



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101981032 A

(43) 申请公布日 2011. 02. 23

(21) 申请号 200980110724. 9

申请人 田边三菱制药株式会社

(22) 申请日 2009. 01. 27

(72) 发明人 奥德·法约尔

(30) 优先权数据

08290074. 7 2008. 01. 29 EP

阿利斯太尔·洛克黑德

莫拉德·萨迪 朱利恩·韦切

菲利普·亚切

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 09. 26

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

(86) PCT申请的申请数据

PCT/IB2009/000324 2009. 01. 27

代理人 封新琴

(87) PCT申请的公布数据

W02009/095789 EN 2009. 08. 06

(51) Int. Cl.

C07D 487/04 (2006. 01)

A61K 31/519 (2006. 01)

A61P 25/00 (2006. 01)

(71) 申请人 赛诺菲-安万特

地址 法国巴黎

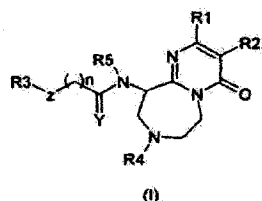
权利要求书 5 页 说明书 31 页

(54) 发明名称

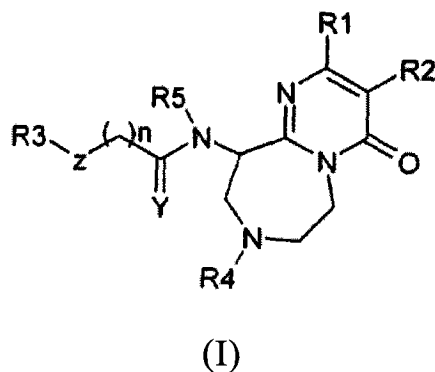
用于治疗由 GSK3- β 的异常活性引起的神经变性疾病的取代的芳基酰胺二氮杂草并嘧啶酮衍生物

(57) 摘要

式 (I) 表示的嘧啶酮衍生物或其盐, 或其溶剂合物或其水合物: 其中: Y 表示硫原子、氧原子、两个氢原子, 或表示 C_{1-2} 烷基与氢原子; Z 表示化学键, 氧原子, 被氢原子或 C_{1-3} 烷基取代的氮原子, 硫原子, 任选被选自下列的 1 或 2 个基团取代的亚甲基: C_{1-6} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基、全卤代的 C_{1-6} 烷基或氨基; R1 表示 2、3 或 4-吡啶环或 2、4 或 5-嘧啶环, 所述环任选被 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基或卤素原子所取代; R2 表示氢原子、 C_{1-6} 烷基或卤素原子; R3 表示苯环或萘环, 该环任选被取代; R4 表示氢原子、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{3-7} 环烷基- C_{1-6} 烷基、 $COO(C_{1-6}$ 烷基) 基团, 这些基团任选被取代; R5 表示氢原子或 C_{1-6} 烷基基团; n 表示 0 至 3; 及其用于治疗由 GSK3 β 的异常活性引起的神经变性疾病的用途。



1. 式 (I) 表示的嘧啶酮衍生物或其盐, 或其溶剂合物或其水合物:



其中:

Y 表示硫原子、氧原子、两个氢原子, 或表示 C_{1-2} 烷基与氢原子;

Z 表示化学键, 氧原子, 被氢原子或 C_{1-3} 烷基取代的氮原子, 硫原子, 任选被选自下列的 1 或 2 个基团取代的亚甲基: C_{1-6} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基、全卤代的 C_{1-2} 烷基或氨基;

R1 表示 2,3 或 4- 吡啶环或 2,4 或 5- 嘧啶环, 所述环任选被 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基或卤素原子所取代;

R2 表示氢原子、 C_{1-6} 烷基或卤素原子;

R3 表示苯环或萘环; 所述环任选被 1 至 4 个选自下列的取代基所取代: C_{1-6} 烷基、卤素原子、全卤代的 C_{1-2} 烷基、卤代的 C_{1-3} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基、全卤代的 C_{1-2} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基磺酰基、硝基、氰基、氨基、 C_{1-6} 单烷基氨基、 C_{2-12} 二烷基氨基、乙酰氧基或氨基磺酰基、4-15 元杂环基, 该基团任选被下列所取代: C_{1-6} 烷基、卤素原子、全卤代的 C_{1-2} 烷基、卤代的 C_{1-3} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基;

R4 表示氢原子; C_{1-6} 烷基; 苄基、苄乙基、苄基氧基羰基、 C_{1-4} 烷氧基羰基、苯基、萘基、5, 6, 7, 8- 四氢萘基、苯磺酰基、苯甲酰基、4-15 元杂环基, 上述基团任选被 1 至 4 个选自以下的取代基所取代: 卤素原子、羟基、 C_{1-4} 烷氧基; 全卤代的 C_{1-2} 烷基、 C_{1-6} 烷基、苯基、卤素原子、卤代的 C_{1-3} 烷基、硝基、氰基、氨基、 C_{1-6} 单烷基氨基或 C_{2-10} 二烷基氨基;

R5 表示氢原子或 C_{1-6} 烷基基团;

n 表示 0 至 3。

2. 根据权利要求 1 的嘧啶酮衍生物或其盐, 或其溶剂合物或其水合物, 其中:

Y 表示氧原子或两个氢原子;

Z 表示化学键;

R1 表示未经取代的 4- 吡啶环或未经取代的 4- 嘧啶环;

R2 表示氢原子;

R3 表示任选被 1-4 个选自下列的取代基所取代的苯基: 卤素原子、全卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、氨基、吡唑基、噁二唑基, 所述噁二唑基和所述吡唑基任选被 1 至 4 个选自 C_{1-6} 烷基的取代基所取代;

R4 表示氢原子、 C_{1-6} 烷基、 $COO(C_{1-6}-\text{烷基})$ 基团、苯基, 这些基团任选被 1 至 3 个卤素所取代;

n 表示 0。

3. 根据权利要求 1 的嘧啶酮衍生物或其盐, 或其溶剂合物或其水合物, 所述嘧啶酮衍

生物选自：

(+/-)-9-(4-氯-2-甲氧基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

(+/-)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-4-氯-2-甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-4-氯-N-[7-(4-氟-苯基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基]-2-甲氧基-苯甲酰胺

(+/-)-4-氯-N-(7-环丙基甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-2-甲氧基-苯甲酰胺

(+/-)-4-氯-N-(7-异丙基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-2-甲氧基-苯甲酰胺

(+/-)-4-氯-N-(7-环戊基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-2-甲氧基-苯甲酰胺

(+/-)-4-氟-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-2,4-二甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(-)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-9-(4-甲氧基-苄基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

(+/-)-9-(2,4-二甲氧基-苄基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

(-)-4-氯-2-甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+)-4-氯-2-甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-9-(2,3-二甲氧基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

(+/-)-9-(2-甲氧基-4-三氟甲基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

(+/-)-9-(4-溴-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

(+/-)-9-(4-氟-2-三氟甲基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

(+/-)-9-(2-甲氧基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

(+/-)-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-5-溴-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-2,3-二甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-9-苄基氨基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

(+/-)-2,3-二甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-9-苄基氨基-2-嘧啶-4-基-6,7,8,9-四氢-5H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-4-酮

(+/-)-9-[4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-苯甲酰基氨基]-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

(+/-)-4-氨基-5-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-5-溴-2-甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-5-氯-2-甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-5-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-9-(2,4-二甲氧基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

(+/-)-9-(5-氯-2-甲氧基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

(+/-)-9-(4-氟-2-甲氧基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

(+/-)-9-[(4-氯-2-甲氧基-苯甲酰基)-甲基-氨基]-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

(+/-)-2-甲氧基-4-(5-甲基-[1,2,4]噁二唑-3-基)-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-2-甲氧基-4-(5-甲基-[1,2,4]噁二唑-3-基)-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-4-氟-2-甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,

4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-N-(7-异丙基-4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-2-甲氧基-苯甲酰胺

(+/-)-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-4-氯-N-(7-环丙基甲基-4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-2-甲氧基-苯甲酰胺

(+/-)-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-4-三氟甲基-苯甲酰胺

(+/-)-N-(7-异丙基-4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-2-甲氧基-4-三氟甲基-苯甲酰胺

(+/-)-N-(7-环丙基甲基-4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-2,5-二甲氧基-苯甲酰胺

(+/-)-2,5-二甲氧基-N-(4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

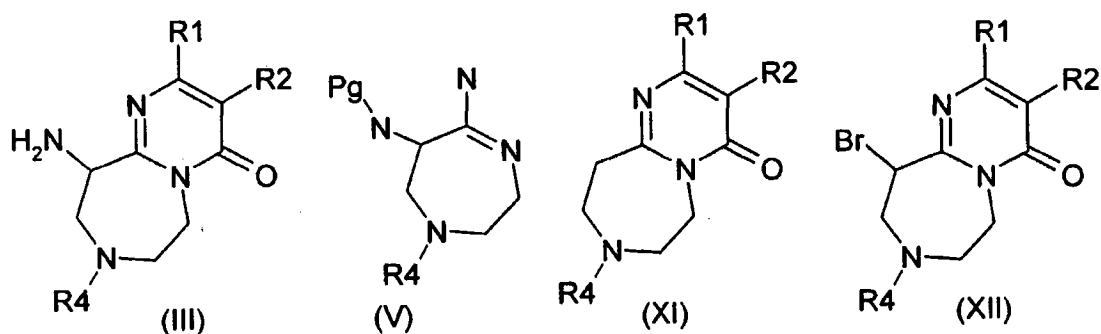
(+/-)-4-氟-N-(4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-2-三氟甲基-苯甲酰胺

(+/-)-5-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

(+/-)-4-氟-N-(7-甲基-4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-2-三氟甲基-苯甲酰胺

(+/-)-N-(7-苄基-4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-5-氯-2-甲氧基-苯甲酰胺。

4. 式 (III)、(V)、(XI) 和 (XII) 表示的嘧啶酮衍生物,其中:



R1、R2 和 R4 的定义按照权利要求 1 的式 (I) 化合物的定义,且 Pg 表示苄基、叔丁氧羰基、乙氧基羰基、乙酰基、苯二甲酰亚氨基、苄氧基羰基。

5. 药物,其含有以下物质作为活性成分,所述物质选自根据权利要求 1-3 的式 (I) 表示的嘧啶酮衍生物或其盐,或其溶剂合物或其水合物。

6. GSK3 β 抑制剂,其选自根据权利要求 1 的式 (I) 表示的嘧啶酮衍生物或其盐,或其溶剂合物或其水合物。

7. 根据权利要求 1-3 的化合物,其用于预防性和/或治疗性治疗异常 GSK3 β 活性引起

的疾病。

8. 根据权利要求 1-3 的化合物,其用于预防性和 / 或治疗性治疗神经变性疾病。

9. 根据权利要求 8 的化合物,其中所述神经变性疾病选自阿尔茨海默病,帕金森病,tau 蛋白病,血管性痴呆;急性中风,创伤性损伤;脑血管意外,脑损伤,脊髓损伤;周围神经病;视网膜病变或青光眼。

10. 根据权利要求 1-3 的化合物,其用于预防性和 / 或治疗性治疗非胰岛素依赖性糖尿病;肥胖症;躁狂抑郁症;精神分裂症;脱发;癌症;实质性肾疾病或肌萎缩。

11. 根据权利要求 10 的化合物,其中所述癌症为乳腺癌、非小细胞肺癌、甲状腺癌、T 细胞或 B 细胞白血病或病毒诱导的肿瘤。

12. 根据权利要求 1-3 的化合物,其用于预防性和 / 或治疗性治疗疟疾。

13. 根据权利要求 1-3 的化合物,其用于预防性和 / 或治疗性治疗骨病。

14. 根据权利要求 1-3 的化合物,其用于预防性和 / 或治疗性治疗寻常性天疱疮。

15. 根据权利要求 1-3 的化合物,其用于预防性和 / 或治疗性治疗由癌症化疗诱导的中性白细胞减少症。

16. 根据权利要求 1-3 的化合物,其用于治疗性治疗以认知缺陷和记忆缺失为特征性疾病。

17. 合成权利要求 1-3 中定义的通式 (I) 化合物的方法,该方法使用权利要求 4 中限定的中间体。

用于治疗由 GSK3- β 的异常活性引起的神经变性疾病的取 代的芳基酰胺二氮杂萘并嘧啶酮衍生物

发明领域

[0001] 本发明涉及用作药物活性成分的化合物,其中该药物用于预防性和/或治疗性治疗由 GSK3 β 的异常活性引起的神经变性疾病。

背景技术

[0002] GSK3 β (糖原合成酶激酶 3 β) 是一种脯氨酸定向的丝氨酸/苏氨酸激酶,其在控制新陈代谢、分化和存活中起重要作用。它一开始被识别为一种能够磷酸化并因此抑制糖原合成酶的酶。后来,认识到 GSK3 β 与 tau 蛋白激酶 1 (TPK1) 是一致的,是一种磷酸化 tau 蛋白 (tau protein) 的酶,其中的表位还发现在阿尔茨海默病和 tau 蛋白病 (taupathy) 中被过磷酸化。

[0003] 有趣的是,GSK3 β 的蛋白激酶 B (AKT) 磷酸化导致其激酶活性的损失,已经假设这种抑制会介导神经营养因子的一些作用。此外,通过 β -连接素 (一种与细胞存活有关的蛋白质) 的 GSK3 β 磷酸化,导致其通过泛素化依赖蛋白酶体通路而降解。

[0004] 因此,这显示了抑制 GSK3 β 活性会引起神经营养活性。实际上,有证据表明,锂, GSK3 β 的非竞争性抑制剂,通过诱导存活因子如 Bcl-2 以及抑制前凋亡因子如 p53 和 Bax 的表达,在一些模型中增强了神经突发生 (neuritogenesis),也提高了神经元存活。

[0005] 最近的研究已经表明, β -淀粉样蛋白增加了 GSK3 β 的活性和 tau 蛋白的磷酸化。此外,这种过磷酸化作用以及 β -淀粉样蛋白的神经毒效果被氯化锂和被 GSK3 β 反义 mRNA 所阻断。这些观察现象有力地表明,GSK3 β 可能是阿尔茨海默病中两个主要病理过程 (异常 APP (淀粉样蛋白前体) 加工 (processing) 和 tau 蛋白的过磷酸化) 的连接。

[0006] 尽管 tau 的过磷酸化导致神经元细胞骨架的不稳定,但是异常 GSK3 β 活性的病理学结果非常有可能是,不仅仅是因为 tau 蛋白的病理学磷酸化,如上所述,还因为这种激酶的过度活性会经由凋亡因子和抗凋亡因子表达的调节作用而影响存活。此外,已经表明 β -淀粉样蛋白诱导的 GSK3 β 活性的增加引起了磷酸化和因此抑制了丙酮酸脱氢酶,一种在能量产生和乙酰胆碱合成中的关键的酶。

[0007] 这些实验观察一起表明, GSK3 β 可以应用于治疗神经病理学结果 (consequence) 以及与阿尔茨海默病相关的认知和注意力缺陷,以及其他急性的和慢性的神经变性疾病和其他 GSK3 β 失去控制时的病理 (Nature reviews Vol. 3, 2004 年 6 月, p. 479-487; Trends in Pharmacological Sciences Vol. 25 No. 9, 2004 年 9 月, p. 471-480; Journal of neurochemistry 2004, 89, 1313-1317; Medicinal Research Reviews, Vol. 22, No. 4, 373-384, 2002)。

[0008] 神经变性疾病,以非限制性的方式包括:帕金森病、tau 蛋白病 (如额颞痴呆 (Fronto temporal dementia)、皮质基底节变性 (corticobasal degeneration)、皮克病 (Pick's disease)、进行性核上性麻痹 (progressive supranuclear palsy)、威尔逊病 (Wilson's disease)、亨廷顿舞蹈症 (Huntington's disease) (The Journal of

biological chemistry Vol.277, No.37, Issue of September 13, pp.33791-33798, 2002)、朊病毒病 (Prion disease) (Biochem. J. 372, p. 129-136, 2003), 和其他痴呆包括血管性痴呆; 急性中风和其他创伤性损伤; 脑血管意外 (cerebrovascular accident) (如年龄相关的黄斑变性 (age related macular degeneration)); 脑损伤和脊髓损伤 (brain and spinal cord trauma); 肌萎缩性侧索硬化症 (European Journal of Neuroscience, Vol. 22, pp. 301-309, 2005); 周围神经病; 视网膜病变和青光眼。最近的研究还已经表明, 抑制 GSK3 β 引起了胚胎干细胞 (ESC) 的神经元分化, 并支持人和小鼠 ESC 的更新, 并维持它们的多能性。这表明 GSK3 β 的抑制剂能够应用于再生性药物 (regenerative medicine) 中 (Nature Medicine 10, p. 55-63, 2004)。

[0009] GSK3 β 的抑制剂也可应用于治疗其它神经系统疾病, 如双相情感障碍 (bipolar disorders) (躁狂抑郁症 (manic-depressive illness))。例如, 锂已经用作情绪稳定剂和用于双相情感障碍的主要治疗超过 50 年。在剂量 (1-2mM) 观察锂的治疗作用, 此时其为直接的 GSK3 β 抑制剂。尽管不清楚锂的作用机制, 但是 GSK3 β 的抑制剂可以用来模拟锂的情绪稳定作用。Akt-GSK3 β 信号传导的改变还已经涉及到精神分裂症的发病机理。

[0010] 此外, 抑制 GSK3 β 可用于治疗癌症, 如结肠直肠癌、前列腺癌、乳腺癌、非小细胞肺癌、甲状腺癌、T 细胞或 B 细胞白血病和一些病毒诱导的肿瘤。例如, GSK3 β 的活性形式已经显示了在结肠直肠癌患者的肿瘤中有所提高, 且抑制结肠直肠癌细胞的 GSK3 β 激活了 p53- 依赖的凋亡和拮抗肿瘤的生长。抑制 GSK3 β 还增加了在前列腺癌细胞系中的 TRAIL- 诱导的凋亡。GSK3 β 在有丝分裂纺锤体的动力学中也起作用, 且 GSK3 β 的抑制剂防止染色体运动, 并导致微管的稳定化和前中期样的停止 (arrest), 这与使用低剂量的紫杉醇所观察到的现象类似。GSK3 β 抑制剂的其他可能的应用包括治疗非胰岛素依赖性糖尿病 (如 II 型糖尿病)、肥胖症和脱发。

[0011] 人 GSK3 β 的抑制剂也可抑制 pfGSK3, 在恶性疟原虫 (*Plasmodium falciparum*) 中发现的这种酶的同源物, 因此, 它们可以用来治疗疟疾 (Biochimica et Biophysica Acta 1697, 181-196, 2004)。

[0012] 近来, 人类遗传学和动物研究都已经指出 Wnt/LPR5 通路作为骨质增加 (bone mass accrual) 的主要调节剂的作用。抑制 GSK3 β 引起了常规 Wnt 信号传导的后续激活。由于 Wnt 信号传导不足已经涉及骨质减少的疾病, GSK3 β 抑制剂也可用来治疗骨质减少的疾病、骨相关的病理、骨质疏松。

[0013] 根据最近的数据, GSK3 β 抑制剂可以用于治疗或预防寻常性天疱疮。

[0014] 最近的研究表明, GSK3 β 抑制剂的治疗改善了中性白细胞和巨核细胞的恢复。因此, GSK3 β 抑制剂将会用于治疗由肿瘤化疗诱导的中性白细胞减少症。

[0015] 之前的研究已经表明, GSK3 活性降低了 LTP, 一种与记忆巩固相关的电生理学, 这表明这种酶的抑制剂可以具有前认知 (procognitive) 活性。该化合物的前认知作用可以应用于治疗记忆缺失为特点的阿尔茨海默病、帕金森病、年龄相关的记忆损伤、轻度 (mild) 认知损伤、脑损伤、精神分裂症和其他观察到这些缺陷的病症。

[0016] GSK3 β 的抑制剂也可应用于治疗实质性肾疾病 (parenchymal renal diseases) (Nelson PJ, Kidney International Advance online publication 19 dec2007) 以及预防或治疗肌萎缩 (J. Biol. Chem(283) 2008, 358-366)。

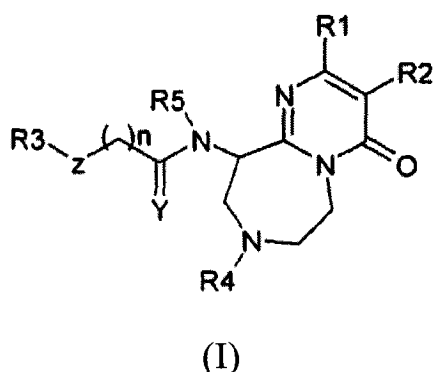
发明内容

[0017] 本发明的一个目的是提供用作药物活性成分的化合物,其中该药物用于预防性和/或治疗性治疗由异常 GSK3 β 活性引起的疾病,更特别为神经变性疾病。更具体的,本发明的目的是提供用作药物活性成分的新化合物,其中该药物能够预防和/或治疗神经变性疾病如阿尔茨海默病。

[0018] 因此,本发明的发明人已经鉴别出了对 GSK3 β 具有抑制活性的化合物。结果,他们发现由下式 (I) 表示的化合物具有所需的活性,并且用作预防性和/或治疗性治疗上述疾病的药物的活性成分。

[0019] 因此,作为本发明的一个目的,本发明提供了式 (I) 表示的嘧啶酮衍生物及其盐,或其溶剂合物或水合物:

[0020]



[0021] 其中:

[0022] Y 表示硫原子、氧原子、两个氢原子,或表示 C_{1-2} 烷基与氢原子;

[0023] Z 表示化学键,氧原子,被氢原子或 C_{1-3} 烷基取代的氮原子,硫原子,任选被选自下列的 1 或 2 个基团取代的亚甲基: C_{1-6} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基、全卤代的 C_{1-2} 烷基或氨基;

[0024] R1 表示 2,3 或 4-吡啶环或 2,4 或 5-嘧啶环,所述环任选被 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基或卤素原子所取代;

[0025] R2 表示氢原子、 C_{1-6} 烷基或卤素原子;

[0026] R3 表示苯环或萘环;所述环任选被 1 至 4 个选自下列的取代基所取代: C_{1-6} 烷基、卤素原子、全卤代的 C_{1-2} 烷基、卤代的 C_{1-3} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基、全卤代的 C_{1-2} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基磺酰基、硝基、氰基、氨基、 C_{1-6} 单烷基氨基、 C_{2-12} 二烷基氨基、乙酰氧基或氨基磺酰基、4-15 元杂环基,该基团任选被下列所取代: C_{1-6} 烷基、卤素原子、全卤代的 C_{1-2} 烷基、卤代的 C_{1-3} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基;

[0027] R4 表示氢原子; C_{1-6} 烷基;苄基、苄乙基、苄基氧基羰基、 C_{1-4} 烷氧基羰基、苯基、萘基、5,6,7,8-四氢萘基、苯磺酰基、苯甲酰基、4-15 元杂环基,上述基团任选被 1 至 4 个选自以下的取代基所取代:卤素原子、羟基、 C_{1-4} 烷氧基;全卤代的 C_{1-2} 烷基、 C_{1-6} 烷基、苯基、卤素原子、卤代的 C_{1-3} 烷基、硝基、氰基、氨基、 C_{1-6} 单烷基氨基或 C_{2-10} 二烷基氨基;

[0028] R5 表示氢原子或 C_{1-6} 烷基基团;

[0029] n 表示 0 至 3。

[0030] 根据本发明的另一个方面,提供了包含选自式 (I) 表示的嘧啶酮衍生物及其生理

可接受盐,及其溶剂合物或其水合物作为活性成分的药物。作为该药物的优选实施方式,提供上述药物,其用于预防性和/或治疗性治疗由异常 GSK3 β 活性引起的疾病,并提供上述药物,其用于预防性和/或治疗性治疗神经变性疾病以及还有其他疾病,如:非胰岛素依赖性糖尿病(如 II 型糖尿病)和肥胖症;疟疾,双相情感障碍(躁狂抑郁症);精神分裂症;脱发或癌症如结肠直肠癌,前列腺癌,乳腺癌,非小细胞肺癌,甲状腺癌,T 细胞或 B 细胞白血病,一些病毒诱导的肿瘤和骨相关的病状;治疗实质性肾疾病和预防或治疗肌萎缩;治疗认知缺陷和记忆缺失。该药物也可应用于再生性药物。

[0031] 作为本发明的再一个实施方式,提供了上述药物,其中疾病为神经变性疾病并选自阿尔茨海默病、帕金森病、tau 蛋白病(如额颞痴呆、皮质基底节变性、皮克病、进行性核上性麻痹)、威尔逊病、亨廷顿舞蹈症、朊病毒病和其他痴呆,包括血管性痴呆;急性中风和其他创伤性损伤;脑血管意外(如年龄相关的黄斑变性);脑损伤和脊髓损伤;肌萎缩性侧索硬化症;周围神经病;视网膜病变和青光眼,以及提供了药物组合物形式的上述药物,所述药物组合物含有上述物质作为活性成分和一种或多种药用添加剂。

[0032] 作为本发明的再一个实施方式,提供了上述药物,其中骨相关的病状为骨质疏松。

[0033] 本发明还提供了 GSK3 β 活性的抑制剂,其含有作为活性成分的选自式

[0034] (I) 的嘧啶酮衍生物及其盐,及其溶剂合物和其水合物的物质。

[0035] 根据本发明的另一个方面,提供了用于预防性和/或治疗性治疗由异常 GSK3 β 活性引起的神经变性疾病的方法,该方法包括以下步骤:向患者给药预防有效量和/或治疗有效量的物质,该物质选自式 (I) 的嘧啶酮衍生物及其生理可接受的盐,以及其溶剂合物和其水合物;还提供了选自式 (I) 的嘧啶酮衍生物及其生理可接受的盐,以及其溶剂合物和其水合物的物质在制备上述药物中的用途。

[0036] 如在本发明所使用的, C₁₋₆ 烷基表示具有 1-6 个碳原子的直链或支链或环状的烷基,其任选被直链、支链或环状的 C₁₋₆ 烷基所取代,如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基、1,1-二甲基丙基、正己基、异己基、环丙基甲基等;

[0037] C₁₋₆ 烷氧基表示具有 1-6 个碳原子的烷氧基,例如甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基等;

[0038] 卤素原子表示氟、氯、溴或碘原子;

[0039] 全卤代的 C₁₋₂ 烷基表示这样的烷基,其中所有的氢原子已经被卤素原子所取代,例如 CF₃ 或 C₂F₅;

[0040] 卤代的 C₁₋₃ 烷基表示这样的烷基,其中至少一个氢未被卤素原子取代;

[0041] C₁₋₆ 单烷基氨基表示被一个 C₁₋₆ 烷基取代的氨基,例如甲基氨基、乙基氨基、丙基氨基、异丙基氨基、丁基氨基、异丁基氨基、叔丁基氨基、戊基氨基、异戊基氨基等;

[0042] C₂₋₁₂ 二烷基氨基表示被两个 C₁₋₆ 烷基取代的氨基,例如,二甲基氨基、乙基甲基氨基、二乙基氨基、甲基丙基氨基和二异丙基氨基等;

[0043] 4-15 元杂环基表示不饱和的、完全饱和的或部分饱和的单环基或多环基(例如 4-10 元),其含有 1 至 7 个选自 N、O 和 S 的杂原子。杂环基的实例包括吡啶、4-氮茚(pyrindine)、嘧啶、吡嗪、哒嗪、三嗪、吡咯、呋喃、噻吩、吡唑、咪唑、三唑、四唑、**噁唑**、**异噁唑**、**噁二唑**、噻唑、异噻唑、噻二唑、吡咯并吡咯、吡咯并咪唑、吡咯并吡唑、吡咯并三唑、咪唑

并咪唑、咪唑并吡唑、咪唑并三唑、喹啉、异喹啉、噌啉、2,3-二氮杂萘、喹啉、1,5-二氮杂萘、苯并三嗪、吡啶并嘧啶、吡啶并吡嗪、吡啶并哒嗪、吡啶并三嗪、嘧啶并嘧啶、嘧啶并吡嗪、嘧啶并哒嗪、嘧啶并三嗪、吡嗪并吡嗪、吡嗪并哒嗪、吡嗪并三嗪、哒嗪并哒嗪、哒嗪并三嗪、吡啶、异吡啶、苯并咪唑、吡唑、吡嗪、苯并呋喃、异苯并呋喃、苯并噻吩、苯并[c]噻吩、吡咯并吡啶、咪唑并吡啶、吡唑并吡啶、三唑并吡啶、四唑并吡啶、吡咯并嘧啶、咪唑并嘧啶、吡唑并嘧啶、三唑并嘧啶、四唑并嘧啶、吡咯并吡嗪、咪唑并吡嗪、吡唑并吡嗪、三唑并吡嗪、四唑并吡嗪、吡咯并哒嗪、咪唑并哒嗪、吡唑并哒嗪、三唑并哒嗪、四唑并哒嗪、吡咯并三嗪、咪唑并三嗪、吡唑并三嗪、三唑并三嗪、四唑并三嗪、呋喃并吡啶、呋喃并嘧啶、呋喃并吡嗪、呋喃并哒嗪、呋喃并三嗪、噁唑并吡啶、噁唑并嘧啶、噁唑并吡嗪、噁唑并哒嗪、噁唑并三嗪、异噁唑并吡啶、异噁唑并嘧啶、异噁唑并吡嗪、异噁唑并哒嗪、异噁唑并三嗪、噁二唑并吡啶、噁二唑并嘧啶、噁二唑并吡嗪、噁二唑并哒嗪、噁二唑并三嗪、苯并噁唑、苯并异噁唑、苯并噁二唑、噻吩并吡啶、噻吩并嘧啶、噻吩并吡嗪、噻吩并哒嗪、噻吩并三嗪、噻唑并吡啶、噻唑并嘧啶、噻唑并吡嗪、噻唑并哒嗪、噻唑并三嗪、异噻唑并吡啶、异噻唑并嘧啶、异噻唑并吡嗪、异噻唑并哒嗪、异噻唑并三嗪、噻二唑并吡啶、噻二唑并嘧啶、噻二唑并吡嗪、噻二唑并哒嗪、噻二唑并三嗪、苯并噻唑、苯并异噻唑、苯并噻二唑、苯并三唑、苯并二氧杂萘 (benzodioxepine)、苯并二噁烷 (benzodioxane)、苯并二氧杂环己烯 (benzodioxine)、二氮杂环庚烷。这些杂环还能够以部分或完全饱和的形式存在,例如作为示例,二氢苯并呋喃、四氢喹啉等。

[0044] 离去基团 L 表示能容易地被离去和取代的基团;这种基团可以例如为甲苯磺酰基、甲磺酰基、溴取代基等。

[0045] 上述式 (I) 表示的化合物可以形成盐。当存在酸性基团时,盐的实例包括碱金属和碱土金属的盐例如锂、钠、钾、镁和钙的盐;氨和胺的盐如甲胺、二甲胺、三甲胺、二环己胺、三(羟甲基)氨基甲烷、N,N-二(羟乙基)哌嗪、2-氨基-2-甲基-1-丙醇、乙醇胺、N-甲基葡糖胺和 L-葡糖胺的盐;或者与碱性氨基酸如赖氨酸、 δ -羟基赖氨酸和精氨酸形成的盐。酸性化合物的碱加成盐通过本领域熟知的标准方法制备。

[0046] 当存在碱性基团时,实例包括与无机酸如盐酸、氢溴酸形成的盐;与有机酸如乙酸、丙酸、酒石酸、富马酸、马来酸、苹果酸、草酸、琥珀酸、柠檬酸、苯甲酸等形成的盐。

[0047] 碱化合物的酸加成盐根据本领域中熟知的标准方法制备,这些方法包括但不限于:将游离碱溶解在含合适酸的醇的水溶液中,并通过蒸发溶液分离所得盐,或者通过使游离碱与酸在有机溶剂中反应,此时所得盐直接分离或用第二有机溶剂析出或可以通过浓缩溶液得到。可以用来制备酸加成盐的酸优选包括那些与游离碱混合时生成可药用盐的酸,也就是说,这些盐的阴离子在药用剂量的盐时对动物有机体是相对无毒的,从而游离碱固有的有利属性不会因阴离子导致的副作用而受损(compromise)。尽管优选的是碱化合物的药用可接受盐,但是所有的酸加成盐都在本发明的范围内。

[0048] 除了上述式 (I) 表示的嘧啶酮衍生物及其盐,它们的溶剂合物或水合物也在本发明的范围内。

[0049] 上述式 (I) 表示的嘧啶酮衍生物可以具有一个或多个不对称碳原子。关于这些不对称碳原子的立体化学,它们可以独立地为 (R) 或 (S) 构型,衍生物可以作为立体异构体如光学异构体或非对映异构体而存在。任何纯形式的立体异构体、立体异构体的混合物、外消

旋体等都在本发明的范围内。

[0050] 本发明化合物的实例示于下文的表 1 中。但是,本发明的范围并不限于这些化合物。

[0051] 在本发明的第一实施方式中,提供了如下的游离碱形式或与酸加成盐的形式的式(I) 化合物,其中:

[0052] Y 表示氧原子或两个氢原子;

[0053] Z 表示化学键;

[0054] R1 表示未经取代的 4- 吡啶环或未经取代的 4- 嘧啶环;

[0055] R2 表示氢原子;

[0056] R3 表示任选被 1-4 个选自下列的取代基所取代的苯基: 卤素原子、全卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、氨基、吡唑基、噁二唑基,所述噁二唑基和所述吡唑基任选被 1 至 4 个选自 C_{1-6} 烷基的取代基所取代;

[0057] R4 表示氢原子、 C_{1-6} 烷基、 $COO(C_{1-6}$ 烷基) 基团、苯基,这些基团任选被 1 至 3 个卤素所取代;

[0058] n 表示 0。

[0059] 本发明的再一个方面包括如下文限定的表 1 化学式化合物:

[0060] 1. (+/-)-9-(4- 氯 -2- 甲氧基 - 苯甲酰基氨基) -4- 氧代 -2- 嘧啶 -4- 基 -5,6,8,9- 四氢 -4H-1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -7- 羧酸乙酯

[0061] 2. (+/-)-4- 氯 -2- 甲氧基 -N-(4- 氧代 -2- 嘧啶 -4- 基 -4,5,6,7,8,9- 六氢 -1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -9- 基) - 苯甲酰胺

[0062] 3. (+/-)-4- 氯 -2- 甲氧基 -N-(7- 甲基 -4- 氧代 -2- 嘧啶 -4- 基 -4,5,6,7,8,9- 六氢 -1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -9- 基) - 苯甲酰胺

[0063] 4. (+/-)-4- 氯 -N-[7-(4- 氟 - 苯基) -4- 氧代 -2- 嘧啶 -4- 基 -4,5,6,7,8,9- 六氢 -1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -9- 基] -2- 甲氧基 - 苯甲酰胺

[0064] 5. (+/-)-4- 氯 -N-(7- 环丙基甲基 -4- 氧代 -2- 嘧啶 -4- 基 -4,5,6,7,8,9- 六氢 -1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -9- 基) -2- 甲氧基 - 苯甲酰胺

[0065] 6. (+/-)-4- 氯 -N-(7- 异丙基 -4- 氧代 -2- 嘧啶 -4- 基 -4,5,6,7,8,9- 六氢 -1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -9- 基) -2- 甲氧基 - 苯甲酰胺

[0066] 7. (+/-)-4- 氯 -N-(7- 环戊基 -4- 氧代 -2- 嘧啶 -4- 基 -4,5,6,7,8,9- 六氢 -1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -9- 基) -2- 甲氧基 - 苯甲酰胺

[0067] 8. (+/-)-4- 氟 -2- 甲氧基 -N-(4- 氧代 -2- 嘧啶 -4- 基 -4,5,6,7,8,9- 六氢 -1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -9- 基) - 苯甲酰胺

[0068] 9. (+/-)-2,4- 二甲氧基 -N-(4- 氧代 -2- 嘧啶 -4- 基 -4,5,6,7,8,9- 六氢 -1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -9- 基) - 苯甲酰胺

[0069] 10. (+/-)-4- 氯 -2- 甲氧基 -N-(4- 氧代 -2- 吡啶 -4- 基 -4,5,6,7,8,9- 六氢 -1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -9- 基) - 苯甲酰胺

[0070] 11. (-)-4- 氯 -2- 甲氧基 -N-(4- 氧代 -2- 嘧啶 -4- 基 -4,5,6,7,8,9- 六氢 -1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -9- 基) - 苯甲酰胺

[0071] 12. (+)-4- 氯 -2- 甲氧基 -N-(4- 氧代 -2- 嘧啶 -4- 基 -4,5,6,7,8,9- 六氢 -1,4a,

7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

[0072] 13. (+/-)-9-(4-甲氧基-苄基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0073] 14. (+/-)-9-(2,4-二甲氧基-苄基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0074] 15. (-)-4-氯-2-甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

[0075] 16. (+)-4-氯-2-甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

[0076] 17. (+/-)-9-(2,3-二甲氧基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0077] 18. (+/-)-9-(2-甲氧基-4-三氟甲基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0078] 19. (+/-)-9-(4-溴-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0079] 20. (+/-)-9-(4-氟-2-三氟甲基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0080] 21. (+/-)-9-(2-甲氧基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0081] 22. (+/-)-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

[0082] 23. (+/-)-5-溴-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

[0083] 24. (+/-)-2,3-二甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

[0084] 25. (+/-)-9-苄基氨基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0085] 26. (+/-)-2,3-二甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

[0086] 27. (+/-)-9-苄基氨基-2-嘧啶-4-基-6,7,8,9-四氢-5H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-4-酮

[0087] 28. (+/-)-9-[4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-苯甲酰基氨基]-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0088] 29. (+/-)-4-氨基-5-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

[0089] 30. (+/-)-5-溴-2-甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

[0090] 31. (+/-)-5-氯-2-甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

- [0091] 32. (+/-)-5-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺
- [0092] 33. (+/-)-9-(2,4-二甲氧基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯
- [0093] 34. (+/-)-9-(5-氯-2-甲氧基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯
- [0094] 35. (+/-)-9-(4-氟-2-甲氧基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯
- [0095] 36. (+/-)-9-[(4-氯-2-甲氧基-苯甲酰基)-甲基-氨基]-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯
- [0096] 37. (+/-)-2-甲氧基-4-(5-甲基-[1,2,4]噁二唑-3-基)-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺
- [0097] 38. (+/-)-2-甲氧基-4-(5-甲基-[1,2,4]噁二唑-3-基)-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺
- [0098] 39. (+/-)-4-氟-2-甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺
- [0099] 40. (+/-)-N-(7-异丙基-4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-2-甲氧基-苯甲酰胺
- [0100] 41. (+/-)-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺
- [0101] 42. (+/-)-4-氯-N-(7-环丙基甲基-4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-2-甲氧基-苯甲酰胺
- [0102] 43. (+/-)-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-4-三氟甲基-苯甲酰胺
- [0103] 44. (+/-)-N-(7-异丙基-4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-2-甲氧基-4-三氟甲基-苯甲酰胺
- [0104] 45. (+/-)-N-(7-环丙基甲基-4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-2,5-二甲氧基-苯甲酰胺
- [0105] 46. (+/-)-2,5-二甲氧基-N-(4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺
- [0106] 47. (+/-)-4-氟-N-(4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-2-三氟甲基-苯甲酰胺
- [0107] 48. (+/-)-5-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺
- [0108] 49. (+/-)-4-氟-N-(7-甲基-4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-2-三氟甲基-苯甲酰胺
- [0109] 50. (+/-)-N-(7-苄基-4-氧代-2-吡啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-5-氯-2-甲氧基-苯甲酰胺。
- [0110] 作为另一个方面,本发明还涉及制备上述式(I)表示的嘧啶酮化合物的制备方

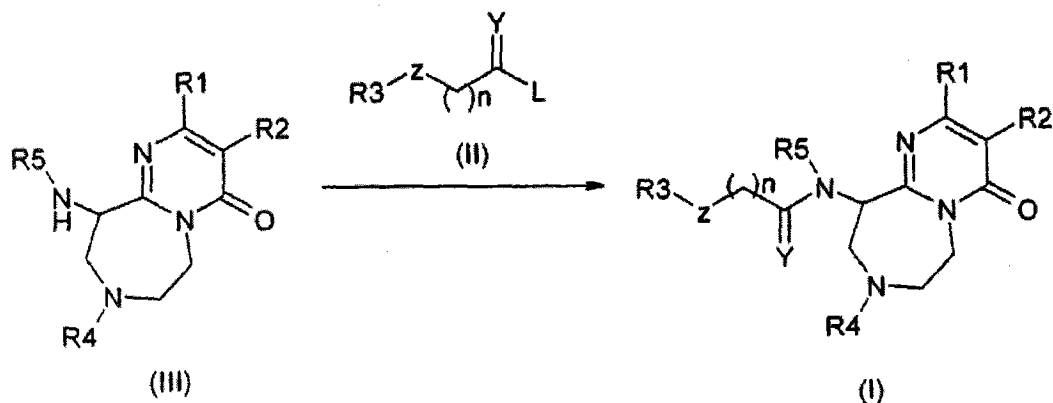
法。

[0111] 这些化合物可以根据下文所述的方法制备。

[0112] 制备方法

[0113] 上述式 (I) 表示的嘧啶酮化合物, 可以根据方案 1 中描述的方法制备。

[0114]



[0115] 方案 1

[0116] (在上面的方案中, R1、R2、R3、R4、R5、n、Y 和 Z 的定义与已经对式 (I) 化合物描述的相同)。

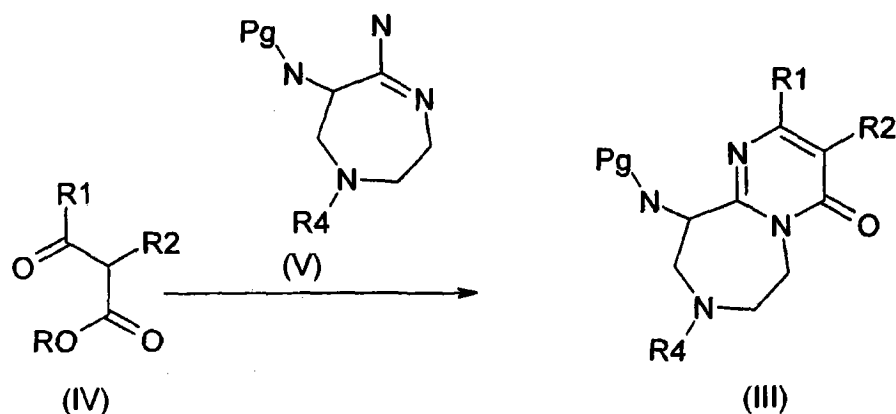
[0117] 根据该方法, 上式 (III) 表示的嘧啶酮衍生物用作中间体, 其中 R1、R2、R4 和 R5 的定义与式 (I) 相同。或者, 式 (I) 化合物与碱 (如三乙胺、碳酸钠或碳酸钾), 在溶剂 (如四氢呋喃、N-甲基吡咯烷酮、N,N-二甲基乙酰胺或氯仿) 中, 在合适的温度 (0-130°C) 于普通空气中发生反应, 然后与式 (II) 化合物反应, 在式 (II) 化合物中 R3、Z、Y 和 n 的定义与式 (I) 化合物相同, L 表示离去基团, 优选为氯、溴或甲磺酰基, 得到上述式 (I) 化合物。

[0118] 或者, 其中 Y 表示两个氢原子的式 (I) 化合物可以根据本领域技术人员熟知的方法通过用式 (III) 化合物还原性胺化式 (II) 化合物来制备, 在式 (II) 化合物中, Y 表示氧原子, L 表示氢原子, 在式 (III) 化合物中, R1、R2、R4 和 R5 的定义与式 (I) 化合物相同。

[0119] 式 (II) 化合物是市购的或者可以根据本领域技术人员熟知的方法合成。

[0120] 式 (III) 化合物可以根据方案 2 的方法制备。

[0121]



[0122] 方案 2

[0123] 作为另一个目的, 本发明还涉及用于制备上述式 (I) 表示的嘧啶酮化合物的中间

体 (V)。

[0124] (在上面的方案中, Pg、R1、R2 和 R4 的定义与已经描述的相同, 且 Pg 表示苄基、叔丁氧基羰基、乙氧基羰基、乙酰基、苯二甲酰亚氨基、苄氧基羰基。

[0125] 根据该方法, 式 (IV) 的 3- 酮酯 (R1 和 R2 的定义与式 (I) 化合物相同, 且 R 为烷基如甲基或乙基), 与式 (V) 化合物 (其中 R4 的定义与式 (I) 化合物相同且 Pg 为合适的保护基团如苯二甲酰亚氨基) 反应。该反应可以在碱如碳酸钾的存在下在醇溶剂如甲醇、乙醇等中或者没有醇溶剂的情况下在合适的温度 25-140°C 于普通空气中进行, 从而得到上述式 (III) 化合物。

[0126] 此外, 式 (III) 化合物 (其中 R2 表示氢原子) 可以被卤化, 从而得到式 (III) 的化合物 (其中 R2 为卤素原子如溴原子或氯原子)。该反应可以在酸性介质如乙酸或丙酸中, 在溴琥珀酰亚胺或氯琥珀酰亚胺的存在下进行。

[0127] 此外, 式 (IV) 化合物 (R2 表示氟原子) 可以通过与在 Tetrahedron Letters, Vol. 30, No. 45, pp 6113-6116, 1989 中的记载类似的方法得到。

[0128] 此外, 式 (IV) 化合物 (R2 表示氢原子) 可以通过与在专利 DE 2705582 中的记载类似的方法得到。

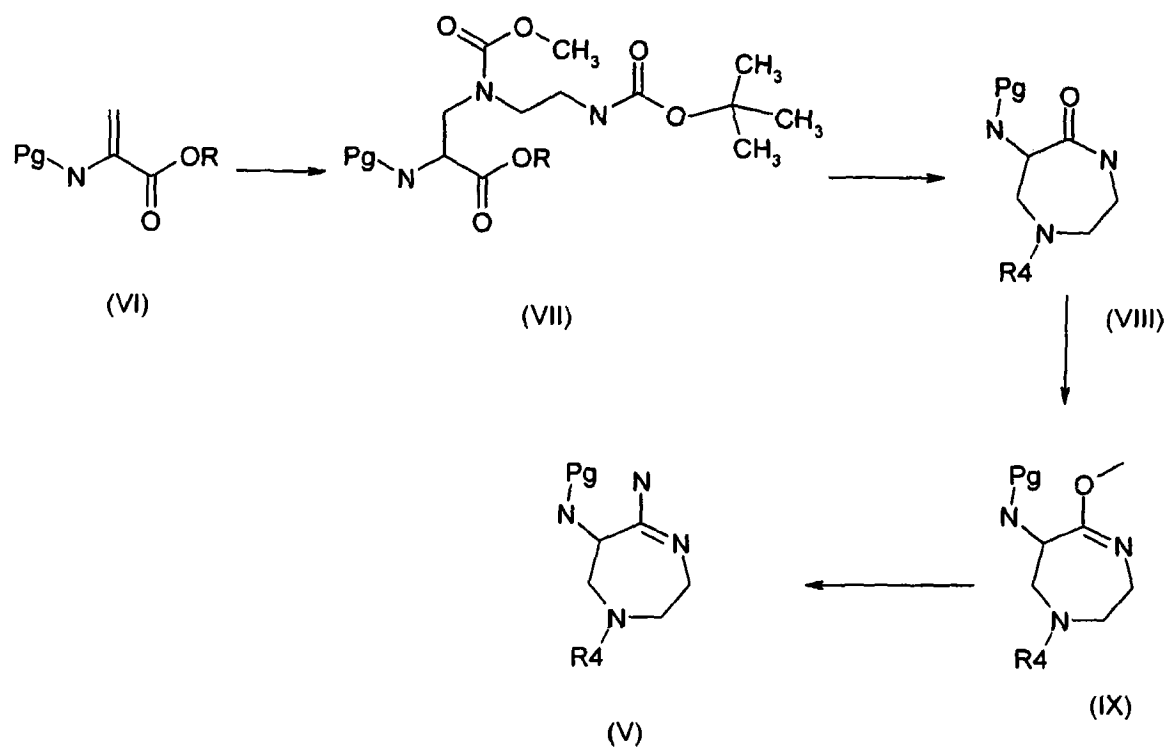
[0129] 作为另一目的, 本发明还涉及作为式 (I) 化合物中间体的式 (III) 化合物。

[0130] 式 (IV) 化合物是市购的或者可以根据本领域技术人员熟知的方法合成。

[0131] 例如, 式 (IV) 化合物, 其中 R1 表示任选被 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基或卤素原子取代的吡啶环或嘧啶环, 可以如下制备: 分别使任选被 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基或卤素取代的异烟酸或嘧啶-甲酸与相应的丙二酸单酯反应。该反应可以使用本领域技术人员熟知的方法进行, 例如在偶联剂如 1,1'-羰基二-1H-咪唑存在下在溶剂如四氢呋喃中于 20 至 70°C 的温度进行。

[0132] 例如, 式 (V) 化合物 (其中 R4 的定义如式 (I) 化合物, 合适的保护基团 Pg 如苯二甲酰亚氨基), 可以根据方案 3 中的方法制备, 从式 (VI) 化合物开始。可以使用的条件在化学实施例中给出。

[0133]



[0134] 方案 3

[0135] 式 (VI) 化合物可以根据在 *Synthetic Communications*, 33(8), 1375-1382 ; 2003 中记载的方法合成。

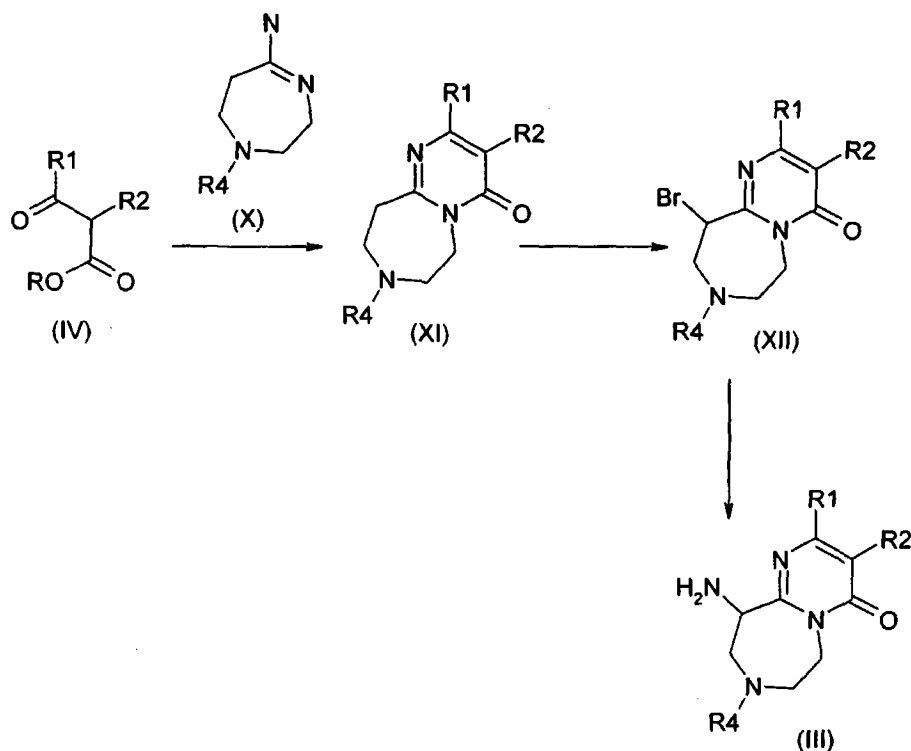
[0136] 式 (VII) 化合物可以通过向式 (VI) 化合物添加合适的亲核试剂来合成。

[0137] 式 (VII) 化合物可以环化得到上述的式 (VIII) 化合物。

[0138] 式 (IX) 化合物和式 (V) 化合物可以根据 W096/14844 中记载的方法从式 (VIII) 化合物开始合成。

[0139] 或者, 式 (III) 化合物 (其中 R1、R2 和 R4 的定义如式 (I) 化合物的定义) 可以根据方案 4 中的方法制备, 从式 (IV) 化合物开始。可以使用的条件在化学实施例中给出。

[0140]



[0141] 方案 4

[0142] 作为另一个目的,本发明还涉及用于制备上式 (I) 表示的嘧啶酮化合物的中间体 (III)、(XI) 和 (XII)。

[0143] 根据该方法,式 (IV) 的 3-酮酯 (其中 R1、R2 和 R4 的定义与式 (I) 化合物相同,且 R 为烷基如甲基或乙基),与式 (X) 化合物 (其中 R4 的定义与式 (I) 化合物相同) 反应。该反应可以在碱 (如碳酸钾) 的存在下,在醇溶剂 (如甲醇、乙醇等中) 或者没有醇溶剂的情况下在合适的温度 (25-140℃) 于普通空气下进行,从而得到上述式 (XI) 化合物。

[0144] R1、R2 和 R4 的定义与式 (I) 化合物相同的式 (XI) 化合物可以用强碱 (如二 (三甲基硅烷基) 胺化锂或二异丙基胺化锂) 去质子化,所得阴离子与溴或 N-溴琥珀酰亚胺反应,得到式 (XII) 化合物。

[0145] R1、R2 和 R4 的定义与式 (I) 化合物相同的式 (XII) 化合物可以与合适的亲核氮源如 4-甲氧基苯甲基胺的氨溶液反应,得到式 (III) 化合物。

[0146] 式 (X) 化合物可以根据在 W097/16430 和 Tetrahedron Letters, Vol. 32, No. 22, pp 2469-2470, 1991 中记载的方法合成。

[0147] 在上述反应中,官能团的保护或脱保护有时也许是必要的。合适的保护基团 Pg 可以根据官能团的类型选择,可以应用文献中记载的方法。保护基团、保护和脱保护方法的实例例如在 Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, Greene et al., 4th Ed. 2007 (John Wiley&Sons, Inc., New York) 中给出。

[0148] 本发明的化合物具有对 GSK3β 的抑制活性。因此,本发明化合物可用作活性成分来制备药物,该药物能够预防性和 / 或治疗性治疗由异常 GSK3β 活性引起的疾病,更具体为神经变性疾病如阿尔茨海默病。此外,本发明化合物也可用作活性成分来制备药物,该药物用于预防性和 / 或治疗性治疗神经变性疾病如帕金森病、tau 蛋白病 (如额颞痴呆、皮质基底节变性、皮克病、进行性核上性麻痹)、威尔逊病、亨廷顿舞蹈症、朊病毒病和其他痴

呆包括血管性痴呆；急性中风和其他创伤性损伤；脑血管意外（如年龄相关的黄斑变性）；脑损伤和脊髓损伤；肌萎缩性侧索硬化症，周围神经病；视网膜病变和青光眼；以及其他疾病，如非胰岛素依赖性糖尿病（如 II 型糖尿病）和肥胖症；疟疾，躁狂抑郁症；精神分裂症；脱发；癌症，如结肠直肠癌、前列腺癌、乳腺癌、非小细胞肺癌、甲状腺癌，T 细胞或 B 细胞白血病，一些病毒诱导的肿瘤和骨相关的病理；实质性肾疾病或肌萎缩。该药物还可应用于再生性药物。该药物还可应用于治疗或预防寻常性天疱疮。该药物还可应用于治疗由癌症化疗诱导的中性白细胞减少症。该药物还可应用于治疗性治疗以认知缺陷和记忆缺失为特征性疾病，如阿尔茨海默病、帕金森病、年龄相关的记忆损伤、轻度认知损伤、脑外伤、精神分裂症和其他观察到这些缺陷或缺失的疾病。

[0149] 本发明还涉及治疗由 GSK3 β 的异常活性引起的神经变性疾病和上述疾病的方法，该方法包括向有此需要的哺乳动物有机体给药有效量的式 (I) 化合物。

[0150] 作为本发明药物的活性成分，可以使用的物质选自上述式 (I) 表示的化合物和其可药用盐、及其溶剂合物和其水合物。该物质本身可以作为本发明的药物给药；然而，期望以药物组合物的形式给药该药物，其中该药物组合物包含上述物质作为活性成分和一种或多种药用添加剂。作为本发明药物的活性成分，两种或多种上述物质可以组合使用。上述药物组合物可以补充以其他药物的活性成分用来治疗上述疾病。药物组合物的类型不受特别限制，该组合物可以以任何制剂形式提供用以口服或胃肠外给药。例如，药物组合物可以配制成例如用于口服给药的药物组合物的形式，如颗粒剂、细颗粒剂 (fine granule)、粉剂、硬胶囊剂、软胶囊剂、糖浆剂、乳剂、混悬剂、溶液剂等，或者配制成用于胃肠外给药的药物组合物的形式，如静脉、肌内或皮下注射给药，点滴注射，透皮制剂 (transdermal preparation)、透粘膜制剂 (transmucosal preparation)、滴鼻剂、吸入剂、栓剂等。注射或点滴注射可以制备成粉末状制剂如冻干制剂的形式，并且可以通过在使用前溶解在合适的水性介质如生理盐水中而使用。缓释制剂如那些涂覆聚合物制剂，可以直接大脑内给药。

[0151] 本领域技术人员可以适当地选择用于制备药物组合物的药用添加剂的类型、药用添加剂对活性成分含量比以及制备药物组合物的方法。无机或有机物质或固体或液体物质可以用作药用添加剂。一般而言，药用添加剂可以以基于活性成分的重量为 1 重量%~90 重量%的比例混合。

[0152] 用于制备药物组合物的赋形剂的实例包括，例如，乳糖、蔗糖、淀粉、滑石粉、纤维素、糊精、高岭土、碳酸钙等。为了制备用于口服给药的液体组合物，可以使用常规的惰性稀释剂如水或植物油。除了惰性稀释剂之外，该液体组合物还可以含有辅料如润湿剂、悬浮助剂、甜味剂、芳香剂、着色剂和防腐剂。液体组合物可以填充在由可吸收材料如明胶制成的胶囊中。用于制备胃肠外给药（如注射剂、栓剂）的组合物的溶剂或悬浮介质的实例包括水、丙二醇、聚乙二醇、苯甲醇、油酸乙酯、卵磷脂等。用于栓剂的基础材料包括，例如，可可脂，乳化的可可脂、月桂脂 (lauric lipid)、witepsol。

[0153] 本发明药物的给药剂量和频率不受特别限制，并且根据预防性和 / 或治疗性治疗的目的、疾病的类型、患者的体重或年龄、疾病的严重性等适当地进行选择。一般而言，向成人口服给药的每日剂量可以为 0.01 至 1000mg（活性成分的重量），该剂量可以一天给药一次或分份一天给药多次，或者多天给药一次。当该药物用作注射液时，优选连续地或间歇地向成人以每日剂量 0.001 至 100mg（活性成分的重量）给药。

[0154] 化学实施例

[0155] 实施例 1 (表 1 的化合物 1)

[0156] (+/-)-9-(4-氯-2-甲氧基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0157] 1.1(+/-)-3-(2-叔丁氧基羰基氨基-乙基氨基)-2-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-丙酸甲酯

[0158] 向 12.60g (51.38mmol) 的 2-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-丙烯酸甲酯 (记载于 Synthetic Communications, 33(8), 1375-1382; 2003) 溶解在 170mL 乙腈中的溶液于室温加入 42.60g (308.28mmol) 的碳酸钾和 9.05g (56.52mmol) 的 (2-氨基-乙基)-氨基甲酸叔丁酯。所得混合物室温搅拌 12 小时。加入 300mL 的二氯甲烷, 混合物经过滤, 所得固体用二氯甲烷研磨, 过滤, 所得滤液蒸发至干。剩余物溶解在乙醚中, 用饱和的碳酸氢钠水溶液、饱和的氯化钠水溶液洗涤, 经硫酸钠干燥, 蒸发至干。剩余物通过色谱法在硅胶上用氯仿/甲醇/氨水溶液 (29%) (比例为 98/2/0.2) 的混合物洗脱, 得到 6.50g (31%) 的所需化合物。

[0159] $RMN^1H(CDCl_3; 200MHz)$

[0160] δ (ppm): 7.80 (m, 2H), 7.65 (m, 2H), 4.88 (m, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.12 (m, 2H), 3.28 (m, 2H), 3.07 (m, 2H), 2.64 (m, 2H), 1.30 (s, 9H), 1.12 (t, 3H)

[0161] 1.2(+/-)-3-[(2-叔丁氧基羰基氨基-乙基)-乙氧基羰基-氨基]-2-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-丙酸甲酯

[0162] 向 18.80g (47.54mmol) 的 3-(2-叔丁氧基羰基氨基-乙基氨基)-2-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-丙酸甲酯溶解在 156mL 无水二氯甲烷中的溶液中加入 8.02mL (57.05mmol) 三乙胺。所得混合物在 0°C 冷却, 加入 5.00mL (52.29mmol) 的氯甲酸乙酯 (溶解在 30mL 的无水二氯甲烷中)。所得混合物室温搅拌 12 小时。加入饱和的氯化铵水溶液, 混合物用二氯甲烷萃取。萃取物用饱和的氯化钠、碳酸钠的水溶液洗涤, 经硫酸钠干燥, 蒸发至干。剩余物通过色谱法在硅胶上用二氯甲烷/甲醇 (比例为 99/1) 的混合物洗脱, 得到 20.00g (90%) 的所需化合物, 为油状物。

[0163] $RMN^1H(DMSO; 400MHz)$

[0164] δ (ppm): 7.91 (m, 4H), 6.81 (s, 1H), 5.22 (m, 1H), 4.07 (m, 1H), 3.80 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.47 (m, 1H), 3.20 (m, 2H), 3.08 (m, 2H), 1.38 (s, 9H), 0.90 (m, 3H)。

[0165] 1.3(+/-)-N-{2-[(2-氨基-乙基)-乙氧基羰基-氨基]-1-羧基-乙基}-邻氨基羰基苯甲酸

[0166] 向 218.80g (470.35mmol) 的 3-[(2-叔丁氧基羰基氨基-乙基)-乙氧基羰基-氨基]-2-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-丙酸甲酯溶解在 600mL 四氢呋喃中的溶液中加入 100mL 水和 39.47g (940.70mmol) 的氢氧化锂一水合物。所得混合物在 65°C 加热 2 小时。加入 19.73g (470.35mmol) 的氢氧化锂一水合物。所得混合物在 65°C 搅拌 1 小时。混合物蒸发至干。将甲苯加入剩余物, 蒸发至干, 得到 225.00g 的所需化合物, 为锂盐。向所得锂盐 (225.00g) 悬浮液 (在 1L 的二氯甲烷中) 缓慢加入 500mL 的三氟乙酸。所得混合物室温搅拌 2 小时 30 分钟, 蒸发至干。剩余物用乙醚/二氯甲烷的混合物研磨, 过滤, 得到 300.00g (89%) 的粉末。该化合物就这样用于后续步骤。

[0167] 1.4(+/-)-6-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-5-氧代-[1,4]二氮杂环庚烷-1-羧酸乙酯

[0168] 向 150.00g (208.00mmol) 的 N-[2-[(2-氨基-乙基)-乙氧基羰基-氨基]-1-羧基-乙基]-邻氨基羰基苯甲酸溶解在 3L 无水二甲基甲酰胺中的溶液中加入 75.50ml (686.40mmol) 的 N-甲基吗啉。所得混合物室温搅拌 10 分钟,加入 143.00g (520.00mmol) 的二苯基磷酰基叠氮化合物。混合物于室温搅拌 36 小时,蒸发至干。混合物溶解在二氯甲烷中,用饱和的氯化铵水溶液、饱和的氯化钠水溶液、饱和的碳酸氢钠水溶液洗涤,经硫酸钠干燥,蒸发至干。剩余物通过色谱法在硅胶上用二氯甲烷/甲醇/氨水溶液 (29%) (比例为 96/4/0.6) 的混合物洗脱,得到 23.00g (33%) 的所需化合物。

[0169] Mp :195-197°C。

[0170] RMN^1H (DMSO ;400MHz)

[0171] δ (ppm) :8.19 (m, 1H) , 7.92 (m, 4H) , 4.80 (m, 1H) , 4.22-4.03 (m, 4H) , 3.88 (m, 1H) , 3.42 (m, 1H) , 3.28 (m, 1H) , 3.08 (m, 1H) , 1.22 (m, 3H) 。

[0172] 1.5(+/-)-6-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-5-甲氧基-2,3,6,7-四氢-[1,4]二氮杂**革**-1-羧酸乙酯

[0173] 向 45.00g (135.82mmol) 的 (+/-)-6-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-5-氧代-[1,4]二氮杂环庚烷-1-羧酸乙酯在 339ml 无水二氯甲烷中的溶液中加入 22.09g (149.40mmol) 的三甲基氧**鎗**四氟硼酸盐。所得混合物室温搅拌 12 小时。混合物用饱和的碳酸氢钠水溶液水解,用二氯甲烷萃取,经硫酸钠干燥,蒸发溶剂,得到 46.90g (99%) 的纯产物,为黄色油状物。该化合物就这样用于后续步骤中。

[0174] RMN^1H (CDCl₃ ;200MHz)

[0175] δ (ppm) :7.90 (m, 2H) , 7.80 (m, 2H) , 4.95 (m, 1H) , 4.15-3.85 (m, 6H) , 3.60 (m, 1H) , 3.48 (m, 3H) , 3.20 (m, 1H) , 1.12 (m, 3H) 。

[0176] 1.6(+/-)-9-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0177] 于室温向 39.00g (112.93mmol) 的 (+/-)-6-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-5-甲氧基-2,3,6,7-四氢-[1,4]二氮杂**革**-1-羧酸乙酯溶解在 350ml 甲醇的溶液中加入 6.34g (118.57mmol) 的氯化铵。所得混合物在回流搅拌 12 小时。冷却的溶液经蒸发以除去溶剂。剩余物用乙醚研磨,并过滤,得到 33.00g (80%) 的 (+/-)-5-氨基-6-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-2,3,6,7-四氢-[1,4]二氮杂**革**-1-羧酸乙酯盐酸盐 (1 : 1),为白色粉末。该化合物就这样用于后续步骤。

[0178] 向 33.00g (89.97mmol) 的 (+/-)-5-氨基-6-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-2,3,6,7-四氢-[1,4]二氮杂**革**-1-羧酸乙酯盐酸盐 (1 : 1) 在 300ml 的四氢呋喃中悬浮液中加入 6.47g (161.94mmol) 的氢化钠 (60%在油中),反应混合物室温搅拌 1 小时,加入 17.47g (89.97mmol) 的 3-(嘧啶-4-基)-3-氧代丙酸乙酯 (溶解在 300ml 甲苯中)。所得溶液经蒸发以除去四氢呋喃,在回流下加热,加入 5.00ml 的冰醋酸。在回流下搅拌反应混合物 12 小时。冷却的溶液经蒸发以除去溶剂。混合物溶解在二氯甲烷中,用饱和的氯化铵水溶液、饱和氯化钠水溶液洗涤,经硫酸钠干燥,蒸发至干。剩余物用乙醚研磨,并

过滤,得到 18.60g(45%) 的产物,为棕色粉末。该化合物就这样用于后续步骤。

[0179] ^1H RMN(DMSO ;300MHz)

[0180] δ (ppm) :9.28(s, 1H), 8.68(d, 1H), 8.01(m, 4H), 7.24(m, 2H), 5.71(m, 1H), 5.18(m, 1H), 4.51(m, 1H), 4.30(m, 1H), 4.12(m, 5H), 1.22(m, 3H)

[0181] 1.7(+/-)-9-氨基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯氢溴酸盐 (1 : 1)

[0182] 向 18.60g(40.40mmol) 的 (+/-)-9-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯溶解在 200mL 乙醇的溶液中加入 19.60mL(403.95mmol) 的水合肼,所得混合物在回流下搅拌 2 小时。混合物经过滤,所得固体用二氯甲烷研磨,过滤,所得滤液用饱和的碳酸钠水溶液、饱和氯化钠水溶液洗涤,经硫酸钠干燥,蒸发至干。剩余物通过向游离碱的异丙酸溶液(isopropyl solution)中添加氢溴酸(33wt%在冰醋酸中的溶液)转化为氢溴酸盐。得到 9.70g(72%) 的棕色固体。

[0183] Mp :243-246°C。

[0184] ^1H RMN(DMSO ;400MHz)

[0185] δ (ppm) :9.32(s, 1H), 9.05(d, 1H), 8.44(d, 1H), 7.28(s, 1H), 4.89(m, 1H), 4.40(m, 1H), 4.12-4.01(m, 3H), 3.90(m, 1H), 3.75(m, 1H), 3.50(m, 2H), 2.32(br s, 2H), 1.15(t, 3H)

[0186] 1.8(+/-)-9-(4-氯-2-甲氧基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0187] 向 0.060g(0.18mmol) 的 (+/-)-9-氨基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯氢溴酸盐 (1 : 1) 溶解在 1.80mL 二甲基甲酰胺中的溶液中加入 0.037g(0.20mmol) 的 4-氯-2-甲氧基-苯甲酸。于 0°C,向所得混合物中加入 40 μ l(0.22mmol) 的氰基膦酸二乙酯和 30 μ l(0.20mmol) 的三乙胺。所得混合物于室温搅拌 2 小时,并蒸发至干。加入水,混合物用二氯甲烷萃取。萃取物用饱和的碳酸钠水溶液、饱和的氯化铵水溶液、饱和氯化钠水溶液洗涤,干燥,并蒸发。剩余物用乙醚/乙酸乙酯的混合物研磨,过滤,得到 0.048g(53%) 的纯产物,为粉末状。

[0188] Mp :175-177°C。

[0189] ^1H RMN(DMSO ;400MHz)

[0190] δ (ppm) :9.40(s, 1H), 9.28(m, 1H), 9.10(d, 1H), 8.28(m, 1H), 7.98(d, 1H), 7.38(s, 1H), 7.35(s, 1H), 7.21(d, 1H), 5.59(m, 1H), 5.01(m, 1H), 4.24(m, 1H), 4.05(s, 3H), 4.02(m, 4H), 3.58(m, 1H), 3.41(m, 1H), 1.18(t, 3H)。

[0191] 实施例 2(表 1 的化合物 2)

[0192] (+/-)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺盐酸盐 (1 : 1)

[0193] 2.1(+/-)-9-氨基-2-嘧啶-4-基-6,7,8,9-四氢-5H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-4-酮二氢溴酸盐 (2 : 1)

[0194] 向 9.70g(23.59mmol) 的 (+/-)-9-氨基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯溶解在 118mL 的冰醋酸的溶液中加入

41. 38mL (235.86mmol) 的氢溴酸 (33wt% 在冰醋酸中的溶液)。所得混合物在 90℃ 搅拌 16 小时, 冷却, 并蒸发至干。将甲苯加入至剩余物中, 并蒸发。将乙醇加入至剩余物, 并蒸发。粗产物使用乙醚研磨, 过滤, 得到 12.40g 的产物, 为棕色粉末状。

[0195] Mp : 225-235℃.

[0196] ^1H RMN (DMSO ; 400MHz)

[0197] δ (ppm) : 9.40 (s, 1H), 9.20 (d, 1H), 9.06 (br s, 2H), 8.61 (m, 1H), 7.40 (s, 1H), 5.28 (m, 2H), 4.55-4.18 (m, 2H), 4.03 (m, 1H), 3.82-3.52 (m, 2H), 3.32 (m, 1H)。

[0198] 2.2(+/-)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺盐酸盐 (1 : 1)

[0199] 向 0.163g (0.88mmol) 的 4-氯-2-甲氧基-苯甲酸溶解在 20mL 无水二氯甲烷的溶液中加入 0.27mL (1.97mmol) 的三乙胺、0.168g (0.88mmol) 的 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐和 0.118g (0.88mmol) 的 1-羟基苯并三唑。所得混合物室温搅拌 10 分钟, 于 -10℃ 缓慢加入 0.460g (1.09mmol) 的 (+/-)-9-氨基-2-嘧啶-4-基-6,7,8,9-四氢-5H-三氮杂-苯并环庚烯-4-酮二氢溴酸盐 (2 : 1) 溶解在 100mL 的无水二氯甲烷和 0.40mL (2.85mmol) 的三乙胺的混合物中的溶液中。所得混合物在 -10℃ 搅拌 3 小时, 并在室温搅拌 16 小时。反应混合物用饱和的碳酸钠水溶液、饱和氯化钠水溶液洗涤, 经硫酸钠干燥, 并蒸发至干。剩余物通过色谱法在硅胶上用二氯甲烷 / 甲醇 / 氨水溶液 (29%) (比例为 97/3/0.3) 的混合物洗脱, 得到 0.240g (51%) 的纯产物, 为粉末状。0.200g 的纯产物通过向游离碱的异丙醇溶液中添加盐酸 (5-6N 在异丙醇中) 转化成盐酸盐。由此得到 0.180g (83%) 的产物, 为白色固体。

[0200] Mp : 256-258℃

[0201] ^1H RMN (DMSO ; 400MHz)

[0202] δ (ppm) : 9.41 (m, 2H), 9.18 (d, 1H), 8.28 (m, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.40 (m, 2H), 7.22 (d, 1H), 5.78 (m, 1H), 5.25 (m, 1H), 4.10 (m, 1H), 4.02 (s, 3H), 3.61 (m, 2H), 3.41 (m, 1H), 3.18 (m, 1H)。

[0203] 实施例 3 (表 1 的化合物 3)

[0204] (+/-)-4-氯-2-甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺盐酸盐 (1 : 1)

[0205] 向 0.040g (0.09mmol) 的 (+/-)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺在 1.9mL 甲醇中的溶液中加入 0.003g (0.04mmol) 的多聚甲醛 (paraformaldehyde)、0.022g (0.10mmol) 的三乙酰氧基硼氢化钠和 40 μ L (0.20mmol) 的盐酸 (5-6N 在异丙醇中)。反应混合物室温搅拌 12 小时。向所得混合物中加入 0.006g (0.07mmol) 的多聚甲醛、0.042g (0.20mmol) 的三乙酰氧基硼氢化钠, 且 pH 用冰醋酸调节至 6。所得混合物室温搅拌 2 小时。反应混合物经浓缩, 剩余物溶解在二氯甲烷中, 用饱和的碳酸钠水溶液、饱和的氯化钠水溶液洗涤, 经硫酸钠干燥, 并蒸发。游离碱转化成其盐酸盐, 得到 0.035g 的纯产物。

[0206] Mp : 197-199℃

[0207] ^1H RMN (DMSO ; 400MHz)

[0208] δ (ppm) : 9.38 (m, 1H), 9.12 (d, 1H), 8.28 (d, 1H), 8.01 (d, 1H), 7.40 (s,

1H), 7.32 (s, 1H), 7.20 (d, 1H), 5.61 (m, 1H), 5.02 (m, 1H), 4.08 (s, 3H), 4.06 (m, 1H), 3.10-2.95 (m, 4H), 2.40 (s, 3H)

[0209] 实施例 4 (表 1 的化合物 4)

[0210] (+/-)-4-氯-N-[7-(4-氟-苯基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基]-2-甲氧基-苯甲酰胺

[0211] 含有 0.035g (0.08mmol) 的 (+/-)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺、0.016g (0.09mmol) 的 4-溴氟苯、0.009g (0.10mmol) 的叔丁醇钠、0.006g (0.03mmol) 的三叔丁基膦和 0.007g (0.01mmol) 的三(二亚苄基丙酮)合二钯(0) 在 1.60ml 无水甲苯中的混合物在氩气氛下在回流下搅拌 4 小时 30 分钟。反应混合物经冷却,加入碳酸钠的水溶液,所得溶液用二氯甲烷萃取。合并的萃取物用饱和氯化钠水溶液洗涤,经硫酸钠干燥,并蒸发。粗产物通过色谱法纯化,在硅胶上用二氯甲烷/甲醇/氨水溶液 (29%) (比例为 90/10/1) 的混合物洗脱,得到 0.016g (38%) 的纯产物,为粉末状。

[0212] Mp: 207-209°C。

[0213] ^1H RMN (DMSO ;400MHz)

[0214] δ (ppm) : 9.50 (m, 1H), 9.40 (s, 1H), 9.18 (d, 1H), 8.31 (m, 1H), 8.08 (d, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.25 (d, 1H), 7.12 (m, 4H), 5.68 (m, 1H), 5.15 (m, 1H), 4.06 (s, 3H), 4.01 (m, 2H), 3.91 (m, 1H), 3.48 (m, 1H), 3.20 (m, 1H)。

[0215] 实施例 5 (表 1 的化合物 11)

[0216] (-)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

[0217] 0.400g (0.93mmol) 的 (+/-)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺通过手性制备性 HPLC (CHIRALPAK IA-H 20 μ m) 分离,用乙腈/乙醇 (比例为 9/1) 的混合物洗脱,得到 0.185g 的游离碱形式的纯产物。

[0218] Mp: 247-249°C。 $[\alpha]_D^{20} = -42^\circ$ (c = 2.254., DMSO)。

[0219] ^1H RMN (DMSO ;400MHz)

[0220] δ (ppm) : 9.49 (s, 1H), 9.30 (m, 1H), 9.12 (d, 1H), 8.30 (m, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.21 (d, 1H), 5.54 (m, 1H), 4.98 (m, 1H), 4.03 (s, 3H), 3.95 (m, 1H), 3.11 (m, 2H), 2.90 (m, 1H), 2.70 (m, 1H)。

[0221] 实施例 6 (表 1 的化合物 12)

[0222] (+)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

[0223] 0.400g (0.93mmol) 的 (+/-)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺通过手性制备性 HPLC (CHIRALPAK IA-H 20 μ m,) 分离,用乙腈/乙醇 (比例为 9/1) 的混合物洗脱,得到 0.170g 的游离碱形式的纯产物。

[0224] Mp: 240-242°C。 $[\alpha]_D^{20} = +64^\circ$ (c = 3.276, DMSO)。

[0225] ^1H RMN (DMSO ;400MHz)

[0226] δ (ppm) :9.49 (s, 1H), 9.30 (m, 1H), 9.12 (d, 1H), 8.30 (m, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.21 (d, 1H), 5.54 (m, 1H), 4.98 (m, 1H), 4.03 (s, 3H), 3.95 (m, 1H), 3.11 (m, 2H), 2.90 (m, 1H), 2.70 (m, 1H)。

[0227] 实施例 7(表 1 的化合物 15)

[0228] (-)-4-氯-2-甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

[0229] 通过与实施例 3 中的记载类似的方法,使用 (-)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺(实施例 6)代替 (+/-)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺,得到的化合物为粉末状(69%)。

[0230] Mp :239-241°C。 $[\alpha]_D^{20} = -72.57^\circ$ (c = 0.261, DMSO)。

[0231] RMN¹H(DMSO ;400MHz)

[0232] δ (ppm) :9.38 (m, 1H), 9.12 (d, 1H), 8.28 (d, 1H), 8.01 (d, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.20 (d, 1H), 5.61 (m, 1H), 5.02 (m, 1H), 4.08 (s, 3H), 4.06 (m, 1H), 3.10-2.95 (m, 4H), 2.40 (s, 3H)。

[0233] 实施例 8(表 1 的化合物 16)

[0234] (+)-4-氯-2-甲氧基-N-(7-甲基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺

[0235] 通过与实施例 3 中的记载类似的方法,使用 (+)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺(实施例 7)代替 (+/-)-4-氯-2-甲氧基-N-(4-氧代-2-嘧啶-4-基-4,5,6,7,8,9-六氢-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-9-基)-苯甲酰胺,得到的化合物为粉末状(59%)。

[0236] Mp :232-234°C。 $[\alpha]_D^{20} = +73.58^\circ$ (c = 0.212, DMSO)。

[0237] RMN¹H(DMSO ;400MHz)

[0238] δ (ppm) :9.38 (m, 1H), 9.12 (d, 1H), 8.28 (d, 1H), 8.01 (d, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.20 (d, 1H), 5.61 (m, 1H), 5.02 (m, 1H), 4.08 (s, 3H), 4.06 (m, 1H), 3.10-2.95 (m, 4H), 2.40 (s, 3H)。

[0239] 实施例 9(表 1 的化合物 13)

[0240] (+/-)-9-(4-甲氧基-苄基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0241] 9.14-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0242] 向 13.4g(60.45mmol) 的 5-氨基-2,3,6,7-四氢-[1,4]二氮杂~~革~~-1-羧酸乙酯单盐酸盐(按 W09716430 的记载合成)在 50ml 乙醇中的溶液中加入 10.29g(74.50mmol) 的碳酸钾。反应混合物室温搅拌 10 分钟,加入 14.47g(74.50mmol) 的 3-(4-嘧啶基)-3-氧代丙酸乙酯,在回流下搅拌所得混合物 2.5 小时。冷却的溶液经蒸发除去溶剂。混合物用水和乙醚溶解。搅拌后,所得固体经过滤,用水和乙醚洗涤,得到 8.80g(46%) 的所需化合物,为粉末状。

[0243] Mp :144-146°C。

[0244] ^1H RMN(DMSO- d^6 ; 400MHz)

[0245] δ (ppm) : 9.34 (s, 1H), 9.06 (d, 1H), 8.28 (d, 1H), 7.29 (s, 1H), 4.42 (m, 2H), 4.10 (m, 2H), 3.72 (m, 4H), 3.29 (m, 2H), 1.20 (t, 3H)。

[0246] 9.2(+/-)-9-溴-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0247] 在氩气氛下于-30℃,向4.5g(14.27mmol)的4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯在无水四氢呋喃(140ml)中的溶液中加入15.70ml(15.70mmol)的二(三甲基硅烷基)胺化锂(1M在四氢呋喃中)。溶液在-30℃搅拌5分钟,并加入0.77ml(14.98mmol)的溴。反应在-30℃至室温搅拌3小时。混合物通过添加饱和的氯化铵溶液淬灭,并用乙酸乙酯萃取。有机相经硫酸钠干燥,并浓缩。剩余物通过快速色谱法(二氯甲烷,含1至3%的甲醇)纯化,得到2.6g(46%)的产物。

[0248] ^1H RMN(DMSO- d^6 ; 400MHz)

[0249] δ (ppm) : 9.35 (s, 1H), 9.08 (d, 1H), 8.23 (d, 1H), 7.35 (s, 1H), 5.68 (m, 1H), 5.21 (m, 1H), 4.31 (m, 3H), 4.11 (m, 2H), 3.95 (m, 2H), 1.21 (t, 3H)。

[0250] 9.3(+/-)-9-(4-甲氧基-苄基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0251] 向8.20g(20.80mmol)的9-溴-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯在208ml甲苯中的悬浮液中加入8.56g(62.40mmol)的4-甲氧基苄基胺和14.77ml(208.00mmol)的二甲基亚砜。反应混合物在85℃搅拌15小时。冷却的溶液经蒸发以除去溶剂。混合物通过添加饱和的氯化铵溶液淬灭,并用二氯甲烷萃取,用饱和的氯化钠溶液洗涤。有机相经硫酸钠干燥,并浓缩。剩余物通过快速色谱法(二氯甲烷/甲醇/氨,98/2/0.2至97/3/0.3)纯化,得到5.80g(62%)的产物。

[0252] Mp : 217-219℃。

[0253] ^1H RMN(DMSO- d^6 ; 400MHz)

[0254] δ (ppm) : 9.31 (s, 1H), 9.04 (d, 1H), 8.28 (d, 1H), 7.21 (m, 3H), 6.82 (d, 2H), 4.72 (m, 1H), 4.38 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.02 (m, 2H), 3.78 (m, 5H), 3.70 (s, 3H), 3.52 (m, 1H), 1.12 (t, 3H)

[0255] 实施例10(表1的化合物19)

[0256] (+/-)-9-(4-溴-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0257] 10.1(+/-)-9-氨基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0258] 向10.75g(23.86mmol)的9-(4-甲氧基-苄基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯在乙腈/水(160/80ml)中的溶液中加入26.16g(47.73mmol)的硝酸铈铵。反应在室温搅拌2小时。加入13.08g(23.86mmol)的硝酸铈铵,反应在室温搅拌0.5小时。在酸碱处理和用二氯甲烷萃取后,有机相用饱和的氯化钠溶液洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩,得到5.15g(65%)的粉末。

[0259] Mp : 185-187℃。

[0260] ^1H RMN(DMSO- d^6 ; 400MHz)

[0261] δ (ppm) :9.32 (s, 1H), 9.05 (d, 1H), 8.44 (d, 1H), 7.28 (s, 1H), 4.89 (m, 1H), 4.40 (m, 1H), 4.12-4.01 (m, 3H), 3.90 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.50 (m, 2H), 2.32 (br s, 2H), 1.15 (t, 3H)

[0262] 10.2(+/-)-9-(4-溴-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0263] 通过与实施例1(步骤1.8)中的记载类似的方法,使用4-溴-苯甲酸代替4-氯-2-甲氧基-苯甲酸,得到化合物0.062g(11%),为白色粉末。

[0264] Mp:259-261°C。

[0265] $RMN^1H(DMSO-d^6; 400MHz)$

[0266] δ (ppm) :9.32 (s, 1H), 9.18 (br s, 1H), 9.01 (d, 1H), 8.15 (m, 1H), 7.96 (m, 2H), 7.80 (m, 2H), 7.32 (s, 1H), 5.55 (m, 1H), 5.02 (m, 1H), 4.18 (m, 2H), 4.02 (m, 2H), 3.75 (m, 1H), 3.48 (m, 2H), 1.15 (m, 3H)

[0267] 实施例11(表1的化合物28)

[0268] 9-[4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-苯甲酰基氨基]-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0269] 含有0.145g(0.28mmol)的9-(4-溴-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯(实施例10)、0.082g(0.40mmol)的1-甲基-1H-吡唑-4-硼酸频哪醇酯、0.35ml(0.71mmol)的碳酸钠(2M溶液)、0.065g(0.06mmol)的四(三-苯基膦)合钯在5.60ml的甲苯/EtOH(10/1)中的混合物在氩气氛下于90°C搅拌15小时。反应混合物经冷却,加入饱和的碳酸钠水溶液,所得溶液用二氯甲烷萃取。合并的萃取物用饱和氯化钠水溶液洗涤,经硫酸钠干燥,并蒸发。粗产物通过色谱法纯化,在硅胶上用二氯甲烷/甲醇/氨水溶液(29%)(比例为98/2/0.2至97/3/0.3)的混合物洗脱,得到0.088g(76%)的纯产物为白色粉末。

[0270] Mp:265-267°C。

[0271] $RMN^1H(DMSO; 400MHz)$

[0272] δ (ppm) :9.32 (s, 1H), 9.00 (m, 2H), 8.30 (d, 1H), 8.18 (br s, 1H), 8.00 (m, 3H), 7.78 (d, 2H), 7.32 (s, 1H), 5.58 (m, 1H), 5.05 (m, 1H), 4.18 (m, 2H), 4.05 (m, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.75 (m, 1H), 3.48 (m, 1H), 1.18 (m, 3H)。

[0273] 实施例12(表1的化合物25)

[0274] (+/-)-9-苄基氨基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯盐酸盐(1:1)

[0275] 向0.120g(0.36mmol)的9-氨基-4-氧代-2-嘧啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯在3.6ml二氯甲烷的溶液中加入0.041g(0.38mmol)的苯甲醛、0.192g(0.91mmol)的三乙氧基硼氢化钠和几滴冰醋酸。反应混合物室温搅拌15小时。剩余物溶解在二氯甲烷和饱和的碳酸钠水溶液,用二氯甲烷萃取,用饱和的氯化钠水溶液洗涤,经硫酸钠干燥,并蒸发。粗产物通过色谱法在硅胶上用二氯甲烷/甲醇/氨水溶液(29%)(比例为97/3/0.3)的混合物洗脱,得到0.145g(95%)的纯产物。游离碱转化成其盐酸盐。

[0276] Mp:186-188°C。

[0277] ^1H RMN (DMSO ;400MHz)

[0278] δ (ppm) :9.40 (s, 1H) , 9.11 (d, 1H) , 8.48 (d, 1H) , 7.60 (m, 2H) , 7.48 (m, 3H) , 7.38 (s, 1H) , 5.29 (m, 1H) , 5.15 (m, 1H) , 4.50 (m, 1H) , 4.37 (m, 2H) , 4.10 (m, 3H) , 3.82 (m, 1H) , 3.60 (m, 1H) , 3.40 (m, 1H) , 1.18 (t, 3H) 。

[0279] 实施例 13 (表 1 的化合物 27)

[0280] (+/-)-9- 苄基氨基 -2- 嘧啶 -4- 基 -5,6,8,9- 四氢 -4H-1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -4- 酮氢溴酸盐 (1 : 2)

[0281] 向 0.090g (0.21mmol) 的 9- 苄基氨基 -4- 氧代 -2- 嘧啶 -4- 基 -5,6,8,9- 四氢 -4H-1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -7- 羧酸乙酯溶解在 3.00ml 的冰醋酸的溶液中加入 0.75ml (4.28mmol) 的氢溴酸 (33wt% 在冰乙酸中的溶液) 。所得混合物在 80℃ 搅拌 16 小时, 冷却, 并蒸发至干。将甲苯加入剩余物中, 并蒸发。将乙醇加入剩余物中, 并蒸发。粗产物用乙醚和二氯甲烷研磨, 过滤, 得到 0.083g (76%) 的产物, 为粉末状。

[0282] Mp :210-212℃。

[0283] ^1H RMN (DMSO ;400MHz)

[0284] δ (ppm) :9.40 (s, 1H) , 9.12 (d, 1H) , 8.41 (d, 1H) , 7.64 (m, 2H) , 7.50 (m, 3H) , 7.41 (s, 1H) , 5.40 (m, 1H) , 5.22 (m, 1H) , 4.40 (m, 2H) , 4.11 (m, 1H) , 3.78 (m, 2H) , 3.60 (m, 1H) , 3.31 (m, 1H) 。

[0285] 实施例 14 (表 1 的化合物 33)

[0286] (+/-)-9-(2,4-二甲氧基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0287] 14.14- 氧代 -2- 吡啶 -4- 基 -5,6,8,9- 四氢 -4H-1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -7- 羧酸乙酯

[0288] 通过与实施例 9 (步骤 9.1) 中的记载类似的方法, 使用 3- 氧代 -3- 吡啶 -4- 基 - 丙酸乙酯代替 3-(4- 嘧啶基) -3- 氧代丙酸乙酯, 得到 9.45g (44%) 的化合物, 为白色粉末状。

[0289] Mp :191-193℃。

[0290] ^1H RMN (DMSO- d^6 ;400MHz)

[0291] δ (ppm) :8.76 (d, 2H) , 8.02 (d, 2H) , 7.12 (s, 1H) , 4.42 (m, 2H) , 4.11 (q, 2H) , 3.75 (m, 4H) , 3.28 (m, 2H) , 1.21 (t, 3H) 。

[0292] 14.29- 氨基 -4- 氧代 -2- 吡啶 -4- 基 -5,6,8,9- 四氢 -4H-1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -7- 羧酸乙酯

[0293] 通过与实施例 9 (步骤 9.2, 步骤 9.3, 步骤 9.4) 中的记载类似的方法, 使用 4- 氧代 -2- 吡啶 -4- 基 -5,6,8,9- 四氢 -4H-1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -7- 羧酸乙酯代替 4- 氧代 -2- 嘧啶 -4- 基 -5,6,8,9- 四氢 -4H-1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -7- 羧酸乙酯, 得到的化合物为白色粉末状。

[0294] Mp :171-173℃。

[0295] ^1H RMN (DMSO- d^6 ;400MHz)

[0296] δ (ppm) :8.72 (d, 2H) , 8.11 (d, 2H) , 7.29 (s, 1H) , 4.85 (m, 1H) , 4.40 (m, 1H) , 4.08 (m, 3H) , 3.90 (m, 1H) , 3.75 (m, 1H) , 3.48 (m, 2H) , 2.35 (br s, 2H) , 1.18 (t, 3H)

[0297] 14.3 (+/-)-9-(2,4-二甲氧基-苯甲酰基氨基)-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,

9- 四氢 -4H-1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -7- 羧酸乙酯

[0298] 通过与实施例 1(步骤 1.8) 中的记载类似的方法,使用 9- 氨基 -4- 氧代 -2- 吡啶 -4- 基 -5,6,8,9- 四氢 -4H-1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -7- 羧酸乙酯和 2,4- 二甲氧基 - 苯甲酸代替 (+/-)-9- 氨基 -4- 氧代 -2- 吡啶 -4- 基 -5,6,8,9- 四氢 -4H-1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -7- 羧酸乙酯氢溴酸盐 (1 : 1) 和 4- 氯 -2- 甲氧基 - 苯甲酸,得到化合物 0.103g(76%), 为白色粉末状。

[0299] Mp :231-233℃。

[0300] RMN¹H(DMSO-d⁶;400MHz)

[0301] δ (ppm) :9.30(m,1H),8.80(d,2H),8.08(d,2H),8.01(d,1H),7.21(s,1H),6.80(m,1H),6.72(d,1H),5.59(m,1H),5.02(m,1H),4.28(m,1H),4.07(m,4H),3.98(s,3H),3.87(s,3H),3.51(m,1H),3.39(m,1H),1.14(m,3H)。

[0302] 实施例 15(表 1 的化合物 29)

[0303] 4- 氨基 -5- 氯 -2- 甲氧基 -N-(4- 氧代 -2- 吡啶 -4- 基 -4,5,6,7,8,9- 六氢 -1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -9- 基) - 苯甲酰胺

[0304] 向 0.040g(0.199mmol) 的 4- 氨基 -5- 氯 -2- 甲氧基 - 苯甲酸溶解在 5mL 无水二甲基甲酰胺的溶液中加入 0.06ml(0.43mmol) 的三乙胺、0.077g(0.20mmol) 的 O-(苯并三唑 -1- 基) -N, N, N' -N' - 四甲基脒六氟磷酸盐 (HBTU)。所得混合物室温搅拌 5 分钟,于 -10℃ 缓慢加入 0.090g(0.21mmol) 的 (+/-)-9- 氨基 -2- 吡啶 -4- 基 -6,7,8,9- 四氢 -5H-1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -4- 酮二氢溴酸盐 (2 : 1) 溶解在 5mL 的无水二甲基甲酰胺和 0.09mL(0.64mmol) 的三乙胺的混合物中的溶液中。所得混合物缓慢升至室温,并搅拌 16 小时。蒸发后,反应混合物稀释在二氯甲烷和饱和的碳酸钠水溶液中。有机相用饱和氯化钠水溶液洗涤,经硫酸钠干燥,并蒸发至干。剩余物通过色谱法在硅胶上用二氯甲烷 / 甲醇 / 氨水溶液 (29%) (比例为 97/3/0.3) 的混合物洗脱,得到 0.022g(23%) 的纯产物,为粉末状。

[0305] Mp :277-279℃。

[0306] RMN¹H(DMSO-d⁶;400MHz)

[0307] δ (ppm) :9.70(br s,2H),9.40(s,1H),9.25(m,1H),9.20(d,1H),8.28(d,1H),7.85(s,1H),7.48(s,1H),6.62(s,1H),6.18(br s,1H),5.75(m,1H),5.25(m,1H),4.06(m,1H),3.96(s,3H),3.61(m,2H),3.40(m,1H),3.18(m,1H)。

[0308] 实施例 16(表 1 的化合物 36)

[0309] (+/-)-9-[(4- 氯 -2- 甲氧基 - 苯甲酰基) - 甲基 - 氨基] -4- 氧代 -2- 吡啶 -4- 基 -5,6,8,9- 四氢 -4H-1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -7- 羧酸乙酯

[0310] 16.19-[(4- 甲氧基 - 苄基) - 甲基 - 氨基] -4- 氧代 -2- 吡啶 -4- 基 -5,6,8,9- 四氢 -4H-1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -7- 羧酸乙酯

[0311] 通过与实施例 12 中的记载类似的方法,使用 9-(4- 甲氧基 - 苄基氨基) -4- 氧代 -2- 吡啶 -4- 基 -5,6,8,9- 四氢 -4H-1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -7- 羧酸乙酯 (实施例 9) 代替 9- 氨基 -4- 氧代 -2- 吡啶 -4- 基 -5,6,8,9- 四氢 -4H-1,4a,7- 三氮杂 - 苯并环庚烯 -7- 羧酸乙酯和使用甲醛 (37%) 代替苯甲醛,得到的化合物为固体油状物。该化合物就这样用于后续步骤。

[0312] 16.2(+/-)-9-甲基氨基-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0313] 通过与实施例10(步骤10.1)中的记载类似的方法,使用9-[(4-甲氧基-苄基)-甲基-氨基]-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯代替9-(4-甲氧基-苄基氨基)-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯。

[0314] $RMN^1H(DMSO-d^6; 400MHz)$

[0315] δ (ppm): 8.72(d, 2H), 8.08(d, 2H), 7.18(s, 1H), 4.78(m, 1H), 4.28(m, 1H), 4.08(m, 3H), 3.86(m, 1H), 3.62(m, 3H), 2.41(s, 3H), 1.18(t, 3H)。

[0316] 16.3(+/-)-9-[(4-氯-2-甲氧基-苯甲酰基)-甲基-氨基]-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯

[0317] 通过与实施例1(步骤1.8)中的记载类似的方法,使用(+/-)-9-甲基氨基-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯代替(+/-)-9-氨基-4-氧代-2-吡啶-4-基-5,6,8,9-四氢-4H-1,4a,7-三氮杂-苯并环庚烯-7-羧酸乙酯氢溴酸盐(1:1),得到化合物0.075g(77%),为白色粉末状。

[0318] Mp: 232-234°C。

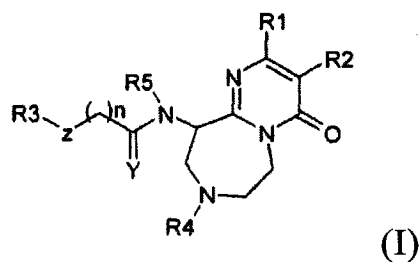
[0319] $RMN^1H(DMSO-d^6; 400MHz)$

[0320] δ (ppm): 8.75(m, 2H), 8.01(m, 2H), 7.28(s, 1H), 7.18(m, 3H), 5.94(m, 1H), 5.10(m, 1H), 4.22-3.81(m, 9H), 3.41(m, 1H), 3.02(s, 3H), 1.16(m, 3H)。

[0321] 在表1中给出了上述式(I)化合物的化学结构和物理数据的列表,以说明本发明。这些化合物已经根据实施例方法制备。

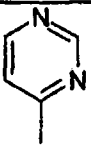
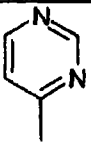
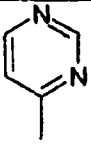
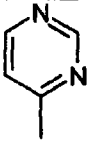
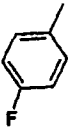
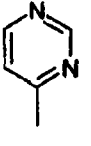
[0322] 在该表中, Me 表示甲基, Et 表示乙基, (Rot.) 表示对映异构体化合物的左旋或右旋性质, (dec.) 表示化合物分解。

[0323]

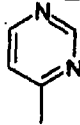
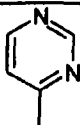
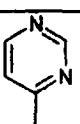
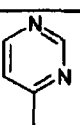
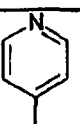
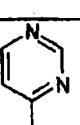
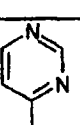
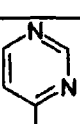
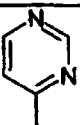
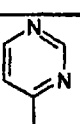


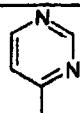
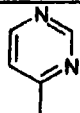
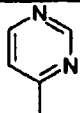
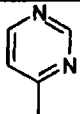
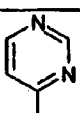
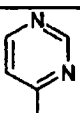
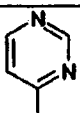
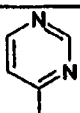
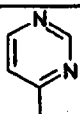
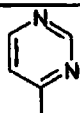
[0324] 表1

[0325]

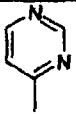
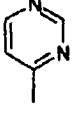
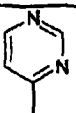
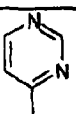
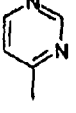
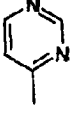
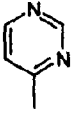
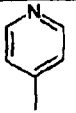
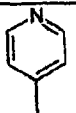
No.	Rot	R3	Z	R1	R4	R5	R2	Y	n	Mp °C	盐
1	(+/-)		键		CO ₂ Et	H	H	O	0	175-177	游离碱
2	(+/-)		键		H	H	H	O	0	256-258	盐酸盐 (1:1)
3	(+/-)		键		Me	H	H	O	0	197-199	盐酸盐 (1:1)
4	(+/-)		键			H	H	O	0	207-209	游离碱
5	(+/-)		键			H	H	O	0	187-190	盐酸盐 (1:1)

[0326]

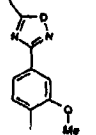
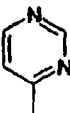
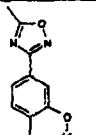
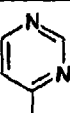
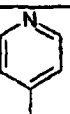
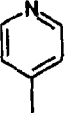
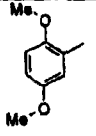
No.	Rot	R3	Z	R1	R4	R5	R2	Y	n	Mp °C	盐
6	(+/-)		键			H	H	O	0	194-196	盐酸盐 (1:1)
7	(+/-)		键			H	H	O	0	243-245	盐酸盐 (1:1)
8	(+/-)		键		H	H	H	O	0	225-227	盐酸盐 (1:1)
9	(+/-)		键		H	H	H	O	0	227-229	盐酸盐 (1:1)
10	(+/-)		键		H	H	H	O	0	233-236	盐酸盐 (1:1)
11	(-)		键		H	H	H	O	0	247-249	游离碱
12	(+)		键		H	H	H	O	0	240-242	游离碱
13	(+/-)		键		CO ₂ Et	H	H	H, H	0	217-219	盐酸盐 (1:1)
14	(+/-)		键		CO ₂ Et	H	H	H, H	0	144-146	游离碱
15	(-)		键		Me	H	H	O	0	239-241	游离碱

No.	Rot	R3	Z	R1	R4	R5	R2	Y	n	Mp °C	盐
<u>16</u>	(+)		键		Me	H	H	O	0	232-234	游离碱
<u>17</u>	(+/-)		键		CO2Et	H	H	O	0	204-206	游离碱
<u>18</u>	(+/-)		键		CO2Et	H	H	O	0	206-208	游离碱
<u>19</u>	(+/-)		键		CO2Et	H	H	O	0	259-261	游离碱
<u>20</u>	(+/-)		键		CO2Et	H	H	O	0	250-252	游离碱
<u>21</u>	(+/-)		键		CO2Et	H	H	O	0	182-184	游离碱
<u>22</u>	(+/-)		键		H	H	H	O	0	213-216	盐酸盐 (1:1)
<u>23</u>	(+/-)		键		H	H	H	O	0	217-220	游离碱
<u>24</u>	(+/-)		键		H	H	H	O	0	245-247	盐酸盐 (1:1)
<u>25</u>	(+/-)		键		CO2Et	H	H	H, H	0	186-188	盐酸盐 (1:1)

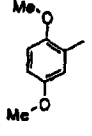
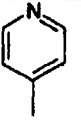
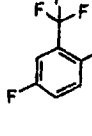
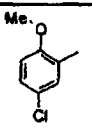
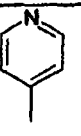
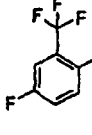
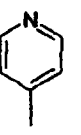
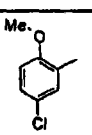
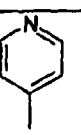
[0328]

No.	Rot	R3	Z	R1	R4	R5	R2	Y	n	Mp °C	盐
<u>26</u>	(+/-)		键		Me	H	H	O	0	195-197	盐酸盐 (1:1)
<u>27</u>	(+/-)		键		H	H	H	H, H	0	210-212	氢溴酸盐 (1:2)
<u>28</u>	(+/-)		键		CO ₂ Et	H	H	O	0	265-267	游离碱
<u>29</u>	(+/-)		键		H	H	H	O	0	277-279	游离碱
<u>30</u>	(+/-)		键		Me	H	H	O	0	204-206	游离碱
<u>31</u>	(+/-)		键		Me	H	H	O	0	212-214	游离碱
<u>32</u>	(+/-)		键		H	H	H	O	0	214-216	盐酸盐 (1:1)
<u>33</u>	(+/-)		键		CO ₂ Et	H	H	O	0	231-233	游离碱
<u>34</u>	(+/-)		键		CO ₂ Et	H	H	O	0	205-207	游离碱
<u>35</u>	(+/-)		键		CO ₂ Et	H	H	O	0	210-212	游离碱

[0329]

No.	Rot	R3	Z	R1	R4	R5	R2	Y	n	Mp °C	盐
<u>36</u>	(+/-)		键		CO ₂ Et	Me	H	O	0	232-234	游离碱
<u>37</u>	(+/-)		键		H	H	H	O	0	203-205	游离碱
<u>38</u>	(+/-)		键		Me	H	H	O	0	157-159	游离碱
<u>39</u>	(+/-)		键		Me	H	H	O	0	216-218	盐酸盐 (1:1)
<u>40</u>	(+/-)		键			H	H	O	0	220-222	盐酸盐 (1:1)
<u>41</u>	(+/-)		键		H	H	H	O	0	234-236	盐酸盐 (1:1)
<u>42</u>	(+/-)		键			H	H	O	0	212-214	盐酸盐 (1:1)
<u>43</u>	(+/-)		键		H	H	H	O	0	228-230	盐酸盐 (1:1)
<u>44</u>	(+/-)		键			H	H	O	0	204-206	盐酸盐 (1:1)
<u>45</u>	(+/-)		键			H	H	O	0	239-241	盐酸盐 (1:1)

[0330]

No.	Rot	R3	Z	R1	R4	R5	R2	Y	n	Mp °C	盐
46	(+/-)		键		H	H	H	O	0	214-216	盐酸盐 (1:1)
47	(+/-)		键		H	H	H	O	0	231-233	盐酸盐 (1:1)
48	(+/-)		键		H	H	H	O	0	234-236	盐酸盐 (1:1)
49	(+/-)		键		Me	H	H	O	0	215-217	盐酸盐 (1:1)
50	(+/-)		键			H	H	O	0	198-200	盐酸盐 (1:1)

[0331] 测试实施例：本发明药物对 GSK3 β 的抑制活性：

[0332] 可以使用四种不同的方案。

[0333] 在第一种方案中：7.5 μ M 的预磷酸化的 GS1 肽和 10 μ M ATP (含 300000cpm 的 33 P-ATP) 在 25mM Tris-HCl、pH 7.5、0.6mM DTT、6mM MgCl₂、0.6mM EGTA、0.05mg/ml BSA 缓冲液中于 GSK3 β 存在下室温温育 1 小时 (总反应体积：100 微升)。

[0334] 在第二种方案中：4.1 μ M 的预磷酸化的 GS1 肽和 42 μ M ATP (含 260000cpm 33 P-ATP) 在 80mM Mes-NaOH、pH 6.5、1mM 乙酸镁、0.5mM EGTA、5mM 2-巯基乙醇、0.02% Tween 20、10% 甘油缓冲液中于 GSK3 β 存在下室温温育 2 小时。

[0335] 在第三种方案中：7.5 μ M 的预磷酸化的 GS1 肽和 10 μ M ATP (含 300000cpm 的 33 P-ATP) 在 50mM Hepes、pH 7.2、1mM DTT、1mM MgCl₂、1mM MEGTA、0.01% Tween 20 缓冲液中于 GSK3 β 存在下室温温育 1 小时 (总反应体积：100 微升)。

[0336] 在第四种方案中：7.5 μ M 的预磷酸化的 GS1 肽和 10 μ M ATP (含 300000cpm 的 33 P-ATP) 在 50mM Hepes、pH 7.2、1mM DTT、1mM MgCl₂、1mM MEGTA、0.01% Tween 20 缓冲液中于市售 GSK3 β (Millipore) 存在下室温温育 90 分钟 (总反应体积：100 微升)。

[0337] 将抑制剂溶解在 DMSO 中 (在反应介质中的最终溶剂浓度，1%)。

[0338] 反应用 100 微升的溶液终止，所述溶液用 25g 聚磷酸 (85% P₂O₅)、126ml 85% H₃PO₄ 和加至 500ml 的 H₂O 制成，然后在使用前以 1：100 稀释。然后将一份反应混合物转移至 Whatman P81 阳离子交换过滤器上，并用上述溶液洗涤。混入的 33 P 的放射性通过液体闪烁光谱法 (scintillation spectrometry) 确定。

[0339] 磷酸化的 GS-1 肽具有以下序列：

[0340] NH₂-YRRAAVPPSPSLSRHSSPHQS (P) EDEE-COOH (Woodgett, J. R. (1989) *Analytical Biochemistry* 180, 237-241.

[0341] 本发明化合物的 GSK3 β 抑制活性以 IC₅₀ 表达, 作为说明, 表 1 中的化合物的各 IC₅₀ 的范围在 0.1nM 至 3 μ M 的浓度之间。

[0342] 例如, 对于第四种方案, 表 1 的化合物 7 显示的 IC₅₀ 为 0.046 μ M, 表 1 的化合物 12 显示的 IC₅₀ 为 0.0003 μ M, 表 1 的化合物 21 显示的 IC₅₀ 为 0.005 μ M, 表 1 的化合物 35 显示的 IC₅₀ 为 0.012 μ M。

[0343] 制剂实施例

[0344] (1) 片剂

[0345] 通过普通方法混合下列成分并使用常规的设备进行压片。

[0346] 实施例 1 的化合物 30mg

[0347] 微晶纤维素 60mg

[0348] 玉米淀粉 100mg

[0349] 乳糖 200mg

[0350] 硬脂酸镁 4mg

[0351] (2) 软胶囊

[0352] 通过普通方法混合下列成分, 并填充入软胶囊中。

[0353] 实施例 1 的化合物 30mg

[0354] 橄榄油 300mg

[0355] 卵磷脂 20mg

[0356] (1) 胃肠外制剂

[0357] 通过普通方法混合下列成分以制备含在 1ml 安瓿中的注射液。

[0358] 实施例 1 的化合物 3mg

[0359] 氯化钠 4mg

[0360] 用于注射的蒸馏水 1ml

[0361] 工业实用性

[0362] 本发明的化合物具有 GSK3 β 抑制活性, 并且可以用作药物的活性成分用于预防性和 / 或治疗性治疗由 GSK3 β 的异常活性引起的疾病, 更特别为神经变性疾病。