



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104755460 B

(45)授权公告日 2017.05.10

(21)申请号 201380056385.7

(22)申请日 2013.08.29

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104755460 A

(43)申请公布日 2015.07.01

(30)优先权数据

10-2012-0095729 2012.08.30 KR

10-2012-0108972 2012.09.28 KR

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2015.04.28

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/KR2013/007751 2013.08.29

(87)PCT国际申请的公布数据

W02014/035149 EN 2014.03.06

(73)专利权人 株式会社 钟根堂

地址 韩国首尔

专利权人 仁济大学校 产学协力团

(72)发明人 崔好辰 李载元 李昌坤 N·河

徐守吉 李宣美 李圣敏

(74)专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

代理人 张晓威

(51)Int.Cl.

C07D 209/04(2006.01)

A61K 31/404(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 29/00(2006.01)

(56)对比文件

WO 2009/155362 A1,2009.12.23,

WO 2006/121684 A2,2006.11.16,

US 2009/0163545 A1,2009.06.25,

CN 101668732 A,2010.03.10,

Andrew R. Germain et al. Identification of a selective small molecule inhibitor of breast cancer stem cells.《Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters》.2012,第22卷 3571-3574.

审查员 邵薇

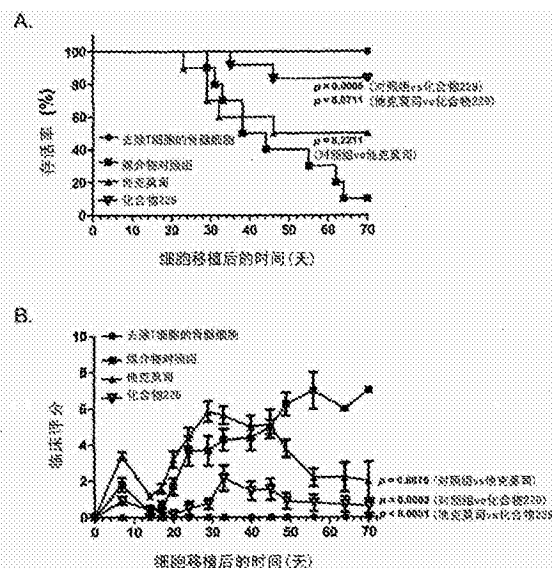
权利要求书5页 说明书77页 附图4页

(54)发明名称

用作选择性T细胞抑制剂和抗淋巴恶性肿瘤药物的N-酰基脲衍生物

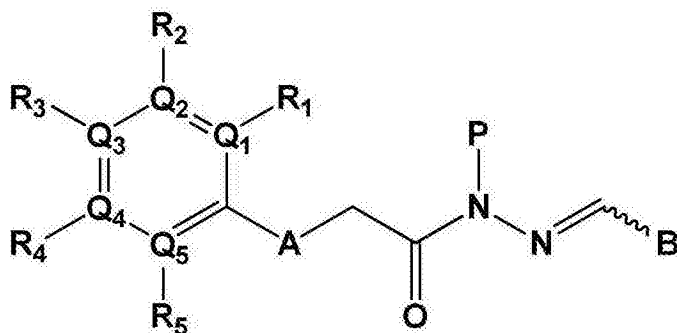
(57)摘要

本发明涉及新型N-酰基脲衍生物,并且更特别地涉及具有选择性T细胞抑制活性和/或抗淋巴恶性肿瘤活性的新型N-酰基脲衍生物,其立体异构体,其药学上可接受的盐,其用于制备药物组合物的用途,包含上述的药物组合物,使用所述组合物的治疗方法,以及制备新型N-酰基脲衍生物的方法。



1. 下式1的化合物或其药学上可接受的盐：

[式1]



其中，

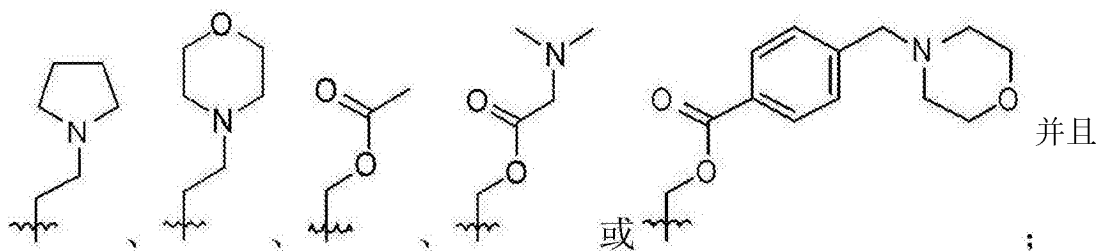
A为N-H、O或S；

Q₁、Q₂、Q₃、Q₄和Q₅各自独立地为C或N；

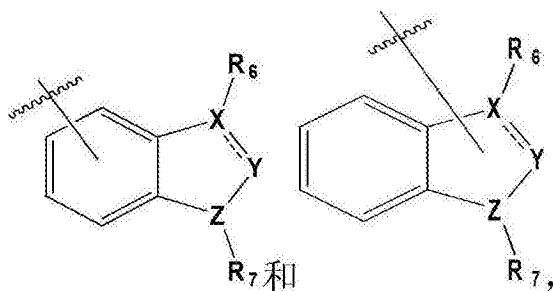
R₁、R₂、R₄和R₅各自独立地不存在或者为-H、-CF₃、-F、-Br、-Cl、氰基、-CH₂OH、-(CO)NH₂、-(C₁-C₆)烷基、-(C₁₋₃)烷氧基、-NH₂、-N(CH₃)₂或者包含1-3个选自N、O和S的原子的4、5或6-元杂芳基或杂环烷基，所述杂芳基或杂环烷基具有至少一个选自-H、卤素和氨基的取代基；

R₃不存在或者为-H、-CF₃、-F、-Br、氰基、-CH₂OH、-(CO)NH₂、-(C₁-C₆)烷基、-(C₁₋₃)烷氧基、-NH₂、-N(CH₃)₂或者包含1-3个选自N、O和S的原子的4、5或6-元杂芳基或杂环烷基，所述杂芳基或杂环烷基具有至少一个选自-H、卤素和氨基的取代基；

P为-H、-(C₁-C₃)OH、-(C₁-C₆)烷基、-(CO)(C₁-C₆)烷基；

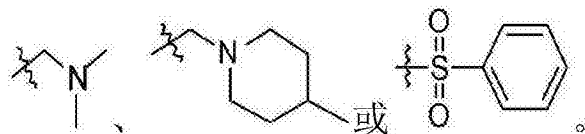


B选自：



其中，X、Y和Z各自独立地为C、N或S，并且

R₆和R₇各自独立地不存在或者为-H、-Br、-(C₁-C₆)烷基、-(C₁-C₃)OH、



2. 权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐，其中

A为N-H、O或S；

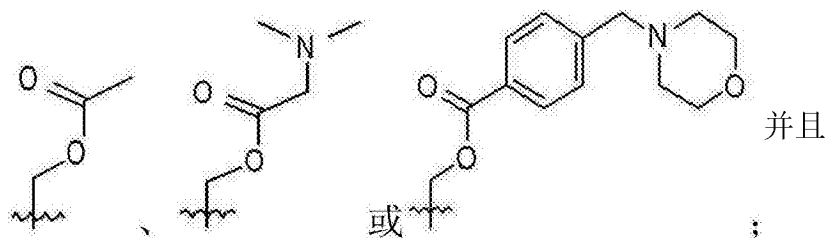
Q₁、Q₂、Q₃、Q₄和Q₅为C；

R₂和R₄为H；

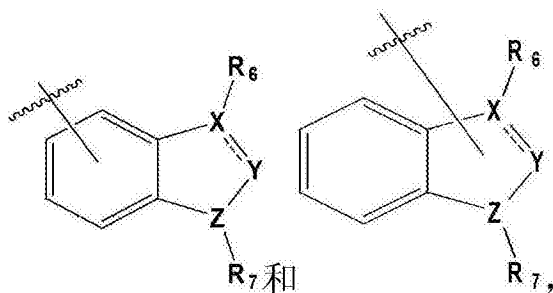
R₁和R₅各自独立地为-H、-F、-Br、-Cl、甲基、乙基、-CH₂OH、氰基、-NH₂或者包含1-3个选自N、O和S的原子的4、5或6-元杂芳基或杂环烷基；

R₃为-H、-F、-Br、甲基、乙基、-CH₂OH、氰基、-NH₂或者包含1-3个选自N、O和S的原子的4、5或6-元杂芳基或杂环烷基；

P为-H、甲基、-CH₂OH、-CH₂CH₂OH、



B选自：



其中X和Y为C，

Z为N，并且

R₆和R₇各自独立地为-H、甲基或-CH₂CH₂OH。

3. 化合物或其药学上可接受的盐，其中所述化合物选自：

- (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼；
- (E)-N'-((1H-吡啶-5-基)亚甲基)-2-(4-溴-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼；
- (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼；
- (E)-N'-((1H-吡啶-2-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼；
- (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(4-溴-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼；
- (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(4-溴-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼；
- (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯基氨基)乙酰肼；
- (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼；
- (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼；
- (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼；
- (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯基硫基)乙酰肼；
- (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-(噻啶-5-基)苯氧基)乙酰肼；
- (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼；
- (E)-N'-((1H-吡啶-3-基)亚甲基)-2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼；

- (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-3-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯基硫基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯基硫基)乙酰肼;
(E)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)-N-甲基-N'-((1-甲基-1H-吡啶-4-基)亚甲基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-N-(2-羟基乙基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1-(2-羟基乙基)-1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-5-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-((2-甲基吡啶-3-基)氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-N-(2-羟基乙基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-4-基)苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(4-(羟基甲基)-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(4-(羟基甲基)-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼;
肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(4-氨基-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-N-(羟基甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;
(E)-(2-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-1-(2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰基)肼基)甲基2-(二甲基氨基)乙酸酯;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(4-氰基-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
(E)-(2-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-1-(2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰基)肼基)甲基2-(二甲基氨基)乙酸酯;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-N-乙酰基-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-N-(羟基甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;
(E)-(2-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-1-(2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰基)肼基)甲基4-(吗啉代甲基)苯甲酸酯;
(E)-(2-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-1-(2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰基)肼基)甲基乙酸酯;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-溴-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-溴-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
(E)-(2-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-1-(2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰基)肼基)甲基4-(吗啉代甲基)苯甲酸酯;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯氧基)乙酰肼;

(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-2-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-3-基)吡啶-3-基)氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(2-乙基-6-甲基吡啶-3-基)氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-(吡咯烷-1-基)吡啶-3-基)氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-2-基)苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-(噻吩-3-基)吡啶-3-基)氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(噻吩-2-基)苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-2-基)-4-甲氧基苯氧基)乙酰肼;
(E)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)-N-甲基-N'-((1-甲基-1H-吡啶-6-基)亚甲基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼;
(E)-2-(4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)-N-甲基-N'-((1-甲基-1H-吡啶-6-基)亚甲基)乙酰肼;和
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢-2H-吡喃-4-基)苯氧基)乙酰肼。

4. 权利要求3的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物选自:

(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼;和
(E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢-2H-吡喃-4-基)苯氧基)乙酰肼。

5. 药物组合物,其包含权利要求1-4中任一项的化合物或其药学上可接受的盐;以及药学上可接受的载体。

6. 权利要求5的药物组合物在制备用于预防或治疗与抑制T细胞活性相关的疾病的药物中的用途。

7. 权利要求6的用途,其中所述疾病为造血干细胞移植或器官移植后的移植物抗宿主病 (GVHD)、多发性硬化或类风湿关节炎。

8. 权利要求5的药物组合物在制备用于治疗淋巴恶性肿瘤的药物中的用途。

9. 权利要求8的用途,其中所述淋巴恶性肿瘤为T淋巴样白血病、B淋巴样白血病、NK白血病、NKT白血病、多发性骨髓瘤、T淋巴瘤或B淋巴瘤。

用作选择性T细胞抑制剂和抗淋巴恶性肿瘤药物的N-酰基脲衍生物

技术领域

[0001] 本发明涉及新型N-酰基脲衍生物,并且更特别地涉及具有选择性T细胞抑制活性和/或抗淋巴恶性肿瘤活性的新型N-酰基脲衍生物,其立体异构体,其药学上可接受的盐,其用于制备药物组合物的用途,包含上述的药物组合物,使用所述组合物的治疗方法,以及制备新型N-酰基脲衍生物的方法。

背景技术

[0002] 免疫抑制药物

[0003] 移植领域的关键问题是抑制导致移植物排斥的免疫应答。因此,研发能够选择性且有效地调节特异性针对移植物的免疫应答的免疫抑制药物是提高移植成功率的关键问题。T细胞是防止移植排斥的主要靶标,并且大多数临床上使用的免疫抑制药物抑制T细胞应答。

[0004] 硫唑嘌呤是首个在器官移植中使用的免疫抑制剂。然而,硫唑嘌呤抑制DNA合成,导致诸如白细胞减少、骨髓抑制和大红细胞症的副作用,因此,在引入环孢素后变为二线疗法。环孢素和他克莫司是钙神经素抑制剂,目前在器官移植中被用作一线疗法。

[0005] 所述两种药物通过抑制钙神经素来阻滞白细胞介素-2 (IL-2) 的表达。此外,这些药物可抑制在初始阶段的T细胞活化,并因此强烈地抑制导致移植物排斥的免疫应答。然而,这些药物需要被长时间给药,并引起副作用,包括中毒性肾损害、贫血和高血压,以及由免疫系统的虚弱引起的传染病和肿瘤。近年来,为了降低钙神经素抑制剂的副作用,已将吗替麦考酚酯(其为核苷酸合成的抑制剂)与钙神经素抑制剂联合给药,但是已显示诸如消化性疾病、白细胞减少和贫血的副作用。

[0006] 西罗莫司和依维莫司(其为mTOR(雷帕霉素的哺乳动物靶标)的抑制剂)是通过阻滞IL-2受体信号转导来抑制T细胞增殖的药物。主要将这些药物与钙神经素抑制剂联合给药,因为当将它们单独给药时有效性较弱。然而,这些药物增加钙神经素抑制剂的副作用,如高脂血症和血小板减少。

[0007] FTY720(鞘氨醇-1-磷酸酯的拮抗剂)是通过阻滞T细胞由淋巴器官向移植物的迁移来降低免疫应答的药物,并且具有与其它药物相比低毒性的优点。然而,当将FTY720与其它药物(例如全身麻醉药和 β -阻断剂)一起给药时,其可导致心脏病发作。在器官移植领域,用环孢素的联合疗法在临床试验中(参见N Engl J Med. 351, 2715-2729; N Engl J Med. 352, 1371-1373; Nat Med. 11, 605-613; Business Insights. 2010, BI00022-067)。

[0008] 如上所述,目前用于防止移植排斥的免疫抑制药是有毒性的,并且导致许多副作用,如感染的发生和由免疫系统的虚弱引起的肿瘤。因此,研发能够选择性减少响应于移植抗原的T细胞的新药物是需要的。

[0009] 移植物抗宿主病

[0010] 异体(allogeneic)造血干细胞移植(HSCT)是对于多种恶性血液病和免疫缺陷病

的最有效和持久的治疗方法,并且在全世界每年被用于治疗约20,000或更多的患者(Center for International Blood and Marrow Transplant Research报道)。近年来,已尝试将HSCT应用于自身免疫病、实体癌症和器官移植领域。虽然在过去20年间异体造血干细胞移植快速进展(例如HLA鉴定技术和新免疫抑制剂的进展),移植物抗宿主病(GVHD)(由供体T细胞导致的并发症)仍然是移植后死亡的主要原因。在血缘关系的HLA配型的情况下,急性GVHD(II-IV级)(主要在移植后前100天发生)在25-60%的患者中出现,在非血缘关系的情况下,在45-70%的患者中出现,并且70%或更多的患有所述疾病(III-IV级)的患者死亡。急性GVHD以三个阶段进展。在第一阶段中,由在移植前的高剂量化学疗法和全身放射疗法产生的促炎因子(TNF- α 和LPS)激活外周淋巴器官的树突细胞。在第二阶段,由活化的树突细胞引起异型抗原特异性T细胞增殖,并分化为效应细胞。在最后阶段,异型抗原特异性效应T细胞迁移至肠、肝和皮肤(其为主要的靶标器官),并导致对组织的炎症性损伤。

[0011] 作为防止急性GVHD的一线疗法的钙神经素抑制剂的应答率为约低于50%,因此与器官移植相比,预防率非常低。GVHD进展后的治疗依赖于甾族化合物疗法,但是甾族化合物疗法表现低于50%的应答率,并因此被归类为具有高疗法相关死亡率的高风险疗法(参见Annu Rev Immunol.25,139-170;Blood.114,4327-4336;Lancet.373,1550-1561,Curr Opin Immunol.11,509-515)。因此,研发用于防止和治疗急性GVHD的新的有效药物是迫切需要的。

[0012] 多发性硬化

[0013] 多发性硬化是中枢神经系统(CNS)的炎性疾病,其为由响应于源自髓磷脂的抗原的T细胞引起的自身免疫病。其在进展的初始阶段表现复发-缓解模式,然后由于脑和脊髓病损的进行性蓄积,进展为继发性进展性多发性硬化。脑和脊髓病损的蓄积导致视力损失、运动和平衡病症、语言和感觉病症、截瘫、性功能损伤以及排尿和排泄紊乱,并且当蓄积严重时,其导致全身麻痹。

[0014] 用于治疗多发性硬化的疗法大致分为急性加重的管理、疾病改善疗法、治标疗法和预防疗法。急性加重的管理施用于弱的炎症,并提供免疫抑制效果,施用疾病改善疗法来延缓疾病的进展以防止疾病发展为进展性多发性硬化。

[0015] 在急性加重的管理中,静脉内给药高剂量(500-1000mg/kg)的糖皮质激素3-5天以缓解症状并防止永久性损伤。糖皮质激素功能在于抑制免疫细胞向脑中的迁移或减少水肿,从而抑制在急性阶段发生的炎症(参见Immunology and Cell Biology.76,55-64;Annu.Rev.Immunol.20,125-163)。尽管糖皮质激素在急性阶段表现优异的效果,但是在疾病改善疗法中,它不能防止疾病的进展。

[0016] 在疾病改善疗法中,施用免疫疗法以治疗疾病并防止疾病的复发。USFDA批准用于免疫疗法的药物包括干扰素- β (IFN- β)、格拉默乙酸酯(GA)、米托蒽醌和那他珠单抗。然而,它们表现下列副作用(参见N Engl J Med.362,456-458):

[0017] IFN- β 是目前最常用的药物,其具有抗炎和抗病毒效果,并且用以抑制抗原的表达并防止T细胞的活化。此外,IFN- β 激活共刺激分子以诱导自身反应(self-reactive)细胞的凋亡。然而,IFN- β 仅可通过肌内或皮下途径给药,因此,当将其长时间给药时,其在注射部位导致红斑和水肿,并且导致副作用,包括肌肉疼痛、寒冷和自身免疫病。

[0018] 米托蒽醌(novatrone)具有非常低的分子量,因此通过脑膜以抑制脑膜中T细胞、B

细胞和巨噬细胞的增殖以及抗原呈递细胞 (APC) 的抗原呈递功能,从而缓解多发性硬化的症状。然而米托蒽醌具有以下缺点:由于其对心脏有高压,所以应该限制剂量。

[0019] 格拉默乙酸酯 (GA) 是髓磷脂碱基蛋白 (MBP) 的类似物。当MBP结合至HLA II类分子时,GA形成GA/MHC复合物,因此当其与T细胞受体 (TCR) 结合时,通过与MBP竞争来抑制MBP-反应性T细胞的活化。DA具有减少复发-缓解多发性硬化的复发次数的作用,并且当多发性硬化复发时,减轻多发性硬化的症状 (像IFN- β),但是与IFN- β 相比,表现增加在中枢神经系统中产生持久性黑洞的频率。

[0020] 那他珠单抗是人化的单克隆抗体,其直接结合至整联蛋白VLA 4 (极晚期抗原4) 的 $\alpha 4$ 亚基 (CD49;白细胞表面上的粘附分子),以防止白细胞与血管内皮细胞的结合,从而防止活性T细胞进入中枢神经系统。它表现出对于复发-缓解多发性硬化的优异作用,但是在给药2年后,在0.3-0.9%的患者中导致进行性多灶性白质脑病 (PML) 的副作用。

[0021] 芬戈莫德是对于多球壳菌素的S1P (鞘氨醇-1-磷酸酯) 受体的合成类似物,并且是近期被US FDA批准的首个口服给药的药物。

[0022] 芬戈莫德通过将S1PR结合至激活的1型辅助性T细胞起作用以防止激活的淋巴细胞从二级淋巴组织移动到中枢神经系统。然而,报道研发中的药物具有副作用,包括感染、黄斑水肿、头痛、流行性感、腹泻、腰痛和肝酶升高 (参见Nat. Rev. Neurol. 7, 255-262; Nat Rev Drug Discov. 11, 909-925)。

[0023] 因此,需要研发可阻滞继发性进展性多发性硬化同时通过短期口服给药表现高治疗效果的新的药物 (参见N Engl J Med. 362, 456-458)。

[0024] 淋巴恶性肿瘤

[0025] 如本文中所使用,术语“淋巴恶性肿瘤”指骨髓和淋巴组织中淋巴样细胞 (B细胞、T细胞和NK/T细胞) 的肿瘤。淋巴恶性肿瘤大致归类为白血病、淋巴瘤和多发性骨髓瘤。淋巴样白血病是血液肿瘤,其中骨髓中不成熟的淋巴细胞变成癌细胞,其在组织中蓄积并通过血液全身性扩散。淋巴样白血病大致归类为急性淋巴样白血病和慢性淋巴样白血病。淋巴瘤是血液肿瘤,其中淋巴组织中的淋巴细胞变成癌细胞,其在组织中蓄积并扩散至外周血液和骨髓。其归类为霍奇金氏淋巴瘤和非霍奇金氏淋巴瘤。多发性骨髓瘤是血液肿瘤,其中外周淋巴组织中的浆细胞变成癌细胞,然后其在骨髓中蓄积 (参见J Clin Invest. 2012; 122:3396-3397; Blood. 1994; 84:1361-1392; Lancet. 2012; 380:848-857)。

[0026] 通过使用环磷酰胺、多柔比星、长春新碱和泼尼松的组合的标准化学疗法进行淋巴恶性肿瘤的治疗。对于药物的初始反应效果,成年患者的缓解率高达约85%,但是有高的复发率,因此5年无病生存仅为30-40%。此外,所述药物由于它们的高细胞毒性表现高的感染风险,并且经常导致副作用,包括神经毒性、消化问题和出血 (参见N Engl J Med. 1998; 339:21-26; N Engl J Med 2006; 354:166-78; Nat Rev Drug Discov. 2007; 6:149-165)。

[0027] 近期,已报道对于特定细胞具有细胞毒作用的药物对于当所述细胞变为癌细胞时也具有抗肿瘤作用。抑制布鲁顿氏酪氨酸激酶 (BTK) 的B细胞免疫抑制剂依鲁替尼 (ibrutinib) 是B细胞受体 (BCR) 的信号转导介质,报道其具有针对复发或药物难治性B细胞淋巴瘤的抗癌效果。硼替佐米是NF- κ B活性的抑制剂,其用作抑制记忆T细胞和B细胞的免疫抑制剂。US FDA批准硼替佐米作为治疗多发性硬化的治疗剂,并且近期还将其与依鲁替尼联合用于B细胞淋巴瘤。伏立诺他 (Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA)) 是组蛋白脱

乙酰基酶抑制剂 (HDACi), 已知其具有针对皮肤T细胞淋巴瘤的抗肿瘤效果。由于近期在动物模型中发现SAHA针对移植物抗宿主病 (GVHD) 的抑制效果, SAHA作为免疫抑制剂受到新的关注 (参见Semin Cancer Biol.2011 Nov;21:335-46;Br J Haematol.2013;161:43-56;N Engl J Med.2008;359:906-917;Nat Rev Drug Discov.2006;5:769-784;J.Clin.Invest.2008;118:2562-2573)。因此, 靶向特定免疫细胞的免疫抑制药物临床上可用作能够特异性靶向特定肿瘤的新的抗癌剂。

[0028] 发明公开

[0029] 技术问题

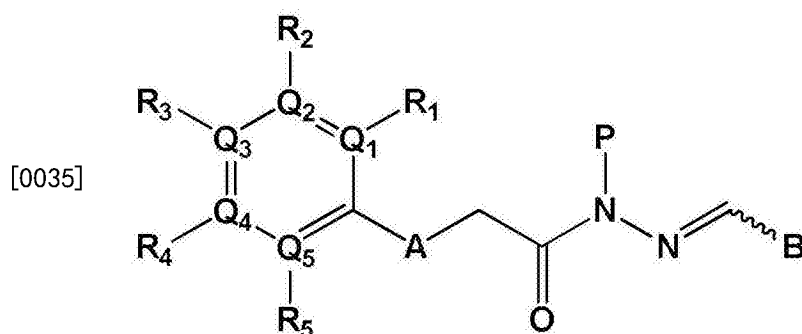
[0030] 本发明的目的是提供可选择性且有效地移除移植抗原-和自身抗原-特异性T细胞, 并因此可用作预防和治疗移植免疫排斥和/或治疗自身免疫病的药剂的新型化合物。此外, 本发明的目的是提供针对淋巴恶性肿瘤细胞具有优异的细胞凋亡作用, 并因此可用作治疗淋巴恶性肿瘤的药剂的新型化合物。

[0031] 因此, 本发明的目的是提供具有选择性T细胞抑制活性和/或抗淋巴恶性肿瘤活性的新型N-酰基脲衍生物, 其立体异构体, 其药学上可接受的盐, 包含上述的药物组合物, 使用所述组合物的治疗方法, 以及制备新型N-酰基脲衍生物的方法。

[0032] 技术方案

[0033] 本发明涉及下式1的化合物, 其立体异构体或其药学上可接受的盐:

[0034] [式1]



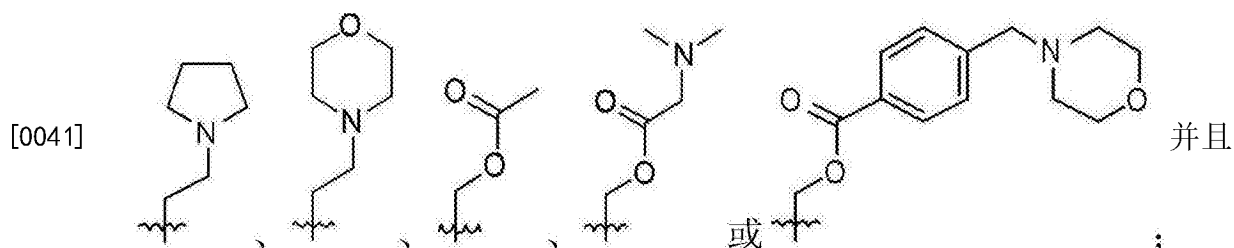
[0036] 其中

[0037] A为N-H、O或S;

[0038] Q₁、Q₂、Q₃、Q₄和Q₅各自独立地为C或N;

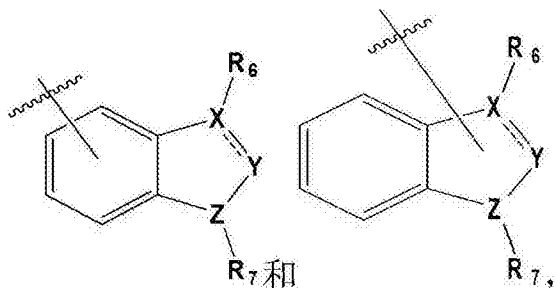
[0039] R₁、R₂、R₃、R₄和R₅各自独立地不存在或者为-H、-CF₃、-F、-Br、-Cl、氰化物、-CH₂OH、-(CO)NH₂、-(C₁-C₆)烷基、-(C₁₋₃)烷氧基、-NH₂、-N(CH₃)₂或者包含选自N、O和S的1-3元的4、5或6-元杂芳基或杂环烷基 (所述杂芳基或杂环烷基具有至少一个选自-H、卤素和胺的取代基);

[0040] P为-H、-(C₁-C₃)OH、-(C₁-C₆)烷基、-(CO)(C₁-C₆)烷基;



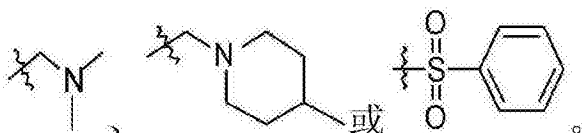
[0042] B选自：

[0043]



[0044] 其中,X、Y和Z各自独立地为C、N或S,并且

[0045] R_6 和 R_7 各自独立地不存在或者为 $-H$ 、 $-Br$ 、 $-(C_1-C_6)$ 烷基、 $-(C_1-C_3)OH$ 、



[0046] 在本发明的一个方面中,所述式1的化合物通过以下进一步定义:

[0047] A为N-H、O或S;

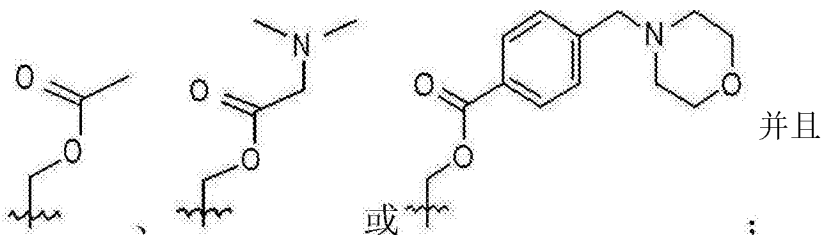
[0048] Q_1 、 Q_2 、 Q_3 、 Q_4 和 Q_5 为C;

[0049] R_2 和 R_4 为H;

[0050] R_1 、 R_3 和 R_5 各自独立地为 $-H$ 、 $-F$ 、 $-Br$ 、 $-Cl$ 、甲基、乙基、 $-CH_2OH$ 、氰化物、 $-NH_2$ 或者包含选自N、O和S的1-3元的4、5或6-元杂芳基或杂环烷基;

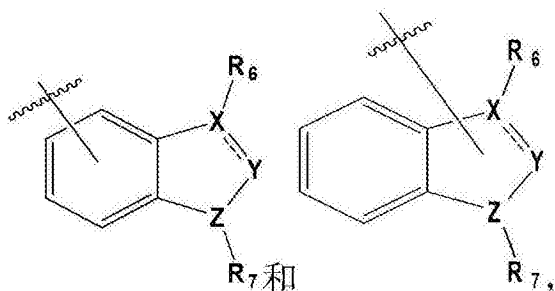
[0051] P为 $-H$ 、甲基、 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、

[0052]



[0053] B选自：

[0054]



[0055] 其中X和Y为C,

[0056] Z为N,并且

[0057] R_6 和 R_7 各自独立地为 $-H$ 、甲基或 $-CH_2CH_2OH$ 。

[0058] 本发明的式1的化合物一般可以其药学上可接受的盐的形式使用。所述其药学上可接受的盐包括药学上可接受的碱加成盐或酸加成盐,例如金属盐(如碱金属盐和碱土金属盐)、铵盐、有机胺加成盐、氨基酸加成盐和磺酸盐。酸加成盐包括无机酸加成盐,如盐酸盐、磺酸盐和磷酸盐;以及有机酸加成盐,如烷基磺酸盐、芳基磺酸盐、乙酸盐、苹果酸盐、延

胡索酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐和乳酸盐。金属盐的实例包括碱金属盐,如锂盐、钠盐和钾盐;碱土金属盐,如镁盐、钙盐、铝盐和锌盐。铵盐的实例包括铵盐和四甲基铵盐。有机胺加成盐的实例包括与吗啉和哌啶形成的盐。氨基酸加成盐的实例包括与甘氨酸、苯丙氨酸、谷氨酸和赖氨酸形成的盐。磺酸盐的实例包括甲磺酸盐、甲苯磺酸盐和苯磺酸盐。

[0059] 术语“立体异构体”意指具有相同的分子式和键,但区别在于它们的三维取向的异构体分子。

[0060] 优选的本发明的式1的化合物的具体实施例包括:

[0061] 化合物065

[0062] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;

[0063] 化合物092

[0064] (E)-N'-((1H-吡啶-5-基)亚甲基)-2-(4-溴-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;

[0065] 化合物108

[0066] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;

[0067] 化合物109

[0068] (E)-N'-((1H-吡啶-2-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;

[0069] 化合物112

[0070] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(4-溴-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;

[0071] 化合物133

[0072] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(4-溴-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;

[0073] 化合物135

[0074] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯基氨基)乙酰肼;

[0075] 化合物137

[0076] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼;

[0077] 化合物139

[0078] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼;

[0079] 化合物146

[0080] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼;

[0081] 化合物147

[0082] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯基硫基)乙酰肼;

[0083] 化合物149

[0084] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-(嘧啶-5-基)苯氧基)乙酰肼;

[0085] 化合物155

[0086] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;

[0087] 化合物156

[0088] (E)-N'-((1H-吡啶-3-基)亚甲基)-2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;

[0089] 化合物157

- [0090] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
[0091] 化合物158
[0092] (E)-N'-((1H-吡啶-3-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯基硫基)乙酰肼;
[0093] 化合物159
[0094] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯基硫基)乙酰肼;
[0095] 化合物164
[0096] (E)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)-N-甲基-N'-((1-甲基-1H-吡啶-4-基)亚甲基)乙酰肼;
[0097] 化合物177
[0098] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-N-(2-羟基乙基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;
[0099] 化合物180
[0100] (E)-N'-((1-(2-羟基乙基)-1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;
[0101] 化合物182
[0102] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼;
[0103] 化合物183
[0104] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼;
[0105] 化合物184
[0106] (E)-N'-((1H-吡啶-5-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼;
[0107] 化合物187
[0108] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-((2-甲基吡啶-3-基)氧基)乙酰肼;
[0109] 化合物195
[0110] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-N-(2-羟基乙基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;
[0111] 化合物217
[0112] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-4-基)苯氧基)乙酰肼;
[0113] 化合物218
[0114] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
[0115] 化合物227
[0116] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(4-(羟基甲基)-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;
[0117] 化合物228
[0118] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(4-(羟基甲基)-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼

肼;

[0119] 化合物229

[0120] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)

乙酰肼;

[0121] 化合物232

[0122] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(4-氨基-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;

[0123] 化合物233

[0124] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-N-(羟基甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰

肼;

[0125] 化合物236

[0126] (E)-(2-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-1-(2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰基)肼基)甲基
2-(二甲基氨基)乙酸酯;

[0127] 化合物237

[0128] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(4-氰基-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;

[0129] 化合物238

[0130] (E)-(2-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-1-(2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰基)肼基)甲基
2-(二甲基氨基)乙酸酯;

[0131] 化合物243

[0132] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-N-乙酰基-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;

[0133] 化合物244

[0134] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-N-(羟基甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰
肼;

[0135] 化合物245

[0136] (E)-(2-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-1-(2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰基)肼基)甲基
4-(吗啉代甲基)苯甲酸酯;

[0137] 化合物252

[0138] (E)-(2-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-1-(2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰基)肼基)甲基
乙酸酯;

[0139] 化合物258

[0140] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;

[0141] 化合物259

[0142] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-溴-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;

[0143] 化合物260

[0144] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-溴-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼;

[0145] 化合物272

[0146] (E)-(2-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-1-(2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰基)肼基)甲基
4-(吗啉代甲基)苯甲酸酯;

[0147] 化合物311

[0148] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰

胍;

[0149] 化合物312

[0150] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰胍;

[0151] 化合物313

[0152] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯氧基)乙酰胍;

[0153] 化合物314

[0154] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯氧基)乙酰胍;

[0155] 化合物317

[0156] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-2-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酰胍;

[0157] 化合物319

[0158] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-3-基)吡啶-3-基)氧基)乙酰胍;

[0159] 化合物320

[0160] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰胍;

[0161] 化合物322

[0162] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯氧基)乙酰胍;

[0163] 化合物323

[0164] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰胍;

[0165] 化合物329

[0166] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-乙基-6-甲基吡啶-3-基)氧基)乙酰胍;

[0167] 化合物331

[0168] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-(吡咯烷-1-基)吡啶-3-基)氧基)乙酰胍;

[0169] 化合物332

[0170] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-2-基)苯氧基)乙酰胍;

[0171] 化合物333

[0172] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酰胍;

[0173] 化合物336

[0174] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯氧基)乙酰胍;

[0175] 化合物337

[0176] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰胍;

- [0177] 化合物343
- [0178] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-((2-(噻吩-3-基)吡啶-3-基)氧基)乙酰肼;
- [0179] 化合物344
- [0180] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(噻吩-2-基)苯氧基)乙酰肼;
- [0181] 化合物346
- [0182] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-2-基)-4-甲氧基苯氧基)乙酰肼;
- [0183] 化合物375
- [0184] (E)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)-N-甲基-N'-((1-甲基-1H-吡啶-6-基)亚甲基)乙酰肼;
- [0185] 化合物378
- [0186] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼;
- [0187] 化合物379
- [0188] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼;
- [0189] 化合物380
- [0190] (E)-2-(4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)-N-甲基-N'-((1-甲基-1H-吡啶-6-基)亚甲基)乙酰肼;和
- [0191] 化合物457
- [0192] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢-2H-吡喃-4-基)苯氧基)乙酰肼。
- [0193] 更优选的本发明的式1的化合物的具体实施例包括:
- [0194] 化合物065
- [0195] (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;
- [0196] 化合物108
- [0197] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼;
- [0198] 化合物229
- [0199] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼;和
- [0200] 化合物457
- [0201] (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢-2H-吡喃-4-基)苯氧基)乙酰肼。
- [0202] 本发明还提供药物组合物,其包含式1的N-酰基脲衍生物,其立体异构体或其药学上可接受的盐;以及药学上可接受的载体。
- [0203] 优选地,所述组合物用于预防和治疗与抑制T细胞活性相关的疾病。所述疾病的具体实例包括造血干细胞移植或器官移植后的移植物抗宿主病(GVHD)、多发性硬化和类风湿关节炎。
- [0204] 优选地,所述组合物用于治疗淋巴恶性肿瘤。所述淋巴恶性肿瘤的具体实例包括T

淋巴样白血病、B淋巴样白血病、NK白血病、NKT白血病、多发性骨髓瘤、T淋巴瘤和B淋巴瘤。

[0205] 有益效果

[0206] 本发明提供具有N-酰基脒结构的新型化合物,其可用作选择性T细胞抑制剂和/或抗淋巴恶性肿瘤药物。

[0207] 所述化合物有效地抑制活性T细胞。即所述化合物选择性且有效地移除移植抗原-和自身抗原-特异性T细胞,并因此可用于预防和治疗移植后的免疫排斥响应和治疗自身免疫病。这样的实例为造血干细胞移植或器官移植后的移植物抗宿主病 (GVHD)、多发性硬化、类风湿关节炎等。

[0208] 此外,这些化合物针对淋巴恶性肿瘤细胞具有优异的凋亡作用,并因此可用作治疗淋巴恶性肿瘤的药剂。这样的实例为T淋巴样白血病、B淋巴样白血病、NK白血病、NKT白血病、多发性骨髓瘤、T淋巴瘤、B淋巴瘤等。

[0209] 附图简述

[0210] 图1和2显示本发明的化合物在细胞培养的条件中针对异型抗原特异性T细胞的抑制活性测试的结果。

[0211] 图3显示本发明的化合物针对异型抗原特异性T细胞的抑制活性测试的结果。

[0212] 图4显示本发明的化合物针对急性移植物抗宿主病的抑制活性测试的结果。

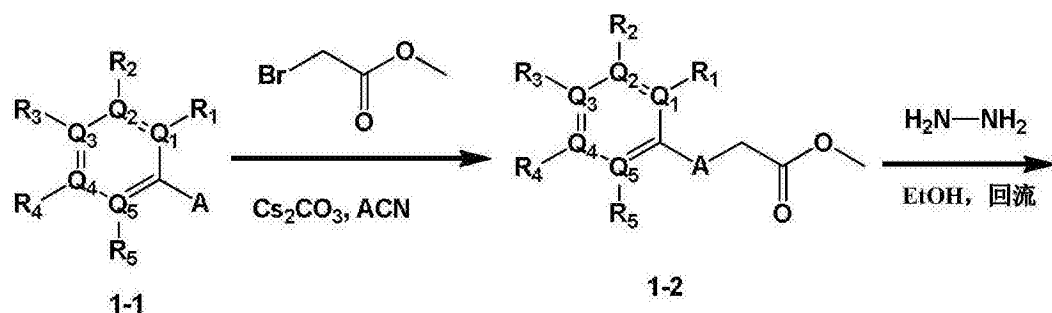
[0213] 图5显示本发明的化合物对于多发性硬化的治疗活性测试的结果。

[0214] 实施本发明的最佳方式

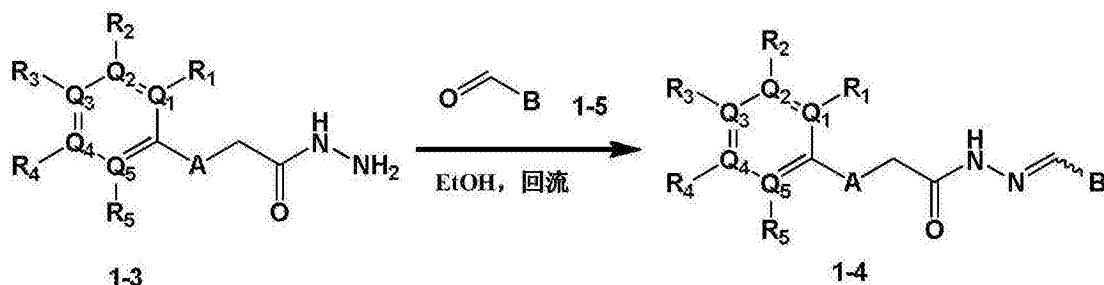
[0215] 化合物的制备

[0216] 可通过由多种文献中已知的方法制备本发明的式1的化合物。会随以下的反应路线和实施例更详细地描述式1的化合物的制备方法。

[0217] [路线1]



[0218]



[0219] 化合物1-2的合成(溴乙酸甲酯反应):

[0220] 将化合物1-1和溴乙酸甲酯在乙腈中溶解,然后加入碳酸铯,随后搅拌。反应完成后,将反应混合物通过硅藻土过滤以移除碳酸铯,在加压下浓缩,并纯化以得到化合物1-2。

[0221] 化合物1-3的合成(肼反应)

[0222] 将化合物1-2和肼一水合物在乙醇中溶解,随后搅拌。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,并纯化以得到白色固体形式的化合物1-3。

[0223] 化合物1-4的合成(醛反应)

[0224] 将化合物1-3和醛化合物在乙醇中溶解,随后搅拌。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩以移除乙醇,然后纯化以得到化合物1-4。

[0225] 通过相同的方法,可合成化合物013、014、034、065、083、092、100、108、109、112、118、121、127、133、135、136、137、138、139、146、147、149、152、155、156、157、158、159、180、182、183、184、187、190、191、192、193、194、196、205、206、211、217、218、227、228、229、237、256、258、259、260、279、280、286、288、291、293、301、302、303、304、310、311、312、313、314、317、318、319、320、322、323、326、327、329、330、331、332、333、336、337、343、344、345、346、347、356、358、359、378、379和457。

[0226] 实施例1. 化合物013的合成

[0227] 步骤1. 2-(邻甲苯磺酰基氧基)乙酸甲酯的合成:将邻甲酚(5g, 46.24mmol)在二甲基甲酰胺中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯(7.1g, 46.24mmol)和碳酸钾(19g, 138.42mmol),随后在室温下搅拌1小时。反应完成后,向反应混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用饱和氯化铵水溶液洗涤,用硫酸镁干燥,并在减压下浓缩,以得到2-(邻甲苯磺酰基氧基)乙酸甲酯,将其在未进行任何进一步纯化下于下一步骤中使用。

[0228] 步骤2. 2-(邻甲苯磺酰基氧基)乙酰肼的合成:向2-(邻甲苯磺酰基氧基)乙酸甲酯(8.3g, 46.24mmol)中加入过量的肼一水合物,随后在90℃下搅拌10分钟。反应完成后,向其中加入水,从而形成固体,将其过滤并用乙醚洗涤,以得到白色固体形式的2-(邻甲苯磺酰基氧基)乙酰肼。

[0229] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(邻甲苯磺酰基氧基)乙酰肼的合成:

[0230] 将2-(邻甲苯磺酰基氧基)乙酰肼(0.1g, 0.55mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(0.08g, 0.55mmol)在乙醇中溶解,随后在90℃下搅拌3小时。反应完成后,将反应混合物冷却至室温。向其中加入己烷。将所得的固体过滤,并用乙醚洗涤,以得到白色固体形式的化合物013。

[0231] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.51-11.37 (m, 2H), 8.51-8.25 (m, 0.7H), 7.50-7.46 (m, 2H), 7.23-6.97 (m, 5H), 6.91-6.79 (m, 2H), 5.22-4.68 (m, 1H), 2.26-2.22 (m, 3H)。

[0232] 实施例2. 化合物014的合成

[0233] 将2-(邻甲苯磺酰基氧基)乙酰肼(0.1g, 0.55mmol)和1H-吡啶-5-甲醛(0.08g, 0.55mmol)在乙醇中溶解,随后在90℃下搅拌3小时。反应完成后,将反应混合物冷却至室温,随后移除溶剂。向其中加入己烷和乙酸乙酯。将所形成的固体过滤,并用乙醚洗涤,以得到白色固体形式的化合物014。

[0234] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.38-11.28 (m, 2H), 8.33-8.07 (m, 1H), 7.80-7.79 (m, 1H), 7.54-7.52 (m, 1H), 7.44-7.38 (m, 2H), 7.17-7.11 (m, 2H), 6.88-6.83 (m, 2H), 6.49 (m, 1H), 5.15-4.63 (m, 2H), 2.24-2.21 (m, 3H)。

[0235] 实施例3. 化合物034的合成

[0236] 将2-(邻甲苯磺酰基氧基)乙酰肼(0.1g, 0.55mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(0.101g,

0.67mmol) 在EtOH中溶解,随后在90℃下搅拌18小时。反应完成后,将反应混合物冷却至室温,并在减压下浓缩。将所得的固体过滤,并用乙醚洗涤,以得到化合物034。

[0237] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.41–11.20 (m, 1.6H), 8.33 (s, 0.3H), 8.06 (m, 0.4H), 7.69–7.41 (m, 4H), 7.18–7.06 (m, 2H), 6.90–6.80 (m, 2H), 6.45 (m, 1H), 5.14–4.63 (m, 2H), 2.23–2.16 (m, 3H)。

[0238] 实施例4. 化合物065的合成

[0239] 步骤1. 2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酸甲酯的合成: 将2,4,6-三甲苯酚(1g, 7.3mmol) 在二甲基甲酰胺中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯(1.1g, 7.3mmol) 和碳酸钾(3g, 22mmol), 随后在室温下搅拌16小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用水洗涤3次, 用硫酸镁干燥, 并在减压下浓缩, 以得到2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酸甲酯(1.5g, 100%)。

[0240] 步骤2. 2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼的合成: 将2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酸甲酯(1.5g, 7.3mmol) 在四氢呋喃中溶解。向其中加入肼一水合物(5.16g, 103mmol), 随后在室温下搅拌1小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。向浓缩物中加入水, 并过滤。将滤液用水和乙醚洗涤, 以得到白色固体形式的2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼(1.36g, 89%)。

[0241] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼的合成:

[0242] 将2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼(0.1g, 0.48mmol) 和1H-吡啶-4-甲醛(0.08g, 0.53mmol) 在乙醇中溶解, 随后在90℃下搅拌3小时。反应完成后, 将反应混合物冷却至室温。向其中加入己烷。将所得的固体过滤, 并用乙醇洗涤, 以得到白色固体形式的化合物065(58mg, 36%)。

[0243] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.48–11.35 (m, 2H), 8.70 (s, 0.5H), 8.23 (s, 0.5H), 7.50–7.43 (m, 2H), 7.25–7.10 (m, 2.5H), 6.85–6.76 (m, 2.5H), 4.84 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 2.23 (s, 6H), 2.19 (s, 3H)。

[0244] 实施例5. 化合物083的合成

[0245] 步骤1. 2-(邻甲苯氨基)乙酸甲酯的合成: 将邻甲苯胺(1g, 9.3mmol) 在二甲基甲酰胺中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯(1.3g, 9.3mmol) 和碳酸钾(3.9g, 28mmol), 随后在室温下搅拌16小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用水洗涤3次, 用硫酸镁干燥, 并在减压下浓缩, 以得到2-(邻甲苯氨基)乙酸甲酯, 将其在下一步骤中使用。

[0246] 步骤2. 2-(邻甲苯氨基)乙酰肼的合成: 将2-(邻甲苯氨基)乙酸甲酯(1.7g, 9.3mmol) 在四氢呋喃中溶解。向其中加入肼一水合物(5.16g, 103mmol), 随后在室温下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将所得的浓缩物通过柱色谱法纯化, 以得到黄色液体形式的2-(邻甲苯氨基)乙酰肼(0.3g, 18%)。

[0247] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(邻甲苯氨基)乙酰肼的合成:

[0248] 将2-(邻甲苯氨基)乙酰肼(0.12g, 0.67mmol) 和1H-吡啶-4-甲醛(0.12g, 0.803mmol) 在乙醇中溶解, 随后在90℃下搅拌3小时。反应完成后, 将反应混合物冷却至室温, 并在减压下浓缩。将所得的固体过滤, 并用乙醚洗涤, 以得到棕色的化合物083(58mg, 5%)。

[0249] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) : δ 11.40–11.20 (m, 2.4H) , 8.27–8.07 (m, 1H) , 7.79–7.37 (m, 5H) , 7.00–6.97 (m, 2H) , 6.52–6.47 (m, 3H) , 4.26 (d, J = 5.44Hz, 1.4H) , 3.82–3.80 (d, J = 5.88Hz, 1H) , 2.13–2.11 (m, 3H) .

[0250] 实施例6. 化合物100的合成

[0251] 将2-(邻甲苯磺酰基氧基) 乙酰肼 (0.1g, 0.56mmol) 和1H-吡啶-6-甲醛 (0.97g, 0.67mmol) 在乙醇中溶解, 随后在90℃下搅拌3小时。反应完成后, 将反应混合物冷却至室温, 并在减压下浓缩。将所得的固体浓缩物通过柱色谱法纯化, 以得到化合物100 (0.04g, 47%)。

[0252] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) : δ 11.37 (bs, 0.4H) , 8.37 (bs, 0.4H) , 8.26–8.25 (m, 1H) , 8.09 (bs, 0.6H) , 7.85 (s, 1H) , 7.60 (s, 1H) , 7.16–7.08 (m, 2H) , 6.88–6.81 (m, 2H) , 5.15–4.64 (m, 2H) , 2.23–2.20 (m, 3H) .

[0253] 实施例7. 化合物108的合成

[0254] 将2-(2,4,6-三甲苯氧基) 乙酰肼 (0.12g, 0.57mmol) 和1H-吡啶-6-甲醛 (0.1g, 0.69mmol) 在乙醇中溶解, 随后在90℃下搅拌过夜。反应完成后, 将反应混合物冷却至室温, 并在减压下浓缩。将所得的固体浓缩物通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷 = 1:1) 纯化, 并重结晶 (乙酸乙酯: 己烷 = 1:1), 以得到化合物108 (0.03g, 16%)。

[0255] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) : δ 11.39–11.20 (m, 2H) , 8.48 (s, 0.5H) , 8.01 (s, 0.3H) , 7.68 (s, 0.5H) , 7.57–7.24 (m, 3H) , 6.83 (s, 2H) , 6.45–6.41 (m, 1H) , 4.73–4.30 (m, 2H) , 2.21–2.14 (m, 9H) .

[0256] 实施例8. 化合物109的合成

[0257] 将2-(2,4,6-三甲苯氧基) 乙酰肼 (0.12g, 0.57mmol) 和1H-吡啶-2-甲醛 (0.1g, 0.69mmol) 在乙醇中溶解, 随后在90℃下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物冷却至室温, 并在减压下浓缩。将所得的固体浓缩物通过柱色谱法和重结晶纯化, 以得到化合物109 (0.07g, 36%)。

[0258] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) : δ 11.35–11.30 (m, 2H) , 8.47 (s, 0.6H) , 8.01 (s, 0.4H) , 7.78–7.70 (m, 1H) , 7.53–7.34 (m, 3H) , 6.83 (m, 2H) , 6.49–6.49 (m, 1H) , 4.72–4.29 (m, 2H) , 2.21–2.17 (m, 9H) .

[0259] 实施例9. 化合物112的合成

[0260] 步骤1. 2-(4-溴-2,6-二甲基苯氧基) 乙酸甲酯的合成: 将4-溴-2,6-二甲基苯酚 (3.0g, 14.9mmol) 和溴乙酸甲酯 (1.55mL, 16.4mmol) 在乙腈中溶解。向其中加入碳酸铯 (14.6g, 44.8mmol), 随后在室温下搅拌1天。反应完成后, 向反应混合物中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 并在减压下浓缩, 未经纯化下得到2-(4-溴-2,6-二甲基苯氧基) 乙酸甲酯 (4.1g, 100%)。

[0261] 步骤2. 2-(4-溴-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼的合成: 将2-(4-溴-2,6-二甲基苯氧基) 乙酸甲酯 (4.1g, 14.9mmol) 和肼一水合物 (0.87mL, 17.9mmol) 在乙醇中溶解, 随后在回流下搅拌1天。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩的残渣干燥并纯化, 以得到白色固体形式的2-(4-溴-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼 (2.5g, 51%)。

[0262] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基) 亚甲基)-2-(4-溴-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼的合成: 将2-(4-溴-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼 (0.18g, 0.66mmol) 和吡啶-4-甲醛 (0.11g,

0.73mmol) 在乙醇中溶解,随后在回流下搅拌过夜。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩的残渣干燥并纯化,以得到白色固体形式的化合物112(52mg,20%)。

[0263] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.52, 11.48 (s, 1H), 11.37 (bs, 1H), 8.67, 8.23 (s, 1H), 7.51-7.44 (m, 2H), 7.29-7.24 (m, 2.65H), 7.18-7.12 (m, 2H), 6.77 (s, 0.47H), 4.90, 4.42 (s, 2H), 2.29, 2.28 (m, 6H)。

[0264] 实施例10. 化合物118的合成

[0265] 步骤1. 2-(2,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯的合成: 将2,6-二甲基苯酚(3.0g, 24.6mmol)和溴乙酸甲酯(2.57mL, 27.0mmol)在乙腈中溶解。向其中加入碳酸铯(24.0g, 73.7mmol),随后在室温下搅拌1天。反应完成后,向反应混合物中加入饱和碳酸氢钠水溶液,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩,未经纯化下得到2-(2,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯(4.77g,100%)。

[0266] 步骤2. 2-(2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼的合成: 将2-(2,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯(4.77g, 24.6mmol)和肼一水合物(1.43mL, 29.4mmol)在乙醇中溶解,随后在回流下搅拌1天。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩的残渣干燥并纯化,以得到白色固体形式的2-(2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼(2.2g,46%)。

[0267] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼的合成: 将2-(2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼(100mg, 0.52mmol)和吡啶-4-甲醛(82.2mg, 0.57mmol)在乙醇中溶解,随后在回流下搅拌过夜。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩的残渣干燥并纯化,以得到白色固体形式的化合物118(71.6mg,43%)。

[0268] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.51, 11.46 (s, 1H), 11.37 (bs, 1H), 8.70, 8.24 (s, 1H), 7.51-7.43 (m, 2H), 7.26-6.78 (m, 6H), 4.89, 4.41 (s, 2H), 2.29, 2.28 (m, 6H)。

[0269] 实施例11. 化合物121的合成

[0270] 步骤1. 2-(2,6-二异丙基苯氧基)乙酸甲酯的合成: 将2,6-二异丙基苯酚(10g, 56.1mmol)在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯(8.5g, 56.1mmol)和碳酸铯(37g, 112.4mmol),随后在回流下搅拌16小时。反应完成后,向反应混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用水洗涤3次,用硫酸镁干燥,并在减压下浓缩,以得到2-(2,6-二异丙基苯氧基)乙酸甲酯(14g,100%),将其在下一步骤中使用。

[0271] 步骤2. 2-(2,6-二异丙基苯氧基)乙酰肼的合成:

[0272] 将2-(2,6-二异丙基苯氧基)乙酸酯(14g, 56.1mmol)在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物(2.5g, 56.1mmol),随后在室温下搅拌16小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将所得的浓缩物通过柱色谱法纯化,以得到2-(2,6-二异丙基苯氧基)乙酰肼(8.8g,62%)。

[0273] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,6-二异丙基苯氧基)乙酰肼的合成: 将2-(2,6-二异丙基苯氧基)乙酰肼(0.1g, 0.399mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(0.07g, 0.479mmol)在乙醇中溶解,随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将所得的浓缩物通过柱色谱法纯化,以得到化合物121(0.03g,20%)。

[0274] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.57-11.22 (m, 2H), 8.62-8.20 (m, 1H), 7.36-6.72 (m, 8H), 4.83-4.33 (m, 2H), 1.19-1.16 (m, 16H)。

[0275] 实施例12. 化合物127的合成

[0276] 步骤1. 2-(2,6-二叔丁基-4-甲基苯氧基)乙酸甲酯的合成:将2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(10g,45.4mmol)在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯(7g,45.4mmol)和碳酸铯(30g,91mmol),随后在回流下搅拌16小时。反应完成后,向反应混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用水洗涤3次,用硫酸镁干燥,并在减压下浓缩,以得到2-(2,6-二叔丁基-4-甲基苯氧基)乙酸甲酯(13.3g,100%),将其在下一步骤中使用。

[0277] 步骤2. 2-(2,6-二叔丁基-4-甲基苯氧基)乙酰肼的合成:

[0278] 将2-(2,6-二叔丁基-4-甲基苯氧基)乙酸甲酯(13.3g,45.4mmol)在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物(2.3g,45.4mmol),随后在室温下搅拌16小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将所得的浓缩物通过柱色谱法纯化,以得到2-(2,6-二叔丁基-4-甲基苯氧基)乙酰肼(6g,45%)。

[0279] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,6-二叔丁基-4-甲基苯氧基)乙酰肼的合成:将2-(2,6-二叔丁基-4-甲基苯氧基)乙酰肼(0.1g,0.342mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(0.07g,0.41mmol)在乙醇中溶解,随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后,将所形成的固体过滤,并用乙腈洗涤,以得到化合物127(0.025g,18%)。

[0280] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 8.52-8.22 (s, 1H), 7.78 (m, 1.6H), 7.41 (m, 0.8H), 7.14 (m, 3.2H), 6.92 (m, 0.7H), 4.77 (s, 1.3H), 4.23 (s, 0.5H), 2.33 (d, $J=4.56\text{Hz}$, 3H), 1.38 (s, 18H)。

[0281] 实施例13. 化合物133的合成

[0282] 将2-(4-溴-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼(0.1g,0.37mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(0.11g,0.74mmol)在乙醇中溶解,随后在回流下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,从而形成结晶固体,将其过滤,用乙醇洗涤,并通过柱色谱法纯化,以得到化合物133。

[0283] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.42 (d, $J=9.72\text{Hz}$, 1H), 11.33-11.22 (s, 1H), 8.47 (s, 0.5H), 8.03 (s, 0.5H), 7.70 (s, 0.5H), 7.59-7.37 (m, 3H), 7.29 (m, 2.5H), 6.45 (m, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.37 (s, 1H), 2.32 (d, $J=5.36\text{Hz}$, 6H)。

[0284] 实施例14. 化合物135的合成

[0285] 步骤1. 2-(2,4,6-三甲苯基氨基)乙酸甲酯的合成:将2,4,6-三甲苯基胺(10g,74mmol)在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯(11.3g,74mmol)和碳酸铯(48g,148mmol),随后在回流下搅拌16小时。反应完成后,向反应混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用水洗涤3次,用硫酸镁干燥,并在减压下浓缩,以得到2-(2,4,6-三甲苯基氨基)乙酸甲酯(15.3g,100%),将其在下一步骤中使用。

[0286] 步骤2. 2-(2,4,6-三甲苯基氨基)乙酰肼的合成:将2-(2,4,6-三甲苯基氨基)乙酸甲酯(15.3g,74mmol)在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物(3.7g,74mmol),随后在100℃,回流下搅拌16小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将所得的固体化合物过滤以得到2-(2,4,6-三甲苯基氨基)乙酰肼(3.9g,25%)。

[0287] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯基氨基)乙酰肼的合成:

[0288] 将2-(2,4,6-三甲苯基氨基)乙酰肼(0.1g,0.48mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(0.084g,0.58mmol)在乙醇中溶解,随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后,将反应混合物在减压下

浓缩。将所得的浓缩物通过柱色谱法纯化,然后在减压下浓缩。将形成的结晶固体过滤以得到化合物135 (0.089g, 55%)。

[0289] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.47–11.34 (m, 2H), 8.41–8.20 (m, 1H), 7.47 (m, 2H), 7.48–7.10 (m, 2H), 6.91 (s, 0.6H), 6.74 (m, 2H), 4.36–3.60 (m, 3H), 2.25–2.12 (m, 9H)。

[0290] 实施例15. 化合物136的合成

[0291] 将2-(2,4,6-三甲苯基氨基)乙酰肼 (0.1g, 0.48mmol) 和1H-吡啶-3-甲醛 (0.084g, 0.58mmol) 在乙醇中溶解,随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将所得的浓缩物通过柱色谱法纯化,然后在减压下浓缩。将形成的结晶固体过滤以得到化合物136 (0.06g, 37%)。

[0292] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.53 (bs, 1H), 11.25–11.06 (m, 1H), 8.33–8.03 (m, 2H), 7.70 (m, 1H), 7.40 (m, 1H), 7.21–7.05 (m, 2H), 6.74–6.71 (m, 2H), 4.36–4.01 (m, 3H), 2.25–2.12 (m, 9H)。

[0293] 实施例16. 化合物137的合成

[0294] 步骤1. 2-(2,6-二甲基-4-(吡啶-2-基)苯氧基)乙酰肼的合成: 将2-(4-溴-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼 (0.5g, 1.8mmol) 在二甲氧基乙烷/水 (2:1) 和二甲基甲酰胺中溶解。向其中加入吡啶-2-基硼酸 (0.27g, 2.2mmol) 和Pd (dppf) Cl_2 (0.074g, 0.055mmol)、碳酸钠 (0.58g, 5.5mmol),随后在微波反应器中,于120℃下反应15分钟。反应完成后,向反应混合物中加入水,并用二氯甲烷萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化,以得到2-(2,6-二甲基-4-(吡啶-2-基)苯氧基)乙酰肼 (0.34g, 69%)。

[0295] 步骤2. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-(吡啶-2-基)苯氧基)乙酰肼的合成: 将2-(2,6-二甲基-4-(吡啶-2-基)苯氧基)乙酰肼 (0.1g, 0.37mmol) 和1H-吡啶-4-甲醛 (0.11g, 0.74mmol) 在乙醇中溶解,随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后,将所形成的固体化合物过滤,以得到化合物137 (0.09g, 61%)。

[0296] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.54–11.35 (m, 2H), 8.84 (s, 1H), 8.68 (s, 0.5H), 8.5 (m, 1H), 8.23 (s, 0.5H), 8.02 (m, 1H), 7.49–6.78 (m, 7H), 4.93 (s, 1H), 4.38 (s, 1H), 2.35 (d, J = 3.08Hz, 6H)。

[0297] 实施例17. 化合物138的合成

[0298] 将2-(2,6-二甲基-4-(吡啶-2-基)苯氧基)乙酰肼 (0.1g, 0.37mmol) 和1H-吡啶-3-甲醛 (0.11g, 0.74mmol) 在乙醇中溶解,随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后,将所形成的固体化合物过滤,以得到化合物138 (0.08g, 46%)。

[0299] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.57–11.22 (m, 2H), 8.84–7.00 (m, 12H), 4.91 (s, 1H), 4.40 (s, 1H), 2.36 (m, 6H)。

[0300] 实施例18. 化合物139的合成

[0301] 将2-(2,6-二甲基-4-(吡啶-2-基)苯氧基)乙酰肼 (0.1g, 0.37mmol) 和1H-吡啶-6-甲醛 (0.11g, 0.74mmol) 在乙醇中溶解,随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将所得的浓缩物通过柱色谱法纯化,以得到化合物139 (0.1g, 52%)。

[0302] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.45–11.22 (m, 2H), 8.84–7.23 (m, 11H), 6.45 (m, 1H), 4.88 (s, 0.8H), 4.11 (s, 1H), 2.31 (d, J = 5.76Hz, 6H)。

[0303] 实施例19. 化合物146的合成

[0304] 步骤1. 2-(2-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酸甲酯的合成:

[0305] 将2-(吡啶-3-基)苯酚(化合物6-6)(0.25g, 1.4mmol)在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯(0.15g, 1.4mL)和碳酸钾(0.6g, 0.4mmol), 随后搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物通过硅藻土过滤, 并在减压下浓缩以得到2-(2-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酸甲酯(0.35g, 100%), 将其在下一步骤中使用。

[0306] 步骤2. 2-(2-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼的合成:

[0307] 将2-(2-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酸甲酯(0.32g, 1.3mmol)在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物(0.078g, 1.56mmol), 随后在回流下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将所得的浓缩物通过柱色谱法纯化, 以得到2-(2-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼(0.1g, 31%)。

[0308] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼的合成: 将2-(2-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼(0.1g, 0.41mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(0.072g, 0.49mmol)在乙醇中溶解, 随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将所得的浓缩物通过柱色谱法纯化, 然后在减压下浓缩。将形成的结晶固体过滤以得到化合物146(0.030g, 20%)。

[0309] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.54-11.33 (bs, 2H), 8.83 (m, 1H), 8.53-8.49 (m, 1H), 8.42 (s, 0.3H), 8.25 (s, 0.7H), 8.07-8.03 (m, 1H), 7.49-7.32 (m, 6H), 7.23-6.94 (m, 5H), 5.27-4.74 (m, 2H)。

[0310] 实施例20. 化合物147的合成

[0311] 步骤1. 2-(2,4,6-三甲苯基硫基)乙酸甲酯的合成: 将2,4,6-三甲苯基硫酚(1.5g, 10mmol)在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯(1.7g, 11mmol)和碳酸钾(3g, 2.2mmol), 随后搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物通过硅藻土过滤。向滤液中加入饱和氯化铵水溶液, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并在减压下浓缩, 以得到2-(2,4,6-三甲苯基硫基)乙酸甲酯, 将其在下一步骤中使用。

[0312] 步骤2. 2-(2,4,6-三甲苯基硫基)乙酰肼的合成: 将2-(2,4,6-三甲苯基硫基)乙酸甲酯(2.5g, 11mmol)在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物(0.56g, 11mmol), 随后在100℃, 回流下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。向所得的浓缩物加入饱和氯化铵水溶液, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 在减压下浓缩, 并通过柱色谱法纯化, 以得到2-(2,4,6-三甲苯基硫基)乙酰肼(1g, 41%)。

[0313] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4,6-三甲苯基硫基)乙酰肼的合成:

[0314] 将2-(2,4,6-三甲苯基硫基)乙酰肼(0.1g, 0.45mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(0.078g, 0.54mmol)在乙醇中溶解, 随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将所得的浓缩物通过柱色谱法纯化, 然后在减压下浓缩。将形成的结晶固体过滤以得到化合物147(0.028g, 6.3%)。

[0315] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.32-11.27 (m, 2H), 8.30-8.17 (m, 1H), 7.47 (m, 2H), 7.47-6.88 (m, 5H), 3.72-3.33 (m, 2H), 2.44-1.96 (m, 9H)。

[0316] 实施例21. 化合物149的合成

[0317] 步骤1. 2-(2,6-二甲基-4-(嘧啶-5-基)苯氧基)乙酸甲酯的合成:

[0318] 将2,6-二甲基-4-(嘧啶-5-基)苯酚(化合物6-3)(0.32g,1.6mmol)在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯(0.24g,1.6mmol)和碳酸铯(1g,3.2mmol),随后在回流下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物通过硅藻土过滤。向滤液中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化,以得到2-(2,6-二甲基-4-(嘧啶-5-基)苯氧基)乙酸甲酯(0.44g,100%)。

[0319] 步骤2. 2-(2,6-二甲基-4-(嘧啶-5-基)苯氧基)乙酰肼的合成:

[0320] 将2-(2,6-二甲基-4-(嘧啶-5-基)苯氧基)乙酸酯(0.44g,1.6mmol)在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物(0.12g,2.4mmol),随后在100℃,回流下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,并通过柱色谱法纯化,以得到2-(2,6-二甲基-4-(嘧啶-5-基)苯氧基)乙酰肼(0.085g,19%)。

[0321] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-(嘧啶-5-基)苯氧基)乙酰肼的合成:将2-(2,6-二甲基-4-(嘧啶-5-基)苯氧基)乙酰肼(0.085g,0.31mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(0.068g,0.47mmol)在乙醇中溶解,随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后,将所形成的固体化合物过滤,以得到化合物149(0.06g,70%)。

[0322] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6): δ 11.55(bs,1H),11.35(bs,1H),9.11(m,3.2H),8.7(s,0.5H),8.24(s,0.5H),7.55-6.8(m,7H),4.95(s,1H),4.47(s,1H),2.38(d,J=3.2Hz,6H)。

[0323] 实施例22.化合物152的合成

[0324] 步骤1. 2-(4-(2-氨基嘧啶-5-基)-2,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯的合成:

[0325] 将4-(2-氨基嘧啶-5-基)-2,6-二甲基苯酚(化合物6-4)(0.27g,1.24mmol)在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯(0.12g,1.24mmol)和碳酸铯(0.81g,2.3mmol),随后在回流下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物通过硅藻土过滤。向滤液中加入水,并用二氯甲烷萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,在减压下浓缩,并通过柱色谱法纯化,以得到2-(4-(2-氨基嘧啶-5-基)-2,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯(0.28g,70%)。

[0326] 步骤2. 2-(4-(2-氨基嘧啶-5-基)-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼的合成:

[0327] 将2-(4-(2-氨基嘧啶-5-基)-2,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯(0.28g,1mmol)在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物(0.06g,1.2mmol),随后在100℃,回流下搅拌8小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将所形成的固体过滤以得到2-(2,6-二甲基-4-(嘧啶-5-基)苯氧基)乙酰肼(0.31g,100%)。

[0328] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(4-(2-氨基嘧啶-5-基)-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼的合成:将2-(2,6-二甲基-4-(嘧啶-5-基)苯氧基)乙酰肼(0.080g,0.28mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(0.061g,0.41mmol)在乙醇中溶解,随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后,将所形成的固体过滤,并通过柱色谱法纯化以得到化合物152。

[0329] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6): δ 9.14-7.01(m,10H),4.93(s,1H),4.42(s,1H),2.37(d,J=7.96Hz,6H)。

[0330] 实施例23.化合物155的合成

[0331] 步骤1. 2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯的合成:将4-氯-2,6-二甲基苯酚(0.5g,3.2mmol)在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯(0.49g,3.2mmol)和碳酸铯(1.8g,6.4mmol),随后搅拌16小时。反应完成后,将反应混合物通过硅藻土过滤。向滤液中加入水,

并用二氯甲烷萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并在减压下浓缩,以得到2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯(0.4g,55%),将其在下一步骤中使用。

[0332] 步骤2. 2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼的合成:

[0333] 将2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯(0.5g,2.2mmol)在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物(0.13g,2.6mmol),随后在回流下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。向浓缩物中加入水,并用二氯甲烷萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并在减压下浓缩,以得到2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼(0.22g,44%)。

[0334] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼的合成:将2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼(0.08g,0.35mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(0.076g,0.53mmol)在乙醇中溶解,随后在回流下搅拌12小时。反应完成后,将所形成的固体过滤,以得到化合物155(0.063g,51%)。

[0335] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.48-11.33 (m, 1.5H), 8.64 (s, 0.3H), 8.21 (s, 0.4H), 7.44 (m, 2H), 7.24-6.75 (m, 5H), 4.87 (s, 1H), 4.39 (s, 1H), 2.25 (d, J=3.48Hz, 6H)。

[0336] 实施例24. 化合物156的合成

[0337] 将2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼(0.08g,0.35mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(0.076g,0.53mmol)在乙醇中溶解,随后在回流下搅拌12小时。反应完成后,将所形成的固体过滤,并通过柱色谱法纯化以得到化合物156(0.03g,24%)。

[0338] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.20 (bs, 1H), 11.1 (bs, 1H), 8.54 (s, 0.5H), 8.21 (d, J=7.16Hz, 5H), 8.14 (s, 0.5H), 7.85 (m, 0.5H), 7.75 (m, 1H), 7.40 (m, 1H), 7.20-7.01 (m, 4H), 4.84 (s, 1H), 4.34 (s, 1H), 2.2 (d, J=3.48Hz, 6H)。

[0339] 实施例25. 化合物157的合成

[0340] 将2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼(0.08g,0.35mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(0.076g,0.53mmol)在乙醇中溶解,随后在回流下搅拌12小时。反应完成后,将所形成的固体过滤,以得到化合物157(0.043g,34%)。

[0341] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.40-11.2 (m, 1.5H), 8.45 (s, 0.5H), 8.02 (s, 0.4H), 7.69-7.26 (m, 4H), 7.11 (d, J=5.72Hz, 2H), 6.46 (m, 1H), 4.79 (s, 0.8H), 4.36 (s, 1H), 2.25 (d, J=4.92Hz, 6H)。

[0342] 实施例26. 化合物158的合成

[0343] 将2-(2,4,6-三甲苯基硫基)乙酰肼(0.2g,0.89mmol)和1H-吡啶-3-甲醛(0.155g,1.1mmol)在乙醇中溶解,随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将形成的结晶固体过滤以得到化合物158(0.035g,11%)。

[0344] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.52 (bs, 1H), 11.04-11.00 (m, 1H), 8.25-7.96 (m, 2H), 7.75-7.71 (m, 1H), 7.40 (m, 1H), 7.18-6.88 (m, 4H), 3.70 (s, 1.4H), 2.45-2.13 (m, 9H)。

[0345] 实施例27. 化合物159的合成

[0346] 将2-(2,4,6-三甲苯基硫基)乙酰肼(0.2g,0.89mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(0.16g,1.1mmol)在乙醇中溶解,随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化,然后在减压下浓缩。将所形成的结晶固体过滤以得到化合物159(0.023g,7.3%)。

[0347] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.22 (bs, 2H), 8.13-7.94 (m, 1H), 7.65-7.18 (m, 4H),

6.93–6.86 (m, 2H) , 6.43 (m, 1H) , 3.68–3.30 (m, 2H) , 2.49–2.08 (m, 9H) .

[0348] 实施例28. 化合物180的合成

[0349] 将2-(2,4,6-三甲苯基氨基) 乙酰肼 (0.03g, 0.14mmol) 和1-(2-羟基乙基)-1H-吡啶-4-甲醛 (0.03g, 0.16mmol) 在二甲基亚砜和乙酸中溶解, 随后在室温下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙醚萃取。将所得的有机层用硫酸钠洗涤, 并在减压下浓缩。将浓缩物重结晶以得到化合物180 (0.002g, 3.3%)。

[0350] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) : δ 11.44 (d, $J=25\text{Hz}$, 1H) , 8.67 (s, 0.5H) , 8.21 (s, 0.5H) , 7.55 (m, 1H) , 7.43 (m, 1H) , 7.26–7.09 (m, 2H) , 6.82–6.73 (m, 3H) , 4.86 (m, 1H) , 4.81 (s, 1H) , 4.33 (s, 1H) , 4.23 (m, 2H) , 3.69 (m, 2H) , 2.2 (d, $J=0.6\text{Hz}$, 6H) , 2.17 (s, 3H) .

[0351] 实施例29. 化合物182的合成

[0352] 步骤1. 2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基) 苯氧基) 乙酸甲酯的合成:

[0353] 将2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基) 苯酚 (化合物6-7) (0.7g, 3.51mmol) 在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯 (0.54g, 3.51mmol) 和碳酸铯 (2.3g, 7.02mmol), 随后在回流下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物通过硅藻土过滤。向滤液中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 在减压下浓缩, 并通过柱色谱法纯化, 以得到2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基) 苯氧基) 乙酸甲酯 (0.71g, 75%)。

[0354] 步骤2. 2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基) 苯氧基) 乙酰肼的合成:

[0355] 将2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基) 苯氧基) 乙酸酯 (0.71g, 2.63mmol) 在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物 (0.13g, 2.63mmol), 随后在100℃, 回流下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩, 并通过柱色谱法纯化, 以得到2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基) 苯氧基) 乙酰肼 (0.71g, 100%)。

[0356] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基) 亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基) 苯氧基) 乙酰肼的合成: 将2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基) 苯氧基) 乙酰肼 (0.2g, 0.74mmol) 和1H-吡啶-4-甲醛 (0.13g, 0.88mmol) 在乙醇中溶解, 随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将所得的浓缩物通过柱色谱法纯化, 以得到化合物182 (0.1g, 34%)。

[0357] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) : δ 11.32 (bs, 1H) , 11.22 (bs, 1H) , 8.78–8.75 (m, 1H) , 8.57–8.50 (m, 1.5H) , 8.04–7.98 (m, 1.5H) , 7.48–7.41 (m, 3H) , 7.21–7.01 (m, 4.5H) , 6.33 (m, 0.5H) , 4.46–4.00 (m, 2H) , 2.35–2.27 (m, 6H) .

[0358] 实施例30. 化合物183的合成

[0359] 将2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基) 苯氧基) 乙酰肼 (0.2g, 0.74mmol) 和1H-吡啶-6-甲醛 (0.13g, 0.88mmol) 在乙醇中溶解, 随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化, 以得到化合物183 (0.14g, 47%)。

[0360] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) : δ 11.29–11.14 (m, 2H) , 8.77–8.74 (m, 1H) , 8.52–8.51 (m, 1H) , 8.36 (s, 0.5H) , 8.02–7.96 (m, 1H) , 7.87 (s, 0.5H) , 7.67–7.33 (m, 5H) , 7.11–7.05 (m, 2.5H) , 6.45–6.41 (m, 1H) , 4.41–3.97 (m, 2H) , 2.37–2.21 (m, 9H) .

[0361] 实施例31. 化合物184的合成

[0362] 将2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基) 苯氧基) 乙酰肼 (0.2g, 0.74mmol) 和1H-吡啶-5-甲醛 (0.13g, 0.88mmol) 在乙醇中溶解, 随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混

合物在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化,以得到化合物184(0.14g,48%)。

[0363] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.38-11.32 (m, 1H), 11.11-11.09 (m, 1H), 8.78-8.75 (m, 1H), 8.51 (m, 1H), 8.37 (s, 0.5H), 8.04-7.97 (m, 1H), 7.86-7.77 (m, 1H), 7.58-7.05 (m, 6.5H), 6.51-6.45 (m, 1H), 4.40-3.96 (m, 2H), 2.32-2.27 (m, 6H)。

[0364] 实施例32. 化合物187的合成

[0365] 步骤1. 2-(2-甲基吡啶-3-基氧基) 乙酸甲酯的合成: 将2-甲基吡啶-3-醇(0.6g, 4.4mmol) 在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯(0.41mL, 4.4mmol) 和碳酸铯(1.7g, 5.3mmol), 随后在80℃下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 在减压下浓缩, 并通过柱色谱法纯化, 以得到2-(2-甲基吡啶-3-基氧基) 乙酸甲酯(0.34g, 42%), 将其在下一步骤中使用。

[0366] 步骤2. 2-(2-甲基吡啶-3-基氧基) 乙酰肼的合成: 将2-(2-甲基吡啶-3-基氧基) 乙酸甲酯(0.34g, 1.1mmol) 在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物(0.14mL, 1.6mmol), 随后在回流下搅拌12小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩物过滤以得到粗品状态的2-(2-甲基吡啶-3-基氧基) 乙酰肼。

[0367] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基) 亚甲基)-2-(2-甲基吡啶-3-基氧基) 乙酰肼的合成: 将2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼(0.1g, 0.55mmol) 和1H-吡啶-4-甲醛(0.088g, 0.61mmol) 在乙醇中溶解, 随后在回流下搅拌3小时。反应完成后, 将所形成的固体过滤, 以得到化合物187(0.14g, 82%)。

[0368] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.54 (bs, 1H), 11.42 (m, 1H), 8.49 (s, 0.4H), 8.24 (s, 0.6H), 8.0 (m, 1H), 7.47 (m, 2H), 7.29-7.10 (m, 4H), 6.96 (s, 1H), 5.28 (s, 1.3H), 4.74 (s, 0.7H), 2.39 (d, J=18.2Hz, 3H)。

[0369] 实施例33. 化合物190的合成

[0370] 步骤1. 2-(2,4-二甲基吡啶-3-基氧基) 乙酸甲酯的合成:

[0371] 将2,4-二甲基吡啶-3-醇(0.5g, 3.2mmol) 在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯(0.35mL, 3.9mmol) 和碳酸铯(1.25g, 3.9mmol), 随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 在减压下浓缩, 并通过柱色谱法纯化, 以得到2-(2,4-二甲基吡啶-3-基氧基) 乙酸甲酯(0.18g, 28%), 将其在下一步骤中使用。

[0372] 步骤2. 2-(2,4-二甲基吡啶-3-基氧基) 乙酰肼的合成:

[0373] 将2-(2,4-二甲基吡啶-3-基氧基) 乙酸甲酯(0.18g, 0.9mmol) 在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物(0.05mL, 1.1mmol), 随后在回流下搅拌3小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩物用乙醇重结晶以得到2-(2,4-二甲基吡啶-3-基氧基) 乙酰肼。

[0374] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基) 亚甲基)-2-(2,4-二甲基吡啶-3-基氧基) 乙酰肼的合成: 将2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼(0.08g, 0.41mmol) 和1H-吡啶-4-甲醛(0.065g, 0.45mmol) 在乙醇中溶解, 随后在回流下搅拌3小时。反应完成后, 将所形成的固体通过从反应混合物中过滤收集, 并通过柱色谱法纯化以得到化合物190(0.045g, 33%)。

[0375] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.52-11.33 (m, 1H), 8.62 (s, 0.5H), 8.2 (s, 0.5H), 8.08 (m, 1H), 7.49-6.77 (m, 6H), 4.94 (s, 1H), 4.45 (s, 1H), 2.47 (m, 3H), 2.29 (m, 3H)。

[0376] 实施例34. 化合物191的合成

[0377] 将2-(4-氯-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼(0.065g,0.33mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(0.053g,0.36mmol)在乙醇中溶解,随后在回流下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化,以得到化合物191(0.088g,82%)。

[0378] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.41 (m, 1H), 11.25 (m, 1H), 8.43 (s, 0.5H), 8.06 (m, 1.5H), 7.7-7.07 (m, 5H), 6.43 (m, 1H), 4.86 (s, 1H), 4.66 (s, 1H), 2.39 (d, $J=3.08\text{Hz}$, 3H), 2.28 (d, $J=3.08\text{Hz}$, 3H)。

[0379] 实施例35. 化合物192的合成

[0380] 步骤1. 2-(2-(三氟甲基)苯氧基)乙酸甲酯的合成:

[0381] 将2-(三氟甲基)苯酚(1g, 6.2mmol)在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯(0.94g, 6.2mmol)和碳酸铯(4g, 12mmol), 随后搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物通过硅藻土过滤。向滤液中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并在减压下浓缩, 以得到2-(2-(三氟甲基)苯氧基)乙酸甲酯(1.4g, 100%), 将其在下一步骤中使用。

[0382] 步骤2. 2-(2-(三氟甲基)苯氧基)乙酰肼的合成:

[0383] 将2-(2-(三氟甲基)苯氧基)乙酸甲酯(1.4g, 6.2mmol)在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物(2g, 40mmol), 随后在回流下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。向浓缩物中加入水, 并用二氯甲烷萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并在减压下浓缩, 以得到2-(2-(三氟甲基)苯氧基)乙酰肼(1.4g, 96%)。

[0384] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(三氟甲基)苯氧基)乙酰肼的合成: 将2-(2-(三氟甲基)苯氧基)乙酰肼(0.2g, 0.85mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(0.13g, 0.85mmol)在乙醇中溶解, 随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化, 以得到化合物192(0.27g, 88%)。

[0385] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.57-11.33 (m, 2H), 8.43-8.25 (m, 1H), 7.64-7.44 (m, 4H), 7.25-6.96 (m, 6H), 5.37-4.84 (m, 2H)。

[0386] 实施例36. 化合物193的合成

[0387] 将2-(2-(三氟甲基)苯氧基)乙酰肼(0.2g, 0.85mmol)和1H-吡啶-5-甲醛(0.13g, 0.85mmol)在乙醇中溶解, 随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化, 以得到化合物193(0.18g, 43%)。

[0388] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.57-11.33 (m, 2H), 8.25-8.06 (m, 1H), 7.77-7.79 (m, 1H), 7.62-7.51 (m, 4H), 7.41-7.36 (m, 2.5H), 7.16-7.07 (m, 2.5H), 7.47 (m, 1H), 5.30-4.79 (m, 2H)。

[0389] 实施例37. 化合物194的合成

[0390] 将2-(2-(三氟甲基)苯氧基)乙酰肼(0.2g, 0.85mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(0.13g, 0.85mmol)在乙醇中溶解, 随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化, 以得到化合物194(0.17g, 55%)。

[0391] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.49-11.26 (m, 2H), 8.27-8.07 (m, 1H), 7.71-7.54 (m, 4H), 7.44-7.42 (m, 2H), 7.20-7.06 (m, 2H), 6.45 (s, 1H), 5.31-4.80 (m, 2H)。

[0392] 实施例38. 化合物196的合成

[0393] 步骤1. 2-(2-氯吡啶-3-基氧基)乙酸甲酯的合成:

[0394] 将2-氯吡啶-3-醇(0.6g, 4.6mmol)在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯(0.52mL, 9.26mmol)和碳酸铯(1.8g, 5.6mmol), 随后搅拌3小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用二氯甲烷萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 在减压下浓缩, 并通过柱色谱法纯化, 以得到2-(2-氯吡啶-3-基氧基)乙酸甲酯(0.86g, 92%), 将其在下一步骤中使用。

[0395] 步骤2. 2-(2-氯吡啶-3-基氧基)乙酰肼的合成:

[0396] 将2-(2-氯吡啶-3-基氧基)乙酸甲酯(0.4g, 1.98mmol)在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物(0.1mL, 2.2mmol), 随后在回流下搅拌12小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩以得到2-(2-氯吡啶-3-基氧基)乙酰肼。

[0397] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-氯吡啶-3-基氧基)乙酰肼的合成: 将2-(2-氯吡啶-3-基氧基)乙酰肼(0.1g, 0.49mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(0.086g, 0.59mmol)在乙醇中溶解, 随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后, 将所形成的固体化合物过滤, 以得到化合物196(0.15g, 92%)。

[0398] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.61 (bs, 1H), 11.36 (m, 1H), 8.46 (s, 0.2H), 8.25 (s, 0.8H), 7.56-7.09 (m, 7H), 6.97 (m, 1H), 5.42 (s, 1.5H), 4.88 (s, 0.5H), 4.9 (m, 1H), 4.88 (s, 2H), 4.08 (t, $J=6.28\text{Hz}$, 2H), 3.58 (m, 2H), 2.18 (d, $J=4.28\text{Hz}$, 9H)。

[0399] 实施例39. 化合物205的合成

[0400] 将2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼(0.10g, 0.48mmol)和1H-苯并[d]咪唑-5-甲醛(0.079g, 0.48mmol)在EtOH中溶解, 随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物冷却至室温, 并在减压下浓缩。将所得的固体通过柱色谱法纯化, 以得到化合物205(0.058g, 36%)。

[0401] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 12.62-12.48 (m, 1H), 11.47-11.39 (m, 1H), 8.52 (s, 0.5H), 8.29-8.23 (m, 1H), 8.05 (s, 0.5H), 7.88-7.43 (m, 3H), 6.83-6.82 (m, 2H), 4.74-4.31 (m, 2H), 2.23-2.14 (m, 9H)。

[0402] 实施例40. 化合物206的合成

[0403] 将2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼(0.10g, 0.39mmol)和苯并[d][1,2,3]噻二唑-5-甲醛(0.079g, 0.48mmol)在EtOH中溶解, 随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物冷却至室温, 并在减压下浓缩。将所得的固体通过柱色谱法和重结晶纯化, 以得到化合物206(0.11g, 65%)。

[0404] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.81-11.73 (m, 1H), 8.89-8.85 (m, 1H), 8.69 (s, 0.5H), 8.47-8.36 (m, 1H), 8.23-8.07 (s, 1.5H), 6.84-8.81 (m, 2H), 4.80-4.36 (m, 2H), 2.22-2.16 (m, 9H)。

[0405] 实施例41. 化合物211的合成

[0406] 将2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼(0.10g, 0.39mmol)和3-((4-甲基哌啶-1-基)甲基)-1H-吡啶-4-甲醛(0.089g, 0.42mmol)在二甲基亚砜中溶解, 随后在室温下搅拌12小时。反应完成后, 将反应混合物冷却至室温, 加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并在减压下浓缩。将形成的固体过滤以得到化合物211(0.078g, 45%)。

[0407] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.42-11.17 (m, 1H), 11.1 (m, 1H), 9.08 (s, 0.5H), 8.6 (s, 0.5H), 7.59 (d, $J=7.60\text{Hz}$, 5H), 7.43-7.27 (m, 1.5H), 7.13 (t, $J=7.68\text{Hz}$, 0.5H), 7.0.3

(t, J=7.72Hz, 0.5H), 6.83 (d, J=10.0Hz, 2H), 4.74 (s, 1H), 4.34 (s, 1H), 3.59 (s, 1H), 3.50 (m, 1H), 2.86 (m, 2H), 2.23 (s, 3H), 2.18 (m, 6H), 1.86 (m, 2H), 1.47 (m, 2H), 1.28 (m, 1H), 1.01 (m, 2H), 0.81 (m, 3H)。

[0408] 实施例42. 化合物217的合成

[0409] 步骤1. 2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-4-基)苯氧基)乙酸甲酯的合成: 将2,4-二甲基-6-(吡啶-4-基)苯酚(化合物6-8) (0.12g, 0.6mmol) 在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯 (0.092g, 0.6mmol) 和碳酸铯 (0.2g, 0.6mmol), 随后搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩, 并通过柱色谱法纯化, 以得到2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-4-基)苯氧基)乙酸甲酯 (0.1g, 61%)。

[0410] 步骤2. 2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-4-基)苯氧基)乙酰肼的合成:

[0411] 将2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-4-基)苯氧基)乙酸酯 (0.1g, 0.37mmol) 在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物 (0.13g, 2.63mmol), 随后在100℃, 回流下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩, 并通过柱色谱法纯化, 以得到2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼 (0.1g, 100%)。

[0412] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-4-基)苯氧基)乙酰肼的合成: 将2-(2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼 (0.06g, 0.22mmol) 和1H-吡啶-4-甲醛 (0.032g, 0.22mmol) 在乙醇中溶解, 随后在回流下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化, 以得到化合物217 (0.04g, 45%)。

[0413] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.28-11.12 (m, 2H), 8.61-8.58 (m, 2H), 8.38-7.89 (2s, 1H), 7.68 (s, 0.5H), 7.63-7.34 (m, 5.5H), 7.14-7.09 (m, 2.5H), 6.46-6.42 (m, 1H), 4.443.99 (2s, 2H), 2.34-2.29 (m, 6H)。

[0414] 实施例43. 化合物218的合成

[0415] 步骤1. 2-(2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯的合成:

[0416] 将2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯酚(化合物6-2) (0.2g, 1.1mmol) 在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯 (0.16g, 1.1mmol) 和碳酸铯 (0.35g, 1.1mmol), 随后搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物通过硅藻土过滤。将滤液在减压下浓缩, 并通过柱色谱法纯化, 以得到2-(2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯 (0.18g, 64%)。

[0417] 步骤2. 2-(2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼的合成:

[0418] 将2-(2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯 (0.1g, 0.38mmol) 在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物 (1g, 20mmol), 随后在回流下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩以得到2-(2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼 (0.03g, 30%)。

[0419] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼的合成: 将2-(2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼 (0.03g, 0.12mmol) 和1H-吡啶-6-甲醛 (0.017g, 0.12mmol) 在乙醇中溶解, 随后在回流下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化, 以得到化合物218 (0.02g, 45%)。

[0420] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.38-11.37 (m, 1H), 11.29-11.16 (m, 1H), 8.46, 8.30 (2s, 1H), 8.26 (s, 0.5H), 8.00 (s, 0.5H), 7.73 (m, 1.5H), 7.60-7.20 (m, 4.5H), 7.02-6.98 (m,

2H), 6.51–6.39 (m, 1H), 4.66 (s, 1H), 4.20 (m, 1H), 2.30–2.27 (m, 6H) .

[0421] 实施例44. 化合物227的合成

[0422] 步骤1. 2-(4-(羟基甲基)-2,6-二甲基苯氧基) 乙酸甲酯的合成:

[0423] 将4-(羟基甲基)-2,6-二甲基苯酚 (0.034g, 0.22mmol) 在甲醇中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯 (0.034g, 0.22mmol) 和碳酸钾 (0.031g, 0.22mmol), 随后搅拌16小时。反应完成后, 向反应混合物中加入饱和氯化铵水溶液, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并在减压下浓缩, 以得到2-(4-(羟基甲基)-2,6-二甲基苯氧基) 乙酸甲酯 (0.04g, 80%), 将其在下一步骤中使用。

[0424] 步骤2. 2-(4-(羟基甲基)-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼的合成:

[0425] 将2-(4-(羟基甲基)-2,6-二甲基苯氧基) 乙酸甲酯 (0.3g, 1.3mmol) 在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物 (1g, 18mmol), 随后在60℃下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩以得到2-(4-(羟基甲基)-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼 (0.25g, 83%)。

[0426] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基) 亚甲基)-2-(4-(羟基甲基)-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼的合成: 将2-(2-(三氟甲基) 苯氧基) 乙酰肼 (0.1g, 0.45mmol) 和1H-吡啶-4-甲醛 (0.065g, 0.45mmol) 在乙醇中溶解, 随后在100℃下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化, 以得到化合物227 (0.05g, 32%)。

[0427] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.53–11.46 (m, 1H), 11.37 (bs, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.50–7.43 (m, 2H), 7.25–7.11 (m, 2.5H), 6.98 (m, 2H), 6.76 (s, 0.5H), 5.10–5.08 (m, 1H), 4.86 (s, 1H), 4.39–4.38 (m, 3H), 2.27–2.26 (m, 6H) .

[0428] 实施例45. 化合物228的合成

[0429] 将2-(2-(三氟甲基) 苯氧基) 乙酰肼 (0.07g, 0.31mmol) 和1H-吡啶-6-甲醛 (0.045g, 0.31mmol) 在乙醇中溶解, 随后在回流下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化, 以得到化合物228 (0.05g, 46%)。

[0430] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.44–11.40 (m, 1H), 11.33–11.23 (m, 1H), 8.50–8.03 (2s, 1H), 7.77 (s, 0.5H), 7.59–6.76 (m, 3.5H), 6.98 (s, 2H), 6.47–6.42 (m, 1H), 5.11–5.07 (m, 1H), 4.77 (s, 1H), 4.39–4.34 (m, 3H), 2.26–2.24 (m, 6H) .

[0431] 实施例46. 化合物229的合成

[0432] 步骤1. 2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基) 苯氧基) 乙酸甲酯的合成:

[0433] 将2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基) 苯酚 (化合物7-2) (0.4g, 2.1mmol) 在乙腈中溶解。向其中加入溴乙酸甲酯 (0.32g, 2.1mmol) 和碳酸铯 (1.4g, 4.2mmol), 随后搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物通过硅藻土过滤。将滤液在减压下浓缩, 并通过柱色谱法纯化, 以得到2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基) 苯氧基) 乙酸甲酯 (0.42g, 76%)。

[0434] 步骤2. 2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基) 苯氧基) 乙酰肼的合成:

[0435] 将2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基) 苯氧基) 乙酸甲酯 (0.18g, 0.68mmol) 在EtOH中溶解。向其中加入肼一水合物 (1g, 20mmol), 随后在回流下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩以得到2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基) 苯氧基) 乙酰肼 (0.1g, 56%)。

[0436] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基) 亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基) 苯氧基) 乙酰肼的合成: 将2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基) 苯氧基) 乙酰肼 (0.1g,

0.38mmol) 和1H-吡啶-6-甲醛 (0.067g, 0.45mmol) 在乙醇中溶解, 随后在回流下搅拌16小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷=2:1) 纯化, 以得到化合物229 (0.063g, 43%)。

[0437] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.48-11.44 (m, 1H), 11.35-11.23 (m, 1H), 8.48 (s, 0.5H), 8.05 (s, 0.5H), 7.72 (s, 0.5H), 7.59-7.27 (m, 3.5H), 6.96-6.88 (m, 2H), 6.47-6.43 (m, 1H), 4.77 (s, 1H), 4.34 (s, 1H), 4.02-3.92 (m, 2H), 3.77-3.73 (m, 2H), 3.53-3.43 (m, 1H), 2.26-2.20 (m, 7H), 1.89-2.20 (m, 1H)。

[0438] 实施例47. 化合物237的合成

[0439] 步骤1. 2-(4-氰基-2,6-二甲基苯氧基) 乙酸甲酯的合成:

[0440] 将4-羟基-3,5-二甲基苄醇 (200mg, 1.4mmol)、溴乙酸甲酯 (0.15mL, 1.4mmol) 和碳酸铯 (500mg, 1.68mmol) 在乙腈4mL中溶解, 随后在80℃下搅拌2小时。反应完成后, 将反应混合物用乙酸乙酯萃取, 用硫酸镁干燥, 并在减压下浓缩以得到2-(4-氰基-2,6-二甲基苯氧基) 乙酸甲酯 (303mg, 99%)。

[0441] 步骤2. 2-(4-氰基-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼的合成:

[0442] 将2-(4-氰基-2,6-二甲基苯氧基) 乙酸甲酯 (200mg, 0.91mmol) 和肼 (0.05mL, 1.0mmol) 在EtOH 2mL中溶解, 随后在80℃下搅拌12小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩以得到2-(4-氰基-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼 (180mg, 90%)。

[0443] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基) 亚甲基)-2-(4-氰基-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼的合成: 将2-(4-氰基-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼 (92mg, 0.42mmol) 和1H-吡啶-6-甲醛 (67mg, 0.46mmol) 在EtOH 1mL中溶解, 随后在80℃下搅拌12小时。反应完成后, 将反应混合物通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷=1:1) 纯化, 用己烷/乙酸乙酯重结晶, 并过滤以得到化合物237 (31mg, 21%)。

[0444] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.45 (m, 1H), 11.32-11.24 (m, 1H), 8.45-8.04 (2s, 1H), 7.71 (s, 0.5H), 7.59-7.57 (m, 3H), 7.53-7.38 (m, 2H), 7.27 (m, 0.5H), 6.45 (m, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.47 (s, 1H), 2.30 (d, J=4.24Hz, 6H)。

[0445] 实施例48. 化合物256的合成

[0446] 将化合物108 (100mg, 0.35mmol) 和NBS (57mg, 0.35mmol) 在CH₂Cl₂ 2mL中溶解, 随后在室温下搅拌2小时。反应完成后, 将反应混合物过滤。将滤液通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷=2:1) 纯化, 以得到化合物256 (40mg, 32%)。

[0447] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.45 (bs, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.73 (s, 0.5H), 7.61 (m, 1H), 7.54-7.39 (m, 2H), 6.83 (m, 2H), 2.21 (m, 9H)。

[0448] 实施例49. 化合物258的合成

[0449] 将2-(2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼 (100mg, 0.51mmol) 和1H-吡啶-6-甲醛 (74mg, 0.51mmol) 在EtOH 2mL中溶解, 随后在100℃下搅拌12小时。移除溶剂, 然后将残渣用四氢呋喃和己烷重结晶, 以得到化合物258 (42mg, 26%)。

[0450] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.38 (m, 1H), 11.29 (m, 1H), 8.49, 8.04 (2s, 1H), 7.71 (s, 0.5H), 7.58 (m, 1H), 7.52-7.27 (m, 2.5H), 7.05 (m, 2H), 6.96 (m, 1H), 6.45 (m, 1H), 4.79 (s, 2H), 4.37 (s, 2H), 2.27 (m, 6H)。

[0451] 实施例50. 化合物259的合成

[0452] 步骤1. 2-(2-溴-4,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯的合成:

[0453] 将2-溴-4,6-二甲基苯酚(200mg, 1.4mmol)、溴乙酸甲酯(0.15mL, 1.4mmol)和碳酸铯(500mg, 1.68mmol)在乙腈4mL中溶解,随后在100℃下搅拌3小时。反应完成后,将反应混合物用乙酸乙酯萃取,用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=1:3)纯化以得到2-(2-溴-4,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯(516mg, 100%)。

[0454] 步骤2. 2-(2-溴-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼的合成:

[0455] 将2-(2-溴-4,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯(423mg, 1.55mmol)和肼(0.08mL, 1.57mmol)在EtOH 2mL中溶解,随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩以得到2-(2-溴-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼(393mg, 93%)。

[0456] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-溴-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼的合成:将(2-溴-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼(85mg, 0.31mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(45mg, 0.31mmol)在EtOH 2mL中溶解,随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩物用乙醇重结晶,并过滤以得到化合物259(50mg, 40%)。

[0457] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.47-11.44 (m, 1H), 11.34 (bs, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.47 (m, 2H), 7.25 (m, 2H), 7.17-7.13 (m, 4H), 7.12 (s, 1H), 6.78 (s, 1H), 4.98 (s, 1H), 4.48 (s, 2H), 2.32-2.24 (m, 9H)。

[0458] 实施例51. 化合物260的合成

[0459] 将2-(2-溴-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼(85mg, 0.31mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(45mg, 0.31mmol)在EtOH 2mL中溶解,随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=1:1)纯化,以得到化合物260(60mg, 48%)。

[0460] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.38 (s, 1H), 11.29-11.20 (m, 1H), 8.48-8.02 (2s, 1H), 7.71 (s, 0.5H), 7.58-7.25 (m, 3H), 7.28-7.25 (m, 0.5H), 7.05 (m, 1H), 6.45 (m, 1H), 4.88, (2s, 2H), 2.28 (m, 6H)。

[0461] 实施例52. 化合物279的合成

[0462] 将2-(邻甲苯磺酰基氧基)乙酰肼(100mg, 0.56mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(81mg, 0.56mmol)在EtOH 2mL中溶解,随后在90℃下搅拌6小时。反应完成后,将所形成的固体过滤,以得到化合物279(50mg, 29%)。

[0463] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.30 (m, 1H), 11.28 (m, 1H), 8.34 (s, 0.5H), 8.08 (s, 0.5H), 7.67 (d, $J=2.8\text{Hz}$, 1H), 7.46-7.37 (m, 2H), 7.18-7.10 (m, 2H), 6.89-6.81 (m, 2H), 6.47 (m, 1H), 5.15 (s, 1H), 4.65 (s, 1H), 2.23 (d, $J=13.2\text{Hz}$, 3H)。

[0464] 实施例53. 化合物280的合成

[0465] 步骤1. 1-(苯基磺酰基)-1H-吡啶-6-甲醛的合成:将1H-吡啶-4-甲醛(1000mg, 6.89mmol)、氢化钠(360mg, 8.26mmol)和苯基磺酰氯(1mL, 6.89mmol)在四氢呋喃10mL中溶解,随后在室温下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物用乙酸乙酯萃取,用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=1:3)纯化以得到1-(苯基磺酰基)-1H-吡啶-6-甲醛(500mg, 25%)。

[0466] 步骤2. (E)-2-(2,4,6-三甲苯氧基)-N'-((1-(苯基磺酰基)-1H-吡啶-4-基)亚甲基)乙酰肼的合成:将2-(2,4,6-三甲苯氧基)乙酰肼(30mg, 0.14mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(44mg, 0.16mmol)在EtOH 2mL中溶解,随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后,将所形成的

固体过滤,以得到化合物280 (30mg, 39%)。

[0467] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.64 (m, 1H), 8.65–8.18 (2s, 1H), 8.02–7.97 (m, 4H), 7.7–7.2 (m, 6H), 4.78 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 2.20 (m, 9H)。

[0468] 实施例54. 化合物286的合成

[0469] 步骤1. 2-(2,6-二甲基吡啶-4-基氧基) 乙酸甲酯的合成:

[0470] 将2,6-二甲基吡啶-4-醇 (300mg, 2.44mmol)、2-溴乙酸甲酯 (0.27mL, 2.93mmol) 和碳酸铯 (2.4g, 7.32mmol) 在乙腈6mL中溶解,随后在80℃下搅拌1小时。反应完成后,将反应混合物在减压下过滤。将滤液在减压下浓缩,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=3:1)纯化,以得到2-(4-氟-2-甲基苯氧基) 乙酸甲酯 (200mg, 42%)。

[0471] 步骤2. 2-(2,6-二甲基吡啶-4-基氧基) 乙酰肼的合成:

[0472] 将2-(2,6-二甲基吡啶-4-基氧基) 乙酸甲酯 (200mg, 1.03mmol) 和肼 (0.05mL, 1.13mmol) 在EtOH 3mL中溶解,随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后,将所形成的固体过滤以得到2-(4-氟-2-甲基苯氧基) 乙酰肼 (190mg, 79%)。

[0473] 步骤2. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基) 亚甲基)-2-(2,6-二甲基吡啶-4-基氧基) 乙酰肼的合成: 将2-(2,6-二甲基吡啶-4-基氧基) 乙酰肼 (30mg, 0.15mmol) 和1H-吡啶-4-甲醛 (22mg, 0.15mmol) 在EtOH 2mL中溶解,随后在90℃下搅拌12小时。反应完成后,将所形成的固体过滤,以得到化合物286 (20mg, 41%)。

[0474] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.53 (m, 1H), 11.38 (m, 1H), 8.53–8.26 (s, 1H), 7.49 (m, 2H), 7.19 (m, 2.5H), 7.11 (s, 0.5H), 6.70–6.64 (m, 2H), 5.26 (s, 1H), 4.74 (s, 1H), 2.34 (m, 6H)。

[0475] 实施例55. 化合物288的合成

[0476] 将2-(2,6-二甲基吡啶-4-基氧基) 乙酰肼 (100mg, 0.51mmol) 和1H-吡啶-6-甲醛 (74mg, 0.51mmol) 在EtOH 2mL中溶解,随后在110℃下搅拌12小时。向反应混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=2:1)纯化,以得到化合物288 (30mg, 18%)。

[0477] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.43 (m, 1H), 11.28 (m, 1H), 8.35–8.07 (2s, 1H), 7.68 (d, J =18.0Hz, 1H), 7.57 (d, J =8.4Hz, 1H), 6.66 (d, J =22.0Hz, 2H), 6.47 (s, 1H), 5.20 (s, 1H), 4.69 (s, 1H), 2.34 (m, 6H)。

[0478] 实施例56. 化合物291的合成

[0479] 步骤1. 2-(4-氟-2-甲基苯氧基) 乙酸甲酯的合成: 将4-氟-2-甲基苯酚 (500mg, 3.96mmol)、2-溴乙酸甲酯 (0.36mL, 3.96mmol) 和碳酸铯 (1.9mg, 5.94mmol) 在乙腈8mL中溶解,随后在90℃下搅拌5小时。向反应混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=3:1)纯化,以得到2-(4-氟-2-甲基苯氧基) 乙酸甲酯 (450mg, 57%)。

[0480] 步骤2. 2-(4-氟-2-甲基苯氧基) 乙酰肼的合成:

[0481] 将2-(4-氟-2-甲基苯氧基) 乙酸甲酯 (400mg, 2.02mmol) 和肼 (0.12mL, 2.42mmol) 在EtOH 4mL中溶解,随后在90℃下搅拌3小时。反应完成后,将所形成的固体过滤以得到2-(4-氟-2-甲基苯氧基) 乙酰肼 (280mg, 70%)。

[0482] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基) 亚甲基)-2-(4-氟-2-甲基苯氧基) 乙酰肼的合

成：将2-(4-氟-2-甲基苯氧基)乙酰肼(100mg, 0.50mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(73mg, 0.50mmol)在EtOH 2mL中溶解,随后在90℃下搅拌4小时。向反应混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=2:1)纯化,以得到化合物291(37mg, 23%)。

[0483] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.43-11.41 (m, 1H), 11.34-11.30 (m, 1H), 8.34-8.07 (2s, 1H), 7.72 (d, $J=27.7\text{Hz}$, 1H), 7.64 (m, 1H), 7.44 (m, 2H), 6.95 (m, 3H), 5.15 (s, H), 4.63 (s, H), 2.22 (s, 3H)

[0484] 实施例57. 化合物293的合成

[0485] 步骤1. 2-(2-乙基-6-甲基吡啶-3-基氧基)乙酸甲酯的合成:

[0486] 将2-乙基-6-甲基吡啶-3-醇(500mg, 3.62mmol)、2-溴乙酸甲酯(0.33mL, 3.62mmol)和碳酸铯(1.78g, 5.43mmol)在乙腈5mL中溶解,随后在100℃下搅拌5小时。反应完成后,向反应混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=3:1)纯化,以得到2-(2-乙基-6-甲基吡啶-3-基氧基)乙酸甲酯(565mg, 70%)。

[0487] 步骤2. 2-(2-乙基-6-甲基吡啶-3-基氧基)乙酰肼的合成:

[0488] 将2-(2-乙基-6-甲基吡啶-3-基氧基)乙酸甲酯(400mg, 1.79mmol)和肼(0.1mL, 2.15mmol)在EtOH 4mL中溶解,随后在90℃下搅拌5小时。反应完成后,将反应混合物在减压下过滤以得到2-(2-乙基-6-甲基吡啶-3-基氧基)乙酰肼(242mg, 65%)。

[0489] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-乙基-6-甲基吡啶-3-基氧基)乙酰肼的合成:将2-(2-乙基-6-甲基吡啶-3-基氧基)乙酰肼(100mg, 0.50mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(73mg, 0.50mmol)在EtOH 3mL中溶解,随后在90℃下搅拌4小时。反应完成后,将所形成的固体过滤,以得到化合物293(46mg, 29%)。

[0490] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.43 (bs, 1H), 11.30-11.27 (s, 1H), 8.32-8.06 (2s, 1H), 7.64 (m, 1H), 7.42 (m, 2H), 7.36 (m, 1H), 7.02 (m, 1H), 6.45 (s, 1H), 5.17 (s, 1H), 4.66 (s, 1H), 2.75 (m, 2H), 2.45 (s, 3H), 1.21 (m, 3H)。

[0491] 实施例58. 化合物301的合成

[0492] 步骤1. 2-(2,6-二甲基嘧啶-4-基氧基)乙酸甲酯的合成:

[0493] 将2,6-二甲基嘧啶-4-醇(300mg, 2.42mmol)、溴乙酸甲酯(0.22mL, 2.90mmol)和碳酸铯(945mg, 2.90mmol)在乙腈4mL中溶解,随后在80℃下搅拌2小时。反应完成后,将反应混合物在减压下过滤。将滤液在减压下浓缩,并通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=1:3)纯化,以得到2-(2,6-二甲基嘧啶-4-基氧基)乙酸甲酯(170mg, 36%)。

[0494] 步骤2. 2-(2,6-二甲基嘧啶-4-基氧基)乙酰肼的合成:

[0495] 将2-(2,6-二甲基嘧啶-4-基氧基)乙酸甲酯(170mg, 0.87mmol)和肼(0.05mL, 0.95mmol)在EtOH 2mL中溶解,随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩以得到2-(2,6-二甲基嘧啶-4-基氧基)乙酰肼(149mg, 88%)。

[0496] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基嘧啶-4-基氧基)乙酰肼的合成:将2-(2,6-二甲基嘧啶-4-基氧基)乙酰肼(57mg, 0.29mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(42mg, 0.30mmol)在EtOH 1mL中溶解,随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后,将所形成的固体过滤,以得到化合物301(20mg, 21%)。

[0497] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.51-11.33 (m, 2H), 8.47-8.24 (m, 1H), 7.49 (m, 2H), 7.19 (m, 2H), 7.10 (m, 1H), 6.71 (m, 1H), 5.47 (s, 1H), 4.94 (s, 1H).

[0498] 实施例59. 化合物302的合成

[0499] 步骤1. 2-(2-叔丁基-4-甲氧基苯氧基) 乙酸甲酯的合成:

[0500] 将2-叔丁基-4-甲氧基苯酚 (300mg, 1.67mmol)、溴乙酸甲酯 (0.18mL, 2.00mmol) 和碳酸铯 (653mg, 2.00mmol) 在乙腈4mL中溶解, 随后在80℃下搅拌1小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下过滤。将滤液在减压下浓缩, 并通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷=1:3) 纯化, 以得到2-(2-叔丁基-4-甲氧基苯氧基) 乙酸甲酯 (259mg, 62%)。

[0501] 步骤2. 2-(2-叔丁基-4-甲氧基苯氧基) 乙酰肼的合成:

[0502] 将2-(2-叔丁基-4-甲氧基苯氧基) 乙酸甲酯 (259mg, 1.03mmol) 和肼 (0.06mL, 1.13mmol) 在EtOH 2mL中溶解, 随后在80℃下搅拌12小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩以得到2-(2-叔丁基-4-甲氧基苯氧基) 乙酰肼 (231mg, 89%)。

[0503] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基) 亚甲基)-2-(2-叔丁基-4-甲氧基苯氧基) 乙酰肼的合成: 将2-(2-叔丁基-4-甲氧基苯氧基) 乙酰肼 (90mg, 0.36mmol) 和1H-吡啶-4-甲醛 (57mg, 0.39mmol) 在EtOH 2mL中溶解, 随后在90℃下搅拌12小时。反应完成后, 将所形成的固体过滤, 以得到化合物302 (60mg, 44%)。

[0504] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.50 (m, 1H), 11.37 (m, 1H), 8.47-8.27 (2s, 1H), 7.49 (m, 2H), 7.16 (m, 2H), 6.95 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 6.74 (m, 2H), 5.13 (s, 1H), 4.12 (s, 1H), 3.69 (s, 3H), 1.38 (s, 9H)。

[0505] 实施例60. 化合物303的合成

[0506] 将2-(2-叔丁基-4-甲氧基苯氧基) 乙酰肼 (90mg, 0.36mmol) 和1H-吡啶-6-甲醛 (57mg, 0.39mmol) 在EtOH 2mL中溶解, 随后在90℃下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷=1:2) 纯化, 以得到化合物303 (66mg, 48%)。

[0507] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.41 (m, 1H), 11.26 (m, 1H), 8.31-8.08 (2s, 1H), 7.71 (m, 1H), 7.56 (m, 1H), 7.38 (m, 2H), 6.85 (m, 1H), 6.74 (m, 2H), 6.46 (m, 2H), 5.06 (s, 1H), 4.58 (s, 1H), 3.69 (s, 3H), 1.36 (s, 9H)。

[0508] 实施例61. 化合物304的合成

[0509] 步骤1. 2-((2-甲基吡啶-3-基) 氧基) 乙酸甲酯的合成:

[0510] 将3-羟基-2-甲基吡啶 (500mg, 4.58mmol) 和溴乙酸甲酯 (0.48mL, 5.04mmol) 在乙腈中溶解。向其中加入碳酸铯 (2.24g, 6.82mmol), 随后在室温下搅拌1天。反应完成后, 向反应混合物中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将浓缩的残渣通过柱色谱法 (硅胶; 己烷/乙酸乙酯, 6/4) 纯化, 以得到2-((2-甲基吡啶-3-基) 氧基) 乙酸甲酯 (356mg, 43%)。

[0511] 步骤2. 2-((2-甲基吡啶-3-基) 氧基) 乙酰肼的合成:

[0512] 将化合物1-2 (2-((2-甲基吡啶-3-基) 氧基) 乙酸甲酯, 356mg, 1.94mmol) 和肼一水合物 (0.19mL, 3.93mmol) 在乙醇中溶解, 随后在回流下搅拌1天。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩的残渣干燥并纯化, 以得到白色固体形式的2-((2-甲基吡啶-3-基) 氧基) 乙酰肼 (240mg, 67%)。

[0513] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-((2-甲基吡啶-3-基)氧基)乙酰肼的合成:将2-((2-甲基吡啶-3-基)氧基)乙酰肼(240mg,1.32mmol)和吡啶-6-甲醛(211.6mg,1.46mmol)在乙醇中溶解,随后在回流下搅拌过夜。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩的残渣通过柱色谱法(硅胶;二氯甲烷/甲醇,10/1)纯化以得到褐色固体形式的化合物304(46mg,11%)

[0514] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.47 (m, 1H), 11.29 (m, 1H), 8.34-8.00 (m, 2H), 7.69 (d, 1H, $J=23.4\text{Hz}$), 7.58 (d, 1H, $J=8.2\text{Hz}$), 7.47-7.32 (m, 2H), 7.29-7.23 (m, 1H), 7.21-7.13 (m, 1H), 6.47 (s, 1H), 5.24-4.73 (m, 2H), 2.43 (s, 3H)。

[0515] 实施例62. 化合物310的合成

[0516] 步骤1. 2-(2-(呋喃-3-基)吡啶-3-基氧基)乙酸甲酯的合成:

[0517] 将2-(呋喃-3-基)吡啶-3-醇(化合物6-10)(100mg,0.62mmol)、溴乙酸甲酯(0.07mL,0.75mmol)和碳酸铯(244mg,0.75mmol)在乙腈4mL中溶解,随后在80℃下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物在减压下过滤,并在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=1:3)纯化,以得到2-(2-(呋喃-3-基)吡啶-3-基氧基)乙酸甲酯(128mg,89%)。

[0518] 步骤2. 2-(2-(呋喃-3-基)吡啶-3-基氧基)乙酰肼的合成:

[0519] 将2-(2-(呋喃-3-基)吡啶-3-基氧基)乙酸甲酯(128mg,0.54mmol)和肼(0.03mL,0.6mmol)在EtOH 2mL中溶解,随后在90℃下搅拌6小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩以得到2-(2-(呋喃-3-基)吡啶-3-基氧基)乙酰肼(108mg,84%)。

[0520] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-3-基)吡啶-3-基氧基)乙酰肼的合成:将2-(2-(呋喃-3-基)吡啶-3-基氧基)乙酰肼(100mg,0.43mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(70mg,0.44mmol)在EtOH 2mL中溶解,随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后,向反应混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=3:7)纯化,以得到化合物310(60mg,39%)。

[0521] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.57 (bs, 1H), 11.30 (bs, 1H), 8.78-8.57 (2s, 1H), 8.30 (s, 0.2H), 8.21 (m, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.72 (s, 0.9H), 7.59-7.40 (m, 5H), 7.26 (m, 1H), 7.16 (m, 1H), 6.47 (m, 1H), 5.36 (s, 1H), 4.87 (s, 1H)。

[0522] 实施例63. 化合物311的合成

[0523] 步骤1. 2-(2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酸甲酯的合成:

[0524] 将2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯酚(化合物7-3)(117mg,0.66mmol)、溴乙酸甲酯(0.07mL,0.79mmol)和碳酸铯(258mg,0.79mmol)在乙腈2mL中溶解,随后在100℃下搅拌2小时。反应完成后,将反应混合物在减压下过滤,并在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=1:3)纯化,以得到2-(2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酸甲酯(141mg,86%)。

[0525] 步骤2. 2-(2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼的合成:

[0526] 将2-(2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酸甲酯(141mg,0.56mmol)和肼(0.03mL,0.6mmol)在EtOH 2mL中溶解,随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩以得到2-(2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯氧基)乙酰肼(127mg,90%)。

[0527] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧

基) 乙酰肼的合成: 将2-(2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯氧基) 乙酰肼(70mg, 0.28mmol) 和1H-吡啶-6-甲醛(45mg, 0.31mmol) 在EtOH 2mL中溶解, 随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法(乙酸乙酯: 己烷=1:1) 纯化, 以得到化合物311(70mg, 67%)。

[0528] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.31 (m, 1H), 11.20 (m, 1H), 8.47-8.04 (2s, 1H), 7.71 (s, 0.5H), 7.58 (m, 1H), 7.58-7.38 (m, 3H), 7.27 (m, 0.5H), 7.17 (m, 1H), 7.06 (m, 2H), 6.45 (m, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.97 (m, 2H), 3.78 (m, 2H), 3.52 (m, 1H), 2.29 (m, 3H), 2.29 (m, 1H), 1.19 (m, 1H)。

[0529] 实施例64. 化合物312的合成

[0530] 将2-(2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯氧基) 乙酰肼(70mg, 0.28mmol) 和1H-吡啶-4-甲醛(45mg, 0.31mmol) 在EtOH 2mL中溶解, 随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法(乙酸乙酯: 己烷=1:1) 纯化, 以得到化合物312(70mg, 67%)。

[0531] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.35 (m, 1H), 11.3 (m, 1H), 8.66-8.23 (2s, 1H), 7.46 (m, 2H), 7.25 (m, 0.5H), 7.16 (m, 5H), 6.77 (m, 0.5H), 4.90 (s, 1H), 4.40 (s, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.77 (m, 2H), 3.54 (m, 1H), 3.34 (m, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.29 (m, 1H), 1.89 (m, 1H)。

[0532] 实施例65. 化合物313的合成

[0533] 步骤1. 2-(2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯氧基) 乙酸甲酯的合成:

[0534] 将2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯酚(化合物6-9)(100mg, 0.57mmol)、溴乙酸甲酯(0.04mL, 0.68mmol) 和碳酸铯(160mg, 0.68mmol) 在乙腈4mL中溶解, 随后在室温下搅拌12小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下过滤。将滤液在减压下浓缩, 并通过柱色谱法(乙酸乙酯: 己烷=1:3) 纯化, 以得到2-(2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯氧基) 乙酸甲酯(146mg, 100%)。

[0535] 步骤2. 2-(2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯氧基) 乙酰肼的合成:

[0536] 将2-(2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯氧基) 乙酸甲酯(146mg, 0.57mmol) 和肼(0.03mL, 0.6mmol) 在EtOH 2mL中溶解, 随后在100℃下搅拌6小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩以得到2-(2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯氧基) 乙酰肼(121mg, 83%)。

[0537] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基) 亚甲基)-2-(2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯氧基) 乙酰肼的合成: 将2-(2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯氧基) 乙酰肼(70mg, 0.28mmol) 和1H-吡啶-6-甲醛(45mg, 0.31mmol) 在EtOH 2mL中溶解, 随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法(乙酸乙酯: 己烷=1:1) 纯化, 以得到化合物313(20mg, 19%)。

[0538] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.41 (m, 2H), 8.45-8.01 (2s, 1H), 8.30 (m, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.46 (m, 4H), 7.10 (m, 4H), 6.44 (m, 1H), 4.70 (s, 1H), 4.25 (s, 1H), 2.30 (m, 3H)。

[0539] 实施例66. 化合物314的合成

[0540] 将2-(2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯氧基) 乙酰肼(70mg, 0.28mmol) 和1H-吡啶-4-甲醛(45mg, 0.31mmol) 在EtOH 2mL中溶解, 随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法(乙酸乙酯: 己烷=1:1) 纯化, 以得到化合物314(28mg, 26%)。

[0541] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.44 (m, 1H), 11.34 (m, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.32 (m, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.47 (m, 3H), 7.27–7.00 (m, 5.5H), 6.57 (s, 0.5H), 4.78 (s, 1H), 4.29 (s, 1H), 2.37 (m, 3H).

[0542] 实施例67. 化合物317的合成

[0543] 步骤1. 2-(2-(呋喃-2-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯的合成: 将2-(呋喃-2-基)-4,6-二甲基苯酚(化合物6-18) (133mg, 0.71mmol)、2-溴乙酸甲酯(0.08mL, 0.85mmol)和碳酸铯(276mg, 0.85mmol)在乙腈1mL中溶解, 随后在100℃下搅拌1小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法(乙酸乙酯: 己烷=1:4)纯化, 以得到2-(2-(呋喃-2-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯(168mg, 100%)。

[0544] 步骤2. 2-(2-(呋喃-2-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼的合成: 将2-(2-(呋喃-2-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酸甲酯(168mg, 0.65mmol)和肼(0.03mL, 0.72mmol)在EtOH 2mL中溶解, 随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩以得到2-(2-(呋喃-2-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼(169mg, 100%)。

[0545] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-2-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼的合成: 将2-(2-(呋喃-2-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼(85mg, 0.33mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(52mg, 0.36mmol)在EtOH 2mL中溶解, 随后在100℃下搅拌24小时。反应完成后, 将所形成的固体过滤, 以得到化合物317(140mg, 31%)。

[0546] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.57 (m, 1H), 11.46 (m, 1H), 8.64–8.24 (2s, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.47 (m, 3H), 7.11 (m, 4.5H), 6.62 (m, 1.5H), 4.80 (s, 1H), 4.30 (s, 1H), 2.32 (m, 6H).

[0547] 实施例68. 化合物318的合成

[0548] 将2-(2-(呋喃-2-基)-4,6-二甲基苯氧基)乙酰肼(85mg, 0.33mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(52mg, 0.36mmol)在EtOH 2mL中溶解, 随后在90℃下搅拌24小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法(乙酸乙酯: 己烷=45:55)纯化, 以得到化合物318(30mg, 23%)。

[0549] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.44 (m, 1H), 11.20 (m, 1H), 8.47–8.02 (2s, 1H), 7.73 (m, 1H), 7.44 (m, 4H), 7.23 (m, 0.5H), 7.14 (m, 1H), 7.02 (m, 1H), 6.60 (m, 1H), 6.43 (m, 1H), 4.72 (s, 1H), 4.44 (s, 1H), 2.32 (m, 6H).

[0550] 实施例69. 化合物319的合成

[0551] 将2-(2-(呋喃-3-基)吡啶-3-基氧基)乙酰肼(70mg, 0.30mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(48mg, 0.33mmol)在EtOH 2mL中溶解, 随后在80℃下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法(乙酸乙酯: 己烷=1:1)纯化。将生成物用四氢呋喃/己烷重结晶, 并过滤以得到化合物319(50mg, 46%)。

[0552] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.62 (m, 1H), 11.39 (m, 1H), 8.74–8.46 (m, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.21 (m, 1H), 7.74 (m, 1H), 7.52 (m, 3H), 7.20 (m, 4H), 7.01 (m, 1H), 5.43 (s, 1H), 4.90 (s, 1H).

[0553] 实施例70. 化合物320的合成

[0554] 将2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼(40mg, 0.15mmol)和1H-吡

噪-4-甲醛 (22mg, 0.15mmol) 在 EtOH 2mL 中溶解, 随后在 90℃ 下搅拌 4 小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩, 并通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷 = 1:1) 纯化, 以得到化合物 320 (17mg, 29%)。

[0555] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.45 (bs, 1H), 11.35 (bs, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.25–8.16 (2s, 1H), 7.45 (m, 2H), 7.25 (m, 3H), 7.17 (m, 1H), 7.11 (m, 1H), 6.96 (m, 1H), 5.49–4.94 (s, 2H), 4.01 (m, 2H), 3.77 (m, 2H), 3.51 (m, 1H), 2.28 (s, 3H), 2.22 (s, 3H)。

[0556] 实施例 71. 化合物 322 的合成

[0557] 步骤 1. 2-(4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯氧基) 乙酸甲酯的合成: 将 4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯酚 (化合物 6-5) (120mg, 0.46mmol)、2-溴乙酸甲酯 (0.05mL, 0.55mmol) 和碳酸铯 (448mg, 1.39mmol) 在乙腈 2mL 中溶解, 随后在 90℃ 下搅拌 3 小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法 (己烷: 乙酸乙酯 = 9:1) 纯化, 以得到 2-(4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯氧基) 乙酸甲酯 (130mg, 79%)。

[0558] 步骤 2. 2-(4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼的合成:

[0559] 将 2-(4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯氧基) 乙酸酯 (125mg, 0.48mmol) 和肼 (0.024mL, 0.48mmol) 在 EtOH 2mL 中溶解, 随后在 90℃ 下搅拌 2 小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下过滤, 并加入乙醚 10mL, 随后搅拌 10 分钟。将所形成的固体过滤以得到 2-(4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼 (102mg, 82%)。

[0560] 步骤 3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基) 亚甲基)-2-(4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼的合成: 将 2-(4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼 (40mg, 0.15mmol) 和 1H-吡啶-6-甲醛 (22mg, 0.15mmol) 在 EtOH 2mL 中溶解, 随后在 90℃ 下搅拌 3 小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩, 并通过柱色谱法 (己烷: 乙酸乙酯 = 1:1) 纯化, 以得到化合物 322 (19mg, 32%)。

[0561] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.41–11.38 (m, 1H), 11.30–11.20 (m, 1H), 8.50–8.04 (2s, 1H), 8.08 (m, 1H), 7.88 (m, 1H), 7.61 (m, 1H), 7.48–7.37 (m, 2H), 7.38 (m, 1H), 7.27 (m, 3H), 6.89 (m, 1H), 6.47 (m, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.34 (s, 1H), 2.07 (m, 6H)。

[0562] 实施例 72. 化合物 323 的合成

[0563] 步骤 1. 2-(2,6-二甲基-4-(四氢呋喃-3-基) 苯氧基) 乙酸甲酯的合成:

[0564] 将 2,6-二甲基-4-(四氢呋喃-3-基) 苯酚 (化合物 7-6) (68mg, 0.35mmol)、2-溴乙酸甲酯 (0.04mL, 0.45mmol) 和碳酸铯 (341mg, 1.05mmol) 在乙腈 2mL 中溶解, 随后在 100℃ 下搅拌 4 小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下过滤。将滤液在减压下浓缩, 并通过柱色谱法 (己烷: 乙酸乙酯 = 9:1) 纯化, 以得到 2-(2,6-二甲基-4-(四氢呋喃-3-基) 苯氧基) 乙酸甲酯 (74mg, 79%)。

[0565] 步骤 2. 2-(2,6-二甲基-4-(四氢呋喃-3-基) 苯氧基) 乙酰肼的合成:

[0566] 将 2-(2,6-二甲基-4-(四氢呋喃-3-基) 苯氧基) 乙酸甲酯 (67mg, 0.25mmol) 和肼 (0.012mL, 0.25mmol) 在 EtOH 2mL 中溶解, 随后在 90℃ 下搅拌 2 小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩, 加入乙醚 10mL, 并搅拌 10 分钟。将所形成的固体过滤以得到 2-(2,6-二甲基-4-(四氢呋喃-3-基) 苯氧基) 乙酰肼 (45mg, 66%)。

[0567] 步骤 3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基) 亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-(四氢呋喃-3-基) 苯

氧基)乙酰肼的合成:将2-(2,6-二甲基-4-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼(30mg, 0.11mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(17mg, 0.11mmol)在EtOH 1mL中溶解,随后在90℃下搅拌3小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=1:1)纯化,以得到化合物323(15mg, 34%)。

[0568] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.42-11.39 (m, 1H), 11.37-11.32 (m, 1H), 8.47-8.03 (s, 1H), 7.57-7.48 (m, 2H), 7.40-7.37 (m, 2H), 6.95 (m, 2H), 6.47 (m, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.31 (s, 1H), 3.96 (m, 3H), 3.75 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.21 (s, 3H)。

[0569] 实施例73. 化合物326的合成

[0570] 步骤1. 2-(2,3-二甲基苯氧基)乙酸甲酯的合成:

[0571] 将2,3-二甲基苯酚(500mg, 4.09mmol)、2-溴乙酸甲酯(0.45mL, 4.90mmol)和碳酸铯(4.0g, 12.3mmol)在乙腈8mL中溶解,随后在100℃下搅拌3小时。反应完成后,将反应混合物在减压下过滤。将滤液在减压下浓缩,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=9:1)纯化,以得到2-(2,3-二甲基苯氧基)乙酸甲酯(628mg, 83%)。

[0572] 步骤2. 2-(2,3-二甲基苯氧基)乙酰肼的合成:

[0573] 将2-(2,3-二甲基苯氧基)乙酸甲酯(600mg, 3.09mmol)和肼(0.15mL, 3.09mmol)在EtOH 8mL中溶解,随后在90℃下搅拌2小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,加入乙醚10mL,并搅拌10分钟。将所形成的固体过滤以得到2-(2,3-二甲基苯氧基)乙酰肼(572mg, 95%)。

[0574] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,3-二甲基苯氧基)乙酰肼的合成:将2-(2,3-二甲基苯氧基)乙酰肼(100mg, 0.55mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(75mg, 0.52mmol)在EtOH 3mL中溶解,随后在90℃下搅拌2小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=1:1)纯化,以得到化合物326(93mg, 56%)。

[0575] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.50-11.44 (m, 1H), 11.37-11.32 (m, 1H), 8.52-8.25 (2s, 1H), 7.50 (m, 2H), 7.23 (m, 2H), 7.06 (m, 2H), 6.81 (m, 1H), 6.75 (m, 1H), 5.18 (s, 1H), 4.65 (s, 1H), 2.23 (s, 3H), 2.21 (s, 3H)。

[0576] 实施例74. 化合物327的合成

[0577] 将2-(2,3-二甲基苯氧基)乙酰肼(100mg, 0.55mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(75mg, 0.52mmol)在EtOH 3mL中溶解,随后在90℃下搅拌2小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=1:1)纯化,以得到化合物327(104mg, 62%)。

[0578] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.41 (bs, 1H), 11.27 (bs, 1H), 8.34-8.07, (2s, 1H), 7.69 (d, $J=22.9\text{Hz}$, 1H), 7.56 (m, 1H), 7.41 (m, 2H), 6.98 (m, 1H), 6.70 (m, 2H), 6.46 (m, 1H), 4.82 (d, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.23 (s, 3H)。

[0579] 实施例75. 化合物329的合成

[0580] 将2-(2-乙基-6-甲基吡啶-3-基氧基)乙酰肼(30mg, 0.14mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(21mg, 0.37mmol)在EtOH 1mL中溶解,随后在90℃下搅拌4小时。反应完成后,将所形成的固体过滤,以得到化合物329(19mg, 40%)。

[0581] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.52 (bs, 1H), 11.37 (bs, 1H), 8.49-8.25 (2s, 1H), 7.48 (m, 2H), 7.17 (m, 3H), 6.98 (m, 2H), 5.23 (s, 1H), 4.70 (s, 1H), 2.78 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 1.18 (m, 3H)。

[0582] 实施例76. 化合物330的合成

[0583] 步骤1. 2-(4-溴-2-氰基苯氧基) 乙酸甲酯的合成:

[0584] 将5-溴-2-羟基苜蓿 (400mg, 2.01mmol)、2-溴乙酸甲酯 (0.2mL, 2.2mmol) 和碳酸铯 (716mg, 2.2mmol) 在乙腈4mL中溶解, 随后在80℃下搅拌2小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下过滤。将滤液在减压下浓缩, 并通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷=1:3) 纯化, 以得到 2-(4-溴-2-氰基苯氧基) 乙酸甲酯 (451mg, 83%)。

[0585] 步骤2. 2-(4-溴-2-氰基苯氧基) 乙酰肼的合成:

[0586] 将2-(4-溴-2-氰基苯氧基) 乙酸甲酯 (451mg, 1.67mmol) 和肼 (0.09mL, 1.84mmol) 在EtOH 2mL中溶解, 随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后, 将所形成的固体过滤以得到 2-(4-溴-2-氰基苯氧基) 乙酰肼 (398mg, 88%)。

[0587] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基) 亚甲基)-2-(4-溴-2-氰基苯氧基) 乙酰肼的合成: 将2-(4-溴-2-氰基苯氧基) 乙酰肼 (100mg, 0.37mmol) 和1H-吡啶-4-甲醛 (53mg, 0.39mmol) 在EtOH 2mL中溶解, 随后在90℃下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷=2:1) 纯化, 以得到化合物330 (21mg, 0.05mmol, 14%)。

[0588] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.6 (bs, 1H), 11.37 (m, 1H), 8.45-8.26 (2s, 1H), 8.03 (m, 1H), 7.78 (m, 1H), 7.47 (m, 2H), 7.16 (m, 3H), 6.98 (m, 1H), 5.47 (s, 1H), 4.93 (s, 1H)。

[0589] 实施例77. 化合物331的合成

[0590] 步骤1. 2-(2-(吡咯烷-1-基) 吡啶-3-基氧基) 乙酸甲酯的合成:

[0591] 将2-(吡咯烷-1-基) 吡啶-3-醇 (化合物7-9) (78mg, 0.41mmol)、溴乙酸甲酯 (0.05mL, 0.49mmol) 和碳酸铯 (159mg, 0.49mmol) 在乙腈2mL中溶解, 随后在80℃下搅拌3小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下过滤。将滤液在减压下浓缩, 并通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷=1:5) 纯化, 以得到2-(2-(吡咯烷-1-基) 吡啶-3-基氧基) 乙酸甲酯 (86mg, 88%)。

[0592] 步骤2. 2-(2-(吡咯烷-1-基) 吡啶-3-基氧基) 乙酰肼的合成:

[0593] 将2-(2-(吡咯烷-1-基) 吡啶-3-基氧基) 乙酸甲酯 (86mg, 0.36mmol) 和肼 (0.02mL, 0.39mmol) 在EtOH 2mL中溶解, 随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩以得到2-(2-(吡咯烷-1-基) 吡啶-3-基氧基) 乙酰肼 (85mg, 99%)。

[0594] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基) 亚甲基)-2-(2-(吡咯烷-1-基) 吡啶-3-基氧基) 乙酰肼的合成: 将2-(2-(吡咯烷-1-基) 吡啶-3-基氧基) 乙酰肼 (85mg, 0.36mmol) 和1H-吡啶-6-甲醛 (57mg, 0.39mmol) 在EtOH 2mL中溶解, 随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后, 将反应混合物用乙酸乙酯萃取, 用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷=1:1) 纯化, 以得到化合物331 (64mg, 48%)。

[0595] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.44 (m, 1H), 11.27 (m, 1H), 8.32-8.07 (2s, 1H), 7.69 (m, 2H), 7.56 (m, 1H), 7.43 (m, 2H), 7.06 (m, 1H), 6.55 (m, 1H), 6.46 (m, 1H), 5.09 (s, 1H), 4.59 (s, 1H), 3.59 (m, 4H), 1.82 (m, 4H)。

[0596] 实施例78. 化合物332的合成

[0597] 步骤1. 2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-2-基) 苯氧基) 乙酸甲酯的合成:

[0598] 将2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-2-基) 苯酚 (化合物7-5) (200mg, 1.04mmol)、2-溴乙

酸甲酯 (0.095mL, 1.14mmol) 和碳酸铯 (327mg, 1.14mmol) 在乙腈 2mL 中溶解, 随后在 100℃ 下搅拌 3 小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下过滤。将滤液在减压下浓缩, 并通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷 = 1:3) 纯化, 以得到 2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-2-基) 苯氧基) 乙酸甲酯 (145mg, 0.73mmol, 30%)。

[0599] 步骤 2. 2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-2-基) 苯氧基) 乙酰肼的合成:

[0600] 将 2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-2-基) 苯氧基) 乙酸甲酯 (80mg, 0.30mmol) 和肼 (0.02mL, 0.33mmol) 在 EtOH 2mL 中溶解, 随后在 100℃ 下搅拌 6 小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩以得到 2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-2-基) 苯氧基) 乙酰肼 (80mg, 100%)。

[0601] 步骤 3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基) 亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-2-基) 苯氧基) 乙酰肼的合成: 将 2-(2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-2-基) 苯氧基) 乙酰肼 (80mg, 0.30mmol) 和 1H-吡啶-6-甲醛 (43mg, 0.32mmol) 在 EtOH 2mL 中溶解, 随后在 100℃ 下搅拌 12 小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷 = 1:1) 纯化, 以得到化合物 332 (60mg, 51%)。

[0602] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.36 (m, 1H), 11.2 (m, 1H), 8.48-8.03 (2s, 1H), 7.70 (s, 0.5H), 7.50 (m, 4H), 7.39 (m, 0.5H), 6.85 (m, 2H), 6.47 (m, 1H), 4.74-4.31 (2s, 1H), 4.31 (m, 1H), 3.38 (m, 2H), 2.22 (m, 6H), 1.58 (m, 2H), 1.45 (m, 2H)。

[0603] 实施例 79. 化合物 333 的合成

[0604] 将 2-(2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼 (30mg, 0.12mmol) 和 1H-吡啶-4-甲醛 (17mg, 0.12mmol) 在 EtOH 2mL 中溶解, 随后在 90℃ 下搅拌 6 小时。反应完成后, 将所形成的固体过滤, 以得到化合物 333 (14mg, 31%)。

[0605] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.48-11.43 (m, 1H), 11.34 (s, 1H), 8.43 (d, J = 10.6Hz, 1H), 8.64-8.27 (2s, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.48 (m, 2H), 7.39 (m, 1H), 7.24 (m, 2H), 7.01 (m, 1H), 6.98 (m, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.23 (s, 1H), 2.27 (s, 3H), 2.24 (s, 3H)。

[0606] 实施例 80. 化合物 336 的合成

[0607] 将 2-(4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯氧基) 乙酰肼 (30mg, 0.11mmol) 和 1H-吡啶-4-甲醛 (17mg, 0.15mmol) 在 EtOH 1mL 中溶解, 随后在 90℃ 下搅拌 10 小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩, 并通过柱色谱法 (己烷: 乙酸乙酯 = 1:1) 纯化, 以得到化合物 336 (18mg, 41%)。

[0608] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.51 (bs, 1H), 11.35 (s, 1H), 8.35-8.27 (2s, 1H), 8.08 (m, 1H), 7.50 (m, 1H), 7.46 (m, 1H), 7.32 (m, 1H), 7.24 (m, 2H), 7.05 (m, 1H), 6.90 (m, 1H), 5.04 (s, 1H), 4.77 (s, 1H), 2.31 (d, J = 16.0Hz, 3H), 2.16 (s, 3H)。

[0609] 实施例 81. 化合物 337 的合成

[0610] 将 2-(2,6-二甲基-4-(四氢呋喃-3-基) 苯氧基) 乙酰肼 (50mg, 0.19mmol) 和 1H-吡啶-4-甲醛 (100mg, 0.55mmol) 在 EtOH 1mL 中溶解, 随后在 90℃ 下搅拌 3 小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法 (己烷: 乙酸乙酯 = 1:1) 纯化, 以得到化合物 337 (31mg, 50%)。

[0611] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.42 (bs, 1H), 11.29 (m, 1H), 8.55-8.16 (2s, 1H), 7.58 (m, 2H), 7.40 (m, 2H), 6.95 (m, 2H), 6.47 (m, 1H), 5.26 (s, 1H), 4.73 (s, 1H), 3.96 (m, 3H), 3.75

(m, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.21 (s, 3H) .

[0612] 实施例82. 化合物343的合成

[0613] 步骤1. 2-(2-(噻吩-3-基)吡啶-3-基氧基)乙酸甲酯的合成: 将2-(噻吩-3-基)吡啶-3-醇(化合物6-12) (50mg, 0.28mmol)、2-溴乙酸甲酯(0.03mL, 0.31mmol)和碳酸铯(101mg, 0.31mmol)在乙腈1mL中溶解, 随后在80℃下搅拌3小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法(乙酸乙酯: 己烷=1:1)纯化, 以得到2-(2-(噻吩-3-基)吡啶-3-基氧基)乙酸甲酯(48mg, 67%)。

[0614] 步骤2. 2-(2-(噻吩-3-基)吡啶-3-基氧基)乙酰肼的合成:

[0615] 将2-(2-(噻吩-3-基)吡啶-3-基氧基)乙酸甲酯(48mg, 0.19mmol)和肼(0.01mL, 0.21mmol)在EtOH 2mL中溶解, 随后在90℃下搅拌12小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩以得到2-(2-(噻吩-3-基)吡啶-3-基氧基)乙酰肼(48mg, 100%)。

[0616] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2-(噻吩-3-基)吡啶-3-基氧基)乙酰肼的合成: 将2-(2-(噻吩-3-基)吡啶-3-基氧基)乙酰肼(48mg, 0.19mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(30mg, 0.21mmol)在EtOH 2mL中溶解, 随后在85℃下搅拌12小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩, 并通过柱色谱法(乙酸乙酯: 己烷=1:1)纯化, 以得到化合物343(31mg, 42%)。

[0617] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.50 (m, 1H), 11.30 (m, 1H), 8.62-8.50 (m, 1H), 8.29-8.21 (m, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.98 (m, 1H), 7.67 (m, 1H), 7.57 (m, 3H), 7.45 (m, 2H), 7.29 (m, 1H), 6.47 (m, 1H), 5.37 (s, 1H), 4.86 (s, 1H) .

[0618] 实施例83. 化合物344的合成

[0619] 步骤1. 2-(2,4-二甲基-6-(噻吩-2-基)苯氧基)乙酸甲酯的合成:

[0620] 将2,4-二甲基-6-(噻吩-2-基)苯酚(化合物6-13) (100mg, 0.49mmol)、2-溴乙酸甲酯(0.05mL, 0.53mmol)和碳酸铯(190mg, 0.53mmol)在乙腈1mL中溶解, 随后在100℃下搅拌1小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下过滤。将滤液在减压下浓缩, 并通过柱色谱法(乙酸乙酯: 己烷=1:4)纯化, 以得到2-(2,4-二甲基-6-(噻吩-2-基)苯氧基)乙酸甲酯(141mg, 100%)。

[0621] 步骤2. 2-(2,4-二甲基-6-(噻吩-2-基)苯氧基)乙酰肼的合成:

[0622] 将2-(2,4-二甲基-6-(噻吩-2-基)苯氧基)乙酸甲酯(141mg, 0.51mmol)和肼(0.03mL, 0.56mmol)在EtOH 2mL中溶解, 随后在85℃下搅拌12小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩以得到2-(2,4-二甲基-6-(噻吩-2-基)苯氧基)乙酰肼(128mg, 91%)。

[0623] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(噻吩-2-基)苯氧基)乙酰肼的合成: 将2-(2,4-二甲基-6-(噻吩-2-基)苯氧基)乙酰肼(70mg, 0.25mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(40mg, 0.26mmol)在EtOH 2mL中溶解, 随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩, 并通过柱色谱法(乙酸乙酯: 己烷=1:1)纯化, 以得到化合物344(31mg, 31%)。

[0624] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.42 (bs, 0.5H), 11.35 (m, 1.5H), 8.68 (s, 1H), 8.15 (s, 0.5H), 7.61-7.59 (m, 2H), 7.35-7.05 (m, 7H), 6.49 (m, 0.5H), 4.72 (s, 1H), 4.25 (s, 1H), 2.28 (m, 6H) .

[0625] 实施例84. 化合物345的合成

[0626] 将2-(2,4-二甲基-6-(噻吩-2-基)苯氧基)乙酰肼(70mg,0.25mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(40mg,0.26mmol)在EtOH 2mL中溶解,随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,并通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=1:1)纯化,以得到化合物345(20mg,20%)。

[0627] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.35 (m, 1H), 11.20 (m, 1H), 8.49–7.97 (2s, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.61–7.34 (m, 6.5H), 7.16–7.09 (m, 1H), 7.02 (m, 1H), 6.44 (m, 1H), 4.65–4.20 (2s, 1H), 2.19 (m, 6H)。

[0628] 实施例85. 化合物346的合成

[0629] 步骤1. 2-(2-(呋喃-2-基)-4-甲氧基苯氧基)乙酸甲酯的合成:

[0630] 将2-(呋喃-2-基)-4-甲氧基苯酚(化合物6-14)(205mg,1.09mmol)、2-溴乙酸甲酯(0.1mL,1.08mmol)和碳酸铯(1.05g,3.24mmol)在乙腈4mL中溶解,随后在90℃下搅拌9小时。反应完成后,将反应混合物在减压下过滤。将滤液在减压下浓缩,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=9:1)纯化,以得到2-(2-(呋喃-2-基)-4-甲氧基苯氧基)乙酸甲酯(194mg,68%)。

[0631] 步骤2. 2-(2-(呋喃-2-基)-4-甲氧基苯氧基)乙酰肼的合成:

[0632] 将2-(2-(呋喃-2-基)-4-甲氧基苯氧基)乙酸甲酯(189mg,0.72mmol)和肼(0.035mL,0.72mmol)在EtOH 2mL中溶解,随后在90℃下搅拌3小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,加入乙醚10mL,并搅拌10分钟。将所形成的固体过滤以得到2-(2-(呋喃-2-基)-4-甲氧基苯氧基)乙酰肼(146mg,80%)。

[0633] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2-(呋喃-2-基)-4-甲氧基苯氧基)乙酰肼的合成:将2-(2-(呋喃-2-基)-4-甲氧基苯氧基)乙酰肼(50mg,0.19mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(28mg,0.19mmol)在EtOH 1mL中溶解,随后在90℃下搅拌4小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=1:1)纯化,以得到化合物346(21mg,28%)。

[0634] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.57–11.54 (m, 1H), 11.34–11.28 (m, 1H), 8.27–7.75 (2s, 1H), 7.74 (m, 1H), 7.30 (m, 3H), 7.17 (m, 5H), 6.98 (m, 1H), 6.61 (m, 1H), 5.26 (s, 1H), 4.73 (s, 1H), 3.76 (s, 3H)。

[0635] 实施例86. 化合物347的合成

[0636] 将2-(2-(呋喃-2-基)-4-甲氧基苯氧基)乙酰肼(50mg,0.19mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(28mg,0.19mmol)在EtOH 1mL中溶解,随后在90℃下搅拌4小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=1:1)纯化,以得到化合物347(39mg,53%)。

[0637] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.50–11.47 (m, 1H), 11.32–11.28 (m, 1H), 8.30–8.09 (2s, 1H), 7.75 (m, 2H), 7.65 (m, 1H), 7.31 (m, 4H), 7.06 (m, 1H), 6.87 (m, 1H), 6.60 (s, 1H), 6.46 (s, 1H), 5.20 (s, 1H), 4.70 (s, 1H), 3.76 (s, 3H)。

[0638] 实施例87. 化合物356的合成

[0639] 步骤1. 2-(3-(呋喃-2-基)苯氧基)乙酸甲酯的合成:

[0640] 将3-(呋喃-2-基)苯酚(化合物6-15)(183mg,1.14mmol)、2-溴乙酸甲酯(0.11mL,1.14mmol)和碳酸铯(556mg,1.71mmol)在乙腈2mL中溶解,随后在90℃下搅拌4小时。反应完

成后,将反应混合物在减压下过滤。将滤液在减压下浓缩,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=9:1)纯化,以得到2-(3-(呋喃-2-基)苯氧基)乙酸甲酯(228mg,86%)。

[0641] 步骤2. 2-(3-(呋喃-2-基)苯氧基)乙酰肼的合成:

[0642] 将2-(3-(呋喃-2-基)苯氧基)乙酸甲酯(220mg,0.95mmol)和肼(0.05mL,0.95mmol)在EtOH 2mL中溶解,随后在90℃下搅拌2小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,加入乙醚10mL,并搅拌10分钟。将所形成的固体过滤以得到2-(3-(呋喃-2-基)苯氧基)乙酰肼(185mg,84%)。

[0643] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(3-(呋喃-2-基)苯氧基)乙酰肼的合成:将2-(3-(呋喃-2-基)苯氧基)乙酰肼(50mg,0.21mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(32mg,0.21mmol)在EtOH 1mL中溶解,随后在90℃下搅拌17小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=1:1)纯化,以得到化合物356(47mg,61%)。

[0644] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.54-11.49 (m, 1H), 11.41-11.38 (m, 1H), 8.58-8.27 (2s, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.49 (m, 2H), 7.46 (m, 3H), 7.30 (m, 3H), 7.23 (m, 1H), 6.98 (m, 1H), 6.94 (m, 1H), 6.57 (m, 1H), 5.26 (s, 1H), 4.74 (s, 1H)。

[0645] 实施例88. 化合物358的合成

[0646] 步骤1. 2-(3-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酸甲酯的合成:

[0647] 将3-(吡啶-3-基)苯酚(化合物6-16)(379mg,2.22mmol)、2-溴乙酸甲酯(0.2mL,2.22mmol)和碳酸铯(1086mg,3.33mmol)在乙腈5mL中溶解,随后在100℃下搅拌4小时。反应完成后,将反应混合物在减压下过滤。将滤液在减压下浓缩,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=7:3)纯化,以得到2-(3-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酸甲酯(420mg,78%)。

[0648] 步骤2. 2-(3-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼的合成:

[0649] 将2-(3-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酸甲酯(410mg,1.69mmol)和肼(0.08mL,1.69mmol)在EtOH 4mL中溶解,随后在90℃下搅拌2小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,加入乙醚10mL,并搅拌10分钟。将所形成的固体过滤以得到2-(3-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼(365mg,89%)。

[0650] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(3-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼的合成:将2-(3-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼(50mg,0.20mmol)和1H-吡啶-4-甲醛(30mg,0.20mmol)在EtOH 1mL中溶解,随后在90℃下搅拌17小时。反应完成后,将所形成的固体过滤,以得到化合物358(39mg,53%)。

[0651] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.53 (bs, 1H), 11.39-11.34 (m, 1H), 8.90 (m, 1H), 8.58 (m, 1H), 8.57-8.26 (2s, 1H), 8.05 (m, 1H), 7.39 (m, 6H), 7.13 (m, 3H), 6.99 (m, 1H), 5.32 (s, 1H), 4.80 (s, 1H)。

[0652] 实施例89. 化合物359的合成

[0653] 将2-(3-(吡啶-3-基)苯氧基)乙酰肼(50mg,0.21mmol)和1H-吡啶-6-甲醛(32mg,0.21mmol)在EtOH 1mL中溶解,随后在90℃下搅拌17小时。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=1:1)纯化,以得到化合物359(28mg,38%)。

[0654] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.45-11.42 (m, 1H), 11.33-11.28 (m, 1H), 8.91 (m, 1H), 8.88 (m, 1H), 8.56-8.23 (s, 1H), 8.09 (m, 1H), 7.66 (m, 1H), 7.56 (m, 1H), 7.39 (m, 6H), 7.05 (m, 1H), 6.46 (m, 1H), 5.26 (s, 1H), 4.76 (s, 1H)。

[0655] 实施例90. 化合物378的合成

[0656] 步骤1. 2-(4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酸甲酯的合成:

[0657] 将4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯酚(化合物7-4)(368mg, 1.87mmol)和溴乙酸甲酯(0.21mL, 2.25mmol)在乙腈中溶解。向其中加入碳酸铯(915mg, 2.81mmol), 随后在室温下搅拌1天。反应完成后, 向反应混合物中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将残渣通过柱色谱法(硅胶; 己烷/乙酸乙酯, 9/1)纯化, 以得到2-(4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酸甲酯(415mg, 83%)。

[0658] 步骤2. 2-(4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼的合成:

[0659] 将2-(4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酸甲酯(415mg, 1.55mmol)和肼一水合物(91.0μL, 3.93mmol)在乙醇中溶解, 随后在回流下搅拌1天。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩。将浓缩的残渣通过柱色谱法(硅胶; 二氯甲烷/甲醇, 9/1)纯化, 以得到无色油形式的2-(4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼(316mg, 76%)。

[0660] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼的合成: 将2-(4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼(230mg, 0.86mmol)和吡啶-6-甲醛(137mg, 0.94mmol)在乙醇中溶解, 随后在回流下搅拌过夜。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩, 并通过柱色谱法(硅胶; 乙酸乙酯: 己烷, 3/7)纯化, 以得到化合物378(145mg, 45%)。

[0661] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.48-11.44 (m, 1H), 11.35-11.23 (m, 1H), 8.48, 8.05 (2s, 1H), 7.72 (s, 0.5H), 7.59-7.27 (m, 3.5H), 6.96-6.88 (m, 2H), 6.47-6.43 (m, 1H), 4.77 (s, 1H), 4.34 (s, 3H), 4.02-3.92 (m, 2H), 3.77-3.73 (m, 2H), 3.53-3.43 (m, 2H), 2.26-2.20 (m, 7H), 1.89-2.20 (m, 1H)。

[0662] 实施例91. 化合物379的合成

[0663] 将2-(4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯氧基)乙酰肼(80.5mg, 0.30mmol)和吡啶-4-甲醛(52.3mg, 0.36mmol)在乙醇中溶解, 随后在回流下搅拌1天。反应完成后, 将反应混合物在减压下浓缩, 并通过柱色谱法(硅胶; 乙酸乙酯: 己烷, 3/7)纯化, 以得到化合物379(42mg, 36%)。

[0664] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.48-11.44 (m, 1H), 11.35-11.23 (m, 1H), 8.48, 8.05 (2s, 1H), 7.72 (s, 0.5H), 7.59-7.27 (m, 3.5H), 6.96-6.88 (m, 2H), 6.47-6.41 (m, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.31 (s, 3H), 4.02-3.92 (m, 2H), 3.75-3.71 (m, 2H), 3.53-3.43 (m, 2H), 2.26-2.21 (m, 7H), 1.88-2.22 (m, 1H)。

[0665] 实施例92. 化合物457的合成

[0666] 步骤1. 2-(2,4-二甲基-6-(四氢-2H-吡喃-4-基)苯氧基)乙酸甲酯的合成:

[0667] 将2,4-二甲基-6-(四氢-2H-吡喃-4-基)苯酚(化合物7-7)(156mg, 0.76mmol)和溴乙酸甲酯(0.089mL, 0.91mmol)在乙腈中溶解。向其中加入碳酸铯(370mg, 1.14mmol), 随后在室温下搅拌1天。反应完成后, 向反应混合物中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将残渣通过柱色谱法(硅胶; 己烷/乙酸乙酯, 9/1)纯化, 以得到2-(2,4-二甲基-6-(四氢-2H-吡喃-4-基)苯氧基)乙酸甲酯(168mg, 80%)。

[0668] 步骤2. 2-(2,4-二甲基-6-(四氢-2H-吡喃-4-基)苯氧基)乙酰肼的合成:

[0669] 将2-(2,4-二甲基-6-(四氢-2H-吡喃-4-基)苯氧基)乙酸甲酯(168mg, 0.60mmol)和肼一水合物(36.0μL, 0.72mmol)在甲醇中溶解,随后在回流下搅拌1天。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。向浓缩物中加入己烷。将所得的白色沉淀过滤,并干燥以得到白色固体形式的2-(2,4-二甲基-6-(四氢-2H-吡喃-4-基)苯氧基)乙酰肼(114mg, 68%)。

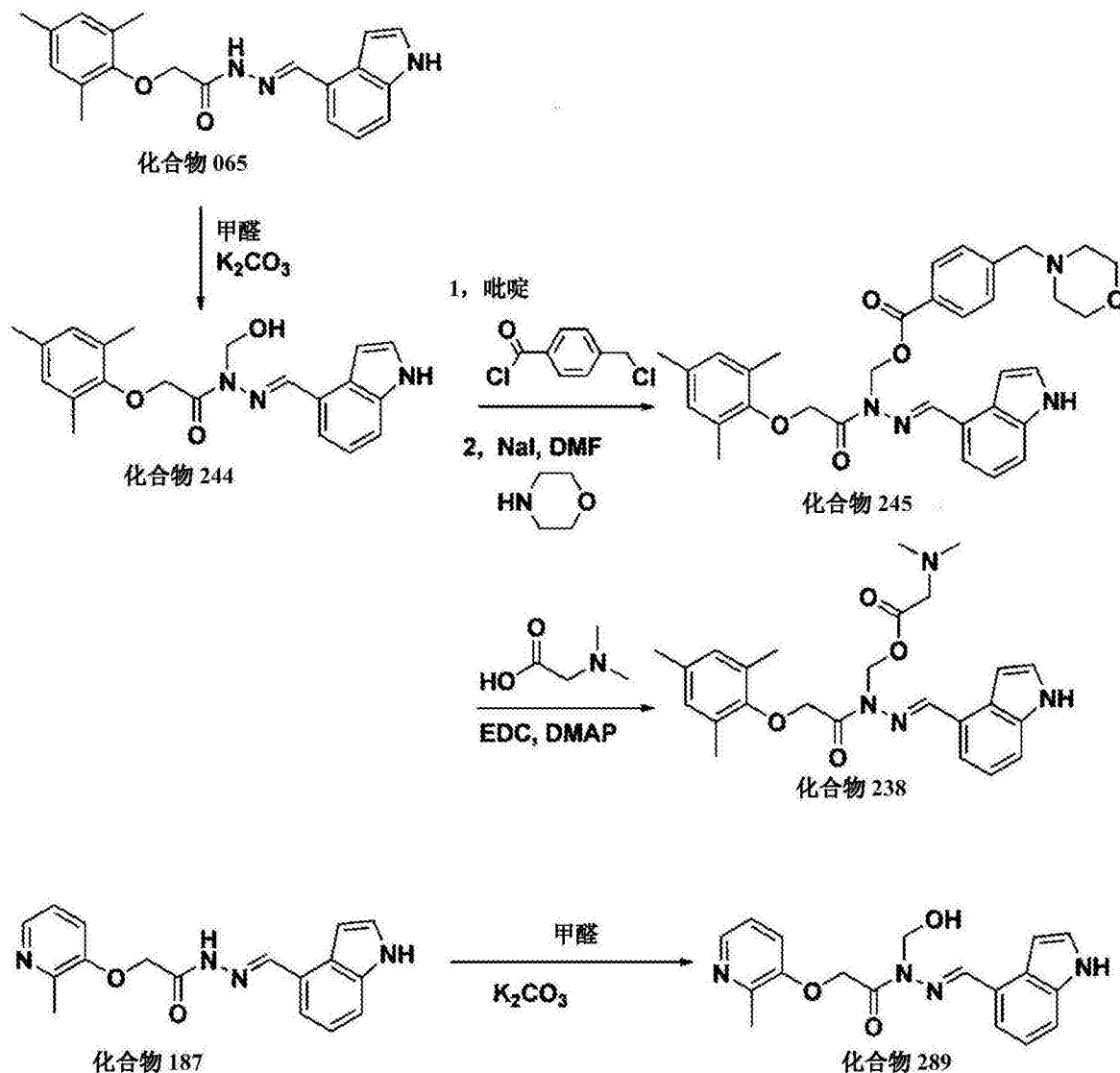
[0670] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-6-基)亚甲基)-2-(2,4-二甲基-6-(四氢-2H-吡喃-4-基)苯氧基)乙酰肼的合成:将2-(2,4-二甲基-6-(四氢-2H-吡喃-4-基)苯氧基)乙酰肼(114mg, 0.41mmol)和吡啶-6-甲醛(65.3mg, 0.45mmol)在乙醇中溶解,随后在回流下搅拌过夜。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩,并通过柱色谱法(硅胶;乙酸乙酯:己烷=7:3)纯化,以得到褐色固体形式的化合物457(78mg, 47%)。

[0671] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.44-11.40 (m, 1H), 11.32-11.23 (m, 1H), 8.49 (s, 0.5H), 8.04 (2s, 0.45H), 7.72 (s, 0.53H), 7.60-7.26 (m, 3.5H), 6.93-6.88 (m, 2H), 6.48-6.43 (m, 1H), 4.77 (s, 0.9H), 4.33 (s, 1.1H), 3.91 (bs, 2H), 3.22-3.18 (m, 2H), 2.25-2.23 (m, 6H), 1.67-1.61 (m, 4H)。

[0672] 以下路线2示出使用根据路线1合成的化合物108、065和187制备化合物233、272、236、252、244、245、238和289的方法。

[0673] [路线2]

[0675]



[0676] 实施例93. 化合物233的合成

[0677] 将化合物108 (510mg, 1.52mmol)、甲醛35% (0.6mL, 15.2mmol)、碳酸钾 (210mg, 1.52mmol) 在二甲基甲酰胺1mL中溶解, 随后在40℃下搅拌48小时。反应完成后, 向其中加入水, 然后将所形成的白色固体滤出。将滤液在减压下浓缩, 并通过柱色谱法纯化, 以得到化合物233 (110mg, 20%)。

[0678] 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.43-11.40 (m, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.07-7.37 (m, 5H), 6.83 (d, $J=4.44$ Hz, 2H), 6.45 (m, 1H), 6.45 (m, 2H), 5.52 (d, $J=15.5$ Hz, 2H), 4.89 (s, 1H), 4.03 (s, 1H), 2.22 (m, 9H)。

[0679] 实施例94. 化合物244的合成

[0680] 将化合物065 (510mg, 1.52mmol)、甲醛35% (0.6mL, 15.2mmol) 和碳酸钾 (210mg, 1.52mmol) 在二甲基甲酰胺1mL中溶解, 随后升高温度至40℃, 并搅拌2天。反应完成后, 向其中加入水, 然后将所形成的白色固体滤出。将滤液在减压下浓缩, 并通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷=1:1) 纯化, 以得到化合物244 (110mg, 20%)。

[0681] 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.4 (m, 1H), 8.69-8.24 (2s, 1H), 7.67 (m, 1H), 7.50 (m,

1H), 7.22 (m, 3H), 6.83 (m, 2H), 6.45 (m, 1H), 5.54 (m, 2H), 4.83 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 2.31 (m, 9H)。

[0682] 实施例95. 化合物289的合成

[0683] 将化合物187 (110mg, 0.36mmol) 在二甲基甲酰胺1.5mL中溶解。向其中加入甲醛 (0.09mL, 1.08mmol) 和碳酸钾 (41mg, 0.36mmol), 随后在45℃下搅拌16小时。反应完成后, 将所形成的固体过滤, 以得到化合物289 (50mg, 41%)。

[0684] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 11.56 (m, 1H), 8.51–8.27 (m, 1H), 8.02 (m, 1H), 7.66 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.51 (m, 1H), 7.31–6.97 (m, 4H), 5.75 (m, 2H), 5.42–4.76 (m, 2H), 2.43 (m, 3H)。

[0685] 实施例96. 化合物272的合成

[0686] 将化合物233 (200mg, 0.55mmol) 和3-(氯甲基) 苄基氯化物 (113mg, 0.60mmol) 在吡啶2mL中溶解, 随后在室温下搅拌3小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并在减压下浓缩。将浓缩物在二甲基甲酰胺中溶解, 然后向其中加入吗啉 (0.04mL, 0.44mmol) 和碘化钠 (催化), 随后在室温下搅拌4小时。反应完成后, 向其中加入水, 由此形成白色固体, 将其过滤以得到化合物272 (20mg, 0.03mmol, 32%)。

[0687] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 11.49 (m, 1H), 8.55 (s, 0.5H), 7.88 (s, 0.5H), 7.81 (m, 3H), 7.69–7.63 (m, 1.5H), 7.57–7.51 (m, 1.5H), 7.41 (m, 3H), 6.83 (d, J=12.0Hz, 2H), 6.59 (m, 1H), 6.50 (d, J=1.80Hz, 2H), 4.77 (s, 1H), 4.34 (s, 1H), 3.52 (m, 6H), 2.30 (m, 4H), 2.20 (m, 9H)。

[0688] 实施例97. 化合物245的合成

[0689] 将化合物244 (33mg, 0.09mmol) 和3-(氯甲基) 苄基氯化物 (17mg, 0.12mmol) 在吡啶0.2mL中溶解, 随后在室温下搅拌3小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并在减压下浓缩。将浓缩物在二甲基甲酰胺中溶解, 然后向其中加入吗啉 (0.02mL, 0.24mmol) 和碘化钠 (催化), 随后在室温下搅拌4小时。向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷=1:1~2:1) 纯化, 以得到化合物245 (18mg, 58%)。

[0690] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 11.52–46 (m, 1H), 8.71–8.24 (2s, 1H), 7.89–7.76 (m, 3H), 7.70–7.65 (m, 1H), 7.44–7.23 (m, 5H), 6.84 (m, 2H), 6.50 (d, J=14.7Hz, 2H), 4.83 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 3.53–3.49 (m, 6H), 2.31 (m, 4H), 2.22 (m, 9H)。

[0691] 实施例98. 化合物238的合成

[0692] 将化合物244 (20mg, 0.05mmol)、N,N-二甲基甘氨酸 (6mg, 0.05mmol)、EDC (24mg, 0.13mmol) 和4-二甲基氨基吡啶 (3mg, 0.03mmol) 在二氯甲烷: 二甲基甲酰胺=1mL: 1mL中溶解, 随后在室温下搅拌2小时。向反应混合物中加入水, 并用二氯甲烷萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并用己烷重结晶, 以得到化合物238 (10mg, 44%)。

[0693] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 11.4 (m, 1H), 8.70 (s, 0.5H), 8.23 (s, 0.5H), 7.74–7.56 (m, 2H), 7.34–7.21 (m, 3H), 6.84 (d, J=5.92Hz, 2H), 6.27 (d, J=15.2Hz, 2H), 4.83 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 2.19 (m, 15H)。

[0694] 实施例99. 化合物236的合成

[0695] 将化合物233 (20mg, 0.06mmol)、N,N-二甲基甘氨酸 (16mg, 0.15mmol)、EDC (28mg, 0.15mmol) 和4-二甲基氨基吡啶 (4mg, 0.03mmol) 在二甲基乙酰胺1mL中溶解, 随后在40℃下搅拌1.5小时。将反应混合物冷却至0℃, 然后在缓慢加入1.5mL水下搅拌30分钟。搅拌另外1小时, 然后向反应混合物中加入水, 并用二氯甲烷萃取。将所得的有机层在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法(乙酸乙酯:二氯甲烷=1:4)纯化, 以得到化合物236 (10mg, 37%)。

[0696] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.52 (m, 1H), 8.54, 8.06 (s, 1H), 7.89 (s, 0.5H), 7.59–7.56 (m, 3H), 6.85 (d, $J=7.48\text{Hz}$, 2H), 6.5 (m, 1H), 6.45 (d, $J=18.0\text{Hz}$, 1H), 4.76 (s, 1H), 4.34 (s, 1H), 3.15 (d, $J=18.9\text{Hz}$, 2H), 2.19 (m, 15H)。

[0697] 实施例100. 化合物252的合成

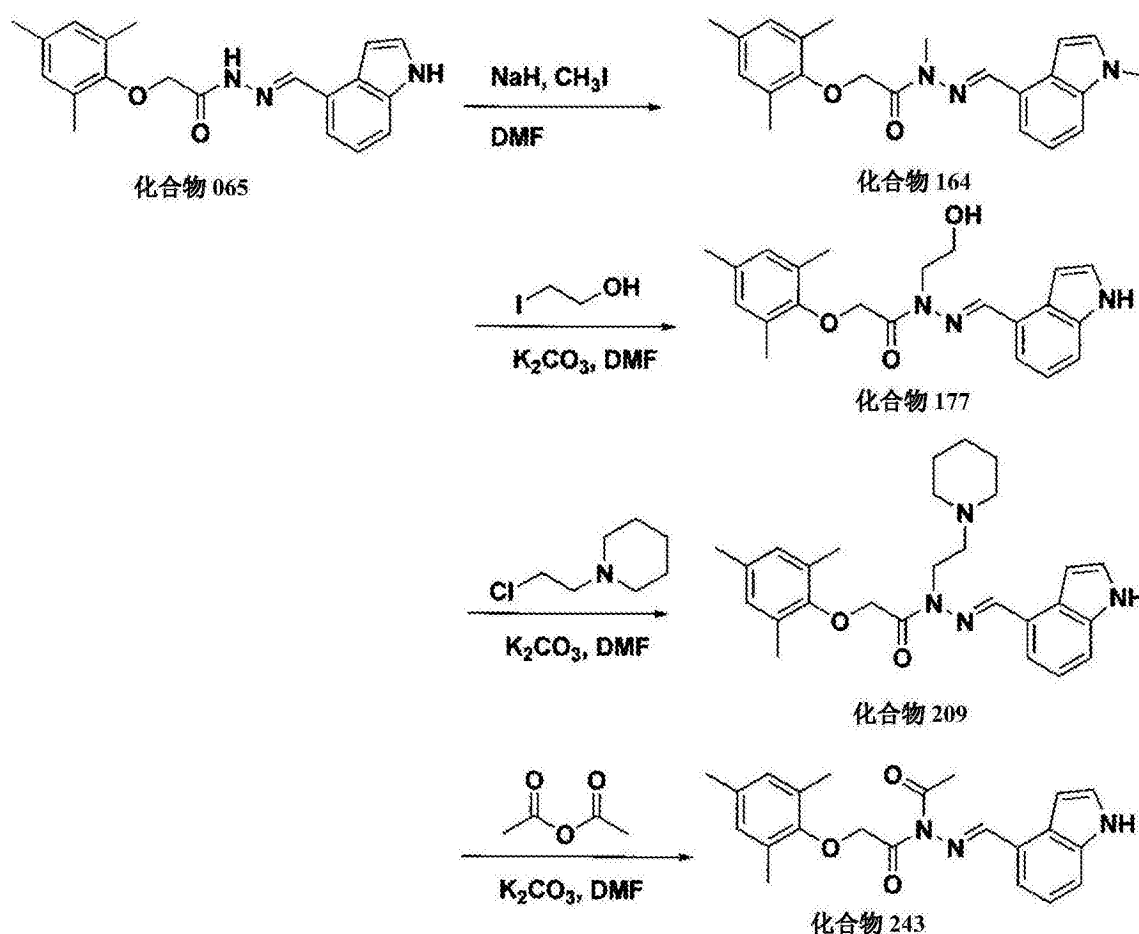
[0698] 将化合物233 (30mg, 0.08mmol)、乙酸酐 (8mg, 0.08mmol) 和三乙胺 (8mg, 0.08mmol) 在二甲基甲酰胺1mL中溶解, 随后在室温下搅拌12小时。向反应混合物中加入水, 由此形成白色固体, 将其过滤, 然后用己烷重结晶以得到化合物252 (20mg, 0.04mmol, 60%)。

[0699] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.47 (m, 1H), 8.69–8.24 (2s, 1H), 7.67–7.62 (m, 1H), 7.50 (m, 1H), 7.31–7.09 (m, 2.5H), 6.84 (d, $J=7.4\text{Hz}$, 2H), 6.77 (d, $J=3.2\text{Hz}$, 0.5H), 6.45 (m, 1H), 5.54 (m, 2H), 4.84 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 2.24 (m, 9H)。

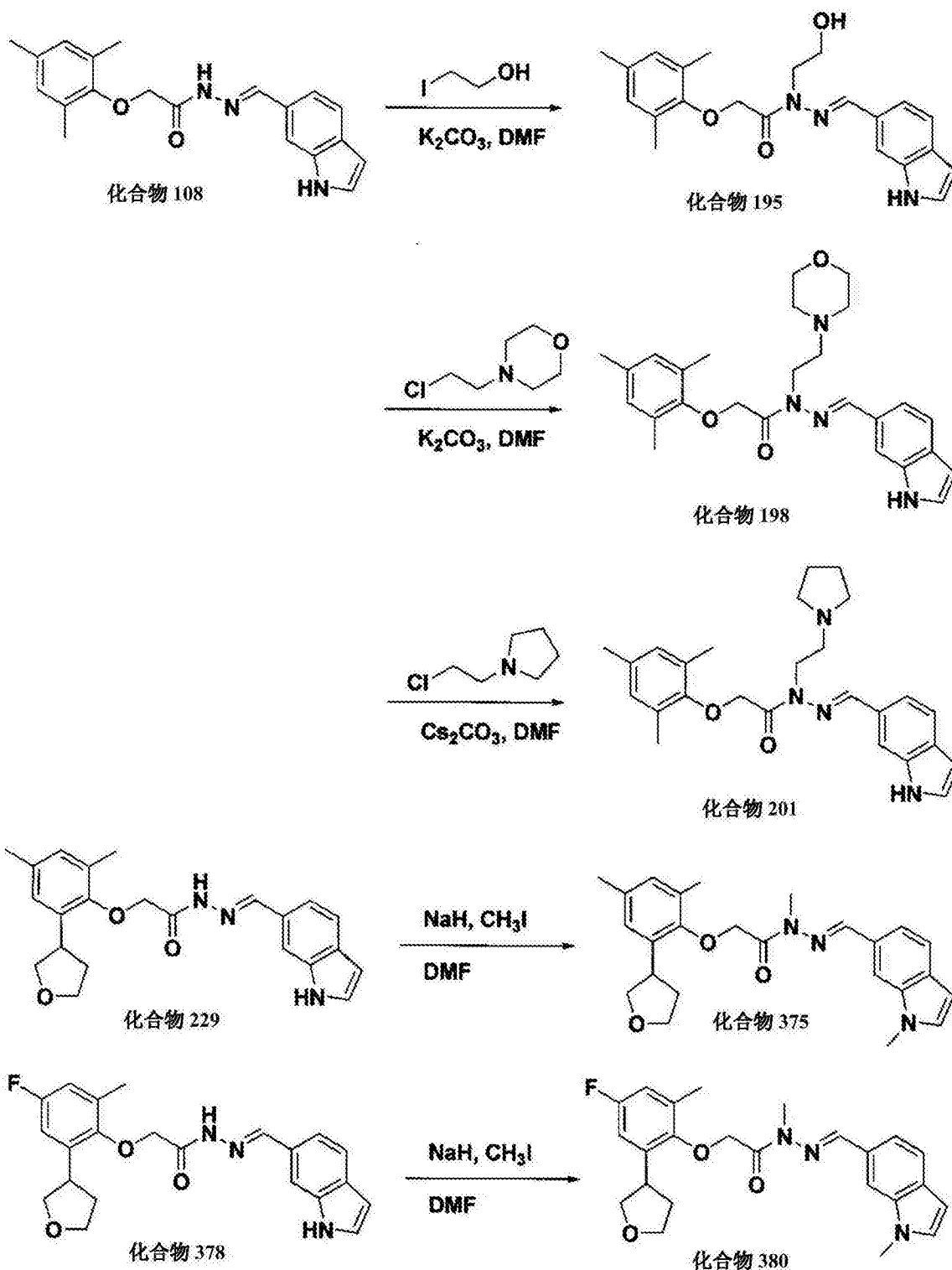
[0700] 以下路线3示出使用根据路线1合成的化合物065、108、229和378制备化合物164、177、243、195、198、201、375和380的方法。

[0701] [路线3]

[0702]



[0703]



[0704] 实施例101. 化合物164的合成

[0705] 将化合物065 (265mg, 0.79mmol)、2-碘甲烷 (336mg, 2.37mmol)、氢化钠 (38mg, 1.58mmol) 在二甲基甲酰胺 (2mL) 中溶解, 随后在90℃下搅拌12小时。向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化, 以得到化合物164 (152mg, 0.42mmol, 53%)。

[0706] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 8.18 (s, 0.5H), 7.48 (s, 0.5H), 7.36 (d, J = 3.0Hz, 1H),

7.32 (m, 1H), 7.18 (m, 0.5H), 6.81 (s, 2H), 6.77 (d, J=3.0Hz, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.38 (s, 3H), 2.18 (s, 9H).

[0707] 实施例102. 化合物375的合成

[0708] 将化合物229 (50mg, 0.13mmol) 在二甲基甲酰胺中溶解。向其中加入氢化钠 (16.7mg, 0.38mmol) 和碘甲烷 (54.5mg, 0.38mmol)。在室温下反应2小时, 然后将反应混合物在减压下浓缩。将残渣通过柱色谱法 (硅胶; 二氯甲烷/甲醇, 10/1) 纯化以得到褐色固体形式的化合物375 (8.5mg, 16%)。

[0709] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.48-11.44 (m, 1H), 11.35-11.23 (m, 1H), 8.48, 8.05 (2s, 1H), 7.72 (s, 0.5H), 7.59-7.27 (m, 3.5H), 6.96-6.88 (m, 2H), 6.47-6.43 (m, 1H), 4.77 (s, 1H), 4.34 (s, 3H), 4.02-3.92 (m, 2H), 3.77-3.73 (m, 2H), 3.56 (s, 3H), 3.53-3.43 (m, 2H), 2.26-2.20 (m, 7H), 1.89-2.20 (m, 1H)。

[0710] 实施例103. 化合物380的合成

[0711] 将化合物378 (115mg, 0.28mmol) 在二甲基甲酰胺中溶解。向其中加入氢化钠 (36.9mg, 0.85mmol) 和碘甲烷 (0.53mL, 0.85mmol)。在室温下反应1天, 然后向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法 (硅胶; 己烷/乙酸乙酯, 3/7) 纯化以得到白色固体形式的化合物380 (26mg, 22%)。

[0712] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 7.88 (s, 1H), 7.59 (d, 1H, J=8.3Hz), 7.47 (s, 1H), 7.43 (dd, 1H, J=8.3, 1.3Hz), 7.13 (d, 1H, J=3.0Hz), 6.88 (dd, 1H, J=9.5, 3.1Hz), 6.79 (dd, 1H, J=8.7, 3.0Hz), 6.49 (d, 1H, J=3.0Hz), 5.03, 5.01 (ABq, 2H, J=10.3, 15.8Hz), 4.14-4.04 (m, 2H), 3.94-3.84 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.74-3.71 (m, 1H), 3.49 (s, 3H), 2.44-2.38 (m, 1H), 2.36 (s, 3H), 1.98-1.89 (m, 1H)。

[0713] 实施例104. 化合物177的合成

[0714] 将化合物065 (265mg, 0.79mmol)、2-碘乙醇 (0.12mL, 1.58mmol) 和碳酸钾 (436mg, 3.16mmol) 在二甲基甲酰胺 (2mL) 中溶解, 随后在50℃下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用盐水洗涤, 用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法纯化, 以得到化合物177 (121mg, 0.32mmol, 41%)。

[0715] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.33 (bs, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.44 (d, J=7.92Hz, 1H), 7.39 (t, J=2.88Hz, 1H), 7.26 (d, J=7.08Hz, 1H), 7.12 (t, J=7.8Hz, 1H), 6.82 (s, 2H), 6.79 (m, 1H), 4.99 (m, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.14 (t, J=5.76Hz, 2H), 3.3 (m, 2H), 2.20 (s, 6H), 2.16 (s, 3H)。

[0716] 实施例105. 化合物195的合成

[0717] 将化合物108 (265mg, 0.79mmol)、2-碘乙醇 (0.12mL, 1.58mmol) 和碳酸钾 (436mg, 3.16mmol) 在二甲基甲酰胺 (2mL) 中溶解, 随后在50℃下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用盐水洗涤, 用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法纯化, 以得到化合物195 (50mg, 17%)。

[0718] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.27 (bs, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.50 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.39 (t, J=2.96Hz, 1H), 7.30 (m, 1H), 6.83 (s, 2H), 6.41 (m, 1H), 4.9 (m, 1H), 4.88 (s, 2H), 4.08 (t, J=6.28Hz, 2H), 3.58 (m, 2H), 2.18 (d, J=4.28Hz, 9H)。

[0719] 实施例106. 化合物198的合成

[0720] 将化合物108 (100mg, 0.29mmol)、4-(2-氯乙基)吗啉 (0.11g, 0.58mmol) 和碳酸钾 (164mg, 1.2mmol) 在二甲基甲酰胺 (2mL) 中溶解, 随后在90℃下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法纯化, 以得到化合物198。

[0721] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.26 (bs, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.52 (d, $J=8.2\text{Hz}$, 1H), 7.39 (t, $J=2.96\text{Hz}$, 1H), 7.30 (m, 1H), 6.82 (s, 2H), 6.41 (m, 1H), 4.87 (s, 2H), 4.16 (m, 2H), 3.46 (m, 4H), 2.22 (d, $J=4.28\text{Hz}$, 9H)。

[0722] 实施例107. 化合物201的合成

[0723] 将化合物108 (40mg, 0.12mmol)、1-(2-氯乙基)吡咯烷 (40mg, 0.24mmol) 和碳酸铯 (116mg, 0.36mmol) 在二甲基甲酰胺中溶解, 随后在100℃下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用二氯甲烷萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法纯化, 以得到化合物201 (17mg, 33%)。

[0724] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.26 (bs, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.52 (d, $J=8.2\text{Hz}$, 1H), 7.39 (t, $J=2.96\text{Hz}$, 1H), 7.31 (m, 1H), 6.82 (s, 2H), 6.4 (m, 1H), 4.87 (s, 2H), 4.15 (s, 2H), 2.53 (m, 6H), 2.18 (d, $J=3.2\text{Hz}$, 9H), 1.68 (m, 4H)。

[0725] 实施例108. 化合物243的合成

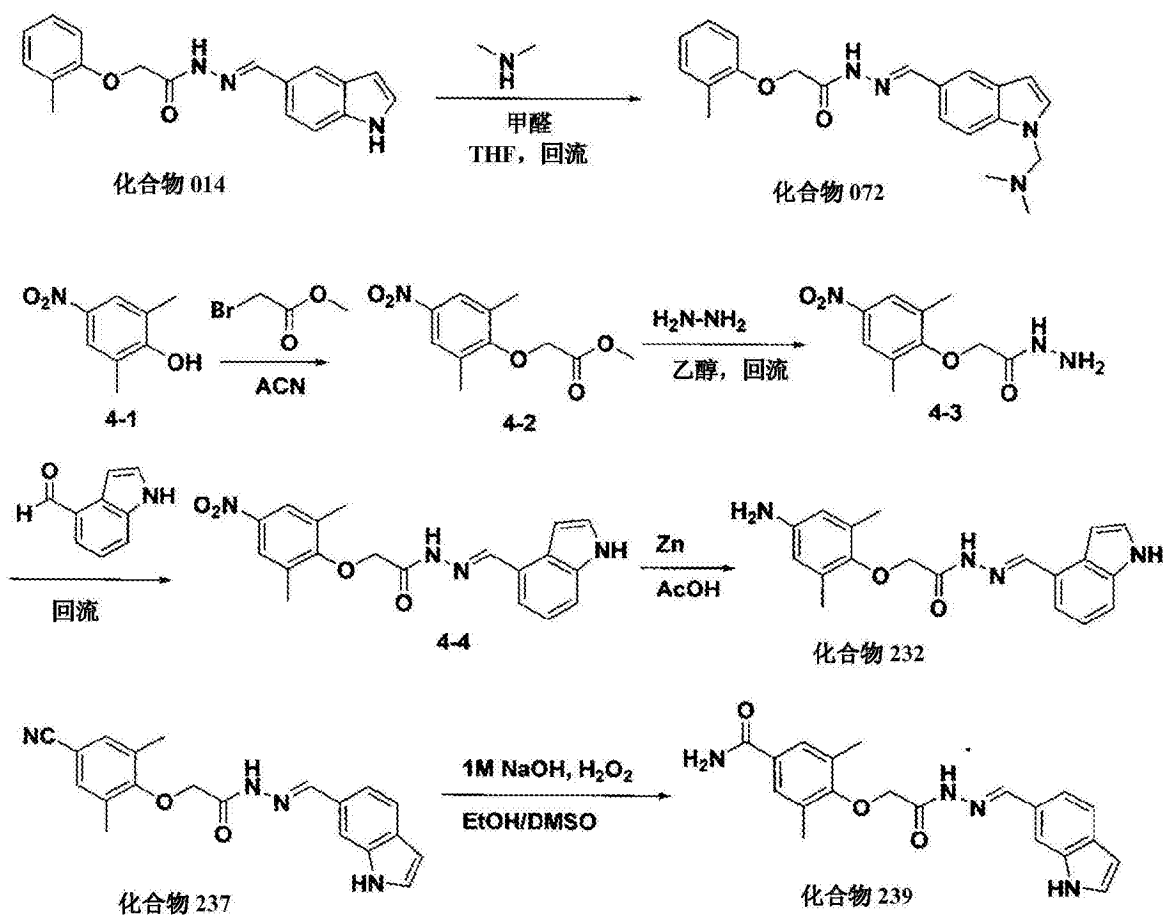
[0726] 将化合物065 (30mg, 0.08mmol)、乙酸酐 (9mg, 0.08mmol) 和碳酸钾 (12mg, 0.08mmol) 在二甲基甲酰胺2mL中溶解, 随后在室温下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化, 以得到化合物243 (517mg, 64%)。

[0727] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.62 (m, 1H), 8.44-8.37 (m, 1H), 8.25 (s, 0.5H), 8.80 (m, 1H), 7.51-7.33 (m, 2.5H), 7.02 (d, $J=3.48\text{Hz}$, 0.5H), 6.85 (d, $J=5.8\text{Hz}$, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.37 (s, 1H), 2.66 (m, 3H), 2.10 (m, 9H)。

[0728] 以下路线4示出化合物072、232、237和239的制备方法。

[0729] [路线4]

[0730]



[0731] 实施例109. 化合物072的合成

[0732] 将化合物014 (100mg, 1.52mmol)、甲醛 (48.6mg, 1.62mmol) 和2M二甲胺在四氢呋喃中的溶液 (1.62mL, 3.24mmol) 在回流下搅拌6小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化, 以得到化合物072 (6mg, 5%)。

[0733] ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.4 (bs, 0.8H), 8.32–8.06 (m, 0.7H), 7.80–7.79 (m, 1H), 7.63–7.61 (m, 1H), 7.57–7.55 (m, 1H), 7.41–7.40 (m, 1H), 7.14–7.10 (m, 2H), 6.87–6.79 (m, 2H), 6.51–6.50 (m, 1H), 5.14–4.63 (m, 4H), 2.23–2.18 (m, 9H)。

[0734] 实施例110. 化合物232的合成

[0735] 步骤1. 2-(2,6-二甲基-4-硝基苯氧基) 乙酸甲酯 (化合物4-2) 的合成:

[0736] 将2,6-二甲基-4-硝基苯酚 (1000mg, 5.98mmol) 和溴乙酸甲酯 (0.6mL, 5.98mmol) 以及碳酸铯 (2.9g, 8.97mmol) 在乙腈10mL中溶解, 随后在80℃下搅拌12小时。向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥, 并通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷=1:1) 纯化, 以得到2-(2,6-二甲基-4-硝基苯氧基) 乙酸甲酯 (682mg, 48%)。

[0737] 步骤2. 2-(2,6-二甲基-4-硝基苯氧基) 乙酰胺 (化合物4-3) 的合成:

[0738] 将2-(2,6-二甲基-4-硝基苯氧基) 乙酸甲酯 (300mg, 1.25mmol)、肼一水合物 (0.07mL, 1.40mmol) 在EtOH 3mL中溶解, 随后在90℃下搅拌12小时。将反应混合物通过柱色谱法 (乙酸乙酯: 己烷=1:1) 纯化, 以得到2-(2,6-二甲基-4-硝基苯氧基) 乙酰胺 (280mg,

96%)。

[0739] 步骤3. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-硝基苯氧基)乙酰肼(化合物4-4)的合成:

[0740] 将2-(2,6-二甲基-4-硝基苯氧基)乙酰肼(289mg, 1.21mmol)、1H-吡啶-4-甲醛(175mg, 1.21mmol)在EtOH 3mL中溶解,随后在90℃下搅拌12小时。将反应混合物通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=1:1)纯化,以得到(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-硝基苯氧基)乙酰肼(127mg, 29%)。

[0741] 步骤4. (E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(4-氨基-2,6-二甲基苯氧基)乙酰肼(化合物232)的合成:

[0742] 将(E)-N'-((1H-吡啶-4-基)亚甲基)-2-(2,6-二甲基-4-硝基苯氧基)乙酰肼(20mg, 0.05mmol)和锌(74mg, 1mmol)在乙酸1mL中溶解,随后在室温下搅拌6小时。将反应混合物通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=2:1)纯化,以得到化合物232(2mg, 11%)。

[0743] ^1H NMR (400MHz, CD_3OD): δ 8.68 (s, 0.6H), 8.20 (s, 0.4H), 7.51-7.30 (m, 3H), 7.21-7.15 (m, 2H), 6.83 (m, 0.5H), 6.45 (d, $J=8.04\text{H}$, 1.5H), 4.62 (s, 1H), 4.40 (s, 1H), 2.25 (s, 6H)。

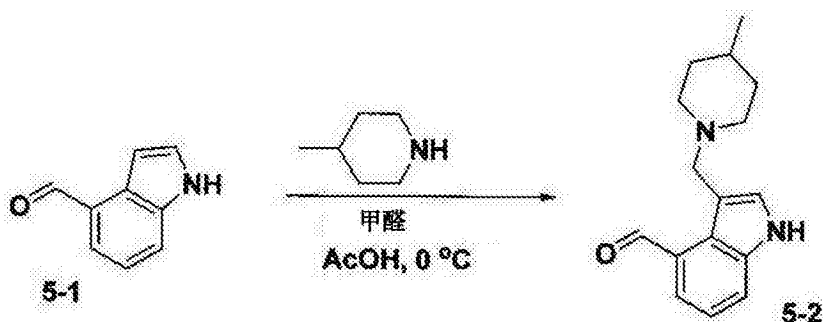
[0744] 实施例111. 化合物239的合成

[0745] 将化合物237(16mg, 0.05mmol)在EtOH:二甲基亚砜=4mL:1mL中溶解。将反应混合物冷却至0℃,并加入1M氢氧化钠和30% H_2O_2 。将反应混合物的温度升高至室温,随后搅拌2小时。反应完成后,向反应混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化,以得到化合物239(8mg, 44%)。

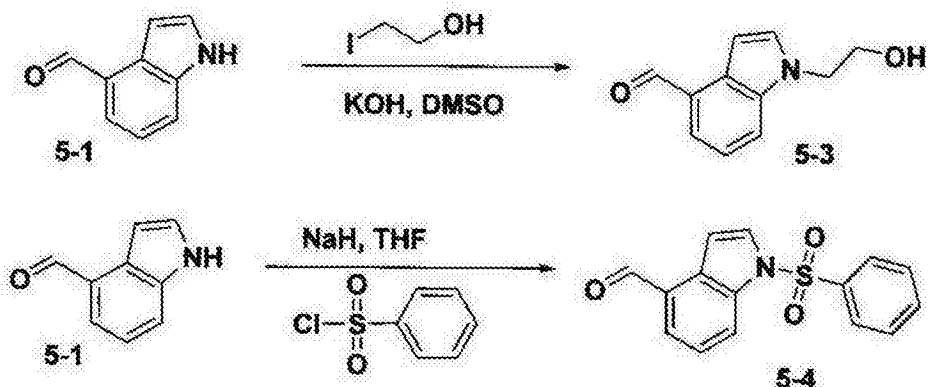
[0746] ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 11.43 (d, $J=15.4\text{Hz}$, 1H), 11.32-11.21 (d, $J=40.9\text{Hz}$, 1H), 8.48-8.04 (2s, 1H), 7.84 (m, 1H), 7.71 (s, 0.5H), 7.29-7.22 (m, 1.5H), 6.45 (m, 1H), 4.85 (s, 1H), 4.42 (s, 1H), 2.30 (d, $J=5.16\text{Hz}$, 6H)。

[0747] 以下路线5示出路线1的醛化合物(化合物1-5)的制备方法。

[0748] [路线5]



[0749]



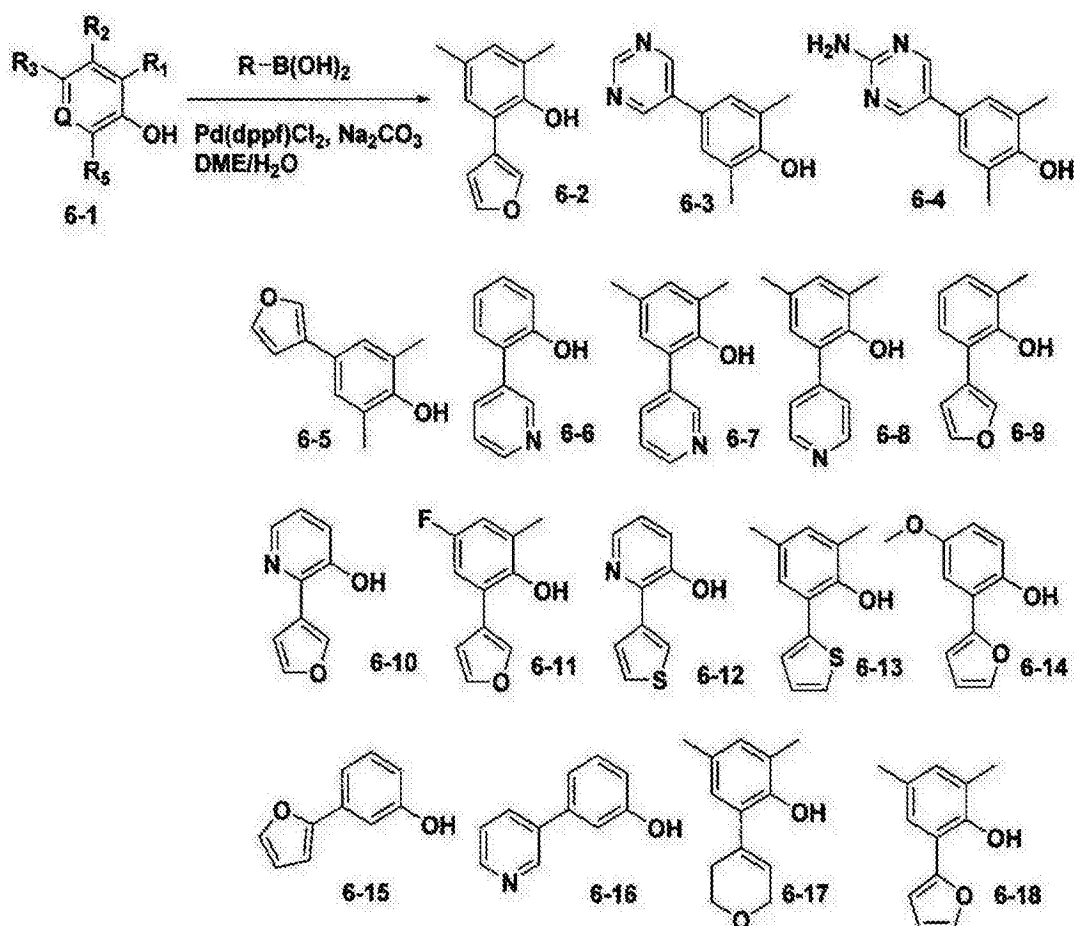
[0750] 制备实施例1. 化合物5-2的合成(化合物211的中间体): 将化合物5-1 (200mg, 1.38mmol) 和甲醛37% (1.1mL, 1.66mmol) 在乙酸中溶解。将反应混合物冷却至0℃, 并加入4-甲基哌啶 (154mL, 1.38mmol), 随后在室温下搅拌3小时。反应完成后, 向反应混合物中加入1M NaOH, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用盐水洗涤, 用硫酸镁干燥, 并在减压下浓缩, 以得到化合物5-2 (311mg, 87%)。

[0751] 制备实施例2. 化合物5-3的合成(化合物180的中间体): 将化合物5-1 (125mg, 1.06mmol)、2-碘乙醇 (0.1mL, 1.59mmol) 和KOH (96mg, 2.12mmol) 在二甲基甲酰胺 (2mL) 中溶解, 随后在室温下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层通过柱色谱法纯化, 以得到化合物5-3 (120mg, 59.8%)。

[0752] 制备实施例3. 化合物5-4的合成(化合物280的中间体): 将化合物5-1 (1g, 6.89mmol) 在四氢呋喃中溶解, 然后向其中加入氢化钠 (360mg, 8.27mmol)。向其中加入苯磺酰氯 (1.2g, 6.89mmol), 随后在室温下搅拌12小时。反应完成后, 向反应混合物中加入水, 并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层通过柱色谱法纯化, 以得到化合物5-4 (500mg, 25%)。

[0753] 以下路线6示出路线1和7的起始化合物(化合物1-1)的制备方法。

[0754] [路线6]



[0755]

[0756] 制备实施例4. 2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯酚(化合物6-2)的合成:将2-溴-4,6-二甲基苯酚(1.8g,8.9mmol)在二甲氧基乙烷/水(2:1)中溶解。向其中加入呋喃-3-基硼酸(1g,8.9mmol)、Pd(dppf)Cl₂(0.36g,0.45mmol)和碳酸钠(3.7g,45mmol),随后在回流下搅拌1小时。反应完成后,向反应混合物中加入饱和碳酸氢钠水溶液,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,在减压下浓缩,并通过柱色谱法纯化,以得到2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯酚(0.9g,54%)。

[0757] 制备实施例5. 2,6-二甲基-4-(嘧啶-5-基)苯酚(化合物6-3)的合成:将4-溴-2,6-二甲基苯酚(0.5g,2.5mmol)在二甲氧基乙烷/水(2:1)中溶解。向其中加入嘧啶-5-基硼酸(0.37g,2.8mmol),Pd(dppf)Cl₂(0.02g,0.13mmol)和碳酸钠(0.79g,7.5mmol),随后在微波反应器中,于120℃下反应15分钟。反应完成后,向反应混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,在减压下浓缩,并通过柱色谱法纯化,以得到2,6-二甲基-4-(嘧啶-5-基)苯酚(0.1g,20%)。

[0758] 制备实施例6. 4-(2-氨基嘧啶-5-基)-2,6-二甲基苯酚(化合物6-4)的合成:将2-氨基嘧啶-5-基硼酸(0.76g,5.4mmol)在二甲氧基乙烷/水(2:1)中溶解。向其中加入4-溴-2,6-二甲基苯酚(0.91g,4.52mmol)和Pd(dppf)Cl₂(0.19g,0.14mmol)、碳酸钠(1.4g,14mmol),随后在微波反应器中,于120℃下反应15分钟。反应完成后,向反应混合物中加入水,并用二氯甲烷萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,在减压下浓缩,并通过柱色谱法纯化,以得到4-(2-氨基嘧啶-5-基)-2,6-二甲基苯酚(0.27g,27%)。

[0759] 制备实施例7. 4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯酚(化合物6-5)的合成:将4-溴-2,

6-二甲基苯酚(350mg, 1.74mmol)、3-呋喃基硼酸(269mg, 2.26mmol)、Pd(dppf)Cl₂(71mg, 0.087mmol)和碳酸钠(553mg, 5.22mmol)在DME:水=4mL:2mL中溶解,随后在微波中,于120℃下搅拌20分钟。反应完成后,将反应混合物使用硅藻土过滤。将所得的滤液用乙酸乙酯萃取,用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=9:1)纯化,以得到4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯酚(225mg, 50%)。

[0760] 制备实施例8. 2-(吡啶-3-基)苯酚(化合物6-6)的合成:

[0761] 将2-溴苯酚(0.5g, 2.9mmol)在二甲氧基乙烷/水(2:1)中溶解。向其中加入吡啶-3-基硼酸(0.71g, 5.8mmol)和Pd(dppf)Cl₂(0.12g, 0.14mmol)、碳酸钠(1.2g, 14mmol),随后在回流下搅拌1小时。反应完成后,向反应混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,在减压下浓缩,并通过柱色谱法纯化,以得到2-(吡啶-3-基)苯酚(0.25g, 20%)。

[0762] 制备实施例9. 2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基)苯酚(化合物6-7)的合成:将2-溴-4,6-二甲基苯酚(1g, 5mmol)在二甲氧基乙烷/水(2:1)中溶解。向其中加入吡啶-3-基硼酸(0.62g, 5mmol)和Pd(dppf)Cl₂(0.20g, 0.25mmol)、碳酸钠(2.1g, 25mmol),随后在回流下搅拌1小时。反应完成后,向反应混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,在减压下浓缩,并通过柱色谱法纯化,以得到2,4-二甲基-6-(吡啶-3-基)苯酚(0.7g, 70%)。

[0763] 制备实施例10. 2,4-二甲基-6-(吡啶-4-基)苯酚(化合物6-8)的合成:将2-溴-4,6-二甲基苯酚(0.5g, 2.5mmol)在二甲氧基乙烷/水(2:1)中溶解。向其中加入吡啶-4-基硼酸(0.32g, 2.5mmol)和Pd(dppf)Cl₂(0.10g, 0.13mmol)、碳酸钠(1g, 13mmol),随后在回流下搅拌1小时。反应完成后,向反应混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,在减压下浓缩,并通过柱色谱法纯化,以得到2,4-二甲基-6-(吡啶-4-基)苯酚(0.15g, 30%)。

[0764] 制备实施例11. 2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯酚(化合物6-9)的合成:将2-溴-6-甲基苯酚(800mg, 4.28mmol)、3-呋喃基硼酸(574mg, 5.13mmol)、碳酸钠(1400mg, 12.8mmol)和Pd₂(dppf)₂Cl₂(699mg, 0.82mmol)在二甲氧基乙烷/水10mL/10mL中溶解,随后在微波中,于120℃下搅拌20分钟。反应完成后,将反应混合物使用硅藻土过滤。向滤液中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=1:3)纯化,以得到2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯酚(273mg, 26%)。

[0765] 制备实施例12. 2-(呋喃-3-基)吡啶-3-醇(化合物6-10)的合成:将2-溴吡啶-3-醇(200mg, 1.15mmol)、3-呋喃基硼酸(574mg, 1.38mmol)、碳酸钠(365mg, 12.8mmol)和Pd₂(dppf)₂Cl₂(187mg, 0.23mmol)在二甲氧基乙烷/水2mL/1mL中溶解,随后在微波中,于120℃下搅拌20分钟。反应完成后,将反应混合物使用硅藻土过滤。向滤液中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=1:3)纯化,以得到2-(呋喃-3-基)吡啶-3-醇(50mg, 27%)。

[0766] 制备实施例13. 4-氟-2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯酚(化合物6-11)的合成:将2-溴-4-氟-6-甲基苯酚(337mg, 1.20mmol)、3-呋喃基硼酸(162mg, 1.45mmol)、Pd(dppf)Cl₂(98.3mg, 0.12mmol)和碳酸钠(383mg, 3.61mmol)在DME:水=20mL:10mL中溶解,随后在微波中,于120℃下搅拌20分钟。将反应混合物通过硅藻土过滤。将滤液在减压下浓缩,并通过柱

色谱法(硅胶;己烷/乙酸乙酯,9/1)纯化,以得到黄色油形式的4-氟-2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯酚(96mg,30%)。

[0767] 制备实施例14. 2-(噻吩-3-基)吡啶-3-醇(化合物6-12)的合成:将2-溴吡啶-3-醇(100mg,0.58mmol)、3-噻吩基硼酸(88mg,0.69mmol)、碳酸钠(184mg,2.07mmol)和Pd₂(dppf)₂Cl₂(94mg,0.12mmol)在二甲氧基乙烷/水1mL/1mL中溶解,随后在微波中,于120℃下搅拌20分钟。反应完成后,将反应混合物使用硅藻土过滤。向滤液中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=1:3)纯化,以得到2-(噻吩-3-基)吡啶-3-醇(50mg,48%)。

[0768] 制备实施例15. 2,4-二甲基-6-(噻吩-2-基)苯酚(化合物6-13)的合成:将2-溴-4,6-二甲基苯酚(500mg,2.49mmol)、2-噻吩基硼酸(88mg,2.99mmol)、碳酸钠(791mg,7.47mmol)和Pd₂(dppf)₂Cl₂(406mg,0.49mmol)在二甲氧基乙烷/水6mL/3mL中溶解,随后在微波中,于120℃下搅拌20分钟。反应完成后,将反应混合物使用硅藻土过滤。向滤液中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=1:3)纯化,以得到2,4-二甲基-6-(噻吩-2-基)苯酚(231mg,45%)。

[0769] 制备实施例16. 2-(呋喃-2-基)-4-甲氧基苯酚(化合物6-14)的合成:将2-溴-4-甲氧基苯酚(400mg,1.97mmol)、2-呋喃基硼酸(287mg,2.56mmol)、Pd(dppf)Cl₂(81mg,0.1mmol)和碳酸钠(626mg,5.91mmol)在DME:水=4mL:2mL中溶解,随后在微波中,于120℃下搅拌20分钟。反应完成后,将反应混合物使用硅藻土过滤。向滤液中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=9:1)纯化,以得到2-(呋喃-2-基)-4-甲氧基苯酚(212mg,57%)。

[0770] 制备实施例17. 3-(呋喃-2-基)苯酚(化合物6-15)的合成:

[0771] 将3-溴苯酚(500mg,2.86mmol)和呋喃-2-硼酸(420mg,3.76mmol)在二甲氧基乙烷/水=5mL/2.5mL中溶解。向其中加入Pd(dppf)Cl₂(118mg,0.14mmol)和碳酸钠(919mg,8.67mmol),随后在微波中,于120℃下搅拌20分钟。反应完成后,将反应混合物使用硅藻土过滤。向滤液中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=9:1)纯化,以得到3-(呋喃-2-基)苯酚(191mg,41%)。

[0772] 制备实施例18. 3-(吡啶-3-基)苯酚(化合物6-16)的合成:

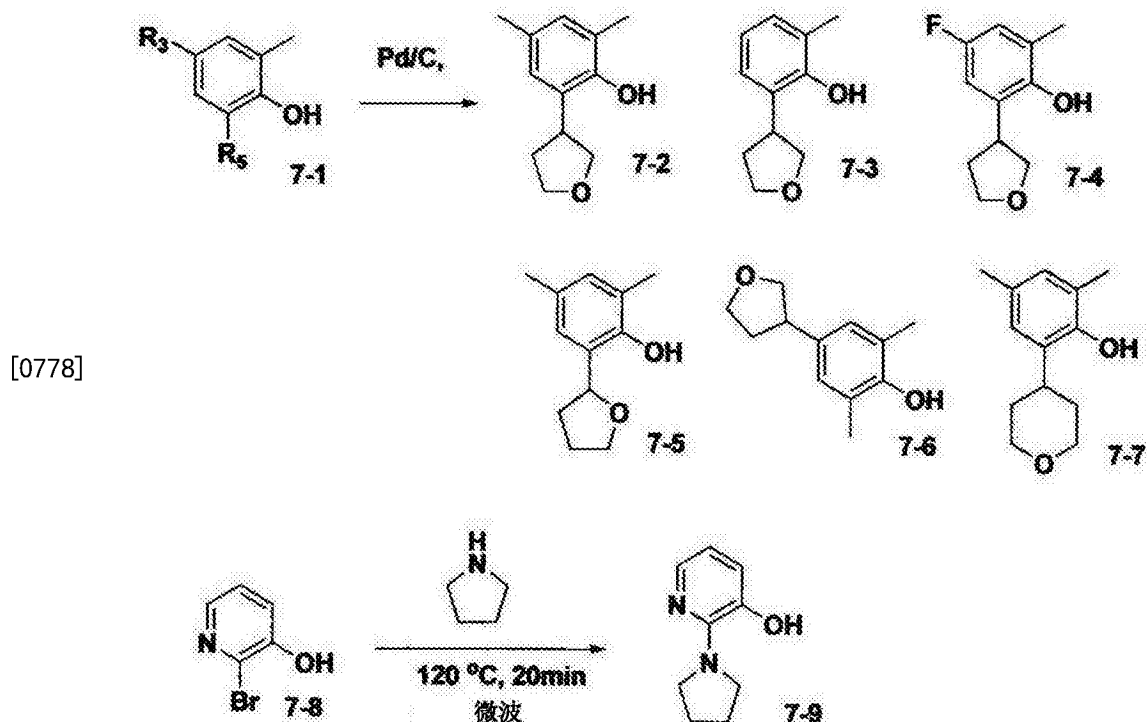
[0773] 将3-溴苯酚(500mg,2.86mmol)和吡啶-3-基硼酸(422mg,3.76mmol)在二甲氧基乙烷/水=5mL/2.5mL中溶解。向其中加入Pd(dppf)Cl₂(118mg,0.14mmol)和碳酸钠(919mg,8.67mmol),随后在微波中,于120℃下搅拌20分钟。反应完成后,将反应混合物使用硅藻土过滤。向滤液中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=9:1)纯化,以得到3-(吡啶-3-基)苯酚(386mg,78%)。

[0774] 制备实施例19. 2-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-4,6-二甲基苯酚(化合物6-17)的合成:将2-溴-4,6-二甲基苯酚(430mg,2.14mmol)、2-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷(494mg,2.35mmol)、Pd(dbpf)Cl₂(69.7mg,0.11mmol)和碳酸钠(680mg,6.45mmol)在二甲氧基乙烷:水=3mL:1mL中溶解,随后在微波中,于120℃下搅拌30分钟。将反应混合物通过硅藻土过滤。将滤液在减压下浓缩,并通过柱色谱法(硅胶;己烷/乙酸乙酯,9/1)纯化,以得到无色油形式的2-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-4,6-二甲基苯酚(160mg,37%)。

[0775] 制备实施例20. 2-(呋喃-2-基)-4,6-二甲基苯酚(化合物6-18)的合成:将2-溴-4,6-二甲基苯酚(500mg, 2.49mmol)、呋喃-2-基硼酸(88mg, 2.99mmol)、碳酸钠(791mg, 7.47mmol)和 $\text{Pd}_2(\text{dppf})_2\text{Cl}_2$ (406mg, 0.49mmol)在二甲氧基乙烷/水6mL/3mL中溶解,随后在微波中,于120℃下搅拌20分钟。反应完成后,将反应混合物使用硅藻土过滤。向滤液中加入水,并用乙酸乙酯萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=1:3)纯化,以得到2-(呋喃-2-基)-4,6-二甲基苯酚(231mg, 45%)。

[0776] 以下路线7示出路线1的起始化合物(化合物1-1)的制备方法。

[0777] [路线7]



[0779] 制备实施例21. 2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯酚(化合物7-2)的合成:将2-(呋喃-3-基)-4,6-二甲基苯酚(化合物6-2)(0.6g, 3.2mmol)在甲醇中溶解。向其中加入钯碳(0.06g),随后在氢气球下,于室温下搅拌6小时。反应完成后,将反应混合物通过硅藻土过滤。将滤液在减压下浓缩,并通过柱色谱法纯化,以得到2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯酚(0.45g, 73%)。

[0780] 制备实施例22. 2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯酚(化合物7-3)的合成:将2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯酚(化合物6-9)(173mg, 0.70mmol)和钯碳(25mg, 15%)在甲醇:四氢呋喃=1mL:1mL中溶解,随后在氢气球下搅拌48小时。反应完成后,将反应混合物通过硅藻土过滤。将滤液在减压下浓缩,并通过柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=3:1)纯化,以得到2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯酚(117mg, 93%)。

[0781] 制备实施例23. 4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯酚(化合物7-4)的合成:将4-氟-2-(呋喃-3-基)-6-甲基苯酚(化合物6-11)(471mg, 2.45mmol)在甲醇中溶解。向其中加入钯碳(64.3mg, 5wt%),随后在氢气球下搅拌24小时。反应完成后,将反应混合物通过硅藻土过滤。将滤液在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法(硅胶;己烷/乙酸乙酯, 9/1)纯化,以得到白色固体形式的4-氟-2-甲基-6-(四氢呋喃-3-基)苯酚(368mg, 76%)。

[0782] 制备实施例24. 2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-2-基)苯酚(化合物7-5)的合成:将2-(呋喃-2-基)-4,6-二甲基苯酚(化合物6-18) (200mg, 1.06mmol) 在甲醇3mL中溶解。向其中加入钯碳(30mg),随后在氢气球下搅拌12小时。反应完成后,将反应混合物通过硅藻土过滤。将滤液在减压下浓缩,以得到2,4-二甲基-6-(四氢呋喃-2-基)苯酚(200mg, 98%)。

[0783] 制备实施例25. 2,6-二甲基-4-(四氢呋喃-3-基)苯酚(化合物7-6)的合成:将4-(呋喃-3-基)-2,6-二甲基苯酚(化合物6-5) (110mg, 0.74mmol) 在四氢呋喃:甲醇=1mL:1mL中溶解。向其中加入钯碳(15mg, 15%),随后在氢气球下搅拌18小时。反应完成后,将反应混合物通过硅藻土过滤。将滤液在减压下浓缩,以得到2,6-二甲基-4-(四氢呋喃-3-基)苯酚(74mg, 72%)。

[0784] 制备实施例26. 2,4-二甲基-6-(四氢-2H-吡喃-4-基)苯酚(化合物7-7)的合成:将2-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-4,6-二甲基苯酚(化合物6-17) (234mg, 1.14mmol) 在甲醇中溶解。向其中加入钯碳(92mg, 40wt%),随后在氢气球下搅拌24小时。反应完成后,将反应混合物通过硅藻土过滤。将残渣通过柱色谱法(硅胶;己烷/乙酸乙酯, 9/1)纯化,以得到白色固体形式的2,4-二甲基-6-(四氢-2H-吡喃-4-基)苯酚(156mg, 66%)。

[0785] 制备实施例27. 2-(吡咯烷-1-基)吡啶-3-醇(化合物7-9)的合成:将2-溴吡啶-3-醇(200mg, 1.15mmol) 和吡咯烷(184mg, 2.58mmol) 加入至反应管中,随后在微波中,于120℃下反应20分钟。向反应混合物中加入1M HCl溶液以中和,并用乙酸乙酯和二氯甲烷萃取。将所得的有机层用硫酸镁干燥,并在减压下浓缩。将浓缩物通过柱色谱法纯化,以得到2-(吡咯烷-1-基)吡啶-3-醇(78mg, 41%)。

[0786] 结构式如下表1-9中所示。

[0787] 表1.

[0788]

化合物	结构	化合物	结构
013		014	
034		065	
072		083	
092		100	
108		109	
112		118	
121		127	

[0789] 表2.

[0790]

化合物	结构	化合物	结构
133		135	
136		137	
138		139	
146		147	
149		152	
155		156	
157		158	

[0791] 表3.

[0792]

化合物	结构	化合物	结构
159		164	
177		180	
182		183	
184		187	
190		191	
192		193	
194		195	

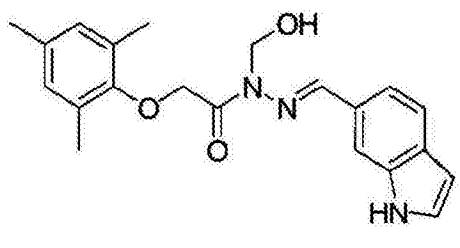
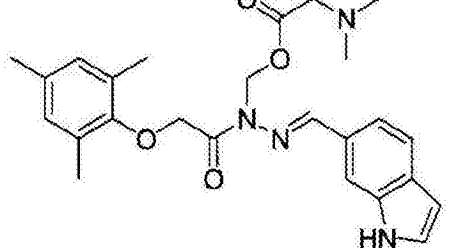
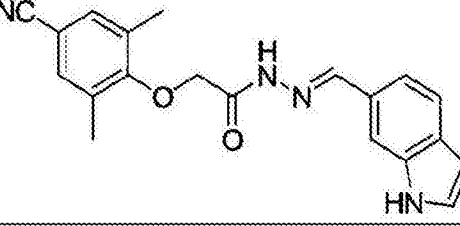
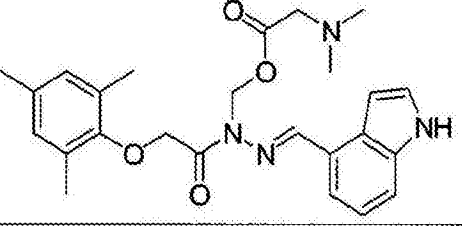
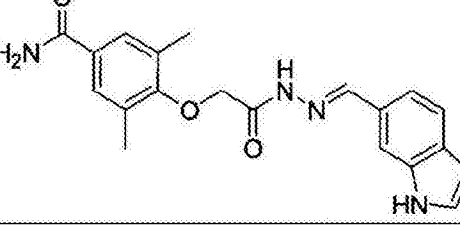
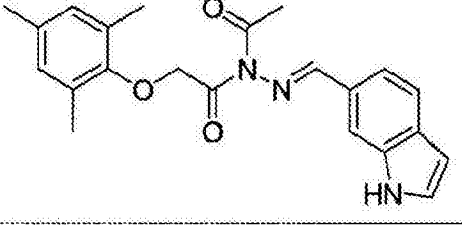
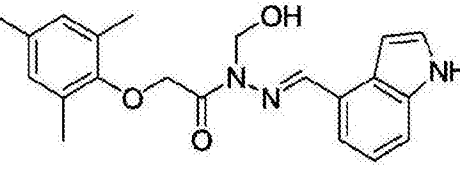
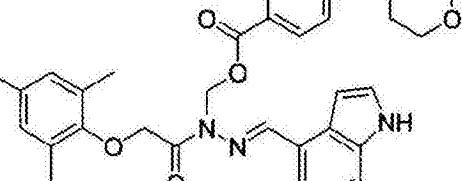
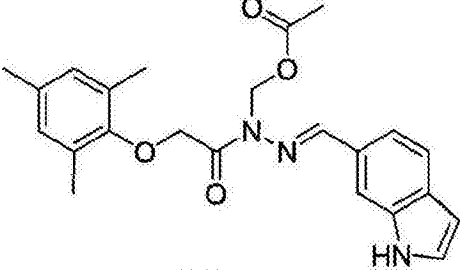
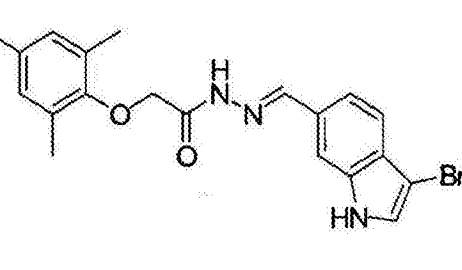
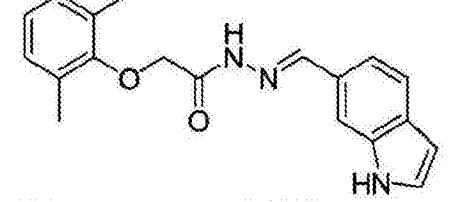
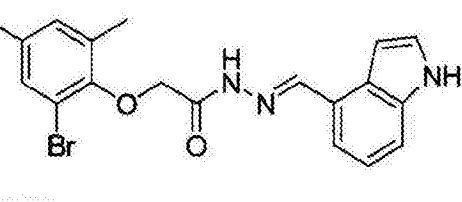
[0793] 表4.

[0794]

化合物	结构	化合物	结构
196		198	
201		205	
206		211	
217		218	
227		228	
229		232	

[0795] 表5.

[0796]

化合物	结构	化合物	结构
233		236	
237		238	
239		243	
244		245	
252		256	
258		259	

[0797] 表6.

[0798]

化合物	结构	化合物	结构
260		272	
279		280	
286		288	
289		291	
293		301	
302		303	

[0799] 表7.

[0800]

化合物	结构	化合物	结构
304		310	
311		312	
313		314	
317		318	
319		320	
322		323	

[0801] 表8.

[0802]

化合物	结构	化合物	结构
326		327	
329		330	
331		332	
333		336	
337		343	
344		345	

[0803] 表9.

[0804]

化合物	结构	化合物	结构
346		347	
356		358	
359		375	
378		379	
380		457	

[0805] 化合物活性的测量-实验方案

[0806] 实验实施例1. 化合物的促凋亡活性的测量

[0807] 为了研究所制备的化合物的效果,以下述方式评价化合物对人T细胞急性淋巴细胞白血病细胞系(Jurkat T细胞)的凋亡诱导效果。

[0808] 收集培养在包含10%胎牛血清(FBS)的RPMI培养基中的Jurkat T细胞,并将其用锥虫蓝(Sigma)染色。染色结果表明细胞的活力为97%或更高。然后,将细胞在室温下,于1200rpm下离心5分钟,并以 1.5×10^5 细胞/mL的浓度在包含10%FBS的RPMI培养基中再悬浮。将200 μ L的细胞悬浮液分配至平底96孔板(Costar)的各孔中。然后,将细胞用10 μ L在RPMI培养基中稀释的化合物(终浓度为1 μ M或5 μ M)处理,并在5%CO₂培养箱中,于37℃下孵育72小时。在媒介物对照组中,将细胞用10 μ L包含1%二甲基亚砜(DMSO, Sigma)的RPMI培养

基处理。收获孵育的细胞,将其放入5-mLFACS管(BD Falcon)中,用1mL的磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤,然后在0.1mL的结合缓冲液(10mM Hepes-NaOH,pH 7.4,140mM NaCl,2.5mM CaCl₂)中再悬浮。将悬浮的细胞用异硫氰酸荧光素(FITC)-膜联蛋白V(BD Biosciences)和7-氨基-放线菌素D(7-AAD,e-Biosciences)在室温下染色15分钟。将染色的细胞在0.3mL的结合缓冲液中悬浮,并通过流式细胞器分析。通过用FITC-膜联蛋白V和7-AAD染色的细胞与总细胞的比率(%) (参见表10和11)测定凋亡。

[0809] 表10.

[0810]

化合物	对 Jurkat T 细胞的 细胞凋亡效果 (%, 在 5 μ M 中)	化合物	对 Jurkat T 细胞的 细胞凋亡效果 (%, 在 5 μ M 中)
化合物 013	100	化合物 014	100
化合物 034	90	化合物 457	100
化合物 065	100	化合物 072	95
化合物 083	95	化合物 092	100
化合物 100	90	化合物 108	100
化合物 109	100	化合物 112	100
化合物 118	100	化合物 121	100
化合物 127	100	化合物 133	100
化合物 135	100	化合物 136	100
化合物 137	100	化合物 138	90
化合物 139	100	化合物 146	100
化合物 147	100	化合物 149	100
化合物 152	90	化合物 155	100
化合物 156	90	化合物 157	100

[0811]

化合物 158	100	化合物 159	100
化合物 164	100	化合物 177	100
化合物 180	90	化合物 182	100
化合物 183	100	化合物 184	100
化合物 187	100	化合物 190	100
化合物 191	100	化合物 192	90
化合物 193	100	化合物 194	100
化合物 195	100	化合物 196	100
化合物 198	100	化合物 201	100
化合物 202	100	化合物 205	100
化合物 206	100	化合物 209	100
化合物 211	100	化合物 217	100
化合物 218	100	化合物 227	90
化合物 228	100	化合物 229	100
化合物 232	100	化合物 233	100
化合物 236	100	化合物 237	100
化合物 238	100	化合物 239	100
化合物 243	100	化合物 244	100
化合物 245	100	化合物 252	100
化合物 256	100	化合物 258	100

[0812] 表11.

[0813]

化合物	Jurkat T 细胞凋亡 (%, 在 5 μ M 中)	化合物	Jurkat T 细胞凋亡 (%, 在 5 μ M 中)
化合物 259	100	化合物 260	100
化合物 272	100	化合物 279	100
化合物 280	100	化合物 286	100
化合物 288	90	化合物 289	100
化合物 291	100	化合物 293	100
化合物 301	100	化合物 302	100
化合物 303	100	化合物 304	90

[0814]

化合物 310	100	化合物 311	100
化合物 312	100	化合物 313	100
化合物 314	100	化合物 317	100
化合物 318	100	化合物 319	100
化合物 320	100	化合物 322	100
化合物 323	100	化合物 326	95
化合物 327	95	化合物 329	100
化合物 330	80	化合物 331	100
化合物 332	100	化合物 333	100
化合物 336	100	化合物 337	100
化合物 343	100	化合物 344	100
化合物 345	95	化合物 346	100
化合物 347	100	化合物 356	90
化合物 358	100	化合物 359	80
化合物 375	100	化合物 378	100
化合物 379	100	化合物 380	100

[0815] 实验实施例2. 在体外对于异型抗原特异性T细胞的抑制效果

[0816] 为了评价本发明的化合物229对于异型抗原特异性T细胞的抑制效果, 进行以下实验。

[0817] 从正常的C57BL/6小鼠(8-12周大,雌性,20±2g)无菌地收集淋巴结和脾,并在加入RPMI培养基下研磨。然后,将研磨的组织通过细胞粗滤器(BD Falcon),以制备单细胞悬浮液。将脾的单细胞悬浮液以1200rpm离心5分钟。移除上清液,然后向细胞中加入1mL氯化铵/碳酸氢钾(ACK)裂解缓冲液(0.15M NH_4Cl ,1mM KHCO_3 ,0.1mM Na_2EDTA),然后将其涡旋1分钟,并用RPMI培养基洗涤。将红细胞裂解的脾细胞与淋巴结细胞一起离心,然后在1mL磁性活化细胞分选(MACS)缓冲液(0.5%BSA,2mM EDTA在PBS中)中再悬浮,并向细胞中加入100 μL 小鼠CD90.2微球体(Miltenyi Biotec),然后在4℃下孵育15分钟。向孵育的细胞悬浮液中加入10mL MACS缓冲液,离心5分钟,洗涤,然后在2mL MACS缓冲液中再悬浮。将悬浮的细胞置于自动MACS Pro Separator(Miltenyi Biotec),并分离结合至CD90.2微球体的T细胞。将分离的T细胞用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤,然后在PBS中,以 1×10^8 细胞/mL的浓度再悬浮。使用IBL 437C辐照器(CIS bio international),将正常的BALB/c小鼠(10-12周大,雌性,20-23g)用950rad的 γ 放射线照射,然后将100 μL 上述制备的C57BL/6小鼠的T细胞悬浮液注射入BALB/c小鼠的尾静脉。细胞注射3天时,将小鼠处死,并得到脾。以与上述相同的方式,由获得的脾制备无红细胞的单细胞悬浮液,并使用自动MACS Pro Separator由脾细胞悬浮液分离供体T细胞,由此制备次级应答细胞。同时,以与上述相同的方式,从正常C57BL/6小鼠分离T细胞,由此制备初级应答细胞。将各初级和次级应答细胞在1mL的包含1%FBS的PBS中再悬浮,并用3 μM 二醋酸羧基荧光素琥珀酰亚胺酯(CFSE,Invitrogen)处理,然后使其在室温下反应4分钟。为了停止反应,向细胞悬浮液中加入冷冻储存的包含5%FBS的PBS,随后洗涤。将洗涤的细胞在包含10%FBS的RPMI培养基中以 2×10^6 /mL的浓度再悬浮。无菌地收集BALB/c小鼠(8-12周大,雌性,20±2g)的脾。以与上述相同的方式制备无红细胞的脾细胞,然后在1mL PBS中再悬浮。向悬浮液中以0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度加入0.5mg/mL的丝裂霉素-C(Sigma),并将细胞在37℃下孵育20分钟,然后用过量的PBS洗涤三次。将洗涤的细胞在包含10%FBS的RPMI培养基中以 4×10^6 细胞/mL的浓度再悬浮,由此制备刺激细胞。将初级和次级应答细胞各自与刺激细胞以1:1的比率混合,并将200 μL 的各细胞混合物分配至圆底96孔板(Costar)的各孔中。然后,将细胞用10 μL 多种浓度的在RPMI培养基中稀释的化合物229处理,并在5% CO_2 培养箱中,于37℃下孵育72小时。在媒介物对照组中,将细胞用10 μL 的包含0.2%DMSO的RPMI培养基处理。将孵育的细胞置于5-mL FACS管中,并用1mL荧光激活细胞分选(FACS)缓冲液(1%FBS和0.1%叠氮化钠在PBS中)洗涤。将洗涤的细胞在0.1mL FACS缓冲液中再悬浮,然后用1 μg 小鼠免疫球蛋白G(IgG,e-Biosciences)处理以防止抗体的非特异性结合,随后在4℃下孵育15分钟。然后将细胞用0.5 μg 藻红蛋白缀合的抗小鼠H-2K^bmAb(e-Biosciences)染色,并在4℃下染色30分钟。染色后,将细胞用1mL FACS缓冲液洗涤两次,在0.1mL FACS缓冲液中再悬浮,用7-AAD在室温下染色5分钟。将染色的细胞在0.3mL FACS缓冲液中悬浮,然后通过流式细胞器分析。通过测量具有低CFSE荧光强度的细胞部分与总活应答细胞的比率(%)来测定T细胞增殖的抑制,并通过测量用7-氨基-放线菌素D(7-AAD)染色的细胞与总应答细胞的比率(%)来测定T细胞的凋亡。

[0818] 结果表明在媒介物对照组中响应于异型抗原增殖的T细胞(CFSE^低)的比率为总T细胞的50%,但是在用0.5 μM 或更高的化合物229处理的测试组中降低至3%或更低,这表明响应于异型抗原的T细胞增殖被显著抑制。此外,在次级应答的条件(其中主要由体内异型抗原激活的T细胞在体外与相同的抗原反应)下,化合物229有效地抑制异型抗原特异性T细胞

的增殖(参见图1)。为了检查化合物229对于异型抗原特异性T细胞的抑制作用是否是由于凋亡的诱导,将细胞用7-AAD染色,并通过流式细胞器分析。结果表明,在初级应答中,与媒介物对照组的凋亡相比,用0.5 μ M或更高的化合物229处理的测试组的凋亡增加14-19%,并且在次级应答中,与媒介物对照组相比,用0.25 μ M或更高的化合物229处理的测试组的凋亡显著增加(21-42%)(参见图2和表12)。

[0819] 表12.

化合物 229 的浓度(μ M)	凋亡% (平均值 $\pm$ SD)	
	初级应答	次级应答
0	30.91 $\pm$ 3.80	39.10 $\pm$ 4.10
0.125	28.42 $\pm$ 5.31	41.40 $\pm$ 4.35
0.25	31.20 $\pm$ 4.26	60.27 $\pm$ 6.10 **
0.5	45.01 $\pm$ 5.48 *	81.70 $\pm$ 5.62 ***
1	50.37 $\pm$ 6.19 **	80.37 $\pm$ 7.16 ***

[0821] *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

[0822] 因此,本发明的化合物229对于初级或次级响应于异型抗原的所有T细胞的增殖具有抑制作用,并且该增殖抑制作用是由于凋亡的诱导引起的。此外,次级激活的T细胞的增殖甚至被更低浓度的化合物229抑制,因此,化合物229可有效地用作不仅是预防的,而且是治疗移植排斥的免疫抑制剂。

[0823] 实验实施例3.在体内对于异型抗原特异性T细胞的抑制效果

[0824] 为了检查本发明的化合物229是否具有针对响应于体内异型抗原的T细胞的抑制效果,以下述方式在动物模型中进行实验。

[0825] 从正常的C57BL/6-Ly5.1小鼠(8-12周大,雌性,20 $\pm$ 2g)无菌地收集淋巴结和脾,并且以与在实验实施例2中所述相同的方式分离T细胞,然后将其以1 $\times$ 10⁸细胞/mL的浓度在PBS中再悬浮。将正常的BDF1小鼠(10-12周大,雌性,20-23g)用950rad的 γ 放射线照射,然后将100 μ L上述制备的C57BL/6-Ly5.1小鼠的T细胞注射入BDF1小鼠的尾静脉。将化合物229以对应于15% (v/v)的给药体积(用于腹膜内给药)的量 and 对应于7.5% (v/v) (用于口服给药)的量在Cremophor EL (Sigma)/乙醇混合物(1:1, v/v)中完全溶解,并将化合物溶液在PBS中稀释。从细胞注射那天起,每天将稀释物腹膜内(200 μ L/小鼠)或口服(500 μ L/小鼠)给药,持续5天。以与测试组中相同的比率和体积向媒介物对照组给药Cremophor EL-乙醇-PBS混合物。在细胞注射后6天时,将小鼠处死,并从小鼠收集脾,以与实验实施例2中所述相同的方式制备无红细胞的脾细胞。将脾细胞用锥虫蓝染色,并对各动物的每个器官的活细胞数目计数。然后,将脾细胞置于5mL FACS管,并用1mL FACS缓冲液洗涤。将细胞在0.1mL FACS缓冲液中再悬浮,然后用1 μ g小鼠免疫球蛋白G处理以防止抗体的非特异性结合,随后在4 $^{\circ}$ C下孵育15分钟。然后将细胞用0.5 μ g藻红蛋白缀合的抗小鼠Ly5.1mAb(单克隆抗体)在4 $^{\circ}$ C下染色30分钟。将染色的细胞用1mL FACS缓冲液洗涤两次,在0.3mL FACS缓冲液中再悬浮,并通过流式细胞器分析。通过测量供体T细胞部分(Ly5.1⁺细胞)相对于每个脾的活细胞

的比率(%)来测定脾中的供体T细胞的数目。

[0826] 结果表明与媒介物对照组的相比,腹膜内(图3A)或口服(图3B)给药本发明的化合物229的小鼠的脾中的异型抗原特异性T细胞的数目以浓度依赖性方式显著减少,并且当将化合物229以50mg/kg的剂量给药时,活化的T细胞数目显著减少,这表明响应于异型抗原的T细胞的增殖被完全地抑制(参见图3A和3B)。

[0827] 因此,本发明的化合物229在体内对异型抗原特异性T细胞具有抑制效果,并且还可能被开发为口服免疫抑制剂。

[0828] 实验实施例4. 针对急性移植物抗宿主病的抑制效果

[0829] 为了检查本发明的化合物229针对急性移植物抗宿主病的抑制效果,如下述在异体骨髓移植的小鼠模型中诱导急性移植物抗宿主病,将小鼠用化合物229处理,并评价化合物的效果。

[0830] 从正常的C57BL/6小鼠(8-12周大,雌性,20-23g)无菌地收集淋巴结、脾、股骨和胫骨,并以与在实验实施例2中所述相同的方式从淋巴结和脾分离T细胞,将其以 8×10^7 细胞/mL的浓度在PBS中再悬浮。在末端切割股骨和胫骨,并使用注射器(21G用于股骨,以及26G用于胫骨)用RPMI培养基从股骨和胫骨冲洗骨髓,以提取骨髓,然后将其悬浮并通过细胞粗滤器以制备单细胞悬浮液。将骨髓细胞悬浮液以1200rpm离心5分钟,并移除上清液,然后将细胞加入1mL的ACK裂解缓冲液,并涡旋1分钟,随后用RPMI培养基洗涤。将通过离心收集的骨髓细胞在300 μ L MACS缓冲液中再悬浮,并向其中加入30 μ L CD90.2微球体,随后在4 $^{\circ}$ C下孵育15分钟。向孵育的细胞悬浮液中加入5mL MACS缓冲液,离心5分钟,洗涤,然后在2mL MACS缓冲液中再悬浮。将悬浮的细胞置于自动MACS Pro Separator,并移除结合至CD90.2微球体的T细胞。将分离的去除T细胞的骨髓细胞(TCD-BM)用PBS洗涤,并在PBS中,以 1×10^8 细胞/mL的浓度再悬浮。使用辐照器,将正常的BDF1小鼠(10-12周大,雌性,20-23g)用850rad的 γ 放射线照射,然后将100 μ L通过以1:1的比率混合C57BL/6小鼠T细胞和TCD-BM获得的移植物注射入BDF1小鼠的尾静脉。在用本发明的化合物229处理的组中,将化合物229以对应于15%(v/v)的给药体积的量在Cremophor EL-乙醇混合物(1:1, v/v)中完全溶解,然后将化合物溶液在PBS中稀释,并从移植物注射那天起,每天以25mg/kg的剂量将稀释物向各小鼠腹膜内给药,持续10天。同时,将目前临床上使用的免疫抑制剂他克莫司向另一组的小鼠以与化合物229相同的量给药,以比较对急性移植物抗宿主病的抑制效果,并向媒介物对照组的小鼠以与处理组相同的方式给药200 μ L的Cremophor EL-乙醇-PBS(7.5:7.5:85, v/v/v)。然后,每天监测小鼠的存活,并用临床GVHD评分系统对于各自体重损失的降低、隆起的体态、活动减少、皮毛起皱和皮肤病损,每周评估两次GVHD的严重性。将各参数以3分(0-2)量表评分。

[0831] 结果是,媒介物对照组的小鼠从细胞移植后29天起开始死亡,并在第70天表现10%的存活率,用他克莫司治疗的组的小鼠从23天起开始死亡,并最终表现50%的存活率。同时,用本发明的化合物229处理的组在细胞移植后35天和46天出现小鼠死亡,但最后表现80%的小鼠存活率,这显著高于媒介物对照组的存活率。此外,与他克莫司治疗组相比,用化合物229的治疗组的存活率提高,但是该提高是不显著的(参见图4A)。在使用临床评分系统评价GVHD的严重性的结果中,在用他克莫司治疗的小鼠中,观察到皮毛起皱和严重的皮肤病损,而在用化合物229治疗的小鼠中,观察到轻微的GVHD的症状,包括轻微的体重损

失。通过用化合物229治疗使GVHD症状的这种减少是统计学显著的(参见图4B)。

[0832] 因此,本发明的化合物229对于小鼠模型中的GVHD具有抑制效果,并且化合物229的抑制效果优于常规的免疫抑制剂他克莫司的抑制效果。所以,本发明的化合物229可有效地用作新型免疫抑制剂。

[0833] 实验实施例5. 治疗多发性硬化的效果

[0834] 为了检查本发明的化合物229针对多发性硬化的治疗效果,如下述在鼠模型中诱导实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE),将小鼠用化合物229治疗,并评价化合物的效果。

[0835] 在诱导的第一天,将髓磷脂少突胶质细胞糖蛋白₃₅₋₅₅(MOG₃₅₋₅₅, Peptron) (200ug)、结核分枝杆菌(Difco, Cat No. 231141) (500μg)和完全弗氏(Freund's)佐剂(Sigma Aldrich, Cat No. F5506)互相混合,并浸渍5分钟。将0.1mL浸渍的肽皮下注射入各个C57BL/6小鼠(9周大,雌性,18±2g)的两侧,随后静脉内注射0.1mg百日咳毒素(Sigma Aldrich, Cat No. P2980) (200ng)。在2天时,静脉内注射相同量的百日咳毒素。检查是否从小鼠的注射的部位漏出浸渍液,并且从7天时,还通过目视观察来检查是否诱导了EAE。

[0836] 将化合物229和目前临床上用于治疗多发性硬化的芬戈莫德以对应于7.5% (v/v)的给药体积的量在Cremophor EL-乙醇混合物(1:1, v/v)中完全溶解,并将化合物溶液在PBS中稀释。实验开始后17天至37天(总共21次),每天向两组小鼠以分别25和50mg/kg的各剂量口服给药200μL的化合物229的稀释溶液,并向第三组小鼠以1mg/kg的剂量口服给药200μL的芬戈莫德的稀释溶液。在媒介物对照组中,以与治疗组相同的方式向各小鼠给药200μL的Cremophor EL-乙醇-PBS混合物(3.75:3.75:92.5, v/v/v)。从实验的7天时,基于目视观察,使用严重性指数系统(6分(0至5)量表)每天记录EAE的指数。基于以下标准评价多发性硬化的症状:

[0837] 0:无异常;

[0838] 1:无力的尾部(limp tail);

[0839] 2:无力的尾部和后肢无力;

[0840] 3:后肢瘫痪;

[0841] 4:后肢瘫痪和前肢无力;以及

[0842] 5:垂死。

[0843] 分析结果表明,在所有测试组中,从实验的7天时产生EAE,并且在实验的17天时严重性指数为 3 ± 1.25 ,表明诱导100%的急性反应。在媒介物对照组的小鼠的情况中,在实验的17天时,严重性指数为 3 ± 1 ,实验的39天(慢性反应期)时为 2.5 ± 0.75 ,并且在实验的101天时为 2.33 ± 0.25 。媒介物对照组表现复发-缓解模式以及在整个实验期间高严重性指数。在芬戈莫德治疗组中,在实验17天时,严重性指数为 3 ± 1 ,但是在实验39天时为 1.5 ± 0.5 ,表明与媒介物对照组相比,芬戈莫德治疗组表现减轻的急性反应和温和的慢性反应治疗效果。然而,从完成药物给药后,实验的39天起,芬戈莫德治疗组表现增加的严重性指数,并且在实验的101天时表现 2.7 ± 0.25 的高严重性指数。此外,在实验的17天时,在用25mg/kg的本发明的化合物229的治疗组中表现 3 ± 1 的严重性指数,这与媒介物对照组相似,但是在实验的39天时表现 1.25 ± 0.75 的严重性指数,并且在实验的55天时表现 1.17 ± 0.75 的严重性指数,这表明出现与媒介物对照组相比统计学显著的治疗效果。然而,在用25mg/kg化合物229治疗的组中,从实验的57天时严重性指数开始增加,并且在实验的101天时为 $1.83 \pm$

0.5, 这比媒介物对照组的低, 但是比实验的开始阶段稍高 (#, $p < 0.05$; ##, $p < 0.01$; 以及 ###, $p < 0.001$, 与媒介物对照组相比, 参见图5)。此外, 在实验的17天时, 在用50mg/kg的本发明的化合物229的治疗组中表现 3 ± 0.75 的严重性指数, 这与媒介物对照组的相似, 但是在实验的39天时表现 0.9 ± 0.25 的严重性指数, 并且在实验的101天时表现 0.63 ± 0.25 的严重性指数, 这表明出现与媒介物对照组相比统计学显著的治疗效果 (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; 以及 ***, $p < 0.001$, 与媒介物对照组相比, 参见图5)。在用50mg/kg化合物229治疗的组中, 在口服给药化合物后治疗效果持续维持, 并且在实验的49天时, 该效果与芬戈莫德治疗组的效果统计学上显著不同 (†, $p < 0.05$; ††, $p < 0.01$; 以及 †††, $p < 0.001$, 与芬戈莫德治疗组相比, 参见图5)。当将本发明的化合物229以25mg/kg的剂量使用时, 其在初始阶段表现优异的治疗效果, 但是对于复发的预防表现稍微不显著的效果, 并且当将本发明的化合物229以50mg/kg的剂量使用时, 其在初始阶段表现治疗效果, 并且对复发的预防表现连续的效果。因此, 本发明的化合物229具有针对鼠模型中的EAE的治疗效果, 并且与芬戈莫德 (其为针对多发性硬化的常规治疗剂) 相比, 其治疗效果较优, 并维持较长时间。所以, 本发明的化合物229是针对多发性硬化的新型口服治疗剂, 其可呈现更有吸引力的治疗方案。

[0844] 实验实施例6: 对淋巴恶性肿瘤细胞系的凋亡的作用

[0845] 为了评价化合物457针对淋巴恶性肿瘤细胞系的抑制效果, 进行以下实验。

[0846] 将各急性T细胞白血病细胞系Jurkat、Molt4和CCRF-CEM、急性B细胞白血病细胞系Raji以及多发性硬化细胞系KMS11、KMS12BM、KMS26、KMS28BM和IM9在包含10%FBS的RPMI培养基中以 1.5×10^5 细胞/mL的浓度再悬浮, 并将200 μ L各细胞悬浮液在平底96孔板(Costar)中悬浮。将急性NK细胞淋巴瘤细胞系NK-92MI在 α -MEM培养基(补充有20%FBS、1X MEM维生素溶液、50 μ M 2-巯基乙醇和1X青霉素/链霉素)中以 1.5×10^5 细胞/mL的浓度再悬浮, 并且将200 μ L细胞悬浮液在平底96孔板中培养。将各孔中的细胞用10 μ L各0.1、0.25、0.5、0.75和1 μ M的用RPMI培养基稀释的化合物处理, 随后将细胞在5%CO₂培养箱中于37℃下孵育24小时。在媒介物对照组中, 将细胞用10 μ L包含0.05%二甲基亚砜(DMSO, Sigma)的培养基处理。

[0847] 收集细胞, 然后在用膜联蛋白V-7-AAD染色后, 通过流式细胞器分析其凋亡。将孵育的细胞收集, 将其置于5mL FACS管(BD Falcon)中, 并用1mL荧光激活细胞分选(FACS)缓冲液(1%FBS和0.1%叠氮化钠在PBS中)洗涤。将细胞在0.1mL FACS缓冲液中再悬浮, 随后将细胞处理并用藻红蛋白-膜联蛋白V在室温下染色10分钟。染色10分钟后, 将细胞处理, 并用7-AAD在室温下染色5分钟。将染色的细胞在0.3mL FACS缓冲液中悬浮, 然后通过流式细胞器分析。如表12-15中所示, 本发明的化合物065、108、229和457表现诱导多种淋巴恶性肿瘤细胞凋亡的效果。所以, 本发明的化合物065、108、229和457可用作新型抗淋巴恶性肿瘤药物。

[0848] 表13.

[0849]

细胞系	肿瘤来源	化合物 065 的给药剂量 (平均值 $\pm$ SD, $\mu\text{mol/L}$)
		半数致死量(凋亡)
Jurkat	急性 T 细胞白血病	0.79 ± 0.01
Molt4	急性 T 细胞白血病	1.58 ± 0.03
IM9	多发性骨髓瘤	1.21 ± 0.01

[0850] 表14.

[0851]

细胞系	肿瘤来源	化合物 108 的给药剂量 (平均值 $\pm$ SD, $\mu\text{mol/L}$)
		半数致死量(凋亡)
Jurkat	急性 T 细胞白血病	0.78 ± 0.04
Molt4	急性 T 细胞白血病	1.38 ± 0.04
IM9	多发性骨髓瘤	1.41 ± 0.03

[0852] 表15.

[0853]

细胞系	肿瘤来源	化合物 229 的给药剂量 (平均值 $\pm$ SD, $\mu\text{mol/L}$)
		半数致死量(凋亡)
Jurkat	急性 T 细胞白血病	0.62 ± 0.00
Molt4	急性 T 细胞白血病	1.30 ± 0.05
KMS11	多发性骨髓瘤	0.35 ± 0.09
KMS12BM	多发性骨髓瘤	0.94 ± 0.09
KMS20	多发性骨髓瘤	0.74 ± 0.05
KMS26	多发性骨髓瘤	1.31 ± 0.35

[0854]

KMS28BM	多发性骨髓瘤	0.49 ± 0.08
IM9	多发性骨髓瘤	0.90 ± 0.03

[0855] 表16.

[0856]

细胞系	肿瘤来源	化合物 457 的给药剂量 (平均值 $\pm$ SD, $\mu\text{mol/L}$)
		半数致死量(凋亡)
Jurkat	急性 T 细胞白血病	0.20 ± 0.01
Molt4	急性 T 细胞白血病	0.25 ± 0.11
CCRF-CEM	急性 T 细胞白血病	0.17 ± 0.00
Raji	急性 B 细胞白血病	0.68 ± 0.05
KMS11	多发性骨髓瘤	0.63 ± 0.31
KMS12BM	多发性骨髓瘤	0.22 ± 0.02
KMS26	多发性骨髓瘤	0.55 ± 0.12
KMS28BM	多发性骨髓瘤	0.47 ± 0.06
IM9	多发性骨髓瘤	0.38 ± 0.01
NK-92MI	急性 NK 细胞淋巴瘤	0.46 ± 0.01

[0857] 实验实施例7. 毒性测试

[0858] 以10mg/kg、50mg/kg和100mg/kg的各个剂量,向ICR雄性小鼠口服给药一次化合物229在0.5%甲基纤维素溶液中的悬浮液,并研究小鼠的存活率和体重,持续7天。在这样的给药后,监测小鼠是否死亡、临床条件和体重变化。进行血液学测试和血液的生物化学检查。进行尸体解剖后,用肉眼观察腹部和胸腔中的器官是否异常。

[0859] 结果表明没有任何明显的临床条件或死亡的小鼠。在体重变化、血液学测试、血液的生物化学检查和尸体解剖的检查中,也没有观察到任何由于毒性的变化。如此可见,直至100mg/kg的剂量,化合物229未表现任何由于毒性的变化。

[0860] 因此,化合物229具有100mg/kg的半数致死量(LD50),所以它是安全的。

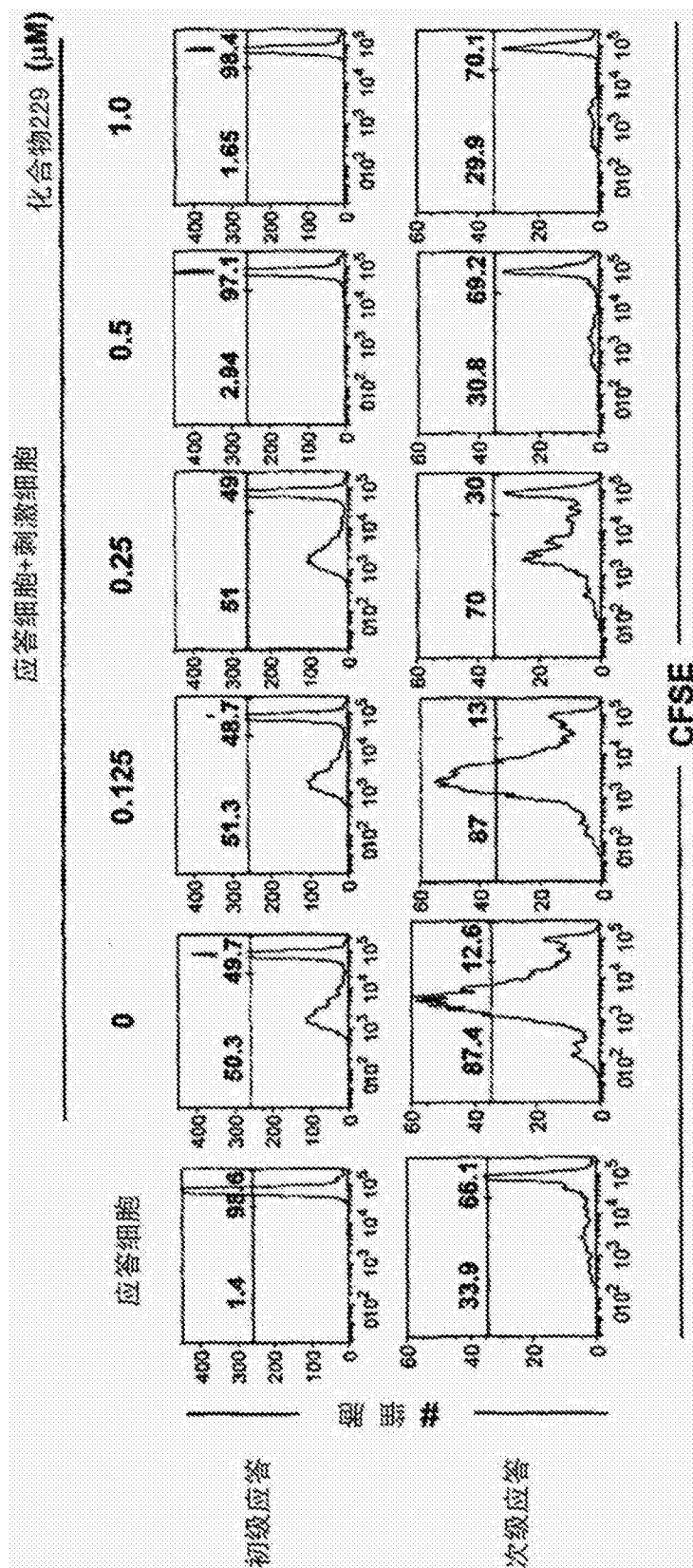


图1

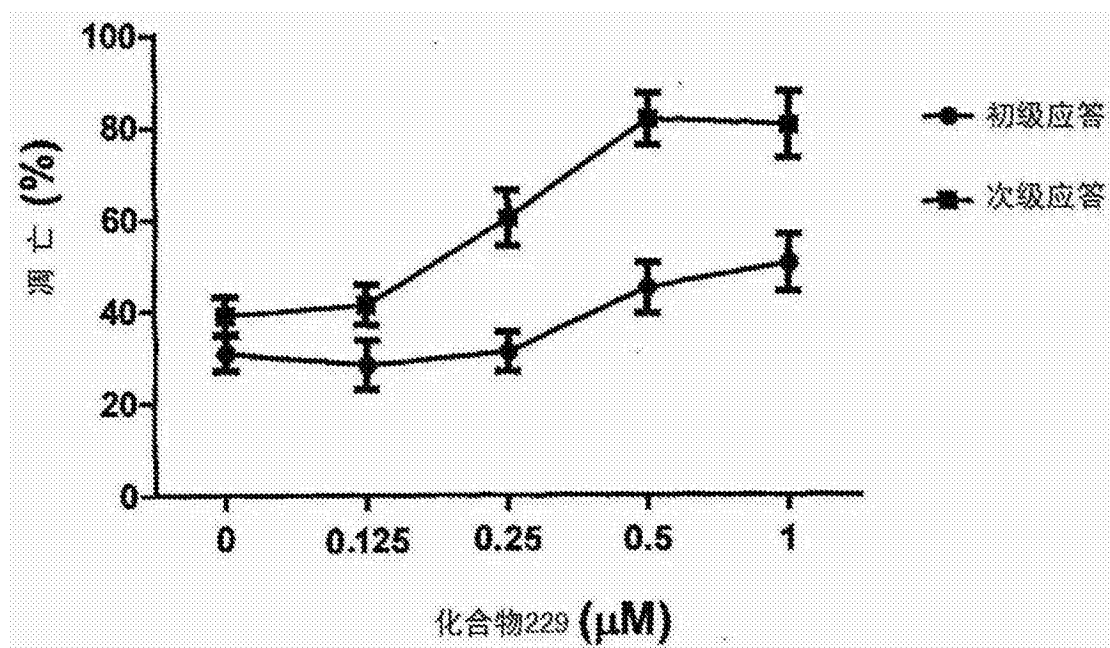


图2

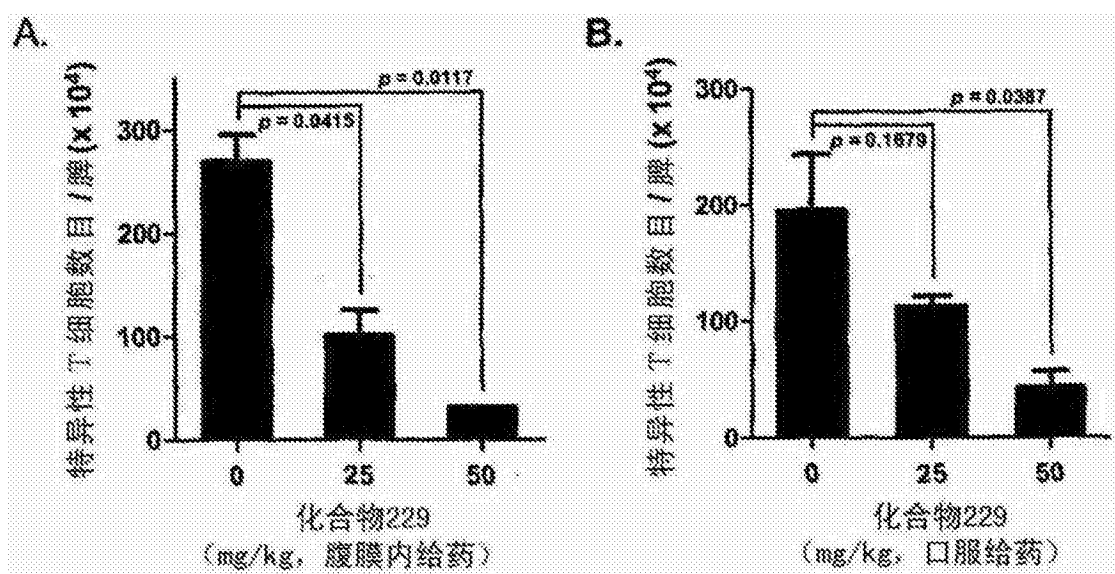


图3

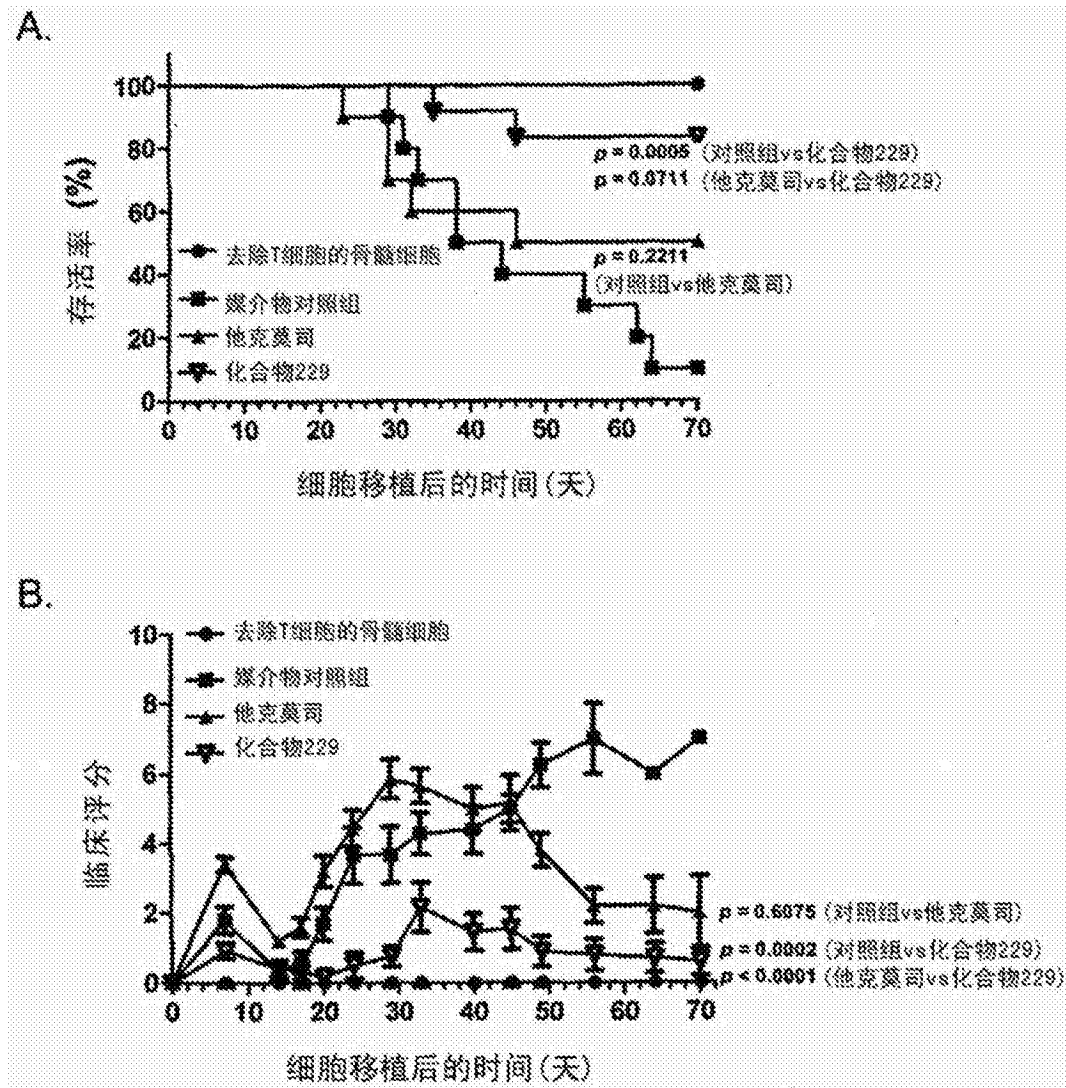


图4

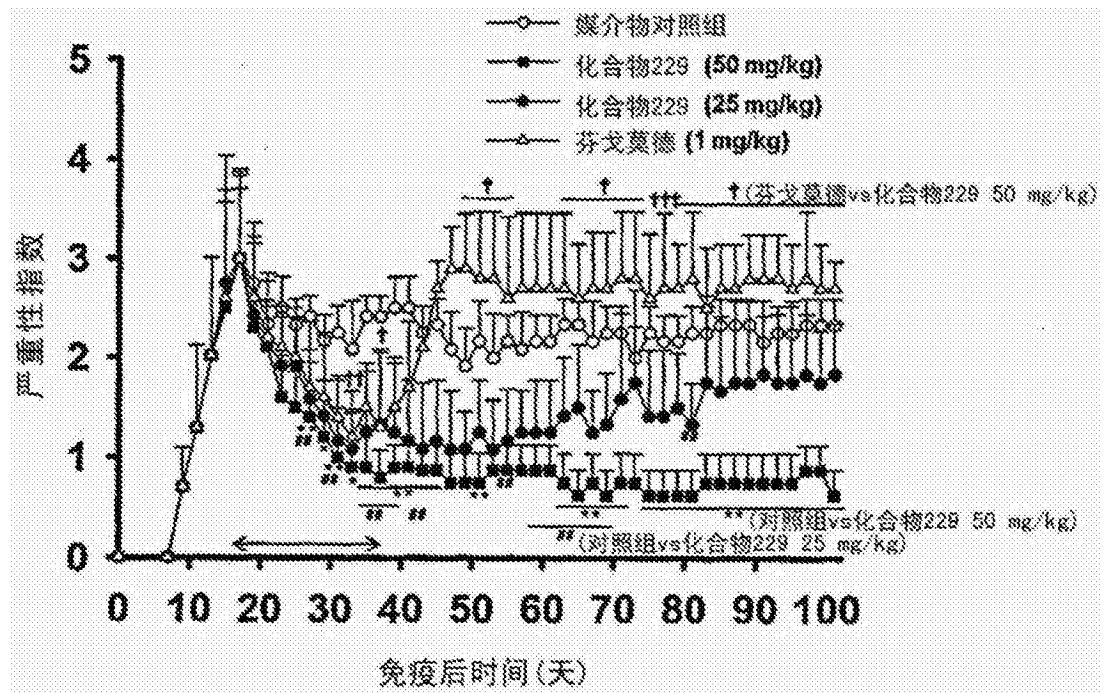


图5