



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 103601673 B

(45) 授权公告日 2016. 03. 16

(21) 申请号 201310641958. 4

(22) 申请日 2010. 07. 05

(30) 优先权数据

61/222, 979 2009. 07. 03 US

(62) 分案原申请数据

201080038314. 0 2010. 07. 05

(73) 专利权人 阿普泰克斯科技公司

地址 加拿大安大略

(72) 发明人 谭添发 里吉斯·梁-童 王颖声

赵炎青 忻涛 波恩库马尔·沙

布莱兹·恩泽姆巴

约兰塔·玛丽亚·沃金斯卡

麦瑞纳·布莱美斯洛瓦

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理

有限责任公司 11204

代理人 王达佐 安佳宁

(51) Int. Cl.

C07D 213/69(2006. 01)

A61K 31/4412(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

A61P 11/00(2006. 01)

A61P 13/12(2006. 01)

A61P 25/28(2006. 01)

(56) 对比文件

WO 2009103950 A1, 2009. 08. 27, 全文.

WO 2004006856 A2, 2004. 01. 22, 全文.

CN 1142821 A, 1997. 02. 12, 全文.

CN 1040193 A, 1990. 03. 07, 全文.

WO 9854138 A1, 1998. 12. 03, 全文.

US 4585780 A, 1986. 04. 29, 全文.

US 4665064 A, 1987. 05. 12, 全文.

EP 0120670 A1, 1984. 10. 03, 全文.

WO 2008116301 A1, 2008. 10. 02, 权利要求
1, 26-30, 第 56 页实施例 13, 图 1- 图 5.

李晓. 铁螯合剂治疗的新进展. 《世界临床药
物》. 2007, 第 28 卷 (第 08 期), 第 479-481 页.

陈卫民, 等. 微波催化 3- 羟基吡啶-4- 酮类
化合物的合成. 《第一军医大学学报》. 1998, 第
18 卷 (第 04 期), 第 282-283 页.

吉爱国. 铁螯合剂 1- 羟乙基-2- 乙基-3- 羟
基吡啶-4- 酮的合成. 《中国医药工业杂
志》. 1998, 第 29 卷 (第 05 期), 第 203-204 页.

陈卫民, 等. 由糠醛合成铁螯合剂 1- 烷
基-2- 乙基-3- 羟基吡啶-4- 酮. 《第一军医大学
学报》. 1994, 第 14 卷 (第 01 期), 第 51-53 页.

审查员 陈昊

(54) 发明名称

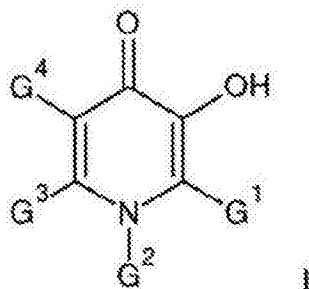
3- 羟基吡啶-4- 酮的氟化衍生物

(57) 摘要

提供了为 3- 羟基吡啶-4- 酮衍生物的通式 I
化合物. 所述化合物可以用于治疗与铁的毒性浓
度有关的医学疾病状态. 所述化合物可以用于制
备用于治疗与铁的毒性浓度有关的医学疾病状
态的药物. 所述与铁的毒性浓度有关的医学疾病
状态可以选自癌症、肺病、进展性肾病和弗里德
共济失调。

权利要求书1页 说明书69页 附图10页

1. 通式 I 化合物：



其中 G^1 为 H 或 C_1-C_4 烷基；

G^2 为 $(CH_2)_nCF_2R^3$ ，其中 n 为 1 以及 R^3 为 H 或 F；

G^3 为 H 或 C_1-C_4 烷基；以及

G^4 为 H。

2. 如权利要求 1 所述的化合物，其中 R^3 为 H。

3. 如权利要求 1 所述的化合物，其中 R^3 为 F。

4. 如权利要求 3 所述的化合物，其中 G^1 为 H 并且 G^3 为甲基。

5. 如权利要求 3 所述的化合物，其中 G^1 为甲基并且 G^3 为 H。

6. 如权利要求 3 所述的化合物，其中 G^1 为乙基并且 G^3 为 H。

7. 如权利要求 3 所述的化合物，其中 G^1 为 H 并且 G^3 为 H。

8. 如权利要求 2 所述的化合物，其中 G^1 为甲基并且 G^3 为 H。

9. 如权利要求 2 所述的化合物，其中 G^1 为 H 并且 G^3 为甲基。

10. 权利要求 1 至 9 中任一权利要求所述的化合物在制备用于治疗与铁的毒性浓度有关的医学疾病状态的药物中的用途。

11. 如权利要求 10 所述的用途，其中所述与铁的毒性浓度有关的医学疾病状态选自：癌症、肺病、进展性肾病和弗里德赖希共济失调。

3- 羟基吡啶 -4- 酮的氟化衍生物

[0001] 本申请是 2010 年 07 月 05 日提交的发明名称为“3- 羟基吡啶 -4- 酮的氟化衍生物”的第 201080038314.0 号中国发明专利申请的分案申请。

[0002] 背景

[0003] 能够将人体内铁毒性的出现归类为铁超载和非铁超载疾病状态。铁超载疾病状态通常存在于经过长期输血的地中海贫血症患者中和遗传性血色病患者中。非铁超载疾病状态包括葱环介导的心脏中毒、病毒感染、神经组织退化疾病、光诱导损伤以及增生性疾病状态。在 Tarn 等人, *Current Medicinal Chemistry*, 2003, 10, 983-995 和 Hider 等人, *BioMetals*, 2007, 20, 639-654 中评述了铁螯合剂在治疗多种疾病中的潜在用途。

[0004] 目前, 存在已进入市场的多种铁螯合剂药物。那些的实例包括去铁酮 (Ferriprox™)、ICL670 (ExJade™)、右丙亚胺盐酸盐 (Zinecard™) 和甲磺酸去铁敏 (Desferal™)。然而, 这些化合物中仅有两个, 即去铁酮和 ICL670 对除去铁超载疾病中的铁为口服活性的。

[0005] 概述

[0006] 在设计导致改善的脑暴露的 3- 羟基吡啶 -4- 酮中, 一种方法是通过在 3- 羟基吡啶 -4- 酮的 C2 或 C5 或 C6 位引入三氟乙基来增加螯合剂的亲油性 (US20080242706)。本发明部分基于在 3- 羟基吡啶 -4- 酮骨架的 N1 位具有三氟乙基的化合物或在 3- 羟基吡啶 -4- 酮骨架的 C2 位具有 2- 二氟乙基的化合物。在设计新的二齿 3- 羟基吡啶 -4- 酮配体 (L) 时也考虑使用低分子量取代基。在与金属 (M) 络合时形成 ML_n 配合物, 例如 FeL_3 。

[0007] 已知胺有利地优先与位于 BBB (血脑屏障) 的带负电的磷脂首基相互作用。通常, 碱更好地渗透入 CNS (中枢神经系统) (第 10 章, *Blood Brain Barrier in Drug-Like Properties: Concepts, Structure Design and Methods* (血脑屏障的类药物性质: 概念、结构设计和方法), Edward H. Kerns 和 Li Di, Academic Press, Elsevier 2008)。因此, 设计并合成了在 3- 羟基吡啶 -4- 酮骨架的 C2 或 N1 或 C5 或 C6 位具有三氟乙基的一系列氨基衍生物。那些化合物的选择性实例为 2-[1-(二甲基氨基)-2, 2, 2-三氟乙基]-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮 (Apo7041)、5-[1-(二甲基氨基)-2, 2, 2-三氟乙基]-3-羟基-1, 2-二甲基吡啶-4(1H)-酮 (Apo7053) 和 6-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-1-甲基-2-(2, 2, 2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (Apo7021) 以及 2-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-1-(2, 2, 2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (Apo7067)。

[0008] 本发明部分基于下述偶然发现, 在大鼠的盒式给药 BBB 研究中, 与去铁酮相比, 诸如 2-[1-(二甲基氨基)-2, 2, 2-三氟乙基]-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮 (Apo7041) 的氨基衍生物更不趋于 BBB 渗透。物理化学研究确定 Apo7041 ($pK_a=3.51$) 比正常脂族胺碱性较小。本发明的某些选择性胺衍生物是弱碱, 并且 pK_a 为 3.5 至 6.0。

[0009] 本发明的弱碱是亲脂性的并且也可以具有在生物体系酸性室积聚的能力。另外, 本发明化合物的金属螯合物可以具有在比去铁酮的金属螯合物显著较低的 pH 时保持稳定的特有性质。本发明的化合物可以用于生物疾病状态, 例如癌症、炎性肺部病症和肾病的治疗, 其中所述治疗需要弱碱以在酸性室中积聚并在弱酸性条件下隔离游离铁以形成稳定的

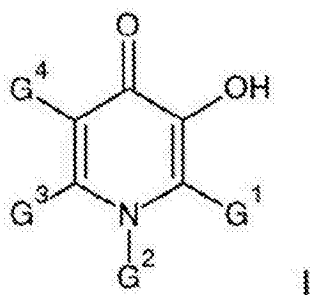
铁螯合物,这导致铁的去除。

[0010] 另一方面,具有 $pK_a > 6.0$ 的碱性胺的 3-羟基吡啶-4-酮的氟化衍生物与诸如 Apo7041 的弱碱性胺相比具有不同性质。这样的实例是 2-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (Apo7067, $pK_a = 6.1$)。Apo7067 比去铁酮具有更高的亲脂性,并且容易渗透大鼠盒式给药 BBB 研究中的 BBB。

[0011] 本发明的非氨基氟化 3-羟基吡啶-4-酮衍生物通常比去铁酮具有更高的亲脂性并且能够在脑部区域积聚。那些化合物的实例是 3-羟基-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (Apo6995)、3-羟基-2-(羟基甲基)-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (Apo7064)、2-(2,2-二氟乙基)-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮 (Apo7080) 和 2-(2,2-二氟-1-羟基乙基)-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮 (Apo7078)。诸如 Apo6995 的化合物可以用作用于在脑部积聚的低分子量铁螯合剂。一个可能的用途是治疗弗里德赖希共济失调,其中铁去除或再分布的位点在脑部。

[0012] 在本发明的示例性实施方案中,提供了通式 I 化合物:

[0013]



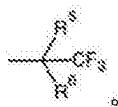
[0014] 其中 G^1 为 H、 C_1-C_4 烷基、 CH_2OH 、 $CH_2NR^1R^2$ 、 $CH(R^4)CF_3$ 、 $CH(R^7)CF_2H$ 、 NR^1R^2 , 或者

G^2 为 H、 C_1-C_4 烷基、环丙基或 $(CH_2)_nCF_2R^3$; G^3 为 H、 C_1-C_4 烷基、 CH_2OH 、 $CH_2NR^1R^2$ 、 $CH(R^6)CF_3$ 、

CH_2-A-OH 、 $CH_2-A-NHR^9$ 或 CH_2CF_3 或 并且 G^4 为 H、 C_1-C_4 烷基、卤素或 $CH(R^8)CF_3$; n 为

1、2 或 3; R^1 和 R^2 或者为 (a) 两个独立的基团或者 (b) 一起形成单环基团; 当 R^1 和 R^2 为独立基团时, R^1 和 R^2 独立地选自 H、 C_1-C_4 烷基、 C_3-C_6 环烷基、烯丙基和炔丙基; 当 R^1 和 R^2 一起形成单环基团时, R^1 和 R^2 选自哌嗪基、N-(C_1-C_4 烷基)-取代的哌嗪基、吗啉基和哌啶基; R^3 为 H 或 F; R^4 和 R^7 独立地选自 H、OH、 NR^1R^2 、咪唑基、1,2,4-三唑基、哌嗪基、N- C_1-C_4 烷基哌嗪基、N-苄基哌嗪基、N-苯基哌嗪基、2-吡啶基哌嗪基和 $-A-NH-R^{10}$; 并且当 R^4 或 R^7 为咪唑基、1,2,4-三唑基、哌嗪基、N- C_1-C_4 烷基哌嗪基、N-苄基哌嗪基、N-苯基哌嗪基、2-吡啶基哌嗪基或 $-A-NH-R^{10}$ 时, R^4 或 R^7 与 G^1 的 CH 部分的连接点为 R^4 或 R^7 的 N 原子; R^5 为 C_1-C_4 烷基; R^6 为 H 或 OH; R^8 选自: NR^1R^2 、咪唑基、1,2,4-三唑基、哌嗪基、N- C_1-C_4 烷基哌嗪基、N-苄基哌嗪基、N-苯基哌嗪基、2-吡啶基哌嗪基和 $-A-NH-R^{10}$; 并且当 R^8 为咪唑基、1,2,4-三唑基、哌嗪基、N- C_1-C_4 烷基哌嗪基、N-苄基哌嗪基、N-苯基哌嗪基、2-吡啶基哌嗪基或 $-A-NH-R^{10}$ 时, R^8 与 G^4 的 CH 部分的连接点为 R^8 的 N 原子; R^9 和 R^{10} 独立地为 H 或 C_1-C_4 烷基; A 为 $-NH-(CH_2)_m-CO-$ 或 α 氨基酸残基; m 为 1、2 或 3; 并且条件是 G^1 、 G^2 、 G^3 和 G^4 中的至少一个包含至少一个氟部分; 当 G^1 为 $CH(R^4)CF_3$ 并且 R^4 为 H 或 OH, 则或者 (i) G^3 为 $CH_2NR^1R^2$ 、 CH_2-A-OH 、 $CH_2-A-NHR^9$

或者 (ii) G^4 为卤素或 $CH(NR^1R^2)CF_3$; 并且当 G^3 为 $CH(R^6)CF_3$ 时, 则 G^1 为 $CH_2NR^1R^2$ 、 $CH(R^4)CF_3$ 、

$CH(R^7)CF_2H$ 、 NR^1R^2 或 

[0015] 在本发明的示例性实施方案中, 提供了本文所述的化合物在治疗与铁的毒性浓度有关的医学疾病状态中的用途。所述用途可以用于制备药物。与铁的毒性浓度有关的医学疾病状态可以选自: 癌症、肺病、进展性肾病和弗里德赖希共济失调。

[0016] 在本发明的示例性实施方案中, 提供了医学治疗方法, 其包括向患有或疑似患有与铁的毒性浓度有关的医学疾病状态的个体给予治疗有效量的本文所述的化合物。与铁的毒性浓度有关的医学疾病状态可以选自癌症、肺病、进展性肾病和弗里德赖希共济失调。

[0017] 在参照下列本发明的具体实施方案的描述以及附图时, 本发明的其它方面和特征对本领域技术人员而言将变得显而易见。

[0018] 附图简述

[0019] 图 1 是诸如去铁酮和去铁敏 B 的确定药物的 $E_{1/2}$ 区的图示。当三价铁螯合物的 $E_{1/2}$ 值落在 -320mV (mV 对 NHE) 以下时, 该螯合物不是氧化还原活性的, 并且其性质落入诸如去铁酮和去铁敏 B 的确定药物以及诸如铁传递蛋白的体蛋白的 $E_{1/2}$ 区内。通式 I 化合物的 $E_{1/2}$ 值落在铁草胺 B (去铁敏 B 的铁螯合物) 和 $Fe(\text{去铁酮})_3$ 之间的区域内。去铁酮和 Apo7041 二者均为 3-羟基吡啶-4-酮衍生物。去铁酮为 3-羟基-1, 2-二甲基吡啶-4(1H)-酮并且 Apo7041 为 2-[1-(二甲基氨基)-2, 2, 2-三氟乙基]-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮。

[0020] 图 2 是通式 I 的三个示例性化合物的 Fe 螯合物的循环伏安法 (CV) 的图示, Apo7041 ($G^2=\text{Me}$, $G^1=\text{CH}(\text{NMe}_2)\text{CF}_3$, $G^4=\text{H}$, $G^3=\text{H}$)、Apo7053 ($G^2=\text{Me}$, $G^1=\text{Me}$, $G^4=\text{CH}(\text{NMe}_2)\text{CF}_3$, $G^3=\text{H}$)、Apo7069 ($G^2=\text{CH}_2\text{CHF}_2$, $G^1=\text{Me}$, $G^4=\text{H}$, $G^3=\text{H}$)。

[0021] 图 3A 是通式 I 化合物 Apo7053, 即 5-[1-(二甲基氨基)-2, 2, 2-三氟乙基]-3-羟基-1, 2-二甲基吡啶-4(1H)-酮的 Job's Plot 的图示。

[0022] 图 3B 是在 pH7.4 下, 在 0.1M MOPS 中的 $[Fe]_{\text{总}} + [Apo7041]_{\text{总}} = 8 \times 10^{-4}\text{M}$ 的 Fe-Apo7041 体系的 Job's Plot 的图示。

[0023] 图 4 是具有 $[Fe] = 1 \times 10^{-6}\text{M}$ 且 $[\text{去铁酮}] = 1 \times 10^{-5}\text{M}$ 的比为 1:10 的 Fe: 去铁酮体系的 Fe 物种形成曲线的图示。

[0024] 图 5 是具有 $[Fe] = 1 \times 10^{-6}\text{M}$ 且 $[Apo7041] = 1 \times 10^{-5}\text{M}$ 的比为 1:10 的 Fe:Apo7041 体系的 Fe 物种形成曲线的图示。

[0025] 图 6 是 Apo7041 螯合物的质子化的图示。弱碱的 Fe-螯合物是质子冷阱。通过胺部分 FeL_3 到 FeL_2 的质子化作用而质子化的 FeL_3 存在于酸性介质中。 FeL_3 到 FeL_2 的转化仅发生在极低酸性的 pH 下。

[0026] 图 7 是中性 3-羟基吡啶-4-酮的 FeL_3 到 FeL_2 的降解的图示。

[0027] 图 8 是 Apo7041 配体的图示。设计在 C2 位的位阻效应以阻滞涉及 C3 氧的葡萄糖苷酸化的 II 相代谢。

[0028] 图 9 是显示当使用过氧化氢和铁盐处理苯甲酸时, 通式 I 化合物和去铁酮抑制羟基苯甲酸形成的图示。y 轴是指形成的 2-羟基苯甲酸、3-羟基苯甲酸和 4-羟基苯甲酸的总浓度 (单位: μM)。

[0029] 图 10 是去铁酮对 MPP+ 处理的 SV-NRA 细胞的神经保护作用的图示。当与未处理

媒介对照相比时, MPP⁺处理减少了细胞存活力。用去铁酮、铁螯合剂药物进行的处理导致细胞存活力增加约 20% ($p < 0.05$)。

[0030] 图 11 是显示通式 I 化合物 Apo7021 对 MPP⁺ 处理的 SV-NRA 细胞的神经保护作用的图示。

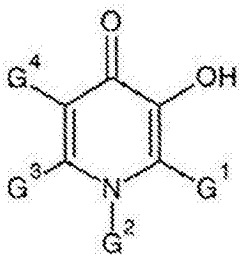
[0031] 图 12 是显示通式 I 化合物 Apo7060 对 MPP⁺ 处理的 SV-NRA 细胞的神经保护作用的图示。

[0032] 图 13 是显示通式 I 化合物 Apo6995 对 MPP⁺ 处理的 SV-NRA 细胞的神经保护作用的图示。

[0033] 详述

[0034] 本发明的化合物包括具体通式 I 的结构化合物：

[0035]

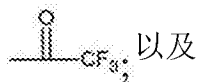


[0036] 其中：

[0037] G^1 为 H、 C_1-C_4 烷基、 CH_2OH 、 $CH_2NR^1R^2$ 、 $CH(R^4)CF_3$ 、 $CH(R^7)CF_2H$ 、 NR^1R^2 ，或者

[0038] G^2 为 H、 C_1-C_4 烷基、环丙基或 $(CH_2)_nCF_2R^3$ ；

[0039] G^3 为 H、 C_1-C_4 烷基、 CH_2OH 、 $CH_2NR^1R^2$ 、 $CH(R^6)CF_3$ 、 CH_2-A-OH 、 $CH_2-A-NHR^9$ 或 CH_2CF_3 或



[0040] G^4 为 H、 C_1-C_4 烷基、卤素或 $CH(R^8)CF_3$ ；

[0041] n 为 1、2 或 3；

[0042] R^1 和 R^2 或者为 (a) 两个独立的基团或者为 (b) 一起形成单环基团；

[0043] 当 R^1 和 R^2 为独立基团时， R^1 和 R^2 独立地选自 H、 C_1-C_4 烷基、 C_3-C_6 环烷基、烯丙基和炔丙基；

[0044] 当 R^1 和 R^2 一起形成单环基团时， R^1 和 R^2 选自哌嗪基、N-(C_1-C_4 烷基)-取代的哌嗪基、吗啉基和哌啶基；

[0045] R^3 为 H 或 F；

[0046] R^4 和 R^7 独立地选自 H、OH、 NR^1R^2 、咪唑基、1,2,4-三唑基、哌嗪基、N- C_1-C_4 烷基哌嗪基、N-苄基哌嗪基、N-苯基哌嗪基、2-吡啶基哌嗪基和 $-A-NH-R^{10}$ ；并且当 R^4 或 R^7 为咪唑基、1,2,4-三唑基、哌嗪基、N- C_1-C_4 烷基哌嗪基、N-苄基哌嗪基、N-苯基哌嗪基、2-吡啶基哌嗪基或 $-A-NH-R^{10}$ 时， R^4 或 R^7 与 G^1 的 CH 部分的连接点为 R^4 或 R^7 的 N 原子；

[0047] R^5 为 C_1-C_4 烷基；

[0048] R^6 为 H 或 OH；

[0049] R^8 选自: NR^1R^2 、咪唑基、1, 2, 4-三唑基、哌嗪基、 $N-C_1-C_4$ 烷基哌嗪基、 N -苄基哌嗪基、 N -苯基哌嗪基、2-吡啶基哌嗪基和 $-A-NH-R^{10}$; 并且当 R^8 为咪唑基、1, 2, 4-三唑基、哌嗪基、 $N-C_1-C_4$ 烷基哌嗪基、 N -苄基哌嗪基、 N -苯基哌嗪基、2-吡啶基哌嗪基或 $-A-NH-R^{10}$ 时, R^8 与 G^4 的 CH 部分的连接点为 R^8 的 N 原子;

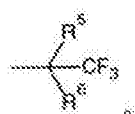
[0050] R^9 和 R^{10} 独立地为 H 或 C_1-C_4 烷基;

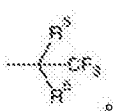
[0051] A 为 $-NH-(CH_2)_mCO-$ 或 α 氨基酸残基;

[0052] m 为 1、2 或 3; 并且

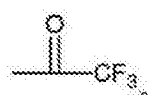
[0053] 条件是 G^1 、 G^2 、 G^3 和 G^4 中的至少一个包含至少一个氟部分;

[0054] 当 G^1 为 $CH(R^4)CF_3$ 并且 R^4 为 H 或 OH 时, 则或者 (i) G^3 为 $CH_2NR^1R^2$ 、 CH_2-A-OH 、 $CH_2-A-NHR^9$ 或者 (ii) G^4 为卤素或 $CH(NR^1R^2)CF_3$; 以及

[0055] 当 G^3 为 $CH(R^6)CF_3$ 时, 则 G^1 为 $CH_2NR^1R^2$ 、 $CH(R^4)CF_3$ 、 $CH(R^7)CF_2H$ 、 NR^1R^2 或 

[0056] 当 G^1 包含氟部分时, 则 G^1 选自: $CH(R^4)CF_3$ 、 $CH(R^7)CF_2H$ 和 

[0057] 当 G^2 包含氟部分时, 则 G^2 为 $(CH_2)_nCF_2R^3$ 。

[0058] 当 G^3 包含氟部分时, 则 G^3 选自: $CH(R^6)CF_3$ 、 CH_2CF_3 和 

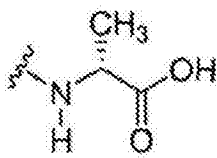
[0059] 如本文所用, 除非本文另外明确指出, A 可以为 $-NH-(CH_2)_mCO-$, 其中 m 为 1、2 或 3, 或 α 氨基酸残基。 A 具有通过氮原子 (N 原子) 与化合物的连接点。连接点可以例如在氨基酸残基的 N -末端。如果氨基酸为赖氨酸或鸟氨酸, 则或者赖氨酸的 αN 或 ϵN , 或者鸟氨酸的 αN 或 δN 能够为连接点。在 $A-NHR^9$ 或 $A-NHR^{10}$ 部分中, 氨基酸残基的羧酸形成了具有 NHR^9 或 NHR^{10} 的氮原子的酰胺。在 $A-OH$ 部分中, 氨基酸残基的 C -端是羧酸。

[0060] 如本文所用的氨基酸残基包括但不限于任何自然产生的 α 、 β 和 γ 氨基羧酸, 包括其 D 和 L 光学异构体, 以及这些氨基酸的 N -低级烷基-和 N -苯基低级烷基-衍生物。氨基酸残基通过氨基酸的氮而连接。能够并入本发明的自然产生的氨基酸包括但不限于丙氨酸 (ala)、精氨酸 (arg)、天冬酰胺酸 (asn)、天冬氨酸 (asp)、半胱氨酸 (cys)、胱氨酸、谷氨酸 (glu)、谷氨酸盐 (gin)、氨基乙酸 (gly)、组氨酸 (his)、异亮氨酸 (iso)、亮氨酸 (leu)、赖氨酸 (lys)、甲硫氨酸 (met)、鸟氨酸 (orn)、苯基丙氨酸 (phe)、脯氨酸 (pro)、丝氨酸 (ser)、苏氨酸 (thr)、甲状腺氨酸、色氨酸 (trp)、酪氨酸 (tyr)、缬氨酸 (val)、 β -丙氨酸 (β -ala) 和 γ -氨基丁酸 (gaba)。优选的氨基酸残基包括脯氨酸、亮氨酸、苯基丙氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、 γ -氨基丁酸、缬氨酸、氨基乙酸和苯基甘氨酸。

[0061] 除了氨基乙酸所有的 α -氨基酸都包括至少一个不对称碳原子。因此, 它们是光学活性的, 作为外消旋混合物存在 D 或 L 型。因此, 可以制备光学活性形式的本发明的某些化合物或者本文所主张的化合物的外消旋混合物。

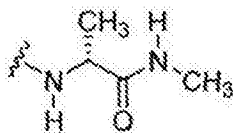
[0062] 例如, 其中 A 为 D -丙氨酰基的术语 $A-OH$ 具有下列结构:

[0063]



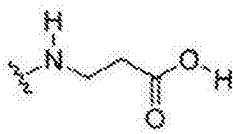
[0064] 其中 A 为 D-丙氨酰基的术语 A-NHMe 具有下列结构：

[0065]



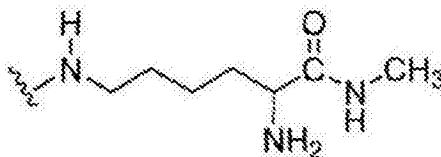
[0066] 其中 A 为 $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-$ 的术语 A-OH 具有下列结构：

[0067]



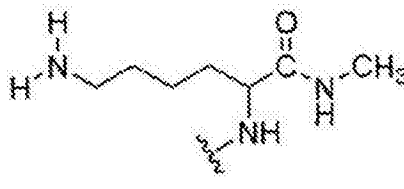
[0068] 其中 A 是 ϵ -赖氨酰基的术语 A-NHMe 具有下列结构：

[0069]



[0070] 其中 A 是 α -赖氨酰基的术语 A-NHMe 具有下列结构：

[0071]



[0072] 除非另外指出,如本文所用的术语“烷基”其自身或作为其它取代基的一部分是指具有指定碳原子数(即, C_1-C_{10} 或1至10元是指一至十个碳)的直链或支链烃基,并且能够包括二价和多价基团。如果不明确指出,则烷基的碳数可被认为是 C_1-C_{10} 和任何其它范围和/或其中的具体数值。烷基的实例包括但不限于下列基团,例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基、仲丁基,诸如正戊基、正己基、正庚基、正辛基等的同族体和异构体。除非另外指出,术语“烷基”不意图包括诸如“杂烷基”的烷基衍生物。

[0073] 除非另外指出,术语“环烷基”其自身或与其它术语组合的术语“环烷基”表示“烷基”的环状变体。环烷基的实例包括但不限于环戊基、环己基、环庚基等。

[0074] 除非另外指出,术语“卤代”或“卤素”其自身或作为其它取代基的一部分是指氟、氯、溴或碘原子。另外,诸如“卤代烷基”的术语是指包括单卤代烷基和多卤代烷基。例如,术语“卤代(C_1-C_4)烷基”表示包括但不限于三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、4-氯丁基、3-溴丙基等。

[0075] 如本文所用的术语“取代的”是指在化合物上用取代基替换氢原子。取代基可以

为非氢原子,或者其中至少一个是非氢原子且一个或多个可以或可以不是氢原子的多个原子。例如,但不限于,取代的化合物可以包括一个或多个取代基,其选自 R'' 、 OR'' 、 $NR''R''$ 、 SR'' 、卤素、 $SiR''R''R''$ 、 $OC(O)R''$ 、 $C(O)R''$ 、 CO_2R'' 、 $CONR''R''$ 、 $NR''C(O)_2R''$ 、 $S(O)R''$ 、 $S(O)_2R''$ 、 CN 和 NO_2 。如本文所用,每一 R'' 、 R'' 和 R'' 可以独立地选自:氢、卤素、氧、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的烷基、烷氧基或硫代烷氧基和芳烷基。

[0076] “部分”是指与其它部分连接的分子的基团。特别地,术语“氟部分”是指包含至少一个氟基团和 / 或原子的分子的基团。

[0077] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^1 为 $CH(NR^1R^2)CF_3$ 时, G^3 和 G^4 独立地为 H 或 C_1 - C_4 烷基并且 G^2 为 H、 C_1 - C_4 烷基或环丙基。

[0078] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^2 为 $(CH_2)_nCF_2R^3$ 时, G^1 和 G^3 独立地为 H、 C_1 - C_4 烷基、 CH_2OH 或 $CH_2NR^1R^2$ 。

[0079] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^2 为 H 时, G^4 为 H 或 C_1 - C_4 烷基。

[0080] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^3 为  时, G^1 和 G^4 独立地为 H 或 C_1 - C_4 烷基。

[0081] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^3 为 CH_2CF_3 时, G^1 为 NR^1R^2 。

[0082] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^1 为 $CH_2NR^1R^2$ 时, G^2 是 $(CH_2)_nCF_2R^3$ 。

[0083] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^1 为 $CH(R^7)CF_2H$ 时, G^3 和 G^4 独立地为 H 或 C_1 - C_4 烷基,并且 G^2 为 C_1 - C_4 烷基或环丙基。

[0084] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^1 为 $CH(R^4)CF_3$ 时, G^2 为 C_1 - C_4 烷基或环丙基,条件是当 R^4 为 H 或 OH 时, G^3 为 $CH_2NR^1R^2$ 、 CH_2-A-OH 、 $CH_2-A-NHR^9$ 。

[0085] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^1 为 $CH(R^4)CF_3$ 并且 R^4 为 H 或 OH 时, G^4 是卤素。

[0086] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^1 或 G^3 为 CH_2OH 时, G^2 为 $(CH_2)_nCF_2R^3$ 。

[0087] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^1 为 NR^1R^2 时, G^3 为 CH_2CF_3 , G^4 为 H 或 C_1 - C_4 烷基,并且 G^2 为 C_1 - C_4 烷基或环丙基。

[0088] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^4 为 $CH(R^8)CF_3$ 时, G^1 和 G^3 独立地为 H 或 C_1 - C_4 烷基,并且 G^2 为氢、 C_1 - C_4 烷基或环丙基。

[0089] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^3 为 CH_2-A-OH 或 $CH_2-A-NHR$ 时, G^4 为 H 或 C_1 - C_4 烷基, G^2 为 C_1 - C_4 烷基或环丙基,并且 G^1 为 $CH(R^4)CF_3$, 其中 R^4 为 H 或 OH。

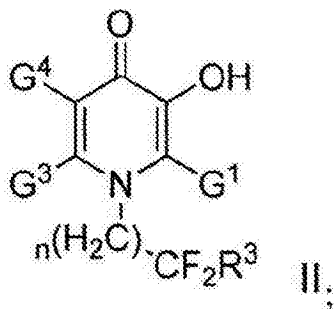
[0090] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^3 为 $CH_2NR^1R^2$ 并且 G^2 为 C_1 - C_4 烷基或环丙基时, G^4 为 H 或 C_1 - C_4 烷基,并且 G^1 为 $CH(R^4)CF_3$, 其中 R^4 为 H 或 OH。

[0091] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^1 为 $CH(R^4)CF_3$ 且 R^4 为 H 或 OH 时,或者 G^3 为 $CH_2NR^1R^2$, 或者 G^4 为卤素。

[0092] 通式 I 的某些实施方案提供了下列化合物,其中当 G^3 为 $CH(R^6)CF_3$ 时, G^1 为 $CH_2NR^1R^2$ 或 NR^1R^2 。

[0093] 通式 I 的某些实施方案提供了具有通式 II 结构的化合物

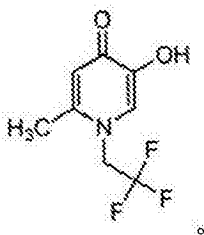
[0094]



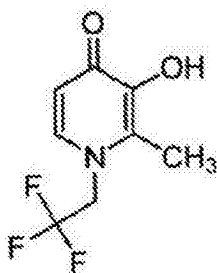
[0095] 其中

[0096] G^1 为 H、 C_1-C_4 烷基、 $-CH_2OH$ 或 $-CH_2NR^1R^2$;[0097] G^3 为 H、 C_1-C_4 烷基、 $-CH_2OH$ 或 $-CH_2NR^1R^2$;[0098] G^4 为 H、 C_1-C_4 烷基或卤素;[0099] R^1 和 R^2 或者为 (a) 两个独立的基团或者为 (b) 一起形成包含它们所连接的 N 的单环基团;[0100] 当 R^1 和 R^2 为独立基团时, R^1 和 R^2 独立地选自 H、 C_1-C_4 烷基、 C_3-C_6 环烷基、烯丙基和炔丙基;[0101] 当 R^1 和 R^2 一起形成包含它们所连接的 N 的单环基团时, R^1 和 R^2 选自哌嗪基、N-(C_1-C_4 烷基)-取代的哌嗪基、吗啉基和哌啶基;[0102] n 为 1、2 或 3; 以及[0103] R^3 为 H 或 F。[0104] 通式 II 的某些实施方案提供了 n 为 1 的化合物。[0105] 通式 II 的某些实施方案提供了 G^4 为 H 的化合物。[0106] 通式 II 的某些实施方案提供了 R^3 为 H 的化合物。[0107] 通式 II 的某些实施方案提供了 R^3 为 F 的化合物。[0108] 通式 II 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为甲基, R^3 为 F, G^2 为三氟乙基, 并且 G^1 为 H。该化合物可以称为 5-羟基-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮,

[0109]

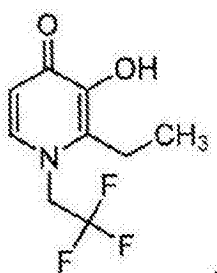
[0110] 通式 II 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为 H, R^3 为 F, G^2 为三氟乙基, 并且 G^1 为甲基。该化合物可以称为 3-羟基-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮,

[0111]



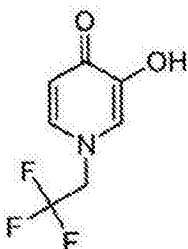
[0112] 通式 II 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为 H, R^3 为 F, G^2 为三氟乙基, 并且 G^1 为乙基。该化合物可以称为 2-乙基-3-羟基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮,

[0113]



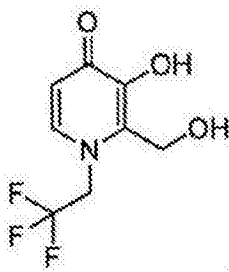
[0114] 通式 II 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为 H, R^3 为 F, G^2 为三氟乙基, 并且 G^1 为 H。该化合物可以称为 3-羟基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮,

[0115]



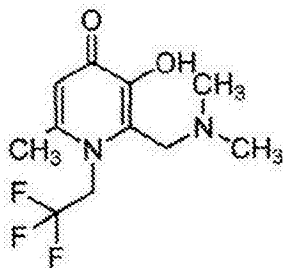
[0116] 通式 II 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为 H, R^3 为 F, G^2 为三氟乙基, 并且 G^1 为 CH_2OH 。该化合物可以称为 3-羟基-2-(羟基甲基)-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮,

[0117]



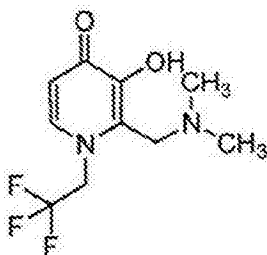
[0118] 通式 II 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为甲基, R^3 为 F, G^2 为三氟乙基, 并且 G^1 为 $CH_2NR^1R^2$, 其中 R^1 为甲基并且 R^2 为甲基。该化合物可以称为 2-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-6-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮,

[0119]



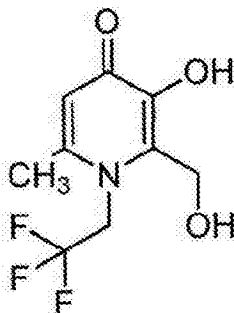
[0120] 通式 II 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为 H, R^3 为 F, G^2 为三氟乙基, 并且 G^1 为 $CH_2NR^1R^2$, 其中 R^1 为甲基并且 R^2 为甲基。该化合物可以称为 2-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮,

[0121]



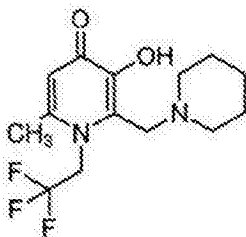
[0122] 通式 II 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为甲基, R^3 为 F, G^2 为三氟乙基, 并且 G^1 为 CH_2OH 。该化合物可以称为 3-羟基-2-(羟基甲基)-6-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮,

[0123]



[0124] 通式 II 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为甲基, R^3 为 F, G^2 为三氟乙基, 并且 G^1 为 $CH_2NR^1R^2$, 其中 NR^1R^2 为哌啶基。该化合物可以称为 3-羟基-6-甲基-2-(哌啶-1-基甲基)-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮,

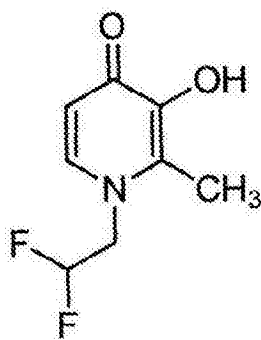
[0125]



[0126] 通式 II 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为 H, R^3 为 H, G^2 为二氟乙基, 并且 G^1 为甲基。该化合物可以称为 1-(2,2-二氟乙基)-3-羟基-2-甲基

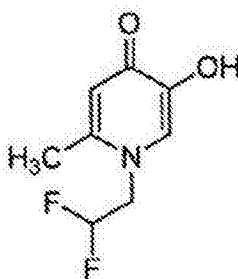
吡啶-4(1H)-酮,

[0127]



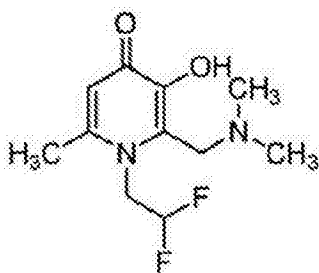
[0128] 通式 II 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为甲基, R^3 为 H, G^2 为二氟乙基, 并且 G^1 为甲基。该化合物可以称为 1-(2, 2-二氟乙基)-5-羟基-2-甲基吡啶-4(1H)-酮,

[0129]



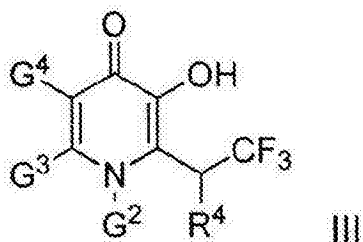
[0130] 通式 II 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为甲基, R^3 为 H, G^2 为二氟乙基, 并且 G^1 为 $CH_2NR^1R^2$, R^1 为甲基并且 R^2 为甲基。该化合物可以称为 1-(2, 2-二氟乙基)-5-羟基-2-甲基吡啶-4(1H)-酮,

[0131]



[0132] 通式 I 的某些实施方案提供了具有通式 III 结构的化合物

[0133]



III

[0134] 其中

[0135] G^2 为 H、 C_1-C_4 烷基或环丙基；

[0136] G^3 为 H、 C_1-C_4 烷基、 CH_2-A-OH 、 $CH_2-A-NHR^9$ 或 $CH_2NR^1R^2$ ；

[0137] G^4 为 H、 C_1-C_4 烷基或卤素；

[0138] R^4 选自 H、OH、 NR^1R^2 、咪唑、1, 2, 4- 三唑、哌嗪、N- C_1-C_4 烷基哌嗪、N- 苄基哌嗪、N- 苯基哌嗪、2- 吡啶基哌嗪和 $-A-NH-R^{10}$ ；并且当 R^4 为 NR^1R^2 、咪唑、1, 2, 4- 三唑、哌嗪、N- C_1-C_4 烷基哌嗪、N- 苄基哌嗪、N- 苯基哌嗪、2- 吡啶基哌嗪或 $-A-NH-R^{10}$ 时， R^4 与 G^1 的 $-CH$ 部分的连接点为 R^4 的 N 原子；

[0139] R^1 和 R^2 或者为 (a) 两个独立的基团或者为 (b) 一起形成包含它们所连接的 N 的单环基团；

[0140] 当 R^1 和 R^2 为独立基团时， R^1 和 R^2 独立地选自 H、 C_1-C_4 烷基、 C_3-C_6 环烷基、烯丙基和炔丙基；

[0141] 当 R^1 和 R^2 一起形成包含它们所连接的 N 的单环基团时， R^1 和 R^2 选自哌嗪基、N- (C_1-C_4 烷基) - 取代的哌嗪基、吗啉基和哌啶基；

[0142] A 为 $-NH-(CH_2)_m-CO-$ 或 α 氨基酸残基；

[0143] m 为 1、2 或 3；以及

[0144] R^9 和 R^{10} 独立地为 H 或 C_1-C_4 烷基。

[0145] 通式 III 化合物包括通式 I 化合物，其中 G^1 为 $CH(R_4)CF_3$ 。通式 III 化合物可以被进一步细分为三个主要的子集，即通式 IIIA、通式 IIIB 和通式 IIIC。

[0146] 通式 IIIA 化合物为通式 III 化合物，其中 G^2 为 C_1-C_4 烷基或环丙基； G^3 为 H、 C_1-C_4 烷基；并且 R^4 选自 NR^1R^2 、咪唑、1, 2, 4- 三唑、哌嗪、N- C_1-C_4 烷基哌嗪、N- 苄基哌嗪、N- 苯基哌嗪、2- 吡啶基哌嗪和 $-A-NH-R^{10}$ 。

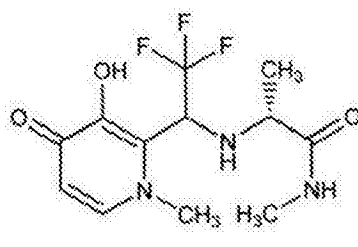
[0147] 通式 IIIA 的某些实施方案是 G^2 为甲基的化合物。

[0148] 通式 IIIA 的某些实施方案是 G^3 为 H 且 G^4 为 H 的化合物。

[0149] 通式 IIIA 的某些实施方案是 R^4 为 NR^1R^2 的化合物。

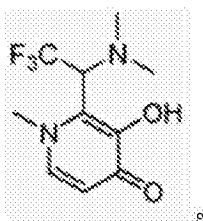
[0150] 通式 IIIA 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物，其中 G^4 为 H； G^3 为 H， G^2 为甲基， R^4 为 $A-NHR^{10}$ ，A 为 D- 丙氨酰基，并且 R^{10} 为甲基。该化合物可以称为 N- 甲基 -N²-[2, 2, 2- 三氟 -1-(3- 羟基 -1- 甲基 -4- 氧代 -1, 4- 二氢吡啶 -2- 基) 乙基] -D- 丙氨酰胺，并具有下列结构：

[0151]



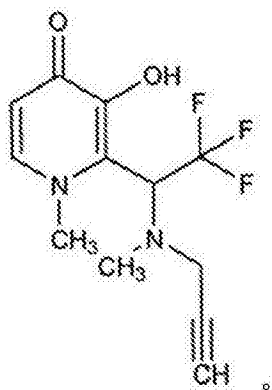
[0152] 通式 IIIA 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物，其中 G^4 为 H； G^3 为 H， G^2 为甲基， R^4 为 NR^1R^2 ， R^1 为甲基，并且 R^2 为甲基。该化合物可以称为 2-[1-(二甲基氨基) -2, 2, 2- 三氟乙基] -3- 羟基 -1- 甲基吡啶 -4(1H) - 酮，并具有下列结构：

[0153]



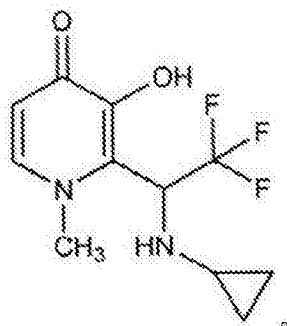
[0154] 通式 IIIA 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为 H, G^2 为甲基, R^4 为 NR^1R^2 , R^1 为甲基, 并且 R^2 为炔丙基。该化合物可以称为 3-羟基-1-甲基-2-[2,2,2-三氟-1-[甲基(丙-2-炔-1-基)氨基]乙基]吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0155]



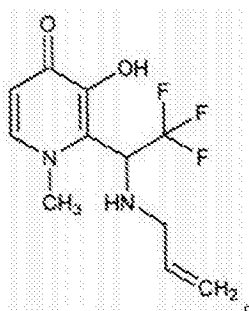
[0156] 通式 IIIA 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为 H, G^2 为甲基, R^4 为 NR^1R^2 , R^1 为 H, R^2 为环丙基。该化合物可以称为 2-[1-(环丙基氨基)-2,2,2-三氟乙基]-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0157]



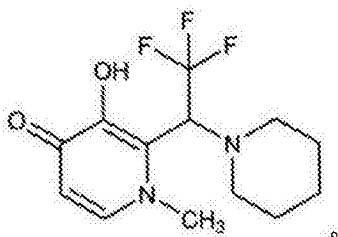
[0158] 通式 IIIA 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为 H, G^2 为甲基, R^4 为 NR^1R^2 , R^1 为 H, R^2 为烯丙基。该化合物可以称为 3-羟基-1-甲基-2-[2,2,2-三氟-1-(丙-2-烯-1-基氨基)乙基]吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0159]



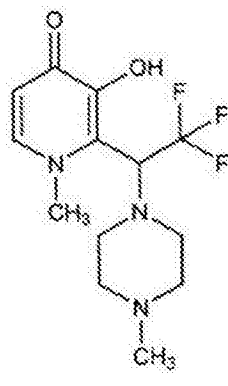
[0160] 通式 IIIA 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为 H, G^2 为甲基, R^4 为 NR^1R^2 , NR^1R^2 为哌啶基。该化合物可以称为 3-羟基-1-甲基-2-[2, 2, 2-三氟-1-(哌啶-1-基)乙基]吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0161]



[0162] 通式 IIIA 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为 H, G^2 为甲基, R^4 为 NR^1R^2 , NR^1R^2 为 N-甲基哌嗪基。该化合物可以称为 3-羟基-1-甲基-2-[2, 2, 2-三氟-1-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0163]



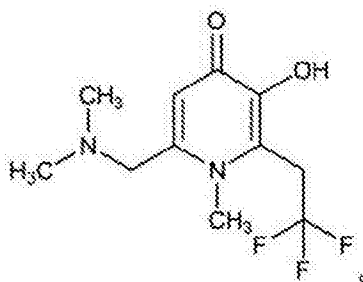
[0164] 通式 IIIB 化合物为通式 III 化合物, 其中 G^3 是 CH_2-A-OH 、 $CH_2-A-NHR^9$ 或 $CH_2NR^1R^2$; G^4 为 H 或 C_1-C_4 烷基; 并且 R^4 为 H 或 OH。

[0165] 通式 IIIB 的某些实施方案是 G^2 为甲基的化合物。

[0166] 通式 IIIB 的某些实施方案是 G^4 为 H 的化合物。

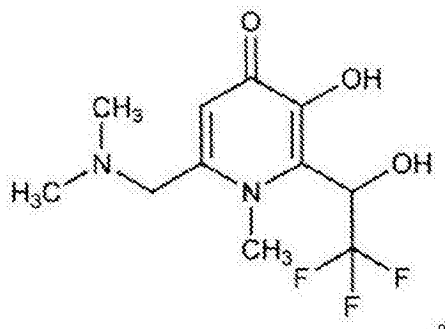
[0167] 通式 IIIB 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为 $CH_2NR^1R^2$, R^1 为甲基, R^2 为甲基, G^2 为甲基, 并且 R^4 为 H。该化合物可以称为 6-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-1-甲基-2-(2, 2, 2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0168]



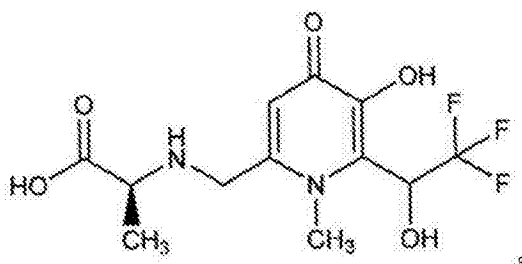
[0169] 通式 IIIB 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为 $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$, R^1 为甲基, R^2 为甲基, G^2 为甲基, 并且 R^4 为 OH。该化合物可以称为 6-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0170]



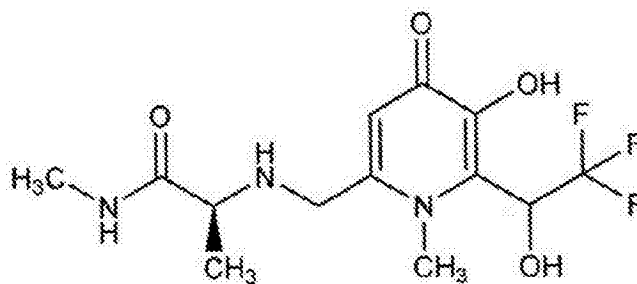
[0171] 通式 IIIB 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为 $\text{CH}_2\text{-A-OH}$, A 为 L-丙氨酰基, G^2 为甲基, 并且 R^4 为 OH。该化合物可以称为 N-[[5-羟基-1-甲基-4-氧代-6-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)-1,4-二氢吡啶-2-基]甲基]-L-丙氨酸, 并且具有下列结构:

[0172]



[0173] 通式 IIIB 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; G^3 为 $\text{CH}_2\text{-A-NHR}^9$, A 为 L-丙氨酰基, R^9 为甲基, G^2 为甲基, 并且 R^4 为 OH。该化合物可以称为 N^2 -[[5-羟基-1-甲基-4-氧代-6-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)-1,4-二氢吡啶-2-基]甲基]-N-甲基-L-丙氨酰胺, 并且具有下列结构:

[0174]



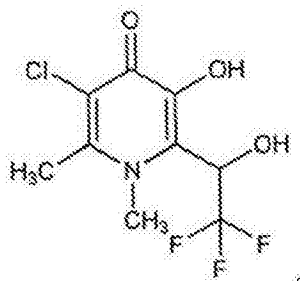
[0175] 通式 IIIC 化合物是通式 IIII 化合物, 其中 G^3 为 H 或 C_1 - C_4 烷基; 并且 G^4 为卤素。

[0176] 通式 IIIC 的某些实施方案是 G^2 为甲基的化合物。

[0177] 通式 IIIC 的某些实施方案是 G^4 为氯的化合物。

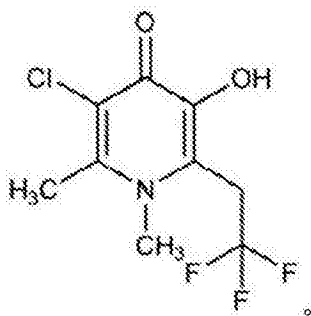
[0178] 通式 IIIC 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为氯; G^3 为甲基, G^2 为甲基, 并且 R^4 为 OH。该化合物可以称为 3-氯-5-羟基-1,2-二甲基-6-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0179]



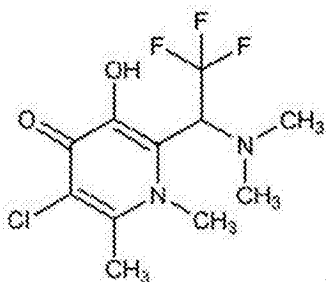
[0180] 通式 IIIC 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为氯; G^3 为甲基, G^2 为甲基, 并且 R^4 为 H。该化合物可以称为 3-氯-5-羟基-1,2-二甲基-6-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0181]



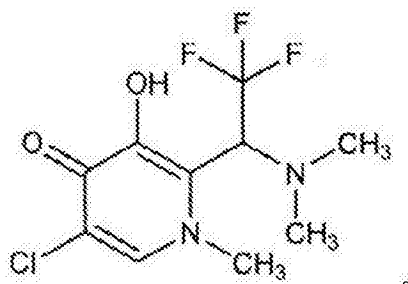
[0182] 通式 IIIC 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为氯; G^3 为甲基, G^2 为甲基, R^4 为 NR^1R^2 , R^1 为甲基并且 R^2 为甲基。该化合物可以称为 3-氯-6-[1-(二甲基氨基)-2,2,2-三氟乙基]-5-羟基-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0183]



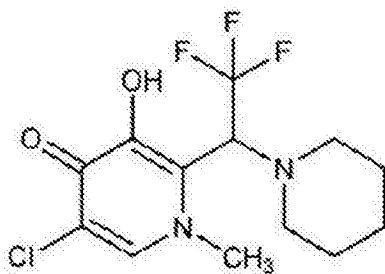
[0184] 通式 IIIC 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为氯; G^3 为 H, G^2 为甲基, R^4 为 NR^1R^2 , R^1 为甲基并且 R^2 为甲基。该化合物可以称为 5-氯-2-[1-(二甲基氨基)-2,2,2-三氟乙基]-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0185]



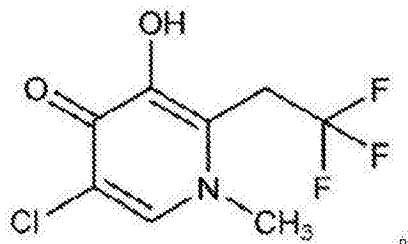
[0186] 通式 IIIC 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为氯; G^3 为 H, G^2 为甲基, R^4 为 NR^1R^2 , 并且 NR^1R^2 为哌啶基。该化合物可以称为 5-氯-3-羟基-1-甲基-2-[2,2,2-三氟-1-(哌啶-1-基)乙基]吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0187]



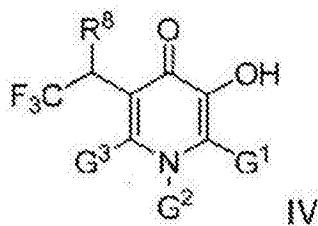
[0188] 通式 IIIC 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为氯; G^3 为 H, G^2 为甲基, 并且 R^4 为 H。该化合物可以称为 5-氯-3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0189]



[0190] 通式 I 的某些实施方案提供了具有通式 IV 结构的化合物

[0191]



[0192] 其中

[0193] G^1 为H或 C_1 - C_4 烷基；

[0194] G^2 为H、 C_1 - C_4 烷基或环丙基；

[0195] G^3 为H或 C_1 - C_4 烷基；

[0196] R^8 选自 NR^1R^2 、咪唑、1, 2, 4-三唑、哌嗪、N- C_1 - C_4 烷基哌嗪、N-苄基哌嗪、N-苯基哌嗪、2-吡啶基哌嗪和 $-A-NH-R^{10}$ ； R^8 与 G^1 的 $-CH$ 部分的连接点为 R^8 的N原子；

[0197] R^1 和 R^2 或者为(a)两个独立的基团或者为(b)一起形成包含它们所连接的N的单环基团；

[0198] 当 R^1 和 R^2 为独立基团时， R^1 和 R^2 独立地选自H、 C_1 - C_4 烷基、 C_3 - C_6 环烷基、烯丙基和炔丙基；

[0199] 当 R^1 和 R^2 一起形成包含它们所连接的N的单环基团时， R^1 和 R^2 选自哌嗪基、N- $(C_1$ - C_4 烷基)-取代的哌嗪基、吗啉基和哌啶基；

[0200] A为 $-NH-(CH_2)_m-CO-$ 或 α 氨基酸残基；

[0201] m为1、2或3；以及

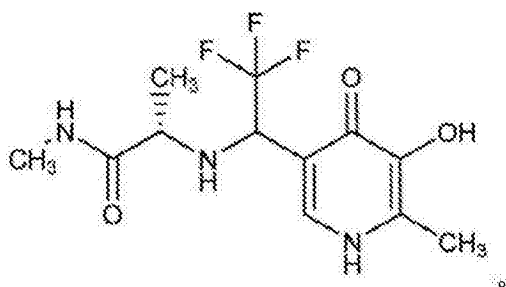
[0202] R^{10} 为H或 C_1 - C_4 烷基。

[0203] 通式IV的某些实施方案是 G^3 为H的化合物。

[0204] 通式IV的某些实施方案是 G^1 为甲基的化合物。

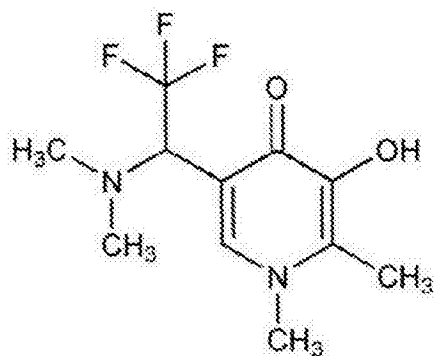
[0205] 通式IV的特别示例性实施方案的实例为下列化合物，其中 G^3 为H； G^1 为甲基， G^2 为H， R^8 为 $A-NHR^{10}$ ，A为L-丙氨酰基，并且 R^{10} 为甲基。该化合物可以称为N-甲基-N²-[2, 2, 2-三氟-1-(5-羟基-6-甲基-4-氧代-1, 4-二氢吡啶-3-基)乙基]-L-丙氨酰胺，并且具有下列结构：

[0206]



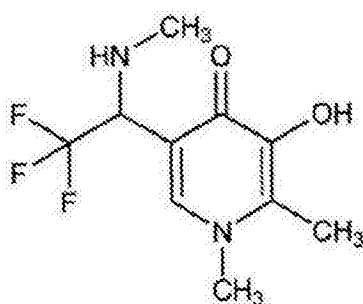
[0207] 通式IV的特别示例性实施方案的实例为下列化合物，其中 G^3 为H； G^1 为甲基， G^2 为甲基， R^8 为 NR^1R^2 ； R^1 为甲基，并且 R^2 为甲基。该化合物可以称为5-[1-(二甲基氨基)-2, 2, 2-三氟乙基]-3-羟基-1, 2-二甲基吡啶-4(1H)-酮，并且具有下列结构：

[0208]



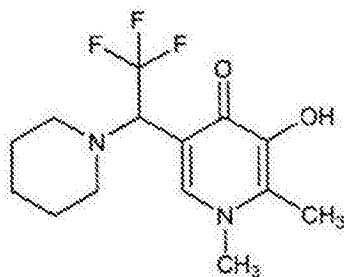
[0209] 通式 IV 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^3 为 H; G^1 为甲基, G^2 为甲基, R^8 为 NR^1R^2 ; R^1 为 H, 并且 R^2 为甲基。该化合物可以称为 3-羟基-1,2-二甲基-5-[2,2,2-三氟-1-(甲基氨基)乙基]吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0210]



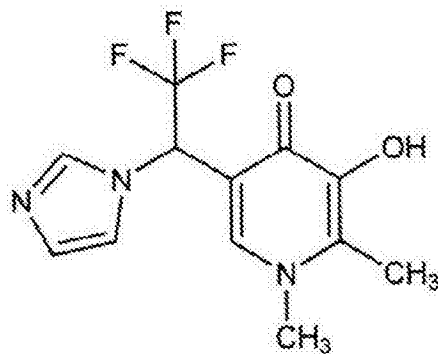
[0211] 通式 IV 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^3 为 H; G^1 为甲基, G^2 为甲基, R^8 为 NR^1R^2 ; NR^1R^2 为哌啶基。该化合物可以称为 3-羟基-1,2-二甲基-5-[2,2,2-三氟-1-(哌啶-1-基)乙基]吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0212]



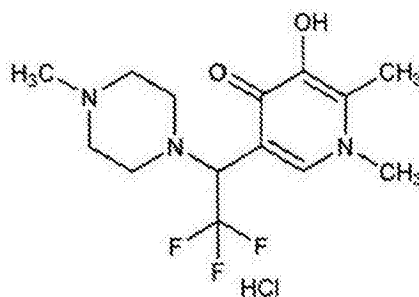
[0213] 通式 IV 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^3 为 H; G^1 为甲基, G^2 为甲基, R^8 为 NR^1R^2 ; NR^1R^2 为咪唑基。该化合物可以称为 3-羟基-1,2-二甲基-5-[2,2,2-三氟-1-(1H-咪唑-1-基)乙基]吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0214]



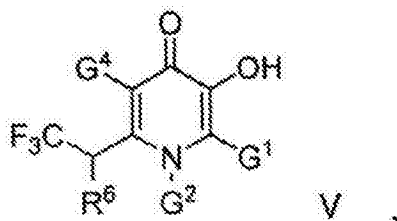
[0215] 通式 IV 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^3 为 H; G^1 为甲基, G^2 为甲基, R^8 为 NR^1R^2 ; 并且 NR^1R^2 为 N-甲基哌嗪基。该化合物可以称为 3-羟基-1,2-二甲基-5-[2,2,2-三氟-1-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0216]



[0217] 通式 I 的某些实施方案提供了具有通式 V 结构的化合物

[0218]



[0219] 其中

[0220] G^1 为 $CH_2NR^1R^2$ 或 NR^1R^2 ;

[0221] G^2 为 C_1-C_4 烷基或环丙基;

[0222] G^4 为 H 或 C_1-C_4 烷基;

[0223] R^6 为 H 或 OH; 以及

[0224] R^1 和 R^2 或者为 (a) 两个独立的基团或者为 (b) 一起形成包含它们所连接的 N 的单环基团;

[0225] 当 R^1 和 R^2 为独立基团时, R^1 和 R^2 独立地选自 H、 C_1-C_4 烷基、 C_3-C_6 环烷基、烯丙基和炔丙基;

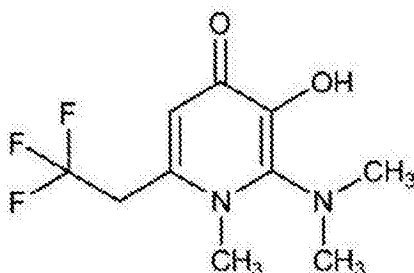
[0226] 当 R^1 和 R^2 一起形成包含它们所连接的 N 的单环基团时, R^1 和 R^2 选自哌嗪基、N-(C_1-C_4 烷基)-取代的哌嗪基、吗啉基和哌啶基。

[0227] 通式 V 的某些实施方案是 G^4 为 H 的化合物。

[0228] 通式 V 的某些实施方案是 G^2 为甲基的化合物。

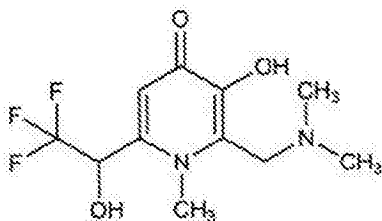
[0229] 通式 V 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; R^6 为 H, G^2 为甲基, G^1 为 NR^1R^2 , R^1 为甲基并且 R^2 为甲基。该化合物可以称为 2-(二甲基氨基)-3-羟基-1-甲基-6-(2, 2, 2-三氟乙基) 吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0230]



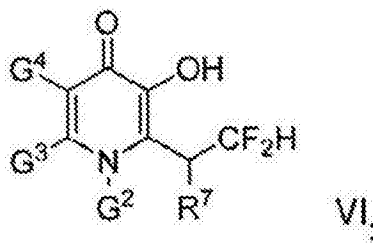
[0231] 通式 V 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物, 其中 G^4 为 H; R^6 为 OH, G^2 为甲基, G^1 为 $CH_2NR^1R^2$, R^1 为甲基并且 R^2 为甲基, R^1 为甲基并且 R^2 为甲基。该化合物可以称为 2-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-1-甲基-6-(2, 2, 2-三氟-1-羟基乙基) 吡啶-4(1H)-酮, 并且具有下列结构:

[0232]



[0233] 通式 I 的某些实施方案提供了具有通式 VI 结构的化合物:

[0234]



[0235] 其中

[0236] G^2 为 H、 C_1 - C_4 烷基或环丙基;

[0237] G^3 为 H 或 C_1 - C_4 烷基;

[0238] G^4 为 H 或 C_1 - C_4 烷基;

[0239] R^7 选自 H、OH、 NR^1R^2 、咪唑基、1, 2, 4-三唑基、哌嗪基、N- C_1 - C_4 烷基哌嗪基、N-苄基哌嗪基、N-苯基哌嗪基、2-吡啶基哌嗪基和 $-CH_2-A-NH-R^{10}$; 并且当 R^7 为 NR^1R^2 、咪唑基、1, 2, 4-三唑基、哌嗪基、N- C_1 - C_4 烷基哌嗪基、N-苄基哌嗪基、N-苯基哌嗪基、2-吡啶基哌嗪基或 $-CH_2-A-NH-R^{10}$ 时, R^7 与 G^1 的 $-CH$ 部分的连接点为 R^7 的 N 原子;

[0240] R^1 和 R^2 或者为 (a) 两个独立的基团或者为 (b) 一起形成包含它们所连接的 N 的单环基团;

[0241] 当 R^1 和 R^2 为独立基团时, R^1 和 R^2 独立地选自 H、 C_1 - C_4 烷基、 C_3 - C_6 环烷基、烯丙基

和炔丙基；

[0242] 当 R^1 和 R^2 一起形成包含它们所连接的 N 的单环基团时， R^1 和 R^2 选自哌嗪基、N-(C_1 - C_4 烷基)-取代的哌嗪基、吗啉基和哌啶基；

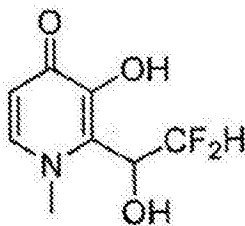
[0243] A 为 $-NH-(CH_2)_m-CO-$ 或 α 氨基酸残基；

[0244] m 为 1、2 或 3；以及

[0245] R^{10} 为 H、 C_1 - C_4 烷基。

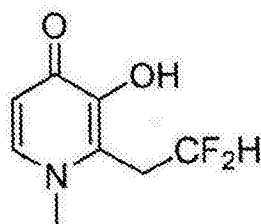
[0246] 通式 VI 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物，其中 G^3 为 H， G^4 为 H， G^2 为甲基， G^1 为 $CH(R^7)CF_2H$ ，并且 R^7 为羟基。该化合物可以称为 2-(2,2-二氟-1-羟基乙基)-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮，并且具有下列结构：

[0247]



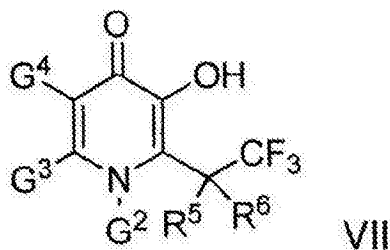
[0248] 通式 VI 的特别示例性实施方案的另一实例为下列化合物，其中 G^3 为 H， G^4 为 H， G^2 为甲基， G^1 为 $CH(R^7)CF_2H$ ，并且 R^7 为 H。该化合物可以称为 2-(2,2-二氟乙基)-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮，并且具有下列结构：

[0249]



[0250] 通式 I 的某些实施方案提供了具有通式 VII 结构的化合物：

[0251]



[0252] 其中

[0253] G^2 为 H、 C_1 - C_4 烷基或环丙基；

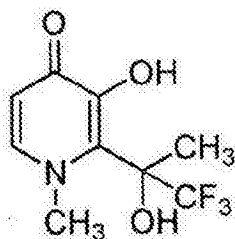
[0254] G^3 为 H 或 C_1 - C_4 烷基；以及

[0255] G^4 为 H 或 C_1 - C_4 烷基。

[0256] 通式 VII 的特别示例性实施方案包括下列化合物，其中 G^2 为甲基， G^3 为 H， G^4 为 H， R^5 为甲基，并且 R^6 为 H 或 OH。通式 VII 的特别示例性实施方案的实例为下列化合物，其中 G^2 为甲基， G^3 为 H， G^4 为 H， R^5 为甲基，并且 R^6 为 OH。该化合物可以称为 3-羟基-1-甲

基-2-(1, 1, 1-三氟-2-羟基丙烷-2-基)吡啶-4(1H)-酮,并且具有下列结构:

[0257]

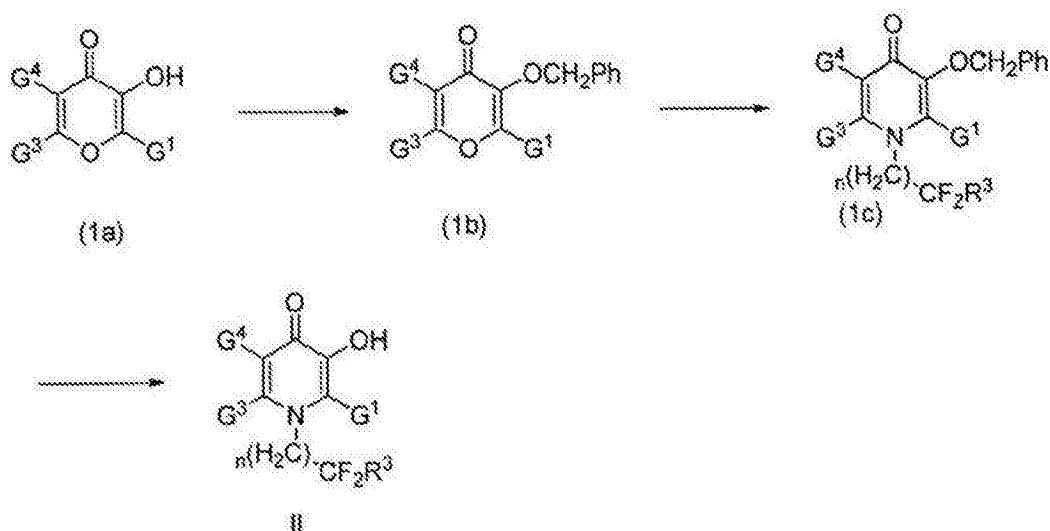


[0258] 在某些实施方案中,本发明的化合物包括具有与环的 C5 位连接的卤代基 (G^4 为卤素) 的 3-羟基吡啶-4-酮部分以及在 G^1 、 G^2 或 G^3 位的三氟乙基部分。在某些这类实施方案中,卤代基为氯代基。

[0259] 下列方案 1-9 描述了能够用于制备通式 I、II、III、IV、V、VI 和 VII 的化合物的方法的实例。所有的起始材料通过这些方案描述的步骤、通过有机化学领域技术人员熟知的步骤而制备,或者能够商购所述起始材料。可以通过这些方案描述的步骤或通过与其类似的步骤制备本发明的所有最终化合物。

[0260] 方案 1

[0261]

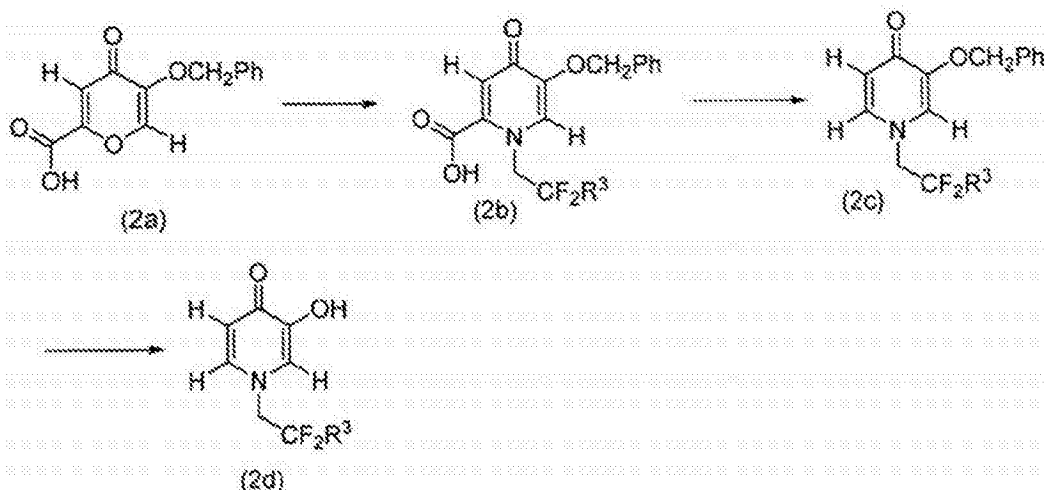


[0262] 能够通过方案 1 所示的方法,或者实施例给出的方法或类似方法制备其中 $G^2 = -(CH_2)_nCF_2R$ 的通式 I 化合物。如方案 1 所示,可以用氢氧化钠和溴苄或氯苄处理其中 G^1 为 H 或 C_1-C_4 烷基、 G^3 为 H 或 C_1-C_4 烷基、 G^4 为 H 或 C_1-C_4 烷基的化合物 (1a) 以得到化合物 (1b)。可以用三氟乙胺盐酸盐和诸如吡啶的有机碱在惰性溶剂中进行化合物 (1b) 的胺插入以得到其中 n 为 1 并且 R^3 为 F 的化合物 (1c),其可以通过用盐酸溶液水解脱保护或通过 10%Pd/C 上催化氢化而脱保护以得到通式 II 化合物。通式 II 化合物是其中 R^3 为 F、n 为 1 的通式 I 化合物。

[0263] 作为示例性实例,能够通过方案 2 所示方法制备其中 G^1 为 H、 G^3 为 H、 G^4 为 H、n 为 1、 R^3 为 F 的通式 I 化合物。

[0264] 方案 2

[0265]

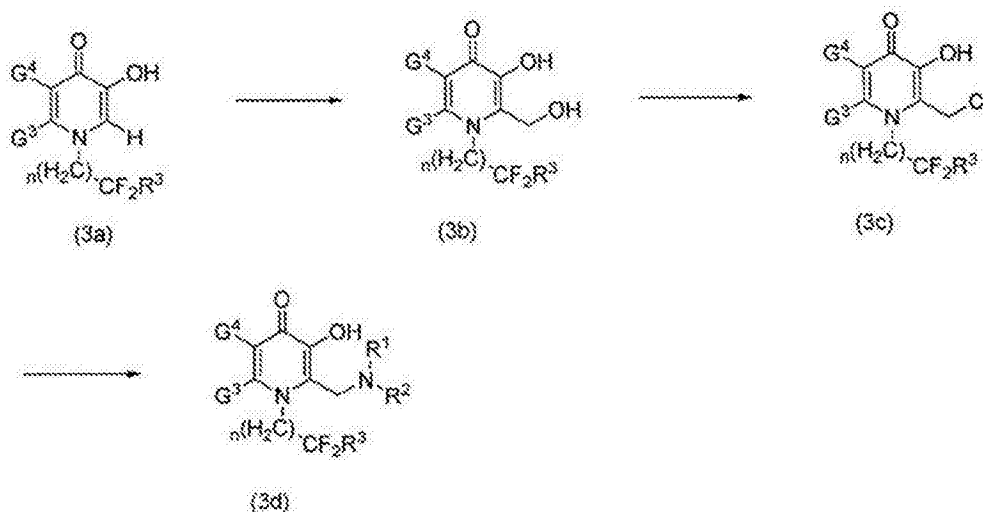


[0266] 化合物 (2a) 可以与 $\text{CF}_2\text{R}^3\text{CH}_2\text{NH}_2$ 在水中反应以得到化合物 (2b), 其在诸如二甲基甲酰胺的惰性有机溶剂中加热时产生化合物 (2c), 所述化合物 (2c) 可以使用氢气、催化钌碳通过催化氢化而脱保护以得到化合物 (2d), 所述化合物 (2d) 是其中 n 为 1、 G^1 为 H、 G^3 为 H、 G^4 为 H 的通式 II 化合物。化合物 (2d) 也是其中 G^1 为 H、 G^3 为 H、 G^4 为 H、 n 为 1、 G^2 为 $-\text{CH}_2\text{CF}_2\text{R}^3$ 的通式 I 化合物。

[0267] 通过方案 3 所示方法制备其中 n 为 1、 G^2 为 $\text{CH}_2\text{CF}_2\text{R}^3$ 、 G^1 为 $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ 、 CH_2OH 的通式 I 化合物, 或者其中 G^1 为 CH_2OH 或 $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ 的通式 II 化合物。

[0268] 方案 3

[0269]

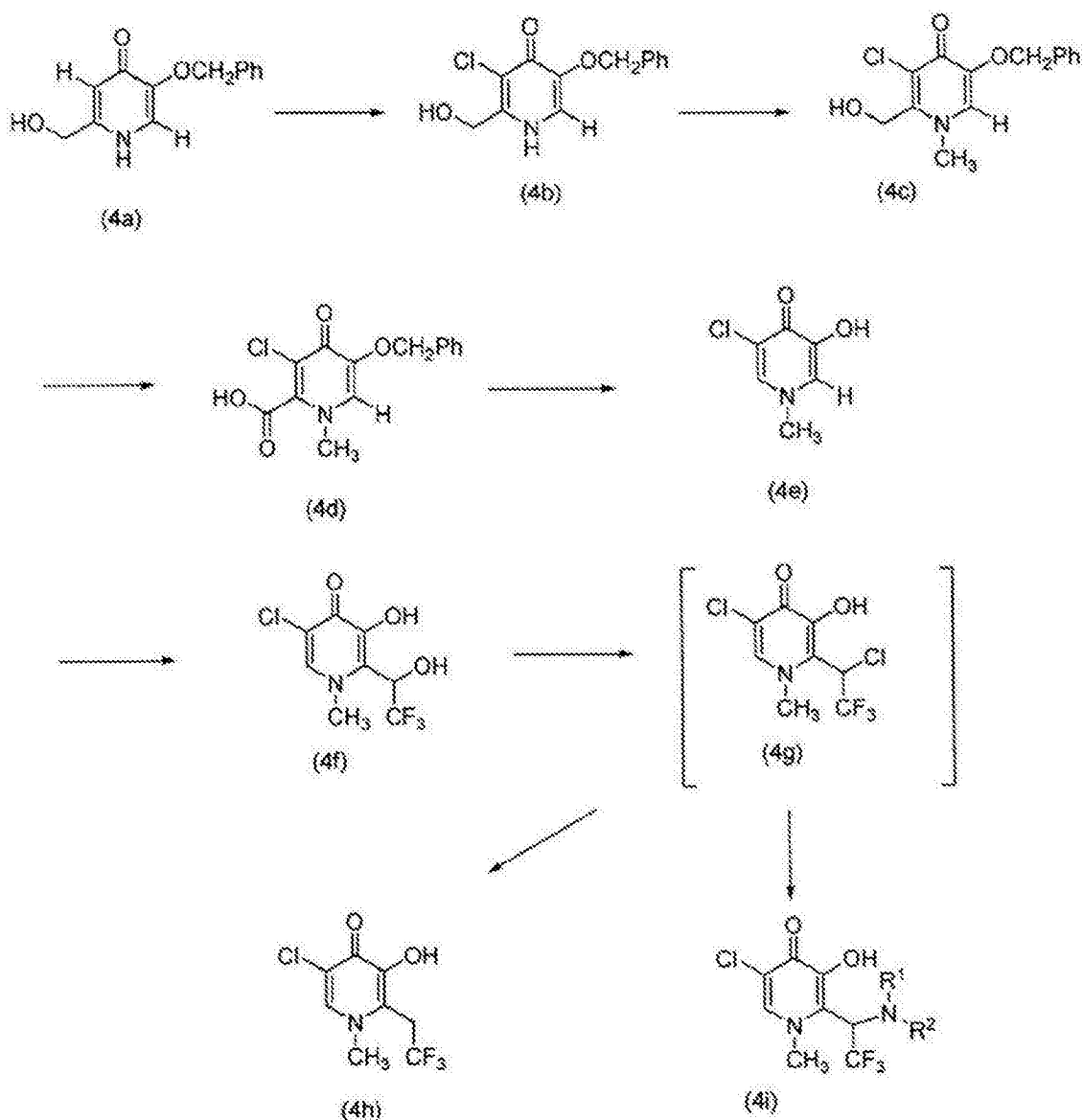


[0270] 化合物 (3a) 可以与甲醛和氢氧化钠反应以得到化合物 (3b)。化合物 (3b) 与亚硫酸氯在诸如乙腈的惰性溶剂中反应而产生氯代化合物 (3c), 其可以用胺 $\text{R}^1\text{R}^2\text{NH}$ 淬灭以得到通式 (3d) 的化合物, 所述通式 (3d) 化合物是当 G^1 为 $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ 时的通式 I 化合物。通过常规方法分离化合物。或者, 当 $n=1$ 时, 化合物 (3a) 可以直接与双-(二甲基氨基) 甲烷反应以得到化合物 (3d), 其是 G^1 为 $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 的通式 I 化合物。

[0271] 可以通过方案 4 所示方法制备其中 G^1 为 $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$, R^4 为 NR^1R^2 、OH、H 的通式 I 化合物, 或者其中 R^4 为 NR^1R^2 、OH、H; G^2 为 H、 C_1 - C_4 烷基; G^3 为 H、 C_1 - C_4 烷基; G^4 为 H、 C_1 - C_4 烷基、卤素的通式 III 化合物。为了示例性目的, 方案显示了其中 G^3 为 H 的通式 I 或 IIIA 或 IIIC 化合物的合成。

[0272] 方案 4

[0273]



[0274] 化合物 (4a) 可与次氯酸钠在 2N NaOH 中反应以得到氯代衍生物 (4b), 然后其可与碳酸钾和甲基碘在二甲基甲酰胺中反应以得到 N-甲基化合物 (4c)。在诸如丙酮的惰性溶剂中的 TEMPO 氧化反应产生羧酸 (4d)。用 6N 盐酸进行酸脱保护和脱羧作用而产生起始材料 (4e)。化合物 (4e) 可以与 $\text{CF}_3\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{OH}$ 反应以得到二醇 (4f)。亚硫酰氯和吡啶的处理产生了氯化物 (4g)。在化合物 (4g) 与硼氢化钠反应时, 可以形成化合物 (4h)。从由 $\text{R}^1\text{R}^2\text{NH}$ 淬灭氯化物 (4g) 而获得化合物 (4i)。

[0275] 化合物 (4i) 是其中 G^1 为 $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ 、 R^4 为 NR^1R^2 的通式 I 化合物, 其中 R^1 、 R^2 为甲基, G^2 为甲基, G^3 为 H, 并且 G^4 为氯。其还是其中 R^4 为 NR^1R^2 的通式 III 化合物, 其中 R^1 、 R^2 为甲基, G^2 为甲基, G^3 为 H, 并且 G^4 为氯。

[0276] 化合物 (4h) 是其中 G^1 是 $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ 、 R^4 为 H、 G^2 为甲基、 G^3 为 H、 G^4 为氯的通式 I 化合物。其还是其中 R^4 为 H、 G^2 为甲基、 G^3 为 H、 G^4 为氯的通式 III 化合物。

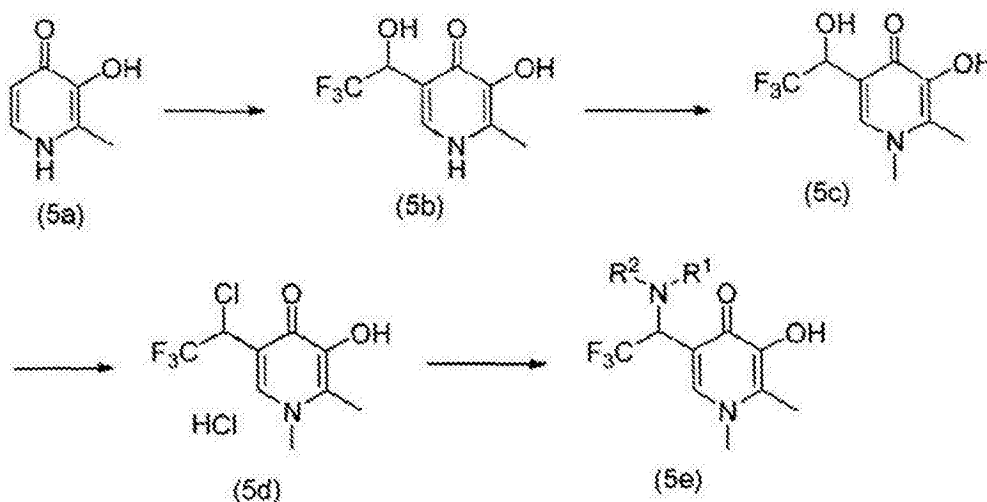
[0277] 化合物 (4f) 是其中 G^1 为 $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ 、 R^4 为 OH、 G^2 为甲基、 G^3 为 H、 G^4 为氯的通式 I

化合物。其还是其中 R^4 为 OH、 G^2 为甲基、 G^3 为 H、 G^4 为氯的通式 III 化合物。

[0278] 可以根据下面方案 5 所示的示例性步骤制备其中 G^4 为 $CH(R^8)CF_3$ 、 R^8 为 NR^1R^2 、 G^3 为 H、 G^1 为 C_1-C_4 烷基、 G^2 为 C_1-C_4 烷基的通式 I 化合物, 或者其中 R^8 为 NR^1R^2 、 G^3 为 H、 G^1 为甲基、 G^2 为甲基的通式 IV 化合物:

[0279] 方案 5

[0280]

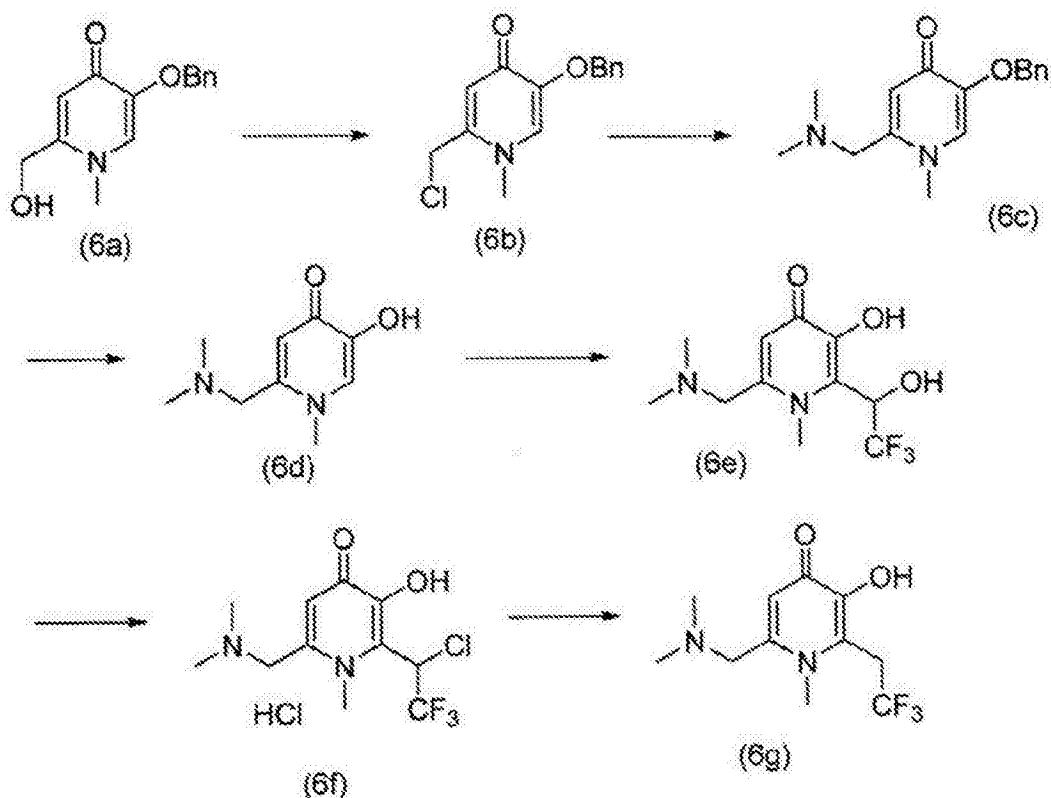


[0281] 可以根据 W020080242706 所示的步骤制备化合物 (5c)。化合物 (5c) 与亚硫酰氯的反应得到 (5d), 可以用胺 R^1R^2NH 淬灭 (5d) 以得到化合物 (5e)。化合物 (5e) 是其中 $G^4=CH(R^8)CF_3$ 、 R^8 为 NR^1R^2 、 G^3 为 H、 G^1 为甲基、 G^2 为甲基的通式 I 化合物。其也是其中 R^8 为 NR^1R^2 、 G^3 为 H、 G^1 为甲基、 G^2 为甲基的通式 IV 化合物。当 R^1 为甲基、 R^2 为甲基时, 化合物 (5e) 具有化学名称 5-[1-(二甲基氨基)-2,2,2-三氟乙基]-3-羟基-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮。

[0282] 可以根据下面方案 6 所示的示例性步骤制备其中 G^1 为 $CH(R^4)CF_3$ 、 R^4 为 H 或 OH、 G^2 为 C_1-C_4 烷基、 G^3 为 $CH_2NR^1R^2$ 、 G^4 为 H 的通式 I 化合物, 或其中 R^4 为 H 或 OH、 G^2 为甲基、 G^3 为 CH_2NMe_2 、 G^4 为 H 的通式 IIIB 化合物:

[0283] 方案 6

[0284]



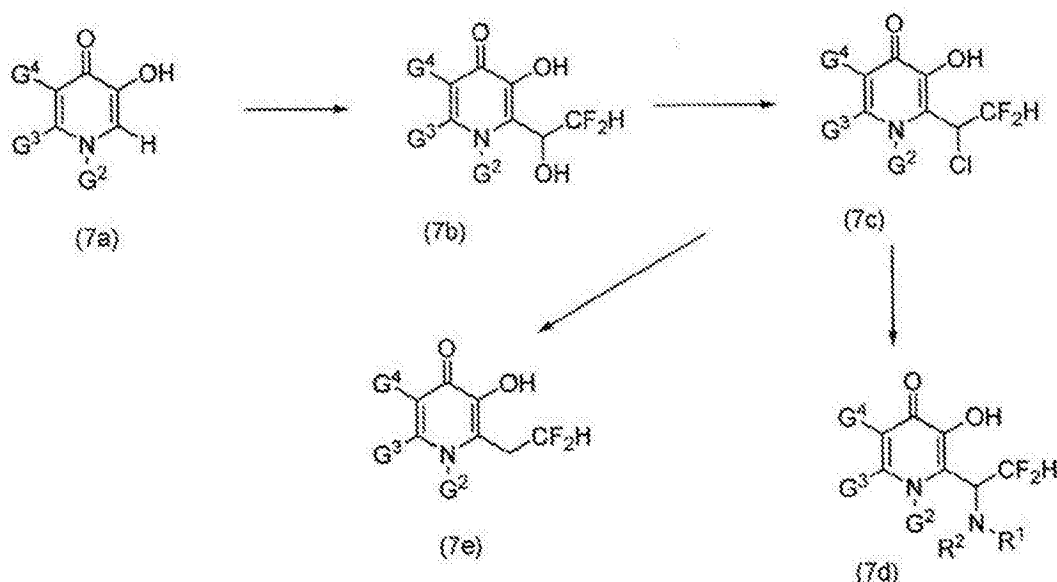
[0285] 可以用亚硫酰氯将醇 (6a) 转化为氯代化合物 (6b)。在用二甲基胺淬灭时, 形成了化合物 (6c), 可以通过用钯碳催化氢化对其脱保护以得到化合物 (6d)。化合物 (6d) 与 $\text{CF}_3\text{CH}(\text{OH})\text{OCH}_3$ 和碳酸钾反应而产生二醇 (6e), 其与亚硫酰氯反应以得到化合物 (6f)。用催化氢化来还原氯代化合物而得到化合物 (6g)。化合物 (6e) 是其中 G^4 为 H、 G^3 为 $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ 、 R^1 为甲基、 R^2 为甲基、 G^2 为甲基、 G^1 为 $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ 、 R^4 为 OH 的通式 I 化合物。其也是其中 G^4 为 H、 G^3 为 $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ 、 R^1 为甲基、 R^2 为甲基、 G^2 为甲基、 R^4 为 OH 的通式 IIIB 化合物。化合物 (6e) 具有化学名称 6-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮。

[0286] 化合物 (6g) 是其中 G^4 为 H、 G^3 为 $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ 、 R^1 为甲基、 R^2 为甲基、 G^2 为甲基、 G^1 为 $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ 、 R^4 为 H 的通式 I 化合物。其也是其中 G^4 为 H、 G^3 为 $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ 、 R^1 为甲基、 R^2 为甲基、 G^2 为甲基、 G^1 为 H 的通式 IIIB 化合物。化合物 (6e) 具有化学名称 6-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮。

[0287] 可根据下面方案 7 所示的示例性步骤制备其中 G^3 为 H 或 C_1 - C_4 烷基; G^4 为 H 或 C_1 - C_4 烷基; G^1 为 $\text{CH}(\text{R}^7)\text{CF}_2\text{H}$ 的通式 I 化合物, 或者其中 G^3 为 H 或 C_1 - C_4 烷基; G^4 为 H 或 C_1 - C_4 烷基; R^7 为 H、OH、 NR^1R^2 的通式 VI 化合物:

[0288] 方案 7

[0289]

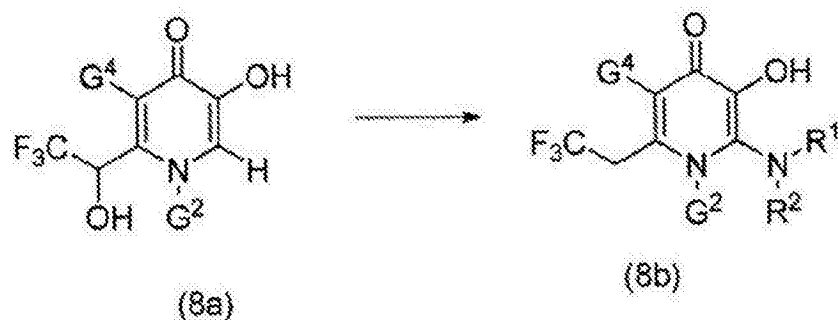


[0290] 化合物 (7a) 可以与二氟乙醛乙基半缩醛和碳酸钾反应以得到通式 (7b) 化合物。可以与将化合物 (4f) 转化为 (4h) 和 (4i) (方案 4) 的相似方式将该中间体转化为化合物 (7e) 和 (7d)。(7b) 是其中 G^1 为 $CH(R^7)CF_2H$ 、 R^7 为 OH 的通式 I 化合物, 或者其中 R^7 为 OH 的通式 VI 化合物。(7e) 是其中 R^7 为 H 的通式 I 化合物, 或者其中 R^7 为 H 的通式 VI 化合物, 并且 (7d) 是其中 G^1 为 $CH(R^7)CF_2H$ 、 R^7 为 NR^1R^2 的通式 I 化合物, 或者其中 R^7 为 NR^1R^2 的通式 VI 化合物。例如, 当方案 1 中的 G^2 为甲基、 G^3 为 H、 G^4 为 H 时, 化合物 (7e) 为 2-(2, 2-二氟乙基)-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮并且化合物 (7b) 是 2-(2, 2-二氟-1-羟基乙基)-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮。

[0291] 可以根据下面方案 8 所示的示例性步骤制备其中 G^3 为 $CH(R^6)CF_3$ 、 R^6 为 H、 G^1 为 NR^1R^2 的通式 I 化合物, 或者其中 R^6 为 H、 G^3 为 CH_2CF_3 、 G^1 为 NR^1R^2 的通式 V 化合物。

[0292] 方案 8

[0293]

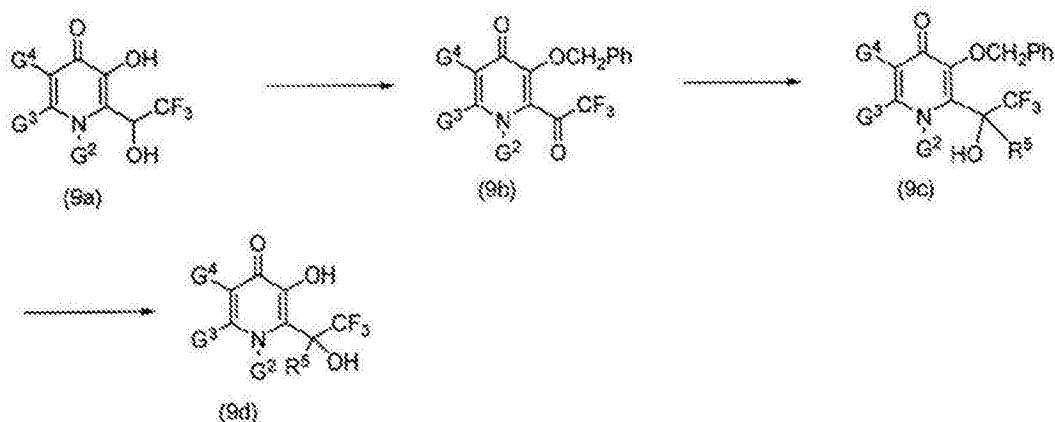


[0294] 其中 G^2 为 C_1 - C_4 烷基、 G^4 为 H 的化合物 (8a) 可以首先在惰性溶剂中与亚硫酸氯反应。用胺 R^1R^2NH 淬灭反应得到化合物 (8b)。通过 NMR 和 MS 光谱确定 (8b) 的结构。通式 (8b) 化合物是其中 G^2 为 C_1 - C_4 烷基、 G^4 为 H 或 C_1 - C_4 烷基、 R^6 为 H 的通式 I 化合物; 或者其中 R^6 为 H、 G^2 为 C_1 - C_4 烷基、 G^1 为 NR^1R^2 、 G^4 为 H 的通式 V 化合物。例如, 化合物 5-羟基-1-甲基-2-(2, 2, 2-三氟-1-羟基乙基) 吡啶-4(1H)-酮是其中 G^4 为 H、 G^2 为甲基的化合物 (8a)。根据方案 8 所述的方法能用二甲胺将化合物 (8a) 转化为 2-(二甲基氨基)-3-羟基-1-甲基-6-(2, 2, 2-三氟乙基) 吡啶-4(1H)-酮, 即其中 R^1 为甲基、 R^2 为甲基、 G^2 为甲基、 G^4 为氢的化合物 (8b)。

[0295] 可以根据下面方案 9 所示的示例性步骤制备其中 G^1 为 $C(R^5)(R^6)CF_3$ 、 R^5 为 C_1-C_4 烷基、 R^6 为 OH 的通式 I 化合物, 或者其中 R^5 为 C_1-C_4 烷基、 R^6 为 OH 的通式 VII 化合物:

[0296] 方案 9

[0297]



[0298] 化合物 (9a) 可以首先与 Dess-Martin 氧化剂反应以得到化合物 9b, 其可以与格利雅试剂 R^5-MgCl 或 R^5-MgBr 反应以得到化合物 9c。用钯碳催化氢化 I3 得到化合物 9d, 其是当 R^5 为 C_1-C_4 烷基、 R^6 为 OH 时的通式 I 化合物。例如, 当方案 9 中的 G^2 为甲基、 G^3 为 H、 G^4 为 H、 R^5 为甲基时, 产物 (9d) 是化合物 3-羟基-1-甲基-2-(1,1,1-三氟-2-羟基丙烷-2-基)吡啶-4(1H)-酮。

[0299] 本发明或用于本发明的许多化合物可以形成盐。在这种情况下, 本发明的药物组合物可以包含这类化合物的盐, 优选为本领域已知的生理可接受的盐。药物制剂通常包含用于制剂给药方式可接受的一种或多种载体, 所述给药方式为注射、吸入、局部给药、灌洗或其它适于所选治疗的方式。适当的载体为在这类给药方式中使用的本领域已知的那些。

[0300] 可以通过本领域已知的方法配制适当的药物组合物, 并且由技术人员确定给药方式和剂量。对于肠胃外给药, 化合物可以溶于无菌水或盐水或用于给予非水溶性化合物的药物可接受的媒介, 例如用于维生素 K 的那些。对于肠给药, 可以以片、胶囊或溶于液体的形式给予化合物。片或胶囊可以为肠溶包衣的, 或者在持久释放的制剂中。许多适当制剂是已知的, 其包括: 包封待释放的化合物的聚合物或蛋白质微颗粒, 能够局部 (topically) 或局部 (locally) 使用以给予化合物的软膏、贴剂、凝胶、水凝胶或溶液。可以使用持久释放的贴剂或植入片以提供长时间的释放。许多本领域技术人员已知的技术描述在 Alfonso Gennaro 的 Remington: the Science & Practice of Pharmacy (雷氏: 药学的理论和实践), 第 20 版, Lippencott Williams & Wilkins, (2000) 中。肠胃外给药的制剂可以例如包含赋形剂、诸如聚乙二醇的聚亚烷基二醇、源自植物的油或氢化萘。生物相容的、生物可降解的丙交酯聚合物, 丙交酯/乙交酯共聚物, 或者聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物可以用于控制化合物释放。其它用于调节化合物的潜在有用的肠胃外递送系统包括乙烯-醋酸乙烯酯共聚物颗粒、渗透泵、可植入灌注系统和脂质体。用于吸入的制剂可以包含诸如乳糖的赋形剂, 或者可以为包含例如聚氧乙烯-9-月桂醇醚、甘胆酸盐和脱氧胆酸盐的水溶液, 或者可以为以滴鼻剂形式或作为凝胶而给予的油性溶液。

[0301] 可以通过医疗设备或器械给予本发明或用于本发明的化合物或药物组合物, 所述设备或器械例如植入片、移植物、假体、支架等。同样, 可以设计旨在包含和释放这类化合物

或组合物的植入片。实例为由适于在一定时间内释放化合物的聚合物材料制成的植入片。

[0302] 本发明的药物组合物的“有效量”包括治疗有效量或预防有效量。“治疗有效量”是指以必须的剂量和在必须的时间内有效实现期望的治疗效果的量,例如改善的铁分布或降低的毒性铁水平。化合物的治疗有效量可以根据诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重的因素以及化合物引出个体期望反应的能力而变化。可以调整剂量方案以提供最佳治疗反应。治疗有效量也是其中治疗有益效果超过化合物的任何毒性或有害影响的一种量。“预防有效量”是指以必须的剂量和在必须的时间内有效实现期望的预防效果的量,例如改善的铁分布或降低的毒性铁水平。典型地,在疾病早期之前或在疾病早期时,在个体中使用预防剂量,因此预防有效量可以低于治疗有效量。

[0303] 应当注意剂量值可以根据待缓解的疾病状态的严重程度而变化。对于任何特定个体,可以根据个体需要和执行或监督组合物给予的人员的专业判断,随时间调节具体的剂量方案。本文所列的剂量范围仅是示例性的并且不限制可由医生选择的剂量范围。组合物中活性化合物的量可以根据诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重的因素而变化。可以调整剂量方案以提供最佳治疗反应。例如,可以给予单一的丸药,可以随时间给予若干分开的剂量,或者可以根据治疗情况的急切需要所指示而按比例地减少或增加剂量。可以有利地配制剂量单位形式的肠胃外组合物以便于给药和剂量一致。

[0304] 通常,应使用本发明的化合物而不导致实质性的毒性。能够使用标准技术确定本发明化合物的毒性,例如通过在细胞培养基或试验动物中检测并确定治疗指数,即,LD50(致死 50% 群体的剂量)和 LD100(致死 100% 群体的剂量)的比。然而,在某些情况下,例如在严重疾病状态中,必须给予基本过量的组合物。

[0305] 如本文所用,“个体”可以为人类、非人类灵长类动物、大鼠、小鼠、牛、马、猪、绵羊、山羊、狗、猫等。个体可以疑似患有与铁的毒性浓度有关的医学疾病状态或处于患有与铁的毒性浓度有关的医学疾病状态的风险中。与铁的毒性浓度有关的医学疾病状态可以选自:癌症、肺病、进展性肾病和弗里德赖希共济失调。多种与铁的毒性浓度有关的医学疾病状态的诊断方法和多种与铁的毒性浓度有关的医学疾病状态的临床界定 (clinical delineation) 及其诊断是本领域技术人员已知的。

[0306] 铁的重要性质是其易于提供和接受二价铁 (Fe^{2+}) 和三价铁 (Fe^{3+}) 物质间的电子的能力。这能为一种倾向,因为铁在催化产生羟基自由基的 Fenton 和 Haber-Weiss 反应中起关键作用。因此,在促进将 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原为 $\text{Fe}(\text{II})$ 的条件下,这些活性氧物质 (羟基自由基) 的产生能够导致对包括细胞膜、蛋白质和 DNA 在内的活体系统的生物分子的显著损伤。

[0307] $\text{Fe}^{3+} + \text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{O}_2$ (金属还原)

[0308] $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}^\bullet$ (Fenton 反应)

[0309] $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + \text{OH}^- + \text{OH}^\bullet$ (Haber-Weiss 循环)

[0310] 铁螯合剂能够抑制或促进铁参与产生毒性氧自由基的 Fenton 和 Haber-Weiss 反应。因为某些铁螯合剂能够潜在促使 Fe^{3+} 还原,对螯合剂是否能够促进、防止或影响 Fe^{3+} 还原的早期评价是必要的。

[0311] 存在若干典型方法和化学模型,其通过间接观察基团形成而用于研究螯合剂限制铁参与基团产生反应的能力 (Dean RT 和 Nicholson P(1994)Free Radical Res20:83-101 和 Gutteridge JM(1990)Free Radical Res Commun9:119-125)。分别在实施例 30 和 31 例

示了循环伏安法和苯甲酸羟基化检验在筛选通式 I 化合物中的用途。

[0312] 在实施例 32A 中的 SH-SY5Y 成神经细胞瘤细胞检验中,过氧化氢诱导的细胞凋亡证实了通式 I 化合物的神经保护效应。通式 I 化合物防止内源产生的 A β 毒性的保护效应显示在实施例 32B 中。通过在 SV-NRA 细胞上的多巴胺能神经毒素 MPP⁺也诱导了细胞毒性。在下面实施例 33 中,在 MPP⁺处理的 SV-NRA 细胞中证实了所选的通式 I 化合物的神经保护作用。

[0313] 使用盒式给药方式通过口服给药在雄性 Sprague-Dawley 大鼠中进行体内药物动力学 (PK) 和血脑屏障 (BBB) 研究。Manitpisitkul, P. 和 White, R. E. (2004 年 8 月), Drug Discovery, Vol9. No. 15, pp. 652-658 综述了局部盒式给药。在下表中概述结果:

通式 I 化合物在雄性 Sprague-Dawley 大鼠中的口服盒式给药研究, AUC 标准化为 1 mg/kg 剂量				
Cpd	脑部 AUC* (ug-h/mL)	血浆 AUC* (ug-h/mL)	脑部 AUC/ 血浆 AUC	CL(L/h-kg)
Apo6995	0.30	0.26	1.2	3.89
[0314] Apo7030	0.59 (计算的)	0.59	1.00	1.68
Apo7041	0.45	0.60	0.75	1.67
Apo7080	0.7	0.92	0.76	1.09
Apo7067	0.74	0.5	1.50	2.00
Apo7056	0.77	1.38	0.56	0.72
氯碘羟喹	0.042	0.028	1.5	3.52

[0315] 在盒式给药 BBB 研究中检测的通式 I 化合物列表

[0316]

Cpd	G ⁴	G ³	G ²	G ¹
Apo6995	H	H	CF ₃ CH ₂	CH ₃
Apo7030	H	H	CF ₃ CH ₂	CH ₃ CH ₂
Apo7041	H	H	CH ₃	CF ₃ CH(NMe ₂)
Apo7080	H	H	CH ₃	CF ₂ HCH ₂
Apo7067	H	H	CF ₃ CH ₂	Me ₂ NCH ₂
Apo7056	CF ₃ CH(NHMe)	H	CH ₃	CH ₃

[0317] 通常接受 1, 2- 二甲基 -3- 羟基吡啶 -4- 酮及其羟基衍生物为二齿配体 (Ls), 并且与 Fe(III) 反应以形成中性的 1:3 螯合物。在图 4 所示的物种形成曲线中, 在 pH7.4 下, 当将去铁酮用作配体时, FeL₃ 物质的百分比接近 100。得到的 Fe 螯合物 (FeL₃) 不为氧化还原活性的, 这通过循环伏安分析而证实。然而, 如果 pH 低至 6.0, 则 FeL₂⁺ 和 FeL₃ 物质的混合物立即存在于溶液中。在 pH>7.2 时, 在生理条件下, 去铁酮 (1, 2- 二甲基 -3- 羟基吡

啉-4-酮)对除去Fe(III)为有效的,但在较低pH下,去铁酮及其烷基衍生物是显著低效的。

[0318] Hider 等人(J. Pharm. Pharmacol. 2000, 52, 263-273;European Journal of Medicinal Chemistry 2008, 42, 1035-1047)报道了3-羟基吡啉-4-酮的烷基氨基衍生物的用途。在保持固定在 1×10^{-6} M的[Fe]浓度时,分别用 1×10^{-5} M和 7×10^{-4} M的两种不同浓度的2-乙基-3-羟基-1-[2-(哌啶-1-基)乙基]吡啉-4(1H)-酮例示两种物种形成曲线。并且当[L]为 7×10^{-4} M时,FeL₃螯合物仅在pH>5以上具有较宽的稳定性曲线(Pharm. Pharmacol. 2000, 52, 271的图9)。然而,[L]浓度为 1×10^{-5} M时,FeL₃稳定性曲线非常类似于Fe-去铁酮配合物的稳定性曲线。

[0319] 诸如Apo7041的本发明所选的氨基化合物具有从pH大于等于5而延伸的FeL₃螯合物稳定性。Fe螯合物的光子光谱数据分析显示具有弱碱性氨基的氟化3-羟基吡啉-4-酮是比螯合物Fe-O键中的氧原子更强的质子受体。在pH5至7.2之间,捕捉Fe(III)作为FeL₃和FeL₃H形式的三价铁螯合物。图5中的Apo7041物种形成曲线显示在pH5.0以上不存在FeL₂。另外,配体浓度[L]不影响该化学研究的物种形成曲线结果。

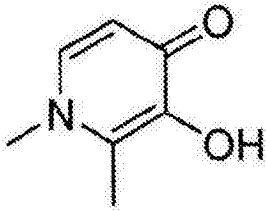
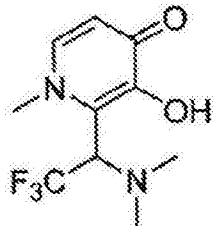
[0320] 可用作质子受体的弱碱性胺的数量在三价铁螯合物中为3。在1:3螯合物的Fe-O键断开之前,所有三个氨基为质子化的。该化合物表现为内部质子冷阱的特性导致了螯合物在低pH下改进的稳定性,这与诸如去铁酮的中性3-羟基吡啉-4-酮相比提供了显著优势。图6和图7概述了中性和碱性螯合物的比较。在使pH减少至约5.0时,当L为中性配体时,显著量的FeL₃通过Fe-O键的裂解而分解为FeL₂。然而,得自本发明通式I的碱性胺衍生物的螯合物在较低pH下是稳定的。

[0321] 去铁酮经历了在3-羟基吡啉-4-酮骨架的C3氧处导致大量葡萄糖苷酸化的II相代谢。因此,需要高口服剂量的去铁酮以实现治疗效果。特别设计本发明所选的化合物以通过引入庞大的被胺衍生物取代的C3或C5三氟乙基部分来阻滞C3氧的葡萄糖苷酸化。在模型研究中,简单的三氟乙基具有与异丙基相同的位阻效应。例如,1-二甲基氨基-2-三氟乙基取代基的位阻效应可以防止C3O-葡萄糖苷酸化,而不影响三价铁螯合物FeL₃的形成。图8显示化合物Fe(Apo7041)₃的3D模型。

[0322] 循环伏安实验显示用 $E_{1/2}=-731$ mV形成稳定的Fe(Apo7041)₃(图2)。数据显示Fe(Apo7041)₃为非氧化还原活性的并且是稳定的化学整体。Apo7041对于Fe(III)的累积 $\log \beta_{130}$ 值为38.8(实施例29B的表29B),其相对高于值为37.24的比去铁酮(表1)。不像Hider等人报道的其它3-羟基吡啉-4-酮的胺衍生物,在0.1M NaCl水溶液中Apo7041的C2-氨基部分的pKa为3.5。因此,在pH3.5处,胺的质子化形式和非质子化形式以1:1的比而存在。随着pH中增加单位(incremental unit)的增加,会在介质中存在显著更多的游离碱。

[0323] 当与去铁酮相比时,本发明所选的氨基衍生物具有更好的金属选择性。将Apo7041的金属连接性质与表1中的去铁酮的那些进行对比。例如,0.1M NaCl/MeOH(1/1, v/v)水溶液中,Apo7041对Zn(II)和Cu(II)的累积 $\log \beta_{120}$ 分别为13.2和17.3,其与去铁酮分别为15.0和20.5的那些相比,比去铁酮低2至3个数量级。因此,本发明的胺衍生物对于Fe(III)是有选择性的。连接倾向的排序为Fe(III)>>Cu(II)>>Zn(II)。

[0324] 表1氨基化合物Apo7041和去铁酮的金属连接性质比较^{a,b}

[0325]	性质	去铁酮 	Apo7041 
	pKa ^a	pKa ₁ = 10.6 pKa ₂ = 4.0	pKa ₁ = 10.1 pKa ₂ = 3.2 pKa ₃ = 2.0
	Cu ²⁺ 螯合 ^a	Logβ ₁ = 10.8 Logβ ₂ = 20.5 pCu ²⁺ = 9.9	Logβ ₁₁₁ = 14.1 Logβ ₁₂₂ = 27.9 Logβ ₁₂₁ = 23.0 Logβ ₁₂₀ = 17.3 pCu ²⁺ = 7.7
	Zn ²⁺ 螯合 ^a	Logβ ₁ = 8.1 Logβ ₂ = 15.0 pZn ²⁺ = 6.3	Logβ ₁₁₁ = 13.1 Logβ ₁₂₁ = 19.6 Logβ ₁₂₀ = 13.2 pZn ²⁺ = 6.0
	Fe ³⁺ 螯合 ^b	pKa ₁ = 9.92 pKa ₂ = 3.55 Logβ ₁₁₀ = 14.85 Logβ ₁₂₀ = 27.25 Logβ ₁₃₀ = 37.24 pFe ³⁺ = 20.2	pFe ³⁺ = 23.4

[0326] ^a除了 Fe³⁺, 在 0.1M NaCl/MeOH(1/1, v/v, 混合物) 水溶液中测定 pKa 和 log β 值。

[0327] ^b对于 Fe³⁺, 在 0.1M NaCl 水溶液中测定 pKa 和 log β 值。对于细节, 参见实施例 29B。

[0328] 本发明化合物的功效可以是治疗在尿中检测到铁存在的患有肾病的患者。在 US6, 906, 052 中报道了尿中蛋白质含量和游离铁的检测作为监测肾病的可能方法。

[0329] 肾的一个生物功能是保留蛋白质。术语“蛋白尿”是指尿中存在过量的血清蛋白, 并且可以为肾 (renal) (肾 (kidney)) 损伤的信号。肾小球或小管或胰腺的损伤能够负面影响肾保留蛋白质的能力。患有肾炎综合征的动物的尿中, 尿的 pH 能在 pH5.2 到 7.8 间变化。动物试验显示 pH6.05 下, 铁结合于铁传递蛋白。当 pH 降至低于 6.0 时, 未结合的铁显著增加。与铁传递蛋白分离的铁能够导致潜在的对肾的严重自由基损伤。将诸如去铁酮的小低分子螯合剂用于螯合游离铁以作为可能的治疗疗法。

[0330] Cooper 等人报道了肾病综合症中泌尿的铁物种形成 (American Journal of Kidney Diseases, 25, 1995, 314-319), 其中由于小球蛋白泄露, 因此铁以非活性形式并与铁传递蛋白结合而存在于小管流体中。在肾炎大鼠中, 在整个肾单元中, 铁仍然结合于铁传递蛋白, 并在碱性 pH 下本身分泌在尿中。因为尿 pH 降低至低于 6, 铁开始与铁传递蛋白分离。如前所述, 游离铁是氧化还原活性的并且可以导致肾病的进一步发展。

[0331] 弱碱化合物能够在酸性室中累积以发挥其生物作用。中性化合物和强碱不以这样的方式累积。例如,抗分泌剂奥美拉唑是在壁细胞的酸性室中聚集以发挥其药理性质的弱碱。本发明的 3-羟基吡啶-4-酮的氨基衍生物促进了在室为弱碱性的位点的累积。一个这样的实例可以为肾病患者的肾单元。

[0332] 本发明的 3-羟基吡啶-4-酮的氨基衍生物具有下述诸多性质中的至少一个:(a) 它们是能够在生物体系的酸性室中累积的弱胺;(b) 当与诸如去铁酮的来自 3-羟基吡啶-4-酮的中性烷基衍生物的螯合物相比时,1:3FeL₃螯合物在 5 至 7.2 间的较低 pH 下是稳定的;(c) 如循环伏安法研究所证实,它们是非氧化还原活性的;(d) 它们运载可以阻滞葡萄糖苷酸化 C3-OH 的在 C2 或 C5 位的大体积取代基,并且由此可以需要较低治疗剂量的药物;(e) 在盒式给药药物动力学研究中,与去铁酮相比更高的螯合速率。因此,本发明化合物可以具有经历尿排出的倾向,并且应当理解肾病患者的游离铁的相关位点是肾脏。

[0333] 本发明的氨基化合物的其它可能功效是治疗癌症和炎性肺部病症。Buss 等人综述了铁螯合在癌症治疗中的作用 (Current Medicinal Chemistry, 2003, 12, 1021-1034)。氧化应激后的 DNA 损伤涉及诸如铁的过渡金属。溶酶体包含相对高浓度的氧化还原活性铁,其主要由含铁蛋白质降解而产生。溶酶体的酸性室进一步促进铁催化的氧化反应 (Kurz 等人, Biochem. J. (2004) 378, 1039-1045)。已经报道了铁螯合剂 DFO 抑制 DNA 合成和细胞增殖。DFO 是具有游离氨基终端的弱碱,并且能够在溶酶体中累积以发挥其螯合机制。不幸地, DFO 是大肽六齿状螯合剂并且不容易渗入细胞。本发明的胺化合物是低分子量化合物。化合物的弱碱性性质及其亲脂特性使化合物在溶酶体的酸性室中累积。

[0334] Richardson 等人报道了最重要的氧化还原活性铁的细胞池可以存在于溶酶体内,使得细胞器易受氧化应激影响 (Expert Opinion on Investigational Drugs, 2005 年 8 月, Vol. 14, No. 8, Pages 997-1008)。氧化应激将导致组织损伤。因此,靶向溶酶体的铁螯合治疗可以为炎性肺病的潜在治疗策略。弱碱细胞可渗透的低分子量铁螯合剂可以在溶酶体的酸性室内累积,并由此可以与去铁敏相比,作为更有效的细胞保护剂。因此,本发明的弱碱的另一可能功效为这类化合物在治疗炎性肺病中的用途。

[0335] 本发明的 3-羟基吡啶-4-酮的大多数非氨基 N¹-三氟乙基或 C²-二氟乙基衍生物是合成氨基衍生物的中间体。另外,其中 G¹为 C₁-C₆烷基且 G²为三氟乙基或 G¹为二氟乙基且 G²为 C₁-C₆烷基的通式 I 化合物是不含胺侧链的 3-羟基吡啶-4-酮衍生物的实例。本发明的 3-羟基吡啶-4-酮的这些中性衍生物中的某些与去铁酮相比,亲脂性显著更高。在 BBB 盒式给药研究中,它们表现出更高的脑血浆浓度比,使得它们更有利于在脑中累积。这些化合物可以为靶向在脑中累积,并且用于治疗诸如弗里德赖希共济失调的疾病,其中将螯合剂用于减少共济失调和脑中的小脑铁。

[0336] 本发明的所有化合物均对 Fe(III) 与适当的酚 C3OH 的配位具有特异性, pKa 和 pFe(III) > 19, 如 Job's Plot 所证实,形成平稳的 1:3 三价铁螯合物,并且 D_{7.4}值 > 0.1。此外,金属选择性研究显示化合物没有螯合必不可少的金属,例如钙、镁、锌。

[0337] 虽然本文公开了本发明的多种实施方案,但是根据本领域技术人员的一般知识,可以在本发明范围内进行许多改变和修饰。这类修饰包括本发明任一方面的已知等价物的取代,以便以基本相同方式实现相同结果。数字范围包括定义该范围的数字。如本文所用的词语“包括 (comprising)”作为开放式术语,其基本等价于短语“包括,但不限于”,并且

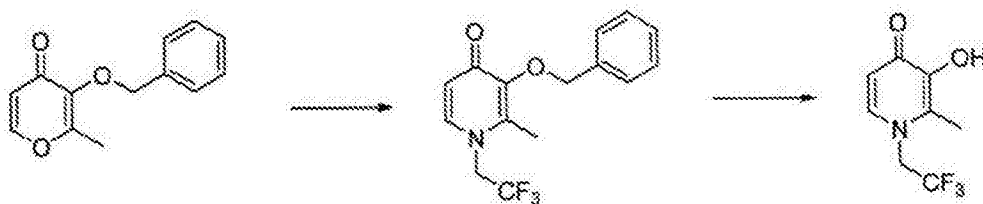
词语“包括 (comprises)”具有相同含义。除非本文另外清楚地说明,如本文所用的单数形式“a(一个)”、“an(一个)”、“the(一个)”包括复数指代物。因此,例如“一事物”是指包括一个以上这类事物。本文参考文献的引用不是承认这类文献是本发明的现有技术。本文以引用形式包括任何优先权文件,犹如具体且单独地指出每一单独的优先权文件以引用形式包括在本文中,并且仿佛全部在本文列出。本发明包括基本如前所述并且参照实施例和附图的所有实施方案和变体。

[0338] 本文描述了本发明的多种可替换的实施方案和实施例。这些实施方案和实施例是示例性的并且不应被理解为限制本发明的范围。

[0339] 实施例 1

[0340] 制备 3-羟基-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮

[0341]



[0342] (a) 制备 3-(苄氧基)-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮。

[0343] 将 3-(苄氧基)-2-甲基-4H-吡喃-4-酮 (1.00g, 4.6mmol) 与三氟乙胺盐酸盐 (1.35g, 10.0mmol) 在吡啶 (10mL) 中混合。在 75°C 下,在密封烧瓶中加热反应混合物 5 小时。浓缩混合物并通过柱层析在硅胶上用 5% 甲醇的乙酸乙酯溶液作为洗提液而纯化残留物,从而得到米黄色固体形式的 3-(苄氧基)-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (0.82mg)。产率=60%; ^1H NMR(CDCl_3 , 90MHz) δ (ppm): 7.02-7.58(m, 6H), 6.42(d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 5.20(s, 2H), 4.30(q, $J=8.3\text{Hz}$, 2H) 和 2.10(s, 3H)。

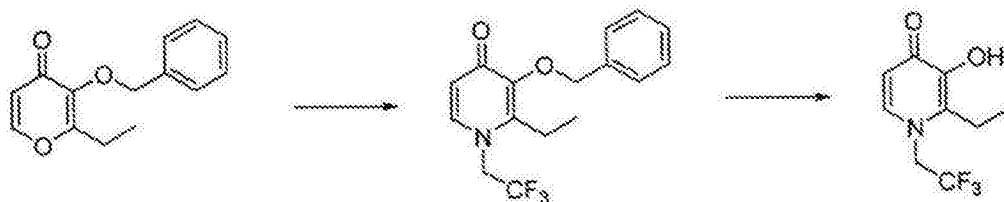
[0344] (b) 制备 3-羟基-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮。

[0345] 将 3-(苄氧基)-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (820mg, 2.8mmol) 与 10% 钨碳 (潮湿, 84mg) 在甲醇 (20mL) 中混合。在 30psi 的氢气下,在室温下,在 Parr 仪器中搅拌混合物 35 分钟。通过 CeliteTM 过滤混合物并浓缩滤液。用乙醚研磨残留物以得到灰白色固体形式的 3-羟基-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (511mg)。产率=89%; ^1H NMR($\text{DMSO}-d_6$, 90MHz) δ (ppm): 7.60(d, $J=7.4\text{Hz}$, 1H), 6.20(d, $J=7.4\text{Hz}$, 1H), 4.99(q, $J=8.8\text{Hz}$, 2H) 和 2.29(s, 3H)。

[0346] 实施例 2

[0347] 制备 3-羟基-2-乙基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮

[0348]



[0349] (a) 以与实施例 1(a) 相似的方式,从 3-(苄氧基)-2-乙基-4H-吡喃-4-酮 (1.20g, 5.2mmol) 和 2,2,2-三氟乙胺盐酸盐 (3.57g, 26.1mmol) 在吡啶 (10mL) 中制备

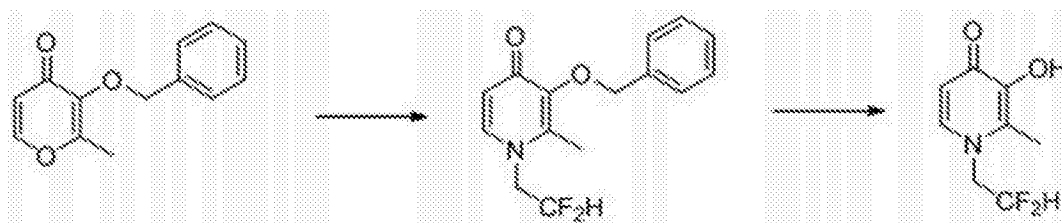
3-(苄氧基)-2-乙基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (1.10g)。产率=67%;¹H NMR(MeOD-D₄, 90MHz) δ (ppm): 7.07-7.59(m, 6H), 6.51(d, J=7.7Hz, 1H), 5.20(s, 2H), 4.38(q, J=7.7Hz, 2H), 2.58(q, J=7.5Hz, 2H) 和 0.97(t, J=7.5Hz, 3H); MS m/z 312[M+1]⁺。

[0350] (b) 以与实施例 1(b) 所述的相似的方式, 在 15psi 的氢气下, 在甲醇 (5mL) 和乙醇 (35mL) 中, 使用 10% 钯碳 (潮湿, 90mg), 从 3-(苄氧基)-2-乙基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (0.90g, 2.9mmol) 制备 2-乙基-3-羟基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (0.30g), 持续 1.5 小时。产率=47%;¹H NMR(DMSO-D₆, 400MHz) δ (ppm): 7.58(d, J=7.3Hz, 1H), 6.41(d, J=7.3Hz, 1H), 4.92(q, J=8.1, 2H), 2.72(t, J=7.5Hz, 2H) 和 1.20(t, J=7.5Hz, 3H); MS m/z 222[M+1]⁺。

[0351] 实施例 3

[0352] 制备 1-(2,2-二氟乙基)-3-羟基-2-甲基吡啶-4(1H)-酮

[0353]



[0354] (a) 制备 3-(苄氧基)-1-(2,2-二氟乙基)-2-甲基吡啶-4(1H)-酮。

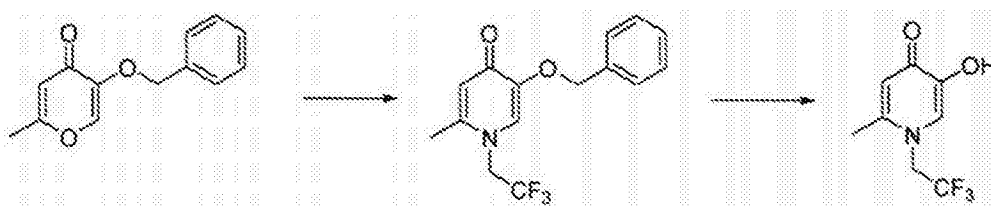
[0355] 在密封小瓶中将 3-(苄氧基)-2-甲基-4H-吡喃-4-酮 (432mg, 2.0mmol) 与 2,2-二氟乙胺 (655mg, 8.0mmol) 和三乙胺盐酸盐 (1.10g, 8.0mmol) 在吡啶 (6mL) 中混合。在 110℃ 下过夜加热反应混合物。过滤固体并用乙酸乙酯洗涤。在减压下浓缩滤液并用水与残留物混合, 然后用乙酸乙酯萃取。用水和盐水洗涤有机层。通过柱层析在硅胶上用 5% 的甲醇的乙酸乙酯溶液作为洗提液而纯化产物以得到浅黄色固体形式的 3-(苄氧基)-1-(2,2-二氟乙基)-2-甲基吡啶-4(1H)-酮 (337mg)。产率=60%;¹H NMR(MeOD-D₄, 90MHz) δ (ppm): 7.66(d, J=7.1Hz, 1H), 7.16-7.55(m, 5H), 6.46(d, J=7.1Hz, 1H), 5.55(t, J=55.0Hz, 1H), 4.45(t, J=14.8Hz, 1H) 和 2.20(s, 3H); MS m/z 280[M+1]⁺。

[0356] (b) 以与实施例 1(b) 相似的方式, 使用气球, 在一个大气压的氢气下, 使用 10%Pd/C(潮湿, 90mg) 在甲醇中, 从 3-(苄氧基)-1-(2,2-二氟乙基)-2-甲基吡啶-4(1H)-酮 (337mg, 1.2mmol) 制备 1-(2,2-二氟乙基)-3-羟基-2-甲基吡啶-4(1H)-酮 (160mg), 持续 5 分钟。产率=70%;¹H NMR(MeOD-D₄, 90MHz) δ (ppm): 7.60(d, J=7.3Hz, 1H), 6.39(d, J=7.3Hz, 1H), 6.23(tt, J=54.0, 2.9Hz, 1H), 4.51(td, J=14.8, 2.9Hz, 2H) 和 2.43(s, 3H); MS m/z 190[M+1]⁺。

[0357] 实施例 4

[0358] 制备 5-羟基-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮

[0359]



[0360] (a) 制备 5-(苄氧基)-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮。

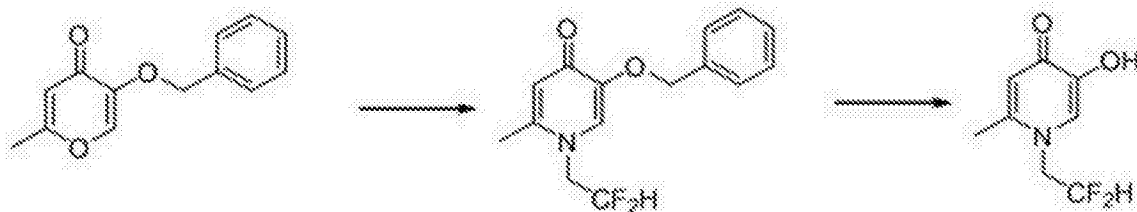
[0361] 将 5-(苄氧基)-2-甲基-4H-吡喃-4-酮 (4.32g, 20.0mmol) 与三氟乙胺 (6.92g, 70.0mmol) 在 6N HCl (11.7mL) 和乙醇 (5.8mL) 中混合。在 100℃ 下, 在密封烧瓶中加热反应混合物 20 小时。然后真空浓缩混合物并用水稀释残留物。过滤固体, 用水和乙醚洗涤以得到白色固体形式的 5-(苄氧基)-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (5.01g)。产率=84%; ^1H NMR (MeOD- D_4 , 90MHz) δ (ppm): 7.99 (s, 1H), 7.14-7.65 (m, 5H), 6.80 (s, 1H), 4.91-5.25 (m, 4H), 2.53 (s, 3H)。

[0362] (b) 将 5-(苄氧基)-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (45.8g, 164mmol) 与 6N HCl (100mL) 和异丙醇 (20mL) 混合。在 110℃ 的油浴中加热混合物 8 小时, 然后通过旋转蒸发仪浓缩。用丙酮和乙醚研磨残留物以得到 5-羟基-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮盐酸盐 (24.5g)。产率=65%; ^1H NMR (MeOD- D_4 , 90MHz) δ (ppm): 8.18 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 5.31 (q, $J=8.2\text{Hz}$, 2H) 和 2.67 (s, 3H)。

[0363] 实施例 5

[0364] 制备 1-(2,2-二氟乙基)-5-羟基-2-甲基吡啶-4(1H)-酮

[0365]



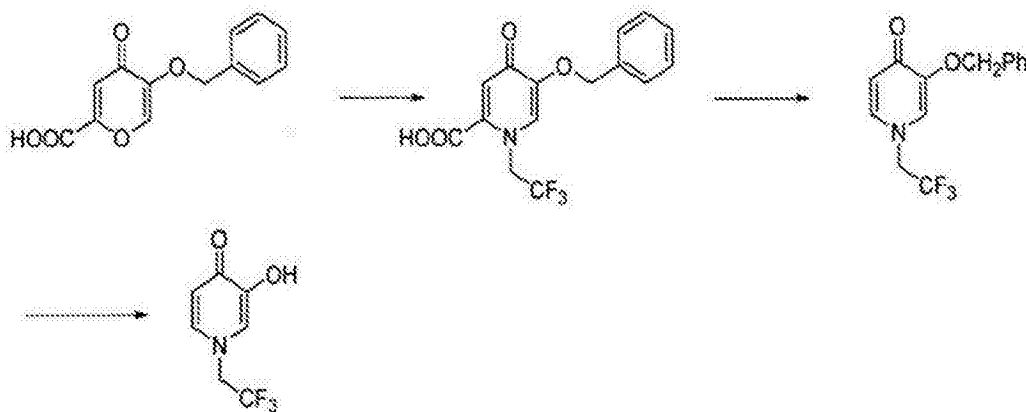
[0366] (a) 以与实施例 1(a) 所述的相似的方式, 从 5-(苄氧基)-2-甲基-4H-吡喃-4-酮 (3.00g, 13.8mmol)、二氟乙胺 (2.48g, 55.2mmol)、三乙胺盐酸盐 (5.58g, 55.2mmol) 和吡啶 (15mL) 的混合物中制备 5-(苄氧基)-1-(2,2-二氟乙基)-2-甲基吡啶-4(1H)-酮 (2.20g)。产率=58%; ^1H NMR (90MHz, MeOD- D_4) δ (ppm): 7.53 (s, 1H), 7.27-7.45 (m, 5H), 6.36 (s, 1H), 5.56-6.77 (tt, $J=54.9, 3.6\text{Hz}$, 1H), 5.04 (s, 2H), 4.24-4.60 (td, $J=14.9, 2.7, 2\text{Hz}$) 和 2.36 (s, 3H); MS m/z 280 $[\text{M}+1]^+$ 。

[0367] (b) 以与实施例 1(b) 所述的相似的方式, 在 15psi 压力的氢气下, 在 Parr 仪器中, 使用 10%Pd/C (潮湿, 50mg) 在甲醇 (40mL) 中, 从 5-(苄氧基)-1-(2,2-二氟乙基)-2-甲基吡啶-4(1H)-酮 (500mg, 1.80mmol) 制备 1-(2,2-二氟乙基)-5-羟基-2-甲基吡啶-4(1H)-酮 (230mg), 持续 27 分钟。产率=99%; ^1H NMR (MeOD- D_4 , 90MHz) δ (ppm): 7.46 (s, 1H), 6.37 (s, 1H), 5.62-6.83 (tt, $J=54.9, 3.6\text{Hz}$, 1H), 4.26-4.60 (td, $J=15.3, 2.4\text{Hz}$, 2H) 和 2.38 (s, 3H); MS m/z 190 $[\text{M}+1]^+$ 。

[0368] 实施例 6

[0369] 制备 3-羟基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮

[0370]



[0371] (a) 将 5-(苄氧基)-4-氧代-4H-吡啶-2-羧酸 (10.5g, 42.7mmol) 溶于氢氧化钠溶液 (1.71g, 42.7mmol 的 77mL 去离子水) 中。加入 2,2,2-三氟乙胺盐酸盐 (23.1g, 171mmol) 并在密封烧瓶中在 70℃ (油浴温度) 下搅拌所得悬浮液 17 小时。然后过滤反应混合物并用去离子水 (20mL×5) 洗涤灰白色固体以得到 5-(苄氧基)-4-氧代-1-(2,2,2-三氟乙基)-1,4-二氢吡啶-2-羧酸 (6.00g)。产率=43%; ¹H NMR (MeOD-D₄, 90MHz) δ 7.30 (s, 1H), 6.76-7.09 (m, 5H), 6.71 (s, 1H), 4.93 (d, J=8.4Hz, 2H) 和 4.65 (s, 2H); MS m/z 328 [M+1]⁺。

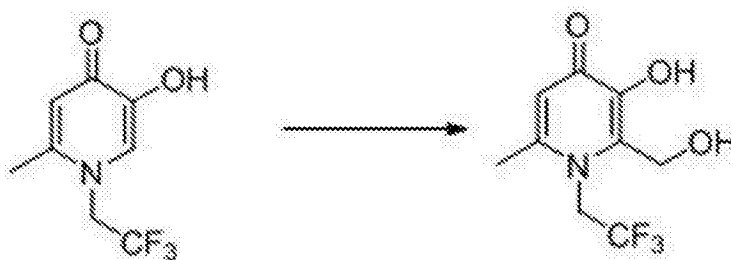
[0372] (b) 将 5-(苄氧基)-4-氧代-1-(2,2,2-三氟乙基)-1,4-二氢吡啶-2-羧酸 (4.70g, 14.4mmol) 与 DMF (25mL) 混合并加热至 130℃ (浴温度) 3 小时。使用旋转蒸发器在减压下浓缩混合物并用乙酸乙酯 (50mL) 与残留物混合。然后在室温下搅拌 2 小时并过滤。浓缩滤液以得到 3-(苄氧基)-1-(2,2,2-三氟乙基) 吡啶-4(1H)-酮 (3.58g)。产率=69%; ¹H NMR (DMSO-D₆, 400MHz) δ (ppm) 7.57-7.84 (m, 2H), 7.22-7.57 (m, 5H), 6.25 (br. s, 1H) 和 4.69-5.28 (m, 4H); MS m/z 284 [M+1]⁺。

[0373] (c) 将 3-(苄氧基)-1-(2,2,2-三氟乙基) 吡啶-4(1H)-酮 (1.2g, 4.2mmol) 与 10% 钯碳 (潮湿, 0.12g) 在乙醇 (70mL) 中混合。在 15psi 的氢气压力下, 氢化所得混合物 1.5 小时。通过 Celite™ 层过滤而除去钯, 并用甲醇 (5mL×3) 洗涤 Celite™ 饼。蒸发滤液以得到白色固体形式的 3-羟基-1-(2,2,2-三氟乙基) 吡啶-4(1H)-酮 (0.78g)。产率=95%; ¹H NMR (DMSO-D₆, 400MHz) δ (ppm) 7.60 (d, J=7.1Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 6.23 (d, J=7.1Hz, 1H) 和 4.80-5.00 (m, 2H); MS m/z 194 [M+1]⁺。

[0374] 实施例 7

[0375] 制备 3-羟基-2-(羟基甲基)-6-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基) 吡啶-4(1H)-酮

[0376]



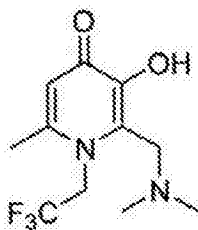
[0377] 将 3-羟基-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基) 吡啶-4(1H)-酮 盐酸盐 (4.87g, 20.0mmol) 与 37% 甲醛 (30mL) 和 6N 氢氧化钠 (7mL, 42.0mmol) 混合。在 39-42℃

下搅拌反应混合物 11 小时, 然后加入另外的 37% 甲醛 (30mL)。在 37℃ 下搅拌反应混合物 12 小时, 然后在室温下放置另外的 12 小时。过滤固体并将滤液酸化至 pH 约 5 至 6。用硅胶浓缩溶液并通过柱层析用 5-10% 的甲醇的乙酸乙酯梯度混合物作为洗提液纯化产物以得到浅桃红色固体形式的标题化合物 3-羟基-2-(羟基甲基)-6-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (3.02g)。产率 63.5%; ^1H NMR (DMSO- D_6 + D_2O , 90MHz) δ (ppm): 6.20 (s, 1H), 5.15 (q, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 4.33-4.92 (m, 2H) 和 2.37 (s, 3H); MS m/z 238 $[\text{M}+1]^+$ 。

[0378] 实施例 8

[0379] A. 制备 2-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-6-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮

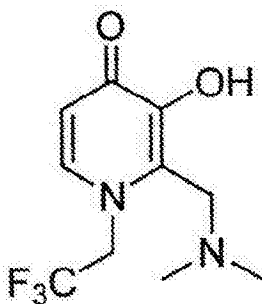
[0380]



[0381] 将 3-羟基-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 盐酸盐 (415mg, 1.7mmol) 与 N,N,N',N'-四甲基甲二胺 (4mL) 在乙醇 (10mL) 中混合并在 80℃ 加热 21 小时。通过旋转蒸发仪浓缩反应混合物并用水研磨残留物以得到白色固体形式的 2-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-6-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (315mg)。产率 = 70%; ^1H NMR (DMSO- D_6 + D_2O , 90MHz) δ (ppm): 6.20 (s, 1H), 5.15 (q, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 4.69 (br. s, 2H) 和 2.37 (s, 3H); MS m/z 265 $[\text{M}+1]^+$ 。

[0382] B. 制备 2-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮

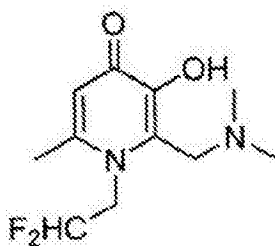
[0383]



[0384] 以类似方式, 在 75℃ 下, 由 3-羟基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (0.60g, 3.1mmol) 与 N,N,N',N'-四甲基二氨基甲烷 (8.50mL, 62.2mmol) 在甲醇 (10mL) 中反应 20 小时而制备 2-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (0.21g)。产率 = 27%; ^1H NMR (MeOD- D_4 , 90MHz) δ (ppm): 7.81 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 6.52 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 5.07 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 2H), 4.60 (s, 2H) 和 2.94 (s, 6H); MS m/z 251 $[\text{M}+1]^+$ 。

[0385] C. 制备 1-(2,2-二氟乙基)-2-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-6-甲基吡啶-4(1H)-酮

[0386]

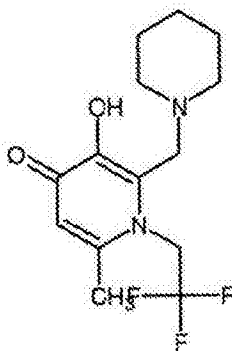


[0387] 以类似方式,在 75℃下,由 1-(2,2-二氟乙基)-5-羟基-2-甲基吡啶-4(1H)-酮 (0.40g, 2.1mmol) 和 N,N,N',N'-四甲基二氨基甲烷 (4.3mL, 31.7mmol) 在乙醇 (10mL) 中制备 1-(2,2-二氟乙基)-2-[(二甲基氨基)甲基]-3-羟基-6-甲基吡啶-4(1H)-酮 (0.41g),持续 19 小时。产率=78%;¹H NMR(DMSO-D₆, 90MHz) δ ppm:6.45 (tt, J=55.1, 3.5Hz, 1H), 6.24 (s, 1H), 4.74 (td, J=14.6, 3.5Hz, 2H), 3.55 (s, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.17 (s, 6H); MS m/z 247 [M+1]⁺。

[0388] 实施例 9

[0389] 制备 3-羟基-6-甲基-2-(哌啶-1-基甲基)-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮

[0390]

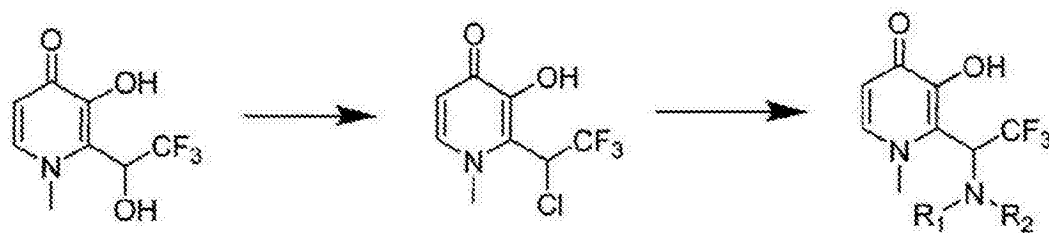


[0391] 在 80℃下,将 3-羟基-2-(羟基甲基)-6-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (375mg, 1.6mmol) 与乙腈混合并加入亚硫酸氯 (753mg, 6.3mmol)。搅拌反应混合物 5 分钟,然后通过旋转蒸发仪浓缩以得到 2-(氯甲基)-3-羟基-6-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮盐酸盐。在室温下,向哌啶 (672mg, 7.9mmol) 的异丙醇 (5mL) 溶液加入氯化物化合物。五分钟后,用水稀释反应混合物并用乙酸乙酯萃取。用水洗涤有机层两次并用盐水洗涤有机层,干燥并浓缩。用乙醚/己烷研磨残留物以得到浅橘色固体形式的 3-羟基-6-甲基-2-(哌啶-1-基甲基)-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (165mg)。产率=34%;¹H NMR(MeOD-D₄, 90MHz) δ (ppm):6.37 (s, 1H), 3.72 (br. s, 2H), 2.45 (br. m, 7H) 和 1.51 (br. m, 6H); MS m/z 305 [M+1]⁺。

[0392] 实施例 10

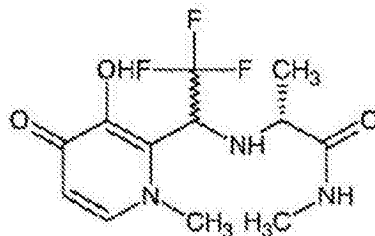
[0393] 制备 N-甲基-N2-[2,2,2-三氟-1-(3-羟基-1-甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-2-基)乙基]-D-丙氨酸酰胺和 N-甲基-N2-[2,2,2-三氟-1-(3-羟基-1-甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-2-基)乙基]-L-丙氨酸酰胺 (Apo6998 和 Apo6999)

[0394]



[0395] 在冰水浴中,向溶于6N NaOH(206.9mL)溶液的3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮盐酸盐溶液加入三氟乙醛甲基半缩醛(131.9mL, 1.24mmol)。所得溶液加热至95℃过夜。然后冷却反应混合物,并在冰水浴中使用6N HCl溶液将混合物的pH调节至约5。通过过滤收集沉淀的固体,并且用去离子水(100mL×2)彻底洗涤固体,然后在43℃下真空干燥过夜以产生为白色固体形式的3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮(94.8g)。产率=68%;¹H NMR(90MHz, MeOD-D₄) δ (ppm):7.60(d, J=7.1Hz, 1H), 6.40(d, J=7.2 Hz, 1H), 5.92(q, J=8.2Hz, 1H), 3.98(s, 3H); MS m/z224[M+1]⁺, 158(100%)。

[0396]



[0397] 向3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮(1.60g, 7.2mmol)的50mL乙腈的冰冷却悬浮液滴加SOCl₂(0.80mL, 10.8mmol),然后滴加吡啶(0.6mL, 7.2mmol)。搅拌所得悬浮液0.5小时,然后回流2小时。蒸发反应混合物至干燥。向残留物的10mL乙腈悬浮液中加入L-H-Ala-NHMe·HCl(1.19g, 8.6mmol)和Et₃N(4.0mL, 28.7mmol)的20mL乙腈悬浮液。在室温下搅拌所得混合物过夜。蒸发反应混合物至干燥,通过在硅胶(10%浓NH₄OH的IPA作为洗提液)上快速层析而纯化残留物以得到2.20g的两种非对映异构体,Apo6988和Apo6999。使用反相C18小柱(cartridge)通过Biotage进一步纯化而获得每一非对映异构体的样本。

[0398] 通过HPLC得到较多的极性异构体(Rt=3.43min)(110mg)。¹H NMR(400MHz, MeOD-D₄) δ (ppm):7.68(d, J=7.1Hz, 1H), 6.41(d, J=7.1Hz, 1H), 4.68-4.80(m, 1H), 3.83(s, 3H), 3.41-3.56(m, 1H), 2.57(s, 3H), 1.30(d, J=6.1Hz, 3H); MS m/z330[M+Na]⁺, 308[M+1]⁺, 126(100%)。

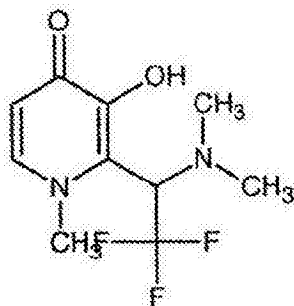
[0399] 通过HPLC得到较少的极性异构体(Rt=3.68min)(100mg)。¹H NMR(400MHz, MeOD-D₄) δ (ppm):7.70(d, J=7.1Hz, 1H), 6.44(d, J=7.1Hz, 1H), 4.60-4.70(m, 1H), 3.79(s, 3H), 3.20-3.24(m, 1H), 2.75(s, 3H), 1.28(d, J=6.1Hz, 3H); MS m/z330[M+Na]⁺, 308[M+1]⁺, 126(100%)。

[0400] HPLC条件:柱:对称C18, 5 μm; 3.9mm×150mm; 流速:1.0mL/min; 流动相:A=0.035%HC10₄, B=乙腈; 梯度(min-B%):0-10, 10-100, 12-100, 14-50。

[0401] 实施例11

[0402] 制备2-[1-(二甲基氨基)-2,2,2-三氟乙基]-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮(Apo7041)

[0403]

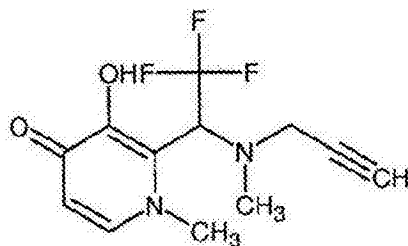


[0404] 在冰水浴中,向 3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (5.00g, 22.4mmol) 的 40mL 乙腈悬浮液分批加入 Vilsmeier 试剂 (4.30g, 33.6mmol)。在添加至二甲胺盐酸盐 (6.00g, 73.6mmol) 和 Et_3N (15.0mL, 107.6mmol) 的 30mL 乙腈悬浮液之前,搅拌所得混合物 2 小时。在室温下过夜搅拌所得悬浮液。滤除固体并浓缩滤液至干燥。通过在硅胶上的快速层析 (10%MeOH 的 EtOAc 作为洗提液) 纯化残留物以得到标题化合物 Apo7041 (1.8g)。产率=32%; ^1H NMR (90MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$) δ (ppm): 7.63 (d, $J=7.3\text{Hz}$, 1H), 6.41 (d, $J=7.3\text{Hz}$, 1H), 4.78 (q, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 3.99 (s, 3H), 2.41 (s, 6H); MS m/z 273 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 251 $[\text{M}+1]^+$, 206 (100%)。

[0405] 实施例 12

[0406] A. 制备 3-羟基-1-甲基-2-[2,2,2-三氟-1-[甲基(丙-2-炔-1-基)氨基]乙基]吡啶-4(1H)-酮 (Apo7057)

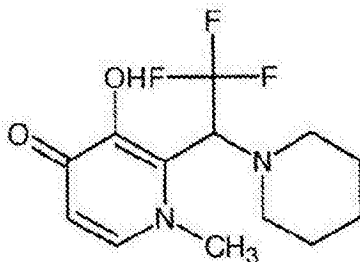
[0407]



[0408] 向在冰水浴中冷却的 20mL 乙腈加入 DMF (0.42mL, 5.4mmol), 然后滴加草酰氯 (0.47mL, 5.4mmol)。向该所得悬浮液中整体加入 3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (1.0g, 4.5mmol)。然后搅拌混合物 2 小时。然后,向该反应混合物中加入 Et_3N (2.50mL, 17.9mmol), 然后加入 N-甲基炔丙基胺 (0.75mL, 9.0mmol)。在室温下搅拌反应混合物过夜。滤除固体,浓缩滤液至干燥。通过在硅胶 (5%MeOH 的 CH_2Cl_2 作为洗提液) 上的快速层析纯化残留物以得到橘色粉末形式的标题化合物 Apo7057 (570mg)。产率=46.4%; ^1H NMR (400MHz, DMSO+ 几滴 D_2O) δ (ppm): 7.6 (br. s., 1H), 6.25 (d, $J=7.1\text{Hz}$, 1H), 5.15 (br. s., 1H), 3.87 (s, 3H), 3.37-3.67 (m, 2H), 3.23 (br. s., 1H), 2.32 (br. s., 3H); MS m/z 275 $[\text{M}+1]^+$, 206 (100%)。

[0409] B. 制备 3-羟基-1-甲基-2-[2,2,2-三氟-1-(哌啶-1-基)乙基]吡啶-4(1H)-酮 (Apo7058)

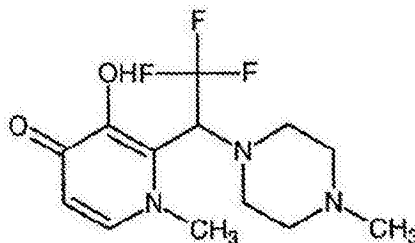
[0410]



[0411] 以类似方式,由 3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (1.0g, 4.5mmol) 和哌啶 (0.88mL, 8.9mmol) 制备 Apo7058。在通过快速层析 (4%MeOH 的 CH_2Cl_2 作为洗提液) 纯化后,获得白色固体形式的标题化合物 Apo7058 (700mg)。产率 = 54%; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 75 °C) δ (ppm): 7.59 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 6.19 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 4.82 (q, $J=9.0\text{Hz}$, 1H), 3.88 (s, 3H), 2.46-2.84 (m, 4H), 1.29-1.74 (m, 6H) MS m/z 291 $[\text{M}+1]^+$, 206 (100%)。

[0412] C. 制备 3-羟基-1-甲基-2-[2,2,2-三氟-1-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]吡啶-4(1H)-酮 (Apo7073)

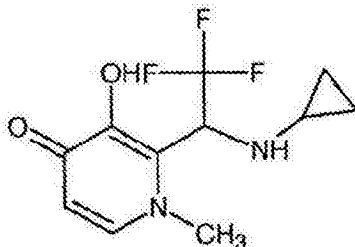
[0413]



[0414] 以类似方式,由 3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (1.0g, 4.5mmol) 和 1-甲基哌嗪 (1.0mL, 9.0mmol) 制备 Apo7073。在通过 Biotage 反相 C18 柱纯化后,获得标题化合物 Apo7073 (401mg)。产率 = 29%; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 75°C) δ (ppm): 7.63 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 6.21 (d, $J=7.4\text{Hz}$, 1H), 4.94 (q, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.05 (br. s., 4H), 2.92 (br. s., 4H), 2.64 (s, 3H); MS m/z 306 $[\text{M}+1]^+$, 206 (100%)。

[0415] D. 制备 2-[1-(环丙基氨基)-2,2,2-三氟乙基]-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮 (Apo7074)

[0416]

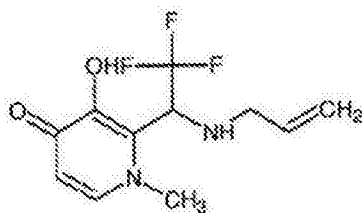


[0417] 以类似方式,由 3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (1.0g, 4.5mmol) 和环丙胺 (0.62mL, 9.0mmol) 制备 Apo7074。在通过快速层析 (5%MeOH 的 CH_2Cl_2 作为洗提液) 纯化后,获得标题化合物 Apo7074 (470mg)。产率 = 40%; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}+$ 几滴 D_2O) δ (ppm): 7.67 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 6.25 (d, $J=7.1\text{Hz}$, 1H), 4.70 (q, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 3.74 (s, 3H), 2.04 (br. s., 1H), 0.34-0.43 (m, 4H); MS m/z

$z263[M+1]^+$, 206 (100%)。

[0418] E. 制备 3-羟基-1-甲基-2-[2,2,2-三氟-1-(丙-2-烯-1-基氨基)乙基]吡啶-4(1H)-酮 (Apo7075)

[0419]



[0420] 以类似方式,由 3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (1.0g, 4.5mmol) 和烯丙胺 (0.67mL, 9.0mmol) 制备 Apo7075。在通过快速层析 (5%MeOH 的 CH_2Cl_2 作为洗提液) 纯化后,获得标题化合物 Apo7075 (497mg)。产率=42%; 1H NMR (400MHz, DMSO+ 几滴 D_2O) δ (ppm): 7.65 (d, $J=7.1$ Hz, 1H), 6.24 (d, $J=7.4$ Hz, 1H), 5.70-5.80 (m, 1H), 5.14 (d, $J=17.4$ Hz, 1H), 5.06 (d, $J=10.1$ Hz, 1H), 4.63 (q, $J=8.2$ Hz, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.15-3.19 (m, 2H); MS m/z 263 $[M+1]^+$, 206 (100%)。

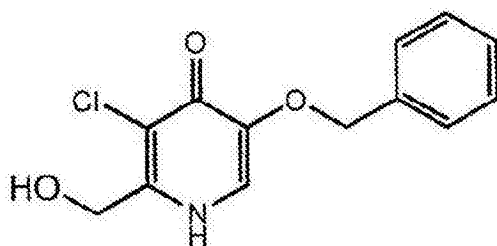
[0421] 实施例 13

[0422] A. 制备 5-(苄氧基)-3-氯-2-甲基吡啶-4(1H)-酮

[0423] 在冰水浴中向 5-(苄氧基)-2-甲基吡啶-4(1H)-酮 (9.00g, 41.8mmol) 的 2M 氢氧化钠 (62.5mL, 125mmol) 溶液中缓慢加入 10-14% 次氯酸钠 (62.5mL) 溶液,时间为 20 分钟。在室温下,将反应混合物搅拌另外一小时。用 6N HCl 仔细中和反应混合物至 pH 约 7,同时外部冷却至保持内部温度低于 25°C。过滤固体并用水 (3 $\times$) 洗涤,然后在真空烘箱中干燥过夜。因此,获得白色固体形式的 5-(苄氧基)-3-氯-2-甲基吡啶-4(1H)-酮 (9.03g)。产率=86%; 1H NMR (DMSO- D_6 , 90MHz) δ (ppm): 11.74 (br. s, 1H), 7.14-7.68 (m, 6H), 5.02 (s, 2H) 和 2.33 (s, 3H)。

[0424] B. 制备 5-(苄氧基)-3-氯-2-(羟基甲基)吡啶-4(1H)-酮

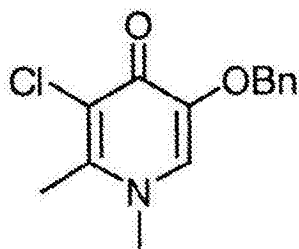
[0425]



[0426] 以类似方式,由 5-(苄氧基)-2-(羟基甲基)吡啶-4(1H)-酮 (11.56g, 50mmol) 和 10-14% 次氯酸钠 (75mL) 的 2M 氢氧化钠 (75mL) 溶液制备 5-(苄氧基)-3-氯-2-(羟基甲基)吡啶-4(1H)-酮 (10.50g)。产率=81%; 1H NMR (DMSO- D_6 , 90MHz) δ (ppm): 11.35 (br. s, 1H), 7.05-7.66 (m, 6H), 5.79-6.32 (m, 1H), 5.03 (s, 2H) 和 4.54 (s, 2H)。

[0427] C. 制备 5-(苄氧基)-3-氯-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮

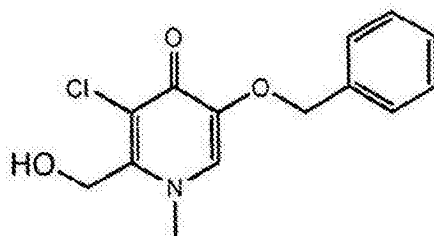
[0428]



[0429] 将 5-(苄氧基)-3-氯-2-甲基吡啶-4(1H)-酮 (3.00g, 12.0mmol) 悬浮在 25mL 的 DMF 中。加入碳酸钾 (3.30g, 24.0mmol), 然后加入碘甲烷 (1.53mL, 24.0mmol)。通过 TLC (30% 乙酸乙酯的己烷) 检测反应进展。完成时, 使反应在室温下搅拌。加入水并形成白色沉淀。通过抽吸过滤收集固体, 进行空气干燥然后在真空下进一步干燥。因此, 获得 5-(苄氧基)-3-氯-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮 (2.00g)。产率 = 63%; ^1H NMR (MeOD- D_4 , 90MHz,) δ (ppm): 7.61 (s, 1H), 7.27-7.46 (m, 5H), 5.21 (s, 2H), 3.75 (s, 3H) 和 2.54 (s, 3H)。

[0430] D. 制备 5-(苄氧基)-3-氯-2-(羟基甲基)-1-甲基吡啶-4(1H)-酮

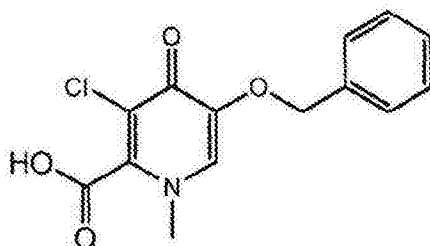
[0431]



[0432] 以类似方式, 由 5-(苄氧基)-3-氯-2-(羟基甲基)吡啶-4(1H)-酮 (10.0g, 37.6mmol)、碘甲烷 (10.7g, 75.2mmol) 和碳酸钾 (10.3g, 75.2mmol) 在 DMF (50mL) 中制备 5-(苄氧基)-3-氯-2-(羟基甲基)-1-甲基吡啶-4(1H)-酮 (7.52g)。产率 = 72%; ^1H NMR (DMSO- D_6 , 90MHz) δ (ppm): 7.77 (s, 1H), 7.17-7.58 (m, 5H), 5.65 (br. s, 1H), 5.04 (s, 2H), 4.70 (br. s, 2H) 和 3.81 (s, 3H)。

[0433] E. 制备 5-(苄氧基)-3-氯-1-甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-2-羧酸。

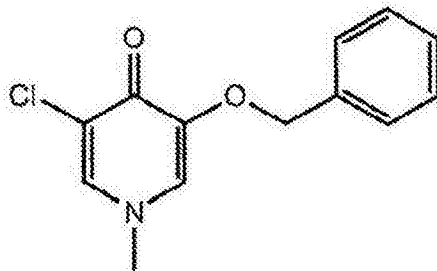
[0434]



[0435] 在低于 7°C 下, 在 30 分钟内, 向 5-(苄氧基)-3-氯-2-(羟基甲基)-1-甲基吡啶-4(1H)-酮 (4.90g, 17.5mmol)、TEMPO (120mg, 0.77mmol) 和溴化钾 (120mg, 1.00mmol) 的丙酮 (50mL) 和饱和碳酸氢钠 (40mL) 混合物中滴加 10-14% 次氯酸钠 (50mL) 溶液。在搅拌 2 小时后, 用水稀释反应混合物, 并用 6N HCl 调节 pH 至约 1.5。过滤固体并用水洗涤以得到白色固体形式的 5-(苄氧基)-3-氯-1-甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-2-羧酸 (2.89g)。产率 = 56%; ^1H NMR (DMSO- D_6 , 90MHz) δ (ppm): 7.79 (s, 1H), 7.16-7.62 (m, 5H), 5.03 (s, 2H) 和 3.67 (s, 3H); MS m/z 294 $[\text{M}+1]^+$ 。

[0436] F. 制备 3-(苄氧基)-5-氯-1-甲基吡啶-4(1H)-酮

[0437]

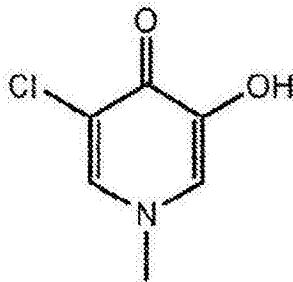


[0438] 在 DMF (10mL) 中加热 5-(苄氧基)-3-氯-1-甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-2-羧酸 (3.50g, 11.9mmol) 一小时。通过旋转蒸发来浓缩反应混合物并用乙酸乙酯/乙醚研磨残留物以得到浅褐色固体形式的 3-(苄氧基)-5-氯-1-甲基吡啶-4(1H)-酮 (2.80g)。产率=94%; ^1H NMR(DMSO- D_6 , 90MHz) δ (ppm): 8.08 (d, $J=1.8\text{Hz}$, 1H), 7.68 (d, $J=1.8\text{Hz}$, 1H), 7.19-7.58 (m, 5H), 5.01 (s, 2H) 和 3.67 (s, 3H)。

[0439] 实施例 14

[0440] A. 制备 3-氯-5-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮

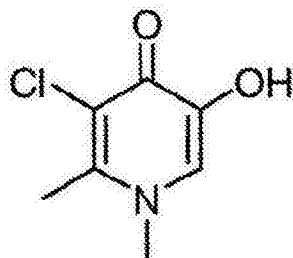
[0441]



[0442] 在 6N HCl (15mL) 和乙醇 (10mL) 中混合 3-(苄氧基)-5-氯-1-甲基吡啶-4(1H)-酮 (2.70g, 10.8mmol)。在回流 2 小时后, 通过旋转蒸发仪浓缩反应混合物。用水 (5mL) 混合残留物并用浓氨水碱化至 pH8-9。灰白色沉淀析出, 并将混合物再次真空浓缩以除去挥发物。通过抽吸过滤收集灰白色固体并干燥以得到 3-氯-5-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮 (1.32g)。产率=76.6%; ^1H NMR(DMSO- D_6 , 90MHz) δ (ppm): 7.98 (s, 1H), 7.47 (s, 1H) 和 3.67 (s, 3H)。

[0443] B. 制备 3-氯-5-羟基-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮

[0444]

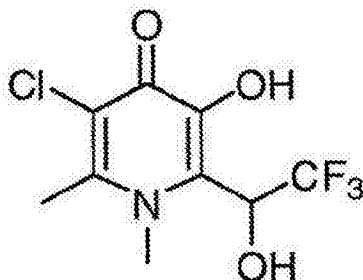


[0445] 以类似方式, 在 100℃ 通过将 5-(苄氧基)-3-氯-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮 (2.00g, 7.6mmol) 与 6N HCl (20mL) 和甲醇 (10mL) 的混合物回流 2 小时来制备 3-氯-5-羟基-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮 (600mg)。产率=46%; ^1H NMR(MeOD- D_4 , 90MHz) δ (ppm): 8.08 (s, 1H) 4.08 (s, 3H) 和 2.72 (s, 3H); MS m/z 174 $[\text{M}+1]^+$ 。

[0446] 实施例 15

[0447] A. 制备 3-氯-5-羟基-1,2-二甲基-6-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮

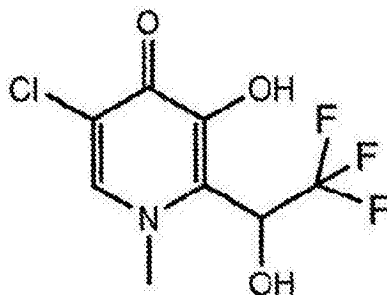
[0448]



[0449] 将 3-氯-5-羟基-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮 (500mg, 2.80mmol) 悬浮在三氟乙醛甲基半缩醛 (3mL) 中。加入碳酸钾 (119mg, 0.86mmol) 并加热混合物至 120℃。在 2.5 小时后,使反应混合物冷却至室温,然后用甲醇稀释并过滤。浓缩滤液至干燥并用丙酮稀释。过滤溶液并浓缩滤液至得到粉色固体形式的 3-氯-5-羟基-1,2-二甲基-6-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (650mg)。产率=85%;¹H-NMR (MeOD-D₄, 90MHz) δ (ppm): 5.9 (q, J=9.1Hz, 1H), 4.01 (s, 3H) 和 2.65 (s, 3H); MS-ESI m/z 272 [M+1]⁺。

[0450] B. 制备 5-氯-3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮

[0451]

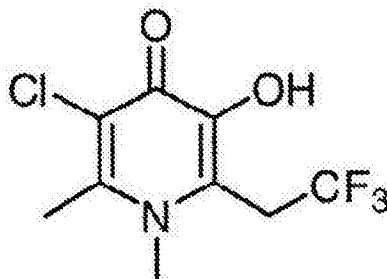


[0452] 以类似方式,在碳酸钾 (0.22g, 1.6mmol) 的存在下,由 3-氯-5-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮 (1.27g, 8.0mmol) 和三氟乙醛甲基半缩醛 (12.7mL) 制备 5-氯-3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (1.40g)。产率=68%;¹H NMR (DMSO-D₆) δ (ppm): 8.10 (s, 1H), 5.80 (q, J=8.7Hz, 1H) 和 3.88 (s, 3H); MS m/z 258 [M+1]⁺。

[0453] 实施例 16

[0454] A. 制备 3-氯-5-羟基-1,2-二甲基-6-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮。

[0455]

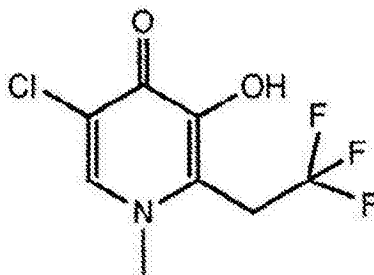


[0456] 将 3-氯-5-羟基-1,2-二甲基-6-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮

(300mg, 1.10mmol) 悬浮在 10mL 乙腈中并滴加亚硫酸氯 (398 μ L, 5.50mmol)。在室温下搅拌反应。在 2 小时后, 浓缩反应。用 10mL 甲醇稀释粗产物, 并少量添加硼氢化钠 (329mg, 8.80mmol)。在 15 小时后, 过滤反应并真空浓缩滤液。将所得固体溶于甲醇中, 并添加乙酸乙酯, 过滤并浓缩。使用 30%EtOAc 的 MeOH 的混合物作为洗提液, 通过在硅胶上的柱层析纯化粗产物。混合富含产物的部分并蒸发至干燥。从甲醇 / 乙酸乙酯重结晶残留产物以得到白色固体形式的 3-氯-5-羟基-1,2-二甲基-6-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (172mg)。产率=61%; ^1H NMR (MeOD- D_4 , 90MHz) δ (ppm): 4.1 (q, $J=9.0\text{Hz}$, 2H), 3.99 (s, 3H) 和 2.77 (s, 3H); MS m/z 256 $[\text{M}+1]^+$ 。

[0457] B. 制备 5-氯-3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮

[0458]

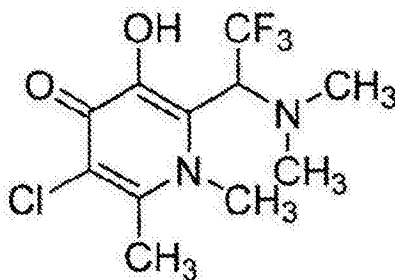


[0459] 以类似方式, 由 5-氯-3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (580mg, 2.30mmol) 制备 5-氯-3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (117mg)。产率=22%; ^1H NMR (MeOD- D_4 , 90MHz) δ (ppm): 8.04 (s, 1H), 3.91 (q, $J=9.9\text{Hz}$, 2H) 和 3.84 (s, 3H); MS m/z 242 $[\text{M}+1]^+$ 。

[0460] 实施例 17

[0461] A. 制备 3-氯-6-[1-(二甲基氨基)-2,2,2-三氟乙基]-5-羟基-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮

[0462]

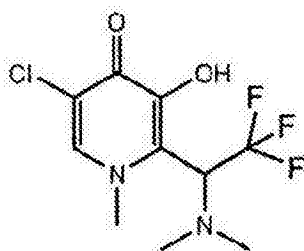


[0463] 在室温下, 在乙腈 (10mL) 中将 3-氯-5-羟基-1,2-二甲基-6-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (618mg, 2.3mmol) 与吡啶 (276 μ L, 3.4mmol) 混合。滴加亚硫酸氯 (249 μ L, 3.41mmol)。在室温下搅拌 30 分钟后, 通过旋转蒸发来浓缩反应混合物。在真空下干燥残留物, 然后在冰水浴中用乙醇 (20mL) 混合。在约 5°C 下添加乙醇二甲胺 (5.6M, 4.06mL, 22.8mmol) 溶液, 并搅拌混合物 20 分钟。通过旋转蒸发来浓缩反应混合物。用水 (10mL) 混合残留物并将溶液的 pH 调节至 5.5。通过抽吸过滤收集沉淀的固体, 并用水洗涤, 然后用乙醚 / 己烷研磨以得到灰白色固体形式的 3-氯-6-[1-(二甲基氨基)-2,2,2-三氟乙基]-5-羟基-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮 (380mg)。产率=56%; ^1H NMR (CDCl_3 , 90MHz) δ (ppm): 4.88 (q, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 4.08 (s, 3H), 2.65-2.81 (m, 3H)

和 2.39 (s, 6H); MS m/z 299 $[M+1]^+$ 。

[0464] B. 制备 5-氯-2-(1-(二甲基氨基)-2,2,2-三氟乙基)-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮

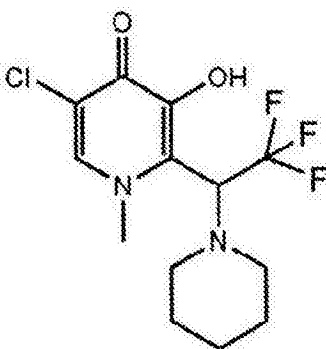
[0465]



[0466] 以类似方式, 由 5-氯-3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (386mg, 1.5mmol) 制备 5-氯-2-(1-(二甲基氨基)-2,2,2-三氟乙基)-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮 (290mg)。产率 = 68%; ^1H NMR (MeOD- D_4 , 90MHz) δ (ppm): 8.04 (s, 1H), 4.69-4.85 (m, 1H), 4.05 (br. s, 3H) 和 2.42 (br. s, 6H); MS m/z 285 $[M+1]^+$ 。

[0467] C. 制备 5-氯-3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-(哌啶-1-基)乙基)吡啶-4(1H)-酮

[0468]

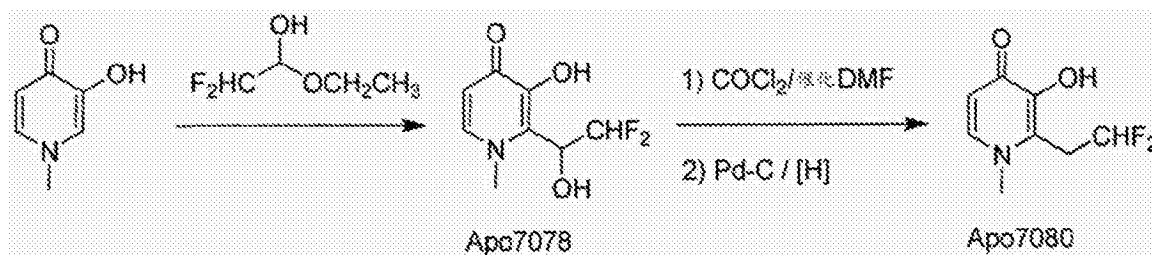


[0469] 以类似方式, 由 5-氯-3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (386mg, 1.5mmol) 制备 5-氯-3-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-(哌啶-1-基)乙基)吡啶-4(1H)-酮 (302mg)。产率 = 60%; ^1H NMR (MeOD- D_4 , 90MHz) δ (ppm): 8.03 (br. s, 1H), 4.57-4.83 (m, 1H), 3.74-4.35 (m, 3H), 2.21-3.02 (m, 4H) 和 1.44-1.89 (m, 6H); MS m/z 325 $[M+1]^+$ 。

[0470] 实施例 18

[0471] A. 制备 2-(2,2-二氟-1-羟基乙基)-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮 (Apo7078)

[0472]

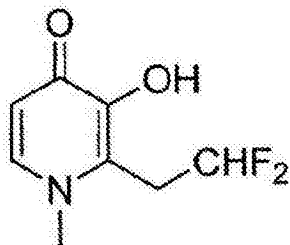


[0473] 将 3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮 (1.00g, 8.0mmol) 和碳酸钾 (0.11g, 0.8mmol) 的 2.4mL 二氟乙醛乙基半缩醛的密封悬浮液加热至 50°C, 时间为 18 小时。在减压下蒸发

挥发成分。将残留物溶于 3mL 去离子水中,然后在冰水浴中冷却,并用 1N HCl 溶液将 pH 调节至 5-6。通过抽吸过滤收集沉淀物,并干燥。因此,获得白色固体形式的标题化合物 Apo7078(410mg)。产率=25%;¹H NMR(400MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7.62(d, J=7.1Hz, 1H), 6.41(d, J=7.1Hz, 1H), 6.30(dt, ³J=55.8Hz, ²J=5.1Hz, 1H), 5.45(dt, ²J=5.1Hz, ³J=11.4Hz, 1H), 3.96(s, 3H); MS m/z 206[M+1]⁺, 188(100%)。

[0474] B. 制备 2-(2,2-二氟乙基)-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮 (Apo7080)

[0475]

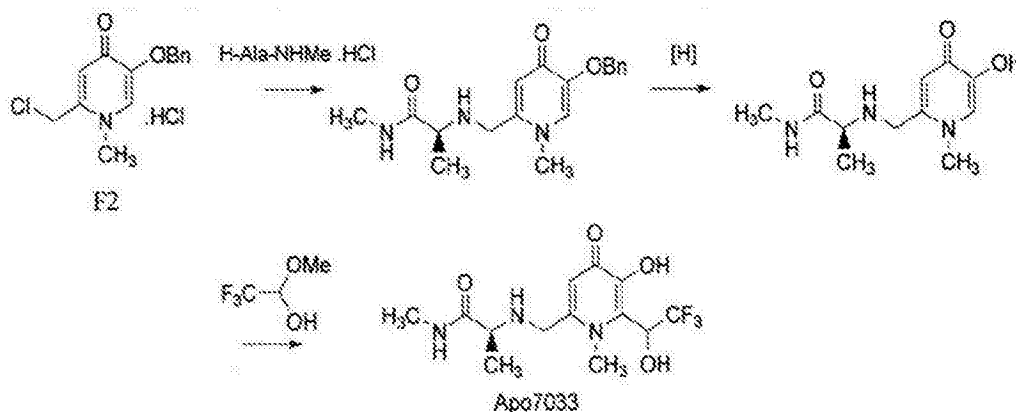


[0476] 在冰水浴中,向 10mL 乙腈加入 DMF(0.14mL, 1.8mmol),然后滴加草酰氯(0.15mL, 1.8mmol)。向所得悬浮液中整体加入 2-(2,2-二氟-1-羟基乙基)-3-羟基-1-甲基吡啶-4(1H)-酮(0.30g, 1.5mmol),并搅拌所得混合物 2 小时。通过过滤收集固体,并将其溶于 150mL 乙腈中。向所得溶液中加入 Pd/C(10%, 潮湿, 0.20g, 66.7%w/w),在 40psi 氢压下,使混合物氢化 2 小时。滤出催化剂,并蒸干滤液。将残留物溶于去离子水,并使用 6N NaOH 溶液将 pH 调节至 5-6。通过抽吸过滤收集沉淀以提供灰白色固体形式的粗产物(100mg)。使用反向 C18 小柱由 Biotage 进一步纯化粗产物以得到白色固体形式的标题化合物 Apo7080(66mg)。产率=24%;¹H NMR(400MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7.65(d, J=7.2Hz, 1H), 6.41(d, J=7.2Hz, 1H), 6.19(tt, J=56.5, 4.7Hz, 1H), 3.83(s, 3H), 3.51(dt, ³J=15.9Hz, ²J=4.6Hz, 2H); MS m/z 190[M+1]⁺, 188(100%)。

[0477] 实施例 19

[0478] 制备 N-2-[[5-羟基-1-甲基-4-氧代-6-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)-1,4-二氢吡啶-2-基]甲基]-N-甲基-L-丙氨酰胺 (Apo7033)

[0479]



[0480] 在氮气环境下,将 5-(苄氧基)-2-(氯甲基)-1-甲基吡啶-4(1H)-酮盐酸盐(7.55g, 25.0mmol)、H-Ala-NHMe.HCl(5.14g, 37.0mmol)和二异丙基乙胺(12.5mL, 72.0mmol)的 CH₃CN(50mL)混合物加热至 85℃ 过夜。真空除去挥发物,并使用 MeOH 和乙酸乙酯的混合物作为洗提液(溶剂梯度为 10%、15% 和 20%MeOH 的乙酸乙酯),通过在

硅胶上的柱层析预纯化残留物。将富含产物的部分结合并蒸干。使用 H_2O 和 CH_3CN (1-5% H_2O 含量) 的混合物, 然后使用 10% MeOH 的二氯甲烷溶液, 通过在硅胶上的柱层析进一步纯化得到 (S)-2-((5-(苄氧基)-1-甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-2-基)甲基氨基)-N-甲基丙酰胺 (7.17g), 产率为 87%。MS m/z 352 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 330 (100%) $[\text{M}+1]^+$, 228, 138, 91。

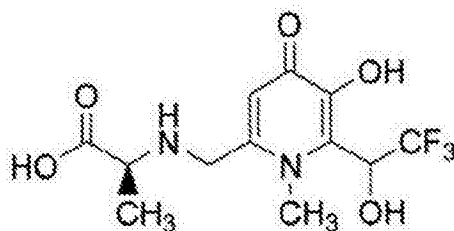
[0481] 在 Parr 仪器中, 在 50psi 的氢压下将 (S)-2-((5-(苄氧基)-1-甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-2-基)甲基氨基)-N-甲基丙酰胺 (7.04g, 21.4mmol) 和 10% Pd/C (0.90g) 的 MeOH (70mL) 混合物氢化 2 小时。在硅藻土上过滤反应混合物并真空浓缩滤液。在 44℃ 的真空烘箱中干燥所得固体过夜。因此, 获得橘色固体形式的 (S)-2-((5-羟基-1-甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-2-基)甲基氨基)-N-甲基丙酰胺 (4.90g), 产率为 96%。 ^1H NMR (CD_3COOD) δ (ppm): 7.77 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 4.30-4.34 (m, 3H, $\text{OCH}_2+\text{CHCH}_3$), 3.98 (s, 3H), 2.80 (s, 3H), 1.56 (d, $J=6.3\text{Hz}$, 3H, CHCH_3); MS m/z 262 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 240 (100%) $[\text{M}+1]^+$, 138, 110。

[0482] 在 75-80℃ 将 (S)-2-((5-羟基-1-甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-2-基)甲基氨基)-N-甲基丙酰胺 (3.13g, 13.1mmol)、三氟乙醛甲基半缩醛 (3.6mL, 38.0mmol) 和碳酸钾 (2.62g, 19.0mmol) 的 CH_3CN (35mL) 的混合物加热过夜。使用 28-30% 的浓 NH_4OH 的 IPA 溶剂混合物作为洗提液, 通过 TLC 分析反应混合物, 指出起始材料的不完全消耗。加入另一部分三氟乙醛甲基半缩醛 (4mL), 在 95-100℃ 将混合物加热另外的 24 小时。在冷却至室温时, 使用 MeOH 和乙酸乙酯的混合物作为洗提液 (溶剂梯度为 10%、15% 和 20% 的 MeOH 的乙酸乙酯), 通过在硅胶上的柱层析纯化混合物。因此, 获得淡黄色固体形式的标题化合物 N-2-[[5-羟基-1-甲基-4-氧代-6-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)-1,4-二氢吡啶-2-基]甲基]-N-甲基-L-丙氨酸, 即 Apo7033 (1.53g), 产率为 35%。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 7.79 (t, $J=4.4\text{Hz}$, 1H, NH), 6.30 (s, 1H), 5.87 (q, $J=8.7\text{Hz}$, 1H, CHCF_3), 3.82 (s, 3H, NCH_3), 3.61-3.65 (dd, $^2J=14.5$ 和 $^4J=1.9\text{Hz}$, 1H, 0.5NHCH_2), 3.47-3.52 (明显的 t, $J=15.2\text{Hz}$, 1H, 0.5NHCH_2), 3.08 (q, $J=6.8\text{Hz}$, 1H, CHCH_3), 2.59 (d, $J=4.2\text{Hz}$, 3H, NHCH_3), 1.12 (dd, $^2J=6.8$ 和 $^4J=2.3\text{Hz}$, 3H, CHCH_3); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 175.0 ($\text{C}=\text{O}$), 169.6 ($\text{C}=\text{O}$), 149.2, 147.3, 125.6, 125.0 (q, $J=283\text{Hz}$, CHCF_3), 113.1 (CH), 65.2 (q, $J=33\text{Hz}$, CHCF_3), 56.9 (CH), 48.9 (CH_2), 36.6 (NCH_3), 25.8 (NHCH_3), 19.6 (CH_3); MS m/z 360 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 338 (100%) $[\text{M}+1]^+$, 236。

[0483] 实施例 20

[0484] N-[[5-羟基-1-甲基-4-氧代-6-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)-1,4-二氢吡啶-2-基]甲基]-L-丙氨酸 (Apo7032)

[0485]



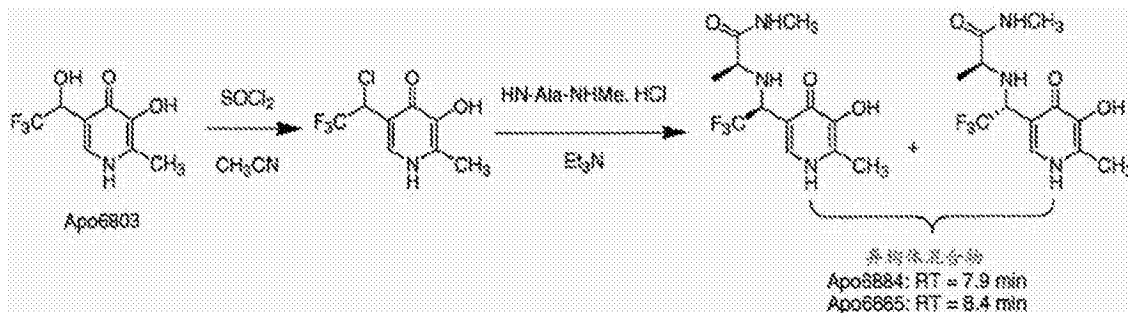
[0486] 重复前述实施例 (实施例 19) 的最后一步中的试验 (2.9mmol 规模), 除了使用 28-30% 浓 NH_4OH 和 IPA 的混合物作为洗提液 (溶剂梯度为 10%、15% 和 20% 以及 25% NH_4OH 的 IPA), 通过在硅胶上的柱层析纯化混合物。在这种情况下, 获得橘色固体形式的标题酸化合

物 N-[[5-羟基-1-甲基-4-氧代-6-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)-1,4-二氢吡啶-2-基]甲基]-L-丙氨酸 (Apo7032) (0.7g), 产率为 78%。MS m/z 347 $[M+Na]^+$, 325 (100%) $[M+1]^+$, 236。

[0487] 实施例 21

[0488] 制备 N-甲基-2-[2,2,2-三氟-1-(5-羟基-6-甲基-4-氧代-1,4-二氢-吡啶-3-基)-乙基氨基]-丙酰胺的非对映异构体 (Apo6884 和 Apo6885)

[0489]



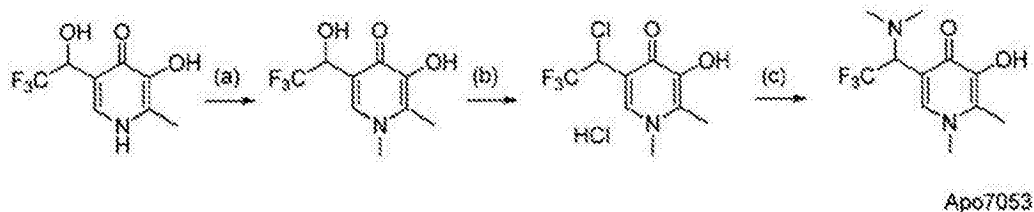
[0490] 在室温下,向 3-羟基-2-甲基-5-(2,2,2-三氟-1-羟基-乙基)-1H-吡啶-4-酮 (1.50g, 6.7mmol) 的乙腈 (33mL) 悬浮液中加入亚硫酰氯 (2.5mL, 33.7mmol)。搅拌所得混合物 30 分钟,随之产生澄清溶液。通过 TLC (甲醇:二氯甲烷, 1:10, v:v) 监测反应进程,其标示起始材料的消耗。蒸发反应混合物至干燥以得到粗制固体形式的 5-(1-氯-2,2,2-三氟-乙基)-3-羟基-2-甲基-1H-吡啶-4-酮。

[0491] 将固体溶于乙腈 (35mL), 并加入 H-Ala-NHMe 盐酸盐 (1.15g, 8.3mmol), 然后加入三乙胺 (4.0mL, 28.7mmol)。搅拌非均匀混合物 60 分钟,同时通过 HPLC 方法 1 监测反应进程。粗反应混合物的 HPLC 分析表示两种产物峰的存在,比例为约 4/3,并且 RT 分别为 7.9min 和 8.4min。过滤反应混合物以除去固体材料,并蒸干滤液以得到固体。将固体溶于乙酸乙酯,并用 20% 氯化铵溶液 (3×40mL) 萃取有机溶液。混合水性部分 (pH6), 并用 NaOH 溶液将 pH 调节至 7。然后用乙酸乙酯 (2×50mL) 萃取水溶液。混合乙酸乙酯部分,并蒸干以得到非对映异构体对形式 N-甲基-2-[2,2,2-三氟-1-(5-羟基-6-甲基-4-氧代-1,4-二氢-吡啶-3-基)-乙基氨基]-丙酰胺 (850mg, 41% 产率, HPLC 方法: 柱: XTerra MS C18, 4.6×250mm; A= 水相: 4mM Tris, 2mM EDTA, pH7.4; B= 有机相: CH₃CN; 流速=1.0mL/min; 注射体积=5μL; 波长 (λ): 220, 254, 280, 450nm. 梯度法; min-B%0-5, 15-55, 25-55, 25.05-5, 30-5. Apo6884, RT=7.9min, 在 λ=280nm 处 AUC=44%, 以及 Apo6885, RT=8.4min, 在 λ=280nm 处 AUC=35%)。在重复纯化后使用 Biotage[®] 系统获得两种非对映异构体的样本 (C18 反相小柱; 乙腈和去离子水的混合物作为洗提液; 梯度洗脱)。Apo6884: 82mg, RT=7.9min, HPLC 纯度 (AUC): 在 λ=280nm 处 99%; ¹H NMR (DMSO-D₆) δ (ppm): 11.59 (br s, 1H), 7.74 (br s, 1H), 7.56 (s, 1H), 4.62 (m, 1H), 3.12 (m, 2H) 12.49 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 1.09 (d, J=6.3Hz, 3H); MS-ESI m/z 308 $[M+1]^+$, 249, 206 (100%), 103。Apo6885: 95mg, RT=8.4min, HPLC 纯度 (AUC): 在 λ=280nm 处 99%; ¹H NMR (DMSO-D₆) δ (ppm): 11.65 (br s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.63 (br s, 1H), 4.43 (m, 1H), 3.39 (m, 1H), 2.93 (m, 1H), 2.62 (d, J=4.7Hz, 3H), 2.18 (s, 3H), 1.07 (d, J=6.9Hz, 3H); MS-ESI m/z 308.0 $[M+1]^+$, 249, 206 (100%), 103。

[0492] 实施例 22

[0493] 制备 5-[1-(二甲基氨基)-2,2,2-三氟乙基]-3-羟基-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮 (Apo7053)

[0494]



[0495] (a) 向 3-羟基-2-甲基-5-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (5.33g, 23.9mmol) 和乙腈 (50mL) 的悬浮液中加入碳酸钾 (4.96g, 35.9mmol)。在室温下搅拌混合物, 并加入碘甲烷 (15mL, 239.8mmol)。通过 HPLC 监测反应进程 (柱: XTerra MS C18, 4.6×250mm; A= 水相: 4mM Tris, 2mM EDTA, pH7.4; B= 有机相: CH₃CN; 流速=1.0mL/min; 注射体积=5μL; 波长(λ): 220, 254, 280, 450nm. 梯度法; min-B%0-5, 15-55, 25-55, 25.05-5, 30-5)。

[0496] 在室温下搅拌 1 小时后, 反应混合物的 HPLC 分析表示约 80% 的转化。过滤反应混合物。固体和滤液均收集。用乙腈 (40mL×2) 洗涤固体, 然后用 DI 水洗涤, 并且最后用乙醚洗涤, 从而得到 3-羟基-1,2-二甲基-5-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮。第一组, 1.14g, 产率=20%。

[0497] 用乙腈洗液与滤液混合, 并浓缩至干燥以得到固体。用 DI 水和乙醚洗涤固体以得到第二组期望产物 (2.46g, 44%)。总产率 (第 1 和 2 组)=64%; ¹H NMR(CD₃OD) δ (ppm): 7.79(s, 1H), 5.43(q, J=7.2Hz, 1H), 3.88(s, 3H), 2.44(s, 3H)。

[0498] (b) 在氮气层下, 使用自来水浴进行外部冷却, 向 3-羟基-1,2-二甲基-5-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (3.00g, 12.7mmol) 和乙腈 (110mL) 的悬浮液中滴加亚硫酸氯 (7.5mL, 102.7mmol)。通过 TLC (洗提液: 甲醇: 二氯甲烷, 1:10, v:v) 监测反应进程。加入 SOCl₂ 后, 得到澄清溶液, 进一步搅拌时逐渐形成白色固体。在乙腈中重复浓缩反应混合物以得到固体, 然后收集并用乙腈 (15mL×2) 洗涤。因此, 获得白色固体形式的 5-(1-氯-2,2,2-三氟乙基)-3-羟基-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮盐酸盐 (2.89g)。产率=78%; ¹H NMR(DMSO-D₆) δ (ppm): 8.17(s, 1H), 6.19(q, J=7.5Hz, 1H), 3.84(s, 3H), 2.35(s, 3H)。

[0499] (c) 向 40% 重量比的二甲胺水溶液 (3.5mL, 27.7mmol) 中加入 5-(1-氯-2,2,2-三氟乙基)-3-羟基-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮盐酸盐 (395mg, 1.4mmol) 和乙腈 (30mL) 的混合物。剧烈搅拌所得淡黄色溶液, 并通过 TLC (洗提液: 甲醇/二氯甲烷, 1/10, v/v) 监测反应进程。5 分钟内完全消耗起始材料。浓缩反应混合物以得到固体。将固体溶于二氯甲烷 (30mL), 然后用 10% 氯化铵溶液 (15mL×2) 洗涤。在硫酸铵上干燥有机相, 过滤并浓缩以得到固体产物 5-[1-(二甲基氨基)-2,2,2-三氟乙基]-3-羟基-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮 (Apo7053) (200mg)。产率=56%; HPLC 方法 1, RT=10.2min, HPLC 纯度 (AUC): 在 280nm 处 98.3%; ¹H NMR(DMSO-D₆) δ (ppm): 7.68(s, 1H), 4.86(q, J=10.1Hz, 1H), 3.73(s, 3H), 2.29(s, 3H), 2.23(s, 6H). MS-ESI m/z 265[M+1]⁺, 220(100%), 192。

[0500] 以类似方式, 制备下列化合物:

[0501] (i) 由 5-(1-氯-2,2,2-三氟乙基)-3-羟基-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮盐酸盐 (304mg, 1.0mmol) 和哌啶 (2.0mL, 20.3mmol) 的反应而制备 3-羟基-1,2-二甲基-5-[2,2,2-三氟-1-(哌啶-1-基)乙基]吡啶-4(1H)-酮 (Apo7054)。在 20 分钟内完成反应, 并获得固体产物 Apo7054 (232mg)。产率=73%; HPLC 方法 1, 纯度 (AUC)= 在 280nm 处 99.4%; ^1H NMR (DMSO- D_6) δ (ppm): 7.66 (s, 1H), 4.83-4.94 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 2.56 (m, 2H), 2.41 (m, 2H), 2.27 (s, 3H), 1.46 (br, 4H), 1.28 (br, 2H); MS-ESI m/z 305 $[\text{M}+1]^+$ (100%), 220。

[0502] (ii) 由 5-(1-氯-2,2,2-三氟乙基)-3-羟基-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮盐酸盐 (505mg, 1.7mmol) 和咪唑 (3.5g, 51.4mmol) 制备 3-羟基-1,2-二甲基-5-[2,2,2-三氟-1-(1H-咪唑-1-基)乙基]吡啶-4(1H)-酮 (Apo7055)。当反应混合物的 HPLC 色谱 (方法 1) 分析显示转化率高于 98% 时, 停止反应。浓缩反应混合物以得到固体。将固体溶于去离子水 (4mL), 并用 6.00N 盐酸溶液将溶液 pH 调节至 6.5。用二氯甲烷 (15mL $\times$ 4, 30mL $\times$ 2) 重复萃取所得溶液。混合有机部分, 在硫酸钠上干燥、过滤并浓缩。从二氯甲烷以固体形式获得期望化合物 Apo7055 (320mg)。产率=64%; HPLC 纯度 (AUC): 在 280nm 处 99.7%; ^1H NMR (DMSO- D_6) δ (ppm): 8.15 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.66 (q, $J=9.1\text{Hz}$, 1H), 3.76 (s, 3H), 2.29 (s, 3H)。MS-ESI m/z 288 $[\text{M}+1]^+$, 220 (100%)。

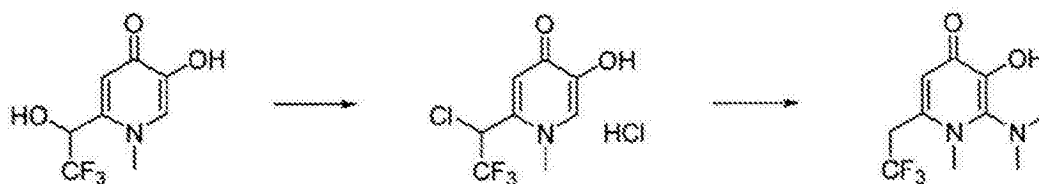
[0503] (iii) 由 5-(1-氯-2,2,2-三氟乙基)-3-羟基-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮盐酸盐 (400mg, 1.4mmol) 和甲胺 (3.0mL, 34.4mmol) 制备 3-羟基-1,2-二甲基-5-[2,2,2-三氟-1-(甲基氨基)乙基]吡啶-4(1H)-酮 (Apo7056)。在 15 分钟内基本完成反应。浓缩反应混合物以得到固体。使用 Biotage[®] 仪器 (C18 反相; 洗提液: 水和乙腈; 梯度, 100:0 至 100:4), 通过纯化获得游离 Apo7056 产物的盐样本 (48mg)。HPLC 方法 1, $\text{RT}=8.52\text{min}$, HPLC 纯度 (AUC): 在 280nm 处 99.3%; ^1H NMR (CD_3OD) δ (ppm): 7.77 (s, 1H), 4.58 (q, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 3.80 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 2.35 (s, 3H)。MS-ESI (m/z) 251.2 $[\text{M}+1]^+$, 220.2 (100%)。

[0504] (iv) 由 5-(1-氯-2,2,2-三氟乙基)-3-羟基-1,2-二甲基吡啶-4(1H)-酮盐酸盐 (550mg, 1.9mmol) 制备 3-羟基-1,2-二甲基-5-[2,2,2-三氟-1-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]吡啶-4(1H)-酮盐酸盐 (Apo7063), 并加入 1-甲基哌嗪 (3.0mL, 27.0mmol)。当反应混合物的 HPLC 色谱 (方法 1) 分析完全转化时, 停止反应。浓缩反应混合物以得到固体。向固体中加入甲醇 (2mL), 使混合物涡旋并过滤。因此, 获得固体形式的 Apo7063 (280mg)。产率=41%; HPLC 方法 1, 纯度 (AUC)= 在 280nm 处 99.8%; ^1H NMR (DMSO- D_6 + 几滴 D_2O) δ (ppm): 7.69 (s, 1H), 4.93 (q, $J=9.7\text{Hz}$, 1H), 3.70 (s, 3H), 2.60-3.40 (b, 8H), 2.69 (s, 3H), 2.29 (s, 3H); MS-ESI m/z 320 $[\text{M}+1]^+$ (100%), 220。

[0505] 实施例 23

[0506] 制备 2-(二甲基氨基)-3-羟基-1-甲基-6-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮 (Apo7077)

[0507]



Apo7077

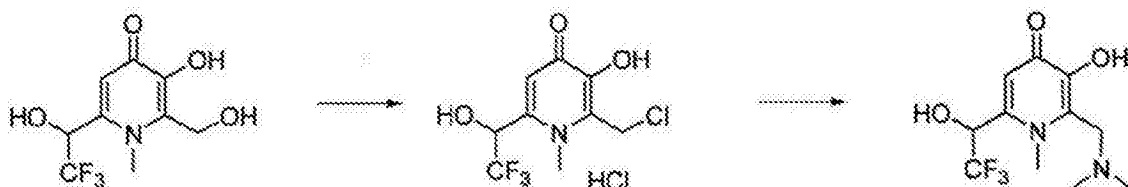
[0508] 在氮气层下,向 5-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (0.82g, 3.7mmol) 和乙腈 (30mL) 的悬浮液中滴加亚硫酸氯 (1.6mL, 21.9mmol)。加热反应至回流并得到澄清溶液。通过 TLC(洗提液: 甲醇: 二氯甲烷, 1:10, v:v) 监测反应进程。在乙腈中重复浓缩反应混合物以得到固体,其在下一步中使用而不需进一步纯化。¹H NMR(DMSO-D₆) δ (ppm): 8.35(s, 1H), 7.62(s, 1H), 6.77(m, 1H), 4.12(s, 3H)。

[0509] 向二甲胺溶液 (40% 重量比的水溶液, 9.0mL, 71.1mmol) 中加入来自前述步骤的氯化物产物的乙腈溶液。剧烈搅拌混合物。通过 TLC(洗提液: 甲醇/二氯甲烷, 1/10, v/v) 并且通过 HPLC(方法 1, Apo7077 的 RT=13.37min, 转化率为约 78%) 监测反应进程。浓缩反应混合物至干燥。在二氯甲烷 (30mL) 中萃取残留物,然后用去离子水洗涤。在硫酸钠上干燥有机相,过滤并浓缩以得到粗固体。通过在硅胶上的柱层析(洗提液: 甲醇/二氯甲烷, 5/100, v/v) 纯化粗产物以得到 Apo7077 (280mg)。产率=30%;HPLC 纯度 (AUC): 在 280nm 处 99.2%;¹H NMR(DMSO-D₆) δ (ppm): 6.23(s, 1H), 3.93(q, J=10.7Hz, 2H), 3.63(s, 3H), 2.74(s, 6H);¹⁹F NMR(DMSO-D₆) δ (ppm): -63.37(t, J=50.8Hz); MS-ESI m/z 251 [M+1]⁺ (100%), 236, 221, 207, 166。

[0510] 实施例 24

[0511] 制备 2-((二甲基氨基)甲基)-3-羟基-1-甲基-6-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (Apo7081)

[0512]



Apo7081

[0513] 向 3-羟基-2-(羟基甲基)-1-甲基-6-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮 (1.50g, 5.9mmol) 的乙腈 (45mL) 悬浮液中滴加亚硫酸氯 (0.48mL, 6.6mmol)。通过 TLC(洗提液: 甲醇: 二氯甲烷, 15:100, v:v) 监测反应进程,并在 5 分钟内消耗起始材料。在乙腈中重复浓缩反应混合物以得到固体,用乙腈 (15mL×1) 洗涤。因此,获得白色固体形式的 2-(氯甲基)-3-羟基-1-甲基-6-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮盐酸盐 (1.18g)。

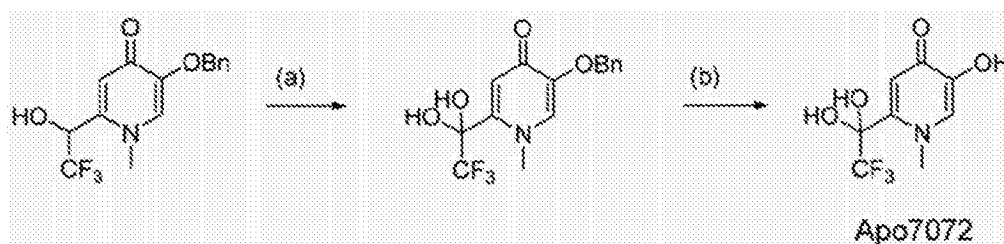
[0514] 将前一化合物溶于乙腈 (20mL) 并将其加入二甲胺溶液 (40% 重量比的水溶液, 15mL, 118.5mmol)。剧烈搅拌所得淡黄色溶液,并通过 HPLC 方法监测反应进程,所述方法为:柱:XTerra MS C18, 4.6×250mm;A= 水相:4mM Tris, 2mM EDTA, pH7.4;B= 有机

相:CH₃CN;流速=1.0mL/min;注射体积=5 μL;波长(λ):220, 254, 280, 450nm。梯度法;min-B%0-5, 15-55, 25-55, 25.05-5, 30-5(Apo7081的RT=9.45min, HPLC纯度(AUC):在λ=280nm处约60%)。浓缩反应混合物以得到固体。向固体中加入去离子水(15mL)和甲醇(100mL),搅拌所得混合物并过滤。收集滤液并真空浓缩。通过在硅胶上的柱层析纯化残留物(洗提液:甲醇/二氯甲烷, 5/100, v/v)。因此,获得 Apo7081(24mg)。HPLC方法1, RT=9.59min, 纯度(AUC):在280nm处98.6%;¹H NMR(CD₃OD) δ(ppm):6.82(s, 1H), 5.54(q, J=6.2Hz, 1H), 3.96(s, 3H), 3.76(s, 2H), 2.32(s, 6H);MS-ESI m/z281[M+1]⁺, 236(100%), 208。

[0515] 实施例 25

[0516] 制备 5-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1,1-二羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮(Apo7072)

[0517]



[0518] (a) 将冰盐冷却的 5-(苄氧基)-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮(1.20g, 3.8mmol)和10%碳酸氢钠溶液(4mL)的丙酮悬浮液置于装有磁力搅拌棒的250-mL 1-N RB中以得到悬浮液,并向其中加入溶于去离子水(3mL)的溴化钾(99mg, 0.6mmol)溶液。向悬浮液中加入TEMPO(31mg, 0.2mmol)的丙酮(1mL)溶液,然后加入次氯酸钠溶液(0.96M, 6.5mL, 6.24mmol)。使用HPLC监测反应进程(HPLC柱:XTerra MS C18, 4.6×250mm;A=水相:4mM Tris, 2mM EDTA, pH7.4;B=有机相:CH₃CN;流速=1.0mL/min;注射体积=5 μL;波长(λ):220, 254, 280, 450nm。等度法(isocratic method);水:有机=75:25, SM的RT=10.30min, 产物的RT=11.37min, 转化率>99%)。过滤反应混合物。收集滤液并浓缩以得到半固体。将半固体悬浮在二氯甲烷(40mL)和盐水(30mL)中。搅拌混合物并通过抽吸过滤收集固体。用去离子水(15mL×4)和乙醚(15mL×4)洗涤固体。因此,获得 5-(苄氧基)-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1,1-二羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮(0.93g)。产率=73%;HPLC方法2, 纯度(AUC)=在280nm处99.4%;¹H NMR(DMSO-D₆) δ(ppm):8.45(s, 2H), 7.67(s, 1H), 7.4(m, 5H), 6.66(s, 1H), 5.04(s, 2H), 3.85(s, 3H);MS-ESI m/z330[M+1]⁺, 91(100%)。

[0519] (b) 在盐酸溶液(4M, 22mL)中通过加热回流进行 5-(苄氧基)-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1,1-二羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮(700mg, 2.1mmol)的去苄基化。使用HPLC监测反应进程(HPLC方法2, SM的RT=11.47min, 产物的RT=3.26min, 转化率>98%)。浓缩所得固体以得到油状物。称出约一半的油基残留物,并将其溶于去离子水中。用6.00N氢氧化钠溶液(160 μL)将所得溶液的pH调节至6。搅拌时固体出现。通过过滤收集固体,用去离子水和乙醚彻底洗涤。因此,获得 5-羟基-1-甲基-2-(2,2,2-三氟-1,1-二羟基乙基)吡啶-4(1H)-酮(Apo7072)样本(118mg)。产率=46%;HPLC方法:柱:XTerra MS C18, 4.6×250mm;A=水相:4mM Tris, 2mM EDTA, pH7.4;B=有机相:CH₃CN;流速=1.0mL/min;注射体积=5 μL;波长(λ):220, 254, 280, 450nm。等度法;水:有机=75:25, 纯度(AUC)=

在 280nm 处 99.5%; ^1H NMR(DMSO- D_6 + 几滴 D_2O) δ (ppm): 7.47 (s, 1H), 6.66 (s, 1H), 3.82 (s, 3H); MS-ESI m/z 240 $[\text{M}+1]$, 222 (100%), 125。

[0520] 实施例 26

[0521] A. 通过电位滴定进行 pKa 测定

[0522] 当制备配体在水中浓度 $>1 \times 10^{-2}\text{M}$ 时, 通过电位滴定测定配体 pKa 值。在典型试验中, 通过下列方法制备样本溶液 ($1.00 \times 10^{-2}\text{M}$): 称量 Apo7041 (125.4mg) 并将其放入 50mL 容量瓶中, 并加入约 40mL 的 0.1M NaCl。超声处理混合物 10 分钟以得到澄清无色溶液。向该容量中加入更多的 0.1M NaCl, 使所得溶液涡旋以混合。通过使用 10mL 数字移液管将 40mL 的溶液转移至 T70 滴定池中。加入 6.000N 氢氧化钠溶液 (127 μL , 1.9 当量), 并记录溶液 pH (11.82)。在 22°C 使溶液平衡 5 分钟。

[0523] 然后在 22°C 通过使用 Mettler Toledo T70 自动滴定器用 6.000N 盐酸溶液对溶液进行滴定, 直到 pH 到达 1.5。记录加入的酸体积和 pH 读数。因此, 从该试验采集 501 个测量值。

[0524] 使用 Hyperquad2000 软件 (2.1 版本, Peter Gans, University of Leeds) 分析 pH 对酸体积的数据组。使用模型获得 pKa 值: $\text{L}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}$ (pKa_1), $\text{LH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}_2^+$ 以及 $\text{LH}_2^+ + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}_3^{2+}$ (pKa_3)。因此, 通过电位测量, Apo7041 具有 $\text{pKa}_1=9.39$, $\text{pKa}_2=3.52$ 和 $\text{pKa}_3=1.66$ 。

[0525] B. 分光光度滴定进行 pKa 测定

[0526] 当共轭酸和碱均在 UV-可见区吸收时, 通过分光光度滴定测定配体的 pKa 值。在典型试验中, 通过下列方法制备样本溶液: 称量 Apo7041 原液 (12.74mg) 并将其放入 10mL 容量瓶中, 并向该容量中加入 0.1M NaCl。超声处理混合物并使其涡旋以得到澄清无色溶液。该原液的 Apo7041 浓度为 $5.1 \times 10^{-3}\text{M}$ 。

[0527] Apo7041 样本溶液: 通过使用 1000 μL 数字移液管将 727 μL 上述原液转移至 50mL 容量瓶中, 并向该容量中加入 0.1M NaCl。使所得溶液涡旋以混合, 从而得到样本溶液。该样本溶液的 Apo7041 浓度为 $7.4 \times 10^{-5}\text{M}$ 。通过使用 10mL 数字移液管将 20mL 样本溶液转移至 35mL 烧杯中。使用吸液系统 (sipper system) 在烧杯和流通池间循环样本溶液。

[0528] 在 22°C 下, 使用标准盐酸溶液滴定样本溶液以实现 pH 为 1.11。在每次加入酸后, 使溶液平衡直至达到恒定 pH 读数。对于每次测量, 记录 pH 和 UV-Vis 光谱。在数次连续加入酸后, 滴定溶液直至光谱无明显变化。因此, 记录 30 次测量。

[0529] 然后使用 pHAB (Peter Gans, University of Leeds) 分析所得数据组。使用模型获得 pKa 值: $\text{LH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}_2^+$ 以及 $\text{LH}_2^+ + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}_3^{2+}$ (pKa_3)。因此通过分光光度滴定所测定, Apo7041 具有 $\text{pKa}_2=3.51$ 和 $\text{pKa}_3=1.23$ 。

[0530] 实施例 27

[0531] Job's 法进行 Fe 配合物的化学计量

[0532] 在典型试验中, 通过混合 Fe^{2+} 原液 (原子吸收标准, 989 $\mu\text{g/mL}$ 的 1% 重量比 HCl, Aldrich) 和 Apo7053 原液 ($7.88 \times 10^{-3}\text{M}$ 的 0.1M MOPS, pH 7.4) 制备 Fe-Apo7053 配合溶液。制备十二份样本溶液。在 12 份样本溶液的每一个中, 总铁浓度 ($[\text{铁}]_{\text{总}}$) 和总配体浓度 ($[\text{L}]_{\text{总}}$) 的总和保持恒定 ($8.00 \times 10^{-4}\text{M}$), 12 份样本溶液的配体的摩尔分数

α ($\alpha = [L]_{\text{总}} / ([L]_{\text{总}} + [\text{铁}]_{\text{总}})$) 是不同的, 并分别制备 0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.75、0.8、0.9 和 1.0 的配体摩尔分数。12 份样本溶液的每一个的总体积为 5mL, 使用 MOPS (0.1M, pH7.4) 作为溶剂。用 NaOH 将 12 份溶液的 pH 调节至 pH 为 7.4。在室温下使样本溶液涡旋 2.5 小时, 然后在室温下静置过夜。在 4000rpm 下离心样本溶液 15 分钟。在 22°C 下, 记录 12 份溶液中每一个的 UV-Vis 光谱。

[0533] 在 458nm 处用吸光率做 y 轴并用 α 作为 x 轴以建立 Job' 曲线。在 $\alpha = 0.75$ 处发现最大吸光率, 其对应于配合物中铁:配体的比为 1:3。Job' s 曲线结果显示在图 3A 中。

[0534] 以类似方式进行, 建立 Fe-Apo7041 的 Job' s 曲线, 并显示在图 3B 中。

[0535] 实施例 28

[0536] 确定分配系数 $D_{7.4}$

[0537] 使用 K_2HPO_4 缓冲液 (50mM, pH=7.4) 和 1-辛醇分别作为水相和有机相。将 K_2HPO_4 缓冲液和 1-辛醇混合, 并在使用前使用彼此来预饱和。

[0538] 在典型试验中, 通过称量 3mg 的化合物放入 10-mL 试验管中制备 Apo6995 (3-羟基-2-甲基-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-4(1H)-酮) 的水溶液。然后, 将其与 K_2HPO_4 缓冲液 (2mL) 混合, 并在一定频率的涡旋下, 超声处理 30 分钟。然后通过 HPLC 注射过滤器 (4mm PVDF 注射过滤器 0.45 μ M) 过滤溶液以获得水溶液。通过 HPLC (柱: Waters Symmetry C_{18} , 5 μ M, 3.9 $\times$ 50mm; 流动相: 0.035% $HClO_4$ /ACN; 梯度法: 以分钟计的时间 - 以百分比计的 ACN: 0-10, 10-90, 12-90, 14-10, 16-10; 流速: 1mL/min; 注射体积 = 2 μ L; 检测器波长: 270nm) 对其进行分析以获得峰高度 (H_I)。

[0539] 用吸液管取出 1mL 该水溶液放入另一 10-mL 试验管中并将其与 1mL 的 1-辛醇混合。然后使混合物涡旋 1 小时。在 2000rpm 下, 离心溶液 10 分钟。仔细用吸液管取出少量的较低水层并通过 HPLC 分析以获得峰高度 (H_F)。使用下列等式: $D_{7.4} = (H_I - H_F) / H_F$ 计算分配系数 $D_{7.4}$ 。

[0540] 以类似方式, 确定下列化合物的 $D_{7.4}$:

[0541]

Apo 编号	$D_{7.4}$	Log $D_{7.4}$
去铁酮	0.17	-0.77
6995	2.51	0.40
7030	5.93	0.77
7040	8.76	0.94
7060	4.93	0.69
7065	4.93	0.69
7066	4.69	0.67

7067	2.82	0.45
7069	0.66	-0.18
7070	1.72	0.23
7083	1.70	0.23

[0542] 实施例 29

[0543] 测定金属配合物常数

[0544] A. 仪器和化学物：

[0545] 对于分光光度滴定,使用 pH 计 (Accumet Research AR15, 13-636-AR15, Fisher) 和组合电极 (Accumet 标准尺寸玻璃组合电极, 13-620-285, Fisher) 进行 pH 测量。在使用前,用三种标准缓冲溶液 (pH4.00、pH7.00 和 pH10.00, Fisher) 校准电极。通过使用数字移液管 (Eppendorf) 手动添加滴定剂。将 UV- 可见分光光度计 (Agilent8453) 用于 UV-Vis 吸光率测量。

[0546] 无论何时测量 pH- 依赖性吸光率,均使用吸液系统 (89068D Agilent)。将涡旋器 (VX-2500Multi-tube Vortexer, VWR Scientific Products) 用于在分配系数和 Job's 曲线试验中制备样本溶液。

[0547] 对于电位滴定,使用自动滴定器 (Mettler Toledo T70) 和组合电极 (Mettler Toledo DG115-SC)。在使用前,用三种标准缓冲溶液 (pH4.00、pH7.00 和 pH10.00, Fisher) 校准电极。通过使用 T70 自动添加滴定剂。记录 pH 对比滴定剂体积的数据组。

[0548] 从 Aldrich 购买金属原液:铁原子吸收标准溶液 (1000 μ g/ml 的 Fe 的 1% 重量比 HCl); 铝原子吸收标准溶液 (1000 μ g/ml 的 Al 的 1% 重量比 HCl); 钙原子吸收标准溶液 (1000 μ g/ml 的 Ca 的 1% 重量比 HCl); 铜原子吸收标准溶液 (1000 μ g/ml 的 Cu 的 1% 重量比 HNO₃); 镁原子吸收标准溶液 (1000 μ g/ml 的 Mg 的 1% 重量比 HNO₃); 锰原子吸收标准溶液 (1000 μ g/ml 的 Mn 的 1% 重量比 HNO₃); 锌原子吸收标准溶液 (1000 μ g/ml 的 Zn 的 1% 重量比 HCl)。从 VWR Scientific Products 购买标准氢氧化钠和盐酸溶液。从 Sigma-Aldrich 购买 MOPS (3-[N- 吗啉代] 丙烷磺酸)。

[0549] B. 通过分光光度滴定在 0.1M NaCl 溶液中测定 Fe-Apo7041 体系的逐级形成常数

[0550] 当金属配合物在可见区具有强吸光率时,由于配体到金属电荷转移,因此,通过分光光度滴定测定 Mⁿ⁺- 配体体系的逐级形成常数。

[0551] 在典型试验中,根据下列步骤制备样本溶液:称量化合物 Apo7041 (12.96mg) 放入 50mL 容量瓶中,并加入约 40mL 的 0.1M NaCl。超声处理混合物 10 分钟以得到澄清无色溶液。将铁原液 (原子吸收标准, Aldrich, 565 μ L, 10.00 μ mol) 用移液管转移至溶液中,然后加入 1.000N NaOH (170 μ L)。向该容量中加入更多的 0.1M NaCl 并使所得溶液涡旋以混合。总铁和总 Apo7041 间的摩尔比为 1/5.1。在室温下使混合物涡旋 1 小时。通过使用 10mL 数字移液管将 20mL 的样本溶液转移至 35mL 烧瓶中。使用吸液系统在烧瓶和流通池间循环样本溶液。在 22°C 下,用盐酸溶液滴定样本溶液直到 pH 达到 0.021。在每次添加酸之后,使溶液平衡直至达到恒定 pH 读数。记录每次测量的 pH 和 UV-Vis 光谱。对于每次测量添加

足够的酸,以使光谱的吸光率轻微降低。总之,进行 68 次测量以完成实验。

[0552] 然后使用 pHAB 分析所得数据组。使用下表第一列所示的模型,使 Fe-Apo7041 体系的形成常数最佳化。结果显示在下表 29B 中。

[0553] 表 29B

[0554]	模型	符号	值
	$\text{Fe}^{3+} + \text{LH} \rightleftharpoons (\text{FeLH})^{3+}$	$\text{Log } \beta_{111}$	18.1
	$(\text{FeLH})^{3+} + \text{LH} \rightleftharpoons (\text{FeL}_2\text{H}_2)^{3+}$	$\text{Log } \beta_{122}$	35.0
	$(\text{FeL}_3\text{H}_2)^{2+} + \text{H}^+ \rightleftharpoons (\text{FeL}_3\text{H}_3)^{3+}$	$\text{Log } \beta_{133}$	50.5
	$(\text{FeL}_3\text{H})^+ + \text{H}^+ \rightleftharpoons (\text{FeL}_3\text{H}_2)^{2+}$	$\text{Log } \beta_{132}$	48.3
	$(\text{FeL}_3)^0 + \text{H}^+ \rightleftharpoons (\text{FeL}_3\text{H})^+$	$\text{Log } \beta_{131}$	44.5
	$\text{Fe}^{3+} + 3\text{L}^- \rightleftharpoons (\text{FeL}_3)^0$	$\text{Log } \beta_{130}$	38.8
	$\text{L}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}$	pK_{a1}	9.39
	$\text{LH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}_2^+$	$\text{pK}_{a1} + \text{pK}_{a2}$	12.91
	$\text{LH}_2^+ + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}_3^{2+}$	$\text{pK}_{a1} + \text{pK}_{a2} + \text{pK}_{a3}$	14.57

[0555] C. 通过电位滴定在 0.1M NaCl 水溶液/MeOH(1/1, v/v) 混合物中测定 Cu-Apo7041 体系的逐级形成常数

[0556] 当在滴定期间金属配合物 ($\geq 0.002\text{M}$) 不沉淀时,通过电位滴定测定 Cu^{2+} -配体体系的逐级形成常数。在典型试验中,通过下列方法制备样本溶液:称量 Apo7041 (126.1mg, 0.50mmol) 并放入 50mL 容量瓶中,并加入约 35mL 的混合溶剂 (0.1M NaCl 水溶液:MeOH, 1:1, v:v)。超声处理混合物 10 分钟以得到澄清无色溶液。将铜原液 (原子吸收标准, Aldrich, 6.33mL, 0.10mmol) 用移液管转移至溶液中。向该容量中加入更多的混合溶剂,并使所得溶液涡旋至混合。总铜和总 Apo7041 间的摩尔比为 1/5。通过使用 10mL 数字移液管将 40mL 溶液转移至 T70 滴定池中。加入 6.000N 氢氧化钠溶液 (300 μL),并记录溶液 pH(12.17)。在 22°C 下,使溶液平衡 5 分钟。

[0557] 然后在 22°C 下,通过使用 Mettler Toledo T70 自动滴定器用 6.000N 盐酸溶液滴定该溶液直至 pH 达到 1.5。记录添加的酸体积和 pH 读数。因此,对于该试验进行 533 次测量。

[0558] 还使用实施例 1 所述的步骤,通过电位滴定测定在相同的混合溶剂中的 Apo7041 的 pKa 值。

[0559] 使用 Hyperquad2000 软件 (2.1 版本, Peter Gans, University of Leeds) 分析 Cu-Apo7041 体系的 pH 对酸体积的数据组。使用表 29C 第一列所示的模型,使 Cu-Apo7041 体系的形成常数最佳化。在第二和第三列显示结果。

[0560] 表 29C

[0561]	模型	符号	值
	$(\text{CuL}_2\text{H})^+ + \text{H}^+ \rightleftharpoons (\text{CuL}_2\text{H}_2)^{2+}$	$\text{Log } \beta_{122}$	27.9
	$(\text{CuL}_2)^0 + \text{H}^+ \rightleftharpoons (\text{CuL}_2\text{H})^+$	$\text{Log } \beta_{121}$	23.0
	$\text{Cu}^{2+} + 2\text{L}^- \rightleftharpoons (\text{CuL}_2)^0$	$\text{Log } \beta_{120}$	17.3
	$\text{L}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}$	pKa_1	10.1
	$\text{LH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}_2^+$	$\text{pKa}_1 + \text{pKa}_2$	13.3
	$\text{LH}_2^+ + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}_3^{2+}$	$\text{pKa}_1 + \text{pKa}_2 + \text{pKa}_3$	15.3

[0562] D. 通过电位滴定在 0.1M NaCl 水溶液 /MeOH(1/1, v/v) 混合物中测定 Zn-Apo7041 体系的逐级形成常数

[0563] 当在滴定期间金属配合物 ($\geq 0.002\text{M}$) 不沉淀时, 通过电位滴定测定 Zn^{2+} -配体体系的逐级形成常数。在典型试验中, 通过下列方法制备样本溶液: 称量 Apo7041 (126.3mg, 0.50mmol) 并放入 50mL 容量瓶中, 并加入约 35mL 的混合溶剂 (0.1M NaCl 水溶液 :MeOH, 1:1, v:v)。超声处理混合物 10 分钟以得到澄清无色溶液。将锌原液 (原子吸收标准, Aldrich, 6.64mL, 0.10mmol) 用移液管转移至溶液中, 然后加入氢氧化钠溶液 (6.000N, 300 μL)。向该容量中加入更多的混合溶剂, 并使所得溶液涡旋以便混合。总锌和总 Apo7041 间的摩尔比为 1/5。通过使用 10mL 数字移液管将 40mL 溶液转移至 T70 滴定池中。加入 6.000N 氢氧化钠溶液 (160 μL), 并记录溶液 pH(11.95)。在 22°C 下, 使溶液平衡 5 分钟。

[0564] 然后在 22°C 下, 通过使用 Mettler Toledo T70 自动滴定器由 6.000N 盐酸溶液滴定该溶液直至 pH 达到 1.5。记录添加的酸体积和 pH 读数。因此, 对于该试验进行 523 次测量。

[0565] 使用 Hyperquad2000 软件 (2.1 版本, Peter Gans, University of Leeds) 分析 Zn-Apo7041 体系的 pH 对酸体积的数据组。使用表 29D 第一列所示的模型, 使 Zn-Apo7041 体系的形成常数最佳化。在第二和第三列中显示结果。

[0566] 表 29D

[0567]	模型	符号	值
	$\text{Zn}^{2+} + \text{LH} \rightleftharpoons (\text{ZnLH})^{2+}$	$\text{Log } \beta_{111}$	13.1
	$(\text{ZnL}_2)^0 + \text{H}^+ \rightleftharpoons (\text{ZnL}_2\text{H})^+$	$\text{Log } \beta_{121}$	19.6
	$\text{Zn}^{2+} + 2\text{L}^- \rightleftharpoons (\text{ZnL}_2)^0$	$\text{Log } \beta_{120}$	13.2
	$\text{L}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}$	pKa_1	10.1
	$\text{LH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}_2^+$	$\text{pKa}_1 + \text{pKa}_2$	13.3
	$\text{LH}_2^+ + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}_3^{2+}$	$\text{pKa}_1 + \text{pKa}_2 + \text{pKa}_3$	15.3

[0568] 计算 pM^{n+}

[0569] 在生理条件下, pM^{n+} 定义为 $-\log[\text{M}(\text{H}_2\text{O})_n]^{n+}$, 即 pH7.4, 配体浓度为 10 μM 以及金属浓度为 1 μM 。为了计算 ML_n 体系的 pM^{n+} , 需要 β_n 和 pKa 值 (β_n 是 $\text{M}^{n+} + n\text{L}^- \rightleftharpoons \text{ML}_n$ 的形成常数; pKa 是 $\text{L}^- + n\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}_n^{(n-1)+}$ 的平衡常数)。使用 Hyss 软件 (HYSS© 2000Protonic Software) 计算 pM^{n+} 。

[0570] 能够在表 1 得到从 Apo7041 (通式 I 化合物) 的上述测定而获得的数据。

[0571] 实施例 30

[0572] 循环伏安法

[0573] 通式 I 化合物的设计标准涉及在 pH7.4 处将 Fe- 螯合体系的氧化还原电位控制为负值低于 -320mv (对 NHE), 从而防止与氧物质的任何反应。铁以多种形态存在, 包括 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 。铁 (II)/ 铁 (III) 对能够充当一种电子还原剂和氧化剂的对 (pair)。根据 Crumbliss (<http://www.medicine.uiowa.edu/FRRB/VirtualSchool/Crumbliss-Fe.pdf>) 和 Pierre (BioMetals, 12, 195-199, 1999), 用氧化还原电位控制进行铁螯合选择是防止铁参与催化循环而产生毒性羟基基团和 / 或活性氧物质 (ROS) 的方法 (例如, 通过 Fenton 反应或 Haber Weiss 循环)。在 pH7.4 处, 氧化还原电势低于 -320mv (对 NHE 或对 Ag/AgCl 为 -540mv) 的 Fe(III)- 三 - 螯合体系不被诸如 NADPH/NADH 的任何生物还原剂还原, 因此, 不参与产生 ROS (活性氧物质) 的 Haber Weiss 循环。在哺乳动物体内, 在人血液内铁与诸如铁传递蛋白的不同蛋白质结合以确保其以不能与任何氧分子反应的形式而存在。Fe- 传递蛋白的 $E_{1/2}$ 值为 -500mv (对 NHE 或对 Ag/AgCl 为 -720mv)。

[0574] 能够通过循环伏安法 (CV) 检测铁配合物的氧化还原电势。在图 1 中示例了应用 CV 检测分别作为螯合剂的铁螯合物去铁酮、去铁敏和 Apo7041 (本发明的代表性化合物) 氧化还原电势。在 pH7.4 时, 诸如 Fe- 去铁敏 (DFO) 和 Fe-(去铁酮)₃ 的铁螯合剂所具有的氧化还原电势 $E_{1/2}$ 值分别位于 -480mv (对 NHE) 和 -628mv (对 NHE)。诸如 Fe(Apo7041)₃ 的通式 I 化合物的 $E_{1/2}$ 值为 -530mv (对 NHE), 其与去铁敏相比为略微较大的负值 (more negative)。能够在图 1 中得到 Fe-DFO、Fe(去铁酮)₃ 和 Fe(Apo7041)₃ 的循环伏安图。本发明的螯合剂的一个优势在于其铁螯合物的氧化还原电势在生理 pH7.4 下, 位于极负的范围, 由此它们的铁螯合物不参与在生理 pH 下产生活性氧物质的氧化还原循环。当与本发明所述的其它新性质相组合时, 通式 I 化合物为通过螯合机制而去除铁的有效试剂。

[0575] 测定 Fe(Apo7041)₃ 的 $E_{1/2}$

[0576] A. 材料和仪器

[0577] 从 Aldrich 购买铁氰化钾 (III)。从 Sigma 购买去铁敏甲磺酸盐 (DFO)。从 Aldrich 购买铁原子吸收标准溶液 (含 1000 $\mu\text{g/mL}$ 的 Fe 的 1% 重量比 HCl)。用循环伏安分析器 (BAS, CV-50W Potentiostat) 进行电化学测试。使用软件 BAS CV-50W2.31 版本。将下列电极用于测定铁配合物的氧化还原电势: Ag/AgCl 参比电极 (BAS, MF-2052); 铂辅助电极 (BAS, MW-1032); 以及玻璃碳工作电极 (BAS, MF-2012)。将 pH 计 (Accumet Research AR15, 13-636-AR15, Fisher Scientific) 和 pH 电极 (AccupHast 组合电极, 13-620-297, Fisher Scientific) 用于样本溶液的 pH 调节。

[0578] B. 制备样本溶液

[0579] 2.0mM 的 Fe(DFO) 的 0.1M NaCl 溶液 (pH7.4): 准确地称量 148.1mg 的去铁敏甲磺酸盐 (纯度 = 95%), 放入 100-mL 容量瓶。将固体溶于约 30mL 的 0.1M NaCl 以得到澄清无色溶液。向溶液中添加 11.114mL 的标准铁溶液。用 0.1M NaCl 稀释溶液至容量瓶中标记的 100mL。使所得溶液涡旋以确保完全混合。将溶液转移至 200-mL 烧瓶中。然后通过添加氢氧化钠的标准溶液将溶液 pH 调节至约 7.1。然后用石蜡封口膜覆盖烧瓶并使溶液保持搅拌过夜。在下面的实验日将溶液 pH 调节至 7.40。铁_总和 DFO_总 间的计算摩尔比为 1:1.07。

[0580] 1.0mM 的 Fe(Apo7041)₃ 的 0.1M NaCl 溶液 (pH7.4): 准确地称量

Apo7041 (19.8mg, 0.079mmol) 放入 25-mL 圆底烧瓶中。将固体溶于约 14mL 的 0.1M NaCl 以得到澄清无色溶液。向该溶液中添加标准铁溶液 (847 μ L, 0.015mmol), 然后添加氢氧化钠溶液 (6.000N, 44 μ L)。使所得溶液涡旋以确保完全混合。记录溶液 pH(7.5)。铁_总和 Apo7041_总间的计算摩尔比为 1/5.3。以类似方式, 制备 2.0mM 的 Fe(去铁酮)₃的 0.1M NaCl 溶液 (pH7.4)。

[0581] C. 测定铁配合物的氧化还原电势

[0582] 给出对比 Ag/AgCl 参比电极的在文本中的所有电势。在每一工作日开始时检测 2.0mM 的 K₃Fe(CN)₆的 1.0M 硝酸钾的氧化还原电势以保证循环伏安计的适当运行。测定铁配合物 (即 Fe(DFO)、Fe(去铁酮)₃和 Fe(Apo7041)₃) 溶液在 pH7.4 处的氧化还原峰电势。例如, 用氩吹扫 Fe(Apo7041)₃样本溶液约 15 分钟。将含 0.1M NaCl 的溶剂阱 (solvent trap) 用于减少蒸发。使用玻璃碳电极 (工作电极)、Ag/AgCl 电极 (参比电极) 和铂电极 (辅助电极) 记录样本溶液的循环伏安图。使用下列仪器参数: 初始 E(mV)=0; 高 E(mV)=0; 低 E(mV)=-1200; 初始 P/N=N; V(mV/s)=200; 清扫片段号=3; 敏感度 (μ A/V)=100; 搅拌速度=50rpm。

[0583] 图 1 显示铁 (III)L_n配合物在 pH7.4 时的循环伏安图: a) Fe(Apo7053)₃; b) Fe(Apo7041)₃; c) Fe(Apo7069)₃。检测四种铁配合物的还原峰电势 (E_p^{还原})、氧化峰电势 (E_p^{氧化})、E_p^{还原} 和 E_p^{氧化} 间的绝对差 (ΔE_p) 以及氧化还原电势 (E_{1/2})。以 (E_p^{还原} + E_p^{氧化})/2 形式计算 E_{1/2} 值。

[0584] a) Fe(Apo7053)₃; b) Fe(Apo7041)₃; c) Fe(Apo7069)₃ 的循环伏安图表示每一配合物: Fe(III)L_n/Fe(II)L_n 的可逆单一电子转移方法。该实验测定的参比 Fe(DFO) 的 E_{1/2} 值对比 Ag/AgCl 参比电极为 -698mV, 其完全符合文献值 (-688mV) (A. L. Crumbliss 等人, Inorganic Chemistry (无机化学), 2003, 42, 42-50)。Fe(Apo7041)₃ 的 E_{1/2} 值为 -731mV, 其比 Fe(DFO) 带略多的负电性。

[0585] 在 pH7.4 下, 铁 (III)L_n配合物在 0.1M NaCl 水溶液中的电化学性质如下所示。将 Fe(DFO)、{DFO= 去铁敏 B}; Fe(L1)₃、{L1= 去铁酮}; K₃Fe(CN)₆ 用作研究验证的对照。

[0586]	配合物	E _{还原} (mV)	E _{氧化} (mV)	ΔE (mV)	E _{1/2} (mV)对 Ag/AgCl	E _{1/2} (mV)对 NHE
	K ₃ Fe(CN) ₆	197	282	85	+20	+240
	Fe(DFO)	-754	-642	112	-698	-478
	Fe(L1) ₃	-841	-752	89	-797	-577
	Fe(7041) ₃	-789	-672	117	-731	-511
	Fe(7053) ₃	-856	-761	95	-809	-589
	Fe(7069) ₃	-793	-706	87	-750	-530

[0587] 实施例 31

[0588] 苯甲酸羟基化检验

[0589] 苯甲酸为羟基清除剂并与羟基反应以得到 2-羟基、3-羟基和 4-羟基苯甲酸。苯甲酸羟基化检验是设计为检测由羟基所导致的损伤的化学检验 (Dean 和 Nicholson, Free Radical Research 1994, vol20, 83-101)。例如, 在铁盐和过氧化氢存在下, 去铁酮抑制羟基苯甲酸的生成, 而 EDTA 和铁盐使这类羟基化反应发生。

[0590] 这种筛选检验涉及使用铁盐、苯甲酸、过氧化氢和螯合剂, 并检测了螯合剂抑制作

为引发剂的羟基苯甲酸酯的形成以防止在活体内系统内羟基形成的能力。

[0591] 通式 I 化合物具有与去铁酮类似的性质,并在用过氧化氢和铁盐处理苯甲酸时抑制羟基苯甲酸的形成。结果显示在图 9 中。通式 I 化合物显示出对于苯甲酸羟基转化的抑制作用。因此,这些化合物在生物系统内对羟基氧化是保护性的。

[0592] 简言之,该步骤基于羟基使苯甲酸酯羟基化以得到 2-、3- 和 4- 羟基化苯甲酸产物的能力。在室温下,在黑暗中,在具有 6mM 过氧化氢、氯化铁 (30 μ M) 和 Fe 螯合剂 (30 μ M) 的 10mM 磷酸盐缓冲液 (pH7.4) 中,随时间孵育苯甲酸 (1mM) 直至 81 小时。HPLC 是用于监测和定量在反应混合物中随时间形成的 2-、3- 和 4- 羟基化产物的精选方法,并且能够通过其各自的保留时间和曲线下面积而证实针对真正的苯甲酸及其羟基化产物的作用。另外,使用下列若干对照:(i) 没有添加 Fe 原液和 Fe 螯合剂的对照;(ii) 没有添加 Fe 螯合剂的对照;(iii) 作为正对照的 EDTA;以及 (iv) 作为负对照的去铁酮。Fe-EDTA 体系是羟基生成物并已知促进苯甲酸的羟基化。在实验条件下,来自通式 I 化合物的 Fe 螯合物 (Apo7041、Apo7050、Apo7053 和 Apo7077) 没有促进苯甲酸的羟基化。

[0593] 实施例 32

[0594] A. 通式 I 化合物在 SH-SY5Y 成神经细胞瘤细胞中对过氧化氢诱导的细胞凋亡的神经保护作用

[0595] 过氧化氢 (H_2O_2) 是主要的 ROS (活性氧应激) 并且能够在许多不同细胞类型中诱导细胞凋亡。CNS 药物设计策略之一是将具有抗氧化性质的化合物用作急性和慢性神经组织退化疾病的潜在治疗 (Kang 等人, *Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters*, 2004, 14, 2261-2264)。其涉及检测本发明化合物在 SH-SY5Y 人类成神经细胞瘤细胞中对氧化应激诱导的细胞死亡的保护作用。在具有 10%FBS 的 DMEM(ATCC)/F12(Cellgro) 中培养 SH-SY5Y 人类成神经细胞瘤细胞。将细胞以 30,000 细胞 / cm^2 放置并在化合物添加之前在常规培养介质中生长 1 天。在预定浓度范围下,在存在或不存在 50 μ M 氢氧化钠的情况下,在不含 FBS 的基底介质中,用测试化合物常规处理细胞 16-22 小时。然后使用常规 MTT 方法检测细胞存活力 (Mosmann, T., *Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays*) (细胞生长和生存的快速比色检验:增殖和细胞毒性检验应用)。J. Immunol. Meth. 1983, 65, 55-63)。

[0596] 对于数据分析,相对于未用 H_2O_2 或测试化合物处理的对照,绘制细胞存活力与化合物浓度的曲线。将阈值保护浓度 (TH) 定义为化合物对过氧化氢侵犯不显示出明显保护效应的最高浓度 (即,下一个更高浓度具有统计学显著的保护效应)。最大效应浓度 (EC_{100}) 为化合物表现出最大保护效应的浓度。在不存在过氧化氢的情况下,评价测试化合物的细胞毒性。将细胞毒性浓度 (CC1) 定义为导致存活力显著低于 80% 的最低化合物浓度。细胞毒性浓度 (CC2) 为在 H_2O_2 处理的细胞中导致存活力显著低于 80% 的最低化合物浓度。

[0597] B. 评价化合物对内源产生 A β 毒性的保护

[0598] 通过聚集称为 β 淀粉样肽 (A β) 的小肽而形成淀粉样斑,所述 A β 当淀粉样前体蛋白 (APP) 由 β -APP 裂解酶和 γ -分泌酶的两种酶作用而裂解时产生。因此,治疗阿尔兹海默病的一种方法是通过抑制这些酶的一种或两种来限制由 A β 前体产生 A β , 而另一方法是通过使用金属螯合剂抑制 A β 聚集。

[0599] 在该检验中,通常将人类成神经细胞瘤细胞 (MC-65 细胞) 设计为有条件地表达 β

淀粉样肽 (A β)。通过存在于培养介质中的四环素 (TET+) 抑制 A β 产生, 并且当 TET 撤回 (TET-) 时激活其产生。A β 产生的激活导致细胞死亡“MC-65 自杀”。

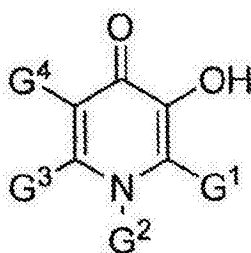
[0600] 在人类成神经细胞瘤 MC-65 细胞中估计化合物对内源产生的 β 淀粉样肽 (A β) 的保护效应。将 MC-65 细胞稳定地转变为有条件地表达高水平的部分淀粉样前体 (AP) 融合蛋白 (Bryce Sopher 等人, Brain Res Mol Brain Res. 1994, 207-17)。在细胞中解蛋白加工该蛋白以形成一组 AP- 衍生的 A β 肽。AP 在这些细胞中的有条件表达是在四环素- 应答促进剂系统的控制下, 并且导致明显的细胞毒性。通过在培养介质中存在抗生素四环素 (TET) 而紧密调节促进剂活性。在 TET 的存在下, 促进剂处于基础状态并且没有合成 β 淀粉样肽。在不存在 TET 的情况下, 促进剂处于诱导状态, 导致细胞内 A β 肽的累积、细胞形态的退行性变化以及减少的生存。

[0601] 在 TET (1 μ g/mL) 的存在下, 在用非必须氨基酸和 10%FBS (VWR) 补充的 DMEM (ATCC) 中培养转染的人类成神经细胞瘤细胞 (MC-65)。对于实验, 以 35,000 细胞 /cm² 放置细胞, 并在化合物添加之前使细胞在常规培养介质中生长 1 天。在检验日, 从孔中除去培养上清液, 并用不含 FBS 和 TET 的化合物孵育基质彻底一次洗涤细胞。在不存在或存在 1 μ g/mL TET 的情况下, 在不含 FBS 的基底培养基中, 用测试化合物以预定浓度范围处理 MC-65 细胞约 48 小时。然后使用 MTT 方法检测细胞存活力。

[0602] 对于数据分析, 相对于不用测试化合物处理并在 TET 存在下保持的对照, 绘制细胞存活力与化合物浓度的曲线。将阈值保护浓度 (TH) 定义为在不存在 TET 的情况下保持的组中, 测试化合物不表现出显著保护效应的最高浓度 (即, 下一个更高浓度具有统计学显著的保护效应)。最大有效浓度 (EC₁₀₀) 是化合物表现出最大保护效应的浓度。在 TET 存在下保持的细胞中评价测试化合物的细胞毒性。细胞毒性浓度 (CC1) 定义为导致存活力显著低于 80% 的最低化合物浓度。CC2 为在表达 AP (即不用四环素培养) 的细胞中导致存活力显著低于 80% 的最低化合物浓度。

[0603] 化合物的化学结构

[0604]



[0605]

Apo 编号	G ¹	G ²	G ³	G ⁴
6994	H	CH ₂ CF ₃	Me	H
6995	Me	CH ₂ CF ₃	H	H
6998	CH(CF ₃)-D-ala-NHMe	Me	H	H

[0606]

7021	CH ₂ CF ₃	Me	CH ₂ NMe ₂	H
7022	CH(OH)CF ₃	Me	CH ₂ NMe ₂	H
7030	Et	CH ₂ CF ₃	H	H
7032	CH(OH)CF ₃	Me	CH ₂ -L-ala-OH	H
7033	CH(OH)CF ₃	Me	CH ₂ -L-ala-NHMe	H
7035	CH(OH)CF ₃	H	CH ₂ NMe ₂	H
7038	CH(OH)CF ₃	Me	Me	Cl
7040	CH ₂ CF ₃	Me	Me	Cl
7041	CH(NMe ₂)CF ₃	Me	H	H
7053	Me	Me	H	CH(NMe ₂)CF ₃
7054	Me	Me	H	CH(哌啶基)CF ₃
7055	Me	Me	H	CH(咪唑基)CF ₃
7056	Me	Me	H	CH(NHMe)CF ₃
7057	CH(炔丙基氨基)CF ₃	Me	H	H
7058	CH(哌啶基)CF ₃	Me	H	H
7059	CH(NMe ₂)CF ₃	Me	Me	Cl
7060	CH(NMe ₂)CF ₃	Me	H	Cl
7061	CH(哌啶基)CF ₃	Me	H	Cl
7063	Me	Me	H	CH(N-甲基哌嗪基)CF ₃
7065	CH ₂ NMe ₂	CH ₂ CF ₃	Me	H
7066	CH ₂ CF ₃	Me	H	Cl
7067	CH ₂ NMe ₂	Me	H	H
7069	Me	CH ₂ CHF ₂	H	H
7071	CH ₂ (哌啶基)	CH ₂ CF ₃	Me	H
7073	CH(N-甲基哌嗪基)CF ₃	Me	H	H
7074	CH(环丙基氨基)CF ₃	Me	H	H
7075	CH(烯丙基氨基)CF ₃	Me	H	H
7077	NMe ₂	Me	CH ₂ CF ₃	H
7080	CH ₂ CHF ₂	Me	H	H
7083	CH ₂ NMe ₂	CH ₂ CHF ₂	Me	H

[0607] 通式 I 化合物在 SH-SY5Y 成神经细胞瘤细胞中

[0608] 对过氧化氢诱导的细胞凋亡的神经保护效应的试验结果

[0609]

Apo 编号	TH (μM)	EC ₁₀₀ (μM)	CC1 (μM)	CC2 (μM)
6994	40	160	160	640
6995	20	160	320	320
6998	10	80	20	100
7021	2.5	640	80	>640

7022	5	160	40	320
7030	10	320	640	>640
7032	160	640	10	>640
7035	20	640	40	>640

[0610]

7038	20	320	40	>640
7040	10	640	160	>640
7041	10	80	160	320
7053	10	40	2. 2	>640
7054	2. 5	640	5	>640
7055	2. 5	40	10	>640
7057	3	20	5	80
7058	5	640	20	>640
7059	10	320	40	640
7060	20	320	80	>640
7061	10	640	10	10
7066	10	40	160	160
7067	10	40	160	>640
7069	40	160	80	>640
7071	3	20	20	80
7073	5	640	40	>640
7074	3	640	20	>640
7075	3	640	20	>640
7080	10	320	40	>640

7033	160	640	40	>640
7063	5	640	320	>640
7065	5	40	40	>640

[0611] 对内源产生的 A β 毒性的保护的 MC65 检验测试结果

[0612]

Apo 编号	TH (μ M)	EC ₁₀₀ (μ M)	CC1 (μ M)	CC2 (μ M)
6994	1	10	>80	>80
6995	0.1	20	80	80
7021	0.1	10	10	20
7022	0.1	20	10	40
7030	1	20	40	40
7032	0.1	10	80	40
7035	0.1	10	40	20
7040	1	40	40	80
7041	0.1	10	10	80
7053	0.1	10	40	20
7054	0.1	1	20	20
7055	1	20	40	40
7056	0.1	10	80	80
7057	1	10	20	20
7058	1	10	10	80
7059	1	10	10	40

[0613]

7060	1	10	40	20
7061	1	10	40	20

7066	0.1	10	80	80
7067	0.1	10	80	80
7069	0.1	40	80	80
7071	1	10	40	20
7073	0.1	10	40	20
7074	0.1	10	10	20
7075	0.1	10	10	20
7077	1	10	80	80
7080	0.1	10	40	40
7083	0.1	10	40	40

[0614] 实施例 33

[0615] MPP⁺(5mM) 对 SV-NRA 细胞存活力的影响以及通式 I 化合物 (Apo6995、Apo7060、Apo7021) 对 MPP⁺处理的 SV-NRA 细胞的神经保护作用

[0616] 在 100 μ L 的 DME(二甲氧基乙烷)、补充有 10% 热灭活的 FBS 的高葡萄糖 1 $\times$ 液体 (Sigma) 和 1 $\times$ 抗生素 / 抗真菌溶液 (Sigma) 中, 将 SV-NRA 细胞以 10,000 细胞 / 孔的密度放置在 96-孔板中。在第二天, 用 EMEM 培养液 (Eagle 的最小必要培养液; 酚红、血清和游离谷氨酸盐) 洗涤细胞, 并在存在或不存在测试铁螯合化合物的情况下, 用 5mM MPP⁺(1-甲基-4-苯基吡啶盐) 的 EMEM 培养液处理 24 小时。在下列浓度下测试所有化合物: 10 μ M、20 μ M 和 40 μ M。在孵育 24 小时后, 用检测线粒体活性的 MTT((3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑溴化物, 黄色四唑) 检验来测定细胞存活力 (Carmichael 等人, Cancer Research 1987, 47, 936-942)。向孔中添加 MTT 溶液 (10 μ L, 5mg/mL) 并孵育 2 小时。用 100 μ L 的 10%SDS(十二烷基硫酸钠) 的 0.01M HCl 溶解甲臜产物。使用 Multiscan Ascent 板读数器 (Labsystems) 在 570nm 处测定光密度, 并对在 650nm 处测量的背景信号修正收集的数据。所有数据表示为对照百分数。

[0617] MPP⁺处理导致与介质处理对照相比, 细胞存活力降低约 40% 至 50%。用铁螯合剂的共同处理保护细胞免受 MPP⁺毒性。用 20 μ M 去铁酮处理, 铁螯合剂药物导致细胞存活力增加约 20%($p < 0.05$)。与仅用 MPP⁺处理的细胞相比, 用浓度为 10、20 和 40 μ M 的铁螯合剂 Apo7060、Apo6995 和 Apo7021 的处理也使细胞存活力增加 20% 至 30%($p < 0.05$)。在图 10、11、12 和 13 中显示代表性的结果。

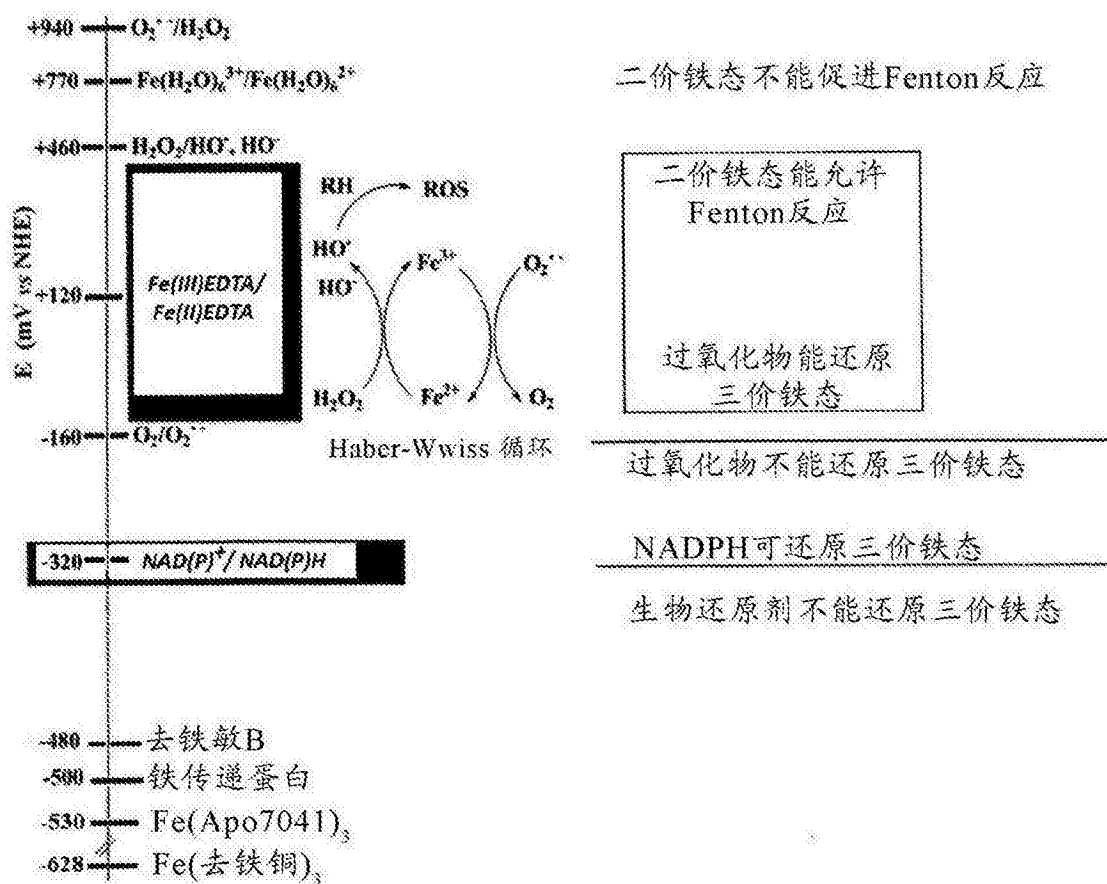


图 1

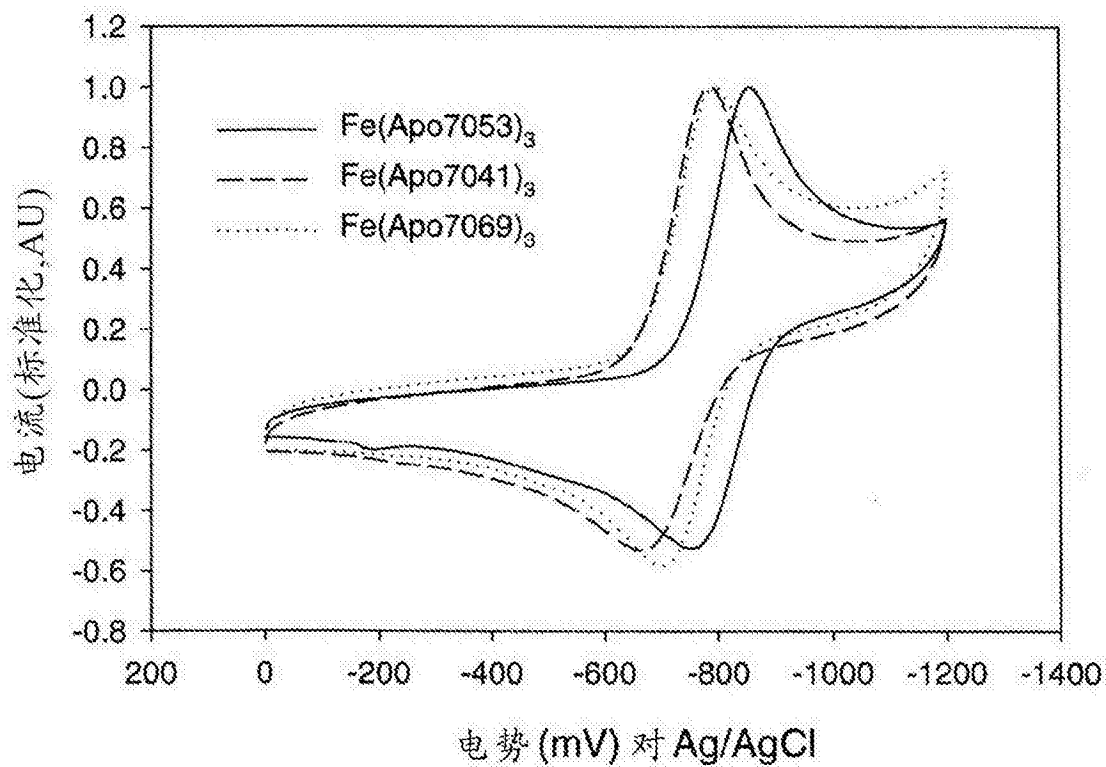


图 2

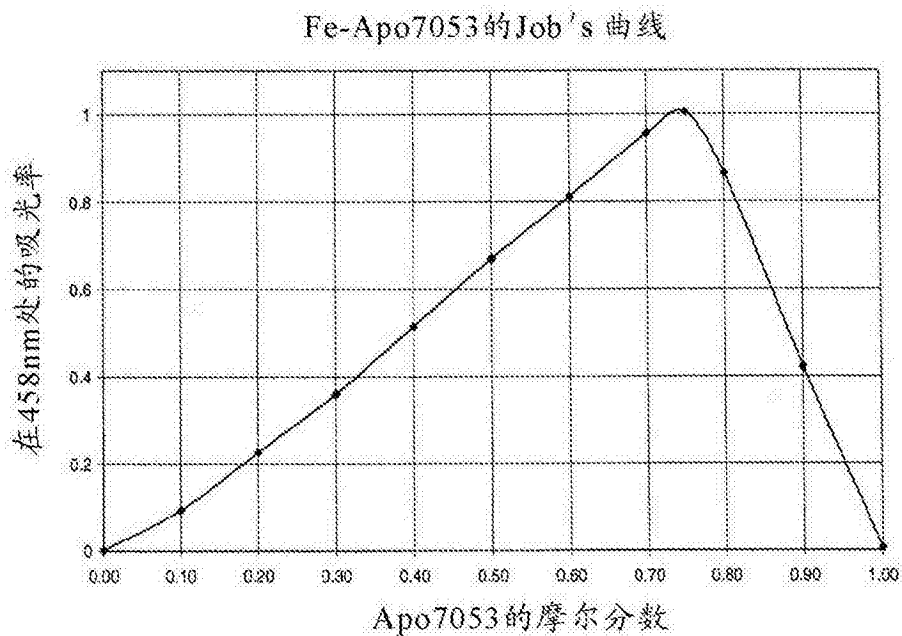


图 3A

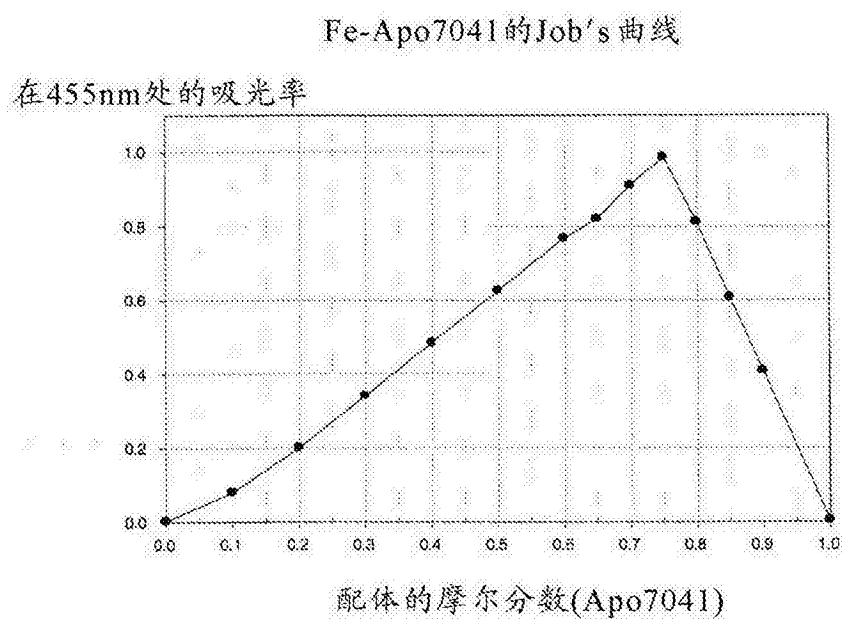


图 3B

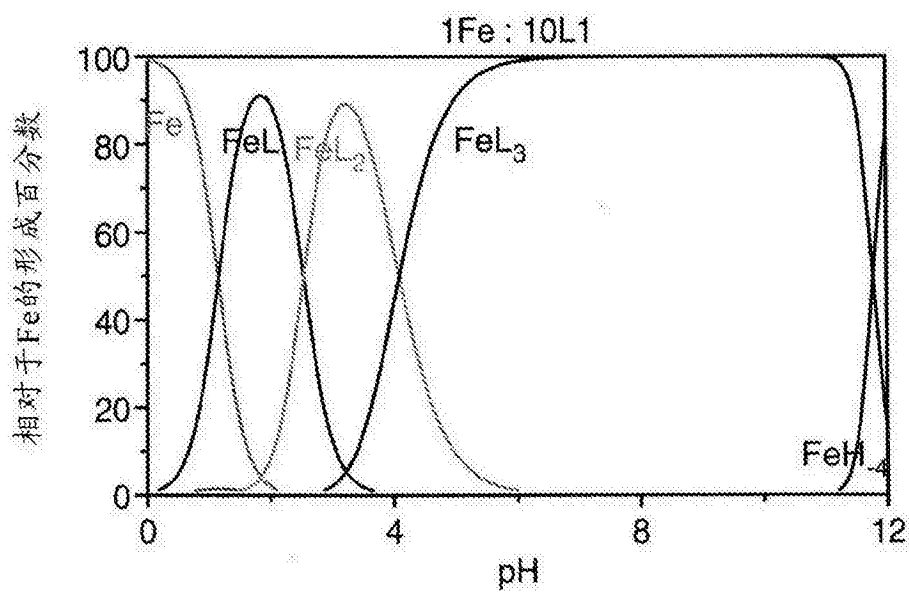


图 4

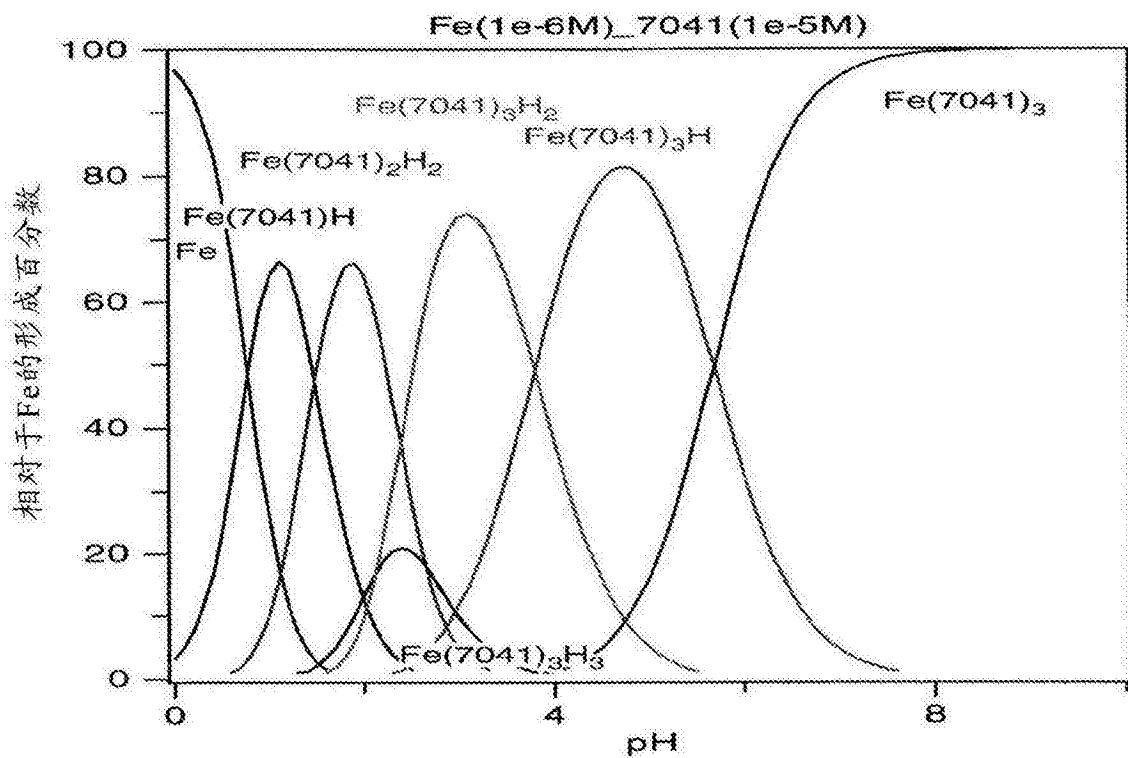


图 5

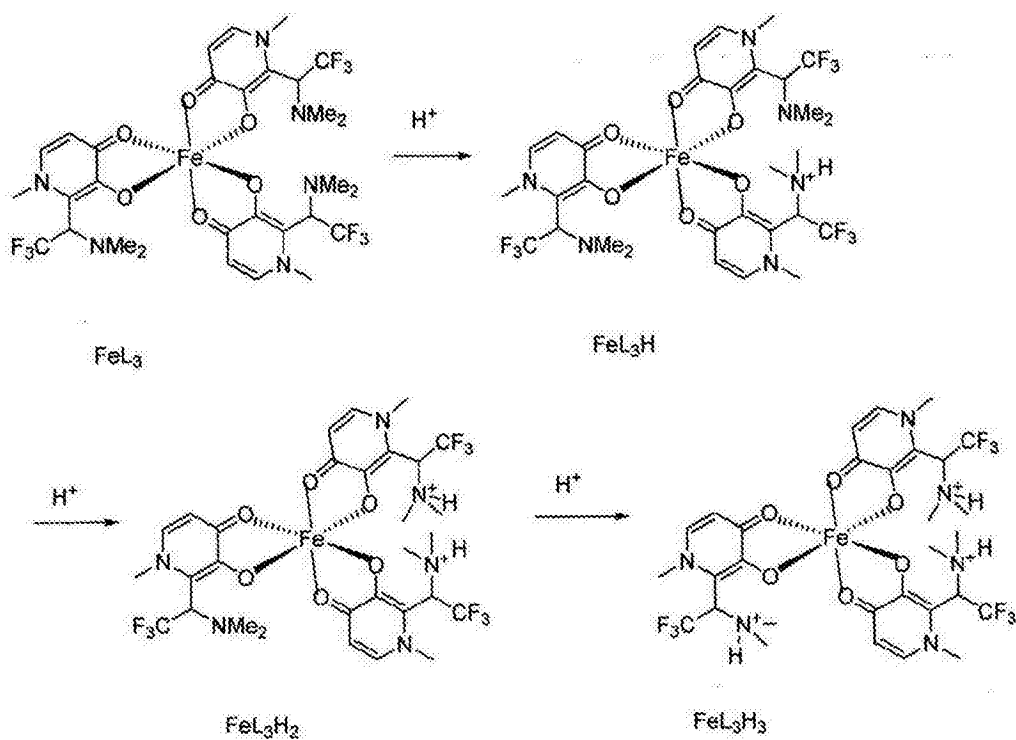


图 6

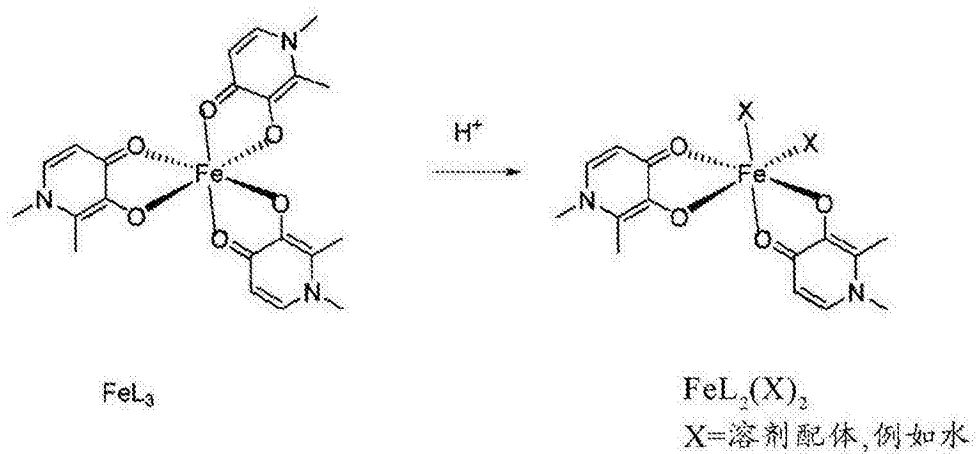


图 7

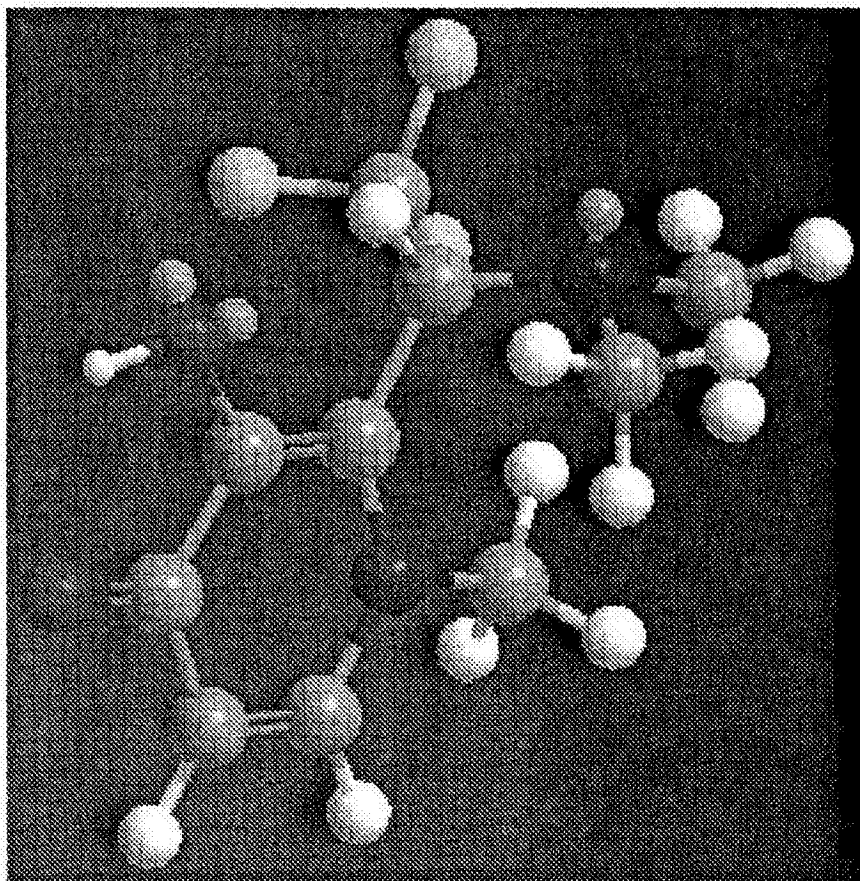


图 8

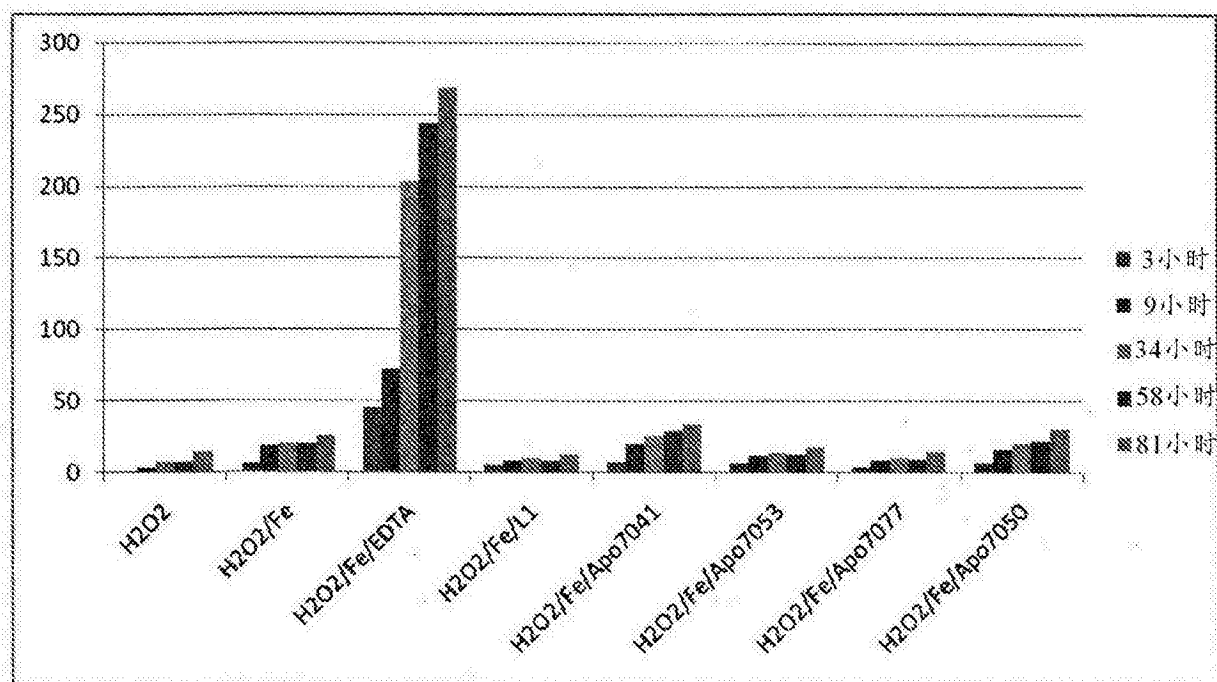


图 9

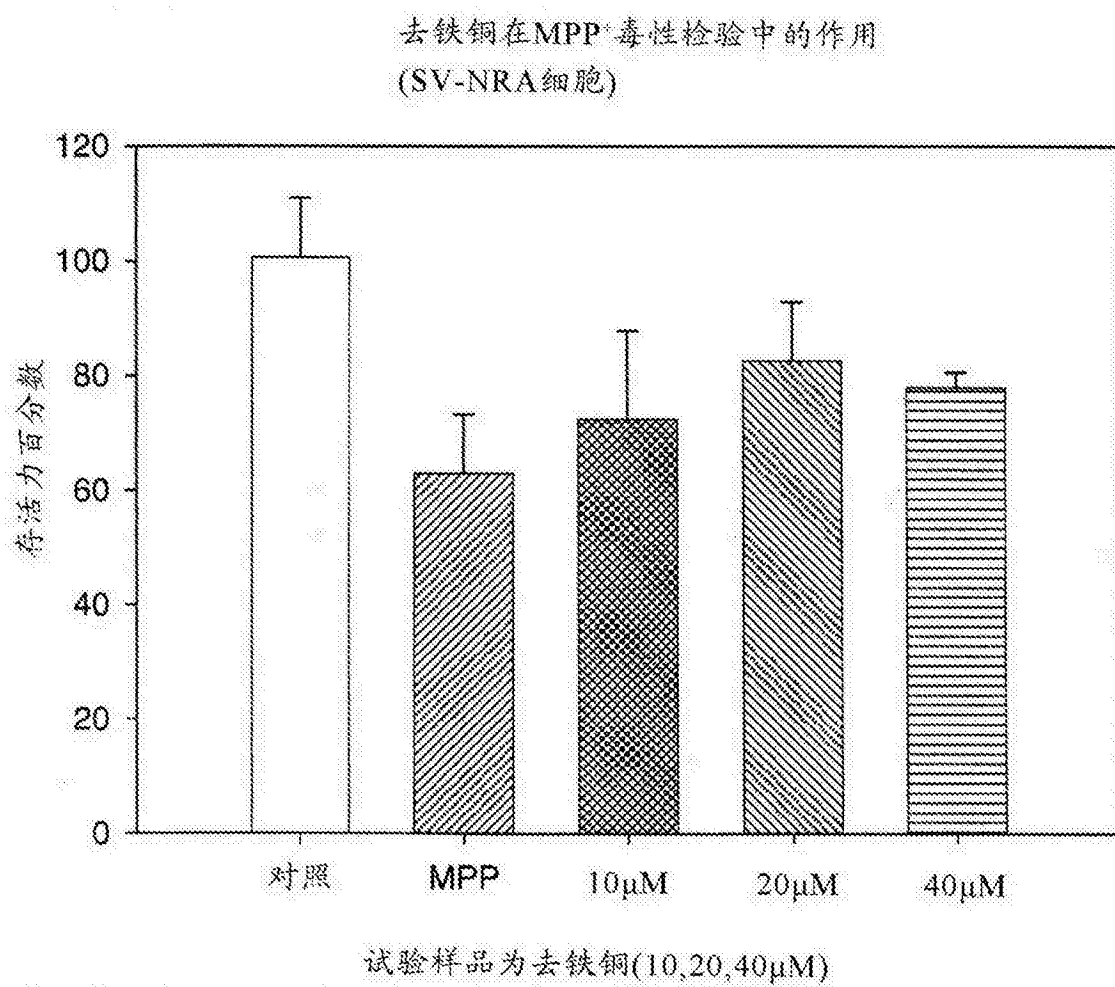


图 10

Apo7021在MPP⁺毒性检验中的作用
(SV-NRA细胞)

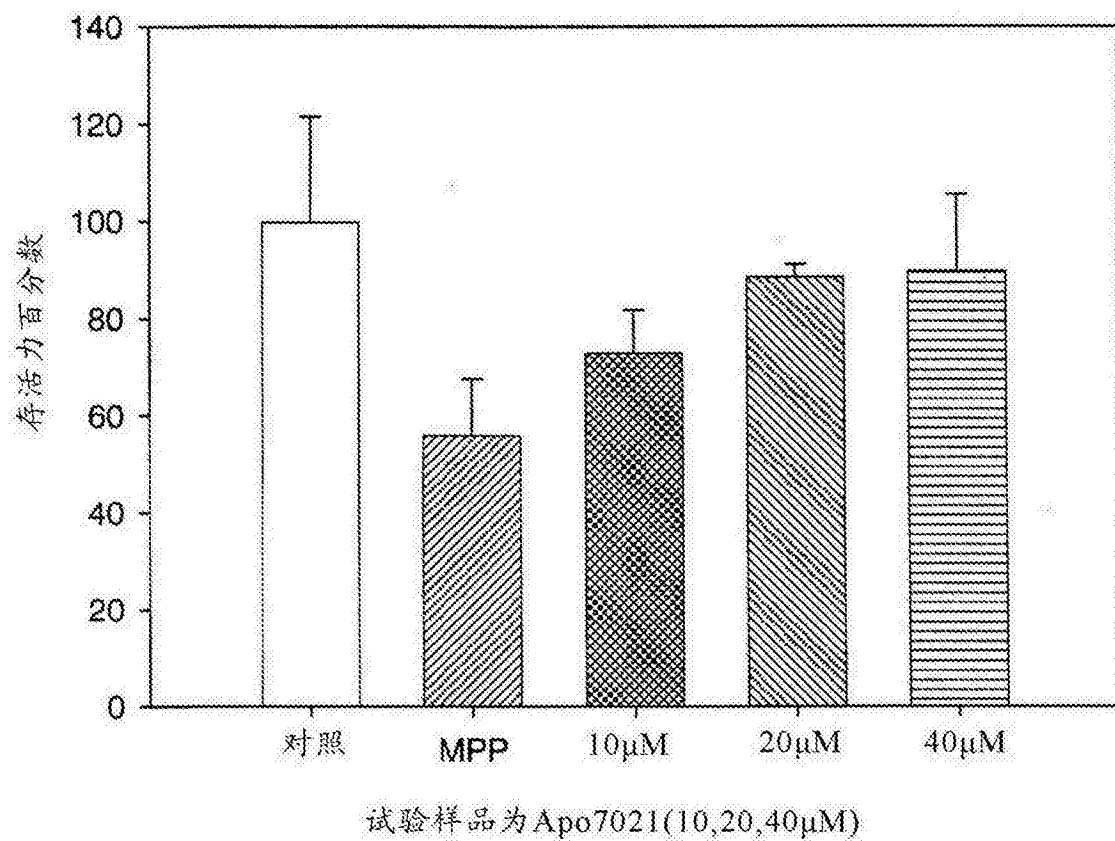


图 11

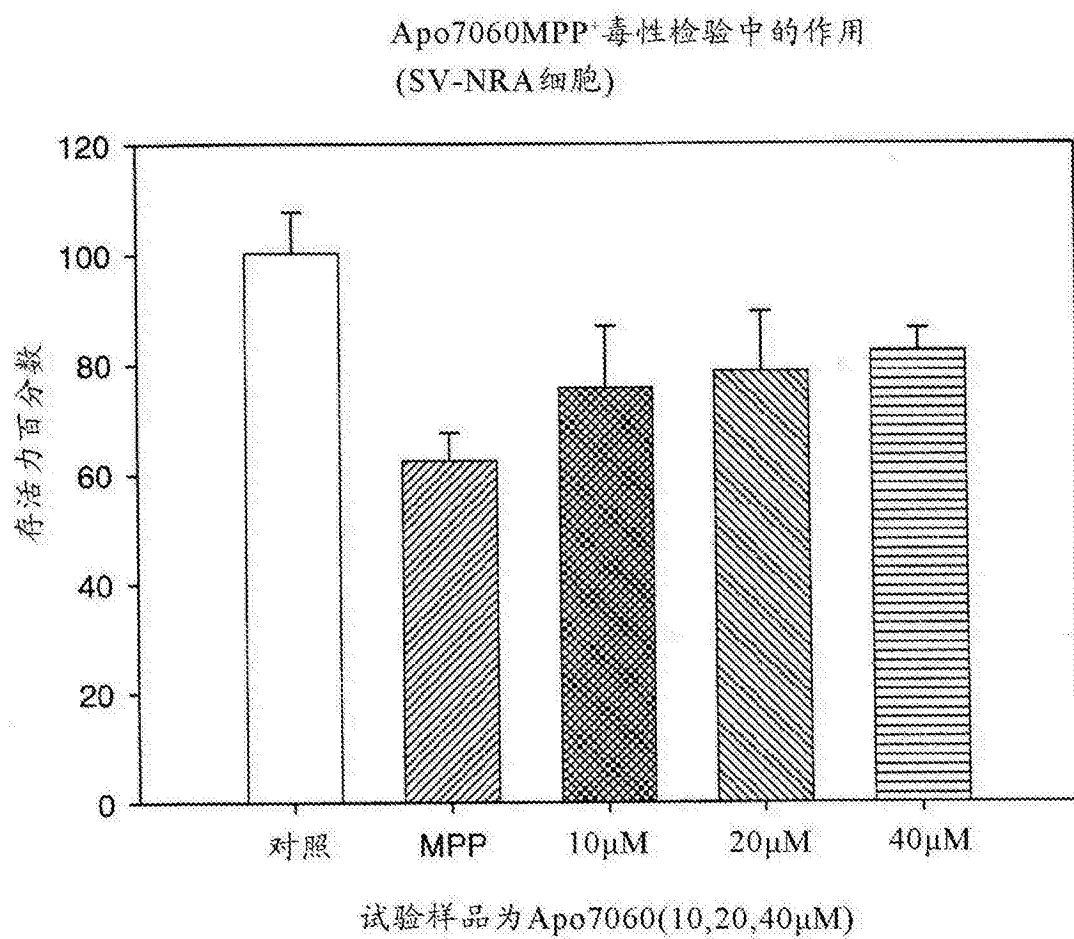


图 12

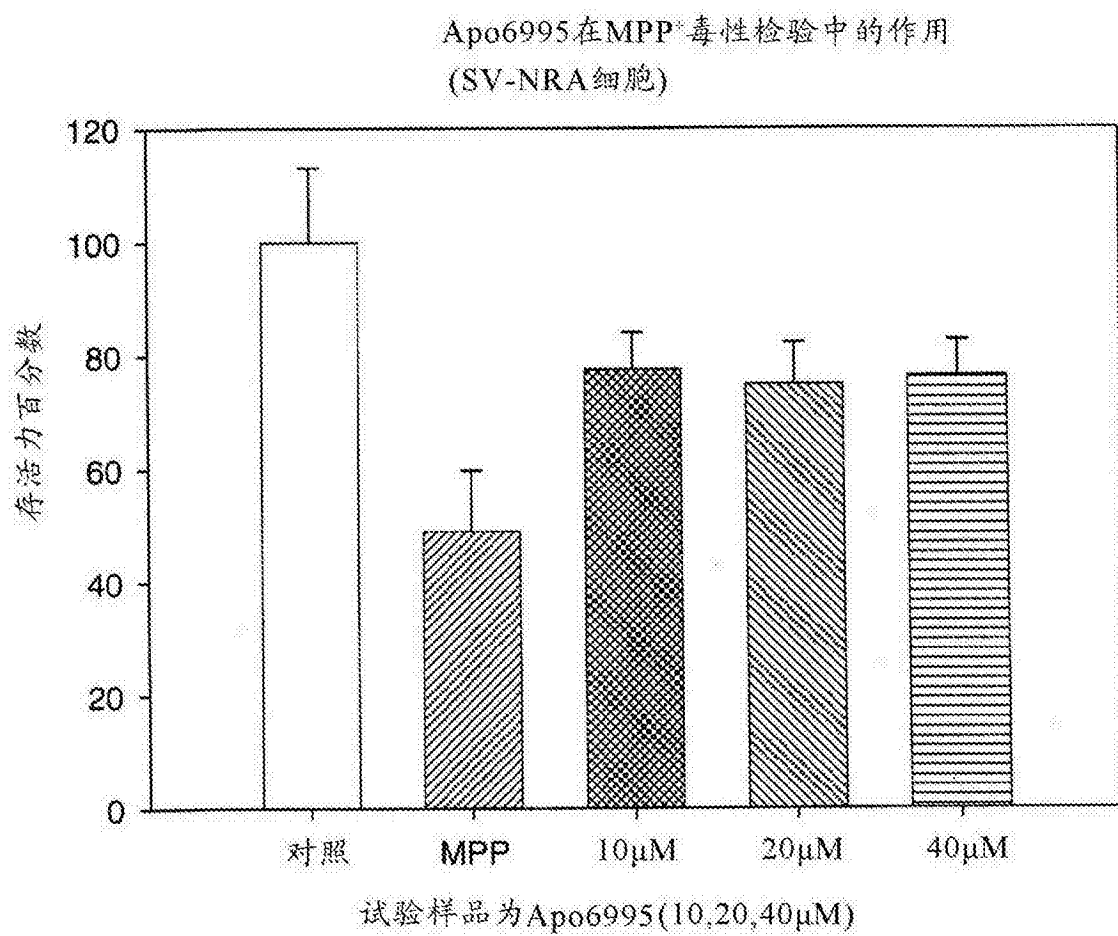


图 13