

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2013 年 4 月 4 日 (04.04.2013)



(10) 国际公布号
WO 2013/044596 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07D 221/18 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/473 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2012/001346
- (22) 国际申请日: 2012 年 9 月 29 日 (29.09.2012)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201110304914.3 2011 年 9 月 30 日 (30.09.2011) CN
- (72) 发明人: 及
- (71) 申请人: 王建斌 (WANG, Jianbin) [CN/CN]; 中国江西省南昌市红谷滩新区赣江南大道 1688 号联泰香域滨江 6 栋 601 室, Jiangxi 330031 (CN)。
- (74) 代理人: 北京北翔知识产权代理有限公司 (PEK-SUNG INTELLECTUAL PROPERTY LTD.); 中国北京市海淀区学院路 35 号世宁大厦 908 室, Beijing 100191 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: KIDNEY-TYPE GLUTAMINASE INHIBITOR AND PREPARATION METHOD AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 肾脏型谷氨酰胺酶抑制剂及其制备方法和用途

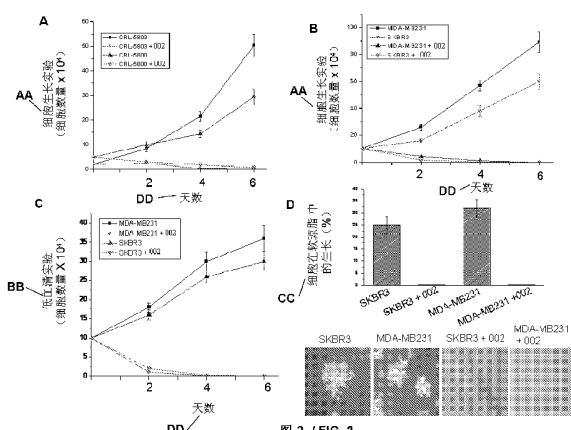


图 2 / FIG. 2

AA Cell growth experiment (cell number $\times 10^4$)
BB Low blood serum experiment (cell number $\times 10^4$)
CC Growth of cell in soft agar (%)
DD Days

(57) Abstract: Disclosed in the present invention are a compound and a pharmaceutical composition used for inhibiting the activity of a kidney-type glutaminase, and the use of the compound in treatment, especially in treating or preventing diseases, in particular cancer, related to the increase in activity of glutaminase.

(57) 摘要: 本发明公开了用于抑制肾脏型谷氨酰胺酶活性的化合物和药物组合物, 所述化合物在治疗中, 特别是用于治疗或预防与谷氨酰胺酶活性增高有关的病症, 特别是癌症中的用途。

WO 2013/044596 A1

肾脏型谷氨酰胺酶抑制剂及其制备方法和用途

技术领域

5 本发明涉及一种肾脏型谷氨酰胺酶的抑制剂及其制备方法和在治疗肾脏型谷氨酰胺酶活性增高相关的疾病中的用途。

背景技术

肿瘤细胞的快速生长不仅需要能量，而且也需要核酸、脂肪酸和蛋白质进行新细胞的生成。谷氨酰胺作为人体中最丰富的氨基酸，在肿瘤细胞的生长和发展过程中起到了至关重要的作用(参见, 文献 DeBerardinis, R. J. *et al.* (2008) The biology of cancer: Metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metabolism* 7: 11-20 和文献 Hsu, P. P. and Sabatini, D. M. (2008) Warburg and beyond. *Cell* 134: 703-707)。因此, 许多肿瘤细胞被描述为“沉溺于谷氨酰胺”(addicted to glutamine)的细胞(参见 Wise D. R. and Thompson C. B. (2010) Glutamine addiction: a new therapeutic target in cancer. *Trends in Biochemical Sciences* 35: 427-433)。

在谷氨酰胺新陈代谢的过程中, 其中一个重要的酶是谷氨酰胺酶, 它位于细胞中线粒体的内膜(参见 Shapiro, R. A. *et al.* (1985) The orientation of phosphate-dependent glutaminase on the inner membrane of rat renal mitochondria. *Arch Biochem Biophys* 243: 1-7), 可以催化由谷氨酰胺生成谷氨酸的反应, 谷氨酸在谷氨酸脱氢酶的作用下转变为 α -酮戊二酸, 以底物的形式进入三羧酸循环, 为肿瘤细胞的大分子合成提供新陈代谢的中间体(参见 Lu W. Q. *et al.* (2010) Cancer metabolism: is glutamine sweeter than glucose. *Cancer cell* 18: 199-200)。谷氨酰胺酶可以分为两种亚型(isoform), 一种叫肝脏型(liver type)谷氨酰胺酶, 其只在出生后的肝脏周边细胞表达; 另一种叫做肾脏型(kidney type)谷氨酰胺酶, 其在身体的各个部分比如: 肾脏、大脑、肠、肝脏、淋巴细胞都有丰富的表达, 重要的是经常存在于肿瘤细胞中(参见 Szeliga, M and Obara-Michlewska, M. (2009) Glutamine in neoplastic cells: focus on the expression and role of glutaminases. *Neurochem Int* 55: 71-75)。这两种亚

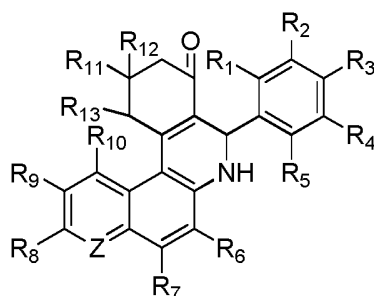
型虽然在氨基酸的序列上高度相似，但它们来自不同的相关基因（参见 Elgadi, K. M. *et al.* (1999) Cloning and analysis of unique human glutaminase isoforms generated by tissue-specific alternative splicing. *Physiol Genomics* 27: 367-376），具有不同的蛋白结构和动力学特征，从而行使不同的功能，并且涉及的调节机制也不同。

细胞的恶性转化伴随着核酸和蛋白质合成的显著增加。对快速增长的肿瘤细胞来说蛋白质的高速合成，需要不断提供必需和非必需的氨基酸，谷氨酰胺作为人体中最丰富的氨基酸，为这一巨大的需求提供了保证（参见 Medina, M. A. (2001) Glutamine metabolism: Nutritional and clinical significance, glutamine and cancer. *J Nutr* 131: 2539S-2542S）。谷氨酰胺代谢在细胞内的线粒体中进行，因此谷氨酰胺必须通过细胞膜从细胞外运到细胞质中，再从细胞质中通过线粒体膜运到线粒体内（参见 Bode, B. (2001) Recent molecular advances in mammalian glutamine transport. *J. Nutr.* 131: 2475S-2485S）。研究表明，肿瘤细胞通过细胞膜运输谷氨酰胺远比正常细胞快。在艾氏腹水（Ehrlich ascites）癌细胞上的研究，也证明了该癌细胞线粒体膜上存在的一种特殊的谷氨酰胺运输系统可以比正常细胞更快的速度把谷氨酰胺运入线粒体（参见 Molina, M. *et al.* (1995) Glutamine transport by vesicles isolated from tumor cell mitochondrial inner membrane. *Biochem J.* 308: 629-633）。因为谷氨酰胺酶的活性是依赖于无机磷的浓度（参见 Medina, M. *et al.* (1988b) Effects of palmitate, acetate and glucose in glutamine metabolism in *Ehrlich ascites* tumor cells. *Biochimie* 70: 833-834），而肿瘤细胞线粒体中无机磷浓度高，所以其谷氨酰胺酶活性高。事实上科学研究证明谷氨酰胺酶的高活性和肿瘤细胞的快速生长紧密相关（参见 Souba, W. W. (1993) Glutamine and cancer. *Ann. Surg.* 218: 715-728）。用谷氨酰胺酶的反义(antisense) mRNA 去转染艾氏腹水癌细胞，不但它们的生长受到抑制而且形态也发生了变化。用反义 mRNA 转染的癌细胞，接种到小鼠体内，这样的癌细胞完全失去了产生肿瘤的能力，这样的小鼠和健康动物完全一样（参见 Lobo, C. *et al.* (2000) Inhibition of glutaminase expression by antisense mRNA decreases growth and tumourigenicity of tumor cells. *Biochem. J.* 348: 257-161）。这些科学发现充分说明了谷氨酰胺酶的活性与肿瘤发生和发展紧密相关，谷氨酰胺酶已成为抗肿瘤疗法中受到人们极大关注的目的基因。

但是,迄今尚未有关于通过有效抑制谷氨酰胺酶来有效抑制肿瘤的药物或疗法的报道。

发明内容

5 在第一方面,本发明提供了一种具有下式的化合物或其可药用盐:



其中:

R_1 选自 H、卤素、 (C_1-C_6) 烷基;优选为 H、F、Cl、Br、I;更优选地为 H;

10 R_2 选自 H、OH、O- (C_1-C_6) 烷基;优选为 H、OH、OCH₃、OCH₂CH₃;更优选地为 H;

R_3 选自 H、卤素、 (C_1-C_6) 烷基、OH、O- (C_1-C_6) 烷基、O- (C_1-C_6) 烷基-COOH、O- (C_1-C_6) 烷基-芳基、OCO- (C_1-C_6) 烷基、SH、S- (C_1-C_6) 烷基、S- (C_1-C_6) 烷基-芳基、NO₂、NH₂、NH- (C_1-C_6) 烷基、N((C_1-C_6)烷基)₂、N- (C_1-C_6) 烷基-芳基;优选为 H、F、Cl、Br、I、OH、OCH₃、OCH₂CH₃、CH(CH₃)₂、C(CH₃)₃、OCH₂COOH、OCH₂Ph、OCOCH₃、SCH₃、N(CH₃)₂、N(CH₂CH₃)₂;更优选为 Br、CH(CH₃)₂、C(CH₃)₃、SCH₃;

R_4 选自 H、卤素、 (C_1-C_6) 烷基、O- (C_1-C_6) 烷基、COOH、NO₂、NH₂、NH- (C_1-C_6) 烷基、N((C_1-C_6)烷基)₂,优选为 H、Cl、Br、I、COOH、NO₂、N(CH₃)₂;更优选为 H、Br、NO₂;

或者, R_3 和 R_4 也可与其所连接的碳原子或杂原子一起形成芳基或杂芳基,所述芳基或杂芳基可为任选地被取代的芳基或杂芳基,所述芳基优选为苯基,所述杂芳基优选为二氧杂环戊烯;

R_5 选自 H、卤素、 (C_1-C_6) 烷基;优选为 H、F、Cl、Br;更优选为 H;

25 R_4 和 R_5 也可与其所连接的碳原子或杂原子一起形成芳基或杂芳基,所述芳基或杂芳基可为任选地被取代的芳基或杂芳基,所述芳基优选为苯

基;

R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 和 R_{13} 分别独立地选自 H、卤素、
(C_1 - C_6)烷基、OH、O-(C_1 - C_6)烷基、O-(C_1 - C_6)烷基-COOH、O-(C_1 - C_6)烷
基-芳基、OCO-(C_1 - C_6)烷基、SH、S-(C_1 - C_6)烷基、S-(C_1 - C_6)烷基-芳基、
5 NO_2 、 NH_2 、NH-(C_1 - C_6)烷基、N((C_1 - C_6)烷基)₂、N-(C_1 - C_6)烷基-芳基; 优
选为 H、F、Cl、Br、I、OH、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 OCH_3 、
 OCH_2CH_3 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_2COOH 、 OCH_2Ph 、 $OCOCH_3$ 、
 SCH_3 、 $N(CH_3)_2$ 、 $N(CH_2CH_3)_2$; 更优选为 H、 CH_3 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、
 SCH_3 ;

10 或者, R_6 和 R_7 也可与其所连接的碳原子或杂原子一起形成 C_5 - C_{10} 、
饱和的或不饱和的、取代的或未被取代的环状基团, 所述环状基团中的碳
可被一个或多个选自 O、S、N 的杂原子替代; 优选地, 所述环状基团为
环戊基、环己基、苯基、噁唑、吡唑、噻唑、异噁唑、异噻唑、三氮唑;
Z 选自 C、O、S、N; 优选为 C、N; 更优选为 C。

15

根据本发明的第二方面, 提供了一种包含本发明的化合物和一种或多
种可药用赋形剂的药物组合物。

20

在第三方面中, 本发明提供了本发明的化合物或组合物用于制备用于
抑制肾脏型谷氨酰胺酶的药物用途。

在第四方面, 本发明提供了本发明的上述化合物或组合物用于制备治
疗或预防与肾脏型谷氨酰胺酶活性增高有关病症的药物中的用途。

25

第五方面中, 本发明还提供了一种治疗或预防与肾脏型谷氨酰胺酶活
性增高有关病症的方法, 所述方法包括对需要所述治疗或预防的受试者给
予治疗有效量的本发明的化合物或组合物。

附图说明

30

图 1 显示了本发明的实例化合物对癌细胞生长的抑制作用。图 1A,
非小型肺癌细胞 CRL-5803 (ATCC) 和乳腺癌细胞 MDA-MB231(ATCC)

的蛋白质印迹图。图 1B 显示出对非小型肺癌细胞 CRL-5803 的生长抑制。图 1C 显示出对乳腺癌细胞 MDA-MB231 的生长抑制。

图 2 显示了本发明的实例化合物对癌细胞恶性转化活性的影响。图 2A 示出了非小型肺癌细胞 CRL-5803 和 CRL-5800(ATCC)在饱和密度实验中 (Saturation density assay) 的结果。图 2B 示出了乳腺癌细胞 MDA-MB231 和 SKBR3(ATCC)在饱和密度实验中的结果。图 2C 示出了低血清 (Low serum assay) 实验结果。图 2D 示出了贴壁不依赖性生长 (Soft agar assay) 实验结果。

图 3 显示了本发明的实例化合物对正常细胞的生长和形态没有影响。图 3A 示出了对人类正常乳腺上皮细胞 HMEC 的影响。图 3B 示出了对人类正常乳腺上皮细胞 HMEC、两种乳腺癌细胞 MDA-MB231 和 SKBR3 的形态影响。

图 4 显示出小鼠肾脏型谷氨酰胺酶的氨基酸序列。

图 5 显示出本发明的实例化合物抑制肾脏型谷氨酰胺酶活性。图 5A, 在大肠杆菌中表达小鼠肾脏型谷氨酰胺酶的重组蛋白, 用不同浓度的化合物处理后测其蛋白酶活性。100%代表每摩尔的谷氨酰胺酶每分钟可水解 620 摩尔的谷氨酰胺。图 5B, 上图: 用肾脏类谷氨酰胺酶的 siRNA, 或者对照 siRNA 转染 MDA-MB231、SKBR3 细胞, 然后在低血清 (1% FBS) 条件下生长, 在 2、4、6 天分别对不同的细胞进行计数的结果; 下图: 蛋白质印迹结果, 其显示出经 siRNA 敲除后, 谷氨酰胺酶在 MDA-MB231、SKBR3 细胞中的表达。图 5C, 用肾脏型谷氨酰胺酶的 siRNA, 或者对照 siRNA 去转染 MDA-MB 231, SKBR3 细胞, 然后在软琼脂中生长十天后形成的集群的计数结果。图 5D, MDA-MB231、SKBR3 细胞生长在 RPMI 1640 + 10% FBS 的培养液中, 在加有谷氨酰胺或不加有谷氨酰胺条件下, 在 2、4、6 天分别进行细胞计数结果。

图 6 显示出本发明的实例化合物对异种移植小鼠体内肿瘤的抑制作用。图 6A 示出了对 MDA-MB231 细胞生长的抑制作用。图 6B 示出了对 SKBR3 细胞生长的抑制作用。图 6C 示出了对小鼠体内的 P-493B 淋巴瘤细胞的抑制作用。

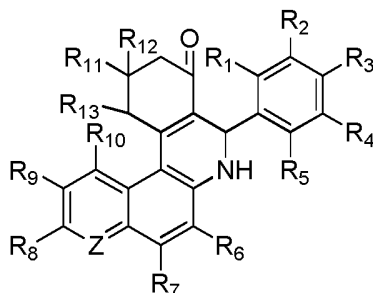
图 7 显示出本发明的实例化合物对细胞恶性转化中谷氨酰胺酶活性的抑制作用。左图示出了对 HMEC、MDA-MB231 和 SKBR3 细胞的作用。

用:从不同情况下的细胞中分离线粒体做谷氨酰胺酶的活性的测定,100%代表每摩尔的谷氨酰胺酶每分钟水解 750 摩尔的谷氨酰胺;右图蛋白质印迹测定不同情况下的谷氨酰胺酶的表达量及 VDAC 线粒体中标记蛋白的表达量。

5

具体实施方式

根据本发明的第一方面,在一个实施方案中,本发明提供了下式化合物或其可药用盐:



10 其中:

R_1 选自 H、F、Cl、Br、I;

R_2 选自 H、OH、OCH₃、OCH₂CH₃;

R_3 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、OCH₃、OCH₂CH₃、CH(CH₃)₂、C(CH₃)₃、OCH₂COOH、OCH₂Ph、OCOCH₃、SCH₃、N(CH₃)₂、N(CH₂CH₃)₂;

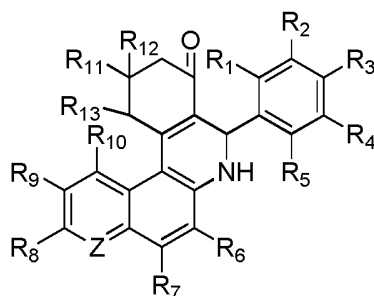
15 R_4 选自 H、Cl、Br、I、NO₂、N(CH₃)₂;

或者, R_3 和 R_4 也可与其所连接的碳原子或杂原子一起形成任选地被取代芳基或杂芳基;

R_5 选自 H、Cl、Br;

20 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 和 R_{13} 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、CH₃、CH₂CH₃、CH₂CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、CH(CH₃)₂、C(CH₃)₃、OCH₂COOH、OCH₂Ph、OCOCH₃、SCH₃、N(CH₃)₂、N(CH₂CH₃)₂;
Z 选自 C、O、S、N, 优选为 C、N。

25 在本发明的另一个实施方案中,提供了一种具有下式的化合物或其可药用盐:



其中：

R_1 选自 H、Cl、Br；

R_2 选自 H、OH、OCH₃、OCH₂CH₃；

5 R_3 选自 H、Cl、Br、OH、OCH₃、OCH₂CH₃、CH(CH₃)₂、C(CH₃)₃、OCH₂COOH、OCH₂Ph、OCOCH₃、SCH₃、N(CH₃)₂、N(CH₂CH₃)₂；

R_4 选自 H、Cl、Br、I、NO₂、N(CH₃)₂；

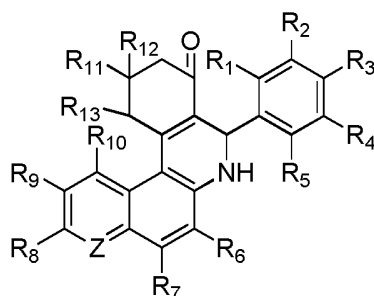
或者， R_3 和 R_4 可与其所连接的碳原子或杂原子一起形成任选地被取代的苯基或二氧杂环戊烯基；

10 R_5 选自 H、Cl、Br；

R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 和 R_{13} 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、CH₃、CH₂CH₃、CH₂CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、CH(CH₃)₂、C(CH₃)₃、OCH₂COOH、OCH₂Ph、OCOCH₃、SCH₃、N(CH₃)₂、N(CH₂CH₃)₂；
Z 选自 C、O、S、N。

15

在本发明的又一个实施方案中，提供了一种具有下式的化合物或其可药用盐：



其中：

20 R_1 选自 H；

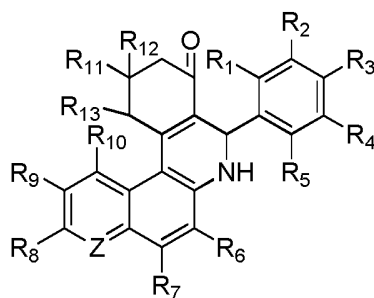
R_2 选自 H、OCH₃、OCH₂CH₃；

R_3 选自 Br、OH、OCH₃、OCH₂CH₃、CH(CH₃)₂、C(CH₃)₃、OCH₂Ph、

或者, R₃和 R₄可与其所连接的碳原子或杂原子一起形成任选地被取代的苯基或二氧杂环戊烯基:

Z 选自 C、N。

在本发明的再一个实施方案中,提供了一种具有下式的化合物或其可药用盐:



或者, R₃和 R₄可与其所连接的碳原子或杂原子一起形成任选地被取代的苯基或二氧杂环戊烯基;

25 **Z** 选自 **C**。

本文所使用的术语“C₁₋₆烷基”是指含1至6个碳原子的直链饱和烃基团或支链饱和烃基团。C₁₋₆烷基基团的实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、己基。优选地，所述烃基团为直链的。

5 本文所使用的术语“芳基”指其中至少一个环为芳香族的 C₆₋₁₂ 单环烃环或双环烃环。所述基团的实例包括苯基(ph)、萘基和四氢萘基。

本文所使用的术语“杂芳基”是指5-6元芳香单环或稠合的8-10元芳香双环，所述单环或双环包含选自氧、氮和硫的1至4个杂原子。这类芳香单环的实例包括噻吩基、呋喃基、呋呔基(furazanyl)、吡咯基、
10 三唑基、四唑基、咪唑基、噁唑基、噻唑基、噁二唑基、异噻唑基、异噁唑基、噻二唑基、吡喃基、吡唑基、嘧啶基、哒嗪基、吡嗪基、吡啶基、三嗪基、四嗪基等。这类芳香双环的实例包括喹啉基、异喹啉基、喹唑啉基、喹喔啉基、蝶啶基、噌啉基、酞嗪基(phthalazinyl)、萘啶基(naphthyridinyl)、
15 吲哚基、异氮茛基、氮杂吲哚基(azaindolyl)、吲嗪基(indoliziny)、吲唑基、嘌呤基、吡咯并吡啶基、呋喃并吡啶基、苯并呋喃基、异苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、苯并异噁唑基、苯并噻唑基、苯并异噻唑基、苯并噁二唑基、苯并噻二唑基和咪唑并吡啶基。

本文中所使用的术语“任选地被取代的芳基或杂芳基”指可选地被以下基团取代的芳基或杂芳基：卤素、OH、(C₁-C₆)烷基、O-(C₁-C₆)烷基、O-(C₁-C₆)烷基-COOH、O-(C₁-C₆)烷基-芳基、OCO-(C₁-C₆)烷基、SH、S-(C₁-C₆)烷基、NO₂、NH₂、NH-(C₁-C₆)烷基、N((C₁-C₆)烷基)₂、(C₃-C₈)环烷基、(C₃-C₇)杂环基。

除非另外具体指出，本文所使用的术语“卤素”指氟、氯、溴或碘。

25 当本发明化合物是以不同的对映异构体和/或非对映异构体形式存在时(包括双键的几何异构)，所述化合物可制备为同分异构混合物或外消旋化合物，但本发明涉及所有这类对映异构体或同分异构体，不论是以光学纯形式或作为与其他同分异构体的混合物存在。独立的对映异构体或同分异构体可通过本领域已知的方法获得，例如产物或中间体的光学分辨(例如手性色谱分离(例如，手性HPLC))，或对映异构体合成方法。类似地，
30 当本发明化合物可作为替代的互变异构体形式存在(例如，酮/烯醇、酰胺

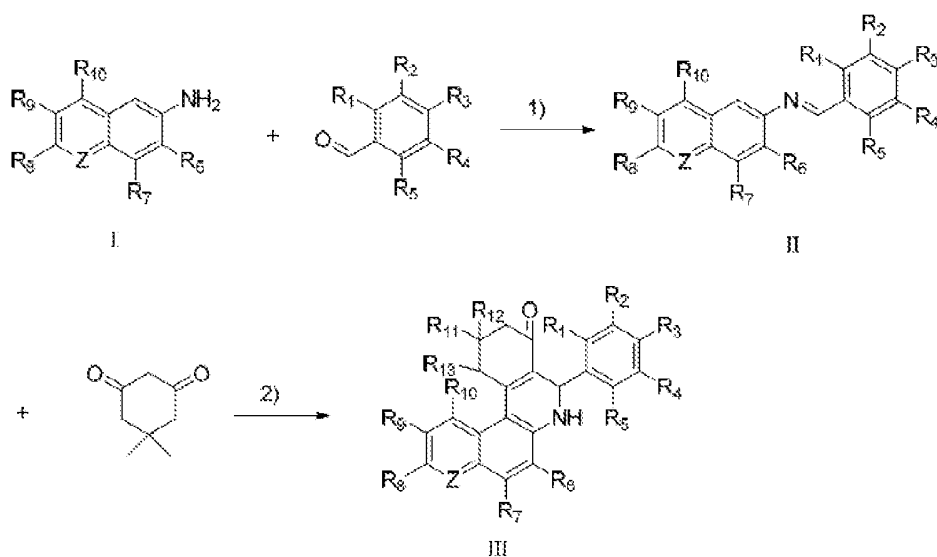
/亚氨酸)时, 本发明涉及分离的独立互变异构体, 并且涉及所有比例的互变异构体混合物。

本发明还涉及上述通式化合物的可药用盐, 所述可药用盐是本领域技术人员熟知的, 包括无机酸和有机酸的碱式盐, 或者无机碱或有机碱的酸式盐。所述酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、甲磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、萘磺酸、乙酸、三氟乙酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、乳酸、草酸、富马酸、琥珀酸、马来酸、苯甲酸等。所述碱例如有碱金属或碱土金属阳离子, 或铵阳离子等。

本文述及的各取代基团、实施方案, 或者不同优选级别的方案, 除非另有说明均可任意组合。

本发明的化合物可通过如下的一般性制备方法或者其他已知方法 (Chemistry of Heterocyclic Compounds (New York, NY, United States), 1996, vol. 32, No. 1, p. 30 – 34) 获得。在制备所述化合物中使用的起始物质和试剂可从供应商处购得或者可通过本领域技术人员已知的方法制备。所述一般性路线仅仅举例说明了通过其可合成本发明化合物的方法, 并且对于已经参考本公开内容的本领域技术人员, 所述路线的多种修改是可以做出的并且是得到启示的。

5-(取代苯基)-2,2-二甲基-2,3,5,6-四氢苯并菲啶-4(1H)-酮的制备



如上所示, 本发明的化合物 (III) 可采用 2-氨基萘和取代苯甲醛反应生成希夫碱 (II), 然后将生成的希夫碱与 5,5-二甲基环己-1,3-二酮反应来制备。具体而言, 该方法, 包括:

a. 使 2-氨基萘和一种取代的苯甲醛在苯类溶剂中反应生成一种希夫碱,

b. 使所述希夫碱与 5,5-二甲基环己-1,3-二酮在醇类和苯类溶剂的混合溶剂中反应以生成本发明的化合物,

其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 和 R_{13} 如上文定义。

在本发明的制备方法中, 所述醇类溶剂例如为 C_{1-5} 的醇, 优选乙醇。所述苯类溶剂例如为苯、甲苯、二甲苯、三甲苯、氯苯、溴苯等, 优选苯。上述步骤 a 中生成的希夫碱可以纯化, 或者不纯化直接进行下一步反应。优选地, 在上述步骤 a 和/或 b 中, 所述反应在回流温度下进行。

根据本发明的第二方面, 提供了一种含本发明上述化合物和一种或多种可药用赋形剂一起的药物组合物。

本发明的药物组合物包含本发明的化合物和一种可药用载体、助剂或介质。可用于本发明的药用组合物中的可药用载体、助剂和介质是在药用制剂领域中常规使用的那些, 包括但不限于, 糖、糖醇、淀粉、离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白 (例如人血清白蛋白)、缓冲物质 (例如磷酸盐)、甘油、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物、水、盐或电解质 (例如硫酸鱼精蛋白)、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶态氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚环氧丙烷-嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。

在一个具体实施方案中, 本发明的药物组合物还包含一种或多种另外的活性药物组分。本发明的化合物可与一种或多种另外的活性药物组分一块给药。该组合物可以是含本发明化合物和一种或多种另外的活性药物组分的单一组合物的形式。或者, 该组合物可为两种或多种单独的组合物组合的形式, 其中本发明的化合物包含在一种组合物中, 一种或多种另外的活性药物组分包含在一种或多种单独的组合物中。在所述的药物组合物中, 所述另外的活性药物组分例如可以是另一种抗肿瘤药物。所述抗肿瘤药物

可选自：天冬酰胺酶、博莱霉素、卡铂、卡氮芥、苯丁酸氮芥、顺铂、左旋门冬酰胺酶、环磷酰胺、阿糖胞苷、达卡巴嗪、放射菌素 D、柔红霉素、阿霉素、表阿霉素 (adriamycin)、表柔比星、依托泊苷、5-氟尿嘧啶、六甲密胺、羟基脲、异环磷酰胺、伊立替康、甲酰四氢叶酸、洛莫司汀、氮芥、6-巯基嘌呤、美司钠、甲氨蝶呤、丝裂霉素 C、米托蒽醌、泼尼松龙、泼尼松、甲苄肼、雷洛昔芬、链脲菌素、他莫昔芬、硫鸟嘌呤、托泊替康、长春碱、长春新碱、长春地辛、氨鲁米特、L-天冬酰胺酶、硫唑嘌呤、5-氮杂胞苷、克拉屈滨、白消安、己烯雌酚、2',2'-双氟去氧胞苷、多烯紫杉醇、赤霉素基腺嘌呤、雌三醇、5-氟脱氧尿苷、5-氟脱氧尿苷单磷酸盐、磷酸氟达拉滨、氟甲睾酮、氟他胺、己酸羟孕酮、去甲氧柔红霉素、干扰素、醋酸甲羟孕酮、醋酸甲地孕酮、美法仑、米托坦、紫杉醇、喷司他丁、N-二氧磷乙酰-L-天冬氨酸盐 (PALA)、普卡霉素、司莫司汀、替尼泊苷、丙酸睾酮、塞替派、三甲基蜜胺、尿嘧啶以及长春瑞滨、奥沙利铂、吉西他滨、卡培他滨、埃博霉素及其天然和合成的衍生物、托西莫单抗、trabectedin、替莫唑胺、曲妥珠单抗、西妥昔单抗、贝伐单抗、波替珠单抗、ZD-1839 (Iressa)、OSI-774 (Tarceva)、CI-1033、GW2016、GP-724,714、HKI-272、EKB-569、STI-571 (Gleevec)、PTK-787、SU-11248、ZD-474、AG-13736、KRN-951、CP-547,632、CP-673, 451、CHIR-258、MLN-518、AZD-2171、PD-325901、ARRY 142886、氧肟酸环庚基苯胺 (SAHA)、LAQ-824、LBH-589、MS- 275、FR- 901228、波特珠单抗和 CCI-779。

在第三方面中，本发明还提供了本发明的化合物或组合物用于制备抑制肾脏型谷氨酰胺酶的药物用途。

在第四方面中，本发明提供了本发明上述化合物或组合物用于制备治疗或预防与肾脏型谷氨酰胺酶活性增高有关病症的药物中的用途。本发明所述与肾脏型谷氨酰胺酶活性增高有关的病症，很多是本领域技术人员已知的，例如肿瘤，特别是肺肿瘤、乳腺肿瘤、淋巴瘤、恶性转化等。

在第五方面中，本发明还提供了一种治疗或预防与肾脏型谷氨酰胺酶

活性增高有关病症的方法,所述方法包括对需要所述治疗或预防的受试者给予治疗有效量的本发明上述化合物或组合物。

实施例

下面结合实施例以示例的方式进一步阐述本发明。实施例中使用的化合物或试剂可通过商业途径购得,或者通过本领域技术人员已知的常规方法制备得到;所使用的实验仪器可通过商业途径购得;除特别说明外,下文生物实施例中使用的细胞系均来自美国典型培养物保藏中心(ATCC)。应理解,这些实施例仅用于说明本发明,而非限制本发明的范围。

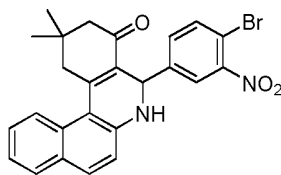
制备实施例:

实施例1:

N-(4-溴-3-硝基苯亚甲基)-2-萘胺(IIa)的制备

在反应瓶中加入 2-萘胺 (2.00g, 13.97mmol), 然后加入干燥甲苯 (30ml), 搅拌使之溶解, 最后加入 4-溴-3-硝基苯甲醛 (3.20g, 13.97mmol)。加完后用油浴加热到回流, 用分水器分出产生的水。回流 1 小时后 TLC 显示原料已经反应完, 反应结束。减压将反应液浓缩至干, 得到黑色固体 (6g), 得到固体为 IIa, 不需要纯化, 直接用于下一步反应。

5-(4-溴-3-硝基苯基)-2,2-二甲基-2,3,5,6-四氢苯并菲啉-4(1H)-酮 (化合物 001) 的制备



将得到的上述黑色固体加入到 (EtOH/苯=1:1) 的溶液中 (50ml), 然后加入双甲酮 (1.96g, 13.97mmol), 将反应体系升温回流, 2 小时后 TLC 显示原料消失, 反应结束。降温反应液至 10℃, 析出固体, 抽滤, 收集固体。固体用甲基叔丁基醚洗涤, 得到 3g 棕黄色固体。然后用 (硝基苯: 甲苯=1:1) 100ml 重结晶得到 1.3g 类白色固体。

ESI-MS ($M+H^+$): 92.1, 478.1;

1H -NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 9.85 (s, 1H, NH), 7.93 (d, 1H, ArH, J

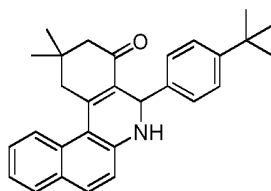
= 8.4 Hz), 7.88 (d, 1H, ArH, $J = 1.8$ Hz), 7.83 (d, 1H, ArH, $J = 9.0$ Hz), 7.82 (s, 1H, ArH), 7.67 (d, 1H, ArH, $J = 8.1$ Hz), 7.42 (t, 1H, ArH, $J = 7.6$ Hz), 7.37 (dd, 1H, ArH, $J = 8.7$ Hz, 2.0 Hz), 7.33 (s, 1H, ArH), 7.32 (d, 1H, ArH, $J = 9.0$ Hz), 5.89 (s, 1H, CH), 2.53 (d, 1H, CH, $J = -16.2$ Hz), 2.41 (d, 1H, CH, $J = -16.5$), 2.23 (d, 1H, CH, $J = -16.2$ Hz), 2.04 (d, 1H, CH, $J = -16.2$ Hz), 1.02 (s, 3H, CH₃), 0.83 (s, 3H, CH₃).

实施例2:

N-(4-叔丁基苯亚甲基)-2-萘胺 (IIb) 的制备

在 100ml 三口瓶中加入 2-萘胺 (3.0g, 21.0mmol), 然后加入干燥甲苯 (50ml), 搅拌使之溶解, 最后加入 4-叔丁基苯甲醛 (3.4g, 21.0mmol)。加完后用油浴加热到回流, 用分水器分出产生的水。回流 1 小时后 TLC 显示原料已经反应完, 反应结束。减压将反应液浓缩至干, 得到黑色固体 (7.6g), 得到固体直接用于下一步反应。

5-(4-叔丁基苯基)-2,2-二甲基-2,3,5,6-四氢苯并菲啉-4(1H)-酮(化合物 002)的制备



将得到的上述黑色固体加入到 (EtOH/苯=1:1) 的溶液中 (70ml), 然后加入双甲酮 (2.9g, 21.0mmol), 将反应体系升温至回流, 2 小时后 TLC 显示原料消失, 反应结束。降温反应液至 10℃, 析出固体, 抽滤, 收集固体。固体用甲基叔丁基醚洗涤得到 2.7g 棕黄色固体。然后用 (硝基苯: 甲苯=1:1) 100ml 重结晶得到 1.5g 类白色固体。

ESI-MS ($M+H^+$):410.2;

¹H-NMR (300MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.65 (s, 1H, NH), 7.97 (d, 1H, ArH, $J = 8.1$ Hz), 7.76 (t, 2H, ArH, $J = 9.0$ Hz), 7.41 (t, 1H, ArH, $J = 7.0$ Hz), 7.30-7.26 (m, 2H, ArH), 7.13 (s, 4H, ArH), 5.74 (s, 1H, CH), 2.51 (d, 1H, CH, $J = -16.8$ Hz), 2.41 (d, 1H, CH, $J = -16.8$ Hz), 2.19 (d, 1H, CH, $J = -15.9$ Hz), 2.03 (d, 1H, CH, $J = -15.9$ Hz), 1.13 (s, 9H, 3CH₃), 1.01 (s, 3H,

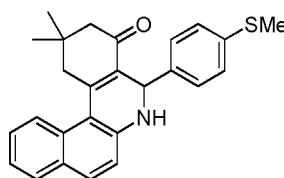
CH₃), 0.87 (s, 3H, CH₃).

实施例3:

N-(4-甲基硫基苯亚甲基)-2-萘胺 (IIc) 的制备

在 100ml 三口瓶中加入 2-萘胺 (3.0g, 21.0mmol), 然后加入干燥甲苯 (50ml), 搅拌使之溶解, 最后加入 4-(甲基硫基)苯甲醛 (3.2g, 21.0mmol)。加完后用油浴加热到回流, 用分水器分出产生的水。回流 1 小时后 TLC 显示原料已经反应完, 反应结束。减压将反应液浓缩至干, 得到黑色固体, 得到固体直接用于下一步反应。

5-(4-甲基硫基苯基)-2,2-二甲基-2,3,5,6-四氢苯并菲啉-4(1H)-酮(化合物 003)的制备



将得到的上述黑色固体加入到 (EtOH/苯=1:1) 的溶液中 (70ml), 然后加入双甲酮 (2.95g, 21.0mmol), 将反应体系升温至回流, 2 小时后 TLC 显示原料消失, 反应结束。降温反应液至 10℃, 析出固体, 抽滤, 收集固体。固体用 MTBE 洗涤得到 3g 棕黄色固体。然后用 (硝基苯: 甲苯=1:1) 100ml 重结晶得到 1.0g 类白色固体。

ESI-MS (M+H⁺):400.1;

¹HNMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 9.70 (s, 1H, NH), 7.91 (d, 1H, ArH, J = 8.4 Hz), 7.77 (t, 2H, ArH, J = 7.0 Hz), 7.40 (s, 1H, ArH, J = 6.0 Hz), 7.30-7.17 (m, 2H, ArH), 7.15 (d, 2H, ArH, J = 8.4 Hz), 7.00 (d, 2H, ArH, J = 8.9 Hz), 5.74 (s, 1H, CH), 2.56-2.28 (m, 2H, CH₂), 2.32 (s, 3H, SCH₃), 2.20 (d, 1H, CH, J = -16.2Hz), 2.01 (d, 1H, CH, J = -15.9Hz), 1.02 (s, 3H, CH₃), 0.84 (s, 3H, CH₃).

生物活性实施例

以下实施例为对上述实施例制备的化合物进行生物活性试验。

实施例 1 对肾脏型谷氨酰胺酶活性的抑制

1.1 肾脏型谷氨酰胺酶对癌细胞生长的影响

用肾脏型谷氨酰胺酶的 siRNA (来自 Invitrogen 的 Stealth Select RNAi Duplexes, 目录号: GLSMSS204740 和 GLSMSS204742), 或者用作对照 siRNA 的非特异性的寡聚核苷酸(Invitrogen 目录号:12935-112), 通过 Lipofectamine 2000 转染乳腺癌细胞 MDA-MB231 和 SKBR3, 然后在低血清 (1% FBS) 条件下生长, 在 2、4、6 天分别对不同的细胞进行计数 (图 5B 上图)。同时, 使用蛋白质印迹法显示经 siRNA 敲除后谷氨酰胺酶在 MDA-MB231、SKBR3 细胞中的表达(图 5B 下图)。结果显示, 用两种不同的直接针对谷氨酰胺酶的 siRNA 减少谷氨酰胺酶的表达时, MDA-MB231 和 SKBR3 两种乳腺癌细胞在低血清条件下的生长受到了明显的抑制, 而对照的 siRNA 对这两种乳腺癌细胞的生长没有影响。

用肾脏型谷氨酰胺酶的 siRNA, 或者对照 siRNA 去转染 MDA-MB231、SKBR3 细胞, 然后在软琼脂中生长, 十天后对形成的集群进行计数。结果显示, 针对谷氨酰胺酶的 siRNA 的处理抑制了这两种乳腺癌细胞在贴壁不依赖性的生长中形成集群 (图 5C)。

MDA-MB231、SKBR3 细胞生长在 RPMI 1640 + 10% FBS 的培养液中, 加有谷氨酰胺或不加有谷氨酰胺, 在 2、4、6 天分别进行细胞计数。结果显示, 在 MDA-MB 231 和 SKBR3 的细胞培养液中去除掉谷氨酰胺时, 它们在低血清条件下的生长受到了极大的抑制 (图 5D), 进一步证明了肿瘤细胞生长对谷氨酰胺的依赖性。可见, 在肿瘤细胞的新陈代谢过程中谷氨酰胺起到了重要的作用。

1.2 对重组肾脏型谷氨酰胺酶活性的抑制

在大肠杆菌中表达小鼠肾脏型谷氨酰胺酶 (分子量为 65864D, 其序列如图 4 所示) 的重组蛋白, 用不同浓度的化合物 002 处理后测其酶活性。具体步骤如下:

将编码小鼠谷氨酰胺酶 (残基 128-603) 的基因克隆到 pET 28a 载体 (Novagen 目录号: 69864-3), N-端连有组氨酸。谷氨酰胺酶蛋白用阴离子交换柱层析做进一步纯化。将 1 μ M 谷氨酰胺酶重组蛋白在 57 μ M Tris-乙酸 (pH8.6) 和 0.25 μ M EDTA 的缓冲液中与不同浓度的化合物 002 一

起温浴，终体积为 80 μ l，旋转 30 分钟。化合物 002 用 DMSO 稀释，使加入的体积在不同的反应中保持恒定 (5 μ l)。然后加入谷氨酰胺使终体积为 115 μ l，终浓度为 17 μ M，反应在 37 $^{\circ}$ C 进行 1 小时，然后加入 10 μ l 3 M 氯化氢终止反应。从第一个反应中取出 10 μ l 加入到第二个反应中，第二个反应包含了 114 μ M Tris-HCl (PH 9.4)，0.35 μ M ADP，1.7 μ M NAD 和 6.3 U/ml 的谷氨酸脱氢酶，终体积为 228 μ l。第二个反应在室温下进行 45 分钟，然后在 340 nm 的波长下测定其吸收值，以计算谷氨酰胺酶的活性。

结果显示，化合物 002 对谷氨酰胺酶活性具有显著的抑制作用，并且抑制作用与其浓度呈正比 (图 5A)。

1.3 对细胞恶性转化中谷氨酰胺酶活性的抑制

从相同数量的正常乳腺上皮细胞 HMEC (Gibco 目录号: A10565) 以及乳腺癌细胞 MDA-MB231 和 SKBR3 中分离线粒体，两种乳腺癌细胞经化合物 002 处理或不处理，对不同情况下的细胞中分离的线粒体做谷氨酰胺酶的活性的测定。结果显示，从 MDA-MB231 和 SKBR3 细胞中分离的线粒体显示出比正常人类乳腺上皮细胞 HMEC 明显的高的活性。当细胞用化合物 002 处理时，谷氨酰胺酶活性受到强烈抑制 (图 7，左图)。用蛋白质印迹测定不同情况下的谷氨酰胺酶的表达量及 VDAC 线粒体中标记蛋白的表达量，结果如图 7 (右图) 所示。尽管谷氨酰胺酶在 SKBR3 细胞中的表达量略低于 HMEC，可是谷氨酰胺酶的活性却比 HMEC 活性高很多，说明谷氨酰胺酶的活性并不决定于其表达量。

上述线粒体分离的步骤如下：

用购置的 QIAGEN 的“线粒体分离试剂盒” (目录号: 37612) 从细胞中分离线粒体：将含有大约 2×10^7 细胞悬浮液移入 50ml 的管中，500x g 在 4 $^{\circ}$ C 离心 10 分钟，将上清液去掉，用 1 ml 0.9% 的氯化钠洗沉淀物。用 2 ml 在冰上预冷的裂解液 (Lysis buffer) 重新悬浮细胞，在 4 $^{\circ}$ C 的摇床上温浴悬浮液 10 分钟，以 1000x g 在 4 $^{\circ}$ C 离心 10 分钟，小心倒掉上清液，用 1.5ml 裂解缓冲液重新悬浮细胞沉淀物，用 1ml 带有针头的注射器抽溶解液进入注射器，然后一次性推出，重复十次，用这种方法来完全裂解细胞。在 4 $^{\circ}$ C 以 1000x g 离心 10 分钟，小心转移上清液到一个清洁的

管中，在 4℃ 以 6000x g 离心 10 分钟。用 1ml 线粒体储存缓冲液（Mitochondrial storage buffer）洗线粒体的沉淀物，在 4℃ 以 6000x g 离心 20 分钟。用线粒体的储存缓冲液重新悬浮线粒体沉淀物，即可用于测定谷氨酰胺酶的活性。

5

实施例 2 对表皮生长因子受体（EGFR）的作用：

EGFR 所介导的信息传导途径在调控细胞的生长，细胞周期的进行，细胞分化及细胞凋亡的生物功能方面起到了极为重要的作用。EGFR 过度活化可以导致多种人类疾病，特别是癌症（参见，文献 Pavelic, K. *et al.* (1993) Evidence for a role of EGF receptor in the progression of human lung carcinoma. *Anticancer Research* 13, 1133-1137 和文献 Slamon, D. J., *et al.* (1989) Studies of the HER-2/neu protooncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 244: 707-712)。研究发现 EGFR 的表达程度可以作为诊断乳腺癌和肺癌病人的存活的指标（参见 Moasser, M. M. (2007) The oncogene HER2: its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene* 26, 6469-6487）。

10

15

本研究发现，本发明的化合物通过抑制肾脏型谷氨酰胺酶活性，还可以产生抑制 EGFR 的作用：

20

将非小型肺癌细胞 CRL-5803 和乳腺癌细胞 MDA-MB231 培养在加有 10%FBS 的 RPMI 1640 的培养液中，同时用不同的化合物 001、002 或 003 处理细胞（每种化合物在培养液中的终浓度为 10 μ M）或者用 DMSO 处理细胞，两天后细胞溶解，用 EGFR 和肌动蛋白（actin）的抗体做蛋白质印迹法，结果如图 1A 所示。由图可见，上述化合物可明显减少 EGFR 的表达水平，从而可抑制表皮生长因子激活的信号转导途径。

25

实施例 3 对细胞生长的抑制作用

30

将非小型肺癌细胞 CRL-5803 和乳腺癌细胞 MDA-MB231 培养在 RPMI 1640 的培养液中，加入 10% 的 FBS，同时用化合物 001、002 或 003 处理细胞（每种化合物在培养液中的终浓度为 10 μ M）或者用 DMSO 处理细胞，到六天时进行细胞计数。结果如图 1B 和 1C 所示，所述化合物均可抑制 CRL-5803 和 MDA-MB231 细胞的生长，但 001 和 003 对癌

细胞生长的抑制作用比 002 明显的弱。

实施例 4 对癌细胞恶性转化活性的影响

4.1 将非小型肺癌细胞 CRL-5803 和 CRL-5800; 乳腺癌细胞 MDA-MB 231 和 SKBR3 培养在加有 10% FBS 的 RPMI 1640 培养液中, 用化合物 002 处理细胞 (化合物在培养液中的终浓度为 $10\mu\text{M}$) 或者不处理, 在 2、4、6 天分别进行细胞计数, 结果如图 2A 和图 2B 所示。

4.2 将两种乳腺癌细胞 MDA-MB231 和 SKBR3 培养在加有 1% FBS 的 RPMI 1640 培养液中。用化合物 002 处理细胞 (化合物在培养液中的终浓度为 $10\mu\text{M}$) 或不处理, 分别在 2、4、6 天进行细胞计数, 结果如图 2C 所示。

4.3 使两种乳腺癌细胞 MDA-MB231 和 SKBR3 在软琼脂中上生长 14 天, 用化合物 002 处理或者不处理, 然后对凡是直径大于 50mm 的群落进行计数, 对总的群落数的百分比作图, 如图 2D (上图) 所示。两种乳腺癌细胞在软琼脂中可形成很大的集群 (colony), 当它们用化合物 002 处理后都停止生长, 和单个细胞一样 (图 2D 下图)。

在本研究中, 本发明的化合物抑制了高侵略性的肺癌细胞 CRL-5803 和乳腺癌细胞 MDA-MB-231, 及比较温和的肺癌细胞 CRL-5800 乳腺癌细胞 SKBR3 细胞在高密度条件下的生长 (图 2A, 2B); 抑制了乳腺癌细胞在低血清条件下的生长 (图 2C); 更重要的是抑制了这两种细胞的贴壁不依赖性生长形成集群 (图 2D), 而贴壁不依赖性生长是细胞恶性转化的重要特征。

实施例 5 对正常细胞的影响

5.1 将人类正常乳腺上皮细胞 HMEC 培养在 MEGM(Lonza)完全培养液中, 用化合物 002 或者化合物 003 处理细胞 (每种化合物在培养液中的终浓度为 $10\mu\text{M}$), 或者用 DMSO 处理, 分别在 2、4、6 天进行细胞计数。结果显示, 化合物 002 或者化合物 003 对于正常 HMEC 的生长没有明显的影响 (图 3A)

5.2 将人类正常乳腺上皮细胞 HMEC 和两种乳腺癌细胞 MDA-MB231、SKBR3 用化合物 002 处理细胞 (化合物在培养液中的终

浓度为 $10\mu\text{M}$) 或不处理, 照相, 以比较他们的形态变化, 结果显示, 经化合物 002 处理的 MDA-MB231 细胞和 SKBR3 细胞形态发生了极大的变化, 大部分的细胞已死, 可是 HMEC 形态无明显改变 (图 3B)。

5 实施例 6 对细胞谷氨酰胺代谢的影响

如图 6A 和 6B 所示, MDA-MB231 细胞和 SKBR3 细胞生长在 RPMI 1640 + 1% FBS 的培养液中, 用化合物 002 处理细胞 (化合物在培养液中的终浓度为 $10\mu\text{M}$), 或在处理的同时加入 α -酮戊二酸的可渗透入细胞的类似物 (α -KG), 在 2、4、6 天分别进行细胞计数, 结果表明, 无论
10 是 MDA-MB231 还是 SKBR3 细胞, 当用化合物 002 处理时, 它们都停止了在低血清条件下的生长, 当用化合物 002 处理同时加入酮戊二酸的类似物 α -KG 时, 细胞的生长几乎和未经处理的正常细胞一样。

如前文所述, 在线粒体中谷氨酰胺在谷氨酰胺酶的催化下转化为谷氨酸, 谷氨酸在谷氨酸脱氢酶的催化下转变为 α -酮戊二酸, 以底物的形式
15 进入三羧酸循环, 为癌细胞的生长提供新陈代谢的中间体。在本研究中, 在加入可以渗透入细胞的酮戊二酸类似物时, 化合物 002 对肿瘤细胞的生长的抑制作用被该类似物抵消掉。由此也进一步说明, 该化合物通过抑制肿瘤细胞的谷氨酰胺酶的活性的同时也相应减少了 α -酮戊二酸的生成, 由此阻止细胞的生长代谢。

20 实施例 7 对小鼠体内肿瘤的抑制作用

已经证实谷氨酰胺酶在 P-493B 淋巴瘤细胞中过量表达(参见, 文献 Gao, P. *et al.* (2009) c-Myc suppression of miR-23a/b enhance mitochondrial glutaminase expression and glutamine metabolism. Nature
25 458:762-765)。将 P-493B (ATCC) 淋巴瘤细胞 (2×10^7) 皮下注射到严重联合免疫缺陷小鼠 SCID (National Cancer Institute) (小鼠体重 120 g-125 g) 的胁腹, 12 天后肿瘤长到 170mm^3 , 紧接着用化合物 002 处理肿瘤, 其方法是: 每天腹腔注射 $200\mu\text{l}$, 总量 $200\mu\text{g}$ 的化合物 002, 持续处理 12 天。

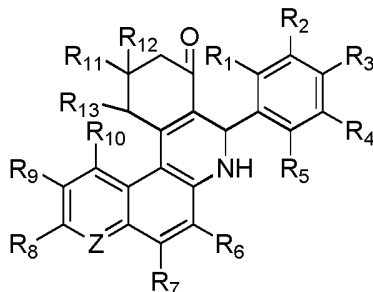
30 对照动物用同样的方法注射溶于 PBS 中的 DMSO。其中, 肿瘤的体积用 Le *et al.* (2010) 的方法来计算。结果显示 (图 6C), 十二天后肿瘤的

大小减少了一半。说明当该化合物腹腔注射入小鼠体内经肝脏时并没有被降解，可到达肿瘤而对肿瘤起到积极的治疗作用。

5 以上所述，仅是本发明的较佳实施实例而已，并非对本发明的技术方案作任何形式上的限制。显然，根据本发明的上述内容，按照本领域的普通技术知识和惯用手段，在不脱离本发明上述基本技术思想前提下，还可以进行其它多种形式的修改、替换或变更。本领域人员能够理解，本申请所描述的本发明技术方案的各个特征均可根据需要进行适当的组合。

权 利 要 求

1. 一种具有下式的化合物或其可药用盐：



其中：

R_1 选自 H、卤素、 (C_1-C_6) 烷基；更优选地为 H；

R_2 选自 H、OH、O- (C_1-C_6) 烷基；更优选地为 H；

R_3 选自 H、卤素、 (C_1-C_6) 烷基、OH、O- (C_1-C_6) 烷基、O- (C_1-C_6) 烷基-COOH、O- (C_1-C_6) 烷基-芳基、OCO- (C_1-C_6) 烷基、SH、S- (C_1-C_6) 烷基、S- (C_1-C_6) 烷基-芳基、NO₂、NH₂、NH- (C_1-C_6) 烷基、N((C_1-C_6)烷基)₂、N- (C_1-C_6) 烷基-芳基；更优选为 Br、CH(CH₃)₂、C(CH₃)₃、SCH₃。

R_4 选自 H、卤素、 (C_1-C_6) 烷基、O- (C_1-C_6) 烷基、COOH、NO₂、NH₂、NH- (C_1-C_6) 烷基、N((C_1-C_6)烷基)₂；更优选为 H、Br、NO₂；

或者， R_3 和 R_4 也可与其所连接的碳原子或杂原子一起形成芳基或杂芳基，所述芳基或杂芳基可任选地被取代，所述芳基优选为苯基，所述杂芳基优选为二氧杂环戊烯；

R_5 选自 H、卤素、 (C_1-C_6) 烷基；优选为 H、F、Cl、Br；更优选为 H；

R_4 和 R_5 也可与其所连接的碳原子或杂原子一起形成芳基或杂芳基，所述芳基或杂芳基可任选地被取代，所述芳基优选为苯基；

R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 和 R_{13} 分别独立地选自 H、卤素、 (C_1-C_6) 烷基、OH、O- (C_1-C_6) 烷基、O- (C_1-C_6) 烷基-COOH、O- (C_1-C_6) 烷基-芳基、OCO- (C_1-C_6) 烷基、SH、S- (C_1-C_6) 烷基、S- (C_1-C_6) 烷基-芳基、NO₂、NH₂、NH- (C_1-C_6) 烷基、N((C_1-C_6)烷基)₂、N- (C_1-C_6) 烷基-芳基；优选为 H、F、Cl、Br、I、OH、CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、CH₂CH₃、CH₂CH₂CH₃、CH(CH₃)₂、C(CH₃)₃、OCH₂COOH、OCH₂Ph、OCOCH₃、SCH₃、N(CH₃)₂、N(CH₂CH₃)₂；更优选为 H、CH₃、CH(CH₃)₂、C(CH₃)₃、SCH₃；

或者, R_6 和 R_7 也可与其所连接的碳原子或杂原子一起形成 C_5-C_{10} 、饱和的或不饱和的、取代的或未被取代的环状基团, 所述环状基团中的碳可被一个或多个选自 O、S、N 的杂原子替代; 优选地, 所述环状基团为环戊基、环己基、苯基、噁唑、吡唑、噻唑、异噁唑、异噻唑、三氮唑;

5 Z 选自 C、O、S、N; 优选为 C、N; 更优选为 C。

2. 权利要求 1 的化合物或其可药用盐, 其中 R_1 和 R_5 各自独立地选自 H、F、Cl、Br。

3. 权利要求 1 或 2 的化合物或其可药用盐, 其中 R_2 选自 H、OH、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 。

10 4. 前述任一项权利要求的化合物或其可药用盐, 其中 R_3 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_2COOH 、 OCH_2Ph 、 $OCOCH_3$ 、 SCH_3 、 $N(CH_3)_2$ 、 $N(CH_2CH_3)_2$ 。

5. 前述任一项权利要求的化合物或其可药用盐, 其中 R_4 选自 H、Cl、Br、I、 $COOH$ 、 NO_2 、 $N(CH_3)_2$ 。

15 6. 前述任一项权利要求的化合物或其可药用盐, 其中 R_3 和 R_4 与其所连接的碳原子或杂原子一起形成苯基或二氧杂环戊烯。

7. 前述任一项权利要求的化合物或其可药用盐, 其中 R_4 和 R_5 与其所连接的碳原子或杂原子一起形成苯基。

8. 前述任一项权利要求的化合物或其可药用盐, 其中 Z 为 C 或 N。

20 9. 权利要求 1 的化合物或其可药用盐, 其中:

R_1 选自 H、F、Cl、Br、I;

R_2 选自 H、OH、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 ;

R_3 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_2COOH 、 OCH_2Ph 、 $OCOCH_3$ 、 SCH_3 、 $N(CH_3)_2$ 、 $N(CH_2CH_3)_2$;

25 R_4 选自 H、Cl、Br、I、 NO_2 、 $N(CH_3)_2$;

或者, R_3 和 R_4 也可与其所连接的碳原子或杂原子一起形成任选地被取代芳基或杂芳基;

R_5 选自 H、Cl、Br;

Z 选自 C、O、S、N。

30 10. 权利要求 1 的化合物或其可药用盐, 其中

R_1 选自 H、Cl、Br;

R_2 选自 H、OH、OCH₃、OCH₂CH₃;

R_3 选自 H、Cl、Br、OH、OCH₃、OCH₂CH₃、CH(CH₃)₂、C(CH₃)₃、OCH₂COOH、OCH₂Ph、OCOCH₃、SCH₃、N(CH₃)₂、N(CH₂CH₃)₂;

R_4 选自 H、Cl、Br、I、NO₂、N(CH₃)₂;

5 或者, R_3 和 R_4 可与其所连接的碳原子或杂原子一起形成任选地被取代的苯基或二氧杂环戊烯基;

R_5 选自 H、Cl、Br;

R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 和 R_{13} 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、CH₃、CH₂CH₃、CH₂CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、CH(CH₃)₂、
10 C(CH₃)₃、OCH₂COOH、OCH₂Ph、OCOCH₃、SCH₃、N(CH₃)₂、N(CH₂CH₃)₂;

Z 选自 C、O、S、N。

11. 权利要求 1 的化合物, 其中

R_1 选自 H;

R_2 选自 H、OCH₃、OCH₂CH₃;

15 R_3 选自 Br、OH、OCH₃、OCH₂CH₃、CH(CH₃)₂、C(CH₃)₃、OCH₂Ph、OCOCH₃、SCH₃、N(CH₃)₂、N(CH₂CH₃)₂;

R_4 选自 H、Cl、Br、I、NO₂;

或者, R_3 和 R_4 可与其所连接的碳原子或杂原子一起形成任选地被取代的苯基或二氧杂环戊烯基;

20 R_5 选自 H;

R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 和 R_{13} 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、CH₃、CH₂CH₃、CH₂CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、CH(CH₃)₂、
C(CH₃)₃、OCH₂COOH、OCH₂Ph、OCOCH₃、SCH₃、N(CH₃)₂、N(CH₂CH₃)₂;

Z 选自 C、N。

25 12. 权利要求 1 的化合物或其可药用盐, 其中

R_1 选自 H;

R_2 选自 H;

R_3 选自 Br、OCH₃、OCH₂CH₃、CH(CH₃)₂、C(CH₃)₃、SCH₃;

R_4 选自 H、F、Cl、Br、NO₂;

30 或者, R_3 和 R_4 可与其所连接的碳原子或杂原子一起形成任选地被取代的苯基或二氧杂环戊烯基;

R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 和 R_{13} 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、CH₃、CH₂CH₃、CH₂CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、CH(CH₃)₂、C(CH₃)₃、OCH₂COOH、OCH₂Ph、OCOCH₃、SCH₃、N(CH₃)₂、N(CH₂CH₃)₂;

R_5 选自 H;

5 Z 选自 C。

13. 一种含前述任一项权利要求的化合物和一种或多种可药用赋形剂的药物组合物，优选地还包含一种或多种另外的活性药物成分，例如抗肿瘤药物。

14. 权利要求 13 的组合物，所述另外的活性药物成分为一种抗肿瘤药物，优选地，所述抗肿瘤药物选自天冬酰胺酶、博莱霉素、卡铂、卡氮芥、苯丁酸氮芥、顺铂、左旋门冬酰胺酶、环磷酰胺、阿糖胞苷、达卡巴嗪、放射菌素 D、柔红霉素、阿霉素、表阿霉素 (adriamycine)、表柔比星、依托泊苷、5-氟尿嘧啶、六甲密胺、羟基脲、异环磷酰胺、伊立替康、甲酰四氢叶酸、洛莫司汀、氮芥、6-巯基嘌呤、美司钠、甲氧蝶呤、丝裂霉素 C、米托蒽醌、泼尼松龙、泼尼松、甲苄肼、雷洛昔芬、链脲菌素、他莫昔芬、硫鸟嘌呤、托泊替康、长春碱、长春新碱、长春地辛、氨鲁米特、L-天冬酰胺酶、硫唑嘌呤、5-氮杂胞苷、克拉屈滨、白消安、己烯雌酚、2',2'-双氟去氧胞苷、多烯紫杉醇、赤霉素基腺嘌呤、雌三醇、5-氟脱氧尿苷、5-氟脱氧尿苷单磷酸盐、磷酸氟达拉滨、氟甲睾酮、氟他胺、己酸羟孕酮、去甲氧柔红霉素、干扰素、醋酸甲羟孕酮、醋酸甲地孕酮、美法仑、米托坦、紫杉醇、喷司他丁、N-二氧磷乙酰-L-天冬氨酸盐 (PALA)、普卡霉素、司莫司汀、替尼泊苷、丙酸睾酮、噻替派、三甲基蜜胺、尿嘧啶以及长春瑞滨、奥沙利铂、吉西他滨、卡培他滨、埃博霉素及其天然和合成的衍生物、托西莫单抗、trabectedin、替莫唑胺、曲妥珠单抗、西妥昔单抗、贝伐单抗、波替珠单抗、ZD-1839 (Iressa)、OSI-774 (Tarceva)、CI-1033、GW2016、GP-724,714、HKI-272、EKB-569、STI-571 (Gleevec)、PTK-787、SU-11248、ZD-474、AG-13736、KRN-951、CP-547,632、CP-673,451、CHIR-258、MLN-518、AZD-2171、PD-325901、ARRY 142886、氧肟酸环庚基苯胺 (SAHA)、LAQ-824、LBH-589、MS-275、FR-901228、波特珠单抗和 CCI-779。

15. 前述权利要求 1-12 中任一项的化合物或者权利要求 13-14 的组

合物在制备用于抑制谷氨酰胺酶活性的药物的用途。

16. 前述权利要求 1-12 中任一项的化合物或者权利要求 13-14 的组合物在制备用于治疗或预防与肾脏型谷氨酰胺酶活性增高有关的病症的药物的用途。

- 5 17. 权利要求 15 或 16 的用途,其中所述病症为肿瘤,优选肺肿瘤、乳腺肿瘤、淋巴瘤或细胞恶性转化。

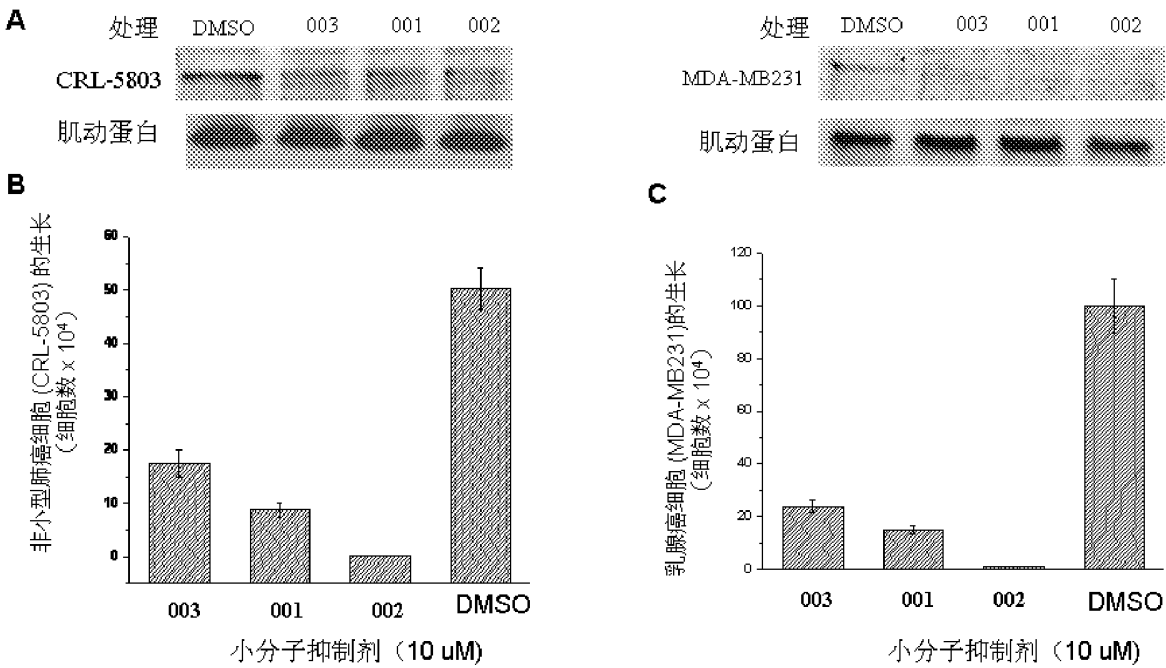


图 1

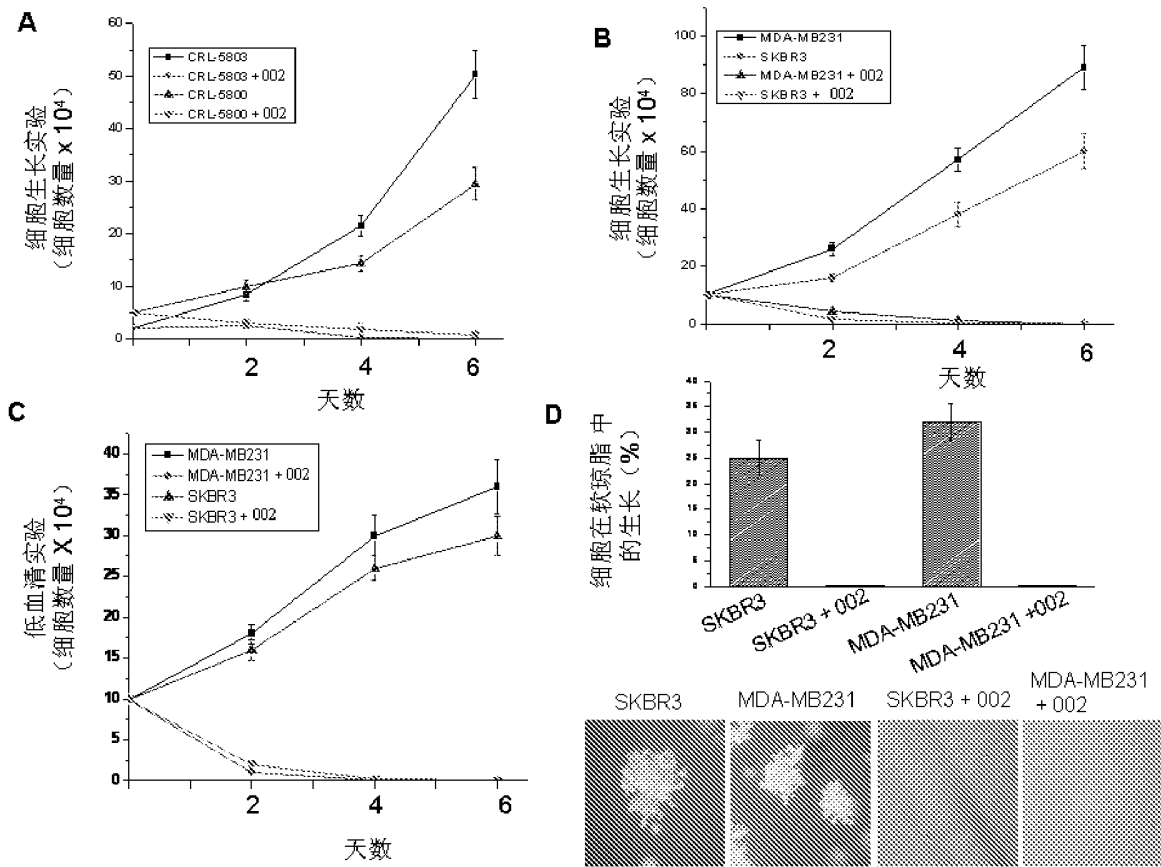


图 2

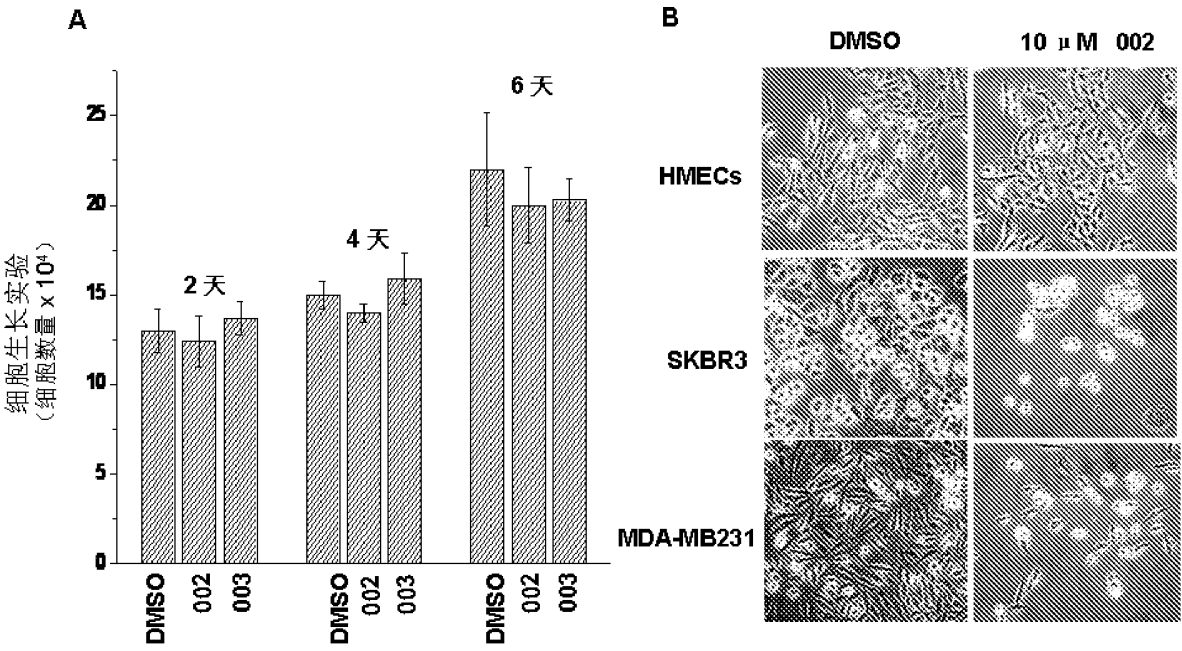


图 3

小鼠肾脏型谷氨酰胺酶

MMRLRGSAMLRELLLRPPAAVGAVLRRRAQPLGTLCCRPRGGSRPTAGLVAAARLHPWWGGGGR
AKGPGAGGLSSSPSEILQELGKGGTPPQQQQQQQQQPGASPPAAPGPKDSPGETDAFGNSEGK
EMVAAGDNKIKQGLLPSEDLFFYTIAEGQEIPVHKFITALKSTGLRTSDPRLKECMDMLRLTLQTTS
DGVMLDKDLFKKCVQSNIVLLTQAFRRKFVIPDFMSFTSHIDELYESAKKQSGGKVADYIPQLAKFS
PDLWGVSVCTVDGQRHSIGDTKVPFCLQSCVKPLKYAIAVNDLGTEYVHRYVGKEPSGLRFNKLFL
NEDDKPHNPMVNAGAIVVTSLIKQGVNNAEKFDYVMQFLNKMAGNEYVGFSNATFQSERESGDR
NFAIGYYLKEKKCFPEGTDVMVGILDFYFQLCSIEVTCESASVMAATLANGGFCPITGERVLSPEAV
RNTLSLMHSCGMYDFSGQFAFHVGLPAKSGVAGGILLVVPNVMGMMCWSPPLDKMGNSVKG
IHFCHDLVSLCNFHNNDNLRHFAKKLDPRREGGDQRHSFGPLDYESLQQELALKDVTWKKVSPES
SDDTSTTVVYRMESLGERS

图 4

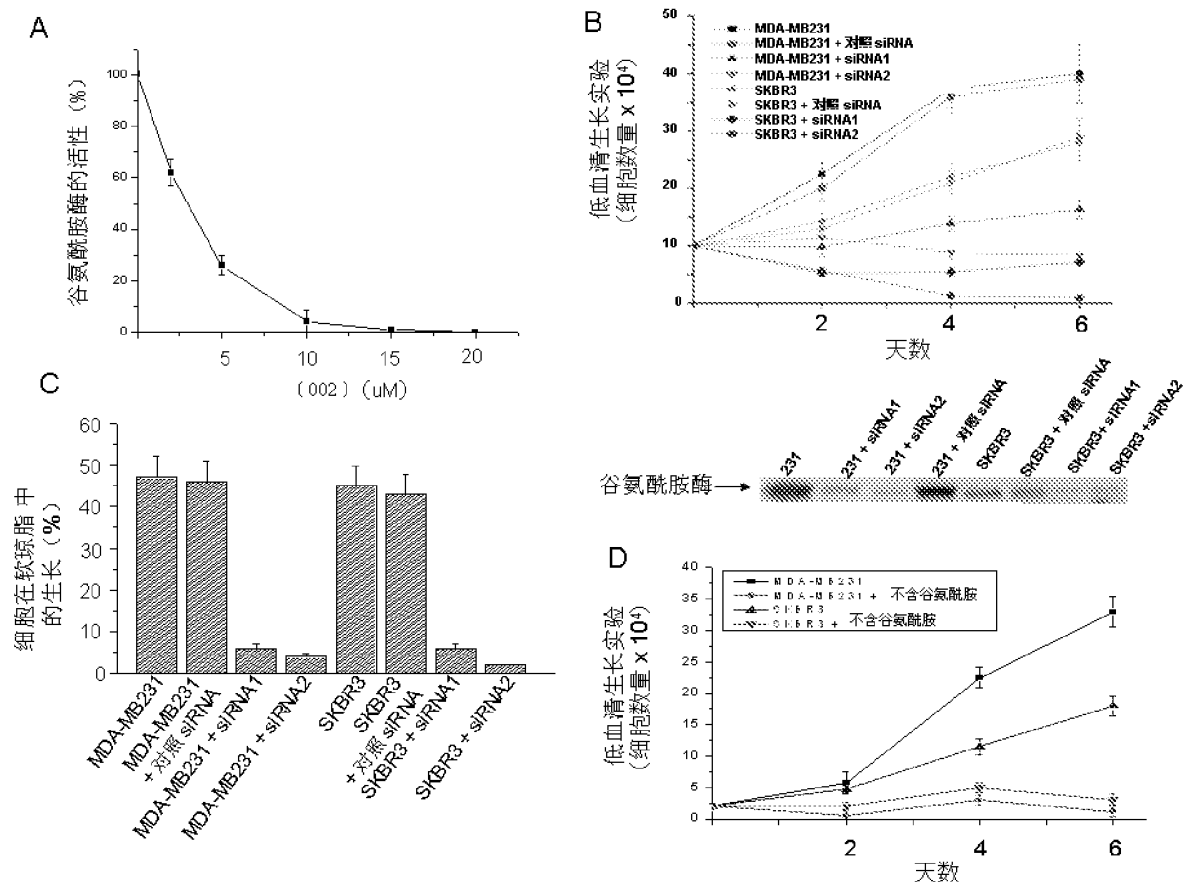


图 5

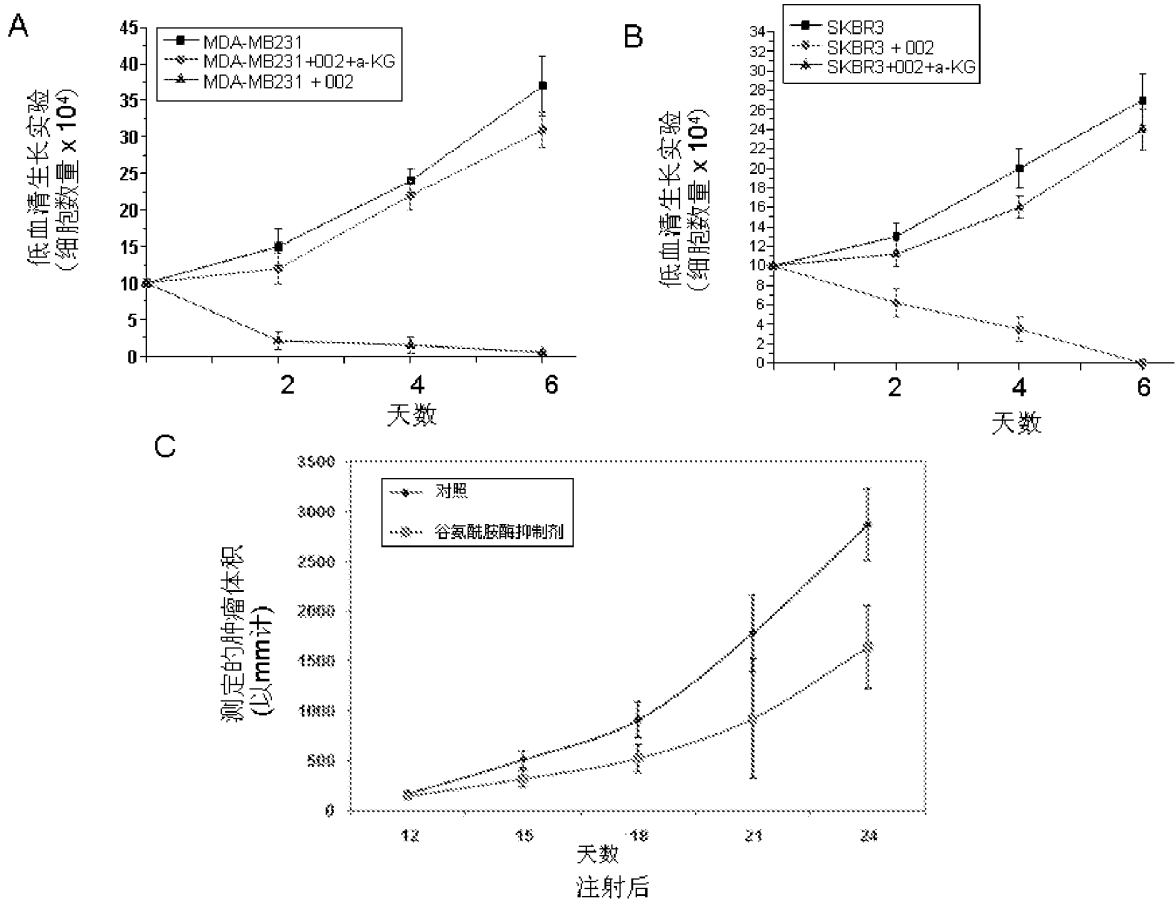


图 6

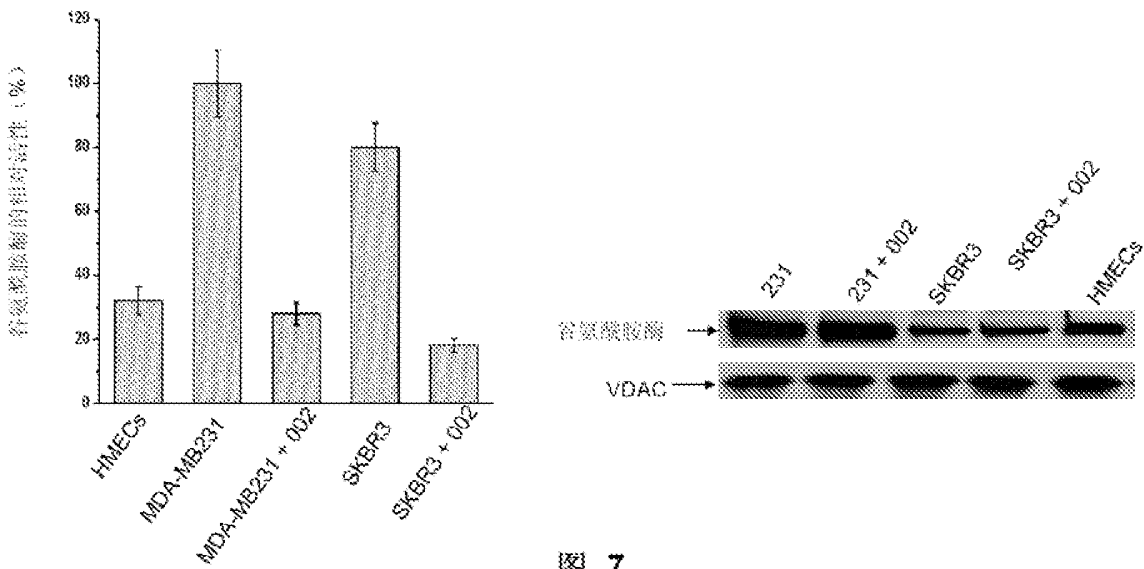


图 7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/001346**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

See the extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07D 221/-, A61K 31/-, A61P 35/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS; REG; WPI; EPODOC; CNKI; CPRS: phenanthridine, PHENANTHRIDIN, tumor, cancer, gln, glutamine

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03043582 A2 (ICONIX PHARMACEUTICALS, INC. et al.), 30 May 2003 (30.05.2003), see claims 1-16, description, page 9, paragraph 2, page 11, paragraphs 2-4, page 12, paragraphs 1-2, page 13, lines 9-10 and 19-20, page 14, lines 9-10 and 17-18, and page 15, lines 5-6 and 12-13	1-17
X	KOZLOV, N.G. et al., 5-Methyl-1,3-cyclohexanedione in the synthesis of benzo[a]phenanthridine derivatives. RUSSIAN JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY (TRANSLATION OF ZHURNAL ORGANICHESKOI KHIMII), 2000, vol. 36, no. 6, pages 858-861, and particularly page 858, compounds IIIb and IIIc	1-12

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
29 November 2012 (29.11.2012)Date of mailing of the international search report
03 January 2013 (03.01.2013)Name and mailing address of the ISA/CN:
State Intellectual Property Office of the P. R. China
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao
Haidian District, Beijing 100088, China
Facsimile No.: (86-10) 62019451

Authorized officer

CHEN, WeiliangTelephone No.: (86-10) **62086307**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/001346**C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KOZLOV, N.G. et al., Synthesis of Aza-and diazaphenanthrene derivatives by condensation of Schiff bases with cyclic β -diketones. RUSSIAN JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY (TRANSLATION OF ZHURNAL ORGANICHESKOI KHIMII). 1999, vol. 35, no. 3, pages 402-414, and particularly page 403, compounds Vd, Vg and Vr	1-12
X	DATABASE CA [Online]. COLUMBUS, OHIO, US: CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE. Searching from STN INTERNATIONAL, COLUMBUS, USA, RN 23107-66-6 [Included on 12 May 1984]	1-12

International application No.

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 03043582 A2	30.05.2003	US 2003171390 A1	11.09.2003
		AU 2002359428 A1	10.06.2003
		US 6800634 B2	05.10.2004
		AU 2002359428 A8	20.10.2005
		WO 03043582 A3	30.10.2003

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/001346

CONTINUATION OF CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:

C07D 221/18 (2006.01) i

A61K 31/473 (2006.01) i

A61P 35/00 (2006.01) i

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2012/001346

A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: C07D 221/-, A61K31/-, A61P35/-

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CAPLUS;REG;WPI;EPODOC;CNKI;CPRS: 菲啉, 肿瘤, 癌症, 谷氨酰胺, PHENANTHRIDIN, tumor, cancer, gln, glutamine

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	WO 03043582 A2 (ICONIX PHARMACEUTICALS, INC. et al.) 30.5 月 2003 (30.05.2003), 参见权利要求 1-16, 说明书第 9 页第 2 段, 第 11 页 2-4 段, 第 12 页 1-2 段, 第 13 页 9-10 行, 19-20 行, 第 14 页 9-10 行, 17-18 行, 第 15 页 5-6 行, 12-13 行	1-17
X	KOZLOV, N. G.等 5-Methyl-1,3-cyclohexanedione in the synthesis of benzo[a]phenanthridine derivatives. Russian Journal of Organic Chemistry (Translation of Zhurnal Organicheskoi Khimii).2000 年, 第 36 卷, 第 6 期, 第 858-861 页, 特别是 858 页化合物 IIIb, IIIc	1-12

☒ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

29.11 月 2012 (29.11.2012)

国际检索报告邮寄日期

03.1 月 2013 (03.01.2013)

ISA/CN 的名称和邮寄地址:

中华人民共和国国家知识产权局

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088

传真号: (86-10)62019451

授权官员

陈炜梁

电话号码: (86-10) **62086307**

C(续). 相关文件

类 型	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	KOZLOV, N. G.等 Synthesis of Aza- and diazaphenanthrene derivatives by condensation of Schiff bases with cyclic β -diketones. Russian Journal of Organic Chemistry (Translation of Zhurnal Organicheskoi Khimii).1999 年, 第 35 卷, 第 3 期, 第 402-414 页, 特别是 403 页化合物 Vd, Vg, Vr	1-12
X	DATABASE CA[Online]. COLUMBUS, OHIO, US: CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE. 检索自 STN International, Columbus, USA. RN 23107-66-6 [12.5 月 1984 年收入]	1-12

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2012/001346

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
WO 03043582 A2	30.05.2003	US 2003171390 A1	11.09.2003
		AU 2002359428 A1	10.06.2003
		US 6800634 B2	05.10.2004
		AU 2002359428 A8	20.10.2005
		WO 03043582 A3	30.10.2003

续主题的分类:

C07D 221/18 (2006.01) i

A61K 31/473 (2006.01) i

A61P 35/00 (2006.01) i