(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 115551845 B
(45)授权公告日 2025.02.28

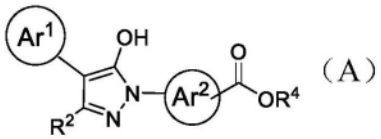
(21)申请号 202180034124.X
(22)申请日 2021.03.19
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 115551845 A
(43)申请公布日 2022.12.30
(30)优先权数据
62/992,585 2020.03.20 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.11.09
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/023219 2021.03.19
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/188936 EN 2021.09.23
(73)专利权人 阿克比治疗有限公司
地址 美国马萨诸塞州
(72)发明人 保罗·E·弗莱明
托马斯·P·布莱斯德尔
森卡拉·拉奥·阿卢
(74)专利代理机构 北京品源专利代理有限公司 11332
专利代理师 刘明海 宁涛
(51)Int.Cl.
C07D 403/04(2006.01)
C07D 403/14(2006.01)
A61K 31/455(2006.01)
A61P 9/00(2006.01)
A61P 11/00(2006.01)
A61P 13/00(2006.01)
(56)对比文件
CN 101213189 A,2008.07.02
CN 101600710 A,2009.12.09
CN 105492433 A,2016.04.13
WO 2014089364 A1,2014.06.12
Hartmut Beck 等.Discovery of Molidustat (BAY 85-3934): A Small-Molecule Oral HIF-Prolyl Hydroxylase (HIF-PH) Inhibitor for the Treatment of Renal Anemia.ChemMedChem.2018,第13卷摘要及第993页表3.
审查员 唐凯翔
权利要求书11页 说明书118页 附图1页

(54)发明名称

PHD抑制剂化合物、组合物和用途

(57)摘要

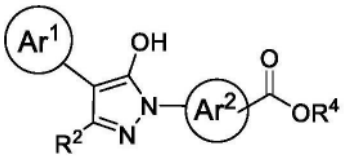
本发明部分地提供了新型小分子PHD抑制剂或其药学上可接受的盐,所述抑制剂具有根据式(A)及其子式的结构。本文提供的化合物可用于治疗疾病,所述疾病包含心脏疾病(例如缺血性心脏病、充血性心力衰竭和瓣膜性心脏病)、肺部疾病(例如急性肺损伤、肺动脉高压、肺纤维化和慢性阻塞性肺病)、肝脏疾病(例如急性肝功能衰竭和肝纤维化和肝硬化)和肾脏疾病(例如急性肾损伤和慢性肾病)。



(A)

CN 115551845 B

1.一种式A化合物：



（A）

或其药学上可接受的盐，其中：

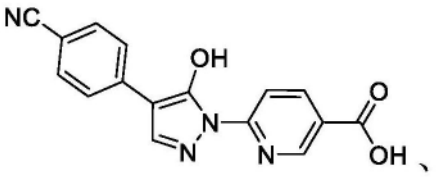
Ar^1为苯基，其中所述苯基被卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基或C_{1-3}烷氧基取代；

R^2为H或C_{1-3}烷基；

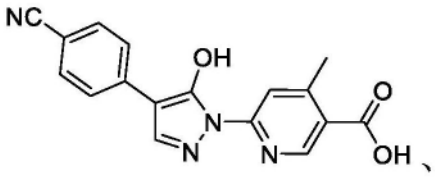
Ar^2为六元含氮杂芳基，其任选地被卤素、OH、胺或C_{1-3}烷基取代；

R^4为氢或C_{1-4}烷基；并且

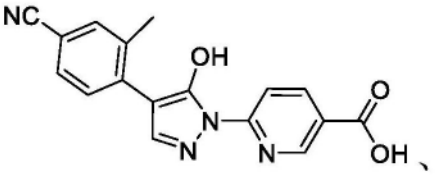
其中式(A)不包括以下化合物：



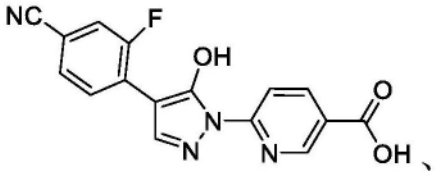
、



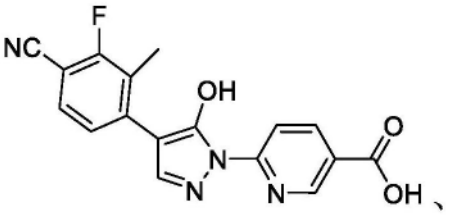
、



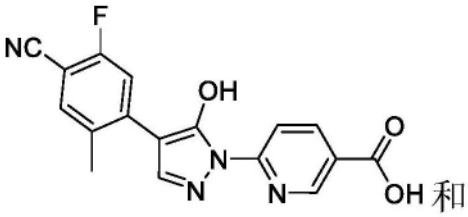
、



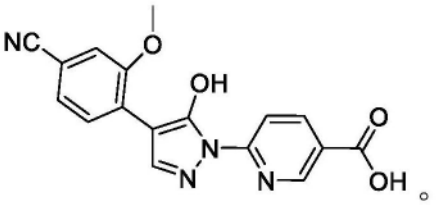
、



、



和

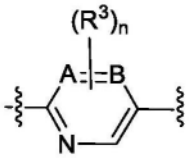


。

2.根据权利要求1所述的化合物，其中Ar^1为被至少一个R^1取代的苯基，所述R1为CN或卤素。

3.根据权利要求2所述的化合物，其中Ar^1被一个或两个R^1基团取代，所述基团独立地选自任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基、卤素、CN或OH。

4.根据权利要求1所述的化合物，其中Ar^2为



其中

A和B独立地为CH或N;

每个R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基;并且

n为0、1或2。

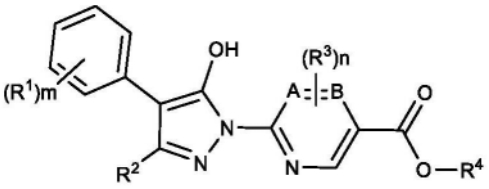
5.根据权利要求1所述的化合物,其中Ar^2是作为吡啶基或吡嗪基的基团,并且其中所述基团未经取代或包括取代基,所述取代基是卤素、C_{1-3}烷基或OH。

6.根据权利要求1所述的化合物,其中R^2为H或CH_3。

7.根据权利要求1所述的化合物,其中R^4为H。

8.根据权利要求1所述的化合物,其中R^4为C_{1-4}烷基。

9.根据权利要求1所述的化合物,其具有式(Ib)的结构:



(Ib)

或其药学上可接受的盐,其中:

A和B独立地为CH或N;

m为1、2、3或4;

n为0、1或2;

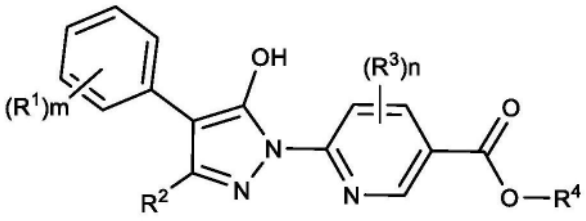
每次采用的R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;

R^2为氢或C_{1-3}烷基;

每次采用的R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺或C_{1-3}烷基;并且

R^4为氢或C_{1-4}烷基。

10.根据权利要求1所述的化合物,其具有根据式(II)的结构:



(II)

或其药学上可接受的盐,其中:

m为1、2、3或4;

n为0、1或2;

每次采用的R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素

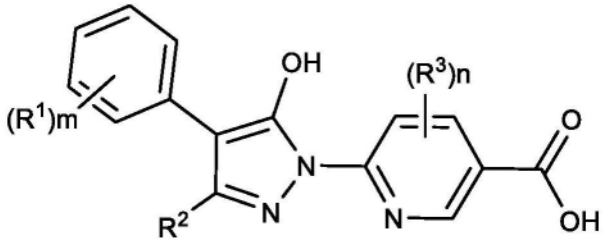
取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;

R^2为氢或C_{1-3}烷基;

每次采用的R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺或C_{1-3}烷基;并且

R^4为氢或C_{1-4}烷基。

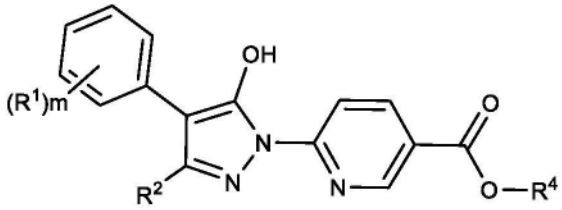
11.根据权利要求10所述的化合物,其具有式(IIa)的结构:



(IIa)

或其药学上可接受的盐。

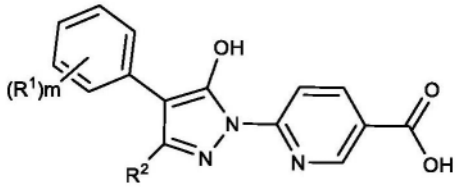
12.根据权利要求10所述的化合物,其具有式(IIb)的结构:



(IIb)

或其药学上可接受的盐。

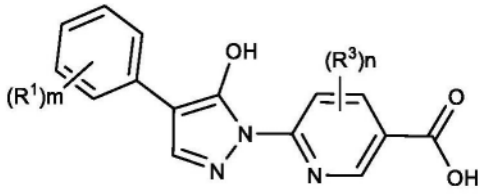
13.根据权利要求10所述的化合物,其具有式(IIc)的结构:



(IIc)

或其药学上可接受的盐。

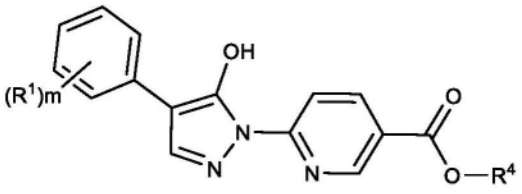
14.根据权利要求10所述的化合物,其具有式(IId)的结构:



(IId)

或其药学上可接受的盐。

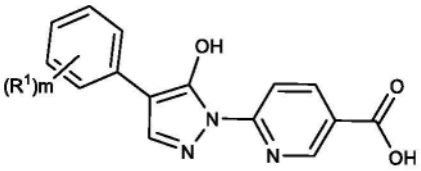
15.根据权利要求10所述的化合物,其具有式(IIe)的结构:



（IIe）

或其药学上可接受的盐。

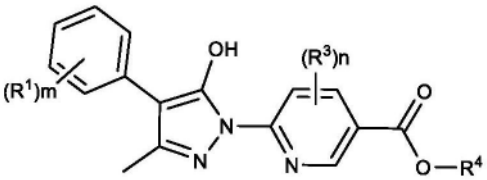
16.根据权利要求10所述的化合物,其具有式(IIf)的结构:



（IIf）

或其药学上可接受的盐。

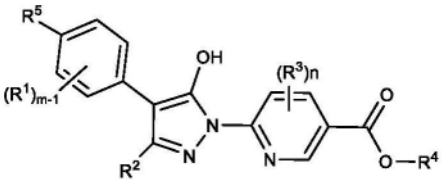
17.根据权利要求10所述的化合物,其具有式(IIg)的结构:



（IIg）

或其药学上可接受的盐。

18.根据权利要求1所述的化合物,其具有根据式III的结构:



（III）

或其药学上可接受的盐,其中:

m为1、2、3或4;

n为0、1或2;

每次采用的R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH和任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基;

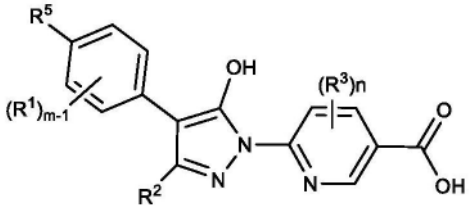
R^2为氢或C_{1-3}烷基;

每次采用的R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基;

R^4为氢或C_{1-4}烷基;

R^5为CN或卤素。

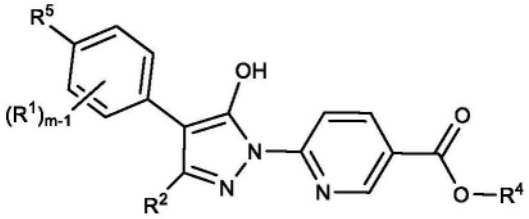
19.根据权利要求18所述的化合物,其具有式(IIIa)的结构:



（IIIa）

或其药学上可接受的盐。

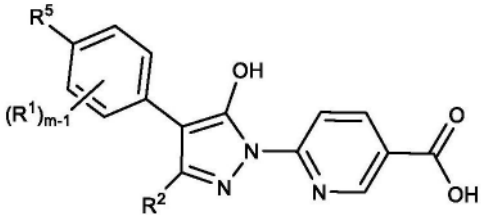
20.根据权利要求18所述的化合物,其具有式(IIIb)的结构:



（IIIb）

或其药学上可接受的盐。

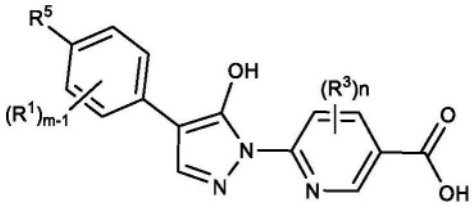
21.根据权利要求18所述的化合物,其具有式(IIIc)的结构:



（IIIc）

或其药学上可接受的盐。

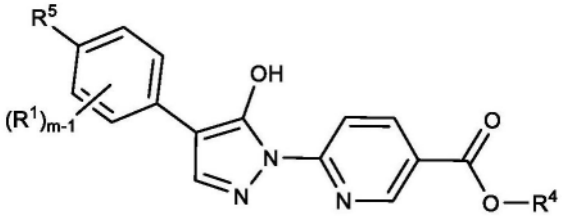
22.根据权利要求18所述的化合物,其具有式(IIId)的结构:



（IIId）

或其药学上可接受的盐。

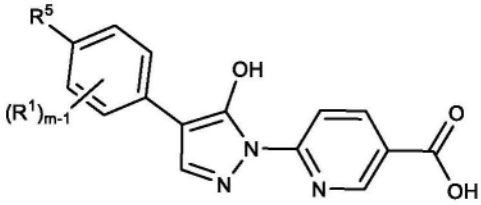
23.根据权利要求18所述的化合物,其具有式(IIIe)的结构:



（IIIe）

或其药学上可接受的盐。

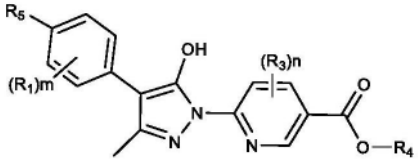
24.根据权利要求18所述的化合物,其具有式(IIIf)的结构:



(IIIf)

或其药学上可接受的盐。

25.根据权利要求18所述的化合物,其具有式III(g)的结构:



III(g)

或其药学上可接受的盐。

26.根据权利要求9所述的化合物,其中m为1。

27.根据权利要求9所述的化合物,其中m为2。

28.根据权利要求9所述的化合物,其中m为3。

29.根据权利要求9所述的化合物,其中m为4。

30.根据权利要求4所述的化合物,其中n为0。

31.根据权利要求4所述的化合物,其中n为1。

32.根据权利要求4所述的化合物,其中n为2。

33.根据权利要求9所述的化合物,其中R^1为氢。

34.根据权利要求9所述的化合物,其中R^1为卤素。

35.根据权利要求34所述的化合物,其中R^1为F。

36.根据权利要求34所述的化合物,其中R^1为Cl。

37.根据权利要求34所述的化合物,其中R^1为Br。

38.根据权利要求9所述的化合物,其中R^1为CN。

39.根据权利要求9所述的化合物,其中R^1为OH。

40.根据权利要求9所述的化合物,其中R^1为任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基。

41.根据权利要求40所述的化合物,其中R^1为C_{1-3}烷基。

42.根据权利要求40所述的化合物,其中R^1为甲基。

43.根据权利要求40所述的化合物,其中R^1为乙基。

44.根据权利要求40所述的化合物,其中R^1为CF_3。

45.根据权利要求9所述的化合物,其中R^1为C_{1-3}烷氧基。

46.根据权利要求45所述的化合物,其中R^1为甲氧基。

47.根据权利要求1所述的化合物,其中R^2为氢。

48.根据权利要求1所述的化合物,其中R^2为C_{1-3}烷基。

49.根据权利要求48所述的化合物,其中R^2为甲基。

50.根据权利要求4所述的化合物,其中R^3为氢。

51.根据权利要求4所述的化合物,其中R^3为卤素。

52.根据权利要求40所述的化合物,其中R^3为F。

53.根据权利要求4所述的化合物,其中R^3为OH。

54.根据权利要求4所述的化合物,其中R^3为胺。

55.根据权利要求54所述的化合物,其中R^3为NH_2。

56.根据权利要求4所述的化合物,其中R^3为C_{1-3}烷基。

57.根据权利要求56所述的化合物,其中R^3为甲基。

58.根据权利要求1所述的化合物,其中R^4为氢。

59.根据权利要求1所述的化合物,其中R^4为C_{1-4}烷基。

60.根据权利要求59所述的化合物,其中R^4为甲基。

61.根据权利要求59所述的化合物,其中R^4为乙基。

62.根据权利要求59所述的化合物,其中R^4为异丙基。

63.根据权利要求59所述的化合物,其中R^4为叔丁基。

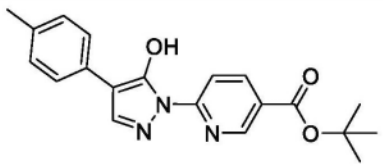
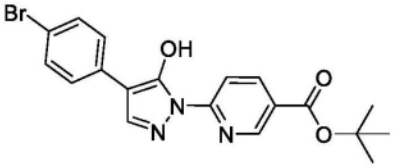
64.根据权利要求18所述的化合物,其中R^5为F。

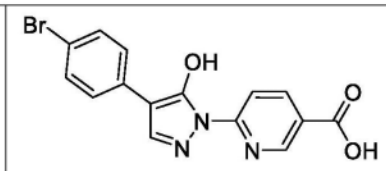
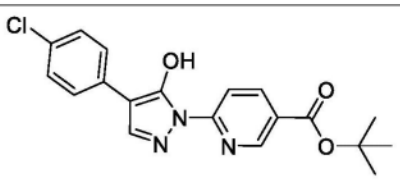
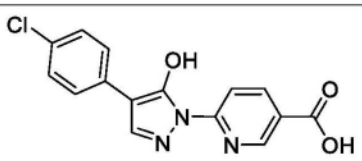
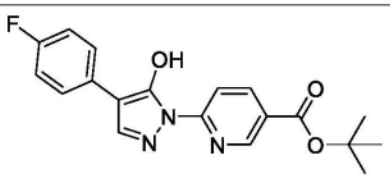
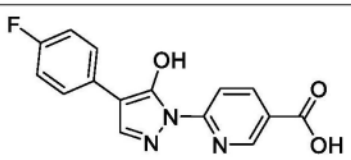
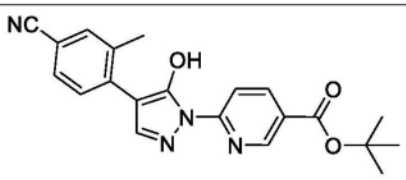
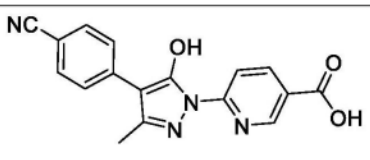
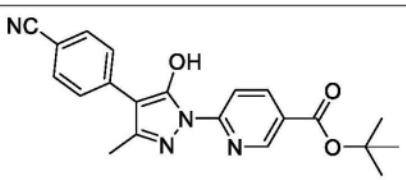
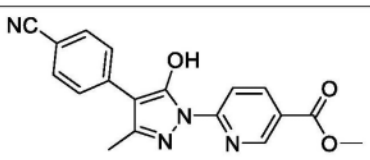
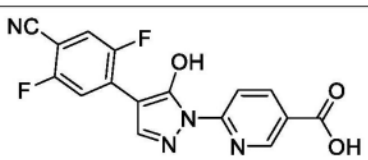
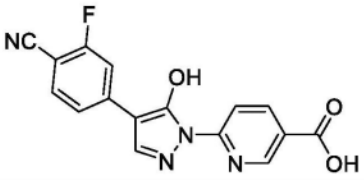
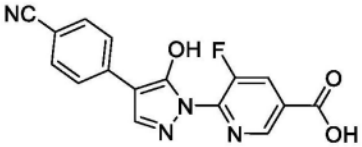
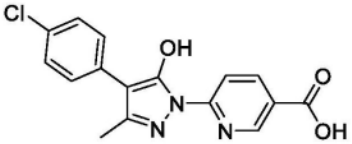
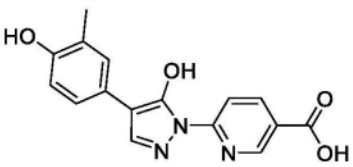
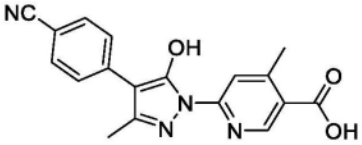
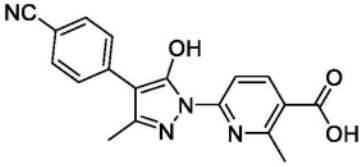
65.根据权利要求18所述的化合物,其中R^5为Cl。

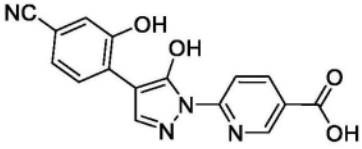
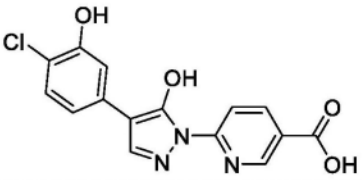
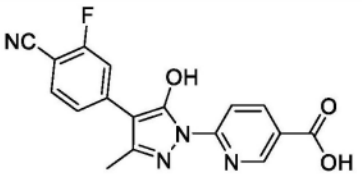
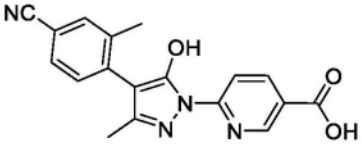
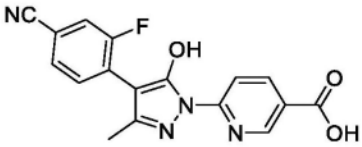
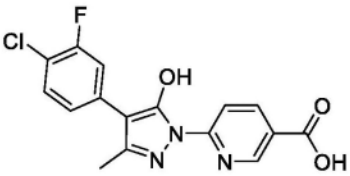
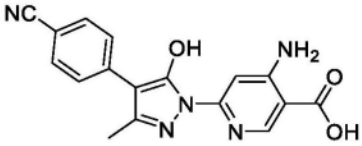
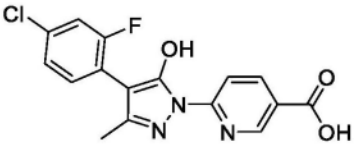
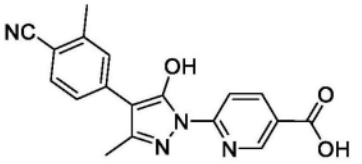
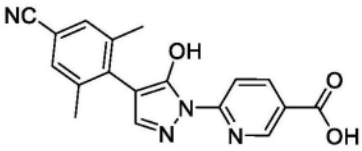
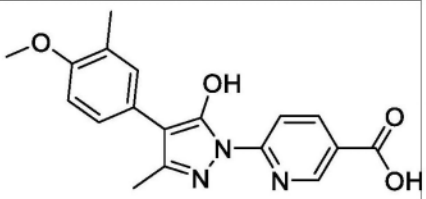
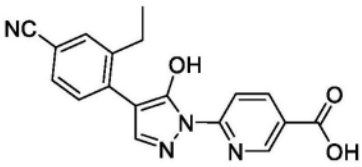
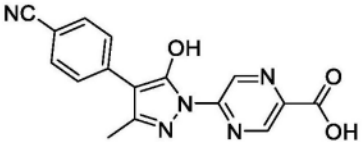
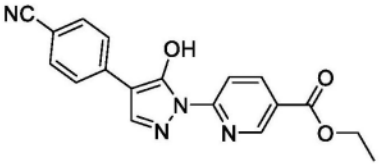
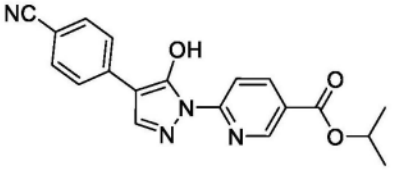
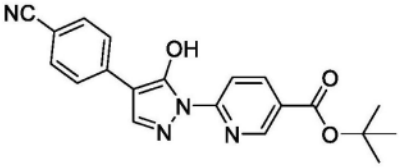
66.根据权利要求18所述的化合物,其中R^5为Br。

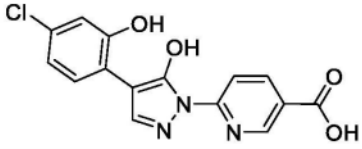
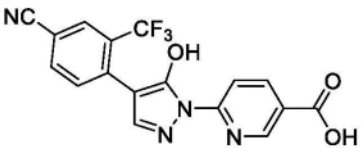
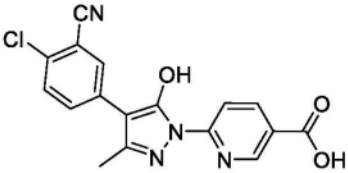
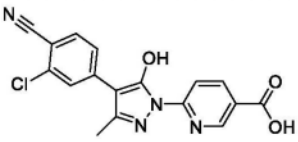
67.根据权利要求18所述的化合物,其中R^5为CN。

68.根据权利要求1所述的化合物,其选自由以下组成的组:

化合物编号	结构	化合物编号	结构
1		2	

3		4	
5		6	
7		8	
9		10	
11		12	
13		14	
15		16	
		18	
19			

21		22	
23		24	
25		26	
27		28	
29		30	
31		32	
33		34	
		36	
37		38	

39		40	
		42	
		44	

或其药学上可接受的盐。

69.根据权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中至少一个氢原子被氘原子替代。

70.一种药物组合物,其包括根据权利要求1至69中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的赋形剂。

71.根据权利要求1至69中任一项所述的化合物在制备用于治疗由PHD活性介导的疾病的药物中的用途。

72.根据权利要求71所述的用途,其中所述由PHD活性介导的疾病是缺血性再灌注损伤。

73.根据权利要求72所述的用途,其中所述缺血性再灌注损伤选自中风、心肌梗塞和急性肾损伤。

74.根据权利要求71所述的用途,其中所述由PHD活性介导的疾病是炎性肠病。

75.根据权利要求74所述的用途,其中所述炎性肠病是溃疡性结肠炎。

76.根据权利要求74所述的用途,其中所述炎性肠病是克罗恩氏病。

77.根据权利要求71所述的用途,其中所述由PHD活性介导的疾病是癌症。

78.根据权利要求77所述的用途,其中所述癌症是结肠直肠癌。

79.根据权利要求71所述的用途,其中所述由PHD活性介导的疾病是肝病。

80.根据权利要求71所述的用途,其中所述由PHD活性介导的疾病是动脉粥样硬化。

81.根据权利要求71所述的用途,其中所述由PHD活性介导的疾病是心血管疾病。

82.根据权利要求71所述的用途,其中所述由PHD活性介导的疾病是眼部疾病或病状。

83.根据权利要求82所述的用途,其中所述眼部疾病或病状选自放射性视网膜病、早产儿视网膜病、糖尿病性视网膜病、年龄相关性黄斑变性和眼部缺血。

84.根据权利要求71所述的用途,其中所述疾病是贫血。

85.根据权利要求84所述的用途,其中所述贫血是与慢性肾病相关联的贫血。

86.根据权利要求71所述的用途,其中所述疾病是慢性肾病。

87.根据权利要求71所述的用途,其中所述疾病与高氧有关。

88.根据权利要求87所述的用途,其中所述疾病是早产儿视网膜病。

89.根据权利要求87所述的用途,其中所述疾病是支气管肺发育不良。

90.根据权利要求87所述的用途,其中所述疾病选自缺血性心脏病、瓣膜性心脏病、充血性心力衰竭、急性肺损伤、肺纤维化、肺动脉高压、慢性阻塞性肺病、急性肝衰竭、肝纤维化和肝硬化。

PHD抑制剂化合物、组合物和用途

[0001] 相关申请交叉引用

[0002] 本申请要求于2020年3月20日提交的美国临时专利申请第62/992,585号的优先权,所述美国临时专利申请特此通过引用整体并入。

背景技术

[0003] 缺氧是氧气供应不足以维持正常生命功能的状况或状态,例如,动脉氧气供应不足。缺氧可能导致细胞功能受损和结构组织损伤。缺氧期间细胞防御机制的激活由HIF(缺氧诱导因子)蛋白介导。在缺氧条件下,由于HIFα脯氨酰羟化减少,大多数细胞中的HIFα水平升高。HIFα的脯氨酰羟化是由一系列蛋白质完成的,这些蛋白质被称为含有脯氨酰羟化酶结构域的蛋白质(PHD1、2和3),也被称为HIF脯氨酰羟化酶(HPH-3、2和1)或EGLN-2、1和3。PHD蛋白是氧传感器,并以氧依赖性方式调节HIF的稳定性。三种PHD异构体在其对HIF的调节中发挥不同的作用,并且可能具有其它非HIF相关的调节作用。

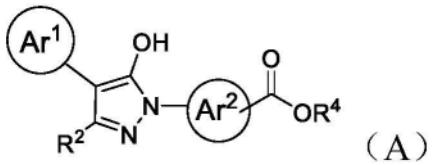
[0004] 事实上,许多研究表明HIF的稳定化可以抑制组织炎症并促进其修复。因此,可以抑制PHD蛋白活性的化合物在新疗法中可能特别有益(Lee等人(2019)《实验和分子医学(Exp.Mol.Med.51:68)

[0005] 本文描述了新的小分子PHD抑制剂,其可用于治疗疾病,所述疾病包含心脏疾病(例如缺血性心脏病、充血性心力衰竭和瓣膜性心脏病)、肺部疾病(例如急性肺损伤、肺动脉高压、肺纤维化和慢性阻塞性肺病)、肝脏疾病(例如急性肝功能衰竭和肝纤维化和肝硬化)和肾脏疾病(例如急性肾损伤和慢性肾病)。

发明内容

[0006] 本发明尤其提供了新型小分子PHD抑制剂,并且可用于治疗疾病,包含但不限于心脏疾病(例如缺血性心脏病、充血性心力衰竭和瓣膜性心脏病)、肺部疾病(例如急性肺损伤、肺动脉高压、肺纤维化和慢性阻塞性肺病)、肝脏疾病(例如急性肝功能衰竭和肝纤维化和肝硬化)和肾脏疾病(例如急性肾损伤和慢性肾病)。

[0007] 在一方面,本文提供了具有根据式(A)的结构的化合物,

[0008] 

(A)

[0009] 或其药学上可接受的盐,其中:

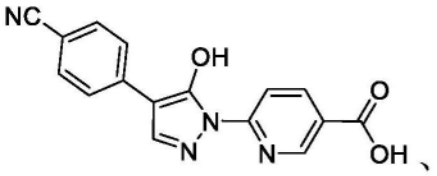
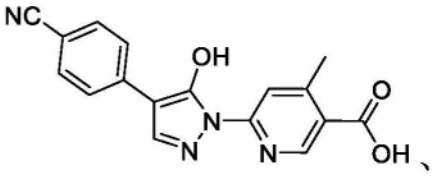
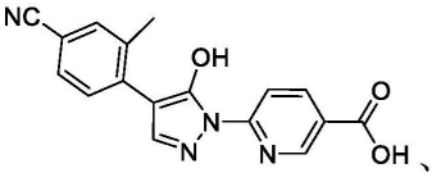
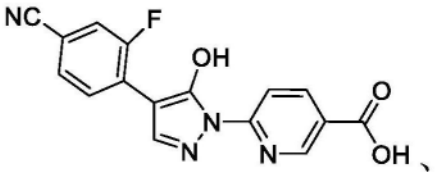
[0010] Ar^1为苯基或六元含氮杂芳基,其中所述苯基或杂芳基任选地被卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基或C_{1-3}烷氧基取代;

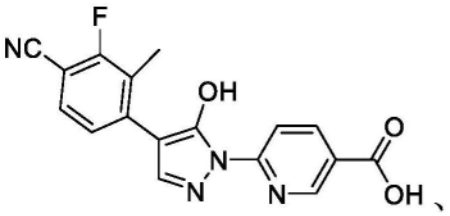
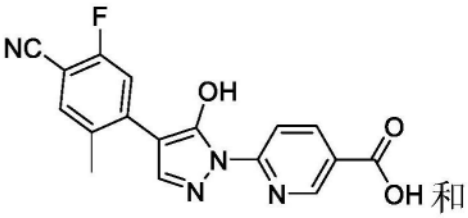
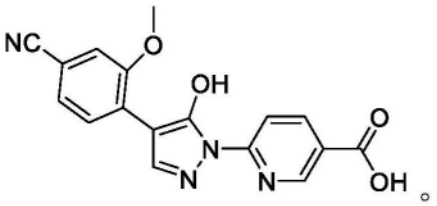
[0011] R^2为H或C_{1-3}烷基;

[0012] Ar^2为六元含氮杂芳基,其任选地被卤素、OH、胺或C_{1-3}烷基取代;

[0013] R^4为氢或C_{1-4}烷基;并且

[0014] 其中式(A)不包括以下化合物：

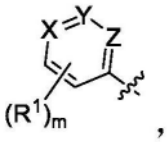

、

、

、

、

[0015]

、

和

。

[0016] 在实施例中，R^2为H。

[0017] 在实施例中，R^2为C_{1-3}烷基；

[0018] 在实施例中，Ar^1为

[0019] 
其中

，

[0020] X、Y和Z独立地为CH或N，其中N任选地被氧化；

[0021] 每个R^1独立地选自由以下组成的组：氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基；并且

[0022] m为1、2、3或4。

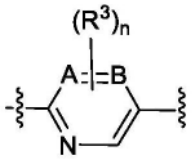
[0023] 在实施例中，Ar^1为经取代的苯基。在实施例中，Ar^1被至少一个R^1取代，其中R^1为CN卤素。

[0024] 在实施例中，Ar^1被一个或两个R^1基团取代，所述基团独立地选自任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基、卤素、CN或OH。

[0025] 在实施例中，Ar^1为吡啶基N-氧化物或者是任选地被至少一个R^1取代的吡啶基，所述R1为C_{1-3}烷氧基或卤素。

[0026] 在实施例中，每个R^1独立地选自由以下组成的组：氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基；

[0027] 在实施例中,Ar^2为

[0028]  其中,

[0029] A和B独立地为CH或N,其中N任选地被氧化;

[0030] 每个R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基;并且

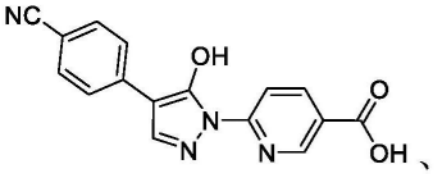
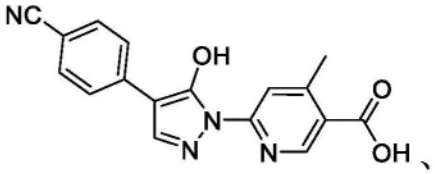
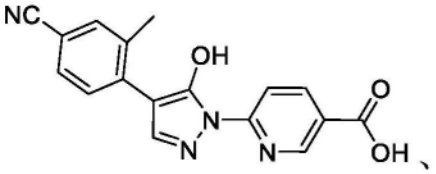
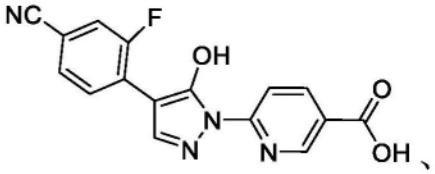
[0031] n为0、1或2。

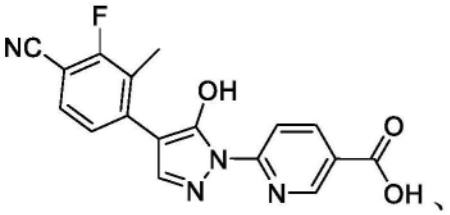
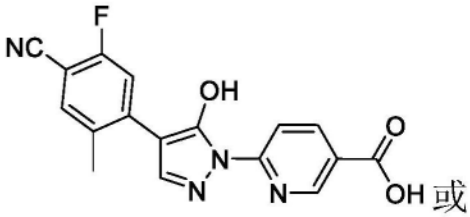
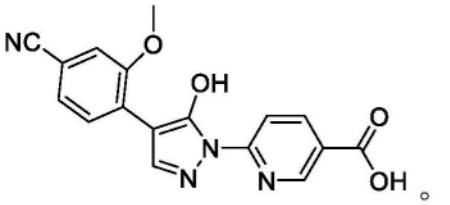
[0032] 在实施例中,Ar^2是作为吡啶基或吡嗪基的基团,并且其中所述基团未经取代或包括取代基,所述取代基是卤素、C_{1-3}烷基或OH。

[0033] 在实施例中,每个R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基。

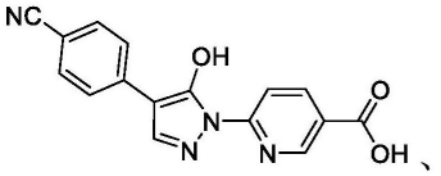
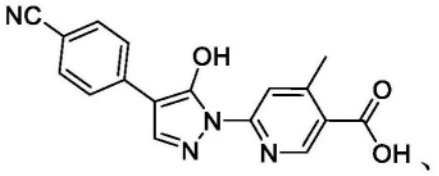
[0034] 在实施例中,R^4为H。在实施例中,R^4为C_{1-4}烷基。

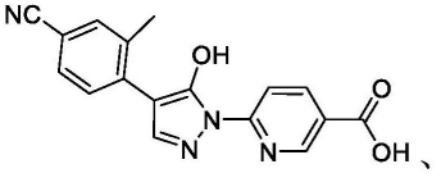
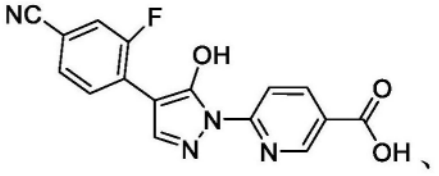
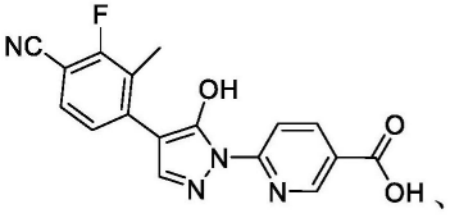
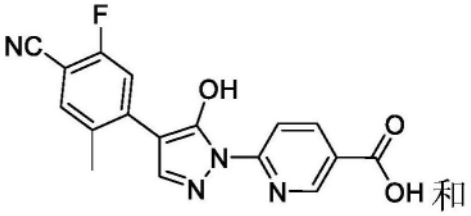
[0035] 在实施例中,式(A)化合物不是

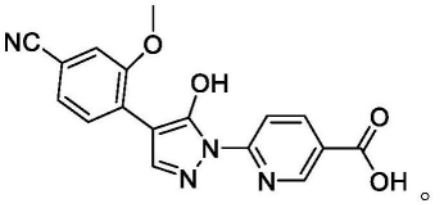
、、、、

[0036] 、或。

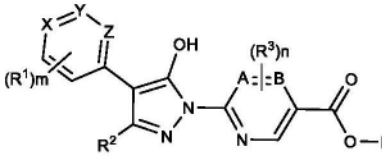
[0037] 在实施例中,式(A)化合物不包括以下化合物


、

、

[0038]

、

、

、

和

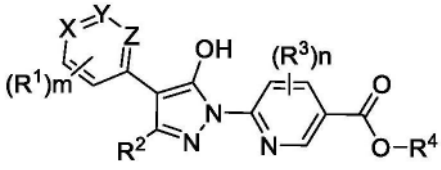
[0039]

。

[0040] 在实施例中,式(A)化合物具有以下结构,

[0041]

(I),
或其药学上可接受的盐。

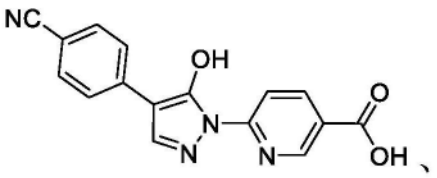
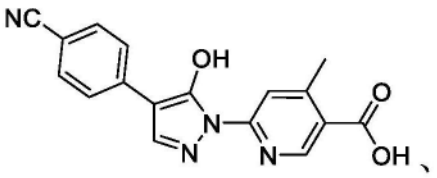
[0042] 在实施例中,X、Y、Z、A和B独立地为CH或N,其中N任选地被氧化;m为1、2、3或4;n为0、1或2;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;R^2为氢或C_{1-3}烷基;每个R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基;并且R^4为氢或C_{1-4}烷基。

[0043] 在实施例中,式(A)化合物或式(I)化合物具有以下结构,

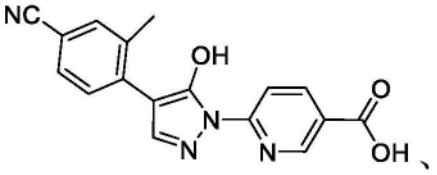
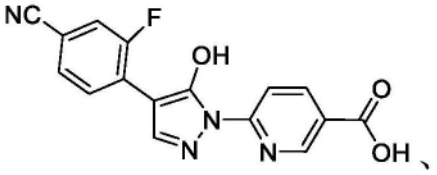
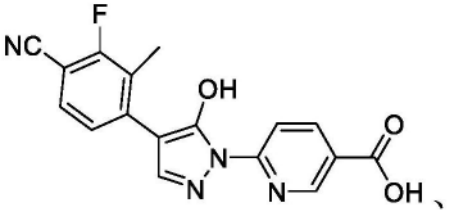
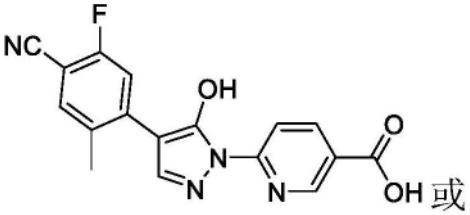
[0044]

(Ia),
或其药学上可接受的盐。

[0045] 在实施例中,X、Y和Z独立地为CH或N,其中N任选地被氧化;m为1、2、3或4;n为0、1或2;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;R^2为氢或C_{1-3}烷基;每个R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基;并且R^4为氢或C_{1-4}烷基。

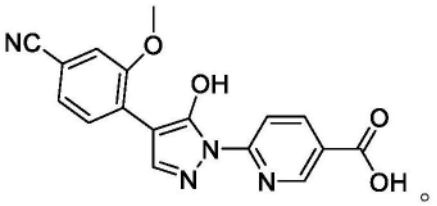
[0046] 在实施例中,式(I)化合物不是


、

、

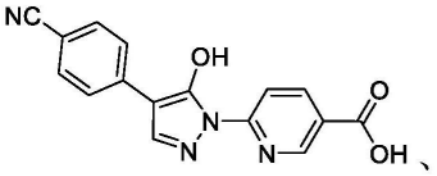
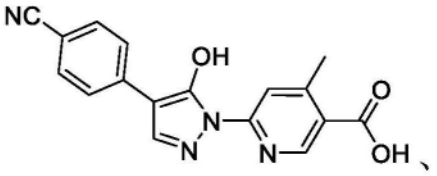
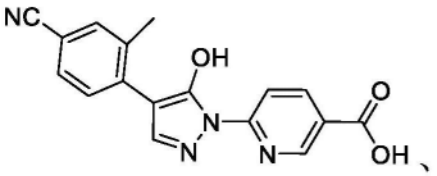
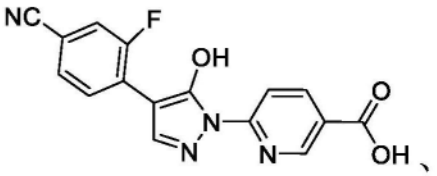
[0047]


、

、

、

或

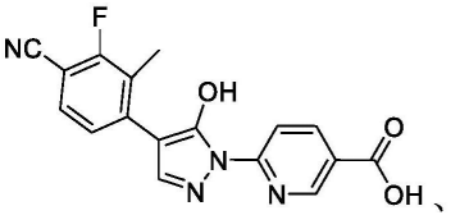
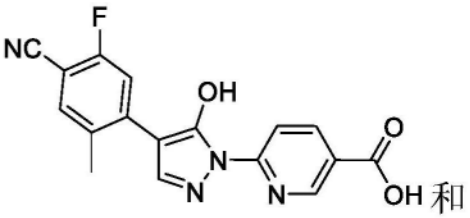
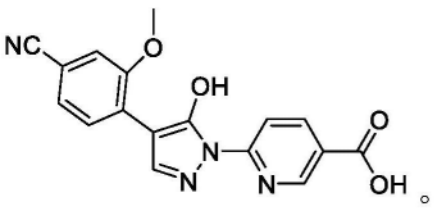
[0048]


。

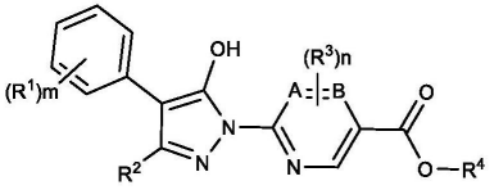
[0049] 在实施例中,式(I)化合物不包括以下化合物


、

、

、

、

[0050]


、

和

。

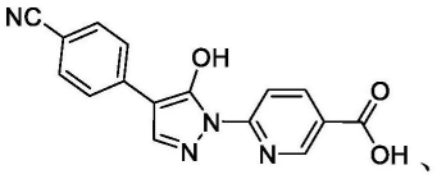
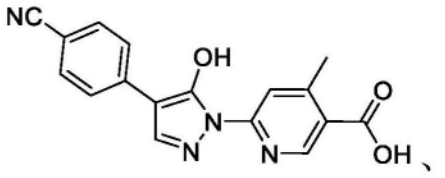
[0051] 在实施例中,式(A)化合物或式(I)化合物具有以下结构,

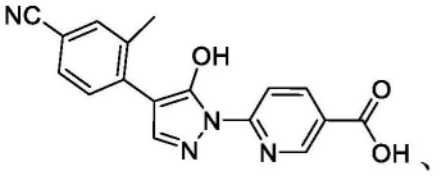
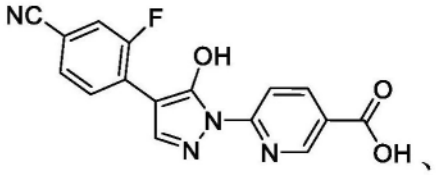
[0052]  或其药学上可接受的盐。

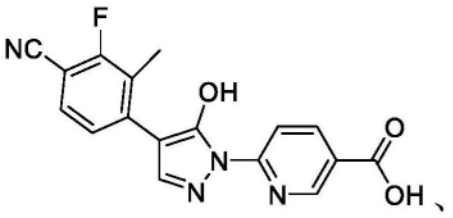
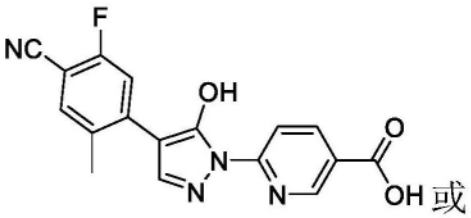
(Ib),

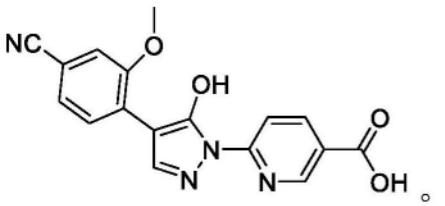
[0053] 在实施例中,A和B独立地为CH或N,其中N任选地被氧化;m为1、2、3或4;n为0、1或2;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;R^2为氢或C_{1-3}烷基;每个R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基;并且R^4为氢或C_{1-4}烷基。

[0054] 在实施例中,式(Ib)化合物不是

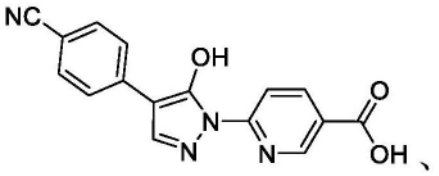
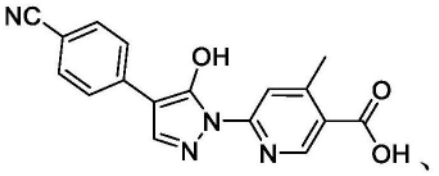
、、

、、

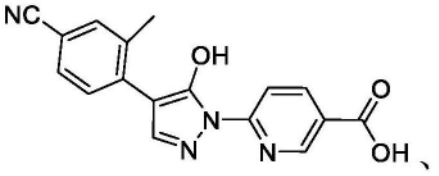
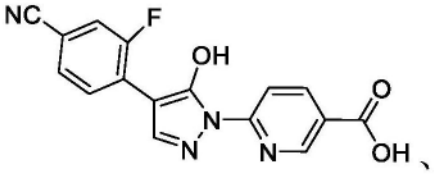
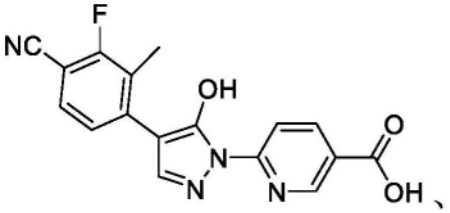
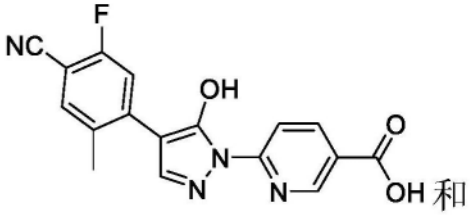
[0055] 、或

。

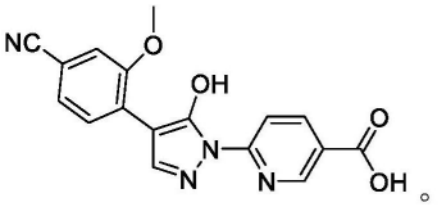
[0056] 在实施例中,式(Ib)化合物不包括以下化合物

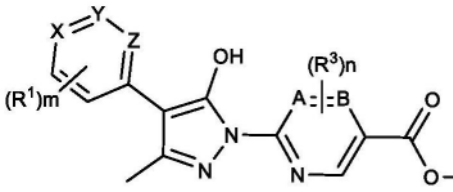
[0057]

[0058]



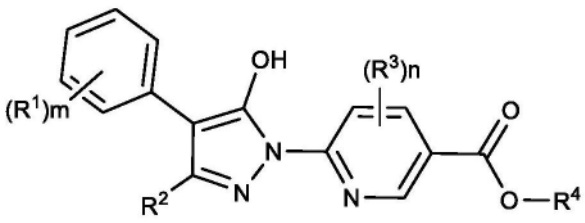
[0059] 在实施例中,式(A)化合物或式(I)化合物具有以下结构,

[0060]  (Ic),

或其药学上可接受的盐。

[0061] 在实施例中,X、Y、Z、A和B独立地为CH或N,其中N任选地被氧化;m为1、2、3或4;n为0、1或2;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;每个R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基;并且R^4为氢或C_{1-4}烷基。

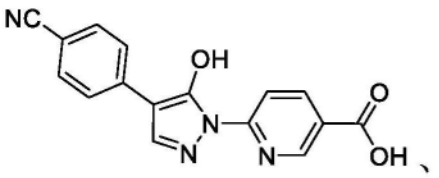
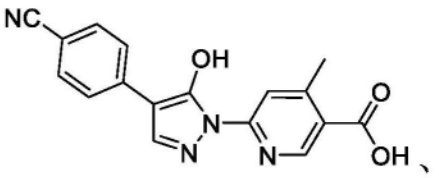
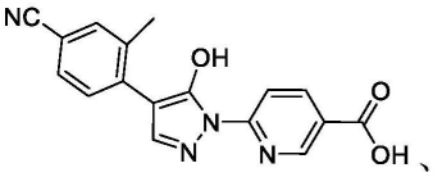
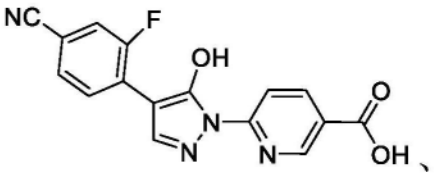
[0062] 在实施例中,式(A)化合物或式(I)化合物具有以下结构,

[0063]  (II),

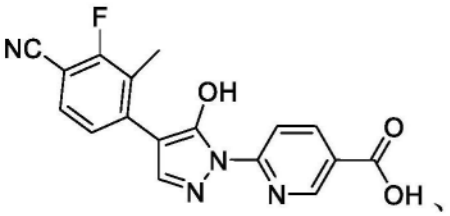
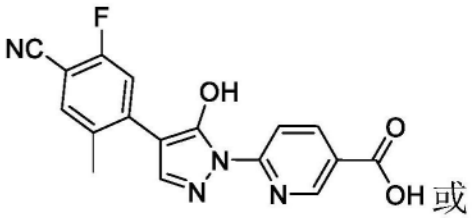
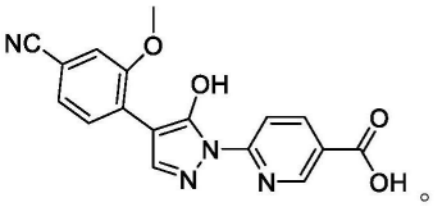
或其药学上可接受的盐。

[0064] 在实施例中,m为1、2、3或4;n为0、1或2;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;R^2为氢或C_{1-3}烷基;每个R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基;并且R^4为氢或C_{1-4}烷基。

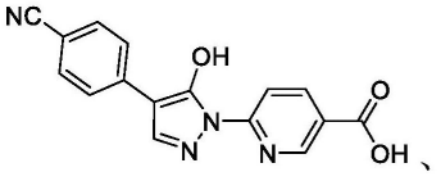
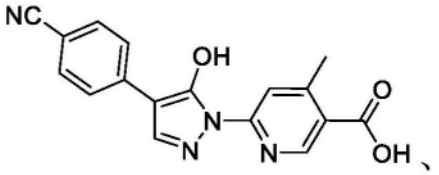
[0065] 在实施例中,式(II)化合物不是


、

、

、

、

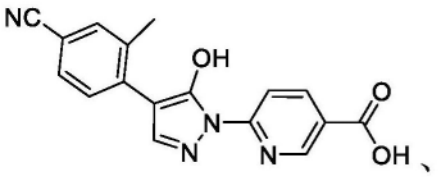
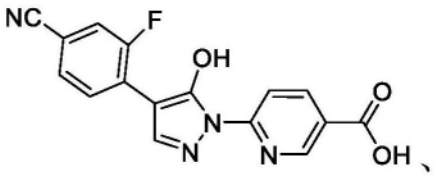
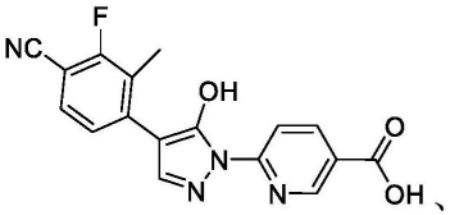
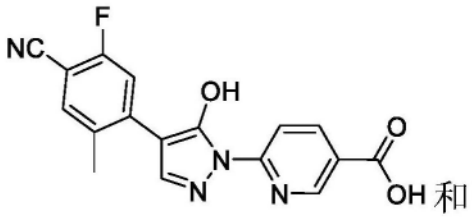
[0066]


、

或

。

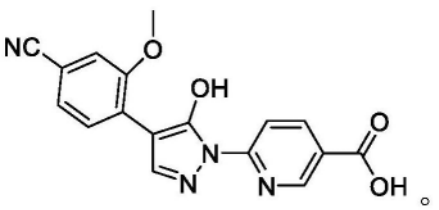
[0067] 在实施例中,式(II)化合物不包括以下化合物


、

、

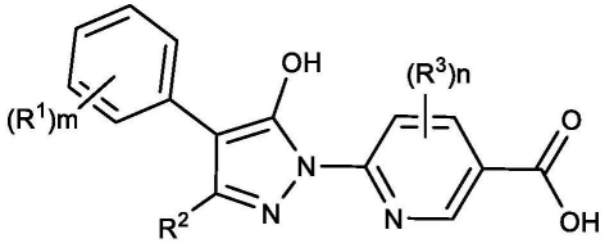
[0068]


、

、

、

和

[0069]


。

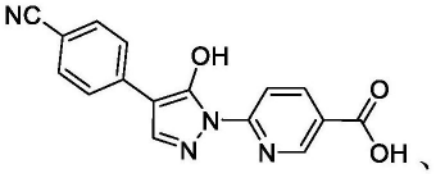
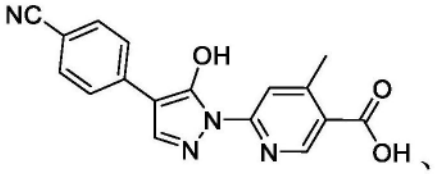
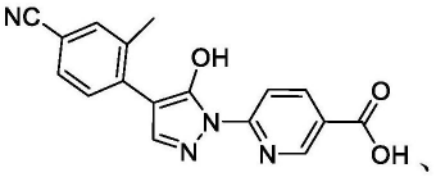
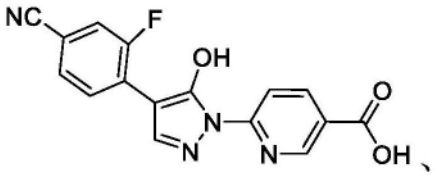
[0070] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构,

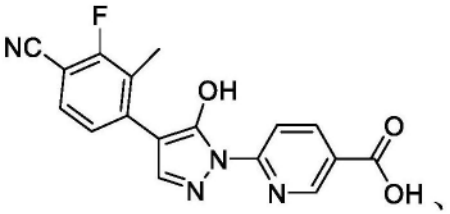
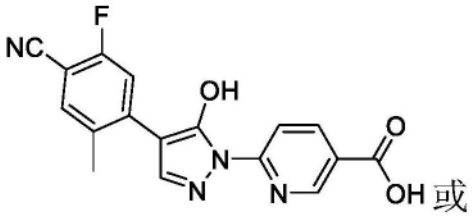
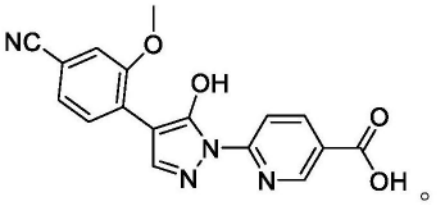
[0071]  (IIa),

或其药学上可接受的盐。

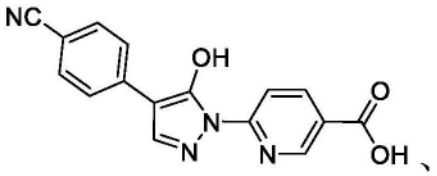
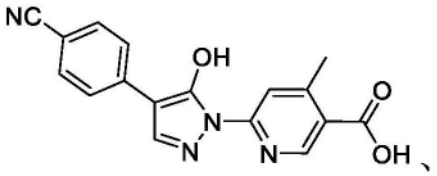
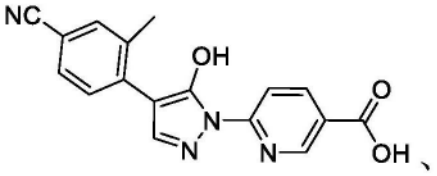
[0072] 在实施例中,m为1、2、3或4;n为0、1或2;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;R^2为氢或C_{1-3}烷基;并且每个R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基。

[0073] 在实施例中,式(IIa)化合物不是

、、、、

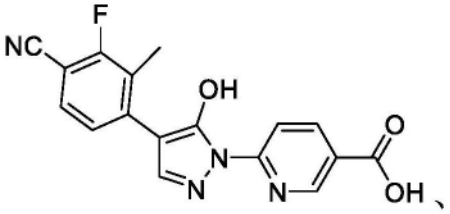
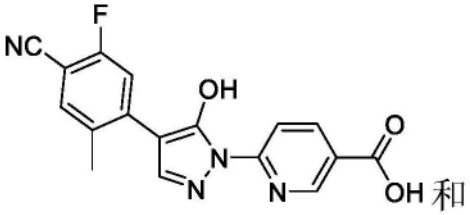
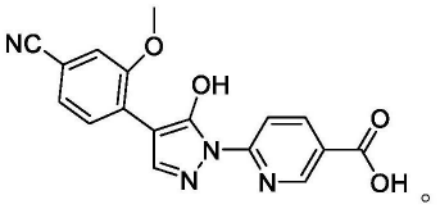
[0074] 、或。

[0075] 在实施例中,式(IIa)化合物不包括以下化合物

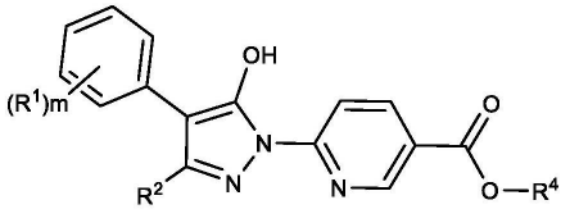

、

、

、

、

[0076]

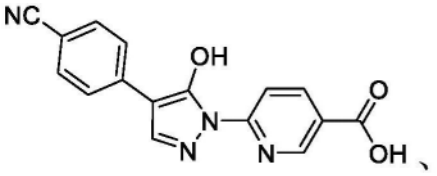
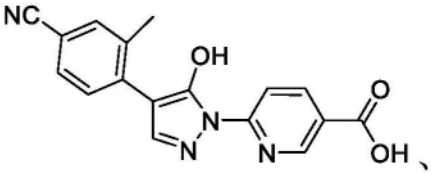

、

和

。

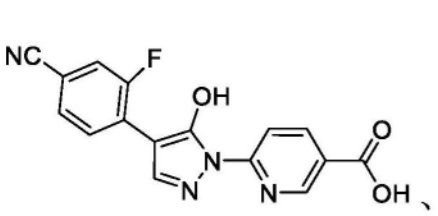
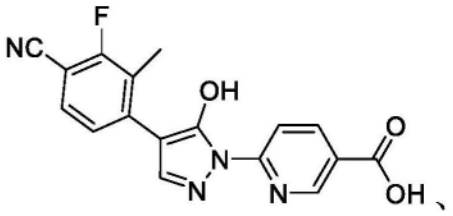
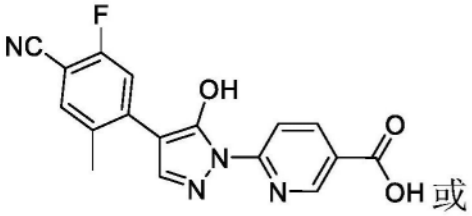
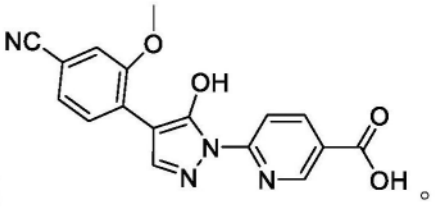
[0077] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构,

[0078]

(IIb),
或其药学上可接受的盐。

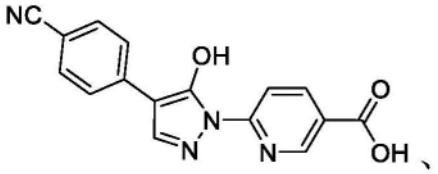
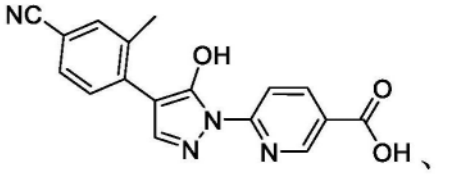
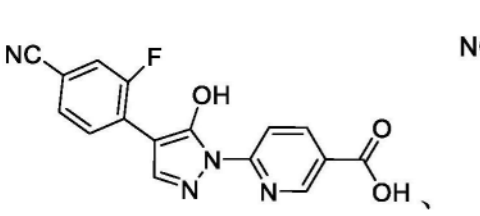
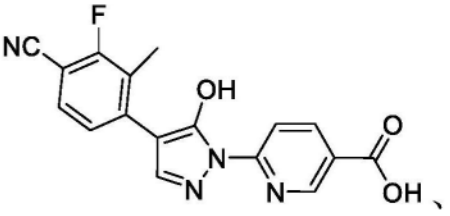
[0079] 在实施例中,m为1、2、3或4;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;R^2为氢或C_{1-3}烷基;并且R^4为氢或C_{1-4}烷基。

[0080] 在实施例中,式(IIb)化合物不是

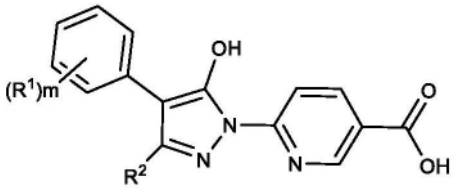
[0081]

、

、

[0082]    

[0083] 在实施例中,式(IIb)化合物不包括以下化合物

[0084]    

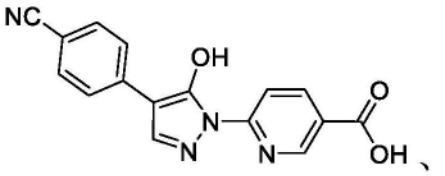
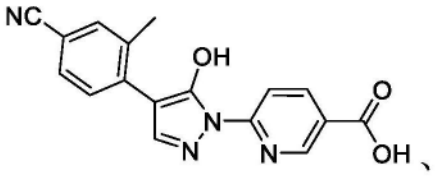
[0085] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构,

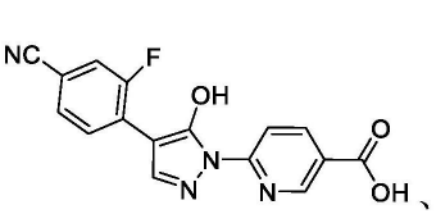
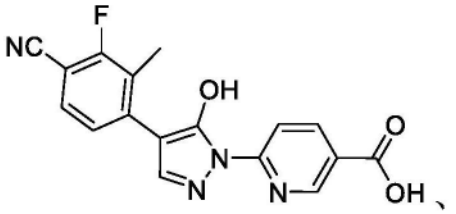
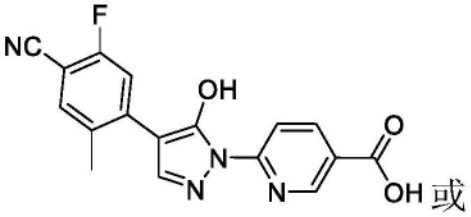
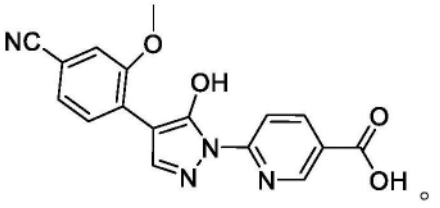
[0086]  (IIc),

或其药学上可接受的盐。

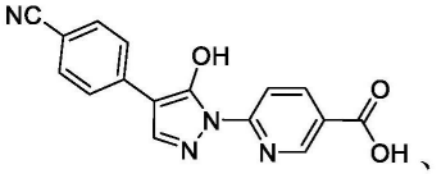
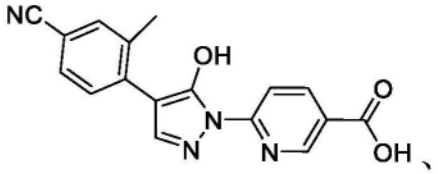
[0087] 在实施例中,m为1、2、3或4;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;并且R^2为氢或C_{1-3}烷基。

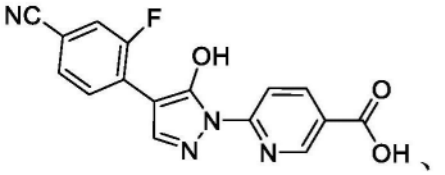
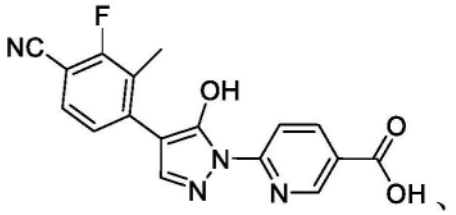
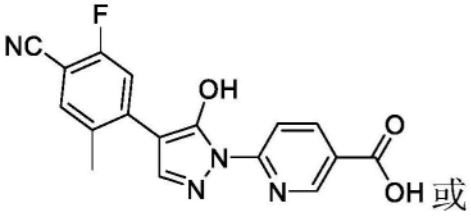
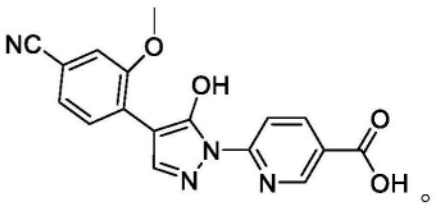
[0088] 在实施例中,式(IIc)化合物不是

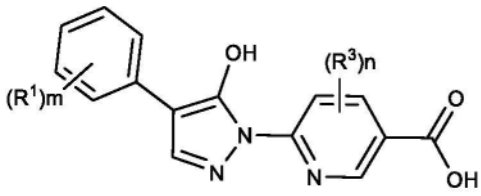
[0089] 




[0090] 在实施例中,式(IIc)化合物不包括以下化合物

[0091] 




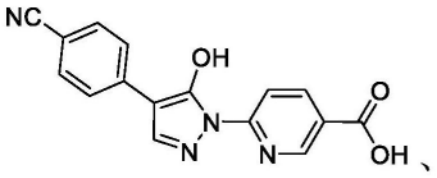
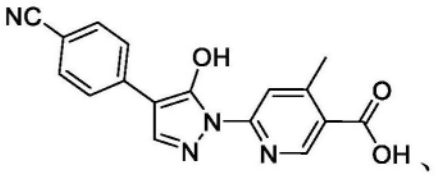
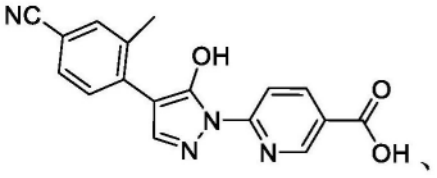
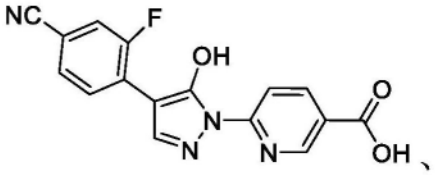
[0092] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构,

[0093] 

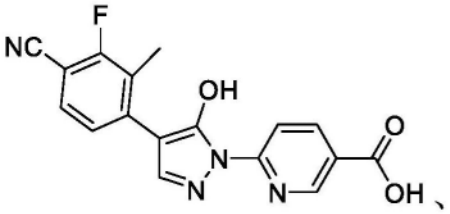
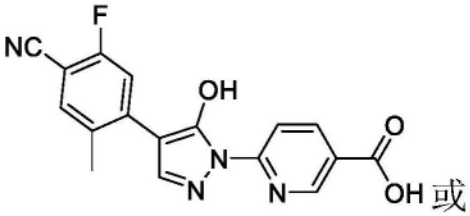
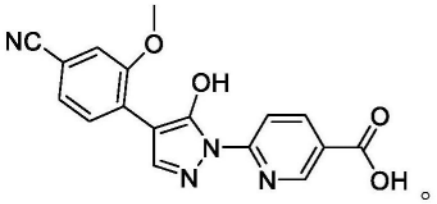
或其药学上可接受的盐。

[0094] 在实施例中,m为1、2、3或4;n为0、1或2;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;并且每个R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基。

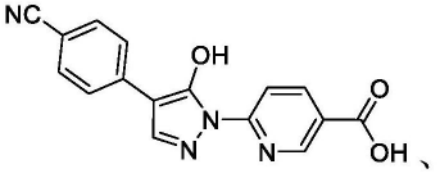
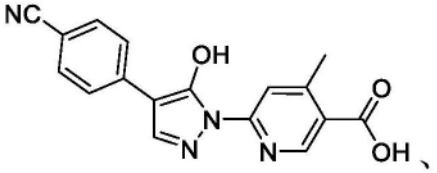
[0095] 在实施例中,式(IId)化合物不是


、

、

、

、

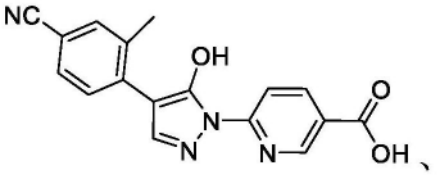
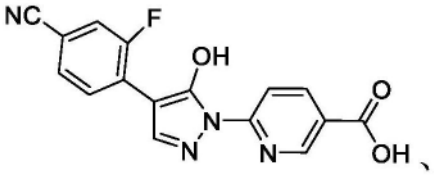
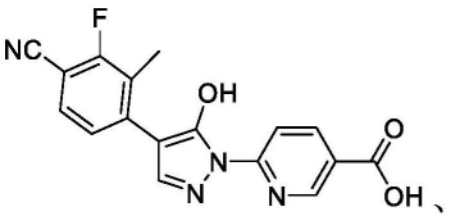
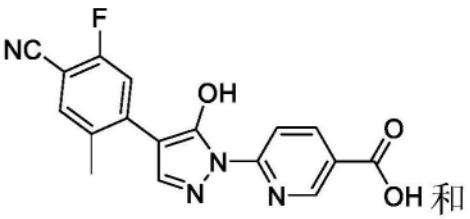
[0096]


、

或

。

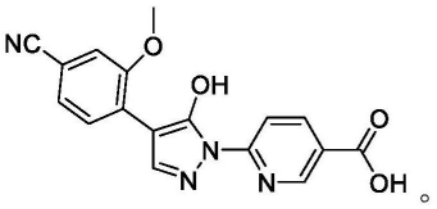
[0097] 在实施例中,式(IId)化合物不包括以下化合物


、

、

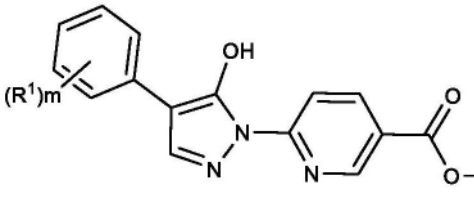
[0098]


、

、

、

和

[0099]


。

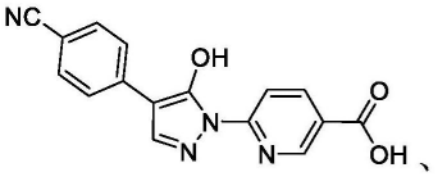
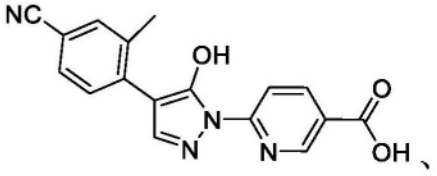
[0100] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构,

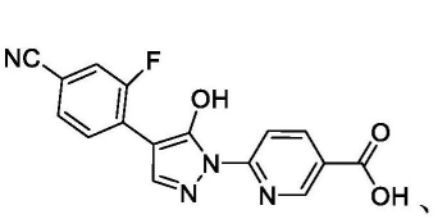
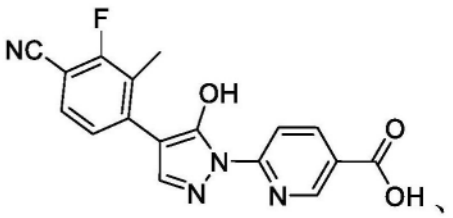
[0101]  （IIe），

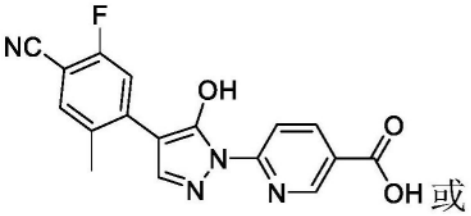
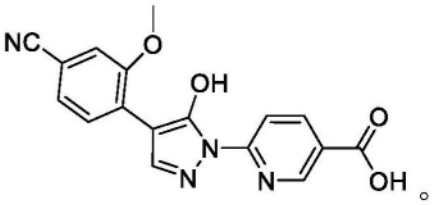
或其药学上可接受的盐。

[0102] 在实施例中,m为1、2、3或4;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;R^2为氢或C_{1-3}烷基;每个R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基;并且R^4为氢或C_{1-4}烷基。

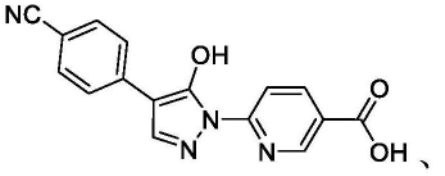
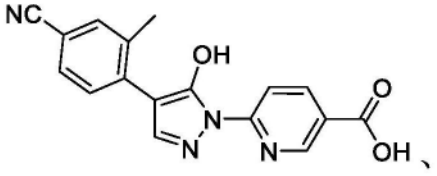
[0103] 在实施例中,式(IIe)化合物不是

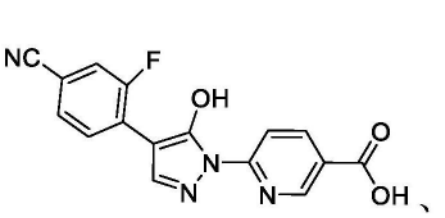
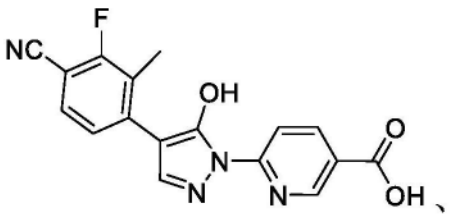
、、

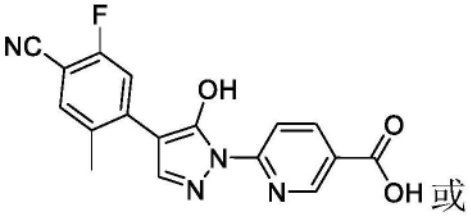
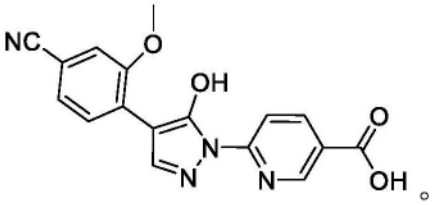
[0104] 、、

或。

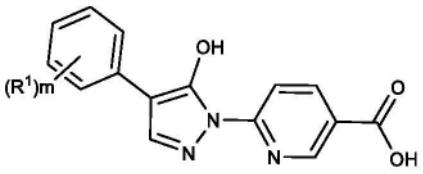
[0105] 在实施例中,式(IIe)化合物不包括以下化合物

、、

[0106] 、、

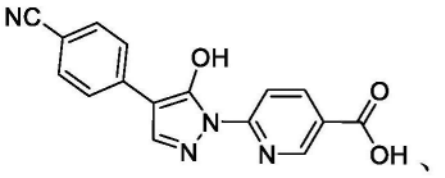
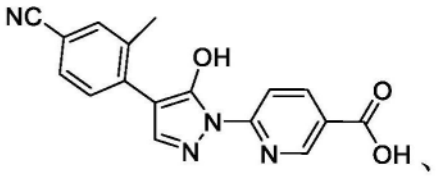
或。

[0107] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构,

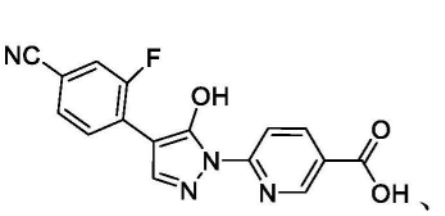
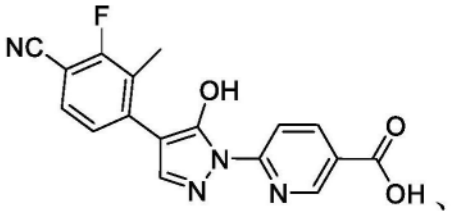
[0108]  (IIf), 或其药学上可接受的盐。

[0109] 在实施例中,m为1、2、3或4;并且每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基。

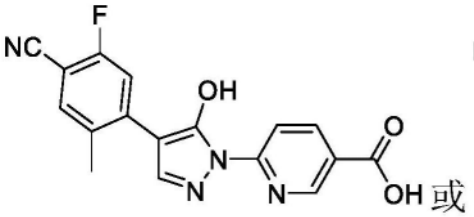
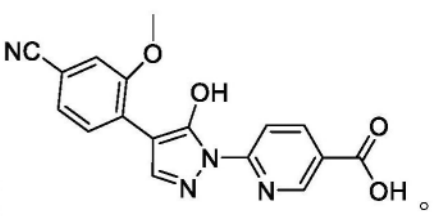
[0110] 在实施例中,式(IIf)化合物不是

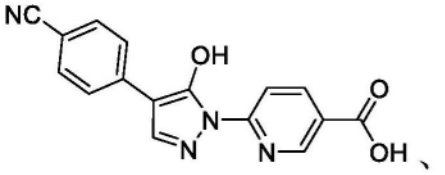
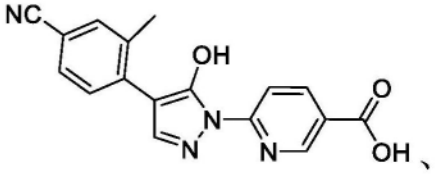
[0111]

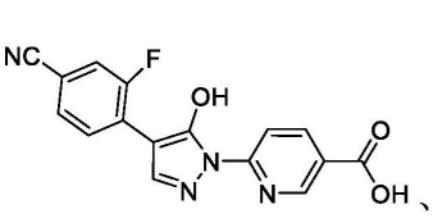
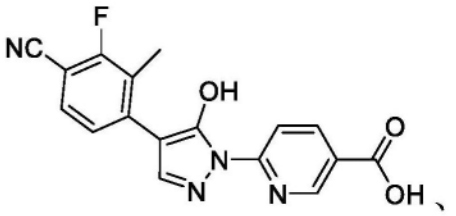
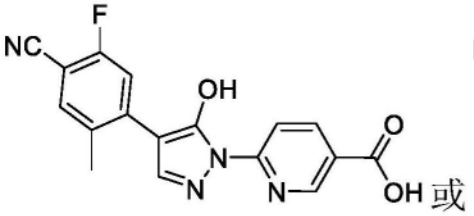
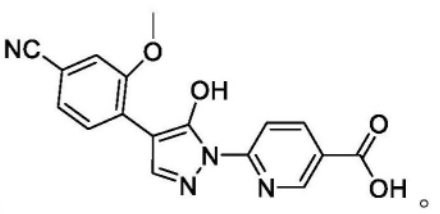
[0112]

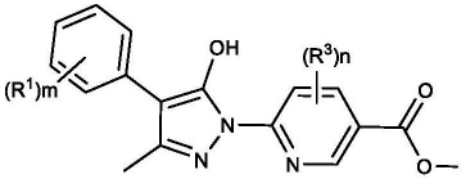
[0113] 在实施例中,式(IIf)化合物不包括以下化合物

[0114]

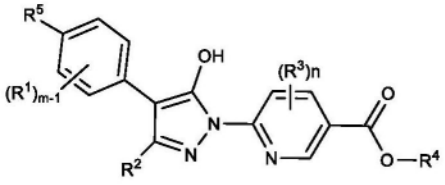





[0115] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构,

[0116]  或其药学上可接受的盐。 （IIg），

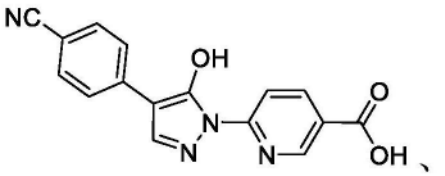
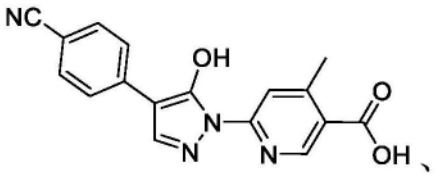
[0117] 在实施例中，m为1、2、3或4；n为0、1或2；每个R^1独立地选自由以下组成的组：氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基；每个R^3独立地选自由以下组成的组：氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基；并且R^4为氢或C_{1-4}烷基。

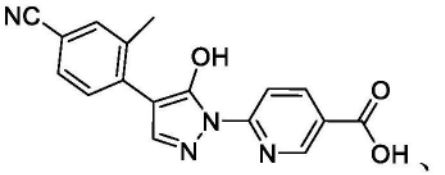
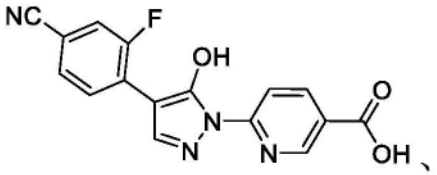
[0118] 在实施例中，式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构，

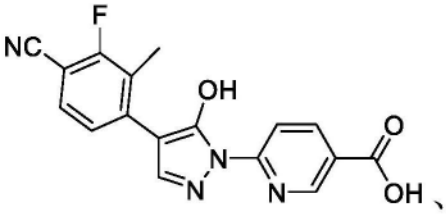
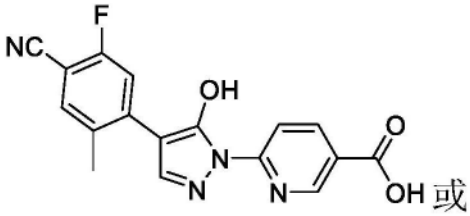
[0119]  或其药学上可接受的盐。 （III），

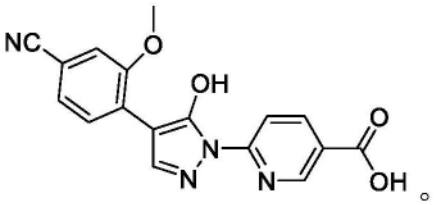
[0120] 在实施例中，m为1、2、3或4；n为0、1或2；每个R^1独立地选自由以下组成的组：氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基；R^2为氢或C_{1-3}烷基；每个R^3独立地选自由以下组成的组：氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基；R^4为氢或C_{1-4}烷基；并且R^5为CN或卤素。

[0121] 在实施例中，式(III)化合物不是

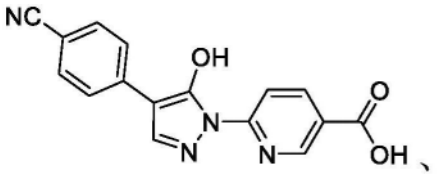
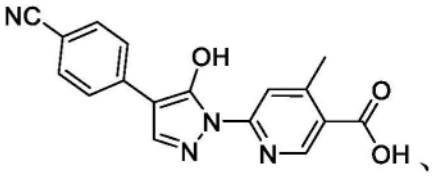
、、

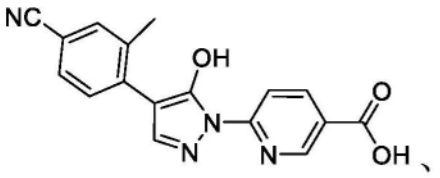
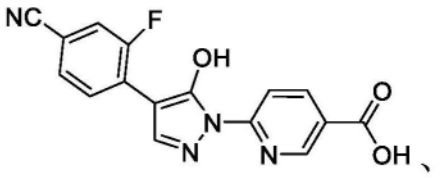
、、

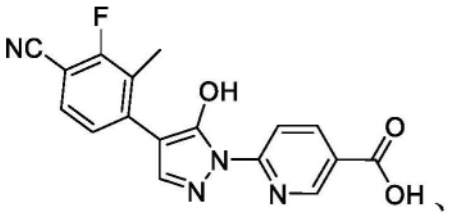
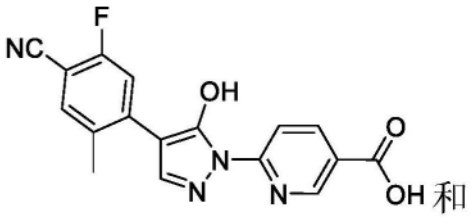
[0122] 、或

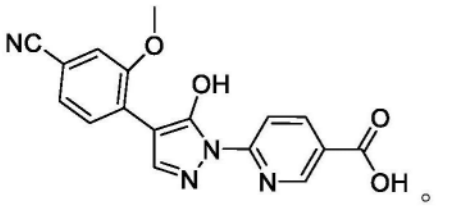
。

[0123] 在实施例中，式(III)化合物不包括以下化合物

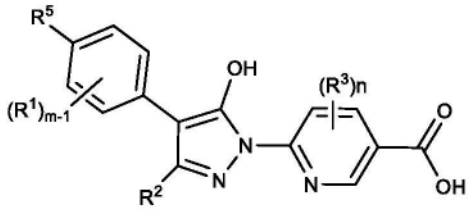
[0124]  

[0125]  和

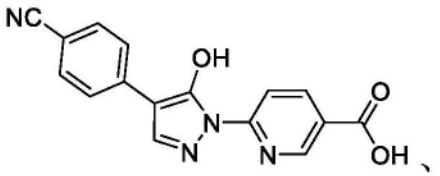
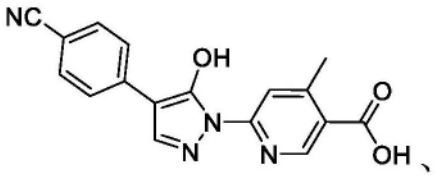
。

[0126] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物、式(II)化合物或式(III)化合物具有以下结构,

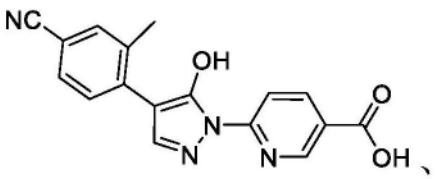
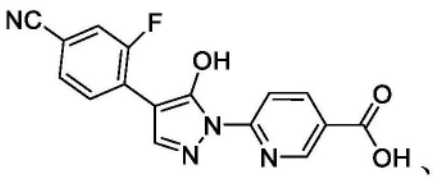
[0127] (IIIa),或其药学上可接受的盐。

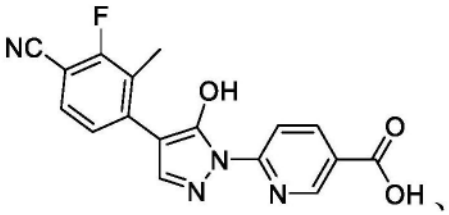
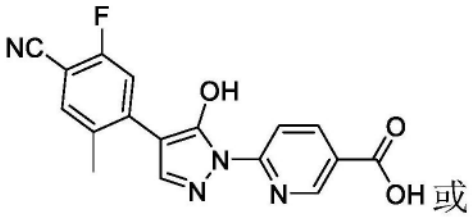
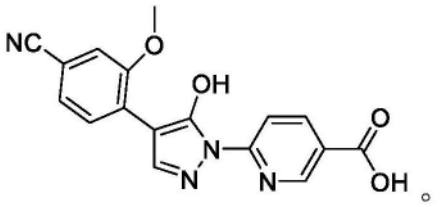
[0128] 在实施例中,m为1、2、3或4;n为0、1或2;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;R^2为氢或C_{1-3}烷基;每个R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基;并且R^5为CN或卤素。

[0129] 在实施例中,式(IIIa)化合物不是

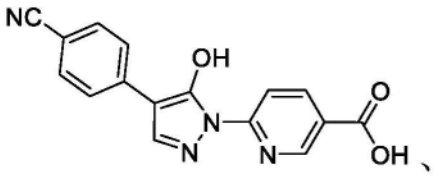
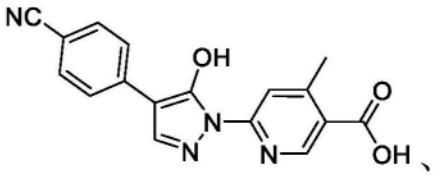
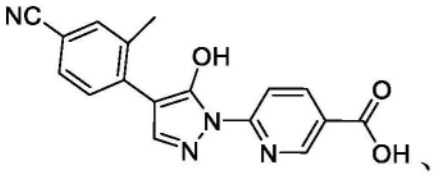
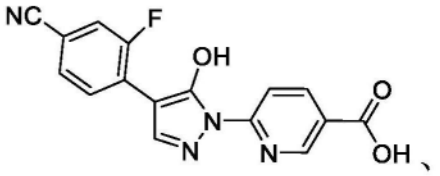
 

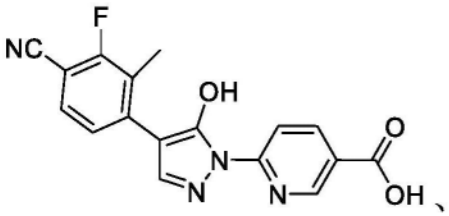
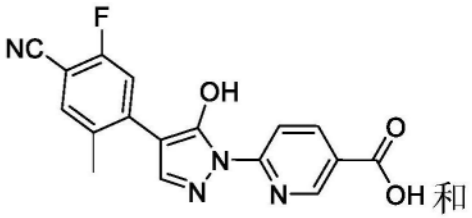
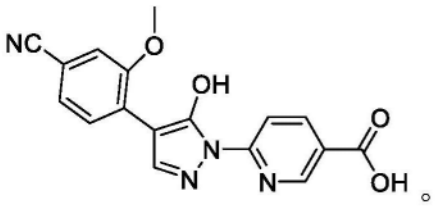
[0130]

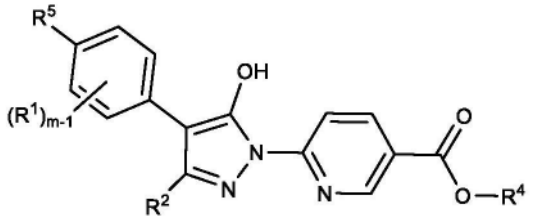
[0131]  、 或 。

[0132] 在实施例中,式(IIIa)化合物不包括以下化合物

 、 、 、 、

[0133]  、 和 。

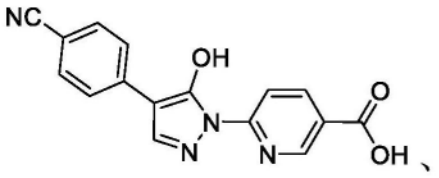
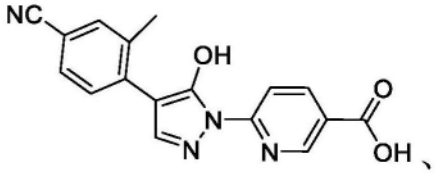
[0134] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物、式(II)化合物或式(III)化合物具有以下结构,

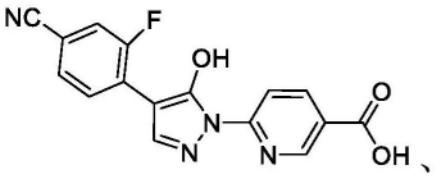
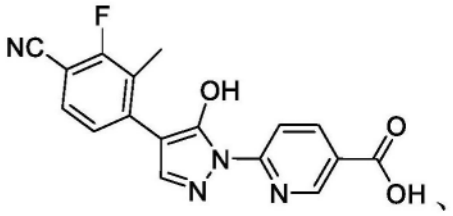
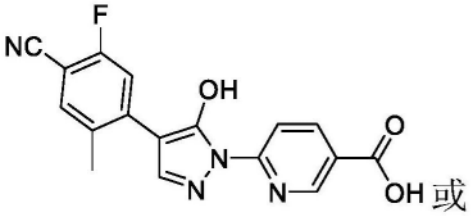
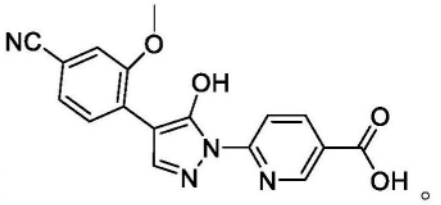
[0135]  (IIIb), 或其药学上可接受的盐。

[0136] 在实施例中,m为1、2、3或4;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;R^2为氢或C_{1-3}烷基;R^4为氢或C_{1-4}烷

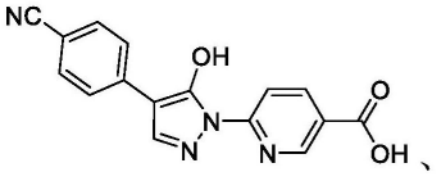
基;并且R^5为CN或卤素。

[0137] 在实施例中,式(IIIb)化合物不是

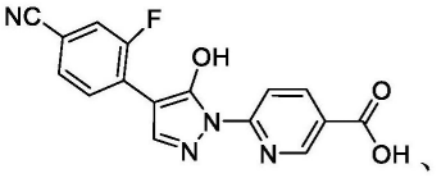
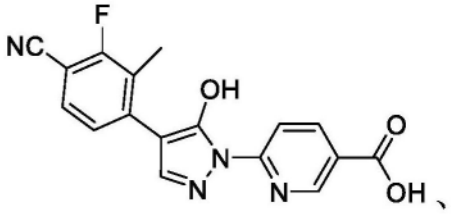
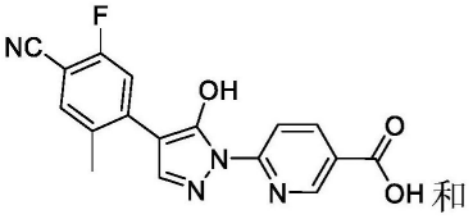
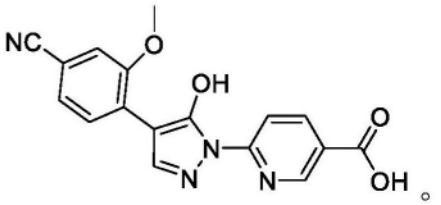

、

、

[0138]

、

、

或

。

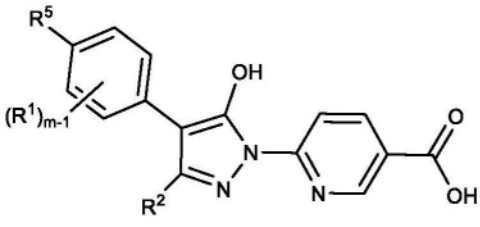
[0139] 在实施例中,式(IIIb)化合物不包括以下化合物


、

、

[0140]

、

、

和

。

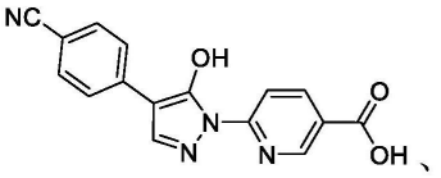
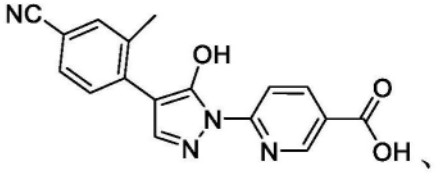
[0141] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物、式(II)化合物或式(III)化合物具有以下结构,

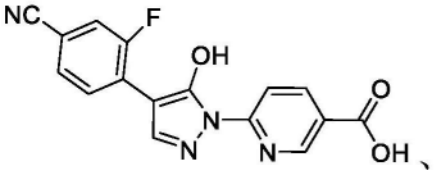
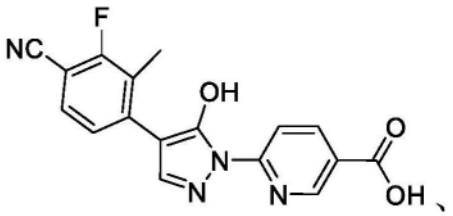
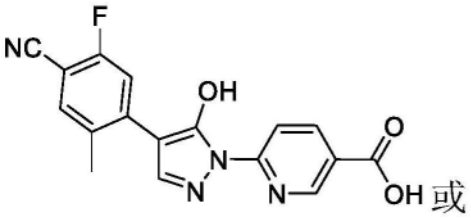
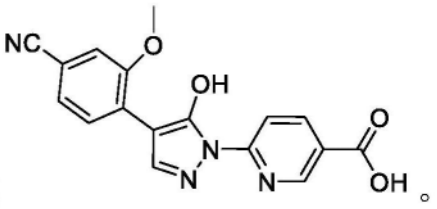
[0142]

(IIIc),

或其药学上可接受的盐。

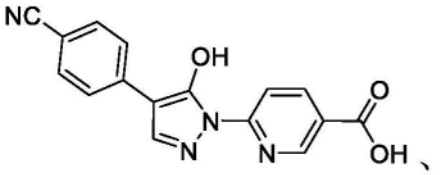
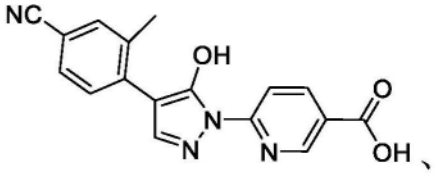
[0143] 在实施例中,m为1、2、3或4;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;R^2为氢或C_{1-3}烷基;并且R^5为CN或卤素。

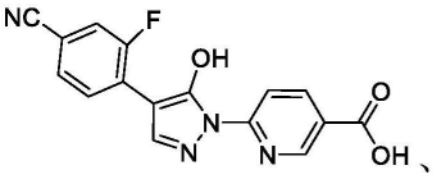
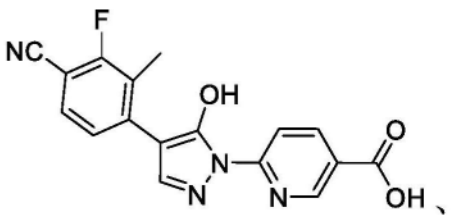
[0144] 在实施例中,式(IIIc)化合物不是

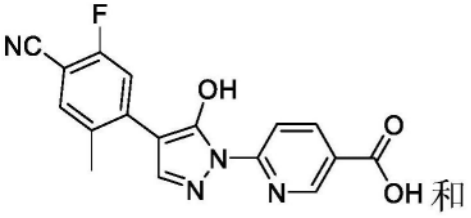
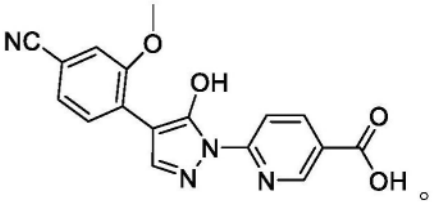

、

、

[0145]

、

、

或

。

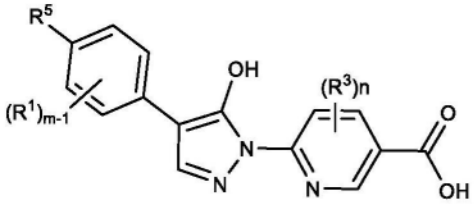
[0146] 在实施例中,式(IIIc)化合物不包括以下化合物


、

、

[0147]

、

、

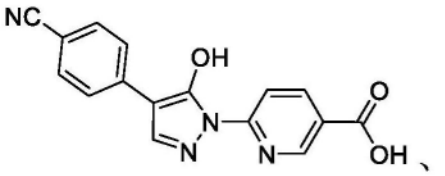
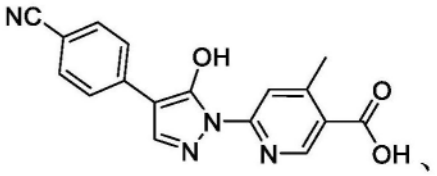
[0148]

和

。

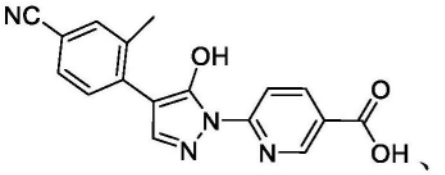
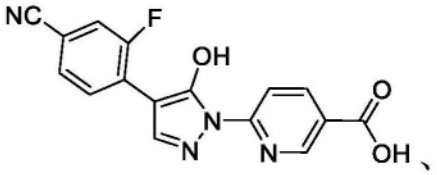
[0149] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物、式(II)化合物或式(III)化合物具有以下结构,

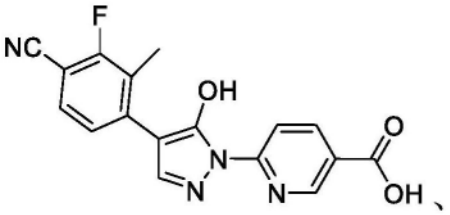
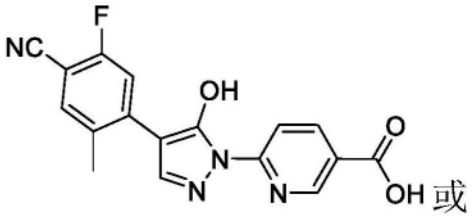
[0150]  （IIId），或其药学上可接受的盐。

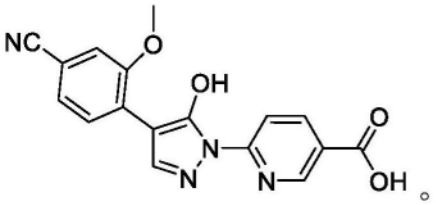
[0151] 在实施例中，m为1、2、3或4；n为0、1或2；每个R^1独立地选自由以下组成的组：氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基；每个R^3独立地选自由以下组成的组：氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基；并且R^5为CN或卤素。

[0152] 在实施例中，式(IIId)化合物不是

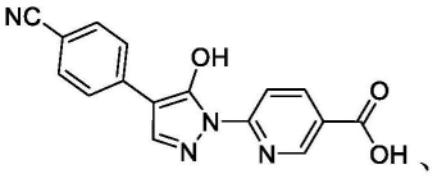
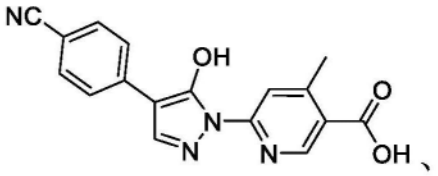
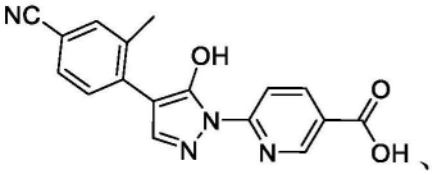
、、

、、

[0153] 、或

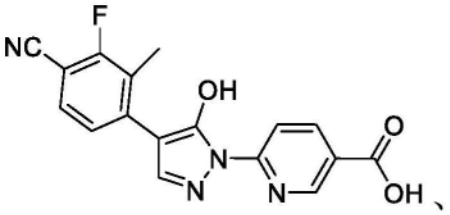
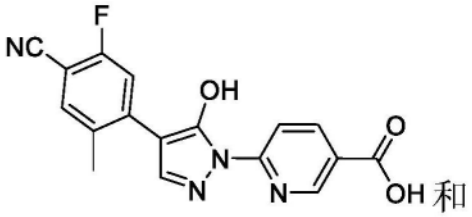
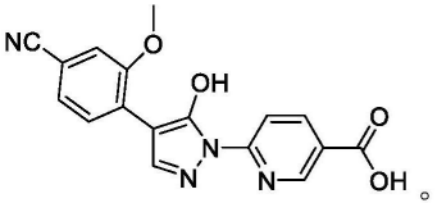
。

[0154] 在实施例中，式(IIId)化合物不包括以下化合物

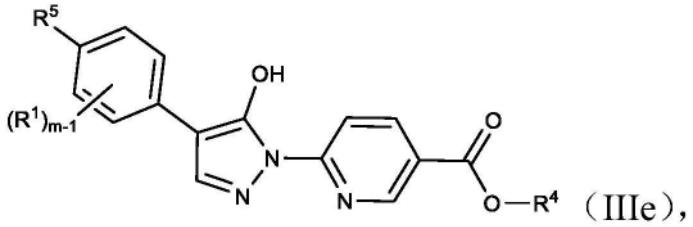

、

、

、

、

[0155]


、

和

。

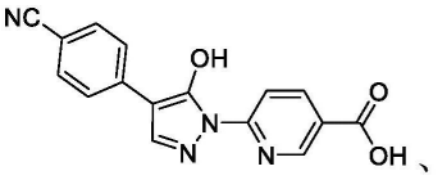
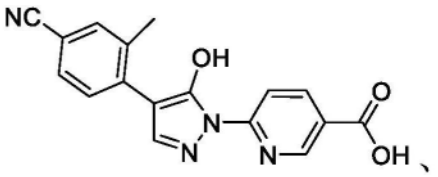
[0156] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物、式(II)化合物或式(III)化合物具有以下结构,

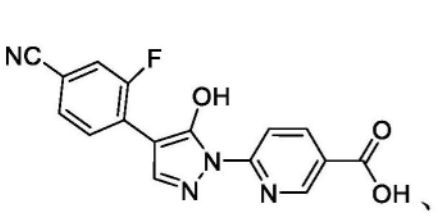
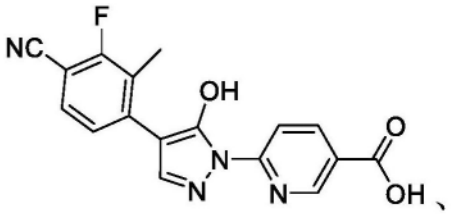
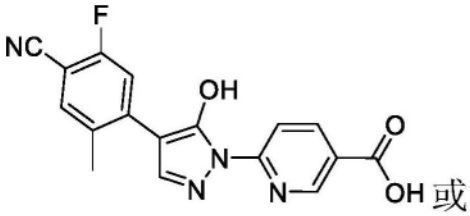
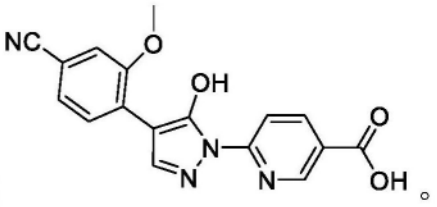
[0157] 
（IIIe），

或其药学上可接受的盐。

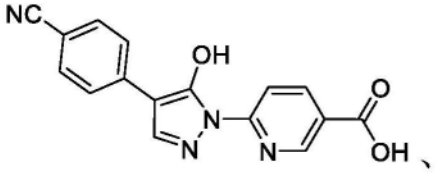
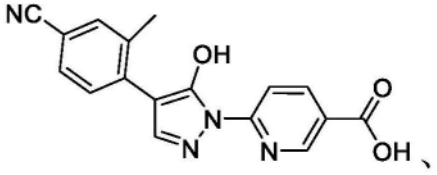
[0158] 在实施例中,m为1、2、3或4;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;R^4为氢或C_{1-4}烷基;并且R^5为CN或卤素。

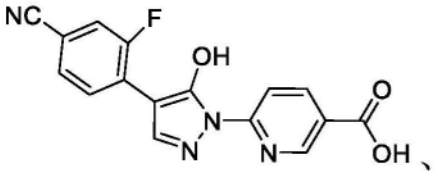
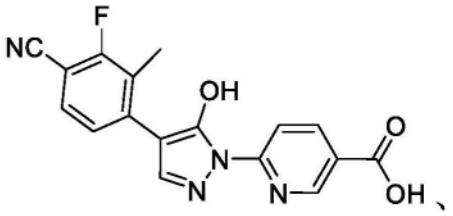
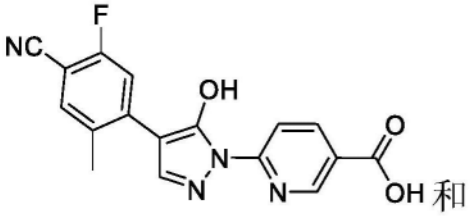
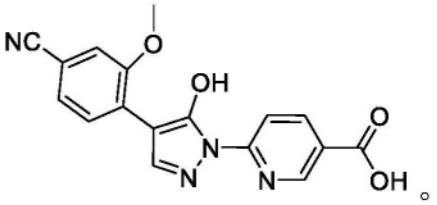
[0159] 在实施例中,式(IIIe)化合物不是

[0160] 
、

、

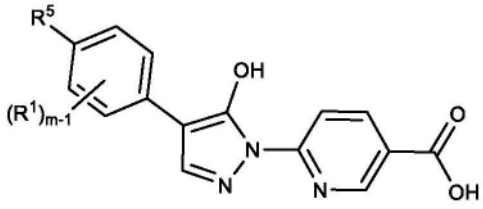
[0161] 、、或。

[0162] 在实施例中,式(IIIe)化合物不包括以下化合物

、、

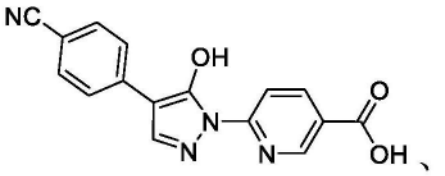
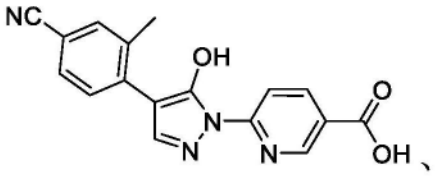
[0163] 、、和。

[0164] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物、式(II)化合物或式(III)化合物具有以下结构,

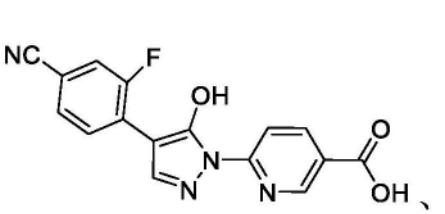
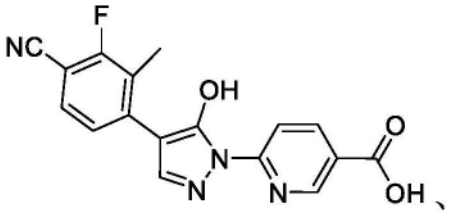
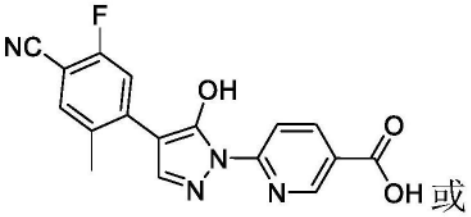
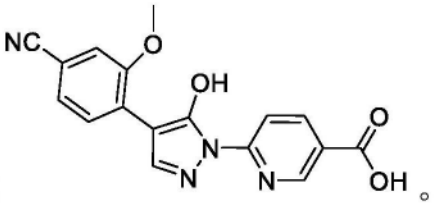
[0165] (IIIf),或其药学上可接受的盐。

[0166] 在实施例中,m为1、2、3或4;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;并且R^5为CN或卤素。

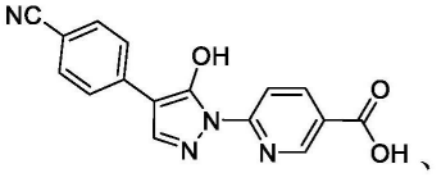
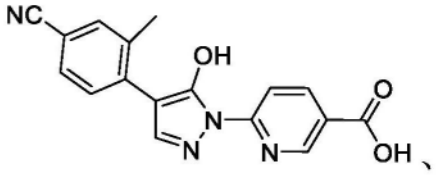
[0167] 在实施例中,式(IIIf)化合物不是

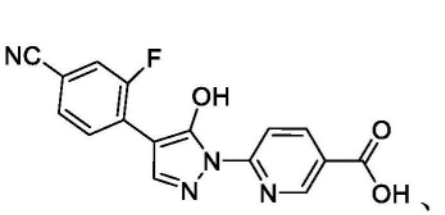
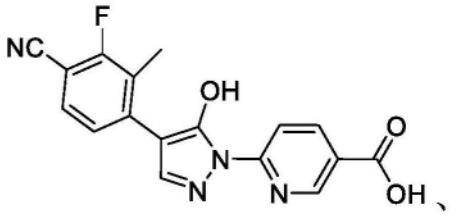
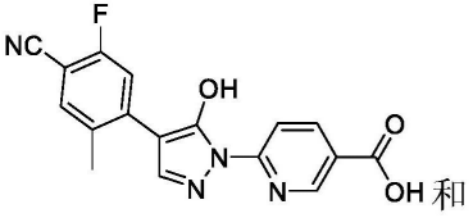
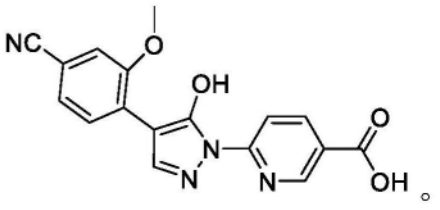
[0168]

[0169] 在实施例中,式(IIIf)化合物不包括以下化合物

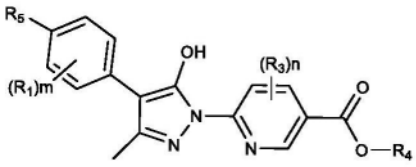



[0170]

[0171] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物、式(II)化合物或式(III)化合物具有以下结构,

[0172]


(IIIg),

[0173] 在实施例中,m为1、2、3或4;n为0、1或2;每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;每个R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基;R^4为氢或C_{1-4}烷基;并且R^5为CN或卤素。

[0174] 在实施例中,X为CH。在实施例中,X为N,其中N任选地被氧化。

[0175] 在实施例中,Y为CH。在实施例中,Y为N。

[0176] 在实施例中,Z为CH,在实施例中,Z为N。

[0177] 在实施例中,A为CH,在实施例中,A为N。

[0178] 在实施例中,B为CH,在实施例中,B为N。

[0179] 在实施例中,m为1。在实施例中,m为2。在实施例中,m为3。在实施例中,m为4。

[0180] 在实施例中,n为0。在实施例中,n为1。在实施例中,n为2。

[0181] 在实施例中,R^1为氢。在实施例中,R^1为CN。在实施例中,R^1为OH。

[0182] 在实施例中,R^1为卤素。在实施例中,R^1为F。在实施例中,R^1为Cl。在实施例中,R^1为Br。

[0183] 在实施例中,R^1为任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基。在实施例中,R^1为C_{1-3}烷基。在实施例中,R^1为甲基。在实施例中,R^1为乙基。在实施例中,R^1为CF_3。

[0184] 在实施例中,R^1为C_{1-3}烷氧基。在实施例中,R^1为甲氧基。

[0185] 在实施例中,R^2为氢。

[0186] 在实施例中,R^2为C_{1-3}烷基。在实施例中,R^2为甲基。

[0187] 在实施例中,R^3为氢。

[0188] 在实施例中,R^3为卤素。在实施例中,R^3为F。

[0189] 在实施例中,R^3为OH。

[0190] 在实施例中,R^3为胺。在实施例中,R^3为NH_2。

[0191] 在实施例中,R^3为C_{1-3}烷基。在实施例中,R^3为甲基。

[0192] 在实施例中,R^4为氢。

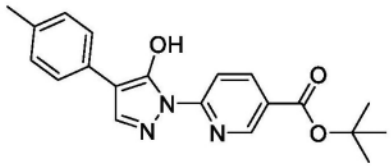
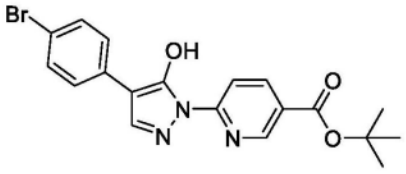
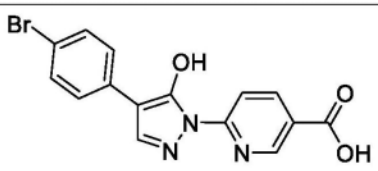
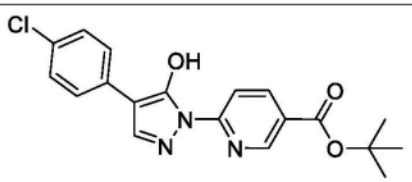
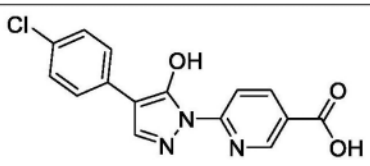
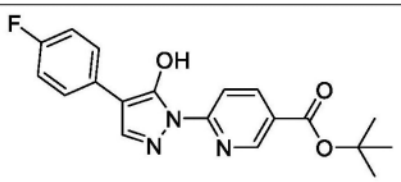
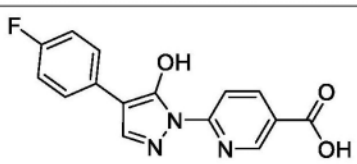
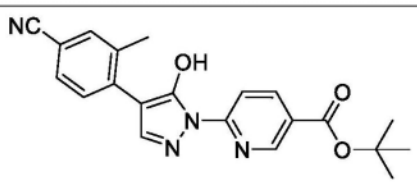
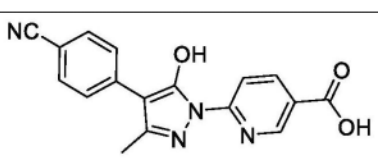
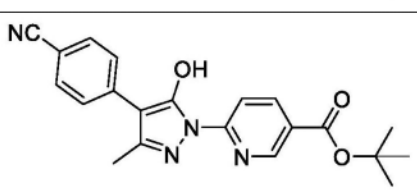
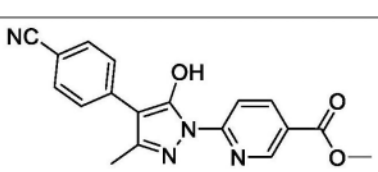
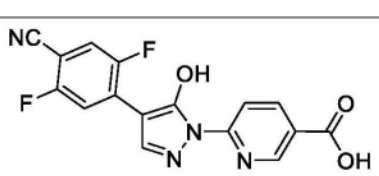
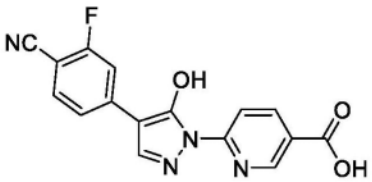
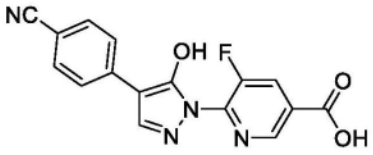
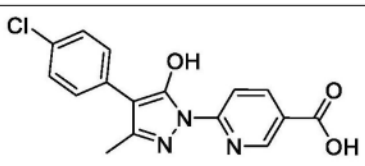
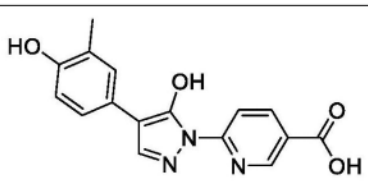
[0193] 在实施例中,R^4为C_{1-4}烷基。在实施例中,R^4为甲基。在实施例中,R^4为乙基。在实施例中,R^4为异丙基。在实施例中,R^4为叔丁基。

[0194] 在实施例中,R^5为F。在实施例中,R^5为Cl。在实施例中,R^5为Br。

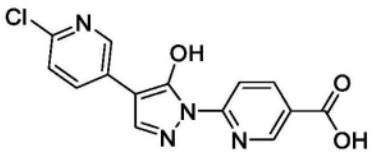
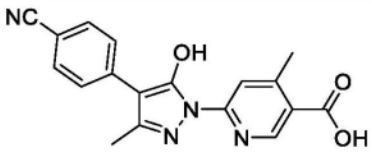
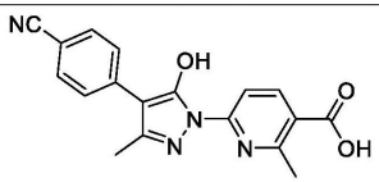
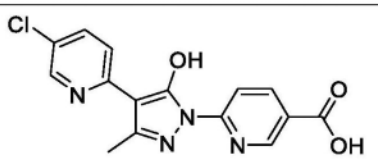
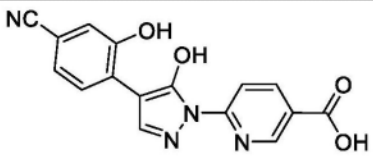
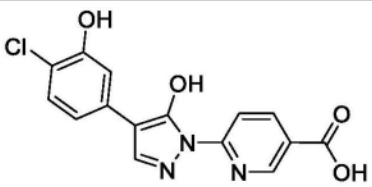
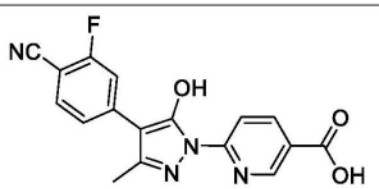
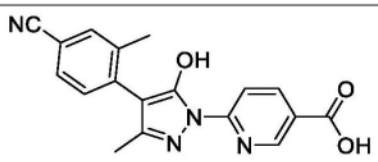
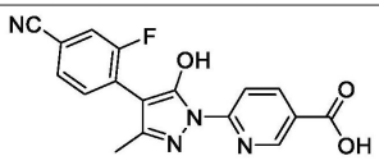
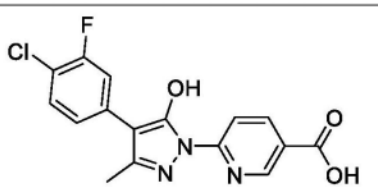
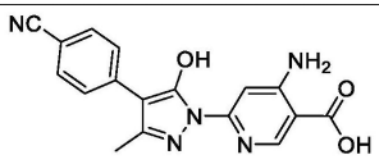
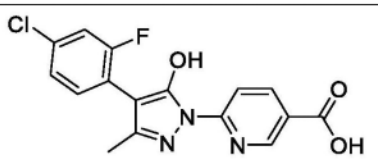
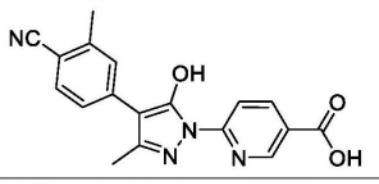
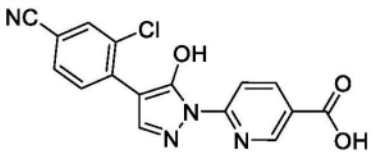
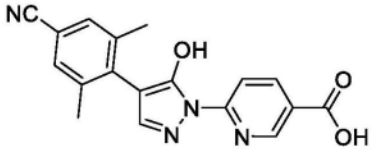
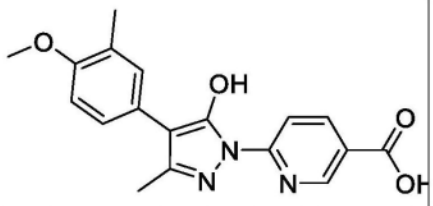
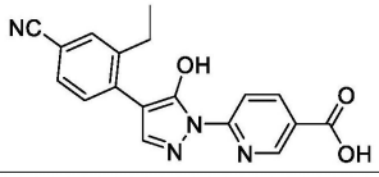
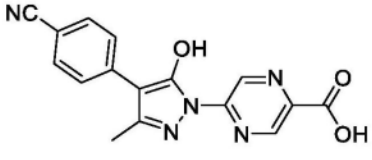
[0195] 在实施例中,R^5为CN。

[0196] 在一些实施例中,所述化合物是化合物1-44中的任一种或其药学上可接受的盐:

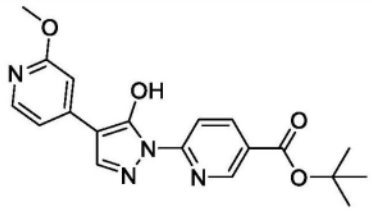
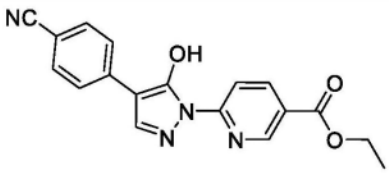
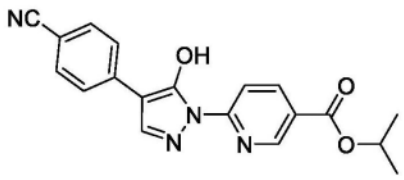
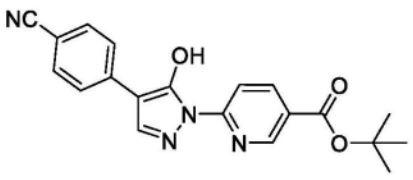
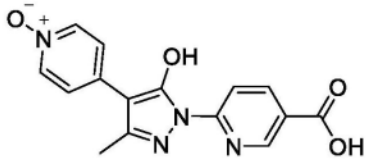
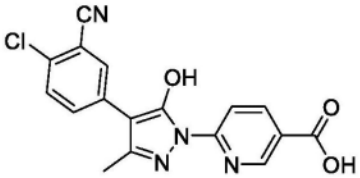
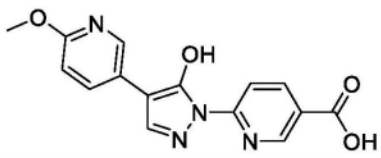
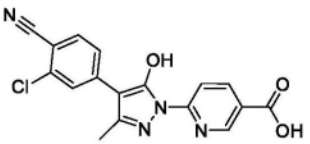
[0197]

化合物编号	结构	化合物编号	结构
1		2	
3		4	
5		6	
7		8	
9		10	
11		12	
13		14	
15		16	

[0198]

17		18	
19		20	
21		22	
23		24	
25		26	
27		28	
29		30	
31		32	
33		34	

[0199]

35		36	
37		38	
39		40	
41		42	
43		44	

[0200] 在实施例中,在式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种,或其药学上可接受的盐中,至少一个氢原子被氘原子替代。

[0201] 在另一方面,本发明的特征在于一种药物组合物,其包括本文所述的任何化合物(例如,式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种),或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的赋形剂。

[0202] 在另一方面,本发明的特征在于一种用于治疗由PHD活性介导的疾病的方法,所述方法包括向受试者施用本文所述的任何化合物(例如,式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种),或其药学上可接受的盐。

[0203] 在实施例中,由PHD活性介导的疾病是缺血性再灌注损伤。(例如,中风、心肌梗塞或急性肾损伤)。

[0204] 在实施例中,由PHD活性介导的疾病是炎性肠病(例如,溃疡性结肠炎或克罗恩氏病)。

[0205] 在实施例中,由PHD活性介导的疾病是癌症(例如,结肠直肠癌)。

[0206] 在实施例中,由PHD活性介导的疾病是肝病。

[0207] 在实施例中,由PHD活性介导的疾病是动脉粥样硬化。

[0208] 在实施例中,由PHD活性介导的疾病是心血管疾病。

[0209] 在实施例中,由PHD活性介导的疾病是眼部疾病或病状(例如,放射性视网膜病、早产儿视网膜病、糖尿病性视网膜病、年龄相关性黄斑变性和眼部缺血)。

[0210] 在实施例中,由PHD活性介导的疾病是贫血(例如,与慢性肾病相关的贫血)。

[0211] 在实施例中,由PHD活性介导的疾病与高氧有关

[0212] 在实施例中,由PHD活性介导的疾病是早产儿视网膜病。

[0213] 在实施例中,由PHD活性介导的疾病是支气管肺发育不良(BPD)。

[0214] 在实施例中,由PHD活性介导的疾病是缺血性心脏病、瓣膜性心脏病、充血性心力衰竭、急性肺损伤、肺纤维化、肺动脉高压、慢性阻塞性肺病(COPD)、急性肝衰竭、肝纤维化或肝硬化。

附图说明

[0215] 图1是展示PHD酶(PHD1、PHD2和PHD3)的TR-FRET测定原理的示例性示意图。在存在2-氧代戊二酸和O_2的情况下,PHD酶将生物素标记的HIF-1α肽的脯氨酸564羟基化,从而产生生物素标记的HIF-1α-羟脯氨酸、琥珀酸和CO_2。由此产生的与带His标签的VHL蛋白EloB、EloC复合物(His-VBC)结合的供体荧光团复合物(即,单克隆抗体抗-6His-铽(Tb)-穴状化合物金)和与HIF-1α-羟脯氨酸结合的受体荧光团SA-D2复合物的接近度产生可检测和量化的荧光共振能量转移信号

具体实施方式

[0216] 定义

[0217] 为了使本发明更容易理解,首先在下文定义某些术语。用于以下术语和其它术语的另外的定义在整个说明书中阐述。本文所引用的用于描述本发明的背景技术并提供关于其实施的附加细节的出版物和其它参考材料特此通过引用并入。

[0218] 动物:如本文所使用的,术语“动物”是指动物界的任何成员。在一些实施例中,“动物”是指处于任何发育阶段的人。在一些实施例中,“动物”是指处于任何发育阶段的非人动物。在某些实施例中,非人动物是哺乳动物(例如,啮齿动物、小鼠、大鼠、兔、猴、狗、猫、绵羊、牛、灵长类动物和/或猪)。在一些实施例中,动物包含但不限于哺乳动物、鸟类、爬行动物、两栖动物、鱼类、昆虫和/或蠕虫。在一些实施例中,动物可以是转基因动物、基因工程动物和/或克隆体。

[0219] 大约或约:如本文所使用的,当应用于所关注的一个或多个值时,术语“大约”或“约”指与所述参考值相似的值。在某些实施例中,术语“大约”或“约”指落入所述值任一方向(大于或小于)中的25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更少的一系列值,除非另有说明或从上下文中另外显而易见的(除非该数字超过可能值的100%)。

[0220] 如在说明书和所附权利要求中所使用的,单数形式“一个/种(a、an)”和“所述(the)”包含复数指示物,除非上下文另外清楚地指明。因此,例如,对“一种组合物”的提及包含两种或更多种这样的组合物的混合物。

[0221] 在本说明书的整个描述和权利要求中,词语“包括(comprise)”和该词语的其它形式,如“包括(comprising和comprises)”,意指包含但不限于,并且不旨在排除例如其它添加剂、组分、整数或步骤。

[0222] “任选的”或“任选地”意指随后描述的事件或情况可能会或可能不会发生,并且该描述包含所述事件或情况发生的实例和所述事件或情况不发生的实例。

[0223] 改善、增加或减少:如本文所用,术语“改善”、“增加”或“减少”或语法等效物表示相对于基线测量值的值,所述基线测量值如在开始本文所述的治疗之前在同一个体中的测量值,或在不存在本文所述的治疗的情况下在对照受试者(或多个对照受试者)中的测量值。“对照受试者”是患有与正在治疗的受试者相同形式的疾病的受试者,所述受试者与正在接受治疗的受试者的年龄大致相同。

[0224] 体外:如本文所使用的,术语“体外”是指在人造环境,例如在测试管或反映器皿中、在细胞培养基中等,而不是多细胞生物体内发生的事件。

[0225] 体内:如本文所使用的,术语“体内”是指在多细胞生物体(如人或非人动物)内发生的事件。在基于细胞的系统的上下文中,该术语可以用于指在活细胞内发生的事件(与例如体外系统相反)。

[0226] 患者:如本文所使用的,术语“患者”或“受试者”指所提供的组合物可施用于其的任何生物,例如用于实验、诊断、预防、美容和/或治疗目的。典型的患者包含动物(例如,哺乳动物,如小鼠、大鼠、兔、非人灵长类动物和/或人)。在一些实施例中,患者是人。人包含出生前形式和出生后形式。

[0227] 药学上可接受的:如本文所使用的,术语“药学上可接受的”是指与合理的效益/风险比相称在合理医学判断的范围内适用于与人和动物的组织接触而无过度毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症的物质。

[0228] 药学上可接受的盐:药学上可接受的盐是本领域熟知的。例如,S.M.Berge等人在《药物科学杂志(J.Pharmaceutical Sciences)》(1977)66:1-19中详细描述了药学上可接受的盐。本发明化合物的药学上可接受的盐包含衍生自合适的无机和有机酸和碱的那些盐。药学上可接受的无毒的酸加成盐的实例是与无机酸(如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和高氯酸)或与有机酸(如乙酸、草酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸或丙二酸)形成或通过使用本领域中所使用的其它方法(如离子交换)形成的具有氨基的盐。其它药学上可接受的盐包含己二酸盐、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、葡萄糖庚酸盐、甘油磷酸盐、葡糖酸盐、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、苦味酸盐、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、十一酸盐、戊酸盐等。衍生自适当碱的盐包含碱金属盐、碱土金属盐、铵盐和N+(C1-4烷基)4盐。代表性的碱金属盐或碱土金属盐包含钠盐、锂盐、钾盐、钙盐、镁盐等。在适当的情况下,另外的药学上可接受的盐包含使用如卤化物、氢氧化物、羧酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、磺酸盐和芳基磺酸盐等抗衡离子形成的无毒铵、季铵和胺阳离子。另外的药学上可接受的盐包含由胺的季铵化形成的盐,该季铵化使用适当的亲电试剂(例如,烷基卤)进行,以形成季铵化烷基化氨基盐。

[0229] 受试者:如本文所使用的,术语“受试者”是指人或任何非人动物(例如,小鼠、大鼠、兔、狗、猫、牛、猪、绵羊、马或灵长类动物)。人包含出生前形式和出生后形式。在许多实施例中,受试者是人。受试者可以是患者,所述患者是指呈现给医疗提供者以进行疾病的诊断或治疗的人。术语“受试者”在本文中可与“个体”或“患者”互换使用。受试者可以患有或

易于患上疾病或病症,但是可以显示或可以不显示出该疾病或病症的症状。

[0230] 基本上:如本文所使用的,术语“基本上”是指表现出所关注的特征或性质的全部或接近全部的范围或程度的定性条件。生物学领域的普通技术人员将理解,生物学和化学现象很少(如果曾经有的话)会达到完成和/或进行到完成或实现或避免绝对的结果。因此,术语“基本上”被用在本文来捕获在许多生物学和化学现象中固有的潜在完整性缺失。

[0231] 治疗有效量:如本文所使用的,术语治疗剂的“治疗有效量”意指当施用于患有或易于患上疾病、病症和/或病状的受试者时,足以对该疾病、病症和/或病状进行治疗、诊断、预防和/或延迟其症状发作的量。本领域的普通技术人员将认识到,通常通过包括至少一个单位剂量的给药方案来施用治疗有效量。

[0232] 治疗:如本文所使用的,术语“治疗(treat、treatment或treating)”是指用于使特定疾病、病症和/或病状的一种或多种症状或特征进行部分或完全减轻、改善、缓解、抑制、预防、延迟其发作、降低其严重程度和/或降低其发病率的任何方法。为了降低发展与疾病关联的病理的风险,可以向未表现出疾病体征和/或仅表现出疾病早期体征的受试者施用治疗。

[0233] 脂肪族:如本文所使用的,术语脂肪族是指C_1-C_{40}烃,并且包含饱和烃和不饱和烃。脂肪族可以是直链、支链或环状的。例如,C_1-C_{20}脂肪族可以包含C_1-C_{20}烷基(例如,直链或支链的C_1-C_{20}饱和烷基)、C_2-C_{20}烯基(例如,直链或支链的C_4-C_{20}二烯基、直链或支链的C_6-C_{20}三烯基等)和C_2-C_{20}炔基(例如,直链或支链的C_2-C_{20}炔基)。C_1-C_{20}脂肪族可以包含C_3-C_{20}环状脂肪族(例如,C_3-C_{20}环烷基、C_4-C_{20}环烯基或C_8-C_{20}环炔基)。在某些实施例中,脂肪族可以包括一个或多个环状脂肪族和/或一个或多个杂原子,如氧、氮或硫,并且可以任选地被一个或多个取代基(如烷基、卤基、烷氧基、羟基、氨基、芳基、醚、酯或酰胺)取代。脂肪族基团是未经取代的或被一个或多个如本文所述的取代基取代。例如,脂肪族可以被卤素、-COR’、-CO_2H、-CO_2R’、-CN、-OH、-OR’、-OCOR’、-OCO_2R’、-NH_2、-NHR’、-N(R’)$_2$、-SR’或-SO_2R’中的一个或多个(例如,1个、2个、3个、4个、5个或6个独立选择的取代基)取代,其中R’的每个实例独立地为C_1-C_{20}脂肪族(例如,C_1-C_{20}烷基、C_1-C_{15}烷基、C_1-C_{10}烷基或C_1-C_3烷基)。在一些实施例中,R’独立地为未经取代的烷基(例如,未经取代的C_1-C_{20}烷基、C_1-C_{15}烷基、C_1-C_{10}烷基或C_1-C_3烷基)。在一些实施例中,R’独立地为未经取代的C_1-C_3烷基。在一些实施例中,脂肪族是未经取代的。在一些实施例中,脂肪族不包含任何杂原子。

[0234] 烷基:如本文所使用的,术语“烷基”意指非环状直链和支链烃基,例如“C_1-C_{20}烷基”是指具有1-20个碳的烷基。烷基可以是直链或支链的。烷基的实例包含但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、异戊基、叔戊基、己基、异己基等。术语“低级烷基”意指具有1至6个碳原子的烷基直链或支链烷基。考虑到本公开的有益效果,其它烷基对于本领域技术人员将是显而易见的。烷基可以是未经取代的或被一个或多个如本文所述的取代基取代。例如,烷基可以被卤素、-COR’、-CO_2H、-CO_2R’、-CN、-OH、-OR’、-OCOR’、-OCO_2R’、-NH_2、-NHR’、-N(R’)$_2$、-SR’或-SO_2R’中的一个或多个(例如,1个、2个、3个、4个、5个或6个独立选择的取代基)取代,其中R’的每个实例独立地为C_1-C_{20}脂肪族(例如,C_1-C_{20}烷基、C_1-C_{15}烷基、C_1-C_{10}烷基或C_1-C_3烷基)。在一些实施例中,R’独立地为未经取代的烷基(例如,未经取代的C_1-C_{20}烷基、C_1-C_{15}烷基、C_1-C_{10}烷基或C_1-C_3烷基)。在一些实施例中,R’独立地为未经取代的C_1-C_3烷基。在一些实施例中,烷基是经取代的(例如,被1个、2个、

3个、4个、5个或6个如本文所述的取代基取代)。在一些实施例中,烷基被-OH基团取代并且在本文中也可以被称为“羟基烷基”,其中前缀表示-OH基团并且“烷基”如本文所述。在一些实施例中,烷基被-OR'基团取代并且在本文中也可以被称为“烷氧基”基团。

[0235] 将后缀“-ene”附加到基团表示该基团是二价部分,例如,亚芳基是芳基的二价部分,并且亚杂芳基是杂芳基的二价部分。

[0236] 亚烷基:如本文所使用的,术语“亚烷基”表示饱和的二价直链或支链烃基,并且以亚甲基、亚乙基、异亚丙基等为例。同样,如本文所使用的,术语“亚烯基”表示具有一个或多个不饱和碳-碳双键的不饱和二价直链或支链烃基,该不饱和碳-碳双键可以存在于沿着链的任何稳定点,术语“亚炔基”在本文中表示具有一个或多个不饱和碳-碳三键的不饱和二价直链或支链烃基,该不饱和碳-碳三键可以存在于沿着链的任何稳定点。在某些实施例中,亚烷基、亚烯基或亚炔基可以包括一个或多个环状脂肪族和/或一个或多个杂原子,如氧、氮或硫,并且可以任选地被一个或多个取代基(如烷基、卤基、烷氧基、羟基、氨基、芳基、醚、酯或酰胺)取代。例如,亚烷基、亚烯基或亚炔基可以被卤素、-COR'、-CO_2H、-CO_2R'、-CN、-OH、-OR'、-OCOR'、-OCO_2R'、-NH_2、-NHR'、-N(R')$_2$、-SR'或-SO_2R'中的一个或多个(例如,1个、2个、3个、4个、5个或6个独立选择的取代基)取代,其中R'的每个实例独立地为C_1-C_{20}脂肪族(例如,C_1-C_{20}烷基、C_1-C_{15}烷基、C_1-C_{10}烷基或C_1-C_3烷基)。在一些实施例中,R'独立地为未经取代的烷基(例如,未经取代的C_1-C_{20}烷基、C_1-C_{15}烷基、C_1-C_{10}烷基或C_1-C_3烷基)。在一些实施例中,R'独立地为未经取代的C_1-C_3烷基。在某些实施例中,亚烷基、亚烯基或亚炔基是未经取代的。在某些实施例中,亚烷基、亚烯基或亚炔基不包含任何杂原子。

[0237] 烯基:如本文所使用的,“烯基”意指具有一个或多个不饱和碳-碳双键的任何直链或支链烃链,该不饱和碳-碳双键可以存在于沿着链的任何稳定点,例如,“C_2-C_{20}烯基”是指具有2至20个碳的烯基。例如,烯基包含丙-2-烯基、丁-2-烯基、丁-3-烯基、2-甲基丙-2-烯基、己-2-烯基、己-5-烯基、2,3-二甲基丁-2-烯基等。在一些实施例中,烯基包括1个、2个或3个碳-碳双键。在一些实施例中,烯基包括单个碳-碳双键。在一些实施例中,多个双键(例如,2个或3个)是共轭的。烯基可以是未经取代的或被一个或多个如本文所述的取代基取代。例如,烯基可以被卤素、-COR'、-CO_2H、-CO_2R'、-CN、-OH、-OR'、-OCOR'、-OCO_2R'、-NH_2、-NHR'、-N(R')$_2$、-SR'或-SO_2R'中的一个或多个(例如,1个、2个、3个、4个、5个或6个独立选择的取代基)取代,其中R'的每个实例独立地为C_1-C_{20}脂肪族(例如,C_1-C_{20}烷基、C_1-C_{15}烷基、C_1-C_{10}烷基或C_1-C_3烷基)。在一些实施例中,R'独立地为未经取代的烷基(例如,未经取代的C_1-C_{20}烷基、C_1-C_{15}烷基、C_1-C_{10}烷基或C_1-C_3烷基)。在一些实施例中,R'独立地为未经取代的C_1-C_3烷基。在一些实施例中,烯基是未经取代的。在一些实施例中,烯基是经取代的(例如,被1个、2个、3个、4个、5个或6个如本文所述的取代基取代)。在一些实施例中,烯基被-OH基团取代并且在本文中也可以被称为“羟基烯基”,其中前缀表示-OH基团并且“烯基”如本文所述。

[0238] 炔基:如本文所使用的,“炔基”意指直链构型或支链构型的任何烃链,其在沿着链的任何稳定点具有一个或多个碳-碳三键,例如,“C_2-C_{20}炔基”是指具有2至20个碳的炔基。炔基的实例包含丙-2-炔基、丁-2-炔基、丁-3-炔基、戊-2-炔基、3-甲基戊-4-炔基、己-2-炔基、己-5-炔基等。在一些实施例中,炔基包括一个碳-碳三键。炔基可以是未经取代的或被一个或多个如本文所述的取代基取代。例如,炔基可以被卤素、-COR'、-CO_2H、-CO_2R'、-CN、-

OH、-OR'、-OCOR'、-OCO_2R'、-NH_2、-NHR'、-N(R')$_2$、-SR'或-SO_2R'中的一个或多个(例如,1个、2个、3个、4个、5个或6个独立选择的取代基)取代,其中R'的每个实例独立地为C_1-C_{20}脂肪族(例如,C_1-C_{20}烷基、C_1-C_{15}烷基、C_1-C_{10}烷基或C_1-C_3烷基)。在一些实施例中,R'独立地为未经取代的烷基(例如,未经取代的C_1-C_{20}烷基、C_1-C_{15}烷基、C_1-C_{10}烷基或C_1-C_3烷基)。在一些实施例中,R'独立地为未经取代的C_1-C_3烷基。在一些实施例中,炔基是未经取代的。在一些实施例中,炔基是经取代的(例如,被1个、2个、3个、4个、5个或6个如本文所述的取代基取代)。

[0239] 芳基:单独使用或作为如"芳烷基"中的较大部分的一部分使用的术语"芳基"是指具有总共六至十四个环成员的单环、双环或三环碳环系统,其中所述环系统具有与分子其余部分的单个连接点,该系统中的至少一个环是芳香族的,并且其中该系统中的每个环含有4至7个环成员。在一些实施例中,芳基具有6个环碳原子("C_6芳基";例如,苯基)。在一些实施例中,芳基具有10个环碳原子("C_{10}芳基";例如,萘基,如1-萘基和2-萘基)。在一些实施例中,芳基具有14个环碳原子("C_{14}芳基";例如,蒽基)。"芳基"还包含其中如上定义的芳环与一个或多个碳环或杂环基团稠合的环系统,其中连接基团或连接点在芳环上,并且在这种情况下,碳原子的数量继续表示芳环系统中碳原子的数量。示例性芳基包含苯基、萘基和蒽。

[0240] 亚芳基:如本文所使用的,术语"亚芳基"是指二价的芳基(即,具有与分子的两个连接点)。示例性亚芳基包含亚苯基(例如,未经取代的亚苯基或经取代的亚苯基)。

[0241] 卤素或卤基:如本文所使用的,术语"卤素"或"卤基"意指氟、氯、溴或碘。

[0242] 酰胺:除非说明书中另有说明,否则术语"酰胺"或"酰胺基"是指具有式-C(O)N(R')$_2$、-C(O)N(R')-、-NR'C(O)R'、-NR'C(O)N(R')$_2$-或-NR'C(O)-的化学部分,其中每个R'独立地选自氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基(通过链碳键合)、环烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基(通过环碳键合)、杂芳基烷基或杂环烷基(通过环碳键合),如本文所述,每个部分本身可以任选地被取代,或者两个R'可以与氮原子结合形成3元、4元、5元、6元或7元环。

[0243] 氨基:除非说明书中另有说明,否则术语"氨基"或"胺"是指-N(R')$_2$基团,其中每个R'独立地选自氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基(通过链碳键合)、环烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基(通过环碳键合)、杂芳基烷基、杂环烷基(通过环碳键合)、磺酰基或羰基,如本文所述,每个部分本身可以任选地被取代,或者两个R'可以与氮原子结合形成3元、4元、5元、6元或7元环。在实施例中,氨基是-NHR',其中R'是芳基("芳基氨基")、杂芳基("杂芳基氨基")或烷基("烷基氨基")。

[0244] 磺酰基:除非说明书中另有说明,否则术语"磺酰基"是指-S(=O)$_2$R'或-S(=O)$_2$-基团,其中R'选自氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基(键合通过链碳)、环烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基(通过环碳键合)、杂芳基烷基、杂环烷基(通过环碳键合),如本文所述,每个部分本身可以任选地被取代。

[0245] 亚磺酰基:除非说明书中另有说明,否则术语"亚磺酰基"是指具有式-S(=O)R'、-S(=O)-或-S(=O)(=NR')-的化学部分,其中R'选自氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基(键合通过链碳)、环烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基(通过环碳键合)、杂芳基烷基、杂环烷基(通过环碳键合),如本文所述,每个部分本身可以任选地被取代。

[0246] 羰基:除非说明书中另有说明,否则术语"羰基"是指-C(=O)R'或-C(=O)-基团,其中R'选自氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基(键合通过链碳)、环烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基

(通过环碳键合)、杂芳基烷基、杂环烷基(通过环碳键合),如本文所述,每个部分本身可以任选地被取代。

[0247] 磷酰基:除非说明书中另有说明,否则术语"磷酰基"是指-P(=O)(R')$_2$或-P(=O)(R')-基团,其中每个R'选自氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基(通过链碳或通过杂原子键合)、环烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基(通过环碳键合)、杂芳基烷基或杂环烷基(通过环碳键合),如本文所述,每个部分本身可以任选地被取代,或者两个R'可以与氮原子结合形成3元、4元、5元、6元或7元环。

[0248] 杂烷基:术语"杂烷基"意指除了1个、2个、3个或4个独立地选自由N、O、S和P组成的组的杂原子之外还具有1至14个碳原子的支链或非支链烷基、烯基或炔基。杂烷基包含叔胺、仲胺、醚、硫醚、酰胺、硫代酰胺、氨基甲酸酯、硫代氨基甲酸酯、脲、亚胺、磷酸二酯、氨基磷酸酯、磺酰胺和二硫化物。杂烷基可以任选地包含单环、双环或三环,其中每个环理想地具有三至六个成员。杂烷基的实例包含聚醚,如甲氧基甲基和乙氧基乙基。

[0249] 亚杂烷基:如本文所使用的,术语"亚杂烷基"表示如本文所述的杂烷基的二价形式。

[0250] 杂芳基:如本文所使用的,术语"芳烷基"是指具有总共六至十四个环成员的单环、双环或三环碳环系统,其中所述环系统具有与分子其余部分的单个连接点,其中该系统中的至少一个环是芳香族的,其中该系统中的每个环含有4至7个环成员,并且其中至少一个环原子是杂原子,如但不限于氮和氧。

[0251] 杂环烷基:如本文所使用的,术语"杂环烷基"是非芳香族环,其中至少一个原子是杂原子,如但不限于氮、氧、硫或磷,并且其余原子是碳。杂环烷基可以是经取代的或未经取代的。

[0252] 氘:术语"氘"("D"或"^{2}H")也被称为重氢。氘是氢的同位素,其原子核由一个质子和一个中子组成,所述原子核是普通氢原子核(一个质子)质量的两倍。

[0253] 同位素:术语"同位素"是指特定化学元素的变体,其中子数不同,因此核子数不同。给定元素的所有同位素在每个原子中具有相同数量的质子但中子数量不同。

[0254] 术语"经取代的"意指指定的基团或部分带有一个或多个取代基。术语"未经取代的"意指指定的基团不带有取代基。术语"任选地被取代"意指指定的基团未经取代或被一个或多个取代基取代。在使用术语"经取代的"来描述结构系统的情况下,取代意指在系统上的任何化合价允许的位置处发生,例如,取代产生稳定的化合物(例如,不会自发地发生转变的化合物,如通过重排、环化、消除或其它反应)。在指定的部分或基团未明确注明为任选地经取代或被任何指定的取代基取代的情况下,应理解此类部分或基团旨在为未经取代的。

[0255] 当环系统(例如,环烷基、杂环基、芳基或杂芳基)被多个在明确定义的范围内变化的取代基取代时,应理解取代基的总数不超过现有条件下的正常可用化合价。还应理解,假定存在氢原子以填充环系统的剩余化合价数。经取代的基团仅涵盖那些产生稳定的或化学上可行的化合物的取代基和变量的组合。除其它因素外,稳定的化合物或化学上可行的化合物是具有足以允许其制备和检测的稳定性的一种化合物。

[0256] 多种取代基是众所周知的,形成多种取代基和将其引入多种母体基团的方法也是众所周知的。代表性的取代基包含但不限于烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、芳烷基、烷芳

基、芳基、芳基烷氧基、芳基氨基、杂芳基氨基、杂芳基、杂芳基烷氧基、杂环烷基、羟烷基、氨基烷基、卤代烷基、硫代烷基、烷硫基烷基、羧基烷基、咪唑烷基、吲哚烷基、单、二和三卤代烷基、单、二和三卤代烷氧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、酰胺、氰基、烷氧基、羟基、磺酰胺、卤基(例如,—Cl和—Br)、硝基、肟基、—$COOR^{50}$、—COR^{50}、—$SO_{0-2}R^{50}$、—$SO_2NR^{50}R^{51}$、$NR^{52}SO_2R^{50}$、=C($R^{50}R^{51}$)、=N—OR^{50}、=N—CN、=C(卤基)$_2$、=S、=O、—CON($R^{50}R^{51}$)、—$OCOR^{50}$、—OCON($R^{50}R^{51}$)、—N(R^{52})CO(R^{50})、—N(R^{52})$COOR^{50}$和—N(R^{52})CON(R^{50}(R^{51}),其中R^{50}、R^{51}和R^{52}可以独立地选自以下:氢原子和支链或直链、C_{1-6}-烷基、C_{3-6}-环烷基、C_{4-6}-杂环烷基、杂芳基和芳基,带或不带取代基。在允许的情况下,R^{50}和R^{51}可以连接在一起来形成碳环或杂环系统。

[0257] 在优选的实施例中,取代基选自卤素、-COR'、-CO_2H、-CO_2R'、-CN、-OH、-OR'、-OCOR'、-OCO_2R'、-NH_2、-NHR'、-N(R')$_2$、-SR'和-SO_2R',其中R'的每个实例独立地为C_1-C_{20}脂肪族(例如,C_1-C_{20}烷基、C_1-C_{15}烷基、C_1-C_{10}烷基或C_1-C_3烷基)。在其某些实施例中,R'独立地为未经取代的烷基(例如,未经取代的C_1-C_{20}烷基、C_1-C_{15}烷基、C_1-C_{10}烷基或C_1-C_3烷基)。优选地,R'独立地为未经取代的C_1-C_3烷基。

[0258] 本文给出的任何式旨在表示具有结构式所描绘的结构以及某些变型或形式的化合物。具体地说,本文给出的任何式的化合物可以具有非对称中心,并且因此以不同的对映异构体形式存在。通式化合物的所有光学异构体和立体异构体以及它们的混合物都被认为处于所述式的范围内。因此,本文给出的任何式旨在表示外消旋体、一种或多种对映异构体形式、一种或多种非对映异构体形式、一种或多种阻转异构体形式,以及它们的混合物。此外,某些结构可以作为几何异构体(即,顺式和反式异构体)、作为互变异构体或作为阻转异构体存在。此外,本文给出的任何式旨在包括此类化合物的水合物、溶剂化物和多晶型物,以及它们的混合物。

[0259] 本发明的化合物

[0260] 本文公开了作为PHD有效抑制剂的化合物。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一者具有小于100μM的酶促半数最大抑制浓度(IC_{50})值。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一者具有小于50μM的IC_{50}值。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一者具有小于25μM的IC_{50}值。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一者具有小于20μM的IC_{50}值。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一者具有小于15μM的IC_{50}值。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一者具有小于10μM的IC_{50}值。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一者具有小于5μM的IC_{50}值。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一者具有小于1μM的IC_{50}值。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一者具有约3nM至约5nM的IC_{50}值。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一者具有约5nM至约10nM的IC_{50}值。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一者具有约10nM至约20nM的IC_{50}值。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一者具有约20nM至约50nM的IC_{50}值。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一者具有约50nM至约100nM的IC_{50}值。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一者具有约100nM至约200nM的IC_{50}值。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一

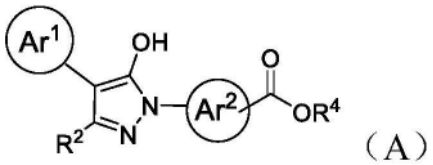
者具有约200nM至约500nM的IC_{50}值。在一些实施例中,本发明的化合物对PHD1、PHD2和PHD3中的任一者具有约500nM至约1000nM的IC_{50}值。

[0261] 来自该类别的代表性实例在体外显示出对PHD1、PHD2和PHD3的抑制活性。

[0262] 本文描述了示例性化合物。具体地说,这些选择性抑制剂的特征可以在于连接两个芳香族部分的吡唑部分(例如,5-羟基取代的吡唑)。

[0263] 式(A)和(I)-(III)的化合物

[0264] 在一方面,本文提供了具有根据式(A)的结构的化合物:

[0265] 

(A)

[0266] 或其药学上可接受的盐,其中:

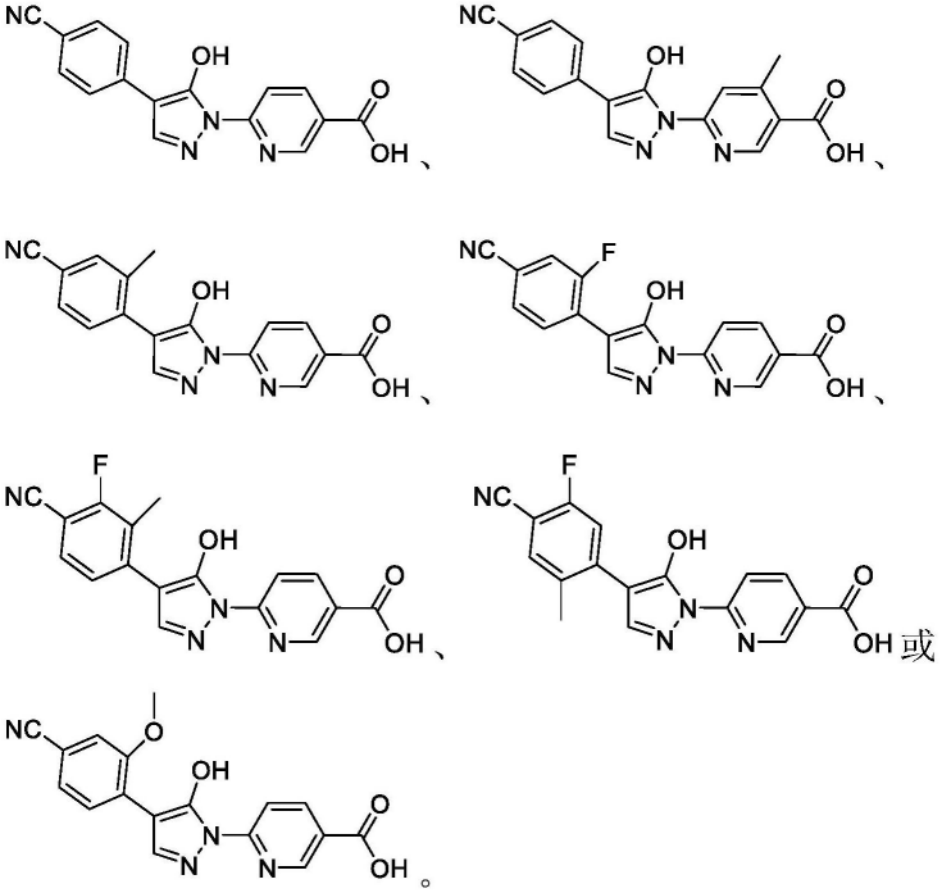
[0267] Ar^1为苯基或六元含氮杂芳基,其中所述苯基或杂芳基任选地被卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基或C_{1-3}烷氧基取代;

[0268] R^2为H或C_{1-3}烷基;

[0269] Ar^2为六元含氮杂芳基,其任选地被卤素、OH、胺或C_{1-3}烷基取代;并且

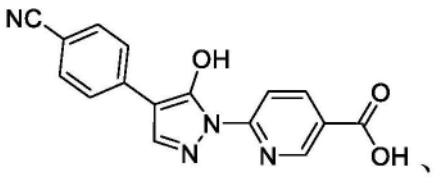
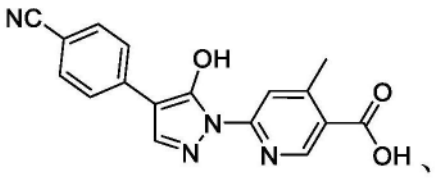
[0270] R^4为氢或C_{1-4}烷基,并且

[0271] 在本文所述的式(例如,式(A))的实施例中,化合物(例如,式(A)化合物)不是

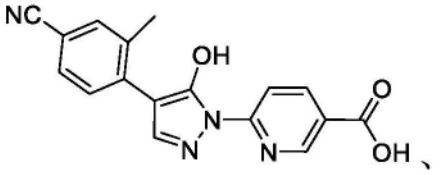
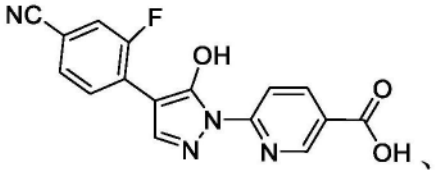
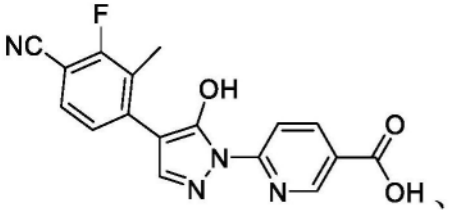
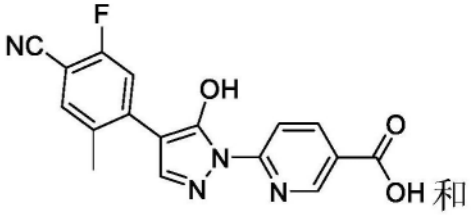
[0272] 

或

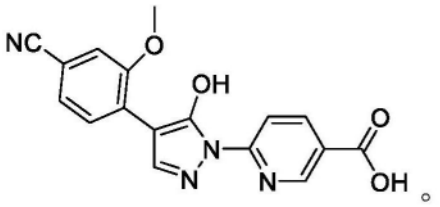
[0273] 在本文所述的式(例如,式(A))的实施例中,化合物(例如,式(A)化合物)不包括以下化合物

[0274]

[0275]



[0276] 在实施例中,R^2为H。

[0277] 在实施例中,R^2为C_{1-3}烷基。在实施例中,R^2为CH_3。在实施例中,R^2为CH_2CH_3。在实施例中,R^2为$CH_2CH_2CH_3$。在实施例中,R^2为$CH(CH_3)_2$。

[0278] 在实施例中,R^4为H。

[0279] 在实施例中,R^4为C_{1-4}烷基。在实施例中,R^4为CH_3。在实施例中,R^4为CH_2CH_3。在实施例中,R^4为$CH_2CH_2CH_3$。在实施例中,R^4为$CH(CH_3)_2$。在实施例中,R^4为$CH_2CH_2CH_2CH_3$。在实施例中,R^4为$CH(CH_3)(CH_2CH_3)$。在实施例中,R^4为$C(CH_3)_3$。

[0280] 在实施例中,Ar^1为未经取代的芳基。在实施例中,Ar^1为经取代的芳基。在实施例中,Ar^1为未经取代的苯基。在实施例中,Ar^1为经取代的苯基。

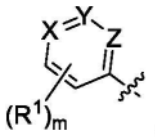
[0281] 在实施例中,Ar^1为未经取代的6元含氮杂芳基。在实施例中,Ar^1为经取代的6元含氮杂芳基。

[0282] 在实施例中,Ar^1被选自氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基的一个或多个基团取代。在一些实施例中,Ar^1被1个取代基取代。在一些实施例中,Ar^1被2个取代基取代。在一些实施例中,Ar^1被3个取代基取代。在一些实施例中,Ar^1被4个取代基取代。

[0283] 在实施例中,Ar^1包括一个或多个R^1基团,其中每个R^1独立地选自氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基。在实施例中,Ar^1包括由m表示的R^1基团的数量,其中m为1、2、3或4。当R^1存在时,R^1可以替代母体分子结构中的氢。在实施例中,当R^1存在并且是非氢部分时,R^1表示取代基。在实施例中,R^1独立地选自卤素、CN、OH、任选地被CN或一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基。

[0284] 因此,还应理解,对于本文所述的任何m值,氢在适当时存在以在Ar^1的组成原子上完成化合价要求,使得分子是稳定的化合物(例如,分子是不会自发地发生转变的化合物,如通过重排、环化、消除或其它反应)。本文描述了Ar^1、R^1和m的示例性实施例。

[0285] 在实施例中,Ar^1为

[0286]  其中 ,

[0287] X、Y和Z独立地为CH或N,其中N任选地被氧化;

[0288] 每个R^1独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、CN、OH、任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基和C_{1-3}烷氧基;并且

[0289] m为1、2、3或4。

[0290] 在实施例中,R^1不是氢。在实施例中,当R^1存在并且是非氢部分时,R^1表示取代基。

[0291] 在实施例中,m的值基于存在于环中的氮原子的数量。在实施例中,当X、Y和Z中的两个且仅两个为N时,m为1、2或3。在实施例中,当X、Y和Z中的每一个为N时,m为1或2。

[0292] 在实施例中,m为1。在实施例中,m为2。在实施例中,m为3。在实施例中,m为4。

[0293] 在实施例中,X、Y和Z都为N,m为1或2。在实施例中,m为1,并且假定任何剩余的未经取代的碳环原子与氢键合以填充化合价。在实施例中,m为2。

[0294] 在实施例中,X、Y和Z中的一个为CH,并且其它为N,其中N任选地被氧化,m为1、2或3。在实施例中,m为1,并且假定任何剩余的未经取代的碳环原子与氢键合以填充化合价。在实施例中,m为2,并且假定任何剩余的未经取代的碳环原子与氢键合以填充化合价。在实施例中,m为3。

[0295] 在实施例中,X、Y和Z中的两个为CH,并且另一个为N,其中N任选地被氧化,m为1、2、3或4。在实施例中,m为1,并且假定任何剩余的未经取代的碳环原子与氢键合以填充化合价。在实施例中,m为2,并且假定任何剩余的未经取代的碳环原子与氢键合以填充化合价。在实施例中,m为3,并且假定任何剩余的未经取代的碳环原子与氢键合以填充化合价。在实施例中,m为4。

[0296] 在实施例中,Ar^1中的N原子未被氧化。

[0297] 在实施例中,Ar^1中的N原子被氧化。

[0298] 在实施例中,Ar^1为经取代的苯基。在实施例中,Ar^1被至少一个R^1取代,其中R^1为CN卤素。

[0299] 在实施例中,Ar^1被一个或两个R^1基团取代,所述基团独立地选自任选地被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基、卤素、CN或OH。

[0300] 在实施例中,Ar^1为吡啶基N-氧化物或者是任选地被至少一个R^1取代的吡啶基,所述R1为C_{1-3}烷氧基或卤素。

[0301] 在实施例中,每次采用的R^1为氢。

[0302] 在实施例中,每次采用的R^1为CN。

[0303] 在实施例中,每次采用的R^1为OH。

[0304] 在实施例中,每次采用的R^1为卤素。在实施例中,所述卤素为Cl。在实施例中,所述卤素为Br。在实施例中,所述卤素为I。

[0305] 在实施例中,每次采用的R^1为C_{1-3}烷基。

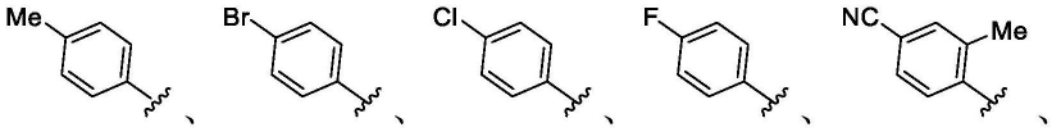
[0306] 在实施例中,每次采用的R^1为未经取代的C_{1-3}烷基。在实施例中,每次采用的R^1为CH_3。在实施例中,每次采用的R^1为CH_2CH_3。

[0307] 在实施例中,每次采用的R^1为经取代的C_{1-3}烷基。在实施例中,每次采用的R^1为被一个或多个卤素取代的C_{1-3}烷基。在实施例中,卤素为F。在实施例中,卤素为Cl。在实施例中,卤素为Br。在实施例中,卤素为I。

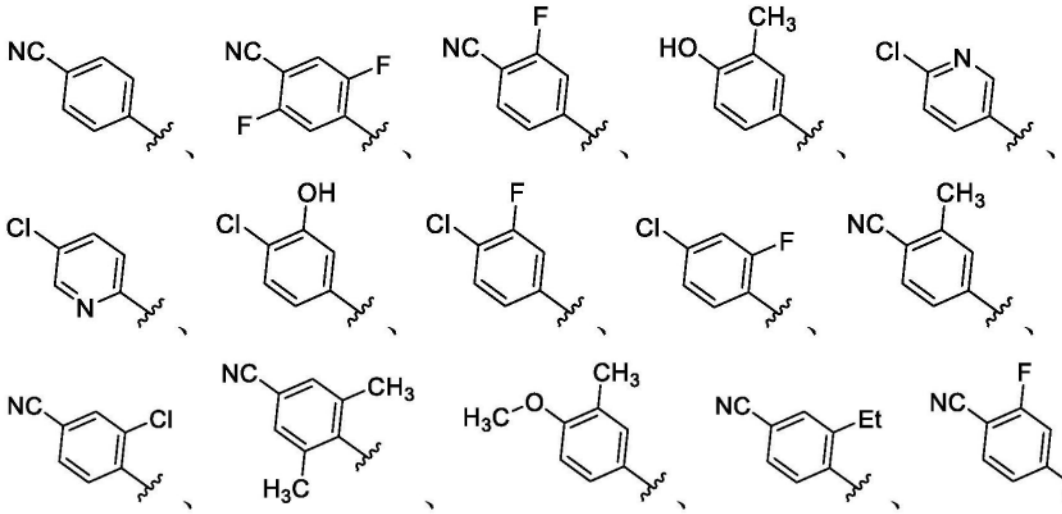
[0308] 在实施例中,每次采用的R^1为CF_3。

[0309] 在实施例中,每次采用的R^1为C_{1-3}烷氧基。在实施例中,每次采用的R^1为OMe。

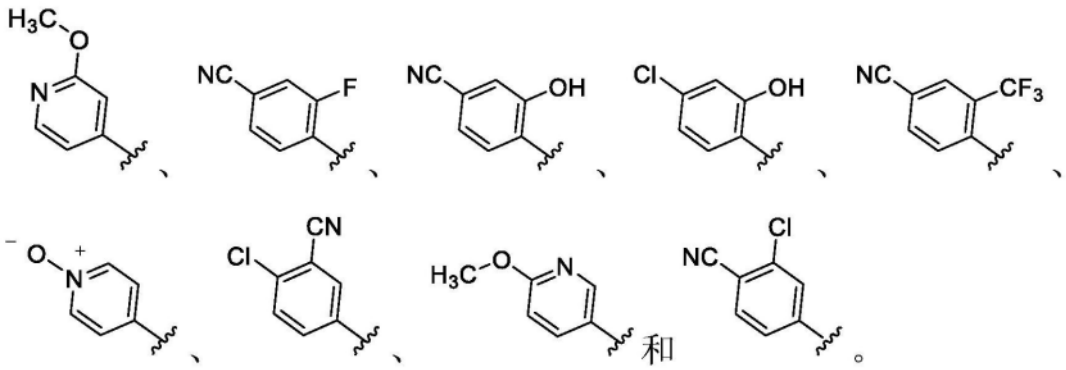
[0310] 在一些实施例中,Ar^1选自:



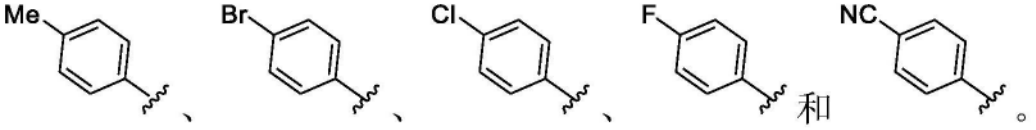
[0311]



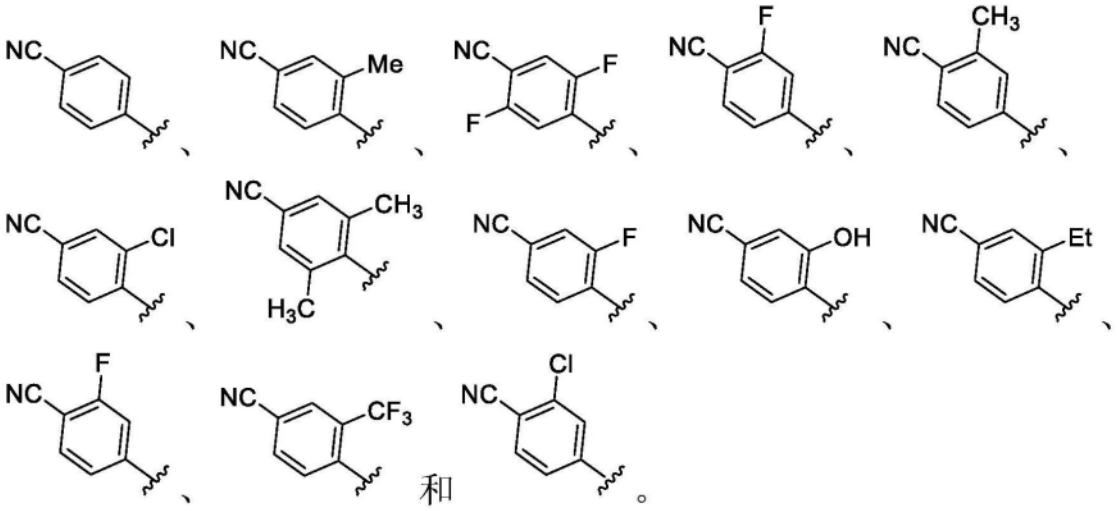
[0312]



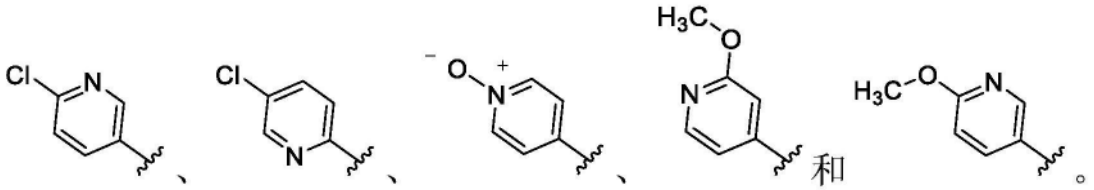
[0313] 在一些实施例中,Ar^1选自:



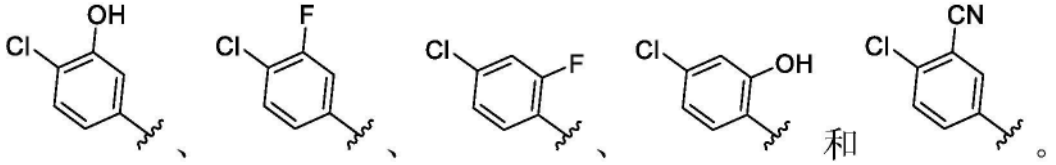
[0314] 在一些实施例中,Ar^1选自:

[0315] 

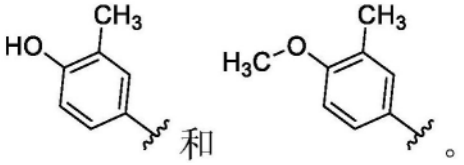
[0316] 在一些实施例中,Ar^1选自:



[0317] 在一些实施例中,Ar^1选自:

[0318] 

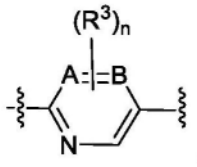
[0319] 在一些实施例中,Ar^1选自:

[0320] 

[0321] 在实施例中,Ar^2为未经取代的六元含氮杂芳基。

[0322] 在实施例中,Ar^2为被卤素、OH、胺或C_{1-3}烷基取代的六元含氮杂芳基。在实施例中,Ar^2被1个如本文所述的取代基取代。在实施例中,Ar^2被2个如本文所述的取代基取代。

[0323] 在实施例中,Ar^2为

[0324]  其中

[0325] A和B独立地为CH或N,其中N任选地被氧化;

[0326] 每个R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、OH、胺和C_{1-3}烷基;并且

[0327] n为0、1或2。

[0328] 在实施例中,n的值基于存在于环中的氮原子的数量。在实施例中,当A和B中的一个且仅一个为N时,n为0、1或2。在实施例中,当A和B均为N时,n为0或1。

[0329] 在实施例中,n为0。在实施例中,n为1。在实施例中,n为2。

[0330] 在实施例中,A和B均为N,其中N任选地被氧化,n为0或1。在实施例中,n为0。在实施例中,n为1。

[0331] 在实施例中,A和B中的一个为CH并且另一个为N,其中N任选地被氧化,n为0、1或2。在实施例中,n为0。在实施例中,n为1。在实施例中,n为2。

[0332] 在实施例中,A和B均为CH,n为0、1或2。在实施例中,n为0。在实施例中,n为1。在实施例中,n为2。

[0333] 在实施例中,Ar^2中的N原子未被氧化。

[0334] 在实施例中,Ar^2中的N原子被氧化。

[0335] 在实施例中,每次采用的R^3为氢。

[0336] 在实施例中,每次采用的R^3为OH。

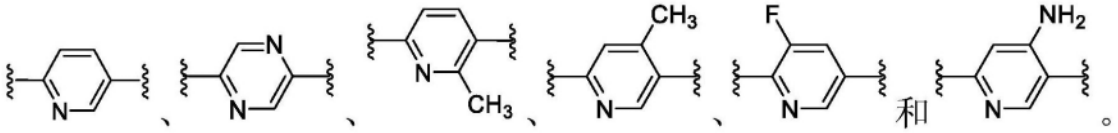
[0337] 在实施例中,每次采用的R^3为卤素。在实施例中,卤素为F。在实施例中,卤素为Cl。在实施例中,卤素为Br。在实施例中,卤素为I。

[0338] 在实施例中,每次采用的R^3为胺。在实施例中,每次采用的R^3为NH_2。

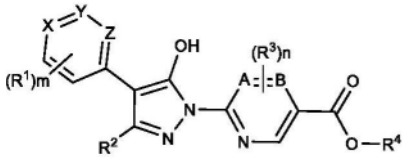
[0339] 在实施例中,每次采用的R^3为C_{1-3}烷基。

[0340] 在实施例中,每次采用的R^3为未经取代的C_{1-3}烷基。在实施例中,每次采用的R^3为CH_3。

[0341] 在实施例中,Ar^2选自由以下组成的组:

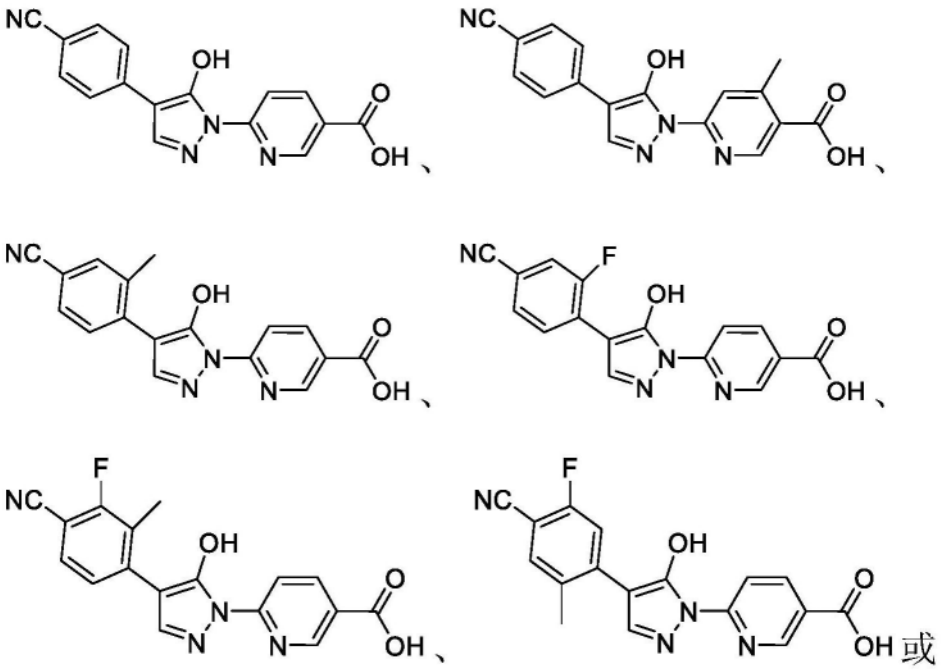
[0342] 

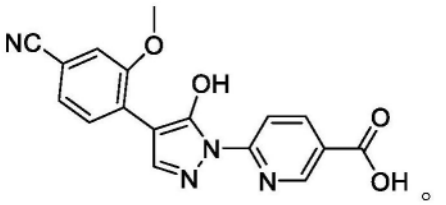
[0343] 在实施例中,式(A)化合物具有以下结构,

[0344]  (I),

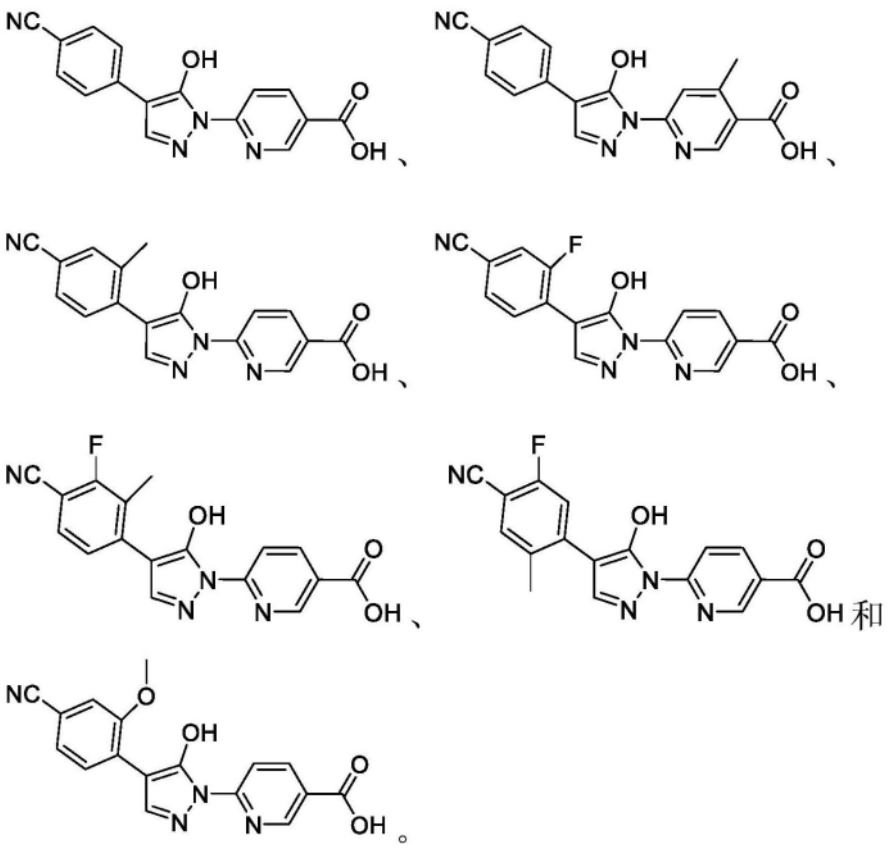
或其药学上可接受的盐,其中A、B、X、Y、Z、R^1、R^2、R^3和R^4如本文任何地方所定义。

[0345] 在本文所述的式(例如,式(I))的实施例中,化合物(例如,式(I)化合物)不是

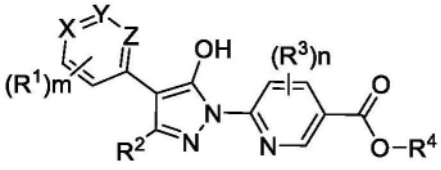
[0346] 

[0347] 

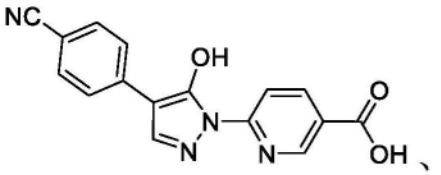
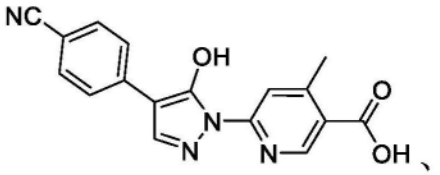
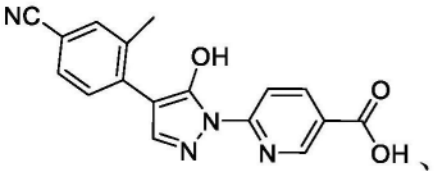
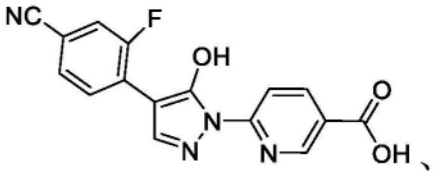
[0348] 在本文所述的式(例如,式(I))的实施例中,化合物(例如,式(I)化合物)不包括以下化合物

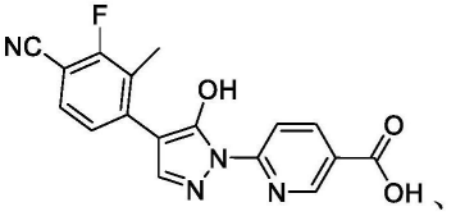
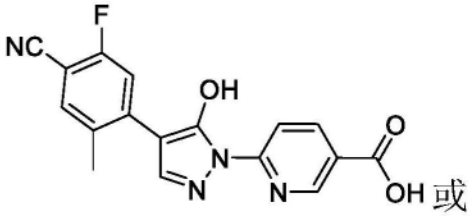
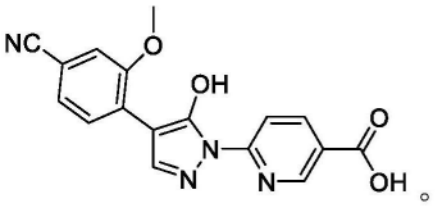
[0349] 

[0350] 在实施例中,式(A)化合物或式(I)化合物具有以下结构,

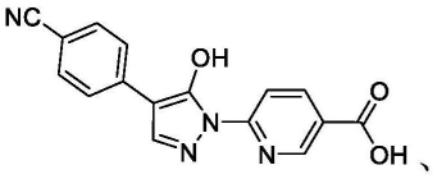
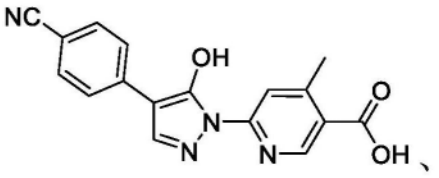
[0351]  (Ia),或其药学上可接受的盐,其中X、Y、Z、R^1、R^2、R^3和R^4如本文任何地方所定义。

[0352] 在本文所述的式(例如,式(Ia))的实施例中,化合物(例如,式(Ia)化合物)不是

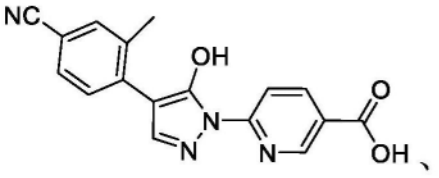
、、、、

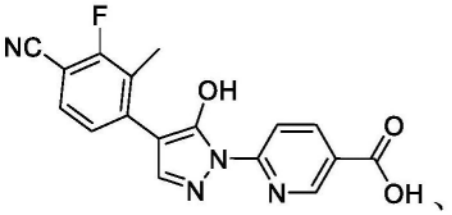
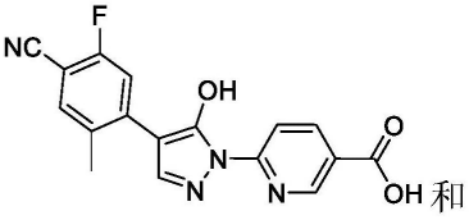
[0353] 、或。

[0354] 在本文所述的式(例如,式(Ia))的实施例中,化合物(例如,式(Ia)化合物)不包括以下化合物

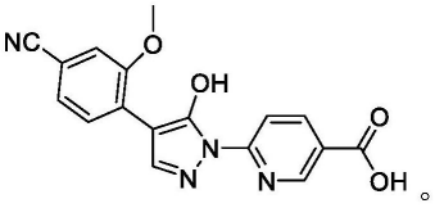



[0355]

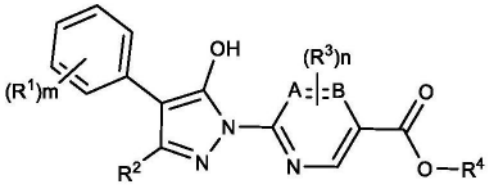


[0356]

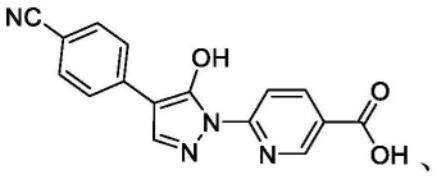
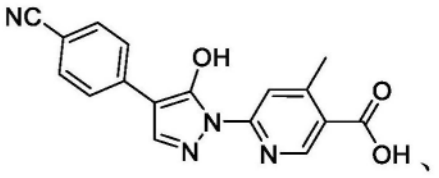
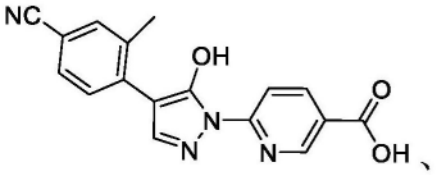
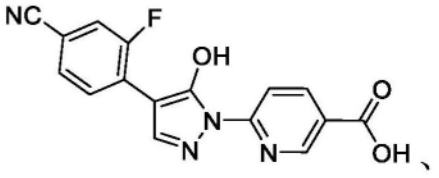


[0357] 在实施例中,式(A)化合物或式(I)化合物具有以下结构,

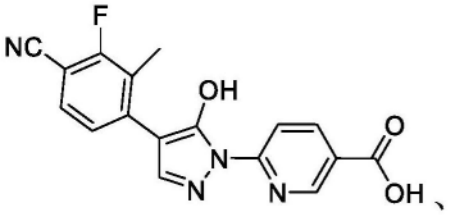
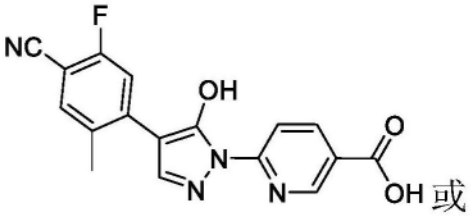
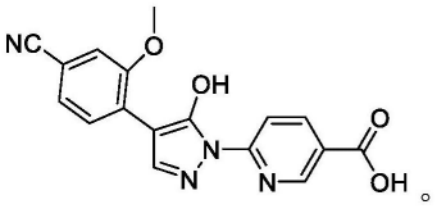
[0358]  (Ib),

或其药学上可接受的盐,其中R^1、R^2、R^3和R^4如本文任何地方所定义。

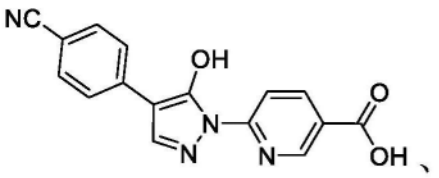
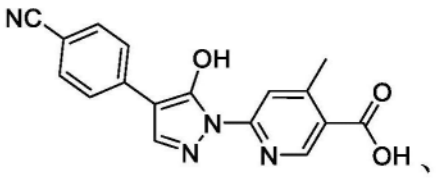
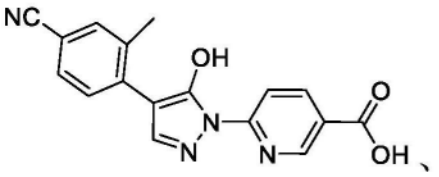
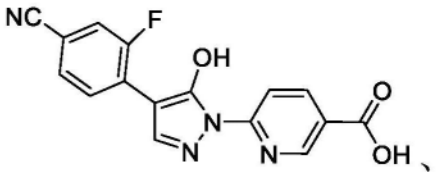
[0359] 在本文所述的式(例如,式(Ib))的实施例中,化合物(例如,式(Ib)化合物)不是


、

、

、

、

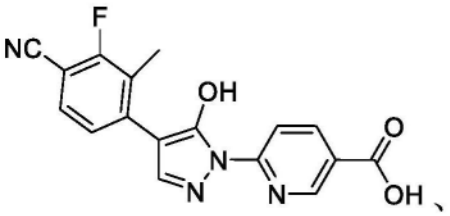
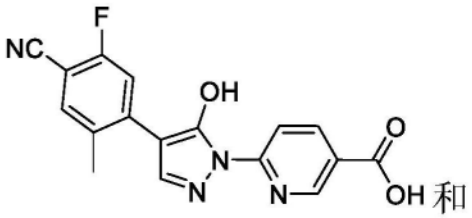
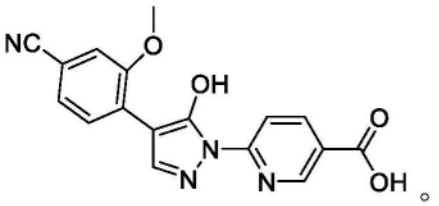
[0360]


、

或

。

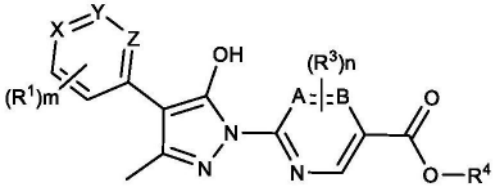
[0361] 在本文所述的式(例如,式(Ib))的实施例中,化合物(例如,式(Ib)化合物)不包括以下化合物


、

、

、

、

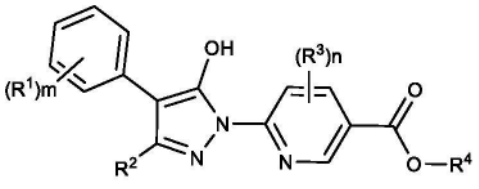
[0362]


、

和

。

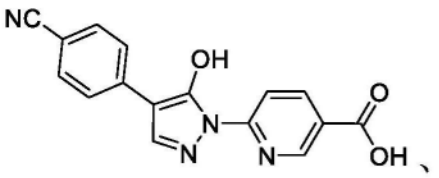
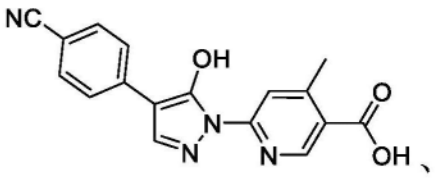
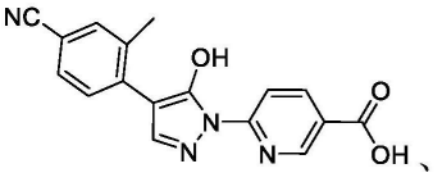
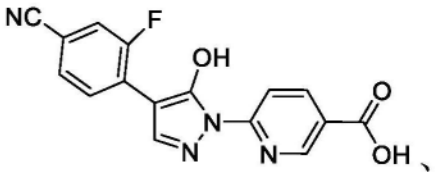
[0363] 在实施例中,式(A)化合物或式(I)化合物具有以下结构,

[0364] 
（Ic），或其药学上可接受的盐,其中A、B、X、Y、Z、R^1、R^3和R^4如本文任何地方所定义。

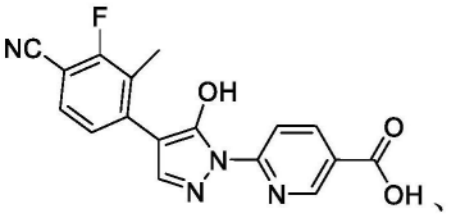
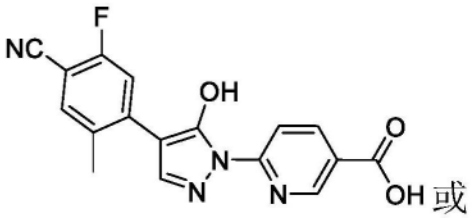
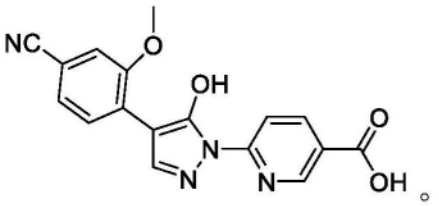
[0365] 在实施例中,式(A)化合物或式(I)化合物具有以下结构,

[0366] 
（II），或其药学上可接受的盐,其中R^1、R^2、R^3和R^4如本文任何地方所定义。

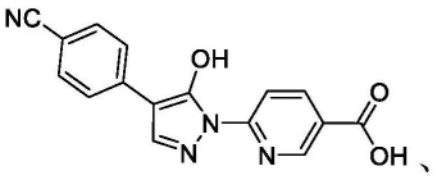
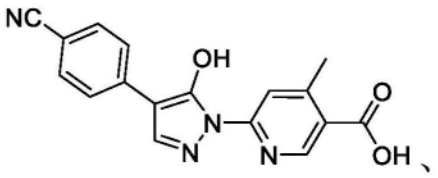
[0367] 在本文所述的式(例如,式(II))的实施例中,化合物(例如,式(II)化合物)不是

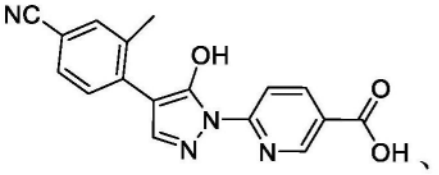
[0368]

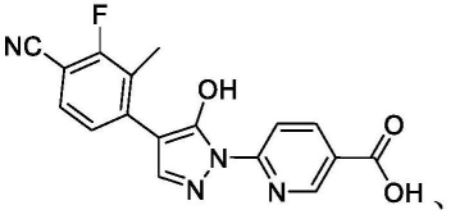
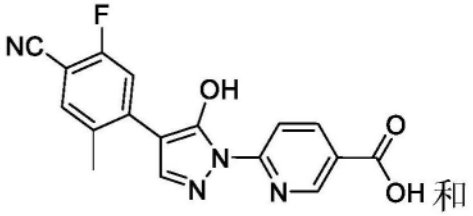




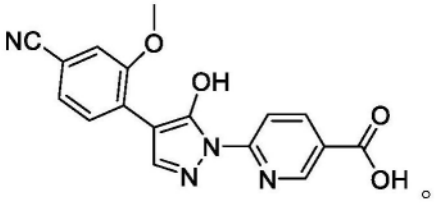
[0369] 在本文所述的式(例如,式(II))的实施例中,化合物(例如,式(II)化合物)不包括以下化合物

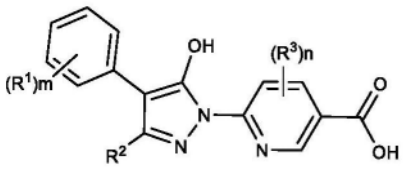
[0370]



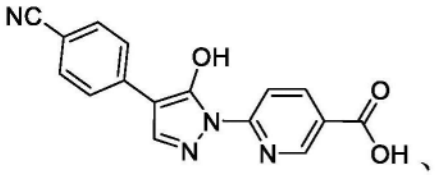
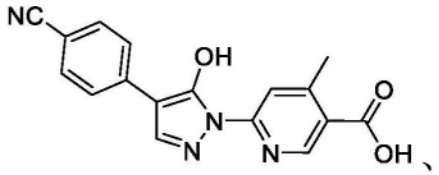



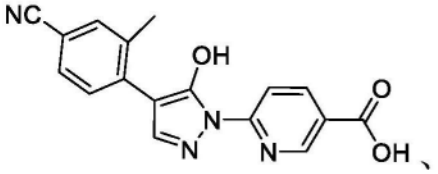
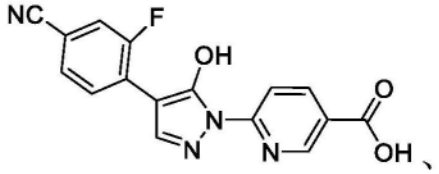
[0371] 。

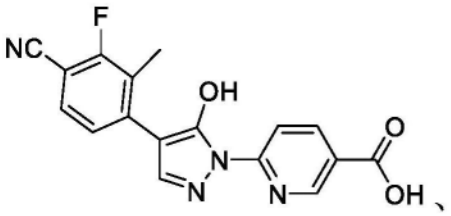
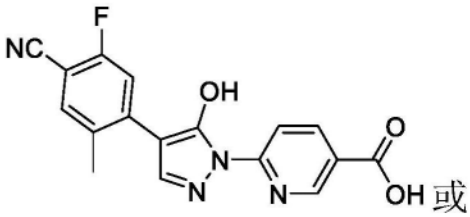
[0372] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构,

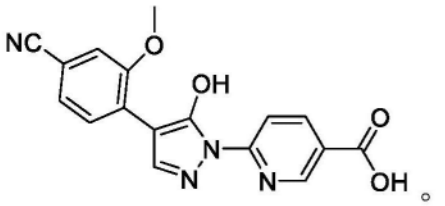
[0373] （IIa），或其药学上可接受的盐,其中R^1、R^2和R^3如本文任何地方所定义。

[0374] 在本文所述的式(例如,式(IIa))的实施例中,化合物(例如,式(IIa)化合物)不是

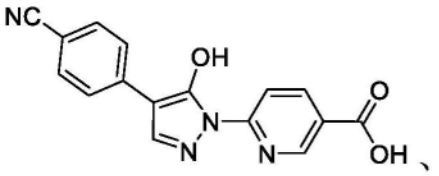
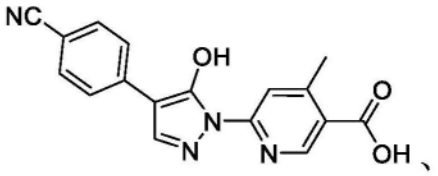
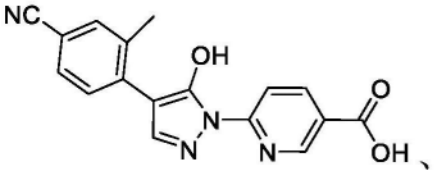
、、

、、

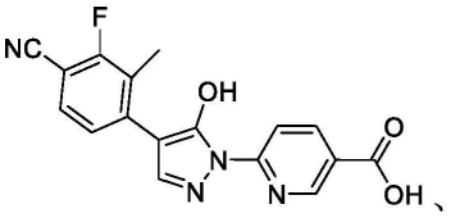
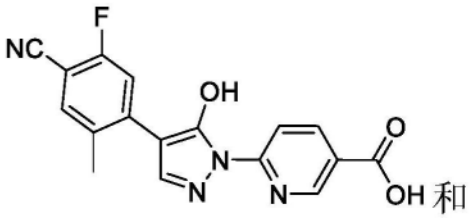
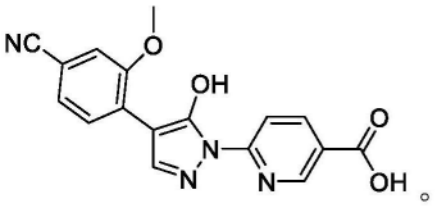
[0375] 、或

。

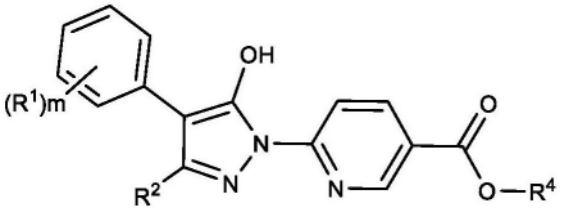
[0376] 在本文所述的式(例如,式(IIa))的实施例中,化合物(例如,式(IIa)化合物)不包括以下化合物


[0377]

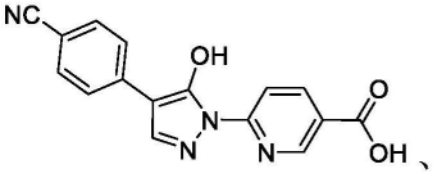
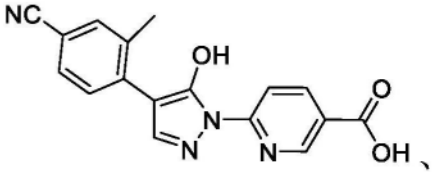


和

。

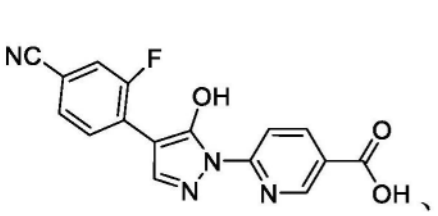
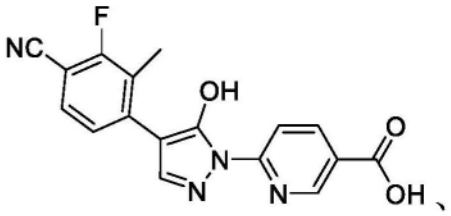
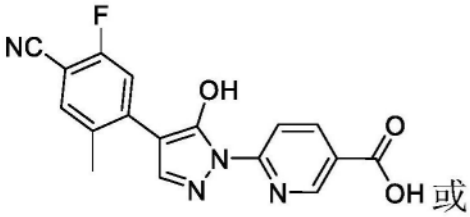
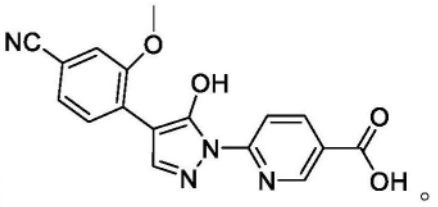
[0378] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构,

[0379] 
（IIb），

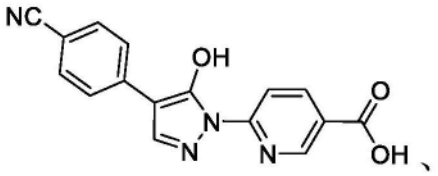
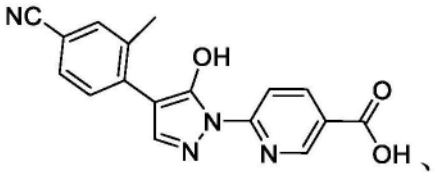
或其药学上可接受的盐,其中R^1、R^2和R^4如本文任何地方所定义。

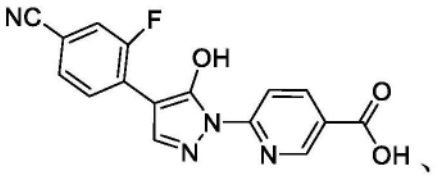
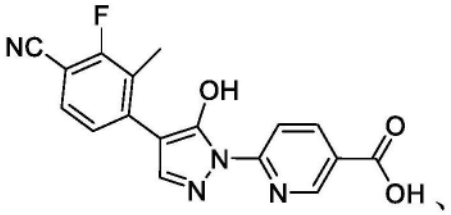
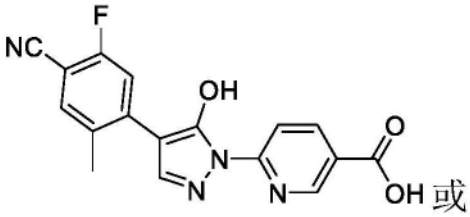
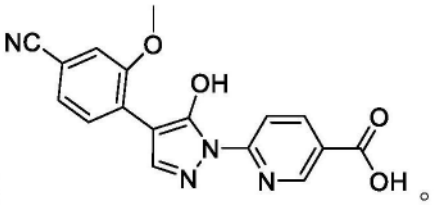
[0380] 在本文所述的式(例如,式(IIb))的实施例中,化合物(例如,式(IIb)化合物)不是

[0381] 


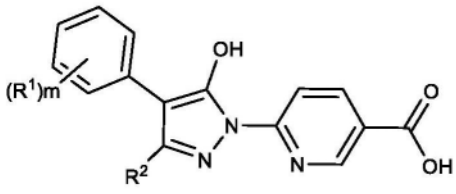
[0382] 、、或。

[0383] 在本文所述的式(例如,式(IIb))的实施例中,化合物(例如,式(IIb)化合物)不包括以下化合物

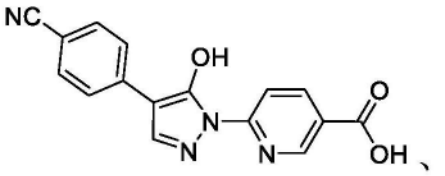
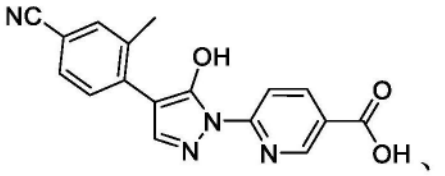
、、

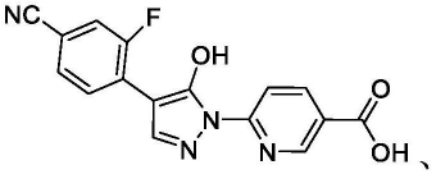
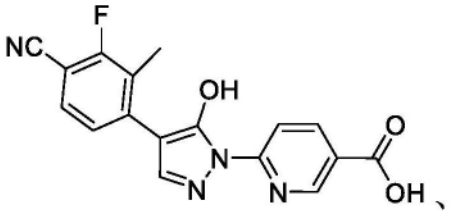
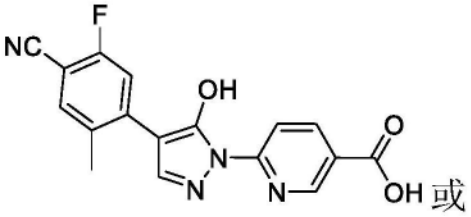
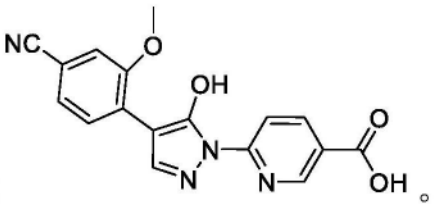
[0384] 、、或。

[0385] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构,

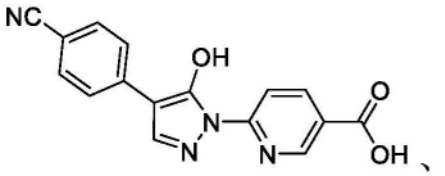
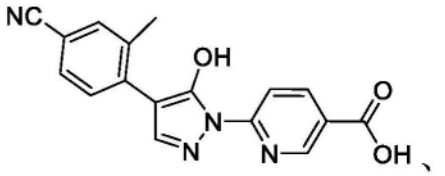
[0386] (IIc),或其药学上可接受的盐,其中R^1和R^2如本文任何地方所定义。

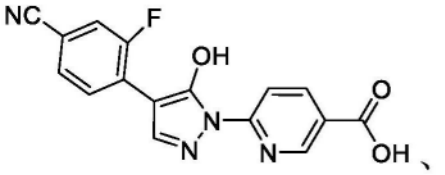
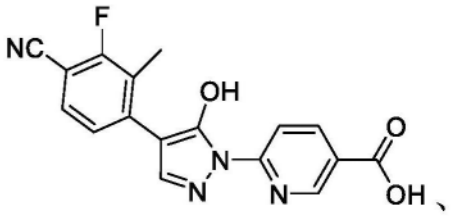
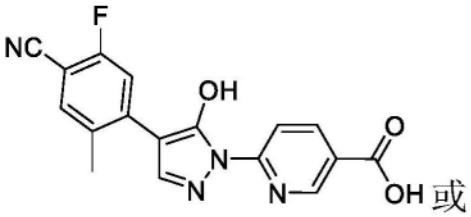
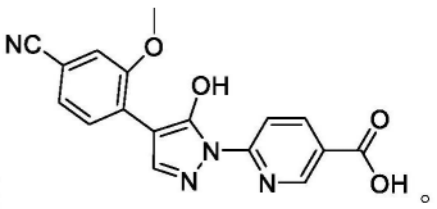
[0387] 在本文所述的式(例如,式(IIc))的实施例中,化合物(例如,式(IIc)化合物)不是


、

、

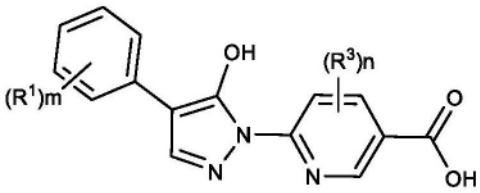
[0388]

、

、

或

。

[0389] 在本文所述的式(例如,式(IIc))的实施例中,化合物(例如,式(IIc)化合物)不包括以下化合物


、

、

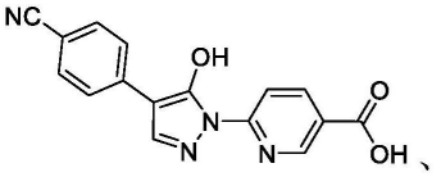
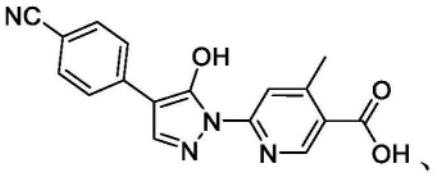
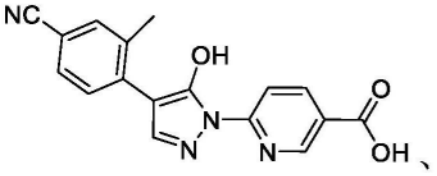
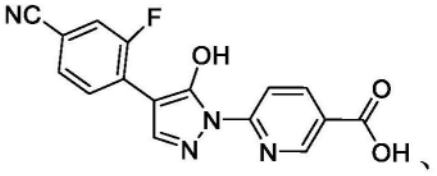
[0390]

、

、

或

。

[0391] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构,

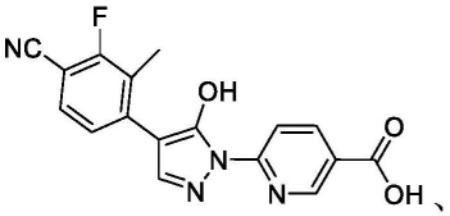
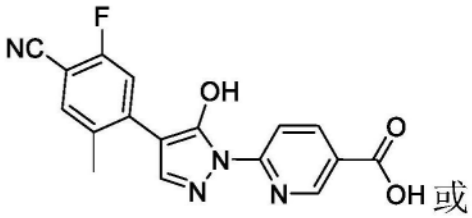
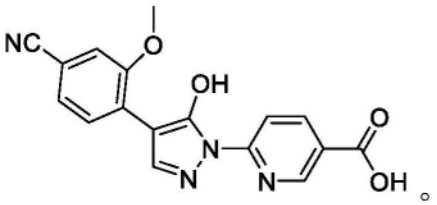
[0392]

(IId),

或其药学上可接受的盐,其中R^1和R^3如本文任何地方所定义。

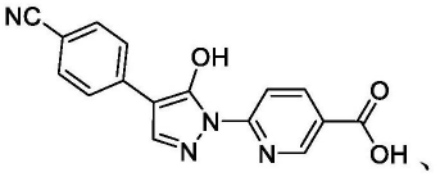
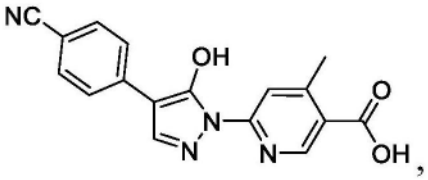
[0393] 在本文所述的式(例如,式(IId))的实施例中,化合物(例如,式(IId)化合物)不是


、

、

、

、

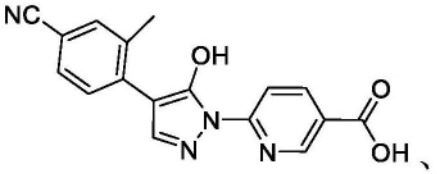
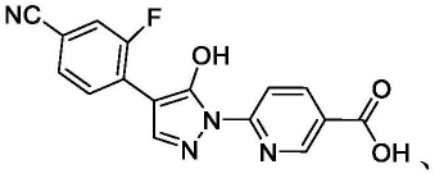
[0394]

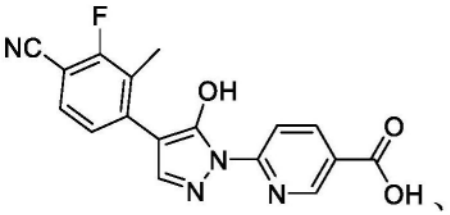
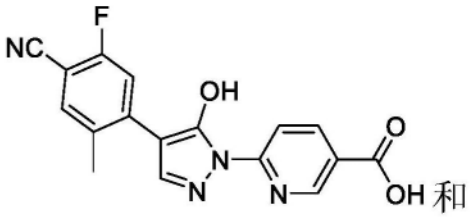
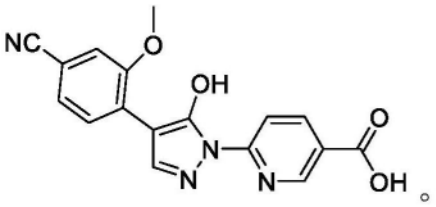

、

或

。

[0395] 在本文所述的式(例如,式(IId))的实施例中,化合物(例如,式(IId)化合物)不包括以下化合物

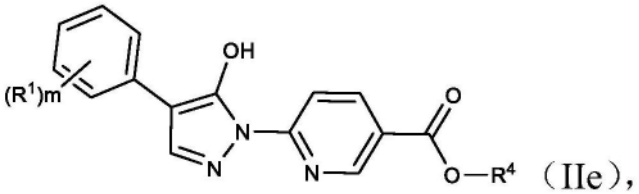

、

,

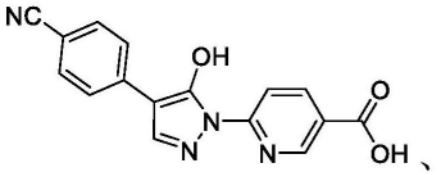
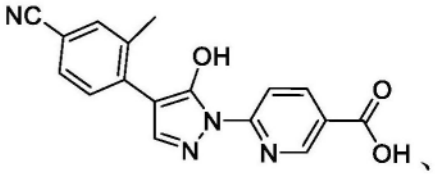
[0396]

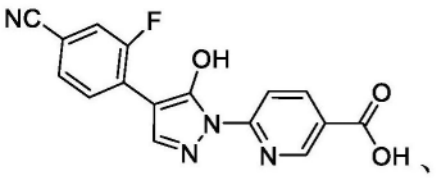
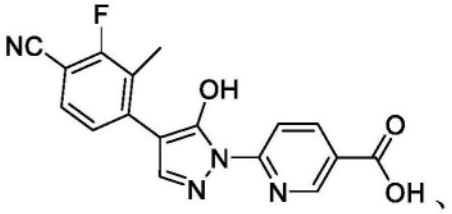
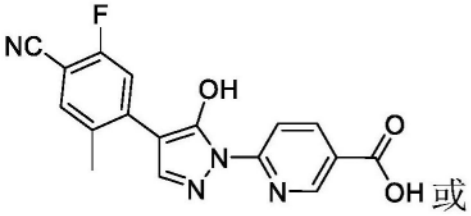
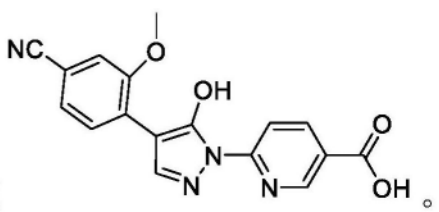

、

、

[0397]  、 和  。

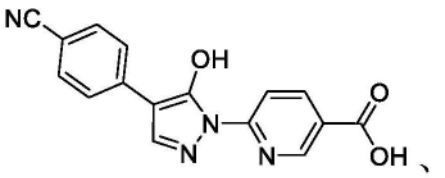
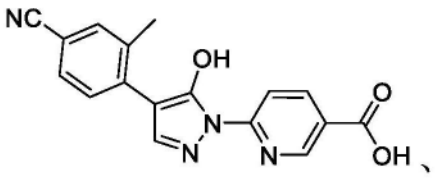
[0398] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构,

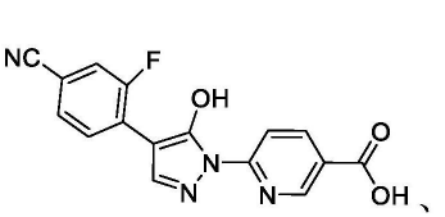
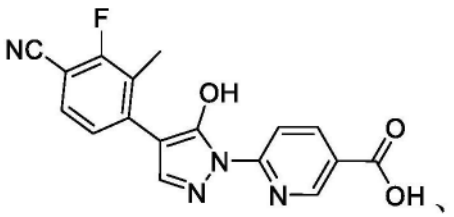
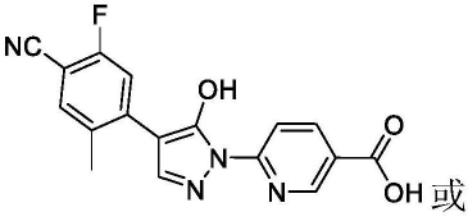
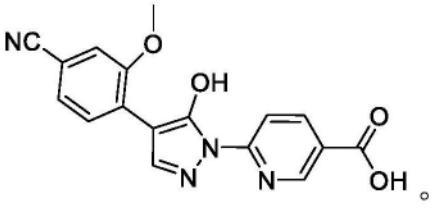
[0399]  （IIe），或其药学上可接受的盐,其中R^1和R^4如本文任何地方所定义。

[0400] 在本文所述的式(例如,式(IIe))的实施例中,化合物(例如,式(IIe)化合物)不是  、 、

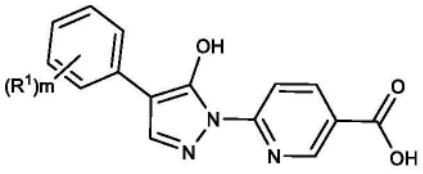
[0401]  、 、 或  。

[0402] 在本文所述的式(例如,式(IIe))的实施例中,化合物(例如,式(IIe)化合物)不包括以下化合物

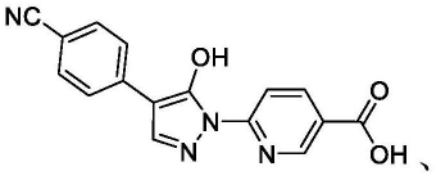
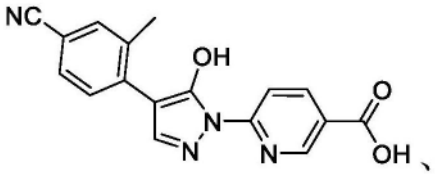

、

、

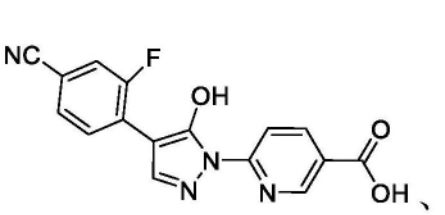
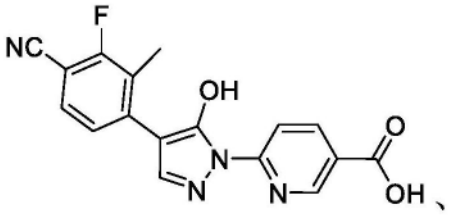
[0403]

、

、

或

。

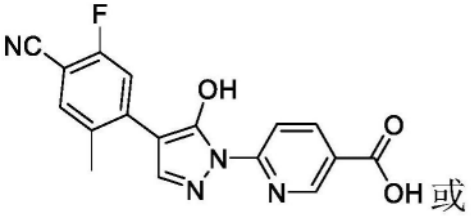
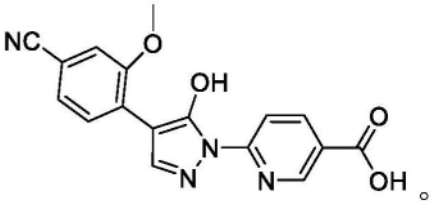
[0404] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构,

[0405]

(IIf),
或其药学上可接受的盐,其中R^1如本文任何地方所定义。

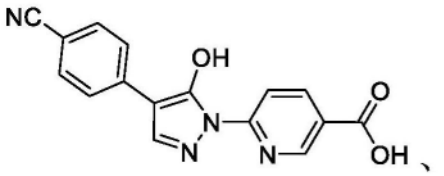
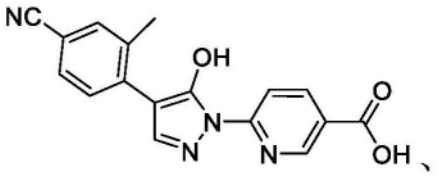
[0406] 在本文所述的式(例如,式(IIf))的实施例中,化合物(例如,式(IIf)化合物)不是

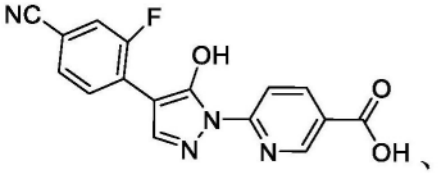
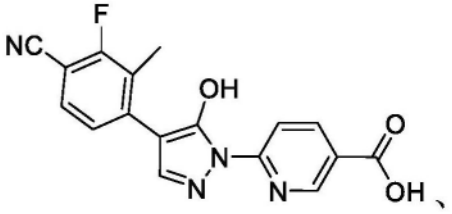
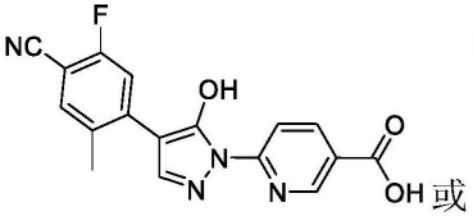
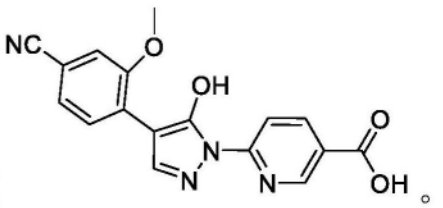

、

、

[0407]

、

、

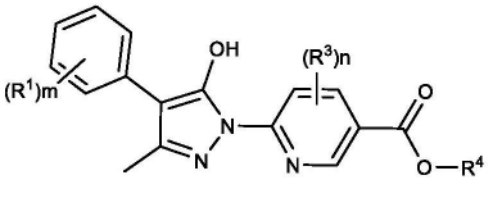
[0408]

或

。

[0409] 在本文所述的式(例如,式(IIf))的实施例中,化合物(例如,式(IIf)化合物)不包括以下化合物

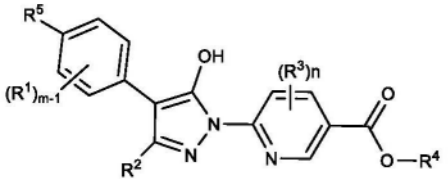

、

、

[0410]

、

、

或

。

[0411] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构,

[0412]

(IIg),
或其药学上可接受的盐其中R^1、R^3和R^4如本文任何地方所定义。

[0413] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物或式(II)化合物具有以下结构,

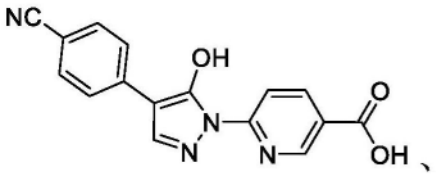
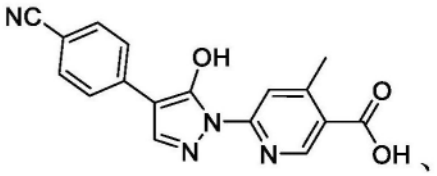
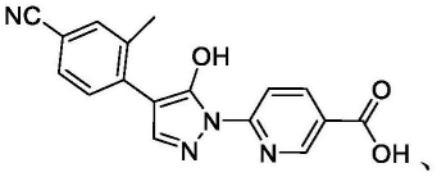
[0414]

(III),
或其药学上可接受的盐,其中R^1、R^2、R^3和R^4如本文任何地方所定义,并且其中

[0415] R^5为CN或卤素。

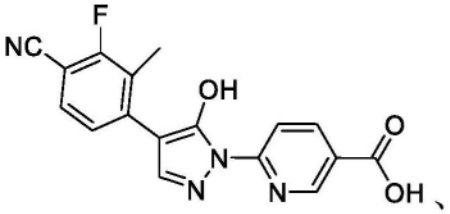
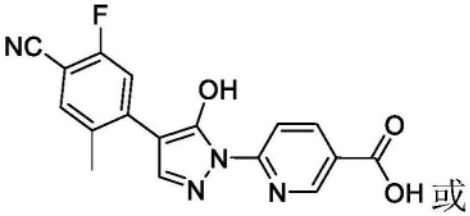
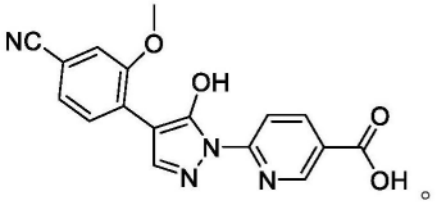
[0416] 在实施例中,R^5为CN。

[0417] 在实施例中,R^5为卤素。在实施例中,卤素为F。在实施例中,卤素为Cl。在实施例中,卤素为Br。在实施例中,卤素为I。

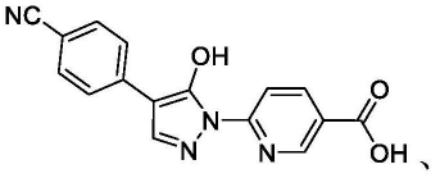
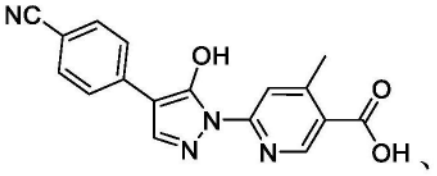
[0418] 在本文所述的式(例如,式(III))的实施例中,化合物(例如,式(III)化合物)不是

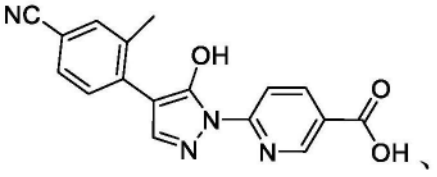
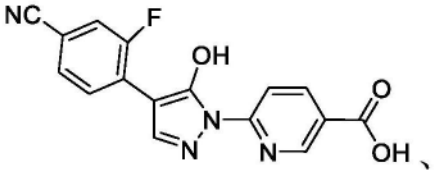

[0419]

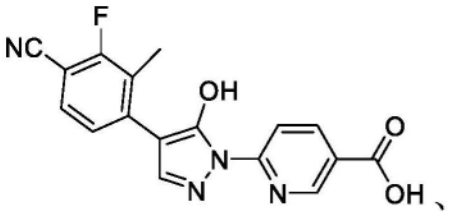
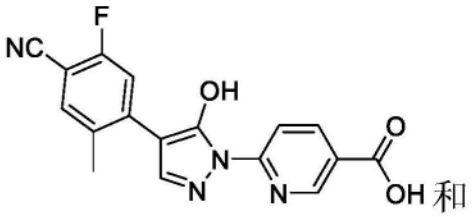
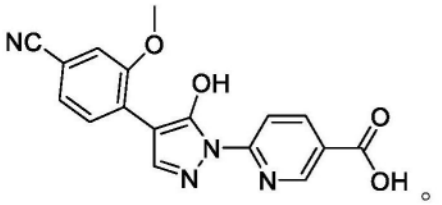


或

。

[0420] 在本文所述的式(例如,式(III))的实施例中,化合物(例如,式(III)化合物)不包括以下化合物

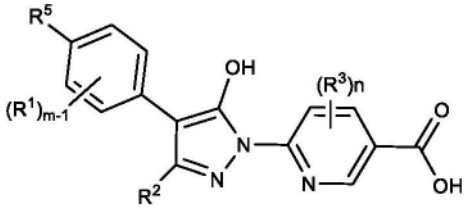



[0421]

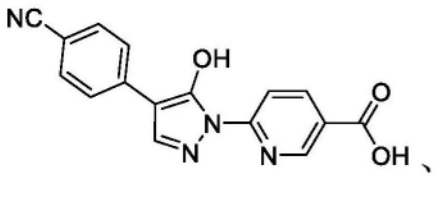
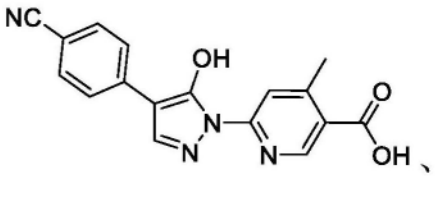
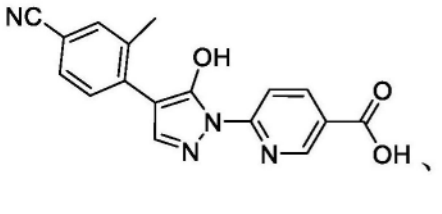
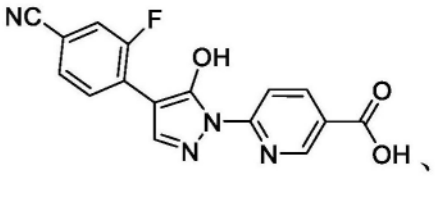
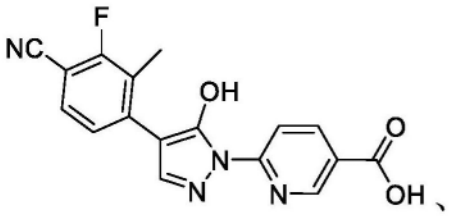
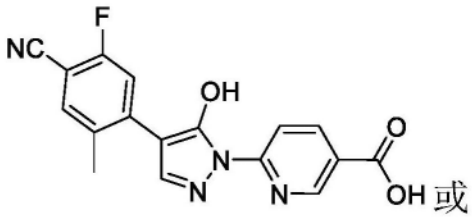



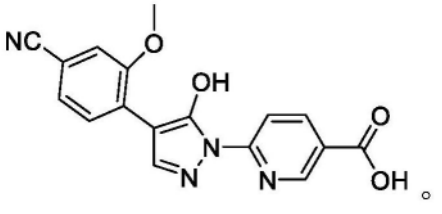
[0422] 、和。

[0423] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物、式(II)化合物或式(III)化合物具有以下结构,

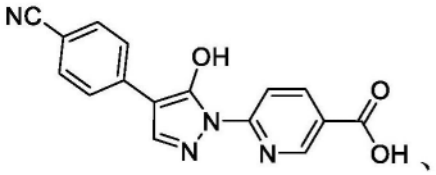
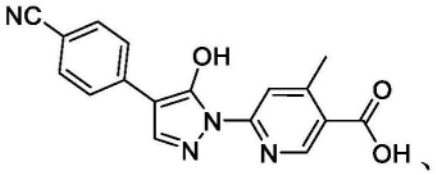
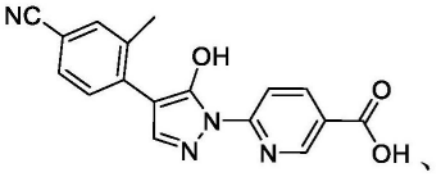
[0424] (IIIa),或其药学上可接受的盐,其中R^1、R^2、R^3、R^4和R^5如本文任何地方所定义。

[0425] 在本文所述的式(例如,式(IIIa))的实施例中,化合物(例如,式(IIIa)化合物)不是

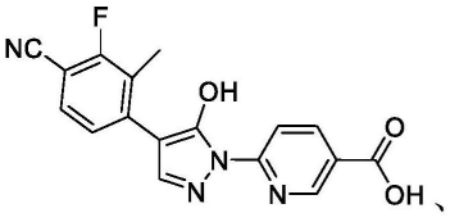
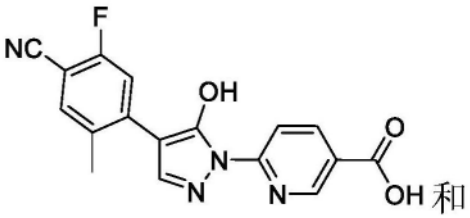
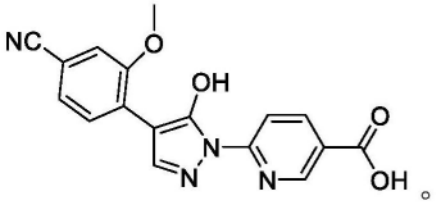
[0426] 、、、、、或

[0427] 。

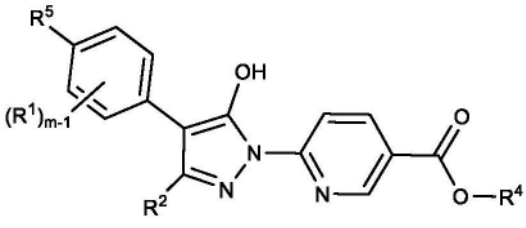
[0428] 在本文所述的式(例如,式(IIIa))的实施例中,化合物(例如,式(IIIa)化合物)不包括以下化合物


、

、

、

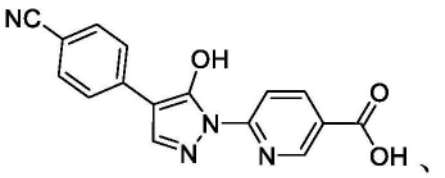
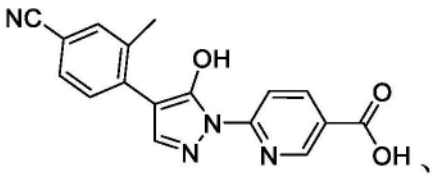
、

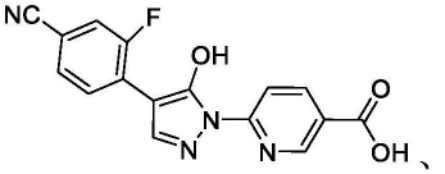
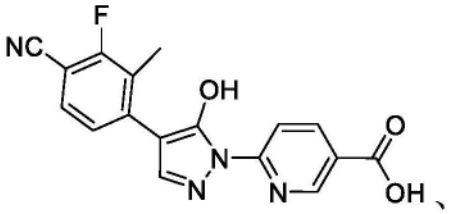
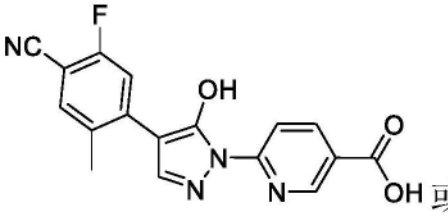
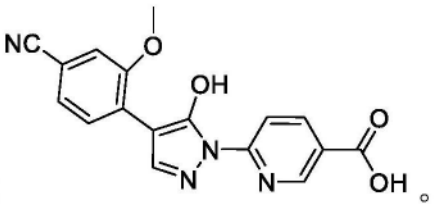
[0429]

、

和

。

[0430] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物、式(II)化合物或式(III)化合物具有以下结构,

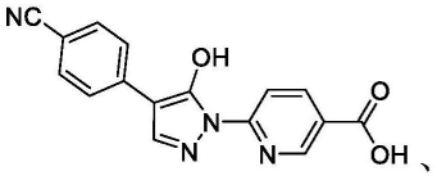
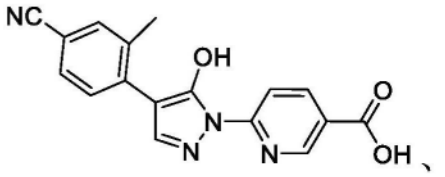
[0431]

(IIIb),
或其药学上可接受的盐,其中R^1、R^2、R^4和R^5如本文任何地方所定义。

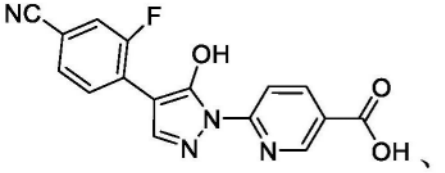
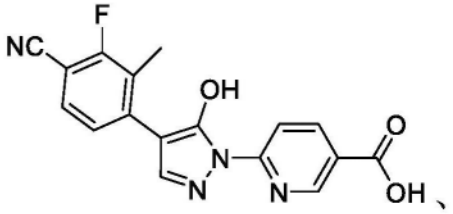
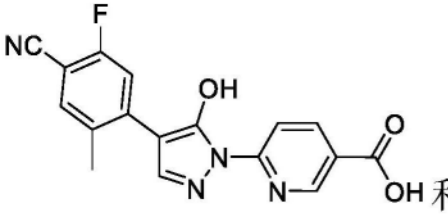
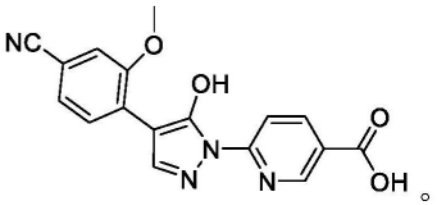
[0432] 在本文所述的式(例如,式(IIIb))的实施例中,化合物(例如,式(IIIb)化合物)不是


、

、

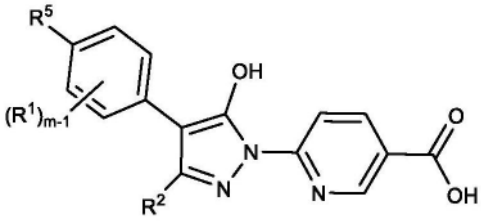
[0433]

、

、

或

。

[0434] 在本文所述的式(例如,式(IIIb))的实施例中,化合物(例如,式(IIIb)化合物)不包括以下化合物

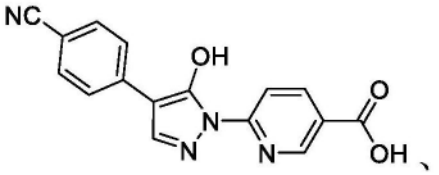
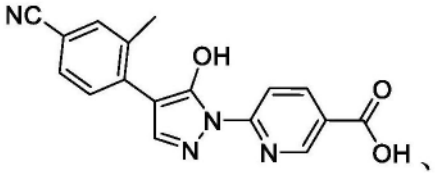

、

、

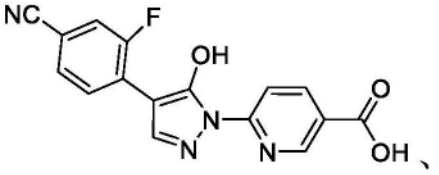
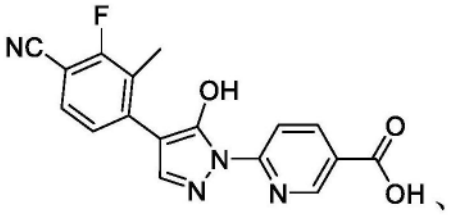
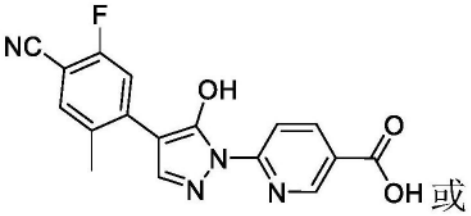
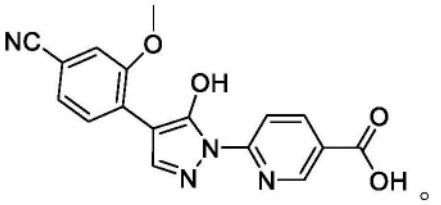
[0435]

、

、

和

。

[0436] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物、式(II)化合物或式(III)化合物具有以下结构,

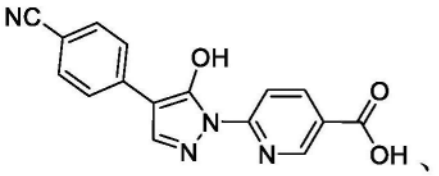
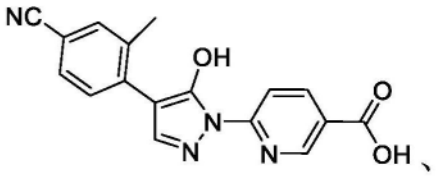
[0437]

(IIIc),
或其药学上可接受的盐,其中R^1、R^2、和R^5如本文任何地方所定义。

[0438] 在本文所述的式(例如,式(IIIc))的实施例中,化合物(例如,式(IIIc)化合物)不是

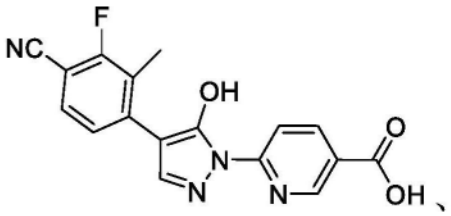

、

、

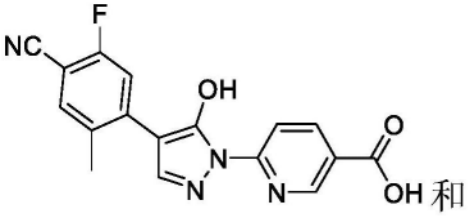
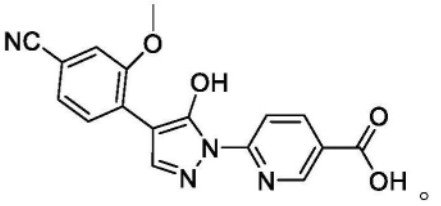
[0439]

、

、

或

。

[0440] 在本文所述的式(例如,式(IIIc))的实施例中,化合物(例如,式(IIIc)化合物)不包括以下化合物

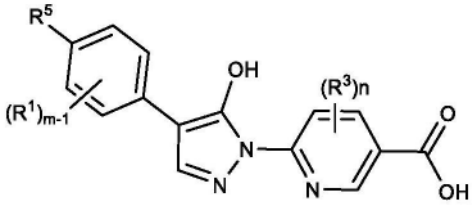

、

、

[0441]

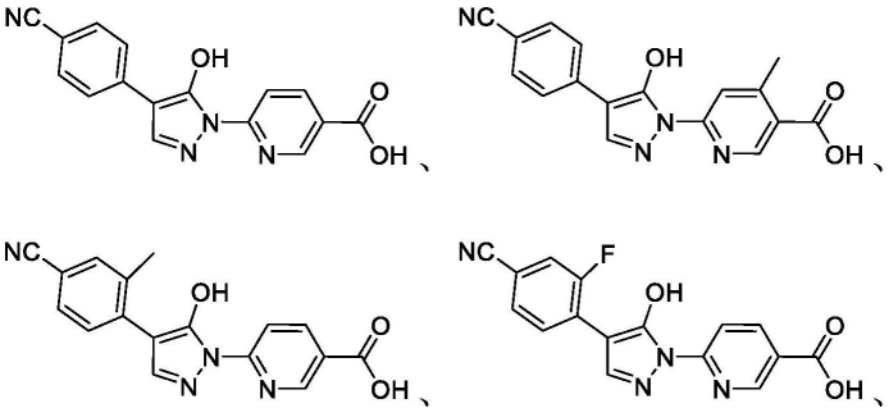
、

、

[0442]

和

。

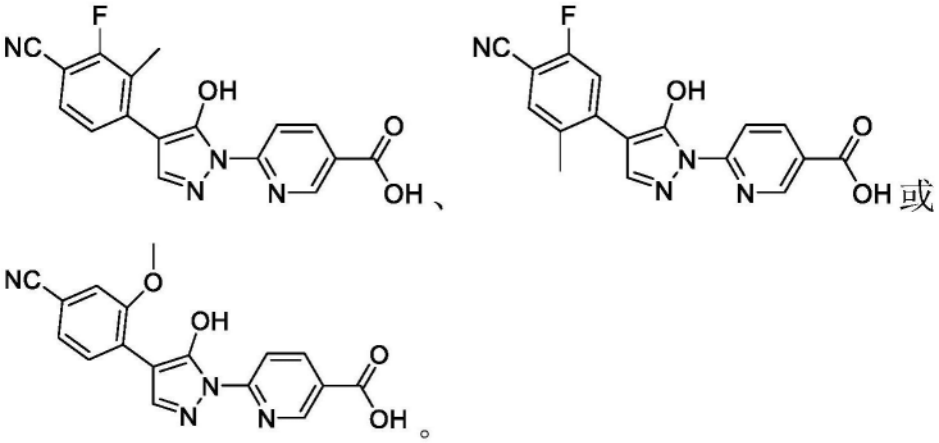
[0443] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物、式(II)化合物或式(III)化合物具有以下结构,

[0444]  或其药学上可接受的盐,其中R^1、R^3、和R^5如本文任何地方所定义。

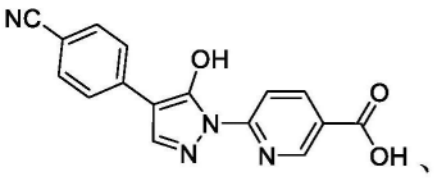
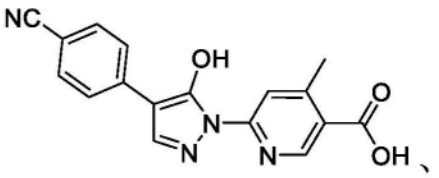
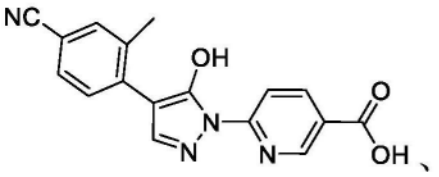
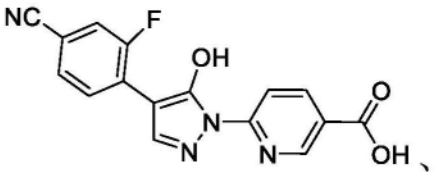
[0445] 在本文所述的式(例如,式(IIId))的实施例中,化合物(例如,式(IIId)化合物)不是



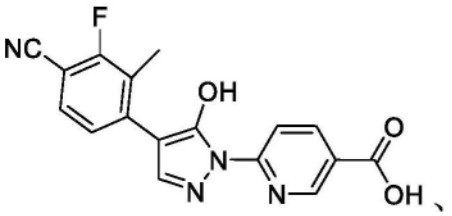
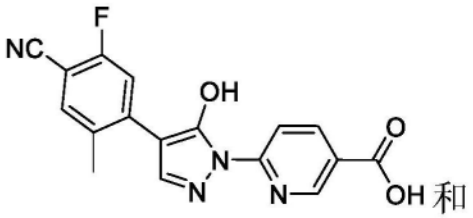
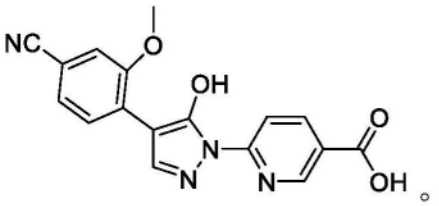
[0446]



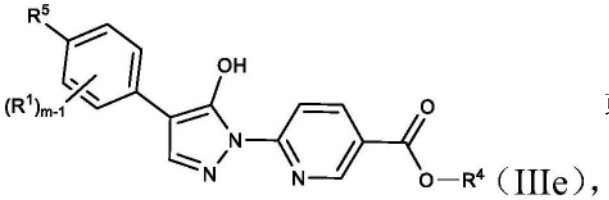
[0447] 在本文所述的式(例如,式(IIId))的实施例中,化合物(例如,式(IIId)化合物)不包括以下化合物


、

、

、

、

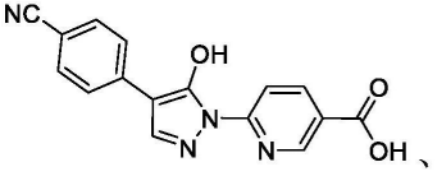
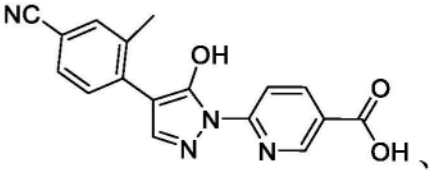
[0448]

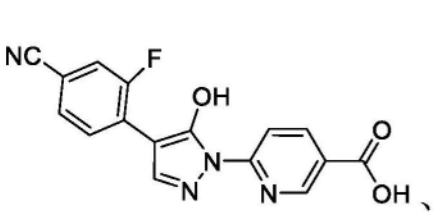
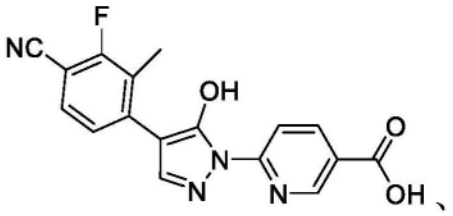
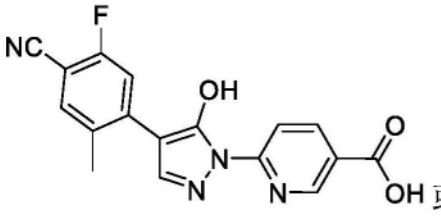
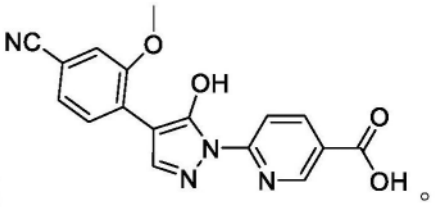

、

和

。

[0449] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物、式(II)化合物或式(III)化合物具有以下结构,

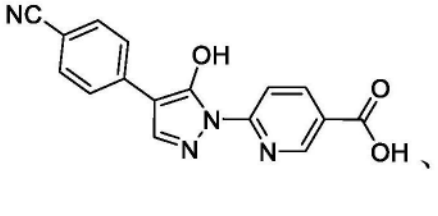
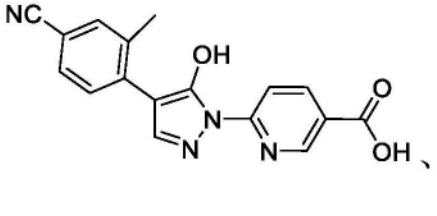
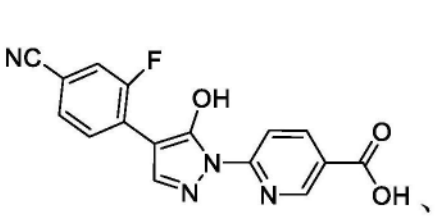
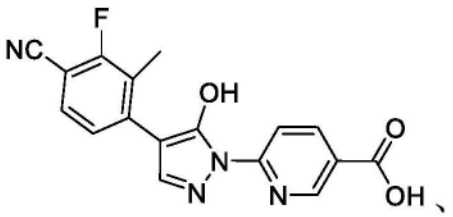
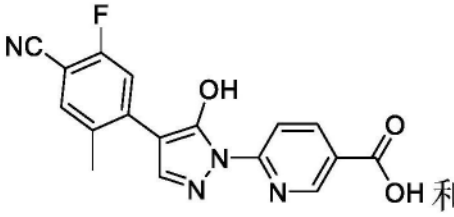
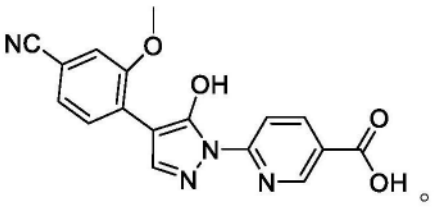
[0450] 
或其药学上可接受的盐,其中R^1、R^4、和R^5如本文任何地方所定义。

[0451] 在本文所述的式(例如,式(IIIe))的实施例中,化合物(例如,式(IIIe)化合物)不是

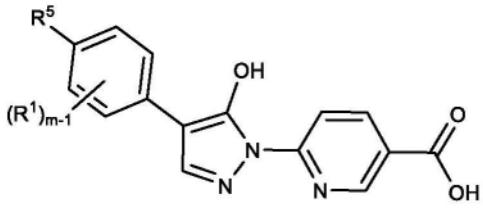
[0452] 
、

、

[0453] 、、、或。

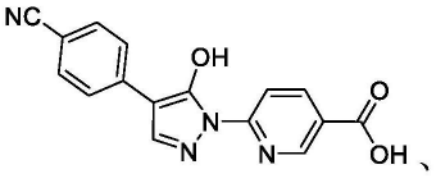
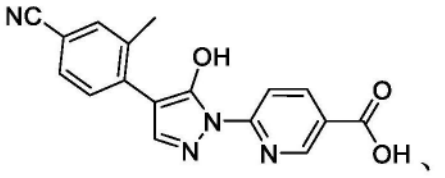
[0454] 在本文所述的式(例如,式(IIIe))的实施例中,化合物(例如,式(IIIe)化合物)不包括以下化合物

[0455] 、、、、、和。

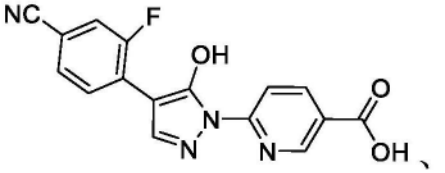
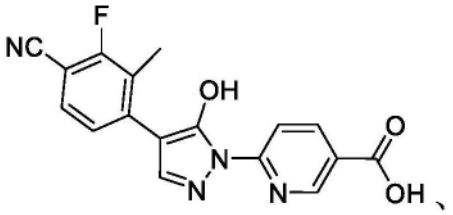
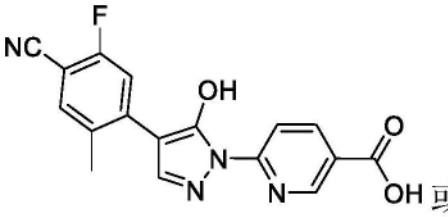
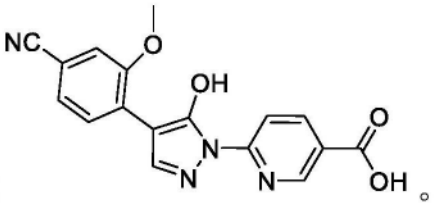
[0456] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物、式(II)化合物或式(III)化合物具有以下结构,

[0457] (IIIf),或其药学上可接受的盐,其中R^1和R^5如本文任何地方所定义。

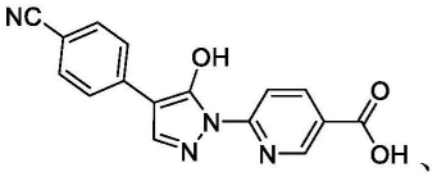
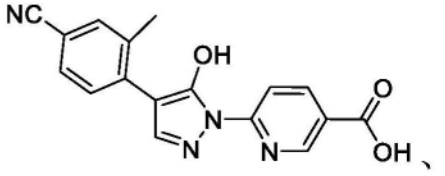
[0458] 在本文所述的式(例如,式(IIIf))的实施例中,化合物(例如,式(IIIf)化合物)不是

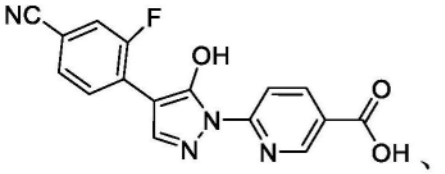
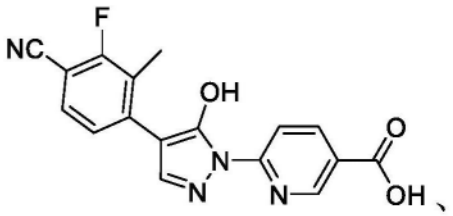
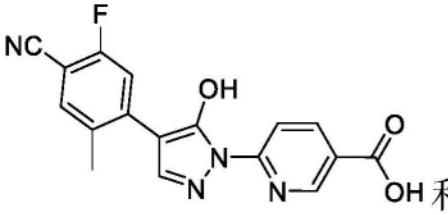
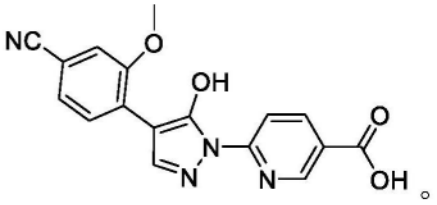
[0459]

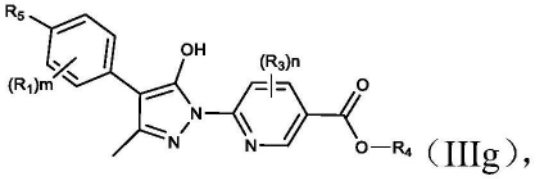
[0460] 在本文所述的式(例如,式(IIIf))的实施例中,化合物(例如,式(IIIf)化合物)不包括以下化合物

[0461]

[0462] 在实施例中,式(A)化合物、式(I)化合物、式(II)化合物或式(III)化合物具有以下结构,

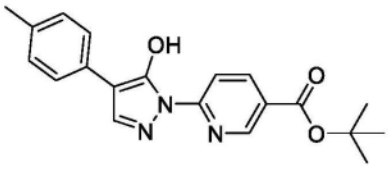
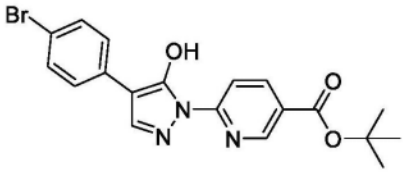
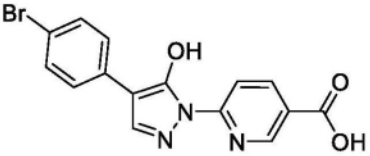
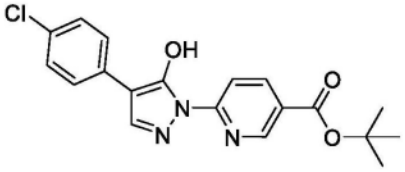
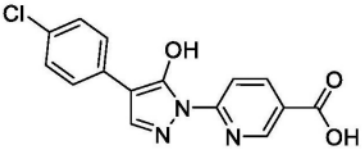
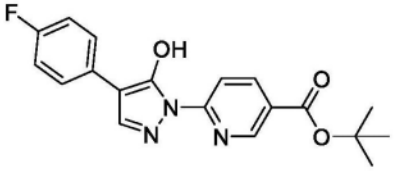
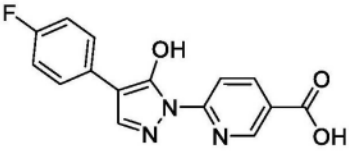
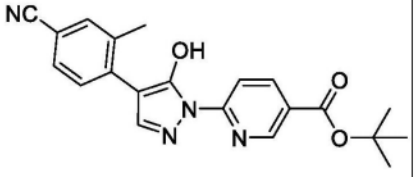
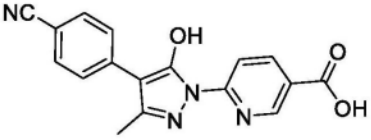
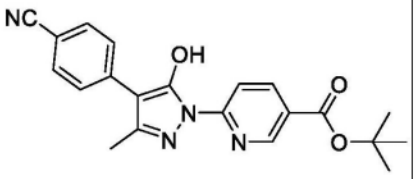
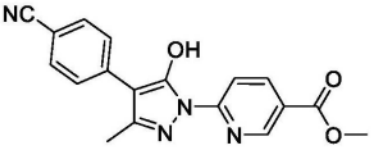
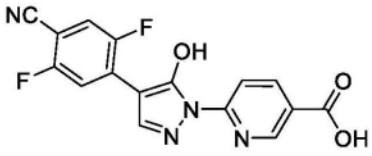
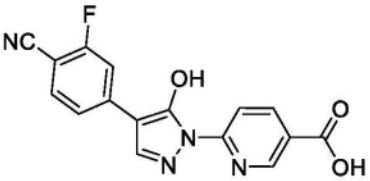
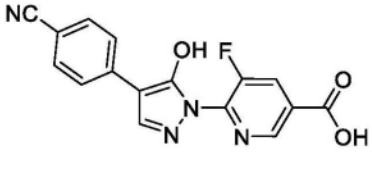
[0463] 

或其药学上可接受的盐,其中R^1、R^3、R^4和R^5如本文任何地方所定义。

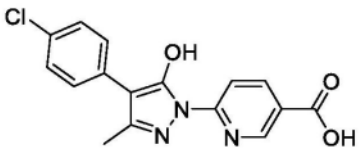
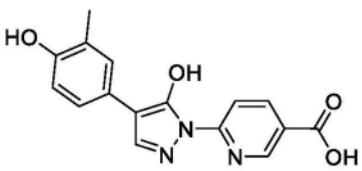
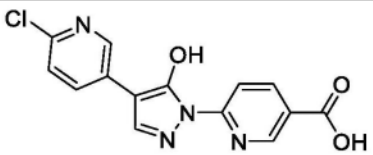
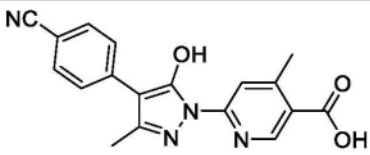
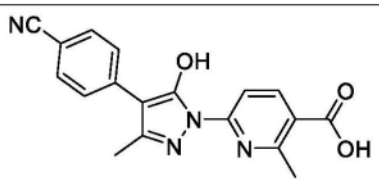
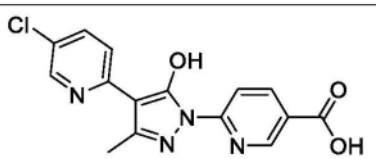
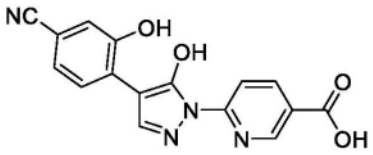
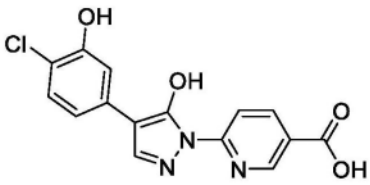
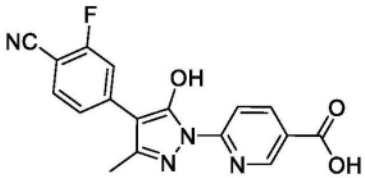
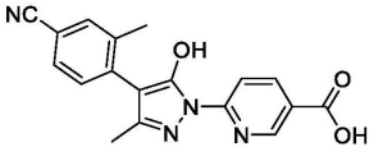
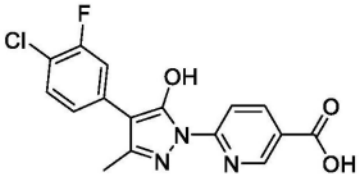
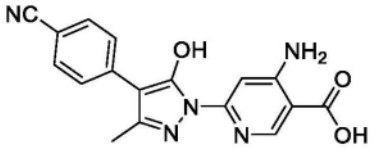
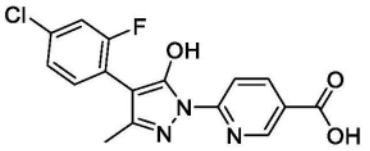
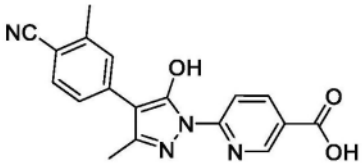
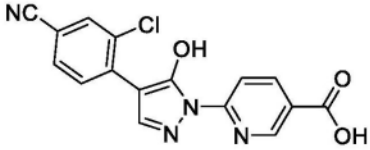
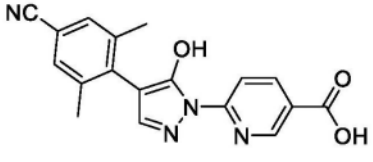
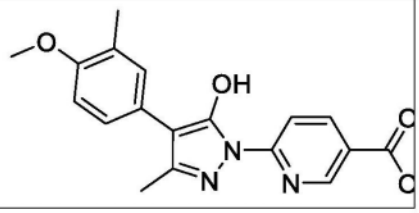
[0464] 示例性化合物

[0465] 在一些实施例中,PHD抑制剂化合物是化合物1-44中的任一种或其药学上可接受的盐。

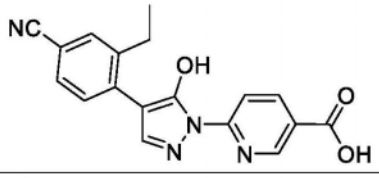
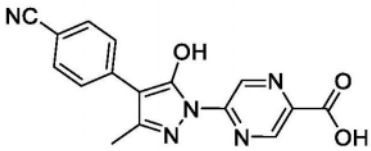
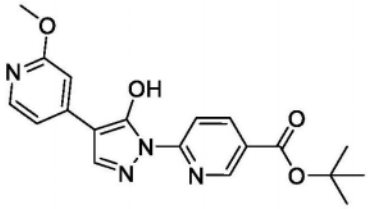
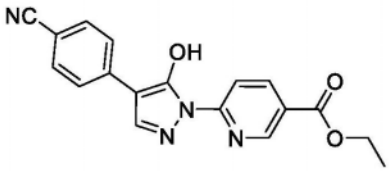
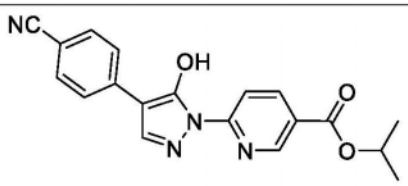
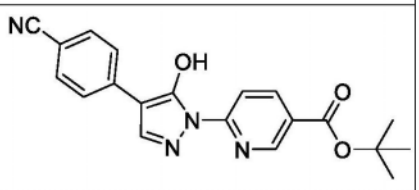
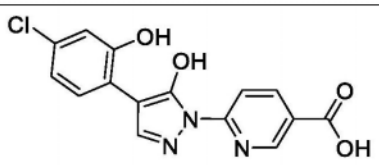
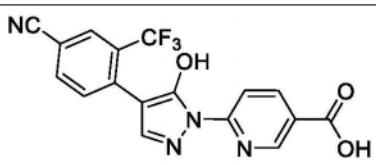
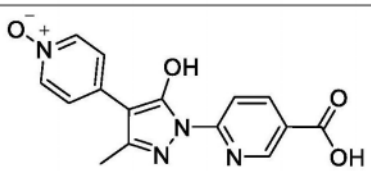
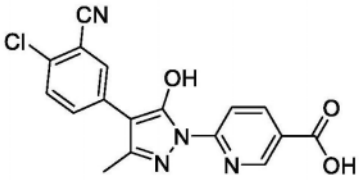
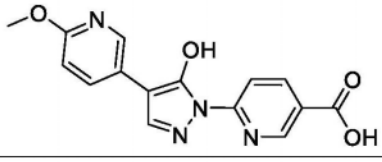
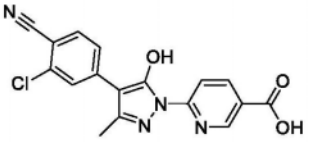
[0466]

化合物编号	结构	化合物编号	结构
1		2	
3		4	
5		6	
7		8	
9		10	
11		12	
13		14	

[0467]

15		16	
17		18	
19		20	
21		22	
23		24	
25		26	
27		28	
29		30	
31		32	

[0468]

33		34	
35		36	
37		38	
39		40	
41		42	
43		44	

[0469] 同位素体

[0470] 应当理解,在本文所述的化合物中(例如,式(A)和(I)-(III)中任一者的化合物,如化合物1-44中的任一种),原子可以表现出它们的天然同位素丰度,或者一个或多个原子可以人工富集具有相同原子序数但原子质量或质量序数不同于自然界中主要存在的原子质量或质量序数的特定同位素。本发明意在包含本文所述化合物的所有合适的同位素变体(例如,式(A)和(I)-(III)中任一者的化合物,如化合物1-44中的任一种)。例如,氢(H)的不同同位素形式包含氕(^{1}H)、氘(^{2}H)和氚(^{3}H)。氕是自然界中发现的主要氢同位素。

[0471] 在一些实施例中,本文所述的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)中任一者的化合物,如化合物1-44中的任一种)的一个或多个氢被氘替代。富集氘可提供某些治疗优势,如增加体内半衰期或降低剂量要求,或可提供可用作表征生物样品的标准品的化合物。在一些实施例中,本文所述的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)中任一者的化合物,如化合物1-44中的任一种)的一个或多个氢被氚替代。氚是放射性的,因此可以提供放射性标记的化合物,其可用作代谢或动力学研究中的示踪剂。

[0472] 本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)中任一者的化合物,如化合物1-44中的任一种)的同位素富集可以通过本领域技术人员熟知的常规技术或通过类似于在本文的

方案和实例中描述的那些方法使用适当的富含同位素的试剂和/或中间体来实现而无需过度实验。

[0473] 术语“同位素体”是指除了一个或多个位置处的同位素取代位置和/或同位素富集水平之外,具有与本文提供的特定化合物相同的化学结构和化学式的物质,例如,氢与氘。因此,如本文所使用的,术语“化合物”涵盖具有相同化学结构但在分子的组成原子之间也具有同位素变化的分子的集合。因此,本领域的技术人员将清楚的是,由含有指示的氘原子的特定化学结构表示的化合物还将含有较少量的在所述结构中的一个或多个指定氘位置处具有氢原子的同位素体。所提供的化合物中此类同位素体的相对量取决于许多因素,包含但不限于用于制备所述化合物的氘化试剂的同位素纯度以及在用于制备所述化合物的各个合成步骤中氘的掺入效率。

[0474] 当一个位置被指定为“H”或“氢”时,该位置应被理解为具有按照其天然丰度同位素组成的氢。当一个位置被指定为“D”或“氘”时,该位置应被理解为具有比氘的天然丰度高至少3340倍的丰度的氘,所述氘的天然丰度为0.015%(即,术语“D”或“氘”表示至少50.1%的氘掺入)。

[0475] 在实施例中,本文提供的化合物对于存在于被指定为化合物上的潜在氘化位点的位点处的每个氘的同位素富集因子可以为至少3500(52.5%的氘掺入)、至少4000(60%的氘掺入)、至少4500(67.5%的氘掺入)、至少5000(75%的氘)、至少5500(82.5%的氘掺入)、至少6000(90%的氘掺入)、至少6333.3(95%的氘掺入)、至少6466.7(97%的氘掺入)、至少6600(99%的氘掺入)或至少6633.3(99.5%的氘掺入)。

[0476] 本发明化合物的合成

[0477] 本文所述的化合物(例如,式A和I-III中任一者的化合物,如化合物1-44中的任一种)可以根据本领域已知的方法制备,包含本文提供的实例的示例性合成,如方案A中所示的合成。

[0478] 化合物及其合成中间体的纯度通过反相HPLC使用下述任一方法测定:

[0479] 方法A:流动相:A:水(0.01% TFA)B:乙腈(0.01% TFA);梯度阶段:5%B在1.4分钟内增加到95%B,95%B持续1.6分钟(总运行时间:3分钟);流速:2.3毫升/分钟。柱:SunFire C18,4.6*50mm,3.5μm;柱温:50℃。检测器:ADC ELSD、DAD(214nm和254nm)、ES-API。

[0480] 方法B:流动相:A:水(10mM NH_4HCO_3)B:乙腈;梯度阶段:在1.5分钟内从5%到95%B,95%B持续1.5分钟(总运行时间:3分钟);流速:2.0毫升/分钟;柱:XBridge C18,4.6*50mm,3.5um;柱温:40℃。检测器:ADC ELSD、DAD(214nm和254nm)、MSD(ES-API)。

[0481] 本文使用的缩写和首字母缩写包含以下内容:

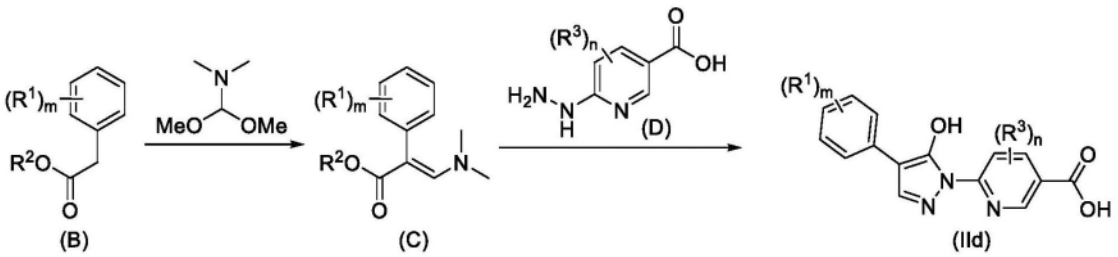
[0482]

术语	首字母缩写
4-二甲氨基吡啶	DMAP
乙酰基	Ac
水溶液	aq.
苄基	Bn
叔丁基羰基	Boc
宽单峰	brs
二氯甲烷	DCM
二甲亚砜	DMSO
双峰	d
电喷射离子化	ESI
当量	eq
乙酸乙酯	EtOAc
克	g
己烷	Hex
高效液相色谱法	HPLC
小时	hr
异丙基	*i*-Pr
液相色谱-质谱法	LCMS
兆赫	MHz
间氯过氧苯甲酸	*m*-CPBA
甲醇	MeOH
毫克	mg
毫升	mL
分钟	min
多重峰	m
N,*N*-二异丙基乙胺	DIPEA
N,*N*-二甲基甲酰胺	DMF

[0483]

N,N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛	DMF-DMA
正常	N
核磁共振	NMR
碳负载钯	Pd/C
五重峰	p
石油醚	PE
苯基	Ph
四重峰	q
室温	RT
单峰	s
四氢呋喃	THF
薄层色谱法	TLC
三乙胺	TEA
三氟乙酸	TFA
三重峰	t

[0484] 方案A

[0485] 

[0486] 式(IId)化合物根据方案A使用市售材料制备。式(IId)化合物根据方案A使用市售材料制备。式(B)的酯与N,N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛的反应产生式(C)的烯胺化合物。(C)和酰肼(D)的环化提供具有式(IId)的吡唑化合物。

[0487] 组合物和方法

[0488] 本发明提供了式(A)和(I)-(III)中任一者的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗如本文所述的各种病状或病症的药物中的用途。在一个实施例中,提供了一种药物组合物,其包括至少一种式(A)和(I)-(III)中任一者的化合物或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的赋形剂或载体。在各个实施例中,药物或药物组合物可以进一步包括至少一种额外的治疗剂或与至少一种额外的治疗剂组合使用。

[0489] 本发明的化合物或包括所述化合物的药物或组合物可用于抑制PHD的活性。PHD的抑制可能特别有益于治疗疾病,所述疾病包含心脏疾病(例如缺血性心脏病、充血性心力衰竭和瓣膜性心脏病)、肺部疾病(例如急性肺损伤、肺动脉高压、肺纤维化和慢性阻塞性肺病)、肝脏疾病(例如急性肝功能衰竭和肝纤维化和肝硬化)和肾脏疾病(例如急性肾损伤和慢性肾病)。在一个实施例中,本发明的方法包括向有需要的患者施用治疗有效量的式(A)和(I)-(III)中任一者的化合物,或其药学上可接受的盐,或药物组合物,所述药物组合物包括一种或多种式(A)和(I)-(III)中任一者的化合物。

[0490] 本发明还涉及一种抑制PHD活性的方法。在一个实施例中,所述方法包括使PHD与有效量的一种或多种化合物或其药学上可接受的盐接触,所述一种或多种化合物选自包括

式(A)和(I)-(III)中任一者的化合物的组。

[0491] 仍在其它实施例中,本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)中任一者的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可用于治疗或预防贫血,包括治疗与以下各项相关联的贫血病状:慢性肾病、多囊肾病、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、骨髓移植性贫血、查格-施特劳斯综合征(Churg-Strauss syndrome)、Diamond Blackfan贫血、范可尼贫血(Fanconi's anemia)费尔蒂综合征(Felty syndrome)、移植物抗宿主病,造血干细胞移植、溶血性尿毒症综合征、骨髓增生异常综合征、夜间阵发性血红蛋白尿、骨髓纤维化、全血细胞减少、纯红细胞再生障碍、许兰享诺氏紫癜(purpura Schoenlein-Henoch)、难治性贫血伴原始细胞过多、类风湿性关节炎、史沃克曼综合征(Shwachman syndrome)、镰状细胞病、重型地中海贫血、轻型地中海贫血、血小板减少性紫癜、接受手术的贫血或非贫血患者、创伤相关或继发性贫血、铁粒幼细胞性贫血、其它治疗继发性贫血,所述其它治疗包含:用于治疗HIV的逆转录酶抑制剂、皮质类固醇激素、环顺铂或不含顺铂的化疗药物、长春花生物碱、有丝分裂抑制剂、拓扑异构酶II抑制剂、蒽环类、烷化剂,具体地说,炎症、衰老和/或慢性疾病继发性贫血。PHD1抑制也可以用于治疗贫血症状,包含慢性疲劳、苍白和头晕。

[0492] 在其它实施例中,本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可用于治疗或预防代谢紊乱疾病,包含但不限于糖尿病和肥胖症。

[0493] 又在其它实施例中,本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可用于治疗或预防血管病症。这些包含但不限于缺氧或伤口愈合相关疾病,所述疾病需要用于血管生成、血管新生和动脉生成的促血管生成介质

[0494] 仍在其它实施例中,本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可用于治疗或预防缺血再灌注损伤。这些包含但不限于中风、心肌梗塞和急性肾损伤。

[0495] 在其它实施例中,本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可用于治疗炎性肠病。这些包含但不限于溃疡性结肠炎和克罗恩氏病。

[0496] 在其它实施例中,本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可用于治疗癌症,如结肠直肠癌。

[0497] 在其它实施例中,本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可用于治疗动脉粥样硬化。

[0498] 在其它实施例中,本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可用于治疗心血管疾病。

[0499] 在其它实施例中,本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可用于治疗眼部疾病或病状。这些包含但不限于放射性视网膜病变、早产儿视网膜病变、糖尿病性视网膜病变、年龄相关性黄斑变性和眼部缺血。

[0500] 在其它实施例中,本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合

物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可用于治疗与高氧相关联的疾病。

[0501] 在其它实施例中,本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可用于治疗支气管肺发育不良(BPD)。

[0502] 又在其它实施例中,本文公开的化合物(例如,式(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可用于治疗心脏病。这些病状包含但不限于胰腺手术术后心肌缺血、经皮冠状动脉介入治疗(PCI)后心肌损伤、非心脏手术后心肌损伤、腹主动脉瘤择期手术围手术期心肌缺血、PCI术后心肌损伤、接受冠状动脉旁路移植术(CABG)的患者的心肌损伤、微创二尖瓣(MIMV)修复或置换、接受心脏直视手术的成年患者、慢性心力衰竭、NYHA II-IV级。

[0503] 在其它实施例中,本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可用于治疗肺部疾病。这些病状包含但不限于择期肺叶切除术中的肺损伤、CABG手术中的肺损伤、肺移植。

[0504] 在其它实施例中,本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可用于治疗肝病。这些病状包含但不限于非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

[0505] 在其它实施例中,本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可用于治疗肾病。这些病状包含但不限于对比剂引起的急性肾损伤、计划进行冠状动脉造影的III-IV期慢性肾病、接受心脏瓣膜手术的患者的急性肾损伤、非透析依赖性慢性肾病、开始透析的慢性肾病患者、非透析依赖性慢性肾病。

[0506] 此外,本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)中任一者的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐可以与额外的活性成分联合使用以治疗上述病状。额外的化合物可以与本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)中任一者的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐分开共同施用,或与额外的活性成分一起包含在根据本发明的药物组合物中。在示例性实施例中,额外的活性成分是已知或发现可有效治疗由PHD酶介导的病状、病症或疾病或对与特定病状、病症或疾病相关的另一个靶标具有活性的那些成分,如替代的PHD调节剂。该组合可用于增加功效(例如,通过在该组合中包含增强根据本发明的化合物的效力或有效性的化合物)、降低一种或多种副作用,或降低根据本发明的化合物的所需剂量。

[0507] 本发明的化合物单独或与一种或多种其它活性成分组合用于配制本发明的药物组合物。本发明的药物组合物包括:(a)有效量的本文公开的化合物(例如,式(A)和(I)-(III)中任一者的化合物,如化合物1-44中的任一种)或其药学上可接受的盐、药学上可接受的前药或药学活性代谢物;以及(b)药学上可接受的赋形剂。

[0508] “药学上可接受的赋形剂”是指添加到药理组合物中或在其它方面用作媒剂、载体或稀释剂以促进药剂的施用并且与其相容的无毒的、生物学上可耐受的并且在其它方面在生物学上适合于向患者施用的物质,如惰性物质。赋形剂的实例包含碳酸钙、磷酸钙、各种糖和各种类型的淀粉、纤维素衍生物、明胶、植物油以及聚乙二醇。合适的赋形剂还可以包含抗氧化剂。此类抗氧化剂可用于药物组合物或储存介质中以延长药物产品的保质期。

[0509] 药物调配物和施用途径

[0510] 本发明的化合物和组合物可以直接递送或与合适的载体或赋形剂一起在药物组合物或药物中递送,如本领域公知的。本发明的治疗方法可以包括将有效量的本发明化合物施用于有需要的受试者。在优选的实施例中,受试者是哺乳动物受试者,并且在最优选的实施例中,受试者是人类受试者。

[0511] 此类化合物、组合物或药物的有效量可以通过常规实验容易地确定,最有效且方便的施用途径以及最适当的调配物也可以确定。各种调配物和药物递送系统在本领域中是可获得的。参见,例如,编者:Gennaro,A.R.,(1995)《雷明顿药物科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)》,同上。

[0512] 合适的施用途径可以例如包含口服、直肠、局部、鼻、肺、眼、肠和肠胃外施用。胃肠外施用的主要途径包含静脉内、肌肉内和皮下施用。次要施用途径包含腹膜内、动脉内、关节内、心内、脑池内、皮内、病灶内、眼内、胸膜内、鞘内、子宫内和心室内施用。待治疗的适应症以及药物的物理、化学和生物学性质决定了将使用的调配物类型和施用途径,以及首选局部施用还是全身施用。

[0513] 本发明化合物的药物剂型可以以速释、控释、缓释或靶向药物递送系统提供。常用的剂型包含例如溶液和混悬液、(微)乳液、软膏、凝胶和贴剂、脂质体、片剂、糖衣丸、软壳或硬壳胶囊、栓剂、胚珠、植入物、无定形或结晶粉末、气雾剂和冻干调配物。根据所使用的施用途径,可能需要特殊装置来应用或施用药物,如例如注射器和针头、吸入器、泵、注射笔、涂药器或特殊烧瓶。药物剂型通常由药物、赋形剂和容器/封闭系统构成。可以将一种或多种赋形剂(也被称为非活性成分)添加到本发明的化合物中以改善或促进药物的制造、稳定性、施用和安全性,并且可以提供实现所需药物释放曲线的手段。因此,待添加到药物中的赋形剂的类型可能取决于各种因素,例如药物的物理和化学性质、施用途径和制造程序。药学上可接受的赋形剂在本领域中是可获得的并且包含在各种药典中列出的那些赋形剂。参见,例如,美国药典(USP)、日本药典(JP)、欧洲药典(EP)和英国药典(BP);美国食品和药物

[0514] 管理局(www.fda.gov)药物评估和研究中心(CEDR)出版物,例如,《非活性成分指南(Inactive Ingredient Guide)》(1996);编者:Ash和Ash,(2002)《药物添加剂手册(Handbook of Pharmaceutical Additives)》,纽约州恩迪科特的Synapse信息资源公司(Synapse Information Resources,Inc.,Endicott NY);等)[0149]本发明化合物的药物剂型可以通过本领域熟知的任何方法制备,例如通过常规混合、筛分、溶解、熔融、制粒、糖衣丸制备、压片、悬浮、挤出、喷雾干燥、磨细、乳化、(纳米/微)包封、包埋或冻干工艺。如上所述,本发明的组合物可以包含一种或多种生理学上可接受的非活性成分,其有助于将活性分子加工成用于药物用途的制剂。

[0515] 适当的调配物取决于所需的施用途径。例如,对于静脉内注射,可以将组合物配制在水溶液中,如果需要的话,使用生理相容的缓冲剂,包含例如用于调节调配物的pH的磷酸盐、组氨酸或柠檬酸盐,以及张度剂,如例如氯化钠或葡萄糖。对于经粘膜或经鼻施用,半固体、液体调配物或贴剂可能是优选的,可能含有渗透促进剂。此类渗透剂在本领域中通常是已知的。对于口服施用,可以将化合物配制成液体或固体剂型,以及速释或控释/缓释调配物。用于受试者口服摄入的合适剂型包含片剂、丸剂、糖衣丸、硬壳和软壳胶囊、液体、凝胶、糖浆、浆液、悬浮液和乳液。也可以将化合物配制成例如含有常规栓剂基质(如可可脂或其它甘油酯)的直肠组合物(如栓剂或保留灌肠剂)。

[0516] 固体口服剂型可以使用赋形剂获得,所述赋形剂可以包含填充剂、崩解剂、粘合剂(干的和湿的)、溶解延缓剂、润滑剂、助流剂、抗粘剂、阳离子交换树脂、润湿剂、抗氧化剂、防腐剂、着色剂和调味剂。这些赋形剂可以是合成的或天然来源。此类赋形剂的实例包含纤维素衍生物、柠檬酸、磷酸二钙、明胶、碳酸镁、月桂基硫酸镁/钠、甘露醇、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、硅酸盐、二氧化硅、苯甲酸钠、山梨糖醇、淀粉、硬脂酸或盐其中,糖类(即葡萄糖、蔗糖、乳糖等)、滑石粉、黄蓍胶粘液、植物油(氢化的)和蜡。乙醇和水可作为制粒助剂。在某些情况下,用例如掩味膜、抗胃酸膜或缓释膜对片剂进行包衣是合乎需要的。天然和合成聚合物,与着色剂、糖和有机溶剂或水结合,通常用于包衣片剂,从而制成糖衣丸。当胶囊优于片剂时,药物粉末、悬浮液或溶液可以在相容的硬壳或软壳胶囊中递送。

[0517] 在一个实施例中,本发明的化合物可以局部施用,如通过皮肤贴剂、半固体或液体调配物,例如凝胶、(微)乳液、软膏、溶液、(纳米/微)悬浮液或泡沫。可以调节药物对皮肤和下层组织的渗透,例如,使用渗透增强剂;亲脂性、亲水性和两亲性赋形剂的适当选择和组合,包含水、有机溶剂、蜡、油、合成和天然聚合物、表面活性剂、乳化剂;通过pH调节;以及络合剂的使用。可以使用其它技术(如离子电渗疗法)调节本发明化合物的皮肤渗透。例如,在需要以最小全身暴露进行局部递送的情况下,优选透皮或局部施用。

[0518] 对于通过吸入施用或鼻施用,根据本发明使用的化合物方便地以溶液、悬浮液、乳液或半固体气雾剂的形式从加压包装或喷雾器中递送,通常使用推进剂,例如,衍生自甲烷和乙烷的卤化碳、二氧化碳或任何其它合适的气体。对于局部气雾剂,丁烷、异丁烯和戊烷等烃是有用的。在加压气雾剂的情况下,适当的剂量单位可以通过提供用于递送计量的量的阀门来确定。可以配制用于吸入器或吹入器的例如明胶的胶囊和药筒。这些通常包含化合物和合适的粉末基质(如乳糖或淀粉)的粉末混合物。

[0519] 被配制用于通过注射肠胃外施用的化合物和组合物通常是无菌的并且可以以单位剂型存在,例如,在安瓿、注射器、注射笔或多剂量容器中,后者通常含有防腐剂。组合物可以采用油性或水性媒剂中的悬浮液、溶液或乳液等形式,并且可以含有配方剂,如缓冲剂、张度剂、粘度增强剂、表面活性剂、悬浮剂和分散剂、抗氧化剂、生物相容性聚合物、螯合剂和防腐剂。根据注射部位,媒剂可能含有水、合成油或植物油和/或有机助溶剂。在某些情况下,如使用冻干产品或浓缩物的情况下,肠胃外调配物将在施用前重构或稀释。提供本发明化合物的控释或缓释的长效调配物可以包含纳米/微米颗粒或纳米/微米或非微粉化晶体的可注射悬浮液。除了本领域公知的其它基质外,如聚(乳酸)、聚(乙醇酸)或其共聚物等聚合物可以用作控释/缓释基质。其它长效递送系统可以以需要切口的植入物和泵的形式呈现。

[0520] 用于本发明化合物的静脉内注射的合适载体在本领域中是众所周知的,并且包含:含有碱(如例如氢氧化钠)的水基溶液,用于形成离子化化合物;蔗糖或氯化钠,作为张力剂;以及缓冲液,例如含有磷酸盐或组氨酸的缓冲液。可以添加助溶剂,如例如聚乙二醇。这些水基系统在溶解本发明的化合物方面是有效的并且在全身施用时产生低毒性。在不破坏溶解性和毒性特性的情况下,溶液系统的组分比例可以有很大的变化。此外,组分的身份可以改变。例如,可以使用低毒性表面活性剂,如聚山梨醇酯或泊洛沙姆,也可以使用聚乙二醇或其它助溶剂,可以添加生物相容性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮,并且可以使用其它糖和多元醇替代葡萄糖。

[0521] 最初可以使用本领域熟知的多种技术来估计治疗有效剂量。在动物研究中使用的初始剂量可以基于在细胞培养测定中建立的有效浓度。例如,可以使用从动物研究和细胞培养测定中获得的数据来确定适合于人类受试者的剂量范围。在某些一些实施例中,本公开的化合物被配制用于口服施用。用于口服施用的药物调配物中的本公开化合物的示例性剂量为约0.5至约10mg/kg受试者体重。在一些实施例中,药物调配物包括约0.7至约5.0mg/kg受试者体重,或者可替代地,约1.0至约2.5mg/kg受试者体重。用于口服施用的典型给药方案是每周三次、每周两次、每周一次或每天施用用于口服施用的药物调配物。

[0522] 药剂(例如,本发明的化合物)的有效量或治疗有效量或剂量是指导致受试者症状改善或存活期延长的药剂或化合物的量。此类分子的毒性和治疗功效可以通过细胞培养物或实验动物中的标准药学程序来确定,例如,通过确定LD50(对50%的群体致死的剂量)和ED50(对50%的群体中治疗有效的剂量)。毒性作用与治疗效果的剂量比为治疗指数,其可以被表示为比值LD50/ED50。表现出高治疗指数的药剂是优选的。

[0523] 有效量或治疗有效量是将研究人员、兽医、医生或其它临床医生正寻求的在组织、系统、动物或人中引发生物应答或医学应答的化合物或药物组合物的量。剂量具体地落入包含ED50的具有很小毒性或无毒性的循环浓度范围内。剂量可以根据所采用的剂型和/或所利用的施用途径而在这个范围内变化。鉴于受试者的病状的具体情况,应根据本领域已知的方法选择精确的调配物、施用途径、剂量以及剂量间隔。

[0524] 可以单独调整剂量和间隔以提供足以实现所需效果的活性部分的血浆水平;即,最小有效浓度(MEC)。对于每种化合物,MEC将会有所不同,但是可以从例如体外数据和动物实验中估计。实现MEC所需的剂量将取决于个体特性和施用途径。在局部施用或选择性摄取的情况下,药物的有效局部浓度可能与血浆浓度无关。

[0525] 所施用的化合物或组合物的量可以取决于多种因素,包含接受治疗的受试者的性别、年龄和体重、痛苦的严重程度、施用方式以及开处方的医师的判断。

[0526] 如果需要,本发明的化合物和组合物可以存在于含有一个或多个单位剂型的包装或分配器装置中,所述一个或多个单位剂型含有活性成分。这种包装或装置可以例如包括金属或塑料箔,如泡罩包装;或玻璃,以及橡胶塞,如在小瓶中。包装或分配器装置可以附有施用说明书。还可以制备包括配制在相容药物载体中的本发明化合物的组合物,将其置于适当的容器中,并且标记用于治疗指定病状。

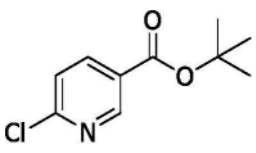
[0527] 鉴于本文的公开内容,本领域的普通技术人员将容易想到本发明的这些和其它实施例,并且这些实施例被具体考虑。

[0528] 示例

[0529] 示例性化合物的合成

[0530] 实例1:化合物1的制备

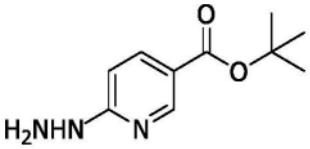
[0531] 6-氯烟酸叔丁酯

[0532] 

[0533] 向6-氯烟酸(5.0g,6.37mmol)和4-二甲氨基吡啶(0.39g,0.64mmol)于四氢呋喃(50.0mL)中的溶液中加入二碳酸二叔丁酯(10.41g,47.77mmol)。将反应混合物在回流下搅

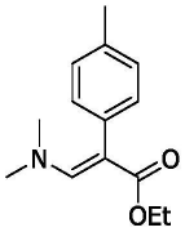
拌4小时并浓缩。将残余物通过快速色谱法(石油醚/乙酸乙酯＝10/1)纯化,从而得到呈黄色固体的6-氯烟酸叔丁酯(5.5g,81.12％产率)。LC-MS:m/z＝214.0(M+H)$^+$,保留时间为1.83分钟(方法A)。

[0534] 6-肼基烟酸叔丁酯

[0535] 

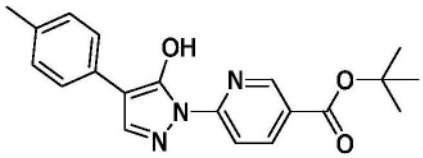
[0536] 向6-氯烟酸叔丁酯(5.5g,25.82mmol)于乙醇(25.0mL)中的溶液中加入水合肼(6.46g,129.11mmol,85％,于水中)。将混合物在100℃下搅拌2小时,并浓缩至干。将残余物在乙酸乙酯和水之间分配。将有机相用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩。将残余物用石油醚研磨,并过滤,从而得到呈黄色固体的6-肼基烟酸叔丁酯(5.0g,92.76％产率)。LC-MS:m/z＝210.0(M+H)$^+$,保留时间为1.19分钟(方法A)。

[0537] (E)-3-(二甲氨基)-2-(对甲苯基)丙烯酸乙酯

[0538] 

[0539] 向2-(对甲苯基)乙酸乙酯(1.00g,5.61mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(10.0mL)中的溶液中加入N,N-二甲基甲酰胺二乙缩醛(3.34g,28.05mmol,3.73mL)。将反应在100℃下搅拌3小时,并冷却至温度。向溶液中加入乙酸乙酯和水,并分离各层。将有机层用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩,从而得到(E)-3-(二甲氨基)-2-(对甲苯基)丙烯酸乙酯(1.1g,4.71mmol,84％产率)。LC-MS:m/z＝234.0[M+H]$^+$,保留时间为2.064分钟(方法B)。产物足够纯,直接用于下一步。

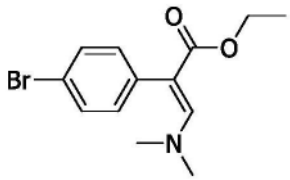
[0540] 6-(5-羟基-4-(对甲苯基)-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯

[0541] 

[0542] 向(E)-3-(二甲氨基)-2-(对甲苯基)丙烯酸乙酯(50.00mg,2.14mmol)和6-肼基烟酸叔丁酯(448.4mg,2.14mmol)于乙醇(10.0mL)中的溶液中加入对甲苯磺酸一水合物(40mg,0.21mmol)。将反应在90℃下搅拌16小时并冷却以沉淀固体。将粗固体通过快速色谱法(二氯甲烷/乙酸乙酯＝10/1)纯化,从而得到呈黄色固体的6-(5-羟基-4-(对甲苯基)-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯(393mg,1.11mmol,52％产率)。LC-MS:m/z＝352.0[M+H]$^+$,保留时间为6.78分钟(方法A)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ12.86(s,1H),8.92(s,1H),8.80-8.15(m,3H),7.78(s,2H),7.17(d,J＝8.0Hz,2H),2.29(s,3H),1.58(s,9H)。

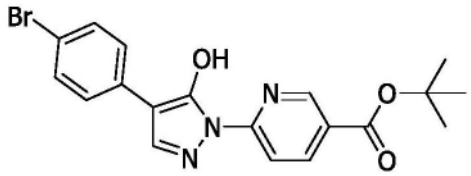
[0543] 实例2:化合物2的制备

[0544] (E)-2-(4-溴苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸乙酯

[0545] 

[0546] 向2-(4-溴苯基)乙酸乙酯(1.01g,4.15mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(20.0mL)中的溶液中加入N,N-二甲基甲酰胺二乙缩醛(2.47g,20.7mmol)。将混合物在100℃下搅拌16小时,并冷却至温度。向溶液中加入乙酸乙酯和水,并分离各层。将有机层用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩,从而得到呈黄色油状物的(E)-2-(4-溴苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸乙酯(980mg,3.32mmol,80%产率)。LC-MS:m/z=298.0[M+H]$^+$,保留时间为1.710分钟(方法B)。产物足够纯,直接用于下一步。

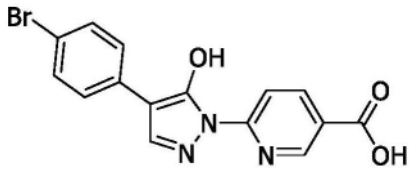
[0547] 6-(4-(4-溴苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯

[0548] 

[0549] 向(E)-2-(4-溴苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸乙酯(300.0mg,1.01mmol)和6-肼基烟酸叔丁酯(210.5mg,1.01mmol)于乙醇(10.0mL)中的溶液中加入对甲苯磺酸一水合物(38mg,0.2mmol)。将混合物在80℃下搅拌16小时并冷却以沉淀固体。将粗产物通过快速色谱法(二氯甲烷/甲醇=100/3)纯化,从而得到呈黄色固体的6-(4-(4-溴苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯(286mg,0.69mmol,68%产率)。LC-MS:m/z=416.0(M+H)$^+$,保留时间为6.76分钟(方法A)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ13.13(br,1H),8.91(s,1H),8.80-8.25(m,3H),7.89(br,2H),7.53(d,J=8.0Hz,2H),1.58(s,9H)。

[0550] 实例3:化合物3的制备

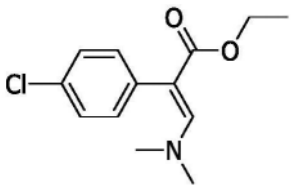
[0551] 6-(4-(4-溴苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0552] 

[0553] 向6-(4-(4-溴苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯(80.00mg,0.19mmol)于二氯甲烷(10.0mL)中的溶液中加入三氟乙酸(0.5mL)。将混合物在室温下搅拌过夜并浓缩。将残余物用乙酸乙酯研磨,并过滤,从而得到呈黄色固体的6-(4-(4-溴苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸(67mg,0.18mmol,97%产率)。LC-MS:m/z=360.0(M+H)$^+$,保留时间为4.995分钟(方法A)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ13.29(br,2H),8.96(s,1H),8.51-8.44(m,3H),7.89(d,J=7.5Hz,2H),7.53(d,J=8.5Hz,2H)。

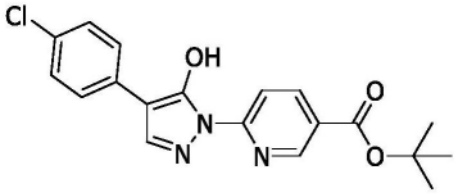
[0554] 实例4:化合物4的制备

[0555] (E)-3-(二甲氨基)-2-(4-氯苯基)丙烯酸乙酯

[0556] 

[0557] 向2-(4-氯苯基)乙酸乙酯(5.0g,25.25mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(25.0mL)中的溶液中加入N,N-二甲基甲酰胺二乙缩醛(12.0g,101.01mmol)。将混合物在100℃下搅拌过夜并冷却至室温。向溶液中加入乙酸乙酯和水,并分离各层。将有机层用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩,从而得到呈无色油状物的(E)-3-(二甲氨基)-2-(4-氯苯基)丙烯酸乙酯(3.5g,14.04mmol,55.60%产率)。LC-MS:m/z=254.1[M+H]$^+$,保留时间为2.030分钟(方法A)。产物足够纯,直接用于下一步。

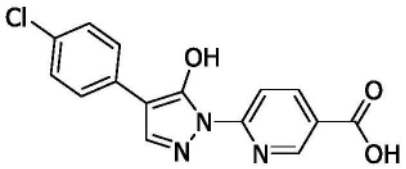
[0558] 6-(4-(4-氯苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯

[0559] 

[0560] 向(E)-3-(二甲氨基)-2-(4-氯苯基)丙烯酸乙酯(0.83g,3.95mmol)和6-肼基烟酸叔丁酯(1.00g,3.95mmol)于乙醇(10.0mL)中的溶液中加入对甲苯磺酸一水合物(150mg,0.79mmol)。将混合物在回流下搅拌12小时并冷却以沉淀固体。将固体过滤,用乙醇洗涤,并干燥,从而得到呈白色固体的6-(4-(4-氯苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯(800.0mg,2.16mmol,54.79%产率)。LC-MS:m/z=372.1(M+H)$^+$,保留时间为6.645分钟(方法A)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ9.04-8.86(m,1H),8.62-8.33(m,3H),7.95(d,J=7.2Hz,2H),7.41(d,J=8.6Hz,2H),1.58(s,9H)。

[0561] 实例5:化合物5的制备

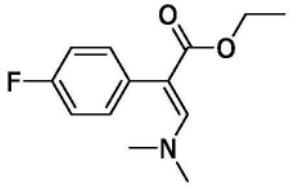
[0562] 6-(4-(4-氯苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0563] 

[0564] 向6-(4-(4-氯苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯(200.00mg,0.54mmol)于二氯甲烷(10.0mL)中的溶液中加入三氟乙酸(5.0mL)。将混合物在40℃下搅拌2小时,并浓缩。将残余物用乙酸乙酯研磨,并过滤,从而得到呈白色固体的6-(4-(4-氯苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸(74.0mg,0.24mmol,43.52%产率)。LC-MS:m/z=316.0(M+H)$^+$,保留时间为4.718分钟(方法A)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ13.23(s,1H),8.97(s,1H),8.67-8.47(m,3H),8.04-7.97(m,2H),7.41(d,J=3.8Hz,2H)。

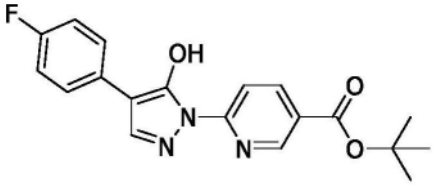
[0565] 实例6:化合物6的制备

[0566] (E)-3-(二甲氨基)-2-(4-氟苯基)丙烯酸乙酯

[0567] 

[0568] 向2-(4-氟苯基)乙酸乙酯(2.0g,10.98mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(5.0mL)中的溶液中加入N,N-二甲基甲酰胺二乙缩醛(8.07g,54.8mmol)。将混合物在100℃下搅拌过夜并冷却至室温。向溶液中加入乙酸乙酯和水,并分离各层。将有机层用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩,从而得到呈无色油状物的(E)-3-(二甲氨基)-2-(4-氟苯基)丙烯酸乙酯(2.0g,8.45mmol,77%产率)。LC-MS:m/z=238.0$[M+H]^+$,保留时间为1.89分钟(方法B)。产物足够纯,直接用于下一步

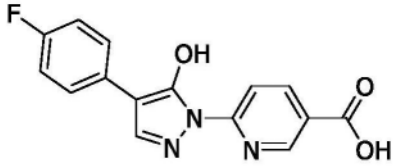
[0569] 6-(4-(4-氟苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯

[0570] 

[0571] 向(E)-3-(二甲氨基)-2-(4-氟苯基)丙烯酸乙酯(567.0mg,2.39mmol)和6-肼基烟酸叔丁酯(500.0mg,2.39mmol)于乙醇(5.0mL)中的溶液中加入对甲苯磺酸一水合物(91.2mg,0.48mmol)。将混合物在回流下搅拌12小时并冷却以沉淀固体。将固体过滤,用乙醇洗涤,并干燥,从而得到呈白色固体的6-(4-(4-氟苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯(350.0mg,0.98mmol,41%产率)。LC-MS:m/z=356.0$(M+H)^+$,保留时间为6.23分钟(方法A)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.91(s,1H),8.41(s,3H),7.93(s,2H),7.19(s,2H),1.57(s,9H)。

[0572] 实例7:化合物7的制备

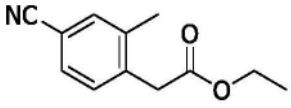
[0573] 6-(4-(4-氟苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0574] 

[0575] 向6-(4-(4-氟苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯(150.0mg,0.42mmol)于二氯甲烷(5.0mL)中的溶液中加入三氟乙酸(2.0mL)。将混合物在40℃下搅拌2小时,并浓缩。将残余物用乙酸乙酯研磨,并过滤,从而得到呈白色固体的6-(4-(4-氟苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸(103.2mg,0.34mmol,81%产率)。LC-MS:m/z=300.0$(M+H)^+$,保留时间为4.23分钟(方法A)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.95(s,1H),8.45(s,3H),7.94(s,2H),7.20-7.17(m,2H)。

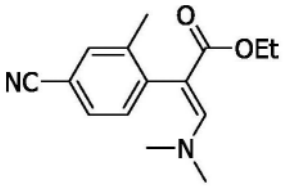
[0576] 实例8:化合物8的制备

[0577] 2-(4-氰基-2-甲基苯基)乙酸乙酯

[0578] 

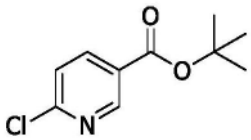
[0579] 将4-溴-3-甲基苄腈(5.0g,25.6mmol)、丙二酸二乙酯(27g,168mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(0)(0.24g,0.26mmol)、四氟硼酸三叔丁基膦(0.08g,0.26mmol)、碳酸钾(5.3g,38.4mmol)和碳酸氢钾(3.84g,38.4mmol)的混合物在160℃下搅拌12小时。冷却至室温后,反应混合物用乙酸乙酯和水稀释。将有机层用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩。将残余物通过快速色谱法(石油醚/乙酸乙酯=1/1)纯化,从而得到呈黄色油状物的2-(4-氰基-2-甲基苯基)乙酸乙酯(2.0g,31.7%产率)。LC-MS:m/z 204.1(M+H)$^+$。

[0580] (E)-2-(4-氰基-2-甲基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸乙酯

[0581] 

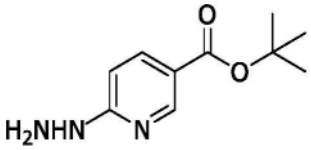
[0582] 向2-(4-氰基-2-甲基苯基)乙酸乙酯(1.0g,5.0mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(10.0mL)中的溶液中加入N,N-二甲基甲酰胺二乙缩醛(2.9g,25.0mmol)。将混合物在100℃下搅拌过夜并冷却至室温。向溶液中加入乙酸乙酯和水,并分离各层。将有机层用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩。将残余物通过快速色谱法(二氯甲烷/甲醇=98/2)纯化,从而得到呈黄色油状物的(E)-2-(4-氰基-2-甲基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸乙酯(600mg,47.2%产率)。LC-MS:m/z 259.0(M+H)$^+$。

[0583] 6-氯烟酸叔丁酯

[0584] 

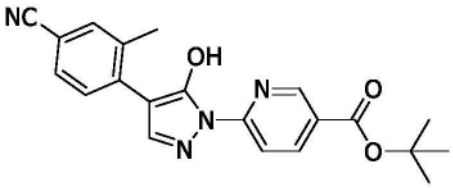
[0585] 向6-氯烟酸(5.0g,6.37mmol)和4-二甲氨基吡啶(0.39g,0.64mmol)于THF(50.0mL)中的溶液中加入二碳酸二叔丁酯(10.41g,47.77mmol)。将反应混合物回流4小时并浓缩。将残余物通过快速色谱法(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化,从而得到呈黄色固体的6-氯烟酸叔丁酯(5.5g,81.12%产率)。LC-MS:m/z 214.0(M+H)$^+$。

[0586] 6-肼基烟酸叔丁酯

[0587] 

[0588] 向6-氯烟酸叔丁酯(5.5g,25.82mmol)于乙醇(25.0mL)中的溶液中加入水合肼(6.46g,129.11mmol,85%,于水中)。将混合物在100℃下搅拌2小时,并浓缩。将残余物在乙酸乙酯和水之间分配。将有机相用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩。将残余物用石油醚研磨,并过滤,从而得到呈黄色固体的6-肼基烟酸叔丁酯(5.0g,92.76%产率)。LC-MS:m/z 210.0(M+H)$^+$。

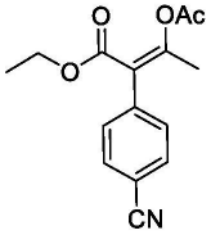
[0589] 6-(4-(4-氰基-2-甲基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯

[0590] 

[0591] 向(E)-2-(4-氰基-2-甲基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸乙酯(260mg,1.0mmol)和6-肼基烟酸叔丁酯(200mg,1.0mmol)于乙醇(10.0mL)中的溶液中加入4-甲基苯磺酸(34.4mg,0.2mmol)。将混合物在回流下搅拌12小时并冷却以沉淀固体。将固体过滤,用乙醇洗涤,并干燥,从而得到呈白色固体的6-(4-(4-氰基-2-甲基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯(190mg,50%产率)。LC-MS:m/z 377.0(M+H)$^+$。

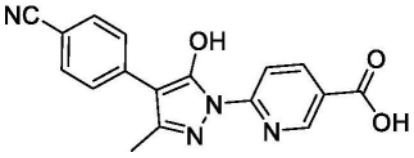
[0592] 实例9:化合物9的制备

[0593] 3-乙酰氧基-2-(4-氰基苯基)丁-2-烯酸乙酯

[0594] 

[0595] 在N_2气氛下,在-30℃下在20分钟内向2-(4-氰基苯基)乙酸乙酯(3.50g,18.50mmol)与无水THF(100ml)中的混合物中逐滴加入LHMDS(28.00mL,27.75mmol)。使反应升温至0℃并在0℃下搅拌30分钟。然后将反应再次冷却至-30℃并在15分钟内向溶液中逐滴加入乙酰氯(2.18g,27.75mmol)于THF(8mL)中的溶液。将反应缓慢升温至室温并搅拌4小时。在通过TLC完成反应后,将混合物用冷的NH_4Cl水溶液(50mL)淬灭,并用EtOAc(3x80ml)萃取。将合并的有机相用无水Na_2SO_4(30g)干燥,过滤并真空浓缩。将残余物通过二氧化硅柱色谱法(EA:Hex=1:50至1:5)纯化,从而得到呈黄色油状物的所需产物(1.9g)。^{1}H NMRδppm(300MHz,$CDCl_3$)7.68(dd,J=6.6,1.8Hz,2H),7.41(dd,J=6.6,1.8Hz,2H),4.11-4.18(q,J=6.9Hz,2H),2.25(s,3H),1.88(s,3H),1.20(t,J=6.9Hz,3H)。

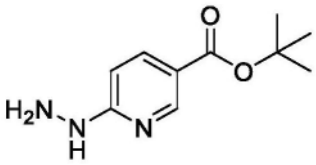
[0596] 6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0597] 

[0598] 向2-(4-氰基苯基)-3-氧代丁酸乙酯(0.30g,1.38mmol)于HOAc(24ml)中的混合物中加入4-肼基苯甲酸(1.06g,6.91mmol)。将混合物在100℃下搅拌过夜。在通过TLC完成反应后,用水(20mL)淬灭反应,并沉淀出大量固体。过滤后,将固体溶解在TEA(5当量)、水(20mL)和MeOH(20mL)中。将溶液用EtOAc(3x10mL)萃取,并将水相用稀释的HCl溶液调节pH至3。沉淀出大量固体。通过过滤收集固体并干燥,从而得到呈黄色固体的所需产物(128mg)。LC-MS(ESI+):m/z 321(M+H)$^+$;HPLC纯度为97.3%;^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δppm13.25(brs,2H),8.95(d,J=1.5Hz,1H),8.56(d,J=8.7Hz,1H),8.41(dd,J=8.7Hz,1H),7.89(d,J=8.1Hz,2H),7.81(d,J=8.1Hz,2H),2.51(s,3H)。

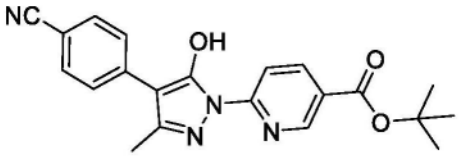
[0599] 实例10:化合物10的制备

[0600] 6-肼基烟酸叔丁酯

[0601] 

[0602] 向6-氯烟酸叔丁酯(0.20g,0.94mmol)于1,4-二噁烷(10mL)中的溶液中加入一份肼(0.35g,5.62mmol)。将混合物在80℃下搅拌过夜。在通过TLC分析完成反应后,将混合物真空浓缩。将残余物通过制备型HPLC纯化,从而得到呈油状物的180mg标题化合物(180mg)。^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δppm 8.71(d,J=1.8Hz,1H),8.01(dd,J=8.1,1.8Hz,1H),6.70(d,J=8.7Hz,1H),6.24(brs,1H),3.90(brs,2H),1.60(s,9H)。

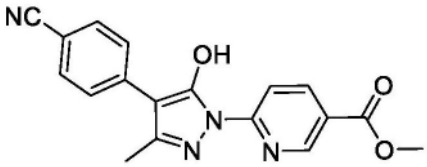
[0603] 6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯

[0604] 

[0605] 根据使用6-肼基烟酸叔丁酯制备6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI-):m/z 375(M-H)$^-$;HPLC纯度为96.3%;^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δppm 13.10(brs,1H),8.88(d,J=2.1Hz,1H),8.42(dd,J=8.7,2.1Hz,1H),7.96(d,J=8.7Hz,1H),7.69(s,4H),2.46(s,3H),1.63(s,9H)。

[0606] 实例11:化合物11的制备

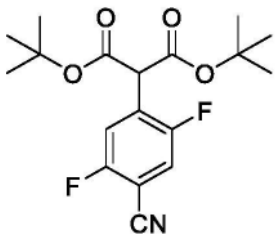
[0607] 6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸甲酯

[0608] 

[0609] 根据使用6-肼基烟酸甲酯制备6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS:m/z=335(M+H)$^+$;1H NMR(300MHz,DMSO-d6)δppm 13.11(s,1H),8.95(d,J=1.6Hz,1H),8.58(d,J=8.8Hz,1H),8.43(dd,J=7.0,2.3Hz,1H),7.90(dd,J=17.6,8.3Hz,2H),7.79(dd,J=14.5,8.4Hz,2H),3.90(s,3H),2.48(s,3H)。

[0610] 实例12:化合物12的制备

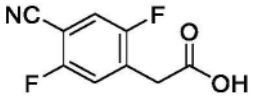
[0611] 2-(4-氰基-2,5-二氟苯基)丙二酸二叔丁酯

[0612] 

[0613] 在氮气气氛下,在0℃下在15分钟内向氢化钠(60%,分散在矿物油中)(5.09g,127.31mmol)于无水DMF(100mL)中的溶液中逐滴加入丙二酸二叔丁酯(8.26g,31.19mmol)。将反应在0℃下搅拌15分钟后,将2,4,5-三氟苄腈(5.00g,31.83mmol)以一份加入反应中。

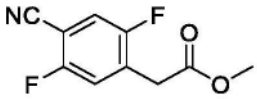
将混合物在0℃下搅拌15分钟,然后在60℃下搅拌过夜。在通过TLC分析完成反应后,混合物用饱和NH_4Cl水溶液(800mL)淬灭,并用EtOAc(200mL x 3)萃取。将合并的有机相用水(100mL x 2)洗涤,用无水Na_2SO_4(50g)干燥,过滤并真空浓缩。获得12.60g呈黄色油状物的粗品标题化合物,其不经进一步纯化用于下一步骤。LC-MS(ESI+):m/z 239$(M-(t-Bu)_2)^+$。

[0614] 2-(4-氰基-2,5-二氟苯基)乙酸

[0615] 

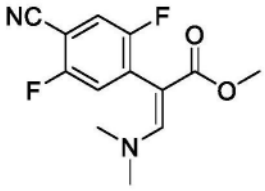
[0616] 向2-(4-氰基-2,5-二氟苯基)丙二酸二叔丁酯(12.30g,34.80mmol)于DCM(35mL)中的溶液中加入一份TFA(35mL)。将反应在室温下搅拌过夜。在通过TLC分析完成反应后,将混合物真空浓缩。向残余物中加入甲苯(50mL),搅拌并再次浓缩至干。获得6.07g呈白色固体的粗品标题化合物,其不经进一步纯化用于下一步骤。LC-MS(ESI+):m/z 216$(M+H+H_2O)^+$。

[0617] 2-(4-氰基-2,5-二氟苯基)乙酸甲酯

[0618] 

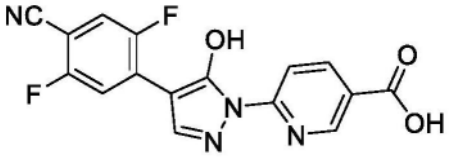
[0619] 在室温下,在5分钟内向2-(4-氰基-2,5-二氟苯基)乙酸(4.00g,20.29mmol)于MeOH(160mL)中的溶液中加入$SOCl_2$(4.0mL)。将反应在70℃下搅拌3小时。在通过TLC分析完成反应后,通过蒸发去除80%的反应溶剂。将残余物用冰水(180mL)淬灭,并用EtOAc(50mL x 3)萃取。将合并的有机相用无水Na_2SO_4(50g)干燥,过滤并真空浓缩。获得4.30g呈黄色油状物的粗品标题化合物,其不经进一步纯化用于下一步骤。LC-MS(ESI+):m/z 230$(M+H+H_2O)^+$。

[0620] (E)-2-(4-氰基-2,5-二氟苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯

[0621] 

[0622] 根据使用2-(4-氰基-2,5-二氟苯基)乙酸甲酯制备(E)-2-(4-氰基-2-甲基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸乙酯的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 267$(M+H)^+$。

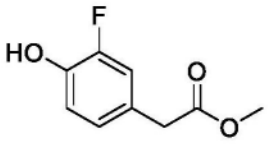
[0623] 6-(4-(4-氰基-2,5-二氟苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0624] 

[0625] 根据使用(E)-2-(4-氰基-2,5-二氟苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯制备6-(4-(4-氰基-2-甲基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI-):m/z 341$(M-H)^-$,HPLC纯度为95.4%,^1H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δppm 13.41(brs,1H),8.96(d,J=2.1Hz,1H),8.58-8.42(m,3H),8.31(d,J=3.0Hz,1H),7.93(dd,J=10.8,5.4Hz,1H)。

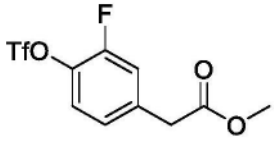
[0626] 实例13:化合物13的制备

[0627] 2-(3-氟-4-羟基苯基)乙酸甲酯

[0628] 

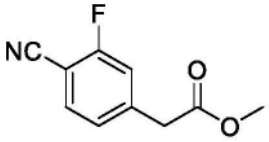
[0629] 向2-(3-氟-4-羟基苯基)乙酸(2.0g,11.76mmol)于MeOH(20ml)中的混合物中加入浓缩的H_2SO_4(0.2mL)。将反应在65℃下搅拌2小时。在通过TLC完成反应后,将混合物用水(40mL)淬灭,并用EtOAc(3x50mL)萃取。将合并的有机相干燥、过滤并直接浓缩,从而得到呈油状物的标题产物(2.49g)。^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δppm7.03(d,J=1.5Hz,1H),6.91(dd,J=3.9,1.5Hz,2H),3.70(s,3H),3.54(s,2H)。

[0630] 2-(3-氟-4-(((三氟甲基)磺酰基)氧基)苯基)乙酸甲酯

[0631] 

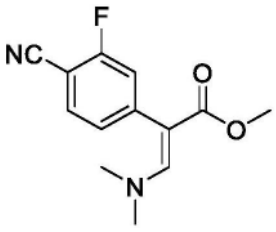
[0632] 在N_2气氛下,在0℃下在15分钟内向2-(3-氟-4-羟基苯基)乙酸甲酯(2.49g,13.50mmol)于DCM(52mL)中的混合物中逐滴加入三氟甲磺酸酐(5.71g,20.25mmol)。在10分钟内将TEA(4.10g,40.50mmol)逐滴加入到反应中。将反应在0℃搅拌4小时。在通过TLC完成反应后,将混合物用$NaHCO_3$水溶液(30mL)淬灭,并用DCM(3x50mL)萃取。将合并的有机相用无水Na_2SO_4(50g)干燥,过滤并真空浓缩。将残余物通过二氧化硅柱色谱法(EA:n-Hex=1:20)纯化,从而得到呈黄色油状物的所需产物(2.18g)。^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δppm 7.30(d,J=8.1Hz,1H),7.24(dd,J=3.3,1.11Hz,1H),7.13(d,J=8.1Hz,1H),3.73(s,3H),3.65(s,2H)。

[0633] 2-(4-氰基-3-氟苯基)乙酸甲酯

[0634] 

[0635] 在N_2气氛下,向2-(3-氟-4-(((三氟甲基)磺酰基)氧基)苯基)乙酸甲酯(2.18g,6.90mmol)于无水DMF(40mL)中的混合物中加入$Zn(CN)_2$(0.49g,4.14mmol)和$Pd(PPh_3)_4$(0.80g,0.69mmol)。将反应在80℃下搅拌4小时。在通过TLC完成反应后,将混合物用水(50mL)淬灭,并用EtOAc(3x50mL)萃取。将合并的有机相用水(2x20mL)洗涤,用无水Na_2SO_4(50g)干燥,过滤并真空浓缩。将残余物通过二氧化硅柱色谱法(EA:Hex=1:40至1:8)纯化,从而得到呈黄色油状物的所需产物(1.27g)。^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δppm7.59(t,J=7.5Hz,1H),7.20(d,J=8.7Hz,2H),3.73(s,3H),3.70(s,2H)。

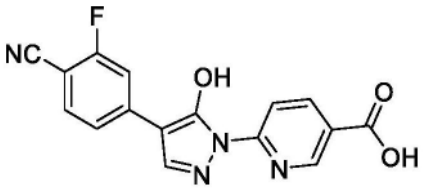
[0636] (E)-2-(4-氰基-3-氟苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯

[0637] 

[0638] 根据使用2-(4-氰基-3-氟苯基)乙酸甲酯制备(E)-2-(4-氰基-2-甲基苯基)-3-

(二甲氨基)丙烯酸乙酯的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 249(M+H)$^+$。

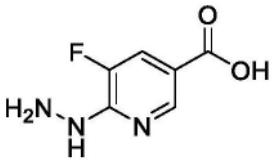
[0639] 6-(4-(4-氰基-3-氟苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0640] 

[0641] 根据使用(E)-2-(4-氰基-3-氟苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯制备6-(4-(4-氰基-2-甲基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI-):m/z 323(M-H)$^-$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δppm 13.32(brs,1H),8.77(d,J=1.2Hz,1H),8.55(s,1H),8.34(d,J=8.4Hz,1H),8.26(dd,J=8.4,2.1Hz,1H),7.88(d,J=12.3Hz,1H),7.78(d,J=8.1Hz,1H),7.65(t,J=7.5Hz,1H)。

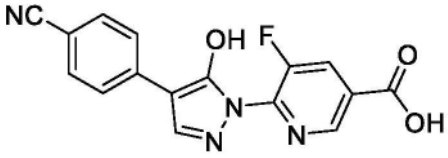
[0642] 实例14:化合物14的制备

[0643] 5-氟-6-肼基烟酸

[0644] 

[0645] 在1分钟内向6-氯-5-氟烟酸(0.46g,2.59mmol)于THF(22mL)中的溶液中逐滴加入$N_2H_4.H_2O$(0.81g,12.95mmol)。将混合物在65℃下搅拌过夜后,沉淀出大量固体。过滤悬浮液并将固体在MeOH(3mL)中浆化1小时。过滤后,获得440mg呈白色固体的所需产物。LC-MS(ESI+):m/z172(M+H)$^+$。

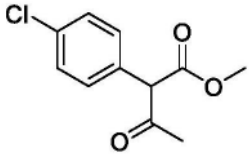
[0646] 6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)-5-氟烟酸

[0647] 

[0648] 根据使用5-氟-6-肼基烟酸和(E)-2-(4-氰基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯制备6-(4-(4-氰基-2-甲基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 325(M+H)$^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δppm 8.78(s,1H),8.08(d,J=9.9Hz,1H),7.90(d,J=8.4Hz,2H),7.84(s,1H),7.46(d,J=8.4Hz,2H),7.12(brs,2H)。

[0649] 实例15:化合物15的制备

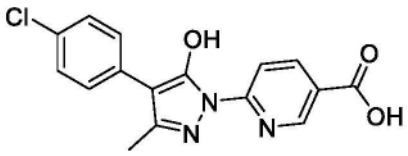
[0650] 2-(4-氯苯基)-3-氧代丁酸甲酯

[0651] 

[0652] 在氮气氛下,在-40℃下在10分钟内向2-(4-氯苯基)乙酸甲酯(1.00g,5.41mmol)于无水THF(50mL)中的溶液中逐滴加入LHMDS(8.1mL,8.11mmol)。将所得混合物在-40℃下搅拌1小时后,在10分钟内分批加入1-(1H-咪唑-1-基)乙烷-1-酮(0.89g,8.11mmol)。加入后,将混合物升温至室温并搅拌1小时。在TLC分析表明反应完成后,将残余物用水(50mL)稀

释,并用乙酸乙酯(50mL x 3)萃取。将合并的有机相用Na_2SO_4(30g)干燥,过滤并浓缩至干,从而得到呈油状物的所需产物(1.6g)。LC-MS(ESI+):m/z 249$(M+Na)^+$。

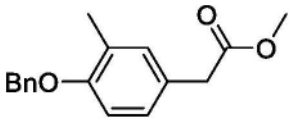
[0653] 6-(4-(4-氯苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0654] 

[0655] 根据使用2-(4-氯苯基)-3-氧代丁酸甲酯制备6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 330$(M+H)^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δppm 12.77-13.27(m,2H),8.95(d,J=1.5Hz,1H),8.55(brs,1H),8.41(dd,J=9.0Hz,J=2.1Hz,1H),7.66(d,J=8.4Hz,2H),7.44(d,J=8.4Hz,2H),2.42(s,3H)。

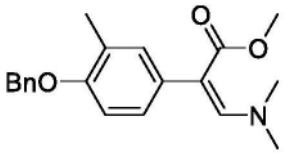
[0656] 实例16:化合物16的制备

[0657] 2-(4-(苄氧基)-3-甲基苯基)乙酸甲酯

[0658] 

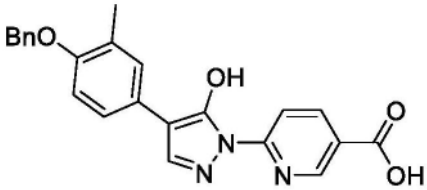
[0659] 向2-(4-羟基-3-甲基苯基)乙酸甲酯(300mg,1.70mmol)于DMF(10ml)中的溶液中加入苄基溴(292mg,1.70mmol)和Cs_2CO_3(1.66g,5.10mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时。在通过TLC分析完成反应后,将混合物用水(50mL)淬灭,并用EtOAc(50mL x 3)萃取。将合并的有机相用无水Na_2SO_4(30g)干燥,过滤并真空浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法(PE:EtOAc=100:1~50:1)纯化,从而得到498mg标题化合物。^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δppm 7.29-7.45(m,5H),7.03-7.08(m,2H),6.82(d,J=8.1Hz,1H),5.06(s,2H),3.68(s,3H),3.54(s,2H),2.27(s,3H)。

[0660] (Z)-2-(4-(苄氧基)-3-甲基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯

[0661] 

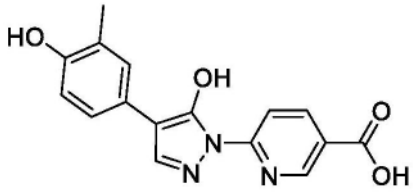
[0662] 根据使用2-(4-(苄氧基)-3-甲基苯基)乙酸甲酯制备(E)-2-(4-氰基-2-甲基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸乙酯的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 326$(M+H^+)$。

[0663] 6-(4-(4-(苄氧基)-3-甲基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0664] 

[0665] 根据使用(Z)-2-(4-(苄氧基)-3-甲基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯制备6-(4-(4-氰基-2-甲基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 402$(M+H^+)$。

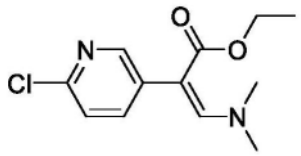
[0666] 6-(5-羟基-4-(4-羟基-3-甲基苯基)-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0667] 

[0668] 将6-(4-(4-(苄氧基)-3-甲基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸(60mg,0.12mmol)和Pd/C(10mg)于MeOH(6.5mL)中溶液的在氢气气氛下从气球中搅拌7小时。在TLC分析表明反应完成后,将悬浮液过滤通过硅藻土包装,并将滤饼用MeOH(5mL)洗涤。将合并的滤液浓缩并用制备型HPLC纯化,从而得到9mg呈固体的标题化合物。LC-MS(ESI-):m/z 310(M-H$^-$),^{1}H NMR(300MHz,CD_3OD)δppm 8.94(s,1H),8.45(d,J=8.7Hz,1H),8.11(d,J=8.7Hz,1H),7.90(s,1H),7.48(s,1H),7.41(d,J=8.7Hz,1H),6.75(s,1H),6.65(d,J=6.9Hz,1H),2.22(s,3H)。

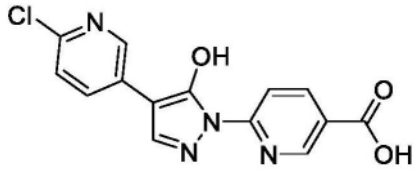
[0669] 实例17:化合物17的制备

[0670] (Z)-2-(6-氯吡啶-3-基)-3-(二甲氨基)丙烯酸乙酯

[0671] 

[0672] 根据使用2-(6-氯吡啶-3-基)乙酸乙酯制备(E)-2-(4-氰基-2-甲基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸乙酯的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 241(M+H$^+$),^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δppm 8.18(d,J=2.4Hz,1H),7.66(s,1H),7.51(dd,J=2.4,8.1Hz,1H),7.26(d,J=8.4Hz,1H),3.64(s,3H),2.75(s,6H)。

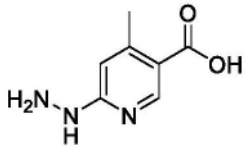
[0673] 6-(4-(6-氯吡啶-3-基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0674] 

[0675] 根据使用(Z)-2-(6-氯吡啶-3-基)-3-(二甲氨基)丙烯酸乙酯制备6-(4-(4-氰基-2-甲基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 317(M+H$^+$),^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d6)δ13.44(brs,2H),8.94(d,J=16.8Hz,2H),8.67(s,1H),8.55(s,1H),8.44-8.48(m,1H),8.38(d,J=7.8Hz,1H),7.51(d,J=8.4Hz,1H)。

[0676] 实例18:化合物18的制备

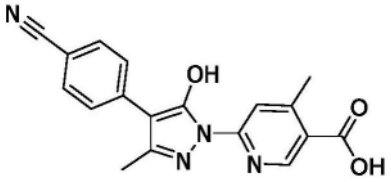
[0677] 6-肼基-4-甲基烟酸

[0678] 

[0679] 向6-氟-4-甲基烟酸(0.50g,3.23mmol)于THF(50ml)中的溶液中加入肼(2.00g,32.26mmol)。将反应在66℃下搅拌2小时。在LC-MS分析表明反应完成后,将混合物用乙醇(6mL)稀释,并沉淀出大量固体。过滤后,获得725mg所需产物。LC-MS(ESI+):m/z 168(M+H$^+$),^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ8.44(s,1H),7.56(brs,1H),6.43(s,1H),5.90(brs,2H),2.44

(s,3H)

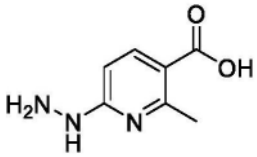
[0680] 6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-4-甲基烟酸

[0681] 

[0682] 向6-肼基-4-甲基烟酸(0.30g,1.80mmol)于乙酸(20ml)中的溶液中加入2-(4-氰基苯基)-3-氧代丁酸乙酯(0.43g,1.98mmol)。将反应在100℃下搅拌过夜。在LC-MS分析表明反应完成后,将混合物冷却至室温并沉淀出大量固体。过滤后,将滤饼通过制备型HPLC进一步纯化,从而获得36mg所需产物。LC-MS(ESI+):m/z 335($M+H^+$),^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ12.97-13.21(brs,2H),8.87(s,1H),8.45(brs,1H),8.01(d,J=8.1Hz,2H),7.82(d,J=8.1Hz,2H),2.78(s,3H),2.52(s,3H)。

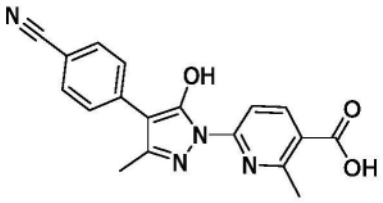
[0683] 实例19:化合物19的制备

[0684] 6-肼基-2-甲基烟酸

[0685] 

[0686] 根据使用6-氟-2-甲基烟酸制备6-肼基-4-甲基烟酸的程序合成化合物。^{1}H-NMR(300MHz,D_2O)δ7.63(d,J=8.7Hz,1H),6.55(d,J=8.7Hz,1H),2.37(s,3H)。

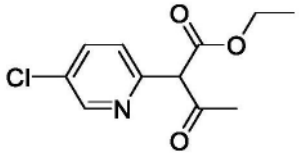
[0687] 6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-2-甲基烟酸

[0688] 

[0689] 根据使用6-肼基-2-甲基烟酸制备6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-4-甲基烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 335$(M+H)^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ12.95(brs,1H),8.28-8.35(m,2H),7.89(d,J=8.7Hz,2H),7.79(d,J=8.7Hz,2H),2.80(s,3H),2.58(s,3H)。

[0690] 实例20:化合物20的制备

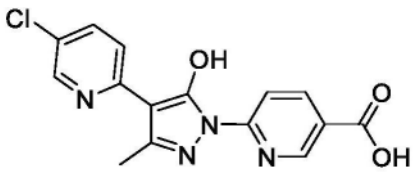
[0691] 2-(5-氯吡啶-2-基)-3-氧代丁酸乙酯

[0692] 

[0693] 在N_2气氛下,在-55℃下在20分钟内向2-(5-氯吡啶-2-基)乙酸乙酯(500mg,2.5mmol)于无水THF(15mL)中的混合物中逐滴加入LHMDS(5.0mL,5.0mmol)。将反应在0℃下搅拌1小时后,在-55℃下在15分钟内逐滴加入1-(1H-咪唑-1-基)乙烷-1-酮(412mg,3.75mmol)于THF(15mL)中的溶液。将反应缓慢升温至室温并在室温下搅拌1小时。在TLC分

析表明反应完成后,将混合物用NH_4Cl水溶液(50mL)淬灭,并用EtOAc(3x20mL)萃取。将合并的有机相用无水Na_2SO_4(20g)干燥,过滤并真空浓缩。将残余物通过二氧化硅柱色谱法(EtOAc:Hex=1:100)纯化,从而得到呈固体的标题化合物(152mg)。LC-MS(ESI+):m/z 242 $(M+H)^+$。

[0694] 6-(4-(5-氯吡啶-2-基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0695] 

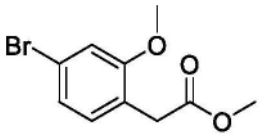
[0696] 根据使用2-(5-氯吡啶-2-基)-3-氧代丁酸乙酯制备6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 331 $(M+H)^+$;^1H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ13.20(brs,2H),8.95(d,J=1.8Hz,1H),8.53-8.61(m,1H),8.52(s,1H),

[0697] 8.41(dd,J=8.7Hz,J=2.1Hz,1H),8.32(d,J=5.1

[0698] Hz,1H),7.87(dd,J=8.7Hz,J=2.7Hz,1H),2.62(s,3H)。

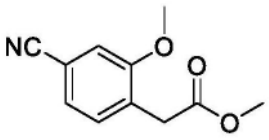
[0699] 实例21:化合物21的制备

[0700] 2-(4-溴-2-甲氧基苯基)乙酸甲酯

[0701] 

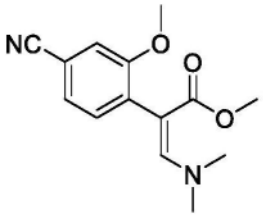
[0702] 在室温下,在5分钟内向2-(4-溴-2-甲氧基苯基)乙酸(2.00g,8.16mmol)于MeOH(35ml)中的溶液中逐滴加入$SOCl_2$(6mL,82.71mmol)。加入后,将混合物在55℃下搅拌过夜。在TLC分析表明反应完成后,将反应混合物直接浓缩至干。将残余物用$NaHCO_3$水溶液(50mL)稀释,并用EtOAc(100mL×3)萃取。将合并的有机相用Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩,从而得到呈黄色油状物的所需产物(2.05g)。LC-MS(ESI+):m/z 281 $(M+Na)^+$;^1H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.02-7.08(m,2H),7.00(s,1H),3.93(s,3H),3.81(s,3H),3.57(s,2H)。

[0703] 2-(4-氰基-2-甲氧基苯基)乙酸甲酯

[0704] 

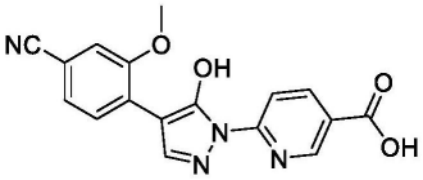
[0705] 在氮气保护下,向2-(4-溴-2-甲氧基苯基)乙酸甲酯(3.02g,11.66mmol)于DMF(20ml)中的溶液加入$Zn(CN)_2$(2.74g,23.32mmol)、$Pd_2(dba)_3$(0.11g,0.12mmol)和S-Phos(0.48g,1.17mmol)。将反应在110℃下搅拌4小时。在TLC分析表明反应完成后,过滤反应以去除未溶解的固体。将滤液直接浓缩至干。将残余物通过快速硅胶色谱法(EtOAc/PE=1/50至1/10)纯化,从而得到呈白色固体的所需产物(2.04g)。LC-MS(ESI+):m/z 206 $(M+H)^+$;^1H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.23-7.30(m,3H),3.86(s,3H),3.71(s,3H),3.67(s,2H)。

[0706] (Z)-2-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯

[0707] 

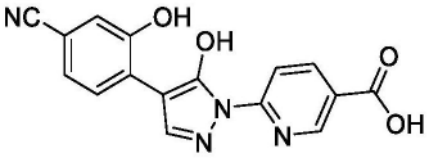
[0708] 将2-(4-氰基-2-甲氧基苯基)乙酸甲酯(0.94g,4.57mmol)于DMF-DMA(27.4g)中的溶液在100℃下搅拌过夜。在TLC分析表明反应完成后,将混合物用冰水(80mL)稀释,并用EtOAc(20mL×3)萃取。将合并的有机相用Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩,从而得到呈棕色油状物的所需产物(1.23g)。LC-MS(ESI+):m/z 261$(M+H)^+$;

[0709] 6-(4-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0710] 

[0711] 向(Z)-2-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯(0.32g,1.24mmol)于i-PrOH(6mL)中的悬浮液中加入6-肼基烟酸(0.19g,1.24mmol)和HCl(1.25mL,1M,1.24mmol)。将反应在室温下搅拌6小时后,沉淀出大量固体。过滤悬浮液。将滤饼溶解在i-PrOH(6mL)、水(1mL)和DIEA(320mg)中。将所得混合物在50℃下搅拌过夜。将稀释的HCl溶液(1M,5mL)加入到反应中,并将反应在室温下继续搅拌另外20分钟。沉淀出大量固体。过滤后,将滤饼在甲醇(5mL)中浆化过夜。过滤和干燥后,获得185mg标题化合物。LC-MS(ESI+):m/z 335$(M-H)^-$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ13.5(brs,1H),8.97(s,1H),8.56-8.68(brs,2H),8.45-8.47(m,2H),7.44-7.49(m,2H),3.96(s,3H)。

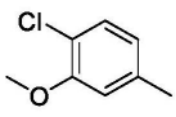
[0712] 6-(4-(4-氰基-2-羟基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0713] 

[0714] 在氮气保护下,向6-(4-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸(0.15g,0.45mmol)于DMF(8mL)中的溶液中加入一份EtSNa(0.11g,1.34mmol)。将反应在150℃下搅拌48小时。在TLC分析表明反应完成后,将混合物用水(80mL)稀释,并用稀释的HCl溶液将pH调节至2。沉淀出大量固体。过滤后,将固体通过制备型HPLC纯化,从而得到20mg呈黄色固体的标题化合物。LC-MS(ESI+):m/z 321$(M-H)^-$;^{1}H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ9.10(s,1H),8.30-8.50(m,2H),8.20(m,1H),7.82(m,1H),7.12(m,1H),7.02(s,1H)

[0715] 实例22:化合物22的制备

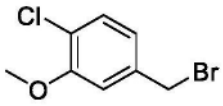
[0716] 1-氯-2-甲氧基-4-甲基苯

[0717] 

[0718] 向2-氯-5-甲基苯酚(1g,6.99mmol)于DMF(4mL)中的溶液中加入K_2CO_3(2.4g,17.48mmol)和MeI(1.04g,7.34mmol)。将反应在室温下搅拌约6小时。在TLC分析表明反应完

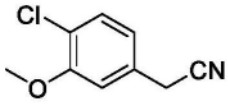
成后,将反应用水(20mL)稀释,并用EtOAc(20mL x3)萃取。将合并的有机相用水(10mL)洗涤,用Na_2SO_4干燥,并浓缩至干,从而得到1.05g所需粗产物。GC-MS(EI+):156;^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.22(d,J=8.1Hz,1H),6.69-6.74(m,2H),3.88(s,3H),2.33(s,3H)。

[0719] 4-(溴甲基)-1-氯-2-甲氧基苯

[0720] 

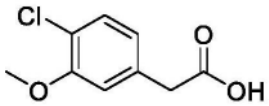
[0721] 向1-氯-2-甲氧基-4-甲基苯(20.98g,0.13mol)于CCl_4(200mL)中的溶液中加入NBS(26.24g,0.15mol)和BPO(1.62g,6.7mmol)。将所得混合物在80℃下搅拌过夜。在通过TLC分析完成反应后,将混合物过滤并用稀释的HCl溶液(20mL,1N)稀释,并用DCM(200mL x 3)萃取。将合并的有机相用饱和$NaHCO_3$溶液(40mL)洗涤,用Na_2SO_4(60g)干燥,过滤并浓缩,从而得到41.44g粗产物。将粗产物通过硅胶柱色谱法(PE/EtOAc=100/:1至60/1)进一步纯化,从而得到32.6g标题化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.32(d,J=8.1Hz,1H),6.90-6.96(m,2H),4.54(s,2H),3.93(s,3H)。

[0722] 2-(4-氯-3-甲氧基苯基)乙腈

[0723] 

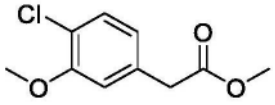
[0724] 向4-(溴甲基)-1-氯-2-甲氧基苯(10g,42.7mmol)于EtOH(50mL)和H_2O(10mL)中的溶液中加入一份NaCN(3.14g,64.05mmol)。将所得混合物在80℃下搅拌过夜。在通过TLC分析完成反应后,将反应用水(100mL)稀释,并用DCM(200mL x 2)萃取。将合并的有机相用饱和$NaHCO_3$溶液(50mL)和盐水(50mL)洗涤,干燥并浓缩,从而得到7.58g粗产物。将粗产物通过柱色谱法(PE:EtOAc=60/1至15/1)纯化,从而得到5.58g标题化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.34(d,J=8.1Hz,1H),6.83-6.88(m,2H),3.91(s,3H),3.73(s,2H)。

[0725] 2-(4-氯-3-甲氧基苯基)乙酸

[0726] 

[0727] 向2-(4-氯-3-甲氧基苯基)乙腈(5.58g,31mmol)于乙醇(120mL)和水(40mL)中的溶液中加入一份KOH(8.68g,155mol)。将反应在回流下搅拌约3小时。在TLC分析表明反应完成后,浓缩反应以去除大部分乙醇。将残余物的pH用稀释的HCl溶液调节至3,然后用EtOAc(200mL x 3)萃取。将合并的有机相用水(30mL)洗涤,干燥并浓缩至干,从而得到7.29g粗产物。^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ12.40(brs,1H),7.34(d,J=7.8Hz,1H),7.05(d,J=1.5Hz,1H),6.84(d,J=7.8,1.5Hz,1H),3.92(s,3H),3.72(s,2H)。

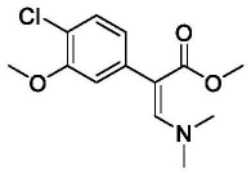
[0728] 2-(4-氯-3-甲氧基苯基)乙酸甲酯

[0729] 

[0730] 向2-(4-氯-3-甲氧基苯基)乙酸(7.29g,36.45mmol)于甲醇(100mL)中的溶液中加入一份浓缩的H_2SO_4(3.578g,36.45mmol)。将反应在70℃下搅拌2小时。在TLC分析表明反应完成后,将反应冷却至室温,并浓缩以去除大部分甲醇。将残余物用水(20mL)稀释并用

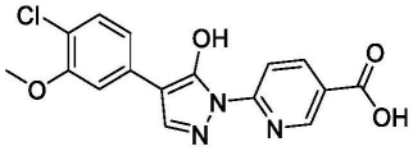
EtOAc(50mL x 2)萃取。将组合的有机相干燥并浓缩。将残余物通过柱色谱法(PE/EtOAc＝60/1至20/1)纯化,从而得到4.68g标题化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.29(d,J＝8.1Hz,1H),6.86(d,J＝1.5Hz,1H),6.80(d,J＝7.8,1.5Hz,1H),3.90(s,3H),3.72(s,3H),3.60(s,2H)。

[0731] (Z)-2-(4-氯-3-甲氧基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯

[0732] 

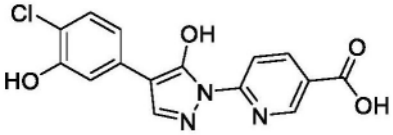
[0733] 根据使用2-(4-氯-3-甲氧基苯基)乙酸甲酯制备(Z)-2-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 270$(M+H)^+$;

[0734] 6-(4-(4-氯-3-甲氧基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0735] 

[0736] 根据使用(Z)-2-(4-氯-3-甲氧基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯制备6-(4-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 346$(M+H)^+$;

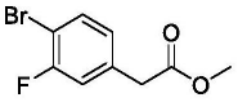
[0737] 6-(4-(4-氯-3-羟基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0738] 

[0739] 根据使用6-(4-(4-氯-3-甲氧基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸制备6-(4-(4-氰基-2-羟基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 332$(M+H)^+$;^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δδ13.30(brs,1H),10.07(s,1H),8.95(s,1H),8.42-8.52(m,2H),8.33(s,1H),7.70(s,1H),7.25(s,2H)。

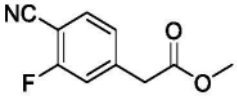
[0740] 实例23:化合物23的制备

[0741] 2-(4-溴-3-氟苯基)乙酸甲酯

[0742] 

[0743] 根据使用2-(4-溴-3-氟)乙酸制备2-(4-溴-2-甲氧基苯基)乙酸甲酯的程序合成化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.49(t,J＝8.1Hz,1H),7.08(d,J＝9.0Hz,1H),6.95(d,J＝8.1Hz,1H),3.71(s,3H),3.59(s,2H)。

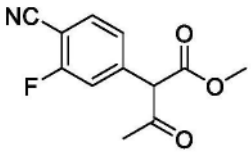
[0744] 2-(4-氰基-3-氟苯基)乙酸甲酯

[0745] 

[0746] 根据使用2-(4-溴-3-氟苯基)乙酸甲酯制备甲基2-(4-氰基-2-甲氧基苯基)乙酸

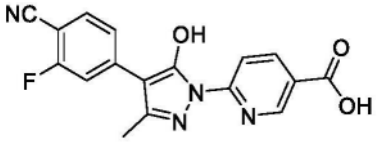
甲酯的程序合成化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.59(t,J=8.1Hz,1H),7.19(d,J=8.7Hz,2H),3.73(s,3H),3.70(s,2H)。

[0747] 2-(4-氰基-3-氟苯基)-3-氧代丁酸甲酯

[0748] 

[0749] 在氮气保护下,在-78℃下在10分钟内向2-(4-氰基-3-氟苯基)乙酸甲酯(363mg,1.88mmol)于THF(15mL)中的溶液中逐滴加入LiHMDS(2.9mmol,2.9mL)。将所得混合物在-78℃下搅拌30分钟后,在10分钟内将1-乙酰基咪唑(249mg,2.25mmol)于THF(5mL)中的溶液逐滴加入到反应中。将所得混合物在-78℃下继续搅拌1小时。在TLC分析表明反应完成后,将反应用饱和NH_4Cl溶液(20mL)淬灭,并用EtOAc(30mL x 2)萃取。将合并的有机相干燥并浓缩至干,得到410mg粗品标题化合物,其无需进一步纯化即可用于下一步骤。LC-MS(ESI-):m/z 234$(M-H)^-$;

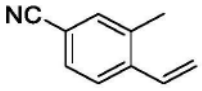
[0750] 6-(4-(4-氰基-3-氟苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0751] 

[0752] 根据使用2-(4-氰基-3-氟苯基)-3-氧代丁酸甲酯制备6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-4-甲基烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 337$(M+H^+)$,^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ8.99(d,J=1.5Hz,1H),8.34(m,1H),8.26(d,J=8.1Hz,2H),7.86(d,J=11.7Hz,1H),7.68(m,1H),7.57(m,1H),2.44(s,3H)。

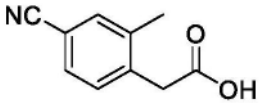
[0753] 实例24:化合物24的制备

[0754] 3-甲基-4-乙烯基苄腈

[0755] 

[0756] 在氮气保护下,向4-溴-3-甲基苄腈(5g,25.51mmol)和乙烯基三氟硼酸钾(6.84g,51.02mmol)于THF/水(250mL/25mL)中的溶液中加入Cs_2CO_3(33.3g,102.04mmol)和Pd(dppf)Cl_2(1.8g,2.55mmol)。将所得混合物在70℃下搅拌过夜。在TLC分析表明反应完成后,将反应用水(100mL)淬灭,并用EtOAc(50mL x 2)萃取。将组合的有机相干燥并浓缩。将残余物通过柱色谱法(PE:EtOAc=20/1至10/1)纯化,从而得到3.2g呈淡黄色油状物的标题化合物。GC-MS(EI+):m/z 143(M^+)。

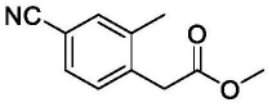
[0757] 2-(4-氰基-2-甲基苯基)乙酸

[0758] 

[0759] 向3-甲基-4-乙烯基苄腈(3.2g,22.38mmol)于DME(200mL)和水(48mL)中的溶液中加入一份I_2(0.57g,2.24mmol)。在10分钟内在室温下向所得混合物分批加入Oxone(27.52g,44.76mmol)。加入后,将反应在室温下搅拌过夜。在TLC分析表明反应完成后,过滤

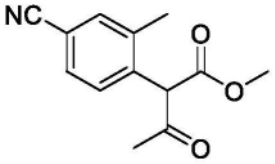
悬浮液以去除未溶解的固体,将滤液真空浓缩以去除大部分有机溶剂。将残余物用饱和$Na_2S_2O_3$(50mL)稀释,并用EtOAc(50mL x 3)萃取。将组合的有机相干燥并浓缩。将残余物在正己烷(30mL)中浆化30分钟并过滤。将正己烷浆化和过滤提纯重复两次后,获得3.56g粗品,其无需进一步提纯直接用于下一步。

[0760] 2-(4-氰基-2-甲基苯基)乙酸甲酯

[0761] 

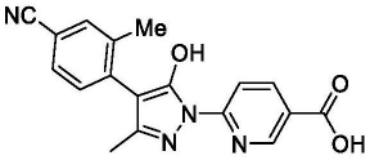
[0762] 根据使用2-(4-溴-2-甲基)乙酸制备2-(4-溴-2-甲氧基苯基)乙酸甲酯的程序合成化合物。^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.45-7.48(m,2H),7.30(d,J=8.1Hz,1H),3.71(s,3H),3.69(s,2H),2.34(s,3H)。

[0763] 2-(4-氰基-2-甲基苯基)-3-氧代丁酸甲酯

[0764] 

[0765] 根据使用2-(4-氰基-2-甲基苯基)乙酸甲酯制备2-(4-氰基-3-氟苯基)-3-氧代丁酸甲酯的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 232$(M+H)^+$;

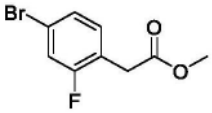
[0766] 6-(4-(4-氰基-2-甲基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0767] 

[0768] 根据使用2-(4-氰基-2-甲基苯基)-3-氧代丁酸甲酯制备6-(4-(4-氰基-3-氟苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 332$(M+H)^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ12.91(brs,2H),8.95(s,1H),8.52(d,J=8.7Hz,1H),8.39(d,J=8.7Hz,1H),8.23(s,1H),7.80(s,1H),6.78(s,1H)。

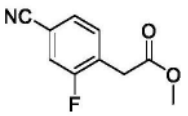
[0769] 实例25:化合物25的制备

[0770] 2-(4-溴-2-氟苯基)乙酸甲酯

[0771] 

[0772] 根据使用2-(4-溴-2-氟苯基)乙酸制备2-(4-氯-3-甲氧基苯基)乙酸甲酯的程序合成化合物。^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.24-7.27(m,2H),7.14(t,J=8.4Hz,1H),3.71(s,3H),3.63(s,2H)。

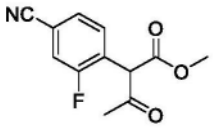
[0773] 2-(4-氰基-2-氟苯基)乙酸甲酯

[0774] 

[0775] 根据使用2-(4-溴-2-氟苯基)乙酸甲酯制备甲基2-(4-氰基-3-氟苯基)乙酸甲酯的程序合成化合物。^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.86(dd,J=8.7,1.2Hz,1H),7.70(d,J=

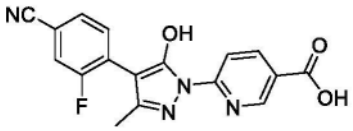
8.1Hz,1H),7.60(t,J=7.5Hz,1H),3.87(s,2H),3.64(s,3H)。

[0776] 2-(4-氰基-2-氟苯基)-3-氧代丁酸甲酯

[0777] 

[0778] 根据使用2-(4-氰基-2-氟苯基)乙酸甲酯制备2-(4-氰基-3-氟苯基)-3-氧代丁酸甲酯的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 258(M+Na)$^+$。

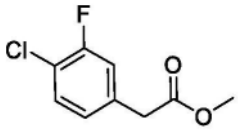
[0779] 6-(4-(4-氰基-2-氟苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0780] 

[0781] 根据使用2-(4-氰基-2-氟苯基)-3-氧代丁酸甲酯制备6-(4-(4-氰基-3-氟苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 339(M+H$^+$),^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ13.22(brs,1H),8.94(d,J=1.8Hz,1H),8.59(d,J=9.3Hz,1H),8.38(d,J=9.3Hz,1H),7.69-7.94(m,3H),2.23(s,3H)。

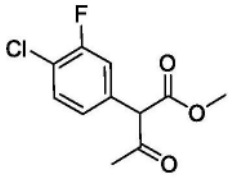
[0782] 实例26:化合物26的制备

[0783] 2-(4-氯-3-氟苯基)乙酸甲酯

[0784] 

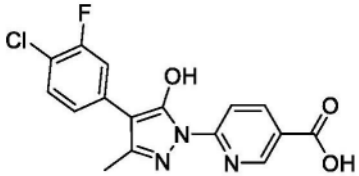
[0785] 根据使用2-(4-氯-3-氟苯基)乙酸制备2-(4-氯-3-甲氧基苯基)乙酸甲酯的程序合成化合物。^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.34(t,J=7.8Hz,1H),7.10(dd,J=8.1,1.8Hz,1H),7.01(d,J=8.1Hz,1H),3.71(s,3H),3.6(s,2H)。

[0786] 2-(4-氯-3-氟苯基)-3-氧代丁酸甲酯

[0787] 

[0788] 根据使用2-(4-氯-3-氟苯基)乙酸甲酯制备2-(4-氰基-2-氟苯基)-3-氧代丁酸甲酯的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 267(M+Na)$^+$;

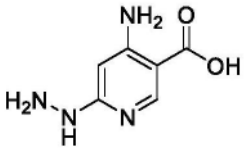
[0789] 6-(4-(4-氯-3-氟苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0790] 

[0791] 根据使用2-(4-氯-3-氟苯基)-3-氧代丁酸甲酯制备6-(4-(4-氰基-2-氟苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 348(M+Na)$^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ13.30(brs,1H),13.01(brs,1H),8.95(s,1H),8.56(brs,1H),8.41(dd,J=9.0,2.1Hz,1H),7.74(d,J=11.7Hz,1H),7.55-7.58(m,2H),2.47(s,3H)。

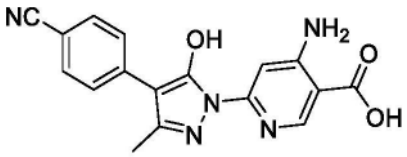
[0792] 实例27:化合物27的制备

[0793] 4-氨基-6-肼基烟酸

[0794] 

[0795] 根据使用4-氨基-6-氟烟酸制备6-肼基-4-甲基烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 169(M+H)$^+$;

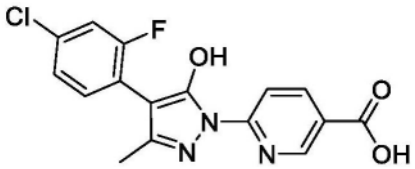
[0796] 4-氨基-6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0797] 

[0798] 根据使用4-氨基-6-肼基烟酸制备6-(4-(4-氰基-3-氟苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 336(M+H)$^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ8.63(s,1H),8.08(s,2H),7.88(d,J=8.4Hz,2H),7.76(d,J=8.4Hz,2H),7.37(brs,1H),2.39(s,3H)。

[0799] 实例28:化合物28的制备

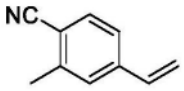
[0800] 6-(4-(4-氯-2-氟苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0801] 

[0802] 根据用于制备6-(4-(4-氯-3-氟苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 348(M+Na)$^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ13.36(brs,1H),12.82(brs,1H),8.95(d,J=1.5Hz,1H),8.58(brs,1H),8.40(m,1H),7.48-7.56(m,2H),7.33(m,1H),2.21(s,3H)。

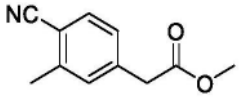
[0803] 实例29:化合物29的制备

[0804] 2-甲基-4-乙烯基苄腈

[0805] 

[0806] 根据使用4-溴-2-甲基苄腈制备3-甲基-4-乙烯基苄腈的程序合成化合物。^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.55(d,J=7.8Hz,1H),7.26-7.32(m,2H),6.70(m,1H),5.85(d,J=17.4Hz,1H),5.42(d,J=10.8Hz,1),2.54(s,3H)。

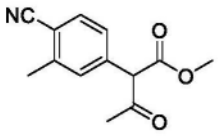
[0807] 2-(4-氰基-3-甲基苯基)乙酸甲酯

[0808] 

[0809] 根据使用2-甲基-4-乙烯基苄腈制备2-(4-氰基-2-甲基苯基)乙酸甲酯的程序合成化合物。^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.56(d,J=7.8Hz,1H),7.18-7.25(m,2H),3.71(s,3H),

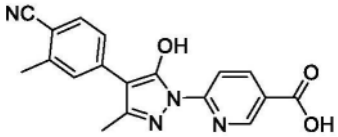
3.64(s,2H),2.54(s,3H)。

[0810] 2-(4-氰基-3-甲基苯基)-3-氧代丁酸甲酯

[0811] 

[0812] 根据使用2-(4-氰基-3-甲基苯基)乙酸甲酯制备2-(4-氰基-3-氟苯基)-3-氧代丁酸甲酯的程序合成化合物。LC-MS(ESI-):m/z 230(M-H)⁻;

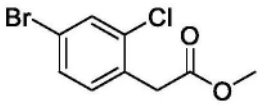
[0813] 6-(4-(4-氰基-3-甲基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0814] 

[0815] 根据使用2-(4-氰基-3-甲基苯基)-3-氧代丁酸甲酯制备6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-4-甲基烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 333(M-H)⁻;^{1}H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ8.96(s,1H),8.40(d,J=8.7,2.1Hz,1H),8.39(d,J=8.7Hz,1H),7.71(s,1H),7.58-7.66(m,2H),2.55(s,3H),2.45(s,3H)。

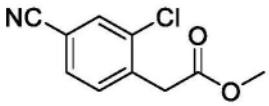
[0816] 实例30:化合物30的制备

[0817] 2-(4-溴-2-氯苯基)乙酸甲酯

[0818] 

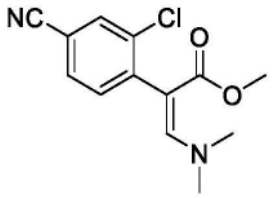
[0819] 根据使用2-(4-溴-2-氟苯基)乙酸制备2-(4-溴-2-氟苯基)乙酸甲酯的程序合成化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.55(d,J=1.8Hz,1H),7.37(dd,J=8.1,1.8Hz,1H),7.16(d,J=1.8Hz,1H),3.71(s,3H),3.67(s,2H)。

[0820] 2-(2-氯-4-氰基苯基)乙酸甲酯

[0821] 

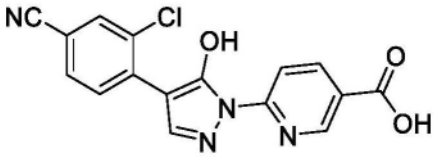
[0822] 根据使用2-(4-溴-2-氯苯基)乙酸甲酯制备甲基2-(4-氰基-2-氟苯基)乙酸甲酯的程序合成化合物。GC-MS(EI+):m/z 209。

[0823] (Z)-2-(2-氯-4-氰基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯

[0824] 

[0825] 根据使用2-(2-氯-4-氰基苯基)乙酸甲酯制备(Z)-2-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 265(M+H)⁺

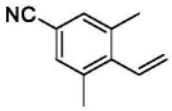
[0826] 6-(4-(2-氯-4-氰基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0827] 

[0828] 根据使用(Z)-2-(2-氯-4-氰基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯制备6-(4-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 341(M+H)$^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ13.42(brs,2H),8.97(s,1H),8.44-8.60(m,3H),8.28(d,J=8.1Hz,1H),8.06(s,1H),7.81(d,J=8.1Hz,1H)。

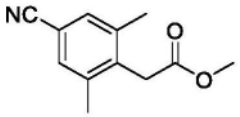
[0829] 实例31:化合物31的制备

[0830] 3,5-二甲基-4-乙烯基苄腈

[0831] 

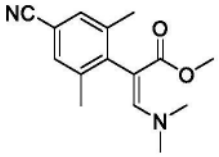
[0832] 根据使用4-溴-3,5-二甲基苄腈制备3-甲基-4-乙烯基苄腈的程序合成化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.32(s,2H),6.64(m,1H),5.54(dd,J=11.7,1.5Hz,1H),5.32(dd,J=17.7,1.5Hz,1H),2.32(s,6H)。

[0833] 2-(4-氰基-2,6-二甲基苯基)乙酸甲酯

[0834] 

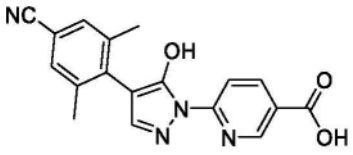
[0835] 根据使用3,5-二甲基-4-乙烯基苄腈制备2-(4-氰基-2-甲基苯基)乙酸甲酯的程序合成化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.33(s,2H),3.72(s,2H),3.70(s,3H),2.35(s,6H)。

[0836] (Z)-2-(4-氰基-2,6-二甲基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯

[0837] 

[0838] 根据使用2-(4-氰基-2,6-二甲基苯基)乙酸甲酯制备(Z)-2-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯的程序合成化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.62(s,1H),7.28(s,2H),3.59(s,3H),2.64(s,6H),2.20(s,6H)。

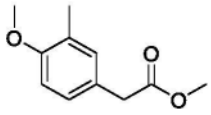
[0839] 6-(4-(4-氰基-2,6-二甲基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0840] 

[0841] 根据使用(Z)-2-(4-氰基-2,6-二甲基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯制备6-(4-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 335(M+H)$^+$;^{1}H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ8.03(s,1H),8.52(m,2H),7.75(s,1H),7.40-7.47(m,2H),2.30(s,6H)。

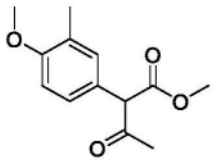
[0842] 实例32:化合物32的制备

[0843] 2-(4-甲氧基-3-甲基苯基)乙酸甲酯

[0844] 

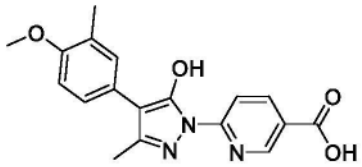
[0845] 根据使用2-(4-甲氧基-3-甲基苯基)乙酸制备2-(4-溴-2-甲氧基苯基)乙酸甲酯的程序合成化合物。^{1}H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ7.05-7.07(m,2H),6.77(d,J=7.8Hz,1H),3.81(1,3H),3.76(s,3H),3.54(s,2H),2.20(s,3H)。

[0846] 2-(4-甲氧基-3-甲基苯基)-3-氧代丁酸甲酯

[0847] 

[0848] 根据使用2-(4-甲氧基-3-甲基苯基)乙酸甲酯制备2-(4-氰基-3-氟苯基)-3-氧代丁酸甲酯的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 259$(M+Na)^+$;

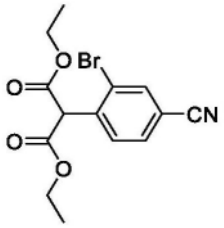
[0849] 6-(5-羟基-4-(4-甲氧基-3-甲基苯基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0850] 

[0851] 根据使用2-(4-甲氧基-3-甲基苯基)-3-氧代丁酸甲酯制备6-(4-(4-氰基-3-氟苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 340$(M+H)^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ13.30(brs,1H),12.35(brs,1H),8.93(s,1H),8.58(s,1H),8.39(d,J=6.9Hz,1H),7.34-7.36(m,2H),6.96(d,J=9.0Hz,1H),3.80(s,3H),2.35(s,3H),2.18(s,3H)。

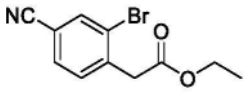
[0852] 实例33:化合物33的制备

[0853] 2-(2-溴-4-氰基苯基)丙二酸二乙酯

[0854] 

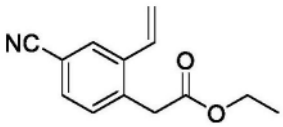
[0855] 在氮气保护下,在0℃下在5分钟内向丙二酸二乙酯(2g,12.5mmol)于DMF中的溶液分批加入NaH(600mg,15mmol)。将反应在0℃下搅拌30分钟后,将3-溴-4-氟苄腈(2.08g,10mmol)以一份加入反应中,并将反应在80℃下搅拌1.5小时。在TLC分析表明反应完成后,将反应用水(20mL)淬灭,并用稀释的HCl溶液将pH调节至5。然后将所得混合物用EtOAc(50mL x 2)萃取。将合并的有机相用水(20mL)和盐水(20mL)洗涤,干燥并浓缩至干。将残余物通过柱色谱法(PE/EtOAc=20/1至10/1)纯化,从而得到1.8g标题化合物。LC-MS(ESI+):m/z 340,342$(M+H)^+$。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.90(s,2H),7.64(s,2H),5.24(s,1H),4.21-4.32(m,4H),1.29(t,J=7.2Hz,6H)。

[0856] 2-(2-溴-4-氰基苯基)乙酸乙酯

[0857] 

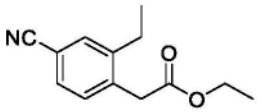
[0858] 向2-(2-溴-4-氰基苯基)丙二酸二乙酯(1.8g,5.3mmol)于DMSO(20mL)和水(96mg,5.3mmol)中的溶液中加入一份LiCl(339mg,8mmol)。将所得混合物在120℃下搅拌过夜。在TLC分析表明反应完成后,将反应通过水(20mL)淬灭,用稀释的HCl溶液将pH调节至6,并用EtOAc(20mL x 2)萃取。将合并的有机相用水(20mL)和盐水(20mL)洗涤,干燥并浓缩。将残余物通过柱色谱法(PE/EtOAc=20/1至10/1)纯化,从而得到780mg标题化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.87(s,1H),7.59(d,J=7.8Hz,1H),7.42(d,J=7.8Hz,1H),4.20(q,J=6.9Hz,2H),3.84(s,2H),1.27(t,J=6.9Hz,3H)

[0859] 2-(4-氰基-2-乙烯基苯基)乙酸乙酯

[0860] 

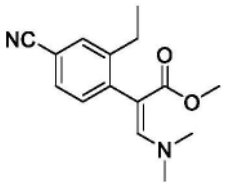
[0861] 根据使用2-(2-溴-4-氰基苯基)乙酸乙酯制备3-甲基-4-乙烯基苄腈的程序合成化合物。^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.7(s,1H),7.52(d,J=7.8Hz,1H),7.33(d,J=7.8Hz,1H),6.89(m,1H),5.70(d,J=17.4Hz,1H),5.42(d,J=10.8Hz,1),4.15(q,J=7.2Hz,1H),3.73(s,3H),1.24(q,J=7.2Hz,1H)。

[0862] 2-(4-氰基-2-乙基苯基)乙酸乙酯

[0863] 

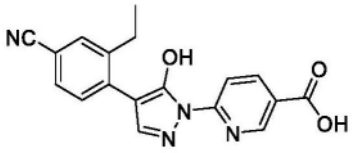
[0864] 向2-(4-氰基-2-乙烯基苯基)乙酸甲酯(560mg,2.6mmol)于甲醇(10mL)中的溶液中加入Pd/C(56mg)。将悬浮液在氢气气氛下从气球中搅拌约1小时。在TLC分析表明反应完成后,将悬浮液过滤通过硅藻土包装,并将滤饼用甲醇(10mL)洗涤。将滤液浓缩至干,从而得到540mg粗品标题化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.61(s,1H),7.49(d,J=8.1Hz,1H),7.31(d,J=8.1Hz,1H),4.16(q,J=7.2Hz,2H),3.69(s,2H),2.68(q,J=7.5Hz,2H),1.21-1.28(m,6H)。

[0865] (Z)-2-(4-氰基-2-乙基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸乙酯

[0866] 

[0867] 根据使用2-(4-氰基-2-乙基苯基)乙酸乙酯制备(Z)-2-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯的程序合成化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.60(s,1H),7.49(s,1H),7.41(d,J=8.1Hz,1H),7.23(m,1H),4.12(q,J=6.9Hz,2H),3.60(s,3H),2.67(s,6H),1.14(t,J=6.9Hz,3H)

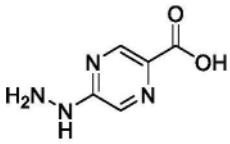
[0868] 6-(4-(4-氰基-2-乙基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0869] 

[0870] 根据使用(Z)-2-(4-氰基-2-乙基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸乙酯制备6-(4-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 335(M+H)$^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ8.97(s,1H),8.52(m,2H),8.12(s,1H),7.75(s,1H),7.60-7.69(m,2H),2.78(q,J=7.5Hz,2H),1.17(q,J=7.5Hz,3H)

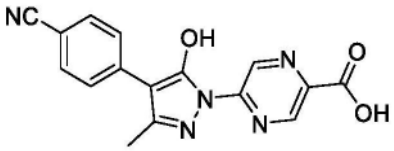
[0871] 实例34:化合物34的制备

[0872] 5-肼基吡嗪-2-羧酸

[0873] 

[0874] 根据使用5-氟吡嗪-2-羧酸制备6-肼基-4-甲基烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 155(M+H)$^+$;

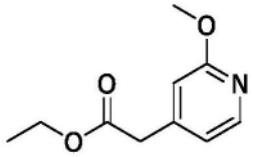
[0875] 5-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)吡嗪-2-羧酸

[0876] 

[0877] 根据使用5-肼基吡嗪-2-羧酸制备6-(4-(4-氰基-3-氟苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 322(M+H)$^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ9.80(s,1H),9.04(s,1H),7.91(d,J=8.4Hz,2H),7.83(d,J=8.4Hz,2H),2.51(s,3H)。

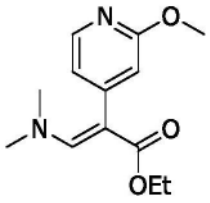
[0878] 实例35:化合物35的制备

[0879] 2-(2-甲氧基吡啶-4-基)乙酸乙酯

[0880] 

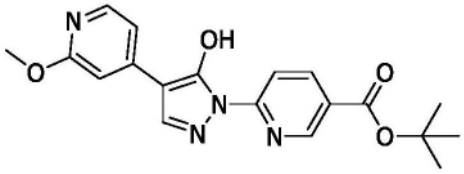
[0881] 在氮气下,在-78℃向2-甲氧基-4-甲基吡啶(2.0g,16.2mmol)于无水四氢呋喃(50.0mL)中的溶液中加入二异丙基氨基锂(16.0mL,32.0mmol,2.0M,于正庚烷中)。将混合物在-78℃下搅拌10分钟并加入碳酸二乙酯(3.78g,32.0mmol)。使混合物升温至室温并搅拌2.0小时。将反应用水淬灭,并用乙酸乙酯萃取两次。将有机层用盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将粗产物通过快速色谱法(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化,从而获得呈黄色油状物的2-(2-甲氧基吡啶-4-基)乙酸乙酯(2.0g,10.2mmol,63.4%产率)。LC-MS:m/z=196.1(M+H)$^+$,保留时间为1.97分钟(方法A)。

[0882] (E)-3-(二甲氨基)-2-(2-甲氧基吡啶-4-基)丙烯酸乙酯

[0883] 

[0884] 向2-(2-甲氧基吡啶-4-基)乙酸乙酯(1.95g,10mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(3.0mL)中的溶液中加入N,N-二甲基甲酰胺二乙缩醛(5.95g,50mmol)。将混合物在100℃下搅拌12.0小时并冷却。向溶液中加入乙酸乙酯和水,并分离各层。将有机层用盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将粗产物通过快速色谱法(二氯甲烷/甲醇=98/2)纯化,从而获得呈无色油状物的(E)-3-(二甲氨基)-2-(2-甲氧基吡啶-4-基)丙烯酸乙酯(1.1g,4.4mmol,44%产率)。LC-MS:m/z=251.0[M+H]$^+$,保留时间为1.68分钟(方法B)。

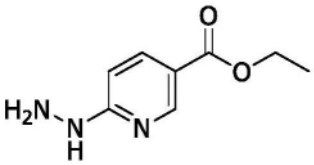
[0885] 6-(5-羟基-4-(2-甲氧基吡啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯

[0886] 

[0887] 向(E)-3-(二甲氨基)-2-(2-甲氧基吡啶-4-基)丙烯酸乙酯(0.25g,1.0mmol)和6-肼基烟酸叔丁酯(0.21g,1.0mmol)于乙醇(5.0mL)中的溶液中加入对甲苯磺酸一水合物(19mg,0.1mmol)。将混合物在回流温度下搅拌12.0小时并冷却以沉淀固体。将固体过滤,用乙醇洗涤,并干燥,从而得到呈白色固体的6-(5-羟基-4-(2-甲氧基吡啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯(210mg,0.57mmol,57%产率)。LC-MS:m/z=369.0(M+H)$^+$,保留时间为4.38分钟(方法A)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ13.53(m,1H),8.91(s,1H),8.39-8.67(m,2H),8.04-8.06(d,J=5.0Hz,1H),7.39-7.50(m,2H),3.86(m,3H),1.58(s,9H)。

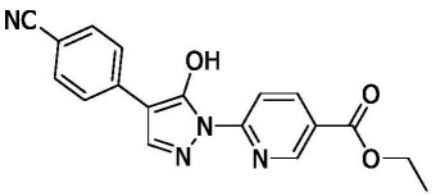
[0888] 实例36:化合物36的制备

[0889] 6-肼基烟酸乙酯

[0890] 

[0891] 向6-氯烟酸乙酯(1.0g,5.40mmol)于四氢呋喃(6.0mL)中的溶液中加入水合肼(300mg,5.94mmol,85%,于水中)。将混合物在回流温度下搅拌过夜。将混合物冷却并浓缩至干。将残余物在乙酸乙酯和水之间分配。将有机相用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩。获得呈黄色油状物的粗产物(600mg,3.31mmol,61.4%产率)。LC-MS:m/z=182.1(M+H)$^+$,保留时间为0.37分钟(方法A)。产物足够纯,直接用于下一步。

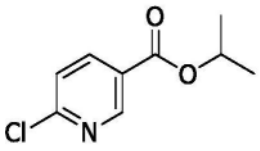
[0892] 6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸乙酯

[0893] 

[0894] 向(E)-2-(4-氰基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯(300mg,1.30mmol)和6-肼基烟酸乙酯(235mg,1.30mmol)于乙醇(5.0mL)中的溶液中加入对甲苯磺酸一水合物(25mg,0.13mmol)。将反应在90℃下搅拌过夜并冷却以沉淀固体。将固体过滤,用乙醇洗涤,并干燥,从而获得呈黄色固体的6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸乙酯(51mg,0.15mmol,11.7%产率)。LC-MS:m/z=335.1[M+H]$^+$,保留时间为5.05分钟(方法A)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ13.58(s,1H),8.97(s,1H),8.70-8.47(m,3H),8.15(s,2H),7.79-7.77(m,2H),4.39-4.34(m,2H),1.37-1.22(m,3H)。

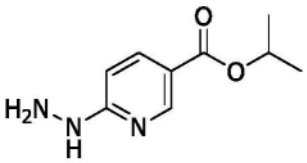
[0895] 实例37:化合物37的制备

[0896] 6-氯烟酸异丙酯

[0897] 

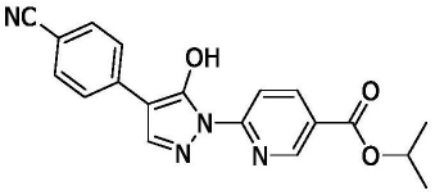
[0898] 在室温下向6-氯烟酸(3.0g,19.2mmol)于二氯甲烷(50.0mL)中的溶液中加入羰基二咪唑(3.42g,21.1mmol)。将混合物搅拌1.0小时,并加入异丙醇(3.78g,32.0mmol)。在真空下去除二氯甲烷。加入催化量的异丙醇钠(164mg,2.0mmol),并将混合物在90℃下加热1.0小时。将溶液在真空下浓缩。将所得残余物用水浆化,并用乙酸乙酯萃取。将有机层用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩,从而得到呈黄色固体的6-氯烟酸异丙酯(3.4g,17.1mmol,89%产率)。LC-MS:m/z=200.0[M+H]$^+$,保留时间为2.04分钟(方法A)。产物足够纯,直接用于下一步

[0899] 6-肼基烟酸异丙酯

[0900] 

[0901] 向6-氯烟酸异丙酯(1.0g,5.03mmol)于乙醇(10.0mL)中的溶液中加入水合肼(1.0g,20.1mmol,85%,于水中)。将混合物在80℃下搅拌过夜。将混合物冷却并浓缩至干。将残余物在乙酸乙酯和水之间分配。将有机相用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩。将残余物用石油醚研磨,并过滤,从而得到呈黄色固体的6-肼基烟酸异丙酯(800mg,4.1mmol,81.6%产率)。LC-MS:m/z=196.0(M+H)$^+$,保留时间为0.39分钟(方法A)。

[0902] 6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸异丙酯

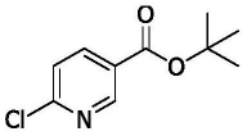
[0903] 

[0904] 向(E)-2-(4-氰基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯(300mg,1.30mmol)和6-肼基烟酸异丙酯(254mg,1.30mmol)于乙醇(5.0mL)中的溶液中加入对甲苯磺酸一水合物(25mg,0.13mmol)。将反应在90℃下搅拌过夜并冷却以沉淀固体。将固体过滤,用乙醇洗涤,并干燥,从而获得呈黄色固体的6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸异丙酯(53mg,

0.15mmol,11.7%产率)。LC-MS:m/z=349.0[M+H]$^+$,保留时间为5.44分钟(方法A)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ13.55(s,1H),8.95(s,1H),8.69(s,1H),8.53-8.44(m,2H),8.14-8.12(m,2H),8.79-8.77(m,2H),5.21-5.15(m,1H),1.36-1.34(m,6H)。

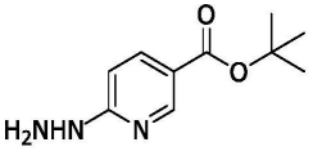
[0905] 实例38:化合物38的制备

[0906] 6-氯烟酸叔丁酯

[0907] 

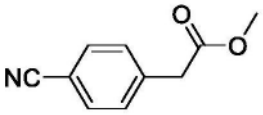
[0908] 向6-氯烟酸(5.0g,6.37mmol)和4-二甲氨基吡啶(0.39g,0.64mmol)于四氢呋喃(50.0mL)中的溶液中加入二碳酸二叔丁酯(10.41g,47.77mmol)。将反应混合物回流4.0小时并浓缩。将残余物通过快速色谱法(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化,从而得到呈黄色固体的6-氯烟酸叔丁酯(5.5g,81.12%产率)。LC-MS:m/z=214.0(M+H)$^+$,保留时间为1.83分钟(方法A)。

[0909] 6-肼基烟酸叔丁酯

[0910] 

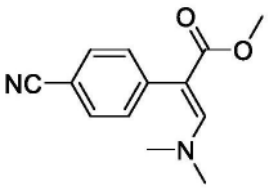
[0911] 向6-氯烟酸叔丁酯(5.5g,25.82mmol)于乙醇(25.0mL)中的溶液中加入水合肼(6.46g,129.11mmol,85%,于水中)。将混合物在100℃下搅拌2.0小时。将混合物冷却并浓缩至干。将残余物在乙酸乙酯和水之间分配。将有机相用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩。将残余物用石油醚研磨,并过滤,从而得到呈黄色固体的6-肼基烟酸叔丁酯(5.0g,92.76%产率)。LC-MS:m/z=210.0(M+H)$^+$,保留时间为1.19分钟(方法A)。

[0912] 2-(4-氰基苯基)乙酸甲酯

[0913] 

[0914] 在0℃下,向2-(4-氰基苯基)乙酸(5.0g,31.0mmol)于甲醇(10.0mL)中的混合物中加入甲醇中的盐酸(20.0mL,3.0M)。将混合物在70℃下搅拌3.0小时并冷却以沉淀固体。将固体过滤,用甲醇洗涤,并干燥,从而得到呈黄色固体的2-(4-氰基苯基)乙酸甲酯(5.0g,28.4mmol,92%产率)。LC-MS:m/z=176.0[M+H]$^+$,保留时间为1.54分钟(方法A)。

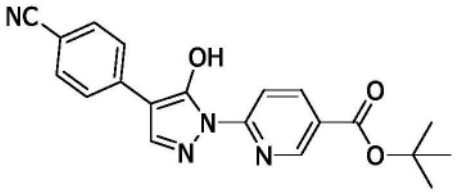
[0915] (E)-2-(4-氰基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯

[0916] 

[0917] 向2-(4-氰基苯基)乙酸甲酯(5.0g,28.5mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(25.0mL)中的溶液中加入N,N-二甲基甲酰胺二乙缩醛(14.0g,114.16mmol)。将混合物在100℃下搅拌16.0小时并冷却。向溶液中加入乙酸乙酯和水,并分离各层。将有机层用盐水洗涤,经硫酸

钠干燥,并浓缩,从而得到呈黄色固体的(E)-2-(4-氰基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯(5.20g,25.4mmol,89%产率)。LC-MS:m/z=231.0[M+H]$^+$,保留时间为1.70分钟(方法A)。产物足够纯,直接用于下一步

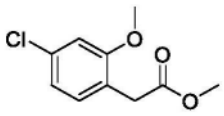
[0918] 6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯

[0919] 

[0920] 向(E)-2-(4-氰基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯(2.0g,8.70mmol)和6-肼基烟酸叔丁酯(1.82g,8.70mmol)于乙醇(20.0mL)中的溶液中加入对甲苯磺酸一水合物(171mg,0.9mmol)。将反应在90℃下搅拌16.0小时并冷却以沉淀固体。将固体过滤,用乙醇洗涤,并干燥,从而获得呈黄色固体的6-(4-(4-氰基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯(2.3g,6.35mmol,73%产率)。LC-MS:m/z=363.1(M+H)$^+$,保留时间为5.82分钟(方法A)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ13.58(s,1H),8.92(s,1H),8.69(s,1H),8.51(s,1H),8.44-8.41(m,1H),8.15-8.13(m,2H),7.81-7.78(m,2H),1.58(s,9H)。

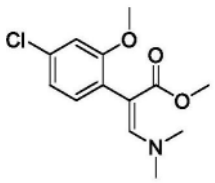
[0921] 实例39:化合物39的制备

[0922] 2-(4-氯-2-甲氧基苯基)乙酸甲酯

[0923] 

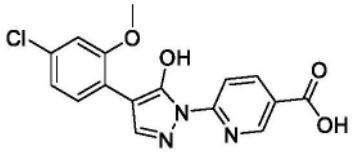
[0924] 根据使用2-(4-氯-2-甲氧基苯基)乙酸制备2-(4-溴-2-甲氧基苯基)乙酸甲酯的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 237(M+Na)$^+$;^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.10(d,J=8.1Hz,1H),6.85-6.92(m,2H),3.86(s,3H),3.71(s,3H),3.67(s,2H)。

[0925] (Z)-2-(4-氯-2-甲氧基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯

[0926] 

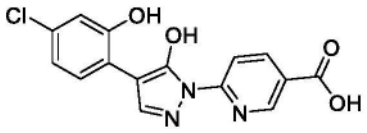
[0927] 根据使用2-(4-氯-2-甲氧基苯基)乙酸甲酯制备(Z)-2-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 270(M+H)$^+$。

[0928] 6-(4-(4-氯-2-甲氧基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0929] 

[0930] 根据使用(Z)-2-(4-氯-2-甲氧基苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸甲酯制备6-(4-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 346(M+H)$^+$;

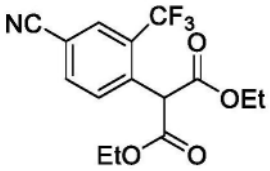
[0931] 6-(4-(4-氯-2-羟基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0932] 

[0933] 根据使用6-(4-(4-氯-2-甲氧基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸制备6-(4-(4-氰基-2-羟基苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 332 $(M+H)^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ12.91(brs,2H),8.95(s,1H),8.52(d,J=8.7Hz,1H),8.39(d,J=8.7Hz,1H),8.23(s,1H),7.80(s,1H),6.78(s,2H)。

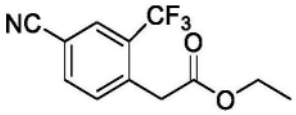
[0934] 实例40:化合物40的制备

[0935] 2-(4-氰基-2-(三氟甲基)苯基)丙二酸二乙酯

[0936] 

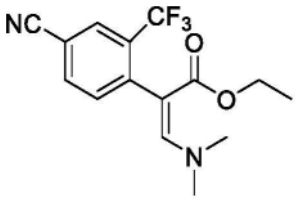
[0937] 在氮气保护下,将3-(乙基过氧)-3-氧代丙酸乙酯(10.20g,63.50mmol)于DMF(100ml)中的溶液加入Cs_2CO_3(45.50g,139.70mmol)中。将反应在70℃下搅拌10分钟后,将4-氟-3-(三氟甲基)苄腈(12.00g,63.50mmol)加入反应中。将所得混合物在70℃下搅拌2小时。在TLC表明反应完成后,将反应用水(300mL)淬灭,并用EtOAc(500mL×2)萃取。将合并的有机相用水(50mL)洗涤,用Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩,从而得到呈油状物的所需产物(20.8g)。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.99(s,1H),7.86-7.92(m,2H),5.11(s,1H),4.20-4.33(m,4H),1.28(t,J=7.2Hz,6H)。

[0938] 2-(4-氰基-2-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯

[0939] 

[0940] 将2-(4-氰基-2-(三氟甲基)苯基)丙二酸二乙酯(15.00g,45.60mmol)于DMSO(150ml)中的溶液加入LiCl(2.90g,68.40mmol)和水(0.80mL,45.6mmol)中。将混合物在120℃下搅拌过夜。在TLC表明反应完成后,将反应用水(300mL)淬灭,并用EtOAc(150mL×3)萃取。将合并的有机相用水(100mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(EA/PE=1/25)纯化,从而得到呈白色固体的所需产物(8.28g)。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.97(d,J=1.8Hz,1H),7.83(d,J=7.8Hz,1H),7.57(d,J=7.8Hz,1H),4.18(q,J=7.2Hz,2H),3.88(s,2H),1.26(t,J=7.2Hz,3H)。

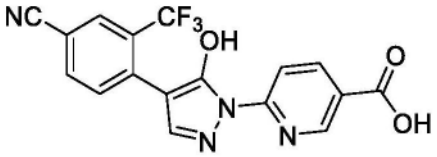
[0941] (Z)-2-(4-氰基-2-(三氟甲基)苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸乙酯

[0942] 

[0943] 将密封管中的2-(4-氰基-2-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯(4.00g,15.56mmol)和DME-DMA(15mL)的溶液在150℃下搅拌过夜。在TLC表明反应完成后,将混合物用水(100mL)稀释,并用EtOAc(150mL×3)萃取。将合并的有机相用Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩。将残余物通

过硅胶色谱法(EA/PE＝1/9)纯化,从而得到呈棕色油状物的所需产物(3.2g)。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.94(s,1H),7.75(d,J＝7.8Hz,1H),7.59(s,1H),7.46(d,J＝7.8Hz,1H),3.95-4.08(m,2H),2.66(brs,6H),1.10(t,J＝7.2Hz,3H)。

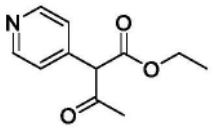
[0944] 6-(4-(4-氰基-2-(三氟甲基)苯基)-5-羟基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0945] 

[0946] 向(Z)-2-(4-氰基-2-(三氟甲基)苯基)-3-(二甲氨基)丙烯酸乙酯(1.00g,3.20mmol)于i-PrOH(38mL)中的溶液中加入6-肼基烟酸(0.59g,0.38mmol)和稀释的HCl溶液(38mL,1M)。将反应在室温下搅拌24小时。在LCMS分析表明反应完成后,加入DIEA(15当量),并将混合物在室温下搅拌2天。将混合物的pH调至3后,沉淀出大量固体。过滤和浆料纯化后,获得90mg呈固体的所需产物。HPLC纯度为93.1%。LC-MS(ESI+):m/z 375$(M+H)^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ8.98(s,1H),8.47-8.57(m,2H),8.34(s,1H),8.17(d,J＝8.4Hz,1H),7.97-8.02(m,2H)。

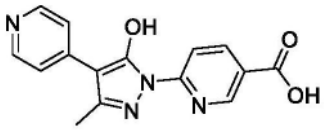
[0947] 实例41:化合物41的制备

[0948] 3-氧代-2-(吡啶-4-基)丁酸乙酯

[0949] 

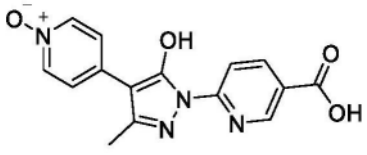
[0950] 根据使用3-氧代-2-(吡啶-4-基)丁酸乙酯制备2-(4-氰基-2-氟苯基)-3-氧代丁酸甲酯的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 208$(M+H)^+$

[0951] 6-(5-羟基-3-甲基-4-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0952] 

[0953] 根据使用3-氧代-2-(吡啶-4-基)丁酸乙酯制备6-(4-(4-氰基-3-氟苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 297$(M+H)^+$;^{1}H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ9.00(s,1H),8.24-8.33(m,4H),7.84(d,J＝6.0Hz,2H),2.44(s,3H)

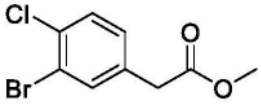
[0954] 4-(1-(5-羧基吡啶-2-基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶1-氧化物

[0955] 

[0956] 在室温下向6-(5-羟基-3-甲基-4-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)烟酸(190mg,0.64mmol)于DMF(10mL)中的溶液中加入一份m-CPBA(166mg,096mmol)。将所得混合物在室温下搅拌约2小时。在HPLC分析表明反应完成后,将反应混合物直接通过制备型HPLC纯化,从而得到50mg标题化合物。LC-MS(ESI+):m/z 313$(M+H)^+$;^{1}H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ9.03(d,J＝2.1Hz,1H),8.61(d,J＝6.3Hz,1H),8.45(m,1H),8.07(d,J＝8.7Hz,1H),7.92(d,J＝6.3Hz,1H),2.07(s,3H)。

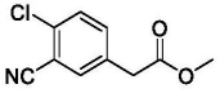
[0957] 实例42:化合物42的制备

[0958] 2-(3-溴-4-氯苯基)乙酸甲酯

[0959] 

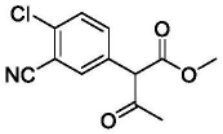
[0960] 根据使用2-(3-溴-4-氯苯基)乙酸制备2-(4-溴-2-甲氧基苯基)乙酸甲酯的程序合成化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.55(d,J=1.8Hz,1H),7.40(d,J=8.1Hz,1H),7.17(dd,J=8.1,1.8Hz,1H),3.71(s,3H),3.58(s,2H)。

[0961] 2-(4-氯-3-氰基苯基)乙酸甲酯

[0962] 

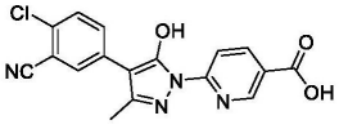
[0963] 根据使用2-(3-溴-4-氯苯基)乙酸甲酯制备甲基2-(4-氰基-2-氟苯基)乙酸甲酯的程序合成化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.61(s,1H),7.48(s,2H),3.73(s,3H),3.64(s,2H)。

[0964] 2-(4-氯-3-氰基苯基)-3-氧代丁酸甲酯

[0965] 

[0966] 根据使用2-(4-氯-3-氰基苯基)乙酸甲酯制备2-(4-氰基-3-氟苯基)-3-氧代丁酸甲酯的程序合成化合物。粗产物在不经过进一步处理的情况下直接用于下一步骤。

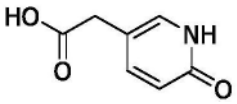
[0967] 6-(4-(4-氯-3-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0968] 

[0969] 根据使用2-(4-氯-3-氰基苯基)-3-氧代丁酸甲酯制备6-(4-(4-氰基-3-氟苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 355$(M+H)^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ8.95(s,1H),8.57(d,J=6.9Hz,1H),8.43(m,1H),8.22(s,1H),8.03(d,J=9.0Hz,1H),7.75(d,J=9.0Hz,1H),1.91(s,3H)。

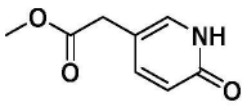
[0970] 实例43:化合物43的制备

[0971] 2-(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)乙酸:

[0972] 

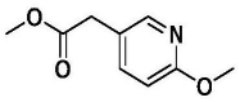
[0973] 将2-(6-氯吡啶-3-基)乙酸(1.0g,6.4mmol)于冰乙酸(13.0mL)和水(3.0mL)中的混合物在密封管中于150℃下搅拌3.0天。将溶液冷却并蒸发,从而得到残余物。将残余物从甲苯中再蒸发,从而获得呈棕色固体的2-(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)乙酸(1.1g,粗品)。LC-MS:m/z=154.1$[M+H]^+$,保留时间为1.63分钟(方法A)。将粗产物用于下一步骤。

[0974] 2-(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)乙酸甲酯:

[0975] 

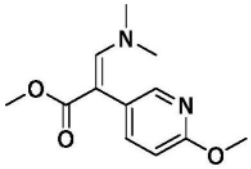
[0976] 向2-(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)乙酸(1.1g,粗品)于甲醇(20.0mL)中的溶液中加入浓硫酸(0.5mL)。将混合物在室温下搅拌15小时并浓缩。将残余物在乙酸乙酯和饱和碳酸氢钠溶液之间分配。将有机层用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并在减压下浓缩,从而得到呈白色固体的2-(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)乙酸甲酯(800mg,4.79mmol,74.8%产率)。LC-MS:m/z=168.1[M+H]$^+$,保留时间为1.35分钟(方法A)。

[0977] 2-(6-甲氧基吡啶-3基)乙酸甲酯

[0978] 

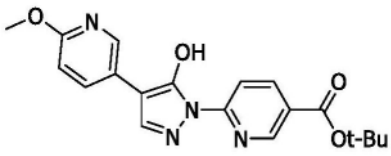
[0979] 向2-(6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)乙酸甲酯(450mg,2.69mmol)和碳酸铯(1.05g,3.23mmol)于无水四氢呋喃(20.0mL)中的溶液中加入碘甲烷(580mg,4.20mmol)。将混合物在室温下搅拌18小时。将溶液用乙酸乙酯和水稀释。将有机层用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩。将残余物通过快速色谱法(石油醚/乙酸乙酯=3/1)纯化,从而得到呈黄色油状物的2-(1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)乙酸甲酯和2-(6-甲氧基吡啶-3-基)乙酸甲酯的混合物(400mg,2.21mmol,82.1%产率)。LC-MS:m/z=182.1(M+H)$^+$,保留时间为1.33分钟(方法A)。

[0980] (E)-3-(二甲氨基)-2-(6-甲氧基吡啶-3-基)丙烯酸甲酯

[0981] 

[0982] 向2-(1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)乙酸甲酯和2-(6-甲氧基吡啶-3-基)乙酸甲酯(400mg,2.21mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(5.0mL)中的溶液中加入N,N-二甲基甲酰胺二乙缩醛(1.63g,11.1mmol)。将混合物在100℃下搅拌过夜并冷却。向溶液中加入乙酸乙酯和水,并分离各层。将有机层用盐水洗涤,用硫酸钠干燥并浓缩,从而得到呈黄色油状物的(E)-3-(二甲氨基)-2-(1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)丙烯酸甲酯和(E)-3-(二甲氨基)-2-(6-甲氧基吡啶-3-基)丙烯酸甲酯的混合物(400mg,1.69mmol,76.7%产率)。LC-MS:m/z=237.1[M+H]$^+$,保留时间为1.08分钟、1.51分钟(方法B)。将混合物用于下一步骤。

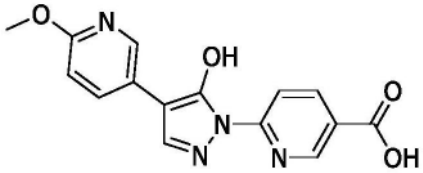
[0983] 6-(5-羟基-4-(6-甲氧基吡啶-3-基)-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯

[0984] 

[0985] 将(E)-3-(二甲氨基)-2-(1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)丙烯酸甲酯和(E)-3-(二甲氨基)-2-(6-甲氧基吡啶-3-基)丙烯酸甲酯于乙醇(5.0mL)中的混合物(350mg,1.48mmol)在密封管中在90℃下搅拌16.0小时并冷却。过滤不溶性固体,并将滤液浓缩至干。将两种异构体通过反向制备型HPLC分离为白色固体。6-(5-羟基-4-(6-甲氧基吡啶-3-基)-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯(76mg,0.21mmol,27.9%产率)。LC-MS:m/z=369.0[M

+H]$^+$,保留时间为2.29分钟(方法A)。^{1}HNMR(500MHz,DMSO-d_6)δ12.97(br,1H),8.91(d,J=1.5Hz,1H),8.70(s,1H),8.47-8.39(m,2H),8.19-8.14(m,1H),6.85-6.83(m,1H),3.85(s,3H),1.58(s,9H)。

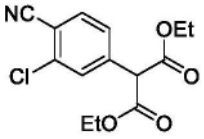
[0986] 6-(5-羟基-4-(6-甲氧基吡啶-3-基)-1H-吡唑-1-基)烟酸

[0987] 

[0988] 向6-(5-羟基-4-(6-甲氧基吡啶-3-基)-1H-吡唑-1-基)烟酸叔丁酯(76mg,0.21mmol)于二氯甲烷(6.0mL)中的溶液中加入三氟乙酸(3.0mL)。将混合物在室温下搅拌过夜并浓缩。将残余物用乙酸乙酯研磨,并过滤,从而得到呈白色固体的6-(5-羟基-4-(6-甲氧基吡啶-3-基)-1H-吡唑-1-基)烟酸(5.4mg,0.017mmol,8.2%产率)。LC-MS:m/z=313.0[M+H]$^+$,保留时间为3.73分钟(方法A)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ13.47(br,1H),13.06(br,1H),8.96(s,1H),8.73-8.44(m,4H),8.21-8.18(m,1H),6.84(d,J=8.8Hz,1H),3.85(s,3H)。

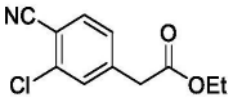
[0989] 实例44:化合物44的制备

[0990] 2-(3-氯-4-氰基苯基)丙二酸二乙酯

[0991] 

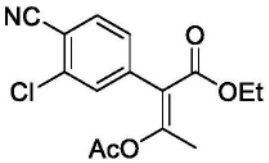
[0992] 根据使用2-氯-4-氟苄腈制备2-(2-溴-4-氰基苯基)丙二酸二乙酯的程序合成化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.68(d,J=8.1Hz,1H),7.61(d,J=1.2Hz,1H),7.45(dd,J=8.1,1.2Hz,1H),4.63(s,1H),4.30(q,J=6.9Hz,4H),1.26(t,J=6.9Hz,6H)。

[0993] 2-(3-氯-4-氰基苯基)乙酸乙酯

[0994] 

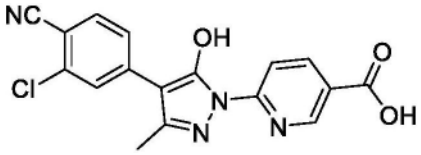
[0995] 根据使用2-(3-氯-4-氰基苯基)丙二酸二乙酯制备2-(2-溴-4-氰基苯基)乙酸乙酯的程序合成化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.63(d,J=8.1Hz,1H),7.47(d,J=1.2Hz,1H),7.27(dd,J=8.1,1.2Hz,1H),4.22(q,J=6.9Hz,2H),3.66(s,2H),1.26(t,J=6.9Hz,3H)。

[0996] (E)-3-乙酰氧基-2-(3-氯-4-氰基苯基)丁-2-烯酸乙酯

[0997] 

[0998] 根据使用2-(3-氯-4-氰基苯基)乙酸乙酯制备6-(4-(4-氰基-2-氟苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 330(M+Na)$^+$。

[0999] 6-(4-(3-氯-4-氰基苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸

[1000] 

[1001] 根据使用(E)-3-乙酰氧基-2-(3-氯-4-氰基苯基)丁-2-烯酸乙酯制备6-(4-(4-氰基-3-氟苯基)-5-羟基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)烟酸的程序合成化合物。LC-MS(ESI+):m/z 355(M+H)$^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ13.35(brs,2H),8.95(s,1H),8.57(d,J=9.0Hz,1H),8.42(d,J=9.0,1.8Hz,1H),8.14(s,1H),7.92(d,J=8.4Hz,1H),7.82(d,J=8.4Hz,1H),2.53(s,3H)。

[1002] 实例45:体外测定证明PHD抑制

[1003] 对选定的本发明化合物测定酶促半数最大抑制浓度(IC_{50})值。

[1004] 使用时间分辨荧光共振能量转移(TR-FRET)测定确定PHD抑制剂对全长人脯氨酰-4-羟化酶结构域(PHD)酶(PHD1、PHD2和PHD3)的酶促半数最大抑制浓度(IC_{50})值。TR-FRET测定是基于以下开发的:羟基化的HIF-1α肽与VHL、EloB和EloC(VBC)形成的复合物特异性结合,以产生荧光信号。TR-FRET的铽(Tb)-供体(单克隆抗体抗-6His-Tb-穴状化合物金)和D2受体(链霉亲和素[SA]-D2)分别与VBC复合物和HIF-1α肽相连。VBC复合物在羟基化时与HIF-1α肽特异性结合,从而使能量从TR-FRET供体转移到受体(图1)。

[1005] 材料和方法

[1006] 除非另有说明,否则所有化学品和材料均为标准实验室级,并购自西格玛-奥德里奇公司(Sigma-Aldrich)(美国密苏里州圣路易斯(St.Louis,MO,USA))。

[1007] 试剂

[1008] TR-FRET试剂

[1009] 单克隆抗体抗-6His-Tb-穴状化合物金(目录号61HI2TLA)和链霉亲和素(SA)-D2(目录号610SADLA)购自CisBio国际公司(美国马萨诸塞州贝德福德(Bedford,MA,USA))。

[1010] 表示氨基酸547至581并包含脯氨酸564 PHD2羟基化位点的N末端生物素化HIF-1α C35合成肽购自加州肽研究公司(California Peptide Research)(美国犹他州盐湖城)。

[1011] 重组蛋白

[1012] VBC复合物

[1013] His-标记的重组VHL蛋白、EloB、EloC复合物(His-VBC)由Axxam公司(意大利米兰(Milan,Italy))提供。重组人VHL(国家生物技术信息中心[NCBI]登录号NP_00542.1)在氨基酸55至213的C末端含有His标签,被称为VHL-His。VHL-His在大肠杆菌中与全长人EloB(NCBI登录号Q15370.1)和全长人EloC(NCBI登录号Q15369.1)共表达,并在镍-次氮基三乙酸(Ni-NTA)柱上通过亲和色谱法纯化为His-VBC复合物。通过十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)评估纯度(~80%)。

[1014] PHD1

[1015] 重组人PHD1蛋白(目录号81064,批号24717001)购自Active Motif公司(美国加利福尼亚州卡尔斯巴德(Carlsbad,CA,USA))。PHD1在杆状病毒表达系统中表达为具有N末端FLAG标签(分子量44.9kDa)的全长蛋白(NCBI登录号NP_542770.2)。通过SDS-PAGE评估纯度(>90%)。

[1016] PHD2

[1017] 全长人PHD2酶是用Beryllium公司(美国马萨诸塞州贝德福德)的杆状病毒感染的昆虫细胞(BIIC)表达系统产生的。PHD2构建体含有PHD2的氨基酸1至426(UniProt知识库[UniProtKB]/Swiss-Prot登录号Q9GZT9.1),以及在N末端处的His标签和烟草蚀刻病毒(TEV)蛋白酶切割位点。将该构建体在Sf9昆虫细胞中表达,通过Ni-NTA柱纯化,并用TEV蛋白酶消化以去除His标签。通过SDS-PAGE评估最终切割蛋白质的纯度,发现其纯度>94%。

[1018] PHD3

[1019] 重组人PHD3蛋白(分子量31.1kDa)购自Active Motif公司(美国加利福尼亚州卡尔斯巴德)。它在大肠杆菌中表达为具有N末端6-His标签的全长蛋白(NCBI登录号NP_071356.1)(目录号81033,批号24417001)。通过SDS-PAGE评估纯度,发现其纯度>75%。

[1020] PHD抑制剂。

[1021] 合成小分子PHD抑制剂并如本文所述确认它们的身份。

[1022] TR-FRET测定程序

[1023] 将PHD抑制剂化合物与10μL反应体积的PHD酶一起在白色384孔Optiplate孔板(目录号6007290,美国马萨诸塞州沃尔瑟姆的珀金埃尔默公司(Perkin Elmer,Waltham,MA,USA))中预温育。为此,将5μL PHD抑制剂化合物用稀释缓冲液(50mM HEPES[4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸]pH 7.5、50mM氯化钠[NaCl]、0.01% Tween-20、0.01%纯化的牛血清白蛋白[BSA])连续稀释,并与5μL PHD酶混合物混合,所述混合物在含有PHD酶(60nM PHD1、20nM PHD2、140nM PHD3)、40μM硫酸亚铁铵(FAS)、4mM抗坏血酸钠(Na)的稀释缓冲液中制备为4X浓缩物。将板在室温下温育30分钟而不旋转。

[1024] 然后加入五微升VBC/抗-6His-Tb-穴状化合物金混合物,其在含有20nM His-VBC、1.32nM单克隆抗体抗-6His-Tb-穴状化合物金的稀释缓冲液中制备为4X浓缩物。此步骤后立即加入5μL HIF-1αC35底物混合物,其在含有120nM生物素标记的HIF-1αC35、132nM SA-D2、4μM 2-酮戊二酸(2-OG)的稀释缓冲液中制备为4X浓缩物,以达到20μL的最终反应体积。

[1025] 最终测定反应含有50mM HEPES(pH 7.5)、50mM NaCl、1μM 2-OG、10μM FAS、1mM抗坏血酸纳、0.01% Tween-20、0.01%纯化的BSA、30nM生物素标记的HIF-1αC35、5nM His-VBC、0.33nM单克隆抗体抗-6His-Tb-穴状化合物金、33nM SA-D2和PHD酶(15nM PHD1、5nM PHD2或35nM PHD3)以及稀释的化合物。

[1026] 为了测量PHD抑制剂化合物的IC_{50},将反应在室温下温育10分钟,然后在珀金埃尔默EnVision(美国马萨诸塞州沃尔瑟姆)上读取,激发波长为340nm并且发射波长为615nm和665nm。数据表示665nm和615nm处信号强度的商,由Envision Manager软件(美国马萨诸塞州沃尔瑟姆的珀金埃尔默公司)自动计算。使用GraphPad Prism 7.0(美国加利福尼亚州拉荷亚的GraphPad公司(GraphPad,La Jolla,CA,USA)使用四参数曲线拟合确定IC_{50}值(平均值、标准偏差、平均值的标准误差、几何平均值和95%置信区间),其表示相对于665nm和615nm的计算比率作图的化合物浓度。TR-FRET测定在每种化合物浓度下一式三份进行,并且测定独立重复三次。

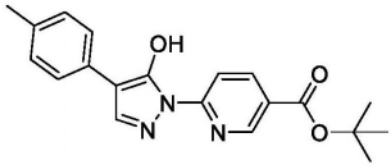
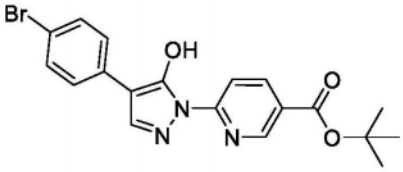
[1027] 基于Cheng Prussoff方程由IC_{50}计算Kis:

[1028] Ki＝IC50/(1+[2-OG]/Km)

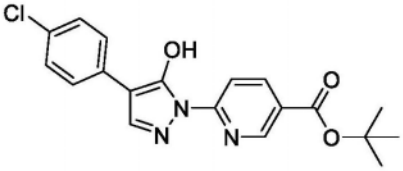
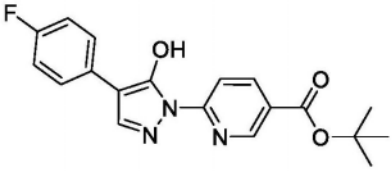
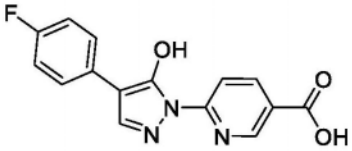
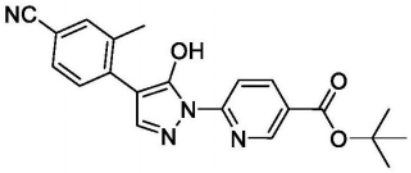
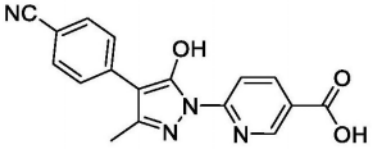
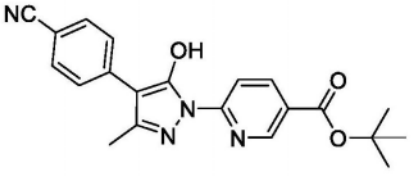
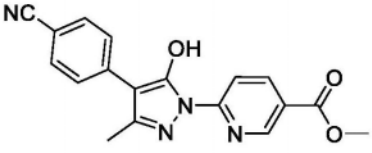
[1029] PHD1和PHD2测定中2-OG的最终浓度为1uM。PHD1的2-OG的Km被确定为12.7nM,而PHD2的2-OG的Km被确定为22.6nM。

[1030] 示例性化合物

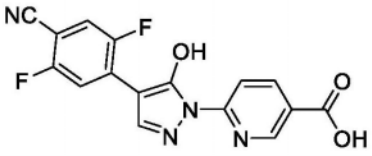
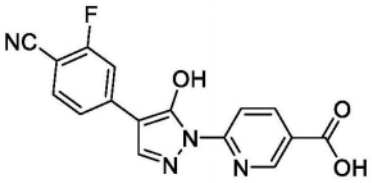
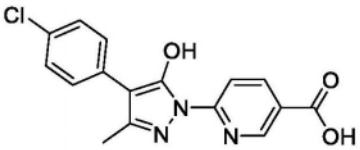
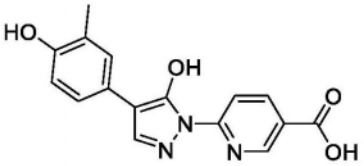
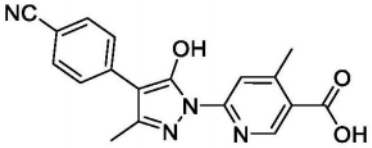
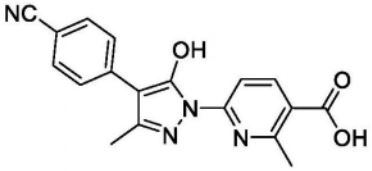
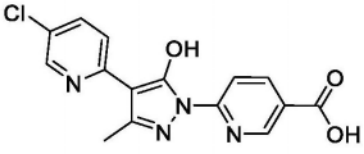
[1031]

化合物编号	结构	PHD1 IC50 （nM）	PHD2 IC50 （nM）	PHD3 IC50 （nM）
1		B	C	--
2		B	D	--

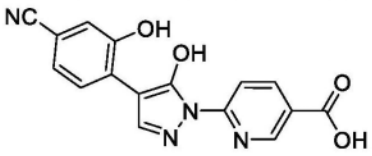
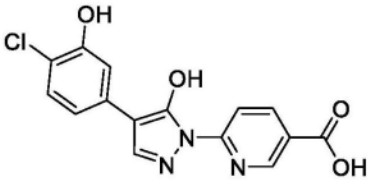
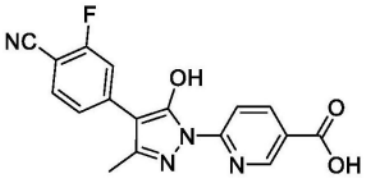
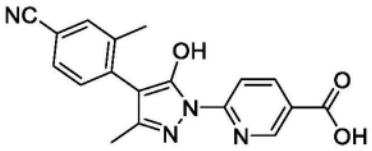
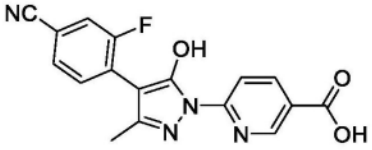
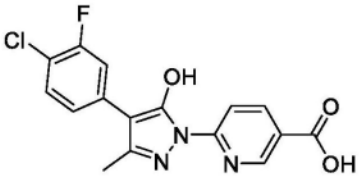
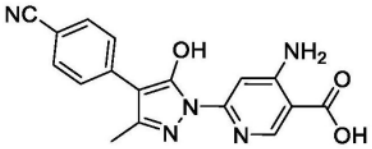
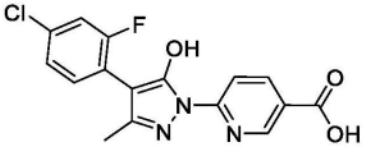
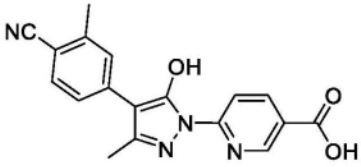
[1032]

化合物编号	结构	PHD1 IC50 （nM）	PHD2 IC50 （nM）	PHD3 IC50 （nM）
3		A	A	B
4		B	C	--
5		A	A	B
6		A	C	--
7		A	A	C
8		A	A	A
9		A	A	A
10		A	A	D
11		A	A	B

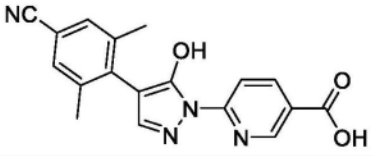
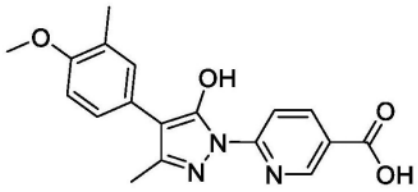
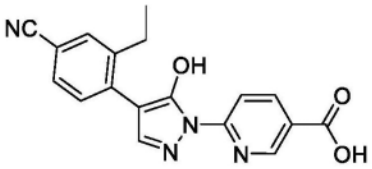
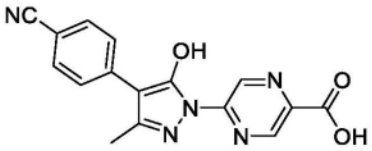
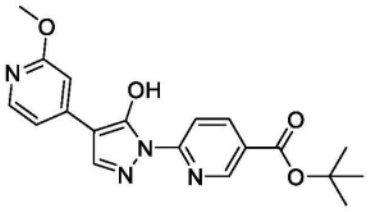
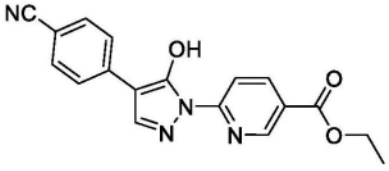
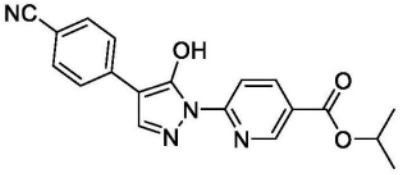
[1033]

化合物编号	结构	PHD1 IC50 (nM)	PHD2 IC50 (nM)	PHD3 IC50 (nM)
12		A	A	B
13		A	A	A
14		C	C	--
15		A	A	--
16		B	B	C
17		A	A	A
18		A	A	A
19		C	C	--
20		A	B	--

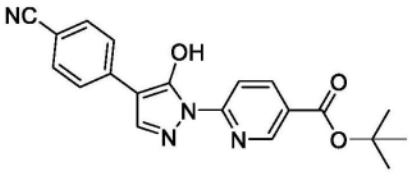
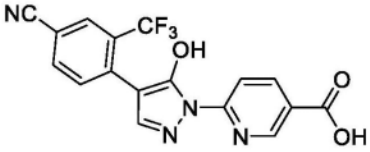
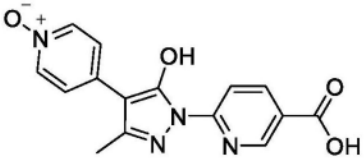
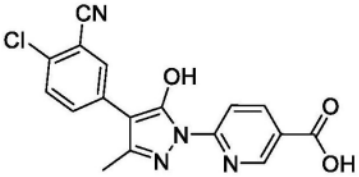
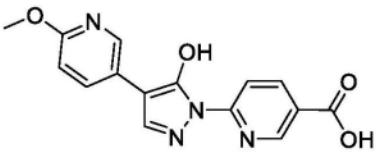
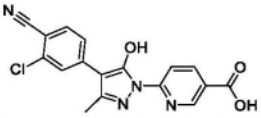
[1034]

化合物编号	结构	PHD1 IC50（nM）	PHD2 IC50（nM）	PHD3 IC50（nM）
21		A	A	B
22		A	A	--
23		A	A	--
24		A	A	A
25		A	A	--
26		A	A	B
27		A	A	--
28		A	B	B
29		A	A	--

[1035]

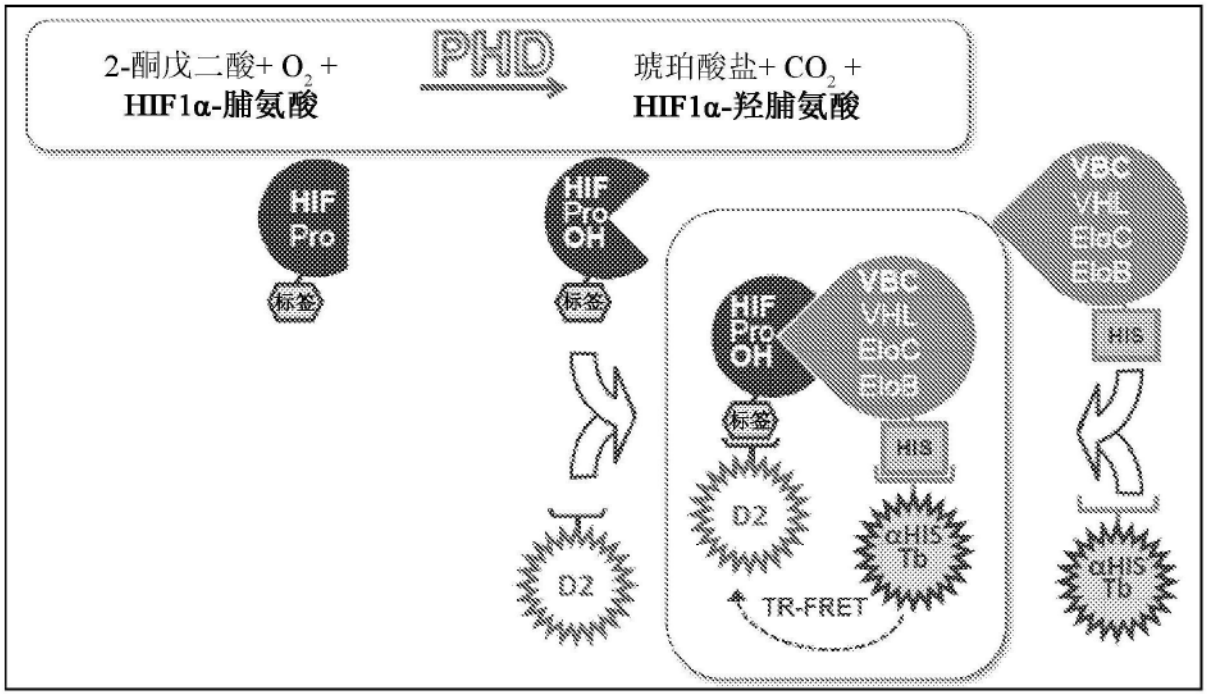
化合物编号	结构	PHD1 IC50 （nM）	PHD2 IC50 （nM）	PHD3 IC50 （nM）
30		A	A	--
31		A	B	--
32		B	B	--
33		A	A	--
34		A	A	--
35		A	A	A
36		A	A	A
37		A	A	A

[1036]

化合物编号	结构	PHD1 IC50 (nM)	PHD2 IC50 (nM)	PHD3 IC50 (nM)
38		A	A	C
39		B	A	C
40		A	A	--
41		D	D	--
42		A	A	--
43		A	A	--
44		A	A	--
图例：A = IC50 < 100 nM B = 100 nM ≤ IC50 < 1,000 nM C = 1,000 nM ≤ IC50 < 10,000 nM D = IC50 ≥ 10,000 nM				

[1037] 根据以上描述，本领域的技术人员可以容易地确定本发明的必要特性，并且在不脱离本发明的精神和范围的情况下，可以进行本发明的各种改变和修改以使其适应各种用法和条件。

[1038] 本申请中引用的所有参考文献、专利或申请，无论是美国的还是或外国的，都通过引用并入本文，如同以其整体写入本文一样。在产生任何不一致之处时，以本文真正公开的材料为主。



αHis-Tb：单克隆抗体抗-6His-铽-穴状化合物金；CO_2：二氧化碳；D2：链霉亲和素(SA)-D2受体；EloB：细长蛋白B；EloC：细长蛋白C；HIF-Pro：HIF的脯氨酸564；HIF-Pro-OH：HIF-1**α**-羟脯氨酸564；HIF-1**α**：缺氧诱导因子1α；O_2：氧；PHD：脯氨酰-4-羟化酶结构域；PHD1：脯氨酰-4-羟化酶结构域1；PHD2：脯氨酰-4-羟化酶结构域2；PHD3：脯氨酰-4-羟化酶结构域3；TR-FRET：时间分辨荧光共振能量转移；VBC：**希佩尔林道病**蛋白、细长蛋白B、细长蛋白C复合物；VHL：**希佩尔林道病**

图1