

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680003768.8

[51] Int. Cl.

C07D 401/14 (2006.01)
C07D 403/04 (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
A61P 5/48 (2006.01)

[43] 公开日 2008年1月23日

[11] 公开号 CN 101111490A

[51] Int. Cl. (续)

A61P 9/00 (2006.01)
A61P 9/04 (2006.01)
A61P 17/14 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)
A61P 33/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

[22] 申请日 2006.1.11

[21] 申请号 200680003768.8

[30] 优先权

[32] 2005.1.11 [33] GB [31] 200500492.4

[86] 国际申请 PCT/GB2006/000087 2006.1.11

[87] 国际公布 WO2006/075152 英 2006.7.20

[85] 进入国家阶段日期 2007.8.1

[71] 申请人 西克拉塞尔有限公司

地址 英国伦敦

[72] 发明人 彼得·M·费希尔 王淑东

克里斯托弗·K·米德斯

马丁·J·I·安德鲁斯

达伦·吉布森 肯尼思·邓肯

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 张平元 赵仁临

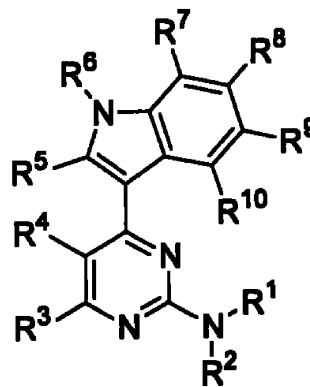
权利要求书9页 说明书56页

[54] 发明名称

4-(1H-吡啶-3-基)-嘧啶-2-基胺衍生物及其治疗用途

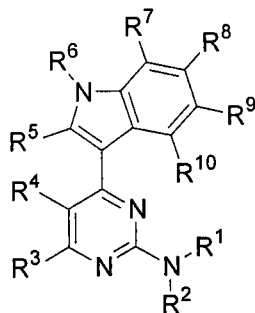
[57] 摘要

本发明涉及式(I)的化合物,或者其可药用盐。本发明提供了进一步被取代的杂芳基-取代的嘧啶衍生物。更具体地,本发明涉及可用于治疗多种不同的疾病和/或能够抑制一或多种蛋白激酶的具有广泛治疗用途的化合物。



I

1. 式 I 的化合物, 或者其可药用盐,



I

其中 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ;
 R^1 和 R^2 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ; 或者 R^1 和 R^2 与其相连的氮一起形成环状基团, 并且其中所述的环状基团任选被一个或者多个 R^{11} 或者 R^{12} 基团取代;

各 R^{11} 独立地为任选被一个或者多个 R^{12} 取代基取代的烷基;

各 R^{12} 独立地选自 OR^{13} 、 COR^{13} 、 $COOR^{13}$ 、 CN 、 $CONR^{13}R^{14}$ 、 $NR^{13}R^{14}$ 、 SR^{13} 、 SOR^{13} 、 SO_2R^{13} 、 SO_2OR^{13} 、 $SO_2NR^{13}R^{14}$ 、 R^{13} 、卤素、 CF_3 、 NO_2 和脂环基, 后者自身任选被一个或者多个 R^{12} 或者 R^{13} 基团取代; 以及

各 R^{13} 和各 R^{14} 独立地为 H 或者 $(CH_2)_nR^{15}$, 其中 n 为 0、1、2 或者 3;

以及

各 R^{15} 独立地选自烷基、环烷基、芳基、杂芳基、芳基和脂环基;

条件是所述的化合物不是:

[4-(1H-吲哚-3-基)-嘧啶-2-基]-[3-(1,1,2,2-四氟乙氧基苯基)]-胺;

3-[6-(4-溴苯基)-2-(1-哌嗪基)-4-嘧啶基]-1H-吲哚;

3-[6-(4-溴苯基)-2-(1-吡咯烷基)-4-嘧啶基]-1H-吲哚; 或者

3-[6-(4-溴苯基)-2-(4-吗啉基)-4-嘧啶基]-1H-吲哚。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中 R^1 和 R^2 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ;
 或者 R^1 和 R^2 与其相连的氮一起形成环状基团, 其中所述的环状基团包含 2~9 个碳原子以及 1 个或者 2 个选自 N、O 和 S 的杂原子, 并且其中所述的环状基团任选被 1 个或者 2 个选自 R^{11} 和 R^{12} 的取代基取代。

3. 权利要求 1 或者 2 的化合物, 其中 R^1 和 R^2 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} 。

4. 前述权利要求中任一项的化合物, 其中 R^1 和 R^2 各自独立地为 H 或者 R^{11} 。

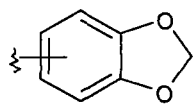
5. 前述权利要求中任一项的化合物, 其中 R^1 和 R^2 之一为 H 并且另一个为 R^{11} 。

6. 前述权利要求中任一项的化合物, 其中 R^{11} 为包含 1~24 个碳原子任选包含至多 6 个选自 N、O 和 S 的杂原子的烃基。

7. 权利要求 6 的化合物, 其中烃基任选被至多 6 个 R^{12} 取代基取代。

8. 权利要求 1~6 中任一项的化合物, 其中 R^{11} 为芳基、杂芳基、芳基-脂环基或者脂环基, 各基团可任选被一个或者多个 R^{12} 取代基取代。

9. 前述权利要求中任一项的化合物, 其中 R^{11} 选自苯基、吡啶基以及



, 各基团任选被一个或者多个 R^{12} 取代基取代。

10. 前述权利要求中任一项的化合物, 其中 R^{11} 为苯基或者吡啶基, 各基团可任选被一个或者多个 R^{12} 取代基取代。

11. 前述权利要求中任一项的化合物, 其中 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立地为 H 或者 R^{12} 。

12. 前述权利要求中任一项的化合物, 其中 R^3 和 R^4 都是 H。

13. 前述权利要求中任一项的化合物, 其中:

R^9 和 R^{10} 都是 H;

R^5 为 H 或者烷基;

R^6 为 H、烷基、CO-烷基或者 CO-环烷基;

R^7 为 H、烷基、烷氧基或者卤素; 以及

R^8 为 H、烷氧基或者卤素。

14. 前述权利要求中任一项的化合物, 其中各 R^{15} 独立地选自乙基、乙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、苯基、吡啶基、吡咯烷基、吡咯基、吗啉基、哌嗪基、哌啶基、三唑基、四唑基以及噻唑基。

15. 前述权利要求中任一项的化合物, 其中脂环基包含一个或者多个杂原子。

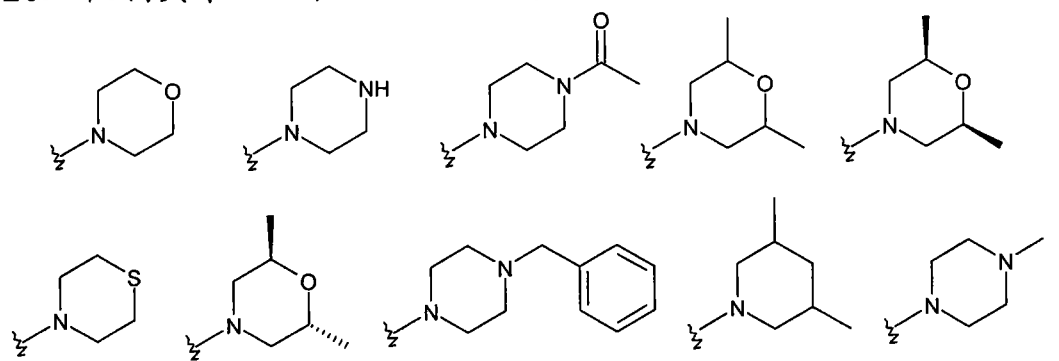
16. 前述权利要求中任一项的化合物，其中 R^{12} 为任选被一个或者多个 R^{13} 或者 COR^{13} 基团取代的脂环基。

17. 权利要求 16 的化合物，其中 R^{12} 为吗啉基、哌嗪基、硫吗啉基或者哌啶基，各基团任选被一个或者多个 R^{13} 或者 COR^{13} 基团取代。

18. 权利要求 17 的化合物，其中 R^{12} 为吗啉基、哌嗪基、硫吗啉基或者哌啶基，各基团任选被一个或者多个烷基、芳烷基或者 CO-烷基基团取代。

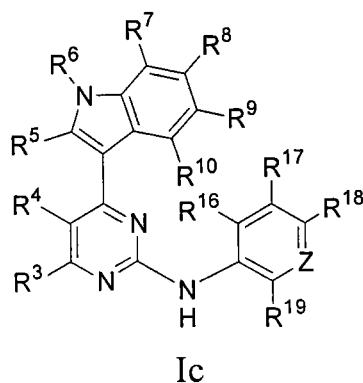
19. 权利要求 18 的化合物，其中 R^{12} 为吗啉基、哌嗪基、硫吗啉基或者哌啶基，各基团任选被一个或者多个甲基、苄基或者 COMe 基团取代。

20. 权利要求 19 的化合物，其中 R^{12} 选自下述基团：



21. 权利要求 1~15 中任一项的化合物，其中各 R^{12} 独立地选自 OH、OMe、COMe、CHO、 CO_2Me 、COOH、CN、 $CONH_2$ 、NHMe、 NH_2 、 NMe_2 、SH、SMe、SOMe、 SO_2Me 、 SO_2NHMe 、 SO_2NH_2 、Cl、Br、F、I、 CF_3 、 NO_2 、N-吗啉基、N-吡咯烷基、N-哌嗪基、N-硫吗啉基、2,6-二甲基吗啉-4-基、4-苄基哌嗪-1-基、3,5-二甲基哌啶-1-基和 4-乙酰基哌嗪-1-基。

22. 权利要求 1 的式 Ic 化合物，或者其可药用盐



其中

R^{3-10} 如权利要求 1 中定义;

Z 为 N 或者 CR^{20} ; 以及

R^{16-20} 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} 。

23. 权利要求 22 的化合物, 其中 Z 为 N。

24. 权利要求 22 的化合物, 其中 Z 为 CR^{20} 。

25. 权利要求 22 的化合物, 其中 R^{16-20} 各自独立地选自 H、 NO_2 、 $NR^{13}R^{14}$ 、卤素、烷氧基以及任选被取代的杂脂环基。

26. 权利要求 25 的化合物, 其中 R^{16-20} 各自独立地选自 H、 NO_2 、F、OMe、N-吗啉基、 NH_2 、N-吡咯烷基、N-哌嗪基、N-硫吗啉基、2,6-二甲基吗啉-4-基、4-苄基哌嗪-1-基、3,5-二甲基-哌啶-1-基和 4-乙酰基哌嗪-1-基。

27. 权利要求 1 的化合物, 选自下述化合物:

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(3-硝基苯基)嘧啶-2-胺;

N-(4-氟苯基)-4-(1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(6-甲氧基吡啶-3-基)嘧啶-2-胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(4-哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(4-苄基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(2,6-二甲基吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺;

N'-[4-(1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-基]-N,N-二甲基苯-1,4-二胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(2-甲基-4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(3,4,5-三甲氧基苯基)嘧啶-2-胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(3-甲氧基-4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺;

N-(3,5-二甲氧基苯基)-4-(1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-胺;

4-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺;

4-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺;

N-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-基-4-(1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-胺;

4-[1-(环丙基羰基)-1H-吡啶-3-基]-N-(4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺;

4-(1-乙酰基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(4-甲基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺;

4-(7-甲氧基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺;

4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺;
 4-(7-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺;
 4-(6-甲氧基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺;
 4-(7-氯-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺;
 4-(6-氟-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺;
 4-(1H-吡啶-3-基)-N-[(4-乙酰基哌嗪-1-基)-3-甲基苯基]嘧啶-2-胺;
 4-(1H-吡啶-3-基)-N-(3-甲基-4-硫吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺;
 4-(1H-吡啶-3-基)-N-[(2R,6S)-2,6-二甲基吗啉-4-基苯基]嘧啶-2-胺;
 4-(1H-吡啶-3-基)-N-[(2S,6S)-2,6-二甲基吗啉-4-基苯基]嘧啶-2-胺;
 4-(1H-吡啶-3-基)-N-(3,5-二甲基哌啶-1-基苯基)嘧啶-2-胺; 以及
 4-(1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-胺。

28. 前述权利要求中任一项的化合物, 其显示对激酶抑制的 IC_{50} 值小于 $10\mu M$ 。

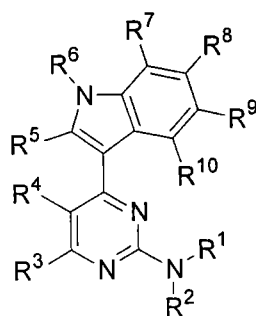
29. 前述权利要求中任一项的化合物, 其显示对激酶抑制的 IC_{50} 值小于 $1\mu M$ 。

30. 前述权利要求中任一项的化合物, 其显示对激酶抑制的 IC_{50} 值小于 $0.1\mu M$ 。

31. 药物组合物, 包括前述权利要求中任一项的化合物和与其混合的可药用稀释剂、赋形剂或者载体。

32. 用于药物的如权利要求 1~30 中任一项定义的式 I 的化合物, 或者其可药用盐。

33. 式 Ia 的化合物或者其可药用盐在制备用于治疗增生性疾病的药物中的用途



Ia

其中 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ;

R^1 和 R^2 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ；或者 R^1 和 R^2 与其相连的氮一起形成环状基团，并且其中所述的环状基团任选被一个或者多个 R^{11} 或者 R^{12} 基团取代；

各 R^{11} 独立地为任选被一个或者多个 R^{12} 取代基取代的烃基；

各 R^{12} 独立地选自 OR^{13} 、 COR^{13} 、 $COOR^{13}$ 、 CN 、 $CONR^{13}R^{14}$ 、 $NR^{13}R^{14}$ 、 SR^{13} 、 SOR^{13} 、 SO_2R^{13} 、 SO_2OR^{13} 、 $SO_2NR^{13}R^{14}$ 、 R^{13} 、卤素、 CF_3 、 NO_2 和脂环基，后者自身任选被一个或者多个 R^{12} 或者 R^{13} 基团取代；以及

各 R^{13} 以及各 R^{14} 独立地为 H 或者 $(CH_2)_nR^{15}$ ，其中 n 为 0、1、2 或者 3；并且

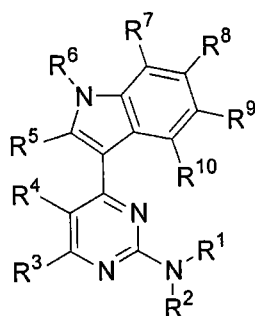
各 R^{15} 独立地选自烷基、环烷基、芳基、杂芳基、芳基和脂环基；

条件是所述的化合物不是 [4-(1H-吡啶-3-基)-咪啉-2-基]-[3-(1,1,2,2-四氟乙氧基苯基)]-胺。

34. 权利要求 33 的用途，其中增生性疾病为癌症或者白血病。

35. 权利要求 33 的用途，其中增生性疾病为肾小球肾炎、类风湿性关节炎、牛皮癣或者慢性阻塞性肺病。

36. 式 Ib 的化合物或者其可药用盐在制备用于治疗病毒性疾病的药物中的用途



Ib

其中 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ； R^1 和 R^2 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ；或者 R^1 和 R^2 与其相连的氮一起形成环状基团，并且其中所述的环状基团任选被一个或者多个 R^{11} 或者 R^{12} 基团取代；

各 R^{11} 独立地为任选被一个或者多个 R^{12} 取代基取代的烃基；

各 R^{12} 独立地选自 OR^{13} 、 COR^{13} 、 $COOR^{13}$ 、 CN 、 $CONR^{13}R^{14}$ 、 $NR^{13}R^{14}$ 、 SR^{13} 、 SOR^{13} 、 SO_2R^{13} 、 SO_2OR^{13} 、 $SO_2NR^{13}R^{14}$ 、 R^{13} 、卤素、 CF_3 、 NO_2 和脂

环基，后者自身任选被一个或者多个 R^{12} 或者 R^{13} 基团取代；以及

各 R^{13} 和各 R^{14} 独立地为 H 或者 $(CH_2)_nR^{15}$ ，其中 n 为 0、1、2 或者 3；
以及

各 R^{15} 独立地选自烷基、环烷基、芳基、杂芳基、芳基和脂环基。

37. 权利要求 36 的用途，其中病毒性疾病选自人巨细胞病毒(HCMV)、1 型单纯疱疹病毒(HSV-1)、1 型人免疫缺陷症病毒(HIV-1)以及水痘-带状疱疹病毒(VZV)。

38. 如权利要求 36 定义的式 Ib 化合物，或者其可药用盐在制备用于治疗 CNS 疾病的药物中的用途。

39. 权利要求 38 的用途，其中 CNS 疾病为阿耳茨海默氏病或双相性精神障碍。

40. 如权利要求 36 定义的式 Ib 化合物，或者其可药用盐在制备用于治疗脱发症的药物中的用途。

41. 如权利要求 36 定义的式 Ib 化合物，或者其可药用盐在制备用于治疗中风的药物中的用途。

42. 权利要求 33 ~ 41 中任一项的用途，其中化合物以足以抑制至少一种 CDK 酶的量给药。

43. 权利要求 42 的用途，其中所述的 CDK 酶为 CDK1、CDK2、CDK3、CDK4、CDK6、CDK7、CDK8 和/或 CDK9。

44. 权利要求 33 ~ 41 中任一项的用途，其中所述的化合物以足以抑制 aurora 激酶的量给药。

45. 权利要求 33 ~ 41 中任一项的用途，其中所述的化合物以足以抑制 FLT3 的量给药。

46. 如权利要求 36 定义的式 Ib 化合物，或者其可药用盐在制备用于治疗糖尿病或者糖尿病性神经病变的药物中的用途。

47. 权利要求 46 的用途，其中糖尿病为 II 型糖尿病。

48. 权利要求 46 或者 47 中任一项的用途，其中所述的化合物以足以抑制 GSK 的量给药。

49. 权利要求 48 的用途，其中所述的化合物以足以抑制 GSK3 β 的量给药。

50. 如权利要求 36 定义的式 Ib 化合物，或者其可药用盐在制备用于治疗

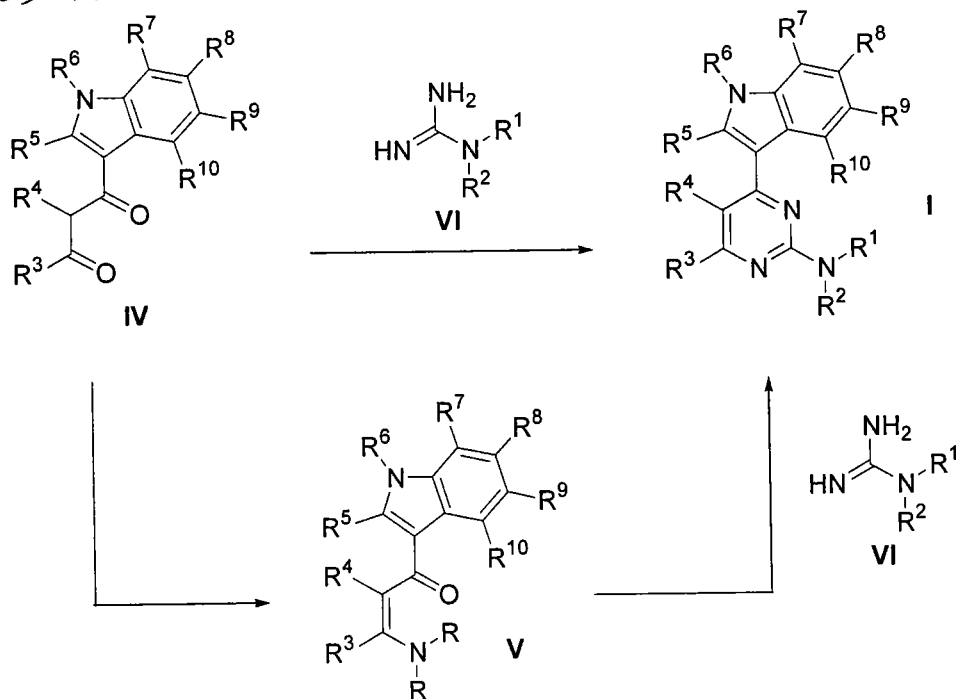
疗一或多种下述疾病的药物中的用途：细菌感染、真菌性疾病、寄生虫疾病、炎性疾病以及心血管疾病。

51. 如权利要求 36 定义的式 Ib 化合物，或者其可药用盐在用于鉴定能抑制一或多种细胞周期蛋白依赖性激酶、aurora 激酶、FLT3 以及糖原合酶激酶的其他候选化合物的测定中用途。

52. 权利要求 51 的用途，其中其中所述的测定为竞争性结合测定。

53. 权利要求 33 ~ 53 中任一项的化合物，其中所述的化合物如权利要求 1 ~ 30 中任一项所定义。

54. 一种制备如权利要求 36 中定义的式 Ib 化合物的方法，所述的方法包括下述步骤：

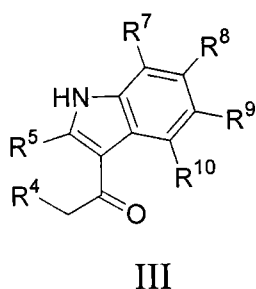


(a) 将式 IV 化合物与式 VI 的脒缩合形成式 I 的化合物；或者

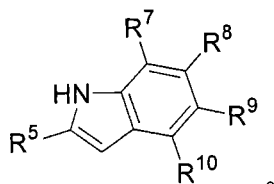
(b) (i) 将式 IV 化合物转化为式 V 化合物；以及

(ii) 将所述式 V 化合物与式 VI 脒缩合形成式 I 化合物。

55. 权利要求 54 的方法，其中所述的式 IV 的化合物通过酰化式 III 化合物制备



56. 权利要求 55 的方法,其中所述的式 III 化合物通过利用 R^4CH_2COOH 的酸酐或者酰卤衍生物酰化式 II 化合物制备,



II

57. 权利要求 55 的方法,其中所述的式 III 化合物通过下述方法制备:将如权利要求 56 中定义的式 II 化合物用(i)氯化锌以及溴化乙基镁,以及(ii)乙酰氯处理。

58. 一种治疗 aurora 激酶-依赖性疾病的方法,所述的方法包括对需要该治疗的患者以足以抑制 aurora 激酶的量给药如权利要求 36 定义的式 Ib 的化合物或其可药用盐。

59. 一种治疗 FLT3-依赖性疾病的方法,所述的方法包括对需要该治疗的患者以足以抑制 FLT3 的量给药如权利要求 36 定义的式 Ib 的化合物或其可药用盐。

60. 一种治疗 CDK-依赖性疾病的方法,所述的方法包括对需要该治疗的患者以足以抑制细胞周期蛋白依赖性激酶的量给药如权利要求 36 定义的式 Ib 的化合物或其可药用盐。

61. 一种治疗 GSK-依赖性疾病的方法,所述的方法包括对需要该治疗的患者以足以抑制 GSK 的量给药如权利要求 36 定义的式 Ib 的化合物或其可药用盐。

4-(1H-吡啶-3-基)-嘧啶-2-基胺衍生物及其治疗用途

本发明涉及取代的嘧啶衍生物。具体地，本发明涉及 4-(1H-吡啶-3-基)-嘧啶-2-基胺及其治疗用途。更具体地，但不是唯一地，本发明涉及能够抑制一种或者多种蛋白激酶的化合物。

背景技术

在真核细胞中，所有的生物功能，包括 DNA 复制、细胞周期进程、能量代谢以及细胞生长以及分化，都是通过蛋白的可逆性磷酸化调节的。蛋白的磷酸化状态不仅决定其功能、亚细胞分布以及稳定性，而且决定其结合的其它蛋白或细胞成分的种类。因此，生化通路中的作为整体的蛋白质组，以及单个成员的特定磷酸化的平衡被生物体用作响应于不断变化的环境而保持内环境稳定的策略[71]。执行这些磷酸化以及去磷酸化步骤的酶分别为蛋白激酶以及磷酸酶。许多激酶已经在许多治疗领域获得了作为药物开发靶标的价值[72]。

真核蛋白激酶家族为人基因组最大的成员之一，包括约 500 种基因[1,2]。多数激酶包含带有保守的核心结构的 250-300 氨基酸残基催化结构域。这种结构域包括 ATP(较少情形下 GTP)的结合袋(binding pocket)，其末端磷酸被激酶共价转移至其大分子底物上。磷酸供体总是与二价离子(通常为 Mg^{2+} 或 Mn^{2+})结合成复合物。催化结构域的另一种重要功能是大分子底物的磷酸转移的结合以及定位。在绝大多数激酶中存在的催化结构域具有或多或少的同源性。

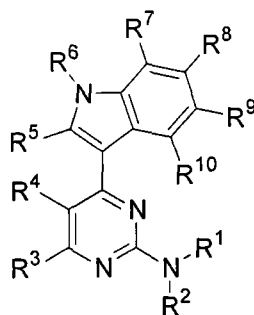
本领域已知有许多通过拮抗 ATP 结合能抑制蛋白激酶功能的分子[3-7]。例如，申请人以前公开了具有激酶抑制特性(特别地具有对细胞周期蛋白-依赖性激酶(CDKs)具有抑制特性)的 2-苯胺基-4-杂芳基-嘧啶化合物[8-12]。CDKs 是与多种细胞周期蛋白亚基结合的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。这些复合物对调节真核细胞周期进程以及对转录的调节非常重要[13,14]。

本发明寻求提供其他的被取代的杂芳基-嘧啶衍生物。更具体地，本发明涉及在治疗多种不同疾病中具有广泛治疗应用和/或能够抑制一种或多种

蛋白激酶的化合物。

发明概述

本发明第一方面涉及 4-(1*H*-吡啶-3-基)-咪唑-2-基胺。更具体地，本发明涉及式 I 的化合物，或者其可药用盐，



I

其中 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ； R^1 和 R^2 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ；或者 R^1 和 R^2 与其相连的氮一起形成环状基团，并且其中所述的环状基团任选被一个或者多个 R^{11} 或者 R^{12} 基团取代；

各 R^{11} 独立地为任选被一个或者多个 R^{12} 取代基取代的烃基；

各 R^{12} 独立地选自 OR^{13} 、 COR^{13} 、 $COOR^{13}$ 、 CN 、 $CONR^{13}R^{14}$ 、 $NR^{13}R^{14}$ 、 SR^{13} 、 SOR^{13} 、 SO_2R^{13} 、 SO_2OR^{13} 、 $SO_2NR^{13}R^{14}$ 、 R^{13} 、卤素、 CF_3 、 NO_2 以及脂环基，后者自身任选被一个或者多个 R^{12} 或者 R^{13} 基团取代；以及

各 R^{13} 以及各 R^{14} 独立地为 H 或者 $(CH_2)_nR^{15}$ ，其中 n 为 0、1、2 或者 3；以及

各 R^{15} 独立地选自烷基、环烷基、芳基、杂芳基、芳基以及脂环基；

条件是所述的化合物不是：

[4-(1*H*-吡啶-3-基)-咪唑-2-基]-[3-(1,1,2,2-四氟乙氧基苯基)]-胺；

3-[6-(4-溴苯基)-2-(1-哌嗪基)-4-咪唑基]-1*H*-吡啶；

3-[6-(4-溴苯基)-2-(1-吡咯烷基)-4-咪唑基]-1*H*-吡啶；或者

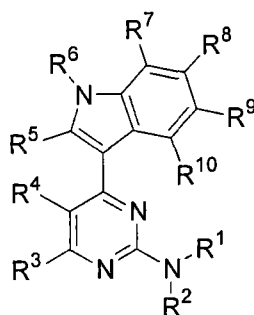
3-[6-(4-溴苯基)-2-(4-吗啉基)-4-咪唑基]-1*H*-吡啶。

数种 4-(1*H*-吡啶-3-基)-咪唑-2-基胺化合物是本领域中已知的[73]。但是，迄今为止，报道具有抑制激酶活性的化合物中只有[4-(1*H*-吡啶-3-基)-咪唑-2-基]-[3-(1,1,2,2-四氟-乙氧基)-苯基]-胺[74]，其显示抑制 PKC- α 、PKC- δ 和 EGF-R。

本发明提供了能够抑制多种其他激酶包括 aurora 激酶[75]、FMS-样酪氨酸激酶 3(FLT3)[76]、细胞周期蛋白-依赖性激酶(CDKs)[77]以及糖原合酶激酶 3(GSK3)[78]的化合物。

本发明第二方面涉及药物组合物,包括如上定义的式 I 化合物,或者其可药用盐,混合可药用稀释剂、赋形剂或者载体。

本发明第三方面涉及式 Ia 的化合物,或者其可药用盐在制备用于治疗增生性疾病的药物中的用途



Ia

其中 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ;
 R^1 和 R^2 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ; 或者 R^1 和 R^2 与其相连的氮一起形成环状基团,并且其中所述的环状基团任选被一个或者多个 R^{11} 或者 R^{12} 基团取代;

各 R^{11} 独立地为任选被取代一个或者多个 R^{12} 取代基的烃基;

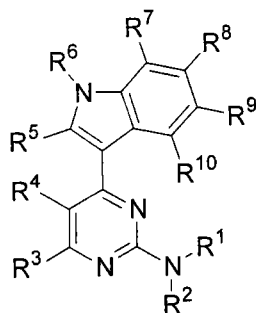
各 R^{12} 独立地选自 OR^{13} 、 COR^{13} 、 $COOR^{13}$ 、 CN 、 $CONR^{13}R^{14}$ 、 $NR^{13}R^{14}$ 、 SR^{13} 、 SOR^{13} 、 SO_2R^{13} 、 SO_2OR^{13} 、 $SO_2NR^{13}R^{14}$ 、 R^{13} 、卤素、 CF_3 、 NO_2 和脂环基,后者自身任选被一个或者多个 R^{12} 或者 R^{13} 基团取代;以及

各 R^{13} 以及各 R^{14} 独立地为 H 或者 $(CH_2)_nR^{15}$, 其中 n 为 0、1、2 或者 3; 以及

各 R^{15} 独立地选自烷基、环烷基、芳基、杂芳基、芳基和脂环基;

条件是所述的化合物不是 [4-(1H-吲哚-3-基)-咪啉-2-基]-[3-(1,1,2,2-四氟乙氧基苯基)]-胺。

本发明第四方面涉及式 Ib 的化合物,或者其可药用盐

**Ib**

其中 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ；
 R^1 和 R^2 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ；或者 R^1 和 R^2 与其相连的氮一起形成环状基团，并且其中所述的环状基团任选被一个或者多个 R^{11} 或者 R^{12} 基团取代；

各 R^{11} 独立地为任选被一个或者多个 R^{12} 取代基取代的烃基；

各 R^{12} 独立地选自 OR^{13} 、 COR^{13} 、 $COOR^{13}$ 、 CN 、 $CONR^{13}R^{14}$ 、 $NR^{13}R^{14}$ 、 SR^{13} 、 SOR^{13} 、 SO_2R^{13} 、 SO_2OR^{13} 、 $SO_2NR^{13}R^{14}$ 、 R^{13} 、卤素、 CF_3 、 NO_2 和脂环基，后者自身任选被一个或者多个 R^{12} 或者 R^{13} 基团取代；以及

各 R^{13} 以及各 R^{14} 独立地为 H 或者 $(CH_2)_nR^{15}$ ，其中 n 为 0、1、2 或者 3；
 以及

各 R^{15} 独立地选自烷基、环烷基、芳基、杂芳基、芳基和脂环基；

在制备用于治疗一或多种下述疾病的药物中的用途：

病毒性疾病；

CNS 疾病；

中风；

细菌感染；

真菌性疾病；

寄生虫疾病；

炎性疾病；

心血管疾病；

脱发症；以及

糖尿病。

本发明另一方面涉及如上定义的式 Ib 的化合物，或者其可药用盐在用于在用于识别能够抑制细胞周期蛋白依赖性激酶、GSK、aurora 激酶、FLT3 和 PLK 酶中的一或者多种的其他候选化合物测定中的用途。

本发明另一方面涉及如上定义的式 I 的化合物, 或者其可药用盐用于医药。

本发明另一方面涉及制备本发明化合物的方法。

发明详述

为避免疑问, 下文中描述的优选的实施方案指本发明的所有方面

如本发明中所使用的, 术语“烃基”是指至少包含 C 和 H 的基团。如果烃基包含不止一个 C, 那么这些碳并不是必需地需要彼此连接。例如, 至少两个碳可以由合适的元素或基团连接。因此, 烃基可以含有杂原子。合适的杂原子对于本领域技术人员是显而易见的, 并包括例如硫、氮、氧、磷和硅。其中烃基包含一个或者多个杂原子, 该基团可以通过碳原子或者通过杂原子连接至另外一个基团, 即, 连接原子可以为碳或者杂原子。优选地, 烃基为芳基、杂芳基、烷基、环烷基、芳烷基、脂环基、杂脂环基或链烯基。更优选地, 烃基为芳基、杂芳基、烷基、环烷基、芳烷基或者链烯基。烃基可以任选被一个或者多个 R^{12} 基团取代。

如本发明中所使用的, 术语“烷基”包括饱和的直链和支链烷基, 其可以是取代的(单取代的或多取代的)或者是未被取代的。优选地, 烷基为 C_{1-20} 烷基, 更优选为 C_{1-15} , 更优选为 C_{1-12} 烷基, 更优选为 C_{1-6} 烷基, 更优选为 C_{1-3} 烷基。特别优选的烷基包括, 例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基和己基。合适的取代基包括, 例如一个或多个 R^{12} 基团。优选地, 烷基是未被取代的。

如本发明中所使用的, 术语“环烷基”是指环状烷基, 其可以是取代的(单取代的或多取代的)或者是未被取代的。优选地, 环烷基为 C_{3-12} 环烷基。合适的取代基包括, 例如一个或多个 R^{12} 基团。

这里所用的术语“链烯基”指包含一或多个碳-碳双键的基团, 其可为支链的或非支链的, 取代的(单-或多-)或未被取代的。优选地链烯基为 C_{2-20} 链烯基, 更优选地 C_{2-15} 链烯基, 更优选地 C_{2-12} 链烯基, 或优选地 C_{2-6} 链烯基, 更优选地 C_{2-3} 链烯基。合适的取代基包括, 例如, 一或多个如上定义的 R^{12} 基团。

这里所用的术语“芳基”指可被取代的(单-或多-)或未被取代的 C_{6-12} 芳香基团。典型的实例包括苯基和萘基等。合适的取代基包括, 例如, 一或多

个 R^{12} 基团。

这里所用的术语“杂芳基”指 C_{2-12} 芳香的取代的(单-或多-)或未被取代的基团, 其包括一或多个杂原子。优选地, 杂芳基为包括一或多个选自 O、N 和 S 杂原子的 C_{4-12} 芳香基团。优选的杂芳基包括吡咯、吡唑、咪唑、吡嗪、吡啶、喹啉、噻吩、1,2,3-三唑、1,2,4-三唑、噻唑、噁唑、异噻唑、异噁唑、咪唑和呋喃等。再次, 合适的取代基包括, 例如, 一或多个 R^{12} 基团。

这里所用的术语“脂环基”指环状的脂肪基, 其任选地包含一个或者多个杂原子并且可被取代(单-或者多-)或者未被取代。优选地, 脂环基包含一个或者多个杂原子并且因此为杂脂环基。优选的杂脂环基基团包括哌啶基、吡咯烷基、哌嗪基、硫吗啉基和吗啉基。更优选地, 杂脂环基选自 N-哌啶基、N-吡咯烷基、N-哌嗪基、N-硫吗啉基和 N-吗啉基。再次, 合适的取代基包括例如一个或者多个 R^{12} 基团。

这里所用的术语“芳烷基”包括, 但不限于, 同时具有芳基和烷基官能团的基团。例如, 该术语包括其中烷基的一个氢原子被芳基代替的基团, 例如, 芳基为任选被一或多个取代基如卤素、烷基、烷氧基、羟基等取代的苯基。典型的芳烷基包括苄基、苯乙基等。

这里所用的术语“芳基-脂环基”包括但不限于芳基以及脂环基官能团二者的基团。例如, 该术语包括包含稠合至脂环基的芳基官能团(例如苯基)的基团。脂环基可包含一个或者多个杂原子, 即, 其可为杂脂环基。

本发明的一个优选的实施方案涉及式 I 的化合物, 或者其可药用盐,

其中 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ;

R^1 和 R^2 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ; 或者 R^1 和 R^2 与其相连的氮一起形成环状基团, 并且其中所述的环状基团任选被一个或者多个 R^{11} 或者 R^{12} 基团取代;

各 R^{11} 独立地为任选被一个或者多个 R^{12} 取代基取代的烃基;

各 R^{12} 独立地选自 OR^{13} 、 COR^{13} 、 $COOR^{13}$ 、CN、 $CONR^{13}R^{14}$ 、 $NR^{13}R^{14}$ 、 SR^{13} 、 SOR^{13} 、 SO_2R^{13} 、 SO_2OR^{13} 、 $SO_2NR^{13}R^{14}$ 、脂环基、卤素、 CF_3 以及 NO_2 ; 以及

R^{13} 和 R^{14} 各自独立地为 H 或者 $(CH_2)_nR^{15}$, 其中 n 为 0、1、2 或者 3;

以及

各 R^{15} 独立地选自烷基、环烷基、芳基、杂芳基、芳基和脂环基;

条件是所述的化合物不是:

[4-(1H-吡啶-3-基)-咪唑-2-基]-[3-(1,1,2,2-四氟乙氧基苯基)]-胺;

3-[6-(4-溴苯基)-2-(1-哌嗪基)-4-咪唑基]-1H-吡啶;

3-[6-(4-溴苯基)-2-(1-吡咯烷基)-4-咪唑基]-1H-吡啶; 或者

3-[6-(4-溴苯基)-2-(4-吗啉基)-4-咪唑基]-1H-吡啶。

在一个优选的本发明的实施方案中, R^1 和 R^2 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ; 或者 R^1 和 R^2 与其相连的氮一起形成环状基团, 其中所述的环状基团包含 2~9 个碳原子以及 1 或者 2 个选自 N、O 和 S 的杂原子, 并且其中所述的环状基团任选被 1 个或者 2 个选自 R^{11} 和 R^{12} 的取代基取代。

在一个优选的本发明的实施方案中, R^1 和 R^2 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} 。

在一个更优选的本发明的实施方案中, R^1 和 R^2 各自独立地为 H 或者 R^{11} 。

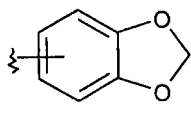
在一个特别优选的本发明的实施方案中, R^1 和 R^2 之一为 H 并且另一个为 R^{11} 。

在另外一个特别优选的本发明的实施方案中, R^1 和 R^2 都为 H。

优选地, R^{11} 为包含 1~24 个碳原子的烃基, 任选地包含至多 6 个选自 N、O 和 S 的杂原子。

更优选地, 烃基任选被至多 6 个 R^{12} 取代基取代。

在一个优选的实施方案中, R^{11} 为芳基、杂芳基、芳基-脂环基或者脂环基, 各基团可任选被一个或者多个 R^{12} 取代基取代。

在一个优选的实施方案中, R^{11} 选自苯基、吡啶基以及 , 各基团可任选被一个或者多个 R^{12} 取代基取代。

在一个优选的实施方案中, R^{11} 为芳基、杂芳基或者脂环基, 各基团可任选被一个或者多个 R^{12} 取代基取代。

在一个更优选的实施方案中, R^{11} 为苯基或者吡啶基, 各基团可任选被一个或者多个 R^{12} 取代基取代。

在一个优选的实施方案中, R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立地为 H 或者 R^{12} 。

优选地, R^3 为 H 并且 R^4 为 H 或者 R^{12} 。

优选地, R^3 和 R^4 都为 H。

优选地, R^9 和 R^{10} 都为 H。

在另一个优选的实施方案中, R^5 为 H 或者烷基, 更优选地, H 或者 Me。

在另一个优选的实施方案中, R^6 为 H、烷基、CO-烷基或者 CO-环烷基, 并且更优选地, H、Me、COMe 或者 CO-环丙基。更优选地, R^6 为 H。

在另一个优选的实施方案中, R^7 为 H、烷基、烷氧基或者卤素, 更优选地, H、Me、OMe 或者卤素。

在另一个优选的实施方案中, R^8 为 H、烷氧基或者卤素, 更优选地, H、OMe 或者 F。

在另一个优选的实施方案中, R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 都为 H。

在一个优选的实施方案中, 各 R^{15} 独立地选自甲基、乙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、苯基、吡啶基、吡咯烷基、吡咯基、吗啉基、哌嗪基、哌啶基、三唑基、四唑基以及噻唑基。更优选地, 各 R^{15} 为烷基或者芳基。

在一个高度优选的实施方案中, R^{15} 为 Me 或者苯基, 更优选地, Me。

在一个优选的实施方案中, 脂环基包含一个或者多个杂原子。

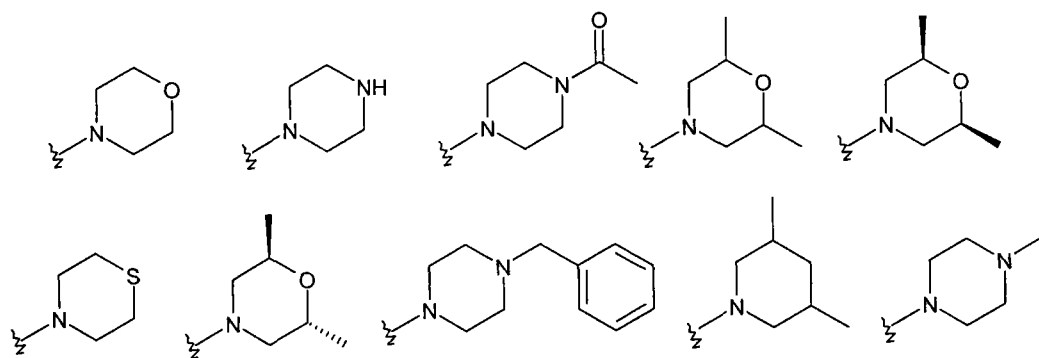
在一个优选的实施方案中, R^{12} 为脂环基, 任选被一个或者多个 R^{13} 或者 COR^{13} 基团取代。

在更优选的实施方案中, R^{12} 为吗啉基、哌嗪基、硫吗啉基或者哌啶基, 任选被一个或者多个 R^{13} 或者 COR^{13} 基团取代。

在甚至更优选的实施方案中, R^{12} 为吗啉基、哌嗪基、硫吗啉基或者哌啶基, 任选被一个或者多个烷基、芳烷基或者 CO-烷基基团取代。

更优选地, R^{12} 为吗啉基、哌嗪基、硫吗啉基或者哌啶基, 任选被一个或者多个甲基、苄基或者 COMe 基团取代。

更优选地, R^{12} 选自下述基团:

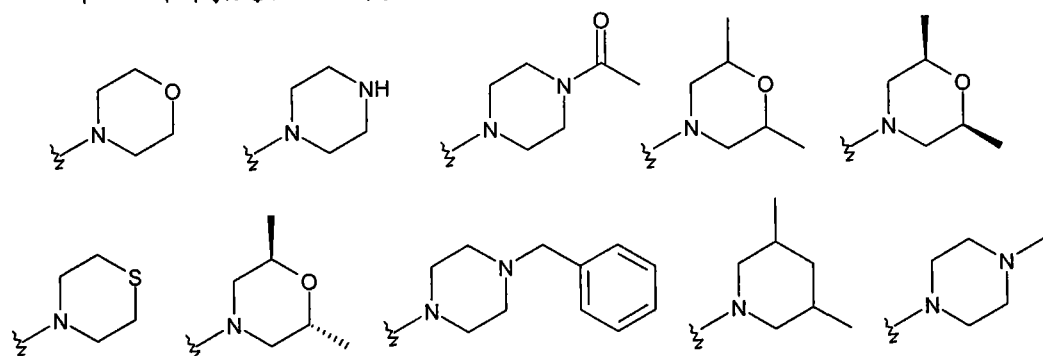


在一个优选的实施方案中, 各 R^{12} 独立地选自 OR^{13} 、 COR^{13} 、 $COOR^{13}$ 、 CN 、 $CONR^{13}R^{14}$ 、 $NR^{13}R^{14}$ 、 SR^{13} 、 SOR^{13} 、 SO_2R^{13} 、 SO_2OR^{13} 、 $SO_2NR^{13}R^{14}$ 、杂脂环基、卤素、 CF_3 和 NO_2 。

在更优选的实施方案中, 各 R^{12} 独立地选自 OH 、 OMe 、 $COMe$ 、 CHO 、 CO_2Me 、 $COOH$ 、 CN 、 $CONH_2$ 、 $NHMe$ 、 NH_2 、 NMe_2 、 SH 、 SMe 、 $SOMe$ 、 SO_2Me 、 SO_2NHMe 、 SO_2NH_2 、 Cl 、 Br 、 F 、 I 、 CF_3 、 NO_2 、 N -吗啉基、 N -吡咯烷基和 N -哌嗪基、 N -硫吗啉基、2,6-二甲基吗啉-4-基、4-苄基哌嗪-1-基、3,5-二甲基哌啶-1-基和 4-乙酰基哌嗪-1-基。

在甚至更优选的实施方案中, 各 R^{12} 独立地选自 OH 、 OMe 、 $COMe$ 、 CHO 、 CO_2Me 、 $COOH$ 、 CN 、 $CONH_2$ 、 $NHMe$ 、 NH_2 、 NMe_2 、 SH 、 SMe 、 $SOMe$ 、 SO_2Me 、 SO_2NHMe 、 SO_2NH_2 、 Cl 、 Br 、 F 、 I 、 CF_3 、 NO_2 、 N -吗啉基、 N -吡咯烷基和 N -哌嗪基。

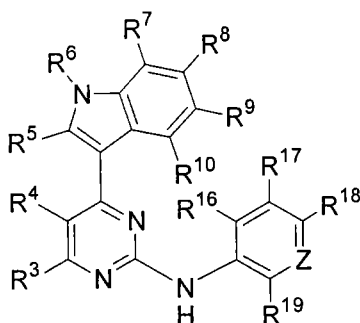
在一个高度优选的实施方案中, R^{12} 选自



NO_2 、 F 、 OMe 、 NMe_2 和 Me 。

在一个优选的实施方案中, R^{13} 为 $(CH_2)_nR^{15}$, 其中 n 为 0 或者 1。更优选地, n 为 0。

本发明一个特别优选的实施方案涉及式 Ic 的化合物, 或者其可药用盐



Ic

其中

R^{3-10} 如上定义;

Z 为 N 或者 CR^{20} ; 以及

R^{16-20} 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} 。

在一个优选的实施方案中, Z 为 N。

在另外一个优选的实施方案中, Z 为 CR^{20} 。

在一个优选的实施方案中, R^{16-20} 各自独立地选自 H 以及如上定义的 R^{12} 。

在一个特别优选的实施方案中 R^{16-20} 各自独立地选自 H、 NO_2 、 $NR^{13}R^{14}$ 、卤素、烷氧基以及任选被取代的杂脂环基。

在更优选的实施方案中, R^{16-20} 各自独立地选自 H、 NO_2 、卤素、烷氧基以及杂脂环基。

在一个优选的实施方案中, R^{16-20} 各自独立地选自 H、 NO_2 、F、OMe、N-吗啉基、 NH_2 、N-吡咯烷基、N-哌嗪基、N-硫吗啉基、2,6-二甲基吗啉-4-基、4-苄基哌嗪-1-基、3,5-二甲基-哌啶-1-基和 4-乙酰基哌嗪-1-基。

更优选地, R^{16-20} 各自独立地选自 H、 NO_2 、F、OMe 和 N-吗啉基。

在一个特别优选的实施方案中, 本发明的化合物选自下列化合物:

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(3-硝基苯基)吡啶-2-胺;

N-(4-氟苯基)-4-(1H-吡啶-3-基)吡啶-2-胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(6-甲氧基吡啶-3-基)吡啶-2-胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(4-吗啉-4-基苯基)吡啶-2-胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)吡啶-2-胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(4-哌嗪-1-基苯基)吡啶-2-胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(4-苄基哌嗪-1-基苯基)吡啶-2-胺;

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(2,6-二甲基吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺;
N'-[4-(1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-基]-N,N-二甲基苯-1,4-二胺;
4-(1H-吡啶-3-基)-N-(2-甲基-4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺;
4-(1H-吡啶-3-基)-N-(3,4,5-三甲氧基苯基)嘧啶-2-胺;
4-(1H-吡啶-3-基)-N-(3-甲氧基-4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺;
N-(3,5-二甲氧基苯基)-4-(1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-胺;
4-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺;
4-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺;
N-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-基-4-(1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-胺;
4-[1-(环丙基羰基)-1H-吡啶-3-基]-N-(4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺;
4-(1-乙酰基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺;
4-(1H-吡啶-3-基)-N-(4-甲基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺;
4-(7-甲氧基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺;
4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)]嘧啶-2-胺;
4-(7-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)]嘧啶-2-胺;
4-(6-甲氧基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)]嘧啶-2-胺;
4-(7-氯-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)]嘧啶-2-胺;
4-(6-氟-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)]嘧啶-2-胺;
4-(1H-吡啶-3-基)-N-[(4-乙酰基哌嗪-1-基)-3-甲基苯基]嘧啶-2-胺;
4-(1H-吡啶-3-基)-N-(3-甲基-4-硫吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺;
4-(1H-吡啶-3-基)-N-[(2R,6S)-2,6-二甲基吗啉-4-基苯基]嘧啶-2-胺;
4-(1H-吡啶-3-基)-N-[(2S,6S)-2,6-二甲基吗啉-4-基苯基]嘧啶-2-胺;
4-(1H-吡啶-3-基)-N-(3,5-二甲基哌啶-1-基苯基)嘧啶-2-胺; 以及
4-(1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-胺。

在一个特别优选的实施方案中,所述的化合物选自下述化合物:

4-(1H-吡啶-3-基)-嘧啶-2-基胺;
[4-(1H-吡啶-3-基)-嘧啶-2-基]-(3-硝基-苯基)-胺;
(4-氟-苯基)-[4-(1H-吡啶-3-基)-嘧啶-2-基]-胺;
[4-(1H-吡啶-3-基)-嘧啶-2-基]-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-胺; 以及
[4-(1H-吡啶-3-基)-嘧啶-2-基]-(4-吗啉-4-基-苯基)-胺。

在一个优选的实施方案中，本发明的化合物能够抑制一或者多种选自 CDK1/细胞周期蛋白 B、CDK2/细胞周期蛋白 A、CDK2/细胞周期蛋白 E、CDK4/细胞周期蛋白 D1、CDK7/细胞周期蛋白 H、CDK9/细胞周期蛋白 T1、GSK3 β 、aurora 激酶、FLT3 和 PLK1 的蛋白激酶，如用适当的测定测量得到。

在一个特别优选的实施方案中，本发明的化合物显示针对激酶抑制的 IC₅₀ 值小于约 10 μ M，更优选地小于约 5 μ M，更优选地小于约 1 μ M，更优选地小于约 0.5 μ M，更优选地小于约 0.1 μ M，甚至更优选地，小于约 0.01 μ M。在这些优选的实施方案中每一种范围之内的化合物可以从表 2 和 3 中识别出来，其显示了选择的本发明化合物的 IC₅₀ 值。多种激酶测定的细节记载在伴随的实施例部分。化合物(12)和(13)在这方面是特别优选的。

在一个优选的实施方案中，本发明的化合物能够在人细胞系中显示抗增生作用，如用标准的 72 小时 MTT 细胞毒性测定。优选地，本发明的化合物显示的 IC₅₀ 值小于 10 μ M，更优选地小于 5 μ M，甚至更优选地小于 1 μ M，如用所述的 MTT 测定所测量。更优选地，所述的化合物显示的 IC₅₀ 值小于 0.5 μ M，更优选地小于 0.2 μ M 或者 0.1 μ M。在这些优选的实施方案中每一种范围之内的化合物可以从表 4 中识别出来，其显示了选择的本发明化合物的 IC₅₀ 值。72 小时 MTT 细胞毒性测定的细节记载在伴随的实施例部分。化合物(12)在这方面是特别优选的。

治疗用途

已经本发明的化合物具有抗增殖活性，并因此相信其可用于治疗增殖性疾病例如癌症、白血病和其它与失控细胞增殖有关的疾病，例如牛皮癣和再狭窄。如本发明所定义的，本发明范围内的抗增殖作用可以由在体外全细胞测定法中抑制细胞增殖的能力得到证明，例如使用 A2780、Mia-PaCa-2、A549、HT29 或者 Saos-2 中的任何一种细胞系。利用这些测定法，可以确定一种化合物在本发明的意义上是否具有抗增殖性。

因此，优选的本发明实施方案涉及一或多种如上定义的式 Ia 化合物或者其可药用盐在制备用于治疗增殖性疾病的药物中的用途。

本发明一个优选的实施方案涉及式 Ia 的化合物或者其可药用盐在制备

用于治疗增生性疾病的药物中的用途

其中 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ;

R^1 和 R^2 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ; 或者 R^1 和 R^2 与其相连的氮一起形成环状基团、以及其中所述的环状基团任选被取代一个或者多个 R^{11} 或者 R^{12} 基团;

各 R^{11} 独立地为烃基任选被取代一个或者多个 R^{12} 取代基;

各 R^{12} 独立地选自 OR^{13} 、 COR^{13} 、 $COOR^{13}$ 、CN、 $CONR^{13}R^{14}$ 、 $NR^{13}R^{14}$ 、 SR^{13} 、 SOR^{13} 、 SO_2R^{13} 、 SO_2OR^{13} 、 $SO_2NR^{13}R^{14}$ 、脂环基、卤素、 CF_3 以及 NO_2 ; 以及

R^{13} 和 R^{14} 各自独立地为 H 或者 $(CH_2)_nR^{15}$, 其中 n 为 0、1、2 或者 3; 以及

各 R^{15} 独立地选自烷基、环烷基、芳基、杂芳基、芳基和脂环基;

条件是所述的化合物不是 [4-(1H-咪唑-3-基)-嘧啶-2-基]-[3-(1,1,2,2-四氟乙氧基苯基)]-胺。

如本发明所使用的, 术语“药物的制备”包括本发明的化合物直接用作药物的用途, 还包括其在筛选其它治疗剂的方案中的用途或者其在制备这种药物的任何阶段中的用途。

优选地, 增殖性疾病是癌症或白血病。

本发明所用的术语“增殖性疾病”在广义上包括任何需要控制细胞周期的疾病, 例如, 心血管疾病, 例如再狭窄和心脏病和心肌梗塞; 自体免疫性疾病, 例如肾小球肾炎和类风湿性关节炎; 皮肤病, 例如牛皮癣; 抗炎、抗真菌、抗寄生虫性疾病, 例如疟疾、肺气肿和脱发症和慢性阻塞性肺病。在这些疾病中, 本发明的化合物可以根据需要在所需细胞内诱导细胞凋亡或者维持停滞。

本发明的化合物可以抑制细胞周期中的任意步骤或阶段, 例如核被膜的形成、从细胞周期的静止期(G_0)退出、 G_1 进展、染色体解聚、核被膜破裂、START、DNA 复制的引发、DNA 复制的进展、DNA 复制的终止、中心体复制、 G_2 进展、有丝分裂或减数分裂功能的激活、染色体聚集、中心体分离、微管成核、纺锤体生成与功能、与微管动力蛋白的相互作用、染色单体分离(separation)与分开(seggregation)、有丝分裂功能的失活、收缩环的生成和胞质分裂活动。具体地, 本发明的化合物可以影响某些基因功能,

例如染色质结合、复制复合体的生成、复制许可、磷酸化或其它次级修饰活性、蛋白水解性降解、微管结合、肌动蛋白结合、septin结合、微管组织中心成核活性和与细胞周期发信号通路成分的结合。

在本发明的一个实施方案中，本发明化合物以抑制至少一种 CDK 酶的有效量给药。优选地，CDK 酶为 CDK1、CDK2、CDK3、CDK4、CDK6、CDK7、CDK8 和/或 CDK9。

更优选地，本发明化合物以足以抑制 CDK2 和/或 CDK4 中至少一种的量给药。

本发明的另一方面涉及如上定义的式 Ib 的化合物或者其可药用盐在制备用于治疗病毒性疾病的药物中的用途。优选地，所述的病毒性疾​​病选自人巨细胞病毒(HCMV)、1 型单纯疱疹病毒(HSV-1)、1 型人免疫缺陷病毒(HIV-1)和水痘-带状疱疹病毒(VZV)。

在一个优选的实施方案中，本发明涉及如上定义的式 Ib 化合物，或者其可药用盐，

其中 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ； R^1 和 R^2 各自独立地为 H、 R^{11} 或者 R^{12} ；或者 R^1 和 R^2 与其相连的氮一起形成环状基团、以及其中所述的环状基团任选被一个或者多个 R^{11} 或者 R^{12} 基团取代；

各 R^{11} 独立地为任选被一个或者多个 R^{12} 取代基取代的烷基；

各 R^{12} 独立地选自 OR^{13} 、 COR^{13} 、 $COOR^{13}$ 、CN、 $CONR^{13}R^{14}$ 、 $NR^{13}R^{14}$ 、 SR^{13} 、 SOR^{13} 、 SO_2R^{13} 、 SO_2OR^{13} 、 $SO_2NR^{13}R^{14}$ 、脂环基、卤素、 CF_3 和 NO_2 ；以及

R^{13} 和 R^{14} 各自独立地为 H 或者 $(CH_2)_nR^{15}$ ，其中 n 为 0、1、2 或者 3；以及

各 R^{15} 独立地选自烷基、环烷基、芳基、杂芳基、芳基和脂环基；

在制备用于治疗一或者多种下述疾病的药物中的用途：病毒性疾病；CNS 疾病；中风；细菌感染；真菌性疾病；寄生虫疾病；炎性疾病；心血管疾病；脱发症；以及糖尿病。

在本发明更优选的实施方案中，本发明的化合物以足以抑制一或多种与病毒复制相关的宿主细胞 CDKs 即 CDK2、CDK7、CDK8 和 CDK9[23] 的量给药。

如本发明所定义的，本发明范围内的抗病毒活性可通过抑制 CDK2、CDK7、CDK8 或 CDK9 的能力而得到证实。

在特别优选的实施方案中，本发明涉及一种或多种本发明的化合物在治疗 CDK 依赖性或非敏感性的病毒性疾病中的用途。CDK 依赖性或非敏感性疾病与一种或多种 CDK 酶的超过正常活性水平有关。这类疾病优选与 CDK2、CDK7、CDK8 和/或 CDK9 的异常活性水平有关。CDK 敏感性或非敏感性疾病是这样的一种疾病，其中 CDK 水平的失常不是主要原因，而是下游初级异常代谢导致的结果。在这种情况下，CDK2、CDK7、CDK8 和/或 CDK9 被认为是敏感性或非敏感性代谢途径的一部分，并且因此 CDK 抑制剂可在治疗这类疾病中有活性。

本发明的另一方面涉及一种治疗 CDK-依赖性或非敏感性疾病的方法，所述的方法包括对需要的患者以足以抑制细胞周期蛋白依赖性激酶的量给药如上定义的式 Ia 或者 Ib 的化合物，或者其可药用盐。

优选地，CDK-依赖性或非敏感性疾病为病毒性或非敏感性疾病或者增生性或非敏感性疾病，更优选地癌症。

在一个优选的实施方案中，本发明的化合物以足以抑制 FLT3 的量给药。FLT3 已知在急性髓性白血病的发病机制中发挥重要的作用[79]。因此，在一个特别优选的实施方案中，增生性或非敏感性疾病为急性髓性白血病。

本发明另一方面涉及一种治疗 FLT3-依赖性或非敏感性疾病的方法，所述的方法包括对需要的患者以足以抑制 FLT3 的量给药如上定义的式 Ia 或者 Ib 的化合物，或者其可药用盐。

本发明另一方面涉及如上定义的式 Ib 化合物，或者其可药用盐在制备用于治疗糖尿病的药物中的用途。

在特别优选的实施方案中，糖尿病为 II 型糖尿病。

GSK3 为磷酸化糖原合酶(GS)的数种蛋白激酶之一。骨骼肌中胰岛素对糖原合成的刺激源自 GS 的去磷酸化以及活化。因此，GSK3 对 GS 的作用导致后者的失活并因此抑制肌肉中葡萄糖向糖原的转化。II 型糖尿病(非-胰岛素依赖性糖尿病)是一种多因素疾病。高血糖症是由于肝脏、肌肉以及其它组织中的胰岛素耐受性以及受损的胰岛素分泌导致的。骨骼肌是胰岛素刺激的葡萄糖摄取的主要部位，在那里其要么离开循环要么转化成糖原。肌肉糖原沉积是葡萄糖调节平衡作用中的主要决定环节，并且 II 型糖尿病具有缺损的肌肉糖原贮存。有证据表明 GSK3 活性的增加在 II 型糖尿病中

很重要[24]。此外，已经证实 GSK3 在 II 型糖尿病的肌肉细胞中被过表达，并且在骨骼肌 GSK3 活性和胰岛素作用之间存在逆相关[25]。

因此，GSK3 的抑制在治疗糖尿病尤其是 II 型糖尿病以及糖尿病性神经病变中有治疗意义。

值得注意的是，已知 GSK3 磷酸化除 GS 以外的许多底物，并因此参与多种生化通路的调节。例如，GSK 在中枢和外周神经系统中高表达。

优选地，所述的化合物以足以抑制 GSK，更优选地 GSK3，更优选地 GSK3 β 的量进行给药。

因此，本发明另一方面涉及如上定义的式 Ib 的化合物或其可药用盐，在制备用于治疗 CNS 疾病例如神经退行性疾病的药物中的用途。

优选地，所述的 CNS 疾病为阿耳茨海默氏病。

Tau 为参与阿耳茨海默氏病的病因学的 GSK-3 底物。在健康的神经细胞中，Tau 与微管蛋白共聚成微管。但是，在阿耳茨海默氏病中，tau 形成了大的丝状缠结，破坏了神经细胞中的微管结构，从而损坏营养的传输以及神经信息的传递。

尽管不希望被理论所束缚，GSK3 抑制剂被认为能预防和/或逆转微管-相关蛋白 tau 的异常高度磷酸化，后者是阿耳茨海默氏病以及许多其它的神 经退行性疾病如进行性核上性麻痹、皮质基质变性以及皮克氏病的不变特征。tau 基因中的突变引起额颞痴呆(fronto-temporal dementia)的遗传形式，进一步支持 tau 蛋白功能障碍与神经退行性变化之间的关系[26]。

本发明另一方面涉及如上定义的式 Ib 的化合物或其可药用盐，在制备用于治疗双相性精神障碍(bipolar disorder)的药物中的用途。

另一方面，本发明涉及如上定义的式 Ib 的化合物或其可药用盐，在制备用于治疗中风的药物中的用途。

降低神经元细胞凋亡是头外伤、中风、癫痫症以及运动神经元疾病中的一个重要的治疗目标[27]。因此，作为神经元细胞中的促细胞凋亡因子，GSK3 使该蛋白激酶成为设计用于治疗这些疾病的抑制性药物中有吸引力的治疗靶标。

本发明另一方面涉及如上定义的式 Ib 的化合物或其可药用盐，在制备用于治疗脱发症(alopecia)的药物中的用途。

毛发生长受 Wnt 信号通路尤其是 Wnt-3 信号通路的控制。在皮肤的组

织培养模型体系中， β -联蛋白(catenin)的不可降解的突变体的表达导致推定的干细胞的数量显著增加，所述干细胞具有更大的增殖活性(proliferative potential)[28]。这种干细胞群体表达高水平的非-钙粘蛋白-相关的 β -联蛋白 [29]，其可促进高的增殖活性。此外，皮肤中过量表达截短的 β -联蛋白的转基因小鼠发生全新的发-囊形态发生，正常情况下只在胚胎形成中才发生。因此，GSK3 抑制剂的异位使用可用于治疗光秃并可用于化疗诱导的脱发症的头发生长的恢复。

本发明另一方面涉及一种治疗 GSK3-依赖性疾病的方法，所述的方法包括对需要该治疗的患者以足以抑制 GSK3 的量给药如上定义的式 Ia 的化合物或其可药用盐。

优选地，GSK3-依赖性疾病为糖尿病。

优选地，本发明的化合物或其可药用盐，以足以抑制 GSK3 β 的量给药。

在本发明的一个实施方案中，本发明的化合物以足以抑制至少一种 PLK 酶的量给药。

polo 样激酶(PLKs)由丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族组成。在 polo 位点的有丝分裂果蝇 *melanogaster* 突变显示出纺锤体异常[30]，并且发现 polo 编码有丝分裂激酶[31]。在人体中，存在三种高度相关的 PLKs[32]。它们包含高度同源的氨基-端催化性激酶结构域并且其羧基端包含两个或三个保守区域，polo 盒。目前不完全了解 polo 盒的功能，但是其参与将 PLKs 靶向亚细胞区[33,34]、调节与其它蛋白的相互作用[35]或可构成自调节结构域部分[36]。此外，polo 盒-依赖性 PLK1 活性对正确的中期/后期转换以及胞质分裂是必须的[37,38]。

研究表明人 PLKs 调节有丝分裂的一些基本方面[39,40]。具体地，认为 PLK1 活性对 G2 后期/前期早期中的中心体的功能性成熟以及随后的双极纺锤体的形成是必需的。通过小的干扰 RNA(siRNA)技术消耗细胞内 PLK1 已经证实，该蛋白对多重有丝分裂过程以及胞质分裂的完成是必需的[41]。

在本发明更优选的实施方案中，本发明的化合物以足以抑制 PLK1 的量给药。

在三种人 PLK 中，PLK1 得到最好的表征；其调节多种细胞裂分周期活性(cell division cycle effect)，包括有丝分裂的起始[42,43]、DNA-损害关卡激活[44,45]、后期促进复合物的调节[46-48]、蛋白酶体的磷酸化[49]以及中

心体的复制以及成熟[50]。

具体地，有丝分裂的启动要求活化 M-期促进因子(MPF)，细胞周期蛋白依赖性激酶 CDK1 和 B-型细胞周期蛋白之间的复合物[51]。后者在细胞周期的 S 和 G2 期聚集，并由 WEE1、MIK1 和 MYT1 激酶促进对 MPF 复合物的磷酸化抑制作用。在 G2 期末期，由双重-特异性磷酸酶 CDC25C 导致的相应脱磷酸作用引发 MPF 的活化[52]。在分裂间期，细胞周期蛋白 B 定位至细胞质[53]，然后在前期磷酸化并且该事件引起核易位[54,55]。在前期的活性 MPF 的核聚集被认为对启动 M-期事件是重要的[56]。但是，由于 WEE1，核 MPF 保持无活性，除非被 CDC25C 抵消。磷酸酶 CDC25C 自身在分裂间期定位至细胞质，并在前期在核中聚集[57-59]。细胞周期蛋白 B[60] 和 CDC25C[61]二者的核进入可被 PLK1 的磷酸化促进[43]。这种激酶是 M-期启动的重要调节因子。

在一个特别优选的实施方案中，本发明的化合物为 PLK1 的 ATP-拮抗抑制剂。

在本发明中，ATP 拮抗性指通过削弱或破坏 ATP 结合的方式可逆地或不可逆地在酶活性位点结合，抑制剂化合物减少或防止 PLK 催化活性，即从 ATP 磷酸转移至大分子 PLK 底物的能力。

在另一优选的实施方案中，本发明的化合物以足以抑制 PLK2 和/或 PLK3 的量给药。

哺乳动物 PLK2(也称为 SNK)和 PLK3(也称为 PRK 和 FNK)最初显示为直接的早期基因产物。PLK3 激酶活性似乎在 S 后期和 G2 期达到高峰。其也在 DNA 损害关卡活化以及严重的氧化应激期间活化。PLK3 也在细胞中微管动力学和中心体功能的调节中发挥重要作用，并且 PLK3 表达下调导致细胞周期停滞和细胞凋亡[62]。PLK2 是三种 PLKs 中了解最少的。PLK2 和 PLK3 二者可能还具有其它重要的有丝分裂后功能[35]。

本发明的其他方面涉及一种治疗 PLK-依赖性疾病的方法，所述的方法包括对需要该治疗的患者以足以抑制 PLK 的量给药如上定义的式 Ib 的化合物或其可药用盐。

优选地，PLK-依赖性疾病为增生性疾病，更优选地癌症。

优选地，本发明的化合物，或者其可药用盐以足以抑制 aurora 激酶的量给药。

本发明另外一方面涉及一种治疗 aurora 激酶-依赖性疾病的方法，所述的方法包括对需要该治疗的患者以足以抑制 aurora 的量给药如上定义的式 Ib 的化合物或其可药用盐。

优选地，aurora 激酶依赖性疾病为如上定义的病毒性疾病。

药物组合物

本发明的其它方面涉及一种药物组合物，包括一种或者多种如上定义的本发明的化合物与一种或多种可药用稀释剂、赋形剂或载体混合。尽管本发明的化合物(包括其可药用盐、酯以及可药用溶剂合物)可单独给药，通常它们与可药用载体、赋形剂或稀释剂一起给药，尤其是用于对人治疗的时候。药物组合物可用于人和兽医中人或动物使用。

本发明所述的各种不同形式的药物组合物的合适赋形剂的实例可见于“Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd Edition, (1994), 由 A Wade 和 PJ Weller 编著。

治疗用途的可接受的载体或稀释剂是制药领域中公知的，例如描述于 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co.(A. R. Gennaro edit. 1985)中。

合适的载体的实例包括乳糖、淀粉、葡萄糖、甲基纤维素、硬脂酸镁、甘露醇、山梨醇等。合适的稀释剂的实例包括乙醇、甘油和水。

药用载体、赋形剂或稀释剂可根据将要使用的给药途径以及标准的制药规范进行选择。药物组合物可包含作为或除了载体、赋形剂或稀释剂以外的任何合适的粘合剂、润滑剂、助悬剂、包衣剂、助溶剂。

合适的粘合剂的实例包括淀粉、明胶、天然糖类如葡萄糖、无水乳糖、自由流动的乳糖、 β -乳糖、玉米甜料、天然和合成的树胶，如阿拉伯树胶、黄蓍树胶或藻酸钠、羧基甲基纤维素和聚乙二醇。

合适的润滑剂的实例包括油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠等。

防腐剂、稳定剂、染料以及甚至调味剂可提供在本发明的药物组合物中。防腐剂的实例包括苯甲酸钠、山梨酸以及对羟基苯甲酸的酯类。也可使用抗氧化剂以及助悬剂。

盐/酯

本发明的化合物可以盐或酯，尤其是可药用的盐或酯的形式提供。

本发明化合物的可药用盐包括它们合适的酸加成盐或碱加成盐。合适的可药用盐的评论可参见 Berge 等人的 J. Pharm Sci, 66, 1-19(1977)。例如，盐为与以下酸形成的盐：无机强酸，如矿物酸，例如硫酸、磷酸或氢卤酸；强有机羧酸，如未被取代或取代(如被卤代)的 1 至 4 个碳原子的链烷羧酸，例如乙酸；饱和或不饱和的二元羧酸，例如草酸、丙二酸、丁二酸、马来酸、富马酸、邻苯二甲酸或对苯二甲酸；羟基羧酸，例如抗坏血酸、羟基乙酸、乳酸、苹果酸、酒石酸或柠檬酸；氨基酸，例如天冬氨酸或谷氨酸；苯甲酸；或有机磺酸，如未被取代或取代(如被卤代)的(C₁-C₄)烷基磺酸或芳基磺酸，如甲磺酸或对甲苯磺酸。

取决于被酯化的官能团，使用有机酸或醇/氢氧化物形成酯。有机酸包括羧酸，如未被取代或取代(如被卤代)的 1 至 12 个碳原子的链烷羧酸，例如乙酸；饱和或不饱和的二元羧酸，例如草酸、丙二酸、丁二酸、马来酸、富马酸、邻苯二甲酸或对苯二甲酸；羟基羧酸，例如抗坏血酸、羟基乙酸、乳酸、苹果酸、酒石酸或柠檬酸；氨基酸，例如天冬氨酸或谷氨酸；苯甲酸；或有机磺酸，如未被取代或取代(如被卤代)的(C₁-C₄)烷基磺酸或芳基磺酸，如甲磺酸或对甲苯磺酸。合适的氢氧化物包括无机氢氧化物，如氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、氢氧化铝。醇包括未被取代或取代(如被卤代)的 1 至 12 个碳原子的链烷醇。

对映异构体/互变异构体

在前述的本发明的所有方面中，本发明还适当地包括本发明的化合物的全部对映异构体和互变异构体。本领域的技术人员能认识到具有光学性质(一个或多个手性碳原子)或互变异构特征的化合物。可通过本领域中已知的方法分离/制备相应的对映异构体和/或互变异构体。

立体异构体和几何异构体

一些本发明的化合物可以立体异构体和/或几何异构体的形式存在，例如其可具有一个或多个不对称和/或几何中心，并因此可以二种或多种立体异构和/或几何形式存在。本发明包括这些活性成分的所有单独立体异构体

和几何异构体及其混合物的使用。权利要求中使用的术语包括这些形式，只要所述形式保留适当的功能活性(但不必到相同程度)。

具体地，本发明的化合物可以存在顺式或者反式的形式，或者为分开的形式，或者为以任何比例的混合物的形式。例如，当本发明的化合物包含吗啉基或者哌啶取代基的时候，在吗啉以及哌啶环上的甲基可以为顺式或者反式。

本发明还包括活性成分或其可药用盐的所有合适同位素变体。本发明药物或其可药用盐的同位素变体定义为其中至少一个原子被具有相同原子序数但原子质量与自然界中通常发现的原子质量不同的原子取代的物质。可被掺入到药物和其可药用盐的同位素的例子包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟和氯的同位素，分别如 ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 和 ^{36}Cl 。本发明的药物和其可药用盐的一些同位素变体，例如结合放射性同位素如 ^3H 或 ^{14}C 的那些化合物，在药物和/或底物组织分布研究中是有用的。含氚的即 ^3H 和碳-14即 ^{14}C 同位素因其容易制备和可检测性而特别优选。此外，用同位素如氘即 ^2H 的取代可因较大的代谢稳定性而提供特定的治疗益处，例如体内半衰期增加或剂量要求降低，并因此可在一些情况下是优选的。通常可使用合适试剂的适当同位素变体，通过常规过程制备本发明药物和其可药用盐的同位素变体。

溶剂合物

本发明还包括本发明化合物的溶剂合物形式。权利要求中使用的术语包括这些形式。

多晶型物

本发明还涉及本发明化合物的各种结晶形式、多晶型形式和无水(水合)形式。众所周知，在药物工业中可通过稍微改变这种化合物合成制备中所用溶剂的纯化方法和或分离形式来分离得到化合物的任意这类形式。

前体药物

本发明还包括本发明化合物的前体药物形式。这种前体药物通常为一个或多个适当基团已被修饰以使在对人或哺乳动物对象给药后所述的修饰

可被逆转的式 I 的化合物。虽然为了实现体内逆转可与这种前体药物一起给药第二种药物，但通常通过在这类对象中天然存在的酶实现这种逆转。这类修饰的例子包括酯(例如上述那些中的任一种)，其中可通过酯酶等进行逆转。其它这类系统为本领域中那些技术人员所熟知。

给药

可使本发明的药物组合物适于口服、直肠、阴道、肠胃外、肌内、腹膜内、动脉内、鞘内、支气管内、皮下、皮内、静脉内、鼻、口腔或舌下给药途径。

对于口服给药，特别利用压缩片剂、药丸、片剂、凝胶剂(gellules)、滴剂和胶囊剂。优选地，这些组合物每剂包含 1-250mg 的有效成分，更优选包含 10-100mg 的有效成分。

其它给药形式包括溶液剂或乳剂，它们可经静脉内、动脉内、鞘内、皮下、皮内、腹膜内或肌内给药，并由无菌或可灭菌溶液制备。本发明的药物组合物还可为栓剂、阴道栓剂、混悬剂、乳剂、洗剂、软膏、乳膏剂、凝胶、喷雾剂、溶液剂或扑粉(dusting powder)的形式。

经皮给药的替代方式是利用透皮贴片(skin patch)。例如，可将有效成分掺入到由聚乙二醇含水乳液或液体石蜡组成的乳膏剂内。还可以 1-10wt% 的浓度将有效成分掺入到由白蜡或白色软石蜡基质与所需要的稳定剂和防腐剂共同组成的软膏内。

可注射形式每剂可包含 10-1000mg 的有效成分，优选 10-250mg 的有效成分。

组合物可被配制成单位剂型，即包含单位剂量或单位剂量的多重单位或亚单位的形式分散部分。

剂量

本领域的普通技术人员无需过度试验就可容易地确定对患者给药的本发明组合物的适宜剂量。通常，医师会确定对个体患者最适合的实际剂量，并且根据多种因素包括使用的具体化合物的活性、化合物的代谢稳定性以及作用时间的长短、病人的年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、给药的方式以及时间、排泄速率、药物组合以及具体疾病的严重程度以及接

受治疗的个体进行调整。本文公开的剂量为一般情况的示例。当然也可有有益的较高或较低剂量范围个别情况，这都在本发明的范围内。

根据需要，可以以 0.01-30 mg/kg 体重，如 0.1-10 mg/kg 体重，更优选 0.1-1 mg/kg 体重的剂量给药所述药物。

在示例性的实施方案中，对病人施用一或多剂 10~150 mg/天。

联合给药

在特别优选的实施方案中，一或多种本发明的化合物与一或多种其它的治疗活性剂(例如，市场上提供的现有药物)联合给药。在这种情况下，本发明的化合物可连续地，同时地或先后地与一或多种活性剂组合给药。

例如，已知抗癌药通常在联合使用的时候更有效。尤其地，为避免主要毒性作用、作用机制以及耐药机制的重叠，联合疗法是理想的。此外，也可以以最大耐受剂量并在这些剂量之间以最小的时间间隔给药大多数药物也是理想地。化学治疗药物联合的主要优势在于可能通过生化相互作用促进加和的或可能的协同作用，并且也可能降低在早期肿瘤细胞中的耐药性的出现，后者响应于用单药进行的初始化疗。生化相互作用在选择药物组合时的用途的实例通过下述事实得到证实：施用亚叶酸增加 5-氟尿嘧啶的活性细胞内代谢物对其靶标胸苷酸合酶的结合，从而增加其细胞毒性活性。

许多联合药物目前已经用于癌症和白血病的治疗中。医学实践的更广泛的综述可见“Oncologic Therapies”，由 E. E. Vokes 和 H.M. Golomb 编著，由 Springer 出版。

通过研究受试化合物与已知的或认为在最初治疗具体的癌症中或衍生自癌症的细胞系中有价值的化合物的抑制活性，从而可建议有利的组合。这种方法也可用于测定施用药物的顺序，即，之前、同时或之后。所述的给药方案可为这里鉴别的所有细胞周期作用药物的特征。

测定

本发明另一方面涉及如上定义的式 Ib 化合物，或者其可药用盐在用于鉴别其它的候选化合物的测定中的用途，所述候选化合物能抑制一或多种蛋白激酶的活性。

本发明另一方面涉及本发明的化合物或者其可药用盐在用于鉴定能抑制一或多种细胞周期蛋白依赖性激酶、aurora 激酶、GSK、FLT3 以及 PLK 的其他候选化合物的测定中用途。

优选地，所述的测定为竞争性结合测定。

更优选地，竞争性结合测定包括将本发明的化合物与蛋白激酶以及候选化合物接触并检测本发明的化合物和蛋白激酶之间的相互作用中的任何变化。

本发明一方面涉及一种方法，包括下述步骤：

- (a) 进行上述的测定方法；
- (b) 鉴别一或多种能结合至配体结合结构域的配体；以及
- (c) 制备一定量的所述一或多种配体。

本发明另一方面提供了一种方法，包括下述步骤：

- (a) 进行上述的测定方法；
- (b) 鉴别一或多种能结合至配体结合结构域的配体；以及
- (c) 制备包括所述的一或多种配体的药物组合物。

本发明另一方面涉及一种方法，包括下述步骤：

- (a) 进行上述的测定方法；
- (b) 鉴别一或多种能结合至配体结合结构域的配体；以及
- (c) 修饰一或多种所述的能结合至配体结合结构域的配体；
- (d) 进行上述的测定方法；
- (e) 任选地制备包括所述的一或多种配体的药物组合物。

本发明还涉及利用上述方法鉴定的配体。

本发明另一方面还涉及包括利用上述方法鉴定的配体的药物组合物。

本发明另一方面涉及利用上述方法鉴定的配体在制备用于治疗增生性疾病、病毒性疾病、CNS 疾病、中风、脱发症和糖尿病的药物组合物中的用途。

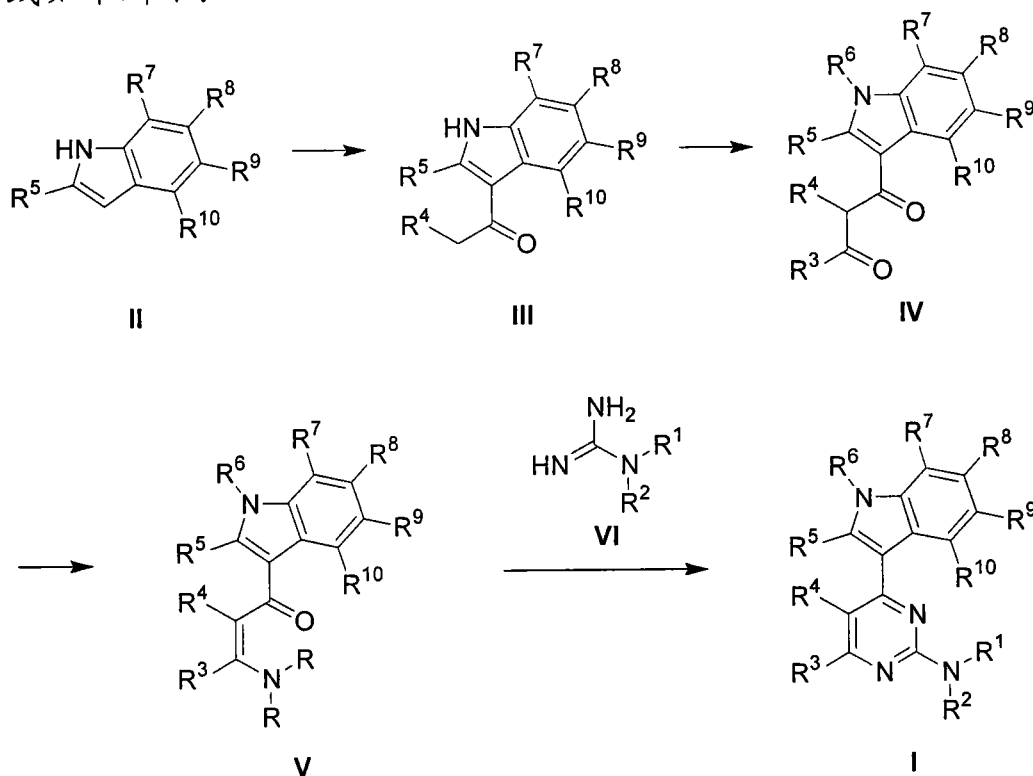
优选地，所述的候选化合物是通过对本发明化合物进行常规 SAR 修饰而产生。

这里所用的术语“常规 SAR 修饰”指通过化学衍生化改变给定的化合物的本领域公知的标准方法。

上述方法可用于筛选用作一或多种蛋白激酶抑制剂的配体。

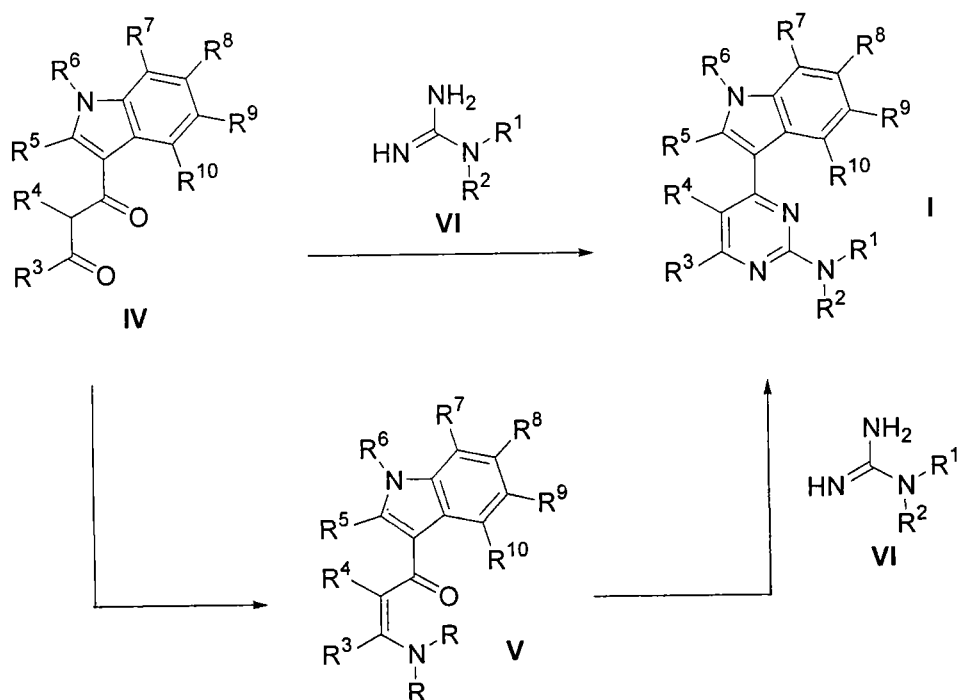
合成

通式 I 的化合物可以利用本领域公知的合适的方法制备得到。方便的合成路线如下所示：



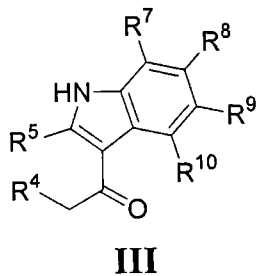
N-未被取代的 1-*H*-吲哚 II 可以利用 R^4CH_2COOH 的酸酐或者酰卤衍生物在 C-3 酰化得到 3-酰基-1*H*-吲哚产物 III ([69], pp. 262-263)。如果 R^6 不是 H, 该取代基随后导入, 接着用适当的包含 R^3 的羰基化合物酰化, 以提供中间体 1,3-二羰基化合物 IV。这些能够直接与脒 VI 缩合; 或者, 它们首先转化为烯氨 V, 进一步得到 4-(1*H*-吲哚-3-基)-嘧啶-2-基胺 I [70]。

本发明的另一方面涉及制备如上定义的式 Ib 化合物的方法, 所述的方法包括下述步骤:

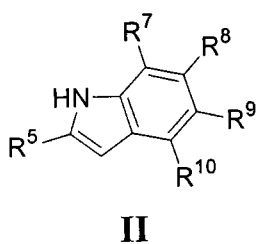


- (a) 将式 IV 化合物与式 VI 的脲缩合形成式 I 的化合物；或者
 (b) (i)将式 IV 化合物转化为式 V 化合物；以及
 (ii)将式 V 化合物与式 VI 的脲缩合形成式 I 化合物。

优选地，式 IV 的化合物通过酰化式 III 化合物制备得到



优选地，式 III 化合物通过利用 R^4CH_2COOH 的酸酐或者酰卤衍生物酰化式 II 化合物制备得到，



在优选的实施方案中，所述的式 III 化合物通过下述方法制备得到：将

如上定义的式 II 化合物用(i)氯化锌以及溴化乙基镁, 以及(ii)乙酰氯处理。

本发明进一步通过下述非限制性实施例进行描述。

实施例

实施例 1

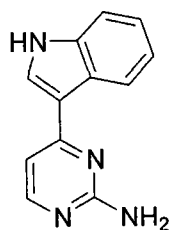
概述

使用 Varian INOVA-500 仪器获得 NMR 光谱。化学位移相对于四甲基硅烷内标物以百万分率(ppm)给出。利用电喷雾离子化(ESI), 使用 Waters ZQ2000 单四极质谱仪获得质谱。分别使用 Vydac 218TP54(250×4.6 mm)和 218TP1022(250×22 mm)柱, 进行分析和制备性 RP-HPLC。使用 H₂O/MeCN 系统(含有 0.1% CF₃COOH), 以 1 mL/分钟(分析柱)和 9 mL/分钟(制备柱)的流动速率进行线性梯度洗脱。通过对色谱图进行积分($\lambda = 254 \text{ nm}$), 以评价纯度。硅胶(EM Kieselgel 60, 0.040-0.063 mm, Merck)或 ISOLUTE 预填充柱 (Jones Chromatography Ltd. UK)用于快速色谱。

选择的本发明的结构显示在表 1 中。

实施例 2

4-(1H-吲哚-3-基)-嘧啶-2-基胺 (1)

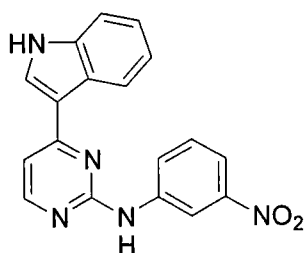


将 1-(1H-吲哚-3-基)-乙酮(2 mmol, 3.18 g)的二甲氧基甲基-二甲基-胺溶液(60 mmol, 7.18 g, 8 mL)加热回流 16 小时。真空蒸发过量的二甲氧基甲基-二甲基-胺以得到橙色的残留物 3-二甲基氨基-1-(1H-吲哚-3-基)-丙烯酮, 其不经过进一步的纯化用于下一反应。将该物质(5 mmol, 1.07 g)以及碳酸胍(5 mmol, 0.94 g)在 2-甲氧基乙醇(20 mL)中的混合物在 125 °C 加热 22 小时。蒸发溶剂并将残留物经硅胶柱层析纯化(用 5: 1 EtOAc/PE 并且然后 EtOAc 洗脱)。将包含需要产物的级分合并并蒸发。残留物从 MeOH 结晶得到纯净的无色晶体的标题化合物(0.80 g, 76%)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.43 (s, 1H, NH), 6.94 (d, 1H, $J = 5.3$ Hz, 咪啉基-H), 7.14-7.27 (m, 2H, Ar-H), 7.49 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, Ar-H), 8.10 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz, 咪啉基-H), 8.18 (s, 1H, 吡啶 C^2 -H), 8.59 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz, Ar-H)。

实施例 3

[4-(1H-吡啶-3-基)-咪啉-2-基]-(3-硝基-苯基)-胺 (2)



将 1-(1H-吡啶-3-基)-乙酮(1.00 g, 6.28 mmol)和叔丁氧基-双-(二甲基-氨基)-甲烷(1.5 mL, 1.16 mmol)的混合物在 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 加热 15 小时。冷却后, 并真空浓缩, 将残留物用冷乙醚处理。过滤形成的黄色沉淀物并干燥得到 3-二甲基氨基-1-(1H-吡啶-3-基)-丙烯酮(0.40 g, 1.86 mmol, 29.7%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 2.95 (6H, br. s, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 5.74 (1H, d, $\text{C}=\text{CH}$, $J = 12.6$ Hz), 7.08 (1H, dd, ArH, $J = 8.3, 8.3$ Hz), 7.10 (1H, dd, ArH, $J = 7.8, 7.8$ Hz), 7.38 (1H, d, ArH, $J = 7.8$ Hz), 7.49 (1H, d, $\text{C}=\text{CH}$, $J = 12.6$ Hz), 8.12 (1H, s, ArH), 8.26 (1H, d, ArH, $J = 7.8$ Hz), 11.56 (1H, s, NH)。

ESI-MS: $m/z = 214.98$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$ 理论值 214.3; Anal. RP-HPLC (0-60% MeCN 梯度) $t_R = 13.2$ 分钟(> 98% 纯度)。

将 3-二甲基氨基-1-(1H-吡啶-3-基)-丙烯酮(0.173 g, 0.8 mmol), *N*-(3-硝基-苯基)-胍硝酸盐(0.197 g, 0.8 mmol)和碳酸钾(0.139 g, 1.0 mmol)在 2-甲氧基乙醇(4 mL)中混合并在 $115\text{ }^\circ\text{C}$ 加热 22 小时。冷却后, 滤除无机物并将滤液浓缩至干。将粗制的产物经过硅胶柱层析纯化。收集需要的级分、蒸发并干燥得到纯净的标题化合物(0.083 g, 0.25 mmol, 31%)。

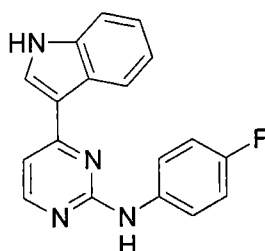
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 7.13 (1H, dd, ArH, $J = 8.3, 8.3$ Hz), 7.20 (1H, dd, ArH, $J = 8.3, 8.3$ Hz), 7.39 (1H, d, ArH, $J = 5.8$ Hz), 7.48 (1H, d, ArH, $J = 8.3$ Hz), 7.59 (1H, dd, ArH, $J = 8.3, 8.3$ Hz), 7.80 (1H, dd, ArH, $J = 8.3, 2.3$

Hz), 8.14 (1H, dd, ArH, $J = 8.3, 2.3$ Hz), 8.40 (1H, d, ArH, $J = 2.3$ Hz), 8.42 (1H, d, ArH, $J = 5.8$ Hz), 8.53 (1H, d, ArH, $J = 8.3$ Hz), 8.97 (1H, s, ArH), 9.98 (1H, s, NH), 11.89 (1H, s, NH)。ESI-MS $m/z = 331.94$ $[M+H]^+$, $C_{18}H_{13}N_5O_2$ 理论值 331.33。Anal. RP-HPLC (0-60 % MeCN 梯度) $t_R = 18.53$ 分钟 (> 98 % 纯度)。

实施例 4

下述化合物利用类似于在上述实施例 3 中描述的步骤进行制备:

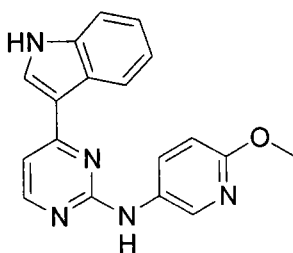
(4-氟-苯基)-[4-(1H-吲哚-3-基)-嘧啶-2-基]-胺 (3)



1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.13 (1H, dd, ArH, $J = 8.3, 8.3$ Hz), 7.19 (1H, dd, ArH, $J = 8.3, 8.3$ Hz), 7.19 (2H, d, ArH, $J = 8.3$ Hz), 7.32 (1H, d, ArH, $J = 5.8$ Hz), 7.46 (1H, d, ArH, $J = 8.3$ Hz), 7.75 (2H, d, ArH, $J = 8.3$ Hz), 8.27 (1H, d, ArH, $J = 5.8$ Hz), 8.40 (1H, s, ArH), 8.47 (1H, d, ArH, $J = 8.3$ Hz), 9.68 (1H, s, NH), 11.94 (1H, s, NH)。

ESI-MS $m/z = 305.05$ $[M+H]^+$, $C_{18}H_{13}FN_4$ 理论值 304.32。Anal. RP-HPLC (0-60 % MeCN 梯度) $t_R = 18.24$ 分钟 (> 98 % 纯度)。

[4-(1H-吲哚-3-基)-嘧啶-2-基]-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-胺 (4)

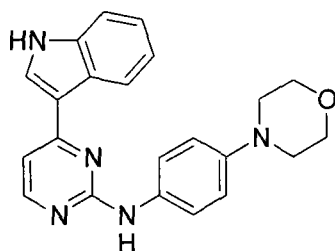


1H -NMR (500 MHz, CD $_3$ OD) δ : 3.96 (3H, s, CH $_3$), 6.90 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, ArH), 7.16 (1H, t, $J = 8.5$ Hz, ArA), 7.23 (1H, t, $J = 8.5$ Hz, ArH), 7.31 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, ArH), 7.46 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, 嘧啶基-H), 7.98 (1H, m, ArH), 8.12

(1H, d, $J = 5.5$ Hz, 嘧啶基-H), 8.28 (2H, m, ArH), 8.39 (1H, s, ArH)。

ESI-MS $m/z = 317.99$ $[M+H]^+$, $C_{18}H_{15}N_5O$ 理论值 317.34. Anal. RP-HPLC (10-70 % MeCN 梯度) $t_R = 12.88$ 分钟(纯度 > 98 %)。

[4-(1H-吲哚-3-基)-嘧啶-2-基]-(4-吗啉-4-基-苯基)-胺 (5)



将 3-二甲基氨基-1-(1H-吲哚-3-基)-丙烯酮(0.10 g, 0.46 mmol)、*N*-(4-吗啉-4-基-苯基)-胍硝酸盐(0.11 g, 0.46 mmol)和碳酸钾(64 mg, 0.46 mmol)在 2-甲氧基乙醇(4 mL)中合并,并将混合物在微波辐照下在 180 °C 加热 20 分钟。冷却后,加入水(25 mL)沉淀反应产物并且过滤收集。将产物经过硅胶层析纯化。收集需要的级分提供纯净的目标化合物(40 mg, 23 %)。

1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 11.73 (1H, br. s, NH); 9.12 (1H, s, ArH); 8.57 (1H, d, ArH, $J = 7.8$ Hz); 8.26 (2H, d, ArH, $J = 5.4$ Hz); 7.65 (2H, d, ArH, $J = 8.8$ Hz); 7.45 (1H, d, ArH, $J = 7.8$ Hz); 7.18 (2H, m, ArH); 7.12 (1H, t, ArH, $J = 7.8$ Hz); 6.92 (2H, d, ArH, $J = 9.3$ Hz); 3.75 (4H, t, ArH, $J = 4.39$ Hz); 3.05 (1H, d, ArH, $J = 5.15$ Hz)。ESI-MS $m/z = 371.98$ $[M+H]^+$, $C_{22}H_{21}N_5O$ 理论值 371.44. Anal. RP-HPLC (10-70 % MeCN 梯度) $t_R = 12.02$ 分钟(纯度 > 98 %)。

实施例 5

化合物(6)~(31)利用类似的方法以及下述公开的步骤进行合成。

取代的吲哚的 3-乙酰化

[Concise Synthesis and Structure-Activity Relationships of Combrestatin A-4 Analogues: 1- and 3-Aroylindoles as Novel Classes of Potent Antitubulin Agents. J. Med. Chem., 2004, Vol. 47, No. 17, 4247-4257]

向取代的吲哚(2.03 mmol)和无水氯化锌(560mg, 4.07 mmol)在无水二氯甲烷(15ml)的混合物中,用 10 分钟在室温下加入溴化乙基镁(2.7ml, 1.0M 的 THF 溶液)。搅拌 1 小时后,用 5 分钟滴加乙酰氯(239mg, 217 μ l, 3.05 mmol)。

再搅拌 1 小时后, 加入氯化铝(270mg, 2.03 mmol), 并将形成的混合物搅拌 5 小时。加入水(15ml)并用二氯甲烷(20ml)萃取。将有机层干燥(MgSO₄), 并且蒸发得到红色的固体。层析(2: 1 石油醚-乙酸乙酯)得到无色固体的期望的 3-乙酰基吲哚。

1-酰基吲哚啉的形成: 化合物(18)和(19)

将化合物(5)(50mg, 0.135 mmol)溶解在干燥的二甲基甲酰胺(10ml)中并加入氢化钠(4mg, 1.2eq)。当氢气释放停止后, 加入酰氯(1.2eq) 并将混合物再室温下再搅拌 4 小时。在 Genevac 中去除溶剂, 并将粗制的产物悬浮在 MeOH (2ml)中, 并吸附到 SPE 柱上。层析(95: 5 乙酸乙酯-MeOH)得到黄色固体的期望产物。

在 2-位(化合物 22)、6-位(化合物 24 和 26)以及 7-位(化合物 21、23 和 25)修饰的吲哚, 以及在 1-位修饰的其他的吲哚(化合物 16)的制备。得到这些吲哚作为起始物质。

4-(1H-吲哚-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺 (6)

Anal. RP-HPLC: t_R 13.01 分钟(0-60% MeCN)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ_H 2.05 (3H, s, CH₃), 3.03 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.09 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.58 (4H, m, incl. J 5.0, 2 x CH₂), 6.95 (2H, d, J 9.0, 2 x Ar-H), 7.13 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.14-7.20 (2H, m, 嘧啶-H 和 Ar-H), 7.46 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.67 (2H, d, J 9.0, 2 x Ar-H), 8.26 (2H, m, incl. J 5.0, 嘧啶-H 和 Ar-H), 8.57 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 9.14 (1H, s, NH)和 11.74 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 412.97 [M+H]⁺ (C₂₄H₂₄N₆O 理论值 412.49)。

4-(1H-吲哚-3-基)-N-(4-哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺 (7)

Anal. RP-HPLC: t_R 9.48 分钟(10-70% MeCN)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ_H 2.85 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 2.99 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 6.89 (2H, d, J 8.5, 2 x Ar-H), 7.12 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.16-7.20 (2H, m, 嘧啶-H 和 Ar-H), 7.45 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.63 (2H, d, J

8.5, 2 x Ar-H), 8.26 (2H, m, incl. J 5.0, 嘧啶-H 和 Ar-H), 8.57 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 9.09 (1H, s, NH)和 11.73 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 371.02 [M+H]⁺ (C₂₂H₂₂N₆ 理论值 370.45)。

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(4-苄基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺 (8)

Anal. RP-HPLC: t_R 12.31 分钟(10-70% MeCN)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ_H 2.51 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 3.09 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 3.53 (2H, s, CH₂), 6.91 (2H, d, J 9.0, 2 x Ar-H), 7.12 (1H, dd, J 8.0, Ar-H), 7.16-7.20 (2H, m, 嘧啶-H 和 Ar-H), 7.26 (1H, dd, J 9.0, 4.0, Ar-H), 7.33-7.35 (4H, m, 4 x Ar-H), 7.45 (1H, d, J 8.0, Ar-H), 7.63 (2H, d, J 9.0, 2 x Ar-H), 8.25 (2H, m, incl. J 5.0, 嘧啶-H 和 Ar-H), 8.56 (1H, dd, J 8.0, 1.0, Ar-H), 9.09 (1H, s, NH)和 11.73 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 460.93 [M]⁺ (C₂₉H₂₈N₆ 理论值 460.57)。

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(2,6-二甲基吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺 (9)

合成两批。批 01 为 20: 1 顺式: 反式。批 02 为 1: 1 顺式: 反式。

该化合物为包含 4: 1 顺式: 反式比例的非对映体的脒的环化结果。从 Prep-HPLC 中出来的稍早级分包含 20: 1 顺式: 反式混合物(批 01)和稍迟级分具有 1: 1 混合物(批 02)。测定数据针对批 01。

Anal. RP-HPLC: t_R 14.05 分钟(10-70% MeCN)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ_H 1.16 (6H, d, J 6.5, 2 x CH₃), 2.22 (2H, dd, J 11.0, 2 x CHH), 3.50 (2H, dd, J 11.0, 2 x CHH), 3.71 (2H, m, incl. J 11.0, 6.5, 2 x CHCH₃), 6.92 (2H, dd, J 8.0, 2 x Ar-H), 7.12-7.15 (1H, m, Ar-H), 7.17-7.19 (2H, m, 嘧啶-H 和 Ar-H), 7.46 (1H, d, J 8.0, Ar-H), 7.65 (2H, d, J 8.0, 2 x Ar-H), 8.26 (2H, m, incl. J 5.0, 嘧啶-H 和 Ar-H), 8.56 (1H, d, J 8.0, Ar-H), 9.10 (1H, s, NH)和 11.73 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 399.98 [M+H]⁺ (C₂₄H₂₅N₅O 理论值 399.49)。

N'-[4-(1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-基]-*N,N*-二甲基苯-1,4-二胺 (10)

Anal. RP-HPLC: t_R 9.45 分钟(10-70% MeCN)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ_{H} 2.86 (6H, s, 2 x CH₃), 6.74 (2H, d, J 7.0, 2 x Ar-H), 7.11 (1H, dd, J 8.0, Ar-H), 7.14-7.20 (2H, m, 嘧啶-H 和 Ar-H), 7.45 (1H, d, J 8.0, Ar-H), 7.58 (2H, d, J 7.0, 2 x Ar-H), 8.23-8.26 (2H, m, incl. J 5.0, 嘧啶-H 和 Ar-H), 8.56 (1H, d, J 8.0, Ar-H), 8.99 (1H, s, NH)和 11.71 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 330.05 [M+H]⁺ (C₂₀H₁₉N₅ 理论值 329.40)。

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(2-甲基-4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺 (11)

Anal. RP-HPLC: t_{R} 12.48 分钟(10-70% MeCN)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ_{H} 2.19 (3H, s, CH₃), 3.11 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 3.77 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 6.81 (1H, dd, J 9.0, 2.5, Ar-H), 6.86 (1H, d, J 2.5, Ar-H), 6.95 (1H, dd, J 8.0, Ar-H), 7.09-7.14 (2H, m, 嘧啶-H 和 Ar-H), 7.27 (1H, d, J 9.0, Ar-H), 7.39 (1H, d, J 8.0, Ar-H), 8.16 (1H, d, J 5.5, 嘧啶-H), 8.20 (2H, br s, 2 x Ar-H), 8.41 (1H, s, NH)和 11.65 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 385.98 [M+H]⁺ (C₂₃H₂₃N₅O 理论值 385.46)。

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(3,4,5-三甲氧基苯基)嘧啶-2-胺 (12)

Anal. RP-HPLC: t_{R} 13.60 分钟(10-70% MeCN)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ_{H} 3.64 (3H, s, CH₃), 3.75 (6H, s, 2 x CH₃), 7.13 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.19 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.23-7.26 (3H, m, 嘧啶-H 和 2 x Ar-H), 7.46 (1H, d, J 7.5, Ar-H), 8.30 (1H, s, Ar-H), 8.32 (1H, d, J 5.0, 嘧啶-H), 8.58 (1H, d, J 7.5, Ar-H), 9.24 (1H, s, NH)和 11.76 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 376.97 [M+H]⁺ (C₂₁H₂₀N₄O₃ 理论值 376.41)。

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(3-甲氧基-4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺 (13)

Anal. RP-HPLC: t_{R} 10.67 分钟(10-70% MeCN)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ_{H} 2.93 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 3.72 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 3.76 (3H, s, CH₃), 6.85 (1H, d, J 9.0, Ar-H), 7.12 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.17-7.23 (2H, m, 嘧啶-H 和 Ar-H), 7.37 (1H, dd, J 9.0, 2.0, Ar-H), 7.45-7.49 (2H, m, 2 x Ar-H), 8.28 (1H, s, Ar-H), 8.30 (1H, d, J 5.0, 嘧啶-H), 8.58 (1H, d, J 7.5, Ar-H), 9.20 (1H, s, NH)和 11.76 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 402.03 [M]⁺ (C₂₃H₂₃N₅O₂ 理论值 401.46)。

N-(3,5-二甲氧基苯基)-4-(1*H*-吡啶-3-基)嘧啶-2-胺 (14)

Anal. RP-HPLC: t_R 15.06 分钟(10-70% MeCN)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ_H 3.73 (6H, s, 2 x CH₃), 6.13 (1H, s, Ar-H), 7.14 (3H, s, 3 x Ar-H), 7.19 (1H, dd, J 8.0, Ar-H), 7.28 (1H, d, J 5.5, 嘧啶-H), 7.46 (1H, d, J 8.0, Ar-H), 8.30 (1H, s, Ar-H), 8.34 (1H, d, J 5.5, 嘧啶-H), 8.62 (1H, dd, J 8.0, Ar-H), 9.33 (1H, s, NH)和 11.79 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 344.90 [M]⁺ (C₂₀H₁₈N₄O₂ 理论值 346.38)。

4-(1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-(4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺 (15)

Anal. RP-HPLC: t_R 13.64 分钟(10-70% MeCN)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ_H 3.06 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 3.75 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 3.88 (3H, s, CH₃), 6.93 (2H, d, J 8.0, 2 x Ar-H), 7.12 (1H, d, J 5.5, 嘧啶-H), 7.18 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.26 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.52 (1H, d, J 7.5, Ar-H), 7.65 (2H, d, J 8.0, 2 x Ar-H), 8.26-8.28 (2H, m, 嘧啶-H 和 Ar-H), 8.58 (1H, d, J 7.5, Ar-H)和 9.13 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 385.98 [M+H]⁺ (C₂₃H₂₃N₅O 理论值 385.46)。

4-(1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺 (16)

Anal. RP-HPLC: t_R 12.95 分钟(10-70% MeCN)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ_H 2.04 (3H, s, CH₃), 3.02 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.09 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.59 (4H, q, J 5.0, 2 x CH₂), 3.88 (3H, s, CH₃), 6.95 (2H, d, J 9.5, 2 x Ar-H), 7.12 (1H, d, J 5.5, 嘧啶-H), 7.18 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.26 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.52 (1H, d, J 7.5, Ar-H), 7.66 (2H, d, J 9.5, 2 x Ar-H), 8.26-8.28 (2H, m, incl. J 5.5, 嘧啶-H 和 Ar-H), 8.58 (1H, d, J 7.5, Ar-H)和 9.15 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 426.91 [M+H]⁺ (C₂₅H₂₆N₆O 理论值 426.51)。

N-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-基-4-(1*H*-吡啶-3-基)嘧啶-2-胺 (17)

Anal. RP-HPLC: t_R 12.95 分钟(10-70% MeCN)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ_{H} 5.99 (2H, s, CH_2), 6.86 (1H, d, J 8.5, Ar-H), 7.13 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.17-7.20 (2H, m, 2 x Ar-H), 7.22 (1H, d, J 5.5, 嘧啶-H), 7.46 (1H, d, 7.5, Ar-H), 7.55 (1H, s, Ar-H), 8.28 (1H, s, Ar-H), 8.29 (1H, d, J 5.5, 嘧啶-H), 8.57 (1H, d, J 7.5, Ar-H), 9.25 (1H, s, NH)和 11.76 (1H, s, NH)。

MS (ESI $^+$) m/z 331.01 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ ($\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$ 理论值 330.34)。

4-[1-(环丙基羰基)-1H-吡啶-3-基]-N-(4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺 (18)

Anal. RP-HPLC: t_{R} 14.35 分钟(10-70% MeCN)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ_{H} 1.14-1.20 (4H, m, 2 x 环丙基- CH_2), 2.87-2.91 (1H, m, 环丙基-CH), 3.04-3.08 (4H, m, 2 x CH_2), 3.74-3.77 (4H, m, 2 x CH_2), 6.92-6.95 (2H, m, 2 x Ar-H), 7.34 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.40 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.44 (1H, d, J 5.5, 嘧啶-H), 7.61-7.65 (2H, m, 2 x Ar-H), 8.40 (1H, d, J 8.5, Ar-H), 8.43 (1H, d, J 5.5, 嘧啶-H), 8.72 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 9.10 (1H, s, Ar-H)和 9.35 (1H, s, NH)。

MS (ESI $^+$) m/z 439.89 [M] $^+$ ($\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_2$ 理论值 439.51)。

4-(1-乙酰基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺 (19)

Anal. RP-HPLC: t_{R} 14.44 分钟(10-70% MeCN)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ_{H} 2.76 (3H, s, CH_3), 3.06 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH_2), 3.75 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH_2), 6.94 (2H, d, J 8.5, 2 x Ar-H), 7.34 (1H, dd, J 8.5, Ar-H), 7.38-7.42 (2H, m, incl. J 5.0, 嘧啶-H 和 Ar-H), 7.63 (2H, d, J 8.5, 2 x Ar-H), 8.40 (1H, d, J 8.5, Ar-H), 8.43 (1H, d, J 5.0, 嘧啶-H), 8.65-8.67 (1H, m, Ar-H), 8.73 (1H, s, Ar-H)和 9.35 (1H, s, NH)。

MS (ESI $^+$) m/z 414.95 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ ($\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_2$ 理论值 413.47)。

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(4-甲基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺 (20)

Anal. RP-HPLC: t_{R} 9.89 分钟(10-70% MeCN)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ_{H} 2.23 (3H, s, CH_3), 2.47 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH_2), 3.08 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH_2), 6.91 (2H, d, J 9.0, 2 x Ar-H), 7.12 (1H, dd, J 8.0, Ar-H), 7.16-7.20 (2H, m, incl. J 5.0, 嘧啶-H 和 Ar-H), 7.45 (1H, d, J 8.0,

Ar-H), 7.63 (2H, d, J 9.0, 2 x Ar-H), 8.26 (1H, d, J 5.0, 嘧啶-H), 8.27 (1H, s, Ar-H), 8.75 (1H, d, J 8.0, Ar-H), 9.10 (1H, s, Ar-H)和 11.73 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 385.02 [M+H]⁺ (C₂₃H₂₄N₆ 理论值 384.48)。

4-(7-甲氧基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺 (21)

Anal. RP-HPLC: t_R 9.89 分钟(10-70% MeCN)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ_H 2.05 (3H, s, CH₃), 3.02 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.09 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.59 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 3.94 (3H, s, CH₃), 6.76 (1H, d, J 7.5, Ar-H), 6.94 (2H, d, J 9.0, 2 x Ar-H), 7.05 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.20 (1H, d, J 5.0, 嘧啶-H), 7.66 (2H, d, J 9.0, 2 x Ar-H), 8.14-8.16 (2H, m, 2 x Ar-H), 8.26 (1H, d, J 5.0, 嘧啶-H), 9.12 (1H, s, Ar-H)和 11.87 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 443.39 [M+H]⁺ (C₂₅H₂₆N₆O₂ 理论值 442.51)。

4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺 (22)

Anal. RP-HPLC: t_R 12.09 分钟(10-70% MeCN)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ_H 2.04 (3H, s, CH₃), 2.99 (3H, s, CH₃), 3.00 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.07 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.58 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 6.91 (2H, d, J 9.0, 2 x Ar-H), 6.98 (1H, d, J 5.0, 嘧啶-H), 7.06 (1H, dd, J 8.0, Ar-H), 7.10 (1H, dd, J 8.0, Ar-H), 7.36 (1H, d, J 8.0, Ar-H), 7.67 (2H, d, J 9.0, 2 x Ar-H), 8.15 (1H, d, J 8.0, Ar-H), 8.34 (1H, d, J 5.0, 嘧啶-H), 9.14 (1H, s, Ar-H)和 11.56 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 427.39 [M+H]⁺ (C₂₅H₂₆N₆O 理论值 426.51)。

4-(7-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺 (23)

Anal. RP-HPLC: t_R 12.00 分钟(10-70% MeCN)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ_H 1.99 (3H, s, CH₃), 2.48 (3H, s, CH₃), 2.98 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.05 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.55 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 6.91 (2H, d, J 9.0, 2 x Ar-H), 6.94 (1H, d, J 7.5, Ar-H), 7.00 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.18 (1H, d, J 5.0, 嘧啶-H), 7.62 (2H, d, J 9.0, 2 x Ar-H), 8.21-8.23 (2H, m, incl. J 5.0, 嘧啶-H 和 Ar-H), 8.37 (1H, d, J 7.5, Ar-H), 9.09 (1H, s, Ar-H)

和 11.67 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 427.38 [M+H]⁺ (C₂₅H₂₆N₆O 理论值 426.51)。

4-(6-甲氧基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺 (24)

Anal. RP-HPLC: t_R 11.27 分钟(10-70% MeCN)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ_H 2.01 (3H, s, CH₃), 2.99 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.06 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.55 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 3.76 (3H, s, CH₃), 6.73 (1H, dd, J 9.0, 2.0, Ar-H), 6.90-6.92 (3H, m, incl. J 9.0, 3 x Ar-H), 7.12 (1H, d, J 5.0, 嘧啶-H), 7.62 (2H, d, J 9.0, 2 x Ar-H), 8.10 (1H, d, J 2.0 Ar-H), 8.21 (1H, d, J 5.0, 嘧啶-H), 8.40 (1H, d, J 9.0, Ar-H), 9.08 (1H, s, Ar-H) 和 11.50 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 443.28 [M+H]⁺ (C₂₅H₂₆N₆O₂ 理论值 442.51)。

4-(7-氟-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺 (25)

Anal. RP-HPLC: t_R 11.27 分钟(10-70% MeCN)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ_H 2.05 (3H, s, CH₃), 3.03 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.10 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.60 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 6.95 (2H, d, J 9.5, 2 x Ar-H), 7.13 (1H, dd, J 8.0, Ar-H), 7.25-7.29 (2H, m, incl. J 5.0, 嘧啶-H 和 Ar-H), 7.65 (2H, d, J 9.5, 2 x Ar-H), 8.29 (1H, d, J 5.0, 嘧啶-H), 8.36 (1H, s, Ar-H), 8.59 (1H, d, J 8.0, Ar-H), 9.19 (1H, s, Ar-H) 和 12.11 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 447.37 [M+H]⁺ (C₂₄H₂₃N₆OCl 理论值 446.93)。

4-(6-氟-1H-吡啶-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺 (26)

Anal. RP-HPLC: t_R 11.27 分钟(10-70% MeCN)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ_H 2.05 (3H, s, CH₃), 3.03 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.10 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.59 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 6.94-7.00 (3H, m, incl. J 10.0, 9.5, 3 x Ar-H), 7.19 (1H, d, J 5.5, 嘧啶-H), 7.24 (1H, dd, J 10.0, 1.0, Ar-H), 7.64 (2H, dd, J 9.5, 3.0, 2 x Ar-H), 8.27 (1H, d, J 5.5, 嘧啶-H), 8.29 (1H, d, J 3.0, Ar-H), 8.58-8.62 (1H, m, Ar-H), 9.17 (1H, s, Ar-H) 和 11.79 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 431.34 [M+H]⁺ (C₂₄H₂₃N₆OF 理论值 430.48)。

4-(1H-吡啶-3-基)-N-[(4-乙酰基哌嗪-1-基)-3-甲基苯基]嘧啶-2-胺 (27)

Anal. RP-HPLC: t_R 13.44 分钟(10-70% MeCN)。

1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ_H 2.05 (3H, s, CH₃), 2.31 (3H, s, CH₃), 2.76 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 2.83 (2H, dd, J 5.0, 2 x CHH), 3.58 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 6.99 (1H, d, J 8.5, Ar-H), 7.13 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.17-7.23 (2H, m, incl. J 7.5, 5.5, 嘧啶-H 和 Ar-H), 7.46 (1H, d, J 7.5, Ar-H), 7.50 (1H, dd, J 8.5, 2.5, Ar-H), 7.73 (1H, d, J 2.5, Ar-H), 8.28 (2H, m, incl. J 5.5, 嘧啶-H 和 Ar-H), 8.59 (1H, d, J 7.5, Ar-H), 9.19 (1H, s, Ar-H)和 11.76 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 427.30 [M+H]⁺ (C₂₅H₂₆N₆O 理论值 426.51)。

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(3-甲基-4-硫吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺 (28)

Anal. RP-HPLC: t_R 16.86 分钟(10-70% MeCN)。

1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ_H 2.26 (3H, s, CH₃), 2.76 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 3.06 (4H, dd, J 5.0, 2 x CH₂), 7.00 (1H, d, J 8.5, Ar-H), 7.12 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.20 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.22 (1H, d, J 5.0, 嘧啶-H), 7.46 (1H, d, J 7.5, Ar-H), 7.50 (1H, dd, J 8.5, 2.0, Ar-H), 7.72 (1H, d, J 2.0, Ar-H), 8.28 (2H, m, incl. J 5.0, 嘧啶-H 和 Ar-H), 8.59 (1H, d, J 7.5, Ar-H), 9.18 (1H, s, Ar-H)和 11.76 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 402.31 [M+H]⁺ (C₂₃H₂₃N₅S 理论值 401.53)。

4-(1H-吡啶-3-基)-N-[(2R,6S)-2,6-二甲基吗啉-4-基苯基]嘧啶-2-胺(29)

顺式异构体从合成的胍利用顺式-2,6-二甲基吗啉制备得到。化合物(29)的表征数据基本上与化合物(9)相同(化合物(9)包含~5%的下述化合物(30))

4-(1H-吡啶-3-基)-N-[(2S,6S)-2,6-二甲基吗啉-4-基苯基]嘧啶-2-胺(30)

反式异构体利用 Prep-HPLC (0.1% TFA)从化合物(9)的批 02 制备得到。

Anal. RP-HPLC: t_R 14.76 分钟(10-70% MeCN)。

1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ_H 1.27 (6H, d, J 6.5, 2 x CH₃), 2.81-2.86 (2H, m, 2 x CHH), 3.16-3.21 (2H, m, 2 x CHH), 4.06-4.10 (2H, m, 2 x CHCH₃), 6.98 (2H, dd, J 6.5, 2 x Ar-H), 7.13 (1H, dd, J 7.5, Ar-H), 7.21 (1H, dd, J 7.5,

Ar-H), 7.30 (1H, br s, 嘧啶-H), 7.52-7.56 (2H, m, 2 x Ar-H), 7.48 (1H, d, J 7.5, Ar-H), 8.19 (1H, br s, 嘧啶-H), 8.46 (2H, dd, J 6.5, 2 x Ar-H), 9.65 (1H, br s, NH)和 12.03 (1H, s, NH)。

MS (ESI⁺) m/z 400.35 [M+H]⁺ (C₂₄H₂₅N₅O 理论值 399.49)。

4-(1H-吡啶-3-基)-N-(3,5-二甲基哌啶-1-基苯基)嘧啶-2-胺(31)

4: 1 顺式: 反式混合从包含 4: 1 顺式: 反式比例的非对映体的胍的环化制备得到。

Anal. RP-HPLC: t_R 11.95 分钟(顺式; 90%), 12.54 分钟(反式; 10%) (10-70% MeCN)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ_H (cis) 0.91 (6H, d, J 6.5, 2 x CH₃), 1.69-1.77 (2H, m, CH₂), 2.11 (2H, dd, J 11.5, 2 x CHH), 3.55 (2H, d, J 11.5, 2 x CHH), 3.56-4.17 (2H, m, 2 x CHCH₃), 6.90 (2H, d, J 8.5, 2 x Ar-H), 7.11 (1H, dd, J 8.5, 2 x Ar-H), 7.17-7.20 (2H, m, incl. J 8.5, Ar-H 和嘧啶-H), 7.45 (1H, d, J 8.5, Ar-H), 7.61 (2H, d, J 8.5, 2 x Ar-H), 7.66-7.73 (2H, m, 2 x Ar-H), 8.26 (2H, d, incl. J 5.5, 嘧啶-H 和 Ar-H), 8.57 (1H, d, J 7.5, Ar-H), 8.46 (2H, dd, J 6.5, 2 x Ar-H), 9.07 (1H, s, NH)和 11.73 (1H, s, NH); δ_H (反式 - 可观察的信号) 1.00 (6H, d, J 6.5, 2 x CH₃), 1.60-1.64 (2H, m, CH₂), 1.95-2.05 (2H, m, 2 x CHH), 2.72 (2H, dd, J 11.5, 6.5, 2 x CHH), 3.08 (2H, dd, J 11.5, 4.0, 2 x CHH)。

MS (ESI⁺) m/z 398.26 [M+H]⁺ (C₂₅H₂₇N₅ 理论值 397.52)。

实施例 6

激酶分析

考察上述实施例的化合物抑制多种蛋白激酶活性的能力。通过测量来自 ATP 的放射活性磷酸对适当的多肽底物的掺入而实现。制备或通过商业途径得到重组蛋白激酶和激酶复合物。分析利用 96-孔板以及适当的分析缓冲液 (通常为 25 mM β -甘油磷酸, 20 mM MOPS, 5 mM EGTA, 1 mM DTT, 1 mM Na₃VO₃, pH 7.4) 进行, 向其中加入 2 - 4 μ g 活性酶以及适当的底物。通过加入 Mg/ATP 混合物(15 mM MgCl₂ + 100 μ M ATP 以及 30-50 kBq/孔的 [γ -³²P]-ATP)启动反应并将混合物在 30 °C 下按照需要孵育。将反应在冰上终止, 然后滤过 p81 滤板或 GF/C 滤板(Whatman Polyfiltronics, Kent, UK)。用

75 mM 正磷酸水溶液洗涤 3 次后, 将板干燥, 加入闪烁体并在闪烁计数器 (TopCount, Packard Instruments, Pangbourne, Berks, UK) 上测量掺入的放射活性。用于激酶分析的化合物配制成 10 mM 的 DMSO 储存液并用分析缓冲液稀释成 10 % DMSO 的溶液。利用曲线拟合软件 (GraphPad Prism version 3.00 for Windows, GraphPad Software, San Diego California USA) 分析数据以确定 IC_{50} 值 (50 % 抑制激酶活性的测试化合物的浓度)。代表性的实施例化合物的结果总结在表 2 和 3 中。

CDK7 和 9 分析

CTD 肽底物 (生物素基-Ahx-(Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser)₄-NH₂; 1 - 2 mg/mL) 以及重组人 CDK7/细胞周期蛋白 H、CDK9/细胞周期蛋白 T1 或 CDK9/细胞周期蛋白 K (0.5 - 2 μ g) 在不同量的测试化合物存在下在 20 mM MOPS pH 7.2, 25mM β -甘油磷酸, 5 mM EGTA, 1 mM DTT, 1mM 钒酸钠, 15 mM MgCl₂ 和 100 M ATP (包含微量的 ³²P γ ATP) 以总体积 25 μ L 在 96-孔微量滴定板中在 30 °C 孵育 45 分钟。将反应放置在冰上 2 分钟终止反应。向各孔中加入亲和素 (50 μ g), 并将板在室温孵育 30 分钟。将样品转移至 96-孔 P81 滤板上, 并用 75 mM 磷酸洗涤 (4 x 200 μ L/孔)。向各孔中加入 Microscint 40 液态闪烁体 (50 μ L), 并用 Packard Topcount 微量板闪烁计数器测定每个样品中 ³²P 的掺入量。代表性实施例化合物的结果总结在表 2 和 3 中。

Aurora-A(人)激酶分析

通过测量在商业得到的 aurora-A (human, Upstate, Dundee, UK) 的磷酸化作用下从 ATP 的放射活性磷酸对 Kemptide 底物 (LRRASLG) 的掺入而实现。分析利用 96-孔板和适当的分析缓冲液 (20mM Tris, 25mM β -甘油磷酸, 5mM EGTA, 1mM DTT, 1mM sodium vanadate, pH 7.5) 进行, 向其中加入 2 - 5 ng 活性酶以及 500 μ M 底物 (Kemptide)。加入 Mg/ATP 混合物 (15mM MgCl₂ + 100 M ATP with 15-25 kBq/孔的 [γ -³³P]-ATP) 启动反应, 并将混合物在 30 °C 孵育 30 分钟。加入等体积的 75 mM 正磷酸终止反应, 然后滤过 p81 滤板 (Whatman Polyfiltronics, Kent, UK)。用 75 mM 正磷酸水溶液洗涤 4 次后, 干燥板, 加入闪烁体, 并在闪烁计数器 (TopCount, Packard Instruments, Pangbourne, Berks, UK) 上测量掺入的放射活性。用于激酶分析的化合物配制

成 10 mM 的 DMSO 储存液并用分析缓冲液稀释成 10 % DMSO 的溶液。利用曲线拟合软件(XLfit version 2.0.9, IDBS, Guildford, Surrey, UK)分析数据以确定 IC₅₀ 值(50%抑制激酶活性的测试化合物的浓度)。

Aurora-B(人)激酶分析

这通过测量在商业得到的 aurora-B 激酶(human, Upstate, Dundee, UK)的磷酸化作用下从 ATP 的放射活性磷酸对 Kemptide 底物(LRRASLG)的掺入而实现。分析利用 96-孔板和适当的分析缓冲液(20mM Tris, 25mM β-甘油磷酸, 5mM EGTA, 1mM DTT, 1mM 钒酸钠, pH 7.5)进行, 向其中加入 75 ng 预活化的酶以及 500 μM 底物(Kemptide)。加入 Mg/ATP 混合物(15mM MgCl₂ + 100 μM ATP 以及 15-25 kBq 每孔的 [γ-³²P]-ATP)启动反应, 并将混合物在 30°C 孵育 60 分钟。加入等体积的 75 mM 正磷酸终止反应, 然后滤过 p81 滤板(Whatman Polyfiltronics, Kent, UK)。用 75 mM 正磷酸水溶液洗涤 4 次后, 干燥板, 加入闪烁体, 并在闪烁计数器(TopCount, Packard Instruments, Pangbourne, Berks, UK)上测量掺入的放射活性。用于激酶分析的化合物配制成 10 mM 的 DMSO 储存液并用分析缓冲液稀释成 10 % DMSO 的溶液。利用曲线拟合软件(XLfit version 2.0.9, IDBS, Guildford, Surrey, UK)分析数据以确定 IC₅₀ 值(50 %抑制激酶活性的测试化合物的浓度)。

Aurora-B (人)的预活化

Aurora-B (人, Upstate, Dundee, UK)在进行激酶测定之前立即在适当的缓冲液(20mM Tris, 25mM β-甘油磷酸, 5mM EGTA, 1mM DTT, 1mM 钒酸钠, pH 7.5)中预活化, 通过将 15 μg 的酶以及 4 μg INCENP (Upstate, Dundee, UK)在 MgATP 混合物(15mM MgCl₂ + 100 μM ATP)存在下在 30°C 处理 15 分钟。

Flt3 激酶测定

这通过测量在商业得到的 Flt-3 (Upstate, Dundee, UK)的磷酸化作用下从 ATP 的放射活性磷酸对髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)底物的掺入而实现。分析利用 96-孔板和适当的分析缓冲液(20mM Tris, 25mM β-甘油磷酸, 5mM EGTA, 1mM DTT, 1mM 钒酸钠, pH 7.5)进行, 向其中加入 5 ng

活化的酶以及 0.4 mg/ml 底物(MBP)。加入 Mg/ATP 混合物(15mM MgCl₂ + 100 μM ATP 以及 15-25 kBq 每孔的[γ-³²P]-ATP)启动反应, 并将混合物在 30°C 孵育 30 分钟。反应通过加入等体积的 75 mM 正磷酸终止反应, 然后滤过 p81 滤板(Whatman Polyfiltronics, Kent, UK)。用 75 mM 正磷酸水溶液洗涤 4 次后, 干燥板, 加入闪烁体, 并在闪烁计数器(TopCount, Packard Instruments, Pangbourne, Berks, UK)上测量掺入的放射活性。用于激酶分析的化合物配制成 10 mM 的 DMSO 储存液并用分析缓冲液稀释成 10 % DMSO 的溶液。利用曲线拟合软件(XLfit version 2.0.9, IDBS, Guildford, Surrey, UK)分析数据以确定 IC₅₀ 值(50 %抑制激酶活性的测试化合物的浓度)。

GSK-3 β 激酶分析

GSK-3 从 New England Biolabs(UK)Ltd., Hitchin, Herts 得到。重组的酶从带有来自兔骨骼肌 cDNA 文库表达 GSK-3 的克隆的 E. coli 株分离得到[Wang, Q.M.; Fiol, C.J.; DePaoli-Roach, A.A.; Roach, P.J. J. Biol. Chem., 1994, 269, 14566]。GSK-3 功能的抑制通过测量在受试化合物存在下 CREB 磷酸肽 KRREILSRRPphosphoSYR 的磷酸化进行测量。利用 96-孔分析形式, 将 GSK3(7.5U)在多种浓度的受试化合物的存在下在 30 °C 孵育 30 分钟, 总体积 25 μL 的 20 mM MOPS pH 7.2, 25 mM β-甘油磷酸, 5 mM EGTA, 1 mM DTT, 1 mM Na₃VO₃, 40 μM CREB 肽, 15 mM MgCl₂ 和 100 μM ATP(包含 0.25 μCi [γ-³²P]-ATP)。将样品转移到 96-孔 p81 滤板(Whatman Polyfiltronics, Kent, UK)上, 将板用 200 μL/孔的 75 mM 正磷酸水溶液洗涤 4 次。将闪烁液体(50 μL)加入到各孔中, 并利用闪烁计数器(TopCount, Packard Instruments, Pangbourne, Berks, UK)测定各样品掺入的放射活性。代表性的实施例化合物的结果总结在表 2 和 3 中。

实施例 7

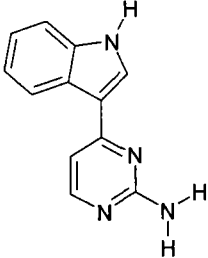
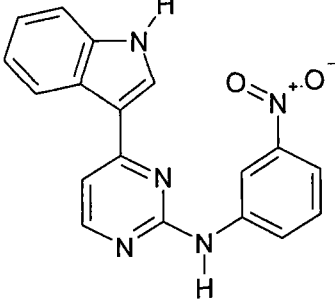
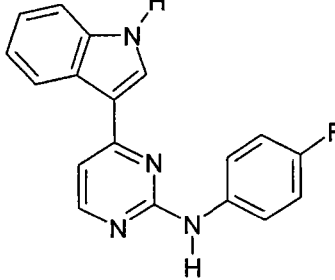
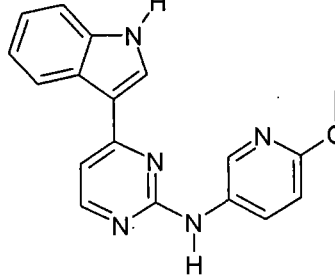
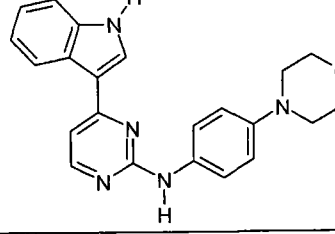
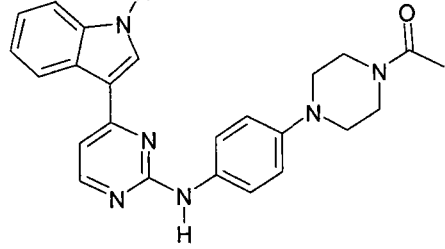
MTT 细胞毒性分析

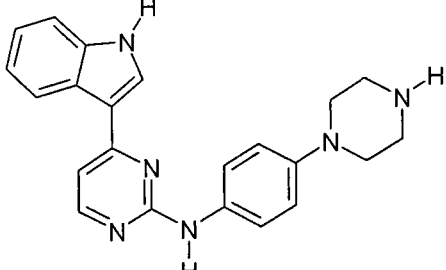
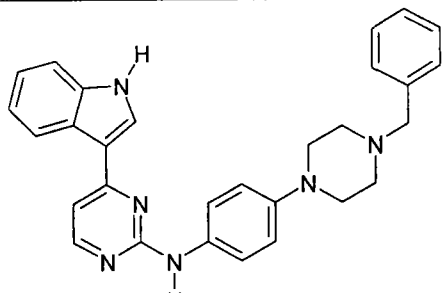
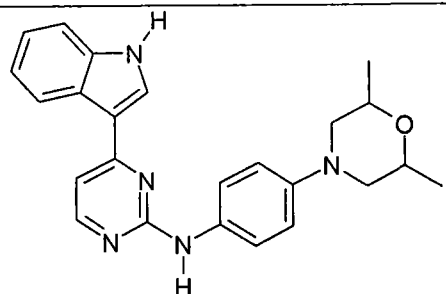
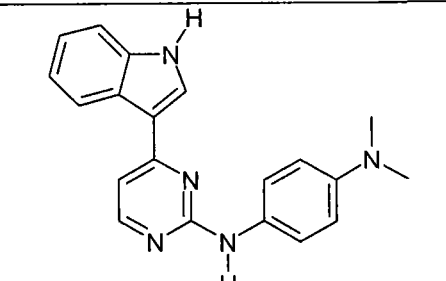
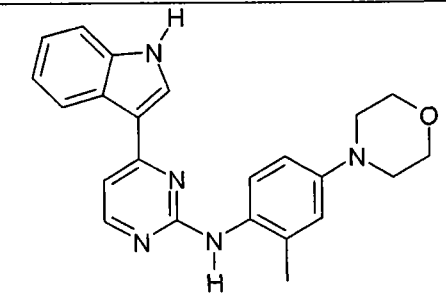
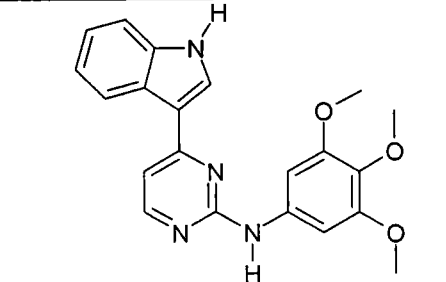
将本发明的化合物进行标准的细胞增殖分析, 利用从 ATCC (American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA)得到的人肿瘤细胞系。进行标准的 72-小时 MTT(噻唑蓝;

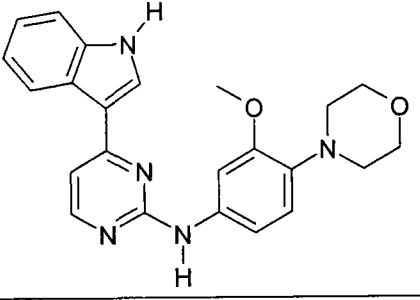
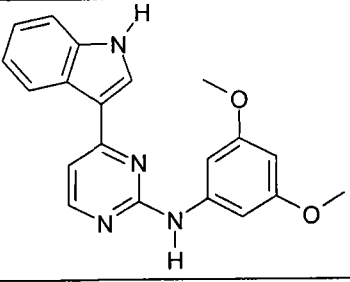
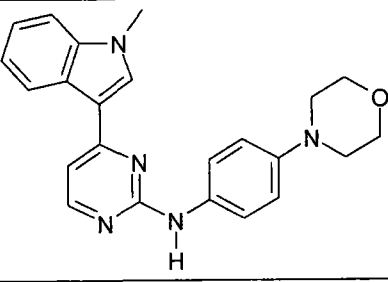
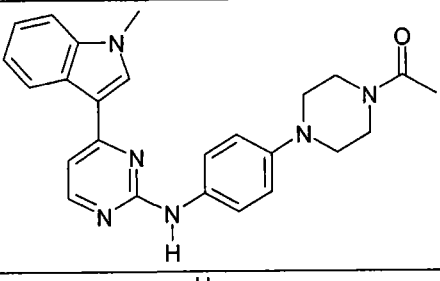
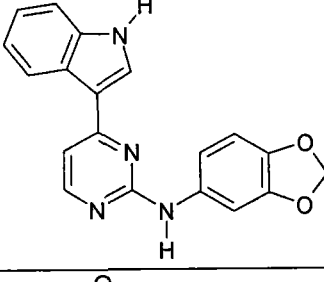
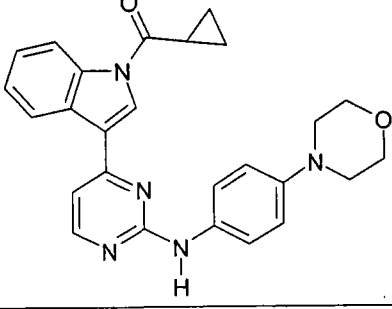
3-[4,5-二甲基噻唑-2-基]-2,5-二苯基四唑溴化物)分析(Haselsberger, K.; Peterson, D. C.; Thomas, D. G.; Darling, J. L. *Anti Cancer Drugs* 1996, 7, 331-8; Loveland, B. E.; Johns, T. G.; Mackay, I. R.; Vaillant, F.; Wang, Z. X.; Hertzog, P. J. *Biochemistry International* 1992, 27, 501-10)。简言之：将细胞根据倍增时间接种到 96-孔板上并在 37 °C 培养过夜。将测试化合物配制成 DMSO 溶液并以 1/3 连续稀释配制成 100 μ L 细胞培养基溶液，加入至细胞(一式三份)中并在 37 °C 培养 72 小时。将 MTT 制备成 5 mg/mL 在细胞培养基中的储存液并过滤灭菌。从细胞中移去培养基然后用 200 μ L PBS 洗涤。然后将 MTT 溶液以 20 μ L/孔加入并在 37 °C 避光培养 4 小时。移出 MTT 溶液并将细胞再次以 200 μ L PBS 洗涤。在振荡下将 MTT 染料用 200 μ L/孔的 DMSO 溶解。在 540 nm 处读取吸光度并利用曲线拟合软件(GraphPad Prism version 3.00 for Windows, GraphPad Software, San Diego California USA)进行数据分析以测定 IC₅₀ 值(抑制 50% 细胞生长的测试化合物的浓度)。并且代表性实施例化合物的结果总结在表 4 中。

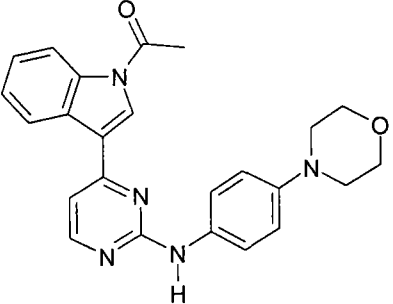
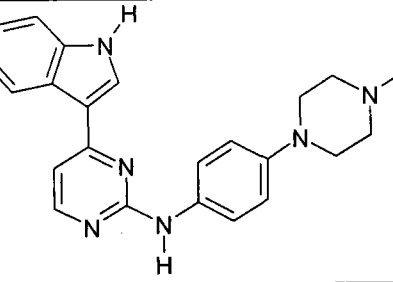
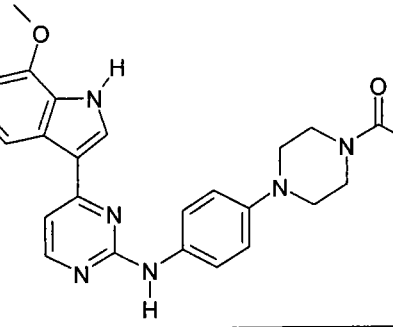
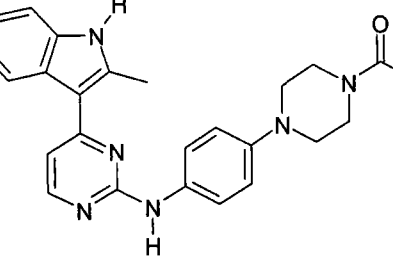
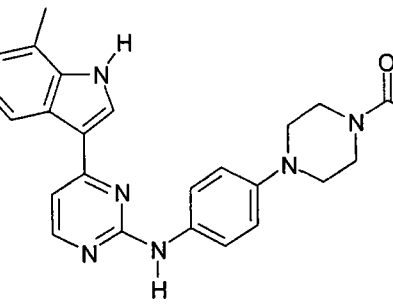
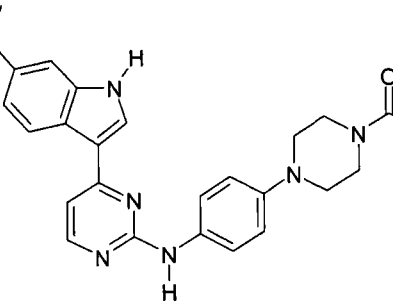
在不偏离本发明的范围和精神情形下，描述的本发明方面的各种修饰以及变体对本领域的普通技术人员而言是显而易见的。尽管本发明结合具体的优选的实施方案进行了描述，应该理解为要求保护的本发明不应该过度地限制到所述的具体的实施方案。实际上，对化学领域或相关领域的普通技术人员而言明显的实施本发明的多种修饰都包括在下述权利要求的范围之内。

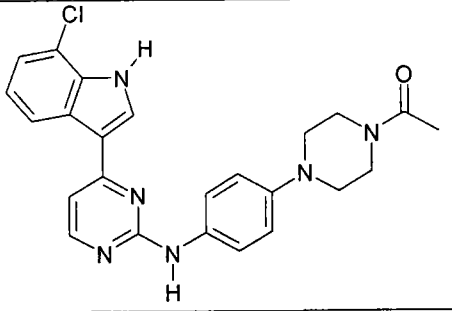
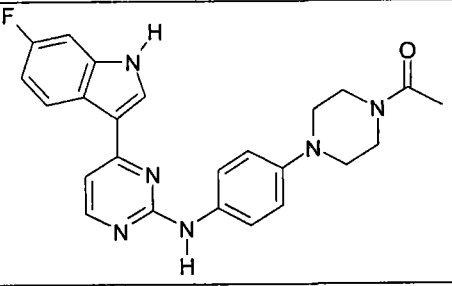
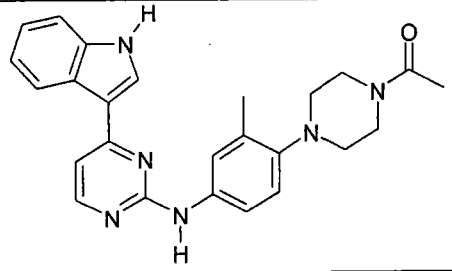
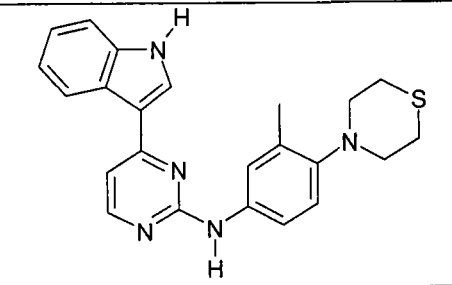
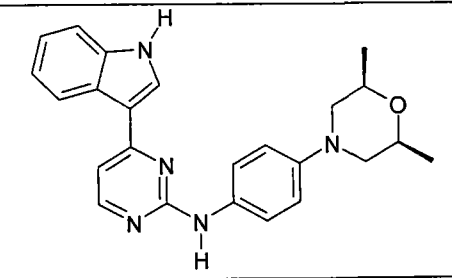
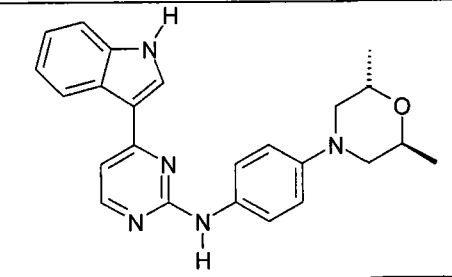
表 1: 例示性化合物的结构

化合物编号	名称	结构
1	4-(1H-吲哚-3-基)嘧啶-2-胺	
2	4-(1H-吲哚-3-基)-N-(3-硝基苯基)嘧啶-2-胺	
3	N-(4-氟苯基)-4-(1H-吲哚-3-基)嘧啶-2-胺	
4	4-(1H-吲哚-3-基)-N-(6-甲氧基吡啶-3-基)嘧啶-2-胺	
5	4-(1H-吲哚-3-基)-N-(4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺	
6	4-(1H-吲哚-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺	

7	4-(1H-吲哚-3-基)-N-(4-哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺	
8	4-(1H-吲哚-3-基)-N-(4-苄基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺	
9	4-(1H-吲哚-3-基)-N-(2,6-二甲基吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺	
10	N'-[4-(1H-吲哚-3-基)嘧啶-2-基]-N,N-二甲基苯-1,4-二胺	
11	4-(1H-吲哚-3-基)-N-(2-甲基-4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺	
12	4-(1H-吲哚-3-基)-N-(3,4,5-三甲氧基苯基)嘧啶-2-胺	

13	4-(1H-吲哚-3-基)-N-(3-甲氧基-4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺	
14	N-(3,5-二甲氧基苯基)-4-(1H-吲哚-3-基)嘧啶-2-胺	
15	4-(1-甲基-1H-吲哚-3-基)-N-(4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺	
16	4-(1-甲基-1H-吲哚-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺	
17	N-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-基-4-(1H-吲哚-3-基)嘧啶-2-胺	
18	4-[1-(环丙基羰基)-1H-吲哚-3-基]-N-(4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺	

19	4-(1-乙酰基-1H-吲哚-3-基)-N-(4-吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺	
20	4-(1H-吲哚-3-基)-N-(4-甲基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺	
21	4-(7-甲氧基-1H-吲哚-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺	
22	4-(2-甲基-1H-吲哚-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺	
23	4-(7-甲基-1H-吲哚-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺	
24	4-(6-甲氧基-1H-吲哚-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺	

25	4-(7-氯-1H-吲哚-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺	
26	4-(6-氟-1H-吲哚-3-基)-N-(4-乙酰基哌嗪-1-基苯基)嘧啶-2-胺	
27	4-(1H-吲哚-3-基)-N-[(4-乙酰基哌嗪-1-基)-3-甲基苯基]嘧啶-2-胺	
28	4-(1H-吲哚-3-基)-N-(3-甲基-4-硫吗啉-4-基苯基)嘧啶-2-胺	
29	4-(1H-吲哚-3-基)-N-[(2R,6S)-2,6-二甲基吗啉-4-基苯基]嘧啶-2-胺	
30	4-(1H-吲哚-3-基)-N-[(2S,6S)-2,6-二甲基吗啉-4-基苯基]嘧啶-2-胺	

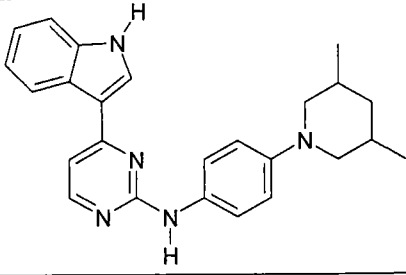
31	4-(1H-吡啶-3-基)-N-(3,5-二甲基哌啶-1-基苯基)嘧啶-2-胺	
----	---	--

表 2: 选择化合物的激酶抑制

化合物	激酶抑制 IC ₅₀ (μM)								
	Aurora A	FLT3	CDK1B	CDK2A	CDK2E	CDK4D1	CDK7H	CDK9T1	GSK3
2	0.27	0.13	>100	>100	2.9	>100	>100	6.1	2.1
3	1.1	0.27	>100	>100	1.2	>100	>100	>100	8.7
4	0.24	0.15	1.9	2.6	1.3	1.0	5.4	2.8	1.6
5	0.058	0.052			>10		>10	>10	

表 3: 选择化合物的激酶抑制

化合物	CDK2E	CDK4D1	CDK7H	CDK9T1	Aurora A	Aurora B	Flt3
2	2.9473			6.0755	0.2738*		0.1332
3	1.1707				1.0516*		0.2742
4	1.2531	1.0025	5.4430	2.8170	0.2434*		0.1481
5					0.8044	0.2596	0.0516
6	4.5026	4.3941		2.0838	0.1297	0.1254	0.0133
7	1.9309	0.4261	2.5284	0.5200	0.2210	0.1702	0.0127
8			6.0420			1.4056	0.0788
9	4.9098	5.4568	6.6715	3.0325	0.2766	0.1582	0.0298
10	2.3539	5.7774	5.2264	1.5950	0.2820	0.7288	0.0849
11	0.3318						0.7258
12	1.8163			1.2560	0.0534	0.0664	0.0013
13	7.5972			4.2449	0.1117	0.2280	0.0024
14					0.5632		
15					0.3695		
16					0.2345		
17					0.7419		
18					3.3642		
19					2.1875		
20					0.4340		
21					0.2339		
22	5.1530		6.6620	4.4351	0.0377	0.0246	0.0110
23	2.4298		3.4710	1.5390	0.0917	0.0761	0.0332
24					0.2105		
25					0.5592		
26					0.1938	0.1747	
27					0.2761	0.3652	
28					0.8560	0.6364	
29					0.3858		
30					1.2479		
31					4.5139		

*果蝇 Aurora A

表 4: 选择的本发明的化合物对于细胞系 Mia-PaCa-2 和 A2780 的 MTT 细胞毒性数据(IC₅₀ 值的单位 μM , 96 小时培养之后)。

化合物	Mia-PaCa-2	A2780
5	2.404	1.032
6	0.785	0.789
7	0.166	0.086
8	5.455	5.426
9	6.232	5.446
10	5.478	0.485
11	6.822	4.660
12	0.077	0.043
13	6.729	2.485
21	1.036	
22	0.778	0.299
23	0.789	0.448
24	0.723	0.576

参考文献

1. Manning, G.; Whyte, D. B.; Martinez, R.; Hunter, T.; Sudarsanam, S. The protein kinase complement of the human genome. *Science* **2002**, *298*, 1912-1934.
2. Kostich, M.; English, J.; Madison, V.; Gheyas, F.; Wang, L. et al. Human members of the eukaryotic protein kinase family. *Genome Biology* **2002**, *3*, research0043.0041-0043.0012.
3. Dancey, J.; Sausville, E. A. Issues and progress with protein kinase inhibitors for cancer treatment. *Nat. Rev. Drug Disc.* **2003**, *2*, 296-313.
4. Cockerill, G. S.; Lackey, K. E. Small molecule inhibitors of the class 1 receptor tyrosine kinase family. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2002**, *2*, 1001-1010.
5. Fabbro, D.; Ruetz, S.; Buchdunger, E.; Cowan-Jacob, S. W.; Fendrich, G. et al. Protein kinases as targets for anticancer agents: from inhibitors to useful drugs. *Pharmacol. Ther.* **2002**, *93*, 79-98.
6. Cohen, P. Protein kinases — the major drug targets of the twenty-first century? *Nat. Rev. Drug Disc.* **2002**, *1*, 309-315.
7. Bridges, A. J. Chemical inhibitors of protein kinases. *Chem. Rev.* **2001**, *101*(8), 2541-2571.
8. Wang, S.; Meades, C.; Wood, G.; Osnowski, A.; Fischer, P. M. N-(4-(4-methylthiazol-5-yl) pyrimidin-2-yl)-N-phenylamines as antiproliferative compounds. *PCT Intl. Patent Appl. Publ. WO 2003029248*; Cyclacel Limited, UK.
9. Wu, S. Y.; McNae, I.; Kontopidis, G.; McClue, S. J.; McInnes, C. et al. Discovery of a Novel Family of CDK Inhibitors with the Program LIDAEUS: Structural Basis for Ligand-Induced Disorder of the Activation Loop. *Structure* **2003**, *11*, 399-410.
10. Fischer, P. M.; Wang, S.; Wood, G. Inhibitors of cyclin dependent kinases as anti-cancer agent. *PCT Intl. Patent Appl. Publ. WO 02/079193*; Cyclacel Limited, UK,.

11. Wang, S.; Fischer, P. M. Anti-cancer compounds. *US Patent Appl. Publ.* 2002/0019404.
12. Fischer, P. M.; Wang, S. 2-substituted 4-heteroaryl-pyrimidines and their use in the treatment of proliferative disorders. *PCT Intl. Patent Appl. Publ. WO* 2001072745; Cyclacel Limited, UK.
13. Knockaert, M.; Greengard, P.; Meijer, L. Pharmacological inhibitors of cyclin-dependent kinases. *Trends Pharmacol. Sci.* **2002**, *23*, 417-425.
14. Fischer, P. M.; Endicott, J.; Meijer, L. Cyclin-dependent kinase inhibitors. *Progress in Cell Cycle Research*; Editions de la Station Biologique de Roscoff: Roscoff, France, 2003; pp 235-248.
15. Fravolini, A.; Grandolini, G.; Martani, A. New heterocyclic ring systems from α -hydroxymethylene ketones. V. Reaction of 2-methyl-6-hydroxymethylene-4,5,6,7-tetrahydrobenzothiazol-7-one with amines and amidines. *Gazz. Chim. Ital.* **1973**, *103*, 1063-1071.
16. Cleaver, L.; Croft, J. A.; Ritchie, E.; Taylor, W. C. Chemical studies of the Proteaceae. IX. Synthesis of 5-alkylresorcinols from aliphatic precursors. *Aust. J. Chem.* **1976**, *29*, 1989-2001.
17. Fadda, A. A.; El-Houssini, M. S. Synthesis of cyclic ketones by activated nitriles. *J. Ind. Chem. Soc.* **1990**, *67*, 915-917.
18. Kost, A. N.; Ovseneva, L. G. Synthesis of 4-substituted dihydroresorcinols. *Zh. Obshch. Khim* **1962**, *32*, 3983-3986.
19. Lehmann, G.; Luecke, B.; Schick, H.; Hilgetag, G. 2-Substituted 7-oxo-4,5,6,7-tetrahydrobenzothiazoles. *Z. Chem.* **1967**, *7*, 422.
20. Bell, R. P.; Davis, G. G. Kinetics of the bromination of some enols and their anions. *J. Chem. Soc* **1965**, 353-361.
21. Fravolini, A.; Grandolini, G.; Martani, A. New heterocyclic ring systems from α -hydroxymethylene ketones. III. Pyrazolobenzothiazoles and thiazolo-benzisoxazoles. *Gazz. Chim. Ital.* **1973**, *103*, 755-769.
22. Bredereck, H.; Effenberger, F.; Botsch, H. Acid amide reactions. XLV. Reactivity of formamidines, dimethylformamide diethyl acetal (amide acetal), and bis(dimethylamino)methoxymethane (aminal ester). *Chem. Ber.* **1964**, *97*,

3397-3406.

23. Wang D, De la Fuente C, Deng L, Wang L, Zilberman I, Eadie C, Healey M, Stein D, Denny T, Harrison LE, Meijer L, Kashanchi F. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 transcription by chemical cyclin-dependent kinase inhibitors. *J. Virol.* 2001; 75: 7266-7279.
24. Chen, Y.H.; Hansen, L.; Chen, M.X.; BJORBAEK, C.; VESTERGAARD, H.; HANSEN, T.; COHEN, P.T.; PEDERSEN, O. *Diabetes*, 1994, **43**, 1234.
25. Nikoulina, S.E.; Ciaraldi, T.P.; Mudaliar, S.; Mohideen, P.; Carter, L.; Henry, R.R. *Diabetes*, 2000, **49**, 263.
26. Goedert, M. *Curr. Opin. Gen. Dev.*, 2001, **11**, 343.
27. Mattson, M.P. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 2000, **1**, 120.
28. Zhu, A.J.; Watt, F.M. *Development*, 1999, **126**, 2285.
29. DasGupta, R.; Fuchs, E. *Development*, 1999, **126**, 4557.
30. Sunkel et al., *J. Cell Sci.*, 1988, **89**, 25.
31. Llamazares et al., *Genes Dev.*, 1991, **5**, 2153.
32. Glover et al., *Genes Dev.*, 1998, **12**, 3777.
33. Lee et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, **95**, 9301.
34. Leung et al., *Nat. Struct. Biol.*, 2002, **9**, 719.
35. Kauselmann et al., *EMBO J.*, 1999, **18**, 5528.
36. Nigg, *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1998, **10**, 776.
37. Yuan et al., *Cancer Res.*, 2002, **62**, 4186.
38. Seong et al., *J. Biol. Chem.*, 2002, **277**, 32282.
39. Lane et al., *J. Cell. Biol.*, 1996, **135**, 1701.
40. Cogswell et al., *Cell Growth Differ.*, 2000, **11**, 615.
41. Liu et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, **99**, 8672.
42. Toyoshima-Morimoto et al., *Nature*, 2001, **410**, 215.
43. Roshak et al., *Cell. Signalling*, 2000, **12**, 405.
44. Smits et al., *Nat. Cell Biol.*, 2000, **2**, 672.
45. van Vugt et al., *J. Biol. Chem.*, 2001, **276**, 41656.
46. Sumara et al., *Mol. Cell*, 2002, **9**, 515.
47. Golan et al., *J. Biol. Chem.*, 2002, **277**, 15552.

48. Kotani et al., *Mol. Cell*, 1998, **1**, 371.
49. Feng et al., *Cell Growth Differ.*, 2001, **12**, 29.
50. Dai et al., *Oncogene*, 2002, **21**, 6195.
51. Nurse, *Nature*, 1990, **344**, 503.
52. Nigg, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2001, **2**, 21.
53. Hagting et al., *EMBO J.*, 1998, **17**, 4127.
54. Hagting et al., *Curr. Biol.*, 1999, **9**, 680.
55. Yang et al., *J. Biol. Chem.*, 2001, **276**, 3604.
56. Takizawa et al., *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2000, **12**, 658.
57. Seki et al., *Mol. Biol. Cell*, 1992, **3**, 1373.
58. Heald et al., *Cell*, 1993, **74**, 463.
59. Dalal et al., *Mol. Cell. Biol.*, 1999, **19**, 4465.
60. Toyoshima-Morimoto et al., *Nature*, 2001, **410**, 215.
61. Toyoshima-Morimoto et al., *EMBO Rep.*, 2002, **3**, 341.
62. Wang et al., *Mol. Cell. Biol.*, 2002, **22**, 3450.
63. Tyrrell, E.; Brookes, P. *Synthesis* 2003, 469-483.
64. Molander, G. A.; Biolatto, B. *J. Org. Chem.* 2003, **68**, 4302-4314.
65. Bredereck, H.; Effenberger, F.; Botsch, H. *Chem. Ber.* 1964, **97**, 3397-3406.
66. Zimmermann, J.; Caravatti, G.; Mett, H.; Meyer, T.; Müller, M. et al. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* 1996, **329**, 371-376.
67. Haselsberger, K.; Peterson, D. C.; Thomas, D. G.; Darling, J. L. *Anti Cancer Drugs* 1996, **7**, 331-8.
68. Loveland, B. E.; Johns, T. G.; Mackay, I. R.; Vaillant, F.; Wang, Z. X.; Hertzog, P. *J. Biochemistry International* 1992, **27**, 501-10.
69. Joule, J.A.; Smith, G.F. *Heterocyclic Chemistry*, Van Nostrand Reinhold (UK) Co. Ltd.: Wokingham, 1983.
70. Bredereck, H.; Effenberger, F.; Botsch, H. *Chem. Ber.*, 1964, **97**, 3397.
71. Cohen, P. *Nat. Rev. Drug Disc.*, 2002, **1**, 309.
72. Fischer, P.M. *Curr. Med. Chem.*, 2004, **11**, 1563.
73. Kidwai, M.; Rastogi, S.; Saxena, S. *Bulletin of the Korean Chemical Society*,

2003, 24, 1575.

74. Zimmermann, J.; Caravatti, G.; Mett, H.; Meyer, T.; Mueller, M.; Lydon, N.B.; Fabbro, D. *Arch. Pharm. (Weinheim)*, 1996, 329, 371.

75. Carmena, M.; Earnshaw, W.C. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2003, 4, 842.

76. Stirewalt, D.L.; Radich, J.P. *Nat. Rev. Cancer*, 2003, 3, 650.

77. Fischer, P.M.; Endicott, J.; Meijer, L. *Progr. Cell Cycle Res.*, 2003, 5, 235.

78. Cohen, P.; Goedert, M. *Nat. Rev. Drug Disc.*, 2004, 3, 479.

79. Reilly, J.T. *Leukemia & Lymphoma*, 2003, 44, 1.