

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780020948.1

[51] Int. Cl.

C07D 401/10 (2006.01)

A61K 31/513 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 6 月 17 日

[11] 公开号 CN 101460480A

[22] 申请日 2007.4.4

[21] 申请号 200780020948.1

[30] 优先权

[32] 2006.4.5 [33] US [31] 60/789,540

[86] 国际申请 PCT/SE2007/000322 2007.4.4

[87] 国际公布 WO2007/114771 英 2007.10.11

[85] 进入国家阶段日期 2008.12.5

[71] 申请人 阿斯利康(瑞典)有限公司

地址 瑞典南泰利耶

共同申请人 阿斯特克斯医疗公司

[72] 发明人 斯蒂芬·伯格 约翰·赫德斯特罗姆
斯文·赫尔伯格 约翰·马尔姆伯格

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 陈 桢 封新琴

权利要求书 4 页 说明书 34 页

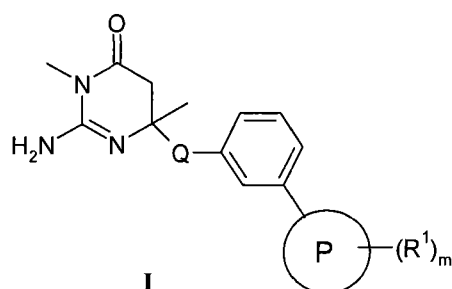
[54] 发明名称

2-氨基嘧啶-4-酮类化合物及其用于治疗
或预防 A β 相关病理的用途

[57] 摘要

本发明涉及一种具有以下结构式(I)的新型化合物及其药学上可接受的盐、组合物和用途。这些新型的化合物能治疗或预防认知缺损、阿尔茨海默病、神经变性和痴呆。

1、游离碱形式的式I化合物，或其药学上可接受的盐、溶剂化物或盐的溶剂化物：



其中：

P为吡啶环；

Q为键或CH₂CH₂；

R¹独立地选自氰基、卤素、C₁₋₆烷基和甲氧基；

m为1或2；

条件是不包括下述化合物；

2-氨基-6-[3-(5-溴吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮；

2-氨基-6-[3-(2-氟吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮；

2-氨基-6-[3-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮。

2、根据权利要求1所述的化合物，其中C₁₋₆烷基表示甲基。

3、根据权利要求1或2所述的化合物，其中Q表示直接键。

4、根据权利要求1-3任一项所述的化合物，其中，m为1，以及R¹为氰基、甲氧基或者卤素。

5、根据权利要求4所述的化合物，其中R¹为卤素，所述卤素为连接在吡啶环2-位上的氯。

6、根据权利要求2或3所述的化合物，其中m为2，以及R¹表示一个卤素和一个甲基。

7、根据权利要求6所述的化合物，其中卤素为连接到吡啶环6-位上的氟。

8、根据权利要求2或3所述的化合物，其中m为2，以及R¹表示两个卤素原子。

9、根据权利要求8所述的化合物，其中所述两个卤素原子表示下列卤素组合中的任一种组合：连接在吡啶环2-和3-位上的氯；连接在吡啶环2-位上的氟和连接在吡啶环5-位上的溴；连接在吡啶环2-位上的氯和连接在吡啶环5-位上的氟；连接在吡啶环2-位上的氟和连接在吡啶环5-位上的氯。

10、根据权利要求2所述的化合物，其中Q表示 $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ 。

11、根据权利要求10所述的化合物，其中m为1，以及 R^1 选自卤素或者甲氧基。

12、根据权利要求11所述的化合物，其中所述卤素为连接在吡啶环2-位上的氯。

13、根据权利要求10所述的化合物，其中m为2，以及 R^1 表示两个卤素原子。

14、根据权利要求13所述的化合物，其中所述两个卤素原子表示连接在吡啶环2-位上的氟和连接在吡啶环5-位上的氯。

15、游离碱形式的化合物，或其药学上可接受的盐、溶剂化物或者盐的溶剂化物，所述化合物选自：

5-[3-(2-氨基-1,4-二甲基-6-氧代-1,4,5,6-四氢嘧啶-4-基)苯基]吡啶-3-甲腈盐酸盐；

2-氨基-6-[3-(2,3-二氯吡啶-4-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮乙酸盐；

2-氨基-6-[3-(5-溴-2-氟吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮乙酸盐；

2-氨基-6-[3-(2-氯-5-氟吡啶-4-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮三氟乙酸盐；

2-氨基-6-[3-(5-氯-2-氟吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐；

2-氨基-6-[3-(6-氟-5-甲基吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮 盐酸盐；

2-氨基-6-[3-(2-氯吡啶-4-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐；

2-氨基-6-{2-[3-(2-氯吡啶-4-基)苯基]乙基}-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐；

2-氨基-6-[3-(5-甲氧基吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐;

2-氨基-6-{2-[3-(6-甲氧基吡啶-2-基)苯基]乙基}-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐; 和

2-氨基-6-{2-[3-(5-氯-2-氟吡啶-3-基)苯基]乙基}-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐。

16、一种药物组合物,所述组合物包括作为活性成分的、治疗有效量的根据权利要求1-15任一项所述的化合物,以及包括药学上可接受的赋型剂、载体或稀释剂。

17、权利要求1-15任一项所述的化合物作为药物的用途。

18、权利要求1-15任一项所述的化合物作为药物用于治疗或预防A β -相关病理的用途。

19、权利要求1-15任一项所述的化合物作为药物用于治疗或预防A β -相关病理的用途,其中所述A β -相关病理为唐氏综合征、 β -淀粉样血管病、脑淀粉样血管病、遗传性脑出血、与认知缺损相关的障碍、MCI(“轻度认知缺损”)、阿尔茨海默病、记忆丧失、与阿尔茨海默病相关的注意力缺陷症状、与阿尔茨海默病相关的神经变性、混合型血管起源的痴呆、变性起源的痴呆、早老性痴呆、老年性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、进行性核上麻痹或皮质基质变性。

20、权利要求1-15任一项所述化合物在制备用于治疗或预防A β -相关病理的药物中的用途。

21、权利要求1-15任一项所述化合物在制备用于治疗A β -相关病理的药物中的用途,其中所述A β -相关病理为唐氏综合征、 β -淀粉样血管病、脑淀粉样血管病、遗传性脑出血、与认知缺损相关的障碍、MCI(“轻度认知缺损”)、阿尔茨海默病、记忆丧失、与阿尔茨海默病相关的注意力缺陷症状、与阿尔茨海默病相关的神经变性、混合型血管起源的痴呆、变性起源的痴呆、早老性痴呆、老年性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、进行性核上麻痹或皮质基质变性。

22、抑制BACE活性的方法,包括使BACE与权利要求1-15任一项所述的化合物相接触。

23、治疗或预防哺乳动物的A β -相关病理的方法,包括给予所述患者治

疗有效量的权利要求1-15任一项所述的化合物。

24、根据权利要求23所述的方法，其中所述A β -相关病理为唐氏综合征、 β -淀粉样血管病、脑淀粉样血管病、遗传性脑出血、与认知缺损相关的障碍、MCI(“轻度认知缺损”)、阿尔茨海默病、记忆丧失、与阿尔茨海默病相关的注意力缺陷症状、与阿尔茨海默病相关的神经变性、混合型血管起源的痴呆、变性起源的痴呆、早老性痴呆、老年性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、进行性核上麻痹或皮质基质变性。

25、根据权利要求23所述的方法，其中所述哺乳动物是人类。

26、治疗或预防哺乳动物的A β -相关病理的方法，包括给予所述患者治疗有效量的权利要求1-15任一项所述的化合物和至少一种认知增强剂、记忆增强剂或者乙酰胆碱酯酶抑制剂。

27、根据权利要求26所述的方法，其中所述A β -相关病理为唐氏综合征、 β -淀粉样血管病、脑淀粉样血管病、遗传性脑出血、与认知缺损相关的障碍、MCI(“轻度认知缺损”)、阿尔茨海默病、记忆丧失、与阿尔茨海默病相关的注意力缺陷症状、与阿尔茨海默病相关的神经变性、混合型血管起源的痴呆、变性起源的痴呆、早老性痴呆、老年性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、进行性核上麻痹或皮质基质变性。

28、根据权利要求26所述的方法，其中所述哺乳动物是人类。

2-氨基嘧啶-4-酮类化合物及其用于治疗或预防A β 相关病理的用途

技术领域

本发明涉及新颖的化合物及其药物组合物。此外，本发明涉及用于治疗/或预防以下疾病的治疗方法：A β 相关病理(A β -related pathology)，例如唐氏综合征(Downs syndrome)和 β -淀粉样血管病，例如但不限于脑淀粉样血管病、遗传性脑出血、与认知缺损相关的障碍例如但不限于MCI(“轻度认知缺损”)、阿尔茨海默病(Alzheimer Disease)、记忆丧失、与阿尔茨海默病相关的注意力缺陷症状、与例如阿尔茨海默病那样的疾病相关的神经变性或包括混合型血管起源和变性起源的痴呆、早老性痴呆、老年性痴呆和与帕金森病(Parkinson's disease)相关的痴呆在内的痴呆、进行性核上麻痹或皮质基质变性。

背景技术

数个小组已经鉴定和分离出具有 β -分泌酶活性的天冬氨酸蛋白酶(Hussain et al., 1999、Lin et. al, 2000、Yan et. al, 1999、Sinha et. al., 1999和Vassar et. al., 1999)。 β -分泌酶在相关文献中也称为Asp2(Yan et. al, 1999)、 β 位APP裂解酶(BACE)(Vassar et. al., 1999)或切割酶-2(memapsin-2) (Lin et al., 2000)。BACE的鉴定采用了多种实验手段，例如EST数据库分析(Hussain et al. 1999)、表达克隆(Vassar et.al., 1999)、从所预测的*C. elegans*蛋白的公共数据库鉴定人类同系物(Yan et al. 1999)和最终使用抑制剂来纯化源自人脑的蛋白(Sinha et al. 1999)。因而，五个小组采用三种不同的实验手段鉴定出相同的酶，因而坚信BACE为 β -分泌酶。也提及以下专利文献：WO96/40885、EP871720、美国专利5,942,400和5,744,346、EP855444、US6,319,689、WO99/64587、WO99/31236、EP1037977、WO00/17369、WO01/23533、WO0047618、WO00/58479、WO00/69262、WO01/00663、WO01/00665和US6,313,268。

所发现的是，BACE为胃蛋白酶样天冬氨酸蛋白酶，这种成熟的酶由N-末端催化结构域、跨膜结构域和小胞质结构域组成。BACE在pH为4.0-5.0时

具有最佳活性(Vassar et al, 1999), 并且被标准的胃蛋白酶抑制剂(例如胃酶抑制剂)轻微抑制。已经显示的是, 去掉跨膜结构域和胞质结构域的催化结构域对底物肽具有活性(Lin et al, 2000)。BACE为膜结合的1型蛋白, 其是作为部分活性的酶原而合成的, 并且在脑组织中大量表达。它被认为代表主要的 β -分泌酶活性, 并且被认为是产生淀粉样- β -蛋白(A β)的限速步骤。因而, BACE在阿尔茨海默病的病理中并且在用于治疗阿尔茨海默病的药物开发中受到特别关注。

A β 或淀粉样- β -蛋白是脑斑的主要成分, 而脑斑是阿尔茨海默病所特有的(De Strooper et al, 1999)。A β 是由I类跨膜蛋白(称为APP或淀粉样前体蛋白)的特异性裂解所形成的39-42个残基的肽。A β -分泌酶活性使这种蛋白在残基Met671和Asp672(对APP的770aa同工型进行编号)之间发生裂解, 从而形成A β 的N-末端。所述肽的二次裂解与 γ -分泌酶相关, 从而形成A β 肽的C-末端。阿尔茨海默病(AD)据估计折磨世界上两千万以上的人, 并且相信其是最普遍的痴呆形式。阿尔茨海默病是一种进行性痴呆, 其中由积聚的蛋白质分解产物所形成的大块沉积物即淀粉样斑和神经原纤维缠结积聚在脑中。淀粉样斑被认为是造成在阿尔茨海默患者中发现智力衰退的原因。

发展成阿尔茨海默病的可能性随年龄而增大, 并且随着发达国家老龄人口的增加, 这种疾病成为日益严重的问题。除此之外, 阿尔茨海默病存在家族性关联, 因此具有双重APP突变(称为Swedish突变, 其中突变的APP构成BACE的相当大改进的底物)的任何个体发展成AD的可能性要大得多, 并且在年轻时发展成AD的可能性也要大得多(另外参见US 6,245,964和US 5,877,399, 其涉及包括APP-Swedish的转基因啮齿动物)。因此, 也强烈需要开发出能以预防性方式用于这些个体的化合物。

发现编码APP的基因位于21号染色体上, 所述21号染色体也是在唐氏综合征中所发现的作为额外副本的染色体。唐氏综合征患者趋于在年轻时患有阿尔茨海默病, 40岁以上的唐氏综合征患者几乎都显示出阿尔茨海默型病理(Oyama et al., 1994)。这被认为是由于在这些患者中所发现的APP基因的额外副本, 它引起了APP的过度表达, 因此增加了APP β 水平, 从而导致阿尔茨海默病在这类人群中的高发病率。因而, BACE的抑制剂可用于减少唐氏综合征患者的阿尔茨海默型病理。

因此, 降低或阻断BACE活性的药物应当能够在脑中或在沉积有A β 或其

片段的其它地方降低A β 水平和A β 片段的水平,因而延缓淀粉样斑的形成和AD或牵涉A β 或其片段沉积的其它病患的进展(Yankner, 1996; De Strooper and Konig, 1999)。因此, BACE就开发用于治疗 and/或预防以下疾病的药物而言是重要的候选靶标: A β 相关病理, 例如唐氏综合征和 β -淀粉样血管病, 例如但不限于脑淀粉样血管病、遗传性脑出血、与认知缺损相关的障碍例如但不限于MCI(“轻度认知缺损”)、阿尔茨海默病、记忆丧失、与阿尔茨海默病相关的注意力缺陷症状、与例如阿尔茨海默病那样的疾病相关的神经变性或包括混合型血管起源和变性起源的痴呆、早老性痴呆、老年性痴呆和与帕金森病相关的痴呆在内的痴呆、进行性核上麻痹或皮质基质变性。

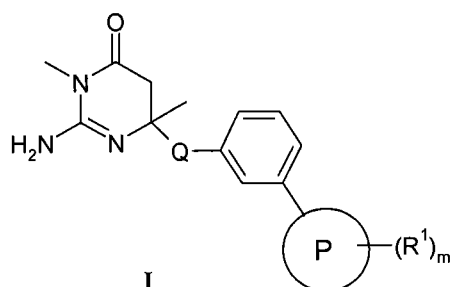
因此, 通过用抑制剂(例如本申请所提供的化合物)抑制BACE, 对抑制A β 及其部分的沉积是有用的。

抑制A β 沉积的治疗意义已经激发了许多团队分离并表征分泌酶以及识别它们的潜在抑制剂(参见, 例如, WO01/23533 A2, EP0855444, WO00/17369, WO00/58479, WO00/47618, WO00/77030, WO01/00665, WO01/00663, WO01/29563, WO02/25276, US5,942,400, US6,245,884, US6,221,667, US6,211,235, WO02/02505, WO02/02506, WO02/02512, WO02/02518, WO02/02520, WO02/14264, WO05/058311, WO05/097767, WO06/041404, WO06/041404, WO06/0065204, US2006287294, WO06/138265, WO06/138217, WO06/138230, WO06/138264, WO06/138266, WO06/099379, US20070004786, US20070004730, WO07/011833, WO07/011810)。

与本领域已知的潜在抑制剂相比, 本发明化合物显示出改善的性质, 例如改善了hERG的选择性。

发明内容

本申请提供新型的式I化合物, 其为游离碱形式或者其药学上可接受的盐、溶剂化物或者盐的溶剂化物:



其中:

P为吡啶环;

Q为键或 CH_2CH_2 ;

R^1 独立地选自氰基、卤素、 C_{1-6} 烷基和甲氧基;

m为1或2。

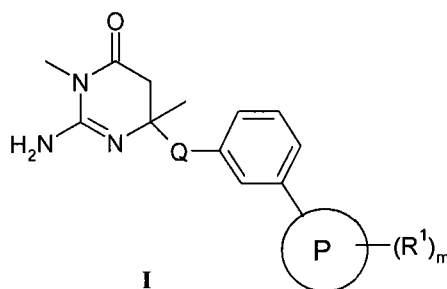
本发明进一步提供了药物组合物,其包括作为活性成分的、治疗有效量的式I化合物以及包括药学上可接受的赋形剂、载体或者稀释剂。

本发明进一步提供了调节BACE活性的方法,包括使BACE酶与式I化合物接触。

本发明进一步提供了治疗或者预防患者与 $\text{A}\beta$ -相关的病理(pathology)的方法,包括给予患者治疗有效量的式I化合物。

本发明进一步提供了本申请披露的化合物,将其用作药物。

本发明的一个方面,提供了一种式I化合物,其为游离碱形式或者其药学上可接受的盐、溶剂化物或者盐的溶剂化物:



其中

P为吡啶环;

Q为键或 CH_2CH_2 ;

R^1 独立地选自氰基、卤素、 C_{1-6} 烷基和甲氧基;

m为1或2;

条件是不包括下述化合物;

2-氨基-6-[3-(5-溴吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮;

2-氨基-6-[3-(2-氟吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮;

2-氨基-6-[3-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮。

本发明的另一个方面,提供了一种式I化合物,其中 C_{1-6} 烷基代表甲基。

本发明的另一个方面,提供了一种式I化合物,其中Q代表直接键(direct bond)。

本发明的另一个方面,提供了一种式I化合物,其中m为1,以及 R^1 为氰基、甲氧基或者卤素。

在该方面的一个具体实施方案中， R^1 为卤素，所述卤素为连接在吡啶环2-位上的氯。

在本发明的另一方面，提供了一种式I化合物，其中m为2，以及 R^1 代表一个卤素和一个甲基。

在该方面的一个实施方案中，所述卤素为连接到吡啶环6-位上的氟。

在本发明的另一个方面，提供了一种式I化合物，其中m为2，以及 R^1 代表两个卤素原子。

在该方面的一个实施方案中，所述两个卤素原子代表下列卤素组合中的任一个组合：连接在吡啶环2-和3-位上的氯；连接在吡啶环2-位上的氟和连接在吡啶环5-位上的溴；连接在吡啶环2-位上的氯和连接在吡啶环5-位上的氟；连接在吡啶环2-位上的氟和连接在吡啶环5-位上的氯。

在本发明的另一个方面，提供了一种式I化合物，其中Q代表 CH_2-CH_2 。

在该方面的一个实施方案中，m为1， R^1 选自卤素或者甲氧基，例如 R^1 为连接在吡啶环2-位上的氯。

在该方面的另一个实施方案中，m为2并且 R^1 代表两个卤素原子，例如 R^1 为连接在吡啶环2-位上的氟和连接在吡啶环5-位上的氯。

在本发明的另一个方面，提供了式I化合物，其为游离碱形式或者其药学上可接受的盐、溶剂化物或者盐的溶剂化物，所述化合物为：

5-[3-(2-氨基-1,4-二甲基-6-氧代-1,4,5,6-四氢嘧啶-4-基)苯基]吡啶-3-甲腈盐酸盐；

2-氨基-6-[3-(2,3-二氯吡啶-4-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮乙酸盐；

2-氨基-6-[3-(5-溴-2-氟吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮乙酸盐；

2-氨基-6-[3-(2-氯-5-氟吡啶-4-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮三氟乙酸盐；

2-氨基-6-[3-(5-氯-2-氟吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐；

2-氨基-6-[3-(6-氟-5-甲基吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐；

2-氨基-6-[3-(2-氯吡啶-4-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮盐

酸盐;

2-氨基-6-{2-[3-(2-氯吡啶-4-基)苯基]乙基}-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐;

2-氨基-6-[3-(5-甲氧基吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐;

2-氨基-6-{2-[3-(6-甲氧基吡啶-2-基)苯基]乙基}-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐; 和

2-氨基-6-{2-[3-(5-氯-2-氟吡啶-3-基)苯基]乙基}-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐。

式I化合物中的一些可以具有立体中心和/或几何异构中心(E-和Z-异构体), 并且能够理解的是, 本发明包括所有这些光学异构体、对映异构体、非对映异构体、阻转异构体和几何异构体。

本发明涉及上述定义的式I化合物及其盐的用途。用于药物组合物中的盐为药学上可接受的盐, 但是其它盐可以用于生产式I化合物。

可以理解的是, 本发明涉及式I化合物的任何互变异构形式以及所有互变异构形式。

本发明化合物可以用作药物。在某些实施方案中, 本发明提供了式I化合物或其药学上可接受的盐、互变异构体或者其体内-可水解的前体, 用作药物。在某些实施方案中, 本发明提供了本文描述的用作用于治疗或预防A β -相关病理的药物的化合物。在某些进一步的实施方案中, 所述A β -相关病理为唐氏综合征、 β -淀粉样血管病、脑淀粉样血管病、遗传性脑出血、与认知缺损相关的障碍、MCI(“轻度认知缺损”)、阿尔茨海默病、记忆丧失、与阿尔茨海默病相关的注意力缺陷症状、与阿尔茨海默病相关的神经变性(neurodegeneration associated with Alzheimer disease)、混合型血管起源的痴呆、变性起源的痴呆、早老性痴呆、老年性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、进行性核上麻痹或皮质基质变性。

在某些实施方案中, 本发明提供了式I化合物或其药学上可接受的盐、互变异构体或者体内-可水解的前体在制备用于治疗或者预防A β -相关病理的药物中的用途。在某些进一步实施方案中, A β -相关病症包括例如唐氏综合征、 β -淀粉样血管病, 例如但不限于脑淀粉样血管病、遗传性脑出血、与认知缺损相关的障碍, 例如但不限于MCI(“轻度认知缺损”)、阿尔茨海默病、

记忆丧失、与疾病例如阿尔茨海默病相关的注意力缺陷症状、与阿尔茨海默病相关的神经变性或痴呆包括混合型血管起源的痴呆和变性起源的痴呆、早老性痴呆、老年性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、进行性核上麻痹或皮质基质变性。

在某些实施方案中，本发明提供了抑制BACE活性的方法，包括使BACE与本发明化合物相接触。一般认为，BACE代表了主要 β -分泌酶活性，并且其被认为是淀粉样- β -蛋白(A β)产生中的限速步骤。因此，通过抑制剂例如本发明提供的化合物来抑制BACE将用于抑制A β 及其部分蛋白的沉积。由于A β 及其部分蛋白的沉积与疾病例如阿尔茨海默病有关，因此BACE是重要的用于开发药物的候选者，所述药物用于治疗和/或预防A β -相关病理，例如唐氏综合征、 β -淀粉样血管病，例如但不限于脑淀粉样血管病、遗传性脑出血、与认知缺损相关的障碍，例如但不限于MCI(“轻度认知缺损”)、阿尔茨海默病、记忆丧失、与阿尔茨海默病相关的注意力缺陷症状、与阿尔茨海默病相关的神经变性或痴呆包括混合型血管起源的痴呆和变性起源的痴呆、早老性痴呆、老年性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、进行性核上麻痹或皮质基质变性。

在某些实施方案中，本发明提供了治疗A β -相关病理的方法，所述A β -相关病理例如唐氏综合征和 β -淀粉样血管病，例如但不限于脑淀粉样血管病、遗传性脑出血、与认知缺损相关的障碍，例如但不限于MCI(“轻度认知缺损”)、阿尔茨海默病、记忆丧失、与阿尔茨海默病相关的注意力缺陷症状、与如阿尔茨海默病相关的神经变性或痴呆包括混合型血管起源的痴呆和变性起源的痴呆、早老性痴呆、老年性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、进行性核上麻痹或皮质基质变性，所述方法包括给予哺乳动物(包括人)治疗有效量的式I化合物或其药学上可接受的盐、互变异构体或者体内-可水解的前体。

在某些实施方案中，本发明提供了预防A β -相关病理的方法，所述A β -相关病理例如唐氏综合征和 β -淀粉样脑血管病，例如但不限于脑淀粉样血管病、遗传性脑出血、与认知缺损相关的紊乱，例如但不限于MCI(“轻度认知缺损”)、阿尔茨海默病、记忆丧失、与阿尔茨海默病相关的注意缺陷症状、与疾病例如阿尔茨海默病相关的神经退行性变或者痴呆包括混合血管原性和变性原性痴呆、早老性痴呆、老年性痴呆和与有关帕金森病、进行性核上性麻痹或者皮质基底节变性有关的痴呆，所述方法包括给予哺乳动物(包括

人)治疗有效量的式I化合物、或其药学上可接受的盐、互变异构体或者体内-可水解的前体。

在某些实施方案中,本发明提供了通过给予哺乳动物(包括人)式I化合物或其药学上可接受的盐、互变异构体或者体内-可水解的前体和认知增强剂和/或记忆增强剂来治疗或预防A β -相关病理的方法,所述A β -相关病理例如唐氏综合征和 β -淀粉样血管病,例如但不限于脑淀粉样血管病、遗传性脑出血、与认知缺损相关的障碍,例如但不限于MCI(“轻度认知缺损”)、阿尔茨海默病、记忆丧失、与阿尔茨海默病相关的注意力缺陷症状、与疾病如阿尔茨海默病相关的神经变性或痴呆包括混合型血管起源的痴呆、变性起源的痴呆、早老性痴呆、老年性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、进行性核上麻痹或皮质基质变性。

在某些实施方案中,本发明提供了通过给予哺乳动物(包括人)式I化合物、或其药学上可接受的盐、互变异构体或者体内-可水解的前体(本发明在此提供了组成成分)和胆碱酯酶抑制剂或者消炎剂来治疗或预防A β -相关病理的方法,所述A β -相关病理例如唐氏综合征和 β -淀粉样血管病,例如但不限于脑淀粉样血管病、遗传性脑出血、与认知缺损相关的障碍,例如但不限于MCI(“轻度认知缺损”)、阿尔茨海默病、记忆丧失、与阿尔茨海默病相关的注意力缺陷症状、与疾病如阿尔茨海默病相关的神经变性或痴呆包括混合型血管起源的痴呆和变性起源的痴呆、早老性痴呆、老年性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、进行性核上麻痹或皮质基质变性。

在某些实施方案中,本发明提供了通过给予哺乳动物(包括人)本发明化合物和一种非典型抗精神病药来治疗或预防A β -相关病理的方法,所述A β -相关病理例如唐氏综合征和 β -淀粉样脑血管病,例如但不限于脑淀粉样血管病、遗传性脑出血、与认知缺损相关的障碍,例如但不限于MCI(“轻度认知缺损”)、阿尔茨海默病、记忆丧失、与阿尔茨海默病相关的注意力缺陷症状、与疾病如阿尔茨海默病相关的神经变性或痴呆包括混合型血管起源的痴呆、变性起源的痴呆、早老性痴呆、老年性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、进行性核上麻痹或皮质基质变性,或者本文描述的任何其它疾病、紊乱或者病症。非典型抗精神病药包括但不限于,奥氮平(商品名Zyprexa)、阿立哌唑(商品名Abilify)、利培酮(商品名Risperdal)、奎硫平(商品名Seroquel)、氯氮平(商品名Clozaril)、齐拉西酮(商品名Geodon)和奥氮平/氟西汀(商品名Symbyax)。

在某些实施方案中，用本发明化合物治疗的哺乳动物或者人类已经被诊断患有特定的疾病或紊乱，例如患有本文所描述的那些疾病。在这些情况下，被治疗的哺乳动物和人类需要上述治疗。然而，不必事先进行诊断。

本发明还包括药物组合物，其含有作为活性成分的一个或多个本发明的化合物及至少一种药学上可接受的载体、稀释剂或者辅料(excipient)。

本申请中阐明的定义用来明确本申请中使用的术语。术语“本文”意指整个申请。

本申请中的多个化合物可以存在特定的几何构型形式或者立体异构形式。本发明涵盖了所有这些化合物，包括顺式和反式异构体、R-和S-对映体、非对映异构体、(D)-异构体、(L)-异构体、其外消旋混合物，及这些化合物的其它混合物，这些化合物都包括在本发明的保护范围内。在取代基例如烷基中还可能存在另外的不对称碳原子。所有这些异构体，以及它们的混合物都在本发明的保护范围中。本文描述的化合物可以具有不对称中心。可以以光学活性形式或者外消旋形式分离得到含有不对称取代原子的本发明化合物。本领域已经熟知如何制备光学活性形式的化合物，例如通过拆分化合物的消旋形式、通过从光学活性原料开始合成、或者使用光学活性试剂合成。如果需要，可以通过本领域已知的方法完成外消旋物质的拆分。本文描述的化合物还可以存在许多烯烃、C=N双键及类似结构的几何异构体，并且所有这些稳定的异构体都在本发明保护范围内。本文描述了本发明化合物的顺式几何异构体和反式几何异构体，这些几何异构体可以以异构体混合物的形式分离或者以单独的异构体形式分离。某一种结构的所有手性、非对映体、外消旋形式以及所有几何异构体形式都在本发明的保护范围内，除非特别指明特定的立体化学或者异构体形式不包括在内。

当连接取代基的键显示为穿过连接同一环上两个原子的键的形式时，则表示所述取代基可以连接到环上的任何原子上。当列出取代基而未指出所述取代基是通过哪个原子连接到给定通式化合物的剩余部分时，则所述取代基可以通过该取代基中的任意原子连接。如果取代基的组合、取代基位置的组合和/或变量的组合能够形成稳定化合物，则这样组合也是可以的。

本文中的“烷基”单独使用或者作为后缀或前缀使用，用以包括具有1至12个碳原子的支链和直链饱和脂肪烃基团，或者如果规定了特定数目的碳原子则将指的是所述特定碳原子数的烷基。例如“C₁₋₆烷基”表示具有1、2、3、

4、5或6个碳原子的烷基。烷基的例子包括但不限于：甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基和己基。

本文使用的“卤代”或“卤素”指的是氟、氯、溴和碘。

本文使用的“药学上可接受的”用来指那些在合理的医学判断范围内适用于与人类和动物组织相接触且无过度的毒性、刺激、过敏性反应或者其它问题或并发症的化合物、物质、组合物和/或剂型，与合理的受益/风险的比率(benefit/risk ratio)匹配。

本文使用的“药学上可接受的盐”指的是所公开化合物的衍生物，其中母体化合物通过制成其酸盐或碱盐而得到修饰。药学上可接受的盐的例子包括，但不限于，碱性残基例如胺的无机酸盐或有机酸盐；酸性残基例如羧酸的碱金属盐或有机盐；依此类推。所述药学上可接受的盐包括常见的无毒盐或者母体化合物的季铵盐，例如由无毒无机酸或有机酸形成的盐。例如，所述常见无毒盐包括衍生自无机酸例如盐酸的盐。

本发明药学上可接受的盐可以从含有碱性或酸性部分的母体化合物采用常规的化学方法合成。通常，上述盐可以通过使游离酸或游离碱形式的这些化合物与化学计算量的适当的碱或酸在水或在有机溶液或两者的混合溶液中进行反应；通常使用无水介质如二乙醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈。

本文使用的“体内可水解的前体”意指含有羧基或羟基的式(I)化合物的体内可分解(或可裂解)的酯。例如氨基酸酯、C₁₋₆烷氧基甲酯如甲氧基甲基；C₁₋₆烷酰氧基甲基酯如特戊酰氧基甲基；C₃₋₈环烷氧基羰基氧基C₁₋₆烷基酯如1-环己基羰基氧基乙基、乙酰氧基甲氧基或氨基磷酸环脂(phosphoramidic cyclic esters)。

本文使用的“互变异构体”意指由于氢原子的迁移形成的、存在平衡中的其它结构的异构体。例如，酮-烯醇互变异构，其中得到的化合物既具有酮的性质也具有不饱和醇的性质。

本文使用的“稳定化合物”和“稳定结构”是指足够稳固，能够从反应混合物中经受分离得到有效纯度的化合物，并进一步配制成有效治疗剂。

本发明化合物进一步包括水合物和溶剂化物。

本发明还包括同位素标记的本发明化合物。“同位素标记”或“放射性标记”的化合物是具有以下特征的本发明化合物：其中一个或多个原子被原子

质量或质量数不同于自然界中常见原子质量或质量数的(即天然存在的)原子代替或取代。可结合在本发明化合物中的合适放射性核素包括但不限于 ^2H (也写作D, 表示氘)、 ^3H (也写作T, 表示氚)、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{13}N 、 ^{15}N 、 ^{15}O 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{18}F 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 、 ^{82}Br 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{77}Br 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 和 ^{131}I 。结合在这些放射性标记的化合物中的放射性核素取决于所述放射性标记的化合物的具体应用。例如, 就体外受体标记和竞争测定而言, 结合有 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{82}Br 、 ^{125}I 、 ^{131}I 或 ^{35}S 的化合物通常是最有用的。就放射性成像应用而言, ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{131}I 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 或 ^{77}Br 通常是最有用的。

应该理解的是, “放射性标记的化合物”是结合有至少一个放射性核素的化合物。在一些实施方案中, 放射性核素选自 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{125}I 、 ^{35}S 和 ^{82}Br 。

本申请所定义的抗痴呆治疗可应用为单独的疗法, 或者应用为包括本发明化合物在内的常规化学疗法。上述化疗可以包括一个或多个下述试剂类型: 乙酰胆碱酯酶抑制剂、消炎剂、认知和/或记忆增强剂或者非典型抗精神病剂。

这种联合治疗可通过各个治疗成分的同时、依次或分开给予来进行。这些组合产品使用本发明的化合物。

本发明的化合物可按以下方式给予: 口服、肠胃外、口腔、阴道、直肠、吸入、吹入、舌下、肌内、皮下、局部、鼻内、腹膜内、胸内、静脉内、硬膜外、鞘内、脑室内和注射到关节中。

当针对具体患者确定最合适的个体给药方案和剂量水平时, 剂量取决于给药途径、疾病的严重程度、患者的年龄和体重及主治医师所通常考虑的其它因素。

本发明化合物用于治疗痴呆的有效量为足以对症缓解温血动物(特别是人类)痴呆症状、减缓痴呆进展或降低痴呆症状患者恶化危险的量。

为了从本发明的化合物制备药物组合物, 惰性可药用载体可以是固体或液体。固态制剂包括粉剂、片剂、可分散颗粒剂、胶囊剂、扁囊剂和栓剂。固体载体可以是一种或多种物质, 其也可作为稀释剂、矫味剂、增溶剂、润滑剂、助悬剂、粘合剂或片剂崩解剂, 其也可以是包封材料。

在粉剂中, 载体为微细粉碎的固体, 其与微细粉碎的活性成分混合。在片剂中, 活性成分与具有必要粘合性质的载体按合适的比例混合, 然后压制成所期望的形状和大小。

为了制备栓剂组合物, 首先将低熔点蜡(例如脂肪酸甘油酯和可可脂的混合物)熔化, 然后例如通过搅拌, 在其内分散活性组分。然后, 将熔化的均质混合物倾倒入合适尺寸的模具中, 然后使其冷却和固化。

合适的载体包括碳酸镁、硬脂酸镁、滑石、乳糖、蔗糖、果胶、糊精、淀粉、黄蓍胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、低熔点蜡、可可脂等。

在一些实施方案中, 本发明提供了式(I)化合物或其可药用盐, 其用于对哺乳动物(包括人类)进行治疗性处置(包括预防性处置), 其通常按照标准的药学实践来配制成药物组合物。

除本发明的化合物之外, 本发明的药物组合物也可包含一种或多种对一种或多种本申请所述病症有治疗价值的药理成分, 或与一种或多种对一种或多种本申请所述病症有治疗价值的药理成分联用(同时或依次给予)。

术语“组合物”意在包括活性成分或其可药用盐与可药用载体的制剂。例如, 本发明可通过本领域所已知的方法来配制成以下形式: 例如片剂、胶囊剂、水性溶液剂或油性溶液剂、混悬剂、乳剂、膏剂、软膏剂、凝胶剂、鼻喷雾剂、栓剂、用于吸入的微细粉碎的粉剂或气雾剂或雾化剂及用于肠胃外使用(包括静脉内、肌内或输注)的无菌水性溶液剂或油性溶液剂或混悬剂或无菌乳剂。

液态组合物包括溶液剂、混悬剂和乳剂。作为适于肠胃外给药的液体制剂的实例, 可提及活性化合物的无菌水溶液或无菌水-丙二醇溶液。也可将液体组合物配制成水性聚乙二醇溶液。口服给药用的水性溶液剂可通过以下方法来制备: 将活性成分溶解在水中, 并且根据需要来添加合适的着色剂、矫味剂、稳定剂和增稠剂。口服用的水性混悬剂可通过以下方法来制备: 将微细粉碎的活性成分与粘性物质(例如天然/合成树胶、树脂、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和制药领域所已知的其它助悬剂)一起分散在水中。

药物组合物可以是单位剂型。就这种形式而言, 将组合物分成含有适量活性成分的单位剂量。单位剂型可以是包装制剂, 所述包装包含分开量的制剂, 例如包装在小瓶或安瓿中的片剂、胶囊剂和粉剂。单位剂型也可以是胶囊剂、扁囊剂或片剂本身, 或可以是合适数目的任意这些包装形式。

可将组合物配制成用于任意合适的给药途径和方法。可药用载体或稀释剂包括在适于以下给药的制剂中所使用的那些物质: 口服给药、直肠给药、鼻给药、局部(包括口腔和舌下)给药、阴道给药或肠胃外(包括皮下、肌内、

静脉内、皮内、鞘内和硬膜外)给药。出于方便的原因,制剂可以是单位剂型,并且可通过药学领域众所周知的任意方法来制备。

就固体组合物而言,可使用常规无毒性固体载体,包括例如药物级的甘露醇、乳糖、纤维素、纤维素衍生物、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、滑石、葡萄糖、蔗糖、碳酸镁等。可用于给药的液体组合物可例如通过以下方法来制备:将以上所定义的活性化合物及任选的药物辅料溶解、分散等在载体(例如水、盐水、葡萄糖水溶液、甘油、乙醇等)中,由此形成溶液或混悬液。如果需要,待给药的药物组合物也可包含少量无毒性辅助物质,例如润湿剂或乳化剂、pH缓冲剂等,例如乙酸钠、脱水山梨醇单月桂酸酯、三乙醇胺乙酸钠、脱水山梨醇单月桂酸酯、油酸三乙醇胺等。制备这些剂型的实际方法是本领域技术人员所已知的,或对于本领域技术人员是显而易见的;例如参见Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 15th Edition, 1975。

可按各种方法来对本发明的化合物进行衍生。本申请所使用的化合物的“衍生物”包括盐(例如可药用盐)、任意复合物(例如与环糊精等化合物形成的包合物(inclusion complex)或螯合物,或与例如 Mn^{2+} 和 Zn^{2+} 等金属离子形成的配合物)、游离酸或游离碱、化合物的多晶型、溶剂化物(例如水合物)、前药或脂质、偶联伴侣(coupling partner)和保护基。例如,“前药”指可在体内转化成生物活性化合物的任意化合物。

本发明化合物的盐优选为生理上良好耐受和无毒性的盐。盐的许多实例是本领域技术人员所已知的。所有这些盐都在本发明的范围内,并且所涉及的化合物包括化合物的盐形式。

在化合物包含胺官能团的情况下,这些化合物可例如通过以下方法来形成季铵盐:按照技术人员众所周知的方法,使所述化合物与烷化剂反应。这些季铵化合物在本发明的范围内。

包含胺官能团的化合物也可形成N-氧化物。本申请所涉及的包含胺官能团的化合物也包括N-氧化物。

在化合物包含若干胺官能团的情况下,可将一个或多个氮原子氧化成N-氧化物。N-氧化物的具体实例为叔胺的N-氧化物或含氮杂环的氮原子的N-氧化物。

N-氧化物可通过以下方法来制备:相应的胺用氧化剂(例如过氧化氢或

过酸(例如过氧羧酸))处理, 参见例如 *Advanced Organic Chemistry*, by Jerry March, 4th Edition, Wiley Interscience, pages. 更具体地, 可通过 L. W. Deady (*Syn. Comm.* 1977, 7, 509-514) 的方法来制备 N-氧化物, 在所述方法中, 使胺化合物与间氯过氧苯甲酸(MCPBA)例如在惰性溶剂(例如二氯甲烷)中反应。

在化合物包含手性中心的情况下, 化合物的各种光学形式(例如对映异构体、差向异构体和非对映异构体及外消旋混合物)都在本发明的范围内。化合物可按多种不同的几何异构形式和互变异构形式存在, 并且所涉及的化合物包括所有这些形式。为了避免疑问, 在化合物可按几种几何异构形式或互变异构形式之一存在并且只具体描述或显示了一种形式的情况下, 所有其它形式都仍然包括在本发明的范围内。

化合物的给药量随所治疗的患者而变化, 并且化合物的给药量为每天约 100ng/kg 体重至 100mg/kg 体重, 优选为每天 10pg/kg 至 10mg/kg。例如, 剂量可由本领域技术人员根据本申请所公开的内容和本领域的知识来容易地确定。因而, 技术人员能够容易地确定组合物中化合物和任选添加剂、媒介物和/或载体的量, 也可容易地确定在本发明的方法中所给药的量。

本发明的化合物已经显示出体外抑制 β 分泌酶(包括 BACE)活性。已经显示的是, β 分泌酶的抑制剂可用于阻断 A β 肽的形成或积聚, 因此在治疗阿尔茨海默病和与 A β 肽水平提高和/或 A β 肽沉积相关的其它神经变性疾病中具有有益的作用。因此, 相信本发明的化合物可用于治疗阿尔茨海默病和与痴呆相关的疾病。因此, 预期本发明的化合物及其盐具有对抗年龄相关疾病(例如阿尔茨海默病及其它 A β 相关病理, 例如唐氏综合征和 β -淀粉样血管病)的活性。预期本发明的化合物最有可能作为单一的药物来使用或与很多种认知缺陷增强药物联用。

通用方法

使用的原料可以从商业来源获得, 或者根据文献方法制备。

使用在 2450MHz 产生连续辐射的 Creator、Initiator 或者 Smith 合成器单模微波室中进行微波加热。

在指示氘化溶剂中在 300MHz、400MHz、500MHz 或者 600MHz 下记录 ^1H NMR 光谱。除非另有说明, 否则可以使用装配 3mm 流动注射 SEI $^1\text{H}/\text{D}-^{13}\text{C}$ 探头(Z-梯度(Z-gradients))的 Bruker av400 NMR 波谱仪获得 400MHz 光谱, 使

用BEST 215液体装置注射试样, 或者使用装备有4-核气动探针头(Z-梯度)的Bruker DPX400 NMR波谱仪获得光谱。使用装备有5mm TXI探针头(Z-梯度)的Bruker DRX600 NMR波谱仪记录600MHz ^1H NMR。使用Varian INOVA, (magnet: Oxford AS500) 500 NMR波谱仪记录500mHz ^1H NMR。在TMS的低磁场和高磁场给出化学位移(ppm)。共振多重性用s、d、t、q、m和br表示, 其分别表示单峰、双峰、三重峰、四重峰、多重峰和宽峰。

使用装配有Waters X-TerramS、C8-柱、(3.5 μm , 100mm x 3.0mm i.d.)的Waters LCMS记录LC-MS分析。流动相系统由A: 10mM 乙酸胺的水/乙腈(95:5)溶液和B: 乙腈构成。采用0%至100%B的线性梯度, 运行4-5分钟、流速为1.0mL/min。质谱仪装配有在阳离子或者阴离子模式操作的电喷雾离子源(ESI)。毛细管电压(capillary voltage)为3 kV并且质谱仪典型地在 m/z 100-700之间扫描。可替换地, LC-MSHPLC条件如下所示: 柱: Agilent Zorbax SB-C8 2mm ID X 50mm; 流速: 1.4mL/min; 梯度: 95% A至90% B, 运行超过3分钟, 保持1分钟, 斜线降至95% A, 运行超过1分钟并保持1分钟。其中A = 2%的乙腈水溶液并含有0.1%的甲酸和B = 2%的乙腈水溶液并含有0.1%的甲酸溶液。使用具有大气压化学电离(APCI或CI)或电喷雾(+ESI)的自动体系测定UV-DAD 210-400 nm质谱(MS)。通常, 仅报告其中能观察到母体化合物质量的光谱。针对分子报告了最低质量主要原子, 其中同位素裂分形成多个质谱峰(例如当存在氯时)。

使用Merck TLC-板(硅胶60 F₂₅₄)进行薄层色谱分析(TLC), spots是UV可见的。使用Merck 硅胶 60(0.040-0.063mm)或者采用Combi Flash[®] Companion[™]体系利用RediSep[™] 正相快速柱进行快速色谱。

已经使用ACD/Name、译本8.08或者9.0(来自Advanced Chemistry Development, Inc.(ACD/Labs)、Toronto ON、www.acdlabs.com、2004的软件)命名化合物。

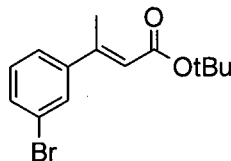
具体实施方式

实施例

下面列举了大量本发明化合物的非限定性实施例。

实施例1

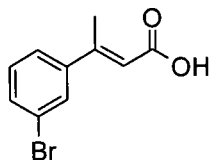
(2E)-3-(3-溴苯基)丁-2-烯酸叔丁酯



向搅拌的、-78℃的二甲基磷酰基乙酸叔丁酯(21.9mL, 0.111mol)的四氢呋喃(150ml)溶液中加入正丁基锂的己烷溶液(1.6m, 72.0mL, 0.116mol), 将所得反应物在-78℃搅拌10min。在混合物中加入3'-溴苯乙酮(3'-bromoacetophenone)(13.4mL, 0.100mol)且使反应混合物升到室温并搅拌18h。减压除去四氢呋喃得到固体。向所述固体中加入己烷(300mL), 研磨固体1小时。通过硅藻土过滤混合物, 减压浓缩滤液得到28.9g标题化合物。其直接用于下一步反应: ^1H NMR (300mHz, DMSO- d_6): δ 1.47 (s, 9h); 2.44 (s, 3h); 6.05 (s, 1h); 7.36 (t, J = 7.8hz, 1h); 7.53 (m, 2h); 7.71 (s, 1h)。

实施例2

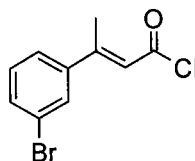
(2E)-3-(3-溴苯基)丁-2-烯酸



将 (2E)-3-(3-溴苯基)丁-2-烯酸叔丁酯(28.9g)粗品的三氟乙酸: 二氯甲烷(1:1, 300mL)溶液在室温搅拌15min, 然后减压除去溶剂得到固体粗品。在己烷(400mL)中研磨所得固体粗品, 过滤并真空干燥, 得到8.87g标题化合物(收率38%): ^1H NMR (300mHz, DMSO- d_6): δ 2.46 (s, 3h); 6.11 (s, 1h); 7.37 (t, J = 7.8hz, 1h); 7.53 (m, 2h); 7.72 (t, J = 1.5hz, 1h)。

实施例3

(2E)-3-(3-溴苯基)丁-2-烯酰氯

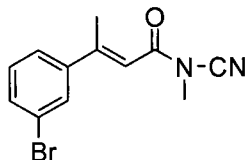


在(2E)-3-(3-溴苯基)丁-2-烯酸(1.0g, 4.15mmol)的二氯甲烷(10mL)悬浮液中加入草酰氯(434 μL , 4.98mmol), 接着加入N,N-二甲基甲酰胺(15 μL ,

0.207mmol), 在室温搅拌所得反应物。2h后, 减压除去溶剂, 得到标题化合物: ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 2.51 (s, 3h); 6.44 (s, 1h); 7.29 (t, $J = 7.8\text{hz}$, 1h); 7.43 (d, $J = 7.8\text{hz}$, 1h); 7.57 (d, $J = 8.7\text{hz}$, 1h); 7.63 (t, $J = 1.8\text{hz}$, 1h)。

实施例4

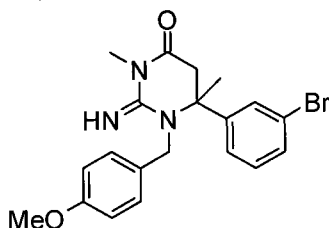
(2E)-3-(3-溴苯基)-N-氰基-N-甲基丁-2-烯酰胺



向 -60°C 并且搅拌的溴化氰(4.24g, 40.0mmol)的四氢呋喃(100mL)溶液中加入碳酸钠(6.36g, 60.0mmol), 接着滴加甲胺的四氢呋喃溶液(2.0m, 20.0mL 40.0mmol)。浴温保持低于 -20°C 2小时。氮气保护下使反应物冷过滤通过硅藻土, 向滤液中加入(2E)-3-(3-溴苯基)-2-烯酰氯(5.19g, 20.00mmol)的四氢呋喃(100mL)溶液。向混合物中加入N,N-二异丙基乙胺(4.2mL, 24.0mmol), 将所得反应物在室温搅拌2h。减压除去溶剂, 将得到的油状物在高真空下过夜。所得粗品化合物通过在硅胶柱上用二氯甲烷洗脱来纯化, 得到4.29g标题化合物(收率75%): ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 2.44 (s, 3h); 3.22 (s, 3h); 6.65 (s, 1h); 7.42 (t, $J = 7.8\text{hz}$, 1h); 7.58 (d, $J = 8.4\text{hz}$, 1h); 7.65 (d, $J = 7.8\text{hz}$, 1h); 7.76 (t, $J = 1.8\text{hz}$, 1h)。

实施例5

6-(3-溴苯基)-2-亚氨基-1-(4-甲氧基苄基)-3,6-二甲基四氢嘧啶-4(1H)-酮

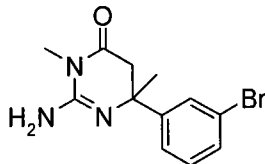


在(2E)-3-(3-溴苯基)-N-氰基-N-甲基丁-2-烯酰胺(12.77g, 45.75mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(50mL)溶液中加入4-甲氧基苄胺(14.9mL, 114.38mmol)。4h后, 减压除去溶剂, 将得到的粘稠油在高真空中过夜。所得粗品化合物用连续硅胶柱色谱来纯化。首先用二氯甲烷和甲醇(2.5:97.5)/二氯甲烷、甲醇/二氯甲烷(5:95)洗脱来纯化, 得到18.96g粗产品。然后用乙醚、乙酸乙酯、甲醇/乙酸乙酯(5:95)、甲醇/乙酸乙酯(10:90)洗脱进行第二次纯化, 得到15.48克标题化合物(收率81%): ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6/\text{TFA}-d$): δ 1.65 (s, 3h);

3.20 (s, 3h); 3.30 (d, $J = 16.5\text{Hz}$, 1h); 3.58 (d, $J = 16.8\text{Hz}$, 1h); 3.78 (s, 3h); 4.97 (dd, $J = 4.8\text{Hz}$, 2h); 6.96 (d, $J = 8.7\text{Hz}$, 2h); 7.34 (m, 4h); 7.57 (m, 2h); mS (APCI+) m/z 416.08 $[M+1]^+$.

实施例6

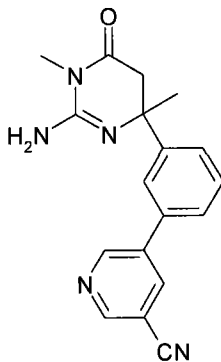
2-氨基-6-(3-溴苯基)-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮



向6-(3-溴苯基)-2-氨基-1-(4-甲氧基苄基)-3,6-二甲基四氢嘧啶-4(1H)-酮的乙腈(150mL)溶液中加入水(50mL),接着加入硝酸铈铵(61.15g, 111.55mmol),使所得反应物搅拌18h。然后向其中加入硅藻土(32g),接着加入碳酸氢钠(31.23g, 371.8mmol),使反应物搅拌2h。1h后再加入硅藻土(15g)。使反应物过滤通过硅藻土,减压浓缩滤液。将得到的橙色固体置于高真空中。使用硅胶柱进行粗提,洗脱液为甲醇/二氯甲烷/乙酸(15:85:0.1)。用甲醇研磨所得的橙色固体,得到第一批标题化合物。减压除去滤液中的溶剂,得到的橙色固体用乙醇研磨,得到第二批标题化合物。合并两批化合物得到8.75g 标题化合物(收率79%): ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6/\text{TFA}-d$): δ 1.64 (s, 3h); 3.14 (s, 3h); 3.19 (d, $J = 16.5\text{Hz}$, 1h); 3.49 (d, $J = 16.2\text{Hz}$, 1h); 7.39 (m, 2h); 7.55 (m, 1h); 7.67 (s, 1h); mS (APCI+) m/z 296.0 $[M+1]^+$.

实施例7

5-[3-(2-氨基-1,4-二甲基-6-氧代-1,4,5,6-四氢嘧啶-4-基)苯基]吡啶-3-甲腈盐酸盐

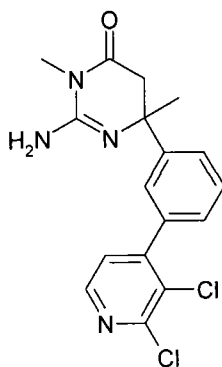


向搅拌下的5-溴吡啶-3-甲腈(0.088g, 0.48mmol)的无水四氢呋喃(5mL)溶液中加入硼酸三异丙基酯(0.33mL, 1.44mmol)。将得到的溶液冷却至 -70°C

并且滴加正丁基锂(0.59mL, 2.5m己烷溶液, 1.49mmol)。将所得混合物在-70℃搅拌1h, 然后使其升温至室温。向所得混合物中加入盐酸水溶液(1.2mL, 2m, 2.4mmol), 然后将混合物搅拌5min, 接着加入碳酸钠水溶液(2.4mL, 2m, 4.8mmol)。将混合物再搅拌10min后, 向其中加入2-氨基-6-(3-溴苯基)-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮(0.100g, 0.34mmol)和 [1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钨(II)二氯甲烷加合物(0.047g, 0.057mmol), 使得到的混合物在65℃加热过夜。蒸去溶剂, 使用乙腈/三乙胺(95:5)作为洗脱液在硅胶柱上纯化残余物。通过制备性HPLC, 使用Xterra柱(19x300mm)进行额外的提纯, 0.1m乙酸铵水溶液/乙腈(10至50%乙腈)作为洗脱液, 得到0.022g碱。将得到的碱溶解在氯仿和甲醇中, 向所得混合物中加入盐酸(4M乙醚溶液), 接着加入乙醚直到产生沉淀。过滤收集固体并在70℃进行真空干燥, 得到10mg标题化合物(收率8.3%): ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 10.43 (s, 1h), 9.24 (d, $J = 2.3\text{hz}$, 1h), 9.05 (d, $J = 1.8\text{hz}$, 1h), 8.71 (t, $J = 2.0\text{hz}$, 1h), 8.72-8.62 (m, 2h), 7.92 (s, 1h), 7.82 (d, $J = 7.8\text{hz}$, 1h), 7.59 (t, $J = 7.8\text{hz}$, 1h), 7.50 (d, $J = 8.0\text{hz}$, 1h), 3.58 (d, $J = 16.3\text{hz}$, 1h), 3.22 (d, $J = 16.6\text{hz}$, 1h), 3.09 (s, 3h), 1.67 (s, 3h)。

实施例8

2-氨基-6-[3-(2,3-二氯吡啶-4-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮
乙酸盐

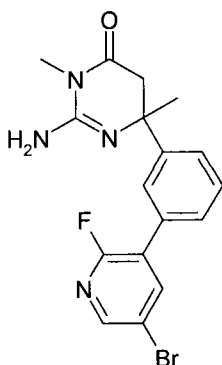


将2-氨基-6-(3-溴苯基)-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮(0.100g, 0.34mmol)、(2,3-二氯吡啶-4-基)硼酸(0.090g, 0.47mmol)、[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钨(II)·二氯甲烷加合物(0.027g, 0.034mmol)和碳酸钠水溶液(0.59mL, 2m, 1.18mmol)溶解在四氢呋喃和水(9:1, 3mL)的混合物中, 通过微波辐射在140℃加热10min。蒸去溶剂, 将残余物在水和二氯甲烷(3x10mL)之间分配。合并萃取物, 用硫酸钠干燥, 真空除去溶剂得到0.1g残余物。所

述残余物通过制备性HPLC, 使用Xterra柱(19x300mm)进行提纯, 0.1M乙酸铵水溶液/乙腈(25-65% 乙腈)作为洗脱液。收集含有产物的部分, 真空蒸发, 在25℃真空柜中干燥过夜, 得到21mg标题化合物(收率15%): ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 8.44 (d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1h), 7.62-7.59 (m, 1h), 7.57 (d, $J = 8.3\text{Hz}$, 1h), 7.50-7.44 (m, 2h), 7.36 (d, $J = 7.8\text{Hz}$, 1h), 3.00 (s, 3h), 2.92 (d, $J = 16.1\text{Hz}$, 1h), 2.78 (d, $J = 16.1\text{Hz}$, 1h), 1.89 (s, 3h), 1.41 (s, 3h)。

实施例9

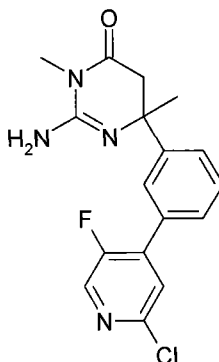
2-氨基-6-[3-(5-溴-2-氟吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮乙酸盐



以2-氨基-6-(3-溴苯基)-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮和(5-溴-2-氟吡啶-3-基)硼酸作为起始原料, 按照实施例8描述的方法合成标题化合物, 得到5mg标题化合物(收率3%): ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 8.40-8.38 (m, 1h), 8.34 (dd, $J = 8.8, 2.5\text{Hz}$, 1h), 7.73-7.69 (m, 1h), 7.57-7.53 (m, 1h), 7.51-7.42 (m, 2h), 3.00 (s, 3h), 2.91 (d, $J = 15.8\text{Hz}$, 1h), 2.78 (d, $J = 16.1\text{Hz}$, 1h), 1.89 (s, 2h), 1.41 (s, 3h)。

实施例10

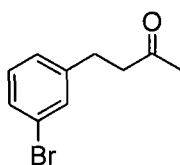
2-氨基-6-[3-(2-氯-5-氟吡啶-4-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3H)-酮三氟乙酸盐



以2-氨基-6-(3-溴苯基)-3,6-二甲基-5,6-二氢嘧啶-4(3*H*)-酮和(2-氯-5-氟吡啶-4-基)硼酸作为起始反应物按照实施例8描述的方法合成标题化合物。用制备性HPLC, 使用Xterra柱(19x300mm)进行提纯, 以0.1%三氟乙酸缓冲液/甲醇(20-60% 甲醇)作为洗脱液, 得到16mg标题化合物(收率5%): $^1\text{HNMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 400MHz) δ 10.33 (br s, 1h), 8.66 (br s, 2h), 8.57 (d, $J = 2.0\text{Hz}$, 1h), 7.80 (d, $J = 5.8\text{Hz}$, 1h), 7.73-7.69 (m, 1h), 7.69-7.64 (m, 1h), 7.60 (t, $J = 7.6\text{Hz}$, 1h), 7.57-7.53 (m, 1h), 3.53 (d, $J = 16.6\text{Hz}$, 1h), 3.21 (d, $J = 16.3\text{Hz}$, 1h), 3.08 (s, 3h), 1.67 (s, 3h)。

实施例11

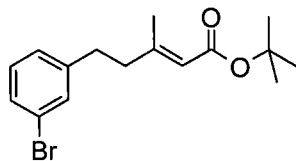
4-(3-溴苯基)丁-2-酮



向2,4-戊二酮(15.8mL, 0.154mol)的乙醇(150mL)溶液中加入碳酸钾(19.35g, 0.140mol), 接着加入3-溴苄基溴化物(35.00g, 0.140mol), 将所得混合物加热回流。回流18h后, 冷却反应物, 过滤除去盐。蒸发滤液, 向残余物中加入乙酸乙酯和水(200:100mL)。乙酸乙酯层用盐酸水溶液(1m, 100mL)洗涤两次、用饱和碳酸氢钠(100mL)洗一次、用饱和食盐水(100mL)洗涤一次, 然后用硫酸钠干燥。减压除去乙酸乙酯, 将得到的黄色油置于高真空中。在过滤漏斗中加入硅胶(0.5kg), 用每次1000mL 0-100% 己烷/二氯甲烷不连续梯度洗脱(梯度每次变化5%)纯化所述油。减压除去经纯化的产品中的溶剂, 得到18.5g标题化合物(收率58%): $^1\text{HNMR}$ (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 2.10 (s, 3h), 2.79 (s, 4h), 7.22 - 7.24 (m, 2h), 7.35 - 7.39 (m, 1h), 7.43 (s, 1h)。

实施例12

(2E)-5-(3-溴苯基)-3-甲基戊-2-烯酸叔丁酯

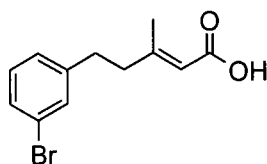


向-78°C、搅拌的叔丁基二甲基膦酰乙酸酯(19.5mL, 89.6mmol)的四氢呋喃(100mL)溶液中加入正丁基锂的己烷溶液(1.6m, 35.8mL, 89.6mmol), 将所得反应物在-78°C搅拌25min。向所得混合物中加入4-(3-溴苯基)丁-2-酮

(18.50g, 81.46mmol), 使所得反应混合物升至室温并搅拌1.5h。减压除去四氢呋喃, 得到固体。向得到的固体中加入己烷(300mL), 并研磨固体1h。使反应物过滤通过硅藻土, 减压浓缩滤液, 得到标题化合物: ^1H NMR (300mHz, DMSO- d_6) δ 1.42 (d, $J = 3.2\text{hz}$, 9h), 1.86 (d, $J = 1.3\text{hz}$, 1h), 2.12 (d, $J = 1.1\text{hz}$, 2h), 2.37 - 2.43 (m, 2h), 2.73 - 2.78 (m, 2h), 5.58 - 5.60 (m, 1h), 7.24 (d, $J = 5.2\text{hz}$, 2h), 7.35 - 7.40 (m, 1h), 7.45 (d, $J = 5.4\text{hz}$, 1h)。

实施例13

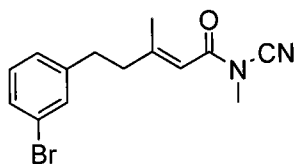
(2E)-5-(3-溴苯基)-3-甲基戊-2-烯酸



将(2E)-5-(3-溴苯基)-3-甲基戊-2-烯酸叔丁基酯粗品的三氟乙酸/二氯甲烷(1:1, 100mL)溶液在室温搅拌15min, 然后减压除去溶剂。将所得固体粗品在己烷(100mL)中研磨, 过滤并真空干燥, 得到18.48g标题化合物(收率84%): ^1H NMR (300mHz, DMSO- d_6) δ 1.88 (d, $J = 1.3\text{hz}$, 1h), 2.14 (d, $J = 1.1\text{hz}$, 2h), 2.43 (t, $J = 8.1\text{hz}$, 2h), 2.71 - 2.80 (m, 2h), 5.62 (d, $J = 1.1\text{hz}$, 5h), 5.66 (s, 5h), 7.25 (d, $J = 4.5\text{hz}$, 2h), 7.35 - 7.42 (m, 1h), 7.47 (s, 1h)。

实施例14

(2E)-5-(3-溴苯基)-N-氰基-N,3-二甲基戊-2-烯酰胺



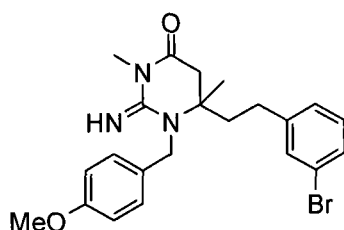
向0℃和搅拌下的(2E)-5-(3-溴苯基)-3-甲基戊-2-烯酸(18.48g, 68.66mmol)的二氯甲烷(100mL)溶液中加入草酰氯(7.2mL, 82.10mmol), 接着加入N,N-二甲基甲酰胺(0.266mL, 3.43mmol), 使反应混合物保持冷却1h, 然后升温至室温, 再搅拌反应一个小时。减压除去溶剂, 得到21.78g 相应的酰氯。

向-78℃和搅拌下的溴化氰(14.55g, 0.137mmol)的四氢呋喃(100mL)溶液中加入碳酸钠(21.84g, 0.206mmol), 接着向其中滴加甲胺的四氢呋喃溶液(2.0m, 68.7mL, 0.137mol)。将所得混合物在-78℃搅拌1.5h。氮气保护下, 使反应物冷过滤通过硅藻土, 向滤液中加入上面制备的酰氯(19.75g, 0.0686mmol)的四氢呋喃(100mL)溶液。向形成的溶液中加入N,N-二异丙基乙

胺(14.4mL, 0.082mol), 将所得反应混合物在室温下搅拌2h。减压除去溶剂, 将得到的油置于高真空中过夜。粗品化合物经硅胶柱纯化, 二氯甲烷洗脱, 得到16.64g标题化合物(收率79%): ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1.99 (d, $J = 1.3\text{Hz}$, 1h), 2.14 (d, $J = 1.1\text{Hz}$, 2h), 2.52 (dd, $J = 3.8, 2.0\text{Hz}$, 2h), 2.79 (t, $J = 7.7\text{Hz}$, 2h), 3.13 (s, 3h), 6.22 (d, $J = 6.6\text{Hz}$, 1h), 7.24 - 7.27 (m, 2h), 7.37 - 7.41 (m, 1h), 7.49 (s, 1h); mS (APCI+) m/z 307 $[\text{M}+1]^+$ 。

实施例15

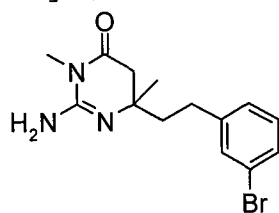
6-[2-(3-溴苯基)乙基]-2-亚氨基-1-(4-甲氧基苄基)-3,6-二甲基四氢嘧啶-4(1H)-酮



向(2E)-5-(3-溴苯基)-N-氰基-N,3-二甲基戊-2-烯酰胺(15.00g, 48.83mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(50mL)溶液中加入4-甲氧基苄胺(12.8mL, 97.66mmol)。4h后, 减压除去溶剂, 将得到的粘稠油置于高真空过夜。所得粗品化合物通过硅胶色谱纯化, 二氯甲烷/甲醇(95:5)洗脱, 得到 20.45g 半纯(semi-pure)的标题化合物, 将其直接用于下一步骤: ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6/\text{TFA}-d$) δ 1.34 (s, 3h), 1.93 (dd, $J = 65.3, 6.0\text{Hz}$, 2h), 2.55 - 2.64 (m, 2h), 3.05 (dd, $J = 24.0, 16.8\text{Hz}$, 2h), 3.27 (d, $J = 17.3\text{Hz}$, 3h), 3.80 (d, $J = 12.3\text{Hz}$, 3h), 4.87 (dd, $J = 36.4, 18.5\text{Hz}$, 2h), 6.97 (d, $J = 8.6\text{Hz}$, 1h), 7.14 - 7.34 (m, 6h), 7.38 (d, $J = 1.6\text{Hz}$, 1h); mS (APCI+) m/z 444 $[\text{M}+1]^+$ 。

实施例16

2-氨基-6-[2-(3-溴苯基)乙基]-3,6-二甲基-5,6-四氢嘧啶-4(3H)-酮

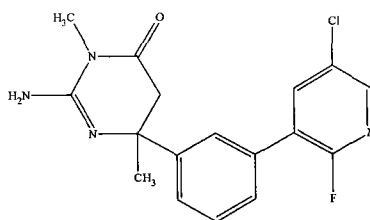


向6-[2-(3-溴苯基)乙基]-2-亚氨基-1-(4-甲氧基苄基)-3,6-二甲基四氢嘧啶-4(1H)-酮(20.27g, 45.62mmol)的乙腈(132mL)溶液中加入水(33mL), 接着加入硝酸铯铵(75.03g, 136.86mmol), 将所得反应物搅拌18h。然后加入硅藻土

(40g), 接着加入碳酸氢钠(38.0g, 452mmol), 将所得反应物搅拌1h。再向其中加入额外的硅藻土(20g), 使反应物过滤通过硅藻土, 用乙腈洗涤硅藻土, 减压浓缩滤液。将得到黄色胶状物(gum)溶解在乙醇中, 过滤除去盐, 减压除去溶剂。将所得固体用乙醚研磨, 并将得到的棕褐色固体置于高真空中。将所述棕褐色固体在乙酸乙酯(500mL)和饱和氯化钠/水溶液(1:1, 500mL)中分配。用饱和氯化钠水溶液洗涤有机层, 硫酸钠干燥, 然后减压除去溶剂。用硅胶柱色谱纯化粗品物质, 二氯甲烷/甲醇/乙酸(90:10:0.1)作为洗脱液。减压除去溶剂, 将所得物质置于高真空中过夜, 得到13.3g标题化合物(收率90%): $^1\text{H NMR}$ (300MHz, $\text{DMSO}-d_6/\text{TFA}-d$) δ 1.33 (s, 3h), 1.86 (m, 2h), 2.64 (t, $J = 8.5\text{Hz}$, 2h), 2.79 (d, $J = 16.4\text{Hz}$, 1h), 2.94 (d, $J = 16.4\text{Hz}$, 1h), 3.20 (s, 3h), 7.26 (d, $J = 5.0\text{Hz}$, 2h), 7.40 (td, $J = 4.5, 1.9\text{Hz}$, 1h), 7.49 (s, 1h); mS (APCI+) m/z 324 $[\text{M}+1]^+$ 。

实施例17

2-氨基-6-[3-(5-氯-2-氟吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-四氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐



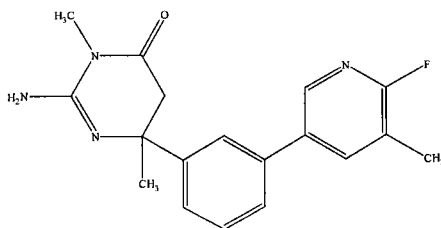
向2-氨基-6-(3-溴苯基)-3,6-二甲基-5,6-四氢嘧啶-4(3H)-酮(100mg, 0.338mmol)、四氢呋喃(2mL)和水(200 μL)的混合物中加入5-氯-2-氟吡啶-3-硼酸(83mg, 0.473mmol)、碳酸钠(125mg, 1.18mmol)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(30mg, 0.0367mmol)。在140℃微波辐射反应混合物10min。当混合物达到室温时, 向其中加入水(10mL), 用乙酸乙酯(20mL)萃取混合物。相分离, 用饱和碳酸钠水溶液(20mL)洗涤有机相, 硫酸钙干燥, 然后减压浓缩。使用制备性HPLC, 利用Xterra柱(19x300mm)纯化残余物, 0.1%三氟乙酸缓冲溶液/甲醇(20-60%甲醇)作为洗脱液。将经纯化的馏分合并, 减压除去乙腈。向剩余的溶液中加入饱和碳酸氢钠溶液, 直到获得沉淀, 所得混合物用乙酸乙酯(20mL)萃取。用硫酸钙干燥有机相, 然后加压浓缩得到白色固体。将得到的固体溶于甲醇中(0.5mL), 加入盐酸的乙醚溶液(2m, 200 μL)。加入乙醚直到获得沉淀, 得到35mg标题化合物(收率27%): $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

δ 10.78 (s, 1h) 8.85 (s, 2h) 8.27 - 8.49 (m, 2h) 7.48 - 7.80 (m, 4h) 3.50 (d, $J = 16.2\text{hz}$, 1h) 3.21 (d, $J = 16.2\text{hz}$, 1h) 3.08 (s, 3h) 1.64 (s, 3h); mS (AP+) m/z 347 $[M+1]^+$.

按照实施例17中描述的方法合成实施例18-23的化合物。

实施例18

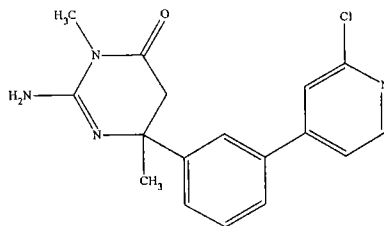
2-氨基-6-[3-(6-氟-5-甲基吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-四氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐



^1H NMR (400mHz, DMSO- d_6) δ 10.71 (s, 1h) 8.82 (s, 2h) 8.39 (s, 1h) 8.23 (dd, $J = 9.6, 1.77\text{hz}$, 1h) 7.83 (s, 1h) 7.67 (d, $J = 7.6\text{hz}$, 1h) 7.52 (t, $J = 7.7\text{hz}$, 1h) 7.44 (d, $J = 7.8\text{hz}$, 1h) 3.55 (d, $J = 16.4\text{hz}$, 1h) 3.21 (d, $J = 16.4\text{hz}$, 1h) 2.31 (s, 3h) 3.07 (s, 3h) 1.64 (s, 3h); mS (ES+) m/z 327 $[M+1]^+$.

实施例19

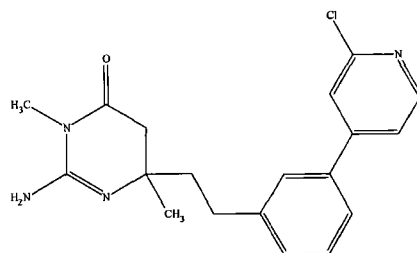
2-氨基-6-[3-(2-氯吡啶-4-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-四氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐



^1H NMR (400mHz, DMSO- d_6) δ 10.84 (s, 1h) 8.88 (s, 2h) 8.49 (d, $J = 5.3\text{hz}$, 1h) 7.96 (d, $J = 11.9\text{hz}$, 2h) 7.78 - 7.86 (m, 2h) 7.53 - 7.60 (m, 2h) 3.58 (d, $J = 16.4\text{hz}$, 1h) 3.22 (d, $J = 16.4\text{hz}$, 1h) 3.07 (s, 3h) 1.64 (s, 3h); mS (ES+) m/z 329 $[M+1]^+$.

实施例20

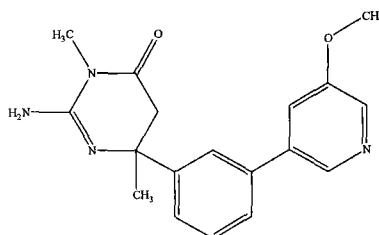
2-氨基-6-{2-[3-(2-氯吡啶-4-基)苯基]乙基}-3,6-二甲基-5,6-四氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐



以2-氨基-6-[2-(3-溴苯基)乙基]-3,6-二甲基-5,6-四氢嘧啶-4(3H)-酮为起始反应物进行制备: ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.92 (s, 1h) 8.46 (d, $J = 5.0\text{hz}$, 3h) 7.85 (d, $J = 1.0\text{hz}$, 1h) 7.72 - 7.79 (m, 2h) 7.68 (d, $J = 7.6\text{hz}$, 1h) 7.44 (d, $J = 7.6\text{hz}$, 1h) 7.38 (d, $J = 7.6\text{hz}$, 1h) 2.89 - 2.98 (m, 1h) 3.16 (s, 3h) 2.78 (d, $J = 16.4\text{hz}$, 1h) 2.68 - 2.76 (m, 2h) 1.90 (dd, $J = 11.2, 5.68\text{hz}$, 2h) 1.32 (s, 3h); mS (ES+) m/z 357 $[\text{M}+1]^+$.

实施例21

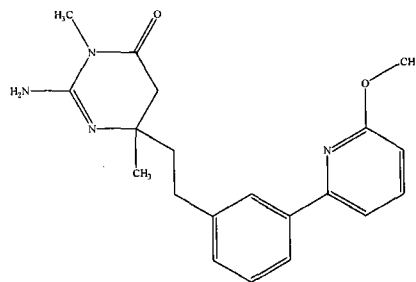
2-氨基-6-[3-(5-甲氧基吡啶-3-基)苯基]-3,6-二甲基-5,6-四氢嘧啶-4(3H)-酮盐酸盐



^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.91 (s, 1h) 8.91 (s, 2h) 8.70 (d, $J = 1.3\text{hz}$, 1h) 8.46 (d, $J = 2.5\text{hz}$, 1h) 8.03 (s, 1h) 7.96 (s, 1h) 7.79 (d, $J = 7.3\text{hz}$, 1h) 7.49 - 7.60 (m, 2h) 3.99 (s, 3h) 3.56 (d, $J = 16.4\text{hz}$, 1h) 3.24 (d, $J = 16.4\text{hz}$, 1h) 3.08 (s, 3h) 1.65 (s, 3h); mS (ES+) m/z 325 $[\text{M}+1]^+$.

实施例22

2-氨基-6-{2-[3-(6-甲氧基吡啶-2-基)苯基]乙基}-3,6-二甲基-5,6-四氢嘧啶-4(3H)-酮 盐酸盐

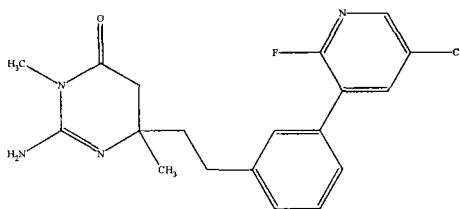


以2-氨基-6-[2-(3-溴苯基)乙基]-3,6-二甲基-5,6-四氢嘧啶-4(3H)-酮为起

始反应物进行制备: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 10.11 (s, 1h) 8.54 (s, 2h) 7.88 - 7.98 (m, 2h) 7.72 - 7.81 (m, 1h) 7.54 (d, $J = 7.3\text{hz}$, 1h) 7.40 (t, $J = 7.6\text{hz}$, 1h) 7.30 (d, $J = 7.6\text{hz}$, 1h) 6.77 (d, $J = 8.3\text{hz}$, 1h) 3.95 (s, 3h) 3.16 (s, 3h) 2.91 - 2.99 (m, 1h) 2.70 - 2.82 (m, 3h) 1.82 - 1.94 (m, 2h) 1.32 (s, 3h); mS (ES+) m/z 353 $[\text{M}+1]^+$ 。

实施例23

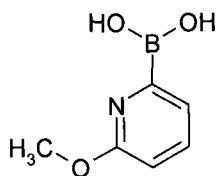
2-氨基-6-{2-[3-(5-氯-2-氟吡啶-3-yl)苯基]乙基}-3,6-二甲基-5,6-四氢嘧啶-4(3H)-酮 盐酸盐



以2-氨基-6-[2-(3-溴苯基乙基)-3,6-二甲基-5,6-四氢嘧啶-4(3H)-酮为起始反应物进行制备: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 10.11 (s, 1h) 8.54 (s, 2h) 8.31 (d, $J = 1.3\text{hz}$, 1h) 8.27 (dd, $J = 8.6, 2.5\text{hz}$, 1h) 7.53 (s, 1h) 7.41 - 7.49 (m, 2h) 7.33 - 7.38 (m, 1h) 3.16 (s, 3h) 2.88 - 2.96 (m, 1h) 2.69 - 2.81 (m, 3h) 1.84 - 1.93 (m, 2h) 1.31 (s, 3h); mS (ES+) m/z (375) $[\text{M}+1]^+$ 。

实施例24

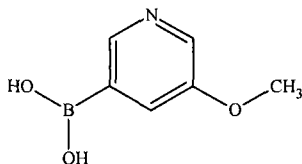
(6-甲氧基吡啶-2-基)硼酸



将2-溴-6-甲氧基吡啶(2g, 10.6mmol)和硼酸三异丙基酯(2.4g, 12.8mmol)混合在甲苯(15mL)中。将所得混合物冷却至-78℃, 历时10min向所得混合物中滴加正丁基锂的己烷溶液(2.5m, 5.1mL, 12.76mmol)。将所得混合物在-78℃搅拌5h, 然后使之升温至-20℃, 加入盐酸水溶液(2m, 10mL)。分离有机层和水层, 用氢溴酸水溶液(48%)将水层的pH酸化至pH 4。过滤得到标题化合物0.13g(收率8%), 该化合物没有经进一步表征就直接用于下一步。

实施例25

(5-甲氧基吡啶-3-基)硼酸



按照实施例24描述的方法、以3-溴-5-甲氧基吡啶为起始反应物合成标题化合物，且该标题化合物没有经进一步表征就直接用于下一步。

测定

在下述至少一个试验中对化合物进行测试：

β -分泌酶

下面描述了用于裂解(Cleavage)-测定、荧光测定、TR-FRET-测定和BiaCore 测定的酶：将人 β -分泌酶(AA 1-AA460)的可溶部分克隆到ASP2-Fc10-1-IRES-GFP-neoK真核表达载体上。将该基因融合到IgG1的Fc结构域(Fc domain)(亲和标记)中并稳定克隆到HEK293细胞中。将纯化的sBACE-Fc存储在Tris缓冲液中(pH9.2)，纯度为95%。

IGEN 裂解测定

将酶以1:30稀释在40mMmES pH 5.0中。将储备底物在40mMmES pH 5.0中稀释至12 μ M。将化合物在二甲亚砜中稀释至所需的浓度(测定中二甲亚砜的最终浓度为5%)。测定在96孔PCR板(得自Greiner(#650201))中进行。将化合物的二甲基甲砜溶液(3 μ L)加至板中，然后添加酶(27 μ L)，与化合物一起预孵育5分钟。用底物(30 μ L)来启动反应。酶的最终稀释度为1:60；底物的最终浓度为6 μ M。在室温反应20分钟后，反应通过以下方法来停止：取出10 μ L的反应混合物，然后将其以1:25稀释在0.20M Trizma pH 8.0中。将化合物稀释并通过Biomek FX加至板上或手动地加至板上，然后所有剩余的液体操作都在Biomek 2000仪器上进行。

将所有抗体和链霉抗生物素蛋白涂覆的珠子稀释在PBS(包含0.5%BSA和0.5%吐温20)中。产物通过以下方法来定量：将50 μ L稀释度为1:5000的新生表位抗体(neoepitope antibody)加至50 μ L稀释度为1:25的反应混合物中。然后，添加100 μ L的PBS(0.5%BSA, 0.5%吐温20)，其含有0.2mg/mL IGEN珠子(Dynabeadsm-280)和稀释度为1:5000的钉标记的山羊抗兔(Ru-G α R)抗体。新生表位抗体的最终稀释度为1:20000，Ru-GAR的最终稀释度为1:10000，珠子的最终浓度为0.1mg/mL。在室温震荡孵育2小时后，混合物在IGEN仪器上

(BioVeris)用Abbiochemical测定程序来读取。

荧光测定

将酶以1:25稀释在40mMmES pH 5.0中。将储备底物在40mMmES pH 5.0中稀释至30 μ M。将酶和底物储备溶液保持在冰上，直至将其置于储备板中。利用Biomek FX仪器来进行所有液体操作。将酶(9 μ L)与1 μ L化合物DMSO溶液加至板中，预孵育5分钟。当测试化合物的剂量响应曲线时，在洁净的二甲基亚砷中进行稀释。添加底物(10 μ L)，然后反应在室温避光进行25分钟。测定在Corning 384孔板(圆底、低容量、非结合性表面)(Corning #3676))中进行。酶的最终稀释度为1:50；底物的最终浓度为15 μ M(K_m 为25 μ M)。产物的荧光在Victor II板读取器上利用针对标记的Edans肽的方案来测量，激发波长为360nm，发射波长为485nm。二甲基亚砷对照定义了100%活性水平，不含酶时的活性定义为0%活性(用40mMmES pH5.0缓冲液来代替)。

TR-FRET测定

在反应缓冲液(乙酸钠、chaps、氟核x-100、EDTA pH4.5)中将酶(截短型)稀释至6 μ g/mL(原液(stock)为1.3mg/mL)和将底物(铕)CEVNLDAEFK(Qsy7)稀释至200 nM(原液为60 μ M)。Biomek FX用于所有液体操作，将酶和底物储备溶液保持在冰上，直至将其置于Biomek FX中。在板上加入酶(9 μ l)然后加入1 μ l 化合物的二甲亚砷溶液，混合并预孵育10分钟。然后加入底物(10 μ l)，混合，室温下在暗处进行反应15分钟。加入终止溶液(7 μ l，乙酸钠pH 9)使反应停止。在具有340 nm激发波长和615 nm发射波长的Victor II板标仪上测量产物的荧光。使用Corning 384孔板(圆底、低容量、非结合表面)(Corning #3676)进行试验。酶的最终浓度为0.3 nM、底物的最终浓度为100 nM(~250nM的 K_m)。二甲亚砷对照组定义100 % 活性水平和通过仅加入肽底物定义0 % 活性。对照抑制剂还可以用于剂量应答测定中，其具有575 nM的IC₅₀值。

β -分泌酶全细胞测定

HEK293-APP695的产生

根据制造商(Invitrogen)提供的方案，利用脂质体转染试剂(lipofectamine)将编码人全长APP695的cDNA的pcDNA3.1质粒稳定转染到HEK-293细胞中。用0.1-0.5mg/mL的抗菌素(zeocin)选择克隆体。通过有限的稀释克隆(limited dilution cloning)来产生均质的细胞系。克隆利用自行开发的ELISA测定通过APP表达的水平 and 条件培养基中所分泌的A β 的水平来表征。

细胞培养

使稳定表达人野生型APP的HEK293细胞(HEK-Fc33)在37°C在DMEM中生长, 所述DMEM包含4500g/L葡萄糖、GlutaMAX和丙酮酸钠, 并用10% FBS、1%非必需氨基酸和0.1mg/mL选择抗体抗菌素补充。

A β 40 释放试验

当融合为80-90%时收集细胞, 并以 0.2×10^6 细胞/mL的浓度、100mL细胞悬浮液/孔将细胞播种在黑色洁净底部的96-孔多聚赖氨酸涂敷的板上。37°C、5% CO₂培养过夜后, 用含有青霉素和链霉素(分别为100 U/mL和100 μ g/mL)并含有测试化合物的细胞培养基替代细胞培养基, 其中二甲基亚砜的最终浓度为1%。在37°C、5% CO₂条件下将细胞暴露在测试化合物中24小时。为了使释放的A β 定量, 将100 μ L细胞培养基转移至圆底聚丙烯96-孔板(测定板)上。保存细胞培养板, 用于在以下的ATP测定中进行ATP测定。向测定板的每个孔都添加50 μ L的原始检测溶液(包含0.5 μ g/mL的兔抗-A β 40抗体和0.5 μ g/mL生物素化的单克隆鼠6E10抗体 (在含有0.5%BSA和0.5%吐温20的DPBS中制备)), 然后在4°C孵育过夜。然后, 每个孔都添加50 μ L二级检测溶液, 所述溶液包含0.5 μ g/mL钆标记的山羊抗兔抗体和0.2mg/mL链霉抗生物素蛋白涂覆的Dyna珠子(Dynabead)。将板在室温在板振荡器上剧烈振荡1-2小时, 然后板在 IGENm8 分析仪中测量电化学发光计数(electro-chemiluminescence)。A β 标准曲线用以下方法得到: 使用在含有青霉素和链霉素(分别为100 U/mL、100 μ g/mL)的细胞培养基中的浓度为20、10、2和0.2 ng A β /mL的标准物获得A β 标准曲线。

ATP测定

如以上所指出, 在从细胞板转移100 μ L培养基用于A β 40检测后, 将所述细胞板用于细胞毒性测定, 所述细胞毒性测定利用测量细胞总ATP的细胞增生/细胞毒性试剂盒(ViaLight™ Plus)(Cambrex BioScience)来进行。根据制造商提供的方案来进行。简要地, 向板的每个孔都添加50 μ L细胞溶解试剂。将板在室温孵育10分钟。添加100 μ L复溶的(reconstituted)ViaLight™ Plus ATP试剂, 2分钟后, 发光度(luminescence)在LJL板读取器或Wallac Topcount中测量。

BACE Biacore方案

传感芯片的制备:

将肽过渡态等构物(transition state isostere, TSI)或者乱序版本的肽TSI连

接至Biacore CM5传感芯片的表面,从而在Biacore 3000仪器上测定BACE。CM5传感芯片的表面具有可用于偶联肽的4条不同通道。乱序的肽KFES-抑制素-ETIAEVENV(KFES-statine-ETIAEVENV)与通道1偶联,而TSI抑制剂KTEEISEVN-抑制素-VAEF(KTEEISEVN-statine-VAEF)与同一芯片的通道2偶联。将这两种肽以0.2mg/mL溶解在20mM乙酸钠(pH为4.5)中,然后溶液以14000rpm离心,从而除去所有颗粒。葡聚糖层上的羧基通过以下方法来活化:以5 μ L/分钟的速率注射0.5M N-乙基-N'-(3-二甲氨基丙基)-碳二亚胺(EDC)和0.5M N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)的1:1混合物,持续7分钟。然后,将对照肽的储备溶液以5 μ L/分钟的速率注射到通道1中,持续7分钟,然后剩余的活化羧基通过以下方法来阻断:以5 μ L/分钟的速率注射1M乙醇胺,持续7分钟。

测定方案:

将BACE在乙酸钠缓冲液pH 4.5(电泳缓冲液减去二甲基亚砷)中稀释至0.5 μ M,进行BACE Biacore测定。将稀释的BACE与二甲基亚砷或化合物的二甲基亚砷稀释液混合,二甲基亚砷的最终浓度为5%。将BACE/抑制剂混合物在4 $^{\circ}$ C孵育1小时,然后以20 μ L/分钟的速率注射到CM5 Biacore芯片的通道1和2中。当BACE与芯片结合时,信号以响应单位(RU)来测量。与通道2上的TSI抑制剂结合的BACE产生某种信号。BACE抑制剂的存在通过与BACE结合由此抑制BACE与芯片上的肽TSI相互作用而使所述信号减小。与通道1的任何结合都是非特异性的,并且从通道2的响应值减去。将二甲基亚砷对照定义为100%,并且将化合物的作用报道为相对于二甲基亚砷对照的抑制百分比。

hERG测定

细胞培养:

使(Persson, Carlsson, Duker, & Jacobson, 2005中记载的)表达hERG的中国仓鼠卵巢K1(CHO)细胞在F-12ham培养基中在37 $^{\circ}$ C在加湿的环境(5%CO₂)中生长至半数融合,所述F-12ham培养基含有L-谷氨酰胺、10%胎牛血清(FCS)和0.6mg/ml潮霉素(都得自Sigma-Aldrich)。使用前,单层利用预温热(37 $^{\circ}$ C)的Versene 1:5000 (Invitrogen)的3ml等份液来洗涤。吸出此溶液后,将烧瓶在孵育器中在37 $^{\circ}$ C与另外2ml的Versene 1:5000一起孵育6分钟。然后,细胞通过轻轻敲击而与烧瓶底分开,然后将10ml的Dulbecco磷酸盐缓冲盐水(包含钙(0.9mM)和镁(0.5mM))(PBS; Invitrogen)加至烧瓶,然后将其吸到15ml离心管

中,之后离心(50g, 4分钟)。放弃所得到的上清液,然后将沉淀小心地重新悬浮在3ml的PBS中。将细胞悬浮液的0.5ml等份液取出,然后在自动化的读取器(Cedex; Innovatis)中确定活细胞的数目(基于锥虫蓝不相容法(trypsin blue exclusion)),从而可用PBS调整细胞重新悬浮液的体积,以得到期望的最终细胞浓度。当涉及此参数时,引用测定中该点时的细胞浓度。用于在IonWorks™hT上调整电压偏移(voltage offset)的CHO-Kv1.5细胞以相同的方法来培养和制备,以供使用。

电生理学:

此装置的原理和操作记载在(Schroeder, Neagle, Trezise, & Worley, 2003)中。简要地,所述技术以384孔板(PatchPlate™)为基础,其中利用抽吸来将细胞定位在使两个独立流体腔室分开的小洞上,并且使细胞保持在其上,由此在每个孔中试图进行记录。一旦进行了封闭,就将PatchPlate™底侧上的溶液变成一种包含两性霉素B的溶液。此溶液可穿透在每个孔中覆盖洞的细胞膜片(patch of cellmembrane),由此使穿孔全细胞膜片钳记录实际上得以进行。

使用β-Test IonWorks™hT(Essen Instrument)。此装置不能对溶液进行加热,因此如以下那样在室温(约21°C)进行操作。在“缓冲液”位置的容器装有4ml的PBS,而在“细胞”位置的容器装有以上所描述的CHO-hERG细胞悬浮液。将包含待测试化合物(为其最终测试浓度的3倍)的96孔板(V形底,greiner Bio-one)置于“板1”位置,而将PatchPlate™钳夹到PatchPlate™位置。将每块化合物板设计出12列,从而能构建10条由8个点连成的浓度-作用曲线;板上剩余的两列用媒介物(二甲基亚砜的最终浓度为0.33%)和最大阻断浓度之上的西沙必利(最终浓度为10μM)占据,媒介物用于定义测定基线,最大阻断浓度之上的西沙必利用于定义100%抑制水平。然后, IonWorks™hT的射流头(F头)将3.5μl的PBS加至PatchPlate™的每个孔,并且其底侧用“内部”溶液灌注,所述“内部”溶液具有以下组分(单位为mM): 葡萄糖酸钾(K-Gluconate) 100、KCl 40、MgCl₂ 3.2、EGTA 3和HEPES 5(所有都为Sigma-Aldrich; 利用10M KOH来将pH调整为7.25-7.30)。在启动和脱泡后,电子头(E头)围绕PatchPlate™移动,进行钻洞测试法(即施加电压脉冲以确定在每个孔中的洞是否开放)。然后, F头将3.5μl的上述细胞悬浮液发送到PatchPlate™的每个孔中,并且细胞有200秒的时间来到达在每个孔中的洞,并且将洞封闭。此后,

E头围绕PatchPlate™移动，以确定在每个孔中所得到的封闭电阻。接下来，将PatchPlate™的底侧溶液变成“进入”溶液，所述“进入”溶液具有以下组分(单位为mM): KCl 140、EGTA 1、MgCl₂ 1和HEPES 20(利用10M KOH来将pH调整为7.25-7.30)连同100µg/ml的两性霉素B(Sigma-Aldrich)。历时9分钟用于膜片打孔后，E头每次围绕PatchPlate™的48个孔移动，以得到添加化合物前的hERG电流测量值。然后，F头将源于化合物板的每个孔的3.5µl溶液加至PatchPlate™的4个孔(二甲基亚砷在每个孔中的最终浓度为0.33%)。这通过以下方法来实现：从化合物板的最稀孔移动到化合物板的最浓孔，以使任何化合物遗留的影响最小化。孵育约3.5分钟后，E头围绕PatchPlate™的全部384个孔移动，以得到添加化合物后的hERG电流测量值。以这种方式可得到非累积浓度-作用曲线，其中假如在足够百分比的孔中达到验收标准(参见以下)，那么每种浓度的测试化合物的作用都有赖于对1至4个细胞的记录。

添加化合物前和添加化合物后的hERG电流通过单一电压脉冲来引起，所述单一电压脉冲的组成为在-70mV保持20秒，以160毫秒的步幅变为-60mV(从而对泄漏进行评价)，以100毫秒的步幅变回为-70mV，以1秒的步幅变为+40mV，以2秒的步幅变为-30mV，最后以500毫秒的步幅变为-70mV。在添加化合物前和添加化合物后的电压脉冲之间不对膜电势进行任何钳夹。从电流值扣除泄漏值，这有赖于对在电压脉冲方案开始时在+10mV步骤所引起的电流进行评价。以两种方式中的一种对IonWorks™hT中的任何电压偏移进行调整。当确定化合物效力时，将去极化电压偏斜(depolarising voltage ramp)施加于CHO-Kv1.5细胞，并且注意到一个电压，电流轨迹(current trace)在此电压出现拐点(即在此点观察到通道由于偏斜方案而活化)。先前已经利用相同的电压指令在常规的电生理学中确定了出现上述现象的电压，并且发现其为-15mV(数据未显示)，因而可将偏移电势(offset potential)录入到IonWorks™hT软件中，将此值用作参考点。当确定hERG的基础电生理性质时，任何偏移都通过以下方法来调整：在IonWorks™hT中确定hERG尾电流反转电势(reversal potential)，将其与在常规电生理学中所确定的值(-82mV，)比较，然后在IonWorks™hT软件中进行必要的偏移调整。电流信号以2.5kHz的频率来采集。

通过采用在-70mV初始保持时段的电流的40毫秒平均值(基线电流)，并且从尾电流响应的峰值扣除所述平均值，借助IonWorks™hT软件从扣除泄漏

值的轨迹自动测量扫描前和扫描后的hERG电流大小。在每个孔中所引起的电流的验收标准为：扫描前的封闭电阻 $>60\text{M}\Omega$ ，扫描前的hERG尾电流幅度 $>150\text{pA}$ ，扫描后的封闭电阻 $>60\text{M}\Omega$ 。对hERG电流的抑制程度通过以下方法来评价：就每个孔而言，扫描后的hERG电流值除以各自扫描前的hERG电流值。

结果

本发明化合物的典型IC₅₀值范围在约1至约10,000nM。下面的表1中列出了各实施例的生物学数据。

表1

实施例号	TR-FRET测定中的IC ₅₀
实施例20	114 nM
实施例21	316 nM