

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101809020 A

(43) 申请公布日 2010.08.18

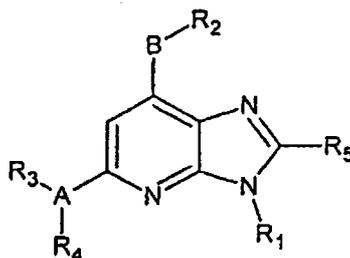
(21) 申请号 200880106879.0 (51) Int. Cl.
(22) 申请日 2008.09.12 *C07D 471/04* (2006.01)
(30) 优先权数据 *A61K 31/437* (2006.01)
PCT/IB2007/003655 2007.09.12 IB *A61P 35/00* (2006.01)
(85) PCT申请进入国家阶段日 *A61P 29/00* (2006.01)
2010.03.12 *A61P 25/00* (2006.01)
(86) PCT申请的申请数据
PCT/IB2008/003106 2008.09.12
(87) PCT申请的公布数据
W02009/034475 EN 2009.03.19
(71) 申请人 国家科研中心
地址 法国巴黎
申请人 雷恩第一大学
雷卡尔巴黎大学
(72) 发明人 L·梅耶 K·贝塔耶布 H·嘉伦斯
L·德曼格 N·欧玛塔
(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专
利商标事务所 11038
代理人 陈昕

权利要求书 12 页 说明书 36 页 附图 16 页

(54) 发明名称
作为 CDK 抑制剂的 perharidines

(57) 摘要
本发明涉及三取代的或四取代的咪唑并 [4, 5-b] 吡啶类, 涉及它们的用途以及生产方法。本发明的化合物咪唑并 [4, 5b] 吡啶类。在说明书中公开了 3,5,7-咪唑并 [4,5b] 吡啶类的第一个一般合成方法。本发明尤其在制药领域中有所应用。

1. 以下式 I 的化合物



式 I

其中：

A 为 CH 或 N 或 O，

R₃ 为：

-H, 或

-C₁-C₅ 烷基基团, 或

- = O, 或

-(C₁-C₃) 烷基 -C = O 基团, 其中所述烷基任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代,

R₄ 为：

-H, 或

-任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代的 C₁-C₆ 烷基基团,

-任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代的 C₃-C₆ 环烷基基团, 或

-任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代的 (C₁-C₅) 烷基 (C₃-C₆) 环烷基基团, 或

- = O, 或

-O = CCF₃, 或

-被酯基团 (诸如, O- 酰基基团)、或衍生自天然或非天然氨基酸的氨基酰基基团、或乙酰基基团或烟酰基基团取代的 C₁-C₆ 烷基基团,

或者, A、R₃ 和 R₄ 合起来形成任选地包含一个或多个杂原子的 C₅-C₇ 环烷基基团, 优选哌嗪基团,

B 为 O 或 S 或 NH,

R₁ 为：

-任选地支链的和 / 或任选地被一个或多个羟基基团取代的 C₁-C₆ 烷基基团, 或

-任选地被一个或多个羟基基团取代的 C₃-C₆ 环烷基基团, 或

-芳基基团, 其任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子, 或

-C₁-C₅ 烷基芳基基团, 所述芳基基团任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子,

R₂ 为：

- 芳基基团, 其任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团、和 / 或 CF₃ 基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子, 从而形成 2- 吡啶基基团、或 3- 吡啶基基团、或 4- 吡啶基基团、或 2- 噻吩基或 3- 噻吩基基团, 或

- 甲基联芳基基团, 其中每个芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团、和 / 或 CF₃ 基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子, 或

- 甲基芳基基团, 所述芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团、和 / 或 CF₃ 基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子, 从而形成 2- 吡啶基基团、或 3- 吡啶基基团、或 4- 吡啶基基团、或 2- 噻吩基基团或 3- 噻吩基基团,

- 联芳基基团、每个芳基环任选地包含一个或多个杂原子, 从而形成 2- 吡啶基基团、或 3- 吡啶基基团、或 4- 吡啶基基团、或 2- 噻吩基基团或 3- 噻吩基基团, 或者每个芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团、和 / 或 CF₃ 基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团取代,

或 B 和 R₂ 合起来形成非芳香族环,

R₅ 为：

- 卤素原子, 或

- 氢原子, 或

- 任选地被一个或多个羟基基团和 / 或胺基团和 / 或卤素原子和 / 或羧酸基团取代的 C₁-C₅ 烷基基团, 或

- (C₁-C₄) 烷基 (C₃-C₆) 环烷基基团, 其中所述环烷基基团任选地被一个或多个羟基基团和 / 或胺基团和 / 或卤素原子和 / 或羧酸基团取代,

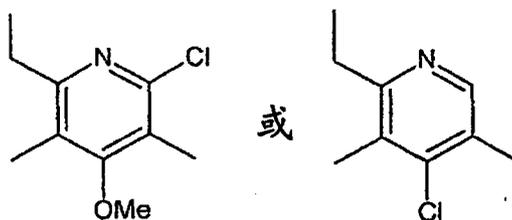
及其盐、水合物、和立体异构体。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中, 在式 I 中, A 为 N。

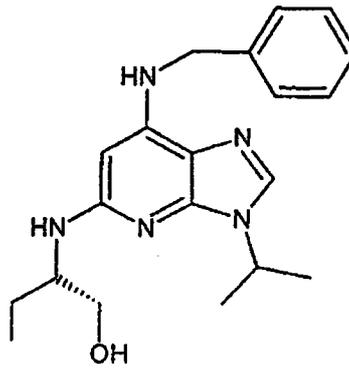
3. 权利要求 2 的化合物, 其中, 在式 I 中, C 为 CH。

4. 权利要求 2 的化合物, 其中, 在式 I 中, A 为 O。

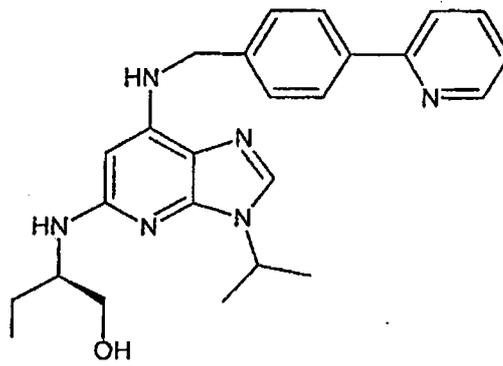
5. 前述权利要求中任一项的化合物, 其中, 在式 I 中, R₁ 为乙基基团或甲基基团或环戊基基团或苯基基团、或苄基基团、或甲基吡啶基基团, 或



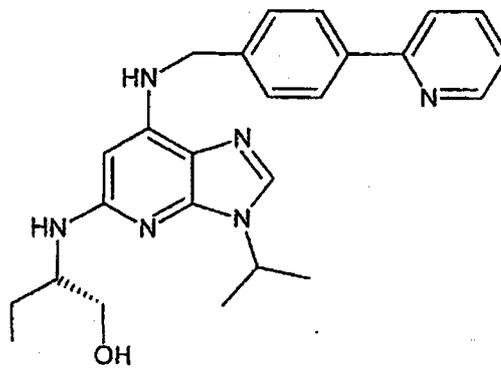
6. 前述权利要求中任一项的化合物, 其中, 在式 I 中, B-R₂ 选自以下基团：



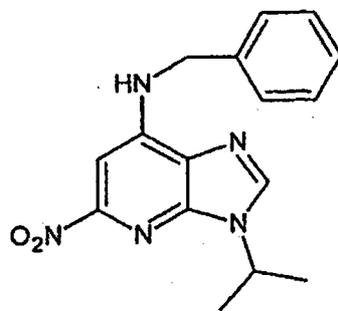
式 1b



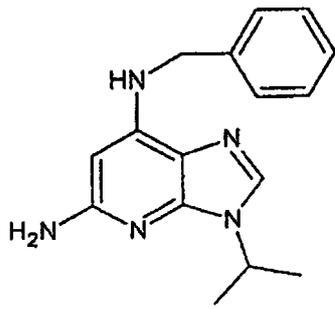
式 1c



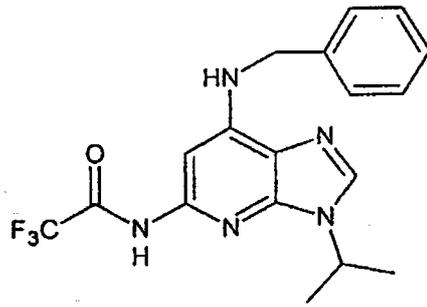
式 1d



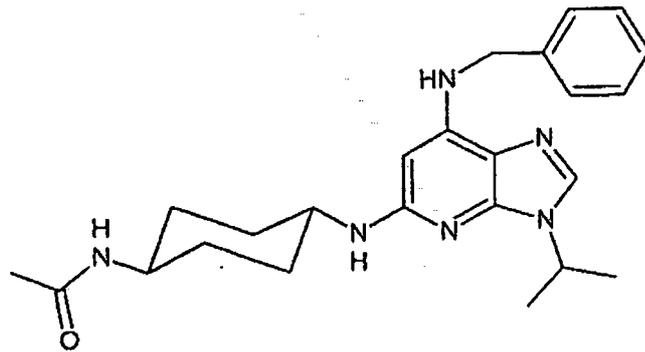
式 1e



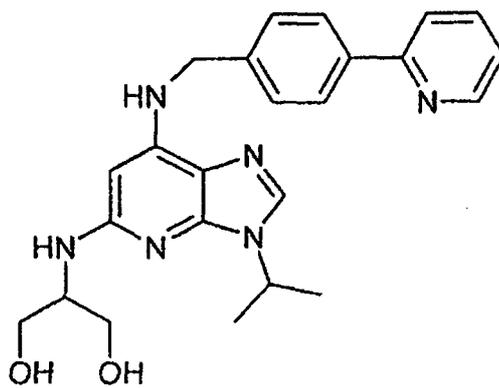
式 If



式 Ig

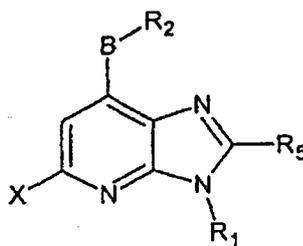


式 Ih



式 Ii

10. 以下式 II 的化合物



式 II

其中：

B 为 O 或 S 或 NH，

R₁ 为：

- 任选地支链的和 / 或任选地被一个或多个羟基基团取代的 C₁-C₆ 烷基基团，或
 - 任选地被一个或多个羟基基团取代的 C₃-C₆ 环烷基基团，或
 - 任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团，和 / 或
 任选地包含一个或多个杂原子取代的芳基基团，或

- C₁-C₅ 烷基芳基基团，所述芳基基团任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、
 和 / 或 C₁-C₃ 烷基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团取代，和 / 或任选地包含一个或多个杂原
 子，

R₂ 为：

- 芳基基团，其任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基
 基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团、和 / 或 CF₃ 基团取代，和 / 或任
 选地包含一个或多个杂原子，从而形成 2- 吡啶基基团、或 3- 吡啶基基团、或 4- 吡啶基基团、
 或 2- 噁吩基或 3- 噁吩基基团，或

- 甲基联芳基基团，其中每个芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、
 和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团、和 / 或 CF₃ 基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或
 胺基团取代，和 / 或任选地包含一个或多个杂原子，或

- 甲基芳基基团，所述芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或
 C₁-C₃ 烷基氧基基团、和 / 或 CF₃ 基团取代，和 / 或任选地包含一个或多个杂原子，从而形成
 2- 吡啶基基团、或 3- 吡啶基基团、或 4- 吡啶基基团、或 2- 噁吩基基团或 3- 噁吩基基团，

- 联芳基基团、每个芳基环任选地包含一个或多个杂原子，从而形成 2- 吡啶基基团、或
 3- 吡啶基基团、或 4- 吡啶基基团、或 2- 噁吩基基团或 3- 噁吩基基团，或者每个芳基环任
 选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团、和 / 或 CF₃ 基团、
 和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团取代，

或者 B 和 R₂ 合起来形成非芳香族环，

R₅ 为：

- 卤素原子，或

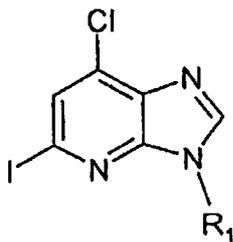
- 氢原子，或

- 任选地被一个或多个羟基基团和 / 或胺基团和 / 或卤素原子和 / 或羧酸基团取代的
 C₁-C₅ 烷基基团，或

- (C₁-C₄) 烷基 (C₃-C₆) 环烷基基团，其中所述环烷基基团任选地被一个或多个羟基基团
 和 / 或胺基团和 / 或卤素原子和 / 或羧酸基团取代，

X 为 Cl 或 Br 或 I 或 NH₂。

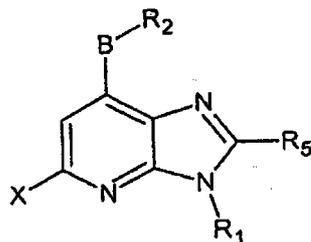
11. 权利要求 10 的化合物, 其中在式 II 中, X 为 I, 优选以下式 V 的化合物



式 V

。

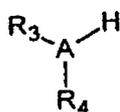
12. 用于生产权利要求 2 的化合物的方法, 包括使式 II 的化合物反应的步骤



式 II

其中 B、R₂、R₁ 和 R₅ 如对于权利要求 14 的化合物所定义的。

13. 权利要求 12 的方法, 其中所述反应步骤为使其中 X 为 Cl、Br 或 I 的式 II 的化合物在碱性条件下、在催化剂的存在下、任选地在配体的存在下与以下式 III 的化合物偶联的步骤:



式 III

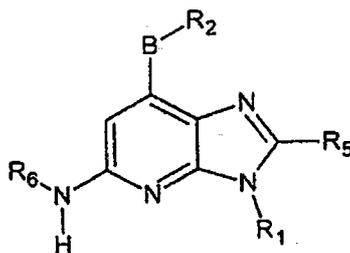
其中 A、R₃ 和 R₄ 如对于式 II 所定义的, 所述催化剂选自 Pd(OAc)₂、Pd₂dba₃ 或 CuI, 所述配体选自配体 Binap 或乙二醇。

14. 权利要求 12 的方法, 其中所述反应步骤为使其中 X 为 NH₂ 的式 II 的化合物与以下式 IV 的化合物偶联的步骤:

Y-R₆

式 IV

其中 Y 为 I、Br 或 Cl, 和 R₆ 为 R₃ 或 R₄, 得到以下式 V 的化合物:



式 V

任选地,随后,在 R_3 和 R_4 不是 H 时,进行使式 V 的化合物与以下式 VI 的化合物偶联的步骤:

Y- R_7

式 VI

其中 Y 为 I、Br 或 Cl,且在 R_6 为 R_4 时 R_7 为 R_3 ,或在 R_6 为 R_3 时 R_7 为 R_4 ,所述偶联步骤在催化剂的存在下任选地在配体 Binap 的存在下在碱性条件下进行,所述催化剂选自 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 、 Pd_2dba_3 或 CuI 。

15. 权利要求 12-14 中任一项的方法,其中在每种情况中, X 和 Y 是 I。

16. 权利要求 1-9 中任一项的或通过权利要求 12-15 中任一项的方法得到的化合物,其用作药物。

17. 药物组合物,其包括权利要求 1~9 中任一项的或通过权利要求 12-15 中任一项的方法得到的化合物以及至少一种药学可接受的赋形剂。

18. 权利要求 1-9 中任一项的或通过权利要求 12-15 中任一项的方法得到的至少一种化合物用于生产药物的用途,所述药物用于治疗由于细胞异常增生引起的疾病。

19. 权利要求 18 的用途,其中所述疾病是慢性淋巴细胞性白血病或慢性粒细胞性白血病 (chronic myeloid leukemia)。

20. 权利要求 18 的用途,其中所述疾病为肿瘤。

21. 权利要求 18 的用途,其中所述疾病为神经变性疾病,诸如帕金森氏病、阿尔茨海默氏病和中风。

22. 权利要求 18 的用途,其中所述疾病为病毒病。

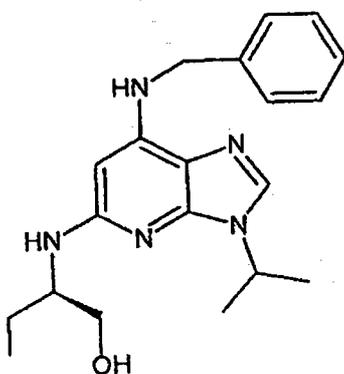
23. 权利要求 1-9 中任一项的或通过权利要求 12-15 中任一项的方法得到的至少一种化合物用于生产药物的用途,所述药物用于治疗疼痛。

24. 权利要求 18 的用途,其中所述疾病为肾病,诸如肾小球膜增生性肾小球肾炎、新月体性肾小球肾炎、坍塌性肾小球病、增生性狼疮肾炎、多囊肾病、糖尿病性肾病、和急性肾脏损伤、顺铂诱导的肾中毒。

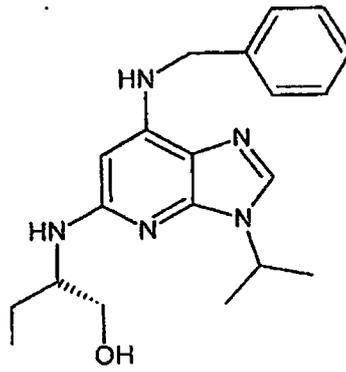
25. 权利要求 18 的用途,其中所述疾病为炎症,诸如胸膜炎、关节炎、青光眼。

26. 权利要求 18 的用途,其中所述疾病为 II 型糖尿病。

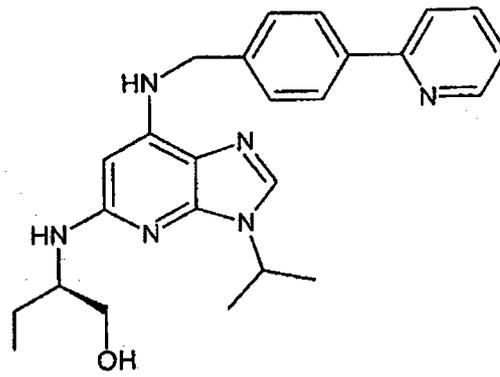
27. 权利要求 18-26 中任一项的用途,其中所述至少一种化合物选自以下各式的化合物:



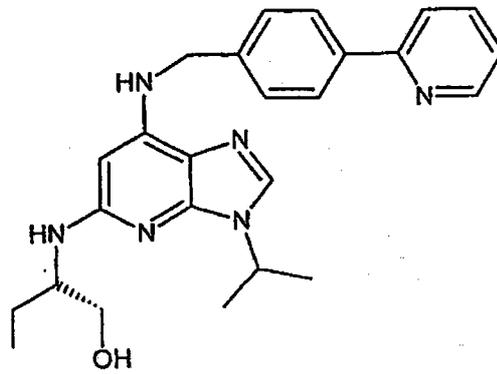
式 Ia



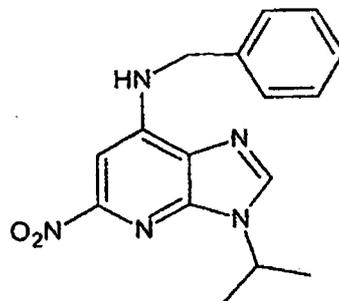
式 1b



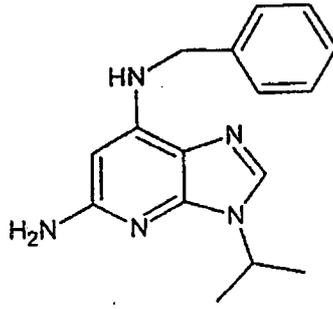
式 1c



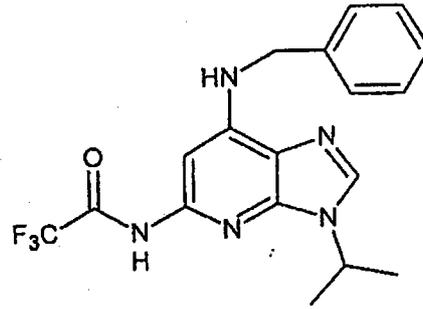
式 1d



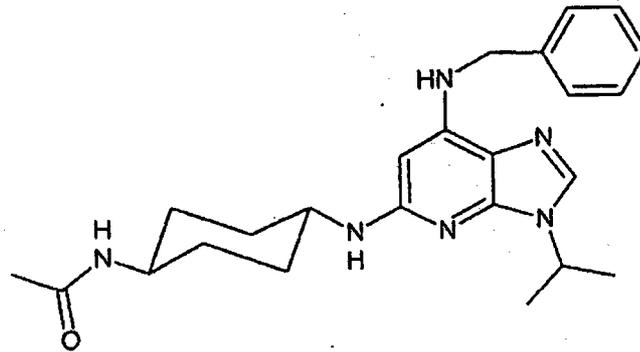
式 1e



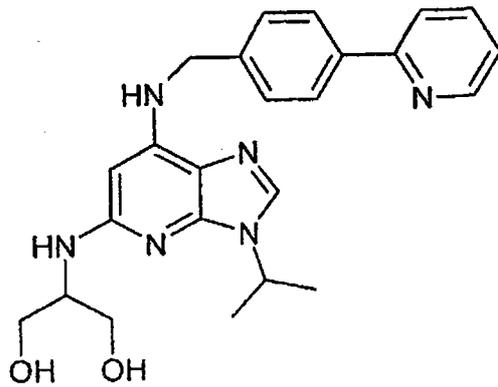
式 If



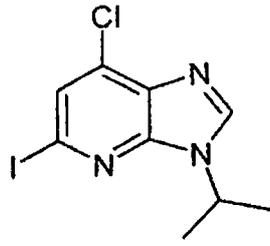
式 Ig



式 Ih



式 Ii



10

作为 CDK 抑制剂的 perharidines

[0001] 本发明涉及三取代的或四取代的咪唑并 [4,5-b] 吡啶类,涉及它们的用途以及生产方法。

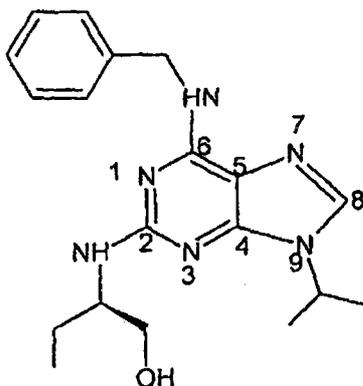
[0002] 细胞周期蛋白-依赖性激酶 (CDK) 在细胞分裂、凋亡、转录、神经元功能、和胞吐的调节方面起到重要调节剂的作用。

[0003] CDK 在人肿瘤中频繁的失调以及 CDK5 在各种疾病中的牵连已经刺激了对化学的 CDK 抑制剂的活跃研究,所述疾病包括阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、和 Nieman-Pick 病、缺血和中风,以及各种肾脏疾病 (诸如,肾小球膜增生性肾小球肾炎、新月体性肾小球肾炎、坍塌性肾小球病、增生性狼疮肾炎、多囊肾病 (PKD)、糖尿病性肾病和急性肾脏损伤、顺铂诱导的肾中毒)、炎症 (诸如,胸膜炎、关节炎、青光眼)、II 型糖尿病、病毒感染 (HSV、HCMV、HPV、HIV)、单细胞寄生虫病 (诸如,由于变形体 (Plasmodium)、利什曼原虫 (Leishmania) 等引起的单细胞寄生虫病) 等等。

[0004] 在已经识别的许多抑制剂中,一种早期的化合物 -Roscovitine 似乎是相对有效的和有选择性的。

[0005] Roscovitine 是下式的嘌呤类化合物:

[0006]



[0007] 由于其细胞生长抑制和神经保护活性,这种嘌呤化合物目前被认为是分别用于治疗癌症、肾病、各种神经变性疾病和炎症的有效的药物。

[0008] 此外,蛋白质激酶的药理学抑制剂的选择性是重要的问题,并且与包括已经商业化的抑制剂 **Gleevec**[®] 的其它抑制剂相比, Roscovitine 是相对地选择性的 CDK 抑制剂。然而 Roscovitine 与吡哆醛激酶相互作用。

[0009] 关于 Roscovitine 及其衍生物与吡哆醛激酶的相互作用的研究报道在 Tang 等人, J. Biol. Chem, 280, 35, September 2, 2005, 31220-31229 中。

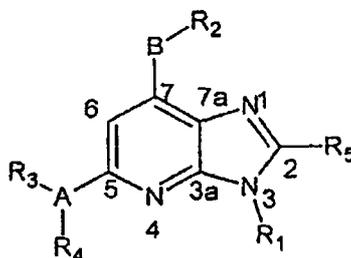
[0010] 在 ATP 和 Zn^{2+} 的存在下,吡哆醛激酶催化吡哆醛、吡哆胺、和维生素 B6 的磷酸化。这构成了合成吡哆醛 5' - 磷酸酯的必要步骤,所述吡哆醛 5' - 磷酸酯是维生素 B6 的活性形式,是超过 140 种酶的辅助因子。因此,与吡哆醛激酶系统的相互作用可能导致不希望的副作用。

[0011] 因此,一方面,这种相互作用对合成维生素 B6 的活性形式有害,和 / 或,而另一方面,对 Roscovitine 及其衍生物在使用这类 CDK 抑制剂治疗的患者中的可用性有害。

[0012] 因此,本发明的目的是提供具有 CDK 抑制剂性质但是与吡哆醛激酶相互作用很少或没有相互作用的 Roscovitine 的衍生物。

[0013] 为此,本发明提出了下式 I 的化合物:

[0014]



[0015] 式 I

[0016] 其中:

[0017] A 为 CH 或 N 或 O,

[0018] R₃ 为:

[0019] -H, 或

[0020] -C₁-C₅ 烷基基团, 或

[0021] - = O, 或

[0022] -(C₁-C₃) 烷基 -C = O 基团, 其中所述烷基基团任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代,

[0023] R₄ 为:

[0024] -H, 或

[0025] 任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代的 -C₁-C₆ 烷基基团,

[0026] - 任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代的 C₃-C₆ 环烷基基团, 或

[0027] - 任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代的 (C₁-C₅) 烷基 (C₃-C₆) 环烷基基团, 或

[0028] - = O, 或

[0029] -O = CCF₃, 或

[0030] - 被酯基团 (诸如, O-酰基基团)、或衍生自天然或非天然氨基酸的氨基酰基基团, 或乙酰基基团或烟酰基基团取代的 C₁-C₆ 烷基基团,

[0031] 或者, A、R₃ 和 R₄ 合起来形成 C₅-C₇ 环烷基基团, 任选地包含一个或多个杂原子, 优选哌嗪基团,

[0032] B 为 O 或 S 或 NH 或卤素原子,

[0033] R₁ 为:

[0034] - 任选地为支链的和 / 或任选地被一个或多个羟基基团取代的 C₁-C₆ 烷基基团, 或

[0035] - 任选地被一个或多个羟基基团取代的 C₃-C₆ 环烷基基团, 或

[0036] - 任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团、和 / 或任选地包含一个或多个杂原子取代的芳基基团, 或

[0037] -C₁-C₅ 烷基芳基基团, 该芳基基团任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基

团、和 / 或 C_1-C_3 烷基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子,

[0038] R_2 为:

[0039] - 任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团、和 / 或 CF_3 基团取代的芳基基团, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子, 从而形成 2-吡啶基基团、或 3-吡啶基基团、或 4-吡啶基基团、或 2-噁吩基或 3-噁吩基基团, 或

[0040] - 甲基联芳基基团, 其中每个芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或 CF_3 基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子, 或

[0041] - 甲基芳基基团, 所述芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或 CF_3 基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子取代, 从而形成 2-吡啶基基团、或 3-吡啶基基团、或 4-吡啶基基团、或 2-噁吩基基团或 3-噁吩基基团,

[0042] - 联芳基基团, 每个芳基环任选地包含一个或多个杂原子, 从而形成 2-吡啶基基团、或 3-吡啶基基团、或 4-吡啶基基团、或 2-噁吩基基团或 3-噁吩基基团, 或每个芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或 CF_3 基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团取代,

[0043] 或者, B 和 R_2 合起来形成非芳香族环,

[0044] R_5 为:

[0045] - 卤素原子, 或

[0046] - 氢原子, 或

[0047] - C_1-C_5 烷基基团任选地被一个或多个羟基基团和 / 或胺基团和 / 或卤素原子和 / 或羧酸基团取代, 或

[0048] - (C_1-C_4) 烷基 (C_3-C_6) 环烷基基团, 其中所述环烷基基团任选地被一个或多个羟基基团和 / 或胺基团和 / 或卤素原子和 / 或羧酸基团取代,

[0049] 及其盐、水合物、和立体异构体。

[0050] 如本文中使用的, 术语“联芳基”表示通过单键连接的两个芳基环, 术语“羧酸基团”是指 $-COOH$ 基团。

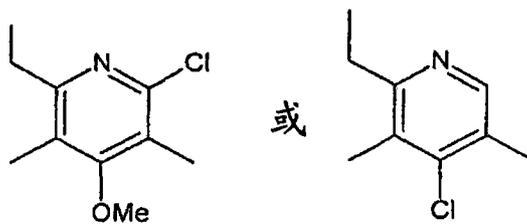
[0051] 在本发明的第一优选实施方案中, 在式 I 中, A 为 N。

[0052] 在本发明的第二优选实施方案中, 在式 I 中, A 为 CH。

[0053] 在本发明的第三优选实施方案中, 在式 I 中, A 为 O。

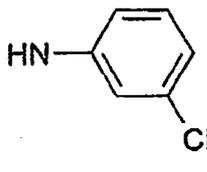
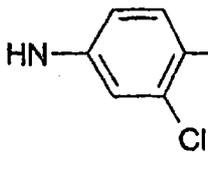
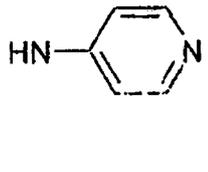
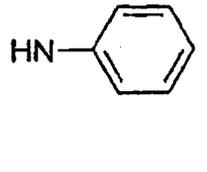
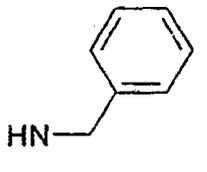
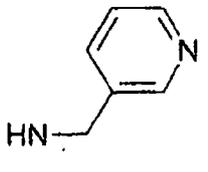
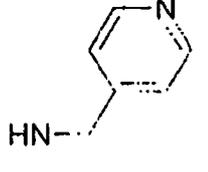
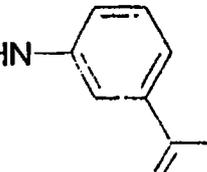
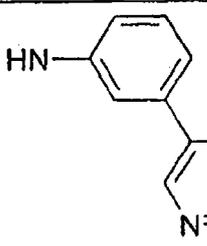
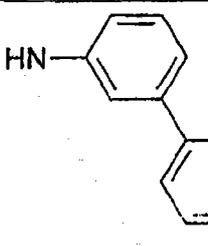
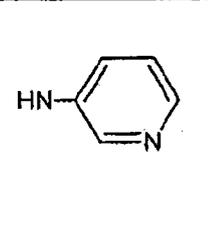
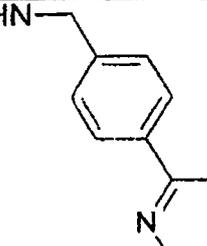
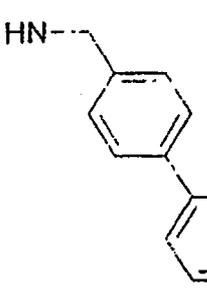
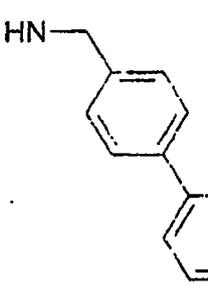
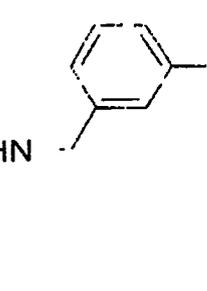
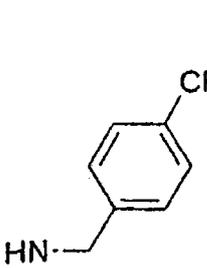
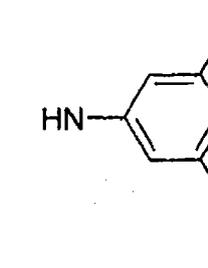
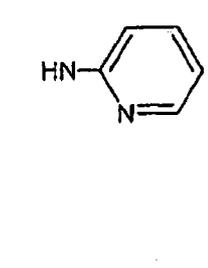
[0054] 在本发明的每个优选实施方案中, 在式 I 中, 优选 R_1 基团为乙基、或甲基、或异丙基、或甲基环丙基、或环戊基、苯基基团、或苄基基团或甲基吡啶基基团, 或

[0055]



[0056] 在本发明的每个优选实施方案中,在式 I 中,优选的 B-R₂ 基团为以下表 1 中列举的那些之一:

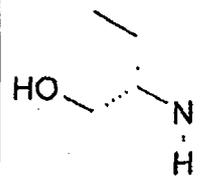
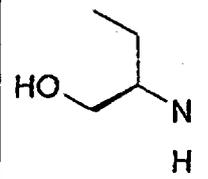
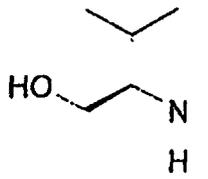
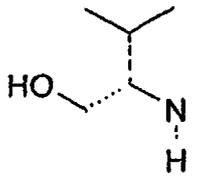
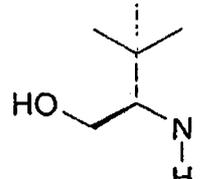
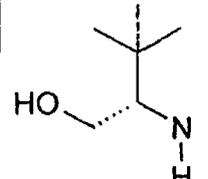
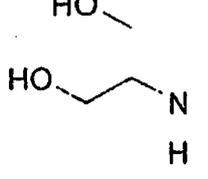
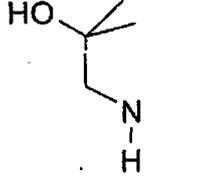
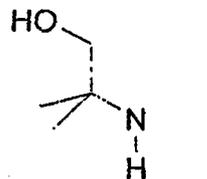
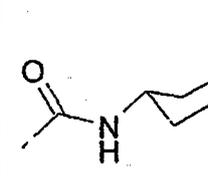
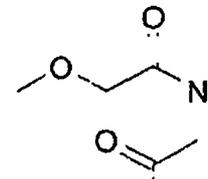
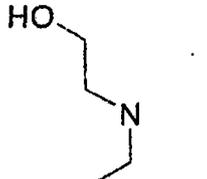
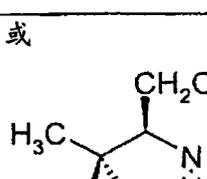
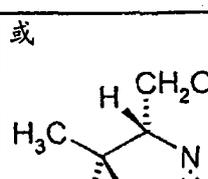
[0057]

[0058] 表 1

[0059] 在本发明的每个优选实施方案中,在式 I 中,优选 R_4 - A - R_3 取代基为以下表 2 中列举的基团之一:

[0060]

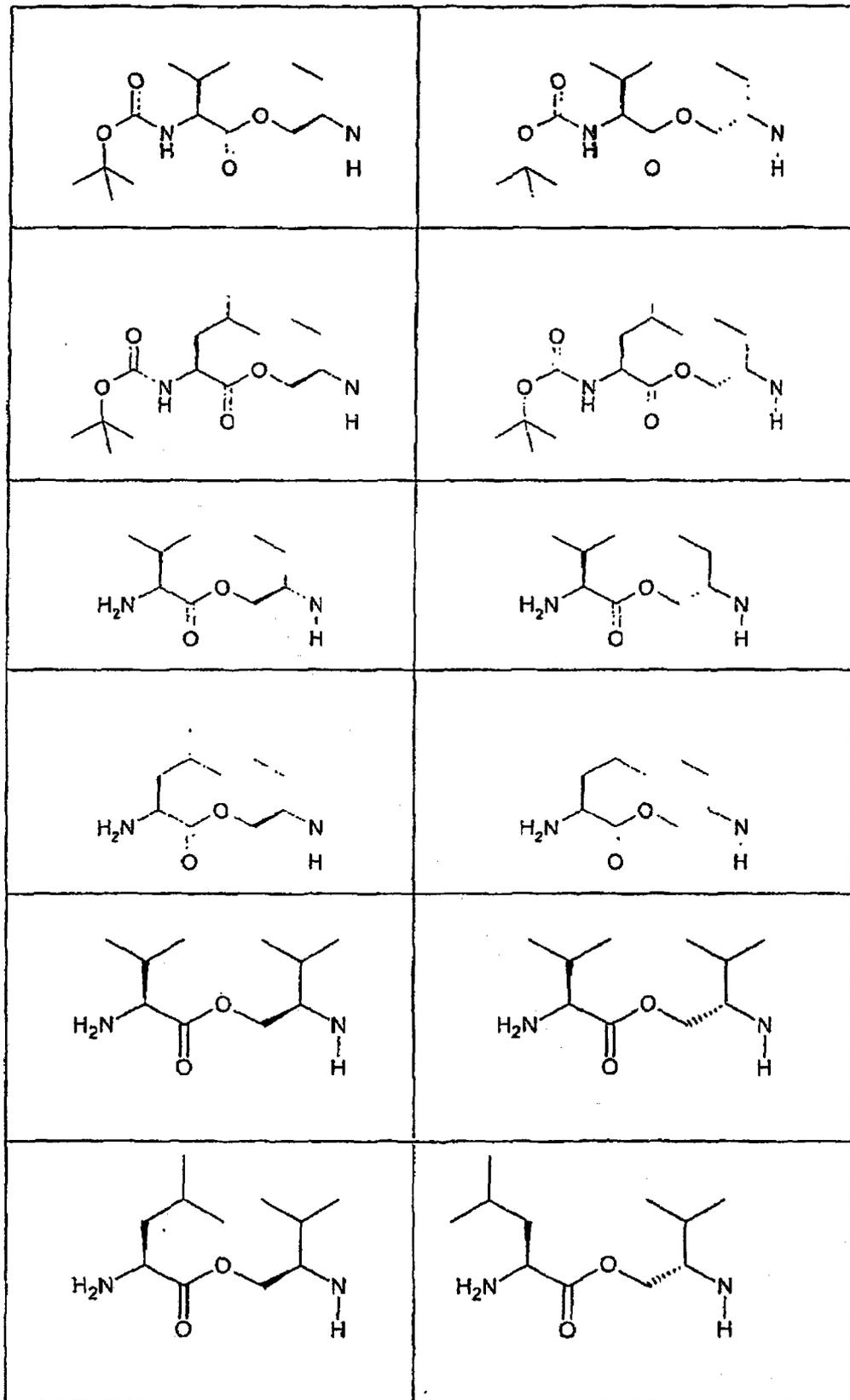
	或 	或 	或 
或 	或 	或 	或 
或 	或 	或 	或 
或 	或 		4

[0061] 表 2

[0062] 另外,在本发明的每个优选实施方案中,优选 R_4-A-R_3 为酯官能度。

[0063] 实际上,尽管这些酯表现出中等或低的体外活性,但是它们作为本发明的式 I 的生物活性化合物的前体药物在体内起作用。

[0064] 在作为本发明的式 I 化合物的酯的这种前体药物中,优选的 R_4-A-R_3 基团是以下表 3 中列举的那些。

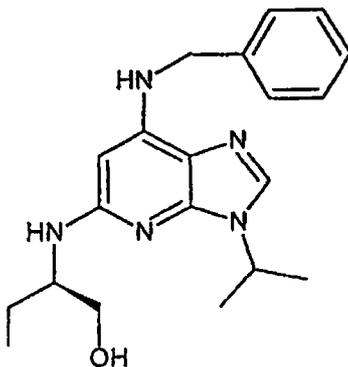


[0065]

[0066] 表 3

[0067] 优选的本发明化合物为下式 Ia 的化合物：

[0068]

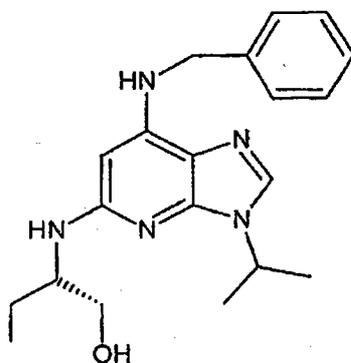


[0069] 式 Ia。

[0070] 这种化合物具有绝对构型 (R), 以下也称为“perharidine A”。

[0071] 但是, 也优选以下式 Ib 的 perharidine A 的 (S) 异构体:

[0072]

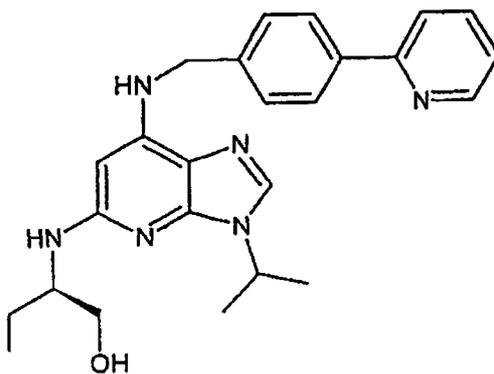


[0073] 式 Ib。

[0074] 这个化合物在以下也称为“perharidine B”。

[0075] 本发明的另一个优选的化合物为以下式 Ic:

[0076]

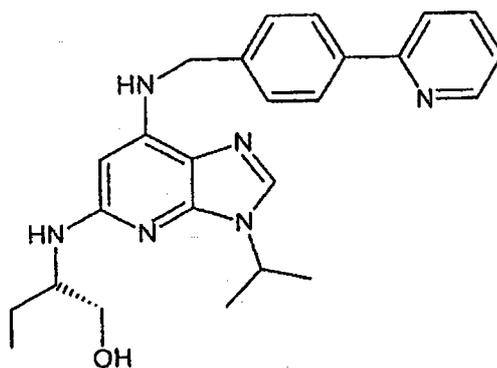


[0077] 式 Ic。

[0078] 这个化合物在以下也称为“perharidine C”。

[0079] 本发明的另一个优选化合物为以下式 Id:

[0080]

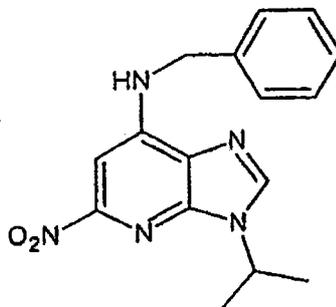


[0081] 式 Id。

[0082] 这个化合物在以下也称为“perharidine D”。

[0083] 但是还优选以下式 Ie 的本发明化合物：

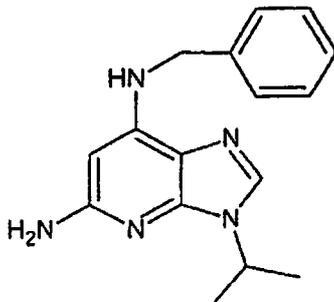
[0084]



[0085] 式 Ie。

[0086] 以下式 If 的本发明化合物也是优选的化合物：

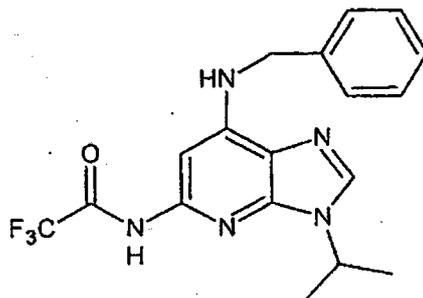
[0087]



[0088] 式 If。

[0089] 还优选以下式 Ig 的本发明化合物：

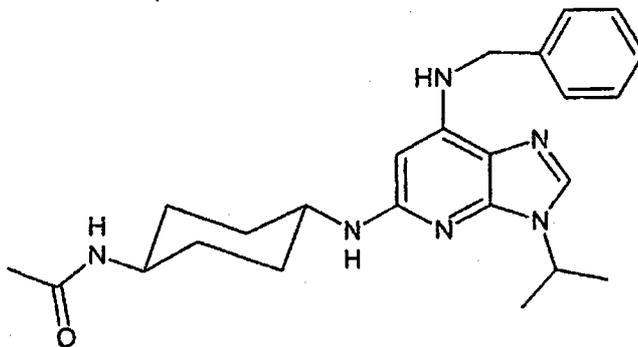
[0090]



[0091] 式 Ig。

[0092] 此外,还优选以下式 Ih 的本发明化合物:

[0093]



[0094] 式 Ih。

[0095] 上述的每个和所有本发明化合物的立体异构体、水合物、和盐也都在本发明范围内。

[0096] 如所指出的,在式 Ia-Ig 的化合物中, A 为 N。

[0097] 但是本发明的其它优选化合物是其中 A 为 CH 或为 O 的对应于式 Ia-Ig 的这些化合物的那些化合物。

[0098] 本发明的化合物可以通过本领域技术人员公知的任何适合的方法生产。

[0099] 然而,在 A 为 N 时,一方面,这些化合物不能通过合成 2,6,9-三取代嘌呤的经典方法来制备。

[0100] 这个经典的方法涉及其中在氨基-醇的存在下在 145°C -170°C 的温度加热 2-氯取代的嘌呤以得到例如 Roscovitine 的步骤。

[0101] 但是在将这种方法应用于相应的 3,5,7-三取代的咪唑并[4,5-b]吡啶时,反应不发生。

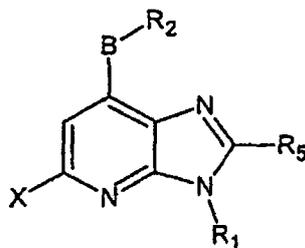
[0102] 在提高温度时,仅得到降解产物。

[0103] 另一方面,还发现用于制备去氮杂嘌呤的经典方法也不适合。

[0104] 实际上,最先由 Francis, JE 和 Moskal, MA 在 Can J Chem 1992, 70, 第 1288-1295 页中描述的这种经典的方法首先涉及使用磷酰氯作为试剂使仲酰胺与氨基氨基咪唑反应形成脒。在第二步骤中,使用 NaH 作为碱将脒环化为咪唑并吡啶。这种方法不能用于制备本发明的化合物,因为它仅提供在 7 位带有未被取代的氨基基团的衍生物。另外,在取代基包含羟基基团时,在形成杂环的过程中应该将它们保护起来。在由 Koch, M 在 WO 2006/027366 中描述的另一个合成方法中,可以在 5 位引入的取代基的性质限制为由亚硝基基团形成,并且通过相同的方法仅描述了未被取代的 7-氨基基团。

[0105] 为了缓和现有技术的方法中的缺点,本发明提出了原始的和通用的方法,其中使用了以下式 II 的化合物:

[0106]



[0107] 式 II

[0108] 其中：

[0109] B 为 O 或 S 或 NH 或卤素原子，

[0110] R_1 为：

[0111] - 任选地支链的和 / 或任选地被一个或多个羟基基团取代的 C_1-C_6 烷基基团，或

[0112] - 任选地被一个或多个羟基基团取代的 C_3-C_6 环烷基基团，或

[0113] - 芳基基团，其任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团取代，和 / 或任选地包含一个或多个杂原子，或

[0114] - C_1-C_5 烷基芳基基团，所述芳基基团任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团取代，和 / 或任选地包含一个或多个杂原子，

[0115] R_2 为：

[0116] - 任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团、和 / 或 CF_3 基团取代的芳基基团，和 / 或任选地包含一个或多个杂原子，从而形成 2-吡啶基基团、或 3-吡啶基基团、或 4-吡啶基基团、或 2-噁吩基或 3-噁吩基基团，或

[0117] - 甲基联芳基基团，其中每个芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或 CF_3 基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团取代，和 / 或任选地包含一个或多个杂原子，或

[0118] - 甲基芳基基团，所述芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或 CF_3 取代基团，和 / 或任选地包含一个或多个杂原子，从而形成 2-吡啶基基团、或 3-吡啶基基团、或 4-吡啶基基团、或 2-噁吩基基团或 3-噁吩基基团，

[0119] - 联芳基基团，每个芳基环任选地包含一个或多个杂原子，从而形成 2-吡啶基基团、或 3-吡啶基基团、或 4-吡啶基基团、或 2-噁吩基基团或 3-噁吩基基团，或每个芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或 CF_3 基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团取代，

[0120] 或者 B 和 R_2 合起来形成非芳香族环，

[0121] R_5 为：

[0122] - 卤素原子，或

[0123] - 氢原子，或

[0124] - 任选地被一个或多个羟基基团和 / 或胺基团和 / 或卤素原子和 / 或羧酸基团取代的 C_1-C_5 烷基基团，或

[0125] $-(C_1-C_4)$ 烷基 (C_3-C_6) 环烷基基团, 其中所述环烷基基团任选地被一个或多个羟基基团和 / 或胺基团和 / 或卤素原子和 / 或羧酸基团取代,

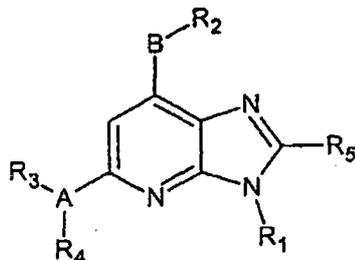
[0126] X 为 Cl 或 Br 或 I 或 NH_2 。

[0127] 这些式 II 的化合物也在本发明范围内。

[0128] 优选的式 II 的化合物是其中 X 为 I 的那些。

[0129] 因此, 本发明还提出了用于生产以下式 I 的化合物的方法:

[0130]



[0131] 式 I

[0132] 其中:

[0133] A 为 N,

[0134] R_3 为:

[0135] -H, 或

[0136] $-(C_1-C_5)$ 烷基基团, 或

[0137] $- = O$, 或

[0138] $-(C_1-C_3)$ 烷基 $-C = O$ 基团, 其中所述烷基任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代,

[0139] R_4 为:

[0140] -H, 或

[0141] -任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代的 C_1-C_6 烷基基团,

[0142] -任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代的 C_3-C_6 环烷基基团, 或

[0143] -任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代的 (C_1-C_5) 烷基 (C_3-C_6) 环烷基基团, 或

[0144] $- = O$, 或

[0145] $-O = CCF_3$, 或

[0146] -被酯基团 (诸如, O-酰基基团)、或衍生自天然或非天然氨基酸的氨基酰基基团、或乙酰基基团或烟酰基基团取代的 C_1-C_6 烷基基团,

[0147] 或者 A、 R_3 和 R_4 合起来形成任选地包含一个或多个杂原子的 C_5-C_7 环烷基基团, 优选为哌嗪基团,

[0148] B 为 O 或 S 或 NH 或卤素原子,

[0149] R_1 为:

[0150] -任选地被一个或多个羟基基团取代的 C_1-C_6 烷基基团, 或

[0151] - 任选地被一个或多个羟基基团取代的 C_3-C_6 环烷基基团, 或

[0152] - 芳基基团, 其任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子, 或

[0153] - C_1-C_5 烷基芳基基团, 所述芳基基团任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子,

[0154] R_2 为:

[0155] - 芳基基团, 其任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团、和 / 或 CF_3 基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子, 从而形成 2-吡啶基基团、或 3-吡啶基基团、或 4-吡啶基基团、或 2-噁吩基或 3-噁吩基基团, 或

[0156] - 甲基联芳基基团, 其中每个芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或 CF_3 基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子, 或

[0157] - 甲基芳基基团, 所述芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或 CF_3 基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子, 从而形成 2-吡啶基基团、或 3-吡啶基基团、或 4-吡啶基基团、或 2-噁吩基基团或 3-噁吩基基团,

[0158] - 联芳基基团, 每个芳基环任选地包含一个或多个杂原子, 从而形成 2-吡啶基基团、或 3-吡啶基基团、或 4-吡啶基基团、或 2-噁吩基基团或 3-噁吩基基团, 或者每个芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或 CF_3 基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团取代,

[0159] 或者 B 和 R_2 合起来形成非芳香族环,

[0160] R_5 为:

[0161] - 卤素原子, 或

[0162] - 氢原子, 或

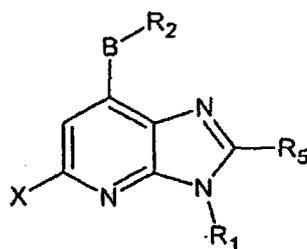
[0163] - 任选地被一个或多个羟基基团和 / 或胺基团和 / 或卤素原子和 / 或羧酸基团取代的 C_1-C_5 烷基基团, 或

[0164] - (C_1-C_4) 烷基 (C_3-C_6) 环烷基基团, 其中所述环烷基基团任选地被一个或多个羟基基团和 / 或胺基团和 / 或卤素原子和 / 或羧酸基团取代,

[0165] 及其盐、水合物、和立体异构体,

[0166] 包括以下反应步骤: 使以下式 II 的化合物反应:

[0167]

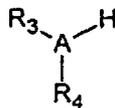


[0168] 式 II

[0169] 其中 B、R₂、R₁ 和 R₅ 如上述对于式 I 的化合物所定义的,且 X 为 Br、Cl、I 或 NH₂。

[0170] 在本发明的方法的第一实施方案中,这个反应步骤为使其中 X 为 Cl、Br 或 I 的式 II 的化合物在催化剂的存在下并且任选地在配体诸如 2,2'-双(二苯膦基)-1,1'-联萘(也称为 Binap)或乙二醇或二酮的存在下与以下式 III 的化合物偶联:

[0171]



[0172] 式 III

[0173] 其中 A、R₃ 和 R₄ 如对于式 I 所定义的,所述催化剂选自 Pd(OAc)₂、三(二亚苄基丙酮)二钯(也称为 Pd₂dba₃)、或 CuI。

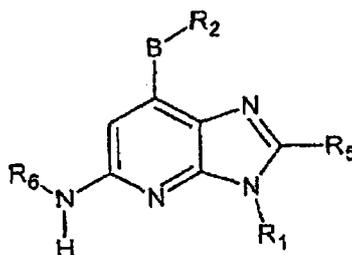
[0174] 在本发明方法的第二实施方案中,这个反应步骤是使其中 X 为 NH₂ 的式 II 的化合物与以下式 IV 的化合物偶联:

[0175] Y-R₆

[0176] 式 IV

[0177] 其中 Y 为 I、Br 或 Cl,且 R₆ 为 R₃ 或 R₄,得到以下式 V 的化合物:

[0178]



[0179] 式 V

[0180] 并且在 R₃ 和 R₄ 不是 H 时,随后进行使式 V 的化合物与以下式 VI 的化合物偶联的步骤:

[0181] Y-R₇

[0182] 式 VI

[0183] 其中 Y 为 I、Br 或 Cl,且在 R₆ 为 R₄ 时 R₇ 为 R₃ 或在 R₆ 为 R₃ 时 R₇ 为 R₄,

[0184] 所述偶联步骤在碱性条件下进行。

[0185] 在本发明方法的所有实施方案中,在每种情况中,优选 X 和 Y 是 I 或 Br,更优选为 I。

[0186] 本发明还提出了本发明的或通过本发明的方法得到的化合物用作药物。

[0187] 本发明的另一个目的为药物组合物,其包括至少一种本发明的、或通过本发明方法得到的化合物以及至少一种药学可接受的赋形剂。

[0188] 本发明的另一个目的是本发明的或通过本发明方法得到的至少一种化合物用于生产药物的用途,所述药物用于治疗由于肿瘤或非肿瘤性质的细胞异常增殖所引起的疾病。

[0189] 在本发明的所述用途的一个实施方案中,所述疾病为转移性或非转移性的肿瘤(诸如,实体瘤)、或白血病。

[0190] 在另一个实施方案中,所述疾病为涉及 CDK5 和 / 或 CDK1 异常活性的神经变性疾病。

[0191] 更具体地,所述神经变性疾病为帕金森氏病。

[0192] 但是,所述神经变性疾病也可以是阿尔茨海默氏病和相关的 Taupathies。

[0193] 在另一个实施方案中,所述疾病为病毒病,诸如 HIV、疱疹、巨细胞病毒等。

[0194] 另外,本发明包括本发明的或通过本发明方法得到的至少一种化合物用于生产治疗疼痛的药物的用途。

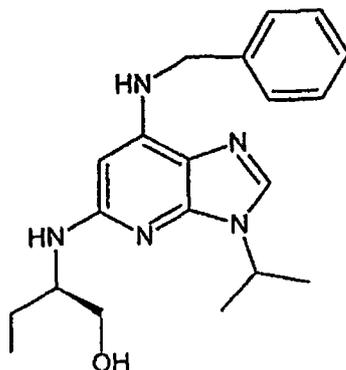
[0195] 此外,本发明的或通过本发明方法得到的至少一种化合物有利地用于生产药物或用在治疗肾疾病的方法中,所述肾疾病诸如肾小球膜增生性肾小球肾炎、新月体性肾小球肾炎、坍塌性肾小球病、增生性狼疮肾炎、多囊肾病、糖尿病性肾病、急性肾脏损伤、和顺铂诱导的肾中毒。

[0196] 但是,本发明的或通过本发明方法得到的至少一种化合物也可以用于生产药物和 / 或用于治疗炎症的方法,所述炎症诸如胸膜炎、关节炎、囊性纤维化或青光眼。

[0197] 最后,本发明的化合物也可以在 II 型糖尿病的情况中用于增强胰腺的胰岛素产生。

[0198] 在本发明的至少一种化合物的用途的所有实施方案和变体中,优选所述至少一种化合物为以下式 Ia :

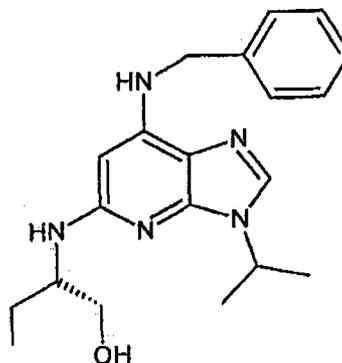
[0199]



[0200] 式 Ia

[0201] 更优选地,所述至少一种化合物为以下式 Ib 的化合物 :

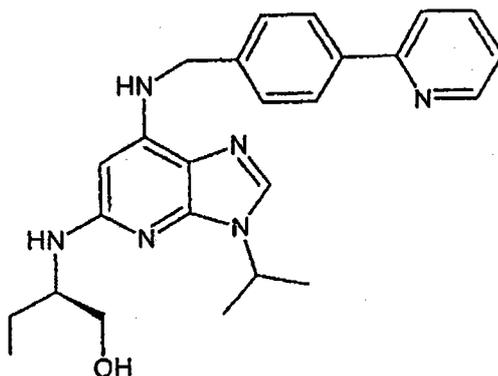
[0202]



[0203] 式 Ib

[0204] 但是在另一个优选的变体中,所述至少一种化合物为以下式 Ic 的化合物 :

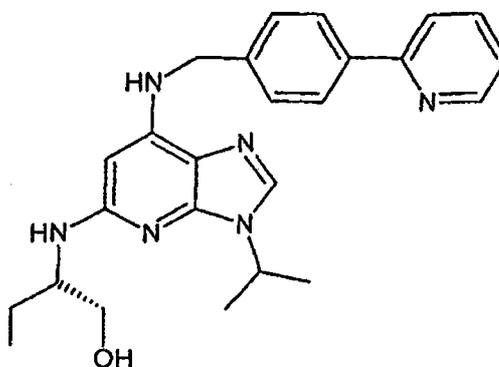
[0205]



[0206] 式 Ic

[0207] 然而,在本发明的至少一种化合物的用途的另一个优选变体中,所述至少一种化合物为以下式 Id 的化合物:

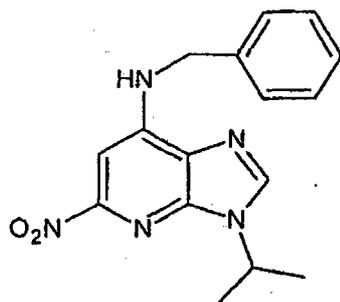
[0208]



[0209] 式 Id

[0210] 在本发明的至少一种化合物的用途的另一个优选变体中,所述至少一种化合物为以下式 Ie 的化合物:

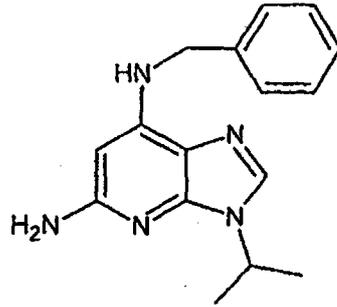
[0211]



[0212] 式 Ie

[0213] 但是,所述至少一种化合物也可以是以下式 If 的化合物:

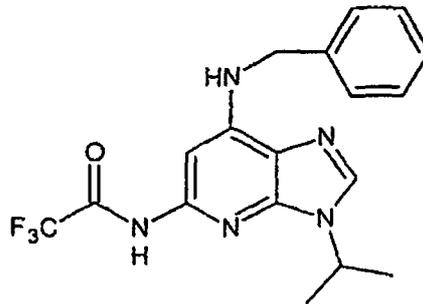
[0214]



[0215] 式 If

[0216] 但是,所述至少一种化合物也可以是以下式 Ig 的化合物:

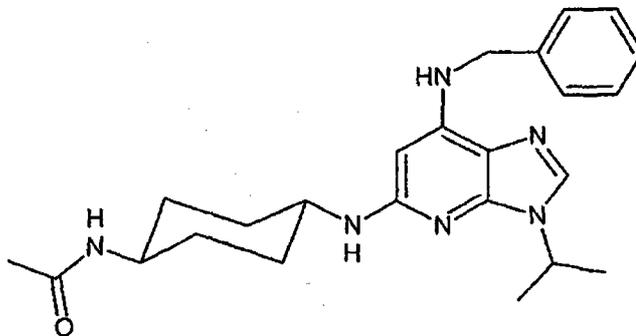
[0217]



[0218] 式 Ig。

[0219] 此外,所述至少一种化合物也可以是以下式 Ih 的化合物:

[0220]



[0221] 式 Ih。

[0222] 式 Ia-Ih 的化合物的盐、水合物和立体异构体也可用作所述至少一种化合物。

[0223] 通过参考实施例和附图阅读随后的描述可以更好地理解本发明,且使本发明的特征和优点变得显而易见,所述实施例只是说明性的并不限制本发明的范围,在附图中,

[0224] - 图 1 示出了用分别为 500 μ M 或 100 μ M 的 (R)-Roscovitine、或式 Ic 的化合物、或式 Id 的化合物进行的银染色试验的结果,用于测定本发明的化合物和 Roscovitine 与吡哆醛激酶的相互作用,

[0225] - 图 2 示出了对应于图 1 的免疫印迹,用于显示浓度为 500 μ M 和 100 μ M 的 (R)-Roscovitine、式 Ic 的化合物、和式 Id 的化合物对激酶 PDXK 和 CDK5 的影响,

[0226] - 图 3 示出了不同浓度的 (R)-Roscovitine、式 Ia 的化合物、和式 Ib 的化合物对 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞的细胞存活力的影响,

[0227] - 图 4 示出了在 SH-SY5Y 神经母细胞瘤 (neuroblastome) 细胞中测量的不同浓度

的 (R)-Roscovitine、式 Ia 的化合物、和式 Ib 的化合物对以任意荧光单位 (a. f. u.) 表示的半胱天冬酶活性 (DEVDase) 的影响,

[0228] - 图 5 示出了不同浓度的 (R)-Roscovitine、式 Ia 的化合物、和式 Ic 的化合物对 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞的 MTS 还原的影响,

[0229] - 图 6 示出了不同浓度的 (R)-Roscovitine、式 Ia 的化合物、和式 Ic 的化合物对 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞的以任意荧光单位 (a. f. u.) 表示的半胱天冬酶活性 (DEVDase 活性) 的影响,

[0230] - 图 7 示出了不同浓度的 (R)-Roscovitine、式 Ia 的化合物、式 Ib 的化合物、和式 Ic 的化合物对 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞的成视网膜细胞瘤蛋白磷酸化作用的影响。在这个图中,上部的刻度适用于 (R)-Roscovitine、式 Ia 和式 Ib 的化合物,下部刻度适用于式 Ic 的化合物,

[0231] - 图 8 示出了不同浓度的 (R)-Roscovitine、式 Ia 的化合物、式 Ib 的化合物、和式 Ic 的化合物对 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞的视网膜母细胞瘤总蛋白的影响。在这个图中,上部的刻度适用于 (R)-Roscovitine、式 Ia 和式 Ib 的化合物,下部刻度适用于式 Ic 的化合物,

[0232] - 图 9 示出了不同浓度的 (R)-Roscovitine、式 Ia 的化合物、式 Ib 的化合物、和式 Ic 的化合物对 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞的 RNA 聚合酶 II SeR_2 磷酸化作用的影响。在这个图中,上部的刻度适用于 (R)-Roscovitine、式 Ia 和式 Ib 的化合物,下部刻度适用于式 Ic 的化合物,

[0233] - 图 10 示出了不同浓度的 (R)-Roscovitine、式 Ia 的化合物、式 Ib 的化合物、和式 Ic 的化合物对 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞的 RNA 聚合酶 II 总蛋白的影响。在这个图中,上部的刻度适用于 (R)-Roscovitine、式 Ia 和式 Ib 的化合物,下部刻度适用于式 Ic 的化合物,

[0234] - 图 11 示出了不同浓度的 (R)-Roscovitine、式 Ia 的化合物、式 Ib 的化合物、和式 Ic 的化合物对 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞的 Thr320 的蛋白质磷酸酶 1- α 磷酸化的影响。在这个图中,上部的刻度适用于 (R)-Roscovitine、式 Ia 和式 Ib 的化合物,下部刻度适用于式 Ic 的化合物,

[0235] - 图 12 示出了不同浓度的 (R)-Roscovitine、式 Ia 的化合物、式 Ib 的化合物、和式 Ic 的化合物对 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞的 Mc1-1 存活因子的影响。在这个图中,上部的刻度适用于 (R)-Roscovitine、式 Ia 和式 Ib 的化合物,下部刻度适用于式 Ic 的化合物,

[0236] - 图 13 示出了不同浓度的 (R)-Roscovitine、式 Ia 的化合物、式 Ib 的化合物、和式 Ic 的化合物对 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞的 p53 总蛋白水平的影响。在这个图中,上部的刻度适用于 (R)-Roscovitine、式 Ia 和式 Ib 的化合物,下部刻度适用于式 Ic 的化合物,

[0237] - 图 14 示出了不同浓度的 (R)-Roscovitine、式 Ia 的化合物、式 Ib 的化合物、和式 Ic 的化合物对 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞的 p27 总蛋白水平的影响。在这个图中,上部的刻度适用于 (R)-Roscovitine、式 Ia 和式 Ib 的化合物,下部刻度适用于式 Ic 的化合物,

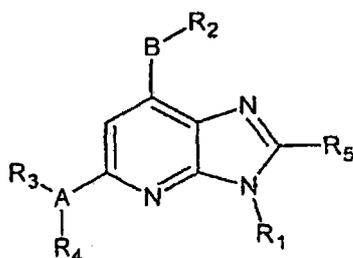
[0238] - 图 15 示出了不同浓度的 (R)-Roscovitine、式 Ia 的化合物、式 Ib 的化合物、和式 Ic 的化合物对 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞的 PARP 裂解的影响。在这个图中,上部的刻度适用于 (R)-Roscovitine、式 Ia 和式 Ib 的化合物,下部刻度适用于式 Ic 的化合物,和

[0239] - 图 16 示出了不同浓度的 (R)-Roscovitine、式 Ia 的化合物、式 Ib 的化合物、和式 Ic 的化合物对 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞的肌动蛋白总蛋白的影响, 作为用于图 5-14 的加载对照 (loading control)。在这个图 16 中, 上部的刻度适用于 (R)-Roscovitine、式 Ia 和式 Ib 的化合物。下部刻度适用于式 Ic 的化合物。

[0240] 本发明的化合物具有与 Roscovitine 的结构接近的结构, 但是它们是脱氮杂嘌呤类。

[0241] 更确切地, 本发明的化合物为以下式 I:

[0242]



[0243] 式 I

[0244] 其中:

[0245] A 为 CH 或 N 或 O,

[0246] R₃ 为:

[0247] -H, 或

[0248] -C₁-C₅ 烷基基团, 或

[0249] - = O, 或

[0250] -(C₁-C₃) 烷基 -C = O 基团, 其中所述烷基任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代,

[0251] R₄ 为:

[0252] -H, 或

[0253] -任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代的 C₁-C₆ 烷基基团,

[0254] -任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代的 C₃-C₆ 环烷基基团, 或

[0255] -任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或氨基基团、和 / 或烷基氧基基团、和 / 或酮基团取代的 (C₁-C₅) 烷基 (C₃-C₆) 环烷基基团, 或

[0256] - = O, 或

[0257] -O = CCF₃, 或

[0258] -被酯基团 (诸如, O-酰基基团)、或衍生自天然或非天然氨基酸的氨基酰基基团、或乙酰基基团或烟酰基基团取代的 C₁-C₆ 烷基基团,

[0259] 或者 A、R₃ 和 R₄ 合起来形成 C₅-C₇ 环烷基基团, 任选地包含一个或多个杂原子, 优选为哌嗪基团,

[0260] B 为 O 或 S 或 NH 或卤素原子,

[0261] R₁ 为:

- [0262] - 任选地被一个或多个羟基基团取代的 C_1-C_6 烷基基团, 或
- [0263] 任选地被一个或多个羟基基团取代的 $-C_3-C_6$ 环烷基基团, 或
- [0264] - 芳基基团, 其任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子, 或
- [0265] $-C_1-C_5$ 烷基芳基基团, 所述芳基基团任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子,
- [0266] R_2 为:
- [0267] - 芳基基团, 其任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团、和 / 或 CF_3 基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子, 从而形成 2- 吡啶基基团、或 3- 吡啶基基团、或 4- 吡啶基基团、或 2- 噁吩基或 3- 噁吩基基团, 或
- [0268] - 甲基联芳基基团, 其中每个芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或 CF_3 基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子, 或
- [0269] - 甲基芳基基团, 所述芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或 CF_3 基团取代, 和 / 或任选地包含一个或多个杂原子, 从而形成 2- 吡啶基基团、或 3- 吡啶基基团、或 4- 吡啶基基团、或 2- 噁吩基基团或 3- 噁吩基基团,
- [0270] - 联芳基基团, 每个芳基环任选地包含一个或多个杂原子, 从而形成 2- 吡啶基基团、或 3- 吡啶基基团、或 4- 吡啶基基团、或 2- 噁吩基基团或 3- 噁吩基基团, 或每个芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C_1-C_3 烷基氧基基团、和 / 或 CF_3 基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团取代,
- [0271] 或者 B 和 R_2 合起来形成非芳香族环,
- [0272] R_5 为:
- [0273] - 卤素原子, 或
- [0274] - 氢原子, 或
- [0275] $-C_1-C_5$ 烷基基团任选地被一个或多个羟基基团和 / 或胺基团和 / 或卤素原子和 / 或羧酸基团取代, 或
- [0276] $-(C_1-C_4)$ 烷基 (C_3-C_6) 环烷基基团, 其中所述环烷基基团任选地被一个或多个羟基基团和 / 或胺基团和 / 或卤素原子和 / 或羧酸基团取代,
- [0277] 及其盐、水合物、和立体异构体。
- [0278] 式 I 中的优选的取代基 A、B、和 R_1-R_6 以及优选的式 I 的化合物前述已有定义。
- [0279] 在 Roscovitine 和式 I 的化合物之间的本质区别在于 Roscovitine 的核中的 7 位氮被式 I 化合物的碳代替。
- [0280] 除非另有说明, Roscovitine 的核中的嘧啶环被本发明化合物中的吡啶环 (pyridine cycle) 代替。
- [0281] 这个差异是本发明化合物的关键特征, 赋予本发明化合物以独特的性质: 与现有技术的嘌呤型化合物相比, 它们更少与吡哆醛激酶相互作用, 如图 1 中所示。

[0282] 实际上,本发明化合物与吡哆醛激酶的相互作用已经通过以下方法来测定:(银染色试验)

[0283] 将补充有 100 μ M 的 Roscovitine、或 100 μ M 的式 Id 的化合物、或 100 μ M 的式 Ie 的化合物的 1000 μ g 的猪脑溶胞产物 (100 μ l 的溶胞产物, 10 μ g/ μ l) 加载在琼脂糖小珠上并用小珠缓冲液 (50mM Tris pH 7.4、5mM NaF、250mM NaCl、5mM EDTA、5mM EGTA、0.1% NP-40、10 μ g/ml 亮肽素、抑肽酶和大豆胰蛋白酶抑制剂和 100 μ M 苜蓿) 洗涤。

[0284] 这些试验的结果示出在图 1 中。

[0285] 从图 1 可见,本发明的化合物表现出 CDK5 的竞争试剂作用,这证明它们实际上与酶有相互作用。

[0286] Roscovitine 表现出对于次要靶 Erk2 和 PDXK 的竞争试剂作用。相比之下,本发明的化合物表现出没有或很少的对于吡哆醛激酶和 Erk2 的竞争试剂作用,这证明这些蛋白质不是本发明化合物的靶或是非常弱的靶。

[0287] 除非另有说明,与 Roscovitine 相比,本发明的化合物表现出增加的 CDK 特异性。

[0288] 另外,与嘌呤衍生物相比,指出的是,它们对 CDK9 表现出较少的抑制作用,所述 CDK9 是由于其在转录中的关键作用而不应被抑制的激酶。

[0289] 此外,本发明人发现,在式 I 中的 B-R₂ 不是 NH₂ 或者具有较短的链长度并且优选包含至少一个芳基基团时,式 I 化合物对细胞存活率的影响得到增强,尽管它们对 CDK 的作用略有不同。此外,在它们的选择性方面的细微差异(对 CDK9 的影响减小)提示,与它们的嘌呤对应物相比,可以预期这些分子具有较少的非特异性作用。

[0290] 因此,本发明的化合物是三取代的或四取代的咪唑并 [4,5-b] 吡啶,即,1-脱氮杂嘌呤。

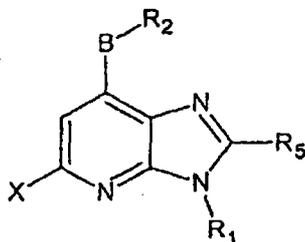
[0291] 已经与 Roscovitine 相比较,对本发明的化合物试验了它们对不同 CDK 和细胞系的作用。

[0292] 这些试验和它们的结果在以下标题为“结果”的部分中。

[0293] 此外,对于其中 A 为 N 的那些本发明化合物,本发明人发现了对它们特别适合的生产方法。

[0294] 所述方法基于使用以下式 II 的中间化合物:

[0295]



[0296] 式 II

[0297] 其中:

[0298] B 为 O 或 S 或 NH

[0299] R₁ 为:

[0300] - 任选地被一个或多个羟基基团取代的 C₁-C₆ 烷基基团,或

[0301] - 任选地被一个或多个羟基基团取代的 C₃-C₆ 环烷基基团,或

[0302] - 芳基基团,其任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团取代,和 / 或任选地包含一个或多个杂原子,或

[0303] -C₁-C₅ 烷基芳基基团,所述芳基基团任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团取代,和 / 或任选地包含一个或多个杂原子,

[0304] R₂ 为:

[0305] - 芳基基团,其任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团、和 / 或 CF₃ 基团取代,和 / 或任选地包含一个或多个杂原子,从而形成 2- 吡啶基基团、或 3- 吡啶基基团、或 4- 吡啶基基团、或 2- 噁吩基或 3- 噁吩基基团,或

[0306] - 甲基联芳基基团,其中每个芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团、和 / 或 CF₃ 基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团取代,和 / 或任选地包含一个或多个杂原子,或

[0307] - 甲基芳基基团,所述芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团、和 / 或 CF₃ 基团取代,和 / 或任选地包含一个或多个杂原子,从而形成 2- 吡啶基基团、或 3- 吡啶基基团、或 4- 吡啶基基团、或 2- 噁吩基基团或 3- 噁吩基基团、

[0308] - 联芳基基团、每个芳基环任选地包含一个或多个杂原子,从而形成 2- 吡啶基基团、或 3- 吡啶基基团、或 4- 吡啶基基团、或 2- 噁吩基基团或 3- 噁吩基基团,或者每个芳基环任选地被一个或多个卤素原子、和 / 或羟基基团、和 / 或 C₁-C₃ 烷基氧基基团、和 / 或 CF₃ 基团、和 / 或羧酸基团、和 / 或羧酸酯基团、和 / 或胺基团取代,

[0309] 或者 B 和 R₂ 合起来形成非芳香族环,

[0310] R₅ 为:

[0311] - 卤素原子,或

[0312] - 氢原子,或

[0313] - 任选地被一个或多个羟基基团和 / 或胺基团和 / 或卤素原子和 / 或羧酸基团取代的 C₁-C₅ 烷基基团,或

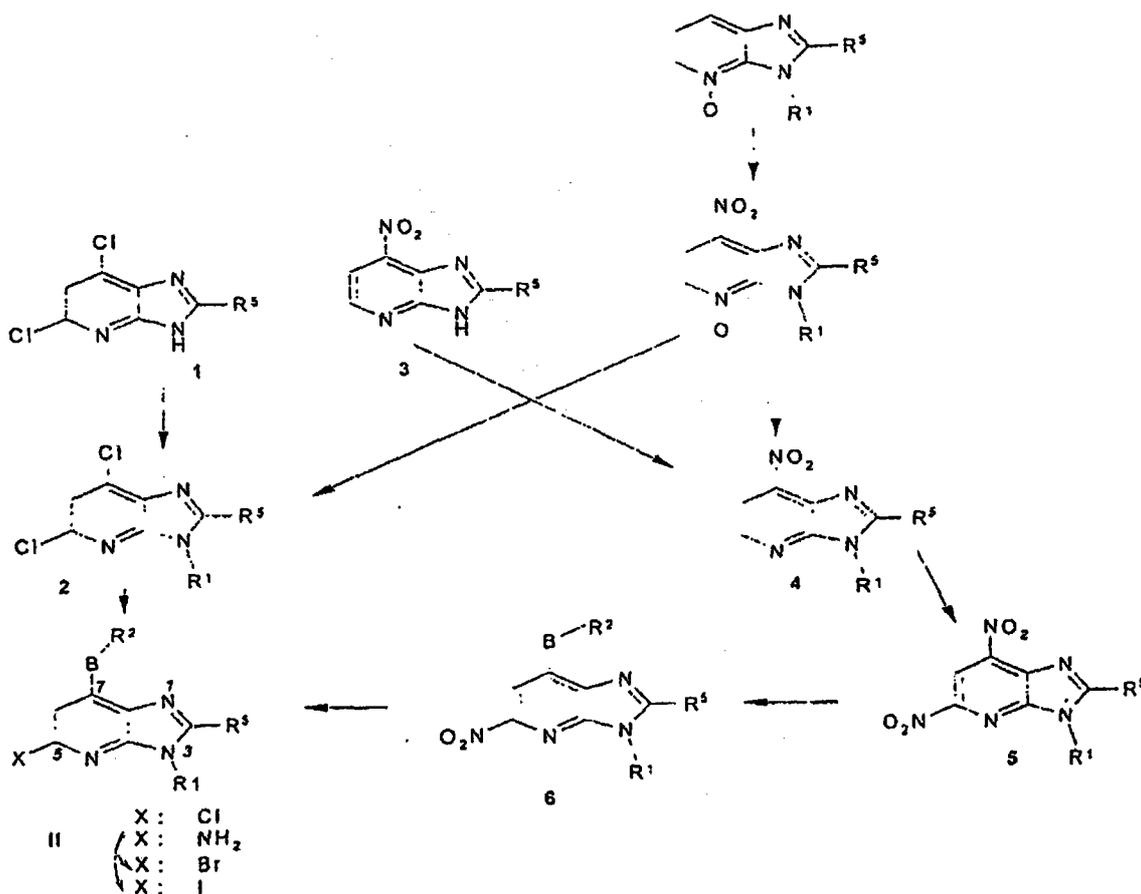
[0314] -(C₁-C₄) 烷基 (C₃-C₆) 环烷基基团,其中所述环烷基基团任选地被一个或多个羟基基团和 / 或胺基团和 / 或卤素原子和 / 或羧酸基团取代,

[0315] X 为 Cl 或 Br 或 I 或 NH₂。

[0316] 这些中间化合物也在本发明范围内。

[0317] 在以下反应路线 1 中描绘得到这些式 II 的化合物的方法。

[0318]



[0319] 反应路线 1

[0320] 使用三个途径来制备式 II 的前体：

[0321] 路线 a = 使如 G.Cristalli 等人, "Nucleosides and nucleotides", 1985, 4, 625-639 中所述得到的 5,7-二氯咪唑并吡啶 1 与 R₁X (X = Br 或 I) 在碱性条件下反应, 得到 2, 使其进一步在丁醇中与 R₂BH 在 90-100°C 反应, 使用三烷基胺 (例如 NEt₃ 或 NBU₃) 作为碱, 得到 IIa (X = Cl)。

[0322] 路线 b = 将根据已知方法在与用于 1 的相似的条件中制备的 3 烷基化, 得到 4, 使其与四丁铵硝酸盐反应, 得到二硝基化合物 5。使 5 与 R₂BH 在热的丁醇中或在 DMF 中在 20-30°C 反应, 得到 6, 使用 Fe、HCl 将其还原为 IIb (X = NH₂) ; Iib X = NH₂。IIb 可以转化为 IIc (X = Br) 或转化为 II d (X = I)。在将 IIb 在 CH₂I₂ 和有机亚硝酸酯 (例如亚硝酸叔丁基酯或亚硝酸异戊基酯) 中加热时实现 IIb 到 II d 的转化。

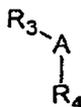
[0323] 路线 c = 第三个路线与第二个路线密切相关。较早进行用于引入基团 R₁ 的烷基化步骤。

[0324] 式 I 的化合物的生产方法使用了式 II 的化合物。

[0325] 在第一实施方案中, 所述方法使用其中 X 为 Cl、Br 或 I (优选为 I) 的式 II 的化合物。

[0326] 这个方法涉及使式 II 的化合物与以下式 III 的亲核试剂偶联以得到式 I 的化合物的步骤：

[0327]



[0328] 所述偶联方法在碱性条件下使用金属催化剂诸如 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 、 Pd_2dba_3 或 CuI 。

[0329] 所述碱可以是碳酸盐（诸如， Cs_2CO_3 ）、金属醇盐（诸如，叔丁醇钾或叔丁醇钠）。

[0330] 所述金属催化剂在大多数情况中与所添加的配体一起使用，所述配体诸如，(+) Binap、Xantphos、或乙二醇或二酮。二酮配体的实例由 Shafir 等人描述在 J. Amer. Chem. Soc. 2006, 126, 8742-8743 中和由 Shafir 描述在 J. Amer. Chem. Soc. 2007, 129, 3490-3491 中。

[0331] 但是在第二实施方案中，本发明的方法使用其中 X 为 NH_2 的式 I。

[0332] 在这个第二实施方案中，要进行一个或两个偶联步骤，这取决于期望的取代基 R_3 和 R_4 的性质。

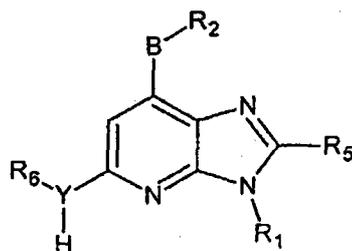
[0333] 因此，使其中 X 为 NH_2 的式 II 的亲核试剂化合物与以下式 IV 的亲电子试剂偶联：

[0334] Y-R_6

[0335] 式 IV

[0336] 其中 Y 为 I、Br 或 Cl， R_6 为 R_3 或 R_4 ，得到以下式 V 的化合物：

[0337]



[0338] 式 V

[0339] 最优选地，Y 为 I。

[0340] 然后，在 R_3 和 R_4 不是 H 时，使式 V 的化合物与以下式 VI 的化合物偶联：

[0341] Y-R_7

[0342] 式 VI

[0343] 其中 Y 为 Br 或 Cl 或 I，最优选为 I，且如果式 V 中的 R_6 为 R_4 ，则 R_7 为 R_3 ，或者，如果在式 V 中的 R_6 为 R_3 ，则 R_7 为 R_4 。

[0344] 这些偶联步骤在碱性条件下进行，如对于本发明方法的第一实施方案中所述的。

[0345] 更优选地，在每种情况中，X 和 Y 为 I 或 Br，且最优选为 I。

[0346] 下面借助于优选实施方案描述本发明。

[0347] 实施例 1：perharidine B（式 Ib 的化合物）的制备。

[0348] 5,7-二氯-3-异丙基咪唑并[4,5-b]吡啶 2。

[0349] 将搅拌的 5,7-二氯咪唑并[4,5-b]吡啶 (5g, 26.5mmol) 的 DMSO (50mL) 溶液在冰浴中冷却，并用 K_2CO_3 (14.6g, 106.2mmol) 和 2-溴丙烷 (12.47mL, 132.8mmol) 处理。将混合物温热到 18°C 并搅拌过夜。真空除去 DMSO。将残余物和水的混合物 (100mL) 用 AcOEt 提取 (3x300mL)。将提取物合并，用盐水 (300mL) 洗涤，干燥 (Na_2SO_4) 并浓缩。将残余物在硅胶上色谱纯化，使用甲苯-AcOEt- CH_2Cl_2 3 : 1 : 1，得到 5,7-二氯-3-异丙基咪唑并[4,

5-b] 吡啶。(收率:57%)。

[0350] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ 1.67(d, 6H); 5.01(m, 1H,); 7.95(s, 1H); 8.39(s, 1H)

[0351] 7-苄基氨基-5-氯-3-异丙基咪唑并[4,5-b]吡啶 IIa。

[0352] 在 N_2 气氛下将2(1.87g, 8.1mmol.), 苄基胺(1.4mL, 13mmol.)和1.5mL的 Et_3N 在10mL DMF中的混合物室温搅拌过夜。真空除去DMF。添加水(150mL)并用 CH_2Cl_2 提取(3x100mL)。将有机相干燥(Na_2SO_4)并浓缩。将残余物在硅胶上色谱纯化,使用甲苯-AcOEt-3:2,得到3(82%)。还可以通过将2、苄胺和三乙胺在正丁醇中的混合物在90°C加热1小时来制备3a。在真空浓缩之后,通过柱色谱法以75%收率分离3a。

[0353] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ 1.5(d, 6H); 4.49(d, 2H,); 4.88(m, 1H); 5.75(t, 1H); 6.31(s, 1H); 7.3-7.25(m, 5H); 7.7(s, 1H)。

[0354] perharidine B:(S)-7-苄基氨基-5-[(2-丁基-1-醇)氨基]-3-异丙基咪唑并[4,5-b]吡啶 Ib。

[0355] 在乙酸钯(4mol%)的存在下向3a(540mg, 1.8mmol)(7-苄基氨基-5-氯-3-异丙基咪唑并[4,5-b]吡啶)在甲苯(20mL)中的悬浮液添加(S)-(+)-2-氨基-1-丁醇,以及在回流甲苯(20mL)中的BINAP(4mol%),使用叔丁醇钾(282mg, 2.5mmol)。将反应混合物在 N_2 下加热5小时。在冷却后,添加水(10mL)并用 CH_2Cl_2 提取(3x10mL)。将有机层干燥(Na_2SO_4)并浓缩。将残余物在硅胶上色谱纯化,使用AcOEt-1% MeOH,得到Ib(42%)。

[0356] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ 0.95(t, 3H); 1.49(m, 8H); 3.55(m, 1H); 3.77(m, 2H); 4.48(d, 2H); 4.62(hept, 1H); 4.85(brt, 1H); 5.35(s, 1H); 6.10(brs, 1H); 7.30(m, 5H); 7.65(s, 1H)。

[0357] 实施例2:perharidine A(式Ia的化合物)的制备。

[0358] 通过本发明方法的第一实施方案,从3a开始如对于perharidineB所述合成perharidine A,不同之处在于在最后一个步骤中使用(R)-(-)-2-氨基-1-丁醇。收率:38%。

[0359] 实施例3:perharidine D(式Id的化合物)的制备。

[0360] 采用与实施例1中详述的相同的方法。

[0361] 如对于3a所述制备这个产物,将4-(2-吡啶基)-苄基铵三氟乙酸盐(0.15mol)、三乙胺5mL和5,7-二氯-3-异丙基咪唑并[4,5-b]吡啶2(0.1mol)的混合物在50ml正丁醇中加热。

[0362] 5-氯-3-异丙基-7-[4-(2-吡啶基)-苄基氨基]-咪唑并[4,5-b]吡啶 IIb。

[0363] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ 1.52(d, 6H, 2 CH_3); 4.56(d, 2H, CH_2); 4.94(hept, 1H, CH, iPr); 5.89(t, 1H, NH); 6.35(s, 1H, 6-H); 7.35m, 1H, 吡啶基); 7.45(d, 2H, 苯基); 7.75(m, 2H, 吡啶基); 7.83(s, 1H, H-2); 7.95(d, 2H, 苯基); 8.70(d, 1H, 吡啶基)。

[0364] perharidine D:(S)-7-[4-(2-吡啶基)-苄基氨基]-5-[(2-丁基-1-醇)氨基]-3-异丙基咪唑并[4,5-b]吡啶 Id。收率:35%。

[0365] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ 1.03(t, 3H, CH_3); 1.50(d, 6H, 2 CH_3); 3.51(m, 1H, CH-OH); 3.75(m, 2H, CH-OH+CH-NH); 4.20(brs, 1H, OH); 4.50(d, 2H, CH_2 -Ar); 5.44(s, 1H, H-6); 5.85(t, 1H, NH); 7.25(m, 1H, 吡啶基); 7.45(d, 2H, 苯基); 7.65(s, 1H, H-2); 7.75(m, 2H, 吡啶基); 7.98(d, 2H, 苯基); 8.70(d, 1H, 吡啶基)。

[0366] 实施例 4: perharidine C(式 Ic 的化合物) 的制备。

[0367] 如对于 perharidine D 所述合成 perharidine C, 不同之处在于在最后一个步骤中使用 (R)-(-)-2-氨基-1-丁醇。收率: 47%。

[0368] 实施例 5: 从 7-硝基咪唑并 [4,5-b] 吡啶制备 perharidines。

[0369] 3-异丙基-7-硝基咪唑并 [4,5-b] 吡啶 4。

[0370] 在与用于合成 2 相同的条件下进行 7-硝基-咪唑并 [4,5-b] 吡啶 3 的烷基化。收率: 76%。

[0371] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1.61 (d, 6H, 2 CH_3); 4.99 (hept, 1H, CH, iPr); 7.90 (d, 1H, H-6); 8.36 (s, 1H, H-2); 8.52 (d, 1H, H-5)。

[0372] 3-异丙基-5,7-二硝基-咪唑并 [4,5-b] 吡啶 5。

[0373] 在 0°C 向 22.63g 四丁基铵硝酸盐在 100mL CH_2Cl_2 中的溶液中添加 10.33mL 的三氟乙酸酐。在 0°C 搅拌 20 分钟后, 将这个溶液添加到被保持在 0°C 的 3-异丙基-7-硝基咪唑并 [4,5-b] 吡啶 3 (10.21, 0.049mol) 在 130mL CH_2Cl_2 中的溶液中, 在 0°C 搅拌 2 小时之后, 将溶液倾倒在冷的 (5°C) NaHCO_3 饱和溶液中。将有机层用 H_2O 洗涤一次, 干燥并真空浓缩。收率 97%。

[0374] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1.76 (d, 6H, 2 CH_3); 5.10 (hept, 1H, CH, iPr); 8.63 (s, 1H, H-2); 8.96 (s, 1H, H-6)。

[0375] 7-苄基氨基-3-异丙基-5-硝基咪唑并 [4,5-b] 吡啶 6a

[0376] 向 5,7-二硝基-3-异丙基咪唑并 [4,5-b] 吡啶、5 在 DMF 中的溶液添加 NEt_3 和苄基胺。在 20°C 搅拌 6 小时之后, 添加 15mL 的 Et_2O 并将沉淀的固体过滤, 并用 Et_2O 洗涤。

[0377] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1.65 (d, 6H, 2 CH_3); 4.65 (d, 2H, CH_2); 4.92 (hept, 1H, CH, iPr); 6.95 (t, 1H, NH); 7.24 (s, 1H, H-6); 7.42 (m, 5H, 苯基); 7.98 (s, 1H, H-2)。

[0378] 通过相同的方法制备联芳基衍生物。

[0379] 3-异丙基-5-硝基-7-[4-(2-吡啶基)-苄基氨基]-咪唑并 [4,5-b] 吡啶 6b

[0380] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1.55 (d, 6H, 2 CH_3); 4.63 (d, 2H, CH_2); 5.01 (hept, 1H, CH, iPr); 6.88 (br s, 1H, NH); 7.22 (m, 1H, 吡啶基); 7.49 (d, 2H, 苯基); 7.68 (dd, 1H, 吡啶基); 8.01 (d, 2H, 苯基); 8.04 (s, 1H, H-2); 8.66 (d, 1H, 吡啶基)。

[0381] 5-氨基-3-异丙基-7-苄基氨基-咪唑并 [4,5-b] 吡啶 IIb

[0382] 向 5.5g 的 Fe 在 30mL EtOH 中的悬浮液缓慢添加 2mL 的 12N HCl。将混合物在 75°C 搅拌 1 小时。在 65°C 冷却后, 添加 12mL 的 25% NH_4Cl 溶液。将混合物搅拌 5 分钟并添加 6a (0.02mol, 在 5mL EtOH 中)。将混合物在 75°C 加热 2 小时。在冷却到室温之后, 添加 5g 硅藻土。将混合物在硅藻土上过滤并将剩余的固体用乙醇洗涤几次。将合并的过滤液浓缩并用 CH_2Cl_2 和 10% Na_2CO_3 提取。浓缩有机层使胺 IIb 的结晶。收率: 98%。

[0383] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1.45 (d, 6H, 2 CH_3); 4.12 (br s, 2H, NH_2); 4.68 (hept, 1H, CH, iPr); 5.48 (s, 1H, H-6); 5.53 (t, 1H, H-2); 7.15-7.35 (m, 5H, 苯基); 7.55 (s, 1H, H-6)。

[0384] 通过相同的方法制备联芳基衍生物 IIc。

[0385] 5-氨基-3-异丙基-7-[4-(2-吡啶基)-苄基氨基]-咪唑并 [4,5-b] 吡啶 IIc

[0386] 收率: 95%。

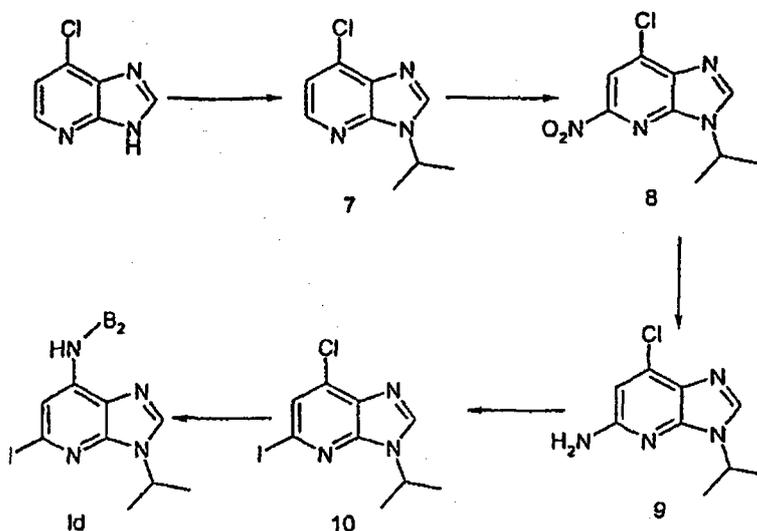
[0387] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1.55 (d, 6H, 2 CH_3); 4.55 (d, 2H, CH_2); 4.92 (hept, 1H, CH,

iPr) ;5.80 (t, 1H, NH) ;6.74 (s, 1H, H-6) ;7.22 (m, 1H, 吡啶基) ;7.47 (d, 2H, 苯基) ;7.62 (m, 2H, 吡啶基) ;7.98 (d, 2H, 苯基) ;8.70 (m, 1H, 吡啶基)。

[0388] 5- 苄基氨基 -3- 异丙基 -7- 碘 - 咪唑并 [4,5-b] 吡啶 II d

[0389] 通过以下反应路线中所述的方法制备化合物 II d。

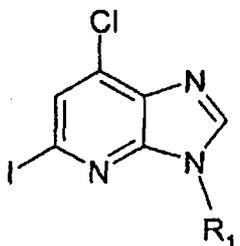
[0390]



[0391] 在第一步骤中,如化合物 2 的合成中所述将 7- 氯咪唑并 [4,5-b] 吡啶烷基化得到 7- 氯 -3- 异丙基咪唑并 [4,5-b] 吡啶 7。然后如 5 的合成中所述用四丁基铵硝酸盐和三氟乙酸酐的混合物进行硝化,得到 7- 氯 -3- 异丙基 -5- 硝基咪唑并 [4,5-b] 吡啶 8。根据用于合成 II b 时所使用的方法将硝基基团还原,得到 5- 氨基 -7- 氯 -3- 异丙基 - 咪唑并 [4,5-b] 吡啶 9。在随后的步骤中,然后使用 CH_2I_2 和烷基亚硝酸酯 (亚硝酸叔丁基酯或异戊基亚硝酸酯) 将胺 9 转化为 7- 氯 -5- 碘 -3- 异丙基咪唑并 [4,5-b] 吡啶 10。最后,如用于制备 II a 所述从 10 得到衍生物 II d。

[0392] 可以通过相同的方法制备前述定义的只在 R_1 上不同的通式 V 的化合物。

[0393]



[0394] 化合物 V

[0395] 7- 氯 -3- 异丙基咪唑并 [4,5-b] 吡啶 7。

[0396] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) : δ 1.65 (d, 6H, 2 CH_3) ; 4.98 (hept, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ; 7.28 (d, 1H, H-5) ; 8.18 (s, 1H, H-2) ; 8.3 (d, 1H, H-6) ;

[0397] 7- 氯 -3- 异丙基 -5- 硝基咪唑并 [4,5-b] 吡啶 8

[0398] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) : δ 1.75 (d, 6H, 2 CH_3) ; 5.12 (hept, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ; 8.35 (s, 1H) ; 8.45 (s, 1H)。

[0399] 5-氨基-7-氯-3-异丙基-咪唑并[4,5-b]吡啶 9。

[0400] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) : δ 1.60(d, 6H, 2 CH_3) ; 4.50(bs, 2H, NH_2) ; 4.80(hept, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ; 6.53(s, 1H, H-8) ; 7.84(s, 1H, H-2)。

[0401] 7-氯-5-碘-3-异丙基咪唑并[4,5-b]吡啶 10

[0402] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) : δ 1.65(d, 6H, 2 CH_3) ; 4.95(hept, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ; 7.68(s, 1H,) ; 8.07(s, 1H)。

[0403] IIId 的制备

[0404] 在 60℃ 向搅拌的 0.1mol 的 5-氨基-3-异丙基-7-苄基氨基-咪唑并[4,5-b]吡啶 IIb 在 100mL CH_2I_2 中的悬浮液缓慢添加 0.2 摩尔亚硝酸异戊基酯。在 60℃ 搅拌 1 小时之后, 将二碘甲烷真空蒸馏掉 (0.1mm)。将残余物聚集在 CH_2Cl_2 和饱和 NaHCO_3 的混合物中。分离有机层并用 H_2O 洗涤, 干燥并浓缩, 得到 IIId。

[0405] 收率: 95%。

[0406] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) : δ 1.51(d, 6H, 2 CH_3) ; 4.40(d, 2H, CH_2) ; 4.82(hept, 1H, CH , iPr) ; 5.56(t, 1H, NH) ; 6.64(s, 1H, H-6) ; 7.28(m, 5H, 苯基) ; 7.75(s, 1H, H-2)。

[0407] 通过相同的方法制备联芳基衍生物 IIe。

[0408] 3-异丙基-7-碘-5-[4-(2-吡啶基)-苄基氨基]-咪唑并[4,5-b]吡啶 IIe

[0409] 收率: 95%。

[0410] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) : δ 1.55(d, 6H, 2 CH_3) ; 4.55(d, 2H, CH_2) ; 4.92(hept, 1H, CH , iPr) ; 5.80(t, 1H, NH) ; 6.74(s, 1H, H-6) ; 7.22(m, 1H, 吡啶基) ; 7.47(d, 2H, 苯基) ; 7.62(m, 2H, 吡啶基) ; 7.98(d, 2H, 苯基) ; 8.70(m, 1H, 吡啶基)。

[0411] 3-异丙基-5-(4-N-乙酰基环己基氨基)-7-(苄基氨基)-咪唑并[4,5-b]吡啶 Ih

[0412] 向 K_3PO_4 (900mg, 0.022mol)、 CuI (50mg, 0.25mmol) 的混合物添加 4mL 1-丁醇、0.5mL 乙二醇 (0.010mol)、5-苄基氨基-3-异丙基-7-碘-咪唑并[4,5-b]吡啶 IIId 和反式-4-N-乙酰基氨基环己基胺 (0.010mol)。将烧瓶用氮气吹扫, 封闭并在 90℃ 加热 18 小时。在冷却到室温之后, 将残余物聚集在 CH_2Cl_2 和 H_2O 的混合物中。将有机层干燥并浓缩。柱色谱纯化, 得到 3-异丙基-5-N-乙酰基环己基氨基-7-[4-(2-吡啶基)-苄基氨基]-咪唑并[4,5-b]吡啶。

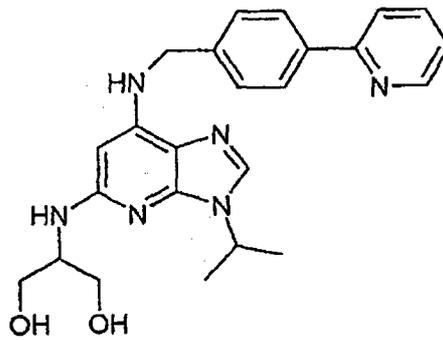
[0413] 收率 94%。

[0414] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) : δ 1.35(m, 4H, 环己基) ; 1.56(d, 6H, 2 CH_3) ; 1.98(s, 3H, CH_3CO) ; 2.20(m, 4H, 环己基) ; 3.45(m, 1H, 环己基) ; 3.75(m, 1H, 环己基) ; 4.5(d, 2H, CH_2) ; 4.69(hept, 1H, iPr) ; 5.32(d, 1H, NH) ; 5.35(s, 1H, H-6) ; 5.65(br s, NH) ; 7.35(m, 5H, 苯基) ; 7.58(s, 1H, H-2)。

[0415] 类似地以 79-95% 收率从碘衍生物 IIId 或 IIe 得到 perharidines A、B、C 和 D。

[0416] 实施例 6 : 3-异丙基-5-(1,3-二羟基丙基氨基)-7-[4-(2-吡啶基)-苄基氨基]-咪唑并[4,5-b]吡啶, Ii, perharidine E。

[0417]



[0418] 化合物 Ii, perharidine E

[0419] $^1\text{H-NMR}$: 1.45 (d, 6H) ; 3.55-3.80 (m, 5H) ; 4.38 (d, 2H) ; 4.55 (hept, 1H) ; 4.90 (bs, 1H) ; 5.35 (s, 1H) ; 5.75 (t, 1H) ; 7.15 (m, 1H) ; 7.30 (d, 1H) ; 7.5 (s, 1H) ; 7.65 (m, 2H) ; 7.85 (d, 2H) ; 8.6 (d, 1H)。

[0420] 已经对在实施例 1-6 中得到的化合物进行了试验,以测定它们对不同的激酶和细胞系的作用。

[0421] 使用了以下材料和方法。

[0422] 缓冲液

[0423] 缓冲液 A : 10mM MgCl_2 、1mM EGTA、1mM DTT、25mM Tris-HCl pH 7.5、50 μg 肝素/ml。

[0424] 缓冲液 C : 60mM β -甘油磷酸酯、15mM 对硝基苯基磷酸酯、25mM MOPS (pH 7.2)、5mM EGTA、15mM MgCl_2 、1mM DTT、1mM 钒酸钠、1mM 苯基磷酸酯。

[0425] 激酶制备和试验

[0426] 在 30°C 以 15 μM 的最终 ATP 浓度在缓冲液 A 或 C 中试验激酶活性。减去空白试验值并将活性表示为最大活性 (即, 在没有抑制的情况下的活性) 的百分率。使用二甲基亚砜的适当稀释物作为对照。

[0427] 如以前所述 (Leclerc S. 等人, J Biol Chem 2001 ; 276 : 251-60) 制备 CDK1/ 细胞周期蛋白 B (M 期海星卵母细胞, 未加修饰) 和 CDK5/p25 (人, 重组的)。在 15 μM [γ - ^{33}P] ATP (3,000Ci/mmol ; 10mCi/ml) 的存在下在 30 μl 的最终容积中在含 1mg 组蛋白 H1/ml 的缓冲液 C 中试验激酶活性。在 30°C 保温 30 分钟之后, 将上层清液的 25 μl 等分样品点到 2.5x3cm 大小的 Whatman P81 磷酸纤维素纸上, 并在 20 秒之后将过滤器在 10ml 磷酸/升水的溶液中洗涤五次 (每次至少 5 分钟)。在 1ml ACS (Amersham) 闪烁流体的存在下对湿的过滤器进行计数。

[0428] 如对于 CDK1/ 细胞周期蛋白 B 所述对 CDK2/ 细胞周期蛋白 A (人, 重组的, 在昆虫细胞中表达的) 进行试验。

[0429] 如对于 CDK1/ 细胞周期蛋白 B 所述对 CDK9/ 细胞周期蛋白 T (人, 重组的, 在昆虫细胞中表达的) 进行试验, 但是使用 pRB 片段 (氨基酸 . 773-928) (3.5 μg / 试验) 作为底物。

[0430] 如对于 CDK1 所述对 GSK-3 α / β (猪脑, 未加修饰, 经过亲和纯化) 进行试验, 但是在缓冲液 A 中并使用 GSK-3 特异性底物 (GS-1 : YRRAAVPPSPSLSRHSSPHQSpEDEEE) (Sp 表示磷酸化的丝氨酸) (Bach S. 等人, J Biol Chem 2005 ; 280 : 31208-19)。

[0431] 如对于 CDK1 所述对 CK1 δ / ϵ (猪脑, 未加修饰, 经过亲和纯化) 进行试验, 但是使

用CK1-特异性肽底物RRKHAAIGSpAYSITA(Reinhardt J. 等人, Protein Expr & Purif 2007; 54 :101-9)。

[0432] 细胞生物学

[0433] 抗体 & 化学品

[0434] AcDEVDafc 和 Q-VD-Oph 购自 MPbiomedicals(Vannes, France)。包含 MTS 试剂的 Cell Titer 96[®]和 CytoTox 96[®]试剂盒购自 Promega(Madison, WI, USA)。蛋白酶抑制剂混合物得自 Roche(Penzberg, Germany)。除非另有说明,未列举的试剂得自 Sigma。

[0435] 肌动蛋白的单克隆抗体得自 Calbiochem(Madison, WI, USA)。成视网膜细胞瘤蛋白(Rb)的单克隆抗体购自 BD Biosciences(SanDiego, CA, USA)。磷酸-Ser249/Thr252-Rb的多克隆抗体由 Biosource(Camarillo, CA, USA) 提供。磷酸-Thr320-蛋白质磷酸酶 1 α (PP1 α) 的多克隆抗体和半胱天冬酶-9的单克隆抗体得自 CellSignalling(Danvers, MA, USA)。RNA 聚合酶 II 和磷酸-Ser2-RNA 聚合酶 II 的多克隆抗体由 Covance Research Products(Berkeley, CA, USA) 提供。Mcl-1 的多克隆抗体得自 Santa Cruz Biotechnology(SantaCruz, CA, USA)。

[0436] 细胞系和培养条件

[0437] 使 SH-SY5Y 人神经母细胞瘤细胞在 DMEM 培养基 (Invitrogen, Cergy Pontoise, France) 生长。使 HEK 293 人胚肾细胞系在得自 Invitrogen 的 MEM 培养基中生长。使人包皮 (foreskin) 初级成纤维细胞 (由 Dr. Gilles Ponzio 友情提供) 在补充有 2mM L-谷氨酰胺和 20mM HEPES 的 DMEM 中生长。所有的培养基都补充以得自 Lonza 的抗生素 (青霉素-链霉素) 和得自 Invitrogen 的 10% 体积的 FCS。将细胞在 5% CO₂ 下在 37°C 培养。药物处理以所示时间和浓度针对指数生长的培养物进行。使用适当的 DMSO 稀释物进行对照实验。使用 MDCK 细胞系试验化合物 PKD。

[0438] 细胞死亡和细胞存活力评价

[0439] 通过测量 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-5-(3-羧基甲氧基苯基)-2-(4-磺基苯基)-2H-四唑鎓 (MTS) 的减少测定细胞存活力。通过测量在细胞溶解时释放的乳酸脱氢酶活性 (LDH) 的水平来测定细胞死亡。所述两个方法都在以前有详细描述 (Ribas J. 等人, Oncogene 2006 ;25 :6304-18)。

[0440] 半胱天冬酶 (caspase) 试验

[0441] 通过在将 AcDEVDafc 合成底物直接添加到培养基中、洗涤剂分解并在 37°C 保温之后测定从 AcDEVDafc 合成底物释放的荧光来测量半胱天冬酶活性。这个方法为 96 多孔板格式而设计。其允许同时进行半胱天冬酶活化的动力学测定和多药物表征 (Ribas J. 等人, Oncogene 2006, 25 :6304-18)。

[0442] 电泳和蛋白质印迹法

[0443] 将细胞再悬浮并在 4°C 在 Homogenization Buffer [60mM β -甘油磷酸酯, 15mM 对硝基苯基磷酸酯, 25mM MOPS (pH 7.2), 15mM EGTA, 15mM MgCl₂, 1mM 二硫苏糖醇, 1mM 钒酸钠, 1mM NaF, 1mM 苯基磷酸酯, 0.1% Nonidet P-40 和蛋白酶抑制剂混合物] 中裂解 30 分钟, 并进行声处理。在离心之后 (14000rpm, 15 分钟, 4°C), 通过 Bradford 蛋白质试验 (Bio-Rad) 测定上层清液中的蛋白质浓度。

[0444] 在包含 100mM Tris/HCl (pH 6.8)、1mM EDTA、2% SDS 和蛋白酶抑制剂混合物的

缓冲液中制备全细胞提取物。在热变性 5 分钟之后,在含 MOPS SDS(除了细胞色素 C、RNA 聚合酶 II 和磷酸-Ser2-RNA 聚合酶 II 蛋白质印迹外全部适用)、MES SDS(细胞色素 C)、或 Tris- 乙酸盐 SDS(RNA 聚合酶 II 和磷酸-Ser2-RNA 聚合酶 II) 的 10% 或 7% NuPAGE pre-cast Bis-Tris 或 Tris- 乙酸盐聚丙烯酰胺缩型凝胶 (Invitrogen) 上分离蛋白质,运行缓冲液取决于蛋白质大小。将蛋白质转移到 0.45 μ m 硝基纤维素过滤器 (Schleicher 和 Schuell)。将这些用含 5% 低脂奶的 Tris- 缓冲的盐水-Tween-20 阻断,与抗体(抗-肌动蛋白:1 : 2000) 保温 1 小时或在 4°C 过夜(细胞色素 C:1 : 500)、Rb(1 : 500)、磷酸-Rb(1 : 500)、磷酸-Thr320-PP1 α (1 : 1000)、RNA 聚合酶 II(1 : 500)、磷酸-Ser2-RNA 聚合酶 II(1 : 500)、Mc1-1(1 : 500)、半胱天冬酶-9(1 : 1000),并通过 Enhanced Chemiluminescence (ECL, Amersham) 分析。

[0445] 生物试验的结果。

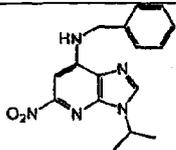
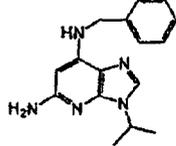
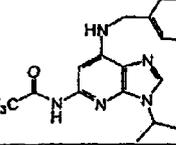
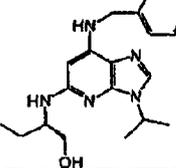
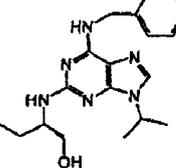
[0446] 本发明化合物的作用

[0447] 对纯化的激酶的作用

[0448] 在不同的分离的纯化的疾病相关蛋白质激酶上试验 Perharidine A 和 B(S 和 R 异构体) 和它们的前体。平行地试验了 (R)-Roscovitine 并用作参考化合物。结果作为以 μ M 为单位的 IC₅₀ 值提供在以下表 4 和 5 中。

[0449] 表 4. perharidine 及其前体在两个细胞系中对激酶和细胞存活率的影响。

[0450]

试验化合物	命名	CDK1	CDK5	CDK7	GSK3	CK1	SH-SY5Y	HEK293
	式 1e	1.0	0.8	-	>10.0	1.0	74.0	46.0
	式 1f	4.0	3.8	-	>10.0	8.0	>100.00	>100.00
	式 1g	0.53	0.63	-	>10.0	3.0	>100.00	>100.00
	(R)-Perharidine A 式 1a	0.35	0.20	0.9	>30.0	4.0	16.2	35.6
	(R)-Roscovitine	0.35	0.20	0.8	>10.0	2.3	19.0 18.2	60.6 39.2

[0451] 表 4 中提供的结果显示了用于合成 perharidine 所合成的不同中间体。实施例 1b 为与 Roscovitine 最接近的相似物,比较了它们的生物学作用。可以看出,化合物 1b 表现出

与 Roscovitine 非常相似的对于所分离激酶的作用,但是具有改善的对细胞增殖的效力。

[0452] 对于 perharidine E、化合物 Ii,提供了 0.34 μ M 的对 CDK5 的 IC_{50} 和 0.28 μ M 的对 CK1 的 IC_{50} 。

[0453] 如方法部分中所述,在激酶试验中在不同浓度试验化合物。从所示剂量反应曲线计算 IC_{50} 值,并以 μ M 为单位报告在表 5 中。

[0454] 表 5. Roscovitine 及其 perharidine 类似物对 10 种蛋白质激酶靶的活性的影响。

[0455]

激酶	(R)-Roscovitine	(R)-Perharidine A (化合物 Ia)	(S)-Perharidine B (化合物 Ib)	(R)-Perharidine C (化合物 Ic)	(S)-Perharidine D (化合物 Id)
CDK1/细胞周期蛋白B	0.33	0.43	0.73	0.46	0.27
CDK2/细胞周期蛋白A	0.21	0.30	0.42	0.36	0.15
CDK2/细胞周期蛋白E	0.17	0.18	0.31	0.25	0.10
CDK5/p25	0.28	0.40	0.50	0.60	0.20
CDK7/细胞周期蛋白H	0.80	0.90	-	-	-
CDK9/细胞周期蛋白T	0.23	0.48	1.30	0.53	0.12
CK1	4.00	11.0	4.80	1.10	1.90
DYRK1A	3.00	2.80	22.00	11.00	2.80
Erk2	11.00	7.00	9.00	22.00	9.00
GSK-3 α / β	60.00	> 100.00	> 30.00	11.00	24.5

[0456] 表 5 表明,与 (R)-perharidine (式 Ia 的化合物) 一样,其 (S)-异构体 (式 Ib 的化合物)、以及式 Ic 和 Id 的化合物表现出与 (R)-Roscovitine 相似的对 CDK 的效力。然而,与对 (R)-Roscovitine 的敏感性相比,CDK9 和 DYRK1A 似乎是对这些脱氮杂嘌呤类敏感性略低。

[0457] perharidines 对细胞存活率的影响

[0458] 在不同的细胞系上试验 perharidine A 和 B (R 和 S 异构体) 和它们的前体、以及式 Ic 和 Id 的化合物 (通过 MTS 试验测定存活率水平)。平行地试验了 (R)-Roscovitine 并用作参考化合物。结果作为以 μ M 为单位的 IC_{50} 值提供在图 3 和 5 中以及表 4 和以下表 6 中:

[0459] 表 6. Roscovitine 和 perharidine 在 5 个细胞系中对细胞存活率的影响。

[0460]

细胞	(R)-Roscovitine	(R)-Perharidine A	(S)-Perharidine B	式 Ic 的化合物	式 Id 的化合物
SH-SY5Y	17.0	14.3	28.0	1.46	0.66
HEK293	21.0	27.4	45.0	-	-
LS 174T	26.0	21.5	37.5	-	-
LS 174T (Oncodesign)	9.25	-	-	0.29	0.099
HCT116	20.8	-	-	-	-
HCT116 (Oncodesign)	6.97	-	-	0.60	0.30
HCT116 (Spheroids)	7+4	10+1.5	-	0.35+0.05	
慢性淋巴 细胞性白血病	8.96	7.05	15.27	0.31	0.13

[0461] 还对这些化合物在如下方面的作用进行评价：

[0462] - 细胞存活率。结果示出在图 3 和 5 中。

[0463] - 半胱天冬酶活化。结果示出在图 4 和 6 中。

[0464] - 在 CDK2/CDK4 位置上的成视网膜细胞瘤蛋白磷酸化。结果示出在图 6 和 7 中。

[0465] 从图 6 可以推断,化合物 Ic 以与 (R)-Roscovitine 相比更低的浓度抑制细胞中的 CDK2/4,而式 Ia 的化合物和式 Ib 的化合物具有与 (R)-Roscovitine 相似的作用,并且从图 8 可以推断,使用 (R)-Roscovitine 和式 Ia、Ib 和 Ic 的化合物,总的 Rb 基本上是恒定的。

[0466] -RNA 聚合酶 II Ser2 磷酸化), CDK9/ 细胞周期蛋白 T 磷酸化位置。

[0467] 结果示出在图 9 和 10 中。

[0468] 从图 9 可以推断,化合物 Ic 的化合物以比 (R)-Roscovitine 更低的浓度抑制细胞中的 CDK9,而式 Ia 的化合物和式 Ib 的化合物具有与 (R)-Roscovitine 相似的效力,并且从图 10 可以推断,与式 Ia、式 Ib、和式 Ic 的化合物时的情况一样,使用 (R)-Roscovitine 时的总 RNApol II 保持基本恒定,

[0469] -对 Thr320 的蛋白质磷酸酶 1- α 磷酸化, CDK1/ 细胞周期蛋白磷酸化位置。

[0470] 结果如图 11 中所示。

[0471] 从图 11 可以推断,式 Ic 的化合物以比 (R)-Roscovitine 更低的浓度抑制细胞中的 CDK1/ 细胞周期蛋白 B,而式 Ia 和式 Ib 的化合物具有与 (R)-Roscovitine 相似的效力。

[0472] -存活因子 Mc1-1 的向下调节。结果如图 12 中所示。

[0473] 从图 12 可以推断,式 Ic 的化合物以比 (R)-Roscovitine 更低的浓度向下调节细胞中的存活因子 Mc1-1,而式 Ia 和式 Ib 的化合物具有与 (R)-Roscovitine 相似的效力。

[0474] -p53 总蛋白表达。结果如图 13 中所示。

[0475] 从图 13 可以推断,式 Ic 的化合物以比 (R)-Roscovitine 更低的浓度触发细胞中的 p53 总蛋白表达,而式 Ia 和式 Ib 的化合物具有与 (R)-Roscovitine 相似的效力。

[0476] -p27 总蛋白向下调节。

[0477] 结果如图 14 中所示。

[0478] 从图 14 可以推断,式 Ic 的化合物以比 (R)-Roscovitine 更低的浓度向下调节细胞中的 p27 总蛋白,而式 Ia 和式 Ib 的化合物具有与 (R)-Roscovitine 相似的效力。

[0479] -PARP 裂解。

[0480] 结果如图 15 中所示。

[0481] 从图 15 可以推断,式 Ic 的化合物以比 (R)-Roscovitine 更低的浓度触发细胞中的 PARP 裂解,而式 Ia 和式 Ib 的化合物具有与 (R)-Roscovitine 相似的效力。

[0482] -对于所有的化合物,将肌动蛋白总蛋白水平用作加载对照。结果如图 16 中所示,证明了在凝胶中的相等的加载。

[0483] 概括地,这些结果表明:

[0484] [1] 式 Ia 和式 Ib 的化合物表现出与 (R)-Roscovitine 相似的抗增殖活性。(S) 异构体(式 Ib 的化合物)效力略低,如对于 Roscovitine 的 (S)-异构体所报告的那样。

[0485] [2] 相比之下,相当令人惊讶的是,式 Ic 和 Id 的化合物表现出与 (R)-Roscovitine 相比大大增强的抗增殖活性(20-100 倍),尽管它们具有相当相似的对激酶的作用。同样出乎意料的是,与 (R)-Roscovitine 相反,(S) 异构体比 (R) 异构体活性更大(表 6)。

[0486] [3] 在分析在 CDK 抑制(CDK2/CDK4:成视网膜细胞瘤蛋白磷酸化;CDK1:蛋白质磷酸酶 1 α Thr 320 磷酸化;CDK9:RNA 聚合酶 II Ser2 磷酸化;p27 向下调节)和凋亡性细胞死亡的标记物中所涉及的分子作用物时确认了这些作用和效力的顺序(P53 表达,存活因子 Mc1-1 的向下调节,半胱天冬酶活性,PARP 裂解)(图 4-9)。

[0487] 因此,在诱导细胞死亡和抑制细胞增殖的方面,这些化合物大大地优于 Roscovitine,尽管对于它们的 CDK 靶具有显然相似的作用。这些结果似乎是和与次要靶诸如吡哆醛激酶的相互作用减少有关(图 1)。

[0488] Roscovitine 和类似物对 B2-CLL 淋巴细胞和对代表性 CDK 的激酶活性的影响。在从患者分离得到的 B2-CLL 淋巴细胞上对不同浓度的 (R)-Roscovitine 和一些 perharidines 进行试验。通过测量 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-5-(3-羧基甲氧基苯基)-2-(4-磺基苯基)-2/H-四唑鎓 (MTS) 的减少测定细胞存活力。通过测量在细胞溶解时释放的乳酸脱氢酶活性 (LDH) 的水平来测定细胞死亡。所述两个方法都在 Ribas J. Boix J. 中有详细描述。细胞分化、半胱天冬酶抑制和大分子合成阻断(但不包括 BCL-2 或 BCL-XL 蛋白质)保护 SH-SY5Y 细胞免于由两种 CDK 抑制性药物引起的凋亡。Exp. Cell Res. 2004 ;295,9-24。

[0489] 在 LLC B 细胞上试验相同的化合物。从所示剂量反应曲线计算的 IC₅₀ 值以 μM 为单位报告在表中。

[0490]

化合物	细胞死亡诱导
Roscovitine	8.96
(R)-perharidine A	7.05
(S)-perharidine B	15.27
(R)-perharidine C	0.31/0.28
(S)-perharidine D	0.13

[0491] 为了评价 perharidines 在 PKD 方面的重要性,还在 MDCK 细胞上对本发明化合物进行试验。发现 perharidines D 和 E 的有效性是 Roscovitine 的 50-70 倍。

[0492] 另外,还试验了化合物 Ii。它似乎是有效的激酶抑制剂,特别是对于 CDK5 和 CK1 的 IC₅₀ 为 0.35 和 0.28 μM 。

[0493] 因此,本发明的化合物或通过本发明方法得到的化合物,由于其在上述实施例中所示的独特的生物学特性,具有用于生产药物的高的价值。

[0494] 实际上,它们不仅具有与 Roscovitine 至少相同甚至更优的生物学作用,而且具有更少的或者没有与吡哆醛激酶的相互作用。

[0495] 除非另有说明,它们可在药物组合物中用作活性成分。它们的使用对于生产药物具有高的价值,所述药物用于治疗其中涉及(肿瘤性或非肿瘤性的)细胞异常增生的疾病。这种疾病尤其是肿瘤,或白血病或在各种肾脏疾病中观察到的非肿瘤性但是异常的增生。但是,由于它们对 CDK5 的作用和它们对分化的细胞(特别是神经元细胞)的抗凋亡性质,它们还可以用于治疗神经变性疾病(诸如,阿尔茨海默氏病或帕金森氏病)或用于治疗中风、缺血和疼痛。此外,由于它们对 CDK2 和 CDK9 的作用,它们还可以用于生产用于治疗病毒病的药物。

[0496] 此外,由于它们对 CDK5 和凋亡的影响,它们用于生产药物和用在治疗肾疾病(特别是诸如,肾小球膜增生性肾小球肾炎、新月体性肾小球肾炎、坍塌性肾小球病、增生性狼疮肾炎、多囊肾病、糖尿病性肾病和急性肾脏损伤)、以及治疗炎症、胸膜炎、关节炎或青光眼的方法中。由于它们对 CDK5 的作用,以及由此具有的增加胰腺细胞的胰岛素分泌的能力,它们还可以用于治疗 II 型糖尿病。

[0497] 本发明的化合物或通过本发明方法得到的化合物可单独地、或者作为两种或更多种本发明化合物的混合物、甚至与已知对待治疗的特定疾病具有作用的现有技术的其它化合物相结合而用于生产药物或用于治疗特定的疾病。

[0498] 式 Ia-Ii 的化合物对于治疗上述疾病是特别适合的。

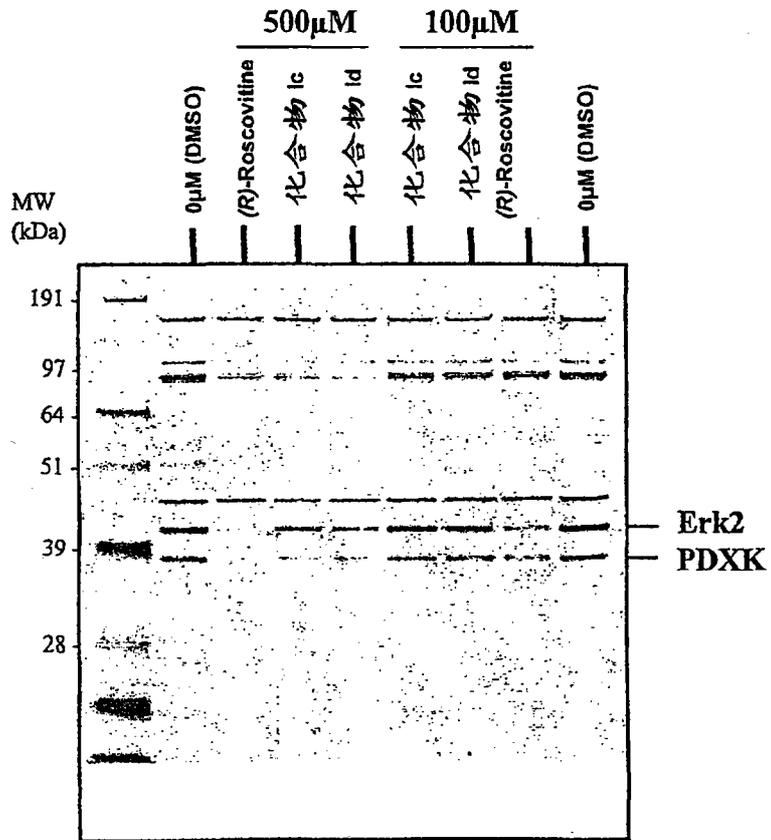


图 1

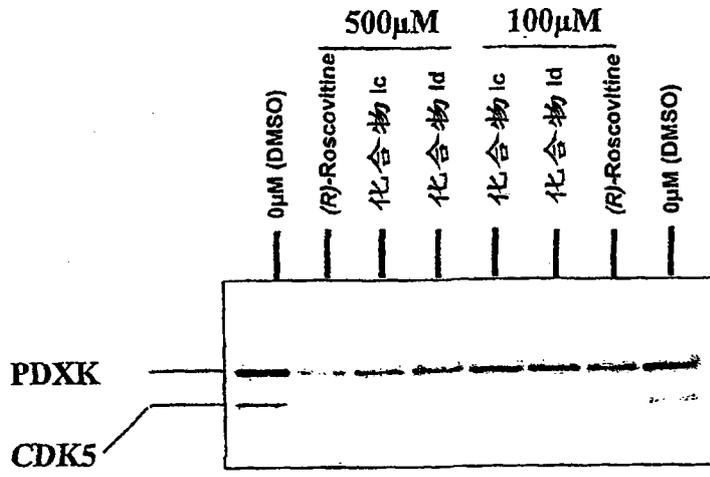


图 2

SH-SY5Y神经母细胞瘤细胞

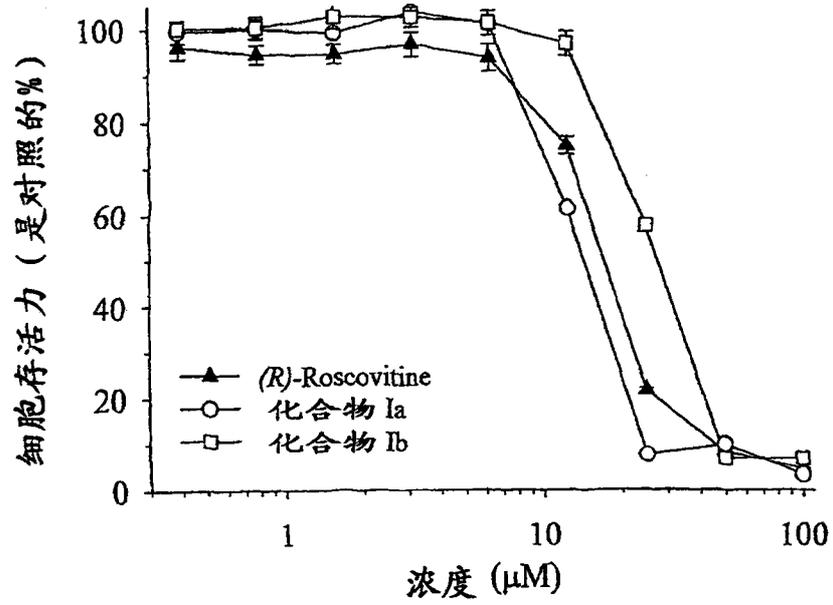


图 3

SH-SY5Y神经母细胞瘤细胞

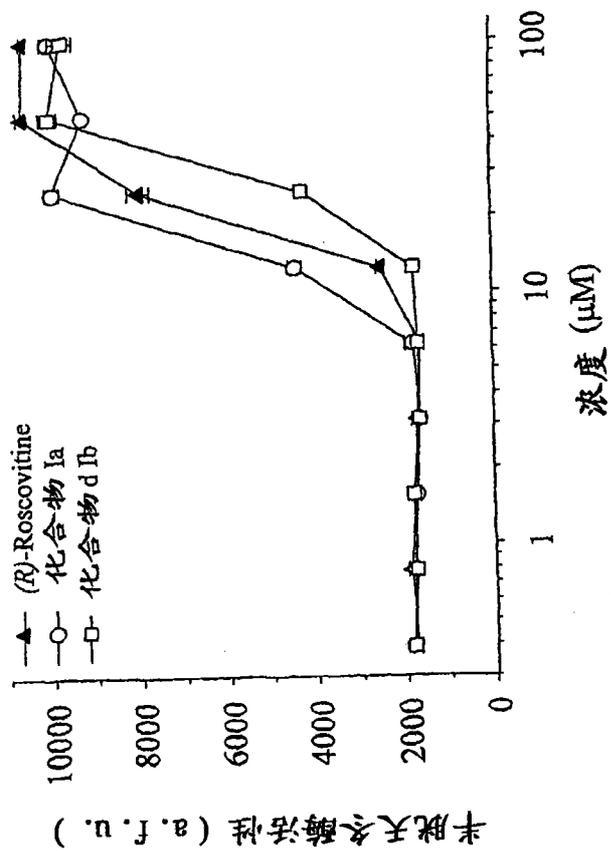


图 4

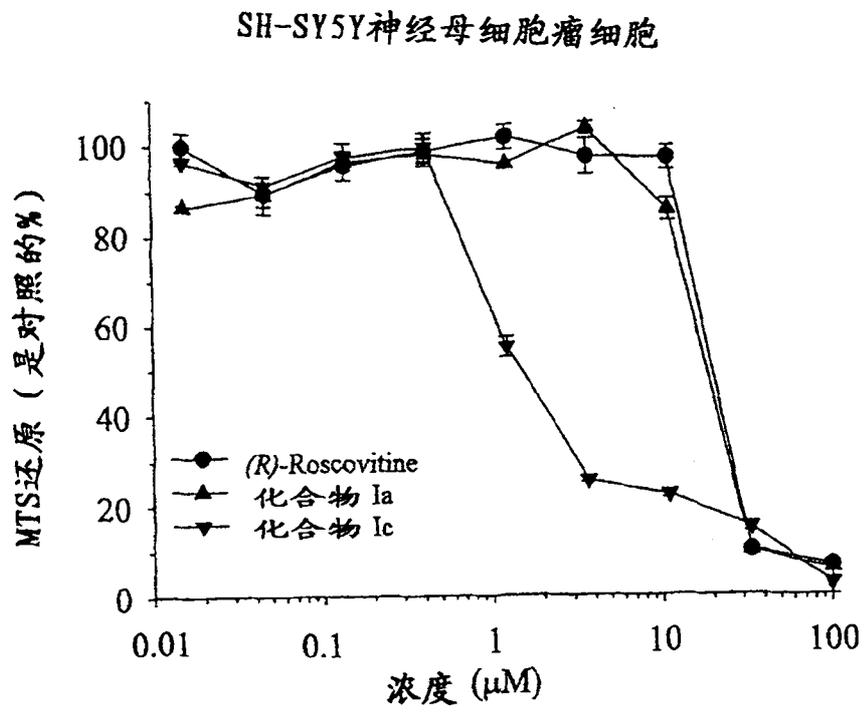


图 5

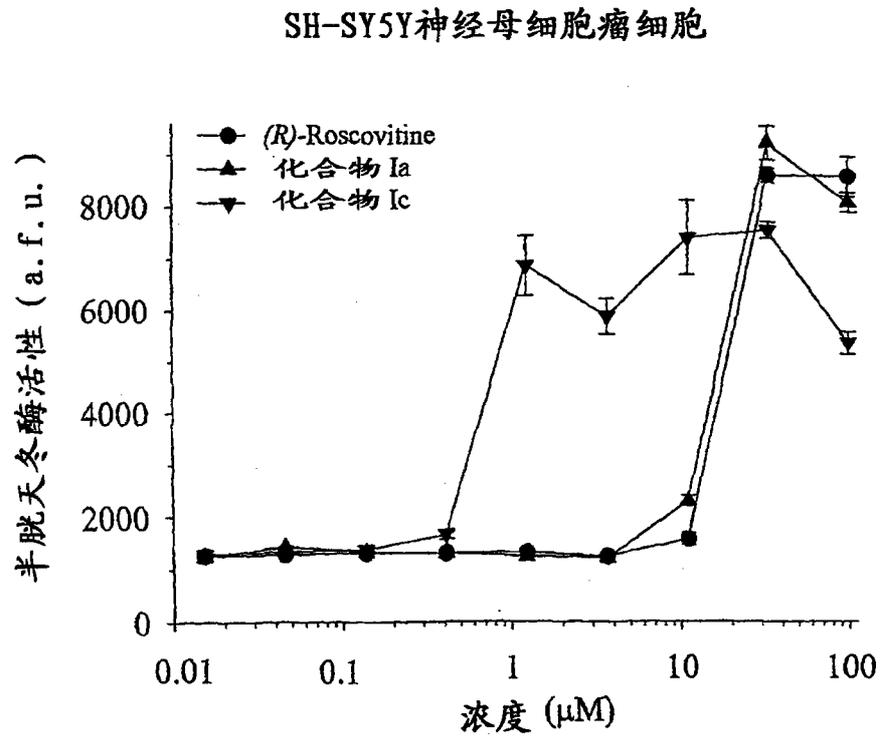


图 6

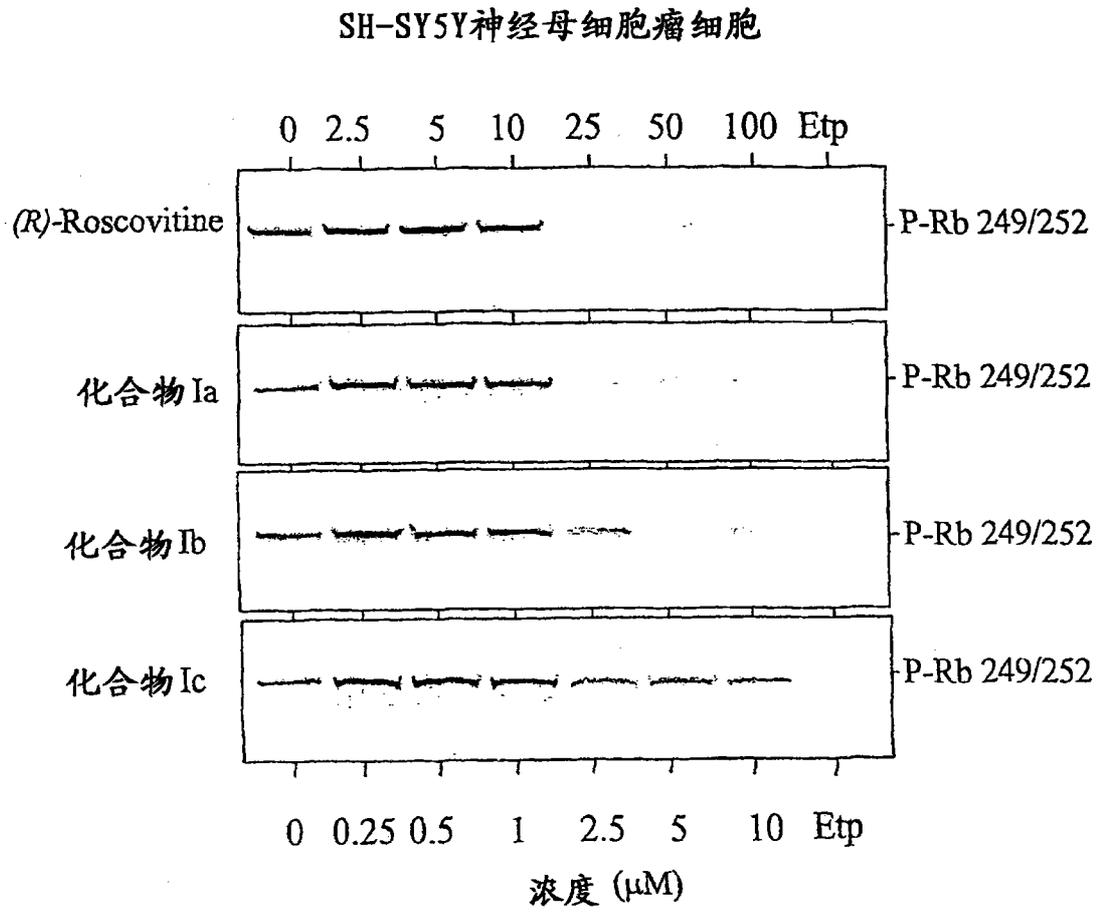


图 7

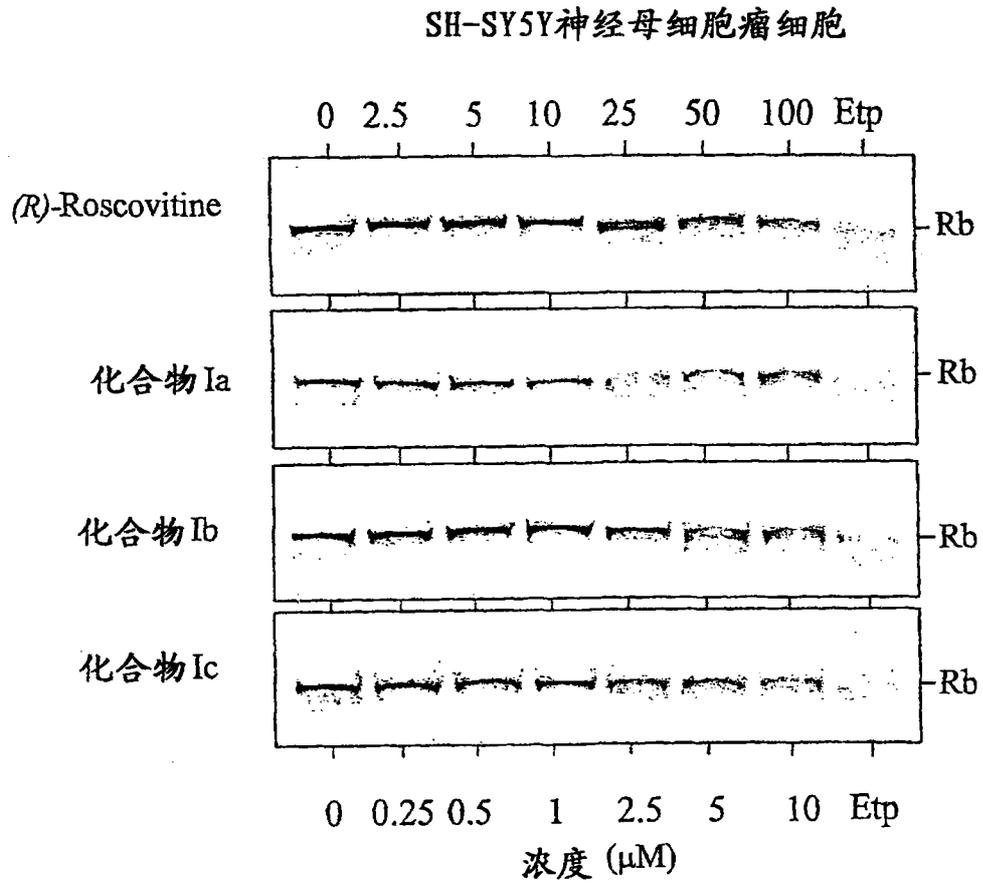


图 8

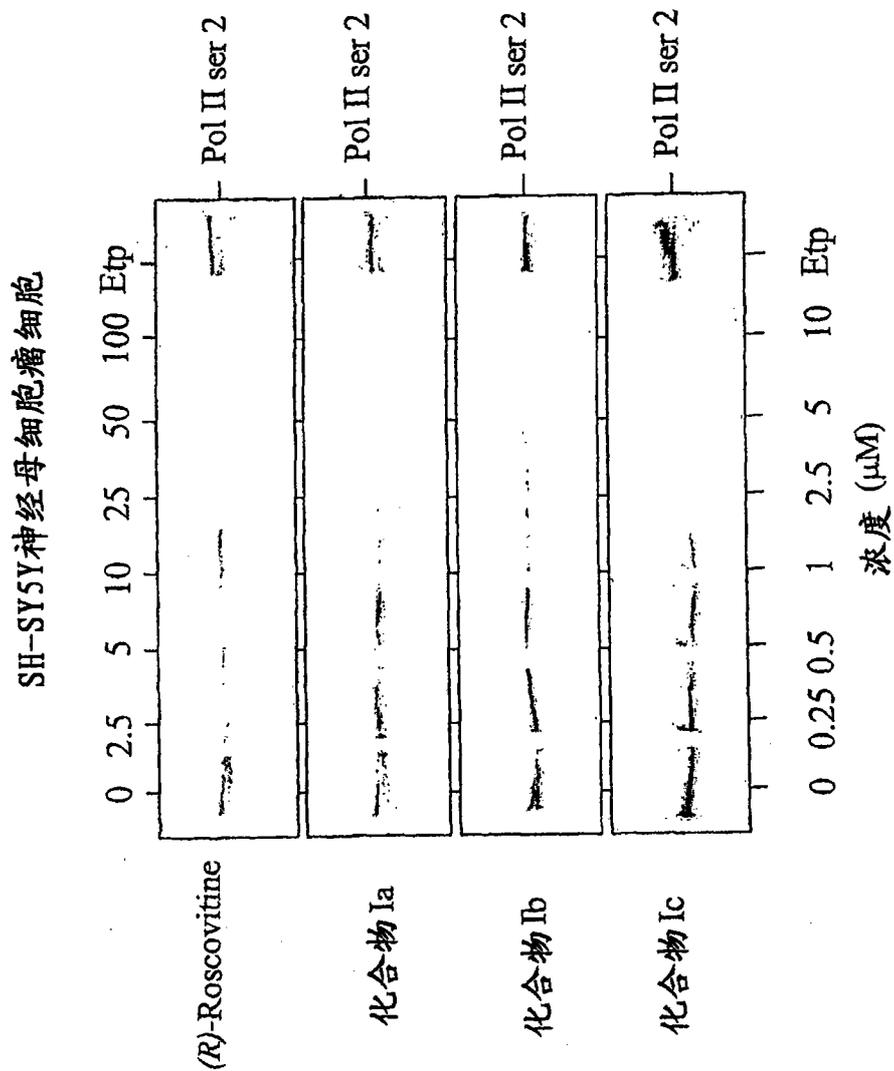


图 9

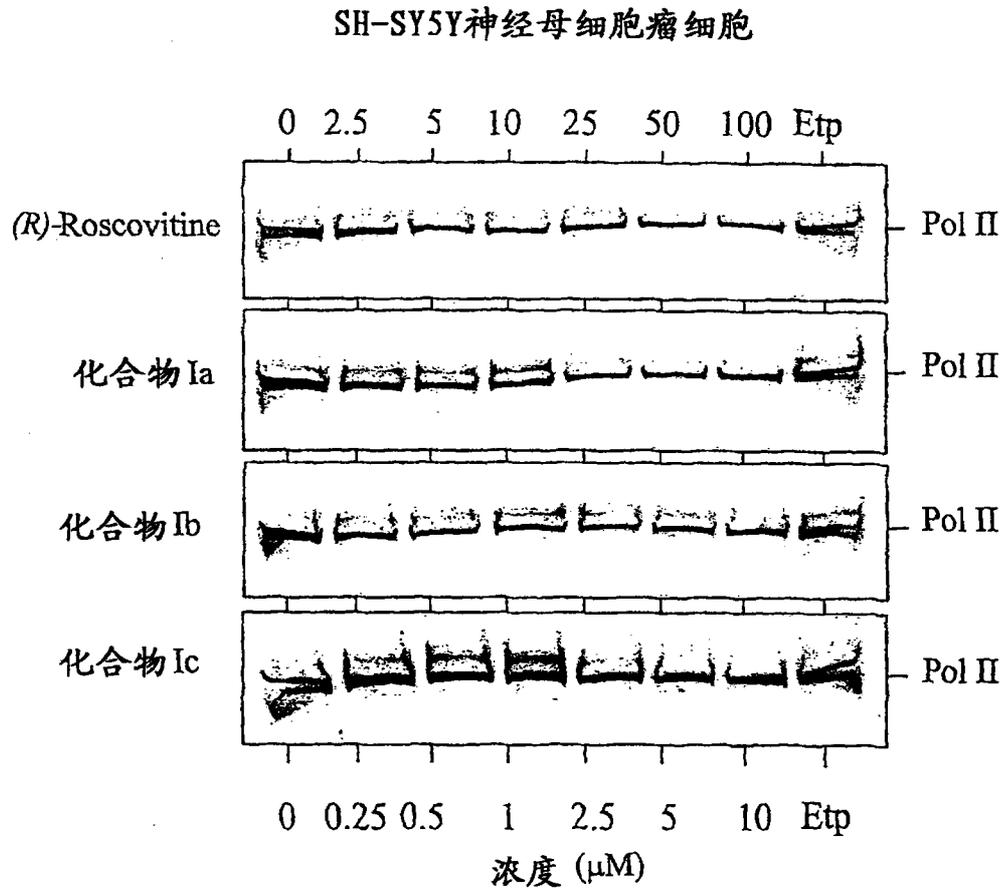


图 10

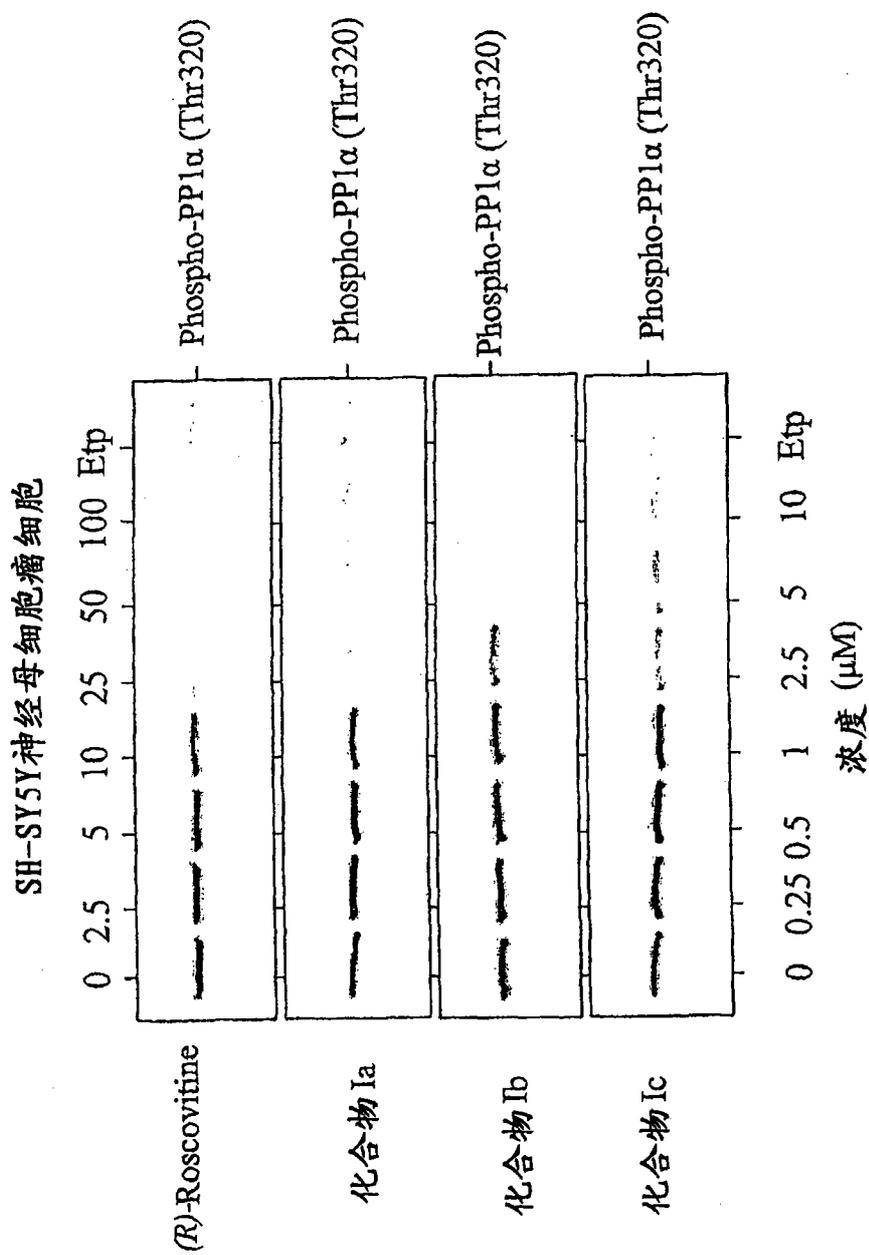


图 11

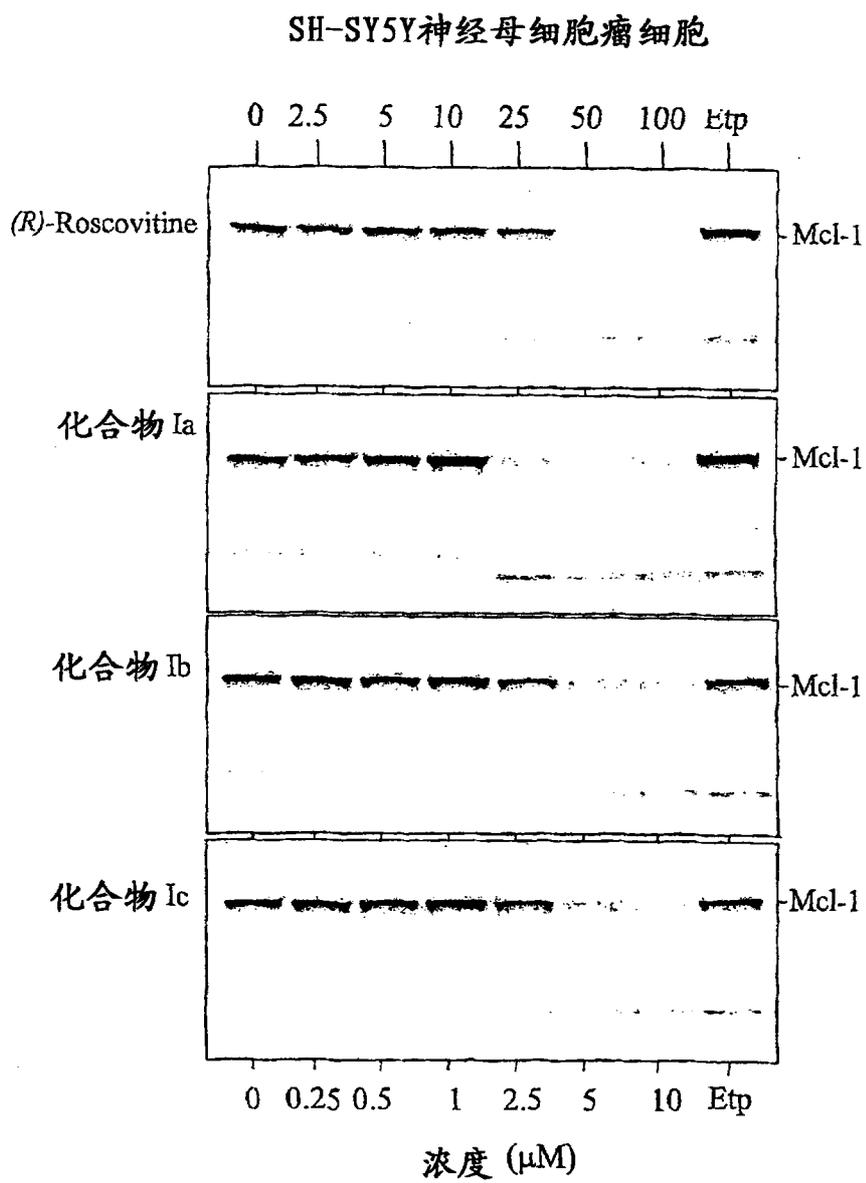


图 12

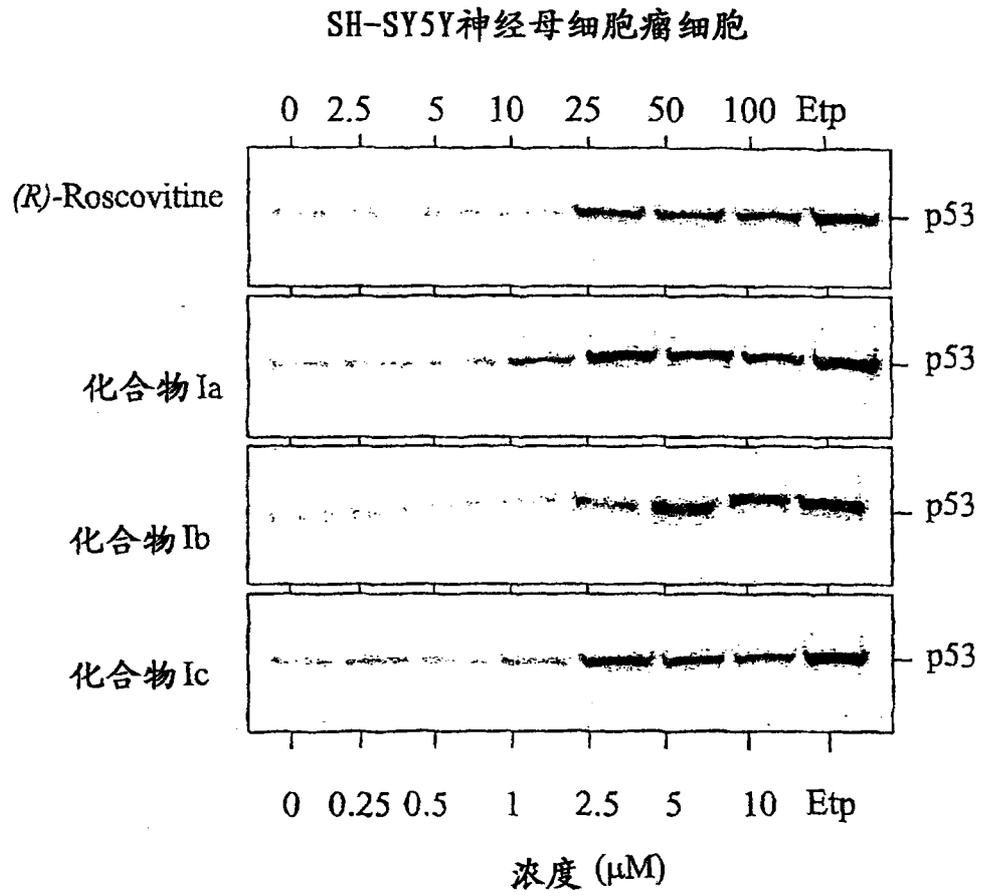


图 13

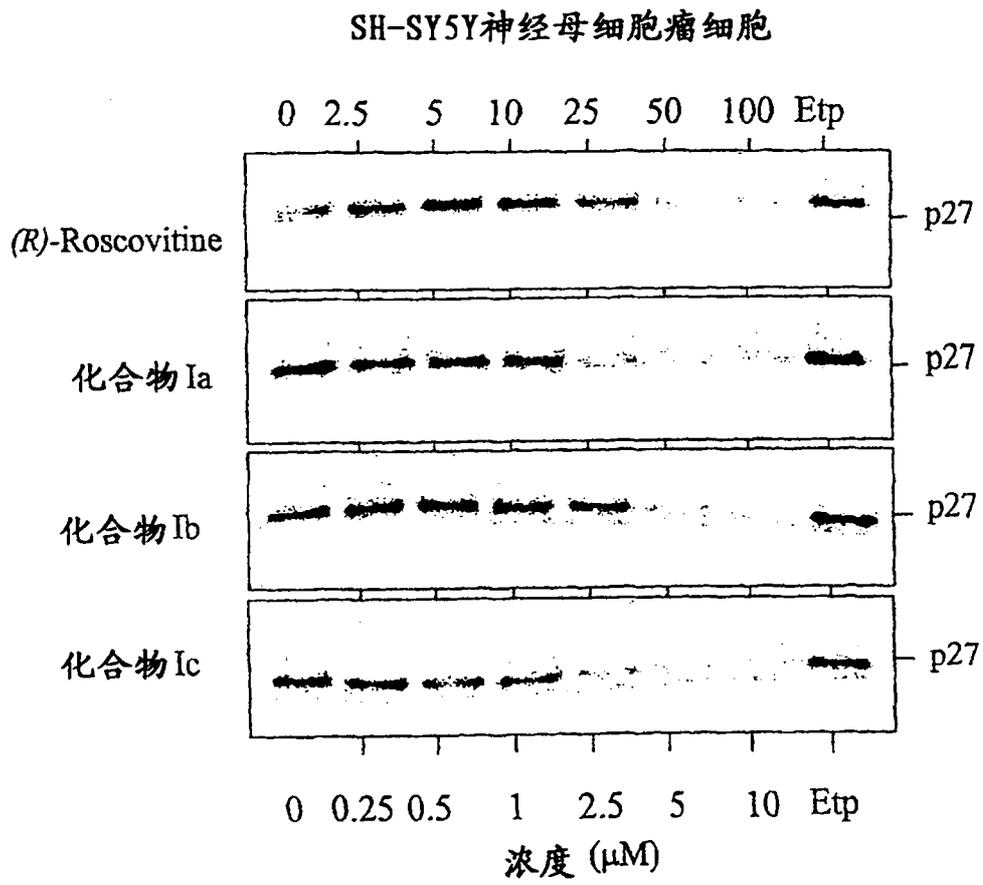


图 14

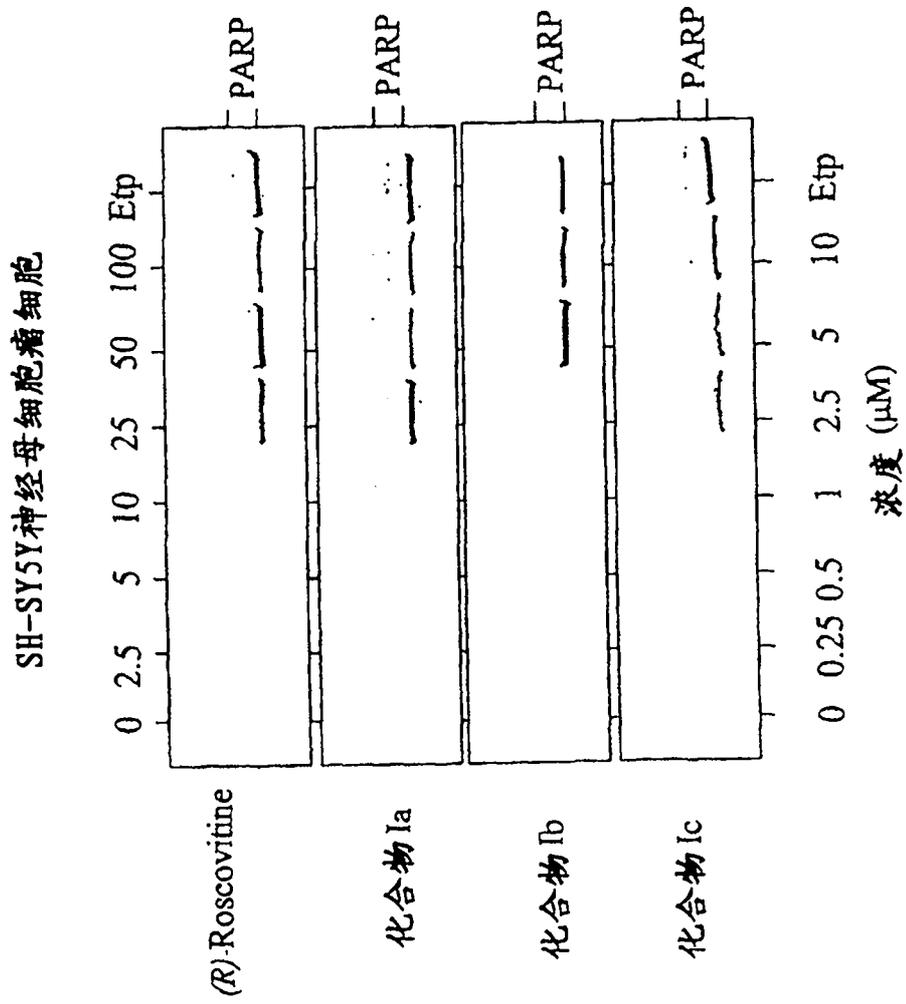


图 15

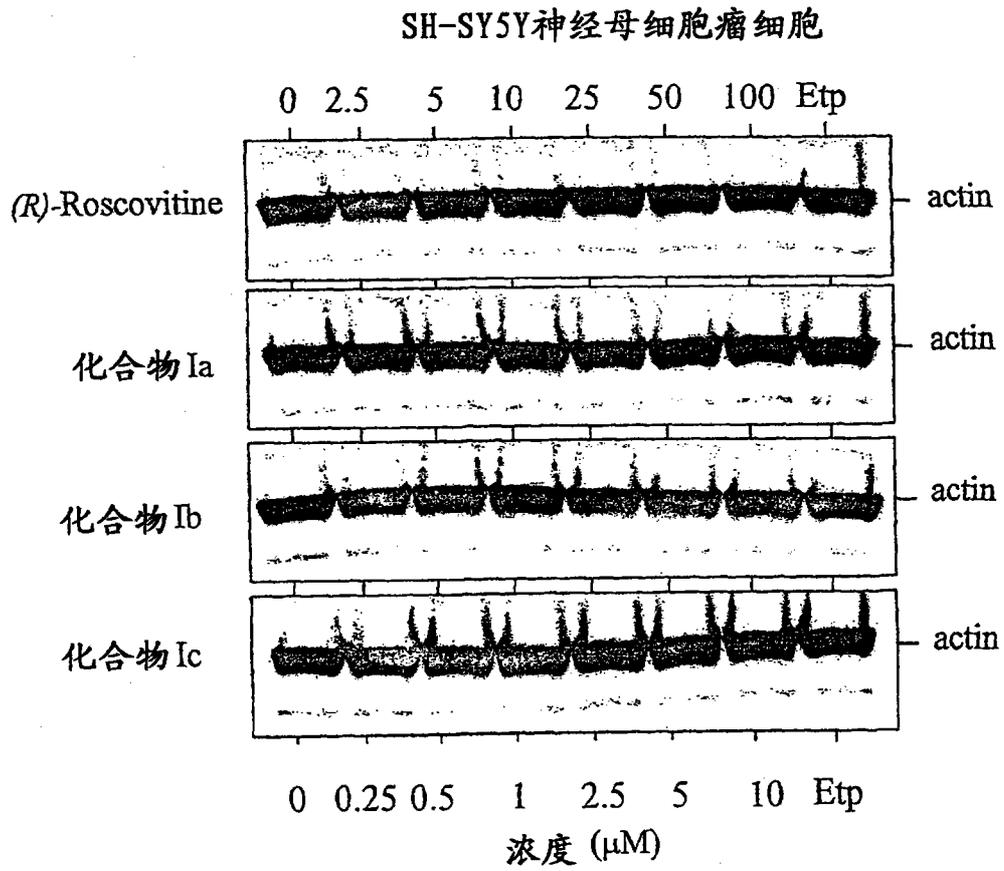


图 16