



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104725379 A

(43) 申请公布日 2015.06.24

(21) 申请号 201310719907.9

*A61P 25/00*(2006.01)

(22) 申请日 2013.12.24

*A61P 3/10*(2006.01)

(71) 申请人 杭州民生药物研究院有限公司

*A61P 3/00*(2006.01)

地址 311121 浙江省杭州市余杭区文一西路  
1378号F楼8层801-817

*A61P 3/08*(2006.01)

申请人 杭州民生药业有限公司

(72) 发明人 单佳祺 杨岚 沈锡明 冯飞玉

肖楠楠 刘振华 吴春霞

(51) Int. Cl.

*C07D 473/18*(2006.01)

*A61K 31/522*(2006.01)

*A61P 3/06*(2006.01)

*A61P 3/04*(2006.01)

*A61P 35/00*(2006.01)

*A61P 37/00*(2006.01)

权利要求书4页 说明书12页

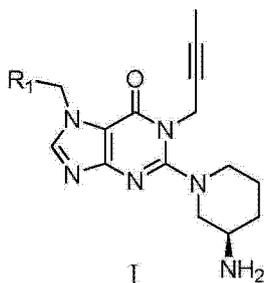
(54) 发明名称

嘌呤酮衍生物及其组合物的制备方法与用途

(57) 摘要

本发明提供了一类嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物及其制备方法；同时还提供包含药物有效量的所述嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物，以及药学上可接受的赋形剂或添加剂的药物组合物；并提供了该类化合物在制备治疗或预防受益于DPP-IV抑制的疾病的药物中的应用。本发明提供的嘌呤酮衍生物结构新颖、制备工艺简单、反应步骤少于对比文献，且原料易得，制备成本低，适合工业化大规模生产；并且经体外实验验证，本发明化合物对DPP-IV酶活性的抑制效果显著，且抑制作用要强于西他列汀、阿格列汀和对比文献的化合物18o，因此本发明提供的化合物具有可观的应用开发前景。

1. 一种嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物,具有如下结构通式 I :



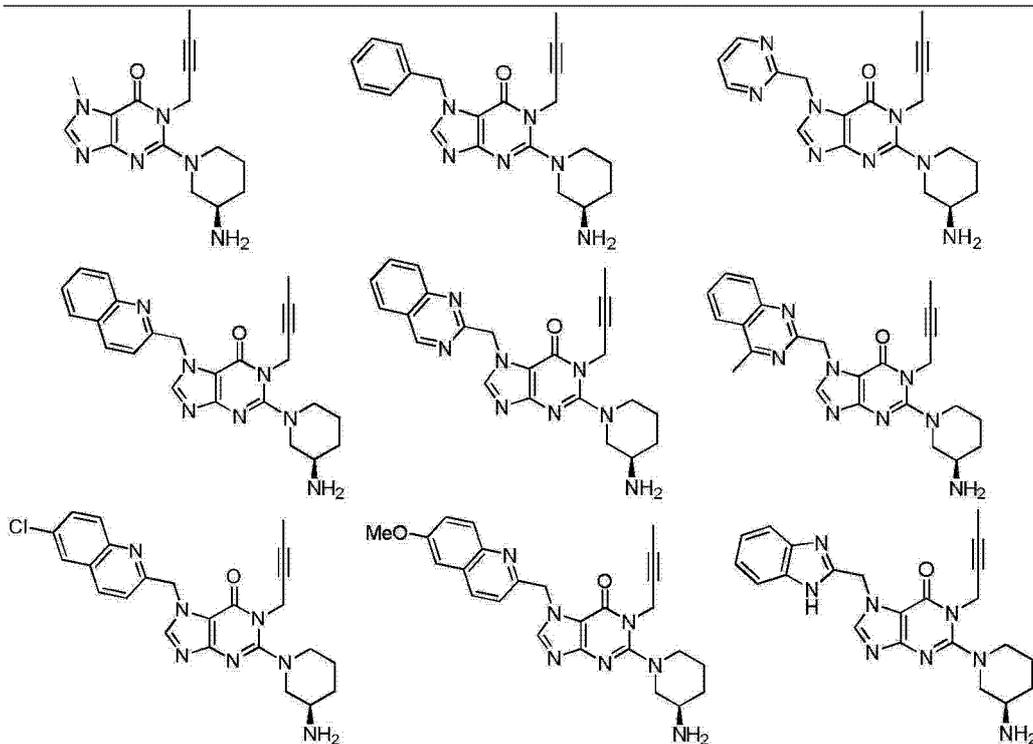
式中  $R_1$  选自氢、 $C_{1-10}$  烷基、 $C_{2-10}$  烯基、 $C_{2-10}$  炔基、 $C_{3-7}$  环烷基、 $C_{1-10}$  带取代基的烷基、 $C_{2-10}$  带取代基的烯基、 $C_{2-10}$  带取代基的炔基、 $C_{3-7}$  带取代基的环烷基、任选取代的芳基、杂环芳基或杂环烷基;

所述取代基为卤原子、氰基、硝基、氨基、三氟甲基、巯基、羟基、羧基、羰基、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{2-6}$  烯基、 $C_{2-6}$  炔基、 $C_{1-6}$  烷氧基、 $C_{1-6}$  烷氧基羰基、-NH- 中的一种或几种;所述芳基、杂环芳基或杂环烷基上的取代基选自氢、氨基、氰基、羟基、羧基、硝基、卤原子、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基中的一种或几种。

2. 根据权利要求 1 所述的嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物,其特征在于:所述的芳基、杂环芳基或杂环烷基上的取代基选自  $C_{1-6}$  烷氧基、 $C_{1-6}$  烷基、卤原子、硝基、羰基、氰基或氨基中的一种或几种;所述的卤原子为 F、Cl、Br、I 中的一种或几种。

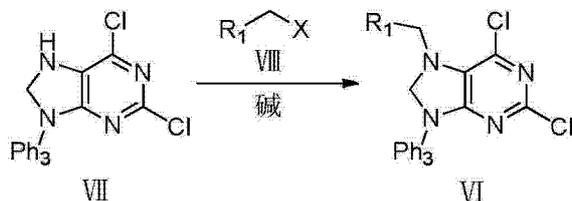
3. 根据权利要求 1 所述的嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物,其特征在于:所述的结构通式 I 中,  $R_1$  为苯基、喹唑啉基、苯并咪唑基、喹啉基、嘧啶基、吲哚基、喹喔啉基、异喹啉或氮杂菲。

4. 根据权利要求 1 所述的嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物,其特征在于:选自如下特征化合物及其互变异构体、光学异构体:

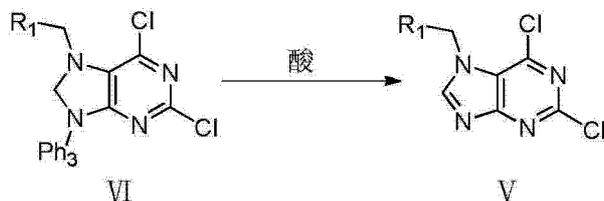


5. 如权利要求 1 ~ 5 任一项的通式结构 I 的嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物的制备方法,包括如下步骤:

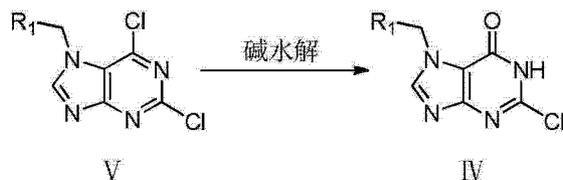
(1) 如式 VII 的化合物与式 VIII 的化合物在碱性条件下,烷基化反应生成式 VI 的中间产物,反应式如下:



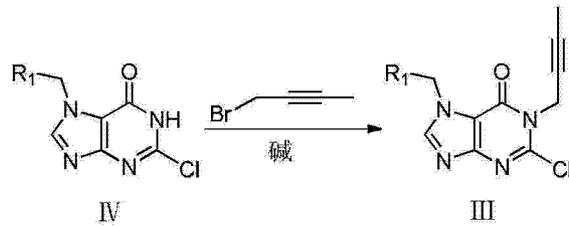
(2) 中间产物 VI 在酸性条件下,脱除三苯甲基的保护得到式 V 的中间产物,反应式如下:



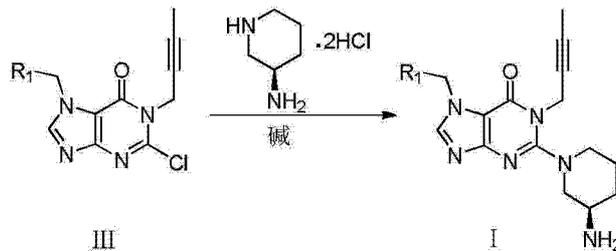
(3) 中间产物 V 在碱性条件下,水解反应得到式 IV 的中间产物,反应式如下:



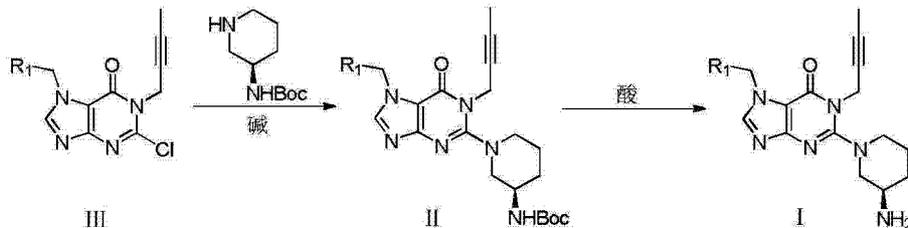
(4) 中间产物 IV 与 1-溴-2-丁炔在碱性条件下,烷基化反应生成式 III 的中间产物,反应式如下:



(5) 中间产物III与(R)-3-氨基哌啶双盐酸盐,经烷基化反应得到式I的目标产物,反应式如下:



或,中间产物III与(R)-3-Boc-氨基哌啶,先经烷基化、后脱Boc保护,反应得到式I的目标产物,反应式如下:



其中,X代表卤原子;

R<sub>1</sub>选自氢、C<sub>1-10</sub>烷基、C<sub>2-10</sub>烯基、C<sub>2-10</sub>炔基、C<sub>3-7</sub>环烷基、C<sub>1-10</sub>带取代基的烷基、C<sub>2-10</sub>带取代基的烯基、C<sub>2-10</sub>带取代基的炔基、C<sub>3-7</sub>带取代基的环烷基、任选取代的芳基、杂环芳基或杂环烷基;所述取代基为卤原子、氰基、硝基、氨基、三氟甲基、巯基、羟基、羧基、羰基、C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>2-6</sub>烯基、C<sub>2-6</sub>炔基、C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-6</sub>烷氧基羰基、-NH-中的一种或几种;所述芳基、杂环芳基或杂环烷基上的取代基选自氢、氨基、氰基、羟基、羧基、硝基、卤原子、C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基中的一种或几种。

6. 根据权利要求5所述的嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物的制备方法,其特征在于:所述的反应温度为-20℃至150℃;所述的步骤(1)、步骤(2)、步骤(4)和步骤(5)中反应试剂选自苯、甲苯、氯仿、正己烷、环己烷、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷、甲基叔丁基醚、四氯化碳、乙酸乙酯、乙酸丙酯、乙酸丁酯、甲醇、乙醇、丙酮、四氢呋喃、乙醚、乙腈、N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜中的一种或几种;步骤(3)中反应溶剂选自水、1,4-二氧六环、丙酮、四氢呋喃、乙腈、N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜中的一种或几种。

7. 根据权利要求6所述的嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物的制备方法,其特征在于:所述的步骤(1)、步骤(2)、步骤(4)和步骤(5)中反应溶剂都选自N,N-二甲基甲酰胺、二氯甲烷、乙醇中的一种或几种,步骤(3)中反应溶剂选自水、1,4-二氧六环或其组合。

8. 一种药物组合物,它包含药物有效量的权利要求1的通式I的嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物,以及药学上可接受的赋形剂或添加剂。

9. 如权利要求 1 ~ 8 任一项的通式结构 I 的嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物在制备治疗或预防受益于 DPP- IV 抑制的疾病的药物中的应用。

10. 根据权利要求 9 所述的受益于 DPP- IV 抑制的疾病选自 II 型糖尿病、糖尿病性脂血异常、葡萄糖耐量减低症、禁食血浆葡萄糖减低症、代谢性酸中毒、酮症、食欲调节、肥胖症、各种癌症、神经系统病症、免疫系统病症等, 优选地包括 II 型糖尿病和肥胖症, 更优选地为 II 型糖尿病。

## 嘌呤酮衍生物及其组合物的制备方法与用途

### 技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,涉及一种治疗糖尿病药物,具体涉及一种嘌呤酮衍生物及其组合物的制备方法与用途,特别是作为一种二肽基肽酶IV抑制剂用于治疗糖尿病。

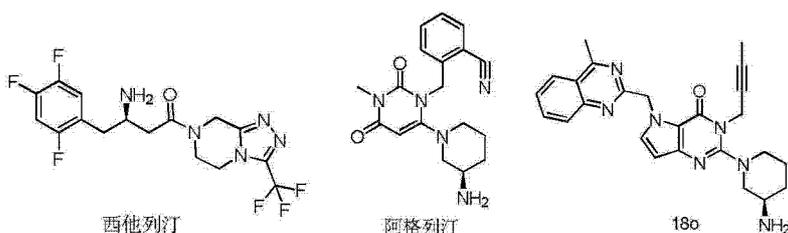
### 背景技术

[0002] 糖尿病是一种多病因的代谢疾病,特点是慢性高血糖,伴随因胰岛素分泌及/或作用缺陷引起的糖、脂肪和蛋白质代谢紊乱。它可以分为胰岛素依赖型糖尿病(I型糖尿病)和非胰岛素依赖型糖尿病(II型糖尿病),其中II型糖尿病最为常见,占糖尿病病人的90%以上。目前糖尿病治疗药物的研究多是针对型糖尿病展开的,这些药物主要有胰岛素分泌促进剂(磺酰脲类、瑞格列奈)、胰岛素增敏剂(双胍类、噻唑烷二酮类)和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂(阿卡波糖),但它们常具有不同程度的副作用,如低血糖、体重增加、心血管副作用等。因此,为了避免传统抗糖尿病药物副作用,迫切需要开发新型的降糖药物。

[0003] 二肽基肽酶IV(Dipeptidyl peptidase-IV, DPP-IV)抑制剂是新一代的抗糖尿病药物,是基于胰高血糖素样肽-1(Glucagon-like peptide, GLP-1)的治疗药物,能够有效控制血糖而不增加体重,不引起低血糖等副作用,为糖尿病的治疗带来了希望。

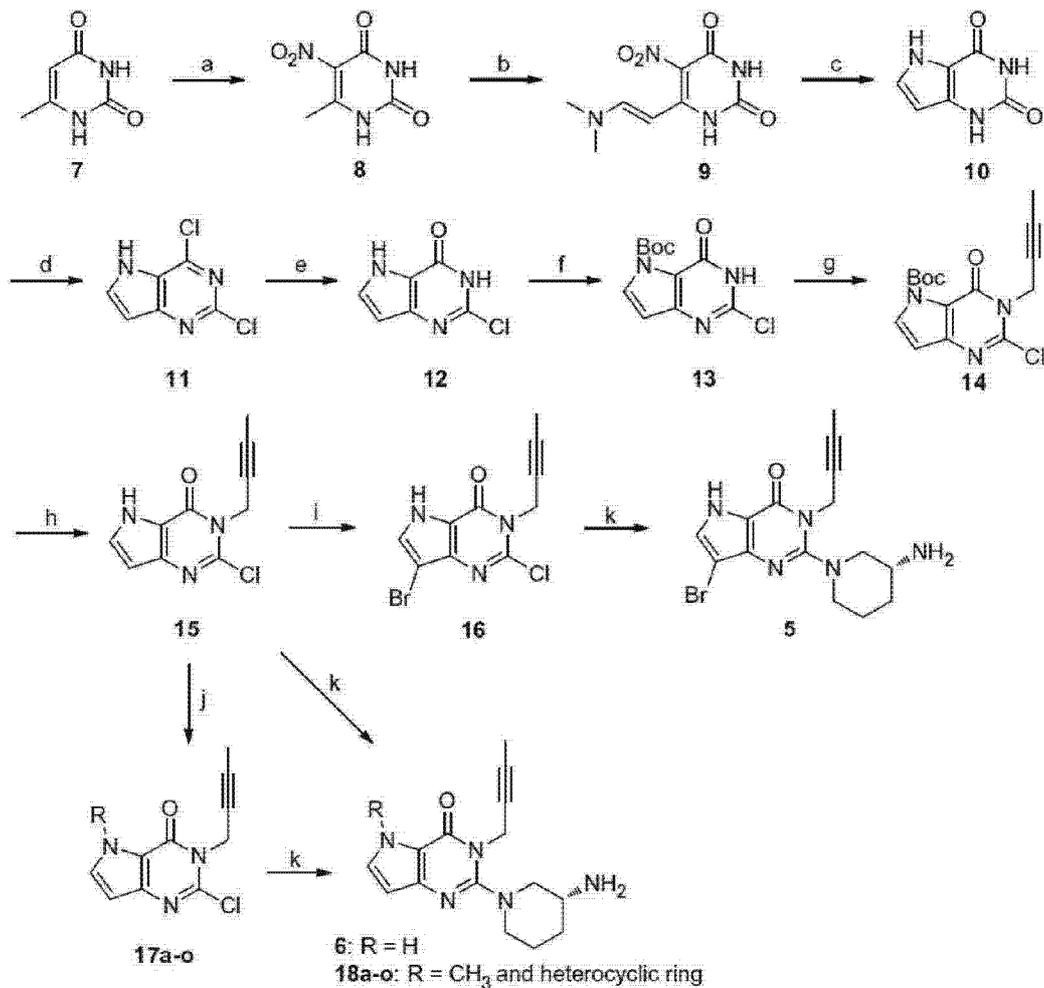
[0004] GLP-1是一种内源性激素,随着餐后血糖升高,小肠中的L-细胞就会分泌产生GLP-1,进而刺激胰岛素分泌,降低血糖。DPP-IV是一种以二聚体形式存在的高特异性丝氨酸蛋白酶,可特异性识别GLP-1的N末端第2位的丙氨酸残基,并从此处切除二肽使GLP-1快速失活。因此抑制DPP-IV酶可以延长GLP-1的作用,进而促进胰岛素的作用。目前已有多个DPP-IV抑制剂被批准上市,如西他列汀(Sitagliptin)、阿格列汀(Alogliptin)等,其结构式分别如下:

[0005]



[0006] 文献 Bioorganic&Medicinal Chemistry. 2013, 21(7):1749-55 (以下简称对比文献)公开了一些嘌呤酮衍生物,其中化合物 18o 对 DPP-IV 酶抑制的活性最强,化合物 18o 的结构见上,该化合物的合成以 6-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)二酮为原料,经过 9 步反应而得,具体路线如下:

[0007]



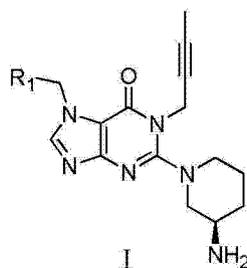
### 发明内容

[0008] 本发明目的在于：迥异于对比文献化合物 18o 的合成思路，以嘌呤酮为母核，对含氮杂环上的基团进行修饰改造，得到一类结构新颖的嘌呤酮衍生物，其中部分化合物对 DPP-IV 酶活性的抑制作用要强于上市药物西他列汀、阿格列汀和对比文献化合物 18o，达到进一步提高嘌呤酮类化合物对 DPP-IV 酶活性抑制的目的。

[0009] 本发明通过如下技术方案实现：

[0010] 本发明提供一种嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物，具有如下结构通式 I：

[0011]



[0012] 式中 R<sub>1</sub> 选自氢、C<sub>1-10</sub> 烷基、C<sub>2-10</sub> 烯基、C<sub>2-10</sub> 炔基、C<sub>3-7</sub> 环烷基、C<sub>1-10</sub> 带取代基的烷基、C<sub>2-10</sub> 带取代基的烯基、C<sub>2-10</sub> 带取代基的炔基、C<sub>3-7</sub> 带取代基的环烷基、任选取代的芳基、杂环

芳基或杂环烷基；

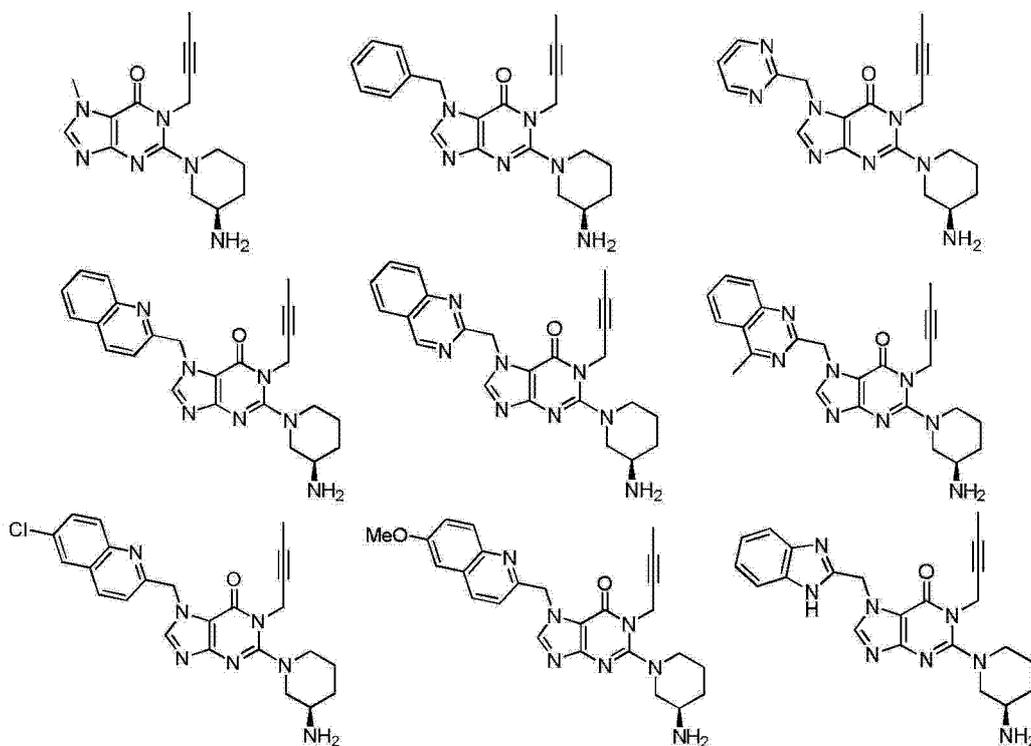
[0013] 其中,取代基为卤原子、氰基、硝基、氨基、三氟甲基、巯基、羟基、羧基、羰基、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{2-6}$  烯基、 $C_{2-6}$  炔基、 $C_{1-6}$  烷氧基、 $C_{1-6}$  烷氧基羰基、 $-NH-$  中的一种或几种;芳基、杂环芳基或杂环烷基上的取代基选自氢、氨基、氰基、羟基、羧基、硝基、卤原子、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基中的一种或几种。

[0014] 优选的,结构通式 I 的化合物中,芳基、杂环芳基或杂环烷基上的取代基选自  $C_{1-6}$  烷氧基、 $C_{1-6}$  烷基、卤原子、硝基、羰基、氰基或氨基中的一种或几种;卤原子为 F、Cl、Br、I 中的一种或几种。

[0015] 优选的,结构通式 I 的化合物中, $R_1$  为苯基、喹唑啉基、苯并咪唑基、喹啉基、嘧啶基、吲哚基、喹喔啉基、异喹啉或氮杂菲。

[0016] 本发明所提供的嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物,优选的,包括但并不限于如下具体化合物及其互变异构体、光学异构体:

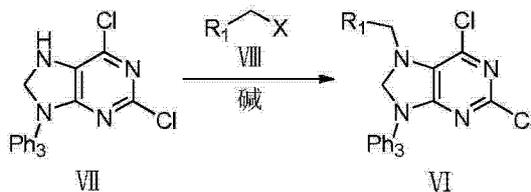
[0017]



[0018] 本发明还提供了一种嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物的制备方法,包括如下步骤:

[0019] (1) 如式 VII 的化合物与式 VIII 的化合物在碱性条件下,烷基化反应生成式 VI 的中间产物,反应式如下:

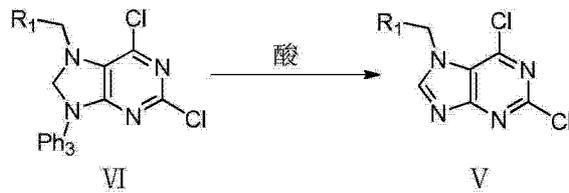
[0020]



[0021] (2) 中间产物 VI 在酸性条件下,脱除三苯甲基的保护得到式 V 的中间产物,反应式

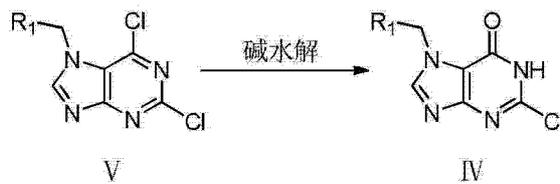
如下：

[0022]



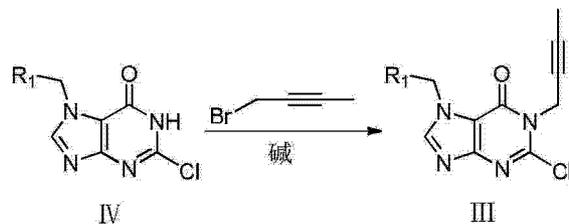
[0023] (3) 中间产物V在碱性条件下,水解反应得到式IV的中间产物(即氯原子先变羟基,再互变成酮),反应式如下：

[0024]



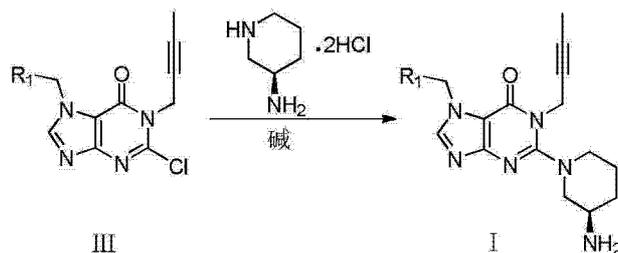
[0025] (4) 中间产物IV与1-溴-2-丁炔在碱性条件下,烷基化反应生成式III的中间产物,反应式如下：

[0026]



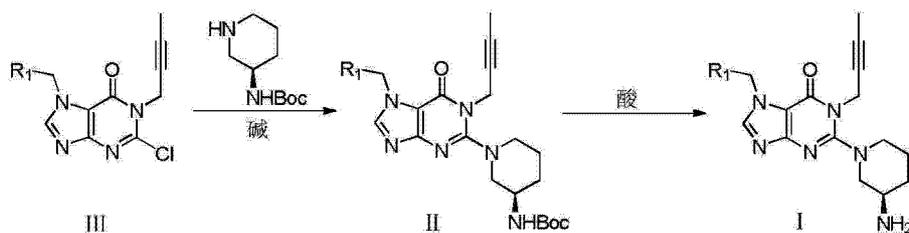
[0027] (5) 中间产物III与(R)-3-氨基哌啶双盐酸盐,经烷基化反应得到式I的目标产物,反应式如下：

[0028]



[0029] 或,中间产物III与(R)-3-Boc氨基哌啶,先经烷基化、后脱Boc保护(Boc即叔丁氧羰基),反应得到式I的目标产物,反应式如下：

[0030]



[0031] 其中,X代表卤原子；

[0032]  $R_1$  选自氢、 $C_{1-10}$  烷基、 $C_{2-10}$  烯基、 $C_{2-10}$  炔基、 $C_{3-7}$  环烷基、 $C_{1-10}$  带取代基的烷基、 $C_{2-10}$  带取代基的烯基、 $C_{2-10}$  带取代基的炔基、 $C_{3-7}$  带取代基的环烷基、任选取代的芳基、杂环芳基或杂环烷基；取代基为卤原子、氰基、硝基、氨基、三氟甲基、巯基、羟基、羧基、羰基、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{2-6}$  烯基、 $C_{2-6}$  炔基、 $C_{1-6}$  烷氧基、 $C_{1-6}$  烷氧基羰基、 $-NH-$  中的一种或几种；芳基、杂环芳基或杂环烷基上的取代基选自氢、氨基、氰基、羟基、羧基、硝基、卤原子、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基中的一种或几种。

[0033] 优选的，反应温度为  $-20^\circ$  至  $150^\circ$ ；步骤(1)、步骤(2)、步骤(4)和步骤(5)中反应试剂都选自苯、甲苯、氯仿、正己烷、环己烷、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷、甲基叔丁基醚、四氯化碳、乙酸乙酯、乙酸丙酯、乙酸丁酯、甲醇、乙醇、丙酮、四氢呋喃、乙醚、乙腈、N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜中的一种或几种；步骤(3)中反应溶剂选自水、1,4-二氧六环、丙酮、四氢呋喃、乙腈、N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜中的一种或几种。

[0034] 更优选的，步骤(1)、步骤(2)、步骤(4)和步骤(5)中反应溶剂都选自 N,N-二甲基甲酰胺、二氯甲烷、乙醇中的一种或几种，步骤(3)中反应溶剂选自水、1,4-二氧六环或其组合。

[0035] 本发明提供的制备方法中，步骤(1)中的“碱”选自氢氧化钠、三乙胺、二异丙基乙胺、1,8-二氮杂环[5,4,0]十一烯-7、碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钾或碳酸氢钠；优选氢氧化钠。

[0036] 本发明提供的制备方法中，步骤(2)中的“酸”选自盐酸、硫酸、硝酸、高氯酸、乙酸、三氟乙酸、苯磺酸、甲磺酸、三氟甲磺酸；优选三氟乙酸。

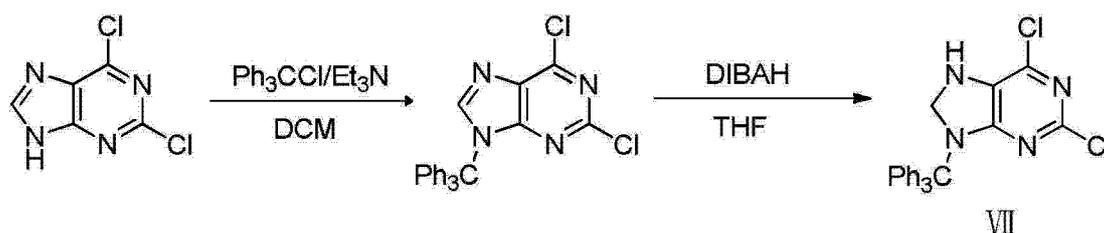
[0037] 本发明提供的制备方法中，步骤(3)中的“碱”选自氢氧化钠、氢氧化钾、碳酸钾、碳酸钠；优选氢氧化钠。

[0038] 本发明提供的制备方法中，步骤(4)中的“碱”选自三乙胺、二异丙基乙胺、1,8-二氮杂环[5,4,0]十一烯-7、碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钾或碳酸氢钠；优选碳酸钾、二异丙基乙胺或其组合。

[0039] 本发明提供的制备方法中，步骤(5)中一步反应制得目标产物 I 的“碱”选自氢氧化钠、碳酸钾或碳酸钠；优选氢氧化钠。步骤(5)中两步反应制得目标产物 I 的“碱”选自 1,8-二氮杂环[5,4,0]十一烯-7、三乙胺、二异丙基乙胺、碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钾或碳酸氢钠；优选碳酸氢钠。而“酸”选自盐酸、硫酸、硝酸、高氯酸、乙酸、三氟乙酸、苯磺酸、甲磺酸、三氟甲磺酸；优选三氟乙酸。

[0040] 本发明提供的制备方法中，步骤(1)中式 VII 的化合物可以市售获得，还可以参考文献 Organic Letters. 2010, 12(24):5724-27 制得。制备方法如下：以 2,6-二氯-9H-嘌呤为原料，在碱条件下使 9 位氮原子三苯甲基烷基化后，再用二异丁基氢化铝(DIBALH)还原 7 位氮上的双键，即得到式 VII 的化合物，反应式为：

[0041]



[0042] 本发明提供的嘌呤酮衍生物可以以其游离或盐的形式存在，当本发明化合物具备

游离碱的形式时,使化合物的游离碱形式与药学上可接受的无机或有机酸反应,可以制备本发明化合物的酸加成盐,这些盐包括但不限于:盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、磷酸盐、硫酸盐、硝酸盐、乙磺酸盐、甲苯磺酸盐和苯磺酸盐、乙酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、琥珀酸盐、柠檬酸盐、苯甲酸盐、抗坏血酸盐和水杨酸盐、丙二酸盐、己二酸盐、己酸盐、精氨酸盐、富马酸盐、烟酸盐、邻苯二甲酸盐、草酸盐、帕莫酸盐等。

[0043] 本发明还提供了一种药物组合物,包含药物有效量的结构通式 I 的嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物,以及药学上可接受的赋形剂或添加剂。本发明所述的组合物可以是液体、半液体或固体形式,按照适合于所用的给药途径的方式配制。本发明所述的组合物可以按照下列给药方式给药:口服、肠胃外、腹膜内、静脉内、透皮、舌下、肌内、直肠、口腔、鼻内、脂质体等方式。

[0044] 本发明还提供了结构通式 I 的嘌呤酮衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物在制备治疗或预防受益于 DPP-IV 抑制的疾病的药物中的应用。

[0045] 优选的,受益于 DPP-IV 抑制的疾病选自 II 型糖尿病、糖尿病性脂血异常、葡萄糖耐量减低症、禁食血浆葡萄糖减低症、代谢性酸中毒、酮症、食欲调节、肥胖症、各种癌症、神经系统病症、免疫系统病症等,优选地包括 II 型糖尿病和肥胖症,更优选地为 II 型糖尿病。

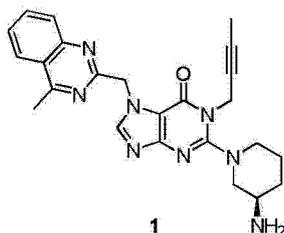
[0046] 本发明提供的上述嘌呤酮衍生物结构新颖、制备工艺简单、反应步骤少于对比文献,且原料易得,制备成本低,适合工业化大规模生产;并且经体外实验验证,本发明化合物对 DPP-IV 酶活性的抑制效果显著,且抑制作用要强于西他列汀、阿格列汀和对比文献的化合物 18o,因此本发明提供的化合物具有可观的应用开发前景。

## 具体实施方式

[0047] 下面结合具体实施例对本发明进行进一步说明,但本发明的保护范围不囿于如下实施例公开的范围,需要说明的是,下述实施例不能作为对本发明保护范围的限制,在本发明基础上做出的任何改进都不违背本发明的精神。

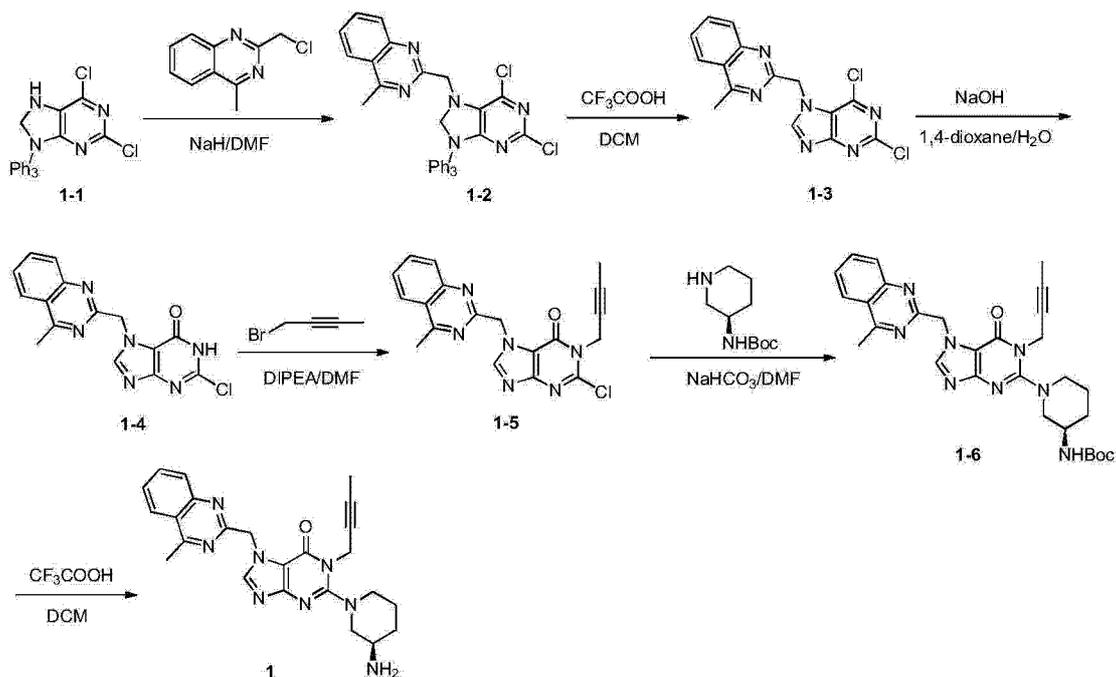
[0048] 实施例 1:制备化合物 1

[0049]



[0050] 化合物 1 可以通过以下反应路线,共 6 步骤获得:

[0051]



[0052] 步骤 1:将 0.72g (3.75mmol) 2-氯甲基-4-甲基咪唑啉固体溶于 7.5mL N,N-二甲基甲酰胺后,缓慢滴加入 1.08g (2.5mmol) 化合物 1-1 与 0.12g (3.0mmol) 60% 氢氧化钠的固体混合物中。室温下搅拌 2 小时后,将反应液倒入水中,搅拌。静置过夜后过滤,干燥,得到的固体化合物 1-2 粗品,不经纯化,直接投下一步反应。

[0053] ESI-MS  $m/z$ : 588.9 [M+H]<sup>+</sup>

[0054] 步骤 2:将 0.59g (1mmol) 化合物 1-2 溶于 6mL 二氯甲烷中,加入 0.97mL (13mmol) 三氟乙酸后室温下搅拌 1 小时。反应完全后,加入饱和碳酸钾溶液将反应液调至弱碱性,静置后分离出有机相并用无水硫酸钠干燥过夜。蒸干有机相,油状粗品经柱层析分离后得化合物 1-3。30g, 收率:86.9%。

[0055] ESI-MS  $m/z$ : 345.0 [M+H]<sup>+</sup>

[0056] 步骤 3:将 115mg (0.33mmol) 化合物 1-3 溶于 3.3mL 1,4-二氧六环中,加入 1N 氢氧化钠溶液 3.3mL, 100℃ 下回流搅拌 3 小时,原料全部消失。向反应液中加入 20mL 水,用乙酸调节溶液 pH 至 5~6,析出大量固体。静置、过滤、烘干得 102.2mg 化合物 1-4, 收率:95.0%。

[0057] ESI-MS  $m/z$ : 326.1 [M+H]<sup>+</sup>

[0058] 步骤 4:将 1.5g (4.6mmol) 化合物 1-4 溶于 23mL N,N-二甲基甲酰胺,依次加入 0.96mL (5.52mmol) 二异丙基乙胺,0.41mL (4.6mmol) 1-溴-2-丁炔,室温下搅拌 1 小时后原料全部消失。将反应液倒入大量水中,乙酸乙酯萃取,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥过夜。蒸除乙酸乙酯后,粗品柱层析分离,得 1.2g 化合物 1-5, 收率:66.2%。

[0059] ESI-MS  $m/z$ : 379.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0060] 步骤 5:将 379mg (1.0mmol) 化合物 1-5、288mg (1.2mmol) R-3-Boc-氨基哌啶、126mg (1.5mmol) 碳酸氢钠溶于 15mL N,N-二甲基甲酰胺中,100℃ 下搅拌 5 小时原料全部消失。将反应液倒入大量水中,析出固体。静置、过滤、烘干后,粗品柱层析分离得固体 486.7mg 化合物 1-6, 收率:89.6%。

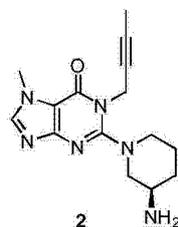
[0061] ESI-MS  $m/z$ :565.2[M+Na]<sup>+</sup>, 543.2[M+H]<sup>+</sup>

[0062] 步骤6:将260mg(0.48mmol)化合物1-6溶于5mL二氯甲烷中,加入0.47mL(6.24mmol)三氟乙酸后室温搅拌3小时,原料全部消失。加入饱和碳酸钾溶液将反应液调至弱碱性,分液后有机相用无水硫酸钠干燥过夜。蒸干二氯甲烷后,粗品柱层析分离得204.4mg淡黄色终产物,收率:96.1%。

[0063] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDC13)  $\delta$  8.12 - 7.94(m, 2H), 7.93 - 7.76(m, 2H), 7.59(t, 1H), 5.92(s, 2H), 4.73(s, 2H), 3.64(d, 1H), 3.47(s, 1H), 3.21(s, 1H), 2.98(d, 2H), 2.89(s, 3H), 2.66(s, 5H), 2.04(s, 1H), 1.86(s, 1H), 1.76(s, 4H), 1.45(s, 1H). <sup>13</sup>CNMR(75MHz, CDC1<sub>3</sub>)  $\delta$  169.13, 159.81, 156.30, 155.74, 149.71, 144.64, 133.75, 128.94, 127.49, 124.91, 123.18, 112.29, 79.80, 74.03, 57.96, 51.85, 51.28, 47.54, 35.24, 32.49, 23.17, 21.69, 3.62. ESI-MS  $m/z$ :443.2[M+H]<sup>+</sup>HRMS(ESI) calcd for [C<sub>24</sub>H<sub>27</sub>N<sub>8</sub>O+H]<sup>+</sup>443.2308, found443.2313.

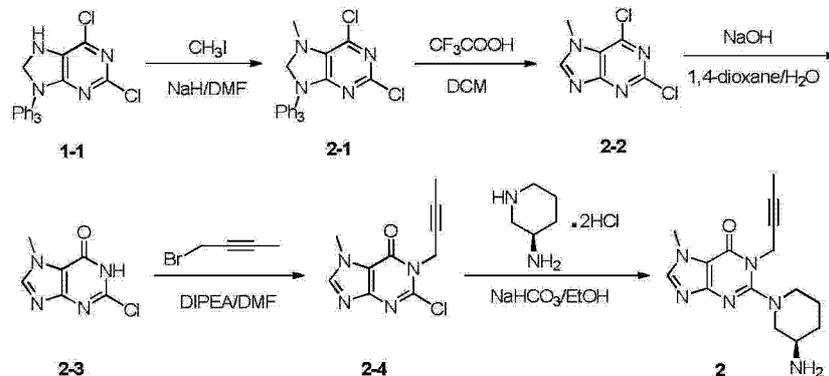
[0064] 实施例2:制备化合物2

[0065]



[0066] 化合物2可以通过以下反应路线,共5步骤获得:

[0067]



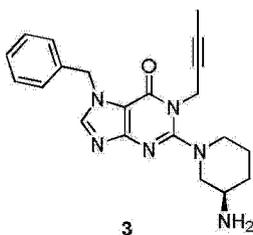
[0068] 步骤1~步骤4:制备方法与实施例1制备化合物1的方法相同,并将原步骤1中的2-氯甲基-4-甲基喹啉啉替换为碘甲烷。

[0069] 步骤5:将237mg(1mmol)化合物2-4,101mg(1.2mmol)碳酸氢钠,118mg(1.1mmol)R-3-氨基哌啶二盐酸盐溶于5mL乙醇中,加热回流搅拌4小时。反应完全,反应液减压浓缩,粗品用硅胶柱层析分离得到427mg化合物2,收率:96.3%。

[0070] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDC13)  $\delta$  7.51(t, 1H), 4.76(s, 2H), 3.71(s, 3H), 3.65(d, 1H), 3.44(s, 1H), 3.29(s, 1H), 2.80(d, 2H), 2.65(s, 5H), 2.04(s, 1H), 1.88(s, 1H), 1.71(s, 4H), 1.41(s, 1H). HRMS(ESI) calcd for [C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>O+H]<sup>+</sup>301.1600, found301.1609.

[0071] 实施例3:制备化合物3

[0072]

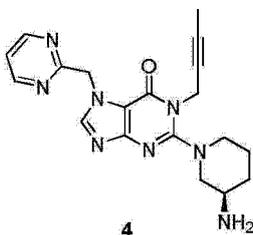


[0073] 制备方法与实施例 1 制备化合物 1 的方法相同,将原步骤 1 中的 2-氯甲基-4-甲基喹啉啉替换为苄基溴,即得到化合物 3。

[0074]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.99 - 7.71 (m, 5H), 7.59 (t, 1H), 5.92 (s, 2H), 4.77 (s, 2H), 3.69 (d, 1H), 3.41 (s, 1H), 3.22 (s, 1H), 2.93 (d, 2H), 2.55 (s, 5H), 2.12 (s, 1H), 1.90 (s, 1H), 1.77 (s, 4H), 1.44 (s, 1H). HRMS (ESI) calcd for  $[\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}+\text{H}]^+$  377. 2013, found 377. 2015.

[0075] 实施例 4 :制备化合物 4

[0076]

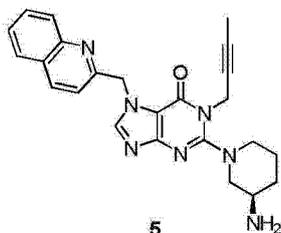


[0077] 制备方法与实施例 1 制备化合物 1 的方法相同,将原步骤 1 中的 2-氯甲基-4-甲基喹啉啉替换为 2-氯甲基咪唑,即得到化合物 4。

[0078] HRMS (ESI) calcd for  $[\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_8\text{O}+\text{H}]^+$  379. 1996, found 379. 1994.

[0079] 实施例 5 :制备化合物 5

[0080]

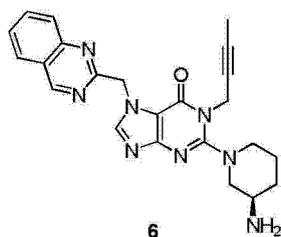


[0081] 制备方法与实施例 1 制备化合物 1 的方法相同,将原步骤 1 中的 2-氯甲基-4-甲基喹啉啉替换为 2-氯甲基吲哚,即得到化合物 5。

[0082] HRMS (ESI) calcd for  $[\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_7\text{O}+\text{H}]^+$  428. 2197, found 428. 2199.

[0083] 实施例 6 :制备化合物 6

[0084]



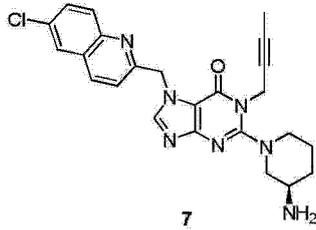
[0085] 制备方法与实施例 1 制备化合物 1 的方法相同,将原步骤 1 中的 2-氯甲基-4-甲

基喹啉替换为 2- 氯甲基喹啉,即得到化合物 6。

[0086] HRMS (ESI) calcd for  $[C_{23}H_{24}N_8O+H]^+$  429. 2152, found 429. 2155.

[0087] 实施例 7 :制备化合物 7

[0088]

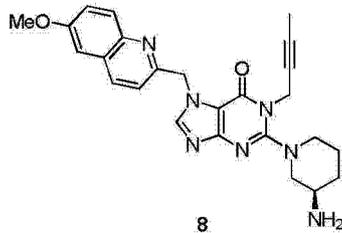


[0089] 制备方法与实施例 1 制备化合物 1 的方法相同,将原步骤 1 中的 2- 氯甲基 -4- 甲基喹啉替换为 6- 氯 -2- 氯甲基喹啉,即得到化合物 7。

[0090] HRMS (ESI) calcd for  $[C_{24}H_{24}ClN_7O+H]^+$  462. 1810, found 462. 1813.

[0091] 实施例 8 :制备化合物 8

[0092]

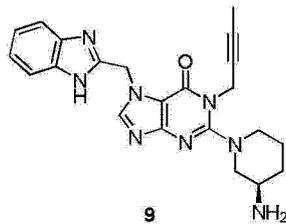


[0093] 制备方法与实施例 1 制备化合物 1 的方法相同,将原步骤 1 中的 2- 氯甲基 -4- 甲基喹啉替换为 6- 甲氧基 -2- 氯甲基喹啉,即得到化合物 8。

[0094] HRMS (ESI) calcd for  $[C_{25}H_{27}N_7O_2+H]^+$  458. 2306, found 458. 2307.

[0095] 实施例 9 :制备化合物 9

[0096]



[0097] 制备方法与实施例 1 制备化合物 1 的方法相同,将原步骤 1 中的 2- 氯甲基 -4- 甲基喹啉替换为 2- 氯甲 -1H- 苯并咪唑,即得到化合物 9。

[0098] HRMS (ESI) calcd for  $[C_{22}H_{24}N_8O+H]^+$  417. 2155, found 417. 2157.

[0099] 实施例 10 :嘌呤酮衍生物的体外活性实验

[0100] 本发明提供的化合物对 DPP-IV 的抑制率可以用 DPP-IV-Glo 蛋白水解酶的均相发光检测系统 (DPP4Inhibitor Screening Kit, BioVision cat#K780-100) 测定。该系统含有 DPP-IV 底物 Gly-Pro- 氨基荧光素和荧光素酶活性检测的缓冲液系统, DPP-IV-Glo 被 DPP-IV 切割后会激活荧光素酶反应,产生“glow-type”型发光信号,再用 Thermo Scientific Nunc96black W/Lid cell culture 光度计检测发光信号即可表征 DPP-IV 的活性。

[0101] 实验目的 :测定本发明化合物对 DPP-IV 酶的抑制活性以及选择性抑制作用。

[0102] 实验材料：

[0103] 本发明实施例 1～9 制得的目标化合物 1～9；对照化合物：西他列汀、阿格列汀、对比文献的化合物 18o。

[0104] 检测试剂盒：DPP4Inhibitor Screening Kit (Fluorometric)。

[0105] 实验方法：

[0106] (1) 配制样品：称取实施例化合物 2mg，加入 DMSO 溶解配成 2mM 储备液，然后用纯水梯度稀释至 10 倍的加样浓度，最后用试剂盒中的缓冲液 1:10 至加样浓度。

[0107] (2) 配制对照品：称取对照化合物 3mg，加入 DMSO 溶解配成 2mM 的储备液，用纯水梯度稀释至 800nM，最后用试剂盒提供的缓冲液 1:10 稀释至 80nM 的加样浓度。

[0108] (3) 实验步骤：

[0109] ① DPP4 酶反应液的配制：1u1 DPP-4 储备液 +49u1 缓冲液，每孔加入 50u1。

[0110] ② DPP4 底物反应液配制：2u1 底物储备液 +23u1 缓冲液，每孔加入 25u1。

[0111] ③采用黑色 96 孔板进行加样，每孔依次加入 50u1 DPP4 反应液和 25u1 缓冲液 (control 组)、对照品化合物(对照组) 或不同浓度的实施例化合物，37℃孵育 10min。

[0112] ④最后每个孔加入 25u1 DPP4 底物反应液，37℃，Ex=360，Em=460，使用全波长酶标仪(厂家：Molecular Device；型号：spectramax i3) 检测 RFU 值。

[0113] (4) 统计方法：根据下列公式计算抑制率：

[0114]

$$\text{抑制率}\% = \frac{(\Delta RFU_{\text{control}} - \Delta RFU_{\text{样品}})}{\Delta RFU_{\text{control}}}$$

[0115] 实验结果：酶活性抑制 IC<sub>50</sub> 的数据详见下表

[0116]

化合物编号	酶活性抑制 IC <sub>50</sub>	化合物编号	酶活性抑制 IC <sub>50</sub>
实施例 1	15nM	实施例 2	45nM
实施例 3	67nM	实施例 4	33nM
实施例 5	40nM	实施例 6	20nM
实施例 7	32nM	实施例 8	41nM
实施例 9	79nM	西他列汀	20nM
阿格列汀	24nM	对比文献化合物 18o	30nM

[0117] 实验结果说明：

[0118] 从上表可见，上市药物西他列汀、阿格列汀对 DPP-IV 酶的抑制活性相近，对比文献化合物 18o 对 DPP-IV 酶的抑制活性略低于前述的两个上市药物。本发明提供的实施例 1～9 化合物也对 DPP-IV 具有非常好的抑制作用，部分化合物酶活性的抑制作用接近于阳性对照药西他列汀、阿格列汀和对比文献化合物 18o；其中，实施例 1 的活性要强于所有三个阳性药物；实施例 6 的活性要强于阿格列汀和对比文献化合物 18o，与西他列汀相当。因

此可以预见本发明提供的化合物在进一步开发后,会具有非常好的应用价值。