

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03816177. X

[51] Int. Cl.

C07D 239/36 (2006.01)

C07D 239/70 (2006.01)

A61K 31/513 (2006.01)

A61K 31/517 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2009 年 5 月 27 日

[11] 授权公告号 CN 100491358C

[22] 申请日 2003.5.2 [21] 申请号 03816177. X

[30] 优先权

[32] 2002. 5. 9 [33] US [31] 60/379,658

[86] 国际申请 PCT/US2003/013627 2003.5.2

[87] 国际公布 WO2003/094839 英 2003.11.20

[85] 进入国家阶段日期 2005.1.7

[73] 专利权人 赛特凯恩蒂克公司

地址 美国加利福尼亚

共同专利权人 史克比彻姆公司

[72] 发明人 周汉杰

小戴维·J.·C.·摩根斯

史蒂文·戴维·奈特

肯尼思·A.·纽兰德

达什扬特·达哈纳克

尼古拉斯·D.·亚当斯

古斯塔夫·贝格内斯

[56] 参考文献

EP0373891A 1990.6.20

JP6-49070A 1994.2.22

JP62-135473A 1987.6.18

US4649198A 1987.3.10

审查员 赵步真

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 过晓东

权利要求书 6 页 说明书 136 页

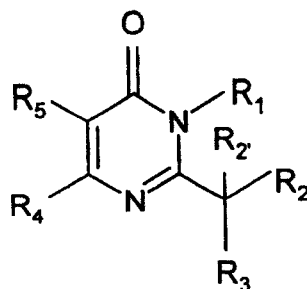
[54] 发明名称

嘧啶酮类化合物、组合物及方法

[57] 摘要

本发明公开了用于通过调节 KSP 的活性来治疗细胞增殖性疾病和病症的化合物。

1、具有以下结构的化合物或其药物学上可接受的盐：



其中：

R_1 选自于任选取代的芳基- C_{1-4} 烷基；

R_2 和 R_2 独立地选自于氢和任选取代的 C_{1-4} 烷基；

R_4 和 R_5 独立地选自于氢、任选取代的 C_{1-4} 烷基、任选取代的 C_{1-4} 烷基-O-、卤素、氰基、 $-CONR^bR^c$ 、氨基羰基、任选取代的芳基、和任选取代的杂芳基；或者 R_4 和 R_5 与它们所连接的碳原子一起形成 5、6 或 7 元脂族碳环；

R_3 为 $-N(R_6)(COR_7)$ ；

R_7 选自于任选取代的 C_{1-4} 烷基、任选取代的芳基、和任选取代的杂芳基；

R_6 为任选取代的 C_{1-4} 烷基；

其中所述任选取代的烷基、芳基、和杂芳基是指未取代的或者其中一个或多个氢原子被独立地选自以下组中的取代基替代的烷基、芳基、和杂芳基： $-R^a$ 、 $-OR^b$ 、 $-O(C_1-C_2 \text{ 烷基})O-$ (作为芳基取代基)、 $-SR^b$ 、胍、其中一个或者多个胍氢被 C_{1-4} 烷基替代的胍、 $-NR^bR^c$ 、卤素、氰基、硝基、 $-COR^b$ 、 $-CO_2R^b$ 、 $-CONR^bR^c$ 、 $-OCOR^b$ 、 $-OCO_2R^b$ 、 $-OCONR^bR^c$ 、 $-NR^cCOR^b$ 、 $-NR^cCO_2R^b$ 、 $-NR^cCONR^bR^c$ 、 $-CO_2R^b$ 、 $-CONR^bR^c$ 、 $-NR^cCOR^b$ 、 $-SOR^a$ 、 $-SO_2R^a$ 、 $-SO_2NR^bR^c$ 和 $-NR^cSO_2R^a$ ，

其中 R^a 是任选取代的 C_1-C_6 烷基、芳基、杂芳基、芳基- C_1-C_4 烷基-或杂芳基- C_1-C_4 烷基，

R^b 为 H 或任选取代的 C_1 - C_6 烷基、芳基、杂芳基、芳基- C_1 - C_4 烷基-或杂芳基- C_1 - C_4 烷基-基团;

R^c 为氢或 C_1 - C_4 烷基;

其中各任选取代的 R^a 基团和 R^b 基团独立地是未被取代的或被一个或多个独立地选自以下组中的取代基取代: C_1 - C_4 烷基、芳基、杂芳基、芳基- C_1 - C_4 烷基-、杂芳基- C_1 - C_4 烷基-、 C_1 - C_4 卤代烷基、- OC_1 - C_4 烷基、- OC_1 - C_4 烷基苯基、- C_1 - C_4 烷基-OH、- OC_1 - C_4 卤代烷基、卤素、-OH、- NH_2 、- C_1 - C_4 烷基- NH_2 、- $N(C_1$ - C_4 烷基)(C_1 - C_4 烷基)、- $NH(C_1$ - C_4 烷基)、- $N(C_1$ - C_4 烷基)(C_1 - C_4 烷基苯基)、- $NH(C_1$ - C_4 烷基苯基)、氰基、硝基、氧代(作为杂芳基的取代基)、- CO_2H 、- $C(O)OC_1$ - C_4 烷基、- $CON(C_1$ - C_4 烷基)(C_1 - C_4 烷基)、- $CONH(C_1$ - C_4 烷基)、- $CONH_2$ 、- $NHC(O)(C_1$ - C_4 烷基)、- $NHC(O)($ 苯基)、- $N(C_1$ - C_4 烷基) $C(O)(C_1$ - C_4 烷基)、- $N(C_1$ - C_4 烷基) $C(O)($ 苯基)、- $C(O)C_1$ - C_4 烷基、- $C(O)C_1$ - C_4 苯基、- $C(O)C_1$ - C_4 卤代烷基、- $OC(O)C_1$ - C_4 烷基、- $SO_2(C_1$ - C_4 烷基)、- $SO_2($ 苯基)、- $SO_2(C_1$ - C_4 卤代烷基)、- SO_2NH_2 、- $SO_2NH(C_1$ - C_4 烷基)、- $SO_2NH($ 苯基)、- $NHSO_2(C_1$ - C_4 烷基)、- $NHSO_2($ 苯基)和- $NHSO_2(C_1$ - C_4 卤代烷基);

所述芳基是 5-6 元芳香环或 9-10 元二环芳香环, 所述杂芳基是包含 1-4 个选自 O、N 和 S 的杂原子的 5-6 元杂芳香环或 9-10 元二环杂芳香环, 且所述烷基是线性或分枝的饱和脂族烃结构。

2、如权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_1 为任选取代的芳基- C_1 - C_4 烷基, 该任选取代的芳基为未取代的或者被卤素、羟基、氰基或 C_{1-6} 烷氧基取代的。

3、如权利要求 2 所述的化合物, 其中 R_1 选自于任选取代的苯基- C_1 - C_4 烷基和萘基甲基, 其中该任选取代的苯基为未取代的或者被卤素、羟基、氰基或 C_{1-6} 烷氧基取代的。

4、如权利要求3所述的化合物，其中 R_1 是任选取代的苯基- C_1 - C_4 烷基，其中该任选取代的苯基为未取代的或者被卤素、羟基、氰基或 C_1 - C_6 烷氧基取代的。

5、如权利要求4所述的化合物，其中 R_1 是苄基、苄基、氯苄基、甲基苄基、甲氧基苄基、氰基苄基、羟基苄基、二氯苄基、或二甲氧基苄基。

6、如权利要求1所述的化合物，其中 R_2 是 C_1 - C_4 烷基，而 R_2 是氢或 C_1 - C_4 烷基。

7、如权利要求6所述的化合物，其中 R_2 是氢，而 R_2 是 C_1 - C_4 烷基。

8、如权利要求7所述的化合物，其中 R_2 选自于甲基、乙基、丙基、和丁基，而 R_2 是氢。

9、如权利要求8所述的化合物，其中 R_2 是氢，而 R_2 是乙基或丙基。

10、如权利要求9所述的化合物，其中 R_2 为异丙基。

11、如权利要求1所述的化合物，其中如果 R_2 或 R_2 是氢，则另一个不是氢。

12、如权利要求1所述的化合物，其中 R_4 是氢； C_1 - C_4 烷氧基；氰基； $-\text{CONR}^b\text{R}^c$ ，其中 R^b 和 R^c 如权利要求1中所定义； C_1 - C_4 烷基；被以下一个或者多个取代基取代的 C_1 - C_4 烷基：卤素、 C_1 - C_4 烷氧基、或羟基；苯基；或

被以下一个或者多个取代基取代的苯基：卤素、C₁₋₄烷氧基、或羟基。

13、如权利要求 12 所述的化合物，其中 R₄ 是氢、氰基、或被以下一个或者多个取代基取代的甲基：卤素、C₁₋₄烷氧基、或羟基。

14、如权利要求 1 所述的化合物，其中 R₅ 是氢；氰基；C₁₋₄烷基；卤素；苄基；胡椒基；萘基；呋喃基；噻吩基；吡啶基；苯基；苯并间二氧杂环戊烯基；或被一个或者多个以下取代基取代的苯基：氨基、二(C₁₋₄烷基)氨基、酰基氨基、氰基、卤素、C₁₋₄低级烷基、C₁₋₄烷氧基、C₁₋₄烷基硫烷基、羟基或硫基。

15、如权利要求 14 所述的化合物，其中 R₅ 是甲基、乙基、溴、氰基、苯基、卤代苯基、C₁₋₄烷基苯基、三氟甲基苯基、C₁₋₄烷氧基苯基、二(C₁₋₄烷氧基)苯基、多卤代苯基、卤代 C₁₋₄烷基苯基、呋喃基、噻吩基、C₁₋₄烷基硫烷基苯基、苯硫基、氨基苯基、氰基苯基、二(C₁₋₄烷基)氨基苯基、二(C₁₋₄烷基)苯基、乙酰基氨基苯基、氨基取代的 C₁₋₄烷基苯基、羟基取代的 C₁₋₄烷基苯基、胡椒基、萘基、氨甲酰基、C₁₋₄烷基氨甲酰基、苄基氨甲酰基、苯基氨甲酰基、甲氧基甲基氨甲酰基、甲氧基乙基氨甲酰基、羟基甲基氨甲酰基、羟基乙基氨甲酰基、吡啶基、草酰基、吗啉基、氰基、羧基、和吗啉基羰基。

16、如权利要求 15 所述的化合物，其中 R₅ 是氢、甲基或氰基。

17、如权利要求 1 所述的化合物，其中 R₄ 和 R₅ 与它们所连接的碳原子一起形成 5、6 或 7 元脂族碳环。

18、如权利要求 1 所述的化合物，其中 R₆ 是 R₁₆-C₁₋₄亚烷基，而 R₁₆

选自于 C₁₋₄ 烷氧基、氨基、C₁₋₄ 烷基氨基、二(C₁₋₄ 烷基)氨基、羧基、羟基、和 N-杂环基。

19、如权利要求 1 所述的化合物，其中 R₆ 选自于甲基、乙基、丙基、丁基、羧基乙基、羧基甲基、甲氧基乙基、羟基乙基、羟基丙基、二甲基氨基乙基、二甲基氨基丙基、二乙基氨基乙基、二乙基氨基丙基、氨基丙基、甲基氨基丙基、2,2 二甲基-3-(二甲基氨基)丙基、1-环己基-4-(二乙基氨基)丁基、氨基乙基、氨基丁基、氨基戊基、氨基己基、氨基乙氧基乙基、异丙基氨基丙基、二异丙基氨基乙基、1-甲基-4-(二乙基氨基)丁基、(t-Boc)氨基丙基、苄基、(氧代吡咯烷基)丙基、(甲氧基羰基)乙基、苄基哌啶基、吡啶基乙基、吡啶基甲基、吗啉基乙基 吗啉基丙基、哌啶基、氮杂环丁烷基甲基、氮杂环丁烷基乙基、氮杂环丁烷基丙基、吡咯烷基甲基、吡咯烷基乙基、吡咯烷基丙基、哌啶基甲基、哌啶基乙基、咪唑基丙基、咪唑基乙基、(乙基吡咯烷基)甲基、(甲基吡咯烷基)乙基、(甲基哌啶基)丙基、(甲基哌啶基)丙基、胍基-乙基、胍基-丙基、呋喃基甲基和吡啶基乙基。

20、如权利要求 1 所述的化合物，其中 R₇ 选自于乙基、丙基、氯丙基、庚基、丁基、辛基、十三烷基、(乙氧基羰基)乙基、二甲基氨基乙基、二甲基氨基甲基、苯基、萘基、卤代苯基、多卤代苯基、氰基苯基、羟基甲基苯基、卤代(三氟甲基)苯基、氯苯氧基甲基、甲氧基苯基、羧基苯基、乙基苯基、甲苯基、羟基甲基苯基、乙基苯基、联苯基、亚甲二氧基苯基、甲基磺酰基苯基、甲氧基氯苯基、氯萘基、乙酰基苯基、甲基卤代苯基、三氟甲基苯基、三氟甲氧基苯基、丁基苯基、戊基苯基、甲基硝基苯基、苯氧基甲基、二甲氧基苯基、苯基乙烯基、硝基氯苯基、硝基苯基、二硝基苯基、二(三氟甲基)苯基、苄基氧基甲基、苄基、呋喃基、苯并呋喃基、吡啶基、吡啶基、吡啶基、甲基吡啶基、甲基吡啶基、(3-氨基酰基)吡啶

基-[烟酰胺]、3-氨甲酰基-6-甲基吡啶基、喹啉基、皮考啉基、吡啶基、吡嗪基、甲基吡嗪基、吗啉子基甲基、甲硫基甲基、甲氧基甲基、咪唑基、异噁唑基、甲基-异噁唑基、苯并噻二唑基、亚甲二氧基苯基、噻吩基、甲基噻吩基、甲基-烟酰胺基、甲基-吡嗪基、苯并间二氧杂环戊烯基、以及甲基-苯硫基。

21、如权利要求 20 所述的化合物，其中 R_7 是甲基苯基、卤代苯基、卤代甲基苯基、羟基甲基苯基、亚甲二氧基苯基、甲酰基苯基或氰基苯基。

22、如权利要求 1—21 之一所述的化合物，其中 R_2 和 R_2 连接至具有 R 构型的立体中心上，或其药物学上可接受的盐。

23、如权利要求 1—21 之一所述的化合物，其是盐酸盐、磷酸盐或草酸盐。

24、一种组合物，其包含药用赋形剂以及如权利要求 1—23 之一所述的化合物或其盐。

25、如权利要求 1—23 之一所述的化合物或其药物学上可接受的盐在制备用于抑制 KSP 驱动蛋白活性的药物中的应用。

26、如权利要求 1—23 之一所述的化合物或其药物学上可接受的盐在制备用于治疗细胞增殖性疾病的药物中的应用。

27、如权利要求 26 所述的化合物的应用，其是制备用于治疗癌症的药物。

嘧啶酮类化合物、组合物及方法

相关专利申请的交叉参考

本发明要求于 2002 年 5 月 9 日递交的第 60/379,658 号美国临时专利申请权益，该申请的内容在此并入作为参考。

技术领域

本发明涉及作为有丝分裂驱动蛋白 KSP 之抑制剂的化合物，其可用于治疗细胞增殖性疾病，如癌症、增生、再狭窄、心肥大、免疫疾病、真菌性疾病以及炎症。

发明背景

用于治疗癌症的治疗剂包括作用在微管上的紫杉烷和长春花生物碱。微管是有丝分裂纺锤体的初级结构成分。有丝分裂纺锤体负责基因组的复制模板向细胞分裂所产生的两个子细胞之一中的分布。假设这些药物对有丝分裂纺锤体的破坏导致对癌细胞分裂的抑制，并诱发癌细胞死亡。然而，微管形成其他类型的细胞结构，包括用于神经过程的细胞内输送的轨道。因为这些药物不会特异性地靶向有丝分裂纺锤体，所以也产生一些副作用，限制了它们的应用。

提高癌症治疗药物的特异性是相当令人感兴趣的，这是因为如果能够降低与给药这些药物相关的副作用，可实现更高的治疗益处。传统上，癌症治疗中的巨大提高是与鉴别出通过新机理作用的治疗剂有关的。这其中的例子不仅包括紫杉烷，而且还包括作为拓扑异构酶 I 抑制剂的喜树碱类药物。由这两类药物来看，有丝分裂驱动蛋白对于新的抗癌药物是非常有

吸引力的。

有丝分裂驱动蛋白是有丝分裂纺锤体形成及功能所必需的酶,但通常并不是其他微管结构的一部分,例如在神经过程中。有丝分裂驱动蛋白在有丝分裂的所有阶段都起到基本的作用。这些酶是将 ATP 水解所释放的能量转化为驱动细胞货位沿微管方向移动的机械力的“分子发动机”。足以完成该任务的催化域是一个约 340 个氨基酸的紧密结构。在有丝分裂期间,驱动蛋白将微管组装成有丝分裂纺锤体的双极结构。驱动蛋白介导染色体沿纺锤体微管的移动,以及有丝分裂纺锤体中与有丝分裂特殊阶段相关的结构变化。有丝分裂驱动蛋白功能的实验干扰导致有丝分裂纺锤体的畸形或者功能障碍,经常使细胞周期休止和细胞死亡。

KSP 是已鉴别出的有丝分裂驱动蛋白中的一种。KSP 属于进化保守型驱动蛋白亚族的正端方向 (plus end-directed) 的微管运动原,其组装成由反平行同型二聚体组成的双极同型四聚体。在有丝分裂期间,KSP 与有丝分裂纺锤体的微管结合。在人细胞中微量注射针对 KSP 的抗体,可在细胞分裂的前中期期间防止纺锤极分开,产生单极纺锤体,而且导致有丝分裂停止,并诱发程序细胞死亡。KSP 以及相关的驱动蛋白在其他非人类的生物中使反平行的微管成束,并使它们相互之间滑动,由此迫使两个纺锤极分开。KSP 也可介导分裂后期 B 纺锤体的拉长以及纺锤极处微管的聚焦。

已有人描述了人 KSP (也称为 HsEg5) [Blangy 等人, Cell, 83:1159-69 (1995); Whitehead 等人, Arthritis Rheum., 39: 1635-42 (1996); Galgio 等人, J. Cell Biol., 135: 339-414 (1996); Blangy 等人, J. Biol. Chem., 272: 19418-24 (1997); Blangy 等人, Cell Motil Cytoskeleton, 40: 174-82 (1998); Whitehead 和 Rattner, J. Cell Sci., 111: 2551-61 (1998); Kaiser 等人, JBC 274: 18925-31 (1999); GenBank accession numbers: X85137, NM004523 和 U37426], 以及 KSP 基因的片段 (TRIP5) [Lee 等人, Mol Endocrinol., 9:

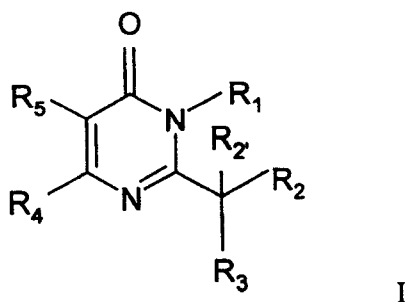
243-54 (1995); GenBank accession number L40372]。已有人描述了非洲爪蟾属 KSP 同系物 (Eg5)、以及果蝇属 KLP61 F/KRP1 30。

包括 KSP 的有丝分裂驱动蛋白是发现和研制新型有丝分裂化学治疗剂的有用目标。因此, 本发明的目的是提供用于抑制有丝分裂驱动蛋白 KSP 的化合物、组合物及方法。

发明内容

根据如上所述的目的, 本发明提供可用于治疗细胞增殖性疾病的化合物。该化合物是 KSP 抑制剂、特别是人 KSP 抑制剂。本发明还提供包含所述化合物的组合物、以及使用此等化合物或组合物的方法, 它们可用于治疗细胞增殖性疾病。

在一个方面中, 本发明涉及用于治疗细胞增殖性疾病、以及通过抑制 KSP 的活性可治疗的疾病的方法。该方法使用式 I 所示的化合物:



其中:

R₁ 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳基、以及任选取代的杂芳烷基;

R₂ 和 R₂' 独立地选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳基、以及任选取代的杂芳烷基; 或者 R₂ 和 R₂' 一起形成任选取代的 3-7 元环;

R_3 选自任选取代的咪唑基、任选取代的咪唑啉基、 $-NHR_6$ 、 $-N(R_6)(COR_7)$ 、 $-N(R_6)(SO_2R_{7a})$ 、以及 $-N(R_6)(CH_2R_{7b})$;

R_4 和 R_5 独立地选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的烷氧基、卤素、羟基、硝基、氰基、二烷基氨基、烷基磺酰基、烷基氨磺酰基、烷基硫烷基 (alkylsulfanyl)、羧基烷基、酰胺基、氨基羰基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、和任选取代的杂芳基; 或者 R_4 和 R_5 与它们所连接的碳原子一起形成任选取代的 5、6 或 7 元脂族碳环;

R_6 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、以及任选取代的杂环基;

R_7 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳烷基、 R_8O -以及 $R_{14}-NH$;

R_{7a} 选自于任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳烷基、以及 $R_{14}-NH$;

R_{7b} 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳基、以及任选取代的杂芳烷基;

R_8 选自于任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳基、以及任选取代的杂芳烷基;

R_{14} 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳基、以及任选取代的杂芳烷基;

(式 I 包括单个立体异构体以及立体异构体的混合物);

式 I 化合物的药物学上可接受的盐;

式 I 化合物的药物学上可接受的溶剂化物; 或者

式 I 化合物的药物学上可接受的盐的药物学上可接受的溶剂化物。

在一个方面中, 本发明涉及用于治疗细胞增殖性疾病或者其他可通过抑制 KSP 来治疗的病症的方法, 该方法包括给药治疗有效量的式 I 化合

物、式 I 化合物的药学上可接受的盐、式 I 化合物的药学上可接受的溶剂化物、或者式 I 化合物的药学上可接受的盐的药学上可接受的溶剂化物。此等疾病和病症包括癌症、增生、再狭窄、心肥大、免疫疾病、真菌性疾病和炎症。

在另一个方面中，本发明涉及用于抑制 KSP 驱动蛋白的化合物。该化合物具有如上所示的结构，或者是式 I 化合物的药学上可接受的盐、式 I 化合物的药学上可接受的溶剂化物、或者式 I 化合物的药学上可接受的盐的药学上可接受的溶剂化物。本发明还涉及药物组合物，其包含治疗有效量的式 I 化合物、式 I 化合物的药学上可接受的盐、式 I 化合物的药学上可接受的溶剂化物、或者式 I 化合物的药学上可接受的盐的药学上可接受的溶剂化物，以及一种或多种药物赋形剂。在另一个方面中，该组合物还包括除本发明化合物之外的化学治疗剂。

另外，本发明还提供用于筛选结合 KSP 驱动蛋白的化合物的方法，例如替换本发明化合物的结合或者与本发明的化合物的结合进行竞争的化合物。该方法包括混合经标记的本发明化合物、KSP 驱动蛋白、以及至少一种候选药物，然后测定候选生物活性药物对 KSP 驱动蛋白的结合。

在又一个方面中，本发明提供用于筛选 KSP 驱动蛋白活性调节剂的方法。该方法包括混合本发明的化合物、KSP 驱动蛋白、以及至少一种候选药物，然后测定候选生物活性药物对 KSP 驱动蛋白活性的作用。

具体实施方式

定义

在用于本发明的说明书中时，以下单词和缩写通常具有如下所定义的含义，除非它们所使用的环境表明具有其他含义。以下缩写及术语的含意如下所示：

Ac	=	乙酰基
BNB	=	4-溴甲基-3-硝基苯甲酸
Boc	=	t-丁氧基羰基
Bu	=	丁基
c-	=	环
CBZ	=	苄氧基羰基
DBU	=	二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯
DCM	=	二氯甲烷 CH_2Cl_2
DCE	=	二氯乙烯
DEAD	=	二乙基偶氮二羧酸酯
DIC	=	二异丙基碳化二亚胺
DIEA	=	N, N-二异丙基乙基胺
DMAP	=	4-N, N-二甲基氨基吡啶
DMF	=	N, N-二甲基甲酰胺
DMSO	=	二甲基亚砷
DVB	=	1, 4-二乙烯基苯
EEDQ	=	2-乙氧基-1-乙氧基羰基-1, 2-二氢喹啉
Et	=	乙基
ETOH	=	乙醇
Fmoc	=	9-芴基甲氧基羰基
GC	=	气相色谱
HATU	=	O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-1, 1, 3, 3-四 甲基六氟磷酸尿
HMDS	=	六甲基二硅氮烷
HOAc	=	乙酸
HOBt	=	羟基苯并三唑
Me	=	甲基
mesyl	=	甲磺酰基
MTBE	=	甲基叔丁基醚
NMO	=	N-甲基氧化吗啉
PEG	==	聚乙二醇
Ph	=	苯基
PhoH	=	苯酚
PfP	=	五氟苯酚

PPTS	=	对甲苯磺酸吡啶盐
Py	=	吡啶
PyBroP	=	溴-三吡咯烷六氟磷酸尿
rt	=	室温
Sat'd	=	饱和
s-	=	二级
t-	=	三级
TBDMS	=	叔丁基二甲基甲硅烷基
TES	=	三乙基硅烷
TFA	=	三氟乙酸
THF	=	四氢呋喃
TMOF	=	原甲酸三甲基酯
TMS	=	三甲基甲硅烷基
tosyl	=	对甲苯磺酰基
TrT	=	三苯基甲基

烷基包括线性、分枝或者环状脂族烃结构以及它们的组合，其结构可以是饱和或不饱和的。低级烷基是指具有 1—5 个、优选 1—4 个碳原子的烷基。低级烷基的例子包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基和叔丁基等。优选的烷基是 C₂₀ 或者更低级的烷基。更优选的烷基是 C₁₃ 或者更低级的烷基。环烷基是烷基以下的概念，并包括 3—13 个碳原子的环状脂族烃基。环烷基的例子包括环丙基、环丁基、环戊基、降冰片基、金刚烷基等。环烷基烷基是烷基以下的另一个概念，是指通过非环烷基连接在母体结构上的环烷基。环烷基烷基的例子包括环己基甲基、环丙基甲基、环己基丙基等。在本发明中，烷基包括链烷基、链烯基和链炔基，其包括乙烯基、烯丙基、异戊二烯基等。当烷基具有具体数目的碳原子时，也包括具有相同数目碳原子的所有几何异构体；因此，例如“丁基”就包括正丁基、仲丁基、异丁基、和叔丁基；“丙基”包括正丙基、异丙基和环丙基。

亚烷基、亚烯基和亚炔基是指与烷基、烯基和炔基相同但有两个连接

点的基团。亚烷基的例子包括亚乙基 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、1,3-亚丙基 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、二甲基-1,3-亚丙基 ($-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2-$)、以及环己基-1,3-亚丙基 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_{13})-$)。同样,亚烯基的例子包括亚乙烯基 ($-\text{CH}=\text{CH}-$)、亚丙烯基 ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$)、和环己基亚丙烯基 ($-\text{CH}=\text{CHCH}(\text{C}_6\text{H}_{13})-$)。亚炔基的例子包括亚乙炔基 ($-\text{C}\equiv\text{C}-$) 和亚丙炔基 ($-\text{CH}\equiv\text{CH}-\text{CH}_2-$)。

环烯基是烷基的下属概念,并包括具有 3—13 该碳原子的不饱和环状烃基。环烯基的例子包括环己烯基、环戊烯基等。

烷氧基是指通过氧原子连接在母体结构上并具有 1—8 个碳原子的直链、支链、或者环状构型以及它们的组合的烷基(即、烷基—O—基团)。其例子包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、环丙基氧基、环己基氧基等。**低级烷氧基**是指包含 1—4 个碳原子的烷氧基基团。

酰基是指通过羰基官能团连接在母体结构上并具有 1—8 个碳原子的直链、支链、或者环状构型以及它们的组合基团。该基团可以是饱和、不饱和及芳香性的。酰基中的一个或者多个碳原子可被氮(如酰胺基)、氧或硫置换,只要与母体结构的连接点是羰基即可。其例子包括乙酰基、苯甲酰基、丙酰基、异丁酰基、草酰基、叔丁氧基羰基、苄基氧基羰基、吗啉基羰基等。**低级酰基**是指包含 1—4 个碳原子的酰基。

氨基是指基团 $-\text{NH}_2$ 。术语“取代氨基”是指基团 $-\text{NHR}$ 或 $-\text{NRR}$, 其中各 R 独立的选自于以下组中:任选取代的烷基、任选取代的烷氧基、任选取代的氨基羰基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂环基、酰基、烷氧基羰基、烷硫基、亚硫酰基和磺酰基,如二乙基氨基、甲基磺酰基氨基、呋喃基氧基—磺酰氨基。

氨基羰基是指基团 $-\text{NR}^c\text{COR}^b$ 、 $-\text{NR}^c\text{COZR}^a$ 或 $-\text{NR}^c\text{CONR}^b\text{R}^c$, 其中:

R^a 是任选取代的 C_1 — C_6 烷基、芳基、杂芳基、芳基 C_1 — C_4 烷基、或者杂芳基 C_1 — C_4 烷基;

R^b 是 H 或任选取代的 C_1-C_6 烷基、芳基、杂芳基、芳基 C_1-C_4 烷基、或者杂芳基 C_1-C_4 烷基；以及

R^c 是氢或 C_1-C_4 烷基；

而且各任选取代的 R^b 基团独立地是未取代的或者被一个或者多个选自于以下组中的取代基取代： C_1-C_4 烷基、芳基、杂芳基、芳基- C_1-C_4 烷基、杂芳基- C_1-C_4 烷基、- C_1-C_4 卤代烷基、- OC_1-C_4 烷基、- OC_1-C_4 烷基苯基、- C_1-C_4 烷基-OH、- OC_1-C_4 卤代烷基、卤素、-OH、- NH_2 、- C_1-C_4 烷基- NH_2 、-N (C_1-C_4 烷基) (C_1-C_4 烷基)、-NH (C_1-C_4 烷基)、-N(C_1-C_4 烷基) (C_1-C_4 烷基苯基)、-NH (C_1-C_4 烷基苯基)、氰基、硝基、氧代（作为杂芳基的取代基）、- CO_2H 、-C(O) OC_1-C_4 烷基、-CON(C_1-C_4 烷基)(C_1-C_4 烷基)、-CONH (C_1-C_4 烷基)、-CONH $_2$ 、-NHC(O)(C_1-C_4 烷基)、-NHC(O)(苯基)、-N (C_1-C_4 烷基)C(O)(C_1-C_4 烷基)、-N(C_1-C_4 烷基)C(O)(苯基)、-C(O) C_1-C_4 烷基、-C(O) C_1-C_4 苯基、-C(O) C_1-C_4 卤代烷基、-OC(O) C_1-C_4 烷基、-SO $_2$ (C_1-C_4 烷基)、-SO $_2$ (苯基)、-SO $_2$ (C_1-C_4 卤代烷基)、-SO $_2NH_2$ 、-SO $_2NH$ (C_1-C_4 烷基)、-SO $_2NH$ (苯基)、-NHSO $_2$ (C_1-C_4 烷基)、-NHSO $_2$ (苯基)、-NHSO $_2$ (C_1-C_4 卤代烷基)。

抗有丝分裂剂是指用于例如通过使中期细胞分裂停止而抑制或防止有丝分裂的药物。一些抗肿瘤药物阻断增殖作用，并且被认为是抗有丝分裂剂。

芳基和杂芳基是指分别包含 0 或者 1—4 个选自于 O、N 或 S 的杂原子的 5—6 元芳香环或者杂芳香环；分别包含 0 或者 1—4（或更多）个选自于 O、N 或 S 的杂原子的 9—10 元二环芳香环系或者杂芳香环系；或者分别包含 0 或者 1—4（或更多）个选自于 O、N 或 S 的 13—14 元三环芳香环系或者杂芳香环系。6—14 元芳香碳环环系包括苯基、萘基、茚满基、1, 2, 3, 4—四氢化萘基、以及芴基等。5—10 元芳香杂环包括例如咪唑基、吡啶基、吡咯基、噻吩基、苯并吡喃酮基、噻唑基、呋喃基、苯并咪

唑基、喹啉基、异喹啉基、喹喔啉基、嘧啶基、吡嗪基、四唑基和吡唑基。

芳烷基是指其中芳基通过烷基连接在母体结构上的基团。其例子包括苄基、苯乙基、苯基乙烯基、苯基烯丙基等。**杂芳烷基**是指其中杂芳基通过烷基连接在母体结构上的基团。其例子包括呋喃基甲基、吡啶基甲基、嘧啶基甲基等。

芳烷氧基是指基团—O—芳烷基。类似地，**杂芳烷氧基**是指基团—O—杂芳烷基；**芳基氧基**是指基团—O—芳基；**酰基氧基**是指基团—O—酰基；**杂芳基氧基**是指基团—O—杂芳基，而**杂环基氧基**是指基团—O—杂环基（即、芳烷基、杂芳烷基、芳基、酰基、杂环基或杂芳基通过氧连接在母体结构上）。

羧基烷基是指基团—烷基—COOH。

酰胺基是指基团—CONR^bR^c，其中

R^b 是 H 或任选取代的 C₁-C₆ 烷基、芳基、杂芳基、芳基 C₁-C₄ 烷基、或者杂芳基 C₁-C₄ 烷基；以及

R^c 是氢或 C₁-C₄ 烷基；

而且各任选取代的 R^b 基团独立地是未取代的或者被一个或者多个选自于以下组中的取代基取代：C₁-C₄ 烷基、芳基、杂芳基、芳基-C₁-C₄ 烷基、杂芳基-C₁-C₄ 烷基、-C₁-C₄ 卤代烷基、-OC₁-C₄ 烷基、-OC₁-C₄ 烷基苯基、-C₁-C₄ 烷基-OH、-OC₁-C₄ 卤代烷基、卤素、-OH、-NH₂、-C₁-C₄ 烷基-NH₂、-N (C₁-C₄ 烷基) (C₁-C₄ 烷基)、-NH (C₁-C₄ 烷基)、-N(C₁-C₄ 烷基)(C₁-C₄ 烷基苯基)、-NH (C₁-C₄ 烷基苯基)、氰基、硝基、氧代（作为杂芳基的取代基）、-CO₂H、-C(O)OC₁-C₄ 烷基、-CON(C₁-C₄ 烷基)(C₁-C₄ 烷基)、-CONH (C₁-C₄ 烷基)、-CONH₂、-NHC(O)(C₁-C₄ 烷基)、-NHC(O)(苯基)、-N (C₁-C₄ 烷基)C(O)(C₁-C₄ 烷基)、-N(C₁-C₄ 烷基)C(O)(苯基)、-C(O)C₁-C₄ 烷基、-C(O)C₁-C₄ 苯基、-C(O)C₁-C₄ 卤代烷基、-OC(O)C₁-C₄ 烷基、-SO₂(C₁-C₄ 烷基)、-SO₂(苯基)、-SO₂(C₁-C₄ 卤代烷基)、-SO₂NH₂、-SO₂NH(C₁-C₄ 烷基)、

-SO₂NH(苯基)、-NHSO₂(C₁-C₄ 烷基)、-NHSO₂(苯基)、-NHSO₂(C₁-C₄ 卤代烷基)。氨基酰基例如包括氨甲酰基、低级烷基氨甲酰基、苄基氨甲酰基、苯基氨甲酰基、甲氧基甲基—氨甲酰基等。

卤素是指氟、氯、溴或碘。氟、氯和溴是优选的。二卤代芳基、二卤代烷基、三卤代芳基等是指被多个但不一定是相同的卤素（在此分别是 2、3 和 4 个）取代的芳基和烷基，因此，4—氯—3—氟苯基也在二卤代芳基的范围中。

杂环是指其中 1—4 个碳原子被诸如氧、氮或硫的杂原子置换的环烷基或者芳基。本发明范围中包括的杂环的例子是咪唑啉基、吡咯烷基、吡唑基、吡咯基、吡啶基、喹啉基、异喹啉基、四氢异喹啉基、苯并呋喃基、苯并二噁烷基、苯并间二氧杂环戊烯基（当作为取代基时，通常称为亚甲二氧基苯基）、四唑基、吗啉基、噻唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、噻吩基、呋喃基、噁唑基、噁唑啉基、异噁唑基、二噁烷基、四氢呋喃基等。

“N—杂环基”是指包含氮原子的杂环取代基。术语杂环基包括杂芳基，其是杂环基的下位概念。N—杂环基的例子包括 4—吗啉基、4—硫代吗啉基、1—哌啶基、1—吡咯烷基、3—噻唑烷基、哌嗪基、和 4—（3，4—二氢苯并噁嗪基）。取代杂环基的例子包括 4—甲基—1—哌嗪基和 4—苄基—1—哌啶基。

离去基团或原子是在反应条件下可由起始物脱除并由此在特定的部位处促进反应的任意基团或原子。除非另有说明，此等基团的合适例子是卤原子、甲磺酰氧基、对硝基苯磺酰氧基或甲苯磺酰氧基。

任选是指随后所述的事件或环境可能发生或也可能不发生，且该表述包括所述事件或环境发生的情况和它不发生的情况。例如，“任选取代的烷基”包括本文定义的“烷基”和“取代的烷基”。关于含有一个或多个取代基的任何基团，本领域技术人员可以理解的是，这种基团不意在引入立体上不实际的和/或合成上不实际的和/或本身不稳定的任何取代或者取

代方式。

取代的烷氧基是指其中烷基组分被取代的烷氧基（即-O-(取代的烷基)）。一种优选的取代的烷氧基是“多烷氧基”或-O-(任选取代的亚烷基)-(任选取代的烷氧基)，并包括诸如-OCH₂CH₂OCH₃的基团和二醇醚如聚乙二醇的残基和-O(CH₂CH₂O)_x-CH₃，其中x为约2—20，优选约为2—10，更优选约为2—5的整数。另一种合适的取代的烷氧基是羟基烷氧基或-OCH₂(CH₂)_yOH，其中y是约1—10，优选约1—4的整数。

取代的烷基、芳基和杂芳基分别指其中一个或多个（至多约5个，优选至多约3个）氢原子被独立地选自以下组中的取代基替代的烷基、芳基和杂芳基：-R^a、OR^b、-O(C₁-C₂烷基)O-(作为芳基取代基)、-SR^b、胍、其中一个或者多个胍氢被低级烷基替代的胍、-NR^bR^c、卤素、氰基、硝基、-COR^b、-CO₂R^b、-CONR^bR^c、-OCOR^b、-OCO₂R^b、-OCONR^bR^c、-NR^cCOR^b、-NR^cCO₂R^b、NR^cCONR^bR^c、-CO₂R^b、CONR^bR^c、NR^cCOR^b、-SOR^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^bR^c和-NR^cSO₂R^a，

其中R^a是任选取代的C₁-C₆烷基、芳基、杂芳基、芳基-C₁-C₄烷基-或杂芳基-C₁-C₄烷基，

R^b为H或任选取代的C₁-C₆烷基、芳基、杂芳基、芳基-C₁-C₄烷基-或杂芳基-C₁-C₄烷基-基团；

R^c为氢或C₁-C₄烷基；

其中各任选取代的R^a基团和R^b基团独立地是未被取代的或被一个或多个独立地选自以下组中的取代基取代：C₁-C₄烷基、芳基、杂芳基、芳基-C₁-C₄烷基-、杂芳基-C₁-C₄烷基-、C₁-C₄卤代烷基、-OC₁-C₄烷基、-OC₁-C₄烷基苯基、-C₁-C₄烷基-OH、-OC₁-C₄卤代烷基、卤素、-OH、-NH₂、-C₁-C₄烷基-NH₂、-N(C₁-C₄烷基)(C₁-C₄烷基)、-NH(C₁-C₄烷基)、-N(C₁-C₄烷基)(C₁-C₄烷基苯基)、-NH(C₁-C₄烷基苯基)、氰基、硝基、氧代(作为杂芳基的取代基)、-CO₂H、-C(O)OC₁-C₄烷基、-CON(C₁-C₄烷基)(C₁-C₄烷基)、

-CONH(C₁-C₄ 烷基)、-CONH₂、-NHC(O)(C₁-C₄ 烷基)、-NHC(O)(苯基)、-N(C₁-C₄ 烷基)C(O)(C₁-C₄ 烷基)、-N(C₁-C₄ 烷基)C(O)(苯基)、-C(O)C₁-C₄ 烷基、-C(O)C₁-C₄ 苯基、-C(O)C₁-C₄ 卤代烷基、-OC(O)C₁-C₄ 烷基、-SO₂(C₁-C₄ 烷基)、-SO₂(苯基)、-SO₂(C₁-C₄ 卤代烷基)、-SO₂NH₂、-SO₂NH(C₁-C₄ 烷基)、-SO₂NH(苯基)、-NHSO₂(C₁-C₄ 烷基)、-NHSO₂(苯基)和-NHSO₂(C₁-C₄ 卤代烷基)。

硫烷基是指基团：-S-(任选取代的烷基)、-S-(任选取代的芳基)、-S-(任选取代的杂芳基)和-S-(任选取代的杂环基)。

亚硫酰基是指基团：-S(O)-H、-S(O)-(任选取代的烷基)、-S(O)-任选取代的芳基)、-S(O)-(任选取代的杂芳基)、-S(O)-(任选取代的杂环基)和-S(O)-(任选取代的氨基)。

磺酰基是指基团：-S(O₂)-H、S(O₂)-(任选取代的烷基)、-S(O₂)-(任选取代的芳基)、-S(O₂)-(任选取代的杂芳基)、-S(O₂)-(任选取代的杂环基)、-S(O₂)-(任选取代的烷氧基)、-S(O₂)-任选取代的芳氧基)、-S(O₂)-(任选取代的杂芳氧基)、-S(O₂)-(任选取代的杂环氧基)和-S(O₂)-(任选取代的氨基)。

药物学上可接受的盐是指那些保持游离化合物的生物有效性但不是生物学上不期望的、与适宜的酸或碱形成的盐，其包括药物学上可接受的酸加成盐和碱加成盐。**药物学上可接受的酸加成盐**包括那些由无机酸衍生的盐，如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等，以及那些由有机酸衍生的盐，如乙酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、草酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸等。

药物学上可接受的碱加成盐包括由无机碱衍生的盐，如钠、钾、锂、铵、钙、镁、铁、锌、铜、锰、铝盐等。特别优选铵、钾、钠、钙和镁盐。碱加成盐还包括由药物学上可接受的有机无毒碱衍生的盐，包括伯、仲和叔胺、取代的胺（包括天然存在的取代的胺）、环胺和碱性离子交换树脂

的盐，如异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺和乙醇胺。

保护基具有与其通常在有机合成中有关的含义，即选择性阻断多官能化合物的一个或多个反应部位，从而使化学反应可以在另一个未受保护的反应部位进行并可以在选择性反应完成之后容易地除去的基团。许多保护基已在诸如以下的文献中公开：T.H. Greene 和 P. G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Third Edition, John Wiley & Sons, New York (1999)，该文献的全部内容在此引入作为参考。例如，在羟基保护形式中，化合物中存在的至少一个羟基被羟基保护基保护。同样，胺和其它反应基团可以类似地保护。

溶剂化物是指通过溶剂和式 I 化合物或其盐的相互作用而形成的化合物。式 I 化合物的适宜的溶剂化物是药物学上可接受的溶剂化物，包括水合物。

在此描述的许多化合物含有一个或多个不对称中心（例如 R_2 和 R_2' 连接其上的碳，其中 R_2 不同于 R_2' ），并因此可以产生对映异构体、非对映异构体和其它可以根据绝对立体化学定义为(R)-或(S)-的立体异构形式。本发明意在包括所有这些可能的异构体，包括外消旋混合物、光学纯形式和中间体混合物。光学活性(R)-和(S)-异构体可以使用手性合成子或手性试剂制备，或者使用常规技术拆分。当本文所述的化合物含有烯属双键或其它几何不对称中心时，除非特别指出，它意指该化合物包括 E 和 Z 几何异构体。同样地，也意在包括所有的互变异构形式和旋转异构体。

当需要时，R-和 S-异构体可通过本领域技术人员已知的方法来拆分，例如形成可例如通过结晶分离的非对映异构体盐或者可络合物；形成可例如通过结晶、气-液或者液相色谱法分离的非对映异构体衍生物；一种对映体与对映体特异性试剂的选择性反应，例如酶氧化或者还原反应，然后分离改性或者未改性的对映体；在手性环境如在手性载体（如与手性配体结合的硅胶）上或者在手性溶剂存在下用气-液或者液相色谱法。可

以理解的是,当通过如上所述的分离方法之一将所需要的对映体转化为其他化学物质时,有可能需要其他的步骤以释放所希望的对映体形式。或者,通过使用旋光试剂、底物、催化剂或者溶剂的非对称性合成,或者通过非对称转化将一种对映体转化为另一种对映体,可合成特异性对映体。

本发明的化合物

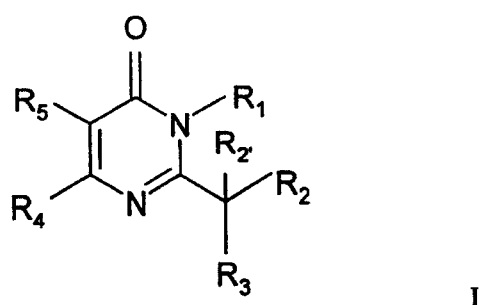
本发明涉及一类新的化合物,它们可以被描述为嘧啶酮衍生物,而且是一种或多种有丝分裂驱动蛋白的抑制剂。通过抑制有丝分裂驱动蛋白但不抑制其它驱动蛋白(例如转运驱动蛋白),对细胞增殖的特异性抑制得以实现。虽然不意在受任何理论的限制,但本发明利用以下发现:干扰有丝分裂驱动蛋白功能导致有丝分裂纺锤体的畸形或者功能障碍,通常导致细胞周期停止和细胞死亡。根据本发明的一个实施方案,本文所述的化合物抑制有丝分裂驱动蛋白 KSP,特别是人 KSP。在另一个实施方案中,该化合物抑制有丝分裂驱动蛋白 KSP,并调节一种或多种选自以下组中的人有丝分裂驱动蛋白: HSET(参见美国专利 6,361,993,其在此引入作为参考); MCAK(参见美国专利 6,331,424,其在此引入作为参考); CENP-E(参见 PCT 公开 WO 99/13061,其在此引入作为参考); Kif4(参见美国专利 6,440,684,其在此引入作为参考); MKLP1(参见美国专利 6,448,025,其在此引入作为参考); Kif15(参见美国专利 6,355,466,其在此引入作为参考); Kid(参见美国专利 6,387,644,其在此引入作为参考); Mpp1、CMKrp、KinI-3(参见美国专利 6,461,855,其在此引入作为参考); Kip3a(参见 PCT 公开 WO 01/96593,其在此引入作为参考); Kip3d(参见美国专利 6,492,151,其在此引入作为参考); 和 RabK6。

抑制有丝分裂驱动蛋白的方法包括使本发明的抑制剂与驱动蛋白,特别是人驱动蛋白,更特别地是人 KSP 或其片段和变体接触。该抑制作用可以是 KSP 驱动蛋白的 ATP 水解活性和/或有丝分裂纺锤体形成活性的抑

制,使得有丝分裂纺锤体被破坏。减数分裂纺锤体也可被破坏。

本发明提供有丝分裂驱动蛋白,特别是 KSP,尤其是人 KSP 的抑制剂,以治疗与细胞增殖有关的疾病。本文所述化合物、组合物以及方法的区别可能在于它们的选择性,而且用于治疗细胞增殖性疾病,包括但不限于癌症、增生、再狭窄、心肥大、免疫疾病、真菌性疾病以及炎症。

因此,本发明涉及使用式 I 所示的化合物的方法:



其中:

R_1 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳基、以及任选取代的杂芳烷基;

R_2 和 R_2' 独立地选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳基、以及任选取代的杂芳烷基;或者 R_2 和 R_2' 一起形成任选取代的 3—7 元环;

R_3 选自任选取代的咪唑基、任选取代的咪唑啉基、 $-NHR_6$ 、 $-N(R_6)(COR_7)$ 、 $-N(R_6)(SO_2R_{7a})$ 、以及 $-N(R_6)(CH_2R_{7b})$;

R_4 和 R_5 独立地选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的烷氧基、卤素、羟基、硝基、氰基、二烷基氨基、烷基磺酰基、烷基氨磺酰基、烷基硫烷基、羧基烷基、羧酰胺基、氨基羰基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、和任选取代的杂芳基;或者 R_4 和 R_5 与它们所连接的碳原子一起形成任选取代的 5、6 或 7 元脂族

环；

R₆ 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、以及任选取代的杂环基；

R₇ 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳烷基、R₈O-以及 R₁₄-NH-；

R_{7a} 选自于任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳烷基、以及 R₁₄-NH-；

R_{7b} 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳基、以及任选取代的杂芳烷基；

R₈ 选自于任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳基、以及任选取代的杂芳烷基；

R₁₄ 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳基、以及任选取代的杂芳烷基；

包括单个立体异构体以及立体异构体的混合物；

式 I 化合物的药学上可接受的盐；

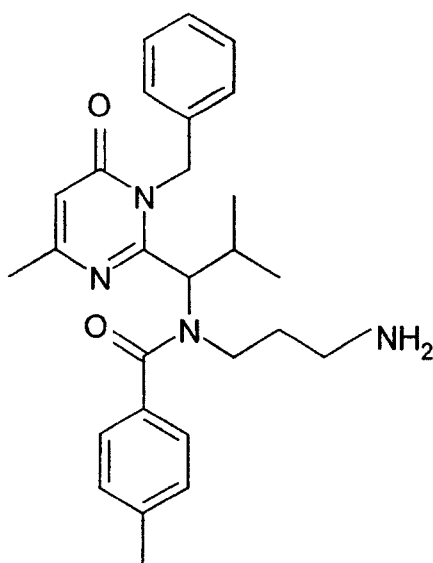
式 I 化合物的药学上可接受的溶剂化物；或者

式 I 化合物的药学上可接受的盐的药学上可接受的溶剂化物。

在具体的实施方案中，R₂ 和 R₂所连接的立体中心是 R 构型的。

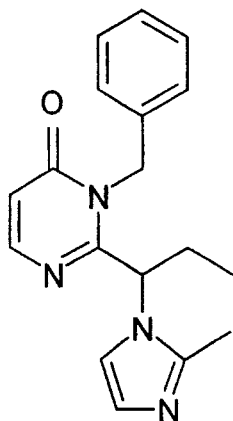
命名法

式 I 的化合物可以下述的方式命名和编号(例如用 AutoNom 2.1 版或 ISIS-DRAW，其各自利用 IUPAC 命名系统)。例如，化合物：



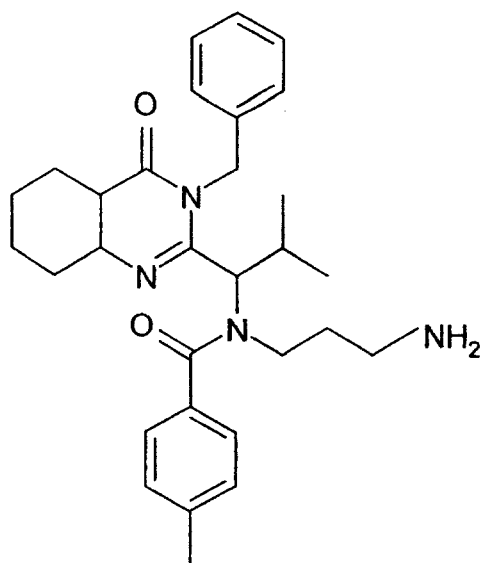
即根据式 I 的化合物, 其中 R_1 为苄基, R_2 为丙基 (或异丙基), R_3 为氢; R_4 为甲基; R_5 为氢; R_6 为氨基丙基; 而 R_7 为对甲
 苯基; 可命名为 N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(3-苄基-4-甲基-6-氧-1,6-二氢-嘧啶
 -2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺。

同样，化合物：



即根据式 I 的化合物，其中 R₁ 为苄基，R₂ 为乙基，R_{2'} 为氢；R₃ 为取代的咪唑基；而 R₄ 和 R₅ 为氢；可命名为 3-苄基-2-[1-(2-甲基-咪唑-1-基)-丙基]-3H-嘧啶-4-酮。

化合物:



即根据式 I 的化合物, 其中 R_1 为苄基, R_2 为异丙基, R_2 为氢; R_3 为 $-N(R_6)(COR_7)$; R_6 为氨基丙基; R_7 为对甲苯基; 而 R_4 和 R_5 与它们所连接的碳原子一起形成 6 元碳环; 可命名为 N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(3-苄基-4-氧-3,4,5,6,7,8-六氢-喹唑啉-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺。

合成反应参数

式 I 的化合物可以根据参照以下反应方案所述的方法来制备。

除非另外说明, 术语“溶剂”、“惰性有机溶剂”或“惰性溶剂”是指在相关描述的反应条件下为惰性的溶剂[例如包括苯、甲苯、乙腈、四氢呋喃("THF")、二甲基甲酰胺("DMF")、氯仿、二氯甲烷(或甲叉二氯)、乙醚、甲醇、吡啶等]。除非有相反的说明, 用于本发明的反应中的溶剂是惰性有机溶剂。

术语“q. s.”是指加入足以实现所述功能, 例如使溶液变成目标体积(即 100%)的数量。

一般而言, 羧酸的酯可以通过常规酯化方法来制备, 例如烷基酯可以通过用适宜的链烷醇, 通常在酸性条件下处理所需的羧酸来制备。同样, 酰胺可以使用常规酰胺化方法来制备, 例如酰胺可以通过用适宜的胺处理

相关的羧酸来制备。或者，可以任选在三甲基铝存在下，根据 Tetrahedron Lett. 48, 4171-4173, 1977 所述的方法，用胺处理诸如酸的甲酯的低级烷基酯，得到所需的酰胺。羧基可以以烷基酯如甲酯的形式得到保护，所述的酯可以用常规的方法制备和除去，一种用于将甲酯基转化成羧基的方便的方法是使用氢氧化锂水溶液。

本文提及的化合物的盐和溶剂化物可以根据需要用本领域中的常规方法生产。例如，如果本发明的化合物为酸，则可以通过用无机或有机碱，如胺（伯、仲或叔）、碱金属或碱土金属氢氧化物等处理游离酸来制备所需的碱加成盐。适宜的盐的例示性实例包括由以下物质衍生的有机盐：氨基酸如甘氨酸和精氨酸；氨；伯、仲和叔胺；如乙二胺，和环胺如环己胺、哌啶、吗啉和哌嗪；以及由钠、钙、钾、镁、锰、铁、铜、锌、铝和锂衍生的无机盐。

如果化合物为碱，则所需的酸加成盐可以通过本领域中已知的任何适宜的方法制备，包括用无机酸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等，或者用有机酸如乙酸、马来酸、琥珀酸、苦杏仁酸、富马酸、丙二酸、丙酮酸、草酸、乙醇酸、水杨酸、吡喃糖苷酸如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸、 α -羟基酸如柠檬酸或酒石酸、氨基酸如天门冬氨酸或谷氨酸、芳族酸如苯甲酸或肉桂酸、磺酸如对甲苯磺酸、甲磺酸、乙磺酸等处理游离碱。

如果需要的话，本文所述的化合物和中间体的分离和纯化可以通过任何适宜的分离或纯化方法来实现，例如过滤、萃取、结晶、柱色谱法、薄层色谱法或厚层色谱法或者这些方法的组合。可以参考本文以下的实施例来具体例示适宜的分离方法。但是，其它等同的分离方法当然也可以使用。

式 I 化合物的合成

式 I 的化合物可以根据参照以下反应方案所述的方法来制备。

反应方案简述

反应方案 1 显示了式 I 化合物的合成, 其中 R_3 是 $N(R_6)(COR)$ 。

反应方案 2 显示了式 205 化合物的合成, 其可用作合成式 I 化合物的中间体。

反应方案 3 显示了式 I 化合物的合成, 其中 R_3 是 $N(R_6)(SO_2R_{7a})$ 。

反应方案 4 显示了式 I 化合物的合成, 其中 R_3 是 $-N(R_6)(CH_2R_{7b})$ 。

反应方案 5 显示了式 I 化合物的合成, 其中 R_3 是任选取代的咪唑基。

反应方案 6 显示了式 I 化合物的替代合成, 其中 R_3 是任选取代的咪唑基。

反应方案 7 显示了式 I 化合物的合成, 其中 R_3 是任选取代的咪唑啉基。

反应方案 8 显示了式 I 化合物的替代合成, 其中 R_3 是任选取代的咪唑啉基。

反应方案 9 显示了式 907 化合物的合成, 其可用作合成式 I 化合物的中间体。

反应方案 10 显示了式 907 化合物的替代合成, 其可用作合成式 I 化合物的中间体。

反应方案 11 显示了式 1103 化合物的合成, 其可用作合成式 I 化合物的中间体。

反应方案 12 显示了式 1203 化合物的合成, 其可用作合成式 I 化合物的中间体。

反应方案 13 显示了式 I 化合物的合成, 其中 R_4 是 $-(CO)NH_2$ 或 $-CN$ 。

反应方案 14 显示了式 1405 化合物的合成, 其可用作合成式 I 化合物的中间体。

反应方案 15 显示了式 1505 化合物的合成, 其可用作合成式 I 化合物的中间体。

反应方案 16 显示了式 1605 化合物的合成,其可用作合成式 I 化合物的中间体。

反应方案 17 显示了式 I 化合物的合成,其中 R_5 是溴或苯基。

反应方案 18 显示了式 I 化合物的合成,其中 R_5 是 -CN 或 $-(CH_2)NH(CO)CH_3$ 。

反应方案 19 显示了式 I 化合物的合成,其中 R_3 是 $-N(R_6)(COR_7)$,而 R_7 是 $-OR_9$ 。

反应方案 20 显示了式 I 化合物的合成,其中 R_3 是 $-N(R_6)(COR_7)$,而 R_7 是 $-NHR_{14}$ 。

反应方案 21 显示了式 2103 化合物的合成,其可用作合成式 I 化合物的中间体。

反应方案 22 显示了式 2205 化合物的合成,其可用作合成式 I 化合物的中间体。

反应方案 23 显示了式 2305 化合物的合成,其可用作合成式 I 化合物的中间体。

反应方案 24 显示了式 I 化合物的合成,其中 R_3 是 $-N(R_6)(COR_7)$ 。

反应方案 25 显示了式 I 化合物的合成,其中 R_3 是 $-N(R_6)(COR_7)$ 。

反应方案 26 显示了式 I 化合物的替代合成,其中 R_3 是任选取代的咪唑啉基。

反应方案 27 显示了式 I 化合物的替代合成,其中 R_3 是任选取代的咪唑基。

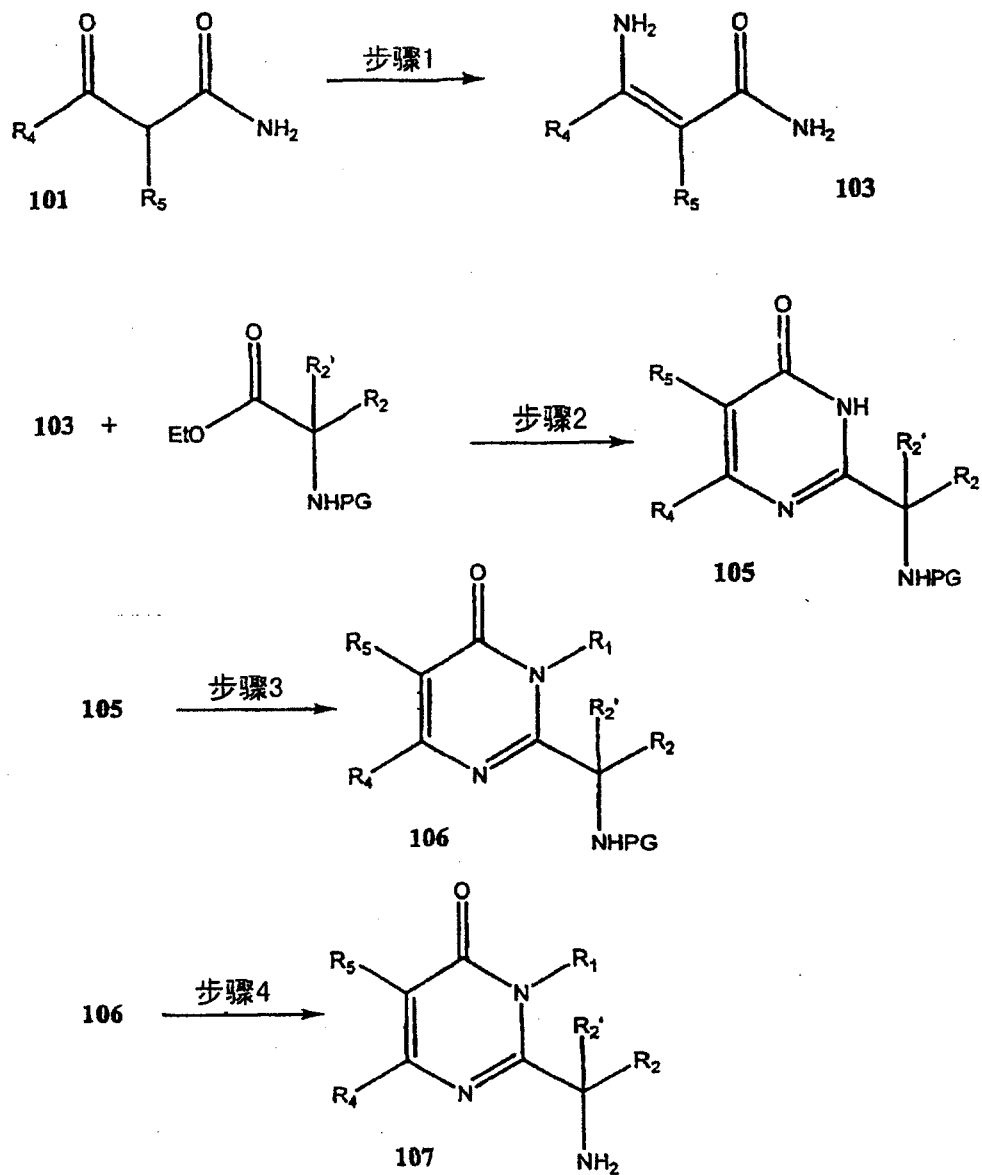
反应方案 28 显示了式 I 化合物的合成,其中 R_4 是任选取代的氨基。

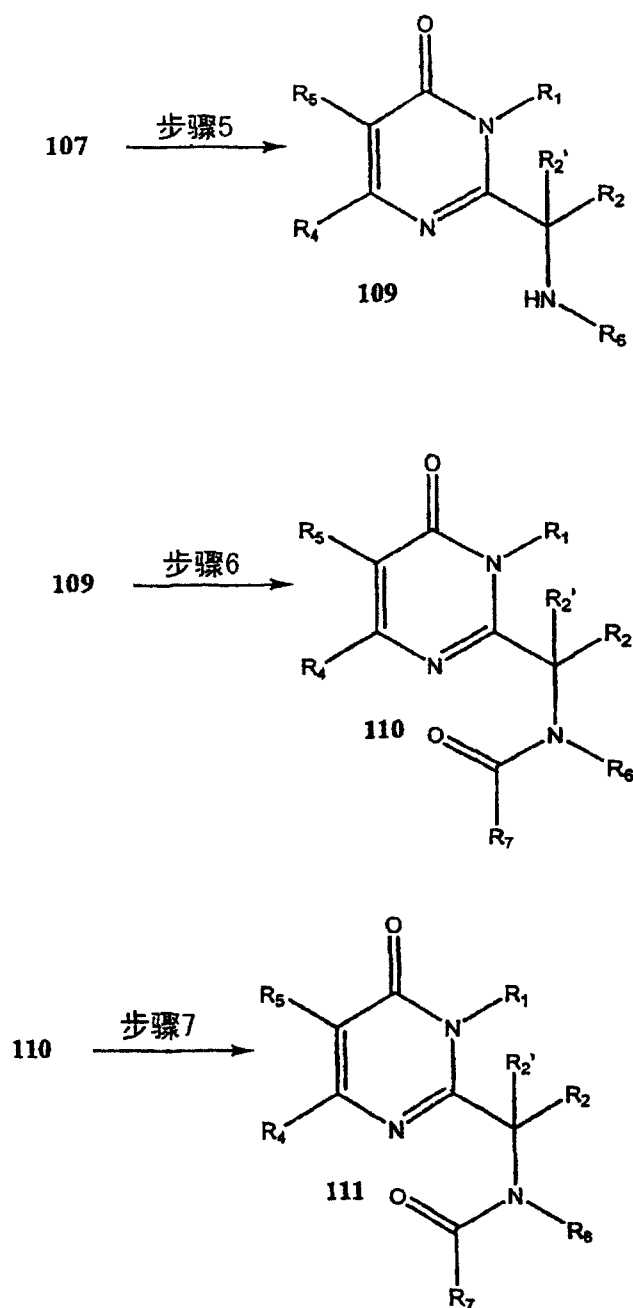
起始物

式 101 之任选取代的 β -酮基酰胺以及其他的反应物可市售得到,例如由 Aldrich Chemical Company (Milwaukee,WI) 得到,或者本领域技术

人员可通过常规使用的合成法容易地制得。

反应方案 1





式 103 的制备

参考反应方案 1 之步骤 1, 将任选取代的乙酰乙酰胺 (式 101 的化合物) 或者乙酰乙酸酯在惰性有机溶剂 (如二甲苯类化合物) 中的混合物添加至装配有干冰回流冷凝器的烧瓶中。将所得的混合物加热至回流, 并连续地用氨气冲洗约 3 小时, 然后冷却至室温。反应混合物过滤, 而滤液进

行减压浓缩。分离并纯制任选取代的 β -氨基巴豆酰胺(式 103 的化合物)。

式 105 的制备

参考反应方案 1 之步骤 2, 将新制备的乙醇钠添加至式 103 的化合物与略微过量(优选 1.1 当量)的经适当保护的 α -氨基酸酯(式 104 的化合物, 优选其中保护基 PG 是 Boc)在乙醇中的混合物内。所得的溶液加热回流数小时。分离并纯制产物——式 105 的嘧啶酮。

式 106 的制备

参考反应方案 1 之步骤 3, 向式 105 的嘧啶酮在极性、非质子性溶剂如二噁烷中的溶液内添加过量(优选约 1.2 当量)的氢化锂, 同时保持室温。所得的悬浮液搅拌 15 分钟, 随后添加略微过量(优选约 1.1 当量)的具有结构 R_1 -X 的化合物, 其中 X 是离去基团, 优选是甲苯磺酸酯, 而 R_1 与以上定义相同。反应混合物加热回流约 20—24 小时。分离并纯制产物——式 106 的嘧啶酮。

式 107 的制备

参考反应方案 1 之步骤 4, 脱除式 106 化合物的氨基保护基。例如, 向其中氨基保护基 PG 是 Boc 的式 106 的嘧啶酮在极性非质子性溶剂如二氯甲烷中的溶液内添加三氟乙酸, 同时保持约 0°C 的温度。所得的溶液在室温下搅拌 1 小时, 然后真空浓缩。分离产物——式 107 的化合物, 并且未经纯制即用于下一步反应中。本领域技术人员可认识到, 使用本领域已知的条件也可除去其他保护基。例如参见: Greene 等人, 同上。

式 109 的制备

参考反应方案 1 之步骤 5, 向式 107 的嘧啶酮的溶液内顺序地添加略

微过量（优选 1.2 当量）的包含 R_6 的化合物（如式 R_6CHO 的化合物，其中 R_6CH_2 -等同于 R_6 ，而 R_6 如上所定义或者是经保护的前体，如(3-氧代-丙基)-氨基甲酸叔丁基酯的基团）以及还原剂如三乙酰氧基硼氢化钠。所得的混合物搅拌数小时。分离并纯制产物——式 109 的嘧啶酮。

式 110 的制备

参考反应方案 1 之步骤 6，向式 109 的嘧啶酮和胺碱如二异丙基胺在极性非质子性溶剂如二氯甲烷中的溶液内添加 R_7 酰氯（如 $Cl-C(O)-R_7$ ，其中 R_7 如上所定义）。所得的溶液在氮气和室温下搅拌数小时。分离并纯制产物——式 110 的嘧啶酮。

式 111 的制备

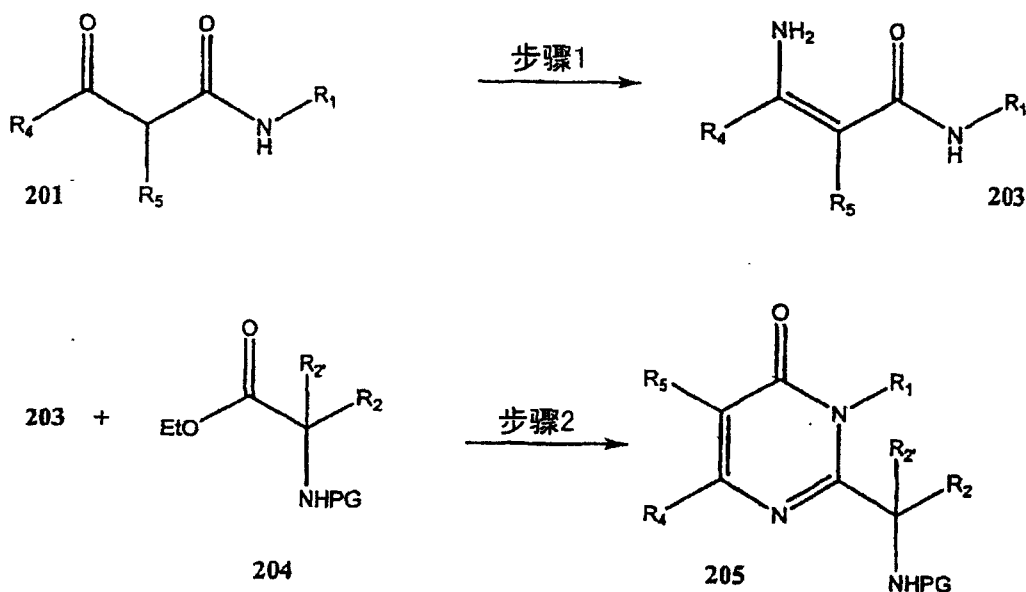
任选地，接着脱除式 110 化合物上的任意保护基。例如，如果 R_6 包括经保护的胺，其中保护基是 Boc 基团，则参考反应方案 1 之步骤 7，向式 110 的嘧啶酮在极性非质子性溶剂如二氯甲烷中的溶液内添加三氟乙酸，同时使反应保持在大约室温的温度。例如通过 TLC 监控反应。反应完成时，分离并纯制产物——式 111 的嘧啶酮。

式 107 之旋光化合物的制备

在本发明的某些化合物中，在 R_2 所连接的立体中心处优选特殊的立体构型（如(R) 异构体）。旋光化合物可通过本领域已知的方法来制备。例如，将式 107 的胺溶解在惰性有机溶剂（如 IPA）中，然后温热至 60 °C。在单独的容器中，将拆分剂（如二苯甲酰基-D-酒石酸）溶解在优选相同温热的溶剂中，然后快速添加（同时搅拌）至温热的胺溶液中。在连续搅拌下在 16 小时的时间中冷却至室温，由此使反应混合物结晶。分离并纯制所希望的异构体，如 (R) 异构体。

为在式 I 化合物合成的以下描述中简洁起见, 应理解的是, 可使用单一异构体或者异构体的混合物来形成相应的产物。

反应方案 2



式 203 的制备

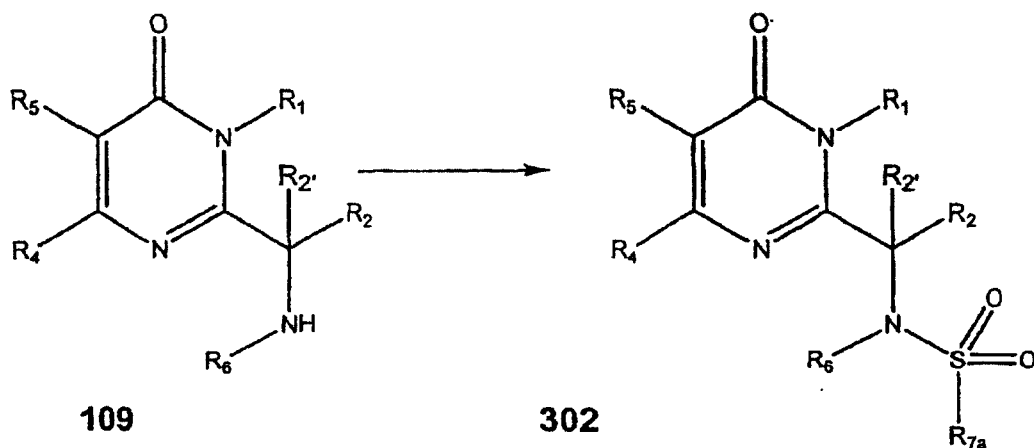
参考反应方案 2 之步骤 1, 将式 201 之任选取代的 β -酮基酰胺在惰性有机溶剂 (如二甲苯) 中的混合物添加至装配有干冰回流冷凝器的烧瓶中。所得的混合物加热至回流, 并连续地用氨气冲洗约 5 小时, 然后冷却至室温。反应混合物过滤, 而滤液进行减压浓缩。分离产物——式 203 之任选取代的化合物, 而且未经纯制即用于下一步中。

式 205 的制备

参考反应方案 2 之步骤 2, 将新制备的乙醇钠添加至式 203 的化合物与略微过量 (优选 1.1 当量) 的经适当保护的 α -氨基酸酯 (式 204 的化合物, 优选其中保护基 PG 是 Boc) 在乙醇中的混合物内。所得的溶液加

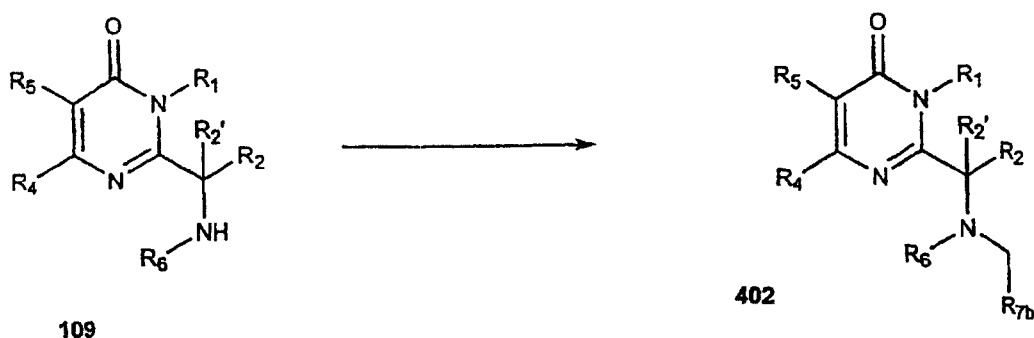
热回流数小时。分离并纯制产物——式 205 的嘧啶酮。

反应方案 3



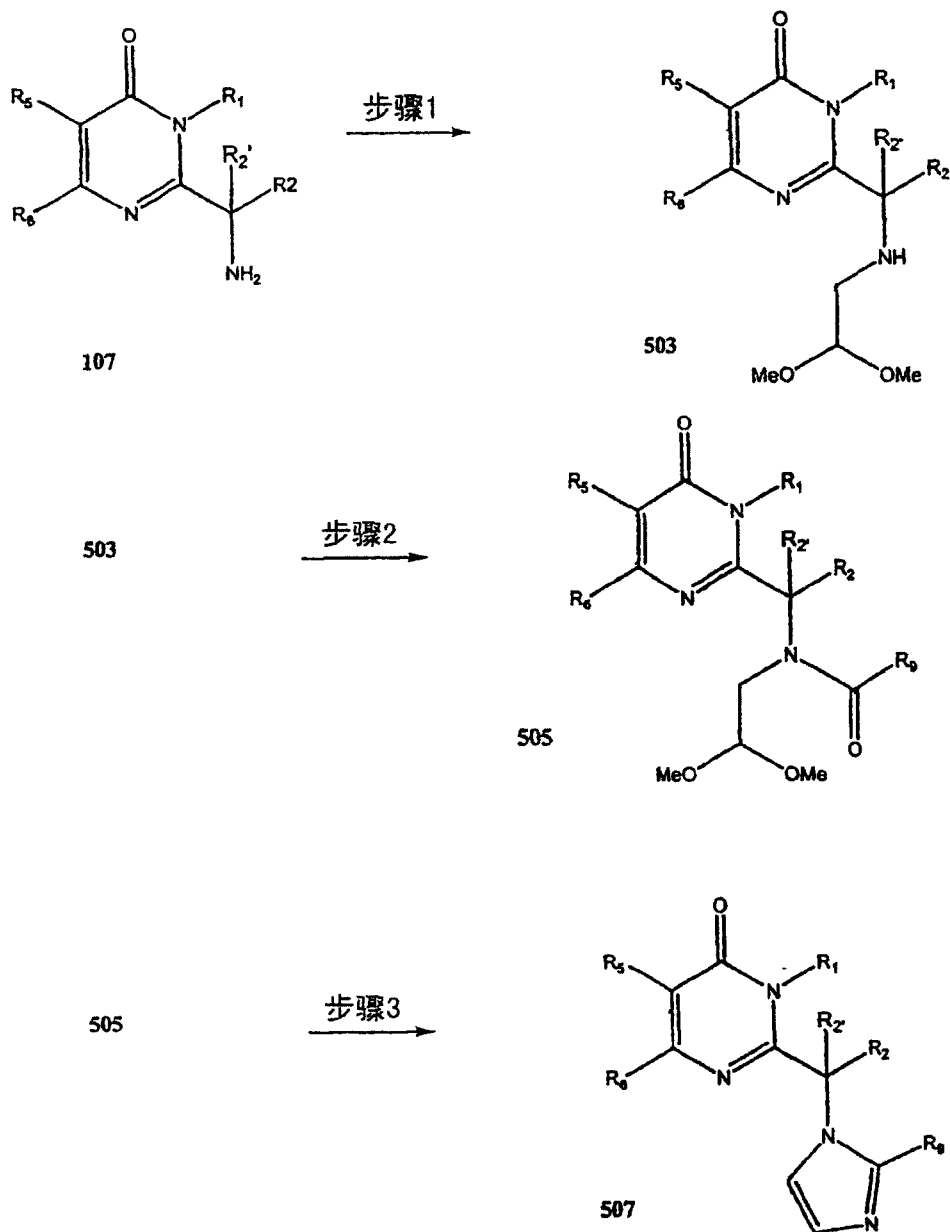
参考反应方案 3, 向式 109 的嘧啶酮和胺碱如二异丙基乙基胺在极性非质子性溶剂如二氯甲烷中的溶液内添加具有式 $\text{Cl-S(O)}_2\text{-R}_{7a}$ 或者 $\text{O-(S(O)}_2\text{-R}_{7a})_2$ 的化合物, 其中 R_{7a} 如上所定义。所得的溶液在氮气和室温下搅拌数小时。分离并纯制产物——式 302 的嘧啶酮。

反应方案 4



参考反应方案 4, 向式 109 的嘧啶酮和胺碱如二异丙基乙基胺在极性非质子性溶剂如二氯甲烷中的溶液内添加具有式 $\text{X-CH}_2\text{-R}_7$ 的化合物, 其中 R_7 如上所定义, 而 X 是离去基团 (优选卤化物)。所得的溶液在氮气中于室温或者加热下搅拌数小时。分离并纯制产物——式 402 的嘧啶酮。

反应方案 5



式 503 的制备

参考反应方案 5 之步骤 1, 向式 107 之任选取代的化合物在极性非质子性溶剂 (如 DMF) 中的溶液内, 在碱 (如碳酸钾) 存在下, 添加 1 当量的任选取代并经适当保护的醛, 其中该醛进一步保护离去基团, 优选为

卤化物。该溶液在回流下加热，并监控反应的完成（例如通过 TLC）。冷却反应化合物，然后分离并纯制式 503 之相应的任选取代的嘧啶酮。

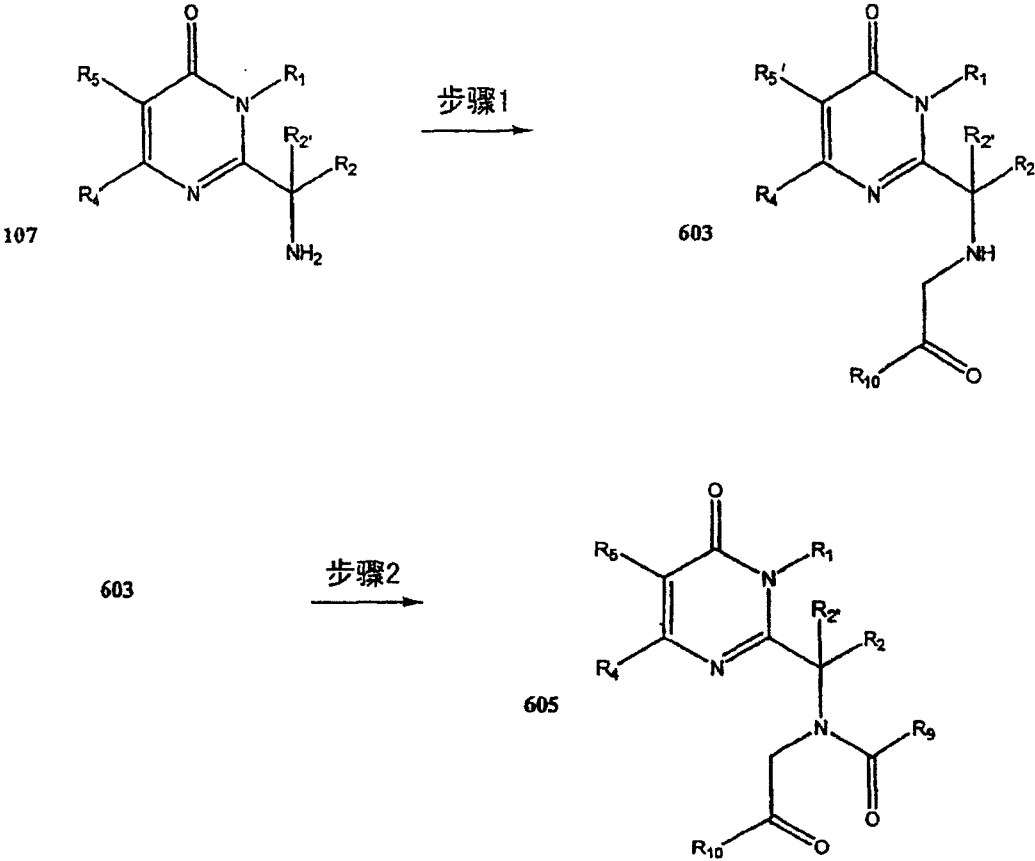
式 505 的制备

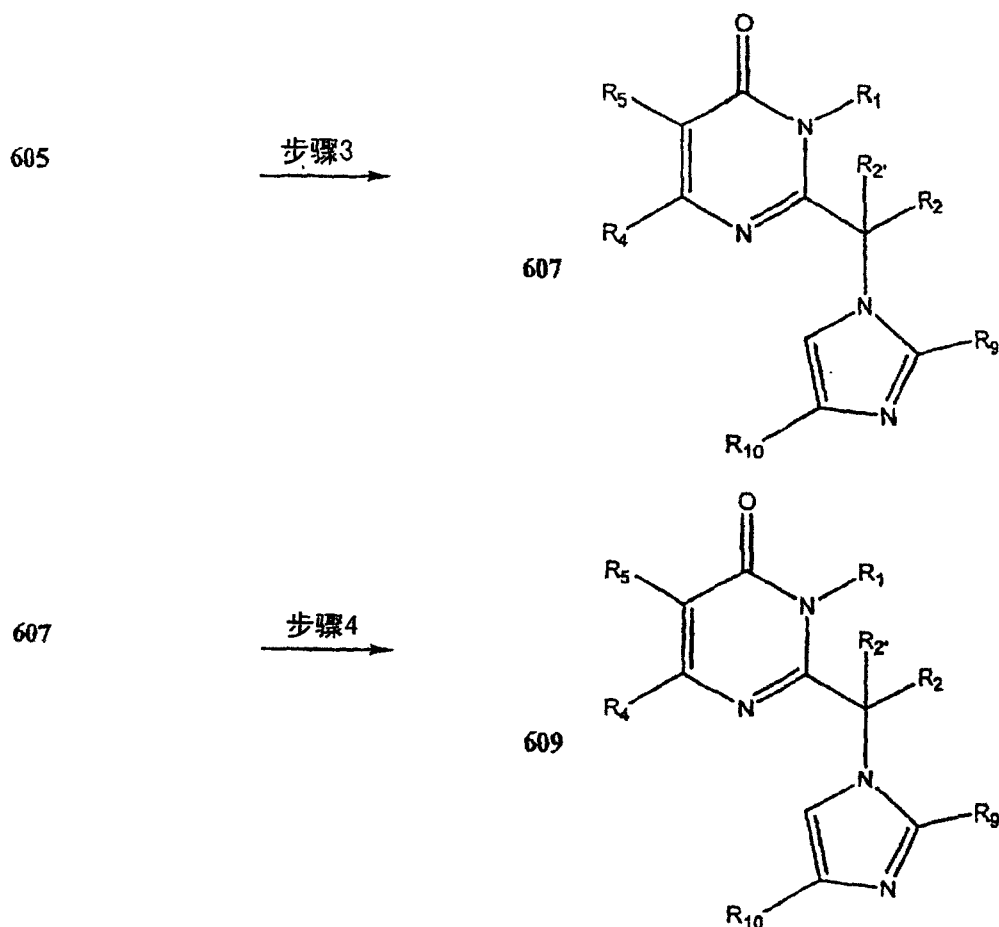
参考反应方案 5 之步骤 2，向式 503 之任选取代的化合物在惰性溶剂（如二氯甲烷）中的溶液内，在约 1.5 摩尔当量的胺碱（如三乙胺）存在下，添加约 1.5 摩尔当量的 R_9 酰氯，如 $Cl-C(O)-R_9$ ，其中 R_9 如本发明所定义。反应在搅拌和室温下进行 4—24 小时。例如通过 TLC 监控反应的完成。分离并纯制式 505 的相应化合物。

式 507 的制备

参考反应方案 5 之步骤 3，将式 505 的化合物和过量的乙酸铵在乙酸中的溶液加热回流 1—4 小时。例如通过 TLC 监控反应的完成。分离并纯制式 507 的相应化合物。

反应方案 6





式 603 的制备

参考反应方案 6 之步骤 1, 在室温下搅拌式 107 的化合物、式 $R_{10}(CO)CH_2X$ (其中 X 是卤化物) 的 α -卤代酮、以及约 1 当量的碱如碳酸钾在极性非质子性溶剂如 DMF 中的悬浮液。反应液用水稀释, 所得的固体——式 603 的化合物未经纯制即用于下一步的反应中。

式 605 的制备

参考反应方案 6 之步骤 2, 式 603 的化合物、约 1 当量的胺碱如三乙胺、以及约 1 当量的酰氯 (如式 R_9-COCl 的化合物在有机溶剂如二氯甲烷中的溶液在室温下搅拌数小时。例如通过 TLC 监控反应的完成。分离并纯制式 605 的相应化合物。

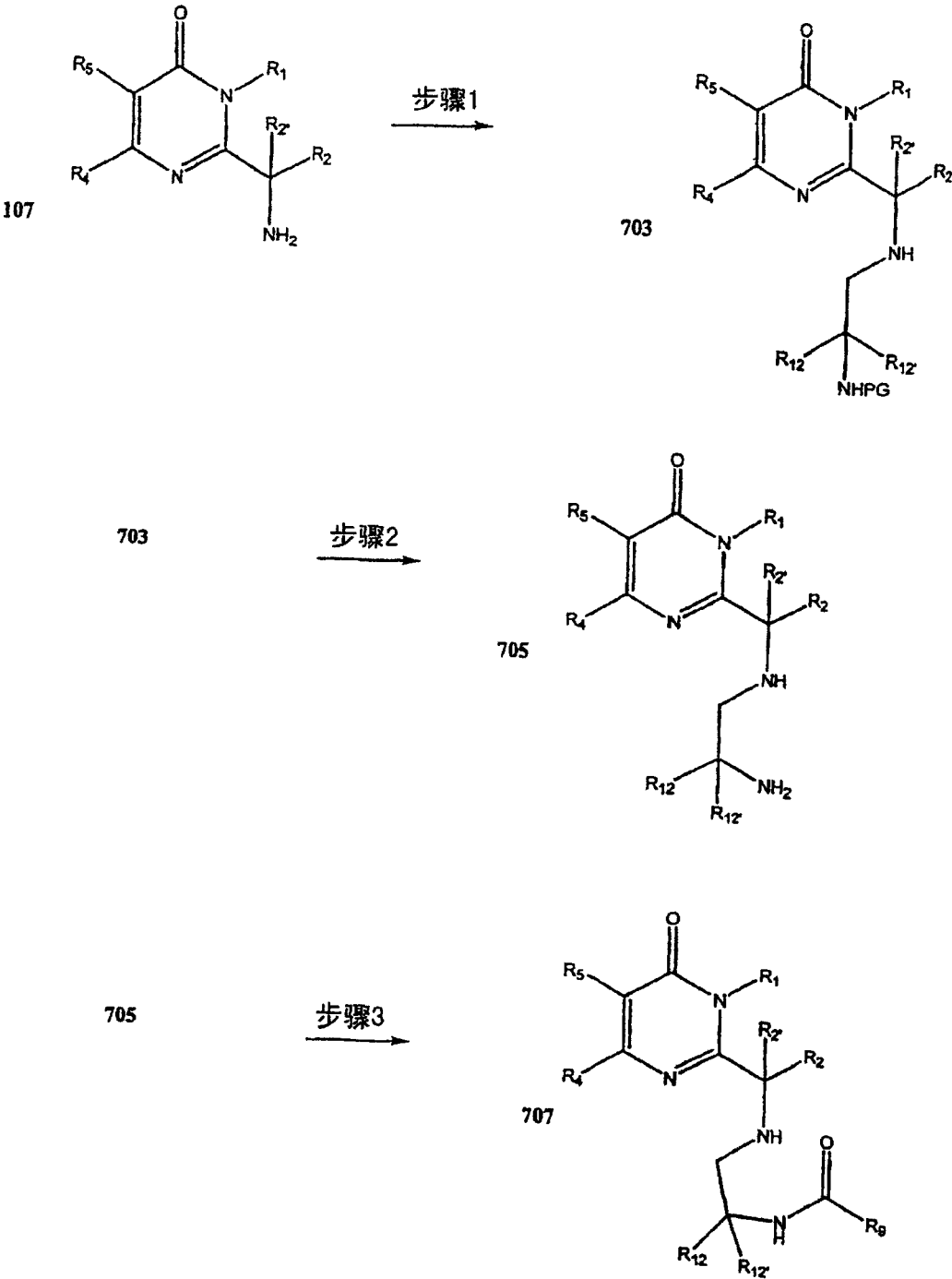
式 607 的制备

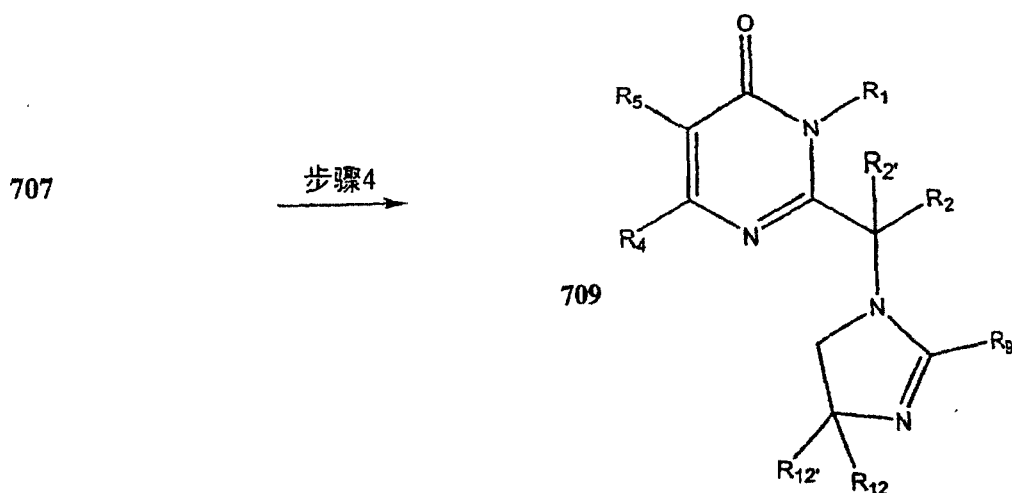
参考反应方案 6 之步骤 3, 使用 Dean-Stark 汽水阀和冷凝器使式 605 的化合物和过量的乙酸铵在乙酸中的溶液加热回流。例如通过 TLC 监控反应的完成。分离并纯制式 607 的相应化合物。

式 609 的制备

参考反应方案 6 之步骤 4, 如果 607 被保护为邻苯二甲酰亚胺, 则在回流下加热式 607 的化合物和过量的无水肼在极性质子性溶剂如乙醇中的溶液。将反应溶液冷却至约 5°C, 过滤出沉淀物。滤液进行真空浓缩和纯制, 产生式 609 的化合物。

反应方案 7





式 703 的制备

参考反应方案 7 之步骤 1, 用任选取代并包含醛的氨基甲酸酯对式 107 的胺(如 WO 0130768 所述进行制备)进行还原胺化(Seki 等人 Chem. Pharm. Bull. 1996, 44, 2061), 形成氨基甲酸酯中间产物。脱除 Boc 保护基, 形成式 705 的胺。

更具体而言, 向式 107 的化合物和等量的经适当保护的醛(Seki 等人 Chem. Pharm. Bull. 1996, 44, 2061) 在二氯甲烷中的溶液内添加略微过量的还原剂如三乙酰氧基硼氢化钠。所得的雾状化合物保持在室温下。例如通过 TLC 监控反应进程。分离式 703 的相应化合物, 并且未经纯制即用于下一步中。

式 705 的制备

参考反应方案 4 之步骤 2, 向式 703 的化合物在极性非质子性溶剂如二氯甲烷中的溶液内添加强酸如三氟乙酸。所得的溶液保持在室温下过夜, 然后减压浓缩。分离残留物, 得到式 705 的化合物, 其未经纯制即用于下一步中。

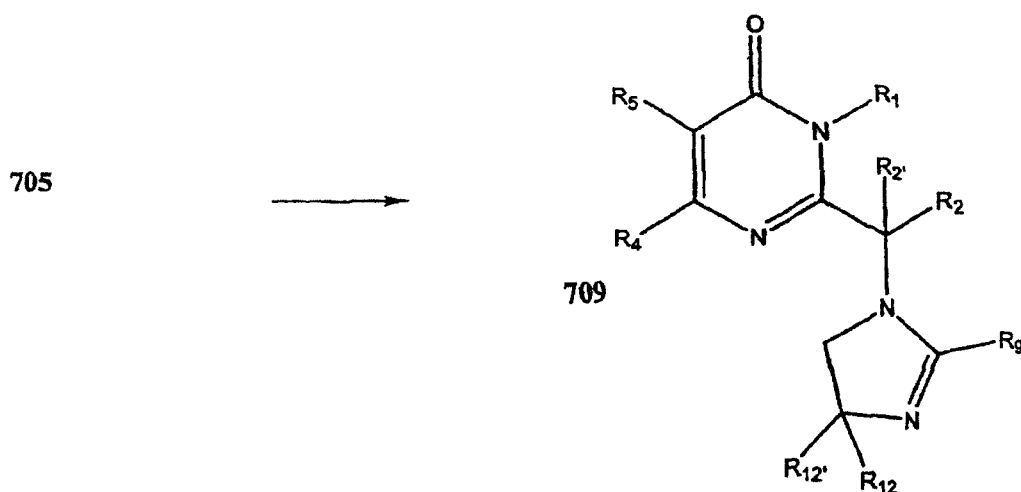
式 707 的制备

参考反应方案 4 之步骤 3, 向式 705 的化合物在极性非质子性溶剂如二氯甲烷中的溶液内添加过量的、优选约 2 当量的胺碱如三乙基胺, 随后添加约等量或者略微过量的酰氯。所得的溶液在室温下搅拌 3 小时。例如通过 TLC 监控反应的完成。分离并纯制式 707 的相应化合物。

式 709 的制备

参考反应方案 7 之步骤 4, 式 707 的化合物在过量的磷酰氯中的溶液加热回流。8 小时后, 将反应混合物冷却至室温, 并减压浓缩。分离并纯制式 709 的相应化合物。

反应方案 8



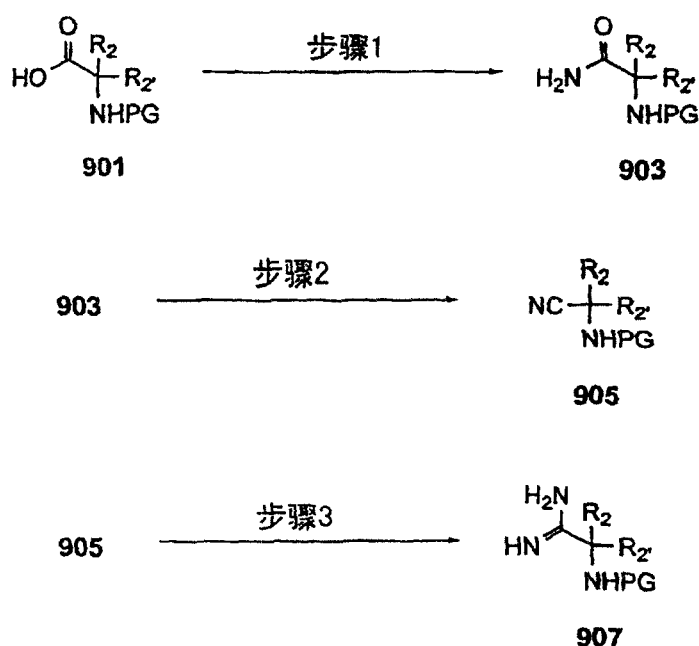
式 709 的制备

作为反应方案 7 之步骤 3 和 4 的替代方案, 式 705 的伯胺进行酰化, 随后进行乙酸介导的环化, 其中无需分离中间体酰胺, 形成式 709 的目标化合物。该途径显示在反应方案 8 中。

更具体而言, 向式 705 的化合物在极性非质子性溶剂如二氯甲烷中的溶液内添加过量、优选 2 当量的胺碱如三乙胺, 随后添加约等量的酰氯。

所得的溶液在室温下搅拌 2 小时，然后减压蒸发。所得的固体用冰乙酸处理，所得的悬浮液加热回流约 48 小时。将反应液冷却至室温，然后减压蒸发。分离并纯制式 709 的相应化合物。

反应方案 9



式 903 化合物的制备

参考反应方案 9 之步骤 1，向式 901 的化合物和过量（优选约 1.4 当量）的 N-甲基吗啉在无水、非极性、非质子性溶剂如四氢呋喃中的 0°C 溶液中添加过量（优选约 1.3 当量）的氯甲酸异丁基酯。所得的化合物在室温下搅拌约 4 小时。烧瓶装配干冰回流冷凝器，并用氨气连续清洗约 2 小时。所得的反应混合物在室温下搅拌过夜。分离产物——式 903 的化合物，未进一步纯制即用于下一步中。

式 905 化合物的制备

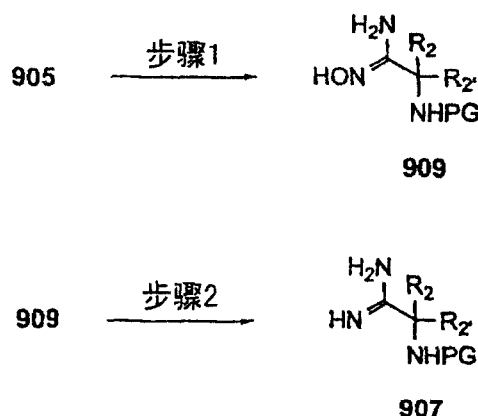
参考反应方案 9 之步骤 2，在室温下向式 903 的化合物在非极性的非

质子性溶剂如二噁烷中的溶液内顺序地添加过量（优选约 2.5 当量）的吡啶和过量（优选约 2 当量）的三氟乙酸酐。所得的溶液搅拌约 4 小时，直至没有起始物存在。分离并纯制产物——式 905 的化合物。

式 907 化合物的制备

参考反应方案 9 之步骤 3，在室温下向式 905 的化合物和 N-乙酰基半胱氨酸在极性质子性溶剂如乙二醇中的溶液内添加乙酸铵固体。所得的溶液加热至约 100℃ 共约 48 小时。真空蒸馏出大部分的乙二醇。分离产物——式 907 的化合物，而且未经纯制即用于下一步中。

反应方案 10



式 909 化合物的制备

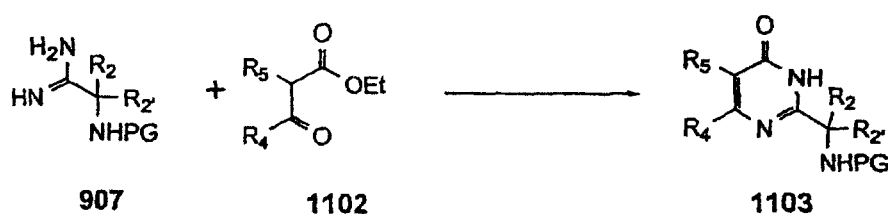
参考反应方案 10 之步骤 1，将甲醇钠在甲醇中的溶液（优选约 2 当量的 0.5 M 溶液）添加至式 905 的化合物中。向所得的反应混合物中添加过量（优选约 2 当量）的盐酸羟胺。反应混合物加热至 50℃ 过夜。分离产物——式 909 的化合物，而且未经纯制即用于下一步中。

式 907 化合物的制备

在室温下向式 909 的化合物在乙酸中的溶液内添加过量（优选约 1.5

当量) 的乙酸酐和 Pd/C。反应混合物在氢气氛下搅拌约 24 小时, 然后通过 Celite 进行过滤。分离产物——式 907 的化合物, 而且未经纯制即用于下一步中。

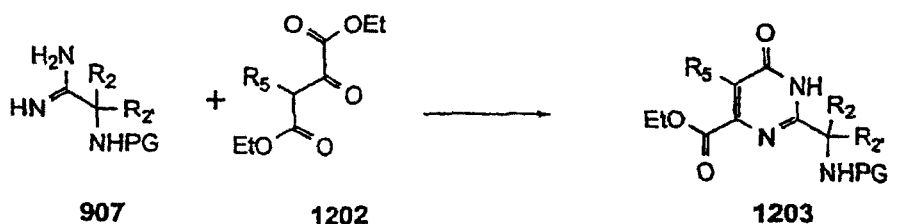
反应方案 11



式 1103 化合物的制备

参考反应方案 11, 向式 1102 的化合物和式 907 的化合物的溶液中添加甲醇钠在甲醇中的溶液 (优选约 2.4 当量的 0.5 M 溶液)。所得溶液加热至约 60°C 共约 30 分钟。分离并纯制产物——式 1103 的化合物。

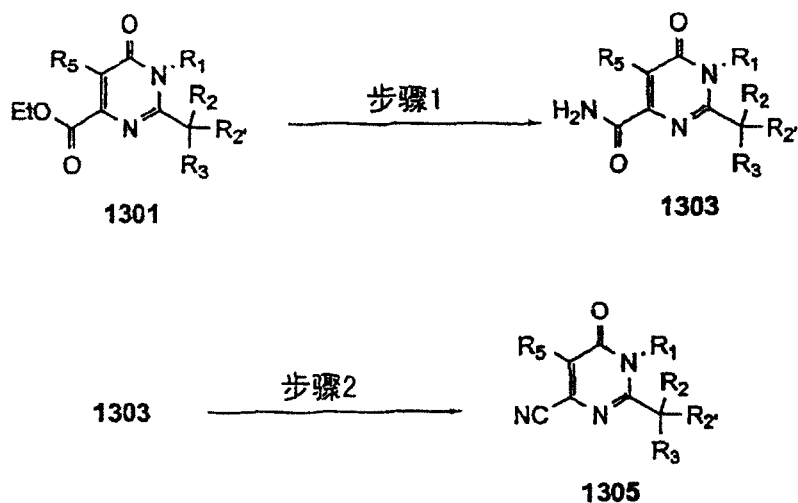
反应方案 12



式 1203 化合物的制备

参考反应方案 12, 在室温下向式 907 的化合物以及大约等量的二异丙基乙基胺在无水乙醇中的溶液内添加约等量的式 1202 化合物。所得混合物加热至约 70°C 共约 16 小时。分离并纯制产物——式 1203 的化合物。

反应方案 13



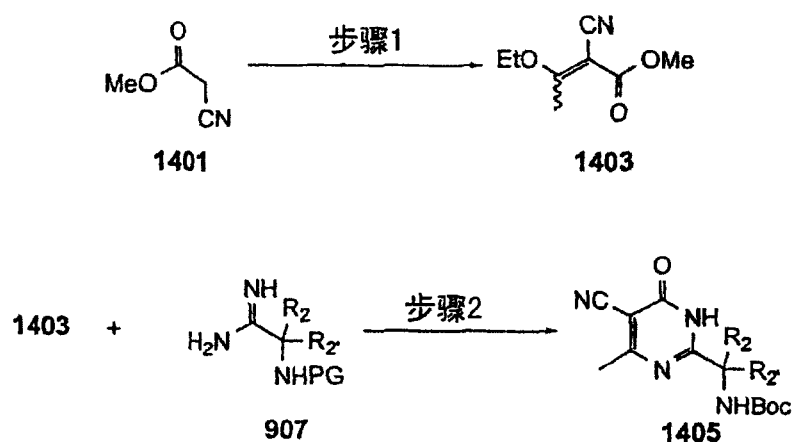
式 1303 化合物的制备

参考反应方案 13 之步骤 1, 在室温下向式 1301 的化合物在极性质子性溶剂如乙醇中的溶液内添加浓氨水。所得的混合物在室温下搅拌约 24 小时。分离并纯制产物——式 1303 的化合物。

式 1305 化合物的制备

参考反应方案 13 之步骤 2, 在室温下向式 1303 的化合物在吡啶中的溶液内添加过量的亚硫酸氯。分离并纯制产物——式 1305 的化合物。

反应方案 14



式 1403 化合物的制备

参考反应方案 14 之步骤 1, 将式 1401 的氰基乙酸甲酯和过量 (优选 1.1 当量) 的原乙酸三乙基酯在乙酸酐中的溶液加热回流约 3 小时。分离产物——式 1403 的化合物, 而且未经纯制即用于下一步中。

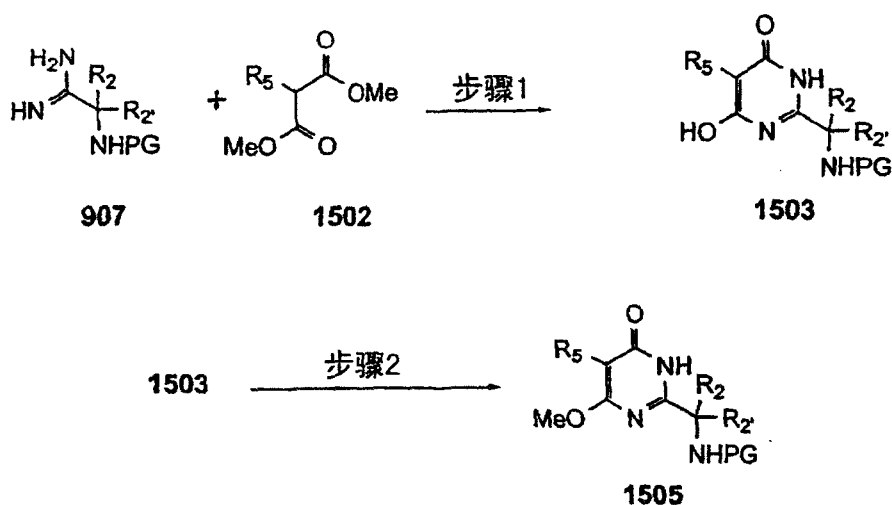
式 1405 化合物的制备

参考反应方案 14 之步骤 2, 向式 1403 的化合物和过量 (约 3 当量) 的式 907 化合物在极性质子性溶剂如乙醇中的溶液内添加甲醇钠在甲醇中的溶液 (优选为 0.5 M 溶液)。所得的溶液在约 60°C 和氮气氛下搅拌约 30 分钟。分离并纯制产物——式 1405 的化合物。

式 1405 化合物的替代制备

参考反应方案 14 之步骤 2, 或者, 向式 907 的化合物在极性质子性溶剂如乙醇中的溶液内添加约等量的式 1403 化合物。反应液回流约 18 小时, 然后冷却至室温。分离并纯制产物——式 1405 的化合物。

反应方案 15



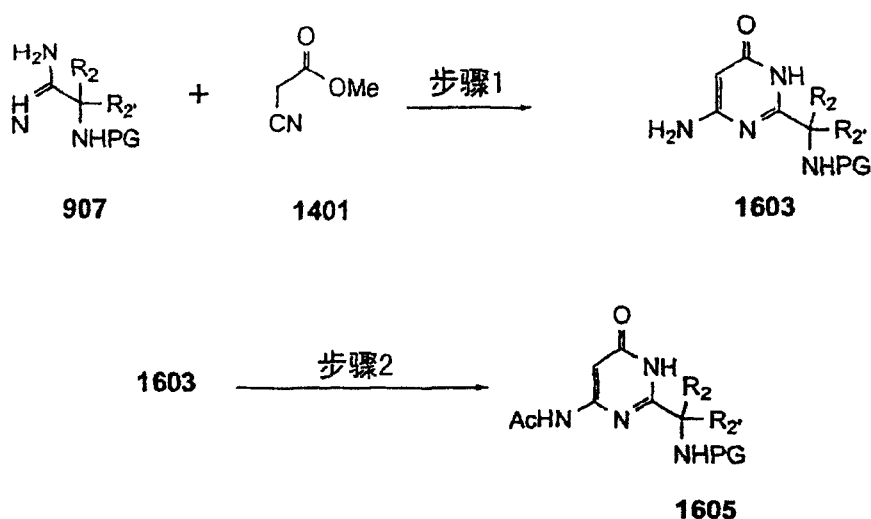
式 1503 化合物的制备

参考反应方案 15 之步骤 1, 在室温下向式 1502 的化合物 (如任选取代的丙二酸二烷基酯) 和过量 (优选约 1.5 当量) 的式 907 化合物在甲醇中的溶液内添加过量的甲醇钠在甲醇中的溶液 (优选为 0.5 M 甲醇溶液)。所得溶液加热至约 60°C 共约 4 小时。分离产物——式 1503 的化合物, 而且未经纯制即用于下一步中。

式 1505 化合物的制备

参考反应方案 15 之步骤 2, 向式 1503 的化合物在非极性非质子性溶剂如 DMF 中的溶液内添加碳酸氢钠和硫酸二甲酯。所得的溶液在约 0°C 下搅拌约 4 小时。分离并纯制产物——式 1505 的化合物。

反应方案 16



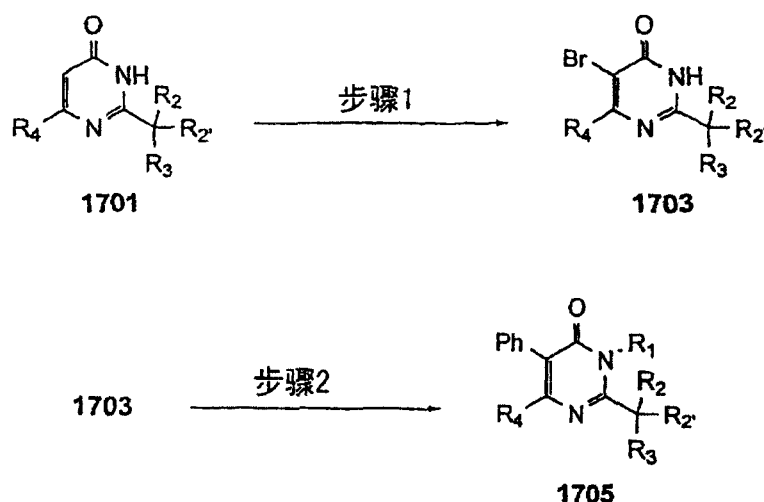
式 1603 化合物的制备

参考反应方案 16 之步骤 1, 在室温下向氰基乙酸甲酯 (即式 1401 的化合物) 和过量 (优选约 1.5 当量) 的式 907 化合物在甲醇中的溶液内添加甲醇钠在甲醇中的溶液 (优选约 1.8 当量的 0.5 M 甲醇溶液)。所得溶液加热至约 60℃ 共约 4 小时。分离产物——式 1603 的化合物, 而且未经纯制即用于下一步中。

式 1605 化合物的制备

在 0℃ 下向式 1603 的化合物在非极性非质子性溶剂如四氢呋喃中的溶液内顺序地添加二异丙基乙基胺和过量 (优选约 2 当量) 的酰氯 (如乙酰氯)。所得的溶液在约 0℃ 下搅拌约 6 小时。分离并纯制产物——式 1605 的化合物。

反应方案 17



式 1703 化合物的制备

参考反应方案 17 之步骤 1, 在室温下向式 1701 的化合物在四氯化碳中的溶液内添加约等量的 N-溴琥珀酰亚胺。所得混合物加热至约 85 °C 共约 1 小时。分离并纯制产物——式 1703 的化合物。

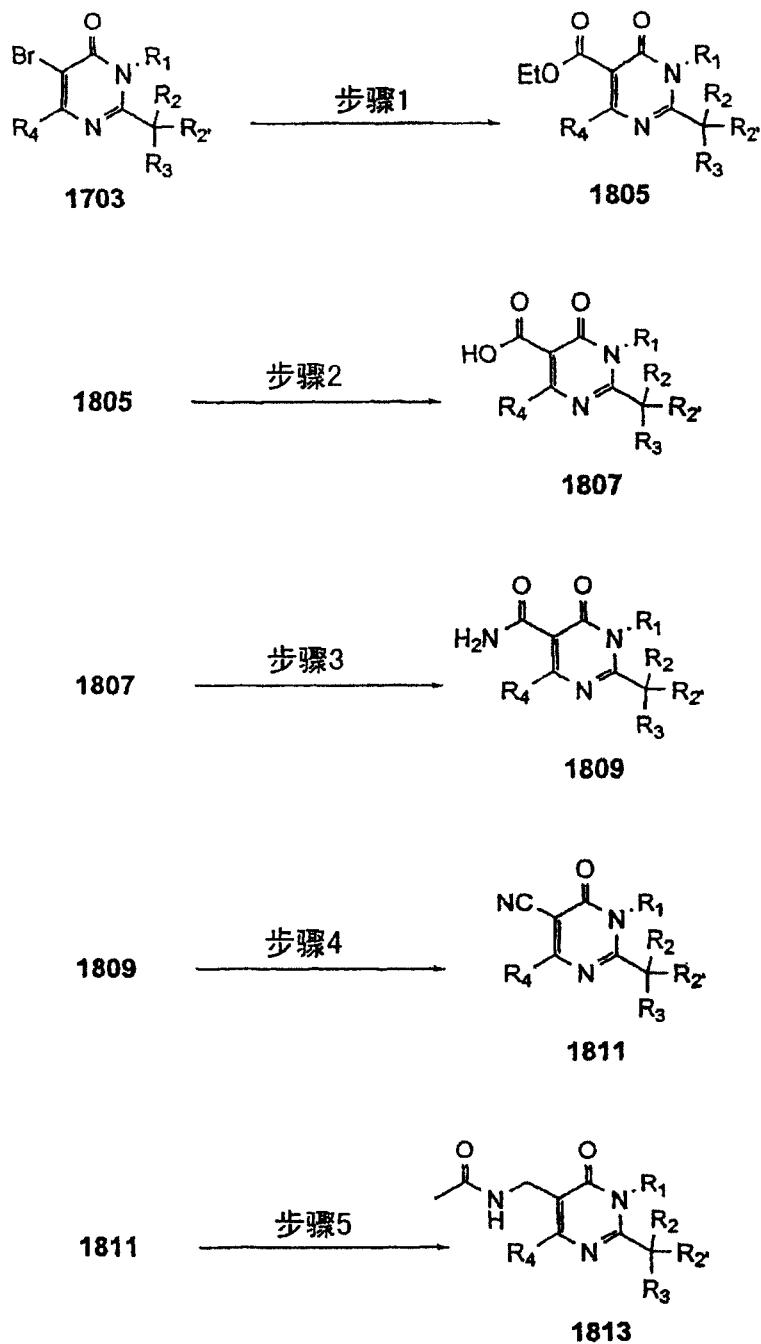
式 1705 化合物的制备

参考反应方案 17 之步骤 2, 将式 1703 的化合物、约 0.2 当量的 2-(二环己基磷基)联苯基、约 0.1 当量的乙酸钯、过量 (优选约 1.5 当量) 的苯基硼酸、以及过量 (优选约 3 当量) 的氟化钾放置在可重新密封的 Schlenk 管中。该管排空, 并用氮气回填数次。用注射器添加甲苯, 而所得混合物加热至约 80 °C 共约 72 小时。分离并纯制产物——式 1705 的化合物。

式 1705 化合物的替代制备

再参考反应方案 17 之步骤 2, 在 10-mL Smith 微波反应管中添加式 1703 的化合物、约等量的 3-氯硼酸、Na₂CO₃、以及 PdCl₂(PPh₃)₂, 然后添加 MeCN-H₂O(1:1)。该混合物用氩气冲洗, 密封, 然后在 150 °C 下放置在微波反应器中共约 5 分钟。分离并纯制产物——式 1705 的化合物。

反应方案 18



式 1805 化合物的制备

参考反应方案 18 之步骤 1, 在厚壁玻璃管中, 向式 1703 的化合物在无水乙醇中的溶液内添加约 0.25 当量的 1,3-二(二苯基膦基)丙烷、过量的

三乙胺和约 0.2 当量的乙酸钡。将该管排空，并用一氧化碳回填三次，然后用一氧化碳加压（约 30 psi）。该混合物加热至约 70℃ 共约 48 小时。分离并纯制产物——式 1805 的化合物。

式 1807 化合物的制备

参考反应方案 18 之步骤 2，在室温下向式 1805 的化合物在四氢呋喃和甲醇中的溶液内添加含水氢氧化钾。所得混合物加热至约 70℃ 共约 4 小时。分离产物——式 1807 的化合物，而且未经纯制即用于下一步中。

式 1809 化合物的制备

参考反应方案 18 之步骤 3，在室温下向式 1807 的化合物在无水四氢呋喃中的溶液内顺序地添加过量（优选约 3 当量）的二异丙基乙基胺和过量（优选约 1.2 当量）的氯甲酸异丁基酯。所得的混合物在室温和氮气氛下搅拌约 3 小时。将反应混合物冷却至约 0℃，然后用氨气冲洗约 45 分钟。混合物进一步温热至室温 45 分钟。分离并纯制产物——式 1809 的化合物。

式 1811 化合物的制备

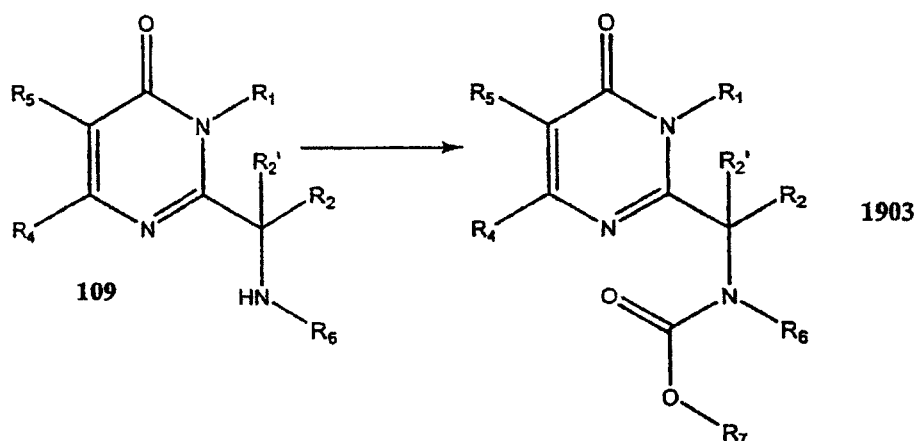
参考反应方案 18 之步骤 4，室温下向式 1809 的化合物在吡啶中的溶液内添加亚硫酸氯。反应混合物在室温下搅拌约 16 小时。分离并纯制产物——式 1811 的化合物。

式 1813 化合物的制备

参考反应方案 18 之步骤 5，在搅拌下向式 1811 的化合物在乙酸中的溶液内小心地添加 10% 的 Pd/C。反应物在氢气球中于室温下氢化约 18 小时，并分离粗胺。在搅拌下向该粗胺在非极性非质子性溶剂如二氯甲烷

中的溶液内添加碱如三乙胺和乙酸酐。室温下搅拌约 2 小时后, 分离并纯制产物——式 1803 的化合物。

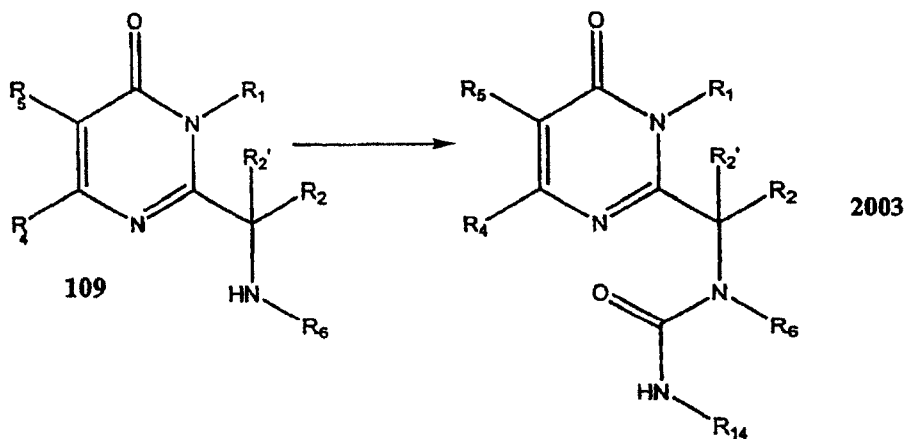
反应方案 19



式 1903 化合物的制备

参考反应方案 19, 在碱如三乙胺存在下, 于非极性非质子性溶剂如二氯甲烷中使式 109 的化合物与略微过量的式 $R_7O(CO)Cl$ 的化合物反应。分离并纯制产物——式 1903 的化合物。

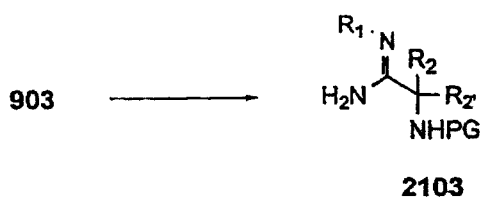
反应方案 20



式 2003 化合物的制备

参考反应方案 20，在碱如三乙胺存在下，于非极性非质子性溶剂如二氯甲烷中，式 109 的化合物用略微过量的异氰酸酯 $R_{14}-N=C=O$ 处理。分离并纯制产物——式 2003 的化合物。

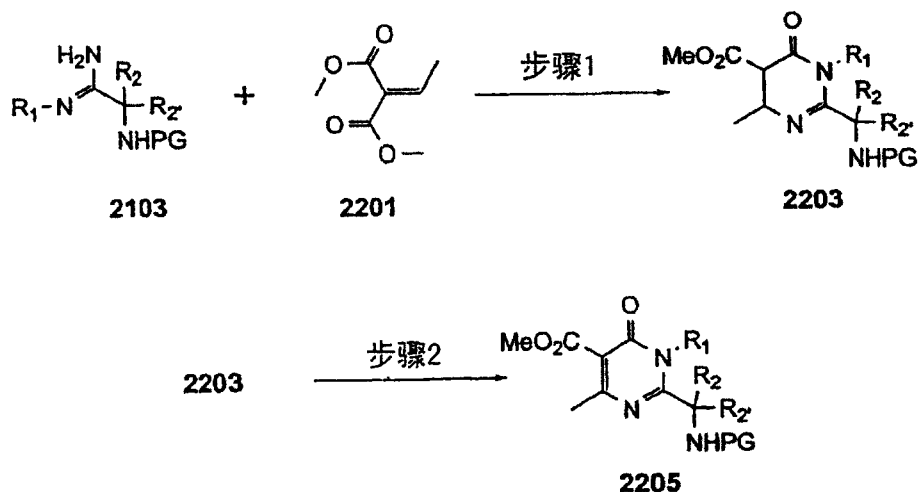
反应方案 21



式 2103 化合物的制备

参考反应方案 21，在搅拌下向式 903 的化合物在非极性非质子性溶剂如二氯甲烷中的溶液内添加过量（优选约 1.05 当量）的三乙基六氟磷酸氧鎓。反应混合物在室温下搅拌约 48 小时，倾倒在分离漏斗中，洗涤，干燥，过滤并真空浓缩。向残留的油中添加式 R_1NH_2 的化合物和极性质子性溶剂如乙醇。反应混合物在约 60℃下搅拌约 24 小时。分离产物——式 2103 的化合物，而且未经纯制即用于下一步中。

反应方案 22



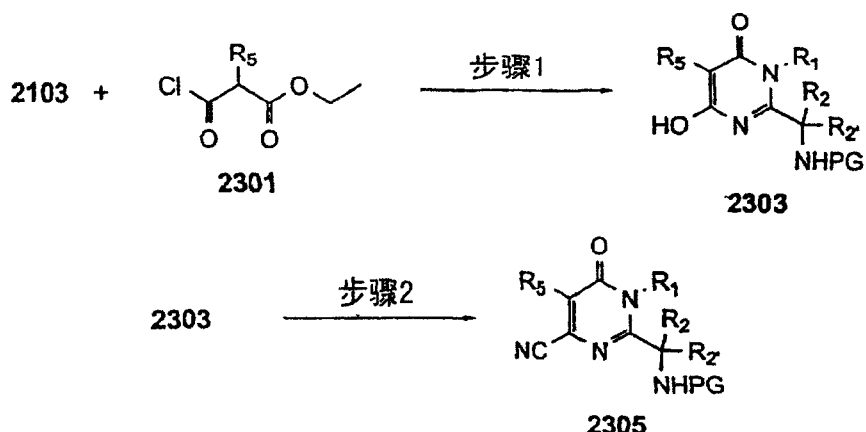
式 2203 化合物的制备

参考反应方案 22 之步骤 1, 向式 2103 的化合物在极性质子性溶剂如甲醇中添加约等量的式 2201 的化合物 (如亚乙基丙二酸二甲基酯)。反应混合物缓慢加热至约 110℃, 蒸馏掉溶剂。反应溶液在约 110℃ 下搅拌约 5 小时, 然后冷却至室温。分离并纯制产物——式 2203 的化合物。

式 2205 化合物的制备

参考反应方案 22 之步骤 2, 在搅拌下向式 2203 的化合物在非极性非质子性溶剂如四氯化碳中的溶液内添加 K_2CO_3 、N-溴琥珀酰亚胺、以及过氧化苯甲酰。反应回流约 0.5 小时, 然后冷却至室温。分离并纯制产物——式 2205 的化合物。

反应方案 23



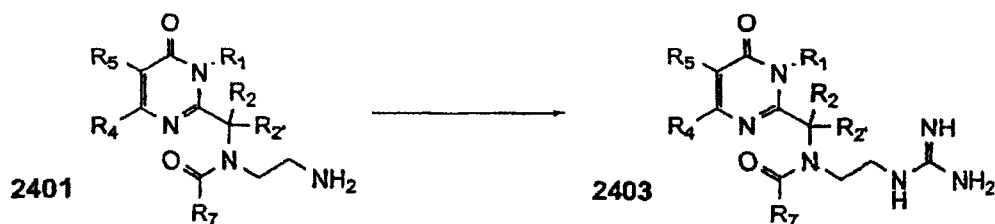
式 2303 化合物的制备

参考反应方案 23 之步骤 1, 在搅拌下向式 2103 的化合物在非极性非质子性溶剂如二氯甲烷中的溶液内添加碱如 Et_3N , 同时在 0°C 下冷却, 然后在 15 分钟的时间内滴加过量 (优选约 1.1 当量) 的式 2301 化合物 (优选其中 R_5 是甲基)。反应液温热至室温, 然后搅拌 4 小时。分离并纯制产物——式 2303 的化合物。

式 2305 化合物的制备

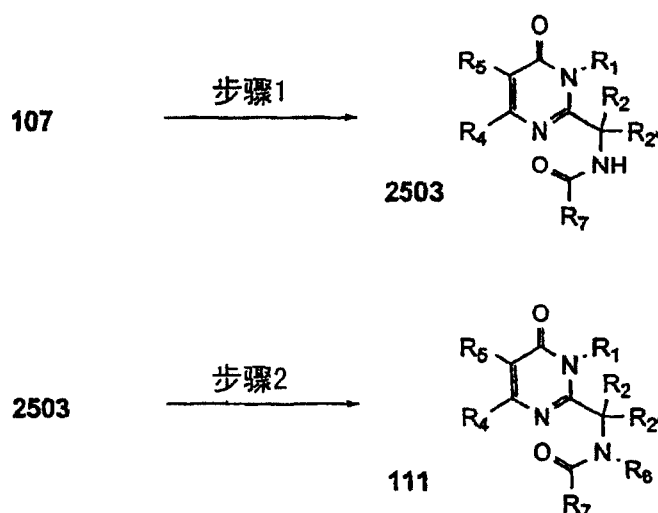
参考反应方案 23 之步骤 2, 在搅拌下向式 2303 的化合物的溶液中分批地添加 60% 氢化钠在矿物油中的分散体。室温下搅拌约 15 分钟后, 添加过量 (优选约 1.1 当量) 的 N-苯基三氟甲磺酰胺。反应混合物在室温下搅拌约 18 小时。分离并纯制产物, 相应的三氟甲磺酸酯。在搅拌下向粗的三氟甲磺酸酯在非极性非质子性溶剂如 DMF 中的溶液内添加 $\text{Zn}(\text{CN})_2$ 和 $(\text{PPh}_3)_4\text{Pd}$ 。反应液在惰性气氛下于 90°C 加热约 4 小时, 然后冷却至 RT。分离并纯制产物——式 2305 的化合物。

反应方案 24



向式 2401 的化合物在非极性非质子性溶剂如 DMF 中的溶液内添加 1H-吡唑-1-羧酸酰胺盐酸盐和二异丙基乙基胺。反应混合物在室温下搅拌约 16 小时。分离并纯制产物——式 2403 的化合物。

反应方案 25



式 2503 化合物的制备

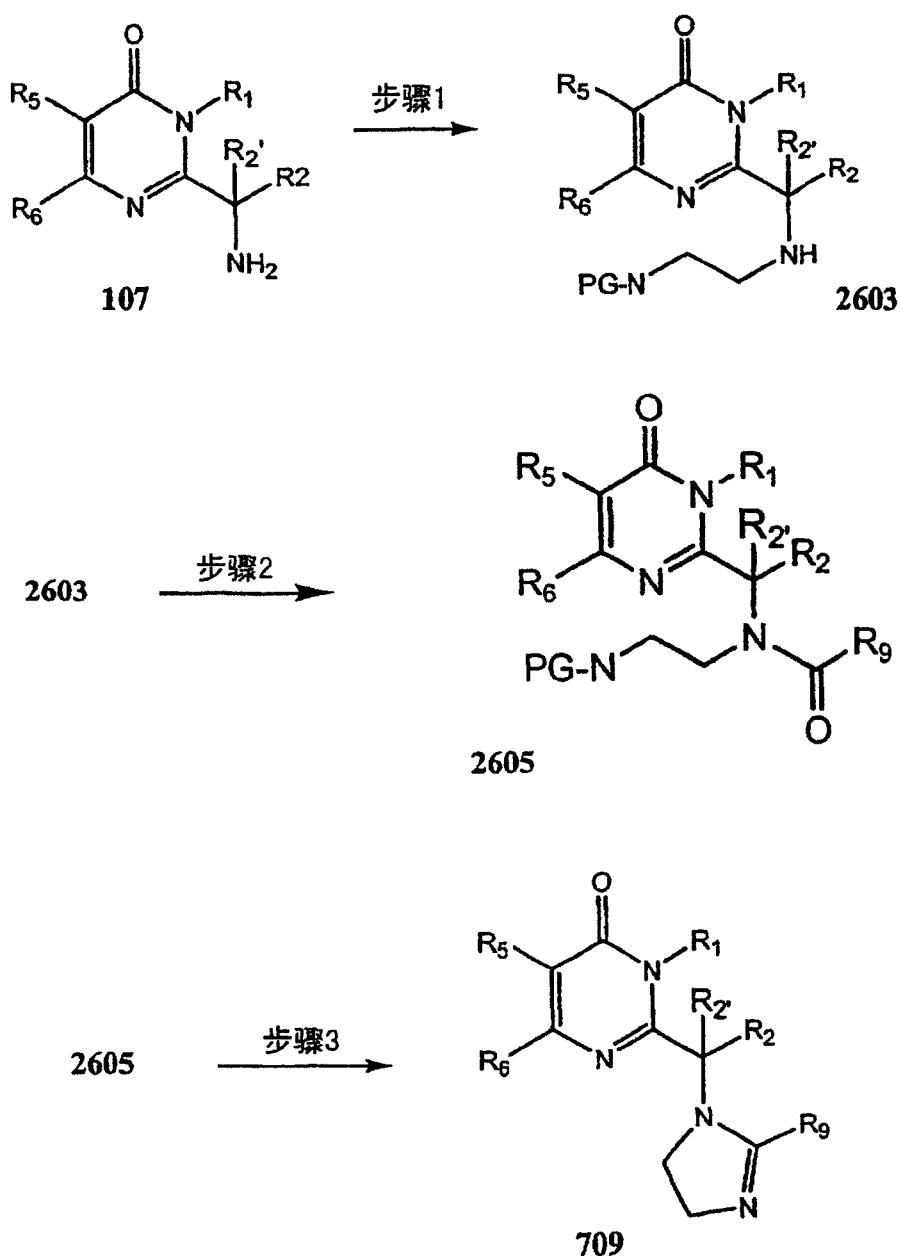
参考反应方案 25 之步骤 1, 向式 107 的化合物和碱如三乙胺在非极性非质子性溶剂如二氯甲烷中的溶液内添加式 $R_7-(CO)Cl$ 的化合物。反应在室温下搅拌约 48 小时。分离并纯制产物——式 2503 的化合物。

式 111 化合物的制备

参考反应方案 25 之步骤 2, 向式 2503 的化合物在非极性非质子性溶剂如 DMF 中的溶液内添加碱如氢化钠。反应在室温下搅拌约 15, 然后添

加式 R6-X 的化合物, 其中 X 是离去基团 (优选卤化物)。反应在 RT 下搅拌约 24 小时。分离并纯制产物——式 111 的化合物。

反应方案 26



式 2603 化合物的制备

参考反应方案 26 之步骤 1, 将式 107 的化合物和过量的式 PG-N-CH₂CHO 化合物 (优选 2H-异吡啶-2-乙醛) 溶解在非极性非质子性

溶剂如二氯乙烷中。

添加冰乙酸，然后添加三乙酰氧基硼氢化钠。在氮气氛和室温下搅拌反应约 3.5 小时。分离并纯制产物——式 2603 的化合物。

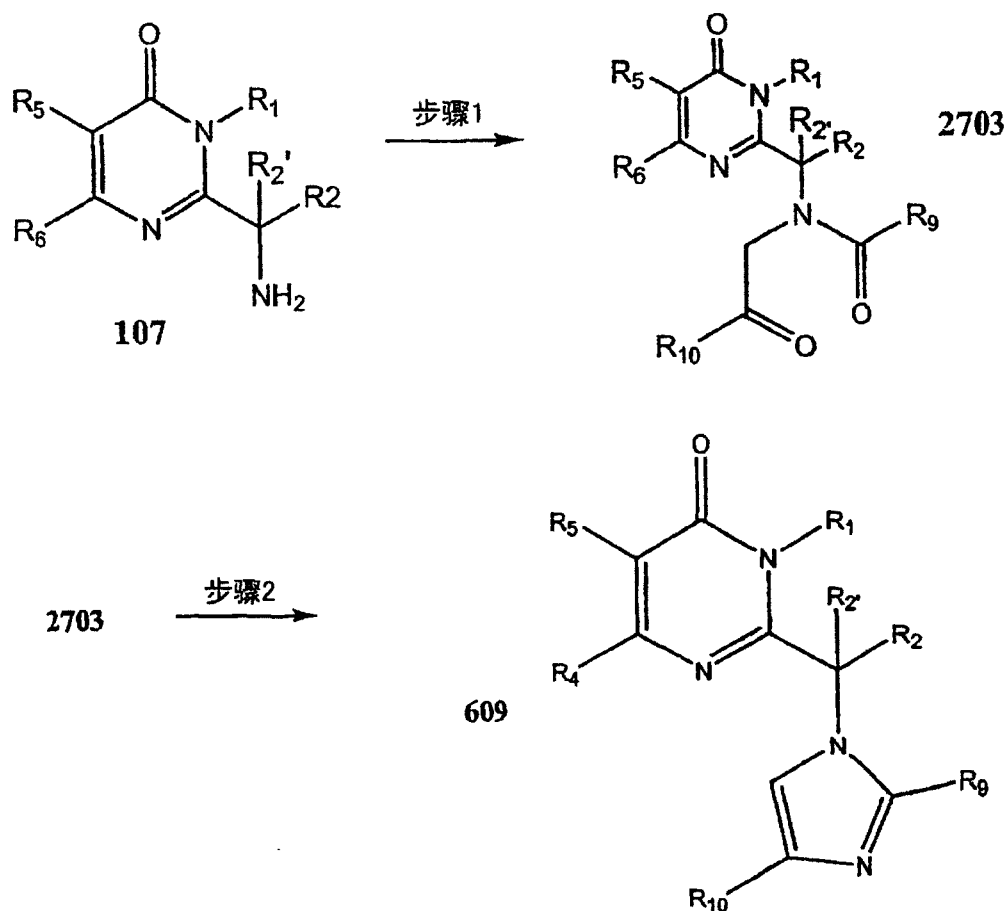
式 2605 化合物的制备

参考反应方案 26 之步骤 2，将略微过量（优选约 1.1 当量）的式 R9-(CO)-Cl 化合物溶解在非极性非质子性溶剂如甲苯中，然后顺序地用碱和式 2603 的化合物处理。反应在 110℃下搅拌约 3 小时。将反应冷却至室温。分离并纯制产物——式 2605 的化合物。

式 709 化合物的制备

参考反应方案 26 之步骤 3，如果氨基官能团以邻苯二甲酰亚胺的形式被保护，则式 2605 的经保护的胺用一水合肼在极性质子性溶剂如乙醇中于约 70℃下处理约 12 小时。分离并纯制产物——式 709 的化合物。

反应方案 27



式 2703 化合物的制备

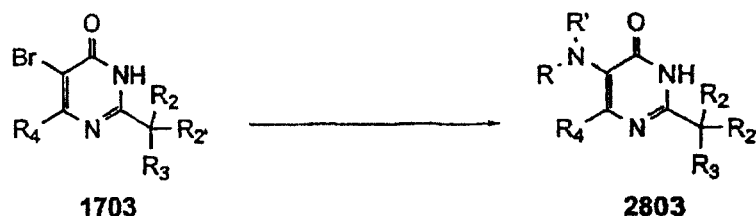
参考反应方案 27 之步骤 1, 向式 107 的化合物在非极性非质子性溶剂如 DMF 中的溶液内添加式 $X-CH_2-(CO)-R_{10}$ (其中 X 是离去基团, 优选是卤化物) 的化合物和碱如 N, N-二异丙基乙基胺。反应在室温下搅拌约 16 小时。分离产物并添加至非极性非质子性溶剂如三乙胺以及式 $R_9-(CO)-Cl$ 的化合物中。反应在室温下搅拌约 16 小时。分离并纯制产物——式 2703 的化合物。

式 609 化合物的制备

参考反应方案 27 之步骤 2, 向式 2703 的化合物在冰乙酸中的溶液内添加乙酸铵, 并且反应混合物加热回流约 16 小时。分离并纯制产物——

式 609 的化合物。

反应方案 28



式 2803 化合物的制备

参考反应方案 28，向式 1703 的化合物在非极性非质子性溶剂如甲苯中的溶液内添加式 H-NRR' 的胺、碱如 NaO-tBu、Pd₂DBA、以及 (S)-BINAP。反应在约 90℃ 的温度下搅拌约 72 小时。分离并纯制产物——式 2803 的化合物。

特殊的方法和最后的步骤

式 I 的化合物任选与药物学上可接受的酸或碱接触，形成相应的酸或碱加成盐。

式 I 化合物之药物学上可接受的酸加成盐任选与碱接触，形成式 I 之相应的游离碱。

式 I 化合物之药物学上可接受的碱加成盐任选与酸接触，形成式 I 之相应的游离酸。

本发明化合物的具体实施方案

R₁

当考虑式 I 的化合物时，在一个实施方案中，R₁ 选自于氢、任选取代的 C₁-C₈ 烷基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的芳基-C₁-C₄ 烷基、和任选取代的杂芳基-C₁-C₄ 烷基（更优选任选取代的芳基和

任选取代的芳基- C_1 - C_4 烷基)。在更为具体的实施方案中, R_1 选自于氢、任选取代的 C_1 - C_4 烷基、任选取代的苯基- C_1 - C_4 烷基、任选取代的萘基甲基、任选取代的苯基、和萘基。更具体而言, R_1 是任选取代的苯基- C_1 - C_4 烷基。任选取代的杂芳基- C_1 - C_4 烷基、或萘基甲基。

更具体而言, R_1 是萘基、苯基、溴苯基、氯苯基、甲氧基苯基、乙氧基苯基、甲苯基、二甲基苯基、氯氟苯基、甲基氯苯基、乙基苯基、苯乙基、苄基、氯苄基、甲基苄基、甲氧基苄基、氰基苄基、羟基苄基、二氯苄基、二甲氧基苄基、或萘基甲基。更合适地, R_1 是苄基、氰基苄基、甲氧基苄基、或萘基甲基。 R_1 更特别优选地是苄基。

R_2 和 R_2'

当考虑式 I 的化合物时, 本领域技术人员将认识到, 在此描述的化合物在 R_2 和 R_2' 连接其上的碳上具有可能的手性中心。 R_2 和 R_2' 基团可以相同或不同; 如果不同的话, 该化合物是手性的 (即具有立体中心)。当 R_2 和 R_2' 不同时, 在优选的实施方案中 R_2 为氢, 而 R_2' 不为氢。本发明包括使用纯对映异构体和对映异构体混合物, 包括外消旋混合物, 虽然通常优选使用基本上光学纯的对映异构体。术语“基本上光学纯的”或者“对映异构体纯的”意指具有至少约 95% 的所描述的对映异构体, 而没有一种杂质超过约 1%, 优选至少约 97.5% 对映异构体过量。在优选的实施方案中, R_2 和 R_2' 连接其上的立体中心是 R 构型。

当考虑式 I 的化合物时, R_2 和 R_2' 独立地选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的烷氧基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳基、和任选取代的杂芳烷基; 或者 R_2 和 R_2' 一起形成任选取代的 3-7 元环。

在一个实施方案中, R_2 是任选取代的 C_1 - C_4 烷基, 而 R_2' 是氢或任选取代的 C_1 - C_4 烷基。更合适地, R_2 是氢, 而 R_2' 是任选取代的 C_1 - C_4 烷基。

在更特别的实施方案中, R_2 选自于甲基、乙基、丙基(特别是 *c*-丙基或 *i*-丙基)、丁基(特别是 *t*-丁基)、甲硫基乙基、甲硫基甲基、氨基丁基、(CBZ)氨基丁基、环己基甲基、苄基氧基甲基、甲基硫烷基乙基、甲基硫烷基甲基、和羟甲基, 而 R_2 是氢。特别优选的实施方案是, R_2 是氢而 R_2 是乙基或丙基(特别是 *c*-丙基或 *i*-丙基)。更特别优选的是, R_2 为 *i*-丙基。尤其优选的是, R_2 和 R_2 连接其上的立体中心是 *R* 构型的。

在一个实施方案中, R_2 或 R_2 是氢, 而另一个不是氢。在另一个实施方案中, R_2 和 R_2 都是氢。

R_4 和 R_5

当考虑式 I 的化合物时, 在一个实施方案中, R_4 是氢; 酰基; 烷氧基; 氰基; 羧基, 酰胺基; 氨基羰基; 低级烷基; 被以下一个或者多个取代基取代的低级烷基: 卤素、低级烷氧基、或羟基; 苯基; 或被以下一个或者多个取代基取代的苯基: 卤素、低级烷氧基、或羟基。更特别地, R_4 是氢、氰基、甲基或被以下一个或者多个取代基取代的甲基: 卤素、低级烷氧基、或羟基(特别是卤素, 如 $-\text{CF}_3$)。

当考虑式 I 的化合物时, 在一个实施方案中, R_5 是氢; 酰基、羧基; 酰胺基, 氰基; 低级烷基(特别是甲基或乙基); 卤素(特别是溴、氯或氟); 苄基; 胡椒基; 萘基; 呋喃基; 噻吩基; 吡啶基; 吗啉基; 苯基; 苯并间二氧杂环戊烯基; 或被一个或者多个以下取代基取代的苯基: 任选取代的氨基、二烷基氨基、酰基氨基(如乙酰基氨基)、氰基、卤素、任选取代的低级烷基(包括三氟甲基和羟基烷基如羟甲基)、任选取代的低级烷氧基、任选取代的低级烷基硫烷基(包括甲硫烷基)、羟基或硫基。

更合适地, R_5 是甲基、乙基、溴、羧基、氰基、苯基、卤代苯基、低级烷基苯基、三氟甲基苯基、低级烷氧基苯基、二(低级烷氧基)苯基、多卤代苯基、卤代低级烷基苯基(如卤代甲基苯基)、呋喃基、噻吩基、

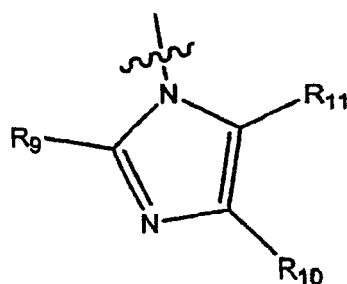
低级烷基硫烷基苯基、苯硫基、氨基苯基、氨基羰基苯基、氰基苯基、二(低级烷基)氨基苯基、二(低级烷基)苯基、乙酰基氨基苯基、氨基取代的低级烷基苯基、羟基取代的低级烷基苯基(如甲基羟基苯基)、胡椒基、萘基、氨甲酰基、低级烷基氨甲酰基(如甲基、乙基或丙基氨甲酰基)、苄基氨甲酰基、苯基氨甲酰基、甲氧基甲基氨甲酰基、甲氧基乙基氨甲酰基、羟基甲基氨甲酰基、羟基乙基氨甲酰基、吡啶基、草酰基、吗啉基、氰基、羧基、和吗啉基羰基。

更为合适地, R_5 是氢、甲基或氰基。

当考虑式 I 的化合物时, 在另一个实施方案中, R_4 和 R_5 与它们所连接的碳原子一起形成任选取代的 5、6 或 7 元脂族碳环。该环可被一个或者多个以下取代基取代: 卤素、任选取代的低级烷基、任选取代的低级烷氧基、和/或羟基。

其中 R_3 是任选取代的咪唑基的化合物

当 R_3 是任选取代的咪唑基时, 在一个特别的实施方案中, R_3 具有以下式:



其中:

R_9 选自于氢、任选取代的 C_1 - C_8 烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基- C_1 - C_4 烷基、任选取代的杂芳基- C_1 - C_4 烷基、任选取代的芳基- C_1 - C_4 烷氧基、任选取代的杂芳基- C_1 - C_4 烷氧基、和任选取代的杂芳基; 以及

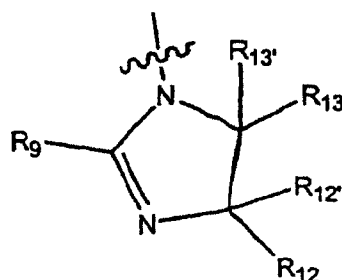
R_{10} 和 R_{11} 独立地是氢、任选取代的 C_1 - C_8 烷基、任选取代的芳基、或任选取代的芳基- C_1 - C_4 烷基。

根据一个实施方案, R_9 是被 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 烷氧基、和/或卤素取代的苯基, 苄基, 苄基, 苄基, 苄基, 或被 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 烷氧基、和/或卤素取代的苄基。更合适地, R_9 是被一个或者多个卤素和/或甲基取代的苯基。

根据另一个实施方案, R_{11} 是氢而 R_{10} 是取代的 C_1 - C_4 烷基。更合适地, R_{11} 是氢而 R_{10} 是氨基甲基、氨基乙基、氨基丙基、乙酰基氨基-甲基、乙酰基氨基乙基、苄基氧基羰基氨基-甲基或苄基氧基羰基氨基-乙基。

其中 R_3 是任选取代的咪唑啉基的化合物

当 R_3 是咪唑啉时, 在一个实施方案中, R_3 具有以下式:



其中,

R_9 选自于氢、任选取代的 C_1 - C_8 烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基- C_1 - C_4 烷基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳基- C_1 - C_4 烷基; 以及

R_{12} 、 $R_{12'}$ 、 R_{13} 、和 $R_{13'}$ 独立地选自于氢、任选取代的 C_1 - C_8 烷基、任选取代的芳基、和任选取代的芳基- C_1 - C_4 烷基。

在一个实施方案中, R_9 是亚甲二氧基苯基; 苯基; 被 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 烷氧基、和/或卤素取代的苯基; 苄基; 被 C_1 - C_4 烷基取代的噻吩基; 苄基; 苄基; 或被 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 烷氧基、和/或卤素取代的苄基。更合

适地, R_9 是亚甲二氧基苯基、苯基、甲苯基、甲氧基苯基、或卤代甲基苯基。

在一个实施方案中, R_{12} 、 $R_{12'}$ 、 R_{13} 、和 $R_{13'}$ 独立地是氢或任选取代的 C_1 - C_4 烷基。更合适地, $R_{13'}$ 和 R_{13} 都是氢。

其中 R_3 是 $-NHR_6$ 、 $-NR_6(COR_7)$ 或 $-NR_6(CH_2R_{7b})$ 的化合物

在一个实施方案中, R_6 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、以及任选取代的杂环基。更合适地, R_6 是 R_{16} -亚烷基而 R_{16} 选自于烷氧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、羧基、胍、羟基、和 N-杂环基。

在更为优选的实施方案中, R_6 选自于任选取代的低级烷基、任选取代的环己基; 被羟基、低级烷氧基或低级烷基取代的苯基; 苄基; 杂芳基甲基; 杂芳基乙基; 和杂芳基丙基。

在最优选的实施方案中, R_6 选自于甲基、乙基、丙基、丁基、环己基、羧基乙基、羧基甲基、甲氧基乙基、羟基乙基、羟基丙基、二甲基氨基乙基、二甲基氨基丙基、二乙基氨基乙基、二乙基氨基丙基、氨基丙基、甲基氨基丙基、2,2 二甲基-3-(二甲基氨基)丙基、1-环己基-4-(二乙基氨基)丁基、氨基乙基、氨基丁基、氨基戊基、氨基己基、氨基乙氧基乙基、异丙基氨基丙基、二异丙基氨基乙基、1-甲基-4-(二乙基氨基)丁基、(t-Boc)氨基丙基、羟基苯基、苄基、甲氧基苯基、甲基甲氧基苯基、二甲基苯基、甲苯基、乙基苯基、(氧代吡咯烷基)丙基、(甲氧基羰基)乙基、苄基哌啶基、吡啶基乙基、吡啶基甲基、吗啉基乙基 吗啉基丙基、哌啶基、氮杂环丁烷基甲基、氮杂环丁烷基乙基、氮杂环丁烷基丙基、吡咯烷基甲基、吡咯烷基乙基、吡咯烷基丙基、哌啶基甲基、哌啶基乙基、咪唑基丙基、咪唑基乙基、(乙基吡咯烷基)甲基、(甲基吡咯烷基)乙基、(甲基哌啶基)丙基、(甲基哌嗪基)丙基、胍基-乙基、胍基-丙基、呋喃基甲基和吡啶基

乙基。

当考虑式 I 的化合物时，在一个具体的实施方案中， R_7 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、任选取代的杂芳基、任选取代的芳基、 R_8O- 和 $R_{14}NH-$ ，其中 R_8 选自于任选取代的烷基和任选取代的芳基，而 R_{14} 选自于氢、任选取代的烷基和任选取代的芳基。

在一个更为优选的实施方案中，如果 R_7 不是 $R_{14}NH-$ 或 R_8O- ，则 R_7 选自于任选取代的烷基；芳基（包括苯基、联苯基、和萘基）；取代的芳基（包括被一个或者多个选自于以下组中的取代基取代的苯基：氰基、卤素、低级烷基、低级烷氧基、羟基-低级烷基、硝基、羧基、亚甲二氧基、三氟甲氧基或三氟甲基）；苄基-；以及任选取代的杂芳基。

在最优选的实施方案中，如果 R_7 不是 $R_{14}NH-$ 或 R_8O- ，则 R_7 选自于乙基、丙基、氯丙基、丁氧基、庚基、丁基、辛基、十三烷基、(乙氧基羰基)乙基、二甲基氨基乙基、二甲基氨基甲基、苯基、萘基、卤代苯基、多卤代苯基、氰基苯基、羟基甲基苯基、卤代(三氟甲基)苯基、氯苯氧基甲基、甲氧基苯基、羧基苯基、乙基苯基、甲基苯基、羟基甲基苯基、乙基苯基、联苯基、亚甲二氧基苯基、甲基磺酰基苯基、甲氧基氯苯基、氯萘基、乙酰基苯基、甲基卤代苯基、三氟甲基苯基、三氟甲氧基苯基、丁基苯基、戊基苯基、甲基硝基苯基、苯氧基甲基、二甲氧基苯基、苯基乙烯基、硝基氯苯基、硝基苯基、二硝基苯基、二(三氟甲基)苯基、苄基氧基甲基、苄基、呋喃基、苯并呋喃基、吡啶基 (pyridinyl)、吡啶基 (pyridyl)、吡啶基、甲基吡啶基 (methylpyridinyl)、甲基吡啶基 (methylpyridyl)、(3-氨基甲酰基)吡啶基-[烟酰胺]、3-氨基甲酰基-6-甲基吡啶基、喹啉基、皮考啉基、吡啶基、吡嗪基、甲基吡嗪基、吗啉子基甲基、甲硫基甲基、甲氧基甲基、咪唑基、异噁唑基、甲基-异噁唑基、苯并噻二唑基、亚甲二氧基苯基、噻吩基、甲基噻吩基、甲基-烟酰胺基、甲基-吡嗪基、苯并间二氧

杂环戊烯基、以及甲基-苯硫基。

更合适地， R_7 是甲基苯基、卤代苯基、卤代甲基苯基、羟基甲基苯基、亚甲二氧基苯基、甲酰基苯基或氰基苯基。

在另一个优选的实施方案中，如果 R_7 是 $R_{14}NH-$ ，则 R_{14} 选自于低级烷基；环己基；苯基；以及被卤素、低级烷基、低级烷氧基、或低级烷基硫烷基取代的苯基。

在另一个优选的实施方案中，如果 R_7 是 $R_{14}NH-$ ，则 R_{14} 是异丙基、丁基、环己基；苯基、溴苯基、二氯苯基、甲氧基苯基、乙基苯基、甲基苯基、三氟甲基苯基或甲硫基苯基。

在一个优选实施方案中，如果 R_7 是 R_8O- ，则 R_8 选自于低级烷基；环己基；苯基；以及被卤素、低级烷基、低级烷氧基、或低级烷基硫烷基取代的苯基。

在最优选的实施方案中，如果 R_7 是 R_8O- ，则 R_8 是异丙基、丁基、环己基、苯基、溴苯基、二氯苯基、甲氧基苯基、乙基苯基、甲基苯基、三氟甲基苯基或甲硫基苯基。

合适地， R_{7b} 选自于 C_1-C_{13} 烷基；取代的低级烷基；苯基；萘基；被以下基团取代的苯基：氰基、卤素、低级烷基、低级烷氧基、硝基、亚甲二氧基、或三氟甲基；联苯基、苄基和杂环基。更合适地， R_{7b} 选自于被一个或者多个以下基团取代的苯基：卤素、甲基、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基或甲氧基羰基；哌啶基；和萘基。更合适地， R_{7b} 是卤代苯基、甲基卤代苯基、多卤代苯基、甲基苯基、二甲基苯基、甲氧基苯基、二甲氧基苯基、氰基苯基、三氟甲基苯基、三氟甲氧基苯基、二(三氟甲基)苯基、羧基苯基、*t*-丁基苯基、甲氧基羰基苯基、哌啶基、和萘基。

其中 R_3 是 $-NR_6(SO_2R_{7a})$ 的化合物

如果 R_3 是 $-NR_6(SO_2R_{7a})$ ，则 R_6 如上所定义，而 R_{7a} 选自于 C_1-C_{13} 烷

基；苯基；萘基；被以下基团取代的苯基：氰基、卤素、低级烷基、低级烷氧基、硝基、亚甲二氧基、或三氟甲基；联苯基和杂芳基。更合适地， R_{7a} 选自于被以下基团取代的苯基：卤素、低级烷基、低级烷氧基、氰基、硝基、亚甲二氧基或三氟甲基；和萘基。

优选的亚属

在式 I 化合物的优选亚属中，

R_1 是任选取代的芳基- C_1 - C_4 烷基、任选取代的杂芳基- C_1 - C_4 烷基、或萘基甲基；

R_2 是任选取代的 C_1 - C_4 -烷基；

R_2 是氢；

R_4 是氢、氰基、或被一个或者多个以下取代基取代的甲基：卤素、低级烷氧基、或羟基；

R_5 是氢、甲基或氰基；以及

R_3 是任选取代的咪唑基、任选取代的咪唑啉基、 $-NHR_6$ 、 $-N(R_6)(COR_7)$ 、 $-N(R_6)(SO_2R_{7a})$ 、以及 $-N(R_6)(CH_2R_{7b})$ 。

在式 I 化合物的优选亚属中，

R_3 是任选取代的咪唑基；

R_1 、 R_2 、 R_2 、 R_4 和 R_5 如上所定义；

R_9 是被一个或者多个卤素和/或甲基取代的苯基；以及

R_{11} 是氢而 R_{10} 是取代的 C_1 - C_4 烷基（特别是氨基甲基、氨基乙基、氨基丙基、乙酰基氨基-甲基、乙酰基氨基乙基、苄基氧基羰基氨基-甲基-或苄基氧基羰基氨基-乙基）。

在式 I 化合物的优选亚属中，

R_3 是任选取代的咪唑啉基;

R_1 、 R_2 、 R_2' 、 R_4 和 R_5 如上所定义;

R_9 是亚甲二氧基苯基、苯基、甲苯基、甲氧基苯基、或卤代甲基苯基; 以及

R_{12} 、 $R_{12'}$ 、 $R_{13'}$ 、 R_{13} 独立地是氢或任选取代的 C_1 - C_4 烷基。更优选地, $R_{13'}$ 和 R_{13} 都是氢。

在式 I 化合物的优选亚属中,

R_3 是 $-NHR_6$;

R_1 、 R_2 、 R_2' 、 R_4 和 R_5 如上所定义;

R_6 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、以及任选取代的杂环基。

在式 I 化合物的优选亚属中,

R_3 是 $-NR_6(COR_7)$;

R_1 、 R_2 、 R_2' 、 R_4 和 R_5 如上所定义;

R_6 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、和任选取代的杂环基; 以及

R_7 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、任选取代的杂芳基、任选取代的芳基、 R_8O -和 $R_{14}-NH$ -, 其中 R_8 选自于任选取代的烷基和任选取代的芳基, 而 R_{14} 选自于氢、任选取代的烷基和任选取代的芳基。

更优选地, R_1 、 R_2 、 R_2' 、 R_4 和 R_5 如上所定义;

R_6 是 R_{16} -亚烷基, 而 R_{16} 选自于烷氧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、羧基、羟基、和 N-杂环基 (特别地, R_6 选自于任选取代的低级烷基、

任选取代的环己基;被羟基、低级烷氧基或低级烷基取代的苯基;苣基;杂芳基甲基;杂芳基乙基;杂芳基丙基);以及

R_7 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、任选取代的杂芳基、任选取代的芳基、 R_8O -和 $R_{14}NH$ -, 其中 R_8 选自于任选取代的烷基和任选取代的芳基, 而 R_{14} 选自于氢、任选取代的烷基和任选取代的芳基。

在式 I 化合物的优选亚属中,

R_3 是 $-NR_6(COR_7)$;

R_1 、 R_2 、 R_2' 、 R_4 和 R_5 如上所定义;

R_6 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、和任选取代的杂环基; 以及

R_7 选自于任选取代的烷基、芳基、取代的芳基、苣基、和任选取代的杂芳基。

在式 I 化合物的优选亚属中,

R_3 是 $-N(R_6)(COR_7)$;

R_1 、 R_2 、 R_2' 、 R_4 、 R_5 和 R_6 如上所定义; 以及

R_7 是甲苯基、卤代苯基、卤代甲基苯基、羟基甲基苯基、亚甲二氧基苯基、甲酰基苯基或氰基苯基。

在式 I 化合物的优选亚属中,

R_3 是 $-N(R_6)(CH_2R_{7b})$;

R_1 、 R_2 、 R_2' 、 R_4 和 R_5 如上所定义;

R_6 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、和任选取代的杂环基; 以及

R_{7b} 选自于被一个或者多个以下基团取代的苯基：卤素、甲基、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基或甲氧基羰基；哌啶基；和萘基。

在式 I 化合物的优选亚属中，

R_3 是 $-NR_6(SO_2R_{7a})$ ；

R_1 、 R_2 、 R_2' 、 R_4 和 R_5 如上所定义；

R_6 选自于氢、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、以及任选取代的杂环基；以及

R_{7a} 选自于被卤素、低级烷基、低级烷氧基、氰基、硝基、亚甲二氧基或三氟甲基取代的苯基；以及萘基。

优选的化合物包括：

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺；

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3-氟-4-甲基-苯甲酰胺；

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-乙基-苯甲酰胺；

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-氟-苯甲酰胺；

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-氯-苯甲酰胺；

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-溴-苯甲酰胺；

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-三氟甲基-苯甲酰胺；

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-三氟甲氧基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3-氟-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3-氯-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3-氰基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-氟-3-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3-氯-4-氟-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-氟-3-三氟甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3,4-二氟-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3,4-二甲氧基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-N-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-苯甲酰胺;

N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-N-吡咯烷-3-基甲基-苯甲酰胺;

-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-N-吡咯烷-2-基甲基-苯甲酰胺;

N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-N-哌啶-4-基甲基-苯甲酰胺;

N-氮杂环丁烷-3-基甲基-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(2-氨基-乙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-N-(2-胍基-乙基)-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-(3-甲氧基-苄基)-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

3-苄基-5,6-二甲基-2-[2-甲基-1-(2-p-甲苯基-4,5-二氢-咪唑-1-基)丙基]-3H-嘧啶-4-酮;

1-苄基-5-甲基-2-[2-甲基-1-(2-p-甲苯基-4,5-二氢-咪唑-1-基)丙基]-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-4-甲腈;

N-[1-(5-乙酰基-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-N-(3-氨基-丙基)-4-甲基-苯甲酰胺;

2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸酰胺;

2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸甲基酰胺;

2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸乙基酰胺;

2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸苄基酰胺;

2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸苯基酰胺;

2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸(乙酰基氨基-甲基)-酰胺;

2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸甲氧基甲基-酰胺;

2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸羟甲基酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-4-甲基-5-(吗啉-4-羰基)-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

(2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-基)-氧代-乙酸;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-甲基-6-氧代-5-苯基-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-甲基-6-氧代-5-苯基-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(3-氟-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(3-氯-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-甲基-6-氧代-5-m-甲苯基-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(3-甲氧基-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-4-甲基-6-氧代-5-(3-三氟甲基-苯基)-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(4-氟-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-甲基-6-氧代-5-p-甲苯基-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(4-氯-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(4-甲氧基-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-呋喃-2-基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-呋喃-3-基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-甲基-6-氧代-5-噻吩-3-基-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-4-甲基-5-(4-甲基硫烷基-苯基)-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(4-氰基-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(4-乙氧基-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(3-乙氧基-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-{1-[5-(3-氨基-苯基)-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-N-(3-氨基-丙基)-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-甲基-6-氧代-5-*o*-甲苯基-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-{1-[5-(3-乙酰基氨基-苯基)-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-N-(3-氨基-丙基)-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(3-氰基-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(3-二甲基氨基-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(2-甲氧基-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(2-乙氧基-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(2-氟-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(3,4-二氟-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(2,3-二氟-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(2,4-二氟-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(2,5-二氟-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(2,5-二甲基-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(3,4-二甲基-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(3,4-二甲氧基-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(4-氟-3-甲基-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-{1-[5-(3-氨基-4-甲基-苯基)-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-N-(3-氨基-丙基)-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(4-羟甲基-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(3-甲氧基-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-{1-[1-苄基-5-(胡椒基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-甲基-5-萘-1-基甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3-氟-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-氟-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-乙基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-三氟甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-三氟甲氧基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3-氟-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3-氯-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3-氰基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3-氟-4-三氟甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3,4-二氟-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3,4-二甲氧基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-6-氧代-4-苯基-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-6-氧代-4-丙基-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-异丙基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-甲氧基甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-羟甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-6-氧代-4-三氟甲基-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-甲氧基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-苄基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-4-羧酸乙基酯;

2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-4-羧酸酰胺;

N-[1-(4-乙酰基氨基-1-苄基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-N-(3-氨基-丙基)-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-异丙基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氟-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-溴-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1,5-二苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-甲基-6-氧代-5-苯基-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸乙基酯;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3-氟-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲氧基-苯甲酰胺;

苯并[1,2,3]噻二唑-5-羧酸(3-氨基-丙基)-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-氰基-苯甲酰胺;

苯并[1,3]间二氧杂环戊烯-5-羧酸(3-氨基-丙基)-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-酰胺;

N-(2-氨基-乙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3-氟-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(2-氨基-乙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-氰基-苯甲酰胺;

5-甲基-噻吩-2-羧酸(2-氨基-乙基)-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-酰胺;

5-甲基-异噻唑-3-羧酸(3-氨基-丙基)-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-酰胺;

5-甲基-吡嗪-2-羧酸(3-氨基-丙基)-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-2-甲氧基-乙酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(4,5-二甲基-1-蔡-1-基甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-2-甲氧基-乙酰胺;

2-{1-[4-(2-氨基-乙基)-2-p-甲苯基-咪唑-1-基]-2-甲基-丙基}-3-苄基-5,6-二甲基-3 H-嘧啶-4-酮;

3-苄基-5,6-二甲基-2-[2-甲基-1-(2-p-甲苯基-4,5-二氢-咪唑-1-基)丙基]-3H-嘧啶-4-酮;

3-苄基-5,6-二甲基-2-{2-甲基-1-[2-(5-甲基-噻吩-2-基)-4,5-二氢-咪唑-1-基]-丙基}-3H-嘧啶-4-酮;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯磺酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(3-苄基-4-氧代-3,4,5,6,7,8-六氢-喹唑啉-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺;

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(3-苄基-4-氧代-4,5,6,7-四氢-3H-环戊嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺; 以及

2-(1-氨基-2-甲基-丙基)-3-苄基-3,5,6,7-四氢-环戊嘧啶-4-酮。

用途、测试和给药

总用途

制备后,本发明的化合物可用于各种涉及改变有丝分裂的应用中。本领域技术人员可以理解的是,有丝分裂可通过多种方法来改变;也就是说,可通过增加或者降低有丝分裂途径中的组分的活性来改变。不同的是,有丝分裂可通过抑制或者活化某些组分干扰其平衡来影响(如被破坏)。类似的方法也可用于改变减数分裂。

在优选的实施方案中,本发明的化合物用于抑制有丝分裂纺锤体的形

成，由此导致延长有丝分裂中细胞周期休止。在此所用术语“抑制”是指降低或者干扰有丝分裂纺锤体的形成或者使有丝分裂纺锤体发生功能障碍。在此所用术语“有丝分裂纺锤体的形成”是指通过有丝分裂驱动蛋白将微管组合成双极结构。在此所用术语“有丝分裂纺锤体功能障碍”是指有丝分裂停止或者形成单极纺锤体。

本发明的化合物可用于与有丝分裂驱动蛋白——KSP 结合和/或抑制其活性。在一个实施方案中，KSP 是人 KSP，但也可使化合物结合或者抑制来源于其他生物体的 KSP 驱动蛋白。在本发明中，“抑制”是指增加或者降低纺锤极分离，导致有丝分裂纺锤极的畸形（如张开），或者对有丝分裂纺锤体产生形态干扰。为此目的，KSP 的定义中还包括 KSP 的变体和/或片段。参见美国专利 6,437,115，其内容在此并入作为参考。已显示本发明的化合物对 KSP 具有特异性。然而，本发明也包括使用化合物结合会调节其他的有丝分裂驱动蛋白。

本发明的化合物用于治疗细胞增殖性疾病。可用本发明的化合物、组合物及方法治疗的疾病状态包括但不限于癌症（进一步如下所述）、自体免疫性疾病、真菌性疾病、关节炎、移植物排斥反应、炎性肠疾病、医疗过程（包括但不限于手术、血管成形术等）诱发的增殖作用。治疗包括抑制细胞增殖作用。可以理解的是，在某些情况下，细胞有可能处于异常状态，而且仍需要治疗。因此，在一个实施方案中，本发明包括应用于罹患这些疾病之一的细胞或者个体或者防止其罹患这些疾病之一。

本发明的化合物、组合物和方法对于治疗癌症被认为是特别有用的，包括实体瘤，如皮肤、乳腺、脑、子宫颈癌、睾丸癌等。更具体而言，可用本发明的化合物、组合物及方法治疗的癌症包括但不限于：心：肉瘤（血管肉瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、脂肉瘤）、粘液瘤、横纹肌瘤、纤维瘤、脂瘤和畸胎瘤；肺：支气管癌（鳞状细胞、未分化小细胞、未分化大细胞、腺癌）、肺泡（细支气管）癌、支气管腺瘤、肉瘤、淋巴瘤、软骨错构瘤、

间皮瘤；胃肠道：食管（鳞状细胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤），胃（癌、淋巴瘤、平滑肌肉瘤），胰（胰管腺癌、胰岛瘤、高血糖素瘤、胃泌素瘤、类癌瘤、胰腺瘤），小肠（腺癌、淋巴瘤、类癌瘤、卡波济肉瘤、平滑肌瘤、血管瘤、脂瘤、神经纤维瘤、纤维瘤），大肠（腺癌、管腺瘤、绒毛腺瘤、错构瘤、平滑肌瘤）；生殖泌尿道：肾（腺癌、维尔姆斯肿瘤[肾胚胎细胞瘤]、淋巴瘤、白血病），膀胱和尿道（鳞状细胞癌、过渡细胞癌、腺癌），前列腺（腺癌、肉瘤），睾丸（精原细胞瘤、畸胎瘤、胚胎癌、畸胎瘤、绒膜癌、肉瘤、间质细胞癌、纤维瘤、纤维腺瘤、腺瘤样肿瘤、脂瘤）；肝脏：肝细胞瘤（肝细胞癌）、胆管癌、肝胚胎细胞瘤、血管肉瘤、肝细胞腺瘤、血管瘤；骨：成骨肉瘤（骨肉瘤）、纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、软骨肉瘤、尤因肉瘤、恶性淋巴瘤（网状细胞肉瘤）、多发性骨髓瘤、恶性巨细胞肿瘤脊索瘤、软骨骨瘤（骨软骨外生骨疣）、良性软骨瘤、成软骨细胞瘤、软骨粘液纤维瘤、骨样骨瘤和巨细胞肿瘤；神经系统：颅骨（骨瘤、血管瘤、肉芽瘤、黄瘤、畸形性骨炎），脑膜（脑膜瘤、脑膜肉瘤、神经胶质瘤病），脑（星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、神经胶质瘤、室管瘤、胚组织瘤（松果体瘤）、多形性成胶质细胞瘤、少突神经胶质细胞瘤、神经鞘瘤、成视网膜细胞瘤、先天性肿瘤），脊索（神经纤维瘤、脑膜瘤、神经胶质瘤、肉瘤）；妇科：子宫（子宫脑膜癌），子宫颈（子宫颈癌、肿瘤前子宫颈发育异常），卵巢（卵巢癌[浆液囊腺癌、假粘液性囊腺癌、未分类的癌]、粒层—膜细胞肿瘤、塞尔托利—莱迪希细胞肿瘤、无性细胞瘤、恶性畸胎瘤），外阴（鳞状细胞癌、上皮内癌、腺癌、纤维肉瘤、黑素瘤），阴道（透明细胞癌、鳞状细胞癌、葡萄簇状肉瘤[胚胎横纹肌肉瘤]），输卵管（癌）；血液：血液（髓细胞样白血病[急性和慢性]、急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、骨髓及外骨髓增殖性疾病、多发性骨髓瘤、脊髓发育不良综合症），何杰金病、非何杰金淋巴瘤（恶性淋巴瘤）；皮肤：恶性黑素瘤、基底细胞癌、鳞状细胞癌、卡波

济肉瘤、痣发育不良痣、脂瘤、血管瘤、皮肤纤维瘤、瘢痕瘤、牛皮癣；以及腺体：成神经细胞瘤。因此，在此所用术语“癌细胞”包括受到任何一种如上所述的病症影响的细胞。

测试

对于 KSP 调节活性的分析，KSP 或者本发明的化合物通常非可扩散地结合在不溶性载体上，该载体具有分开的样品接受区域（如微量滴定板、阵列（array）等）。不溶性载体可由任何本发明的化合物可结合于其上的材料制成，易于与可溶性材料分离，或者与总的筛选方法相配适。此等载体的表面可以是固体或者多孔性的，而且可以是任何形状的。合适的非溶性载体的例子包括微量滴定板、阵列、膜和珠。这些材料通常是由玻璃、塑料（如聚苯乙烯）、多糖、尼龙或者硝基纤维素、Teflon™ 等制成。微量滴定板和阵列是特别方便的，因为使用少量的试剂和样品可同时进行大量的测试。本发明化合物的具体结合方式不是关键性的，只要其与试剂以及本发明的总方法相匹配，保持化合物的活性而且不可扩散即可。优选的结合方法包括使用抗体（当蛋白质结合于载体上时，其不会立体地阻断配体结合位点或者活化序列），直接结合在“粘性”或者离子载体上，化学交联，在表面上合成蛋白质或药物等。在结合蛋白质或者药物后，通过洗涤除去过量的未结合材料。样品接受区域然后可通过与牛血清白蛋白（BSA）、酪蛋白、或者其他接种蛋白或者其他物质保温而被阻断。

本发明的化合物可单独使用以抑制有丝分裂驱动蛋白、特别是 KSP 的活性。在一个实施方案中，本发明的化合物与 KSP 混合，然后分析 KSP 的活性。驱动蛋白（包括 KSP）活性在本领域中是已知的，而且包括一种或者多种驱动蛋白活性。驱动蛋白活性包括影响 ATP 水解的能力；微管结合；滑行以及聚合/解聚（对微管动力学的影响）；与纺锤体其他蛋白质的结合；与细胞周期控制中涉及的蛋白质结合；作为其他酶的底物；如激

酶或者蛋白酶；以及特异性的驱动蛋白细胞活性如纺锤极分离。

进行分析的方法对于本领域技术人员而言是众所周知的（例如参见：Hall 等人 (1996), *Biophys. J.*, 71: 3467-3476; Turner 等人, 1996, *Anal Biochem.* 242 (1): 20-5; Gittes 等人, 1996, *Biophys. J.* 70 (1): 418-29; Shirakawa 等人, 1995, *J. Exp. Biol* 198: 1809-15; Winkelmann 等人, 1995, *Biophys. J.* 68: 2444-53; Winkelmann 等人, 1995, *Biophys. J.* 68: 72S)。

也可使用本领域中已知的测定 ATP 酶水解活性的方法。优选地，使用以溶液为基础的实验。美国专利 6,410,254（其内容在此并入作为参考）描述了此等实验。或者，使用常规的方法。例如，可对驱动蛋白中的 P_i 释放进行定量。在一个优选的实施方案中，ATP 酶水解活性实验使用 0.3 M 的 PCA（高氯酸）和孔雀绿试剂（8.27 mM 钼(II)酸钠、0.33 mM 的孔雀绿草酸盐、以及 0.8 mM 的 Triton X-100）。在进行该实验时，10 μ l 的反应物在 90 μ l 的冷 0.3 M PCA 中淬灭。使用磷酸盐标准物，所以可将数据转化为 mM 所释放的无机磷酸盐。当所有的反应物和标准物都已在 PCA 中淬灭时，在例如微量滴定板的相关孔中添加 100 μ l 的孔雀绿试剂。使混合物显色 10—15 分钟，然后读取板在 650 nm 处的吸光度。如果使用磷酸盐标准物，则可将吸光度读数转化为 mM P_i ，并相对时间作图。另外，本领域中已知的 ATP 酶实验包括荧光素酶实验。

驱动蛋白运动域的 ATP 酶活性也可用于监测药剂的作用。在一个实施方案中，在没有微管存在下进行驱动蛋白 ATP 酶实验。在另一个实施方案中，在有微管存在时进行 ATP 酶实验。在上述实验中可检测不同类型的药剂。在一个实施方案中药剂的作用不依赖于微管和 ATP 的浓度。在另一个实施方案中，通过增加 ATP、微管或者这两者的浓度，可降低调节剂对驱动蛋白 ATP 酶的作用。在又一个实施方案中，通过增加 ATP、微管或者这两者的浓度，可增加药剂的作用。

体外抑制 KSP 的生化活性的化合物可接着在体内进行筛选。体内的

筛选方法包括有关细胞周期分布、细胞存活率、或者有丝分裂纺锤体之存在、形态、活性、分布或者量的实验。例如通过流动细胞计监测细胞数量在细胞周期中的分布的方法对于本领域技术人员是已知的，测量细胞存活率的方法也是如此。例如参见美国专利 6,437,115，其内容在此并入作为参考。监测纺锤体的形成和畸形的显微镜法对于本领域技术人员也是已知的（例如参见：Whitehead 和 Rattner (1998), J. Cell Sci. 111: 2551-61; Galgio 等人, (1996) J. Cell Biol., 135: 399-414），该文献中的全部内容在此并入作为参考。

本发明的化合物抑制 KSP 驱动蛋白。抑制作用的一个量度是 IC_{50} ，其定义为 KSP 的活性相对于对照被降低 50% 时的化合物浓度。化合物的 IC_{50} 优选低于约 1 mM，在优选实施方案中， IC_{50} 低于约 100 μ M，在更优选的实施方案中， IC_{50} 低于约 10 μ M，在特别优选的实施方案中， IC_{50} 低于约 1 μ M，在尤为优选的实施方案中， IC_{50} 低于约 100 nM，而在最优选的实施方案中， IC_{50} 低于约 10 nM。 IC_{50} 的测量是用例如在此描述的 ATP 酶实验进行的。

抑制作用的另一个量度是 K_i 。对于 IC_{50} 低于 1 μ M 的化合物， K_i 或者 K_d 定义为嘧啶酮与 KSP 相互作用的解离常数。优选的化合物具有低于约 100 μ M 的 K_i ，在优选实施方案中， K_i 低于约 10 μ M，在更优选的实施方案中， K_i 低于约 1 μ M，在特别优选的实施方案中， K_i 低于约 100 nM，而在最优选的实施方案中， K_i 低于约 10 nM。

化合物的 K_i 是根据三个假设和 Michaelis-Menten 等式由 IC_{50} 测定的。第一，仅一个化合物分子结合在酶上，而且没有合作性。第二，活性酶的浓度和测试化合物是已知的（例如，在制剂中没有显著量的杂质或者失活形式）。第三，酶-抑制剂复合物的酶促速率是零。速率（即化合物浓度）的数据拟合于以下等式中：

$$V = V_{\max} E_0 \left[1 - \frac{(E_0 + I_0 + K_d) - \sqrt{(E_0 + I_0 + K_d)^2 - 4E_0 I_0}}{2E_0} \right]$$

其中：V 是观察速率， $V_{\max}$ 是游离酶的速率， I_0 是抑制剂浓度， E_0 是酶浓度，而 K_d 是酶—抑制剂复合物的解离常数。

抑制作用的再一个量度是 GI_{50} ，其定义为细胞生长速率降低 50% 时的化合物浓度。优选的化合物具有低于约 1 mM 的 GI_{50} ； GI_{50} 低于约 20 μ M 的化合物是更优选的， GI_{50} 为约 10 μ M 的化合物是更优选的， GI_{50} 低于约 1 μ M 的化合物是更优选的， GI_{50} 为约 100 nM 的化合物是更优选的， GI_{50} 低于约 10 nM 的化合物是更优选的。 GI_{50} 是通过使用例如在此描述的细胞增殖实验来测定的。发现该类化合物抑制细胞增殖。

小分子抑制剂的体外效力是例如通过分析人卵巢癌细胞 (SKOV3) 在接触一系列 9 个点稀释的化合物 72 小时后的存活率来测定的。细胞存活率是通过测量生物还原市售试剂 MTS/PMS 时形成的产物 formazon 的吸光度来测定的。剂量—应答曲线上所计算的每个点是未经处理的对照细胞在 72 小时时的百分数减去背景吸收（完全细胞杀死）。

已成功地在临床中用于治疗癌症的抗增殖化合物（癌症化疗剂）具有变化较大的 GI_{50} 。例如，在 A549 细胞中，紫杉醇 GI_{50} 是 4 nM，多柔比星是 63 nM，5-氟尿嘧啶是 1 μ M，而羟基脲是 500 μ M（数据是由 National Cancer Institute, Developmental Therapeutic Program 提供的，<http://dtp.nci.nih.gov/>）。因此，抑制细胞增殖的化合物，无论该浓度是否表现出抑制作用，都具有潜在的临床应用。

在用于筛选结合 KSP 驱动蛋白的化合物的方法中使用本发明的化合物时，将 KSP 结合在载体上，然后在实验中添加本发明的化合物（其是有丝分裂剂）。或者，将本发明的化合物结合在载体上，然后添加 KSP。可在其中寻求新的结合剂的化合物包括特异性抗体、在化学文库的筛选中已鉴别的非天然结合剂、肽类似物等。筛选出对于人细胞具有低毒性的候

选药物是筛选实验特别有用的一个方面。为此目的可使用多种实验,包括体外标记的蛋白-蛋白结合实验,电泳移动性位移实验,用于蛋白结合的免疫实验,官能团实验(磷酸化实验等),等等。

可以多种方法测定本发明化合物与 KSP 的结合。在优选的实施方案中,本发明的化合物例如用荧光或者放射活性基团标记,然后直接测量结合。例如,这可如下进行:将所用或者部分的 KSP 连接在固体载体上,添加经标记的测试化合物(例如其中至少一个原子被可检测的同位素替换的本发明化合物),洗涤掉过量的试剂,然后测定固体载体上存在的标记物的量。

本发明所用术语“标记”是指化合物直接或者间接地用可提供检测信号的标记物标记,所述标记物例如是放射同位素、荧光标记、酶、抗体、颗粒(如磁性颗粒)、化学发光标记、或者特异性结合分子等。特异性结合分子包括一对物质,如生物素和抗生物素蛋白链菌素,地高辛和抗地高辛等。对于特异性结合物,根据如上所述的已知方法,互补一方通常与待检测的分子结合。标记物可直接或者间接提供可检测的信号。

在某些实施方案中,仅标记其中一个化合物。例如,可用 ^{125}I 或者荧光团在酪氨酸位置处标记驱动蛋白。或者,用不同的标记物标记一个以上的组分,例如蛋白质用 ^{125}I ,而抗有丝分裂剂用荧光团。

本发明的化合物也可用作筛选其他候选药物时的竞争剂。在此所用的术语“候选药物”或者“药物候选者”或者语法上等同的词是指待检测其生物活性的任何分子,如蛋白质、寡肽、小的有机分子、多糖、多核苷酸等。它们可直接或者间接改变细胞增殖表型或者细胞增殖序列的表达,所述细胞增殖序列包括核酸序列和蛋白序列。在其他情况下,筛选改变细胞增殖蛋白结合和/或活性。该类型的筛选可在有或者没有微管存在时进行。在筛选蛋白结合或活性时,优选的实施方案不包括任何已知可以结合具体的蛋白的分子,例如聚合物结构(如微管)以及能量源(如 ATP)。实验

的优选实施方案包括在其内源天然状态下不结合分子增殖蛋白的候选药物（在此称为“外源性”药物）。在其他实施方案中，外源性药物进一步排除 KSP 的抗体。

候选药物可包括多种类别的化学物质，但通常是有机分子，优选分子量为 100—2500 道尔顿的小有机分子。候选药物包括与蛋白的结构相互作用所必需的官能团，特别是氢键和亲脂性结合的官能团，其通常至少包括胺、羰基、羟基、醚、或者羧基，优选官能团中至少有两个。候选药物经常包括环状碳或者杂环结构和/或芳香或者多芳香结构，它们被一个或者多个上述官能团取代。候选药物还可在生物分子中选择，所述生物分子包括肽、糖、脂肪酸、甾体化合物、嘌呤、嘧啶、以及它们的衍生物、结构类似物或者组合。

候选药物是由包括合成或者天然化合物的文库的多种来源得到的。例如，随机可有多种方式，而且涉及多种有机化合物及生物分子的合成，包括随机寡核苷酸的表达。或者，细菌、真菌、植物和动物提取物形式的天然化合物文库也是可以利用或者容易产生的。另外，天然或者合成的文库及化合物可容易地通过常规的化学、物理和生物化学方法进行改性。已知的药物可进行针对性或者随机的化学改性，如酰基化、烷基化、酯化、酰胺化，以产生结构类似物。

竞争性筛选实验可通过在第一个样品中混合 KSP 以及候选药物来进行。第二个样品包括本发明的化合物、KSP 以及候选药物。这可在有或者没有微管存在时进行。测定这两个样品中的候选药物结合，而两个样品之间的结合变化或者不同表明存在能够结合 KSP 并潜在抑制其活性的药物。也就是说，如果第二个样品中候选药物的结合不同于第一个样品中的，则表明候选药物能够结合 KSP。

在优选的实施方案中，候选药物与 KSP 的结合是通过使用竞争性结合实验来测定。在该实施方案中，竞争剂是已知与 KSP 结合的结合物质，

如抗体、肽、结合配偶体、配体等。在某些情况下，例如在候选药物和结合物质之间，用结合物质置换候选药物，可存在竞争性结合。

在一个实施方案中，候选药物是经过标记的。该候选药物或者竞争剂或者它们两个，首先添加至 KSP 中，其时间足以进行结合。可在任何有利于最佳活性的温度下进行保温，通常在 4—40℃ 之间。

保温的时间根据最佳活性来选择，但也可进行最佳化，以有利于快速高输出筛选。通常 0.1—1 小时是足够的。过量的试剂通常被除去或者洗掉。接着添加第二组分，然后是有或者没有经过标记的组分，以表明结合。

在另一个实施方案中，首先添加竞争剂，然后添加候选药物。竞争剂的替换是候选药物与 KSP 结合并由此能够结合以及潜在抑制 KSP 活性的指标。在该实施方案中，组分可进行标记。因此，例如，如果竞争剂是经过标记的，则在洗涤溶液中存在标记物表明被药物替换。或者，如果候选药物被标记，在载体上存在标记物表明进行了替换。

在可替代的实施方案中，候选药物首先添加，并进行保温和洗涤，然后是竞争剂。不存在竞争剂的结合表明候选药物以更高的亲和性与 KSP 结合。因此，如果候选药物是标记的，在载体上存在标记物，没有竞争剂的结合，有可能表明候选药物能够与 KSP 结合。

抑制作用是通过筛选能够抑制 KSP 活性的候选药物来测试的，其包括以下步骤：如上所述混合候选药物和 KSP，然后测定 KSP 生物活性的变化。因此，在该实施方案中，候选药物应与 KSP 结合（虽然这不是必须的），并改变其在此定义的生物或者生化活性。该方法包括细胞的体外筛选法和体内筛选法，其中包括细胞周期分布、细胞存活率、有丝分裂纺锤体是否存在、形态、活性、分布或者量的变化。

或者，可使用不同的筛选，以鉴别出与天然 KSP 结合但不与改性 KSP 结合的候选药物。

可在实验中使用阳性对照和阴性对照。合适地，所有的对照和测试样

品都进行至少三次，以得到统计学显著的结果。所有样品的保温时间应足以使药物与蛋白质结合。在保温后，洗涤所有的样品，使得没有非特异性结合的材料，然后测定结合而且通常被标记的药物的量。例如，当使用放射性标记物时，样品可在闪烁计数器中计数，以测定结合化合物的量。

在筛选实验中可包括多种其他试剂。这些试剂包括例如盐、中性蛋白质（如白蛋白）、洗涤剂，它们可有利于最佳的蛋白-蛋白结合和/或降低非特异性或者背景相互作用。还可使用可提高使用效率的试剂，如蛋白酶抑制剂、核酸酶抑制剂、杀微生物剂等。可以任何顺序添加组分的混合物，以提高所需的结合。

给药

因此，本发明的组合物可给药于细胞。术语“给药”是指向细胞培养基以及患者中的细胞给药治疗有效量的本发明化合物。术语“治疗有效量”是指可对给药个体产生作用的剂量。精确的剂量取决于治疗目的，而且可由本领域技术人员通过已知的方法来确定。本领域众所周知的是，必需根据全身与局部给药、年龄、体重、总的健康状况、性别、饮食、给药时间、药物的相互作用以及疾病的严重程度，对给药剂量进行调整，而且可由本领域技术人员用常规的实验来确定。在此所用术语“细胞”是指可改变其中有丝分裂或者减数分裂的几乎大多数的任何细胞。

在本发明中，“患者”包括人和其他动物（特别是哺乳动物）以及其他生物体。因此，本发明的方法可应用于人的治疗和兽医领域中。在优选的实施方案中，患者是哺乳动物，而在最优选的实施方案中，患者是人。

具有所希望的药理活性的本发明化合物可以包含药学上可接受的载体的药物组合物的形式给药于患者。根据引入的方式，本发明的化合物可以如下所述多种方法进行配制。治疗活性化合物在制剂中的浓度可为0.1—100重量%。

药物可单独或者与其他治疗（如放射疗法）或者其他化学治疗剂（如似乎作用于微管形成的紫杉烷类药物或作为拓扑异构酶I抑制剂的喜树碱类药物）组合进行。如果使用，其他化学治疗剂的给药可在本发明化合物给药之前、同时或者之后进行。在本发明的一个方面中，本发明的化合物与一种或者多种其他化学治疗剂共同给药。术语“共同给药”是指本发明的化合物给药于患者，使得本发明的化合物以及共同给药的化合物可同时存在于患者的血液中，无论这些化合物实际上是合适给药的，包括同时给药。

本发明的化合物或组合物可通过多种途径进行给药，包括但不限于口服、皮下、静脉内、鼻内、透皮、腹膜内、肌肉内、肺内、阴道、直肠、或者眼内。在某些情况下，例如在治疗伤口和炎症时，本发明的抗有丝分裂剂可直接以溶液或者喷雾剂给药。

药物剂型包括式I的化合物或其药学可接受的盐或溶剂化物以及一种或多种药用赋形剂。如本领域中已知，药用赋形剂是辅助成分，其功能是促使或促进各种剂型（例如：口服剂型如片剂、胶囊剂和液体；局部剂型如皮肤、眼睛和耳用剂型；栓剂；注射剂；呼吸用剂型等）的药剂或药物的递送。药用赋形剂包括惰性或非活性成分、增效剂或实质上有助于活性成分的医疗效果的化学物质。例如，药用赋形剂可以用于改善流动特征、产品均匀性、稳定性、味道或外观，以使剂量操作和给药容易，从而方便使用，或者控制生物利用度。虽然药用赋形剂常被描述为惰性或无活性，但在本领域中可以认识到在药用赋形剂的性质和含有它们的剂型之间存在一定的关系。

适用作载体或稀释剂的药用赋形剂在本领域中是已知的，并且用于多种配方。例如参见 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 18 版, A. R. Gennaro 编辑, Mack Publishing Company (1990); Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第 20 版, A. R. Gennaro, 编辑, Lippincott Williams

& Wilkins (2000); Handbook of Pharmaceutical Excipients, 第3版, A. H. Kibbe 编辑, American Pharmaceutical Association, and Pharmaceutical Press (2000); 和 Handbook of Pharmaceutical Additives, compiled by Michael and Irene Ash, Gower (1995), 以上各文献均在此引入作为参考。

口服固体剂型如片剂通常包含一种或多种药用赋形剂, 它们例如可以有助于赋予令人满意的加工和压缩特征, 或者给片剂提供附加的所需物理特征。这些药用赋形剂可以选自稀释剂、粘合剂、助流剂、润滑剂、崩解剂、着色剂、调味剂、甜味剂、聚合物、蜡或其它延迟溶解的物质。

用于静脉内给药的组合物一般包含静脉内液体, 即简单化学物质如糖、氨基酸或电解质的无菌溶液, 它们可以容易地被循环系统递送和消化。这些液体可以用注射 USP 用水制备。

常用于静脉内(IV)的液体公开在 Remington, the Science and Practice of Pharmacy[前面提供的完整引文]中, 并包括:

醇(例如在右旋糖和水("D/W")中[例如 5%右旋糖]或在生理盐水溶液("NSS")中的右旋糖和水[例如 5%右旋糖]中; 例如 5%醇);

合成氨基酸如 Aminosyn、FreAmine、Travasol, 例如分别为 3.5 或 7; 8.5; 3.5、5.5 或 8.5%;

氯化铵, 例如 2.14%;

葡聚糖 40, 在 NSS 中, 例如 10%, 或者在 D5/W 中, 例如 10%;

葡聚糖 70, 在 NSS 中, 例如 6%, 或者在 D5/W 中, 例如 6%;

右旋糖(葡萄糖, D5/W), 例如 2.5—50%;

右旋糖和氯化钠, 例如 5—20%右旋糖和 0.22—0.9% NaCl;

乳酸化 Ringer's (Hartmann's), 例如 NaCl 0.6%、KCl 0.03%、CaCl₂ 0.02%;

乳酸盐 0.3%;

甘露糖醇, 例如 5%, 任选与右旋糖, 例如 10%, 或者 NaCl, 例如

15 或 20%组合;

多种含有电解质、右旋糖、果糖、转化糖 Ringer's 的不同组合的电解质溶液, 例如 NaCl 0.86%、KCl 0.03%、CaCl₂ 0.033%;

碳酸氢钠, 例如 5%;

氯化钠, 例如 0.45、0.9、3 或 5%;

乳酸钠, 例如 1/6 M; 和

无菌注射用水。

这些液体的 pH 可变化, 而且如本领域已知的, 通常在 3.5—8 之间变化。

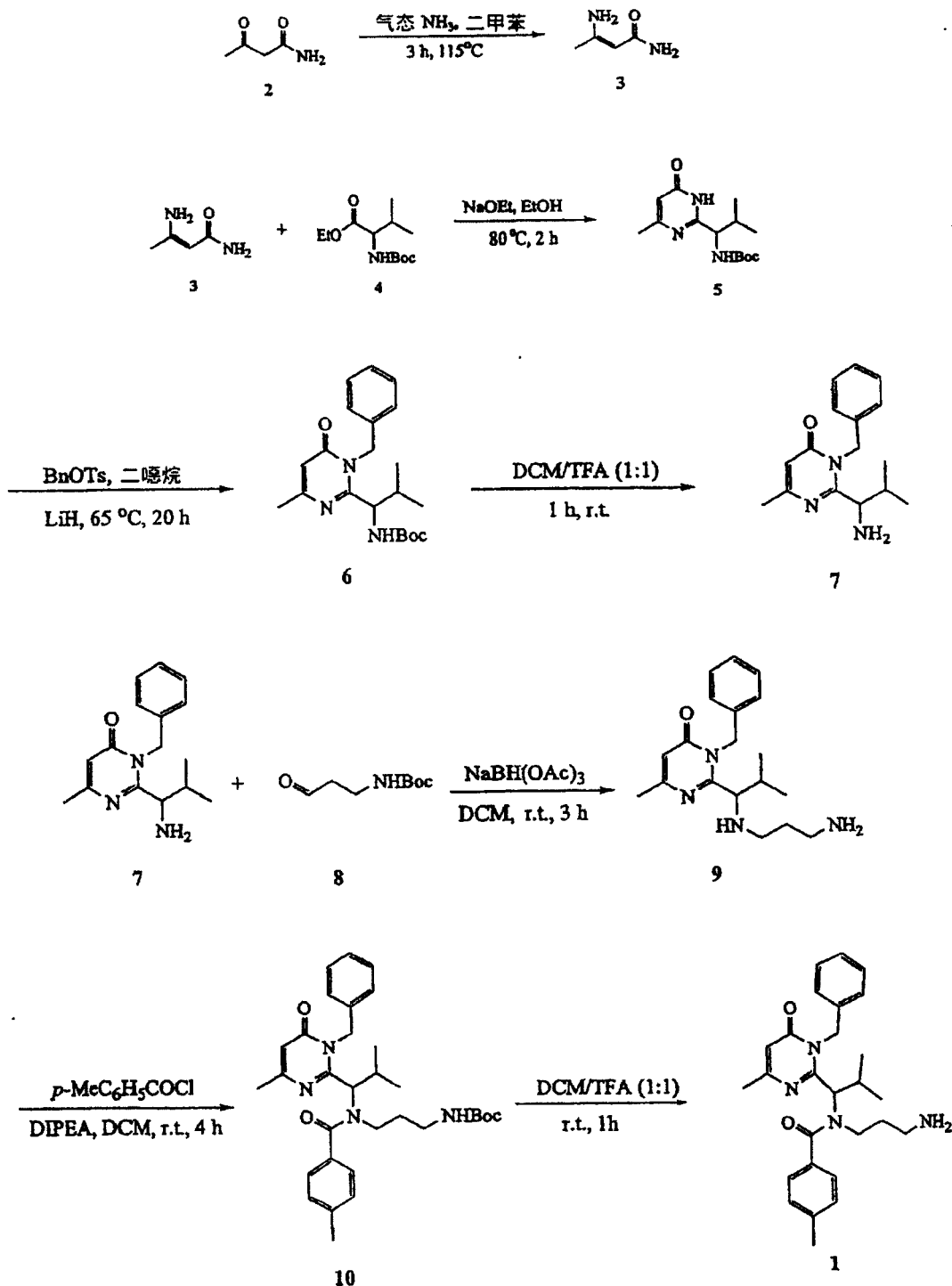
以下实施例用于更详细地描述实施本发明的方式, 以及市售本发明各方面的最佳方式。应理解的是, 这些实施例绝不是对本发明真实范围的限制, 而仅是用于说明目的。在此引用的所有参考文献都全文引入作为参考。

实施例

所有的无水溶剂都购自于 Aldrich Chemical Company, 在 SureSeal® 容器内。

实施例 1

方法 A



将乙酰乙酰胺 2 (12.0 g, 0.119 mol) 和 二甲苯 (200 mL) 添加至一个 3 口 500 mL 圆底烧瓶中, 该烧瓶装配有干冰回流冷凝器。所得的混合

物加热至 115°C，并用氨气连续换气 3 小时，然后冷却至室温。反应混合物过滤，而滤液进行减压浓缩。残留的白色固体由 ^1H NMR 分析测定为纯的所希望的产物 3 (1.491 g, 14.9 mmol)。向由过滤产生的剩余的固体残留物中添加 200 mL 的蒸馏水。水溶液用乙酸乙酯 (3×100 mL) 和热氯仿 (3×100 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥，然后减压浓缩，产生额外的所希望的产物 3 (3.628 g, 36.2 mmol)。反应的总产率为 47.4%。

在室温下向无水乙醇 (50 mL) 中小心地添加金属钠 (1.0 g)，由此新制备乙醇钠。在室温下向 β -氨基巴豆酰胺 3 (1.389 g, 13.87 mmol) 和酯 4 (3.744g, 15.26 mmol) 在 250 mL 烧瓶中的混合物内添加该乙醇钠在无水乙醇(50 mL)中的溶液。所得溶液加热至 80°C，并在氮气氛下搅拌 2 小时。将该混合物冷却至室温，然后真空浓缩。残留物与 50 mL 的蒸馏水混和，然后用 1 M HCl 水溶液中和。接着用乙酸乙酯 (3×40 mL) 和热氯仿 (3×40 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥并减压浓缩，黄色残留物通过快速柱色谱进行纯制，其中使用乙酸乙酯和己烷的混合物作为洗脱剂。所希望的产物 5 (1.261 g, 32.3%) 用 ^1H -NMR 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z 282.2) 表征。

于室温下向嘧啶酮 5 (506 mg, 1.80 mmol) 在二噁烷 (30 mL) 中的溶液内添加氢化锂 (17 mg, 2.16 mmol)。所得的悬浮液在室温下搅拌 15 分钟，接着添加甲苯磺酸苄基酯 (519 mg, 1.98 mmol)。反应混合物在氮气氛和 65°C 下搅拌 20 小时。真空除去二噁烷，而残留物用乙酸乙酯 (50 mL) 和蒸馏水 (50 mL) 稀释。分离有机层，而含水层用额外的乙酸乙酯 (3×25 mL) 萃取。合并的有机层用盐水洗涤并在硫酸钠上干燥。蒸发溶剂后，残留的无定形固体通过快速柱色谱进行纯制，其中使用乙酸乙酯和己烷的混合物作为洗脱剂。分离出纯的所希望的产物 6 (388 mg, 58.1%)，其为白色固体，并用 ^1H -NMR 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z 372.2) 进行完全表征。

在 0℃下向嘧啶酮 6 (388 mg 1.04 mmol) 在二氯甲烷 (15 mL) 中的溶液内添加三氟乙酸 (15 mL)。所得溶液在室温下搅拌 1 小时, 然后真空浓缩。残留物溶解在乙酸乙酯 (25 mL) 中, 并用饱和碳酸氢钠水溶液 (25 mL) 中和。分离有机层, 而含水层用乙酸乙酯 (3×25 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥并浓缩, 得到所希望的产物 7 (245 mg, 88.0%), 其为油状物, 并用 LC/MS 分析 (LRMS (MH) m/z 272.2) 表征, 而且未经进一步纯制即用于下一步中。

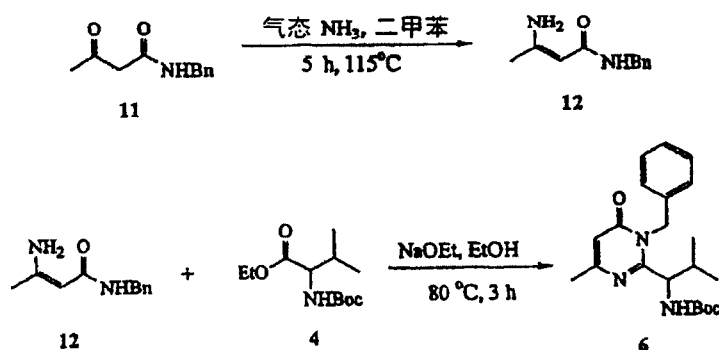
于室温下向嘧啶酮 7 (245 mg, 0.903 mmol) 在二氯甲烷 (20 mL) 中的溶液内顺序地添加醛 8 (188 mg, 1.084 mmol) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (230 mg, 1.084 mmol)。所得的混合物在氮气氛下搅拌 3 小时, 然后添加水 (40 mL)。分离有机层, 而含水层用二氯甲烷 (3×40 mL) 萃取。合并的有机层用盐水洗涤并在硫酸钠上干燥。蒸发溶剂后, 残留物通过快速柱色谱进行纯制, 其中使用乙酸乙酯和己烷的混合物作为洗脱剂, 形成所希望的产物 9 (250 mg, 64.5%), 其为白色固体, 并用 ^1H NMR 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z 429.6) 进行完全表征。

在 0℃下向嘧啶酮 9 (250 mg, 0.583 mmol) 和二异丙基乙基胺 (90 mg, 0.700 mmol) 在二氯甲烷 (20 mL) 中的溶液内添加对甲苯酰氯 (108 mg, 0.700 mmol)。所得溶液在氮气氛和室温下搅拌 4 小时, 然后用饱和碳酸氢钠水溶液 (20 mL) 淬灭。分离有机层, 而含水层用二氯甲烷 (3×25 mL) 萃取。合并的有机层用盐水洗涤并在硫酸钠上干燥。蒸发溶剂后, 残留物通过快速柱色谱进行纯制, 其中使用有乙酸乙酯和己烷的混合物作为洗脱剂, 分离出纯产物 10 (191 mg, 60.0%), 其为无定形固体, 并用 ^1H -NMR 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z 547.7) 进行表征。

于室温下向嘧啶酮 10 (67 mg, 0.12 mmol) 在二氯甲烷 (10 mL) 中的溶液内添加三氟乙酸 (10 mL)。所得溶液在室温下搅拌 1 小时, 然后减压浓缩。残留物在高真空下搅拌, 然后溶解在乙酸乙酯 (25 mL) 中。用饱和

碳酸氢钠水溶液 (25 mL) 中和, 而含水层用乙酸乙酯 (3×25 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥。蒸发溶剂后, 残留物通过快速柱色谱进行纯制 ($\text{NH}_4\text{OH}/\text{MeOH}/\text{DCM}$ 0.1:1:10 作为洗脱剂)。分离出所希望的产物 1 (52 mg, 90.0%), 其为玻璃态固体, 并用 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS 分析 (LRMS (MH) m/z 447.3) 进行完全表征。

方法 B



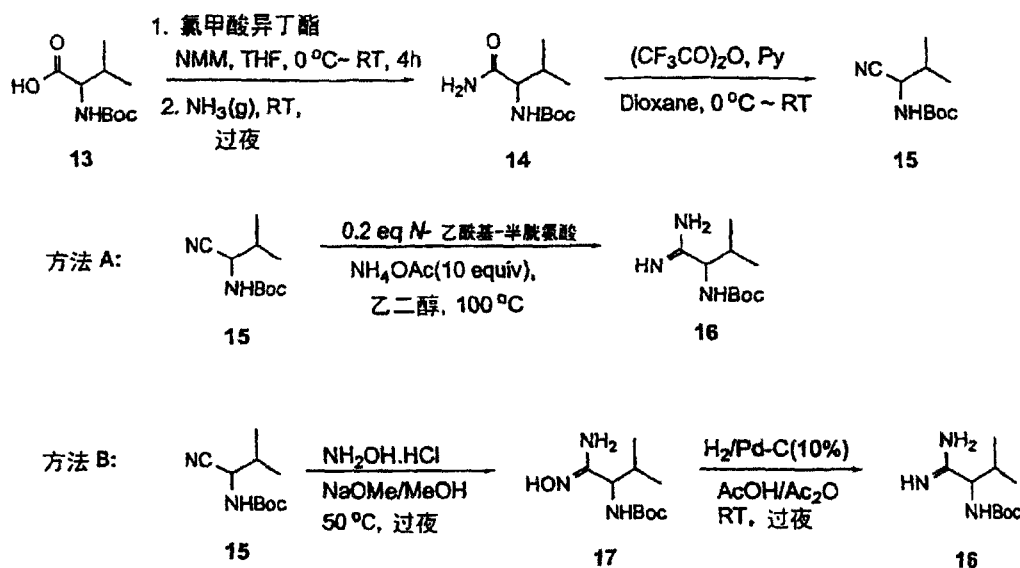
向装配有干冰回流冷凝器的 3 口 500 mL 圆底烧瓶中添加 β -酮基酰胺 11 (13.0 g, 68.0 mmol) 和二甲苯 (200 mL)。将该混合物加热至 115°C , 用氨气连续换气 5 小时, 然后冷却至室温。浓缩所得的混合物, 而残留的浅白色残留物在高真空下干燥 12 小时。 $^1\text{H-NMR}$ 表明该残留物包含 88% 所希望的产物 12 (11.4 g)。该粗产物未经进一步纯制即用于下一步中。

在室温下向无水乙醇 (50 mL) 中小心地添加金属钠 (1.0 g), 由此新制备乙醇钠。在 250 mL 烧瓶中, 于室温下向 β -氨基酰胺 12 (813 mg, 4.27 mmol) 和酯 4 (1.258 g, 5.12 mmol) 的混合物内添加该乙醇钠在无水乙醇 (50 mL) 中的溶液。将所得溶液加热至 80°C , 并在氮气氛下搅拌 3 小时。将该混合物冷却至室温, 然后真空浓缩。残留物与蒸馏水 (50 mL) 混和, 用 1 M HCl 水溶液中和, 然后用乙酸乙酯 (3×40 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥并减压浓缩, 而黄色的残留物通过快速柱色谱进行纯制, 其中使用乙酸乙酯和己烷的混合物作为洗脱剂。分离所希望的产物 6 (10

mg, 1.0%), 并用 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z 372.2) 进行表征, 而且发现与方法 A 得到的产物是相同的。

实施例 2

制备 N-Boc-Val-腈



在 0°C 下向 N-Boc-DL-Val-OH (化合物 13, 11.0 g, 50.0 mmol) 和 N-甲基吗啉 (7.5 mL, 70.0 mmol) 在无水四氢呋喃 (300 mL) 中的溶液内添加氯甲酸异丁基酯 (8.5 mL, 66.0 mmol)。所得的混合物在室温下搅拌 4 小时。该烧瓶装配有干冰回流冷凝器, 并用氨气连续换气 2 小时。所得的反应混合物在室温下搅拌过夜。蒸发掉大部分的溶剂后, 残留物用饱和碳酸氢钠水溶液稀释, 然后用乙酸乙酯萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥并蒸发。残留物 (10.8 g) 被证实是所希望的酰胺 14, 其中用 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z 216.28) 进行判断。对于随后的转化, 酰胺 14 未进行纯制。

在室温下向酰胺 14 (1.2 g, 5.0 mmol) 在二噁烷 (20 mL) 中的溶液内顺序地添加吡啶 (1.0 mL, 12.5 mmol) 和三氟乙酸酐 (1.41 mL, 10.0 mmol)。所得溶液搅拌 4 小时, 直至不存在起始物。反应用饱和碳酸氢钠

水溶液淬灭，并用乙酸乙酯 (3×100 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥并真空浓缩。残留物通过快速色谱进行纯制 (硅胶，己烷/乙酸乙酯)，得到化合物 15 (1.0 g)，其通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z 198.26) 进行表征。

在室温下向腈 15 (14.0 g, 71.0 mmol) 和 N-乙酰基半胱氨酸 (230 mg, 1.4 mmol) 在乙二醇 (200 mL) 中的溶液内添加固体乙酸铵 (17.8 g, 231.0 mmol)。所得溶液加热至 100°C 48 小时。真空蒸馏掉大部分的乙二醇。所得残留物溶解在饱和碳酸氢钠水溶液 (100 mL) 中并用乙醚和己烷 (3×50 mL) 的混合物萃取。含水相用氯化钠饱和并用四氢呋喃 (4×100 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥并真空浓缩，得到残留物 16 (4.5 g)，测定其纯度足以用于随后的转化反应 ($^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z 217.20))。

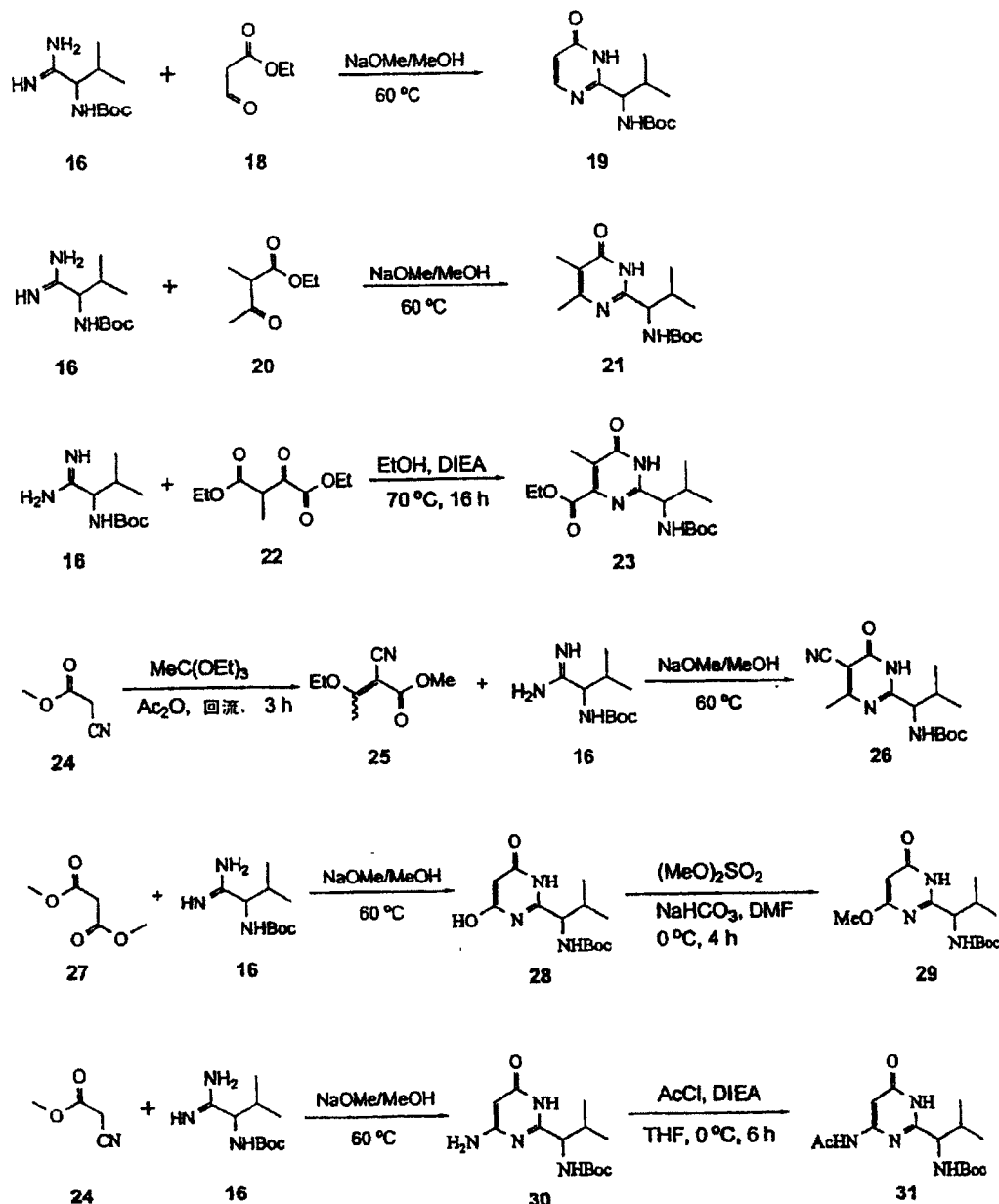
将腈 15 (1.0 g, 5.0 mmol) 放入 100 mL 烧瓶中。将甲醇钠在甲醇中的溶液 (20.0 mL, 10.0 mmol, 0.5 M) 添加至该烧瓶中。向所得的反应混合物中添加盐酸羟胺 (690 mg, 10.0 mmol)。反应混合物加热至 50°C 过夜。真空蒸发掉溶剂，并将残留物溶解在饱和的氯化钠溶液中，然后用四氢呋喃 (3×50 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥并真空浓缩。化合物 17 (960 mg) 测定其纯度足以不用纯制即可用于随后的转化反应中 (LC/MS (LRMS (MH) m/z 232.29))。

在室温下向中间体 17 (462 mg, 2.0 mmol) 在乙酸 (5.0 mL) 中的溶液内添加乙酸酐 (300 μL , 3.0 mmol) 和 Pd/C (10 重量%，65 mg)。反应混合物在氢气氛下搅拌 24 小时，然后通过 Celite 进行过滤。Celite 塞用另外的甲醇洗涤。蒸发溶剂后，残留物溶解在饱和碳酸氢钠水溶液 (20 mL) 中，然后用乙醚/己烷 (3×10 mL) 的混合物萃取。含水相用氯化钠饱和并用四氢呋喃 (4×50 mL) 萃取。合并的四氢呋喃层在硫酸钠上干燥并真空浓缩。肟 16 (315 mg) 测定其纯度足以用于随后的转化反应 ($^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS

(LRMS (MH) m/z 217.20)。

实施例 3

由 N-Boc-Val-脒(4)制备嘧啶酮核



乙酸乙酯 (1.11 mL, 11.34 mmol) 与甲醇钠混和 (416 mg; 7.70 mmol), 并且所得的悬浮液搅拌 5 分钟, 然后冷却至 10 °C。随后滴加甲酸甲酯 (250 μ L, 4.05 mmol)。所得的黄色糊状物在氮气氛围和室温下搅拌 16 小时。所得的醛 18 未经进一步纯制即用于下一步中。

向醛 18 (523 mg, 4.05 mmol) 和未经纯制的脘 16 (872 mg, 4.05 mmol) 中添加甲醇钠在甲醇中的溶液 (20 mL, 10.00 mmol, 0.5 M)。所得溶液加热至 60℃ 共 30 分钟。真空除去大部分的甲醇, 而残留物用乙酸乙酯 (20 mL) 和蒸馏水 (20 mL) 稀释。各层分离, 而含水层用乙酸乙酯 (3×20 mL) 萃取。合并的有机层用盐水洗涤, 在硫酸钠上干燥并真空浓缩, 得到棕色无定形固体。通过快速色谱进行纯制 (硅胶, 乙酸乙酯和己烷), 形成所希望的嘧啶酮 19, 其为泡沫状白色固体 (477 mg), 通过 ¹H-NMR 和 LC/MS (LRMS (MR) m/z: 267.32) 进行表征。

向 β-酮基酯 20 (238 mg, 1.65 mmol) 和粗脘 16 (355 mg, 1.65 mmol) 在甲醇中的溶液内添加甲醇钠在甲醇中的溶液 (10 mL, 5.00 mmol, 0.5 M)。所得溶液加热至 60℃ 共 30 分钟。真空除去大部分的甲醇, 而残留物用乙酸乙酯 (20 mL) 和蒸馏水 (20 mL) 稀释。各层分离, 而含水层用乙酸乙酯 (3×20 mL) 萃取。合并的有机层用盐水洗涤, 在硫酸钠上干燥并浓缩, 得到棕色无定形固体。通过快速色谱进行纯制 (硅胶, 乙酸乙酯和己烷), 形成所希望的嘧啶酮 21, 其为泡沫状白色固体 (98 mg), 并通过 ¹H-NMR 和 LC/MS (LRMS (MR) m/z: 295.38) 进行表征。

在室温下向脘 16 (3.17 g, 14.7 mmol) 和二异丙基乙基胺 (2.56 mL, 14.7 mmol) 在无水乙醇 (75 mL) 中的溶液内添加酯 22 (2.98 g, 14.7 mmol)。所得的混合物加热至 70℃ 共 16 小时。真空除去大部分的乙醇, 而残留物用乙酸乙酯 (50 mL) 和蒸馏水 (50 mL) 稀释。各层分离, 而含水层用乙酸乙酯 (3×50 mL) 萃取。合并的有机层用盐水洗涤并在硫酸钠上干燥并浓缩。真空蒸发溶剂后, 残留的无定形黄色固体通过快速色谱进行纯制 (硅胶, 乙酸乙酯和己烷), 产生所希望的嘧啶酮 23 (936 mg), 其为白色固体, 并通过 ¹H-NMR 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z: 353.41) 进行表征。

将氰基乙酸甲酯 24 (1.673 g, 16.88 mmol) 和原乙酸三乙基酯 (3.424

mL, 18.57 mmol) 在乙酸酐(30 mL)中的溶液加热至回流共 3 小时。所得溶液冷却至室温, 然后真空除去大部分法乙酸酐。残留物放置 3 天, 直至形成晶体。过滤分离晶体 25, 并直接用于接下来的转化反应中。

向酯 25 (51 mg, 0.28 mmol) 和脘 16 (20 mg, 0.90 mmol) 在甲醇中的溶液内添加甲醇钠在甲醇中的溶液 (3 mL, 1.5 mmol, 0.5 M)。所得溶液在 60℃和氮气氛下搅拌 30 分钟。减压除去大部分的甲醇, 而残留物用乙酸乙酯 (50 mL) 和水 (50 mL) 稀释。各层分离, 而含水层用萃取乙酸乙酯 (3×50 mL)。合并的有机层用盐水洗涤并在硫酸钠上干燥。蒸发溶剂后, 残留物通过快速色谱进行纯制 (硅胶, 乙酸乙酯和己烷), 得到所希望的嘧啶酮 26 (27 mg), 其通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z : 306.36) 进行表征。

在室温下向丙二酸二乙基酯 (27, 1.6 mL, 10.0 mmol) 和未纯制的脘 16 (2.5 g, 15 mmol) 在甲醇中的溶液内添加甲醇钠在甲醇中的溶液 (35.0 mL, 17.5 mmol, 0.5 M 甲醇溶液)。所得溶液加热至 60 °C 共 4 小时。反应混合物冷却至室温, 并真空除去溶剂。所得的残留物溶解在蒸馏水 (15 mL) 中, 然后用氯化钠饱和。水溶液用四氢呋喃 (3×100 mL) 萃取, 而合并的有机层在硫酸钠上干燥。真空浓缩后, 残留物 28 未经进一步纯制即用于下一步中。化合物 28 用 LC/MS (LRMS (MH) m/z : 283.32) 表征。

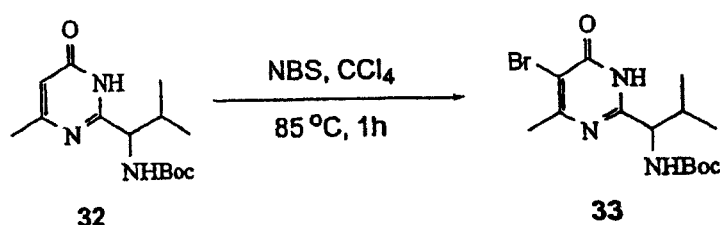
在 0℃下向未经纯制的 28 (2.0 g) 在二甲基甲酰胺 (100 mL) 中的溶液内添加碳酸氢钠 (4.0 g) 和硫酸二甲酯 (0.8 mL)。所得溶液在 0℃下搅拌 4 小时, 直至 LC/MS 分析表明单甲基化的 29 是主要产物。用水 (100 mL) 淬灭反应, 用二氯甲烷 (3×60 mL) 和乙酸乙酯 (3×60 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥。真空浓缩后, 残留物通过快速色谱进行纯制 (硅胶, 二氯甲烷/甲醇), 得到所希望的嘧啶酮 29 (855 mg), 其通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z : 297.35) 进行表征。

在室温下向氰基乙酸甲酯 (24, 0.8 mL, 8.0 mmol) 和未纯制的脘 16

(2.0 g, 12 mmol) 在甲醇中的溶液内添加甲醇钠在甲醇中的溶液 (30.0 mL, 15.0 mmol, 0.5 M 甲醇溶液)。所得溶液加热至 60℃ 共 4 小时。使反应冷却至室温后, 真空除去溶剂, 并将残留物溶解在蒸馏水 (15 mL) 中, 然后用氯化钠饱和。水溶液用四氢呋喃 (3×100 mL) 萃取, 而合并的有机层在硫酸钠上干燥。蒸发溶剂后, 化合物 30 (1.4 g) 未经进一步纯制即用于下一步中。化合物 30 用 LC/MS (LRMS (MH) m/z : 282.34) 进行表征。

向未经纯制的胺 30 (400 mg, 1.42 mmol) 在四氢呋喃 (60 mL) 中的 0℃ 溶液内顺序地添加二异丙基乙基胺 (1.0 mL) 和乙酰氯 (0.24 mL, 2.82 mmol)。所得溶液在 0℃ 下搅拌 6 小时。反应用碳酸氢钠水溶液淬灭, 然后用二氯甲烷 (3×60 mL) 和乙酸乙酯 (3×60 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥。蒸发溶剂后, 残留物通过快速色谱进行纯制 (硅胶, 二氯甲烷/甲醇), 得到所希望的嘧啶酮 31 (265 mg), 其通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z : 324.38) 进行表征。

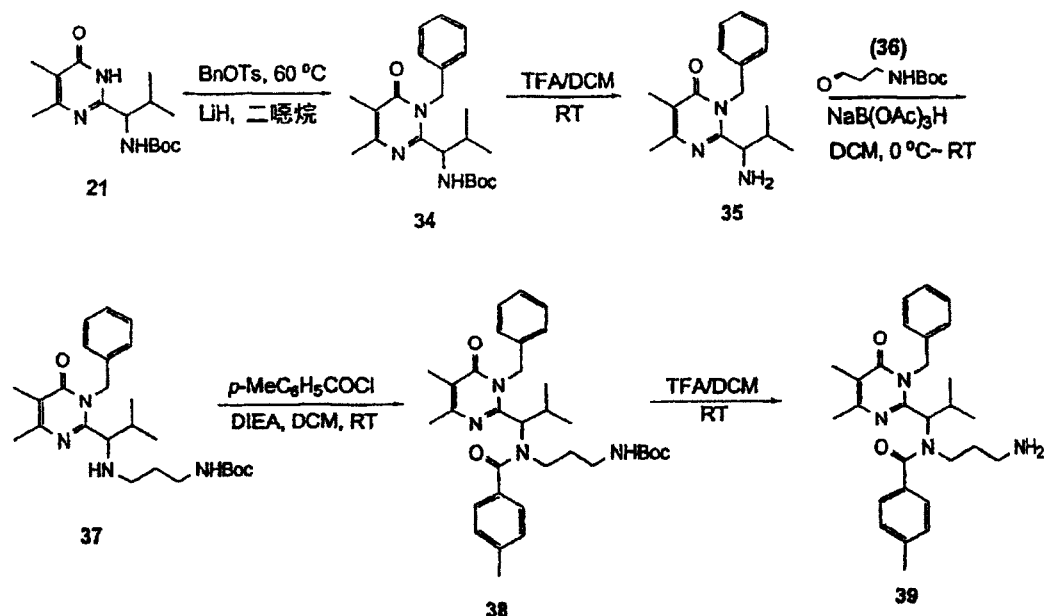
实施例 4



向嘧啶酮 32 (4.66 g, 16.6 mmol) 在四氯化碳 (75 mL) 中的室温溶液内添加 N-溴琥珀酰亚胺 (2.95 g, 16.6 mmol)。所得的混合物加热至 85℃ 共 1。反应混合物用水 (50 mL) 淬灭, 然后用二氯甲烷 (3×25 mL) 萃取。合并的有机层用盐水洗涤并在硫酸钠上干燥。蒸发溶剂后, 粗产物通过快速色谱进行纯制 (硅胶, 乙酸乙酯和己烷), 得到溴化物 33, 其为白色固体 (3.24 g), 并通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z : 360.25) 进行表征。

实施例 5

制备所希望的嘧啶酮化合物的总方法



向嘧啶酮 21 (670 mg, 2.27 mmol) 在二噁烷 (30 mL) 中的室温溶液内添加氢化锂 (23 mg, 2.27 mmol)。所得的悬浮液放置 15 分钟。接着添加甲苯磺酸苄基酯 (774 mg, 2.95 mmol)，并在氮气氛围下将反应混合物加热至 60°C 共 16 小时。减压除去大部分的二噁烷，而残留物用乙酸乙酯 (50 mL) 和蒸馏水 (50 mL) 稀释。分离各层，而含水层用乙酸乙酯 (3×25 mL) 萃取。合并的有机层用盐水洗涤并在硫酸钠上干燥。蒸发溶剂后，粗产物通过快速色谱进行纯制 (硅胶，乙醚和二氯甲烷)，产生所希望的产物 34 (686 mg)，其为白色固体，并通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z : 385.50) 进行表征。

向嘧啶酮 34 (99 mg 0.26 mmol) 在二氯甲烷 (5 mL) 中的 0°C 溶液内添加三氟乙酸 (5 mL)。所得溶液在室温下搅拌 1 小时。真空除去大部分的溶剂，残留物在高真空下干燥 1 小时。所得的物质用乙酸乙酯 (50 mL) 稀释，然后用饱和碳酸氢钠水溶液 (25 mL) 洗涤。含水相用乙酸乙酯 (3×25 mL) 萃取，而合并的有机层在硫酸钠上干燥。蒸发溶剂后，胺 35 (65 mg) 未经进一步纯制即用于下一步中。化合物 35 通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS

(LRMS (MH) m/z : 285.38)进行表征。

向胺 35 (744 mg, 2.61 mmol) 在二氯甲烷 (25 mL) 中的室温溶液内顺序地添加三乙酰氧基硼氢化钠(718 mg, 3.39 mmol) 和醛 36 (587 mg, 3.39 mmol)。所得的混合物在室温和氮气氛下搅拌 3 小时，直至不存在起始物。反应用饱和碳酸氢钠水溶液淬灭，而含水层用二氯甲烷 (3×60 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥并真空浓缩。所得的残留物通过快速色谱进行纯制 (硅胶，二氯甲烷/甲醇)，得到希望的产物 37 (1.038 g)，其通过 LC/MS (LRMS (MH) m/z : 442.59) 进行表征。

向嘧啶酮 37 (1.038 g, 2.35 mmol) 在二氯甲烷 (25 mL) 中的 0℃溶液内顺序地添加二异丙基乙基胺 (1.0 mL) 和对甲苯酰氯 (434 mg, 2.81 mmol)。所得溶液在室温和氮气氛下搅拌过夜。反应用饱和碳酸氢钠水溶液淬灭，而所得的含水相用二氯甲烷 (4×50 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥。蒸发溶剂后，残留物通过快速柱色谱纯制 (硅胶，二氯甲烷和甲醇)，得到产物 38 (943 mg)，其通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z : 560.73) 进行表征。

向嘧啶酮 38 (72 mg, 0.13 mmol) 在二氯甲烷 (10 mL) 中的 0℃溶液内添加三氟乙酸 (10 mL)。所得溶液在室温下搅拌 2 小时，然后真空浓缩。残留物在高真空下干燥 1 小时，然后溶解在乙酸乙酯 (25 mL) 中。该混合物用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤，而含水层用乙酸乙酯 (3×50 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥并真空浓缩，残留物通过快速柱色谱纯制 (硅胶，甲醇/二氯甲烷)，得到所希望的产物 39 (57 mg)，其用 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS 分析 (LRMS (MH) m/z : 460.61) 表征。

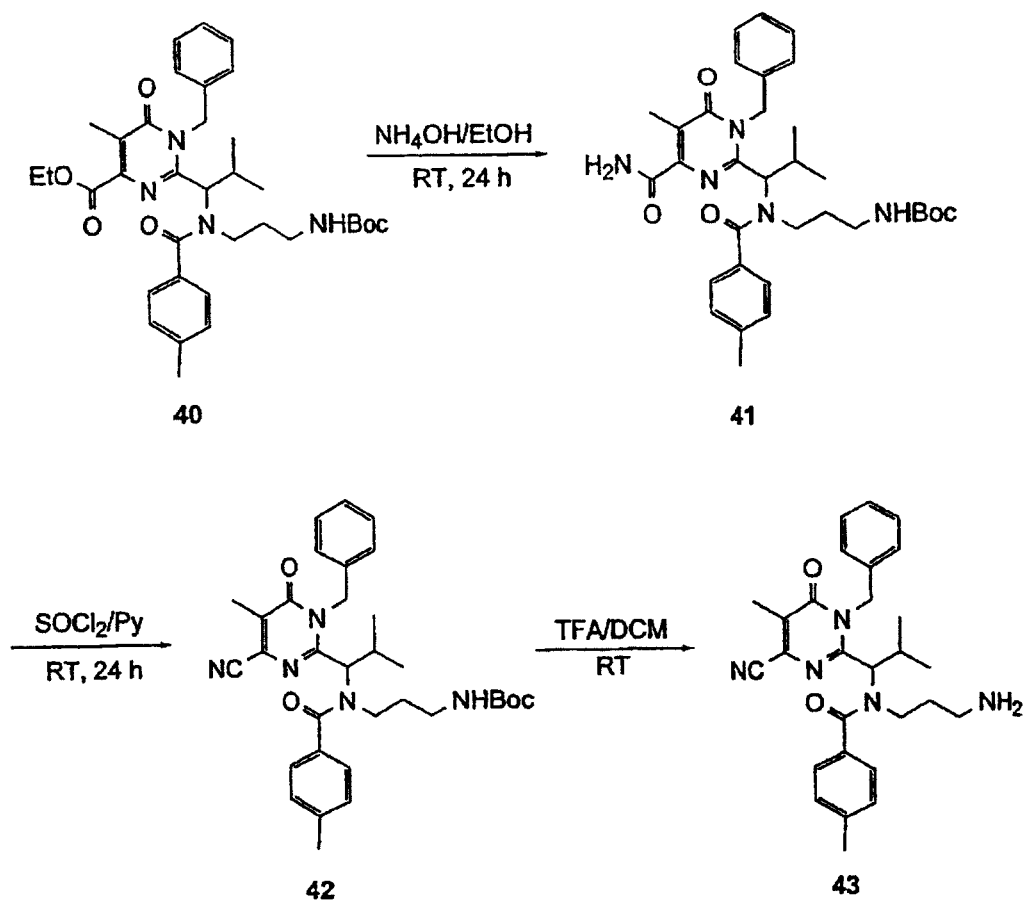
使用如上所述的方法制备以下化合物:

结构	分子量
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	446.58462
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-6-氧代-4-苯基-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	508.654
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-6-氧代-4-丙基-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	474.63778
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-异丙基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	474.63778
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-甲氧基甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	476.6106
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-羟基甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	462.58402
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-6-氧代-4-三氟甲基-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	500.5560096
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	460.6112
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(3-苄基-4-氧代-3,4,5,6,7,8-六氢-喹啉-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	486.64848
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-甲氧基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	462.58402
N-[1-(4-乙酰基氨基-1-苄基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-N-(3-氨基-丙基)-4-甲基-苯甲酰胺	489.6094
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	446.58462

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	432.55804
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-异丙基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	488.66436
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氟-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	464.5750832
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-溴-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	525.48068
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1,5-二苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	536.70716
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	471.59412
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-3-氟-4-甲基-苯甲酰胺	478.6016632
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲氧基-苯甲酰胺	476.6106
5-甲基-异噁唑-3-羧酸(3-氨基-丙基)-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-酰胺	451.56142
苯并[1,2,3]噁二唑-5-羧酸(3-氨基-丙基)-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-酰胺	504.64822
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-6-甲基-烟酰胺	461.5993
5-甲基-吡嗪-2-羧酸(3-氨基-丙基)-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-酰胺	462.5874
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-氰基-苯甲酰胺	471.59412

N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-2-甲氧基-乙酰胺	414.54122
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯磺酰胺	496.6659
苯并[1,3]间二氧杂环戊烯-5-羧酸(3-氨基-丙基)-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-酰胺	490.59412
2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-4-羧酸乙基酯	518.64728
5-甲基-噻吩-2-羧酸(3-氨基-丙基)-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-酰胺	466.63992

实施例 6



向嘧啶酮 40 (238 mg, 0.385 mmol) 在乙醇 (3 mL) 中的室温溶液内添加浓氨水 (5 mL)。所得的混合物在室温下搅拌 24 小时。真空除去乙醇，而所剩的含水层用乙酸乙酯 (3×10 mL) 萃取。合并的有机层用盐水洗涤并在硫酸钠上干燥。蒸发溶剂后，所得的无定形固体通过快速色谱进行纯制 (硅胶，乙酸乙酯/己烷)，得到 41 (135 mg)，其为白色固体，并通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS 分析 (LRMS (MH) m/z : 589.73) 进行表征。

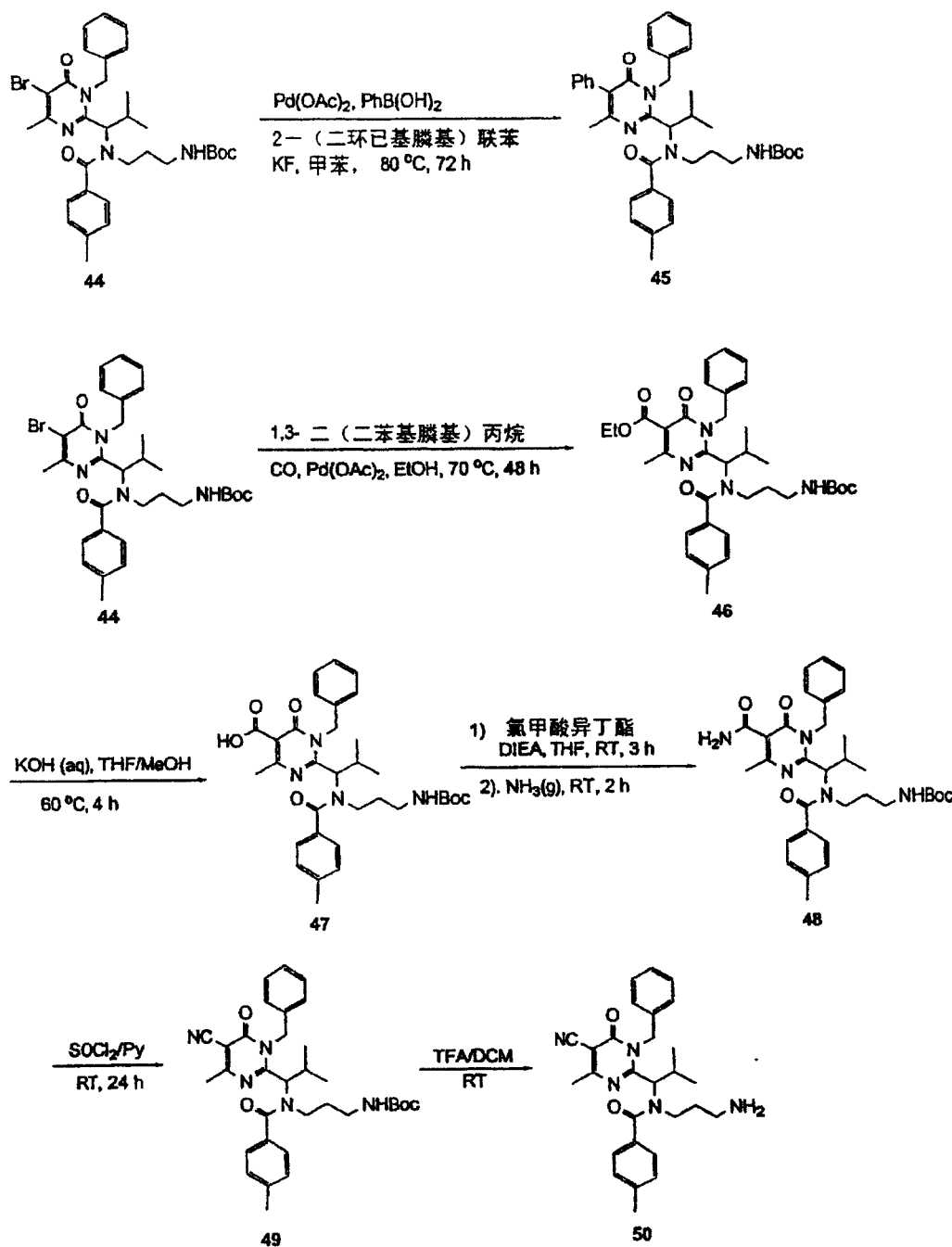
向嘧啶酮 41 (76 mg, 0.128 mmol) 在吡啶 (5 mL) 中的室温溶液内添加亚硫酰氯 (200 μL , 1.03 mmol)。反应混合物在室温下搅拌 16 小时。真空除去溶剂，而残留物通过快速色谱纯制 (硅胶，乙酸乙酯/己烷)，得到腈 42 (46 mg)，其为白色固体，并通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z : 571.71) 进行表征。

向嘧啶酮 42 (46 mg, 0.08 mmol) 在二氯甲烷 (5 mL) 中的 0°C 溶液内添加三氟乙酸 (5 mL)。所得溶液在室温下搅拌 2 小时, 然后真空浓缩。残留物在高真空下干燥 1 小时, 然后溶解在乙酸乙酯 (25 mL) 中。所得溶液用饱和碳酸氢钠水溶液稀释, 而含水层用乙酸乙酯 (3×50 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥并真空浓缩。通过快速柱色谱纯制 (硅胶, 甲醇/二氯甲烷), 形成所希望的产物 43 (27 mg), 其通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS 分析 (LRMS (MH) m/z : 471.59) 进行表征。

使用如上所述的方法制备以下化合物:

结构	分子量
2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-4-羧酸乙基酯	518.64728
2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-4-羧酸酰胺	489.6094
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	471.59412

实施例 7



将嘧啶酮 44 (375 mg, 0.599 mmol)、2-(二环己基膦基)联苯 (4.0 mg, 0.012 mmol)、乙酸钯 (1.3 mg, 0.006 mmol)、苯基硼酸 (110 mg, 0.899 mmol)、和氟化钾 (104 mg, 1.798 mmol)放入可重复密封的 Schlenk 管中。该管排空,并用氮气回填 3 次。通过注射器添加甲苯 (3 mL), 所得的混合物加热至 80°C 共 72 小时。反应混合物用乙醚 (15 mL)稀释, 然后用氢

氧化钾水溶液 (20 mL, 1 M)洗涤。含水层用乙醚 (2×15 mL) 萃取, 而合并的有机层在硫酸钠上干燥并真空浓缩。通过快速柱色谱纯制 (硅胶, 乙酸乙酯/己烷), 得到所希望的产物 45 (160 mg), 其用 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS 分析 (LRMS (MH) m/z : 622.80)进行完全表征。

在厚壁玻璃管中, 向噻啉酮 44 (750 mg, 1.20 mmol) 在无水乙醇 (5 mL)中的溶液内添加 1,3-二(二苯基膦基)丙烷 (124 mg, 0.30 mmol)、三乙胺 (1.673 mL, 12.0 mmol)和乙酸钡 (51 mg, 0.23 mmol)。该管排空, 并用氮气回填 3 次, 然后用一氧化碳加压(30 psi)。将混合物加热至 70℃共 48 小时。蒸发除去乙醇, 而残留物用乙酸乙酯 (20 mL)和水 (20 mL)稀释。分离各层, 而含水层用乙酸乙酯 (3×10 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥并真空浓缩。通过快速色谱纯制 (硅胶, 乙酸乙酯/己烷), 得到 46 (357 mg), 其通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS 分析 (LRMS (MH) m/z : 618.76) 进行表征。

向酯 46 (382 mg, 0.617 mmol) 在四氢呋喃 (10 mL)和甲醇 (5 mL)中的室温溶液内添加氢氧化钾水溶液 (2.5 mL, 1.0 M)。所得的混合物加热至 70℃共 4 小时。反应冷却至室温, 然后真空除去溶剂。残留物用乙酸乙酯稀释, 然后用盐酸水溶液 (1.0 M)进行酸化。含水层用乙酸乙酯 (3×15 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥并浓缩。酸 47 (320 mg)未经进一步纯制即用于下一步中。化合物 47 通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS 分析 (LRMS (MH) m/z : 590.71)进行表征。

向酸 47 (310 mg, 0.53 mmol) 在无水四氢呋喃 (5 mL)中的室温溶液内顺序地添加二异丙基乙基胺 (274 μL , 1.58 mmol) 和氯甲酸异丁基酯 (83 μL , 0.63 mmol)。所得的混合物在室温和氮气氛下搅拌 3 小时。反应接着冷却至 0℃, 并用氨气换气 45 分钟。接着使混合物冷却至室温另外 45 分钟。真空除去溶剂, 而残留物用乙酸乙酯 (15 mL)和水 (15 mL) 稀释。分离各层, 而含水层用萃取乙酸乙酯 (2×15 mL)。合并的有机层在硫酸钠

上干燥并真空浓缩。通过快速柱色谱纯制 (硅胶, 乙酸乙酯/己烷), 得到产物 48 (156 mg), 其通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS 分析 (LRMS (MH) m/z : 589.73) 进行表征。

向嘧啶酮 48 (105 mg, 0.178 mmol) 在吡啶 (10 mL) 中的室温溶液内添加亚硫酸氯 (250 μL , 1.25 mmol)。反应混合物在室温下搅拌 16 小时。真空除去溶剂, 而残留物通过快速色谱进行纯制 (硅胶, 乙酸乙酯/己烷), 得到 49 (65 mg), 其为玻璃态固体, 并通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS (LRMS (MH) m/z : 571.71) 进行表征。

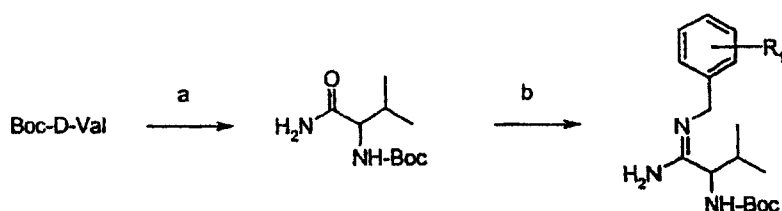
向嘧啶酮 49 (65 mg, 0.08 mmol) 在二氯甲烷 (5 mL) 中的 0°C 溶液内添加三氟乙酸 (5 mL)。所得溶液在室温下搅拌 2 小时, 然后真空浓缩。残留物在高真空下干燥 1 小时, 然后溶解在乙酸乙酯 (25 mL) 中。所得溶液用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤, 而含水层用乙酸乙酯 (3×50 mL) 萃取。合并的有机层在硫酸钠上干燥并真空浓缩。通过快速柱色谱纯制 (硅胶, 甲醇/二氯甲烷), 得到所希望的产物 50 (37 mg), 其用 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC/MS 分析 (LRMS (MH) m/z : 471.59) 进行完全表征。

使用如上所述的方法制备以下化合物:

结构	分子量
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-溴-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	525.48068
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-4-甲基-6-氧代-5-苯基-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	522.68058
2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸乙基酯	518.64728

2-{1-[(3-氨基-丙基)-(4-甲基-苯甲酰基)-氨基]-2-甲基-丙基}-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸酰胺	489.6094
N-(3-氨基-丙基)-N-[1-(1-苄基-5-氰基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺	471.59412

实施例 8



条件：a) $i\text{BuOCOCl}$, Et_3N , THF; NH_4OH ; b) $\text{Et}_3\text{O} \cdot \text{PF}_6$, CH_2Cl_2 ; $\text{R}_1\text{PhCH}_2\text{NH}_2$, EtOH, 60°C , 24 小时。

[(R)-1-(N-苄基-carbamimidoyl)-2-甲基-丙基]-氨基甲酸 t-丁基酯

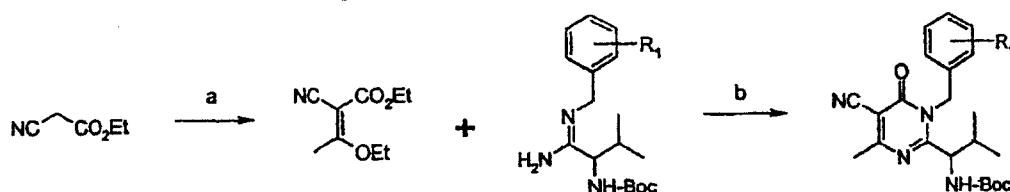
a) Boc-D-缬氨酸酰胺

在 0°C 和搅拌下向 Boc-D-缬氨酸(25 g, 115 mMol) 在 THF (300 mL) 中的溶液内添加 N-甲基吗啉 (15 mL, 136 mMol), 然后在 5 分钟的时间内滴加氯甲酸异丁基酯 (18 mL, 139 mMol)。反应液在 0°C 下搅拌 30 分钟, 然后在该反应中快速倾倒 30 重量% NH_4OH 溶液 (50 mL, 385 mMol)。(可看见剧烈的气泡形成, 几分钟后停止)。使反应温热至室温, 并搅拌 4 小时。在旋转转发器中真空浓缩反应液至沉淀出大部分产物的体积。稠的白色浆液用等体积的水稀释, 过滤, 用水洗涤, 压缩干燥, 然后真空干燥, 得到标题化合物(22.56 g, 91%), 其为白色固体: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.17 (br s, 1 H), 5.75 (br s, 1 H), 5.12 (d, 1 H). 4.00 (app. t, 1 H), 2.13 (m, 1 H), 1.44 (s, 9 H), 0.99 (d, 3 H), 0.94 (d, 3 H)。

b) [(R)-1-(N-苄基-carbamimidoyl)-2-甲基-丙基]-氨基甲酸 t-丁基酯

在搅拌下向 Boc-D-缬氨酸酰胺 (10 g, 46 mMol) 在 CH_2Cl_2 (200 mL) 中的溶液内添加三乙基硫氟磷酸氧鎢 (13.0 g, 48 mMol)。(反应由悬浮液开始, 逐渐澄清)。反应液在室温下搅拌 48 小时, 倾倒在分离漏斗中, 用 1 N Na_2CO_3 洗涤, 干燥 (Na_2SO_4), 过滤, 然后真空浓缩。向残留的油中添加苄基胺 (5.0 mL, 23 mMol) 和 EtOH (20 mL)。反应在 60°C 下搅拌 24 小时。冷却至室温后, 反应真空蒸发。得到标题化合物(14.16 g, >95%纯, 通过 LCMS 测定), 其为淡黄色油状物, 并逐渐固化为蜡状固体: MS (ES) m/e 306.4 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 。

实施例 9



条件: a) 原乙酸三乙基酯, HOAc, 蒸馏; b) EtOH, 回流, 18 小时。

[1-(3-苄基-5-氰基-6-甲基-4-氧代-3,4-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-氨基甲酸-t-丁基酯

a) 乙基 2-乙氧基亚乙基-氰基乙酸酯

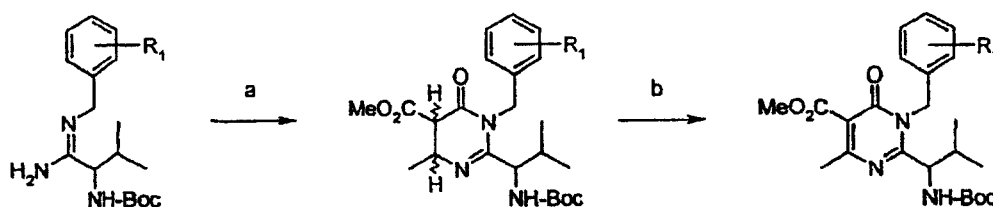
在装配有短径蒸馏头的 250 mL 圆底烧瓶中, 在搅拌下向氰基乙酸乙酯 (46.8 g, 414 mMol) 和原乙酸三乙酯 (84.4 g, 520 mMol) 中添加 HOAc (1.2 mL, 21 mMol)。反应缓慢加热至 135°C , 并维持在该温度以蒸馏掉所产生的乙醇 (在约 106°C 时开始蒸馏)。以 15 分钟的间隔向反应中另外添加 3 次 HOAc (1.2 mL, 21 mMol)。反应缓慢加热至 150°C , 然后冷却至约 80°C 。在高真空(bp 128°C ., HV)下通过短径蒸馏得到标题产物 (62.64 g, 82%), 其为淡黄色固体。(注意: 关闭向冷凝器的冷却, 以避免堵塞): ^1H

NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.27 (q, 2 H), 4.22 (q, 2 H), 2.61 (s, 3 H), 1.43 (t, 3 H), 1.31 (t, 3 H).

b) [1-(3-苄基-5-氰基-6-甲基-4-氧代-3,4-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-氨基甲酸-t-丁基酯

在搅拌下向[(R)-1-(N-苄基-carbamimidoyl)-2-甲基-丙基]-氨基甲酸 t-丁基酯 (14.16 g, 46 mMol) 在 EtOH (50 mL) 中的溶液内添加 2-乙氧基亚乙基-氰基乙酸乙酯 (8.4 g, 46 mMol)。反应回流 18 小时, 冷却至 RT, 然后真空浓缩。在硅胶上进行快速色谱纯制 (5% EtOAc, CH_2Cl_2), 然后由乙酸乙酯、己烷和 Et_2O 、石油醚中结晶, 得到白色固体的标题化合物 (8.03 g, 44%): MS (ES) m/e 397.2 ($\text{M}+\text{H}$)⁺。

实施例 10



条件: a) 亚乙基丙二酸二甲基酯, MeOH; b) NBS, cat. 过氧化苯甲酰, K_2CO_3 , CCl_4 回流

1-苄基-2-(1-t-丁氧基羰基氨基-2-甲基-丙基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸甲基酯

a) 1-苄基-2-(1-t-丁氧基羰基氨基-2-甲基-丙基)-4-甲基-6-氧代-1,4,5,6-四氢-嘧啶-5-羧酸甲基酯

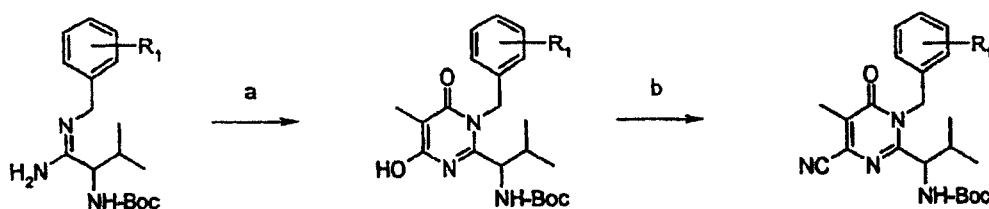
向[(R)-1-(N-苄基-carbamimidoyl)-2-甲基-丙基]-羧酸 t-丁基酯 (7.08 g, 23 mMol) 在 MeOH (15 mL) 中的溶液内添加亚乙基丙二酸二甲基酯 (3.64

g, 23 mMol)。反应缓慢加热至 110°C, 以蒸馏掉甲醇。反应在 110°C 下搅拌 5 小时, 然后冷却至 RT。通过快速色谱纯制 (25% EtOAc, 己烷) 得到油状的标题化合物 (6.37 g, 64%): 非对映异构体的约 (3:1) 混合物, 用 LCMS 测定; MS (ES) m/e 432.2 和 432.4 ($M+H$)⁺。

b) 1-苄基-2-(1-*t*-丁氧基羰基氨基-2-甲基-丙基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸甲基酯

在搅拌下向 1-苄基-2-(1-*t*-丁氧基羰基氨基-2-甲基-丙基)-4-甲基-6-氧代-1,4,5,6-四氢-嘧啶-5-羧酸甲基酯 (6.37 g, 14.8 mMol) 在 CCl₄ (150 mL) 中的溶液内添加 K₂CO₃ (4.0 g, 29 mMol)、N-溴琥珀酰亚胺 (2.63 g, 14.8 mMol) 和过氧化苯甲酰 (0.18 g, 0.74 mMol)。反应回流 0.5 h, 冷却至 RT, 通过 Celite® 垫过滤, 并用 CH₂Cl₂ 洗涤。真空浓缩滤液, 并通过快速色谱纯制 (梯度: 0—5% EtOAc, 在 CH₂Cl₂ 中)。由此得到的半纯制的产物放置在 20% EtOAc 的己烷 (10 mL) 溶液中, 此时产物开始结晶。混合物用 10% Et₂O 在石油 Et₂O (50 mL) 中的溶液稀释, 研磨, 过滤, 然后真空浓缩, 得到白色固体的标题化合物 (2.56 g, 40%: MS (ES) m/e 432.2 和 430.2 ($M+H$)⁺。

实施例 11



条件: a) 2-氯羰基丙酸乙酯, Et₃N, CH₂Cl₂; DMF 100°C 18 小时; b) NaH, DMF; PhN(Tf)₂; Zn(CN)₂, (PPh₃)₄Pd, DMF, 90°C, 4 小时。

[1-(3-苄基-5-甲基-6-氰基-4-氧代-3,4-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-氨基

甲酸-t-丁基酯

a) [1-(3-苄基-5-甲基-6-羟基-4-氧代-3,4-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-氨基甲酸-t-丁基酯

在搅拌和 0℃ 的冷却下向[(R)-1-(N-苄基-carbamimidoyl)-2-甲基-丙基]-氨基甲酸 t-丁基酯 (16.37 g, 53.6 mMol) 在 CH₂Cl₂ (150 mL) 中的溶液内添加 Et₃N (9 mL, 64.3 mMol), 然后在 15 分钟的时间内滴加 2-氯羰基-丙酸乙基酯 (10 g, 60.8 mMol)。反应温热至室温并搅拌 4 小时, 倾倒在分离漏斗中, 用水、盐水洗涤, 干燥 (Na₂SO₄), 然后真空蒸发至干。未经纯制的酰基脒 (约 90% 纯度, 由 LCMS 测定, MS (ES) m/e (M+H)⁺ 434.4) 放入 DMF (150 mL) 中, 然后在搅拌下加热至 100℃ 共 18 小时。反应真空浓缩并通过快速色谱纯制(90:10:1, CH₂Cl₂:EtOAc:HOAc)、然后 (30:70:1, EtOAc:己烷:HOAc), 得到浅白色固体的标题化合物(8.42 g, 41%): MS (ES) m/e 388.2 (M+H)⁺。

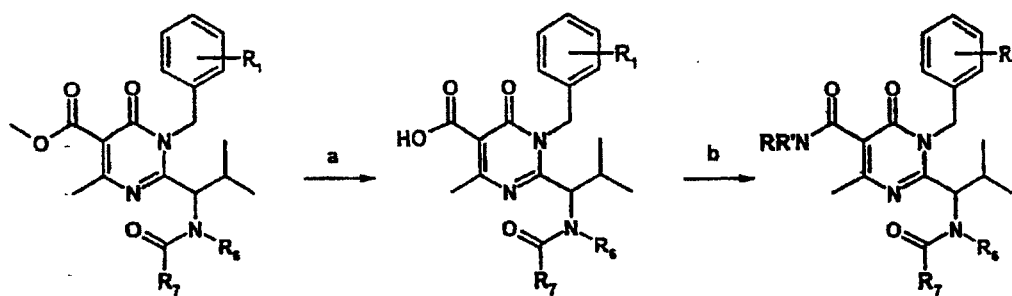
b) [1-(3-苄基-5-甲基-6-氰基-4-氧代-3,4-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-氨基甲酸-t-丁基酯

在搅拌下向 1-(3-苄基-5-甲基-6-羟基-4-氧代-3,4-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-氨基甲酸-t-丁基酯 (8.42 g, 21.7 mMol) 在 DMF (150 mL) 中的溶液内滴加 60% 的 NaH 矿物油分散体 (0.95 g, 24 mMol)。室温下搅拌 15 分钟后, 添加 N-苄基三氟甲烷磺酰亚胺 (8.6 g, 24 mMol)。反应在室温下搅拌 18 小时, 真空浓缩, 放入 EtOAc 中, 用饱和氯化铵水溶液洗涤, 干燥 (MgSO₄), 过滤, 然后真空蒸发。通过快速色谱纯制 (梯度: 0—5% EtOAc 在 CH₂Cl₂ 中的溶液)、然后 (10% EtOAc/己烷), 形成半纯制的三氟甲磺酸酯 (11.70 g) (MS (ES) m/e 520.2 (M+H)⁺, 由 LCM 测定包含 23% 的 PhNHSO₂CF₃), 为白色固体。

在搅拌下向该粗的三氟甲磺酸酯在 DMF (150 mL) 中的溶液内添加

Zn(CN)₂ (2.6 g, 22.2 mMol)和 (PPh₃)₄Pd (2.6 g, 2.3 mMol)。反应在氩气氛和 90℃下加热 4 小时, 冷却至 RT, 然后真空蒸发。通过快速色谱纯制 (梯度: 0—5% EtOAc 在 CH₂Cl₂ 中的溶液), 得到白色固体的标题化合物(7.11 g, 82%): MS (ES) m/e 520.2 (M+H)⁺。

实施例 12



条件: a) 1N KOH, THF, MeOH, 60℃; b) RR'NH, EDC, HOBT, TEA, CH₂Cl₂, 室温, 然后 TFA。

2-{(R)-[(3-氨基-丙基)-(1-p-甲苯基-甲酰基)-氨基]-甲基-丙基-}-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸乙基酰胺

a) 1-苄基-2-{(R)-[(3-叔丁氧基羰基氨基-丙基)-(1-p-甲苯基-甲酰基)-氨基]-甲基-丙基}-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸

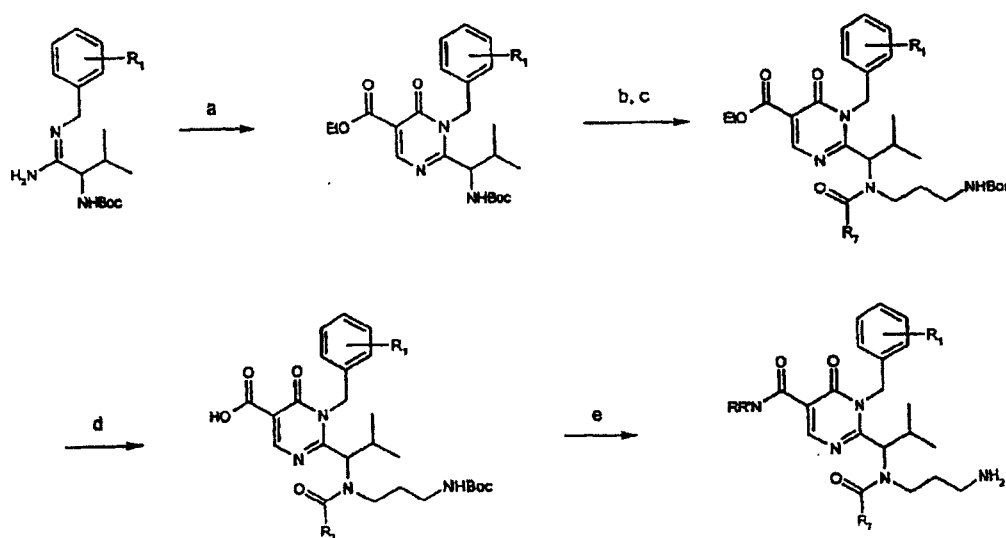
向 1-苄基-2-{(R)-[(3-叔丁氧基羰基氨基-丙基)-(1-p-甲苯基-甲酰基)-氨基]-甲基-丙基}-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸甲基酯 (2.75 g, 4.55 mmol) 在 THF (60 mL) 中的溶液内添加 MeOH (30 mL), 然后再添加 1N KOH (18.2 mL, 18.2 mmol)。所得溶液加热至 60℃ 共 3 小时, 然后减压浓缩。残留物用 H₂O (75 mL) 稀释, 用 1N HCl 调节至 pH 约为 7, 然后用 EtOAc (3×75 mL) 萃取。萃取液在硫酸钠上干燥, 过滤并减压浓缩, 得到 2.69 g (100%) 的 1-苄基-2-{(R)-[(3-叔丁氧基羰基氨基-丙基)-(1-p-甲苯基-甲酰基)-氨基]-甲基-丙基}-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸, 其

为油状物，而且未经纯制即用于随后的步骤中：MS (ES) m/e 591.4 ($M+H$)⁺。

b) 2-[(R)-[(3-氨基-丙基)-(1-p-甲苯基-甲酰基)-氨基]-甲基-丙基]-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸乙基酰胺

向 1-苄基-2-[(R)-[(3-叔丁氧基羰基氨基-丙基)-(1-p-甲苯基-甲酰基)-氨基]-甲基-丙基]-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸(100 mg, 0.169 mmol) 在 CH₂Cl₂ (1.7 mL) 中的溶液内添加 EDC (36 mg, 0.186 mmol)、HOBt (25 mg, 0.186 mmol)、TEA (28 μ L, 0.203 mmol)、和乙胺 (85 μ L, 2.0M 的 THF 溶液, 0.169 mmol)。反应混合物在室温下搅拌 16 小时，然后添加 TFA (1 mL)。3 小时后，反应混合物减压浓缩，而残留物通过逆相 HPLC 纯制，得到 47 mg (53%) 淡黄色固体的 2-[(R)-[(3-氨基-丙基)-(1-p-甲苯酰基-甲酰基)-氨基]-甲基-丙基]-1-苄基-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸乙基酰胺：MS (ES) m/e 518.4 ($M+H$)⁺。

实施例 13



条件：a) 乙氧基亚甲基丙二酸二乙酯, MeOH; b) 4 M HCl/二噁烷，然后 1 M 氢氧化钠水溶液; OHC(CH₂)₂NHBoc, NaB(OAc)₃H, CH₂Cl₂; c) R₇COCl,

DIEA, CH_2Cl_2 ; d) 4 M KOH, EtOH/ H_2O ; e) $\text{RR}'\text{NH}_2$, EDC/HOBt, DMF; 然后 4 M HCl/二噁烷。

2-[[[(3-氨基-丙基)-(1-p-甲苯基-甲酰基)-氨基]-甲基-丙基]-1-苄基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸苯基酰胺盐酸盐

a) 1-苄基-2-(1-叔丁氧基羰基氨基-2-甲基-丙基)-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸乙基酯

根据 Veale, J. Org. Chem., 58,4490 (1993)中描述的方法, 向[1-(N-苄基-carbamimidoyl)-2-甲基-丙基]-氨基甲酸叔丁基酯 (10.86 g, 35.6 mmol)在甲醇 (160 mL)中的溶液内添加乙氧基亚甲基丙二酸二乙酯 (7.7 g, 35.6 mmol)。反应器中装配 Dean-Stark 汽水阀。反应在 100°C 下加热至除去所有的溶剂。残留物溶解在二氯甲烷中, 用 1 N HCl 和水洗涤, 干燥 (Na_2SO_4), 然后浓缩。所得的淡黄色浆液未经进一步纯制即用于下一步中。

b) 1-苄基-2-[1-(3-叔丁氧基羰基氨基-丙基氨基)-2-甲基-丙基]-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸乙基酯

向 1-苄基-2-(1-叔丁氧基羰基氨基-2-甲基-丙基)-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸乙基酯 (14.22 g, 由前一步制得)中添加 4M HCl 在 1,4-二噁烷 (50 mL, 200 mmol)中的溶液, 溶液然后在室温下搅拌 2.0 小时。真空浓缩反应, 并将残留物溶解在水中, 然后用乙醚洗涤。含水层用 1 N NaOH 进行酸化, 然后萃取至醚中。醚层用水洗涤, 干燥 (Na_2SO_4)并浓缩, 得到晶体状的橙色固体。该固体 (7.08 g, 21.5 mmol)溶解在无水 CH_2Cl_2 (100 mL)中, 然后向其中添加 (3-氧代-丙基)-氨基甲酸叔丁基酯 (3.076 g, 17.76 mmol) 无水 CH_2Cl_2 (50 mL)中的溶液, 然后分批添加三乙酰氧基硼氢化钠 (5.65 g, 26.64 mmol)。反应在室温和氮气氛下搅拌 72 小时, 此时反应用饱和碳酸氢钠调节为碱性。分离各层, 含水层用二氯甲烷萃取, 合并的有机相用盐

水洗涤, 干燥 (Na_2SO_4) 并蒸发至干。残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制 (1:1 己烷:EtOAc), 得到淡黄色泡沫状的标题化合物 (5.59 g 32%, 3 步)。MS(ES+) m/e 487 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

c) 1-苄基-2-[[3-叔丁氧基羰基氨基-丙基]-(1-p-甲基-甲酰基)-氨基]-甲基丙基}-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸乙基酯

使 1-苄基-2-[1-(3-叔丁氧基羰基氨基-丙基氨基)-2-甲基-丙基]-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸乙基酯 (1.45 g, 2.98 mmol)、N,N-二异丙基乙基胺 (1.93 g, 14.91 mmol)、p-甲苯酰氯 (1.38 g, 8.95 mmol) 在 CH_2Cl_2 (30 mL) 中于室温下搅拌 24 小时。反应用 1 N HCl 和盐水洗涤, 干燥 (Na_2SO_4) 并蒸发至干。残留物通过快速色谱进行纯制 (2:1 己烷: EtOAc), 得到白色固体的标题化合物 (1.22 g, 68%)。MS(ES+) m/e 605 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

d) 1-苄基-2-[[3-叔丁氧基羰基氨基-丙基]-(1-p-甲基-甲酰基)-氨基]-甲基丙基}-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸

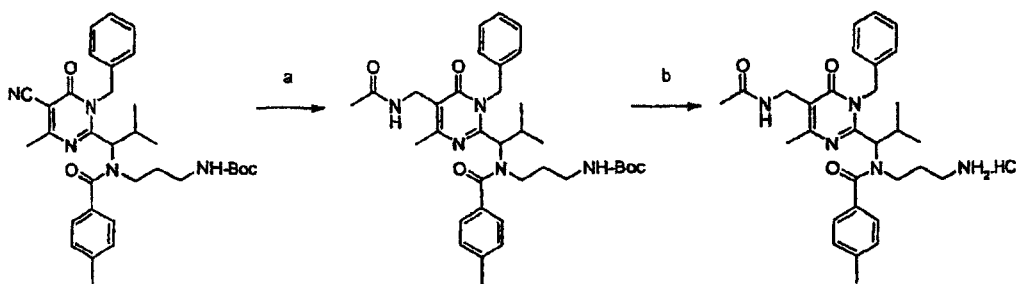
向 1-苄基-2-[[3-叔丁氧基羰基氨基-丙基]-(1-p-甲基-甲酰基)-氨基]-甲酰基}-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸乙基酯 (1.22 g, 2.02 mmol) 在 EtOH (18 mL) 中的溶液内添加氢氧化钾 (0.453 g, 8.068 mmol) 在水 (2 mL) 中的溶液, 反应在室温下搅拌 24 小时。真空浓缩反应, 而残留物溶解在水中, 并用 1N HCl 酸化至 pH=2。将所得的沉淀物溶解在 EtOAc 中, 用水和盐水洗涤, 干燥 (Na_2SO_4) 并浓缩, 得到白色固体的标题化合物 (1.124 g, 96%)。MS(ES+) m/e 577 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

e) 2-[[[(3-氨基-丙基)-(1-p-甲基-甲酰基)-甲基-丙基]-1-苄基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸苯基酰胺盐酸盐

向 1-苄基-2-[[3-叔丁氧基羰基氨基-丙基]-(1-p-甲基-甲酰基)-氨基]-

甲基丙基}-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-5-羧酸 (0.171 g, 0.297 mmol) 在 DMF (3 mL) 中的溶液内添加 EDCI (0.0568 g, 0.297 mmol)、HOBt 单水合物 (0.04 g, 0.297 mmol)、和苯胺 (0.0276 g, 0.297 mmol), 反应然后在室温下搅拌 24 小时。反应用水淬灭, 萃取至 CH_2Cl_2 中, 干燥 (Na_2SO_4) 并浓缩。所得的残留物与过滤的 4M HCl 在二噁烷中于室温下一起搅拌 2 小时。反应真空浓缩, 用乙醚研磨, 然后过滤, 得到棕色固体的标题化合物 (0.086 g, 50 %, 2 步)。MS(ES+) m/e 552 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 14



条件: a) H_2 , 10% Pd/C, HOAc; Ac_2O , Et_3N , CH_2Cl_2 ; b) 4N HCl, 二噁烷

N-{1-[5-(乙酰基氨基-甲基)-3-苄基-6-甲基-4-氧代-3,4-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-N-(3-氨基-丙基)-4-甲基-苯甲酰胺 HCl 盐

a) {1-[[1-[5-(乙酰基氨基-甲基)-3-苄基-6-甲基-4-氧代-3,4-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基]-(1-p-甲苯基-甲酰基)-氨基]-丙基}-羧酸叔丁基酯

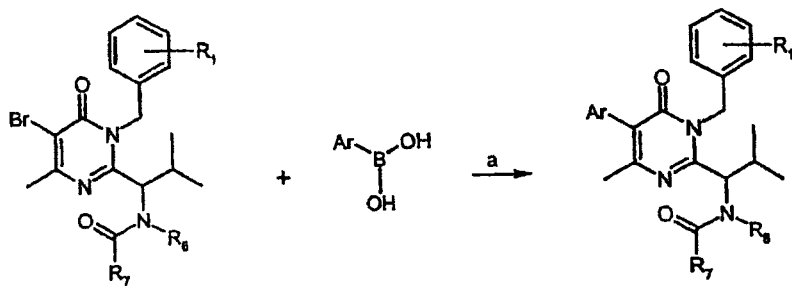
在搅拌下向 {1-[[1-[5-氰基-3-苄基-6-甲基-4-氧代-3,4-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基]-(1-p-甲苯基-甲酰基)-氨基]-丙基}-氨基甲酸叔丁基酯 (350 mg, 0.6 mMol) 在 HOAc (10 mL) 中的溶液内小心地添加 10% Pd/C (150 mg)。反应在氢气球中于室温下氢化 18 小时, 由 Celite® 垫上过滤, 用 HOAc 洗涤, 然后真空蒸发。在搅拌下向粗胺 (约 34% 纯, 通过 LCMS 测定, MS (ES) m/e 576.4 $(\text{M}+\text{H})^+$) 在 CH_2Cl_2 (10 mL) 中的溶液内添加 Et_3N

(280 μL , 2 mMol)和 Ac_2O (114 μL , 1.2 mMol)。在室温下搅拌 2 小时后, 反应真空浓缩, 放入 EtOAc 中, 用 1 N Na_2CO_3 、1 N HCl 、盐水洗涤, 干燥 (MgSO_4), 过滤并真空蒸发。通过快速色谱纯制 (80% EtOAc /己烷), 得到浅白色固体的标题化合物(0.10 g, 27%): MS (ES) m/e 618.4 ($\text{M}+\text{H}$)⁺。

b) N-{1-[5-(乙酰基氨基-甲基)-3-苄基-6-甲基-4-氧代-3,4-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-N-(3-氨基-丙基)-4-甲基-苯甲酰胺 HCl 盐

向 {1-[{1-[5-(乙酰基氨基-甲基)-3-苄基-6-甲基-4-氧代-3,4-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-(1-p-甲苄基-甲酰基)-氨基]-丙基}-羧酸叔丁基酯 (0.10 g, 0.16 mMol) 中添加 4 N HCl 在二噁烷 (20 mL) 中的溶液。反应在室温下搅拌 1 小时, 然后真空蒸发。用 Et_2O 研磨, 过滤并真空干燥, 得到浅白色固体的标题化合物 (54 mg, 61%): MS (ES) m/e 518.6 ($\text{M}+\text{H}$)⁺。

实施例 15



条件: a) Na_2CO_3 , $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, $\text{MeCN}-\text{H}_2\text{O}$, 微波, 5 min.

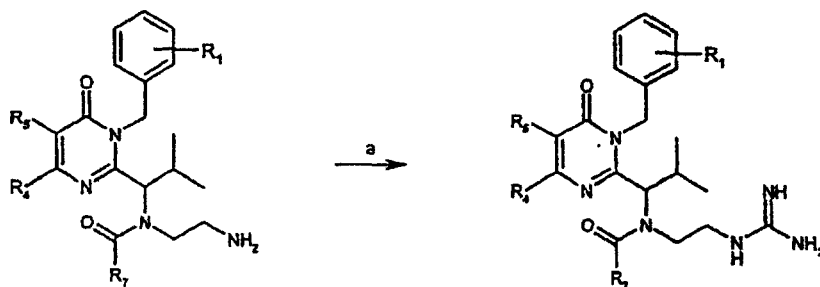
N-(3-氨基-丙基)-N-{(R)-1-[1-苄基-5-(3-氯-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺

a) N-(3-氨基-丙基)-N-{(R)-1-[1-苄基-5-(3-氯-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基-苯甲酰胺

在 10-mL Smith 微波反应瓶中放入 N-(3-氨基-丙基)-N-[(R)-1-(1-苄基

-5-溴-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺 (50 mg, 0.095 mmol)、3-氯硼酸 (14.9 mg, 0.095 mmol)、 Na_2CO_3 (20.1 mg, 0.190 mmol)、 $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (3.3 mg, 0.005 mmol)、然后 MeCN- H_2O (1:1, 0.4 mL)。该混合物用氩气换气, 密封, 然后在 150℃ 下用微波反应器处理 5 分钟。残留物通过反相 HPLC 纯制, 得到 27.5 mg (51%) 黄色固体的 N-(3-氨基-丙基)-N-[(R)-1-[1-苄基-5-(3-氯-苯基)-4-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺: MS (ES) m/e 557.4 ($\text{M}+\text{H}$)⁺。

实施例 16

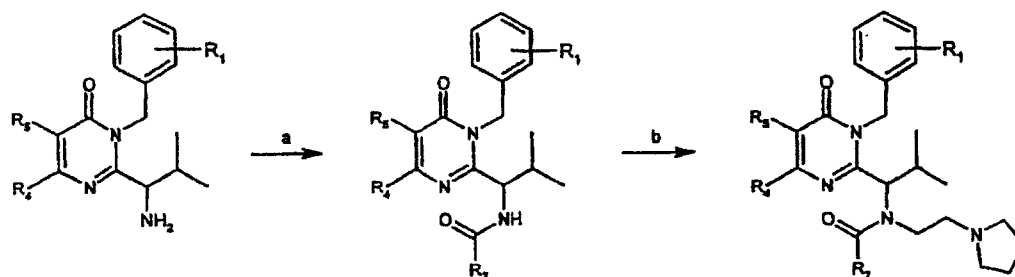


条件: a) 1H-吡唑-1-酰胺脒盐酸盐, DIEPA, DMF, rt.

N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-N-(2-胍基-乙基)-4-甲基-苯甲酰胺

向 N-[1-(1-苄基-4-氰基-5-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-N-(2-氨基-乙基)-4-甲基-苯甲酰胺 (75 mg, 0.16 mMol) 在 DMF (1.5 mL) 中的溶液内添加 1H-吡唑-1-酰胺脒盐酸盐 (25 mg, 0.17 mMol) 和二异丙基乙基胺 (57 μL , 0.33 mMol)。反应在室温下搅拌 16 小时, 用水 (2 mL) 淬灭, 然后用二氯甲烷 (2 mL) 稀释。含水层调节至 pH 7, 然后用二氯甲烷 (2 $\times$ 5 mL) 萃取。合并的有机层干燥 (Na_2SO_4), 过滤并蒸发。用反相 HPLC 纯制残留物, 得到白色粉末状的标题化合物 (38 mg, 37%): MS (ES) m/e 500.4 ($\text{M}+\text{H}$)⁺。

实施例 17



条件：a) $R_7\text{COCl}$ ，三乙胺，二氯甲烷，室温；b) $\text{C}_4\text{H}_8\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ，氢化钠，N,N-二甲基甲酰胺，室温。

N-[(R)-1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-N-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-苯甲酰胺

a) N-[(R)-1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺

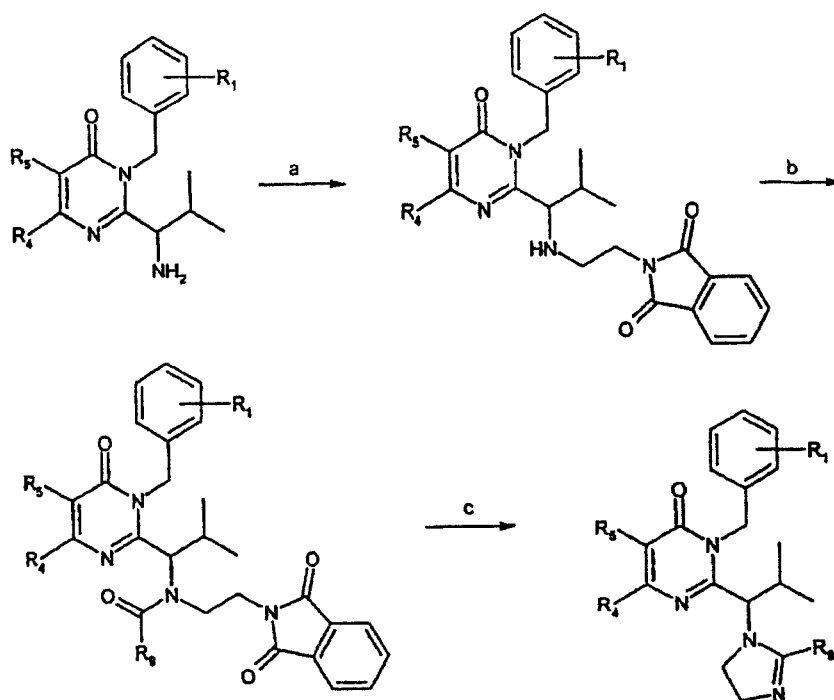
向 2-((R)-1-氨基-2-甲基-丙基)-3-苄基-5,6-二甲基-3H-嘧啶-4-酮 (50 mg, 0.175 mMol)和三乙胺 (49 μL , 0.350 mMol)在 CH_2Cl_2 中的溶液内添加 4-甲基-苯甲酰氯 (21 μL , 0.157 mMol)。反应在室温下搅拌 48 小时，用水淬灭，然后用乙酸乙酯 (3 $\times$ 20 mL)萃取。合并的有机层干燥(Na_2SO_4)，过滤并蒸发，得到无色油状的标题化合物(50 mg, 72%)。MS (ES) m/e 404.2 ($\text{M}+\text{H}$)⁺。

b) N-[(R)-1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-N-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-苯甲酰胺

向 N-[(R)-1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-4-甲基-苯甲酰胺 (50 mg, 0.123 Mmol)在 DMF 中的溶液内添加氢化钠 (5 mg, 0.147 Mmol)。反应在室温下搅拌 15 小时，然后添加 1-(2-氯-乙基)-

吡咯烷 (20 mg, 0.135 mmol) (Tilford 等人; J. Am. Chem. Soc.; 70; 1948; 4001)。反应在室温下搅拌 24 小时, 用水淬灭, 然后用乙酸乙酯 (3×20 mL) 萃取。合并的有机层用水 (1×20 mL)、盐水 (1×20 mL) 洗涤, 干燥(Na_2SO_4), 过滤并蒸发, 产生无色油状的标题化合物(30 mg, 49%): MS (ES) m/e 501.4 ($\text{M}+\text{H}$)⁺。

实施例 18



条件: a) $\text{NaBH}(\text{AcO})_3$, AcOH, DCE, rt; b) R_9COCl , DIEPA, 甲苯, 100°C; c) 肼, EtOH, 70°C

3-苄基-5,6-二甲基-2-[(R)-2-甲基-1-(2-p-甲苯基-4,5-二氢-咪唑-1-基)-丙基]-3H-嘧啶-4-酮

a) 2-{2-[(R)-1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基氨基]-乙基}-异吲哚-1,3-二酮

将 2-((R)-1-氨基-2-甲基-丙基)-3-苄基-5,6-二甲基-3-H-嘧啶-4-酮

(0.500 g, 1.75 mMol)和 2H-异吲哚-2-乙醛 [2913-97-5] (0.661 g 3.50 mMol) 溶解在二氯乙烷 (20 mL)中。添加冰乙酸 (0.400 mL, 0.70mMol), 然后添加三乙酰氧基硼氢化钠 (0.942 g, 4.40 mMol)。在室温和氮气氛围下搅拌反应 3.5 小时。反应用 NaHCO_3 (饱和水溶液)淬灭, 然后用 EtOAc (3 $\times$)萃取。有机层在减压下蒸发, 并通过快速色谱纯制 (EtOAc/己烷 50-95%梯度), 得到标题化合物 420 mg (0.92 mMol) MS (ES) m/e 459 ($\text{M}+\text{H}$)⁺。

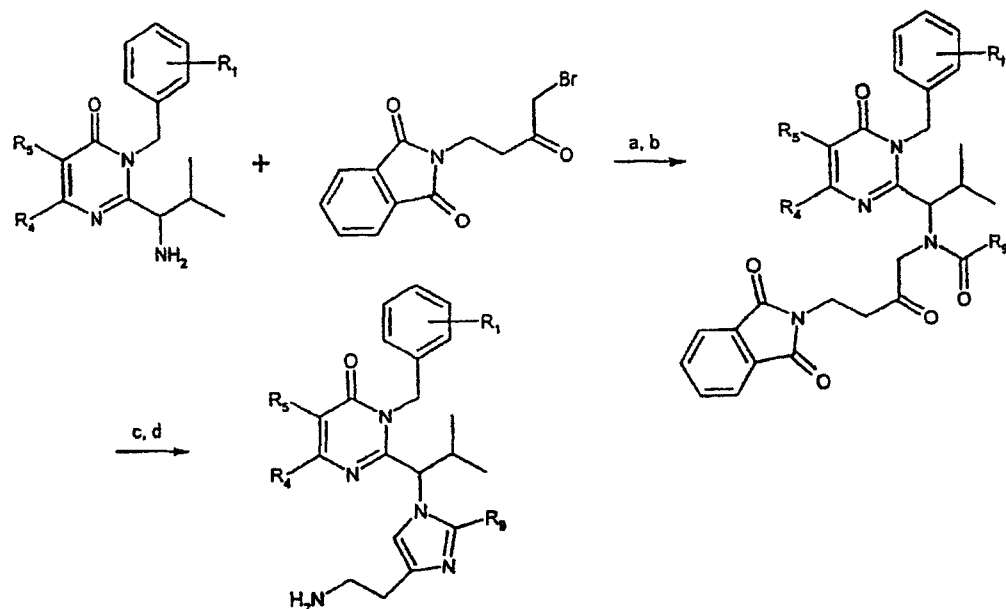
b) N-[(R)-1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-N-[2-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-乙基]-4-甲基-苯甲酰胺

将 p-甲苯酰氯 (0.033mL, 0.25 mMol) 溶解在甲苯 (2 mL)中, 然后用 DIPEA (0.093 mL, 0.53 mMol)、接着 2-{2-[(R)-1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基氨基]-乙基}-异吲哚-1,3-二酮 (0.100 g, 0.22 mMol)处理。反应在 110℃下搅拌 3 小时。将反应冷却至室温, 减压蒸发, 然后通过快速色谱纯制 (EtOAc/己烷 0-55%梯度), 得到标题化合物 0.075 g (0.13 mMol) MS (ES) m/e 577 ($\text{M}+\text{H}$)⁺。

c) 3-苄基-5,6-二甲基-2-[(R)-2-甲基-1-(2-p-甲基-4,5-二氢-咪唑-1-基)-丙基]-3H-嘧啶-4-酮

邻苯酰亚胺保护的胺, N-[(R)-1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-N-[2-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-乙基]-4-甲基-苯甲酰胺 (0.075 g, 0.13 mMol)用单水合肼 (0.013 mL, 0.26 mMol) 在乙醇 (1 mL)中于 70℃下处理 12 小时。反应过滤, 减压浓缩, 然后溶解在甲苯 (1 mL)中, 并加热至 120℃共 20 小时。真空浓缩反应, 放入 CH_3CN 中, 并通过反相 HPLC (YMC, ODS-A, 20 min, 5-90%梯度, $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$, 0.1% TFA)纯制。收集各部分并蒸发, 得到澄清油状的标题化合物 (0.016 g): MS (ES) m/e 429.4 ($\text{M}+\text{H}$)⁺。

实施例 19



条件: a) DIPEA, DMF, rt; b) $R_9\text{COCl}$, Et_3N , CH_2Cl_2 , rt; c) NH_4OAc , AcOH , 回流; d) 肼, EtOH , rt.

2-{1-[4-(2-氨基-乙基)-2-p-甲苯基-咪唑-1-基]-2-甲基-丙基}-3-苄基-5,6-二甲基-3H-嘧啶-4-酮

a) 2-{4-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基氨基]-3-氧代-丁基}-异吲哚-1,3-二酮

向 2-(1-氨基-2-甲基-丙基)-3-苄基-5,6-二甲基-3H-嘧啶-4-酮 (0.66 g, 2.33 mmol) 在 DMF (15 mL) 中的溶液内添加 2-(4-溴-3-氧代-丁基)-异吲哚-1,3-二酮 (0.69 g, 2.33 mmol, 如 WO 89/10360 中所述进行制备) 和 N,N-二异丙基乙基胺 (0.301 g, 2.33 mmol)。反应在室温下搅拌 16 小时, 真空浓缩, 溶解在 $\text{EtOAc}/\text{H}_2\text{O}$ 中, 用水洗涤, 干燥 (Na_2SO_4), 然后蒸发, 得到白色泡沫状的标题化合物 (1.04 g, 89%)。MS(ES+) m/e 501 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

b) N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]

基]-N-[4-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-2-氧代-丁基]-4-甲基-苯甲酰胺

向 2-{4-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基氨基]-3-氧代-丁基}-异吲哚-1,3-二酮 (1.024 g, 2.046 mmol) 在 CH_2Cl_2 (14 mL) 中的溶液内添加三乙胺 (0.31 g, 3.069 mmol) 和 p-甲苯酰氯 (0.474 g, 3.069 mmol)。反应在室温下搅拌 16 小时，用水洗涤，干燥 (Na_2SO_4)，然后蒸发至干。残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制 (1:1 己烷: EtOAc)，得到白色泡沫状的标题化合物 (0.885 g, 70%)。MS(ES+) m/e 619 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

c) 2-(2-{1-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-2-p-甲基-1H-咪唑-4-基}-乙基)-异吲哚-1,3-二酮

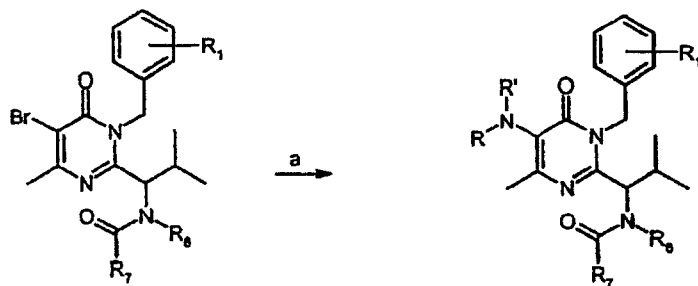
向 N-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-N-[4-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-2-氧代-丁基]-4-甲基-苯甲酰胺 (0.884 g, 1.62 mmol) 在冰乙酸 (15 mL) 中的混合物内添加乙酸铵 (6.22 g, 80.8 mmol)，然后反应加热至回流 16 小时。反应真空浓缩，而残留物用饱和碳酸氢钠水溶液碱化，萃取至 EtOAc 中，用水和盐水洗涤，干燥 (Na_2SO_4)，然后蒸发至干。残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制 (3:1 EtOAc:己烷)，得到淡黄色泡沫状的标题化合物 (0.371 g, 38%)。MS(ES+) m/c 600 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

d) 2-{1-[4-(2-氨基-乙基)-2-p-甲基-咪唑-1-基]-2-甲基-丙基}-3-苄基-5,6-二甲基-3H-嘧啶-4-酮

向 2-(2-{1-[1-(1-苄基-4,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基)-2-甲基-丙基]-2-p-甲基-1H-咪唑-4-基}-乙基)-异吲哚-1,3-二酮 (0.371 g, 0.619 mmol) 在 EtOH (14 mL) 中的溶液内添加单水合肼 (0.138 g, 2.48 mmol)，然

后反应在室温下搅拌 72 小时。反应过滤，而滤液浓缩至干。残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制 (90:9:1 CH₂Cl₂:MeOH:NH₄OH)，得到白色固体的标题化合物 (0.209 g, 72%)。MS(ES)+m/e 470 [M+H]⁺。

实施例 20



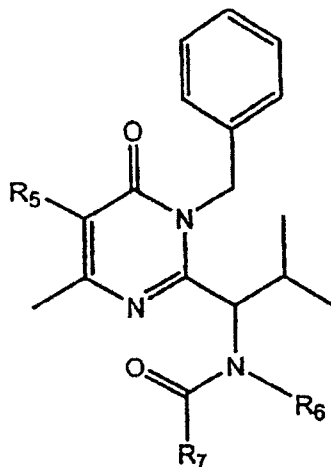
条件: a) RR'NH, 叔丁基钠, Pd₂dba₃, (S)-BINAP, CH₃CN, 90°C

N-(3-氨基-丙基)-N-{(R)-1-[1-苄基-4-甲基-6-氧代-5-苯基氨基-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基苯甲酰胺

向 N-(3-氨基-丙基)-N-{(R)-1-[1-苄基-5-Br-4-基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-2-基]-2-甲基-丙基}-4-甲基 苯甲酰胺 (0.060 g, 0.1 mmol) 在甲苯 (0.30 mL) 中的溶液内添加苯胺 (0.011 mL, 0.12 mmol)、NaO-tBu (0.013 g, 0.14 mmol)、Pd₂DBA (0.003 g, 0.0003 mmol)、和(S)-BINAP (0.005 g, 0.0008 mmol)。反应在 90°C 下搅拌 72 小时，真空浓缩，放入 CH₃CN 中，然后通过反相 HPLC (YMC, ODS-A, 20 min, 5-90% 梯度, CH₃CN : H₂O, 0.1% TFA) 纯制。收集各部分并蒸发，然后用 4N HCl/二噁烷处理 1 小时，接着通过反相 HPLC (YMC, ODS-A, 20 min, 5-90% 梯度, CH₃CN:H₂O, 0.1% TFA) 纯制，并蒸发，得到澄清半固体状的标题化合物 (0.008 g): MS (ES) m/e 538 (M+H)⁺。

实施例 21

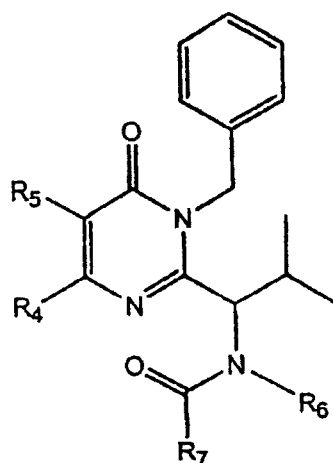
按照上述方法制备以下化合物：



方法	R ₅	R ₆	R ₇	[M+H] ⁺
15	3-Cl-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	557.4
15	4-Cl-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	557.2
15	3-F-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	541.4
15	3-CF ₃ -Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	591.2
15	3-NHAc-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	580.6
15	3-MeO-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	553.4
15	3-CN-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	548.4
15	4-Me ₂ N-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	552.4
15	3,4-二 F-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	559.4
15	3-EtO-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	567.4
15	4-EtO-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	567.4
15	4-F-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	541.4
15	2-呋喃基	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	513.4
15	3-苯硫基	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	529.2
15	3-Me-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	537.4
15	4-Me-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	537.2
15	3,4-(OCH ₂ O)-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	567.4
15	3-NH ₂ -Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	538.4
15	1-萘基	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	573.4
15	4-MeO-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	553.4
15	4-MeS-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	569.2
15	2-Me-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	537.4
15	2-MeO-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	553.6
15	2-F-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	541.2
15	2-EtO-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	567.
15	4-HOCH ₂ -Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	553.4
15	3,4-二 Me-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	551.2
15	3,4-二 MeO-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	583.4

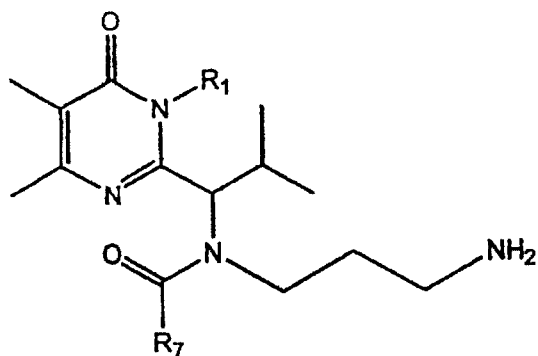
15	2-NH ₂ -4-Me-Ph	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	552.6
15	3-HOCH ₂ -Ph-	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	553.4
15	3,5-二 F-Ph-	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	559.4
15	4-CN-Ph-	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	548.4
15	2,4-二 F-Ph-	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	559.4
15	3-呋喃基-	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	513.4
15	5-吡啶基-	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	562.2
15	2,3-二 F-Ph-	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	559.2
15	2,5-二 F-Ph-	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	559.4
15	2,5-二 Me-Ph-	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	551.4
15	4-F-3-Me-Ph-	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	554.2
12	-CONHEt	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	518.4
12	-CONHMe	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	504.4
12	-CO-吗啉基	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	560.4
12	-CONHBn	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	580.6
12	-CONH(CH ₂) ₂ NHAc	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	575.4
12	-CONH(CH ₂) ₂ OMe	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	548.2
20	-N-吗啉基	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	532
12	-CONHPh	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	566.4
12	-CONH(CH ₂) ₂ OH	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	534.4
12	-COOH	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	491.4
05	Me	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Me-Ph-	477.2
05	Me	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-(5-甲基-异噁唑)-	452.4
05	Me	-(CH ₂) ₃ NH ₂	5-苯并[1,2,3]噻二唑-	505.2
05	Me	-(CH ₂) ₃ NH ₂	6-甲基-烟酰胺-	462.4
05	Me	-(CH ₂) ₃ NH ₂	2-(5-甲基-吡嗪)-	463.4
05	Me	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-CN-Ph-	472.4
05	Me	-(CH ₂) ₃ NH ₂	MeOCH ₂ -	415.6
05	Me	-(CH ₂) ₃ NH ₂	5-苯并[1,3]间二氧杂 环戊烯基-	491.4
05	Me	-(CH ₂) ₃ NH ₂	2-(5-甲基-噻吩)-	467.2
05	Et	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-MePh-	475
05	Et	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-F-4-MePh-	493
05	Et	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-(6-甲基-吡啶基)-	476
05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-F-4-MePh-	490.4
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3,4-二 MeO-Ph-	518.4
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-Me-Ph-	472.4
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Et-Ph-	486.4
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-CF ₃ O-Ph-	542.2
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-F-3-Me-Ph-	490.2
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-F-3-CF ₃ -Ph-	544.2
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-F-4-CF ₃ -Ph-	544.2
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-Cl-Ph-	492.2
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-CF ₃ -Ph-	526.4
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-F-Ph-	476.2
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Cl-Ph-	492.2

09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3,4-二 F-Ph-	494.2
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-CN-Ph-	483.2
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Br-Ph-	536.2
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-F-Ph-	476.2
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-Cl-4-F-Ph-	510.2
09, 05	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-HOCH ₂ -Ph-	488.2
05	Me	-CH ₂ (4-哌啶基)	4-Me-Ph-	501.4
05	Me	-CH ₂ (3-哌啶基)	4-Me-Ph-	501.4
05	Me	-CH ₂ (2-吡咯烷基)	4-Me-Ph-	487.4
05	Me	-CH ₂ (3-氮杂环丁烷基)	4-Me-Ph-	473.4
05	Me	-CH ₂ (3-氮杂环丁烷基)	4-HOCH ₂ -Ph-	489.4

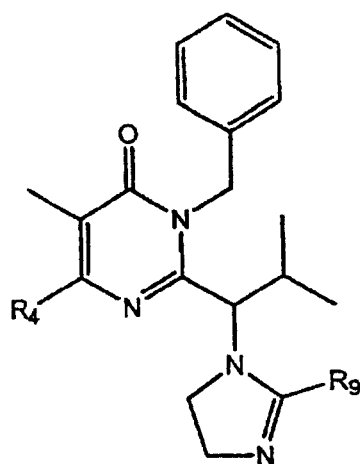


方法	R ₅	R ₄	R ₆	R ₇	[M+H] ⁺
11, 05	Me	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-F-4-MePh-	490.2
11, 05	Me	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-F-Ph-	476.2
11, 05	Me	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-F-Ph-	476.2
11, 05	Me	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-Cl-Ph-	492.2
11, 05	Me	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-F-4-CF ₃ -Ph-	544.2
11, 05	Me	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-CF ₃ O-Ph-	542.2
11, 05	Me	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-CF ₃ -Ph-	526.2
11, 05	Me	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-Et-Ph-	486.4
11, 05	Me	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3,4-二 MeO-Ph-	518.4
11, 05	Me	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3,4-二 F-Ph-	494.4
11, 05	Me	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-CN-Ph-	483.2
05	Me	-CF ₃	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-MePh-	515
05	Me	-CF ₃	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-F-4-MePh-	533
05	Me	-CF ₃	-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-(6-甲基-吡啶基)-	516

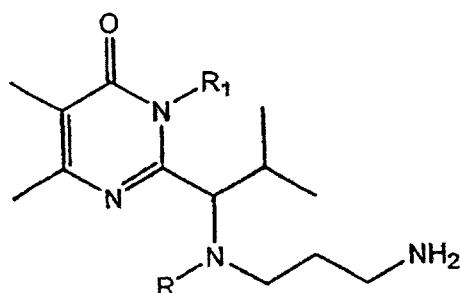
13	-CONHMe	H	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-MePh-	490
13	-CONHBn	H	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-MePh-	566
13	-CONH(CH ₂) ₂ OH	H	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-MePh-	520
13	-CONHC ₃ H ₅	H	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-MePh-	516
11, 05	Me	-CN	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-MePh-	458.4
11, 05	Me	-CN	-(CH ₂) ₂ NHC(NH)NH ₂	4-MePh-	500.4
05	-(CH ₂) ₃ -		-(CH ₂) ₃ NH ₂	3-F-4-Me-Ph-	491.4
15	Ph-	H	-(CH ₂) ₃ NH ₂	4-MePh-	509.4



方法	R ₁	R ₇	[M+H] ⁺
05	3-氰基苯基-	6-甲基-烟酰胺-	487.4
05	3-氰基苯基-	4-Me-Ph-	486.2
05	3-甲氧基苯基-	4-Me-Ph-	491.4



方法	R ₄	R ₉	[M+H] ⁺
18	-CN	4-MePh-	440.4
18	Me	2-(5-甲基-噻吩)-	435.5



方法	R ₁	R	[M+H] ⁺
05	苯基-	-SO ₂ (4-MePh)	497.4
05	萘基甲基-	-COCH ₂ OMe	465.2

实施例 22

用 KSP 抑制剂处理的肿瘤细胞系的细胞存活率的抑制:

原料和溶液:

- 细胞: SKOV3, 卵巢癌 (人)
- 培养基: 无酚红 RPMI+5%胎牛血清+ 2 mM L-谷氨酰胺
- 用于测定细胞存活率的比色剂: Promega MTS 四唑鎓化合物
- 用于最大细胞杀伤的对照化合物: Topotecan, 1 μM

方法: 第 1 天一细胞铺板

用 10 mL 的 PBS 洗涤粘附的 SKOV3 细胞, 然后加入 2 mL 0.25% 胰蛋白酶, 并在 37°C 下温育 5 分钟。用 8 mL 培养基 (无酚红 RPMI+ 5%FBS) 从烧瓶中冲洗细胞, 然后转移至新的烧瓶中。用 Coulter 计数器测定细胞浓度, 并计算获得 1000 个细胞/100 μL 的合适细胞体积。将 100 μL 培养基细胞悬浮液 (调节至 1000 细胞/100 μL) 加入 96 孔平板的所有孔中, 然后在 37°C、100%湿度、以及 5%CO₂ 下温育 18—24 小时, 使细胞粘附在平板上。

方法：第2天一化合物加入

向一排孔至经过高压灭菌的测定储备液中以 $400\times$ 最大目标浓度的量加入最初 $2.5\ \mu\text{L}$ 的测试化合物。将 $1.25\ \mu\text{L}\ 400\times$ ($400\ \mu\text{M}$) Topotecan 加入其它孔中（用这些孔的光密度减去死亡细胞和载体的背景吸光度）。将不含 DMSO 的 $500\ \mu\text{L}$ 培养基加入含有测试化合物的孔中，并将 $250\ \mu\text{L}$ 加入 Topotecan 孔中。将 $250\ \mu\text{L}$ 培养基+0.5%DMSO 加入其余的孔中，对孔中的测试化合物进行系列稀释。将来自测定储备液的含化合物的培养基成行平板复制（平行两份）至对应的细胞平板。将细胞平板于 37°C 、100%湿度和 5% CO_2 下温育 72 小时。

方法：第4天—MTS 加入和 OD 读数：

从培养箱中取出平板，并在每个孔中加入 $40\ \mu\text{L}$ 的 MTS/PMS。平板在 37°C 、100%湿度、5% CO_2 的条件下温育 120 分钟，然后在 5 秒的振荡循环之后于 96 孔分光光度计中读取 490 nm 处的 OD 值。

数据分析

计算对照的归一化的%（吸光度—背景），并用 XLfit 作出剂量—应答曲线，由该曲线测定抑制存活率 50%时所需的化合物的浓度。在通过上述方法测试时，本发明的化合物表现出活性。

实施例 23

对映体分离

通常情况下，通过选择合适 R—或 S—构型的起始氨基酸，如上所述的方法可用于制备基本上纯或者富集 R—或 S—对映体。本发明更优选的化合物是那些在连接 R^2 的立体中心处为 R—构型的化合物。R: S 混合物可通过本领域技术人员已知的方法分离为组成的纯的对映体。这些方法包

括形成并分离非对映异构体衍生物,如那些通过与任选纯的酸如二苯甲酰基酒石酸而形成的衍生物。或者,例如使用以下条件通过手性色谱法实现分离:

柱: Chiralcel OD 20×250 mm

样品加样: 约 100 mg mL⁻¹, 在 1: 2 乙醇: 己烷中, 包含 0.01%

色谱条件: 用包含 0.01% 异丙胺的 1: 2 乙醇: 己烷进行等度洗脱, 流速为 15 mL min⁻¹;

在 254 nm 处进行 UV 检测。

例如, 通过手性色谱法, 使用以下条件将富集的 3: 1 R: S 对映体混合物分离成其纯的对映体: Chiralpak AD, 250×4.6 mm (Diacel Inc.)。样品—22.5 mg/ml, 在 1: 1 i-PrOH: 己烷中。条件一用在己烷中的恒溶剂 50% i-PrOH 洗脱 40 分钟, 在 18.35 分钟时洗脱(S)-对映体, 而在 26.87 分钟时洗脱(R)-对映体。(R)-对映体明显比(S)-对映体更有效。

实施例 24

应用 KSP 抑制剂后的单极纺锤体形成

将人肿瘤细胞 Skov-3 (卵巢) 以每孔 4,000 个细胞的密度放入 96 孔板中, 使它们粘附 24 小时, 然后用各种浓度的嘧啶酮衍生物处理 24 小时。细胞固定在 4% 甲醛中, 并用抗微管蛋白抗体 (随后使用荧光标记的辅助抗体识别) 和 Hoechst 染料 (其染色 DNA) 进行染色。

肉眼检查表明化合物使细胞周期停止在有丝分裂的前中期。DNA 缩合, 并且开始形成纺锤体, 但休止的细胞均匀地表现为单极纺锤体, 这表明抑制了纺锤极体的分离。微量注射抗 KSP 抗体也使有丝分裂停止, 而且休止的细胞也表现单极纺锤体。

实施例 25

在用 KSP 抑制剂处理的肿瘤细胞系中抑制细胞增殖

以 1000—2500 个细胞/孔的密度将细胞放入 96 孔板的孔中，然后使它们粘附/生长 24 小时。然后用多种浓度的药物对它们处理 48 小时。添加化合物时的时间作为 T_0 。使用试剂 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-5-(3-羧基甲氧基苯基)-2-(4-磺苯基)-2H-四唑鎓(MTS)的基于四唑鎓的测定（专利号 5,185,450）（参见 Promega 产品目录# G3580, CellTiter96® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay），被用于测定 T_0 时的细胞存活数量以及接触化合物 48 小时后存活细胞的数量。48 小时后存活的细胞数量与添加药物时的存活细胞数量相比较，以计算生长抑制作用。

在仅用载体（0.25%DMSO）处理的对照孔中细胞在 48 小时后的生长被认为是 100%的生长，而添加化合物的孔中的细胞生长与其进行比较。

GI_{50} 是通过化合物的浓度（ μM ）对处理孔中细胞生长的百分比作图而计算的。对于化合物计算的 GI_{50} 是与对照组相比 50%抑制生长时的估计浓度，即、以下等式表示的浓度的浓度：

$$100 \times [(\text{处理}_{48} - T_0) / (\text{对照}_{48} - T_0)] = 50$$

其中处理₄₈是 48 小时时处理细胞的值，而对照₄₈是 48 小时时对照细胞的值。

所有的化合物浓度测试双份，而对照是 12 个孔的平均值。National Cancer Institute 使用了非常类似的 96 孔板方案和 GI_{50} 计算方法（参见：Monks 等人, J. Natl. Cancer Inst. 83: 757-766 (1991)）。但是，National Cancer Institute 用于定量细胞数目的方法不是使用 MTS，而是使用另外的方法。

以上实施例 1—13 的化合物都抑制人卵巢肿瘤细胞系（SKOV-3）中的细胞增殖。

实施例 26

IC₅₀ 的计算

本发明化合物对 KSP 活性的 IC₅₀ 值是使用 ATP 酶实验来测定的。使用以下的溶液：溶液 1 由 3 mM 的磷烯酸醇丙酮酸钾盐 (Sigma P-7127)、2 mM 的 ATP (Sigma A-3377)、1 mM 的 IDTT (Sigma D-9779)、5 μM 的紫杉醇 (Sigma T-7402)、10 ppm 的消泡 289 (Sigma A-8436)、25 mM 的 Pipes/KOH pH 6.8 (Sigma P6757)、2 mM 的氯化镁 (VWR JT400301)、以及 1 mM 的 EGTA (Sigma E3889) 组成。溶液 2 由 1 mM 的 NADH (Sigma N8129)、0.2 mg/ml 的 BSA (Sigma A7906)、丙酮酸激酶 7U/ml、L-乳酸脱氢酶 10U/ml (Sigma P0294)、100 nM 的 KSP 运动域、50 μg/ml 的微管、1 mM 的 DTT (Sigma D9779)、5 μM 的紫杉醇 (Sigma T-7402)、10 ppm 的消泡 289 (Sigma A-8436)、25 mM 的 Pipes/KOH pH 6.8 (Sigma P6757)、2 mM 的氯化镁 (VWR JT4003-01)、以及 1 mM 的 EGTA (Sigma E3889) 组成。使用溶液 1 在 96 孔板 (Corning Costar3695) 上制备化合物的系列稀释液 (8-12 个 2 倍稀释液)。在系列稀释后，每个孔有 50 μl 的溶液 1。在每个孔中添加 50 μl 的溶液 2，由此使反应开始。这可通过手工使用多通道移液管或者用自动液体处理装置来实现。微量滴定板转移至微板吸光度读数器中，并以动态读取每个孔在 340 nm 处的多个吸光度读数。所观察到的变化速率与 ATP 酶成正比，并绘制其随化合物浓度变化的图。对于标准 IC₅₀ 测定，所需要的数据是通过以下 4 个参数的等式使用非线性拟合程序 (如 Grafit 4) 进行拟合：

$$y = \frac{\text{范围}}{1 + \left(\frac{x}{\text{IC}_{50}}\right)^S} + \text{背景}$$

其中 y 是观察到的速率，而 x 是化合物浓度。