



(21) 申请号 201780070039.2

C07D 471/02 (2006.01)

(22) 申请日 2017.09.11

A61K 31/4375 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61K 31/435 (2006.01)

申请公布号 CN 110248934 A

A61P 35/00 (2006.01)

(43) 申请公布日 2019.09.17

A61P 11/06 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61P 17/06 (2006.01)

62/393,209 2016.09.12 US

A61P 19/02 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(56) 对比文件

2019.05.13

US 2009143368 A1,2009.06.04

(86) PCT国际申请的申请数据

US 2006211680 A1,2006.09.21

PCT/US2017/050886 2017.09.11

CN 101674727 A,2010.03.17

(87) PCT国际申请的公布数据

CN 104470919 A,2015.03.25

W02018/049296 EN 2018.03.15

CN 105820058 A,2016.08.03

(73) 专利权人 帕德罗科治疗公司

CN 105315333 A,2016.02.10

地址 美国新泽西州

Vibhavari Sail等. Identification of Small Molecule Hes1 Modulators as Potential Anticancer Chemotherapeutics. 《Chem Biol Drug Des》.2012,

(72) 发明人 R. 德夫拉伊 G. 库马拉维尔

Robert Bruce Moffett. Claisen

C. 莱奇 P. 洛克 M. 梅尼科尼

Rearrangement of Allyloxypyridines. 《The Journal of Organic Chemistry》.1963,2885-2886.

N. 蒙克 C. 诺尔思 M. 里奇尔

H. 泰

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

V V Kalashnikov等. Features of Reaction of Aromatic Nitro-Substituted Aldehydes with Ketones on the Matrix of 2 (1H)-Pyridone. 《Russian Journal of General Chemistry》.2009,1201-1203.

司 72001

专利代理师 徐晶 梅黎

审查员 张旋

(51) Int. Cl.

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 215/227 (2006.01)

C07D 401/06 (2006.01)

C07D 403/06 (2006.01)

权利要求书9页 说明书120页

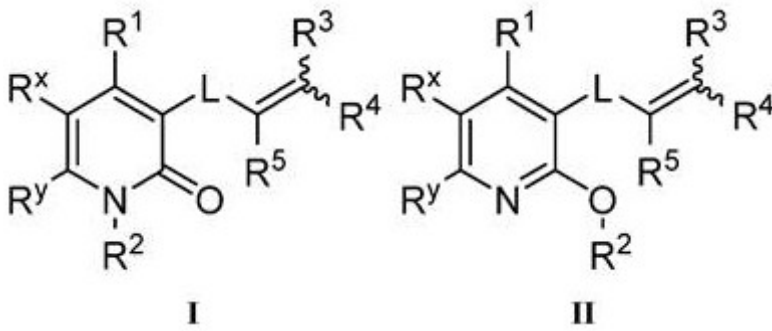
(54) 发明名称

杂芳基PAD4抑制剂

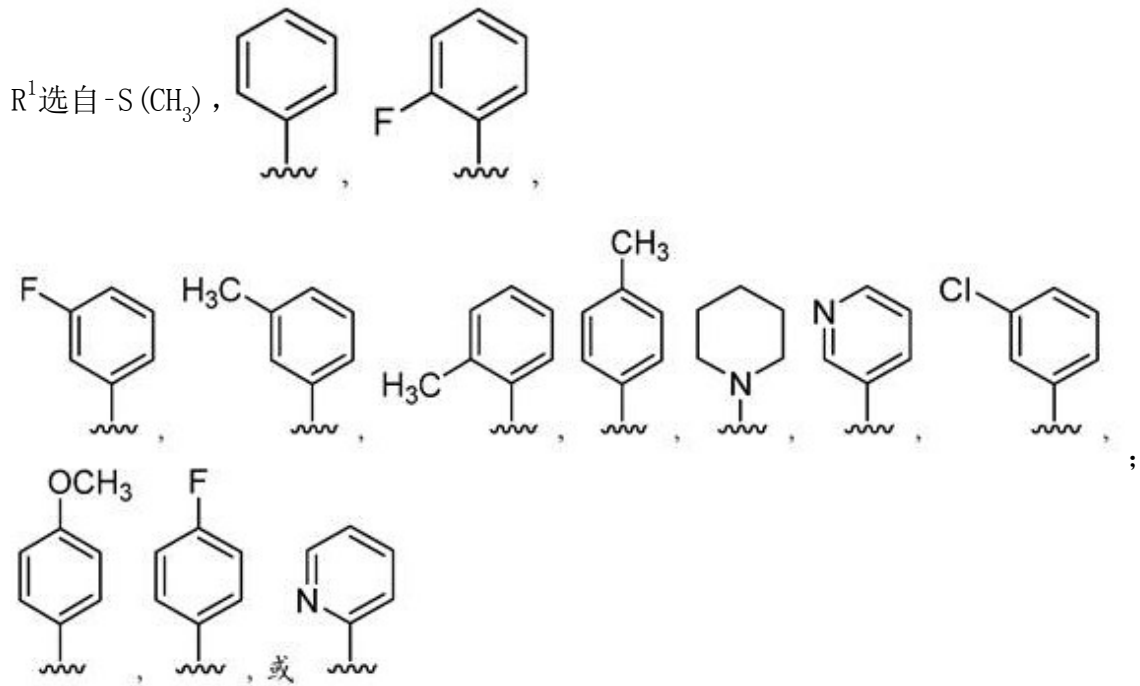
(57) 摘要

本发明提供可用作PAD4抑制剂的化合物、其组合物以及治疗PAD4相关病症的方法。

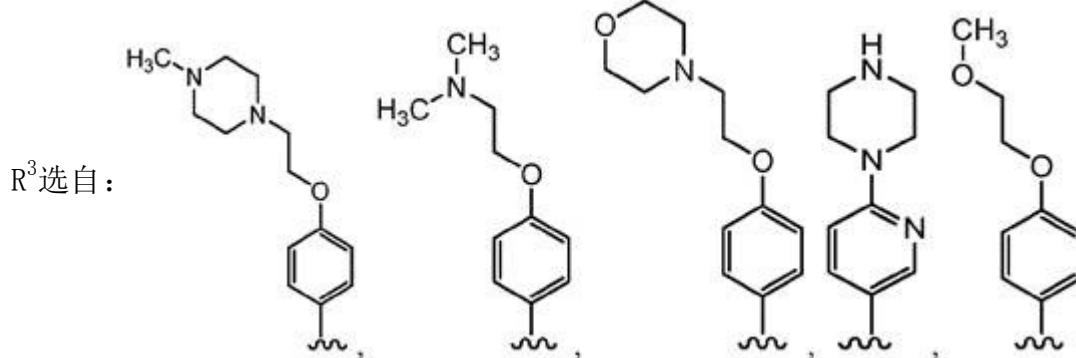
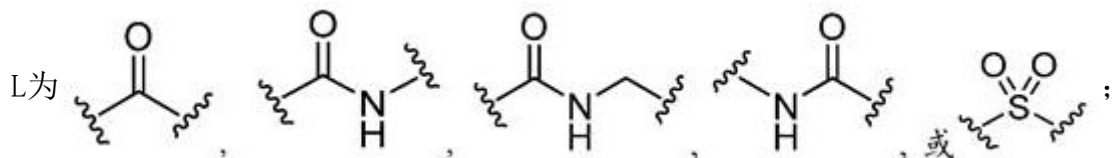
1. 式I或式II的化合物:

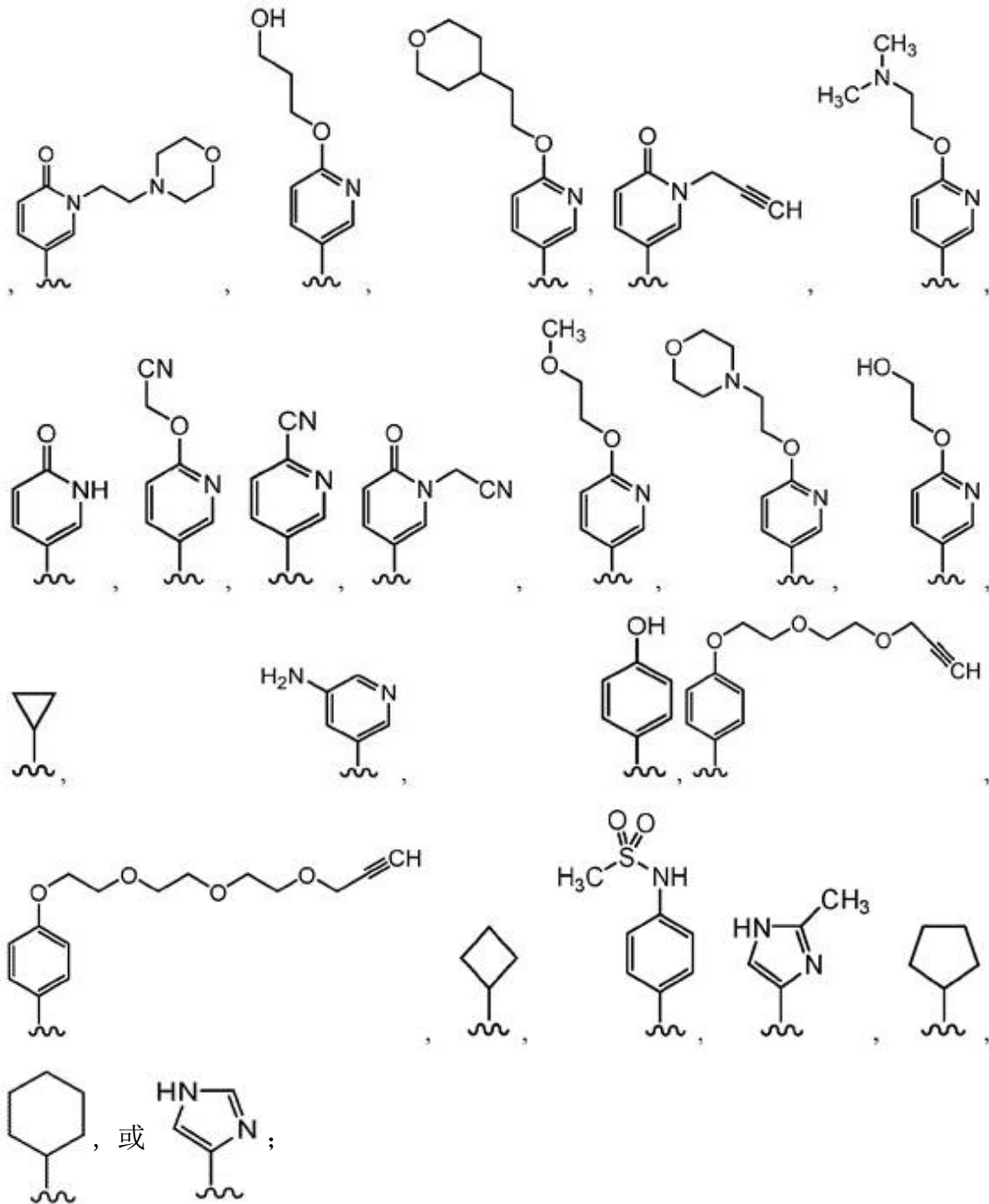


或其药学上可接受的盐,其中:



R²为氢或任选取代的C₁₋₆-脂族基团;



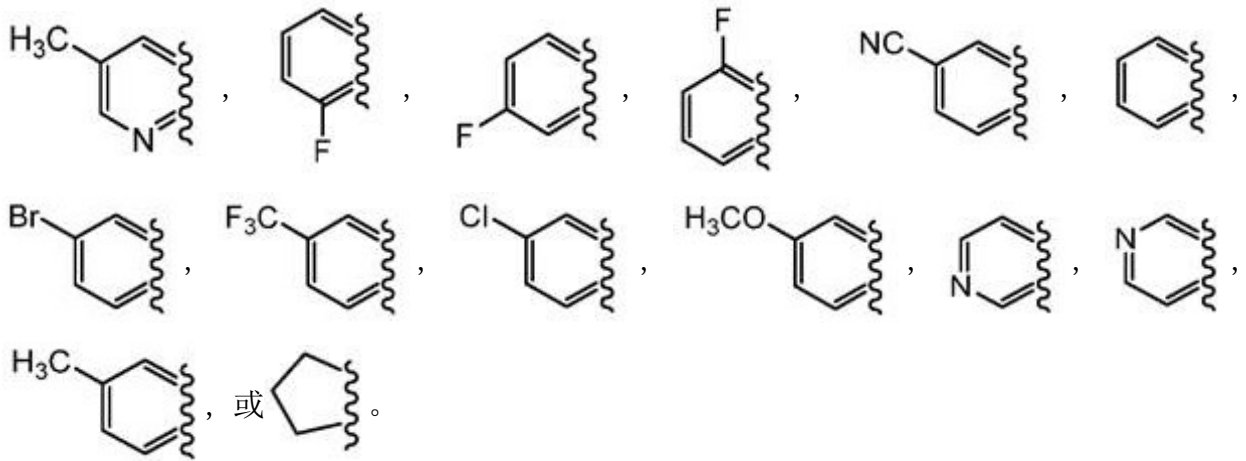


R⁴为R或-C(O)OR;

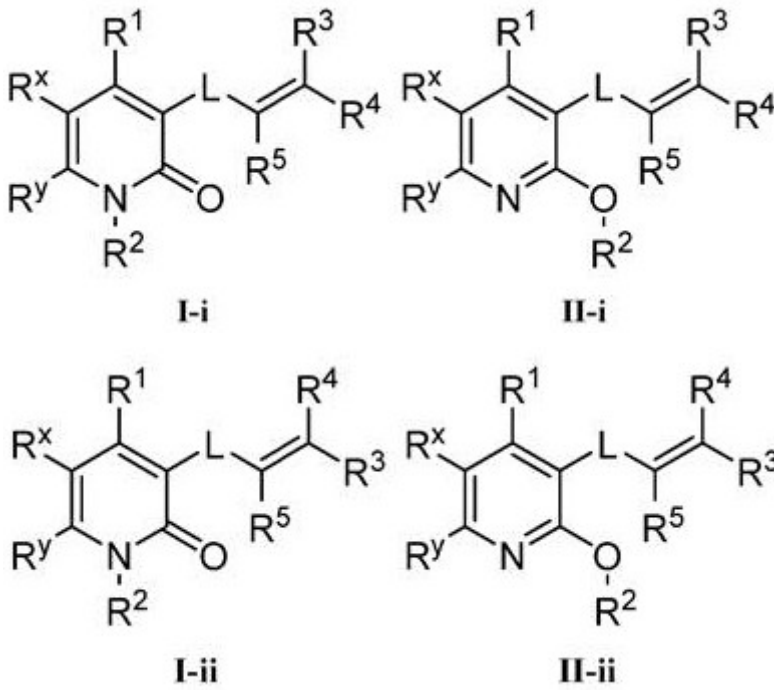
每个R独立地为氢或任选被1-3个氟原子取代的C₁₋₆脂族基团;

R⁵为氢或CN;和

R^x和R^y与它们的插入原子一起形成 , ,

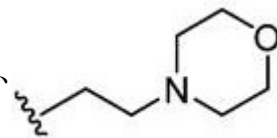


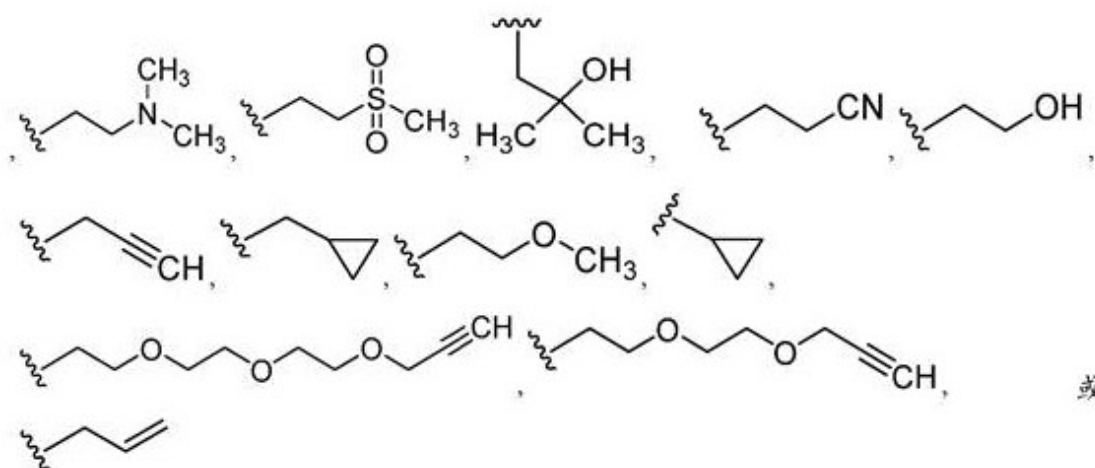
2. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物选自式I-i、I-ii、II-i或II-ii中的任何一个:



或其药学上可接受的盐。

3. 根据权利要求1所述的化合物,其中R²为H、甲基、乙基、

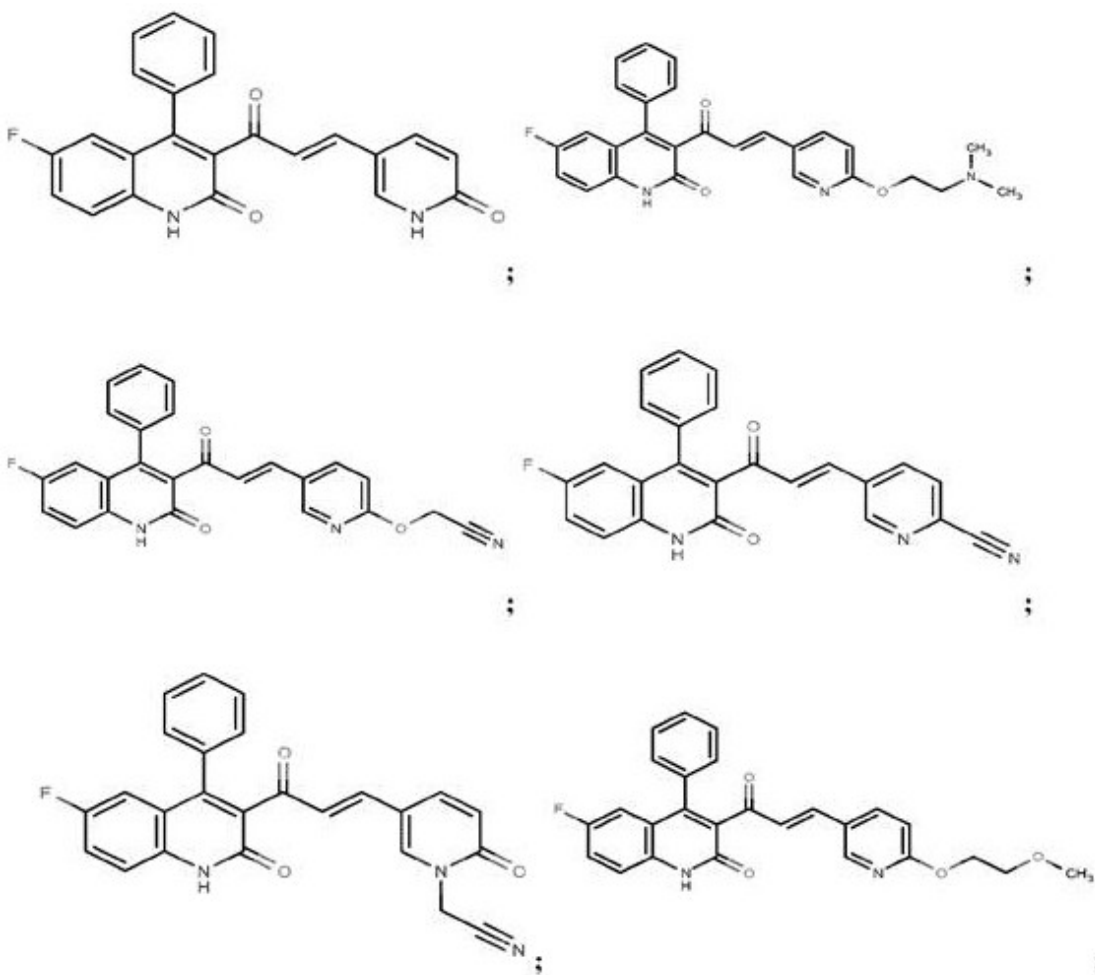


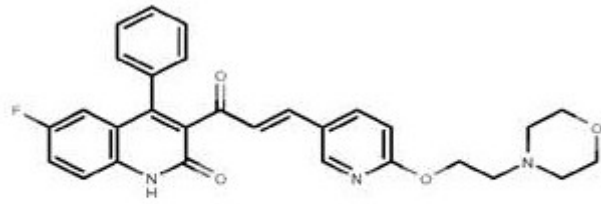


或

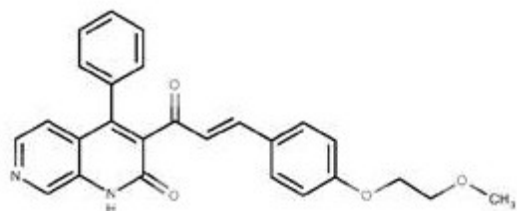
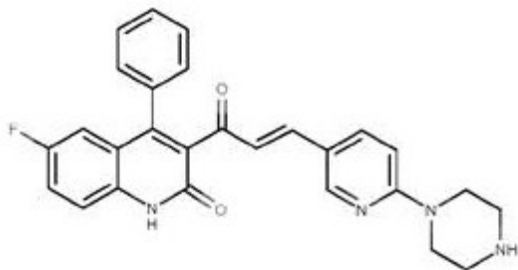
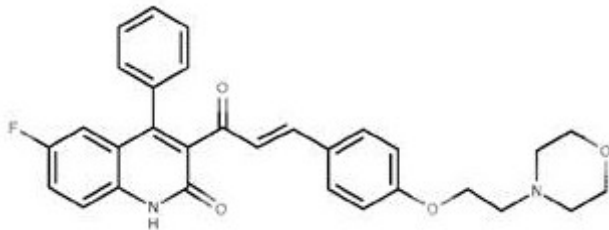
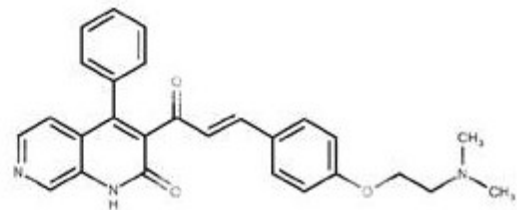
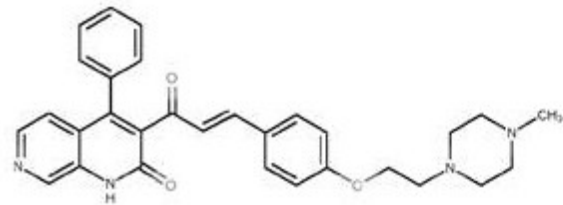
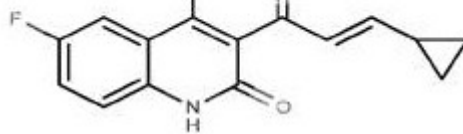
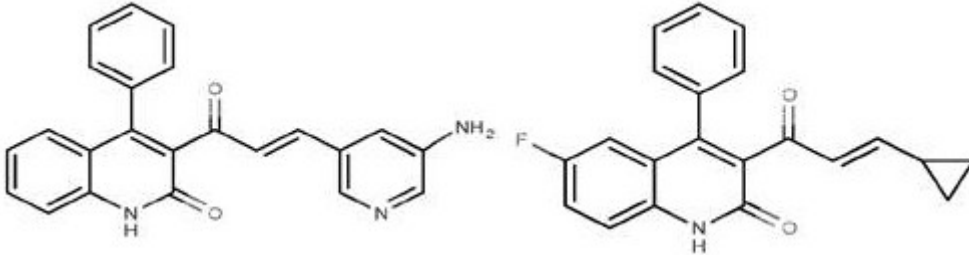
4. 根据权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中 R^4 为H、 CH_3 或 $-C(O)OR$ 。

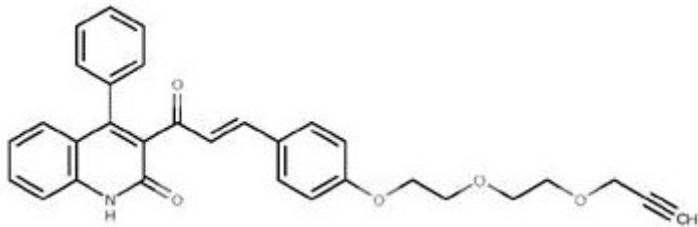
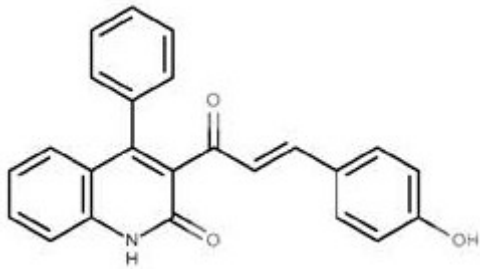
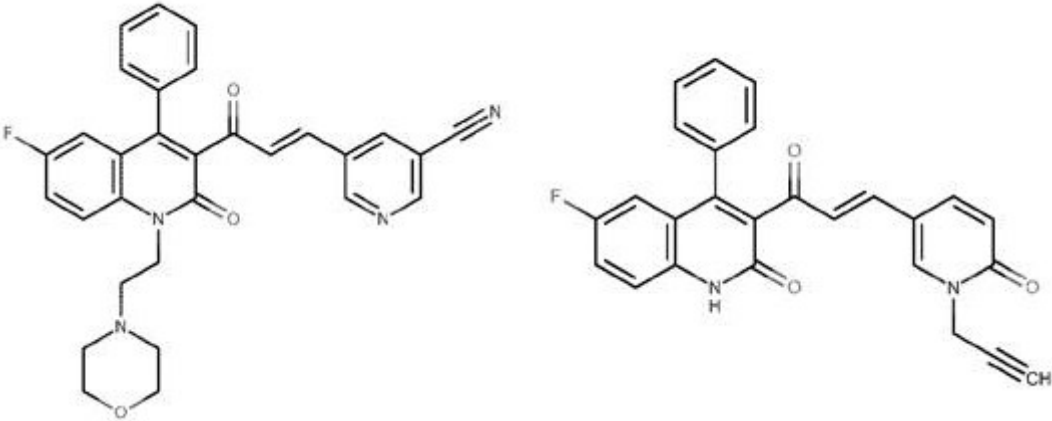
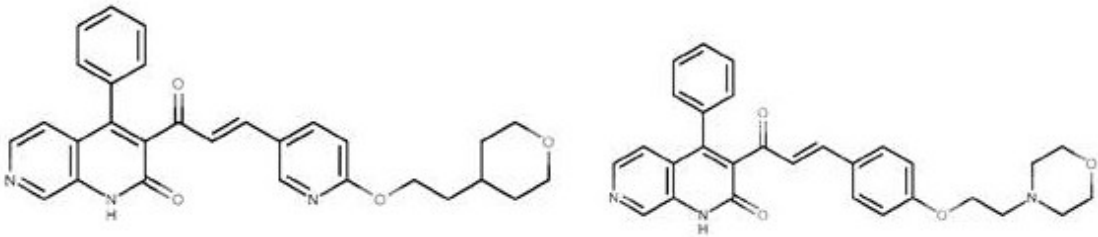
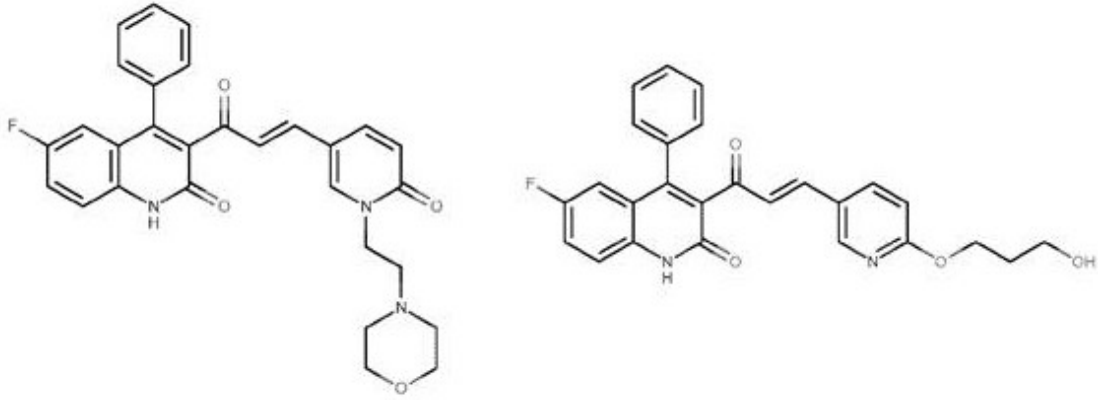
5. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物选自:

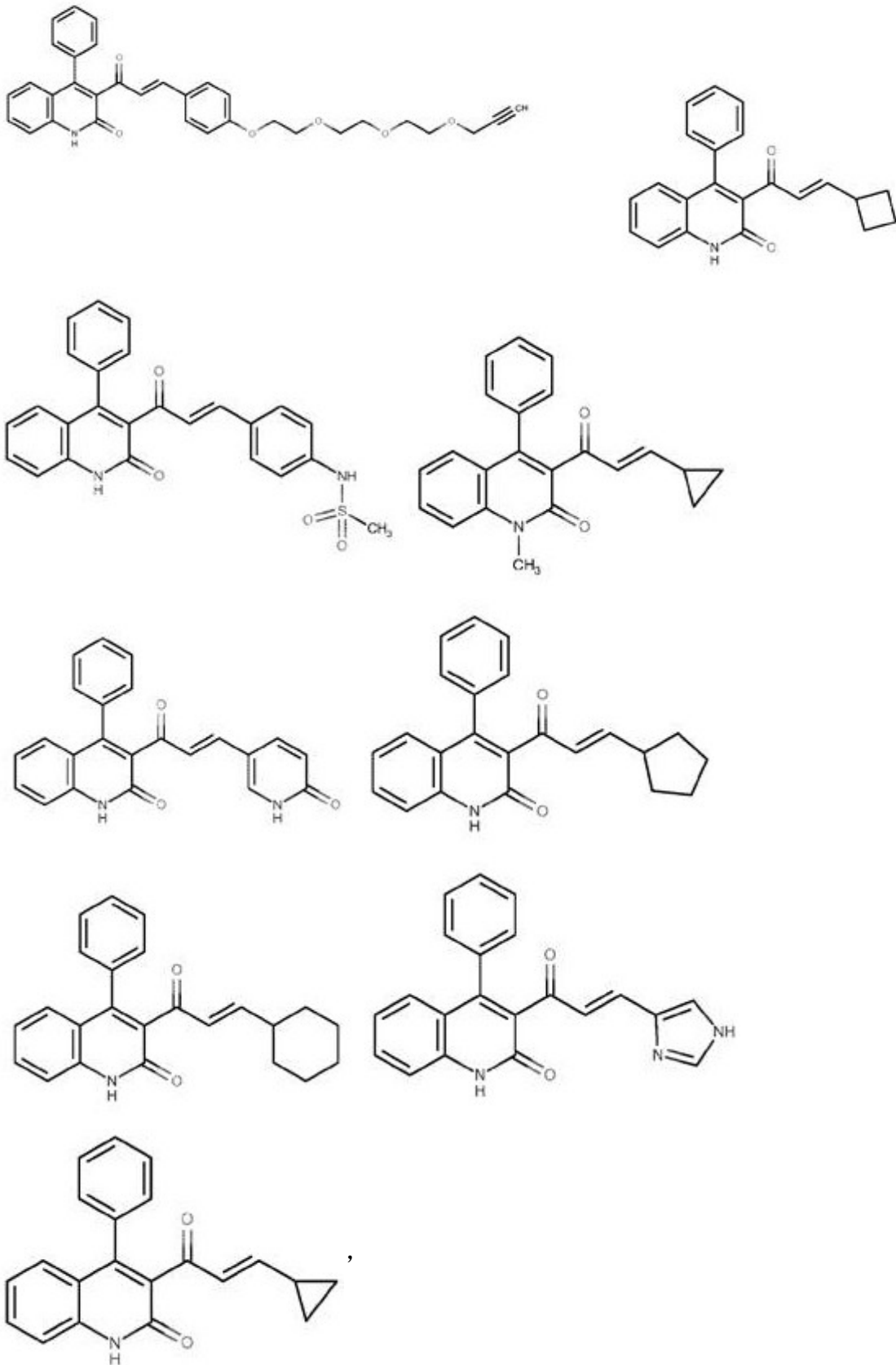




;







或其药学上可接受的盐。

6. 一种药学上可接受的组合物,其包含根据权利要求1至5中任一项所述的化合物和药学上可接受的载体、佐剂或溶媒。

7. 根据权利要求6所述的组合物,其与另外的治疗剂组合。

8. 用于PAD4介导的疾病、病症或病状的治疗用途的根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,所述PAD4介导的疾病、病症或病状选自:酸诱发的肺损伤、痤疮(PAPA)、急性淋巴细胞白血病、急性呼吸窘迫综合征、艾迪生病(Addison's disease)、肾上腺增生、肾上腺皮质功能不全、衰老、AIDS、酒精性肝炎、过敏原诱发的哮喘、过敏性支气管肺炎、曲霉病、过敏性结膜炎、脱发、阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)、淀粉样变性、肌萎缩侧索硬化、体重减轻、心绞痛、血管性水肿、无汗外胚叶发育不良-ID、强直性脊柱炎、前节(anterior segment)、抗磷脂综合征、口疮性口炎、阑尾炎、哮喘、动脉粥样硬化、异位性皮炎、自身免疫性肝炎、蜂螫伤诱发的炎症、贝切特氏病(Behcet's disease)、贝尔氏麻痹症(Bells Palsey)、铍中毒、布劳综合征(Blau syndrome)、骨疼痛、细支气管炎、烧伤、滑囊炎、心肌肥大、腕管综合征、异化代谢病症、白内障、脑动脉瘤、化学刺激物诱发的炎症、脉络膜视网膜炎、慢性心力衰竭、早产儿慢性肺病、慢性淋巴细胞白血病、慢性阻塞性肺病、结肠炎、复杂性区域疼痛综合征、结缔组织疾病、角膜溃疡、克罗恩氏病(crohn's disease)、Cryopyrin蛋白相关周期性综合征、隐球菌病、囊性纤维化、白介素-1-受体拮抗剂缺乏(DIRA)、皮炎内毒素血症、皮炎、弥漫型内因性脑桥胶质瘤、子宫内膜异位症、内毒素血症、上颌炎、幼红细胞减少症、家族性淀粉样多发性神经病、家族性冷荨麻疹、家族性地中海热、胎儿生长迟滞、青光眼、肾小球疾病、痛风、痛风性关节炎、移植物抗宿主病、头损伤、头痛、听力损失、心脏病、溶血性贫血、亨舍二氏紫癜(Henoch-Scholein purpura)、遗传性周期性发热综合征、带状疱疹和单纯疱疹、HIV-1、霍奇金病(Hodgkin's disease)、亨廷顿氏病(Huntington's disease)、透明膜病、高氨血症、高钙血症、高胆固醇血症、高免疫球蛋白血症D伴反复发热(HIDS)、发育不全和其他贫血、特发性血小板减少紫癜、色素失禁症、感染性单核细胞增多症、炎症性肠病、炎症性肺病、炎症性神经病、炎症性疼痛、昆虫咬伤诱发的炎症、虹膜炎、刺激物诱发的炎症、缺血/再灌注、青少年型类风湿性关节炎、角膜炎、由寄生虫感染引起的肾损伤、肾移植排斥预防、钩端螺旋体病、白血病、吕弗勒氏综合征(Loeffler's syndrome)、肺损伤、狼疮、狼疮性肾炎、淋巴瘤、脑膜炎、间皮瘤、混合结缔组织疾病、穆-韦二氏综合征(Muckle-Wells syndrome)、多发性硬化、肌肉萎缩、肌营养不良症、重症肌无力、心肌炎、蕈样霉菌病、骨髓发育不良综合征、肌炎、鼻窦炎、坏死性小肠结肠炎、新生儿期发病的多系统炎症性疾病(NOMID)、肾病综合征、神经炎、非过敏原诱发的哮喘、肥胖症、眼睛过敏、视神经炎、骨关节炎、中耳炎、佩吉特氏病(paget's disease)、胰腺炎、帕金森氏病(Parkinson's disease)、天疱疮、心包炎、周期性发热、牙周炎、腹膜型子宫内膜异位症、百日咳、咽炎和腺炎(PFAPA综合征)、植物刺激物诱发的炎症、肺炎(pneumonia)、肺囊虫(pneumocystis)感染、毒葛(poison ivy)/漆酚油诱发的炎症、结节性多动脉炎、多软骨炎、多囊性肾病、多发性肌炎、牛皮癣、心理社会应激疾病、肺高血压、肺纤维化、坏疽性脓皮病、化脓性无菌关节炎、视网膜疾病、风湿性心炎、类风湿性关节炎、结节病、皮脂溢、败血症、镰状细胞、镰状细胞贫血、二氧化硅诱发的疾病、薛格连氏综合征(Sjogren's syndrome)、睡眠呼吸暂停、实体瘤、骨髓损伤、史蒂芬-强森综合征(Stevens-Johnson syndrome)、中风、蛛网膜下出血、晒伤、颞动脉炎、腱鞘炎、血小板减少症、甲状腺炎、TNF受体相关周期性综合征(TRAPS)、弓形虫症、创伤性脑损伤、肺结核、1型糖尿病、2型糖尿病、溃疡性结肠炎、荨麻疹、眼色素层炎和韦格纳氏肉芽肿(Wegener's granulomatosis)。

9. 根据权利要求8所述的用于用途的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述PAD4介导的疾病、病症或病状选自类风湿性关节炎、血管炎、全身性红斑狼疮、溃疡性结肠炎、囊性纤维化、哮喘、皮肤红斑狼疮、酒精性肝病、关节炎、自身免疫疾病、皮炎、肾小球肾炎、肝炎、发育不全性贫血、荨麻疹耳聋淀粉样变性、神经病理学疾病、局限性肺炎(pneumonitis)、风湿性疾病和牛皮癣。

杂芳基PAD4抑制剂

[0001] 发明背景

[0002] PAD4是能够在肽序列内催化精氨酸到瓜氨酸的瓜氨酸化的酶的肽基精氨酸脱亚胺酶 (PAD) 家族的成员。PAD4负责各种蛋白在体外和体内的脱亚胺化或瓜氨酸化,其结果为各种疾病中的不同功能反应 (Jones J.E.等人, *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.*, 12 (5), (2009), 616-627)。示例性疾病的实例包括类风湿性关节炎、嗜中性细胞对发病具有贡献的疾病 (例如血管炎、全身性红斑狼疮、溃疡性结肠炎) 以及肿瘤学适应症。PAD4抑制剂还作为通过表观遗传机制用于人类疾病的工具及治疗剂具有较宽适用性。

[0003] PAD4抑制剂具有对抗类风湿性关节炎 (RA) 的用途。RA是影响大约1%的群体的自身免疫疾病 (Wegner N.等人, *Immunol. Rev.*, 233 (1) (2010), 34-54)。其特征导致骨和软骨衰弱性破坏的关节炎。尽管不一致,已在诸多群体研究中展现PAD4多型性与RA易感性之间的弱基因相关性 (Kochi Y.等人, *Ann. Rheum. Dis.*, 70, (2011), 512-515)。已在滑液组织中检测到PAD4 (以及家族成员PAD2), 其中其负责各种关节蛋白的脱亚胺化。该过程被认为导致对RA关节中的瓜氨酸化底物 (诸如纤维蛋白原、波形蛋白和胶原) 的耐受性破坏且引发对其的免疫反应。这些抗瓜氨酸化蛋白抗体 (ACPA) 导致疾病发病且也可用于RA的诊断测试 (例如市售的CCP2或环状瓜氨酸化蛋白2测试)。另外,通过其直接影响几种关节和炎性介体 (例如纤维蛋白原、抗凝血酶、多种趋化因子) 的功能的能力,增加的瓜氨酸化也可向疾病发病提供额外直接贡献。在较小的RA患者子集中,可测量抗PAD4抗体且可与疾病的更具侵蚀性形式关联。

[0004] PAD4抑制剂也可用于减小各种疾病中的病理学嗜中性粒细胞活性。研究表明,嗜中性粒细胞细胞外捕集 (NET) 形成的过程 (嗜中性粒细胞能够固定并杀死病原体的先天性防御机制) 与组蛋白瓜氨酸化相关并在PAD4敲除小鼠中是缺失的 (Neeli I.等人, *J. Immunol.*, 180, (2008), 1895-1902和Li P.等人, *J. Exp. Med.*, 207 (9), (2010), 1853-1862)。PAD4抑制剂可因此适用于其中组织中的NET形成造成局部损伤和疾病病理学的疾病。此类疾病包括但不限于小血管炎 (Kessenbrock K.等人, *Nat. Med.*, 15 (6), (2009), 623-625)、全身性红斑狼疮 (Hakkim A.等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107 (21), (2010), 9813-9818和Villanueva E.等人, *J. Immunol.*, 187 (1), (2011), 538-52)、溃疡性结肠炎 (Savchenko A.等人, *Pathol. Int.*, 61 (5), (2011), 290-7)、囊性纤维化、哮喘 (Dworski R.等人, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 127 (5), (2011), 1260-6)、深层静脉血栓形成 (Fuchs T.等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107 (36), (2010), 15880-5)、牙周炎 (Vitkov L.等人, *Ultrastructural Pathol.*, 34 (1), (2010), 25-30)、败血症 (Clark S.R.等人, *Nat. Med.*, 13 (4), (2007), 463-9)、阑尾炎 (Brinkmann V.等人, *Science*, 303, (2004), 1532-5) 和中风。另外,有证据证明,NET可造成影响皮肤的疾病中的病理学 (例如皮肤红斑狼疮 (Villanueva E.等人, *J. Immunol.*, 187 (1), (2011), 538-52) 和牛皮癣 (Lin A.M.等人, *J. Immunol.*, 187 (1), (2011), 490-500), 所以PAD4抑制剂在通过全身性或皮肤途径给药时可显示解决NET皮肤病的益处。PAD4抑制剂可影响嗜中性粒细胞内的其他功能并对嗜中性粒细胞疾病具有较宽适用性。

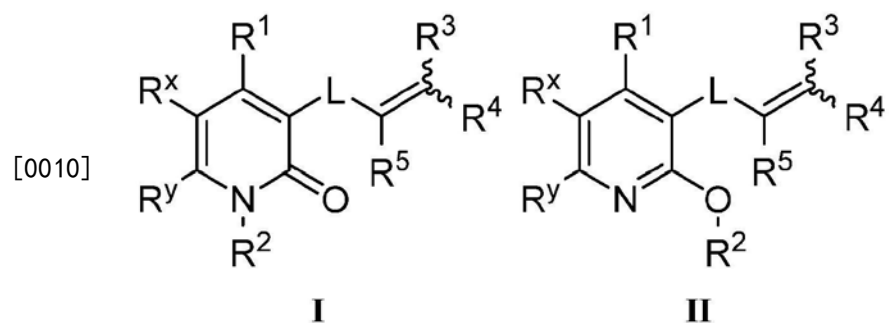
[0005] 研究已表明,工具PAD4抑制剂(例如氯代-脒)在许多动物疾病模型(包含胶原诱导的关节炎(Willis V.C.等人,J.Immunol.,186(7),(2011),4396-4404)、葡聚糖硫酸钠(DSS)诱发的实验性结肠炎(Chumanevich A.A.等人,Am.J.Physiol.Gastrointest.LiverPhysiol.,300(6),(2011),G929-G938)、脊髓修复(Lange S.等人,Dev.Biol.,355(2),(2011),205-14)和实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE))中的效力。DSS结肠炎报告也表明,氯代-脒驱动炎性细胞在体外和体内的细胞凋亡,表明PAD4抑制剂可更通常在广泛的炎性疾病中是有效的。

[0006] PAD4抑制剂也可用于治疗癌症(Slack.J.L.等人,Cell.Mol.Life Sci.,68(4),(2011),709-720)。PAD4的过表达已证明于许多癌症中(Chang X.等人,BMC Cancer,9,(2009),40)。已从如下观察表明PAD4抑制剂的抗增殖性作用:PAD4使在p53-靶基因(诸如p21)的启动子处组蛋白中的精氨酸残基瓜氨酸化,所述靶基因参与细胞周期停滞和细胞凋亡的诱导(Li P.等人,Mol.Cell Biol.,28(15),(2008),4745-4758)。

[0007] PAD4在使组蛋白中的精氨酸残基脱亚胺化中的上述作用可表明PAD4在基因表达的表观遗传调控中的作用。PAD4是发现驻留于细胞核以及细胞质中的主要PAD家族成员。PAD4可充当组蛋白脱甲基亚氨酶以及脱亚胺酶的早期证据不一致且未证实。然而,可经由通过转化为瓜氨酸以消耗可用精氨酸残基来间接减小组蛋白精氨酸甲基化(和因此与该标记相关的表观遗传调控)。PAD4抑制剂可用作影响其他疾病环境中的不同靶基因的表达的表观遗传工具或治疗剂。通过此类机制,PAD4抑制剂也可有效控制干细胞中的瓜氨酸化水平且可因此在治疗上影响不同干细胞(包括,但不限于,胚胎干细胞、神经干细胞、造血干细胞和癌症干细胞)的多能性状态和分化潜力。因此,仍然存在鉴定和开发用于治疗PAD4-介导的病症的PAD4抑制剂的未满足的需求。

[0008] 发明概述

[0009] 现已发现式I和II的化合物或其药学上可接受的盐可用作PAD4抑制剂:



[0011] 其中L、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R^x和R^y中的每一个如本文所定义和描述。

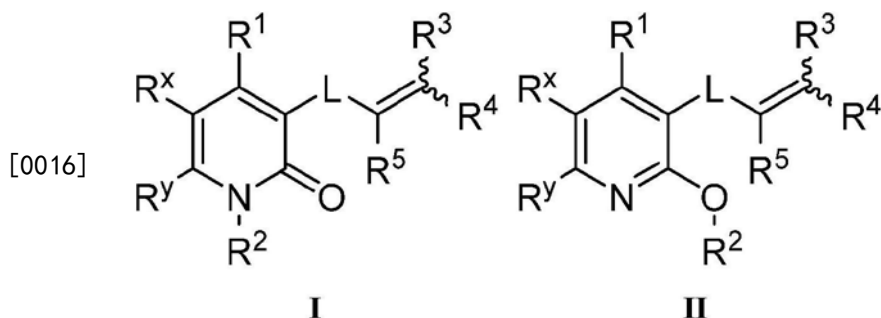
[0012] 在一些实施方案中,所提供化合物相对于PAD2显示出对PAD4的选择性。本发明还提供了包含所提供的化合物的药学上可接受的组合物。所提供的化合物可用于治疗各种与PAD4相关的病症。此类病症详细描述于本文中且包括,例如,类风湿性关节炎、血管炎、全身性红斑狼疮、溃疡性结肠炎、癌症、囊性纤维化、哮喘、皮肤红斑狼疮和牛皮癣。

[0013] 发明详述

[0014] 1. 本发明的某些方面的一般描述

[0015] 在一些实施方案中,这样的化合物包括具有本文所述的式的那些化合物或其药学上可接受的盐,其中各变量如本文中所定义且描述于实施方案中。这样的化合物具有式I或

式II或其药学上可接受的盐的结构:



[0017] 其中:

[0018] R^1 为氢或任选取代的基团,所述任选取代的基团选自脂族基团,苯基,具有1-3个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元单环杂芳基环,或具有1-2个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的4-7元单环饱和或部分不饱和杂环;

[0019] R^2 为氢或任选取代的 C_{1-6} 脂族基团;

[0020] L为共价键或 C_{1-6} 二价烃链,其中L的一个或两个亚甲基单元任选且独立地被-C(O)-、-C(O)NH-、-NHC(O)-或-S(O)₂-置换;

[0021] R^3 为氢或环A;

[0022] 环A为任选取代的环,所述任选取代的环选自3-7元单环饱和或部分不饱和碳环,苯基,具有1-3个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元单环杂芳基环,或具有1-2个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的4-7元单环饱和或部分不饱和杂环,或具有1-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的8-10元双环杂芳族环;

[0023] R^4 为R或-C(O)OR;

[0024] 每个R独立地为氢或任选被1-3个氟原子取代的 C_{1-6} 脂族基团;

[0025] R^5 为氢或CN,或:

[0026] R^5 和 R^4 与它们的插入原子一起形成三唑环;或

[0027] R^5 和 R^3 与它们的插入原子一起形成三唑环;和

[0028] R^x 和 R^y 各自独立地选自氢、卤素、任选取代的 C_{1-6} 脂族基团,或:

[0029] R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成具有1-2个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选取代的5-6元饱和、部分不饱和或芳族的稠合环。

[0030] 2. 定义

[0031] 本发明的化合物包括本文一般描述的那些,且进一步由本文公开的类别、子类和种类来说明。除非另外指示,否则下列定义应适合于本文。就本发明的目的而言,根据元素周期表,CAS版,Handbook of Chemistry and Physics,第75版来确定化学元素。另外,有机化学的一般原则描述于“Organic Chemistry”,Thomas Sorrell,University Science Books,Sausalito:1999,和“March's Advanced Organic Chemistry”,第5版,Smith,M.B.和March,J.,John编辑,Wiley&Sons,New York:2001,其完整内容都通过引用并入本文。

[0032] 如本文中所使用,术语“脂族基团(aliphatic)”或“脂族基团(aliphatic group)”是指完全饱和或含有一个或多个不饱和单元的直链(即非支链)或支链、取代或未取代的烃链,或完全饱和或含有一个或多个不饱和单元但不为芳族的单环烃或双环烃(在本文中还可称为“碳环”、“环脂族”或“环烷基”),其具有附接至分子的其余部分的单一点。除非另外指

或“杂芳族基团”互换使用,其中任何术语包括任选取代的环。术语“杂芳烷基”是指被杂芳基取代的烷基,其中烷基和杂芳基部分独立地被任选取代。

[0041] 本文所用的术语“杂环”、“杂环基”、“杂环基团”和“杂环”可互换使用,并且指稳定的5-至7-元单环或7-10元双环杂环部分,其为饱和或部分不饱和的,并且除碳原子外还具有一个或多个、优选一至四个如上定义的杂原子。当关于杂环的环原子使用时,术语“氮”包括取代的氮。作为一个实例,在具有0-3个选自氧、硫或氮的杂原子的饱和或部分不饱和环中,氮可为N(如在3,4-二氢-2H-吡咯基中)、NH(如在吡咯烷基中)或⁺NR(如在N-取代的吡咯烷基中)。

[0042] 杂环可以在任何杂原子或碳原子上与其侧基连接,从而产生稳定的结构,并且任何环原子可以任选被取代。这种饱和或部分不饱和杂环基团的实例包括但不限于四氢呋喃基、四氢噻吩基、吡咯烷基、哌啶基、吡咯啉基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、十氢喹啉基、噁唑烷基、哌嗪基、二噁烷基、二氧戊环基、二氮杂环庚烯基、氧杂氮杂环庚烯基、硫杂氮杂环庚烯基、吗啉基和奎宁环基。术语“杂环”、“杂环基”、“杂环基环”、“杂环基团(heterocyclic group)”、“杂环部分”和“杂环基团(heterocyclic radical)”在本文中可互换使用,且还包括其中杂环基环稠合到一个或多个芳基、杂芳基或环脂族环的基团,诸如吲哚啉基、3H-吲哚基、色满基、菲啶基或四氢喹啉基。杂环基基团可以为单环或双环的。术语“杂环基烷基”是指被杂环基取代的烷基,其中烷基和杂环基部分独立地被任选取代。

[0043] 本文所用的术语“部分不饱和的”是指包含至少一个双键或三键的环部分。术语“部分不饱和的”旨在包括具有多个不饱和位点的环,但不意图包括如本文所定义的芳基或杂芳基部分。

[0044] 如本文所述,本发明化合物可包含“任选取代的”部分。通常,术语“取代的”,无论前面是否有术语“任选地”,是指指定部分的一个或多个氢被合适的取代基置换。除非另有说明,否则“任选取代的”基团可以在基团的每个可取代的位置具有合适的取代基,并且当任何给定结构中的多于一个位置可以被多于一个选自特定基团的取代基取代时,取代基在每个位置可以相同或不同。本发明所预想的取代基组合优选是导致形成稳定或化学上可行的化合物的取代基组合。如本文所用的术语“稳定的”是指化合物在经受允许其制造、检测和在某些实施方案中允许其回收、纯化以及用于一个或多个本文中所公开的目的的条件时实质上不发生改变。

[0045] “任选取代的”基团的可取代碳原子上的合适的一价取代基独立地为卤素; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OR}^\circ$; $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-4}\text{R}^\circ$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{CH}(\text{OR}^\circ)_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{SR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{Ph}$, 其可被 R° 取代; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$, 其可被 R° 取代; $-\text{CH}=\text{CHPh}$, 其可被 R° 取代; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}$ -吡啶基, 其可被 R° 取代; $-\text{NO}_2$; $-\text{CN}$; $-\text{N}_3$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{S})\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{S})\text{NR}^\circ_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{S})\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{SR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OSiR}^\circ_3$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OC}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{OC}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{SR}^\circ$; $-\text{SC}(\text{S})\text{SR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{SC}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{C}(\text{S})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{C}(\text{S})\text{SR}^\circ$; $-\text{SC}(\text{S})\text{SR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OC}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{OR}^\circ)\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{NOR}^\circ)\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{SSR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})_2\text{OR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OS}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^\circ_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^\circ_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{S}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{OR}^\circ)\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{NH})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{P}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-\text{P}(\text{O})\text{R}^\circ_2$; $-\text{OP}(\text{O})$

R° ; $-OP(O)(OR^{\circ})_2$; SiR°_3 ; $-(C_{1-4}$ 直链或支链亚烷基) $O-N(R^{\circ})_2$; 或 $-(C_{1-4}$ 直链或支链亚烷基) $C(O)O-N(R^{\circ})_2$, 其中每个 R° 可以如下定义被取代并且独立地为氢、 C_{1-6} 脂族基团、 $-CH_2Ph$ 、 $-(CH_2)_{0-1}Ph$ 、 $-CH_2-$ (5-6元杂芳基环), 或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环, 或者, 尽管有上述定义, 两个独立出现的 R° 与它们的插入原子一起形成具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的3-12元饱和、部分不饱和或芳基单环或双环, 其可如下定义被取代。

[0046] R° (或通过两个独立出现的 R° 连同其插入的原子一起形成的环) 上的合适的一价取代基独立地为卤素、 $-(CH_2)_{0-2}R^{\bullet}$ 、 $-(\text{卤代}R^{\bullet})$ 、 $-(CH_2)_{0-2}OH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}OR^{\bullet}$ 、 $-(CH_2)_{0-2}CH(OR^{\bullet})_2$; $-(O\text{卤代}R^{\bullet})$ 、 $-CN$ 、 $-N_3$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)R^{\bullet}$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)OR^{\bullet}$ 、 $-(CH_2)_{0-2}SR^{\bullet}$ 、 $-(CH_2)_{0-2}SH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NH_2$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NHR^{\bullet}$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NR^{\bullet}_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SiR^{\bullet}_3$ 、 $-OSiR^{\bullet}_3$ 、 $-C(O)SR^{\bullet}$ 、 $-(C_{1-4}$ 直链或支链亚烷基) $C(O)OR^{\bullet}$ 或 $-SSR^{\bullet}$, 其中每个 R^{\bullet} 未取代, 或在前面有“卤代”时仅被一个或多个卤素取代, 且独立地选自 C_{1-4} 脂族基团、 $-CH_2Ph$ 、 $-(CH_2)_{0-1}Ph$ 或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环。 R° 的饱和碳原子上的合适的二价取代基包括 $=O$ 和 $=S$ 。

[0047] “任选取代的”基团的饱和碳原子上的合适的二价取代基包括以下: $=O$ 、 $=S$ 、 $=NNR^*_2$ 、 $=NNHC(O)R^*$ 、 $=NNHC(O)OR^*$ 、 $=NNHS(O)_2R^*$ 、 $=NR^*$ 、 $=NOR^*$ 、 $-O(C(R^*_2))_{2-3}O-$ 或 $-S(C(R^*_2))_{2-3}S-$, 其中每个独立出现的 R^* 选自氢、可以如下定义被取代的 C_{1-6} 脂族基团, 或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未取代的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环。与“任选取代的”基团的邻位可取代的碳结合的合适的二价取代基包括: $-O(CR^*_2)_{2-3}O-$, 其中每次独立出现的 R^* 选自氢、可以如下定义被取代的 C_{1-6} 脂族基团, 或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未取代的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环。

[0048] R^* 的脂族基团上的合适取代基包括卤素、 $-R^{\bullet}$ 、 $-(\text{卤代}R^{\bullet})$ 、 $-OH$ 、 $-OR^{\bullet}$ 、 $-(O\text{卤代}R^{\bullet})$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OR^{\bullet}$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^{\bullet}$ 、 $-NR^{\bullet}_2$ 或 $-NO_2$, 其中每个 R^{\bullet} 未经取代或在前面有“卤代”时仅被一个或多个卤素取代, 且独立地为 C_{1-4} 脂族基团、 $-CH_2Ph$ 、 $-(CH_2)_{0-1}Ph$ 或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环。

[0049] “任选取代的”基团的可取代的氮上的合适取代基包括 $-R^{\dagger}$ 、 $-NR^{\dagger}_2$ 、 $-C(O)R^{\dagger}$ 、 $-C(O)OR^{\dagger}$ 、 $-C(O)C(O)R^{\dagger}$ 、 $-C(O)CH_2C(O)R^{\dagger}$ 、 $-S(O)_2R^{\dagger}$ 、 $-S(O)_2NR^{\dagger}_2$ 、 $-C(S)NR^{\dagger}_2$ 、 $-C(NH)NR^{\dagger}_2$ 或 $-N(R^{\dagger})S(O)_2R^{\dagger}$; 其中每个 R^{\dagger} 独立地为氢、可如下定义被取代的 C_{1-6} 脂族基团、未取代的 $-OPH$, 或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未取代的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环, 或者, 尽管有上述定义, 但两个独立出现的 R^{\dagger} 与它们的插入原子一起形成具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未取代的3-12元饱和、部分不饱和或芳基单环或双环。

[0050] R^{\dagger} 的脂族基团上的合适的取代基独立地为卤素、 $-R^{\bullet}$ 、 $-(\text{卤代}R^{\bullet})$ 、 $-OH$ 、 $-OR^{\bullet}$ 、 $-(O\text{卤代}R^{\bullet})$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OR^{\bullet}$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^{\bullet}$ 、 $-NR^{\bullet}_2$ 或 $-NO_2$, 其中每个 R^{\bullet} 未经取代或在前面有“卤代”时仅被一个或多个卤素取代, 且独立地为 C_{1-4} 脂族基团、 $-CH_2Ph$ 、 $-(CH_2)_{0-1}Ph$ 或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环。

[0051] 如本文所用, 术语“药学上可接受的盐”是指在合理医学判断范围内适用于接触人

类和低等动物的组织而无过度毒性、刺激、过敏反应等且与合理效益/风险比相称的那些盐。药学上可接受的盐是本领域众所周知的。例如，S.M.Berge等人在J.Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19 (其通过引用并入本文) 中详细描述了药学上可接受的盐。本发明的化合物的药学上可接受的盐包括衍生自合适的无机和有机酸和碱的那些。药学上可接受的无毒酸加成盐的实例是氨基与无机酸 (诸如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和过氯酸) 或与有机酸 (诸如乙酸、草酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸或丙二酸) 或通过使用本领域所用的其它方法 (诸如离子交换) 形成的盐。其它药学上可接受的盐包括己二酸盐、藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、葡萄糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一烷酸盐、戊酸盐等。

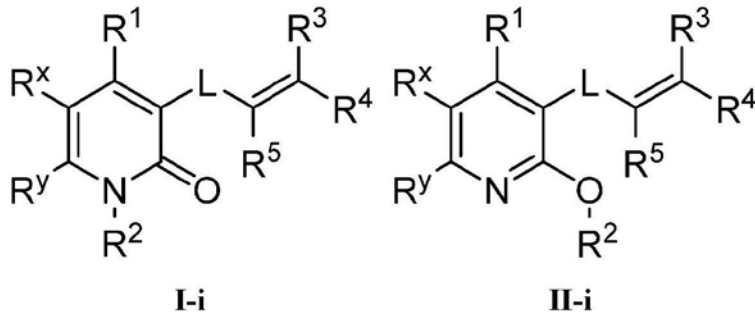
[0052] 衍生自适当碱的盐包括碱金属盐、碱土金属盐、铵盐和 $N^+(C_{1-4}\text{烷基})_4$ 盐。代表性的碱金属盐或碱土金属盐包括钠盐、锂盐、钾盐、钙盐、镁盐等。在适当时，另外的药学上可接受的盐包括无毒铵、季铵和胺阳离子 (使用抗衡离子诸如卤离子、氢氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、低级烷基磺酸根和芳基磺酸根形成)。

[0053] 除非另外陈述，否则本文描绘的结构还意欲包括该结构的所有异构体 (例如对映异构体、非对映异构体和几何异构体 (或构象异构体)) 形式；例如各不对称中心的R和S构型、Z和E双键异构体以及Z和E构象异构体。因此，本发明化合物的单一立体化学异构体以及对映异构体、非对映异构体和几何异构体 (或构象异构体) 混合物都在本发明的范围内。除非另外陈述，否则本发明的化合物的所有互变异构体形式都在本发明的范围内。另外，除非另外陈述，否则本文描绘的结构还意欲包括不同之处仅仅在于存在一个或多个同位素富集原子的化合物。例如，包括用氘或氚置换氢或用 ^{13}C -或 ^{14}C -富集的碳置换碳的具有本发明的结构的化合物在本发明的范围内。根据本发明，此类化合物可用作例如分析工具、作为生物测定中的探针或作为治疗剂。

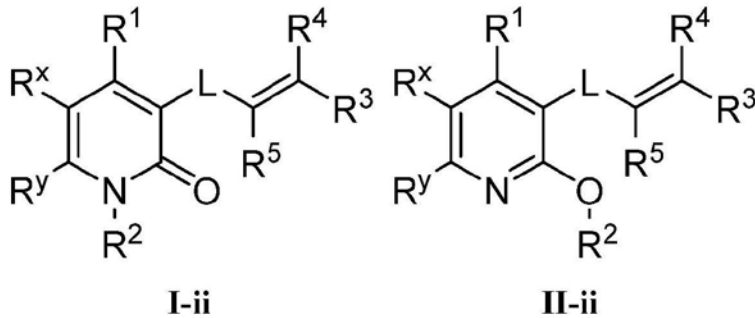
[0054] 本文所用的术语“可测量的亲和力”和“可测量地抑制”意指在包含本发明的化合物或其组合物和PAD4的样品与包含PAD4但缺乏所述化合物或其组合物的相等样品之间的PAD4活性的可测量的变化。

[0055] 3. 示例性化合物的描述

[0056] 根据一个方面，本发明提供式I-i、I-ii、II-i或II-ii的化合物或其药学上可接受的盐：

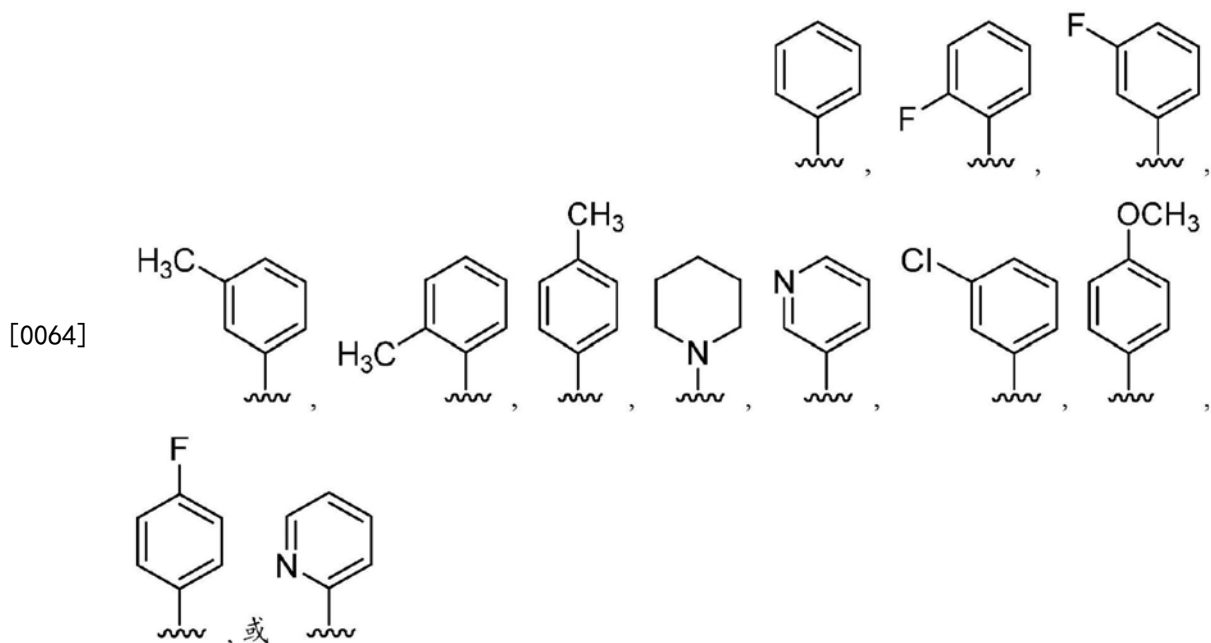


[0057]

[0058] 其中L、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R^x和R^y中的每一个如本文所定义和描述。

[0059] 在一些实施方案中,提供的化合物不是I-69、I-76或I-114。

[0060] 在一些实施方案中,提供的式I的化合物不是下表2中所示的那些化合物。

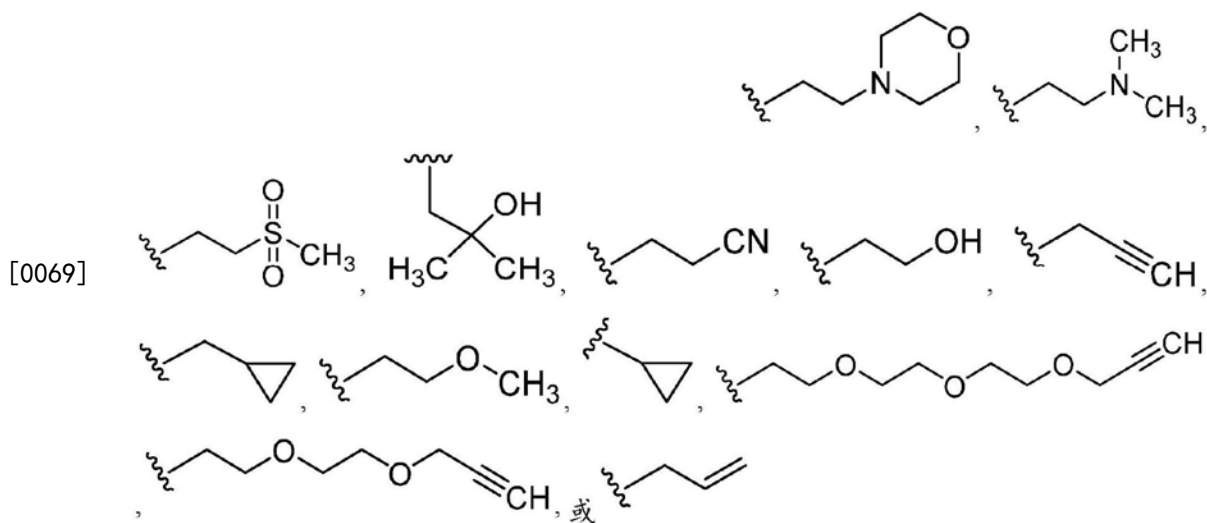
[0061] 如上文所定义和本文所述,R¹是氢或任选取代的基团,所述任选取代的基团选自脂族基团,苯基,具有1-3个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元单环杂芳基环,或具有1-2个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的4-7元单环饱和或部分不饱和杂环。[0062] 在一些实施方案中,R¹是氢。在一些实施方案中,R¹是任选取代的脂族基团。在一些实施方案中,R¹是任选取代的苯基。在一些实施方案中,R¹是具有1-3个独立地选自氮、氧或硫的原子的任选取代的5-6元单环杂芳基环。在一些实施方案中,R¹是具有1-2个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的4-7元单环饱和或部分不饱和杂环。[0063] 在一些实施方案中,R¹是-S(CH₃)₂,

[0065] 在一些实施方案中, R^1 选自在下表1中所示的那些。

[0066] 如上文所定义和本文所述, R^2 为氢或任选取代的 C_{1-6} 脂族基团。

[0067] 在一些实施方案中, R^2 是氢。在一些实施方案中, R^2 是任选取代的 C_{1-6} 脂族基团。

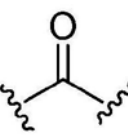
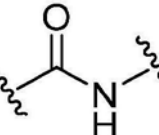
[0068] 在一些实施方案中, R^2 是甲基、乙基、

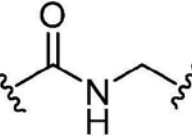
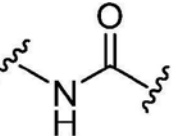


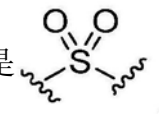
[0070] 在一些实施方案中, R^2 选自下表1中所示的那些。

[0071] 如上文所定义和本文所述, L 是共价键或 C_{1-6} 二价烃链, 其中 L 的一个或两个亚甲基单元任选且独立地被 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 或 $-S(O)_2-$ 置换。

[0072] 在一些实施方案中, L 是共价键。在一些实施方案中, L 是 C_{1-6} 二价烃链, 其中 L 的一个或两个亚甲基单元任选且独立地被 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 或 $-S(O)_2-$ 置换。

[0073] 在一些实施方案中, L 是  在一些实施方案中, L 是  在一

些实施方案中, L 是  在一些实施方案中, L 是  在一

些实施方案中, L 是 

[0074] 在一些实施方案中, L 选自下表1中所示的那些。

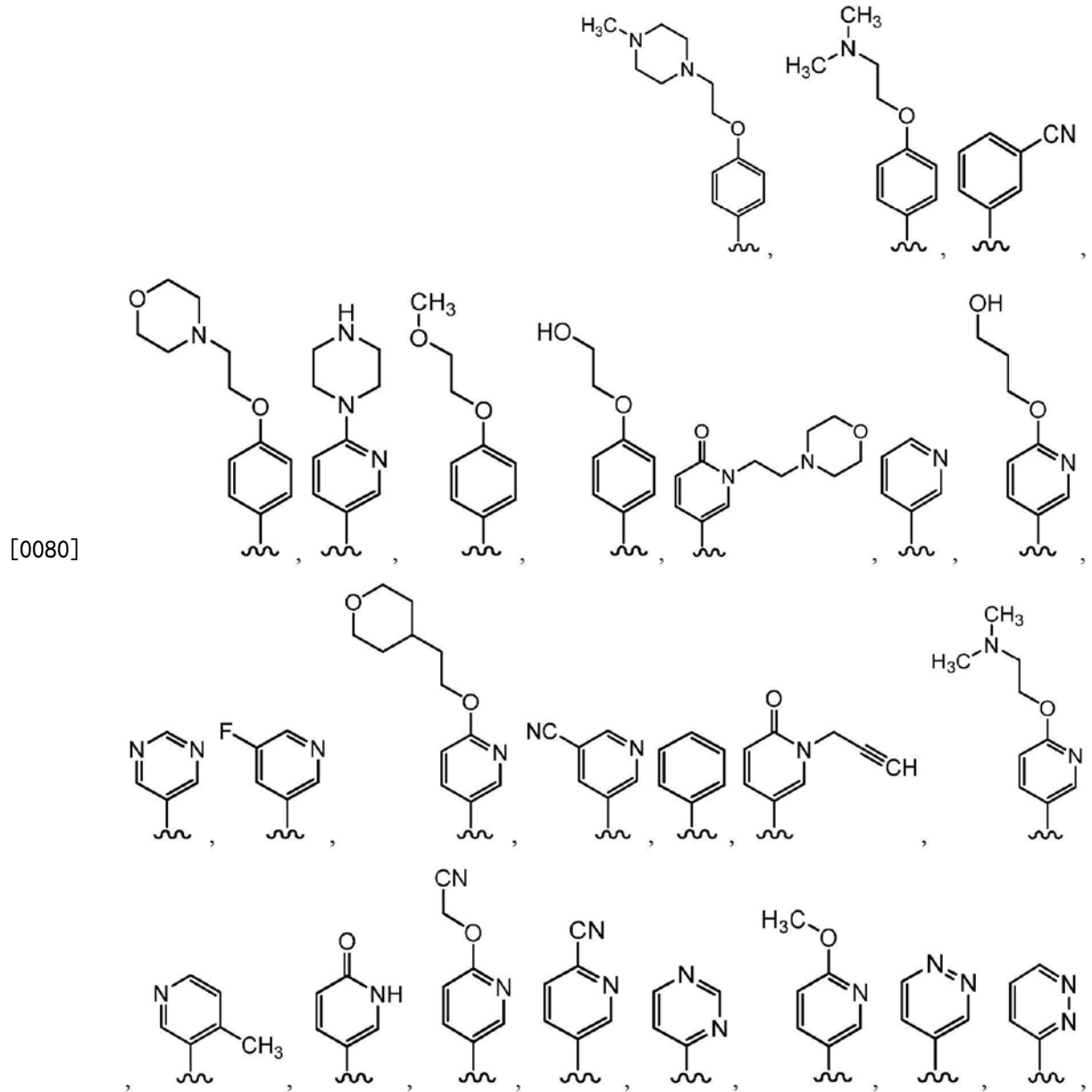
[0075] 如上文所定义和本文所述, R^3 是氢或环A。在一些实施方案中, R^3 是氢。在一些实施方案中, R^3 是环A。

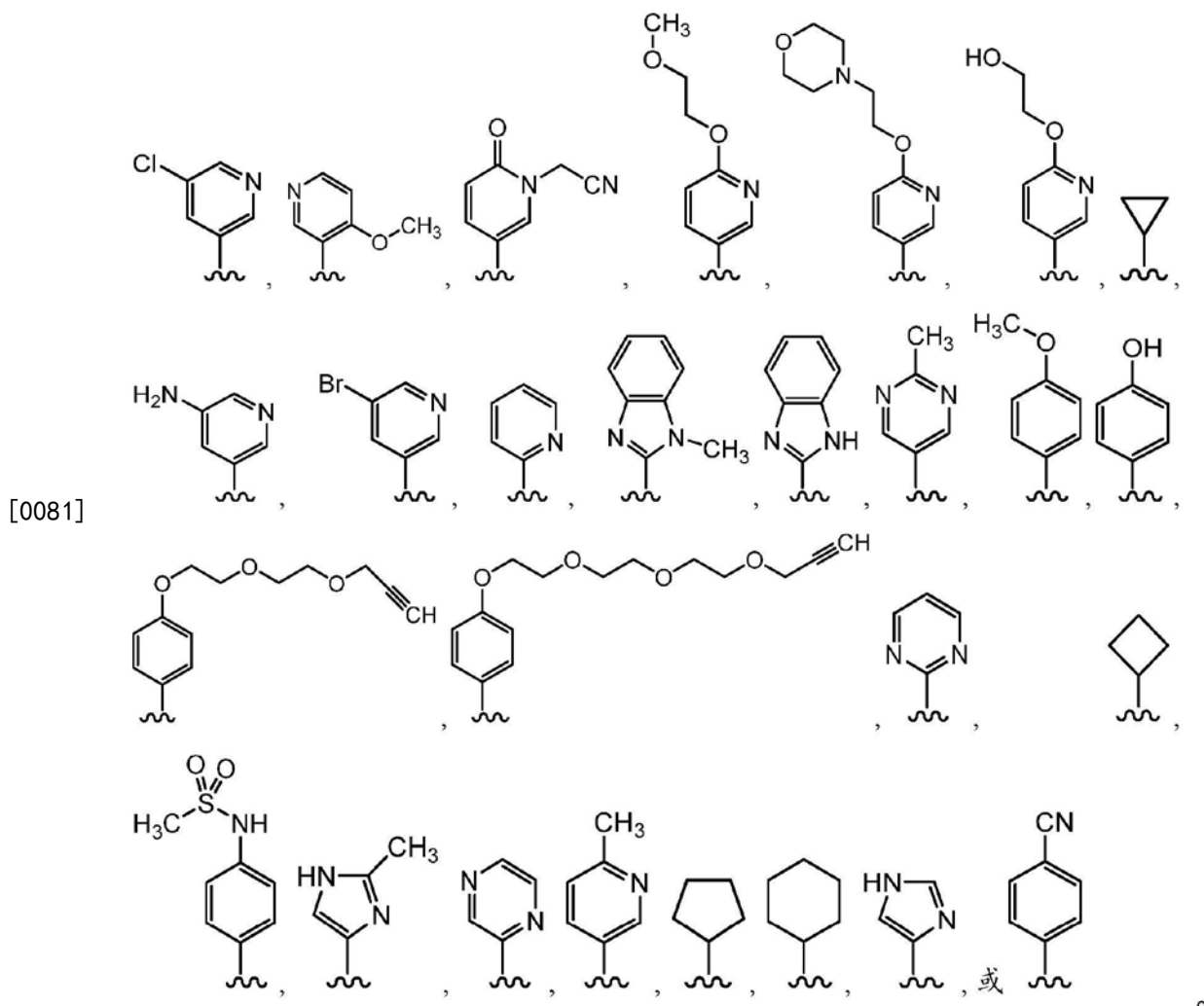
[0076] 在一些实施方案中, R^3 选自下表1中所示的那些。

[0077] 如上文所定义和本文所述, 环A是任选取代的环, 所述任选取代的环选自3-7元单环饱和或部分不饱和碳环, 苯基, 具有1-3个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元单环杂芳基环, 或具有1-2个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的4-7元单环饱和或部分不饱和杂环, 或具有1-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的8-10元双环杂芳基环。

[0078] 在一些实施方案中,环A是选自3-7元单环饱和碳环的任选取代的环。在一些实施方案中,环A是任选取代的3-7元单环部分不饱和碳环。在一些实施方案中,环A是任选取代的苯环。在一些实施方案中,环A是具有1-3个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选取代的5-6元单环杂芳基环。在一些实施方案中,环A是具有1-2个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选取代的4-7元单环饱和或部分不饱和杂环。在一些实施方案中,环A是具有1-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的8-10元双环杂芳环。

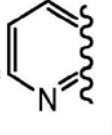
[0079] 在一些实施方案中,环A是

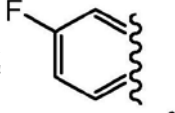




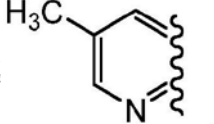
团,或 R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成具有1-2个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选取代的5-6元饱和、部分不饱和或芳族的稠合环。

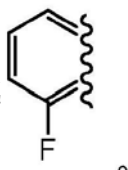
[0092] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 各自独立地选自氢、卤素或任选取代的 C_{1-6} 脂族基团。在一些实施方案中, R^x 和 R^y 各自为氢。在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成具有1-2个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选取代的5-6元饱和、部分不饱和或芳族的稠合环。

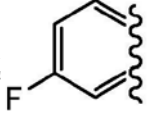
[0093] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

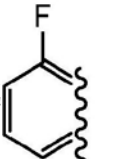
[0094] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

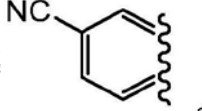
[0095] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

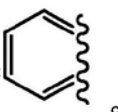
[0096] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

[0097] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

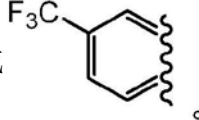
[0098] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

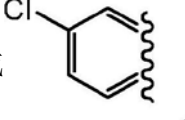
[0099] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

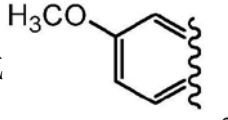
[0100] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

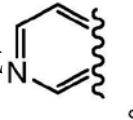
[0101] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

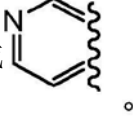
[0102] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

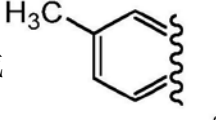
[0103] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

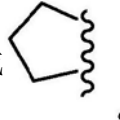
[0104] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

[0105] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

[0106] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

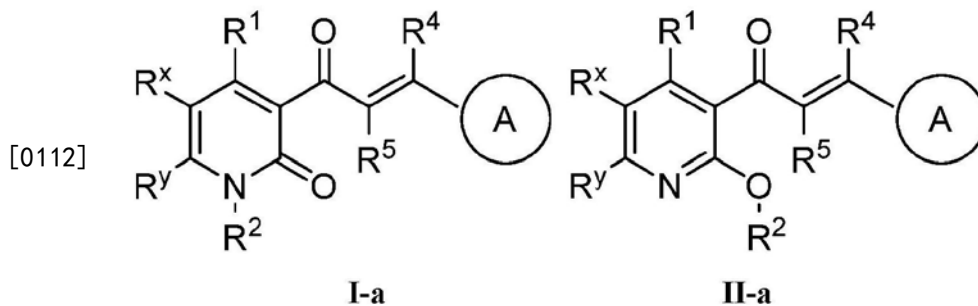
[0107] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

[0108] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

[0109] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起形成 

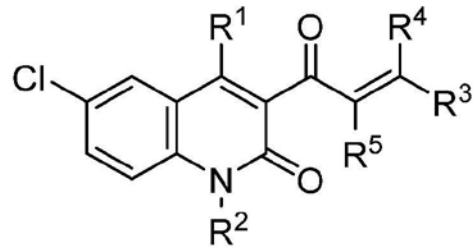
[0110] 在一些实施方案中, R^x 和 R^y 与它们的插入原子一起选自下表1中所示的那些。

[0111] 在一些实施方案中, 本发明提供单独或组合的式I-a或II-a的化合物:

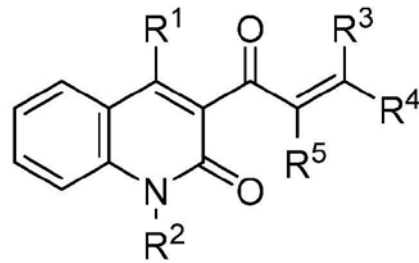
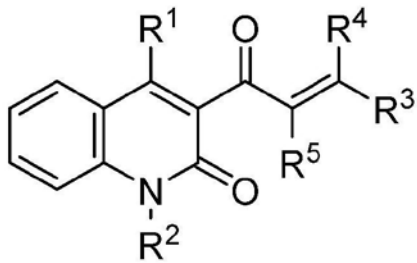
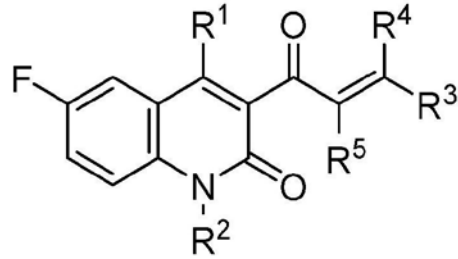
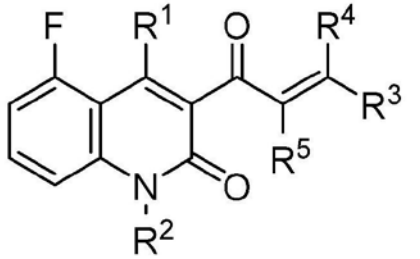


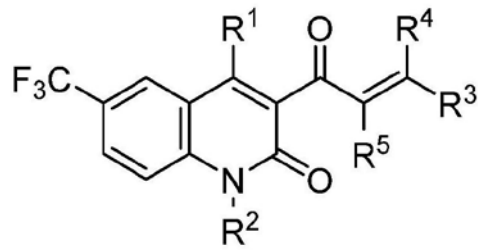
[0113] 或其药学上可接受的盐, 其中 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、环A、 R^x 和 R^y 中的每一个如上文所定义和本文的实施方案中所述。

[0114] 在一些实施方案中, 本发明提供单独和组合的式III-a、III-b、III-c、III-d、III-e、III-f、III-g、III-h、IV-a、IV-b、IV-c、IV-d、IV-e、IV-f、IV-g或IV-h的化合物:

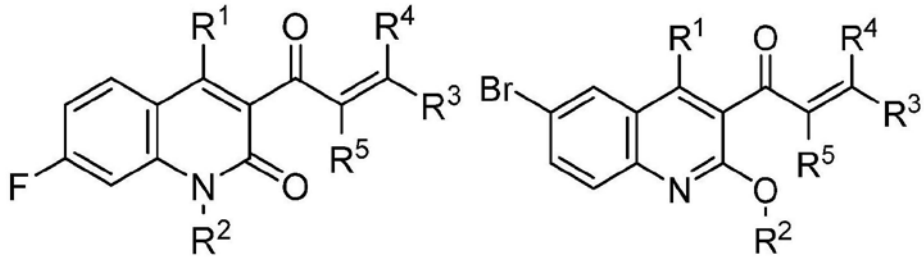


[0115]



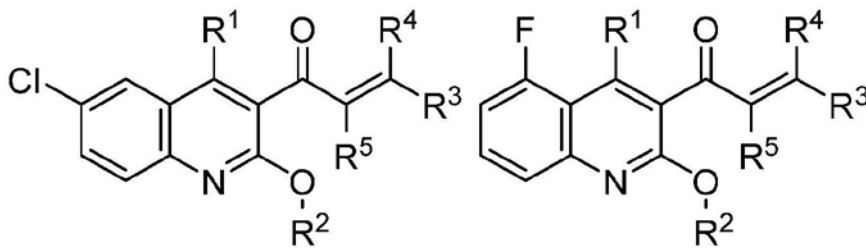


III-g



III-h

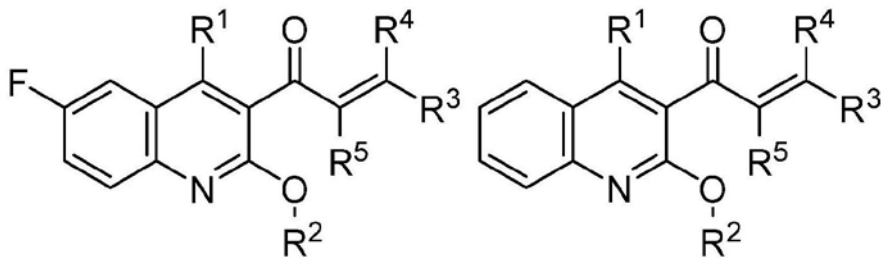
IV-a



[0116]

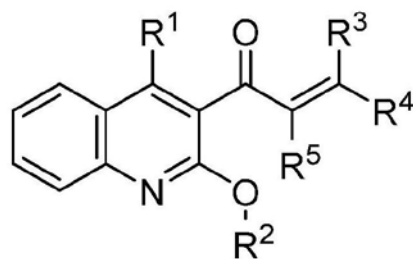
IV-b

IV-c



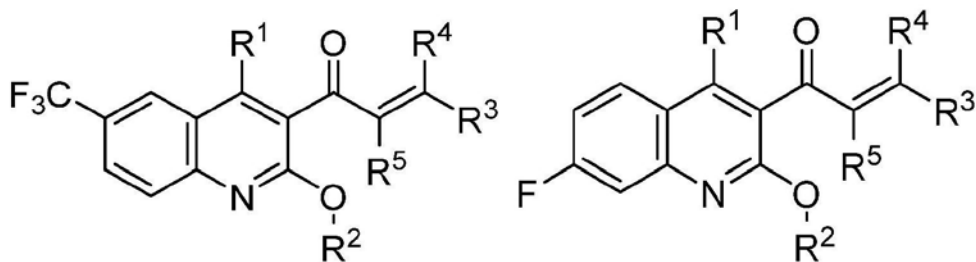
IV-d

IV-e



IV-f

[0117]



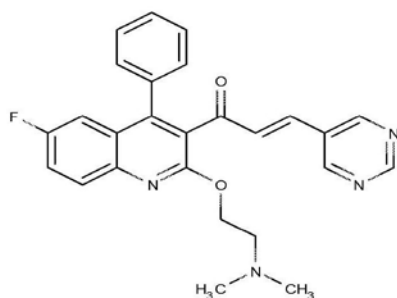
IV-g

IV-h

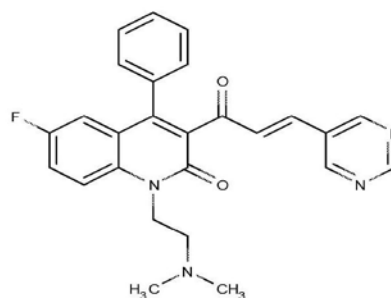
[0118] 或其药学上可接受的盐,其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 和 R^5 中的每一个如上文所定义和本文的实施方案中所述。

[0119] 在一些实施方案中,式I的化合物选自下表1中所述的那些。

[0120] 表1. 式I的示例性化合物

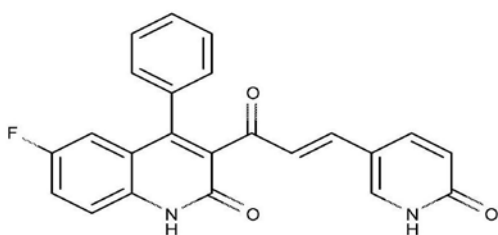


I-1

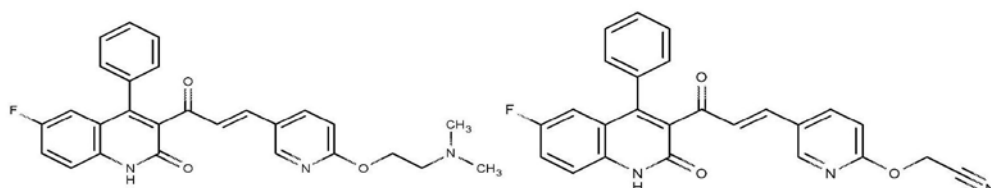


I-2

[0121]

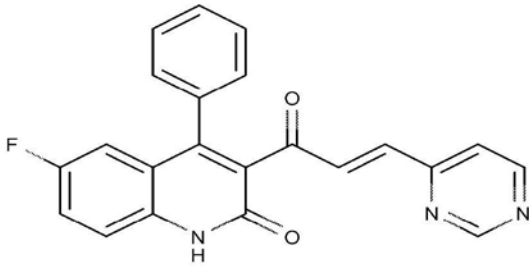


I-3

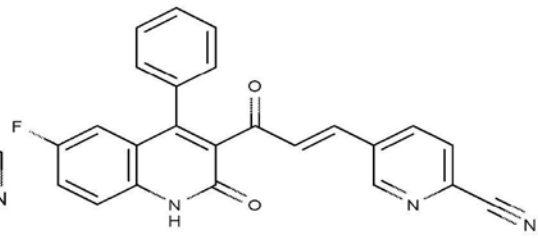


I-4

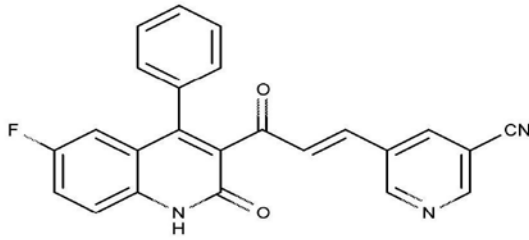
I-5



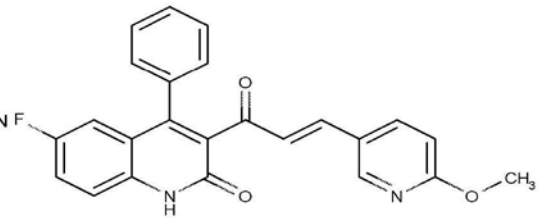
I-6



I-7

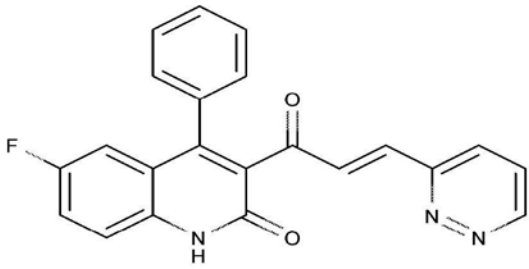


I-8

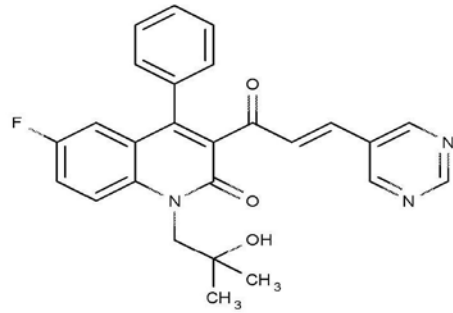


I-9

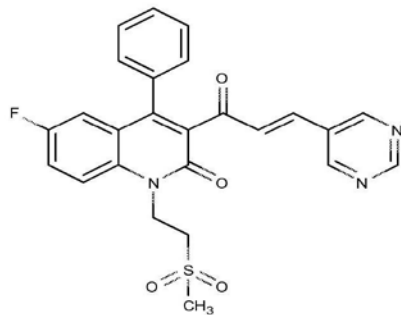
[0122]



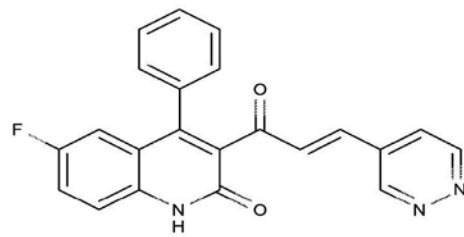
I-10



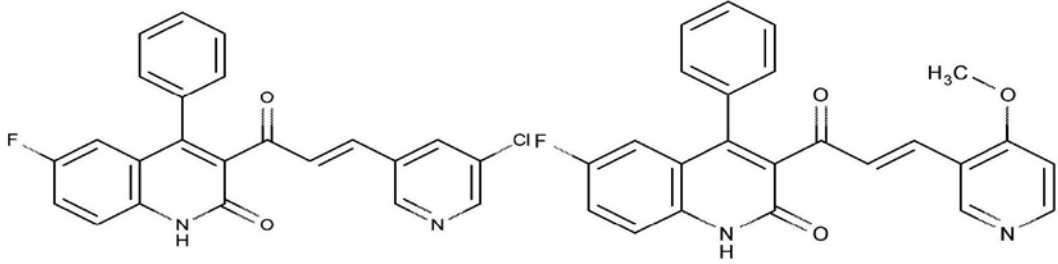
I-11



I-12

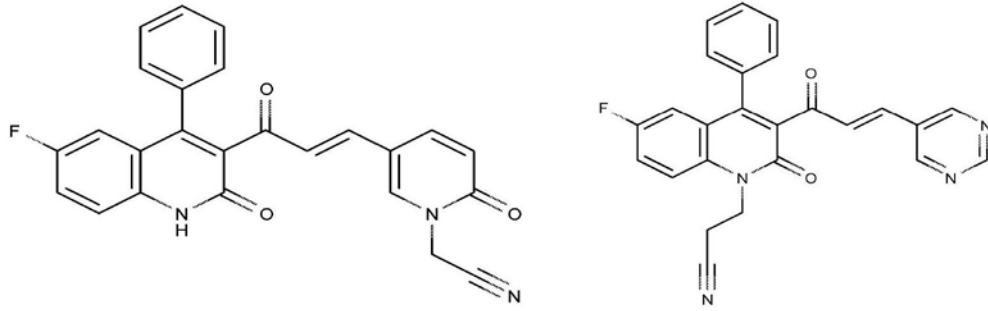


I-13



I-14

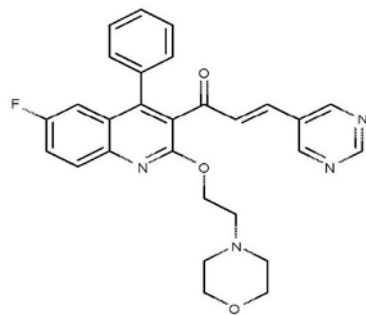
I-15



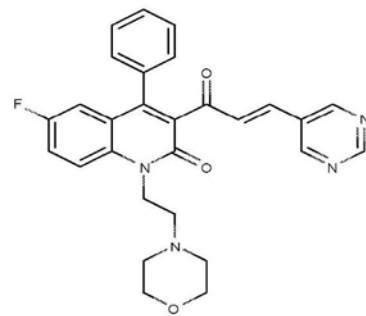
I-16

I-17

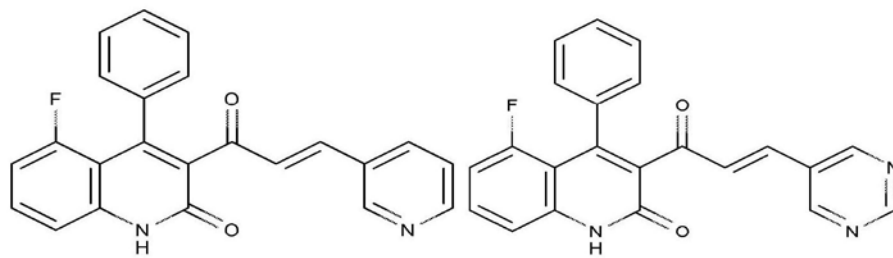
[0123]



I-18

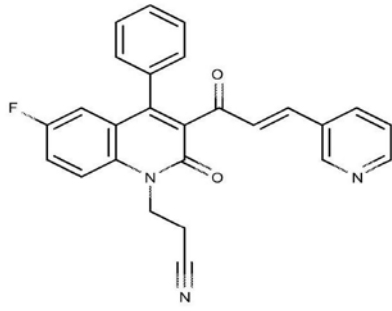


I-19

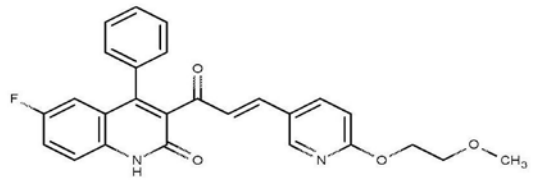


I-20

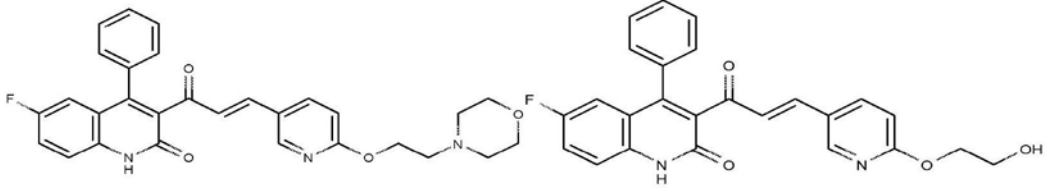
I-21



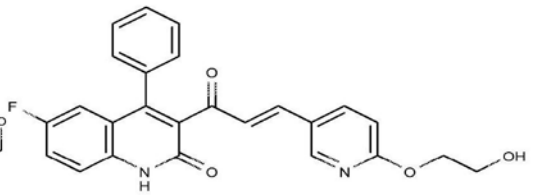
I-22



I-23

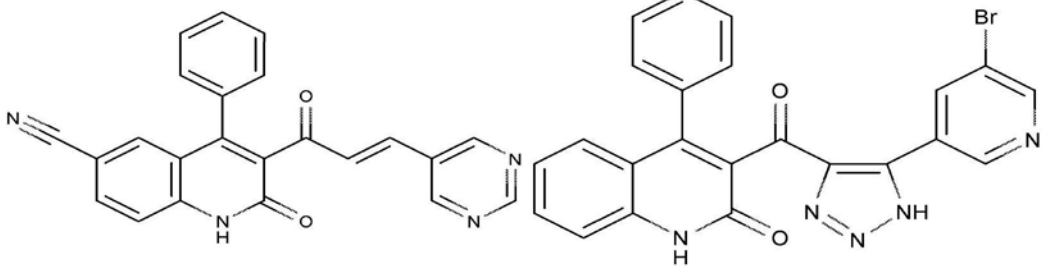


I-24

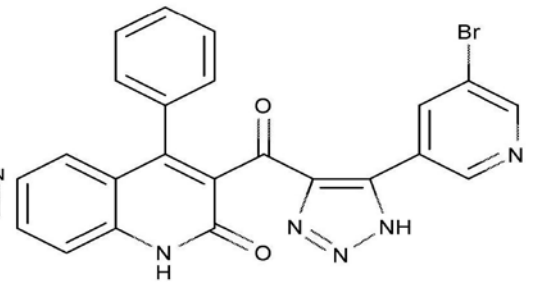


I-25

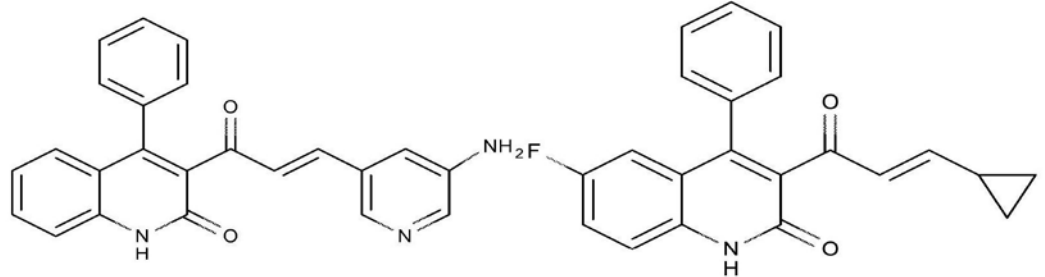
[0124]



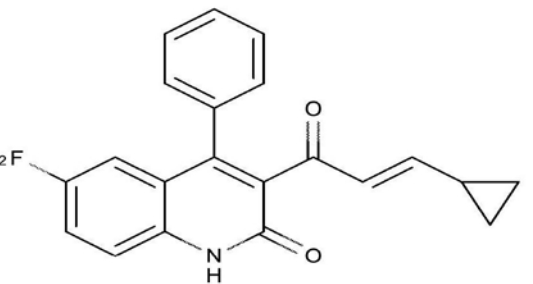
I-26



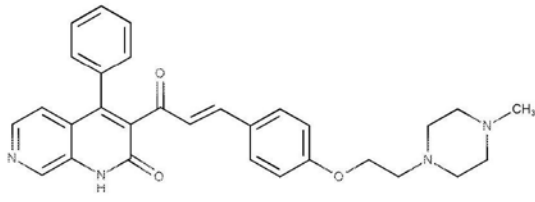
I-27



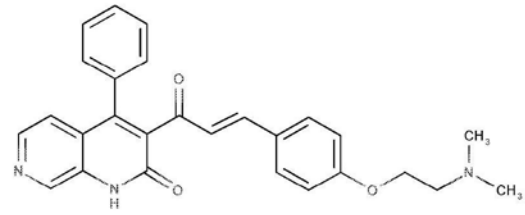
I-28



I-29

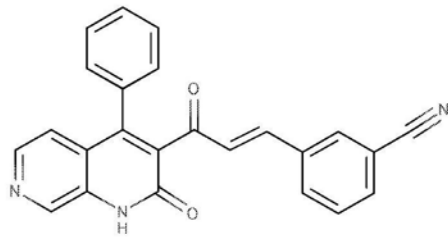


I-30

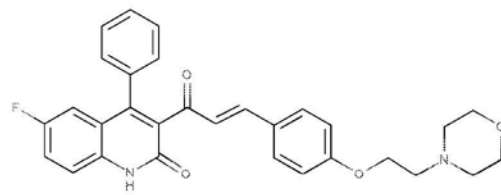


I-31

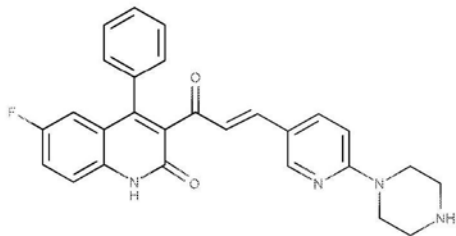
[0125]



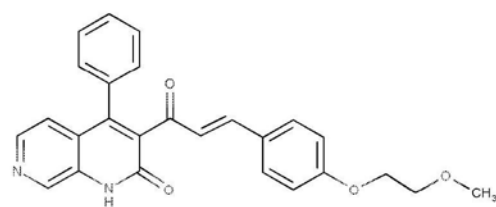
I-32



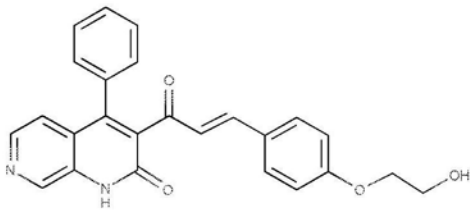
I-33



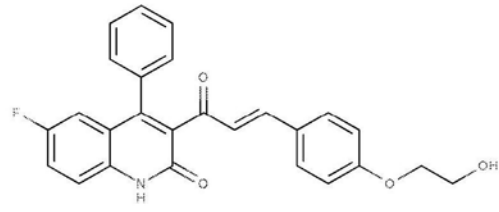
I-34



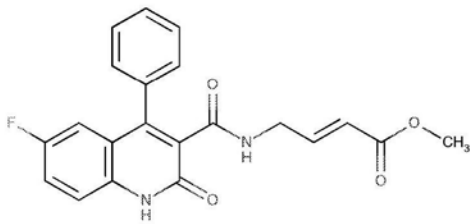
I-35



I-36

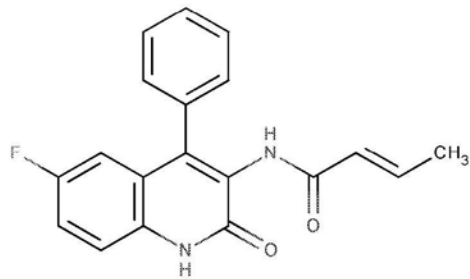


I-37

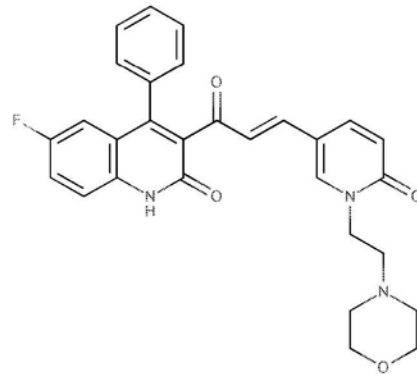


[0126]

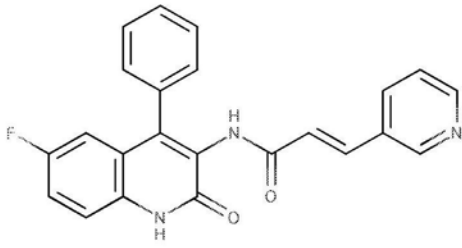
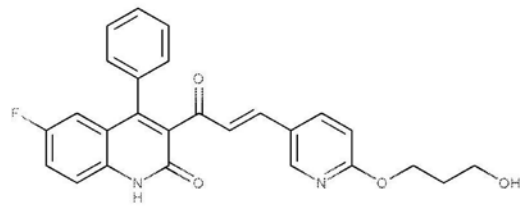
I-38



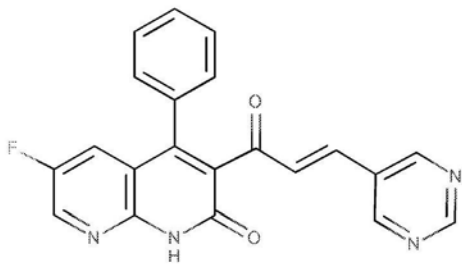
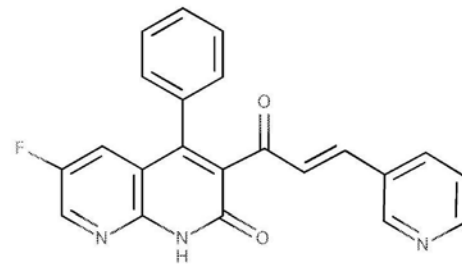
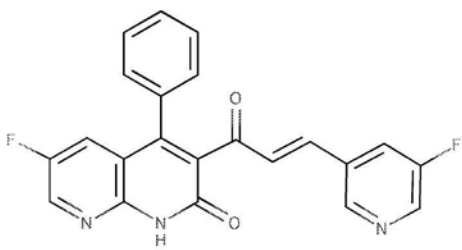
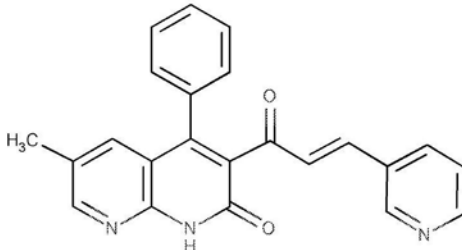
I-40

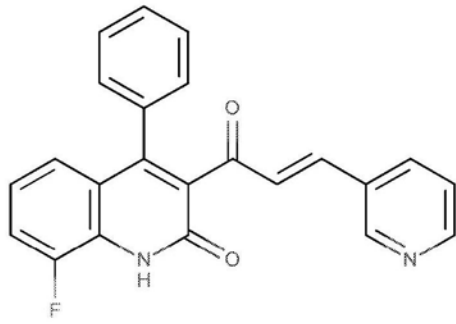


I-41

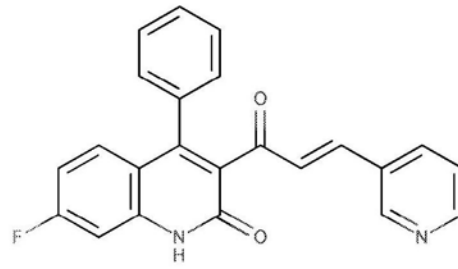
**I-42****I-43**

[0127]

**I-44****I-45****I-46****I-47**

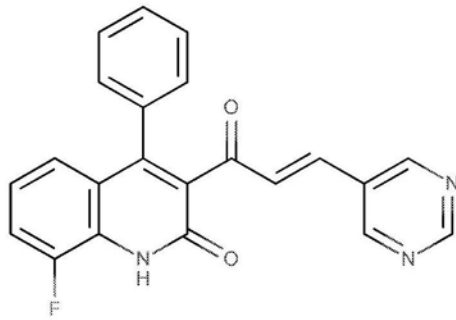


I-48

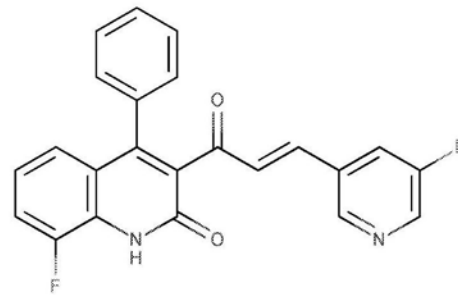


I-49

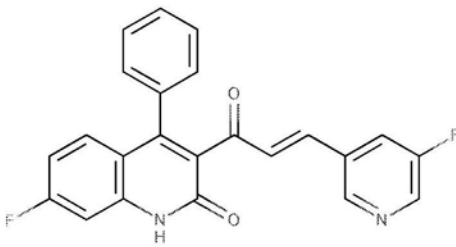
[0128]



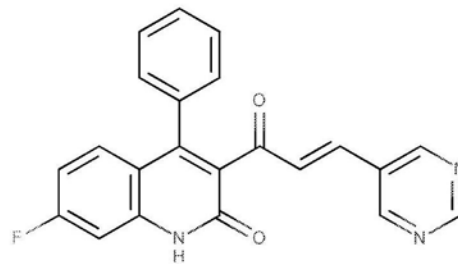
I-50



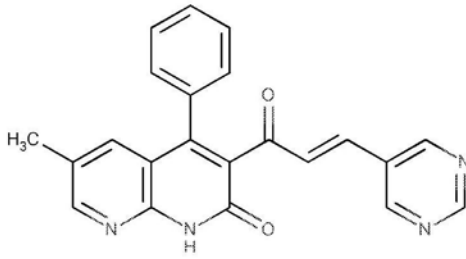
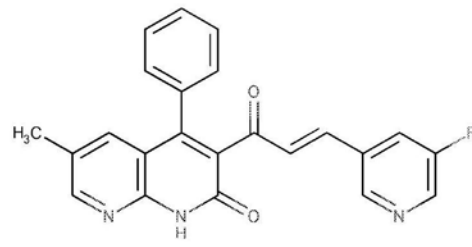
I-51



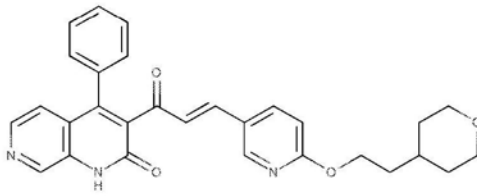
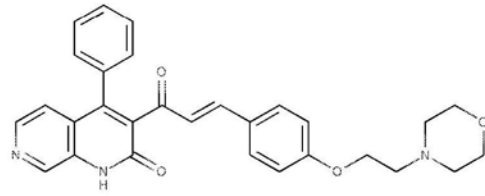
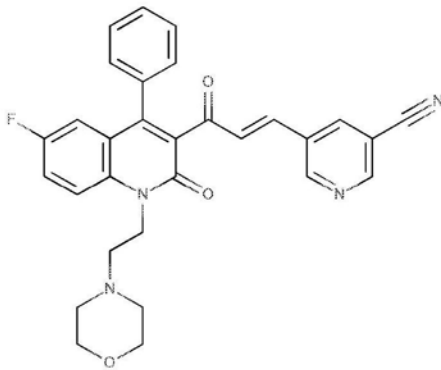
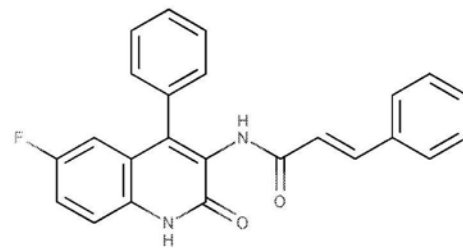
I-52

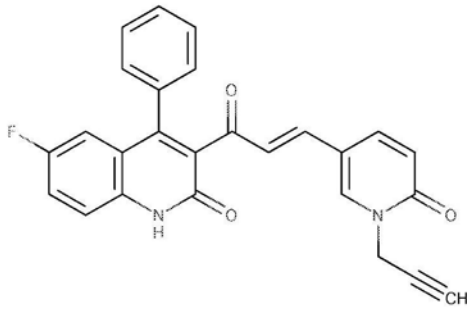


I-53

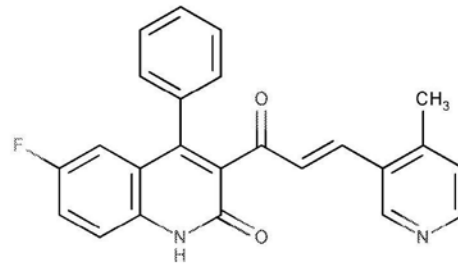
**I-54****I-55**

[0129]

**I-56****I-57****I-58****I-59**

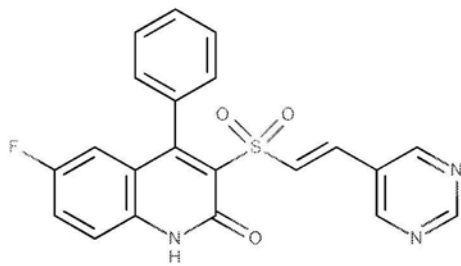


I-60

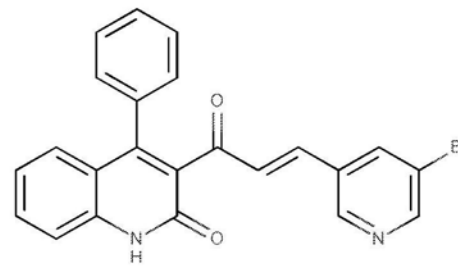


I-61

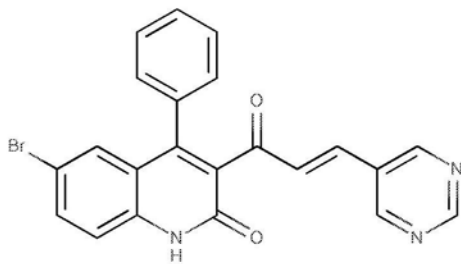
[0130]



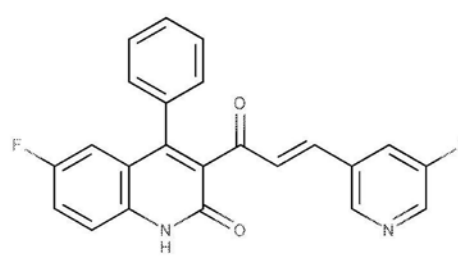
I-62



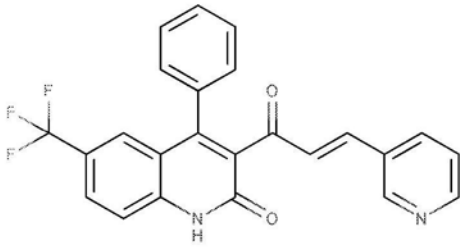
I-63



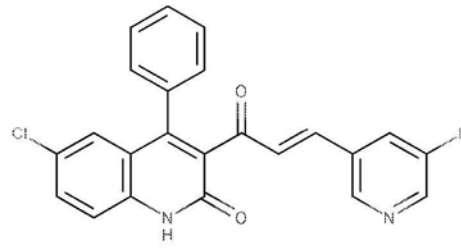
I-64



I-65

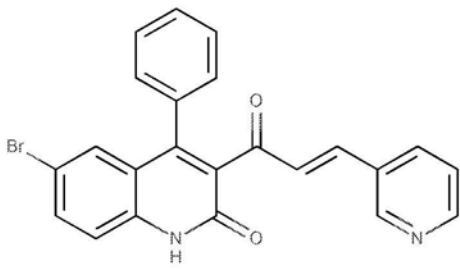


I-66

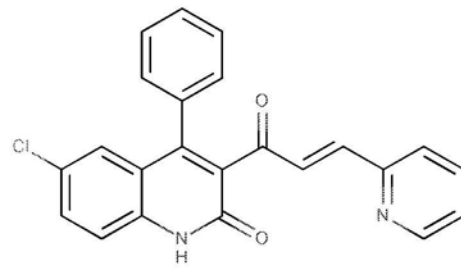


I-67

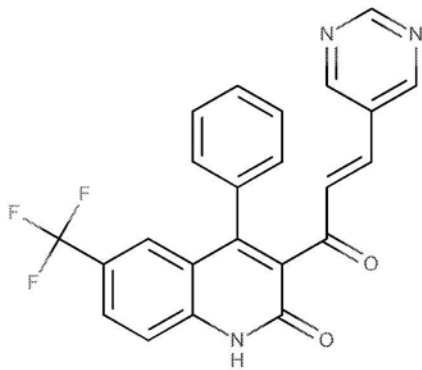
[0131]



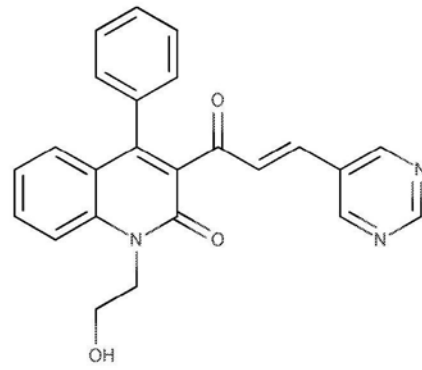
I-68



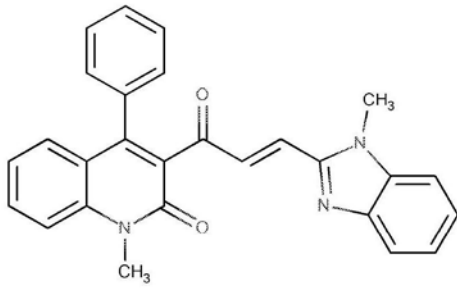
I-69



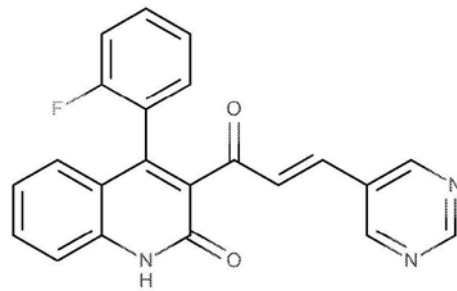
I-70



I-71

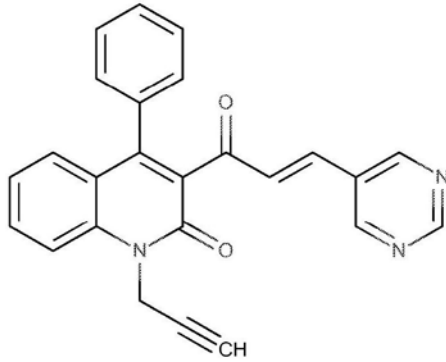


I-72

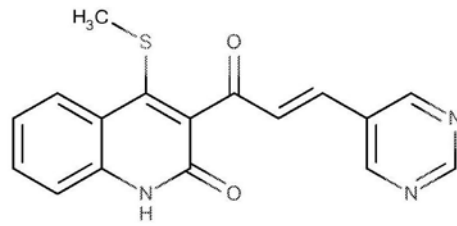


I-73

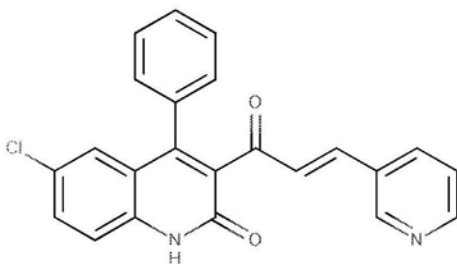
[0132]



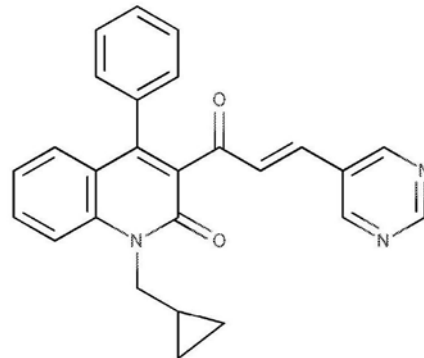
I-74



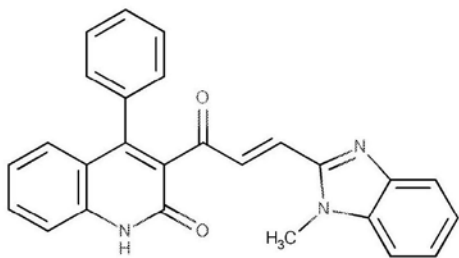
I-75



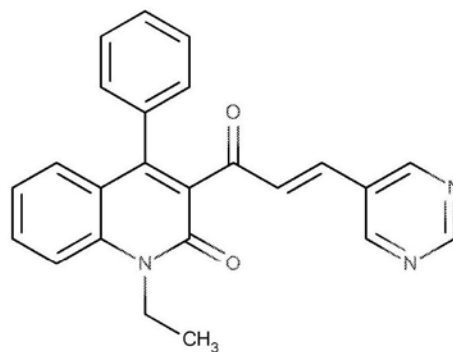
I-76



I-77

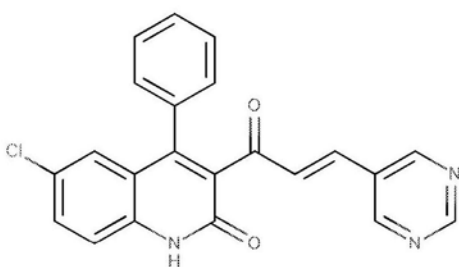


I-78

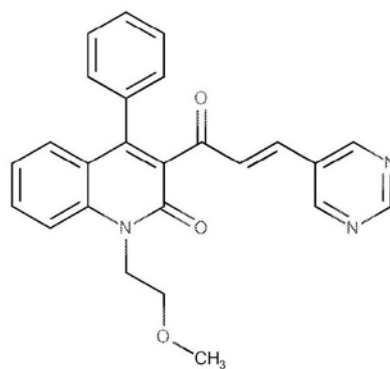


I-79

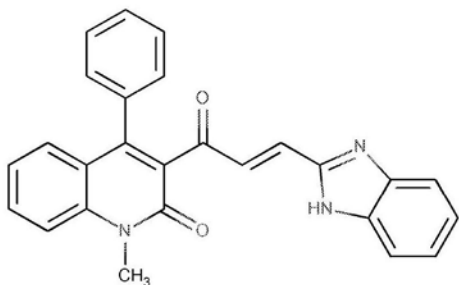
[0133]



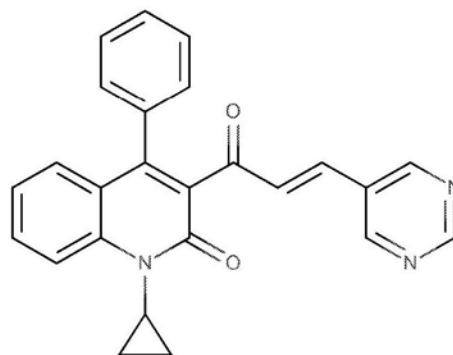
I-80



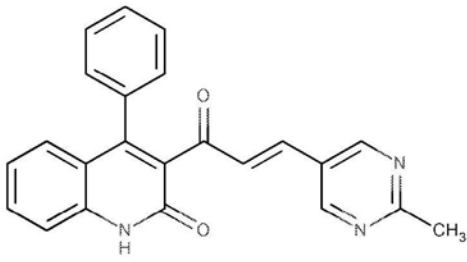
I-81



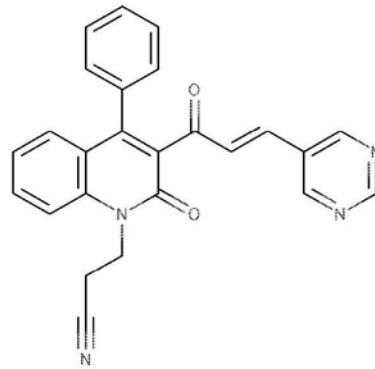
I-82



I-83

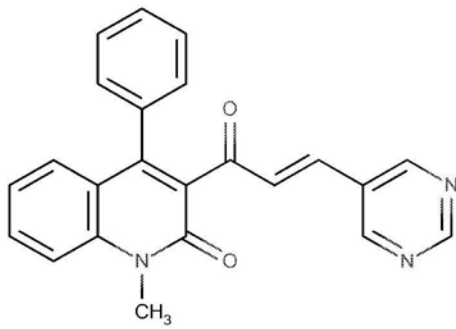


I-84

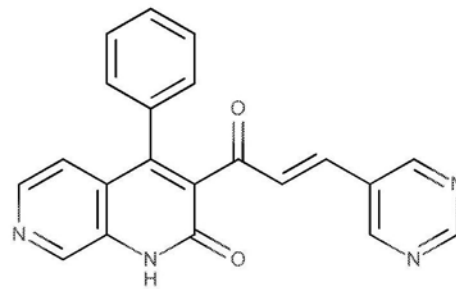


I-85

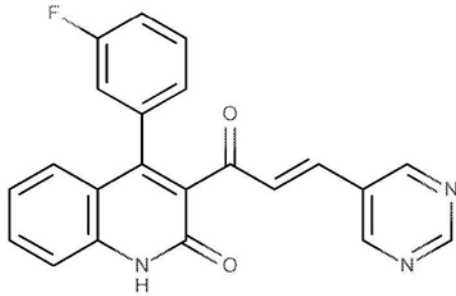
[0134]



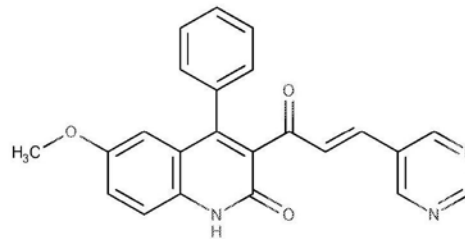
I-86



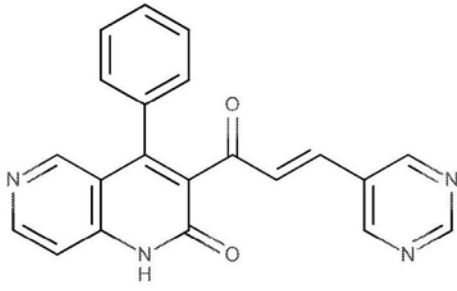
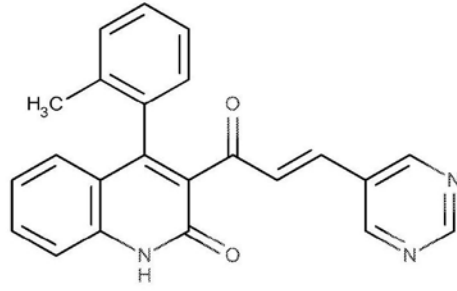
I-87



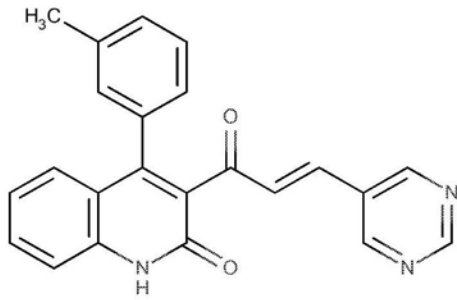
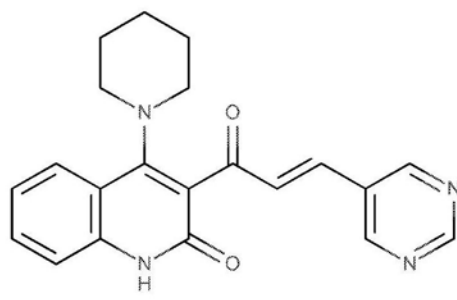
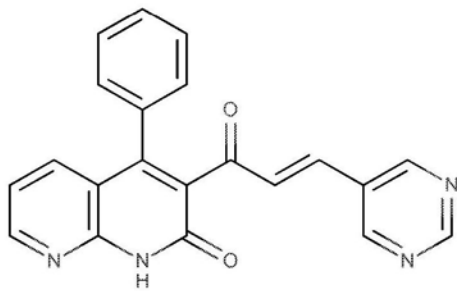
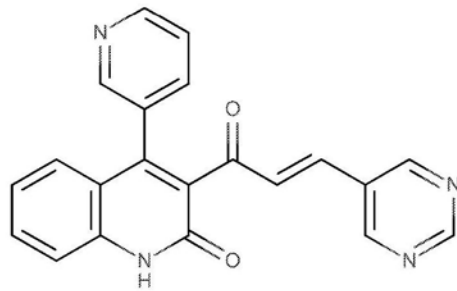
I-88

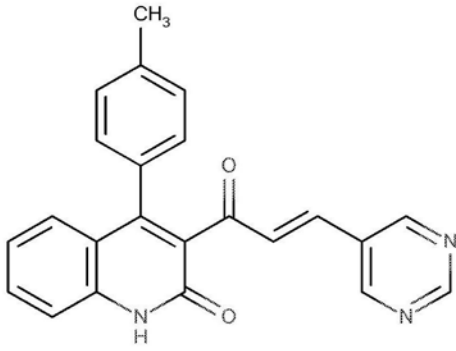


I-89

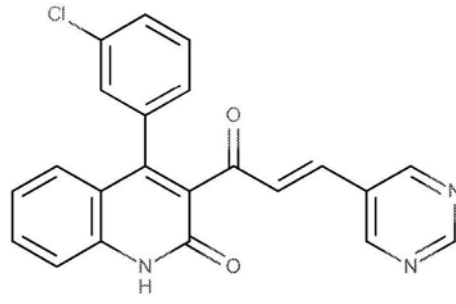
**I-90****I-91**

[0135]

**I-92****I-93****I-94****I-95**

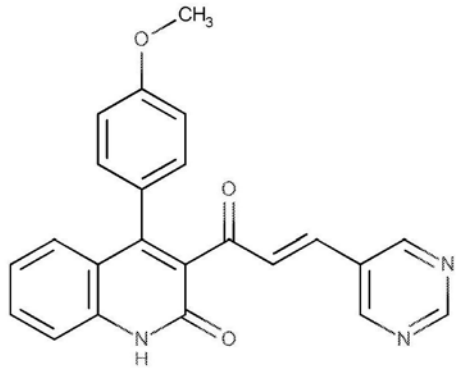


I-96

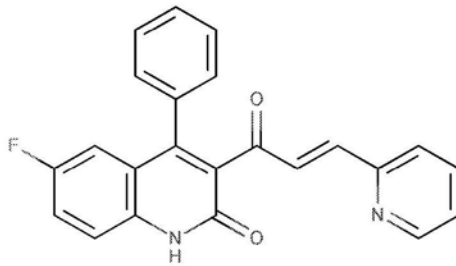


I-97

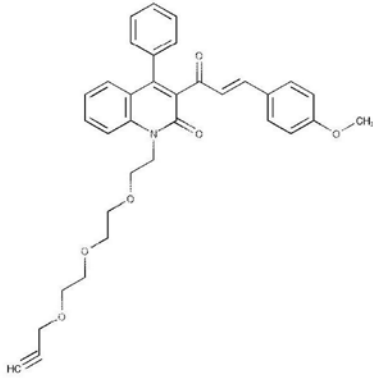
[0136]



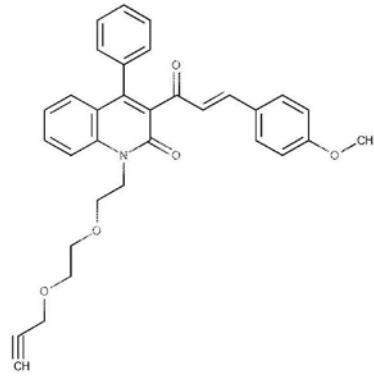
I-98



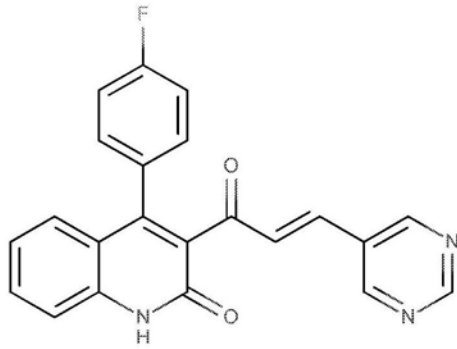
I-99



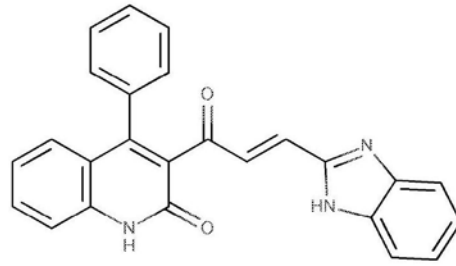
I-100



I-101

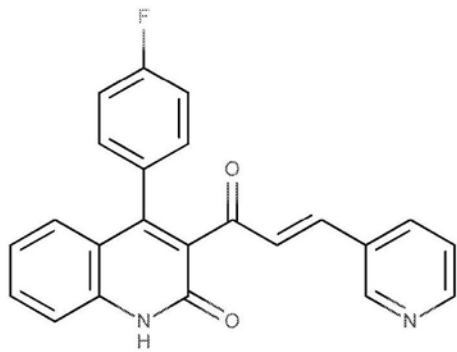


I-102

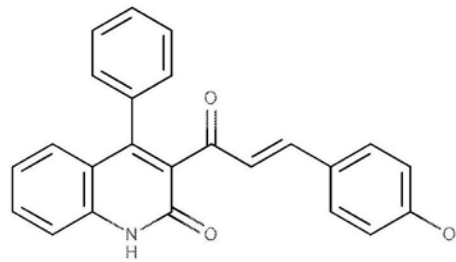


I-103

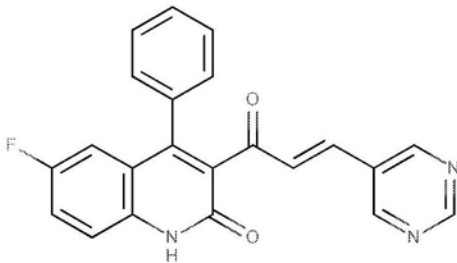
[0137]



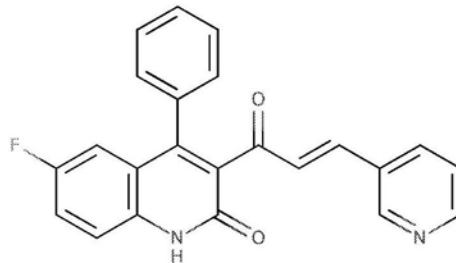
I-104



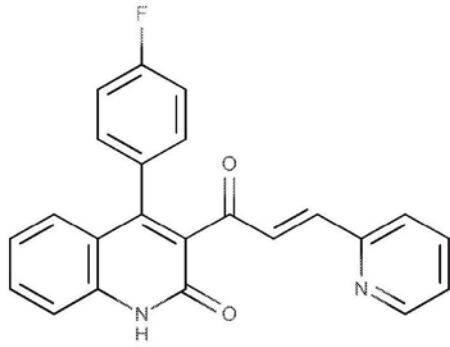
I-105



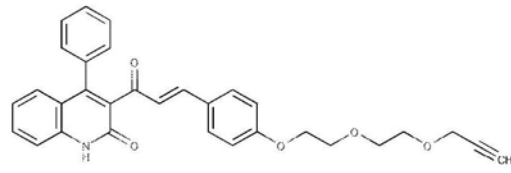
I-106



I-107

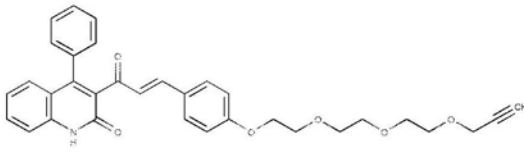


I-108

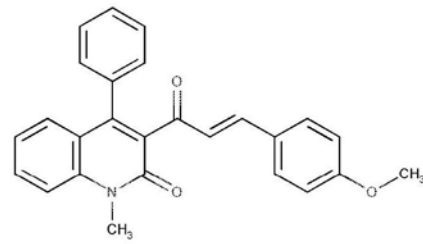


I-109

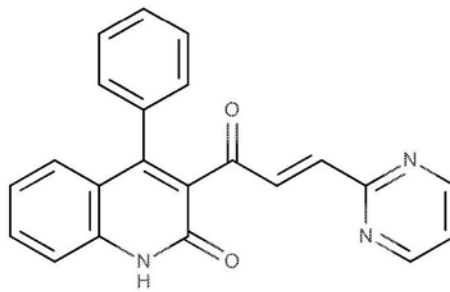
[0138]



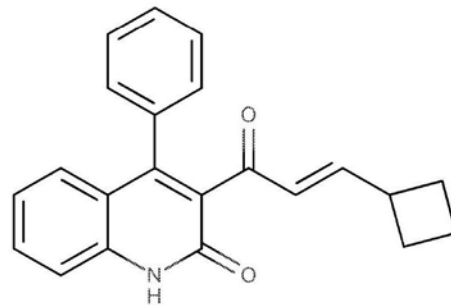
I-110



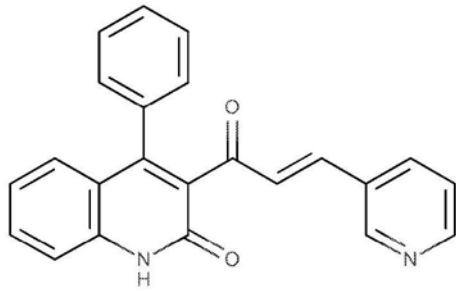
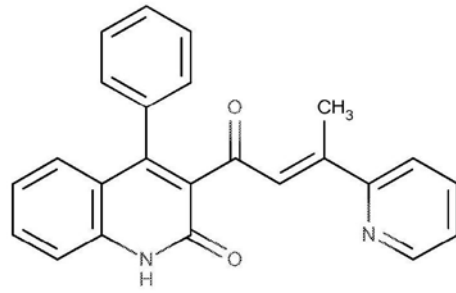
I-111



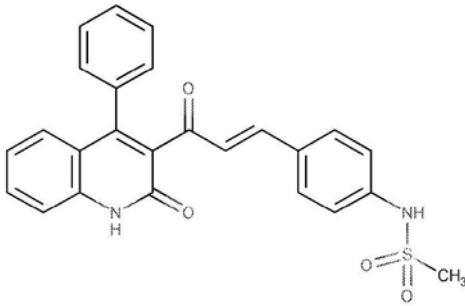
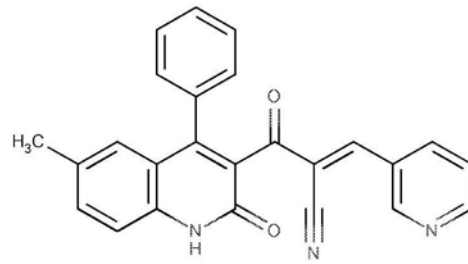
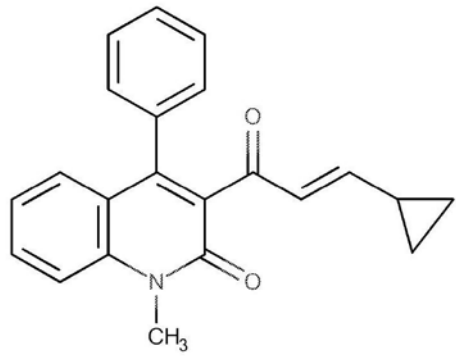
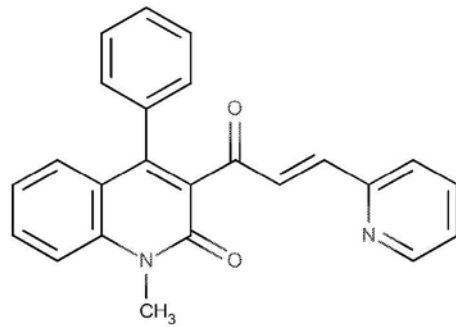
I-112

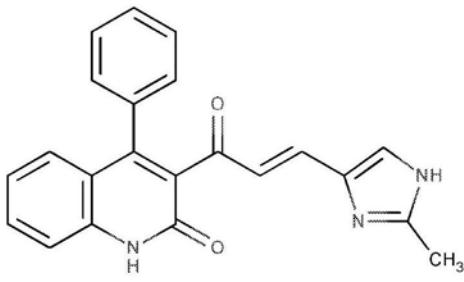


I-113

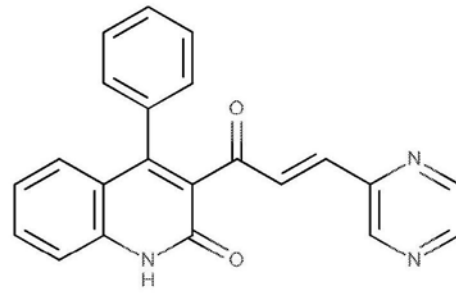
**I-114****I-115**

[0139]

**I-116****I-117****I-118****I-119**

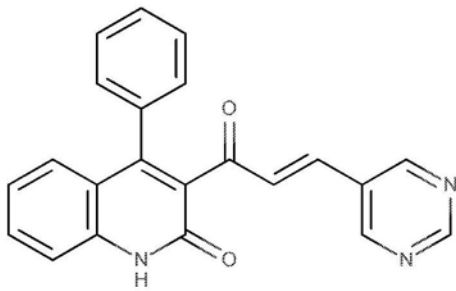


I-120

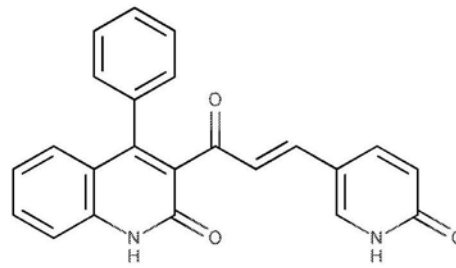


I-121

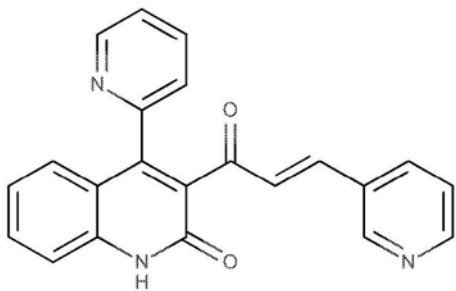
[0140]



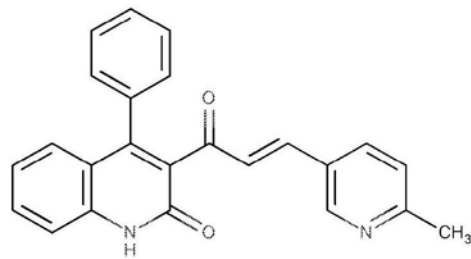
I-122



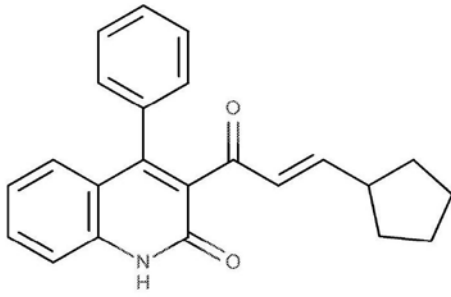
I-123



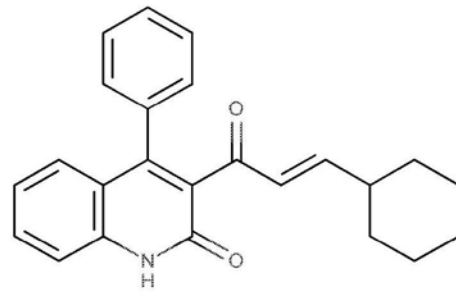
I-124



I-125

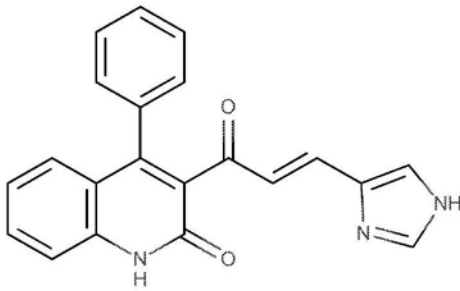


I-126

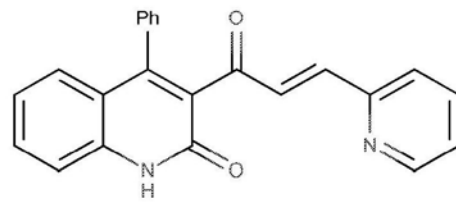


I-127

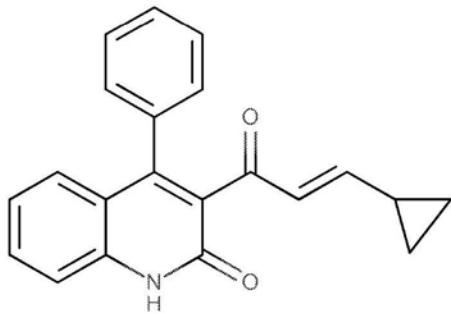
[0141]



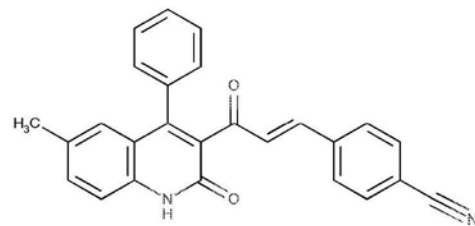
I-128



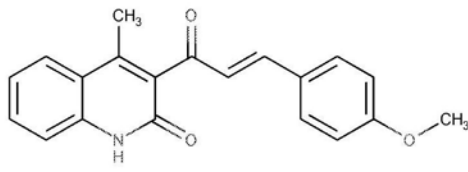
I-129



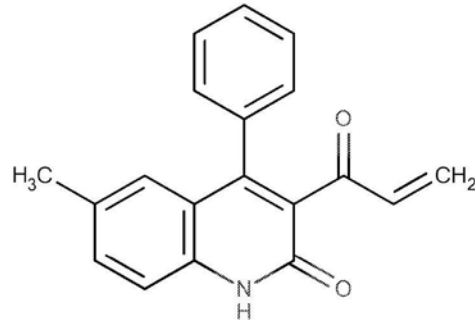
I-130



I-131

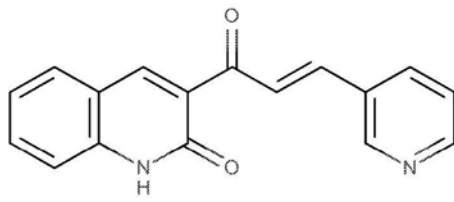


I-132

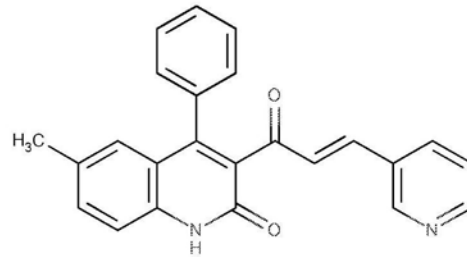


I-133

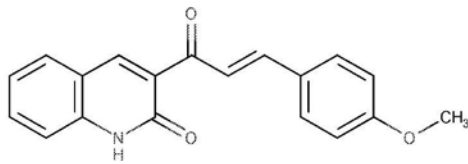
[0142]



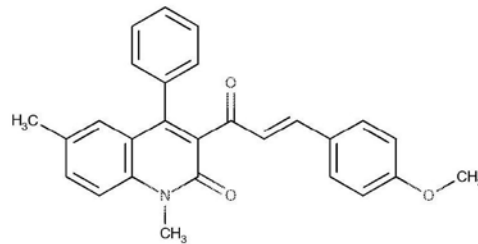
I-134



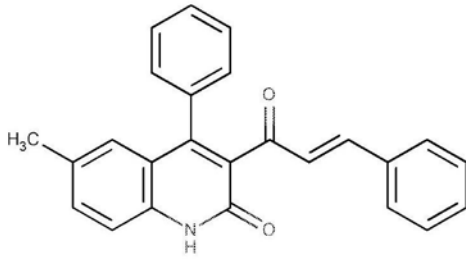
I-135



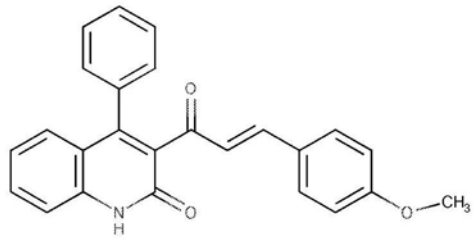
I-136



I-137

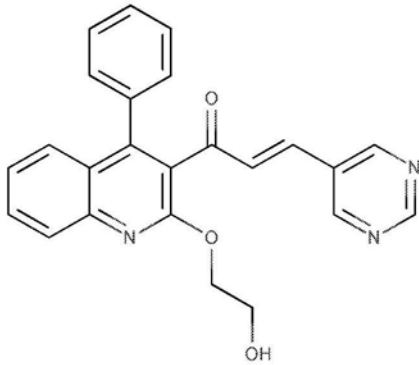


I-138

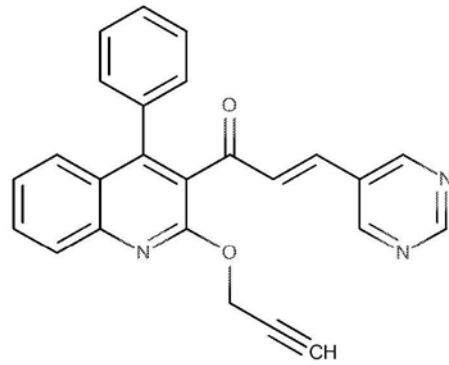


I-139

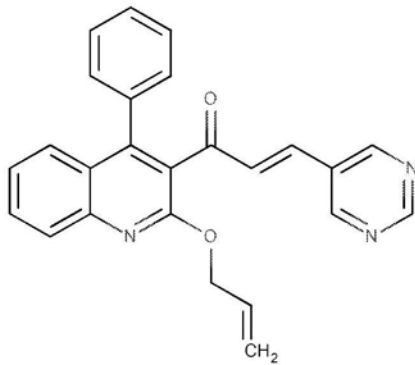
[0143]



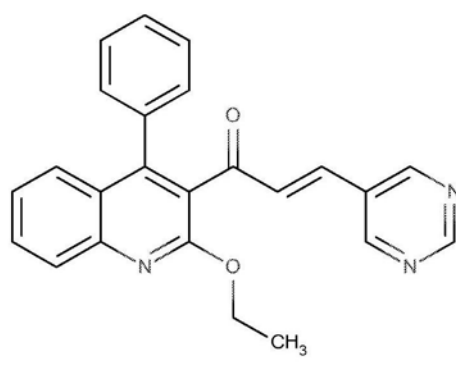
I-140



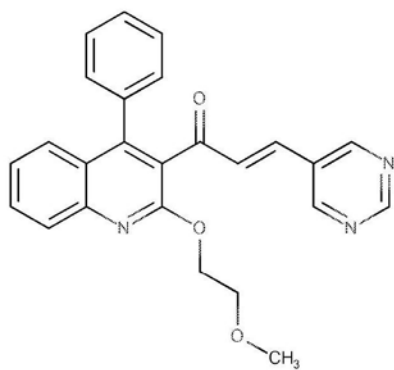
I-141



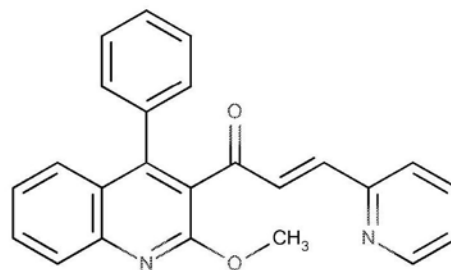
I-142



I-143

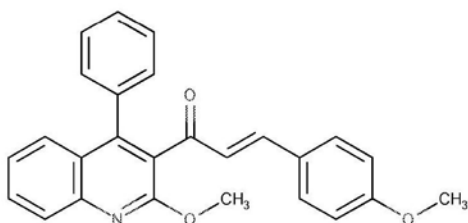


I-144

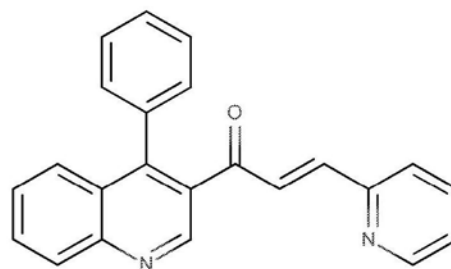


I-145

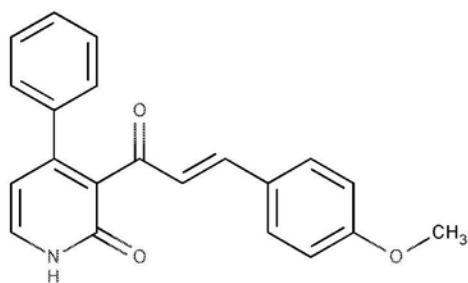
[0144]



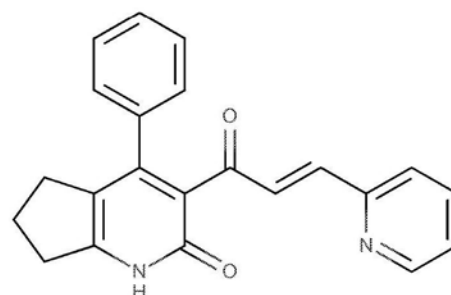
I-146



I-147

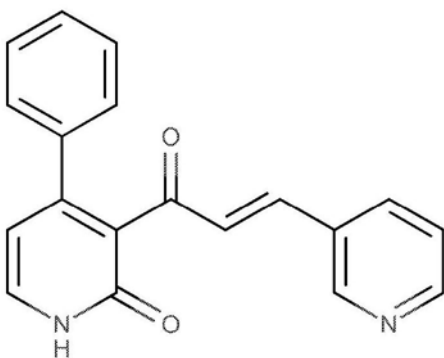


I-148

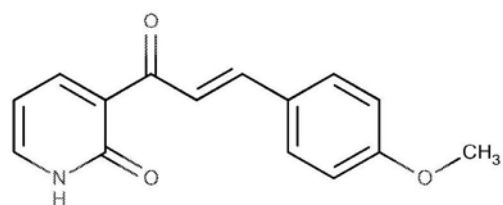


I-149

[0145]

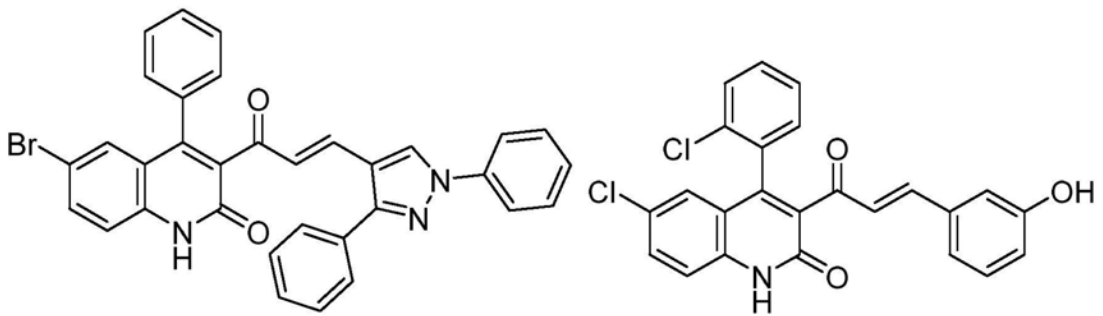
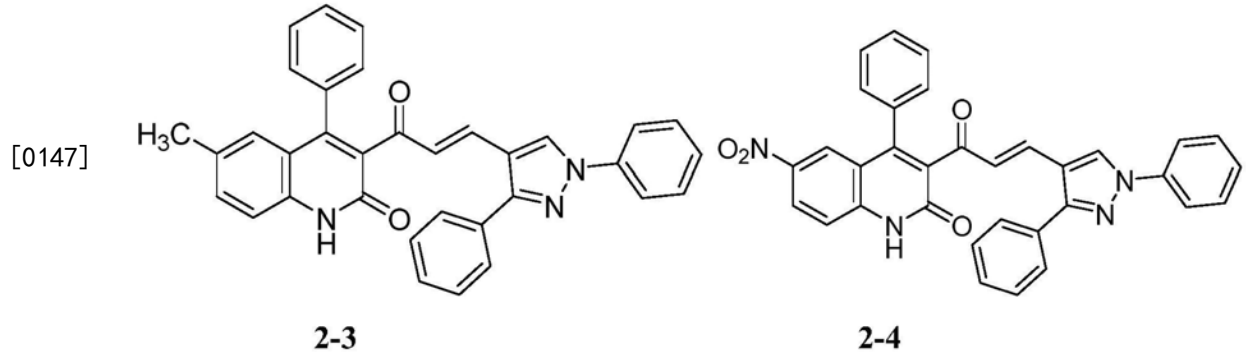
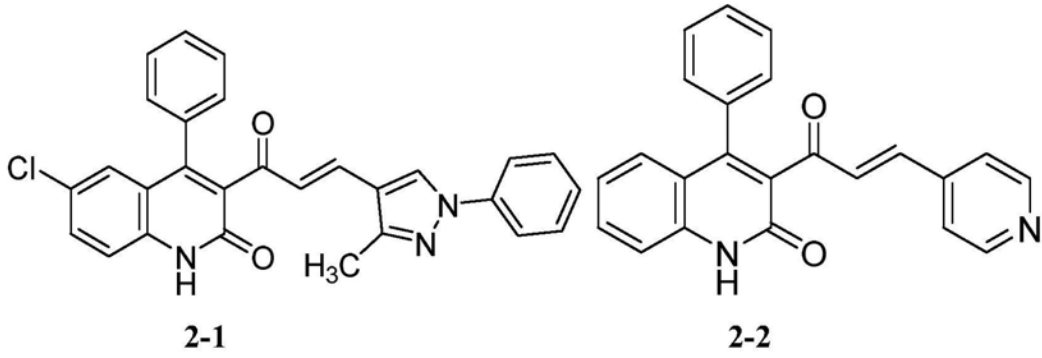


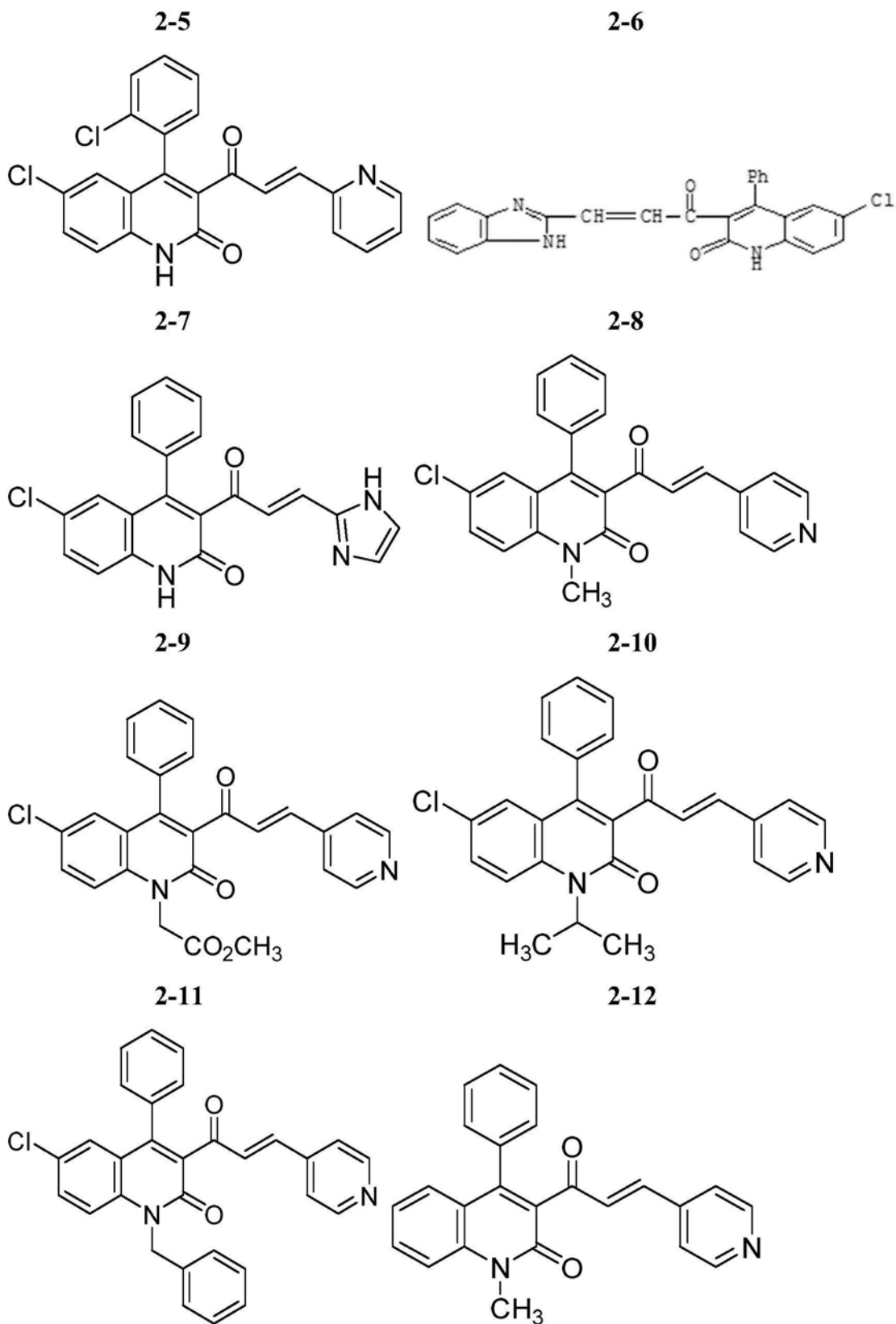
I-150



I-151

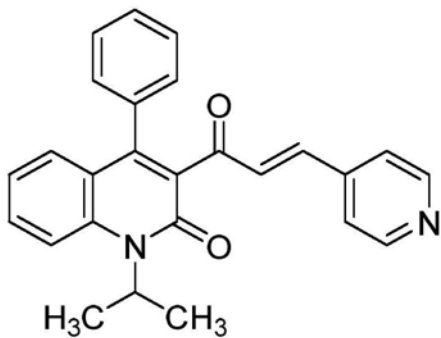
[0146] 表2. 化合物



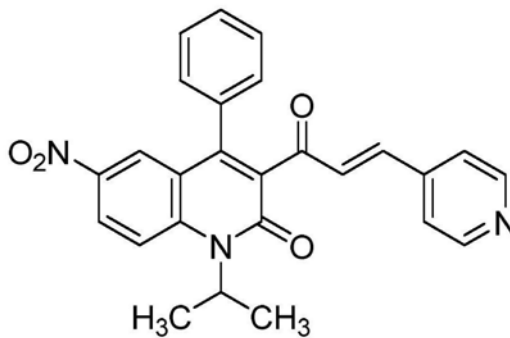


[0148]

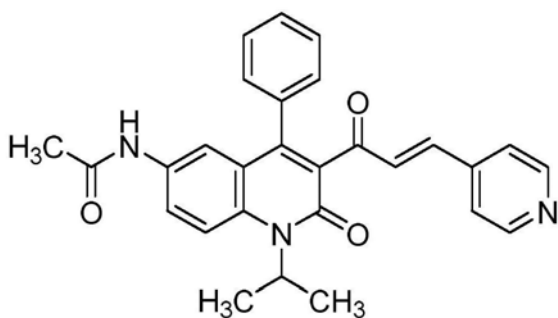
2-13



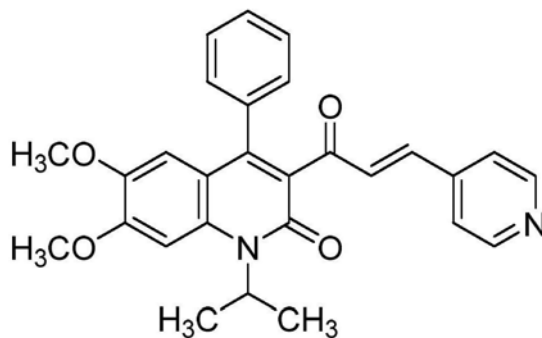
2-14



2-15

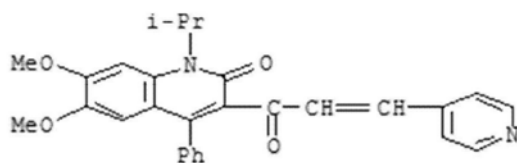


2-16

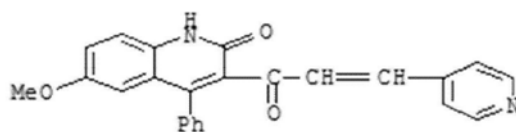


[0149]

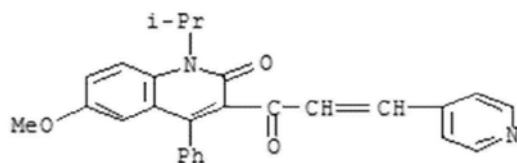
2-17



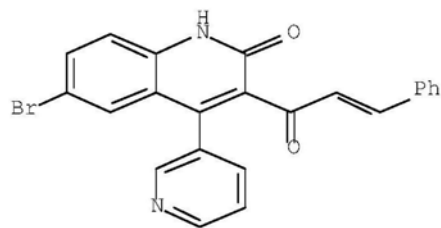
2-20

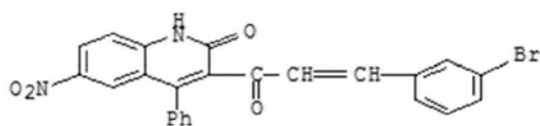


2-21

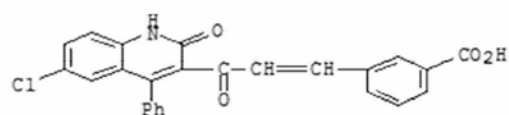


2-22

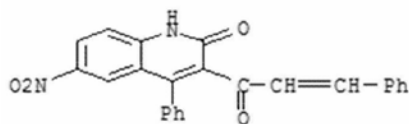




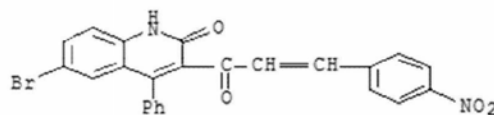
2-23



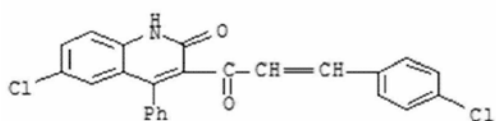
2-24



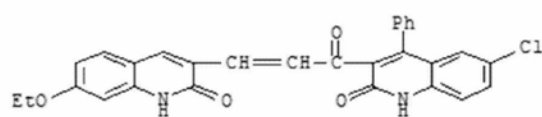
2-25



2-26

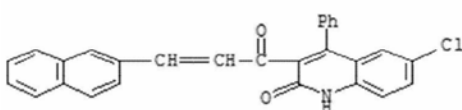


2-27

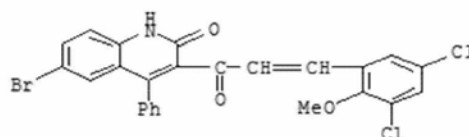


2-28

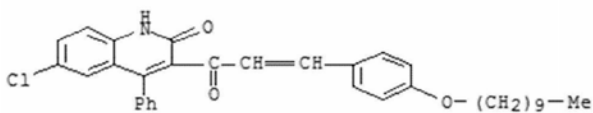
[0150]



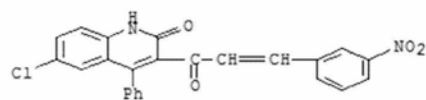
2-29



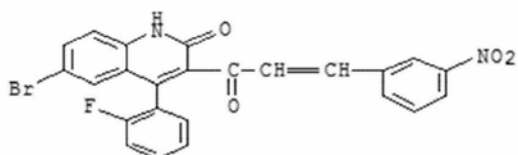
2-30



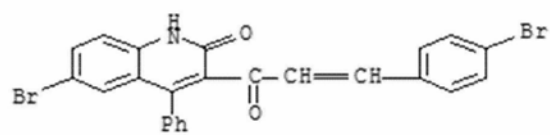
2-31



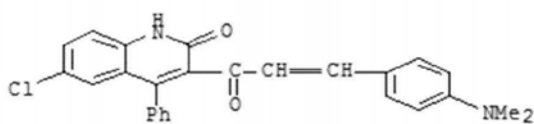
2-32



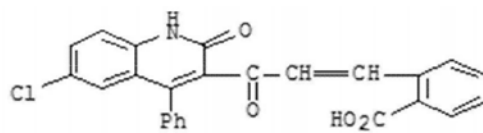
2-33



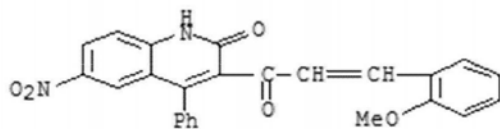
2-34



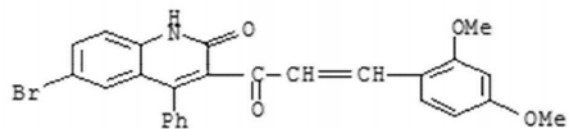
2-35



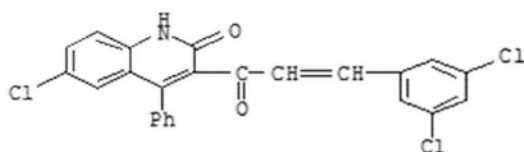
2-36



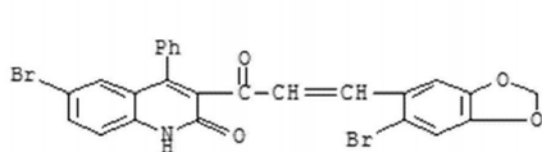
2-37



2-38

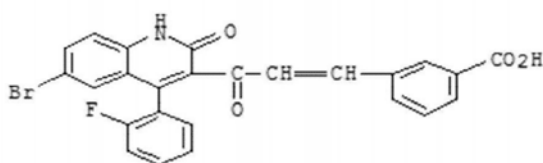


2-39

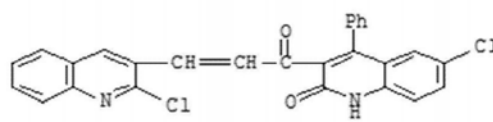


2-40

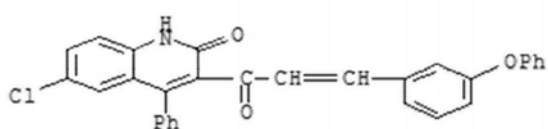
[0151]



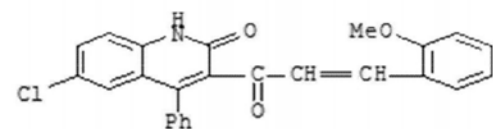
2-41



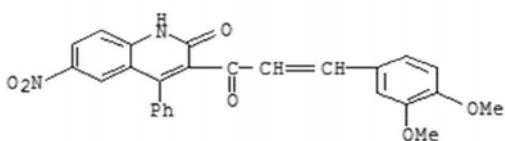
2-42



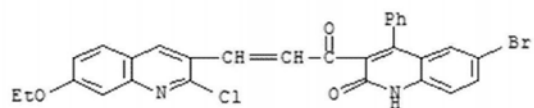
2-43



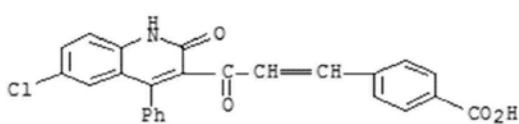
2-44



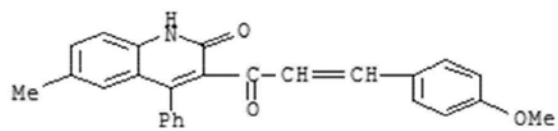
2-45



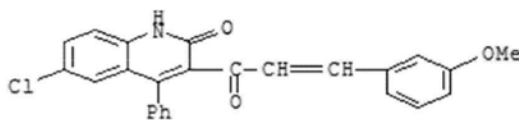
2-46



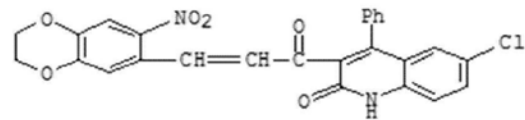
2-47



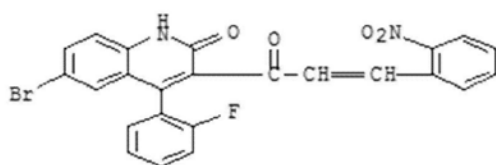
2-48



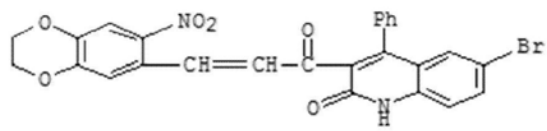
2-49



2-50

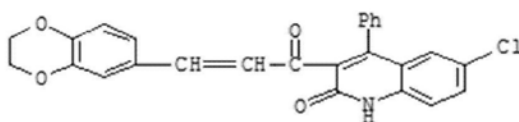


2-51

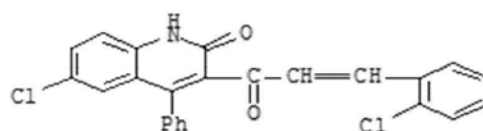


2-52

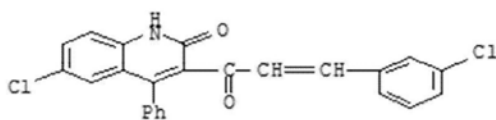
[0152]



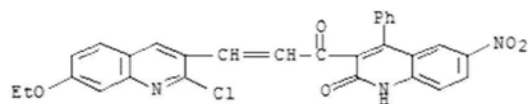
2-53



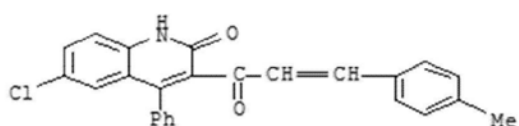
2-54



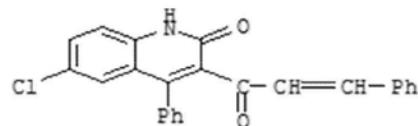
2-55



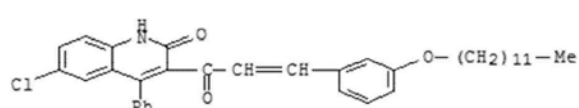
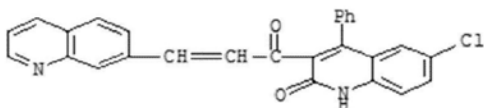
2-56



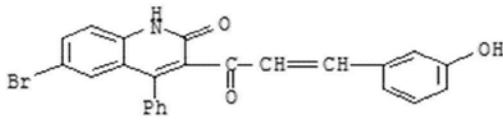
2-57



2-58

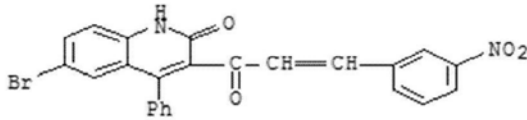


2-59



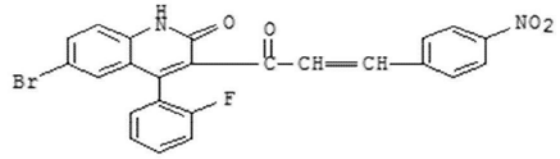
[0153]

2-61



2-63

2-60



2-62

[0154] 在某些实施方案中,本发明提供上文和本文所述的任何化合物,或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,本发明提供如上表1中所示的化合物或其药学上可接受的盐。

[0155] 在一些实施方案中,本发明提供以分离形式的上文和本文中描述的任何化合物。

[0156] 在一些实施方案中,本发明提供包含具有半胱氨酸残基Cys317的PAD4的缀合物,其中Cys317与抑制剂共价且不可逆地结合,使得维持PAD4的抑制。

[0157] 在某些实施方案中,本发明提供式X的缀合物:

[0158] Cys317-修饰基-抑制剂部分

[0159] X

[0160] 其中:

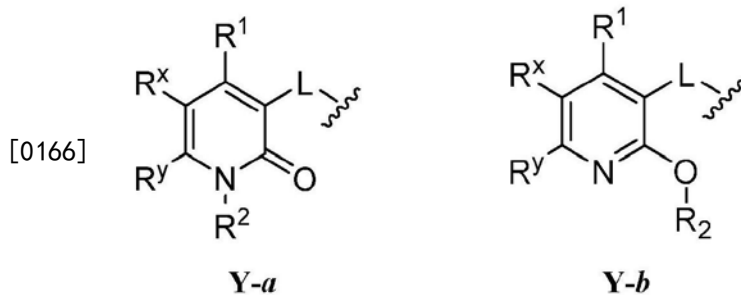
[0161] Cys317是PAD4的半胱氨酸317;

[0162] 修饰基是由弹头基(Warhead Group)与PAD4的Cys317共价结合产生的二价基团;

[0163] 弹头基是能够与PAD4的Cys317共价结合的官能团;和

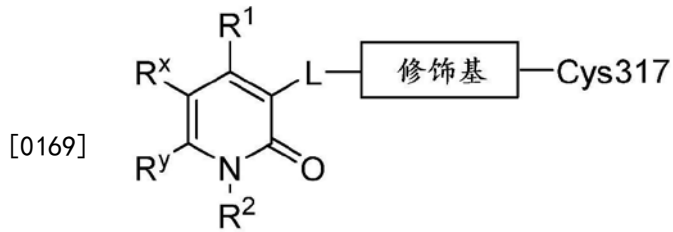
[0164] 抑制剂部分是在PAD4的活性位点结合的部分。

[0165] 在某些实施方案中,式X的缀合物的抑制剂部分具有式Y-a或Y-b:



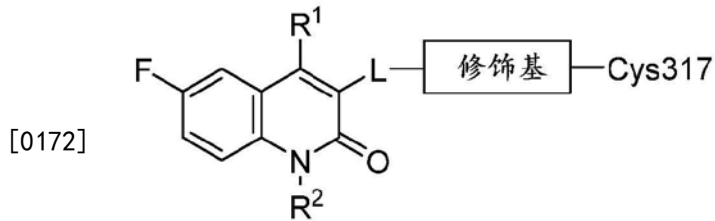
[0167] 其中波状键表示通过修饰基连接至式X的缀合物的Cys317的位点,且其中L、R¹、R²、R^x及R^y中的每一个的定义如上文所定义和本文所述。

[0168] 在一些实施方案中,本发明提供式X-a的缀合物:



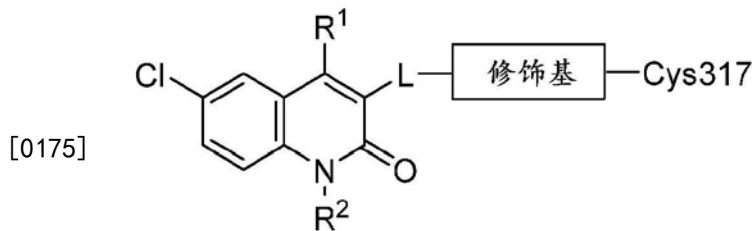
[0170] 其中修饰基、Cys317、L、R¹、R²、R^x和R^y中的每一个如上所定义和本文所述。

[0171] 在一些实施方案中,本发明提供式X-b的缀合物:



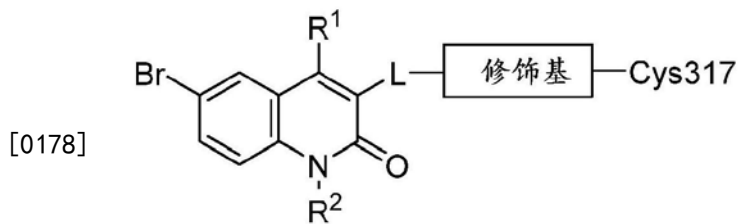
[0173] 其中修饰基、Cys317、L、R¹和R²中的每一个如上所定义和本文所述。

[0174] 在一些实施方案中,本发明提供式X-c的缀合物:



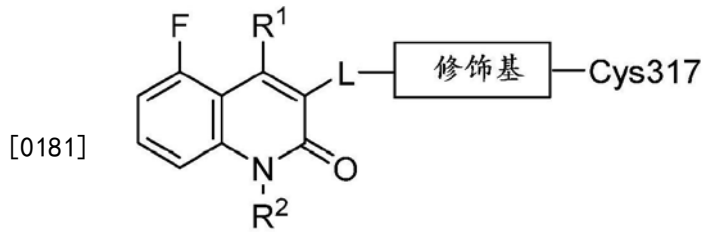
[0176] 其中修饰基、Cys317、L、R¹、R²中的每一个如上所定义和本文所述。

[0177] 在一些实施方案中,本发明提供式X-d的缀合物:



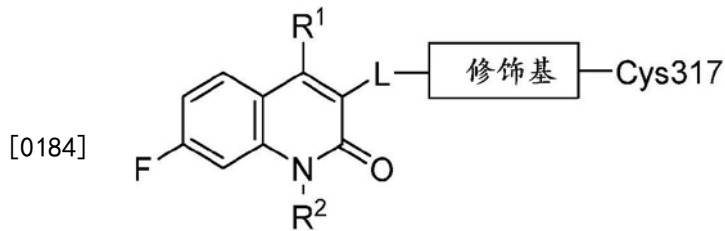
[0179] 其中修饰基、Cys317、L、R¹、R²中的每一个如上所定义和本文所述。

[0180] 在一些实施方案中,本发明提供式X-e的缀合物:

**X-e**

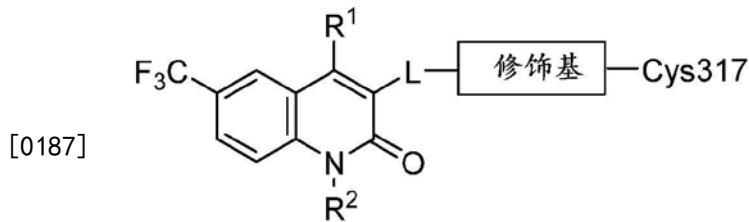
[0182] 其中修饰基、Cys317、L、R¹、R²中的每一个如上所定义和本文所述。

[0183] 在一些实施方案中,本发明提供式X-f的缀合物:

**X-f**

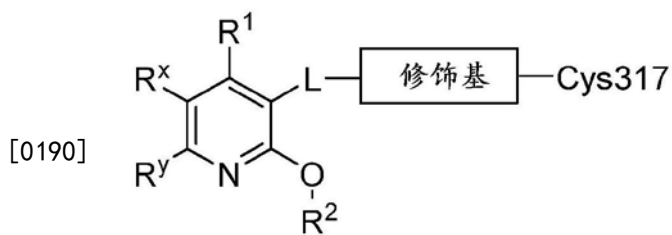
[0185] 其中修饰基、Cys317、L、R¹、R²中的每一个如上所定义和本文所述。

[0186] 在一些实施方案中,本发明提供式X-g的缀合物:

**X-g**

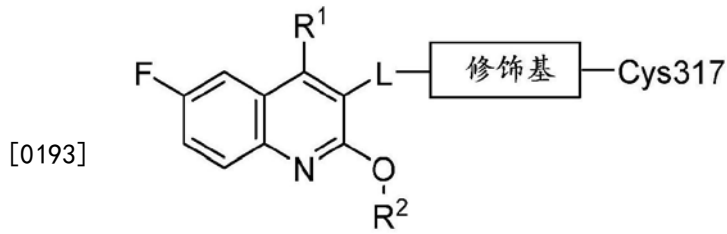
[0188] 其中修饰基、Cys317、L、R¹、R²中的每一个如上所定义和本文所述。

[0189] 在一些实施方案中,本发明提供式XI-a的缀合物:

**XI-a**

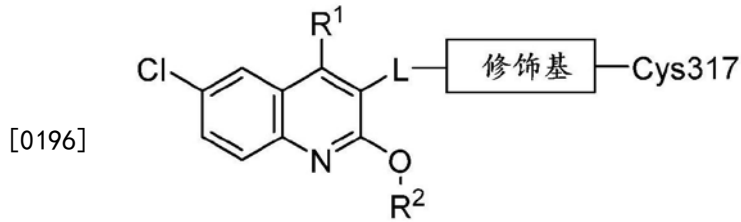
[0191] 其中修饰基、Cys317、L、R¹、R²、R^x和R^y中的每一个如上所定义和本文所述。

[0192] 在一些实施方案中,本发明提供式XI-b的缀合物:

**XI-b**

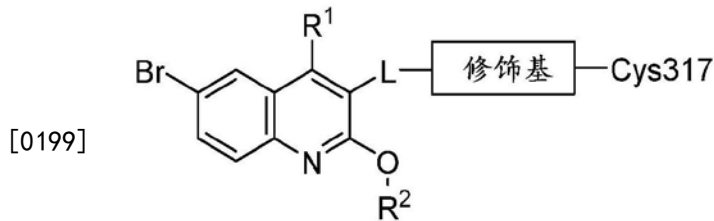
[0194] 其中修饰基、Cys317、L、R¹、R²中的每一个如上所定义和本文所述。

[0195] 在一些实施方案中，本发明提供式XI-c的缀合物：

**XI-c**

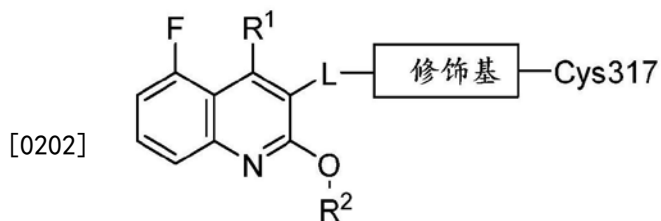
[0197] 其中修饰基、Cys317、L、R¹、R²中的每一个如上所定义和本文所述。

[0198] 在一些实施方案中，本发明提供式XI-d的缀合物：

**XI-d**

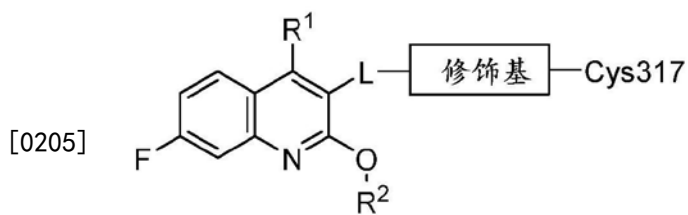
[0200] 其中修饰基、Cys317、L、R¹、R²中的每一个如上所定义和本文所述。

[0201] 在一些实施方案中，本发明提供式XI-e的缀合物：

**XI-e**

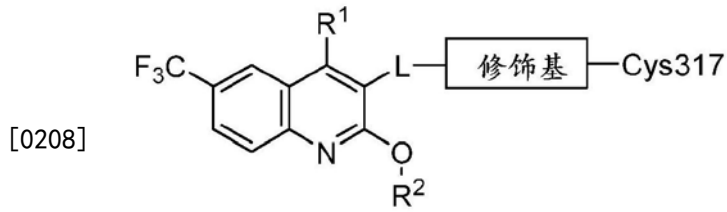
[0203] 其中修饰基、Cys317、L、R¹、R²中的每一个如上所定义和本文所述。

[0204] 在一些实施方案中，本发明提供式XI-f的缀合物：

**XI-f**

[0206] 其中修饰基、Cys317、L、R¹、R²中的每一个如上所定义和本文所述。

[0207] 在一些实施方案中，本发明提供式XI-g的缀合物：

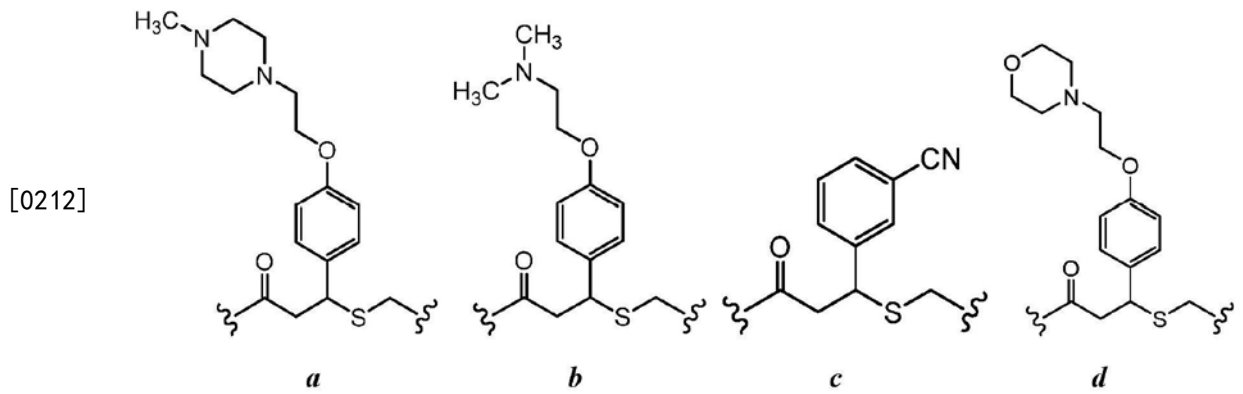


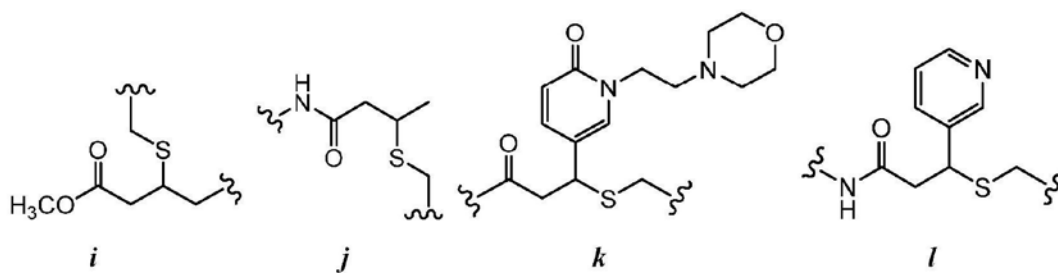
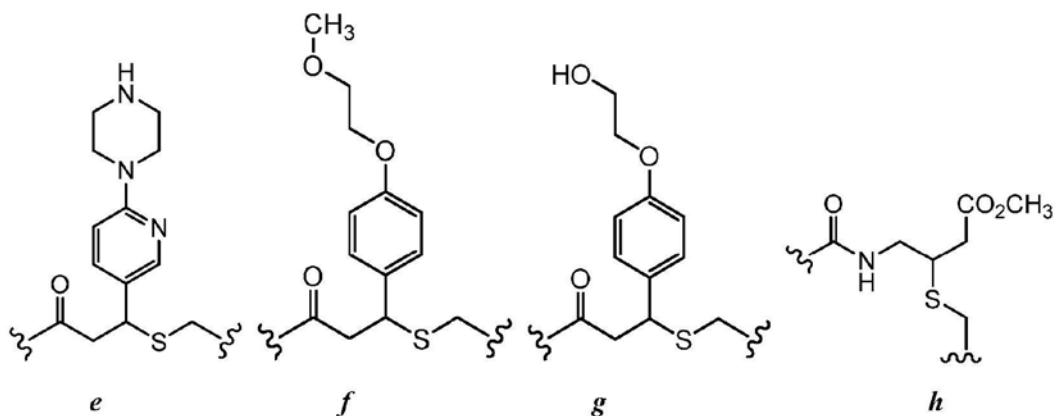
XI-g

[0209] 其中修饰基、Cys317、L、R¹、R²中的每一个如上所定义和本文所述。

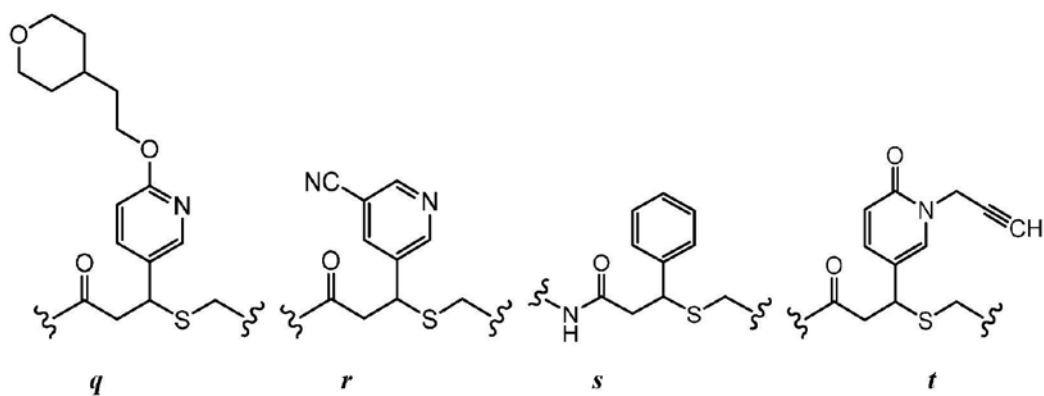
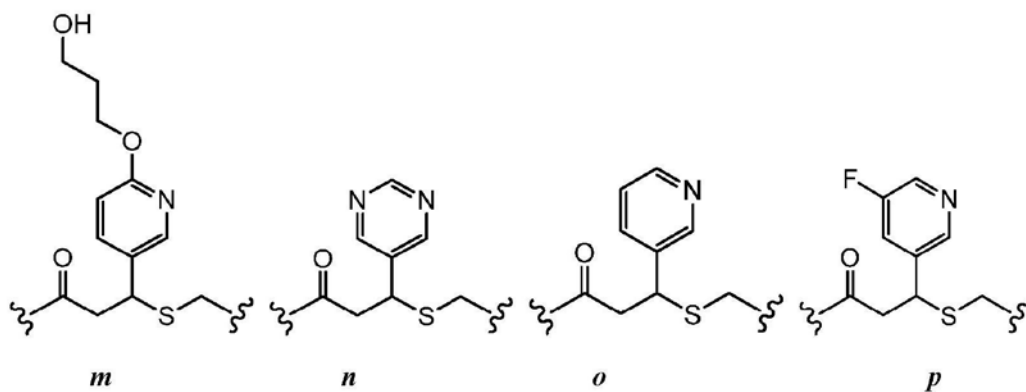
[0210] 示例性的修饰基包括由弹头基与PAD4的Cys317共价结合产生的任何二价基团。应理解，以下示例性的修饰基表示为与Cys317的巯基缀合。

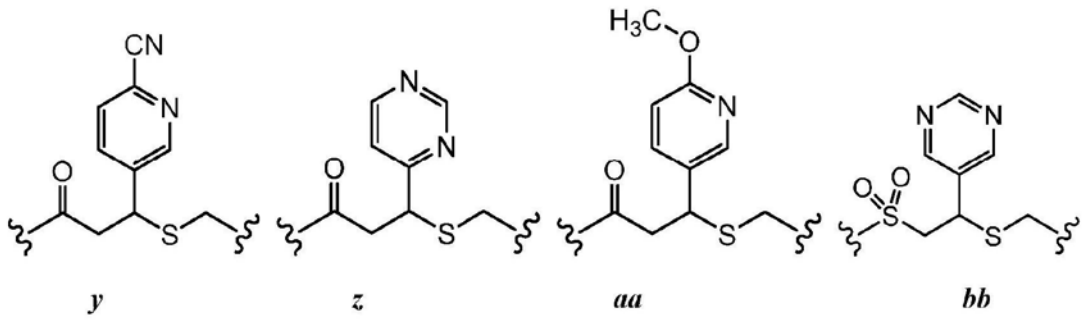
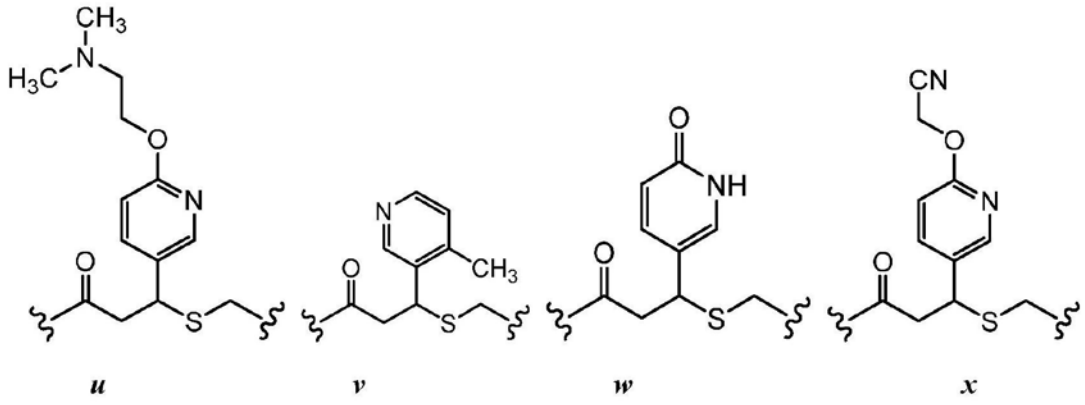
[0211] 表3. 与Cys317缀合的示例性的 $\{\}$ -L-修饰基



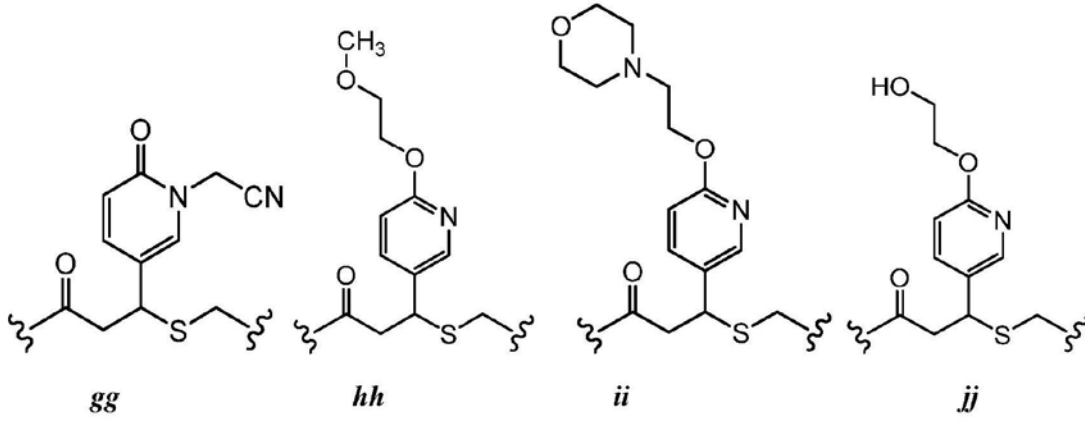
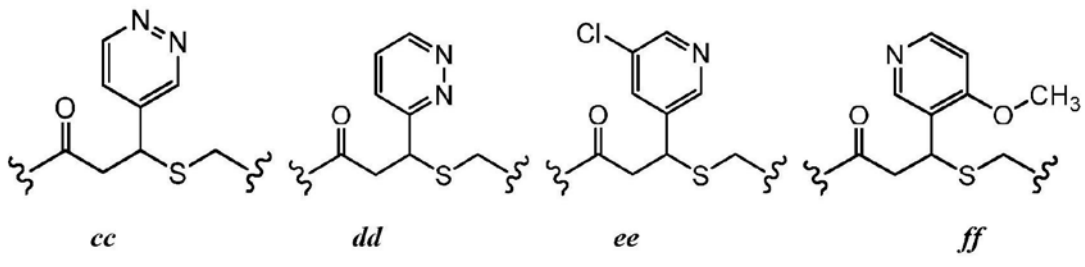


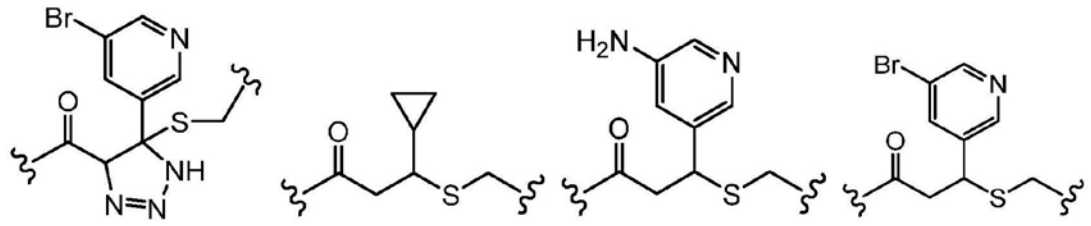
[0213]



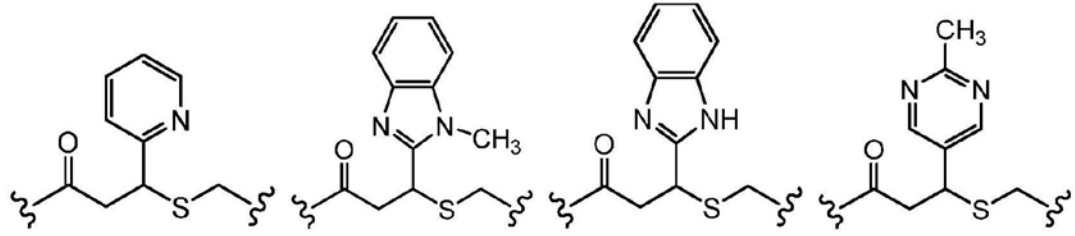


[0214]



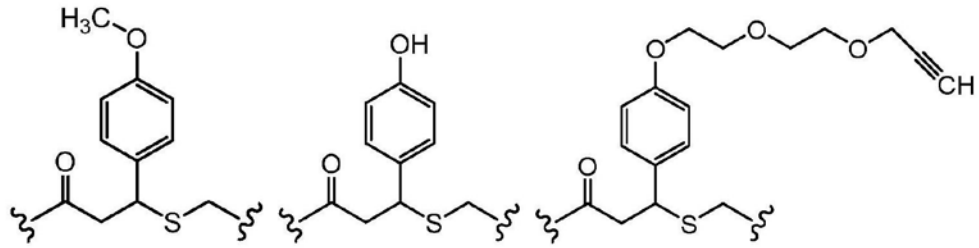


kk ll mm nn

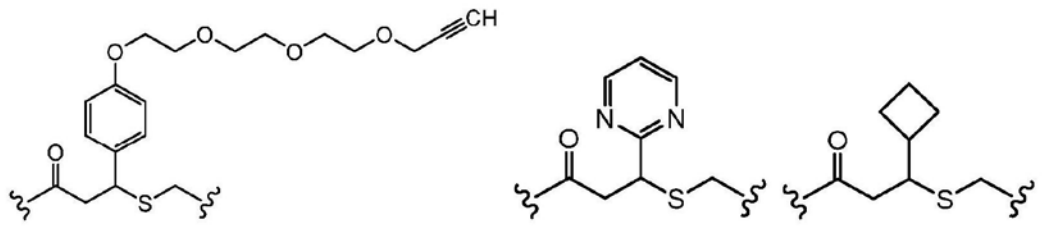


oo pp qq rr

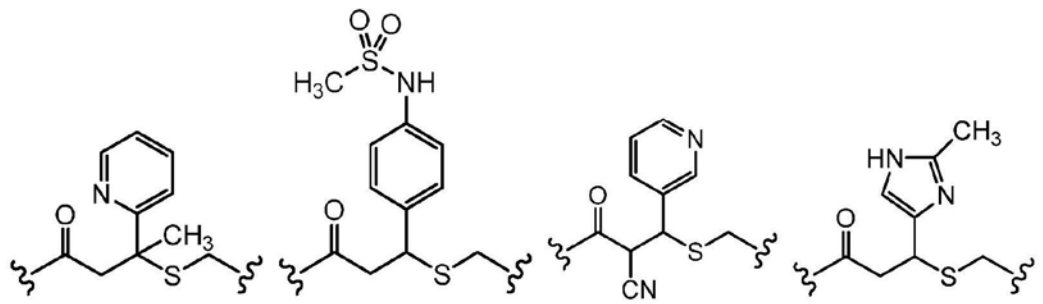
[0215]



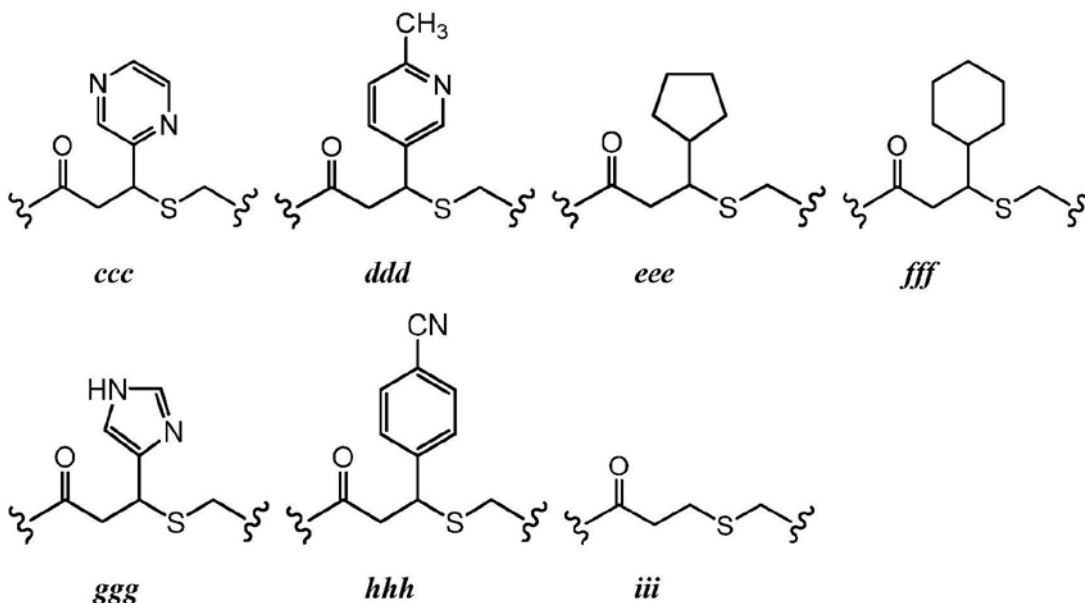
ss tt uu



vv ww xx



yy zz aaa bbb



[0217] 4. 用途、配制和给予

[0218] 药学上可接受的组合物

[0219] 根据另一个实施方案,本发明提供一种组合物,其包括本发明化合物或其药学上可接受的衍生物及药学上可接受的载剂、佐剂或溶媒。本发明组合物中的化合物的量使得在生物试样或患者中有效可测量地抑制PAD4。在某些实施方案中,本发明组合物中的化合物的量使得在生物试样或患者中有效可测量地抑制PAD4。在某些实施方案中,本发明组合物经配制用于给予需要此组合物的患者。在一些实施方案中,本发明组合物经配制用于经口给予患者。

[0220] 本文所用的术语“受试者”可与术语“患者”互换使用且意指动物、优选哺乳动物。在一些实施方案中,受试者或患者是人类。在其他实施方案中,受试者(或患者)是畜类受试者(或患者)。在一些实施方案中,畜类受试者(或患者)是犬、猫或马受试者。

[0221] 术语“药学上可接受的载剂、佐剂或溶媒”是指不会破坏与其一起配制的化合物的药理学活性的无毒载剂、佐剂或溶媒。可用于本发明组合物中的药学上可接受的载剂、佐剂和溶媒包括但不限于离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白(诸如人类血清白蛋白)、缓冲物质(诸如磷酸盐)、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐或电解质(诸如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐)、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯基吡咯烷酮、纤维素基物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇及羊毛脂。

[0222] 本发明组合物可经口、胃肠外、藉由吸入喷雾、经局部、经直肠、经鼻、经颊、经阴道或经由植入型储库给予。本文所用的术语“胃肠外”包括皮下、静脉内、肌内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、病灶内及颅内注射或输注技术。优选地,经口、腹膜腔内或静脉内给予这样的组合物。本发明组合物的无菌可注射形式可为水性或油性悬浮液。这样的悬浮液可根据业内已知技术使用适合的分散剂或润湿剂和悬浮剂来配制。无菌可注射制剂还可为在无毒胃肠外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液,例如作为在1,3-丁二醇中的溶液。水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液可用作所述可接受溶媒和溶剂。另外,通常采用无菌不挥发性油作为溶剂或悬浮介质。

[0223] 就此目的而言,可使用任一温和不挥发性油,包括合成单-或二-甘油酯。脂肪酸(诸如油酸及其甘油酯衍生物)可用于制备可注射物,同样还有天然的药学上可接受的油,诸如橄榄油或蓖麻油,尤其呈其聚氧乙烯化形式。这些油溶液或悬浮液还可含有长链醇稀释剂或分散剂,例如羧甲基纤维素或通常用于配制包括乳液及悬浮液的药学上可接受的剂型的类似分散剂。还可将其他常用表面活性剂用于配制目的,诸如Tween、Spans及其他通常用于制备药学上可接受的固体、液体或其他剂型的乳化剂或生物可用性增强剂。

[0224] 本发明的药学上可接受的组合物可以任何经口可接受剂型经口给予,这样的剂型包括但不限于胶囊、片剂、水性悬浮液或溶液。在经口使用的片剂情形下,常用载剂包括乳糖和玉米淀粉。通常还添加润滑剂,诸如硬脂酸镁。对于以胶囊形式经口给予而言,可用的稀释剂包括乳糖和干玉米淀粉。在需口服使用水性悬浮液时,可将活性成份与乳化剂和悬浮剂组合。若需要,还可添加某些甜味剂、矫味剂或着色剂。

[0225] 或者,本发明的药学上可接受的组合物可以用于直肠给予的栓剂形式给予。可通过将药剂与适当的非刺激性赋形剂混合来制备这样的组合物,该赋形剂在室温下为固体但在直肠温度下为液体,且因此将在直肠中融化而释放药物。这样的材料包括可可脂、蜂蜡和聚乙二醇。

[0226] 本发明的药学上可接受的组合物也可局部给药,尤其当治疗靶标包括可通过局部施加易于接近的区域或器官(包括眼睛、皮肤或下部肠道的疾病)时。可容易地制备用于这些区域或器官各自的合适的局部制剂。

[0227] 可以直肠栓剂制剂(参见上文)或以合适的灌肠制剂来实现对于下部肠道的局部施加。也可使用局部经皮贴片。

[0228] 对于局部施用,可将所提供的药学上可接受的组合物配制于含有悬浮或溶解于一种或多种载剂中的活性组分的合适软膏中。用于局部给予本发明的化合物的载剂包括但不限于矿物油、液体矿脂、白矿脂、丙二醇、聚氧乙烯、聚氧丙烯化合物、乳化蜡和水。或者,可将所提供的药学上可接受的组合物配制于含有悬浮或溶解于一种或多种药学上可接受的载剂中的活性组分的合适洗剂或乳霜中。合适的载剂包括但不限于矿物油、脱水山梨醇单硬脂酸酯、聚山梨醇酯60、鲸蜡基酯蜡、鲸蜡硬脂醇、2-辛基十二烷醇、苯甲醇和水。

[0229] 对于眼部使用,可将所提供的药学上可接受的组合物配制为在等渗、pH经调节的无菌盐水中的微粒化悬浮液,或优选地配制为在等渗、pH经调节的无菌盐水中的溶液,其含有或不含防腐剂,诸如苄扎氯铵(benzylalkonium chloride)。或者,对于眼部使用,可将药学上可接受的组合物配制于软膏(诸如矿脂)中。

[0230] 也可通过经鼻气溶胶或吸入来给予本发明的药学上可接受的组合物。根据药物制剂领域众所周知的技术来制备此类组合物且可将其制备为在盐水中的溶液,其采用苯甲醇或其它合适防腐剂、吸收促进剂(以增强生物利用度)、氟碳化合物和/或其它常规增溶剂或分散剂。

[0231] 最优选地,本发明的药学上可接受的组合物被配制用于经口给药。此类制剂可与食物一起或不与食物一起给药。在一些实施方案中,本发明的药学上可接受的组合物不与食物一起给药。在其它实施方案中,本发明的药学上可接受的组合物与食物一起给药。

[0232] 本发明的药学上可接受的组合物可经口、直肠、肠胃外、脑池内、阴道内、腹膜内、局部(如通过粉剂、软膏或滴剂)、经颊、作为经口或经鼻喷雾等给予人类和其它动物,这取

决于所治疗的感染的严重程度。在某些实施方案中,本发明的化合物可以每天约0.01mg/kg受试者体重至约50mg/kg受试者体重且优选约1mg/kg受试者体重至约25mg/kg受试者体重的剂量水平一天一或多次经口或肠胃外给药,以获得期望治疗效应。

[0233] 用于经口给药的液体剂型包括但不限于药学上可接受的乳液、微乳液、溶液、悬浮液、糖浆和酞剂。除了活性化合物以外,液体剂型可以含有本领域常用的惰性稀释剂(诸如例如水或其它溶剂)、增溶剂和乳化剂,诸如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺、油(特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇和失水山梨醇的脂肪酸酯和其混合物。除了惰性稀释剂以外,经口组合物也可包括佐剂,诸如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂和芳香剂。

[0234] 可根据已知技术使用合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂来配制可注射制剂,例如无菌可注射水性或油性悬浮液。无菌可注射制剂也可以是在无毒的肠道外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液、悬浮液或乳液,例如作为在1,3-丁二醇中的溶液。可采用的可接受的溶媒和溶剂是水、林格氏溶液、U.S.P.和等渗氯化钠溶液。另外,通常采用无菌不挥发性油作为溶剂或悬浮介质。出于该目的,可采用任何温和和不挥发性油,包括合成单甘油酯或二甘油酯。另外,在可注射制剂中使用脂肪酸,诸如油酸。

[0235] 可注射制剂可例如通过如下灭菌:过滤通过截留细菌的过滤器或通过掺入灭菌剂,所述灭菌剂呈可在使用前溶解或分散于无菌水或其它无菌可注射介质中的无菌固体组合物的形式。

[0236] 为了延长本发明化合物的效果,通常期望从皮下或肌内注射来减缓化合物的吸收。这可通过使用具有较差水溶性的结晶或无定形材料的液体悬浮液来实现。化合物的吸收速率则取决于其溶解速率,其进而可取决于晶体大小和结晶形式。或者,通过将化合物溶解或悬浮于油性溶媒中来实现肠胃外给药的化合物形式的延迟吸收。通过在生物可降解聚合物(诸如聚乳酸-聚乙交酯)中形成化合物的微囊基质来制备可注射的储库形式。取决于化合物与聚合物的比率和采用的具体聚合物的性质,可控制化合物释放的速率。其它生物可降解聚合物的实例包括聚(原酸酯)和聚(酞)。也可通过将化合物捕集于与身体组织相容的脂质体或微乳液中来制备储库可注射制剂。

[0237] 用于直肠或阴道给药的组合物优选为栓剂,其可通过将本发明的化合物与合适的无刺激性赋形剂或载剂(诸如可可脂、聚乙二醇或栓剂蜡)混合来制备,所述赋形剂或载剂在环境温度下为固体但在体温下为液体且因此其可在直肠或阴道腔内融化并释放活性化合物。

[0238] 用于经口给药的固体剂型包括胶囊、片剂、丸剂、粉剂和颗粒。在此类固体剂型中,所述活性化合物与至少一种惰性的药学上可接受的赋形剂或载剂(诸如柠檬酸钠或磷酸二钙)和/或以下物质混合:a)填充剂或增量剂,诸如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅胶,b)粘合剂,诸如例如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯基吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶,c)保湿剂,诸如甘油,d)崩解剂,诸如琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠,e)溶液阻滞剂,诸如石蜡,f)吸收促进剂,诸如季铵化合物,g)润湿剂,诸如例如鲸蜡醇和甘油单硬脂酸酯,h)吸收剂,诸如高岭土和膨润土粘土,和i)润滑剂,诸如滑石粉、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂基硫酸钠和其混合物。在胶囊、片剂和丸剂的情形

下,剂型也可包含缓冲剂。

[0239] 也可采用类似类型的固体组合物作为使用赋形剂诸如乳糖(lactose)或乳糖(milk sugar)以及高分子量聚乙二醇等在软和硬填充明胶胶囊中的填充剂。片剂、糖衣丸、胶囊、丸剂和颗粒的固体剂型可用包衣和包壳(诸如肠溶包衣和药学配制领域中众所周知的其它包衣)来制备。其可任选地含有遮光剂且也可以是其任选地以延迟方式仅或优先在肠道的特定部分中释放(一种或多种)活性成分的组合物。可使用的包埋组合物的实例包括聚合物物质和蜡。也可采用相似类型的固体组合物作为使用赋形剂诸如乳糖(lactose)或乳糖(milk sugar)以及高分子量聚乙二醇等的在软和硬填充明胶胶囊中的填充剂。

[0240] 活性化合物也可与一种或多种如上文所示的赋形剂呈微囊化形式。片剂、糖衣丸、胶囊、丸剂和颗粒的固体剂型可用包衣和包壳(诸如肠溶包衣、释放控制包衣和药学配制领域中众所周知的其它包衣)来制备。在此类固体剂型中,可将活性化合物与至少一种惰性稀释剂(诸如蔗糖、乳糖或淀粉)混合。此类剂型也可如同通常实践一样包含除了惰性稀释剂以外的额外物质,例如压片润滑剂和其它压片助剂(诸如硬脂酸镁和微晶纤维素)。在胶囊、片剂和丸剂的情况下,所述剂型也可包含缓冲剂。其可任选地含有遮光剂且也可以是其任选地以延迟方式仅或优先在肠道的特定部分中释放(一种或多种)活性成分的组合物。可使用的包埋组合物的实例包括聚合物物质和蜡。

[0241] 用于局部或经皮给予本发明的化合物的剂型包括软膏、糊剂、乳霜、洗剂、凝胶、粉剂、溶液、喷雾剂、吸入剂或贴片。如果需要,可在无菌条件下将活性组分与药学上可接受的载剂和任何所需防腐剂或缓冲剂混合。眼部制剂、滴耳剂和滴眼剂也涵盖于本发明的范围内。另外,本发明涵盖透皮贴片的使用,透皮贴片具有提供化合物至身体的受控递送的额外优点。此类剂型可通过将化合物溶解或分配于适当介质中来制备。也可使用吸收增强剂来增加所述化合物穿过皮肤的通量。速率可通过提供速率控制膜或通过将化合物分散于聚合物基质或凝胶中来控制。

[0242] 可与载剂材料组合以产生呈单一剂型的组合物的本发明化合物的量将取决于所治疗的宿主、具体给药模式而变化。优选地,应当配制所提供的组合物,以便可将剂量为0.01-100mg/kg体重/天的抑制剂给药于接受这些组合物的患者。

[0243] 本发明的化合物可单独或与一种或多种其它治疗化合物组合给药,可能的组合法采用以下形式:本发明的化合物和一种或多种其它治疗化合物的固定组合或本发明的化合物和一种或多种其它治疗化合物交错给药或彼此独立地给予,或固定组合和一种或多种其它治疗化合物的组合给药。本发明的化合物可此外或另外与化学疗法、放射疗法、免疫疗法、光疗法、手术干预或这些的组合联合给予以尤其用于肿瘤疗法。长期疗法在其它治疗策略的情况下同样地可能作为辅助疗法,如上文所述。其它可能的治疗是肿瘤消退后用于维持患者状态的疗法或甚至化学预防疗法,例如在处于风险下的患者中。

[0244] 那些额外药剂可作为多剂量方案的一部分与含有本发明化合物的组合物分开给药。或者,那些药剂可以是单一剂型的一部分,其与本发明的化合物一起混合于单一组合物中。如果作为多剂量方案的一部分给药,则两种活性剂可同时、依次或彼此在一定时间期间内、通常彼此在5小时内递送。

[0245] 如本文所用,术语“组合”、“组合的”和相关术语是指同时或依次给予本发明的治疗剂。例如,本发明的化合物可与另一治疗剂同时或依次以分开的单位剂型或一起在单一

单位剂型中进行给药。因此,本发明提供包含本发明的化合物、额外治疗剂和药学上可接受的载剂、佐剂或溶媒的单一单位剂型。

[0246] 可与载剂物质组合以产生单一剂型的本发明化合物和额外治疗剂两者的量(在如上文所述包含额外治疗剂的那些组合中)将取决于所治疗的宿主和具体给药方式而变化。优选地,本发明的组合物应当被配制,使得可给药剂量为0.01-100mg/kg体重/天的本发明化合物。

[0247] 在包含额外治疗剂的那些组合中,该额外治疗剂和本发明的化合物可协同起作用。因此,额外治疗剂在此类组合物中的量将小于仅利用该治疗剂的单一疗法中所需的量。

[0248] 存在于本发明的组合物中的额外治疗剂的量将不超过在包含该治疗剂作为唯一活性剂的组合物中正常给药的量。优选地,本文公开的组合物中的额外治疗剂的量的范围将为包含该药剂作为唯一治疗活性剂的组合物中正常存在的量的约50%至100%。

[0249] 还应理解,用于任何具体患者的具体剂量和治疗方案将取决于多种因素,包括采用的具体化合物的活性、年龄、体重、总体健康、性别、饮食、给药时间、排泄速率、药物组合和治疗医师的判断以及所治疗的具体疾病的严重程度。本发明的化合物在组合物中的量还将取决于组合物中的具体化合物。

[0250] 化合物和药学上可接受的组合物的用途

[0251] 本文所述的化合物和组合物通常可用于抑制PAD4。

[0252] 可在体外、体内或在细胞系中测定在本发明中用作PAD4抑制剂的化合物的活性。体外测定法包括测定PAD4抑制的测定法。用于测定本发明中用作PAD4的抑制剂的化合物的详细条件记载于下文诸实施例中。在一些实施方案中,所提供的化合物与PAD2相比选择性抑制PAD4。

[0253] 如本文所用,术语“治疗(treatment)”、“治疗(treat)”和“治疗(treating)”是指如本文所述的逆转、减轻疾病或病症或其一种或多种症状、延迟其发作或抑制其进展。在一些实施方案中,治疗可在已发生一种或多种症状之后给药。在其它实施方案中,治疗剂可在无症状的情况下给药。例如,可在症状发作之前将治疗剂给药于敏感个体(例如根据症状历史和/或根据遗传或其它敏感因子)。也可在症状已消退之后继续治疗,例如以防止或延迟其复发。

[0254] 所提供的化合物是PAD4的抑制剂且因此可用于治疗一种或多种与PAD4的活性相关的病症。因此,在某些实施方案中,本发明提供了治疗PAD4-介导的病症的方法,其包括向有此需要的患者给予本发明的化合物或其药学上可接受的组合物的步骤。

[0255] 在某些实施方案中,PAD4-介导的病症是由不适当的PAD4活性介导的疾病、病况或病症。在一些实施方案中,PAD4-介导的病症选自类风湿性关节炎、血管炎、全身性红斑狼疮、溃疡性结肠炎、癌症、囊性纤维化、哮喘、皮肤红斑狼疮和牛皮癣。在另一个实施方案中,由不适当的PAD4活性介导的病症是类风湿性关节炎。在另一个实施方案中,由不适当的PAD4活性介导的病症是全身性狼疮。在另一个实施方案中,由不适当的PAD4活性介导的病症是血管炎。在另一个实施方案中,由不适当的PAD4活性介导的病症是皮肤红斑狼疮。在另一个实施方案中,由不适当的PAD4活性介导的病症是牛皮癣。

[0256] 在一个实施方案中,提供了治疗类风湿性关节炎、血管炎、全身性红斑狼疮、溃疡性结肠炎、癌症、囊性纤维化、哮喘、皮肤红斑狼疮或牛皮癣的方法,所述方法包括向有此需

要的人受试者给予治疗有效量的所提供的化合物或其药学上可接受的盐。

[0257] 在一个实施方案中,提供了治疗类风湿性关节炎的方法,所述方法包括向有此需要的人受试者给予治疗有效量的所提供的化合物或其药学上可接受的盐。在一个实施方案中,提供了治疗全身性狼疮的方法,所述方法包括向有此需要的人受试者给予治疗有效量的所提供的化合物或其药学上可接受的盐。在一个实施方案中,提供了治疗血管炎的方法,所述方法包括向有此需要的人受试者给予治疗有效量的所提供的化合物或其药学上可接受的盐。在一个实施方案中,提供了治疗皮肤红斑狼疮的方法,所述方法包括向有此需要的人受试者给予治疗有效量的所提供的化合物或其药学上可接受的盐。在一个实施方案中,提供了治疗牛皮癣的方法,所述方法包括向有此需要的人受试者给予治疗有效量的所提供的化合物或其药学上可接受的盐。

[0258] 在一些实施方案中,PAD4-介导的病症选自:酸诱发的肺损伤、痤疮(PAPA)、急性淋巴细胞白血病、急性呼吸窘迫综合征、艾迪生病(Addison's disease)、肾上腺增生、肾上腺皮质功能不全、衰老、AIDS、酒精性肝炎、酒精性肝病、过敏原诱发的哮喘、过敏性鼻炎、曲霉病、过敏性结膜炎、脱发、阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)、淀粉样变性、肌萎缩侧索硬化、体重减轻、心绞痛、血管性水肿、无汗外胚叶发育不良-ID、强直性脊柱炎、前节炎(anterior segment)、炎症、抗磷脂综合征、口疮性口炎、阑尾炎、关节炎、哮喘、动脉粥样硬化、异位性皮炎、自身免疫疾病、自身免疫性肝炎、蜂螫伤诱发的炎症、贝切特氏病(Behcet's disease)、贝切特氏综合征(Behcet's syndrome)、贝尔氏麻痹症(Bells Palsy)、铍中毒、布劳综合征(Blau syndrome)、骨疼痛、细支气管炎、烧伤、滑膜炎、癌症、心肌肥大、腕管综合征、异化代谢病症、白内障、脑动脉瘤、化学刺激物诱发的炎症、脉络膜视网膜炎、慢性心力衰竭、早产儿慢性肺病、慢性淋巴细胞白血病、慢性阻塞性肺病、结肠炎、复杂性区域疼痛综合征、结缔组织疾病、角膜溃疡、克罗恩氏病(crohn's disease)、Cryopyrin蛋白(cryopyrin)相关周期性综合征、隐球菌病、囊性纤维化、白介素-1-受体拮抗剂(DIRA)缺乏、皮炎、皮炎内毒素血症、皮炎、弥漫型内因性脑桥胶质瘤、子宫内膜异位症、内毒素血症、上髌炎、幼红细胞减少症、家族性淀粉样多发性神经病、家族性冷荨麻疹、家族性地中海热、胎儿生长迟滞、青光眼、肾小球疾病、肾小球肾炎、痛风、痛风性关节炎、移植物抗宿主病、肠病、头损伤、头痛、听力损失、心脏病、溶血性贫血、亨舍二氏紫癜(Henoch-Scholein purpura)、肝炎、遗传性周期性发热综合征、带状疱疹和单纯疱疹、HIV-1、霍奇金病(Hodgkin's disease)、亨廷顿氏病(Huntington's disease)、透明膜病、高氨血症、高钙血症、高胆固醇血症、高免疫球蛋白血症D伴反复发热(HIDS)、发育不全和其他贫血、发育不全性贫血、特发性血小板减少紫癜、色素失禁症、感染性单核细胞增多症、炎症性肠病、炎症性肺病、炎症性神经病、炎症性疼痛、昆虫咬伤诱发的炎症、虹膜炎、刺激物诱发的炎症、缺血/再灌注、青少年型类风湿性关节炎、角膜炎、肾疾病、由寄生虫感染引起的肾损伤、由寄生虫感染引起的肾损伤、肾移植排斥预防、钩端螺旋体病、白血病、吕弗勒氏综合征(Loeffler's syndrome)、肺损伤、肺损伤、狼疮、狼疮、狼疮性肾炎、淋巴瘤、脑膜炎、间皮瘤、混合结缔组织疾病、穆-韦二氏综合征(Muckle-Wells syndrome)(荨麻疹耳聋淀粉样变性)、多发性硬化、肌肉萎缩、肌营养不良症、重症肌无力、心肌炎、蕈样霉菌病、蕈样霉菌病、骨髓发育不良综合征、肌炎、鼻窦炎、坏死性小肠结肠炎、新生儿期发病的多系统炎症性疾病(NOMID)、肾病综合征、神经炎、神经病理学疾病、非过敏原诱发的哮喘、肥胖症、眼睛过敏、

视神经炎、器官移植、骨关节炎、中耳炎、佩吉特氏病 (paget's disease)、疼痛、胰腺炎、帕金森氏病 (Parkinson's disease)、天疱疮、心包炎、周期性发热、牙周炎、腹膜型子宫内膜异位症、百日咳、咽炎和腺炎 (PFAPA综合征)、植物刺激物诱发的炎症、肺炎 (pneumonia)、肺炎 (pneumonitis)、肺囊虫 (pneumocysts) 感染、毒葛 (poison ivy) / 漆酚油诱发的炎症、结节性多动脉炎、多软骨炎、多囊性肾病、多发性肌炎、牛皮癣、牛皮癣、牛皮癣、牛皮癣、心理社会应激疾病、肺病、肺高血压、肺纤维化、坏疽性脓皮病、化脓性无菌关节炎、肾疾病、视网膜疾病、风湿性心炎、风湿性疾病、类风湿性关节炎、结节病、皮脂溢、败血症、严重疼痛、镰状细胞、镰状细胞贫血、二氧化硅诱发的疾病、薛格连氏综合征 (Sjogren's syndrome)、皮肤病、睡眠呼吸暂停、实体瘤、骨髓损伤、史蒂芬-强森综合征 (Stevens-Johnson syndrome)、中风、蛛网膜下出血、晒伤、颞动脉炎、腱鞘炎、血小板减少症、甲状腺炎、组织移植、TNF受体相关周期性综合征 (TRAPS)、弓形虫症、移植、创伤性脑损伤、肺结核、1型糖尿病、2型糖尿病、溃疡性结肠炎、荨麻疹、眼色素层炎和韦格纳氏肉芽肿 (Wegener's granulomatosis)。

[0259] 在一个实施方案中,本发明提供了所提供的化合物或其药学上可接受的盐,其用于疗法中。在另一个实施方案中,本发明提供了所提供的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗由不适当的PAD4活性介导的病症。在另一个实施方案中,本发明提供了所提供的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗类风湿性关节炎、血管炎、全身性红斑狼疮、溃疡性结肠炎、癌症、囊性纤维化、哮喘、皮肤红斑狼疮或牛皮癣。在另一个实施方案中,本发明提供了所提供的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗类风湿性关节炎。在另一个实施方案中,本发明提供了所提供的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗全身性狼疮。在另一个实施方案中,本发明提供了所提供的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗血管炎。在另一个实施方案中,本发明提供了所提供的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗皮肤红斑狼疮。在另一个实施方案中,本发明提供了所提供的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗牛皮癣。在另一个实施方案中,本发明提供了所提供的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗由不适当的PAD4活性介导的病症的药物中的用途。在另一个实施方案中,本发明提供了所提供的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗类风湿性关节炎、血管炎、全身性红斑狼疮、溃疡性结肠炎、癌症、囊性纤维化、哮喘、皮肤红斑狼疮或牛皮癣的药物中的用途。在另一个实施方案中,本发明提供了所提供的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗类风湿性关节炎的药物中的用途。在另一个实施方案中,本发明提供了所提供的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗全身性狼疮的药物中的用途。在另一个实施方案中,本发明提供了所提供的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗血管炎的药物中的用途。在另一个实施方案中,本发明提供了所提供的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗皮肤红斑狼疮的药物中的用途。在另一个实施方案中,本发明提供了所提供的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗牛皮癣的药物中的用途。在另一个实施方案中,本发明提供了用于治疗或预防由不适当的PAD4活性介导的病症的药物组合物,其包含所提供的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,本发明提供了用于治疗或预防类风湿性关节炎、血管炎、全身性红斑狼疮、溃疡性结肠炎、癌症、囊性纤维化、哮喘、皮肤红斑狼疮或牛皮癣的药物组合物,其包含所提供的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,本发明提供了用于治疗或预防类风湿性关节炎的药物组合物,其包含所提供的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案

中,本发明提供了用于治疗或预防全身性狼疮的药物组合物,其包含所提供的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,本发明提供了用于治疗或预防血管炎的药物组合物,其包含所提供的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,本发明提供了用于治疗或预防皮肤红斑狼疮的药物组合物,其包含所提供的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,本发明提供了用于治疗或预防牛皮癣的药物组合物,其包含所提供的化合物或其药学上可接受的盐。

[0260] 本发明的各个方面的所有特征加上必要的变更适用于所有其它方面。

[0261] 为了可更全面地理解本文所描述的本发明,记载以下实施例。应理解,这些实施例仅用于说明性目的且不应解释为以任何方式限制本发明。

实施例

[0262] 如以下诸实施例中所示的那样,在某些示例性实施方案中,根据以下一般程序制备诸化合物。应理解,尽管一般方法描绘本发明的某些化合物的合成,但以下一般方法和本领域普通技术人员已知的其它方法可适用于本文所描述的所有化合物和这些化合物各自的亚类和种类。

[0263] 制备型HPLC方法

[0264] 碱性HPLC制备型方法A

[0265] 柱:XBridge™ Prep.C18 10 um OBD™,30x100mm

[0266] 流动相:5-95%乙腈(0.2%氢氧化铵)/水(0.2%氢氧化铵),经14min

[0267] 流速:40ml/min

[0268] UV检测:215和254nm

[0269] 碱性HPLC制备型方法B

[0270] 仪器:Shimadzu LC-20AP

[0271] 柱:Phenomenex Gemini C18 250x50mmx10μm

[0272] 流动相:1-46%乙腈/水(0.05%氢氧化铵),经28min

[0273] 流速:120ml/min

[0274] UV检测:220和254nm

[0275] 酸性HPLC制备型方法

[0276] 柱:Sunfire™ Prep.C18 10 um OBD™,30x100mm

[0277] 流动相:5-95%乙腈(0.1%甲酸)/水(0.1%甲酸),经14min

[0278] 流速:40ml/min

[0279] UV检测:215和254nm

[0280] 分析型LCMS方法:

[0281] 方法A

[0282] MET/u-HPLC(低pH MSQ17min方法)

[0283] 柱:Phenomenex Kinetex-XB C18,2.1mmx100mm,1.7μm

[0284] 流速:0.6ml/min

[0285] 流动相:A,甲酸(水溶液)0.1%和B,甲酸(MeCN)0.1%

[0286] 注射体积:3μl

- [0287] 温度:40℃
[0288] 检测:215nm(标称)
[0289] 梯度时间(min) - %B
[0290] 0.00-5
[0291] 5.30-100
[0292] 5.80-100
[0293] 5.82-5
[0294] 方法B
[0295] MET/CR/1600(高pH MS107min方法)
[0296] 柱:Phenomenex Gemini C18,2.0mmx100mm,3µm
[0297] 流速:0.5ml/min
[0298] 流动相:A,2mM碳酸氢铵/HPLC级水pH10
[0299] B,HPLC grade MeCN
[0300] 注射体积:3µl
[0301] 温度:50℃
[0302] 检测:215nm
[0303] 梯度时间:(min) - %B
[0304] 0.0-5
[0305] 5.50-100
[0306] 5.90-100
[0307] 5.92-5
[0308] 9.00-5
[0309] 方法C
[0310] METCR 1416(低pH Shimadzu 7min方法)
[0311] 柱:Waters Atlantis dC18,2.1mmx100mm,3µm柱
[0312] 流速:0.6ml/min
[0313] 流动相:A,甲酸(水溶液)0.1%和B,甲酸(乙腈)0.1%
[0314] 注射体积:3µl
[0315] 温度:40℃
[0316] 检测:215nm(标称)
[0317] 梯度时间(min) - %B
[0318] 0.00-5
[0319] 5.00-100
[0320] 5.40-100
[0321] 5.42-5
[0322] 方法D
[0323] METCR 1410(低pH Shimadzu 2min方法)
[0324] 柱:Kinetex Core-Shell C18,2.1mmx50mm,5µm柱
[0325] 流速:1.2ml/min

- [0326] 流动相:A,甲酸(水溶液)0.1%和B,甲酸(乙腈)0.1%
- [0327] 注射体积:3 μ l
- [0328] 温度:40 $^{\circ}$ C
- [0329] 检测:215nm(标称)
- [0330] 梯度时间(min) - %B
- [0331] 0.00-5
- [0332] 1.20-100
- [0333] 1.30-100
- [0334] 1.31-5
- [0335] 方法E
- [0336] MET/u-HPLC(高pH MS167min方法)
- [0337] 柱:Waters UPLC CSH C18,2.1mmx100mm 5 μ m柱
- [0338] 流速:0.6ml/min
- [0339] 流动相:A,2mM碳酸氢铵,用氢氧化铵(水溶液)调节至pH 10和B,乙腈
- [0340] 注射体积:3 μ l
- [0341] 温度:40 $^{\circ}$ C
- [0342] 检测:215nm(标称)
- [0343] 梯度时间(min) - %B
- [0344] 0.00-5
- [0345] 5.30-100
- [0346] 5.80-100
- [0347] 5.82-5
- [0348] 方法F
- [0349] MET/CR/0990(高pH 3min方法)
- [0350] 柱:Phenomenex Gemini C18,2.0mmx100mm,3 μ m
- [0351] 流速:1ml/min
- [0352] 流动相:A,2mM碳酸氢铵/HPLC级水pH10
- [0353] B,HPLC级MeCN
- [0354] 注射体积:3 μ l
- [0355] 温度:60 $^{\circ}$ C
- [0356] 检测:215nm
- [0357] 梯度时间:(min) - %B
- [0358] 0.0-1
- [0359] 1.80-100
- [0360] 2.10-100
- [0361] 2.30-1
- [0362] 方法G
- [0363] WUXIAB01.M
- [0364] 柱:Agilent 5TC-C18,2.1*50mm,5 μ m

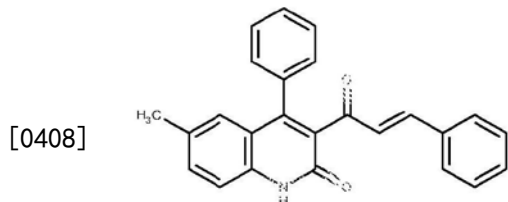
- [0365] 流速:0.8ml/min
[0366] 流动相:A:0.0375%TFA/水 (v/v)
[0367] B:0.01875%TFA/乙腈 (v/v)
[0368] 温度:50℃
[0369] 检测:DAD (220&254nm)
[0370] 梯度时间 (min) - %B
[0371] 0.0-10
[0372] 0.40-10
[0373] 3.40-100
[0374] 3.90-100
[0375] 3.91-10
[0376] 4.00-10
[0377] 4.50-10
[0378] 方法H
[0379] 0-60AB_R_220&254.M
[0380] 柱:Chromolith@Flash RP-18E 25-2MM
[0381] 流速:1.5ml/min
[0382] 流动相:A:0.0375%TFA/水 (v/v)
[0383] B:0.01875%TFA/乙腈 (v/v)
[0384] 温度:50℃
[0385] 检测:DAD 220&254nm)
[0386] 梯度时间 (min) - %B
[0387] 0.0-0
[0388] 0.80-60
[0389] 1.20-60
[0390] 1.21-0
[0391] 1.50-0
[0392] 方法I
[0393] 5-95AB_R_220&254.M
[0394] 柱:Chromolith@Flash RP-18E 25-2MM
[0395] 流速:1.5ml/min
[0396] 流动相:A:0.0375%TFA/水 (v/v)
[0397] B:0.01875%TFA/乙腈 (v/v)
[0398] 温度:50℃
[0399] 检测:DAD (220&254nm)
[0400] 梯度时间 (min) - %B
[0401] 0.01-5
[0402] 0.80-95
[0403] 1.2-95

[0404] 1.21-5

[0405] 1.5-5

[0406] 下面根据方案的1至24制备本发明的某些化合物。

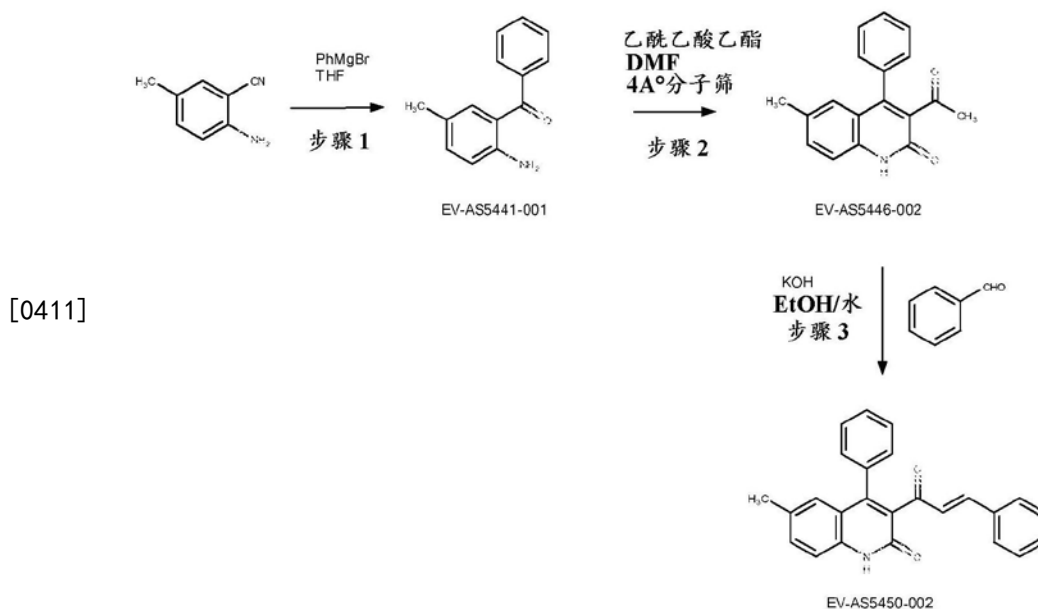
[0407] 实施例1.合成6-甲基-4-苯基-3-[(2E)-3-苯基丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-138



I-138

[0409] 6-甲基-4-苯基-3-[(2E)-3-苯基丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-138) (EV-AS5450-002) 根据流程1中描述的方法合成。

[0410] 流程1



[0412] 2-苯甲酰基-4-甲基苯胺 (EV-AS5441-001) - 步骤1

[0413] 在0℃下向苯基溴化镁 (1.6M在CBME中, 14.2ml, 22.7mmol) 的溶液中加入2-氨基-5-甲基苯胺 (1g, 7.6mmol) 的THF (10ml) 溶液并在17小时内使该溶液缓慢升温至室温。再加入一部分苯基溴化镁 (1.6M在CBME中, 7.0ml, 11.3mmol), 将溶液在室温下搅拌17小时。将棕色溶液在冰浴中冷却, 用HCl水溶液 (1M, 30ml) 处理, 并用乙醚 (2×25ml) 萃取。该产物现在完全在水层中, 因此丢弃有机萃取物。将含水萃取物用饱和NaHCO₃溶液中和并用EtOAc (2×50ml) 萃取。将有机萃取物经Na₂SO₄干燥并真空浓缩, 得到1.09g (65%) 2-苯甲酰基-4-甲基苯胺 (EV-AS5441-001), 为橙色油状物。LCMS (方法D): 保留时间1.19min, M/z=211.9 (M+1)。

[0414] 3-乙酰基-6-甲基-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AS5446-002) - 步骤2

[0415] 向2-苯甲酰基-4-甲基苯胺 (EV-AS5441-001, 250mg, 1.12mmol) 的DMF (2ml) 溶液中加入3-氧代丁酸乙酯 (213μl, 1.69mmol) 和4A°分子筛 (60μl), 并将该混合物在微波辐射下搅拌并在160℃加热30分钟。将反应混合物真空浓缩, 得到米色粉末。使用EtOAc研磨, 并用

Et2O洗涤,得到311mg (66%) 3-乙酰基-6-甲基-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AS5446-002),为浅黄色粉末。LCMS (方法D):保留时间1.10分钟, $M/z=277.9 (M+1)$ 。

[0416] 6-甲基-4-苯基-3-[(2E)-3-苯基丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-138) (EV-AS5450-002) -步骤3

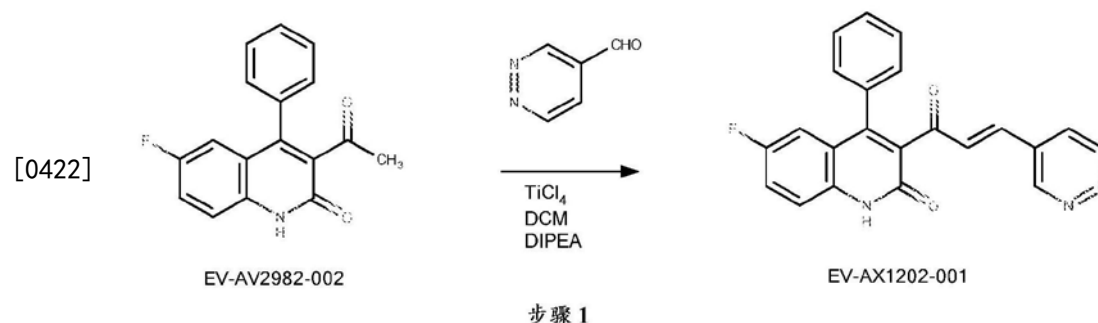
[0417] 在0℃下向在乙醇/水 (2:1,3ml) 中的3-乙酰基-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AS5446-002,43mg,0.155mmol) 中的溶液中加入氢氧化钾 (85%,256mg,9.015mmol) 并将溶液搅拌20分钟,然后加入苯甲醛 (16μl,0.155mmol),搅拌混合物并在2小时内温热至室温。将悬浮液用乙酸 (0.25ml) 处理并在室温下搅拌10分钟,导致形成亮黄色沉淀。过滤收集固体,用水洗涤,然后用乙醚洗涤,真空干燥,得到46mg (74%) 6-甲基-4-苯基-3-[(2E)-3-苯基丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-138) (EV-AS5450-002),为淡黄色粉末。LCMS (方法A):保留时间3.54分钟, $M/z=366.1 (M+1)$ 。

[0418] 流程1的具体情形

[0419] 实施例2.合成6-氟-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡嗪-4-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮,I-13

[0420] 6-氟-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡嗪-4-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-13) (EOAI3459010) 根据流程1中描述的方法使用根据流程1.1的供选的醛醇条件合成。

[0421] 流程1.1



[0423] 6-氟-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡嗪-4-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-13) (EV-AX1202-001) -步骤1

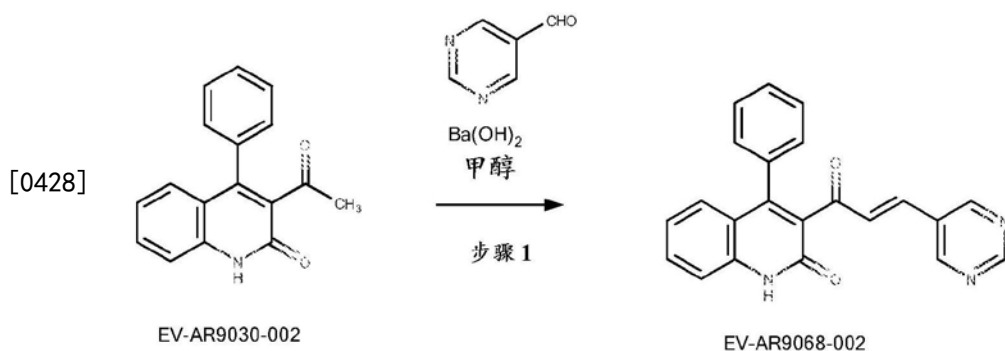
[0424] 向冷却 (0℃) 的3-乙酰基-6-氟-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AV2982-001,120mg,0.43mmol) 在无水的DCM (3ml) 中的悬浮液中滴加TiCl₄ (1M,在DCM中,469.28μl,0.47mmol) 以得到深棕色溶液。将混合物在0℃下搅拌20分钟。然后将DIPEA (85.46μl,0.49mmol) 缓慢加入到反应混合物中,然后将混合物冒烟并变为深橙色。将混合物在0℃下搅拌10分钟,随后加入在无水的DCM (1ml) 中的吡嗪-4-甲醛 (55.34mg,0.51mmol) 溶液。将混合物在0℃下搅拌30分钟并使其温热至室温过夜。将反应混合物用DCM (10ml) 和水 (10ml) 稀释。收集有机层,经MgSO₄干燥,过滤并真空浓缩。然后通过碱性HPLC制备型方法A纯化残余物,并将相关级分冻干,得到10.3mg (6.5%) 的6-氟-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡嗪-4-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-13) (EV-AX1202-001),为黄色粉末。LCMS (方法A):保留时间2.59min, $M/z=372.1 (M+1)$ 。

[0425] 实施例3.合成4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮,I-122

[0426] 4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-122)

(E0AI3447163) 根据流程1中描述的方法使用根据流程1.2的供选的醛醇条件合成。

[0427] 流程1.2



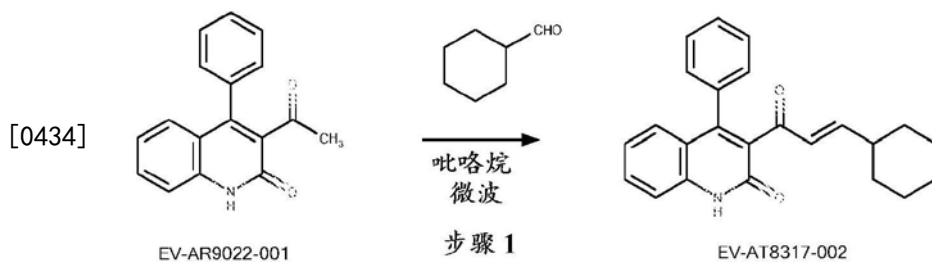
[0429] 4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-122) (EV-AR9068-002) - 步骤1

[0430] 向Ba(OH)₂ (95%, 137mg, 0.76mmol) 中加入在甲醇 (2ml) 中的水 (120μl) 和嘧啶-5-甲醛 (164.23mg, 1.52mmol)。经10分钟向得到的混合物中滴加在甲醇 (6mL) 中的3-乙酰基-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AR9030-002, 200mg, 0.76mmol), 并将反应物在室温下搅拌30分钟。用乙酸 (6ml) 淬灭反应, 用DCM (60ml) 稀释并用水 (30ml) 洗涤。用DCM (2×60ml) 萃取水层。合并有机物, 经MgSO₄干燥并真空浓缩, 得到黄色油状物。通过碱性制备型HPLC方法A纯化粗物质, 并将相关级分冻干, 得到120mg (45%) 4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-122) (EV-AR9068-002), 为黄色粉末。LCMS (方法A): 保留时间3.96min, M/z=354.2 (M+1)。

[0431] 实施例4. 合成3-[(2E)-3-环己基丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-127

[0432] 3-[(2E)-3-环己基丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-127) (E0AI3442130) 根据流程1中描述的方法使用根据流程1.3的供选的醛醇条件合成。

[0433] 流程1.3



[0435] 3-[(2E)-3-环己基丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-127) (EV-AT8317-002) - 步骤1

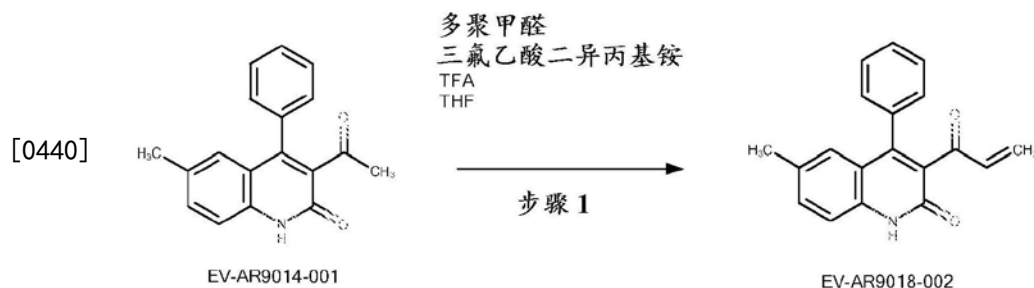
[0436] 用吡咯烷 (15.6μl, 0.19mmol) 处理3-乙酰基-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AR9022-001, 100mg, 0.38mmol) 在环己烷甲醛 (2ml, 16.51mmol) 中的溶液, 将该混合物在微波辐射下在150℃下加热75分钟。加入更多的吡咯烷 (15.6μl, 0.19mmol), 将混合物在150℃加热2小时。将棕色溶液用乙酸酸化, 用水稀释并用EtOAc萃取两次。将萃取物用水洗涤, 随后用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥并真空浓缩, 得到流动的棕色油状物。通过酸性制备型HPLC纯化该物质, 并将相关级分冻干, 得到3-[(2E)-3-环己基丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (42mg (31%)) (I-127) (EV-AT8317-002), 为粉红色粉末。LCMS (方法A): 保留时间

3.86min, $M/z=358.2$ (M+1)

[0437] 实施例5. 合成6-甲基-4-苯基-3-(丙-2-烯酰基)-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-133

[0438] 6-甲基-4-苯基-3-(丙-2-烯酰基)-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-133) (EOAI3440735) 根据流程1中描述的方法使用根据流程1.4的供选的醛醇条件合成。

[0439] 流程1.4



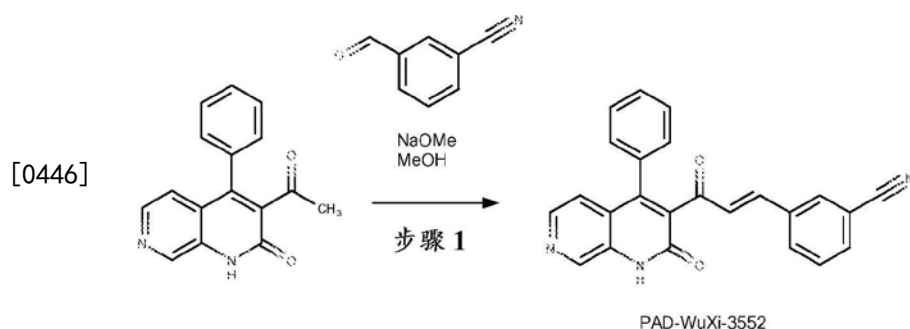
[0441] 6-甲基-4-苯基-3-(丙-2-烯酰)-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AR9018-002) - 步骤1

[0442] 向3-乙酰基-6-甲基-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (100mg, 0.36mmol) 和多聚甲醛 (43.31mg, 1.44mmol) 在无水THF (4ml) 中的溶液中加入三氟乙酸二异丙基铵 (77.61mg, 0.36mmol) 和TFA (2.76 μ l, 0.04mmol)。将反应混合物密封并在150 $^{\circ}$ C下加热30分钟。反应用2当量多聚甲醛再次处理, 并在150 $^{\circ}$ C下再加热30分钟。将反应混合物真空浓缩, 并通过酸性制备型HPLC纯化, 得到6-甲基-4-苯基-3-(丙-2-烯酰基)-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-133) (EV-AR9018-002) (22mg, 20%), 为白色粉末。LCMS (方法A): 保留时间2.93分钟, $M/z=290$ (M+1)。

[0443] 实施例6. 合成3-[(1E)-3-氧代-3-(2-氧代-4-苯基-1,2-二氢-1,7-萘啶-3-基)丙-1-烯-1-基]苄腈, I-32

[0444] 3-[(1E)-3-氧代-3-(2-氧代-4-苯基-1,2-二氢-1,7-萘啶-3-基)丙-1-烯-1-基]苄腈 (I-32) 根据流程1中描述的方法使用根据流程1.5的供选的醛醇条件合成。

[0445] 流程1.5



[0447] 3-[(1E)-3-氧代-3-(2-氧代-4-苯基-1,2-二氢-1,7-萘啶-3-基)丙-1-烯-1-基]苄腈 (EW3861-144) - 步骤1

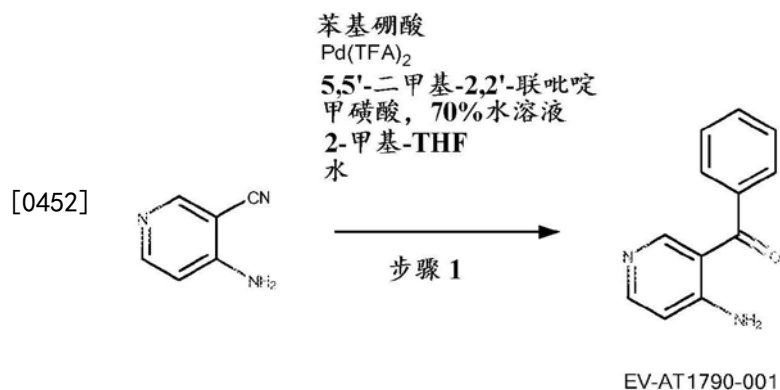
[0448] 向3-乙酰基-4-苯基-1,2-二氢-1,7-萘啶-2-酮 (1.00g, 3.78mmol) 在MeOH (10.00mL) 中的溶液中加入3-甲酰基苄腈 (545.24mg, 4.16mmol) 和甲醇钠 (408.39mg, 7.56mmol)。将混合物在20 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。向溶液中加入饱和 NH_4Cl (50ml) 和DCM (50ml), 然后用DCM (2 \times 50ml) 萃取。将合并的有机相真空浓缩。通过碱性HPLC制备型方法B纯化残余物。在真空除去乙腈后形成白色沉淀。过滤混合物, 得到3-[(1E)-3-氧代-3-(2-氧代-4-苯基-1,2-二氢-1,7-萘啶-3-基)丙-1-烯-1-基]苄腈 (EW3861-144) (217mg, 14%), 为黄色固

体。LCMS (方法G) : 保留时间2.74分钟, $M/z=378 (M+1)$ 。

[0449] 实施例7. 合成4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢-1,6-萘啶-2-酮, I-90

[0450] 4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢-1,6-萘啶-2-酮 (I-90) (EOAI3454392) 根据流程1中描述的方法通过根据流程1.6合成的3-苯甲酰基吡啶-4-胺 (EV-AT1790-001) 合成。

[0451] 流程1.6



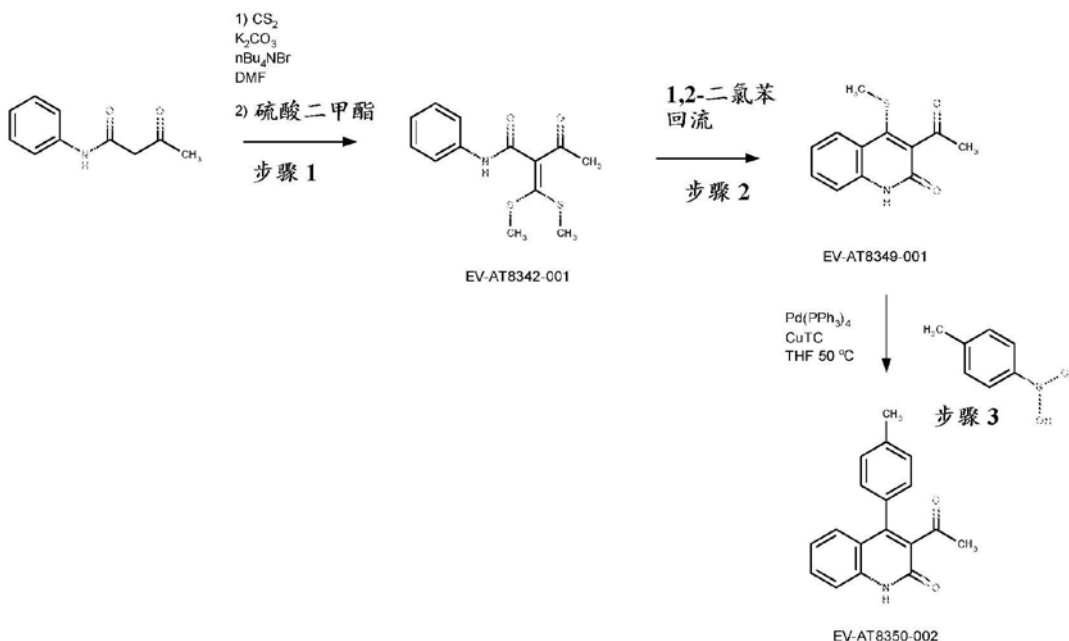
[0453] 3-苯甲酰基吡啶-4-胺 (EV-AT1790-001) - 步骤1

[0454] 向圆底烧瓶中加入4-氨基吡啶-3-甲腈 (500mg, 4.2mmol)、苯基硼酸 (1023.6mg, 8.4mmol)、Pd (TFA)₂ (69.8mg, 0.2mmol)、5,5'-二甲基-2,2'-联吡啶 (58mg, 0.3mmol)、甲磺酸 (70%水溶液) (70%, 5762.7mg, 42mmol)、2-甲基-THF (10ml) 和水 (5ml)。将混合物在N₂下加热至80℃并保持4小时。将混合物冷却至室温,用饱和NaHCO₃水溶液中和并萃取到EtOAc (2×30ml)中。将合并的有机物真空浓缩,通过快速柱色谱法 (0-20%EtOAc/MeOH) 纯化粗黄色油状物,得到501mg (60%) 3-苯甲酰基吡啶-4-胺 (EV-AT1790-001),为白色结晶固体。LCMS (方法B) : 保留时间1.40分钟, $M/z=199.2 (M+1)$ 。

[0455] 实施例8. 合成4-(4-甲基苯基)-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-96

[0456] 4-(4-甲基苯基)-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-96) (EOAI3452879) 根据流程1.2中描述的方法通过根据流程1.7合成的3-乙酰基-4-(4-甲基苯基)-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AT8350-002) 合成。

[0457] 流程1.7



[0458]

[0459] 2-[双(甲硫基)亚甲基]-3-氧代-N-苯基丁酰胺 (EV-AT8342-001) - 步骤1

[0460] 向搅拌的3-氧代-N-苯基丁酰胺 (CAS102-01-2, 18g, 101.58mmol) 在DMF (100ml) 中的溶液中加入碳酸钾 (42.12g, 304.74mmol), 然后加入溴化N,N,N-三丁基丁烷-1-铵 (2.85ml, 10.16mmol)。将悬浮液搅拌30分钟, 然后一次性加入二硫化碳 (6.14ml, 101.58mmol), 将混合物在室温下搅拌2小时。加入硫酸二甲酯 (21.19ml, 223.48mmol) 并在30分钟内分批加入, 一旦加完, 将混合物在室温下搅拌4小时。然后将混合物倒入冰中, 过滤收集所得固体, 用冰冷的甲醇 ($2 \times 30\text{ml}$) 洗涤, 得到31g (定量) 2-[双(甲硫基)亚甲基]-3-氧代-N-苯基丁酰胺 (EV-AT8342-001), 为白色结晶固体。LCMS (方法D): 保留时间1.06min, $M/z = 282 (M+1)$ 。

[0461] 3-乙酰基-4-(甲硫基)-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AT8349-001) - 步骤2

[0462] 将2-[双(甲硫基)亚甲基]-3-氧代-N-苯基丁酰胺 (EV-AT8342-001, 5.0g, 17.8mmol) 在邻二氯苯 (20ml) 中的搅拌的悬浮液在180°C下加热4小时。将混合物冷却至室温, 过滤收集固体, 用 Et_2O 洗涤并真空干燥, 得到3.49g (84.2%) 3-乙酰基-4-(甲硫基)-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AT8349-001), 为米色固体。LCMS (方法D): 保留时间0.88min, $M/z = 234 (M+1)$ 。

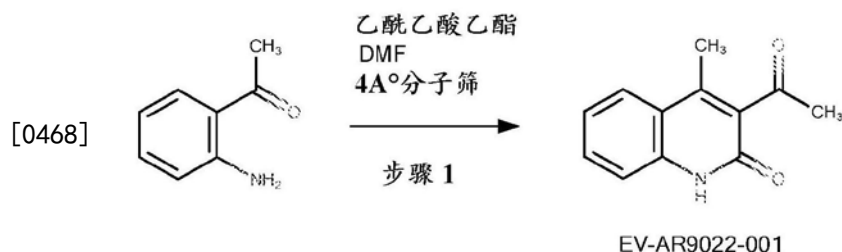
[0463] 3-乙酰基-4-(4-甲基苯基)-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AT8350-002) - 步骤3

[0464] 将搅拌的3-乙酰基-4-(甲硫基)-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AT8349-001, 240mg, 1.03mmol)、(4-甲基苯基)硼酸 (95%, 161.95mg, 1.13mmol) 和噻吩-2-甲酸铜(I) (97%, 262.91mg, 1.34mmol) 在无水THF (5ml) 中的悬浮液通过氮气流脱气。加入四(三苯基膦)钯 (59.44mg, 0.05mmol), 并将混合物通过氮气流进一步脱气, 然后在50°C下加热16小时。将悬浮液冷却至室温, 用乙醚 (30ml) 和氨水 (10%, 30ml) 稀释。将悬浮液通过硅藻土垫过滤并用 EtOAc 洗涤。分离滤液层, 用另外的氨水洗涤有机层直至水溶液变为无色。经 MgSO_4 干燥有机层并在真空中浓缩并将所得固体与 EtOAc 研磨, 得到105mg (36.8%) 3-乙酰基-4-(4-甲基苯基)-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AT8350-002), 为牛皮色固体。LCMS (方法D): 保留时间0.99min, $M/z = 278 (M+1)$ 。

[0465] 实施例9.合成3-[(2E)-3-(4-甲氧基苯基)丙-2-烯酰基]-4-甲基-1,2-二氢喹啉-2-酮,I-132

[0466] 3-[(2E)-3-(4-甲氧基苯基)丙-2-烯酰基]-4-甲基-1,2-二氢喹啉-2-酮(I-132)(EOAI3440972)根据流程1中所述的方法通过根据流程1.8合成的3-乙酰基-4-甲基-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AR9022-001)合成。

[0467] 流程1.8



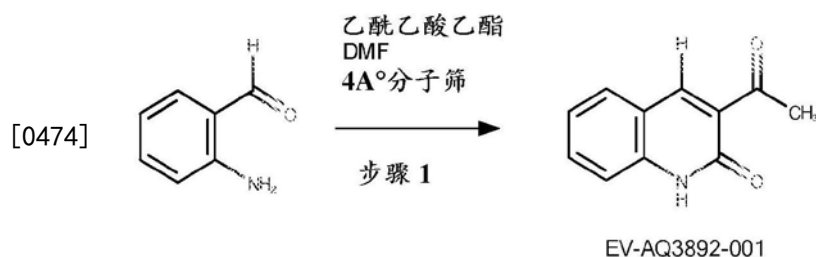
[0469] 3-乙酰基-4-甲基-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AR9022-001)-步骤1

[0470] 向1-(2-氨基苯基)乙-1-酮(CAS551-93-9,899.28 μ l,7.4mmol)和3-氧代丁酸乙酯(1.4ml,11.1mmol)在DMF(15ml)中的混合物中加入4A°分子筛(230mg,230mmol)。将反应在180℃下在微波中搅拌30分钟。加入另外的3-氧代丁酸乙酯(0.5ml,36.9mmol)并将反应物在180℃下在微波中搅拌30分钟。将反应混合物冷却至室温,滤出固体并用水洗涤。然后将固体溶于热MeOH中并过滤。然后将滤液真空浓缩,得到1.21g(76.4%)3-乙酰基-4-甲基-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AR9022-001),为白色固体。LCMS(方法D):保留时间0.99min,M/z=202(M+1)。

[0471] 实施例10.合成3-[(2E)-3-(吡啶-3-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮,I-134

[0472] 3-[(2E)-3-(吡啶-3-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(I-134)(EOAI3440972)根据流程1中描述的方法通过根据流程1.9合成的3-乙酰基-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AQ3892-001)合成。

[0473] 流程1.9



[0475] 3-乙酰基-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AQ3892-001)-步骤1

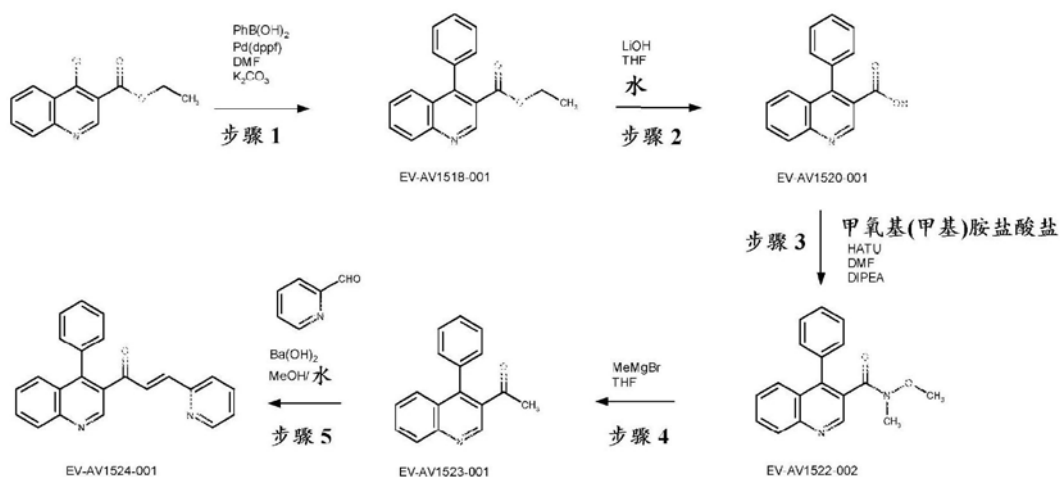
[0476] 将2-氨基苯甲醛(CAS 529-23-7,900mg,7.43mmol)、3-氧代丁酸乙酯(1409.48 μ l,11.14mmol)和4A分子筛(378mg)在DMF(10ml)中的溶液在微波中于180℃搅拌30分钟。在反应过程中形成米色沉淀。用乙醚稀释所得悬浮液,过滤收集固体,用乙醚洗涤。用乙醚洗涤固体,真空干燥,得到1300mg(93.5%)3-乙酰基-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AQ3892-001),为米色粉末。LCMS(方法D):保留时间0.92min,M/z=188(M+1)。

[0477] 实施例11.合成(2E)-1-(4-苯基喹啉-3-基)-3-(吡啶-2-基)丙-2-烯-1-酮,I-147

[0478] (2E)-1-(4-苯基喹啉-3-基)-3-(吡啶-2-基)丙-2-烯-1-酮(I-147)

(EOAI3452072) 根据流程1.10合成。

[0479] 流程1.10



[0480]

[0481] 4-苯基喹啉-3-甲酸乙酯 (EV-AV1518-001) - 步骤1

[0482] 将4-氯喹啉-3-甲酸乙酯 (CAS13720-94-0, 450mg, 1.91mmol)、苯基硼酸 (349.23mg, 2.86mmol) 和碳酸钾 (791.7mg, 5.73mmol) 在DMF (15ml) 中合并。在加入1,1'-双(二苯基膦)二茂铁二氯化钯 (1:1) (139.72mg, 0.19mmol) 之前,使用氮气将溶液彻底脱气。将溶液在110℃下搅拌5小时。将反应混合物冷却至室温,用水和EtOAc稀释,并通过硅藻土垫过滤。将水相用EtOAc洗涤,并将合并的有机物经MgSO₄干燥并真空浓缩。通过快速柱色谱 (12-100%EtOAc/庚烷) 纯化残余物,得到370mg (60.4%) 4-苯基喹啉-3-甲酸乙酯 (EV-AV1518-001),为浅粉色固体。LCMS (方法D): 保留时间1.25分钟, M/z=278 (M+1)。

[0483] 4-苯基喹啉-3-甲酸 (EV-AV1520-001) - 步骤2

[0484] 将氢氧化锂 (270.70mg, 11.08mmol) 加入4-苯基喹啉-3-甲酸乙酯 (320mg, 1.108mmol) 在THF (3ml) 和水 (3ml) 中的溶液中。将所得混合物在60℃下搅拌2小时。使反应冷却至室温并用1M HCl水溶液 (12ml) 酸化,此时形成白色沉淀。然后将反应物真空浓缩,将固体在真空烘箱中干燥17小时,得到750mg (定量) 4-苯基喹啉-3-甲酸 (EV-AV1520-001),为白色固体。LCMS (方法D): 保留时间0.98min, M/z=250 (M+1)。

[0485] N-甲氧基-N-甲基-4-苯基喹啉-3-甲酰胺 (EV-AV1522-002) - 步骤3

[0486] 向搅拌的4-苯基喹啉-3-甲酸溶液 (EV-AV1520-001, 37%, 750mg, 1.11mmol)、HATU (825.44mg, 2.17mmol) 和DIPEA (465.39μl, 2.67mmol) 在DMF (2ml) 中的溶液中加入甲氧基(甲基)胺盐酸盐 (179.18mg, 1.84mmol),将得到的混合物在室温下搅拌3小时。通过酸性制备型HPLC纯化反应混合物,并将湿级分在真空中部分浓缩。将剩余的含水混合物用NaHCO₃ (水溶液) 中和并用DCM (3×10ml) 萃取。收集有机层,经MgSO₄干燥并真空浓缩,得到119mg (36.6%) N-甲氧基-N-甲基-4-苯基喹啉-3-甲酰胺 (EV-AV1522-002),为白色固体。LCMS (方法D): 保留时间1.06min, M/z=293 (M+1)。

[0487] 1-(4-苯基喹啉-3-基)乙-1-酮 (EV-AV1523-001) - 步骤4

[0488] 在氮气下、在0℃下向搅拌的N-甲氧基-N-甲基-4-苯基喹啉-3-甲酰胺 (EV-AV1521-001和EV-AV1522-002, 152mg, 0.52mmol) 在无水THF (3ml) 中的溶液中加入3M甲基溴化镁/Et₂O (173.32μl, 0.52mmol)。将反应物在0℃下搅拌1小时,然后加入3M甲基溴化镁/Et₂O (86.66μl, 0.27mmol)。将反应物在0℃下搅拌1.5小时。用NaHCO₃ (水溶液, 1ml) 淬灭反

应,然后用EtOAc (50ml) 和水 (50ml) 稀释。用EtOAc (2×15ml) 萃取水层,合并的有机物用盐水洗涤 (2×50ml),经MgSO₄干燥并真空浓缩。通过快速柱色谱法 (12-100%EtOAc/庚烷) 纯化粗产物,得到98.9mg (76.1%) 1-(4-苯基喹啉-3-基)乙-1-酮 (EV-AV1523-001),为无色油状物。LCMS (方法D):保留时间1.14min,M/z=248 (M+1)。

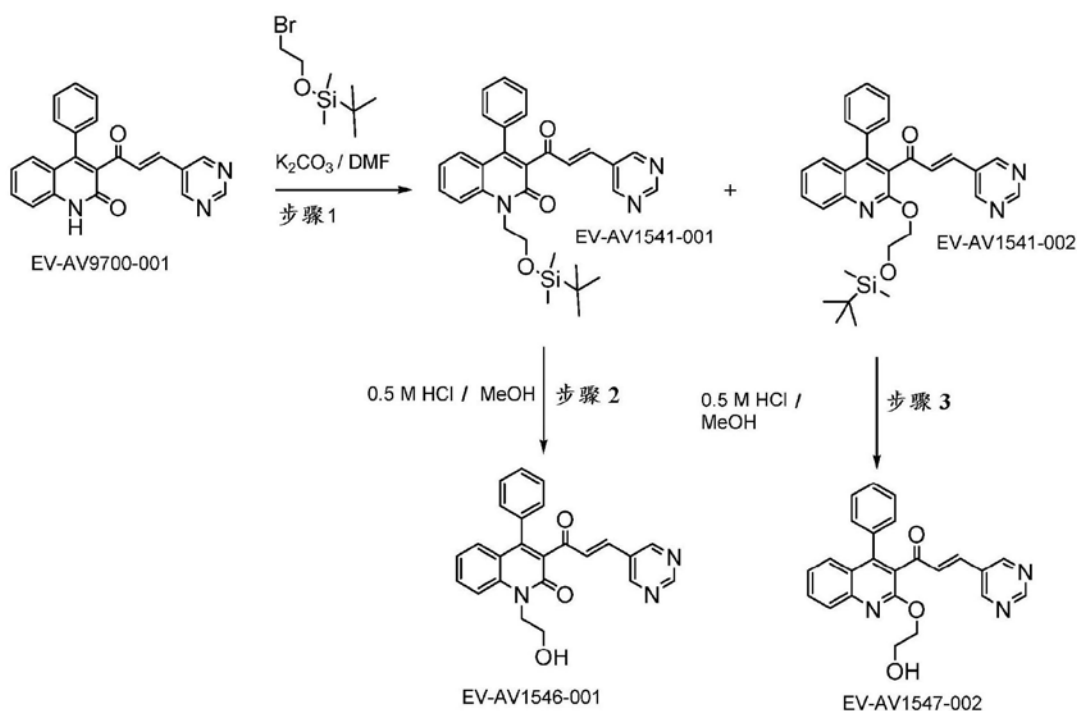
[0489] (2E)-1-(4-苯基喹啉-3-基)-3-(吡啶-2-基)丙-2-烯-1-酮 (I-147) (EV-AV1524-001)-步骤5

[0490] 将吡啶-2-甲醛 (106.02mg,0.99mmol) 在MeOH (1ml) 中的溶液缓慢加入到氢氧化钡 (95%,71.41mg,0.4mmol) 的水 (0.08ml) 溶液中。然后将1-(4-苯基喹啉-3-基)乙-1-酮 (98.9mg,0.4mmol) 的MeOH (5ml) 溶液缓慢加入到反应混合物中。将反应物在室温下搅拌1小时。用乙酸将反应混合物酸化至pH 5.5并用DCM和水稀释。将水层用DCM萃取,并将合并的有机物经MgSO₄干燥并真空浓缩。通过酸性制备型HPLC纯化粗产物,将级分冷冻干燥过夜,得到16.4mg (11.6%) (2E)-1-(4-苯基喹啉-3-基)-3-(吡啶-2-基)丙-2-烯-1-酮 (I-147) (EV-AV1524-001),为淡黄色固体。LCMS (方法A):保留时间3.23分钟,M/z=337 (M+1)。

[0491] 实施例12.合成1-(2-羟乙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-71和(2E)-1-[2-(2-羟基乙氧基)-4-苯基喹啉-3-基]-3-(吡啶-5-基)丙-2-烯-1-酮, I-140

[0492] 1-(2-羟乙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-71) (EOAI3454965) 和(2E)-1-[2-(2-羟基乙氧基)-4-苯基喹啉-3-基]-3-(吡啶-5-基)丙-2-烯-1-酮 (I-140) (EOAI3454966) 根据流程2中描述的方法通过根据流程1.1合成的4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AV9700-001) 合成。

[0493] 流程2



[0495] 1-{2-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]乙基}-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AV1541-001) 和(2E)-1-(2-{2-[(叔丁基二甲基甲

硅烷基)氧基]乙氧基}-4-苯基喹啉-3-基)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯-1-酮(EV-AV1541-002)-步骤1

[0496] 向4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AV9700-001,200mg,0.57mmol)的DMF(无水,3ml)溶液中加入(2-溴乙氧基)(叔丁基)二甲基硅烷(145.72 μ l,0.68mmol)和K₂CO₃(93.86mg,0.68mmol)。将反应物在室温下搅拌25小时,然后在60℃下搅拌21小时。将反应混合物用水(25ml)稀释,并用EtOAc(25ml)萃取。然后使用EtOAc(3 \times 25ml)萃取水层。将合并的有机物经MgSO₄干燥,过滤并真空浓缩。通过快速柱色谱法(20-100%EtOAc/庚烷)纯化粗物质,得到2种产物。145mg(47.1%)1-{2-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]乙基}-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AV1541-001),为黄色固体。LCMS(方法D):保留时间1.43min,M/z=512(M+1)。和38.5mg(12.9%)的(2E)-1-[2-{2-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]乙氧基}-4-苯基喹啉-3-基)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯-1-酮(EV-AV1451-002),为白色固体。LCMS(方法D):保留时间1.57分钟,M/z=512(M+1)。

[0497] 1-(2-羟乙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(I-71)(EV-AV1546-001)-步骤2

[0498] 将0.5M氯化氢的MeOH溶液(1500 μ l)加入到1-{2-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]乙基}-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AV1541-001,130mg,0.239mmol)。将反应物在室温下搅拌30分钟。使用饱和NaHCO₃中和残余物(至pH7.5),然后在水(60ml)和DCM(60ml)之间分配。将有机层经MgSO₄干燥并真空浓缩。然后将该物质溶于乙腈:水(1:1,4ml)中并冷冻干燥,得到75mg(77.4%)1-(2-羟乙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(I-71)(EV-AV1546-001),为黄色粉末。LCMS(方法A):保留时间2.53分钟,M/z=398(M+1)。

[0499] (2E)-1-[2-(2-羟基乙氧基)-4-苯基喹啉-3-基]-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯-1-酮(I-140)(EV-AV1547-002)-步骤3

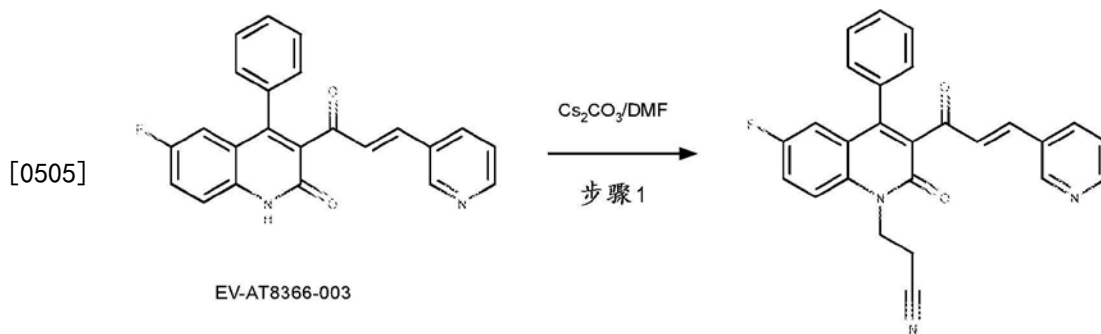
[0500] 将0.5M氯化氢的MeOH溶液(1500 μ l)加入到(2E)-1-[2-{2-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]乙氧基}-4-苯基喹啉-3-基)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯-1-酮(EV-AV1541-002,38mg,0.072mmol)。将反应物在室温下搅拌30分钟。使用饱和NaHCO₃中和残余物(至pH7.5),然后在水(30ml)和DCM(30ml)之间分配。将有机层经MgSO₄干燥并真空浓缩。通过碱性HPLC制备型方法A纯化粗物质,并将级分冷冻干燥,得到5.2mg(52.6%)的(2E)-1-[2-(2-羟基乙氧基)-4-苯基喹啉-3-基]-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯-1-酮(I-140)(EV-AV1547-002),为灰白色固体。LCMS(方法A):保留时间3.06min,M/z=398(M+1)。

[0501] 流程2的具体情形

[0502] 实施例13.合成3-{6-氟-2-氧代-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-3-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-1-基}丙腈,I-22

[0503] 3-{6-氟-2-氧代-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-3-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-1-基}丙腈(I-22)(EOAI3458671)根据流程1中描述的方法使用根据流程2.1的供选的烷基化条件合成。

[0504] 流程2.1



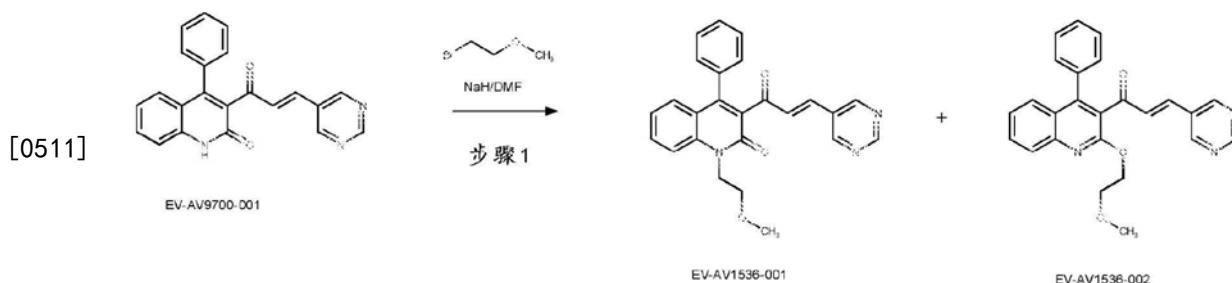
[0506] 3-{6-氟-2-氧代-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-3-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-1-基}丙腈 (EV-AT8369-002) - 步骤1

[0507] 碳酸铯 (123mg, 0.38mmol) 加入到6-氟-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-3-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AT8366-003, 50mg, 0.14mmol) 的DMF (1ml) 溶液中。将混合物在室温下搅拌60分钟, 然后加入3-溴丙腈 (22.47 μ l, 0.27mmol)。将反应物在室温下搅拌1小时, 然后在50 $^{\circ}$ C下搅拌16小时。加入另外的3-溴丙腈 (11 μ l, 0.13mmol) 并在50 $^{\circ}$ C下继续反应3小时。加入另外的3-溴丙腈 (11 μ l, 0.13mmol), 将混合物在50 $^{\circ}$ C下加热16小时。将反应混合物用碳酸铯 (62mg, 0.19mmol) 和3-溴丙腈 (11 μ l, 0.13mmol) 再处理, 并在50 $^{\circ}$ C下继续加热3小时。将混合物真空蒸发, 将残余物用水稀释并用EtOAc (x2) 萃取。萃取物用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥并真空浓缩, 得到棕色残余物。通过快速柱色谱 (EtOAc) 纯化粗物质, 得到27mg (44%) 3-{6-氟-2-氧代-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-3-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-1-基}丙腈 (I-22) (EV-AT8369-002), 为牛皮色固体。LCMS (方法A): 保留时间2.82分钟, M/z = 424.2 (M+1)。

[0508] 实施例14合成1-(2-甲氧基乙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-81和(2E)-1-[2-(2-甲氧基乙氧基)-4-苯基喹-3-基]-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯-1-酮, I-144

[0509] 1-(2-甲氧基乙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-81) (EOAI3454650) 和(2E)-1-[2-(2-甲氧基乙氧基)-4-苯基喹-3-基]-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯-1-酮 (I-144) (EOAI3454651) 根据流程2.2通过根据流程1.1描述的方法合成的4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮合成 (EV-AV9700)-001) 合成。

[0510] 流程2.2



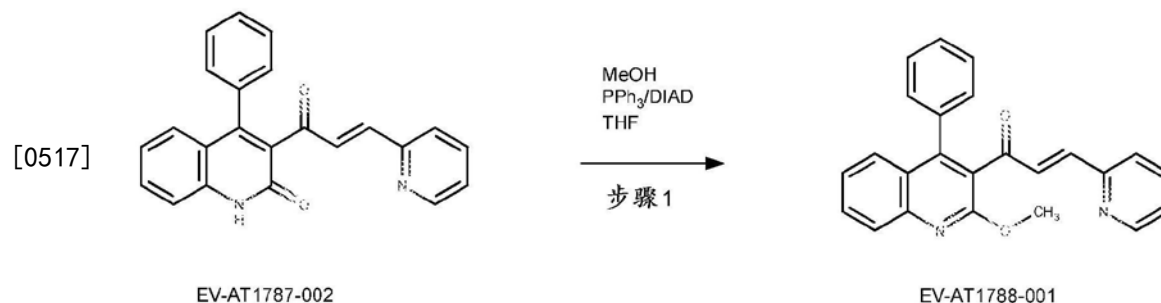
[0512] 1-(2-甲氧基乙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-81) (EV-AV-1536-001) 和(2E)-1-[2-(2-甲氧基乙氧基)-4-苯基喹啉-3-基]-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯-1-酮 (I-144) (EV-AV1536-002) - 步骤1

[0513] 向包含NaH(16.3mg,0.68mmol)的烧瓶中加入4-苯基-3-[(2E)-3-(咪啉-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AV9700-001,200mg,0.57mmol)在无水DMF(3ml)中的溶液和1-溴-2-甲氧基乙烷(105 μ l,1.12mmol)。将反应物在室温下搅拌23小时,用水(10ml)淬灭并使用EtOAc(3 \times 25ml)萃取。将合并的有机物经MgSO₄干燥,过滤并真空浓缩,得到橙色油状物,将其通过酸性制备型HPLC纯化。合并包含产物的级分并真空浓缩,得到橙色固体(EV-AV1536-001)和灰白色固体(EV-AV1536-002)。将产物溶于乙腈/水中并通过冷冻干燥干燥,得到1-(2-甲氧基乙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(咪啉-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(I-81)(EV-AV1536-001)(87.3mg,36.4%),为淡粉红色固体。LCMS(方法A):保留时间2.99分钟,M/z=412(M+1)。和(2E)-1-[2-(2-甲氧基乙氧基)-4-苯基喹啉-3-基]-3-(咪啉-5-基)丙-2-烯-1-酮E(I-144)(EV-AV1536-002)(34.2mg,14.4%),为灰白色固体。LCMS(方法A):保留时间3.60分钟,M/z=412(M+1)。

[0514] 实施例15.合成(2E)-1-(2-甲氧基-4-苯基喹啉-3-基)-3-(吡啉-2-基)丙-2-烯-1-酮,I-145

[0515] (2E)-1-(2-甲氧基-4-苯基喹啉-3-基)-3-(吡啉-2-基)丙-2-烯-1-酮(I-145)(EOAI3452070)根据流程2.3中描述的方法通过根据流程1.2合成的4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啉-2-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AT1787-002)合成。

[0516] 流程2.3



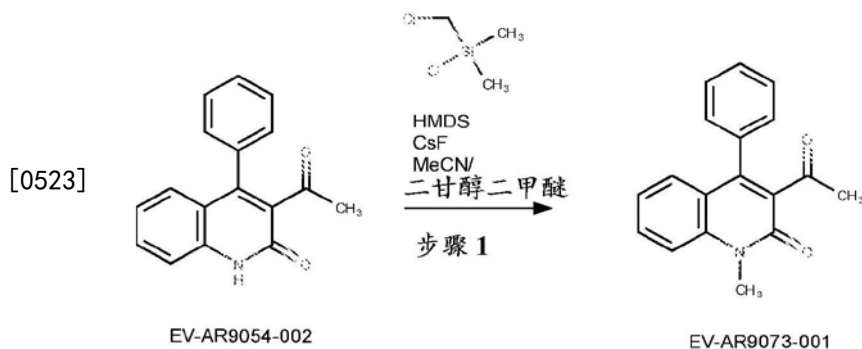
[0518] (2E)-1-(2-甲氧基-4-苯基喹啉-3-基)-3-(吡啉-2-基)丙-2-烯-1-酮(I-145)(EV-AT1788-001)-步骤1

[0519] 向4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啉-2-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(100mg,0.28mmol)在无水THF(2ml)中的悬浮液中加入甲醇(34.44 μ l,0.85mmol)、三苯基膦(0.22g,0.85mmol)和DIAD(0.17ml,0.85mmol)。将混合物搅拌过夜。将混合物用水(10ml)稀释,并用DCM(2 \times 10ml)萃取。将合并的有机物蒸发至干,通过酸性HPLC制备型方法进行纯化,得到1-甲基-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啉-2-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(I-145)(EV-AT1788-001)(17mg,16%),为黄色粉末。LCMS(方法A):保留时间3.13分钟,M/z=367(M+1)。

[0520] 实施例16.合成1-甲基-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啉-2-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮,I-119

[0521] 1-甲基-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啉-2-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(I-119)(EOAI3447733)根据流程1中描述的方法通过根据流程2.4合成的3-乙酰基1-甲基-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AR9073-001)合成。

[0522] 流程2.4



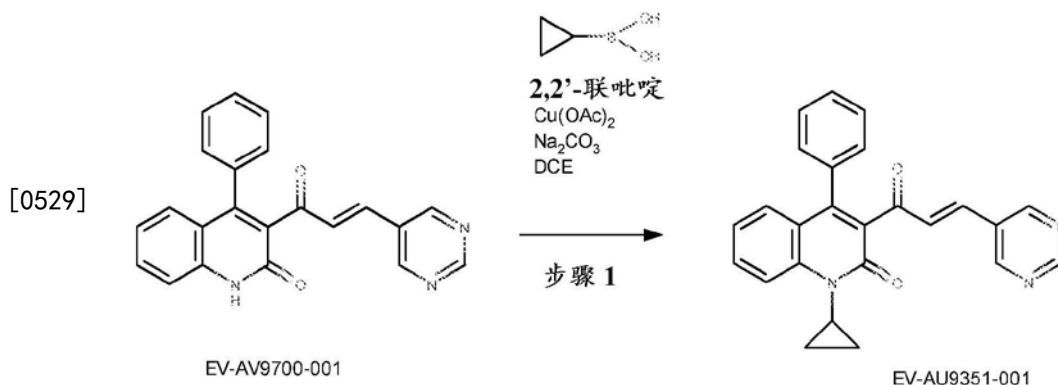
[0524] 3-乙酰基-1-甲基-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AR9073-001) - 步骤1

[0525] 向3-乙酰基-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (1g, 3.8mmol) 的无水乙腈 (30ml) 悬浮液中加入HMDS (500 μ l, 2.39mmol), 将所得混合物在80 $^{\circ}$ C下加热3.5小时。将反应物冷却至室温, 加入氯(氯甲基)二甲基硅烷 (500.42 μ l, 3.8mmol), 将反应混合物在80 $^{\circ}$ C加热17小时。在室温下加入另外的氯(氯甲基)二甲基硅烷 (100 μ l, 0.76mmol), 并将反应物在80 $^{\circ}$ C加热1小时。将反应混合物冷却至室温并真空浓缩提供黄色固体。然后将固体悬浮在无水2-甲氧基乙基醚(二甘醇二甲醚) (30ml) 中, 用氟化铯 (807.72mg, 5.32mmol) 处理并在150 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将反应物在冰浴中冷却, 用水 (100ml) 淬灭, 并在冰浴中静置过夜。过滤所得固体并用水洗涤, 得到3-乙酰基-1-甲基-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AR9073-001) (923mg, 79%), 为橙色固体。LCMS (方法A): 保留时间3.09min, M/z=278 (M+1)。

[0526] 实施例17. 合成1-环丙基-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-83

[0527] 1-环丙基-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-83) (EOAI3454648) 根据在流程2.5中所述的方法通过根据流程1.1合成的4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AV9700-002) 合成。

[0528] 流程2.5



[0530] 1-环丙基-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-83) (EV-AU9351-001) - 步骤1

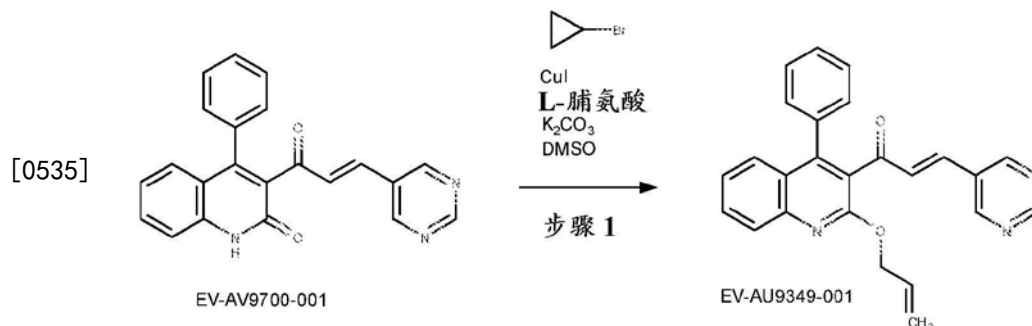
[0531] 4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (100mg, 0.28mmol)、乙酸铜(II) (55mg, 0.3mmol)、2,2'-联吡啶 (47.29mg, 0.3mmol)、Na₂CO₃ (68.08mg, 0.64mmol) 和环丙基硼酸 (54.69mg, 0.64mmol) 在DCE中 (2ml) 的混合物在80 $^{\circ}$ C下搅拌4.5小时。将反应混合物用DCM (15ml) 和饱和NH₄Cl水溶液 (10ml) 稀释。收集有机层, 经Na₂SO₄干燥, 并真空浓缩。通过酸性HPLC制备型方法纯化残余物, 并将所需级分真空浓缩, 得

到1-环丙基-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(I-83)(EV-AU9351-001)(54mg,48%),为灰白色固体。LCMS(方法A):保留时间3.07分钟, $M/z=394$ (M+1)。

[0532] 实施例18.合成(2E)-1-[4-苯基-2-(丙-2-烯-1-基氧基)喹啉-3-基]-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯-1-酮,I-142

[0533] (2E)-1-[4-苯基-2-(丙-2-烯-1-基氧基)喹啉-3-基]-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯-1-酮(I-142)(EOAI3454809)根据在流程2.6中所述的方法通过根据流程1.1合成的4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AV9700-002)合成。

[0534] 流程2.6



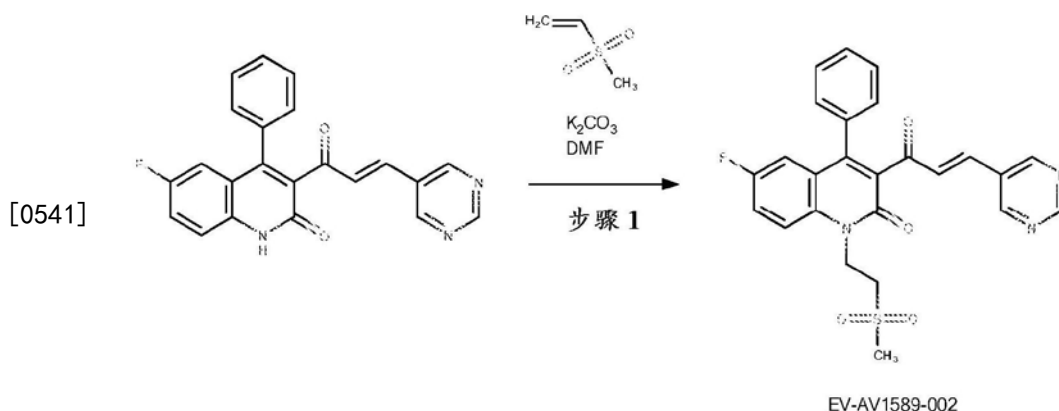
[0536] (2E)-1-[4-苯基-2-(丙-2-烯-1-基氧基)喹啉-3-基]-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯-1-酮(I-142)(EV-AU9349-001)-步骤1

[0537] 将4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(50mg,0.14mmol)、碘化铜(5.39mg,0.03mmol)、L-脯氨酸(6.52mg,0.06mmol)和 K_2CO_3 (39.11mg,0.28mmol)加入到反应容器中。将容器置于氮气气氛下,加入无水DMSO(1ml)。将反应物加热至90℃并加入溴环丙烷(22.6 μ l,0.28mmol)。将反应物在90℃下搅拌6.5小时。使反应冷却至室温并用水(3ml)和EtOAc(5ml)稀释。收集有机层,用盐水(3ml)洗涤,经 Na_2SO_4 干燥并真空浓缩。然后将残余物用酸性制备型HPLC纯化,将所需级分真空浓缩,得到(2E)-1-[4-苯基-2-(丙-2-烯-1-基氧基)喹啉-3-基]-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯-1-酮(I-142)(EV-AU9349-001)(22mg,39.5%),为浅米色固体。LCMS(方法A):保留时间3.95分钟, $M/z=394$ (M+1)。

[0538] 实施例19.合成6-氟-1-(2-甲磺酰基乙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮,I-12

[0539] 6-氟-1-(2-甲磺酰基乙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(I-12)(EOAI3458988)根据流程1.1中描述的方法使用根据流程2.7的替代烷基化条件合成。

[0540] 流程2.7



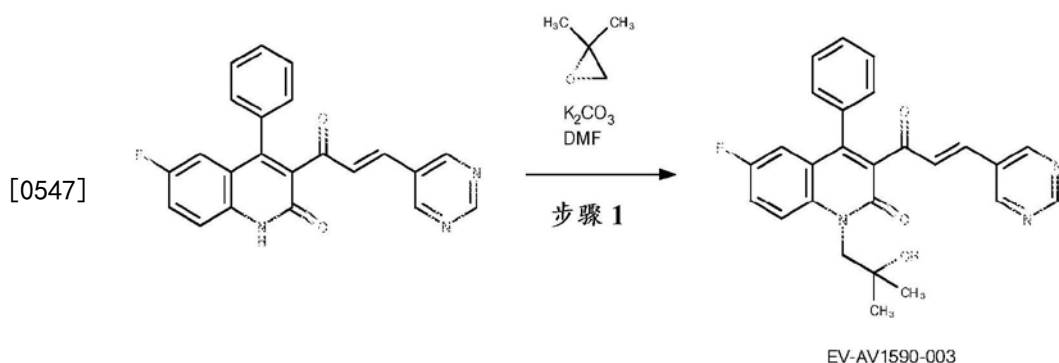
[0542] 6-氟-1-(2-甲磺酰基乙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-12) (EV-AV1589-002) - 步骤1

[0543] 向在DMF (3ml) 中的6-氟-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (150mg, 0.37mmol) 中加入(甲基磺酰基) 乙烯 (39 μ l, 0.45mmol) 和碳酸钾 (77mg, 0.56mmol)。将反应物在80 $^{\circ}$ C下搅拌2小时, 然后在100 $^{\circ}$ C下16小时, 随后冷却回到80 $^{\circ}$ C。加入另外的(甲基磺酰基) 乙烯 (20 μ l, 0.22mmol), 将反应物在80 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。加入另外的(甲基磺酰基) 乙烯 (20 μ l, 0.22mmol), 将反应物在80 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。加入另外的碳酸钾 (38mg, 0.28mmol), 并将反应物在80 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。然后使用水 (25ml) 淬灭反应, 并使用10%MeOH的DCM溶液 (25ml) 萃取产物。使用10%MeOH的DCM溶液 (3 \times 25ml) 萃取水相。将合并的有机物经MgSO₄干燥并真空浓缩。将产物通过制备型HPLC纯化, 得到6-氟-1-(2-甲磺酰基乙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-12) (EV-AV1589-002) (10mg, 5%), 为黄色固体。LCMS (方法A): 保留时间2.80分钟, M/z=478 (M+1)。

[0544] 实施例20. 合成6-氟-1-(2-羟基-2-甲基丙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-11

[0545] 6-氟-1-(2-羟基-2-甲基丙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-11) (EOAI3458989) 根据流程1.1中描述的方法使用根据流程2.8的替代烷基化条件合成。

[0546] 流程2.8



[0548] 6-氟-1-(2-羟基-2-甲基丙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-11) (EV-AV1590-003) - 步骤1

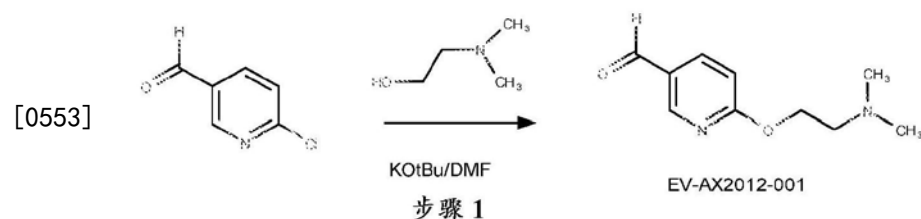
[0549] 向6-氟-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (200mg, 0.54mmol) 的DMF (3ml) 溶液中加入2,2-二甲基环氧乙烷 (57.39 μ l, 0.65mmol) 和碳

酸钾 (89.32mg, 0.65mmol)。将反应物在微波中在120℃搅拌下3小时。加入另外的2,2-二甲基环氧乙烷 (25μL), 并将反应物在微波中在120℃下搅拌30分钟。加入另外的2,2-二甲基环氧乙烷 (25μL), 并将该反应物在微波中在120℃下搅拌30分钟。将反应混合物真空浓缩, 用酸性制备型HPLC纯化, 得到6-氟-1-(2-羟基-2-甲基丙基)-4-苯基-3-[(2E)-3-(嘧啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-11) (EV-AV1590-003) (5.1mg, 2%), 为棕色固体。LCMS (方法A): 保留时间2.94分钟, M/z=444 (M+1)。

[0550] 实施例21. 合成-[(2E)-3-{6-[2-(二甲基氨基)乙氧基]吡啶-3-基}丙-2-烯酰基]-6-氟-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-4

[0551] 3-[(2E)-3-{6-[2-(二甲基氨基)乙氧基]吡啶-3-基}丙-2-烯酰基]-6-氟-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-4) (EOAI3459612) 根据流程1.1中描述的方法通过根据流程3合成的6-[2-(二甲基氨基)乙氧基]吡啶-3-甲醛 (EV-AX2012-001) 合成。

[0552] 流程3



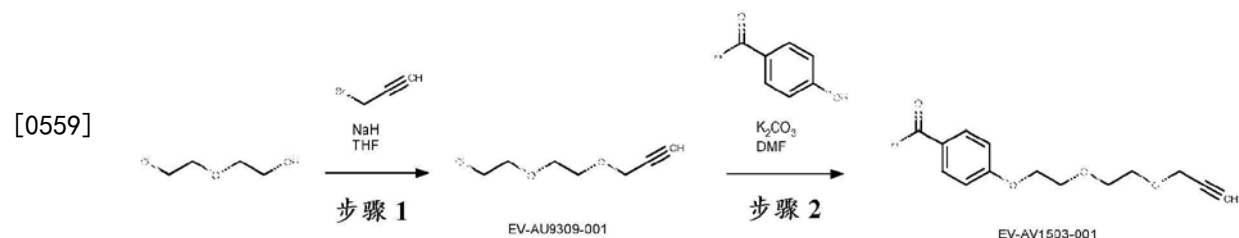
[0554] 6-[2-(二甲基氨基)乙氧基]吡啶-3-甲醛 (EV-AX2012-001) - 步骤1

[0555] 向搅拌的2-(二甲基氨基)乙醇 (234.54μl, 2.33mmol) 的DMF (3ml) 溶液中加入KOtBu (285.38mg, 2.54mmol)。将反应物在室温下搅拌10分钟并加入6-氯吡啶-3-甲醛 (300mg, 2.12mmol)。将反应物在室温下搅拌3小时。通过真空浓缩除去溶剂, 将残余物在EtOAc (20ml) 和水 (20ml) 之间分配。将水相用EtOAc (20ml) 洗涤, 然后将有机物合并, 用Na₂SO₄干燥并真空浓缩。通过快速柱色谱法 (50-100%EtOAc的庚烷溶液, 然后5%MeOH的EtOAc溶液) 纯化粗产物, 得到6-[2-(二甲基氨基)乙氧基]吡啶-3-甲醛 (EV-AX2012-001) (347mg, 67%), 为黄色液体。LCMS没有运行。

[0556] 实施例22. 合成4-苯基-3-[(2E)-3-(4-{2-[2-(丙-2-炔-1-基氧基)乙氧基]乙氧基}苯基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-109

[0557] 4-苯基-3-[(2E)-3-(4-{2-[2-(丙-2-炔-1-基氧基)乙氧基]乙氧基}苯基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-109) (EOAI3450857) 根据流程1.2中描述的方法通过根据流程4合成的4-{2-[2-(丙-2-炔-1-基氧基)乙氧基]乙氧基}苯甲醛 (EV-AV1503-001) 合成。

[0558] 流程4



[0560] 1-氯-2-[2-(丙-2-炔-1-基氧基)乙氧基]乙烷 (EV-AU9309-001) - 步骤1

[0561] 在搅拌下将氢化钠 (60%, 642.17mg, 16.06mmol) 悬浮于THF (25ml) 中并将混合物冷却至-20℃。然后加入2-(2-氯乙氧基)乙-1-醇 (847.46μl, 8.03mmol), 将反应物在-78℃

下搅拌15分钟。然后加入3-溴丙-1-炔(1073.03 μ l, 9.63mmol)。使反应温热至室温,然后加热回流3小时。使反应冷却至室温,真空除去溶剂。将DCM(30ml)加入到残余物中,然后加入水(25ml)。收集有机层,用Na₂SO₄干燥并真空浓缩,得到棕色液体。通过快速柱色谱(DCM)纯化残余物,得到1-氯-2-[2-(丙-2-炔-1-基氧基)乙氧基]乙烷(EV-AU9309-001)(630mg, 47.3%),为黄色液体。LCMS没有运行。

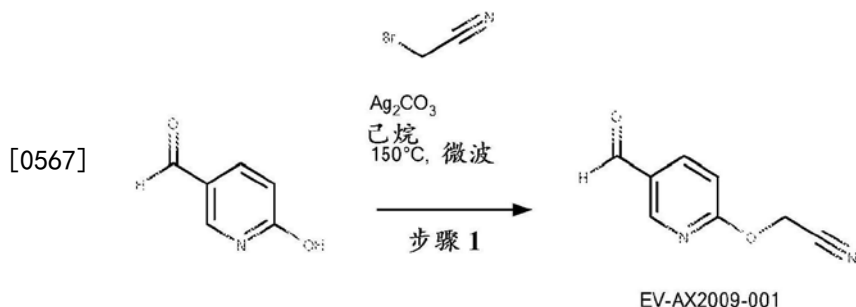
[0562] 4-{2-[2-(丙-2-炔-1-基氧基)乙氧基]乙氧基}苯甲醛(EV-AV1503-001)-步骤2

[0563] 在室温下将K₂CO₃(452.68mg, 3.28mmol)加入到搅拌的4-羟基苯甲醛(200mg, 1.64mmol)的DMF(1ml)溶液中。将1-氯-2-[2-(丙-2-炔-1-基氧基)乙氧基]乙烷(319.58mg, 1.97mmol)溶解在DMF(1ml)中,然后加入到反应混合物中。将反应混合物在100℃下加热并搅拌23小时。真空除去DMF,用EtOAc和水分离剩余的溶液。水相用EtOAc洗涤一次,合并的有机相真空浓缩,得到橙色油状物。通过快速柱色谱法进行纯化,得到4-{2-[2-(丙-2-炔-1-基氧基)乙氧基]乙氧基}苯甲醛(EV-AV1503-001)(312mg, 77%),为黄色胶状物。LCMS(方法D):保留时间1.03min, M/z=249(M+1)。

[0564] 实施例23.合成2-({5-[(1E)-3-(6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-2-基}氧基)乙腈, I-5

[0565] 2-({5-[(1E)-3-(6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-2-基}氧基)乙腈(I-5)(EOAI3459416)根据流程1.1中描述的方法通过根据流程5合成的2-[(5-甲酰基吡啶-2-基)氧基]乙腈(EV-AX2009-)合成

[0566] 流程5



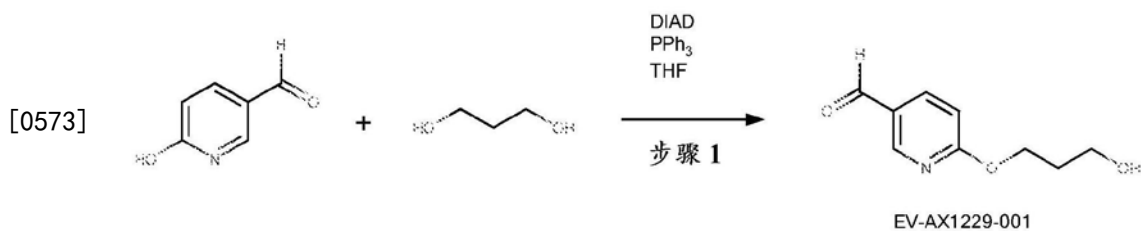
[0568] 2-[(5-甲酰基吡啶-2-基)氧基]乙腈(EV-AX2009-001)-步骤1

[0569] 向搅拌的6-羟基吡啶-3-甲醛(300mg, 2.44mmol)的己烷(10ml)悬浮液中加入溴乙腈(329.91 μ l, 4.87mmol),随后加入碳酸银(806.34mg, 2.92mmol)。将反应物在微波中在150℃下搅拌70分钟。通过真空浓缩除去溶剂,然后将其通过小段硅藻土塞过滤。将残余物用EtOAc(2 \times 25ml)洗涤,并通过硅藻土过滤。将合并的滤液真空浓缩,并通过快速柱色谱法(0-60%EtOAc的庚烷溶液)纯化,得到126mg(31%)的2-[(5-甲酰基吡啶-2-基)氧基]乙腈(EV-AX2009-001),为无色固体。LCMS数据未记录。

[0570] 实施例24.合成6-氟-3-[(2E)-3-[6-(3-羟基丙氧基)吡啶-3-基]丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-43

[0571] 6-氟-3-[(2E)-3-[6-(3-羟基丙氧基)吡啶-3-基]丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮(I-43)(EOAI3460909)根据流程1.1中描述的方法通过根据流程6合成的6-(3-羟基丙氧基)吡啶-3-甲醛(EV-AX1229-001)合成。

[0572] 流程6



[0574] 6-(3-羟基丙氧基)吡啶-3-甲醛 (EV-AX1229-001) - 步骤1

[0575] 向冷的 (-20℃) 6-羟基吡啶-3-甲醛 (200mg, 1.63mmol)、丙烷-1,3-二醇 (349.97μl, 4.87mmol) 和 PPh₃ (553.93mg, 2.11mmol) 的 THF (5ml, 无水) 溶液中逐滴加入 DIAD (415.82μl, 2.11mmol)。将反应物温热至室温并搅拌3小时。将反应物真空浓缩, 将得到的残余物在水 (50ml) 和 EtOAc (50ml) 之间分离。收集有机层, 水层用 EtOAc (2×50ml) 萃取。将合并的有机物经 MgSO₄ 干燥并真空浓缩。将粗物质通过快速柱色谱法 (20-100% EtOAc 的庚烷溶液) 纯化, 得到 6-(3-羟基丙氧基)吡啶-3-甲醛 (EV-AX1229-001) (62mg, 8%), 为无色油状物。LCMS (方法D): 保留时间 0.90min, M/z = 182 (M+1)。

[0576] 实施例25. 合成 2-{5-[(1E)-3-(6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]-2-氧代-1,2-二氢吡啶-1-基}乙腈, I-16

[0577] 2-{5-[(1E)-3-(6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]-2-氧代-1,2-二氢吡啶-1-基}乙腈 (I-16) (EOAI3458842) 根据流程1.1中描述的方法通过根据流程7合成的 2-[(5-甲酰基吡啶-2-基)氧基]乙腈 (EV-AU9388-001) 合成。

[0578] 流程7



[0580] 2-[(5-甲酰基吡啶-2-基)氧基]乙腈 (EV-AU9388-001) - 步骤1

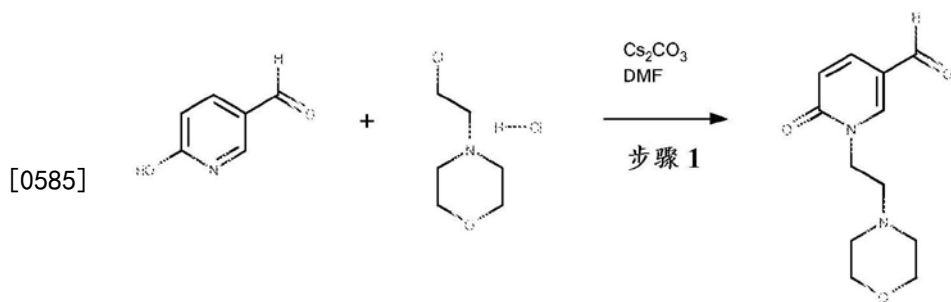
[0581] 在氮气下向搅拌的 6-羟基吡啶-3-甲醛 (250mg, 2.03mmol) 在 DMF (10ml) 中的溶液中滴入 K₂CO₃ (561.31mg, 4.06mmol), 随后加入氯乙腈 (153.95μl, 2.44mmol)。将得到的混合物在室温下搅拌1小时。真空除去溶剂, 将残余物在 EtOAc (30ml) 和水 (25ml) 之间分配。将水层进一步用 EtOAc (2×15ml) 萃取, 并将合并的有机物经 Na₂SO₄ 干燥并真空浓缩。通过快速柱色谱法 (0-60% EtOAc 的庚烷溶液) 纯化粗产物, 得到 2-[(5-甲酰基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-1-基)乙腈] (EV-AU9388-001) (164mg, 44.8%), 为浅棕色油状物, 静置后固化。LCMS (方法D): 保留时间 0.31min, M/z = 163 (M+1)。

[0582] 实施例26. 合成 6-氟-3-[(2E)-3-{1-[2-(吗啉-4-基)乙基]-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基}丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-41

[0583] 6-氟-3-[(2E)-3-{1-[2-(吗啉-4-基)乙基]-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基}丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-41) (EOAI3460911) 根据流程1.1中描述的方法通过根据流程8合成的 1-[2-(吗啉-4-基)乙基]-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲醛 (EV-AX2039-

001) 合成。

[0584] 流程8



EV-AX2039-001

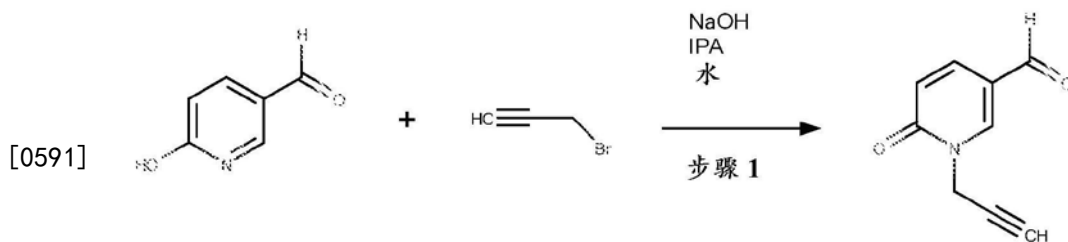
[0586] 1-[2-(吗啉-4-基)乙基]-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲醛 (EV-AX2039-001) - 步骤1

[0587] 在氮气下向搅拌的6-羟基吡啶-3-甲醛 (250mg, 2.03mmol) 的DMF (5ml) 溶液中加入碳酸铯 (1984.94mg, 6.09mmol), 随后加入4-(2-氯乙基)吗啉盐酸盐 (1:1) (453.45mg, 2.44mmol)。将反应物在室温下搅拌5小时。将反应物用EtOAc (50ml) 和饱和NaHCO₃ (50ml) 稀释。水相用EtOAc (2×50ml) 洗涤, 合并的有机物用水 (50ml) 洗涤, 用Na₂SO₄干燥并真空浓缩, 得到粗制浅黄色固体。加入DCM (25ml), 得到黄色溶液中的无色固体。滤出固体, 真空浓缩滤液, 得到1-[2-(吗啉-4-基)乙基]-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲醛 (EV-AX2039-001) (438mg, 64%), 为黄色液体。LCMS (方法D): 保留时间0.22min, M/z=237 (M+1)。

[0588] 实施例27. 合成6-氟-3-[(2E)-3-[6-氧代-1-(丙-2-炔-1-基)-1,6-二氢吡啶-3-基]丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-60

[0589] 6-氟-3-[(2E)-3-[6-氧代-1-(丙-2-炔-1-基)-1,6-二氢吡啶-3-基]丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-60) (EOAI3460132) 根据在流程1.1中所述的方法通过根据流程9合成的6-氧代-1-(丙-2-炔-1-基)-1,6-二氢吡啶-3-甲醛 (EV-AX2024-001) 合成。

[0590] 流程9



EV-AX2024-001

[0592] 6-(丙-2-炔-1-基氧基)吡啶-3-甲醛 (EV-AX2024-001) - 步骤1

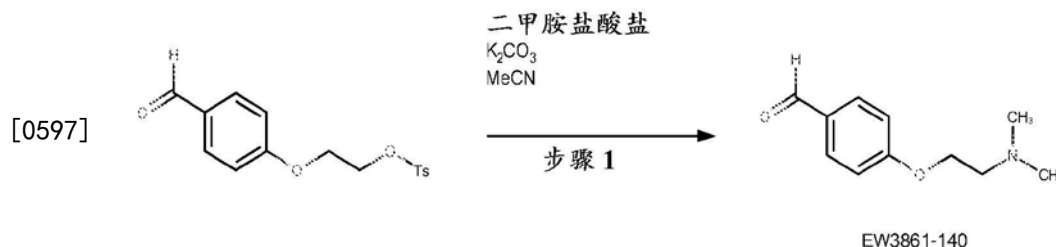
[0593] 将6-羟基吡啶-3-甲醛 (CAS 106984-91-2, 300mg, 3.66mmol) 和NaOH (116.96mg, 2.92mmol) 在IPA (5ml) 和水 (0.5ml) 中的溶液在85℃下搅拌30分钟。然后加入3-溴丙-1-炔 (407.15μl, 3.66mmol, 80% 甲苯溶液) 并将反应物在85℃下搅拌2小时。使反应物冷却至室温, 真空除去溶剂。将残余物在EtOAc (15ml) 和水 (10ml) 之间分配。水层用EtOAc (10ml) 萃取, 合并的有机物用水 (15ml) 洗涤, 经Na₂SO₄干燥并真空浓缩。通过快速柱色谱法 (0-50% EtOAc的庚烷溶液) 纯化粗物质, 得到239mg (60.9%) 的6-氧代-1-(丙-2-炔-1-基)-1,6-二氢吡啶-3-甲醛 (EV-AX2024-001), 为浅米色固体。LCMS (方法D): 保留时间0.61min, M/z=

162 (M+1)。

[0594] 实施例28. 合成3-[(2E)-3-{4-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢-1,7-萘啶-2-酮, I-31

[0595] 3-[(2E)-3-{4-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢-1,7-萘啶-2-酮 (I-31) 根据在流程1.11所述的方法通过根据流程10合成的4-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯甲醛 (EW3861-140) 合成。

[0596] 流程10



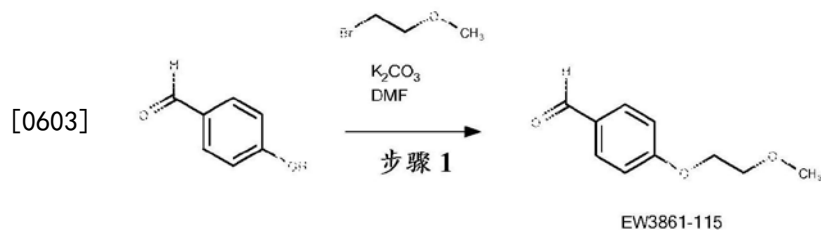
[0598] 4-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯甲醛 (EW3861-140) - 步骤1

[0599] 向化合物3 (750.00mg, 2.34mmol) 的乙腈 (8.00ml) 溶液中加入二甲胺盐酸盐 (229.07mg, 2.81mmol) 和K₂CO₃ (1.62g, 11.70mmol, 5.00当量)。将混合物在90℃下搅拌16小时。过滤混合物, 滤液真空浓缩。将残余物通过快速柱色谱纯化 (PE:EA=1:1~二氯甲烷:甲醇=20:1), 得到4-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯甲醛 (EW3861-140) (260mg, 57%), 为黄色油状物。LCMS (方法H): 保留时间0.36min, M/z=194 (M+1)。

[0600] 实施例29. 合成3-[(2E)-3-[4-(2-甲氧基乙氧基)苯基]丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢-1,7-萘啶-2-酮, I-35

[0601] 3-[(2E)-3-[4-(2-甲氧基乙氧基)苯基]丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢-1,7-萘啶-2-酮 (I-35) (EOAI3462950) 根据在流程1.11中所述的方法通过流程11合成的4-(2-甲氧基乙氧基)苯甲醛 (EW3861-115) 合成。

[0602] 流程11



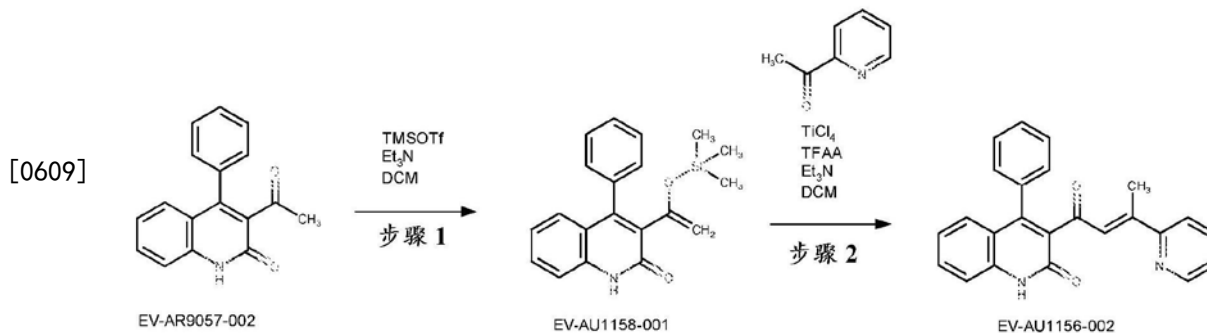
[0604] 4-(2-甲氧基乙氧基)苯甲醛 (EW3861-115) - 步骤1

[0605] 向4-羟基苯甲醛 (500.00mg, 4.09mmol) 在DMF (15ml) 中的溶液中加入1-溴-2-甲氧基-乙烷 (682.16mg, 4.91mmol, 460.92μl) 和K₂CO₃ (1.13g, 8.18mmol)。将反应混合物在80℃下搅拌3小时。将混合物倒入水 (20ml) 中, 然后用EA (3×20ml) 萃取。将合并的有机层用盐水 (3×20ml) 洗涤, 然后用无水硫酸钠干燥并真空浓缩, 得到4-(2-甲氧基乙氧基)苯甲醛 (EW3861-115) (620mg, 74%), 为黄色油状物。LCMS (方法I): 保留时间0.62min, M/z=181 (M+1)。

[0606] 实施例30. 合成4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-2-基)丁-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-115

[0607] 4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-2-基)丁-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(I-115)(E0AI3449029)根据流程12中所述的方法通过根据流程1合成的3-乙酰基-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AR9057-002)合成。

[0608] 流程12



[0610] 4-苯基-3-{1-[(三甲基甲硅烷基) 氧基] 乙烯基}-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AU1158-001)-步骤1

[0611] 在-78℃下向3-乙酰基-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AR9057-002, 300mg, 1.139mmol)的无水DCM(5ml)溶液中加入Et₃N(317μl, 2.279mmol)和TMSOTf(227μl, 1.253mmol)。将得到的混合物在室温下搅拌18小时。加入另外的Et₃N(317μl, 2.279mmol)和TMSOTf(227μl, 1.253mmol)并将反应物在室温下搅拌20小时。将反应物用饱和NaHCO₃(10ml)稀释,水层用DCM(2×20ml)萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,用Na₂SO₄干燥并真空浓缩,得到383mg(80.2%)4-苯基-3-{1-[(三甲基甲硅烷基) 氧基] 乙烯基}-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AU1158-001),为橙色油状物。LCMS数据未记录。

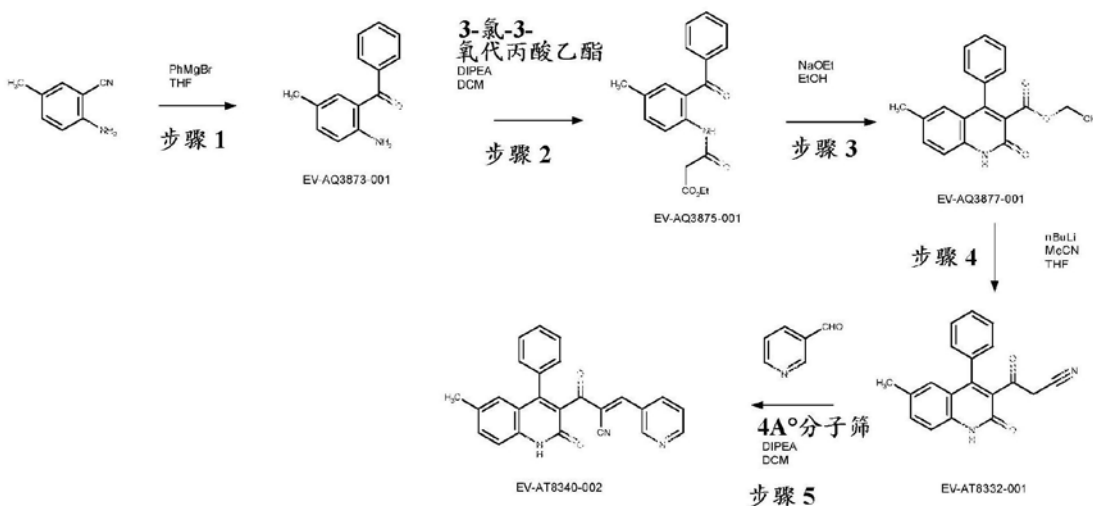
[0612] 4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-2-基)丁-2-烯基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(I-115)(EV-AU1156-002)-步骤2

[0613] 向4-苯基-3-{1-[(三甲基甲硅烷基) 氧基] 乙烯基}-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AU1158-001, 80%, 382mg, 0.911mmol)的DCM(4ml)溶液中加入1MTiCl₄(2ml),然后加入1-(吡啶-2-基)乙-1-酮(121mg, 1.002mmol),并将得到的混合物在室温下搅拌1小时。此后,加入TFAA(127μl, 0.911mmol)并将反应物在室温下搅拌1分钟。然后加入三乙胺(253μl, 1.822mmol)并在室温下搅拌3小时。加入另一部分1-(吡啶-2-基)乙-1-酮(121mg, 1.002mmol),将反应物在室温下搅拌2小时。加入另一部分1-(吡啶-2-基)乙-1-酮(121mg, 1.002mmol),将反应物在室温下搅拌17小时。用NH₄Cl(10ml)淬灭反应,用DCM(2×30ml)萃取有机层。将合并的有机萃取物经Na₂SO₄干燥并真空浓缩。通过酸性制备型HPLC纯化粗物质,得到28mg(8.1%)4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-2-基)丁-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮(I-115)(EV-AU1156-002),为橙色粉末。LCMS(方法A):保留时间2.22分钟,M/z=367(M+1)。

[0614] 实施例31.合成(2E)-2-[(E)-6-甲基-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-羰基]-3-(吡啶-3-基)丙-2-烯腈,I-117

[0615] (2E)-2-[(E)-6-甲基-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-羰基]-3-(吡啶-3-基)丙-2-烯腈(I-117)(E0AI3447739)根据流程13合成。

[0616] 流程13



[0617]

[0618] 2-苯甲酰基-4-甲基苯胺 (EV-AQ3873-001) - 步骤1

[0619] 经0.5小时向3M(苯基)溴化镁/ Et_2O (22.7ml) 中加入2-氨基-5-甲基苄腈 (CAS5925-93-9, 3g, 22.7mmol) 在无水的THF (30ml) 中的溶液。移去冰浴, 将反应在室温下搅拌17小时。将溶液在冰浴中冷却, 加入1M HCl水溶液 (90ml)。混合物用 Et_2O (4×100ml) 萃取, 有机萃取物用1M HCl水溶液 (40ml)、水 (2×30ml)、饱和 NaHCO_3 (40ml) 和盐水 (40ml) 洗涤。然后经 MgSO_4 干燥并真空浓缩, 得到5008mg (定量) 2-苯甲酰基-4-甲基苯胺 (EV-AQ3873-001), 为棕色固体。LCMS数据未记录。

[0620] 2-[(2-苯甲酰基-4-甲基苯基)氨基]甲酰基乙酸乙酯 (EV-AQ3875-001) - 步骤2

[0621] 在氮气气氛下将3-氯-3-氧代丙酸乙酯 (1.45ml, 11.36mmol) 滴加到冷的 (0℃) 2-苯甲酰基-4-甲基苯胺 (EV-AQ3873-001, 2g, 9.47mmol), 和DIPEA (1620.6 μl , 9.47mmol) 在DCM (15ml) 中的溶液中。搅拌所得溶液并在1小时内温热至室温。将混合物用水稀释并用DCM萃取。将有机物经 MgSO_4 干燥, 得到3.5g (定量) 2-[(2-苯甲酰基-4-甲基苯基)氨基]甲酰基乙酸乙酯 (EV-AQ3875-001), 为深色油状物。LCMS (方法D): 保留时间1.20分钟, $M/z = 326 (M+1)$ 。

[0622] 6-甲基-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酸乙酯 EV-AQ3877-001 - 步骤3

[0623] 用乙醇化物 (95%, 898.04mg, 18.93mmol) 处理2-[(2-苯甲酰基-4-甲基苯基)氨基]甲酰基乙酸乙酯 (EV-AQ3875-001, 3.08g, 9.47mmol) 在EtOH (20ml) 中的溶液并将所得悬浮液在室温下搅拌2小时。将反应用水淬灭并在真空下浓缩。用1M HCl水溶液将残余物酸化至pH6, 过滤收集所得固体, 用水洗涤, 然后用乙醚洗涤, 真空干燥, 得到2.21g (76%) 6-甲基-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酸乙酯 (EV-AQ3877-001), 为浅黄色固体。LCMS (方法D): 保留时间1.16min, $M/z = 308 (M+1)$ 。

[0624] 3-(6-甲基-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)-3-氧代丙腈 (EV-AT8332-001) - 步骤4

[0625] 在氮气下用乙腈 (74.77 μl , 1.43mmol) 处理冷的 (-78℃) 正丁基锂 (2.5M在己烷中, 572.65 μl , 1.43mmol) 在THF (10ml) 中的溶液, 将混合物在-78℃下搅拌1小时, 然后在15分钟内滴加6-甲基-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酸乙酯 (EV-AQ3877-001, 194.17 μl , 0.65mmol) 在THF (5ml) 中的溶液。一旦添加完成, 将混合物在-78℃下搅拌1小时。使混合物缓慢升温至室温。将混合物冷却至-78℃并用正丁基锂 (2.5M, 572.65 μl , 1.43mmol) 处理, 将

冷混合物搅拌1小时,然后加入乙腈(74.77 μ l,1.43mmol)。搅拌在-78 $^{\circ}$ C下继续1小时,然后在2小时内温热至室温。将混合物冷却至-78 $^{\circ}$ C并用正丁基锂(2.5M,572.65 μ l,1.43mmol)处理,将冷混合物搅拌30分钟,然后加入乙腈(74.77 μ l,1.43mmol)。将混合物缓慢温热至室温过夜。将溶液用水淬灭并用EtOAc洗涤两次。用2M HCl水溶液将水溶液酸化至pH 1,这导致形成沉淀。过滤收集沉淀物,用水洗涤,然后用乙醚洗涤,真空干燥30分钟,得到135mg (68.6%) 3-(6-甲基-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)-3-氧代丙腈(EV-AT8332-001),为灰白色固体。LCMS(方法D):保留时间1.13分钟,M/z=303(M+1)。

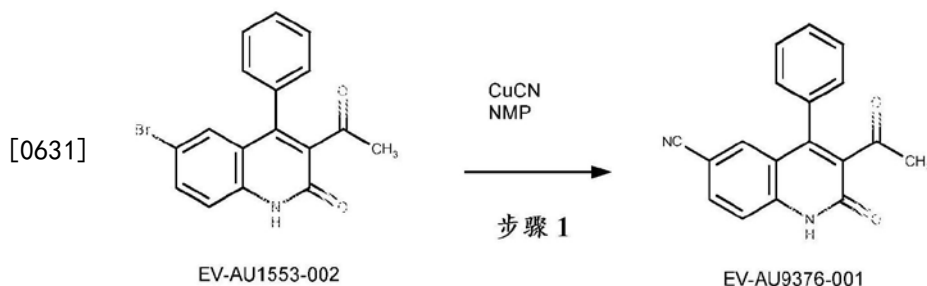
[0626] (2E)-2-[(E)-6-甲基-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-羰基]-3-(吡啶-3-基)丙-2-烯腈(I-117)(EV-AT8340-002)-步骤5

[0627] 用吡啶-3-甲醛(1.5ml,16.54mmol)、然后用Et₃N(2.31 μ l,0.02mmol)和4A分子筛(49.62mg,0.17mmol)处理3-(6-甲基-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)-3-氧代丙腈(EV-AT8332-001,49mg,0.17mmol)在DCM(1ml)中的溶液,并将混合物在室温下搅拌5分钟。将溶液真空浓缩,粗产物用酸性制备型HPLC纯化,将级分冷冻干燥,得到34.5mg(53.3%)(2E)-2-[(E)-6-甲基-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-羰基]-3-(吡啶-3-基)丙-2-烯腈(I-117)(EV-AT8340-002),为黄色固体。LCMS(方法A):保留时间3.04分钟,M/z=392(M+1)。

[0628] 实施例32.合成2-氧代-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-6-甲腈,I-26

[0629] 2-氧代-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-5-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-6-甲腈(I-26)(EOAI3458414)根据流程1.2中描述的方法通过根据流程14合成的3-乙酰基-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-6-甲腈(EV-AU9376-001)合成。

[0630] 流程14



[0632] 3-乙酰基-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-6-甲腈(EV-AU9376-001)-步骤1

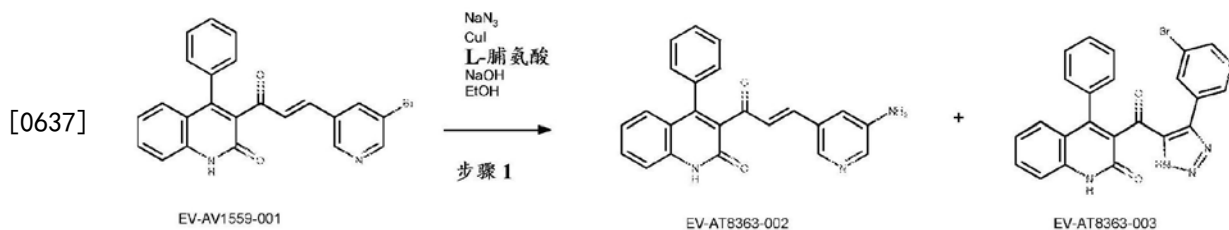
[0633] 将氰化铜(26.17mg,0.29mmol)加入到搅拌的3-乙酰基-6-溴-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-(EV-AU1553-002,100mg,0.29mmol)在NMP(1ml)中的溶液中。然后将反应物在160 $^{\circ}$ C下加热17小时。使反应冷却至室温并用EtOAc(30ml)稀释。加入10%EDTA在1M NaOH中的溶液(水溶液,30ml)。将混合物在室温下搅拌30分钟。分离各层,水层用EtOAc(2 \times 30ml)萃取。将合并的有机物用Na₂SO₄干燥并真空浓缩。然后通过酸性制备型HPLC纯化残余物,得到28mg(33.2%)3-乙酰基-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-6-甲腈(EV-AU9376-001),为淡黄色固体。LCMS(方法D):保留时间1.03min,M/z=289(M+1)。

[0634] 实施例33.合成3-[(2E)-3-(5-氨基吡啶-3-基)丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮,I-28和3-[5-(5-溴吡啶-3-基)-1H-1,2,3-三唑-4-羰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮,I-27

[0635] 3-[(2E)-3-(5-氨基吡啶-3-基)丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮(I-

28) (EOAI3455783) 和 3-[5-(5-溴吡啶-3-基)-1H-1,2,3-三唑-4-羰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-27) (EOAI3455886) 根据流程15通过根据流程1.1中描述的方法合成的 3-[(2E)-3-(5-溴吡啶-3-基)丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AV1559-001) 合成。

[0636] 流程15



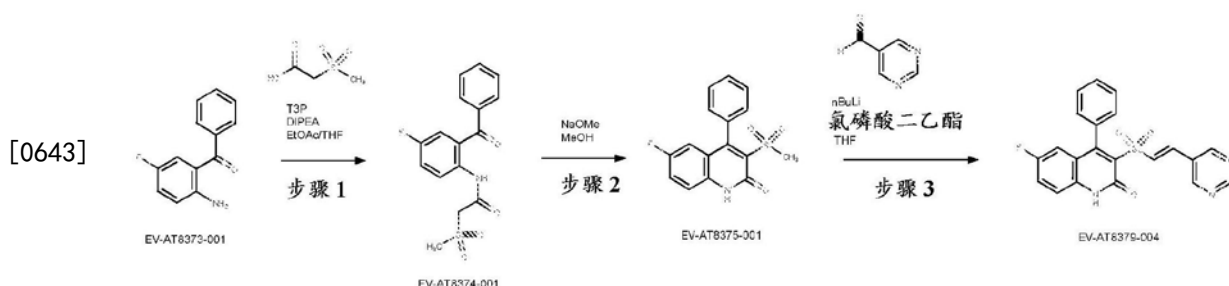
[0638] 3-[(2E)-3-(5-氨基吡啶-3-基)丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-28) (EV-AT8363-002) 和 3-[5-(5-溴吡啶-3-基)-1H-1,2,3-三唑-4-羰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-27) (EV-AT8363-003) - 步骤1

[0639] 用L-脯氨酸 (11.78 μ l, 0.14mmol)、氢氧化钠 (2.61 μ l, 0.14mmol)、碘化铜 (1+) (8.83mg, 0.05mmol) 和叠氮化钠 (32.66 μ l, 0.93mmol) 处理 3-[(2E)-3-(5-溴吡啶-3-基)丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AV1559-001, 200mg, 0.46mmol) 在 EtOH/水 (4ml, 7:3) 中的溶液。将反应物置于氮气氛围下并在 95 $^{\circ}$ C 下搅拌 6 小时, 然后在室温下搅拌 65 小时。将悬浮液在 EtOAc 和水之间分配, 将混合物通过硅藻土过滤, 分离各相。将有机物用盐水洗涤, 干燥 (MgSO₄) 并在真空下蒸发。通过碱性制备型 HPLC 方法 A 纯化粗物质, 得到 11mg (6.5%) 3-[(2E)-3-(5-氨基吡啶-3-基)丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-28) (EV-AT8363-002), 为浅黄色固体。LCMS (方法 A): 保留时间 1.95min, M/z = 368 (M+1) 和 6mg (2.7%) 3-[5-(5-溴吡啶-3-基)-1H-1,2,3-三唑-4-羰基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-27) (EV-AT8363-003), 为无色固体。LCMS (方法 A): 保留时间 2.99 分钟, M/z = 472 和 474 (M+1)。

[0640] 实施例 34. 合成 6-氟-4-苯基-3-[(E)-2-(嘧啶-5-基)乙烯磺酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-62

[0641] 6-氟-4-苯基-3-[(E)-2-(嘧啶-5-基)乙烯磺酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-62) (EOAI3459236) 根据流程 16 合成。

[0642] 流程 16



[0644] N-(2-苯甲酰基-4-氟苯基)-2-甲磺酰基乙酰胺 (EV-AT8374-001) - 步骤 1

[0645] 用 T3P (50%, 在 EtOAc 中) (3.4ml, 5.81mmol)、然后用 DIPEA (1.01ml, 5.81mmol) 处理 2-苯甲酰基-4-氟苯胺 (EV-AT8373-001, 500mg, 2.32mmol) 和 (甲磺酰基) 乙酰胺 (353.02mg, 2.56mmol) 在 THF (5ml) 中的悬浮液, 将得到的红色溶液在室温下搅拌 1 小时。将

反应混合物用水稀释,用EtOAc (x2) 萃取。将有机物用盐水洗涤,干燥 (MgSO₄) 并真空蒸发,得到837mg (定量) N-(2-苯甲酰基-4-氟苯基)-2-甲磺酰基乙酰胺 (EV-AT8374-001), 为黄色胶状物。LCMS (方法D) 保留时间1.04min, M/z=336 (M+1)。

[0646] 6-氟-3-甲磺酰基-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AT8375-001) - 步骤2

[0647] 在氮气氛下用甲醇钠 (0.06g, 1.19mmol) 处理N-(2-苯甲酰基-4-氟苯基)-2-甲磺酰基乙酰胺 (EV-AT8374-001, 200mg, 0.6mmol) 在无水甲醇 (4ml) 中的溶液, 将所得黄色溶液在室温下搅拌1小时。用HCl (1M, 0.6ml, 0.6mmol) 处理悬浮液, 过滤收集固体, 用乙醚洗涤并真空干燥, 得到116mg (61.3%) 6-氟-3-甲磺酰基-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AT8375-001), 为白色固体。LCMS (方法D): 保留时间1.01min, M/z=318 (M+1)。

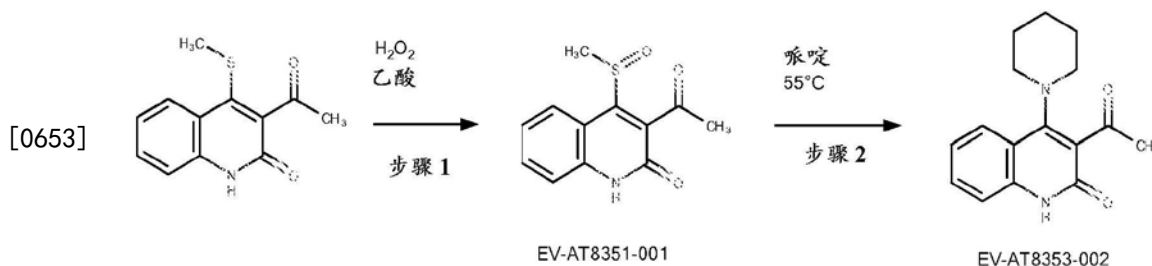
[0648] 6-氟-4-苯基-3-[(E)-2-(咪啉-5-基) 乙烯磺酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AT8379-001) - 步骤3

[0649] 在氮气氛下逐滴用1.6M正丁基锂 (1260.5μl) 处理冷的 (0°C) 6-氟-3-甲磺酰基-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AT8375-001, 200mg, 0.63mmol) 在无水THF (5ml) 中的溶液。一旦添加完成, 将深红色物在0°C下搅拌10分钟, 然后加入氯磷酸二乙酯 (109μl, 0.76mmol)。将溶液在0°C下搅拌10分钟, 随后冷却至-78°C并用作为固体的咪啉-5-甲醛 (68.1mg, 0.63mmol) 处理, 并将混合物缓慢温热至室温过夜。通过加入NH₄Cl淬灭溶液, 并用EtOAc萃取两次。将有机物用盐水洗涤, 干燥 (MgSO₄) 并真空蒸发。使粗产物通过SCX-II柱 (产物在氨甲醇中洗脱), 并通过酸性制备型HPLC纯化残余物。将级分真空浓缩, 将固体用EtOAc研磨并在真空烘箱中干燥, 得到11.2mg (4.4%) 的6-氟-4-苯基-3-[(E)-2-(咪啉-5-基) 乙烯磺酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-62) (EV-AT8379-001), 为浅黄色固体。LCMS (方法A): 保留时间2.65分钟, M/z=408 (M+1)。

[0650] 实施例35. 合成4-(哌啉-1-基)-3-[(2E)-3-(咪啉-5-基) 丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮, I-93

[0651] 4-(哌啉-1-基)-3-[(2E)-3-(咪啉-5-基) 丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (I-93) (EOAI3454070) 根据在流程1.2中所述的步骤通过根据流程17合成的4-苯基-3-[(2E)-3-(咪啉-5-基) 丙-2-烯酰基]-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AV9700-002) 合成。

[0652] 流程17



[0654] 3-乙酰基-4-甲亚磺酰基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AT8351-001) - 步骤1

[0655] 用过氧化氢 (35%, 656μl, 7.5mmol) 处理3-乙酰基-4-(甲硫基)-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AT8344-001 (流程1.7), 500mg, 2.14mmol) 在乙酸 (25ml) 中的悬浮液, 将所得溶液在室温下搅拌21小时。加入冰水 (40ml) 并在室温下继续反应17小时。用DCM萃取反应混合物 (三次), 用饱和NaHCO₃水溶液 (两次)、饱和硫代硫酸钠 (两次) 洗涤有机萃取物, 经MgSO₄干燥并真空浓缩, 得到300mg (56.1%) 3-乙酰基-4-甲亚磺酰基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-

AT8351-001), 为米色固体。LCM(方法D): 保留时间0.84min, M/z=250 (M+1)。

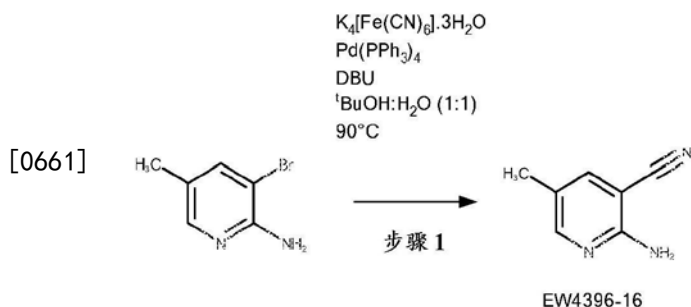
[0656] 3-乙酰基-4-(哌啶-1-基)-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AT8353-002)-步骤2

[0657] 在55℃下将3-乙酰基-4-甲亚磺酰基-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AT8351-001, 50mg, 0.2mmol) 在哌啶(1ml) 中的溶液搅拌1小时。将溶液冷却至室温, 用水稀释并用DCM萃取。经MgSO₄干燥有机层。将得到的胶状物用乙醚/庚烷研磨, 得到38mg (70.1%) 3-乙酰基-4-(哌啶-1-基)-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AT8353-002), 为米色固体。LCMS(方法D): 保留时间0.91min, M/z=271 (M+1)。

[0658] 实施例36. 合成6-甲基-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-3-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢-1,8-萘啶-2-酮, I-47

[0659] 6-甲基-4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-3-基)丙-2-烯酰基]-1,2-二氢-1,8-萘啶-2-酮(I-47) (EOAI3458842) 根据在流程1.1中所述的方法通过根据流程18合成的2-氨基-5-甲基吡啶-3-甲腈(EW4396-16-P1A) 合成。

[0660] 流程18



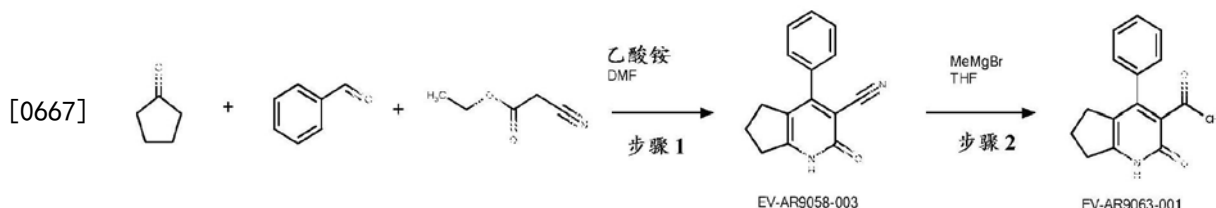
[0662] 2-氨基-5-甲基吡啶-3-甲腈(EW4396-16-P1A)-步骤1

[0663] 在N₂气氛下向3-溴-5-甲基-吡啶-2-胺(10.00g, 53.46mmol) 在t-BuOH(40.00ml) 和H₂O(40.00ml) 中的溶液中加入K₄[Fe(CN)₆]·3H₂O(27.10g, 64.15mmol)、DBU(4.07g, 26.73mmol, 4.03ml) 和Pd(PPh₃)₄(3.09g, 2.67mmol)。将混合物加热至90℃并搅拌16小时。将DCM(150ml) 和H₂O(150ml) 加入混合物中并过滤。用DCM(3×50ml) 萃取滤液。将有机相用无水Na₂SO₄干燥并真空浓缩。残余物用快速柱色谱纯化(PE:EA=10:1~3:1), 得到2-氨基-5-甲基吡啶-3-甲腈(3.80g, 53%), 为白色固体。LCMS数据未记录。

[0664] 实施例37. 合成4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-2-基)丙-2-烯酰基]-1H,2H,5H,6H,7H-环戊二烯并[b]吡啶-2-酮, I-149

[0665] 4-苯基-3-[(2E)-3-(吡啶-2-基)丙-2-烯酰基]-1H,2H,5H,6H,7H-环戊二烯并[b]吡啶-2-酮(I-149) (EOAI3447589) 根据在流程1.2中所述的方法通过根据流程19合成的3-乙酰基-4-苯基-1H,2H,5H,6H,7H-环戊二烯并[b]吡啶-2-酮(EV-AR9063-001) 合成。

[0666] 流程19



[0668] 2-氧代-4-苯基-1H,2H,5H,6H,7H-环戊二烯并[b]吡啶-3-甲腈(EV-AR9058-003)-

步骤1

[0669] 向环戊酮 (CAS 120-92-3, 2.11ml, 23.78mmol)、苯甲醛 (CAS 100-52-7, 4.85ml, 47.55mmol) 和 2-氰基乙酸乙酯 (CAS 105-56-6, 5.06ml, 47.55mmol) 在 DMF (10ml) 中的混合物中加入乙酸铵 (6183.95 μ l, 95.11mmol)。将所得混合物在 80 $^{\circ}$ C 加热 2 小时。将反应混合物冷却至室温并用水 (100ml) 和 DCM (200ml) 稀释。将水层用另外的 DCM (200ml) 萃取, 将有机相经 $MgSO_4$ 干燥并真空浓缩。通过快速柱色谱法 (50-100% EtOAc 的庚烷溶液, 然后 0-4% MeOH 的 EtOAc 溶液) 纯化粗产物, 将得到的固体在真空烘箱中干燥 1 小时, 得到 2-氧代-4-苯基-1H, 2H, 5H, 6H, 7H-环戊二烯并[b]吡啶-3-甲腈 (EV-AR9058-003) (0.85g, 15%), 为黄色固体。LCMS (方法D): 保留时间 1.01min, $M/z=237$ (M+1)。

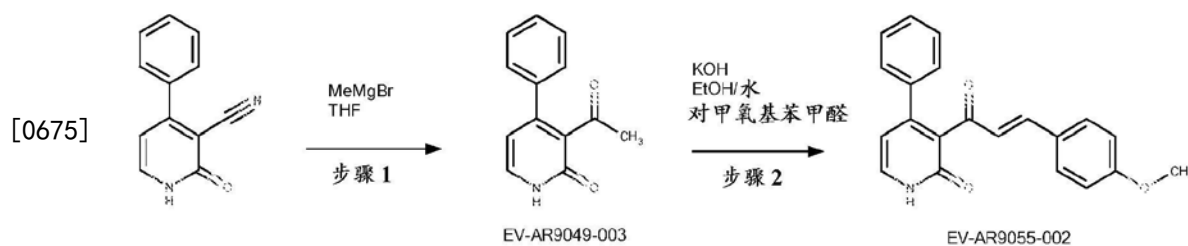
[0670] 3-乙酰基-4-苯基-1H, 2H, 5H, 6H, 7H-环戊二烯并[b]吡啶-2-酮 (EV-AR9063-001) - 步骤2

[0671] 在冰浴中在 10 分钟内向 2-氧代-4-苯基-1H, 2H, 5H, 6H, 7H-环戊二烯并[b]吡啶-3-甲腈 (EV-AR9058-003, 400mg, 1.69mmol) 在 THF (10ml) 中的溶液中加入 3M (甲基) 溴化镁/乙醚 (1.13ml)。使反应在 17 小时内温热至室温。再滴加 3M (甲基) 溴化镁/乙醚 (1.13ml), 在室温下搅拌反应 5 小时。再滴加 3M (甲基) 溴化镁/乙醚 (1.13ml), 在室温下搅拌反应 1 小时。将反应物在冰浴中冷却, 用 1M HCl (30ml) 淬灭, 并用乙醚 (40ml) 和 DCM (50ml) 稀释。将水相用 DCM 萃取 (2 \times 50ml), 合并的有机物经 $MgSO_4$ 干燥并真空浓缩, 得到 3-乙酰基-4-苯基-1H, 2H, 5H, 6H, 7H-环戊二烯并[b]吡啶-2-酮 (EV-AR9063-001) (270mg, 63%), 为棕色固体。LCMS (方法D): 保留时间 1.00 分钟, $M/z=254$ (M+1)。

[0672] 实施例 38. 合成 3-[(2E)-3-(4-甲氧基苯基)丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢吡啶-2-酮, I-148

[0673] 3-[(2E)-3-(4-甲氧基苯基)丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢吡啶-2-酮 (I-148) (EOAI3442255) 根据流程 20 中描述的方法合成。

[0674] 流程 20



[0676] 3-乙酰基-4-苯基-1,2-二氢吡啶-2-酮 (EV-AR9049-003) - 步骤1

[0677] 在 10 分钟内向 2-氧代-4-苯基-1,2-二氢吡啶-3-甲腈 (CAS 14045-37-5, 500mg, 2.55mmol) 的 THF (10ml) 溶液中加入 3M (甲基) 溴化镁离子/乙醚 (1.7ml)。将反应在室温下搅拌 17 小时。然后将反应混合物用 10ml 1M HCl 水溶液淬灭并让其在室温下搅拌 1 小时。然后将反应混合物用乙醚 (4 \times 100ml) 萃取。用 1M HCl (100ml)、水 (100ml)、饱和 $NaHCO_3$ (100ml) 和盐水 (100ml) 洗涤有机物, 然后经 $MgSO_4$ 干燥并真空浓缩。将得到的固体在包含乙酸 (1ml) 的 1:1 MeOH:1M HCl (30ml) 中搅拌 2 小时。真空除去甲醇, 剩余的含水部分用 DCM (2 \times 20ml) 萃取。将合并的有机物经 $MgSO_4$ 干燥并真空浓缩, 得到 380mg (69.9%) 3-乙酰基-4-苯基-1,2-二氢吡啶-2-酮 (EV-AR9049-002), 为棕色固体。LCMS (方法D): 保留时间 0.90min, $M/z=214$ (M+1)。用 $NaHCO_3$ (饱和) 将水层中和至 pH7, 并用 DCM (200ml) 萃取。将有机物经 $MgSO_4$ 干燥并真

空浓缩,得到3-乙酰基-4-苯基-1,2-二氢吡啶-2-酮 (EV-AR9049-003) (155mg, 29%), 为棕色固体。LCMS (方法D): 保留时间0.88min, $M/z=214 (M+1)$ 。

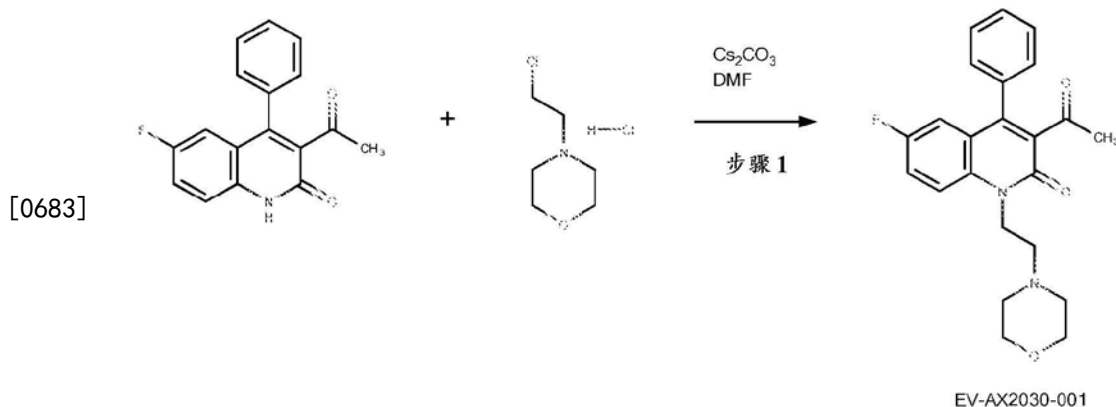
[0678] 3-[(2E)-3-(4-甲氧基苯基)丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢吡啶-2-酮 (I-148) (EV-AR9055-002) -步骤2

[0679] 向3-乙酰基-4-苯基-1,2-二氢吡啶-2-酮 (EV-AR9049-003, 100mg, 0.47mmol) 在 EtOH (4ml) 中的悬浮液中加入氢氧化钾 (85%, 123.82mg, 1.88mmol) 在水 (3ml) 中的溶液。将反应物在0℃下搅拌30分钟, 然后加入4-甲氧基苯甲醛 (62.77 μ l, 0.52mmol)。将得到的反应混合物在室温下搅拌20小时。加入另外的氢氧化钾 (85%, 650.06mg, 9.85mmol) 并将反应在室温下搅拌20小时。用乙酸淬灭反应直至呈微酸性, 然后加入5M HCl (2ml, 水溶液) 直至形成沉淀。滤出固体, 然后通过碱性HPLC制备型方法A纯化。将级分冷冻干燥, 得到3-[(2E)-3-(4-甲氧基苯基)丙-2-烯酰基]-4-苯基-1,2-二氢吡啶-2-酮 (I-148) (EV-AR9055-002) (43mg, 33%), 为黄色固体。LCMS (方法A): 保留时间2.70分钟, $M/z=332 (M+1)$ 。

[0680] 实施例39. 合成5-[(1E)-3-{6-氟-1-[2-(吗啉-4-基)乙基]-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基}-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-3-甲腈, I-58

[0681] 5-[(1E)-3-{6-氟-1-[2-(吗啉-4-基)乙基]-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基}-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-3-甲腈 (I-58) (E0AI3460299) 按照流程1.1中描述的方法通过根据流程21合成的3-乙酰基-6-氟-1-[2-(吗啉-4-基)乙基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AX2030-001) 合成。

[0682] 流程21



[0684] 3-乙酰基-6-氟-1-[2-(吗啉-4-基)乙基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AX2030-001) 步骤1

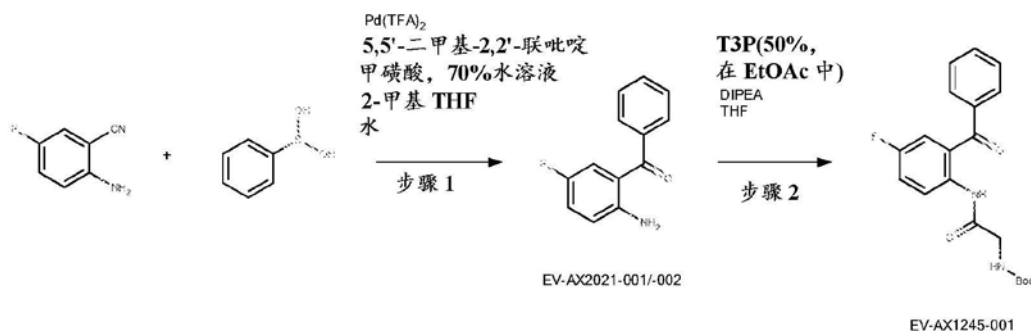
[0685] 向搅拌的3-乙酰基-6-氟-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AW8535-002, 500mg, 1.78mmol) 的DMF (5ml) 溶液中加入碳酸铯 (2027.1mg, 6.22mmol) 和4-(2-氯乙基)吗啉盐酸盐 (1:1) (496.16mg, 2.67mmol)。将所得混合物在80℃下加热2小时。加入另外的碳酸铯 (868.76mg, 2.67mmol) 并继续反应3小时。用EtOAc (30ml) 和水 (30ml) 稀释反应。水层用EtOAc (3 \times 25ml) 洗涤, 合并的有机物用水 (20ml) 洗涤, 经Na₂SO₄干燥并真空浓缩。通过碱性HPLC制备型方法A纯化残余物, 得到3-乙酰基-6-氟-1-[2-(吗啉-4-基)乙基]-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮 (EV-AX2030-001) (338mg, 48%), 为无色固体。LCMS (方法D): 保留时间1.03分钟, $M/z=395 (M+1)$ 。

[0686] 实施例40. 合成 (2E)-N-(6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)-3-苯基丙-

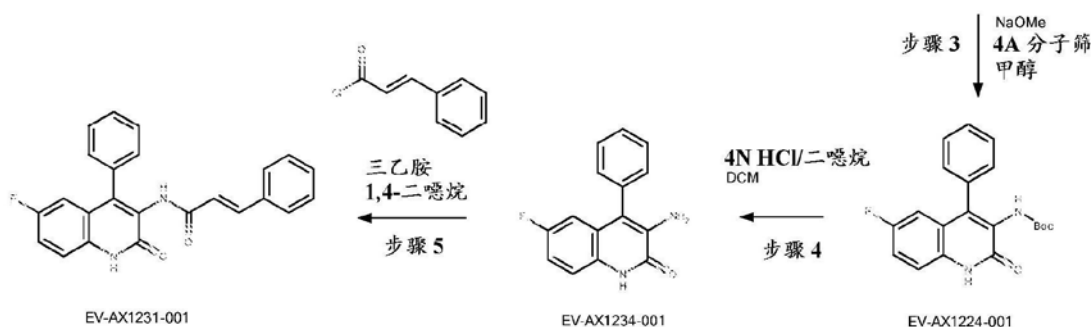
2-烯酰胺, I-59

[0687] (2E)-N-(6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)-3-苯基丙-2-烯酰胺 (I-59) (EOAI3460298) 根据流程22中描述的方法合成。

[0688] 流程22



[0689]



[0690] 2-苯甲酰基-4-氟苯胺 (EV-AX2021-001/-002) - 步骤1

[0691] 用氮气吹扫搅拌的2-氨基-5-氟苄腈 (5000mg, 36.73mmol)、苯基硼酸 (4926.41mg, 40.4mmol)、5,5'-二甲基-2,2'-联吡啶 (406.03mg, 2.2mmol) 和甲磺酸 (38.2ml, 367.31mmol) 在2-甲基-THF (25ml) 和水 (25ml) 中的溶液15分钟。然后加入Pd (TFA)₂ (488.44mg, 1.47mmol), 将该混合物在80℃下搅拌19小时。用饱和NaHCO₃水溶液淬灭反应至pH 8 (~180ml) 并加入EtOAc (200ml)。水层用EtOAc (3×75ml) 萃取, 合并的有机物经Na₂SO₄干燥并真空浓缩。通过快速柱色谱法 (0-40%EtOAc的庚烷溶液) 纯化粗产物, 得到2-苯甲酰基-4-氟苯胺 (EV-AX2021-001) (2305mg, 29%), 为亮黄色固体。将混合的级分真空浓缩, 并通过快速柱色谱法 (0-30%EtOAc的庚烷溶液) 再次纯化, 得到另外的2-苯甲酰基-4-氟苯胺 (EV-AX2021-002) (1377mg, 17%), 为亮黄色固体。LCMS (方法D): 保留时间1.16分钟, M/z = 216 (M+1)。

[0692] N- {[(2-苯甲酰基-4-氟苯基) 氨基甲酰基] 甲基} 氨基甲酸叔丁酯 (EV-AX1245-001) - 步骤2

[0693] 向搅拌的2-苯甲酰基-4-氟苯胺 (200mg, 0.93mmol) 和N-(叔丁氧羰基) 甘氨酸 (179.07mg, 1.02mmol) 在THF (2ml, 无水) 中的悬浮液中加入T3P (50%, 在EtOAc中) (1368.87 μl, 2.32mmol), 然后加入DIPEA (404.66 μl, 2.32mmol), 得到深橙色溶液。将反应在室温下搅拌1小时。将反应混合物用水 (25ml) 和EtOAc (25ml) 稀释。收集有机相, 用EtOAc (25ml) 萃取水相。合并有机物, 经MgSO₄干燥, 过滤并真空浓缩, 得到N- {[(2-苯甲酰基-4-氟苯基) 氨基甲酰基] 甲基} 氨基甲酸叔丁酯 (EV-AX1245-001) (450mg, 94%), 为橙色油状物。LCMS (方法D): 保留时间1.29min, M/z = 395 (M+23)。

[0694] N-(6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)氨基甲酸叔丁酯(EV-AX1224-001)-步骤3

[0695] 向搅拌的N-[(2-苯甲酰基-4-氟苯基)氨基甲酰基]甲基氨基甲酸叔丁酯(81%, 2930mg, 6.37mmol)和4Å分子筛在MeOH(25ml, 无水)中的溶液中加入0.5M甲醇钠的MeOH溶液(38.2ml)。将反应在室温下搅拌19小时。用氯化铵处理反应,此时形成白色沉淀。过滤收集固体,然后溶于20%MeOH的DCM溶液(100ml)中。一些固体不溶于20%MeOH的DCM溶液,由于它不是产物,因此将其丢弃。将滤液真空浓缩,得到N-(6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)氨基甲酸叔丁酯(EV-AX1224-001)(2110mg, 88%),为黄色固体。LCMS(方法D):保留时间1.14min, M/z=377(M+23)。

[0696] 3-氨基-6-氟-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AX1234-001)-步骤4

[0697] 向搅拌的N-(6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)氨基甲酸叔丁酯(430mg, 1.21mmol)的DCM(8ml)溶液中加入4M HCl的二噁烷溶液(6067.02μL)。将反应在室温下搅拌16小时。将反应混合物真空浓缩,然后将残余物在10%MeOH的DCM溶液(25ml)和饱和NaHCO₃(25ml)之间分离。收集有机相,用10%MeOH的DCM溶液(25ml)萃取水相。将合并的有机物经MgSO₄干燥,过滤并真空浓缩,得到3-氨基-6-氟-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AX1234-001)(282mg, 87%)为黄色固体。LCMS(方法D):保留时间1.08min, M/z=255(M+1)。

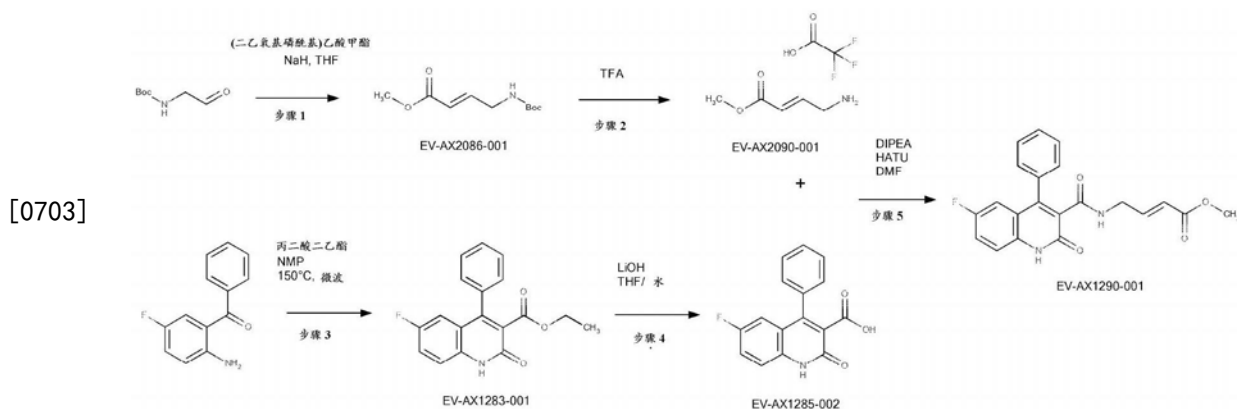
[0698] (2E)-N-(6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)-3-苯基丙-2-烯酰胺(I-59)(EV-AX1231-001)-步骤5

[0699] 向搅拌的3-氨基-6-氟-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮(95%, 90mg, 0.34mmol)在二噁烷(2ml)中的溶液中加入三乙胺(50.44μl, 0.37mmol),然后是在二噁烷(1ml)中的(2E)-3-苯基丙-2-烯酰氯(53.03μl, 0.37mmol)。然后将反应混合物加热到40°C并搅拌1小时。将反应混合物真空浓缩,然后将所得残余物溶于水(25ml)和10%MeOH的DCM溶液(25ml)中。收集有机相,用10%MeOH的DCM溶液(25ml)萃取水相。将合并的有机物经MgSO₄干燥,过滤并真空浓缩。使用酸性制备型HPLC纯化粗产物并冷冻干燥,得到(2E)-N-(6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)-3-苯基丙-2-烯酰胺(I-59)(EV-AX1231-001)(32.2mg, 25%),为白色粉末。LCMS(方法A):保留时间3.11min, M/z=385(M+1)。

[0700] 实施例41.合成(2E)-4-[(6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)甲酰氨基]丁-2-烯酸甲酯,I-38

[0701] (2E)-4-[(6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)甲酰氨基]丁-2-烯酸甲酯(I-38)(E0AI3461957)根据流程23中描述的方法合成。

[0702] 流程23



[0704] (2E)-4-[[叔丁氧基]羰基]氨基}丁-2-烯酸甲酯(EV-AX2086-001)-步骤1

[0705] 将在THF(30ml)中的氢化钠(60%,238.7mg,5.97mmol)冷却至0°C,滴加(二乙氧基磷酰基)乙酸甲酯(1254.26mg,5.97mmol)在THF(10ml)中的溶液。将反应在0°C下搅拌10分钟,并加入(2-氧代乙基)氨基甲酸叔丁酯(95%,1000mg,5.97mmol)的THF(10ml)溶液。移去冰浴,将反应在室温下搅拌1.5小时。将反应物真空浓缩,将残余物在EtOAc(50ml)和水(50ml)之间分配。用EtOAc洗涤水层(30ml),并将合并的有机物用硫酸钠干燥并真空浓缩。通过快速柱色谱(10-50%EtOAc的庚烷溶液)纯化残余物,得到(2E)-4-[[叔丁氧基]羰基]氨基}丁-2-烯酸甲酯(EV-AX2086-001)(711mg,53%),为黄色油状物。LCMS没有运行。

[0706] 三氟乙酸(2E)-4-氨基丁-2-烯酸甲酯盐(EV-AX2090-001)-步骤2

[0707] 将TFA(4ml)加入到(2E)-4-[[叔丁氧基]羰基]氨基}丁-2-烯酸甲酯(95%,700mg,3.09mmol)中并在室温下搅拌所得混合物1小时。真空除去溶剂,将残余物与甲苯(2×10ml)共沸。将固体残余物在高真空线上干燥2小时,然后溶解在MeOH(0.5ml)中并加入冰冷的乙醚(10ml)中。将得到的固体滤出并在真空烘箱中在40°C下干燥2小时,得到三氟乙酸(2E)-4-氨基丁-2-烯酸甲酯盐(EV-AX2090-001)(657mg,92%),为褐色固体。LCMS没有运行。

[0708] 6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酸乙酯(EV-AX1283-001)-步骤3

[0709] 2-苯甲酰基-4-氟苯胺(450mg,2.09mmol)和丙二酸二乙酯(634.86μl,4.18mmol)在NMP(3ml)中的混合物在微波中在150°C下搅拌1小时。加入另外的丙二酸二乙酯(634.86μl,4.18mmol)并将反应物在微波中在150°C下搅拌1小时。加入另外的DBU(46.81μl,0.31mmol)并将反应物在微波中在150°C下搅拌3小时。将混合物用水稀释,沉淀出产物。将残余物通过烧结物过滤,用乙醚洗涤并使用真空烘箱干燥,得到6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酸乙酯(EV-AX1283-001)(200mg,29%),为灰白色固体。LCMS(方法D):保留时间1.12min,M/z=312(M+1)。

[0710] 6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酸(EV-AX1285-002)-步骤4

[0711] 向6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酸乙酯(95%,210mg,0.64mmol)在THF(5ml)中的溶液中加入在水(1ml)中的LiOH(76.73mg,3.2mmol)。将反应在室温下搅拌72小时。将反应加热至50°C并搅拌3.5小时。加入另外的LiOH(38.37mg,1.6mmol)并将反应在50°C下搅拌2小时。反应用另外的LiOH(76.73mg,3.2mmol)再处理,并在50°C下搅拌1小时。通过真空浓缩除去溶剂,用高真空线干燥残余物,得到814mg(98.7%)6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酸锂(1+),为白色固体(EV-AX1285-001)。产物需要作为游离酸,因

此残余物悬浮在水中并酸化至pH 1。然后过滤收集沉淀物并用乙醚洗涤,得到6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酸 (EV-AX1285-002) (127mg,67%),为白色粉末。LCMS(方法D):保留时间1.04min, $M/z=284(M+1)$ 。

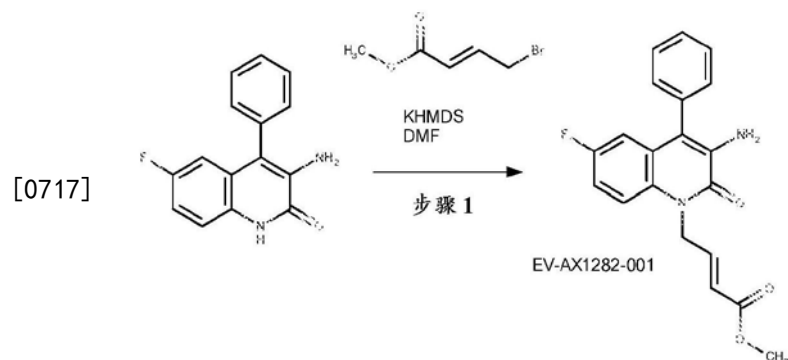
[0712] (2E)-4-[(6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-基)甲酰氨基]丁-2-烯酸酯(I-38) (EV-AX1290-001)-步骤5

[0713] 向三氟乙酸(2E)-4-氨基丁-2-烯酸甲酯盐(95%,85.16mg,0.35mmol)在DMF(1ml)中的溶液中加入6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酸(100mg,0.35mmol)和DIPEA(181.3 μ l,1.06mmol),然后是HATU(147.66mg,0.39mmol)。将反应在室温下搅拌15分钟。将反应混合物与一系列反应混合物(EV-AX1289)合并,真空浓缩,使用酸性制备型HPLC纯化并冻干,得到(2E)-4-[(6-氟-2-氧代-4-苯基)-1,2-二氢喹啉-3-基)甲酰氨基]丁-2-烯酸甲酯(I-38) (EV-AX1290-001) (77.8mg,48%),为白色粉末。LCMS(方法A):保留时间2.47分钟, $M/z=381(M+1)$ 。

[0714] 实施例42.合成(2E)-4-(3-氨基-6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-1-基)丁-2-烯酸甲酯,I-39

[0715] (2E)-4-(3-氨基-6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-1-基)丁-2-烯酸甲酯(I-39) (EOAI3461695)根据流程24中描述的方法通过如流程22中所述合成的3-氨基-6-氟-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮(EV-AX1234-001)合成。

[0716] 流程24



[0718] (2E)-4-(3-氨基-6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-1-基)丁-2-烯酸甲酯(EV-AX1282-001)-步骤1

[0719] 向3-氨基-6-氟-4-苯基-1,2-二氢喹啉-2-酮(93%,50mg,0.18mmol)的DMF(0.5ml)溶液中加入1M KHMDS/THF(201.17 μ l)。将混合物在室温下搅拌30分钟。然后加入(2E)-4-溴丁-2-烯酸甲酯(42.96 μ l,0.37mmol)并将反应在室温下搅拌1小时。将反应混合物真空浓缩,使用酸性制备型HPLC纯化并冻干,得到(2E)-4-(3-氨基-6-氟-2-氧代-4-苯基-1,2-二氢喹啉-1-基)丁-2-烯酸甲酯(I-39) (EV-AX1282-001) (10.2mg,15.4%),为黄色粉末。LCMS(方法A):保留时间3.51分钟, $M/z=353(M+1)$ 。

[0720] 下表3示出了利用上述LCMS方法的本发明所选化合物的液相色谱-质谱(LCMS)数据。化合物编号对应于表1和2中的化合物编号。

[0721] 表3.液相色谱-质谱(LCMS)数据

[0722]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-1	442.48	3.80 min	443.2	E		
I-2	442.48	3.15 min	443.2	E		

[0723]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-3	386.38	2.40 min	386.38	A		
I-4	457.50	2.10 min	458.2	A	甲酸	0.5
I-5	425.41	3.26 min	426.1	A		
I-6	371.36	2.78 min	372.1	A		
I-7	395.39	3.17 min	396.1	A		
I-8	395.39	3.21 min	396.1	E		
I-9	400.40	3.27 min	401.1	A		
I-10	371.36	2.63 min	372.1	A		

[0724]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-11	443.47	2.94 min	444.1	A		
I-12	477.51	2.80 min	478.1	A		
I-13	371.36	2.59 min	372.1	A		
I-14	404.82	3.30 min	405.1	A		
I-15	400.40	2.08 min	401.1	A		
I-16	425.41	2.69 min	426.1	A		
I-17	424.43	2.92 min	425.1	A		
I-18	484.52	2.31 min	485.1	A		

[0725]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-19	484.52	2.00 min	485.1	A		
I-20	370.38	2.46 min	371.1	A		
I-21	371.36	2.57 min	372.1	A		
I-22	423.44	2.82 min	424.2	A		
I-23	444.54	3.25 min	445.2	A		
I-24	499.53	2.11 min	500.2	A		
I-25	430.43	2.76 min	431.1	A		
I-26	378.38	2.46 min	379.1	A		

[0726]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-27	472.29	2.99 min	471.9	A		
I-28	367.40	1.95 min	368.1	A		
I-29	333.36	3.12 min	334.1	A		
I-30	494.60	2.21 min	495.2	G		
I-31	439.52	1.92 min	440.2	G		
I-32	377.40	2.74 min	378.1	G		
I-33	498.55	2.18 min	499.2	G	HCl	1
I-34	454.50	2.60 min	455.1	G	HCl	1

[0727]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-35	426.46	2.96 min	427.1	G		
I-36	412.44	2.74 min	413.1	G		
I-37	429.44	2.56 min	430.1	G		
I-38	372.35	2.25 min	373.1	G		
I-40	322.33	2.52 min	323.1	A		
I-41	499.53	1.96 min	500.1	A		
I-42	385.39	2.08 min	386.1	A		
I-43	444.45	2.88 min	445.1	A		

[0728]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-44	372.35	2.25 min	373.1	G		
I-45	371.36	2.40 min	372.1	G		
I-46	389.35	2.79 min	390.1	G		
I-47	367.40	2.43 min	368.1	G		
I-48	370.38	2.65 min	371.1	G		
I-49	370.38	2.52 min	371.1	G		
I-50	371.36	2.98 min	372.1	G		
I-51	388.37	2.76 min	389.1	G		

[0729]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-52	388.37	2.59 min	389.1	G		
I-53	371.36	3.24 min	372	G		
I-54	368.39	2.30 min	369.1	G		
I-55	385.39	2.82 min	386.1	G		
I-56	481.51	3.10 min	482.2	A		
I-57	481.54	1.72 min	482.2	A	甲酸	0.5
I-58	508.54	3.43 min	509.2	E		
I-59	384.40	3.11 min	385.1	A		

[0730]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-60	424.42	2.79 min	425	A		
I-61	384.40	2.33 min	385.1	A		
I-62	407.42	2.65 min	408.1	A		
I-63	431.28	3.26 min	431.1	A		
I-64	432.27	2.99 min	432.2 / 434.1	A		
I-65	388.37	3.08 min	389.1	A		
I-66	420.38	3.01 min	421.2	A		
I-67	404.82	3.33 min	405.1	A		

[0731]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-68	431.28	2.91 min	431.0 / 433.0	A		
I-69	386.83	3.19 min	387.1	A	甲酸	0.5
I-70	421.37	3.07 min	422.1	A		
I-71	397.43	2.53 min	398.2	A		
I-72	419.47	3.02 min	420.2	A		
I-73	371.36	2.56 min	372.1	A		
I-74	391.42	3.07 min	392.1	A		
I-75	323.37	1.93 min	324.1	A		

[0732]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-76	386.83	2.84 min	387.1	A		
I-77	407.46	3.39 min	408.2	A		
I-78	405.45	4.45 min	406.2	B		
I-79	381.43	3.06 min	382.2	A		
I-80	387.82	2.93 min	388.1	A		
I-81	411.45	2.99 min	412.2	A		
I-82	405.45	2.82 min	406.1	A		
I-83	393.44	3.07 min	394.2	A		

[0733]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-84	367.40	2.65 min	368.2	A		
I-85	406.44	2.82 min	407.3	A		
I-86	367.40	3.84 min	368.1	C		
I-87	354.36	3.19 min	355.2	B		
I-88	371.36	2.13 min	372.2	A		
I-89	383.40	2.55 min	384.2	A		
I-90	354.36	1.43 min	355.2	A		
I-91	367.40	2.79 min	368.1	A		

[0734]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-92	367.40	2.25 min	368.1	A		
I-93	360.41	2.09 min	361.4	A		
I-94	354.36	2.22 min	355.1	A		
I-95	354.36	1.53 min	355.1	A		
I-96	367.40	3.50 min	368.2	B		
I-97	387.82	2.36 min	388.1	A		
I-98	383.40	2.10 min	384.1	A		
I-99	370.38	2.92 min	371.1	A		

[0735]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-100	551.63	3.87 min	552.2	A		
I-101	507.58	3.89 min	508.2	A		
I-102	371.36	2.65 min	372.1	A		
I-103	391.42	2.57 min	392.1	A		
I-104	370.38	2.53 min	371.1	A		
I-105	367.40	2.83 min	368.1	A		
I-106	371.36	2.68 min	372.1	A		
I-107	370.38	2.57 min	371.1	A		

[0736]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-108	370.38	2.88 min	371.1	A		
I-109	493.55	3.45 min	494.2	A		
I-110	537.60	3.43 min	538.2	A		
I-111	395.45	3.67 min	396.2	A		
I-112	353.37	2.73 min	354.1	A		
I-113	329.39	3.43 min	330.1	A		
I-114	352.39	2.44 min	353.1	A		
I-115	366.41	2.22 min	367.1	A		

[0737]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-116	444.50	2.88 min	445.1	A		
I-117	391.42	3.04 min	392.2	A		
I-118	329.39	3.35 min	330.2	A		
I-119	366.41	1.84 min	367.3	A		
I-120	355.39	1.84 min	356.2	A		
I-121	353.37	2.71 min	354.2	B		
I-122	353.37	3.96 min	354.2	A		
I-123	368.38	2.68 min	369.1	A		

[0738]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-124	353.37	3.49 min	354.2	B		
I-125	366.41	2.24 min	367.1	A		
I-126	343.42	3.62 min	344.1	A		
I-127	357.44	3.86 min	358.2	A		
I-128	341.36	1.80 min	342.1	A		
I-129	352.39	2.78 min	353.1	A		
I-130	315.37	4.40 min	316.2	B		
I-131	390.43	4.79 min	391.2	B		

[0739]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-132	319.35	2.92 min	320.0	A		
I-133	289.33	2.93 min	290.0	A		
I-134	276.29	2.61 min	277.0	A		
I-135	366.41	2.61 min	367.1	A		
I-136	305.33	2.95 min	306.1	C		
I-137	409.48	3.83 min	410.1	A		
I-138	365.42	3.54 min	366.1	A		
I-139	381.42	3.34 min	382.1	A		

[0740]

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-140	397.43	3.06 min	398.2	A		
I-141	391.42	3.72 min	392.1	A		
I-142	393.44	3.95 min	394.2	A		
I-143	381.43	3.84 min	382.2	A		
I-144	411.45	3.60 min	412.2	A		
I-145	366.41	3.90 min	367.1	A		
I-146	395.45	4.35 min	396.1	A		
I-147	336.39	3.23 min	337.2	A		

#	分子量	LCMS T _{保留}	LCMS M/z (+)	LCMS 方法	盐	盐 化学计量
I-148	331.36	2.70 min	332.1	A		
I-149	342.39	2.45 min	343.2	A		
I-150	302.33	1.67 min	303.1	A		
I-151	255.27	2.25 min	256	A		

[0741]

[0742] 生物测定

[0743] 实施例43.PAD4测定

[0744] 使用下文所描述的测定方案来测定作为PAD4抑制剂的本发明的化合物。

[0745] 将化合物溶解于100%DMSO中以实现100mM最终化合物浓度。将化合物储备溶液储存在室温下。在DMSO中制备一系列稀释液并以20μL混合体积混合8次。最终测定条件如下：

[0746] 反应体积:20μl

[0747] 测定缓冲液(如上所述):100mM Tris-HCl(pH 7.6),2mM DTT,1mM CaCl₂

[0748] 最终浓度:

[0749] -100nM hPAD4酶

[0750] -50μM(8倍sub-K_m)底物肽

[0751] -0.5%DMSO

[0752] 总温育时间:37°C,65分钟

[0753] 终止溶液:40μl 5%TCA/ACN。

[0754] 将0.25μL化合物溶液加入至10μL 200nM PAD4/测定缓冲液(100mM Tris-HCl pH 7.6,2mM DTT)中。在5min之后,加入10μL 100μM底物/缓冲液(100mM Tris-HCl pH 7.6,2mM DTT,2mM CaCl₂)并将反应在37°C下温育60min。通过加入40μl 5%TCA/ACN(1.7%TCA最终浓度)终止溶液来淬灭酶促反应。将含精氨酸的底物和含瓜氨酸的产物(+1Da质量位移)在Agilent RapidFire(RF)300系统上进行固相萃取并在用于定量的耦合的三重四极杆Agilent 6460QQQ质谱(MS)装置上在应用多反应监测(MRM)下检测。[0755] 下表4显示本发明的所选化合物在上述PAD4测定中的活性。化合物编号对应于表1和2中的化合物编号。具有指定为“A”的活性的化合物提供0.1-3μM的IC₅₀;具有指定为“B”的活性的化合物提供3-20μM的IC₅₀;具有指定为“C”的活性的化合物提供20-100μM的IC₅₀;且

具有指定为“D”的活性的化合物提供 $>100\mu\text{M}$ 的 IC_{50} 。术语 $\text{pIC}_{50} = -\log(\text{IC}_{50})$ 。具有指定为“E”的活性的化合物提供1-4的 pIC_{50} ；具有指定为“F”的活性的化合物提供4-5的 pIC_{50} ；具有指定为“G”的活性的化合物提供 >5 的 pIC_{50} 。“NA”代表“未测定”。

[0756] 使用MS(质谱)的共价修饰研究

[0757] 实施例44.PAD4共价修饰测定

[0758] 使用质谱分析所选择的抑制剂对蛋白质的共价修饰。重组人PAD4以 $4\text{mg}/\text{ml}$ 用于 20mM Tris pH7.6、 400mM NaCl、 5mM TCEP中。在适用的情况下,缓冲液补充有 5mM CaCl_2 以确定钙的修饰敏感性。将抑制剂以 0.2mM 至 5mM 的终浓度溶解在DMSO中,并在分析前与蛋白在 27°C 温育16小时。在不存在抑制剂的情况下用蛋白和DMSO进行对照实验。在临用Waters LCT-Premier TOF质谱仪使用5%至80%乙腈/水(补充有0.1%甲酸)的流动相分析之前,在室温下以 10000rpm 离心样品15秒。

[0759] 失活动力学

[0760] 实施例45.PAD4失活动力学

[0761] 活性化合物与靶标酶的共价结合导致酶活性的时间依赖性损失。失活速率取决于抑制剂浓度([I])并且可以在准一级条件([I] \gg [hPAD4])下定量。

[0762] 在 37°C 下在384孔聚苯乙烯板中进行失活动力学实验。将化合物(10 - $200\mu\text{M}$)和hPAD4($4\mu\text{M}$)溶液在含有 10mM CaCl_2 和 2mM DTT的测定缓冲液(100mM Tris-HCl, pH 7.6)中预温育10分钟以达到 37°C 的温度。在0至70分钟的不同时间点混合等体积($10\mu\text{l}$)的化合物和hPAD4溶液。在70分钟时间点,将失活溶液在含有 $166.7\mu\text{M}$ 肽底物(H-TSTGGRQGS HH-CONH_2)、 1.1mM CaCl_2 和 2mM DTT的酶促反应缓冲液(100mM Tris-HCl, pH 7.6)中稀释10倍。在 37°C 温育30分钟后,通过在ACN中的5%TCA溶液中3倍稀释来淬灭酶促反应。通过固相萃取质谱(SPE-MS)确定底物肽精氨酸瓜氨酸化。配备有HILIC(HI)柱的Agilent RapidFire 300用于取样,对于P1溶剂为含0.1%TFA的 $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$ (20/80),对于P2和P3溶剂为含0.1%TFA的 $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$ (50/50)。在正离子模式下,使用耦合的Agilent 6460QQQ和多反应监测(MRM)分别针对转换 $562.3/969.4$ 和 $562.8/541$ 来检测底物和产物肽。失活反应的DMSO含量为1%。C1-脘(100mM ,酶失活反应期间的最终浓度)和1%DMSO分别用作失活反应的阳性和阴性对照。

[0763] 通过用公式 $A_{\text{res}}(t) = e^{-k_{\text{obs}}*t}$ 拟合残余hPAD4活性的时间依赖性损失 A_{res} ,确定失活反应的准一级速率常数 k_{obs} 。准一级速率常数相对于抑制剂的摩尔浓度的绘图允许确定动力学反应常数: k_{inact} -无限[I]时的最大失活速率; K_{I} -抑制剂浓度,在该浓度失活速率等于 $1/2k_{\text{inact}}$; $k_{\text{inact}}/K_{\text{I}}$ 。

[0764] 根据上述程序测定本发明的某些化合物,发现它们共价修饰PAD4。

[0765] 下表4显示了本发明所选化合物在上述共价修饰测定中的活性。化合物编号对应于表1和2中的化合物编号。

[0766] 表4.PAD4活性

[0767]

化合物#	hPAD4-RFMS: IC50 (μM) (平均)	hPAD4- RFMS: pIC50 (平均)
I-1	NA	NA
I-2	B	G
I-3	B	G
I-4	A	G
I-5	A	G
I-6	B	F
I-7	B	G
I-8	B	G
I-9	A	G
I-10	B	F
I-11	B	F
I-12	B	G
I-13	B	G
I-14	B	G
I-15	B	G
I-16	NA	NA
I-17	B	G
I-18	NA	NA
I-19	B	F
I-20	A	G
I-21	B	G
I-22	A	G
I-23	NA	NA
I-24	NA	NA
I-25	NA	NA
I-26	NA	NA
I-27	C	F
I-28	B	G
I-29	C	F
I-30	NA	NA
I-31	NA	NA
I-32	NA	NA
I-33	NA	NA
I-34	A	G
I-35	NA	NA
I-36	NA	NA
I-37	NA	NA
I-38	NA	NA
I-40	C	F
I-41	B	G
I-42	C	F
I-43	B	G
I-44	B	G
I-45	B	G
I-46	B	G

化合物#	hPAD4-RFMS: IC50 (μ M) (平均)	hPAD4- RFMS: pIC50 (平均)
I-47	B	G
I-48	B	G
I-49	A	G
I-50	B	G
I-51	C	F
I-52	B	G
I-53	A	G
I-54	B	F
I-55	B	G
I-56	B	F
I-57	C	F
I-58	B	F
I-59	C	F
I-60	A	G
I-61	A	G
I-62	C	F
I-63	B	G
I-64	B	G
I-65	B	G
I-66	A	G
I-67	B	G
I-68	A	G
I-69	B	G
I-70	B	G
I-71	B	F
I-72	D	F
I-73	B	F
I-74	B	F
I-75	C	F
I-76	A	G
I-77	C	F
I-78	C	F
I-79	C	F
I-80	A	G
I-81	C	F
I-82	C	F
I-83	C	F
I-84	C	F
I-85	C	F
I-86	B	F
I-87	C	F
I-88	C	F
I-89	C	F
I-90	D	E
I-91	C	F
I-92	C	F
I-93	C	F
I-94	C	F
I-95	D	E
I-96	C	F

[0768]

[0769]

化合物#	hPAD4-RFMS: IC50 (μ M) (平均)	hPAD4- RFMS: pIC50 (平均)
I-97	C	F
I-98	C	F
I-99	B	G
I-100	C	F
I-101	C	F
I-102	C	F
I-103	C	F
I-104	B	F
I-105	B	G
I-106	B	G
I-107	A	G
I-108	D	E
I-109	D	E
I-110	C	F
I-111	C	F
I-112	C	F
I-113	C	F
I-114	B	F
I-115	C	F
I-116	B	G
I-117	C	F
I-118	C	F
I-119	C	F
I-120	B	F
I-121	C	F
I-122	B	F
I-123	B	G
I-124	D	E
I-125	B	F
I-126	C	F
I-127	C	F
I-128	C	F
I-129	B	F
I-130	B	F
I-131	B	G
I-132	C	F
I-133	C	F
I-134	C	F
I-135	B	G
I-136	C	F
I-137	B	F
I-138	B	G
I-139	B	G
I-140	C	F
I-141	C	F
I-142	C	F
I-143	C	F
I-144	C	F
I-145	C	F
I-146	C	F

化合物#	hPAD4-RFMS: IC50 (μM) (平均)	hPAD4- RFMS: pIC50 (平均)
[0770] I-147	C	F
I-148	C	F
I-149	NA	NA
I-150	C	F
I-151	D	E

[0771] *hPAD4同种型;Ca⁺⁺浓度=10mM。