

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020 年 9 月 10 日 (10.09.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/177128 A1

(51) 国际专利分类号:
C07D 403/14 (2006.01) **A61P 33/06** (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2019/077356

(22) 国际申请日: 2019 年 3 月 7 日 (07.03.2019)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(71) 申请人: 华东理工大学(EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) [CN/CN]; 中国上海市徐汇区梅陇路 130 号, Shanghai 200237 (CN)。中国科学院上海巴斯德研究所(INSTITUT PASTEUR OF SHANGHAI, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国上海市黄浦区合肥路 411 号, Shanghai 200025 (CN)。

(72) 发明人: 李剑(LI, Jian); 中国上海市徐汇区梅陇路 130 号, Shanghai 200237 (CN)。江陆斌(JIANG, Lubin); 中国上海市黄浦区合肥路 411 号, Shanghai 200025 (CN)。王熯炯(WANG, Manjiong); 中国上海市徐汇区梅陇路 130 号, Shanghai 200237 (CN)。李若曦(LI, Ruoxi); 中国上海市徐汇区梅陇路 130 号, Shanghai 200237 (CN)。汤同柯(TANG, Tongke); 中国上海市黄浦区合肥路 411 号, Shanghai 200025 (CN)。凌大正(LING, Dazheng); 中国上海市徐汇区梅陇路 130 号, Shanghai 200237 (CN)。黄正辉(HUANG, Zhenghui); 中国上海市黄浦区合肥路 411 号, Shanghai 200025 (CN)。朱进(ZHU, Jin); 中国上海市徐汇区梅陇路 130 号, Shanghai 200237 (CN)。

(74) 代理人: 上海一平知识产权代理有限公司(XU & PARTNERS, LLC.); 中国上海市普陀区真北路 958 号天地科技广场 1 号楼 106 室, Shanghai 200333 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,

BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

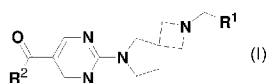
(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: 2,6-DIAZASPIRO[3.4]OCTANE PYRIMIDINE-HYDROXAMIC ACID COMPOUND AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 2,6-二氮杂螺[3.4]辛烷类嘧啶-异羟肟酸化合物及其用途



(57) Abstract: Disclosed are a 2,6-diazaspiro[3.4]octane pyrimidine-hydroxamic acid compound and the use thereof. Specifically, the present invention relates to a compound as represented by formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, or a stereoisomer thereof, and a preparation method therefor, and the use thereof in the preparation of HDAC inhibitor anti-malarial drugs.

(57) 摘要: 本发明公开了一种 2,6-二氮杂螺[3.4]辛烷类嘧啶-异羟肟酸化合物及其用途。具体地, 涉及一种式 I 所示的化合物、或其药学上可接受的盐、或其立体异构体, 及其制备方法, 以及其在制备 HDAC 抑制剂抗疟疾药物中的应用。



WO 2020/177128 A1

2,6-二氮杂螺[3.4]辛烷类嘧啶-异羟肟酸化合物及其用途

技术领域

5 本发明涉及药物化学和药物治疗学领域，具体地，本发明提供了一类具有 2,6-二氮杂螺[3.4]辛烷类嘧啶-异羟肟酸结构的小分子化合物及其药学上可接受的盐，所述化合物具有优异的疟原虫体内外杀疟原虫活性。该类化合物有望开发成为新型抗疟疾药物。

背景技术

10 疟疾是当今世界公共卫生中最突出的问题之一，是全球流行最广、危害最大的寄生虫病。据世界卫生组织（World health organization, WHO）2018 年世界疟疾报告统计，2017 年全球共发生 2.19 亿疟疾病例，其中 43.5 万例死亡；大部分疟疾病例发生在世卫组织非洲区域（2 亿病例，92%），其中 5 岁以下的儿童为最易感染人群。疟疾的流行除了危害人类身体健康和生命安全，还严重削弱着许多非洲国家的卫生系统，深刻影响着发展中国家的社会经济发展，使贫穷成为无法摆脱的恶性循环。加上全球气候变暖、15 国际交流频繁、全球疟疾防治资金投入放缓等因素，全球疟疾防治工作将面临巨大挑战。

疟疾由一种叫作疟原虫的寄生虫引起，通过受感染蚊子的叮咬传播。这种寄生虫在人体的肝脏中繁殖，然后感染红细胞。疟疾的症状包括发烧、头痛和呕吐，通常在蚊子叮咬后 10-15 天显现。如不治疗，疟疾可能中断对维持生命的重要器官的供血，从而迅速威胁生命。

20 在人类与疟疾的长期抗争中，化学药治疗自始至终是疟疾防治至关重要的一个环节。人们长期依赖的天然（奎宁）或人工合成（氯喹、甲氟喹、伯胺喹等）氨基喹啉类或抗生素类（磺胺多辛、乙胺嘧啶等）等前几代抗疟药物的耐药性在 20 世纪五六十年代广泛出现，使疗效大打折扣破坏了疟疾控制的努力并颠覆了在儿童存活方面取得的成果。随后青蒿素及青蒿素联合疗法（artemisinin combination therapy, ACT）改变了抗疟用药25 的困境，成为当代疟疾治疗的中坚力量。但是，10 年前在柬埔寨地区出现了 ACT 疗法的抗性报道，恶性疟原虫对青蒿素衍生物的敏感性降低，其中单药治疗后患者的清除时间明显延长，并且进一步降低了临床疗效，加速潜在伴药耐药性的出现，这已经成为对 ACT 持续功效的潜在威胁。近年来青蒿素耐受的疟疾在东南亚湄公河流域广泛传播，甚至有散布至非洲的风险。

30 随着时间推移，抗疟药耐药性反复出现和扩散以及蚊媒对杀虫剂产生抗性并逐渐扩散，使得传统疟疾防治方法面临严峻挑战，迫切需要寻找新的靶标和方法，为疟疾的研究、防御、治疗和控制提供新的技术和策略。

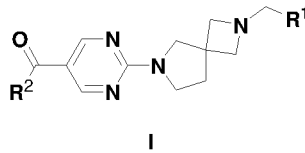
因此，本领域迫切需要一种能够有效杀灭疟原虫，特别是耐药性疟原虫的药物化合物。

35

发明内容

本发明的目的是提供一种能够有效杀灭疟原虫，特别是耐药性疟原虫的药物化合物。

40 本发明的第一方面，提供了一种如下式 I 所示的 2,6-二氮杂螺[3.4]辛烷类嘧啶-异羟肟酸化合物，或其药学上可接受的盐或光学异构体，



其中，

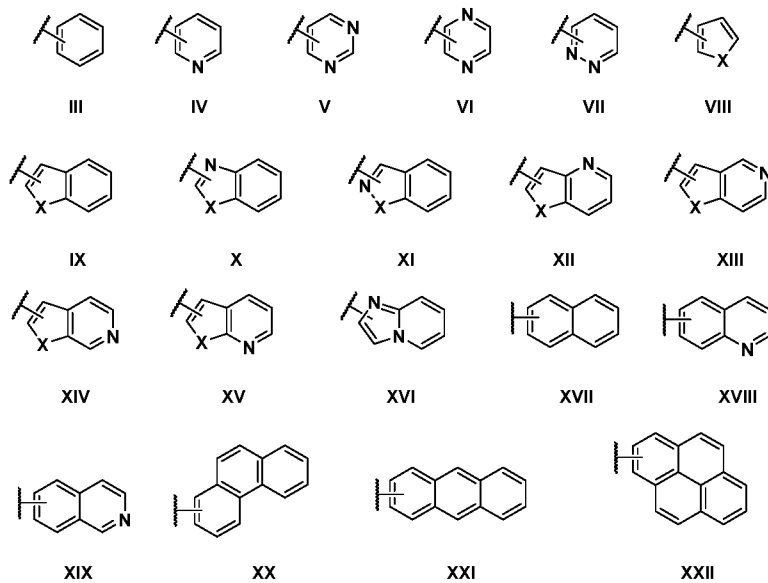
R^1 选自下组：取代或未取代的 C1~C6 烷基、取代或未取代的 C3~C8 环烷基、取代或未取代的 C6-C15 单环、二环或三环芳基、取代或未取代的 5-15 元单环、二环或三环杂环基（包括饱和、部分不饱和或芳香性杂环基）；其中，所述的杂芳基包括一个或多个选自下组的杂原子作为环骨架：N、O 或 S；

R^2 选自下组：NHOH，或 OR^3 ；

R^3 选自下组：氢，取代或未取代的 C1~C3 烷基，取代或未取代的 C3~C8 环烷基、取代或未取代的 5-15 元杂环基；

其中，所述的取代指基团上的氢原子被一个或者多个(例如 2 个、3 个、4 个等) 选自下组的取代基所取代：卤素、氘代、C1-C6 烷氧基、卤代的 C1-C6 烷氧基、卤代的 C3-C8 环烷基、甲基磺基、 $-S(=O)_2NH_2$ 、氧代(=O)、-CN、羟基、 $-NH_2$ 、羧基、或取代或未取代的选自下组的基团：C1-C6 烷基、C3-C8 环烷基、C1-C6 胺基、C6-C10 芳基、具有 1-3 个选自 N、S 和 O 的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-3 个选自 N、S 和 O 的杂原子的 5-12 元杂环基，且所述的取代基选自下组：卤素、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、氧代、-CN、 $-NH_2$ 、-OH、C6-C10 芳基、C1-C6 胺基、C1-C6 酰胺基、具有 1-3 个选自 N、S 和 O 的杂原子的 5-10 元杂芳基。

在另一优选例中，所述的 R^2 选自下组：H、取代或未取代的 C1~C6 烷基，取代或未取代的 C3~C8 环烷基，或取代或未取代的选自下组的基团：



上述各式中，X 选自 N、O、S。

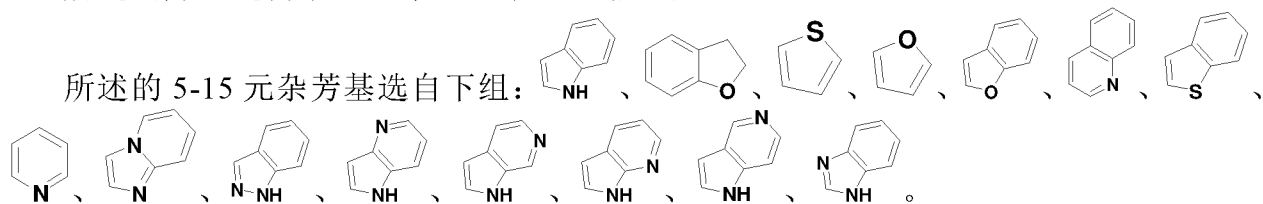
在另一优选例中，所述的芳基为包含 1~4 个并环的芳基。

在另一优选例中，所述的杂环基为包含 1-4 个并环的杂芳基，其中，各个并环各自独立地为 5~6 元的芳环或芳杂环。

在另一优选例中，所述的 C1-C6 烷基为甲基或乙基。

在另一优选例中，所述的 R^1 选自下组：取代或未取代的 C1~C6 烷基、取代或未取代的 C3~C8 环烷基，取代或未取代的 C6-C15 芳基，取代或未取代的 5-15 元杂芳基；其中，所述的 C3~C8 环烷基选自下组：环戊基，环己基；

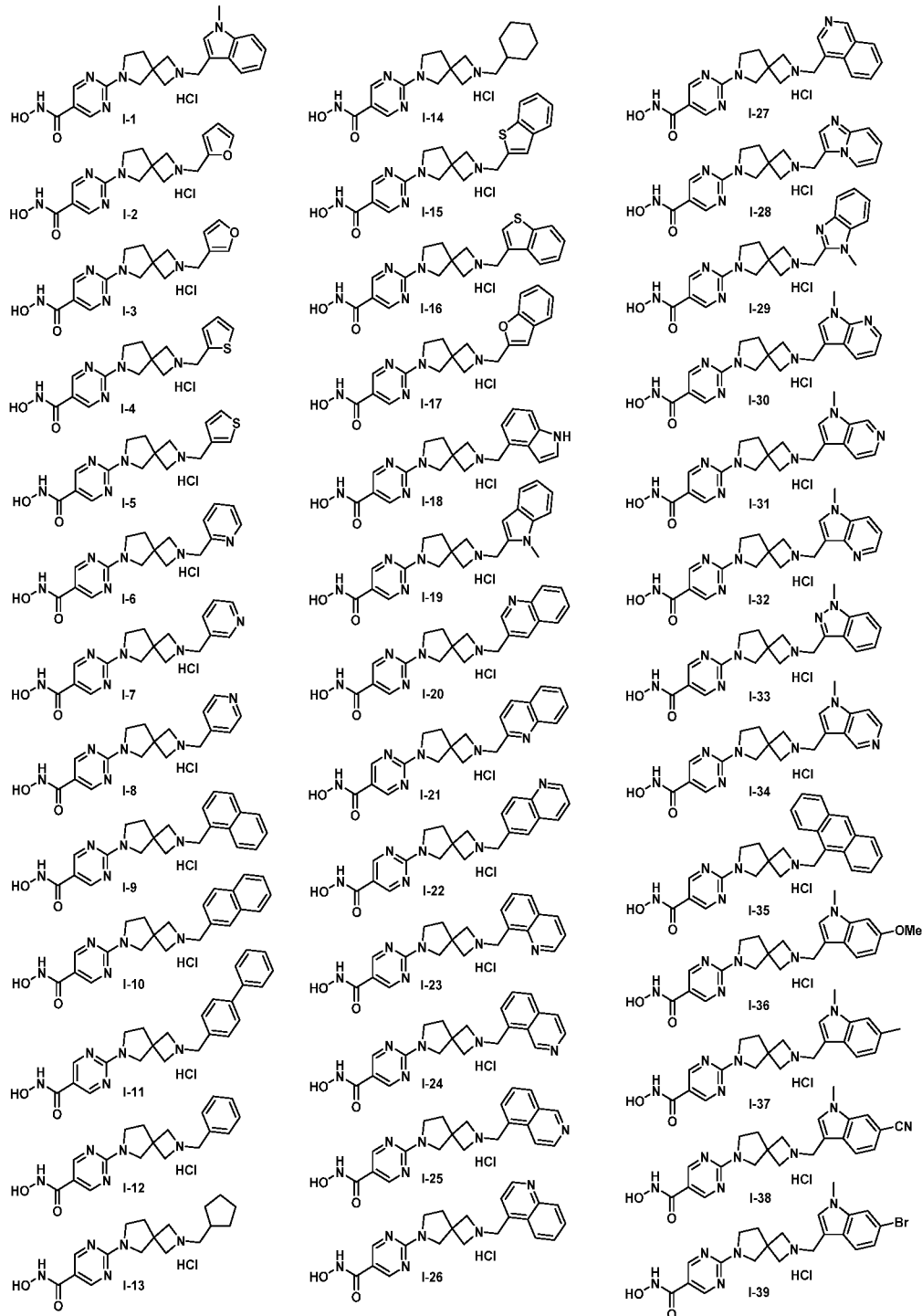
所述的芳基选自下组：苯基、萘基、菲基；



在另一优选例中，所述的取代基选自下组：卤素、OH、NH₂、CN、C1-C6 烷基、C3~C8 环烷基、C6-C10 芳基、C1-C6 烷氧基、C1-C6 烷氨基。

在另一优选例中，所述的 R¹ 为 NHOH。

在另一优选例中，所述的式 I 化合物可选自下组：



本发明的第二方面，提供了一种药物组合物，所述的药物组合物包括（a）治疗有效量的如本发明第一方面中所述的化合物、或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物；和（b）药学上可接受的载体。

在另一优选例中，所述的药物组合物用于：

- 5 （a）治疗或预防疟原虫导致的疾病或病症；或
 （b）治疗或预防与 HDAC 活性或表达量相关的疾病或病症。

在另一优选例中，所述的药物组合物用于调节 HDAC 活性或表达量。

本发明的第三方面，提供了一种如本发明第一方面所述的式 I 化合物的用途，其用于制备治疗或预防疟原虫导致的疾病或病症的药物组合物。

- 10 在另一优选例中，所述的疾病或病症为疟疾。

在另一优选例中，所述疟原虫为耐药疟原虫或非耐药疟原虫。

在另一优选例中，所述的疟原虫为处于选自下组时期的疟原虫：肝期、配子体期、红细胞内期。

- 15 在另一优选例中，所述的耐药疟原虫为对选自下组的药物已经产生抗性的疟原虫：
青蒿素、二氢青蒿素、蒿甲醚、蒿琥酯、本芴醇、磺胺多辛、乙胺嘧啶、咯萘啶、阿托伐醌、奎宁、氯喹、哌喹、甲氟喹、阿莫地喹、伯胺喹、和他非诺喹。

本发明的第四方面，提供了一种如本发明第一方面所述的式 I 化合物的用途，其用于制备治疗或预防 HDAC 活性或表达量相关的疾病或病症的药物组合物。

- 20 在另一优选例中，所述的疾病或病症为肿瘤，较佳地，所述的肿瘤选自下组：肺癌、结肠癌、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、淋巴系统肿瘤。

应理解，在本发明范围内中，本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅，在此不再一一累述。

25

附图说明

图 1 为本发明化合物的 Western Blot 实验结果图；

图 2 为小鼠体内药效实验中小鼠体内原虫率折线图；

图 3 为小鼠体内药效实验结果中小鼠存活比例折线图。

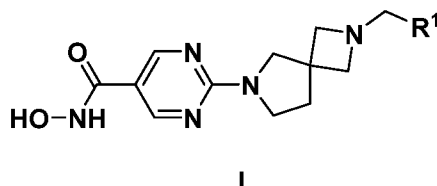
30

具体实施方式

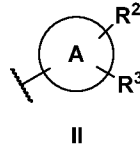
本发明人经过长期而深入的研究，制备了一种具有 HDAC 抑制活性的化合物，其可以杀灭各个时期的耐药和非耐药疟原虫活性，且对人源细胞具有较低毒性，因此可以用于疟原虫导致的疾病例如疟疾的治疗。基于上述发现，发明人完成了本发明。

- 35 **式 I 化合物及其制备**

本发明提供具有如下通式 I 结构的化合物、或其药学上可接受的盐、或其立体异构体：



通式 I 中： R^1 选 H、直链或支链烷基或 II：



式 II 中 A 环为脂肪环烷基、环芳基、含杂原子的环芳基。

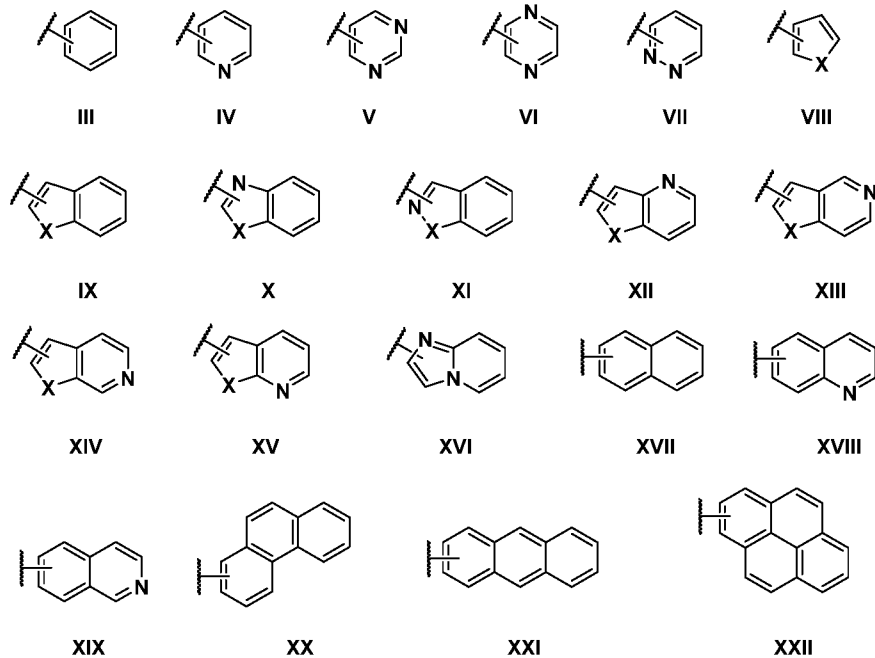
符合通式 I 的化合物，其特征在于，II 中 A 环为 3~8 元脂肪环烷基。

5 符合通式 I 的化合物，其特征在于，II 中 A 环为含有或不含有杂原子的环芳基，其中杂原子数目为 0~4，杂原子类型取自氮、氧、硫中一种、二种或三种。

符合通式 I 的化合物，其特征在于，A 环描述的环芳基为包含 1~4 个并环的芳基，其中的组成芳环取自 5~6 元的芳环或芳杂环，每一个组成芳环的杂原子数目为 0~2，杂原子类型取自氮、氧、硫中一种或两种。

10 符合通式 I 的化合物，其特征在于， R^2 与 R^3 独立选自 H、卤素、OH、 NH_2 、CN、直链或支链烷基、环烷基、芳基、烷氧基、烷氨基。

符合通式 I 的化合物，其特征在于，A 环描述的环芳基为：



X 选自 N、O、S。

15 符合通式 I 的化合物，其特征在于，用于制备抑制组蛋白去乙酰化酶（HDAC）活性的药物组合物或制剂，亦或用于制备抑制疟原虫或治疗疟疾的药物组合物或制剂。

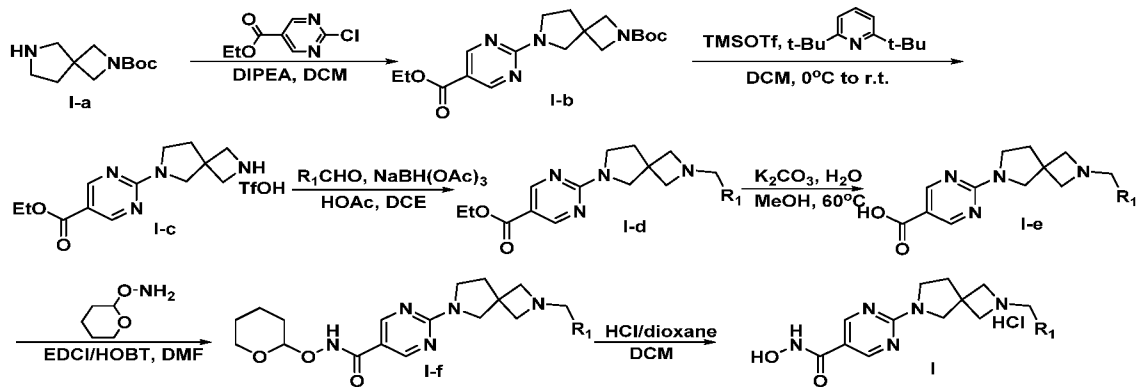
符合通式 I 的化合物作为 HDAC 抑制剂以单一用药或组合用药在预防或治疗疟疾中的应用。所述药物组合物中含有 0.001~99 wt%，较佳地 0.1~90 wt%，更佳地 1~80 wt% 的通式 I 化合物或其药学上可接受的盐，按组合物的总重量计。药物或药物组合物的剂型为口服剂型、或注射剂。口服剂型包括片剂、胶囊剂、膜剂、颗粒剂等，还包括缓释型或非缓释型剂型。药物组合物还可含有其它具有抗疟疾活性的药物成分，其中包括但不限于青蒿素、二氢青蒿素、蒿甲醚、蒿琥酯、本芴醇、磺胺多辛、乙胺嘧啶、咯萘啶、阿托伐醌、奎宁、氯喹、哌喹、甲氟喹、阿莫地喹、伯胺喹、他非诺喹等。

20

25 式 I 化合物的制备

本发明还提供通式 I 结构的 2,6-二氮杂螺[3.4]辛烷类嘧啶-异羟肟酸及其中间体化合

物的制备方法，具体合成方法如下：



1) 将 2,6-二氯杂螺[3.4]辛烷-2-羧酸叔丁酯(化合物 **I-a**)和 2-氯-嘧啶-5-羧酸乙酯溶于二氯甲烷中，冰浴冷却至 0~5 °C，加入 *N,N*-二异丙基乙胺，加毕，撤去冰浴，室温搅拌 5~6 h。向反应液中加入水，振荡分液，有机相减压蒸馏除去溶剂，剩余混合物通过硅胶柱层析分离纯化，得淡黄色固体 6-(5-(乙氧基羰基)嘧啶-2-基)-2,6-二氯杂螺[3.4]辛烷-2-羧酸叔丁酯(化合物 **I-b**)。

2) 将步骤 1 得到的化合物与 2,6-二叔丁基吡啶溶于二氯甲烷，冰水浴冷却至 0~5 °C，缓慢滴加三氟甲磺酸三甲基硅酯，滴加完毕，保持冰水浴，搅拌 15 min，撤去冰水浴，室温下搅拌至反应完毕 (TLC 检测)。再将反应液冷置于冰水浴中，剧烈搅拌下向体系缓慢滴加无水甲醇(加入量与三氟甲磺酸三甲基硅酯相同)滴加甲醇完毕，撤去冰水浴，待体系升至室温，将体系倒入二氯甲烷，抽滤，将固体用二氯甲烷洗至白色，烘干，得白色固体 2-(2,6-二氯杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯三氟甲磺酸盐(化合物 **I-c**)。

3) 将步骤 2 得到的化合物溶于 1,2-二氯乙烷中，加入 R^1 取代的醛，冰醋酸，三乙氧基硼氢化钠，室温搅拌过夜。反应毕，加入饱和碳酸氢钠水溶液，振荡分液，有机相减压蒸馏除去溶剂，剩余混合物用硅胶柱层析分离纯化，得化合物 **I-d**。

4) 将步骤 3 得到的化合物用甲醇和水的混合溶液溶解，加入碳酸钾固体，65~70 °C 加热反应 5-6 h。反应毕，减压蒸馏除去溶剂，残留物用 2 M 盐酸酸化至 pH 约为 1，减压蒸馏除去水，得混有无机盐的化合物 **I-e** 直接用于下步反应。

5) 将步骤 4 得到的混合物用 *N,N*-二甲基甲酰胺溶液溶解，依次加入 1-羟基苯并三唑和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐，室温下搅拌 30 min 后，依次加入 *O*-(四氢-2*H*-吡喃-2-基)羟胺和三乙胺，室温下搅拌 48 h。反应毕，加入饱和碳酸氢钠水溶液和二氯甲烷，振荡分液，有机相用水萃取三次，有机相减压蒸馏除去溶剂，剩余混合物用硅胶柱层析分离纯化，得化合物 **I-f**。

6) 将步骤 5 得到的化合物用二氯甲烷溶解，加入 4 M 氯化氢-二氧六环溶液，室温下搅拌 30 min。抽滤，以大量二氯甲烷洗涤固体，得到化合物 **I**。

根据上述制备方法的教导，本领域普通技术人员无需创造性劳动，即可获得式 **I** 所包含的所有化合物。

药物组合物和施用方法

由于本发明化合物具有优异的对 HDAC 的激活活性，因此本发明化合物及其各种晶型，药学上可接受的无机或有机盐，水合物或溶剂合物，以及含有本发明化合物为主要活性成分的药物组合物可用于治疗、预防以及缓解由 HDAC 的活性或表达量所导致的疾病。根据现有技术，本发明化合物可用于治疗以下疾病：肺癌、结肠癌、前列腺癌、乳

腺癌、卵巢癌、淋巴系统肿瘤、以及疟原虫导致的疾病（如疟疾）。

本发明的药物组合物包含安全有效量范围内的本发明化合物或其药理上可接受的盐及药理上可以接受的赋形剂或载体。其中“安全有效量”指的是：化合物的量足以明显改善病情，而不至于产生严重的副作用。通常，药物组合物含有 0.1-1000mg 本发明化合物/剂，更佳地，含有 0.5-500mg 本发明化合物/剂。较佳地，所述的“一剂”为一个胶囊或药片。

“药学上可以接受的载体”指的是：一种或多种相容性固体或液体填料或凝胶物质，它们适合于人使用，而且必须有足够的纯度和足够低的毒性。“相容性”在此指的是组合物中各组份能和本发明的化合物以及它们之间相互掺和，而不明显降低化合物的药效。药学上可以接受的载体部分例子有纤维素及其衍生物(如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素钠、纤维素乙酸酯等)、明胶、滑石、固体润滑剂(如硬脂酸、硬脂酸镁)、硫酸钙、植物油(如豆油、芝麻油、花生油、橄榄油等)、多元醇(如丙二醇、甘油、甘露醇、山梨醇等)、乳化剂(如吐温)、润湿剂(如十二烷基硫酸钠)、着色剂、调味剂、稳定剂、抗氧化剂、防腐剂、无热原水等。

本发明化合物或药物组合物的施用方式没有特别限制，代表性的施用方式包括(但不限于)：口服、直肠、肠胃外(静脉内、肌肉内或皮下)、和局部给药。特别优选的施用方式是口服。

用于口服给药的固体剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在这些固体剂型中，活性化合物与至少一种常规惰性赋形剂(或载体)混合，如柠檬酸钠或磷酸二钙，或与下述成分混合：(a)填料或增容剂，例如，淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅酸；(b)粘合剂，例如，羟甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶；(c)保湿剂，例如，甘油；(d)崩解剂，例如，琼脂、碳酸钙、马铃薯淀粉或木薯淀粉、藻酸、某些复合硅酸盐、和碳酸钠；(e)缓溶剂，例如石蜡；(f)吸收加速剂，例如，季胺化合物；(g)润湿剂，例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯；(h)吸附剂，例如，高岭土；和(i)润滑剂，例如，滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠，或其混合物。胶囊剂、片剂和丸剂中，剂型也可包含缓冲剂。

固体剂型如片剂、糖丸、胶囊剂、丸剂和颗粒剂可采用包衣和壳材制备，如肠衣和其它本领域公知的材料。它们可包含不透明剂，并且，这种组合物中活性化合物或化合物的释放可以延迟的方式在消化道内的某一部分中释放。可采用的包埋组分的实例是聚合物物质和蜡类物质。必要时，活性化合物也可与上述赋形剂中的一种或多种形成微胶囊形式。

用于口服给药的液体剂型包括药学上可接受的乳液、溶液、悬浮液、糖浆或酏剂。除了活性化合物外，液体剂型可包含本领域中常规采用的惰性稀释剂，如水或其它溶剂，增溶剂和乳化剂，例如，乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺以及油，特别是棉籽油、花生油、玉米胚油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油或这些物质的混合物等。

除了这些惰性稀释剂外，组合物也可包含助剂，如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂和香料。

除了活性化合物外，悬浮液可包含悬浮剂，例如，乙氧基化异十八烷醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、甲醇铝和琼脂或这些物质的混合物等。

用于肠胃外注射的组合物可包含生理上可接受的无菌含水或无水溶液、分散液、悬浮液或乳液，和用于重新溶解成无菌的可注射溶液或分散液的无菌粉末。适宜的含水和

非水载体、稀释剂、溶剂或赋形剂包括水、乙醇、多元醇及其适宜的混合物。

用于局部给药的本发明化合物的剂型包括软膏剂、散剂、贴剂、喷射剂和吸入剂。活性成分在无菌条件下与生理上可接受的载体及任何防腐剂、缓冲剂，或必要时可能需要的推进剂一起混合。

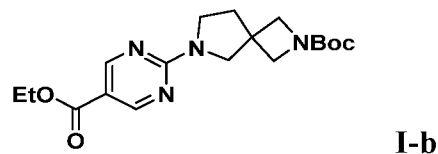
5 本发明化合物可以单独给药，或者与其他药学上可接受的化合物联合给药。

使用药物组合物时，是将安全有效量的本发明化合物适用于需要治疗的哺乳动物(如人)，其中施用剂量为药学上认为的有效给药剂量，对于 60kg 体重的人而言，日给药剂量通常为 0.2~1000mg，优选 0.5~500mg。当然，具体剂量还应考虑给药途径、病人健康状况等因素，这些都是熟练医师技能范围内的。

10 下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则百分比和份数按重量计算。实施例中的所有参数以及其余的说明，除另有说明外，都是以质量(g)为单位。

15 实施例 1

6-(5-(乙氧基羰基)嘧啶-2-基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-2-羧酸叔丁酯(中间体 **I-b**)的制备

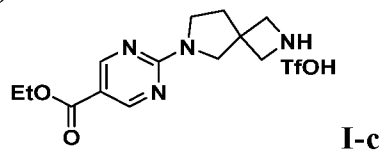


20 将 21.2 g 2,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-2-羧酸叔丁酯和 18.7 g 2-氯-嘧啶-5-羧酸乙酯溶于 500 mL 二氯甲烷中，冰浴冷却至 0~5 °C，加入 18.2 mL *N,N*-二异丙基乙胺，加毕，然后撤去冰浴，待反应液温度恢复至室温，搅拌 6 h。反应毕，向反应液中加入水，振荡分液，减压蒸除溶剂，剩余固体用硅胶柱层析分离纯化，得淡黄色固体。

25 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.86 (s, 2H), 4.34 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.94 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 3.88 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 3.80 (s, 2H), 3.70 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.22 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.45 (s, 10H), 1.36 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

实施例 2

2-(2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯三氟甲磺酸盐(中间体 **I-c**)的制备



30 将 33.3 g 6-(5-(乙氧基羰基)嘧啶-2-基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-2-羧酸叔丁酯与 25.8 g 的 2,6-二叔丁基吡啶溶于 500 mL 二氯甲烷，冰水浴冷却至 0~5 °C，缓慢滴加 24.4 mL 三氟甲磺酸三甲基硅酯，滴加完毕，保持冰水浴，搅拌 15 min，然后撤去冰水浴，室温下搅拌至 TLC 显示底物消失，反应完毕，冷却至冰水浴，剧烈搅拌下向体系缓慢滴加 25 mL 无水甲醇，滴加完毕，撤去冰水浴，待体系升至室温，将体系倒入 2500 mL 二氯

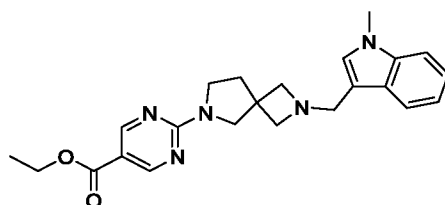
35 甲烷，抽滤，将固体用二氯甲烷洗至白色，烘干，得到白色固体。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.84 (s, 2H), 4.31 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.07 (d, *J* = 10.8 Hz, 2H), 3.95 (d, *J* = 10.7 Hz, 2H), 3.85 (s, 2H), 3.64 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.29 (t, *J* = 6.9 Hz,

2H), 1.33 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

实施例 3

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-1d**)的制备



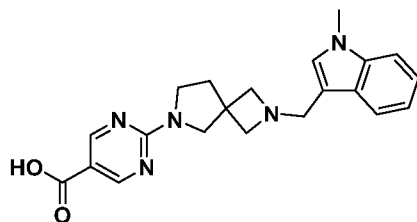
I-1d

将 0.41 g 2-(2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯三氟甲磺酸盐(中间体 **I-c**)和 0.19 g *N*-甲基吡啶-3-甲醛, 溶于 15 mL 二氯甲烷中, 加入 0.27 mL 冰醋酸, 0.76 g 三乙酰氧基硼氢化钠, 室温搅拌过夜。反应毕, 加入饱和碳酸氢钠水溶液, 振荡分液, 有机相减压蒸馏除去溶剂, 剩余混合物用硅胶柱层析分离纯化, 得淡黄色固体。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.83 (s, 2H), 7.66 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.16–7.12 (m, 1H), 7.09 (s, 1H), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.93 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.72 (s, 2H), 3.64 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.46 (d, $J = 17.7$ Hz, 2H), 3.37 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.27 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

实施例 4

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸(化合物 **I-1e**)的制备



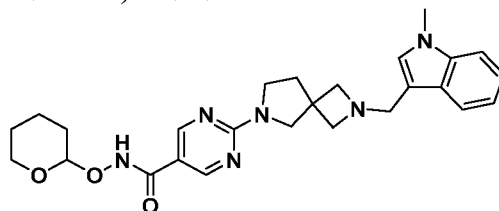
I-1e

将 0.24 g 2-(2-((1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-1d**)溶于甲醇—水的混合溶液 (1:1) 10 mL, 加入 0.25 g 碳酸钾固体, 65~70 °C 加热反应 6 h。反应毕, 减压蒸除溶剂, 残留物用 2 M 盐酸酸化至 pH 约为 1, 减压蒸馏除去水, 得淡粉色固体 (含无机盐)。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.12 (s, 1H), 8.83–8.77 (m, 2H), 7.90 (dd, $J = 7.8$, 4.6 Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.26 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.17 (td, $J = 7.1$, 2.8 Hz, 1H), 4.58 (t, $J = 5.1$ Hz, 2H), 4.25–4.14 (m, 2H), 4.07–3.94 (m, 2H), 3.84 (t, $J = 3.0$ Hz, 3H), 3.64–3.57 (m, 2H), 3.20 (s, 2H), 2.31 (dt, $J = 31.9$, 6.9 Hz, 2H).

实施例 5

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)-*N*-((四氢-2*H*-吡喃-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺(化合物 **I-1f**)的制备



I-1f

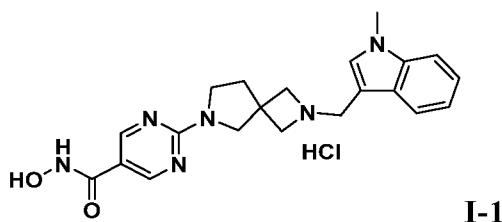
将实施例 4 得到的固体溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺溶液 10 mL, 依次加入 0.16 g 1-羟基

苯并三唑和 0.23 g 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐, 室温下搅拌 30 min 后, 依次加入 0.35 g *O*-(四氢-2*H*-吡喃-2-基)羟胺和 0.42 mL 三乙胺, 室温下搅拌 48 h。反应毕, 加入饱和碳酸氢钠水溶液和二氯甲烷, 振荡分液, 有机相用水萃取三次, 有机相减压蒸馏除去溶剂, 剩余混合物用硅胶柱层析分离纯化, 得浅黄色固体。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.68 (s, 1H), 8.47 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.66 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.25–7.21 (m, 1H), 7.13 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 5.03 (s, 1H), 3.98 (dd, *J* = 19.4, 8.3 Hz, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.73–3.65 (m, 3H), 3.61 (td, *J* = 6.9, 2.8 Hz, 2H), 3.35 (d, *J* = 27.3 Hz, 4H), 2.29–2.20 (m, 2H), 1.83 (d, *J* = 12.0 Hz, 3H), 1.62 (s, 3H).

10 实施例 6

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐酸盐(化合物 **I-1**)的制备



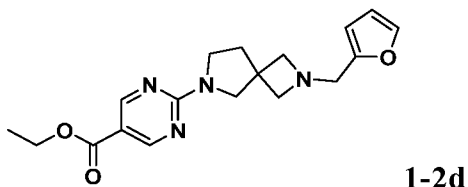
I-1

将 0.14 g 2-(2-((1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)-*N*-((四氢-2*H*-吡喃-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺(化合物 **I-1f**)用 10 mL 二氯甲烷溶解, 滴加 0.5 mL 4 M 氯化氢-二氧六环溶液, 室温下搅拌 30 min。抽滤, 以大量二氯甲烷洗涤固体, 烘干, 得浅黄色固体。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.04 (d, *J* = 30.2 Hz, 2H), 8.72 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.90 (dd, *J* = 7.8, 4.6 Hz, 1H), 7.66 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 7.52 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.26 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.21–7.14 (m, 1H), 4.58 (t, *J* = 4.9 Hz, 2H), 4.25–4.14 (m, 2H), 4.07–3.95 (m, 2H), 3.84 (t, *J* = 18.6 Hz, 5H), 3.63–3.53 (m, 2H), 2.30 (dt, *J* = 31.1, 7.0 Hz, 2H); HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₂₃H₂₉N₆O₃ (M+H)⁺ 393.2039, found 393.2040.

25 实施例 7

2-(2-(呋喃-2-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-2d**)的制备



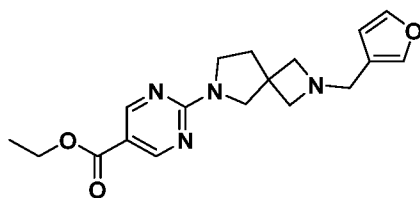
I-2d

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 2-呋喃甲醛, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-2d**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.84 (s, 2H), 7.38 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H), 6.33 (dd, *J* = 3.1, 1.9 Hz, 1H), 6.23 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H), 4.35 (dd, *J* = 7.1, 3.0 Hz, 2H), 3.71 (s, 2H), 3.70 (s, 2H), 3.64 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.44 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 3.36 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 2.23 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.38–1.36 (m, 3H).

30 实施例 8

2-(2-(呋喃-3-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-3d**)的制备

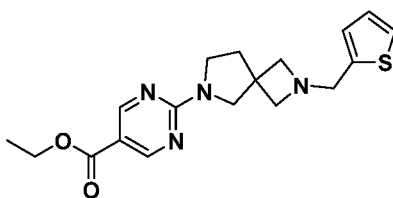
**I-3d**

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 3-呋喃甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-3d**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.83 (s, 2H), 7.36 (t, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 6.35 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H), 4.32 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.72 (s, 2H), 3.64 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.48 (s, 2H), 3.32–3.24 (m, 2H), 3.18 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 2.21 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

实施例 9

2-(2-(噻吩-2-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-4d**)的制备

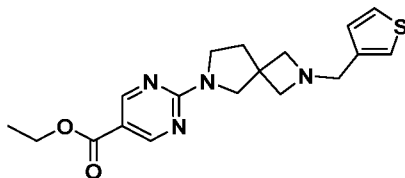
**I-4d**

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 2-噻吩甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-4d**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.84 (s, 2H), 7.22 (dd, $J = 5.0, 1.1$ Hz, 1H), 6.94 (dd, $J = 5.0, 3.5$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.74 (s, 2H), 3.65 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.32 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 3.24 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 2.23 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

实施例 10

2-(2-(噻吩-3-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-5d**)的制备

**I-5d**

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 3-噻吩甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-5d**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.84 (s, 2H), 7.29–7.26 (m, 1H), 7.13 (s, 1H), 7.03 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 4.33 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.74 (s, 2H), 3.69 (s, 2H), 3.65 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.34 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 3.25 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2.23 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

实施例 11

2-(2-(吡啶-2-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-6d**)的制备

I-6d

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 2-吡啶甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-6d**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.83 (s, 2H), 8.54 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 7.68 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.23–7.16 (m, 1H), 4.31 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.86 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 3.76 (s, 2H), 3.65 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.47 (d, *J* = 9.5 Hz, 2H), 3.41 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.27 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.34 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

实施例 12

2-(2-(吡啶-3-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-7d**)的制备



I-7d

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 3-吡啶甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-7d**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.85 (s, 2H), 8.55 (s, 2H), 7.78 (s, 1H), 7.29 (dd, *J* = 7.7, 5.0 Hz, 1H), 4.34 (dt, *J* = 14.2, 5.4 Hz, 2H), 3.79 (s, 4H), 3.67 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.44 (d, *J* = 38.1 Hz, 4H), 2.30 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 1.36 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

实施例 13

2-(2-(吡啶-4-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-8d**)的制备

I-8d

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 4-吡啶甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-8d**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.85 (s, 2H), 8.54 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 7.25 (s, 2H), 4.34 (dt, *J* = 11.3, 5.1 Hz, 2H), 3.77 (s, 2H), 3.70 (s, 2H), 3.66 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.37 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 3.29 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.25 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.36 (dd, *J* = 9.2, 5.1 Hz, 3H).

实施例 14

2-(2-(萘-1-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-9d**)的制备CCOC(=O)c1ccnc(n1)N2CC3CCN(Cc4ccc5ccccc45)CC23

I-9d

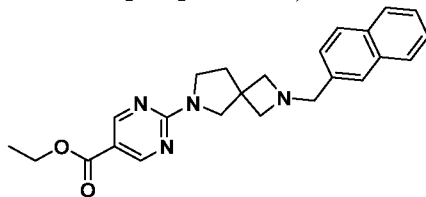
将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 1-萘甲醛，其余所需原料，试剂及制备

方法同实施例 3, 得 **I-9d**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.85 (d, $J = 9.8$ Hz, 2H), 8.15 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.89–7.84 (m, 1H), 7.79 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.57–7.49 (m, 2H), 7.49–7.41 (m, 2H), 4.35–4.29 (m, 2H), 4.19 (s, 2H), 3.76 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 3.65 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.46 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 3.38 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2.26 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 1.39–1.35 (m, 3H).

实施例 15

2-(2-(萘-2-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-10d**)的制备



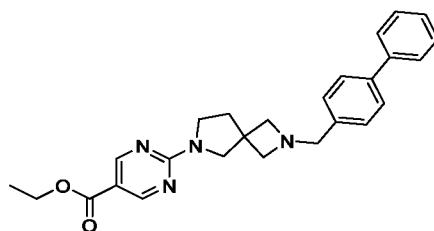
I-10d

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 2-萘甲醛, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-10d**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.84 (s, 2H), 7.82 (d, $J = 8.5$ Hz, 3H), 7.76 (s, 1H), 7.47 (dd, $J = 8.1, 5.7$ Hz, 3H), 4.32 (dd, $J = 7.1, 3.2$ Hz, 2H), 3.94 (s, 2H), 3.77 (d, $J = 4.2$ Hz, 2H), 3.66–3.63 (m, 2H), 3.51 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 3.41 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 2.28 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 1.36–1.33 (m, 3H).

实施例 16

2-(2-([1,1'-联苯基]-4-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-11d**)的制备



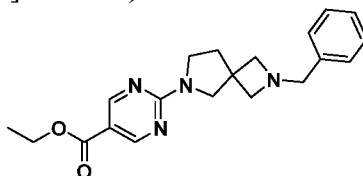
I-11d

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成联苯-4-甲醛, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-11d**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.85 (s, 2H), 7.56 (dd, $J = 12.4, 7.8$ Hz, 4H), 7.43 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.34 (dd, $J = 16.2, 7.7$ Hz, 3H), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.74 (d, $J = 19.8$ Hz, 4H), 3.66 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.36 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 3.27 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.25 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.40–1.33 (m, 3H).

实施例 17

2-(2-(苄基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-12d**)的制备



I-12d

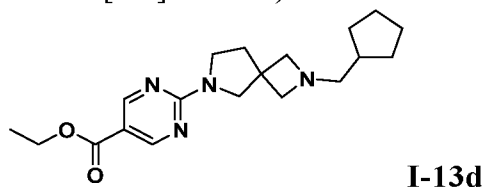
将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成苯甲醛, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-12d**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.84 (s, 2H), 7.36–7.30 (m, 1H), 7.30–7.26 (m, 3H), 7.26–7.21 (m, 1H), 4.32 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.74 (s, 2H), 3.68–3.61 (m, 4H), 3.28 (d, $J = 7.6$

Hz, 2H), 3.20 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.22 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

实施例 18

2-(2-(环戊基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-13d**)的制备



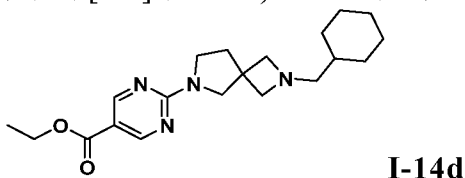
5 将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成环戊基甲醛, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-13d**。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.85 (s, 2H), 4.34 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.16 (s, 2H), 3.80 (d, $J = 47.0$ Hz, 4H), 3.70 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.00 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.48 (s, 2H), 2.14 (dd, $J = 15.5$, 7.6 Hz, 1H), 1.90 (dd, $J = 11.0$, 7.1 Hz, 2H), 1.69–1.55 (m, 4H), 1.37 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H),

10 1.26–1.19 (m, 2H).

实施例 19

2-(2-(环己基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-14d**)的制备

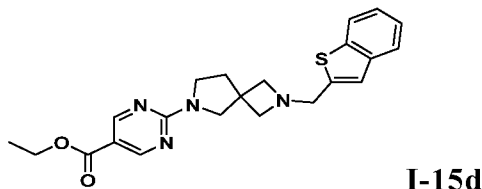


15 将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成环己基甲醛, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-14d**。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.84 (s, 2H), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.72 (s, 2H), 3.64 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.33 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 3.18 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.33 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.23 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.68 (dd, $J = 29.9$, 15.2 Hz, 5H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 1.28–1.06 (m, 4H), 0.87 (dd, $J = 22.3$, 10.7 Hz, 2H).

实施例 20

2-(2-(苯并[b]噻吩-2-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-15d**)的制备

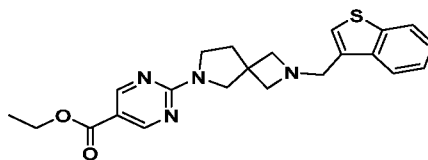


25 将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 1-苯并噻吩-2-羧醛, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-15d**。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.85 (s, 2H), 7.79 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.31 (dd, $J = 15.3$, 7.6 Hz, 2H), 7.15 (s, 1H), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.92 (s, 2H), 3.76 (s, 2H), 3.66 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.39 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 3.31 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.25 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

实施例 21

2-(2-(苯并[b]噻吩-3-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-16d**)的制备

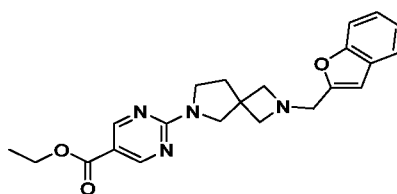
**I-16d**

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 3-甲醛苯并噻吩，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-16d**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.85 (d, *J* = 5.0 Hz, 2H), 7.88–7.83 (m, 2H), 7.42–7.32 (m, 2H), 7.28 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 4.33 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.90 (s, 2H), 3.76 (s, 2H), 3.66 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.36 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 3.29 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.24 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.36 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

实施例 22

2-(2-(苯并呋喃-2-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-17d**)的制备

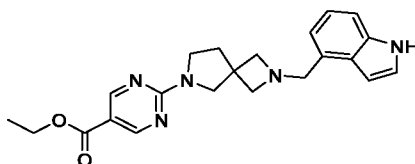
**I-17d**

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成苯并[b]呋喃-2-甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-17d**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.84 (s, 2H), 7.53 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.30–7.26 (m, 1H), 7.25–7.19 (m, 1H), 6.63 (s, 1H), 4.33 (dt, *J* = 10.1, 5.7 Hz, 2H), 3.85 (s, 2H), 3.75 (s, 2H), 3.66 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.58–3.35 (m, 4H), 2.28 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.40–1.33 (m, 3H).

实施例 23

2-(2-((1*H*-吡啶-4-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-18d**)的制备

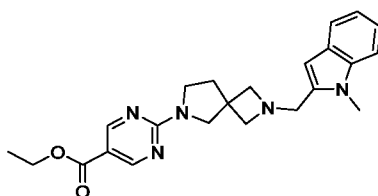
**I-18d**

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 4-吡啶甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-18d**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.84 (d, *J* = 13.8 Hz, 2H), 8.45 (s, 1H), 7.44 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.20 (dd, *J* = 15.1, 7.5 Hz, 2H), 6.67 (s, 1H), 4.33 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.24 (s, 2H), 3.83–3.72 (m, 2H), 3.71–3.58 (m, 6H), 2.37 (s, 2H), 1.36 (dd, *J* = 8.9, 5.3 Hz, 3H).

实施例 24

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡啶-2-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-19d**)的制备

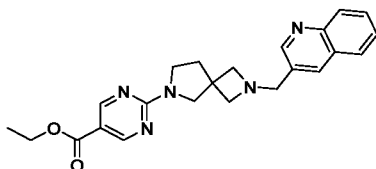
**I-19d**

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 1-甲基吡啶-2-甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-19d**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.84 (s, 2H), 7.55 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.20 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.08 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 6.41 (s, 1H), 4.33 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.84 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.76 (s, 2H), 3.65 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.32 (s, 4H), 2.24 (s, 2H), 1.36 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

实施例 25

2-(2-(喹啉-3-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-20d**)的制备



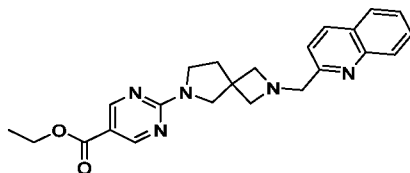
I-20d

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 3-喹啉甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-20d**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.87–8.84 (m, 2H), 8.11–8.04 (m, 1H), 7.80 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.75–7.64 (m, 1H), 7.61–7.51 (m, 1H), 7.02–6.91 (m, 1H), 6.64–6.45 (m, 1H), 4.33 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.77 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.66 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.38–3.32 (m, 2H), 3.29 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.25 (dd, *J* = 8.9, 5.0 Hz, 2H), 1.41–1.33 (m, 3H).

实施例 26

2-(2-(喹啉-2-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-21d**)的制备



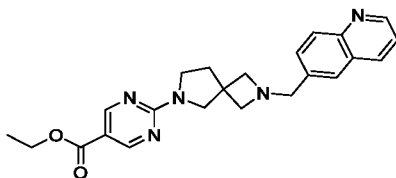
I-21d

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成喹啉-2-甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-21d**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.85 (s, 2H), 8.14 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.06 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.80 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.70 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.53 (dd, *J* = 16.5, 8.0 Hz, 2H), 4.33 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.06 (s, 2H), 3.80 (s, 2H), 3.66 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.50 (d, *J* = 9.3 Hz, 5H), 2.28 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.36 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

实施例 27

2-(2-(喹啉-6-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-22d**)的制备



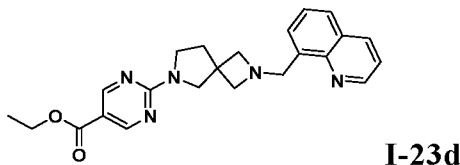
I-22d

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成喹啉-6-甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-22d**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.89 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 8.85 (s, 2H), 8.10 (dd, $J = 30.1, 8.3$ Hz, 2H), 7.78–7.64 (m, 2H), 7.40 (dd, $J = 8.1, 4.1$ Hz, 1H), 4.33 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.78 (s, 2H), 3.66 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.35 (dd, $J = 27.7, 7.0$ Hz, 4H), 2.26 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

5 实施例 28

2-(2-(喹啉-8-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-23d**)的制备

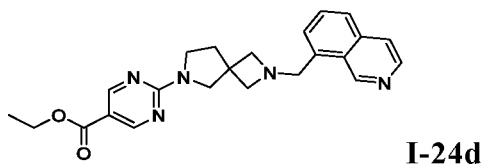


10 将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成喹啉-8-甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-23d**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.84 (s, 2H), 8.25–8.13 (m, 2H), 7.90 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.64 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.49 (dd, $J = 8.3, 4.2$ Hz, 1H), 4.99 (s, 2H), 4.34 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.09 (s, 4H), 3.87 (s, 2H), 3.66 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.50 (s, 2H), 1.37 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

15 实施例 29

2-(2-(8-喹啉-8-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-24d**)的制备

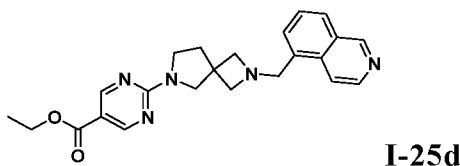


将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 8-喹啉甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-24d**。

20 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.67 (s, 1H), 8.84 (s, 2H), 8.56 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.63 (dt, $J = 10.9, 6.3$ Hz, 3H), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.25 (s, 2H), 3.77 (s, 2H), 3.65 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.44 (s, 2H), 3.38 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.27 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

25 实施例 30

2-(2-(8-喹啉-5-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-25d**)的制备



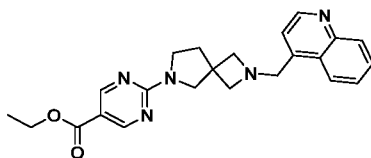
将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 8-喹啉甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-25d**。

30 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.28 (s, 1H), 8.84 (s, 2H), 8.61 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 5.3$ Hz, 2H), 7.81 (s, 1H), 7.60 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.25 (s, 2H), 3.78 (s, 2H), 3.66 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.47 (s, 4H), 2.33 (s, 2H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

实施例 31

2-(2-(喹啉-4-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-26d**)的制

备

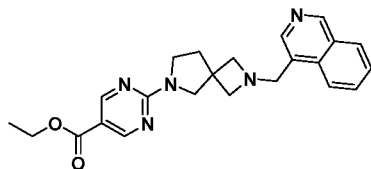
**I-26d**

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 4-喹啉甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-26d**。

- 5 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.87 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 8.85 (s, 2H), 8.11 (dd, $J = 12.1$, 8.6 Hz, 2H), 7.73 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.58 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.34 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.16 (s, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.68 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.44 (s, 2H), 3.37 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.28 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 1.36 (t, $J = 6.4$ Hz, 3H).

实施例 32

- 10 2-(2-(异喹啉-4-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-27d**)的制备

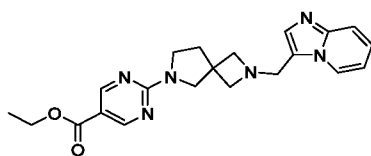
**I-27d**

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成异喹啉-4-甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-27d**。

- 15 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.19 (s, 1H), 8.84 (s, 2H), 8.44 (s, 1H), 8.22 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.76 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.63 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.06 (s, 2H), 3.76 (s, 2H), 3.64 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.32 (dd, $J = 19.9$, 6.8 Hz, 4H), 2.23 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

实施例 33

- 20 2-(2-(咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-28d**)的制备

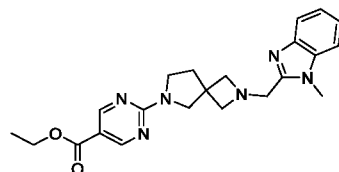
**I-28d**

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成咪唑并[1,2-a]吡啶-3-甲醛，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 3，得 **I-28d**。

- 25 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.84 (s, 2H), 8.38 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.25–7.20 (m, 1H), 6.86 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.94 (s, 2H), 3.76 (s, 2H), 3.64 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.23 (s, 4H), 2.18 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.39–1.31 (m, 3H).

实施例 34

- 30 2-(2-((1-甲基-1*H*-苯并[d]咪唑-2-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-29d**)的制备

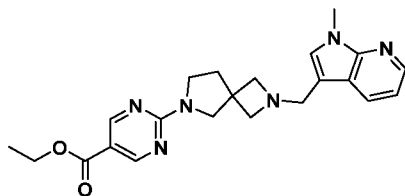
**I-29d**

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 1-甲基-2-甲酰苯并咪唑, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-29d**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.84 (s, 2H), 7.74–7.70 (m, 1H), 7.35–7.31 (m, 1H), 7.29 (dd, *J* = 7.0, 1.2 Hz, 1H), 7.23 (dd, *J* = 7.1, 1.4 Hz, 1H), 4.33 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.95 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.77 (s, 2H), 3.64 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.36 (s, 4H), 2.20 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.38–1.32 (m, 3H).

实施例 35

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-30d**)的制备



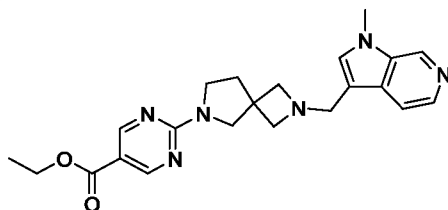
I-30d

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 1-甲基-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-3-甲醛, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-30d**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.84 (s, 2H), 8.38 (dd, *J* = 4.7, 1.4 Hz, 1H), 8.02 (dd, *J* = 7.9, 1.4 Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.12 (dd, *J* = 7.9, 4.7 Hz, 1H), 4.34 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.10 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.74 (d, *J* = 12.9 Hz, 4H), 3.66 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.58 (s, 2H), 2.36 (s, 2H), 1.36 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

实施例 36

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡咯并[2,3-*c*]吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-31d**)的制备



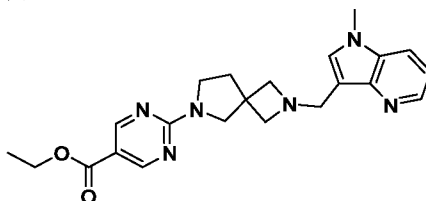
I-31d

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 1-甲基-1*H*-吡咯并[2,3-*c*]吡啶-3-羧酸, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-31d**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.84 (s, 2H), 8.74 (s, 1H), 8.26 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.58 (dd, *J* = 5.5, 0.9 Hz, 1H), 7.22 (s, 1H), 4.33 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.87 (d, *J* = 3.8 Hz, 3H), 3.86 (s, 2H), 3.74 (s, 2H), 3.65 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.38 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.30 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 2.25 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.38–1.32 (m, 3H).

实施例 37

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡咯并[3,2-*b*]吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-32d**)的制备



I-32d

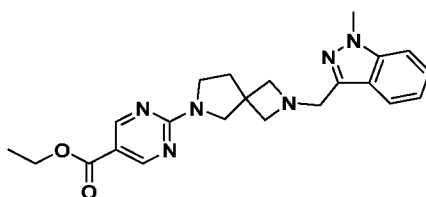
将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 1-甲基-1*H*-吡咯并[3,2-*b*]吡啶-3-甲醛, 其余

余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-32d**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.83 (s, 2H), 8.47 (dd, $J = 4.6, 1.1$ Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.65 (dd, $J = 8.3, 1.1$ Hz, 1H), 7.19 (dd, $J = 8.3, 4.6$ Hz, 1H), 4.47 (s, 2H), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.01 (dd, $J = 23.1, 9.5$ Hz, 4H), 3.83 (s, 5H), 3.66 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.45 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

实施例 38

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-33d**)的制备



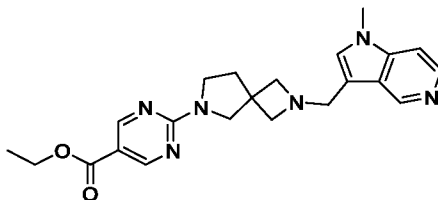
I-33d

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 1-甲基-1*H*-吡啶-3-甲醛, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-33d**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.83 (s, 2H), 7.84 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.44–7.36 (m, 2H), 7.21–7.15 (m, 1H), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.16 (s, 2H), 4.06 (s, 3H), 3.68 (s, 2H), 3.62 (dd, $J = 13.5, 6.6$ Hz, 4H), 3.56 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 2.27 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.06 (s, 1H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

实施例 39

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡咯并[3,2-*c*]吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-34d**)的制备



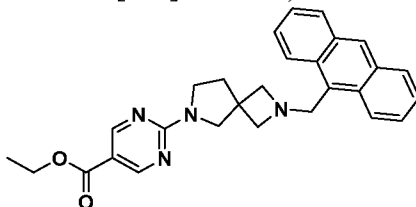
I-34d

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 1-甲基-1*H*-吡咯并[3,2-*c*]吡啶-3-甲醛, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-34d**。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.53 (s, 1H), 11.24 (s, 1H), 8.73 (s, 2H), 8.06 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.73 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.55–7.46 (m, 1H), 7.27 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.85 (d, $J = 5.3$ Hz, 2H), 4.37–4.24 (m, 2H), 4.19–4.06 (m, 5H), 3.86 (d, $J = 47.4$ Hz, 2H), 3.61 (s, 1H), 3.59–3.54 (m, 1H), 2.32 (dt, $J = 37.4, 6.9$ Hz, 2H).

实施例 40

2-(2-(蒽-9-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-35d**)的制备



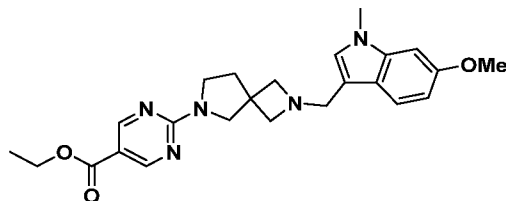
I-35d

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 9-蒽甲醛, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-35d**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.79 (d, $J = 5.0$ Hz, 2H), 8.48 (s, 1H), 8.42 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 8.03 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.56 (dd, $J = 15.1, 6.8$ Hz, 2H), 7.52–7.47 (m, 2H), 4.78 (s, 2H), 4.31 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.59 (dd, $J = 18.0, 11.1$ Hz, 4H), 3.42 (s, 4H), 2.25 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 1.34 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

5 实施例 41

2-(2-((6-甲氧基-1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-36d**)的制备



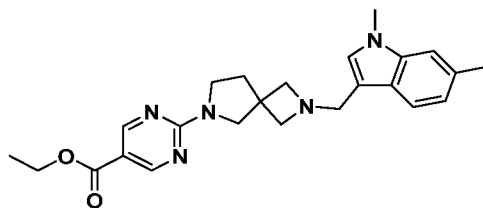
I-36d

10 将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 6-甲氧基-1-甲基-1*H*-吡啶-3-甲醛, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-36d**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.83 (s, 2H), 7.51 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.83 (dd, $J = 8.7, 2.2$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.00 (s, 2H), 3.89 (d, $J = 5.4$ Hz, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.72 (s, 2H), 3.64 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.62–3.45 (m, 4H), 2.30 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

15 实施例 42

2-(2-((1,6-二甲基-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-37d**)的制备



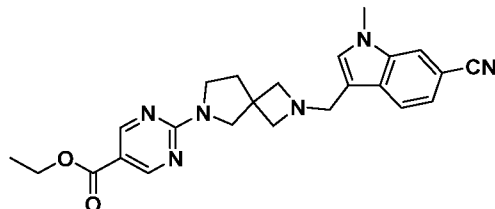
I-37d

20 将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 1,6-二甲基-1*H*-吡啶-3-甲醛, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-37d**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.83 (s, 2H), 7.48 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.05 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 4.33 (dd, $J = 13.2, 6.1$ Hz, 4H), 4.04 (d, $J = 10.6$ Hz, 2H), 3.92 (d, $J = 10.6$ Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.73 (d, $J = 4.2$ Hz, 2H), 3.65 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.50 (s, 3H), 2.38 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 1.40–1.33 (m, 3H).

25 实施例 43

2-(2-((6-氰基-1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(化合物 **I-38d**)的制备



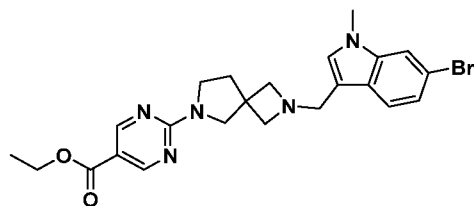
I-38d

30 将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 6-氰基-1-甲基-1*H*-吡啶-3-甲醛, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-38d**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.84 (s, 2H), 7.75 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.36 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.34 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.80 (d, $J = 11.4$ Hz, 5H), 3.75 (s, 2H), 3.65 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.30 (s, 4H), 2.26 (s, 2H), 1.61 (s, 3H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

实施例 44

- 5 2-(2-((6-溴-1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸乙酯 (化合物 **I-39d**)的制备



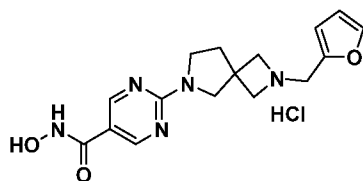
I-39d

将实施例 3 中的 *N*-甲基吡啶-3-甲醛替换成 6-溴-1-甲基-1*H*-吡啶-3-甲醛, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 3, 得 **I-39d**。

- 10 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.83 (s, 2H), 7.53 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 4.33 (dd, $J = 14.1, 7.1$ Hz, 2H), 3.89 (s, 2H), 3.74 (s, 5H), 3.64 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 3.43 (s, 2H), 3.35 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 2.26 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

实施例 45

- 15 2-(2-(呋喃-2-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸盐酸盐(化合物 **I-2**)的制备



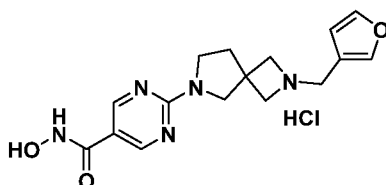
I-2

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-2d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-2**。

- 20 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.77 (s, 1H), 11.21 (s, 1H), 8.73 (s, 2H), 7.85–7.79 (m, 1H), 6.74 (dd, $J = 5.9, 3.3$ Hz, 1H), 6.58 (dd, $J = 4.9, 2.9$ Hz, 1H), 4.57–4.48 (m, 2H), 4.13 (dd, $J = 13.6, 6.4$ Hz, 2H), 4.03 (d, $J = 11.2$ Hz, 2H), 3.91 (s, 1H), 3.76 (s, 1H), 3.60 (dd, $J = 12.9, 6.1$ Hz, 2H), 2.37 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H), 2.21 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 330.1566, found 330.1565.

实施例 46

- 25 2-(2-(呋喃-3-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸盐酸盐(化合物 **I-3**)的制备



I-3

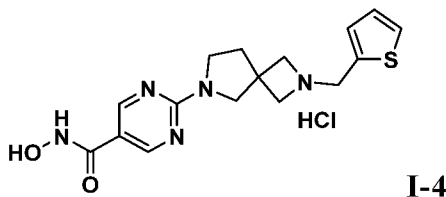
将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-3d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-3**。

- 30 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.59 (s, 1H), 11.18 (s, 1H), 8.62 (d, $J = 81.9$ Hz, 2H), 7.91 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 7.77 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 4.28 (d, $J = 5.4$ Hz, 2H), 4.13 (d, $J = 4.1$ Hz, 4H),

3.91 (s, 1H), 3.79 (s, 1H), 3.63–3.55 (m, 2H), 2.31 (dt, $J = 14.2, 6.9$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{16}H_{20}N_5O_3$ ($M+H$) $^+$ 330.1566, found 330.1567.

实施例 47

5 2-(2-(噻吩-2-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-4**) 的制备



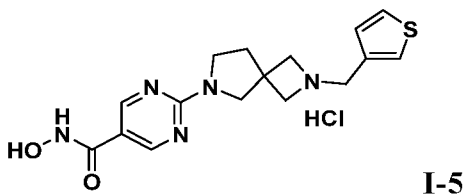
I-4

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-4d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-4**。

10 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 11.48 (s, 1H), 11.15 (s, 1H), 8.72 (s, 2H), 7.70 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.15 (t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 4.67 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 4.25–4.16 (m, 2H), 3.99 (d, $J = 10.8$ Hz, 2H), 3.91 (s, 1H), 3.81 (s, 1H), 3.60 (dd, $J = 14.2, 7.0$ Hz, 2H), 2.31 (dt, $J = 37.4, 6.8$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{16}H_{20}N_5O_2S$ ($M+H$) $^+$ 346.1338, found 346.1337.

实施例 48

15 2-(2-(噻吩-3-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-5**) 的制备



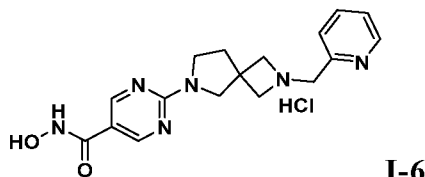
I-5

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-5d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-5**。

20 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 11.78 (s, 1H), 11.26 (s, 1H), 8.73 (s, 2H), 7.81 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 7.66 (dd, $J = 4.8, 2.7$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 4.44 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 4.08–4.03 (m, 2H), 3.99 (dd, $J = 14.2, 7.8$ Hz, 2H), 3.92 (s, 1H), 3.80 (s, 1H), 3.58 (dd, $J = 15.3, 7.1$ Hz, 2H), 2.32 (dt, $J = 46.7, 6.8$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{16}H_{20}N_5O_2S$ ($M+H$) $^+$ 346.1338, found 346.1339.

实施例 49

25 2-(2-(吡啶-2-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-6**) 的制备



I-6

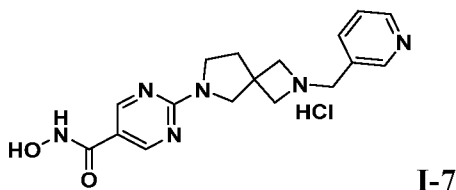
将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-6d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-6**。

30 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 11.60 (s, 2H), 8.74 (s, 2H), 8.67 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 7.99 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.56–7.49 (m, 1H), 4.69 (s, 2H), 4.25 (dd, $J = 26.0, 9.7$

Hz, 4H), 3.88 (s, 2H), 3.60 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 2.37 (s, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{17}H_{21}N_6O_2$ (M+H)⁺ 341.1726, found 341.1727.

实施例 50

5 2-(2-(吡啶-3-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-7**) 的制备



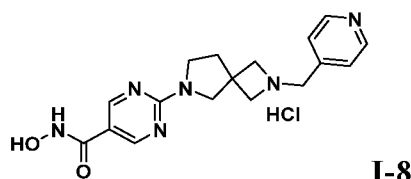
I-7

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-7d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-7**。

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.58 (s, 1H), 11.28 (s, 1H), 9.18 (s, 1H), 8.99 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 8.81 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.16–8.07 (m, 1H), 4.70 (d, $J = 17.6$ Hz, 2H), 4.34 (s, 2H), 4.12–3.99 (m, 2H), 3.89 (d, $J = 36.4$ Hz, 2H), 3.60 (s, 2H), 2.36 (d, $J = 28.4$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{17}H_{21}N_6O_2$ (M+H)⁺ 341.1726, found 341.1725.

实施例 51

15 2-(2-(吡啶-4-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-8**) 的制备



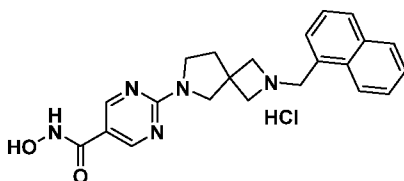
I-8

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-8d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-8**。

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.68 (s, 1H), 10.33 (s, 1H), 8.99 (d, $J = 6.3$ Hz, 2H), 8.52 (s, 2H), 8.18 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 4.80 (s, 2H), 4.28 (s, 2H), 4.17 (d, $J = 17.6$ Hz, 2H), 3.97 (s, 1H), 3.83 (s, 1H), 3.62–3.56 (m, 2H), 2.43 (s, 1H), 2.31 (s, 1H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{17}H_{21}N_6O_2$ (M+H)⁺ 341.1726, found 341.1727.

实施例 52

25 2-(2-(萘-1-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-9**) 的制备



I-9

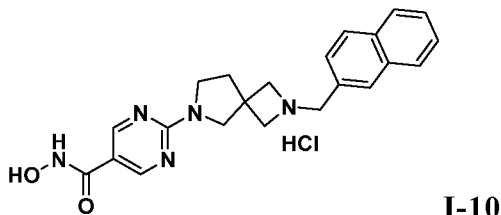
将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-9d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-9**。

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.25 (d, $J = 36.0$ Hz, 2H), 8.73 (d, $J = 10.8$ Hz, 2H), 8.36 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.85 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 7.65 (ddd, $J = 17.8, 14.5, 7.1$ Hz, 3H), 5.01 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 4.21–4.14 (m, 2H), 4.14–4.08 (m, 2H), 3.95–3.85 (m, 2H), 3.59

(dd, $J = 15.2, 7.3$ Hz, 2H), 2.42–2.31 (m, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{22}H_{24}N_5O_2$ (M+H)⁺ 390.1930, found 390.1931.

实施例 53

2-(2-(萘-2-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-10**)
5 的制备

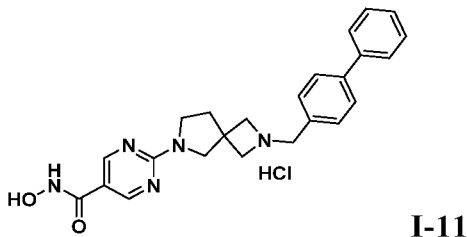


将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-10d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-10**。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.41–11.27 (m, 1H), 11.14 (s, 1H), 8.72 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H), 8.13 (s, 1H), 8.06–7.94 (m, 3H), 7.71 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.63 (dd, $J = 6.3, 3.2$ Hz, 2H), 4.62 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 4.30 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 4.02 (d, $J = 6.5$ Hz, 2H), 3.91 (s, 1H), 3.85 (s, 1H), 3.59 (dd, $J = 15.6, 7.3$ Hz, 2H), 2.33 (dd, $J = 15.9, 8.3$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{22}H_{24}N_5O_2$ (M+H)⁺ 390.1930, found 390.1929.

实施例 54

2-(2-([1,1'-联苯基]-4-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-11**)的制备
15

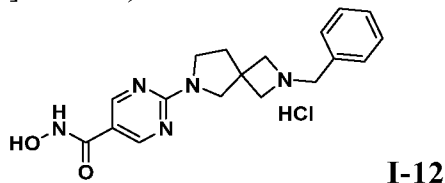


将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-11d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-11**。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.84 (s, 1H), 11.18 (s, 1H), 8.73 (s, 2H), 7.80–7.75 (m, 2H), 7.72 (t, $J = 6.4$ Hz, 4H), 7.52 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.43 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 4.47 (d, $J = 6.2$ Hz, 2H), 4.22 (dd, $J = 16.8, 10.3$ Hz, 2H), 4.08–3.99 (m, 2H), 3.89 (d, $J = 41.8$ Hz, 2H), 3.64–3.54 (m, 2H), 2.35 (dt, $J = 36.8, 6.8$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{24}H_{26}N_5O_2$ (M+H)⁺ 416.2087, found 416.2086.

实施例 55

2-(2-苄基-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-12**)的制备
25



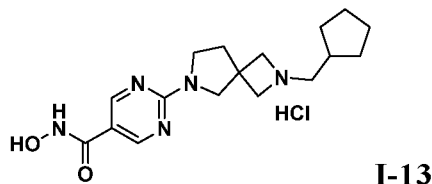
将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-12d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-12**。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.97 (s, 1H), 11.14 (s, 1H), 8.74 (s, 2H), 7.63 (d, $J = 3.9$ Hz, 2H), 7.46 (d, $J = 4.2$ Hz, 3H), 4.44 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 4.24–4.12 (m, 2H), 4.02–3.78 (m, 4H),

3.58 (dt, $J = 13.2, 6.8$ Hz, 2H), 2.34 (dt, $J = 43.2, 6.7$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{18}H_{22}N_5O_2$ (M+H)⁺ 340.1773, found 340.1774.

实施例 56

5 2-(2-(环戊基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-13**)的制备



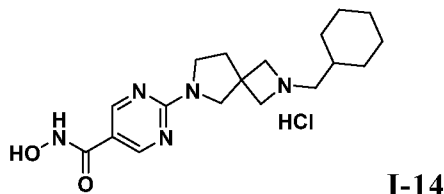
I-13

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-13d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-13**。

10 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.15 (d, $J = 31.5$ Hz, 2H), 8.73 (s, 2H), 4.18 (dd, $J = 15.5, 8.9$ Hz, 2H), 4.14 (d, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.95 (s, 1H), 3.78 (s, 1H), 3.58 (dt, $J = 14.0, 6.8$ Hz, 2H), 3.24–3.13 (m, 2H), 2.34 (dt, $J = 66.3, 6.8$ Hz, 2H), 2.08 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 1.78 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 1.69–1.48 (m, 4H), 1.31–1.17 (m, 3H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{17}H_{26}N_5O_2$ (M+H)⁺ 332.2087, found 332.2088.

实施例 57

15 2-(2-(环己基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-14**)的制备



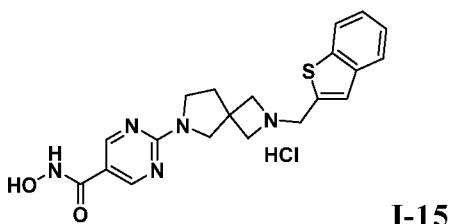
I-14

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-14d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-14**。

20 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.06 (d, $J = 29.5$ Hz, 2H), 8.73 (s, 2H), 4.21–4.08 (m, 4H), 3.95 (s, 1H), 3.78 (s, 1H), 3.58 (dt, $J = 20.4, 6.7$ Hz, 2H), 3.10 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 2.34 (dt, $J = 63.0, 6.6$ Hz, 2H), 1.98 (d, $J = 31.6$ Hz, 1H), 1.84–1.55 (m, 6H), 1.21 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 1.03–0.89 (m, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{18}H_{28}N_5O_2$ (M+H)⁺ 346.2243, found 346.2244.

实施例 58

25 2-(2-(苯并[b]噻吩-2-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-15**)的制备



I-15

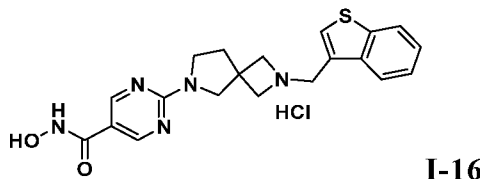
将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-15d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-15**。

30 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.88 (s, 1H), 11.18 (s, 1H), 8.72 (s, 2H), 8.11–8.03 (m, 1H), 7.97–7.89 (m, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.53–7.40 (m, 2H), 4.81 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 4.34–4.20 (m,

2H), 4.17–4.04 (m, 2H), 3.89 (d, $J = 39.5$ Hz, 2H), 3.60 (dt, $J = 17.6, 6.9$ Hz, 2H), 2.34 (dt, $J = 34.7, 7.0$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{20}H_{22}N_5O_2S$ (M+H)⁺ 396.1494, found 396.1495.

实施例 59

5 2-(2-(苯并[b]噻吩-3-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-16**)的制备

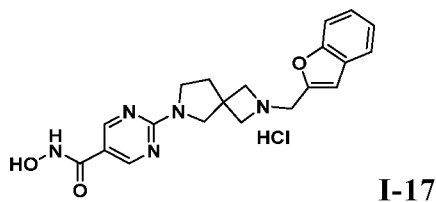


将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-16d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-16**。

10 ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.84–10.83 (m, 2H), 8.77 (dd, $J = 27.8, 4.4$ Hz, 2H), 8.17 (d, $J = 9.7$ Hz, 2H), 8.09 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.50 (dt, $J = 14.9, 7.2$ Hz, 2H), 4.78 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 4.17 (d, $J = 6.3$ Hz, 2H), 4.12–4.07 (m, 2H), 3.94 (s, 1H), 3.85 (s, 1H), 3.65–3.54 (m, 2H), 2.35 (dt, $J = 31.8, 6.7$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{20}H_{22}N_5O_2S$ (M+H)⁺ 396.1494, found 396.1493.

实施例 60

15 2-(2-(苯并呋喃-2-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-17**)的制备

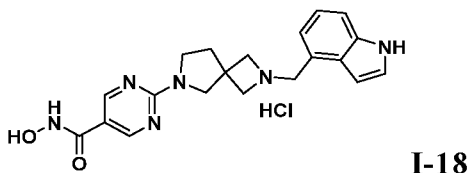


将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-17d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-17**。

20 ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.80 (s, 1H), 11.18 (s, 1H), 8.72 (s, 2H), 7.74 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.42 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.34 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.20 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 4.75 (t, $J = 5.0$ Hz, 2H), 4.39–4.27 (m, 2H), 4.25–4.11 (m, 2H), 3.87 (d, $J = 44.2$ Hz, 2H), 3.67–3.54 (m, 2H), 2.33 (dt, $J = 42.0, 6.9$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{20}H_{22}N_5O_3$ (M+H)⁺ 380.1723, found 380.1724.

25 实施例 61

2-(2-((1*H*-吡啶-4-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-18**)的制备



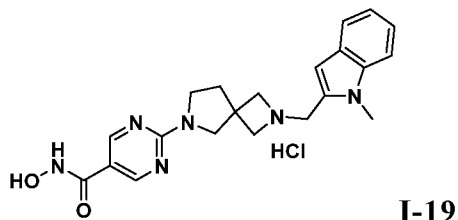
30 将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-18d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-18**。

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.35 (d, $J = 64.6$ Hz, 2H), 10.29 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.51 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 7.58–7.46 (m, 2H), 7.33–7.12 (m, 3H), 4.71 (s, 2H), 4.33–4.20 (m, 2H), 4.07

(d, $J = 24.3$ Hz, 2H), 3.86 (d, $J = 29.0$ Hz, 4H), 2.39–2.25 (m, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{20}H_{23}N_6O_2$ (M+H)⁺ 379.1882, found 379.1883.

实施例 62

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡啶-2-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸盐酸盐(化合物 **I-19**)的制备

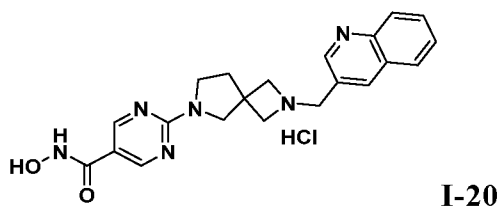


将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-19d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-19**。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.09 (d, $J = 74.3$ Hz, 2H), 8.72 (s, 2H), 7.63–7.56 (m, 1H), 7.53 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.28–7.21 (m, 1H), 7.13–7.07 (m, 1H), 6.81 (s, 1H), 4.74 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 4.25 (d, $J = 6.2$ Hz, 2H), 4.15–4.10 (m, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.87 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.65–3.56 (m, 2H), 2.47–2.29 (m, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{21}H_{25}N_6O_2$ (M+H)⁺ 393.2039, found 393.2040.

实施例 63

2-(2-(喹啉-3-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸盐酸盐(化合物 **I-20**)的制备

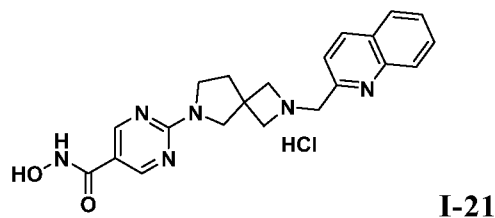


将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-20d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-20**。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.01 (s, 1H), 11.15 (s, 1H), 9.26 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.73 (d, $J = 11.1$ Hz, 2H), 8.22 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.00 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.83 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.74 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 4.37 (d, $J = 6.3$ Hz, 2H), 4.08 (dd, $J = 18.5, 12.2$ Hz, 2H), 3.89 (d, $J = 24.9$ Hz, 2H), 3.59 (dd, $J = 13.3, 6.7$ Hz, 2H), 2.40–2.30 (m, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{21}H_{23}N_6O_2$ (M+H)⁺ 391.1882, found 391.1883.

实施例 64

2-(2-(喹啉-2-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸盐酸盐(化合物 **I-21**)的制备

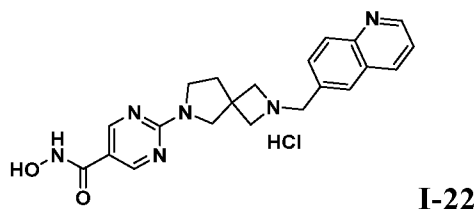


将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-21d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-21**。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.57 (s, 1H), 11.22 (s, 1H), 8.75 (s, 2H), 8.52 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 8.09 (t, $J = 9.3$ Hz, 2H), 7.87 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.69 (dd, $J = 18.1, 8.1$ Hz, 2H), 4.93 (s, 2H), 4.37 (d, $J = 5.4$ Hz, 4H), 3.91 (s, 2H), 3.62 (d, $J = 11.1$ Hz, 2H), 2.41 (s, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_2$ (M+H) $^+$ 391.1882, found 391.1833.

5 实施例 65

2-(2-(喹啉-6-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-22**)的制备

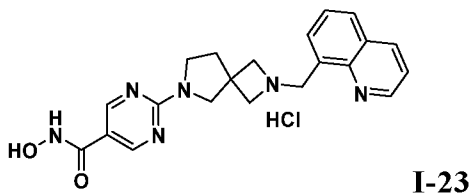


10 将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-22d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-22**。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.38 (s, 1H), 11.24 (s, 1H), 9.33 (t, $J = 8.6$ Hz, 1H), 9.10 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 8.82–8.70 (m, 2H), 8.57–8.43 (m, 2H), 8.35 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.08 (dt, $J = 18.6, 9.3$ Hz, 1H), 4.76 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 4.31 (dd, $J = 18.2, 12.9$ Hz, 2H), 4.14–4.00 (m, 2H), 3.95 (s, 1H), 3.85 (s, 1H), 3.58 (dd, $J = 15.3, 7.0$ Hz, 2H), 2.37 (dt, $J = 33.9, 6.8$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_2$ (M+H) $^+$ 391.1882, found 391.1883.

15 实施例 66

2-(2-(喹啉-8-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-23**)的制备

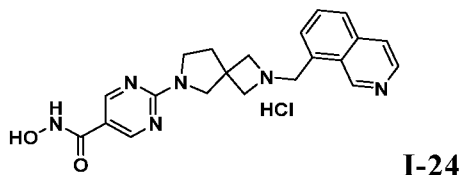


20 将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-23d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-23**。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.15 (s, 1H), 10.95 (s, 1H), 9.09 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 8.71 (s, 2H), 8.56 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 7.74 (dd, $J = 13.3, 5.4$ Hz, 2H), 5.10 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 4.37 (s, 2H), 4.18 (d, $J = 21.1$ Hz, 2H), 3.89 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 3.58 (s, 2H), 2.35 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_2$ (M+H) $^+$ 391.1882, found 391.1881.

25 实施例 67

2-(2-(异喹啉-8-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-24**)的制备



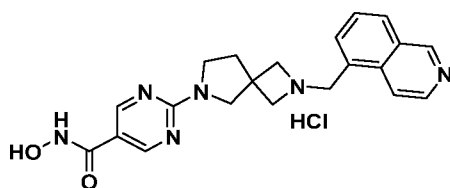
30 将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-24d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-24**。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.92 (s, 1H), 11.15 (s, 1H), 10.29 (s, 1H), 8.79 (d, J = 6.3 Hz, 1H), 8.76–8.69 (m, 2H), 8.54 (d, J = 6.3 Hz, 1H), 8.41 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.30 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 8.26–8.20 (m, 1H), 5.21 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 4.44–4.36 (m, 2H), 4.07 (dd, J = 14.5, 7.8 Hz, 3H), 3.91 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 3.59 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 2.41–2.32 (m, 2H);

5 HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 391.1882, found 391.1883.

实施例 68

2-(2-(异喹啉-5-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐(化合物 **I-25**)的制备



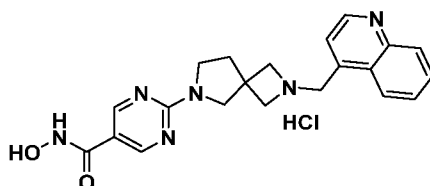
I-25

10 将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-25d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-25**。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.97 (s, 1H), 11.18 (s, 1H), 9.95 (s, 1H), 8.88 (s, 2H), 8.73 (d, J = 12.4 Hz, 2H), 8.62 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.51 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 8.08 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.36 (dd, J = 16.2, 9.9 Hz, 2H), 4.18–4.05 (m, 2H), 3.91 (d, J = 25.6 Hz, 2H), 3.59 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.38 (dt, J = 14.2, 6.9 Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 391.1882, found 391.1883.

实施例 69

2-(2-(喹啉-4-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐(化合物 **I-26**)的制备



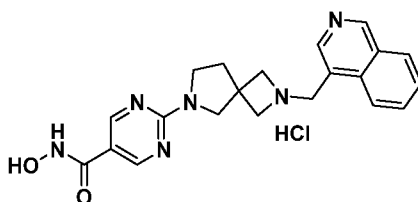
I-26

20 将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-26d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-26**。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.81 (s, 1H), 11.14 (s, 1H), 9.13 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 8.72 (s, 2H), 8.42 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.24 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 8.02–7.96 (m, 1H), 7.90 (dd, J = 16.9, 8.8 Hz, 2H), 5.22 (s, 2H), 4.36 (s, 2H), 4.29 (s, 2H), 3.98 (s, 1H), 3.88 (s, 1H), 3.65–3.57 (m, 2H), 2.43 (s, 1H), 2.36 (d, J = 6.7 Hz, 1H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 391.1882, found 391.1883.

实施例 70

30 2-(2-(异喹啉-4-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐(化合物 **I-27**)的制备



I-27

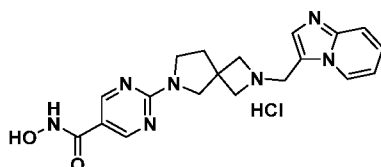
将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-27d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6,

经三步反应得 **I-27**。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.03 (d, $J = 34.1$ Hz, 1H), 11.17 (s, 1H), 9.98 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.72 (s, 2H), 8.61 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 8.31 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 8.10 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 5.19 (s, 2H), 4.43 (s, 2H), 4.14 (s, 2H), 3.92 (d, $J = 24.0$ Hz, 2H), 3.64–3.58 (m, 2H), 2.45–2.34 (m, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 391.1882, found 391.1883.

实施例 71

2-(2-(咪唑并[1,2-*b*]吡啶-3-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-28**)的制备



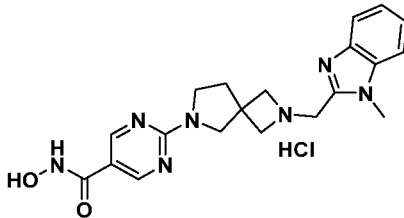
I-28

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-28d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-28**。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.24 (s, 1H), 11.20 (s, 1H), 9.31 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 8.72 (s, 2H), 8.56 (s, 1H), 8.08 (d, $J = 3.9$ Hz, 2H), 7.65 (dt, $J = 8.0, 4.1$ Hz, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.40 (s, 2H), 4.10 (s, 2H), 3.86 (s, 2H), 3.60 (s, 2H), 2.37 (d, $J = 6.3$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_7\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 380.1835, found 380.1836.

实施例 72

2-(2-((1-甲基-1*H*-苯并[d]咪唑-2-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-29**)的制备



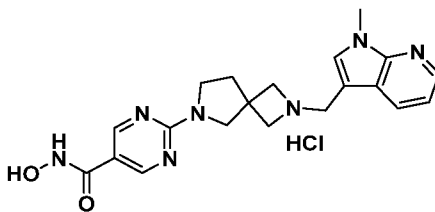
I-29

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-29d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-29**。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.93–11.59 (m, 1H), 11.15 (s, 1H), 8.74 (s, 2H), 7.73 (s, 2H), 7.39 (dd, $J = 15.3, 7.6$ Hz, 2H), 5.00 (s, 2H), 4.40 (s, 4H), 3.96–3.88 (m, 3H), 3.73 (dd, $J = 19.3, 12.8$ Hz, 2H), 3.64 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.39 (s, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_7\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 394.1991, found 394.1990.

实施例 73

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-30**)的制备



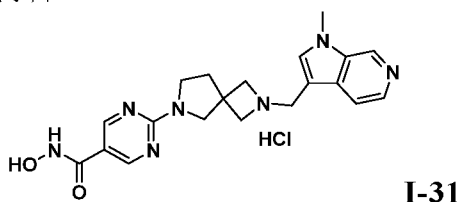
I-30

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-30d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-30**。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.37 (d, $J = 27.4$ Hz, 2H), 8.73 (d, $J = 9.7$ Hz, 2H), 8.45 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.39 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 7.31–7.24 (m, 1H), 4.59 (d, $J = 4.5$ Hz, 2H), 4.19 (dd, $J = 16.1, 6.5$ Hz, 2H), 4.05–3.95 (m, 2H), 3.85 (d, $J = 33.7$ Hz, 5H), 3.58 (dd, $J = 14.1, 7.0$ Hz, 2H), 2.31 (dt, $J = 29.1, 6.9$ Hz, 3H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_7\text{O}_2$ (M+H) $^+$ 394.1991, found 394.1992.

实施例 74

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡咯并[2,3-*c*]吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-31**)的制备



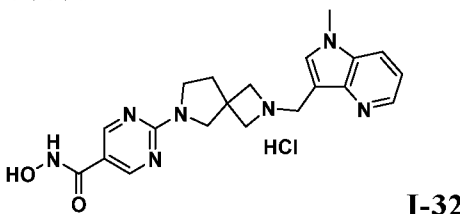
I-31

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-31d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-31**。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.18–11.90 (m, 1H), 11.18 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 8.77–8.68 (m, 2H), 8.55 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 8.49 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 4.75 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H), 4.25 (d, $J = 6.5$ Hz, 2H), 4.12 (s, 3H), 3.97 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.91 (s, 1H), 3.83 (s, 1H), 3.58 (dd, $J = 13.1, 6.6$ Hz, 2H), 2.34 (dt, $J = 26.4, 6.9$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_7\text{O}_2$ (M+H) $^+$ 394.1991, found 394.1992.

实施例 75

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡咯并[3,2-*b*]吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-32**)的制备



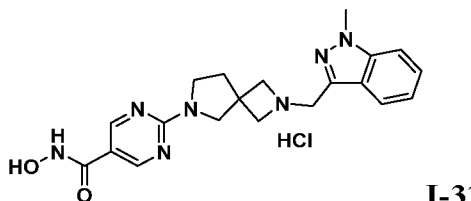
I-32

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-32d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-32**。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.73 (s, 1H), 11.18 (s, 1H), 8.86–8.80 (m, 2H), 8.72 (s, 2H), 8.46 (s, 1H), 7.81 (dd, $J = 8.2, 5.8$ Hz, 1H), 4.93 (s, 2H), 4.39 (s, 2H), 4.07 (s, 3H), 4.00 (d, $J = 9.5$ Hz, 2H), 3.84 (s, 2H), 3.59 (s, 2H), 2.36 (d, $J = 6.7$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_7\text{O}_2$ (M+H) $^+$ 394.1991, found 394.1989.

实施例 76

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡唑-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-33**)的制备



I-33

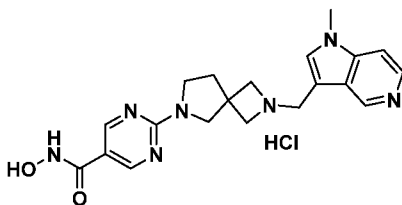
将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-33d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6,

经三步反应得 **I-33**。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.53 (s, 1H), 11.24 (s, 1H), 8.73 (s, 2H), 8.06 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.55–7.46 (m, 1H), 7.27 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 4.85 (d, J = 5.3 Hz, 2H), 4.37–4.24 (m, 2H), 4.19–4.06 (m, 5H), 3.86 (d, J = 47.4 Hz, 2H), 3.61 (s, 1H), 3.59–3.54 (m, 1H), 2.32 (dt, J = 37.4, 6.9 Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_7\text{O}_2$ (M+H) $^+$ 394.1991, found 394.1990.

实施例 77

2-(2-((1-甲基-1*H*-吡咯并[3,2-*c*]吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-34**)的制备



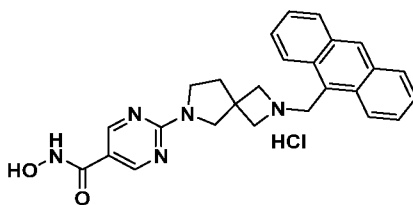
I-34

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-34d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-34**。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.01 (s, 1H), 11.19 (s, 1H), 9.73 (s, 1H), 8.77–8.70 (m, 2H), 8.60 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 8.22 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 4.78 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 4.27 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 4.04 (s, 3H), 4.00–3.94 (m, 2H), 3.88 (d, J = 25.1 Hz, 2H), 3.59 (s, 2H), 2.34 (dt, J = 19.2, 6.8 Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_7\text{O}_2$ (M+H) $^+$ 394.1991, found 394.1992.

实施例 78

2-(2-(蒽-9-基甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-35**)的制备



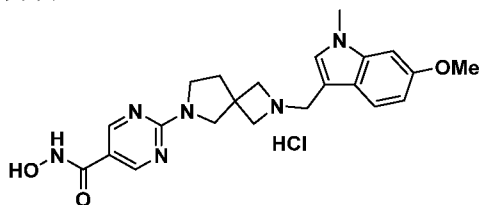
I-35

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-35d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-35**。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.15 (s, 1H), 10.54 (d, J = 26.4 Hz, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.78–8.65 (m, 4H), 8.24 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.80–7.74 (m, 2H), 7.66 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 5.65 (d, J = 4.4 Hz, 2H), 4.49–4.43 (m, 2H), 4.08 (dd, J = 18.4, 12.7 Hz, 2H), 3.88 (d, J = 17.8 Hz, 2H), 3.55 (dd, J = 11.5, 6.7 Hz, 2H), 2.33 (dt, J = 31.0, 6.9 Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_2$ (M+H) $^+$ 440.2087, found 440.2088.

实施例 79

2-(2-((6-甲氧基-1-甲基-1*H*-吡咯-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐(化合物 **I-36**)的制备



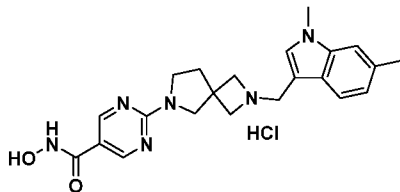
I-36

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-36d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-36**。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.09 (d, $J = 74.7$ Hz, 2H), 8.71 (s, 2H), 7.76 (dd, $J = 8.6, 4.4$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.81 (dd, $J = 8.7, 2.2$ Hz, 1H), 4.52 (d, $J = 5.0$ Hz, 2H), 4.22–4.12 (m, 2H), 4.00–3.94 (m, 2H), 3.88 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.60–3.56 (m, 2H), 2.29 (dt, $J = 34.0, 6.9$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_3$ (M+H) $^+$ 423.2145, found 423.2144.

实施例 80

2-(2-((1,6-二甲基-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸盐酸盐(化合物 **I-37**)的制备



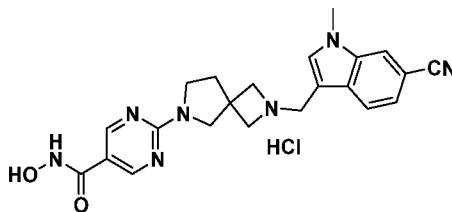
I-37

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-37d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-37**。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.17 (s, 1H), 10.87 (d, $J = 29.2$ Hz, 1H), 8.72 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.76 (dd, $J = 8.1, 4.4$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.00 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.53 (d, $J = 5.0$ Hz, 2H), 4.20–4.15 (m, 2H), 3.96 (d, $J = 10.5$ Hz, 2H), 3.88 (s, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.78 (s, 1H), 3.62–3.52 (m, 2H), 2.47 (s, 3H), 2.28 (dt, $J = 31.1, 6.9$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_2$ (M+H) $^+$ 407.2195, found 407.2196.

实施例 81

2-(2-((6-氰基-1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸盐酸盐(化合物 **I-38**)的制备



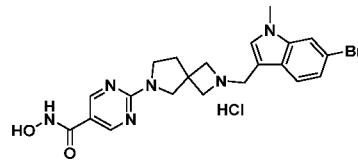
I-38

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-38d**, 其余所需原料, 试剂及制备方法同实施例 4-6, 经三步反应得 **I-38**。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.34 (d, $J = 30.0$ Hz, 2H), 8.71 (s, 2H), 8.18 (s, 1H), 8.11 (dd, $J = 8.2, 4.0$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.61 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 4.20 (dd, $J = 19.4, 13.3$ Hz, 2H), 4.05–3.94 (m, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.85 (d, $J = 34.8$ Hz, 2H), 3.57 (dd, $J = 14.8, 7.8$ Hz, 2H), 2.31 (dt, $J = 28.4, 6.8$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_7\text{O}_2$ (M+H) $^+$ 418.1991, found 418.1992.

实施例 82

2-(2-((6-溴-1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-2,6-二氮杂螺[3.4]辛-6-基)嘧啶-5-羧酸盐酸盐(化合物 **I-39**)的制备

**I-39**

将实施例 4 中的 **I-1d** 替换成 **I-39d**，其余所需原料，试剂及制备方法同实施例 4-6，经三步反应得 **I-39**。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.03 (d, $J = 30.8$ Hz, 2H), 8.72 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.87 (dd, $J = 8.5, 4.4$ Hz, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.68 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.34–7.28 (m, 1H), 4.57 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H), 4.17 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 3.99–3.94 (m, 2H), 3.88 (s, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.80 (s, 1H), 3.57 (dd, $J = 16.2, 7.2$ Hz, 2H), 2.29 (dt, $J = 27.9, 6.8$ Hz, 2H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_2\text{Br}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 471.1144, found 471.1143.

实施例 83

化合物对疟原虫 3D7 和 Dd2 的体外生长半数有效抑制浓度(IC_{50})的测定

(1) 疟原虫培养：疟原虫培养使用 PRMI (含 NaHCO_3 、HEPES、Albumax I、Hypoxanthine、Genaotamicin) 完全培养基 (complete medium)，在 37°C 培养箱 ($5\% \text{CO}_2$ 、 $5\% \text{O}_2$) 中培养。

(2) 化合物对疟原虫的体外生长半数有效抑制浓度 (IC_{50}) 的测定：100 μL 完全培养基加入到 96 孔板中，在第一孔加入适量的 200 μM 的化合物并用完全培养基定容至 200 μL ，使化合物终浓度为 1000 nM，然后按 1/2 的比例进行梯度稀释 (11 个浓度梯度)，二氢青蒿素 (DHA) 作为阳性药，不加任何化合物作为阴性组，不加疟原虫和化合物作为空白组。之后每孔加入 100 μL 的疟原虫培养物 (红细胞压积 4%，原虫率 1%) 使最终红细胞压积 2%，原虫率 1%。加样完成，96 孔板置于 37°C 培养箱 ($5\% \text{CO}_2$ 、 $5\% \text{O}_2$) 中培养 72 h。培养完成，每孔除去 100 μL 上清液，加入 100 μL 裂解液 (10 $\times$ SYBR Green I、0.5% v/v Triton X-100, 0.5 mg/mL saponin、0.75 % EDTA/Tris-Cl 缓冲液)，混合均匀，室温下避光孵育 2 h。用孔板荧光读数机读取每孔数值 (最大激发光/最大接受光：485 nm/535 nm)。根据荧光值计算每孔抑制率，抑制率% = (阴性组 - 实验组) / (阴性组 - 空白组) $\times 100\%$ ，根据浓度 - 抑制率，在 Graphpad Prism 中绘制生长抑制曲线并计算 IC_{50} 值。

(3) 化合物活性测试结果

表 1 化合物对 3D7 和 Dd2 的 IC_{50} 值

序号	编号	IC_{50} (nM)		序号	编号	IC_{50} (nM)	
		3D7	Dd2			3D7	Dd2
1	I-1	5.076 ± 0.680	4.537 ± 0.173	21	I-21	5.171 ± 0.417	7.200 ± 0.014
2	I-2	76.170 ± 6.392	116.500 ± 0.990	22	I-22	17.050 ± 1.273	11.880 ± 0.042
3	I-3	37.625 ± 0.799	40.065 ± 2.468	23	I-23	13.190 ± 0.948	16.175 ± 0.191
4	I-4	15.225 ± 1.096	59.070 ± 0.919	24	I-24	6.129 ± 0.066	5.839 ± 0.185
5	I-5	6.254 ± 0.513	3.863 ± 0.741	25	I-25	16.610 ± 1.230	12.135 ± 0.813
6	I-6	44.570 ± 1.344	30.770 ± 3.196	26	I-26	23.760 ± 1.697	16.255 ± 1.152

7	I-7	46.975 ± 12.621	22.505 ± 3.033	27	I-27	8.633 ± 0.332	12.410 ± 1.047
8	I-8	136.750 ± 10.394	84.220 ± 14.496	28	I-28	12.160 ± 0.170	8.496 ± 0.052
9	I-9	4.460 ± 0.331	4.385 ± 0.134	29	I-29	1.840 ± 0.048	3.995 ± 0.207
10	I-10	9.888 ± 0.541	13.255 ± 1.450	30	I-30	10.380 ± 0.057	7.831 ± 1.143
11	I-11	22.880 ± 0.184	43.405 ± 12.495	31	I-31	14.570 ± 1.598	9.587 ± 0.320
12	I-12	25.465 ± 1.520	66.910 ± 7.057	32	I-32	2.670 ± 0.134	3.083 ± 0.605
13	I-13	16.625 ± 1.831	18.880 ± 1.372	33	I-33	9.788 ± 0.090	12.685 ± 1.011
14	I-14	22.215 ± 1.690	18.960 ± 4.907	34	I-34	22.025 ± 5.763	14.160 ± 0.750
15	I-15	5.784 ± 0.762	8.571 ± 0.486	35	I-35	9.311 ± 0.724	5.565 ± 0.026
16	I-16	10.029 ± 1.261	7.876 ± 0.858	36	I-36	5.970 ± 0.415	5.104 ± 0.023
17	I-17	7.156 ± 2.487	5.156 ± 0.813	37	I-37	4.453 ± 0.087	3.254 ± 0.120
18	I-18	129.150 ± 8.697	105.700 ± 5.515	38	I-38	1.258 ± 0.004	1.608 ± 0.026
19	I-19	28.005 ± 3.132	16.565 ± 0.191	39	I-39	1.972 ± 0.136	2.391 ± 0.118
20	I-20	3.805 ± 0.309	2.578 ± 0.222	40	DHA	2.678 ± 0.202	2.675 ± 0.019

3D7 为野生型虫株，对药物无明显抗性；Dd2 对氯喹、奎宁、磺胺多辛、乙胺嘧啶、阿莫地喹具有抗性。表 1 显示化合物具有较强的体外杀虫活性，部分化合物对 3D7 和 Dd2 的 IC₅₀ 值与 DHA 相当。

5 实施例 84

化合物对两株正常人细胞 HepG-2 和 293-T 体外生长半数有效抑制浓度(EC₅₀)的测定

(1) 化合物对两株正常人细胞体外生长抑制活性的测定

准备 HepG-2 和 293-T 细胞，10 cm dish 中于 37 °C，5 % CO₂ 细胞培养箱内培养第一天

10 胰酶消化重悬细胞并计数，按 100 μL/孔的体系，7000/孔细胞的量将细胞转接至 96 孔板中。37 °C，5 % CO₂ 细胞培养箱内培养 24 h；

第二天

1、准备化合物梯度浓度体系，2 倍稀释，体系为 100 μL /孔。

15 2、去掉第一天中 96 孔板细胞培养体系中的上清，并将新配置好的药物浓度体系对应加入到培养细胞的培养板孔内（设置双复孔）。37 °C，5% CO₂ 细胞培养箱内培养 72 h。

第五天

1、细胞培养结束之后，去掉 96 孔板细胞培养体系中的上清，每孔加入 100 μL 检测溶液（含 10% CCK-8 的培养基），37 °C，5 % CO₂ 细胞培养箱内孵育 1 h，然后取出
20 用酶标仪测定 450 nm 下的吸光度。

2、进行数据处理，计算不同浓度下化合物对细胞生长的抑制率，将抑制率输入

GraphPad Prism, 按照非线性回归方法, 计算每个药物的 EC_{50} 。抑制率计算公式如下:

$$\text{抑制率(\%)} = [A(0) - A(\text{加药})] / [A(0) - A(\text{空白})] \times 100\%$$

A(加药): 具有细胞、CCK-8 溶液和药物溶液的孔的吸光度

A(空白): 具有培养基和 CCK-8 溶液而没有细胞的孔的吸光度

A(0): 具有细胞、CCK-8 溶液而没有药物溶液的孔的吸光度

(2) 选择性指数 SI 的计算

$$SI = EC_{50}(\text{细胞}) / IC_{50}(3D7)$$

(3) 化合物测试结果

表 2 化合物对 HepG-2 和 293-T 的 EC_{50} 及 SI 值

序号	编号	EC_{50} (μM)		SI	
		HepG-2	293-T	HepG-2	293-T
1	I-1	0.670 ± 0.071	1.206 ± 0.448	132	238
2	I-2	10.940 ± 1.570	>20	144	>263
3	I-3	6.031 ± 0.263	16.235 ± 1.846	160	431
4	I-4	2.510 ± 0.013	4.935 ± 0.885	165	324
5	I-5	2.462 ± 0.049	4.623 ± 1.372	394	739
6	I-6	8.373 ± 1.657	>20	188	>449
7	I-7	11.430 ± 0.297	>20	243	>426
8	I-8	>20	>20	>146	>146
9	I-9	0.769 ± 0.192	2.697 ± 0.049	172	605
10	I-10	2.128 ± 0.127	4.368 ± 1.162	215	442
11	I-11	3.140 ± 0.146	3.989 ± 1.238	137	174
12	I-12	0.418 ± 0.089	1.984 ± 0.239	16	78
13	I-13	1.056 ± 0.900	4.326 ± 0.473	64	260
14	I-14	1.035 ± 0.373	3.565 ± 0.080	47	160
15	I-15	3.613 ± 0.209	4.589 ± 0.109	625	793
16	I-16	0.488 ± 0.113	2.581 ± 0.201	49	257
17	I-17	3.889 ± 0.365	5.623 ± 1.702	543	786
18	I-18	>20	>20	>155	>155
19	I-19	8.206 ± 1.068	1.666 ± 0.051	293	59
20	I-20	2.044 ± 0.054	3.617 ± 0.924	537	951
21	I-21	2.058 ± 0.448	5.585 ± 1.060	398	1080
22	I-22	1.539 ± 0.070	1.745 ± 0.241	90	102
23	I-23	2.661 ± 0.117	5.582 ± 1.021	202	423
24	I-24	1.839 ± 0.330	0.933 ± 0.051	300	152
25	I-25	2.215 ± 0.148	1.613 ± 0.176	133	97
26	I-26	11.710 ± 0.481	6.127 ± 1.036	493	258

27	I-27	2.232 ± 0.190	8.056 ± 0.846	259	933
28	I-28	>20	2.371 ± 0.342	>1645	195
29	I-29	9.449 ± 0.413	9.331 ± 1.314	5135	5072
30	I-30	12.185 ± 1.124	6.168 ± 0.556	1174	594
31	I-31	>20	>20	>1373	>1373
32	I-32	>20	>20	>7491	>7491
33	I-33	2.132 ± 0.152	7.512 ± 0.349	218	767
34	I-34	>20	>20	>908	>908
35	I-35	0.512 ± 0.048	0.459 ± 0.093	55	49
36	I-36	0.627 ± 0.185	0.705 ± 0.248	105	118
37	I-37	0.502 ± 0.151	1.098 ± 0.060	113	247
38	I-38	1.023 ± 0.120	1.214 ± 0.107	813	965
39	I-39	0.748 ± 0.070	0.717 ± 0.104	379	364

结果汇总于上表 2，结果显示，化合物对正常细胞的生长抑制较弱，选择性可以达到数千。

实施例 85

5 部分化合物对小鼠肝微粒体代谢稳定性实验

(1) 化合物对小鼠肝微粒体代谢稳定性测试

实验选用小鼠肝微粒体 (0.5 mg/mL)，采购自 Corning 公司。阳性对照选用酮舍林 (ketanserin)，待测化合物首先配成 10 mM 的 DMSO 溶液，用乙腈稀释至 0.5 mM；取上述 0.5 mM 溶液加入含肝微粒体的缓冲液中，使化合物浓度为 1.5 μM；取上述 1.5 μM 化合物/肝微粒体混合液 30 μL，加入 15 μL 6 mM 的 NADPH 溶液，使化合物最终浓度为 1.5 μM，NADPH 最终浓度为 2 mM。化合物/肝微粒体测试液置于测试板上，在 37 °C 水浴孵育，在每个时间点 (0、5、15、30、45 min) 各加入 135 μL 乙腈淬灭。待全部样品淬灭完毕，用振荡器 (IKA, MTS 2/4) 振荡样品 10 min (600 rpm/min)，然后以 5594 g 离心 15 min (Thermo Multifuge × 3R)。取上层清液，按 1:1 加入蒸馏水稀释，用 LC-MS 进行分析。将化合物在 5、15、30、45 min 的峰面积响应比率 (PARR) 与时间 0 的 PARR 进行比较，以确定在每个时间点保留的测试化合物的百分比。使用 Excel 软件拟合单相指数衰减方程计算半衰期。

(2) 化合物测试结果

表 3 化合物对小鼠肝微粒体代谢稳定性

序号	编号	T _{1/2} (min)	CL _{int} (mL/min/kg)
1	I-20	134.00	40.73
2	I-29	179.79	30.35
3	I-32	398.53	13.69
4	I-37	83.98	64.98
5	I-38	629.70	8.53

6	I-39	80.17	68.07
7	ketanserine	23.25	234.74

实施例 86

优选化合物对五株临床耐药株的半数有效抑制浓度(IC₅₀)的测定

选取杀虫活性、细胞毒性及体外肝微粒体代谢稳定性较优的化合物，按照实施例 83 的方法，测试它们对五株具有不同药物抗性的临床虫株的 IC₅₀ 值，结果如下：

表 4 化合物对五株临床虫株的 IC₅₀ 值

序号	编号	IC ₅₀ (nM)				
		GB4	C2A	CP286	6320	6218
1	I-29	4.638 ± 0.595	3.798 ± 0.181	9.867 ± 0.626	7.248 ± 0.221	9.039 ± 0.646
2	I-32	4.472 ± 0.358	3.760 ± 0.096	13.100 ± 1.202	7.648 ± 0.765	11.525 ± 0.544
3	I-38	3.059 ± 0.013	2.182 ± 0.037	5.854 ± 0.600	4.321 ± 0.530	5.786 ± 0.152
4	DH A	3.222 ± 1.243	3.742 ± 2.354	5.586 ± 2.354	5.904 ± 2.091	5.234 ± 3.684

GB4 对氯喹具有抗性；C2A 对奎宁具有抗性；CP286 对磺胺多辛、乙胺嘧啶、甲氟喹具有抗性；6218 与 6320 对青蒿素类药物具有时间依赖的抗性，只在环期同步化后 6 h 以内显示。综合表 1 和表 4，化合物的 72 h IC₅₀ 值均与 DHA 相当，显示化合物具有治疗对目前抗疟一线和二线药物耐受的疟疾，应对疟疾耐药性的潜力。

实施例 87

优选化合物抑制疟原虫去乙酰化酶活性验证实验

疟原虫培养

疟原虫培养使用 RPMI（含 NaHCO₃, HEPES, Albumax I, Hypoxanthine Genaotamicin）

完全培养基（Complete Medium），在 37 °C 培养箱中培养

药物配制

根据药物前期测出的 IC₅₀ 值，将药物溶于 DMSO 中，配制 200*20*IC₅₀ 的初浓度。

药物处理（在生物安全柜中进行）

取 44 h 左右的恶性疟原虫同完全培养基与红细胞在 50 mL 管中配制混合物（红细胞含量为 2%，原虫率为 8%-10%），在 6 孔板的每孔中加入 6 mL 混合物，再在每孔中加入 30 μL 药物（工作浓度为 20*IC₅₀），加好之后混匀板子，并放入三气培养箱孵育 4 h。

收取蛋白样

取出 6 孔板，弃去 4 mL 上清液，余下的 2 mL 虫血混合物转入 2 mL EP 管，离心（4000 r/min，2 min，常温），去除上清，再将各孔用 1 mL PBS 重悬残液并转移至原 EP 管以减少损失，再次离心去上清；

在各 EP 管中加入 2 mL 裂解液，涡旋仪振荡混匀，冰上裂解 10 min，离心（12000 r/min，4 °C），弃去上清液；

各 EP 管加入 1 mL PBS，涡旋仪振荡混匀，离心（12000 r/1 min，4 °C），弃去上清液，再重复此步骤两次；

加入 90 μ L 1 $\times$ PBS 重悬并转移至 1.5 mL 超声管，再加入 10 μ L 10 % SDS，混匀后超声 5 min（30 s on/30 s off），离心（12000 r/10 min，4 °C），取上清液，加入 loading，振荡，100 °C 加热 10 min，样品可保存于 -20 °C。

Western Blot

SDS-PAGE 凝胶电泳：预制胶各孔上样 10 μ L，电压 80 V 跑 30 min 后将电压调至 120 V 再接着跑至 loading 接近分离胶下边缘。

转膜：切取相应覆盖面积的 PVDF 膜，采用湿转法，快速转膜 buffer，400 mA 恒流转 35 min，结束后取出 PVDF 膜。

封闭：将膜放于封闭液（在 TBST 中加入 5 % 脱脂奶粉）中，摇床摇晃封闭 2 h。

孵一抗：采用组蛋白 histone H3 抗体和 H3K9 乙酰化抗体，与 5 % 脱脂奶粉按照 1:2000 稀释，于摇床孵育 PVDF 膜 2 h 后弃去孵育液，加入 TBST 洗膜三次，每次 10 min。

孵二抗：二抗按照 1:5000 稀释，于摇床孵育 PVDF 膜 1 h 后弃去孵育液。

显色曝光：临时配制显色液并均匀的铺在 PVDF 膜上，可根据条带亮度调节曝光时间。

(5) 化合物 Western Blot 实验结果

实验结果如图 1 中所示，JL01 为阳性对照化合物，对比化合物处理和 DMSO 处理 4 h 后的疟原虫组蛋白 H3 乙酰化条带，可以看出化合物上调了乙酰化水平，即抑制了去乙酰化酶的活性，间接证明化合物是泛 *p/HDAC* 抑制剂。

实施例 88

优选化合物小鼠体内药效实验

(1) 小鼠体内药效实验方法

体内药效实验选用 balb-c 小鼠感染 *P.yoelii* 模型进行。小鼠选用 6-8 周龄的雌性，每个剂量组设置 5 只。阳性药为磷酸哌喹（PPQ），给药方式为腹腔注射，给药前每组测量平均体重，按 15 μ L/g 注射相应体积的药液。化合物注射液的配置方法：先溶于 5 % v/v 的二甲基亚砜，剧烈振荡，使固体部分部分或完全溶解，再加入 95 % v/v 的 20 % wt β -羟丙基环糊精水溶液，混匀即可。*P.yoelii* 从 -78 °C 解冻后经转接两只小鼠恢复毒力，取血，加入 PBS 稀释。每只小鼠接种 10^5 只疟原虫，感染后 24 h 开始给药，一共给药 5 次，每次间隔 24 h。从感染后 24 h 开始定期从小鼠尾静脉取血涂片观察，计算原虫率：

$$\text{原虫率} = \frac{\text{被疟原虫感染的红细胞数}}{\text{红细胞总数}} \times 100 \%$$

感染后观察 30 天血涂片，计算相应的原虫率。

(2) 小鼠体内药效实验结果

结果如图 2 和 3 中所示。原虫率曲线图（图 2）显示与空白组相比，化合物 **I-39** 在 60 mg/kg 下具有较好的杀虫活性，且存活的小鼠在第 30 天时原虫率均为 0，显示体内疟原虫已被清除。原虫率曲线和生存曲线（图 3）综合显示 **I-39** 在药效和毒性上具有较好的平衡。

实施例 89

优选化合物对人源 HDAC 半数有效抑制浓度 (IC₅₀) 的测定

(1) *hHDAC1-3,6* 测试方法：通过 Echo 将 250 nL DMSO 或化合物溶液加入到

OptiPlate TM-384 F 黑色测定板中, 依次将 15 μ L 酶溶液、10 μ L GL-8 底物溶液加入测定板中。在 25 $^{\circ}$ C 下孵育 60 min, 使用 Ex350-360 / Em450-465 (敏感 60) 的设置读取值。计算抑制率, 用 GraphPad Prism 算出 IC₅₀ 值。

(2) *h*HDAC8 测试方法: 通过 Echo 将 250 nL DMSO 或化合物溶液加入到 OptiPlate TM-384 F 黑色测定板中, 依次加入 15 μ L 酶溶液, 10 μ L 对应底物溶液, 在 25 $^{\circ}$ C 反应 4 h。添加 10 μ L 终止液终止反应, 使用 Ex350-360 / Em450-465 的设置读取值。计算抑制率, 用 GraphPad Prism 算出 IC₅₀ 值。

(3) *h*Sirt2 测试方法: 通过 Echo 将 800 nL DMSO 或化合物溶液加入到 OptiPlate TM-384 F 黑色测定板中, 依次加入 10 μ L 酶溶液、10 μ L 对应底物溶液, 在 25 $^{\circ}$ C 反应 4 h。添加 20 μ L 终止液终止反应, 使用 Ex350-360 / Em450-465 的设置读取值。计算抑制率, 用 GraphPad Prism 算出 IC₅₀ 值。

(4) 化合物测试结果

表 5 化合物对 *h*HDACs 的 IC₅₀ 值

序号	编号	IC ₅₀ (nM)					
		<i>h</i> HDAC1	<i>h</i> HDAC2	<i>h</i> HDAC3	<i>h</i> HDAC8	<i>h</i> HDAC6	<i>h</i> Sirt2
1	I-38	2.2 $\pm$ 0.8	5.1 $\pm$ 1.7	5.2 $\pm$ 0.6	29.9 $\pm$ 7.4	85.5 $\pm$ 26.2	>10000
2	SAHA	11	24	28	301	13	
3	suramin						5441

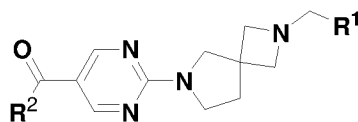
SAHA 与 suramin 为阳性对照。实验结果表明, 化合物 I-38 对 *h*HDACs 有一定抑制, 其中对 *h*HDAC1-3 有较强抑制, 对 *h*Sirt2 几乎无抑制。

本发明的 2,6-二氮杂螺[3.4]辛烷类嘧啶-异羟肟酸化合物分子结构较为简单, 制备工艺简洁, 在对与疟原虫生存繁殖有密切关系的 HDAC 酶抑制实验和体内外杀虫药效实验中均显示出较强的抑制活性, 且细胞毒性较弱, 选择性指数可到数千。因此, 该类化合物不但有望开发成新型的单药给药的抗疟疾药物, 而且还可以开发成与现有抗疟疾药物进行组合给药的抗疟疾药物。

在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考, 就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解, 在阅读了本发明的上述讲授内容之后, 本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改, 这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

权 利 要 求

1、一种如下式 I 所示的 2,6-二氮杂螺[3.4]辛烷类嘧啶-异羟肟酸化合物，或其药学上可接受的盐或光学异构体，



I

其中，

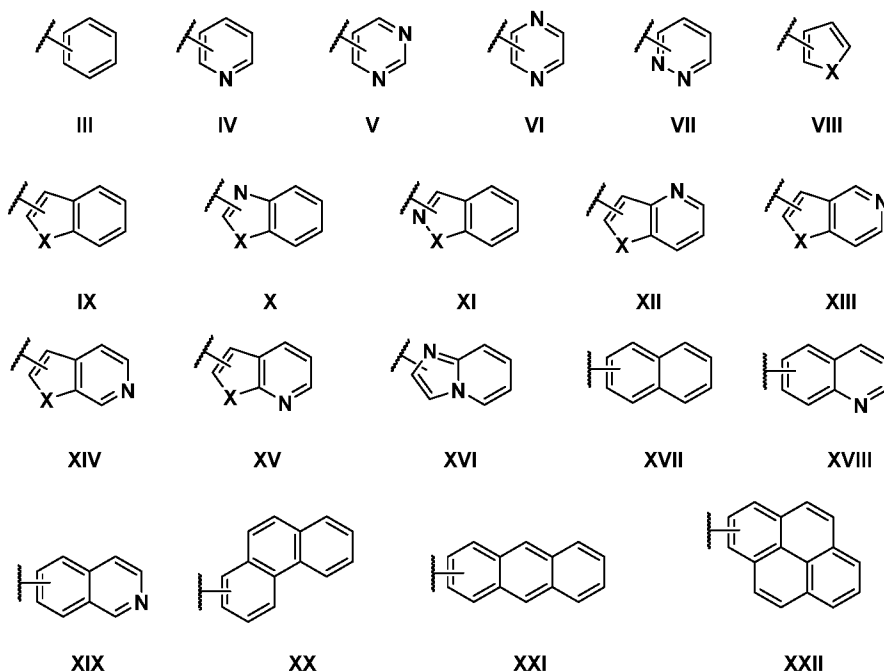
R^1 选自下组：取代或未取代的 C1~C6 烷基、取代或未取代的 C3~C8 环烷基、取代或未取代的 C6-C15 单环、二环或三环芳基、取代或未取代的 5-15 元单环、二环或三环杂环基（包括饱和、部分不饱和或芳香性杂环基）；其中，所述的杂芳基包括一个或多个选自下组的杂原子作为环骨架：N、O 或 S；

R^2 选自下组：NHOH，或 OR^3 ；

R^3 选自下组：氢，取代或未取代的 C1~C3 烷基，取代或未取代的 C3~C8 环烷基、取代或未取代的 5-15 元杂环基；

其中，所述的取代指基团上的氢原子被一个或者多个(例如 2 个、3 个、4 个等) 选自下组的取代基所取代：卤素、氘代、C1-C6 烷氧基、卤代的 C1-C6 烷氧基、卤代的 C3-C8 环烷基、甲基磺基、 $-S(=O)_2NH_2$ 、氧代(=O)、-CN、羟基、 $-NH_2$ 、羧基、或取代或未取代的选自下组的基团：C1-C6 烷基、C3-C8 环烷基、C1-C6 胺基、C6-C10 芳基、具有 1-3 个选自 N、S 和 O 的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-3 个选自 N、S 和 O 的杂原子的 5-12 元杂环基，且所述的取代基选自下组：卤素、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、氧代、-CN、 $-NH_2$ 、-OH、C6-C10 芳基、C1-C6 胺基、C1-C6 酰胺基、具有 1-3 个选自 N、S 和 O 的杂原子的 5-10 元杂芳基。

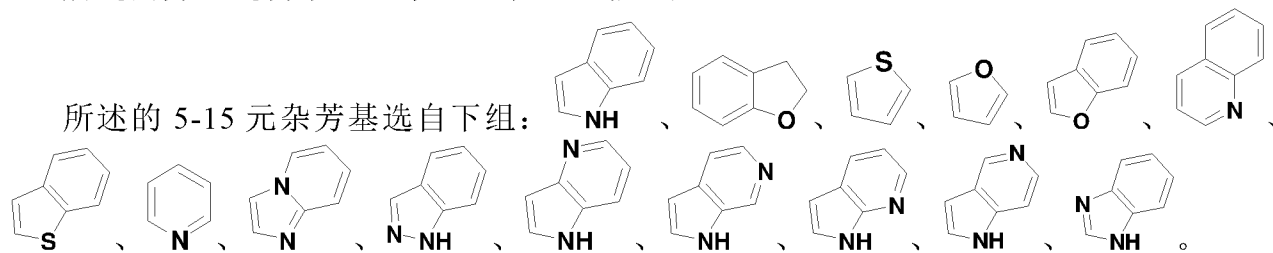
2、如权利要求 1 所述的化合物，其特征在于，所述的 R^2 选自下组：H、取代或未取代的 C1~C6 烷基，取代或未取代的 C3~C8 环烷基，或取代或未取代的选自下组的基团：



上述各式中，X选自N、O、S。

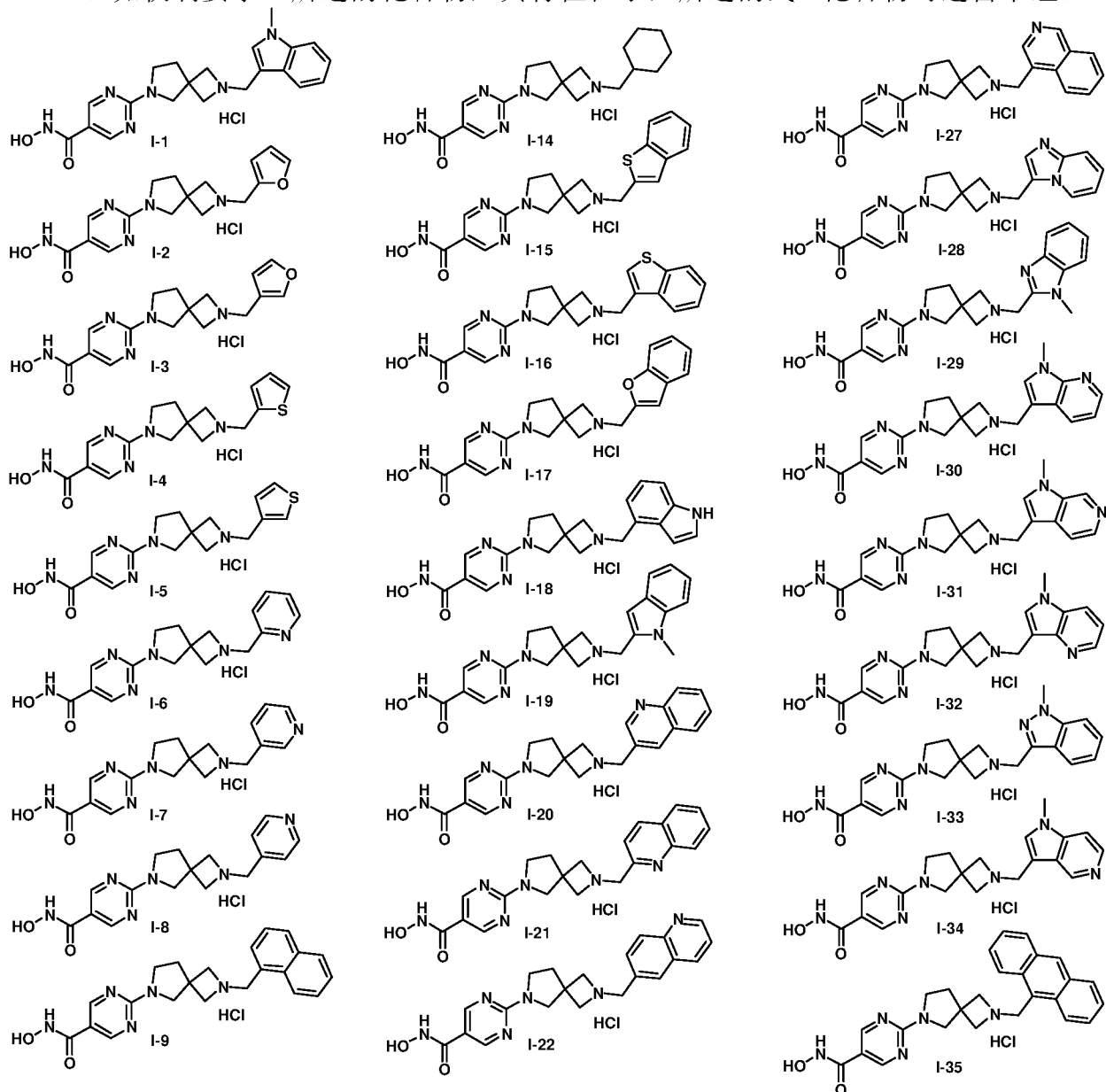
3、如权利要求1所述的化合物，其特征在于，所述的R¹选自下组：取代或未取代的C1~C6烷基、取代或未取代的C3~C8环烷基，取代或未取代的C6-C15芳基，取代或未取代的5-15元杂芳基；其中，所述的C3~C8环烷基选自下组：环戊基，环己基；

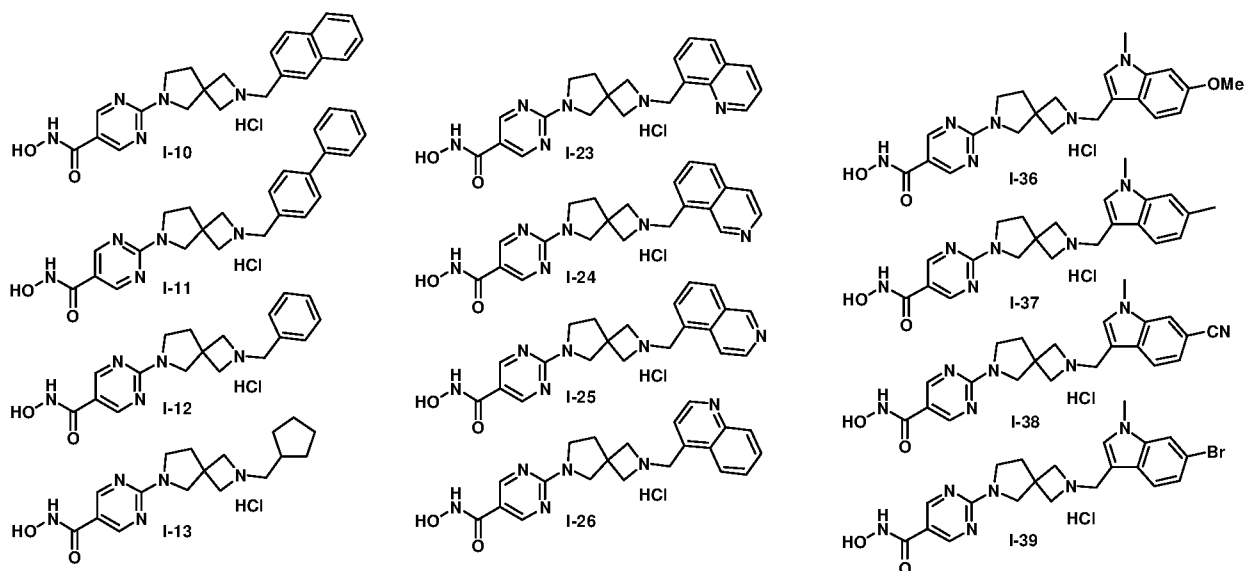
所述的芳基选自下组：苯基、萘基、菲基；



4、如权利要求1所述的化合物，其特征在于，所述的取代基选自下组：卤素、OH、NH₂、CN、C1-C6烷基、C3~C8环烷基、C6-C10芳基、C1-C6烷氧基、C1-C6烷氨基。

5、如权利要求1所述的化合物，其特征在于，所述的式I化合物可选自下组：





6、一种药物组合物，其特征在于，所述的药物组合物包括（a）治疗有效量的如权利要求1中所述的化合物、或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物；和（b）药学上可接受的载体。

5 7、如权利要求6所述的药物组合物，其特征在于，所述的药物组合物用于：

- （a）治疗或预防疟原虫导致的疾病或病症；或
- （b）治疗或预防与 HDAC 活性或表达量相关的疾病或病症。

8、如权利要求1所述的式I化合物的用途，其特征在于，用于制备治疗或预防疟原虫导致的疾病或病症的药物组合物。

10 9、如权利要求8所述的用途，其特征在于，所述的疾病或病症为疟疾。

10、如权利要求1所述的式I化合物的用途，其特征在于，用于制备治疗或预防 HDAC 活性或表达量相关的疾病或病症的药物组合物。

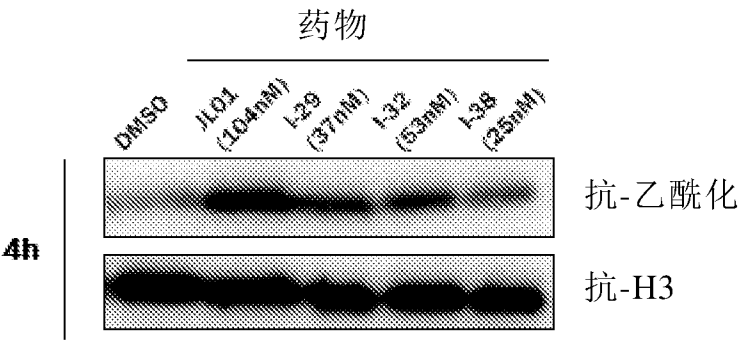


图 1

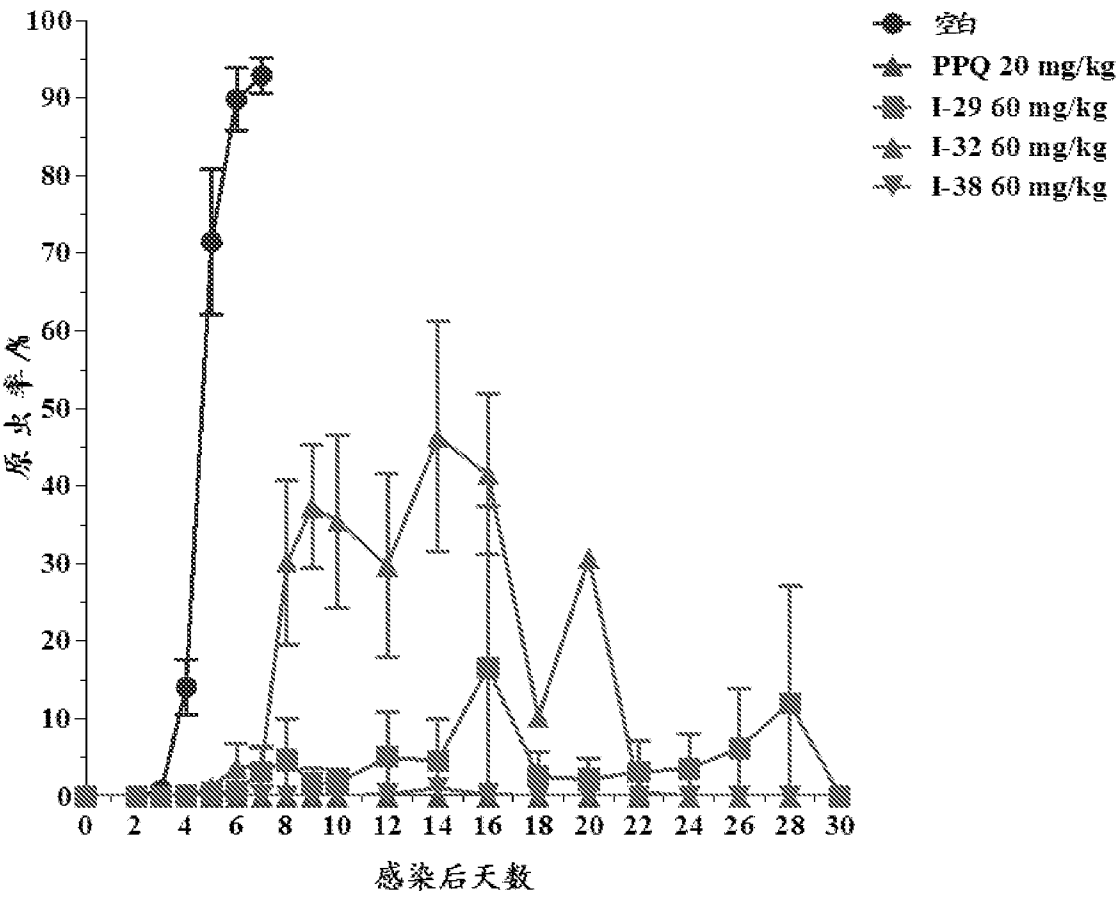


图 2

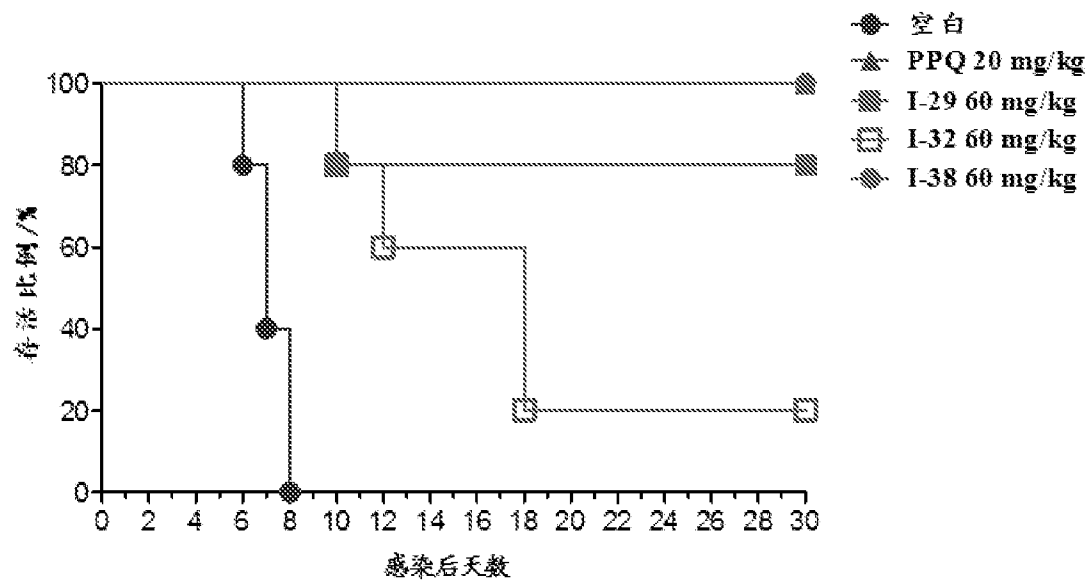


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/077356

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 403/14(2006.01)i; A61K 31/506(2006.01)i; A61P 33/06(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D403/14, A61K31/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, VEN, STN(REG, CAPLUS), CNKI: 二氮杂螺, 辛烷, 嘧啶, 异羟肟酸, 疟疾, diazaspiro, octane, pyrimidinyl, 根据式 I进行了子结构检索, search according to the substructure of formula (I)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2014026467 A1 (XUANZHU PHARMA CO., LTD.) 20 February 2014 (2014-02-20) entire document, particularly embodiment 16	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 November 2019

Date of mailing of the international search report

29 November 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/077356

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2014026467	A1	20 February 2014	BR	112015003232	A2	24 October 2017
				EP	2886540	A4	24 June 2015
				CN	104487434	A	01 April 2015
				CN	104487434	B	22 May 2018
				KR	101794321	B1	01 December 2017
				EP	2886540	B1	26 July 2017
				KR	20150042846	A	21 April 2015
				ES	2641992	T3	14 November 2017
				HK	1205738	A1	24 December 2015
				US	9359371	B2	07 June 2016
				US	2015232474	A1	20 August 2015
				JP	6037489	B2	07 December 2016
				JP	2015524828	A	27 August 2015
				EP	2886540	A1	24 June 2015

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2019/077356

A. 主题的分类

C07D 403/14(2006.01)i; A61K 31/506(2006.01)i; A61P 33/06(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07D403/14, A61K31/-

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS, VEN, STN (REG, CAPLUS), CNKI: 二氮杂螺, 辛烷, 嘧啶, 异羟肟酸。疟疾, diazaspiro, octane, pyrimidinyI, 根据式I进行了子结构检索

C. 相关文件

类 型*

引用文件, 必要时, 指明相关段落

相关的权利要求

A

WO 2014026467 A1 (XUANZHU PHARMA CO LTD) 2014年 2月 20日 (2014 - 02 - 20)
全文, 特别是实施例16

1-10

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2019年 11月 21日

国际检索报告邮寄日期

2019年 11月 29日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局(ISA/CN)
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

授权官员

杨轶

传真号 (86-10)62019451

电话号码 86-(010)-62086352

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/077356

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2014026467	A1	2014年 2月 20日	BR	112015003232	A2	2017年 10月 24日
				EP	2886540	A4	2015年 6月 24日
				CN	104487434	A	2015年 4月 1日
				CN	104487434	B	2018年 5月 22日
				KR	101794321	B1	2017年 12月 1日
				EP	2886540	B1	2017年 7月 26日
				KR	20150042846	A	2015年 4月 21日
				ES	2641992	T3	2017年 11月 14日
				HK	1205738	A1	2015年 12月 24日
				US	9359371	B2	2016年 6月 7日
				US	2015232474	A1	2015年 8月 20日
				JP	6037489	B2	2016年 12月 7日
				JP	2015524828	A	2015年 8月 27日
				EP	2886540	A1	2015年 6月 24日