17-[3,6-二氧杂-8-*N*-(取代肉桂酰基)辛二胺]-17-去甲氧基格尔德霉素 新颖衍生物的合成

吴云飞 李震宇 王 贞 徐洪蛟
武兴康 鲁春华 沈月毛*

(山东大学药学院 天然产物化学教育部重点实验室 济南 250012)

摘要 格尔德霉素(geldanamycin, GA)是一个以热休克蛋白 90 (Hsp90)为靶点的高效抗肿瘤先导物,但其临床应用受到了肝脏毒性的限制。目前通常对其 C-17 位进行修饰,以保留活性和降低肝毒性。本研究提出了一种 GA 结构修饰的新思路,即在 GA 的 C-17 位引入烷胺基链,进而接入保肾基团肉桂酰基。报道了 26 个 17-(3,6-二氧杂-8-*N*-(取代肉桂酰基)辛二胺)-17-去甲氧基 GA 新颖衍生物的合成;体外人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 生长抑制实验和靶点亲和实验结果表明,化合物 **3u** 有明显细胞毒性和靶点选择性($IC_{50}=1.5 \mu\text{mol/L}$, $K_d=1.14 \mu\text{mol/L}$);并对该类衍生物的构效关系进行了讨论,对深入开展 GA 结构修饰的相关研究有参考价值。

关键词 热休克蛋白 90; 格尔德霉素; 合成; 衍生物; 抗肿瘤活性

Synthesis of Novel 17-[3,6-Dioxa-8-*N*-(substituted cinnamyl)-octanediamino]-17-demethoxygeldanamycin Derivatives

Wu, Yunfei Li, Zhenyu Wang, Zhen Xu, Hongjiao
Wu, Xingkang Lu, Chunhua Shen, Yuemao*

(Key Laboratory of Chemical Biology (Ministry of Education), School of Pharmaceutical Sciences,
Shandong University, Jinan 250012)

Abstract Twenty six new 17-[3,6-dioxa-8-*N*-(substituted cinnamyl)octanediamino]-17-demethoxygeldanamycins were designed, synthesized and evaluated for their cytotoxicities against the growth of human breast cancer cell line MDA-MB-231 and binding affinities to heat shock protein 90 (Hsp90). Among these derivatives, 17-(3,6-dioxa-8-*N*-((*E*)-3-(3,5-dimethoxyphenyl)acrylamido)octanediamino)-17-demethoxygeldanamycin (**3u**), was identified as the most potent one ($IC_{50}=1.5 \mu\text{mol/L}$, $K_d=1.14 \mu\text{mol/L}$). Additionally, influence of substitutions at the cinnamyl group on the bioactivities of this type of Geldanamycin (GA) derivatives was discussed. This study was anticipated to provide reference for the further structure modifications of GA for developing antitumor agents.

Keywords heat shock protein 90 (Hsp90); geldanamycin (GA); synthesis; derivatives; antitumor activity

格尔德霉素(Geldanamycin, GA)最早在 1970 年,从吸水链霉菌(*Streptomyces hygroscopicus*)发酵产物中分离得到,属于苯醌安莎霉素类抗生素^[1,2]。GA 通过竞争性结合热休克蛋白 90 (Heat shock protein 90, Hsp90) N 末端 ATP/ADP 结构域,特异性地抑制 Hsp90 的 ATP 酶

活性,从而抑制 Hsp90 分子伴侣功能^[3-5],对肿瘤生长有显著抑制作用^[6,7]。但是 GA 有较强的肝脏毒性,严重限制了其临床应用^[8]。

迄今已有大量文献报道 GA C-17 位的修饰工作^[9-13]。通过 C-17 位引入取代基,合成了很多毒性更低

* E-mail: yshen@sdu.edu.cn

Received April 3, 2014; revised May 13, 2014; published online June 9, 2014.

Project supported by the National Basic Research Program (973 Program, No. 2010CB833802), the National Natural Science Foundation of China (Nos. 81373304, 91313303), the Program for Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University (No. IRT13028) and the National Science Found for Distinguished Young Scholars of China (No. 30325044).

国家基础研究计划(973 项目, No. 2010CB833802)、国家自然科学基金(Nos. 81373304, 91313303)、长江学者和创新团队发展计划(No. IRT13028)和国家杰出青年科学基金(No. 30325044)资助项目。

且水溶性更好的 GA 衍生物, 例如 17-丙烯胺-17-去甲氧基 GA (tanespimycin, 17-AAG) 和 17-[2-(二甲氨基)乙烷]胺-17-去甲氧基 GA (alvespimycin, 17-DMAG) (图 1)^[14,15]. 在二期临床试验中, 虽然 17-AAG 对乳腺癌的疗效显著, 但是肝毒性使其临床试验被迫中止^[15]. 因此, 寻找低毒性的 GA 衍生物仍然有重要意义.

图 1 格尔德霉素(GA)及其代表性衍生物 17-丙烯胺-17-去甲氧基 GA (tanespimycin, 17-AAG) 和 17-[2-(二甲氨基)乙烷]胺-17-去甲氧基 GA (alvespimycin, 17-DMAG)

Figure 1 Structures of geldanamycin (GA), and its representative derivatives 17-AAG and 17-DMAG

对 GA 的 C-17 位进行修饰是目前公认的热点^[17]. 我们尝试使用二元胺取代 GA 的 C-17 位甲氧基, 引入 1 个连接基团, 用于连接肉桂酸取代基, 探索在保留 GA 抗肿瘤活性的基础上降低其肝毒性的可行性. 前期研究中, 我们已在 GA 的 C-17 位引入了 3 种二元胺连接基团: 4-氨基哌啶、1,4-丁二胺和 1,6-己二胺, 并考查了其对 GA 衍生物抗肿瘤活性和肝毒性的影响, 发现连接基团链长越长活性越好, 且肝毒性越低. 进而我们固定连接基团为 1,6-己二胺, 发现 17-[1,6-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)己二胺]-17-去甲氧基 GA 对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株具有较强的抑制活性, 并且肝毒性较低 (待发表). 为了进一步考查连接基团链长对活性和毒性的影响, 我们尝试在 GA 的 C-17 位引入连接基团 3,6-二氧杂-1,8-辛二胺, 设计合成了 26 个 17-[3,6-二氧杂-8-N-(取代肉桂酰基)辛二胺]-17-去甲氧基 GA 新颖衍生物, 并筛选了其肿瘤细胞毒性.

1 结果与讨论

1.1 化合物的合成

化合物 **3a~3z** 由 Scheme 1 所示途径合成. GA 通过

取代反应得到中间体 **2**, 将中间体与不同取代基取代的肉桂酸反应, 得到目标化合物 **3a~3z**. 通过熔点、核磁共振波谱和质谱数据分析确证了各化合物的结构.

Reagents and conditions: (I) 1,8-diamino-3,6-dioxaoctane, dichloromethane, r.t., 3.5 h; (II) substituted cinnamic acid, NHS, EDC·HCl, DMF, r.t., 24 h

Scheme 1

1.2 细胞毒性构效关系

以 17-AAG 和 GA 为阳性对照, 采用 SRB 法检测化合物 **3a~3z** 对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株的生长抑制作用. 结果表明, 26 个 GA 衍生物除了 **3v** 和 **3y**, 均有明显细胞毒性 (表 1).

为了方便讨论构效关系, 我们选取肉桂酰基取代产物 **3a** 为比较标准. 在单取代衍生物 (**3b~3o**, **3x~3z**) 中, 取代基的种类对细胞毒性的影响不明显, 只有 13'-OCF₃ 肉桂酰基衍生物 **3y** 的活性显著降低; 而且, 相同取代基的不同取代位置对活性的影响也不非常明显, 如 **3b~3d**, **3e~3g**, **3h~3j**, **3k~3m** 和 **3n~3o**. 多取代衍生物 **3p~3w** 也呈现出一般的活性, 其中 **3u** 的活性最好, IC₅₀ 值为 1.5 μmol/L, 而且引入三甲氧基取代的肉桂酰基还降低了细胞毒性 (例如 **3v**), 说明单纯增加取代甲氧基的数目并不能增加活性.

1.3 Hsp90 靶点亲和力测定

合成的 26 个 GA 衍生物母核相同, 结构类似, 它们可能有相似的 Hsp90 亲和力. 因此只选取了细胞毒性最强的化合物 **3u** 测量其与 Hsp90 的亲和力. 使用荧光偏

表 1 化合物 3a~3z 对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株的生长抑制作用

Table 1 The inhibitory activities of 3a~3z against the growth of human breast cancer cell line MDA-MB-231

Compd.	R	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)	Compd.	R	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)
3a	H	5.2	3o	13'-OMe	5.1
3b	11'-Cl	5.9	3p	12'-OH, 13'-OMe	4.4
3c	12'-Cl	7.8	3q	12'-OMe, 13'-OH	4.3
3d	13'-Cl	9.9	3r	11',12'-(OMe) ₂	3.8
3e	11'-Me	8.8	3s	11',14'-(OMe) ₂	3.9
3f	12'-Me	4.1	3t	12',13'-(OMe) ₂	4.4
3g	13'-Me	5.6	3u	12',14'-(OMe) ₂	1.5
3h	11'-NO ₂	3.9	3v	11',12',13'-(OMe) ₃	>10
3i	12'-NO ₂	4.3	3w	12',13',14'-(OMe) ₃	6.1
3j	13'-NO ₂	5.7	3x	13'-CF ₃	5.7
3k	11'-OH	3.8	3y	13'-OCF ₃	>10
3l	12'-OH	3.9	3z	13'-N(Me) ₂	4.3
3m	13'-OH	4.2	17-AAG		0.27
3n	11'-OMe	8.7	GA		0.05

振法测得 3u 与 Hsp90 亲和作用 $K_d=1.14 \mu\text{mol/L}$, 与阳性对照 17-AAG 处于同一数量级 ($0.89 \mu\text{mol/L}$), 表明其作用靶点可能是 Hsp90.

2 结论

本文报道了 26 个新型 GA 衍生物. 以 GA 为母核, 3,6-二氧杂-1,8-辛二胺为连接基团, 引入不同取代的保肝基团肉桂酰基. 通过构效关系分析, 发现引入双甲氧基或羟基取代肉桂酰基, 对于 GA 衍生物的细胞毒性有较大影响. 其中 3u 对细胞株 MDA-MB-231 的抑制活性最强, 其 IC_{50} 为 $1.5 \mu\text{mol/L}$, $K_d=1.14 \mu\text{mol/L}$. 本研究结果表明, 以 3,6-二氧杂-1,8-辛二胺作为连接基团引入肉桂酰基对 GA 进行修饰, 活性并不理想, 但对 GA 的进一步结构改造有参考价值.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

柱色谱使用 200~300 目硅胶(购自青岛海洋化工厂); 核磁共振仪为 Bruker Avance-600 型, TMS 为内参; 质谱仪为 LTQ-Orbitrap XL 型(Thermo Fisher), 离子源采用电喷雾离子化(ESI); 熔点用 X4 型显微熔点仪测定(温度未校正); 薄层色谱使用 Silica Gel GF₂₅₄(购自青岛海洋化工厂); 所有试剂均为国产或进口分析纯, 无水溶剂用常规方法干燥处理获得.

3.2 实验方法

3.2.1 化合物 3a~3z 的制备

以 3a(图 2)的合成为例. GA 56 mg (0.10 mmol)溶于二氯甲烷 10.0 mL 中, 加入 3,6-二氧杂-1,8-辛二胺 73 μL (1.00 mmol), 反应液在室温下搅拌 3.5 h, TLC 监控反应进程. 反应完毕后, 反应液用水洗涤($25 \text{ mL} \times 3$), 饱和食盐水洗涤($30 \text{ mL} \times 3$). 无水硫酸钠干燥 2 h, 过滤, 蒸干. 所得产物直接加入 *N*-羟基琥珀酰亚胺(NHS) 13.9 mg (0.121 mmol), 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl) 23.2 mg (0.121 mmol)和肉桂酸 16.3 mg (0.11 mmol), 加入 10 mL 二甲基甲酰胺(DMF)溶解, 反应液室温下搅拌 24 h, TLC 监控反应进程. 反应完毕后, 加入乙酸乙酯和水, 有机相用饱和食盐水洗涤($25 \text{ mL} \times 3$), 浓缩有机相后得到粗品. 粗品经硅胶柱层析分离, $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{石油醚})=3:1$ 洗脱, 得紫色固体.

图 2 化合物 3a 的结构式

Figure 2 Structure of compound 3a

中间体 17-(3,6-二氧杂-8-辛二胺)-17-去甲氧基 GA (2): 紫色固体。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 9.17 (s, 1H, CONH-1), 7.23 (s, 1H, H-19), 6.95 (d, $J=11.5$ Hz, 1H, H-3), 6.70 (s, 1H), 6.57 (t, $J=11.5$ Hz, 1H, H-4), 5.85~5.90 (m, 2H, H-5 and H-9), 5.29 (s, 1H), 5.18 (s, 1H, H-7), 4.93 (br s, 2H, CONH₂-7), 4.31 (d, $J=9.7$ Hz, 1H, H-6), 3.76~3.71 (m, 3H), 3.69~3.63 (m, 7H), 3.60~3.54 (m, 1H, H-11), 3.47~3.42 (m, 1H, H-12), 3.35 (s, 3H, MeO-12), 3.27 (s, 3H, MeO-6), 3.06~2.99 (m, 2H), 2.76~2.64 (m, 2H, H-10 and H-15), 2.42~2.33 (m, 1H, H-15), 2.01 (s, 3H, Me-2), 1.99 (br s, 1H, NH-1'), 1.79 (s, 3H, Me-8), 1.76 (s, 2H, H-13), 1.75~1.69 (m, 1H, H-14), 1.00 (s, 3H, Me-10), 0.97 (s, 3H, Me-14); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 184.1, 180.6, 168.4, 156.2, 145.2, 141.3, 135.9, 135.0, 133.6, 132.8, 127.1, 126.5, 108.9, 108.8, 81.7, 81.5, 81.2, 72.7, 70.5 (C-2'), 70.3 (C-5'), 70.3 (C-4'), 68.9 (C-3'), 57.2, 56.7, 45.3 (C-1'), 40.6 (C-6'), 35.1, 34.3, 32.4, 28.7, 22.9, 12.8, 12.6, 12.5; HRESIMS calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{53}\text{N}_4\text{O}_{10}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 677.3762, found 677.3745.

17-[3,6-二氧杂-8-((E)-3-苯丙烯酰胺)辛二胺]-17-去甲氧基 GA (3a): 紫色固体。两步总收率 43.1%。m.p. 99~101 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 9.17 (s, 1H, CONH-1), 7.62 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H-9'), 7.48 (d, $J=7.3$ Hz, 2H, H-11' and H-15'), 7.33 (d, $J=6.8$ Hz, 1H, H-12' and H-14'), 7.32 (s, 1H, H-13'), 7.31 (s, 1H, H-19), 6.95 (d, $J=11.5$ Hz, 1H, H-3), 6.80 (s, 1H, CONH-7'), 6.64 (s, 1H, NH-17), 6.58 (t, $J=11.4$ Hz, 1H, H-4), 6.46 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H-8'), 5.92~5.83 (m, 2H, H-5 and H-9), 5.19 (s, 1H, H-7), 4.93 (br s, 2H, CONH₂-7), 4.30 (d, $J=10.1$ Hz, 1H, H-6), 3.83~3.78 (br s, 1H, HO-11), 3.77~3.72 (m, 2H), 3.72~3.58 (m, 10H), 3.59~3.54 (m, 1H, H-11), 3.46~3.42 (m, 1H, H-12), 3.35 (s, 3H, MeO-12), 3.27 (s, 3H, MeO-6), 2.77~2.71 (m, 1H, H-10), 2.69~2.63 (m, 1H, H-15), 2.44~2.36 (m, 1H, H-15), 2.02 (s, 3H, Me-2), 1.79 (s, 3H, Me-8), 1.78~1.74 (m, 2H, H-13), 1.73~1.65 (m, 1H, H-14), 0.99 (d, $J=6.9$ Hz, 3H, Me-10), 0.96 (d, $J=6.5$ Hz, 3H, Me-14); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 184.2, 180.6, 168.3, 166.2 (C-7'), 156.2, 145.0, 141.5, 141.0 (C-9'), 135.9, 134.9, 134.9 (C-10'), 133.8, 132.8, 129.6 (C-12' and C-14'), 128.8 (C-11' and C-15'), 127.8 (C-13'), 127.0, 126.6, 120.7 (C-8'), 108.7, 108.6, 81.7, 81.4, 81.2, 72.6, 70.4 (C-2'), 70.2 (C-5'), 70.0 (C-4'), 68.4 (C-3'), 57.2, 56.7, 45.3 (C-1'), 39.6 (C-6'), 35.0, 34.4, 32.3, 28.4, 23.0, 12.8, 12.7, 12.4; HRESIMS calcd for $\text{C}_{43}\text{H}_{59}\text{N}_4\text{O}_{11}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 807.4180, found 807.4163.

3.2.2 体外抗肿瘤活性试验

体外抗肿瘤活性测定采用磺酰罗丹明 B (SRB) 法^[18], 以 GA 和 17-AAG 为阳性对照。取对数生长期的 MDA-MB-231 细胞以 3000~4000/孔的密度接种于 96 孔细胞培养板中, 每孔 80 μL 。另设 3 孔无细胞、仅有相同体积培养基用于仪器调零的空白对照。置 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 的培养箱中培养 24 h, 更换相同体积的新鲜细胞培养基, 然后加入 20 μL 用 PBS 稀释好的样品。同时, 往阳性对照孔分别加 20 μL 稀释后的 GA 和 17-AAG, 阴性对照孔和空白对照孔分别加相同稀释度的 DMSO 和 20 μL PBS。继续培养 72 h 后, 弃去培养液, 加入 100 μL 10%三氯乙酸于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱固定 1 h, 双蒸水冲洗 5 次, 室温干燥 2 min, 随后每孔加入 100 μL 浓度为 4 mg/mL 的 SRB 溶液, 室温染色 10 min, 以 1%冰乙酸溶液(体积比)冲洗 5 次以除去未结合的 SRB, 室温干燥 2 min, 每孔加入 200 μL 浓度为 10 mmol/L Tris 溶液, 酶标仪 (Bio-Rad680, USA) 比色测定 570 nm 的吸光值。抑制率用以下公式计算:

$$\text{抑制率} = \frac{\text{阴性对照组OD值} - \text{实验组OD值}}{\text{阴性对照组OD值} - \text{空白OD值}} \times 100\%$$

MDA-MB-231 细胞抑制率用 IC_{50} 表示。

3.2.3 荧光偏振法检验 Hsp90 靶点亲和力

化合物 3u 对 Hsp90 靶点亲和力测定采用荧光偏振法, 具体实验方法和实验数据处理方法见参考文献^[19, 20]。Hsp90 靶点亲和力测定以 17-AAG 为阳性对照。

辅助材料(Supporting Information) 中间体 2 和化合物 3a~3z 的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱图。这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)下载。

References

- [1] Sasaki, K.; Rinehart Jr, K.; Slomp, G.; Grostic, M.; Olson, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 7591.
- [2] Li, Y.-Y.; Shen, Y.-M. *Chin. J. Org. Chem.* **2013**, *33*, 1135.
- [3] Young, J. C.; Moarefi, I.; Hartl, F. U. *J. Cell Biol.* **2001**, *154*, 267.
- [4] Maloney, A.; Workman, P. *Expert. Opin. Biol. Ther.* **2002**, *2*, 3.
- [5] Isaacs, J. S.; Xu, W.; Neckers, L. *Cancer Cell.* **2003**, *3*, 213.
- [6] Whitesell, L.; Mimnaugh, E. G.; De Costa, B.; Myers, C. E.; Neckers, L. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1994**, *91*, 8324.
- [7] Kitson, R. R.; Moody, C. J. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 5117.
- [8] Supko, J. G.; Hickman, R. L.; Grever, M. R.; Malspeis, L. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1995**, *36*, 305.
- [9] Schnur, R. C.; Corman, M. L.; Gallaschun, R. J.; Cooper, B. A.; Dee, M. F.; Doty, J. L.; Muzzi, M. L.; Moyer, J. D.; DiOrio, C. I.; Barbacci, E. G.; Miller, P. E.; O'Brien, A. T.; Morin, M. J.; Foster, B. A.; Pollack, V. A.; Savage, D. M.; Sloan, D. E.; Pustilnik, L. R.; Moyer, M. P. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3806.
- [10] Schnur, R. C.; Corman, M. L.; Gallaschun, R. J.; Cooper, B. A.; Dee, M. F.; Doty, J. L.; Muzzi, M. L.; DiOrio, C. I.; Barbacci, E. G.; Miller, P. E.; Pollack, V. A.; Savage, D. M.; Sloan, D. E.; Pustilnik,

- L. R.; Moyer, J. D.; Moyer, M. P. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3813.
- [11] Kasuya, Y.; Lu, Z.; Kopeckova, P.; Kopecek, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2089.
- [12] Tian, Z. Q.; Liu, Y.; Zhang, D.; Wang, Z.; Dong, S. D.; Carreras, C. W.; Zhou, Y.; Rastelli, G.; Santi, D. V.; Myles, D. C. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 5317.
- [13] Lee, K.; Ryu, J. S.; Jin, Y.; Kim, W.; Kaur, N.; Chung, S. J.; Jeon, Y. J.; Park, J. T.; Bang, J. S.; Lee, H. S.; Kim, T. Y.; Lee, J. J.; Hong, Y. S. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 340.
- [14] Ronnen, E. A.; Kondagunta, G. V.; Ishill, N.; Sweeney, S. M.; DeLuca, J. K.; Schwartz, L.; Bacik, J.; Motzer, R. J. *Invest. New Drugs* **2006**, *24*, 543.
- [15] Glaze, E. R.; Lambert, A. L.; Smith, A. C.; Page, J. G.; Johnson, W. D.; McCormick, D. L.; Brown, A. P.; Levine, B. S.; Covey, J. M.; Egorin, M. J. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2005**, *56*, 637.
- [16] Modi, S.; Stopeck, A.; Linden, H.; Solit, D.; Chandarlapaty, S.; Rosen, N.; D'Andrea, G.; Dickler, M.; Moynahan, M. E.; Sugarman, S. *Clin. Cancer Res.* **2011**, *17*, 5132.
- [17] Schnur, R.; Corman, M.; Gallaschun, R.; Cooper, B.; Dee, M.; Doty, J.; Muzzi, M.; Moyer, J.; DiOrio, C. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3806.
- [18] Vichai, V.; Kirtikara, K.; Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. *Nat. Protoc.* **2006**, *1*, 1112.
- [19] Lu, C.; Liu, D.; Jin, J.; Deokar, H.; Zhang, Y.; Buolamwini, J. K.; Yu, X.; Yan, C.; Chen, X. *Biochem. Pharmacol.* **2013**, *85*, 1246.
- [20] Llauger-Bufi, L.; Felts, S. J.; Huezio, H.; Rosen, N.; Chiosis, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3975.

(Qin, X.)