



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107207442 A

(43)申请公布日 2017.09.26

(21)申请号 201580075621.9

(22)申请日 2015.12.08

(30)优先权数据

14196766.1 2014.12.08 EP

15163993.7 2015.04.17 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.08.07

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2015/078912 2015.12.08

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/091845 EN 2016.06.16

(71)申请人 拜耳医药股份有限公司

地址 德国柏林

(72)发明人 J·S·莫瓦特 T·斯特菲尔德

C·斯特莱斯曼 R·休利格

S·科尔 D·斯托凯特

J·威斯克 T·布伦比 N·巴勒

C·克莱斯特 A·特尔拉克

V·巴道克 R·H·克兰普顿

I·斯特法努缇

(74)专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司 11285

代理人 曲蕾 张广育

(51)Int.Cl.

C07D 231/06(2006.01)

C07D 401/12(2006.01)

A61K 31/415(2006.01)

A61K 31/4439(2006.01)

A61K 31/5377(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 9/10(2006.01)

A61P 37/00(2006.01)

A61P 9/00(2006.01)

A61P 31/12(2006.01)

(续)

权利要求书6页 说明书121页

序列表4页 附图2页

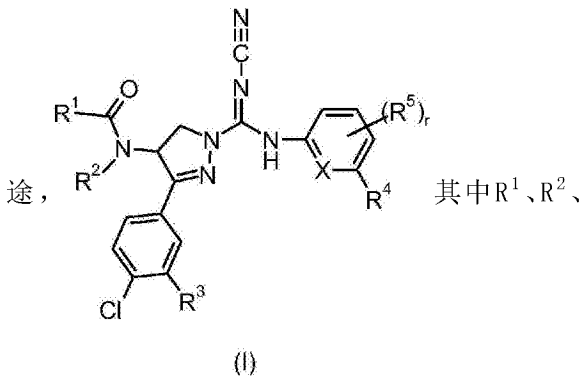
(54)发明名称

新的芳基-氨基胍化合物

(57)摘要

本发明涉及蛋白质-赖氨酸N-甲基转移酶SMYD2(含SET和MYND结构域的蛋白质2)抑制剂、特别是通式(I)的抑制SMYD2的取代的氨基胍-吡啶啉,以及涉及包含本发明的化合物的药物组合物,并且涉及它们用于过度增殖性疾病、特别是用于癌症、分别为肿瘤疾病的预防性和治疗性用途,

R³、R⁴、R⁵、X和r具有如本文所述和所定义的含义。本发明还涉及SMYD2抑制剂用于良性增生、动脉粥样硬化疾病、败血症、自身免疫疾病、血管疾病、病毒感染、神经退行性疾病、炎性疾病、动脉粥样硬化疾病以及控制男性生育力的用途。



CN 107207442 A

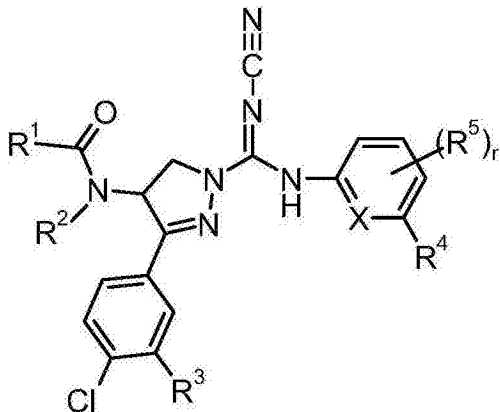
[接上页]

(51) Int.Cl.

A61P 15/00(2006.01)

A61P 29/00(2006.01)

1. 通式 (I) 的化合物,



(I)

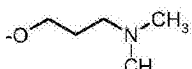
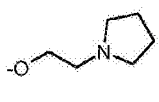
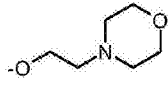
其中,

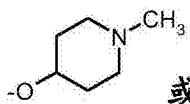
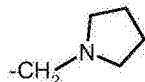
R¹代表C₁-C₆-烷基基团,其被选自-OH、-NH₂或-NHCH₃的取代基取代,

R²代表氢原子、甲基或乙基基团,

R³代表氟原子或氯原子或甲基基团,

R⁴代表选自-CF₃、-CH₂CF₃、-OCH₃、-OCHF₂、-OCF₃、-OCH₂CF₃或-OCH₂CH₂N(CH₃)₂的基团,

R⁵代表氟原子或氯原子或选自-OCH₃、-OCF₃、, , ,

 或  的基团,

X代表CH或N,以及

r代表0或1,

以及它们的多晶型物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体、E/Z-异构体、互变异构体、溶剂合物、生理上可接受的盐以及这些盐的溶剂合物。

2. 权利要求1的通式 (I) 的化合物,其中,

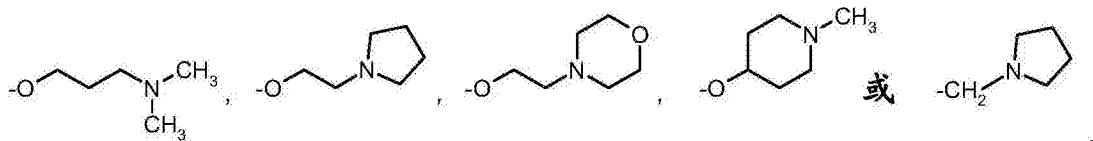
R¹代表选自以下的基团:-CH₂-OH、-CH(OH)-CH₃、-C(CH₃)₂-OH、-CH₂-NH₂、-CH₂-NH-CH₃、-CH(CH₃)-NH₂、-CH₂-CH₂-NH₂、-CH₂-CH₂-CH₂-NH₂、-CH(NH-CH₃)-CH₃、-CH(CH(CH₃)₂)-NH₂、-C(CH₃)(CH(CH₃)₂)-NH₂或-CH-(CH₂-CH(CH₃)₂)-NH₂,

R²代表氢原子、甲基或乙基基团,

R³代表氟原子或氯原子或甲基基团,

R⁴代表选自以下的基团:-CF₃、-CH₂CF₃、-OCH₃、-OCHF₂、-OCF₃或-OCH₂CH₂N(CH₃)₂,

R⁵代表氟原子或氯原子或选自以下的基团:-OCH₃、-OCF₃、



X代表CH或N,以及

R代表0或1，

以及它们的多晶型物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体、E/Z-异构体、互变异构体、溶剂合物、生理上可接受的盐以及这些盐的溶剂合物。

3. 权利要求1和2的通式(I)的化合物：

- (2S)-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-2-羟基丙酰胺(非对映异构体的1:1混合物)；

- Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-2-羟基-N-甲基乙酰胺；

- Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基甘氨酸酰胺；

- Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺；

- N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1；

- N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2；

- Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-2-羟基-2-甲基丙酰胺；

- N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-2-羟基-2-甲基丙酰胺异构体1；

- N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-2-羟基-2-甲基丙酰胺异构体2；

- Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-β-丙氨酸酰胺；

- N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-D-丙氨酸酰胺(非对映异构体的1:1混合物)；

- N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-D-丙氨酸酰胺异构体1；

- N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-D-丙氨酸酰胺异构体2；

- (2S)-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基丙酰胺(非对映异构体的1:1混合物)；

- (2R)-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基丙酰胺(非对映异构体的1:1混合物)；

- Rac-4-氨基-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基丁酰胺；

- 4-氨基-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基丁酰胺异构体1；

- 4-氨基-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-

二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基丁酰胺异构体2;

-Rac-N-[1-{N-[4-氯-3-(二氟甲氧基)苯基]-N'-氰基甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-N-[1-{N-[4-氯-3-(二氟甲氧基)苯基]-N'-氰基甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

-N-[1-{N-[4-氯-3-(二氟甲氧基)苯基]-N'-氰基甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

-Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-N-[1-{N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

-N-[1-{N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

-Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

-Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-Rac-N-{1-[N'-氰基-N-(3-甲氧基苯基)甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基}-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-N-{1-[N'-氰基-N-(3-甲氧基苯基)甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基}-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

-N-{1-[N'-氰基-N-(3-甲氧基苯基)甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基}-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

-Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-N-[1-(N'-氰基-N-{3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

-N-[1-(N'-氰基-N-{3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

-Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基甘氨酸酰胺;

-Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-N-[1-{N'-氰基-N-[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

-N-[1-{N'-氰基-N-[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

-Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

-N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

-Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[6-(二氟甲氧基)吡啶-2-基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-N-[1-{N'-氰基-N-[6-(二氟甲氧基)吡啶-2-基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

-N-[1-{N'-氰基-N-[6-(二氟甲氧基)吡啶-2-基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

-Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(2,2,2-三氟乙基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(2,2,2-三氟乙基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(2,2,2-三氟乙基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

-Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-4-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-2-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-5-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-5-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-5-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

-Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-氟-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-N-[1-{N'-氰基-N-[3-氟-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

-N-[1-{N'-氰基-N-[3-氟-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

-Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-(吡咯烷-1-基甲基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,

4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-N-[1-{N'-氰基-N-[2-(吡咯烷-1-基甲基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

-N-[1-{N'-氰基-N-[2-(吡咯烷-1-基甲基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

-Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-(三氟甲氧基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{5-(二氟甲氧基)-2-[3-(二甲基氨基)丙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{2-[2-(吡咯烷-1-基)乙氧基]-5-(三氟甲基)苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{2-[(1-甲基哌啶-4-基)氧基]-5-(三氟甲基)苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{2-[(1-甲基哌啶-4-基)氧基]-5-(三氟甲基)苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-Rac-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-L-丙氨酰胺(非对映异构体的1:1混合物);

-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-L-丙氨酰胺异构体1;

-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-L-丙氨酰胺异构体2;

-Rac-N-[3-(4-氯-3-氟苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

-Rac-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-N²-甲基甘氨酸酰胺;

-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-N²-甲基甘氨酸酰胺异构体1;

-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-N²-甲基甘氨酸酰胺异构体2;

-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-N²-甲基-D-丙氨酸酰胺;

-Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-3-甲基-D-异缬氨酸酰胺;

-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-3-甲基-D-异缬氨酰胺异构体1;

-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-3-甲基-D-异缬氨酰胺异构体2;

-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-D-亮氨酰胺;

-N-[1-{N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-D-缬氨酰胺和

-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-D-缬氨酰胺;

以及它们的多晶型物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体、E/Z异构体、互变异构体、溶剂合物、生理上可接受的盐以及这些盐的溶剂合物。

4. 权利要求1至3中任一项的通式(I)的化合物,其预防性和治疗性地用于过度增殖性疾病。

5. 权利要求1至3中任一项的通式(I)的化合物,其预防性和治疗性地用于癌症、分别为肿瘤疾病。

6. 权利要求1至3中任一项的通式(I)的化合物,其在良性增生、动脉粥样硬化疾病、败血症、自身免疫疾病、血管疾病、病毒感染、神经退行性疾病、炎性疾病、动脉粥样硬化疾病以及控制男性生育力中用作SMYD2抑制剂。

7. 权利要求1至3中任一项的通式(I)的化合物用于制备药物的用途。

8. 权利要求1至3中任一项的通式(I)的化合物用于预防性和治疗性地用在人类或其他哺乳动物中的用途。

9. 权利要求1至3中任一项的通式(I)的化合物,其与一种或多种药物活性化合物一起组合。

10. 包含权利要求1至3中任一项的通式(I)的化合物的药物制剂。

新的芳基-氰基胍化合物

[0001] 本发明涉及蛋白质-赖氨酸N-甲基转移酶SMYD2(含SET和MYND结构域的蛋白质2)抑制剂、特别是抑制SMYD2的取代的氰基胍-吡啶啉,涉及包含本发明的化合物的药物组合物,并且涉及它们用于过度增殖性疾病、特别是用于癌症、分别为肿瘤疾病的预防性和治疗性用途。本发明还涉及SMYD2抑制剂用于良性增生、动脉粥样硬化疾病、败血症、自身免疫疾病、血管疾病、病毒感染、神经退行性疾病、炎性疾病、动脉粥样硬化疾病以及控制男性生育力的用途。

背景技术

[0002] 组蛋白的翻译后修饰(PTM)(如乙酰化、甲基化、磷酸化和泛素化)在调节染色质动力学和基因表达中起着至关重要的作用(Jenuwein and Allis, *Science*, 2001, 293(5532): 1074-80)。组蛋白上不同修饰的组合——称为“组蛋白密码”——扩展了潜在的信息并调节遗传密码的读出。除了组蛋白以外,已发现很多PTM还发生在非组蛋白上。这些PTM调节蛋白质-蛋白质相互作用、蛋白质的稳定性、定位和/或酶活性(Sims and Reinberg, *Nat Rev Mol Cell Biol.*, 2008, 9:815-20)。因此,非组蛋白上(例如,转录因子上)的PTM基本上可改变蛋白质功能,将PTM的调节作用扩展到多个细胞通路(Benayoun and Veitia, *Trends Cell Biol.*, 2009, 19(5): 189-97)。与丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸磷酸化一起,赖氨酸甲基化也对细胞功能起着关键作用(Huang and Berger, *Curr Opin Genet Dev*, 2008, 18(2): 152-8)。负责赖氨酸甲基化的酶最初被发现以组蛋白为靶标。越来越多的证据证明这些酶中的一些酶不完全是组蛋白特异性的,而是具有更广泛的蛋白质底物,并因此被称为蛋白赖氨酸甲基转移酶(PKMT)(Lanouette et al., *Mol Syst Biol.*, 2014, 10:724)。已在癌细胞系以及在癌症患者中报道了PKMT的误调节(Miremadi et al., *Hum Mol Genet.*, 2007, 16Spec No 1:R28-49; Kudithipudi and Jeltsch, *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1846(2): 366-379)。因此,赖氨酸被证明影响与致癌性转化直接相关的不同通路,提供了PKMT参与癌症的原理以及开发用于治疗性干预的抑制剂的原理(Mair et al., *Trends Pharmacol Sci.*, 2014, 35(3): 136-45; Wagner and Jung, *Nat Biotechnol.*, 2012, 30(7): 622-3)。

[0003] 在本发明中,描述了针对含PKMT SET和MYND结构域的蛋白质2(SMYD2)的抑制剂。SMYD2是含SET催化结构域的蛋白质甲基转移酶,所述酶被报道可使组蛋白和非组蛋白上的数个赖氨酸残基单甲基化。最初,SMYD2被表征为甲基化H3赖氨酸36(Brown et al., *Mol Cancer.*, 2006, 5:26),以及当与HSP90a相互作用时甲基化H3赖氨酸4(Abu-Farha et al., *Mol Cell Proteomics.*, 2008, 7(3): 560-722008)。已将通过SMYD2的组蛋白甲基化与参与细胞周期调节、染色质重塑和转录调节的基因的转录增加联系在一起(Abu-Farha et al., *Mol Cell Proteomics.*, 2008, 7(3): 560-722008)。除了SMYD2在转录调节中的功能以外,几项研究还揭示了SMYD2甲基化活性对与癌症紧密相关的非组蛋白的重要作用。

[0004] 例如,p53肿瘤抑制基因在约50%的人类癌症中发生突变,并且在非突变的情况下蛋白活性通常被抑制,表明了p53在预防肿瘤发生中的核心作用(Levine, *Cell*, 1997, 88(3): 323-31)。已证明p53蛋白的活性被SMYD2介导的赖氨酸370(K370)处的翻译后甲基化抑

制(Wu et al.,*Biochemistry*,2011,50 (29) :6488-97;Huang et al.,*Nature*,2006,444 (7119) :629-32;)。通过SMYD2的p53甲基化的结构基础已通过解析与辅因子产物S-腺苷高半胱氨酸以及p53底物肽的三元复合物的晶体结构而得到表征(Wang et al.,*J Biol Chem.*,2011,286 (44) :38725-37)。K370处的甲基化降低了p53的DNA结合效率,并随后阻止了肿瘤抑制基因p21和MDM2的转录激活(Huang et al.,*Nature*,2006,444 (7119) :629-32)。在同一研究中,敲低(knockdown) SMYD2并用阿霉素进行处理导致了在癌细胞系模型中p53介导的细胞周期停滞和细胞凋亡的增加。与这些观察结果一致,在乳腺癌患者中低的SMYD2基因表达被建议作为对阿霉素和环磷酰胺新辅助化疗的改善的响应的预测性标记物(Barros Filho et al.,*Braz J Med Biol Res.*,2010,43 (12) :1225-31)。此外,SMYD2对p53活性的调节作用在心脏生物学中得到独立地证实。通过甲基化p53,由此降低p53介导的细胞凋亡诱导,SMYD2在心肌细胞模型中被表征为心脏保护蛋白(Sajjad et al.,*Biochim Biophys Acta.*,2014,1843 (11) :2556-62)。因此,SMYD2抑制剂可为具有SMYD2介导的p53肿瘤抑制子的失活的癌症提供了新的治疗选择。

[0005] 另一项研究通过揭示聚(ADP-核糖)聚合酶-1(PARP1)的SMYD2依赖的甲基化而揭示了与癌症化疗的其他联系。PARP1在赖氨酸528(K528)处的甲基化正向调节了癌症细胞中的致癌蛋白PARP1的聚(ADP-核糖基)化活性(Piao et al.,*Neoplasia*,2014,16 (3) :257-64)。PARP1参与DNA修复的碱基切除途径。增加的PARP1活性被认为是对通过用于癌症细胞的DNA损伤剂的细胞凋亡诱导的可能的逃避机制(Peralta-Leal et al.,*Clin Transl Oncol.*,2008,10 (6) :318-23)。SMYD2的敲低导致PARP1酶活性的降低,表明SMYD2抑制可提高癌症化疗功效(Piao et al.,*Neoplasia*,2014,16 (3) :257-64)。

[0006] 视网膜母细胞瘤蛋白(Rb)是通过SMYD2调节的另一个重要的肿瘤抑制蛋白质。Rb通常通过结合和抑制E2F家族的转录因子来阻止细胞分裂周期从G1到复制S期的进程从而限制DNA复制(Weinberg,*Cell*,1995,81 (3) :323-30)。SMYD2在赖氨酸810(K810)和860(K860)处甲基化Rb。SMYD2对K810的甲基化增强了Rb的磷酸化及其从E2F的解离,这促进了癌症中异常的细胞周期进展到S期和增殖(Cho et al.,*Neoplasia*,.2012,14 (6) :476-86)。与这些观察结果一致,已证明在过表达SMYD2的食管鳞状细胞癌(ESCC)细胞系中敲低SMYD2导致因G1停滞造成的增殖抑制(Komatsu et al.,*Carcinogenesis*,2009,30 (7) :1139-46)。HSP90分子伴侣是通过SMYD2调节的另一个蛋白质。该蛋白质是癌基因成瘾和癌症存活的关键促进因子(Whitesell et al.,*Nat Rev Cancer.*,2005,5 (10) :761-72)。癌细胞依赖于HSP90分子伴侣机制以保护癌蛋白免于错误折叠和降解。在蛋白质-蛋白质相互作用研究中,SMYD2被鉴定为HSP90的相互作用配偶体(Abu-Farha et al.,*J Mol Cell Biol.*,2011,3 (5) :301-8)。不同的研究揭示了SMYD2依赖的在赖氨酸531(K531)和574(K574)处(Hamamoto et al.,*Cancer Lett.*,2014,351 (1) :126-33)以及赖氨酸K209和K615处(Abu-Farha et al.,*J Mol Cell Biol.*,2011,3 (5) :301-8)的HSP90甲基化的多个位点。已证明甲基化对于二聚化和分子伴侣复合物稳定性是重要的。最初,描述了在正常的肌肉组织维持中通过SMYD2的HSP90调节(Donlin et al.,*Genes Dev.*,2012,26 (2) :114-9;Voelkel et al.,*Biochim Biophys Acta.*2013,1833 (4) :812-22)。值得注意的是,报道了通过SMYD2的HSP90甲基化在人类癌发生中的其他作用(Hamamoto et al.,*Cancer Lett.*,2014,351 (1) :126-33)。癌细胞系中SMYD2的敲低使ERBB2和CDK4癌蛋白不稳定,并且甲基化的HSP90的过

表达加快了模型细胞系的增殖,表明SMYD2的其他癌症促进作用。

[0007] 在MCF7乳腺癌模型中,已证明SMYD2介导雌激素受体 α (ER α) 在赖氨酸266 (K266) 处的甲基化。因此,SMYD2也通过微调ER α 的功能和雌激素诱导的基因表达而在乳腺癌中发挥着潜在的作用(Zhang et al.,Proc Natl Acad Sci U S A.,2013,110(43):17284-9; Jiang et al.,J Mol Biol.2014,426(20):3413-25)。

[0008] 在癌症中,几项研究检测到SMYD2的异常高表达。在含有MLL-AF9融合癌蛋白的侵袭性急性髓性白血病(AML)的模型中,SMYD2表达被鉴定为与白血病干细胞和较差预后相关的异常自我更新基因的程序的一部分(Zuber et al.,Genes Dev.,2011,25:1628-1640)。不同的研究报道了在癌细胞系中以及在ESCC、膀胱癌、胃癌和小儿急性成淋巴细胞性白血病患者中的SMYD2的过表达(Komatsu et al.,Carcinogenesis,2009,30(7):1139-46and Br J Cancer,.2014,doi:10.1038/bjc.2014.543;Cho et al.,Neoplasia,.2012,14(6):476-86;Sakamoto et al,2014,38(4):496-502)。值得注意的是,在ESCC、胃癌和急性成淋巴细胞性白血病患者中更高的SMYD2表达与更低的存活率相关,并且被建议作为临床相关预后标记物,进一步表明了SMYD2的致癌作用(Komatsu et al.,Carcinogenesis,2009,30(7):1139-46and Br J Cancer,.2014,doi:10.1038/bjc.2014.543;Sakamoto et al.,Leuk Res.,2014,38(4):496-502)。在这些报道中的验证实验中,在过表达的ESCC、膀胱癌和胃癌细胞系模型中SMYD2的敲低显著降低了细胞增殖。对于ESCC,记载了在癌症患者中更高的SMYD2表达的一种可能的解释。SMYD2基因定位于1q32-q41附近的基因组区域,该区域已被发现在ESCC细胞系和患者中常被扩增(Komatsu et al.,Carcinogenesis,2009,30(7):1139-46;Pimkhaokham et al.,Jpn J Cancer Res.,2000,91(11):1126-33)。

[0009] 这些研究表明SMYD2蛋白在多种病理学中起着至关重要作用。因此,需要找到阻止SMYD2甲基化活性的有效和选择性的抑制剂。

[0010] 现有技术

[0011] WO 2006/072350公开了氰基胍取代的吡唑啉类和这类化合物作为与血液凝固领域相关的药物的用途。该申请的实例仅由3-(4-氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑啉类组成,它们仅仅是弱的SMYD2抑制剂。不存在由本文所述和所定义的式(I)涵盖的具体实例。

[0012] WO 2005/007157公开了用于治疗心血管疾病的作为PAR-1拮抗剂的吡唑啉类。但是,WO 2005/007157中公开的具体实例没有被本文所述和所定义的式(I)涵盖。

[0013] WO 1991/11438公开了杀节肢动物的吡唑啉类。所要求保护的4,5-二氢-1H-吡唑啉类可在4-位被取代,但是在该位置不含有N原子。

[0014] WO 1991/11438中公开的具体实例没有被本文所述和所定义的式(I)涵盖。

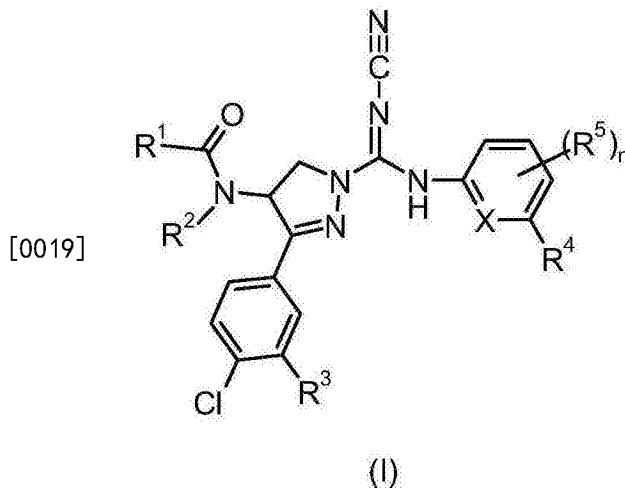
[0015] 基于化学结构,迄今为止,仅非常少的Smyd 2抑制剂类型被记载。Ferguson等人报道了AZ505的发现以及Smyd2与AZ505复合物的晶体结构(Structure 19,1262-1273,2011年9月7日)。与Ely Lilly and Company合作的SGC公布发现了Smyd2抑制剂LLY-507(SGC主页,URL:<http://www.thesgc.org/chemical-probes/LLY-507>)。迄今为止,显示体内活性的抑制剂还未被报道过。

[0016] 因此,需要提供具有预防性和治疗性特性的新的化合物。

[0017] 因此,本发明的目的是提供作为SMYD2蛋白质抑制剂的化合物和包含这些化合物的药物组合物,其预防性和治疗性地用于过度增殖性疾病、特别是用于癌症、分别为肿瘤疾

病,用于良性增生、动脉粥样硬化疾病、败血症、自身免疫疾病、血管疾病、病毒感染、神经退行性疾病、炎性疾病、动脉粥样硬化疾病以及控制男性生育力。

[0018] 现已发现通式 (I) 的化合物以及它们的多晶型物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体、E/Z-异构体、互变异构体、溶剂合物、生理上可接受的盐以及这些盐的溶剂合物可预防性地和治疗性地用于广泛的疾病、特别是过度增殖性疾病、更特别是癌症、分别为肿瘤治疗,



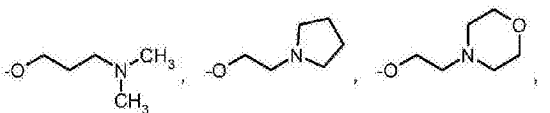

[0020] 其中,

[0021] R^1 代表 C_1 - C_6 -烷基基团,其被选自-OH、-NH₂或-NHCH₃的一个取代基取代,

[0022] R^2 代表氢原子、甲基或乙基基团,

[0023] R^3 代表氟原子或氯原子或甲基基团,

[0024] R^4 代表选自- CF_3 、- CH_2CF_3 、- OCH_3 、- $OCHF_2$ 、- OCF_3 、- OCH_2CF_3 或- $OCH_2CH_2N(CH_3)_2$ 的基团,

[0025] R^5 代表氟原子或氯原子或选自- OCH_3 、- OCF_3 、, 的基团,

[0026] X代表CH或N,

[0027] r代表0或1。

[0028] 本发明中提及的术语基于以下定义:

[0029] **烷基**

[0030] 术语“ C_1 - C_6 -烷基”应理解为优选意指具有1、2、3、4、5或6个碳原子的直链或支链的饱和单价烃基,例如,甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、异丙基、异丁基、仲丁基、叔丁基、异戊基、2-甲基丁基、1-甲基丁基、1-乙基丙基、1,2-二甲基丙基、新戊基、1,1-二甲基丙基、4-甲基戊基、3-甲基戊基、2-甲基戊基、1-甲基戊基、2-乙基丁基、1-乙基丁基、3,3-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,1-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基或1,2-二甲基丁基,或其异构体。特别地,所述基团具有1、2、3或4个碳原子(“ C_1 - C_4 -烷基”),例如,甲基、乙基、丙基、丁基、异丙基、异丁基、仲丁基、叔丁基,更特别具有1、2或3个碳原子(“ C_1 - C_3 -烷

基”)，例如，甲基、乙基、正丙基或异丙基。

[0031] 烷氧基

[0032] 术语“C₁-C₆-烷氧基”应理解为优选意指式-O-(C₁-C₆-烷基)的直链或支链的饱和单价基团，其中术语“C₁-C₆-烷基”定义如上，例如甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基、仲丁氧基、戊氧基、异戊氧基或正己氧基，或其异构体。

[0033] 本发明的化合物包含一个或多个不对称中心，这取决于所需的多个取代基的位置和性质。不对称碳原子可以(R)或(S)构型存在。在某些情况下，由于围绕给定的键(例如特定化合物的邻接两个取代的芳族环的中心键)旋转受限，因此也可存在不对称。

[0034] 环上的取代基也可以顺式或反式形式存在。这意味着所有这样的构型都包括在本发明的范围内。

[0035] 优选的化合物是产生更多需要的生物学活性的那些。本发明化合物的分离的、纯的或部分纯化的异构体和立体异构体或外消旋或非对映异构体混合物也包括在发明的范围内。可通过本领域已知的标准技术完成所述物质的纯化和分离。

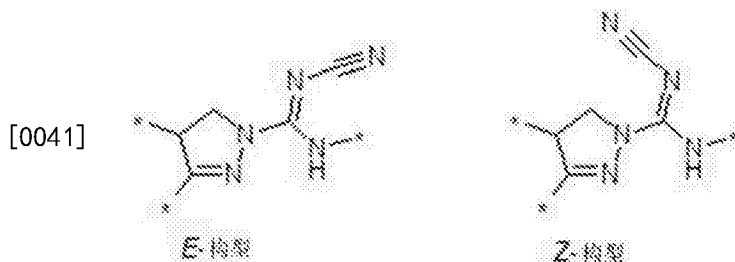
[0036] 根据常规方法，例如通过使用光学活性的酸或碱形成非对映异构体盐或形成共价的非对映异构体而对外消旋混合物进行拆分可获得光学异构体。适当的酸的实例是酒石酸、二乙酰基酒石酸、二甲苯酰基酒石酸和樟脑磺酸。根据它们的物理和/或化学差别，通过本领域已知的方法，例如通过色谱法或者分级结晶法，可将非对映异构体的混合物分离成它们的单独的非对映异构体。然后从分离的非对映异构体盐中释放光学活性的碱或酸。用于分离光学异构体的不同方法包括使用手性色谱法(例如，手性HPLC柱)，进行或不进行常规衍生化，进行最佳选择以使对映异构体的分离最大化。合适的手性HPLC柱由Diacel制造，例如可常规选择的Chiracel OD和Chiracel OJ等许多。进行或不进行衍生化的酶促分离也是有用的。本发明的光学活性化合物同样可以使用光学活性原料通过手性合成而获得。

[0037] 为了限制异构体的彼此不同的类型，参照IUPAC Rules Section E (Pure Appl Chem 45,11-30,1976)。

[0038] 本发明还包括本发明化合物的所有合适的同位素变体。本发明化合物的同位素变体被定义为其中至少一个原子被具有相同原子序数、但是原子质量与通常或主要存在于自然界中的原子质量不同的原子替换的变体。可被掺入本发明化合物的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟、溴和碘的同位素，分别例如为²H(氘)、³H(氚)、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁷O、¹⁸O、³²P、³³P、³³S、³⁴S、³⁵S、³⁶S、¹⁸F、³⁶Cl、⁸²Br、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁹I和¹³¹I。本发明化合物的某些同位素变体(例如，其中掺入一种或多种放射性同位素(如³H和¹⁴C)的那些)可用于药物和/或底物组织分布研究中。氘代的同位素和碳-14(即¹⁴C)的同位素是特别优选的，因为它们易于制备和检测。此外，用同位素(如氘)取代可以得到某些由更高的代谢稳定性引起的治疗优势——例如体内半衰期增加或剂量要求降低，并因此在一些情况下可为优选的。本发明化合物的同位素变体通常可通过本领域技术人员已知的常规方法制备，例如通过示例性方法或使用合适试剂的适当同位素变体通过下文实施例中所描述的制备方法来制备。

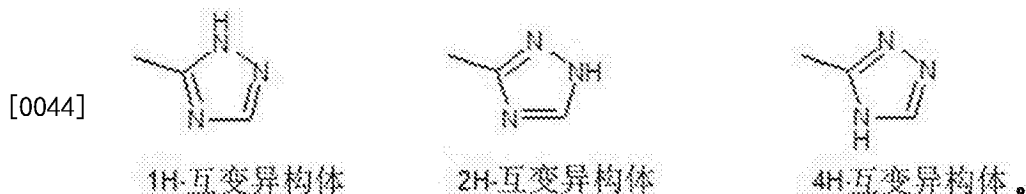
[0039] 本发明包括本发明化合物的所有可能的立体异构体，其作为单一的立体异构体或作为所述立体异构体的任何比例的任何混合物。例如可通过任何合适的现有技术方法(如色谱法，特别是手性色谱法)实现本发明化合物的单一立体异构体(例如，单一的对映异构体或单一的非对映异构体)的分离。

[0040] 所述氰基胍部分在形式上可采用E-构型或Z-构型：



[0042] 假定在相关温度下,两种异构体处于快速平衡状态,并且无法从分析上或制备上区分开,如类似于对N,N,N',N'-四甲基氰基胍所述的(C.Gordon McCarty and Donald M.Wieland:Syn-Anti Isomerization Involving the N-Cyanoimino Group;Tetrahedron Letters No.22,PP.1787-1790,1969)。因此,在本文中所使用的氰基胍的任何代表都代表两种异构体。

[0043] 此外,本发明的化合物还可以互变异构体存在。例如,含有吡唑部分作为杂芳基的任何本发明化合物例如可作为1H互变异构体、或2H互变异构体、或甚至以任何量的两种互变异构体的混合物存在,或含有三唑部分作为杂芳基的任何本发明的化合物例如可作为1H互变异构体、2H互变异构体、或4H互变异构体、或甚至以任何量的所述1H、2H和4H互变异构体的混合物存在,即:



[0045] 本发明包括本发明化合物的所有可能的互变异构体,其作为单一的互变异构体或所述互变异构体的任何比例的任何混合物。

[0046] 此外,本发明的化合物可以作为N-氧化物存在,所述N-氧化物被定义为本发明的化合物的至少一个氮被氧化。本发明包括所有此类可能的N-氧化物。

[0047] 本发明还涉及本文公开的化合物的有用形式,如代谢物、水合物、溶剂合物、前药、盐,特别是可药用的盐、和共沉淀物。

[0048] 本发明的化合物可作为水合物或作为溶剂合物存在,其中本发明的化合物含有极性溶剂(特别是例如水、甲醇或乙醇)作为该化合物的晶格的结构元素。极性溶剂(特别是水)的量可以化学计量或非化学计量的比例存在。在化学计量的溶剂合物,例如水合物的情况下,半-、(半-)、单-、倍半-、二-、三-、四-、五-等溶剂合物或水合物分别是可能的。本发明包括所有此类水合物或溶剂合物。

[0049] 此外,本发明的化合物可以游离形式,例如作为游离碱、或作为游离酸或作为两性离子存在,或可以盐的形式存在。所述盐可以是任何盐,有机或无机加成盐,特别是通常用于制药业的任何可药用的有机或无机加成盐。

[0050] 术语“可药用的盐”是指本发明化合物的相对无毒的无机或者有机酸加成盐。例如,参见S.M.Berge, et al. “Pharmaceutical Salts,” J.Pharm.Sci.1977,66,1-19。

[0051] 本发明化合物的合适的可药用的盐可以是,例如,在链中或者在环中携带氮原子的本发明化合物(其是足够碱性的)的酸加成盐,如与无机酸的酸加成盐,所述无机酸如盐

[0065] 应理解本发明涉及上述通式 (I) 化合物的本发明的任何实施方案或方面中的任何子组合。

[0066] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式 (I) 的化合物,其中:

[0067] R^1 代表 C_1 - C_3 -烷基,其被选自羟基或氨基的取代基取代。

[0068] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式 (I) 的化合物,其中:

[0069] R^2 代表氢原子、甲基或乙基。

[0070] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式 (I) 的化合物,其中:

[0071] R^2 代表氢原子或甲基。

[0072] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式 (I) 的化合物,其中:

[0073] R^2 代表氢原子。

[0074] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式 (I) 的化合物,其中:

[0075] R^2 代表甲基或乙基。

[0076] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式 (I) 的化合物,其中:

[0077] R^3 代表氟原子或氯原子或甲基。

[0078] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式 (I) 的化合物,其中:

[0079] R^3 代表氟原子或氯原子。

[0080] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式 (I) 的化合物,其中:

[0081] R^3 代表氟原子。

[0082] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式 (I) 的化合物,其中:

[0083] R^3 代表氯原子。

[0084] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式 (I) 的化合物,其中:

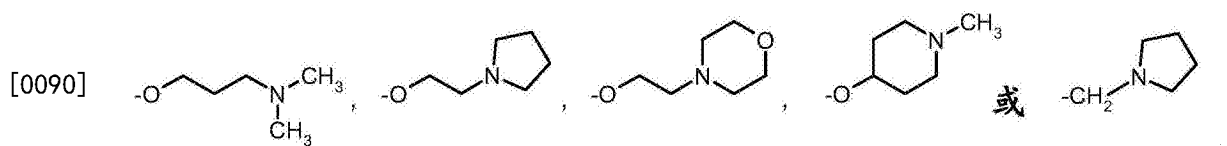
[0085] R^4 代表选自以下的基团: $-CF_3$ 、 $-CH_2CF_3$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCF_3$ 或 $-OCH_2CH_2N(CH_3)_2$ 。

[0086] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式 (I) 的化合物,其中:

[0087] R^4 代表选自以下的基团: $-CF_3$ 、 $-CH_2CF_3$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OCHF_2$ 或 $-OCF_3$ 。

[0088] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式 (I) 的化合物,其中:

[0089] R^5 代表氟原子或氯原子或选自以下的基团: $-OCH_3$ 、 $-OCF_3$ 、

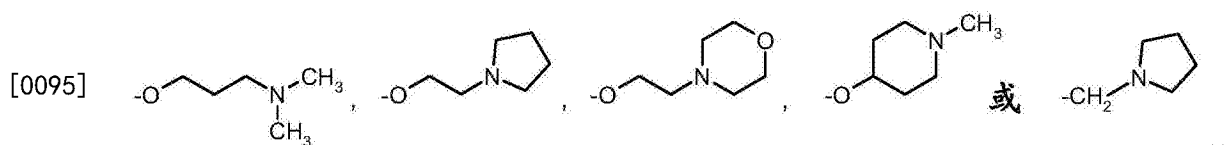


[0091] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式 (I) 的化合物,其中:

[0092] R^5 代表氟原子或氯原子。

[0093] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式 (I) 的化合物,其中:

[0094] R^5 代表选自以下的基团: $-OCH_3$ 、 $-OCF_3$ 、



[0096] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式 (I) 的化合物,其中:

[0097] X代表CH或N。

- [0098] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式(I)的化合物,其中:
- [0099] X代表CH。
- [0100] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式(I)的化合物,其中:
- [0101] X代表N。
- [0102] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式(I)的化合物,其中:
- [0103] r代表0或1。
- [0104] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式(I)的化合物,其中:
- [0105] r代表0。
- [0106] 在另一个实施方案中,本发明涉及上述通式(I)的化合物,其中:
- [0107] r代表1。
- [0108] 在一个优选的实施方案中,本发明涉及上述通式(I)的化合物,其中:
- [0109] R¹代表选自以下的基团: -CH₂-OH、-CH(OH)-CH₃、-C(CH₃)₂-OH、-CH₂-NH₂、-CH(CH₃)-NH₂、-CH₂-CH₂-NH₂或-CH₂-CH₂-CH₂-NH₂。
- [0110] 所选的有意义的是通式(I)的那些化合物:
- [0111] -(2S)-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-2-羟基丙酰胺(非对映异构体的1:1混合物);
- [0112] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-2-羟基-N-甲基乙酰胺;
- [0113] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基甘氨酸酰胺;
- [0114] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0115] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0116] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0117] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-2-羟基-2-甲基丙酰胺;
- [0118] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-2-羟基-2-甲基丙酰胺异构体1;
- [0119] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-2-羟基-2-甲基丙酰胺异构体2;
- [0120] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-β-丙氨酸酰胺;
- [0121] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-D-丙氨酸酰胺(非对映异构体的1:1混合物);
- [0122] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-D-丙氨酸酰胺异构体1;
- [0123] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二

氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-D-丙氨酸酰胺异构体2;

[0124] -(2S)-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基丙酰胺(非对映异构体的1:1混合物);

[0125] -(2R)-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基丙酰胺(非对映异构体的1:1混合物);

[0126] -Rac-4-氨基-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基丁酰胺;

[0127] -4-氨基-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基丁酰胺异构体1;

[0128] -4-氨基-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基丁酰胺异构体2;

[0129] -Rac-N-[1-{N-[4-氯-3-(二氟甲氧基)苯基]-N'-氰基甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

[0130] -N-[1-{N-[4-氯-3-(二氟甲氧基)苯基]-N'-氰基甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

[0131] -N-[1-{N-[4-氯-3-(二氟甲氧基)苯基]-N'-氰基甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

[0132] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

[0133] -N-[1-{N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

[0134] -N-[1-{N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

[0135] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

[0136] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

[0137] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

[0138] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

[0139] -Rac-N-{1-[N'-氰基-N-(3-甲氧基苯基)甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基}-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

[0140] -N-{1-[N'-氰基-N-(3-甲氧基苯基)甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基}-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

[0141] -N-{1-[N'-氰基-N-(3-甲氧基苯基)甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基}-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

[0142] -Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

- [0143] -N-[1-(N'-氰基-N-{3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0144] -N-[1-(N'-氰基-N-{3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0145] -Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基甘氨酸酰胺;
- [0146] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0147] -N-[1-{N'-氰基-N-[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0148] -N-[1-{N'-氰基-N-[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0149] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0150] -N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0151] -N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0152] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[6-(二氟甲氧基)吡啶-2-基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0153] -N-[1-{N'-氰基-N-[6-(二氟甲氧基)吡啶-2-基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0154] -N-[1-{N'-氰基-N-[6-(二氟甲氧基)吡啶-2-基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0155] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(2,2,2-三氟乙基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0156] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(2,2,2-三氟乙基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0157] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(2,2,2-三氟乙基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0158] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-4-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0159] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-2-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0160] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-5-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0161] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-5-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0162] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-5-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,

- 5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0163] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-氟-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0164] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-氟-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0165] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-氟-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0166] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0167] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-(吡咯烷-1-基甲基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0168] -N-[1-{N'-氰基-N-[2-(吡咯烷-1-基甲基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0169] -N-[1-{N'-氰基-N-[2-(吡咯烷-1-基甲基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0170] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-(三氟甲氧基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0171] -Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{5-(二氟甲氧基)-2-[3-(二甲基氨基)丙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0172] -Rac-N-[1-(N'-氰基-N{2-[2-(吡咯烷-1-基)乙氧基]-5-(三氟甲基)苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0173] -Rac-N-[1-(N'-氰基-N{2-[(1-甲基哌啶-4-基)氧基]-5-(三氟甲基)苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0174] -Rac-N-[1-(N'-氰基-N{2-[(1-甲基哌啶-4-基)氧基]-5-(三氟甲基)苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0175] -Rac-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]-甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0176] -N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0177] -N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0178] -N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-L-丙氨酰胺(非对映异构体的1:1混合物);
- [0179] -N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-L-丙氨酰胺异构体1;
- [0180] -N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-L-丙氨酰胺异构体2和
- [0181] -Rac-N-[3-(4-氯-3-氟苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]-甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

[0182] 以及它们的多晶型物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体、E/Z异构体、互变异构体、溶剂合物、生理上可接受的盐以及这些盐的溶剂合物。

[0183] 所选的有意义的是通式(I)的那些化合物:

[0184] $-(2S)-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-2\text{-羟基丙酰胺}$ (非对映异构体的1:1混合物);

[0185] $-\text{Rac}-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-2\text{-羟基-N-甲基乙酰胺}$;

[0186] $-\text{Rac}-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-N\text{-乙基甘氨酸酰胺}$;

[0187] $-\text{Rac}-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-N\text{-乙基-2-羟基乙酰胺}$;

[0188] $-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-N\text{-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1}$;

[0189] $-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-N\text{-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2}$;

[0190] $-\text{Rac}-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-2\text{-羟基-2-甲基丙酰胺}$;

[0191] $-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-2\text{-羟基-2-甲基丙酰胺异构体1}$;

[0192] $-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-2\text{-羟基-2-甲基丙酰胺异构体2}$;

[0193] $-\text{Rac}-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-N\text{-乙基-}\beta\text{-丙氨酸酰胺}$;

[0194] $-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-N\text{-乙基-D-丙氨酸酰胺}$ (非对映异构体的1:1混合物);

[0195] $-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-N\text{-乙基-D-丙氨酸酰胺异构体1}$;

[0196] $-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-N\text{-乙基-D-丙氨酸酰胺异构体2}$;

[0197] $-(2S)-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-N\text{-乙基-2-羟基丙酰胺}$ (非对映异构体的1:1混合物);

[0198] $-(2R)-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-N\text{-乙基-2-羟基丙酰胺}$ (非对映异构体的1:1混合物);

[0199] $-\text{Rac}-4\text{-氨基}-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-N\text{-乙基丁酰胺}$;

[0200] $-4\text{-氨基}-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-N\text{-乙基丁酰胺异构体1}$;

[0201] $-4\text{-氨基}-N-[1-\{N'-\text{氰基}-N-[3-(\text{二氟甲氧基})\text{苯基}]\text{甲脒基}\}-3-(3,4\text{-二氯苯基})-4,5\text{-二氢-1H-吡唑-4-基}]-N\text{-乙基丁酰胺异构体2}$;

- [0202] -Rac-N-[1-{N-[4-氯-3-(二氟甲氧基)苯基]-N'-氰基甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0203] -N-[1-{N-[4-氯-3-(二氟甲氧基)苯基]-N'-氰基甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0204] -N-[1-{N-[4-氯-3-(二氟甲氧基)苯基]-N'-氰基甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0205] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0206] -N-[1-{N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0207] -N-[1-{N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0208] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0209] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0210] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0211] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0212] -Rac-N-{1-[N'-氰基-N-(3-甲氧基苯基)甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基}-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0213] -N-{1-[N'-氰基-N-(3-甲氧基苯基)甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基}-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0214] -N-{1-[N'-氰基-N-(3-甲氧基苯基)甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基}-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0215] -Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0216] -N-[1-(N'-氰基-N-{3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0217] -N-[1-(N'-氰基-N-{3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0218] -Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基甘氨酸酰胺;
- [0219] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0220] -N-[1-{N'-氰基-N-[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0221] -N-[1-{N'-氰基-N-[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

[0222] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

[0223] -N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

[0224] -N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

[0225] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[6-(二氟甲氧基)吡啶-2-基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

[0226] -N-[1-{N'-氰基-N-[6-(二氟甲氧基)吡啶-2-基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

[0227] -N-[1-{N'-氰基-N-[6-(二氟甲氧基)吡啶-2-基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

[0228] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(2,2,2-三氟乙基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

[0229] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(2,2,2-三氟乙基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

[0230] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(2,2,2-三氟乙基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

[0231] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-4-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

[0232] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-2-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

[0233] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-5-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

[0234] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-5-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

[0235] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-5-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

[0236] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-氟-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

[0237] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-氟-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;

[0238] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-氟-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;

[0239] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

[0240] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-(吡咯烷-1-基甲基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;

- [0241] -N-[1-{N'-氰基-N-[2-(吡咯烷-1-基甲基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0242] -N-[1-{N'-氰基-N-[2-(吡咯烷-1-基甲基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0243] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-(三氟甲氧基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0244] -Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{5-(二氟甲氧基)-2-[3-(二甲基氨基)丙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0245] -Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{2-[2-(吡咯烷-1-基)乙氧基]-5-(三氟甲基)苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0246] -Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{2-[(1-甲基哌啶-4-基)氧基]-5-(三氟甲基)苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0247] -Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{2-[(1-甲基哌啶-4-基)氧基]-5-(三氟甲基)苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0248] -Rac-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0249] -N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1;
- [0250] -N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2;
- [0251] -N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-L-丙氨酰胺(非对映异构体的1:1混合物);
- [0252] -N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-L-丙氨酰胺异构体1;
- [0253] -N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-L-丙氨酰胺异构体2;
- [0254] -Rac-N-[3-(4-氯-3-氟苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺;
- [0255] -Rac-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-N²-甲基甘氨酸酰胺;
- [0256] -N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-N²-甲基甘氨酸酰胺异构体1;
- [0257] -N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-N²-甲基甘氨酸酰胺异构体2;
- [0258] -N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-N²-甲基-D-丙氨酸酰胺;
- [0259] -Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-3-甲基-D-异缬氨酸酰胺;
- [0260] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二

氢-1H-吡唑-4-基]-3-甲基-D-异缬氨酰胺异构体1

[0261] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-3-甲基-D-异缬氨酰胺异构体2

[0262] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-D-亮氨酰胺

[0263] -N-[1-{N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-D-缬氨酰胺和

[0264] -N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-D-缬氨酰胺

[0265] 以及它们的多晶型物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体、E/Z异构体、互变异构体、溶剂合物、生理上可接受的盐以及这些盐的溶剂合物。

[0266] 通式(I)的化合物可用于过度增殖性疾病、特别是癌症、分别为肿瘤疾病中的预防性和治疗性治疗。

[0267] 通式(I)的化合物可在良性增生、动脉粥样硬化疾病、败血症、自身免疫疾病、血管疾病、病毒感染、神经退行性疾病、炎性疾病、动脉粥样硬化疾病以及控制男性生育力中用作SMYD2抑制剂。

[0268] 本发明还涉及包含通式(I)的化合物的药物的制备。所述药物可预防性和治疗性地用于人类或另一种哺乳动物。

[0269] 此外,本发明还包括本发明的化合物的前药。本文中术语“前药”指其本身可具有生物学活性或无生物学活性,但是其在体内停留期间被转化(例如通过代谢或通过水解)成本发明化合物的化合物。

[0270] 本发明的化合物可全身和/或局部起作用。为此目的,它们可以适当的方式给药,例如通过口服、肠胃外、肺部、鼻内、舌下、舌、颊、直肠、真皮、透皮、结膜或耳部给药,或作为植入物或支架给药。

[0271] 对于这些给药途径,可以合适的给药形式给予本发明的化合物。

[0272] 适于口服给药的给药形式为根据现有技术起作用的给药形式,其迅速和/或以缓和的形式释放本发明的化合物,并包含晶体和/或无定形化的和/或溶解的形式本发明的化合物,例如片剂(未包衣片剂或包衣片剂,例如用控制本发明化合物的释放的肠溶包衣或延缓溶解的包衣或不溶性包衣包被的片剂)、在口腔中快速崩解的片剂、或膜剂/薄片剂(wafer)、膜剂/冻干剂、胶囊剂(例如硬明胶胶囊剂或软明胶胶囊剂)、糖衣片剂、颗粒剂、丸剂、粉剂、乳剂、悬液剂、气溶胶或溶液剂。

[0273] 可进行肠胃外给药,同时避免吸收步骤(例如静脉内、动脉内、心脏内、椎内或腰髓内)或包含吸收(例如肌内、皮下、皮内、经皮或腹膜内)。对于肠胃外给药,合适的给药形式尤其为溶液剂、悬液剂、乳剂、冻干剂或无菌粉剂形式的注射和输注制剂。

[0274] 适于其他给药途径的给药形式为例如用于吸入的药物形式(尤其是粉末吸入剂、雾化剂)、滴鼻剂、鼻溶液剂、鼻喷雾剂;待经舌、舌下或颊施用的片剂、膜剂/薄片剂或胶囊剂,栓剂、眼用或耳用制剂、阴道胶囊剂、水性悬浮剂(洗剂,振荡合剂)、亲脂性悬浮剂、软膏剂、乳膏剂、透皮治疗系统(例如贴剂)、乳剂、糊剂、泡沫剂、扑粉剂、植入物或支架。

[0275] 本发明的化合物可被转化为所述的给药形式。这可用本身已知的方式,通过与惰

性的、非毒性的、可药用的助剂混合来进行。这些助剂尤其包括载体(例如微晶纤维素、乳糖、甘露糖)、溶剂(例如液体聚乙二醇)、乳化剂和分散剂或湿润剂(例如十二烷基硫酸钠、聚氧山梨聚糖油酸酯)、粘合剂(例如聚乙烯基吡咯烷酮)、合成和天然聚合物(例如白蛋白)、稳定剂(例如抗氧化剂,如抗坏血酸)、着色剂(例如无机颜料,例如铁氧化物)以及调味剂和/或矫味剂。

[0276] 此外,本发明提供了包含本发明的化合物,通常连同一种或多种惰性的、非毒性的、可药用的助剂的药物,以及它们用于所述目的用途。

[0277] 以本身已知的方式通过将活性化合物与制药技术中常规的赋形剂一起转化为所需的给药形式来进行本发明化合物的配制以得到药品。

[0278] 在这一点上可使用的助剂为,例如,载体物质、填充剂、崩解剂、粘合剂、保湿剂、润滑剂、吸附剂和吸附剂、稀释剂、溶剂、助溶剂、乳化剂、增溶剂、掩味剂、着色剂、防腐剂、稳定剂、润湿剂、改变渗透压的盐或缓冲液。在这一点上应当参照Remington's Pharmaceutical Science,15th ed.Mack Publishing Company,East Pennsylvania (1980)。

[0279] 药物制剂可以是固体形式,例如作为片剂、包衣片剂、丸剂、栓剂、胶囊剂、透皮系统,或是半固体形式,例如作为软膏剂、乳膏剂、凝胶剂、栓剂、乳剂,或是液体形式,例如作为溶液剂、酏剂、悬浮剂或乳剂。

[0280] 本发明上下文中的助剂可以是,例如,盐、糖(单糖、双糖、三糖、寡糖和/或多糖)、蛋白质、氨基酸、肽、脂肪、蜡、油、烃及其衍生物,其中所述助剂可以是天然来源的或可通过合成或部分合成获得。

[0281] 适合口服或经口给药的给药形式具体是片剂、包衣片剂、胶囊剂、丸剂、粉剂、颗粒剂、锭剂、悬浮剂、乳剂或溶液剂。

[0282] 适合肠胃外给药的给药形式具体是悬浮剂、乳剂和特别是溶液剂。

[0283] 剂量和给药

[0284] 基于已知用于评估可用于治疗过度增殖性疾病和血管生成疾病的化合物的标准实验室技术,通过标准毒性测试和通过用于确定对哺乳动物中鉴定的病症的治疗的标准药理学测定,并通过将这些结果与用于治疗这些病症的已知药物的结果进行比较,可容易地确定本发明化合物用于治疗每种所需适应症的有效剂量。在治疗这些病症中的一种中待给予的活性成分的量可根据考虑因素(如使用的具体化合物和剂量单位、给药方式、治疗时间、所治疗的患者的年龄和性别、所治疗的病症的性质和程度)而在宽泛的范围内变化。

[0285] 待给予的活性成分的总量范围通常为每天约0.001mg/kg体重至约200mg/kg体重,优选每天约0.01mg/kg体重至约20mg/kg体重。临床上有用的剂量给药方案范围为一天给药一至三次至每四周给药一次。此外,“药物假日”——在此期间持续一段时间不对患者给予药物——可有利于药理学作用和耐受性之间的总体平衡。单位剂量可包含约0.5mg至约1500mg活性成分,并且可每天给药一次或多次或少于一天一次。通过注射(包括静脉内、肌内、皮下和肠胃外注射)以及使用输注技术给药的平均每日剂量优选为0.01至200mg/kg总体重。平均每日直肠剂量方案优选为0.01至200mg/kg总体重。平均每日阴道剂量方案优选为0.01至200mg/kg总体重。平均每日局部剂量方案优选为0.1至200mg,每天给药一至四次。透皮浓度优选为维持0.01至200mg/kg的每日剂量所需的浓度。平均每日吸入剂量方案优选

为0.01至100mg/kg总体重。

[0286] 当然,每个患者的具体起始和连续剂量方案会根据以下因素而变化:诊断医生确定的病症的性质和严重性、所使用的具体化合物的活性、患者的年龄和总体状况、给药时间、给药途径、药物排泄率、药物组合等。本领域技术人员使用常规治疗测试可确定本发明化合物或其可药用的盐或酯或组合物的所需治疗方式和剂量数。

[0287] 本发明还涉及本发明化合物的用途。

[0288] 本发明的化合物可用于人类疾病、特别是肿瘤疾病的预防和治疗。

[0289] 本发明化合物可特别用于抑制或减少细胞增殖和/或细胞分裂和/或用于诱导细胞凋亡。

[0290] 本发明化合物特别适用于治疗过度增殖性疾病,例如:

[0291] -牛皮癣,

[0292] -瘢痕瘤和其他皮肤增生,

[0293] -良性前列腺增生(BPH),

[0294] -实体瘤和

[0295] -血液肿瘤。

[0296] 可根据本发明治疗的实体瘤为,例如,乳腺肿瘤、呼吸道肿瘤、脑肿瘤、生殖器官肿瘤、胃肠道肿瘤、泌尿生殖道肿瘤、眼肿瘤、肝脏肿瘤、皮肤肿瘤、头颈部肿瘤、甲状腺肿瘤、甲状旁腺肿瘤、骨瘤和结缔组织肿瘤和这些肿瘤的转移物。

[0297] 可被治疗的血液学肿瘤为,例如,

[0298] -多发性骨髓瘤,

[0299] -淋巴瘤或

[0300] -白血病。

[0301] 可被治疗的乳腺肿瘤为,例如:

[0302] -具有阳性激素受体状态的乳腺癌

[0303] -具有阴性激素受体状态的乳腺癌

[0304] -Her-2阳性乳腺癌

[0305] -激素受体和Her-2阴性乳腺癌

[0306] -BRCA相关的乳腺癌

[0307] -炎性乳腺癌。

[0308] 可被治疗的呼吸道肿瘤为,例如,

[0309] -非小细胞支气管癌如鳞状细胞癌、腺癌、大细胞癌和

[0310] -小细胞支气管癌。

[0311] 可被治疗的脑肿瘤为,例如,

[0312] -神经胶质瘤,

[0313] -成胶质细胞瘤,

[0314] -星形细胞瘤,

[0315] -脑膜瘤和

[0316] -成神经管细胞瘤。

[0317] 可被治疗的男性生殖器官肿瘤为,例如,

- [0318] -前列腺癌，
- [0319] -恶性附睾肿瘤，
- [0320] -恶性睾丸肿瘤和
- [0321] -阴茎癌。
- [0322] 可被治疗的女性生殖器官肿瘤为，例如，
- [0323] -子宫内膜癌
- [0324] -子宫颈癌
- [0325] -卵巢癌
- [0326] -阴道癌
- [0327] -外阴癌。
- [0328] 可被治疗的胃肠道肿瘤为，例如，
- [0329] -结直肠癌
- [0330] -肛门癌
- [0331] -胃癌
- [0332] -胰腺癌
- [0333] -食管癌
- [0334] -胆囊癌
- [0335] -小肠癌
- [0336] -唾液腺癌
- [0337] -神经内分泌肿瘤
- [0338] -胃肠道间质瘤
- [0339] 可被治疗的泌尿生殖道肿瘤为，例如，
- [0340] -膀胱癌
- [0341] -肾细胞癌
- [0342] -肾盂癌和下泌尿道癌。
- [0343] 可被治疗的眼肿瘤为，例如，
- [0344] -成视网膜细胞瘤
- [0345] -眼内黑色素瘤
- [0346] 可被治疗的肝脏肿瘤为，例如，
- [0347] -肝细胞癌
- [0348] -肝小胆管癌
- [0349] 可被治疗的皮肤肿瘤为，例如，
- [0350] -恶性黑素瘤
- [0351] -基底细胞瘤
- [0352] -鳞状细胞癌 (spinaliomas)
- [0353] -卡波西肉瘤
- [0354] -Merkel细胞癌
- [0355] 可被治疗的头颈部肿瘤为，例如，
- [0356] -喉部癌

- [0357] -咽癌和口腔癌
- [0358] -中线结构癌(例如,NMC,C.A.French,Annu.Rev.Pathol.2012,7:247-265)
- [0359] 可被治疗的肉瘤为,例如,
- [0360] -软组织肉瘤
- [0361] -骨肉瘤
- [0362] 可被治疗的淋巴瘤为,例如,
- [0363] -非霍奇金淋巴瘤
- [0364] -霍奇金淋巴瘤
- [0365] -皮肤淋巴瘤
- [0366] -中枢神经系统淋巴瘤
- [0367] -AIDS相关的淋巴瘤
- [0368] 可被治疗的白血病为,例如,
- [0369] -急性髓性白血病
- [0370] -慢性髓性白血病
- [0371] -急性淋巴白血病
- [0372] -慢性淋巴白血病
- [0373] -毛细胞白血病
- [0374] 有利地是,本发明化合物可用于预防和/或治疗白血病、特别是急性髓性白血病,前列腺癌、特别是雄激素受体阳性的前列腺癌,子宫颈癌,乳腺癌、特别是激素受体阴性、激素受体阳性或BRCA相关的乳腺癌,胰腺癌,肾细胞癌,肝细胞癌,黑素瘤和其他皮肤肿瘤,非小细胞支气管癌,子宫内膜癌和结直肠癌。
- [0375] 特别有利地是,本发明化合物可用于预防和/或治疗白血病、特别是急性髓性白血病,前列腺癌、特别是雄激素受体阳性的前列腺癌,乳腺癌、特别是雌激素受体 α 阴性的乳腺癌,黑素瘤或多发性骨髓瘤。
- [0376] 本发明化合物还适用于预防和/或治疗良性过度增殖性疾病如子宫内膜异位、平滑肌瘤和良性前列腺增生。
- [0377] 本发明化合物还适用于控制男性生育力。
- [0378] 本发明化合物还适用于预防和/或治疗全身性炎性疾病,特别是LPS-诱导的内毒素休克和/或细菌诱导的败血症。
- [0379] 本发明化合物还适用于预防和/或治疗炎性疾病或自身免疫疾病,如:
- [0380] -与炎性、过敏性或增殖性过程相关的肺病:任何来源的慢性阻塞性肺病,特别是支气管哮喘;不同来源的支气管炎;所有类型的限制性肺病,特别是过敏性肺炎;所有类型的肺水肿,特别是中毒性肺水肿;肉状瘤病和肉芽肿病,特别是博文氏病
- [0381] -与炎性、过敏性或增殖性过程相关的风湿病/自身免疫疾病/关节疾病:所有类型的风湿病、特别是类风湿性关节炎、急性风湿热、风湿性多肌痛;反应性关节炎;其他来源的炎性软组织疾病;与退化性关节疾病相关的关节炎症状(关节病);创伤性关节炎;任何来源的胶原病,例如全身性红斑狼疮、硬皮病、多肌炎、皮炎、**Sjögren**综合征、Sti11综合征、Felty综合征
- [0382] -与炎性或增殖性过程相关的过敏症:所有类型的过敏反应,例如,血管性水肿、枯

草热、昆虫咬伤、对药物、血液衍生物、对照介质等的过敏性反应,过敏性休克、荨麻疹、接触性皮炎

[0383] -血管炎症(血管炎):结节性全动脉炎(panarterilitis nodosa)、颞肌动脉炎(arterilitis temporalis)、结节性红斑

[0384] -与炎性、过敏性或增殖性过程相关的皮肤病:特应性皮炎,牛皮癣,毛发红糖疹,由多种病原(noxae)(例如放射物、化学物质、烧伤等)诱导的红斑疾病,大疱性皮肤病,苔藓样疾病,瘙痒症、皮脂溢性湿疹,酒渣鼻,寻常性天疱疮,渗出性多形红斑,龟头炎,外阴炎,脱发如斑秃,皮肤T细胞淋巴瘤

[0385] -与炎性、过敏性或增殖性过程相关的肾病:肾病综合征,所有的肾炎

[0386] -与炎性、过敏性或增殖性过程相关的肝病:急性肝细胞坏死,不同来源的(例如病毒、毒性、药物诱导的)急性肝炎,慢性侵袭性肝炎和/或慢性间歇性肝炎

[0387] -与炎性、过敏性或增殖性过程相关的胃肠疾病:局限性肠炎(Crohn病)、溃疡性结肠炎、胃炎、回流性食管炎、其他来源的肠胃炎,例如indigenous sprue

[0388] -与炎性、过敏性或增殖性过程相关的直肠病:肛门湿疹、龟裂、痔疮、特发性直肠炎

[0389] -与炎性、过敏性或增殖性过程相关的眼部疾病:过敏性角膜炎、葡萄膜炎、虹膜炎、结膜炎、睑缘炎、视神经炎、脉络膜炎、交感性眼炎

[0390] -与炎性、过敏性或增殖性过程相关的耳鼻喉疾病:过敏性鼻炎;枯草热;外耳炎,例如由接触性湿疹、感染等导致的;中耳炎

[0391] -与炎性、过敏性或增殖性过程相关的神经系统疾病:脑水肿,特别是肿瘤诱导的脑水肿;多发性硬化症;急性脑骨髓炎;脑膜炎;多种类型的痉挛,例如韦斯特综合征

[0392] -与炎性、过敏性或增殖性过程相关的血液病:后天性溶血性贫血、特发性血小板减少

[0393] -与炎性、过敏性或增殖性过程相关的肿瘤病:急性淋巴白血病,恶性淋巴瘤,淋巴肉芽肿,淋巴肉瘤,大范围转移、特别是在乳腺癌、支气管癌和前列腺癌的情况下

[0394] -与炎性、过敏性或增殖性过程相关的内分泌疾病:内分泌眼眶病、甲状腺中毒危象、德奎尔甲状腺炎、桥本甲状腺炎、Basedow病

[0395] -器官和组织移植,移植物抗宿主疾病

[0396] -严重休克状态,例如,过敏性休克、全身炎症反应综合征(SIRS)

[0397] -在以下情况中的替代疗法:先天性原发性肾上腺机能不全,例如,先天性肾上腺生殖综合征;获得性原发性肾上腺机能不全,例如,Addison病、自身免疫性肾上腺炎、感染后肿瘤、转移等;先天性继发性肾上腺机能不全,例如先天性垂体功能减退;获得性继发性肾上腺机能不全,例如,感染后肿瘤等

[0398] -与炎性、过敏性或增殖性过程相关的呕吐,例如,与5-HT₃拮抗剂组合用于由细胞抑制药物诱导的呕吐

[0399] -炎性来源的疼痛,例如,腰痛。

[0400] 本发明化合物可与一种或多种活性化合物组合。

[0401] 可与本发明化合物组合的那些化合物可为,例如,如下的那些:

[0402] 本发明化合物也适用于治疗病毒性疾病,例如,由乳头瘤病毒、疱疹病毒、EB病毒、

乙型或丙型肝炎病毒以及人类免疫缺陷病毒引起的感染,包括HIV相关的肾病。

[0403] 本发明化合物也适用于治疗肌肉萎缩,如fazioskapulo人类肌肉萎缩。

[0404] 本发明化合物也适用于治疗动脉粥样硬化、血脂异常、高胆固醇血症、高甘油三酯血症、外周血管疾病、心血管疾病、心绞痛、局部缺血、中风、心脏功能不全、心肌梗塞、血管成形再狭窄、高血压、血栓形成、肥胖症、内毒素血症。

[0405] 本发明化合物也适用于治疗神经退行性疾病,例如,多发性硬化症、阿尔茨海默病和帕金森病。

[0406] 这些疾病在人中得到很好地表征,但是也存在于其他哺乳动物中。

[0407] 本申请还提供了本发明的化合物,其用作药物、特别是用于预防和/或治疗肿瘤疾病的药物。

[0408] 本申请还提供了本发明的化合物,其用于预防和/或治疗白血病、特别是急性髓性白血病,前列腺癌、特别是雄激素受体阳性的前列腺癌,子宫颈癌,乳腺癌、特别是激素受体阴性、激素受体阳性或BRCA相关的乳腺癌,胰腺癌,肾细胞癌,肝细胞癌,黑素瘤和其他皮肤肿瘤,非小细胞支气管癌,子宫内膜癌和结直肠癌。

[0409] 本申请还提供了本发明的化合物,其用于预防和/或治疗白血病、特别是急性髓性白血病,前列腺癌、特别是雄激素受体阳性的前列腺癌,乳腺癌、特别是雌激素受体 α 阴性的乳腺癌,黑素瘤或多发性骨髓瘤。

[0410] 本发明还提供了本发明化合物用于制备药物的用途。

[0411] 本申请还提供了本发明化合物用于制备药物的用途,所述药物用于预防和/或治疗肿瘤疾病。

[0412] 本申请还提供了本发明化合物用于制备药物的用途,所述药物用于预防和/或治疗白血病、特别是急性髓性白血病,前列腺癌、特别是雄激素受体阳性的前列腺癌,子宫颈癌,乳腺癌、特别是激素受体阴性、激素受体阳性或BRCA相关的乳腺癌,胰腺癌,肾细胞癌,肝细胞癌,黑素瘤和其他皮肤肿瘤,非小细胞支气管癌,子宫内膜癌和结直肠癌。

[0413] 本申请还提供了本发明化合物用于制备药物的用途,所述药物用于预防和/或治疗白血病、特别是急性髓性白血病,前列腺癌、特别是雄激素受体阳性的前列腺癌,乳腺癌、特别是雌激素受体 α 阴性的乳腺癌,黑素瘤或多发性骨髓瘤。

[0414] 本申请还提供了本发明化合物用于预防和/或治疗肿瘤疾病的用途。

[0415] 本申请还提供了本发明化合物用于预防和/或治疗白血病、特别是急性髓性白血病,前列腺癌、特别是雄激素受体阳性的前列腺癌,子宫颈癌,乳腺癌、特别是激素受体阴性、激素受体阳性或BRCA相关的乳腺癌,胰腺癌,肾细胞癌,肝细胞癌,黑素瘤和其他皮肤肿瘤,非小细胞支气管癌,子宫内膜癌和结直肠癌的用途。

[0416] 本申请还提供了本发明化合物用于预防和/或治疗白血病、特别是急性髓性白血病,前列腺癌、特别是雄激素受体阳性的前列腺癌,乳腺癌、特别是雌激素受体 α 阴性的乳腺癌,黑素瘤或多发性骨髓瘤的用途。

[0417] 本申请还提供了包含本发明化合物之一的片剂形式的药物制剂,其用于预防和/或治疗白血病、特别是急性髓性白血病,前列腺癌、特别是雄激素受体阳性的前列腺癌,子宫颈癌,乳腺癌、特别是激素受体阴性、激素受体阳性或BRCA相关的乳腺癌,胰腺癌,肾细胞癌,肝细胞癌,黑素瘤和其他皮肤肿瘤,非小细胞支气管癌,子宫内膜癌和结直肠癌。

[0418] 本申请还提供了包含本发明化合物之一的片剂形式的药物制剂,其用于预防和/或治疗白血病、特别是急性髓性白血病,前列腺癌、特别是雄激素受体阳性的前列腺癌,乳腺癌、特别是雌激素受体 α 阴性的乳腺癌,黑素瘤或多发性骨髓瘤。

[0419] 本发明还包括药物制剂,其包含单独的或与一种或多种其他活性化合物组合的一种或多种通式(I)的化合物。

[0420] 本发明还提供了本发明化合物用于治疗与增殖性过程相关的疾病的用途。

[0421] 本发明还提供了本发明化合物用于治疗良性增生、炎性疾病、自身免疫疾病、败血症、病毒感染、血管疾病和神经退行性疾病的用途。

[0422] 本发明的化合物可以单独使用,或者如果需要,可以与一种或多种其他药理学活性物质组合使用,只要所述组合不会引起不想要的和不可接受的副作用。因此,本发明还提供了包含本发明的化合物和一种或多种其他活性化合物的药物,其特别用于治疗 and/或预防所述疾病。

[0423] 本发明中的术语“组合”如本领域技术人员已知地使用,并可作为固定组合、非固定组合或试剂盒存在。

[0424] 本发明中的“固定组合”如本领域技术人员已知地使用,并且定义为这样的组合,其中所述第一活性成分和所述第二活性成分在一个单位剂量或单一实体中一起存在。“固定组合”的一个实例是这样的药物组合物,其中所述第一活性成分和所述第二活性成分存在于用于同时给药的混合物中,例如在制剂中。“固定组合”的另一个实例是这样的药物组合,其中所述第一活性成分和所述第二活性成分存在于一个单元中,而不是在混合物中。本发明中的非固定组合或“试剂盒”如本领域技术人员已知地使用,并且定义为这样的组合,其中所述第一活性成分和所述第二活性成分存在于超过一个的单元中。非固定组合或试剂盒的一个实例是这样的组合,其中所述第一活性成分和所述第二活性成分分开地存在。非固定组合或试剂盒的组分可以分开地、依次地、同时地、并行地或按时间顺序交错地给药。

[0425] 通式(I)的化合物可分别单独施用,或与一种或多种药物活性化合物组合使用。

[0426] 可以举例的方式提及(该列表是非排他性的)的用于组合的适合的活性化合物为:

[0427] ^{131}I -chTNT、阿巴瑞克(abarelix)、阿比特龙(abiraterone)、阿柔比星(aclarubicin)、阿伯西普(aflibercept)、阿地白介素(aldesleukin)、阿仑珠单抗(alemtuzumab)、阿利维A酸(alitretinoin)、六甲蜜胺(altretamine)、氨鲁米特(aminoglutethimide)、氨柔比星(amrubicin)、安吡啶(amsacrine)、阿那曲唑(anastrozole)、阿格拉滨(arglabin)、三氧化二砷(arsenic trioxide)、天冬酰胺酶(asparaginase)、阿西替尼(axitinib)、阿扎胞苷(azacitidine)、巴利昔单抗(basiliximab)、贝洛替康(belotecan)、苯达莫司汀(bendamustine)、贝伐单抗(bevacizumab)、贝沙罗汀(bexarotene)、比卡鲁胺(bicalutamide)、比生群(bisantrene)、博来霉素(bleomycin)、硼替佐米(bortezomib)、博舒替尼(bosutinib)、本妥昔单抗(brentuximab)、布舍瑞林(buserelin)、白消安(busulfan)、卡巴他赛(cabazitaxel)、苹果酸卡博替尼(cabozantinib-s-malat)、亚叶酸钙(calcium folinate)、左亚叶酸钙(calcium levofolinate)、卡培他滨(capecitabine)、卡铂(carboplatin)、卡非佐米(carfilzomib)、卡莫氟(carmofur)、亚硝基脲氮芥(carmustine)、卡妥索单抗(catumaxomab)、塞来昔布(celecoxib)、西莫白介素(celmoleukin)、西地尼布

(cediranib)、西妥昔单抗(cetuximab)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、氯地孕酮(chlormadinone)、双氯乙基甲胺(chlormethine)、顺铂(cisplatin)、克拉屈滨(cladribine)、氯膦酸(clodronic acid)、氯法拉滨(clofarabine)、copanlisib、克立他酶(crisantaspase)、克唑替尼(crizotinib)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、环丙孕酮(cyproterone)、阿糖胞苷(cytarabine)、达卡巴嗪(dacarbazine)、更生霉素(dactinomycin)、达贝泊汀 α (darbepoetin alfa)、达沙替尼(dasatinib)、柔红霉素(daunorubicin)、debrafenib、地西他滨(decitabine)、地加瑞克(degarelix)、地尼白介素2(denileukin diftitox)、地舒单抗(denosumab)、地洛瑞林(deslorelin)、右雷佐生盐酸盐(dexrazoxane hydrochloride)、二溴螺氯胺(dibrospidium chloride)、多西他赛(docetaxel)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、多柔比星(doxorubicin)、多柔比星+雌酮、依库珠单抗(eculizumab)、依曲洛单抗(edrecolomab)、依利醋铵(elliptinium acetate)、艾曲泊帕(eltrombopag)、内皮抑素(endostatin)、依诺他滨(enocitabine)、恩杂鲁胺(enzalutamide)、表柔比星(epirubicin)、环硫雄醇(epitiostanol)、重组人红细胞生成素- α (epoetin alfa)、重组人红细胞生成素- β (epoetin beta)、依他铂(eptaplatin)、艾立布林(eribulin)、厄洛替尼(erlotinib)、雌二醇(estradiol)、雌莫司汀(estramustine)、依托泊苷(etoposide)、依维莫司(everolimus)、依西美坦(exemestane)、法徧唑(fadrozole)、非格司亭(filgrastim)、氟达拉滨(fludarabine)、氟尿嘧啶(flourouracil)、氟他胺(flutamide)、福美坦(formestane)、福莫司汀(fotemustine)、氟维司群(fulvestrant)、硝酸镓(gallium nitrate)、加尼瑞克(ganirelix)、吉非替尼(gefitinib)、吉西他滨(gemcitabine)、吉妥珠单抗(gemtuzumab)、羧肽酶(glucarpidase)、氧化型谷胱甘肽(glutoxim)、戈舍瑞林(goserelin)、二盐酸组胺(histamine dihydrochloride)、组氨瑞林(histrelin)、羟基脲(hydroxycarbamide)、I-125粒子(seed)、伊班膦酸(ibandronic acid)、替伊莫单抗(ibritumomab tiuxetan)、依鲁替尼胶囊(ibrutinib)、伊达比星(idarubicin)、异环磷酰胺(ifosfamide)、伊马替尼(imatinib)、咪喹莫德(imiquimod)、英丙舒凡(improsulfan)、干扰素- α (interferon alfa)、干扰素- β (interferon beta)、干扰素- γ (interferon gamma)、易普利姆玛(ipilimumab)、伊立替康(irinotecan)、伊沙匹隆(ixabepilone)、兰瑞肽(lanreotide)、拉帕替尼(lapatinib)、来那度胺(lenalidomide)、来格司亭(lenograstim)、香菇多糖(lentinan)、来曲唑(letrozole)、亮丙瑞林(leuprorelin)、甲酰四氢叶酸(leucovorin)、左旋咪唑(levamisole)、麦角乙脲(lisuride)、洛铂(lobaplatin)、环己亚硝脒(lomustine)、氯尼达明(lonidamine)、马索罗酚(masoprocol)、双氯乙基甲胺(mechlorethamine)、甲羟孕酮(medroxyprogesterone)、甲地孕酮(megestrol)、美法仑(melphalan)、美雄烷(mepitiostane)、巯基嘌呤(mercaptopurine)、美司钠(mesna)、甲氨蝶呤(methotrexate)、甲氧沙林(methoxsalen)、氨基酮戊酸甲酯(Methyl aminolevulinate)、甲睾酮(methyltestosterone)、米法莫肽(mifamurtide)、米替福新(miltefosine)、米铂(miriplatin)、二溴甘露醇(mitobronitol)、米托胍脲(mitoguazone)、二溴卫矛醇(mitolactol)、丝裂霉素(mitomycin)、米托坦(mitotane)、米托蒽醌(mitoxantrone)、奈达铂(nedaplatin)、奈拉滨(nelarabine)、尼洛替尼(nilotinib)、尼鲁米特(nilutamide)、尼妥珠单抗(nimotuzumab)、尼莫司汀(nimustine)、

硝氨丙吡啶(nitracrine)、奥妥珠单抗(obinutuzumab)、奥法木单抗(ofatumumab)、5-羟基奥美拉唑d3(omacetaxine mepesuccinate)、奥美拉唑(omeprazole)、奥普瑞白介素(oprelvekin)、奥沙利铂(oxaliplatin)、奥佐米星(ozogamicin)、p53基因疗法、紫杉醇(paclitaxel)、帕利夫明(palifermin)、钇-103粒子、盐酸帕洛司琼(palonosetron hydrochlorid)、帕米膦酸(pamidronic acid)、帕米膦酸二钠(pamidronat disodium)、帕尼单抗(panitumumab)、帕唑帕尼(pazopanib)、培门冬酶(pegaspargase)、PEG-重组人红细胞生成素-β(PEG-epoetin beta)(甲氧基-PEG-重组人红细胞生成素-β)、培非格司亭(pegfilgrastim)、聚乙烯乙二醇-α-2b(peginterferon alfa 2b)、培美曲塞(pemetrexed)、喷他佐辛(pentazocine)、喷司他丁(pentostatin)、培洛霉素(peplomycin)、培磷酰胺(perfosfamide)、帕妥株单抗(pertuzumab)、毕西巴尼(picibanil)、吡柔比星(pirarubicin)、普乐沙福(plerixafor)、普卡霉素(plicamycin)、聚氨基葡萄糖(poliglusam)、聚磷酸雌二醇(polyestradiol phosphate)、多糖K(polysaccharide-K)、泊马度胺(pomalidomide)、pomatinib、吡吩姆钠(porfimer sodium)、普拉曲沙(pralatrexate)、泼尼莫司汀(prednimustine)、泼尼松(prednisone)、丙卡巴肼(procarbazine)、喹高利特(quinagolide)、氯化镭-223(radium-223 chloride)、雷洛昔芬(raloxifene)、雷替曲塞(raltitrexed)、雷莫芦单抗(ramucirumab)、拉布立酶(rasburicase)、雷莫司汀(ranimustine)、雷佐生(razoxane)、refametinib、瑞戈非尼(regorafenib)、利塞膦酸(risedronic acid)、利妥昔单抗(rituximab)、罗米地新(romidepsin)、罗米司亭(romiplostim)、roniciclib、卢索替尼(ruxolitinib)、沙格司亭(sargramostim)、sipuleucel-T、西佐喃(sizofiran)、索布佐生(sobuzoxane)、甘氨双唑钠(sodium glycididazole)、索拉非尼(sorafenib)、链脲菌素(streptozocin)、舒尼替尼(sunitinib)、他拉泊芬(talaporfin)、talk、他米巴罗汀(tamibarotene)、他莫昔芬(tamoxifen)、他索纳明(tasonermin)、替西白介素(teceleukin)、喃氟啉(tegafur)、喃氟啉+吉美拉西(gimeracil)+奥替拉西(oteracil)、替莫泊芬(temoporfin)、替莫唑胺(temozolomide)、坦罗莫司(temsirrolimus)、替尼泊昔(teniposide)、睾酮(testosterone)、替曲膦(tetrofosmin)、沙利度胺(thalidomide)、噻替派(thiotepa)、胸腺法新(thymalfasin)、硫鸟嘌呤(tioguanine)、托珠单抗(tocilizumab)、托泊替康(topotecan)、托瑞米芬(toremifene)、托西莫单抗(tositumomab)、I 131托西莫单抗、trametinib、曲贝替定(trabectedin)、曲妥珠单抗(trastuzumab)、曲奥舒凡(treosulfan)、维A酸(tretinoin)、曲洛司坦(trilostane)、曲普瑞林(triptorelin)、曲磷胺(trofosfamide)、色氨酸(tryptophan)、乌苯美司(ubenimex)、戊柔比星(valrubicin)、凡德尼布(vandetanib)、伐普肽(vapreotide)、维罗非尼(vemurafenib)、长春碱(vinblastine)、长春新碱(vincristine)、长春地辛(vindesine)、长春氟宁(vinflunine)、长春瑞滨(vinorelbine)、维莫德吉胶囊(vismodegib)、伏林司他(vorinostat)、伏罗唑(vorozole)、钇-90玻璃微球体(yttrium-90 glass microspheres)、净司他丁(zinostatin)、净司他丁斯酯(zinostatin stimalamer)、唑来膦酸(zoledronic acid)、佐柔比星(zorubicin)。

[0428] 应理解,本发明还涉及以上所述的优选的实施方案的任何组合。

[0429] 本发明的另一目的是一种或多种本发明化合物与P-TEFb或CDK9抑制剂的组合。

[0430] 本发明的一个优选目的是一种或多种本发明的化合物与一种或多种用于癌症治疗或用于放射治疗的化合物的组合。

[0431] 通常,用本发明化合物与具有细胞抑制或细胞毒性作用的其他试剂的组合可实现下述目标:

[0432] ●与用单独的活性化合物的治疗相比,在减缓肿瘤生长、减小其尺寸或者甚至完全消除肿瘤上具有改善的活性;

[0433] ●与单一疗法的情况相比,可采用以更低剂量使用的化疗剂;

[0434] ●与单独给药相比,可实现具有很少副作用的更可耐受的疗法;

[0435] ●可治疗更广泛范围的肿瘤疾病;

[0436] ●实现更高的治疗响应率;

[0437] ●与目前的标准疗法相比,更长的患者存活时间。

[0438] 此外,本发明的化合物可与放射疗法和/或手术介入组合使用。

[0439] 在本发明的一个不同的实施方案中,本发明化合物可用于使细胞对辐射敏感。也就是说,在放射处理细胞之前用本发明化合物处理细胞会使所述细胞比缺少本发明化合物的任何处理的细胞更易发生DNA损伤和细胞死亡。在一个方面中,用至少一种本发明化合物处理细胞。

[0440] 因此,本发明还提供了一种杀死细胞的方法,其中将与传统的放射疗法组合的一种或多种本发明的化合物给予细胞。

[0441] 本发明还提供了一种使细胞更易发生细胞死亡的方法,其中在处理细胞以导致或诱导细胞死亡之前用一种或多种本发明化合物处理细胞。在一个方面中,在用一种或多种本发明化合物处理细胞后,用至少一种化合物或至少一种方法或其组合处理细胞以导致DNA损伤以用于抑制正常细胞的功能或杀死细胞。

[0442] 在一个实施方案中,通过用至少一种DNA损伤试剂处理细胞来杀死细胞。也就是说,在用一种或多种本发明的化合物处理细胞以使细胞对细胞死亡敏感后,用至少一种DNA损伤试剂处理细胞以杀死细胞。可用于本发明的DNA损伤试剂包括但不限于化疗试剂(例如,顺铂)、电离辐射(X-射线、紫外线照射)、致癌试剂和诱变试剂。

[0443] 在另一个实施方案中,通过用至少一种方法处理细胞以导致或诱导DNA损伤来杀死细胞。这样的方法包括但不限于,激活细胞信号传导通路,当所述通路被激活时其导致DNA损伤;抑制细胞信号传导通路,当所述通路被抑制时其导致DNA损伤;并且在细胞中诱导生化改变,其中所述改变导致DNA损伤。作为一个非限制性的实例,可抑制细胞中的DNA修复通路,由此阻止了对细胞损伤的修复并导致细胞中DNA损伤的异常累积。

[0444] 在本发明的一个方面中,在对细胞进行辐射或其他DNA损伤诱导之前,将本发明化合物给予细胞。在本发明的另一个方面中,在对细胞进行辐射或其他DNA损伤诱导的同时,将本发明化合物给予细胞。在本发明的另一个方面中,在对细胞的辐射或其他DNA损伤诱导开始之后立即将本发明化合物给予细胞。

[0445] 在另一个方面中,所述细胞在体外。在另一实施方案中,所述细胞在体内。

[0446] 用于制备通式(I)的化合物的合成路线

[0447] 下文的方案和一般操作方法阐述了本发明通式(I)的化合物的一般合成方法,而本发明的化合物的合成不限于此。

[0448] 化合物的一般合成

[0449] 以下段落概述了多种适于制备通式 (I) 的化合物和可用于其合成的中间体的合成方法。

[0450] 除了下述的路线,也可根据有机合成领域的技术人员公知常识使用其他路线来合成目标化合物。因此,以下方案中举例说明的转换顺序并不意欲进行限制,并且合适的多个方案的合成步骤可组合以形成另外的合成顺序。

[0451] 通常,式 (I) 的化合物以立体异构体(例如,外消旋物或非对映异构体)的混合物的形式从合成中获得,提供了在吡唑啉4-位处的差向异构体的1:1混合物。异构体可通过本领域技术人员已知的方法分离,例如,通过手性色谱法、通过形成非对映异构体盐、或通过用于分离非对映异构体的非手性色谱法进行分离。对映异构体混合物优选通过手性色谱法进行分离,而非对映异构体优选通过非手性或手性色谱法进行分离。可对最终的化合物或对中间体进行立体异构体的混合物的分离。在一些情况下,可将保护基团引入到最终的化合物中,并在分离立体异构体后将其去除。

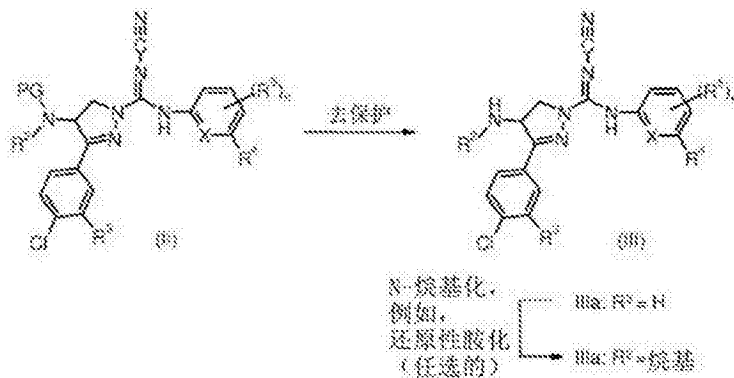
[0452] 根据方案1,通式 (I) 的化合物可容易地由式 (II) 的化合物制备,其中 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和X如通式 (I) 的化合物所定义,式 (IV) 的化合物中的 R^{1A} 代表 R^1 或 R^1 的经保护的衍生物,PG是保护基团,Y是羟基、氯、溴或活性酯。如果 R^{1A} 等于 R^1 ,则式 (V) 和 (I) 的化合物是相同的,并且不需要第二个去保护步骤。如果 R^{1A} 是 R^1 的经保护的衍生物,则式 (V) 的各化合物去保护以得到相应的式 (I) 的化合物。保护基团和它们的引入和裂解是本领域技术人员公知的(参见,例如,T.W.Greene and P.G.M.Wuts in *Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th edition, Wiley 2006)。通常,PG是基于氨基甲酸酯的保护基,更优选地,PG是烯丙氧基羰基(alloc)。酰胺偶联反应通常在惰性溶剂中并在碱的存在下,优选在正常压力下在0°C至溶剂的沸点之间的温度下进行。

[0453] 惰性溶剂为例如卤代烷烃如二氯甲烷、三氯甲烷或1,2-二氯甲烷,醚如二氧杂环己烷、二乙醚、四氢呋喃或1,2-二甲氧基乙烷,或其他溶剂如丙酮、二甲基甲酰胺、二甲基乙酰胺、N-甲基吡咯烷酮或乙腈。优选的溶剂为二甲基甲酰胺和乙腈。

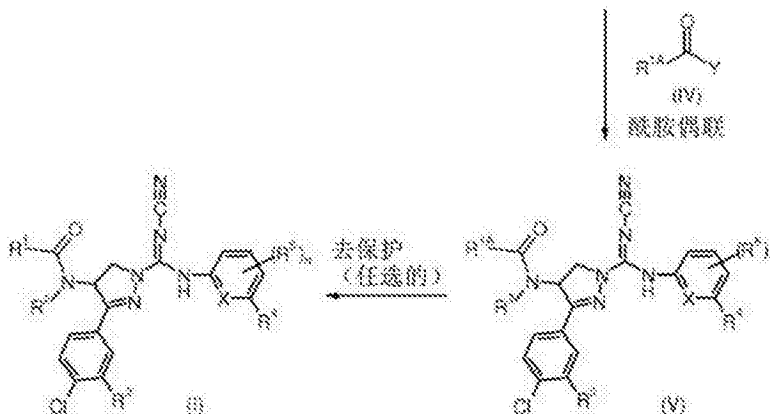
[0454] 式 (IV) 的羧酸衍生物(其中Y为羟基)可通过公知的方法被转化为酸性卤化物或活性酯(Molecules 2001,6(1),47-51;doi:10.3390/60100047)或用偶联试剂活化(如例如Madeleine M.Joullié and Kenneth M.Lassen:Evolution of amide bond formation;ARKIVOC(Gainesville,FL,United States)2010,8,189-250中所综述的)。

[0455] 方案1:

[0456] 由式 (II) 的4-氨基-N'-氰基-N,3-二苯基-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲脒衍生物制备通式 (I) 的化合物



[0457]

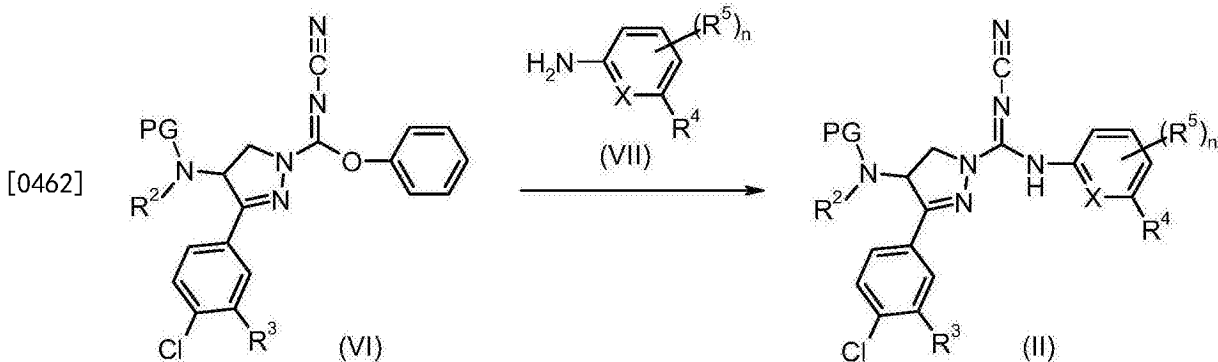


[0458] 如方案1所示,式(V)的化合物(其中R²为烷基)由式(II)的各烷基化化合物制备。或者,它们通过还原性胺化和随后的酰胺偶联由式(III)的化合物(其中R¹为氢)制备。

[0459] 根据方案2,式(II)的化合物可由相应的苯氧基衍生物(VI)和式(VII)的芳基胺制备。该反应可在如上所定义的惰性溶剂中、优选在四氢呋喃中,于低温(例如,-78°C至0°C之间)下、在碱(例如,正丁基锂、二异丙基氨基锂、碱性和亲核性相当的碱)的存在下进行。或者,可通过在惰性溶剂(优选醚,例如1,4-二氧杂环己烷)中加热,在存在或不存在碱(例如,脂族或芳族叔胺、优选式N(C₁-C₄-烷基)₃的脂族叔胺)的情况下,在室温至溶剂的沸点之间的温度下将式(VI)的化合物与式(VII)的化合物反应以得到式(II)的化合物。

[0460] 方案2:

[0461] 由式(VI)的苯基4-氨基-N-氰基-3-苯基-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲亚胺酸酯(carboximidate)和式(VII)的芳基胺制备通式(II)的化合物

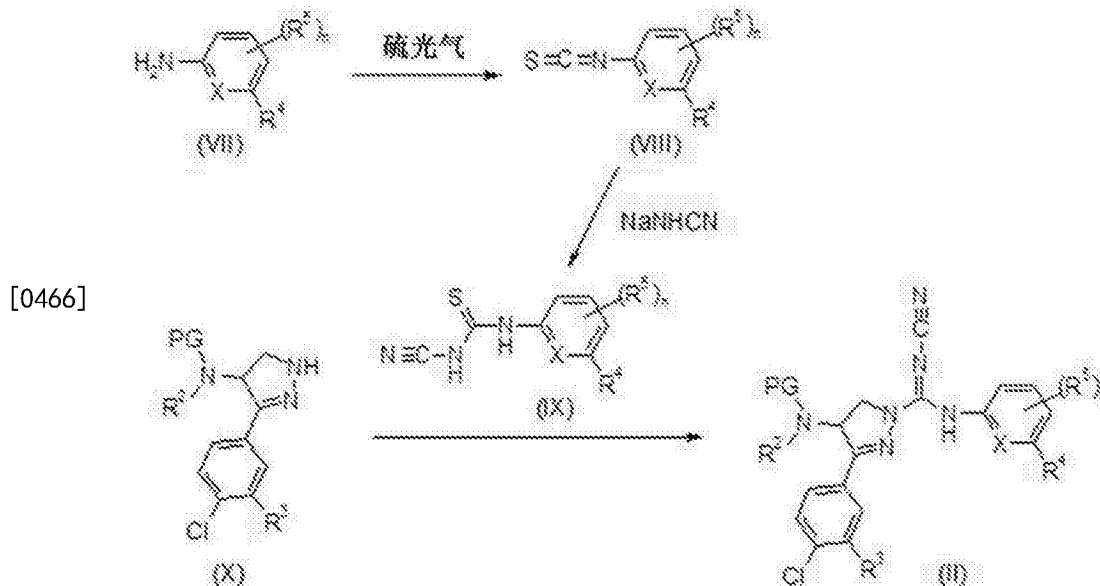


[0463] 或者,式(II)的化合物可通过方案3所示的方法由式(X)的化合物和式(IX)的化合物制备。式(VII)的芳基胺转化为其相应的式(VIII)的异硫氰酸酯,式(VIII)的异硫氰酸酯

与氰基氨基钠反应得到式 (IX) 的 N-氰基硫脲。在偶联试剂 (优选 EDC (1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐)) 的存在下, 式 (IX) 的 N-氰基硫脲与式 (X) 的吡唑反应以得到式 (II) 的化合物。

[0464] 方案3:

[0465] 用于由式 (X) 的 3-苯基-4,5-二氢-1H-吡唑-4-胺衍生物和式 (VII) 的芳基胺制备式 (II) 的化合物的替代方法

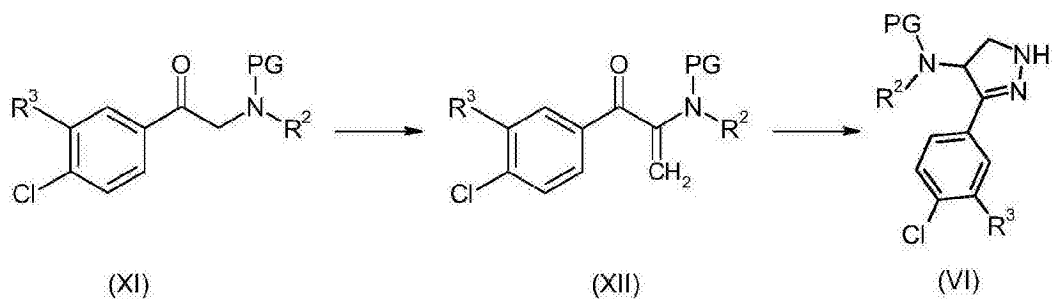


[0467] 如方案4所示的式 (VI) 和 (X) 的化合物的合成非常类似地记载于WO 2006072350 (例如, 对于式 (VI) 和 (X) 的化合物的衍生物, 其中R³为氢)。所述方法通常可被转移至式 (VI) 和 (X) 的进一步取代的化合物的制备。

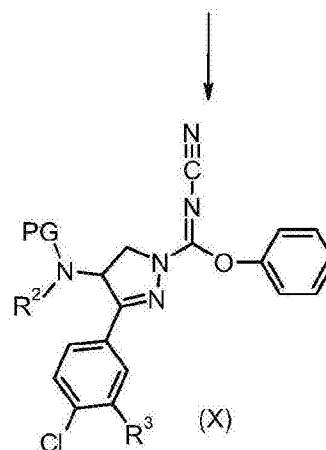
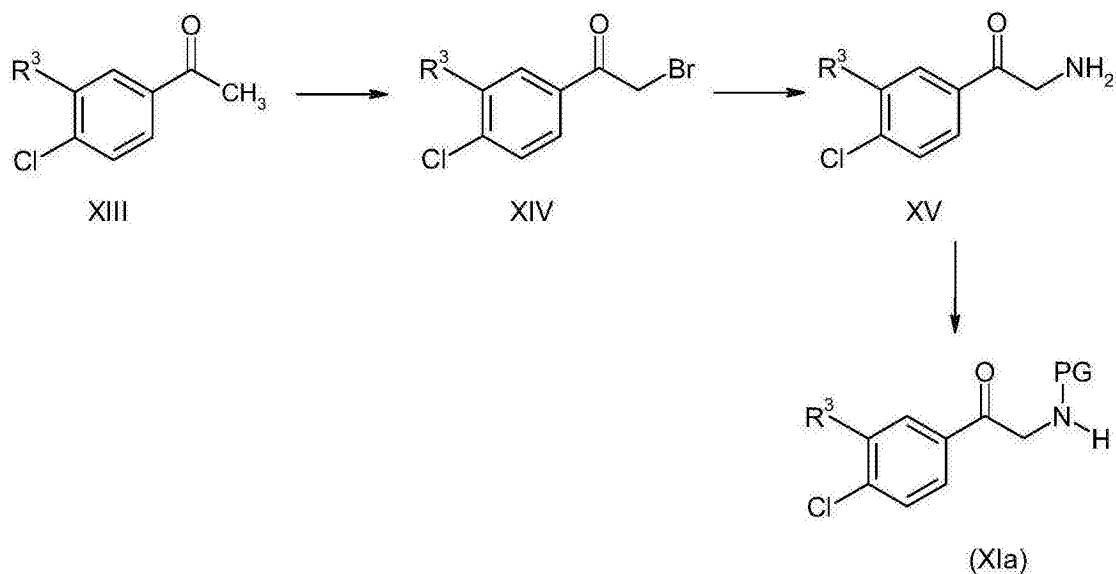
[0468] 方案4:

[0469] 式 (VI) 和 (X) 的化合物的制备。

[0470] 如方案5-7所述, 式 (XI) 的化合物可通过不同的方法制备。基于取代基R²来选择所述方法。



[0471]

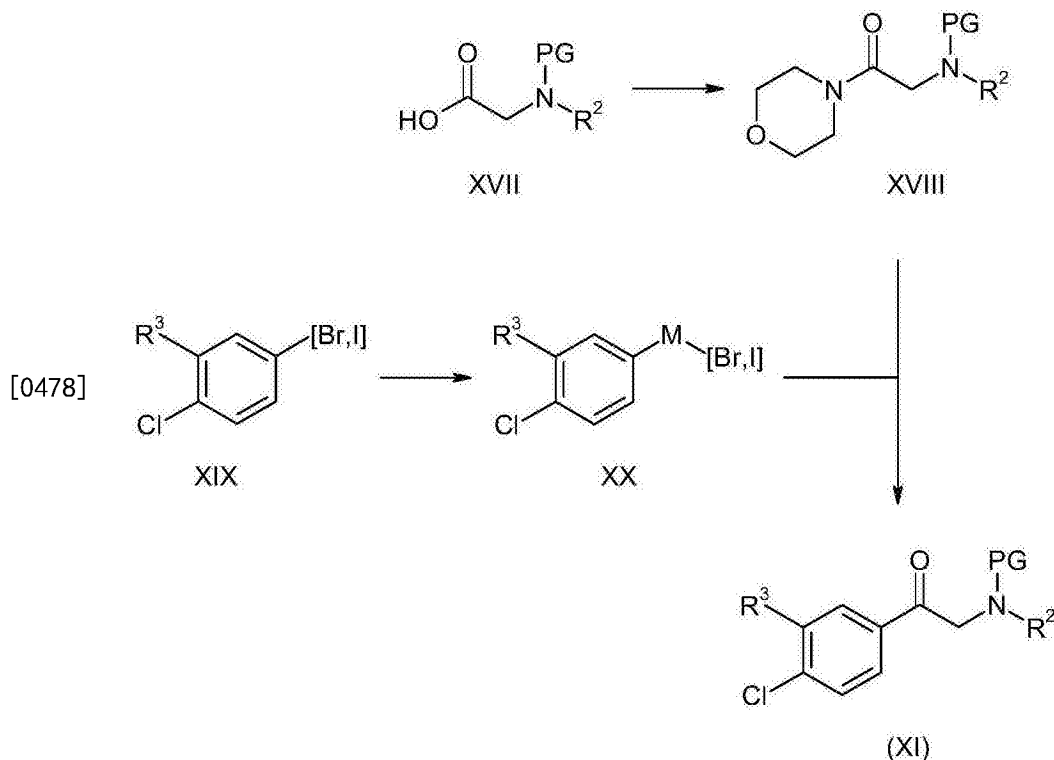
[0472] 方案5:[0473] 式 (XI) 的化合物 (其中 R^2 为氢 (XIa)) 的制备。

[0474]

[0475] 在一种方法中,式 (XI) 的化合物如方案5中所述由乙酰苯制备。该方法已记载于W0 2006072350中以获得式 (XIa) 的N-保护的伯胺。

[0476] 方案6:

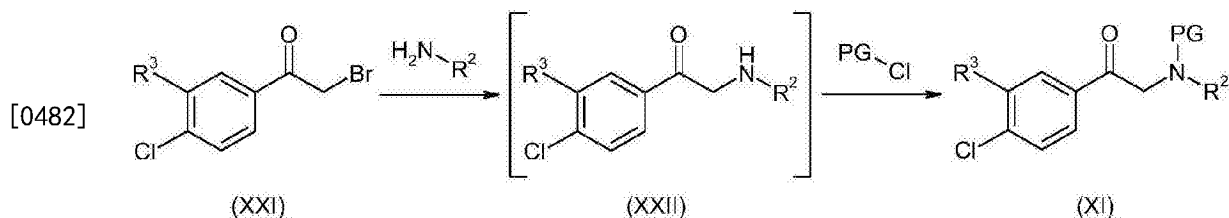
[0477] 由甘氨酸衍生物开始的式 (XI) 的化合物的替代制备。



[0479] 或者,可根据方案6中所述的路线由N-保护的甘氨酸(XVII)制备式(XI)的化合物。制备甘氨酸酰胺(XVIII)后加入任选地原位产生的芳基金属物质(species)(XX)以得到式(XI)的氨基乙酰苯,如类似于[Org.Process Res.Dev.2012,16,982-1002]所述。式(XX)的化合物是市售的或可由式(XIX)的芳基卤化物制备,如例如[Org.Process Res.Dev.2012,16,982-1002]中所述。

[0480] 方案7:

[0481] 式(XI)的化合物(其中R²为烷基)的制备。



[0483] 或者,可由式(XXI)的溴苯乙酮通过与烷基胺反应、随后对所得的仲胺(XXII)进行保护(例如使用氯甲酸酯,优选使用氯甲酸烯丙酯),制备式(XI)的化合物。

[0484] 下表列出了该段落以及实施例部分中使用的缩写。

[0485]

缩写	含义
anh	无水的
br.	宽信号 (在 NMR 数据中)
d	天(s)
DAD	二极管阵列检测器
DCM	二氯甲烷
DEA	二乙基胺
DME	1,2-二甲氧基乙烷
DMF	N,N-二甲基甲酰胺
DMSO	二甲基亚砷
ELSD	蒸发光散射检测器
ESI	电喷雾离子化
EtOAc	乙酸乙酯
Fmoc	[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]
h	小时
HPLC, LC	高效液相色谱
m/z	质荷比 (在质谱中)
mc	多重峰中心的
MeOH	甲醇
min	分钟
MS	质谱
neg	负
NMR	核磁共振
PE	石油醚
pos	正
ppm	以百万分之一计的化学位移 δ
Rac	外消旋的
R _t	保留时间
RT	室温
SFC	超临界流体色谱法
THF	四氢呋喃
TLC	薄层色谱

[0486]

[0487] 其他缩写具有本身为技术人员所常用的含义。

[0488] 本申请中所述的本发明的多个方面可通过以下实施例进行说明,所述实施例不意欲以任何方式对本发明进行限制。

[0489] 具体的实验描述

[0490] 当出现在谱图中时,说明以下具体实验描述中的NMR峰形式,尚未考虑可能的更高阶的效果。使用任选地装备有机器人单元的Biotage **Initator**[®]微波炉进行使用微波辐射的反应。所报告的使用微波加热的反应时间意欲被理解为达到指定的反应温度后的固定反应时间。根据本发明方法产生的化合物和中间体可能需要纯化。有机化合物的纯化是本领域技术人员公知的,并且纯化同一化合物也可有数种方式。在一些情况下,无需进行纯化。在一些情况下,可通过结晶对化合物进行纯化。在一些情况下,使用合适的溶剂将杂质搅拌出。在一些情况下,通过色谱法、特别是快速柱色谱法,使用例如预装的硅胶柱(例如购自Separtis,如 **Isolute**[®]快速硅胶或 **Isolute**[®]快速NH₂硅胶)和 **Isolera**[®]自动纯化仪(Biotage)以及洗脱液如己烷/乙酸乙酯或DCM/甲醇的梯度,对化合物进行纯化。在一些情况下,可通过制备型HPLC,使用例如装备有二极管阵列检测器和/或联机(on-line)电喷雾离子化质谱仪的Waters自动纯化器以及合适的预装反相柱和洗脱液如水和乙腈的梯度(其可含有添加剂如三氟乙酸、甲酸或氨水)来对化合物进行纯化。在一些情况下,如上所述的纯化方法可提供本发明的这些化合物——其具有以盐的形式存在的足够碱性或酸性的官能团,如在足够碱性的本发明化合物的情况中,例如为三氟乙酸盐或甲酸盐,或在足够酸性的本发明化合物的情况中,例如为铵盐。这种类型的盐可通过本领域技术人员已知的多种方法分别被转化为其游离碱或游离酸形式,或可在随后的生物学测定中被用作盐。应理解,如本文所述进行分离的本发明化合物的特定形式(例如盐、游离碱等)不一定是其中所述化合物可被用于生物学测定中以对具体的生物学活性进行定量的唯一形式。

[0491] 以下实施例中所报告的产率百分比是基于以最低摩尔量使用的起始组分。空气和湿气敏感性液体和溶液通过注射器或套管进行转移,并通过橡胶隔膜被引入到反应容器中。使用市售级的试剂和溶剂,无需进一步纯化。术语“真空浓缩”是指在约15mm Hg的最小压力下使用Buchi旋转蒸发器。所有温度以未经修正的摄氏度(°C)进行报告。

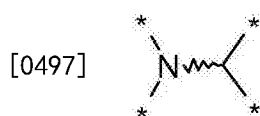
[0492] 为了本发明可被更好地理解,列出了以下实施例。这些实施例仅以举例说明为目的,不应被解释为以任何方式限制本发明的范围。本文提及的所有出版物都以引用的方式全文纳入本文。

[0493] 快速柱色谱法条件

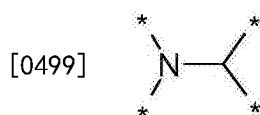
[0494] 随后具体实验描述中所述的“通过(快速)柱色谱法纯化”是指使用Biotage Isolera纯化系统。对于技术说明,参见www.biotage.com上的“Biotage产品目录”。

[0495] 立体化学的代表

[0496] 所有实例结构都已被合成为外消旋物或非对映异构体的1:1混合物,而在合成过程中形成一个外消旋立体中心,并在一些情况下通过与对映体纯的羧酸进行酰胺偶联来引入第二个立体中心。所述外消旋立体中心如下所示:

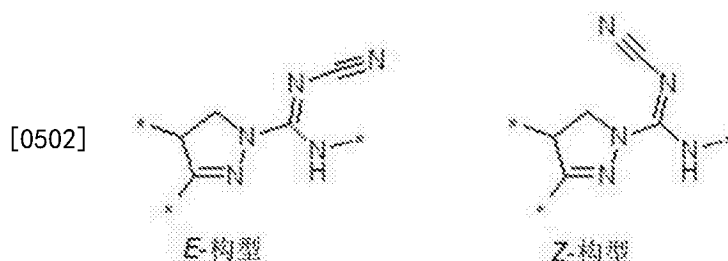


[0498] 在分离立体异构体之后,具有未知的绝对构型的手性中心如下所示:



[0500] 在该情况中,两个不同的立体异构体由术语异构体1和异构体2来指定。

[0501] 氰基胍部分在形式上可采用E-或Z-构型:



[0503] 假定在相关温度下,这两种异构体处于快速平衡状态,并且无法从分析上或制备上区分开,类似于如对N,N,N',N'-四甲基氰基胍所述的(C.Gordon McCarty and Donald M.Wieland:Syn-Anti Isomerization Involving the N-Cyanoimino Group;Tetrahedron Letters No.22,PP.1787-1790,1969)。因此,在本文中所使用的氰基胍的任何代表都代表两种异构体。

[0504] 实验部分

[0505] 方法:

[0506] 方法1:

[0507] 柱:XBridge C18 IS 5 μ m 2.1x 30mm

[0508] 洗脱液:A:10mM碳酸氢铵pH 10,B:MeCN

[0509] 梯度:0-95%A在3.10min内,维持@95%A至3.9min

[0510] 流速:1mL/min

[0511] 方法1:

[0512] 柱:Acquity UPLC BEH C18 1.7 μ m 50x 2.1mm

[0513] 洗脱液:A:H₂O+0.2%Vol.NH₃(32%);B:乙腈

[0514] 梯度:0-1.6min 1-99%B;1.6-2.0min 99%B

[0515] 流速:0.8mL/min

[0516] 方法2:

[0517] 柱:XBridge C18 2.5 μ m 2.1x 20mm

[0518] 洗脱液:A:10mM碳酸氢铵pH 10;B:乙腈

[0519] 梯度:0%B至0.18min,0-95%B至2.00min,维持@95%B至2.60min

[0520] 流速:1mL/min

[0521] 方法3:

[0522] 柱:Acquity BEH C18 1.7 μ m 2.1x 50mm

[0523] 洗脱液:A:0.05%甲酸水溶液;B:0.05%溶于乙腈的甲酸

[0524] 梯度:30-80%B至4.00min,80%5.00min,80-50%B至5.01min

[0525] 流速:0.4mL/min

[0526] 方法4:

[0527] 柱:Acquity UPLC BEH C18 1.7 μ m 50x 2.1mm

[0528] 洗脱液:A:0.1%甲酸水溶液;B:乙腈

[0529] 梯度:0-1.6min 1-99%B;1.6-2.0min 99%B

[0530] 流速:0.8mL/min

[0531] 方法6:

[0532] 柱:XBridge BEH C18 2.5 μ m 2.1x 50mm

[0533] 洗脱液:A:10mM碳酸氢铵pH 10;B:乙腈

[0534] 梯度:2-98%B在0.80min内,维持98%B至1.30min

[0535] 流速:0.8mL/min

[0536] 方法7:

[0537] 柱:XBridge BEH C18 2.5 μ m 2.1x 50mm

[0538] 洗脱液:A:10mM碳酸氢铵pH 10;B:乙腈

[0539] 梯度:2-98%B在4.00min内,维持@98%B至4.70min

[0540] 流速:0.8mL/min

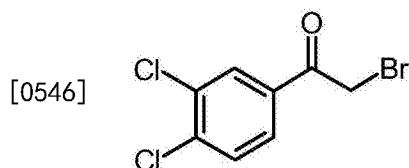
[0541] 旋光度:

[0542] 仪器:JASCO P2000旋光仪;波长589nm;温度:20 $^{\circ}$ C;积分时间10s;路径长度100mm。

[0543] 中间体

[0544] 中间体1

[0545] 2-溴-1-(3,4-二氯苯基)乙酮



[0547] 以135g规模进行反应两次。

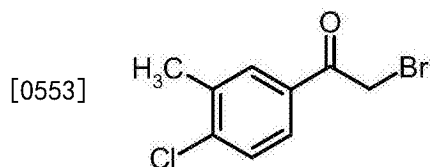
[0548] 将溶于乙酸(360mL)的37.0mL(0.722mol)溴逐滴加入到冷却至17 $^{\circ}$ C的溶于乙酸(675mL)的135g(0.714mol)3,4-二氯苯乙酮的搅拌溶液中。在已加入约三分之一的溴以后,反应还未开始,因此将反应混合物升温到25 $^{\circ}$ C,在该点发生至35 $^{\circ}$ C的放热。加入剩余的溴,将反应混合物在室温下搅拌30分钟。将混合物倒入冰水(1.5L)中,同时剧烈搅拌。通过过滤收集沉淀物,将两批次合并并用水洗涤。将固体在二乙醚(300mL)中研磨以得到230g所需产物2-溴-1-(3,4-二氯苯基)乙酮。将滤液用盐水洗涤,用硫酸镁干燥并浓缩以得到褐色油状物。将油状物倒入冰/水(1L)中并搅拌。通过过滤收集沉淀物以得到157g第二批所需产物,其被直接使用而不需要进一步纯化。

[0549] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d₆): δ [ppm]=4.95(s,2H),7.81(d,1H),7.91(dd,1H),8.18(d,1H)。

[0550] LC(方法1):Rt 2.82min

[0551] 中间体2

[0552] 2-溴-1-(4-氯-3-甲基苯基)乙酮



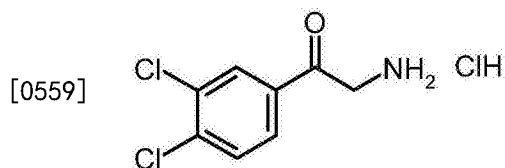
[0554] 由1-(4-氯-3-甲基苯基)乙酮起始,类似于中间体1来制备1,2-溴-1-(4-氯-3-甲基苯基)乙酮(中间体2)。

[0555] $^1\text{H NMR}$ (300MHz, CDCl_3) : δ [ppm] = 2.44 (s, 3H) , 4.40 (s, 2H) , 7.45 (d, 1H) , 7.73 (dd, 1H) , 7.85 (d, 1H) .

[0556] LCMS(方法2) : R_t 1.28min

[0557] 中间体3

[0558] 2-氨基-1-(3,4-二氯苯基)乙酮盐酸盐(1:1)



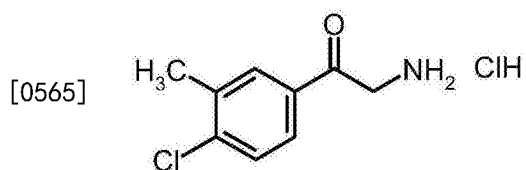
[0560] 将溶于二氯甲烷(600mL)的113g (0.810mol) 六亚甲基四胺的悬浮液加入到溶于二氯甲烷(600mL)的155g (0.590mol) 2-溴-1-(3,4-二氯苯基)乙酮(中间体1)的搅拌溶液中。将反应混合物搅拌2小时并将所得的沉淀物过滤并用二氯甲烷洗涤(2x 150mL),然后在乙醇(1L)中重悬浮。小心地加入浓盐酸(600mL, 37重量%)并在10分钟内使悬浮液溶解。将反应混合物再搅拌2小时,然后沉淀形成,通过离心收集沉淀,用丙酮洗涤(2x 100mL),使其过夜干燥以得到157g白色固体2-氨基-1-(3,4-二氯苯基)乙酮盐酸盐。存在过量的氯化铵,因此产物是超重的。

[0561] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) : δ [ppm] = 4.57 (s, 2H) , 7.84 (d, 1H) , 7.94 (dd, 1H) , 8.22 (d, 1H) .

[0562] LC(方法1) : R_t 2.13min

[0563] 中间体4

[0564] 2-氨基-1-(4-氯-3-甲基苯基)乙酮盐酸盐(1:1)



[0566] 从中间体2起始,类似于中间体3来制备2-氨基-1-(4-氯-3-甲基苯基)乙酮盐酸盐。

[0567] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) : δ [ppm] = 2.39 (s, 3H) , 4.52 (s, 2H) , 7.61 (d, 1H) , 7.82 (dd, 1H) , 8.00 (dd, 1H) .

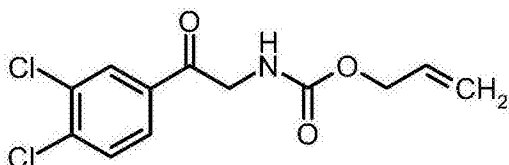
[0568] LCMS(方法2) : R_t 0.93min

[0569] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 184.0$

[0570] 中间体5

[0571] [2-(3,4-二氯苯基)-2-氧代乙基]氨基甲酸烯丙酯

[0572]



[0573] 将溶于二氯甲烷(800mL)的56.5mL(0.530mol)氯甲酸烯丙酯加入到溶于水(500mL)的116g(0.480mol)2-氨基-1-(3,4-二氯苯基)乙酮盐酸盐(1:1)(中间体3)的搅拌溶液中。将反应混合物冷却到0℃并在1小时内将溶于水(1L)的207g(1.49mol)碳酸钾逐滴加入到该反应混合物中。使反应混合物升温到室温并搅拌过夜。用二氯甲烷(500mL)稀释反应混合物,萃取有机相,并用饱和氯化铵溶液(400mL)洗涤,然后用盐水溶液(500mL)洗涤。收集有机相,用硫酸镁干燥,过滤并真空蒸发溶剂。粗反应混合物通过快速干柱色谱(洗脱液:二氯甲烷-庚烷2:1,3:1,4:1;二氯甲烷;乙酸乙酯)纯化以得到120g(46%,经3步)白色晶状固体[2-(3,4-二氯苯基)-2-氧代乙基]氨基甲酸烯丙酯。

[0574] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 4.46 (d, 2H), 4.51 (d, 2H), 5.15 (dd, 1H), 5.27 (dd, 1H), 5.81-5.92 (m, 1H), 7.54 (t, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.90 (dd, 1H), 8.16 (d, 1H) .

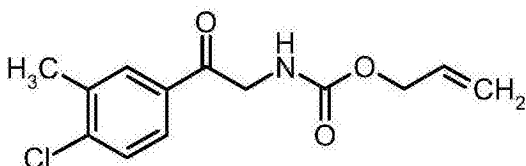
[0575] LCMS (方法3): R_t 1.59min

[0576] MS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 288.06$

[0577] 中间体6

[0578] [2-(4-氯-3-甲基苯基)-2-氧代乙基]氨基甲酸烯丙酯

[0579]



[0580] 从中间体4起始,类似于中间体5来制备[2-(4-氯-3-甲基苯基)-2-氧代乙基]氨基甲酸烯丙酯。

[0581] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.44 (s, 3H), 4.62 (d, 2H), 4.67 (d, 2H), 5.23 (dd, 1H), 5.33 (dd, 1H), 5.72 (br s, 1H), 5.94 (ddt, 1H), 7.45 (d, 1H), 7.71 (dd, 1H), 7.83 (dd, 1H) .

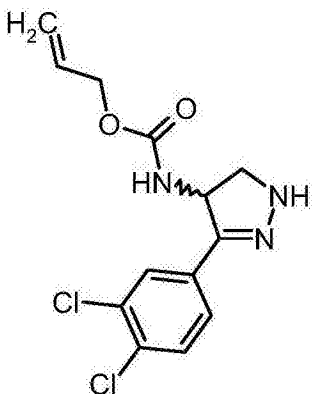
[0582] LCMS (方法2): R_t 1.19min

[0583] MS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 268.0$

[0584] 中间体7

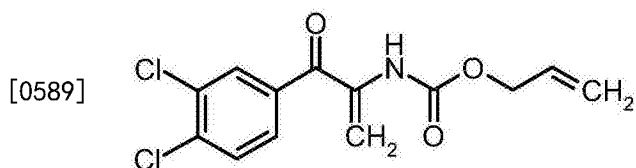
[0585] Rac-[3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯

[0586]



[0587] 步骤1:

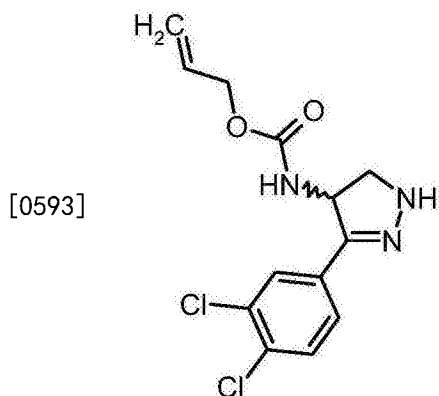
[0588] [3-(3,4-二氯苯基)-3-氧代丙基-1-烯-2-基]氨基甲酸烯丙酯



[0590] 将20mL (0.261mol, 37重量%, 溶于水) 甲醛溶液加入到溶于乙醇 (390mL) 的 [2-(3,4-二氯苯基)-2-氧代乙基]氨基甲酸烯丙酯 (中间体5) 的搅拌溶液中, 然后在30分钟内逐滴加入溶于乙醇 (130mL) 的26mL (0.261mol) 哌啶。将反应混合物过夜搅拌, 薄层色谱显示原料被消耗。通过蒸发除去溶剂以得到橙色油状物, 不进行进一步纯化, 并将分离的粗产物用于随后步骤中。

[0591] 步骤2:

[0592] Rac-[3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯



[0594] 将29.6mL (0.609mol) 一水合肼加入到溶于乙醇 (480mL) 的 [3-(3,4-二氯苯基)-3-氧代丙-1-烯-2-基]氨基甲酸烯丙酯 (~0.174mol) 的溶液中, 将反应混合物加热至回流, 持续2.5小时。使反应混合物冷却至室温, 然后进行浓缩, 接着倒入冰冷的饱和氯化铵溶液 (300mL) 中。将粗产物用乙酸乙酯 (1.5L) 萃取, 合并有机相并用盐水溶液 (300mL) 洗涤。经收集的有机相用硫酸镁干燥、过滤并将溶剂蒸发以得到50.0g (91%) 淡黄色固体rac-[3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯。

[0595] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 3.24 (m, 部分被 H_2O 峰遮盖), 3.59 (td, 1H), 4.39-4.54 (m, 2H), 5.08-5.25 (m, 3H), 5.79-5.90 (m, 1H), 7.52 (dd, 1H), 7.57 (br s, 1H), 7.59 (d, 1H), 7.68 (d, 1H), 7.84 (d, 1H) .

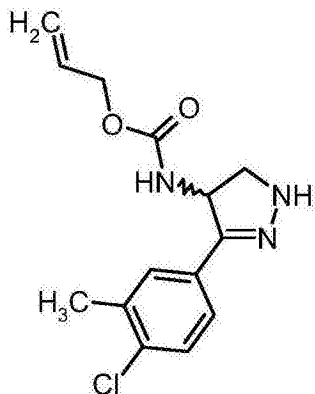
[0596] LCMS (方法3): Rt 1.55min

[0597] MS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 314.1$

[0598] 中间体8

[0599] Rac-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯

[0600]



[0601] 从中间体6起始,类似于中间体7来制备Rac-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯。

[0602] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d₆) : δ [ppm] = 2.28 (s, 3H), 3.20 (dd, 1H), 3.55 (td, 1H), 4.45 (qd, 2H), 5.11 (d, 1H), 5.14-5.24 (m, 2H), 5.85 (ddt, 1H), 3.30-3.39 (m, 3H), 7.52 (s, 1H), 7.80 (d, 1H).

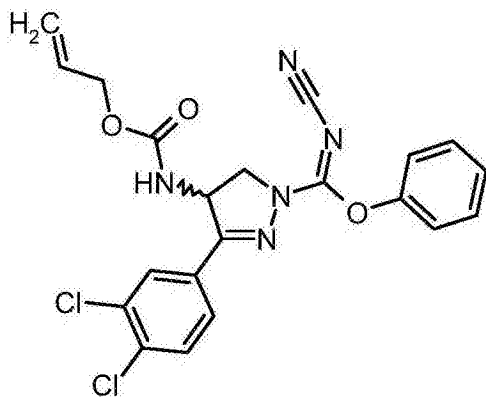
[0603] LCMS (方法2) : R_t 1.14min

[0604] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 294.2$

[0605] 中间体9

[0606] Rac-4-{[(烯丙氧基)羰基]氨基}-N-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲亚胺酸苯酯

[0607]



[0608] 将38.0g (0.159mol) N-氰基碳亚胺二苯酯加入到溶于2-丙醇(860mL)的50.0g (0.159mol) rac-[3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯(中间体7)的搅拌溶液中。将反应混合物加热至回流,此时悬浮液溶解成溶液,再经回流10分钟后,形成白色沉淀。将反应混合物在回流下再搅拌1小时,然后使其缓慢冷却到室温过夜。将沉淀物过滤,用二乙醚(2x250mL)洗涤,将所得的白色固体干燥以得到48.6g (67%) 白色固体 rac-4-{[(烯丙氧基)羰基]氨基}-N-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲亚胺酸苯酯。

[0609] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d₆) : δ [ppm] = 4.13 (表观d, 1H), 4.47 (m, 3H), 5.14 (dd, 2H), 5.51-5.63 (m, 1H), 5.79-5.90 (m, 1H), 7.23 (d, 2H), 7.30 (t, 1H), 7.45 (t, 2H), 7.79 (br m, 2H), 7.97 (br s, 1H), 8.19 (d, 1H).

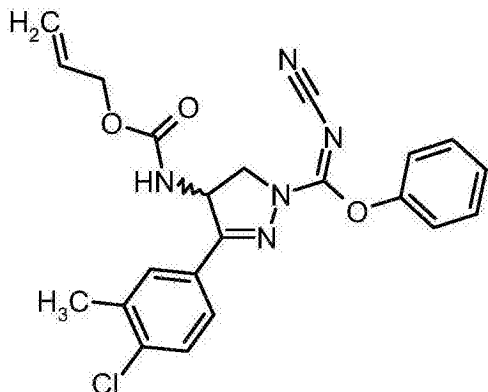
[0610] LCMS (方法3) : R_t 1.75min

[0611] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 458.0$

[0612] 中间体10

[0613] Rac-4-[[(烯丙氧基) 羰基] 氨基] -3-(4-氯-3-甲基苯基) -N-氰基-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲亚胺酸苯酯

[0614]



[0615] 从中间体8起始,类似于中间体9来制备Rac-4-[[(烯丙氧基) 羰基] 氨基] -3-(4-氯-3-甲基苯基) -N-氰基-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲亚胺酸苯酯。

[0616] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) : δ [ppm] = 2.18 (s, 3H) , 4.30 (d, 2H) , 4.64 (d, 2H) , 5.24 (d, 1H) , 5.34 (d, 1H) , 5.60-5.70 (m, 1H) , 5.94 (ddt, 1H) , 6.89-7.35 (m, 7H) , 7.48 (dd, 1H) , 7.54 (d, 1H) .

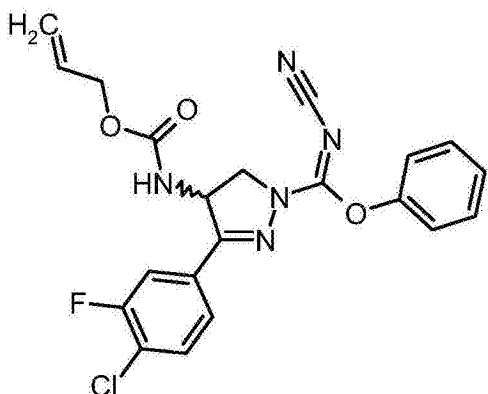
[0617] LCMS (方法2) : R_t 1.30min

[0618] MS (ESI) : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 438.2$

[0619] 中间体11

[0620] Rac-4-[[(烯丙氧基) 羰基] 氨基] -3-(4-氯-3-氟苯基) -N-氰基-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲亚胺酸苯酯

[0621]



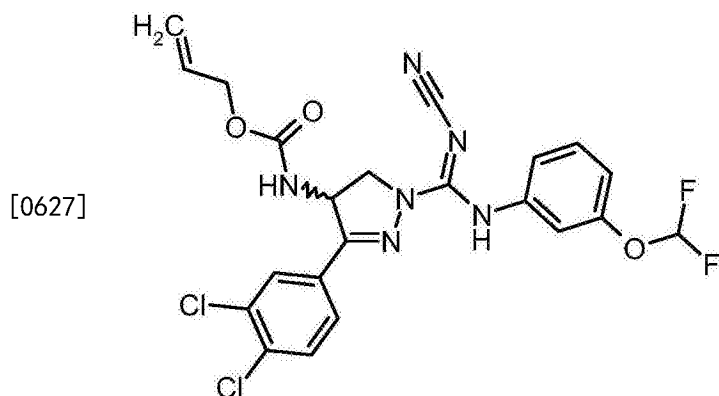
[0622] 从1-(4-氯-3-氟苯基) 乙酮起始,如中间体9所述制备Rac-4-[[(烯丙氧基) 羰基] 氨基] -3-(4-氯-3-氟苯基) -N-氰基-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲亚胺酸苯酯。

[0623] ^1H -NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ [ppm] = 4.17 (d, 1H) , 4.49-4.60 (m, 3H) , 5.10-5.27 (m, 2H) , 5.52-5.67 (m, 1H) , 5.79-5.96 (m, 1H) , 7.26 (d, 2H) , 7.30-7.38 (m, 1H) , 7.44-7.54 (m, 2H) , 7.69 (br. s., 1H) , 7.79 (d, 2H) , 8.21 (d, 1H) .

[0624] MS (ESI) : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 442$

[0625] 中间体12

[0626] Rac-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基) 苯基] 甲脒基} -3-(3,4-二氯苯基) -4,5-二氢-1H-吡唑-4-基] 氨基甲酸烯丙酯



[0628] 将33.0mL (65.5mmol, 2M于己烷中) 正丁基锂逐滴加入到-78℃的溶于无水四氢呋喃(100mL)的8.20mL (65.5mmol) 间二氟甲氧基苯胺的搅拌溶液中,在添加的过程中将反应温度维持在-65℃以下。在-78℃下搅拌反应混合物1小时,然后逐滴加入溶于无水四氢呋喃(600mL)的10.0g (21.8mmol) Rac-4-[(烯丙氧基)羰基]氨基-N-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲亚胺酸苯酯(中间体9),将反应温度维持在-65℃以下。在-78℃下搅拌反应混合物2小时,然后缓慢倒入饱和的氯化铵溶液(700mL)中。将粗产物用乙酸乙酯(700mL)萃取,合并有机相并用盐水溶液(350mL)洗涤。将收集的有机相用硫酸镁干燥、过滤并将溶剂蒸发以得到乳白色粗固体。从最小体积的乙酸乙酯中沉淀粗固体并过滤,用二乙醚洗涤以产生7.6g (67%) 白色固体rac-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯。

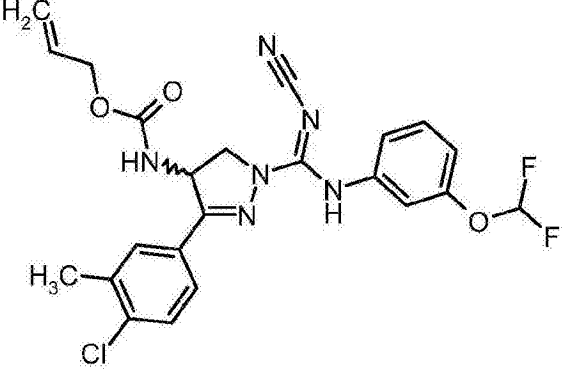
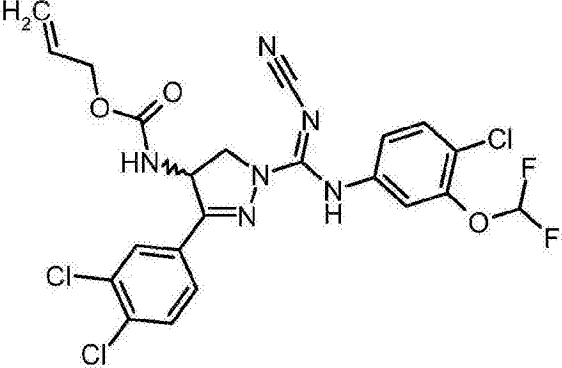
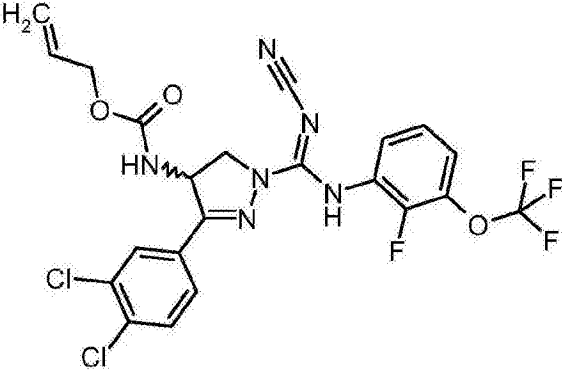
[0629] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ [ppm] = 4.08 (dd, 1H) , 4.36-4.53 (m, 3H) , 5.11 (dd, 1H) , 5.17 (dd, 1H) , 5.50-5.59 (m, 1H) , 5.77-5.90 (m, 1H) , 6.99 (dd, 1H) , 7.16 (t, 1H) , 7.21 (t, 1H) , 7.23 (dd, 1H) , 7.39 (t, 1H) , 7.73-7.81 (m, 2H) , 8.15 (d, 1H) , 8.17 (d, 1H) , 9.79 (br s, 1H) .

[0630] LCMS (方法3) : R_t 1.78min

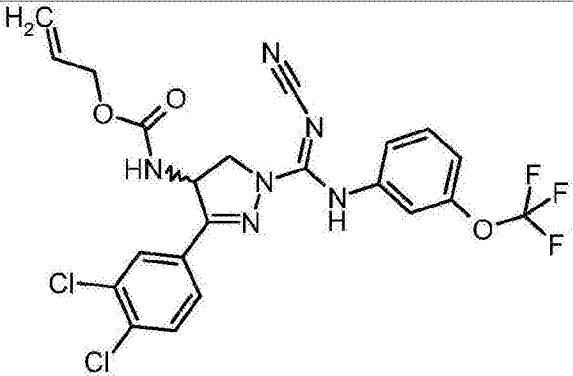
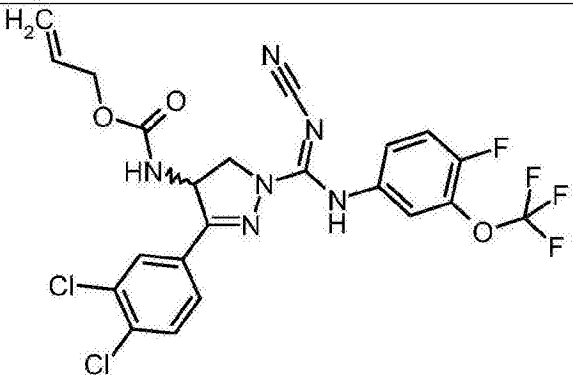
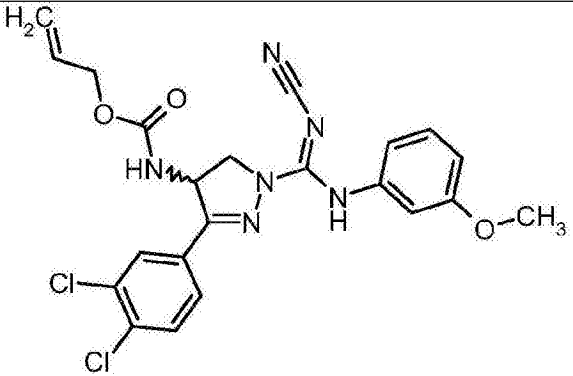
[0631] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 523.2$

[0632] 根据中间体12所述的方法,通过将各苯胺衍生物加入到中间体9、中间体10或中间体11中来制备以下中间体。

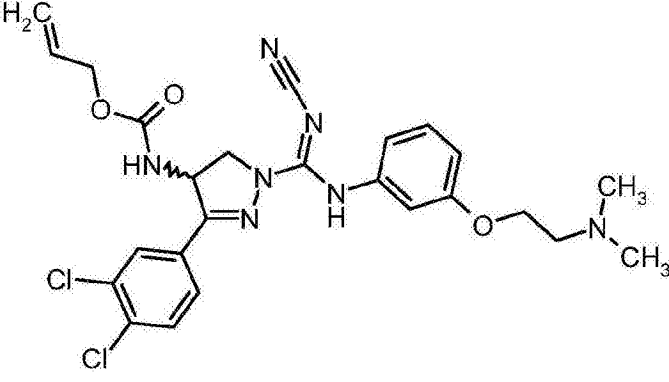
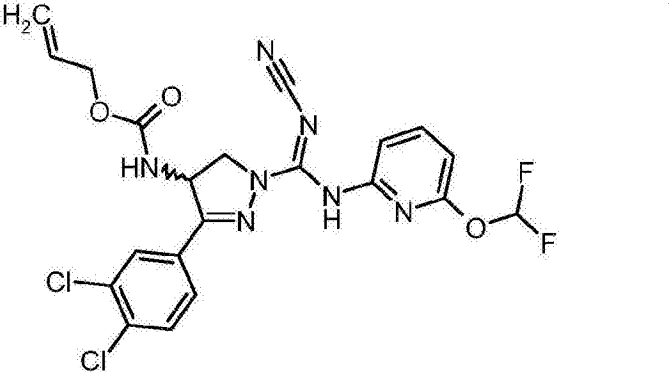
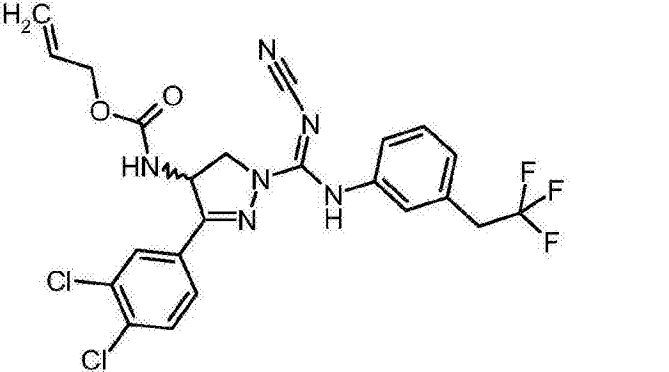
[0633]

中间体编号	结构 IUPAC名称	分析数据
13	 <p><i>Rac</i>-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.35 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 503.2$
14	 <p><i>Rac</i>-[1-{N-[4-氯-3-(二氟甲氧基)苯基]-N'-氰基甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.40 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 557.2$
15	 <p><i>Rac</i>-[1-{N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.24 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 559.2$

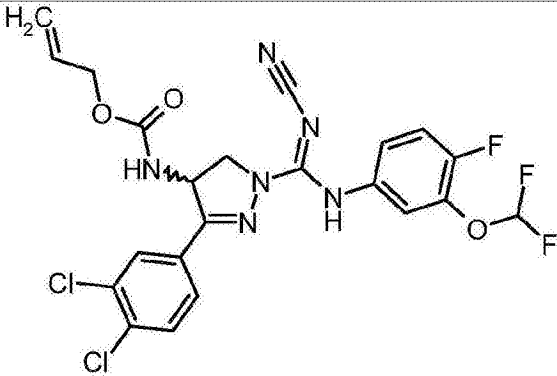
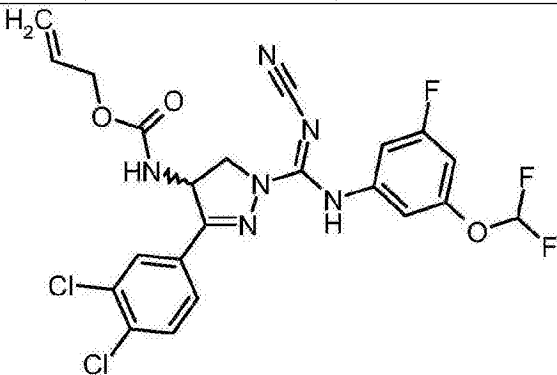
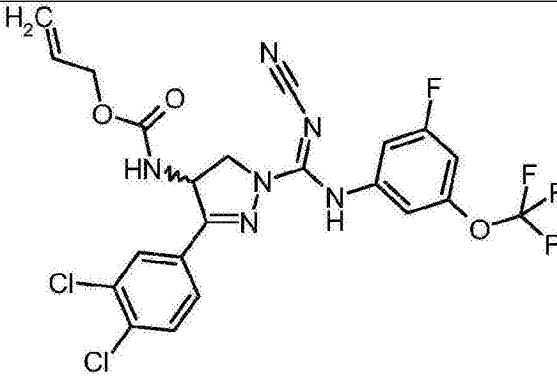
[0634]

中间体编号	结构 IUPAC名称	分析数据
16	 <p><i>Rac</i>-[1-[N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲基]咪唑基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.43 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 541.1$
17	 <p><i>Rac</i>-[1-[N'-氰基-N-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲基]咪唑基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.35 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 559.0$
18	 <p><i>Rac</i>-[1-[N'-氰基-N-(3-甲氧基苯基)甲基]咪唑基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.33 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 487.1$

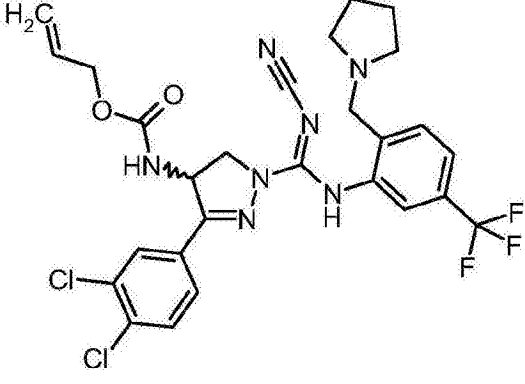
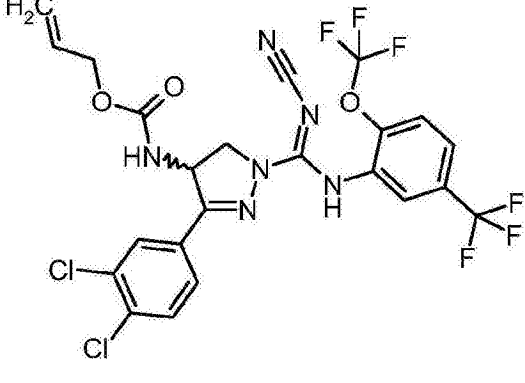
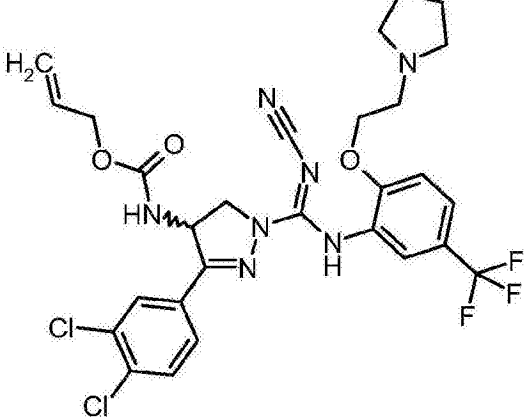
[0635]

中间体编号	结构 IUPAC名称	分析数据
19	 <p><i>Rac</i>-[1-(N'-氨基-N-[3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基]甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.31 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 544.0$
20	 <p><i>Rac</i>-[1-{N'-氨基-N-[6-(二氟甲氧基)吡啶-2-基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯</p>	LCMS (方法3): R_t 1.05 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 524.1$
21	 <p><i>Rac</i>-[1-{N'-氨基-N-[3-(2,2,2-三氟乙基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.39 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 539.1$

[0636]

中间体编号	结构 IUPAC名称	分析数据
22	 <p><i>Rac</i>-[1-[N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-4-氟苯基]甲基]甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基丙烯酸酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.32 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 540.8$
23	 <p><i>Rac</i>-[1-[N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-5-氟苯基]甲基]甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基丙烯酸酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.29 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 541.2$
24	 <p><i>Rac</i>-[1-[N'-氰基-N-[3-氟-5-(三氟甲氧基)苯基]甲基]甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基丙烯酸酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.33 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 559.2$

[0637]

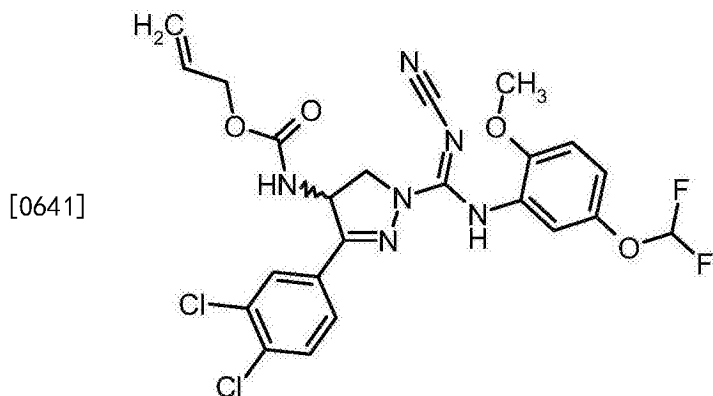
中间体编号	结构 IUPAC名称	分析数据
25	 <p><i>Rac</i>-[1-{N'-氰基-N-[2-(吡咯烷-1-基甲基)-5-(三氟甲基)苯基]甲基氨基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.61 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 608.2$
26	 <p><i>Rac</i>-[1-{N'-氰基-N-[2-(三氟甲氧基)-5-(三氟甲基)苯基]甲基氨基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.30 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 608.7$
27	 <p><i>Rac</i>-[1-(N'-氰基-N-[2-[2-(吡咯烷-1-基)乙氧基]-5-(三氟甲基)苯基]甲基氨基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.44 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 637.8$

[0638]

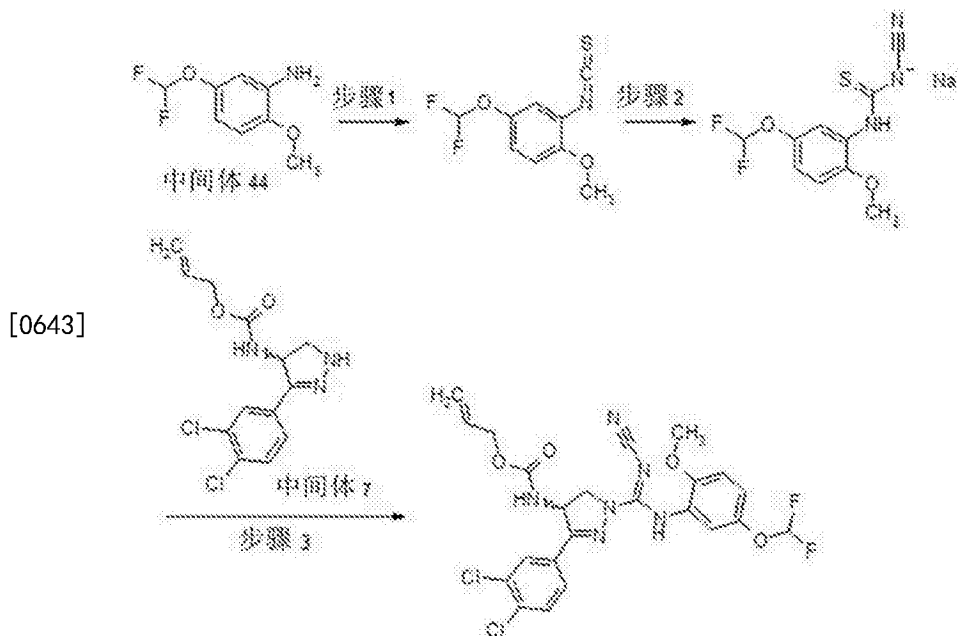
中间体编号	结构 IUPAC名称	分析数据
28	<p><i>Rac</i>-[1-(<i>N'</i>-氰基-<i>N</i>-{2-[2-(吗啉-4-基)乙氧基]-5-(三氟甲基)苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1<i>H</i>-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.33 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 653.8$
29	<p><i>Rac</i>-[3-(4-氯-3-氟苯基)-1-{<i>N'</i>-氰基-<i>N</i>-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1<i>H</i>-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯</p>	LCMS (方法2): R_t 1.33 min MS (ESI): $[M + H]^+ = 524.8$

[0639] 中间体30

[0640] *Rac*-[1-{*N'*-氰基-*N*-[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1*H*-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯



[0642] 根据以下方案,由中间体44和中间体7制备中间体30。



[0644] 步骤1

[0645] 将100mL碳酸氢钠水溶液加入到溶于二氯甲烷(100mL)的5.17g (27.3mmol) 5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯胺(中间体44)的溶液中。在室温下将2.2mL (28.7mmol) 硫光气逐滴加入到剧烈搅拌的混合物中并继续搅拌1小时。用二氯甲烷稀释反应混合物并用水洗涤。将水层再用另外的二氯甲烷洗涤并将合并的有机萃取液用盐水洗涤,用硫酸钠干燥并浓缩以得到5.59g (89%) 深红色油状物4-(二氟甲氧基)-2-异硫氰基-1-甲氧基苯。

[0646] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : δ [ppm] = 3.90 (s, 3H) , 6.40 (t, 1H) , 6.85 (d, 1H) , 6.91 (d, 1H) , 7.01 (dd, 1H)

[0647] UPLC (方法6) 0.89min

[0648] 步骤2

[0649] 将溶于50mL乙醇的5.59g (24.2mmol) 4-(二氟甲氧基)-2-异硫氰基-1-甲氧基苯和1.55g (24.2mmol) 氰基氨基一钠的溶液在回流下搅拌1小时。使悬浮液冷却并真空浓缩。将所得的残留物用二乙醚研磨以得到淡紫色固体,将该固体通过过滤收集,再用二乙醚洗涤以得到5.79g (81%) 淡紫色固体氰基{[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]硫代甲脒基}叠氮化钠。

[0650] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ [ppm] = 3.80 (s, 3H) , 6.65 (dd, 1H) , 6.92 (d, 1H) , 6.99

(t, 1H), 7.87 (s, 1H), 8.20 (d, 1H)

[0651] UPLC (方法6) 0.56min

[0652] MS (ESI): $[M-Na]^- = 272.01$

[0653] 步骤3

[0654] 将7.07g (36.9mmol) N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐和5.79g (18.4mmol) 氰基{[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]硫代甲脒基}叠氮化钠(中间体44)依次加入到溶于100mL N,N-二甲基甲酰胺的8.16g (27.6mmol) rac-(3-[3,4-二氯苯基]-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基)氨基甲酸烯丙酯(中间体7)的溶液中。将深褐色溶液在室温下搅拌过夜。将溶液用50mL 乙酸乙酯稀释,用25mL 10%柠檬酸水溶液洗涤,然后用盐水(3×25mL)洗涤。将有机层用硫酸钠干燥并浓缩为褐色固体。使用二氯甲烷和二乙醚研磨得到了固体,将该固体通过过滤收集并再用二乙醚洗涤以得到3.66g (36%) 膏状固体rac-[1-{N'-氰基-N-[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯。

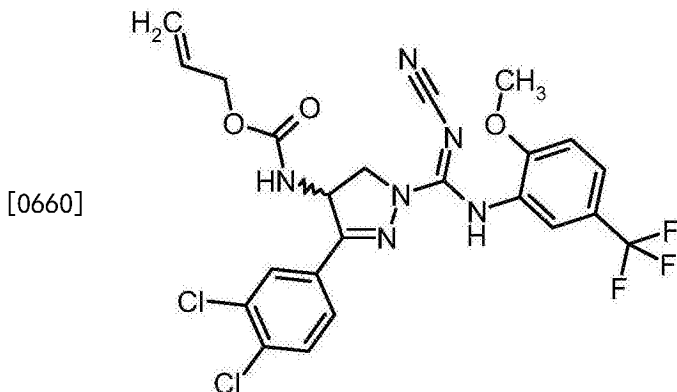
[0655] 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 3.79 (s, 3H), 3.93 (dd, 1H), 4.31 (t, 1H), 4.43-4.49 (m, 2H), 5.10-5.19 (m, 1H), 5.49-5.57 (m, 1H), 5.79-5.89 (m, 1H), 7.08-7.11 (m, 3H), 7.13 (s, 1H), 7.74-7.75 (m, 2H), 8.14 (s, 1H), 8.15-8.18 (m, 2H), 9.53 (br s, 1H)

[0656] UPLC (方法6) 0.90min

[0657] MS (ESI): $[M-Na]^- = 553.13$

[0658] 中间体31

[0659] Rac-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯



[0661] 从2-甲氧基-5-(三氟甲基)苯胺和中间体7起始,如中间体30所述来制备中间体31以得到rac-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯(42%,经三步)。

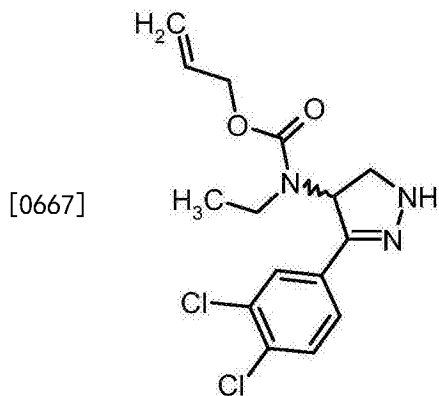
[0662] 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 3.88 (s, 3H), 3.90-3.96 (m, 1H), 4.31 (t, 1H), 4.43-4.51 (m, 2H), 5.10-5.19 (m, 1H), 5.51-5.58 (m, 1H), 5.80-5.89 (m, 1H), 7.26 (d, 1H), 7.57 (d, 1H), 7.65 (dd, 1H), 7.73-7.78 (m, 2H), 8.14 (s, 1H), 8.17 (d, 1H), 9.62 (br s, 1H)

[0663] UPLC (方法6): R_t 0.92min

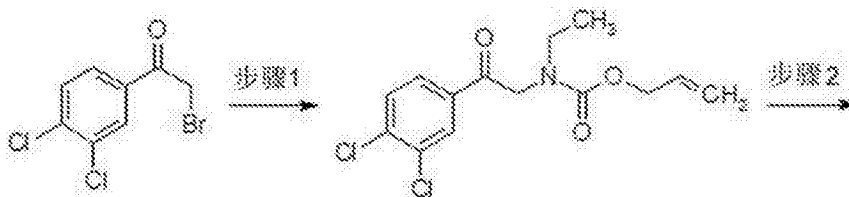
[0664] MS (ESI): $[M-H]^- = 553.09$

[0665] 中间体32

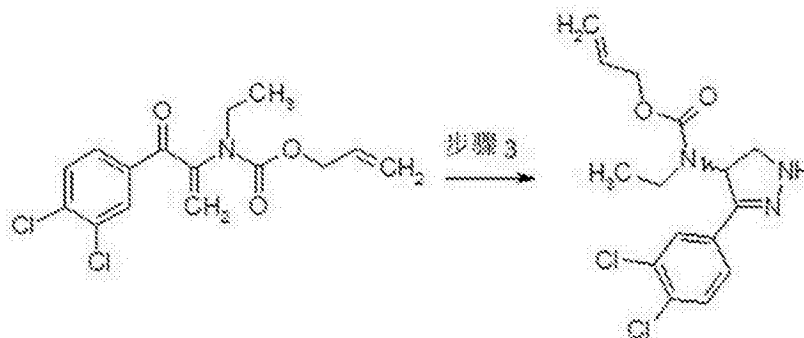
[0666] Rac-[3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]乙基氨基甲酸烯丙酯



[0668] 根据以下方案,由中间体2起始来合成中间体32。



[0669]



[0670] 步骤1

[0671] 将乙胺 (2M于四氢呋喃中) (187ml) 加入到2-溴-1-(4-氯-3-甲基苯基) 乙酮 (中间体2) (20g, 74, 6mmol) 中。使混合物冷却至-50℃, 加入氯甲酸烯丙酯 (18g)。将反应在室温下搅拌16h。

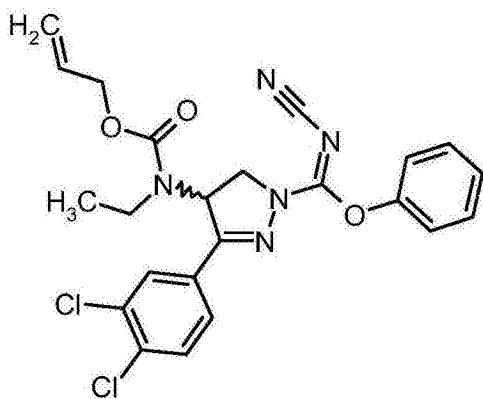
[0672] 如中间体7所述进行步骤2和3, 以得到N-乙基化的类似物Rac-[3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]乙基氨基甲酸烯丙酯。

[0673] MS (ESI) : [M+H]⁺ = 342.1

[0674] 中间体33

[0675] Rac-4-[[(烯丙氧基) 羰基] (乙基) 氨基]-N-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲亚胺酸苯酯

[0676]



[0677] 类似于由中间体7制备中间体9,由中间体32来制备中间体33。得到乳白色固体 Rac-4-[[(烯丙氧基) 羰基] (乙基) 氨基]-N-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲亚胺酸苯酯。

[0678] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d₆) : δ [ppm] = 1.02 (m, 3H) , 3.21 (m, 1H) , 3.48 (m, 1H) , 4.24 (d, 1H) , 4.50-4.64 (m, 3H) , 5.12-5.32 (m, 2H) , 5.78-5.95 (m, 2H) , 7.24-7.37 (m, 3H) , 7.48 (t, 2H) , 7.71 (m, 1H) , 7.84 (d, 1H) , 7.93 (m, 1H) .

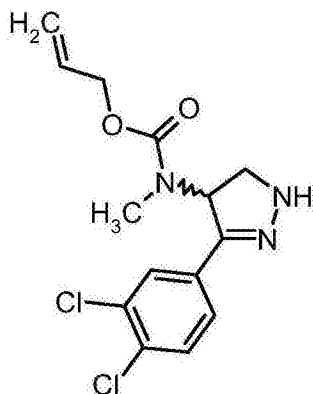
[0679] LCMS (方法4) : Rt 3.32min

[0680] MS (ESI) : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 486.1$

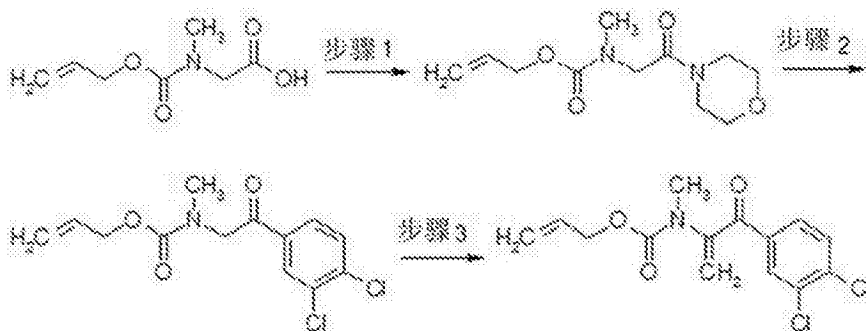
[0681] 中间体34

[0682] Rac-[3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]甲基氨基甲酸烯丙酯

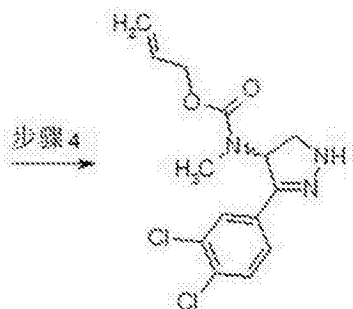
[0683]



[0684] 根据以下方案,由中间体2起始来合成中间体32。



[0685]



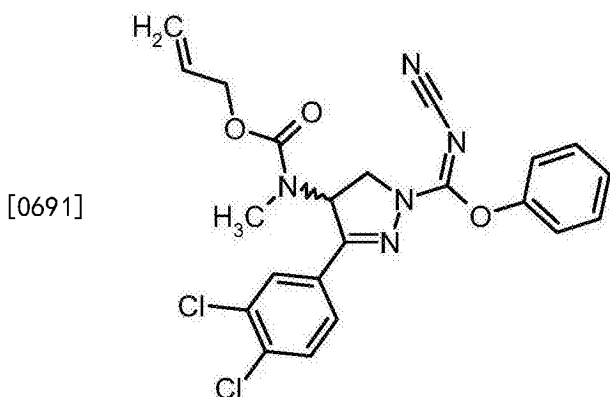
[0686] 类似于Org.Process Res.Dev.2012,16,982-1002 (第989页,方案10)中所述来进行步骤1和2,使用Alloc-保护的肌氨酸代替Boc-保护的肌氨酸来起始,并使用4-溴-1,2-二氯苯代替4-溴-1-氟-2-(三氟甲基)苯以制备格氏试剂。

[0687] 如中间体7所述进行步骤3和4,以得到N-甲基化的类似物Rac-[3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]甲基氨基甲酸烯丙酯。

[0688] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 328.1$

[0689] 中间体35

[0690] Rac-4-{[(烯丙氧基)羰基](甲基)氨基}-N-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲亚胺酸苯酯



[0691]

[0692] 类似于由中间体7制备中间体9,由中间体34来制备中间体35。得到乳白色固体Rac-4-{[(烯丙氧基)羰基](甲基)氨基}-N-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲亚胺酸苯酯。

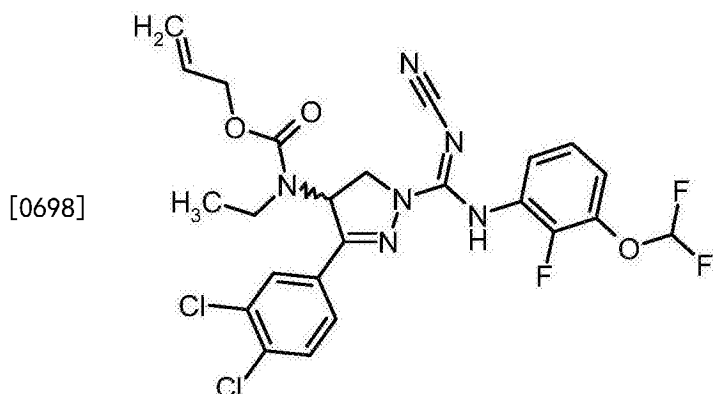
[0693] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) : δ [ppm] = 2.75 (s, 3H), 4.35 (dd, 1H), 4.48 (t, 1H), 4.55-4.70 (m, 2H), 5.14-5.40 (m, 2H), 5.93 (m, 1H), 6.17 (m, 1H), 7.27-7.37 (m, 3H), 7.48 (t, 2H), 7.70 (m, 1H), 7.84 (d, 1H), 7.90 (m, 1H).

[0694] LCMS (方法4) : R_t 3.19min

[0695] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 472.1$

[0696] 中间体36

[0697] Rac-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-2-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]乙基氨基甲酸烯丙酯



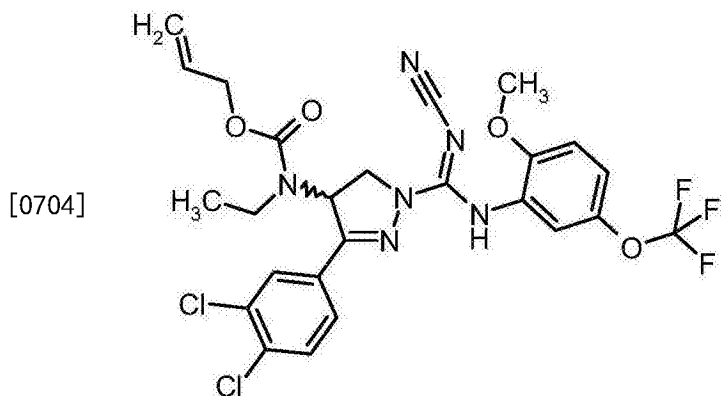
[0699] 根据所述的合成中间体12的方法,由中间体33制备中间体36。在该情况中,将3-(二氟甲氧基)-2-氟苯胺用作苯胺代替3-(二氟甲氧基)苯胺。不进行纯化而直接使用粗产物。

[0700] LCMS (方法2) : R_t 1.19min

[0701] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 568.7$

[0702] 中间体37

[0703] Rac-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]乙基氨基甲酸烯丙酯



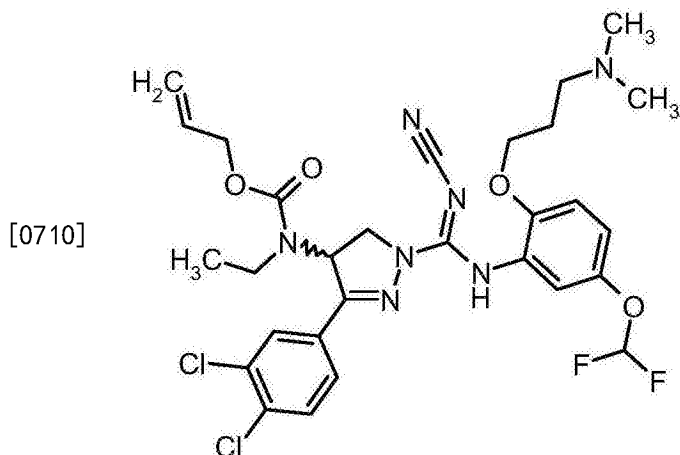
[0705] 根据所述的合成中间体12的方法,由中间体33制备中间体37。在该情况中,将2-甲氧基-5-(三氟甲氧基)苯胺用作苯胺代替3-(二氟甲氧基)苯胺。将粗产物用二乙醚处理。将悬浮液搅拌10min,然后将固体过滤并干燥以得到所需产物。

[0706] LCMS (方法2) : R_t 1.53min

[0707] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 599.3$

[0708] 中间体38

[0709] Rac-[1-(N'-氰基-N-{5-(二氟甲氧基)-2-[3-(二甲基氨基)丙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]乙基氨基甲酸烯丙酯



[0711] 根据所述的合成中间体12的方法,由中间体33制备中间体38。在该情况中,将5-(二氟甲氧基)-2-[3-(二甲基氨基)丙氧基]苯胺用作苯胺代替3-(二氟甲氧基)苯胺。直接使用粗产物而不进行纯化。

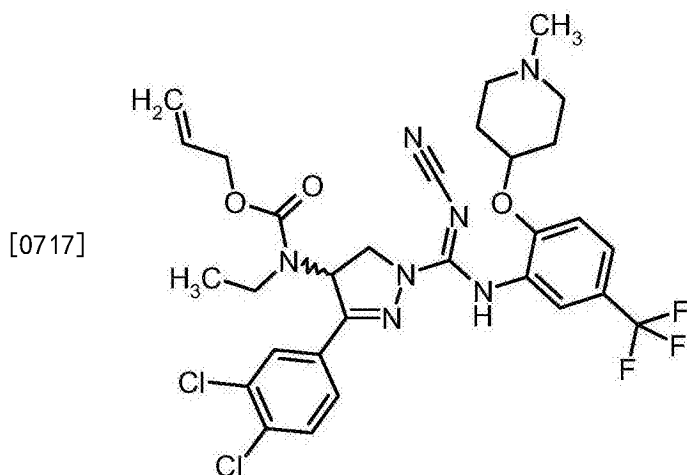
[0712] 随后的alloc-去保护的rac-N'-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-N-{5-(二氟甲氧基)-2-[3-(二甲基氨基)丙氧基]苯基}-4-(乙基氨基)-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲脒的分析数据:

[0713] LCMS(方法2): R_t 1.50min

[0714] MS(ESI): $[M+H]^+=569.9$

[0715] 中间体39

[0716] Rac-[1-(N'-氰基-N-{2-[(1-甲基哌啶-4-基)氧基]-5-(三氟甲基)苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]乙基氨基甲酸烯丙酯



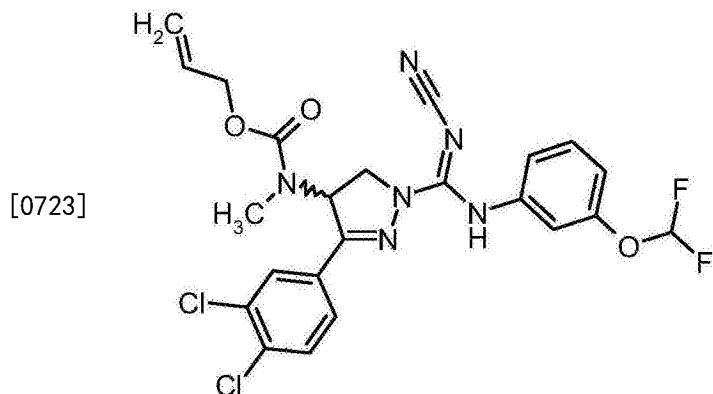
[0718] 根据所述的合成中间体12的方法,由中间体33制备中间体39。在该情况中,将2-[(1-甲基哌啶-4-基)氧基]-5-(三氟甲基)苯胺用作苯胺代替3-(二氟甲氧基)苯胺。直接使用粗产物。

[0719] LCMS(方法2): R_t 1.50min

[0720] MS(ESI): $[M+H]^+=666.4$

[0721] 中间体40

[0722] Rac-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]甲基氨基甲酸烯丙酯



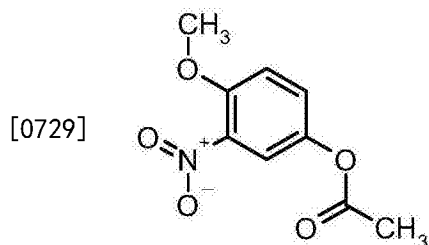
[0724] 根据所述的合成中间体12的方法,由中间体34来制备中间体40。

[0725] LCMS (方法1) :R_t 1.36min

[0726] MS (ESI) : [M+H]⁺ = 536.8

[0727] 中间体41

[0728] 4-甲氧基-3-硝基苯乙酸酯



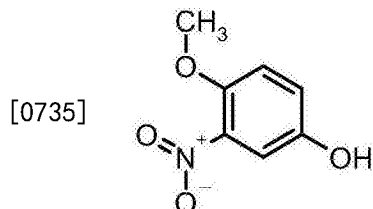
[0730] 在室温下,将100mL乙酸酐加入到溶于100mL乙酸的24.8g (0.2mol) 4-甲氧基苯酚 (CAS:150-76-5) 的溶液中。将淡黄色溶液在100℃下搅拌3.5小时。使溶液冷却至0℃并在10分钟内缓慢加入20mL 70%硝酸,溶液升温。将橙色溶液在0℃下搅拌1小时,沉淀出固体。加入100mL水,通过过滤收集固体并再用水洗涤以得到47.25g (112%,水仍然存在) 膏状固体4-甲氧基-3-硝基苯乙酸酯。进行下一步骤而不进行进一步干燥。

[0731] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) : δ [ppm] = 2.30 (s, 3H) , 3.95 (s, 3H) , 7.08 (d, 1H) , 7.30 (dd, 1H) , 7.65 (d, 1H)

[0732] UPLC (方法6) :R_t 0.69min

[0733] 中间体42

[0734] 4-甲氧基-3-硝基酚



[0736] 将47.25g (200mmol) 4-甲氧基-3-硝基苯乙酸酯悬浮于800mL乙醇中并冷却至0℃。缓慢加入220mL 1M氢氧化钠水溶液,淡黄色悬浮液变成了深红色溶液。搅拌1小时,使溶液升温到室温。用乙酸终止反应以得到淡橙色溶液。将溶液在盐水和乙酸乙酯之间分配,将水层再用乙酸乙酯洗涤。将合并的有机萃取物再用盐水洗涤,用硫酸钠干燥并浓缩为暗橙色油状物,该油状物静置后结晶以得到30.97g (92%) 4-甲氧基-3-硝基苯酚。

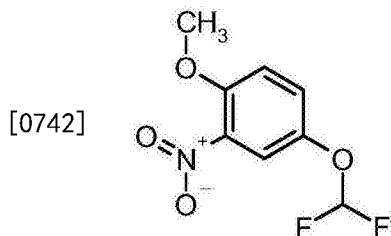
[0737] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) : δ [ppm] = 3.90 (s, 3H) , 5.54 (br s, 1H) , 6.98 (d, 1H) , 7.07 (dd, 1H) , 7.38 (d, 1H)

[0738] UPLC (方法6) : R_t 0.47min

[0739] MS (ESI) : $[\text{M}-\text{H}]^- = 167.95$

[0740] 中间体43

[0741] 4-(二氟甲氧基)-1-甲氧基-2-硝基苯



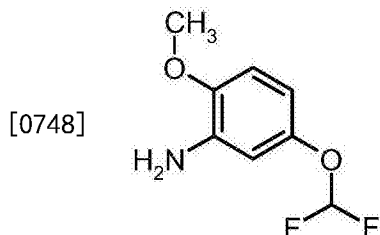
[0743] 使用氩气将溶于150mL N,N-二甲基甲酰胺的10.0g (59.1mmol) 4-甲氧基-3-硝基苯酚的溶液脱气20分钟。加入38.5g (118.2mmol) 碳酸铯, 橙色溶液变成了暗红色悬浮液。加入18.0g (118.2mmol) 氯二氟乙酸钠并在100℃下将悬浮液搅拌1.5小时, 形成了淡褐色悬浮液。用水稀释并用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤3次, 用硫酸镁干燥并浓缩为淡褐色固体。将该固体用甲醇研磨并通过过滤收集膏状固体。将滤液浓缩为深褐色油状物 (6.60g)。通过在硅胶60上的干快速柱色谱法 (庚烷: 乙酸乙酯4:1至1:1) 进行纯化得到了黄色油状物, 该油状物静置后固化为4.65g (36%) 4-(二氟甲氧基)-1-甲氧基-2-硝基苯。

[0744] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) : δ [ppm] = 3.96 (s, 3H) , 6.48 (t, 1H) , 7.08 (d, 1H) , 7.36 (dd, 1H) , 7.67 (d, 1H)

[0745] UPLC (方法6) : R_t 0.74min

[0746] 中间体44

[0747] 5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯胺



[0749] 将溶于100mL乙酸乙酯的6.43g (29.3mmol) 4-(二氟甲氧基)-1-甲氧基-2-硝基苯和33.1g (146.7mmol) 二水合氯化亚锡(II)的悬浮液加热至回流, 持续2.5小时。将反应混合物倒入200mL碳酸钾水溶液中。将所得悬浮液通过硅藻土垫过滤并用乙酸乙酯洗涤。分离两相的滤液并将水相用乙酸乙酯洗涤。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 用硫酸钠干燥并浓缩以得到5.17g (93%) 紫色油状物5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯胺。

[0750] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) : δ [ppm] = 3.83 (s, 3H) , 3.88 (br s, 2H) , 6.38 (t, 1H) , 6.46 (dd, 1H) , 6.50 (d, 1H) , 6.69 (d, 1H)

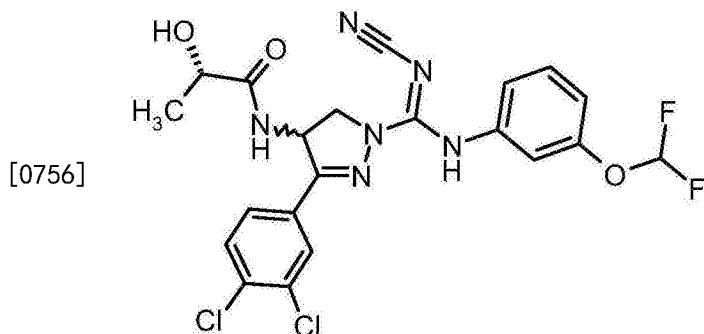
[0751] UPLC (方法6) : R_t 0.68min

[0752] MS (ESI) : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 190.05$

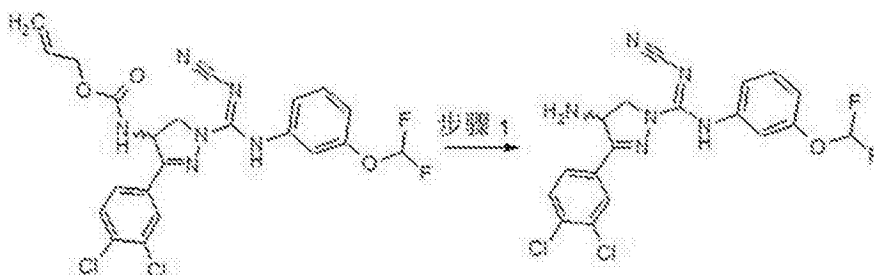
[0753] 制备本发明化合物的实施例:

[0754] 实施例1

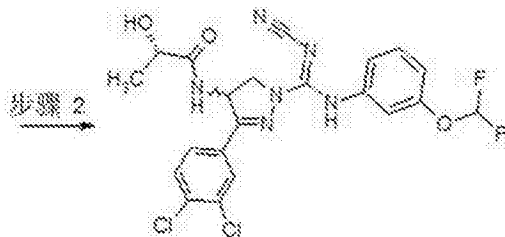
[0755] (2S)-N-[1-[N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-2-羟基丙酰胺(非对映异构体的1:1混合物)



[0757] 根据以下方案由中间体12起始来制备实施例1:



[0758]



[0759] 步骤1

[0760] 将17.0g (108mmol) 1,3-二甲基巴比妥酸加入到溶于脱气的四氢呋喃(370mL)的14.2g (27.0mmol) rac-[1-[N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]氨基甲酸烯丙酯(中间体12)的搅拌溶液中,然后加入2.40g (2.16mmol) 四(三苯基膦)钼0。将反应混合物在氩气下搅拌15分钟,然后用饱和的碳酸氢钠溶液(400mL)小心地终止并用乙酸乙酯(400mL)萃取。将有机层用盐水溶液(200mL)洗涤,然后用硫酸镁干燥、过滤并将溶剂蒸发以得到粗橙色油状物。将粗物质通过干快速柱色谱法进行纯化(洗脱液:乙酸乙酯-庚烷1:1,2:1;乙酸乙酯;甲醇-乙酸乙酯0.01:1)以得到9.3g (78%) 橙色油状物4-氨基-N'-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲脒。

[0761] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) : δ [ppm] = 3.95-4.02 (m, 在乙酸乙酯信号下1H), 4.35 (dd, 1H), 4.80 (dd, 1H), 6.98 (dd, 1H), 7.19 (t, 1H), 7.21 (t, 1H), 7.23 (dd, 1H), 7.38 (t, 1H), 7.48-7.61 (m, 1H), 7.72 (d, 1H), 8.00 (dd, 1H), 8.31 (d, 1H), 9.67 (br s, 1H);

[0762] LCMS (方法3) : R_t 1.65min MS (ESI) : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 439.1$

[0763] 步骤2

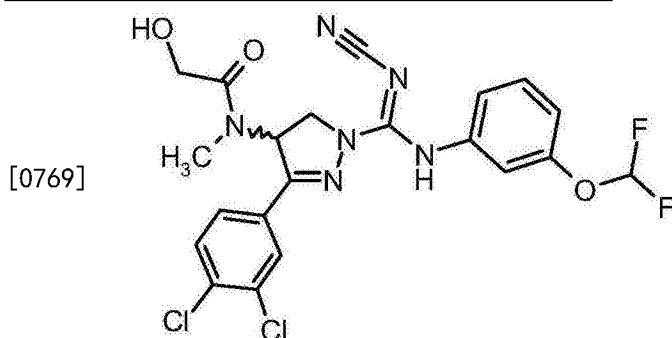
[0764] 将260mg (683 μ mol) 1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶盐 3-氧化物六氟磷酸盐 (HATU, CAS No.148893-10-1) 加入到溶于N,N-二甲基甲酰胺 (2ml) 的 L-乳酸 (61.5mg, 683 μ mol) 的溶液中, 然后加入N-甲基吗啉 (150 μ l, 1.37mmol), 将混合物搅拌30min。加入溶解于N,N-二甲基甲酰胺 (1ml) 的rac-4-氨基-N'-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲脒 (150mg, 341 μ mol), 并在室温下搅拌12h。将反应混合物用碳酸钾 (25mg) 和甲醇 (2ml) 处理1h。将固体滤出, 并将滤液真空浓缩。通过制备型HPLC (溶于水的乙腈的梯度) 纯化残余物以得到5mg (3%) 所需产物。

[0765] LCMS (方法5): R_t 1.18min

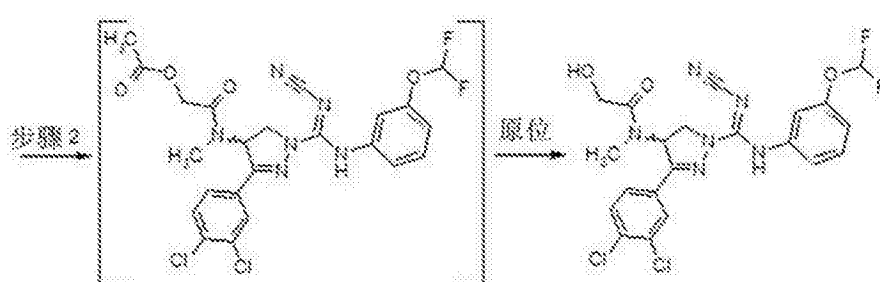
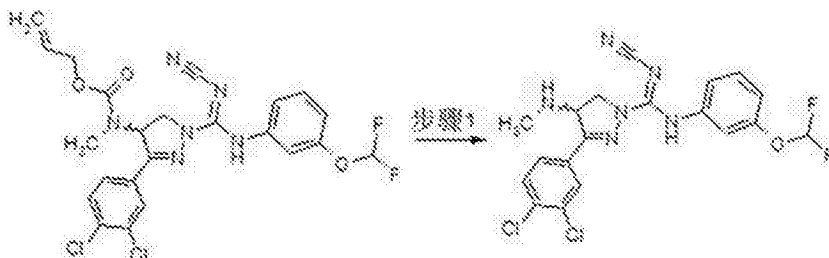
[0766] MS (ESI): $[M+H]^+ = 510.9$

[0767] 实施例2

[0768] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-2-羟基-N-甲基乙酰胺



[0770] 根据以下方案由中间体40起始来制备实施例2:



[0772] 步骤1

[0773] 将508mg (3.3mmol) 1,3-二甲基巴比妥酸加入到溶于四氢呋喃 (12mL) 的875mg (1.6mmol) rac-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]甲基氨基甲酸烯丙酯 (中间体40) 的搅拌溶液中, 然后加入56.5mg (0.05mmol) 四(三苯基膦)钯。将反应混合物在氩气下搅拌1小时, 然后用饱和的碳酸氢钠溶液 (400mL) 小心地终止并用乙酸乙酯 (400mL) 萃取。将有机层用盐水溶液 (200mL) 洗涤, 然后用硫酸镁干燥、过滤并将溶剂蒸发。将粗物质在二乙醚中 (10mL) 中搅拌、过滤并干燥以得到

粗rac-N'-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]-4-(甲基氨基)-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲脒(902mg),将其用于下一步骤而不进行进一步纯化。

[0774] LCMS(方法5): R_t 1.29min

[0775] MS(ESI): $[M+H]^+$ =452.8

[0776] 步骤2

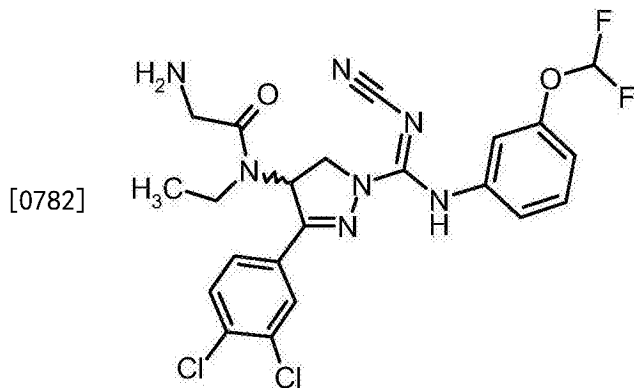
[0777] 将饱和碳酸氢钠水溶液(12mL)加入到溶于二氯甲烷(12mL)的246mg(0.54mmol) rac-N'-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]-4-(甲基氨基)-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲脒中。剧烈搅拌双相混合物,并冷却到0°C,在15min内逐滴加入溶于3mL二氯甲烷的乙酰氧基乙酰氯(111mg,0.81mmol)。将混合物在0°C下搅拌30分钟。通过蒸发去除二氯甲烷以得到油状含水悬浮液,向其中加入150mg(1.1mmol)碳酸钾,然后加入甲醇(4mL)。使反应混合物回流30min,然后使其冷却至室温。在冷却后,rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-2-羟基-N-甲基乙酰胺以白色固体从溶液中沉淀出,将该沉淀过滤并经柱色谱法(反相,水,乙腈)纯化以得到37mg(13%)所需产物。

[0778] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm]=2.69 (s, 3H), 4.09 (d, 2H), 4.20 (dd, 1H), 4.39 (t, 1H), 4.77 (t, 1H), 6.37 (br. s., 1H), 6.98 (d, 1H), 7.19 (s, 1.25H), 7.20-7.26 (m, 1.5H), 7.39-7.44 (m, 1.25H), 7.63 (dd, 1H), 7.76 (d, 1H), 8.05-8.15 (m, 1H), 9.25 (br. s., 1H) .

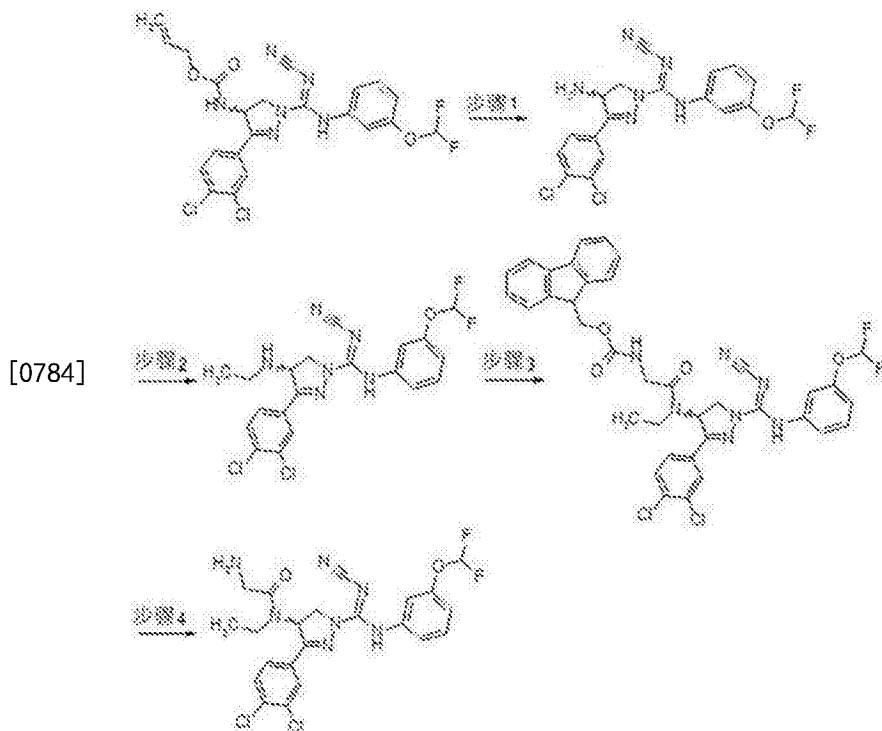
[0779] MS(ESI): $[M+H]^+$ =511

[0780] 实施例3

[0781] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基甘氨酸酰胺



[0783] 根据以下方案由中间体12起始来制备实施例3:



[0785] 步骤1

[0786] 如实施例1所述。

[0787] 步骤2

[0788] 将1.12g (25.4mmol) 乙醛加入到0°C的溶于甲醇(170mL)的9.30g (21.2mmol) rac-4-氨基-N'-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲脒的搅拌溶液中,然后在20分钟内分批加入0.96g (25.4mmol) 硼氢化钠。将反应混合物搅拌30分钟,然后倒入(100mL)饱和碳酸氢钠水溶液中。通过蒸发去除甲醇,将所得的含水浆液用乙酸乙酯(2x100mL)萃取。将有机层合并并用盐水溶液(100mL)洗涤,用硫酸镁干燥、过滤并将溶剂蒸发以得到粗黑色油状物。将粗物质经干快速柱色谱法(洗脱液:乙酸乙酯-庚烷1:1,2.1;乙酸乙酯)纯化以得到黑色油状物,将该油状物用二乙醚研磨以得到7.40g (75%) 灰色固体rac-N'-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]-4-(乙基氨基)-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲脒。

[0789] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 0.98 (t, 3H), 2.40-2.64 (m, 2H, 部分在DMSO信号下), 4.16-4.27 (m, 2H), 4.83 (dd, 1H), 6.98 (dd, 1H), 7.20 (d, 1H), 7.21 (t, 1H), 7.25 (dd, 1H), 7.39 (t, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.97 (dd, 1H), 8.29 (d, 1H), 9.71 (br s, 1H)

[0790] LCMS (方法3): R_t 1.80min

[0791] MS (ESI): $[M+H]^+ = 467.18$

[0792] 步骤3

[0793] 将Fmoc-甘氨酸(382mg, 1.3mmol)、HATU(488mg, 1.3mmol)和4-甲基吗啉(0.28mL, 2.6mmol)加入到溶于DMF(15mL)的rac-N'-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]-4-(乙基氨基)-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲脒(300mg, 0.64mmol)的溶液中。将溶液在室温下搅拌4h。将反应混合物倒入至水(25mL)中,将混合物用乙酸乙酯(3x50mL)萃取。将有机相用硫酸镁干燥并真空浓缩。残余物在以下反应中直接使用。

[0794] 步骤4

[0795] 将步骤3的粗产物溶解于二氯甲烷 (20mL) 中并加入哌啶 (0.8mL)。将反应在室温下搅拌1.5h。加入水 (10mL), 并将水相用乙酸乙酯 (3x20mL) 萃取。将合并的有机相用盐水洗涤, 用硫酸镁干燥并浓缩。将粗产物通过色谱法 (RP, 水+0.1%氨水, 乙腈) 纯化以得到rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基甘氨酸酰胺 (150mg, 45%)。

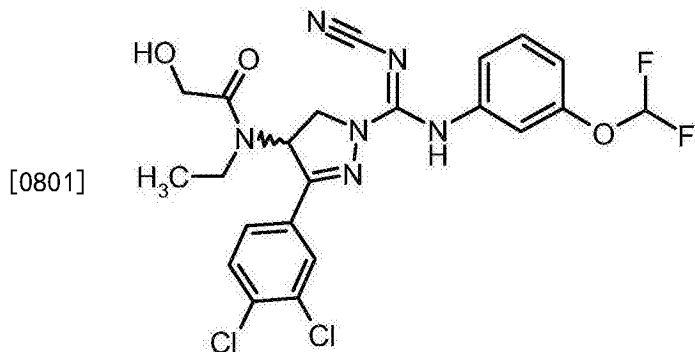
[0796] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.07-1.22 (m, 3H), 3.77-3.98 (m, 2H), 4.15 (dd, 1H), 4.55 (t, 1H), 7.02-7.07 (m, 1.25H), 7.21 (t, 1H), 7.23-7.29 (m, 1.5H), 7.41-7.47 (m, 1.25H), 7.68 (dd, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.90-8.03 (m, 3H), 8.16 (d, 1H), 9.86 (s, 1H); 3H, 被溶剂信号和水信号遮盖。

[0797] LCMS (方法2): R_t 1.12min

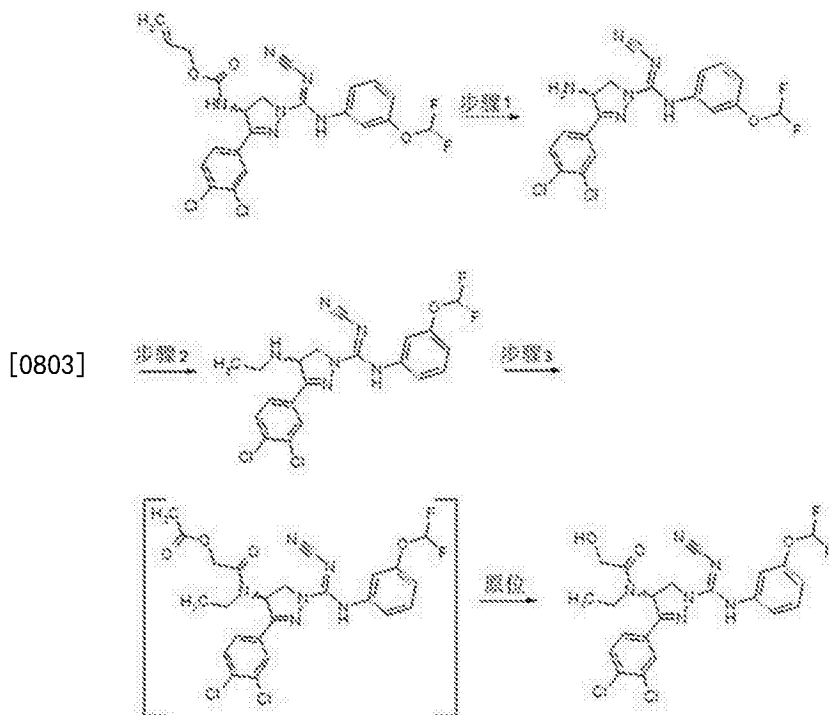
[0798] MS (ESI): $[M+H]^+ = 523.8$

[0799] 实施例4

[0800] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



[0802] 根据以下方案由中间体12起始来制备实施例4:



[0804] 步骤1

[0805] 如实施例1所述。

[0806] 步骤2

[0807] 如实施例3所述。

[0808] 步骤3

[0809] 将72mL饱和碳酸氢钠水溶液加入到溶于62mL二氯甲烷的7.24g (15.5mmol) rac-N'-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]-4-(乙基氨基)-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲脒中。将两相的混合物剧烈搅拌并冷却至5°C,在15min内逐滴加入溶于10mL二氯甲烷的2.50mL (23.2mmol) 乙酰氧基乙酰氯。将反应混合物在5°C搅拌10min,然后LC分析(仅一个主峰)显示原料全部消耗。通过蒸发去除二氯甲烷以得到油状含水悬浮液,向其中加入4.28g (31.0mmol) 碳酸钾,然后加入110mL甲醇。使反应混合物回流5min,然后使其冷却至室温。在冷却后,rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺以白色固体从溶液中沉淀出,将该固体过滤、用水(50mL)和二乙醚(50mL)洗涤。将沉淀真空干燥以得到7.58g (93%) 白色粉末的所需产物。

[0810] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 0.98-1.10 (m, 3H), 3.42-3.17 (m, 2H, 部分在水信号下), 3.94-4.17 (m, 3H), 4.46 (dd, 1H), 4.75 (dd, 1H), 6.98 (dd, 1H), 7.18 (t, 1H), 7.22 (dd, 1H), 7.23 (t, 1H), 7.40 (t, 1H), 7.62 (dd, 1H), 7.72 (d, 1H), 8.11 (d, 1H), 9.85 (br s, 1H)

[0811] UPLC (方法6): R_t 0.58min

[0812] MS (ESI): [M+H]⁺ = 525

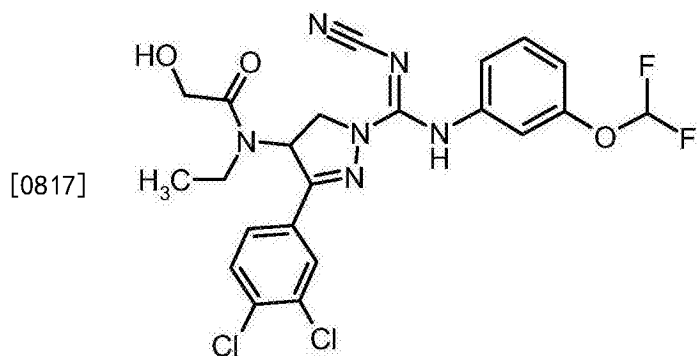
[0813] 通过手性SFC将实施例4分离为其对映异构体:

[0814]

系统:	Sepiatec:Prep SFC100,
柱:	Chiralpak ID 5 μ m 250x20mm
溶剂:	CO ₂ /丙-2-醇7/3
流速:	80mL/min
温度:	40°C
检测:	UV 254nm
实施例编号	以min计的R _t
4.1	3,35-4,40
4.2	7,31-9,00

[0815] 实施例4.1

[0816] N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体1

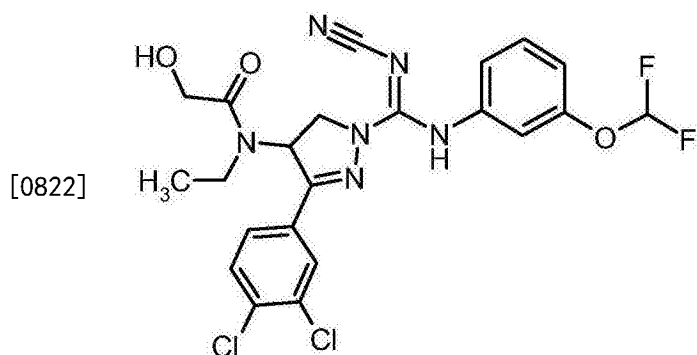


[0818] Chiralpak ID 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/2-丙醇7/3), R_t 2.41min

[0819] $[\alpha]_D = -102^\circ$ (c:0.44, MeOH)

[0820] 实施例4.2

[0821] N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体2

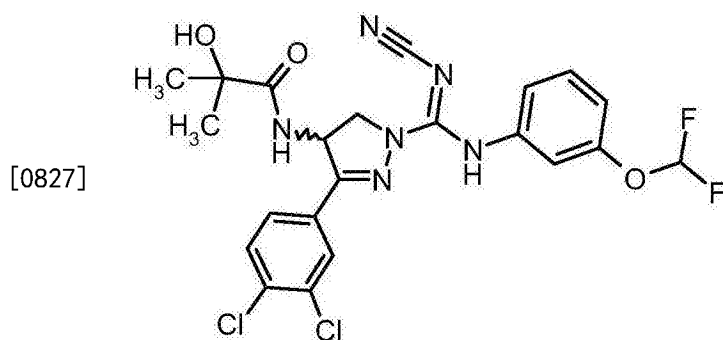


[0823] Chiralpak ID 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/2-丙醇7/3), R_t 5.66min

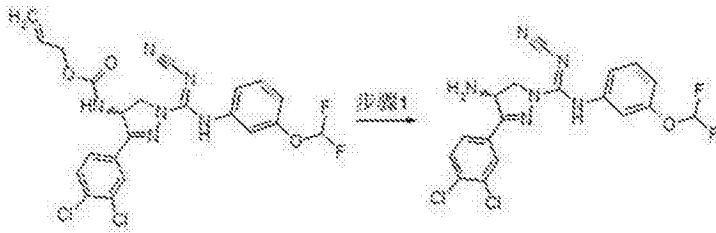
[0824] $[\alpha]_D = +96^\circ$ (c:0.25, MeOH)

[0825] 实施例5

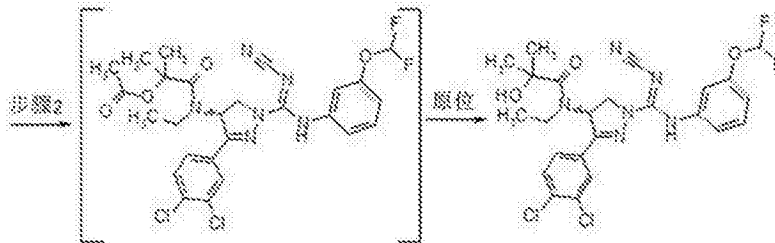
[0826] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-2-羟基-2-甲基丙酰胺



[0828] 根据以下方案由中间体12制备实施例5:



[0829]

[0830] 步骤1

[0831] 如实施例1所述。

[0832] 步骤2

[0833] 类似于实施例4(步骤3)来进行步骤2,通过使rac-4-氨基-N'-氰基-3-(3,4-二氯苯基)-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲脒与乙酰氧基异丁酰氯反应,然后去除乙酰基,以得到所需产物。

[0834] $^1\text{H NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 1.16 (s, 3H), 1.17 (s, 3H), 3.74-3.82 (m, 1H), 4.11-4.22 (m, 1H), 5.64-5.75 (m, 1H), 6.78-6.84 (m, 1H), 6.95 (s, 0.25H), 7.19 (s, 0.5H), 7.29-7.37 (m, 1H), 7.44 (s, 0.25H), 7.51-7.63 (m, 3H), 7.70-7.75 (m, 1H), 7.82 (d, J = 2.07Hz, 1H), 8.11 (d, J = 1.88Hz, 1H), 8.71 (d, J = 9.23Hz, 1H), 9.28 (s, 1H) .

[0835] LCMS (方法2) : R_t = 1.22min[0836] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 525.1$

[0837] 通过手性SFC将实施例5分离为其对映异构体:

[0838]

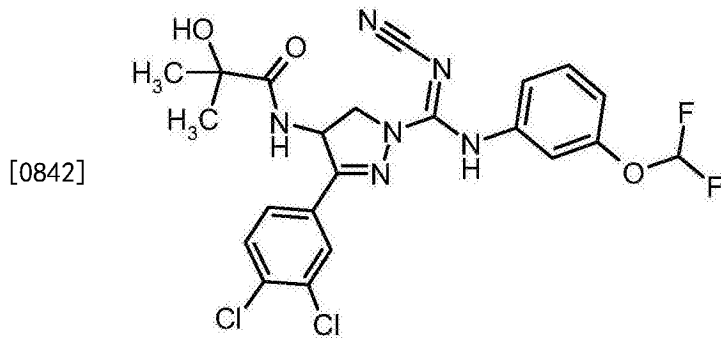
系统:	Sepiatec: Prep SFC100.
柱:	Chiralpak ID 5 μ m 250x20 mm
溶剂:	CO ₂ / 2-丙醇+0.4%DEA 8/2
流速:	80 mL/min
温度:	40 $^{\circ}$ C
检测:	UV 254 nm
实施例编号	以 min 计的 R_t
5.1	2.60-3.00

[0839]

5.2	3.40-4.40
-----	-----------

[0840] 实施例5.1

[0841] N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-2-羟基-2-甲基丙酰胺 异构体1

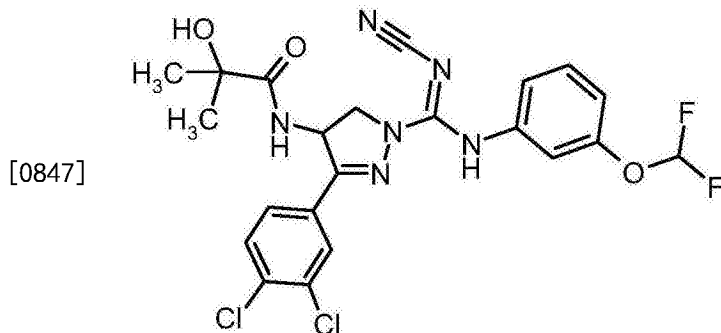


[0843] Chiralpak ID 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/2-丙醇+0.2%二乙胺 8:2) R_t=3.02min

[0844] [α]_D=+14.9° (c:1.0, DMSO)

[0845] 实施例5.2

[0846] N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-2-羟基-2-甲基丙酰胺 异构体2

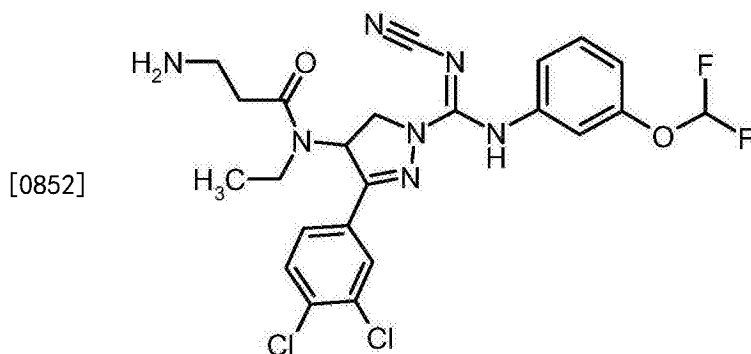


[0848] Chiralpak ID 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/2-丙醇+0.2%二乙胺 8:2) R_t=7.09min

[0849] [α]_D=-23.2 (c:1.0, DMSO)

[0850] 实施例6

[0851] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基- β -丙氨酰胺



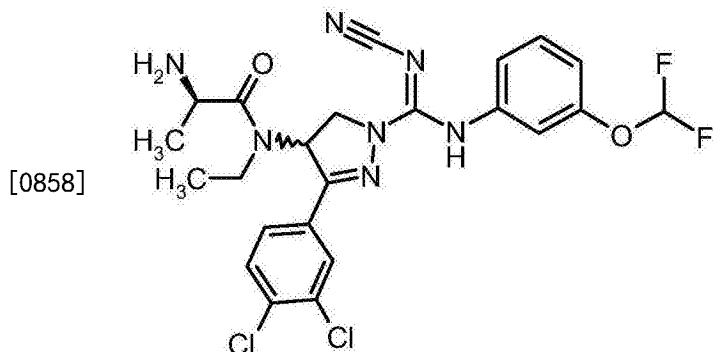
[0853] 类似于实施例3来制备实施例6,使用Fmoc- β -丙氨酸代替Fmoc-甘氨酸用于酰胺偶联。

[0854] LCMS (方法2) : R_t=0.97

[0855] MS (ESI) : [M+H]⁺=538.0

[0856] 实施例7

[0857] N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-D-丙氨酰胺 (非对映异构体的1:1混合物)



[0859] 类似于实施例3来制备实施例7,使用Fmoc-D-丙氨酸代替Fmoc-甘氨酸用于酰胺偶联。

[0860] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) : δ [ppm] = 0.13-0.26 (m, 2H) , 0.35-0.55 (m, 6H) , 2.65 (d, 1H) , 2.85-2.99 (m, 1H) , 3.40 (dd, 1H) , 3.67-3.80 (m, 1H) , 6.03 (t, 1H) , 6.19-6.27 (m, 1H) , 6.41 (t, 1H) , 6.46 (ddd, 1H) , 6.60 (t, 1H) , 6.79 (d, 1H) , 6.85 (dd, 1H) , 7.19-7.29 (m, 1H) ..

[0861] MS (ESI) : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 538$

[0862] 通过手性SFC将实施例7分离为其非对映异构体:

[0863]

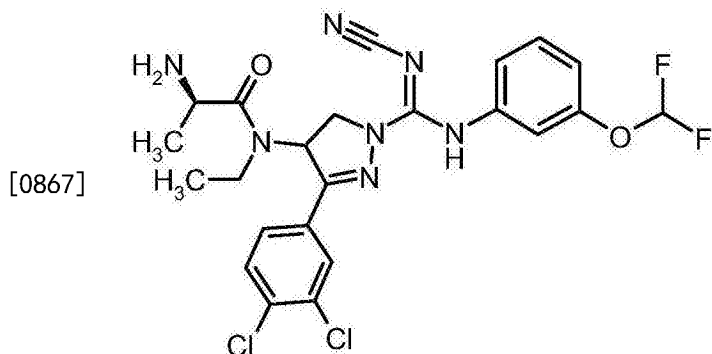
系统:	Seplatec: Prep SFC100,
-----	------------------------

[0864]

柱:	Chiralpak IC 5 μm 250x20 mm
溶剂:	CO_2 / 乙醇+0.4% DEA 7/3
流速:	80 mL/min
温度:	40 $^\circ\text{C}$
检测:	UV 254 nm
实施例编号	以 min 计的 Rt
7.1	2,2 - 4,0
7.2	7,0 - 10,2

[0865] 实施例7.1

[0866] N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-D-丙氨酰胺 异构体1

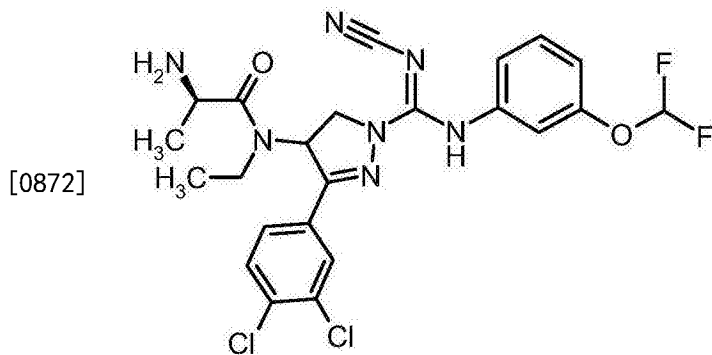


[0868] Chiralpak IC 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/乙醇+0.2%DEA 7/3), R_t 1.80min

[0869] $[\alpha]_D = -60^\circ$ (c:0.30, DMSO)

[0870] 实施例7.2

[0871] N-[1-[N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-D-丙氨酸酰胺 异构体2

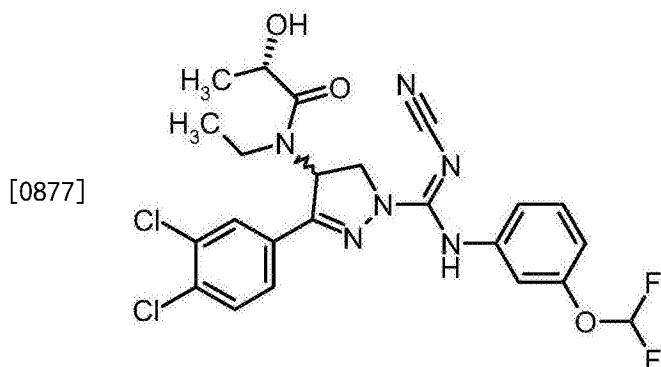


[0873] Chiralpak IC 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/乙醇+0.2%DEA 7/3), R_t 4.77min

[0874] $[\alpha]_D = +56^\circ$ (c:0.20, DMSO)

[0875] 实施例8

[0876] (2S)-N-[1-[N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-2-羟基丙氨酸 (非对映异构体的1:1混合物)



[0878] 类似于实施例4来制备实施例8,使用(2S)-2-[[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基]丙酰氯代替乙酰氧基乙酰氯用于酰胺偶联。所述甲硅烷基通过在室温下用溶于四氢呋喃的2当量N,N,N-四丁基丁-1-氟化铵处理粗的经保护的酰胺45min来去除。将反应混合物浓缩并将残余物通过HPLC(梯度:乙腈于0.1%氨水中)纯化。

[0879] ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆): d [ppm] = 1.08-1.17 (m, 6H), 3.34-3.48 (m, 1H), 3.63

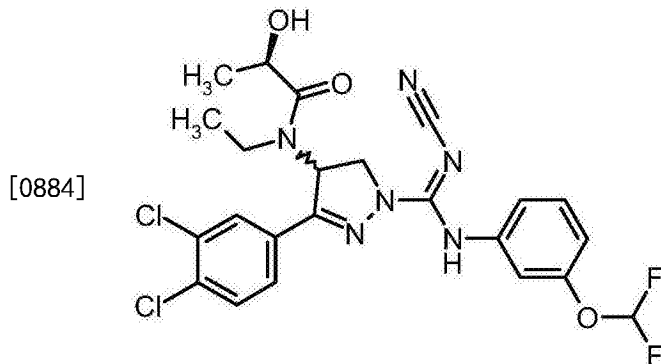
(br.s., 1H), 4.08 (m, 1H), 4.27-4.41 (m, 1H), 4.44-4.58 (m, 1H), 4.98 (d, 0.5H), 5.18 (d, 0.5H), 6.99-7.07 (m, 1.25H), 7.20-7.30 (m, 2.5H), 7.39-7.48 (m, 1.25H), 7.62-7.70 (m, 1H), 7.75 (t, 1H), 8.09 (dd, 1H), 9.84 (br.s., 1H).

[0880] LCMS (方法2) : $R_t = 1.22$

[0881] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 539.1$

[0882] 实施例9

[0883] (2R)-N-[1-[N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基丙酰胺 (非对映异构体的1:1混合物)



[0885] 类似于实施例8来制备实施例9,使用(2R)-2-[[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基]丙酰氯代替乙酰氧基乙酰氯用于酰胺偶联。

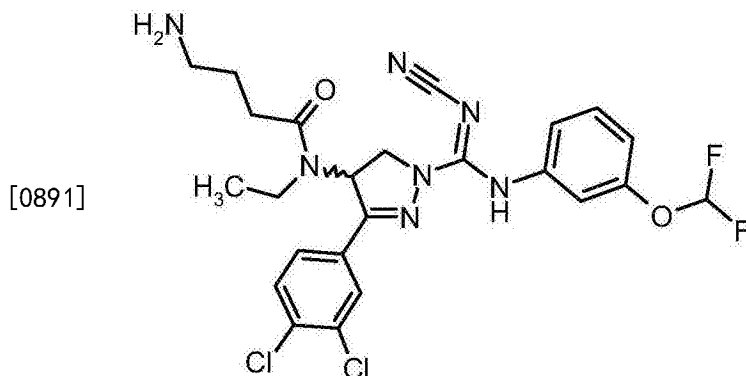
[0886] $^1\text{H-NMR}$ 对应于实施例8。

[0887] LCMS (方法2) : $R_t = 1.22$

[0888] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 539.1$

[0889] 实施例10

[0890] Rac-4-氨基-N-[1-[N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基丁酰胺



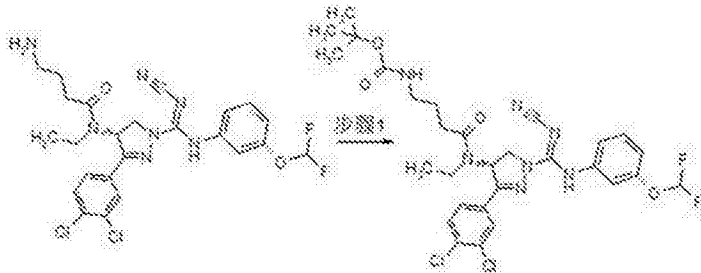
[0892] 类似于实施例3来制备实施例10,使用Fmoc-4-氨基丁酸代替Fmoc-甘氨酸用于酰胺偶联。

[0893] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) : δ [ppm] = 1.03 (t, 3H), 1.57 (m, 2H), 2.26-2.44 (m, 3H), 3.17-3.53 (m, 4H), 4.05 (dd, 1H), 4.36 (m, 1H), 6.84-6.88 (m, 1H), 7.01 (s, 0.25H), 7.09 (m, 2H), 7.19 (s, 0.5H), 7.32 (t, 1H), 7.38 (s, 0.25H), 7.61 (m, 3H), 7.72 (d, 1H), 7.99 (d, 1H).

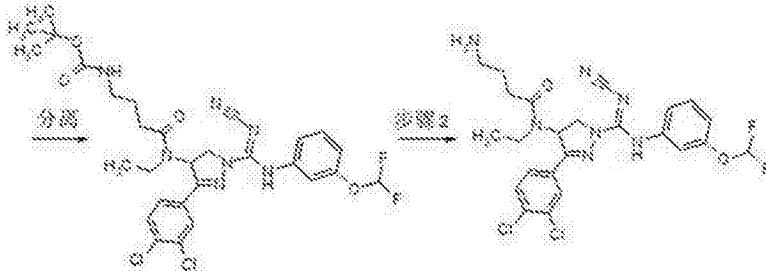
[0894] LCMS (方法2) : $R_t = 1.25\text{min}$

[0895] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 552.1$

[0896] 随后通过以下顺序将实施例10分离为其对映异构体:



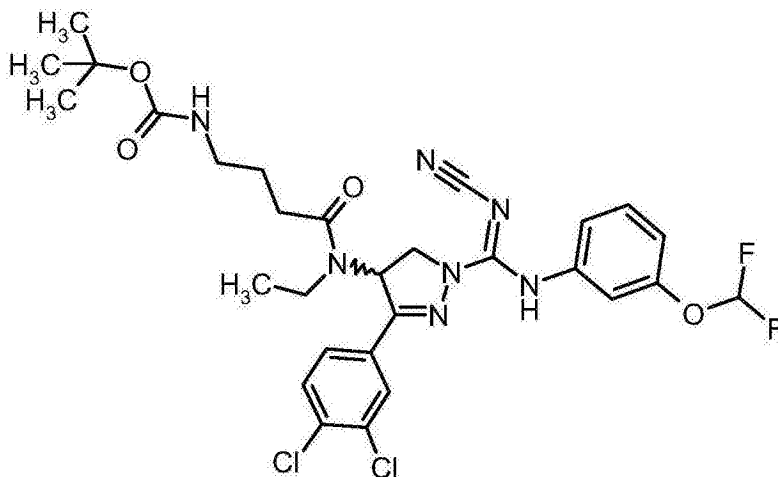
[0897]



[0898] 步骤1:

[0899] Rac-(4-{{1-[{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]}(乙基)氨基}-4-氧代丁基)氨基甲酸叔丁酯

[0900]



[0901] 将N,N-二异丙基乙胺(0.265mL,1.5mmol)加入到溶于二氯甲烷(50mL)的4-氨基-N-[1-{{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]}-N-乙基丁酰胺(280mg,0.51mmol)的冷(0℃)的搅拌溶液中,然后逐滴加入二碳酸二叔丁酯(0.116mL,0.51mmol)。使反应缓慢升温至室温并搅拌16小时。然后,加入水并分离各层。将水相用乙酸乙酯萃取并将合并的有机相用盐水洗涤、干燥(MgSO₄)并蒸发以得到粗的经boc-保护的酰胺。通过硅胶色谱法对粗物质的纯化得到了白色固体(4-{{1-[{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]}(乙基)氨基}-4-氧代丁基)氨基甲酸叔丁酯(280mg,79%产率)。

[0902] ¹H-NMR(400MHz,DMSO-d₆):δ[ppm]=1.05(br.s.,3H),1.55(br.s.,2H),2.21-2.39(m,2H),2.88(br.d,2H),3.28(br.s.,1H),3.46(br.s.,1H),4.07-4.14(m,1H),4.47(t,1H),6.79(br.t,1H),7.03(dd,1H),7.21-7.29(m,3H),7.41-7.46(m,1H),7.52-7.68(m,2H),7.76(d,1H),8.12(d,1H),9.86(s,1H)。

[0903] LCMS(方法2):R_t=1.43min

[0904] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 652.3$

[0905] 分离:

[0906] 通过手性制备型HPLC分离外消旋物质(条件如下)得到了105mg ($R_t = 4.3-5.1\text{min}$)的一种对映异构体和108mg ($R_t = 5.1-6.4\text{min}$)的第二种对映异构体。

[0907]

系统:	Agilent:Prep 1200,2xPrep Pump,DLA,MWD,Gilson:Liquid Handler 215
柱:	Chiralpak IE 5 μm 250x20mm
溶剂:	乙腈100%+0.1%二乙胺
流速:	30mL/min
温度:	RT
检测:	UV 325nm
级分	以min计的Rt
1	4.3-5.1
2	5.1-6.4

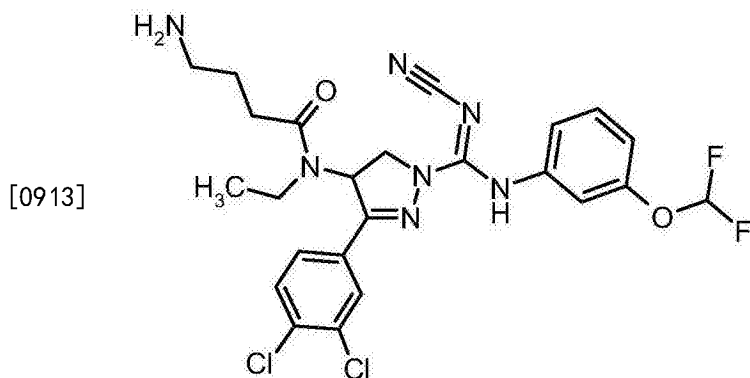
[0908] 步骤2:

[0909] 根据以下方法进行Boc-保护的酰胺的去保护:

[0910] 将溴化锌(75mg,0.33mmol)加入到溶于1,2-二氯乙烷(10mL)的(4-[[1-[N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基](乙基)氨基]-4-氧代丁基)氨基甲酸叔丁酯(108mg,0.17mmol)的搅拌溶液中。将所得混合物在室温下搅拌过夜。然后,将反应混合物用二氯甲烷稀释,加入pH 10缓冲液并分离各层。将水相用二氯甲烷萃取(3次)并将合并的有机相用盐水洗涤、干燥(MgSO₄)并蒸发以得到粗胺。粗物质通过制备型HPLC纯化得到了白色固体4-氨基-N-[1-[N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基丁酰胺(25mg,27%产率)。这两种异构体的分析数据可参见下文。

[0911] 实施例10.1(来自以上的分离级分2)

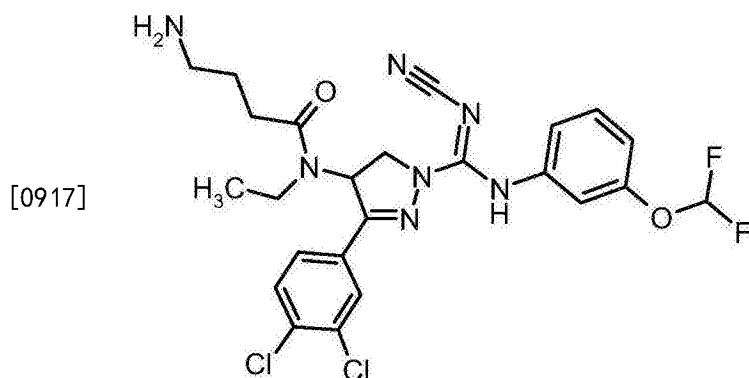
[0912] 4-氨基-N-[1-[N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基丁酰胺 异构体1



[0914] $[\alpha]_D = -52.5^\circ$ (c:1.0, DMSO)

[0915] 实施例10.2(来自以上的分离级分1)

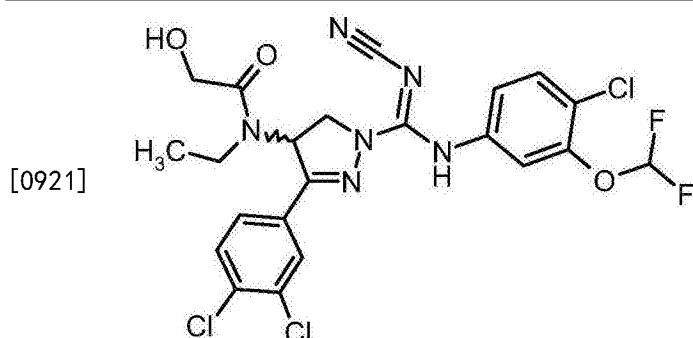
[0916] 4-氨基-N-[1-[N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基丁酰胺 异构体2



[0918] $[\alpha]_D^{25} = +59.6^\circ$ (c:1.0, DMSO)

[0919] 实施例11

[0920] Rac-N-[1-{N-[4-氯-3-(二氟甲氧基)苯基]-N'-氰基甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



[0922] 类似于实施例4从中间体14而非中间体12起始来制备实施例11。

[0923] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 0.81 (br. s., 1H), 0.99 (br. s., 3H), 2.92 (br. s., 0.4H), 3.01-3.29 (m, 3H), 3.94-4.33 (m, 6H), 4.40 (br. s., 0.4H), 4.72 (t, 1H), 5.13 (br. s., 0.3H), 5.73 (br. s., 0.4H), 5.94 (br. s., 1H), 6.93-7.42 (m, 6H), 7.52-7.72 (m, 3H), 7.86-7.96 (m, 1H).

[0924] LCMS (方法2): $R_t = 1.22\text{min}$

[0925] MS (ESI): $[M+H]^+ = 559.2$

[0926] 通过手性SFC将实施例11分离为其非对映异构体:

[0927]

系统:	Sepiatec: Prep SFC100
柱:	Chiralpak IC $5\mu\text{m}$ 250x20 mm
溶剂:	CO_2 / 乙醇 70:30
流速:	80 mL/min

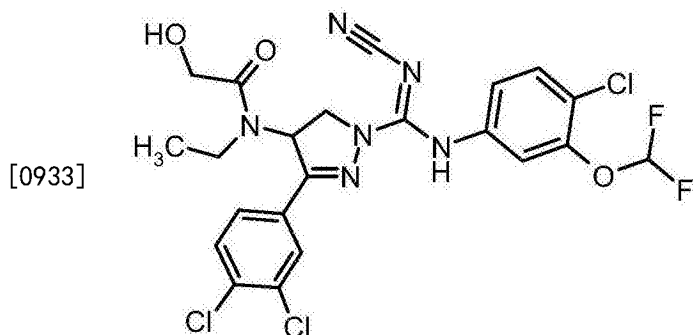
[0928]

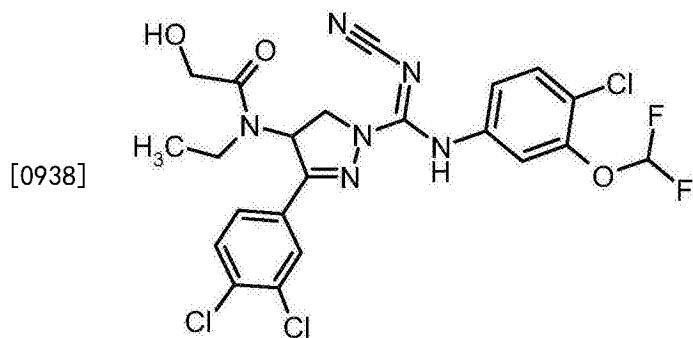
温度:	40 °C
检测:	UV 254 nm
实施例编号	以 min 计的 Rt
11.1	4.75 – 5.60
11.2	6.25 – 7.50

[0929] 通过手性SFC进一步纯化实施例11.2:

[0930]

系统:	Sepiatec:Prep SFC100
柱:	Chiralpak IC 5 μ m 250x20mm
溶剂:	CO ₂ /乙醇70:30
流速:	80mL/min
温度:	40 °C
检测:	UV 254nm
实施例编号	以min计的Rt
11.2	4.50-5.60

[0931] 实施例11.1[0932] N-[1-{N-[4-氯-3-(二氟甲氧基)苯基]-N'-氰基甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体1[0934] Chiralpak IC 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/乙醇, 70:30, 4.0mL/min) R_t=2.99min[0935] [α]_D = -37.4° (c:1.0, DMSO)[0936] 实施例11.2[0937] N-[1-{N-[4-氯-3-(二氟甲氧基)苯基]-N'-氰基甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体2

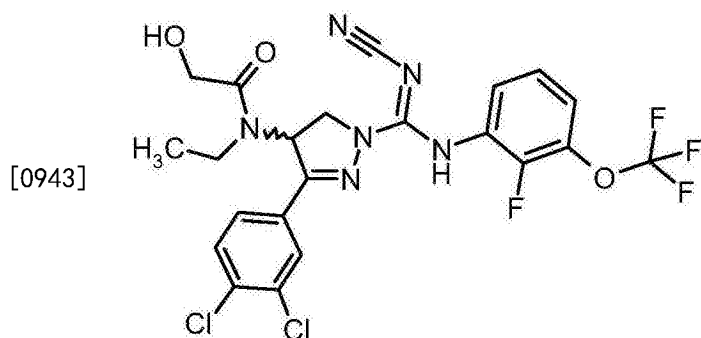


[0939] Chiralpak IC 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/乙醇, 70:30, 4.0mL/min) R_t=3.96min

[0940] $[\alpha]_D^{20} = +41.2^\circ$ (c:1.0, DMSO)

[0941] 实施例12

[0942] Rac-N-[1-[N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



[0944] 类似于实施例4从中间体15而非中间体12起始来制备实施例12。

[0945] ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ [ppm] = 1.09 (br. s., 3H), 4.00-4.14 (m, 3H), 4.44 (t, 1H), 4.77 (t, 1H), 7.34-7.40 (m, 1H), 7.47-7.59 (m, 2H), 7.63 (d, 1H), 7.76 (d, 1H), 8.13 (s, 1H), 9.95 (br. s., 1H).

[0946] LCMS (方法2) : R_t=1.03min

[0947] MS (ESI) : [M+H]⁺=561.0

[0948] 通过手性SFC将实施例12分离为其非对映异构体:

[0949]

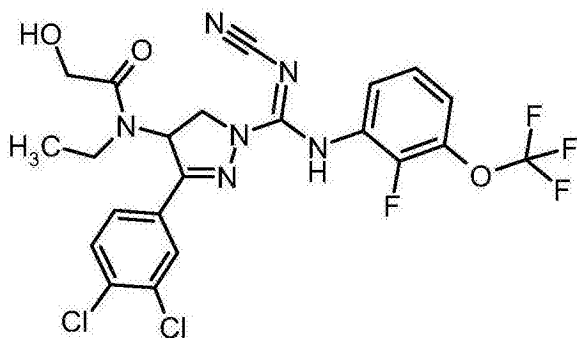
系统:	Agilent: Prep 1200, 2xPrep Pump, DLA, MWD, Prep FC
-----	--

[0950]

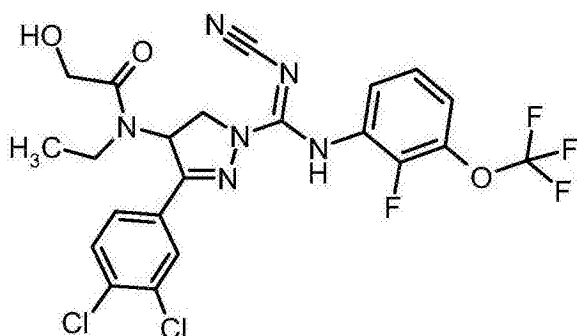
柱:	Chiralpak ID 5 μ m 250x30 mm Nr. 018
溶剂:	己烷/乙醇/二乙胺 70:30:0.1 (v/v/v)
流速:	40 mL/min
温度:	RT
检测:	UV 325 nm
实施例编号	以 min 计的 Rt
12.1	5.4 - 7.2
12.2	7.2 - 9.4

[0951] 实施例12.1[0952] N-[1-{N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体1

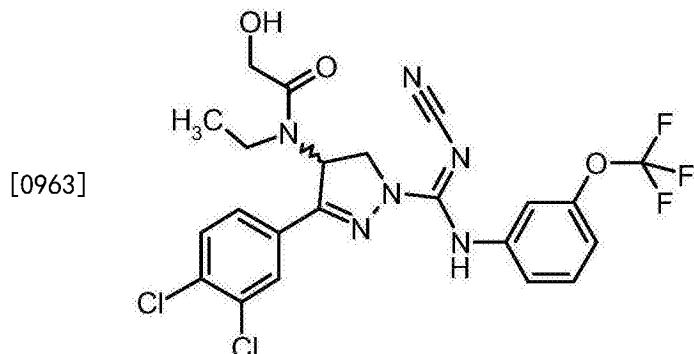
[0953]

[0954] Chiralpak ID 3 μ m 100x4.6mm (己烷/乙醇/二乙胺70:30:0.1 (v/v/v), 1.0mL/min) R_t =2.61min[0955] $[\alpha]_D^{25} = +27.4^\circ$ (c:1.0, DMSO)[0956] 实施例12.2[0957] N-[1-{N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体2

[0958]

[0959] Chiralpak ID 3 μ m 100x4.6mm (己烷/乙醇/二乙胺70:30:0.1 (v/v/v), 1.0mL/min) R_t =3.46min[0960] $[\alpha]_D^{25} = -22.9^\circ$ (c:1.0, DMSO)[0961] 实施例13

[0962] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



[0964] 类似于实施例4从中间体16而非中间体12起始来制备实施例13。

[0965] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.03 (t, 3H), 3.3-3.5 (m, 2H), 3.9-4.1 (m, 3H), 4.4-4.5 (m, 1H), 4.7-4.8 (m, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.3-7.8 (m, 6H), 8.09 (s, 1H), 9.88 (s, 1H)

[0966] LCMS (方法3): $R_t = 2.63$

[0967] MS (ESI): $[M+H]^+ = 542.92$

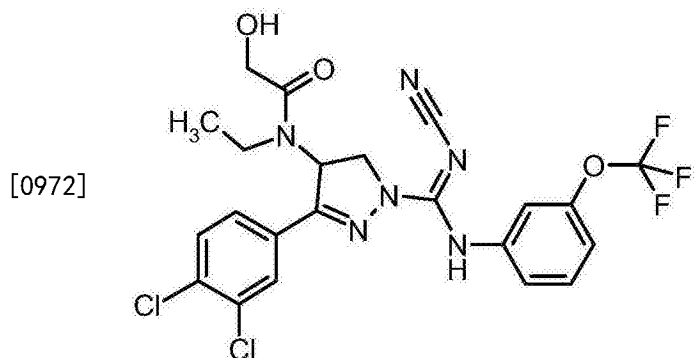
[0968] 通过手性SFC将实施例13分离为其对映异构体:

[0969]

系统:	Agilent:Prep 1200,2xPrep Pump,DLA,MWD,Gilson:Liquid Handler 215
柱:	Chiralpak ID 5 μm 250x30mm Nr.018
溶剂:	己烷/乙醇70:30 (v/v)
流速:	50mL/min
温度:	RT
检测:	UV 254nm
实施例编号	以min计的 R_t
13.1	10.8-13.8
13.2	16.8-21.4

[0970] 实施例13.1

[0971] N-[1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体1



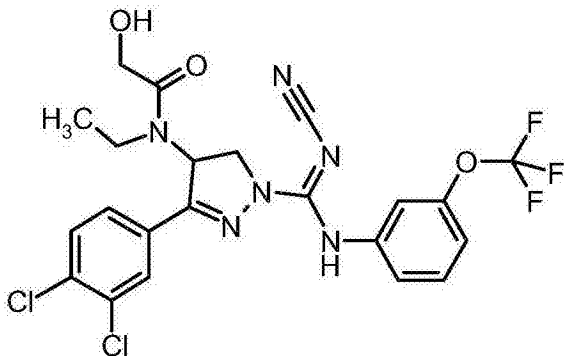
[0973] Chiralpak ID 3 μm 100x4.6mm (己烷/乙醇70:30 (v/v); 1.0mL/min) $R_t = 2.67\text{min}$

[0974] $[\alpha]_D = 89^\circ$ (c:0.93, MeOH)

[0975] 实施例13.2

[0976] N-[1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氢基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体2

[0977]



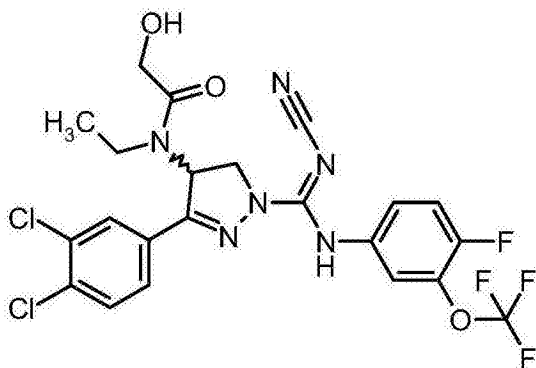
[0978] Chiralpak ID 3 μ m 100x4.6mm (己烷/乙醇70:30 (v/v); 1.0mL/min) R_t =3.66min

[0979] $[\alpha]_D = -79^\circ$ (c:0.83, MeOH)

[0980] 实施例14

[0981] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺

[0982]



[0983] 类似于实施例4从中间体17而非中间体12起始来制备实施例14。

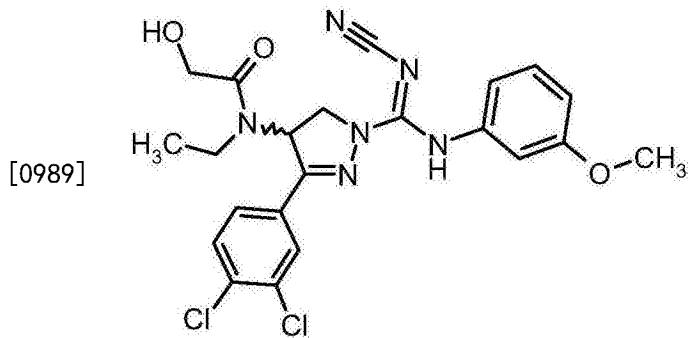
[0984] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.06 (m, 3H), 3.16-3.30 (m, 2H, 部分被水信号遮盖), 3.98-4.20 (m, 3H), 4.37-4.52 (m, 1H), 4.76 (t, 1H), 5.83 (br. s., 1H), 7.34-7.60 (m, 3H), 7.60-7.68 (m, 1H), 7.73-7.77 (m, 1H), 8.10 (s, 1H), 9.87 (br. s., 1H).

[0985] LCMS (方法2): R_t =1.46

[0986] MS (ESI): $[M+H]^+ = 561$

[0987] 实施例15

[0988] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-(3-甲氢基苯基)甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



[0990] 类似于实施例4从中间体18而非中间体12起始来制备实施例15。

[0991] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) : δ [ppm] = 1.04 (br. s., 3H), 3.14–3.27 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.99–4.14 (m, 4H), 4.38 (t, 1H), 4.69–4.75 (m, 1H), 5.85 (br. s., 1H), 6.84 (br. s., 4H), 7.20 (t, 1H), 7.51–7.64 (m, 2H), 7.69–7.73 (m, 1H), 8.07 (br. s., 1H), 9.75 (br. s., 1H).

[0992] LCMS (方法2) : $R_t = 1.20\text{min}$

[0993] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 489.2$

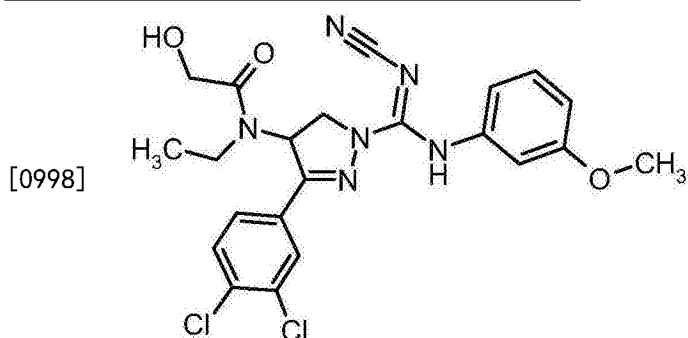
[0994] 通过手性SFC将实施例15分离为其非对映异构体:

[0995]

系统:	Agilent: Prep 1200, 2xPrep Pump, DLA, MWD, Prep FC
柱:	Chiralpak IC $5\mu\text{m}$ 250x20mm Nr.009
溶剂:	甲醇/乙醇/二乙胺50:50:0.1 (v/v/v)
流速:	20mL/min
温度:	RT
检测:	UV 325nm
实施例编号	以min计的 R_t
15.1	6.75–8.0
15.2	5.0–6.0

[0996] 实施例15.1

[0997] N-{1-[N'-氰基-N-(3-甲氧基苯基)甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基}-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体1

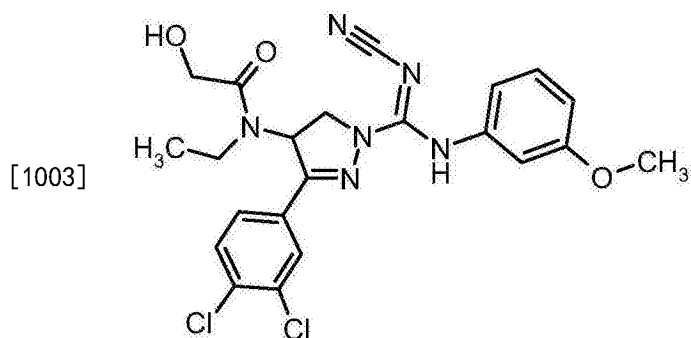


[0999] Chiralpak IC $5\mu\text{m}$ 150x4.6mm (甲醇/乙醇/二乙胺50:50:0.1 (v/v/v), 1.0mL/min) $R_t = 3.47\text{min}$

[1000] $[\alpha]_D^{25} = +105.0^\circ$ (c: 1.0, MeOH)

[1001] 实施例15.2

[1002] N-[1-[N'-氰基-N-(3-甲氧基苯基)甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体2

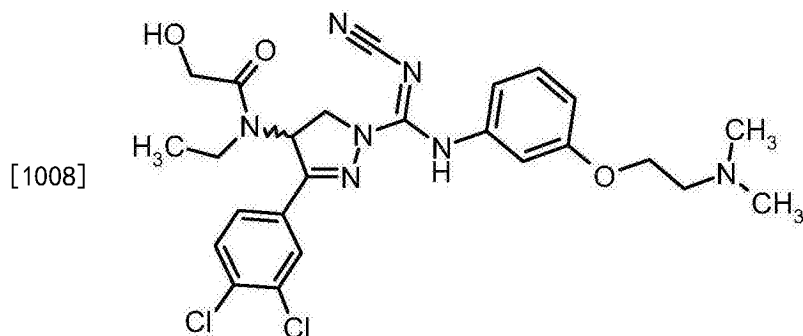


[1004] Chiralpak IC 5 μ m 150x4.6mm (甲醇/乙醇/二乙胺50:50:0.1 (v/v/v), 1.0mL/min) R_t =2.65min

[1005] $[\alpha]_D = -88.1^\circ$ (c:1.0, MeOH)

[1006] 实施例16

[1007] Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



[1009] 类似于实施例4从中间体19而非中间体12起始来制备实施例16。

[1010] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.02 (br. s., 3H), 2.19 (s, 6H), 2.60 (t, 2H), 3.94-4.45 (m, 8H), 5.84 (br. s., 1H), 6.46-6.85 (m, 4H), 7.16 (t, 1H), 7.50-7.75 (m, 7H), 8.02 (s, 1H).

[1011] LCMS (方法2): R_t =1.20min

[1012] MS (ESI): $[M+H]^+ = 546.24$

[1013] 通过手性SFC将实施例16分离为其非对映异构体:

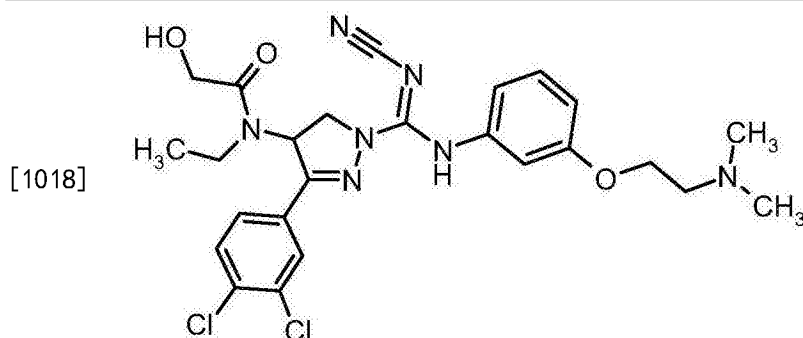
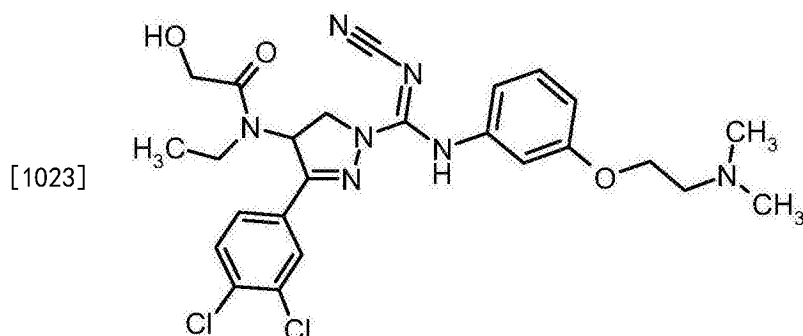
[1014]

系统:

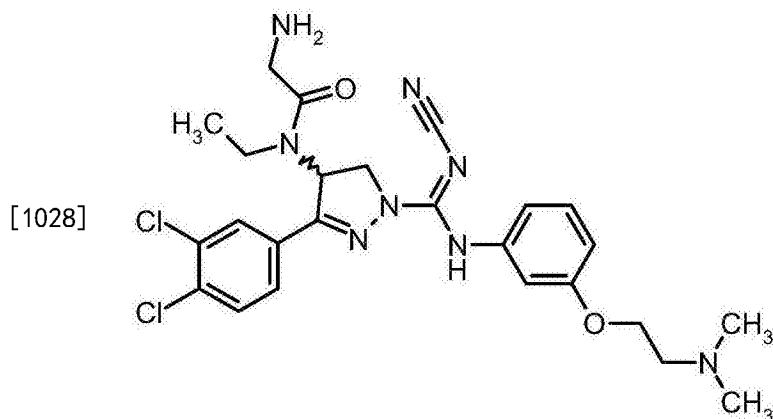
Agilent: Prep 1200, 2xPrep Pump, DLA, MWD, Prep FC

[1015]

柱:	Chiralpak IA 5 μ m 250x20 mm
溶剂:	甲醇/乙醇/二乙胺 50:50:0.1 (v/v/v)
流速:	20 mL/min
温度:	RT
检测:	UV 325 nm
实施例编号	以 min 计的 Rt
16.1	8.1 - 9.7
16.2	6.5 - 7.7

[1016] 实施例16.1[1017] N-[1-(N'-氰基-N-{3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体1[1019] Chiralpak IC 5 μ m 150x4.6mm (甲醇/乙醇/二乙胺50:50:0.1 (v/v/v), 1.0mL/min) $R_t=4.51$ min[1020] $[\alpha]_D=+39.2$ (c:1.0, DMSO)[1021] 实施例16.2[1022] N-[1-(N'-氰基-N-{3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体2[1024] Chiralpak IC 5 μ m 150x4.6mm (甲醇/乙醇/二乙胺50:50:0.1 (v/v/v), 1.0mL/min) $R_t=3.53$ min[1025] $[\alpha]_D=-35.6^\circ$ (c:1.0, DMSO)[1026] 实施例17

[1027] Rac-N-[1-(N'-氰基-N-[3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基]甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基甘氨酸酰胺



[1029] 类似于实施例3从中间体19而非中间体12起始来制备实施例17。

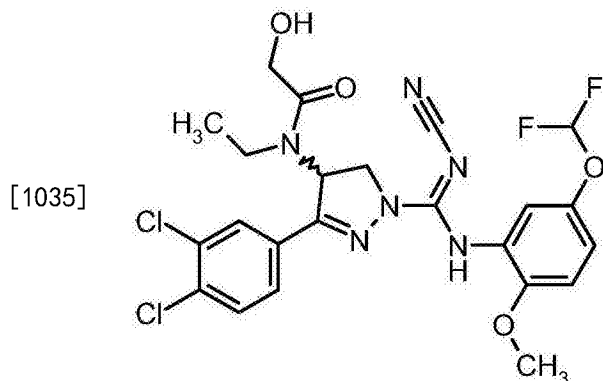
[1030] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, 甲醇- D_3): δ [ppm] = 1.05-1.27 (m, 3H), 2.35 (s, 6H), 2.80 (t, 2H), 3.35 (m, 1H), 3.42-3.54 (m, 2H), 4.14 (t, 2H), 4.21 (dd, 1H), 4.40-4.50 (m, 1H), 6.87 (m, 1H), 6.98 (dd, 1H), 7.00-7.04 (m, 1H), 7.30 (t, 1H), 7.59 (d, 1H), 7.65 (dd, 1H), 8.11 (d, 1H); 两个氢被溶剂信号或水信号遮盖。

[1031] LCMS (方法7): $R_t = 1.84$

[1032] MS (ESI): $[M]^+ = 545.18$

[1033] 实施例18

[1034] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



[1036] 类似于实施例4从中间体30而非中间体12起始来制备实施例18。

[1037] LCMS (方法7): $R_t = 2.49$

[1038] MS (ESI): $[M+H]^+ = 555.2$

[1039] 通过手性SFC将实施例18分离为其对映异构体:

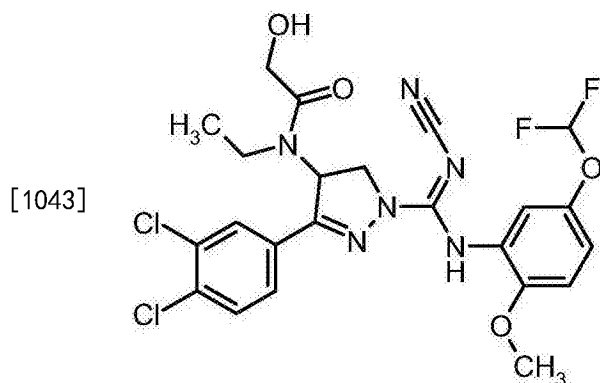
[1040]

系统:	Sepiatec:Prep SFC100,
柱:	Chiralpak ID 5 μm 250x20mm
溶剂:	CO_2 /2-丙醇64/36
流速:	80mL/min
温度:	40 $^\circ\text{C}$

检测:	UV 254nm
实施例编号	以min计的Rt
18.1	5.0-7.0
18.2	8.0-11.0

[1041] 实施例18.1

[1042] N-[1-{N'-氰基-N-[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体1

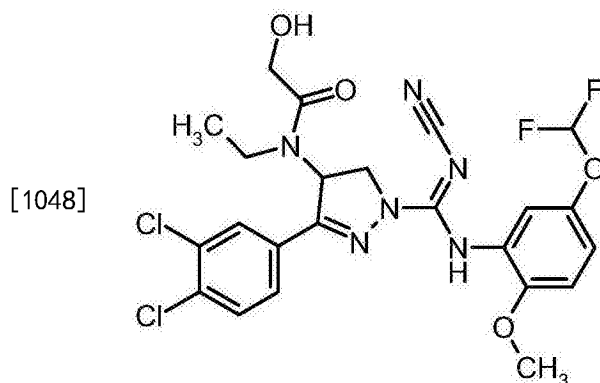


[1044] Chiralpak ID 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/2-丙醇64/36,4.0mL/min) R_t=2.32min

[1045] [α]_D=+52.5° (c:0.3, DMSO)

[1046] 实施例18.2

[1047] N-[1-{N'-氰基-N-[5-(二氟甲氧基)-2-甲氧基苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体2



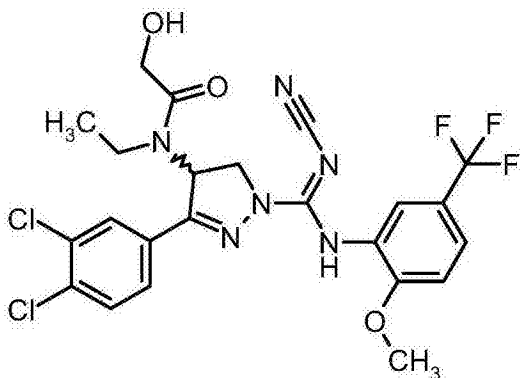
[1049] Chiralpak ID 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/2-丙醇64/36,4.0mL/min) R_t=3.93min

[1050] [α]_D=-58.4° (c:0.22, DMSO)

[1051] 实施例19

[1052] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺

[1053]



[1054] 类似于实施例4从中间体31而非中间体12起始来制备实施例19。

[1055] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) : δ [ppm] = 1.06 (br. s., 3H), 3.91 (s, 3H), 3.96-4.16 (m, 3H), 4.37 (t, 1H), 4.78 (t, 1H), 7.29 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.64-7.72 (m, 2H), 7.75 (d, 1H), 8.13 (br. s., 1H), 9.68 (br. s., 1H). (2H, 被水信号遮盖)

[1056] LCMS (方法6) : R_t = 0.84[1057] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 557.2$

[1058] 通过手性SFC将实施例19分离为其对映异构体:

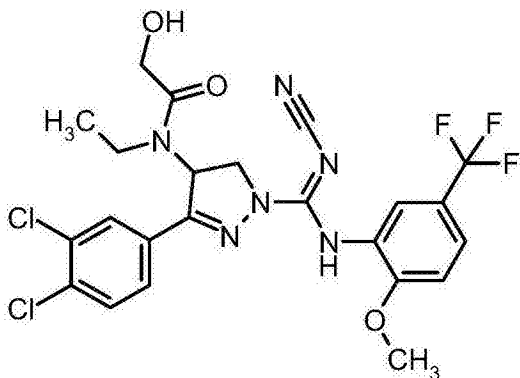
[1059]

系统:	Seplatec:Prep SFC100,
柱:	Chiralpak ID 5 μ m 250x20mm
溶剂:	CO_2 /2-丙醇65/35
流速:	80mL/min
温度:	40 $^\circ\text{C}$
检测:	UV 254nm
实施例编号	以min计的 R_t
19.1	4,0-5,5
19.2	6,5-8,0

[1060] 实施例19.1

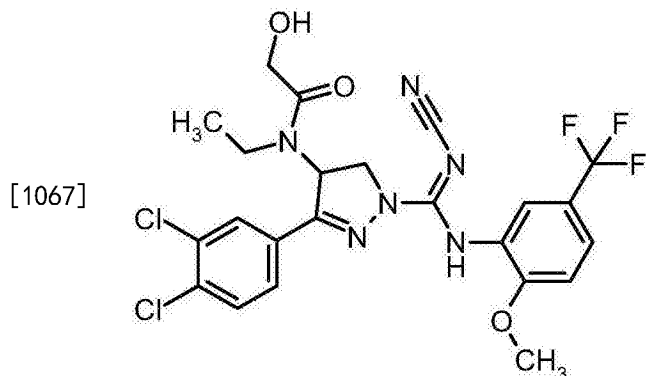
[1061] N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1

[1062]

[1063] Chiralpak ID 5 μ m 100x4.6mm (CO_2 /2-丙醇65/35, 4.0mL/min) R_t = 1.90min[1064] $[\alpha]_D = +90.7^\circ$ (c:0.31, MeOH)

[1065] 实施例19.2

[1066] N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2

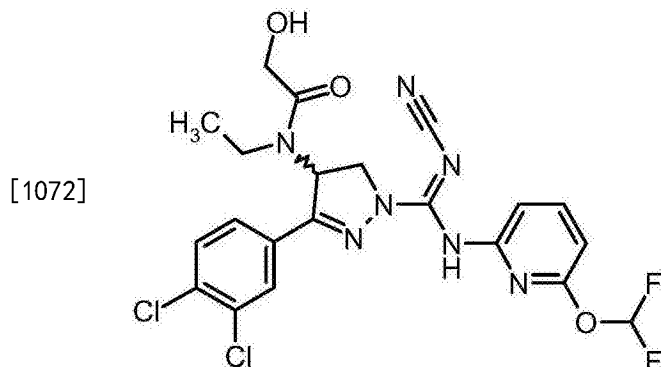


[1068] Chiralpak ID 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/2-丙醇65/35, 4.0mL/min) R_t=3.28min

[1069] [α]_D = -91.2° (c:0.37, MeOH)

[1070] 实施例20

[1071] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[6-(二氟甲氧基)吡啶-2-基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



[1073] 类似于实施例4从中间体20而非中间体12起始来制备实施例20。

[1074] LCMS (方法6) : R_t = 0.87

[1075] MS (ESI) : [M+H]⁺ = 526.14

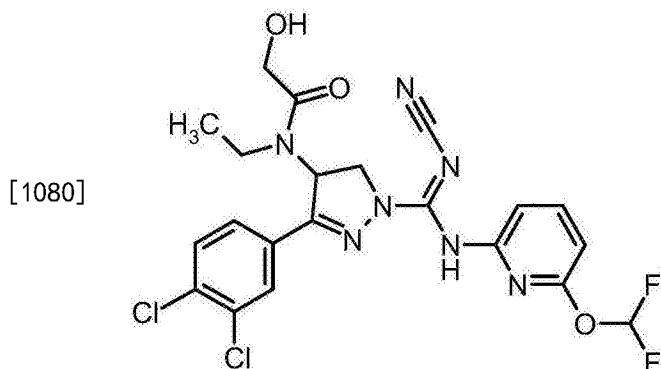
[1076] 通过手性SFC将实施例20分离为其对映异构体:

[1077]

系统:	Sepiatec: Prep SFC100,
柱:	Chiralpak ID 5 μ m 250x20mm
溶剂:	CO ₂ /2-丙醇71/29
流速:	80mL/min
温度:	40°C
检测:	UV 254nm
实施例编号	以min计的R _t
20.1	3,5-5,0
20.2	5,0-7,0

[1078] 实施例20.1

[1079] N-[1-{N'-氰基-N-[6-(二氟甲氧基)吡啶-2-基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1

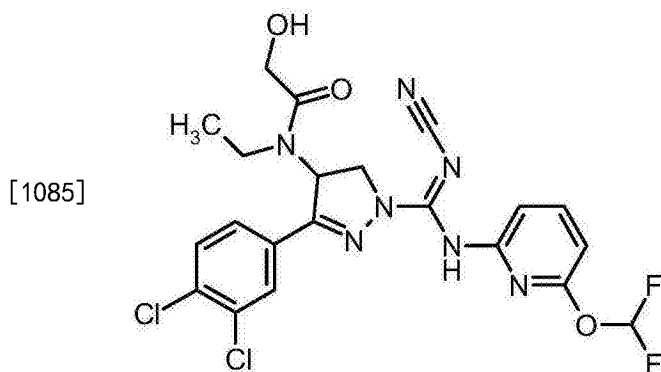


[1081] Chiralpak ID 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/2-丙醇71/29,4.0mL/min) R_t=2.74min

[1082] $[\alpha]_D = +69.7^\circ$ (c:0.29, DMSO)

[1083] 实施例20.2

[1084] N-[1-{N'-氰基-N-[6-(二氟甲氧基)吡啶-2-基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2

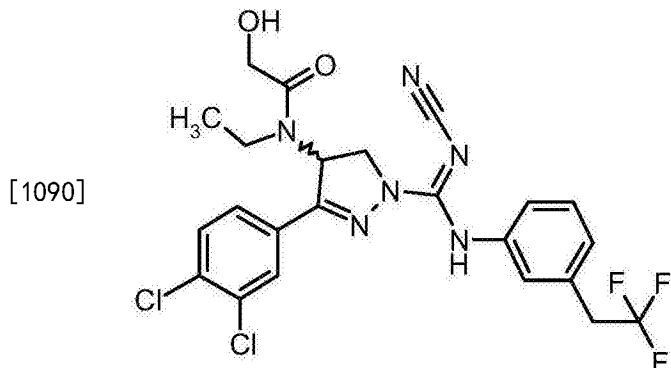


[1086] Chiralpak ID 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/2-丙醇71/29,4.0mL/min) R_t=3.82min

[1087] $[\alpha]_D = -56.2^\circ$ (c:0.53, MeOH)

[1088] 实施例21

[1089] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(2,2,2-三氟乙基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



[1091] 类似于实施例4从中间体21而非中间体12起始来制备实施例21。

[1092] MS (ESI) : [M+H]⁺ = 541

[1093] 通过手性SFC将实施例21分离为其对映异构体：

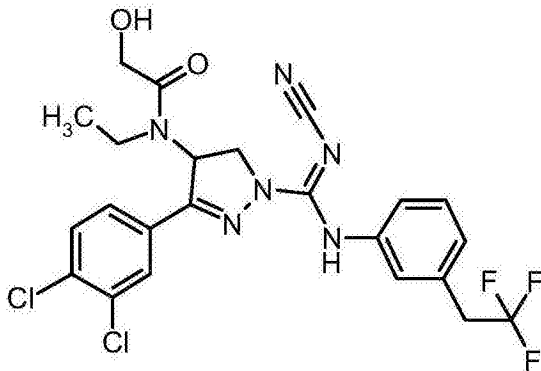
[1094]

系统:	Sepiatec:Prep SFC100,
柱:	Chiralpak IC 5 μ m 250x30mm
溶剂:	CO ₂ /甲醇66/34
流速:	100mL/min
温度:	40 $^{\circ}$ C
检测:	UV 254nm
实施例编号	以min计的Rt
21.1	6,25-7,75
21.2	8,30-9,55

[1095] 实施例21.1

[1096] N-[1-{N'-氰基-N-[3-(2,2,2-三氟乙基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1

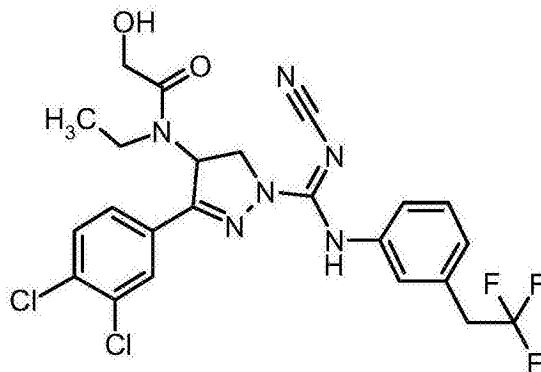
[1097]

[1098] Chiralpak IC 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/甲醇66/34,4.0mL/min) R_t=2.42min

[1099] 实施例21.2

[1100] N-[1-{N'-氰基-N-[3-(2,2,2-三氟乙基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2

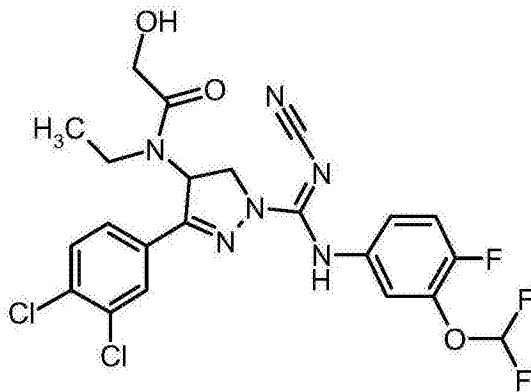
[1101]

[1102] Chiralpak IC 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/甲醇66/34,4.0mL/min) R_t=3.04min

[1103] 实施例22

[1104] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-4-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺

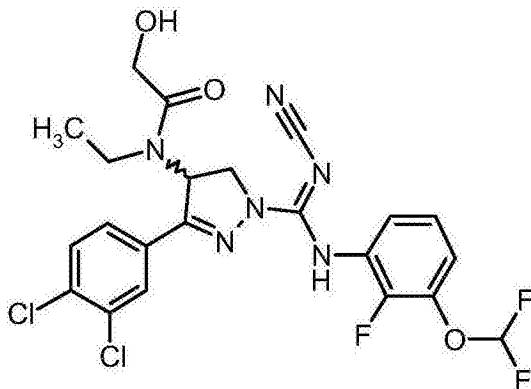
[1105]



[1106] 类似于实施例4从中间体22而非中间体12起始来制备实施例22。

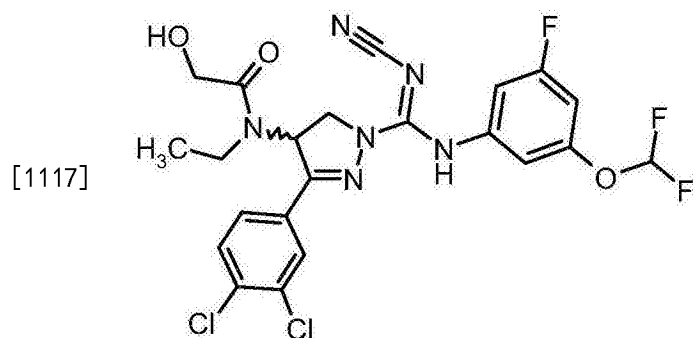
[1107] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.05 (m, 3H), 3.94-4.23 (m, 3H), 4.23-4.52 (m, 1H), 4.75 (m, 1H), 5.86 (br. s., 1H), 7.01-7.49 (m, 4H), 7.63 (d, 1H), 7.74 (d, 1H), 8.09 (br. s., 1H), 9.86 (br. s., 1H), 两个氢被溶剂信号或水信号遮盖。[1108] MS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 543$ [1109] 实施例23[1110] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-2-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺

[1111]



[1112] 类似于实施例4从中间体36而非中间体12起始来制备实施例23。

[1113] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.07 (m, 3H), 3.89-4.18 (m, 3H), 4.32-4.48 (m, 1H), 4.74 (t, 1H), 5.79 (br. s., 1H), 7.15-7.36 (m, 4H), 7.61 (d, 1H), 7.74 (d, 1H), 8.10 (br. s., 1H), 9.82 (br. s., 1H)[1114] MS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 543$ [1115] 实施例24[1116] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-5-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



[1118] 类似于实施例4从中间体23而非中间体12起始来制备实施例24。

[1119] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.08 (br. s., 3H), 3.41 (br. s., 1H), 3.99-4.17 (m, 3H), 4.50 (t, 1H), 4.77 (t, 1H), 6.95 (d, 1H), 7.09 (br. s., 1H), 7.13 (s, 0.25H), 7.19 (d, 1H), 7.31 (s, 0.5H), 7.49 (s, 0.25H), 7.66 (d, 1H), 7.77 (d, 1H), 8.11 (s, 1H), 9.94 (br. s., 1H).

[1120] LCMS (方法2): R_t = 1.06min

[1121] MS (ESI): $[M+H]^+$ = 543.2

[1122] 通过手性SFC将实施例24分离为其非对映异构体:

[1123]

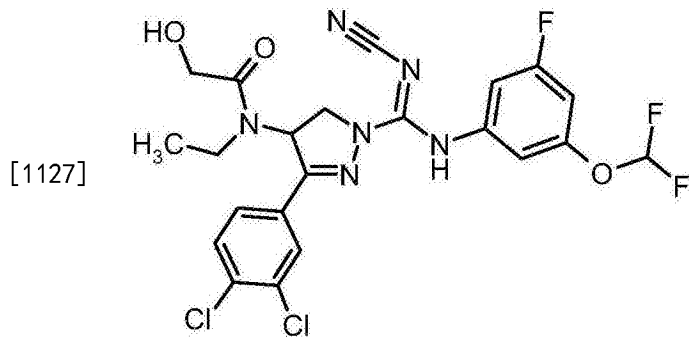
系统:	Agilent: Prep 1200, 2xPrep Pump, DLA, MWD, Prep FC
柱:	Chiralpak ID 5 μ m 250x30 mm Nr. 018
溶剂:	己烷/乙醇/二乙胺 70:30:0.1 (v/v/v)
流速:	40 mL/min
温度:	RT
检测:	UV 325 nm
实施例编号	以 min 计的 R_t
24.1	8.1 - 9.7

[1124]

24.2	6.5 - 7.7
------	-----------

[1125] 实施例24.1

[1126] N-[1-[N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-5-氟苯基]甲脒基]-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1

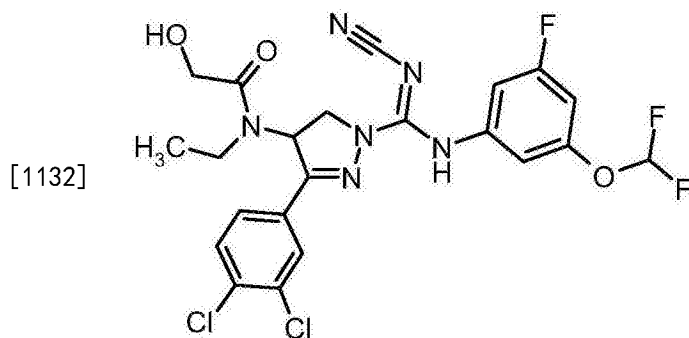


[1128] Chiralpak ID 3 μ m 100x4.6mm (己烷/乙醇/二乙胺70:30:0.1 (v/v/v), 1.0mL/min) R_t =2.68min

[1129] $[\alpha]_D^{20}$ =+38.2° (c:1.0, DMSO)

[1130] 实施例24.2

[1131] N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)-5-氟苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体2

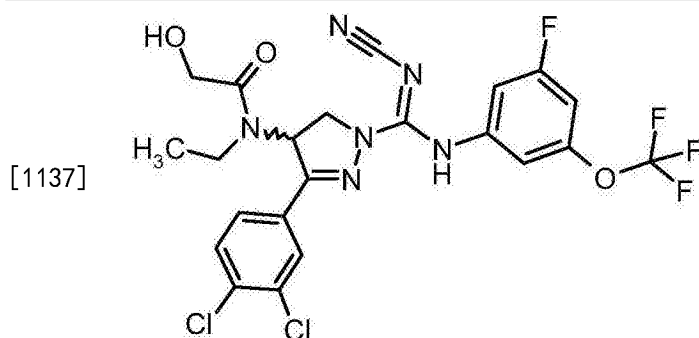


[1133] Chiralpak ID 3 μ m 100x4.6mm (己烷/乙醇/二乙胺70:30:0.1 (v/v/v), 1.0mL/min) R_t =3.81min

[1134] $[\alpha]_D^{20}$ =-38.1° (c:1.0, DMSO)

[1135] 实施例25

[1136] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[3-氟-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



[1138] 类似于实施例4从中间体24而非中间体12起始来制备实施例25。

[1139] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) : δ [ppm] = 0.79 (br. s., 1H), 0.99 (br. s., 3H), 2.99-3.21 (m, 1H), 3.96-4.16 (m, 3H), 4.18-4.44 (m, 2H), 4.70 (t, 1H), 5.12 (br. s., 1H), 5.80 (d, 1H), 6.59-6.88 (m, 1H), 6.92-7.12 (m, 2H), 7.52-7.64 (m, 1H), 7.68 (d, 1H), 7.86-7.95 (m, 1H).

[1140] LCMS (方法2) : R_t =1.14min

[1141] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 561.3$

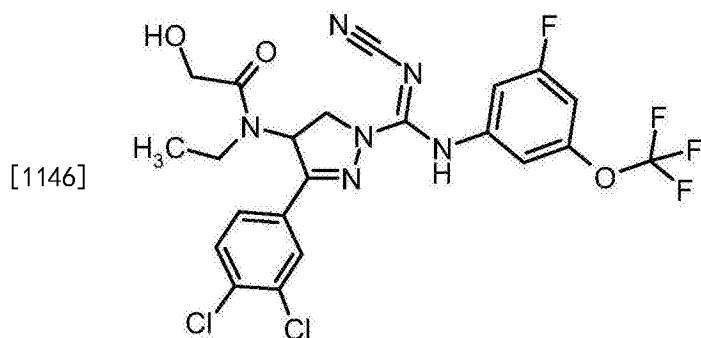
[1142] 通过手性SFC将实施例25分离为其非对映异构体:

[1143]

系统:	Agilent:Prep 1200,2xPrep Pump,DLA,MWD,Prep FC
柱:	Chiralpak IC 5 μ m 250x30mm Nr.009
溶剂:	己烷/乙醇/二乙胺70:30:0.1 (v/v/v)
流速:	40mL/min
温度:	RT
检测:	UV 325nm
实施例编号	以min计的Rt
25.1	11.4-13.4
25.2	20.9-23.6

[1144] 实施例25.1

[1145] N-[1-{N'-氰基-N-[3-氟-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体1

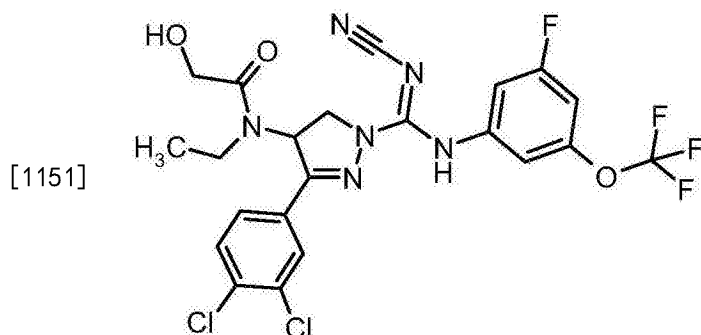


[1147] Chiralpak IC 3 μ m 100x4.6mm (己烷/乙醇/二乙胺70:30:0.1 (v/v/v), 1mL/min)
R_t=4.09min

[1148] $[\alpha]_D = -35.8$ (c:1.0, DMSO)

[1149] 实施例25.2

[1150] N-[1-{N'-氰基-N-[3-氟-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体2

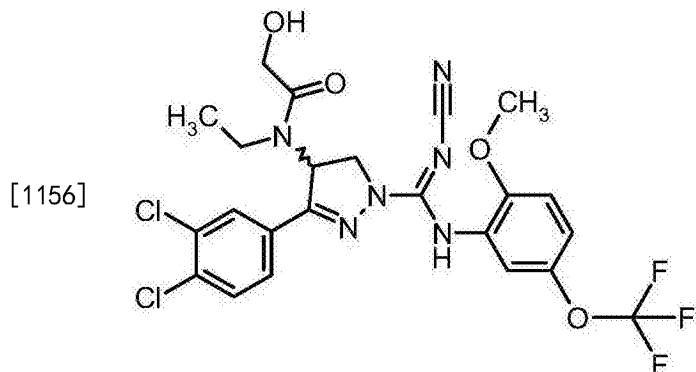


[1152] Chiralpak IC 3 μ m 100x4.6mm (己烷/乙醇/二乙胺70:30:0.1 (v/v/v), 1mL/min)
R_t=7.66min

[1153] $[\alpha]_D = +32.7$ (c:1.0, DMSO)

[1154] 实施例26

[1155] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-甲氧基-5-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



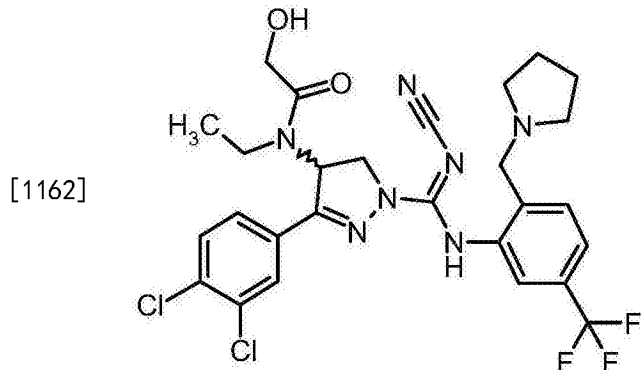
[1157] 类似于实施例4从中间体37而非中间体12起始来制备实施例26。

[1158] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) : δ [ppm] = 1.07 (m, 3H), 3.17-3.47 (m, 2H, 被水信号覆盖), 3.85 (s, 3H), 3.94-4.16 (m, 3H), 4.38 (t, 1H), 4.75 (t, 1H), 5.79 (br. s., 1H), 7.15-7.21 (m, 1H), 7.29-7.35 (m, 1H), 7.37 (br. s., 1H), 7.61 (d, 1H), 7.75 (d, 1H), 8.12 (s, 1H), 9.61 (br. s., 1H).

[1159] MS (ESI) : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 573$

[1160] 实施例27

[1161] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-(吡咯烷-1-基甲基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



[1163] 类似于实施例4从中间体25而非中间体12起始来制备实施例27。

[1164] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6) : δ [ppm] = 1.09 (m, 3H), 1.68 (m, 4H), 3.16-3.55 (m, 3H), 3.78 (s, 2H), 3.95-4.26 (m, 3H), 4.52 (t, 1H), 5.83 (br. s., 1H), 7.39-7.65 (m, 3H), 7.78 (d, 1H), 7.91 (d, 2H); 10.95 (br. s., 1H); 四个氢被溶剂信号或水信号遮盖。

[1165] MS (ESI) : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 610$

[1166] 通过手性SFC将实施例27分离为其对映异构体:

[1167]

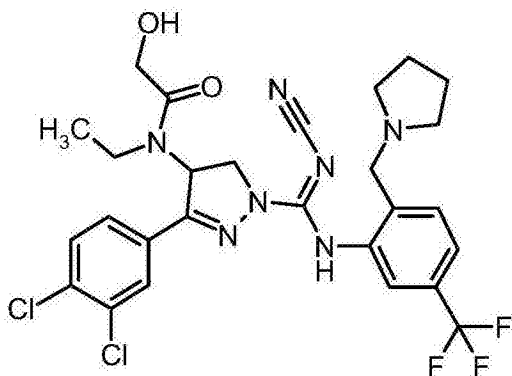
系统:	Sepiatec:Prep SFC100,
柱:	Chiralpak IC 5 μm 250x20mm
溶剂:	CO ₂ /乙醇63/37
流速:	80mL/min

温度:	40℃
检测:	UV 254nm
实施例编号	以min计的Rt
27.1	3,10-3,85
27.2	4,25-5,20

[1168] 实施例27.1

[1169] N-[1-{N'-氰基-N-[2-(吡咯烷-1-基甲基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺异构体1

[1170]

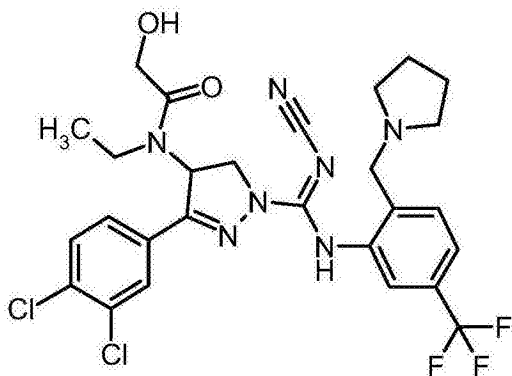


[1171] Chiralpak IC 5μm 100x4.6mm (CO₂/乙醇63:37,4.0mL/min) R_t=3.69min

[1172] 实施例27.2

[1173] N-[1-{N'-氰基-N-[2-(吡咯烷-1-基甲基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体2

[1174]

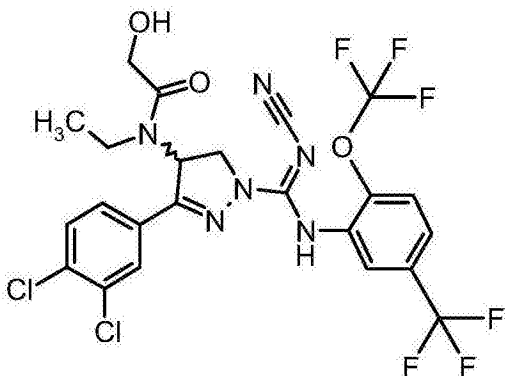


[1175] Chiralpak IC 5μm 100x4.6mm (CO₂/乙醇63:37,4.0mL/min) R_t=5.62min

[1176] 实施例28

[1177] Rac-N-[1-{N'-氰基-N-[2-(三氟甲氢基)-5-(三氟甲基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺

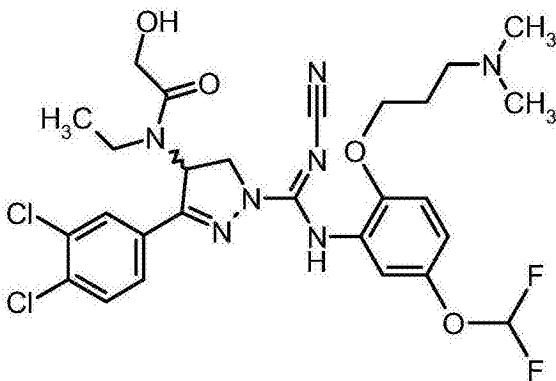
[1178]



[1179] 类似于实施例4从中间体26而非中间体12起始来制备实施例28。

[1180] LCMS (方法2) : $R_t = 1.07$ [1181] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 610.7$ [1182] 实施例29[1183] Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{5-(二氟甲氢基)-2-[3-(二甲基氨基)丙基]苯基}甲基)甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺

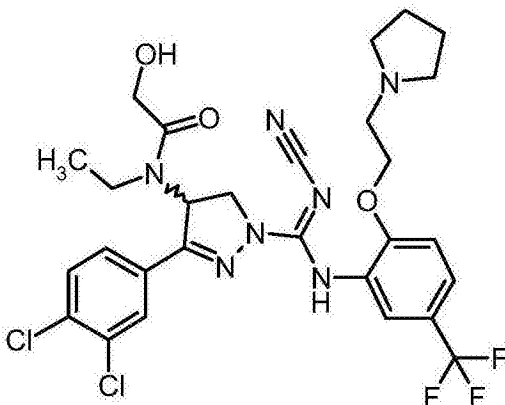
[1184]



[1185] 类似于实施例4从中间体38而非中间体12起始来制备实施例29。

[1186] LCMS (方法2) : $R_t = 1.31$ [1187] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 626$ [1188] 实施例30[1189] Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{2-[2-(吡咯烷-1-基)乙氧基]-5-(三氟甲基)苯基}甲基)甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺

[1190]



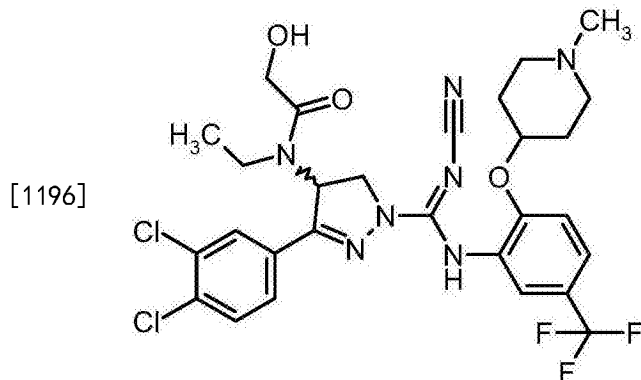
[1191] 类似于实施例4从中间体27而非中间体12起始来制备实施例30。

[1192] LCMS (方法) : $R_t = 1.34$

[1193] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 640.3$

[1194] 实施例31

[1195] Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{2-[(1-甲基哌啶-4-基)氧基]-5-(三氟甲基)苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



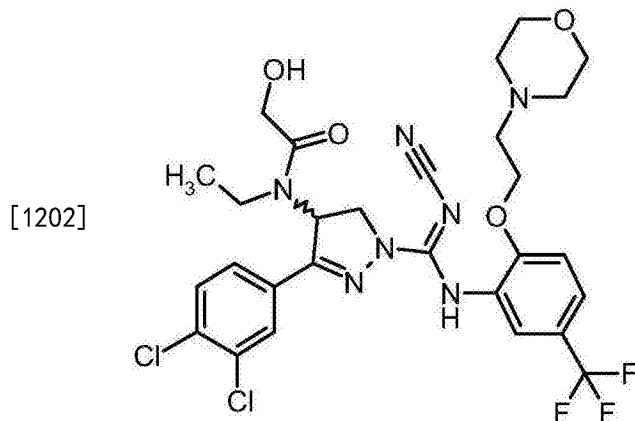
[1197] 类似于实施例4从中间体39而非中间体12起始来制备实施例31。

[1198] LCMS (方法2) : $R_t = 1.27$

[1199] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 640.4$

[1200] 实施例32

[1201] Rac-N-[1-(N'-氰基-N-{2-[(1-甲基哌啶-4-基)氧基]-5-(三氟甲基)苯基}甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



[1203] 类似于实施例4从中间体28而非中间体12起始来制备实施例32。

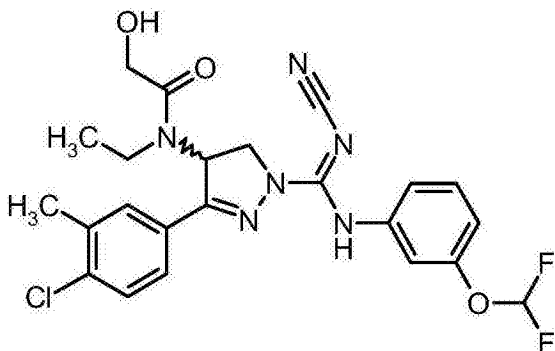
[1204] LCMS (方法2) : $R_t = 1.25$

[1205] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 656.3$

[1206] 实施例33

[1207] Rac-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺

[1208]



[1209] 类似于实施例4从中间体13而非中间体12起始来制备实施例33。

[1210] LCMS(方法7): $R_t = 2.59$ [1211] MS (ESI): $[M+H]^+ = 505.0$

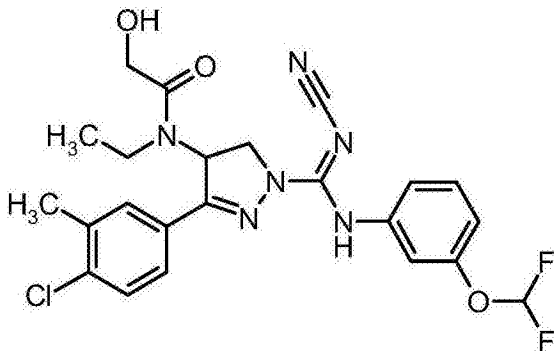
[1212] 通过手性SFC将实施例33分离为其对映异构体:

[1213]

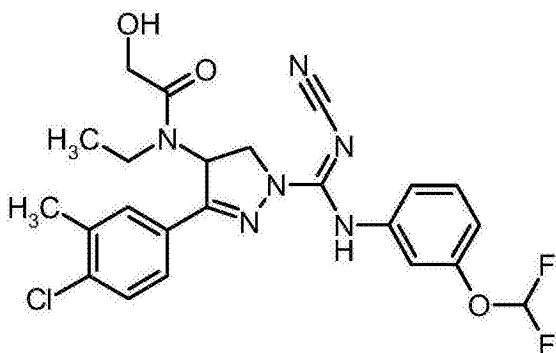
系统:	Agilent:Prep 1200,2xPrep Pump,DLA,MWD,Gilson:Liquid Handler 215
柱:	Chiralpak ID 5um 250x30mm Nr.:018
溶剂:	己烷/乙醇70:30 (v/v)
流速:	50mL/min
温度:	RT
检测:	UV 280nm
实施例编号	以min计的 R_t
33.1	7.2-9.0
33.2	10.9-12.9

[1214] 实施例33.1[1215] N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体1

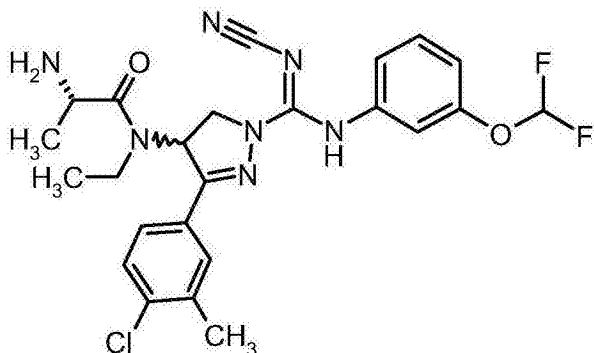
[1216]

[1217] Chiralpak ID 3um 100x4.6mm(己烷/乙醇70:30 (v/v), 1.0mL/min) $R_t = 4.00\text{min}$ [1218] $[\alpha]_D = +97.7^\circ$ (c:0.82, MeOH)[1219] 实施例33.2[1220] N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺 异构体2

[1221]

[1222] Chiralpak ID 3 μ m 100x4.6mm (己烷/乙醇70:30 (v/v), 1.0mL/min) $R_t=6.22$ min[1223] $[\alpha]_D=-96.8^\circ$ (c:0.88, MeOH)[1224] 实施例34[1225] N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-L-丙氨酰胺 (非对映异构体的1:1混合物)

[1226]



[1227] 类似于实施例3来制备实施例34,以中间体13代替中间体12来起始,并使用Fmoc-L-丙氨酸代替Fmoc-甘氨酸用于酰胺偶联。

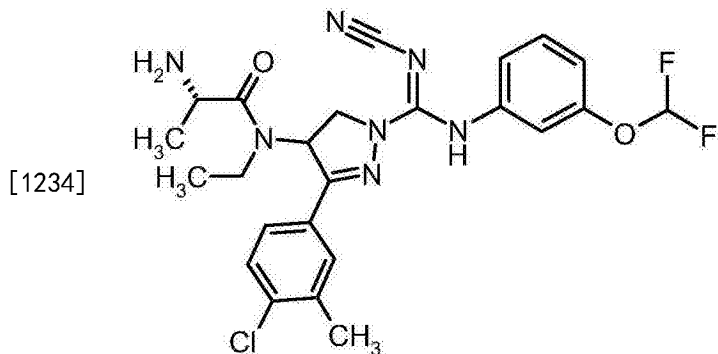
[1228] LCMS (方法2) : $R_t=0.94$ 和 0.96 (两个非对映异构体)[1229] MS (ESI) : $[M+H]^+=518.1$

[1230] 通过手性SFC将实施例34分离为其非对映异构体:

[1231]

系统:	Sepiatec:Prep SFC100,
柱:	Chiralpak IB 5 μ m 250x30mm
溶剂:	CO ₂ /乙醇+0,4%DEA 8/2
流速:	100mL/min
温度:	40 $^\circ$ C
检测:	UV 254nm
实施例编号	以min计的 R_t
34.1	2,0-2,5
34.2	4,0-5,0

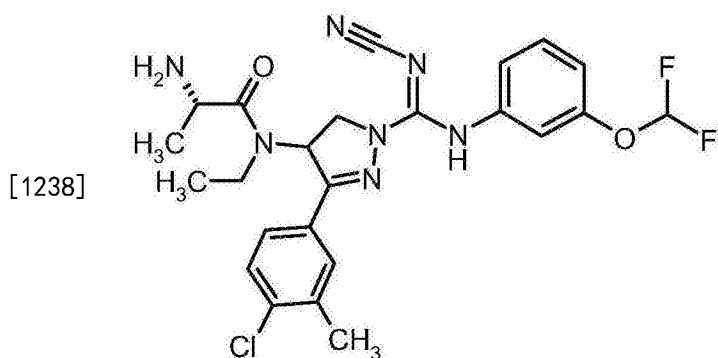
[1232] 实施例34.1[1233] N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-L-丙氨酰胺异构体1



[1235] Chiralpak IB 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/乙醇+0.2%DEA,4.0mL/min) R_t=2.33min

[1236] 实施例35.2

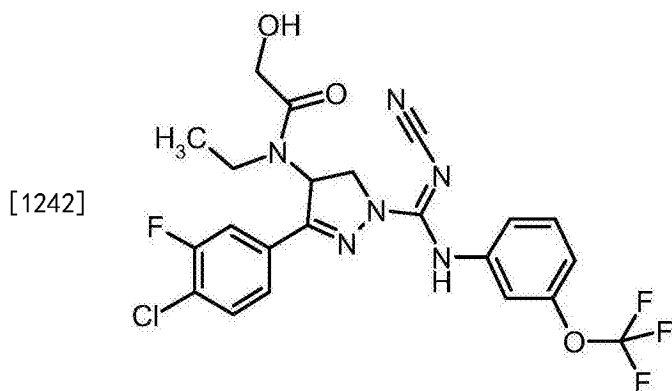
[1237] N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-L-丙氨酸酰胺异构体2



[1239] Chiralpak IB 5 μ m 100x4.6mm (CO₂/乙醇+0.2%DEA,4.0mL/min) R_t=3.24min

[1240] 实施例35

[1241] Rac-N-[3-(4-氯-3-氟苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-2-羟基乙酰胺



[1243] 类似于实施例4从中间体29而非中间体12起始来制备实施例35。

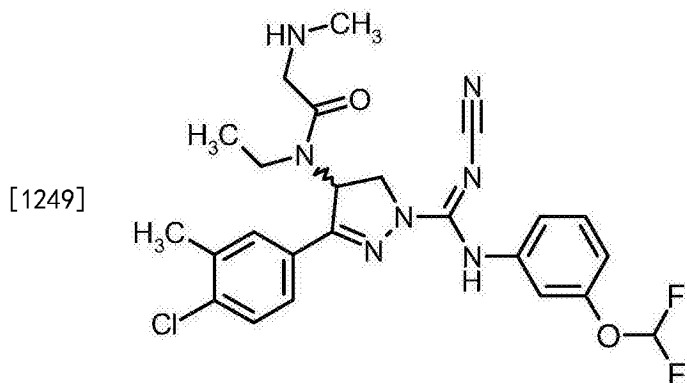
[1244] LCMS (方法2) : R_t=1.18

[1245] MS (ESI) : [M+H]⁺=526.8

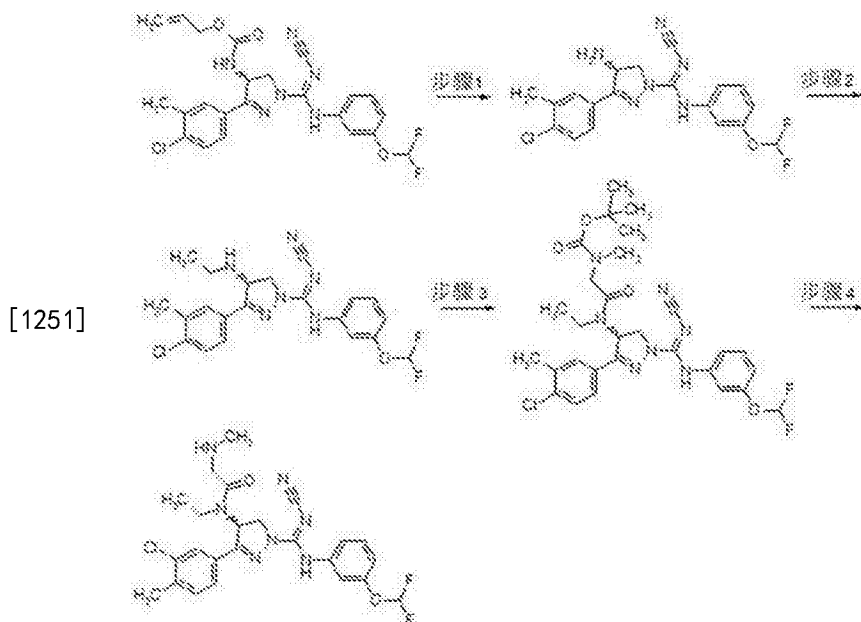
[1246] 此外,通过本领域技术人员已知的任何方法可将本发明式(I)的化合物转化为本文所述的任何盐。类似地,通过本领域技术人员已知的任何方法可将本发明式(I)的化合物的任何盐转化为游离化合物。

[1247] 实施例36

[1248] rac-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-N²-甲基甘氨酸酰胺



[1250] 根据以下方案由中间体13起始来制备实施例36:



[1252] 步骤1:

[1253] 由中间体13起始,类似于实施例3所述的步骤1来进行步骤1以得到rac-4-氨基-3-(4-氯-3-甲基苯基)-N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲脒。

[1254] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.43 (s, 3H), 4.37 (dd, 1H), 4.46 (dd, 1H), 4.87 (dd, 1H), 6.55 (t, 1H), 6.96 (dd, 1H), 7.22-7.29 (m, 2H), 7.29-7.56 (m, 3H), 7.60-7.69 (m, 2H), 7.75 (d, 1H), 8.17 (br s, 1H).

[1255] LCMS (方法3): $R_t = 1.63\text{min}$

[1256] MS (ESI): $[M+H]^+ = 419.1$

[1257] 步骤2:

[1258] 类似于实施例3所述的步骤2来进行步骤1以得到rac-3-(4-氯-3-甲基苯基)-N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]-4-(乙基氨基)-4,5-二氢-1H-吡唑-1-甲脒。

[1259] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.11 (t, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.61-2.71 (m, 2H), 4.32 (dd, 1H), 4.54 (dd, 1H), 4.81 (dd, 1H), 6.56 (t, 1H), 6.97 (dd, 1H), 7.21-7.43 (m, 4H), 7.67 (dd, 1H), 7.77 (d, 1H), 8.12 (br s, 1H).

[1260] LCMS (方法3) :R_t=1.79min

[1261] MS (ESI) : [M+H]⁺=445.1

[1262] 步骤3:

[1263] 将255mg (671μmol) 1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓-3-氧化物六氟磷酸盐 (HATU) 和4-甲基吗啉 (148μL) 加入到溶于DMF (3.0mL) 的N-(叔丁氧羰基)-N-甲基甘氨酸的溶液中。在室温下搅拌30min后,加入rac-3-(4-氯-3-甲基苯基)-N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]-4-(乙基氨基)-4,5-二氢-1H-吡啶-1-甲脒 (150mg, 366 μmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜,然后通过制备型HPLC (Waters XBrigde C18 5μm 100x30mm, 0.2%氨水, 乙腈) 纯化得到120mg (56%) 白色固体rac-(2-[[(4S)-3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基] (乙基)氨基]-2-氧代乙基) 甲基氨基甲酸叔丁酯。

[1264] UPLC-MS (方法2) :R_t=1.43min

[1265] MS (ESI) : [M+H]⁺=618.4

[1266] 步骤4:

[1267] 将87mg (389μmol) 溴化锌加入到溶于1,2-二氯乙烷 (6mL) 的120mg (194μmol) (2-[[(4S)-3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基] (乙基)氨基]-2-氧代乙基) 甲基氨基甲酸叔丁酯的溶液中。将反应混合物在60℃下搅拌3h,然后用含水缓冲液 (pH 10) 和二氯甲烷稀释。将有机层用盐水洗涤、干燥并在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC (Waters XBrigde C18 5μm 100x30mm, 0.2%氨水, 乙腈) 纯化以得到40mg (41%) 白色固体rac-N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡啶-4-基]-N-乙基-N²-甲基甘氨酸酰胺。

[1268] ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] : 0.756 (0.47), 0.775 (0.84), 0.793 (0.52), 1.052 (2.76), 1.329 (0.54), 2.128 (0.59), 2.168 (6.94), 2.323 (1.06), 2.327 (1.46), 2.331 (1.53), 2.347 (16.00), 2.361 (7.49), 2.363 (6.97), 2.523 (7.80), 2.539 (2.63), 2.665 (0.71), 2.669 (0.93), 2.674 (0.65), 3.219 (1.68), 3.260 (3.74), 3.362 (2.99), 3.464 (0.71), 3.502 (0.55), 4.082 (0.84), 4.094 (1.02), 4.113 (1.15), 4.125 (1.20), 4.431 (1.08), 4.460 (2.18), 4.490 (1.01), 6.980 (1.85), 6.987 (2.32), 7.001 (2.22), 7.008 (2.55), 7.056 (2.89), 7.205 (3.28), 7.210 (4.64), 7.216 (2.92), 7.241 (6.99), 7.250 (2.58), 7.265 (2.80), 7.267 (2.92), 7.392 (2.95), 7.412 (4.90), 7.426 (3.50), 7.433 (2.89), 7.452 (0.89), 7.497 (2.27), 7.518 (3.70), 7.560 (0.79), 7.578 (2.39), 7.580 (2.59), 7.583 (2.56), 7.599 (1.46), 7.604 (1.50), 7.774 (3.16), 7.776 (3.36), 7.780 (3.00), 7.923 (0.93), 7.925 (0.95) .

[1269] UPLC-MS (方法2) :R_t=1.20min

[1270] MS (ESI) : [M+H]⁺=518.3

[1271] 通过手性制备型HPLC将实施例36分离为其异构体:

[1272]

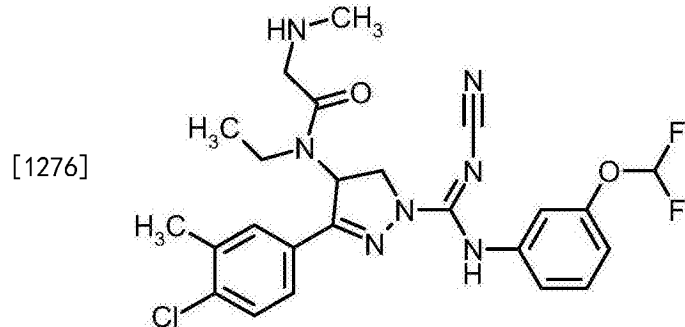
系统:	Agilent:Prep 1200, 2xPrep Pump, DLA, MWD, 制备型FC,
柱:	Chiralpak IE 5μm 250x20mm
溶剂:	乙腈/乙醇90:10+0.1%二乙胺

流速:	15mL/min
温度:	室温
检测:	UV 254nm
溶液	36mg/1.5mL二氯甲烷/甲醇1:1
注射	8x0.2mL
实施例编号	以min计的Rt
36.1	8.0-9.2
36.2	10.4-12.5

[1273] 分析型手性HPLC方法:仪器:Agilent 1260/Agilent 1290;柱:Chiralpak IE 3 μ m 100 \times 4.6mm;洗脱液:乙腈/乙醇90:10+0.1%二乙胺;流速1.0mL/min;温度:25 $^{\circ}$ C;溶液:1.0mg/mL乙醇/甲醇1:1;注射:5 μ L;检测:DAD 254nm。

[1274] 实施例36.1

[1275] N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-N²-甲基甘氨酸酰胺异构体2

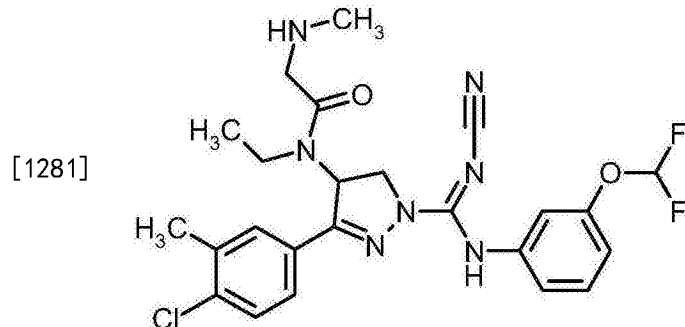


[1277] 分析型手性HPLC:R_t=2.72min

[1278] $[\alpha]_{D20} = +61.6^{\circ}$ (c:0.33DMSO)

[1279] 实施例36.2

[1280] N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-N²-甲基甘氨酸酰胺异构体1

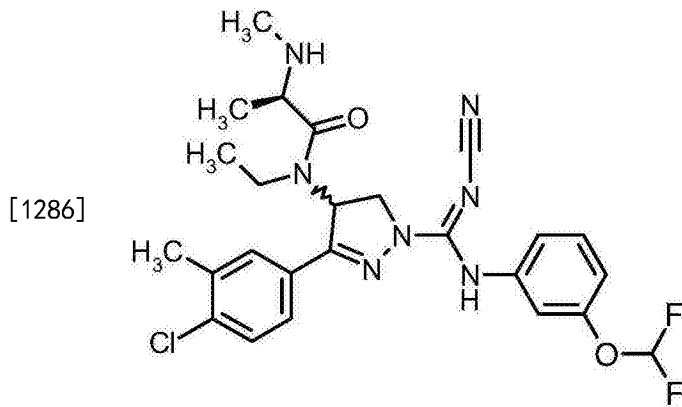


[1282] 分析型手性HPLC:R_t=3.55min

[1283] $[\alpha]_{D20} = -64.0^{\circ}$ (c:0.37, DMSO)

[1284] 实施例37

[1285] N-[3-(4-氯-3-甲基苯基)-1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-N²-甲基-D-丙氨酸酰胺



[1287] 类似于实施例3来制备实施例37,以中间体13代替中间体12来起始,并使用N-[(9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]-D-丙氨酸代替N-[(9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]甘氨酸用于酰胺偶联。

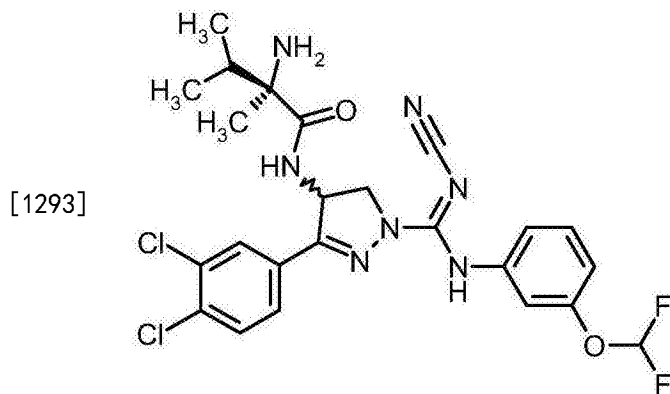
[1288] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ [ppm]: 0.754 (0.43), 0.772 (0.83), 0.790 (0.54), 0.811 (0.41), 0.863 (0.45), 0.970 (1.08), 1.014 (5.72), 1.020 (3.18), 1.030 (5.97), 1.036 (2.95), 1.110 (4.87), 1.128 (1.62), 1.147 (1.15), 1.160 (1.19), 1.176 (1.01), 1.197 (0.47), 1.235 (1.10), 1.278 (0.43), 1.292 (0.52), 1.295 (0.52), 1.775 (0.47), 1.808 (0.47), 1.907 (0.70), 1.919 (0.79), 1.951 (0.74), 2.045 (0.41), 2.131 (11.88), 2.140 (3.90), 2.145 (1.42), 2.162 (2.77), 2.264 (0.56), 2.322 (2.95), 2.336 (16.00), 2.355 (3.81), 2.358 (3.99), 2.417 (0.52), 2.523 (4.33), 2.660 (0.50), 2.664 (0.99), 2.669 (1.44), 2.674 (1.06), 2.679 (0.61), 2.693 (0.45), 2.938 (1.08), 2.956 (1.10), 3.090 (1.31), 3.103 (1.22), 3.204 (0.52), 3.386 (0.99), 3.405 (1.60), 3.422 (1.78), 3.437 (1.60), 3.453 (1.24), 3.474 (0.59), 3.975 (0.47), 4.163 (0.41), 4.471 (0.95), 4.501 (1.60), 4.529 (0.72), 5.371 (0.77), 5.435 (0.77), 6.991 (1.71), 6.998 (2.37), 7.012 (2.25), 7.019 (2.61), 7.053 (4.21), 7.214 (3.49), 7.220 (6.35), 7.226 (3.90), 7.238 (8.65), 7.254 (2.79), 7.255 (3.27), 7.261 (2.43), 7.274 (3.43), 7.279 (3.70), 7.281 (3.15), 7.300 (1.13), 7.303 (1.10), 7.319 (0.79), 7.322 (0.74), 7.355 (0.61), 7.370 (0.86), 7.389 (0.47), 7.400 (3.47), 7.420 (6.11), 7.423 (7.35), 7.441 (2.70), 7.493 (2.93), 7.514 (4.15), 7.551 (0.41), 7.572 (0.56), 7.581 (1.44), 7.587 (1.55), 7.602 (1.04), 7.608 (1.10), 7.623 (1.22), 7.644 (0.88), 7.696 (0.99), 7.716 (1.98), 7.718 (2.05), 7.723 (1.76), 7.756 (1.87), 7.762 (1.78), 7.843 (1.15), 7.860 (1.15), 7.891 (0.61), 7.893 (0.59).

[1289] UPLC-MS (方法2): $R_t = 1.20\text{min}$

[1290] MS (ESI): $[M+H]^+ = 518.3$

[1291] 实施例38

[1292] N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-3-甲基-D-异缬氨酸酰胺



[1294] 类似于实施例3来制备实施例38,省略了步骤2并使用N-[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]-3-甲基-D-异缬氨酸代替N-[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]甘氨酸,得到了白色固体N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-3-甲基-D-异缬氨酰胺。

[1295] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ [ppm]: 0.564 (6.16), 0.581 (6.49), 0.600 (5.47), 0.617 (5.57), 0.718 (6.76), 0.727 (6.51), 0.735 (7.61), 0.744 (6.04), 1.021 (16.00), 1.025 (13.30), 1.109 (2.48), 1.251 (0.56), 1.852 (0.51), 1.870 (1.30), 1.887 (1.99), 1.905 (1.88), 1.923 (1.13), 1.940 (0.42), 2.073 (1.02), 2.523 (2.19), 2.532 (0.97), 2.537 (0.78), 4.016 (1.00), 4.030 (1.07), 4.044 (1.23), 4.054 (1.25), 4.058 (1.40), 4.066 (0.99), 4.082 (0.98), 4.095 (0.95), 4.429 (0.93), 4.436 (1.10), 4.457 (2.15), 4.464 (2.53), 4.486 (0.93), 4.493 (1.05), 5.741 (0.85), 5.754 (1.01), 5.763 (1.07), 5.769 (1.27), 5.777 (1.17), 5.783 (1.06), 5.792 (0.92), 5.805 (0.73), 6.998 (1.90), 7.000 (1.97), 7.003 (1.98), 7.005 (2.05), 7.019 (2.22), 7.025 (2.26), 7.061 (3.00), 7.202 (1.94), 7.208 (4.12), 7.213 (3.97), 7.219 (1.68), 7.246 (6.08), 7.255 (1.67), 7.261 (2.25), 7.275 (1.89), 7.280 (2.78), 7.407 (3.32), 7.427 (6.05), 7.448 (2.37), 7.733 (3.16), 7.736 (3.51), 7.754 (3.93), 7.758 (4.69), 7.846 (2.32), 7.851 (2.26), 7.868 (1.72), 7.872 (1.87), 7.876 (2.09), 7.881 (1.84), 7.897 (1.36), 7.902 (1.38), 8.142 (3.27), 8.147 (3.19), 8.154 (2.89), 8.159 (2.69).

[1296] LC-MS (方法9): $R_t = 1.05\text{min}$

[1297] MS (ESI): $[M+H]^+ = 552.0$

[1298] 通过手性SFC将实施例38分离为其异构体:

[1299]

系统:	Sepiatec:Prep SFC100,
柱:	Chiralpak ID $5\mu\text{m}$ $250 \times 30\text{mm}$
溶剂:	二氧化碳/2-丙醇+0.2%二乙胺70/30
流速:	100mL/min
温度:	40°C
检测:	UV 254nm
压力	150bar
溶液	240mg/4mL甲醇/DMSO 3:1
注射	$8 \times 0.5\text{mL}$

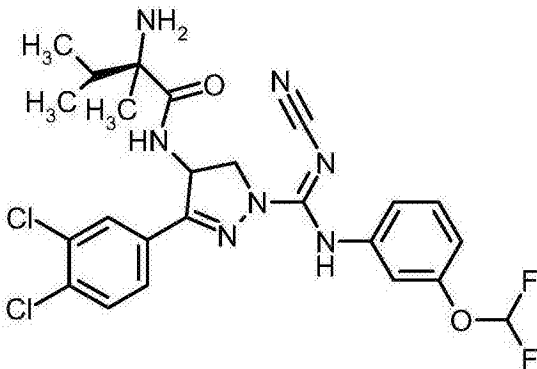
实施例编号	以min计的Rt
38.1	6.5-9.0
38.2	14.0-18.0

[1300] 分析型手性HPLC方法:仪器:Agilent:1260AS,MWD,Aurora SFC-M0dul;柱:Chiralpak IC 5 μ m 100x4.6mm;洗脱液:二氧化碳/2-丙醇+0.2%二乙胺70:30;流速4.0mL/min;温度:37.5 $^{\circ}$ C;溶液:1.0mg/mL乙醇/甲醇1:1;注射:10 μ L;检测:DAD 254nm。

[1301] 实施例38.1

[1302] N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-3-甲基-D-异缬氨酰胺异构体2

[1303]



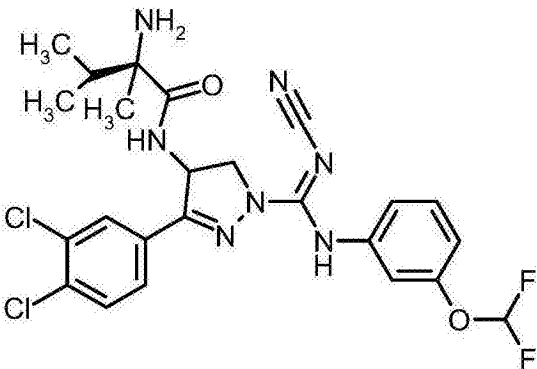
[1304] 分析型手性HPLC:R_t=3.78min

[1305] $[\alpha]_{D20} = +34.0^{\circ}$ (c:0.22, DMSO)

[1306] 实施例38.2

[1307] N-[1-{N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-3-甲基-D-异缬氨酰胺异构体1

[1308]



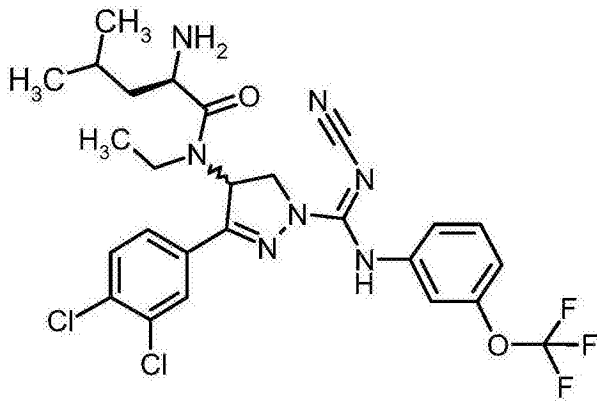
[1309] 分析型手性HPLC:R_t=7.41min

[1310] $[\alpha]_{D20} = +16.6^{\circ}$ (c:0.28, DMSO)

[1311] 实施例39

[1312] N-[1-{N'-氧基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-D-亮氨酰胺

[1313]



[1314] 类似于实施例3来制备实施例38,从中间体16起始并使用N-[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]-D-亮氨酸代替N-[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]甘氨酸,得到了N-[1-({N'-氰基-N-[3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基)-N-乙基-D-亮氨酸酰胺。

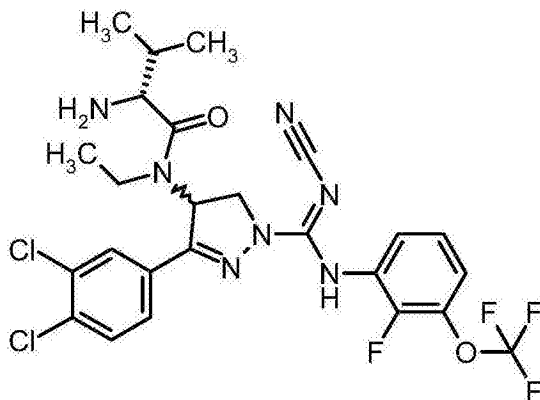
[1315] UPLC-MS (方法2) : $R_t=1.41\text{min}$

[1316] MS (ESI) : $[M+H]^+=598.3$

[1317] 实施例40

[1318] N-[1-({N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基)-N-乙基-D-缬氨酸酰胺

[1319]



[1320] 类似于实施例3来制备实施例40,从中间体15起始并使用N-[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]-D-缬氨酸代替N-[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]甘氨酸,得到了N-[1-({N'-氰基-N-[2-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]甲脒基}-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基)-N-乙基-D-缬氨酸酰胺。

[1321] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, 氯仿-d) 6 [ppm] : 0.658 (0.58) , 0.675 (0.57) , 0.895 (5.94) , 0.912 (6.12) , 0.952 (0.73) , 0.974 (5.65) , 0.991 (5.61) , 1.193 (1.44) , 1.212 (2.63) , 1.229 (1.45) , 1.261 (1.37) , 1.825 (0.69) , 1.842 (1.06) , 1.859 (0.99) , 1.875 (0.61) , 2.015 (16.00) , 3.259 (2.00) , 3.275 (2.07) , 3.299 (0.61) , 3.319 (0.50) , 3.328 (0.40) , 4.531 (0.41) , 4.615 (0.53) , 7.192 (0.90) , 7.207 (3.10) , 7.216 (0.88) , 7.223 (1.52) , 7.226 (1.52) , 7.247 (0.49) , 7.502 (2.22) , 7.523 (3.68) , 7.577 (1.52) , 7.582 (1.55) , 7.597 (0.90) , 7.603 (0.96) , 7.813 (2.55) , 7.818 (2.48) , 7.920 (0.74) , 7.925 (0.61) , 7.938 (0.80) , 7.943 (0.86) , 7.945 (0.87) , 7.954 (0.46) , 7.962 (0.43) .

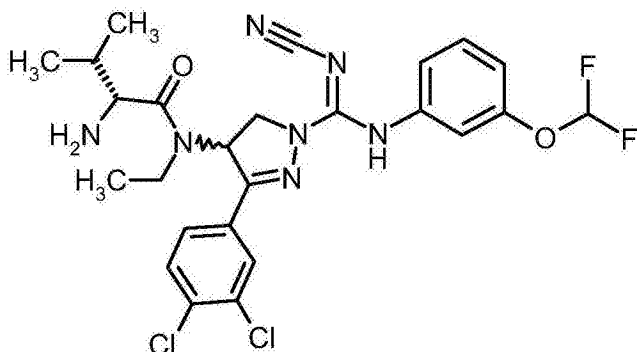
[1322] UPLC-MS (方法2) : $R_t=1.06$

[1323] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 602.3$

[1324] 实施例41

[1325] N-[1-(N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑-4-基]-N-乙基-D-缬氨酰胺

[1326]



[1327] 类似于实施例3来制备实施例41,使用N-[(9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]-D-缬氨酸代替N-[(9H-芴-9-基甲氧基) 羰基] 甘氨酸,得到了N-[1-(N'-氰基-N-[3-(二氟甲氧基)苯基]甲脒基)-3-(3,4-二氯苯基)-4,5-二氢-1H-吡唑4基]-N-乙基-D-缬氨酰胺。

[1328] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] : 0.466 (3.32), 0.528 (0.67), 0.545 (0.58), 0.629 (0.44), 0.682 (4.75), 0.699 (4.81), 0.770 (0.70), 0.793 (0.64), 0.811 (0.52), 0.868 (1.08), 0.886 (2.10), 0.903 (1.52), 0.920 (3.18), 0.932 (13.29), 0.940 (15.80), 0.949 (14.43), 0.958 (14.05), 1.036 (0.99), 1.054 (1.54), 1.071 (3.91), 1.088 (7.72), 1.109 (4.93), 1.126 (1.17), 1.140 (0.96), 1.157 (0.79), 1.210 (2.30), 1.229 (4.23), 1.246 (2.91), 1.754 (0.85), 2.034 (1.17), 2.051 (1.81), 2.066 (1.75), 2.071 (2.56), 2.084 (1.25), 2.101 (0.55), 2.322 (1.19), 2.327 (1.72), 2.332 (1.22), 2.336 (0.61), 2.523 (5.60), 2.665 (1.17), 2.669 (1.72), 2.674 (1.14), 2.679 (0.58), 3.355 (1.14), 3.373 (1.31), 3.395 (1.11), 3.412 (0.79), 3.727 (0.96), 3.745 (1.14), 3.769 (0.99), 3.787 (0.73), 4.100 (2.74), 4.114 (3.35), 4.137 (3.96), 4.152 (2.94), 4.166 (2.68), 4.181 (2.71), 4.239 (1.84), 4.268 (2.21), 4.301 (1.31), 4.469 (2.68), 4.498 (4.49), 4.528 (2.42), 4.571 (1.95), 4.600 (3.44), 4.629 (1.98), 6.991 (0.55), 7.019 (2.56), 7.026 (2.80), 7.034 (3.03), 7.041 (5.74), 7.046 (3.85), 7.055 (3.38), 7.060 (8.66), 7.063 (9.59), 7.149 (0.41), 7.177 (0.50), 7.189 (3.35), 7.195 (6.18), 7.201 (3.67), 7.228 (4.26), 7.233 (6.91), 7.238 (5.07), 7.245 (15.07), 7.248 (16.00), 7.257 (1.63), 7.265 (3.64), 7.271 (6.35), 7.276 (3.44), 7.290 (3.67), 7.296 (3.50), 7.415 (5.01), 7.425 (5.80), 7.430 (6.38), 7.432 (7.87), 7.436 (8.54), 7.446 (8.28), 7.456 (3.93), 7.466 (3.64), 7.473 (0.79), 7.581 (0.44), 7.586 (0.52), 7.602 (0.70), 7.607 (0.64), 7.700 (3.61), 7.706 (2.65), 7.712 (3.82), 7.717 (4.08), 7.721 (6.99), 7.726 (6.59), 7.733 (5.62), 7.738 (6.12), 7.747 (11.77), 7.769 (4.43), 7.784 (0.70), 7.798 (9.62), 7.819 (5.89), 7.990 (4.26), 8.021 (6.82), 8.026 (6.64), 8.064 (0.70), 8.127 (7.46), 8.132 (7.69), 8.168 (4.23), 8.254 (1.60), 8.259 (1.84), 8.278 (0.85), 9.832 (3.32), 9.951 (4.02), 10.040 (1.02).

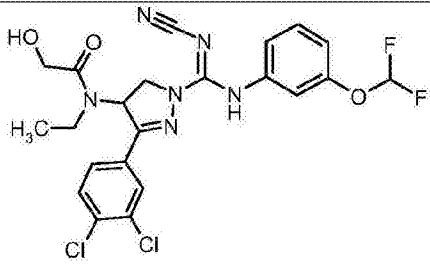
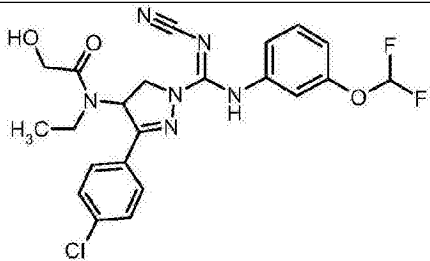
[1329] LC-MS (方法5) : $R_t = 1.02$ 和 1.04min (2个非对映异构体)

[1330] MS (ESI) : $[M+H]^+ = 566.1$

[1331] 比较实施例

[1332] 为证明本发明化合物相对于已在WO 2006/072350中公开的最接近的现有技术化合物的优势,进行了以下比较实施例:

[1333]

实施例编号	结构	IC ₅₀ [mol/l] (SPA 测定)
本发明的 4.1		2,82 E-8
WO 2006/072350 实施例 67 更具活性的异构体		5,48 E-7

[1334] 与SAM和实施例4.1复合的人SMYD2的纯化、结晶和晶体结构测定

[1335] 人SMYD2的纯化

[1336] 将重组人SMYD2(Uniprot Q9NRG4;氨基酸2-433)在含有N-末端TEV可切割的6xHis-标签的昆虫细胞(Sf9)中表达。将细胞沉淀重悬浮在补充有完全的不含EDTA的蛋白酶抑制剂片剂和50U/mL核酸酶的裂解缓冲液(40mM Tris,pH8;500mM NaCl;0.1% IGEPAL;5mM咪唑;1mM DTT)中。将细胞裂解液加载到Ni-NTA柱,用咪唑洗脱并使用超离心过滤单元进行浓缩。随后,在20mM Tris(pH 8)、100mM NaCl、5%甘油、1mM DTT中平衡的Superdex S200柱上对SMYD2进行凝胶过滤。将6xHis-标签在6°C下用TEV蛋白酶溶液切割过夜。通过使用第二Ni-NTA亲和步骤将未经切割的SMYD2和TEV蛋白酶与经切割的产物分离。使用20mM Tris(pH 8)、150mM NaCl、5%甘油、1mM TCEP中平衡的Superdex 200通过第二凝胶过滤步骤将经切割的SMYD2蛋白进一步纯化。使用超离心过滤单元将所述蛋白浓缩至15.5mg/mL(313μM)(UV-Vis)并在液氮中迅速冷冻。

[1337] 人SMYD2的结晶

[1338] 对于结晶,如下加入辅因子S-腺苷甲硫氨酸(SAM)至3.8mM终浓度:将1.2μl SAM母液(100mM于DMSO中)加入到30μl浓缩的SMYD2溶液中,并在4°C下孵育2小时。使用悬滴法在20°C下在3天内长出晶体。由1μl SMYD2:SAM溶液和0.8μl池液(20-24%(w/v)PEG 3350、100mM HEPES pH 7.0)制成滴剂。在滴剂形成后30min,加入2μl种子溶液。所述种子溶液由经手动压碎(使用Seed Beads,Hampton Research)的SMYD2:SAM晶体(在之前实验中使用相同的池条件获得的)制成,在池液中进行稀释,迅速冷冻,并保存于-80°C。

[1339] 晶体中人SMYD2:SAM和实施例4.1的复合物形成

[1340] 对于复合物形成,将晶体转移到1.5 μ l池液的新滴剂中。将实施例4.1的母液(100mM于DMSO中)用池液稀释10倍。在2个小时的过程中将1.5 μ l该稀释的母液以三步、每步0.5 μ l加入到含有SMYD2: SAM晶体的滴剂中,得到在浸泡滴剂中的终浓度为5mM的实施例4.1。在20 $^{\circ}$ C下将该晶体浸泡在该滴剂中4天。

[1341] 数据收集和处理

[1342] 将浸泡的晶体短暂浸没在低温缓冲液(0.1M HEPES pH 7.0, 22% PEG 3350, 20%甘油和2mM实施例4.1)中,并在液氮中快速冷冻。在Helmholtz-Zentrum Berlin的光束线14.1下使用**0.91841 Å**的波长以及PILATUS检测器在100K下收集衍射数据。使用程序XDS对衍射图像进行处理。晶体衍射至**2.0 Å**的分辨率,并属于空间群P2₁2₁2₁,晶胞大小为**a=52.3 Å**和**b= 69.6 Å**、**c=131.1 Å**,每个不对称单元有一个分子。

[1343] 结构确定和精修

[1344] 使用来自CCP4程序包的程序PHASER并以3TG5 (PDB入口码)作为搜索模型,通过分子置换法首先解析了缺少抑制剂的SMYD2: SAM晶体的本文所述的晶形。然后使用SMYD2: SAM结构作为起始模型以及作为CCP4程序包的一部分的程序REFMAC通过刚体精修解析了SMYD2: SAM: 实施例4.1的数据集。使用程序Discovery Studio和晶体学精修的参数文件产生实施例4.1的3D模型,并使用软件PRODRG进行建模。使用程序COOT,然后通过数个精修循环(使用程序REFMAC)并在COOT中重建来将实施例4.1手动构建到电子密度图中。最终的共复合物结构特征在于R(work)为23.0%, R(free)为27.3%。数据收集和精修的统计结果总结于表1中。

[1345] 表1: 人SMYD2与SAM和实施例4.1的复合物的数据收集和精修统计结果

SMYD2: SAM: 实施例 4.1	
数据收集:	
来源	BL 14.1 (Helmholtz-Zentrum Berlin)
[1346] 波长[Å]	0.9841
空间群 (no.)	P2(1)2(1)2(1) (19)
晶胞参数, a, b, c [Å]	52.3, 69.6, 131.1
分辨率限度 [Å]	48.61-1.99 (2.11-1.99)
衍射点数	221439
独立(衍射)点数	33656

	冗余值 (multiplicity)	6.58
	I/sigI	14.39 (2.41)
	R_meas [%]	10.1 (81.5)
	完整度 [%]	99.9 (99.5)
	B(Wilson) [Å ²]	35.09
	镶嵌度 [deg]	0.129
	精修	
[1347]	分辨率限度[Å]	1.99 – 47.72 (1.99-2.04)
	完整度[%]	99.9 (99.0)
	衍射点数	31972
	R (work) / R(free) [%]	23.0 / 27.3 (33.2 / 38.1)
	平均 B 值[Å ²]	55.5
	RMSD 键长 [Å]	0.017
	RMSD 键角 [deg]	2.03

[1348] 括号中的值是指最高分辨率壳层。

[1349] 人SMYD2中的实施例4.1的绝对构型

[1350] 人SMYD2、SAM和实施例4.1的复合物(图X3)发生结晶,其中在不对称单元里有一个分子。实施例4.1的立体化学由蛋白人SMYD2的立体化学知识来明确地定义。实施例4.1明确地以碳原子C1上的S构型为特征(图X3)。(Wang L1,Li L,Zhang H,Luo X,Dai J,Zhou S,Gu J,Zhu J,Atadja P,Lu C,Li E,Zhao K.Structure of human SMYD2 protein reveals the basis of p53 tumor suppressor methylation.)

[1351] 晶体学软件工具CCP4的参考文献:M.D.Winn et al.Acta.Cryst.D67,235-242 (2011)“Overview of the CCP4 suite and current developments”Phaser: J.Appl.Cryst. (2007) .40,658-674.

[1352] Phaser晶体学软件.McCoy,A.J.,Grosse-Kunstleve,R.W.,Adams,P.D.,Winn, M.D.,Storoni,L.C.,&Read,R.J.

[1353] Refmac:“Refinement of Macromolecular Structures by the Maximum-Likelihood method”G.N.Murshudov,A.A.Vagin and E.J.Dodson,(1997) in Acta Cryst.D53,240-255.

[1354] ProDrg:A.W.Schüttelkopf and D.M.F.van Aalten(2004).“PRODRG:a tool for high-throughput crystallography of protein-ligand complexes”,Acta Crystallogr D60,1355-1363.

[1355] COOT:Paul Emsley,Bernhard Lohkamp,William G.Scott,Kevin Cowtan, “Features and Development of Coot”,(2010)Acta Cryst.D66:486-501.

[1356] 化合物的药物组合物

[1357] 本发明还涉及含有一种或多种本发明化合物的药物组合物。这些组合物可用于通过给药至需要其的患者而实现所需的药理学作用。用于本发明的目的，患者为需要治疗特定病症或疾病的哺乳动物，包括人类。因此，本发明包括这样的药物组合物，其包含可药用的载体以及药学有效量的本发明化合物或其盐。可药用的载体优选是这样的载体，其在与活性成分的有效活性相一致的浓度下对患者相对无毒和无害，使得可归因于所述载体的任何副作用都不会损害所述活性成分的有益作用。化合物的药学有效量优选地是这样的量，其对正在治疗的特定病症产生结果或者发挥影响。使用任何有效的常规剂量单位形式，包括即释、缓释和定时释放制剂，可以将本发明的化合物与本领域公知的可药用的载体一起如下给药：经口服、经肠胃外、经局部、经鼻、经眼部 (ophthalmically)、经眼 (optically)、经舌下、经直肠、经阴道等。

[1358] 对于口服给药，可将所述化合物配制为固体或液体制剂如胶囊剂、丸剂、片剂、糖锭、锭剂、熔化物、粉剂、溶液剂、悬浮剂或乳剂，且可以根据本领域已知的制备药物组合物的方法来制备。固体单位剂型可以是胶囊剂，其可以是普通的硬壳或软壳明胶类型，其含有例如，表面活性剂、润滑剂和惰性填充剂如乳糖、蔗糖、磷酸钙和玉米淀粉。

[1359] 在另一个实施方案中，可将本发明化合物与常规片剂基质 (如乳糖、蔗糖和玉米淀粉) 一起并与以下物质组合制成片剂：粘合剂如阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶；崩解剂，其意欲在给药后辅助片剂的破碎和溶解，如马铃薯淀粉、海藻酸、玉米淀粉和瓜尔胶、黄耆树胶、阿拉伯胶；润滑剂，其意欲改善片剂制粒的流动性并防止片剂材料附着至片剂模具和冲具的表面，例如滑石、硬脂酸或者硬脂酸镁、硬脂酸钙或硬脂酸锌；染料、着色剂和矫味剂如薄荷、冬青油或樱桃矫味剂，其意欲增强所述片剂的美学特性并使它们更可被患者接受。用于口服液体剂型的合适赋形剂包括磷酸二钙和稀释剂如水和醇，例如，乙醇、苯甲醇和聚乙烯醇，加或不加可药用的表面活性剂、助悬剂或乳化剂。各种其他材料可以作为包衣剂存在，或以其他方式改变剂量单位的物理形式。例如，片剂、丸剂或胶囊剂可以被虫胶、糖或两者包被。

[1360] 可分散的粉剂和颗粒剂适合用于制备水性悬浮液。它们提供与分散剂或润湿剂、助悬剂及一种或多种防腐剂混合的活性成分。合适的分散剂或湿润剂和助悬剂以上文已提及的那些为实例。还可能存在额外的赋形剂，例如上文所述的那些甜味剂、矫味剂和着色剂。

[1361] 本发明的药物组合物还可以呈水包油乳剂的形式。油相可以为植物油诸如液体石蜡，或者植物油的混合物。合适的乳化剂可以为 (1) 天然存在的树胶如阿拉伯胶和黄耆树胶，(2) 天然存在的磷脂如大豆磷脂和卵磷脂，(3) 衍生自脂肪酸和己糖醇酐类的酯或偏酯，例如，脱水山梨糖醇单油酸酯，(4) 所述偏酯与环氧乙烷的缩合产物，例如，聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯。所述乳剂还可含有甜味剂和矫味剂。

[1362] 油性悬浮剂可通过将所述活性成分悬浮于植物油 (如，花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油) 或矿物油 (如液体石蜡) 中而配制。所述油性悬浮剂可含有增稠剂如，蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。所述悬浮剂还可含有一种或多种防腐剂，例如对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸正丙酯；一种或多种着色剂；一种或多种矫味剂；以及一种或多种甜味剂，如蔗糖或糖精。

[1363] 糖浆剂和酏剂可用甜味剂 (例如，甘油、丙二醇、山梨醇或蔗糖) 配制。这样的制剂还可含有缓和剂和防腐剂 (如对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯) 以及矫味剂和着色

剂。

[1364] 本发明的化合物还可经肠胃外(也就是说,皮下、静脉内、眼内、滑膜内、肌内或腹膜内)给予,作为所述化合物的可注射剂量,优选地在含有药用载体的生理上可接受的稀释剂中,所述药用载体可以为无菌液体或液体的混合物,如水,盐水,右旋糖水溶液和相关的糖溶液,醇如乙醇、异丙醇或十六烷醇,二醇如丙二醇或聚乙二醇,甘油缩酮如2,2-二甲基-1,1-二氧杂环戊烷-4-甲醇,醚如聚(乙二醇)400,油,脂肪酸,脂肪酸酯或脂肪酸甘油酯或乙酰化的脂肪酸甘油酯,添加或不添加可药用的表面活性剂如肥皂或洗涤剂,助悬剂如果胶、卡波姆、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素或羧甲纤维素,或者乳化剂以及其他药物佐剂。

[1365] 可用于本发明的肠胃外制剂中的油的示例是石油、动物、植物或合成来源的那些油,例如,花生油、大豆油、芝麻油、棉籽油、玉米油、橄榄油、矿脂和矿物油。合适的脂肪酸包括油酸、硬脂酸、异硬脂酸和肉豆蔻酸。合适的脂肪酸酯是例如油酸乙酯和肉豆蔻酸异丙酯。合适的肥皂包括脂肪酸碱金属盐、铵盐和三乙醇胺盐,合适的洗涤剂包括阳离子洗涤剂,例如二甲基二烷基卤化铵、烷基吡啶鎓卤化物和烷基胺乙酸盐;阴离子洗涤剂,例如烷基磺酸盐、芳基磺酸盐和烯烴磺酸盐,烷基硫酸盐、烯烴硫酸盐、醚硫酸盐和单甘油酯硫酸盐以及磺基琥珀酸盐;非离子型洗涤剂,例如脂肪胺氧化物、脂肪酸烷醇酰胺以及聚(氧乙烯-氧丙烯)或环氧乙烷共聚物或环氧丙烷共聚物;以及两性洗涤剂,例如烷基- β -氨基丙酸盐和2-烷基咪唑啉季铵盐,以及混合物。

[1366] 本发明的肠胃外组合物通常含有在溶液中的约0.5重量%至约25重量%的活性成分。还可以有利地使用防腐剂和缓冲剂。为了最小化或消除在注射部位处的刺激,这样的组合物可以含有非离子型表面活性剂,其具有优选约12至约17的亲水亲油平衡值(HLB)。这样的制剂中的表面活性剂的量优选范围为约5重量%至约15重量%。所述表面活性剂可以是具有以上HLB的单一组分,或者可以是具有所需的HLB的两种以上的组分的混合物。

[1367] 用于肠胃外制剂中的表面活性剂的实例是聚乙烯脱水山梨糖醇脂肪酸酯的类别,例如,脱水山梨糖醇单油酸酯,以及环氧乙烷与疏水性基质(base)的高分子量加合物,所述疏水性基质由环氧丙烷与丙二醇缩合形成。

[1368] 所述药物组合物可以呈无菌可注射的水性悬浮液的形式。根据已知的方法,使用以下物质可以配制这样的悬浮液:合适的分散剂或润湿剂和助悬剂,例如,羧甲纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、海藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、黄蓍树胶和阿拉伯胶;分散剂或润湿剂,其可以是天然存在的磷脂如卵磷脂,环氧烷烴与脂肪酸的缩合产物,例如聚氧乙烯硬脂酸酯,环氧乙烷与长链脂族醇的缩合产物,例如十七亚乙基氧基鲸蜡醇,环氧乙烷与衍生自脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物如聚氧乙烯山梨醇单油酸酯,或环氧乙烷与衍生自脂肪酸和己糖醇酐的偏酯的缩合产物,例如聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯。

[1369] 无菌可注射的制剂还可以是在无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射的溶液或悬浮液。可以使用的稀释剂和溶剂是,例如,水、林格氏溶液、等渗氯化钠溶液和等渗葡萄糖溶液。另外,常规地使用无菌的不挥发性油作为溶剂或悬浮介质。为此目的,可以采用任何温和的不挥发性油,包括合成的甘油单酯或甘油二酯。另外,脂肪酸如油酸可以用于制备可注射物。

[1370] 本发明的组合物还可以用于药物的直肠给药的栓剂的形式给药。这些组合物可通过将药物与合适的无刺激性的赋形剂混合而制备,所述赋形剂在常温为固体,但是在直肠

温度为液体,且因此在直肠中熔化以释放药物。这样的材料是例如可可脂和聚乙二醇。

[1371] 另一种用于本发明方法的制剂使用透皮递送装置(“贴剂”)。这类透皮贴剂可用于提供本发明化合物在受控量下的连续或不连续注入。用于递送药物试剂的透皮贴剂的构建和使用是本领域公知的(参见,例如,美国专利No.5,023,252,1991年6月11日授权,以引用的方式纳入本文)。这类贴剂可以构建成用于连续、脉冲、或按要求递送药物试剂。

[1372] 用于肠胃外给药的控释制剂包括本领域已知的脂质体、聚合物微球和聚合物凝胶制剂。

[1373] 可能需要或必须通过机械递送装置将所述药物组合物递送至患者。用于递送药物试剂的机械递送装置的构建和使用是本领域众公知的。例如,将药物直接地给药至脑的直接技术常常包括将药物递送导管置入患者的脑室系统以绕过血脑屏障。用于将试剂运送至身体的特定解剖学区域的一种这样的可植入递送系统描述于1991年4月30日授权的美国专利No.5,011,472中。

[1374] 在必要时或需要时,本发明的组合物还可含有其他常规可药用的混合成分,通常被称作载体或稀释剂。可利用用于将这样的组合物制备成适当剂型的常规程序。这样的成分和程序包括在以下参考文献中描述的那些,它们中的每一篇都以引用的方式纳入本文: Powell,M.F.et al.,“Compendium of Excipients for Parenteral Formulations”PDA Journal of Pharmaceutical Science&Technology 1998,52(5),238-311;Strickley,R.G.“Parenteral Formulations of Small Molecule Therapeutics Marketed in the United States(1999)-Part-1”PDA Journal of Pharmaceutical Science&Technology 1999,53(6),324-349;and Nema,S.et al.,“Excipients and Their Use in Injectable Products”PDA Journal of Pharmaceutical Science&Technology 1997,51(4),166-171。

[1375] 适当时可用于为其预期给药途径配制所述组合物的常用药物成分包括:

[1376] 酸化剂(实例包括但不限于乙酸、柠檬酸、富马酸、盐酸、硝酸);

[1377] 碱化剂(实例包括但不限于氨溶液、碳酸铵、二乙醇胺、单乙醇胺、氢氧化钾、硼酸钠、碳酸钠、氢氧化钠、三乙醇胺、三乙醇胺(trolamine));

[1378] 吸附剂(实例包括但不限于粉状纤维素和活性炭);

[1379] 气溶胶推进剂(实例包括但不限于二氧化碳、CCl₂F₂、F₂ClC-CClF₂和CClF₃)

[1380] 空气置换剂(实例包括但不限于氮气和氩气);

[1381] 抗真菌防腐剂(实例包括但不限于苯甲酸、对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸钠);

[1382] 抗微生物防腐剂(实例包括但不限于苯扎氯铵、苜索氯铵、苯甲醇、西吡氯铵、三氯叔丁醇、苯酚、苯乙醇、硝酸苯汞和硫柳汞);

[1383] 抗氧化剂(实例包括但不限于抗坏血酸、抗坏血酸棕榈酸酯、丁羟茴香醚、丁羟甲苯、次磷酸、硫代甘油、没食子酸丙酯、抗坏血酸钠、亚硫酸氢钠、甲醛合次硫酸氢钠、焦亚硫酸氢钠);

[1384] 粘合材料(实例包括但不限于嵌段聚合物、天然的和合成的橡胶、聚丙烯酸酯、聚氨酯、硅酮、聚硅氧烷和苯乙烯-丁二烯共聚物);

[1385] 缓冲剂(实例包括但不限于偏磷酸钾、磷酸氢二钾、醋酸钠、无水柠檬酸钠和柠檬酸钠二水合物);

- [1386] 载体(实例包括但不限于阿拉伯胶糖浆、芳香糖浆、芳香酞剂、樱桃糖浆、可可糖浆、橙糖浆、糖浆、玉米油、矿物油、花生油、芝麻油、抑菌的氯化钠注射液和抑菌的注射用水)；
- [1387] 螯合剂(实例包括但不限于依地酸二钠和依地酸)；
- [1388] 着色剂(实例包括但不限于FD&C Red No.3、FD&C Red No.20、FD&C Yellow No.6、FD&C Blue No.2、D&C Green No.5、D&C Orange No.5、D&C Red No.8、焦糖和氧化铁红)；
- [1389] 澄清剂(实例包括但不限于膨润土)；
- [1390] 乳化剂(实例包括但不限于阿拉伯胶、聚西托醇、鲸蜡醇、单硬脂酸甘油酯、卵磷脂、脱水山梨糖醇单油酸酯、聚氧乙烯50单硬脂酸酯)；
- [1391] 包封剂(实例包括但不限于明胶和邻苯二甲酸乙酸纤维素)；
- [1392] 矫味剂(实例包括但不限于茴香油、肉桂油、可可、薄荷醇、橙油、薄荷油和香草醛)；
- [1393] 保湿剂(实例包括但不限于甘油、丙二醇和山梨醇)；
- [1394] 研磨剂(实例包括但不限于矿物油和甘油)；
- [1395] 油类(实例包括但不限于花生油、矿物油、橄榄油、花生油、芝麻油和植物油)；
- [1396] 软膏基质(实例包括但不限于羊毛脂、亲水软膏、聚乙二醇软膏、矿脂、亲水矿脂、白软膏、黄软膏和玫瑰水软膏)；
- [1397] 渗透促进剂(透皮递送)(实例包括但不限于单羟基或多羟基醇类、一价或多价醇类、饱和的或不饱和的脂肪醇类、饱和的或不饱和的脂肪酸酯类、饱和的或不饱和的二羧酸类、精油类、磷脂酰衍生物、脑磷脂、萜类、酰胺类、醚类、酮类和脲类)；
- [1398] 塑化剂(实例包括但不限于邻苯二甲酸二乙酯和甘油)；
- [1399] 溶剂(实例包括但不限于乙醇、玉米油、棉籽油、甘油、异丙醇、矿物油、油酸、花生油、净化水、注射用水、无菌注射用水和无菌冲洗用水)；
- [1400] 硬化剂(实例包括但不限于鲸蜡醇、十六烷基酯蜡、微晶蜡、石蜡、硬脂醇、白蜡和黄蜡)；
- [1401] 栓剂基质(实例包括但不限于可可脂和聚乙二醇(混合物))；
- [1402] 表面活性剂(实例包括但不限于苯扎氯铵、壬苯醇醚10、辛苯醇醚9、聚山梨醇酯80、月桂基硫酸钠和脱水山梨糖醇单棕榈酸酯)；
- [1403] 助悬剂(实例包括但不限于琼脂、膨润土、卡波姆、羧甲基纤维素钠、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、高岭土、甲基纤维素、黄耆胶和硅酸镁铝)；
- [1404] 甜味剂(实例包括但不限于阿司帕坦、右旋糖、甘油、甘露醇、丙二醇、糖精钠、山梨醇和蔗糖)；
- [1405] 片剂抗粘着剂(实例包括但不限于硬脂酸镁和滑石)；
- [1406] 片剂粘合剂(实例包括但不限于阿拉伯胶、海藻酸、羧甲基纤维素钠、可压缩的糖、乙基纤维素、明胶、液体葡萄糖、甲基纤维素、未交联的聚乙烯吡咯烷酮和预胶化淀粉)；
- [1407] 片剂和胶囊剂稀释剂(实例包括但不限于磷酸氢钙、高岭土、乳糖、甘露醇、微晶纤维素、粉状纤维素、沉淀的碳酸钙、碳酸钠、磷酸钠、山梨醇和淀粉)；
- [1408] 片剂包衣剂(实例包括但不限于液体葡萄糖、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、乙基纤维素、邻苯二甲酸乙酸纤维素和虫胶)；

- [1409] 片剂直接压片赋形剂(实例包括但不限于磷酸氢钙);
- [1410] 片剂崩解剂(实例包括但不限于海藻酸、羧甲基纤维素钙、微晶纤维素、波拉克林钾(polacrillin potassium)、交联的聚乙烯吡咯烷酮、海藻酸钠、淀粉羟乙酸钠和淀粉);
- [1411] 片剂助流剂(实例包括但不限于胶体二氧化硅、玉米淀粉和滑石);
- [1412] 片剂润滑剂(实例包括但不限于硬脂酸钙、硬脂酸镁、矿物油、硬脂酸和硬脂酸锌);
- [1413] 片剂/胶囊剂遮光剂(实例包括但不限于二氧化钛);
- [1414] 片剂抛光剂(实例包括但不限于巴西棕榈蜡和白蜡);
- [1415] 增稠剂(实例包括但不限于蜂蜡、鲸蜡醇和石蜡);
- [1416] 张力调节剂(实例包括但不限于右旋糖和氯化钠);
- [1417] 增粘剂(实例包括但不限于海藻酸、膨润土、卡波姆、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、海藻酸钠和黄耆胶);和
- [1418] 润湿剂(实例包括但不限于十七亚乙基氧基鲸蜡醇、卵磷脂、山梨醇单油酸酯、聚氧乙烯山梨醇单油酸酯和聚氧乙烯硬脂酸酯)。
- [1419] 可以如下举例说明本发明的药物组合物:
- [1420] 无菌的IV溶液:可以使用无菌注射用水制备本发明的所需化合物的5mg/mL溶液,并且在必要时调节pH。用无菌的5%右旋糖将所述溶液稀释至用于给药的1-2mg/mL,并且作为在约60分钟内的IV输注给药。
- [1421] 用于IV给药的冻干粉末:无菌制剂可用以下物质制备:(i) 100-1000mg本发明的所需化合物作为冻干粉末,(ii) 32-327mg/mL柠檬酸钠,和(iii) 300-3000mg葡聚糖40。将该制剂用无菌注射用盐水或5%右旋糖复原至10-20mg/mL的浓度,将其用盐水或5%右旋糖进一步稀释至0.2-0.4mg/mL,并且IV推注给药或在15-60分钟内IV输注给药。
- [1422] 肌肉悬浮液:可以制备下述溶液或悬浮液用于肌肉注射:
- [1423] 50mg/mL所需的不溶于水的本发明化合物
- [1424] 5mg/mL羧甲基纤维素钠
- [1425] 4mg/mL TWEEN 80
- [1426] 9mg/mL氯化钠
- [1427] 9mg/mL苯甲醇。
- [1428] 硬壳胶囊剂:通过用100mg粉状活性成分、150mg乳糖、50mg纤维素和6mg硬脂酸镁填充每个标准的两块式硬质明胶胶囊,制备大量的单位胶囊剂。
- [1429] 软明胶胶囊剂:制备活性成分在可消化的油(如大豆油、棉籽油或橄榄油)中的混合物,并且借助于容积式泵将其注入熔化的明胶中以形成含有100mg活性成分的软明胶胶囊剂。将胶囊剂洗涤并干燥。所述活性成分可溶解在聚乙二醇、甘油和山梨醇的混合物中以制备水可混溶的药物混合物。
- [1430] 片剂:通过常规程序制备大量片剂,使得剂量单位是100mg活性成分、0.2mg胶体二氧化硅、5mg硬脂酸镁、275mg微晶纤维素、11mg淀粉和98.8mg乳糖。可以施加适当的水性的和非水性的包衣以增加适口性、改善外观和稳定性或者延迟吸收。
- [1431] 即释型片剂/胶囊剂:这些是通过常规方法和新方法制备的固体口服剂型。这些单位不需用水即可口服,用于药物的即刻溶出和递送。将所述活性成分在含有成分如糖、明

胶、果胶和甜味剂的液体中混合。通过冷冻干燥和固态萃取技术,将这些液体固化为固体片剂或囊片。可以将药物化合物与粘弹性的和热弹性的糖和聚合物或泡腾组分一起压片以产生意图不需要水即可立即释放的多孔基质。

[1432] 因此根据另一方面,本发明涵盖用于治疗或预防如上所述的疾病的如本文所述和所定义的通式(I)的化合物,或其立体异构体、互变异构体、N-氧化物、水合物、溶剂合物或盐,特别是其可药用的盐,或它们的混合物。

[1433] 术语“可药用的盐”是指本发明化合物的相对无毒的无机或者有机酸加成盐。例如,参见S.M.Berge, et al. “Pharmaceutical Salts,” J.Pharm.Sci.1977,66,1-19。

[1434] 本发明的化合物的合适的可药用的盐可以是,例如,在链中或者在环中携带氮原子的本发明化合物(其是足够碱性的)的酸加成盐,如与无机酸的酸加成盐,所述无机酸如盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、重硫酸(bisulfuric acid)、磷酸或硝酸;或与有机酸的酸加成盐,所述有机酸如甲酸、乙酸、乙酰乙酸、丙酮酸、三氟乙酸、丙酸、丁酸、己酸、庚酸、十一烷酸、月桂酸、苯甲酸、水杨酸、2-(4-羟基苯甲酰基)-苯甲酸、樟脑酸、肉桂酸、环戊烷丙酸、二葡萄糖酸(digluconic acid)、3-羟基-2-萘甲酸、烟酸、扑酸、果胶酯酸(pectinic acid)、过硫酸、3-苯基丙酸、苦味酸、特戊酸、2-羟基乙磺酸、衣康酸、氨基磺酸、三氟甲磺酸、十二烷基硫酸、乙磺酸、苯磺酸、对-甲苯磺酸、甲磺酸、2-萘磺酸、萘二磺酸、樟脑磺酸、柠檬酸、酒石酸、硬脂酸、乳酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、苹果酸、己二酸、藻酸、马来酸、富马酸、D-葡萄糖酸、扁桃酸、抗坏血酸、葡庚糖酸、甘油磷酸、天冬氨酸、磺基水杨酸、半硫酸(hemisulfuric acid)或硫氰酸。

[1435] 此外,足够酸性的本发明化合物的另一合适的可药用的盐是碱金属盐,例如钠盐或钾盐;碱土金属盐,例如钙盐或镁盐;铵盐;或与提供生理上可接受的阳离子的有机碱的盐,例如与N-甲基-葡萄糖胺、二甲基-葡萄糖胺、乙基-葡萄糖胺、赖氨酸、二环己胺、1,6-己二胺、乙醇胺、氨基葡萄糖、肌氨酸、丝氨酸、三-羟基-甲基-氨基甲烷、氨基丙二醇、sovak碱、1-氨基-2,3,4-丁三醇的盐。此外,碱性含氮基团可被此类试剂季铵化:如低级烷基卤化物,如甲基、乙基、丙基和丁基的氯化物、溴化物和碘化物;硫酸二烷基酯,如硫酸二甲酯、硫酸二乙酯和硫酸二丁酯和硫酸二戊酯;长链卤化物,如癸基、十二烷基、十四烷基和硬脂基的氯化物、溴化物和碘化物;芳烷基卤化物,如苄基和苯乙基溴化物等。

[1436] 本领域技术人员将进一步认识到,所要求保护的化合物的酸加成盐可经由许多已知方法中的任一种,通过使所述化合物与适当的无机或有机酸反应来制备。或者,本发明的酸性化合物的碱金属盐和碱土金属盐经由多种已知方法,通过使本发明化合物与适当的碱反应来制备。

[1437] 本发明包括本发明的化合物的所有可能的盐,其作为单一的盐或所述盐的任何比例的任何混合物。

[1438] 本文使用的术语“体内可水解的酯”应理解为意指含有羰基或羟基的本发明化合物的体内可水解的酯,例如,在人或动物体内水解产生母体酸或母体醇的可药用的酯。对于羰基的合适的可药用的酯包括例如烷基、环烷基和任选取代的苯基烷基,尤其是苄基酯, C₁-C₆烷氧基甲基酯(例如甲氧基甲基酯), C₁-C₆烷酰氧基甲基酯(例如特戊酰氧基甲基酯), 酞基酯, C₃-C₈环烷氧基-羰氧基-C₁-C₆烷基酯(例如1-环己基羰基氧基乙基酯); 1,3-二氧杂环戊烯-2-羰基甲基酯(1,3-dioxolen-2-onylmethyl ester), 例如5-甲基-1,3-二氧杂环

戊烯-2-羰基甲基酯;和C₁-C₆烷氧基羰基氧基乙基酯,例如1-甲氧基羰基氧基乙基酯,并且可在本发明的化合物中的任何羧基处形成。

[1439] 含有羟基的本发明的化合物的体内可水解的酯包括无机酯如磷酸酯和[α]-酰氧基烷基醚和由于酯在体内水解而分解产生母体羟基的相关化合物。[α]-酰氧基烷基醚的实例包括乙酰氧基甲氧基和2,2-二甲基丙酰氧基甲氧基。对于羟基的形成体内可水解的酯的基团的选择包括烷酰基,苯甲酰基、苯基乙酰基,以及取代的苯甲酰基和苯基乙酰基、烷氧基羰基(以产生碳酸烷基酯)、二烷基氨基甲酰基和N-(二烷基氨基乙基)-N-烷基氨基甲酰基(以产生氨基甲酸酯)、二烷基氨基乙酰基和羧基乙酰基。本发明涵盖所有这样的酯。

[1440] 因此,本发明的另一具体方面是如上所述的通式(I)的化合物,或其立体异构体、互变异构体、N-氧化物、水合物、溶剂合物或盐,特别是其可药用的盐,或它们的混合物,用于治疗或预防疾病的用途。

[1441] 因此,本发明的另一具体方面是如上所述的通式(I)的化合物用于制备治疗或预防疾病的药物组合物的用途。

[1442] 前面两段中提及的疾病是失控的细胞生长、增殖和/或存活、不当的细胞免疫应答或不当的细胞炎症反应的疾病,或伴随着失控的细胞生长、增殖和/或存活、不当的细胞免疫应答或不当的细胞炎症反应的疾病,特别是其中所述失控的细胞生长、增殖和/或存活、不当的细胞免疫应答或不当的细胞炎症反应是通过Wnt通路介导的疾病,例如血液肿瘤、实体肿瘤和/或其转移,例如白血病和骨髓增生异常综合征、恶性淋巴瘤、包括脑肿瘤和脑转移的头颈部肿瘤、包括非小细胞肺癌和小细胞肺癌的胸部肿瘤、胃肠肿瘤、内分泌肿瘤、乳腺肿瘤和其他妇科肿瘤、包括肾肿瘤、膀胱肿瘤和前列腺肿瘤的泌尿系统肿瘤、皮肤肿瘤和肉瘤和/或其转移。

[1443] 如本文所使用的,本发明上下文中、特别是“不当的细胞免疫应答或不当的细胞炎症反应”的上下文中的术语“不当的”应理解为优选意指反应低于或高于正常,并且其与所述疾病的病理学相关,或其造成或导致所述疾病的病理学。

[1444] 优选地,所述用途是在治疗或预防疾病中,其中所述疾病是血液肿瘤、实体肿瘤和/或其转移。

附图说明

[1445] 图X1示出了在被TEV蛋白酶切割之前的带有N-末端His标签的人SMYD2的序列。

[1446] 图X2示出了在被TEV蛋白酶切割之后的人SMYD2的序列。

[1447] 图X3示出了实施例4.1与人SMYD2和SAM的复合物。氢原子、SMYD2和SAM未示出。碳原子C1明确以S构型为特征。

[1448] 本发明的化合物的生物学活性

[1449] 可使用以下实验来说明本发明的化合物的商业应用。

[1450] 在所选的生物学实验中对实施例进行了一次或多次测试。当被测试超过一次时,将数据报告为平均值或中位值,其中:

[1451] • 所述平均值——也称算术平均值——表示所获得的值之和除以测试的次数,以及

[1452] • 所述中位值表示一组值以升序或降序排列时的中间数。如果数据集中的值的数

目为奇数,则中位值为中间值。如果数据集中的值的数目为偶数,则中位值为两个中间值的算术平均值。

[1453] 对实施例进行了一次或多次合成。当进行超过一次的合成时,生物学实验的数据表示使用获得自一个或多个合成批次的测试的数据集计算的平均值。

[1454] 1. 实验

[1455] 化合物的体外药理学性质可以根据以下实验测定:

[1456] 1.1 用于检测SMYD2酶抑制作用的闪烁亲近测定法 (SPA)

[1457] 使用闪烁亲近测定法 (SPA) 对本发明中所述的化合物的SMYD2抑制活性进行定量,所述测定法测量由合成的、生物素化的肽Btn-Ahx-GSRAHSSHLKSKKGQSTSRH-Amid x TFA (Biosyntan) ——其衍生自p53并在下文被称为“p53肽”——的酶所进行的甲基化。通过在大肠杆菌中表达(带有N-末端6xHis标签)来内部(in-house)产生SMYD2全长酶,并通过在Ni-NTA琼脂糖柱上进行亲和层析,然后通过Superdex 200 16/60柱(GE Healthcare)上进行尺寸排阻色谱步骤来纯化所述酶。

[1458] 在常规测定中,在同一微量滴定板中对11种不同浓度的各化合物(0.1nM、0.33nM、1.1nM、3.8nM、13nM、44nM、0.15 μ M、0.51 μ M、1.7 μ M、5.9 μ M和20 μ M)进行两次重复测试。为此目的,事先通过在干净的小容量384-孔微量滴定板(Greiner Bio-One)中对2mM母液进行系列稀释(1:3.4)来制备100倍浓缩的化合物溶液(于DMSO中),从其中转移50nl化合物溶液至来自同一供应商的白色小容量测试微量滴定板。随后,将溶于含水测定缓冲液[50mM Tris/HCl pH9.0 (AppliChem), 1mM二硫苏糖醇(DTT, Sigma), 0.01% (w/v) 牛血清白蛋白(BSA, Sigma), 0.0022% (v/v) 普朗尼克(Sigma)]的2.5 μ l SMYD2加入到测试板中的化合物中以得到通常为3nM的最终酶浓度(该参数可根据酶批次的活性进行调节以落入测定的线性动态范围)。然后将所述样品在22 $^{\circ}$ C下孵育15min以在甲基化反应开始之前允许推定的酶-抑制剂复合物的预平衡,所述甲基化反应通过加入2.5 μ l的氚标记的S-腺苷-L-甲硫氨酸(3H-SAM, Perkin Elmer, 终浓度:60nM)和p53肽底物(终浓度:1.0 μ M)的2倍浓缩液(在测定缓冲液中)来起始。将所得的混合物(5 μ l终体积)短暂离心(2min, 1500rpm)并在22 $^{\circ}$ C下孵育30min。随后,通过加入3 μ l链霉素PS SPA成像珠(Perkin Elmer, 终浓度为3.12 μ g/ μ l)和用于减少非特异性结合的“冷”SAM(AK Scientific, 25 μ M终浓度)来终止反应。将含有经终止的反应的板用透明胶箔(Perkin Elmer)密封、离心(2min, 1500rpm),并进一步在室温下孵育至少1h(或在4 $^{\circ}$ C过夜)以使得形成SPA信号。随后,通过测量从由3H-标记的底物发出的 β -颗粒至在PS成像珠的聚苯乙烯基质中共聚合的铯闪烁体的能量转移,使用Viewlux (Perkin-Elmer) CCD板成像装置(发射滤光片613/55 (IFP))的用于此目的的标准设置来对产物的量进行评估。将所得的闪烁计数作为每个孔中甲基化肽的量的指标。使用用于高SMYD2活性(使用DMSO代替测试化合物进行的酶反应=0%=最小的抑制作用)和低SMYD2活性(不含酶的所有的测定组分=100%=最大的抑制作用)的两组对照孔(通常每组16个)对数据进行归一化。使用Genedata的“Screener”分析软件通过将经归一化的抑制数据拟合为4-参数logistic方程来计算IC₅₀值。

[1459] 1.2 用于检测SMYD2甲基化活性的基于细胞的测定

[1460] 为检测SMYD2细胞甲基化活性,建立了细胞内免疫印迹(ICW)测定。该测定使得能够快速处理多个样品的SMYD2甲基化衍生的免疫荧光信号,使用核酸染料DRAQ5将其归一化

为细胞数。KYSE-150细胞(人食管癌细胞系;DSMZ-德国微生物和细胞培养物保藏中心;No:ACC 375)已用表达野生型SMYD2(NCBI参照序列:NP_064582.2)的构建体进行稳定转染。为检测细胞中SMYD2-介导的甲基化信号,使用了针对蛋白p53上的单甲基化的赖氨酸370的定制抗体(p53K370me1)。如别处所述(Huang et al.,Nature,2006,444(7119):629-32),产生了针对含有单甲基化的K370表位的p53肽的多克隆抗体(Eurogentec)。

[1461] 为进行IC₅₀测定,将5000个过表达SMYD2的KYSE-150细胞/孔接种在96-孔板(SIGMA)中,并培养24h。作为对表位甲基化活性的最大抑制的对照,使用了未经转染的KYSE-150细胞。使细胞在补充有2%热失活的胎牛血清(FCS)的49%RPMI 1640和49%Ham's F12培养基中生长。为测定SMYD2抑制活性,在化合物的存在下或使用DMSO处理细胞72h。使用待测试的化合物以 3.9×10^{-8} 至 5×10^{-6} M之间的终浓度处理细胞。去除培养基,加入溶于PBS的3.7% (w/v) 甲醛,持续20min。在用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤两次后,加入溶于PBS的0.25% (v/v) Triton X100,进行15分钟的渗透化作用。在使用PBS进行一次洗涤步骤后,将细胞用5% (w/v) 溶于PBS的脱脂奶粉封闭1h。将固定的细胞暴露于溶于PBS中的5%脱脂奶粉中的一级p53K270me1抗体24h。每个板上的一排细胞不暴露于p53K370me1抗体,并保留用作背景对照测量。用PBS洗涤所述孔3次,然后加入IR800缀合的二级抗体(LI-COR)和DNA嵌入染料5 μ M DRAQ5(LI-COR),持续3h。用PBS洗涤5次后,在Odyssey(LI-COR)扫描仪上在800nm(p53K370me1信号;764nm激发)和700nm(DRAQ5信号;683nm激发)下测量每个孔中的荧光。对荧光强度进行定量并归一化为背景信号和DRAQ5信号。通过将经归一化的抑制数据拟合为4-参数logistic方程(最小值,最大值,IC₅₀,Hill; $Y = \text{Max} + (\text{Min} - \text{Max}) / (1 + (X / \text{IC}_{50})^{\text{Hill}})$)来计算每个测试化合物的IC₅₀值。对于IC₅₀测定,将C₀(=无抑制)定义为所测量的DMSO处理的对照的信号。将C_i(最大抑制)定义为所测量的非过表达SMYD2的KYSE150细胞的信号。

[1462] 所选的化合物对SMYD2甲基化活性的抑制活性的测量结果

[1463] 表2

[1464]

实施例编号	IC ₅₀ [mol/l] (SPA 测定)	IC ₅₀ [mol/l] (ICW 测定)
1	5.18E-07	
2	8.33E-08	
3	1.50E-08	1.01E-07
4	8.25E-08	1.76E-07
4.1	2.82E-08	4.67E-08
4.2	1.32E-06	1.39E-06
5	7.85E-07	4.14E-06
5.1	>2.00E-05	
5.2	2.96E-07	
6	2.86E-07	
7.1	1.35E-08	1.32E-08
7.2	1.05E-06	
8	9.01E-08	
9	1.30E-08	2.64E-09
10	4.66E-07	8.00E-06
10.1	1.99E-07	
10.2	3.83E-06	
11	1.44E-07	3.76E-07
11.1	4.41E-08	
11.2	2.98E-06	
12	1.38E-07	
12.1	2.66E-06	
12.2	5.41E-08	
13	8.67E-08	1.96E-07

实施例编号	IC ₅₀	IC ₅₀
	[mol/l] (SPA 测定)	[mol/l] (ICW 测定)
13	2.54E-07	
13.1	4.61E-06	
13.2	5.00E-08	2.58E-07
14	1.47E-07	
15	1.21E-07	
15.1	1.76E-05	
15.2	7.10E-08	9.96E-08
16	3.58E-07	
16.1	4.79E-06	
16.2	1.59E-07	2.58E-06
17	5.95E-08	
18	1.25E-08	2.77E-08
18.1	>2.00E-5	
18.2	3.00E-08	2.87E-08
19	9.98E-09	2.13E-08
19.1	7.68E-07	
19.2	6.65E-09	2.36E-08
20	2.47E-07	4.03E-07
20.1	1.74E-05	
20.2	1.19E-07	
21	1.07E-06	
21.1	5.30E-08	
21.2	7.63E-07	
22	6.48E-08	
23	6.74E-08	

[1465]

实施例编号	IC ₅₀	IC ₅₀
	[mol/l] (SPA 测定)	[mol/l] (ICW 测定)
24	6.31E-08	
24.1	2.51E-06	
24.2	1.92E-08	
25	1.08E-07	
25.1	2.06E-07	
25.2	1.03E-05	
26	3.06E-08	
27	3.55E-07	9.59E-08
27.1	7.32E-08	
27.2	1.62E-06	
28	1.40E-07	
29	5.55E-09	2.14E-07
30	1.58E-08	
31	9.09E-09	1.26E-07
32	2.61E-08	
33	8.45E-08	
33.1	1.84E-05	
33.2	3.76E-08	9.64E-08
34.1	1.54E-05	
34.2	4.88E-07	
35	1.57E-07	
36	4.07E-8	1.66E-7
36.1	7.54E-7	
36.2	2.29E-8	
37	2.31E-7	

[1466]

[1467]

实施例编号	IC ₅₀	IC ₅₀
	[mol/l] (SPA 测定)	[mol/l] (ICW 测定)
38	3,20E-8	3,72E-8
38.1	1,35E-5	
38.2	3,75E-8	3,56E-8
39	2,40E-6	
40	4,18E-7	
41	7,35E-8	

195	200	205
Leu Val Val Leu Phe Ala Gln Val Asn Cys Asn Gly Phe Thr Ile Glu		
210	215	220
Asp Glu Glu Leu Ser His Leu Gly Ser Ala Ile Phe Pro Asp Val Ala		
225	230	235
240		245
Leu Met Asn His Ser Cys Cys Pro Asn Val Ile Val Thr Tyr Lys Gly		
	245	250
255		260
Thr Leu Ala Glu Val Arg Ala Val Gln Glu Ile Lys Pro Gly Glu Glu		
	260	265
270		275
Val Phe Thr Ser Tyr Ile Asp Leu Leu Tyr Pro Thr Glu Asp Arg Asn		
	275	280
285		290
Asp Arg Leu Arg Asp Ser Tyr Phe Phe Thr Cys Glu Cys Gln Glu Cys		
	290	295
300		305
Thr Thr Lys Asp Lys Asp Lys Ala Lys Val Glu Ile Arg Lys Leu Ser		
	305	310
315		320
Asp Pro Pro Lys Ala Glu Ala Ile Arg Asp Met Val Arg Tyr Ala Arg		
	320	325
330		335
Asn Val Ile Glu Glu Phe Arg Arg Ala Lys His Tyr Lys Ser Pro Ser		
	335	340
345		350
Glu Leu Leu Glu Ile Cys Glu Leu Ser Gln Glu Lys Met Ser Ser Val		
	345	350
355		360
Phe Glu Asp Ser Asn Val Tyr Met Leu His Met Met Tyr Gln Ala Met		
	360	365
370		375
Gly Val Cys Leu Tyr Met Gln Asp Trp Glu Gly Ala Leu Gln Tyr Gly		
	375	380
385		390
395		400
Gln Lys Ile Ile Lys Pro Tyr Ser Lys His Tyr Pro Leu Tyr Ser Leu		
	395	400
405		410
415		420
Asn Val Ala Ser Met Trp Leu Lys Leu Gly Arg Leu Tyr Met Gly Leu		
	410	415
420		425
430		435
Glu His Lys Ala Ala Gly Glu Lys Ala Leu Lys Lys Ala Ile Ala Ile		
	425	430
435		440
445		450
Met Glu Val Ala His Gly Lys Asp His Pro Tyr Ile Ser Glu Ile Lys		
	440	445
450		455
460		465
Gln Glu Ile Glu Ser His		
465		470
<210> 2		
<211> 433		
<212> PRT		
<213> 合成的生物体		

<220>

<223> 被TEV蛋白酶切割之后的人SMYD2

<400> 2

Gly Arg Ala Glu Gly Leu Gly Gly Leu Glu Arg Phe Cys Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Lys Gly Arg Gly Leu Arg Ala Leu Gln Pro Phe Gln Val Gly Asp Leu
 20 25 30
 Leu Phe Ser Cys Pro Ala Tyr Ala Tyr Val Leu Thr Val Asn Glu Arg
 35 40 45
 Gly Asn His Cys Glu Tyr Cys Phe Thr Arg Lys Glu Gly Leu Ser Lys
 50 55 60
 Cys Gly Arg Cys Lys Gln Ala Phe Tyr Cys Asn Val Glu Cys Gln Lys
 65 70 75 80
 Glu Asp Trp Pro Met His Lys Leu Glu Cys Ser Pro Met Val Val Phe
 85 90 95
 Gly Glu Asn Trp Asn Pro Ser Glu Thr Val Arg Leu Thr Ala Arg Ile
 100 105 110
 Leu Ala Lys Gln Lys Ile His Pro Glu Arg Thr Pro Ser Glu Lys Leu
 115 120 125
 Leu Ala Val Lys Glu Phe Glu Ser His Leu Asp Lys Leu Asp Asn Glu
 130 135 140
 Lys Lys Asp Leu Ile Gln Ser Asp Ile Ala Ala Leu His His Phe Tyr
 145 150 155 160
 Ser Lys His Leu Gly Phe Pro Asp Asn Asp Ser Leu Val Val Leu Phe
 165 170 175
 Ala Gln Val Asn Cys Asn Gly Phe Thr Ile Glu Asp Glu Glu Leu Ser
 180 185 190
 His Leu Gly Ser Ala Ile Phe Pro Asp Val Ala Leu Met Asn His Ser
 195 200 205
 Cys Cys Pro Asn Val Ile Val Thr Tyr Lys Gly Thr Leu Ala Glu Val
 210 215 220
 Arg Ala Val Gln Glu Ile Lys Pro Gly Glu Glu Val Phe Thr Ser Tyr
 225 230 235 240
 Ile Asp Leu Leu Tyr Pro Thr Glu Asp Arg Asn Asp Arg Leu Arg Asp
 245 250 255
 Ser Tyr Phe Phe Thr Cys Glu Cys Gln Glu Cys Thr Thr Lys Asp Lys
 260 265 270
 Asp Lys Ala Lys Val Glu Ile Arg Lys Leu Ser Asp Pro Pro Lys Ala
 275 280 285

Glu Ala Ile Arg Asp Met Val Arg Tyr Ala Arg Asn Val Ile Glu Glu
 290 295 300
 Phe Arg Arg Ala Lys His Tyr Lys Ser Pro Ser Glu Leu Leu Glu Ile
 305 310 315 320
 Cys Glu Leu Ser Gln Glu Lys Met Ser Ser Val Phe Glu Asp Ser Asn
 325 330 335
 Val Tyr Met Leu His Met Met Tyr Gln Ala Met Gly Val Cys Leu Tyr
 340 345 350
 Met Gln Asp Trp Glu Gly Ala Leu Gln Tyr Gly Gln Lys Ile Ile Lys
 355 360 365
 Pro Tyr Ser Lys His Tyr Pro Leu Tyr Ser Leu Asn Val Ala Ser Met
 370 375 380
 Trp Leu Lys Leu Gly Arg Leu Tyr Met Gly Leu Glu His Lys Ala Ala
 385 390 395 400
 Gly Glu Lys Ala Leu Lys Lys Ala Ile Ala Ile Met Glu Val Ala His
 405 410 415
 Gly Lys Asp His Pro Tyr Ile Ser Glu Ile Lys Gln Glu Ile Glu Ser
 420 425 430

His

<210> 3

<211> 20

<212> PRT

<213> 合成的生物体

<220>

<223> 生物素化的肽

<400> 3

Gly Ser Arg Ala His Ser Ser His Leu Lys Ser Lys Lys Gly Gln Ser
 1 5 10 15

Thr Ser Arg His
 20

```

MTSRHHHHHS SMGSRTSLYK KAGSDYDIPT TENLYFQGRA EGLGGLERFC SPGKGRGLRA
LQPFQVGDLL FSCPAYAYVL TVNERGNHCE YCFTRKEGLS KCGRCKQAFY CNVECQKEDW
PMHKLECSFM VVFGENWNPS ETVRLTARIL AKQKIHPERT PSEKLLAVKE FESHLDKLDN
EKKDLIQSDI AALHHFYSKH LGFFDNDSLV VLFAQVNCNG FTIEDEELSH LGSALFPDVA
LMNHSOCPNV IVTYKGTAE VRAVQEIKPG EEVFTSYIDL LYPTEDRNR LRDSYFFTCE
CQECTTKDKD KAKVEIRKLS DPPKAEAIRD MVRVARNVIE EFRRAKHYKS PSELLEICEL
SQEKMSSVFE DSNVYMLHMM YQAMGVCLYM QDWEGALQYG QKIIPYSKH YPLYSLNVA
MWLKLGRLYM GLEHKAAGEK ALKKAIAIME VAHGKDHPI SEIKQEIESH

```

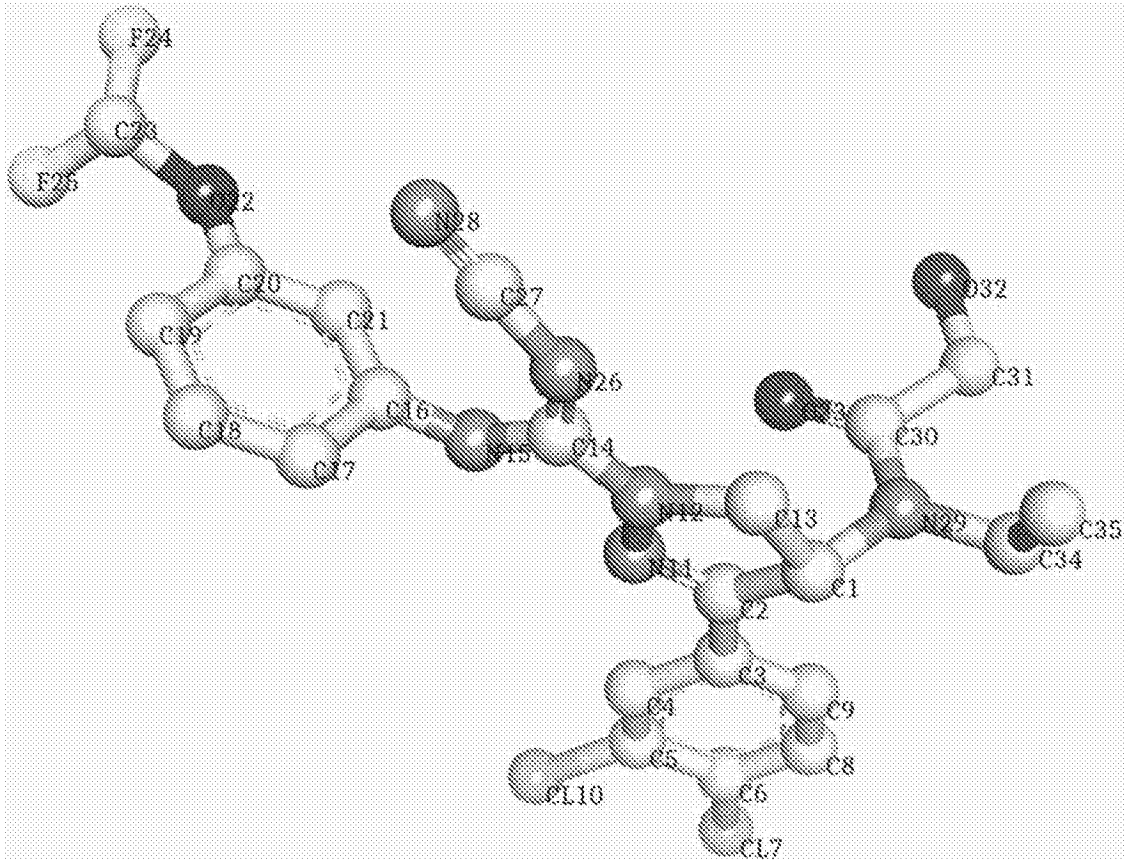
图X1

```

GPA EGLGGLERFC SPGKGRGLRA
LQPFQVGDLL FSCPAYAYVL TVNERGNHCE YCFTRKEGLS KCGRCKQAFY CNVECQKEDW
PMHKLECSFM VVFGENWNPS ETVRLTARIL AKQKIHPERT PSEKLLAVKE FESHLDKLDN
EKKDLIQSDI AALHHFYSKH LGFFDNDSLV VLFAQVNCNG FTIEDEELSH LGSALFPDVA
LMNHSOCPNV IVTYKGTAE VRAVQEIKPG EEVFTSYIDL LYPTEDRNR LRDSYFFTCE
CQECTTKDKD KAKVEIRKLS DPPKAEAIRD MVRVARNVIE EFRRAKHYKS PSELLEICEL
SQEKMSSVFE DSNVYMLHMM YQAMGVCLYM QDWEGALQYG QKIIPYSKH YPLYSLNVA
MWLKLGRLYM GLEHKAAGEK ALKKAIAIME VAHGKDHPI SEIKQEIESH

```

图X2



图X3