



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102361872 B

(45) 授权公告日 2014. 12. 03

(21) 申请号 201080012970. 3

(22) 申请日 2010. 02. 05

(30) 优先权数据

09152805. 9 2009. 02. 13 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011. 09. 20

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2010/000717 2010. 02. 05

(87) PCT国际申请的公布数据

W02010/091824 EN 2010. 08. 19

(73) 专利权人 拜耳知识产权有限责任公司

地址 德国蒙海姆

(72) 发明人 M·芬内曼 T·贝尔 T·迈尔

S·赫尔德 G·贝内克 F·德默尔

A·齐尔希 A·施特鲁布

T·贝克尔斯 S·英斯

H·雷温克尔 刘宁姝 U·伯默

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

代理人 张晓威

(51) Int. Cl.

C07D 487/04 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

A61K 31/517 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101242834 A, 2008. 08. 13, 说明书第 4 页第 2 段至第 6 页第 8 段, 说明书第 87-89 页化合物 6-56 及其制备方法.

CN 101242834 A, 2008. 08. 13, 说明书第 4 页第 2 段至第 6 页第 8 段, 说明书第 87-89 页化合物 6-56 及其制备方法.

CN 1668619 A, 2005. 09. 14, 全文.

CN 1809354 A, 2006. 07. 26, 全文.

Zhicai Wu, 等. Rapid assembly of diverse and potent allosteric Akt inhibitors.

《Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters》. 2007, 第 18 卷 (第 6 期), 第 2212 页第 1 栏 Scheme 1.

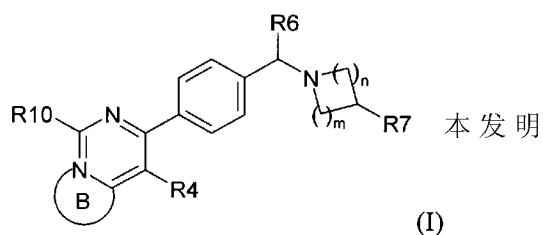
审查员 吕世华

权利要求书 3 页 说明书 60 页

(54) 发明名称

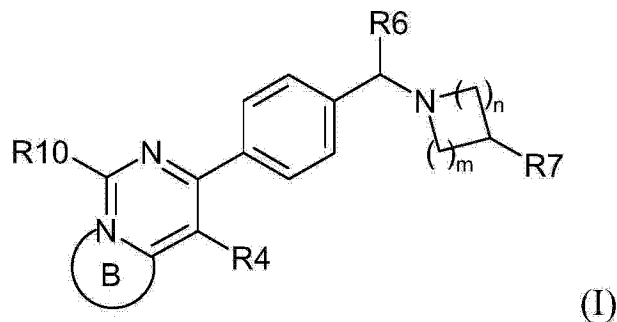
作为 AKT 抑制剂的稠合嘧啶

(57) 摘要

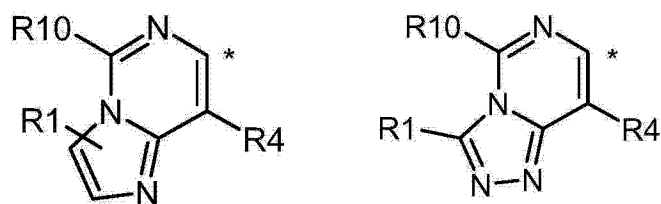


涉及作为 Pi3K/Akt 途径的有效抑制剂的式 (I) 的化合物、其 N-氧化物、互变异构体或立体异构体、或者它们的盐, 它们的制备方法及它们作为药物的用途, 其中环 B 和与其稠合的咪唑、R4、R6、R7、R10、m 和 n 具有如说明书和权利要求书中所提供的含义。

1. 式 (I) 的化合物,或者所述化合物的盐,



其中与嘧啶基团耦合的环 B 选自:



* 表示连接点,

R1 是氢或 1-4C- 烷基,

R4 是苯基,

R6 是氢,

n 是 1 或 2,

m 是 1 或 2,

R7 是 -W-Y,

W 是 1, 2, 4- 亚三唑基,

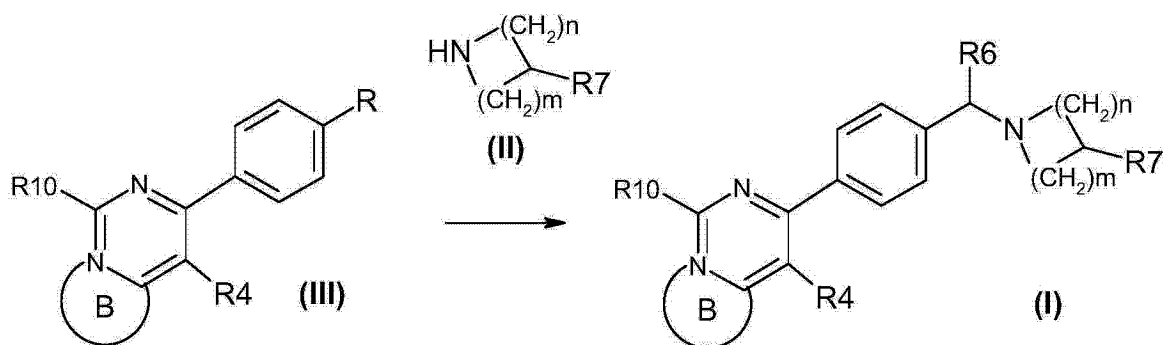
Y 是任选地被 R9 取代并任选地进一步被 R9A 取代的吡啶 -2- 基、2- 吡嗪基或 2- 嘧啶基,

R9 是氢、1-4C- 烷基、卤素、1-4C- 卤代烷基,

R9A 是 1-4C- 烷基,

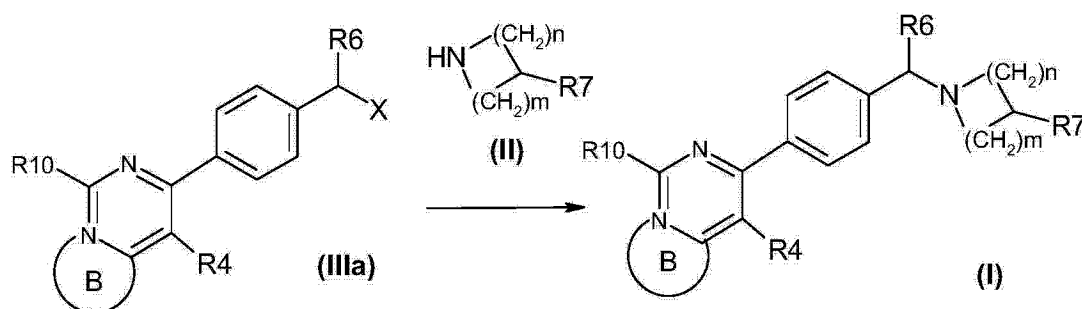
R10 是氢或 1-4C- 烷基。

2. 制备通式 (I) 的化合物的方法,其特征在于式 (III) 的醛或酮与胺 (II) 或其盐反应得到式 (I) 的化合物



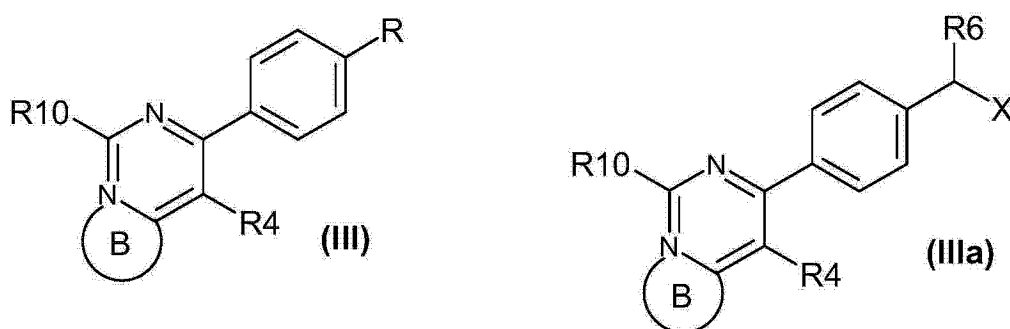
其中 B、R4、R6、R7、m、n 和 R10 具有权利要求 1 中所述的含义,并且 R 具有 -C(O)R6 的含义。

3. 制备通式 (I) 的化合物的方法, 其特征在于式 (IIIa) 的化合物与胺 (II) 或其盐反应得到式 (I) 的化合物



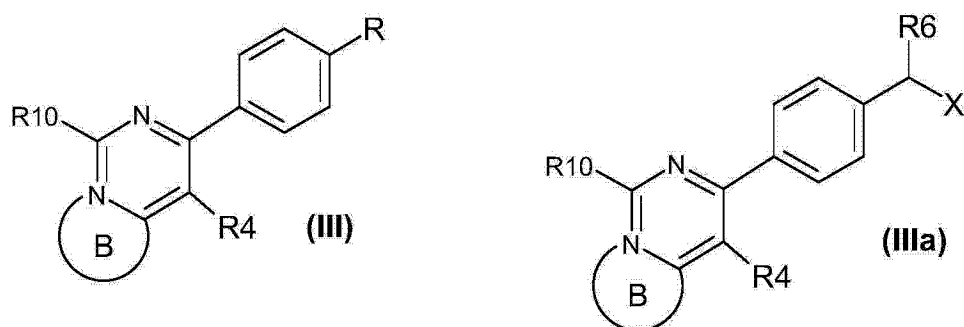
其中 B、R₄、R₆、R₇、m、n 和 R₁₀ 具有权利要求 1 中所述的含义, 并且 X 是适合的离去基团。

4. 通式 (III) 和 (IIIa) 的化合物,



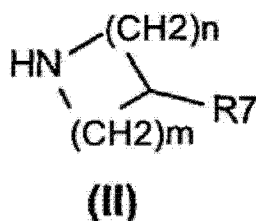
其中 B、R₄、R₆ 和 R₁₀ 具有权利要求 1 中所述的含义, R 具有 -C(O)O(1-4C-烷基)、-C(O)R₆、-CH(R₆)OH 或 -CH₂R₆ 的含义, 并且 X 是适合的离去基团。

5. 权利要求 4 的通式 (III) 和 (IIIa) 的化合物用于制备权利要求 1 的通式 (I) 的化合物的用途,



其中 B、R₄、R₆ 和 R₁₀ 具有权利要求 1 中所述的含义, R 具有 -C(O)O(1-4C-烷基)、-C(O)R₆、-CH(R₆)OH 或 -CH₂R₆ 的含义, 并且 X 是适合的离去基团。

6. 权利要求 2 或 3 之一的通式 (II) 的化合物或其盐用于制备权利要求 1 的通式 (I) 的化合物的用途,



其中 R7、m 和 n 具有权利要求 1 中所述的含义。

7. 权利要求 1 的通式 (I) 的化合物或包含权利要求 1 的通式 (I) 的化合物的药物组合物在制备用于治疗或预防疾病的药物中的用途。

8. 权利要求 7 的用途,其中所述疾病是过度增殖性疾病和 / 或对诱导凋亡有反应的病症。

9. 权利要求 8 的用途,其中所述过度增殖性疾病和 / 或对诱导凋亡有反应的病症是癌症。

10. 药物组合物,其包含至少一种权利要求 1 的通式 (I) 的化合物,和至少一种药学可接受的辅剂。

11. 组合,其包含一种或多种选自权利要求 1 的通式 (I) 的化合物的第一活性成分,和一种或多种选自化疗抗癌剂和靶特异性抗癌剂的第二活性成分。

12. 权利要求 1 的通式 (I) 的化合物用于制备治疗良性和 / 或恶性肿瘤的药物组合物的用途。

作为 AKT 抑制剂的稠合嘧啶

技术领域

[0001] 本发明涉及稠合嘧啶化合物,其在医药工业中用于制备药物组合物。

背景技术

[0002] 在美国,癌症是第二普遍的死因,每年致使 450000 人死亡。尽管在确认癌症的一些可能的环境和遗传病因方面已有实质性进展,仍然需要针对癌症及相关疾病的其它治疗方式。具体地,需要治疗与生长失调/增殖相关的疾病的治疗方法。

[0003] 癌症是起因于具有获得性功能能力(如存活性增高/抗细胞凋亡和无限的增殖潜力)的细胞的选择过程的复杂疾病。因此,优选开发用于针对既有肿瘤的显著特征的癌症疗法的药物。

[0004] 已证明介导哺乳动物细胞的重要存活信号的一个途径包括受体酪氨酸激酶,如血小板衍生的生长因子受体(PDGF-R)、人类表皮生长因子 2/3 受体(HER2/3)或胰岛素样生长因子 1 受体(IGF-1R)。分别被配体激活后,这些受体激活磷脂酰肌醇 3- 激酶(Pi3K)/Akt 途径。磷脂酰肌醇 3- 激酶(Pi3K)/Akt 蛋白激酶途径对控制细胞生长、增殖和存活至关重要,其促使肿瘤发展。因此,在丝氨酸-苏氨酸特异性信号转导激酶类内,具有同工酶 Akt1(PKB α)、Akt2(PKB β)和 Akt3(PKB γ)的 Akt(蛋白激酶 B;PKB)具有高度的治疗干预含义。Akt 主要以 Pi3- 激酶依赖性的方式被激活,并且该激活通过肿瘤抑制基因 PTEN(磷酸酶和张力蛋白同系物)(其基本上作为 Pi3K 的功能性拮抗剂起作用)调节。

[0005] 此 Pi3K/Akt 途径调节基本的细胞功能(例如转录、翻译、生长和存活),并且涉及包括糖尿病和癌症在内的人类疾病。在大范围的肿瘤实体如乳腺癌和前列腺癌中,此途径常被过度激活。上调可能是由于过度表达或组成性激活受体酪氨酸激酶(如 EGFR, HER2/3),受体酪氨酸激酶是上游的并且涉及它们的直接激活或者一些组件的功能获得变体或功能缺失变体,如 PTEN 缺失。与可能除了 p53 和视网膜母细胞瘤途径之外的人类癌症中的任何其它途径相比,该途径更频繁地成为基因组改变包括突变、扩增和重排的靶标。Pi3K/Akt 途径的改变触发促进肿瘤发展、存活、血管发生和转移的生物事件的级联。

[0006] 激活 Akt 激酶促使营养素摄取量增加,使细胞转向葡萄糖依赖性代谢(其使脂质前体和氨基酸再导向维持细胞生长和增殖的合成代谢过程)。具有过度激活的 Akt 的这些代谢表型导致表现出向有氧糖酵解的代谢转变(Warburg 效应)的恶性肿瘤。论及此方面,尽管生长条件不利例如葡萄糖缺乏或缺氧,Pi3K/Akt 途径仍然被认为对存活至关重要。

[0007] 激活的 PI3K/Akt 途径的另一方面是保护细胞免于程序性细胞死亡(凋亡),因此被认为转导存活信号。由于在肿瘤细胞中作为抗凋亡信号转导的调节者起作用,所以 Pi3K/Akt 途径,特别是 Akt 本身是癌症疗法的靶标。激活的 Akt 磷酸化并调节若干靶标,如 BAD、GSK3 或 FKHL1(它们影响不同的信号转导途径,如细胞存活、蛋白合成或细胞移动)。此 Pi3K/Akt 途径还在肿瘤细胞对常规抗癌疗法的抗性中起重要作用。因此,阻断 Pi3K/Akt 途径可同时抑制肿瘤细胞的增殖(例如通过抑制代谢效应)并使其对促凋亡剂致敏。

[0008] Akt 抑制选择性地使肿瘤细胞对凋亡刺激物如 Trail、喜树碱和多柔比星致敏。取

决于肿瘤的遗传背景 / 分子机制 (molecular apperations), Akt 抑制剂还可在单一疗法中诱导凋亡性细胞死亡。

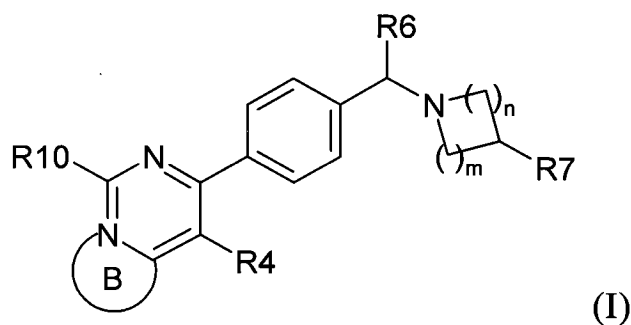
[0009] 在国际专利申请 W02004096131、W02005100344、W02006036395、W02006065601、W02006091395 和 W02006135627 中描述了 Akt 抑制剂。在最近的公开中, Y. Li 等人 (Bioorg. Med. Chem. Lett. 2009, 19, 834-836 及其中所引文献) 详述了发现最佳 Akt 抑制剂的困难。由于 Akt 抑制剂在多种疾病情况如癌症中的潜在应用, 因此特别期望提供新的 Akt 抑制剂替代那些现有的 Akt 抑制剂。

发明内容

[0010] 以上问题的解决方案是提供备选的 Akt 抑制剂。现已发现下文详述的新的稠合嘧啶化合物具有 AKT 抑制剂活性。

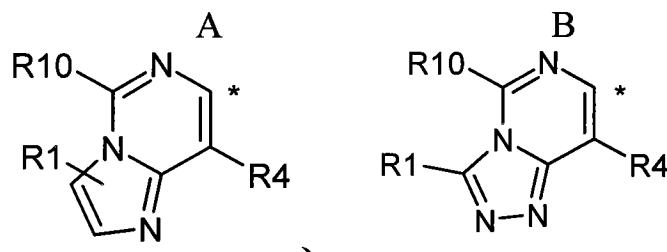
[0011] 根据第一方面, 本发明涉及式 (I) 的化合物, 或者所述化合物的 N-氧化物、盐、互变异构体或立体异构体, 或者所述 N-氧化物、互变异构体或立体异构体的盐:

[0012]



[0013] 其中与嘧啶基团耦合的环 B 选自:

[0014]



[0015] * 表示连接点,

[0016] R1 是氢、1-4C-烷基 (任选地被卤素、羟基、氨基、单-1-4C-烷基氨基或二-1-4C-烷基氨基取代)、卤素、三氟甲基、氰基、3-7C-环烷基、2-4C-烯基、2-4C-炔基、C(O)NR11R12、-C(O)OR2, 或是包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮和硫的额外的杂原子的单环 5-元或 6-元杂芳基 (heteroarylene),

[0017] R2 是氢、1-4C-烷基 (任选地被卤素、羟基、氨基、单-1-4C-烷基氨基或二-1-4C-烷基氨基取代) 或 3-7C-环烷基,

[0018] R4 是苯基、噻吩基、吡啶基、噁唑基或噻唑基, 并且其中 R4 任选地被 R5 取代,

[0019] R5 是 1-4C-烷基、卤素、1-4C-烷氧基或 NR11R12,

[0020] R6 是氢或 1-4C-烷基,

[0021] n 是 1 或 2,

[0022] m 是 1 或 2,

[0023] R7 是 -W-Y,

[0024] W 是包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮和硫的额外的杂原子的单环 5- 元或 6- 元亚杂芳基,或是包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮和硫的额外的杂原子的双环 9- 元亚杂芳基,并且其中所述双环亚杂芳基任选地被 R8 取代,

[0025] R8 是氢、1-4C- 烷基、1-4C- 卤代烷基、3-7C- 环烷基、1-4C- 烷氧基、卤素、氰基或 NR11R12,

[0026] Y 是氢、芳基,或者包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮、硫的额外的杂原子的单环 5- 元或 6- 元杂芳基,并且其中所述杂芳基任选地被 R9 取代并任选地进一步被 R9A 取代,

[0027] R9 是 1-4C- 烷基、1-4C- 烷氧基、卤素、羟基、1-4C- 卤代烷基、NR11R12、氰基或 C(O)NH₂,

[0028] R9A 是 1-4C- 烷基或卤素,

[0029] R10 是氢或 1-4C- 烷基(任选地被卤素、羟基、氨基、单 -1-4C- 烷基氨基或二 -1-4C- 烷基氨基取代),

[0030] R11、R12 可相同或不同,是氢、1-4C- 烷基(任选地被卤素、羟基、氨基、单 -1-4C- 烷基氨基或二 -1-4C- 烷基氨基取代)或 3-7C- 环烷基。

[0031] 本发明的另一个方面涉及权利要求 1 的化合物,或者所述化合物的 N- 氧化物、盐、互变异构体或立体异构体,或者所述 N- 氧化物、互变异构体或立体异构体的盐,其中

[0032] R1 是氢、1-4C- 烷基(任选地被卤素、羟基、氨基、单 -1-4C- 烷基氨基或二 -1-4C- 烷基氨基取代)、卤素、三氟甲基、氰基、3-7C- 环烷基、C(O)NR11R12、-C(O)OR2,

[0033] R2 是氢或 1-4C- 烷基,

[0034] R4 是苯基、噻吩基、吡啶基、噁唑基或噻唑基,并且其中 R4 任选地被 R5 取代,

[0035] R5 是 1-4C- 烷基、卤素、1-4C- 烷氧基或 NR11R12,

[0036] R6 是氢或 1-4C- 烷基,

[0037] n 是 1 或 2,

[0038] m 是 1 或 2,

[0039] R7 是 -W-Y,

[0040] W 是包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮和硫的额外的杂原子的单环 5- 元或 6- 元亚杂芳基,或是包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮和硫的额外的杂原子的双环 9- 元亚杂芳基,并且其中所述双环亚杂芳基任选地被 R8 取代,

[0041] R8 是氢、1-4C- 烷基、1-4C- 卤代烷基、3-7C- 环烷基、1-4C- 烷氧基、卤素、氰基或 NR11R12,

[0042] Y 是氢、芳基,或是包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮、硫的额外的杂原子的单环 5- 元或 6- 元杂芳基,并且其中所述杂芳基任选地被 R9 取代并任选地进一步被 R9A 取代,

[0043] R9 是 1-4C- 烷基、1-4C- 烷氧基、卤素、羟基、1-4C- 卤代烷基、NR11R12、氰基或

C(O)NH₂,

[0044] R_{9A} 是 1-4C 烷基或卤素,

[0045] R₁₀ 是氢或 1-4C- 烷基 (任选地被卤素、羟基、氨基、单 -1-4C- 烷基氨基或二 -1-4C- 烷基氨基取代),

[0046] R₁₁、R₁₂ 可相同或不同,是氢或 1-4C- 烷基。

[0047] 本发明的又一个方面涉及权利要求 1 的化合物,或者所述化合物的 N- 氧化物、盐、互变异构体或立体异构体,或者所述 N- 氧化物、互变异构体或立体异构体的盐,其中

[0048] R₁ 是氢、1-4C- 烷基 (任选地被卤素、羟基、氨基、单 -1-4C- 烷基氨基或二 -1-4C- 烷基氨基取代)、卤素、三氟甲基、氰基、3-7C- 环烷基、C(O)NR₁₁R₁₂、-C(O)OR₂,

[0049] R₂ 是氢或 1-4C- 烷基,

[0050] R₄ 是苯基、噻吩基、吡啶基、噁唑基或噻唑基,

[0051] R₆ 是氢或 1-4C- 烷基,

[0052] n 是 1 或 2,

[0053] m 是 1 或 2,

[0054] R₇ 是 -W-Y,

[0055] W 是 1,2,4- 亚三唑基,

[0056] Y 是包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮、硫的额外的杂原子的单环 5- 元或 6- 元杂芳基,并且其中所述杂芳基任选地被 R₉ 取代并任选地进一步被 R_{9A} 取代,

[0057] R₉ 是 1-4C- 烷基、1-4C- 烷氧基、卤素、羟基、1-4C- 卤代烷基、NR₁₁R₁₂、氰基或 C(O)NH₂,

[0058] R_{9A} 是 1-4C- 烷基,

[0059] R₁₀ 是氢或 1-4C- 烷基,

[0060] R₁₁、R₁₂ 可相同或不同,是氢、1-4C- 烷基 (任选地被卤素、羟基、氨基、单 -1-4C- 烷基氨基或二 -1-4C- 烷基氨基取代) 或 3-7C- 环烷基。

[0061] 本发明的另一个方面涉及权利要求 1 的通式 (I) 的化合物,或者所述化合物的 N- 氧化物、盐、互变异构体或立体异构体,或者所述 N- 氧化物、互变异构体或立体异构体的盐,其中

[0062] R₁ 是氢、1-4C- 烷基 (任选地被卤素、羟基、氨基、单 -1-4C- 烷基氨基或二 -1-4C- 烷基氨基取代)、卤素、三氟甲基、氰基、3-7C- 环烷基、2-4C- 烯基、2-4C- 炔基、C(O)NR₁₁R₁₂、-C(O)OR₂,或是包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮和硫的额外的杂原子的单环 5- 元或 6- 元亚杂芳基,

[0063] R₂ 是氢、1-4C- 烷基 (任选地被卤素、羟基、氨基、单 -1-4C- 烷基氨基或二 -1-4C- 烷基氨基取代) 或 3-7C- 环烷基,

[0064] R₄ 是苯基、噻吩基、吡啶基、噁唑基或噻唑基,并且其中 R₄ 任选地被 R₅ 取代,

[0065] R₅ 是 1-4C- 烷基、卤素、1-4C- 烷氧基或 NR₁₁R₁₂,

[0066] R₆ 是氢或 1-4C- 烷基,

[0067] n 是 1 或 2,

[0068] m 是 1 或 2,

[0069] R7 是 -W-Y,

[0070] W 是包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮和硫的额外的杂原子的单环 5- 元或 6- 元亚杂芳基,或是包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮和硫的额外的杂原子的双环 9- 元亚杂芳基,并且其中所述双环亚杂芳基任选地被 R8 取代,

[0071] R8 是氢、1-4C- 烷基、1-4C- 卤代烷基、3-7C- 环烷基、1-4C- 烷氧基、卤素、氰基或 NR11R12,

[0072] Y 是氢、芳基,或者包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮、硫的额外的杂原子的单环 5- 元或 6- 元杂芳基,并且其中所述杂芳基任选地被 R9 取代,

[0073] R9 是 1-4C- 烷基、1-4C- 烷氧基、卤素、羟基、1-4C- 卤代烷基、NR11R12、氰基或 C(O)NH₂,

[0074] R10 是氢或 1-4C- 烷基(任选地被卤素、羟基、氨基、单 -1-4C- 烷基氨基或二 -1-4C- 烷基氨基取代),

[0075] R11、R12 可相同或不同,是氢、1-4C- 烷基(任选地被卤素、羟基、氨基、单 -1-4C- 烷基氨基或二 -1-4C- 烷基氨基取代)或 3-7C- 环烷基。

[0076] 本发明的又一个方面涉及权利要求 1 的通式 (I) 的化合物,或者所述化合物的 N- 氧化物、盐、互变异构体或立体异构体,或者所述 N- 氧化物、互变异构体或立体异构体的盐,其中

[0077] R1 是氢、1-4C- 烷基(任选地被卤素、羟基、氨基、单 -1-4C- 烷基氨基或二 -1-4C- 烷基氨基取代)、卤素、三氟甲基、氰基、3-7C- 环烷基、C(O)NR11R12、-C(O)OR2,

[0078] R2 是氢或 1-4C- 烷基,

[0079] R4 是苯基、噻吩基、吡啶基、噁唑基或噻唑基,并且其中 R4 任选地被 R5 取代,

[0080] R5 是 1-4C- 烷基、卤素、1-4C- 烷氧基或 NR11R12,

[0081] R6 是氢或 1-4C- 烷基,

[0082] n 是 1 或 2,

[0083] m 是 1 或 2,

[0084] R7 是 -W-Y,

[0085] W 是包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮和硫的额外的杂原子的单环 5- 元或 6- 元亚杂芳基,或是包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮和硫的额外的杂原子的双环 9- 元亚杂芳基,并且其中所述双环亚杂芳基任选地被 R8 取代,

[0086] R8 是氢、1-4C- 烷基、1-4C- 卤代烷基、3-7C- 环烷基、1-4C- 烷氧基、卤素、氰基或 NR11R12,

[0087] Y 是氢、芳基,或是包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮、硫的额外的杂原子的单环 5- 元或 6- 元杂芳基,并且其中所述杂芳基任选地被 R9 取代,

[0088] R9 是 1-4C- 烷基、1-4C- 烷氧基、卤素、羟基、1-4C- 卤代烷基、NR11R12、氰基或 C(O)NH₂,

[0089] R10 是氢或 1-4C- 烷基(任选地被卤素、羟基、氨基、单 -1-4C- 烷基氨基或二 -1-4C- 烷基氨基取代),

[0090] R11、R12 可相同或不同,是氢或 1-4C- 烷基。

[0091] 本发明的另一个方面涉及权利要求 1 的通式 (I) 的化合物,或者所述化合物的 N- 氧化物、盐、互变异构体或立体异构体,或者所述 N- 氧化物、互变异构体或立体异构体的盐,其中

[0092] R1 是氢、1-4C- 烷基(任选地被卤素、羟基、氨基、单-1-4C- 烷基氨基或二-1-4C- 烷基氨基取代)、卤素、三氟甲基、氰基、3-7C- 环烷基、C(O)NR11R12、-C(O)OR2,

[0093] R2 是氢或 1-4C- 烷基,

[0094] R4 是苯基、噻吩基、吡啶基、噁唑基或噻唑基,

[0095] R6 是氢或 1-4C- 烷基,

[0096] n 是 1 或 2,

[0097] m 是 1 或 2,

[0098] R7 是 -W-Y,

[0099] W 是 1,2,4- 亚三唑基,

[0100] Y 是包含 1 个氮原子和任选存在的 1、2 或 3 个独立地选自氧、氮、硫的额外的杂原子的单环 5- 元或 6- 元杂芳基,并且其中所述杂芳基任选地被 R9 取代,

[0101] R9 是 1-4C- 烷基、1-4C- 烷氧基、卤素、羟基、1-4C- 卤代烷基、NR11R12、氰基或 C(O)NH₂,

[0102] R10 是氢或 1-4C- 烷基,

[0103] R11、R12 可相同或不同,是氢、1-4C- 烷基(任选地被卤素、羟基、氨基、单-1-4C- 烷基氨基或二-1-4C- 烷基氨基取代)或 3-7C- 环烷基。

[0104] 本发明的另一个方面涉及权利要求 1 的化合物,或者所述化合物的 N- 氧化物、盐、互变异构体或立体异构体,或者所述 N- 氧化物、互变异构体或立体异构体的盐,其中

[0105] R1 是氢或 1-4C- 烷基,

[0106] R4 是苯基,

[0107] R6 是氢,

[0108] n 是 1 或 2,

[0109] m 是 1 或 2,

[0110] R7 是 -W-Y,

[0111] W 是 1,2,4- 亚三唑基,

[0112] Y 是任选地被 R9 取代并任选地进一步被 R9A 取代的吡啶-2- 基、2- 吡嗪基或 2- 噻啶基,

[0113] R9 是氢、1-4C- 烷基、卤素、1-4C- 卤代烷基,

[0114] R9A 是 1-4C- 烷基,

[0115] R10 是氢或 1-4C- 烷基。

[0116] 本发明的又一个方面涉及权利要求 1 的通式 (I) 的化合物,或者所述化合物的 N- 氧化物、盐、互变异构体或立体异构体,或者所述 N- 氧化物、互变异构体或立体异构体的盐,其中

[0117] R1 是氢、1-4C- 烷基,

[0118] R4 是苯基,

[0119] R6 是氢,

[0120] n 是 1 或 2,

[0121] m 是 1 或 2,

[0122] R7 是 -W-Y,

[0123] W 是 1,2,4- 亚三唑基,

[0124] Y 是吡啶 -2- 基,

[0125] R10 是氢或 1-4C- 烷基。

[0126] 本发明的另一个方面涉及权利要求 1 的化合物,或者所述化合物的 N- 氧化物、盐、互变异构体或立体异构体,或者所述 N- 氧化物、互变异构体或立体异构体的盐,其中

[0127] R1 是氢或甲基,

[0128] R4 是苯基,

[0129] R6 是氢,

[0130] n 是 1 或 2,

[0131] m 是 1 或 2,

[0132] R7 是 -W-Y,

[0133] W 是 1,2,4- 亚三唑基,

[0134] Y 是任选地被 R9 取代并任选地进一步被 R9A 取代的吡啶 -2- 基、2- 吡嗪基或 2- 嘧啶基,

[0135] R9 是氢、甲基、F、Cl、Br、CF₃,

[0136] R9A 是甲基,

[0137] R10 是氢或甲基。

[0138] 本发明的另一个方面涉及权利要求 1 的通式 (I) 的化合物,或者所述化合物的 N- 氧化物、盐、互变异构体或立体异构体,或者所述 N- 氧化物、互变异构体或立体异构体的盐,其中

[0139] R1 是氢或甲基,

[0140] R4 是苯基,

[0141] R6 是氢,

[0142] n 是 2,

[0143] m 是 2,

[0144] R7 是 -W-Y,

[0145] W 是 1,2,4- 亚三唑基,

[0146] Y 是吡啶 -2- 基,

[0147] R10 是氢或甲基。

[0148] 本发明的优选方面是权利要求 1 的化合物,或者所述化合物的 N- 氧化物、盐、互变异构体或立体异构体,或者所述 N- 氧化物、互变异构体或立体异构体的盐,所述化合物选自:

[0149] 5- 甲基 -8- 苯基 -7- {4- [4- (5- 吡啶 -2- 基 -1H- [1,2,4] 三唑 -3- 基) - 哌啶 -1- 基甲基] - 苯基} - 咪唑并 [1,2-c] 嘧啶、

[0150] 8- 苯基 -7- {4- [4- (5- 吡啶 -2- 基 -1H- [1,2,4] 三唑 -3- 基) - 哌啶 -1- 基甲

基]-苯基}-咪唑并[1,2-c]嘧啶、

[0151] 8-苯基-7-{4-[4-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-基甲基]-苯基}-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶、

[0152] 3-甲基-8-苯基-7-{4-[4-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-基甲基]-苯基}-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶、

[0153] 7-(4-{4-[5-(5,6-二甲基-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-5-甲基-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶、

[0154] 5-甲基-8-苯基-7-{4-[3-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-氮杂环丁烷-1-基甲基]-苯基}-咪唑并[1,2-c]嘧啶、

[0155] 5-甲基-8-苯基-7-{4-[4-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-基甲基]-苯基}-咪唑并[1,2-c]嘧啶、

[0156] 5-甲基-8-苯基-7-{4-[4-(5-嘧啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-基甲基]-苯基}-咪唑并[1,2-c]嘧啶、

[0157] 7-(4-{4-[5-(5-溴-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶、

[0158] 7-(4-{4-[5-(5,6-二甲基-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶、

[0159] 8-苯基-7-{4-[4-[5-(吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-基甲基]-苯基}-咪唑并[1,2-c]嘧啶、

[0160] 7-(4-{4-[5-(5-氟-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶、

[0161] 7-(4-{4-[5-(5-甲基-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶、

[0162] 7-(4-{4-[5-(6-氯-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶、

[0163] 7-(4-{4-[5-(4,6-二甲基-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶、

[0164] 8-苯基-7-(4-{4-[5-(4-三氟甲基-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-咪唑并[1,2-c]嘧啶、

[0165] 8-苯基-7-{4-[3-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-氮杂环丁烷-1-基甲基]-苯基}-咪唑并[1,2-c]嘧啶。

[0166] 本发明的方面是权利要求1的化合物,或者所述化合物的N-氧化物、盐、互变异构体或立体异构体,或者所述N-氧化物、互变异构体或立体异构体的盐,所述化合物选自:

[0167] 5-甲基-8-苯基-7-{4-[4-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-基甲基]-苯基}-咪唑并[1,2-c]嘧啶、

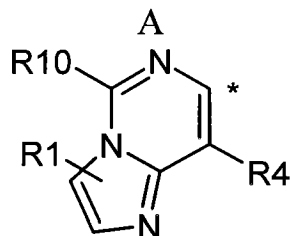
[0168] 8-苯基-7-{4-[4-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-基甲基]-苯基}-咪唑并[1,2-c]嘧啶、

[0169] 8-苯基-7-{4-[4-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-基甲基]-苯基}-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶、

[0170] 3-甲基-8-苯基-7-{4-[4-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-基甲基]-苯基}-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶。

[0171] 本发明的上述方面的一个实施方案涉及式(I)的化合物,或者所述化合物的N-氧化物、盐、互变异构体或立体异构体,或者所述N-氧化物、互变异构体或立体异构体的盐,其中与嘧啶环稠合的环B是以下环系统:

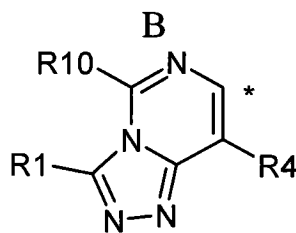
[0172]



[0173] R1、R4 和 R10 的定义如上所述。

[0174] 本发明的上述方面的又一实施方案涉及式(I)的化合物,或者所述化合物的N-氧化物、盐、互变异构体或立体异构体,或者所述N-氧化物、互变异构体或立体异构体的盐,其中与嘧啶环稠合的环B是以下环系统:

[0175]



[0176] R1、R4 和 R10 的定义如上所述。

[0177] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中 m 是 1 并且 n 是 1。

[0178] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中 m 是 1 并且 n 是 2。

[0179] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中 m 是 2 并且 n 是 2。

[0180] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中 m 是 1 并且 n 是 1,或者, m 是 2 并且 n 是 2。

[0181] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中 R1 是氢、1-4C-烷基(任选地被卤素、羟基、氨基、单-1-4C-烷基氨基或二-1-4C-烷基氨基取代)、卤素、三氟甲基、氰基、3-7C-环烷基、2-4C-烯基、2-4C-炔基、C(O)NR11R12、-C(O)OR2。

[0182] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中 R1 是氢、1-4C-烷基(任选地被卤素、羟基、氨基、单-1-4C-烷基氨基或二-1-4C-烷基氨基取代)、卤素、三氟甲基、氰基或 -C(O)NR11R12。

[0183] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中 R1 是氢、1-4C-烷基、卤素、三氟甲基、氰基或 -C(O)NR11R12。

[0184] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中 R1 是氢或

1-4C-烷基,特别是氢或甲基。

[0185] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中R₄是苯基。

[0186] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中R₆是氢。

[0187] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中R₈是氢、1-4C-烷基、1-4C-卤代烷基、3-7C-环烷基、1-4C-烷氧基、卤素、氰基或NR₁₁R₁₂。

[0188] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中R₈是氢、1-4C-卤代烷基、卤素、氰基或氨基,特别地,R₈是氢。

[0189] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中W是单环5元-或6元-亚杂芳基,特别是5元-亚杂芳基。

[0190] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中W是1,2,4-亚三唑基。

[0191] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中W是包含1个氮原子和任选存在的1、2或3个独立地选自氧、氮和硫的额外的杂原子的双环亚杂芳基,并且其中所述双环亚杂芳基任选地被R₈取代,并且Y是氢。

[0192] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中Y是包含1个氮原子和任选存在的1、2或3个独立地选自氧、氮、硫的额外的杂原子的单环5-元或6-元杂芳基,并且其中所述杂芳基任选地被R₉取代,并且R₉如任一权利要求中所定义。

[0193] 在另一实施方案中,Y是包含1个氮原子和任选存在的1或2个额外的氮原子的6-元杂芳基,特别是吡啶基、嘧啶基或吡嗪基,更特别是2-吡啶基、2-嘧啶基或2-吡嗪基。

[0194] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中Y是任选地被R₉取代并任选地进一步被R_{9A}取代的吡啶-2-基、嘧啶-2-基或吡嗪-2-基,并且R₉是1-4C-烷基、1-4C-烷氧基、卤素、羟基、1-4C-卤代烷基、NR₁₁R₁₂、氰基或-C(O)NH₂,且R_{9A}是1-4C-烷基或卤素。

[0195] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中Y是任选地被R₉取代的吡啶-2-基,并且R₉是1-4C-烷基、1-4C-烷氧基、卤素、羟基、1-4C-卤代烷基、NR₁₁R₁₂、氰基或-C(O)NH₂。

[0196] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中R₉是1-4C-烷基、1-4C-烷氧基、卤素、羟基、1-4C-卤代烷基、NR₁₁R₁₂、氰基或-C(O)NH₂,特别是1-4C-烷基、1-4C-卤代烷基或卤素,更特别是CH₃、F、Cl、Br、CF₃。

[0197] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中R_{9A}是1-4C-烷基或卤素,特别是1-4C-烷基,更具体地是CH₃。

[0198] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中R₁₀是氢或1-4C-烷基(任选地被卤素、羟基、氨基、单-1-4C-烷基氨基或二-1-4C-烷基氨基取代),特别是氢或1-4C-烷基,更特别是氢或CH₃。

[0199] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中R₁₁、R₁₂可相同或不同,是氢、1-4C-烷基(任选地被卤素、羟基、氨基、单-1-4C-烷基氨基或二-1-4C-烷基氨基取代)或3-7C-环烷基。

[0200] 在上述方面的又一实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物,其中R₁₁、R₁₂可相同或不同,是氢或1-4C-烷基。

[0201] 定义

[0202] 1-4C-烷基是具有 1-4 个碳原子的直链或支链烷基基团。实例是甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基。

[0203] 单-1-4C-烷基氨基或二-1-4C-烷基氨基基团除了包含氮原子之外,还包含 1 或 2 个上述 1-4C-烷基基团。实例是甲基氨基、乙基氨基、异丙基氨基、二甲基氨基、二乙基氨基和二异丙基氨基基团。

[0204] 单-1-4C-烷基氨基羰基或二-1-4C-烷基氨基羰基基团除了包含羰基基团之外,还包含上述单-1-4C-烷基氨基或二-1-4C-烷基氨基基团之一。实例是 N-甲基氨基羰基、N,N-二甲基氨基羰基、N-乙基氨基羰基、N-丙基氨基羰基、N,N-二乙基氨基羰基和 N-异丙基氨基羰基。

[0205] 在本发明的含义的范围内,卤素是碘、溴、氯或氟,优选溴、氯或氟,在其用作离去基团的情况下,优选溴或碘。

[0206] 1-4C-卤代烷基是其中至少 1 个氢被卤素原子取代的具有 1-4 个碳原子的直链或支链烷基基团。实例是氯甲基或 2-溴乙基。对于包括在术语“卤代烷基”中的部分氟化或完全氟化的 C₁-C₄-烷基基团,考虑以下部分氟化或完全氟化的基团,例如:氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、氟乙基、1,1-二氟乙基、1,2-二氟乙基、1,1,1-三氟乙基、四氟乙基和五氟乙基,优选三氟甲基。

[0207] 1-4C-烷氧基表示除了包含氧原子之外,还包含具有 1-4 个碳原子的直链或支链烷基基团的基团。可提及的实例是丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、丙氧基、异丙氧基、乙氧基和甲氧基基团,优选甲氧基。

[0208] 3-7C-环烷基代表环丙基、环丁基、环戊基、环己基或环庚基,优选环丙基、环丁基、环戊基、环己基。

[0209] 3-7C-环烷氧基代表环丙氧基、环丁氧基、环戊氧基、环己氧基或环庚氧基。

[0210] 2-4C-烯基是具有 2-4 个碳原子的直链或支链烯基基团。实例是丁-2-烯基、丁-3-烯基(高烯丙基)、丙-1-烯基、丙-2-烯基(烯丙基)和乙烯基基团。

[0211] 2-4C-炔基是具有 2-4 个碳原子的直链或支链炔基基团。实例是丁-2-炔基、丁-3-炔基(高炔丙基)、丙-1-炔基、1-甲基丙-2-炔基(1-甲基炔丙基)、丙-2-炔基(炔丙基)和乙炔基基团。

[0212] 术语“单环 5-元或 6-元杂芳基”包括但不限于:5-元杂芳基基团,呋喃基、噻吩基、吡咯基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、咪唑基、吡唑基、三唑基(1,2,4-三唑基、1,3,4-三唑基或 1,2,3-三唑基)、噻二唑基(1,3,4-噻二唑基、1,2,5-噻二唑基、1,2,3-噻二唑基或 1,2,4-噻二唑基)和噁二唑基(1,3,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,2,3-噁二唑基或 1,2,4-噁二唑基),以及 6-元杂芳基基团,吡啶基、嘧啶基、吡嗪基和哒嗪基。优选的 5-元或 6-元杂芳基基团是呋喃基、噻吩基、吡咯基、噻唑基、噁唑基、噻二唑基、噁二唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基或哒嗪基。更优选的 5-元或 6-元杂芳基基团是呋喃-2-基、噻吩-2-基、吡咯-2-基、噻唑基、噁唑基、1,3,4-噻二唑基、1,3,4-噁二唑基、吡啶-2-基、吡啶-4-基、嘧啶-2-基、嘧啶-4-基、吡嗪-2-基或哒嗪-3-基。

[0213] 术语“单环 5-元亚杂芳基”是其中从上述“杂芳基”除去任意一个氢原子的二价基团,并且可包括但不限于:5-元杂芳基基团,亚呋喃基、亚噻吩基、亚吡咯基、亚噁唑基、

亚异噁唑基、亚噻唑基、亚异噻唑基、亚咪唑基、亚吡唑基、亚三唑基（1,2,4-亚三唑基、1,3,4-亚三唑基或1,2,3-亚三唑基）、亚噻二唑基（1,3,4-亚噻二唑基、1,2,5-亚噻二唑基、1,2,3-亚噻二唑基或1,2,4-亚噻二唑基）和亚噁二唑基（1,3,4-亚噁二唑基、1,2,5-亚噁二唑基、1,2,3-亚噁二唑基或1,2,4-亚噁二唑基）。优选的5-元杂芳基基团是亚三唑基、亚吡唑基或亚咪唑基。更优选的5-元杂芳基基团是1,2,4-亚三唑基、亚吡唑基或亚咪唑基，最优选1,2,4-亚三唑基。

[0214] 所述NR10R11基团包括氨基(NH₂)、单烷基氨基、二烷基氨基，特别是氨基(NH₂)、单-1-4C-烷基氨基、二-1-4C-烷基氨基，例如NH、N(H)CH₃、N(CH₃)₂、N(H)CH₂CH₃和N(CH₃)CH₂CH₃。

[0215] 除非另外说明，一般而言，所述杂芳基或亚杂芳基基团包括其所有可能的异构体形式，例如其位置异构体。因此，对于一些示例性的非限制性实例，术语吡啶基或亚吡啶基包括吡啶-2-基、亚吡啶-2-基、吡啶-3-基、亚吡啶-3-基、吡啶-4-基和亚吡啶-4-基；或者，术语噻吩基或亚噻吩基包括噻吩-2-基、亚噻吩-2-基、噻吩-3-基和亚噻吩-3-基。

[0216] 除非另外说明，如本文所述任选地被取代的组分可在任何可能的位置上彼此独立地被取代一次或多次。类似地，应理解，对于任何杂芳基基团，若化学上适合，则所述杂芳基基团可通过任何适合的原子连接至此分子的其它部分。除非另外说明，优选以下取代基：甲基、乙基、三氟甲基、氟、氯、溴、甲氧基、氨基、甲基氨基、二甲基氨基。

[0217] 除非另外说明，本文提及的杂芳基或亚杂芳基基团可在任何可能的位置（例如在任何可取代的环碳原子或环氮原子）上被它们特定的取代基或母分子基团取代。

[0218] 除非另外说明，优选地，包含可季铵化的氨基型或亚氨基型环氮原子(-N=)的环可以不在这些氨基型或亚氨基型环氮原子上被所提及的取代基或母分子基团季铵化。

[0219] 除非另外说明，假定本文提及的具有不饱和化合价的杂芳基环或亚杂芳基环的任何杂原子具有氢原子以使其化合价饱和。

[0220] 当在任何组分中任何变量出现多于1次时，各自的定义是独立的。

[0221] 除非另外说明，术语“适合的离去基团”意指例如磺酸基，如即甲磺酸基、三氟甲磺酸基或对甲苯磺酸基，或者卤素，例如碘、溴或氯。

[0222] 本发明所述的化合物的盐包括所有的无机酸和有机酸加成盐以及与碱形成的盐，特别是所有的药学可接受的无机酸和有机酸加成盐以及与碱形成的盐，尤其是所有的常用于药学的药学可接受的无机酸和有机酸加成盐以及与碱形成的盐。

[0223] 酸加成盐的实例包括但不限于：盐酸盐、氢溴酸盐、磷酸盐、硝酸盐、硫酸盐、氨基磺酸的盐、甲酸盐、乙酸盐、丙酸盐、柠檬酸盐、D-葡萄糖酸盐、苯甲酸盐、2-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸盐、丁酸盐、水杨酸盐、磺基水杨酸盐、乳酸盐、马来酸盐、月桂酸盐、苹果酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、草酸盐、丙二酸盐、丙酮酸盐、乙酰乙酸盐、酒石酸盐、硬脂酸盐、苯磺酸盐、甲苯磺酸盐、甲磺酸盐、三氟甲磺酸盐、3-羟基-2-萘甲酸盐、苯磺酸盐、萘二磺酸盐和三氟乙酸盐。

[0224] 与碱形成的盐的实例包括但不限于：锂盐、钠盐、钾盐、钙盐、铝盐、镁盐、钛盐、葡甲胺、任选地衍生自NH₃或具有1-16个C-原子的有机胺的铵盐，所述有机胺例如乙胺、二乙胺、三乙胺、乙基二异丙基胺、单乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、二环己基胺、二甲基氨基乙醇、普鲁卡因、二苄基胺、N-甲基吗啉、精氨酸、赖氨酸、乙二胺、N-甲基哌啶和胍的盐。

[0225] 所述盐包括水不溶性的盐,以及特别是水溶性盐。

[0226] 根据本领域技术人员,本发明的式(I)的化合物及其盐可包含(例如,当以结晶形式分离时)各种量的溶剂。因此,本发明的范围还包括本发明的式(I)的化合物的所有溶剂合物,特别是所有水合物,以及本发明的式(I)的化合物的盐的所有溶剂合物,特别是所有水合物。

[0227] 本发明中的术语“组合”如本领域技术人员所知的那样加以使用,并且可以固定组合、非固定组合或药盒(kit-of-parts)形式存在。

[0228] 本发明中的“固定组合”如本领域技术人员所知的那样加以使用,并被定义为其中所述第一活性成分和所述第二活性成分以一个单位剂型或单一实体形式一起存在的组合。“固定组合”的一个实例是这样的药物组合物,其中所述第一活性成分和所述第二活性成分以用于同时给药的混合物的形式例如制剂形式存在。“固定组合”的另一个实例是这样的药物组合,其中所述第一活性成分和所述第二活性成分以非混合的一个单位的形式存在。

[0229] 本发明中的非固定组合或“药盒”如本领域技术人员所知的那样加以使用,并被定义为其中所述第一活性成分和所述第二活性成分以多于一个单位的形式存在的组合。非固定组合或药盒的一个实例是其中所述第一活性成分和所述第二活性成分分开存在的组合。非固定组合或药盒的组分可分开地、连续地、同时地、并行地或时间上交错地给药。

[0230] 术语“(化疗剂)抗癌剂”包括但不限于(i)烷化剂/氮甲酰化剂,例如环磷酰胺(Endoxan®)、异环磷酰胺(Holoxan®)、塞替派(Thiotepa Lederle®)、美法仑(Alkeran®)或氯乙基亚硝基脲(BCNU);(ii)铂衍生物,如顺铂(Platinex® BMS)、奥沙利铂(Eloxatin®)、沙铂或卡铂(Cabroplat® BMS);(iii)抗有丝分裂剂/微管蛋白抑制剂,例如长春花生物碱(长春新碱、长春碱、长春瑞滨),紫杉烷类,例如紫杉醇(Taxol®)、多西他赛(Taxotere®)和类似物以及其新的制剂和缀合物(如纳米颗粒制剂Abraxane®,其中紫杉醇与白蛋白结合),埃坡霉素类,例如埃坡霉素B(Patupilone®)、氮杂埃坡霉素(Azaepothilone)(Ixabepilone®)或ZK-EP0(全合成的埃坡霉素B类似物);(iv)拓扑异构酶抑制剂,例如蒽环类(例如多柔比星/Adriablastin®)、表鬼臼毒素(例如依托泊苷/Etopophos®)以及喜树碱和喜树碱类似物(例如伊立替康/Camptosar®或托泊替康/Hycamtin®);(v)嘧啶拮抗剂,例如5-氟尿嘧啶(5-FU)、卡培他滨(Xeloda®)、阿糖胞嘧啶/阿糖胞苷(Alexan®)或吉西他滨(Gemzar®);(vi)嘌呤拮抗剂,例如6-巯嘌呤(Puri-Nethol®)、6-巯鸟嘌呤或氟达拉滨(Fludara®),以及(vii)叶酸拮抗剂,例如甲氨蝶呤(Farmitrexat®)或培美曲塞(Alimta®)。

[0231] 术语“靶特异性抗癌剂”包括但不限于(i)激酶抑制剂,例如伊马替尼(Glivec®)、ZD-1839/吉非替尼(Iressa®)、Bay43-9006(索拉非尼、Nexavar®)、SU11248/舒尼替尼(Sutent®)、OSI-774/厄洛替尼(Tarceva®)、达沙替尼(Dasatinib)(Sprycel®)、拉帕替尼(Lapatinib)(Tykerb®),或者还参见以下,瓦他拉尼(Vatalanib)、凡德他尼(Vandetanib)(Zactima®)或帕唑帕尼(Pazopanib);(ii)蛋白酶体抑制剂,例如PS-341/硼替佐米(Velcade®);(iii)组蛋白脱乙酰酶抑制剂,如SAHA(Zolinza®)、PXD101、MS275、MGCD0103、缩酚酸肽/FK228、NVP-LBH589、丙戊酸(VPA)、CRA/PCI 24781、ITF2357、SB939和丁酸盐,(iv)热休克蛋白90抑制剂,如17-烯丙基氨基格尔德霉素(17-AAG)或17-二甲基氨基格尔德霉素(17-DMAG);(v)血管靶向剂(VTA)如考布他汀A4磷酸盐或

AVE8062/AC7700 和抗血管发生药例如 VEGF 抗体如贝伐珠单抗 (Avastin®), 或 KDR 酪氨酸激酶抑制剂如 PTK787/ZK222584 (Vatalanib®) 或凡德他尼 (Zactima®) 或帕唑帕尼; (vi) 单克隆抗体, 例如曲妥珠单抗 (Herceptin®)、利妥昔单抗 (MabThera/Rituxan®)、阿仑珠单抗 (Campath®)、托西莫单抗 (Bexxar®)、C225/ 西妥昔单抗 (Erbix®)、Avastin(见上) 或帕尼单抗 (Panitumumab) (Vectibix®), 以及单克隆抗体的变体和缀合物例如吉妥珠单抗奥佐米星 (Mylotarg®) 或替伊莫单抗 (Zevalin®), 以及抗体片段; (vii) 寡核苷酸系治疗剂如 G-3139/Oblimersen (Genasense®) 或 DNMT1 抑制剂 MG98; (viii) Toll- 样受体 /TLR 9 激动剂如 Promune®、TLR 7 激动剂如咪喹莫特 (Aldara®) 或艾沙托立宾及其类似物, 或 TLR 7/8 激动剂如瑞喹莫德, 以及免疫刺激性 RNA 如 TLR 7/8 激动剂; (ix) 蛋白酶抑制剂; (x) 激素类治疗剂, 例如抗雌激素 (如他莫昔芬或雷洛昔芬)、抗雄激素 (如氟他胺或 Casodex)、LHRH 类似物 (如亮丙瑞林、戈舍瑞林或曲普瑞林) 和芳香酶抑制剂 (如 Femara、Arimedex 或 Aromasin)。

[0232] 其它“靶特异性抗癌剂”包括: 博来霉素、类视色素例如全反式视黄酸 (ATRA)、DNA 甲基转移酶抑制剂例如 5- 氮杂 -2' - 脱氧胞苷 (地西他滨、Dacogen®) 和 5- 氮杂胞苷 (Vidaza®)、阿拉诺新、细胞因子例如白细胞介素 -2、干扰素类例如干扰素 α 2 或干扰素 - γ 、bcl2 拮抗剂 (如 ABT-737 或类似物)、死亡受体激动剂例如 TRAIL、DR4/5 激动性抗体、FasL 和 TNF-R 激动剂 (如 TRAIL 受体激动剂如马帕木单抗 (mapatumumab) 或来沙木单抗 (lexatumumab))。

[0233] 具体实例包括但不限于 5FU、放线菌素 D、阿巴瑞克、阿昔单抗、阿柔比星、阿达帕林、阿仑珠单抗、六甲蜜胺、氮鲁米特、氮普立糖、氮柔比星、阿那曲唑、安西他滨、青蒿素、硫唑嘌呤、巴利昔单抗、苯达莫司汀、贝伐珠单抗、BEXXAR、比卡鲁胺、博来霉素、硼替佐米、溴尿苷、白消安、CAMPATH、卡培他滨、卡铂、卡波醌、卡莫司汀、西曲瑞克、苯丁酸氮芥、氮芥、顺铂、克拉屈滨、氟米芬、环磷酰胺、达卡巴嗪、达克珠单抗、更生霉素、达沙替尼、柔红霉素、地西他滨、地洛瑞林、右雷佐生、多西他赛、去氧氟尿苷、多柔比星、屈洛昔芬、屈他雄酮、依地福新、依氟鸟氨酸、乙嘧替氟、表柔比星、环硫雄醇、依他铂、ERBITUX、厄洛替尼、雌莫司汀、依托泊苷、依西美坦、法倔唑、非那雄胺、氟尿苷、氟胞嘧啶、氟达拉滨、氟尿嘧啶、氟他胺、福美坦、膦甲酸、磷雌酚、福莫司汀、氟维司群、吉非替尼、GENASENSE、吉西他滨、GLIVEC、戈舍瑞林、胍立莫司、HERCEPTIN、伊达比星、碘苷、异环磷酰胺、伊马替尼、英丙舒凡、英利昔单抗、伊立替康、IXABEPILONE、兰瑞肽、拉帕替尼、来曲唑、亮丙瑞林 (LEUPRORELIN)、洛铂、洛莫司汀、亮丙瑞林 (LEUPROLIDE)、美法仑、硫嘌呤、甲氨蝶呤、美妥替派、米铂、米非司酮、米替福新、米立司亭、米托胍脞、二溴卫矛醇、丝裂霉素、米托蒽醌、咪唑立宾、莫特沙芬、MYLOTARG、那托司亭、NEBAZUMAB、奈达铂、尼鲁米特、尼莫司汀、奥曲肽、奥美昔芬、奥沙利铂、紫杉醇、帕利珠单抗、帕尼单抗、PATUPILONE、帕唑帕尼、培门冬酶、培非司亭、培美曲塞、喷曲肽、喷司他丁、培磷酰胺、哌泊舒凡、吡柔比星、普卡霉素、泼尼莫司汀、丙卡巴肼、丙帕锗、丙螺氯铵、雷洛昔芬、雷替曲塞、雷莫司汀、豹蛙酶、拉布立酶、雷佐生、利妥昔单抗、利福平、利曲舒凡、罗莫肽、RUBOXISTAURIN、沙格司亭、沙铂、西罗莫司、索布佐生、索拉非尼、螺莫司汀、链佐星、舒尼替尼、他莫昔芬、他索纳明、替加氟、替莫泊芬、替莫唑胺、替尼泊苷、睾内酯、塞替派、胸腺法新、硫米嘌呤、托泊替康、托瑞米芬、TRAIL、曲妥珠单抗、曲奥舒凡、三亚胺醌、三甲曲沙、曲普瑞林、曲磷胺、乌瑞替派、戊柔比星、瓦他拉尼、凡德他尼、维替泊芬、

长春碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨、伏罗唑、ZEVALIN 和 ZOLINZA。

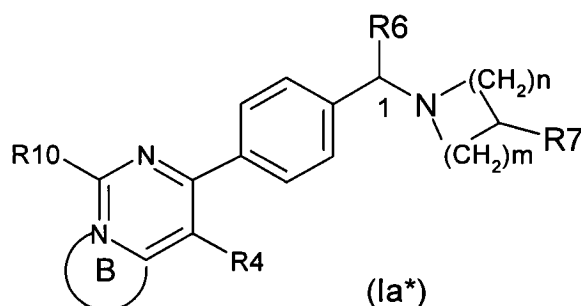
[0234] 本发明的化合物及其盐可以互变异构体形式存在,互变异构体包括在本发明的实施方案中。具体地,例如,本发明的包含吡唑基团的那些化合物可以 1H 互变异构体或 2H 互变异构体的形式,或者甚至以任意量的这两种互变异构体的混合物的形式存在,或者,例如,包含三唑基团的那些化合物可以 1H 互变异构体、2H 互变异构体或 4H 互变异构体的形式,或者甚至以任意量的所述 1H、2H 和 4H 互变异构体的混合物形式存在:

[0235]



[0236] 本发明的化合物及其盐包括立体异构体。所述立体异构体中存在的各立体中心 (stereogenic center) 可具有绝对构型 R 或绝对构型 S (根据 Cahn-Ingold-Prelog 规则)。因此,在式 (Ia*) 的化合物的情况中,立体异构体 (1S) 和 (1R) 和它们的盐是本发明的部分。

[0237]



[0238] 本发明还包括上述立体异构体的任意比例的所有混合物,包括外消旋物。

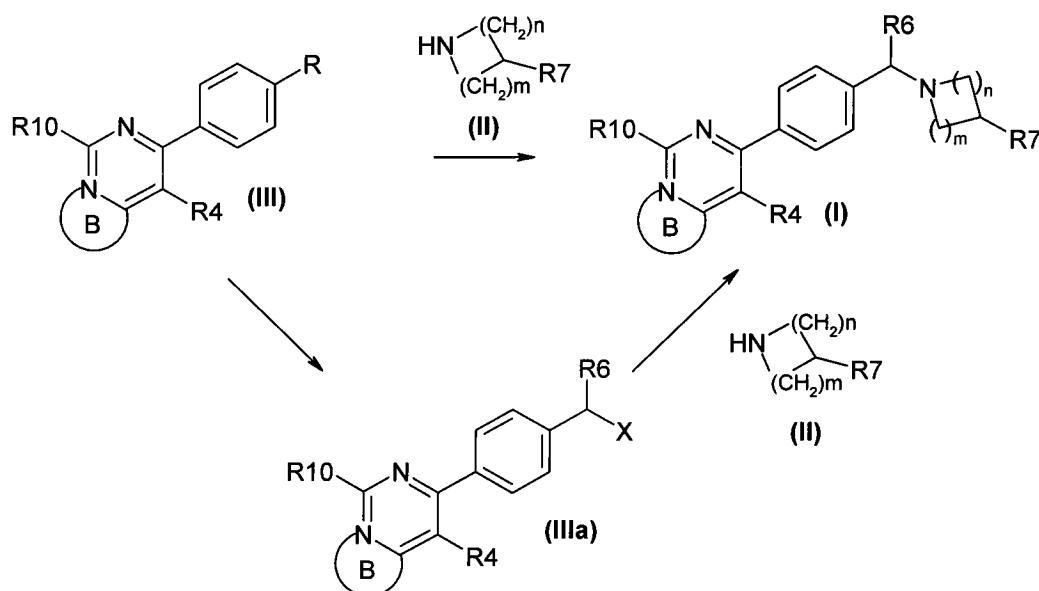
[0239] 本发明的化合物和盐中的一些可以以不同的结晶形式 (多晶型物) 存在,其在本发明的范围内。

[0240] 另外,本发明包括在生物系统中被转化成式 (I) 的化合物或其盐的式 (I) 的化合物的衍生物及其盐 (生物前体或前药)。所述生物系统是例如哺乳动物生物体,特别是人类个体。所述生物前体例如通过代谢过程被转化成式 (I) 的化合物或其盐。

[0241] 如下所述的用于合成权利要求 1-4 的化合物的中间体以及它们用于合成权利要求 1-4 的化合物的用途是本发明的又一方面。

[0242] 可如下制备本发明的化合物。

[0243]



[0244] 反应路线 1

[0245] 如反应路线 1 中所示, 式 (I) 的化合物 (其中 B、R₄、R₇、m、n 和 R₁₀ 具有上述含义, 并且 R₆ 是氢或 1-4C-烷基) 可通过相应的式 (III) 的化合物 (其中 R 具有 -C(O)R₆ 的含义) 与式 (II) 的胺衍生物 (其中 R₇ 具有上述含义) 的还原胺化反应获得。可按照标准方法, 例如通过使用 NaBH(OAc)₃ 或 NaBH₃CN 在适合的溶剂例如 1, 2-二氯乙烷 (DCE)、四氢呋喃 (THF)、N-甲基吡咯烷酮 (NMP)、二甲基甲酰胺 (DMF)、甲醇或以上溶剂的适合的混合物中进行所述还原胺化。

[0246] 式 (II) 的胺衍生物 (其中 R₇、m 和 n 具有上述含义) 是已知的, 或者可按照已知的方法制备 (在某些情况中它们可包含一个或多个保护基以保护其它官能团, 例如但不限于 NH 官能团)。式 (II) 的胺衍生物可制成适合的盐, 例如盐酸盐, 其中所述盐酸盐可以是单盐酸盐或二盐酸盐。使用式 (II) 的胺衍生物的盐的反应需要加入适合的碱, 例如三乙胺。除非另外说明, 为了计算使用式 (II) 的胺衍生物的盐的反应所需的碱的量, 假定式 (II) 的胺衍生物的盐是二价盐, 例如二盐酸盐。

[0247] 式 (II) 的化合物或其盐用于合成权利要求 1-4 的化合物的用途是本发明的一个方面。

[0248] 式 (III) 的化合物 (其中 R 具有 -C(O)H 的含义) 可以以 1 步法或 2 步法, 从相应的式 (III) 的化合物 (其中 R 具有 -C(O)O(1-4C-烷基) 的含义) 获得。按照本领域技术人员已知的方法, 例如通过使用 DIBALH 在低温例如 -80°C 至 -60°C 下, 以 1 步法将所述酯基选择性地还原成醛基。或者, 以 2 步法, 按照已知的方法, 例如通过使用 LiAlH₄ 或 NaBH₄ 将所述酯基还原成醇基 (-CH₂OH), 然后按照本领域技术人员已知的方法, 例如用 SO₃-吡啶复合物或戴斯-马丁试剂 (Dess-Martin Periodinane) 将所得的醇选择性地氧化成 -C(O)H 基团。

[0249] 或者, 作为上述反应顺序的备选方案, 式 (I) 的化合物 (其中 B、R₄、R₇、m、n 和 R₁₀ 具有上述含义, 并且 R₆ 是氢或 1-4C-烷基) 可通过相应的式 (IIIa) 的化合物 (其中 X 是适合的离去基团, 例如卤素原子或磺酸酯) 与式 (II) 的胺衍生物 (其中 R₇、m 和 n 具有上述含义) 的反应获得。此反应优选地在惰性溶剂例如 DMF 中, 在 60-100°C 的温度下, 在碱例如三乙胺存在下进行。

[0250] 式 (IIIa) 的化合物 (其中 X 是适合的离去基团, 例如卤素原子) 可通过卤化反应, 从相应的式 (III) 的化合物 (其中 R 是 $-\text{CH}(\text{R}_6)\text{OH}$, 并且 R_6 是氢或 1-4C-烷基) 获得。这样的卤化反应可例如通过使用 PBr_3 在二氯甲烷中进行。

[0251] 或者, 式 (IIIa) 的化合物 (其中 X 是适合的离去基团, 例如卤素原子) 可通过苄型卤化 (benzylic halogenation), 从相应的式 (III) 的化合物 (其中 R 是 $-\text{CH}_2\text{R}_6$, 并且 R_6 是氢或 1-4C-烷基) 获得。苄型卤化可例如通过使用 N-溴丁二酰亚胺 (NBS) 进行。

[0252] 或者, 式 (IIIa) 的化合物 (其中 X 是适合的离去基团, 例如磺酸酯, 如甲磺酸酯、三氟甲磺酸酯或对甲苯磺酸酯) 可通过磺酰化反应, 从相应的式 (III) 的化合物 (其中 R 是 $-\text{CH}(\text{R}_6)\text{OH}$, 并且 R_6 是氢或 1-4C-烷基) 获得。这样的磺酰化反应可以例如通过使用适合的磺酸酐或磺酰卤如甲磺酰氯, 在适合的碱如三乙胺的存在下, 在适合的溶剂如二氯甲烷或二甲基甲酰胺或它们的混合物中进行。

[0253] 式 (III) 的化合物 (其中 R 是 $-\text{CH}(\text{R}_6)\text{OH}$, 并且 R_6 是氢或 1-4C-烷基) 可以例如按照本领域技术人员已知的方法, 例如通过用 NaBH_4 或 LiAlH_4 还原, 从相应的式 (III) 的化合物 (其中 R 是 $-\text{C}(\text{O})\text{R}_6$) 获得。

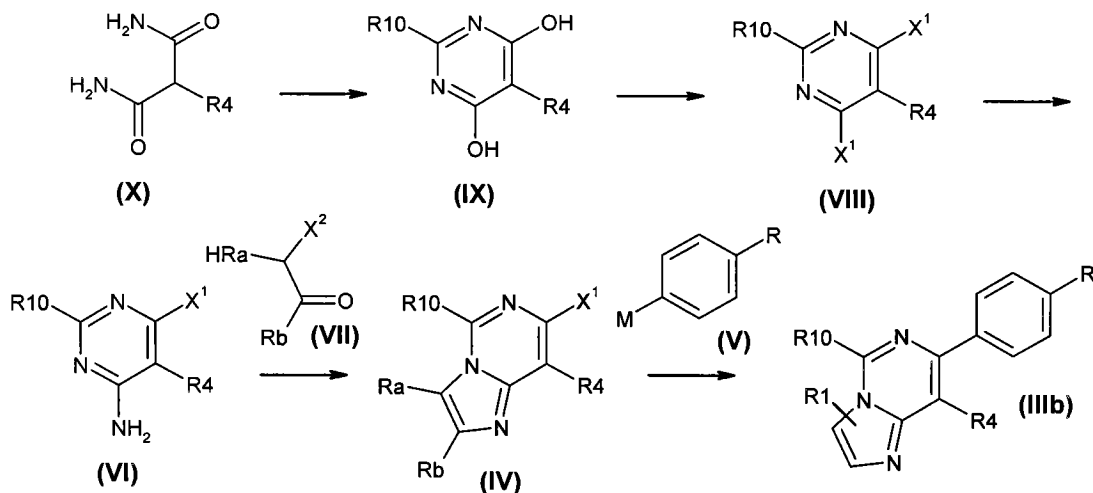
[0254] 或者, 式 (III) 的化合物 (其中 R 是 $-\text{CH}(\text{R}_6)\text{OH}$, 并且 R_6 是氢或 1-4C-烷基) 可通过苄型氧化 (benzylic oxidation), 从相应的式 (III) 的化合物 (其中 R 是 $-\text{CH}_2\text{R}_6$) 获得, 所述苄型氧化可例如通过使用催化量或等摩尔量的 SeO_2 进行。

[0255] 在又一备选实施方案中, 式 (III) 的化合物 (其中 R 是 $-\text{CH}(1\text{-}4\text{C-烷基})\text{OH}$) 可通过加入适合的有机金属试剂 (例如但不限于格氏试剂或锂试剂), 从相应的式 (III) 的化合物 (其中 R 是 $-\text{C}(\text{O})\text{H}$) 获得。

[0256] 对于反应路线 1 中的反应, 为了合成式 (III) 的化合物 (其中 B、 R_4 和 R_{10} 具有上述含义, 并且 R 是 $-\text{C}(\text{O})\text{R}_6$ 或 $-\text{CH}(\text{R}_6)\text{OH}$), 可以视需要用本领域技术人员已知的适合保护基保护一些或所有的前体中的这些基团。可按照本领域已知的脱保护基的方法, 将式 (III) 的化合物 (其中 B、 R_4 和 R_{10} 具有上述含义, 并且 R 是被保护的酮、醛或醇基团) 脱保护, 以产生相应的脱保护的化合物。

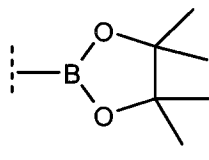
[0257] 可以如反应路线 2 中所示获得式 (IIIb) 的化合物 (其中 R_1 、 R_4 和 R_{10} 具有上述含义, 并且 R 具有 $-\text{C}(\text{O})\text{O}(1\text{-}4\text{C-烷基})$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}_6$ 、 $-\text{CH}(\text{R}_6)\text{OH}$ 或 $-\text{CH}_2\text{R}_6$ 的含义, 并且 R_6 是氢或 1-4C-烷基)。

[0258]



[0259] 反应路线 2

[0260] 式 (III) 的化合物 (其中 R1、R4 和 R10 具有上述含义, 并且 R 具有 $-C(O)O(1-4C-烷基)$ 、 $-C(O)R_6$ 、 $-CH(R_6)OH$ 或 $-CH_2R_6$ 的含义, 并且 R6 是氢或 1-4C-烷基) 可通过过渡金属催化的相应的式 (IV) 的化合物 (其中 X1 是 Cl、Br、I 或 $-OS(O)_2CF_3$, 并且 Ra 和 Rb 独立地具有如以上关于 R1 所定义的含义) 与相应的式 (V) 的化合物之间形成 C-C 键来获得, 在所述相应的式 (V) 的化合物中, M 是例如 $-B(OH)_2$ 、 $-Sn(1-4C-烷基)_3$ 、 $-ZnCl$ 、 $-ZnBr$ 、 $-ZnI$ 、或



[0261] 若 M 具有 $-B(OH)_2$ 的含义, 则此过渡金属催化的形成 C-C 键的反应可例如在二噁烷和 Cs_2CO_3 水溶液的混合物中, 在 $60^\circ C$ 至所述溶剂的沸点的温度下, 优选在 $115^\circ C$ 下, 并通过使用 Pd 催化剂例如但不限于 1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁] 二氯化钯或 $Pd(PPh_3)_4$ 进行。

[0262] 式 (IV) 的化合物 (其中 R4、R10、Ra、Rb 和 X1 具有上述含义) 可通过通式 (VI) 的化合物 (其中 R4、R10 和 X1 具有上述含义) 与式 (VII) 的醛或酮 (Ra 和 Rb 具有上述含义, 并且 X2 是 Cl、Br 或 I) 的缩合反应获得。所述缩合反应可以在适合的溶剂 (例如乙醇) 中, 在升高的温度 (如 $100^\circ C$) 下进行。所述升高的温度可以通过常规加热或通过使用微波辐射获得。通式 (VII) 的醛或酮可商购, 或可按照本领域技术人员已知的方法制备。

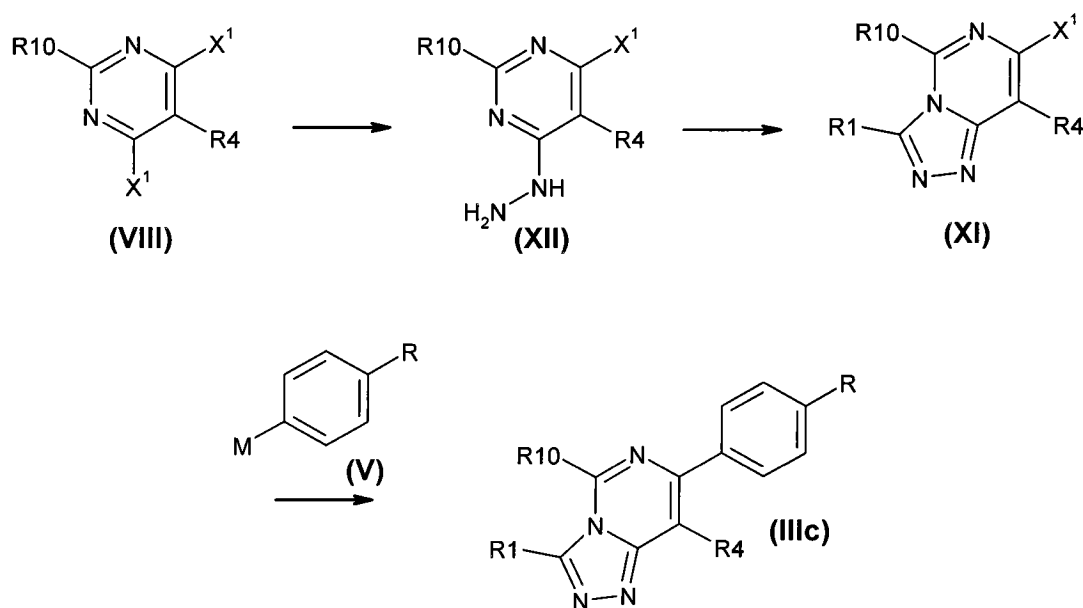
[0263] 通式 (VI) 的化合物 (其中 R4、R10 和 X1 具有上述含义) 可以通过胺化反应, 从通式 (VIII) 的化合物获得。所述胺化反应可以通过使通式 (VIII) 的化合物与适合的氨源 (例如氨在乙醇中的溶液或氨水) 在升高的温度 (如 $100-120^\circ C$) 下, 在适合的溶剂 (例如乙醇) 中反应来进行, 其中所述氨源可以用作该反应的溶剂。

[0264] 通式 (VIII) 的化合物 (其中 R4、R10 和 X1 具有上述含义) 可以通过卤化反应, 例如通过用 $POCl_3$ (在 X1 具有 Cl 的含义的情况下)、 $POBr_3$ (在 X1 具有 Br 的含义的情况下) 处理, 从通式 (IX) 的化合物获得。

[0265] 通式 (IX) 的化合物 (其中 R4 和 R10 具有上述含义) 可通过在升高的温度 (例如 $50^\circ C$) 下, 在适合的溶剂 (例如乙醇) 中, 在适合的碱 (例如 NaOEt) 的存在下, 由通式 (X) 的化合物与通式 $R_{10}-C(O)OR_y$ 的酯的缩合反应获得。通式 (IX) 或 $R_{10}-C(O)OR_y$ 的化合物可商购, 或可按照本领域技术人员已知的方法制备。

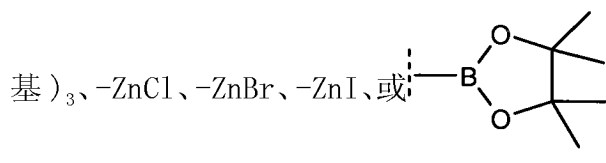
[0266] 可以如反应路线 3 中所示获得式 (IIIc) 的化合物 (其中 R1、R4 和 R10 具有上述含义, 并且 R 具有 $-C(O)O(1-4C-烷基)$ 、 $-C(O)R_6$ 、 $-CH(R_6)OH$ 或 $-CH_2R_6$ 的含义, 并且 R6 是氢或 1-4C-烷基)。

[0267]



[0268] 反应路线 3

[0269] 式 (III) 的化合物 (其中 R1、R4 和 R10 具有上述含义, 并且 R 具有 $-\text{C}(\text{O})\text{O}(1\text{-}4\text{C-烷基})$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}_6$ 、 $-\text{CH}(\text{R}_6)\text{OH}$ 或 $-\text{CH}_2\text{R}_6$ 的含义, 并且 R6 是氢或 1-4C-烷基) 可通过过渡金属催化的相应的式 (XI) 的化合物 (其中 X1 是 Cl、Br、I 或 $-\text{OS}(\text{O})_2\text{CF}_3$) 与相应的式 (V) 的化合物之间形成 C-C 键来获得, 在所述相应的式 (V) 的化合物中, M 是例如 $-\text{B}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{Sn}(1\text{-}4\text{C-烷基})_3$ 、 $-\text{ZnCl}$ 、 $-\text{ZnBr}$ 、 $-\text{ZnI}$ 、或



[0270] 若 M 具有 $-\text{B}(\text{OH})_2$ 的含义, 则此过渡金属催化的形成 C-C 键的反应可例如在二噁烷和 Cs_2CO_3 水溶液的混合物中, 在 60°C 至所述溶剂的沸点的温度下, 优选在 115°C 下, 并通过使用 Pd 催化剂例如但不限于 1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯或 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ 进行。

[0271] 式 (XI) 的化合物可通过通式 (XII) 的化合物与通式 $\text{R}_1(\text{OR}_y)_3$ 的原酸酯 (其中 R1 具有上述含义, 并且 R_y 是 1-4C-烷基) 的缩合反应获得。所述缩合反应可以在适合的溶剂中, 在升高的温度 (例如所述溶剂的沸点) 下进行, 其中所述原酸酯可以用作该反应的溶剂。

[0272] 通式 (XII) 的化合物 (其中 R4、R10 和 X1 具有上述含义) 可以通过与适合的肼源 (例如水合肼) 反应, 从通式 (VIII) 的化合物获得。所述反应可以通过使通式 (VIII) 的化合物与所述肼源在适合的溶剂 (例如乙醇) 中, 在升高的温度 (如 50°C) 下反应来进行。

[0273] 或者, 可以使通式 (I) 的化合物 (其中 R1 = 卤素) 进一步官能化, 以提供其它通式 (I) 的化合物 (其中 R1 是 1-4C-烷基、氰基、3-7C-环烷基、2-4C-烯基、2-4C-炔基、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_2$, 或者单环 5-元或 6-元亚杂芳基)。该转化可以通过本领域技术人员公知的金属介导的反应, 例如上述那些反应来实现。

[0274] 本发明的一个优选方面是根据实施例制备权利要求 1-4 的化合物的方法。

[0275] 任选地, 式 (I) 的化合物可被转化成其盐, 或者, 任选地, 式 (I) 的化合物的盐可被转化成游离的化合物。相应的方法对本领域技术人员来说是常规的。

[0276] 本领域技术人员已知,若在原料或中间体化合物上存在数个反应中心,可能需要通过保护基暂时屏蔽一个或多个反应中心以使反应专一地在期望的反应中心进行。关于大量已证实的保护基的使用的详细描述见于例如, T.W.Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, 1999, 第 3 版, 或 P.Kocienski, *Protecting Groups*, Thieme Medical Publishers, 2000。

[0277] 按照本领域已知的方法分离和纯化本发明的化合物,例如,通过真空蒸除溶剂,并从适合的溶剂中重结晶所得的残余物,或者对其进行一种常规纯化方法,例如在适合的载体材料上的柱色谱。

[0278] 本发明的式 (I) 的化合物的盐可通过将游离化合物溶于适合的溶剂(例如,酮如丙酮、甲基乙基酮或甲基异丁基酮,醚如乙醚、四氢呋喃或二噁烷,氯代烃如二氯甲烷或氯仿,或低分子量脂族醇如甲醇、乙醇或异丙醇)中来获得,所述溶剂含有期望的酸或碱,或者之后向其中加入期望的酸或碱来获得。所述酸或碱可以等摩尔数量比或与之不同的比例用于制备盐,这取决于是否考虑一元-或多元-酸或碱并取决于期望何种盐。通过过滤、再沉淀、用所述盐的非溶剂沉淀,或者通过蒸发溶剂获得盐。所得的盐可转化成游离化合物,其继而可转化成盐。如此,例如可在工业规模的生产中作为过程产物获得的药学不可接受的盐可按照本领域技术人员已知的方法转化成药学可接受的盐。

[0279] 任选地,式 (I) 的化合物可被转化成其 N-氧化物。所述 N-氧化物还可通过中间体引入。N-氧化物可通过用氧化剂(例如间氯过苯甲酸)在适当的溶剂(例如二氯甲烷)中,在适合的温度(例如 0°C -40°C,其中通常优选室温)下处理适当的前体来制备。形成 N-氧化物的其它相应方法对本领域技术人员来说是常规的。

[0280] 本发明的化合物及其盐的纯的非对映体和纯的对映体可例如通过不对称合成、通过在合成中使用手性原料化合物,以及通过拆分合成中所得的对映体和非对映体混合物获得。

[0281] 可按照本领域技术人员已知的方法,将对映体和非对映体混合物拆分成纯的对映体和纯的非对映体。优选地,通过结晶,特别是分级结晶,或者通过色谱法分离非对映体混合物。例如,可通过与手性助剂形成非对映体,拆分所得的非对映体,并除去所述手性助剂来分离对映体混合物。作为手性助剂,通过形成非对映体盐,例如手性酸如扁桃酸可用来分离对映体碱,手性碱可用来分离对映体酸。另外,非对映体衍生物例如非对映体酯可通过分别使用手性酸或手性醇作为手性助剂分别从醇的对映体混合物或酸的对映体混合物形成。此外,非对映体复合物或非对映体包合物可用于分离对映体混合物。或者,可在色谱中使用手性分离柱拆分对映体混合物。分离对映体的另一适合的方法是酶法分离。

[0282] 本领域技术人员会理解,本发明不限于本文所述的具体实施方案,而是覆盖在由所附的权利要求书所限定的本发明的精神和范围内的所述实施方案的所有修改。

[0283] 商业用途

[0284] 本发明的式 (I) 的化合物和式 (I) 的化合物的立体异构体在下文中被称为本发明的化合物。特别地,本发明的化合物是药学可接受的。本发明的化合物具有有价值的药性质,这赋予它们商业实用性。特别地,它们抑制 Pi3K/Akt 途径并呈现细胞活性。预期它们可商业应用于治疗疾病(例如依赖被过度激活的 Pi3K/Akt 的疾病)。

[0285] PI3K/AKT 途径的异常激活是引发和维持人类肿瘤的必要步骤,因此,其抑制

(例如用 AKT 抑制剂抑制)被认为是治疗人类肿瘤的有效方法。对于最近的综述,参见 Garcia-Echeverria 等人 (Oncogene, 2008, 27, 551-4526)。

[0286] 细胞活性及类似术语在本发明中如本领域技术人员所知的那样加以使用,例如诱导凋亡或化学致敏。

[0287] 化学致敏及类似术语在本发明中如本领域技术人员所知的那样加以使用。这些刺激物包括例如死亡受体和存活途径的效应物及细胞毒剂 / 化疗剂和靶向剂,最后还有放射疗法。根据本发明,诱导凋亡及类似术语用来鉴别化合物,所述化合物在与其或其和常规用于治疗的其他化合物的组合接触的细胞中执行程序性细胞死亡。

[0288] 凋亡在本发明中如本领域技术人员所知的那样加以使用。在与本发明的化合物接触的细胞中诱导凋亡可能不一定与抑制细胞增殖有关。优选地,所述抑制增殖和 / 或诱导凋亡对具有异常细胞生长的细胞是特异性的。

[0289] 另外,本发明的化合物在细胞和组织中抑制蛋白激酶活性,导致向脱磷酸化的底物蛋白转移,并且作为其功能性结果,导致例如诱导凋亡、细胞周期停滞和 / 或对化疗药和靶特异性癌症药物致敏。在优选的实施方案中,抑制 Pi3K/Akt 途径单独地或者与标准细胞毒性药物或靶向性癌症药物联合诱导本文提及的细胞效应。

[0290] 本发明的化合物显示出抗增殖和 / 或促凋亡和 / 或化学致敏性质。因此,本发明的化合物可用于治疗过度增殖性病症,特别是癌症。因此,本发明的化合物可用于在患有过度增殖性病症如癌症的哺乳动物如人类中产生抗增殖和 / 或促凋亡和 / 或化学致敏效应。

[0291] 本发明的化合物因为抑制即使在不利生长条件(例如葡萄糖缺乏、缺氧或其它化学应激)下仍然能够存活的癌细胞的代谢活性而在哺乳动物例如人类中显示出抗增殖和 / 或促凋亡性质。

[0292] 因此,本发明所述的化合物能够用于治疗、改善或预防本文所述的具有良性或恶性表现的疾病,例如用于抑制细胞瘤。

[0293] 瘤在本发明中如本领域技术人员所知的那样加以使用。良性瘤被定义为不能在体内形成侵略性、转移性肿瘤 of 细胞过度增殖。反之,恶性瘤被定义为能够形成全身性疾病(例如在远端器官中形成肿瘤转移)的具有多种细胞异常和生化异常的细胞。

[0294] 优选地,本发明的化合物可用于治疗恶性瘤。可用本发明的化合物治疗的恶性瘤的实例包括实体瘤和血液瘤。实体瘤可以是例如乳房、膀胱、骨、脑、中枢和外周神经系统、结肠、内分泌腺(如甲状腺和肾上腺皮质)、食道、子宫内膜、生殖细胞、头和颈、肾、肝、肺、喉和下咽的肿瘤、间皮瘤、卵巢、胰腺、前列腺、直肠、肾、小肠、软组织、睾丸、胃、皮肤、输尿管、阴道和外阴的肿瘤。恶性瘤包括遗传性癌症,例如视网膜母细胞瘤和肾母细胞瘤(Wilms tumor)。此外,恶性瘤包括在所述器官中的原发性肿瘤及在远端器官中的相应继发性肿瘤(肿瘤转移)。血液瘤可以是例如侵略性和无痛形式的白血病和淋巴瘤,即非霍奇金病、慢性和急性髓样白血病(CML/AML)、急性淋巴细胞性白血病(ALL)、霍奇金病、多发性骨髓瘤和 T- 细胞型淋巴瘤。还包括骨髓增生异常综合征、浆细胞瘤、副肿瘤综合征和未知原发部位的癌及 AIDS 相关的恶性瘤。

[0295] 应注意的是,恶性瘤不一定要求在远端器官中形成转移。某些肿瘤通过它们的侵略性生长性质对原发性器官本身施加毁灭性效应。这些可导致组织和器官结构破坏,最终导致所指器官的功能衰竭和死亡。

[0296] 耐药性对标准癌症疗法的频繁失败特别重要。此耐药性是由各种细胞机制和分子机制所致。耐药性的一个方面是由作为关键信号转导激酶的 PKB/Akt 组成性激活抗凋亡的存活信号所致。抑制 Pi3K/Akt 途径导致对标准的化疗药或靶特异性癌症治疗药的重新致敏。因此,本发明化合物的商业应用不限于癌症患者的一线治疗。在优选的实施方案中,对癌症化疗药或靶特异性抗癌药耐药的癌症患者也可接受用这些化合物治疗,例如,用于 2 线或 3 线治疗周期。特别地,本发明的化合物可与标准的化疗药或靶向性药物联用以使肿瘤对这些药剂重新致敏。

[0297] 就本文提及的它们的性质、功能和用途而言,本发明的化合物的特征在于与其相关的出乎预料的有价值且令人期望的效应,例如,优异的治疗窗、优异的生物利用度(例如良好的口服吸收)、低毒性和/或与它们的治疗和药学性质相关的其它有利效应。

[0298] 本发明的化合物用于治疗、预防或改善具有上述良性和恶性表现的疾病,例如良性或恶性瘤,特别是癌症,尤其是对抑制 Pi3K/Akt 途径敏感的癌症。

[0299] 本发明还包括所述化合物用于治疗、预防或改善患有上述病况、病症或疾病之一的包括人类在内的哺乳动物的用途。所述用途的特征在于向需要这样的治疗的个体给药药理学上有活性的且治疗上有效且可耐受的量的一种或多种本发明的化合物。

[0300] 本发明还包括所述化合物用于治疗、预防或改善包括人类在内的哺乳动物的对抑制 Pi3K/Akt 途径有反应的疾病的用途,其包括向所述哺乳动物给药药理学上有活性的且治疗上有效且可耐受的量的一种或多种本发明的化合物。

[0301] 本发明还包括所述化合物用于治疗哺乳动物的具有良性或恶性表现的过度增殖性疾病和/或对诱导凋亡有反应的病症(例如癌症,特别是任何上述的那些癌症疾病)的用途,其包括向所述哺乳动物给药药理学上有活性的且治疗上有效且可耐受的量的一种或多种本发明的化合物。

[0302] 本发明还包括所述化合物用于抑制哺乳动物中的细胞过度增殖或使异常的细胞生长停滞的用途,其包括向所述哺乳动物给药药理学上有活性的且治疗上有效且可耐受的量的一种或多种本发明的化合物。

[0303] 本发明还包括所述化合物用于在良性或恶性瘤,特别是癌症的治疗中诱导凋亡的用途,其包括向需要这样的治疗的个体给药药理学上有活性的且治疗上有效且可耐受的量的一种或多种本发明的化合物。

[0304] 本发明还包括所述化合物用于抑制细胞中的蛋白激酶活性的用途,其包括向需要这样的治疗的患者给药药理学上有活性的且治疗上有效且可耐受的量的一种或多种本发明的化合物。

[0305] 本发明还包括所述化合物用于在哺乳动物中针对化疗剂或靶特异性抗癌剂进行致敏的用途,其包括向所述哺乳动物给药药理学上有活性的且治疗上有效且可耐受的量的一种或多种本发明的化合物。

[0306] 本发明还包括所述化合物用于治疗包括人类在内的哺乳动物的良性和/或恶性瘤(特别是癌症)的用途,其包括向所述哺乳动物给药药理学上有活性且治疗上有效且可耐受的量的一种或多种本发明的化合物。

[0307] 本发明还涉及所述化合物用于制备药物组合物的用途,所述药物组合物用于治疗、预防和/或改善一种或多种所提及的疾病。

[0308] 本发明还涉及所述化合物用于制备药物组合物的用途,所述药物组合物用于治疗、预防或改善过度增殖性疾病和 / 或对诱导凋亡有反应的病症,例如良性或恶性肿瘤,特别是癌症。

[0309] 本发明还涉及本发明的化合物用于制备药物组合物的用途,所述药物组合物用于治疗、预防或改善良性或恶性肿瘤,特别是癌症,例如任何上述那些癌症疾病。

[0310] 本发明还涉及本发明的化合物或其药学可接受的盐,其用于治疗和 / 或预防 (过度) 增殖性疾病和 / 或对诱导凋亡有反应的病症 (包括良性瘤和恶性肿瘤,包括癌症)。

[0311] 本发明还涉及本发明的化合物或其药学可接受的盐用于制备药物组合物用途,所述药物组合物用于治疗、预防或改善由一种蛋白激酶或多种蛋白激酶的功能失调介导的疾病和 / 或对诱导凋亡有反应的病症。

[0312] 本发明还涉及药物组合物,所述药物组合物包含本发明的化合物或其药学可接受的盐,用于治疗和 / 或预防 (过度) 增殖性疾病和 / 或对诱导凋亡有反应的病症 (包括良性瘤和恶性肿瘤,包括癌症)。

[0313] 本发明还涉及本发明的化合物和药学可接受的盐用于制备药物组合物的用途,所述药物组合物可用于针对化疗抗癌剂和 / 或靶特异性抗癌剂进行致敏。

[0314] 本发明还涉及本发明的化合物用于制备药物组合物的用途,所述药物组合物可用于针对本文所述的那些疾病 (特别是癌症) 的放射疗法进行致敏。

[0315] 本发明还涉及本发明的化合物用于制备药物组合物的用途,所述药物组合物可用于治疗对蛋白激酶抑制剂治疗敏感且不同于细胞瘤的疾病。这些非恶性疾病包括但不限于良性前列腺增生、神经纤维瘤病、皮肤病和骨髓增生异常综合征。

[0316] 本发明还涉及药物组合物,其包含一种或多种本发明的化合物和药学可接受的载体或稀释剂。

[0317] 本发明还涉及药物组合物,其包含一种或多种本发明的化合物和药学可接受的辅剂和 / 或赋形剂。

[0318] 按照本领域已知和本领域技术人员熟知的方法制备本发明的药物组合物。作为药物组合物,本发明的化合物 (= 活性化合物) 或是单独使用,或者优选地与适合的药学辅剂和 / 或赋形剂组合使用,例如以片剂、包衣片剂、糖锭剂、丸剂、扁囊剂、颗粒剂、胶囊剂、囊片剂 (caplet)、栓剂、贴剂 (如作为 TTS)、乳剂 (例如微乳剂或脂质乳剂)、混悬剂 (例如纳米混悬剂)、凝胶剂、增溶物 (solubilisates) 或溶液剂 (例如无菌溶液剂) 形式,或者包封在脂质体中或者以 β - 环糊精或 β - 环糊精衍生物包合复合物等形式使用,所述活性化合物的含量有利地为 0.1% -95%, 并且其中通过适当选择所述辅剂和 / 或赋形剂,可以得到恰好适合于所述活性化合物和 / 或令人期望的起效的药物给药方式 (例如缓释形式或肠溶形式)。

[0319] 本领域技术人员由于他 / 她的专业知识,熟知适合于期望的药学制剂、配制物或组合物的辅剂、媒介物、赋形剂、稀释剂、载体或助剂。除了溶剂之外,还可使用凝胶形成剂、软膏基质和其它活性复配赋形剂,例如抗氧化剂、分散剂、乳化剂、防腐剂、增溶剂 (例如聚氧乙烯三蓖麻醇酸甘油酯 35、PEG 400、Tween 80、Captisol、Solutol HS15 等)、着色剂、络合剂、促渗剂、稳定剂、填充剂、粘合剂、增稠剂、崩解剂、缓冲剂、pH 调节剂 (例如为了获得中性、碱性或酸性制剂)、聚合物、润滑剂、包衣剂、抛射剂、张力调节剂、表面活性剂、调味

剂、甜味剂或染料。

[0320] 具体地,使用适合于期望的制剂和期望的给药方式的类型的辅剂和 / 或赋形剂。

[0321] 可以以本领域可用的任何公认的给药方式给药本发明的化合物、药物组合物或组合。适合的给药方式的示例性实例包括静脉内给药、口服给药、经鼻给药、肠胃外给药、局部给药、透皮给药和直肠给药。优选口服给药和静脉内给药。

[0322] 通常,可给药本发明的药物组合物以使所述活性化合物的剂量在 Pi3K/Akt 途径抑制剂的常规范围内。具体地,对于体重 70kg 的普通成年患者,所述活性化合物的剂量优选 0.01-4000mg/天。就此而言,应注意的是,所述剂量取决于例如使用的具体化合物、被治疗的物种、被治疗的个体的年龄、体重、总体健康状况、性别和饮食、给药的方式和时间、排泄速度、待治疗的疾病的严重性和药物组合。

[0323] 所述药物组合物可每天给药单一剂量或每天给药多个亚剂量,例如每天 2-4 剂。所述药物组合物的单个剂量单位可包含例如 0.01mg-4000mg,优选 0.1mg-2000mg,更优选 0.5-1000mg,最优选 1-500mg 的所述活性化合物。另外,所述药物组合物可适于每周、每月,或者甚至更不频繁地给药,例如通过使用植入物(例如皮下或肌肉内植入物)、通过使用微溶性盐形式的活性化合物,或者通过使用与聚合物偶联的活性化合物。

[0324] 本领域技术人员可决定最佳给药方案和药物治疗的持续时间的选择,特别是在各情况中所需的所述活性化合物的最佳剂量和给药方式的选择。

[0325] 本发明还涉及组合,其包含一种或多种选自本发明的化合物的第一活性成分,和一种或多种选自化疗抗癌剂和靶特异性抗癌剂的第二活性成分,所述化疗抗癌剂和靶特异性抗癌剂例如用于治疗、预防或改善对抑制 Pi3K/Akt 途径有反应或敏感的疾病,例如具有良性或恶性表现的过度增殖性疾病和 / 或对诱导凋亡有反应的病症,特别是癌症,例如任何上述的那些癌症疾病。

[0326] 本发明还涉及包含作为仅有的一种或多种活性成分的一种或多种本发明的化合物和药学可接受的载体或稀释剂的药物组合物在制备用于治疗和 / 或预防上述疾病的药物产品中的用途。

[0327] 取决于要治疗或预防的特定疾病,可任选地将为了治疗或预防所述疾病而通常被给药的其它治疗活性剂与本发明的化合物联合给药。在本文使用时,为了治疗或预防特定疾病而通常被给药的其它治疗剂已知适合于所治疗的疾病。

[0328] 作为本发明的化合物的组合搭配(partner)的上文所述抗癌剂意在包括其药学可接受的衍生物,例如它们的药学可接受的盐。

[0329] 本领域技术人员了解所述联合给药的一种或多种其它治疗剂的总日剂量和给药形式。所述总日剂量可在宽范围内改变。

[0330] 在实施本发明时,本发明的化合物在联合治疗中可与一种或多种的标准治疗剂(化疗抗癌剂和 / 或靶特异性抗癌剂)特别是本领域已知的抗癌剂如任何上述的那些抗癌剂分开地、连续地、同时地、并行地或时间上交错地给药(例如以组合的单位剂型的形式、以分开的单位剂型的形式、以相邻的分离的单位剂型的形式、以固定的或非固定的组合的形式、以药盒的形式或以掺和剂的形式)。

[0331] 在本文中,本发明还涉及包含第一活性成分和第二活性成分的组合,用于分开地、连续地、同时地、并行地或时间上交错地用于治疗,例如任何本文所述的那些疾病的治疗,

所述第一活性成分是至少一种本发明的化合物,所述第二活性成分是至少一种本领域已知的抗癌剂,例如上文所述的那些抗癌剂中的一种或多种。

[0332] 本发明还涉及包含第一活性成分和第二活性成分及任选存在的药学可接受的载体或稀释剂的药物组合物,用于分开地、连续地、同时地、并行地或时间上交错地用于治疗,所述第一活性成分是至少一种本发明的化合物,所述第二活性成分是至少一种本领域已知的抗癌剂,例如上文所述的那些抗癌剂中的一种或多种。

[0333] 本发明还涉及组合产品,其包含:

[0334] a.) 用药学可接受的载体或稀释剂配制的至少一种本发明的化合物,和

[0335] b.) 用药学可接受的载体或稀释剂配制的至少一种本领域已知的抗癌剂,例如上文所述的那些抗癌剂中的一种或多种。

[0336] 本发明还涉及药盒,其包含:第一活性成分和药学可接受的载体或稀释剂的制剂,所述第一活性成分是本发明的化合物;第二活性成分和药学可接受的载体或稀释剂的制剂,所述第二活性成分是本领域已知的抗癌剂,例如上述那些抗癌剂之一;用于同时地、并行地、连续地、分开地或时间上交错地用于治疗。任选地,所述药盒包含关于其在使用中的说明书,例如用于治疗过度增殖性疾病和对抑制 Pi3K/Akt 途径有反应或敏感的疾病,例如良性或恶性肿瘤,特别是癌症,更确切地是任何上述的那些癌症疾病。

[0337] 本发明还涉及用于同时地、并行地、连续地或分开地给药的组合制剂,其包含至少一种本发明的化合物和至少一种本领域已知的抗癌剂。

[0338] 本发明还涉及具有 Pi3K/Akt 途径抑制活性的本发明的组合、组合物、制剂、配制物或药盒。

[0339] 此外,本发明还涉及以联合治疗的方式治疗患者的过度增殖性疾病和/或对诱导凋亡有反应的病症如癌症的方法,其包括向有此需要的所述患者给药本文所述的组合、组合物、制剂、配制物或药盒。

[0340] 另外,本发明还涉及治疗患者的具有良性或恶性表现的过度增殖性疾病和/或对诱导凋亡有反应的病症如癌症的方法,其包括向有此需要的所述患者以联合治疗的方式分开地、同时地、并行地、连续地或时间上交错地给药药理学上有活性的且治疗上有效且可耐受的量的包含本发明的化合物和药学可接受的载体或稀释剂的药物组合物,和药理学上有活性的且治疗上有效且可耐受的量的一种或多种本领域已知的抗癌剂,例如本文所述的那些抗癌剂中的一种或多种。

[0341] 再另外,本发明涉及治疗、预防或改善患者的过度增殖性疾病和/或对诱导凋亡有反应的病症例如良性或恶性肿瘤(如癌症,特别是任何本文所述的那些癌症疾病)的方法,其包括向有此需要的所述患者分开地、同时地、并行地、连续地或时间上交错地给药一定量的第一活性化合物和一定量的至少一种第二活性化合物,所述第一活性化合物是本发明的化合物,所述至少一种第二活性化合物是标准的治疗剂,特别是至少一种本领域已知的抗癌剂,例如本文所述的那些化疗抗癌剂和靶特异性抗癌剂中的一种或多种,其中所述第一活性化合物和所述第二活性化合物的量产生疗效。

[0342] 又另外,本发明涉及治疗、预防或改善患者的过度增殖性疾病和/或对诱导凋亡有反应的病症例如良性或恶性肿瘤(如癌症,特别是任何本文所述的那些癌症疾病)的方法,其包括给药本发明的组合。

[0343] 此外,本发明还涉及本发明的组合物、组合、制剂、配制物或药盒在制备用于治疗、预防或改善过度增殖性疾病(例如癌症)和/或对诱导凋亡有反应的病症(特别是本文所述的那些疾病,例如恶性或良性瘤)的药物产品例如商业包装或药剂中的用途。

[0344] 本发明还涉及商业包装,其包含一种或多种本发明的化合物和说明书,用于与一种或多种化疗抗癌剂和/或靶特异性抗癌剂(如任何本文所述的那些化疗抗癌剂和/或靶特异性抗癌剂)同时地、并行地、连续地或分开地使用。

[0345] 本发明还涉及商业包装,其基本上由作为仅有的活性成分的一种或多种本发明的化合物和说明书组成,用于与一种或多种化疗抗癌剂和/或靶特异性抗癌剂(如任何本文所述的那些化疗抗癌剂和/或靶特异性抗癌剂)同时地、并行地、连续地或分开地使用。

[0346] 本发明还涉及商业包装,其包含一种或多种化疗抗癌剂和/或靶特异性抗癌剂(如任何本文所述的那些化疗抗癌剂和/或靶特异性抗癌剂)和说明书,用于与一种或多种本发明的化合物同时地、并行地、连续地或分开地使用。

[0347] 在本发明的联合治疗的情况下提及的组合物、组合、配制物、制剂、药盒或包装还可包含多于一种本发明的化合物和/或多于一种所提及的本领域已知的抗癌剂。

[0348] 本发明的组合或药盒的第一和第二活性成分可以作为分开的制剂(即彼此独立)提供,其后将它们一起同时地、并行地、连续地、分开地或时间上交错地用于联合治疗;或者作为组合包装的分开组分一起被包装和提供以同时地、并行地、连续地、分开地或时间上交错地用于联合治疗。

[0349] 本发明的组合或药盒的第一和第二活性成分的药制剂类型可以相同,即所述二种成分均被配制成分开的片剂或胶囊剂,或者可不同,即适合于不同的给药形式,例如一种活性成分被配制成片剂或胶囊剂,而另一种被配制用于例如静脉内给药。

[0350] 本发明的组合、组合物或药盒的第一和第二活性成分的量可一起构成对治疗、预防或改善过度增殖性疾病和/或对诱导凋亡有反应的病症(特别是本文所述的那些疾病之一,例如恶性或良性瘤,特别是癌症,如任何本文所述的那些癌症疾病)而言治疗有效的量。

[0351] 此外,本发明的化合物可用于癌症的术前或术后治疗。

[0352] 再者,本发明的化合物可与放射疗法联用。

[0353] 本发明的组合可指组合物,其包含固定组合(固定的单位剂型)形式的一种或多种本发明的化合物和一种或多种其它活性抗癌剂,或者,所述组合可指药剂包装,其包含分离的分开剂型(非固定组合)形式的两种或更多种活性成分。在包含两种或更多种活性成分的药剂包装的情况中,所述活性成分优选地被包装入泡罩板(blister card)中,这适合于改进顺应性。

[0354] 各泡罩板优选地包含1天的治疗所要服用的药剂。若所述药剂要在一天中的不同时间服用,则可根据一天中要服用所述药剂的不同时间段(例如早晨和傍晚或早晨、中午和傍晚),将所述药剂置于泡罩板上的不同部分中。在一天中的特定时间一起服用的药剂的泡罩腔被安排在一天中的相应时间段内。当然,还以清晰可见的方式将一天的各时间标示在泡罩上。当然,还可以例如指示服用药剂的期间,例如指明时间。

[0355] 每日部分可作为泡罩板的一条线,然后在此栏中以时间顺序标示一天的时间。

[0356] 将必须在一天的特定时间一起服用的药剂一起置于泡罩板上的适当时间处,优选

地缩短分开的间隔,使它们能够容易地推出泡罩,并且具有不会忘记剂型从泡罩取出的效果。

[0357] 以下实施例更详细地而非限制性地说明本发明。未明确说明其制备的本发明的其它化合物可以类似的方法制备。

[0358] 实施例中所述的化合物及其盐代表本发明和覆盖具体实施例公开的式(I)的化合物的基团的所有子组合的权利要求的优选实施方案。

[0359] 术语“按照”在实验部分中的用意是“类似”地使用所指的方法。实验部分

[0360] 下表列出未在正文内解释并在本段和实施例部分中使用的缩写。NMR 峰形式按照它们在谱图中的表现描述,未考虑可能的更高级的效应。使用 MDL ISIS Draw 中应用的 AutoNom2000 产生化学名。在一些情况中,使用可商购试剂的公认命名替代 AutoNom2000 产生的命名。按照本发明的方法制备的化合物和中间体可能需要纯化。有机化合物的纯化为本领域技术人员熟知,并且相同的化合物可能存在几种纯化方法。在一些情况中,可不必纯化。在一些情况中,所述化合物可通过结晶纯化。在一些情况中,可使用适合的溶剂将杂质搅拌析出。在一些情况中,所述化合物可通过色谱纯化。在一些情况中,所述化合物可通过制备型 HPLC 纯化。在一些情况中,上述纯化方法可以盐的形式提供本发明的那些具有足够的碱性或酸性官能团的化合物,例如,在本发明的足够碱性的化合物的情况中,例如以三氟乙酸盐或甲酸盐形式提供,或者,在本发明的足够酸性的化合物的情况中,例如以铵盐形式提供。此类盐可通过本领域技术人员已知的各种方法分别被转化成其游离碱或游离酸形式,或者可以盐的形式用于后续生物学测定。应理解,如本文所述分离而得的本发明化合物的特定形式(例如盐、游离碱等)不一定是所述化合物可应用于生物学测定中以定量特定的生物学活性的唯一形式。

[0361]

缩写	含义
Ac	乙酰基
ACN	乙腈
br	宽峰
d	双峰
DBU	二氮杂(1,3)双环[5.4.0]十一烷
dd	双重双峰
DCM	二氯甲烷
DIBAL	二异丁基氢化铝
DMAP	4-二甲基氨基吡啶

DMF	N, N- 二甲基甲酰胺
DMSO	二甲基亚砷
Eq.	当量
ESI	电喷雾电离
EtOAc	乙酸乙酯
HBTU	2-(1H- 苯并三唑 -1- 基)-1,1,3,3- 四甲基脒六氟磷酸盐
HPLC	高效液相色谱
LC-MS	液相色谱 - 质谱
m	多重峰
MS	质谱
NBS	N- 溴丁二酰亚胺
NIS	N- 碘丁二酰亚胺
NMP	N- 甲基吡咯烷酮
NMR	核磁共振谱 : 化学位移 (δ) 以 ppm 提供
q	四重峰
qn	五重峰
rf	回流
r. t. 或 rt	室温
RT	保留时间 (分钟), 除非说明, 按照标准操作通过 UPLC 测定
s	单峰
t	三重峰
TLC	薄层色谱法
THF	四氢呋喃

[0362] 其它缩写的含义对本领域技术人员而言是常规的。

[0363] 通过以下实施例说明本申请中描述的本发明的各方面,但绝不意味着以任何方式限制本发明。

实施例

[0364] UPLC-MS 标准操作

[0365] 除非另外说明,在以下条件下进行分析 UPLC-MS。

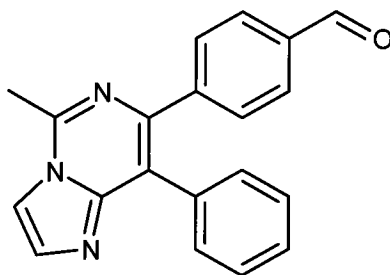
[0366] 仪器:Waters Acquity UPLC-MS ZQ4000; 柱:Acquity UPLC BEH C18 1.750×2.1mm;洗脱剂A:水+0.05%甲酸,洗脱剂B:乙腈+0.05%甲酸;梯度:0-1.6min 1-99% B,1.6-2.0min 99% B;流速:0.8ml/min;温度:60℃;进样量:2μl;DAD扫描:210-400nm。

[0367] 除非指明负离子模式(ES⁻),报告的质量数(m/z)来自正离子模式电喷雾电离。

[0368] 中间体实施例

[0369] 中间体实施例 1.0:4-(5-甲基-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-基)-苯甲醛

[0370]



[0371] 步骤1:2-甲基-5-苯基-嘧啶-4,6-二醇

[0372] 向NaOEt(19.7g,0.275mol)在EtOH(140mL)中的混合物中加入2-苯基-丙二酰胺(10g,55mmol)。向所得稠悬浮液中滴加EtOAc(90.4mL,110mmol)。将混合物用EtOH(60mL)稀释并在充分搅拌下在50℃加热2h。将反应冷却至0℃,并用冰冷水(175mL)终止反应。用浓盐酸水溶液(90mL)处理所得溶液,并滤出所得沉淀,用0.5M盐酸水溶液(40mL)洗涤,并干燥,得到标题化合物粗品,其不经进一步纯化用于下一步骤。

[0373] 步骤2:4,6-二溴-2-甲基-5-苯基-嘧啶

[0374] 在180℃加热2-甲基-5-苯基-嘧啶-4,6-二醇(3.69g)和POBr₃(10.4g,2Eq.)的混合物30分钟。冷却至0℃后,用冰冷水终止反应并充分搅拌,然后过滤所得悬浮液。将残余物与甲苯共蒸发并干燥,得到标题化合物的粗品,其不经进一步纯化用于下一步骤。

[0375] 步骤3:6-溴-2-甲基-5-苯基-嘧啶-4-基胺

[0376] 在100℃过夜加热4,6-二溴-2-甲基-5-苯基-嘧啶(3.2g)和氨在EtOH中的溶液(2M,50mL)的混合物。反应控制(LC-MS)显示转化不完全,因此加入氨水(25%,10Eq.)并在120℃加热混合物。冷却后,真空除去挥发物,将残余物与甲苯共蒸发并干燥,得到标题化合物的粗品,其不经进一步纯化用于下一步骤。

[0377] 步骤4:4-(6-氨基-2-甲基-5-苯基-嘧啶-4-基)-苯甲醛

[0378] 将6-溴-2-甲基-5-苯基-嘧啶-4-基胺(2.59g)悬浮于二噁烷(65mL)中,并在氮气流下相继加入4-甲酰基苯基硼酸(1.90g,9.8mmol)、Cs₂CO₃水溶液(2M,39.2mmol)

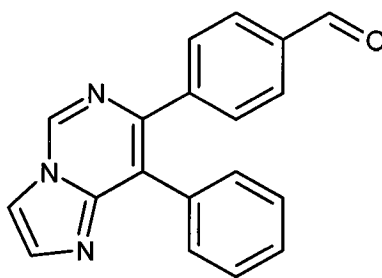
和 Pd(dppf)Cl_2 (0.417g, 0.5mmol)。在氮气下将反应物在 115℃ 加热 6 天。冷却后, 将反应在 rt 下再搅拌 2 天, 然后通过硅胶垫过滤反应, 并在 NH_4Cl 水溶液和 EtOAc 之间分配滤液。用 CH_2Cl_2 萃取水相, 并用盐水洗涤有机相, 干燥 (MgSO_4), 并真空浓缩。通过硅胶色谱进行纯化, 得到标题化合物。

[0379] 步骤 5 : 4-(5-甲基-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-基)-苯甲醛

[0380] 将 4-(6-氨基-2-甲基-5-苯基-嘧啶-4-基)-苯甲醛 (500mg, 1.7mmol) 悬浮于 EtOH (4mL) 中, 用氯乙醛 (50% 在水中, 10Eq.) 处理, 并在微波辐射下在 100℃ 加热混合物 45 分钟。冷却后, 真空浓缩混合物并与甲苯共蒸发。通过硅胶色谱 (洗脱剂: 甲苯: 二噁烷 7 : 3) 进行纯化, 得到标题化合物。

[0381] 中间体实施例 2.0 : 4-(8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-基)-苯甲醛

[0382]



[0383] 步骤 1 : 5-苯基-嘧啶-4,6-二醇

[0384] 向 NaOEt (79g, 1.1mol) 在 EtOH (650mL) 中的混合物中加入 2-苯基-丙二酰胺 (40g, 0.22mol)。向所得悬浮液中滴加甲酸乙酯 (36mL, 0.44mol)。在 50℃ 加热混合物 2h, 然后将反应冷却至 0℃, 并用水 (700mL) 和盐酸水溶液 (6N, 360mL) 终止反应。滤出所得沉淀, 用 0.5N 盐酸水溶液洗涤, 并干燥, 得到标题化合物的粗品, 其不经进一步纯化用于下一步骤。

[0385] ^1H NMR (300MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) : δ 11.95 (br s, 2H), 8.07 (s, 1H), 7.2-7.5 (m, 5H) ppm。

[0386] 步骤 2 : 4,6-二溴-5-苯基-嘧啶

[0387] 在 180℃ 加热 5-苯基-嘧啶-4,6-二醇 (34.8g) 和 POBr_3 (106g, 2Eq.) 的混合物 40 分钟。冷却至 rt 后, 用水 (500mL) 小心地终止反应。过滤沉淀并干燥, 得到标题化合物的粗品, 其不经进一步纯化用于下一步骤。

[0388] 步骤 3 : 6-溴-5-苯基-嘧啶-4-基胺

[0389] 在回流下加热 4,6-二溴-5-苯基-嘧啶 (52.5g) 和氨在 EtOH 中的溶液 (2M, 835mL) 的混合物 30 小时。在 2 小时、6 小时和 20 小时后, 加入额外份数的 15Eq. 氨的 MeOH 溶液 (7M)。冷却后, 真空除去挥发物, 并将残余物悬浮于水 (300mL) 中。滤出固体并干燥, 得到标题化合物的粗品, 其不经进一步纯化用于下一步骤。

[0390] 步骤 4 : 4-(6-氨基-5-苯基-嘧啶-4-基)-苯甲醛

[0391] 向 6-溴-5-苯基-嘧啶-4-基胺 (15g, 60mmol) 和 4-甲酰基苯基硼酸 (11.7g, 78mmol) 在二噁烷 (400mL) 中的混合物中加入 Cs_2CO_3 溶液 (2M, 120mL) 和 Pd(dppf)Cl_2 (2.4g, 3mmol)。在惰性气体气氛下将反应回流加热 18 小时。冷却后, 通过在水和 EtOAc 之间进行分配终止反应。用 EtOAc 萃取水相, 干燥 (MgSO_4) 合并的有机相, 并真空浓缩。通过硅胶色谱进行纯化, 得到标题化合物。

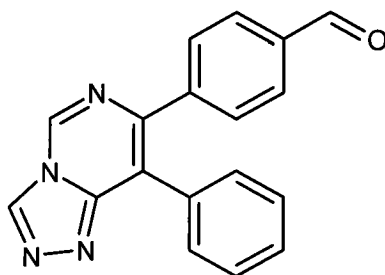
[0392] ^1H NMR (300MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) : δ 9.92 (s, 1H), 8.5 (s, 1H), 7.71 (d, 2H), 7.32–7.42 (m, 5H), 7.17 (d, 2H) ppm。

[0393] 步骤 5 : 4-(8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-基)-苯甲醛

[0394] 将 4-(6-氨基-2-甲基-5-苯基-嘧啶-4-基)-苯甲醛 (7.5g, 27.2mmol) 悬浮于 EtOH (55mL) 中, 用氯乙醛 (50% 在水中, 272mmol) 处理, 并在微波辐射下在 100℃ 加热混合物 20 分钟。冷却后, 真空浓缩混合物, 并通过硅胶色谱进行纯化, 得到标题化合物。

[0395] ^1H NMR (300MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) : δ 9.98 (s, 1H), 9.57 (s, 1H), 8.2 (s, 1H), 7.8 (d, 2H), 7.73 (s, 1H), 7.55 (d, 2H), 7.4 (m, 5H) ppm。

[0396] 中间体实施例 3.0 : 4-(8-苯基-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-7-基)-苯甲醛
[0397]



[0398] 步骤 1 : (6-溴-5-苯基-嘧啶-4-基)-肼

[0399] 用水合肼 (9.56g, 191mmol) 处理 4,6-二溴-5-苯基-嘧啶 (20g) 和 EtOH (150mL) 的混合物, 并在 50℃ 加热反应 45 分钟。真空浓缩反应, 并将残余物与甲苯共蒸发 (2x), 并干燥, 得到标题化合物的粗品, 其不经进一步纯化用于下一步骤。

[0400] MS (M+1) : 265.0, 267.0 (Br 同位素)

[0401] 步骤 2 : 7-溴-8-苯基-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶

[0402] 将 (6-溴-5-苯基-嘧啶-4-基)-肼 (11g, 41.5mmol) 悬浮于原甲酸三乙酯 (300mL) 中, 并在回流下加热反应过夜。真空除去几乎全部的挥发物, 将所得悬浮液冷却, 并通过过滤除去固体。真空浓缩滤液, 并使所得残余物从 EtOH 中重结晶, 得到标题化合物。

[0403] ^1H NMR (300MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) : δ 9.78 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 7.51–7.6 (m, 5H)。

[0404] MS (M+1) : 275.1, 277.1 (Br 同位素)

[0405] 步骤 3 : 4-(8-苯基-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-7-基)-苯甲醛

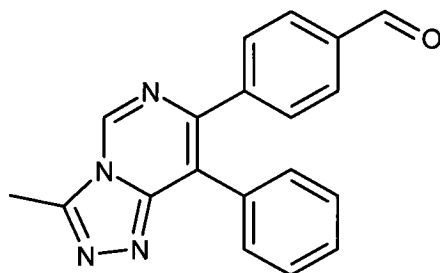
[0406] 用氮气吹扫 7-溴-8-苯基-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶 (0.55g, 2mmol)、4-甲酰基苯基硼酸 (0.39g, 2.6mmol) 和 Cs_2CO_3 (2.6g, 8mmol) 在二噁烷 (20mL) 和水 (2mL) 中的混合物, 并用 $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (82mg, 0.1mmol) 处理。在回流下加热反应过夜。冷却后, 通过硅藻土 (Celite) 过滤反应, 用 EtOH (200mL) 洗涤, 并用 NH_4Cl 水溶液稀释混合物, 并用 EtOAc 萃取两次。用盐水洗涤合并的有机相, 干燥并真空浓缩。通过色谱进行纯化, 得到标题化合物。

[0407] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) : δ 10.0 (s, 1H), 9.5 (s, 1H), 7.8 (d, 2H), 7.63 (d, 2H), 7.38–7.45 (m, 5H) ppm。

[0408] MS (M+1) : 301.2。

[0409] 中间体实施例 4.0 : 4-(3-甲基-8-苯基-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-7-基)-苯甲醛

[0410]



[0411] 步骤 1 : 7-溴 -3-甲基 -8-苯基 -[1,2,4] 三唑并 [4,3-c] 嘧啶

[0412] 将 (6-溴 -5-苯基 -嘧啶 -4-基) -肼 (10g, 37.7mmol) 悬浮于原甲酸三乙酯 (300mL) 中, 并在回流下加热反应过夜。真空除去几乎全部的挥发物, 将所得悬浮液冷却, 并通过过滤除去固体。真空浓缩滤液, 并使所得残余物从 EtOH 中重结晶, 得到标题化合物。

[0413] ^1H NMR (300MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) : δ 9.62 (s, 1H), 7.55 (m, 5H), 2.49 (信号部分地被溶剂掩盖)。

[0414] MS (M+1) : 289.1, 291.1 (Br 同位素)

[0415] 步骤 2 : 4-(3-甲基 -8-苯基 [1,2,4] 三唑并 [4,3-c] 嘧啶 -7-基) -苯甲醛

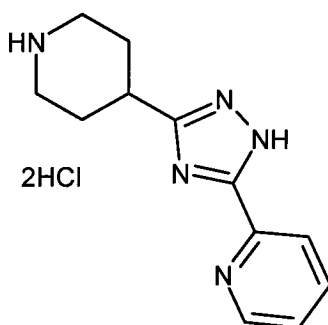
[0416] 用氮气吹扫 7-溴 -3-甲基 -8-苯基 -[1,2,4] 三唑并 [4,3-c] 嘧啶 (0.825g, 3mmol)、4-甲酰基苯基硼酸 (0.584g, 3.9mmol) 和 Cs_2CO_3 (3.9g, 12mmol) 在二噁烷 (30mL) 和水 (3mL) 中的混合物, 并用 $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (123mg, 0.15mmol) 处理。在回流下加热反应过夜。冷却后, 通过硅藻土过滤反应, 用 EtOH (200mL) 洗涤, 并用 NH_4Cl 水溶液稀释混合物, 并用 EtOAc 萃取两次。用盐水洗涤合并的有机相, 干燥并真空浓缩。通过色谱进行纯化, 得到标题化合物。

[0417] ^1H NMR (300MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) : δ 10.0 (s, 1H), 9.8 (s, 1H), 7.82 (d, 2H), 7.6 (d, 2H), 7.4 (m, 5H), 2.52 (信号部分地被溶剂掩盖) ppm。

[0418] MS (M+1) : 315.1。

[0419] 中间体实施例 5.0 : 2-(5-哌啶 -4-基 -2H-[1,2,4] 三唑 -3-基) -吡啶二盐酸盐 (US4011218 或 W02005100344 中描述的替代方法)

[0420]



[0421] 步骤 1 : 吡啶 -2-carbohydrazonamide

[0422] 将吡啶 -2-肼 20g (192mmol)、水合肼 (3eq.) 在乙醇 (50mL) 中的溶液在室温下搅拌 18hr。然后用水稀释反应物, 用乙酸乙酯萃取, 用无水硫酸钠干燥, 并真空浓缩, 得到期望的化合物。

[0423] MS (M+1) : 137.28

[0424] ^1H NMR(300MHZ, CDCl_3) : δ 8.53(d, 1H, $J = 8\&2.3\text{Hz}$), 8.02(d, 1H, $J = 7.8\&2.1\text{Hz}$), 7.72(t, 1H, $J = 8.2\&2\text{Hz}$), 7.29(t, 1H, $J = 8.4\&2.1\text{Hz}$), 5.42(bs, 2H), 4.60(bs, 2H) ppm。

[0425] 步骤 2 : 4-((2Z)-2-[氨基(吡啶-2-基)亚甲基]胍基)羰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0426] 在 30min 内向 1-(叔丁氧羰基)哌啶-4-羧酸 37g(167mM) 在二氯甲烷 (300ml) 中的溶液中分小批地加入羰基二咪唑 (1eq.)。然后将吡啶-2-carbohydrazonamide 加入反应混合物中, 并在室温下搅拌 3hr。蒸发二氯甲烷, 然后在水中搅拌反应物 30min。过滤沉淀出的固体并干燥, 得到期望的化合物。

[0427] MS(M+1) : 348.07

[0428] ^1H NMR(300MHZ, CDCl_3) : δ 10.75(s, 1H), 8.56(d, 1H, $J = 4.5\text{Hz}$), 8.10(d, 1H, $J = 8.3\text{Hz}$), 7.75(dt, 1H, $J = 8.2\&1.3\text{Hz}$), 7.34(dt, 1H, $J = 7.9\&1.5\text{Hz}$), 4.18(bs, 2H), 3.46(s, 1H), 2.88(t, 2H), 1.91(m, 2H), 1.72(m, 4H), 1.47(s, 9H) ppm。

[0429] 步骤 3 : 4-[5-(吡啶-2-基)-1H-1,2,4-三唑-3-基]哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0430] 使步骤 2 所得的 4-((2Z)-2-[氨基(吡啶-2-基)亚甲基]胍基)羰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯 45g(129mmol) 在氮气气氛下在 220°C 熔解, 持续 1hr。然后将反应冷却至 150°C 并加入乙醇直至固体溶解。然后, 蒸发乙醇, 得到期望的粗品化合物, 其含有 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶杂质。

[0431] MS(M+1) : 330.5

[0432] ^1H NMR(300MHZ, DMSO) : δ 9.11(s, 1H), 8.74(dd, 1H, $J = 4.8\&1.3\text{Hz}$), 8.17(dt, 2H, $J = 8.2\&2.1\text{Hz}$), 7.66(dt, 1H, $J = 8.0\&1.3\text{Hz}$), 3.34(m, 2H), 3.18(m, 1H), 3.06(m, 2H), 2.20(m, 2H), 1.99(m, 2H), 1.28(s, 9H) ppm。

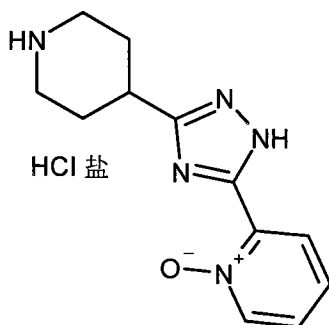
[0433] 步骤 4 : 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐

[0434] 向粗品 4-[5-(吡啶-2-基)-1H-1,2,4-三唑-3-基]哌啶-1-羧酸叔丁酯 39g(111mmol) 在 50ml 甲醇中的溶液中加入 HCl 在二噁烷中的溶液 (100ml), 并在室温下搅拌 3hr。然后, 过滤沉淀的固体并用冷乙腈洗涤, 得到 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐, 为白色固体。

[0435] ^1H NMR(300MHZ, DMSO) : δ 9.11(s, 1H), 8.97(s, 1H), 8.74(dd, 1H, $J = 4.8\&1.3\text{Hz}$), 8.17(dt, 2H, $J = 8.2\&2.1\text{Hz}$), 7.66(dt, 1H, $J = 8.0\&1.3\text{Hz}$), 3.34(m, 2H), 3.18(m, 1H), 3.06(m, 2H), 2.20(m, 2H), 1.99(m, 2H) ppm。

[0436] 中间体实施例 6.0 : 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶-1-氧化物盐酸盐

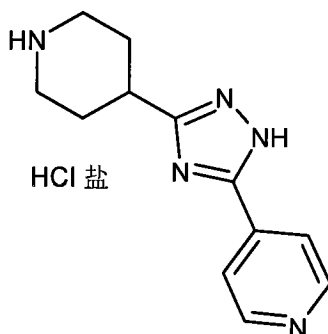
[0437]



[0438] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐的制备方法制备。

[0439] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$). : δ 9.15 (br s, 1H), 8.93 (br s, 1H), 8.43-8.46 (m, 1H), 8.22-8.25 (m, 1H), 7.5-7.53 (m, 1H), 3.23-3.28 (m, 2H), 2.95-3.15 (m, 3H), 2.09-2.15 (m, 2H), 1.86-1.99 (m, 2H)。

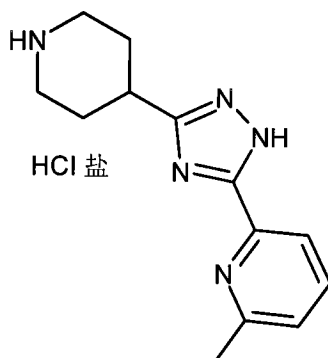
[0440] 中间体实施例 7.0 : 4-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐
[0441]



[0442] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐 (中间体实施例 5.0) 的制备方法制备。

[0443] 中间体实施例 8.0 : 2-甲基-6-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐

[0444]

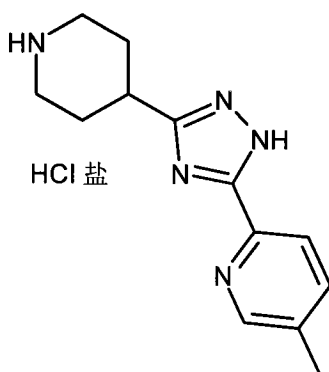


[0445] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐 (中间体实施例 5.0) 的制备方法制备。

[0446] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$). : δ 9.16-9.24 (m, 2H), 8.04-8.15 (m, 2H), 7.59 (d, 1H), 3.15-3.30 (m, 3H), 2.96-3.06 (m, 2H), 2.64 (s, 3H), 2.14-2.18 (m, 2H), 1.93-2.04 (m, 2H) ppm。

[0447] 中间体实施例 9.0 : 5-甲基-2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐

[0448]



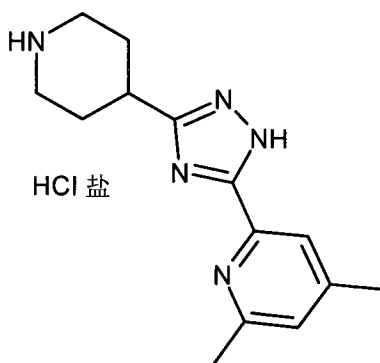
[0449] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐(中间体实施例 5.0)的制备方法制备。

[0450] MS(M+1):244

[0451] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$): δ 8.70-8.66(m, 2H), 8.54(d, 1H), 7.99(s, 1H), 7.46(d, 1H), 3.27-3.32(m, 2H), 2.97-3.16(m, 3H), [3H 被溶剂掩盖], 2.12-2.16(m, 2H), 1.86-1.99(m, 2H) ppm。

[0452] 中间体实施例 10.0:2,4-二甲基-6-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐

[0453]



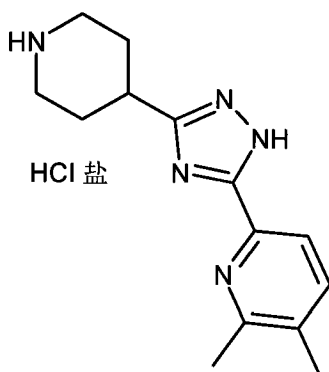
[0454] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐(中间体实施例 5.0)的制备方法制备。

[0455] MS(M+1):258.33;

[0456] UPLC-MS:RT = 0.47min; m/z = 258.33。

[0457] 中间体实施例 11.0:2,3-二甲基-6-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐

[0458]

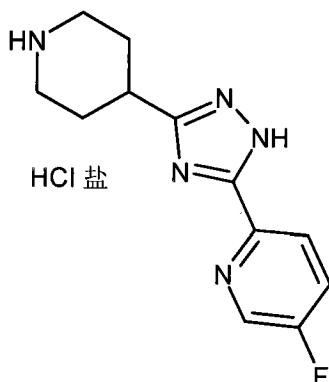


[0459] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐(中间体实施例 5.0)的制备方法制备。

[0460] UPLC-MS :RT = 0.50min ;m/z = 258.27。

[0461] 中间体实施例 12.0 :5-氟-2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐

[0462]

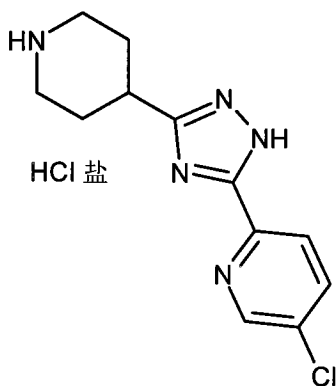


[0463] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐(中间体实施例 5.0)的制备方法制备。

[0464] UPLC-MS :RT = 0.49min ;m/z = 248.22。

[0465] 中间体实施例 13.0 :5-氯-2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐

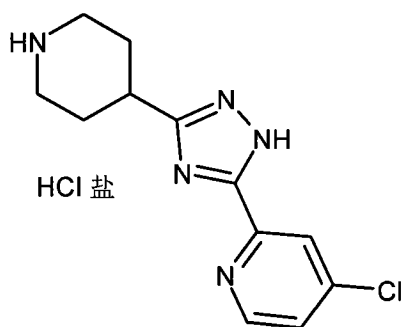
[0466]



[0467] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐(中间体实施例 5.0)的制备方法制备。

[0468] 中间体实施例 14.0 :4-氯-2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐

[0469]



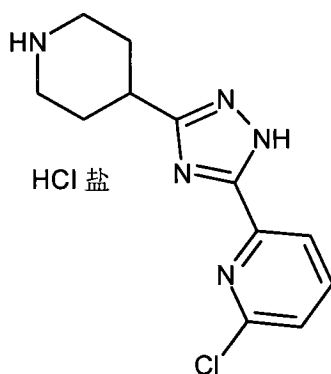
[0470] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐(中间体实施例 5.0)的制备方法制备。

[0471] MS(M+1):264.23;

[0472] UPLC-MS:RT=0.58min;m/z=264.23。

[0473] 中间体实施例 15.0:2-氯-6-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐

[0474]

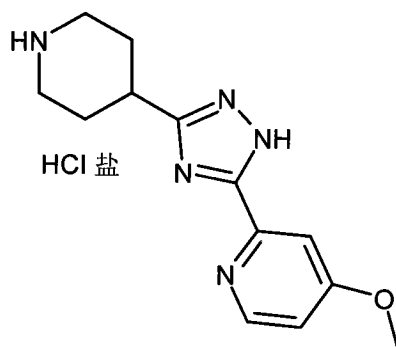


[0475] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐(中间体实施例 5.0)的制备方法制备。

[0476] UPLC-MS:RT=0.50min;m/z=264.21。

[0477] 中间体实施例 16.0:4-甲氧基-2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐

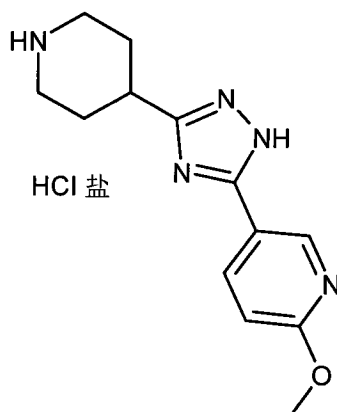
[0478]



[0479] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐(中间体实施例 5.0)的制备方法制备。

[0480] 中间体实施例 17.0:2-甲氧基-5-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐

[0481]



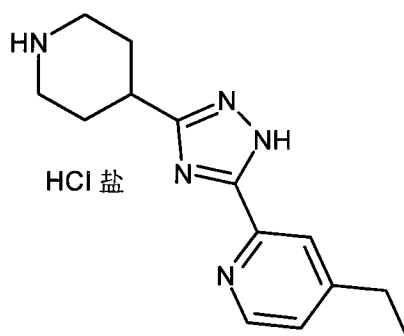
[0482] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐(中间体实施例 5.0)的制备方法制备。

[0483] MS(M+1):260.26;

[0484] UPLC-MS:RT = 0.55min;m/z = 260.26。

[0485] 中间体实施例 18.0:4-乙基-2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐

[0486]



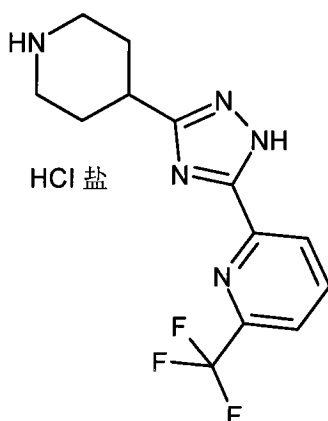
[0487] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐(中间体实施例 5.0)的制备方法制备。

[0488] MS(M+1):258.29;

[0489] UPLC-MS:RT = 0.60min;m/z = 258.29。

[0490] 中间体实施例 19.0:2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-6-三氟甲基-吡啶盐酸盐

[0491]



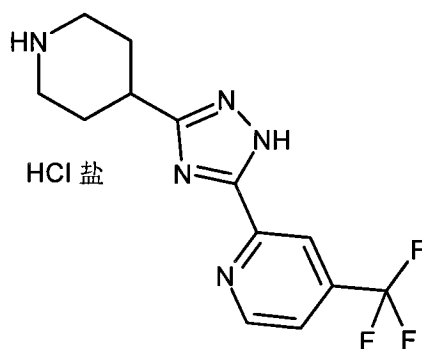
[0492] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐(中间体实施例 5.0)的制备方法制备。

[0493] MS(M+1):298;

[0494] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$, 特征性信号): δ 9.16(br s, 1H), 8.93(br s, 1H), 8.28(d, 1H), 8.19(t, 1H), 7.93(dd, 1H)ppm。

[0495] 中间体实施例 20.0:2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-4-三氟甲基-吡啶盐酸盐

[0496]

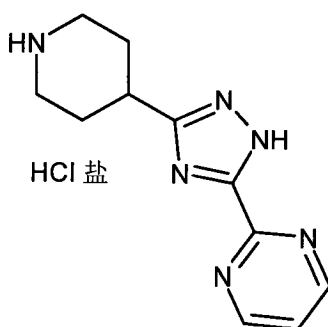


[0497] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐(中间体实施例 5.0)的制备方法制备。

[0498] $^1\text{H NMR}$ (300MHz, 400MHz): δ 9.22(m, 1H), 9.0(m, 1H), 8.93(d, 1H), 8.21(s, 1H), 7.86(d, 1H), 3.29(m, 2H), 3.15(m, 1H), 3.02(m, 2H), 2.13-2.17(m, 2H), 1.91-2.01(m, 2H)ppm。

[0499] 中间体实施例 21.0:2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-嘧啶盐酸盐

[0500]

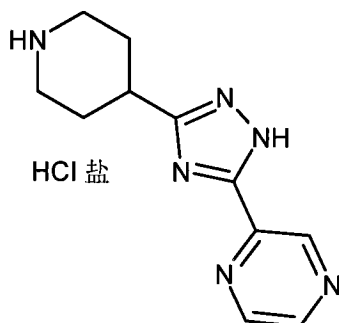


[0501] 按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐(中间体实施

例 5.0) 的制备方法制备。

[0502] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) : δ 9.17-8.98 (m, 2H), 8.93 (d, 2H), 7.57 (t, 1H), 3.24-3.29 (m, 2H), 2.95-3.18 (m, 3H), 2.11-2.16 (m, 2H), 1.88-2.00 (m, 2H) ppm。

[0503] 中间体实施例 22.0 : 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡嗪盐酸盐
[0504]

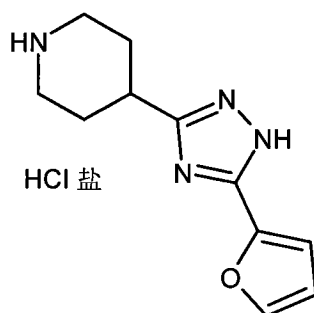


[0505] 按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐 (中间体实施例 5.0) 的制备方法制备。

[0506] MS(M+1) : 231.21 ;

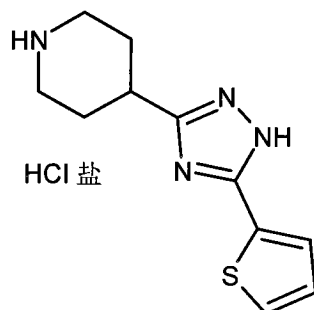
[0507] UPLC-MS : RT = 0.51min ; m/z = 231.21。

[0508] 中间体实施例 23.0 : 4-(5-呋喃-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶盐酸盐
[0509]



[0510] 按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐 (中间体实施例 5.0) 的制备方法制备。

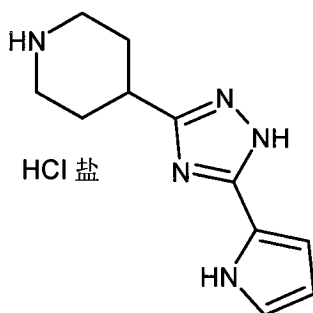
[0511] 中间体实施例 24.0 : 4-(5-噻吩-2-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶盐酸盐
[0512]



[0513] 按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐 (中间体实施例 5.0) 的制备方法制备。

[0514] 中间体实施例 25.0 : 4-[5-(1H-吡咯-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶盐酸盐

[0515]



[0516] 步骤 1 :1H-吡咯-2-carbohydrazonamide

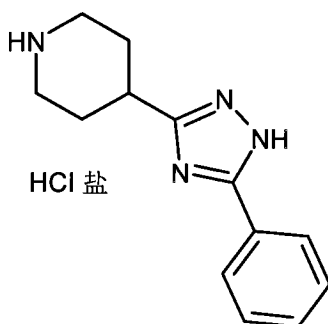
[0517] 将 10g 1H-吡咯-2-腈和 1eq 甲醇钠在 20ml 乙醇中的溶液搅拌 10min。然后加入水合肼 (3eq.)，在室温下搅拌所得反应混合物 18h。然后用水稀释反应混合物，用乙酸乙酯萃取，用 Na_2SO_4 干燥，并真空浓缩，得到期望的化合物。

[0518] 步骤 2 :4-[5-(1H-吡咯-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]哌啶 (3 步法)

[0519] 除了在步骤 2 中用 1H-吡咯-2-carbohydrazonamide 替代吡啶-2-carbohydrazonamide 之外，与 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐 (中间体实施例 5.0, 步骤 2-4) 的合成类似，进行进一步的合成。

[0520] 中间体实施例 26.0 :4-(5-苯基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶盐酸盐

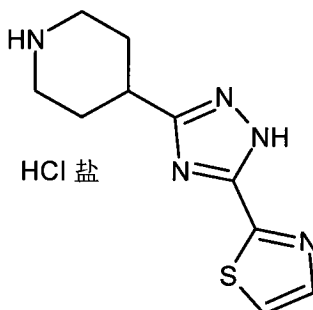
[0521]



[0522] 按照 4-[5-(1H-吡咯-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶盐酸盐 (中间体实施例 25.0) 的制备方法制备。

[0523] 中间体实施例 27.0 :4-(5-噻唑-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶盐酸盐

[0524]



[0525] 步骤 1 :2-三甲基甲硅烷基-噻唑

[0526] 在 -70°C 向 40.6ml 正丁基锂 (1.6M 在己烷中) 和 18ml 乙醚的混合物中滴加 5.03g 噻唑溶解在 59ml 乙醚中的溶液。30min 后，在 -70°C 加入溶于 59ml 乙醚中的 6.41g 三甲基甲硅烷基氯化物。在 -70°C 搅拌反应混合物 1h，并使其温热至室温。用饱和 NaHCO_3 溶液洗

涤混合物,用 Na_2SO_4 干燥,并蒸发溶剂。蒸馏残余物,得到期望的产物。

[0527] 步骤 2:噻唑-2-基-亚氨基羰基肼

[0528] 在 70°C 搅拌 10.0g 2-三甲基甲硅烷基-噻唑和 11.5g 甲苯基磺酰肼 5h。用 THF 稀释混合物,并在 10°C 加入 9.83g 水合肼。在室温下过夜搅拌反应混合物。通过蒸发除去溶剂,并通过硅胶色谱(二氯甲烷/甲醇)纯化残余物,得到期望的产物。

[0529] 步骤 3:4-[N`-(亚氨基-噻唑-2-基-甲基)-肼基羰基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0530] 将 8.65g 哌啶-1,4-二羧酸单叔丁酯溶于二氯甲烷,分批加入 6.12g 1,1-羰基二咪唑。缓慢加入 5.45g 噻唑-2-基-亚氨基羰基肼,并在室温下搅拌混合物 18 小时。通过蒸发除去溶剂,并用水洗涤残余物。干燥粗产物,未经进一步纯化使用。

[0531] 步骤 4:4-(5-噻唑-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-羧酸叔丁酯

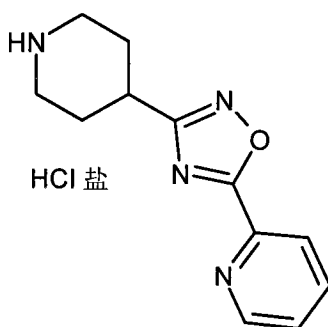
[0532] 将 8.00g 4-[N`-(亚氨基-噻唑-2-基-甲基)-肼基羰基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯加热至 220°C 。在该温度下搅拌澄清的熔融物 15min。将熔融物冷却至 80°C ,小心地加入 42ml 乙醇。除去溶剂得到粗产物,其为期望的产物和 4-(5-噻唑-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶的混合物。此混合物未经进一步纯化用于下一反应。

[0533] 步骤 5:4-(5-噻唑-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶盐酸盐

[0534] 将 7.59g 步骤 4 中得到的粗产物混合物溶于二噁烷中,并缓慢加入氯化氢在二噁烷中的 4M 溶液 (68ml)。产物表现为油状。加入 542ml 甲醇后,该油状物溶解。过夜搅拌溶液,直至结晶产物沉淀。

[0535] 中间体实施例 28.0:2-(3-哌啶-4-基-[1,2,4]噁二唑-5-基)-吡啶盐酸盐

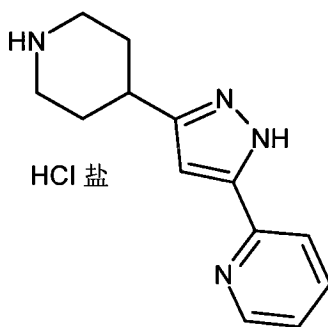
[0536]



[0537] 可按照 W02006065601 中提供的方法制备。

[0538] 中间体实施例 29.0:2-(5-哌啶-4-基-2H-吡唑-3-基)-吡啶盐酸盐

[0539]



[0540] 可按照 W02004096131 中提供的方法制备。

[0541] 中间体实施例 30.0:2-(5-氮杂环丁烷-3-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐

空浓缩混合物,并在真空烘箱(40℃)中干燥,得到期望的化合物,为浅黄色固体。

[0558] MS(M+1):202.13

[0559] ^1H NMR(300MHz, d₆-DMSO): δ 9.61(bs, 1H), 9.25(bs, 1H), 8.76(d, 1H), 8.16(m, 2H), 7.75(d, 1H), 4.10-4.27(m, 5H) ppm。

[0560] 方法 B

[0561] 步骤 1:3-胍基羰基-氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯

[0562] 将 1-(叔丁氧羰基)氮杂环丁烷-3-羧酸(5g, 24.8mmol)悬浮于二氯甲烷(15mL)中,并分批加入 1,1'-羰基二咪唑(4.56g, 28.1mmol)。在 rt 下搅拌所得的混合物 30 分钟,然后滴加入水合肼(1.94mL, 39.9mmol)在二氯甲烷(5mL)中的溶液中。加料完成后,在 rt 下搅拌混合物 30min。用饱和 Na₂CO₃ 水溶液(2x)、盐水洗涤反应混合物,干燥(Na₂SO₄)并真空浓缩,得到白色结晶固体,用乙醚研制过夜,过滤,并风干 5h,得到白色固体。

[0563] 步骤 2:3-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯

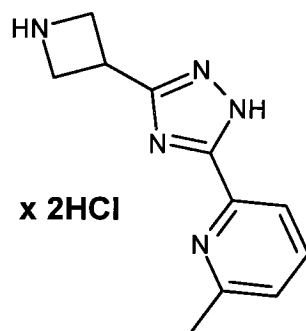
[0564] 将 3-胍基羰基-氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(2.74g, 12.73mmol)和 2-氰基-吡啶(1.45g, 13.95mmol)溶于 2-乙氧基乙醇(30mL)中,并加入 NaOMe 在 MeOH 中的 30wt% 溶液(1.19mL, 6.38mmol)。将所得的混合物加热至 130℃ 并过夜搅拌。冷却后,通过加入乙酸中和混合物,并在 EtOAc 和饱和 NaHCO₃ 水溶液之间分配。干燥(Na₂SO₄)有机相,并真空浓缩,得到黄色固体。通过用乙醚研制,然后从 MeOH 重结晶进一步纯化。

[0565] 步骤 3:2-(5-氮杂环丁烷-3-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐

[0566] 如以上方法 A 步骤 4 中所述制备。

[0567] 中间体实施例 31:2-[5-(氮杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,4-三唑-3-基]-6-甲基吡啶二盐酸盐

[0568]



[0569] 与实施例 44.0 方法 A 类似地制备此中间体。

[0570] 步骤 1:6-甲基吡啶-2-carbohydrazonamide

[0571] 将 11.97g(101.4mmol)6-甲基吡啶-2-腈溶于 25mL 乙醇中。加入 36.3mL(304.05mmol)水合肼(w = 30%)后,在室温下搅拌反应混合物 24 小时。滤出沉淀出的产物(K1 = 1.45g),并将滤液蒸发至其体积的 1/3。用水稀释后,用乙酸乙酯萃取反应混合物 3 次。用盐水洗涤合并的有机萃取液,并干燥(Na₂SO₄)。除去溶剂得到期望的产物 K2(11.11g)。总收率是 78.9%。

[0572] MS(ES+, M+1):151

[0573] ^1H -NMR(300MHz, d₆-DMSO): 7.65(d, 1H), 7.90(dd, 1H), 7.12(d, 1H), 5.65(br. ,

2H), 5.19 (br., 2H), 2.51 (s, 3H, 在溶剂的信号下) ppm。

[0574] 步骤 2: 3-(2-([氨基(6-甲基吡啶-2-基)亚甲基]胍基)羰基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯

[0575] 在 30min 内向 8.21g (54.7mmol) 1-(叔丁氧羰基)氮杂环丁烷-3-羧酸在 80mL 二氯甲烷中的溶液加入 8.86g (54.7mmol) 羰基二咪唑。搅拌 5 分钟后, 加入 11g (54.7mmol) 6-甲基吡啶-2-carbohydrazonamide, 并在室温下搅拌反应混合物 3 小时。蒸发溶剂, 并用水处理残余物。滤出形成的沉淀, 并干燥, 得到 16.47g (81.3%) 期望的化合物, 其为互变异构体的混合物。

[0576] MS (CI, M+1): 334

[0577] ¹H-NMR (300MHz, d6-DMSO): 10.09, 9.87 (s, 合并的 1H), 7.64-7.89 (m, 2H), 7.22-7.31 (m, 1H), 6.59 (br., 2H), 3.80-4.10 (m, 4H), 3.25-3.45 (m, 1H, 在溶剂的水的信号下), 2.52 (s, 3H), 1.35 (“s”, 9H) ppm。

[0578] 步骤 3: 3-[3-(6-甲基吡啶-2-基)-1H-1,2,4-三唑-5-基]氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯

[0579] 将 16.4g (49.3mmol) 3-(2-([氨基(6-甲基吡啶-2-基)亚甲基]胍基)羰基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯在氮气氛围下加热至熔点 (220°C) 并于此保持 90 分钟。在冷却阶段 (在约 135°C) 期间, 小心地将乙醇加入反应混合物。在室温下过夜搅拌反应混合物, 并蒸发乙醇。由于未完全反应, 将残余物再一次加热至 220°C, 持续 1 小时, 并重复后处理, 得到 12.91g (74.58%) 期望的产物粗品 (副产物是已脱去 Boc 基团的环化的化合物)。

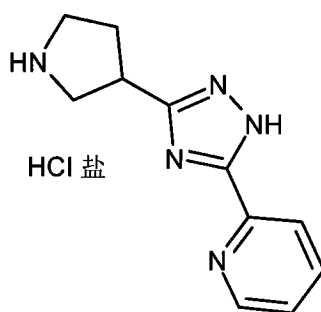
[0580] ¹H-NMR (300MHz, d6-DMSO): 14.30 (br., 1H), 7.75-7.89 (m, 2H), 7.31 (d, 1H), 3.82-4.49 (m, 4H), 3.32-3.48 (m, 1H, 部分在溶剂的水信号下), 2.52 (s, 3H), 1.39 (s, 9H) ppm。

[0581] 步骤 4: 2-[5-(氮杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,4-三唑-3-基]-6-甲基吡啶二盐酸盐

[0582] 将 11.6g (36.8mmol) 3-[3-(6-甲基吡啶-2-基)-1H-1,2,4-三唑-5-基]氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯溶于 150mL 二噁烷中。滴加 27.6mL HCl 的二噁烷溶液 (4M), 并在室温下过夜搅拌反应混合物。将反应混合物蒸发至干, 得到 13.1g (76.6%) 期望的盐, 其纯度为 60%, 并未经进一步纯化使用。

[0583] 中间体实施例 32.0: 2-(5-吡咯烷-3-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐

[0584]

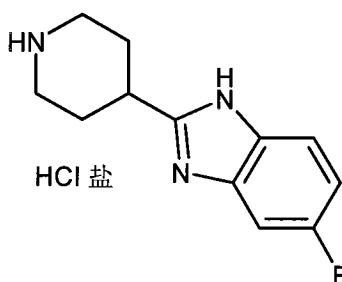


[0585] 该中间体按照 2-(5-氮杂环丁烷-3-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐 (中间体实施例 30.0) 的制备方法制备。

[0586] MS (M+1): 216

[0587] 中间体实施例 33.0 :5- 氟 -2- 哌啶 -4- 基 -1H- 苯并咪唑盐酸盐

[0588]



[0589] 向哌啶-4-羧酸 (18.33g, 0.14mol) 和 4-氟苯-1,2-二胺 (18.01g, 0.14mol) 的混合物中加入聚磷酸 (138.39g), 并将混合物在 180℃ (内部温度) 下加热 2 小时 45 分钟。冷却反应混合物, 再加热至 80℃, 并通过小心地加入水 (300mL) 终止反应。通过加入浓 NaOH 水溶液使混合物成碱性 (pH 8)。依次用 3 : 7 异丙醇 : CH₂Cl₂ (2×200mL) 和 CH₂Cl₂ (150mL) 萃取水相, 干燥 (Na₂SO₄) 合并的有机相, 并浓缩。用正丁醇 (2×200mL) 再萃取水相, 干燥 (Na₂SO₄) 有机层, 并浓缩。将粗产物在乙醚中搅拌, 过滤, 并干燥, 得到粗品 5-氟-2-哌啶-4-基-1H-苯并咪唑。通过制成其盐酸盐进一步纯化。

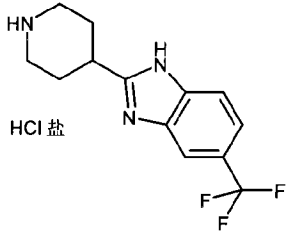
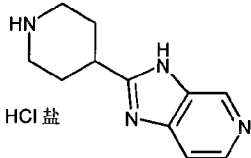
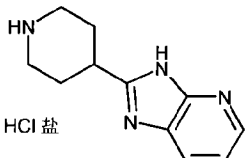
[0590] 因此, 将 10g 粗品 5-氟-2-哌啶-4-基-1H-苯并咪唑溶于 MeOH (85mL) 中, 并滴加 HCl 在二噁烷中的溶液 (20mL), 并通过过滤获得标题化合物。

[0591] MS (M+1) : 220.1

[0592] ¹H NMR (d6-DMSO+D₂O) : δ 7.78 (m, 1H), 7.6 (m, 1H), 7.38 (m, 1H), 3.55 (m, 1H), 3.4 (m, 2H), 3.08 (m, 1H), 2.3 (m, 2H), 2.08 (m, 2H) ppm。

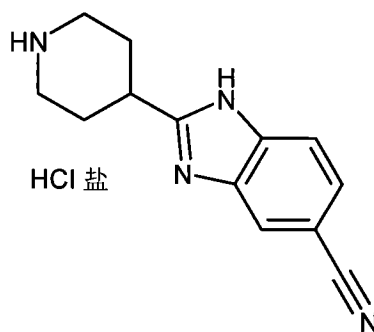
[0593] 与以上 5-氟-2-哌啶-4-基-1H-苯并咪唑二盐酸盐类似, 通过用适当的二胺替代 4-氟-苯-1,2-二胺制备以下中间体。

[0594]

中间体实施例	结构/名称	分析数据
33.1	 2-哌啶-4-基-5-三氟甲基-1H-苯并咪唑盐酸盐	^1H NMR (d6-DMSO + D ₂ O): δ 8.1 (s, 1H), 7.9 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 3.56 (m, 1H), 3.4 (m, 2H), 3.1 (m, 2H), 2.32 (m, 2H), 2.1 (m, 2H) ppm
33.2	 2-哌啶-4-基-3H-咪唑并[4,5-c]吡啶盐酸盐	MS (M+1): 203.1 ^1H NMR (d6-DMSO + D ₂ O): δ 9.28 (s, 1H), 8.5 (d, 1H), 8.1 (d, 1H), 3.42 (m, 1H), 3.27 (m, 2H), 2.28 (m, 2H), 2.04 (m, 2H) ppm
33.3	 2-哌啶-4-基-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶盐酸盐	MS (M+1): 203.1 ^1H NMR (d6-DMSO + D ₂ O): δ 8.58 (d, 1H), 8.4 (d, 1H), 7.6 (m, 1H), 3.36-3.5 (m, 3H), 3.08 (m, 2H), 2.28 (m, 2H), 2.04 (m, 2H) ppm

[0595] 中间体实施例 34.0 :2-哌啶-4-基-1H-苯并咪唑-5-腈盐酸盐

[0596]



[0597] 步骤 1 :4-(2-氨基-4-氰基-苯基氨基甲酰基)-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0598] 向哌啶-1,4-二羧酸单叔丁酯 (14.1g, 0.061mol) 在 DMF (282mL) 中的溶液中加入 HBTU (27.76g, 0.073mol)、DMAP (10.2g, 0.084mol) 和二异丙基乙胺 (24.2mL)。在 rt 下搅拌反应混合物 30 分钟, 然后加入 3,4-二氨基苄腈 (8g, 0.059mol)。在 rt 下过夜搅拌混合物, 然后通过倒入水 (2L) 中终止反应。用 CH₂Cl₂ 萃取混合物, 并相继用 1M HCl 水溶液和 10% Na₂CO₃ 水溶液洗涤有机相, 干燥 (Na₂SO₄), 并真空浓缩。通过硅胶色谱纯化, 得到标题化合物。

[0599] 步骤 2 :4-(5-氰基-1H-苯并咪唑-2-基)-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0600] 将 4-(2-氨基-4-氰基-苯基氨基甲酰基)-哌啶-1-羧酸叔丁酯 (6g) 在 EtOH 中的溶液 (61mL) 和 2M NaOH 水溶液 (61mL) 在 75°C (浴温) 下过夜加热。停止加热, 冷却 (冰水浴) 反应, 并通过倒入饱和柠檬酸水溶液 (250mL) 中终止反应。用 CH₂Cl₂ (5x) 萃取

混合物,并干燥 (Na_2SO_4) 合并的有机萃取液,过滤,并真空浓缩。通过硅胶色谱纯化,得到标题化合物。

[0601] 步骤 3 :2-哌啶-4-基-1H-苯并咪唑-5-腈盐酸盐

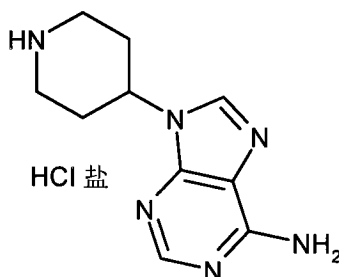
[0602] 向 4-(5-氰基-1H-苯并咪唑-2-基)-哌啶-1-羧酸叔丁酯 (3.2g, 10mmol) 在二噁烷 (13mL) 中的溶液中加入 HCl 在二噁烷中的溶液 (25%, 14.3mL)。过滤所得的沉淀,得到标题化合物。

[0603] MS(M+1) :227.1

[0604] ^1H NMR (400MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$) : δ 8.22 (s, 1H), 7.85 (d, 1H), 7.77 (d, 1H), 3.42-3.5 (m, 3H), 3.12 (m, 2H), 2.34 (m, 2H), 2.09 (m, 2H) ppm。

[0605] 中间体实施例 35.0 :9-哌啶-4-基-9H-嘌呤-6-基胺盐酸盐

[0606]

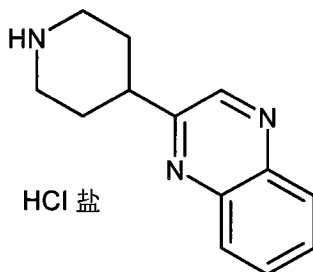


[0607] 按照 W02006065601 中提供的方法制备。

[0608] MS(M+1) :219.2

[0609] 中间体实施例 36.0 :2-哌啶-4-基-喹喔啉盐酸盐

[0610]



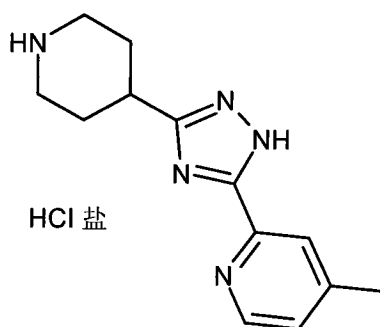
[0611] 在 rt 下向搅拌中的 4-喹喔啉-2-基-哌啶-1-羧酸叔丁酯 (200mg, 0.64mmol, 商购获得) 在 0.5mL 二噁烷 /MeOH (2 : 3) 中的溶液中加入 HCl 在二噁烷中的溶液 (1.6mL, 10Eq.)。搅拌混合物 2h, 然后过滤固体, 洗涤, 并干燥得到标题化合物。

[0612] MS(M+1) :214.2

[0613] ^1H NMR (300MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$) : δ 9.45 (br s, 1H), 9.15 (br s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.08 (m, 2H), 7.85 (m, 2H), 3.35-3.45 (m, 3H), 3.06 (m, 2H), 2.1-2.2 (m, 4H) ppm。

[0614] 中间体实施例 37.0 :4-甲基-2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶盐酸盐

[0615]



[0616] 该中间体按照 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐(中间体实施例 5.0)的制备方法制备。

[0617] UPLC-MS :RT = 0.47min ;m/z = 244.27 ;

[0618] ^1H NMR(300MHz, d₆-DMSO). : δ 9.01-9.23 (2×br s, 2H), 8.49 (d, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.28 (d, 1H), 3.24-3.28 (m, 2H), 2.95-3.13 (m, 3H), 2.37 (s, 3H), 2.09-2.15 (m, 2H), 1.87-2.01 (m, 2H) ppm。

[0619] 通式(I)的化合物典型地可按照以下通用方法制备,或者通过以下具体实施例说明它们的制备。未列于此的其它实例的制备可通过这些方法或已知的方法类似地、或者加以修改或变更来实现。

[0620] 通用方法 1 :还原性胺化(使用胺盐)

[0621] 向 0.75mmol 醛中间体在 THF(6mL) 中的溶液中加入三乙胺(2Eq.)。搅拌反应混合物 5 分钟,然后加入胺盐(1.5Eq.)和乙酸(2.5Eq.)。搅拌反应混合物 10 分钟,然后在 40 分钟内分批加入 NaBH(OAc)₃(6Eq.)。在室温下过夜搅拌反应混合物,然后用甲醇终止反应,并真空浓缩。将残余物溶于氯仿,并水洗,干燥,并真空浓缩。按照标准技术纯化,得到期望的化合物。

[0622] 在使用胺游离碱的情况中,可通过略去三乙胺来改变以上通用方法。

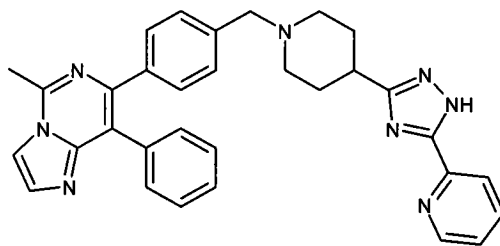
[0623] 通用方法 2 :通过甲磺酸盐中间体进行胺化(使用胺盐)

[0624] 在 0℃ 下,向搅拌中的苄醇中间体(0.52mmol)在 15mL 二氯甲烷中的溶液中加入甲磺酰氯(1.1eq),其后加入三乙胺(1.5eq)。在室温下搅拌反应混合物 3h。用水终止反应,并用 DCM 萃取。干燥有机层,并浓缩。然后未经进一步纯化用于下一反应。将粗品溶于 5mL DMF 中。向此溶液加入胺盐酸盐(1eq)和三乙胺(4eq)。将反应混合物在 80℃ 下加热 3h。用水终止反应混合物,并用乙酸乙酯萃取。干燥有机层,并浓缩。通过标准技术纯化,得到期望的化合物。

[0625] 在使用胺游离碱的情况中,可通过将三乙胺的当量数从 4 降至 2 来改变以上通用方法。

[0626] 实施例 1.0 :5-甲基-8-苯基-7-[4-[4-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-基甲基]-苯基]-咪唑并[1,2-c]嘧啶

[0627]



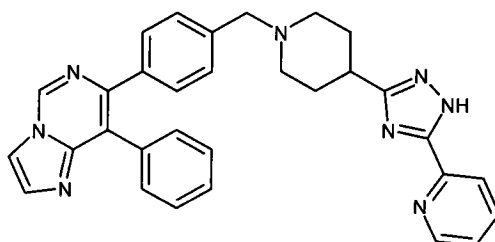
[0628] 在 40 °C 搅拌 0.350g(1.12mmol)4-(5-甲基-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-基)-苯甲醛、406mg(1.33mmol)2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐、392 μ L 三乙胺和 92 μ L AcOH 在 35mL DCE 中的混合物。冷却至 rt 后,加入 283mg $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ 。将反应混合物搅拌 2h,然后加热至 45°C。1 小时后,加入另外 283mg $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ 并继续在 45°C 加热。冷却至 rt 后,真空浓缩反应物,并通过色谱进行纯化,然后通过制备型 HPLC 纯化,得到标题化合物。

[0629] MS(M+1):527.1

[0630] ^1H NMR(400MHz, d_6 -DMSO): δ 13.8&14.3(br s, br s, 1H), 8.65(br s, 1H), 7.9-8.05(m, 3H), 7.67(s, 1H), 7.3-7.55(m, 8H), 7.2(d, 2H), 3.46(s, 2H), 2.88(s, 3H), 2.75-2.88(m, 3H), 2.08(m, 2H), 1.95(m, 2H), 1.78(m, 2H) ppm。

[0631] 实施例 2.0:8-苯基-7-{4-[4-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-基甲基]-苯基}-咪唑并[1,2-c]嘧啶

[0632]



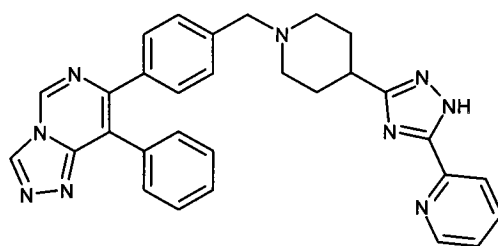
[0633] 将 2.93mL(20.9mmol)三乙胺加入到 3.02g 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐在 80mL MeOH 中的溶液中。向该溶液中加入 2.50g(8.35mmol)4-(8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-基)-苯甲醛在 80mL DMF 中的溶液,然后加入 1.2mL 冰醋酸和 7.45g $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ 。将所得的混合物在 rt 下搅拌。分别在 1 小时、2 小时和 3 小时后,加入另 2 当量份 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ 。将反应搅拌 3 天,然后真空除去挥发物,并将残余物在 CH_2Cl_2 和水之间分配。分离有机相,并用 CH_2Cl_2 萃取水相。干燥合并的有机部分并浓缩,通过色谱纯化残余物,得到标题化合物(762mg)。

[0634] MS(M+1):513.1;

[0635] ^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO): δ 13.9, 14.3(br s, br s, 1H), 9.5(s, 1H), 8.67(m, 1H), 8.10(s, 1H), 8.03(d, 1H), 7.95(m, 1H), 7.65(m, 1H), 7.46(m, 1H), 7.3-7.4(m, 10H), 7.2(d, 2H), 3.47(s, 2H), 2.7-2.85(m, 3H), 2.09(m, 2H), 1.95(m, 2H), 1.8(m, 2H) ppm。

[0636] 实施例 3.0:8-苯基-7-{4-[4-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-基甲基]-苯基}-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶

[0637]



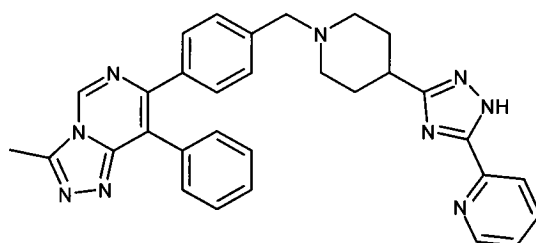
[0638] 与实施例 1 类似,通过使 4-(8-苯基-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-7-基)-苯甲醛与 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐反应制备该实施例。

[0639] MS(M+1):514.2

[0640] ^1H NMR(300MHz, CDCl_3): δ 9.45(s, 1H), 8.67(m, 1H), 8.42(s, 1H), 8.15(d, 1H), 7.83(t, 1H), 7.35-7.45(m, 8H), 7.25-7.3(m, 2H), 3.58(s, 2H), 3.0(m, 2H), 2.9(m, 1H), 2.0-2.2(m, 6H) ppm。

[0641] 实施例 4.0:3-甲基-8-苯基-7-{4-[4-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-基甲基]-苯基}-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶

[0642]



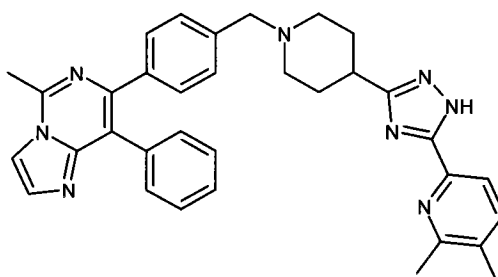
[0643] 与实施例 1 类似,通过使 4-(3-甲基-8-苯基-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-7-基)-苯甲醛与 2-(5-哌啶-4-基-2H-[1,2,4]三唑-3-基)-吡啶二盐酸盐反应制备该实施例。

[0644] MS(M+1):528.2;

[0645] ^1H NMR(300MHz, CDCl_3): δ 9.30(s, 1H), 8.62(m, 1H), 8.15(d, 1H), 7.82(t, 1H), 7.32-7.42(m, 8H), 7.25(m, 2H), 3.52(s, 2H), 2.95(m, 2H), 2.85(m, 1H), 2.52(s, 3H), 1.9-2.18(m, 6H) ppm。

[0646] 实施例 5.0:7-(4-{4-[5-(5,6-二甲基-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-5-甲基-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶

[0647]



[0648] 将 4-(5-甲基-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-基)-苯甲醛(150mg, 0.479mmol) 和 2,3-二甲基-6-[3-(哌啶-4-基)-1H-1,2,4-三唑-5-基]吡啶二盐酸盐(174mg) 在 NMP(2mL) 中的混合物用三乙胺(0.147mL) 和 AcOH(0.066mL) 处理,并在 rt 下搅拌过夜。加入 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (0.264g), 并再搅拌混合物 5 小时。在 DCM 和饱和碳酸氢钠水溶液之间分配

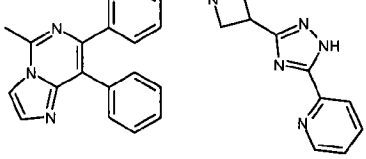
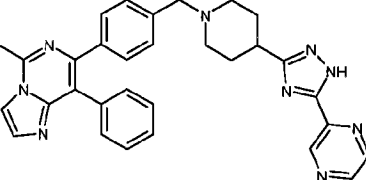
反应物,干燥有机层并真空浓缩。残余物经制备型反相 HPLC 纯化,得到标题化合物,其含有甲酸杂质。

[0649] UPLC-MS :RT = 0.69min ;m/z = 553.5 (ES⁻) ;

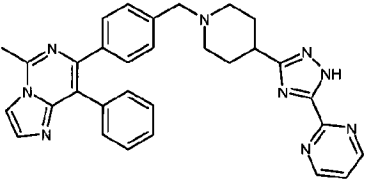
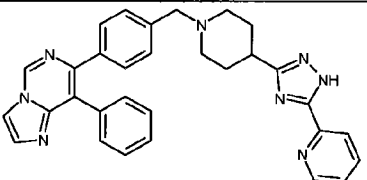
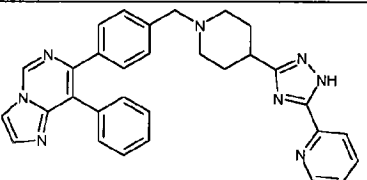
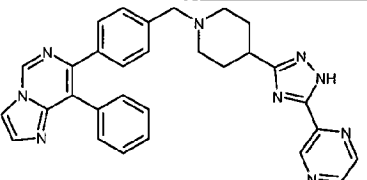
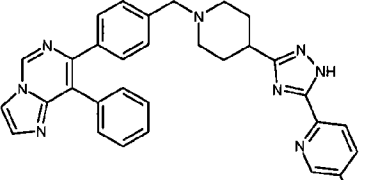
[0650] ¹H NMR (300MHz, d6-DMSO). : δ 14.05&13.71 (br s), 8.03 (s, 1H), 7.71 (d, 1H), 7.50-7.63 (m, 2H), 7.26-7.32 (m, 7H), 7.16 (d, 2H), 3.49 (s, 2H), 2.80-2.84 (m, 6H), [3H 被溶剂掩盖], 2.26 (s, 3H), 2.00-2.18 (m, 2H), 1.90-1.94 (m, 2H), 1.68-1.79 (m, 2H) ppm。

[0651] 通过用适当的醛和胺中间体,类似地制备以下实施例:

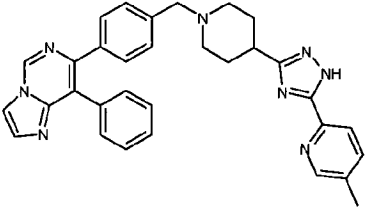
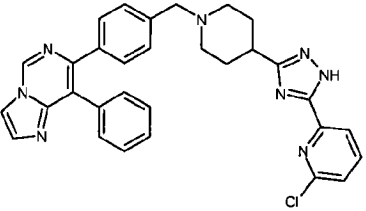
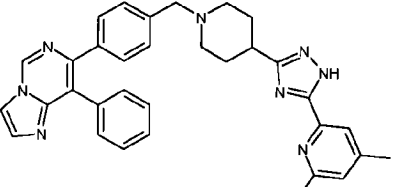
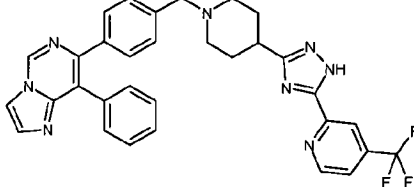
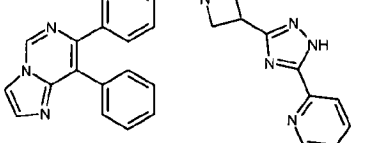
[0652]

实施例	结构/名称	分析数据
6.0	 5-甲基-8-苯基-7-{4-[3-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-氮杂环丁烷-1-基甲基]-苯基}-咪唑并[1,2-c]嘧啶	UPLC-MS: RT = 0.66 min; m/z = 499.4; ¹H-NMR (300 MHz, d6-DMSO): δ 14.36 (br s), 8.63 (d, 1H), 8.01-8.03 (m, 2H), 7.91 (t, 1H), 7.63 (d, 1H), 7.44 (t, 1H), 7.24-7.30 (m, 7H), 7.13 (m, 2H) ppm。
7.0	 5-甲基-8-苯基-7-{4-[4-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-基甲基]-苯基}-咪唑并[1,2-c]嘧啶	UPLC-MS: RT = 0.64 min; m/z = 528.5; ¹H-NMR (300 MHz, d6-DMSO): δ 9.17 (m, 1H), 8.68-8.70 (m, 2H), 8.04 (d, 1H), 7.65 (m, 1H), 7.24-7.34 (m, 9H), 3.82 (br s, 2H), 2.84-3.15 (m, 6H), [2H 被溶剂掩盖], 1.73-2.13 (m, 4H) ppm。

[0653]

实施例	结构/名称	分析数据
8.0	 5-甲基-8-苯基-7-{4-[4-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-哌啶-1-基甲基]-苯基}-咪唑并[1,2-c]嘧啶	UPLC-MS: RT = 0.57 min; m/z = 528.5; ¹ H-NMR (300 MHz, d6-DMSO): δ 8.88 (d, 2H), 8.02 (m, 1H), 7.63 (m, 1H), 7.51 (t, 1H), 7.25-7.30 (m, 7H), 7.15 (d, 2H), 3.43 (s, 2H), 2.71-2.84 (m, 6H), 2.01-2.08 (m, 2H), 1.90-1.94 (m, 2H), 1.67-1.78 (m, 2H) ppm。
9.0	 7-(4-{4-[5-(5-溴-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶	UPLC-MS: RT = 0.77 min; m/z = 591.61 (ES-); ¹ H-NMR (300 MHz, d6-DMSO): δ 14.15 (br s), 9.45 (s, 1H), 8.74 (m, 1H), 8.14 (m, 1H), 8.07 (m, 1H), 7.93 (d, 1H), 7.61 (m, 1H), 7.26-7.32 (m, 7H), 7.15 (m, 2H), 3.42 (s, 2H), 2.69-2.84 (m, 3H), 2.00-2.07 (m, 2H), 1.89-1.92 (m, 2H), 1.66-1.77 (m, 2H) ppm。
10.0	 7-(4-{4-[5-(5,6-二甲基-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶	UPLC-MS: RT = 0.65 min; m/z = 541.5; ¹ H-NMR (300 MHz, d6-DMSO): δ 14.1 & 13.7 (2 × br s), 9.46 (s, 1H), 8.08 (d, 1H), 7.71 (d, 1H), 7.60-7.65 (m, 2H), 7.27-7.35 (m, 7H), 7.17 (d, 2H), 3.52 (br s), 2.66-2.86 (m, 3H), [3H 被溶剂掩盖], 2.26 (s, 3H), 2.14 (br s, 2H), 1.91-1.94 (m, 2H), 1.69-1.80 (m, 2H) ppm。
11.0	 8-苯基-7-{4-[4-[5-(吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基]-苯基}-咪唑并[1,2-c]嘧啶	UPLC-MS: RT = 0.57 min; m/z = 514.5; ¹ H-NMR (300 MHz, d6-DMSO): δ 14.20 (br s), 9.45 (s, 1H), 9.17 (m, 1H), 8.64-8.69 (m, 2H), 8.08 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.26-7.34 (m, 7H), 7.15 (d, 2H), 3.44 (s, 2H), 2.75-2.83 (m, 3H), 2.02-2.09 (m, 2H), 1.91-1.94 (m, 2H), 1.69-1.80 (m, 2H) ppm。
11.1	 7-(4-{4-[5-(5-氟-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶	UPLC-MS: RT = 0.68 min; m/z = 531.62; ¹ H-NMR (300 MHz, d6-DMSO): δ 14.11 (br s), 9.45 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.03-8.08 (m, 2H), 7.81 (m, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.26-7.34 (m, 7H), 7.15 (d, 2H), 3.43 (s, 2H), 2.69-2.84 (m, 3H), 2.01-2.08 (m, 2H), 1.89-1.92 (m, 2H), 1.67-1.78 (m, 2H) ppm。

[0654]

实施例	结构/名称	分析数据
12.0	 7-(4-{4-[5-(5-甲基-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶	UPLC-MS: RT = 0.67 min; m/z = 525.54 (ES-); ¹H-NMR (300 MHz, d6-DMSO): δ 14.35 (br s), 9.46 (s, 1H), 8.47 (m, 1H), 8.09 (m, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.62 (m, 1H), 7.34-7.21 (m, 10H), 3.72 (br s, 2H), 2.80-2.96 (m, 3H), [2H 被溶剂掩盖], 2.36 (s, 3H), 1.97-2.01 (2H, m), 1.75-1.87 (m, 2H) ppm。
13.0	 7-(4-{4-[5-(6-氯-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶	UPLC-MS: RT = 0.74 min; m/z = 547.57; ¹H-NMR (300 MHz, d6-DMSO): δ 14.06 (br s), 9.45 (s, 1H), 8.08 (m, 1H), 7.90-7.99 (m, 2H), 7.61 (m, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.26-7.34 (m, 7H), 7.15 (d, 2H), 3.43 (s, 2H), 2.69-2.82 (m, 3H), 2.00-2.08 (m, 2H), 1.89-1.93 (m, 2H), 1.67-1.78 (m, 2H) ppm。
14.0	 7-(4-{4-[5-(4,6-二甲基-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-8-苯基-咪唑并[1,2-c]嘧啶	UPLC-MS: RT = 0.68 min; m/z = 541.67; ¹H-NMR (300 MHz, d6-DMSO): δ 14.07 (br s), 9.45 (s, 1H), 8.07 (m, 1H), 7.61-7.65 (m, 2H), 7.26-7.34 (m, 7H), 7.10-7.17 (m, 3H), 3.43 (s, 2H), 2.69-2.81 (m, 3H), [3H 被溶剂掩盖], 2.30 (s, 3H), 2.00-2.07 (m, 2H), 1.88-1.91 (m, 2H), 1.67-1.78 (m, 2H) ppm。
15.0	 8-苯基-7-(4-{4-[5-(4-三氟甲基-吡啶-2-基)-1H-[1,2,4]三唑-3-基]-哌啶-1-基甲基}-苯基)-咪唑并[1,2-c]嘧啶	UPLC-MS: RT = 0.79 min; m/z = 581.59; ¹H-NMR (300 MHz, d6-DMSO): δ 14.29 (br s), 9.47 (s, 1H), 8.92 (d, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.09 (m, 1H), 7.83 (m, 1H), 7.62 (m, 1H), 7.29-7.34 (m, 7H), 7.24 (d, 2H), 3.78 (br s, 2H), 2.91-3.02 (m, 3H), [2H 被溶剂掩盖], 2.02-2.06 (m, 2H), 1.87 (m, 2H) ppm。
16.0	 8-苯基-7-{4-[3-(5-吡啶-2-基-1H-[1,2,4]三唑-3-基)-氮杂环丁烷-1-基甲基]-苯基}-咪唑并[1,2-c]嘧啶	UPLC-MS: RT = 0.62 min; m/z = 485.61; ¹H-NMR (300 MHz, d6-DMSO): δ 14.43 (br s), 9.45 (s, 1H), 8.63 (d, 1H), 8.07 (m, 1H), 8.02 (d, 1H), 7.91 (m, 1H), 7.61 (m, 1H), 7.44 (m, 1H), 7.25-7.34 (m, 7H), 7.13 (d, 2H), 3.67-3.77 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 4H), 3.30 (t, 2H) ppm。

[0655] 生物学研究

[0656] 以下测定可用来说明本发明的化合物的商业用途。

[0657] 生物学测定 1.0 :Akt1 激酶测定

[0658] 本发明的化合物的 Akt1 抑制活性可用以下段落中所述的 Akt1 TR-FRET 测定定量。

[0659] 在昆虫细胞中表达的 His- 标记的人类重组激酶全长 Akt1 购自 Invitrogen (货号 PV 3599)。使用生物素化的肽生物素 -Ahx-KKLNRTLSFAEPG (C- 端为酰胺形式) 作为激酶反应的底物, 它可购自例如 Biosynthan GmbH (Berlin-Buch, Germany) 公司。

[0660] 为了测定, 将 50nl 的浓缩 100 倍的测试化合物在 DMSO 中的溶液吸移入黑色小体积的 384 孔微量滴定板 (Greiner Bio-One, Frickenhausen, Germany) 中, 加入 Akt1 在测定缓冲液 [50mM TRIS/HCl pH 7.5, 5mM MgCl₂, 1mM 二硫苏糖醇, 0.02% (v/v) Triton X-100 (Sigma)] 中的溶液 (2 μl), 并在 22°C 下温育混合物 15min 以使测试化合物与酶在激酶反应开始之前预先结合。然后, 通过加入腺苷三磷酸 (ATP, 16.7 μM => 在 5 μl 测定体积中的终浓度是 10 μM) 和底物 (1.67 μM => 在 5 μl 测定体积中的终浓度是 1 μM) 在测定缓冲液中的溶液 (3 μl) 使激酶反应开始, 并在 22°C 下温育所得的混合物 60min 的反应时间。在测定中, 根据酶批次的活性, 调节 Akt1 的浓度, 并适当选择 Akt1 的浓度以使测定在线性范围内, 典型的酶浓度是约 0.05ng/μl (在 5 μl 测定体积中的终浓度)。

[0661] 通过加入 5 μl 的 HTRF 检测试剂溶液 (200nM 链霉亲和素 -XL665 [Cisbio] 和 1.5nM 抗 -磷酸丝氨酸抗体 [Millipore, cat. #35-001] 和 0.75nM LANCE Eu-W 1024 标记的抗 -小鼠 IgG 抗体 [Perkin Elmer]) 在 EDTA 水溶液 (100mM EDTA, 在 50mM HEPES/NaOH pH 7.5 中的 0.1% (w/v) 牛血清白蛋白) 中的溶液终止反应。

[0662] 在 22°C 下温育所得的混合物 1h 以使生物素化的磷酸化的肽与链霉亲和素 -XL665 和抗体结合。然后通过测定从抗 -小鼠 IgG-Eu- 螯合剂至链霉亲和素 -XL665 的共振能量转移评价磷酸化的底物的量。因此, 在 HTRF 读数器, 例如 Rubystar (BMG Labtechnologies, Offenburg, Germany) 或 Viewlux (Perkin-Elmer) 中测定在 350nm 激发后在 620nm 和 665nm 的荧光发射。在 665nm 与在 622nm 的发射的比值视为磷酸化的底物的量的量度。将数据标准化 (无抑制剂的酶反应 = 0% 抑制, 除了酶之外的所有其它测定组分 = 100% 抑制)。通常, 在相同的微量滴定板上, 以 20 μM-1nM 范围内的 10 种不同浓度 (20 μM、6.7 μM、2.2 μM、0.74 μM、0.25 μM、82nM、27nM、9.2nM、3.1nM 和 1nM, 在测定前, 在浓缩 100 倍的储备溶液的水平, 通过 1 : 3 系列稀释制备该稀释系列), 平行双份地测定各浓度的测试化合物的值, 并使用自身软件按照 4 参数拟合计算 IC₅₀ 值。

[0663] 生物学测定 2.0 :Akt2 激酶测定

[0664] 本发明的化合物的 Akt2 抑制活性用以下段落中所述的 Akt2 TR-FRET 测定定量。

[0665] 在昆虫细胞中表达并被 PDK1 激活的 His- 标记的人类重组激酶全长 Akt2 购自 Invitrogen (货号 PV 3975)。使用生物素化的肽生物素 -Ahx-KKLNRTLSFAEPG (C- 端为酰胺形式) 作为激酶反应的底物, 它可购自例如 Biosynthan GmbH (Berlin-Buch, Germany) 公司。

[0666] 为了测定, 将 50nl 的浓缩 100 倍的测试化合物在 DMSO 中的溶液吸移入黑色小体积的 384 孔微量滴定板 (Greiner Bio-One, Frickenhausen, Germany) 中, 加入 Akt2 在测定缓冲液 [50mM TRIS/HCl pH 7.5, 5mM MgCl₂, 1mM 二硫苏糖醇, 0.02% (v/v) Triton X-100 (Sigma)] 中的溶液 (2 μl), 并在 22°C 下温育混合物 15min 以使测试化合物与酶在激酶反应开始之前预先结合。然后, 通过加入腺苷三磷酸 (ATP, 16.7 μM => 在 5 μl 测定体

积中的终浓度是 $10\ \mu\text{M}$) 和底物 ($1.67\ \mu\text{M} \Rightarrow$ 在 $5\ \mu\text{l}$ 测定体积中的终浓度是 $1\ \mu\text{M}$) 在测定缓冲液中的溶液 ($3\ \mu\text{l}$) 使激酶反应开始,并在 22°C 下温育所得的混合物 60min 的反应时间。在测定中,根据酶批次的活性,调节 Akt2 的浓度,并适当选择 Akt2 的浓度以使此测定在线性范围内,典型的酶浓度是约 $0.2\text{ng}/\mu\text{l}$ (在 $5\ \mu\text{l}$ 测定体积中的终浓度)。

[0667] 通过加入 $5\ \mu\text{l}$ 的 HTRF 检测试剂溶液 (200nM 链霉亲和素-XL665[Cisbio] 和 1.5nM 抗-磷酸丝氨酸抗体 [Millipore, cat. #35-001] 和 0.75nM LANCE Eu-W 1024 标记的抗-小鼠 IgG 抗体 [Perkin Elmer]) 在 EDTA 水溶液 (100mM EDTA, 在 50mM HEPES/NaOH pH 7.5 中的 0.1% (w/v) 牛血清白蛋白) 中的溶液终止反应。

[0668] 在 22°C 下温育所得的混合物 1h 以使生物素化的磷酸化的肽与链霉亲和素-XL665 和抗体结合。然后通过测定从抗-小鼠 IgG-Eu-螯合剂至链霉亲和素-XL665 的共振能量转移评价磷酸化的底物的量。因此,在 TR-FRET 读数器,例如 Rubystar (BMG Labtechnologies, Offenburg, Germany) 或 Viewlux (Perkin-Elmer) 中测定在 350nm 激发后在 620nm 和 665nm 的荧光发射。在 665nm 与在 622nm 的发射的比值视为磷酸化的底物的量的量度。将数据标准化 (无抑制剂的酶反应 = 0% 抑制,除了酶之外的所有其它测定组分 = 100% 抑制)。通常,在相同的微量滴定板上,以 $20\ \mu\text{M}$ - 1nM 范围内的 10 种不同浓度 ($20\ \mu\text{M}$ 、 $6.7\ \mu\text{M}$ 、 $2.2\ \mu\text{M}$ 、 $0.74\ \mu\text{M}$ 、 $0.25\ \mu\text{M}$ 、 82nM 、 27nM 、 9.2nM 、 3.1nM 和 1nM , 在测定前,在浓缩 100 倍的储备溶液的水平,通过 1 : 3 系列稀释制备该稀释系列),平行双份地测定各浓度的测试化合物的值,并使用自身软件按照 4 参数拟合计算 IC_{50} 值。

[0669] 本发明的优选的化合物在 Akt1 或 Akt2 激酶测定中显示出 : $\text{IC}_{50} < 5\ \mu\text{M}$, 更优选地, $\text{IC}_{50} < 0.5\ \mu\text{M}$, 甚至更优选地, $\text{IC}_{50} < 0.05\ \mu\text{M}$ 。

[0670] 细胞测定 : p-PRAS40 和 p-AKT 测定

[0671] 用 HEK293-AKT 和 HEK293-PRAS40 细胞系进行细胞 AKT 活性评价。这些细胞系将 AKT 或 PRAS40 分别表达为与绿色荧光蛋白 (GFP, 激发态 Tb 荧光团的适合的 TR-FRET 受体) 的融合体。使用 LanthaScreen™ Tb-抗-AKT (S473) 和 Tb-抗-pPRAS40 [pThr246] 抗体检测在细胞溶解产物中 AKT 抑制剂对 GFP-PRAS40 或 GFP-AKT 融合蛋白的磷酸化状态的效力。

[0672] 生物学测定 3.1 : p-PRAS40 测定

[0673] 以 20000 个细胞 / 孔将 HEK293-PRAS40 细胞 (PerkinElmer#6007688) 接种在 384 孔 MTP 中。在 37°C 下过夜温育后,将稀释在生长培养基中的测试化合物加入到细胞中。处理 1 小时后,用终浓度 500pM 的胰岛素 (Insulin#12585-014 Invitrogen) 刺激细胞 40min。其后,用含有 20mM Tris, pH 7.4、 5mM EDTA、 150mM NaCl、 1% NP-40、磷酸酶 / 蛋白酶抑制剂和 5nM Tb-抗-AKT 的缓冲液溶解细胞。在室温下温育 2 小时后,使用 PHERAstar 读板器 (BMG LABTECH) 检测 TR-FRET 值,并使用 $520/490\text{nm}$ 发射比计算 IC_{50} 。

[0674] 生物学测定 3.2 : p-AKT 测定

[0675] 除了细胞系是 HEK293-AKT 并且刺激是 $5\text{ng}/\text{mL}$ IGF-1 之外,与 p-PRAS40 方案类似,进行磷酸 AKT 测定。

[0676] 本发明的优选的化合物在 p-PRAS40 或 p-AKT 测定中显示出 : $\text{IC}_{50} < 10\ \mu\text{M}$, 更优选地, $\text{IC}_{50} < 1\ \mu\text{M}$ 。

[0677] 生物学测定 4.0 : 肿瘤细胞增殖测定

[0678] 在基于细胞的测定中测试化合物,其测定接触药物 72h 后所述化合物抑制肿瘤

细胞增殖的能力。使用来自 Promega (Cat. #G7573) 的 Cell Titer-Glo 发光细胞活力试剂盒测定细胞活力。以 1000-5000 个细胞 / 孔 (取决于细胞系) 在黑色 / 透明底板 (Fisher#07-200-565) 上在 100mL 培养基中接种细胞。对于测定的各细胞系, 将细胞接种在单独的板上用于在 $t = 0$ 小时和 $t = 72$ 小时时间点测定发光。在 37°C 下过夜温育后, 通过加入 $100\ \mu\text{L}$ Cell Titer-Glo 溶液 / 孔, 将板移至定轨振荡器, 在室温下振荡 10 分钟, 然后在 Wallac Victor2 1420 Multi-label HTS Counter 上使用发光测定窗 (在 428nm 测定最大光检测) 读板, 来测定 $t = 0$ 样品的发光值。用终体积 $50\ \mu\text{L}$ 的稀释在生长培养基中的化合物处理用于 $t = 72$ 小时时间点的剂量板。然后在 37°C 下温育细胞 72 小时。通过加入 $150\ \mu\text{L}$ 的 Promega CellTiter-Glo 溶液, 将细胞置于振荡器上, 在室温下振荡 10 分钟, 然后使用 Victor 发光计读取发光, 来测定 $t = 72$ 小时样品的发光值。使用专用于荧光素酶测定的模板处理数据。简言之, 对于经处理的和未经处理的样品, 从 $t = 72$ 小时时间点测定的那些值减去 $t = 0$ 值。经药物处理的和对照的发光之间的百分比差用来测定生长的抑制百分比。

[0679] 以下进一步的细胞测定可用来进一步说明本发明所述的化合物的商业用途。

[0680] 生物学测定 5.0 : 细胞 PI3K/Akt 途径测定

[0681] 为了研究本发明的化合物的细胞活性, 基于酶联免疫吸附测定 (ELISA) 的测定可用来研究对 Akt 磷酸化的抑制效力。此测定是基于夹心 ELISA 试剂盒 (PathScan™ Phospho-Akt1(Ser473) ; Cell Signaling, USA ; #7160)。

[0682] 此 ELISA 试剂盒检测磷酸化的 Akt 蛋白的内源水平。磷酸 -Akt (Ser473) 抗体 (Cell Signaling, USA ; #9271) 已被涂布于微孔上。与细胞溶解产物一起温育后, 涂布的抗体捕获磷酸化的 Akt 蛋白。充分清洗后, 加入 Akt1 单克隆抗体 (Cell Signaling, USA ; #2967) 以检测被捕获的磷酸 -Akt1 蛋白。然后, 使用 HRP- 连接的抗 - 小鼠抗体 (HRP : 辣根过氧化物酶 ; Cell Signaling, USA ; #7076) 识别结合的检测抗体。加入 HRP 底物 ($= 3, 3', 5, 5' -$ 四甲基联苯胺 (TMB) ; Cell Signaling, USA ; #7160) 显色。此显色的光密度大小与磷酸化的 Akt 蛋白的量成正比。

[0683] 将 MCF7 细胞 (ATCC HTB-22) 以 10000 个细胞 / 孔的密度接种于 96 孔平底板中。接种后 24 小时, 使用低血清培养基 (IMEM 培养基, 包含 0.1% 炭处理的 FCS (FCS : 胎牛血清)) 使细胞血清饥饿。24 小时后, 将各 $1\ \mu\text{L}$ 的化合物稀释溶液 (将测试化合物溶于二甲亚砜 (DMSO) 成为 10mM 溶液, 然后稀释) 加入 96 孔板的各孔中, 并在 37°C 下在含有 5% CO_2 的潮湿气氛中温育 48h。为了刺激 Akt 磷酸化, 与化合物平行地加入 β -调蛋白 (20ng/mL β -HRG)。在有或无稀释的化合物的情况下温育含有未被刺激的对照细胞 (无 β -调蛋白刺激) 的孔。含有未被处理的对照细胞的孔 (无化合物) 充满含有 0.5% v : v DMSO 的培养基, 并且用或不用 β -调蛋白刺激。

[0684] 收集细胞, 并在 1x 细胞溶解缓冲液 (20mM Tris (pH 7.5)、150mM NaCl、1mM 乙二胺四乙酸 (EDTA)、1mM 乙二醇双 (2-氨基乙基)-N,N,N',N'-四乙酸 (EGTA)、1vol% Triton X-100、2.5mM 焦磷酸钠、1mM β -甘油磷酸、1mM Na_3VO_4 、1 $\mu\text{g/mL}$ 亮抑蛋白酶肽) 中用短暂的超声处理溶解。在 4°C 下离心溶胞产物 10min, 并将上清液转移至新管中。将 $100\ \mu\text{L}$ 的样品稀释剂 (0.1vol% Tween-20、0.1vol% 叠氮化钠在磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中) 加入微离心管中, 并将 $100\ \mu\text{L}$ 的细胞溶解产物转移至此管中并涡旋。将 $100\ \mu\text{L}$ 的各稀释的细胞溶解

产物加入至适当的 ELISA 孔中,并在 4℃ 下过夜温育。用 1x 清洗缓冲液 (1vol% tween-20、0.33vol% 麝香草酚,在 PBS 中) 清洗板 4 次。接着,将 100 μ l 的检测抗体 (Akt1 (2H10) 单克隆检测抗体;Cell Signaling, USA;#2967) 加入各孔,并在 37℃ 下继续温育 1h。在各步骤之间重复此清洗步骤。将 100 μ l 的第二抗体 (抗-小鼠 IgG HRP-连接的抗体;Cell Signaling, USA;#7076) 加入各孔并在 37℃ 下温育 30min。然后,将 100 μ l 的 TMB 底物 (0.05% 3,3',5,5'-四甲基联苯胺、0.1% 过氧化氢、复合多肽,在缓冲溶液中;Cell Signaling, USA;#7160) 加入各孔并在 25℃ 下温育 30min。最后,将 100 μ l 的 STOP 溶液 (0.05vol% α 和 β 不饱和羰基化合物) 加入各孔中并温和地振荡此板。在加入 STOP 溶液后的 30min 内,在 $\lambda = 450\text{nm}$ 下测定吸光度 (Wallac Victor2;Perkin Elmer,USA)。使用统计程序 (Excel;Microsoft,USA) 进行数据分析。

[0685] 生物学测定 6.0:细胞 pGSK3 测定:

[0686] 为了研究本发明的化合物的细胞活性,基于 ELISA 的测定可用于磷酸化的蛋白糖原合成酶激酶 3 (GSK3)。此测定是基于固相夹心 ELISA,其使用磷酸-GSK3 (Ser9) 特异性抗体 (BioSource International, Inc.;Catalog#KH00461) 检测磷酸化的 GSK3 的内源水平。与细胞溶解产物温育后,涂布的抗体捕获磷酸化的 GSK3 蛋白。充分清洗后,加入 GSK3 多克隆抗体以检测被捕获的磷酸-GSK3 蛋白。然后使用第二抗体 (抗-兔 IgG-HRP) 识别被结合的检测抗体。进行第二次温育,并清洗以除去所有过量的抗-兔 IgG-HRP,然后加入底物溶液,结合的酶作用于该底物产生颜色。此有色产物的强度与在原样本中存在的 GSK-3 β [pS9] 的浓度成正比。

[0687] 将 MCF7 细胞 (ATCC HTB-22) 以 10000 个细胞/孔的密度接种于 96 孔平底板中。24 小时后,将各 1 μ l 的化合物稀释溶液 (将测试化合物溶于二甲亚砜 (DMSO) 成为 10mM 溶液,然后稀释) 加入 96 孔板的各孔中,并在 37℃ 下在含有 5% CO_2 的潮湿气氛中温育 48h。

[0688] 收集细胞,并在细胞提取缓冲液 (10mM Tris, pH 7.4、100mM NaCl、1mM EDTA、1mM EGTA、1mM NaF、20mM $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 、2mM Na_3VO_4 、1% Triton X-100、10vol% 甘油、0.1vol% SDS、0.5vol% 脱氧胆酸盐,1mM 苯基甲基磺酰氟 (PMSF)) 中溶解。在 4℃ 下离心溶胞产物 10min,并将上清液转移至新管中。加入 50 μ l 的样品稀释液 (标准稀释缓冲液,Biosource),并将 100 μ l 细胞溶解产物转移至此管中并涡旋。将 100 μ l 的各稀释的细胞溶解产物加入至适当的 ELISA 孔板中,并在室温下温育 3h。用 1x 清洗缓冲液 (Biosource) 清洗此板 4 次。将 50 μ l 的检测抗体 (GSK3 (Ser9) 检测抗体;BioSource) 加入各孔,并在室温下温育 30min。在各步骤之间重复此清洗步骤。将 100 μ l 的 HRP-连接的第二抗体 (抗-小鼠 IgG HRP-连接的抗体) 加入各孔,并在室温下温育 30min。将 100 μ l 的 TMB 底物 (0.05vol% 3,3',5,5'-四甲基联苯胺、0.1vol% 过氧化氢、复合多肽,在缓冲溶液中;Biosource) 加入各孔,并在室温下温育 30min。最后,将 100 μ l 的 STOP 溶液 (0.05vol% α 和 β 不饱和羰基化合物) 加入各孔中,并温和地振荡此板数秒。在加入 STOP 溶液后的 30min 内,在 $\lambda = 450\text{nm}$ 下测定吸光度 (Wallac Victor2;Perkin Elmer,USA)。

[0689] 使用统计程序 (Excel;Microsoft,USA) 进行数据分析,并计算 pGSK3 抑制的 IC_{50} 。

[0690] 生物学测定 7.0:细胞增殖/细胞毒性测定:

[0691] 可使用 OvCAR3, HCT116 和 A549 细胞系和 Alamar Blue (刃天青) 细胞活力测定 (O'Brien 等人, Eur J Biochem 267,5421-5426,2000) 评价本文所述的化合物的抗增殖

活性。刃天青被细胞脱氢酶活性（与存活的增殖的细胞相关）还原成发荧光的试卤灵。将测试化合物溶于 DMSO 成为 10mM 溶液，然后稀释。将细胞如 HCT116 或 A549 细胞以 10000 个细胞 / 孔 (OvCAR3 细胞)、1000 个细胞 / 孔 (HCT116 细胞) 或 2000 个细胞 / 孔 (A549 细胞) 的密度以 200 μ l / 孔的体积接种于 96 孔平底板中。接种后 24 小时，将各 1 μ l 的化合物稀释液加入 96 孔板的各孔中。按照至少平行两份的方式试验各化合物稀释液。含有未被处理的对照细胞的孔填充含有 0.5vol% v : v DMSO 的 200 μ l DMEM (Dulbecco 改良的 Eagle 培养基)。然后，在 37℃ 下在含有 5vol% CO₂ 的潮湿气氛中与该物质一起温育细胞 72h。为了测定细胞的活力，加入 20 μ l 的刃天青溶液 (90mg/l)。在 37℃ 下温育 4h 后，通过在 λ = 544nm 的消光和 λ = 590nm 的发射测定荧光 (Wallac Victor2 ;Perkin Elmer, USA)。为了计算细胞活力，将未被处理的细胞的发射值设置为 100% 活力，并将被处理的细胞的荧光强度与未被处理的细胞的值相关。活力以 % 值表示。利用非线性回归从浓度 - 效应曲线测定化合物的细胞毒活性的相应 IC₅₀ 值。使用生物统计程序 (GraphPad Prism, USA) 进行数据分析。

[0692] 生物学测定 8.0 : 化学致敏测定

[0693] 可评价本文公开的化合物使癌细胞对凋亡刺激物致敏的能力。在单独以及在与化疗剂和靶向癌症治疗剂组合的情况下，试验 Akt 抑制剂，以测定对凋亡诱导的效力。

[0694] 将癌细胞以 2×10^3 至 1×10^4 个细胞 / 孔的浓度接种于 96 孔板中它们各自的生长培养基中。48-72 小时后，如下进行凋亡测定：

[0695] 对于与化疗剂（特别优选拓扑异构酶抑制剂（例如多柔比星、依托泊苷、喜树碱或米托蒽醌）或抗有丝分裂剂 / 微管蛋白抑制剂（例如长春新碱））组合测定，以各自的指定浓度加入化合物，并在 CO₂ 培养箱中在 37℃ 下温育板 18 小时。对于使用化疗剂治疗的标准组合测定，按照各自的指定浓度同时加入。

[0696] 对于包括加入靶向促凋亡剂如死亡受体配体 TRAIL/Apo2L (Research Diagnostics) 的组合测定，加入化合物，1.5 小时后加入 TRAIL，并在加入 TRAIL 后再温育板 3-4 小时。至于时间过程，将板与 TRAIL 配体一起温育 2、3、4 和 6 小时，然后终止测定。

[0697] 对于此二方案，总的最终体积不超过 250 μ l。在温育时间结束时，通过离心 (200 $\times$ g ; 10min, 在 rt 下) 使细胞成小团块，并弃去上清液。再悬浮细胞，并使用溶解缓冲液 (Cell Death Detection ELISA^{PLUS}, Roche, Cat. No. 11774425001) 在 rt 下温育 30min。重复离心 (200 $\times$ g ; 10min, 在 rt 下) 后，将上清液的等分试样转移至微量板的涂布有链霉亲和素的孔中。然后，温育 (2h, rt)，上清液中的核小体与抗组蛋白抗体（生物素标记的）和抗 DNA 抗体（过氧化物酶缀合的；Cell Death Detection ELISA^{PLUS}, Roche, 目录号 11774425001) 结合。抗体 - 核小体复合物与微量板结合。在 rt 下清洗被固定的抗体 - 组蛋白复合物 3 次以除去非免疫反应性的细胞组分。加入底物溶液 (2,2' - 连氨基 - 双 [3- 乙基苯并噻唑啉 -6- 磺酸 (ABTS) ; Cell Death Detection ELISA^{PLUS}, Roche, 目录号 11 774 425 001)，并在 rt 下温育样品 15min。通过分光光度法（在 λ = 405nm 的吸光度）测定有色产物的量。数据表示为对照的活性百分比，将顺铂用作阳性对照。主观地将 50 μ M 顺铂的凋亡诱导定义为 100 顺铂单位 (100CPU)。

[0698] 下表给出本发明的选定实施例的选定数据。

[0699] 表 1

[0700]

实施例	IC ₅₀ p-Akt (生物学测定 5.0), μ M
1.0	< 0.05
2.0	0.008
3.0	< 0.5
4.0	< 0.5

[0701] 表 2

[0702]

实施例	IC ₅₀ Akt1 (生物学测定 1.0), μ M	IC ₅₀ Akt2 (生物学测定 2.0), μ M
1.0	0.004	0.053
2.0	0.008	0.042
5.0	0.003	0.027
6.0	0.003	0.081
7.0	0.012	0.334
8.0	0.014	0.414
9.0	0.018	0.185
10.0	0.007	0.038
11.0	0.029	0.445
11.1	0.019	0.098
12.0	0.008	0.050
13.0	0.016	0.132
14.0	0.007	0.016
15.0	0.022	0.222
16.0	0.012	0.052