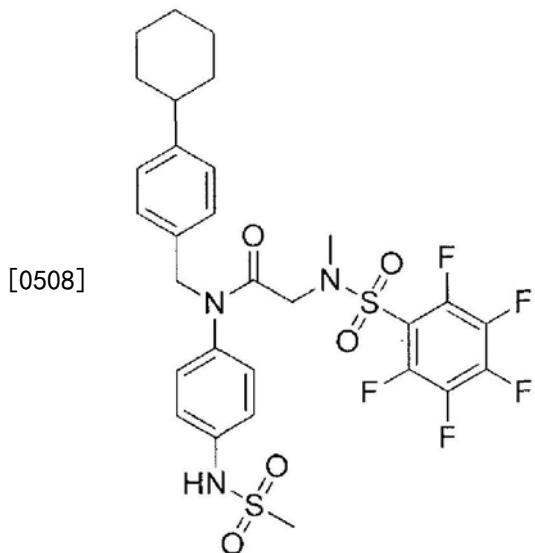
[0503] N-(4环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)-N-(4-(喹啉-6-磺酰胺基)苯基)乙酰胺

[0504] 化学式:  $C_{37}H_{33}F_5N_4O_5S_2$

[0505] 分子量: 772.8037

[0506] 化合物13根据通用程序d合成,得到呈黄色油状的最终产物15。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.28–1.44 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.70–1.88 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.38–2.48 (m, 1H, CH) , 3.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.72 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.55 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.72 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H, CH) , 6.82 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H, CH) , 6.98–7.06 (m, 4H, CH) , 7.59–7.68 (m, 2H, CH) , 8.10 (d,  $J=8.0$  Hz, 1H, CH) , 8.32 (d,  $J=7.5$  Hz, 1H, CH) , 8.36 (d,  $J=7.1$  Hz, 1H, CH) , 8.61 (brs, 1H, NH) , 9.12–9.16 (m, 1H, CH) ;  $\delta_C$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 25.9, 26.7, 34.2, 35.7, 44.0, 52.1, 52.9, 122.4, 122.8, 125.6, 126.7, 128.28, 128.74, 128.82, 131.5, 133.2, 133.84, 135.1, 136.7, 137.3, 137.5, 142.9, 147.5, 151.2, 166.0; HRMS (ES+) [ $C_{37}H_{33}F_5N_4O_5S_2+H$ ] 的计算值773.8117实验值773.1871; HPLC (I)  $t_R = 29.764$ 分钟 (95.6%) , (II)  $t_R = 47.224$ 分钟 (97.8%) 。

[0507] 实施例39-化合物14



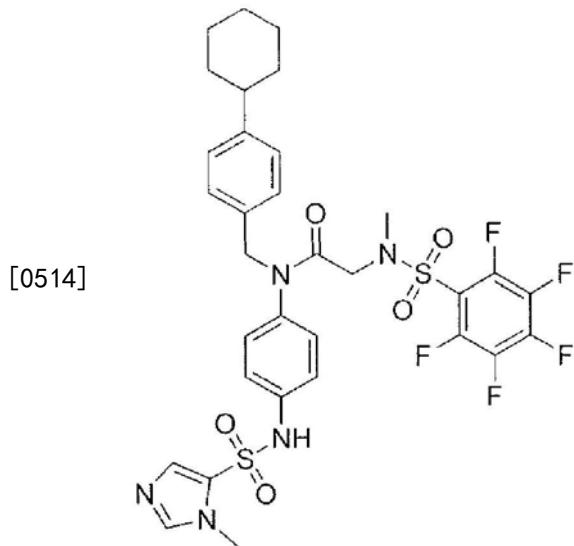
[0509] N-(4-环己基苯甲基)-N-(4-(甲基磺酰胺基)苯基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺

[0510] 化学式: C<sub>29</sub>H<sub>30</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>

[0511] 分子量: 659.6876

[0512] 化合物14根据通用程序d合成,得到呈黄色油状的最终产物13。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.26-1.48 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.69-1.89 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.41-2.52 (m, 1H, CH), 3.05 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.94 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.68 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.93-7.02 (m, 4H, CH), 7.10 (d, 2H, J=7.7 Hz, CH), 7.21 (d, J=8.4 Hz, 2H, CH), 7.41 (brs, 1H, NH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.0, 26.7, 34.3, 35.8, 39.7, 44.10, 52.20, 53.09, 120.7, 126.9, 128.4, 129.5, 133.3, 136.4, 137.5, 147.6, 166.1; HRMS (ES+) [C<sub>29</sub>H<sub>30</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup> 的计算值 660.6956 实验值 660.1634; HPLC (I) t<sub>R</sub>=26.394分钟(95.55%), (II) t<sub>R</sub>=44.372分钟(94.33%)。

[0513] 实施例40-化合物15



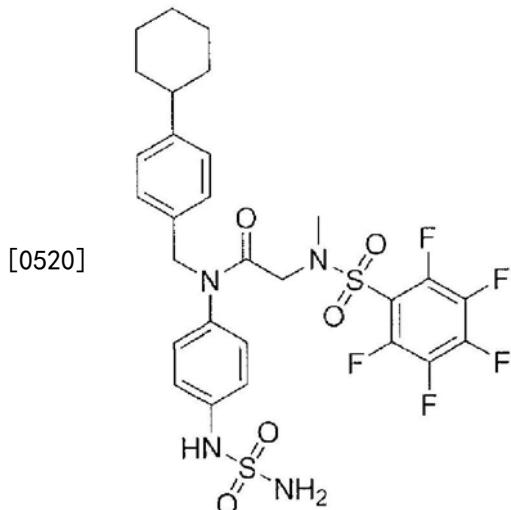
[0515] N-(4-环己基苯甲基)-N-(4-(1-甲基-1H-咪唑-5-磺酰胺基)苯基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺

[0516] 化学式: C<sub>32</sub>H<sub>32</sub>F<sub>5</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>

[0517] 精确质量: 725.1765

[0518] 化合物15根据通用程序d合成,得到呈黄色油状的最终产物14。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.30-1.47 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.70-1.94 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.42-2.53 (m, 1H, CH), 3.07 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.70 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.86 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.62 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.85 (d, J=8.3 Hz, 2H, CH), 6.94 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH), 7.10 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH), 7.34 (d, J=8.4 Hz, 2H, CH), 7.41 (s, 1H, CH), 7.56 (s, 1H, CH), 10.23 (s, 1H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.0, 26.7, 34.1, 34.3, 35.8, 44.0, 52.1, 53.0, 122.3, 124.9, 126.8, 128.2, 128.8, 133.4, 136.3, 137.8, 138.7, 139.3, 147.5, 166.2; HRMS (ES+) [C<sub>32</sub>H<sub>32</sub>F<sub>5</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup> 的计算值 726.1843 实验值 726.1821; HPLC (I) t<sub>R</sub>=23.409分钟(94.7%), (II) t<sub>R</sub>=42.488分钟(94.9%)。

[0519] 实施例41-化合物16



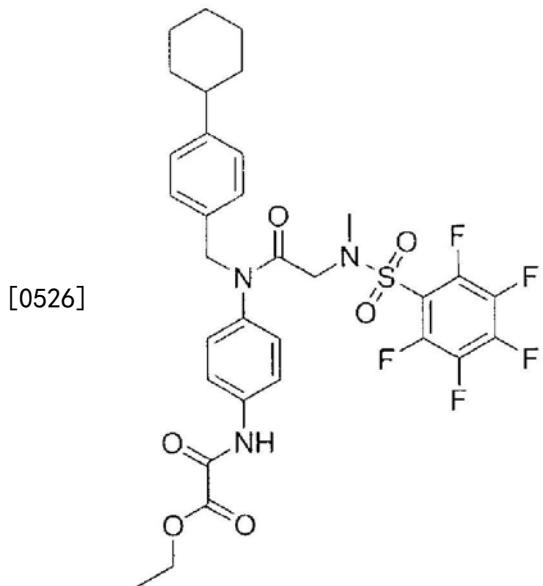
[0521] N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)-N-(4-(氨基磺酰基氨基)苯基)乙酰胺

[0522] 化学式:C<sub>28</sub>H<sub>29</sub>F<sub>5</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>

[0523] 分子量:660.6757

[0524] 化合物16根据通用程序d合成,得到呈黄色油状的最终产物X。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.28–1.44 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.70–1.89 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.41–2.50 (m, 1H, CH), 3.06 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.92 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.68 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.10 (brs, 2H, NH<sub>2</sub>) 6.94–7.01 (m, 4H, CH), 7.10 (d, J = 7.9 Hz, 2H, CH), 7.19 (d, J = 8.4 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 25.9, 26.7, 34.3, 35.7, 44.1, 52.2, 53.2, 121.0, 126.9, 128.4, 129.2, 133.3, 136.3, 137.6, 147.6, 166.3; HRMS (ES+) [C<sub>28</sub>H<sub>29</sub>F<sub>5</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup> 的计算值 661.6836 实验值 661.1575; HPLC (I) t<sub>R</sub> = 23.259分钟 (90.9%) , (II) t<sub>R</sub> = 42.445分钟 (91.4%)。

[0525] 实施例42-化合物17



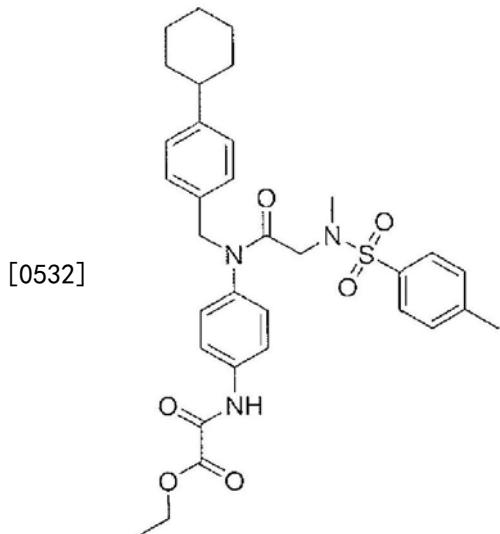
[0527] 2-((4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯基)氨基)-2-氧代基乙酸乙酯

[0528] 化学式:C<sub>32</sub>H<sub>32</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S

[0529] 分子量:681.6700

[0530] 化合物17根据通用程序k合成,得到呈无色油状的最终产物17。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.32–1.46 (m, 8H, CH<sub>2</sub>和CH<sub>3</sub>) , 1.69–1.90 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.41–2.52 (m, 1H, CH) , 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.94 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.41 (q, J=7.2 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.70 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.92–7.02 (m, 4H, CH) , 7.10 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH) , 7.67 (d, J=8.3 Hz, 2H, CH) , 9.02 (brs, 1H, NH) ;  $\delta_C$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 13.9, 26.1, 26.8, 34.3, 35.9, 44.1, 52.2, 53.1, 63.8, 121.0, 126.9, 128.6, 129.1, 133.4, 136.7, 136.8, 147.7, 154.0, 160.6, 166.2; HRMS (ES+) [C<sub>32</sub>H<sub>32</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值682.6779实验值682.1994; HPLC (I) t<sub>R</sub>=28.867分钟 (93.7%) , (II) 46.469分钟 (95.6%) 。

[0531] 实施例43-化合物18



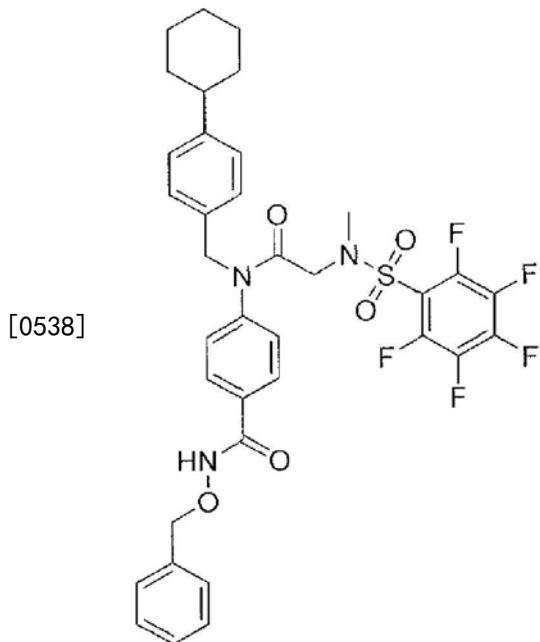
[0533] 2-((4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(N,N-二甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯基)氨基)-2-氧代基乙酸乙酯

[0534] 化学式:C<sub>33</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S

[0535] 分子量:605.7443

[0536] 化合物18根据通用程序g合成,得到呈无色油状的最终产物18。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.23–1.41 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.42 (t, J=7.2 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>) , 1.69–1.86 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.40 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 2.42–2.52 (m, 1H, CH) , 2.85 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.72 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.41 (q, J=7.2 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.75 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.95–7.05 (m, 4H, CH) , 7.10 (d, J=7.8 Hz, 2H, CH) , 7.24 (d, J=7.4 Hz, 2H, CH) , 7.58–7.67 (m, 4H, CH) , 9.01 (s, 1H, NH) ;  $\delta_C$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 13.8, 21.4, 26.1, 26.7, 34.2, 35.6, 44.1, 51.4, 53.1, 63.7, 120.9, 126.7, 128.7, 129.2, 129.4, 133.9, 135.2, 136.4, 137.3, 143.2, 147.4, 154.1, 160.6, 166.7, 167.4; HRMS (ES+) [C<sub>33</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值606.7522实验值606.2635; HPLC (I) t<sub>R</sub>=25.724分钟 (100.0%) , (II) t<sub>R</sub>=44.185分钟 (100.0%) 。

[0537] 实施例44-化合物19a



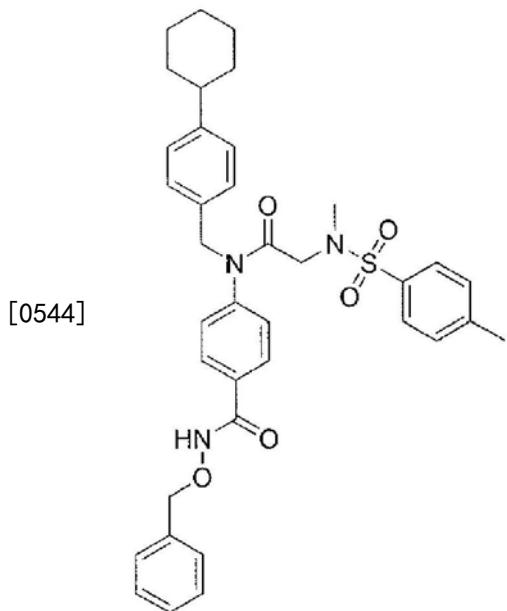
[0539] N-(苯甲氧基)-4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯甲酰胺

[0540] 化学式: C<sub>36</sub>H<sub>34</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S

[0541] 分子量: 715.73

[0542] 化合物19a根据通用程序m合成,得到呈白色固体状的最终产物19a。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.27–1.45 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.69–1.91 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.41–2.53 (m, 1H, CH) , 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.89 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.71 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 5.01 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.90–7.10 (m, 4H, CH) , 7.11–7.15 (m, 2H, CH) , 7.33–7.45 (m, 5H, CH) , 7.63–7.70 (m, 1H, CH) , 8.10 (d, J=8.3 Hz, 1H, CH) , 8.72–8.91 (brs, 1H, NH) ;  $\delta_C$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 25.9, 26.7, 34.2, 35.8, 44.1, 52.2, 53.0, 78.4, 126.9, 128.4, 128.5, 128.6, 128.9, 129.1, 130.9, 131.8, 132.9, 148.0, 158.9, 159.9, 161.2, 166.7; LRMS (ES+) [C<sub>36</sub>H<sub>34</sub>N<sub>3</sub>F<sub>5</sub>S+Na] 的计算值738.20实验值738.15。

[0543] 实施例45-化合物19b



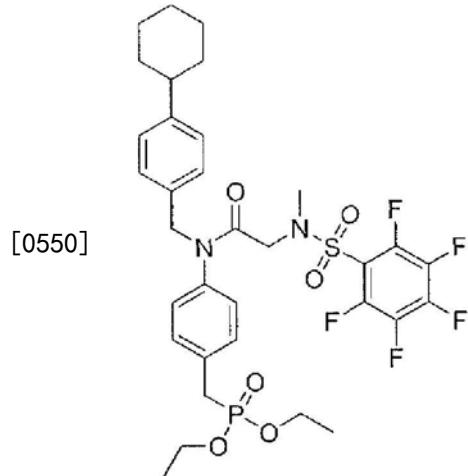
[0545] N-(苯甲氧基)-4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(N,4-二甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯甲酰胺

[0546] 化学式:C<sub>37</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S

[0547] 分子量:639.80

[0548] 化合物19b根据通用程序m合成,得到呈白色固体状的最终产物19b。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.28-1.45 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.69-1.91 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.41 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.42-2.50 (m, 1H, CH), 2.83 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.68 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.77 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.03 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.97-7.11 (m, 6H, CH), 7.22-7.30 (m, 2H, CH), 7.33-7.48 (m, 5H, CH), 7.61 (d, J=8.3 Hz, 2H, CH), 7.65-7.71 (m, 2H, CH), 8.72-8.91 (brs, 1H, NH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 21.4, 25.9, 26.7, 34.3, 35.7, 44.1, 51.5, 52.9, 59.1, 117.1, 126.9, 127.4, 128.1, 128.5, 128.6, 128.7, 129.2, 129.4, 133.5, 135.1, 143.3, 147.6, 158.9, 159.9, 161.2, 166.7; LRMS (ES+) [C<sub>37</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S+Na] 的计算值640.28实验值640.41。

[0549] 实施例46-化合物20



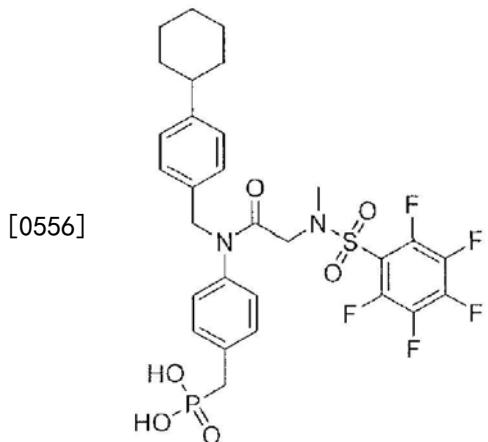
[0551] 4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯甲基膦酸二乙酯

[0552] 化学式:C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>PS

[0553] 分子量:716.6954

[0554] 化合物20根据通用程序i合成,得到呈粘性橙色油状的最终产物20(74%)。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.23 (t, J=6.9 Hz, 6H, CH<sub>3</sub>), 1.27-1.47 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.70-1.87 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.4-2.5 (m, 1H, CH), 3.08 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.10 (s, 1H, CH), 3.16 (s, 1H, CH), 3.92 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.95-4.07 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 4.73 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.98 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH), 7.03 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH), 7.10 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH), 7.31-7.37 (m, 2H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 15.1, 15.2, 25.7, 26.4, 34.1, 44.1, 51.5, 52.5, 62.3, 62.5, 126.4, 128.1, 128.2, 131.1, 131.2, 133.7, 138.9, 147.1, 166.7; HRMS (ES+) [C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>PS+H] 的计算值717.7033实验值717.2198; HPLC (I) t<sub>R</sub>=29.18分钟(96.1%), (II) t<sub>R</sub>=41.38分钟(95.1%)。

[0555] 实施例47-化合物21



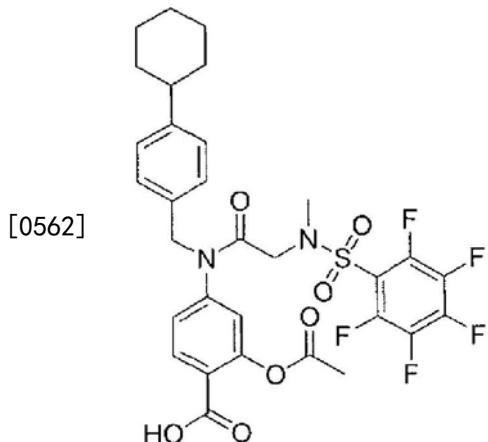
[0557] (4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯甲基)膦酸

[0558] 化学式: C<sub>29</sub>H<sub>30</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>PS

[0559] 分子量: 660.5891

[0560] 化合物21根据通用程序n合成,得到呈白色固体状的最终产物21。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.27–1.42 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.70–1.87 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.40–2.50 (m, 1H, CH) , 3.03 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.10 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 3.90 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.65 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.89–7.05 (m, 4H, CH) , 7.11 (d, J = 8.1 Hz, 2H, CH) , 7.20–7.31 (m, 2H, CH) ;  $\delta_C$  (100 MHz, d- (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) 25.7, 26.4, 34.1, 35.5, 43.5, 44.1, 51.5, 53.4, 126.4, 128.1, 128.2, 131.1, 131.2, 133.7, 138.9, 147.1, 166.7; HRMS (ES+) 的计算值 [C<sub>29</sub>H<sub>30</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>PS+H] 661.5970 实验值 661.1566; HPLC (I)  $t_R$ =17.489分钟 (97.9%) , (II)  $t_R$ =38.028分钟 (100.0%) 。

[0561] 实施例48-化合物22



[0563] 2-乙酰氧基-4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯甲酸

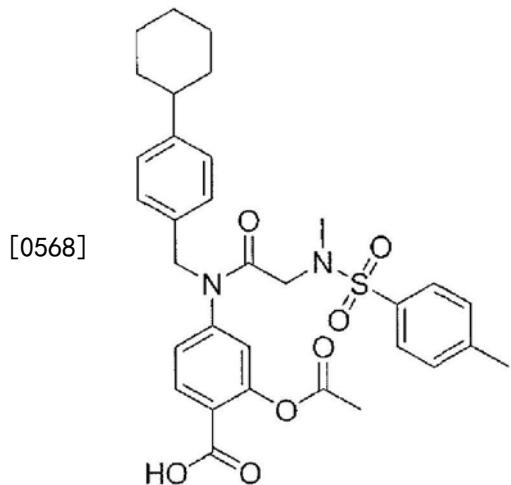
[0564] 化学式: C<sub>31</sub>H<sub>29</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S

[0565] 精确质量: 668.1616

[0566] 化合物22根据通用程序o合成,得到呈黄色油状的最终产物22。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.32–1.48 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.70–1.88 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.32 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 2.43–2.51 (m, 1H, CH) , 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 4.00 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.82 (s, 1H, CH) , 6.93–7.02 (m, 3H, CH) , 7.12 (d, J = 7.7 Hz, 2H, CH) , 8.10 (d, J = 8.1 Hz, 1H, CH) ;  $\delta_C$  (100 MHz, d- (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO)

20.5, 26.0, 26.4, 33.6, 36.3, 44.3, 52.1, 53.4, 11 8.4, 120.0, 120.1, 123.0, 123.1, 125.6, 130.8, 139.2, 158.8, 159.0, 168.0; HRMS (ES+) [C<sub>31</sub>H<sub>29</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S+H]的计算值669.1691实验值669.1701; HPLC (I) t<sub>R</sub>=24.679分钟 (93.9%) , (II) t<sub>R</sub>=43.441分钟 (93.3%) 。

[0567] 实施例49-化合物23



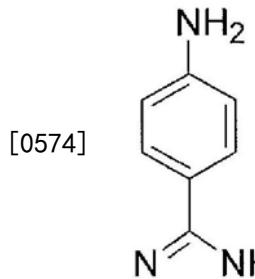
[0569] 2-乙酰氧基-4- (N- (4-环己基苯甲基) -2- (N,4-二甲基苯基磺酰胺基) 乙酰胺基) 苯甲酸

[0570] 化学式:C<sub>32</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S

[0571] 分子量:592.7024

[0572] 化合物23根据通用程序o合成,得到呈黄色油状的最终产物23。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.24–1.47 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.70–1.91 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.32 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.40 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.43–2.52 (m, 1H, CH), 2.83 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.77 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.85 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.87 (s, 1H, CH), 7.03 (d, 1H, J=8.1 Hz, CH), 7.11 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH), 7.13 (d, J=7.9 Hz, 1H, CH), 7.27 (d, J=8.4 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$  (100 MHz, d- (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) 20.9, 25.8, 26.2, 29.5, 33.6, 36.3, 44.3, 52.1, 53.4, 118.4, 120.1, 120.5, 123.0, 123.1, 125.6, 130.8, 134.9, 139.2, 142.5, 147.1, 158.8, 159.0, 168.0, 169.2; HRMS (ES+) [C<sub>32</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S+H]的计算值593.7104实验值593.2316; HPLC (I) t<sub>R</sub>=22.090分钟 (94.8%) , (II) t<sub>R</sub>=41.402分钟 (96.3%) 。

[0573] 实施例50-化合物24



[0575] 4- (1H-四唑-5-基) 苯胺

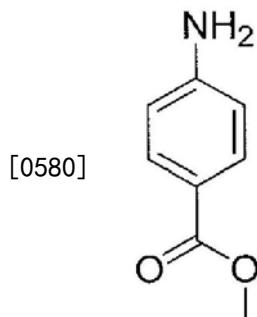
[0576] 化学式:C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>N<sub>5</sub>

[0577] 分子量:161.1640

[0578] 化合物24根据程序p合成,得到呈白色粉末状的最终产物24 (74%) 。 $\delta$  (400 MHz, d-MeOD<sub>3</sub>) 4.34 (brs, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.51 (d, J=8.9 Hz, 2H, CH), 7.71 (s, J=8.9 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$  (100

MHz, d-C<sub>2</sub>D<sub>6</sub>C<sub>0</sub>) 113.4, 121.6, 126.8, 143.1, 154.2; LRMS (ES+) [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>N<sub>5</sub>+H] 的计算值 161.07 实验值 162.16。

[0579] 实施例 51- 化合物 25a



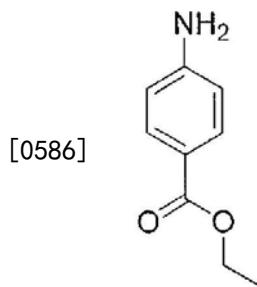
[0581] 4-氨基苯甲酸甲酯

[0582] 化学式: C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>

[0583] 分子量: 151.16

[0584] 化合物 25a 根据通用程序 q 合成, 得到呈棕色固体状的最终产物 25a (91%)。δ<sub>H</sub> (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 3.83 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.90–3.95 (brs, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.61 (d, J=8.8 Hz, 2H, CH), 7.84 (d, J=8.8 Hz, 2H, CH); δ<sub>C</sub> (100MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 51.6, 114.1, 120.1, 131.5, 151.2, 167.4; LRMS (ES+) [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>+H] 的计算值 152.07 实验值 152.04。

[0585] 实施例 52- 化合物 25b



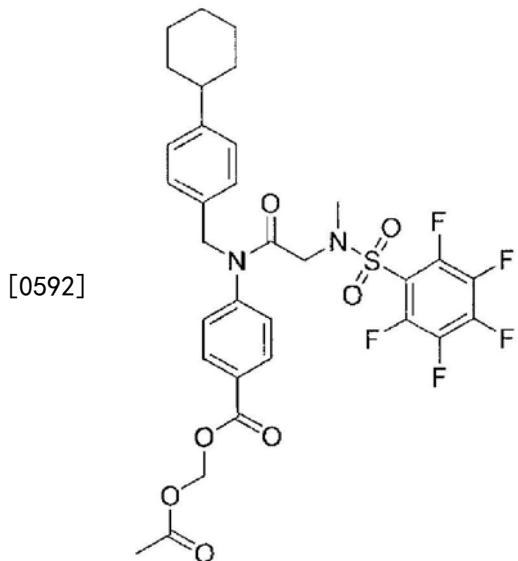
[0587] 4-氨基苯甲酸乙酯

[0588] 化学式: C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>

[0589] 分子量: 165.19

[0590] 化合物 25b 根据通用程序 q 合成, 得到呈棕色固体状的最终产物 25b (87%)。δ<sub>H</sub> (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.34 (t, J=7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.95–4.02 (brs, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.31 (q, J=7.1Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.63 (d, J=8.0Hz, 2H, CH), 7.86 (d, J=8.0 Hz, 2H, CH); δ<sub>C</sub> (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 14.5, 60.2, 114.1, 120.2, 131.5, 152.1, 167.9; LRMS (ES+) [C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>+H] 的计算值 166.09 实验值 166.1。

[0591] 实施例 53- 化合物 26



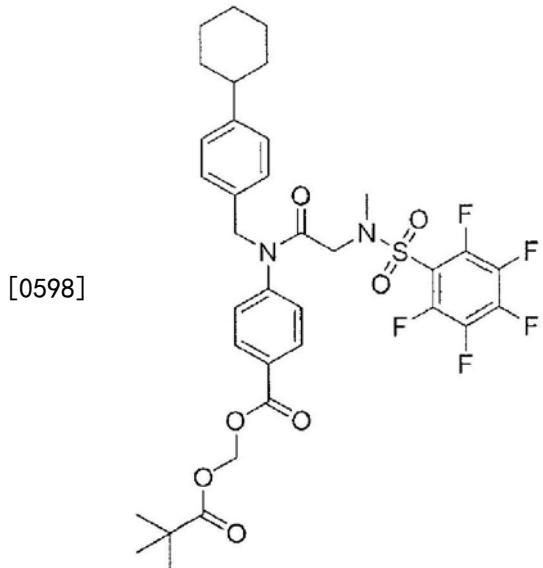
[0593] 4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯甲酸乙酰氧基甲酯

[0594] 化学式: C<sub>32</sub>H<sub>31</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S

[0595] 分子量: 682.6548

[0596] 化合物26根据通用程序r合成,得到呈黄色油状的最终产物26。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.27–1.46 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.69–1.92 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.14 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.42–2.52 (m, 1H, CH), 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.94 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.74 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.98 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.95 (d, J=7.5 Hz, 2H, CH), 7.05–7.15 (m, 4H, CH), 8.10 (d, J=8.3 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 20.6, 26.0, 26.7, 34.2, 35.8, 44.1, 52.2, 53.0, 79.6, 126.9, 127.8, 128.0, 128.2, 128.4, 131.7, 132.9, 147.8, 164.0, 165.7, 169.4; HRMS (ES+) [C<sub>32</sub>H<sub>31</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值 683.6627 实验值 683.1877; HPLC (I) t<sub>R</sub>=30.783分钟 (97.3%) , (II) t<sub>R</sub>=47.872分钟 (100.0%)

[0597] 实施例54-化合物27



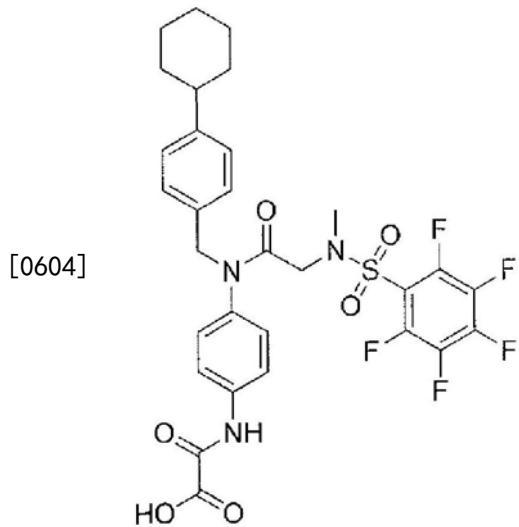
[0599] 4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯甲酸(特戊酰基氨基)甲酯

[0600] 化学式: C<sub>35</sub>H<sub>37</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S

[0601] 分子量: 724.7345

[0602] 化合物27根据通用程序r合成,得到呈白色固体状的最终产物27。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.23 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 1.34-1.44 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71-1.89 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.42-2.52 (m, 1H, CH), 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.94 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.74 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.99 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.96 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH), 7.06-7.13 (m, 4H, CH), 8.10 (d, J=8.6 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$  (100MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.0, 26.6, 26.7, 34.2, 35.8, 38.7, 44.1, 52.2, 53.0, 80.0; HRMS (ES+) [C<sub>35</sub>H<sub>37</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值 725.7424 实验值 725.2339; HPLC (I) t<sub>R</sub>=35.701分钟 (96.2%), (II) t<sub>R</sub>=52.017分钟 (99.5%)

[0603] 实施例55-化合物28



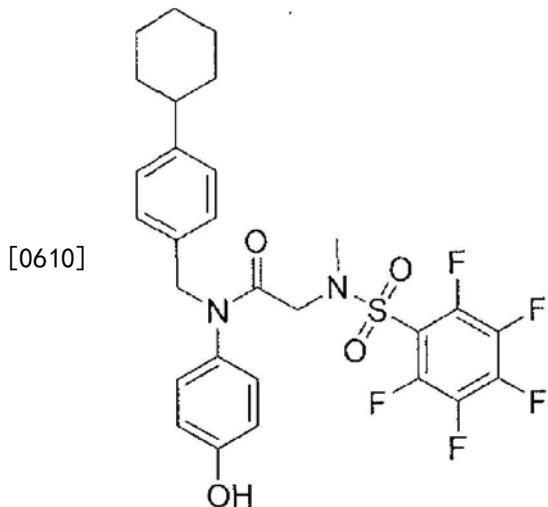
[0605] 2-((4-(N-(4-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯基)氨基)-2-氧代基乙酸

[0606] 化学式: C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S

[0607] 分子量: 653.62

[0608] 化合物28根据通用程序g合成,得到呈白色固体状的最终产物28。 $\delta_H$  (400 MHz, d-(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) 1.25-1.40 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.62-1.80 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.37-2.55 (m, 1H, CH), 2.97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.97 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.67 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.98 (d, J=7.5 Hz, 2H, CH), 7.03-7.13 (m, 4H, CH), 7.83 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH), 10.54 (brs, 1H, NH);  $\delta_C$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.1, 26.7, 34.2, 35.9, 44.2, 52.4, 53.3, 121.0, 126.9, 128.6, 129.1, 133.4, 136.7, 136.8, 147.7, 154.2, 160.5, 166.1; HRMS (ES+) [C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值 653.1619 实验值 654.1691; HPLC (I) t<sub>R</sub>=23.256分钟 (92.9%), (II) t<sub>R</sub>=42.389分钟 (90.7%)。

[0609] 实施例56-化合物29



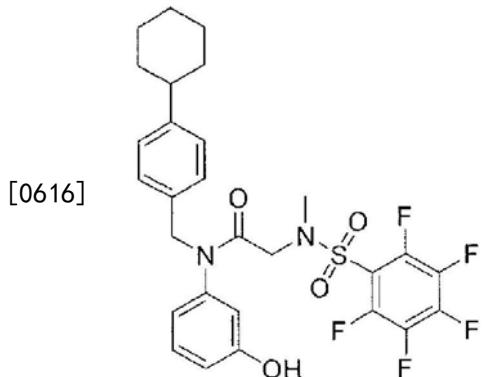
[0611] N-(4-环己基苯甲基)-N-(4-羟基苯基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺

[0612] 化学式:C<sub>28</sub>H<sub>27</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S

[0613] 分子量:582.5820

[0614] 化合物29根据通用程序1合成,得到呈黄色油状的最终产物29。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.28–1.53 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.72–1.95 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.41–2.58 (m, 1H, CH), 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.01 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.71 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.75 (d, J=8.4 Hz, 2H, CH), 6.82 (d, J=8.4 Hz, 2H, CH), 7.01 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH), 7.13 (d, J=7.8 Hz, 2H, CH), 7.36 (brs, 1H, OH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.0, 26.8, 34.3, 35.8, 44.1, 52.2, 53.4, 116.5, 126.8, 128.5, 129.1, 131.8, 133.3, 147.6, 156.7, 167.2; HRMS (ES+) [C<sub>28</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值583.5899实验值583.1702; HPLC (I) t<sub>R</sub>=27.039分钟(99.7%), (II) t<sub>R</sub>=45.289分钟(99.98%)。

[0615] 实施例57-化合物30



[0617] N-(4-环己基苯甲基)-N-(3-羟基苯基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺

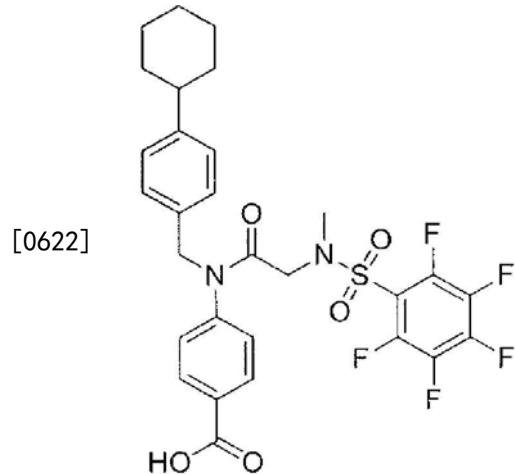
[0618] 化学式:C<sub>28</sub>H<sub>27</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S

[0619] 分子量:582.5820

[0620] 化合物30根据通用程序1合成,得到呈白色固体状的最终产物30(77%)。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.28–1.45 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.70–1.93 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.41–2.53 (m, 1H, CH), 3.08 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.02 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.70 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.39 (brs, 1H, OH), 6.51 (d, J=7.4 Hz, 2H, CH), 6.79 (d, J=8.1 Hz, 1H, CH), 7.01 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH), 7.10 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH), 7.13–

7.21 (m, 1H, CH) ;  $\delta_c$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.1, 26.8, 34.4, 35.9, 44.2, 52.2, 53.2, 115.1, 116.0, 119.9, 126.9, 128.5, 130.9, 133.5, 141.2, 147.7, 157.3, 166.5; HRMS (ES+) [C<sub>28</sub>H<sub>37</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S+H] 的计算值 538.5899 实验值 583.1703; HPLC (I) t<sub>R</sub>=26.890分钟 (98.1%) , (II) t<sub>R</sub>=45.172分钟 (100.0%)。

[0621] 实施例58-化合物31



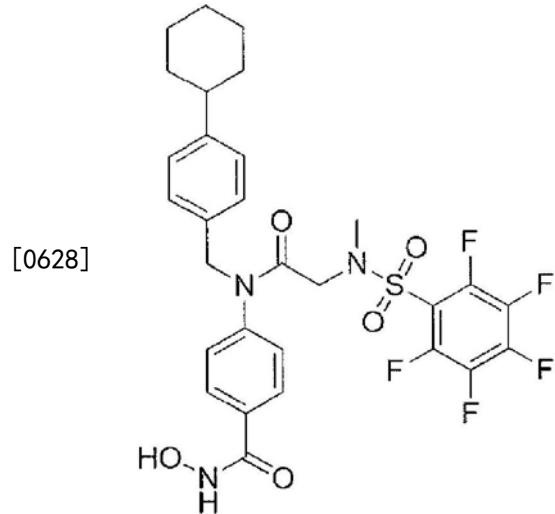
[0623] 4- (N- (4-环己基苯甲基) -2- (2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基) 乙酰胺) 苯甲酸

[0624] 化学式: C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S

[0625] 分子量: 610.5921

[0626] 化合物31根据通用程序1合成,得到呈黄色油状的最终产物31。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.30-1.46 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71-1.88 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.42-2.52 (m, 1H, CH), 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.97 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.97 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH), 7.06-7.15 (d, 4H, CH), 8.11 (d, J=8.4 Hz, 2H, CH);  $\delta_c$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.0, 26.8, 34.3, 35.9, 44.1, 52.3, 53.2, 127.1, 128.4, 128.5, 129.9, 131.9, 132.9, 147.9, 166.0, 170.6, 177.6; HRMS (ES+) [C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S+H] 的计算值 611.6000 实验值 611.1642; HPLC (I) t<sub>R</sub>=26.244分钟 (100.0%) , (II) t<sub>R</sub>=44.532分钟 (100.0%)。

[0627] 实施例59-化合物32



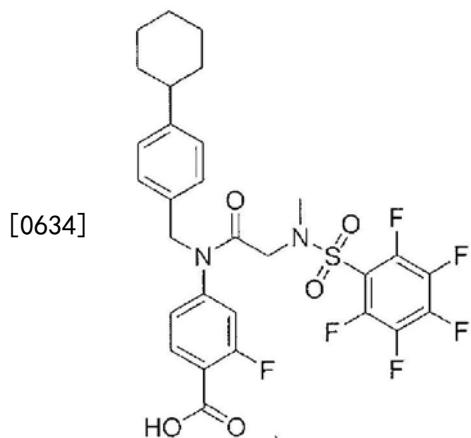
[0629] 4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)-N-羟基苯甲酰胺

[0630] 化学式:C<sub>29</sub>H<sub>28</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S

[0631] 分子量:625.61

[0632] 化合物32根据通用程序1合成,得到呈橙色固体状的最终产物32。 $\delta_H$ (400 MHz, d-MeOD) 1.27–1.43 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.71–1.87 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.41–2.51 (m, 1H, CH) , 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 4.01 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.78 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.98–7.01 (m, 2H, CH) , 7.10 (d, J=7.2 Hz, 2H, CH) , 7.15–7.23 (m, 2H, CH) , 7.72–7.81 (m, 2H, CH) ;  $\delta_C$ (100 MHz, d-MeOD) 25.7, 26.4, 34.12, 34.8, 44.1, 51.4, 52.4, 126.5, 128.1, 128.3, 133.5, 136.7, 136.8, 147.7, 154.2, 165.4, 166.6; HRMS (ES+) [C<sub>29</sub>H<sub>28</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值626.6147实验值626.1742; HPLC (I) t<sub>R</sub>=22.843分钟(97.9%) , (II) t<sub>R</sub>=44.120分钟(97.2%)。

[0633] 实施例60-化合物33



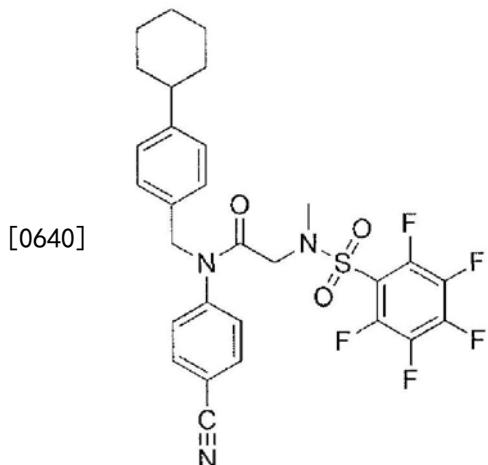
[0635] 4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)-2-氟苯甲酸

[0636] 化学式:C<sub>29</sub>H<sub>26</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S

[0637] 分子量:628.58

[0638] 化合物33根据通用程序1合成,得到呈白色固体状的最终产物33。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.26–1.48 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.70–1.91 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.41–2.54 (m, 1H, CH) , 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 4.03 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.77 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.84–6.96 (m, 2H, CH) , 6.99 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH) , 7.13 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH) , 8.03 (t, J=7.9 Hz, 1H, CH) , 9.42 (brs, 1H, OH) ;  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.0, 26.8, 34.3, 35.9, 44.2, 52.3, 53.2, 127.3, 128.3, 132.7, 134.2, 148.2, 161.4, 164.0, 165.9, 167.8, 177.5; HRMS (ES+) [C<sub>29</sub>H<sub>26</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值629.5905实验值629.629.1545; HPLC (I) t<sub>R</sub>=25.136分钟(97.8%) , (II) t<sub>R</sub>=43.841分钟(97.8%)。

[0639] 实施例61-化合物34



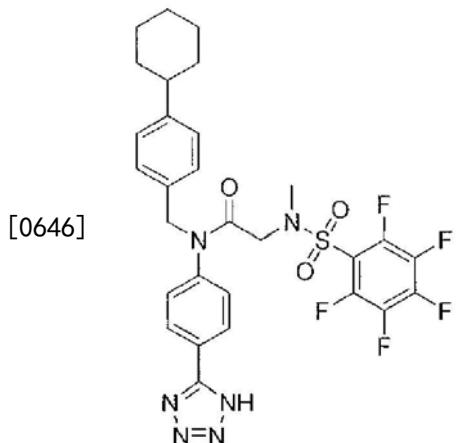
[0641] N-(4-氰基苯基)-N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺

[0642] 化学式:C<sub>29</sub>H<sub>26</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S

[0643] 分子量:591.5921

[0644] 化合物34根据通用程序h合成,得到呈白色固体状的最终产物34(84%)。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.28–1.45 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.69–1.89 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.40–2.53 (m, 1H, CH) , 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.93 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.97 (d, J=7.4 Hz, 2H, CH) , 7.10–7.18 (m, 4H, CH) , 7.65 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH) ;  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.0, 26.7, 34.3, 35.7, 44.0, 52.0, 52.9, 61.8, 112.2, 117.6, 127.1, 128.3, 129.1, 132.9, 133.7, 147.9, 165.8; HRMS (ES+) [C<sub>29</sub>H<sub>26</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值592.6000实验值592.1707; HPLC (I) t<sub>R</sub>=29.752分钟(100.0%) , (II) t<sub>R</sub>=47.312分钟(99.78%)。

[0645] 实施例62-化合物35



[0647] N-(4-(1H-四唑-5-基)苯基)-N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺

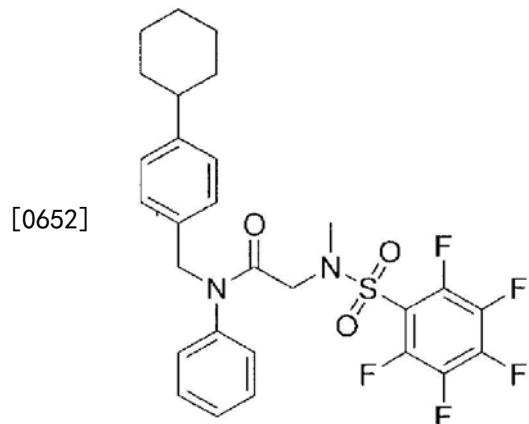
[0648] 化学式:C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>F<sub>5</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>S

[0649] 分子量:634.6201

[0650] 化合物35根据通用程序h合成,得到呈白色粉末状的最终产物35(82%)。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.25–1.41 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.64–1.84 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.38–2.51 (m, 1H, CH) , 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.96 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.75 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.97 (d, J=7.4 Hz, 2H, CH) , 7.05–7.18 (m, 4H,

CH), 8.03–8.10 (m, 2H, CH);  $\delta_{\text{C}}$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.1, 26.7, 34.3, 35.9, 44.1, 52.3, 53.4, 115.4, 127.1, 128.5, 129.1, 132.9, 142.3, 147.9, 157.1, 166.6; HRMS (ES+) [C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>S+H]<sup>+</sup>的计算值635.6280实验值635.1858; HPLC (I) t<sub>R</sub>=24.461分钟 (99.7%) , (II) t<sub>R</sub>=43.295分钟 (99.3%)。

[0651] 实施例63-化合物36



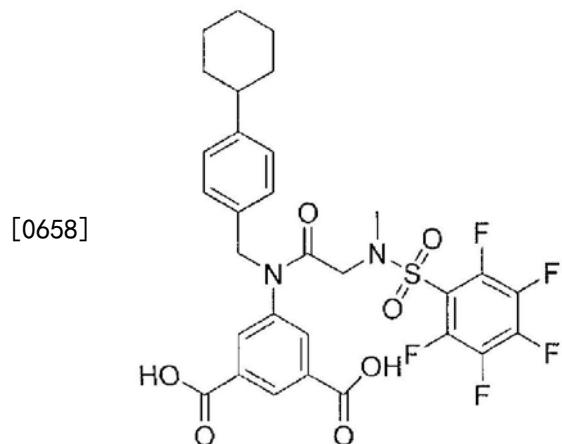
[0653] N-(4-(环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)-N-苯基乙酰胺

[0654] 化学式:C<sub>28</sub>H<sub>27</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S

[0655] 分子量:566.5826

[0656] 化合物36根据通用程序h合成,得到呈白色固体状的最终产物36。 $\delta_{\text{H}}$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.28–1.45 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71–1.93 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.42–2.53 (m, 1H, CH), 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.95 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.72 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.96–7.03 (m, 4H, CH), 7.11 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH), 7.34–7.41 (m, 3H, CH);  $\delta_{\text{C}}$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 26.1, 26.8, 34.4, 35.8, 44.2, 52.3, 53.2, 126.9, 128.2, 128.5, 128.8, 130.1, 133.6, 140.2, 147.6, 166.2; HRMS (ES+) [C<sub>28</sub>H<sub>27</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S+H]<sup>+</sup>的计算值567.5905实验值567.1752; HPLC (I) t<sub>R</sub>=22.657分钟 (99.6%) , (II) t<sub>R</sub>=49.267分钟 (98.9%)。

[0657] 实施例64-化合物37



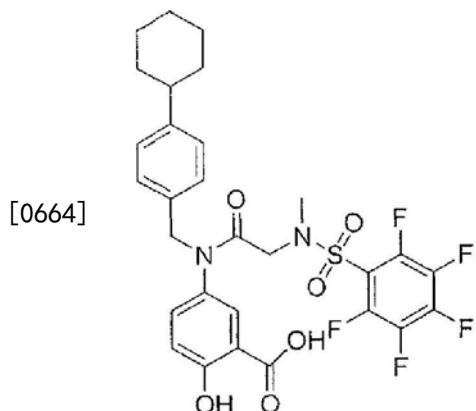
[0659] 5-(N-(4-(环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)间苯二甲酸

[0660] 化学式:C<sub>30</sub>H<sub>27</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S

[0661] 分子量:654.6016

[0662] 化合物37根据通用程序1合成,得到呈白色固体状的最终产物37。 $\delta_H$ (400 MHz, d-(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) 1.21–1.42 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.64–1.79 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.40–2.51 (m, 1H, CH), 3.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.97 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.77 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.01 (d, J=7.4 Hz, 2H, CH), 7.12 (d, J=7.4 Hz, 2H, CH), 7.84–7.89 (m, 2H, CH), 8.41 (s, 1H, CH);  $\delta_C$ (100 MHz, d-(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) 25.8, 26.8, 34.2, 35.8, 43.7, 52.5, 53.1, 127.2, 128.5, 130.1, 133.3, 133.5, 134.1, 140.4, 141.1, 147.1, 166.1, 166.4; HRMS (ES+) [C<sub>30</sub>H<sub>27</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值655.6095实验值655.1537; HPLC (I)  $t_R$ =18.18分钟(93.4%), (II)  $t_R$ =35.28分钟(94.5%)。

[0663] 实施例65–化合物38



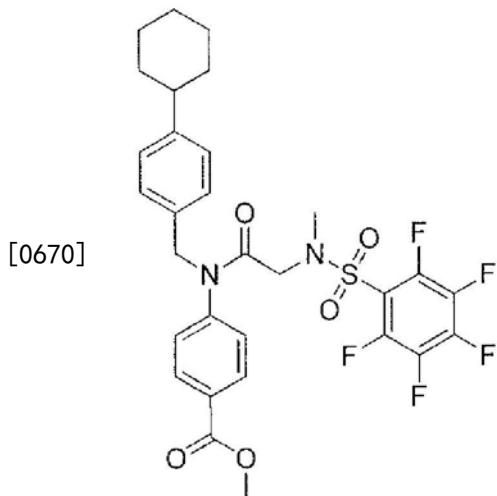
[0665] 5-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)-2-羟基苯甲酸

[0666] 化学式:C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S

[0667] 分子量:626.5915

[0668] 化合物38根据通用程序1合成,得到呈无色油状的最终产物38。 $\delta_H$ (400 MHz, d-(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) 1.26–1.44 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71–1.87 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.42–2.50 (m, 1H, CH), 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.94 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.68 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.01 (d, J=7.4 Hz, 2H, CH), 7.12 (d, J=7.4 Hz, 2H, CH), 7.84–7.89 (m, 2H, CH), 8.41 (s, 1H, CH), 10.94 (brs, 1H, OH);  $\delta_C$ (100MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 25.8, 26.8, 34.2, 35.8, 43.7, 52.5, 53.1, 127.2, 128.5, 130.1, 133.3, 133.5, 134.1, 140.4, 141.1, 147.1, 166.1, 166.4; HRMS (ES+) [C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值627.5994实验值627.1588; HPLC (I)  $t_R$ =26.235分钟(99.4%), (II)  $t_R$ =44.654分钟(96.4%)。

[0669] 实施例66–化合物39



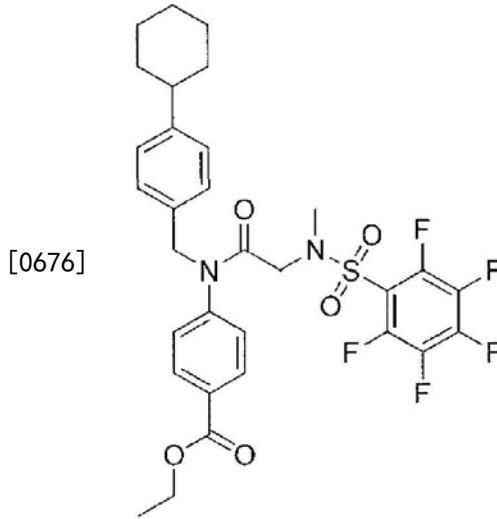
[0671] 4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯甲酸甲酯

[0672] 化学式:C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S

[0673] 分子量:624.6187

[0674] 化合物39根据通用程序h合成,得到呈白色固体状的最终产物39(74%)。 $\delta_H$ (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.26–1.49 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.66–1.93 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.37–2.54 (m, 1H, CH) , 3.07 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.90 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.94 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.73 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.95 (d, J=7.4 Hz, 2H, CH) , 7.01–7.14 (m, 4H, CH) , 8.02 (d, J=8.3 Hz, 2H, CH) ;  $\delta_C$ (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 25.1, 26.7, 34.2, 35.8, 44.0, 48.5, 51.8, 53.5, 126.8, 128.1, 128.4, 131.2, 133.2, 147.6, 152.4, 165.1, 166.3, 165.8; HRMS (ES+) [C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S+H]<sup>+</sup>] 的计算值625.6266实验值625.1784; HPLC (I) t<sub>R</sub>=32.188分钟(99.6%) , (II) t<sub>R</sub>=49.208分钟(99.6%)。

[0675] 实施例67-化合物40



[0677] 4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯甲酸乙酯

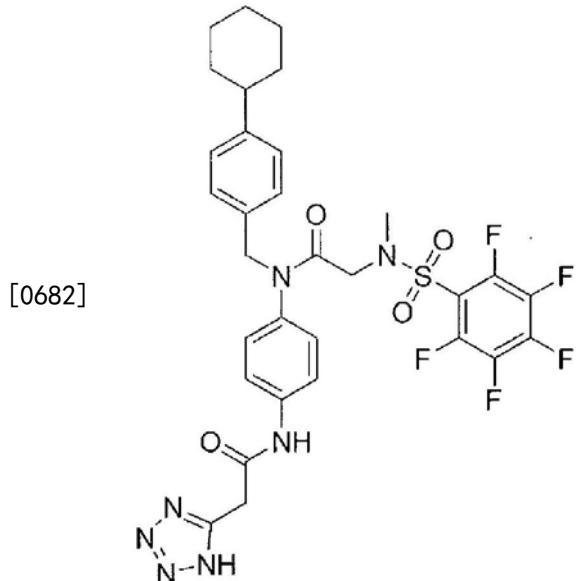
[0678] 化学式:C<sub>31</sub>H<sub>31</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S

[0679] 分子量:638.6453

[0680] 化合物40根据通用程序h合成,得到呈黄色油状的最终产物40。 $\delta_H$ (400 MHz, d-

CDCl<sub>3</sub>) 1.32–1.46 (m, 8H, CH<sub>2</sub>及CH<sub>3</sub>) , 1.70–1.86 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.42–2.52 (m, 1H, CH) , 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.94 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.39 (q, J=7.2 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.73 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 6.96 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH) , 7.1 (d, J=8.3 Hz, 2H, CH) , 7.10 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH) , 8.10 (d, J=8.3 Hz, 2H, CH) ; δ<sub>C</sub> (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 14.1, 26.0, 26.7, 34.2, 35.8, 44.0, 52.2, 53.0, 61.3, 126.9, 128.2, 128.4, 131.3, 133.1, 147.8, 152.6, 165.3, 165.7, 165.8; HRMS (ES+) [C<sub>31</sub>H<sub>31</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S+H]的计算值639.6532实验值639.1956; HPLC (I) t<sub>R</sub>=33.512分钟(100.0%) , (II) t<sub>R</sub>=50.144分钟(100.0%)。

[0681] 实施例68-化合物41



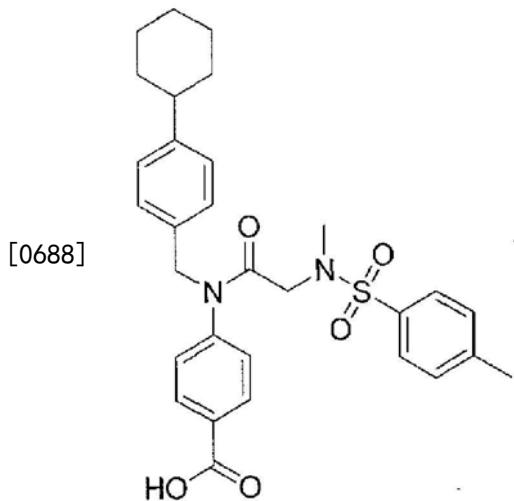
[0683] N-(4-(2-(1H-四唑-5-基)乙酰胺基)苯基)-N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺

[0684] 化学式:C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>F<sub>5</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>S

[0685] 分子量:691.6714

[0686] 化合物41根据通用程序h合成,得到呈黄色油状的最终产物41。δ<sub>H</sub> (400 MHz, d-(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) 1.22–1.44 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.64–1.82 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.41–2.50 (m, 1H, CH) , 3.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.98 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.10 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.69 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 7.00 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH) , 7.05–7.18 (m, 4H, CH) , 7.60 (d, J=8.6 Hz, 2H, CH) ; δ<sub>C</sub> (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 20.7, 26.7, 31.6, 34.2, 36.7, 44.1, 52.1, 53.1, 97.8, 121.4, 126.9, 128.4, 128.7, 133.3, 137.8, 147.6, 163.1, 166.2, 176.9; HRMS (ES+) [C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>F<sub>5</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>S+H]的计算值692.6794实验值692.2072; HPLC (I) t<sub>R</sub>=21.636分钟(97.6%) , (II) t<sub>R</sub>=9.452分钟(99.12%)。

[0687] 实施例69-化合物42



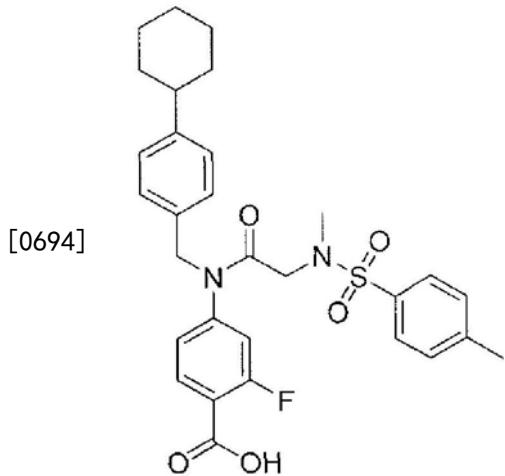
[0689] 4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(N,N-二甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)苯甲酸

[0690] 化学式: C<sub>30</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S

[0691] 分子量: 534.6664

[0692] 化合物42根据通用程序1合成,得到呈白色固体状的最终产物43。 $\delta_H$  (400 MHz, d- (CDCl<sub>3</sub>) 1.25–1.41 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71–1.89 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.41 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.44–2.51 (m, 1H, CH), 2.86 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.77 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.83 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.04 (d, J=7.4 Hz, 2H, CH), 7.10–7.16 (m, 4H, CH), 7.27 (d, J=8.1 Hz, 2H, CH), 7.63 (d, J=8.2 Hz, 2H, CH), 8.10 (d, J=8.2 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 21.4, 25.9, 26.8, 29.5, 34.3, 35.8, 44.1, 53.1, 126.8, 127.4, 129.3, 129.6, 131.6, 133.5, 135.2, 137.5, 143.3, 145.1, 146.5, 147.1, 166.7, 169.4; HRMS (ES+) [C<sub>30</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值 535.6743 实验值 535.2259; HPLC (I) t<sub>R</sub>=20.701 分钟 (100.0%) , (II) t<sub>R</sub>=40.495 分钟 (100.0%) 。

[0693] 实施例70-化合物43



[0695] 4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(N,N-二甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)-2-氟苯甲酸

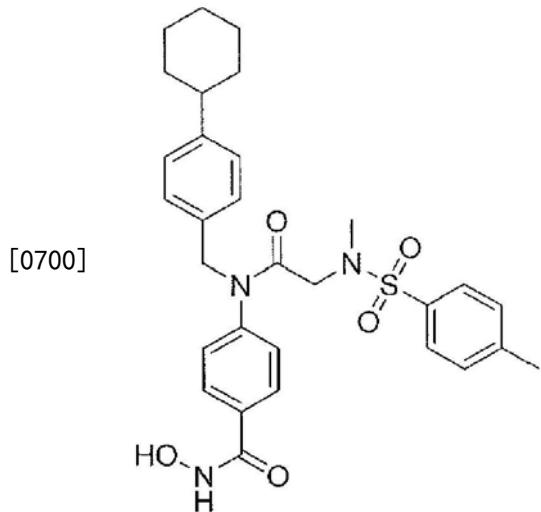
[0696] 化学式: C<sub>30</sub>H<sub>33</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S

[0697] 分子量: 552.6568

[0698] 化合物43根据通用程序1合成,得到呈黄色油状的最终产物44。 $\delta_H$  (400 MHz, d- (CDCl<sub>3</sub>) 1.26–1.44 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.70–1.89 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.41 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.42–2.54 (m, 1H, CH), 2.85 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.81 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.84 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.85–6.98 (m, 2H, CH), 7.05 (d, J=

7.7 Hz, 2H, CH) , 7.12 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH) , 7.3 (d, J=8.1 Hz, 2H, CH) , 7.63 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH) , 7.96–8.03 (m, 1H, CH) ;  $\delta_c$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 21.4, 25.8, 26.7, 34.3, 35.7, 44.1, 51.8, 53.1, 127.1, 127.5, 129.5, 132.7, 133.1, 134.2, 134.9, 136.8, 137.1, 148.2, 161.4, 164.0, 165.9, 167.8。HRMS (ES+) [C<sub>30</sub>H<sub>33</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S+H] 的计算值 553.6648 实验值 553.2158; HPLC (I) t<sub>R</sub>=20.972分钟 (97.1%) , (II) t<sub>R</sub>=40.669分钟 (94.40%) 。

[0699] 实施例71-化合物44



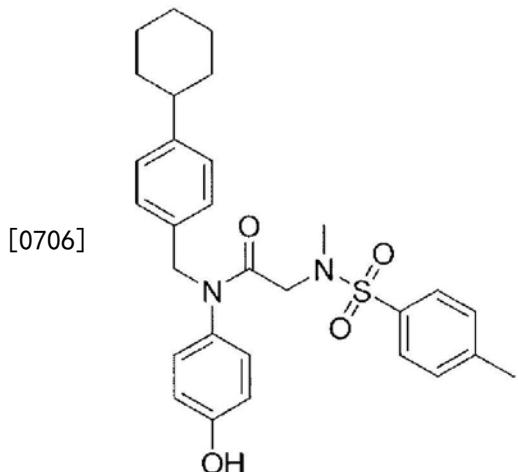
[0701] 4- (N- (4-环己基苯甲基) -2- (N,4-二甲基苯基磺酰胺基) 乙酰胺基) -N-羟基苯甲酰胺

[0702] 化学式: C<sub>30</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S

[0703] 分子量: 549.68

[0704] 化合物44根据通用程序1合成, 得到呈黄色油状的最终产物45。 $\delta_h$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.26–1.46 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 1.70–1.87 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) , 2.39 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 2.42–2.50 (m, 1H, CH) , 2.81 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) , 3.63 (s, 1H, NH) , 3.70 (brs, 1H, OH) , 3.89 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 4.85 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) , 7.03–7.14 (m, 4H, CH) , 7.18–7.24 (m, 2H, CH) , 7.31 (d, J=7.5 Hz, 2H, CH) , 7.53 (d, J=7.5 Hz, 2H, CH) , 7.75 (d, J=7.0 Hz, 2H, CH) ;  $\delta_c$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 21.4, 25.9, 26.7, 29.6, 34.3, 35.8, 44.1, 51.4, 53.1, 119.8, 126.9, 127.4, 128.1, 129.2, 132.5, 134.3, 135.3, 143.2, 147.3, 163.1, 167.6; HRMS (ES+) [C<sub>30</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S+H] 的计算值 550.6889 实验值 550.2370; HPLC (I) t<sub>R</sub>=14.977分钟 (96.5%) , (II) t<sub>R</sub>=37.687分钟 (97.2%) 。

[0705] 实施例72-化合物45



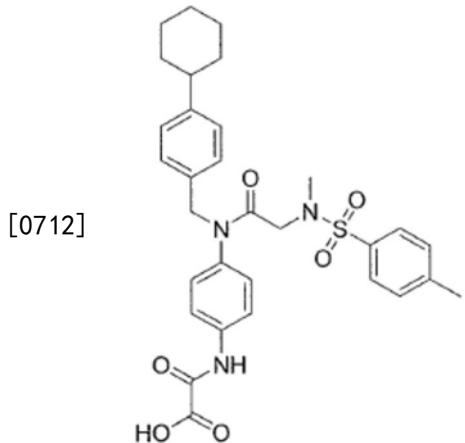
[0707] N- (4-环己基苯甲基) -2- (N,4-二甲基苯基碘酰胺基) -N- (4-羟基苯基) 乙酰胺

[0708] 化学式: C<sub>29</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S

[0709] 分子量: 506.6563

[0710] 化合物45根据通用程序1合成,得到呈黄色油状的最终产物46。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.28–1.44 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71–1.89 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.39 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.42–2.50 (m, 1H, CH), 2.86 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.74 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.73 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.36 (brs, 1H, OH), 6.76–6.83 (m, 4H, CH), 7.04 (d, J=8.1 Hz, 2H, CH), 7.1 (d, J=7.9 Hz, 2H, CH), 7.25 (d, J=7.4 Hz, 2H, CH), 7.64 (d, J=8.1 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 21.4, 25.8, 26.5, 34.3, 35.8, 44.1, 51.4, 53.1, 116.3, 126.6, 127.4, 128.7, 129.3, 132.7, 134.0, 135.3, 143.2, 147.3, 156.1, 167.6; HRMS (ES+) [C<sub>29</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值 507.6642 实验值 507.2312; HPLC (I) t<sub>R</sub>=21.567 分钟 (100.0%) , (II) t<sub>R</sub>=41.184 分钟 (100.0%) 。

[0711] 实施例73-化合物46



[0713] 2- ((4- (N- (4-环己基苯甲基) -2- (N,4-二甲基苯基碘酰胺基) 乙酰胺基) 苯基) 氨基) -2- 氧代基乙酸

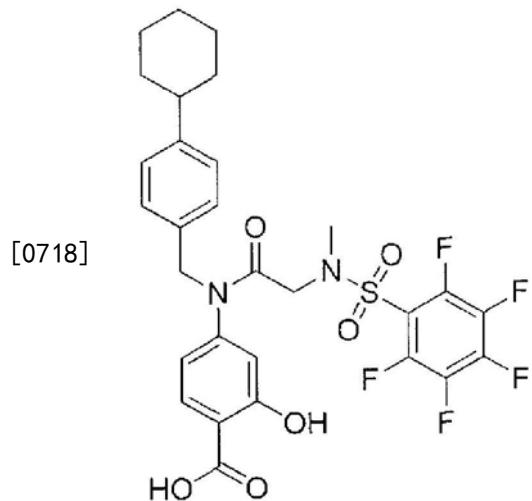
[0714] 化学式: C<sub>31</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S

[0715] 分子量: 577.6911

[0716] 化合物46根据通用程序g合成,得到呈白色固体状的最终产物47。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.24–1.41 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71–1.86 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.45 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.41–2.53 (m, 1H, CH), 2.87 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.71 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.77 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.98–7.01 (m, 4H, CH), 7.12 (d, J=

7.8Hz, 2H, CH), 7.31 (d, J=7.3 Hz, 2H, CH), 7.53–7.59 (m, 4H, CH);  $\delta_{\text{C}}$  (100 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 25.9, 26.2, 34.1, 35.3, 44.2, 51.6, 53.4, 63.6, 121.1, 126.5, 128.2, 129.1, 129.7, 133.1, 135.5, 136.8, 137.4, 143.1, 147.2, 154.4, 161.2, 165.9, 167.1; HRMS (ES+) [C<sub>31</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S+H] 的计算值578.6990实验值578.2319; HPLC (I) t<sub>R</sub>=19.967分钟(100.0%), (II) t<sub>R</sub>=39.811分钟(97.9%)。

[0717] 实施例74-化合物47



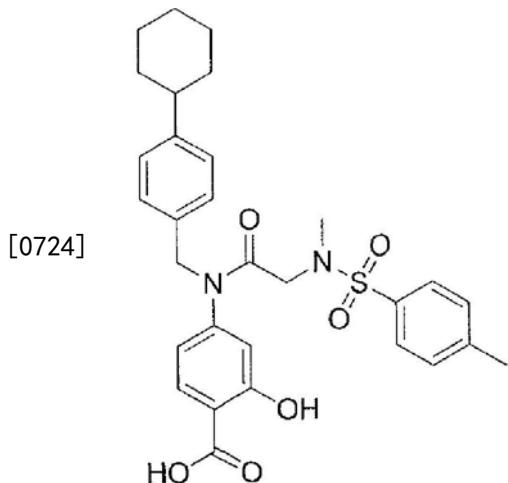
[0719] 4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(2,3,4,5,6-五氟-N-甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺羟)-2-羟基苯甲酸

[0720] 化学式:C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S

[0721] 分子量:626.59

[0722] 化合物47根据通用程序1合成,得到呈无色油状的最终产物42。 $\delta_{\text{H}}$  (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 1.33–1.41 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.68–1.85 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.42–2.51 (m, 1H, CH), 3.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.13 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.75 (dd, J=8.4和2.0 Hz, 1H, CH), 6.68 (d, J=8.0 Hz, 1H, CH), 7.10 (d, J=7.0 Hz, 2H, CH), 7.12 (d, J=8.0 Hz, 2H, CH), 7.81 (d, J=8.4 Hz, 1H, CH);  $\delta_{\text{C}}$  (100 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 25.3, 26.1, 34.7, 35.5, 44.1, 51.3, 51.7, 115.7, 118.4, 118.9, 125.9, 127.4, 131.3, 133.8, 145.9, 146.2, 161.4, 165.2, 171.2; LRMS (ES+) [C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S+H] 的计算值627.15, 实验值627.15。

[0723] 实施例75-化合物48



[0725] 4-(N-(4-环己基苯甲基)-2-(N,4-二甲基苯基磺酰胺基)乙酰胺基)-2-羟基苯甲酸

[0726] 化学式:C<sub>30</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S

[0727] 分子量:550.67

[0728] 化合物48根据通用程序1合成,得到呈白色固体状的最终产物48。 $\delta_H$  (400 MHz, d-CDCl<sub>3</sub>) 1.26–1.45 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.71–1.89 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 2.42 (s, 3H, CH<sub>2</sub>), 2.43–2.51 (m, 1H, CH), 2.88 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.86 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.81 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.61 (d, J=8.3 Hz, 1H, CH), 6.68–6.72 (m, 1H, CH), 7.10 (d, J=8.1 Hz, 2H, CH), 7.12 (d, J=8.1 Hz, 2H, CH), 7.27 (d, J=8.4, 1H, CH), 7.66 (d, J=8.1 Hz, 2H, CH), 7.87 (d, J=8.1 Hz, 2H, CH);  $\delta_C$  (100 MHz, d<sub>6</sub>-CDCl<sub>3</sub>) 21.3, 25.3, 26.5, 34.1, 36.2, 42.1, 43.4, 51.3, 52.0, 112.8, 116.3, 118.8, 126.8, 127.1, 127.6, 131.0, 134.3, 141.2, 146.7, 147.1, 161.8, 167.0, 171.5; LRMS (ES+) [C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值627.1582, 实验值627.1551; HRMS (ES+) [C<sub>30</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S+H]<sup>+</sup> 的计算值551.2223实验值551.2210; HPLC (I) t<sub>R</sub>=24.351分钟(98.1%), (II) t<sub>R</sub>=52.80分钟(98.2%)。

[0729] 实施例76-激酶和GPCR筛选

[0730] 在5μM单次剂量下以一式两份的模式评估测试化合物。在10剂量IC<sub>50</sub>中测试对照化合物,以20μM开始,3倍连续稀释。反应在10μM ATP下进行。

[0731] 针对AKT、c-Src、ERK1、JaK1和JaK2的初步筛选在Reaction Biology Corporation ([www.reactionbiology.com](http://www.reactionbiology.com), Malvern, PA) 使用“热点”分析台进行。特定激酶/底物对以及其需要的辅因子在如下反应缓冲液中制备:20mM Hepes pH7.5、10mM MgCl<sub>2</sub>、1mM EGTA、0.02% Brij35、0.02mg/ml BSA、0.1mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>、2mM DTT、1%DMSO。筛选以一式两份,在5μM的单一浓度下完成。具有主题化合物的反应孔用最终浓度为10μM的ATP (Sigma, St. Louis MO) 与<sup>33</sup>P ATP (Perkin Elmer, Waltham MA) 的混合物处理。对照化合物(星孢菌素 (Staurosporine))在10剂量IC<sub>50</sub>中测试,以20μM开始,3倍连续稀释。反应孔保持在室温下120分钟,接着将每一反应物点样至P81离子交换滤纸 (Whatman Inc., Piscataway, NJ) 上。经由使用0.75% 磷酸大范围洗涤滤纸来去除任何未结合的磷酸酯。使用对照反应减去背景,且激酶活性数据表示为与媒介物(二甲亚砜)反应相比,测试样品中残余激酶活性百分比。使用Prism (GraphPad Software) 产生所有IC<sub>50</sub>值(表3)和曲线拟合(图5)。

[0732] 表3:相对于DMSO(对照)的化合物的酶活性%

激酶	化合物剂量 (μM)	DMSO	SH-05-19		SH-04-54		SH-05-07		IC50 (M) 星孢菌素
			数据1	数据2	数据1	数据2	数据1	数据2	
[0733]	AKT1	5	98.87	90.56	87.91	92.08	97.52	94.62	92.09 <b>2.08E-09</b>
	ERK1	5	98.72	119.01	126.49	110.67	105.13	109.56	106.21 <b>8.96E-07</b>
	c-Src	5	98.34	41.63	39.16	50.83	46.67	58.27	54.21 <b>&lt;1.00E-9</b>
	JAK1	5	101.87	98.34	97.79	100.56	97.78	100.60	97.99 <b>&lt;1.00E-9</b>
	JAK2	5	106.37	46.12	47.70	62.01	59.06	67.07	61.26 <b>&lt;1.00E-9</b>

[0734] 进行针对101种所选激酶的第二次筛选。在500nM的单次剂量下评估测试化合物。激酶标签的T7噬菌体株系在来源于BL21株系的大肠杆菌宿主中24孔区块中平行生长。大肠杆菌生长到log期且接着从冷冻原液感染上T7噬菌体(感染复数=0.4)并在32℃下在震荡下培育直到溶解(90–150分钟)。溶解产物离心(6,000x g)并过滤(0.2μm)以去除任何细胞碎片。剩余激酶在HEK-293细胞中产生，并接着用DNA标签，以容易进行定量PCR(qPCR)检测。在室温下将涂有抗生蛋白链菌素的磁性珠粒用生物素标记的小分子配体处理30分钟，以产生亲和树脂用于所需要的激酶分析。配体珠粒用过量生物素阻断并用阻断缓冲液(SeaBlock (Pierce)、1% BSA、0.05% 吐温20 (Tween 20)、1mM DTT)洗涤以去除未结合的配体，还降低非特异性噬菌体结合。结合反应通过将激酶、配体亲和珠粒和31组合在1x结合缓冲液(20% SeaBlock、0.17x PBS、0.05% 吐温20、6mM DTT)中来装配。化合物31在100%DMSO中制备为40x原液，并直接稀释用于分析。所有反应都在聚丙烯384孔板中以40μL最终体积进行。分析板在室温下震荡1小时并用洗涤缓冲液(1x PBS、0.05% 吐温20)洗涤亲和珠粒。洗涤后，珠粒再悬浮在溶离缓冲液(1x PBS、0.05% 吐温20、0.5μM 未生物素标记的亲和配体)中并在室温下在震荡下培育30分钟。通过qPCR测量洗脱液中的激酶浓度(图6)。

#### [0735] 细胞毒性研究

[0736] 用酶Accumax (Innovative Technologies) 将BTSC球解离成单细胞，以1500个细胞/96孔接种并在涂铺一天后用药物或媒介物(DMSO) 处理。细胞毒性研究在 Sickkids Hospital 使用BTSC细胞系25M、67EF、73EF、84EF和127EF独立地重复。BTSC球如上解离成单细胞并以3000个细胞/96孔一式三份涂铺在96孔板中。在两个实验背景下，药物在第一背景下以在5uM到100nM和25uM到10nM范围内的连续稀释液使用。三天后，使用alamarBlue™分析(Invitrogen)，根据制造商的说明书，评估药物处理后的细胞活力。所有培养实验都一式三份进行，每种条件最少三个孔。以下表4展示使用Alamar Blue™分析针对许多BTSC的文库筛选。

[0737] 表4: 使用alamarBlue™分析针对许多BTSC的文库筛选

细胞系	30M		68EF		73M		147EF	
	药物	IC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> 标准误差	IC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> 标准误差	IC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> 标准误差	IC <sub>50</sub> (μM)
8	0.5219	+/-0.014	0.5896	+/-0.020	1.103	+/-0.012	0.6689	+/-0.015
9	无效应	-	无效应	-	无效应	-	无效应	-
10	1.3261	+/-0.008	1.723	+/-0.013	1.806	+/-0.019	1.456	+/-0.013
11	无效应	-	无效应	-	无效应	-	无效应	-
12	无效应	-	-	-	无效应	-	-	-
13	无效应	-	-	-	无效应	-	-	-
14	0.7175	+/-0.013	0.8064	+/-0.011	1.809	+/-0.006	-	-
15	0.6073	+/-0.007	-	-	-	-	-	-
16	0.9503	+/-0.016	0.839	+/-0.009	2.036	+/-0.007	-	-
17	0.6936	+/-0.014	0.6312	+/-0.006	1.24	+/-0.008	-	-
18	无效应	-	4.832E-13	+/-5.6	无效应	-	3.585	+/-0.0095
20	0.6638	+/-0.012	无效应	-	1.824	+/-0.009	-	-
21	-	-	-	-	无效应	-	-	-
22	0.526	+/-0.013	0.8909	+/-0.012	1.45	+/-0.016	0.7755	+/-0.010
23	无效应	-	无效应	-	无效应	-	无效应	-
26	1.948	+/-0.046	-	-	4.336	+/-0.004	-	-
27	无效应	-	无效应	-	-	-	-	-
28	无效应	-	3.784E-07	+/-1.31	无效应	-	无效应	-
29	0.9409	+/-0.005	1.091	+/-0.013	-	-	-	-
30	0.7759	+/-0.016	-	-	2.841	+/-0.013	-	-
31	0.4325	+/-0.022	0.5315	+/-0.070	1.031	+/-0.031	0.3146	+/-0.027
32	1.136	+/-0.009	~1.006	+/-0.010	1.52	+/-3.4	0.5883	+/-0.013
33	0.7236	+/-0.013	1.46	+/-0.027	1.227	+/-0.008	0.9347	+/-0.013
34	2.227	+/-0.030	-	-	无效应	-	-	-
35	无效应	-	无效应	-	2.766	+/-0.009	-	-
36	-	-	-	-	无效应	-	-	-
37	无效应	-	-	-	无效应	-	-	-
38	2.072	+/-0.006	3.046	+/-0.042	2.553	+/-0.030	-	-
39	1.094	+/-0.005	0.6073	+/-0.007	3.315	+/-0.017	-	-
40	-	-	-	-	无效应	-	-	-
41	-	-	-	-	3.497	+/-0.027	-	-
42	无效应	-	-	-	无效应	-	-	-
43	无效应	-	无效应	-	无效应	-	无效应	-
44	无效应	-	1.74	+/-0.035	无效应	-	2.453	+/-0.017
45	无效应	-	无效应	-	无效应	-	无效应	-
46	无效应	-	-	-	无效应	-	无效应	-

[0739] 当在与现有技术的化合物1和化合物22和31-33并列进行的测试中评估IC<sub>50</sub>时，结果是结论性的。本发明的化合物的IC<sub>50</sub>比化合物1更佳(参见以下表5)

[0740] 表5

[0741]

化合物	BTSC 30M中的IC <sub>50</sub> (nM)
1	1.32±0.04
22	0.526±0.013
31	0.4325±0.022
32	1.136±0.009
33	0.7236±0.013

[0742] 蛋白质印迹法

[0743] BTSC球溶解在补充有Complete Mini蛋白酶(Roche)和Halt磷酸酶(Thermo

Scientific) 抑制剂混合液的改良的RIPA缓冲液中。为在药物处理后分析蛋白质,BTSC球解离成单细胞并用药物或媒介物(DMSO)处理 $1\times10^6$ 个细胞2、24或72小时。15 $\mu\text{g}$ 的蛋白质负载在7.5%或10%SDS-PAGE凝胶上并转印到硝化纤维膜。印迹用以下抗体染色:磷酸化STAT3 Y705(1:1000,Cell Signalling Technology)、磷酸化STAT3 S727(1:1000,Cell Signalling Technology)、STAT3(1:1000,Santa Cruz Biotechnology)、Bcl-xL(1:1000,Cell Signalling Technology)、周期素D1(1:1000,Cell Signalling Technology)PARP(1:1000,Cell Signalling Technology)和肌动蛋白(1:2500,Santa Cruz Biotechnology)。HRP结合的二级抗体山羊抗兔(Cell Signalling Technology)以1:2000使用,且驴抗小鼠、驴抗山羊和山羊抗兔(Calbiochem)以1:6000使用。用ECL Plus蛋白质印迹检测系统和Hyperfilm(Amersham)目测亮带。

[0744] 脑肿瘤球培养

[0745] 如先前描述(Kelly等人,Stem Cells 2009),并经University of Calgary Ethics Review Board批准,从根据知情同意书从成年GBM患者在其手术程序期间获得的一系列肿瘤标本培养GBM BTSC。简单地说,在无血清的界定培养基(SFM)中引发BTSC培养并在7到21天培养后产生非粘附球。原发肿瘤球扩展若干继代,接着在10%DMSO(Sigma Aldrich)中在无血清界定培养基中冷冻保存,直到实验使用。人类胎儿神经干细胞也如先前描述来培养,并通过添加10%胎牛血清和去除EGF、FGF-2和硫酸乙酰肝素来诱发分化成星形细胞。

[0746] 荧光偏振分析

[0747] STAT3、STAT5和STAT1:荧光偏振研究在Infinite M 1000(Tecan,Crailsheim,Germany)机上使用黑色384圆底孔板(Corning)进行。使用的缓冲液含有50mM NaCl、10mM Hepes pH7.5、1mM EDTA和2mM二硫苏糖醇和最终浓度5%DMSO。

[0748] 测试化合物溶于DMSO中并使用由50mM NaCl、10mM Hepes pH7.5、1mM EDTA和2mM二硫苏糖醇组成的稀释培养基稀释。荧光标记的pYLPQTV肽(FAM-pYLPQTV)在缓冲溶液中维持10nM的最终浓度。未标记的pYLPQTV肽溶于DMSO中并使用稀释培养基稀释,用作阳性对照。使用10nMFam-pYLPQTV和STAT3和STAT1蛋白质稀释液(5.0 $\mu\text{L}$ 到2.4nM)在10%的最终DMSO浓度下进行校准曲线(图7)。

[0749] 饱和曲线的中点用以确定竞争荧光偏振分析所需要的STAT3浓度。7.5 $\mu\text{L}$  FAM-pYLPQTV肽添加到已经涂铺在384平坦孔板中的15 $\mu\text{L}$ 750nM STAT3蛋白质溶液。7.5 $\mu\text{L}$ 抑制分子(和阳性对照)溶液个别地添加到板中。最终抑制浓度是100 $\mu\text{L}$ 、50 $\mu\text{L}$ 、25 $\mu\text{L}$ 、12.5 $\mu\text{L}$ 、6.3 $\mu\text{L}$ 或3.1 $\mu\text{L}$ 。10%DMSO缓冲溶液培育15-30分钟,接着通过Infinite M1000测量信号。化合物22、31、32和33的结果展示在图8中。

[0750] 表面等离子体激元共振(SPR)研究

[0751] 使用SPR分光术研究His标签的STAT3与小分子的相互作用。在ProteOn XPR36(Bio-Rad)生物传感器上,在25°C下,使用HTE传感器芯片(Bio-Rad,Ontario,Canada)进行结合实验。传感器芯片的流动池以30 $\mu\text{L}/\text{min}$ 负载镍溶液120秒,以使Tris-NTA表面饱和Ni(II)离子。将含经纯化的His标签的STAT3和STAT5(SignalChem,British Columbia,Canada)的PBST缓冲液(含0.005%(v/v)吐温-20和0.001%DMSO的PBS,pH7.4)在垂直方向上以25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的流速分别注射在芯片的第一和第二通道,历时300秒,平均达到约8000共振

单位(RU)。用PBST缓冲液洗涤后,通过针对这些小分子每一个,在100 $\mu$ L/min的流速下注射一系列浓度以及空白200秒,监测结合于固定蛋白质的抑制剂。当小分子抑制剂注射完成时,允许操作缓冲液流过固定的底物以使未特异性结合的抑制剂解离,历时600秒。抑制剂解离后,芯片表面用1M NaCl的注射液在100 $\mu$ L/ml的流速下再生,历时18秒。点间通道参考用于未特异性结合校正且用于每种分析物注射液的空白通道用作双重参考以针对可能的基线漂移而校正。使用ProteOn Manager软件3.1版分析数据。使用朗缪尔1:1结合模型确定K<sub>D</sub>值。

[0752] 进行对照实验以验证方案。

[0753] 使用以上方案,结合于His标签的STAT5的STAT5肽序列:

[0754] K<sub>D</sub>(STAT3) = 14.9 $\mu$ M

[0755] K<sub>D</sub>(STAT5) = 262nM

[0756] 使用以上方案,结合于His标签的STAT3的STAT3肽序列:

[0757] K<sub>D</sub>(STAT3) = 135nM

[0758] K<sub>D</sub>(STAT5) = 无结合

[0759] 与WP1066和葫芦素的比较数据

[0760] 因为这些抑制剂设计目的在于靶向STAT3,所以其在高度依赖于STAT3蛋白质的细胞系中最有效。BTSC是迄今为止鉴别的最致命的STAT3依赖性癌细胞系之一,因此这就是为何这些细胞系对我们的STAT3抑制剂显示此类敏感性。然而,正如所料,这些化合物也可以用以治疗其它癌症。基本原理是因为本文中描述的化合物可以有效地杀死极具抗性且高度致命的对大多数化学治疗剂几乎无反应的BTSC,所以其也可以用于针对各种其它癌细胞。

[0761] 除脑癌外,为了评估本发明化合物治疗其它形式癌症的潜能,针对其它STAT3依赖性癌症,例如乳癌细胞(MDA-MB-468)、前列腺(PPC1或DU145)和白血病癌细胞(AML-2),与BTSC30M并行,确定化合物22、31、32、23和33(分别表中也称为SH-04-08、SH-04-54、SH-05-07、SH-05-19和SH-05-23)的IC<sub>50</sub>。结果在以下表6中报导。

[0762] 表6

[0763]

编码	BTSC30M	乳癌(MDA-MB-468)	前列腺(DU145)	AML-2
SH-04-08	900nM	<1uM	12.0uM	<1uM
SH-04-54	500nM	<1uM	11.3uM	<1uM
SH-05-07	971nM	<1uM	15.9uM	<1uM
SH-05-19	505nM	<1uM	9.8uM	<1uM
SH-05-23	689nM	<1uM	14.2uM	<1uM

[0764] 胰腺癌

[0765] 低继代的来源于患者的胰腺癌细胞系(Panc10.05)涂铺在96孔板(每孔3×10<sup>3</sup>)中并允许粘附过夜。STAT3抑制剂31、41、42和38在指示浓度下添加。在药物添加72小时后,用MTS分析测量细胞存活率。结果报导在图9中。

[0766] 图9展示来源于患者的胰腺癌细胞系中所测试的STAT3抑制剂的有效的生物效应。针对31、41、42和38计算的ED<sub>50</sub>(IC<sub>50</sub>)值分别是6.2、16.4、16.7和4.8 $\mu$ M。

[0767] pSTAT3抑制的蛋白质印迹分析

[0768] 低继代的来源于患者的胰腺癌细胞系(Pa03C和PanE10.05)涂铺在6孔板(分别 $2\times 10^5$ 和 $8\times 10^4$ )中并允许粘附过夜。在IL-6刺激(50ng/mL,15分钟)前1小时,添加STAT3抑制剂。在IL-6刺激期间STAT3抑制剂存在。收获细胞并溶解用于蛋白质印迹。磷酸化特定STAT3抗体(Y705)用以检查STAT3磷酸化且总STAT3抗体用以将STAT3活化标准化。抗体来自Cell Signaling并以1:1000稀释使用。

[0769] 如图10中可见,化合物31有效抑制STAT3蛋白质在胰腺癌细胞中的重新磷酸化。

[0770] 如图11上可见,在癌症相关成纤维细胞(CAF)存在和不存在下化合物31有效地杀死在3D培养物中生长的肿瘤细胞。图11展示在有和没有癌症相关成纤维细胞下,STAT3抑制剂31对涂铺在含有1%高质级琼脂的含有3%基质胶的培养基的96孔板中的低继代的来源于患者的胰腺癌细胞系(Pa03C)的作用。肿瘤与CAF的比率是1:4。肿瘤球在约第3天开始形成,并在第4和8天添加STAT3抑制剂31。第11天,使用Alamar Blue分析,通过荧光评估细胞毒性。

[0771] 多发性骨髓瘤

[0772] MTT细胞毒性

[0773] 为了评估MM细胞活力,HMCL细胞在96孔板中以20,000个细胞/孔的密度一式三份接种,并与递增浓度的16i和21h或DMSO对照一起培育,且通过MTT(3-(4,5-二甲基噻唑)-2,5-二苯基四唑)比色分析评估细胞活力。结果报导在图12。

[0774] 图12展示如通过MTT分析评估,化合物31在15种不同的多发性骨髓瘤肿瘤细胞系的12种中有效降低细胞活力,计算的ED<sub>50</sub>在2-6μM之间的范围内。

[0775] 脑癌

[0776] 对于蛋白质印迹,BTSC球用Accumax(eBioscience)解离并以 $10^6$ 个细胞/1.5毫升培养基涂铺。细胞用媒介物(DMSO)或药物处理并在选定时间点成粒。为提取蛋白质,BTIC溶解在补充有Complete Mini蛋白酶(Roche)和Halt磷酸酶(Thermo Scientific)抑制剂混合液的改良的RIPA缓冲液(50mM Tris、150mM NaCl、0.1% SDS、0.5% 脱氧胆酸钠、1% NP-40)中。蛋白质浓度使用BioRad蛋白质分析定量;将11-15μg蛋白质负载在7.5%或12%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS PAGE)凝胶上且转印到硝化纤维膜。印迹先后用初级抗体和辣根过氧化酶(HRP)结合的二级抗体染色。初级抗体包括JAK2、p-JAK2、EGFR、pEGFR(Y1068)、p-STAT3 Y705、p-STAT3 S727、cyclin D1、p-Akt S473、Akt、p-Erk1/2 T202/Y204、p-S6 S235/236、PARP、β-微管蛋白、PDGRβ、pPDGFRβY1009(Cell Signaling Technology)、Erk1/2(Millipore)、STAT3和肌动蛋白(Santa Cruz Biotechnology),二级抗体包括驴抗小鼠、驴抗山羊和山羊抗兔(Calbiochem)。亮带用SuperSignal West Pico化学发光底物(Thermo Scientific)和Hyperfilm(Amersham)目测。

[0777] 为进行体内中靶评估,将来自BT73的BTIC球酶促解离(Accumax,eBioscience)成单细胞悬浮液。细胞在PBS中洗涤,并以每3μL培养基 $10^5$ 个细胞再悬浮用于原位异种移植。六只非肥胖的糖尿病严重联合免疫缺陷(NOD SCID)小鼠每只用 $10^5$ 个BT73细胞异种移植,立体定位植入右纹状体中。植入七天后,将小鼠随机化到媒介物和药物组并连续4天腹膜内注射,中断三天,共10剂。药物处理的小鼠接受10mg/kg剂量的再悬浮在100μL50%聚乙二醇300(PG300,Sigma-Aldrich)水溶液中的化合物31。媒介物处理的小鼠接受相等体积的50%PG300水溶液。在最后药物剂量注射后两小时,小鼠用致死量的戊巴比妥钠处死,接着

常规灌注4%三聚甲醛(PFA)。去除脑,固定在4%PFA中并低温切片为12μm,用于通过组织学和免疫组织化学评估。根据标准方案进行苏木精和曙红(H&E)染色。根据制造商的说明书,通过与初级抗体在4℃下、接着Vectastain Elite小鼠IgG或兔IgG试剂盒(Vector Laboratories)一起培育过夜,并用DAB底物和苏木精复染(Sigma-Aldrich)检测,来进行免疫组织化学。初级抗体包括STAT3 S727(Cell Signaling Technology)和Ki67(Novocastra)。二级抗体包括生物素结合的山羊抗兔(Jackson Immunoresearch)。根据制造商的说明书(TUNEL分析),进行细胞凋亡的异种移植肿瘤细胞也用ApopTag Plus过氧化物酶原位细胞凋亡检测试剂盒(Chemicon International, Inc., Temecula, CA)检测。在University of Calgary Regenerative Unit的Neurobiology Microscopy研究室,使用Olympus幻灯片扫描器和OlyVia软件,获取组织学和免疫组织化学和TUNEL分析影像。

[0778] 苏木精/伊红染色的结果报导在图13中,展示显示对照小鼠和用抑制剂31处理的小鼠中来自BT73细胞的肿瘤的NOD-SCID小鼠脑切片。用化合物31处理引起肿瘤细胞显著减少。

[0779] 图14展示化合物31降低用BT73脑癌细胞原位异种移植的小鼠中pSTAT表达的作用。如图14可见,化合物31显示减少活化磷酸化STAT的中靶效力,如通过处理肿瘤中减少的免疫组织化学染色所证明。(A)媒介物处理和(B)抑制剂31处理的脑。底图是全图中肿瘤区域的更高放大倍数。

[0780] 图15展示化合物31减少BT73脑肿瘤中增殖的作用。在用抑制剂31处理的小鼠中观测到增殖标记物Ki67的表达减少。(A)媒介物处理和(B)抑制剂31处理的脑。底图是全图中肿瘤区域的更高放大倍数。

[0781] 图16展示用化合物31处理的小鼠中细胞凋亡(TUNEL染色)增加。在用化合物31处理的小鼠的肿瘤中观测到证明细胞凋亡式细胞死亡的TUNEL染色增加。图(A)是媒介物处理的脑且图(B)是化合物31处理的脑。底图是全图中肿瘤区域的更高放大倍数。

[0782] 这里已经显示,化合物31在NOD-SCID小鼠脑中由原位异种移植人类脑瘤干细胞产生的肿瘤中有效减少活化磷酸化STAT3,伴随着增殖减少和细胞死亡增加。预期本发明的其它化合物具有相同的特性。事实上,如以上报导的其它测试已经展示化合物31具有如其它测试化合物的性质。此处,在关于脑癌的此项实验中,化合物31用以证明本发明化合物的一般特性。

[0783] 血脑屏障渗透率

[0784] 将化合物31和32以10mg/kg经由腹膜内每日两次给与三只小鼠,持续五天,并对于所有小鼠,在两个时间点(30分钟和300分钟)收集血液。通过离心将血浆与血液分离,并储存在-20℃下直到分析。还在每个剂量下从一只小鼠收集脑。使用LC-MS测定化合物的浓度。

[0785] 如图17上可见,在不同剂量(10mg/kg和25mg/kg)下发现化合物31存在于脑中,如通过LCMS评估。化合物31在小鼠模型中的脑中积聚达到0.7μM浓度。

[0786] 如从图18可见,在10mg/kg剂量下化合物31在小鼠模型中的脑中积聚达到300nM浓度。

[0787] 如从图19可见,在10mg/kg剂量下化合物32在小鼠模型中的脑中积聚达到约1.2μM浓度。

[0788] 对于10和25mg/kg,化合物31的血浆浓度分别以剂量依赖性地从0.24μM递增到

0.58 $\mu$ M。然而,在两种剂量下,5小时后未检测到化合物,指示快速清除。对于化合物31与32,在30分钟与300分钟之间血浆浓度无显著地改变。对于化合物31,在10mg/kg剂量的小鼠的脑中见到约0.3 $\mu$ M化合物。对于10mg/kg剂量小鼠,化合物32的脑浓度在约1.2 $\mu$ M下。以上明显表明本发明的化合物可以越过血脑屏障。

[0789] 乳癌

[0790] ErbB2哺乳动物乳房肿瘤细胞系(NIC)中细胞增殖的抑制

[0791] 使用CyQuant分析,评估化合物对含有活化形式的ErbB2的ErbB2乳房肿瘤细胞系(NIC)中细胞增殖的抑制。在一系列浓度上,化合物31直接与BP-1-102相比。

[0792] CyQuant增殖分析的方案

[0793] 将三种个别小鼠乳房肿瘤病毒ErbB2乳房肿瘤细胞系(NIC)再悬浮于10%FBS加单一定额DMEM培养基中,达每1mL40,000个细胞的最终浓度。细胞以每孔100 $\mu$ L培养基4,000个细胞的浓度涂铺在96孔NUNC板上并在37°C加5%CO<sub>2</sub>下培育24小时。24小时后,培养基吸出并用正常培养基、培养基+DMSO(1:1000)或含有适当浓度药物的培养基(BP1-102 5 $\mu$ M、10 $\mu$ M或20 $\mu$ M或化合物31,本文中还称为SH-04-54 5 $\mu$ M、10 $\mu$ M或20 $\mu$ M)替换。每种条件一式四份重复。在预定时间点:在处理、处理后24小时、48小时和72小时,从细胞去除培养基并将板包裹在锡纸中储存在-80°C下。必要时,所有板解冻到室温。

[0794] Invitrogen的CyQuant细胞增殖分析试剂盒用以测量DNA含量。根据其指导,细胞溶解缓冲液用水1:20稀释,接着在溶解缓冲液中用CyQuant GR溶液1:400稀释。200 $\mu$ L Cyquant溶液添加到每个孔中且板避光。接着板在避光下培育2-5分钟,接着在具有480nm下激发且520nm下发射最大的滤光片的荧光微型板式上读数。一式四份求平均值且误差线表示S.E.M。在一些情况下,吸光率相对于DMSO对照标准化。

[0795] 图20中,细胞以每孔4,000个细胞涂铺在96孔板中,培育24小时,接着用5 $\mu$ M、10 $\mu$ M和20 $\mu$ M31处理24、48和72小时。板储存在-80°C下。板解冻并用Invitrogen的Cyquant细胞增殖分析处理,该分析测量DNA含量。荧光使用具有在480nm和520nm下滤光片的荧光微型板式读数器测量。每个数据点一式四份进行且误差线表示S.E.M。

[0796] 图21中,细胞以每孔4,000个细胞涂铺在96孔板中,培育24小时,接着用5 $\mu$ M BP1-102或化合物31处理24、48和72小时。板储存在-80°C下。板解冻并用Invitrogen的Cyquant细胞增殖分析处理,该分析测量DNA含量。荧光使用具有在480nm和520nm下滤光片的荧光微型板式读数器。每个数据点一式四份进行且误差线表示S.E.M。

[0797] 如可以了解,化合物31在5 $\mu$ M下在MMTV ErbB2乳房肿瘤细胞系(NIC)中是有效的,完全抑制2071 NIC细胞中的细胞增殖。与BP1-102相比,化合物31展示对三种不同的乳癌NIC细胞系2071、8518和9822更有效。

[0798] 虽然已经结合特定实施方案描述本公开,但应了解,其能够进行进一步修改且本申请意图涵盖一般遵循本公开的原理且包括与本公开的偏离的对本公开的任何改变、使用或改编,此类偏离在本公开所属的领域内的已知或惯例范围内,且如可以应用以上阐述的基本特征,和如下随附权利要求书的范围内。

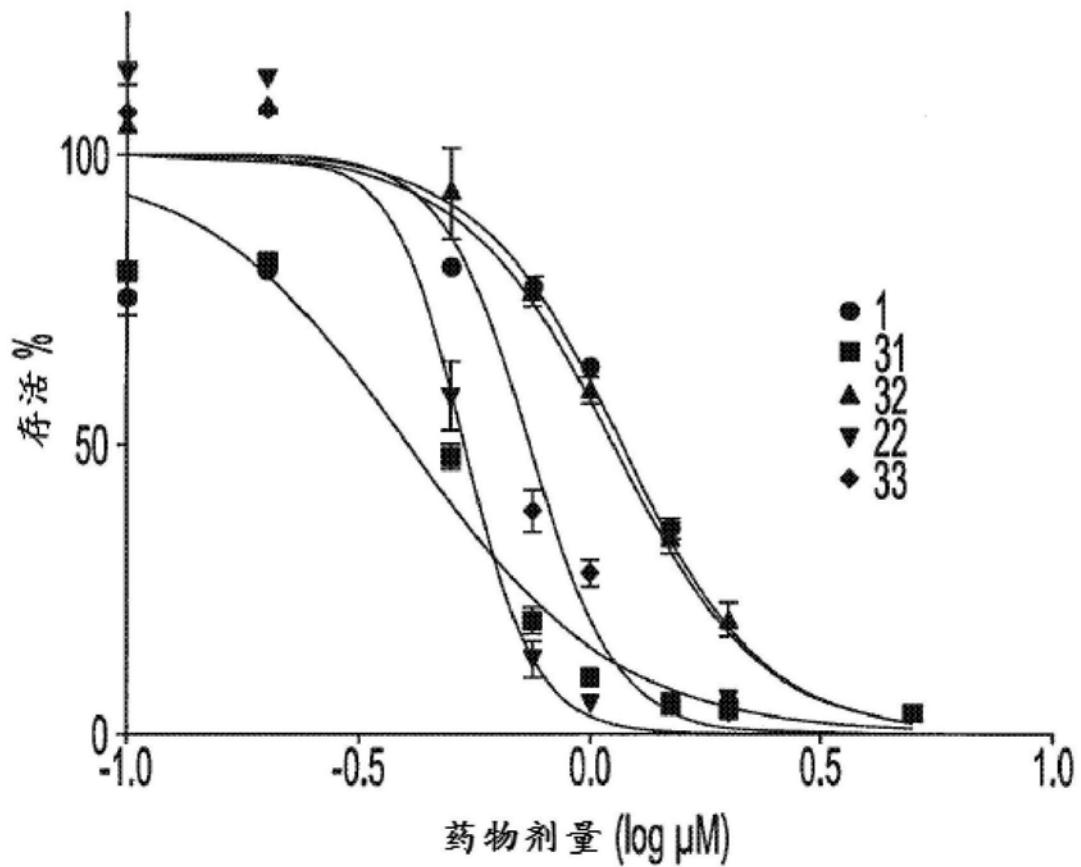
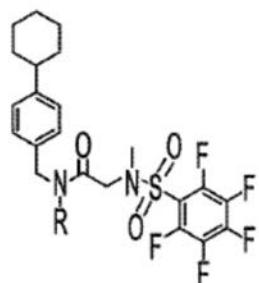


图1A



化合物	R	IC <sub>50</sub> 25EF (nM)	IC <sub>50</sub> 67EF (nM)	IC <sub>50</sub> 73EF (nM)	IC <sub>50</sub> 84EF (nM)	IC <sub>50</sub> 127EF (nM)
32		1120.5±301.9	214.5±36.1	863.5±443.4	295±35.4	195.5±20.5
22		1145±162.6	435.5±176.1	1075±247.5	332±16.9	272.5±24.8
33		592±195.5	214±93.4	438±107.5	202.5±17.7	90±14.2
31		234±73.4	106±19.8	162±59.4	102±2.8	66±33.9

图1B

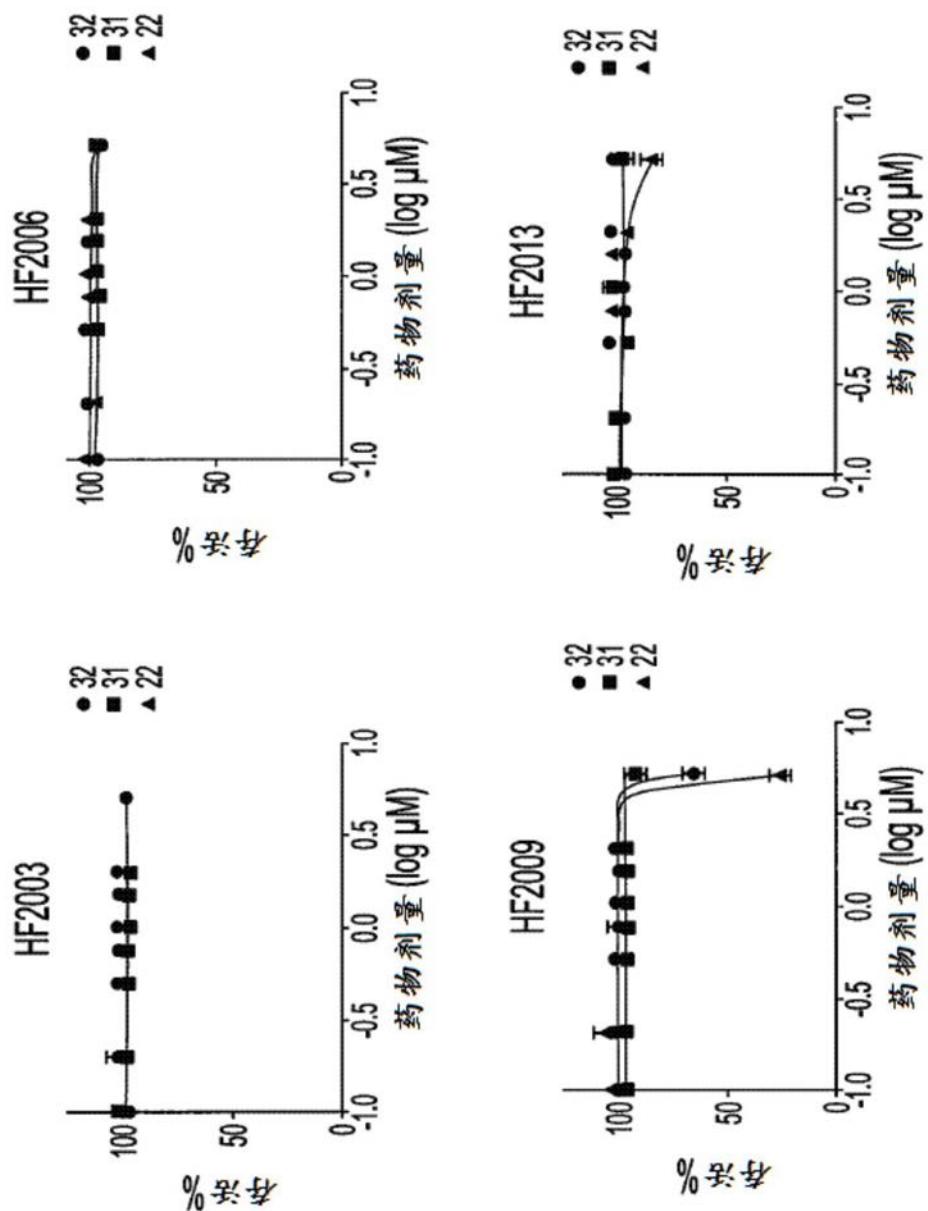


图2A

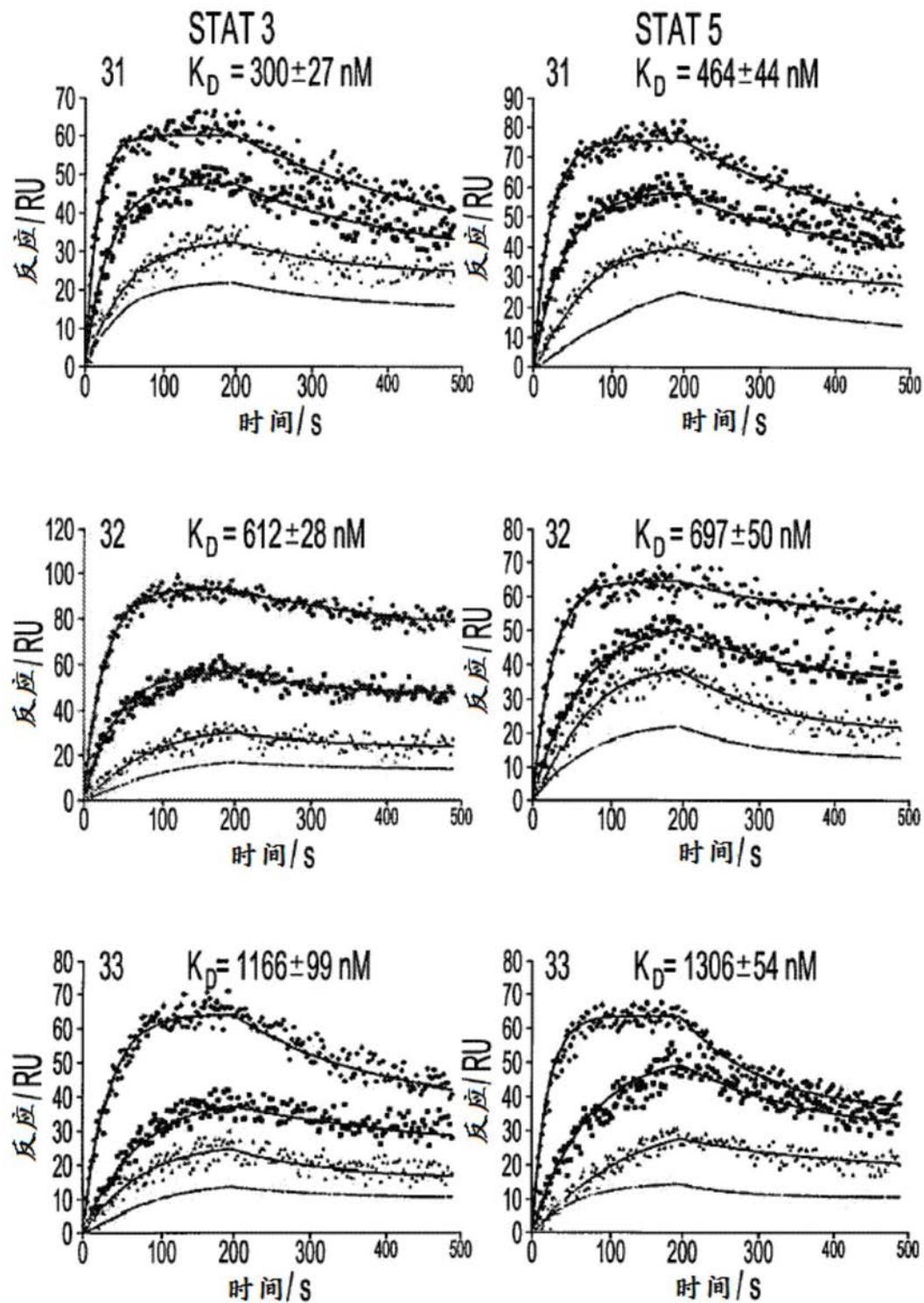


图2B

31

测试的101个分析物  
映射0相互作用  
S-评分(35)=0

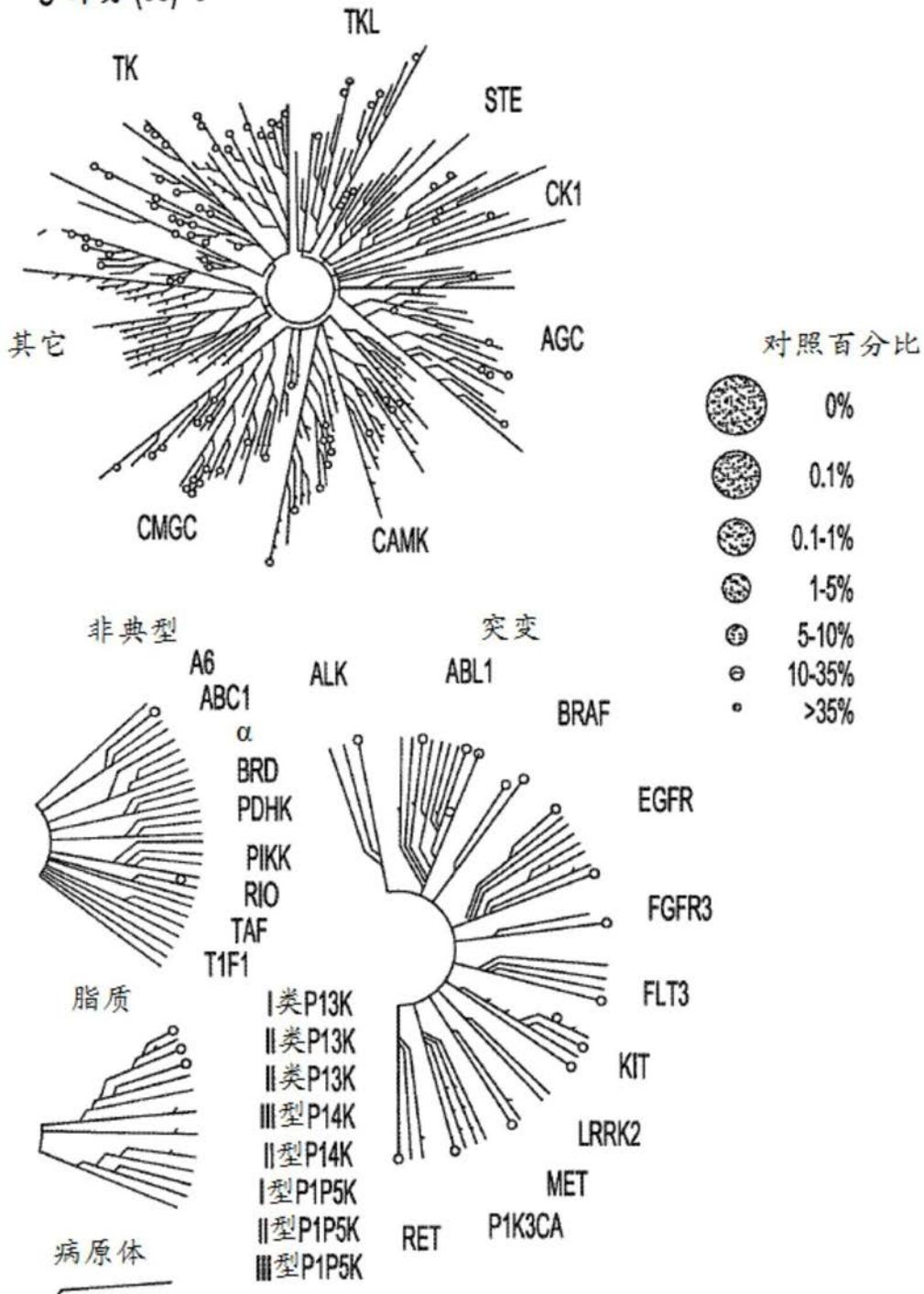


图3

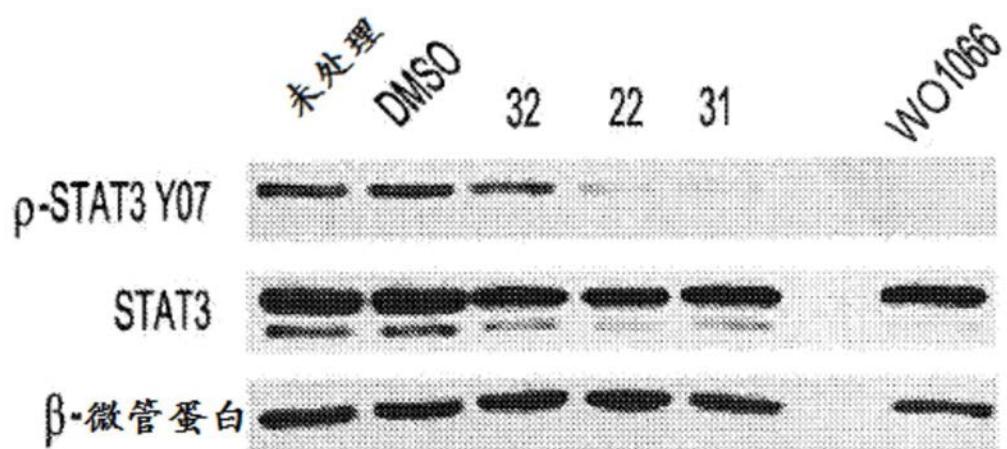


图4

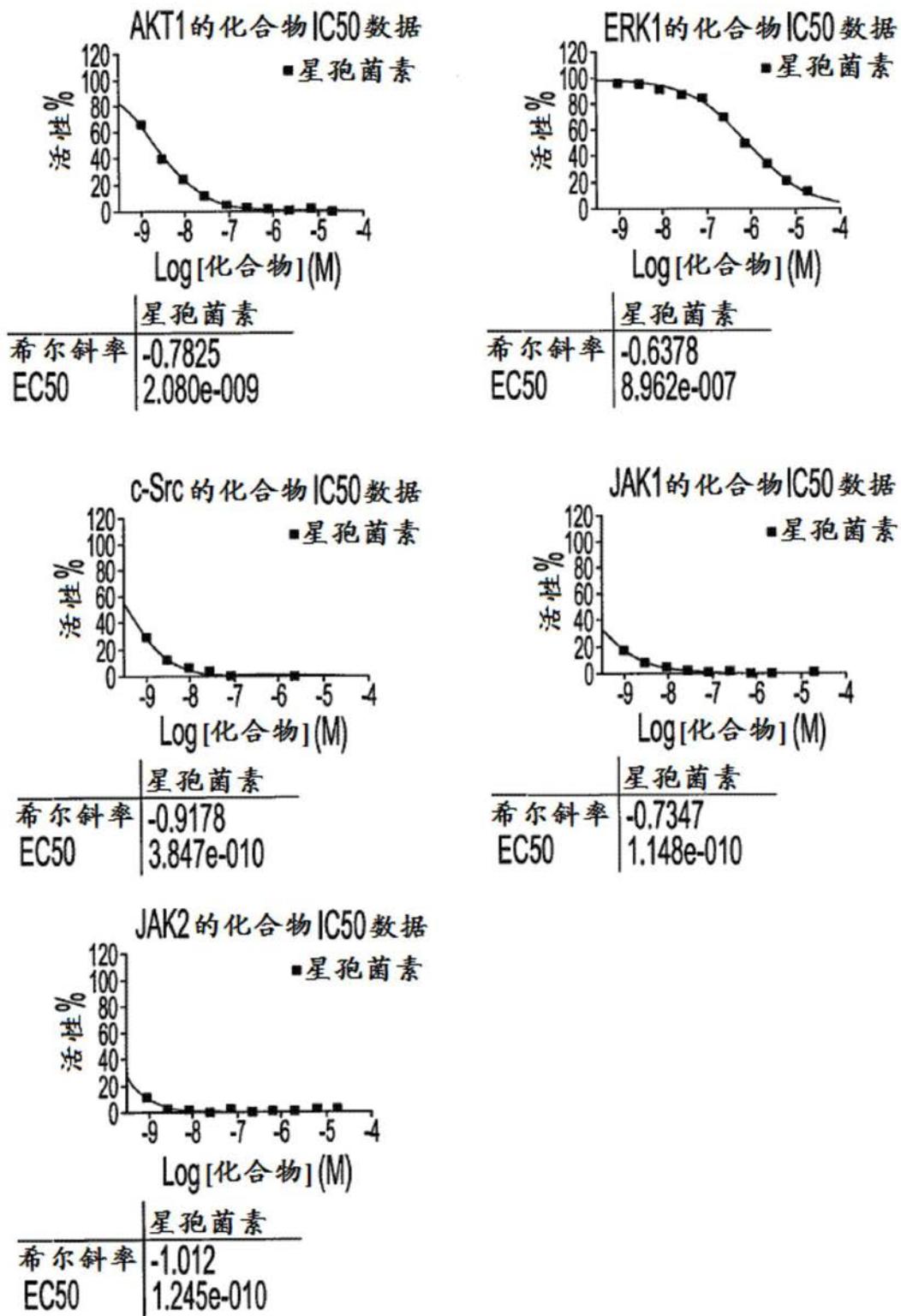


图5

标靶	SH-04-54	标靶	SH-04-54
基因符号	500nM下对照%	基因符号	500nM下对照%
ABL1(E255K)-磷酸化	100	MAPKAPK2	72
ABL1(T315I)-磷酸化	100	MARK3	100
ABL1-非磷酸化	100	MEK1	98
ABL1-磷酸化	100	MEK2	99
ACVR1B	100	MET	78
ADCK3	100	MKNK1	58
AKT1	100	MKNK2	100
AKT2	81	MLK1	73
ALK	100	p38- $\alpha$	100
AURKA	98	p38- $\beta$	75
AURKB	100	PAK1	97
AXL	93	PAK2	100
BMPR2	100	PAK4	100
BRAF	63	PCTK1	84
BRAF(V600E)	63	PDGFRA	100
BTK	100	PDGFRB	55
CDK11	100	PDPK1	100

图6

标靶	SH-04-54	标靶	SH-04-54
基因符号	500nM下对照%	基因符号	500nM下对照%
CDK2	100	PIK3C2B	100
CDK3	100	PIK3CA	100
CDK7	92	PIK3CG	100
CDK9	100	PIM1	100
CHEK1	100	PIM2	100
CSF1R	100	PIM3	100
CSNK1D	100	PKAC- $\alpha$	100
CSNK1G2	100	PLK1	45
DCAMKL1	100	PLK3	100
DYRK1B	98	PLK4	81
EGFR	100	PRKCE	98
EGFR(L858R)	100	RAF1	78
EPHA2	100	RET	96
ERBB2	100	RIOK2	100
ERBB4	75	ROCK2	100
ERK1	91	RSK2(激酶 结构域1-N- 末端)	100
FAK	94	SNARK	100

图6 (续)

标靶	SH-04-54	标靶	SH-04-54
基因符号	500nM下对照%	基因符号	500nM下对照%
FER	100	SRC	100
FES	93	SRPK3	92
FGFR2	100	TGFBR1	71
FGFR3	100	TIE2	71
FGR	99	TRKA	100
FLT3	85	TSSK1B	70
FYN	100	TYK2 (JH1 结构域-催化)	100
GSK3B	100	ULK2	100
IGF1R	100	VEGFR2	100
IKK- $\alpha$	77	YANK3	80
IKK- $\beta$	83	ZAP70	100
INSR	94	KIT(D816V)	88
JAK2(JH1结构域-催化)	64	KIT(V559D,T670I)	100
JAK3(JH1结构域-催化)	87	LKB1	100
JNK1	100	MAP3K4	100
JNK2	100	KIT	68
JNK3	100		

图6 (续)

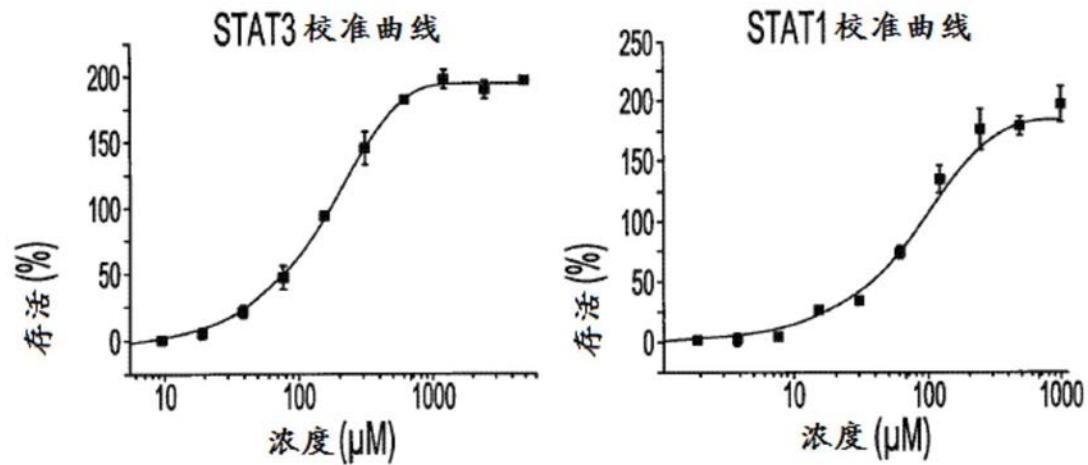


图7

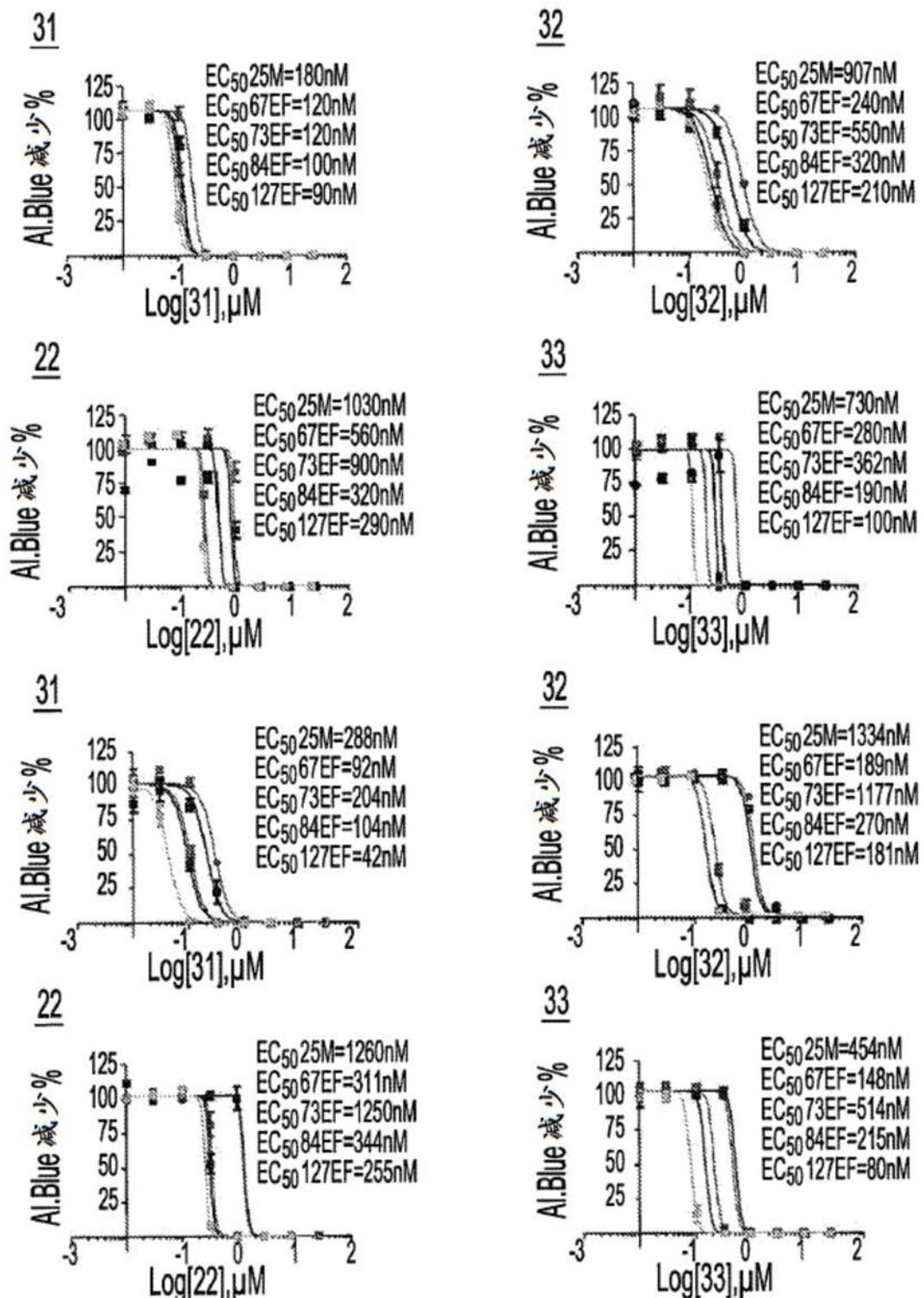


图8

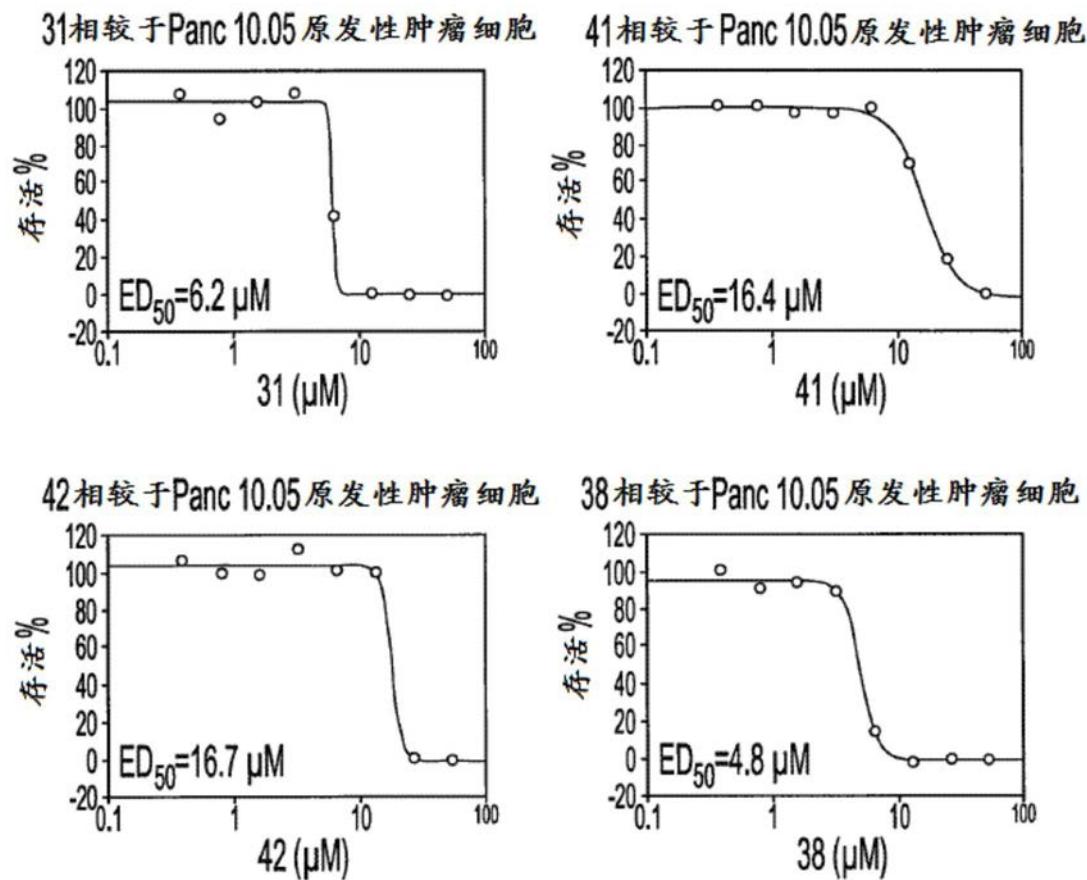


图9

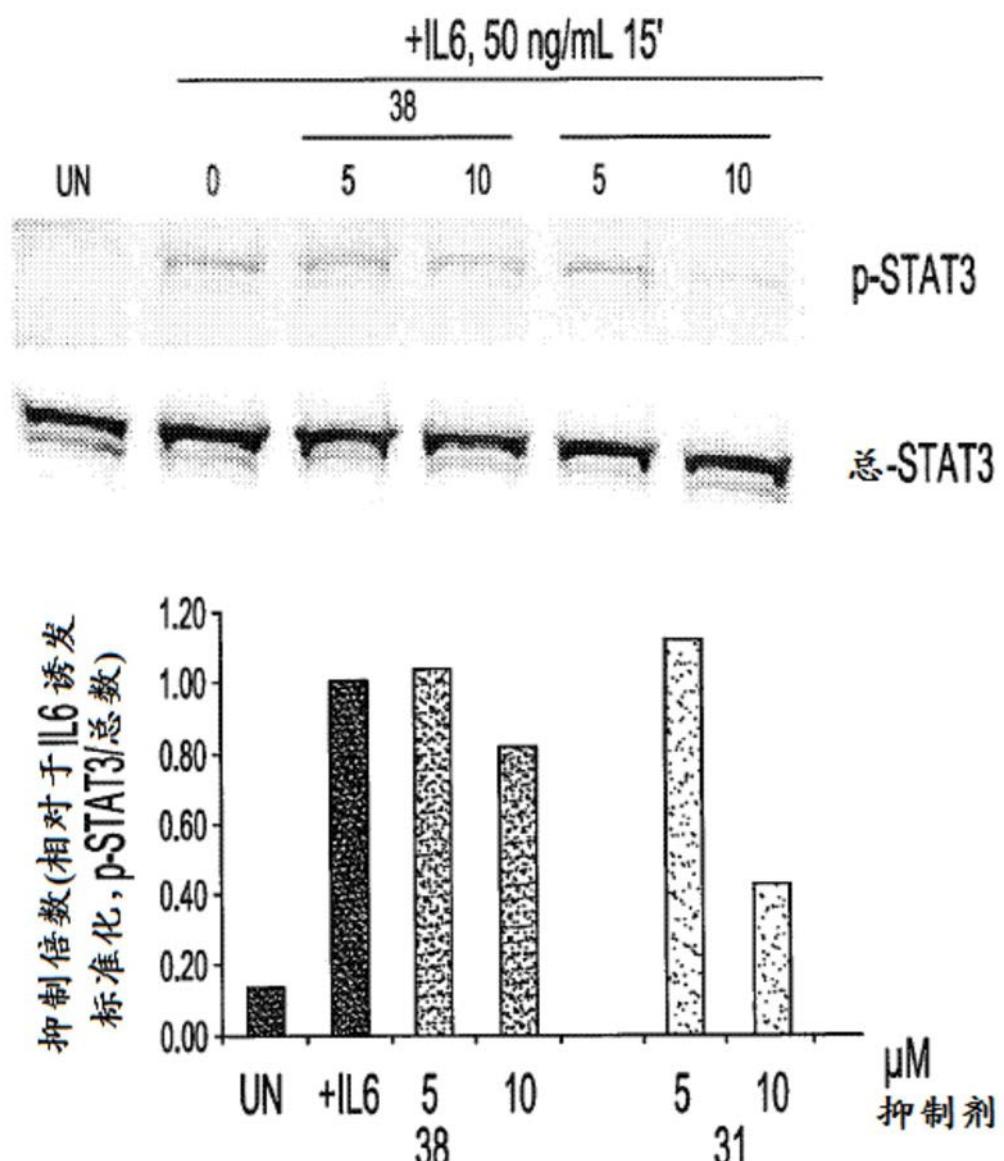


图10

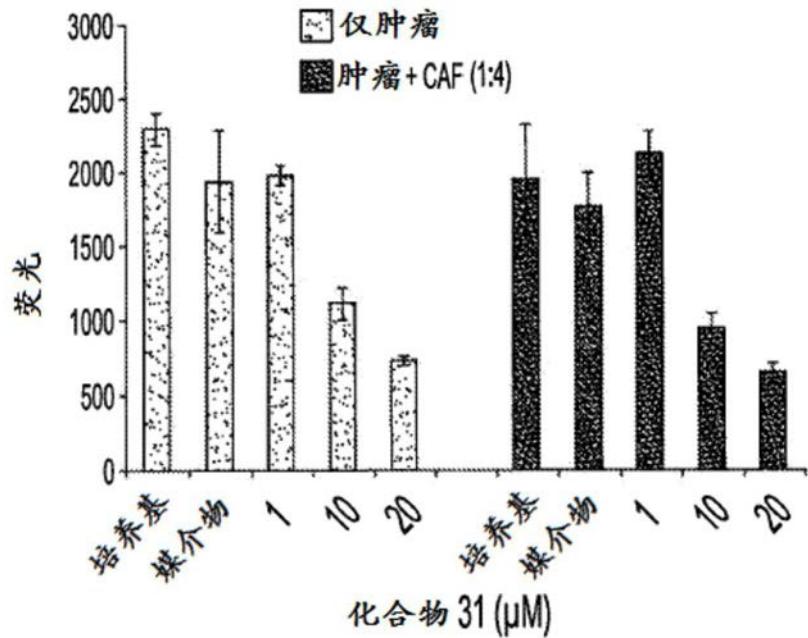


图11

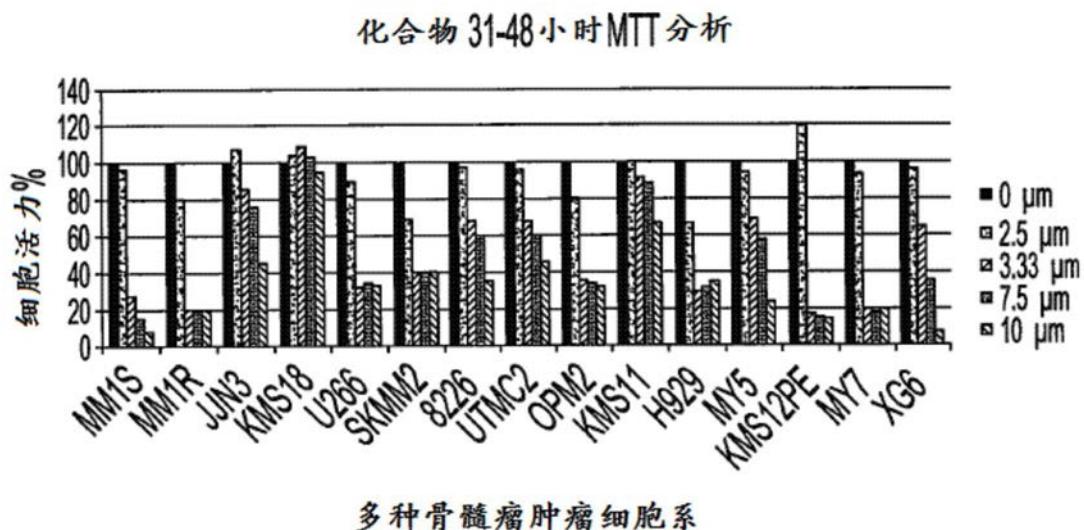


图12

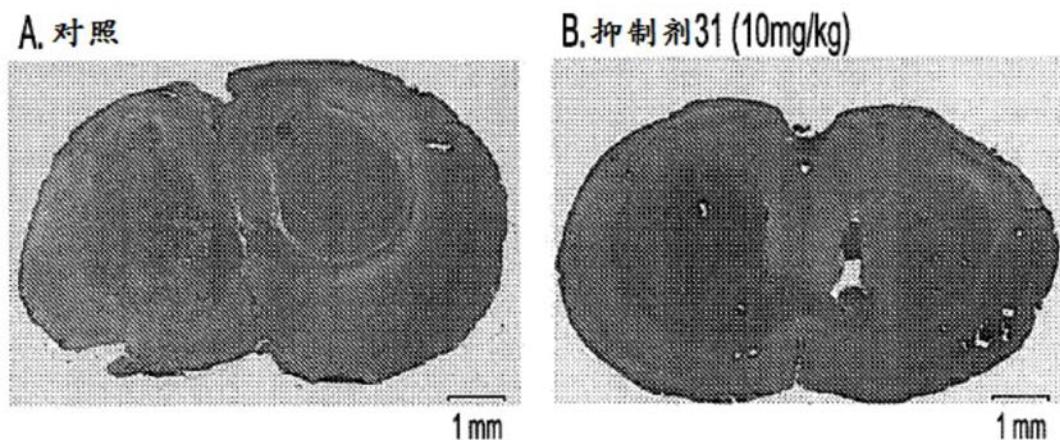


图13

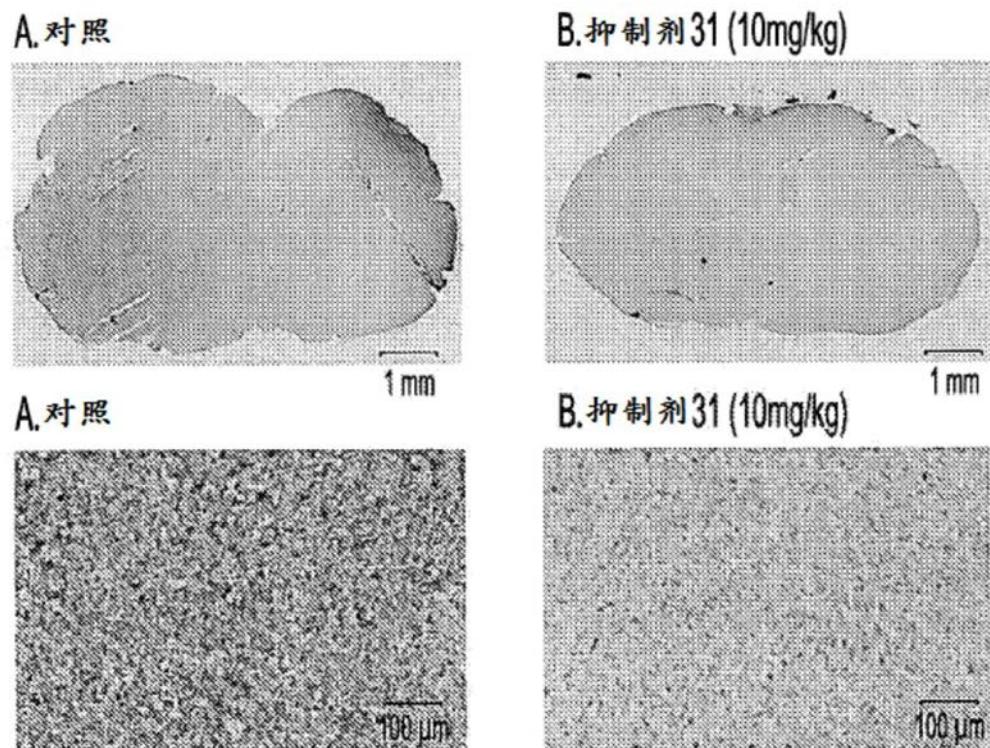


图14

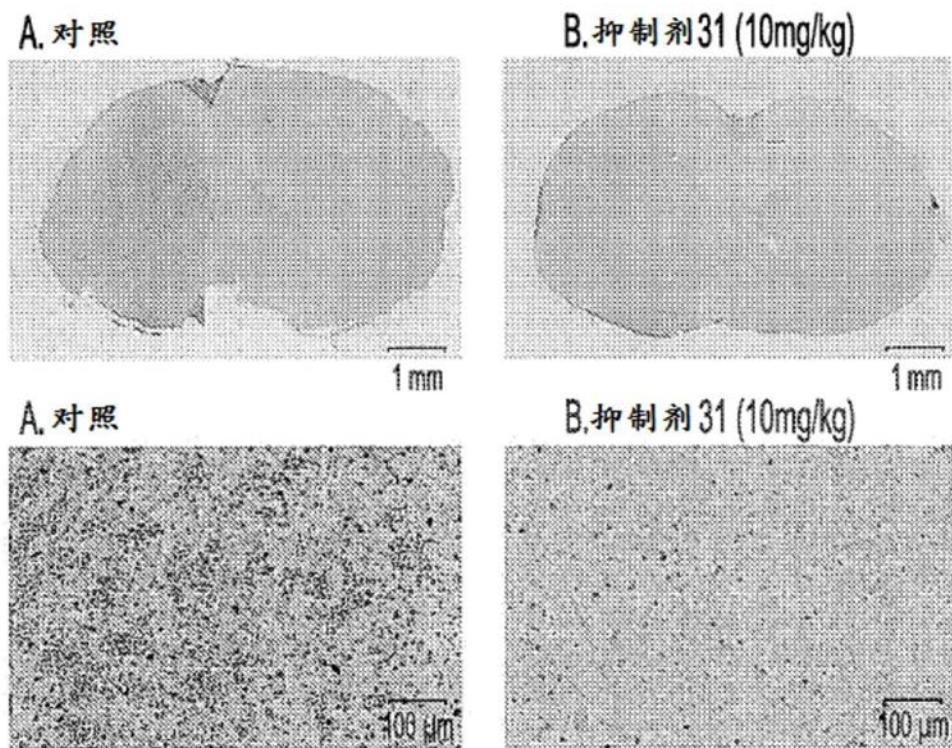


图15

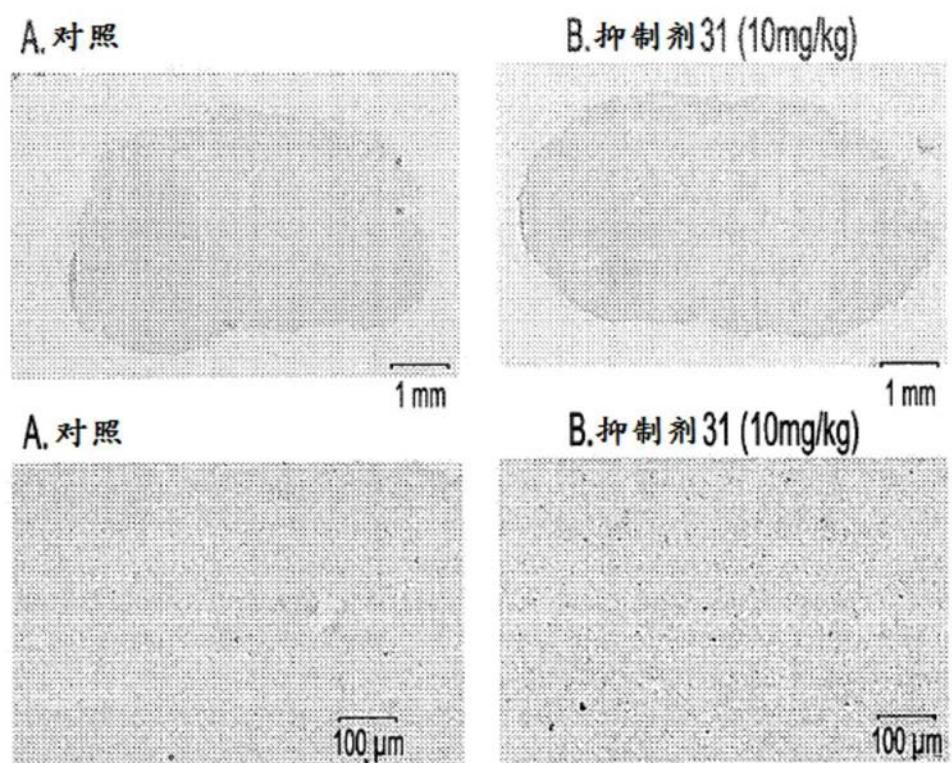


图16

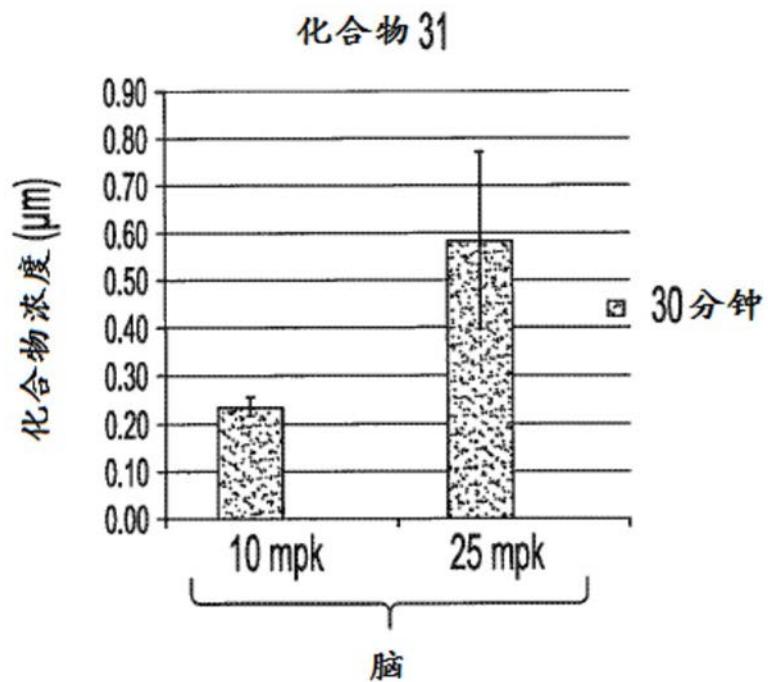


图17

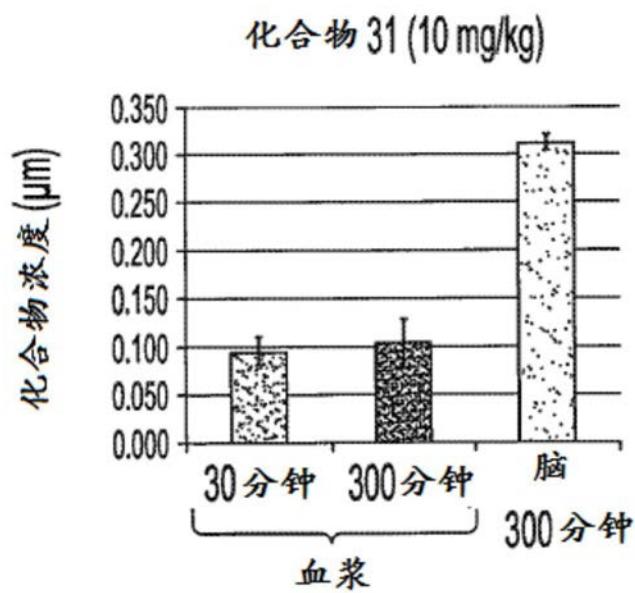


图18

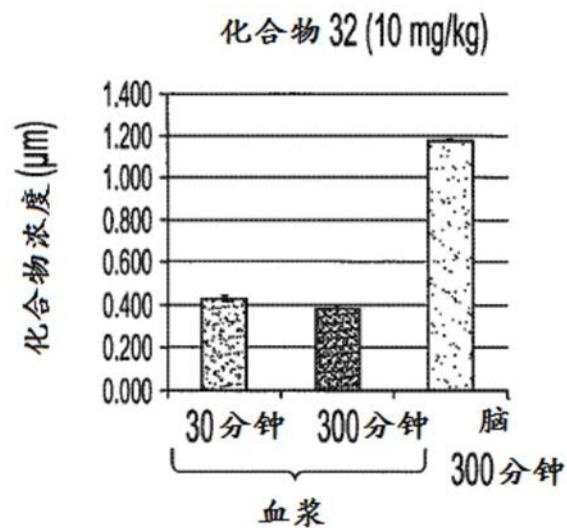


图19

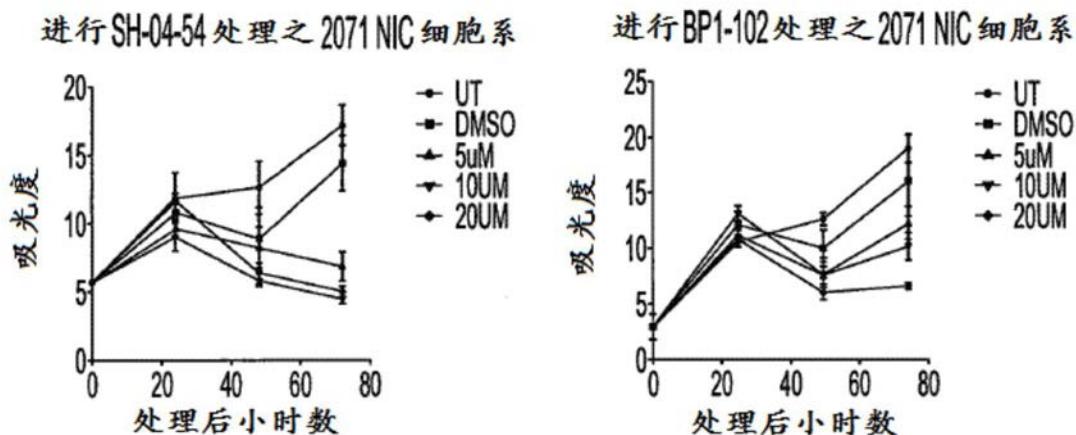


图20

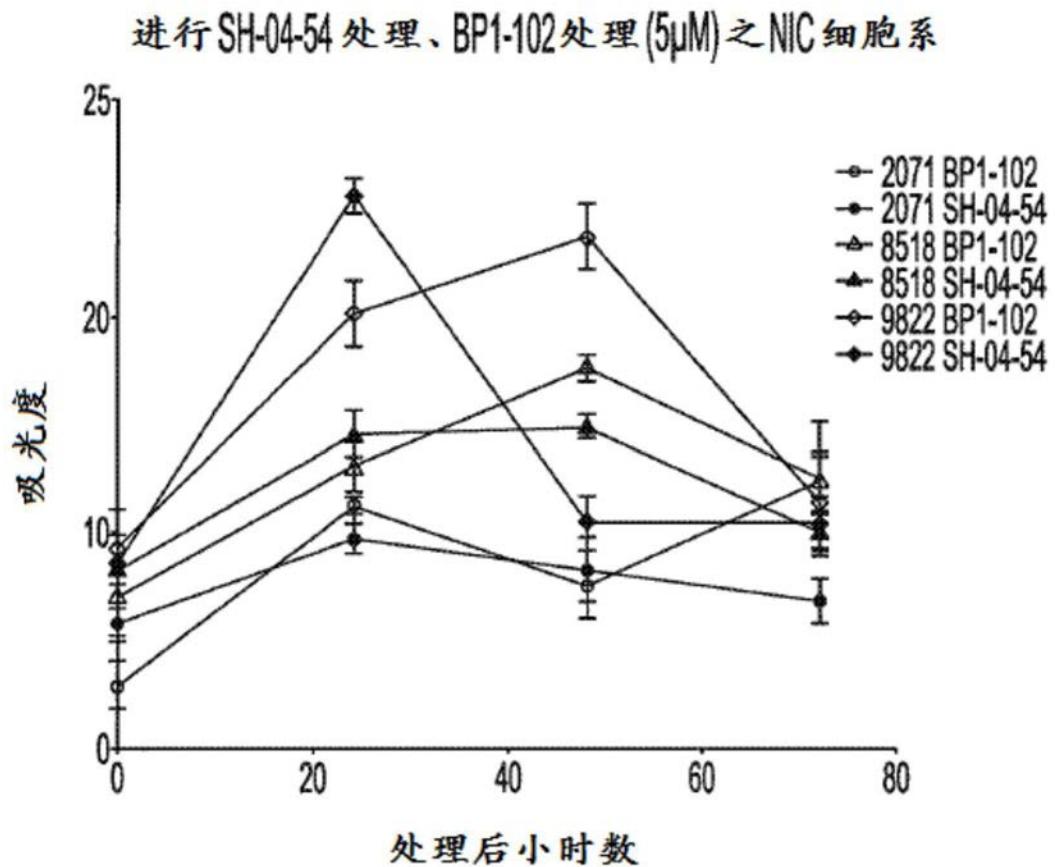


图21