



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117320715 A

(43) 申请公布日 2023. 12. 29

(21) 申请号 202280035450.7

(22) 申请日 2022.04.21

(30) 优先权数据

21382343.8 2021.04.21 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.11.16

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2022/060579 2022.04.21

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/223704 EN 2022.10.27

(71) 申请人 瓦尔希伯伦私人肿瘤研究基金会

地址 西班牙巴塞罗那

申请人 巴塞罗纳大学

加泰罗尼亚高等研究院

(72) 发明人 赫克托·加西亚帕尔默

伊莎贝尔·普伊格博雷尔

何塞普·塔伯内罗卡图拉

卡洛斯·加尔迪亚诺坎塔多尔

蒂亚戈·穆尼奥斯-托雷罗洛佩斯-

伊瓦拉

泽维尔·巴里尔阿隆索

塞尔吉奥·鲁伊斯卡莫纳

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

专利代理师 赵丹

(51) Int. Cl.

A61K 31/4178 (2006.01)

权利要求书10页 说明书33页

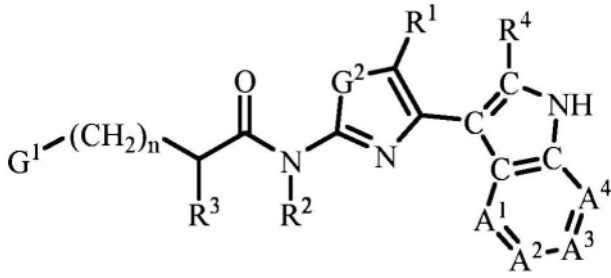
(54) 发明名称

用于治疗过度增殖性疾病的化合物

(57) 摘要

本发明涉及用于治疗过度增殖性疾病的2-氨基噻唑或2-氨基噁唑衍生物或其可药用盐,涉及使用所述化合物治疗和/或预防过度增殖性疾病的方法,以及涉及所述衍生物的新的亚组。

1. 一种式(I)的化合物及其可药用盐,用于治疗 and/或预防过度增殖性疾病,



(I)

其中

- n为0或1;
- G¹为包含与(CH₂)_n基团连接的五元环的杂芳族环体系,其中所述五元环任选地与其他环稠合,其中所述杂芳族环体系能够在环体系中含有选自O、S和N中的1至3个原子,并且所述环体系:

- a) 未经取代,
- b) 经选自以下中的1至3个取代基C-取代:卤素原子、C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷氧基、C₁₋₄-烷基-NH-、C₁₋₄-烷基-S-、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₂₋₄-炔基、C₃₋₄-炔基-O-、C₃₋₄-炔基-NH-、C₃₋₄-炔基-S-、-OH、HO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₁₋₄-烷基-、-NH₂、H₂N-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₁₋₄-烷基-、-SH、HS-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₁₋₄-烷基-、-CN、NC-C₁₋₄-烷基-、-COOH、HOOC-C₁₋₄-烷基-、COO-C₁₋₂-烷基、C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH₂、H₂NCO-C₁₋₄-烷基-、CONH-C₁₋₂-烷基、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-、叠氮基、叠氮基-C₁₋₄-烷基和-NO₂,或者
- c) 当所述环体系含有氮原子时,所述环体系任选地经选自以下中的1至3个取代基N-取代:C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₃₋₄-炔基、HO-C₂₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₂₋₄-烷基-、H₂N-C₂₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₂₋₄-烷基-、HS-C₂₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₂₋₄-烷基-、NC-C₁₋₄-烷基、HOOC-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、H₂NCO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-和叠氮基-C₂₋₄-烷基,

其中当在所述环体系上存在-OH、-NH₂或-SH取代基时,-OH、-NH₂或-SH取代基不与碳-杂原子单键或碳-杂原子双键相邻;

- G²选自O和S;
- R¹选自氢、氟和C₁₋₄-烷基;
- R²和R³独立地选自氢和C₁₋₄-烷基;
- R⁴独立地选自氢和甲基;
- A¹、A²、A³和A⁴中的每一者独立地表示N和CR中的任一者,其中包含A¹、A²、A³和A⁴的环为芳族的,

- R选自氢、卤素原子、C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷氧基、C₁₋₄-烷基-NH-、C₁₋₄-烷基-S-、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₂₋₄-炔基、C₃₋₄-炔基-O-、C₃₋₄-炔基-NH-、C₃₋₄-炔基-S-、-OH、HO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₁₋₄-烷基-、-NH₂、H₂N-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₁₋₄-烷基-、-SH、HS-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₁₋₄-烷基-、-CN、NC-C₁₋₄-烷基-、-COOH、HOOC-C₁₋₄-烷基-、COO-C₁₋₂-烷基-

C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH₂、H₂NCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH-C₁₋₂-烷基-、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-、叠氮基、叠氮基-C₁₋₄-烷基和-NO₂。

2. 根据权利要求1所述使用的化合物,其中R¹选自氢和C₁₋₄-烷基。

3. 根据权利要求1至2中任一项所述使用的化合物,其中G¹为任选地经取代的单环、双环或三环杂芳族环体系。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述使用的化合物,其中G¹的与(CH₂)_n基团连接的五元环含有选自N、S和O中的1个或2个杂原子。

5. 根据权利要求1至3中任一项所述使用的化合物,其中G¹选自1H-吡啶-3-基、咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基、咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基、1H-吡啶-2-基、苯并[d]噻唑-2-基、咪唑并[2,1-b]噻唑-3-基、苯并[b]噻吩-2-基、噻吩-2-基、苯并[b]呋喃-2-基、1H-咪唑-4-基,其中全部能够如权利要求1中所限定任选地经取代。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述使用的化合物,其中G²为S。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述使用的化合物,其中R¹选自氢原子和甲基,以及R²和R³独立地选自氢原子和甲基。

8. 根据权利要求1至7中任一项所述使用的化合物,其中A²、A³和A⁴为CR。

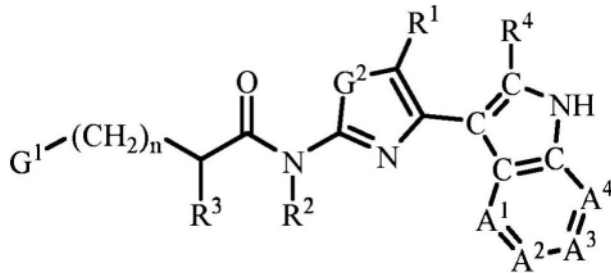
9. 根据权利要求1所述使用的化合物及其可药用盐,其中所述化合物为以下中的一者:

- 2-咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(苯并[d]噻唑-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺 • 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[5-甲基-4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(5-甲氧基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(1H-吡啶-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(6-氟咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(2-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(3-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- 2-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(5-氟-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 3-(1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]丙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-甲基-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]丙酰胺
- 2-(6-氯-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(1H-咪唑-4-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(苯并呋喃-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

- 2-(4-溴噻吩-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(3-甲基苯并[b]噻吩-2-基)乙酰胺
- 2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- N-[4-(4-溴-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-甲氧基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- N-[4-(6-氟-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- N-[4-(5-氨基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- N-[5-氟-4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺。

10. 根据权利要求1至9中任一项所述使用的化合物,其中所述疾病为癌症。

11. 一种式(I')的化合物及其可药用盐,



(I')

其中

- n为0或1;
- G¹为选自苯并[d]噻唑基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、苯并[b]噻吩基、苯并[d]咪唑并[2,1-b]噻唑基、1H-咪唑-4-基、吡啶-2-基和苯并呋喃-2-基中的杂芳族环体系,并且所述环体系:
 - a) 未经取代,
 - b) 经选自以下中的1至3个取代基C-取代: 卤素原子、C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷氧基、C₁₋₄-烷基-NH-、C₁₋₄-烷基-S-、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₂₋₄-炔基、C₃₋₄-炔基-O-、C₃₋₄-炔基-NH-、C₃₋₄-炔基-S-、-OH、HO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₁₋₄-烷基-、-NH₂、H₂N-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₁₋₄-烷基-、-SH、HS-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₁₋₄-烷基-、-CN、NC-C₁₋₄-烷基-、-COOH、HOOC-C₁₋₄-烷基-、-COO-C₁₋₂-烷基、C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH₂、H₂NCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH-C₁₋₂-烷基、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-、叠氮基、叠氮基-C₁₋₄-烷基和-NO₂,

• c) 当所述环体系含有氮原子时,所述环体系任选地经选自以下中的1个取代基N-取代: C_{1-4} -烷基、 C_{1-4} -烷基-SO-、 C_{1-4} -烷基-SO₂-、 C_{3-4} -炔基、HO- C_{2-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-O- C_{2-4} -烷基-、 H_2N - C_{2-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-NH- C_{2-4} -烷基-、HS- C_{2-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-S- C_{2-4} -烷基-、NC- C_{1-4} -烷基、HOOC- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-OCO- C_{1-4} -烷基-、 H_2NCO - C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-NHCO- C_{1-4} -烷基-和叠氮基- C_{2-4} -烷基,

其中当在所述环体系上存在-OH、-NH₂或-SH取代基时,-OH、-NH₂或-SH取代基不与碳-杂原子单键或碳-杂原子双键相邻;

• G²选自O和S;

• R¹选自氢、氟和C₁₋₄烷基;

• R²和R³独立地选自氢和C₁₋₄烷基;

• R⁴独立地选自氢和甲基;

• A¹、A²、A³和A⁴中的每一者独立地表示N和CR中的任一者,其中包含A¹、A²、A³和A⁴的环为芳族的,

• R选自氢、卤素原子、C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷氧基、C₁₋₄-烷基-NH-、C₁₋₄-烷基-S-、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₂₋₄-炔基、C₃₋₄-炔基-O-、C₃₋₄-炔基-NH-、C₃₋₄-炔基-S-、-OH、HO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₁₋₄-烷基-、-NH₂、H₂N-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₁₋₄-烷基-、-SH、HS-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₁₋₄-烷基-、-CN、NC-C₁₋₄-烷基-、-COOH、HOOC-C₁₋₄-烷基-、-COO-C₁₋₂-烷基-、C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH₂、H₂NCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH-C₁₋₂-烷基-、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-、叠氮基、叠氮基-C₁₋₄-烷基和-NO₂。

12. 根据权利要求1所述的化合物,其中R¹选自氢和C₁₋₄烷基。

13. 根据权利要求11至12中任一项所述的化合物,其中G²为S。

14. 根据权利要求11至13中任一项所述的化合物,其中R¹选自氢原子和甲基,以及R²和R³独立地选自氢原子和甲基。

15. 根据权利要求11至14中任一项所述的化合物,其中A²、A³和A⁴为CR。

16. 根据权利要求11所述的化合物及其可药用盐,所述化合物为以下中的一者:

• 2-咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

• 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

• 2-(苯并[d]噻唑-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

• 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[5-甲基-4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

• 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

• 2-(5-甲氧基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

• 2-(1H-吡啶-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

• 2-(6-氟咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

• N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(2-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺

• N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(3-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺

- 2-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(5-氟-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 3-(1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]丙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-甲基-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]

丙酰胺

- 2-(6-氯-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(1H-咪唑-4-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(苯并呋喃-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(4-溴噻吩-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(3-甲基苯并[b]噻吩-2-基)乙酰胺
- 2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- N-[4-(4-溴-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-甲氧基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-

基]乙酰胺

• N-[4-(6-氟-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺

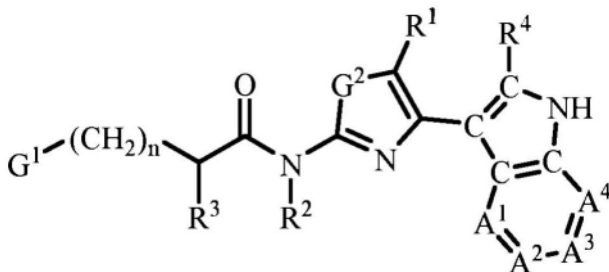
• 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

• N-[4-(5-氨基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺

• N-[5-氟-4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺。

17. 一种药物组合物, 包含根据权利要求11至16中任一项所限定的化合物和至少一种可药用赋形剂。

18. 式(I)的化合物及其可药用盐用于制备用于治疗 and/或预防过度增殖性疾病的药物的用途,



(I)

其中

- n为0或1;

• G^1 为包含与 $(CH_2)_n$ 基团连接的五元环的杂芳族环体系,其中所述五元环任选地与其他环稠合,其中所述杂芳族环体系能够在环体系中含有选自O、S和N中的1至3个原子,并且所述环体系:

• a) 未经取代,

• b) 经选自以下中的1至3个取代基C-取代:卤素原子、 C_{1-4} -烷基、 C_{1-4} -烷氧基、 C_{1-4} -烷基-NH-、 C_{1-4} -烷基-S-、 C_{1-4} -烷基-SO-、 C_{1-4} -烷基-SO₂-、 C_{2-4} -炔基、 C_{3-4} -炔基-O-、 C_{3-4} -炔基-NH-、 C_{3-4} -炔基-S-、-OH、HO- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-O- C_{1-4} -烷基-、-NH₂、H₂N- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-NH- C_{1-4} -烷基-、-SH、HS- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-S- C_{1-4} -烷基-、-CN、NC- C_{1-4} -烷基-、-COOH、HOOC- C_{1-4} -烷基-、-COO- C_{1-2} -烷基、 C_{1-2} -烷基-OCO- C_{1-4} -烷基-、-CONH₂、H₂NCO- C_{1-4} -烷基-、-CONH- C_{1-2} -烷基、 C_{1-2} -烷基-NHCO- C_{1-4} -烷基-、叠氮基、叠氮基- C_{1-4} -烷基和-NO₂,或者

• c) 当所述环体系含有氮原子时,所述环体系任选地经选自以下中的1至3个取代基N-取代: C_{1-4} -烷基、 C_{1-4} -烷基-SO-、 C_{1-4} -烷基-SO₂-、 C_{3-4} -炔基、HO- C_{2-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-O- C_{2-4} -烷基-、H₂N- C_{2-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-NH- C_{2-4} -烷基-、HS- C_{2-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-S- C_{2-4} -烷基-、NC- C_{1-4} -烷基、HOOC- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-OCO- C_{1-4} -烷基-、H₂NCO- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-NHCO- C_{1-4} -烷基-和叠氮基- C_{2-4} -烷基,

其中当在所述环体系上存在-OH、-NH₂或-SH取代基时,-OH、-NH₂或-SH取代基不与碳-杂原子单键或碳-杂原子双键相邻;

• G^2 选自O和S;

• R^1 选自氢、氟和 C_{1-4} -烷基;

• R^2 和 R^3 独立地选自氢和 C_{1-4} -烷基;

• R^4 独立地选自氢和甲基;

• A^1 、 A^2 、 A^3 和 A^4 中的每一者独立地表示N和CR中的任一者,其中包含 A^1 、 A^2 、 A^3 和 A^4 的环为芳族的,

• R选自氢、卤素原子、 C_{1-4} -烷基、 C_{1-4} -烷氧基、 C_{1-4} -烷基-NH-、 C_{1-4} -烷基-S-、 C_{1-4} -烷基-SO-、 C_{1-4} -烷基-SO₂-、 C_{2-4} -炔基、 C_{3-4} -炔基-O-、 C_{3-4} -炔基-NH-、 C_{3-4} -炔基-S-、-OH、HO- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-O- C_{1-4} -烷基-、-NH₂、H₂N- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-NH- C_{1-4} -烷基-、-SH、HS- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-S- C_{1-4} -烷基-、-CN、NC- C_{1-4} -烷基-、-COOH、HOOC- C_{1-4} -烷基-、-COO- C_{1-2} -烷基、 C_{1-2} -烷基-OCO- C_{1-4} -烷基-、-CONH₂、H₂NCO- C_{1-4} -烷基-、-CONH- C_{1-2} -烷基、 C_{1-2} -烷基-NHCO- C_{1-4} -烷基-、叠氮基、叠氮基- C_{1-4} -烷基和-NO₂。

19. 根据权利要求18所述的用途,其中 R^1 选自氢和 C_{1-4} -烷基。

20. 根据权利要求18至19中任一项所述的用途,其中 G^1 为任选地经取代的单环、双环或三环杂芳族环体系。

21. 根据权利要求18至20中任一项所述的用途,其中 G^1 的与 $(CH_2)_n$ 基团连接的五元环含有选自N、S和O中的1个或2个杂原子。

22. 根据权利要求18至20中任一项所述的用途,其中 G^1 选自1H-吡啶-3-基、咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基、咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基、1H-吡啶-2-基、苯并[d]噻唑-2-基、咪唑并[2,1-b]噻唑-3-基、苯并[b]噻吩-2-基、噻吩-2-基、苯并[b]呋喃-2-基、1H-咪唑-4-基,其中全部能够如权利要求1中所限定任选地经取代。

23. 根据权利要求18至22中任一项所述的用途,其中 G^2 为S。

24. 根据权利要求18至23中任一项所述的用途,其中R¹选自氢原子和甲基,以及R²和R³独立地选自氢原子和甲基。

25. 根据权利要求18至24中任一项所述的用途,其中A²、A³和A⁴为CR。

26. 根据权利要求18所述的用途,其中所述化合物为以下中的一者:

- 2-咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(苯并[d]噻唑-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[5-甲基-4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(5-甲氧基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(1H-吡啶-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(6-氟咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(2-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(3-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- 2-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(5-氟-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 3-(1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]丙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-甲基-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]丙酰胺
- 2-(6-氯-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(1H-咪唑-4-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(苯并呋喃-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(4-溴噻吩-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(3-甲基苯并[b]噻吩-2-基)乙酰胺
- 2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- N-[4-(4-溴-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-甲氧基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- N-[4-(6-氟-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

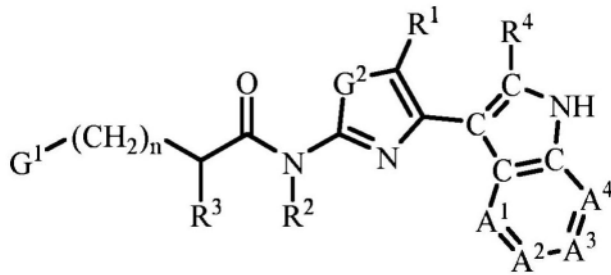
• N-[4-(5-氨基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺

• N-[5-氟-4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺

及其可药用盐。

27. 根据权利要求18至26中任一项所述的用途,其中所述疾病为癌症。

28. 一种用于治疗 and/或预防过度增殖性疾病的方法,特征在于所述方法包括给有此需要的对象施用式(I)的化合物及其可药用盐,



(I)

其中

• n为0或1;

• G¹为包含与(CH₂)_n基团连接的五元环的杂芳族环体系,其中所述五元环任选地与其他环稠合,其中所述杂芳族环体系能够在环体系中含有选自O、S和N中的1至3个原子,并且所述环体系:

• a) 未经取代,

• b) 经选自以下中的1至3个取代基C-取代: 卤素原子、C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷氧基、C₁₋₄-烷基-NH-、C₁₋₄-烷基-S-、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₂₋₄-炔基、C₃₋₄-炔基-O-、C₃₋₄-炔基-NH-、C₃₋₄-炔基-S-、-OH、HO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₁₋₄-烷基-、-NH₂、H₂N-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₁₋₄-烷基-、-SH、HS-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₁₋₄-烷基-、-CN、NC-C₁₋₄-烷基-、-COOH、HOOC-C₁₋₄-烷基-、-COO-C₁₋₂-烷基、C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH₂、H₂NCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH-C₁₋₂-烷基、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-、叠氮基、叠氮基-C₁₋₄-烷基和-NO₂,或者

• c) 当所述环体系含有氮原子时,所述环体系任选地经选自以下中的1至3个取代基N-取代: C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₃₋₄-炔基、HO-C₂₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₂₋₄-烷基-、H₂N-C₂₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₂₋₄-烷基-、HS-C₂₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₂₋₄-烷基-、NC-C₁₋₄-烷基、HOOC-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、H₂NCO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-和叠氮基-C₂₋₄-烷基,

其中当在所述环体系上存在-OH、-NH₂或-SH取代基时,-OH、-NH₂或-SH取代基不与碳-杂原子单键或碳-杂原子双键相邻;

• G²选自O和S;

• R¹选自氢、氟和C₁₋₄-烷基;

• R²和R³独立地选自氢和C₁₋₄-烷基;

• R⁴独立地选自氢和甲基;

• A^1 、 A^2 、 A^3 和 A^4 中的每一者独立地表示N和CR中的任一者,其中包含 A^1 、 A^2 、 A^3 和 A^4 的环为芳族的,

• R选自氢、卤素原子、 C_{1-4} -烷基、 C_{1-4} -烷氧基、 C_{1-4} -烷基-NH-、 C_{1-4} -烷基-S-、 C_{1-4} -烷基-SO-、 C_{1-4} -烷基-SO₂-、 C_{2-4} -炔基、 C_{3-4} -炔基-O-、 C_{3-4} -炔基-NH-、 C_{3-4} -炔基-S-、-OH、HO- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-O- C_{1-4} -烷基-、-NH₂、H₂N- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-NH- C_{1-4} -烷基-、-SH、HS- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-S- C_{1-4} -烷基-、-CN、NC- C_{1-4} -烷基-、-COOH、HOOC- C_{1-4} -烷基-、-COO- C_{1-2} -烷基-、 C_{1-2} -烷基-OCO- C_{1-4} -烷基-、-CONH₂、H₂NCO- C_{1-4} -烷基-、-CONH- C_{1-2} -烷基-、 C_{1-2} -烷基-NHCO- C_{1-4} -烷基-、叠氮基、叠氮基- C_{1-4} -烷基和-NO₂。

29. 根据权利要求28所述的方法,其中R¹选自氢和 C_{1-4} -烷基。

30. 根据权利要求28至29中任一项所述的方法,其中G¹为任选地经取代的单环、双环或三环杂芳族环体系。

31. 根据权利要求28至30中任一项所述的方法,其中G¹的与(CH₂)_n基团连接的五元环含有选自N、S和O中的1个或2个杂原子。

32. 根据权利要求28至30中任一项所述的方法,其中G¹选自1H-吡啶-3-基、咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基、咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基、1H-吡啶-2-基、苯并[d]噻唑-2-基、咪唑并[2,1-b]噻唑-3-基、苯并[b]噻吩-2-基、噻吩-2-基、苯并[b]呋喃-2-基、1H-咪唑-4-基,其中全部能够如权利要求1中所限定任选地经取代。

33. 根据权利要求28至32中任一项所述的方法,其中G²为S。

34. 根据权利要求28至33中任一项所述的方法,其中R¹选自氢原子和甲基,以及R²和R³独立地选自氢原子和甲基。

35. 根据权利要求28至34中任一项所述的方法,其中 A^2 、 A^3 和 A^4 为CR。

36. 根据权利要求28所述的方法,其中所述化合物为以下中的一者:

- 2-咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(苯并[d]噻唑-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[5-甲基-4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(5-甲氧基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(1H-吡啶-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(6-氟咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(2-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(3-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- 2-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- 2-(5-氟-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

- 2-(1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
 - 3-(1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]丙酰胺
 - 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-甲基-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]丙酰胺
 - 2-(6-氯-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
 - 2-(1H-咪唑-4-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
 - 2-(苯并呋喃-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
 - 2-(4-溴噻吩-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
 - N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(3-甲基苯并[b]噻吩-2-基)乙酰胺
 - 2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
 - N-[4-(4-溴-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
 - 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
 - 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
 - 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-甲氧基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
 - N-[4-(6-氟-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
 - 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
 - N-[4-(5-氨基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
 - N-[5-氟-4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- 及其可药用盐。

37. 根据权利要求28至36中任一项所述的方法,其中所述疾病为癌症。

用于治疗过度增殖性疾病的化合物

技术领域

[0001] 本发明涉及用于治疗和/或预防过度增殖性疾病的化合物。

背景技术

[0002] 不期望的且不受控的细胞增殖是所谓的过度增殖性疾病的起因,并且对所述不受控的细胞增殖的药物疗法对于预防或治疗这些过度增殖性疾病是期望的。

[0003] TET2酶将DNA中的5-甲基胞嘧啶氧化为5-羟甲基胞嘧啶和其他氧化甲基胞嘧啶。基因组中胞嘧啶碱基的DNA甲基化模式与基因表达密切相关,并且在过度增殖性疾病中经常观察到DNA甲基化异常。TET2蛋白失调促进各种过度增殖性疾病和癌症表型(参见例如Rasmussen和Helin,“Role of the TET enzymes in DNAmethylation,development and cancer”*Genes&Dev.*2016,30,733,一篇有149篇参考文献的综述)。

[0004] TET2直接或间接调节与多种有益的生物学效应相关,有益于治疗和/或预防过度增殖性疾病(参见例如Bates,“Epigenetic Therapies for Cancer”,*N.Eng.J.Med.*2020,383,651)(参见例如Yue和Rao,“TET family dioxygenases and the TET activator vitamin C in immune response and cancer”*Blood* 2020,136,1394)。

[0005] 更具体地,以下引用的文献描述了TET2突变在不同癌症中的参与:白血病(*Leukaemia* 2012,26,934)、淋巴瘤(*Genome Med.*2015,7:9)、血液癌症(*Int.J.Hematol.*2017,105,17)、骨髓增生异常综合征(*Front.Oncol.*2019,9,210)、子宫内膜癌(*Carcinogenesis* 2014,35,2068)、母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤(*Br.J.Haematol.*2011,153,402)、原发性血小板增多症(*Leukaemia* 2009,23,905)、骨髓纤维化(*Leukaemia* 2009,23,905)、塞扎里综合征(*Nat.Genet.*2015,47,1465)、胸腺癌(*Sci.Rep.*2014,4:7336)、胰腺鳞状细胞癌(*Oncotarget* 2017,8,14620)。

[0006] 在另外几种癌症中也描述了TET2的降低的活性:肉瘤(*Nat.Commun.*2013,4,2166)、甲状旁腺癌(*Endocr.Relat.Cancer* 2017,24,319)、口腔鳞状细胞癌(*Anticancer Res.*2013,33,4325)、食管鳞状细胞癌(*Oncotarget*2015,6,23372)、小肠神经内分泌肿瘤(*BMC Cancer* 2018,18:764)、儿童难治性血细胞减少症(*Leukemia Res.*2015,39,1103)、肝细胞癌(*Clin.Epigenetics* 2015,7:98)、胶质母细胞瘤(*Oncotarget* 2018,9,25922)、头颈癌(*Oncotarget* 2018,9,24480)、宫颈鳞状细胞癌(*Jpn.J.Clin.Oncol.*2016,46,427)、尿路上皮癌(*Epigenetics* 2014,9,760)、实性乳头状乳腺癌(*Histopathology* 2018,73,339)、IDH1和IDH2突变癌(*Genes&Dev.*2016,30,733)以及黑素瘤(*Cell* 2012,150,1135)。

[0007] TET2的作用也在另外血液过度增殖性疾病中进行了描述:系统性肥大细胞增多症(*Leukemia* 2009,23,900)、红细胞生成症(*Mol.Cel.Biol.*2014,34,989)、粒细胞分化(*Blood* 2011,118,2551)、克隆性造血(*Blood*2017,130,753)、真性红细胞增多症(*Leukemia* 2009,23,905)、血小板减少症(*Leukemia* 2009,23,905)、骨髓纤维化(*Leukemia* 2009,23,905)、再生障碍性贫血(*Haematologica* 2015,100:e172)、难治性贫血(*Haematologica* 2010,95,518)、 β 型地中海贫血(*Chin.J.Intern.Med.*2018,57,206)和特发性高嗜酸性粒细

胞增多症 (PLoS ONE 2017,12:e0185602)。

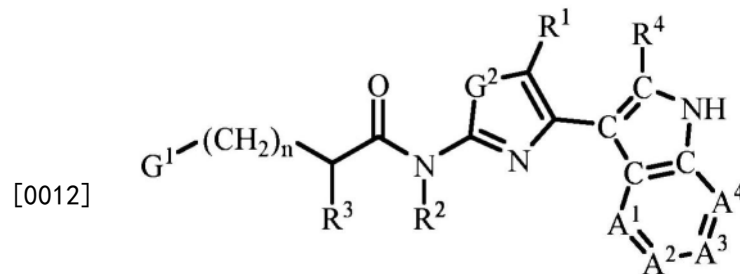
[0008] TET2在造血中也具有多效性作用,并且已在几种相关的病理过程中描述了其突变:动脉粥样硬化 (Science 2017,35,842)、再狭窄 (Circulation 2013,128,2047)、动脉瘤 (PLoS ONE 2015,10,e0121104)、心力衰竭 (J.Am.Coll.Cardiol.2018,71,875)、冠状动脉疾病 (Nat.Comm.2019,10,1251) 和肺动脉高压 (Circulation 2020,141,1986)。

[0009] 尽管TET2在过度增殖性疾病中是重要的,但直到现在还没有直接靶向TET2的有效化合物上市。

发明内容

[0010] 本发明人意外地发现,某些2-氨基噻唑或2-氨基噁唑衍生物减少不期望的细胞增殖,这使得这些化合物适用于预防和/或治疗过度增殖性疾病。

[0011] 因此,在第一方面中,本发明涉及用于治疗 and/或预防过度增殖性疾病的式 (I) 的化合物及其可药用盐:



(I)

[0013] 其中

[0014] • n为0或1;

[0015] • G¹为包含与(CH₂)_n基团连接的五元环的杂芳族环体系,其中所述五元环任选地与其他环稠合,其中所述杂芳族环体系可以在环体系中含有选自O、S和N中的1至3个原子,并且所述环体系:

[0016] • a) 未经取代,

[0017] • b) 经选自以下中的1至3个取代基C-取代:卤素原子、C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷氧基、C₁₋₄-烷基-NH-、C₁₋₄-烷基-S-、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₂₋₄-炔基、C₃₋₄-炔基-O-、C₃₋₄-炔基-NH-、C₃₋₄-炔基-S-、-OH、HO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₁₋₄-烷基-、-NH₂、H₂N-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₁₋₄-烷基-、-SH、HS-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₁₋₄-烷基-、-CN、NC-C₁₋₄-烷基-、COOH、HOOC-C₁₋₄-烷基-、COO-C₁₋₂-烷基、C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH₂、H₂NCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH-C₁₋₂-烷基、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-、叠氮基、叠氮基-C₁₋₄-烷基和-NO₂,或者

[0018] • c) 当所述环体系含有氮原子时,所述环体系任选地经选自以下中的1至3个取代基N-取代:C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₃₋₄-炔基、HO-C₂₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₂₋₄-烷基-、H₂N-C₂₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₂₋₄-烷基-、HS-C₂₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₂₋₄-烷基-、NC-C₁₋₄-烷基、HOOC-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、H₂NCO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-和叠氮基-C₂₋₄-烷基,其中当在环体系上存在-OH、-NH₂或-SH取代基时,-

OH、-NH₂或-SH取代基不与碳-杂原子单键或碳-杂原子双键相邻；

[0019] • G²选自O和S；

[0020] • R¹选自氢、氟和C₁₋₄-烷基；

[0021] • R²和R³独立地选自氢和C₁₋₄-烷基；

[0022] • R⁴独立地选自氢和甲基；

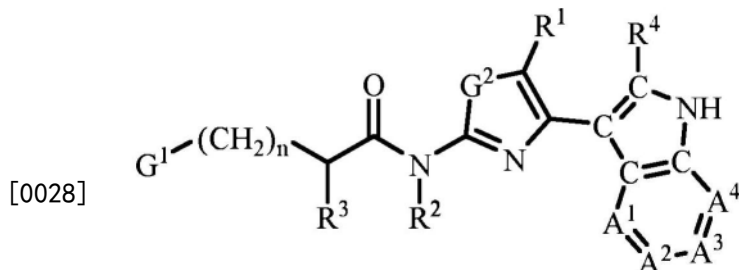
[0023] • A¹、A²、A³和A⁴中的每一者独立地表示N和CR中的任一者，其中包含A¹、A²、A³和A⁴的环为芳族的，

[0024] • R选自氢、卤素原子、C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷氧基、C₁₋₄-烷基-NH-、C₁₋₄-烷基-S-、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₂₋₄-炔基、C₃₋₄-炔基-O-、C₃₋₄-炔基-NH-、C₃₋₄-炔基-S-、-OH、HO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₁₋₄-烷基-、-NH₂、H₂N-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₁₋₄-烷基-、-SH、HS-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₁₋₄-烷基-、-CN、NC-C₁₋₄-烷基-、-COOH、HOOC-C₁₋₄-烷基-、-COO-C₁₋₂-烷基-、C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH₂、H₂NCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH-C₁₋₂-烷基-、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-、叠氨基、叠氨基-C₁₋₄-烷基和-NO₂。

[0025] 在第二方面中，本发明涉及如第一方面中所限定的化合物在制备用于治疗 and/或预防过度增殖性疾病的药物中的用途。

[0026] 在第三方面中，本发明还涉及给对象治疗和/或预防过度增殖性疾病的方法，其包括给所述对象施用治疗有效量的如本发明的第一方面中所限定的化合物。

[0027] 在第四方面中，本发明涉及选自本发明的第一方面中所限定的化合物的组中的新化合物的亚组。所述亚组由式I'及其可药用盐限定：



(I')

[0029] 其中

[0030] • n为0或1；

[0031] • G¹为选自苯并[d]噁唑基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、苯并[b]噻吩基、苯并[d]咪唑并[2,1-b]噻唑基、1H-咪唑-4-基、吡啶-2-基和苯并呋喃-2-基中的杂芳族环体系，并且所述环体系：

[0032] • a) 未经取代，

[0033] • b) 经选自以下中的1至3个取代基C-取代：卤素原子、C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷氧基、C₁₋₄-烷基-NH-、C₁₋₄-烷基-S-、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₂₋₄-炔基、C₃₋₄-炔基-O-、C₃₋₄-炔基-NH-、C₃₋₄-炔基-S-、-OH、HO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₁₋₄-烷基-、-NH₂、H₂N-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₁₋₄-烷基-、-SH、HS-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₁₋₄-烷基-、-CN、NC-C₁₋₄-烷基-、-COOH、HOOC-C₁₋₄-烷基-、-COO-C₁₋₂-烷基-、C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH₂、H₂NCO-C₁₋₄-烷基-

基、-CONH-C₁₋₂-烷基、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-、叠氮基、叠氮基-C₁₋₄-烷基和-NO₂，

[0034] • c) 当所述环体系含有氮原子时，所述环体系任选地经选自以下中的1个取代基N-取代：C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₃₋₄-炔基、HO-C₂₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₂₋₄-烷基-、H₂N-C₂₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₂₋₄-烷基-、HS-C₂₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₂₋₄-烷基-、NC-C₁₋₄-烷基、HOOC-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、H₂NCO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-和叠氮基-C₂₋₄-烷基，其中当在所述环体系上存在-OH、-NH₂或-SH取代基时，-OH、-NH₂或-SH取代基不与碳-杂原子单键或碳-杂原子双键相邻；

[0035] • G²选自O和S；

[0036] • R¹选自氢、氟和C₁₋₄-烷基；

[0037] • R²和R³独立地选自氢和C₁₋₄烷基；

[0038] • R⁴独立地选自氢和甲基；

[0039] • A¹、A²、A³和A⁴中的每一者独立地表示N和CR中的任一者，其中包含A¹、A²、A³和A⁴的环为芳族的，

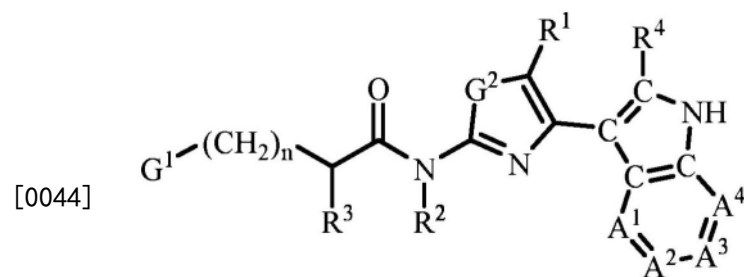
[0040] • R选自氢、卤素原子、C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷氧基、C₁₋₄-烷基-NH-、C₁₋₄-烷基-S-、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₂₋₄-炔基、C₃₋₄-炔基-O-、C₃₋₄-炔基-NH-、C₃₋₄-炔基-S-、-OH、HO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₁₋₄-烷基-、-NH₂、H₂N-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₁₋₄-烷基-、-SH、HS-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₁₋₄-烷基-、-CN、NC-C₁₋₄-烷基、-COOH、HOOC-C₁₋₄-烷基、-COO-C₁₋₂-烷基、C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH₂、H₂NCO-C₁₋₄-烷基、-CONH-C₁₋₂-烷基、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-、叠氮基、叠氮基-C₁₋₄-烷基和-NO₂。

[0041] 在第五方面中，本发明涉及可用于治疗和/或预防过度增殖性疾病的包含一种或更多种如本发明的第一方面中所限定的化合物和一种或更多种另外的化合物的组合。

[0042] 在第六方面中，本发明涉及用于治疗 and/或预防过度增殖性疾病的药物组合物，所述药物组合物包含式(I)的化合物和至少一种可药用赋形剂。

具体实施方式

[0043] 在第一方面中，本发明涉及用于治疗 and/或预防过度增殖性疾病的式(I)的化合物及其可药用盐，



(I)

[0045] 其中

[0046] • n为0或1；

[0047] • G¹为包含与(CH₂)_n基团连接的五元环的杂芳族环体系，其中所述五元环任选地与其他环稠合，其中所述杂芳族环体系可以在环体系中含有选自O、S和N中的1至3个原子，

并且所述环体系:

[0048] • a) 未经取代,

[0049] • b) 经选自以下中的1至3个取代基C-取代: 卤素原子、C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷氧基、C₁₋₄-烷基-NH-、C₁₋₄-烷基-S-、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₂₋₄-炔基、C₃₋₄-炔基-O-、C₃₋₄-炔基-NH-、C₃₋₄-炔基-S-、-OH、HO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₁₋₄-烷基-、-NH₂、H₂N-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₁₋₄-烷基-、-SH、HS-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₁₋₄-烷基-、-CN、NC-C₁₋₄-烷基-、COOH、HOOC-C₁₋₄-烷基-、-COO-C₁₋₂-烷基、C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH₂、H₂NCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH-C₁₋₂-烷基、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-、叠氮基、叠氮基-C₁₋₄-烷基和-NO₂, 或者

[0050] • c) 当所述环体系含有氮原子时, 所述环体系任选地经选自以下中的1至3个取代基N-取代: C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₃₋₄-炔基、HO-C₂₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₂₋₄-烷基-、H₂N-C₂₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₂₋₄-烷基-、HS-C₂₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₂₋₄-烷基-、NC-C₁₋₄-烷基、HOOC-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、H₂NCO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-和叠氮基-C₂₋₄-烷基, 其中当在所述环体系上存在-OH、-NH₂或-SH取代基时, -OH、-NH₂或-SH取代基不与碳-杂原子单键或碳-杂原子双键相邻;

[0051] • G²选自O和S;

[0052] • R¹选自氢、氟和C₁₋₄-烷基;

[0053] • R²和R³独立地选自氢和C₁₋₄-烷基;

[0054] • R⁴独立地选自氢和甲基;

[0055] • A¹、A²、A³和A⁴中的每一者独立地表示N和CR中的任一者, 其中包含A¹、A²、A³和A⁴的环为芳族的,

[0056] • R选自氢、卤素原子、C₁₋₄-烷基、C₁₋₄-烷氧基、C₁₋₄-烷基-NH-、C₁₋₄-烷基-S-、C₁₋₄-烷基-SO-、C₁₋₄-烷基-SO₂-、C₂₋₄-炔基、C₃₋₄-炔基-O-、C₃₋₄-炔基-NH-、C₃₋₄-炔基-S-、-OH、HO-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-O-C₁₋₄-烷基-、-NH₂、H₂N-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-NH-C₁₋₄-烷基-、-SH、HS-C₁₋₄-烷基、C₁₋₂-烷基-S-C₁₋₄-烷基-、-CN、NC-C₁₋₄-烷基、-COOH、HOOC-C₁₋₄-烷基、-COO-C₁₋₂-烷基、C₁₋₂-烷基-OCO-C₁₋₄-烷基-、-CONH₂、H₂NCO-C₁₋₄-烷基、-CONH-C₁₋₂-烷基、C₁₋₂-烷基-NHCO-C₁₋₄-烷基-、叠氮基、叠氮基-C₁₋₄-烷基和-NO₂。

[0057] 本发明还涉及式(I)的化合物在制造用于治疗 and/或预防过度增殖性疾病的药物中的用途。

[0058] 本发明还涉及给对象治疗和/或预防过度增殖性疾病的方法, 其包括给所述对象施用治疗有效量的式(I)的化合物。

[0059] 在本发明的第一、第二、第三、第四、第五和第六方面的特定实施方案中, 在使用的式(I)的化合物中, R¹选自氢、氟和C₁₋₄-烷基, 优选地选自氢和C₁₋₄-烷基。

[0060] 在本发明的第一、第二和第三方面的特定实施方案中, 在使用的式(I)的化合物中, G¹选择为任选地经取代的单环、双环或三环杂芳族环体系, 优选地单环或双环环体系。

[0061] 在本发明的第一、第二和第三方面的特定实施方案中, 在使用的式(I)的化合物中, G¹为任选地经取代的包含含有选自N、S和O中的1个或2个杂原子的五元环的杂芳族环体系, 所述五元环任选地与另外的环稠合。所述杂芳族环体系可以为单环的、双环的或三环的。

[0062] 在本发明的第一、第二和第三方面的特定实施方案中, 在使用的式(I)的化合物

中, G^1 的与 $(CH_2)_n$ 基团连接的五元环含有选自N、S和O中的1个或2个杂原子。

[0063] 在本发明的第一、第二和第三方面的另一个实施方案中, 在使用的式 (I) 的化合物中, G^1 选自1H-吡啶-3-基、咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基、咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基、1H-吡啶-2-基、苯并[d]噻唑-2-基、咪唑并[2,1-b]噻唑-3-基、苯并[b]噻吩-2-基、噻吩-2-基、苯并[b]呋喃-2-基、1H-咪唑-4-基, 其中全部可以如第一方面中所限定任选地经取代。

[0064] 在本发明的第一、第二和第三方面的又一个实施方案中, 在使用的式 (I) 的化合物中, G^2 为S。

[0065] 在本发明的第一、第二和第三方面的又一个实施方案中, 在使用的式 (I) 的化合物中, R^1 选自氢原子和甲基。

[0066] 在本发明的第一、第二和第三方面的又一个实施方案中, 在使用的式 (I) 的化合物中, R^2 和 R^3 独立地选自氢原子和甲基。

[0067] 在本发明的第一、第二和第三方面的又一个实施方案中, 在使用的式 (I) 的化合物中, A^2 、 A^3 和 A^4 为CR。

[0068] 在本发明的第一、第二和第三方面的又一个实施方案中, 使用的式 (I) 的化合物选自:

[0069] • 2-咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0070] • 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0071] • 2-(苯并[d]噻唑-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0072] • 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[5-甲基-4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0073] • 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0074] • 2-(5-甲氧基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0075] • 2-(1H-吡啶-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0076] • 2-(6-氟咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0077] • N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(2-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺

[0078] • N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(3-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺

[0079] • 2-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0080] • 2-(5-氟-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0081] • 2-(1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

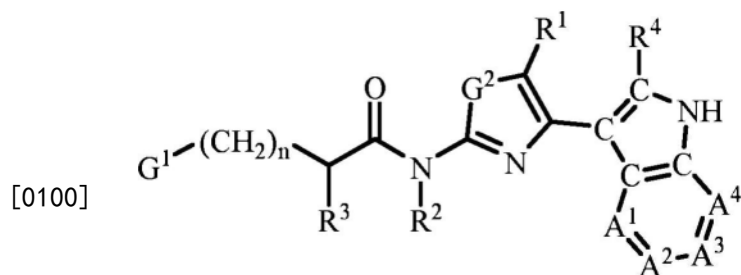
[0082] • 3-(1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]丙酰胺

[0083] • 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-甲基-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]丙酰胺

- [0084] • 2-(6-氯-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- [0085] • 2-(1H-咪唑-4-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- [0086] • 2-(苯并呋喃-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- [0087] • 2-(4-溴噻吩-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- [0088] • N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(3-甲基苯并[b]噻吩-2-基)乙酰胺
- [0089] • 2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- [0090] • N-[4-(4-溴-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- [0091] • 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- [0092] • 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- [0093] • 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-甲氧基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- [0094] • N-[4-(6-氟-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- [0095] • 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺
- [0096] • N-[4-(5-氨基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺
- [0097] • N-[5-氟-4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺

[0098] 及其可药用盐。

[0099] 在第四方面中,本发明涉及选自本发明的第一方面中所限定的化合物的组中的新化合物的亚组。所述亚组由式(I')及其可药用盐限定,



[0101] 其中

[0102] • n为0或1;

[0103] • G¹为选自苯并[d]噻唑基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、苯并[b]噻吩基、苯并[d]咪唑并[2,1-b]噻唑基、1H-咪唑-4-基、吡啶-2-基和苯并呋喃-2-基中的杂芳族环体系,并且所述环体系:

[0104] • a) 未经取代,

[0105] • b) 经选自以下中的1至3个取代基C-取代: 卤素原子、 C_{1-4} -烷基、 C_{1-4} -烷氧基、 C_{1-4} -烷基-NH-、 C_{1-4} -烷基-S-、 C_{1-4} -烷基-SO-、 C_{1-4} -烷基-SO₂-、 C_{2-4} -炔基、 C_{3-4} -炔基-O-、 C_{3-4} -炔基-NH-、 C_{3-4} -炔基-S-、-OH、HO- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-O- C_{1-4} -烷基-、-NH₂、H₂N- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-NH- C_{1-4} -烷基-、-SH、HS- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-S- C_{1-4} -烷基-、-CN、NC- C_{1-4} -烷基-、COOH、HOOC- C_{1-4} -烷基-、-COO- C_{1-2} -烷基、 C_{1-2} -烷基-OCO- C_{1-4} -烷基-、-CONH₂、H₂NCO- C_{1-4} -烷基-、-CONH- C_{1-2} -烷基、 C_{1-2} -烷基-NHCO- C_{1-4} -烷基-、叠氮基、叠氮基- C_{1-4} -烷基和-NO₂,

[0106] • c) 当所述环体系含有氮原子时, 所述环体系任选地经选自以下中的1个取代基N-取代: C_{1-4} -烷基、 C_{1-4} -烷基-SO-、 C_{1-4} -烷基-SO₂-、 C_{3-4} -炔基、HO- C_{2-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-O- C_{2-4} -烷基-、H₂N- C_{2-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-NH- C_{2-4} -烷基-、HS- C_{2-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-S- C_{2-4} -烷基-、NC- C_{1-4} -烷基、HOOC- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-OCO- C_{1-4} -烷基-、H₂NCO- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-NHCO- C_{1-4} -烷基-和叠氮基- C_{2-4} -烷基, 其中当在所述环体系上存在-OH、-NH₂或-SH取代基时, -OH、-NH₂或-SH取代基不与碳-杂原子单键或碳-杂原子双键相邻;

[0107] • G²选自O和S;

[0108] • R¹选自氢、氟和 C_{1-4} 烷基;

[0109] • R²和R³独立地选自氢和 C_{1-4} 烷基;

[0110] • R⁴独立地选自氢和甲基;

[0111] • A¹、A²、A³和A⁴中的每一者独立地表示N和CR中的任一者, 其中包含A¹、A²、A³和A⁴的环为芳族的,

[0112] • R选自氢、卤素原子、 C_{1-4} -烷基、 C_{1-4} -烷氧基、 C_{1-4} -烷基-NH-、 C_{1-4} -烷基-S-、 C_{1-4} -烷基-SO-、 C_{1-4} -烷基-SO₂-、 C_{2-4} -炔基、 C_{3-4} -炔基-O-、 C_{3-4} -炔基-NH-、 C_{3-4} -炔基-S-、-OH、HO- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-O- C_{1-4} -烷基-、-NH₂、H₂N- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-NH- C_{1-4} -烷基-、-SH、HS- C_{1-4} -烷基、 C_{1-2} -烷基-S- C_{1-4} -烷基-、-CN、NC- C_{1-4} -烷基-、COOH、HOOC- C_{1-4} -烷基-、-COO- C_{1-2} -烷基、 C_{1-2} -烷基-OCO- C_{1-4} -烷基-、-CONH₂、H₂NCO- C_{1-4} -烷基-、-CONH- C_{1-2} -烷基、 C_{1-2} -烷基-NHCO- C_{1-4} -烷基-、叠氮基、叠氮基- C_{1-4} -烷基和-NO₂。

[0113] 如本文所使用的, 术语杂芳族环体系用于指定这样的环体系: 其包含环体系为芳族的并且含有至少一个杂原子作为至少一个环的一部分的一个或更多个稠环。所述环体系可以包含一个环(单环体系)、两个环(双环体系)、三个环(三环体系)或多于三个环(多环体系)。环的碳原子可以为未经取代或经取代的。杂芳族环体系G¹包含与式(I)和式(I')的化合物的(CH₂)_n基团连接的至少一个五元环。所述杂芳族环体系包含C、O、S和/或N原子作为环的部分。

[0114] 如本文所使用的, 术语烷基用于指定线性或支化烃基(C_nH_{2n+1})。实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、2-戊基、2-甲基丁基、异戊基、3-戊基、1-甲基-2-丁基、3-甲基-2-丁基、正己基、3-己基、2-乙基丁基、2-甲基-2-戊基、3-甲基-2-戊基、4-甲基-2-戊基、2,2-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、2-甲基-1-戊基和3-甲基-1-戊基。在一个优选实施方案中, 所述烷基具有1至4个碳原子, 最优选1至2个碳原子, 最优选地所述烷基为甲基。

[0115] 如本文所使用的, 术语 C_{1-4} -烷氧基用于指定含有与氧原子连接的线性或支化 C_{1-4} 烷基的基团(C_nH_{2n+1}-O-), 其中n为1至4。优选的烷氧基基团包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、

异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基和叔丁氧基。

[0116] 如本文所使用的,术语炔基用于指定含有三键的线性或支化烃基(C_nH_{2n-3})。

[0117] 如本文所使用的,术语叠氮基用于指定基团 $-N_3$ 。

[0118] 如本文所使用的,术语卤素原子用于指定选自氯原子、氟原子、溴原子或碘原子,优选地溴原子、氟原子或氯原子中的原子。

[0119] 术语“可药用”是指当施用于人时在生理上可耐受并且通常不会产生过敏或类似不良反应例如胃部不适、头晕等的分子实体和组合物。优选地,如本文所使用的,术语“可药用”意指由联邦或州政府的监管机构批准,或者在美国药典或其他公认的药典中列出,用于动物,更特别地用于人。

[0120] 此外,术语“可药用盐”是指在施用于接受者后能够提供(直接或间接地)如本文所述的化合物的任何盐。例如,本文所提供的化合物的可药用盐可以为酸加成盐、碱加成盐或金属盐,并且其可以通过常规化学方法由含有碱性或酸性部分的母体化合物合成。通常,这样的盐例如通过使这些化合物的游离酸或游离碱形式与化学计算量的合适的碱或酸在水中或在有机溶剂中或在两者的混合物中反应来制备。通常,非水性介质例如乙醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈是优选的。酸加成盐的实例包括无机酸加成盐例如盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、硝酸盐、磷酸盐,以及有机酸加成盐例如乙酸盐、马来酸盐、富马酸盐、柠檬酸盐、草酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、苹果酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐和对甲苯磺酸盐。碱加成盐的实例包括无机盐例如铵,以及有机碱盐例如乙二胺、乙醇胺、N,N-二亚烷基乙醇胺、三乙醇胺、葡糖胺和碱性氨基酸盐。金属盐的实例包括例如钠盐、钾盐、钙盐、镁盐、铝盐和锂盐。

[0121] 术语“过度增殖性疾病”是指涉及不期望的且不受控的细胞增殖的疾病。过度增殖性疾病可以是良性的或恶性的(癌症)。因此,术语“癌症”是指由异常且不受控的细胞分裂引起的任何恶性生长或肿瘤;其可以通过淋巴系统或血流扩散到身体的其他部位,并且包括实体瘤和血源性肿瘤二者。

[0122] 示例性癌症包括a) 癌(例如甲状旁腺癌、胸腺癌、鳞状细胞癌(squamous-cell carcinoma)、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、侵袭性导管癌、原位导管癌、前列腺癌、腺癌、胰腺癌、结肠直肠癌、尿路上皮癌、子宫内膜样癌、鳞状细胞癌(squamous carcinoma)(即头颈癌、口腔鳞状细胞癌(即头颈部、甲状腺、食管、肺、阴茎、前列腺、阴道和子宫颈或膀胱)、肝细胞癌、实体乳头状癌、肾细胞癌和卵巢癌);b) 肉瘤,例如骨肉瘤(bone sarcoma)(即骨肉瘤(osteosarcoma)、软骨肉瘤、低分化圆形/梭形细胞肿瘤例如尤因肉瘤(Ewing sarcoma)、血管内皮瘤、血管肉瘤、纤维肉瘤、肌纤维肉瘤、脊索瘤、釉质瘤、脂肪肉瘤、平滑肌肉瘤、恶性外周神经鞘瘤、横纹肌肉瘤、滑膜肉瘤和恶性孤立纤维瘤)以及软组织肉瘤(即脂肪肉瘤、非典型脂肪瘤性肿瘤、隆突性皮肤纤维肉瘤、恶性孤立纤维瘤、炎性肌纤维母细胞瘤、低度恶性肌纤维母细胞肉瘤、纤维肉瘤、粘液纤维肉瘤、低度纤维粘液样肉瘤、软组织巨细胞瘤、平滑肌肉瘤、恶性血管球瘤、横纹肌肉瘤、血管内皮瘤、软组织血管肉瘤、骨外骨肉瘤、胃肠道间质瘤、恶性(GIST)、恶性外周神经鞘瘤、恶性蝶螈瘤(malignant Triton tumour)、恶性颗粒细胞瘤、恶性骨化性纤维粘液样瘤、未另外指出的间质肉瘤、恶性磷酸盐尿性间叶肿瘤、滑膜肉瘤、上皮样肉瘤、腺泡状软组织肉瘤、软组织透明细胞瘤、骨外粘液样软骨肉瘤、骨外尤因肉瘤、结缔组织增生性小圆细胞肿瘤、肾外横纹肌样瘤、未另外指出的血管周上皮

样细胞瘤、内膜肉瘤、未分化梭形细胞肉瘤、未分化多形性肉瘤、未分化圆形细胞肉瘤、未分化上皮样肉瘤和未另外指出的未分化肉瘤);c)造血组织肿瘤和淋巴组织肿瘤,例如淋巴瘤(即霍奇金淋巴瘤(Hodgkin's lymphomas)、非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphomas)(即弥漫性大B细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、外周T细胞淋巴瘤例如塞扎里病(Sézary disease)、伯基特淋巴瘤(Burkitt lymphoma)和成淋巴细胞淋巴瘤)、慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukaemia,CLL)和小淋巴细胞淋巴瘤(small lymphocytic lymphoma,SLL))、白血病(急性成淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukaemia,ALL)、急性髓细胞源性白血病(acute myelogenous leukaemia,AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性中性粒细胞白血病(chronic neutrophilic leukaemia,CNL)、慢性髓样白血病(chronic myeloid leukaemia,CML)、原发性红细胞增多症(例如真性红细胞增多症(polycythemia vera,PV))、原发性骨髓纤维化(primary myelofibrosis,PMF)、原发性血小板增多症(essential thrombocythemia,ET)、慢性嗜伊红细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤(blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm,BPDCN)和急性单核细胞白血病(acute monocytic leukaemia,AMoL))以及骨髓瘤;d)生殖细胞肿瘤,例如生殖细胞瘤(包括无性细胞瘤和精原细胞瘤)、胚胎性癌、内胚窦瘤(也称为卵黄囊瘤(endodermal sinus tumour,EST,yolk sac tumour,YST))、绒毛膜癌、畸胎瘤(包括成熟畸胎瘤、皮样囊肿、未成熟畸胎瘤和恶性转化的畸胎瘤)、多胚瘤和成性腺细胞瘤)、骨髓增生异常综合征(即伴有单系发育不良的难治性血细胞减少、伴有环状或铁粒红细胞的难治性贫血、伴有多系发育不良的难治性血细胞减少、伴有过量母细胞的难治性贫血、儿童难治性血细胞减少和再生障碍性贫血);以及e)母细胞瘤,例如肝母细胞瘤、髓母细胞瘤、肾母细胞瘤、神经母细胞瘤、胰母细胞瘤、胸膜肺母细胞瘤、视网膜母细胞瘤和多形性胶质母细胞瘤;f)黑素瘤;以及g)其他各种癌症,例如IDH1突变的癌症和IDH2突变的癌症、子宫癌例如妊娠滋养细胞疾病、子宫内膜癌、宫颈癌和子宫肉瘤;神经内分泌肿瘤,例如小肠神经内分泌肿瘤、典型肺类癌肿瘤和杯状细胞类癌。

[0123] 术语“良性过度增殖性疾病”是指诸如以下的疾病:良性肿瘤,例如血管瘤、肝细胞腺瘤、海绵状血管瘤、局灶性结节性增生、听神经瘤、神经纤维瘤、胆管腺瘤、胆管囊瘤、纤维瘤、脂肪瘤、平滑肌瘤、间皮瘤、畸胎瘤、粘液瘤、结节性再生性增生、沙眼和化脓性肉芽肿。其他类型的非恶性过度增殖性疾病是由于手术期间对身体组织的损伤而引起的异常细胞增殖、与器官移植相关的增殖反应、异常血管生成(例如伴随类风湿性关节炎的异常血管生成)、缺血-再灌注相关的脑水肿和损伤、皮质缺血、卵巢增生和血管过多、多囊卵巢综合征、子宫内膜异位症、银屑病、糖尿病性视网膜病、以及其他眼血管源性疾病例如早产儿视网膜病(晶状体后纤维增生症)、黄斑变性、角膜移植物排斥、新生血管性青光眼和Oster Webber综合征等。

[0124] 在本发明的一个优选实施方案中,过度增殖性疾病选自癌、肉瘤、淋巴瘤、白血病、生殖细胞肿瘤、母细胞瘤和黑素瘤。

[0125] 如本文所使用的术语“治疗(treating)”和“治疗(treatment)”意指逆转、减轻、抑制这样的术语适用的疾病或病症的发展,或者这样的疾病或病症的一种或更多种症状的发展,例如降低肿瘤生长的速度。

[0126] 如本文所使用的术语“预防(preventing)”和“预防(prevention)”意指避免或抑

制过度增殖的发作。

[0127] 特别地,根据本发明使用的化合物作为药物组合物施用,该药物组合物包含相应的(活性)化合物和一种或更多种可药用赋形剂。

[0128] 术语“可药用赋形剂”是指与活性成分一起施用的载体、稀释剂或佐剂。这样的药物赋形剂可以为无菌液体例如水和油,包括石油、动物、植物或合成来源的那些,例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油和类似物。水或盐水溶液以及葡萄糖和甘油水溶液(特别地对于可注射溶液)优选用作载体。合适的药物载体是技术人员已知的。

[0129] 制造本发明的期望的药物组合物所必需的可药用赋形剂取决于所选择的施用途径等因素。所述药物组合物可以根据本领域技术人员已知的常规方法制造。

[0130] 根据本发明使用的化合物可以以“治疗有效量”施用,即无毒但足以提供所期望效果的相应化合物的量。“有效”的量因对象而异,取决于个体的年龄和一般状况、施用的特定化合物等。因此,并不总是能够指定确切的“治疗有效量”。然而,本领域普通技术人员可以使用常规实验来确定任何个体情况下的合适量。

[0131] 根据本发明使用的化合物典型地每天施用一次或更多次,例如每天1次、2次、3次或4次,典型的每日总剂量取决于特定化合物和疾病的严重程度,并且熟练的从业者可以容易地确定。

[0132] 举例来说,本发明的化合物的典型每日总剂量在0.1mg/天至2000mg/天的范围内,优选1mg/天至600mg/天,甚至更优选1mg/天至100mg/天。

[0133] 所述药物组合物可以使用标准方法例如西班牙药典和美国药典和类似参考文献中描述或提及的那些来制备。

[0134] 术语“对象”是指哺乳动物,例如人。

[0135] 根据本发明使用的化合物可以作为唯一的活性成分或与其他活性成分组合施用。在一个特定实施方案中,所述化合物被用作唯一的活性成分。在另一个特定实施方案中,所述化合物与其他活性成分组合使用。

[0136] 在另一方面中,本发明涉及可用于治疗或预防过度增殖性疾病的包含一种或更多种式(I)的化合物和其他化合物的组合。

[0137] 本发明还涉及可用于治疗或预防过度增殖性疾病的包含一种或更多种化合物的组合的用途。

[0138] 本发明还涉及给对象治疗和/或预防过度增殖性疾病的方法,其包括给所述对象施用治疗有效量的可用于治疗或预防过度增殖性疾病的包含一种或更多种式(I)的化合物和一种或更多种另外的化合物的组合。

[0139] 术语“组合”是指在单一组合物中或者在数种组合物(或单元)中包含一种或更多种所限定的化合物的产品,在数种组合物(或单元)的情况下,相应化合物分布在数种组合物中。优选地,组合是指数种组合物,特别地该组合的每种化合物(如上所限定的化合物)包含一种组合物(或单元)。表述“一种或更多种”在描述组合时是指至少一种,优选地1种、2种、3种、4种或5种化合物,更优选地1种、2种或3种化合物,甚至更优选地1种或2种化合物。

[0140] 当组合呈单一组合物的形式时,组合中存在的化合物总是同时施用。

[0141] 当组合呈数种组合物(或单元)(其中每一者具有该组合的化合物中的至少一种)的形式时,组合物(或单元)可以同时、顺序地或单独地施用。

[0142] 同时施用意指化合物或组合物(或单元)同时施用。

[0143] 顺序施用意指化合物或组合物(或单元)以按时间顺序错开的方式在不同的时间点施用。

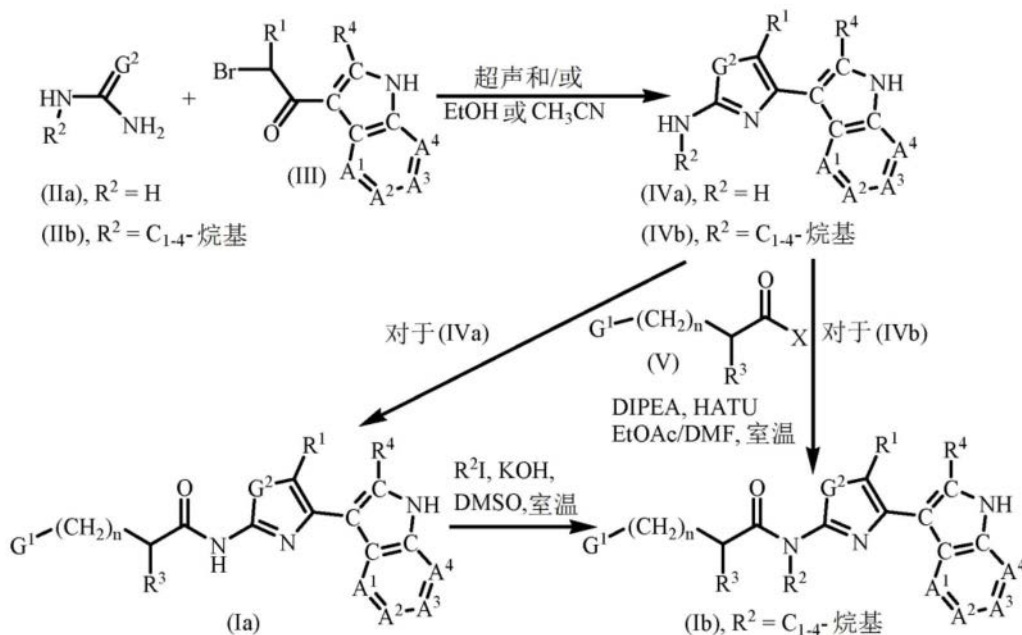
[0144] 单独施用意指化合物或组合物(或单元)在不同的时间点彼此独立地施用。

[0145] 特别地,根据本发明使用的组合作为药物组合物施用,该药物组合物如前文所限定的包含相应的(活性)化合物和可药用赋形剂。

[0146] 根据本发明使用的组合典型地每天施用一次或更多次,例如每天1次、2次、3次或4次,典型的每日总剂量取决于特定化合物和疾病的严重程度,并且熟练的从业者可以容易地确定。

[0147] 化合物的合成

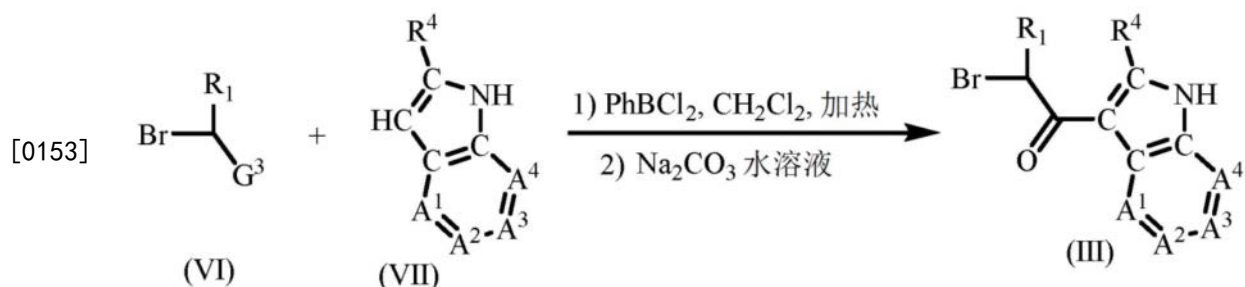
[0148] 本发明的通式(I)的化合物可以如以下详细所述合成:



[0150] 通式(I)的化合物可以分两步或三步制备,从式(III)的化合物与式(II)的化合物的反应开始,该反应可以在有机溶剂例如EtOH或乙腈中,在超声辐射下和/或通过加热进行。式(I)的化合物通过式(IV)的胺与式(V)的羧酸(其中X为OH)在碱(例如DIPEA)和偶联剂(例如HATU)的存在下进行酰胺偶联,以将羧酸转化为更具反应性的中间体来获得。或者,可以使用其他碱和偶联剂或羧酸的衍生物,例如酰卤(式V,其中X为卤素原子)、酯(式V,其中X为烷氧基或芳氧基)或酸酐(式V,其中X为OCO-烷基、OCO-芳基、OCOO-烷基或OCOO-芳基)。

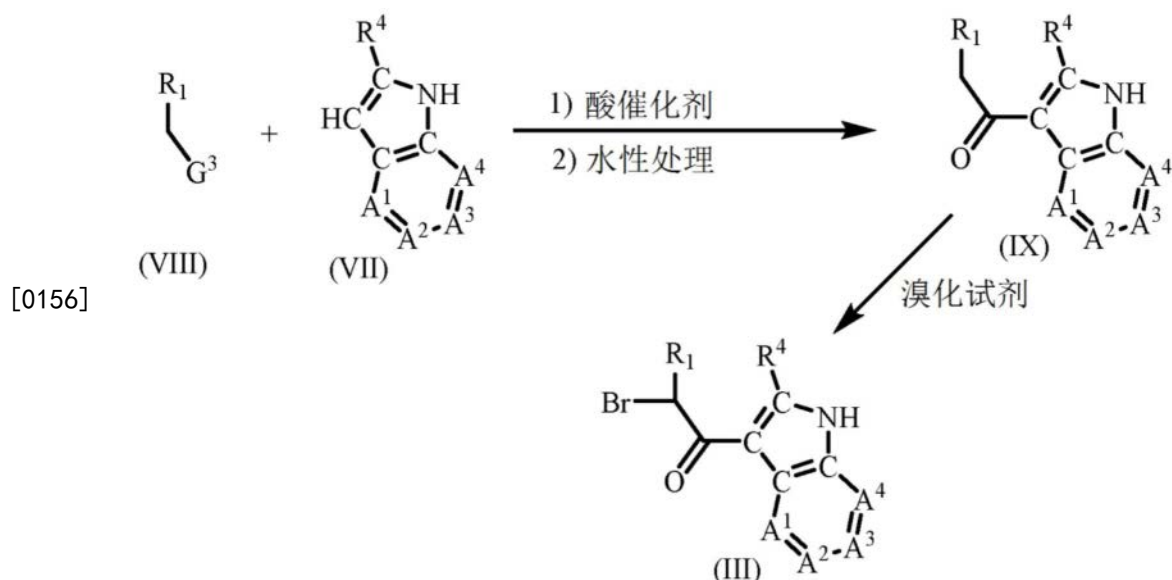
[0151] 也可以通过式(Ia)的化合物与碱(例如KOH)和合适的烷基化试剂(例如烷基碘)的反应制备式(Ib)的化合物。该反应也可以用于由式(Ia)的化合物(其中 $R^3 = H$)制备式(Ib)的化合物(其中 R^2 和 R^3 为相同的 C_{1-4} -烷基)。

[0152] 可以通过式(VI)的化合物(其中 G^3 为CN)与式(VII)的化合物在路易斯酸(例如 $PhBCl_2$)的存在下反应,然后进行碱性水性处理来制备式(III)的化合物,如以下方案中所描述:



[0154] 式(III)的化合物也可以在标准的Friedel-Crafts酰化条件下,即通过使式(VII)的化合物与合适的活化的式(VI)的 α -溴代羧酸衍生物(其中 G^3 选自 $-\text{COX}$ (其中X为卤素原子,优选地氯原子或溴原子)、 $-\text{COOCOR}$ 和 $-\text{COOR}$ (其中R为烷基或芳基))在质子酸或路易斯酸催化剂的存在下反应来制备。

[0155] 或者,式(III)的化合物可以在标准的Friedel-Crafts酰化条件下,即通过使式(VII)的化合物与合适的活化的式(VIII)的羧酸衍生物(其中 G^3 选自 $-\text{COX}$ (其中X为卤素原子,优选地氯原子或溴原子)、 $-\text{COOCOR}$ 和 $-\text{COOR}$ (其中R为烷基或芳基))在质子酸或路易斯酸催化剂的存在下反应,随后用溴或合适的溴化试剂(例如溴化铜(II)或N-溴代琥珀酰亚胺)在 α -羰基位置进行溴化来制备。



[0157] 式(II)、式(V)、式(VI)、式(VII)和式(VIII)的化合物为市售的或者可以通过本领域技术人员已知的方法制备。

[0158] 有时可以通过使用本领域技术人员已知的标准方案,由另外的式(I)的化合物(其中R为不同的基团)获得式(I)的化合物(其中 A^1 、 A^2 、 A^3 和 A^4 中的一者或更多者表示如上所限定的CR)。例如,可以使其中 A^1 、 A^2 、 A^3 和 A^4 中的一者或更多者为 $\text{C}-\text{NO}_2$ 的化合物转化为其中 $\text{C}-\text{NO}_2$ 基团被转化为 $\text{C}-\text{NH}_2$ 基团的化合物。另一些实例可以为通过酯化使 $\text{C}-\text{COOH}$ 基团转化为 $\text{C}-\text{COO}-\text{C}_{1-4}$ -烷基基团,通过水解使 $\text{C}-\text{COO}-\text{C}_{1-4}$ -烷基基团转化为 $\text{C}-\text{COOH}$ 基团,通过酯交换使 $\text{C}-\text{COO}-\text{C}_{1-4}$ -烷基转化为不同的 $\text{C}-\text{COO}-\text{C}_{1-4}$ -烷基,通过醚裂解使 C_{1-4} -烷氧基转化为OH基团,通过还原使 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{COO}-\text{C}_{1-2}$ -烷基、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CONH}-\text{C}_{1-2}$ -烷基、叠氨基或叠氨基- C_{1-4} -烷基分别转化为 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{NH}-\text{C}_{1-2}$ -烷基、 $-\text{NH}_2$ 或 $\text{H}_2\text{N}-\text{C}_{1-4}$ -烷基。

[0159] 缩写:

- [0160] 本申请中使用了以下缩写:
- [0161] ATR:衰减全反射
- [0162] br:宽峰
- [0163] calcd:计算值
- [0164] d:二重峰
- [0165] dd:双二重峰
- [0166] ddd:双双二重峰
- [0167] DIPEA:N,N-二异丙基乙胺
- [0168] DMF:N,N-二甲基甲酰胺
- [0169] DMSO:二甲基亚砷
- [0170] EDTA:乙二胺四乙酸
- [0171] ESI:电喷雾电离
- [0172] Et₂O:二乙醚
- [0173] EtOAc:乙酸乙酯
- [0174] EtOH:乙醇
- [0175] FBS:胎牛血清
- [0176] GS-接头:甘氨酸-丝氨酸接头
- [0177] HATU:1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐
- [0178] HEPES:4-(2-羟基乙基)-1-哌嗪乙烷磺酸
- [0179] HRMS:高分辨率质谱法
- [0180] HRP:辣根过氧化物酶
- [0181] IDH:异柠檬酸脱氢酶
- [0182] IR:红外
- [0183] LB:溶源性肉汤
- [0184] LC/MSD TOF:具有飞行时间质量分析器的液相色谱--质谱法
- [0185] m:多重峰
- [0186] MeOH:甲醇
- [0187] mp:熔点
- [0188] NMR:核磁共振
- [0189] PBS:磷酸盐缓冲盐水
- [0190] PhBCl₂:二氯化苯硼
- [0191] rt:室温
- [0192] s:单峰
- [0193] SDS:十二烷基硫酸钠
- [0194] t:三重峰
- [0195] TET2:甲基胞嘧啶双加氧酶2
- [0196] TLC:薄层色谱法
- [0197] UV:紫外

[0198] 以下实施例代表本发明的具体实施方案。它们不旨在以任何方式限制本说明书中限定的本发明的范围。

[0199] 实施例

[0200] 化合物的纯化和分析方法

[0201] 对于结晶使用分析级溶剂,而在反应、萃取和柱色谱法中使用合成纯溶剂。在硅胶 60AC.C(35目至70目,SDS,ref 2000027)上或在具有预装RediSep Rf硅胶筒的CombiFlash Rf 150(Teledyne Isco)(自动柱色谱法)上进行制备正相色谱法。用具有硅胶60F₂₅₄(Merck,ref 1.05554或Sigma-Aldrich,ref 60805)的铝背片进行薄层色谱法,并用UV光(在254nm或365nm下)观察斑点,并用以下显象剂显影:KMnO₄/Δ、茴香醛/Δ或香草醛/Δ的溶液。用MFB595010M Gallenkamp熔点装置在开口毛细管中确定熔点。使用衰减全反射(attenuated total reflectance,ATR)技术在Perkin-Elmer Spectrum RX I分光光度计上运行红外(IR)光谱。吸收值表示为波数(cm⁻¹);仅给出了明显的吸收带。使用Varian Mercury 400波谱仪记录¹H NMR实验。化学位移(δ)相对于溶剂信号(DMSO-D₆:δH=2.50ppm;CDCl₃:δH=7.26ppm;MeOH-d₄:δH=3.31ppm)以ppm给出,并且耦合常数(J)以Hz引用。¹H NMR波谱数据如下报道:化学位移(多重性,偶合常数,质子数)。高分辨率质谱(HRMS)分析用LC/MSD TOF Agilent Technologies谱仪进行。

[0202] 参照例1:4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐

[0203] 该化合物用于合成实施例1、2、3、6、7、8、9、10、11、12、13、14、16、17、18、19、20和21,并通过以下描述的过程制备。

[0204] 向密封的玻璃管中装入2-溴-1-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙-1-酮(2.70g, 10.7mmol)和硫脲(815mg, 10.7mmol)在EtOH(21mL)中的溶液。将混合物在60°C至65°C下在超声浴中超声1小时。将所得混合物在减压下浓缩,得到作为亮黄色固体的4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(3.67g, 定量产率),其无需进一步纯化即可使用;

[0205] mp 155-157°C; ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 2.49(s, 3H), 3.51(brs, 2H), 6.73(s, 1H), 7.08(ddd, J=J' = 7.6Hz, J'' = 0.8Hz, 1H), 7.13(ddd, J=J' = 7.6Hz, J'' = 0.8Hz, 1H), 7.37(d, J=7.6Hz, 1H), 7.54(d, J=7.6Hz, 1H), 8.94(br s, 1H), 11.56(s, 1H); IR(ATR) v. 3018, 1450, 1306, 1254, 1223, 1172, 1099, 1008, 742, 700cm⁻¹。

[0206] 参照例2:5-甲基-4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐

[0207] 该化合物用于合成实施例4。

[0208] 由2-溴-1-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)丙-1-酮(200mg, 0.79mmol)和硫脲(57mg, 0.75mmol)制备,并按照参照例1中描述的步骤,在50°C至70°C超声浴中超声30分钟,得到作为淡黄色固体的5-甲基-4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(250mg, 定量产率);

[0209] mp 169-172°C; ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 2.10(s, 3H), 2.35(s, 3H), 7.05(ddd, J=J' = 7.6Hz, J'' = 0.8Hz, 1H), 7.12(ddd, J=J' = 7.6Hz, J'' = 0.8Hz, 1H), 7.32(d, J=7.6Hz, 1H), 7.38(d, J=7.6Hz, 1H), 8.94(br s, 2H), 11.54(s, 1H); IR(ATR) v. 3240, 3072, 1614, 1458, 1418, 1330, 1260, 1016, 983, 743, 582cm⁻¹

[0210] 参照例3:4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺

[0211] 该化合物用于合成实施例5。

[0212] 将2-溴-1-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙-1-酮(200mg, 0.79mmol)和脲(1.43g, 23.8mmol)在无水 CH_3CN (10mL)中的溶液在100℃下加热3天。将所得混合物在减压下浓缩,并将剩余物溶于1N NaOH(30mL)中并用EtOAc(3×30mL)萃取。将合并的有机层经由无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,并真空浓缩以产生作为淡褐色固体的4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺(208mg, 定量产率)。用戊烷洗涤之后,该化合物的分析样品作为淡黄色固体获得;

[0213] mp 122-124℃; ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6) δ : 2.56(s, 3H), 6.56(s, 1H), 6.97(br dd, $J=J'=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.02(br dd, $J=J'=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.26(d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.56(s, 1H), 7.76(d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 11.04(s, 1H); IR(ATR) v. 3341, 3223, 1713, 1614, 1594, 1457, 1433, 1324, 1250, 1148, 1012, 742, 572 cm^{-1} 。

[0214] 参照例4:4-(4-溴-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺

[0215] 该化合物用于合成实施例22。

[0216] 在氩气气氛下向2-溴乙腈(0.10mL, 172mg, 1.44mmol)在无水 CH_2Cl_2 (4mL)中的溶液添加 PhBCl_2 (0.19mL, 233mg, 1.46mmol),并将混合物在室温下搅拌15分钟。然后,经30分钟滴加4-溴-1H-吡啶(0.15mL, 234mg, 1.20mmol)在无水 CH_2Cl_2 (2mL)中的溶液。将反应混合物在50℃下搅拌20小时,并通过缓慢滴加0.5M Na_2CO_3 (20mL)猝灭。分离有机层,并用EtOAc(3×25mL)萃取水相。将合并的有机层经由无水 MgSO_4 干燥,过滤并在减压下浓缩,以得到粗制2-溴-1-(4-溴-1H-吡啶-3-基)乙-1-酮(621mg),其无需进一步纯化即可使用。

[0217] 由粗制2-溴-1-(4-溴-1H-吡啶-3-基)乙-1-酮(621mg)和硫脲(145mg, 1.90mmol),按照参照例1中描述的步骤,在60℃至65℃超声浴中超声45分钟,获得粗制剩余物,并通过快速柱色谱法[己烷:EtOAc(7:3至3:7)]纯化,以提供作为棕色油的4-(4-溴-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺(159mg, 总体45%);

[0218] mp 124-127℃; ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6) δ : 6.44(s, 1H), 6.78(br s, H), 7.01(dd, $J=J'=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.21(dd, $J=8.0\text{Hz}$, $J=1.0\text{Hz}$, 1H), 7.43(dd, $J=8.0\text{Hz}$, $J'=1.0\text{Hz}$, 1H), 7.48(d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 11.50(br s, 1H); IR(ATR) v. 3436, 3361, 3110, 2920, 1600, 1512, 1414, 1331, 1308, 1186, 1005, 916, 811, 778, 743, 718 cm^{-1} ;

[0219] $[\text{C}_{11}\text{H}_8^{79}\text{BrN}_3\text{S}+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z计算值:293.9695, 实测值:293.9700。

[0220] 参照例5:4-(5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺

[0221] 该化合物用于合成实施例23。

[0222] 由2-溴乙腈(83.6 μL , 144mg, 1.20mmol)、 PhBCl_2 (0.19mL, 233mg, 1.46mmol)和5-硝基吡啶(162mg, 1.00mmol),按照参照例4中描述的步骤(反应时间为17小时)获得2-溴-1-(5-硝基-1H-吡啶-3-基)乙-1-酮(51.0mg, 18%),并且无需进一步纯化即可使用。

[0223] 由2-溴-1-(5-硝基-1H-吡啶-3-基)乙-1-酮(51.0mg, 0.18mmol)和硫脲(13.7mg, 0.18mmol),按照参照例1中描述的步骤,在60℃至65℃超声浴中超声1.5小时,获得粗制剩余物,并通过快速柱色谱法[CH_2Cl_2 :EtOAc(1:1至1:4)]纯化,以提供作为浅橙色粉末的4-(5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺(32.7mg, 70%);

[0224] mp 137-140℃; ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ : 4.99(br s, 2H), 6.76(s, 1H), 7.45(d, $J=9.0\text{Hz}$, 1H), 7.75(d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 8.16(dd, $J=9.0\text{Hz}$, $J'=2.0\text{Hz}$, 1H), 8.52(br s, 1H), 9.01(d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H); IR(ATR) v. 3356, 3137, 2919, 2850, 1621, 1511, 1466, 1315, 1258, 1225, 1072, 840, 808, 737 cm^{-1} ; MS(ESI+): 261.04[M+H] $^+$ 。

[0225] 参照例6:4-(5-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺

[0226] 该化合物用于合成实施例24。

[0227] 由2-溴乙腈(0.17mL, 293mg, 2.44mmol)、PhBCl₂(0.31mL, 379mg, 2.39mmol)和5-甲基-1H-吡啶(262mg, 2.00mmol),按照参照例4中描述的步骤(反应时间为23小时)获得2-溴-1-(5-甲基-1H-吡啶-3-基)乙-1-酮(197mg, 39%),并且无需进一步纯化即可使用。

[0228] 由2-溴-1-(5-甲基-1H-吡啶-3-基)乙-1-酮(197mg, 0.78mmol)和硫脲(61.1mg, 0.80mmol),按照参照例1中描述的步骤,在60℃至65℃超声浴中超声45分钟,获得粗制剩余物,并通过快速柱色谱法[己烷:EtOAc(1:4至1:9)]纯化,以提供作为棕色油的4-(5-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺(47.0mg, 26%);

[0229] mp 119-121℃; ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 2.41(s, 3H), 6.65(s, 1H), 6.89(brs, 2H), 6.94(dd, J=8.0Hz, J' = 2.0Hz, 1H), 7.27(d, J=8.0Hz, 1H), 7.55(d, J=2.0Hz, 1H), 7.77(s, 1H), 11.02(br s, 1H); IR(ATR) v. 3366, 3271, 3161, 2920, 1606, 1471, 1410, 1083, 796, 718, 621cm⁻¹,

[0230] [C₁₂H₁₁N₃S+H⁺]⁺的HRMS-ESI+m/z[M+H]⁺计算值:230.0746, 实测值:230.0750。

[0231] 参照例7:4-(5-甲氧基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺

[0232] 该化合物用于合成实施例25。

[0233] 由2-溴乙腈(0.13mL, 224mg, 1.87mmol)、PhBCl₂(0.23mL, 282mg, 1.77mmol)和5-甲氧基-2-甲基-1H-吡啶(241mg, 1.50mmol),按照参照例4中描述的步骤(反应时间为15小时)获得2-溴-1-(5-甲氧基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙-1-酮(173mg, 41%),并且无需进一步纯化即可使用。

[0234] 由2-溴-1-(5-甲氧基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙-1-酮(173mg, 0.61mmol)和硫脲(47mg, 0.62mmol),按照参照例1中描述的步骤,在60℃至65℃超声浴中超声1小时,获得粗制剩余物,并通过自动柱色谱法(CH₂Cl₂:MeOH混合物)纯化,以提供作为淡褐色固体的4-(5-甲氧基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺(60mg, 38%);

[0235] mp 152-153℃; ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 2.52(s, 3H), 3.81(s, 3H), 6.37(s, 1H), 6.70(dd, J=8.8Hz, J' = 2.4Hz, 1H), 7.15(dd, J=8.8Hz, J' = 2.5Hz, 1H), 7.15(d, J=8.7Hz, 1H), 7.26(d, J=2.4Hz, 1H); IR(ATR) v. 3400, 3288, 3100, 2922, 2536, 2287, 1676, 1640, 1620, 1584, 1534, 1478, 1447, 1320, 1269, 1224, 1206, 1165, 1102, 1035, 1018, 967, 898, 845, 812, 774, 733, 700, 669, 619, 591cm⁻¹;

[0236] [C₁₃H₁₃N₃OS+H⁺]⁺的HRMS-ESI+m/z[M+H]⁺计算值:260.0852, 实测值:260.0851。

[0237] 参照例8:4-(6-氟-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐

[0238] 该化合物用于合成实施例26。

[0239] 由2-溴乙腈(83.6μL, 144mg, 1.20mmol)、PhBCl₂(156μL, 191mg, 1.20mmol)和6-氟-2-甲基-1H-吡啶(150mg, 1.01mmol),按照参照例4中描述的步骤,在50℃下搅拌过夜,获得粗制剩余物,并通过自动柱色谱法(己烷:EtOAc混合物)纯化,以提供作为淡黄色固体的2-溴-1-(6-氟-2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙-1-酮(95mg, 35%);

[0240] mp 195-196℃; ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 2.79(s, 3H), 4.41(s, 2H), 7.03-7.06(m, 2H), 7.93(dd, J=9.6Hz, =4.8Hz, 1H), 8.44(br s, 1H); IR(ATR) v. 3238, 2917, 2846, 1623, 1600, 1531, 1455, 1424, 1389, 1302, 1274, 1244, 1224, 1163, 1130, 1104, 1041, 985, 957, 896,

842, 814, 786, 748, 715, 692, 647, 596 cm^{-1} ;

[0241] $[\text{C}_{11}\text{H}_9^{79}\text{BrFNO}+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H]⁺计算值:269.9924,实测值:269.9921。

[0242] 由2-溴-1-(6-氟-2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙-1-酮(95mg, 0.35mmol)和硫脲(27mg, 0.35mmol),按照参照例1中描述的步骤,在60℃至65℃超声浴中超声1小时,获得作为淡黄色固体的4-(6-氟-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(105mg, 91%);

[0243] mp 80-81℃; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 2.47 (s, 3H), 6.71 (s, 1H), 6.93 (ddd, J=9.2Hz, J'=8.7Hz, J''=2.4Hz, 1H), 7.15 (dd, J=9.2Hz, J'=2.4Hz, 1H), 7.56 (s, 1H), 8.40-8.90 (brsignal, 2H), 11.55 (s, 1H); IR (ATR) v. 3177, 2917, 2856, 1607, 1544, 1457, 1312, 1216, 1137, 1107, 1008, 840, 802, 728, 667, 642, 606, 581 cm^{-1} ;

[0244] $[\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{FN}_3\text{S}+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H]⁺计算值:248.0652,实测值:248.0650。

[0245] 参照例9:4-(2-甲基-5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐

[0246] 该化合物用于合成实施例27。

[0247] 由2-溴乙腈(142μL, 245mg, 2.04mmol)、PhBCl₂(332μL, 406mg, 2.56mmol)和2-甲基-5-硝基-1H-吡啶(300mg, 1.70mmol),按照参照例4中描述的步骤,在50℃下搅拌4.5小时,获得粗制剩余物,并通过自动柱色谱法(己烷:EtOAc混合物)纯化,以提供作为米色固体的2-溴-1-(2-甲基-5-硝基-1H-吡啶-3-基)乙-1-酮(280mg, 55%产率);

[0248] mp 255-256℃; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 2.79 (s, 3H), 4.79 (s, 2H), 7.59 (d, J=8.8Hz, 1H), 8.09 (dd, J=8.8Hz, J'=2.4Hz, 1H), 8.96 (d, J=2.4Hz, 1H), 12.64 (s, 1H); IR (ATR) v. 3273, 3095, 2948, 1645, 1620, 1536, 1465, 1422, 1338, 1305, 1272, 1155, 1084, 969, 875, 842, 830, 738, 667, 563 cm^{-1} ;

[0249] $[\text{C}_{11}\text{H}_9^{79}\text{BrN}_2\text{O}_3+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H]⁺计算值:296.9869,实测值:296.9869。

[0250] 由2-溴-1-(2-甲基-5-硝基-1H-吡啶-3-基)乙-1-酮(50mg, 0.17mmol)和硫脲(13mg, 0.17mmol),按照参照例1中描述的步骤,在60℃至65℃超声浴中超声2.5小时,获得作为淡褐色固体的4-(2-甲基-5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(66mg, 定量产率);

[0251] mp 198-199℃; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 2.54 (s, 3H), 3.45 (brs, 2H), 6.85 (s, 1H), 7.55 (d, J=8.8Hz, 1H), 8.03 (dd, J=8.8Hz, J'=2.4Hz, 1H), 8.54 (d, J=2.4Hz, 1H), 12.25 (s, 1H); IR (ATR) v. 3258, 3136, 3100, 1628, 1610, 1562, 1536, 1508, 1468, 1414, 1330, 1310, 1257, 1211, 1211, 1155, 1074, 903, 840, 807, 738, 695, 667 cm^{-1} ;

[0252] $[\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H]⁺计算值:275.0597,实测值:275.0595。

[0253] 实施例1:2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0254] 向咪唑并[2,1-b][1,3]噻唑-6-基乙酸盐酸盐水合物(1.08g, 4.56mmol)和4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(1.42g, 4.57mmol)在EtOAc(27mL)和DMF(2.7mL)的混合物中的溶液中添加DIPEA(3.60mL, 20.7mmol),并将溶液在室温下搅拌5分钟。然后,经10分钟分批添加HATU(2.61g, 6.86mmol),并将所得悬浮液搅拌3分钟,之后添加第二份DMF(2.7mL)。将反应混合物在室温下搅拌4.5小时,在减压下浓缩,溶于EtOAc(100mL)中并用H₂O(5×100mL)洗涤。将有机相经由Na₂SO₄干燥,过滤,并在减压下浓缩。将粗制剩余物通过快速柱色谱法[己烷:EtOAc(2:8至1:9)]纯化,提供作为米色固体的2-(咪唑并[2,1-b]噻

唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(1.60g,89%)。用戊烷洗涤之后,获得作为白色固体的该化合物的分析样品;

[0255] mp 210-212°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.63(s, 3H), 3.84(s, 2H), 7.02(br dd, $J=J'=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.060(br s, 1H), 7.061(br dd, $J=J'=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.21(d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 7.31(dm, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.70(s, 1H), 7.88(d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 7.97(br d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 11.17(s, 1H), 12.26(s, 1H); IR(ATR) v. 3219, 3178, 3103, 3067, 2983, 1656, 1548, 1521, 1459, 1330, 1264, 1252, 1240, 1056, 964, 832, 741, 644 cm^{-1} ;

[0256] $[\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{OS}_2+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值:394.0791, 实测值:394.0785。

[0257] 实施例2:2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0258] 由2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-3-基)乙酸(50mg, 0.27mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(94mg, 0.30mmol)、DIPEA(0.17mL, 0.98mmol)和HATU(157mg, 0.41mmol), 并按照实施例1中描述的步骤, 获得作为米色黏性固体的2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(39mg, 37%)。从EtOH中重结晶, 然后用戊烷洗涤, 得到作为白色固体的该化合物的分析样品;

[0259] mp 160-163°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.63(s, 3H), 4.38(s, 2H), 7.02(br dd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.06(br dd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.10(s, 1H), 7.32(d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.63(s, 1H), 7.91(br s, 1H), 7.96(d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 8.29(d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 11.29(s, 1H), 12.59(br s, 1H); IR(ATR) v. 3131, 2956, 1671, 1549, 1524, 1476, 1458, 1430, 1350, 1334, 1292, 1269, 1234, 1197, 1165, 1130, 1050, 821, 752, 717, 689 cm^{-1} ;

[0260] $[\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{OS}_2+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值:394.0791, 实测值:394.0788。

[0261] 实施例3:2-(苯并[d]噻唑-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0262] 由2-(苯并[d]噻唑-2-基)乙酸钠(57mg, 0.29mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(80mg, 0.26mmol)、DIPEA(0.11mL, 0.63mmol)和HATU(147mg, 0.39mmol), 并按照实施例1中描述的步骤, 获得2-(苯并[d]噻唑-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(31mg, 31%)。用戊烷洗涤之后, 获得作为米色固体的该化合物的分析样品;

[0263] mp 239-242°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.63(s, 3H), 4.34(s, 2H), 7.02(br dd, $J=J'=7.6\text{Hz}$, 1H),

[0264] 部分重叠7.07(br dd, $J=J'=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.12(s, 1H), 7.32(d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.38(br dd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, 1H), 部分重叠7.41(br dd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.74(m, 2H), 7.97(d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 11.20(s, 1H), 12.58(s, 1H); IR(ATR) v. 3244, 3228, 3186, 3116, 3081, 2919, 1654, 1579, 1551, 1510, 1482, 1457, 1370, 1296, 1235, 1148, 1055, 928, 843, 738, 690 cm^{-1}

[0265] $[\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值:389.1067, 实测值:389.1064。

[0266] 实施例4:2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[5-甲基-4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0267] 由2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酸盐(150mg, 0.69mmol)、5-甲基-4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(222mg, 0.68mmol)、DIPEA(0.48mL, 2.76mmol)和HATU(391mg, 1.03mmol), 并按照实施例1中描述的步骤, 获得2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[5-甲基-4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(238mg, 86%)。用戊烷洗涤之后, 获得作为淡黄色固体的该化合物的分析样品;

[0268] mp 169-172°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.21 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 3.79 (s, 2H), 6.95 (ddd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.03 (ddd, $JJ'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.21 (d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H), 7.31 (m, 2H), 7.68 (s, 1H), 7.87 (d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H), 11.14 (s, 1H), 12.13 (s, 1H); IR (ATR) ν : 3130, 3098, 3043, 2917, 1661, 1549, 1459, 1424, 1275, 1219, 1151, 839, 739, 715, 658, 641 cm^{-1} ;

[0269] $[\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{OS}_2+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值: 408.0947, 实测值: 408.0937。

[0270] 实施例5: 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0271] 由2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酸盐(103mg, 0.47mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺(120mg, 0.56mmol)、DIPEA(0.25mL, 1.44mmol)和HATU(267mg, 0.70mmol), 并按照实施例1中描述的步骤, 获得2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(53mg, 30%)。用戊烷洗涤之后, 获得作为米色固体的该化合物的分析样品;

[0272] mp 122-124°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.59 (s, 3H), 3.78 (br s, 2H), 7.01 (ddd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.06 (ddd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.21 (d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H), 7.30 (dm, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.81 (br d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.88 (d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H), 8.07 (s, 1H), 11.20 (s, 1H), 11.34 (s, 1H); IR (ATR) ν : 3144, 3111, 2924, 1699, 1596, 1557, 1459, 1427, 1386, 1307, 1250, 1192, 1149, 1052, 839, 743, 659 cm^{-1} ;

[0273] $[\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值: 378.1019, 实测值: 378.1020。

[0274] 实施例6: 2-(5-甲氧基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0275] 由2-(5-甲氧基-1H-吡啶-3-基)乙酸(104mg, 0.51mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺(106mg, 0.46mmol)、DIPEA(0.18mL, 1.03mmol)和HATU(264mg, 0.69mmol), 并按照实施例1中描述的步骤, 获得作为米色固体的2-(5-甲氧基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(68mg, 35%)。用戊烷洗涤之后, 获得作为灰色固体的该化合物的分析样品;

[0276] mp 127-129°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.62 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.86 (s, 2H), 6.74 (dd, $J=8.8\text{Hz}$, $J'=2.4\text{Hz}$, 1H),

[0277] 部分重叠7.01 (ddd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.03 (s, 1H), 7.06 (ddd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.15 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.24-7.27 (m, 2H), 7.31 (dm, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.96 (br d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 10.80 (s, 1H), 11.17 (s, 1H), 12.26 (s, 1H); IR (ATR) ν : 3640, 3571, 3391, 2924, 1668, 1627, 1538, 1486, 1457, 1282, 1215, 1057, 835, 743 cm^{-1} ;

[0278] $[\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值: 417.1380, 实测值: 417.1377。

[0279] 实施例7:2-(1H-吡啶-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0280] 由2-(1H-吡啶-2-基)乙酸(75mg,0.43mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(133mg,0.43mmol)、DIPEA(0.26mL,1.49mmol)和HATU(244mg,0.64mmol),并按照实施例1中描述的步骤,获得2-(1H-吡啶-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(23mg,14%)。用戊烷洗涤之后,获得作为淡褐色固体的该化合物的分析样品;

[0281] mp 166-168°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.63 (s, 3H), 4.00 (s, 2H), 6.31 (br s, 1H), 6.95 (ddd, $J' = 7.2\text{Hz}$, $J'' = 1.2\text{Hz}$, 1H), 6.99-7.07 (m, 3H), 7.08 (s, 1H), 7.31 (br d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 7.34 (dm, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.45 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.97 (br d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 11.06 (s, 1H), 11.18 (s, 1H), 12.35 (s, 1H); IR (ATR) ν : 3370, 3055, 2922, 1674, 1619, 1538, 1455, 1418, 1288, 1061, 742, 639 cm^{-1} ;

[0282] $[\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{OS}+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值:387.1274,实测值:387.1276。

[0283] 实施例8:2-(6-氟咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0284] 由2-(6-氟咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)乙酸盐(125mg,0.54mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(168mg,0.54mmol)、DIPEA(0.42mL,2.41mmol)和HATU(309mg,0.81mmol),并按照实施例1中描述的步骤,获得作为淡褐色固体的2-(6-氟咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(138mg,63%)。用戊烷洗涤之后,获得作为米色固体的该化合物的分析样品;

[0285] mp 114-119°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.63 (s, 3H), 3.98 (s, 2H), 7.02 (ddd, $J = J' = 7.2\text{Hz}$, $J'' = 1.2\text{Hz}$, 1H), 部分重叠7.06 (ddd, $J = J' = 7.2\text{Hz}$, $J'' = 1.2\text{Hz}$, 1H), 7.07 (s, 1H), 7.27-7.33 (m, 2H), 7.56 (dd, $J = 10.0\text{Hz}$, $J' = 5.2\text{Hz}$, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.97 (br d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 8.77 (dd, $J = 5.2\text{Hz}$, $J' = 2.4\text{Hz}$, 1H), 11.18 (s, 1H), 12.35 (s, 1H); IR (ATR) ν : 3130, 3054, 2923, 1673, 1538, 1509, 1457, 1280, 1232, 1163, 1054, 816, 742 cm^{-1} ;

[0286] $[\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{FN}_5\text{OS}+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值:406.1132,实测值:406.1131。

[0287] 实施例9:N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(2-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺

[0288] 由2-(2-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酸(100mg,0.51mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(158mg,0.51mmol)、DIPEA(0.31mL,1.78mmol)和HATU(291mg,0.77mmol),并按照实施例1中描述的步骤,获得作为米色固体的N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(2-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺(164mg,79%)。用戊烷洗涤之后,获得作为白色固体的该化合物的分析样品;

[0289] mp 140-142°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.38 (d, $J = 1.6\text{Hz}$, 3H), 2.63 (s, 3H), 3.81 (s, 2H), 7.02 (ddd, $J = J' = 7.2\text{Hz}$, $J'' = 1.2\text{Hz}$, 1H), 7.059 (s, 1H), 部分重叠7.060 (ddd, $J = J' = 7.2\text{Hz}$, $J'' = 1.2\text{Hz}$, 1H), 7.31 (br d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.63 (q, $J = 1.6\text{Hz}$, 1H), 7.97 (br d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 11.18 (s, 1H), 12.24 (s, 1H); IR (ATR) ν : 3380, 3141, 2918, 1674, 1538, 1460, 1417, 1282, 1231, 1055, 843, 741, 688, 643 cm^{-1} ;

[0290] $[\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{OS}_2+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值:408.0947,实测值:408.0944。

[0291] 实施例10:N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(3-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺

[0292] 由2-(3-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酸(100mg,0.51mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(158mg,0.51mmol)、DIPEA(0.31mL,1.78mmol)和HATU(291mg,0.77mmol),并按照实施例1中描述的步骤,获得作为米色固体的N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(3-甲基咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺(142mg,68%)。用戊烷洗涤之后,获得作为白色固体的该化合物的分析样品;

[0293] mp 145-148°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.39(d, J=1.2Hz, 3H), 2.63(s, 3H), 3.85(s, 2H), 6.85(q, J=1.2Hz, 1H), 7.02(ddd, J=J'=7.2Hz, J''=1.2Hz, 1H), 部分重叠7.061(ddd, J=J'=7.2Hz, J''=1.2Hz, 1H), 7.063(s, 1H), 7.31(br d, J=7.2Hz, 1H), 7.64(s, 1H), 7.97(br d, J=7.2Hz, 1H), 11.18(s, 1H), 12.27(s, 1H); IR(ATR) v. 3370, 3109, 3043, 2914, 1674, 1538, 1461, 1282, 1231, 1054, 841, 741, 686, 645 cm^{-1} ;

[0294] $[\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{OS}_2+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值:408.0947, 实测值:408.0944。

[0295] 实施例11:2-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0296] 由2-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)乙酸(101mg,0.53mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(150mg,0.48mmol)、DIPEA(0.30mL,1.72mmol)和HATU(276mg,0.73mmol),并按照实施例1中描述的步骤,获得2-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(148mg,77%)。用戊烷洗涤之后,获得作为灰色固体的该化合物的分析样品;

[0297] mp 139-142°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.63(s, 3H), 3.77(s, 3H), 3.90(s, 2H), 7.00-7.09(m, 4H), 7.15(ddd, J=J'=7.6Hz, J''=1.2Hz, 1H), 7.29(s, 1H), 7.32(br d, J=7.2Hz, 1H), 7.40(br d, J=8.0Hz, 1H), 7.64(br d, J=8.0Hz, 1H), 7.97(br d, J=7.6Hz, 1H), 11.17(s, 1H), 12.29(s, 1H); IR(ATR) v. 3377, 3052, 2915, 1671, 1532, 1457, 1330, 1281, 1233, 1231, 1151, 1136, 1056, 1009, 737, 692, 644 cm^{-1} ;

[0298] $[\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{OS}+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值:401.1431, 实测值:401.1434。

[0299] 实施例12:2-(5-氟-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0300] 由2-(5-氟-1H-吡啶-3-基)乙酸(103mg,0.53mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(150mg,0.48mmol)、DIPEA(0.30mL,1.72mmol)和HATU(276mg,0.73mmol),并按照实施例1中描述的步骤,获得2-(5-氟-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(189mg,97%)。用戊烷洗涤之后,获得作为淡褐色固体的该化合物的分析样品;

[0301] mp 230-232°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.62(s, 3H), 3.88(s, 2H), 6.93(ddd, J=J'=9.2Hz, J''=2.8Hz, 1H), 部分重叠7.02(ddd, J=J'=7.2Hz, J''=1.2Hz, 1H), 7.04(s, 1H), 7.06(ddd, J=J'=7.2Hz, J''=1.2Hz, 1H), 7.31(br d, J=7.2Hz, 1H), 7.34-7.41(m, 3H), 7.96(br d, J=7.2Hz, 1H), 11.08(d, J=2.4Hz, 1H), 11.17(s, 1H), 12.28(s, 1H); IR(ATR) v. 3393, 3356, 3153, 3047, 2920, 2883, 1673, 1668, 1581, 1550, 1488, 1456, 1336, 1280, 1233, 1225, 1203, 1056, 936, 840, 742, 650, 559 cm^{-1} ;

[0302] $[\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{FN}_4\text{OS}+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值:405.1180, 实测值:405.1187。

[0303] 实施例13:2-(1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0304] 由2-(1H-吡啶-3-基)乙酸(49.7mg, 0.28mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(80.0mg, 0.26mmol)、DIPEA(0.16mL, 0.92mmol)和HATU(147mg, 0.39mmol), 并按照实施例1中描述的步骤, 获得2-(1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(62.0mg, 62%)。用Et₂O洗涤并从EtOH中重结晶之后, 获得作为白色固体的该化合物的分析样品;

[0305] mp 246-248°C, ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 2.63(s, 3H), 3.91(s, 2H), 7.01(ddd, J = J' = 7.6Hz, J'' = 1.2Hz, 1H), 7.02(ddd, J = J' = 7.6Hz, J'' = 1.2Hz, 1H), 7.04(s, 1H), 7.07(ddd, J = J' = 7.6Hz, J'' = 1.2Hz, 1H), 8.00(ddd, J = J' = 7.6Hz, J'' = 1.2Hz, 1H), 7.29-7.33(m, 2H), 7.38(br d, J = 7.6Hz, 1H), 7.63(d, J = 7.6Hz, 1H), 7.97(d, J = 7.6Hz, 1H), 10.97(br s, 1H), 11.18(s, 1H), 12.28(s, 1H); IR(ATR) v. 3386, 3151, 3048, 2878, 1678, 1669, 1551, 1458, 1322, 1314, 1282, 1233, 1183, 1054, 837, 737, 644cm⁻¹;

[0306] [C₂₂H₁₈N₄OS+H⁺]的HRMS-ESI+m/z[M+H]⁺计算值: 387.1274, 实测值: 387.1274。

[0307] 实施例14: 3-(1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]丙酰胺

[0308] 由3-(1H-吡啶-3-基)丙酸(53.7mg, 0.28mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(80.0mg, 0.26mmol)、DIPEA(0.16mL, 0.92mmol)和HATU(147mg, 0.39mmol), 并按照实施例1中描述的步骤, 获得作为浅棕色固体的3-(1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]丙酰胺(51.0mg, 49%);

[0309] mp 133-135°C; ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 2.62(s, 3H), 2.85(t, J = 7.6Hz, 2H), 3.07(t, J = 7.6Hz, 2H), 6.99(ddd, J = J' = 7.6Hz, J'' = 1.2Hz, 1H), 7.01(ddd, J = J' = 7.6Hz, J'' = 1.2Hz, 1H), 7.05(s, 1H), 7.06(ddd, J = J' = 7.6Hz, J'' = 1.2Hz, 1H), 7.08(ddd, J = J' = 7.6Hz, J'' = 1.2Hz, 1H), 7.15(br d, J = 2.4Hz, 1H), 7.30(dm, J = 7.6Hz, 1H), 7.34(dm, J = 7.6Hz, 1H), 7.60(d, J = 7.6Hz, 1H), 7.96(d, J = 7.6Hz, 1H), 10.79(s, 1H), 11.17(s, 1H), 12.11(s, 1H); IR(ATR) v. 3392, 3047, 2918, 2852, 1662, 1607, 1537, 1456, 1416, 1284, 1229, 1151, 1058, 739, 644, 580cm⁻¹;

[0310] [C₂₃H₂₀N₄OS+H⁺]的HRMS-ESI+m/z[M+H]⁺计算值: 401.1431, 实测值: 401.1432。

[0311] 实施例15: 2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-甲基-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]丙酰胺

[0312] 向2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(72.0mg, 0.18mmol)在DMSO(0.7mL)中的溶液中依次添加细粉状KOH(85%纯度试剂, 24.2mg, 0.37mmol)和碘甲烷(26μL, 0.42mmol), 并将所得混合物在室温下搅拌2小时。添加第二份碘甲烷(13μL, 0.21mmol)并将反应混合物在室温下搅拌1小时。添加H₂O(2mL)并过滤收集所得沉淀物, 并用H₂O和Et₂O洗涤。在干燥之后, 获得2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-甲基-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]丙酰胺(54mg, 71%);

[0313] mp 85-88°C, ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 1.67(d, J = 6.8Hz, 3H), 2.68(s, 3H), 3.94(s, 3H), 4.48(q, J = 6.8Hz, 1H), 6.80(d, J = 4.5Hz, 1H), 6.97(s, 1H), 7.12-7.17(m, 2H), 7.28-7.33(m, 1H), 7.35(d, J = 4.5Hz, 1H), 7.39(s, 1H), 7.95-8.01(m, 2H); IR(ATR) v. 3109, 2921, 2851, 1658, 1456, 1418, 1288, 1231, 1119, 1055, 741, 651cm⁻¹;

[0314] [C₂₁H₁₉N₅OS₂+H⁺]的HRMS-ESI+m/z[M+H]⁺计算值: 422.1104, 实测值: 422.1102。

[0315] 实施例16: 2-(6-氯-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙

酰胺

[0316] 由2-(6-氯-1H-吡啶-3-基)乙酸(67.5mg, 0.32mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(100mg, 0.32mmol)、DIPEA(0.25mL, 1.44mmol)和HATU(183mg, 0.48mmol), 并按照实施例1中描述的步骤, 获得作为米色固体的2-(6-氯-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(39.2mg, 29%);

[0317] mp 175-177°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ : 2.62 (s, 3H), 3.90 (s, 2H), 部分重叠 7.01 (ddd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.03 (dd, $J=8.4\text{Hz}$, $J'=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.04 (s, 1H),

[0318] 部分重叠 7.06 (ddd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.31 (dm, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.35 (br d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.41 (dd, $J=2.0\text{Hz}$, $J'=0.4\text{Hz}$, 1H), 7.62 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.96 (br d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 11.10 (br s, 1H), 11.17 (br s, 1H), 12.28 (br s, 1H); IR (ATR) v. 3371, 3062, 2966, 2884, 1681, 1544, 1459, 1335, 1301, 1279, 1233, 1057, 806, 737 cm^{-1} ;

[0319] $[\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{OS}+\text{H}^+]$ 的 HRMS-ESI+m/z [M+H] $^+$ 计算值: 421.0884, 实测值: 421.0889。

[0320] 实施例17: 2-(1H-咪唑-4-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0321] 由2-(1H-咪唑-4-基)乙酸盐(78mg, 0.48mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(150mg, 0.48mmol)、DIPEA(0.38mL, 2.18mmol)和HATU(276mg, 0.73mmol), 并按照实施例1中描述的步骤, 获得作为淡褐色固体的2-(1H-咪唑-4-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(34mg, 21%)。用戊烷洗涤之后, 获得作为灰色固体的该化合物的分析样品;

[0322] mp 107-112°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ : 2.62 (s, 3H), 3.75 (s, 2H), 6.99 (br s, 1H), 7.01 (ddd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.056 (s, 1H), 7.058 (ddd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.31 (br d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.96 (br d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 11.17 (s, 1H), 12.20 (s, 1H); IR (ATR) v. 3183, 2920, 1673, 1548, 1457, 1288, 1232, 1083, 1056, 827, 742, 694 cm^{-1} ,

[0323] $[\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_5+\text{H}^+]$ 的 HRMS-ESI+m/z [M+H] $^+$ 计算值: 338.1070, 实测值: 338.1067。

[0324] 实施例18: 2-(苯并呋喃-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0325] 由2-(苯并呋喃-2-基)乙酸(100mg, 0.57mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(176mg, 0.57mmol)、DIPEA(0.35mL, 2.01mmol)和HATU(324mg, 0.85mmol), 并按照实施例1中描述的步骤, 获得作为紫色固体的2-(苯并呋喃-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(158mg, 72%)。用戊烷洗涤之后, 获得作为粉色固体的该化合物的分析样品;

[0326] mp 198-200°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ : 2.64 (s, 3H), 4.12 (s, 2H), 6.83 (s, 1H), 7.03 (ddd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.07 (ddd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.10 (s, 1H), 7.23 (ddd, $J=J'=7.6\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.27 (ddd, $J=J'=7.6\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.32 (br d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.54 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.61 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.98 (br d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 11.20 (s, 1H), 12.47 (s, 1H); IR (ATR) v. 3409, 3110, 2941, 2896, 1693, 1543, 1506, 1454, 1306, 1288, 1266, 1254, 1232, 1178, 1158, 1058, 843, 758, 751, 738, 645 cm^{-1} ;

[0327] $[\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}+\text{H}^+]$ 的 HRMS-ESI+m/z [M+H] $^+$ 计算值: 388.1114, 实测值: 388.1109。

[0328] 实施例19: 2-(4-溴噻吩-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0329] 由2-(4-溴噻吩-2-基)乙酸(120mg, 0.54mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(168mg, 0.54mmol)、DIPEA(0.33mL, 1.89mmol)和HATU(310mg, 0.82mmol), 并按照实施例1中描述的步骤, 获得2-(4-溴噻吩-2-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(165mg, 71%)。用戊烷洗涤之后, 获得作为米色固体的该化合物的分析样品;

[0330] mp 212-214°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.62(s, 3H), 4.07(d, $J=1.2\text{Hz}$, 2H), 部分重叠7.02(ddd, $J=8.0\text{Hz}$, $J'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.04(d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 7.06(ddd, $J=8.0\text{Hz}$, $J'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.09(s, 1H), 7.31(br d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.56(d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 7.96(br d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 11.19(s, 1H), 12.39(s, 1H); IR(ATR) v. 3401, 3367, 3053, 2894, 2735, 1687, 1680, 1556, 1506, 1460, 1413, 1315, 1283, 1231, 1198, 1057, 870, 837, 823, 748690, 646, 591 cm^{-1} ;

[0331] $[\text{C}_{18}\text{H}_{14}^{79}\text{BrN}_3\text{OS}_2+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值: 431.9834, 实测值: 431.9828。

[0332] 实施例20: N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(3-甲基苯并[b]噻吩-2-基)乙酰胺

[0333] 由2-(3-甲基苯并[b]噻吩-2-基)乙酸(100mg, 0.48mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(150mg, 0.48mmol)、DIPEA(0.30mL, 1.72mmol)和HATU(276mg, 0.73mmol), 并按照实施例1中描述的步骤, 获得N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(3-甲基苯并[b]噻吩-2-基)乙酰胺(121mg, 60%)。用戊烷洗涤之后, 获得作为淡红色固体的该化合物的分析样品;

[0334] mp 233-235°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.39(s, 3H), 2.63(s, 3H), 4.16(s, 2H), 7.03(br dd, $J=J'=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.05(br dd, $J=J'=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.08(s, 1H), 7.32(br d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H),

[0335] 部分重叠7.34(br dd, $J=J'=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.40(br dd, $J=J'=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.73(br d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.89(d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.98(d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 11.19(s, 1H), 12.45(s, 1H); IR(ATR) v. 3372, 3050, 2912, 2854, 1674, 1538, 1458, 1431, 1411, 1281, 1224, 1184, 1157, 1055, 742, 727, 645 cm^{-1} ;

[0336] $[\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{OS}_2+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值: 418.1042, 实测值: 418.1043。

[0337] 实施例21: 2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0338] 由2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙酸(100mg, 0.52mmol)、4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(162mg, 0.52mmol)、DIPEA(0.09mL, 0.52mmol)和HATU(298mg, 0.78mmol), 并按照实施例1中描述的步骤, 获得2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)-N-[4-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(129mg, 62%)。用戊烷洗涤之后, 获得作为淡褐色固体的该化合物的分析样品;

[0339] mp 145-149°C; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.62(s, 3H), 3.80(s, 2H), 6.60(dd, $J=8.4\text{Hz}$, $J'=2.0\text{Hz}$, 1H), 6.92(d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 部分重叠7.01(ddd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.03(s, 1H), 7.06(ddd, $J=J'=7.2\text{Hz}$, $J''=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.15(d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.20(d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.31(br d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.96(br d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 8.62(s, 1H), 10.63(brs, 1H), 11.16(s, 1H), 12.22(s, 1H); IR(ATR) v. 3390, 2923, 1668, 1628, 1532, 1457, 1283, 1231, 1055, 939, 839, 743, 694, 644 cm^{-1} ;

[0340] $[C_{22}H_{18}N_4O_2S+H^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H]⁺计算值:403.1223,实测值:403.1221。

[0341] 实施例22:N-[4-(4-溴-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺

[0342] 由咪唑并[2,1-b][1,3]噻唑-6-基乙酸盐酸盐水合物(95.8mg,0.40mmol)、4-(4-溴-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺(119mg,0.40mmol)、DIPEA(0.24mL,1.38mmol)和HATU(228mg,0.60mmol),并按照实施例1中描述的步骤,获得作为黄色固体的N-[4-(4-溴-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺(137mg,75%),

[0343] mp 233-235°C; ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:3.81(s,2H),7.04(dd,J=J'=8.0Hz,1H),7.06(s,1H),7.21(d,J=4.4Hz,1H),7.23(dd,J=8.0Hz,J'=0.8Hz,1H),7.47(dd,J=8.0Hz,J'=0.8Hz,1H),7.55(d,J=2.4Hz,1H),7.69(s,1H),7.88(d,J=4.4Hz,1H),11.61(br d,J=2.4Hz,1H),12.25(s,1H); IR(ATR) ν.3114,2920,1676,1544,1463,1355,1338,1264,1187,1152,1028,816,774,736,658cm⁻¹;

[0344] $[C_{18}H_{12}^{79}BrN_5OS_2+H^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H]⁺计算值:457.9739,实测值:457.9735。

[0345] 实施例23:2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0346] 由咪唑并[2,1-b][1,3]噻唑-6-基乙酸盐酸盐水合物(24.5mg,0.10mmol)、4-(5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺(26.9mg,0.10mmol)、DIPEA(62.8μL,0.36mmol)和HATU(58.7mg,0.15mmol),并按照实施例1中描述的步骤,获得作为橙色固体的2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(7.7mg,18%);

[0347] mp 232-234°C; ¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ:3.93(d,J=0.8Hz,2H),7.12(d,J=4.4Hz,1H),7.25(s,1H),7.52(dd,J=9.0Hz,J'=0.8Hz,1H),7.69(m,1H),7.73(d,J=4.4Hz,1H),7.88(s,1H),8.09(dd,J=9.0Hz,J'=2.4Hz,1H),9.16(dd,J=2.4Hz,J'=0.8Hz,1H); IR(ATR) ν.3317,3139,2921,1702,1663,1627,1574,1517,1454,1324,1226,1082,828,,737,720,662,644cm⁻¹;

[0348] $[C_{18}H_{12}N_6O_3S_2+H^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H]⁺计算值:425.0485,实测值:425.0490。

[0349] 实施例24:2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0350] 由咪唑并[2,1-b][1,3]噻唑-6-基乙酸盐酸盐水合物(48.5mg,0.20mmol)、4-(5-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺(47.0mg,0.20mmol)、DIPEA(0.12mL,0.69mmol)、HATU(114mg,0.30mmol),并按照实施例1中描述的步骤,获得作为棕色固体的2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(19.1mg,24%);

[0351] mp 160-162°C; ¹H NMR(400MHz,MeOH-d₄) δ:2.46(s,3H),3.91(d,J=0.8Hz,2H),7.00(dd,J=8.0Hz,J'=2.0Hz,1H),7.11(s,1H),7.12(d,J=4.4Hz,1H),7.29(br d,J=8.0Hz,1H),7.63(s,1H),7.69(brs,1H),7.73(d,J=4.4Hz,1H),7.82(m,1H); IR(ATR) ν.3144,2919,1676,1544,1461,1272,1239,1166,796,653,591cm⁻¹;

[0352] $[C_{19}H_{15}N_5OS_2+H^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H]⁺计算值:394.0791,实测值:394.0787。

[0353] 实施例25:2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-甲氧基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0354] 由咪唑并[2,1-b][1,3]噻唑-6-基乙酸盐酸盐水合物(55mg,0.23mmol)、4-(5-甲

氧基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺(60mg,0.23mmol)、DIPEA(0.14mL,0.80mmol)和HATU(131mg,0.34mmol),并按照实施例1中描述的步骤,获得作为米色固体的2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(5-甲氧基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(21mg,22%);

[0355] mp 143-144°C; ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.59(s, 3H), 3.78(s, 3H), 3.84(s, 2H), 6.71(dd, $J=8.4\text{Hz}$, $J'=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.05(s, 2H), 7.20(d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.21(d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 7.45(d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.70(s, 1H), 7.88(d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 11.03(s, 1H), 12.23(s, 1H); IR(ATR) v. 3638, 3428, 3148, 2918, 1670, 1627, 1545, 1484, 1461, 1275, 1214, 1142, 1112, 1063, 1030, 831, 726, 662, 555 cm^{-1} ;

[0356] $[\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}_2+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值:424.0896,实测值:424.0902。

[0357] 实施例26:N-[4-(6-氟-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺

[0358] 由咪唑并[2,1-b][1,3]噻唑-6-基乙酸盐酸盐水合物(62mg,0.26mmol)、4-(6-氟-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(100mg,0.30mmol)、DIPEA(0.21mL,1.21mmol)和HATU(150mg,0.39mmol),并按照实施例1中描述的步骤,获得作为米色固体的N-[4-(6-氟-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺(37mg,35%),

[0359] mp 157-158°C; ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.60(s, 3H), 3.83(s, 2H), 6.87(ddd, $J=10.0\text{Hz}$, $J'=8.8\text{Hz}$, $J''=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.07(s, 1H), 部分重叠7.09(dd, $J=10.0\text{Hz}$, $J'=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.21(d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H), 7.70(s, 1H), 7.88(d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H), 7.97(dd, $J=8.8\text{Hz}$, $J'=6.0\text{Hz}$, 1H), 11.27(s, 1H), 12.28(s, 1H); IR(ATR) v. 3426, 3147, 2918, 1670, 1548, 1487, 1462, 1408, 1342, 1274, 1223, 1137, 1109, 1058, 837, 723, 662, 646, 613, 580, 558 cm^{-1} ;

[0360] $[\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{FN}_5\text{OS}_2+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值:412.0697,实测值:412.0694。

[0361] 实施例27:2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺

[0362] 由咪唑并[2,1-b][1,3]噻唑-6-基乙酸盐酸盐水合物(60mg,0.25mmol)、4-(2-甲基-5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-胺氢溴酸盐(70mg,0.20mmol)、DIPEA(0.16mL,0.92mmol)和HATU(145mg,0.38mmol),并按照实施例1中描述的步骤,获得作为黄色固体的2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(36mg,41%);

[0363] mp 150-151°C; ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 2.64(s, 3H), 3.87(s, 2H), 7.19(s, 1H), 7.22(d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 7.50(d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 7.71(s, 1H), 7.88(dd, $J=4.8\text{Hz}$, $J'=0.9\text{Hz}$, 1H), 7.99(dd, $J=8.8\text{Hz}$, $J'=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.94(d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 11.99(s, 1H), 12.41(s, 1H); IR(ATR) v. 3253, 3146, 3116, 2928, 1673, 1539, 1468, 1452, 1325, 1292, 1254, 1224, 1163, 1063, 898, 847, 741, 669, 642, 555 cm^{-1} ,

[0364] $[\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}_2+\text{H}^+]$ 的HRMS-ESI+m/z[M+H] $^+$ 计算值:439.0642,实测值:439.0649。

[0365] 实施例28:N-[4-(5-氨基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺

[0366] 将2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)-N-[4-(2-甲基-5-硝基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]乙酰胺(50mg, 0.11mmol)、Fe(19mg, 0.34mmol)和NH₄Cl(30mg, 0.56mmol)在MeOH(1mL)和H₂O(0.5mL)的混合物中的溶液在回流下加热过夜。将反应混合物冷却至室温,通过硅藻土垫过滤并用MeOH洗涤。将滤液蒸发并将剩余物通过自动柱色谱法(CH₂Cl₂:MeOH混合物)纯化,提供作为棕色固体的N-[4-(5-氨基-2-甲基-1H-吡啶-3-基)噻唑-2-基]-2-(咪唑并[2,1-b]噻唑-6-基)乙酰胺(16mg, 36%);

[0367] mp 125-126°C; ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 2.57(s, 3H), 3.84(s, 2H), 6.62(br d, J=8.4Hz, 1H), 6.95(s, 1H), 7.12(d, J=8.4Hz, 1H), 7.22(d, J=4.8Hz, 1H), 7.28(s, 1H), 7.70(s, 1H), 7.89(d, J=4.8Hz, 1H), 10.94(s, 1H), 12.27(s, 1H); IR(ATR) v. 3426, 2922, 2851, 1678, 1625, 1544, 1462, 1274, 1132, 1061, 1020, 835, 733, 667, 611, 555cm⁻¹;

[0368] [C₁₉H₁₆N₆OS₂+H⁺]⁺的HRMS-ESI+m/z[M+H]⁺计算值: 409.0900, 实测值: 409.0896。

[0369] 生物学评价. 材料和方法

[0370] TET2. 蛋白质表达和纯化

[0371] 所使用的人甲基胞嘧啶双加氧酶TET2构建体(残基1471-1843被15-残基GS-接头替代的1129-2002)在具有卡那霉素抗性和N-端His6标签的pET-28a(+) psumo载体中表达,并在Rosetta D3大肠杆菌(*Escherichia coli*)感受态细胞中克隆。将转化的细胞在10mL含卡那霉素(50μg/mL)的LB培养基中培养过夜,然后定标至含卡那霉素(50μg/mL)的1L LB培养基中,并在37°C下生长。在光密度(OD₆₀₀)达到0.8之后,在18°C下用0.4mM异丙基-β-硫代半乳糖苷(IPTG)诱导蛋白表达过夜。通过离心(8,000rpm, 4°C, 30分钟)收获细胞,并将获得的沉淀物重悬于15mL缓冲液A(50mM Hepes, 150mM NaCl, 30mM咪唑, 2mMβ-巯基乙醇(pH 8.0)),补充有Pierce蛋白酶抑制剂混合物(ThermoFisher Scientific)并通过超声(1分钟40秒:10次循环×10秒开,30秒关, A=35%, T=19°C)裂解,然后连续离心两次(8,000rpm, 4°C, 30分钟)以使裂解物澄清。

[0372] 使用ÄKTA Start系统(GE Healthcare, 乌普萨拉, 瑞典)通过两步纯化步骤来纯化TET2蛋白质:第一是His-亲和色谱法,随后尺寸排阻色谱法。首先,将裂解期间获得的蛋白质级分(上清液)施加至5mL HisTrap HP柱(GE Healthcare)上,用缓冲液A(50mM Hepes, 150mM NaCl, 30mM咪唑, 2mMβ-巯基乙醇(pH 8.0))洗涤,并用缓冲液B(50mM Hepes, 150mM NaCl, 250mM咪唑, 2mMβ-巯基乙醇(pH 8.0))洗脱结合的蛋白质。将经洗脱的含蛋白质的级分集中并浓缩至4mL,用于最后的纯化步骤:在50mM Hepes、150mM NaCl、2mMβ-巯基乙醇(pH 8.0)中的尺寸排阻色谱法(HiPrep 16/60Sephacryl S-100HR)。最后,通过SDS-电泳法和质谱法核实蛋白质的质量和纯度。

[0373] 通过表面等离子体共振确定TET2结合

[0374] 在25°C下,使用Biacore T200 SPR生物传感器仪器(GE Healthcare, 乌普萨拉, 瑞典)通过表面等离子体共振(Surface Plasmon Resonance, SPR)确定实施例的化合物的结合。在CM5传感器芯片的羧甲基葡聚糖基质(以15μL/分钟的流速注射含有0.1M N-羧基琥珀酰亚胺和0.4M 1-乙基-3-[3-(二甲基氨基)丙基]碳二亚胺盐酸盐的溶液7分钟)活化之后,利用经由胺偶联的标准共价固定,将人TET2构建体固定在CM5传感器芯片上。在以5μL/分钟的流速注射10mM乙酸钠(pH 4.0)中的5μg/mL TET2之后,实现蛋白质固定。通过以15μL/分钟的流速注射1M乙醇胺盐酸盐7分钟来使葡聚糖基质的未反应活化基团失活。使用磷酸盐

缓冲盐水溶液 (1.05x PBS:10mM磷酸盐, pH 7.4, 150mM NaCl) 作为运行缓冲液进行相应的基质活化和蛋白质固定。在DMSO中20mM储备溶液中制备所筛选的化合物,并用1.05x PBS稀释以达到最终5% (v/v)的DMSO浓度。相互作用测定的运行缓冲液由1xPBS、5% (v/v) DMSO构成。用于筛选的流速为60 μ L/分钟,以及配体结合和解离时间设置分别为60秒和120秒。

[0375] 对于数据分析所使用的软件为Biacore T200 Evaluation软件。应用不同的校正。首先,从在TET2表面上获得的信号中减去参考表面(其中在没有蛋白质的情况下进行固定步骤)的信号来校正与芯片表面的非特异性结合和基线漂移。其次,引入一系列溶剂标准物(溶剂校正)来消除来源于DMSO的差异。最后,从注射的化合物信号中减去空白注射(空白减去)来校正背景。

[0376] 通过将R最大值固定为根据固定在芯片表面上的蛋白质的量预期的R最大值,将获得的数据拟合为单点相互作用模型,计算结合亲和力。从记录的传感图中提取稳态值,并将稳态值相对测定的浓度作图。为了确定化合物的解离常数(K_D),通过重复分析从75 μ M开始的初始2倍稀释系列。根据该第一个结果,为了更好地计算预期的 K_D ,进行滴定系列的调整并分析。计算的 K_D 示于下表1中:

[0377] 表1

[0378]

实施例	K_D (μ M)
1	16
2	15
3	16
4	12
5	21
6	5
7	5
8	10
9	9
10	11
11	2
12	6
13	14
14	14
15	11
16	7
17	11
18	5
19	1
20	5
21	7
22	2
23	15

24	1
25	13
26	16
27	2
28	67

[0379] 表1中汇总的结果表明本发明的化合物对TET2具有强的结合亲和力。

[0380] 细胞中TET2活性的确定

[0381] 1. -HEK293T转染

[0382] HEK293T细胞系在含有10% (v/v) 胎牛血清 (FBS) 和1% (v/v) 青霉素-链霉素 (P/S) 的Dulbecco改良的Eagle培养基 (Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM) 中生长。

[0383] 在转染前24小时, 将 3×10^6 个HEK293T细胞接种在预先经0.001% 聚(1-赖氨酸) 包被的p100皿中。在转染前1小时, 在完全培养基中制备各化合物的10 μ M溶液, 并通过在一个p100皿中更换培养基来添加9mL (一式两份)。使用含有DMSO的完全培养基的溶液作为载体对照。然后, 每p100板用150mM NaCl溶液中32 μ g聚乙烯亚胺 (PEI 25000, Polysciences, Inc.) 稀释8 μ g pCMV6-TET2表达载体 (ID:RC226438, Origene) 来制备转染混合物。在室温下孵育15分钟之后, 向各p100板添加1mL转染混合物。第二天, 用新鲜稀释的化合物溶液 (10mL/p100皿) 替换培养基。在转染之后48小时, 用胰蛋白酶消化细胞并沉淀。将各沉淀物悬浮在500 μ L DNA裂解缓冲液 (50mM Tris-HCl pH 8, 10mM EDTA pH 8, 0.1% Triton X-100, 0.5% Tween-20, 400 μ g/mL蛋白酶K, 50 μ g/mL RNase) 中, 并在热混合器中在56 $^{\circ}$ C下孵育过夜。第二天, 按照标准的苯酚-氯仿提取方法从各样品中提取基因组DNA (gDNA)。

[0384] 2. -5-羟基甲基胞嘧啶 (5-hmC (5-hydroxymethylcytosine)) 斑点印迹

[0385] 对于各样品, 将2 μ g gDNA稀释在50 μ L H₂O中。然后, 将50 μ L 2X变性溶液 (0.8M NaOH, 20mM EDTA) 添加至各样品并在95 $^{\circ}$ C下孵育10分钟。将样品紧接地置于冰上以冷却, 并与100 μ L冷的2X中性缓冲液 (2M乙酸铵pH 7) 混合。然后, 将样品在冰上孵育10分钟。通过在下一个孔中将100 μ L各样品与100 μ L H₂O混合来制备DNA两倍系列稀释液, 依此类推。总计设置了7个系列稀释液。在组装的Bio-Dot装置 (Bio-Rad) 中, 将一百微升的各样品及其各自的稀释液点样在带正电荷的尼龙膜 (Amersham Hybond-N+, GE healthcare) 上。在每个孔中添加400 μ L 0.4M NaOH来洗涤样品。然后, 从Bio-Dot装置中取出印迹膜, 并用2X SSC缓冲液 (0.3M NaCl, 30mM柠檬酸钠) 洗涤5分钟, 空气干燥15分钟, 并进行1分钟的UV交联 (能量120, 000 μ J/cm²)。之后, 用封闭溶液 (5%脱脂乳, 0.1% Tween-20在PBS1X中) 将印迹膜在室温下封闭1小时。然后, 在室温下将膜与在封闭溶液中稀释1/10, 000的5-hmC (5-羟基甲基胞嘧啶) 一抗 (#39769, 活性基序) 一起孵育1小时。接下来, 将膜在PBS1X中洗涤三次, 持续5分钟, 并在室温下与在封闭溶液中稀释1/5, 000的抗兔-HRP二抗一起孵育1小时。最后, 将膜在PBS1X中洗涤三次, 持续5分钟, 用SuperSignal West Pico化学发光底物 (ThermoFisher Scientific) 显影, 并暴露于放射自显影胶片 (Fujifilm)。

[0386] 3. -TET2活性计算

[0387] 每个斑点印迹膜允许同时评估最多至6种不同的条件 (一式两份)。在这6种不同的条件中, 总是存在载体和我们的实施例1的化合物的条件, 所以最终我们评估了每个膜的4种新化合物。使用Image J软件量化各点的密度强度。选择不同化合物的密度强度之间差异

最大的稀释条件用于计算。参照载体条件计算倍数变化,并用实施例1条件对各斑点印迹膜进行校正。

[0388] 计算的倍数变化示于下表2中。

[0389] 表2

实施例	倍数变化
4	9.2
12	16.0
13	11.6
19	8.4
21	15.3

[0391] 表2中汇总的结果显示了5-hmC的量的倍数变化,说明催化5-甲基胞嘧啶转化为5-hmC的TET2的活性增加。

[0392] 对HL60细胞系的抗增殖活性

[0393] 将人白血病细胞系HL60在含有10% (v/v) FBS和1% (v/v) P/S (Life Technologies)的RPMI 1640培养基中在悬浮液中生长。以复孔的方式在96多孔板中确定所有化合物经72小时HL60生长的EC₅₀值。将白血病细胞以2×10⁵个细胞/mL的密度悬浮在完全RPMI 1640培养基中,并在每个孔中接种25μL (5×10³个最终总细胞/孔)。在完全培养基中制备实施例1、12和21的化合物的10μM溶液以及所有其他化合物的25μM溶液,然后连续稀释(1:2) (如下表3中所详细说明了)。使用含有DMSO的完全培养基的溶液作为载体对照。

[0394] 表3

化合物	浓度范围 (μM)
实施例 1、实施例 12、实施例 21	10、5、2.5、1.25、0.625、0.31、0.156、0.078、0.039、0.019、0.0097 和 0
所有其他化合物	25、12.5、6.25、3.125、1.56、0.78、0.39 和 0。

[0396] 表3:根据化合物的两倍连续稀释浓度。

[0397] 将二十五微升各连续稀释化合物溶液添加至板的相应孔中(50μL最终体积/孔)。在处理48小时之后,将50μL新鲜的2X连续稀释化合物溶液添加至其相应的孔中(100μL最终体积/孔)。在另外的24小时之后,将等体积(100μL)的CellTiter-Glo试剂(Promega)添加至各孔中,摇动板2分钟,并在室温下孵育10分钟。使用Spark多模式微板读取器和每孔1秒的积分时间来记录发光。

[0398] 对其他肿瘤细胞系的抗增殖活性

[0399] 在补充有10% FBS(v/v)和1% P/S(v/v)的相应细胞培养基(如表4中所详细说明了)中培养其他的人贴壁癌细胞系。在用待测试的化合物(实施例1、12和21)处理前24小时,根据细胞系将细胞以不同的密度接种在96孔板中(如表4中所详细说明了)。

[0400] 表4

细胞系	培养基	接种细胞数/孔
-----	-----	---------

A375(黑素瘤)	DMEM	12,000
T98G(胶质母细胞瘤)	DMEM	12,000
LN229(胶质母细胞瘤)	DMEM	2,000
Hop62(肺)	RPMI 1640	3,000
MCF7(乳房)	DMEM	8,000
MDA-MD-468(乳房)	RPMI 1640	9,000
HCT116(结肠)	RPMI 1640	12,000

[0402] 表4:用于计算EC₅₀的细胞的数量、培养基和癌细胞系。

[0403] 根据细胞系,在完全培养基中制备实施例1、12和21的化合物的50μM、125μM或250μM溶液,然后连续稀释(1:2)(表5)。使用含有DMSO的完全培养基的溶液作为载体对照。

[0404] 表5

细胞系	浓度范围(μM)
A375	50、25、12.5、6.25、3.125、1.56、0.78、0.39、0.195、0.0975、0.048、0.024、0.012、0.006和0
HCT116	125、62.5、31.25、15.625、7.8、3.9、1.95、0.97、0.49、0.24、0.12、0.06、0.03、0.015、0.007、0.003和0
T98G、LN229、Hop62、MCF7和MDA-MB-468	250、125、62.5、31.25、15.625、7.8、3.9、1.95、0.97、0.49、0.24和0

[0406] 表5:根据细胞系的两倍连续稀释浓度。

[0407] 通过在两个孔中更换培养基(一式两份)添加五十微升各连续稀释化合物溶液。在处理48小时之后,将50μL新鲜的2X连续稀释化合物溶液添加至板的相应孔中(100μL最终体积/孔)。在另外的24小时(总计处理72小时)之后,将等体积(100μL)的CellTiter-Glo试剂(Promega)添加至各孔中,摇动板2分钟,并在室温下孵育10分钟。使用Spark多模式微板读取器和每孔1秒的积分时间来记录发光。

[0408] 在人白血病的HL60细胞系中所测试的实施例的EC₅₀(以μM计)汇总在下表6中:

[0409] 表6

[0410]

实施例	EC ₅₀ (μM)
1	0.113
2	4.3
3	1.3
4	2.3
5	12.1
6	3.4
7	9.3
8	0.072
10	3.3
11	2.2

实施例	EC ₅₀ (μM)
12	0.497
13	1.4
14	13.4
15	20.2
17	4.9
18	7.5
19	0.809
21	0.063
22	0.266
24	0.912

[0411] 还对多种癌细胞系测试了一些化合物的EC₅₀ (以μM计), 以表明活性不限于特定的过度增殖性疾病。结果汇总在下表7中:

[0412] 表7

[0413]

实施例	EC ₅₀ (μM)							
	HL60	A375	LN229	T98G	Hop62	MCF7	MD-MB-468	HCT 116
1	0.113	1.4	3.3	73.7	40.1	14.6	16.0	12.1
12	0.497	2.7	5.9	23.1	12.1	10.3	10.1	6.8
21	0.063	1.1	3.3	11.4	81.6	12.9	9.2	16.4

[0414] 表6和表7中汇总的结果表明, 本发明的化合物能够减缓许多不同的肿瘤细胞系的生长。