

## 新型 2,4,6-三取代均三嗪化合物及其制备方法和应用

5      技术领域

本发明涉及一类 2,4,6-三取代-1,3,5-三嗪（又名：均三嗪或对称三嗪，s-triazine）化合物或者其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，以及其制备方法及其应用。

背景技术

10      除了凋亡、坏死和自噬等常见的死亡方式外，近年来发现了一种新的细胞死亡方式：巨泡式死亡（Methuosis）。这种死亡方式的标志是由巨胞饮小体（macropinosome）的小泡被内化到细胞中，而形成的巨大液体囊泡使正常的细胞质移位，细胞进而失去了代谢的能力和细胞膜的完整性，没有与凋亡相关的细胞体萎缩和核碎裂，与坏死和自噬也有显著的差别（Maltese *et al.* Methuosis: nonapoptotic cell death associated with vacuolization of  
15      macropinosome and endosome compartments. *Am J Pathol.* 2014;184（6）:1630-42）。鉴于巨泡式死亡与细胞凋亡机制的不同，引起细胞巨泡式死亡的药物有可能克服肿瘤细胞对引起细胞凋亡药物或其它作用机制药物的耐受，成为人类对抗癌症的一个新的手段（Robinson *et al.* Synthesis and evaluation of indole-based chalcones as inducers of methuosis, a novel type of nonapoptotic cell death. *J Med Chem.* 2012;55（5）:1940-56; Kitambi *et al.* Vulnerability of  
20      glioblastoma cells to catastrophic vacuolization and death induced by a small molecule. *Cell.* 2014;157(2):313-28; Trabbic *et al.* Synthesis and biological evaluation of indolyl-pyridinyl-propenones having either methuosis or microtubule disruption activity. *J Med Chem.* 2015;58（5）:2489-512）。

25      波形蛋白是间充质细胞，包括结缔组织、肌肉、血管内皮以及血液细胞的主要的中间丝蛋白。进化上的高度保守以及在不同发育阶段的动态表达都提示了波形蛋白生理功能的重要。中间丝与微管和肌动蛋白微丝一起共同构成了细胞骨架。波形蛋白除了起着增加细胞机械强度进而起到维持细胞的外形、细胞骨架完整性及亚细胞结构空间分布有序性的作用外，还能调整整联蛋白（integrin）的功能而影响细胞的粘附和移动；能联合微管微丝等动力蛋白而影响囊泡膜的转运；能作为受体及蛋白激酶的支架进而影响信号的转导等  
30      （Ivaska *et al.* Novel functions of vimentin in cell adhesion, migration, and signaling. *Exp Cell Res.* 2007;313（10）:2050-62）。

波形蛋白与脂质代谢密切相关，控制着从溶酶体传送源于低密度脂蛋白（LDL）的胆固醇到其酯化位点的运输过程（Sarria *et al.* A functional role for vimentin intermediate filaments in the metabolism of lipoprotein-derived cholesterol in human SW-13 cells. *J Biol*

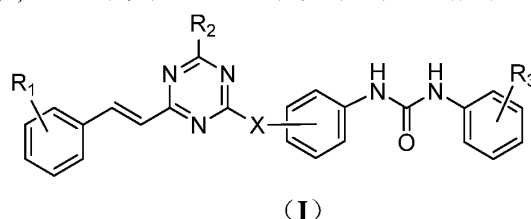
Chem. 1992 Sep 25;267 (27) :19455-63)。鉴于波形蛋白在血管内皮及平滑肌细胞高度表达，以波形蛋白为靶向开发治疗或预防诸如动脉粥样硬化等心血管疾病的新型药物可能是一个值得尝试的策略。波形蛋白的表达是上皮向间充质细胞转型（EMT）的标志。不仅在胚胎发育和组织修复等正常生理过程，而且在诸如器官的纤维化和肿瘤的发生发展等病理过程中，EMT 都是必经途径（Gonzalez *et al.* Signaling mechanisms of the epithelial-mesenchymal transition. *Sci Signal.* 2014;7 (344) :re8）。因此，以波形蛋白为靶向来干预 EMT 的过程，有可能开发出新型的化合物来促进组织再生，抵御器官退化，治疗组织纤维化，防止肿瘤转移等（Davis *et al.* Targeting EMT in cancer: opportunities for pharmacological intervention. *Trends Pharmacol Sci.* 2014;35 (9) :479-88）。

### 发明内容

本文通过构效关系的研究获得了特异强效的引起细胞巨泡式死亡作用的化合物，在此基础上运用了可靠高效的探针垂钓靶蛋白的方法，分离鉴定并证明了引起巨泡式死亡的化合物的靶蛋白为波形蛋白。

因此，本文提供一类 2,4,6-三取代均三嗪化合物及其制备方法，以及这类化合物参与蛋白激酶、波形蛋白调节和引起细胞巨泡式死亡的应用。

根据本文，所述 2,4,6-三取代均三嗪化合物如下式 (I) 所示：



其中：

$R_1$  为氢、卤素、硝基、氨基、羟基、 $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_1$ - $C_6$  烷氧基、 $C_1$ - $C_6$  烷氨基、二  $C_1$ - $C_6$  烷氨基、羟甲基或胺甲基；

$R_2$  为  $-NR_4R_5$ ， $R_4$  和  $R_5$  独立地选自氢、 $C_1$ - $C_6$  烷基和  $C_1$ - $C_6$  卤代烷基，或者  $R_4$  和  $R_5$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自  $NR_6$ 、O 和 S 的杂原子的 4 至 6 元饱和或不饱和杂环，所述杂环可以被羟基、卤素、硝基、氨基或  $C_1$ - $C_6$  烷基取代，其中  $R_6$  为氢、羟基、 $C_1$ - $C_6$  烷基或  $C_1$ - $C_6$  卤代烷基；

$R_3$  为氢、卤素、硝基、氨基、羟基、 $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_1$ - $C_6$  烷氧基、 $C_1$ - $C_6$  烷氨基、二  $C_1$ - $C_6$  烷氨基、羟甲基、胺甲基或  $-COR_a$ ；

$R_a$  为 OH 或  $NR_7R_8$ ， $R_7$  和  $R_8$  独立选自氢、任选被一个或多个选自卤素或  $NR_9R_{10}$  的取代基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基和被 3- $(C_2$ - $C_6$  炔基)-3H-双吡丙啶基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基，或者  $R_7$  和  $R_8$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O 和 S 的杂原子的任选被  $C_1$ - $C_6$  烷基取代的 4 至 6 元杂环；

$R_9$  和  $R_{10}$  独立选自氢和  $C_1$ - $C_6$  烷基, 或者  $R_9$  和  $R_{10}$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O、S 的杂原子的 4 至 6 元杂环; 和

X 为 NH 或 O, 与苯基的间位或对位连接。

本文也包括式 (I) 所示化合物的药学上可接受的盐、前药或溶剂合物。

5 在一个或多个实施方案中,  $R_1$  为氢、卤素或硝基。

在一个或多个实施方案中,  $R_2$  为  $-NR_4R_5$ ,  $R_4$  和  $R_5$  独立地选自氢、 $C_1$ - $C_6$  烷基和  $C_1$ - $C_6$  卤代烷基, 或者  $R_4$  和  $R_5$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自  $NR_6$ 、O 和 S 的杂原子的 4 至 6 元饱和或不饱和杂环, 所述杂环可以被羟基、卤素、硝基、氨基或  $C_1$ - $C_6$  烷基取代, 其中  $R_6$  为氢、羟基或  $C_1$ - $C_6$  烷基。

10 在一个或多个实施方案中,  $R_2$  为  $-NR_4R_5$ ,  $R_4$  和  $R_5$  独立地选自氢和  $C_1$ - $C_6$  烷基, 或者  $R_4$  和  $R_5$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自  $NR_6$ 、O 和 S 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环, 所述杂环可以被羟基、卤素、硝基、氨基或  $C_1$ - $C_6$  烷基取代, 其中,  $R_6$  为氢或  $C_1$ - $C_6$  烷基。

15 在一个或多个实施方案中,  $R_2$  为  $-NR_4R_5$ ,  $R_4$  和  $R_5$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自  $NR_6$  和 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环, 所述杂环任选被选自羟基和  $C_1$ - $C_6$  烷基的取代基取代, 其中,  $R_6$  为氢或  $C_1$ - $C_6$  烷基。

20 在一个或多个实施方案中,  $R_3$  为氢、卤素、硝基、氨基、羟基、 $C_1$ - $C_6$  烷基、羟甲基、胺甲基或  $-COR_a$ , 其中,  $R_a$  为 OH 或  $NR_7R_8$ ,  $R_7$  和  $R_8$  独立选自氢、任选被一个或多个选自卤素或  $NR_9R_{10}$  的取代基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基和被 3-( $C_2$ - $C_6$  炔基)-3H-双吡啶基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基, 或者  $R_7$  和  $R_8$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O 和 S 的杂原子的任选被  $C_1$ - $C_6$  烷基取代的 4 至 6 元杂环;  $R_9$  和  $R_{10}$  独立选自氢和  $C_1$ - $C_6$  烷基, 或者  $R_9$  和  $R_{10}$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O、S 的杂原子的 4 至 6 元杂环。

25 在一个或多个实施方案中,  $R_3$  为卤素、 $C_1$ - $C_6$  烷氧基或  $-COR_a$ ,  $R_a$  为 OH 或  $NR_7R_8$ ,  $R_7$  和  $R_8$  独立选自任选被  $NR_9R_{10}$  取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基和被 3-( $C_2$ - $C_6$  炔基)-3H-双吡啶基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基, 或者  $R_7$  和  $R_8$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的任选被  $C_1$ - $C_6$  烷基取代的 4 至 6 元饱和杂环;  $R_9$  和  $R_{10}$  独立选自氢和  $C_1$ - $C_6$  烷基, 或者  $R_9$  和  $R_{10}$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环。

30 在一个或多个实施方案中, X 为 NH, 与苯基的对位或间位连接。

在一个或多个实施方案中, 所示式 (I) 中:

$R_1$  为氢、卤素或硝基;

$R_2$  为  $-NR_4R_5$ ,  $R_4$  和  $R_5$  独立地选自氢、 $C_1$ - $C_6$  烷基和  $C_1$ - $C_6$  卤代烷基, 或者  $R_4$  和  $R_5$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自  $NR_6$ 、O 和 S 的杂原子的 4 至 6 元饱和或

不饱和杂环，所述杂环可以被羟基、卤素、硝基、氨基或 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基取代，其中 R<sub>6</sub> 为氢、羟基或 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基；和

R<sub>3</sub> 为氢、卤素、硝基、氨基、羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、羟甲基、胺甲基或 -COR<sub>a</sub>，其中，R<sub>a</sub> 为 OH 或 NR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>，R<sub>7</sub> 和 R<sub>8</sub> 独立选自氢、任选被一个或多个选自卤素或 NR<sub>9</sub>R<sub>10</sub> 的取代基取代的 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基和被 3-（C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基）-3H-双吡丙啶基取代的 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基，或者 R<sub>7</sub> 和 R<sub>8</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O 和 S 的杂原子的任选被 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基取代的 4 至 6 元杂环；R<sub>9</sub> 和 R<sub>10</sub> 独立选自氢和 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基，或者 R<sub>9</sub> 和 R<sub>10</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O、S 的杂原子的 4 至 6 元杂环。

在一个或多个实施方案中，所示式 (I) 中：

10 R<sub>1</sub> 为氢、卤素或硝基；

R<sub>2</sub> 为 -NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>，R<sub>4</sub> 和 R<sub>5</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 NR<sub>6</sub> 和 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环，所述杂环任选被选自羟基和 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基的取代基取代，其中，R<sub>6</sub> 为氢或 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基；

15 R<sub>3</sub> 为卤素或 -COR<sub>a</sub>，R<sub>a</sub> 为 OH 或 NR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>，R<sub>7</sub> 和 R<sub>8</sub> 独立选自任选被 NR<sub>9</sub>R<sub>10</sub> 取代的 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基和被 3-（C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基）-3H-双吡丙啶基取代的 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基，或者 R<sub>7</sub> 和 R<sub>8</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的任选被 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基取代的 4 至 6 元饱和杂环；R<sub>9</sub> 和 R<sub>10</sub> 独立选自氢和 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基，或者 R<sub>9</sub> 和 R<sub>10</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环；和

X 为 NH，与苯基的对位或间位连接。

20 在某些实施方案中，优选地：

R<sub>1</sub> 为氢、卤素或硝基；

R<sub>2</sub> 为 -NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>，R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub> 独立地选自氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 卤代烷基、或者 R<sub>4</sub> 和 R<sub>5</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 NR<sub>6</sub>、O、S 的杂原子的 4 至 6 元饱和或不饱和杂环，所述杂环可以被羟基、卤素、硝基、氨基或 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基取代，其中 R<sub>6</sub> 为氢、羟基、

25 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基；

R<sub>3</sub> 为氢、卤素、硝基、氨基、羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、羟甲基、胺甲基、-CONR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>，其中 R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub> 独立选自氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 任选取代烷基，或者 R<sub>7</sub> 和 R<sub>8</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O、S 的杂原子的 4 至 6 元杂环；其中 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基可被任选一个或多个卤素、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基氨基、二 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基氨基取代；

30 X 基团为间位和对位 NH 或 O。

在某些实施方案中，更优选地，其中：

R<sub>1</sub> 为氢、卤素或硝基；

R<sub>2</sub> 为 -NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>，R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub> 独立地选自氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、或者 R<sub>4</sub> 和 R<sub>5</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 NR<sub>6</sub>、O、S 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环，所述杂环可以被

羟基、卤素、硝基、氨基或 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基取代, R<sub>6</sub> 为氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基;

R<sub>3</sub> 为氢、卤素、-CONR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>, 其中 R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub> 独立选自氢、任选 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 取代烷基, 或者 R<sub>7</sub> 和 R<sub>8</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O、S 的杂原子的 4 至 6 元饱和和杂环; 其中 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基可被任选一个或多个 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基氨基、二 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基氨基取代;

5 X 基团为间位和对位 NH 或 O。

优选的, 上述是 (I) 化合物包括:

(E)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲(L1);

(E)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲(L2);

(E)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲

10 (L3);

(E)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲

(L4);

(E)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲(L5);

15 (E)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(3-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲(L6);

(E)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(3-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲

(L7);

(E)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(3-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)

20 脲(L8);

(E)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(3-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)

脲(L9);

(E)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(4-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲

(L10);

25 (E)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(4-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲(L11);

(E)-1-(3-氟苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(4-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲

(L12);

(E)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(4-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)

30 脲(L13);

(E)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(4-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)

脲(L14);

(E)-1-(3-氟苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(4-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)

脲(L15);

- (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲  
(L16);
- (*E*)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲  
(L17);
- 5 (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲(L18);
- (*E*)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲(L19);
- (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-二甲氨基-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲  
10 (L20);
- (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(四氢吡咯-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲(L21);
- (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲(L22);
- 15 (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(3-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲(L23);
- (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(3-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲  
(L24);
- (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(3-(4-(吗啉-1-基)-6-(3-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲  
(L25);
- 20 (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(3-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(3-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲  
(L26);
- (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(3-(4-(吗啉-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲  
(L27);
- (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(3-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲(L28);
- 25 (*E*)-*N,N*-二甲基-4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲)苯甲酰胺(L29);
- (*E*)-1-(4-((4-甲基哌啶-1-基)甲酰基)苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲(L30);
- 30 (*E*)-1-(4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲酰基)苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲(L31);
- (*E*)-*N*-(2-(二甲氨基)乙基)-4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲)苯甲酰胺(L32);
- (*E*)-*N*-(2-(二乙氨基)乙基)-4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)

脲)苯甲酰胺(L33);

(*E*)-*N*-(3-(二甲氨基)丙基)-4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)

脲)苯甲酰胺(L34);

(*E*)-*N*-(2-(四氢吡咯-1-基)乙基)-4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)

5 苯基)脲)苯甲酰胺(L35);

(*E*)-*N*-(2-(哌啶-1-基)乙基)-4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)

脲)苯甲酰胺(L36);

(*E*)-*N*-(2-(吗啉-1-基)乙基)-4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)

脲)苯甲酰胺(L37);

10 (*E*)-1-(4-甲氧基苯基)-3-(4-((4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-基)氧)苯基)脲  
(L38);

(*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-((4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-基)氧)苯基)脲(L39);

(*E*)-1-(4-氟苯基)-3-(4-((4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-基)氧)苯基)脲(L40);

(*E*)-*N*-(2-(3-(1-丁炔-4-基)-3H-双吡丙啶-3-基)乙基)-4-(3-(4-((4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯  
15 -1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)脲)苯甲酰胺(79); 和

(*E*)-1-(4-羧基苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲 (14)。

### 附图说明

图 1. 化合物对不同种类肿瘤细胞的体外抑制作用。 选取具有不同结构特征的 8 个化  
20 合物 (#38-#45, 依次为: L20、L21、L16、L18、L14、L10、L13 和 L11) 针对 11 种不  
同细胞来源的肿瘤细胞测定同一化合物在不同肿瘤细胞中的活性, 和同一肿瘤对不同结构  
特征化合物的敏感性。对于每一化合物, 从左到右的柱依次针对 H522、HCT15、Hela、HepG2、  
HT1080、KG1、LNCap、MCF7、OVCAR3、SK-mel28 和 U87。数据来自三批独立的实验,  
表述为均数±标准差。

25 图 2. 肿瘤细胞的泡沫化。 将含有  $10^3$  人结肠腺癌细胞 (HCT15) 或人脑胶质瘤细胞  
(U87) 和溶剂 DMSO 对照或 100 纳摩尔 #40 化合物(L16) 的 100 微升培养基(RPMI1640,  
2 毫摩尔谷氨酰胺, 10%胎牛血清) 接种于 96 孔细胞培养板, 5%CO<sub>2</sub>, 37°C 培养 96 小时  
后, 相差显微镜下拍摄细胞形态。 经 100 纳摩尔 #40 化合物处理的 HCT5 细胞 (右上)  
和 U87 细胞 (右下) 均出现明显泡沫化。

30 图 3. 受试化合物抑制细胞生长的能力与引起细胞泡沫化的能力不具有相关性。 测试  
了 37 个化合物 (L1-L37) 对人胶质瘤 U87 细胞生长的抑制能力和泡沫化的诱导能力。 #50  
化合物 (L1) 具有最强的引起细胞泡沫化的能力。

图 4. 探针垂钓靶蛋白流程示意图。 探针垂钓过程包括探针化合物与活体细胞的蛋白  
质原位特异性结合, 探针化合物的光敏基团在 UV 照射下与靶蛋白原位共价交联, 探针化

化合物的炔基与分离化合物的叠氮基团经 Click-反应特异性地链接，借助分离化合物的生物素和链霉抗生物素蛋白-琼脂糖珠得以钓出与探针化合物特异结合的靶蛋白。

图 5. 探针垂钩靶蛋白工具化合物。 所测试的化合物中，#50 化合物引起细胞泡沫化的能力最强。根据对构效关系的分析，在#50 化合物图中所示位点连接光敏基团得探针 #79 化合物，可能不影响 #50 化合物的生物活性。 实验也证明 #79 化合物能引起与 #50 化合物相同的细胞表型。为了利于固相分离，减少非特异性，设计的 #80 化合物含一个长链，连接着生物素和用于点击链接反应的叠氮基团。

图 6. 靶蛋白的分离与鉴定。 以#79 化合物为探针与靶蛋白在细胞内原位结合并光促共价连接，再与 #80 化合物反应得以固相分离纯化靶蛋白。 A. 左：蛋白免疫印迹检测出能与#79 化合物特异性结合的蛋白（箭头所示）； 右：考马斯蓝染色显示经 PAGE 凝胶电泳分离的特异性靶蛋白。 B. 靶蛋白经 MALDI 质谱肽段测图和序列分析(MALDI-MS/MS)，与数据库已知蛋白序列匹配。黑体下划线部分为匹配序列。分离出的约 60KD 和约 200KD 的两个蛋白与同一个已知蛋白序列匹配。 C. 匹配蛋白信息表明，化合物的靶蛋白为波形蛋白（vimentin）。

图 7. #50 化合物与靶蛋白对接结果。 A：来源于 PDB 数据库（protein data bank）的四聚体 vimentin 的 3KLT（该蛋白的系统编号，中间球状部分为该蛋白的活性区域）； B：用于对接#50 化合物； C：利用软件 Discovery Studio 3.0 和其中的 LibDock 对接方法，将 3KLT 与#50 化合物进行对接，得到的前十的#50 化合物构象打分结果； D：#50 化合物打分第一的构象（紫红色表示）和波形蛋白作用的图； E：去蛋白后与#50 化合物成氢键的氨基酸，两个氨基酸：Arg273 与 Tyr276 与#50 化合物中的三嗪环形成氢键。

### 具体实施方式

应理解，在本文范围内，上述各实施方案所限定的各技术特征（例如各基团的各范围）和在下文（如实施例）中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成优选的技术方案。

本文中，“烷基”指 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 烷基，如 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基，如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正戊基等。

“杂环”指任选含有选自 N、O 和 S 的杂原子的 4 至 6 元杂环。杂环可以是饱和杂环或不饱和杂环。示例性的杂环包括但不限于如吗啉基、吡咯烷基、哌嗪基、哌啶基、氮杂环丁烷基、吡唑基等。

“卤素”包括 F、Cl、Br 和 I。“羧基”指-COOH。

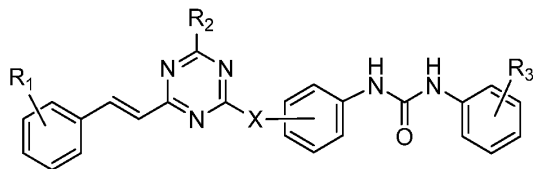
“3-（C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基）-3H-双吡丙啶基”中，C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基的炔基位置通常位于 1 位。在某些实施方案中，所述“3-（C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基）-3H-双吡丙啶基”为“3-（1-丁炔-4-基）-3H-双吡丙啶-3-基”。

本文中,  $\text{NR}_7\text{R}_8$  和  $\text{NR}_9\text{R}_{10}$  可以是单  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基氨基或二  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基氨基, 所述  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基可任选地被取代, 例如被一个或多个卤素、单  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基氨基或二  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基氨基取代, 或被含 N 和任选的额外的 N 或 O 的 4 到 6 元饱和杂环取代。这些杂环包括但不限于哌啶基、哌嗪基、吡咯烷基、吗啉基等。所述杂环也可被任选地取代, 例如被  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基取代。

5 本文中, 当基团被取代时, 取代基的数量可以是例如 1、2、3 或 4 个不等。通常, 除非另有说明, 取代基可选自卤素、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基、羟基、羧基、氨基、单  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基氨基、二  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基氨基、硝基、3-( $\text{C}_2\text{-C}_6$  炔基)-3H-双吡丙啶基、杂环基(如吗啉基、吡咯烷基、哌嗪基、哌啶基、氮杂环丁烷基、吡唑基等)和  $\text{C}_6\text{-C}_{14}$  芳基(如苯基)等。

此外, 本文所用的相关术语诸如“异构体”, “外消旋体”, “前体药物”, “溶剂  
10 合物”与所属领域中所述术语的一般含义并无明显不同。本领域的普通技术人员应该知道这些术语的含义。例如, 术语“异构体”是指分子组成相同、但结构和性质不同的两种或多种化合物之一。术语“外消旋体”是指一种具有旋光性的手性分子与其对映体的等摩尔混合物。术语“前药”也称前体药物、药物前体、前驱药物等, 是指经过生物体内转化后才具有药理作用的化合物。术语“溶剂合物”是指溶剂和化合物组成的混合物。

15 本文针对肿瘤的可塑性和异质性, 以与肿瘤细胞的增殖和死亡有明确关联的多个信号转导通路为靶向, 整合了作用于这些信号通路的靶向分子的药效基团, 提出一类新型化合物, 即由二芳基脲、芳乙烯基和饱和氮(氧)杂环取代形成的均三嗪化合物, 这类化合物的结构如下式(I)所示:



(I)

20

式中,  $\text{R}_1$ 、 $\text{R}_2$ 、 $\text{R}_3$  和 X 如前文所述。

在某些实施方案中,  $\text{R}_1$  为氢、卤素或硝基; 更优选为 H、F、Cl 或硝基。

本文的各结构式中, 当  $\text{R}_1$  为非氢基团式, 通常位于苯环的间位或对位。

在某些实施方案中,  $\text{R}_2$  中,  $\text{R}_4$  和  $\text{R}_5$  独立地选自氢、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基和  $\text{C}_1\text{-C}_6$  卤代烷基, 或者  
25 者  $\text{R}_4$  和  $\text{R}_5$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自  $\text{NR}_6$ 、O 和 S 的杂原子的 4 至 6 元饱和或不饱和杂环, 所述杂环可以被羟基、卤素、硝基、氨基或  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基取代, 其中  $\text{R}_6$  为氢、羟基或  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基。在某些实施方案中,  $\text{R}_4$  和  $\text{R}_5$  独立地选自氢和  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基, 或者  $\text{R}_4$  和  $\text{R}_5$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自  $\text{NR}_6$ 、O 和 S 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环, 所述杂环可以被羟基、卤素、硝基、氨基或  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基取代, 其中,  $\text{R}_6$   
30 为氢或  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基。在某些实施方案中,  $\text{R}_2$  为  $\text{-NR}_4\text{R}_5$ ,  $\text{R}_4$  和  $\text{R}_5$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自  $\text{NR}_6$  和 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环, 所述杂环任选被选自羟基和  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基的取代基取代, 其中,  $\text{R}_6$  为氢或  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基。在某些实施方案中, 所述 4—6

元饱和杂环包括但不限于吗啉基、吡咯烷基、哌嗪基、哌啶基和氮杂环丁烷基。

在某些实施方案中， $R_3$  为氢、卤素、硝基、氨基、羟基、 $C_1$ - $C_6$  烷基、羟甲基、胺甲基或  $-COR_a$ ，其中， $R_a$  为 OH 或  $NR_7R_8$ ， $R_7$  和  $R_8$  独立选自氢、任选被一个或多个选自卤素或  $NR_9R_{10}$  的取代基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基和被 3-( $C_2$ - $C_6$  炔基)-3H-双吡丙啶基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基，  
5 或者  $R_7$  和  $R_8$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O 和 S 的杂原子的任选被  $C_1$ - $C_6$  烷基取代的 4 至 6 元杂环； $R_9$  和  $R_{10}$  独立选自氢和  $C_1$ - $C_6$  烷基，或者  $R_9$  和  $R_{10}$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O、S 的杂原子的 4 至 6 元杂环。在某些实施方案中， $R_3$  为卤素、 $C_1$ - $C_6$  烷氧基或  $-COR_a$ ， $R_a$  为 OH 或  $NR_7R_8$ ， $R_7$  和  $R_8$  独立选自任选被  $NR_9R_{10}$  取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基和被 3-( $C_2$ - $C_6$  炔基)-3H-双吡丙啶基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基，  
10 或者  $R_7$  和  $R_8$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的任选被  $C_1$ - $C_6$  烷基取代的 4 至 6 元饱和杂环； $R_9$  和  $R_{10}$  独立选自氢和  $C_1$ - $C_6$  烷基，或者  $R_9$  和  $R_{10}$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环。在某些实施方案中， $R_7$  和  $R_8$  与它们所连的氮原子一起形成的杂环以及  $R_9$  和  $R_{10}$  与它们所连的氮原子一起形成的杂环包括但不限于哌啶基、哌嗪基、吡咯烷基和吗啉基。

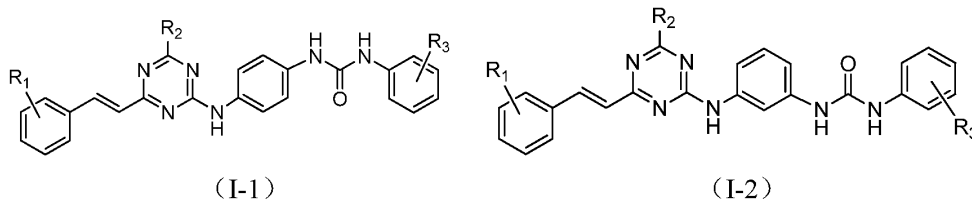
15 本文的各结构式中，当  $R_3$  为非 H 取代基时，其通常位于苯基的间位或对位上。

在某些实施方案中，X 为 NH，与苯基的对位或间位连接。在其它实施方案中，X 为 O，与苯基的对位连接。

如前文所述，本文各实施方案中的各取代基或各技术特征可在式 (I) 的结构范围内任意组合。因此，举例而言，在某些实施方案中，所示式 (I) 中： $R_1$  为氢、卤素或硝基； $R_2$   
20 为  $-NR_4R_5$ ， $R_4$  和  $R_5$  独立地选自氢、 $C_1$ - $C_6$  烷基和  $C_1$ - $C_6$  卤代烷基，或者  $R_4$  和  $R_5$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自  $NR_6$ 、O 和 S 的杂原子的 4 至 6 元饱和或不饱和杂环，所述杂环可以被羟基、卤素、硝基、氨基或  $C_1$ - $C_6$  烷基取代，其中  $R_6$  为氢、羟基或  $C_1$ - $C_6$  烷基；和  $R_3$  为氢、卤素、硝基、氨基、羟基、 $C_1$ - $C_6$  烷基、羟甲基、胺甲基或  $-COR_a$ ，其中， $R_a$  为 OH 或  $NR_7R_8$ ， $R_7$  和  $R_8$  独立选自氢、任选被一个或多个选自卤素或  $NR_9R_{10}$  的  
25 取代基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基和被 3-( $C_2$ - $C_6$  炔基)-3H-双吡丙啶基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基，或者  $R_7$  和  $R_8$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O 和 S 的杂原子的任选被  $C_1$ - $C_6$  烷基取代的 4 至 6 元杂环； $R_9$  和  $R_{10}$  独立选自氢和  $C_1$ - $C_6$  烷基，或者  $R_9$  和  $R_{10}$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O、S 的杂原子的 4 至 6 元杂环。在其它实施方案中，所示式 (I) 中： $R_1$  为氢、卤素或硝基； $R_2$  为  $-NR_4R_5$ ， $R_4$  和  $R_5$  与它们所连的氮原子  
30 一起形成任选含有另外的选自  $NR_6$  和 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环，所述杂环任选被选自羟基和  $C_1$ - $C_6$  烷基的取代基取代，其中， $R_6$  为氢或  $C_1$ - $C_6$  烷基； $R_3$  为卤素或  $-COR_a$ ， $R_a$  为 OH 或  $NR_7R_8$ ， $R_7$  和  $R_8$  独立选自任选被  $NR_9R_{10}$  取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基和被 3-( $C_2$ - $C_6$  炔基)-3H-双吡丙啶基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基，或者  $R_7$  和  $R_8$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的任选被  $C_1$ - $C_6$  烷基取代的 4 至 6 元饱和杂环； $R_9$  和  $R_{10}$  独立选

自氢和 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基, 或者 R<sub>9</sub> 和 R<sub>10</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环; 和 X 为 NH, 与苯基的对位或间位连接。

在某些实施方案中, 本文式 (I) 化合物具有下式 (I-1) 或下式 (I-2) 所示的结构:



式中,

R<sub>1</sub> 选自 H、卤素和硝基;

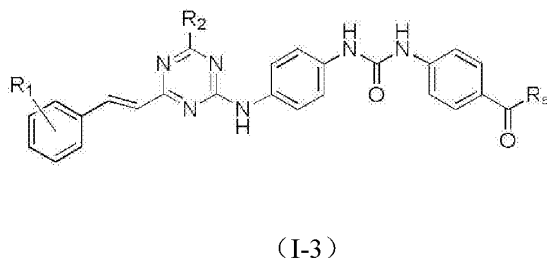
R<sub>2</sub> 选自任选被羟基或 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基取代的吗啉基、吡咯烷基、哌嗪基和氮杂环丁烷基;

和

R<sub>3</sub> 为卤素或 COR<sub>a</sub>; 其中, R<sub>a</sub> 为 OH 或 NR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>, R<sub>7</sub> 和 R<sub>8</sub> 独立选自任选被 NR<sub>9</sub>R<sub>10</sub> 取代的 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基和被 3-(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基)-3H-双吡丙啶基取代的 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基, 或者 R<sub>7</sub> 和 R<sub>8</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的任选被 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基取代的 4 至 6 元饱和杂环; R<sub>9</sub> 和 R<sub>10</sub> 独立选自氢和 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基, 或者 R<sub>9</sub> 和 R<sub>10</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环。

在上述式 (I-2) 的某些实施方案中, R<sub>3</sub> 为卤素。

在某些实施方案中, 本文式 (I) 化合物具有下式 (I-3) 所示的结构:



式中,

R<sub>1</sub> 为 H;

R<sub>2</sub> 为吗啉基;

R<sub>a</sub> 为 OH 或 NR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>, R<sub>7</sub> 和 R<sub>8</sub> 独立选自任选被 NR<sub>9</sub>R<sub>10</sub> 取代的 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基和被 3-(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基)-3H-双吡丙啶基取代的 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基, 或者 R<sub>7</sub> 和 R<sub>8</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的任选被 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基取代的 4 至 6 元饱和杂环; R<sub>9</sub> 和 R<sub>10</sub> 独立选自氢和 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基, 或者 R<sub>9</sub> 和 R<sub>10</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环。

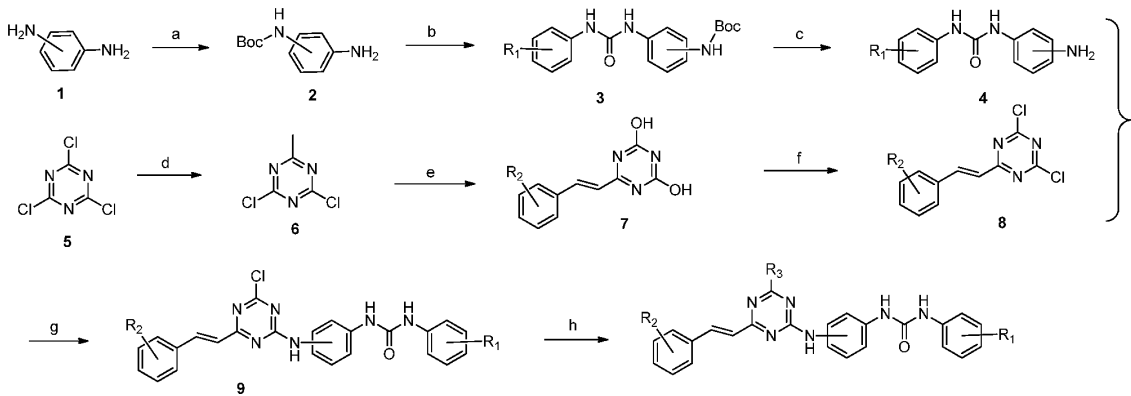
在某些式 (I-1) 的实施方案中, R<sub>1</sub> 选自 H、卤素和硝基; R<sub>2</sub> 为吗啉基; R<sub>3</sub> 为卤素或 COR<sub>a</sub>; 其中, R<sub>a</sub> 为 OH 或 NR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>, R<sub>7</sub> 和 R<sub>8</sub> 独立选自任选被 NR<sub>9</sub>R<sub>10</sub> 取代的 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基和被

3- (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基) -3H-双吡啶基取代的 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基, 或者 R<sub>7</sub> 和 R<sub>8</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的任选被 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基取代的 4 至 6 元饱和杂环; R<sub>9</sub> 和 R<sub>10</sub> 独立选自氢和 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基, 或者 R<sub>9</sub> 和 R<sub>10</sub> 与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环。在某些实施方案中, 这些化合物中, R<sub>1</sub> (为非氢取代基时) 和 R<sub>3</sub> 各自独立位于苯基的间位或对位。在某些实施方案中, 这些化合物中, R<sub>1</sub> 为非氢取代基时, 位于苯基的间位, R<sub>3</sub> 位于苯基的对位。在某些实施方案中, 这些化合物中, 所述饱和杂环包括但不限于哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基和吗啉基。在某些实施方案中, 这些化合物尤其可用于在肿瘤细胞中引起囊泡积聚, 导致细胞巨泡式死亡。

本文的 2,4,6-三取代均三嗪化合物可以采用如下方法进行合成:

10 合成路线 1: 以间苯二胺或对苯二胺 (1) 为起始原料, 用 (Boc)<sub>2</sub>O (二碳酸二叔丁酯) 保护一个氨基得到中间体 2, 其分别与各种类型的取代苯基异氰酸酯反应得到中间体 3, 经三氟乙酸脱去 Boc (叔丁氧羰基) 保护基团得到中间体 4; 三聚氯氰 (5) 与甲基溴化镁 (CH<sub>3</sub>MgBr) 反应制得中间体 6, 在浓盐酸回流条件下, 分别与各种类型的取代苯甲醛反应制得中间体 7, 经三氯氧磷氯代得到 8, 其与 4 在二异丙基乙胺催化作用下得到中间体 9, 9 与吗啉、或甲基哌嗪等杂环胺分别在二异丙基乙胺催化作用下得到目标化合物。

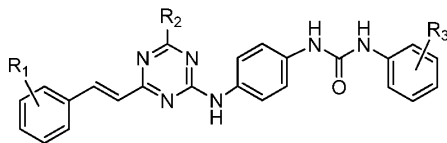
合成路线 1 反应式如下:



其中 R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub> 如前文所述。

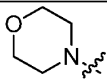
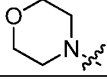
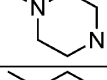
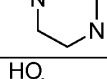
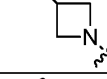
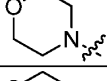
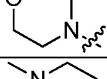
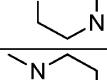
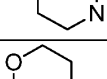
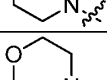
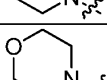
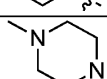
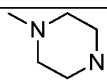
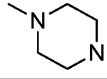
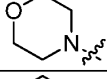
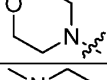
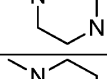
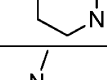
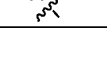
20 上述合成路线反应式中的试剂: (a) 碱, 优选碳酸钾, (Boc)<sub>2</sub>O, 水, 四氢呋喃, DMF; (b) 取代苯基异氰酸酯, 二氯甲烷; (c) 三氟乙酸, 二氯甲烷; (d) 甲基溴化镁的四氢呋喃溶液; (e) 取代苯甲醛, 浓盐酸; (f) 三氯氧磷; (g) 二异丙基乙胺, 四氢呋喃; (h) 杂环胺, 二异丙基乙胺, 四氢呋喃。

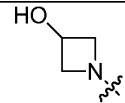
合成路线 1 的目标化合物的结构式可包括:

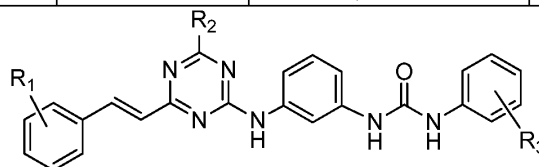


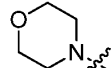
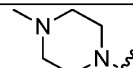
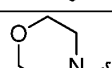
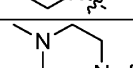
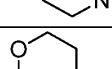
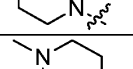
25

|             |                |                |                |
|-------------|----------------|----------------|----------------|
| 编号 (生物测试编号) | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|-------------|----------------|----------------|----------------|

|                  |                   |                                                                                     |      |
|------------------|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------|
| <b>L1 (#50)</b>  | H                 |    | 4-Cl |
| <b>L2 (#52)</b>  | H                 |    | 4-F  |
| <b>L3 (#51)</b>  | H                 |    | 4-Cl |
| <b>L4 (#53)</b>  | H                 |    | 4-F  |
| <b>L5 (#57)</b>  | H                 |    | 4-Cl |
| <b>L6 (#54)</b>  | 3-Cl              |    | 4-Cl |
| <b>L7 (#60)</b>  | 3-Cl              |    | 4-F  |
| <b>L8 (#55)</b>  | 3-Cl              |    | 4-Cl |
| <b>L9 (#61)</b>  | 3-Cl              |   | 4-F  |
| <b>L10 (#43)</b> | 4-Cl              |  | 4-Cl |
| <b>L11 (#45)</b> | 4-Cl              |  | 4-F  |
| <b>L12 (#49)</b> | 4-Cl              |  | 3-F  |
| <b>L13 (#44)</b> | 4-Cl              |  | 4-Cl |
| <b>L14 (#42)</b> | 4-Cl              |  | 4-F  |
| <b>L15 (#48)</b> | 4-Cl              |  | 3-F  |
| <b>L16 (#40)</b> | 3-NO <sub>2</sub> |  | 4-Cl |
| <b>L17 (#62)</b> | 3-NO <sub>2</sub> |  | 4-F  |
| <b>L18 (#41)</b> | 3-NO <sub>2</sub> |  | 4-Cl |
| <b>L19 (#63)</b> | 3-NO <sub>2</sub> |  | 4-F  |
| <b>L20 (#38)</b> | 3-NO <sub>2</sub> |  | 4-Cl |

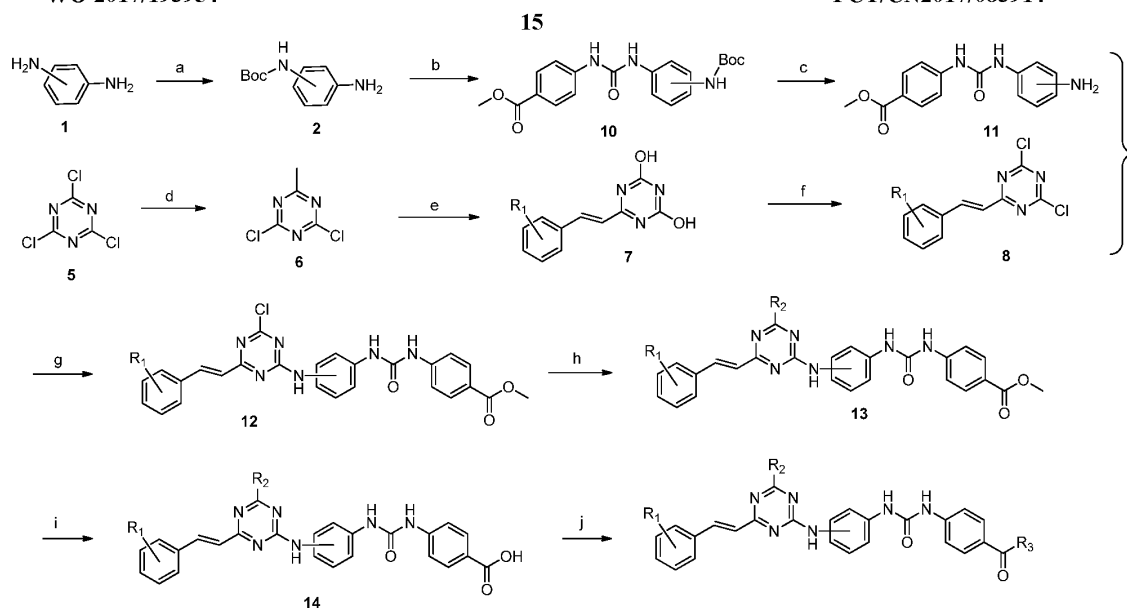
|           |                   |                                                                                   |      |
|-----------|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------|
| L21 (#39) | 3-NO <sub>2</sub> |  | 4-Cl |
| L22 (#58) | 3-NO <sub>2</sub> |  | 4-Cl |



| 编号 (生物测试编号) | R <sub>1</sub>    | R <sub>2</sub>                                                                      | R <sub>3</sub> |
|-------------|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| L23 (#64)   | H                 |    | 4-Cl           |
| L24 (#65)   | H                 |    | 4-Cl           |
| L25 (#59)   | 3-Cl              |    | 4-Cl           |
| L26 (#56)   | 3-Cl              |    | 4-Cl           |
| L27 (#66)   | 3-NO <sub>2</sub> |   | 4-Cl           |
| L28 (#67)   | 3-NO <sub>2</sub> |  | 4-Cl           |

合成路线 2: 以间苯二胺或对苯二胺 (**1**) 为起始原料, 用 (Boc)<sub>2</sub>O 保护一个氨基得到中间体 **2**, 其与对氨基苯甲酸甲酯在三光气作用下反应得到中间体 **10**, 经三氟乙酸脱去 Boc 保护基团得到中间体 **11**; 三聚氯氰 (**5**) 与甲基溴化镁反应制得中间体 **6**, 在浓盐酸回流条件下, 分别与各种类型的取代苯甲醛反应制得中间体 **7**, 经三氯氧磷氯代得到 **8**, 其与 **11** 在二异丙基乙胺催化作用下得到中间体 **12**, 进而与吗啉、或甲基哌嗪等杂环胺分别在二异丙基乙胺催化作用下得到化合物 **13**, 其在氢氧化锂一水合物作用下水解, 经盐酸酸化得到中间体 **14**, 最终在 HOBt (1-羟基苯三氮唑), EDCI[1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐]催化作用下分别与各种胺缩合得到目标化合物。

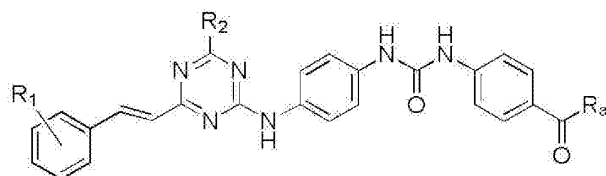
合成路线 2 反应式如下:



其中  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$  如前文所述。

- 上述合成路线反应式中的试剂：（a）碱，优选碳酸钾， $(\text{Boc})_2\text{O}$ ，水，四氢呋喃，DMF；（b）三光气，三乙胺，对氨基苯甲酸甲酯，二氯甲烷；（c）三氟乙酸，二氯甲烷；（d）甲基溴化镁的四氢呋喃溶液；（e）取代苯甲醛，浓盐酸，回流 12 小时；（f）三氯氧磷，回流 16 小时；（g）二异丙基乙胺，四氢呋喃；（h）杂环胺，二异丙基乙胺，四氢呋喃；（i）氢氧化锂一水合物，四氢呋喃，水，浓盐酸；（j）HOBt，EDCI，三乙胺，取代胺，DMF。

合成路线 2 的目标化合物的结构式有如下述例所示：



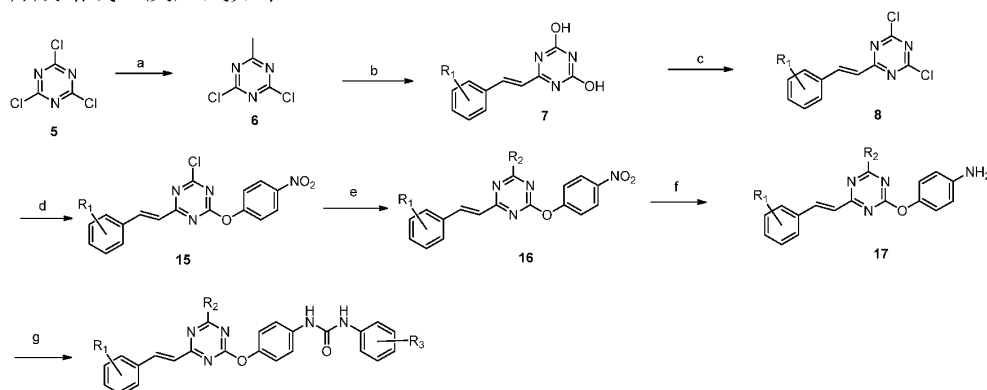
10

| 编号（生物测试编号）       | $R_1$ | $R_2$ | $R_3$ |
|------------------|-------|-------|-------|
| <b>L29 (#70)</b> | H     |       |       |
| <b>L30 (#76)</b> | H     |       |       |
| <b>L31 (#69)</b> | H     |       |       |
| <b>L32 (#73)</b> | H     |       |       |
| <b>L33 (#74)</b> | H     |       |       |

|                  |   |  |  |
|------------------|---|--|--|
| <b>L34 (#77)</b> | H |  |  |
| <b>L35 (#75)</b> | H |  |  |
| <b>L36 (#72)</b> | H |  |  |
| <b>L37 (#71)</b> | H |  |  |

合成路线 3：三聚氯氰（**5**）与甲基溴化镁反应制得中间体 **6**，在浓盐酸回流条件下，分别与各种类型的取代苯甲醛反应制得中间体 **7**，经三氯氧磷氯代得到 **8**，其与对硝基苯酚钠得到中间体 **15**，**15** 与吗啉、或甲基哌嗪等杂环胺分别在二异丙基乙胺催化作用下得到化合物 **16**。化合物 **16** 在铁粉、氯化铵体系中还原得到中间体 **17**，其分别与各种取代苯基异氰酸酯反应，得到目标化合物。

合成路线 3 反应式如下：

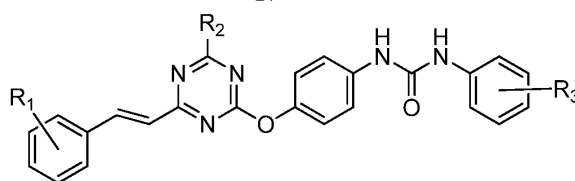


其中  $R_1$ 、 $R_2$  和  $R_3$  如前文所述。在某些实施方案中， $R_1$  为氢；卤素、硝基等吸电基团；烷基、氨基、羟基、羟甲基、胺甲基、氨基酰基等给电基团； $R_2$  为氨基、烷基氨基、芳基氨基、杂芳基氨基； $R_3$  为氢；卤素、硝基等吸电基团；烷基、氨基、羟基、羟甲基、胺甲基等给电基团。

上述合成路线反应式中的试剂：（a）甲基溴化镁的四氢呋喃溶液；（b）取代苯甲醛，浓盐酸，回流 12 小时；（c）三氯氧磷，回流 16 小时；（d）水，四氢呋喃，对硝基苯酚钠；（e）杂环胺，二异丙基乙胺，四氢呋喃；（f）铁粉，氯化铵，乙醇，水，回流 3 小时；（g）取代苯基异氰酸酯，二氯甲烷。

合成路线 3 的目标化合物的结构式有如下述例所示：

17



| 编号 (生物测试编号) | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub>     |
|-------------|----------------|----------------|--------------------|
| L38 (#84)   | H              |                | 4-OCH <sub>3</sub> |
| L39 (#85)   | H              |                | 4-Cl               |
| L40 (#86)   | H              |                | 4-F                |

所述化合物的具体操作步骤在实施例中将加以详细说明。

本领域技术人员可以对上述步骤进行变动以提高收率，他们可据本领域的基本知识确定合成的路线，如选择反应物，溶剂和温度，可以通过各种常规保护基以避免副反应的发生以提高收率。

本文也包括式 (I) 化合物的药学上可接受的盐、前药或溶剂合物。药学上可接受的盐的例子包括无机和有机酸盐，例如盐酸盐、氢溴酸盐、磷酸盐、硫酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、酒石酸盐、马来酸盐、富马酸盐、扁桃酸盐和草酸盐；以及与碱例如钠羟基、三(羟基甲基)胺基甲烷 (TRIS, 胺丁三醇) 和 N-甲基葡糖胺形成的无机和有机碱盐。前药的例子包括含有羧酸的化合物的简单酯；含有羟基的化合物的酯；含有氨基的化合物的亚胺；含有氨基的化合物的氨基甲酸酯；含有醇的化合物的醛缩醇或酮缩醇。

本文还包括含有本文 (I) 化合物的药学上可接受的盐、前药或溶剂合物的药物组合物。药物组合物中还可含有常规用于制备药物组合物的各种药学上可接受的载体。本文中，“药学上可接受的载体”指无活性成分，如固体，半固体，或液体填充剂，稀释剂，包衣材料，制剂佐料，或赋形剂，与本文的化合物合用，一起构成用于给予对象的“药物组合物”。药学上可接受的载体在所用的剂量和浓度对于给药对象而言是无毒的，且与制剂中的其他成分相容。药学上可接受的载体对于所采用的制剂而言是适当的。例如，如果治疗剂将口服给药，则载体可以是凝胶胶囊。如果治疗剂将皮下给药，则理想的是，载体对皮肤无刺激，且不引起注射位点反应。药物组合物可以是任何合适的制剂形式，如片剂、锭剂和胶囊。

通常，药物组合物中含有治疗或预防有效量的本文 (I) 化合物的药学上可接受的盐、前药或溶剂合物。本文中，“有效量”指在疾病的预防或治疗中能有效进行治疗或预防的所述化合物、其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物的量。该“有效量”可根据所给予的活性成分、给药方式、疾病及其严重程度、健康、年龄、体重、家族史、基因组成、病理发展阶段、用药前的和同时进行治疗的类型等，以及待治疗对象的其它个体特征而变化。

本文所公开的化合物对多种不同类型的肿瘤细胞都有较强的抑制作用。因此，本文式 (I) 化合物以及式 (I-1)、(I-2) 和 (I-3) 化合物可用于预防和治疗各种实体瘤和血液肿瘤，包括但不限于肺癌（如非小细胞肺癌），结肠癌，宫颈癌，肝癌，纤维肉瘤，红白血病，前列腺癌，乳腺癌，胰腺癌，卵巢癌，黑色素瘤和脑胶质瘤等。

- 5 本文的一些化合物则可引起肿瘤细胞非凋亡式死亡——巨泡式死亡。这种死亡方式源于该类化合物与细胞中间丝即波形蛋白的特异性结合。因此，本文也涉及使用本文公开的化合物干预涉及波形蛋白功能的病理生理过程以及治疗与之相关的疾病，包括但不限于上皮细胞向间充质细胞的转型，干细胞的分化，肿瘤的浸润性生长、转移、耐药和复发，组织的纤维化，感染性疾病和心血管疾病（如动脉粥样硬化）等。在某些实施方案中，本文
- 10 提供本文所述化合物在制备预防或治疗与波形蛋白调节异常，囊泡形成、转运和分泌，和/或细胞空泡化有关的哺乳动物疾病药物中的应用。进一步地，所述波形蛋白调节异常、囊泡形成、转运和分泌和/或细胞空泡化有关的哺乳动物疾病包括癌症、神经变性疾病、组织的纤维化和动脉粥样硬化。更进一步地，所述的与波形蛋白调节异常、囊泡形成、转运和分泌和/或细胞空泡化有关的哺乳动物疾病包括结肠癌、胰腺癌、卵巢癌、胃癌、乳腺癌、
- 15 甲状腺癌、肝癌、肾癌、肺癌、前列腺癌、肉瘤、胶质瘤等多种不同的实体瘤及白血病、多发性骨髓瘤等。在某些实施方案中，本文所述的感染性疾病包括但不限于病毒感染导致的疾病，例如丙肝病毒、SARS 病毒、HIV 和登革热病毒等感染导致的疾病。

- 因此，在某些实施方案中，本文提供本文式 (I) 所示的化合物、其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物在制备肿瘤治疗或预防药物中的应用。在某些实施方案中，本文提供用于
- 20 治疗或预防肿瘤的式 (I) 所示的化合物、其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物。所述肿瘤如前文所述。

- 在某些实施方案中，本文提供本文式 (I) 所示的化合物、其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物在制备阻止细胞囊泡转移和释放至胞外的药物中的应用，或在制备促进细胞巨泡式死亡的药物中的应用，或在制备治疗或预防波形蛋白介导的疾病的药物中的应用。或者，在某些实施方案中，本文提供用于阻止细胞囊泡转运和释放至胞外、促进细胞巨泡式
- 25 死亡、治疗或预防波形蛋白介导的疾病的本文式 (I) 所示的化合物、其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物。所述波形蛋白介导的疾病尤其包括与上皮细胞向间充质细胞的转型相关的疾病，干细胞的分化，肿瘤的转移、耐药和复发，组织的纤维化和心血管疾病（如动脉粥样硬化）。更进一步地，所述肿瘤包括结肠癌、胰腺癌、卵巢癌、胃癌、乳腺癌、甲状腺癌、肝癌、肾癌、肺癌、前列腺癌、肉瘤、胶质瘤等多种不同的实体瘤及血液肿瘤如白
- 30 血病和多发性骨髓瘤等。

在某些实施方案中，本文还提供一种治疗或预防肿瘤，包括实体瘤和血液肿瘤的方法，所述方法包括给予治疗有效量的本文所述的式 (I) 所示的化合物或其药物组合物。本文还提供阻止细胞囊泡转运和释放至胞外、促进细胞巨泡式死亡或治疗或预防波形蛋白介导的

疾病的方法，所示方法包括给予治疗有效量的本文所述的式 (I) 所示的化合物或其药物组合物。可通过合适的途径给药，以达到其预期目的。例如，可以通过肠外、皮下、静脉、肌肉、腹腔内、透皮、口腔、鞘内、颅内、鼻腔或外用途给药。药的剂量将根据病人的年龄、健康与体重、并行治疗的种类、治疗的频率、以及所需治疗效益来决定。

5

为了更好的说明本发明的技术内容，下面结合具体实例对本发明作进一步阐述，但不限于此。应理解的是，当提及式 (I) 化合物时，包括本文所述的式 (I-1)、(I-2) 和 (I-3) 所示的化合物。实施例中所用到的方法和试剂，除非另有说明，否则为本领域常规的方法和试剂。

10 下述化合物合成的实施例中，常规后处理方法是：反应完成后，在反应液中加入适量的水，分离有机相和水相，合并有机相。如有需要，依次使用 5% HCl 溶液和/或饱和 NaSO<sub>4</sub> 干燥，过滤之后减压选干，得到粗产物，再经过柱层析分离纯化之后得到最终产物。

### 实施例 1: L16 的合成

15 1) 4-((叔丁氧羰基)氨基)苯胺的制备 (2)

对苯二胺 (3.24 g, 30.0 mmol)，碳酸钾 (1.52g, 11.0mmol) 溶于 10 mL DMF 和 5 mL 水中。在室温下，缓慢滴加 (Boc)<sub>2</sub>O (2.18 g, 10.0mmol) 的四氢呋喃 (30 mL) 溶液。滴完后，继续室温搅拌反应 4 小时。反应液倒入 100mL 冰水，二氯甲烷 (200mL) 萃取，依次用水，饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥，蒸干溶剂，硅胶柱层析得到白色  
20 固体 1.79g，产率 86%。

2) 1-(4-氯苯基)-3-(4-((叔丁氧羰基)氨基)苯基)脲的制备 (3)

室温条件下，向中间体 2 (625mg, 3.0 mmol) 的二氯甲烷 (10mL) 溶液中，缓慢滴加对氯苯异氰酸酯 (461mg, 3.0mmol) 的二氯甲烷 (5mL) 溶液，滴定完全后，室温下搅拌 5 小时。反应液直接抽滤，滤饼干燥得到白色固体 977mg，产率 90 %。

25 3) 1-(4-氯苯基)-3-(4-氨基苯基)脲的制备 (4)

室温条件下，向中间体 3 (188mg, 0.52 mmol) 的二氯甲烷 (10mL) 溶液中，缓慢滴加三氟乙酸 (47mg, 4.16mmol) 的二氯甲烷 (5mL) 溶液，滴定完全后，室温下搅拌 3 小时。反应液直接旋干，饱和碳酸钠调节 pH 至弱碱性。乙酸乙酯萃取，依次用水，饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥，蒸干溶剂，得到白色固体 129mg，产率 95 %。<sup>1</sup>H NMR  
30 (300 MHz, DMSO) : δ 8.63 (s, 1H, NH) ; 8.16 (s, 1H, NH) ; 7.45 (d, 2H, J=8.8Hz) ; 7.29 (d, 2H, J=8.8Hz) ; 7.06 (d, 2H, J=8.6Hz) ; 6.50 (d, 2H, J=8.6Hz) ; 4.80 (s, 2H, -NH<sub>2</sub>) 。

4) 2-甲基-4, 6-二氯-1,3,5-三嗪 (6)

在氮气保护，零下 20 度条件下，向三聚氯氰 (1.38g, 7.5mmol) 的 8mL 四氢呋喃溶液中，缓慢滴加甲基溴化镁乙醚溶液 (3mL, 9mmol)，滴完，放置常温搅拌反应 2 小

时, 停止反应。加入 20mL 饱和的氯化铵淬灭反应。用 20mL 乙酸乙酯 20mL 饱和的氯化钠萃取两次, 有机相用无水硫酸钠干燥。硅胶柱层析得到白色固体 615mg, 产率为 50%。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>)。

5) 2,4-二羟基-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪 (7)

- 5 中间体 6 (1.60g, 9.76 mmol), 3-硝基苯甲醛 (1.47g, 9.76 mmol) 溶于 30mL 浓盐酸中, 加热至 100 度, 继续搅拌反应 12 小时。停止反应, 降到室温, 反应液倒入 60mL 冰水, 抽滤, 依次用 10mL 乙酸乙酯, 10mL 水石油醚洗涤, 滤饼干燥得到白色粗品 2.01 g, 产率 79.2 %。

6) 2,4-二氯-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪 (8)

- 10 中间体 7 (960mg, 3.69 mmol), 三氯氧磷 (10mL) 混合液, 加热至 140 度, 继续搅拌反应 19 小时。停止反应, 降到室温, 将反应液旋干, 剩余物倒入 60mL 冰水, 60mL 乙酸乙酯萃取, 依次用水, 饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥, 蒸干溶剂, 硅胶柱层析得到白色固体 660mg, 产率 60.2%。

7) 1-(4-氯苯基)-3-(4-氯-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲 (9)

- 15 在氮气保护条件下, 中间体 4 (342mg, 1.15mmol)、中间体 8 (300mg, 1.15mmol) 和二异丙基乙胺 (149mg, 1.15mmol) 溶于 50mL 四氢呋喃中, 室温搅拌反应 5 小时, 反应结束后, 旋掉一半溶剂, 剩余物倒入 60mL 水中, 120mL 乙酸乙酯萃取, 依次用水, 饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥, 蒸干溶剂, 加入 2mL 无水乙醇, 超声 30 秒, 抽滤, 滤饼干燥得到粗品 522mg, 收率 86.9%。

- 20 8) 1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲 (L16)

- 在氮气保护条件下, 中间体 9 (270mg, 0.52mmol)、吗啉 (181mg, 2.08mmol) 和二异丙基乙胺 (202mg, 1.56mmol) 溶于 60mL 四氢呋喃中, 室温搅拌反应 4 小时, 反应结束后, 旋掉一半溶剂, 剩余物倒入 100mL 水中, 100mL 乙酸乙酯萃取, 依次用水, 饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥, 蒸干溶剂, 加入 1mL 无水乙醇, 超声 30 秒, 抽滤, 滤饼干燥得到淡黄色固体 206mg, 收率 69.0%。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) : δ 9.46 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.10 (d, J = 8.0Hz, 2H), 7.95 (d, J = 15.9Hz, 1H), 7.62 (d, J = 8.0Hz, 2H), 7.53 -7.58 (m, 1H), 7.39 (d, J = 8.6Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.6Hz, 2H), 7.21 (d, J = 8.6Hz, 2H), 6.95 (d, J = 15.9Hz, 1H), 3.73 (m, 4H), 3.59 (m, 4H) ppm。

- 30 HRMS calcd for C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 573.1760, found 573.1750。

## 实施例 2: L31 的合成

### 1) 4-((叔丁氧羰基)氨基)苯胺的制备 (2)

对苯二胺 (3.24 g, 30.0 mmol), 碳酸钾 (1.52g, 11.0mmol) 溶于 10 mL DMF 和 5 mL

水中。在室温下，缓慢滴加 (Boc)<sub>2</sub>O (2.18 g, 10.0mmol) 的四氢呋喃 (30 mL) 溶液。滴完后，继续室温搅拌反应 4 小时。反应液倒入 100mL 冰水，二氯甲烷 (200mL) 萃取，依次用水，饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥，蒸干溶剂，硅胶柱层析得到白色固体 1.79g，产率 86%。

5        2) 4-(3-(4-((叔丁氧羰基)氨基)苯基)脲)苯甲酸甲酯的制备 (10)

冰浴条件下，向三光气 (980.1mg, 3.3 mmol) 的二氯甲烷 (10mL) 溶液中，缓慢滴加对氨基苯甲酸甲酯 (500mg, 3.3mmol) 的二氯甲烷 (5mL) 溶液，滴定完全后，继续滴加三乙胺 (667mg, 6.6mmol) 的二氯甲烷 (5mL) 溶液，滴加完成后，将反应液中的溶剂旋干，重新加入二氯甲烷 (20mL)，将中间体 2 (618mg, 2.97mmol) 加入，室温下搅拌 5  
10 小时。反应液加入饱和碳酸钠，调节 pH 至弱碱性，用乙酸乙酯萃取，依次用水，饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥，蒸干溶剂，用体积比乙酸乙酯/石油醚=1/4 洗涤，抽滤，滤饼干燥得到白色固体 600mg，产率 52.4 %。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.20 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 7.88 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.58 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.41–7.30 (m, 4H), 3.82 (s, 3H), 1.47 (s, 9H) ppm。

15        3) 4-(3-(4-氨基苯基)脲)苯甲酸甲酯的制备 (11)

室温条件下，向中间体 10 (200mg, 0.52 mmol) 的二氯甲烷 (10mL) 溶液中，缓慢滴加三氟乙酸 (474mg, 4.16mmol) 的二氯甲烷 (5mL) 溶液，滴定完全后，室温下搅拌 3 小时。反应液直接旋干，饱和碳酸钠调节 pH 至弱碱性。乙酸乙酯萃取，依次用水，饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥，蒸干溶剂，得到白色固体 141mg，产率 95 %。<sup>1</sup>H  
20 NMR (300 MHz, DMSO) : δ 8.63 (s, 1H); 8.16 (s, 1H); 7.45 (d, J = 8.8 Hz, 2H); 7.29 (d, J = 8.8 Hz, 2H); 7.06 (d, 8.6 Hz, 2H); 6.50 (d, J = 8.6 Hz, 2H); 4.80 (s, 2H), 3.82 (s, 3H)。

4) 2-甲基-4,6-二氯-1,3,5-三嗪 (6)

在氮气保护，零下 20 度条件下，向三聚氯氰 (1.38g, 7.5mmol) 的 8mL 四氢呋喃溶液  
25 中，缓慢滴加甲基溴化镁乙醚溶液 (3mL, 9mmol)，滴完，放置常温搅拌反应 2 小时，停止反应。加入 20mL 饱和的氯化铵淬灭反应。用 20mL 乙酸乙酯 20mL 饱和的氯化钠萃取两次，有机相用无水硫酸钠干燥。硅胶柱层析得到白色固体 615mg，产率为 50%。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>)。

5) 2,4-二羟基-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪 (7)

中间体 6 (1.60g, 9.76 mmol)，苯甲醛 (1.04g, 9.76 mmol) 溶于 30mL 浓盐酸中，  
30 加热至 100 度，继续搅拌反应 12 小时。停止反应，降到室温，反应液倒入 60mL 冰水，抽滤，依次用 10mL 乙酸乙酯，10mL 水石油醚洗涤，滤饼干燥得到白色粗品 1.66 g，产率 79.2 %。

6) 2,4-二氯-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪 (8)

中间体 7 (794mg, 3.69 mmol)，三氯氧磷 (10mL) 混合液，加热至 140 度，继续搅

拌反应 19 小时。停止反应，降到室温，将反应液旋干，剩余物倒入 60mL 冰水，60mL 乙酸乙酯萃取，依次用水，饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥，蒸干溶剂，硅胶柱层析得到白色固体 560mg，产率 60.2%。

5 7) 1-(4-(甲氧基羰基)苯基)-3-(4-氯-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲 (12)

在氮气保护条件下，中间体 11 (441mg, 1.75mmol)、中间体 8 (500mg, 1.75mmol) 和二异丙基乙胺 (226mg, 1.75mmol) 溶于 50mL 四氢呋喃中，室温搅拌反应 5 小时，反应结束后，旋掉一半溶剂，剩余物倒入 60mL 水中，120mL 乙酸乙酯萃取，依次用水，饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥，蒸干溶剂，加入 2mL 无水乙醇，超声 30 秒，抽滤，滤饼干燥得到粗品 762mg，收率 86.9%。

10 8) 1-(4-(甲氧基羰基)苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲 (13)

在氮气保护条件下，中间体 12 (840mg, 1.68mmol)、吗啉 (584mg, 6.72mmol) 和二异丙基乙胺 (651mg, 5.04mmol) 溶于 60mL 四氢呋喃中，室温搅拌反应 4 小时，反应结束后，旋掉一半溶剂，剩余物倒入 100mL 水中，100mL 乙酸乙酯萃取，依次用水，饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥，蒸干溶剂，加入 1mL 无水乙醇，超声 30 秒，抽滤，滤饼干燥得到淡黄色固体 639mg，收率 69.0%。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  9.61 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 7.95 (d,  $J$  = 15.9 Hz, 1H), 7.89 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 7.75 – 7.64 (m, 4H), 7.60 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 7.42 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 5H), 6.89 (d,  $J$  = 15.9 Hz, 1H), 3.82 (s, 7H), 3.69 (s, 4H) ppm。

20 9) 4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲)苯甲酸的制备 (14)

在室温条件下，中间体 13 (300mg, 0.54mmol)、氢氧化锂一水合物 (68.5mg, 1.63mmol) 溶于四氢呋喃 (10mL)、甲醇 (5mL) 和水 (1mL) 中，加热至回流，继续搅拌反应 12 小时，反应结束后，抽滤，滤饼用 2M 盐酸调节 pH 至 4，抽滤，滤饼干燥，加入 1mL 无水乙醇，超声 30 秒，抽滤，滤饼干燥得到淡黄色固体 171mg，收率 59.0%。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  12.33 (s, 1H), 9.59 (s, 1H), 9.41 (s, 1H), 9.09 (s, 1H), 7.94 (d,  $J$  = 15.9 Hz, 1H), 7.88 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.77 – 7.63 (m, 4H), 7.59 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.51 – 7.36 (m, 5H), 6.89 (d,  $J$  = 15.9 Hz, 1H), 3.83 (s, 4H), 3.69 (s, 4H) ppm。

30 10) 1-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)甲酰基)苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲 (L31)

在室温条件下，依次按照下列顺序将中间体 14 (100mg, 0.186mmol)、HOBt (32.7mg, 0.242mmol)、DMF (2mL)、EDCI (53.5mg, 0.279mmol)、4-甲基哌嗪 (24.2mg, 0.242mmol) 和三乙胺 (37.6mg, 0.372mmol) 加入 25mL 反应瓶中，继续搅拌反应 8 小时，反应结束后，

反应液倒入 10mL 冰水, 二氯甲烷 (20mL) 萃取, 依次用水, 饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥, 蒸干溶剂, 硅胶柱层析得到淡黄色固体 87.6mg, 产率 76%。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) :  $\delta$  9.60 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 7.95 (d,  $J$  = 15.9Hz, 1H), 7.65 - 7.72 (m, 4H), 7.52 (d,  $J$  = 8.5Hz, 2H), 7.41 - 7.43 (m, 5H), 7.34 (d,  $J$  = 8.5Hz, 2H), 6.89 (d,  $J$  = 15.9Hz, 1H) 3.83 (m, 4H), 3.69 (m, 4H), 3.50 (m, 4H), 2.33 (m, 4H), 2.21 (s, 3H) ppm。<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 169.98, 168.92, 164.41, 152.41, 141.17, 138.65, 135.20, 134.18, 134.09, 129.45, 128.91, 128.55, 128.18, 127.76, 127.14, 120.57, 118.71, 117.30, 65.96, 54.78, 53.58, 47.60, 45.50, 43.38. HRMS calcd for C<sub>34</sub>H<sub>38</sub>N<sub>9</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 620.3092, found 620.3105。

10

### 实施例 3: L39 的合成

#### 1) 2-甲基-4,6-二氯-1,3,5-三嗪 (6)

在氮气保护, 零下 20 度条件下, 向三聚氯氰 (1.38g, 7.5mmol) 的 8mL 四氢呋喃溶液  
中, 缓慢滴加甲基溴化镁乙醚溶液 (3mL, 9mmol), 滴完, 放置常温搅拌反应 2 小时,  
15 停止反应。加入 20mL 饱和的氯化铵淬灭反应。用 20mL 乙酸乙酯 20mL 饱和的氯化钠萃取  
两次, 有机相用无水硫酸钠干燥。硅胶柱层析得到白色固体 615mg, 产率为 50%。<sup>1</sup>H NMR  
(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 2.71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>)。

#### 2) 2,4-二羟基-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪 (7)

中间体 6 (1.60g, 9.76 mmol), 3-硝基苯甲醛 (1.47g, 9.76 mmol) 溶于 30mL 浓盐酸  
20 中, 加热至 100 度, 继续搅拌反应 12 小时。停止反应, 降到室温, 反应液倒入 60mL 冰水,  
抽滤, 依次用 10mL 乙酸乙酯, 10mL 水石油醚洗涤, 滤饼干燥得到白色粗品 2.01 g, 产率  
79.2 %。

#### 3) 2,4-二氯-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪 (8)

中间体 7 (960mg, 3.69 mmol), 三氯氧磷 (10mL) 混合液, 加热至 140 度, 继续搅  
25 拌反应 19 小时。停止反应, 降到室温, 将反应液旋干, 剩余物倒入 60mL 冰水, 60mL 乙  
酸乙酯萃取, 依次用水, 饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥, 蒸干溶剂, 硅胶柱  
层析得到白色固体 660mg, 产率 60.2%。

#### 4) 2-氯-4-(4-硝基苯氧基)-6-(苯乙烯基)-1,3,5-三嗪 (15)

在氮气保护条件下, 中间体 8 (78mg, 0.31mmol) 溶于 5mL 四氢呋喃, 对硝基苯酚钠  
30 (50mg, 0.31mmol) 溶于 5mL 水, 将对硝基苯酚钠水溶液缓慢滴到中间体 8 的混合液中,  
室温搅拌反应 3 小时, 反应结束后, 旋掉一半溶剂, 剩余物倒入 20mL 水中, 50mL 乙酸乙  
酯萃取, 依次用水, 饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥, 蒸干溶剂, 加入 0.5mL  
无水乙醇, 超声 30 秒, 抽滤, 滤饼干燥得到粗品 84mg, 收率 76.9%。

#### 5) 2-(吗啉-1-基)-4-(4-硝基苯氧基)-6-(苯乙烯基)-1,3,5-三嗪 (16)

在氮气保护条件下, 中间体 **15** (84mg, 0.24mmol)、吗啉 (63mg, 0.72mmol) 和二异丙基乙胺 (93mg, 0.72mmol) 溶于 15mL 四氢呋喃中, 室温搅拌反应 4 小时, 反应结束后, 旋掉一半溶剂, 剩余物倒入 30mL 水中, 30mL 乙酸乙酯萃取, 依次用水, 饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥, 蒸干溶剂, 加入 0.5mL 无水乙醇, 超声 30 秒, 抽滤, 滤饼干燥得到淡黄色固体 84mg, 收率 86.0%。

6) 4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪-2-氧)-苯胺 (**17**)

铁粉 (100mg, 1.79mmol), 氯化铵 (40mg, 0.74mmol) 溶于 10mL 乙醇水溶液 (乙醇和水体积比 8:2) 中, 加热至回流, 将中间体 **16** (100mg, 0.247mmol) 快速加到上述反应液中, 继续回流反应 2 小时, 反应结束后, 抽滤, 将滤液中乙醇旋掉, 剩余物倒入 30mL 水中, 30mL 乙酸乙酯萃取, 依次用水, 饱和食盐水洗涤。收集有机相, 无水硫酸钠干燥, 制砂, 过柱, 洗脱液为石油醚: 乙酸乙酯=3:1。得到纯品 85mg, 收率 91.5%。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO):  $\delta$  7.95 (d,  $J$  = 15.9 Hz, 1H), 7.73 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 7.43 – 7.41 (m, 3H), 6.92 (d,  $J$  = 15.9 Hz, 1H), 6.87 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 6.58 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 5.04 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.66-3.60 (m, 4H) ppm.

7) (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-基)氧)苯基)脲 (**L39**)

室温条件下, 向中间体 **17** (92.5mg, 0.246 mmol) 的二氯甲烷 (5mL) 溶液中, 缓慢滴加对氯苯异氰酸酯 (37.8mg, 0.346mmol) 的二氯甲烷 (3mL) 溶液, 滴定完全后, 室温下搅拌 5 小时。反应液直接抽滤, 滤饼干燥得到白色固体 117mg, 产率 90 %。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  8.86 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 7.96 (d,  $J$  = 15.9Hz, 1H), 7.73-7.11 (m, 2H), 7.52-7.45 (m, 4H), 7.42-7.40 (m, 3H), 7.34 (d,  $J$  = 8.7Hz, 2H), 7.17 (d,  $J$  = 8.7Hz, 2H), 6.93 (d,  $J$  = 15.9Hz, 1H), 3.89 (s, 2H), 3.67 (s, 2H), 3.60 (s, 4H) ppm.

**实施例 4:** 化合物 L1-L15、L17-L30、L32-L38 和 L40 的制备

采用实施例 1 相同的方法和相应的材料制备化合物 L1-L15 和 L17-L28; 采用实施例 2 相同的方法和相应的材料制备化合物 L29-L30 和 L32-L37; 采用实施例 3 相同的方法和相应的材料制备化合物 L38 和 L40。所得化合物的相关数据如下所示:

**L1 (#50):**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  9.57 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 7.93 (d,  $J$  = 15.9Hz, 1H), 7.70 (d,  $J$  = 8.7Hz, 2H), 7.65 (d,  $J$  = 8.7Hz, 2H), 7.49 (d,  $J$  = 8.7Hz, 2H), 7.43-7.38 (m, 5H), 7.32 (d,  $J$  = 8.7Hz, 2H), 6.88 (d,  $J$  = 15.9Hz, 1H), 3.82 (m, 4H), 3.68 (m, 4H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  169.99, 164.43, 163.80, 152.46, 138.83, 138.63, 135.22, 134.17, 134.11, 129.44, 128.90, 128.55, 127.76, 127.16, 125.13, 120.58, 119.58, 118.75, 65.96, 43.37. HRMS calcd for C<sub>28</sub>H<sub>27</sub>ClN<sub>7</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 528.1909; found 528.1918.

**L2 (#52) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.65 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.66(s, 1H), 7.95(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.71 (d, *J* = 6.6Hz, 2H), 7.62 (d, *J* = 8.5Hz, 2H), 7.48 -7.38(m, 7H), 7.11 (t, *J* = 8.5Hz, 2H), 6.90(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.82 (m, 4H ),3.69 (m, 4H) ppm. HRMS calcd for C<sub>28</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>7</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>,  
5 512.2205,found 512.2215.

**L3 (#51)**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.53 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.61(s, 1H), 7.93(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.71 (d, *J* = 8.7Hz, 2H), 7.66 (d, *J* = 8.7Hz, 2H), 7.50 (d, *J* = 8.7Hz, 2H), 7.44 -7.39(m, 5H), 7.32 (d, *J* = 8.7Hz, 2H), 6.88(d, *J* = 15.9Hz, 1H),3.83 (m, 4H ), 2.39 (m, 4H), 2.23(s, 3H) ppm.  
10 <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 169.99, 164.28, 163.80, 152.47, 138.83, 138.51, 135.24, 134.25, 134.05, 129.40, 128.89, 128.55, 127.75, 127.27, 125.12, 120.52, 119.57, 118.76, 54.34, 45.74, 42.73. HRMS calcd for C<sub>29</sub>H<sub>30</sub>ClN<sub>8</sub>O [M+H]<sup>+</sup>,541.2175,found 541.2190.

**L4 (#53) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.55 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.56(s, 1H), 7.92(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.70 (d, *J* = 6.6Hz, 2H), 7.64 (d, *J* = 8.5Hz, 2H), 7.48 -7.38(m, 7H), 7.12 (t, *J* = 8.5Hz, 2H), 6.88(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.83 (m, 4H ), 2.39 (m, 4H), 2.23(s,3H) ppm. HRMS calcd for C<sub>29</sub>H<sub>30</sub>FN<sub>8</sub>O [M+H]<sup>+</sup>,525.2521,found 525.2534.

**L5 (#57) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.56 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.68(s, 1H), 8.50(s, 1H), 8.22 (d, *J* = 8.0Hz, 2H), 7.98(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.74 -7.69(m, 3H), 7.49 (d, *J* = 8.0Hz, 2H), 7.39 (d, *J* = 8.7Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.7Hz, 2H), 7.08(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 5.78 (d, *J* = 6.6Hz, 1H), 4.61-4.59 (m, 1H ), 4.37-4.32 (m, 2H ), 3.90-3.86 (m, 2H ) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 169.8, 165.4, 163.5, 152.5, 138.6, 135.2, 134.4, 133.9, 129.4, 128.9, 128.6, 127.8, 127.2, 125.1, 120.3, 119.5, 118.7, 60.9, 59.2. HRMS calcd for C<sub>27</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>7</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>,514.1753,  
25 found 514.1765.

**L6 (#54) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.56 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.90 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.66 (d, *J* = 9.0 Hz, 3H), 7.50 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.43 (dd, *J* = 13.2, 6.6 Hz, 4H), 7.33 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.96 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 3.82 (m, 4H ),3.69 (m, 4H) ppm.  
30 HRMS calcd for C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>7</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 562.1520, found 562.1505.

**L7 (#60) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.56 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.70(s, 1H), 7.91(d, *J* = 15.9Hz, 1H) 7. 81 (s, 1H), 7.63 -7.69(m, 3H), 7.44 -7.49(m, 4H) ,7.40 (d, *J* = 8.8Hz, 2H), 7.12 (t, *J* = 8.8Hz, 2H), 6.95(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.82(m, 4H ),3.69(m, 4H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz,

DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 169.74, 164.37, 163.83, 158.75, 155.60, 152.72, 137.54, 137.07, 136.23, 134.43, 133.91, 133.72, 130.63, 129.00, 127.36, 126.32, 120.67, 119.72, 119.62, 118.55, 115.33, 115.03, 65.95, 43.35. HRMS calcd for C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>Cl FN<sub>7</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 546.1815, found 546.1821.

**L8 (#55) :**

5 <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.56 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.90 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.66 (d, *J* = 9.0 Hz, 3H), 7.50 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.43 (dd, *J* = 13.2, 6.6 Hz, 4H), 7.33 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.96 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 3.84 (m, 4H), 2.39 (m, 4H), 2.23 (s, 3H). <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 169.75, 164.23, 163.84, 152.47, 138.83, 137.57, 136.96, 134.19, 134.10, 133.71, 130.63, 128.98, 128.55, 127.37, 127.31, 125.13, 120.59, 119.59, 118.78, 10 54.34, 45.73, 42.74. HRMS calcd for C<sub>29</sub>H<sub>29</sub> Cl<sub>2</sub>N<sub>8</sub>O [M+H]<sup>+</sup>, 575.1836, found 575.1840.

**L9 (#61) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.50 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 7.89 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.63 - 7.69 (m, 3H), 7.44 - 7.49 (m, 4H), 7.39 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.12 (t, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.95 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 3.84 (m, 4H), 2.39 (m, 4H), 2.23 (s, 3H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 169.7, 164.2, 163.8, 158.8, 155.6, 152.8, 137.5, 136.9, 134.3, 133.7, 15 130.6, 129.0, 127.4, 126.3, 120.6, 119.8, 119.7, 118.6, 115.4, 115.1, 54.3, 45.7, 42.7. HRMS calcd for C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>Cl FN<sub>8</sub>O [M+H]<sup>+</sup>, 559.2131, found 559.2144.

**L10 (#43) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 10.46 (s, 1H), 10.22 (s, 1H), 9.52 (s, 1H), 7.90 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.53 - 7.61 (m, 4H), 7.44 - 7.52 (m, 4H), 7.28 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 3.83 (m, 4H), 3.68 (m, 4H) ppm. HRMS calcd for C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>7</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 562.152, found 562.1517.

**L11 (#45) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.6 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.88 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.63 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.43 - 7.49 (m, 4H), 7.38 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.11 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 3.82 (m, 4H), 3.68 (m, 4H) ppm. HRMS calcd for C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>Cl FN<sub>7</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 546.1815, found 546.1822.

**L12 (#49) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.60 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.91 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.53 - 7.58 (m, 1H), 7.39 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.31 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.21 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.95 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 3.73 (m, 4H), 3.59 (m, 4H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 169.8, 164.0, 152.4, 141.8, 141.6, 137.3, 134.2, 134.0, 133.9, 130.3, 130.2, 129.5, 128.9, 120.6, 118.8, 113.7, 108.0, 107.8, 104.8, 104.5, 65.9, 43.3. HRMS calcd for C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>Cl FN<sub>7</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 546.1815, found 546.1823.

**L13 (#44) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.50 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 7.89(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 8.6Hz, 2H), 7.64 (d, *J* = 8.6Hz, 2H), 7.46 -7.50(m, 4H), 7.39 (d, *J* = 8.9Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.9Hz, 1H) , 6.91(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.83(m, 4H ), 2.38 (m, 4H), 2.23 (s, 3H)ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 169.9, 164.5, 163.8, 152.5, 138.9, 137.1, 134.2, 133.8, 129.5, 128.9, 128.6, 128.1, 125.1, 120.5, 119.5, 118.7, 54.3, 45.7, 42.7. HRMS calcd for C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>8</sub>O [M+H]<sup>+</sup>, 575.1836, found 575.1837.

**L14 (#42) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.51 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 7.89(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.6Hz, 2H), 7.64 (d, *J* = 8.6Hz, 2H), 7.51 -7.47(m, 4H), 7.39 (d, *J* = 8.9Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.9Hz, 1H) , 6.91(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.85(m, 4H ), 2.38 (m, 4H), 2.25 (s, 3H)ppm. HRMS calcd for C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>Cl FN<sub>8</sub>O [M+H]<sup>+</sup>, 559.2131, found 559.2134.

**L15 (#48) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.61 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 7.95(d, *J* = 15.9Hz, 1H) , 7.89 (d, *J* = 8.8Hz, 2H), 7.66 -7.72(m, 4H), 7.60 (d, *J* = 8.8Hz, 2H), 7.39 -7.44(m, 4H) , 6.89(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.82(m, 4H ), 3.82(s, 3H ), 3.69 (m, 4H)ppm. <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 164.2, 163.8, 160.8, 152.4, 141.7, 137.2, 134.2, 134.0, 133.8, 130.3, 130.2, 129.5, 118.7, 113.7, 107.7, 104.8, 104.4, 54.0, 45.3, 42.3. HRMS calcd for C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>ClFN<sub>8</sub>O [M+H]<sup>+</sup>, 559.2131, found 559.2136.

**L17 (#62) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.58 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.22 (d, *J* = 8.0Hz, 2H), 8.06(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.74(d, *J* = 8.0Hz, 1H) , 7.63 -7.69(m, 2H) , 7.44 -7.49(m, 2H) , 7.40 (d, *J* = 8.8Hz, 2H), 7.13 (d, *J* = 8.8Hz, 2H), 7.07 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.84(m, 4H ), 3.70 (m, 4H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 164.33, 163.86, 158.69, 152.79, 148.33, 137.14, 136.31, 134.58, 133.76, 133.56, 130.31, 130.13, 123.60, 122.39, 120.71, 119.57, 119.46, 118.39, 115.32, 115.03, 65.96, 43.36. HRMS calcd for C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>FN<sub>8</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 557.2056, found 557.2060.

**L18 (#41) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.53 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.66(s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.20 (d, *J* = 7.6Hz, 2H), 8.03(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.73 -7.64(m, 3H), 7.50 (d, *J* = 8.5Hz, 2H), 7.41 (d, *J* = 8.5Hz, 2H), 7.31 (d, *J* = 8.5Hz, 2H), 7.05 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.84 (m, 4H ), 2.39 (m, 4H), 2.23(s, 3H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 169.53, 164.18, 163.86, 152.48, 148.31, 138.85, 137.15, 136.20, 134.16, 133.55, 130.28, 128.53, 125.09, 123.58, 122.37, 120.60, 119.56, 118.74, 54.33, 45.72, 42.72. HRMS calcd for C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>ClN<sub>9</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 586.2076, found 586.2082.

**L19 (#63) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.52 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.22 (d, *J* = 8.0Hz, 2H), 8.04 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 8.0Hz, 1H), 7.64-7.69 (m, 2H), 7.44-7.49 (m, 2H), 7.40 (d, *J* = 8.8Hz, 2H), 7.13 (d, *J* = 8.8Hz, 2H), 7.06 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.85 (m, 4H), 2.40 (m, 4H), 2.24 (s, 3H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 169.6, 164.2, 158.8, 152.7, 148.3, 137.2, 136.2, 134.3, 134.0, 133.6, 130.3, 123.6, 122.4, 120.6, 119.8, 119.7, 118.7, 115.4, 115.1, 54.4, 45.7, 42.7. HRMS calcd for C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>FN<sub>9</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 570.2372, found 570.2384.

**L20 (#38) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.50 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.21 (dd, *J* = 8.0Hz, *J* = 1.8Hz, 2H), 8.03 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.74-7.69 (m, 3H), 7.49 (d, *J* = 8.9Hz, 2H), 7.40 (d, *J* = 8.9Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.5Hz, 2H), 7.06 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.23-3.17 (m, 6H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 169.19, 164.90, 163.64, 152.48, 148.35, 138.86, 137.19, 135.97, 134.36, 133.98, 133.59, 130.32, 128.55, 125.09, 123.56, 122.29, 120.41, 119.56, 118.74, 35.86. HRMS calcd for C<sub>28</sub>H<sub>24</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 531.1654, found 531.1667.

**L21 (#39) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.49 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.21 (dd, *J* = 8.0Hz, *J* = 1.8Hz, 2H), 8.01 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.77-7.69 (m, 3H), 7.49 (d, *J* = 8.9Hz, 2H), 7.39 (d, *J* = 8.9Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.5Hz, 2H), 7.06 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.62-3.57 (m, 4H), 1.96-1.94 (m, 4H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 162.87, 152.47, 148.35, 138.85, 137.19, 134.55, 133.83, 133.61, 130.33, 128.55, 125.09, 123.55, 122.24, 120.21, 119.55, 118.75, 45.99, 24.76. HRMS calcd for C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 557.1811, found 557.1816.

**L22 (#58) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.56 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.22 (d, *J* = 8.0Hz, 2H), 7.98 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.68-7.74 (m, 3H), 7.49 (d, *J* = 8.8Hz, 2H), 7.39 (d, *J* = 8.8Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.8Hz, 2H), 7.08 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 5.78 (d, *J* = 6.6Hz, 1H), 4.58-4.61 (m, 1H), 4.32-4.37 (m, 2H), 3.86-3.90 (m, 2H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 169.36, 165.26, 163.55, 152.51, 148.31, 138.88, 137.09, 136.14, 134.29, 134.05, 133.65, 130.27, 128.54, 125.06, 123.57, 122.25, 120.42, 119.49, 118.67, 60.93, 59.23. HRMS calcd for C<sub>27</sub>H<sub>24</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 559.1604, found 559.1609.

**L23 (#64) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.63 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.01 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.69-7.71 (m, 2H), 7.49 (d, *J* = 8.8Hz, 2H), 7.39 (m, 3H), 7.33 (d, *J* = 8.8Hz, 2H), 7.25-7.16 (m, 2H), 6.93 (m, 1H), 6.89 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.87 (m, 4H), 3.69 (m, 4H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 170.09, 164.44, 163.90, 152.30, 140.28, 139.66, 138.92,

138.71, 135.25, 129.42, 128.85, 128.55, 127.77, 127.06, 125.28, 119.68, 113.68, 112.19, 109.91, 66.03, 43.41. HRMS calcd for  $C_{28}H_{27}ClN_7O_2 [M+H]^+$ , 528.1909, found 528.1916.

**L24 (#65) :**

1H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.58 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.34 (s, 1H)  
5 8.00 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.69 -7.71(m, 2H) 7.50 (d, *J* = 8.8Hz, 2H) 7.38 (m, 3H) 7.32 (d, *J* =  
8.8Hz, 2H) 7.18 -7.21(m, 2H) ,6.94(m, 1H), 6.89 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.87 (m, 4H ),2.39 (m, 4H),  
2.23 (s, 3H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 170.1, 164.3, 163.9, 152.3, 140.3, 139.7,  
138.8, 135.3, 129.4, 128.8, 128.6, 128.5, 127.8, 127.1, 125.2, 119.6, 113.6, 112.1, 109.9, 54.5,  
45.8, 42.8. HRMS calcd for  $C_{29}H_{30}ClN_8O [M+H]^+$ , 541.2226, found 541.2236.

**L25 (#59) :**

1H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.64 (s, 1H), 8.82(s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.31 (s, 1H) 7.98  
(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.68(d, *J* = 7.0Hz, 1H), 7.43 -7.50(m, 4H), 7.32 (d, *J* = 8.8Hz,  
2H), 7.16 -7.26(m, 2H) , 6.96 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 7.0Hz, 1H), 3.88 (m, 4H ), 3.69 (m,  
4H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 169.84, 164.38, 163.91, 152.30, 140.20, 139.67,  
15 138.72, 137.55, 137.36, 133.71, 130.57, 129.01, 128.76, 128.61, 128.53, 127.32, 126.37, 125.25,  
119.62, 113.72, 112.23, 109.94, 66.02, 43.40. HRMS calcd for  $C_{28}H_{26}Cl_2N_7O_2 [M+H]^+$ , 562.1520,  
found 562.1530.

**L26 (#56) :**

1H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.62 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.52(s, 1H) 8.  
20 34 (s, 1H) 8.22 (d, *J* = 8.0Hz, 2H), 8.12 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.67(t, *J* = 7.0Hz, 1H), 7.50 (d, *J* =  
8.0Hz, 2H), 7.17 -7.34(m, 4H) , 7.06 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 6.94 (t, *J* = 7.0Hz, 1H), 3.91 (m,  
4H ),2.41 (m, 4H), 2.25(s, 3H)ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 169.8, 164.2, 163.9, 152.3,  
140.3, 139.7, 138.7, 137.6, 137.2, 133.7, 130.6, 129.0, 128.9, 128.6, 127.3, 126.4, 125.3, 119.6,  
113.7, 112.2, 109.9, 54.5, 45.8, 42.8. HRMS calcd for  $C_{29}H_{29}Cl_2N_8O [M+H]^+$ , 575.1836, found  
25 575.1842.

**L27 (#66) :**

1H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.62 (s, 1H), 8.83(s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.47 (s, 1H) 8.  
30 (s, 1H) 8.18 (d, *J* = 8.0Hz, 2H), 8.11 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.65(t, *J* = 7.0Hz, 1H) 7.45 (d, *J* =  
8.0Hz, 2H),7.14 -7.32(m, 4H) , 7.05 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 6.93 (t, *J* = 7.0Hz, 1H), 3.87 (m,  
30 4H ),3.67 (m, 4H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ :169.63, 164.37, 163.94, 152.32, 148.28,  
140.18, 139.95, 139.70, 138.72, 137.13, 136.59, 133.59, 130.21, 129.96, 128.60, 128.49, 125.24,  
123.56, 122.31, 119.59, 113.72, 112.22, 109.91, 66.03, 43.42, 30.37. HRMS calcd for  
 $C_{28}H_{26}Cl_2N_8O_4 [M+H]^+$ , 573.1687, found 573.1760.

**L28 (#67) :**

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO-*d*6) $\delta$ : 9.60 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.20 (d,  $J$  = 8.0Hz, 2H), 8.12 (d,  $J$  = 15.9Hz, 1H), 7.67 (t,  $J$  = 7.0Hz, 1H), 7.48 (d,  $J$  = 8.0Hz, 2H), 7.17-7.34 (m, 4H), 7.06 (d,  $J$  = 15.9Hz, 1H), 6.94 (t,  $J$  = 7.0Hz, 1H), 3.89 (m, 4H), 2.39 (m, 4H), 2.23 (s, 3H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO-*d*6) $\delta$ : 169.6, 164.2, 163.9, 152.3, 148.3, 140.2, 139.7, 138.7, 137.1, 133.6, 130.2, 130.0, 128.6, 128.5, 123.6, 122.4, 119.6, 113.7, 112.1, 109.9, 54.5, 45.8, 42.8. HRMS calcd for  $\text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{ClN}_9\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 586.2076, found 586.2085.

**L29 (#70) :**

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO-*d*6) $\delta$ : 9.60 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 7.94 (d,  $J$  = 15.9Hz, 1H), 7.72-7.65 (m, 4H), 7.51 (d,  $J$  = 8.5Hz, 2H), 7.46-7.40 (m, 5H), 7.36 (d,  $J$  = 8.5Hz, 2H), 6.89 (d,  $J$  = 15.9Hz, 1H), 3.83 (m, 4H), 3.69 (m, 4H), 2.97 (s, 6H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO-*d*6) $\delta$ : 170.0, 164.4, 163.8, 152.4, 141.0, 138.7, 135.2, 134.1, 129.5, 129.2, 128.9, 128.2, 127.8, 120.6, 118.7, 117.2, 66.0, 43.4. HRMS calcd for  $\text{C}_{31}\text{H}_{33}\text{N}_8\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 565.1670, found 565.2676.

**L30 (#76) :**

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO-*d*6) $\delta$ : 9.56 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.94 (d,  $J$  = 15.9Hz, 1H), 7.71-7.64 (m, 4H), 7.50 (d,  $J$  = 8.5Hz, 2H), 7.44-7.39 (m, 5H), 7.30 (d,  $J$  = 8.5Hz, 2H), 6.88 (d,  $J$  = 15.9Hz, 1H), 3.82 (m, 4H), 3.69 (m, 4H), 3.33 (m, 2H), 2.89 (m, 1H), 2.73 (m, 1H), 1.63-1.61 (m, 3H), 1.12-1.01 (m, 2H), 0.92 (d,  $J$  = 6.1Hz, 3H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO-*d*6) $\delta$ : 168.85, 164.44, 163.81, 152.42, 140.92, 135.22, 134.18, 134.11, 129.25, 128.91, 128.08, 127.87, 127.76, 120.59, 118.72, 117.34, 65.96, 43.37, 30.47, 21.57. HRMS calcd for  $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{N}_8\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 619.3140, found 619.3151.

**L32 (#73) :**

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO-*d*6) $\delta$ : 9.64 (s, 1H), 9.11 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.37 (t,  $J$  = 5.4Hz, 1H), 7.99 (d,  $J$  = 15.9Hz, 1H), 7.85 (d,  $J$  = 8.5Hz, 2H), 7.77-7.70 (m, 4H), 7.58 (d,  $J$  = 8.5Hz, 2H), 7.52-7.45 (m, 5H), 6.93 (d,  $J$  = 15.9Hz, 1H), 3.88 (m, 4H), 3.74 (m, 4H), 3.49-3.45 (m, 2H), 2.67 (t,  $J$  = 6.1Hz, 2H), 2.41 (s, 6H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO-*d*6) $\delta$ : 165.83, 164.45, 163.81, 152.38, 142.63, 138.65, 134.21, 134.08, 129.44, 128.91, 128.13, 127.75, 127.19, 120.59, 118.70, 116.90, 65.96, 57.73, 44.50, 43.37, 36.55. HRMS calcd for  $\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_9\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 608.3092, found 608.3104.

**L33 (#74) :**

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO-*d*6) $\delta$ : 9.61 (s, 1H), 9.54 (s, 1H), 9.25 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 7.95 (d,  $J$  = 15.9 Hz, 1H), 7.82 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 2H), 7.72 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 2H), 7.66 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.55 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 2H), 7.43 (d,  $J$  = 5.8 Hz, 5H), 6.89 (d,  $J$  = 15.8 Hz, 1H), 3.82 (s, 4H), 3.70 (s,

4H), 3.00 (dd,  $J = 14.2, 7.0$  Hz, 4H), 2.85 (s, 4H), 1.17 (t,  $J = 7.2$  Hz, 6H). HRMS calcd for  $C_{35}H_{42}N_9O_3$   $[M+H]^+$ , 636.3405, found 636.3417.

**L34 (#77) :**

$^1H$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) $\delta$ : 9.61 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.37(t,  $J=5.4$ Hz, 1H), 7.94 (d,  $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.77 (d,  $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.72 -7.64(m, 4H), 7.52 (d,  $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.43 -7.41(m, 5H), 6.88 (d,  $J = 15.9$ Hz, 1H), 3.82 (m, 4H), 3.69 (m, 4H), 3.29-3.24(m, 2H), 2.27(t,  $J=6.9$ Hz, 2H), 2.15(s, 6H), 1.69-1.62(m, 2H)ppm.  $^{13}C$  NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ ) $\delta$ : 165.6, 164.4, 152.4, 142.5, 135.2, 134.2, 134.1, 129.5, 128.9, 128.0, 127.8, 127.5, 120.6, 118.7, 116.9, 65.9, 56.9, 45.1, 43.3, 37.6, 27.1. HRMS calcd for  $C_{34}H_{40}N_9O_8$   $[M+H]^+$ , 662.3249, found 662.3255.

**L35 (#75) :**

$^1H$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) $\delta$ : 9.61 (s, 1H), 9.51 (s, 1H), 9.23 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 7.95 (d,  $J = 15.9$  Hz, 1H), 7.82 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.69 (dd,  $J = 17.5, 7.5$  Hz, 4H), 7.54 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.43 (d,  $J = 4.6$  Hz, 5H), 6.89 (d,  $J = 15.7$  Hz, 1H), 3.83 (s, 4H), 3.70 (s, 4H), 3.44 (d,  $J = 5.4$  Hz, 2H), 2.83 (d,  $J = 45.5$  Hz, 6H), 1.76 (s, 4H).  $^{13}C$  NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ ) $\delta$ : 169.95, 165.83, 164.41, 163.77, 152.51, 142.80, 138.66, 135.21, 134.26, 134.05, 129.44, 128.91, 128.19, 127.76, 127.15, 126.95, 124.86, 120.59, 118.41, 116.69, 65.96, 54.46, 53.48, 45.44, 43.35, 37.46, 29.27, 29.00, 22.89. HRMS calcd for  $C_{35}H_{40}N_9O_3$   $[M+H]^+$ , 634.3249, found 634.3264.

**L36 (#72) :**

$^1H$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.66 (s, 1H), 9.50 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 8.52(s, 1H), 7.99 (d,  $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.87 (d,  $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.77 -7.70(m, 4H), 7.60 (d,  $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.49 -7.43(m, 5H), 6.94 (d,  $J = 15.9$ Hz, 1H), 3.87 (m, 4H), 3.74 (m, 4H), 3.54 -3.52 (m, 2H), 2.80(m, 6H), 1.66(m, 4H), 1.49(m, 2H)ppm.  $^{13}C$  NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 169.98, 165.91, 164.40, 163.76, 152.47, 142.80, 138.62, 135.19, 134.19, 134.10, 129.43, 128.91, 128.20, 127.75, 127.12, 126.92, 120.58, 118.49, 116.76, 65.96, 56.77, 53.26, 43.35, 35.56, 24.15, 22.77. HRMS calcd for  $C_{36}H_{42}N_9O_3$   $[M+H]^+$ , 648.3405, found 648.3423.

**L37 (#71) :**

$^1H$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) $\delta$ : 9.60 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.27(t,  $J=5.2$ Hz, 1H), 7.94 (d,  $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.78 (d,  $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.65 -7.72(m, 4H), 7.52 (d,  $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.40 -7.46(m, 5H), 7.34 (d,  $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.89 (d,  $J = 15.9$ Hz, 1H), 3.83 (m, 4H), 3.69 (m, 4H), 3.56 -3.59 (m, 4H), 3.35(m, 2H), 2.43 -2.50(m, 6H)ppm.  $^{13}C$ -NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ ) $\delta$ : 169.99, 165.67, 164.41, 163.78, 152.34, 142.49, 138.67, 135.19, 134.23, 134.01, 129.45, 128.91, 128.08, 127.76, 127.40, 127.12, 120.56, 118.77, 116.98, 66.15, 65.96, 57.44, 53.27, 43.35, 36.41. HRMS calcd for  $C_{35}H_{40}N_9O_4$   $[M+H]^+$ , 650.3198, found 650.3212.

**L38 (#84) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8.67 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 7.96(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.74-7.72 (m, 2H), 7.49 (d, *J* = 8.9Hz, 2H), 7.42 -7.40(m, 2H), 7.36(d, *J* = 8.9Hz, 2H), 7.14 (d, *J* = 8.9Hz, 2H), 6.94 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 6.88 (d, *J* = 8.9Hz, 2H), 3.72(s,3H), 3.67 (s, 2H), 3.60 (s, 4H) ppm;

**L39 (#85) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8.86 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 7.96(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.73-7.11 (m, 2H), 7.52-7.45 (m, 4H), 7.42 -7.40(m, 3H), 7.34 (d, *J* = 8.7Hz, 2H), 7.17 (d, *J* = 8.7Hz, 2H), 6.93 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.89 (s, 2H), 3.67 (s, 2H), 3.60 (s, 4H) ppm;

**L40 (#86) :**

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8.76 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 7.96(d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.72-7.70 (m, 2H), 7.50-7.45 (m, 5H), 7.42 -7.40(m, 2H), 7.15 -7.10(m, 4H), 6.94 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.89 (s, 2H), 3.67 (s, 2H), 3.60 (s, 4H) ppm.

**实施例 5：化合物的体外抗肿瘤细胞活性的测试（MTT 实验）****1) 实验材料**

MTT, RPM1640 培养基, 胎牛血清, 96 孔板, CO<sub>2</sub> 恒温培养箱, 美国 BIO-RAD680 型酶标仪, 人非小细胞肺癌细胞株 (H522) 和人脑胶质瘤细胞株 (U87), 均从市售途径获得。

**2) 实验步骤**

(1) 接种细胞, 用含 10%胎牛血清的培养液配成单个细胞悬液, 以每孔 5000 个细胞接种到 96 孔板, 每孔体积 100 μL, 培养过夜。

(2) 化合物溶液的配制, 在无菌台中, 将化合物的 DMSO 储备液以培养液稀释成待测 5 个浓度, 相邻浓度之间为两倍稀释。

(3) 将不同浓度的化合物溶液加入已经培养过夜的 96 孔板中, 每孔中加入 100 μL, 每个浓度加三个副孔。周围由于具有边缘效应, 易染菌, 因此不加细胞, 不加化合物, 而加 100 μL 的培养液用作空白。另设置 100%孔, 即加入细胞和不含化合物的培养液 100 μL, 在 37 度恒温培养箱中孵育 48 小时。

(4) 染色, 向 96 孔板加入 10 μL MTT 溶液 (5mg/mL 用 PBS 配制) 染色, 孵育 4 小时后, 2500rpm 离心 10 分钟, 然后用排枪将培养液从孔中吸出, 注意枪尖朝下不要将细胞吸出, 加 150 μL DMSO, 在振荡板震荡 5-10 分钟, 使甲显充分溶解用酶标仪测定 570nm 测定每孔的 OD 值。如下计算抑制率:

$$\text{抑制率 (\%)} = \frac{100\% \text{孔平均OD值} - \text{化合物孔平均OD值}}{100\% \text{孔平均OD值} - \text{空白孔平均OD值}} \times 100\%$$

化合物实验结果如下表所示:

| 编号 (测试编号) | IC <sub>50</sub> (μM) |            |
|-----------|-----------------------|------------|
|           | H522                  | U87        |
| L1 (#50)  | 3.26±0.34             | 4.79±0.55  |
| L2 (#52)  | 2.80±0.21             | 4.75±0.87  |
| L3 (#51)  | >30                   | 10.55±1.20 |
| L4 (#53)  | 1.92±0.19             | 1.19±0.07  |
| L5 (#57)  | 5.03±0.89             | 3.32±0.45  |
| L6 (#54)  | 5.25±0.45             | 3.63±0.11  |
| L7 (#60)  | 1.42±0.12             | 1.33±0.13  |
| L8 (#55)  | 1.82±0.09             | 1.21±0.16  |
| L9 (#61)  | 3.88±0.65             | 1.47±0.12  |
| L10 (#43) | 2.18±0.23             | 4.92±0.16  |
| L11 (#45) | 0.30±0.03             | 2.50±0.08  |
| L12 (#49) | 2.55±0.12             | 4.41±0.43  |
| L13 (#44) | 0.87±0.08             | 2.04±0.09  |
| L14 (#42) | 5.03±0.49             | 2.48±0.11  |
| L15 (#48) | 4.26±0.10             | 2.92±0.21  |
| L16 (#40) | 0.78±0.04             | 1.71±0.06  |
| L17 (#62) | >30                   | 1.11±0.10  |
| L18 (#41) | 2.31±0.17             | 1.21±0.07  |
| L19 (#63) | 1.34±0.22             | 1.62±0.09  |
| L20 (#38) | 5.55±0.40             | 5.12±0.28  |
| L21 (#39) | 7.30±0.75             | 4.47±0.39  |
| L22 (#58) | 1.27±0.08             | 1.32±0.22  |
| L23 (#64) | 1.44±0.10             | 1.00±0.06  |
| L24 (#65) | 4.03±0.65             | 4.40±0.88  |
| L25 (#59) | 2.53±0.28             | 2.20±0.21  |
| L26 (#56) | 5.48±0.76             | 3.95±0.67  |
| L27 (#66) | 2.21±0.33             | 3.66±0.55  |
| L28 (#67) | 1.53±0.22             | 1.49±0.22  |
| L29 (#70) | 6.51±0.94             | 0.53±0.02  |

|           |           |           |
|-----------|-----------|-----------|
| L30 (#76) | 5.24±1.33 | 0.87±0.08 |
| L31 (#69) | 1.05±0.04 | 0.23±0.01 |
| L32 (#73) | 5.03±0.40 | 2.48±0.44 |
| L33 (#74) | 4.31±0.09 | 1.30±0.05 |
| L34 (#77) | 4.91±0.10 | 2.31±0.29 |
| L35 (#75) | 4.14±0.13 | 1.43±0.10 |
| L36 (#72) | 3.69±0.44 | 1.11±0.06 |
| L37 (#71) | 5.19±1.48 | 0.55±0.05 |

“NA”表示测试最高浓度（31.6μM）时，化合物对肿瘤细胞增殖的抑制作用几乎没有（<20%）。

“>30”表示测试最高浓度（31.6μM）时，化合物对肿瘤细胞有一定的抑制作用，但抑制率<50%。

5

实施例 6：化合物抑制肿瘤细胞的广谱性和选择性

选取 8 个化合物（#38~#45，依次为：L20、L21、L16、L18、L14、L10、L13 和 L11）测试其对 11 种不同的人肿瘤细胞生长的抑制能力。方法同实施例 5。受试细胞株为：人非小细胞肺癌细胞株（H522），人结肠腺癌细胞株（HCT15），人宫颈癌细胞株（Hela），人肝癌细胞株（HepG2），人纤维肉瘤细胞株（HT1080），人红白血病细胞株（KG1），人前列腺癌细胞株（LNCaP），人乳腺癌细胞株（MCF7），人卵巢癌细胞株（OVAR3），人黑色素瘤细胞株（SK-mel28）和人脑胶质瘤细胞株（U87）。实验结果如图 1 所示。

10

实施例 7：肿瘤细胞的泡沫化和巨泡式死亡

多种肿瘤细胞经某些特定结构的化合物处理后，都观察到细胞质出现大量囊泡积聚，细胞呈现泡沫化形态，部分细胞逐渐变圆，以致最终破裂。这些变化符合细胞巨泡式死亡的特征（图 2）。

15

为了比较不同化合物引起细胞泡沫化的能力，将含有 10<sup>3</sup> 人胶质瘤 U87 细胞、测试化合物终浓度分别为 0.01,0.0316,0.1,0.316,1.0,3.160 微摩尔的 100 微升培养基(RPMI1640, 2 毫摩尔谷氨酰胺, 10%胎牛血清)接种于 96 孔培养板, 5%CO<sub>2</sub>、37°C 培养 96 小时后, 高倍显微镜下观察细胞形态, 对化合物引起细胞泡沫化的能力打分。在 10 纳摩尔即出现明显泡沫化打分为 5, 31.6 纳摩尔打分为 4, 100 纳摩尔打分为 3, 316 纳摩尔打分为 2, 1000 纳摩尔打分为 1, 在所有浓度均无泡沫化打分为 0。

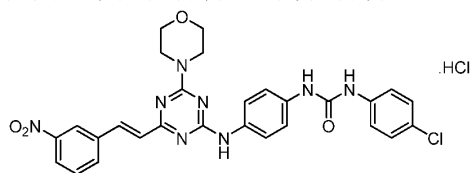
20

图 3 显示了不同结构的化合物引起细胞泡沫化的能力以及其抑制细胞增殖的能力。具体结果如下所示：

25

| 化合物# | 泡沫化打分 | IC <sub>50</sub> | 化合物# | 泡沫化打分 | IC <sub>50</sub> |
|------|-------|------------------|------|-------|------------------|
| 38   | 0     | 5.12             | 59   | 0     | 2.2              |
| 39   | 0     | 4.47             | 60   | 4     | 1.32             |
| 40   | 4     | 1.71             | 61   | 2     | 1.47             |
| 41   | 0     | 1.21             | 62   | 3.5   | 1.19             |
| 42   | 0     | 2.48             | 63   | 0     | 1.8              |
| 43   | 3     | 4.92             | 64   | 0     | 1                |
| 44   | 0     | 2.04             | 65   | 0     | 4.4              |
| 45   | 2     | 2.5              | 66   | 0     | 3.66             |
| 48   | 0     | 2.91             | 67   | 0     | 1.5              |
| 49   | 2     | 4.43             | 68   | 4     | 3.28             |
| 50   | 5     | 3.53             | 69   | 2.5   | 0.22             |
| 51   | 0     | >10              | 70   | 3.5   | 0.75             |
| 52   | 4.5   | 4.74             | 71   | 3.5   | 0.82             |
| 53   | 0     | 1.19             | 72   | 1     | 1.25             |
| 54   | 4     | 3.63             | 73   | 4.5   | 2.8              |
| 55   | 0     | 1.21             | 74   | 3.5   | 1.9              |
| 56   | 0     | 3.94             | 75   | 1     | 2.1              |
| 57   | 0     | 3.28             | 76   | 0     | 0.9              |
| 58   | 0     | 1.33             | 77   | 3.5   | 3                |

注：化合物#51 未显示在图 3 中；化合物#68 为化合物 L16（#40）的盐酸盐：



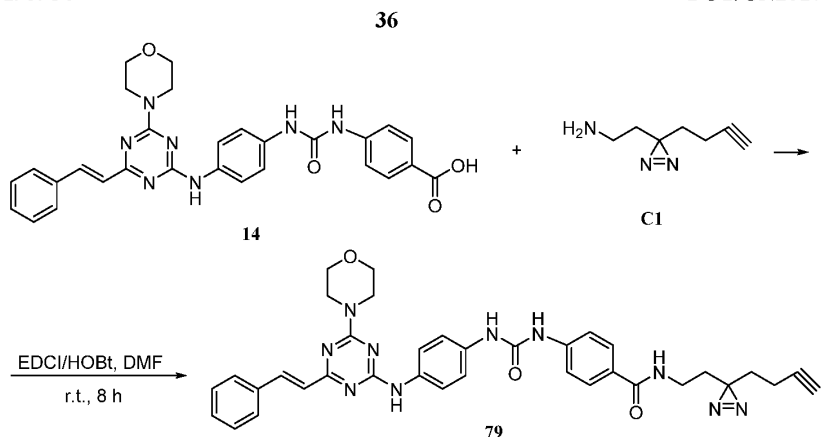
另外，按照本实施例所述的方法测试实施例 8 所述的化合物 79 和 14，其泡沫化打分  
5 分别为 4.5 分和 1.5 分。

#### 实施例 8：靶蛋白探针垂钓

引起细胞泡沫化的化合物的靶蛋白的分离与鉴定方法概括于图 4，相关步骤简述如下。

10 探针的合成（图 5）：

#79 化合物的合成路线与合成：



式中，侧链 **C1** 参照文章 (Li, Z., Hao P., Li L. *et al.* Design and synthesis of minimalist terminal alkyne-containing diazirine photo-crosslinkers and their incorporation into kinase inhibitors for cell- and tissue-based proteome profiling. *Angew. Chem.Int. Ed.*, **2013**, 52, 8551-8556) 中的方法制得。

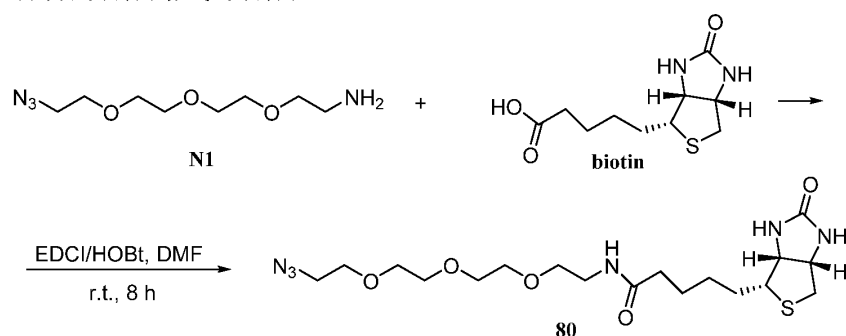
采用实施例 2 的方法和相应的材料制备化合物 14 ((*E*)-1-(4-羧基苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲)，其质谱数据如下：

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 12.33 (s, 1H), 9.59 (s, 1H), 9.41 (s, 1H), 9.09 (s, 1H), 7.94 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.77–7.63 (m, 4H), 7.59 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.51–7.36 (m, 5H), 6.89 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 3.83 (s, 4H), 3.69 (s, 4H)ppm。

(*E*)-*N*-(2-(3-(1-丁炔-4-基)-3H-双吡丙啶-3-基)乙基)-4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-基)氨基)苯基)脲)苯甲酰胺 (**79**)

在室温条件下，依次按照下列顺序将中间体 **14** (100mg, 0.186mmol)、HOBt (32.7mg, 0.242mmol)、DMF (2mL)、EDCI (53.5mg, 0.279mmol)、**C1** (33.0mg, 0.242mmol) 和三乙胺 (37.6mg, 0.372mmol) 加入 25mL 反应瓶中，继续搅拌反应 8 小时，反应结束后，反应液倒入 10mL 冰水，二氯甲烷 (20mL) 萃取，依次用水，饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥，蒸干溶剂，硅胶柱层析得到淡黄色固体 92.8mg，产率 76%。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 9.62 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.34 (t, *J* = 5.2Hz, 1H), 7.96 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 7.80 (d, *J* = 8.6Hz, 2H), 7.67–7.74 (m, 4H), 7.55 (d, *J* = 8.6Hz, 2H), 7.42–7.48 (m, 5H), 6.90 (d, *J* = 15.9Hz, 1H), 3.84 (m, 4H), 3.71 (m, 4H), 3.13–3.20 (m, 2H), 2.87 (d, *J* = 2.5Hz, 1H), 2.04 (td, *J* = 7.4Hz, *J* = 2.5Hz, 2H), 1.62–1.69 (m, 4H) ppm。<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ : 170.05, 165.66, 164.41, 163.87, 152.16, 142.45, 140.30, 139.59, 138.91, 135.22, 129.44, 128.87, 128.63, 128.07, 127.77, 127.40, 127.01, 117.02, 113.69, 112.13, 109.78, 83.13, 71.72, 66.05, 43.41, 34.27, 31.99, 31.30, 27.28, 12.67. ES-MSm/z: 655.5[M-H]<sup>+</sup>, C<sub>36</sub>H<sub>36</sub>N<sub>10</sub>O<sub>3</sub>(MW=656.7)。

### #80 化合物的合成路线与合成:



式中，试剂 **N1** 和 **biotin** 为商品，购置。

5

*N*-(2-(2-(2-(2 叠氮乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙烷-1-基)生物素酰胺 (80)

在室温条件下,依次按照下列顺序将生物素(94mg, 0.385mmol, **biotin**)、HOBT(74.5mg, 0.551mmol)、DMF(2mL)、EDCI(106mg, 0.551mmol)、**N1**[80mg, 0.367mmol, 名为: 2-(2-(2-(2 叠氮乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙烷-1-胺]和三乙胺(55.7mg, 0.551mmol)加入 25mL 反应瓶中,继续搅拌反应 8 小时,反应结束后,反应液倒入 10mL 冰水,二氯甲烷(20mL)萃取,依次用水,饱和食盐水洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥,蒸干溶剂,硅胶柱层析得到淡黄色固体 123mg,产率 72%。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 4.31 (m, 1 H, CH-1-biotin), 4.14 (m, 1 H, CH-4-biotin), 3.55-3.52 (m, 8 H, O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)-PEG), 3.40-3.38 (m 4 H, CH<sub>2</sub>NH and CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>-PEG), 3.10 (m, 1 H, CH-3-biotin), 2.83 (dd, 1 H, J = 4.8, 12.3 Hz, CH-2a-biotin), 2.60-2.56 (m, 1 H, CH-2b-biotin), 2.07 (t, 2 H, J = 7.2 Hz, CH<sub>3</sub>CO-biotin), 1.50-1.30 (m, 6 H, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-biotin)。

细胞培养：接种一定数量的人胶质瘤细胞 U87 于 150cm<sup>2</sup> 培养皿培养 48 小时，细胞达到 75~90%融合状态。用预温的含有 0.5 微摩尔浓度探针（#79 化合物）或同等体积 DMSO 20 对照的培养液更换培养液，继续培养 3 小时。

**紫外光促交联:** 细胞以预冷的磷酸缓冲液 (PBS) 洗 2 次。将细胞培养皿置于冰上, 从上部以紫外 (功率 100 瓦紫外灯, 波长 350 nm, 或 315~385 nm) 照射 1 小时, 或在细胞培养皿里加入足够少的预冷的 PBS (10ml/150cm<sup>2</sup>), 置培养皿于紫外辐照器上, 细胞自培养皿底部接受辐照 30 分钟 (波长 315~385 nm, 根据紫外功率调整时间)。

25 **细胞裂解液的制备：**细胞以胰蛋白酶处理脱壁分散，离心沉淀，以 PBS 洗 2 次。细胞块重新悬浮于 HEPES 裂解缓冲液(25mM Hepes, 150mM 氯化钠, 2mM 氯化镁, 0.1% NP-40, 蛋白酶抑制剂, pH7.5)，短暂超声匀浆（可省略），置于 4℃ 旋转混合 30 分钟，然后 4℃ 高速离心 10 分钟，以 Bradford 法测定裂解液蛋白浓度。

**预先清除:**取 1mL 细胞裂解液(1~2mg/mL),加入预先以 HEPES 缓冲液(25mM Hepes,

150mM 氯化钠, 2mM 氯化镁, pH7.5) 平衡过的链霉抗生物素蛋白-琼脂糖珠 (Agarose-streptavidin), 4°C 旋转混合 2 小时或过夜, 离心保留液相。

点击链接反应 (Click Reaction): 取 940 微升前述细胞裂解液, 加入新鲜配制的反应混合物(20 $\mu$ L 50mM CuSO<sub>4</sub>, 10 $\mu$ L 现配的 10mM TBTA 即 Tris[(1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amine, 20 $\mu$ L 50mM TCEP 即 tris (2-carboxyethyl) phosphine, 和 10 $\mu$ L 1mM #80 化合物), 室温温和混合 2 小时, 加入 2 倍体积的-20°C 预冷的丙酮以终止反应, 4°C 高速离心(13000rpm)10 分钟沉淀蛋白, 以 500 微升预冷的甲醇洗 2 次, 超声溶于 1mL 0.1%SDS PBS 中。

靶蛋白纯化: 前述重新溶解的蛋白溶液, 加入经 PBS 平衡过的链霉抗生物素蛋白-琼脂糖珠 (200 微升沉淀物), 4°C 旋转混合 2 小时或过夜, 离心沉淀琼脂糖珠, 以 0.1%SDS PBS 洗 1 次, PBS 洗 4 次, 加入 1 倍体积的 2xSDS 加样缓冲液, 煮沸 15 分钟, 离心取溶液, 10% SDS-PAGE 分离蛋白。以 20mL 考马斯蓝溶液染胶 1 小时, 2 $\times$ 500ml 双蒸水脱染 2 $\times$ 1 小时, 切取特异的蛋白带 (图 6, A)。

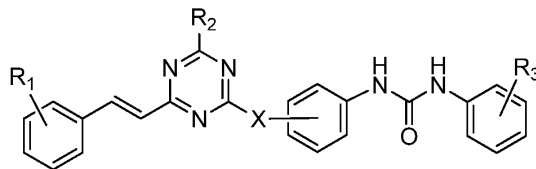
靶蛋白鉴定: 使用 MALDI 质谱肽段测图和序列分析法 (MALDI-MS/MS) 鉴定所纯化蛋白。以所测肽段序列数据库匹配鉴定出所纯化蛋白为波形蛋白 (vimentin) (图 6, B、C)。

#### 实施例 9: #50 化合物与靶蛋白对接结果

选用软件 Discovery Studio 3.0, 采用其中 LibDock 对接方法, 将来源于 PDB 数据库 (protein data bank) 的波形蛋白四聚体的 3KLT (见图 7 中 A) 与#50 化合物 (图 7 中 B) 进行对接。参考 3KLT 自带的配体构建上述粉红色球形活性口袋, 半径设置为 10 Å, 格点数为 1000, 产生构象的方法为 Best, 生成小分子构象数量最大值设置为 255, 其余参数值为默认值。得到前十的#50 化合物构象打分结果 (见图 7 中 C); 由此给出#50 化合物打分第一的构象和波形蛋白作用的图 (图 7 中 D), 以及去蛋白后与#50 化合物成氢键的氨基酸 (图 7 中 E), 可见仅有两个氨基酸: Arg273 与 Tyr276 与#50 化合物中的三嗪环形成氢键。

# 权利要求书

1、通式 I 所示的化合物、其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物：



(I)

5

式中，

$R_1$  为氢、卤素、硝基、氨基、羟基、 $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_1$ - $C_6$  烷氧基、 $C_1$ - $C_6$  烷基氨基、二  $C_1$ - $C_6$  烷基氨基、羟甲基或胺甲基；

$R_2$  为  $-NR_4R_5$ ， $R_4$  和  $R_5$  独立地选自氢、 $C_1$ - $C_6$  烷基和  $C_1$ - $C_6$  卤代烷基，或者  $R_4$  和  $R_5$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自  $NR_6$ 、O 和 S 的杂原子的 4 至 6 元饱和或不饱和杂环，所述杂环可以被羟基、卤素、硝基、氨基或  $C_1$ - $C_6$  烷基取代，其中  $R_6$  为氢、羟基、 $C_1$ - $C_6$  烷基或  $C_1$ - $C_6$  卤代烷基；

$R_3$  为氢、卤素、硝基、氨基、羟基、 $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_1$ - $C_6$  烷氧基、 $C_1$ - $C_6$  烷基氨基、二  $C_1$ - $C_6$  烷基氨基、羟甲基、胺甲基或  $-COR_a$ ；

$R_a$  为 OH 或  $NR_7R_8$ ， $R_7$  和  $R_8$  独立选自氢、任选被一个或多个选自卤素或  $NR_9R_{10}$  的取代基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基和被 3- ( $C_2$ - $C_6$  炔基) -3H-双吡丙啶基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基，或者  $R_7$  和  $R_8$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O 和 S 的杂原子的任选被  $C_1$ - $C_6$  烷基取代的 4 至 6 元杂环；

$R_9$  和  $R_{10}$  独立选自氢和  $C_1$ - $C_6$  烷基，或者  $R_9$  和  $R_{10}$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O、S 的杂原子的 4 至 6 元杂环；和

X 为 NH 或 O，与苯基的间位或对位连接。

2、如权利要求 1 所述的化合物、其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，

$R_1$  为氢、卤素或硝基；和/或

$R_2$  为  $-NR_4R_5$ ， $R_4$  和  $R_5$  独立地选自氢、 $C_1$ - $C_6$  烷基和  $C_1$ - $C_6$  卤代烷基，或者  $R_4$  和  $R_5$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自  $NR_6$ 、O 和 S 的杂原子的 4 至 6 元饱和或不饱和杂环，所述杂环可以被羟基、卤素、硝基、氨基或  $C_1$ - $C_6$  烷基取代，其中  $R_6$  为氢、羟基或  $C_1$ - $C_6$  烷基；和/或

$R_3$  为氢、卤素、硝基、氨基、羟基、 $C_1$ - $C_6$  烷基、羟甲基、胺甲基或  $-COR_a$ ，其中， $R_a$  为 OH 或  $NR_7R_8$ ， $R_7$  和  $R_8$  独立选自氢、任选被一个或多个选自卤素或  $NR_9R_{10}$  的取代基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基和被 3- ( $C_2$ - $C_6$  炔基) -3H-双吡丙啶基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基，或者  $R_7$  和  $R_8$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O 和 S 的杂原子的任选被  $C_1$ - $C_6$  烷基

取代的 4 至 6 元杂环； $R_9$  和  $R_{10}$  独立选自氢和  $C_1-C_6$  烷基，或者  $R_9$  和  $R_{10}$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N、O、S 的杂原子的 4 至 6 元杂环；和/或

X 为 NH，与苯基的对位或间位连接。

5 3、如权利要求 2 所述的化合物、其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，

$R_2$  为  $-NR_4R_5$ ， $R_4$  和  $R_5$  独立地选自氢和  $C_1-C_6$  烷基，或者  $R_4$  和  $R_5$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自  $NR_6$ 、O 和 S 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环，所述杂环可以被羟基、卤素、硝基、氨基或  $C_1-C_6$  烷基取代，其中， $R_6$  为氢或  $C_1-C_6$  烷基；优选地， $R_4$  和  $R_5$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自  $NR_6$  和 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环，所述杂环任选被选自羟基和  $C_1-C_6$  烷基的取代基取代，其中， $R_6$  为氢或  $C_1-C_6$  烷基；和/或

$R_3$  为卤素、 $C_1-C_6$  烷氧基或  $-COR_a$ ， $R_a$  为 OH 或  $NR_7R_8$ ， $R_7$  和  $R_8$  独立选自任选被  $NR_9R_{10}$  取代的  $C_1-C_6$  烷基和被 3- $(C_2-C_6$  炔基)-3H-双吡丙啶基取代的  $C_1-C_6$  烷基，或者  $R_7$  和  $R_8$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的任选被  $C_1-C_6$  烷基取代的 4 至 6 元饱和杂环； $R_9$  和  $R_{10}$  独立选自氢和  $C_1-C_6$  烷基，或者  $R_9$  和  $R_{10}$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环。

4、如权利要求 1 所述的化合物、其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，

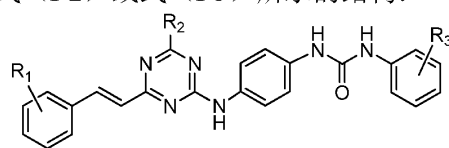
$R_1$  为氢、卤素或硝基；

20  $R_2$  为  $-NR_4R_5$ ， $R_4$  和  $R_5$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自  $NR_6$  和 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环，所述杂环任选被选自羟基和  $C_1-C_6$  烷基的取代基取代，其中， $R_6$  为氢或  $C_1-C_6$  烷基；

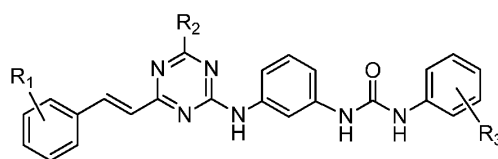
$R_3$  为卤素或  $-COR_a$ ， $R_a$  为 OH 或  $NR_7R_8$ ， $R_7$  和  $R_8$  独立选自任选被  $NR_9R_{10}$  取代的  $C_1-C_6$  烷基和被 3- $(C_2-C_6$  炔基)-3H-双吡丙啶基取代的  $C_1-C_6$  烷基，或者  $R_7$  和  $R_8$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的任选被  $C_1-C_6$  烷基取代的 4 至 6 元饱和杂环； $R_9$  和  $R_{10}$  独立选自氢和  $C_1-C_6$  烷基，或者  $R_9$  和  $R_{10}$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环；和

X 为 NH，与苯基的对位或间位连接。

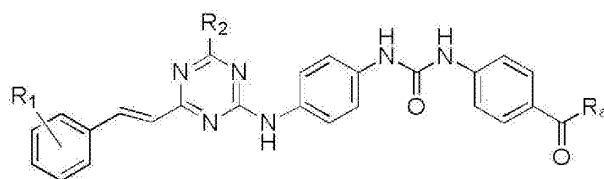
30 5、如权利要求 1 所述的化合物、其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述化合物具有下式 (I-1)、式 (I-2) 或式 (I-3) 所示的结构：



(I-1)



(I-2)



(I-3)

式 (I-1) 或式 (I-2) 中,

$R_1$  选自 H、卤素和硝基;

$R_2$  选自任选被羟基或  $C_1$ - $C_6$  烷基取代的吗啉基、吡咯烷基、哌嗪基和氮杂环丁烷基;

10 和

$R_3$  为卤素或  $COR_a$ ; 其中,  $R_a$  为 OH 或  $NR_7R_8$ ,  $R_7$  和  $R_8$  独立选自任选被  $NR_9R_{10}$  取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基和被 3-( $C_2$ - $C_6$  炔基)-3H-双吡丙啶基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基, 或者  $R_7$  和  $R_8$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的任选被  $C_1$ - $C_6$  烷基取代的 4 至 6 元饱和杂环;  $R_9$  和  $R_{10}$  独立选自氢和  $C_1$ - $C_6$  烷基, 或者  $R_9$  和  $R_{10}$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环;

15

式 (I-3) 中,

$R_1$  为 H;

$R_2$  为吗啉基;

$R_a$  为 OH 或  $NR_7R_8$ ,  $R_7$  和  $R_8$  独立选自任选被  $NR_9R_{10}$  取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基和被 3-( $C_2$ - $C_6$  炔基)-3H-双吡丙啶基取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基, 或者  $R_7$  和  $R_8$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的任选被  $C_1$ - $C_6$  烷基取代的 4 至 6 元饱和杂环;  $R_9$  和  $R_{10}$  独立选自氢和  $C_1$ - $C_6$  烷基, 或者  $R_9$  和  $R_{10}$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环。

20

25 6、如权利要求 5 所示的化合物、其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 式 (I-1) 中,

$R_1$  选自 H、卤素和硝基;

$R_2$  为吗啉基; 和

$R_3$  为卤素或  $COR_a$ ；其中， $R_a$  为 OH 或  $NR_7R_8$ ， $R_7$  和  $R_8$  独立选自任选被  $NR_9R_{10}$  取代的  $C_1-C_6$  烷基和被 3- $(C_2-C_6$  炔基)-3H-双吡丙啶基取代的  $C_1-C_6$  烷基，或者  $R_7$  和  $R_8$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的任选被  $C_1-C_6$  烷基取代的 4 至 6 元饱和杂环； $R_9$  和  $R_{10}$  独立选自氢和  $C_1-C_6$  烷基，或者  $R_9$  和  $R_{10}$  与它们所连的氮原子一起形成任选含有另外的选自 N 或 O 的杂原子的 4 至 6 元饱和杂环；

优选地， $R_1$  为非氢取代基时，与  $R_3$  各自独立位于苯基的间位或对位；更优选地  $R_1$  为非氢取代基时，位于苯基的间位， $R_3$  位于苯基的对位；所述饱和杂环选自哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基和吗啉基。

10 7、如权利要求 1 所述的化合物、其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述化合物选自：

(*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲(L1)；

(*E*)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲(L2)；

(*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲；

15 (*E*)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲；

(*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)-6-苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲；

(*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(3-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲；

(*E*)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(3-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲；

20 (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(3-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲；

(*E*)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(3-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲；

(*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(4-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲；

25 (*E*)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(4-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲；

(*E*)-1-(3-氟苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(4-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲；

(*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(4-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲；

30 (*E*)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(4-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲；

(*E*)-1-(3-氟苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(4-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲；

(*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲；

(*E*)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲；

- (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲;
- (*E*)-1-(4-氟苯基)-3-(4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲;
- 5 (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-二甲氨基-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲;  
(*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(四氢吡咯-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲;
- (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-(4-(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲;
- 10 (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(3-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲;  
(*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(3-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲;  
(*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(3-(4-(吗啉-1-基)-6-(3-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲;  
(*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(3-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(3-氯苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲;
- 15 (*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(3-(4-(吗啉-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲;  
(*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(3-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-(3-硝基苯乙烯基)-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲;
- (*E*)-*N,N*-二甲基-4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲)苯甲酰胺;
- 20 (*E*)-1-(4-((4-甲基哌啶-1-基)甲酰基)苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲;
- (*E*)-1-(4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲酰基)苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲;
- (*E*)-*N*-(2-(二甲氨基)乙基)-4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲)苯甲酰胺;
- 25 (*E*)-*N*-(2-(二乙氨基)乙基)-4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲)苯甲酰胺;
- (*E*)-*N*-(3-(二甲氨基)丙基)-4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲)苯甲酰胺;
- 30 (*E*)-*N*-(2-(四氢吡咯-1-基)乙基)-4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲)苯甲酰胺;
- (*E*)-*N*-(2-(哌啶-1-基)乙基)-4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲)苯甲酰胺;
- (*E*)-*N*-(2-(吗啉-1-基)乙基)-4-(3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲)苯甲酰胺;

脲)苯甲酰胺;

(*E*)-1-(4-甲氧基苯基)-3-(4-((4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-基)氧)苯基)脲;

(*E*)-1-(4-氯苯基)-3-(4-((4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-基)氧)苯基)脲;

(*E*)-1-(4-氟苯基)-3-(4-((4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-基)氧)苯基)脲;

- 5       (*E*)-*N*-(2-(3-(1-丁炔-4-基)-3H-双吡丙啶-3-基)乙基)-4-(3-(4-((4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-基)氨基)苯基)脲)苯甲酰胺; 和

(*E*)-1-(4-羧基苯基)-3-(4-(4-(吗啉-1-基)-6-苯乙烯基-1,3,5-三嗪基-2-氨基)苯基)脲。

- 8、一种药物组合物, 其中, 所述药物组合物含有权利要求 1—7 中任一项所述的化合物、其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物和药学上可接受的载体。

9、权利要求 1—7 中任一项所述的化合物、其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物在制备治疗和预防实体瘤和血液肿瘤用的药物中的应用;

- 15       优选地, 所述实体瘤选自: 结肠癌、胰腺癌、卵巢癌、胃癌、乳腺癌、甲状腺癌、肝癌、肾癌、肺癌、前列腺癌、肉瘤和胶质瘤; 所述血液肿瘤选自白血病和多发性骨髓瘤。

- 10       10、权利要求 1—7 中任一项所述的化合物、其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物在制备诊断、治疗和预防与细胞内囊泡形成、转运和释放至胞外相关的疾病的药物中的应用, 或在制备促进细胞巨泡式死亡的药物中的应用, 或在制备治疗或预防波形蛋白介导的疾病的药物中的应用;

优选地, 所述疾病选自与上皮细胞向间充质细胞转型相关的疾病, 干细胞的分化, 肿瘤的浸润性生长、转移、耐药和复发, 组织的纤维化, 感染性疾病和心血管疾病;

- 25       优选地, 所述疾病选自: 实体瘤如结肠癌、胰腺癌、卵巢癌、胃癌、乳腺癌、甲状腺癌、肝癌、肾癌、肺癌、前列腺癌、肉瘤和胶质瘤; 血液肿瘤, 如白血病和多发性骨髓瘤; 和动脉粥样硬化。