



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104151293 A

(43) 申请公布日 2014. 11. 19

(21) 申请号 201410394966. 8 *C07D 239/42* (2006. 01)
 (22) 申请日 2008. 10. 13 *C07D 405/12* (2006. 01)
 (30) 优先权数据 *C07D 409/12* (2006. 01)
 60/998, 821 2007. 10. 12 US *C07D 413/12* (2006. 01)
 (62) 分案原申请数据 *C07D 471/04* (2006. 01)
 200880119493. 3 2008. 10. 13 *C07D 487/04* (2006. 01)
 (71) 申请人 阿斯利康公司 *C07D 401/14* (2006. 01)
 地址 瑞典默恩达尔 *A61K 31/506* (2006. 01)
 (72) 发明人 H·奥尔盖耶 M·奥古斯丁 *A61K 31/505* (2006. 01)
 A·米勒 L·蔡特尔曼 A·马夸特 *A61K 31/519* (2006. 01)
 M·A·普莱斯 U·海泽 *A61P 29/00* (2006. 01)
 A·J·尼斯特罗杰 *A61P 35/00* (2006. 01)
 (74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司 *A61P 37/02* (2006. 01)
 72002 *A61P 31/00* (2006. 01)
 代理人 刘鸿林 张晓威 *A61P 9/00* (2006. 01)
A61P 25/00 (2006. 01)

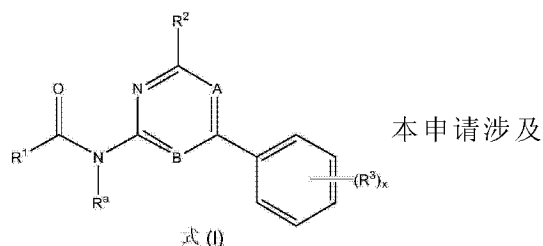
(51) Int. Cl.
C07D 401/12 (2006. 01)
C07D 403/12 (2006. 01)

权利要求书9页 说明书129页 附图3页

(54) 发明名称

蛋白激酶抑制剂

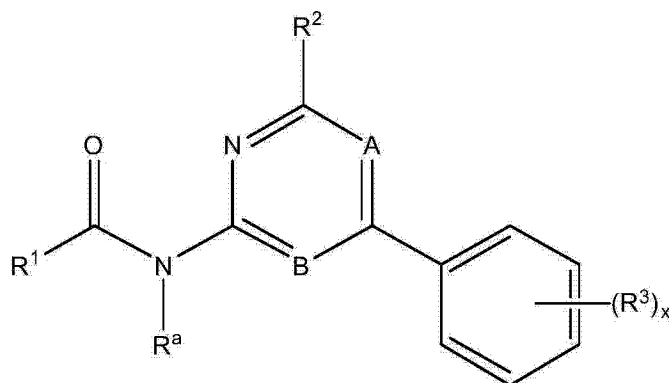
(57) 摘要



本申请涉及

蛋白激酶抑制剂, 具体而言, 涉及通式 I 的化合物, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 x 、 A 和 R^a 如本文中定义, 其为细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂, 并且可用于预防和 / 或治疗任何类型的疼痛、炎症病症、免疫性疾病、增殖性疾病、感染性疾病、心血管疾病和神经变性疾病。

1. 通式 I 的化合物：



式 (I)

或其药学可接受的盐、溶剂合物或多晶型物,包括其所有的互变异构体和立体异构体,其中:

A 是 N, 并且 B 是 CH、C(C₁₋₄ 烷基) 或 C(NH₂),

R^a 是 H 或甲基;

R¹ 选自:

C₁₋₈ 烷基; -NR⁶R⁷、C₁₋₆ 烷基 -NR⁶R⁷、R²⁰、-C₁₋₆ 烷基 -R²⁰、-C₁₋₆ 烷基 -C(O)OR⁴、C₁₋₆ 烷基 -C(O)R⁴、-NR¹⁰-(C₁₋₆ 烷基) -NR⁶R⁷、-NR¹⁰-(C₁₋₆ 烷基) -R²⁰、-NR¹⁰-(C₁₋₆ 烷基) -C(O)OR⁴、-NR¹⁰R²⁰、O-(C₁₋₆ 烷基) -NR⁶R⁷、O-(C₁₋₆ 烷基) -R²⁰、O-(C₁₋₆ 烷基) -C(O)OR⁴、-OR²⁰、C₁₋₆ 烷基 -OR²⁰、C₁₋₆ 烷基 -SR²⁰、C₁₋₆ 烷基 -NR¹⁰R²⁰、(C₁₋₆ 烷基) -O-(C₁₋₆ 烷基) -R²⁰、(C₁₋₆ 烷基) -S-(C₁₋₆ 烷基) -R²⁰、C(O)R²⁰;

其中烷基部分可以是直链或支链的,并且可以被选自卤素、甲氧基、乙氧基、NR⁶R⁷ 或含氮杂环的一个或多个取代基取代;

R⁴ 表示 H 或 C₁₋₄ 烷基;

R⁶ 和 R⁷ 各自独立地选自 H、C₁₋₆ 烷基、羟基 -C₂₋₆ 烷基 -;

R¹⁰ 表示 H 或 C₁₋₄ 烷基;

R²⁰ 选自芳基、杂芳基、碳环基和杂环基,并且可以被一个或多个选自以下的取代基取代:

C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基,其中任何一个可以被一个或多个卤素或 OH 取代基取代;

R²¹、-C₁₋₄ 烷基 -R²¹、OR²¹、O(C₁₋₄ 烷基)R²¹、SR²¹、SOR²¹、SO₂R²¹、C(O)R²¹、C₁₋₄ 烷基 -OR²¹、-O(C₂₋₆ 烯基)、-O(C₂₋₆ 炔基),其中任何一个可以被一个或多个卤素或 OH 取代基取代;

OR²²、-SR²²、-SOR²²、-SO₂R²²、-C(O)R²²、-C(O)OR²²、-C₁₋₄ 烷基 -O-R²²、-C₁₋₄ 烷基 -O-C₁₋₄ 烷基 -O-R²²、C₁₋₄ 烷基 -C(O)R²²、-C₁₋₄ 烷基 -C(O)R²²、NR¹¹C(O)OR²²、NR¹¹C(O)R²²、-SO₂-NR¹¹R¹²、-C(O)-NR¹¹R¹²、-C₁₋₄ 烷基 -C(O)-NR¹¹R¹²、-NH-SO₂R¹⁵、-N(C₁₋₄ 烷基) -SO₂R¹⁵、-(C₁₋₄ 烷基) NR¹¹R¹²、NR¹¹R¹²、-(C₁₋₆ 烷基) NR¹¹R¹²、硝基、卤素、氰基和羟基;并且当 R²⁰ 是碳环基或杂环基、或者其中芳香性环与非芳香性环稠合的芳香性基团时,R²⁰ 还可以被氧取代;

R²¹ 选自芳基、杂芳基、碳环基和杂环基,并且可以被一个或多个如下定义的取代基取代;

当 R²¹ 是芳基或杂芳基基团时,它可以被一个或多个选自以下的取代基取代:其中苯基

任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代；

当 R^{21} 是碳环或杂环基团时，它可以被选自甲基、氧代或卤素的一个或多个取代基取代；

R^{22} 是氢或任选地被卤素或羟基取代的 C_{1-6} 烷基；

R^{11} 和 R^{12} 各自独立地表示选自 H 或 C_{1-4} 烷基的取代基，或者， R^{11} 和 R^{12} 连接起来从而它们一起形成 3-8 元非芳香性环；

R^{15} 表示 H 或 C_{1-4} 烷基；

R^2 表示 H、 C_{1-6} 烷基或 NH_2 ；

各个 R^3 独立地表示选自以下的取代基： C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、任选地被甲基、氧代或卤素取代的 C_{3-8} 环烷基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的苯基、 $-C_{1-6}$ 烷基 $-OH$ 、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 $-C_{1-4}$ 烷基苯基、 C_{1-6} 烷氧基 $-$ 、 C_{1-6} 烯基氧基、 C_{3-6} 炔基氧基 $-$ 、 C_{1-6} 卤代烷氧基 $-$ 、 $-O-C_{3-8}$ 环烷基、 $-O-C_{1-4}$ 烷基 $-C_{3-8}$ 环烷基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 $-O-$ 苯基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 $-O-C_{1-4}$ 烷基苯基、 $-S(C_{1-6} \text{ 烷基})$ 、 $-SO(C_{1-6} \text{ 烷基})$ 、 $-SO_2C_{1-6}$ 烷基、 $-SO_2C_{3-8}$ 环烷基、 $-SO_2-NR^{31}R^{32}$ 、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)C_{3-8}$ 环烷基、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OC_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)-NR^{31}R^{32}$ 、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基 $-OH$ 、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{3-7}$ 环烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)OH$ 、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)-NR^{31}R^{32}$ 、 $-NH-SO_2R^{33}$ 、 $-N(C_{1-4} \text{ 烷基})-SO_2R^{33}$ 、 $-(C_{1-4} \text{ 烷基})NR^{31}R^{32}$ 、 $-NR^{31}R^{32}$ 、 $-(C_{1-6} \text{ 烷基})NR^{31}R^{32}$ 、硝基、卤素、氰基、羟基；

R^{31} 和 R^{32} 各自独立地表示选自 H、 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 卤代烷基的取代基，或者， R^{31} 和 R^{32} 连接起来从而它们一起形成 3-8 元非芳香性环；

R^{33} 表示 H 或 C_{1-4} 烷基；

x 表示在 0-4 范围内的、在苯环上的独立地选择的 R^3 取代基的数量。

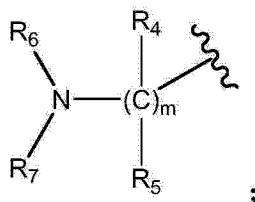
2. 权利要求 1 的化合物，其中：

A 是 N，并且 B 是 CH 、 $C(C_{1-4} \text{ 烷基})$ 或 $C(NH_2)$ ，

R^1 选自：

C_{1-8} 烷基；

C_{1-8} 卤代烷基；



芳基；

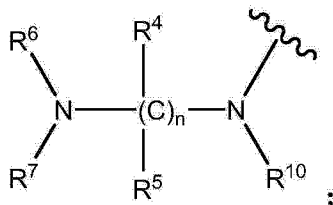
杂芳基；

C_{3-12} 碳环基；

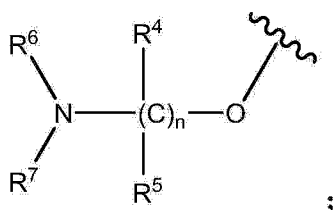
杂环基；

$-C_{1-6}$ 烷基 - 芳基；

- C₁₋₆ 烷基 - 杂芳基；
- C₁₋₆ 烷基 - 碳环基；
- C₁₋₆ 烷基 - 杂环基；
- C₁₋₆ 烷基 -C(=O)OH；
- C₁₋₆ 烷基 -C(=O)OC₁₋₄ 烷基；



- NR¹⁰C₁₋₆ 烷基 - 芳基；
- NR¹⁰C₁₋₆ 烷基 - 杂芳基；
- NR¹⁰C₁₋₆ 烷基 - 碳环基；
- NR¹⁰C₁₋₆ 烷基 - 杂环基；
- NR¹⁰C₁₋₆ 烷基 -C(=O)OH；
- NR¹⁰C₁₋₆ 烷基 -C(=O)OC₁₋₄ 烷基；
- NR¹⁰ 芳基；
- NR¹⁰ 杂芳基；
- NR¹⁰ 碳环基；
- NR¹⁰ 杂环基；



- OC₁₋₆ 烷基 - 芳基；
- OC₁₋₆ 烷基 - 杂芳基；
- OC₁₋₆ 烷基 - 碳环基；
- OC₁₋₆ 烷基 - 杂环基；
- OC₁₋₆ 烷基 -C(=O)OH；
- OC₁₋₆ 烷基 -C(=O)OC₁₋₄ 烷基；
- O 芳基；
- O 杂芳基；
- O 碳环基；和
- O 杂环基；

其中任何上述芳基和杂芳基可以任选地被独立地选自以下的一个或多个基团取代：
 C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基、C₁₋₆ 卤代烷基、任选地被甲基、氧代或卤素取代的 C₃₋₈ 环烷基、
 任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的苯基 -C₁₋₆ 烷基 -OH、其
 中苯基任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 -C₁₋₄ 烷基苯基、

C_{1-6} 烷氧基 -、 C_{1-6} 烯基氧基、 C_{3-6} 炔基氧基 -、 C_{1-6} 卤代烷氧基 -、 $-O-C_{3-8}$ 环烷基、 $-O-C_{1-4}$ 烷基 $-C_{3-8}$ 环烷基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 $-O-$ 苯基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 $-O-C_{1-4}$ 烷基苯基、 $-S(C_{1-6} \text{ 烷基})$ 、 $-SO(C_{1-6} \text{ 烷基})$ 、 $-SO_2C_{1-6}$ 烷基、 $-SO_2C_{3-8}$ 环烷基、 $-SO_2-NR^{11}R^{12}$ 、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)C_{3-8}$ 环烷基、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OC_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)-NR^{11}R^{12}$ 、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基 $-OH$ 、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{3-7}$ 环烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)OH$ 、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)-NR^{11}R^{12}$ 、 $-NH-SO_2R^{15}$ 、 $-N(C_{1-4} \text{ 烷基})-SO_2R^{15}$ 、 $-(C_{1-4} \text{ 烷基})NR^{11}R^{12}$ 、 $-NR^{11}R^{12}$ 、 $-(C_{1-6} \text{ 烷基})NR^{11}R^{12}$ 、硝基、卤素、氰基和羟基；并且

其中任何上述碳环基和杂环基可以任选地被独立地选自以下的一个或多个基团取代：
 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、任选地被甲基、氧代或卤素取代的 C_{3-8} 环烷基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的苯基、 $-C_{1-6}$ 烷基 $-OH$ 、其中苯基任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 $-C_{1-4}$ 烷基苯基、 C_{1-6} 烷氧基 -、 C_{1-6} 烯基氧基、 C_{3-6} 炔基氧基 -、 C_{1-6} 卤代烷氧基 -、 $-O-C_{3-8}$ 环烷基、 $-O-C_{1-4}$ 烷基 $-C_{3-8}$ 环烷基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 $-O-$ 苯基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 $-O-C_{1-4}$ 烷基苯基、 $-S(C_{1-6} \text{ 烷基})$ 、 $-SO(C_{1-6} \text{ 烷基})$ 、 $-SO_2C_{1-6}$ 烷基、 $-SO_2C_{3-8}$ 环烷基、 $-SO_2-NR^{11}R^{12}$ 、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)C_{3-8}$ 环烷基、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OC_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)-NR^{11}R^{12}$ 、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基 $-OH$ 、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{3-7}$ 环烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)OH$ 、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)-NR^{11}R^{12}$ 、 $-NH-SO_2R^{15}$ 、 $-N(C_{1-4} \text{ 烷基})-SO_2R^{15}$ 、 $-(C_{1-4} \text{ 烷基})NR^{11}R^{12}$ 、 $-NR^{11}R^{12}$ 、 $-(C_{1-6} \text{ 烷基})NR^{11}R^{12}$ 、硝基、卤素、氰基、羟基和氧代；

R^2 表示 H 、 C_{1-6} 烷基或 NH_2 ；

R^3 表示选自以下的取代基： C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、任选地被甲基、氧代或卤素取代的 C_{3-8} 环烷基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的苯基、 $-C_{1-6}$ 烷基 $-OH$ 、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 $-C_{1-4}$ 烷基苯基、 C_{1-6} 烷氧基 -、 C_{1-6} 烯基氧基、 C_{3-6} 炔基氧基 -、 C_{1-6} 卤代烷氧基 -、 $-O-C_{3-8}$ 环烷基、 $-O-C_{1-4}$ 烷基 $-C_{3-8}$ 环烷基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 $-O-$ 苯基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 $-O-C_{1-4}$ 烷基苯基、 $-S(C_{1-6} \text{ 烷基})$ 、 $-SO(C_{1-6} \text{ 烷基})$ 、 $-SO_2C_{1-6}$ 烷基、 $-SO_2C_{3-8}$ 环烷基、 $-SO_2-NR^{31}R^{32}$ 、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)C_{3-8}$ 环烷基、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OC_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)-NR^{31}R^{32}$ 、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基 $-OH$ 、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{3-7}$ 环烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)OH$ 、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-C(O)-NR^{31}R^{32}$ 、 $-NH-SO_2R^{33}$ 、 $-N(C_{1-4} \text{ 烷基})-SO_2R^{33}$ 、 $-(C_{1-4} \text{ 烷基})NR^{31}R^{32}$ 、 $-NR^{31}R^{32}$ 、 $-(C_{1-6} \text{ 烷基})NR^{31}R^{32}$ 、硝基、卤素、氰基、羟基；

R^4 和 R^5 独立地表示 H 或 C_{1-4} 烷基；

R^6 和 R^7 各自独立地选自 H 、 C_{1-6} 烷基、羟基 $-C_{2-6}$ 烷基 -；

R^{10} 表示 H 或 C_{1-4} 烷基；

R^{11} 和 R^{12} 各自独立地表示选自 H 或 C_{1-4} 烷基的取代基，或者， R^{11} 和 R^{12} 连接起来从而它

们一起形成 3-8 元非芳香性环；

R^{15} 表示 H 或 C_{1-4} 烷基；

R^{31} 和 R^{32} 各自独立地表示选自 H、 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 卤代烷基的取代基，或者， R^{31} 和 R^{32} 连接起来从而它们一起形成 3-8 元非芳香性环；

R^{33} 表示 H 或 C_{1-4} 烷基；

x 表示在 0-4 范围内的、在苯环上的独立地选择的 R^3 取代基的数量；

m 表示 1-4 的整数；并且

n 表示 2-4 的整数。

3. 权利要求 1 或权利要求 2 的化合物，其中，独立地或以任意组合的方式：

R^a 是氢；

B 是 CH 或 C_{1-4} 烷基；

R^2 是氢或 C_{1-4} 烷基，

R^3 是卤素、 C_{1-6} 烷氧基、-O- C_{1-4} 烷基苯基（如 -O- 苄基）或 -O- C_{1-4} 烷基 - C_{3-8} 环烷基；

和

x 是 1 或 2。

4. 权利要求 3 的化合物，其中，独立地或以任意组合的方式：

B 是 CH；

R^2 是氢或甲基；和

R^3 是卤素、甲氧基、乙氧基、异丙氧基、苄氧基或 -OCH₂ 环丙基。

5. 权利要求 4 的化合物，其中 R^2 是氢。

6. 权利要求 3-5 中的任一项的化合物，其中 x 是 1，并且 R^3 表示 C_{1-6} 烷氧基、-O- C_{1-4} 烷基苯基或 -O- C_{1-4} 烷基 - C_{3-8} 环烷基。

7. 权利要求 3-5 中的任一项的化合物，其中 x 是 2，并且 R^3 基团之一是甲氧基、乙氧基、- 异丙氧基、苄氧基或（1- 环丙基）甲氧基，并且另一个 R^3 基团是卤素。

8. 权利要求 1-7 中的任一项的化合物，其中 R^1 是：

- C_1 - C_6 烷基；

- R^{20} ；

-C(O) R^{20} ；

- C_1 - C_6 烷基 - R^{20} ，

其中所述烷基基团任选地被卤素、甲氧基、乙氧基、- NR^6R^7 或含氮杂环基环取代；

- C_1 - C_6 烷基 -OR²⁰；

-(C_1 - C_6 烷基)-O-(C_1 - C_6 烷基)- R^{20} ；

- C_1 - C_6 烷基 - $NR^{10}R^{20}$ ；

- C_1 - C_6 烷基 -SR²⁰；

- $NR^{10}R^{20}$ ；

- NR^6R^7 ；

- NR^{10} -(C_1 - C_6 烷基)- NR^6R^7 或

- NR^{10} -(C_{1-6} 烷基)-C(O)OH；

其中 R^6 、 R^7 、 R^{10} 和 R^{20} 如权利要求 1 中定义。

9. 权利要求 8 的化合物, 其中 R^1 表示 R^{20} 或 $NR^{10}R^{20}$, 并且 R^{20} 是取代的或未取代的碳环基、杂环基、芳基或杂芳基基团。

10. 权利要求 8 的化合物, 其中 R^1 是取代的碳环基基团, 其中取代基是在将所述碳环基基团连接至分子其余部分的同一原子上。

11. 权利要求 8 的化合物, 其中 R^1 表示 $C(O)R^{20}$, 并且 R^{20} 是芳基或杂芳基基团、或杂环基基团, 所述芳基或杂芳基基团可以是未取代的或如权利要求 1 中定义地被取代。

12. 权利要求 11 的化合物, 其中 R^{20} 是苯基或 6 元杂环基基团。

13. 权利要求 8 的化合物, 其中 R^1 表示 C_1-C_6 烷基 $-R^{20}$, 并且 R^{20} 是芳基、杂芳基或杂环基基团, 所述芳基、杂芳基或杂环基基团中任何一个可以任选地如权利要求 1 中所述地被取代。

14. 权利要求 8 的化合物, 其中 R^1 表示 C_1-C_6 烷基 $-OR^{20}$ 、 $-(C_1-C_6 \text{ 烷基})-O-(C_1-C_6 \text{ 烷基})-R^{20}$ 、 C_1-C_6 烷基 $-NR^{10}R^{20}$ 或 C_1-C_6 烷基 $-SR^{20}$, 并且 R^{20} 是任选地如权利要求 1 中所述地被取代的芳基或杂芳基基团。

15. 权利要求 1-9 或 11-13 中的任一项的化合物, 其中 R^{20} 是包含独立地选自氧、硫或氮的一个或两个杂原子的 5 元或 6 元杂环基环。

16. 权利要求 15 的化合物, 其中 R^{20} 是哌啶基、吡咯烷基、四氢吡喃基或四氢噻喃基环。

17. 权利要求 15 或权利要求 16 的化合物, 其中所述杂环基环 R^{20} 是未取代的, 或者被独立地选自氧代、 $-C_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-C_{1-4}$ 烷基、 $-C(O)C_{1-4}$ 烷基、 $-C(O)OC_{1-4}$ 烷基、卤素和 $-C_{1-4}$ 烷基 R^{21} 的一个或多个取代基取代。

18. 权利要求 1-10 中的任一项的化合物, 其中 R^{20} 表示环烷基基团, 所述环烷基基团是未取代的, 或者被一个或多个 $-C_{1-8}$ 烷基、氧代、 $-NH_2$ 、 $-NHC(O)C_{1-4}$ 烷基、 $-NHC(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $-C(O)NH_2$ 、任选地取代的芳基或杂芳基基团取代。

19. 权利要求 1-9 或 11-14 中的任一项的化合物, 其中 R^{20} 表示任选地被一个或多个选自 $-NH-SO_2C_{1-4}$ 烷基、 C_{1-4} 烷基、 $-O(C_{1-4} \text{ 烷基})$ 、其中 R^{12} 如上定义的 $-NHR^{12}$ 、芳基、杂芳基、硝基和卤素的取代基取代的萘基或苯基。

20. 权利要求 1-9、11、13 或 14 中的任一项的化合物, 其中 R^{20} 表示单环 5 元或 6 元杂芳基环系统。

21. 权利要求 1-9、11、13 或 14 中的任一项的化合物, 其中 R^{20} 表示双环杂芳基基团, 所述双环杂芳基基团包含与不饱和的杂环基环稠合的苯基或者与任选地包含一个或多个额外的杂原子的不饱和环稠合的杂芳基部分。

22. 权利要求 20 或权利要求 21 的化合物, 其中 R^{20} 是未取代的, 或者被一个或多个选自 C_{1-4} 烷基、卤素、 $-(C_1-C_4 \text{ 烷基})-O-R^{21}$ 或 R^{21} 的取代基取代, 其中 R^{21} 是未取代的苯基或杂芳基。

23. 权利要求 1-8 中的任一项的化合物, 其中 R^1 是 $-NR^6R^7$; 或者 $-NR^{10}-(C_1-C_6 \text{ 烷基})-NR^6R^7$, 并且 R^6 和 R^7 各自独立地为氢或 C_1-C_4 烷基。

24. 权利要求 1-8 中的任一项的化合物, 其中 R^1 是 $-C_1-C_6$ 烷基 $-NR^{10}R^{20}$; $-NR^{10}R^{20}$; $-NR^{10}-(C_1-C_6 \text{ 烷基})-NR^6R^7$ 或 $-NR^{10}-(C_1-C_6 \text{ 烷基})-C(O)OH$; 并且 R^{10} 是氢或甲基。

25. 权利要求 1-24 中的任一项的化合物, 其用于医学, 特别是用于治疗或预防由细胞

周期蛋白依赖性激酶尤其是 CDK9 的活性介导的疾病和病症。

26. 权利要求 1-24 中的任一项的化合物在制备用于治疗或预防由细胞周期蛋白依赖性激酶尤其是 CDK9 的活性介导的疾病和病症的药剂中的用途。

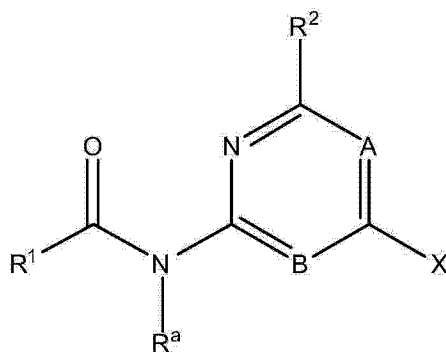
27. 用于治疗或预防由细胞周期蛋白依赖性激酶尤其是 CDK9 的活性介导的疾病和病症的方法,所述方法包括向需要这样的治疗的患者给药有效量的权利要求 1-24 中的任一项的化合物。

28. 权利要求 25 - 27 中的任一项的化合物、用途或方法,其中所述的由细胞周期蛋白依赖性激酶的活性介导的疾病或病症选自:疼痛、炎症病症、增殖性疾病、免疫性疾病、感染性疾病、心血管疾病和神经变性疾病。

29. 药物组合物,其包含作为活性成分的权利要求 1-24 中的任一项的化合物,以及药学可接受的赋形剂或稀释剂。

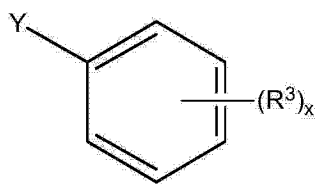
30. 用于制备权利要求 1-24 中的任一项的式 (I) 的化合物或其被保护的衍生物的方法,所述方法包括:

- (a) 将一种式 (I) 的化合物转化成另一种式 (I) 的化合物;或者
- (b) 使式 A 的化合物或其被保护的衍生物



式 A

其中 A、B、R¹、R^a 和 R² 如通式 (I) 中定义,并且 X 是交叉偶联反应的适合的取代基,与式 B 的化合物或其被保护的衍生物反应

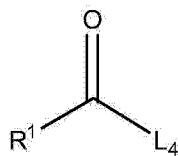


式 B

其中 R³ 和 x 如通式 (I) 中定义,并且 Y 是交叉偶联反应的适合的取代基;

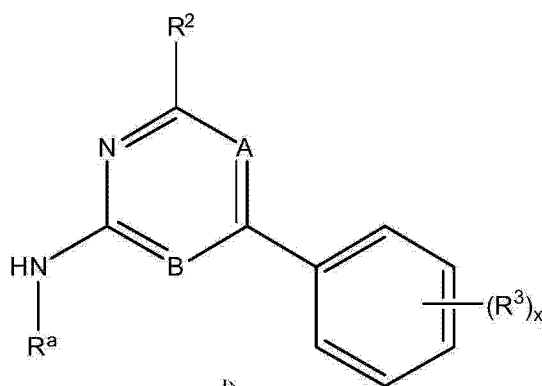
其中 X 和 Y 表示交叉偶联反应的适合的取代基,并且被选择用来相互反应;或者

- (c) 使式 E 的化合物或其被保护的衍生物



式 E

其中 R^1 如通式 (I) 中定义, 并且 L_4 表示适合的离去基;
与式 F 的化合物或其被保护的衍生物反应

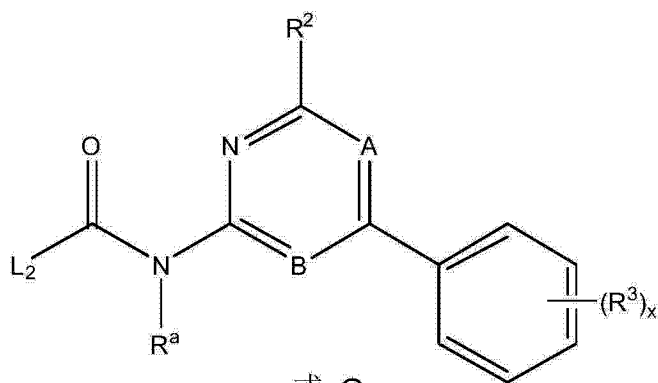


式 F

其中 R^a 、 R^2 、 R^3 、 x 、A 和 B 如通式 (I) 中定义; 或者

(d) 通过以下方法制备式 (I) 的化合物, 其中 R^1 是通过氮原子与式 (I) 的主要羰基相连的部分,

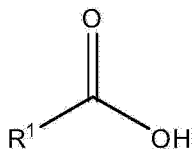
所述方法包括使相应的胺或其被保护的衍生物与式 G 的化合物或其被保护的衍生物反应



式 G

其中 R^a 、 R^2 、 R^3 、 x 、A 和 B 如关于通式 (I) 所定义, 并且 L_2 表示适合的离去基;

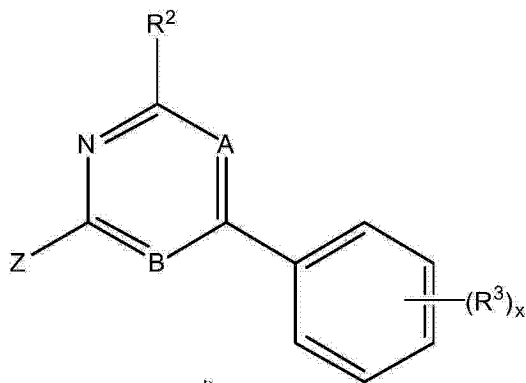
(e) 使如上定义的式 F 的化合物或其被保护的衍生物与式 J 的化合物



式 J

其中 R^1 如关于通式 (I) 所定义,
在适合的偶联剂存在下反应; 或者

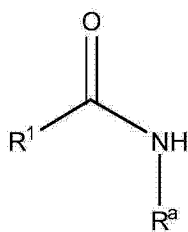
(f) 使式 K 的化合物



式 K

其中 R^2 、 R^3 、 x 、A 和 B 如关于通式 (I) 所定义, 并且 Z 表示交叉偶联反应的适合的取代基

与式 L 的化合物

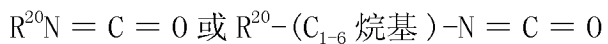


式 L

其中 R^1 和 R^a 如关于通式 (I) 所定义,

在偶联反应适合的条件下反应;或者

(g) 通过使如上定义的式 F 的化合物与下式的化合物反应:



其中 R^{20} 如关于通式 (I) 所定义, 例如 R^{20} 表示杂芳基基团如吡啶, 来制备式 (I) 的化合物, 其中 R^1 是 $-NHR^{20}$ 或 $-NH-(C_{1-6} \text{ 烷基})-R^{20}$ 。

蛋白激酶抑制剂

[0001] 本申请是 2008 年 10 月 13 日提交的发明名称为“蛋白激酶抑制剂”的中国专利申请“200880119493.3”的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂及其治疗应用。此外,本发明涉及预防和/或治疗任何类型的疼痛、炎症病症、免疫性疾病、增殖性疾病、感染性疾病、心血管疾病和神经变性疾病的方法,其包括给药有效量的至少一种细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂。

背景技术

[0003] 细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 (“CDKs”),构成在细胞中发挥多重作用的高度保守的酶家族,例如细胞周期调节和转录控制 (Science 1996, Vol. 274 :1643-1677 ;Ann. Rev. Cell Dev. Biol. , 1997, 13 :261-291)。

[0004] 此家族中的一些成员,例如 CDK1、CDK2、CDK3、CDK4 和 CDK6 调节细胞周期的不同时期之间的过渡,例如从 G1 中的静止期 (有丝分裂和开始新一轮细胞分裂的 DNA 复制之间的间隙) 进展到 S (DNA 合成的活跃期),或者从 G2 进展到 M 期,其间发生活跃的有丝分裂和细胞分裂。此蛋白家族的其他成员 (包括 CDK7、CDK8 和 CDK9) 调节转录循环中的关键点,而 CDK5 在神经元和分泌细胞功能中发挥作用。

[0005] CDK 复合物由调节性细胞周期蛋白亚基 (如细胞周期蛋白 A、B1、B2、D1、D2、D3 和 E) 与催化性激酶亚基 (如 cdc2 (CDK1)、CDK2、CDK4、CDK5 和 CDK6) 的结合形成。顾名思义,为了磷酸化它们的靶底物,CDK 显示出对细胞周期蛋白亚基的绝对依赖性,并且不同的激酶/细胞周期蛋白对起到调节进程通过细胞周期的特定部分的作用。

[0006] CDK9 与其细胞周期蛋白配偶体 (partner) (细胞周期蛋白 T1、T2a、T2b 或 K) 结合构成正性 P-TEFb 蛋白激酶复合物的催化部分,其在转录的延伸阶段期间通过磷酸化 RNA 聚合酶 II 的最大亚基的羧基末端结构域 (CTD) 起作用。P-TEFb 与正性转录因子 $\text{Nf-}\kappa\text{B}$ 及负性转录因子配合作用,因此克服转录伸延的阻滞 (Liu 和 Herrmann 2005)。

[0007] 已知细胞周期失调,是瘤细胞的主要特征之一,其与 CDK 及它们的调节蛋白的遗传改变和异常紧密相关,表明 CDK 的抑制剂可能用作增殖性疾病如癌症的治疗剂。因此,靶向 CDK 的小分子抑制剂在癌症治疗中已成为广泛兴趣的焦点 (Current Opinion in Pharmacology, 2003 (3) :362-370)。抑制细胞周期进程的能力表明 CDK 的小分子抑制剂作为增殖性疾病如癌症的治疗剂的普遍作用。虽然细胞周期相关的 CDK 的抑制无疑是与肿瘤学应用有关,但是,对于调节 RNA 聚合酶的 CDK 的抑制并非如此。最近,将 CDK9/细胞周期蛋白 T 功能的抑制与防止 HIV 复制相关联,因此,新的 CDK 生物学的发现继续揭示出 CDK 抑制剂的新治疗适应证 (Sausville, E. A. Trends Molec. Med. 2002, 8, S32-S37),例如病毒感染 (WO 02/100401)。令人信服地,CDK 抑制剂还可能用于治疗其他病症,其中例如免疫性疾病和神经变性疾病。

[0008] 已描述了超过 50 种药理学 CDK 抑制剂, 其中一些具有潜在的抗肿瘤活性 (Current Opinion in Pharmacology, 2003(3) :362-370)。在 Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 2003, 42(19) :2122-2138 中, 可以找到关于已知 CDK 抑制剂的全面综述。

[0009] 在 WO 2005/012262 中, 已报告了 2- 苯胺基 -4- 苯基嘧啶衍生物作为细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂用于治疗例如癌症的用途。此外, 在 WO2005/012298 中, 已描述了用于治疗癌症等的 2- 吡啶基氨基 -4- 噻唑基嘧啶衍生物。从 WO 2005/005438 中得知 4, 5- 二氢 - 噻唑并、噁唑并和咪唑并 [4, 5-h] 喹唑啉 -8- 基胺作为蛋白激酶抑制剂的用途。此外, 在 WO 02/081445 和 WO02/074742 中, 已公开了用作为细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂的吲哚满酮衍生物和靛玉红衍生物。另外, 在 WO2005/026129 中, 已描述了用于各种治疗应用的 CDK 抑制剂。

[0010] 可以将已知的 CDK 抑制剂按照通常它们抑制 CDK 的能力, 或者按照它们对特定 CDK 的选择性进行分类。例如, 黄酮吡多 (Flavopiridol) 用作“泛”CDK 拮抗剂并且对特定的 CDK 无特别的选择性 (Current Opinion in Pharmacology, 2003(3) :362-370)。已知嘌呤系 CDK 抑制剂例如奥罗莫星、roscovitine、purvanolols 和 CGP74514A 对 CDK1、CDK2 和 CDK5 显示出较高的选择性, 但是对 CDK4 和 CDK6 未显示出抑制活性 (Current Opinion in Pharmacology, 2003(3) :362-370)。此外, 已证明嘌呤系 CDK 抑制剂如 roscovitine 在神经系统中可以发挥抗凋亡效应 (Pharmacol Ther 2002, 93 :135-143) 或者防止神经变性疾病如阿尔茨海默病中的神经元死亡 (Biochem Biophys Res Commun 2002(297) :1154-1158; Trends Pharmacol Sci 2002(23) :417-425)。

[0011] 考虑到靶向 CDK 对治疗病症如增殖性疾病、免疫性疾病、感染性疾病、心血管疾病和神经变性疾病的巨大潜力, 作为特定 CDK 的选择性抑制剂的小分子的开发成为理想的目标。

[0012] 本发明提供新的细胞周期蛋白依赖性激酶例如 CDK9 的小分子抑制剂。适合地, 所述小分子抑制剂对抑制特定的 CDK 特别是 CDK9 表现出选择性。所述小分子抑制剂可能对治疗病症例如增殖性疾病、免疫性疾病、神经变性疾病、感染性疾病和心血管疾病具有治疗用途。此外, 出乎预料地表明, 本发明的小分子抑制剂在治疗炎症性疾病和疼痛中发挥有利的效力。

[0013] 目前的炎症性疾病和任何类型的疼痛的治疗仅是部分地有效, 并且许多还引起令人虚弱或危险的副作用。例如, 用于治疗严重疼痛的许多传统的镇痛药诱发令人虚弱的副作用, 如恶心、头晕、便秘、呼吸抑制和认知功能障碍 (Brower, 2000)。

[0014] 虽然已提供一系列获准的疼痛药物如非麻醉药型镇痛药、阿片类镇痛药、钙通道阻滞药、肌肉松弛药和全身性皮质类固醇, 但是, 所述治疗仍然仅是经验性的, 并且, 虽然它们可以缓解疼痛的症状, 但是在大多数情况下它们不导致完全缓解。这也是因为对形成不同类型的疼痛的潜在机制的了解仍非常有限。研究者仅刚刚开始理解用于传递各类型疼痛的神经冲动的信号转导系统的复杂性和多样性。

[0015] 根据 International Association for the Study of Pain (IASP), 一般将疼痛定义为与实际的或潜在的组织损伤相关的令人不愉快的感觉和情感经历, 或者从这样的损伤角度描述。具体地, 疼痛可能表现为急性疼痛或慢性疼痛。

[0016] 急性疼痛持续时间短, 典型地少于 1 个月, 并且与暂时的病症相关。它是身体自

然的反应以使宿主察觉可能在短期内导致进一步损伤的生理的或生化的变化。当伤害性刺激激活周围神经末梢中的高阈值机械性伤害感受器和 / 或温度伤害感受器,并且薄髓鞘的(A δ)和 / 或无髓鞘的(C)传入纤维中的诱发动作电位到达有知觉的大脑时,疼痛被感知到。所述伤害性刺激可以由损伤、手术、疾病、外伤或者痛苦的医学操作提供。当潜在的起因已被治疗或治愈时,急性疼痛通常消失。但是,未缓解的急性疼痛可能导致慢性疼痛问题,这可能导致长期住院、再入院、拜访门诊和急诊室以及更高的医疗费。

[0017] 与急性疼痛相比,慢性疼痛在初期损伤已治愈后长时间地持续,并且通常扩展至身体的其他部分,伴有多种病理学的和精神病学的后果。慢性躯体疼痛由对周围组织的外伤(如神经卡压、外科手术、癌症或关节炎)的炎性应答引起,它导致伤害感受器过分敏感以及对正常的非伤害性刺激的强烈的灼痛反应(痛觉过敏)。慢性疼痛是连续的和复发性的,并且其强度会从轻微到可能显著地降低生活质量的严重致残性疼痛之间变化。

[0018] 目前,用常规的镇痛药如NSAID类(布洛芬、萘普生)、Cox-2抑制剂(塞来昔布、伐地考昔、罗非昔布)和阿片制剂(可待因、吗啡、蒂巴因、罂粟碱、那可丁)治疗慢性疼痛。但是,对于大量的患者而言,这些药物不足以缓解疼痛。

[0019] 另一亚型的疼痛,炎性疼痛,可能表现为急性疼痛和慢性疼痛。炎性疼痛由伤害性刺激如炎性介质(例如细胞因子如TNF α 、前列腺素、P物质、缓激肽、嘌呤、组胺和5-羟色胺)介导,它们在组织损伤、疾病或炎症及其他伤害性刺激(例如温度刺激、机械性刺激或化学刺激)后被释放。此外,细胞因子和生长因子可以影响神经元表型和功能(Besson 1999)。这些介质被遍布于组织的末梢区域的伤害感受器(感觉感受器)检测到。所述伤害感受器对伤害性刺激(如机械性刺激、温度刺激或化学刺激)敏感(若延长,所述伤害性刺激会损伤组织(Koltzenburg 2000))。特别类型的所谓的C-伤害感受器代表不应答任何水平的机械性刺激或温度刺激但仅在炎症存在下被激活的一类“寂静性”伤害感受器。

[0020] 目前的治疗尤其是炎性疼痛的方法针对抑制细胞因子(如IL1 β)和抑制促炎的TNF α 。目前认可的抗细胞因子/抗TNF α 治疗是基于降低血液中的TNF α 循环的嵌合抗体如英利昔单抗和依那西普。TNF α 是诱导合成重要的酶如COX-2、MMP、iNOS、cPLA $_2$ 等的最重要的炎性介质之一。但是,这些“生物制剂”的主要缺点在于它们的免疫原性可能性伴有效力降低以及它们的动力学,其动力学导致大体地数字上完全或完全不地降低循环TNF α 。后者可能导致严重的免疫抑制副作用。

[0021] 一种不同形式的慢性疼痛,神经性(或神经原性)疼痛,起因于周围神经功能障碍或中枢神经功能障碍,并且包括在病因学和部位上不同的各种病症。通常神经性疼痛的起因是多样的,但是,具有周围神经损伤或中枢途径元件(component)损伤的共同症状。诱发因素可能是代谢性神经损害、病毒性神经损害或机械性神经损害。据信,神经性疼痛由周围神经系统、CNS或二者中异常的躯体感觉过程维持。神经性疼痛不直接与伤害感受器的刺激相关,但是相反地,认为它例如起因于脊髓灰质(背侧角)中的突触后神经元上的谷氨酸受体的过度敏感化。

[0022] 神经性疼痛与病症如糖尿病和疱疹后神经痛(带状疱疹)中的神经变性相关。神经性疼痛病症是一些疾病和病症的后果,所述疾病和病症包括糖尿病、AIDS、多发性硬化、残肢和截肢后幻痛、癌症相关的神经病、疱疹后神经痛、外伤性神经损伤、缺血性神经病、神经压迫、中风、脊髓损伤。

[0023] 神经性疼痛的治疗仍然是主要的临床挑战,这部分地由于对参与形成和维持神经性疼痛的机制理解不足。许多现有的镇痛药对治疗神经性疼痛无效,并且大多数现有的麻醉性药物和非麻醉性药物不控制疼痛。目前临床实践包括使用一些药物类别来治疗神经性疼痛,例如抗惊厥药、三环抗抑郁药和全身性局部麻醉药。但是,这样的治疗的通常结果是部分的或不足的疼痛缓解,而且,在一些情况中,这些药物的副作用超过它们的临床有效性。普遍认为传统的镇痛药对治疗神经性疼痛疗效差或无效。已进行的关于使用非甾体类抗炎药 (NSAID) 或阿片制剂来治疗神经性疼痛的临床研究很少,但是,在已进行的那些研究中,结果似乎表明 NSAID 疗效差或无效并且阿片制剂仅在高剂量下有效。分析周围神经性疼痛 (PNP) 的对照临床数据的综述 (Pain, November, 1997 73 (2), 123-39) 报告,NSAID 作为 PNP 的镇痛药很可能无效并且无长期的数据来证实任何药物的镇痛有效性。

[0024] 可获得的镇痛药通常不足以缓解疼痛。虽然三环抗抑郁药和某些抗癫痫药例如加巴喷丁、拉莫三嗪和卡马西平对一些患者有效,仍然非常需要治疗这些病症的有效药物。

[0025] 总之,非常需要治疗炎性疾病和疼痛、特别是治疗慢性炎性疼痛和神经性疼痛的安全且有效的方法。

[0026] 定义

[0027] 除非特别限定,在整个说明书和权利要求书中,用语“烷基”意指 C_{1-12} 烷基基团,适合地指 C_{1-6} 烷基基团,例如 C_{1-4} 烷基基团。烷基基团可以是直链或支链的。适合的烷基基团包括例如,甲基、乙基、丙基 (如正丙基和异丙基)、丁基 (如正丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基)、戊基 (如正戊基)、己基 (如正己基)、庚基 (如正庚基) 和辛基 (如正辛基)。用语“烷”,例如,在用语“烷氧基”、“卤代烷基”和“硫烷基”中,应按照“烷基”的定义解释。示例性的烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基 (如正丙氧基)、丁氧基 (如正丁氧基)、戊氧基 (如正戊氧基)、己氧基 (如正己氧基)、庚氧基 (如正庚氧基) 和辛氧基 (如正辛氧基)。示例性的硫烷基基团包括甲硫基-。示例性的卤代烷基基团包括氟烷基如 CF_3 。

[0028] 除非特别限定,用语“烯基”意指 C_{2-12} 烯基基团,适合地指 C_{2-6} 烯基基团,例如 C_{2-4} 烯基基团,所述烯基在任何期望的位置处包含至少一个双键并且其不包含任何三键。烯基基团可以是直链或支链的。示例性的包含一个双键的烯基基团包括丙烯基和丁烯基。示例性的包含两个双键的烯基基团包括戊二烯基,如 (1E, 3E)-戊二烯基。

[0029] 除非特别限定,用语“炔基”意指 C_{2-12} 炔基基团,适合地指 C_{2-6} 炔基基团,例如 C_{2-4} 炔基基团,所述炔基在任何期望的位置处包含至少一个三键,并且也可以包含或不包含一个或多个双键。炔基基团可以是直链或支链的。示例性的炔基基团包括丙炔基和丁炔基。

[0030] 除非特别限定,用语“亚烷基”意指式 $-(CH_2)_n-$ 的链,其中 n 是整数,如 1-5。

[0031] 除非特别限定,用语“环烷基”意指 C_{3-10} 环烷基基团 (即 3 - 10 个环碳原子),更适合地指 C_{3-8} 环烷基基团,如 C_{3-6} 环烷基基团。示例性的环烷基基团包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。环碳原子的最适合数量是 3-6。

[0032] 除非特别限定,用语“环烯基”意指 C_{5-10} 环烯基基团 (即 5 - 10 个环碳原子),更适合地指 C_{5-8} 环烯基基团,如 C_{5-6} 环烯基基团。示例性的环烯基基团包括环戊烯基、环己烯基、环庚烯基和环辛烯基。环碳原子的最适合数量是 5-6。

[0033] 除非特别限定,用语“碳环基”意指任何这样的环系统,其中所有环原子均是碳,并

且其包含 3-12 个环碳原子,适合地包含 3-10 个碳原子,而且更适合地包含 3-8 个碳原子。碳环基基团可以是饱和的或部分不饱和的,但不包括芳香性环或与芳香性环稠合的非芳香性环。碳环基基团的实例包括单环环系统、双环环系统和三环环系统,特别是单环环系统和双环环系统。其他碳环基基团包括桥环系统(如双环 [2.2.1] 庚烯基)。碳环基基团的具体实例是环烷基基团。碳环基基团的进一步实例是环烯基基团。

[0034] 除非特别限定,用语“杂环基”意指其中一个或多个(如 1 个、2 个或 3 个)环原子被选自 N、S 和 O 的杂原子替代的碳环基基团。杂环基基团的具体实例是其中一个或多个(如 1 个、2 个或 3 个,特别是 1 个或 2 个,尤其是 1 个)环原子被选自 N、S 或 O(特别是 N 或 O)的杂原子替代的环烷基基团(如环戊基或更特别地是环己基)。示例性的包含一个杂原子的杂环基基团包括吡咯烷、四氢呋喃和哌啶,而且,示例性的包含两个杂原子的杂环基基团包括吗啉和哌嗪。杂环基基团进一步的具体实例是其中一个或多个(如 1 个、2 个或 3 个,特别是 1 个或 2 个,尤其是 1 个)环原子被选自 N、S 和 O(特别是 N 或 O)的杂原子替代的环烯基基团(如环己烯基基团)。这样的基团的实例是二氢吡喃基(如 3,4-二氢-2H-吡喃-2-基)。

[0035] 除非特别限定,用语“芳基”意指 C_{6-12} 芳基基团,适合地指 C_{6-10} 芳基基团,更适合地指 C_{6-8} 芳基基团。芳基基团包含至少一个芳香性环(如一个环、两个环或三个环),但也可以包含非芳香性的额外的环。含有一个芳香性环的典型芳基基团的实例是苯基。含有两个芳香性环的典型芳基基团的实例是萘基。与 C_{5-8} 碳环基(适合地, C_{5-6} 碳环基)稠合的苯基(如茚满)也是芳基的实例。

[0036] 除非特别限定,用语“杂芳基”意指这样的芳基基团,其中一个或多个(如 1 个、2 个、3 个或 4 个,适合地 1 个、2 个或 3 个)环原子被选自 N、S 和 O 的杂原子替代,或者,意指这样的 5 元芳香性环,其包含一个或多个(如 1 个、2 个、3 个或 4 个,适合地 1 个、2 个或 3 个)选自 N、S 和 O 的环原子。示例性的具有一个杂原子的单环杂芳基基团包括:五元环(如吡咯、呋喃、噻吩);和六元环(例如吡啶,如吡啶-2-基、吡啶-3-基和吡啶-4-基)。示例性的具有两个杂原子的单环杂芳基基团包括:五元环(如吡唑、噁唑、异噁唑、噻唑、异噻唑、咪唑,例如咪唑-1-基、咪唑-2-基、咪唑-4-基);六元环(例如,哒嗪、嘧啶、吡嗪)。示例性的具有三个杂原子的单环杂芳基基团包括:1,2,3-三唑和 1,2,4-三唑。示例性的具有四个杂原子的单环杂芳基基团包括四唑。示例性的双环杂芳基基团包括:吲哚(例如,吲哚-6-基)、苯并呋喃、苯并噻吩、喹啉、异喹啉、吲唑、苯并咪唑、苯并噻唑、喹唑啉和嘌呤。与杂环基稠合的苯基(例如苯并-1,3-间二氧杂环戊烯-5-基、2,3-二氢苯并 1,4 二噁英-6-基)也是杂芳基的实例。适合地,所述一个或多个杂原子是芳香性环的成员。

[0037] 除非特别限定,用语“-烷基碳环基”意指通过亚烷基部分例如 C_{1-4} 亚烷基部分相连的碳环基基团。

[0038] 除非特别限定,用语“-烷基杂环基”意指通过亚烷基部分例如 C_{1-4} 亚烷基部分相连的杂环基基团。

[0039] 除非特别限定,用语“-烷基芳基”意指通过亚烷基部分例如 C_{1-4} 亚烷基部分相连的芳基基团。

[0040] 除非特别限定,用语“-烷基杂芳基”意指通过亚烷基部分例如 C_{1-4} 亚烷基部分相连的杂芳基基团。

[0041] 术语“卤素 (halogen)”或“卤素 (halo)”包括氟 (F)、氯 (Cl) 和溴 (Br)。

[0042] 术语“氨基”意指基团 -NH_2 。

[0043] 立体异构体：

[0044] 要求保护的化合物的所有可能的立体异构体均包括在本发明内。

[0045] 在本发明的化合物具有至少一个手性中心的情况中，相应地，它们可能作为对映体存在。在所述化合物具有两个或多个手性中心的情况中，它们又可能作为非对映体存在。应理解：所有这样的异构体及其混合物均包括在本发明范围内。

[0046] 制备和分离立体异构体：

[0047] 在用于制备本发明的化合物的方法产生立体异构体的混合物的情况中，通过常规技术例如制备色谱可以分离这些异构体。所述化合物可以制备成外消旋的形式，或者，通过对映体选择性 (enantiospecific) 合成或者通过拆分可以制备单一的对映体。例如，通过标准技术，例如，通过与旋光性的酸如 (-)-二对甲苯酰基-D-酒石酸和 / 或 (+)-二对甲苯酰基-L-酒石酸形成盐来形成非对映体对，然后进行分步结晶和游离碱再生，可以将所述化合物拆分成它们的对映体成分。通过形成非对映的酯或酰胺，然后进行色谱分离和除去手性助剂，也可以拆分所述化合物。或者，使用手性 HPLC 柱可以拆分所述化合物。

[0048] 药学可接受的盐：

[0049] 鉴于游离化合物与它们的盐或溶剂合物形式的化合物之间的紧密关系，在本文中无论何时提及化合物，也意指相应的盐、溶剂合物或多晶型物，条件是在这种情况下这样是可能的或适合的。

[0050] 溶剂合物

[0051] 一些所述化合物可以与水形成溶剂合物 (即水合物) 或与常见有机溶剂形成溶剂合物，并且这样的溶剂合物也意图包括在本发明的范围内。所述化合物，包括它们的盐，还可以它们的水合物形式得到，或者包含用于它们的结晶的其他溶剂。

[0052] 式 (I) 的化合物及其适用于医学的生理学上的官能团衍生物的盐和溶剂合物是其中抗衡离子或缔合的溶剂是药学可接受的那些。但是，具有非药学可接受的抗衡离子或缔合的溶剂的盐和溶剂合物也在本发明范围内，例如，在其他化合物及它们的药学可接受的盐和溶剂合物的制备中用作中间体。

[0053] 本发明的适合的盐包括与有机酸和无机酸或有机碱和无机碱形成的那些盐。药学可接受的酸加成盐包括由以下酸形成的那些盐，所述酸包括：盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、柠檬酸、酒石酸、磷酸、乳酸、丙酮酸、乙酸、三氟乙酸、三苯基乙酸、氨基磺酸、对氨基苯磺酸、琥珀酸、草酸、富马酸、马来酸、苹果酸、苦杏仁酸、谷氨酸、天冬氨酸、草酰乙酸、甲磺酸、乙磺酸、芳基磺酸 (例如对甲苯磺酸、苯磺酸、萘磺酸或萘二磺酸)、水杨酸、戊二酸、葡萄糖酸、丙三羧酸、肉桂酸、取代的肉桂酸 (例如，被苯基、甲基、甲氧基或卤素取代的肉桂酸，包括 4-甲基肉桂酸和 4-甲氧基肉桂酸)、抗坏血酸、油酸、萘甲酸、羟基萘甲酸 (例如 1-羟基-2-萘甲酸或 3-羟基-2-萘甲酸)、萘丙烯酸 (例如萘-2-丙烯酸)、苯甲酸、4-甲氧基苯甲酸、2-羟基苯甲酸或 4-羟基苯甲酸、4-氯苯甲酸、4-苯基苯甲酸、苯丙烯酸 (例如 1,4-苯二丙烯酸)、羟乙磺酸、高氯酸、丙酸、乙醇酸、羟乙磺酸、扑酸、环己烷氨基磺酸、糖精酸和三氟乙酸，特别是盐酸。药学可接受的碱盐包括铵盐、碱金属盐如钠和钾的那些盐、碱土金属盐如钙和镁的那些盐，以及与有机碱如二环己基胺和 N-甲基-D-葡萄糖胺形成的盐。

[0054] 本发明的化合物的所有药学可接受的酸加成盐形式均意图包括在本发明的范围内。

[0055] 多晶型物晶形：

[0056] 此外，所述化合物的一些晶形可作为多晶型物存在，并因此意图包括在本发明内。

[0057] 前药：

[0058] 本发明在其范围内进一步包括本发明的化合物的前药。通常这样的前药会是所述化合物的官能团衍生物，其易于在体内转化成期望的治疗活性化合物。因此，在这些情况中，本发明的治疗方法，术语“给药”应包括用要求保护的化合物中的一种或多种的前药形式来治疗所述各种病症，但是在向个体给药后所述前药形式在体内转化成上述化合物。例如，在“Design of Prodrug”, ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985 中，描述了选择和制备适合的前药衍生物的常规方法。

[0059] 保护基：

[0060] 在制备本发明的化合物的任何过程中，保护在任何有关分子上的敏感基团或反应基团可能是必需的和 / 或期望的。这可以通过常规的保护基实现，例如，在 Protective Groups in Organic Chemistry, ed. J. F. W. McOmie, Plenum Press, 1973 ; 和 T. W. Greene & P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, 1991 中所述的那些保护基，这些参考文献通过援引完全纳入本文。使用本领域已知的方法，在适当的后续阶段可以除去保护基。

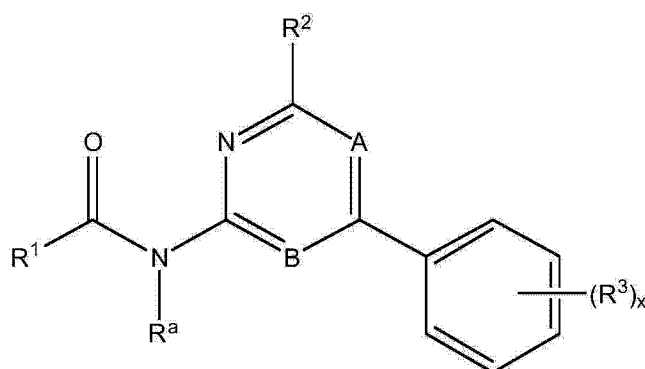
[0061] 如在本文中使用的，术语“组合物”意图包括包含治疗有效量的要求保护的化合物的产品，以及直接地或间接地由要求保护的化合物的组合产生的任何产品。

[0062] 发明概述

[0063] 本发明涉及细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂，并且涉及用于治疗和 / 或预防任何类型的疼痛、炎症病症、免疫性疾病、增殖性疾病、感染性疾病、心血管疾病和神经变性疾病的方法和组合物，包括：向有此需要的个体给药有效量的至少一种细胞周期蛋白依赖性激酶 (cdk, CDK) 的抑制剂。

[0064] 如本发明所述，提供抑制剂化合物，其是通式 I 的化合物：

[0065]



式 (I)

[0066] 或其药学可接受的盐、溶剂合物或多晶型物，包括其所有的互变异构体和立体异构体，其中：

[0067] A 是 N，并且 B 是 CH、C(C₁₋₄ 烷基) 或 C(NH₂)，

- [0068] 或者 A 是 CH、C(C₁₋₄ 烷基) 或 C(NH₂), 并且 B 是 N;
- [0069] R^a 是 H 或甲基;
- [0070] R¹ 选自:
- [0071] C₁₋₈ 烷基;
- [0072] -NR⁶R⁷;
- [0073] C₁₋₆ 烷基 -NR⁶R⁷;
- [0074] R²⁰;
- [0075] -C₁₋₆ 烷基 -R²⁰;
- [0076] -C₁₋₆ 烷基 -C(O)OR⁴;
- [0077] C₁₋₆ 烷基 -C(O)R⁴;
- [0078] -NR¹⁰-(C₁₋₆ 烷基)-NR⁶R⁷;
- [0079] -NR¹⁰-(C₁₋₆ 烷基)-R²⁰;
- [0080] -NR¹⁰-(C₁₋₆ 烷基)-C(O)OR⁴;
- [0081] -NR¹⁰R²⁰;
- [0082] O-(C₁₋₆ 烷基)-NR⁶R⁷;
- [0083] -O-(C₁₋₆ 烷基)-R²⁰;
- [0084] -O-(C₁₋₆ 烷基)-C(O)OR⁴;
- [0085] -OR²⁰;
- [0086] C₁₋₆ 烷基 -OR²⁰;
- [0087] C₁₋₆ 烷基 -SR²⁰;
- [0088] C₁-C₆ 烷基 -NR¹⁰R²⁰;
- [0089] (C₁₋₆ 烷基)-O-(C₁₋₆ 烷基)-R²⁰;
- [0090] (C₁₋₆ 烷基)-S-(C₁₋₆ 烷基)-R²⁰;
- [0091] C(O)R²⁰;
- [0092] 其中烷基部分可以是直链或支链的, 并且可以被选自卤素、甲氧基、乙氧基、NR⁶R⁷ 或含氮杂环的一个或多个取代基取代;
- [0093] R⁴ 表示 H 或 C₁₋₄- 烷基;
- [0094] R⁶ 和 R⁷ 各自独立地选自 H、C₁₋₆ 烷基、羟基 -C₂₋₆ 烷基;
- [0095] R¹⁰ 表示 H 或 C₁₋₄ 烷基;
- [0096] R²⁰ 选自芳基、杂芳基、碳环基和杂环基, 并且可以被一个或多个选自以下的取代基取代:
- [0097] C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基, 其中任何一个可以被一个或多个卤素或 OH 取代基取代;
- [0098] R²¹、-C₁₋₄ 烷基 -R²¹; OR²¹、O(C₁₋₄ 烷基)R²¹、SR²¹、SOR²¹、SO₂R²¹、C(O)R²¹、C₁₋₄ 烷基 -OR²¹、-O(C₂₋₆ 烯基)、-O(C₂₋₆ 炔基), 其中任何一个可以被一个或多个卤素或 OH 取代基取代;
- [0099] OR²²、-SR²²、-SOR²²、-SO₂R²²、-C(O)R²²、-C(O)OR²²、-C₁₋₄ 烷基 -O-R²²、-C₁₋₄ 烷基 -O-C₁₋₄ 烷基 -O-R²²、C₁₋₄ 烷基 -C(O)R²²、-C₁₋₄ 烷基 -C(O)R²²、NR¹¹C(O)OR²²、NR¹¹C(O)R²²、-SO₂-NR¹¹R¹²、-C(O)-NR¹¹R¹²、-C₁₋₄ 烷基 -C(O)-NR¹¹R¹²、-NH-SO₂R¹⁵、-N(C₁₋₄ 烷基)-SO₂R¹⁵、-(C₁₋₄ 烷基)NR¹¹R¹²、

$\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$ 、 $-(\text{C}_{1-6} \text{烷基})\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$ 、硝基、卤素、氰基和羟基；并且当 R^{20} 是碳环基或杂环基、或者其中芳香性环与非芳香性环稠合的芳香性基团时， R^{20} 还可以被氧代取代；

[0100] R^{21} 选自芳基、杂芳基、碳环基和杂环基，并且可以被一个或多个如下定义的取代基取代；

[0101] 当 R^{21} 是芳基或杂芳基基团时，它可以被一个或多个选自以下的取代基取代：其中苯基任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代

[0102] 当 R^{21} 是碳环或杂环基团时，它可以被选自甲基、氧代或卤素的一个或多个取代基取代；

[0103] R^{22} 是氢或任选地被卤素或羟基取代的 C_{1-6} 烷基；

[0104] R^{11} 和 R^{12} 各自独立地表示选自 H 或 C_{1-4} 烷基的取代基，或者， R^{11} 和 R^{12} 连接起来从而它们一起形成 3-8 元非芳香性环；

[0105] R^{15} 表示 H 或 C_{1-4} 烷基；

[0106] R^2 表示 H、 C_{1-6} 烷基或 NH_2 ；

[0107] 各个 R^3 独立地表示选自以下的取代基： C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、任选地被甲基、氧代或卤素取代的 C_{3-8} 环烷基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的苯基、 $-\text{C}_{1-6}$ 烷基 $-\text{OH}$ 、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基苯基、 C_{1-6} 烷氧基 $-$ 、 C_{1-6} 烯基氧基、 C_{3-6} 炔基氧基 $-$ 、 C_{1-6} 卤代烷氧基 $-$ 、 $-\text{O}-\text{C}_{3-8}$ 环烷基、 $-\text{O}-\text{C}_{1-4}$ 烷基 $-\text{C}_{3-8}$ 环烷基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 $-\text{O}-$ 苯基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 $-\text{O}-\text{C}_{1-4}$ 烷基苯基、 $-\text{S}(\text{C}_{1-6} \text{烷基})$ 、 $-\text{SO}(\text{C}_{1-6} \text{烷基})$ 、 $-\text{SO}_2\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{SO}_2\text{C}_{3-8}$ 环烷基、 $-\text{SO}_2-\text{NR}^{31}\text{R}^{32}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}_{3-8}$ 环烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{C}(\text{O})-\text{NR}^{31}\text{R}^{32}$ 、 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基 $-\text{O}-\text{C}_{1-4}$ 烷基、 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基 $-\text{O}-\text{C}_{1-4}$ 烷基 $-\text{OH}$ 、 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基 $-\text{O}-\text{C}_{1-4}$ 烷基 $-\text{O}-\text{C}_{1-4}$ 烷基、 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基 $-\text{O}-\text{C}_{3-7}$ 环烷基、 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基 $-\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基 $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基 $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1-4}$ 烷基、 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基 $-\text{C}(\text{O})-\text{NR}^{31}\text{R}^{32}$ 、 $-\text{NH}-\text{SO}_2\text{R}^{33}$ 、 $-\text{N}(\text{C}_{1-4} \text{烷基})-\text{SO}_2\text{R}^{33}$ 、 $-(\text{C}_{1-4} \text{烷基})\text{NR}^{31}\text{R}^{32}$ 、 $-\text{NR}^{31}\text{R}^{32}$ 、 $-(\text{C}_{1-6} \text{烷基})\text{NR}^{31}\text{R}^{32}$ 、硝基、卤素、氰基、羟基；

[0108] R^{31} 和 R^{32} 各自独立地表示选自 H、 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 卤代烷基的取代基，或者， R^{31} 和 R^{32} 连接起来从而它们一起形成 3-8 元非芳香族环；

[0109] R^{33} 表示 H 或 C_{1-4} 烷基；

[0110] x 表示在 0-4 范围内的、在苯环上的独立地选择的 R^3 取代基的数量。

[0111] 与通式 (I) 的那些相似的一些化合物是现有技术中已知的。例如，EP 1 679 309 (Ono Pharmaceutical)，其涉及抗应激药物以及适应证如帕金森病、精神分裂症、心肌梗死。EP 1 679 309 公开了与本发明的化合物相似的一些化合物；但是，这些化合物与其中 A 表示 N 并且 B 表示 CH 或 $\text{C}(\text{C}_{1-4} \text{烷基})$ 的本发明的更适合的化合物不同，因为它们的构型是其中对应于本发明的 A 的原子表示 CH 并且对应于本发明的 B 的原子表示 N。

[0112] WO 2004/084824 (Merck) 涉及作为钠通道阻滞药的联芳基取代的 6 元杂环。适应证包括慢性和神经性疼痛，以及其他病症包括 CNS 病症。WO2004/084824 公开了与所述本发明的更适合的化合物相似的化合物，但是未公开其中 A 表示 N 并且 B 表示 CH 或 $\text{C}(\text{C}_{1-4} \text{烷基})$ 的化合物的合成方法。

[0113] WO 2002/094825 (Banyu Pharmaceutical) 涉及 NPY 激动剂和适应证，包括循环性

疾病、中枢疾病、代谢性疾病、性功能障碍和生殖功能障碍、消化疾病、呼吸疾病等。此文件中公开的化合物不同于本发明的那些化合物,因为 WO 2002/094825 涉及这样的化合物,其中 R^1 (如本申请定义) 是包含经螺环交点 (junction) 连接至末端双环的哌啶环的三环系统。

[0114] WO 2005/103022 (Transtech Pharma) 涉及作为黑皮质素受体调节剂的取代的噻唑和嘧啶衍生物。适应证包括癌症和心血管疾病。WO 2005/103022 公开了与本发明的化合物相似的一些化合物;但是,这些化合物不同于所述本发明的更适合的化合物,因为这些化合物具有 A 表示 CH 并且 B 表示 N (如本申请定义),而所述本发明的更适合的化合物具有 A 表示 N 并且 B 表示 CH 或 C(C₁₋₄ 烷基)。

[0115] FR 2878247 (Galderma Research&Development) 涉及新化合物及其在化妆品组合物或药物组合物中的用途,所述化合物调节 γ 亚型受体的过氧化物酶体增殖物激活性受体类型。适应证大多是皮肤病症,但是也包括与脂代谢相关的疾病如肥胖症,和炎症病症如关节炎,以及癌症。FR 2878247 公开的与本发明的化合物很相似的实例不同于所述本发明的更适合的化合物,因为这些化合物具有 A 表示 CH 并且 B 表示 N (如本申请定义),而所述本发明的更适合的化合物具有 A 表示 N 并且 B 表示 CH 或 C(C₁₋₄ 烷基)。

[0116] WO 2001/62233 (F Hoffmann La Roche) 涉及腺苷受体调节剂。适应证尤其包括阿尔茨海默病、帕金森病、精神分裂症和疼痛。WO 2001/62233 公开了与本发明的化合物相似的一些化合物;但是,这些化合物不同于所述本发明的更适合的化合物,因为这些化合物具有 A 表示 CH 并且 B 表示 N (如本申请定义),而所述本发明的更适合的化合物具有 A 表示 N 并且 B 表示 CH 或 C(C₁₋₄ 烷基)。

[0117] 在本发明的一个方面,在通式 (I) 的化合物中:

[0118] A 是 N, 并且 B 是 CH、C(C₁₋₄ 烷基) 或 C(NH₂),

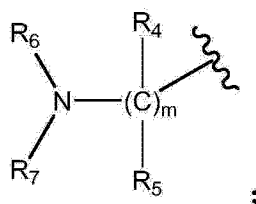
[0119] 或者 A 是 CH、C(C₁₋₄ 烷基) 或 C(NH₂) 并且 B 是 N;

[0120] R^1 选自:

[0121] C₁₋₈ 烷基;

[0122] C₁₋₈ 卤代烷基;

[0123]



[0124] 芳基;

[0125] 杂芳基;

[0126] C₃₋₁₂ 碳环基;

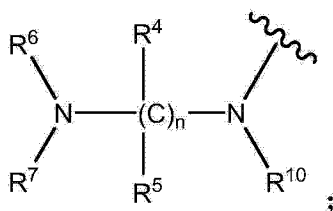
[0127] 杂环基;

[0128] -C₁₋₆ 烷基 - 芳基;

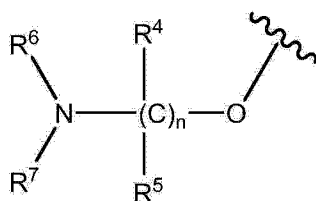
[0129] -C₁₋₆ 烷基 - 杂芳基;

[0130] -C₁₋₆ 烷基 - 碳环基;

- [0131] $-C_{1-6}$ 烷基 - 杂环基 ;
 [0132] $-C_{1-6}$ 烷基 $-C(O)OH$;
 [0133] $-C_{1-6}$ 烷基 $-C(O)OC_{1-4}$ 烷基 ;
 [0134]



- [0135] $-NR^{10}C_{1-6}$ 烷基 - 芳基 ;
 [0136] $-NR^{10}C_{1-6}$ 烷基 - 杂芳基 ;
 [0137] $-NR^{10}C_{1-6}$ 烷基 - 碳环基 ;
 [0138] $-NR^{10}C_{1-6}$ 烷基 - 杂环基 ;
 [0139] $-NR^{10}C_{1-6}$ 烷基 $-C(O)OH$;
 [0140] $-NR^{10}C_{1-6}$ 烷基 $-C(O)OC_{1-4}$ 烷基 ;
 [0141] $-NR^{10}$ 芳基 ;
 [0142] $-NR^{10}$ 杂芳基 ;
 [0143] $-NR^{10}$ 碳环基 ;
 [0144] $-NR^{10}$ 杂环基 ;
 [0145]



- [0146] $-OC_{1-6}$ 烷基 - 芳基 ;
 [0147] $-OC_{1-6}$ 烷基 - 杂芳基 ;
 [0148] $-OC_{1-6}$ 烷基 - 碳环基 ;
 [0149] $-OC_{1-6}$ 烷基 - 杂环基 ;
 [0150] $-OC_{1-6}$ 烷基 $-C(O)OH$;
 [0151] $-OC_{1-6}$ 烷基 $-C(O)OC_{1-4}$ 烷基 ;
 [0152] $-O$ 芳基 ;
 [0153] $-O$ 杂芳基 ;
 [0154] $-O$ 碳环基 ;和
 [0155] $-O$ 杂环基 ;

[0156] 其中任何上述芳基和杂芳基可以任选地被独立地选自以下的一个或多个基团取代： C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、任选地被甲基、氧代或卤素取代的 C_{3-8} 环烷基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的苯基、 $-C_{1-6}$ 烷基 $-OH$ 、其中苯基任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的 $-C_{1-4}$ 烷基苯基、 C_{1-6} 烷氧基 $-$ 、 C_{1-6} 烯基氧基、 C_{3-6} 炔基氧基 $-$ 、 C_{1-6} 卤代烷氧基 $-$ 、 $-O-C_{3-8}$ 环烷基、 $-O-C_{1-4}$ 烷

基- C_{3-8} 环烷基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的-O-苯基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的-O- C_{1-4} 烷基苯基、-S(C_{1-6} 烷基)、-SO(C_{1-6} 烷基)、-SO₂ C_{1-6} 烷基、-SO₂ C_{3-8} 环烷基、-SO₂-NR¹¹R¹²、-C(O) C_{1-6} 烷基、-C(O) C_{3-8} 环烷基、-C(O)OH、-C(O)OC₁₋₆烷基、-C(O)-NR¹¹R¹²、- C_{1-4} 烷基-O- C_{1-4} 烷基、- C_{1-4} 烷基-O- C_{1-4} 烷基-OH、- C_{1-4} 烷基-O- C_{1-4} 烷基-O- C_{1-4} 烷基、- C_{1-4} 烷基-O- C_{3-7} 环烷基、- C_{1-4} 烷基-C(O) C_{1-6} 烷基、- C_{1-4} 烷基-C(O)OH、- C_{1-4} 烷基-C(O)OC₁₋₄烷基、- C_{1-4} 烷基-C(O)-NR¹¹R¹²、-NH-SO₂R¹⁵、-N(C_{1-4} 烷基)-SO₂R¹⁵、-(C_{1-4} 烷基)NR¹¹R¹²、NR¹¹R¹²、-(C_{1-6} 烷基)NR¹¹R¹²、硝基、卤素、氰基和羟基；并且

[0157] 其中任何上述碳环基和杂环基可以任选地被独立地选自以下的一个或多个基团取代： C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、任选地被甲基、氧代或卤素取代的 C_{3-8} 环烷基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的苯基、- C_{1-6} 烷基-OH、其中苯基任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的- C_{1-4} 烷基苯基、 C_{1-6} 烷氧基-、 C_{1-6} 烯基氧基、 C_{3-6} 炔基氧基-、 C_{1-6} 卤代烷氧基-、-O- C_{3-8} 环烷基、-O- C_{1-4} 烷基- C_{3-8} 环烷基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的-O-苯基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的-O- C_{1-4} 烷基苯基、-S(C_{1-6} 烷基)、-SO(C_{1-6} 烷基)、-SO₂ C_{1-6} 烷基、-SO₂ C_{3-8} 环烷基、-SO₂-NR¹¹R¹²、-C(O) C_{1-6} 烷基、-C(O) C_{3-8} 环烷基、-C(O)OH、-C(O)OC₁₋₆烷基、-C(O)-NR¹¹R¹²、- C_{1-4} 烷基-O- C_{1-4} 烷基、- C_{1-4} 烷基-O- C_{1-4} 烷基-OH、- C_{1-4} 烷基-O- C_{1-4} 烷基-O- C_{1-4} 烷基、- C_{1-4} 烷基-O- C_{3-7} 环烷基、- C_{1-4} 烷基-C(O) C_{1-6} 烷基、- C_{1-4} 烷基-C(O)OH、- C_{1-4} 烷基-C(O)OC₁₋₄烷基、- C_{1-4} 烷基-C(O)-NR¹¹R¹²、-NH-SO₂R¹⁵、-N(C_{1-4} 烷基)-SO₂R¹⁵、-(C_{1-4} 烷基)NR¹¹R¹²、-NR¹¹R¹²、-(C_{1-6} 烷基)NR¹¹R¹²、硝基、卤素、氰基、羟基和氧代；

[0158] R²表示H、 C_{1-6} 烷基或NH₂；

[0159] R³表示选自以下的取代基： C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、任选地被甲基、氧代或卤素取代的 C_{3-8} 环烷基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的苯基、- C_{1-6} 烷基-OH、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的- C_{1-4} 烷基苯基、 C_{1-6} 烷氧基-、 C_{1-6} 烯基氧基、 C_{3-6} 炔基氧基-、 C_{1-6} 卤代烷氧基-、-O- C_{3-8} 环烷基、-O- C_{1-4} 烷基- C_{3-8} 环烷基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的-O-苯基、任选地被甲基、甲氧基、卤素、卤甲基、氟甲氧基或三氟甲氧基取代的-O- C_{1-4} 烷基苯基、-S(C_{1-6} 烷基)、-SO(C_{1-6} 烷基)、-SO₂ C_{1-6} 烷基、-SO₂ C_{3-8} 环烷基、-SO₂-NR³¹R³²、-C(O) C_{1-6} 烷基、-C(O) C_{3-8} 环烷基、-C(O)OH、-C(O)OC₁₋₆烷基、-C(O)-NR³¹R³²、- C_{1-4} 烷基-O- C_{1-4} 烷基、- C_{1-4} 烷基-O- C_{1-4} 烷基-OH、- C_{1-4} 烷基-O- C_{1-4} 烷基-O- C_{1-4} 烷基、- C_{1-4} 烷基-O- C_{3-7} 环烷基、- C_{1-4} 烷基-C(O) C_{1-6} 烷基、- C_{1-4} 烷基-C(O)OH、- C_{1-4} 烷基-C(O)OC₁₋₄烷基、- C_{1-4} 烷基-C(O)-NR³¹R³²、-NH-SO₂R³³、-N(C_{1-4} 烷基)-SO₂R³³、-(C_{1-4} 烷基)NR³¹R³²、-NR³¹R³²、-(C_{1-6} 烷基)NR³¹R³²、硝基、卤素、氰基、羟基；

[0160] R⁴和R⁵独立地表示H或 C_{1-4} -烷基；

[0161] R⁶和R⁷各自独立地选自H、 C_{1-6} 烷基、羟基- C_{2-6} 烷基-；

[0162] R¹⁰表示H或 C_{1-4} 烷基；

[0163] R¹¹和R¹²各自独立地表示选自H或 C_{1-4} 烷基的取代基，或者，R¹¹和R¹²连接起来从而它们一起形成3-8元非芳香性环；

- [0164] R^{15} 表示 H 或 C_{1-4} 烷基；
- [0165] R^{31} 和 R^{32} 各自独立地表示选自 H、 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 卤代烷基的取代基，或者， R^{31} 和 R^{32} 连接起来从而它们一起形成 3-8 元非芳香性环；
- [0166] R^{33} 表示 H 或 C_{1-4} 烷基；
- [0167] x 表示在 0-4 范围内的、在苯环上的独立地选择的 R^3 取代基的数量；
- [0168] m 表示 1-4 的整数；并且
- [0169] n 表示 2-4 的整数。
- [0170] 发明详述
- [0171] 在通式 (I) 的化合物中，通常情况是，A 是 N 并且 B 是 CH、 $C(C_{1-4} \text{ 烷基})$ 或 $C(NH_2)$ ，并且这样的化合物本身构成本发明的独立的方面。
- [0172] 在本申请的适合的化合物中，独立地或以任意组合的方式：
- [0173] R^a 是氢；
- [0174] B 是 CH 或 C_{1-4} 烷基；
- [0175] R^2 是氢或 C_{1-4} 烷基，
- [0176] R^3 是卤素、 C_{1-6} 烷氧基、 $-O-C_{1-4}$ 烷基苯基（如 $-O-$ 苄基）或 $-O-C_{1-4}$ 烷基 $-C_{3-8}$ 环烷基；并且
- [0177] x 是 1 或 2。
- [0178] 在通式 (I) 的甚至更适合的化合物中，独立地或以任意组合的方式，B 是 CH；
- [0179] R^2 是氢或甲基，尤其是氢；并且
- [0180] R^3 是卤素、甲氧基、乙氧基、异丙氧基、苄氧基或 $-OCH_2$ 环丙基。
- [0181] 当 x 是 1 时， R^3 最适合表示 C_{1-6} 烷氧基、 $-O-C_{1-4}$ 烷基苯基或 $-O-C_{1-4}$ 烷基 $-C_{3-8}$ 环烷基，典型地表示甲氧基或乙氧基基团，尤其是甲氧基。
- [0182] 当 x 是 2 时， R^3 基团之一可以是甲氧基、乙氧基、 $-$ 异丙氧基、苄氧基或（1- 环丙基）甲氧基，更典型地是甲氧基或乙氧基基团，而且最适合地是甲氧基基团，并且另一个 R^3 基团典型地是卤素，尤其是氟。
- [0183] 当 R^3 是 C_{1-6} 烷氧基、 $-O-C_{1-4}$ 烷基苯基或 $-O-C_{1-4}$ 烷基 $-C_{3-8}$ 环烷基时，优选地它是在苯环 2- 位上的取代基。当 R^3 表示卤素时，卤素适合地是在苯环 3- 位、4- 位或 5- 位上的取代基。
- [0184] 在通式 (I) 的化合物中，适合的 R^1 基团的实例包括：
- [0185] $-C_1-C_6$ 烷基；
- [0186] $-R^{20}$ ；
- [0187] $-C(O)R^{20}$ ；
- [0188] $-C_1-C_6$ 烷基 $-R^{20}$ ，
- [0189] 其中所述烷基基团任选地被卤素、甲氧基、乙氧基、 $-NR^6R^7$ 或含氮杂环基环取代；
- [0190] $-C_1-C_6$ 烷基 $-OR^{20}$ ；
- [0191] $-(C_1-C_6 \text{ 烷基})-O-(C_1-C_6 \text{ 烷基})-R^{20}$ ；
- [0192] $-C_1-C_6$ 烷基 $-NR^{10}R^{20}$ ；
- [0193] $-C_1-C_6$ 烷基 $-SR^{20}$ ；
- [0194] $-NR^{10}R^{20}$ ；

[0195] $-\text{NR}^6\text{R}^7$;

[0196] $-\text{NR}^{10}-(\text{C}_1-\text{C}_6 \text{ 烷基})-\text{NR}^6\text{R}^7$ 或

[0197] $-\text{NR}^{10}-(\text{C}_{1-6} \text{ 烷基})-\text{C}(\text{O})\text{OH}$;

[0198] 其中 R^6 、 R^7 、 R^{10} 和 R^{20} 如上定义。

[0199] 当 R^1 表示 $-\text{C}_1-\text{C}_6$ 烷基时,具体实例是叔丁基。

[0200] 当 R^1 表示 R^{20} 或 $\text{NR}^{10}\text{R}^{20}$ 时, R^{20} 可以是任何取代的或未取代的碳环基、杂环基、芳基或杂芳基基团。在 R^1 是取代的碳环基基团的情况中,在一些特别适合的化合物中,取代基可以在将所述碳环基基团连接至分子其余部分的同一原子上。

[0201] 在 R^1 表示 $\text{C}(\text{O})\text{R}^{20}$ 的情况中, R^{20} 典型地是芳基或杂芳基基团、或杂环基基团,所述芳基或杂芳基基团可以是未取代的或如上定义地被取代。适合地, R^{20} 是苯基或 6 元杂环基基团如哌啶基。

[0202] 相似地,当 R^1 表示 C_1-C_6 烷基 $-\text{R}^{20}$ 时, R^{20} 也适合地是任选地如上所述地被取代的芳基、杂芳基或杂环基基团。

[0203] 在其中 R^1 表示 C_1-C_6 烷基 $-\text{OR}^{20}$ 、 $-(\text{C}_1-\text{C}_6 \text{ 烷基})-\text{O}-(\text{C}_1-\text{C}_6 \text{ 烷基})-\text{R}^{20}$ 、 C_1-C_6 烷基 $-\text{NR}^{10}\text{R}^{20}$ 或 C_1-C_6 烷基 $-\text{SR}^{20}$ 的化合物中, R^{20} 通常是任选地如上所述地被取代的芳基或杂芳基基团。

[0204] 当 R^{20} 表示杂环基时, R^{20} 适合地是包含独立地选自氧、硫或氮的一个或两个杂原子的 5 元或 6 元杂环基环。一些适合的杂环基环包含一个氮原子、硫原子或氧原子。备选的适合的杂环基环包含一个或两个氮原子,其中特别适合的是包含单个氮原子的杂环基环。具体的杂环基 R^{20} 部分的实例包括哌啶基(例如哌啶-3-基-和哌啶-4-基-)、吡咯烷基、四氢吡喃基和四氢噻喃基。所述杂环基环可以是未取代的,或者被任何之前所述的杂环基的取代基取代,但是,适合地被一个或多个取代基例如一个、两个、三个或四个取代基取代。所述取代基可以独立地选自氧代、 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基、 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基 $-\text{O}-\text{C}_{1-4}$ 烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-4}$ 烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1-4}$ 烷基、卤素和 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基 R^{21} ,其中这些取代基的具体实例是氟、氧代、甲基、乙基、异丙基、异丁基、 $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_3-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 叔丁基、 $-\text{CH}_2-$ 苯基。

[0205] 当 R^{20} 表示碳环基时,它典型地是环烷基基团,例如环丙基、环丁基、环戊基和环己基,尤其是环己基。所述碳环基环可以是未取代的,或者被任何之前所述的碳环基的取代基取代,但是,最适合地被一个或多个 $-\text{C}_{1-8}$ 烷基、氧代、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{C}_{1-4}$ 烷基、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{OC}_{1-4}$ 烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、任选地取代的芳基或杂芳基基团取代。

[0206] 更适合地,所述碳环基环可以是未取代的,或者被一个或多个取代基取代,所述取代基选自: $-\text{NH}_2$; $-\text{NHC}(\text{O})\text{C}_{1-4}$ 烷基; $-\text{NHC}(\text{O})\text{OC}_{1-4}$ 烷基; $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、任选地取代的苯基,例如 4-氯苯基或 4-甲氧基苯基;或者任选地取代的吡啶基,例如 4-吡啶基。

[0207] 当 R^{20} 表示芳基时,芳基的实例包括萘基和苯基,特别是任选地被一个或多个取代基取代的苯基。这些芳基基团的典型的取代基包括 $-\text{NH}-\text{SO}_2\text{C}_{1-4}$ 烷基、 C_{1-4} 烷基、 $-\text{O}(\text{C}_{1-4} \text{ 烷基})$ 、其中 R^{12} 如上定义的 $-\text{NHR}^{12}$ 、芳基、杂芳基、硝基和卤素。特别适合的取代基包括氟、氯、甲基、甲氧基、乙氧基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}-\text{SO}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、杂芳基和硝基。 R^{20} 的杂芳基取代基的实例是四唑基。

[0208] 在通式 (I) 的化合物中,当 R^{20} 表示杂芳基部分时,它典型地是单环杂芳基基团或双环杂芳基基团。通常,单环杂芳基基团 R^{20} 包含 5 元或 6 元环系统,而双环基团包含与另

—5元或6元环耦合的5元或6元环。双环基团包括与不饱和的杂环基环耦合的苯基以及与任选地包含一个或多个额外的杂原子的不饱和环耦合的杂芳基部分。

[0209] 这些杂芳基基团的适合的取代基如上所述,但是在特别适合的化合物中的取代基的实例包括 C_{1-4} 烷基,尤其是甲基或乙基;卤素,例如氟、氯或溴;或者 $-(C_1-C_4 \text{ 烷基})-O-R^{21}$ 或者 R^{21} ,其中 R^{21} 是未取代的苯基或杂芳基,尤其是未取代的杂芳基。

[0210] 特别适合的单环杂芳基基团 R^{20} 包括:

[0211] 包含一个或两个氮原子的6元杂芳基环,例如吡啶和嘧啶;

[0212] 包含1-4个杂原子的5元杂芳基环,例如噻吩、呋喃、吡咯、吡唑、三唑、四唑、异噻唑、噁唑、噻唑和咪唑。

[0213] 特别适合的双环杂芳基基团 R^{20} 包括氮杂吲哚、喹啉、异喹啉及其部分饱和的衍生物,例如二氢喹啉酮、四氢喹啉和与5元碳环基基团耦合的吡啶基。除了以上列举的取代基之外,这些部分饱和的双环基团可以任选地被氧代取代。

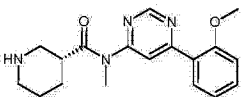
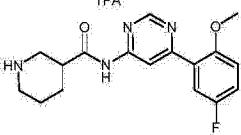
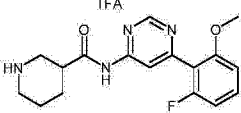
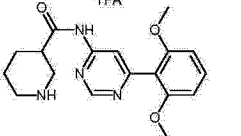
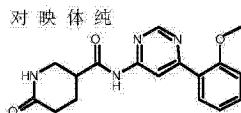
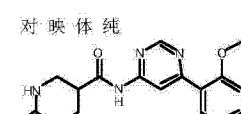
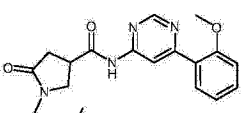
[0214] 当 R^1 是 $-NR^6R^7$ 或者 $-NR^{10}-(C_1-C_6 \text{ 烷基})-NR^6R^7$ 时,通常情况是 R^6 和 R^7 各自独立地为氢或 C_1-C_4 烷基,更特别地为氢或甲基。此类 R^1 基团的具体实例是 NH_2 和 $NR^{10}(CH_2)_2N(CH_3)_2$ 。

[0215] 当 R^1 是 $-C_1-C_6 \text{ 烷基}-NR^{10}R^{20}$ 、 $-NR^{10}R^{20}$ 、 $-NR^{10}-(C_1-C_6 \text{ 烷基})-NR^6R^7$ 或 $-NR^{10}-(C_{1-6} \text{ 烷基})-C(O)OH$ 时,通常情况是 R^{10} 为氢或甲基,但更特别地为氢。

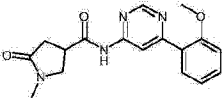
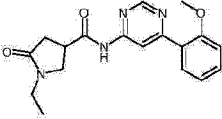
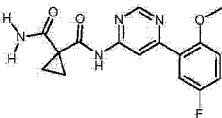
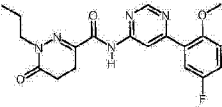
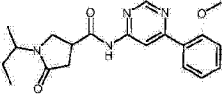
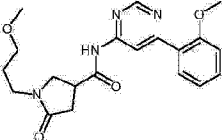
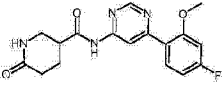
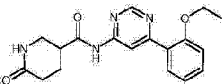
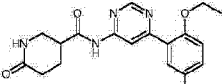
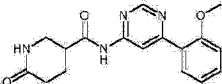
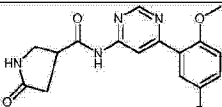
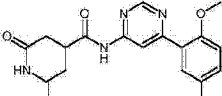
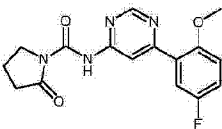
[0216] 本发明的具体化合物的实施例列于表1和表2中。

[0217] 表1

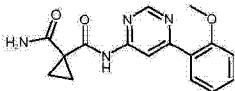
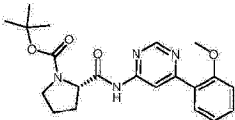
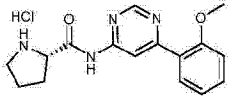
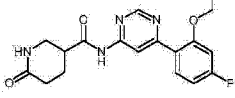
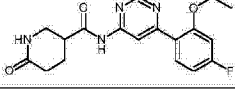
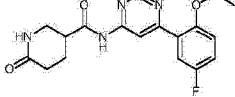
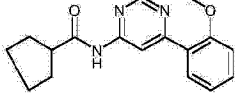
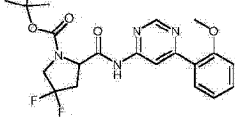
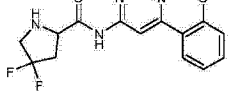
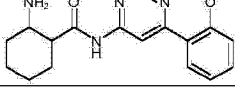
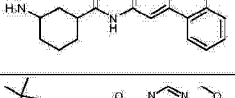
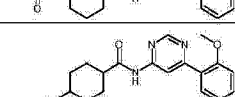
[0218]

实施例	结构	化学式	分子量
1		C ₁₈ H ₂₂ N ₄ O ₂	326.393
2		C ₁₇ H ₁₉ FN ₄ O ₂	330.357
3		C ₁₇ H ₁₉ FN ₄ O ₂	330.357
4		C ₁₈ H ₂₂ N ₄ O ₃	342.392
5		C ₁₇ H ₁₈ N ₄ O ₃	326.35
6		C ₁₇ H ₁₈ N ₄ O ₃	326.35
7		C ₁₉ H ₂₂ N ₄ O ₄	370.402

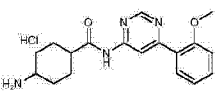
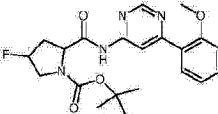
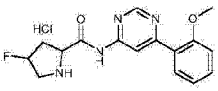
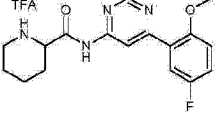
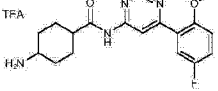
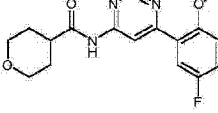
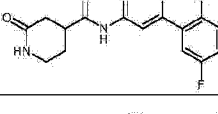
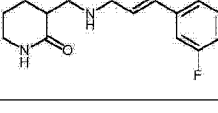
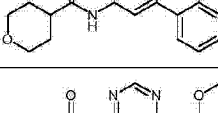
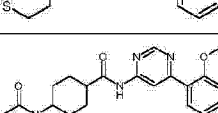
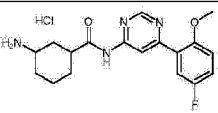
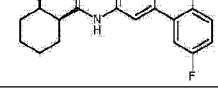
[0219]

实施例	结构	化学式	分子量
8		C ₁₇ H ₁₈ N ₄ O ₃	326.35
9		C ₁₈ H ₂₀ N ₄ O ₃	340.376
10		C ₁₆ H ₁₅ FN ₄ O ₃	330.314
11		C ₁₉ H ₂₀ FN ₅ O ₃	385.392
12		C ₂₀ H ₂₄ N ₄ O ₃	368.43
13		C ₂₀ H ₂₄ N ₄ O ₄	384.429
14		C ₁₇ H ₁₇ FN ₄ O ₃	344.34
15		C ₁₈ H ₂₀ N ₄ O ₃	340.376
16		C ₁₈ H ₁₉ FN ₄ O ₃	358.367
17		C ₁₇ H ₁₇ FN ₄ O ₃	344.34
18		C ₁₆ H ₁₅ FN ₄ O ₃	330.314
19		C ₁₇ H ₁₅ FN ₄ O ₄	358.324
20		C ₁₆ H ₁₅ FN ₄ O ₃	330.314

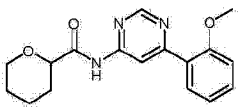
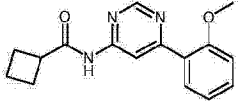
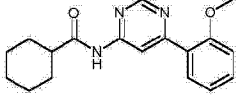
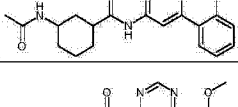
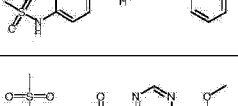
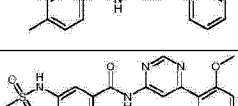
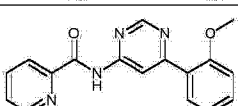
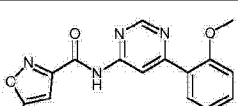
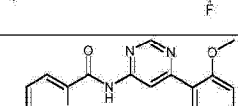
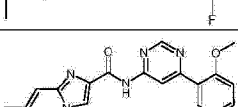
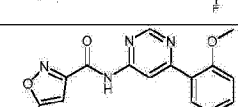
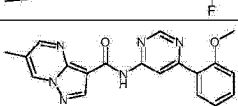
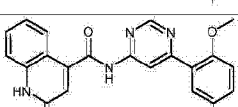
[0220]

实施例	结构	化学式	分子量
21		C ₁₆ H ₁₆ N ₄ O ₃	312.323
22		C ₂₁ H ₂₆ N ₄ O ₄	398.456
23		C ₁₆ H ₁₈ N ₄ O ₂	298.34
24		C ₁₈ H ₁₉ FN ₄ O ₃	358.367
25		C ₁₉ H ₂₁ FN ₄ O ₃	372.393
26		C ₁₉ H ₂₁ FN ₄ O ₃	372.393
27		C ₁₇ H ₁₉ N ₃ O ₂	297.352
28		C ₂₁ H ₂₄ F ₂ N ₄ O ₄	434.436
29		C ₁₆ H ₁₆ F ₂ N ₄ O ₂	334.321
30		C ₁₈ H ₂₂ N ₄ O ₂	326.393
31		C ₁₈ H ₂₂ N ₄ O ₂	326.393
32		C ₂₃ H ₃₀ N ₄ O ₄	426.509
33		C ₂₃ H ₃₀ N ₄ O ₄	426.509

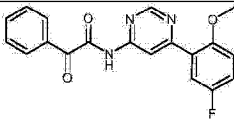
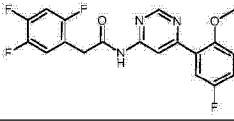
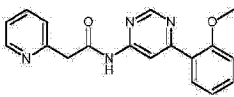
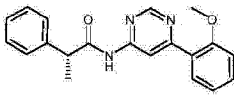
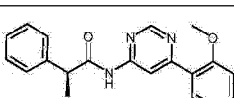
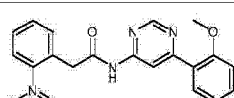
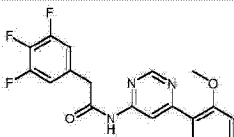
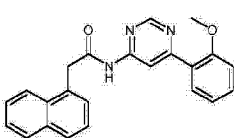
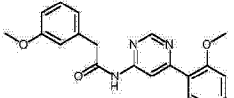
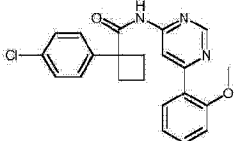
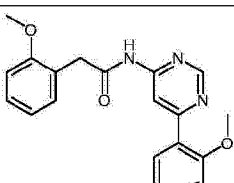
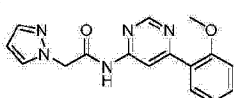
[0221]

实施例	结构	化学式	分子量
34		C ₁₈ H ₂₂ N ₄ O ₂	326.393
35		C ₂₁ H ₂₅ N ₄ O ₄	416.446
36		C ₁₆ H ₁₇ N ₄ O ₂	316.33
37		C ₁₇ H ₁₉ N ₄ O ₂	330.357
38		C ₁₈ H ₂₁ N ₄ O ₂	344.383
39		C ₁₇ H ₁₈ N ₃ O ₃	331.342
40		C ₁₇ H ₁₇ N ₄ O ₃	344.34
41		C ₁₇ H ₁₇ N ₄ O ₃	344.34
42		C ₁₇ H ₁₉ N ₃ O ₃	313.351
43		C ₁₇ H ₁₉ N ₃ O ₂ S	329.417
44		C ₂₀ H ₂₃ N ₄ O ₃	386.42
45		C ₁₈ H ₂₁ N ₄ O ₂	344.383
46		C ₁₈ H ₂₁ N ₄ O ₂	344.383

[0222]

实施例	结构	化学式	分子量
47		C ₁₇ H ₁₉ N ₃ O ₃	313.351
48		C ₁₆ H ₁₇ N ₃ O ₂	283.325
49		C ₁₈ H ₂₁ N ₃ O ₂	311.378
50		C ₂₀ H ₂₄ N ₄ O ₃	368.43
51		C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₄ S	398.436
52		C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₄ S	412.462
53		C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₄ S	398.436
54		C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O ₂	306.319
55		C ₁₆ H ₁₃ FN ₄ O ₃	328.298
56		C ₁₉ H ₁₇ FN ₄ O ₂	352.362
57		C ₂₀ H ₁₆ FN ₅ O ₂	377.372
58		C ₁₇ H ₁₅ FN ₄ O ₃	342.324
59		C ₁₉ H ₁₅ FN ₆ O ₂	378.36
60		C ₂₁ H ₁₅ FN ₄ O ₃	390.367

[0223]

实施例	结构	化学式	分子量
61		C ₁₉ H ₁₄ FN ₃ O ₃	351.331
62		C ₁₉ H ₁₃ F ₄ N ₃ O ₂	391.319
63		C ₁₈ H ₁₆ N ₄ O ₂	320.345
64		C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₂	333.384
65		C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₂	333.384
66		C ₁₉ H ₁₆ N ₄ O ₄	364.355
67		C ₁₉ H ₁₄ F ₃ N ₃ O ₂	373.329
68		C ₂₃ H ₁₉ N ₃ O ₂	369.416
69		C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃	349.383
70		C ₂₂ H ₂₀ ClN ₃ O ₂	393.866
71		C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃	349.383
72		C ₁₆ H ₁₅ N ₅ O ₂	309.323

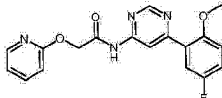
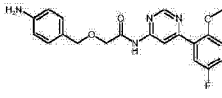
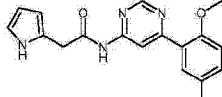
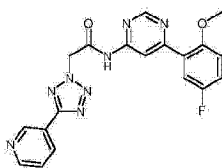
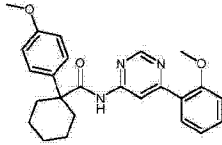
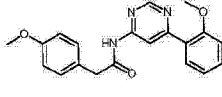
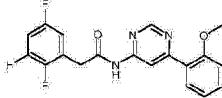
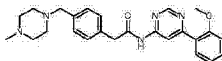
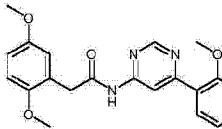
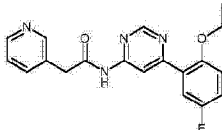
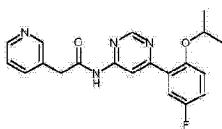
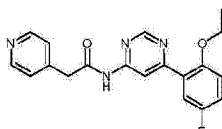
[0224]

实施例	结构	化学式	分子量
73		C ₂₂ H ₂₀ FN ₃ O ₃	393.411
74		C ₂₀ H ₁₈ FN ₃ O ₃	367.374
75		C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₄	379.409
76		C ₂₂ H ₂₁ N ₃ O ₃	375.42
77		C ₁₉ H ₁₅ N ₃ O ₃	333.341
78		C ₁₈ H ₁₆ N ₄ O ₂	320.345
79		C ₁₇ H ₁₅ N ₃ O ₂ S	325.385
80		C ₁₈ H ₁₆ N ₄ O ₂	320.345
81		C ₁₈ H ₁₅ FN ₄ O ₂	338.336
82		C ₁₈ H ₁₅ FN ₄ O ₂	338.336
83		C ₁₈ H ₁₅ FN ₄ O ₂	338.336
84		C ₁₆ H ₁₄ FN ₅ O ₂	327.313
85		C ₁₆ H ₁₄ FN ₅ O ₂	327.313
86		C ₁₇ H ₁₄ FN ₃ O ₂ S	343.375

[0225]

实施例	结构	化学式	分子量
87		C ₂₅ H ₂₆ FN ₃ O ₃	435.491
88		C ₂₁ H ₂₀ FN ₃ O ₄	397.4
89		C ₁₈ H ₁₄ ClFN ₄ O ₃	388.78
90		C ₁₇ H ₁₅ FN ₄ O ₂	326.325
91		C ₁₇ H ₁₄ FN ₃ O ₂ S	343.375
92		C ₂₀ H ₁₈ FN ₃ O ₂	351.374
93		C ₂₀ H ₁₈ FN ₃ O ₂	351.374
94		C ₁₉ H ₁₅ FN ₄ O ₄	382.345
95		C ₂₁ H ₁₈ FN ₇ O ₃	435.411
96		C ₂₁ H ₁₈ FN ₇ O ₃	435.411
97		C ₂₀ H ₁₆ FN ₇ O ₃	421.385
98		C ₁₇ H ₁₄ FN ₃ O ₃	327.31
99		C ₁₇ H ₁₄ FN ₃ O ₃	327.31

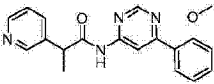
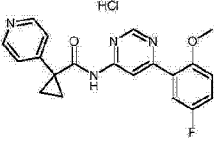
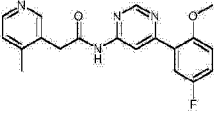
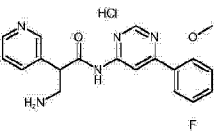
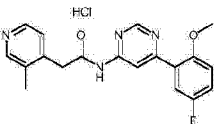
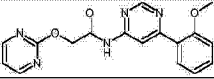
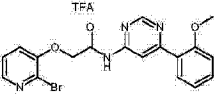
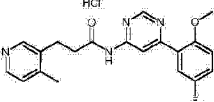
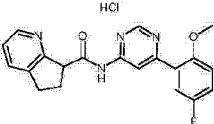
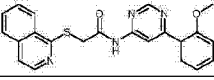
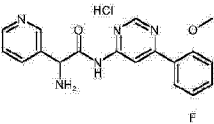
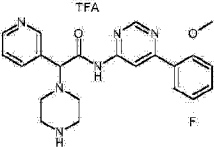
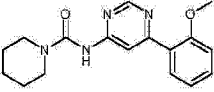
[0226]

实施例	结构	化学式	分子量
100		C ₁₈ H ₁₅ FN ₄ O ₃	354.335
101		C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₃	382.388
102		C ₁₇ H ₁₅ FN ₄ O ₂	326.325
103		C ₁₉ H ₁₅ FN ₈ O ₂	406.373
104		C ₂₅ H ₂₇ N ₃ O ₃	417.5
105		C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃	349.383
106		C ₁₉ H ₁₄ F ₃ N ₃ O ₂	373.329
107		C ₂₅ H ₂₉ N ₅ O ₂	431.53
108		C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₄	379.409
109		C ₁₉ H ₁₇ FN ₄ O ₂	352.362
110		C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₂	366.389
111		C ₁₉ H ₁₇ FN ₄ O ₂	352.362

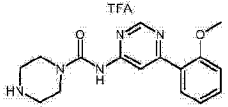
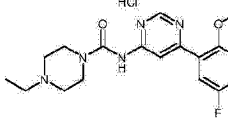
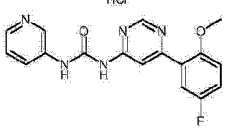
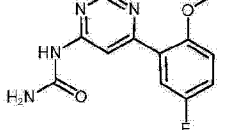
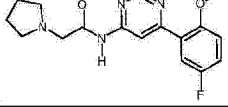
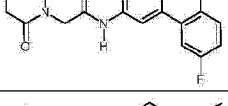
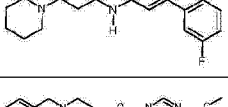
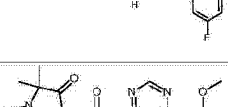
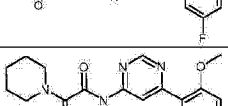
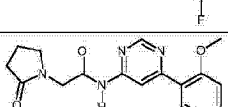
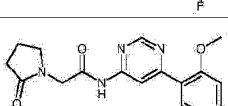
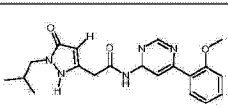
[0227]

实施例	结构	化学式	分子量
112		C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₂	366.389
113		C ₁₉ H ₁₇ FN ₄ O ₂	352.362
114		C ₁₉ H ₁₇ FN ₄ O ₂	352.362
115		C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₂	366.389
116		C ₁₈ H ₁₅ FN ₄ O ₂	338.336
117		C ₁₈ H ₁₅ FN ₄ O ₂ S	370.401
118		C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₃	350.371
119		C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₂	366.389
120		C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₂	366.389
121		C ₂₁ H ₂₁ FN ₄ O ₃	396.415
122		C ₁₉ H ₁₇ FN ₄ O ₂	352.362
123		C ₁₈ H ₁₅ FN ₄ O ₃	354.335
124		C ₁₈ H ₁₅ FN ₄ O ₂	338.336
125		C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₂	334.372

[0228]

实施例	结构	化学式	分子量
126		C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₂	334.372
127		C ₂₀ H ₁₇ FN ₄ O ₂	364.373
128		C ₁₉ H ₁₇ FN ₄ O ₂	352.362
129		C ₁₉ H ₁₈ FN ₅ O ₂	367.377
130		C ₁₉ H ₁₇ FN ₄ O ₂	352.362
131		C ₁₇ H ₁₅ N ₅ O ₃	337.333
132		C ₁₈ H ₁₅ BrN ₄ O ₃	415.241
133		C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₂	366.389
134		C ₂₀ H ₁₇ FN ₄ O ₂	364.373
135		C ₂₂ H ₁₈ N ₄ O ₂ S	402.469
136		C ₁₈ H ₁₆ FN ₅ O ₂	353.35
137		C ₂₂ H ₂₃ FN ₆ O ₂	422.455
138		C ₁₇ H ₂₀ N ₄ O ₂	312.366

[0229]

实施例	结构	化学式	分子量
139		C ₁₆ H ₁₉ N ₅ O ₂	313.354
140		C ₁₈ H ₂₂ FN ₅ O ₂	359.398
141		C ₁₇ H ₁₄ FN ₅ O ₂	339.324
142		C ₁₂ H ₁₁ FN ₄ O ₂	262.24
143		C ₁₇ H ₁₉ FN ₄ O ₂	330.357
144		C ₁₈ H ₁₉ FN ₄ O ₃	358.367
145		C ₁₉ H ₂₁ FN ₄ O ₃	372.393
146		C ₂₄ H ₂₆ FN ₅ O ₂	435.494
147		C ₁₈ H ₁₈ FN ₅ O ₄	387.365
148		C ₁₈ H ₁₉ FN ₄ O ₃	358.367
149		C ₁₇ H ₁₇ FN ₄ O ₃	344.34
150		C ₁₇ H ₁₈ N ₄ O ₃	326.35
151		C ₂₀ H ₂₃ N ₅ O ₃	381.428

[0230]

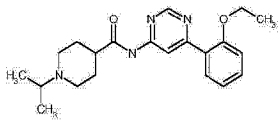
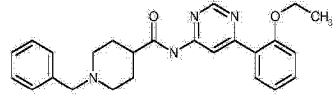
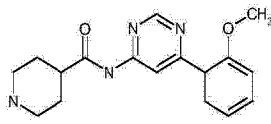
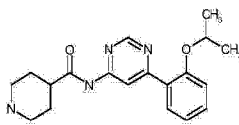
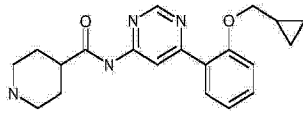
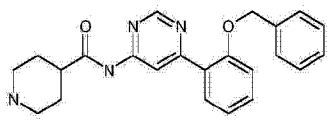
实施例	结构	化学式	分子量
152		C ₂₀ H ₂₂ FN ₅ O ₃	399.419
153		C ₁₈ H ₂₁ FN ₄ O ₂	344.383
154		C ₁₈ H ₁₈ N ₄ O ₄	354.36
155		C ₁₈ H ₁₉ FN ₄ O ₃	358.367
156		C ₁₇ H ₁₈ N ₄ O ₃	326.35

[0231] 表 2

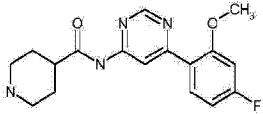
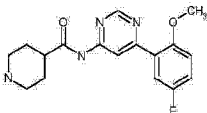
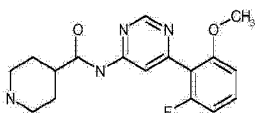
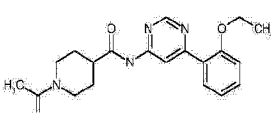
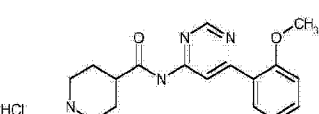
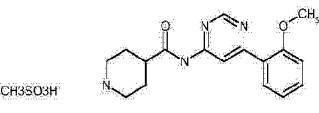
[0232]

化合物号	结构和 IUPAC 命名	MS m/z	熔点℃
1A	 嘧啶-4-甲酸[6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	327.1, 339.1 (M+1)	
2A	 1-甲基嘧啶-4-甲酸[6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	341 (M+1)	65 - 67
3A	 1-乙基嘧啶-4-甲酸[6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	355 (M+1)	137 - 139

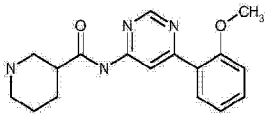
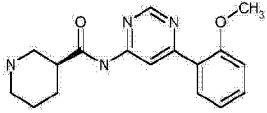
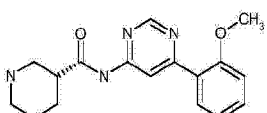
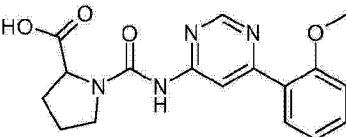
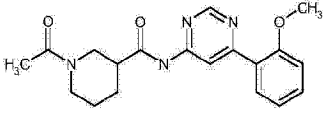
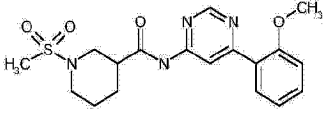
[0233]

化合物号	结构和 IUPAC 命名	MS m/z	熔点℃
4A	 1-异丙基哌啶-4-甲酸[6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	369 (M+1)	173 - 175
5A	 1-苄基哌啶-4-甲酸[6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	417 (M+1)	
6A	 哌啶-4-甲酸[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	313 (M+1)	279 - 280
7A	 哌啶-4-甲酸[6-(2-异丙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	341 (M+1)	
8A	 哌啶-4-甲酸[6-(2-环丙基甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	353 (M+1)	
9A	 哌啶-4-甲酸[6-(2-苄氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	389 (M+1)	224 - 227

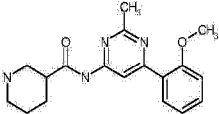
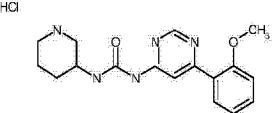
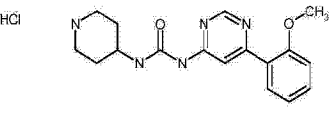
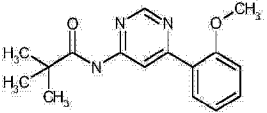
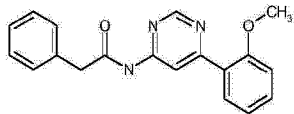
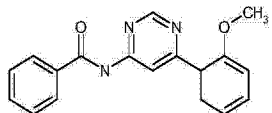
[0234]

化合物号	结构和 IUPAC 命名	MS m/z	熔点℃
10A	 哌啶-4-甲酸[6-(4-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	331 (M+1)	
11A	 哌啶-4-甲酸[6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	331 (M+1)	
12A	 哌啶-4-甲酸[6-(2-氟-6-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	331 (M+1)	140 - 143
13A	 1-乙酰基哌啶-4-甲酸[6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	369 (M+1), 391 (M+Na)	171 - 173
14A	 哌啶-4-甲酸[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 盐酸盐	313 (M+1)	214 - 217
15A	 哌啶-4-甲酸[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 甲磺酸盐	313 (M+1)	268 - 270

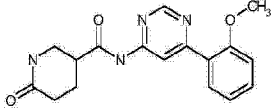
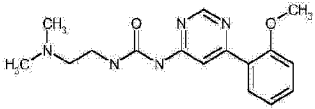
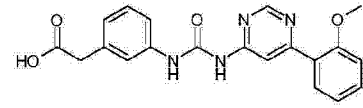
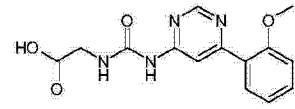
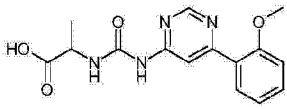
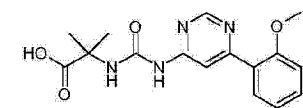
[0235]

化合物号	结构和 IUPAC 命名	MS m/z	熔点℃
16A	 哌啶-3-甲酸[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	313 (M+1)	
17A	 (S)-哌啶-3-甲酸[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	312.9	163 - 165
18A	 (R)-哌啶-3-甲酸[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	312.9	210 - 213
19A	 1-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]吡咯烷-2-甲酸	343 (M+1)	
20A	 1-乙酰基哌啶-3-甲酸[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	356.1, 377 (M+1)	
21A	 1-甲磺酰基哌啶-3-甲酸[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺	391 (M+1)	

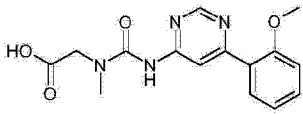
[0236]

化合物号	结构和 IUPAC 命名	MS m/z	熔点℃
22A	 哌啶-3-甲酸[6-(2-甲氧基苯基)-2-甲基咪啶-4-基]酰胺	327 (M+1)	229 - 230
23A	 1-[6-(2-甲氧基苯基)咪啶-4-基]-3-哌啶-3-基脲 盐酸盐	328 (M+1)	
24A	 1-[6-(2-甲氧基苯基)咪啶-4-基]-3-哌啶-4-基脲 盐酸盐	328 (M+1)	
25A	 N-[6-(2-甲氧基苯基)咪啶-4-基]-2,2-二甲基丙酰胺	286.4 (M+1)	
26A	 N-[6-(2-甲氧基苯基)咪啶-4-基]-2-苯基乙酰胺	320.5 (M+1)	
27A	 N-[6-(2-甲氧基苯基)咪啶-4-基]苯甲酰胺	306.2 (M+1)	

[0237]

化合物号	结构和 IUPAC 命名	MS m/z	熔点℃
28A	 6-氧代哌啶-3-甲酸[6-(2-甲氧基-苯基)-嘧啶-4-基]酰胺	327.1 (M+1)	
29A	 1-(2-二甲基氨基乙基)-3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脲	316.2 (M+1)	
30A	 (3-{3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脲基}苯基)乙酸	379 (M+1)	
31A	 {3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脲基}乙酸	303 (M+1)	
32A	 2-{3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脲基}丙酸	317 (M+1)	
33A	 2-{3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脲基}-2-甲基丙酸	331 (M+1)	

[0238]

化合物号	结构和 IUPAC 命名	MS m/z	熔点°C
34A	 {3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]-1-甲基脲基}乙 酸	317 (M+1)	

[0239] 方法

[0240] 本发明提供用于制备如上定义的式 (I) 的化合物或其被保护的衍生物的方法,所述方法包括:

[0241] (a) 将一种式 (I) 的化合物转化成另一种式 (I) 的化合物。

[0242] 在步骤 (a) 中,示例性的转化反应包括:

[0243] • 烷基化反应例如 N- 烷基化反应 (如将基团 R^1 = 哌啶转化成 R^1 = N- 甲基哌啶)

[0244] • 酰基化 (例如当 R^1 表示哌啶时:将哌啶的 NH 基团转化成 $NC(O)CH_3$)

[0245] • 除去保护基 (例如通过使用 TFA, 从其中 R^1 是哌啶并且其中哌啶的氮被例如 Boc 保护的通式 (I) 的化合物得到其中 R^1 是哌啶基的通式 (I) 的化合物)

[0246] • 酯水解 (例如将乙酯转化得到相应的酸, 如将 R^1 表示 $NHC(Me)_2C(O)OEt$ 转化成 R^1 表示 $NHC(Me)_2C(O)OH$)

[0247] • 当 R^{20} 表示苯基时:在拉尼镍存在下,通过氢将 R^{20} 上的 $-NH_2$ 取代基还原成 R^{20} 上的 $-NO_2$ 取代基

[0248] • 将胺基与甲磺酰氯偶联

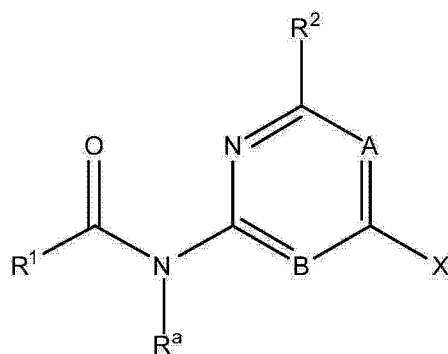
[0249] • 其中式 (I) 的化合物具有为 $-C_{1-4}$ 烷基 $-O-R^{20}$ 的 R^1 或为 $-C_{1-4}$ 烷基 $-NH-R^{20}$ 的 R^1 :

[0250] 从 $R^1 = -C_{1-4}$ 烷基 $-L_5$ 至 $R^1 = -C_{1-4}$ 烷基 $-O-R^{20}$ 或 $R^1 = -C_{1-4}$ 烷基 $-NH-R^{20}$ 的示例性转化反应可以包括:任选地在碱的存在下,使其中 R^1 是 $-C_{1-4}$ 烷基 $-L_5$ 并且其中 L_5 表示适合的离去基 (例如氯) 的式 (I) 的化合物与式 $R^{20}-OH$ 或 $R^{20}-NH_2$ 的化合物反应。

[0251] 或者,本发明提供用于制备式 (I) 的化合物或其被保护的衍生物的方法,所述方法包括:

[0252] (b) 使式 A 的化合物或其被保护的衍生物

[0253]

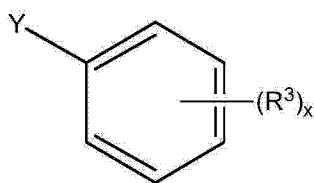


式 A

[0254] 其中 A、B、R¹、R^a 和 R² 如通式 (I) 中定义, 并且 X 是交叉偶联反应的适合的取代基,

[0255] 与式 B 的化合物或其被保护的衍生物反应

[0256]



式 B

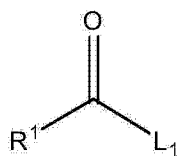
[0257] 其中 R³ 和 x 如通式 (I) 中定义, 并且 Y 是交叉偶联反应的适合的取代基;

[0258] 其中 X 和 Y 表示交叉偶联反应的适合的取代基, 并且被选择用来相互反应。

[0259] 在步骤 (b) 中, 示例性的交叉偶联反应包括 Suzuki 偶联反应。例如, X 可以表示卤素 (如 Cl) 并且 Y 可以表示硼酸或硼酸酯基团 (如 B(OH)₂)。典型的 Suzuki 偶联条件是: 在三苯基膦的存在下, 在饱和碳酸钠溶液和 1, 4- 二氧六环中, 用醋酸钯 (II) 作为催化剂, 在加热回流下, 使硼酸与相应的氯代偶联对应物 (partner) 反应。

[0260] 式 A 的化合物可以由式 C 的化合物

[0261]

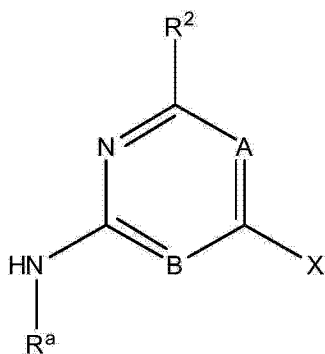


式 C

[0262] 其中 R¹ 如通式 (I) 中定义并且 L₁ 是离去基;

[0263] 和式 D 的化合物合成

[0264]



式 D

[0265] 其中 A、B、R^a 和 R² 如关于通式 (I) 所定义并且 X 如上关于式 A 所定义。

[0266] 在有机溶剂（如二氯甲烷）中，适合地进行式 C 的化合物与式 D 的化合物的反应。所述反应适合地在高温下进行。

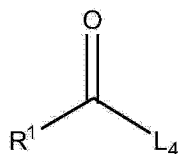
[0267] 在步骤 (b) 中，示例性的 L₁ 取代基包括卤素（如 Cl）。当 L₁ 是氯时，式 C 的化合物可以由相应的羧酸通过与亚硫酰氯反应来制备。

[0268] 通式 C 和通式 D 的化合物是已知的并且易于得到，或者可以通过已知方法合成。

[0269] 或者，本发明提供用于制备式 (I) 的化合物或其被保护的衍生物的方法，所述方法包括：

[0270] (c) 使式 E 的化合物或其被保护的衍生物

[0271]

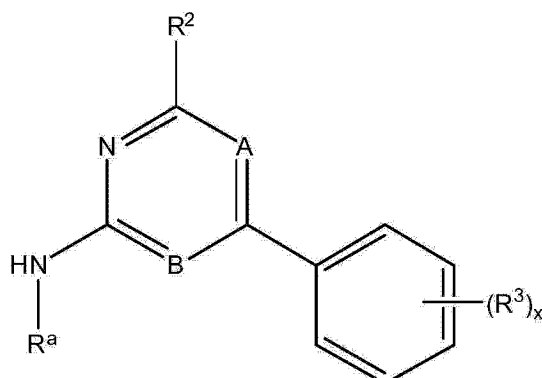


式 E

[0272] 其中 R¹ 如通式 (I) 中定义，并且 L₄ 表示适合的离去基；

[0273] 与式 F 的化合物或其被保护的衍生物反应

[0274]



式 F

[0275] 其中 R^a、R²、R³、x、A 和 B 如通式 (I) 中定义。

[0276] 在步骤 (c) 中，示例性的 L₄ 取代基包括卤素（如 Cl）和 OC(O)OC₁₋₄ 烷基（如 OC(O)O 异丁基）。

[0277] 当 L_4 表示氯时,可以在有机溶剂(如二氯甲烷)中,适合地进行式 E 的化合物与式 F 的化合物的反应。所述反应可以在亲核催化剂(如二甲基氨基吡啶)存在下适合地进行。

[0278] 当 L_4 表示 $OC(O)OC_{1-4}$ 烷基时,可以在有机溶剂(如四氢呋喃)中,适合地进行式 E 的化合物与式 F 的化合物的反应。

[0279] 式 E 的化合物(其中 L_4 表示 $OC(O)OC_{1-4}$ 烷基)可以通过相应的羧酸与氯甲酸烷基酯的反应来合成。所述反应可以适合地在有机溶剂(如四氢呋喃)中进行。所述反应可以在额外的试剂例如 N-甲基-哌的存在下适合地进行。这样的式 E 的化合物(其中 L_4 表示 $OC(O)OC_{1-4}$ 烷基)可以原位制备。

[0280] 式 E 的化合物(其中 L_4 是氯)可以由相应的羧酸通过与亚硫酰氯反应来制备,并且可以任选地原位制备。

[0281] 式 E 的其他化合物易于得到,或者可以通过已知的方法合成。

[0282] 通过与关于式 A 的化合物和式 B 的化合物之间的反应所描述的相似的交叉偶联反应(如通过 Suzuki 反应),可以由如上定义的式 B 的化合物与如上定义的式 D 的化合物合成式 F 的化合物。

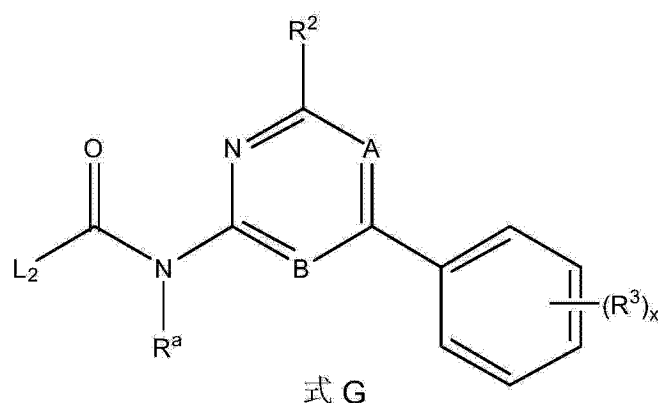
[0283] 或者,本发明提供用于制备式 (I) 的化合物或其被保护的衍生物的方法,所述方法包括:

[0284] (d) 通过以下方法制备式 (I) 的化合物,其中 R^1 是通过氮原子与式 (I) 的主要羰基相连的部分

[0285] (如 $R^1 = -NR^{10}-(C_{1-6} \text{ 烷基})-R^{20}$ 或 $-NR^{10}R^{20}$,或者含氮杂环基并且其中 R^1 通过所述杂环基环的氮原子与式 (I) 的主要羰基相连),

[0286] 所述方法包括使相应的胺或其被保护的衍生物与式 G 的化合物或其被保护的衍生物反应

[0287]



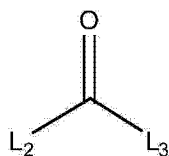
[0288] 其中 R^a 、 R^2 、 R^3 、 x 、A 和 B 如关于通式 (I) 所定义,并且 L_2 表示适合的离去基。

[0289] 在步骤 (d) 中,示例性的 L_2 取代基包括 OPh 或 OC_{1-4} 烷基。

[0290] 所述反应可以适合地在非极性有机溶剂(如甲苯)中进行。所述反应可以适合地在高温下,优选地在微波条件下进行。

[0291] 式 G 的化合物可以由如上定义的式 F 的化合物与式 H 的化合物合成

[0292]



式 H

[0293] 其中 L_3 表示适合的离去基 (如 Cl), 并且 L_2 如上关于式 G 所定义。

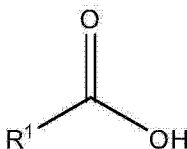
[0294] 适合的反应条件包括: 在碱 (如 DIPEA) 存在下, 在有机溶剂 (如二氯甲烷) 中, 氯甲酸苯酯 (式 N 的化合物) 与式 F 的化合物反应。

[0295] 式 H 的化合物是公知的并且易于得到, 或者可以由易于得到的原料通过已知的方法来制备。

[0296] 或者, 本发明提供用语制备式 (I) 的化合物或其被保护的衍生物的方法, 所述方法包括:

[0297] (e) 使如上定义的式 F 的化合物或其被保护的衍生物与式 J 的化合物

[0298]



式 J

[0299] 其中 R^1 如关于通式 (I) 所定义,

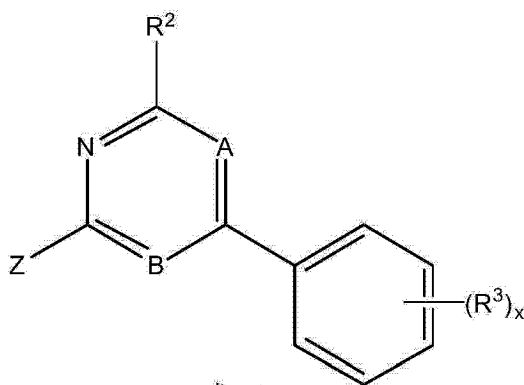
[0300] 在适合的偶联剂如 HATU 或 HBTU 存在下反应。所述反应适合地在高温下进行。所述反应可以适合地在有机溶剂 (例如二氯甲烷或乙腈) 中进行, 并且可以适合地在碱 (例如 DIPEA) 存在下进行。

[0301] 式 J 的化合物是已知的并且易于得到, 或者可以由易于得到的原料通过已知的方法制备。

[0302] 或者, 本发明提供用于制备式 (I) 的化合物或其被保护的衍生物的方法, 所述方法包括:

[0303] (f) 使式 K 的化合物

[0304]



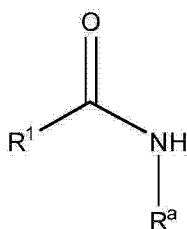
式 K

[0305] 其中 R^2 、 R^3 、 x 、A 和 B 如关于通式 (I) 所定义, 并且 Z 表示交叉偶联反应的适合的

取代基（如氯）

[0306] 与式 L 的化合物

[0307]



式 L

[0308] 其中 R¹ 和 R^a 如关于通式 (I) 所定义，

[0309] 在偶联反应例如 Buchwald 型偶联反应的适合条件下，例如在适合的催化剂和碱的存在下（如在 Pd(PPh₃)₄、Xantophos 和碳酸铯的存在下）反应。

[0310] 式 K 和式 L 的化合物是已知的且易于得到，或者从易于得到的原料通过已知的方法制备。例如，式 K 的化合物可以通过交叉偶联反应（如通过 Suzuki 偶联反应）制备。

[0311] 或者，本发明提供用于制备式 (I) 的化合物或其被保护的衍生物的方法，所述方法包括：

[0312] (g) 通过使如上定义的式 F 的化合物与下式的化合物反应：

[0313] R²⁰N = C = O 或 R²⁰-(C₁₋₆ 烷基)-N = C = O

[0314] 其中 R²⁰ 如关于通式 (I) 所定义，例如 R²⁰ 表示杂芳基基团如吡啶，

[0315] 来制备式 (I) 的化合物，其中 R¹ 是 -NHR²⁰ 或 -NH-(C₁₋₆ 烷基)-R²⁰。

[0316] 所述反应适合地在碱（例如三乙胺）的存在下进行。

[0317] 某些中间体化合物是新的并且做为本发明的方面要求保护。

[0318] 在本发明的优选的实施方案中，式 I 的细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂抑制选自下组的 CDK：CDK1、CDK2、CDK3、CDK4、CDK5、CDK6、CDK7、CDK8、CDK9、CDK10、CDK11、CrkRS (Crk7、CDC2 相关的蛋白激酶 7)、CDKL1 (细胞周期蛋白依赖性激酶样 1)、KKIALRE、CDKL2 (细胞周期蛋白依赖性激酶样 2)、KKIAMRE、CDKL3 (细胞周期蛋白依赖性激酶样 3)、NKIAMRE、类似于细胞周期蛋白依赖性激酶样 1 的 CDKL4、CDC2L1 (细胞分裂周期 2 样 1)、PITSLRE B、CDC2L1 (细胞分裂周期 2 样 1)、PITSLRE A、CDC2L5 (细胞分裂周期 2 样 5)、PCTK1 (PCTAIRE 蛋白激酶 1)、PCTK2 (PCTAIRE 蛋白激酶 2)、PCTK3 (PCTAIRE 蛋白激酶 3) 或 PFTK1 (PFTAIRE 蛋白激酶 1)。

[0319] 所述抑制剂还可以抑制选自上组的多于一种的细胞周期蛋白依赖性激酶。

[0320] 在本发明的特定的优选实施方案中，式 I 的化合物抑制 CDK9。

[0321] 在本发明的进一步的实施方案中，式 I 的化合物选择性地抑制一种或多种 CDK，而对其他酶或蛋白基本上不具有抑制效力。

[0322] 在优选的实施方案中，这样的抑制性化合物对特定的 CDK 显示出增加的选择性。如在本文中使用的，“增加的选择性”意指，对选自上述 CDK 组的特定 CDK，所述抑制性化合物至少 10-100 倍地更具选择性。在本发明的优选实施方案中，对特定的 CDK，所述抑制性化合物 20-90 倍地更具选择性。在特定的优选实施方案中，对特定的 CDK，所述抑制性化合物 30-80 倍地更具选择性。

[0323] 在特定的优选实施方案中,式 I 的化合物对 CDK9 较之对其他 CDK 显示出增加的选择性。

[0324] 如在本文中使用的,术语“抑制 (inhibiting)”或“抑制 (inhibition)”意指化合物至少部分地下调、减小、降低、压制、灭活或抑制细胞周期蛋白依赖性激酶的细胞功能,即细胞周期蛋白依赖性激酶的活性或其表达的能力。

[0325] 此外,术语“细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂”意指能够下调、降低、压制或者调节细胞周期蛋白依赖性激酶的数量和 / 或活性的任何化合物或化合物组。抑制所述激酶可以通过任意的本领域已知的各种机制实现,所述机制包括但不限于,直接与所述激酶多肽结合,使所述激酶变性或者将其灭活,或者抑制编码所述激酶的基因的表达 (例如转录至 mRNA,翻译至新生多肽,和 / 或最终对成熟蛋白进行多肽修饰)。此外,细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂还可以干扰在 CDK 依赖性途径中作用于 CDK 下游的分子的表达、修饰、调节或激活。通常激酶抑制剂可以是蛋白质、多肽、核酸、小分子或其他化学实体。具体地,激酶抑制剂还包括靶向细胞周期蛋白依赖性激酶的单克隆或多克隆抗体。

[0326] 在优选的实施方案中,所述细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂选自自由如本文公开的式 I 表示的化合物。

[0327] 治疗用途

[0328] 式 I 的化合物是细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂。因此,预期它们具有停止或恢复控制异常分裂细胞中的细胞周期的能力。因此,表明式 I 的化合物会证明可用于治疗和 / 或预防增殖性疾病如癌症。

[0329] 已知 CDK 在凋亡、增殖、分化和转录中发挥作用,因此,式 I 的化合物还可用于治疗除增殖性疾病以外的疾病,例如感染性疾病、免疫性疾病、神经变性疾病和心血管疾病。

[0330] 此外,式 I 的化合物还显示出出乎预料的镇痛功效和抗炎功效。

[0331] 因此,在优选的实施方案中,式 I 的化合物可以用于治疗任何类型的疼痛的方法和 / 或药物组合物,所述疼痛包括慢性疼痛、神经性疼痛和 / 或炎性疼痛。

[0332] 在进一步优选的实施方案中,式 I 的化合物可以用于治疗炎性病症的方法和 / 或药物组合物。

[0333] 在特别优选的实施方案中,用于治疗疼痛或治疗炎性病症的式 I 的化合物对 CDK9 较之对其他 CDK 显示出增加的选择性。

[0334] 疼痛

[0335] 从实施例可见,向患有神经损害的小鼠给药式 I 的 CDK 抑制剂产生痛觉减退 (hypoalgesic) 效应,特别是在炎性疼痛和神经性疼痛的鼠科动物模型中。

[0336] 意外地发现抑制细胞周期蛋白依赖性激酶与介导痛觉减退效应有关。

[0337] 因此,在优选的实施方案中,本发明涉及治疗任何类型的疼痛的方法,所述方法包括给药有效量的式 I 的细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂。具体地,式 I 的化合物可以用于治疗慢性疼痛、神经性疼痛和 / 或炎性疼痛。在特别优选的实施方案中,用于治疗任何类型的疼痛的式 I 的化合物对 CDK9 较之对其他 CDK 显示出增加的选择性。

[0338] CDK9 在疼痛的产生中的作用可能是基于以下作用机制:细胞周期蛋白 T1 和 CDK9 均刺激 TNF α 的基础的启动子活性。TNF α 是控制炎性遗传网络的表达的促炎细胞因子和疼痛介质。对于细胞 TNF 受体应答的介导,细胞核因子 κ B (NF κ B) 途径至关重要。

TNF α 引发它募集至细胞因子基因,同时 Nf κ B 与 p-TEFb 复合物相互作用来刺激基因转录 (Barboric M 等,2001)。

[0339] 此外,已表明 CDK9 是作为 TNF α 受体复合物的成员的 TRAF2 的结合配偶体 (MacLachlan 等,1998),同时最近已确认促炎 IL6 受体复合物的亚基 GP130 是 CDK9 的另一潜在的结合配偶体 (Falco 等,2002)。作为在 TNF α 和白细胞介素信号转导中以及在 Nf κ B 介导的若干基因 (如作为疼痛介质的细胞因子)的表达中的关键角色,因此可以认为 CDK9 是治疗任何类型的疼痛例如炎性疼痛的主要靶点 (参见图 2)。

[0340] 为了治疗神经性疼痛,药理作用必须穿越血脑屏障 (BBB) 发生在中枢神经系统 (CNS) 中。小胶质细胞,作为 CNS 中的主要免疫细胞,例如,当激活时,释放各种有害因子如细胞因子 (TNF α 、IL1 β 、IL6) 及其他促炎分子 (Huwe 2003)。小胶质细胞被 TNF α 受体或 Toll-样受体的刺激激活,并且信号转导受 I κ 激酶 (IKK) 和 Nf κ B 介导,导致上述细胞因子的转录激活。已论述小胶质细胞贡献在慢性 CNS 疾病中起作用并且可能促进痛觉感知 (Watkins 等,2003)。

[0341] 最近已表明,转录因子 Nf κ B 通过白细胞介素 1 β (IL1 β) 调节脊髓内的环加氧酶-2 (COX-2) 的表达 (Lee 等,2004)。作为脊柱前列腺素 E2 增加的主要原因,痛觉介质 COX-2 已被认为是各种镇痛药 / 抗炎药的靶点。在动物模型中已证明了 Nf κ B 抑制剂显著地降低 COX-2 水平和机械性异常性疼痛以及热痛觉过敏的能力。

[0342] 较之 COX-2,抑制 CDK9 作用会导致抑制各种痛觉介质而不是仅抑制单一一种。因此,CDK9 抑制剂的镇痛作用可能优越于例如 COX-2 抑制剂。

[0343] 由于其与 Nf κ B 介导的基因转录的相关性,因此与 CDK9 的抑制性相互作用可能不仅是用于治疗急性炎性疼痛而且是用于治疗慢性疼痛的合理方法。

[0344] 如在本文中使用的,术语“疼痛”通常涉及任何类型的疼痛并且广义上包括各类疼痛如急性疼痛、慢性疼痛、炎性疼痛和神经性疼痛。在本发明的优选实施方案中,“疼痛”包括神经性疼痛及相关病症。所述疼痛可以是慢性疼痛、异常性疼痛 (从正常的无害刺激感知疼痛)、痛觉过敏 (对任何特定痛觉刺激的放大的反应) 以及感受野的扩展 (即当施加刺激时“疼痛”的面积)、幻痛或炎性疼痛。

[0345] 急性疼痛类型包括但不限于组织损伤相关的疼痛、术后疼痛、创伤后疼痛、因烧伤所致的疼痛、因局部或全身性感染所致的疼痛、与以下疾病相关的内脏痛,所述疾病包括:胰腺炎、间质性膀胱炎 (intestinal cystitis)、痛经、肠易激综合征、克罗恩病、输尿管绞痛和心肌梗死。

[0346] 此外,术语“疼痛”包括与中枢神经系统病症有关的疼痛,所述中枢神经系统病症包括:多发性硬化、脊髓损伤、外伤性脑损伤、帕金森病和中风。

[0347] 在优选的实施方案中,“疼痛”涉及慢性疼痛类性,包括头痛 (例如偏头痛、阵发性和慢性紧张性头痛、类紧张性头痛、丛集性头痛和慢性阵发性偏头痛)、腰痛、癌症疼痛、骨性关节炎疼痛和神经性疼痛、但不限于此。

[0348] 本文定义的炎性疼痛 (应答组织损伤和所致的炎性过程的疼痛) 涉及与疾病包括结缔组织疾病、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化和关节炎相关的炎性疼痛,但不限于此。

[0349] 神经性疼痛 (由周围神经损伤或中枢神经系统本身的损伤所致的疼痛) 包括这

样的病症,所述病症包括但不限于代谢性神经病(例如糖尿病神经病变)、疱疹后神经痛、三叉神经痛、脑神经痛、中风后神经性疼痛、多发性硬化相关的神经性疼痛、HIV/AIDS-相关的神经性疼痛、癌症相关的神经性疼痛、腕管相关的神经性疼痛、脊髓损伤相关的神经性疼痛、复杂性区域疼痛综合征、纤维肌痛相关的神经性疼痛、反射交感神经营养不良(reflex sympathetic dystrophy)、幻肢综合征或者周围神经或脊髓损伤、神经横断包括手术、截肢术和残肢痛、因抗癌和抗 AIDS 治疗的副作用所致的疼痛、术后神经性疼痛、神经病相关的疼痛例如特发性或外伤后神经病和单神经炎中的疼痛,以及因结缔组织疾病如类风湿性关节炎、瓦伦伯格综合征、系统性红斑狼疮、多发性硬化或者结节性多动脉炎所致的神经性疼痛。所述神经病可以分类成神经根病、单神经病、多发性单神经病、多神经病或神经丛病。

[0350] 术语“异常性疼痛”意指由正常地不令人疼痛的刺激引起的疼痛。异常性疼痛可能发生在受刺激区域以外的区域。

[0351] 术语“痛觉过敏”意指对疼痛刺激的敏感度增强。

[0352] 术语“痛觉减退”意指对疼痛刺激的敏感度降低。

[0353] 炎性疾病

[0354] 令人惊奇地,可能表明,在体外和体内炎性测定中,如本文公开的式 I 的 CDK 抑制性化合物发挥抗炎功效。

[0355] 因此,在优选的实施方案中,本发明涉及治疗炎性疾病的方法,所述方法包括给药有效量的式 I 的细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂。在特别优选的实施方案中,用于治疗炎性疾病的式 I 的化合物对 CDK9 较之对其他 CDK 显示出增加的选择性。

[0356] CDK9 在炎性疾病的发病中的作用可能是基于以下作用机制:炎性疾病例如类风湿性关节炎(RA)、动脉粥样硬化、哮喘、炎症肠疾病、系统性红斑狼疮和若干其他自身免疫性疾病是由肿瘤坏死因子 α (TNF α) 介导的, TNF α 是所述疾病中的炎性和组织阻塞性途径的主要调节因子。已知 TNF α 信号转导由若干转导蛋白如 I κ B 激酶 (IKK), 其磷酸化 I κ B 蛋白, 此蛋白当其被磷酸化时从 Nf κ B 解离。解离的 Nf κ B (细胞因子转录的正调节因子) 转移至细胞核内, 在此它与其识别位点结合。

[0357] 已在 RA 患者的滑膜中发现了激活的 Nf κ B [Han 等; 2003, Autoimmunity, 28, 197-208]。它调节促炎基因如 TNF α 、IL-6、IL-8、NOS 和 COX2。在许多关节炎的动物模型中已证明, 靶向 Nf κ B 及其上游信号转导配偶体 IKK 是有效的治疗策略 [Firestein, 2003, Nature 423, 356-361]。

[0358] 结合的 Nf κ B 与包含组蛋白乙酰转移酶 (CBP、p300、p/CAF、SRC-1 和 SRC-1-相关蛋白) 的辅激活蛋白复合物结合, 所述复合物募集并激活催化 RNA Pol II 的 CTD 的磷酸化的 CDK9 [West 等; 2001, Journal of Virology 75(18), 8524-8537]。所致的 RNA Pol II CTD 过度磷酸化导致已知也受 TNF α 调节的促炎细胞因子例如 IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 的转录激活。

[0359] 若干研究表明, TNF α 是调节促炎细胞因子表达的自体信号转导级联的“总调节因子”。为了打断此促炎级联, 可以使用特异性抗体 (Abs) 来成功地阻断 TNF α 信号转导。在若干临床研究中, 已证明使用 Abs 的 RA 的抗 TNF α 治疗的治疗效力, 并且 FDA 批准的药物如英利昔单抗和依那西普已上市 [Feldmann 和 Maini, NatMed, 2003, 9(10); 356-61]。但是, 基于 Ab 的疗法的缺点包括它们的免疫原性可能性、在进行治疗期间伴随的效力下降以

及昂贵的治疗费用。此外,Ab 动力学能够大体上完全或完全不地降低循环 $\text{TNF } \alpha$ 。因此,免疫应答的生理功能也被抑制 [Laufer 等, *Inflammation and Rheumatic Diseases*, 2003; Thieme, pp. 104-5]。

[0360] 在大多数情况下,由于缺乏对各个靶的特异性,用针对靶例如 p38MAPK 或 IKK 的激酶抑制剂治疗性地干预 $\text{TNF } \alpha$ 介导的信号转导级联已表现出严重的副作用。

[0361] 与其不同,如本文所述的式 I 的 CDK 特异性抑制剂可以在 $\text{TNF } \alpha$ 信号转导途径的最末端进行干预,这样减少了与生理功能的相互作用。此外,所述化合物,凭借优越的特异性避免有害效应,由此能够打断自身 $\text{TNF } \alpha$ 介导的炎性网络。因此,用式 I 的 CDK 特异性抑制剂治疗构成治疗炎性疾病和自身免疫性疾病的有希望的策略。

[0362] 因此,如本文所述的式 I 的化合物可以用于治疗和 / 或预防炎性疾病。

[0363] 如在本文中使用的,“炎性疾病”涉及由引起身体组织炎症并随后产生急性或慢性炎症病症的免疫系统或组织的细胞或非细胞介质引发的疾病。

[0364] 这样的炎性疾病的实例是 I-IV 型的超敏感性反应,例如,但不限于肺的超敏感性疾病包括哮喘、特应性疾病、变应性鼻炎或结膜炎、眼睑的血管性水肿、遗传性血管性水肿、抗受体超敏感性反应和自身免疫性疾病、桥本甲状腺炎、系统性红斑狼疮、肺出血肾炎综合征、天疱疮、重症肌无力、格雷夫斯氏病和雷诺病、B 型胰岛素抵抗性糖尿病、类风湿性关节炎、银屑病、克罗恩病、硬皮病、混合性结缔组织病、多肌炎、结节病、韦格纳肉芽肿病、肾小球肾炎、急性或慢性宿主抗移植反应。

[0365] 此外,术语“炎性疾病”包括但不限于:腹腔炎症、皮炎、胃肠炎症(包括炎性肠疾病、溃疡性结肠炎)、纤维化、眼睛和眼眶炎症、由干燥综合征所致的干眼病以及严重干眼病、乳腺炎、耳炎、口炎、肌肉骨骼系统炎症(包括痛风、骨性关节炎)、中枢神经系统的炎性疾病(包括多发性硬化、细菌性脑膜炎、脑膜炎)、泌尿生殖道炎症(包括前列腺炎、肾小球肾炎)、心血管炎症(包括动脉粥样硬化、心力衰竭)、呼吸道炎症(包括慢性支气管炎、慢性阻塞性肺病)、甲状腺炎、糖尿病、胃炎、肌炎、多器官功能衰竭(包括脓毒症)、多肌炎和银屑病关节炎。

[0366] 免疫性疾病

[0367] 还预期式 I 的化合物可用于治疗和 / 或预防免疫性疾病,例如自身免疫性疾病。

[0368] 因此,本发明提供用于治疗和 / 或预防免疫性疾病的方法,所述方法包括向有此需要的个体给药有效量的至少一种式 I 的 CDK 抑制剂。

[0369] 如在本文中使用的,术语“免疫性疾病”涉及疾病包括但不限于:变态反应、哮喘、移植物抗宿主病、免疫缺陷和自身免疫疾病。

[0370] 特别地,免疫性疾病包括糖尿病、风湿性疾病、AIDS、慢性肉芽肿病、移植器官和组织的排斥反应、鼻炎、慢性阻塞性肺病、骨质疏松、溃疡性结肠炎、克罗恩病、鼻窦炎、红斑狼疮、银屑病、多发性硬化、重症肌无力、脱发、多发性感染、特应性皮炎、湿疹,以及严重的过敏反应,但不限于此。此外,“免疫性疾病”还包括变态反应例如接触性变态反应、食物变态反应或药物变态反应。

[0371] 增殖性疾病

[0372] 式 I 的化合物是代表参与调节细胞周期的关键分子的细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂。细胞周期失调是赘生性细胞的主要特征之一。因此,预期证明所述化合物可用

于停止或恢复控制异常分裂细胞中的细胞周期。因此,预期式 I 的化合物可用于治疗和 / 或预防增殖性疾病如癌症。

[0373] 因此,本发明提供用于治疗和 / 或预防增殖性疾病的方法,所述方法包括给药有效量的至少一种式 I 的细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂。

[0374] 如在本文中使用的,术语“增殖性疾病”涉及癌症,包括但不限于良性瘤、发育异常、增生,以及表现出转移生长或任何其他转变的瘤。

[0375] 术语“癌症”包括但不限于良性瘤和恶性瘤,如癌、肉瘤、癌肉瘤、形成血液的组织的癌、神经组织包括脑的肿瘤,以及皮肤细胞癌症。

[0376] 可以治疗的癌症的实例包括但不限于,癌,例如,膀胱癌、乳腺癌、结肠癌(例如结肠直肠癌如结肠腺癌和结肠腺瘤)、肾癌、表皮癌、肝癌、肺癌例如腺癌、小细胞肺癌和非小细胞肺癌、食道癌、胆囊癌、卵巢癌、胰腺癌如外分泌胰腺癌、胃癌、宫颈癌、甲状腺癌、前列腺癌,或者皮肤癌例如鳞状细胞癌;淋系的造血肿瘤,例如白血病、急性淋巴细胞白血病、B 细胞淋巴瘤、T 细胞淋巴瘤、何杰金淋巴瘤、非何杰金淋巴瘤、毛细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤;髓系的造血肿瘤,例如急性和慢性髓性白血病、骨髓增生异常综合征或前髓细胞性白血病;甲状腺滤泡癌;间质源肿瘤,例如纤维肉瘤或横纹肌肉瘤;中枢神经系统或周围神经系统的肿瘤,例如星形细胞瘤、神经母细胞瘤、神经胶质瘤或神经鞘瘤;黑素瘤;精原细胞瘤;畸胎瘤;骨肉瘤;色素性干皮症(xeroderma pigmentosum);角化棘皮瘤(keratocanthoma);甲状腺滤泡癌;卡波西肉瘤、星形细胞瘤、基底细胞癌、小肠癌、小肠瘤、胃肠瘤、胶质母细胞瘤、脂肪肉瘤、胚细胞瘤、头颈瘤(耳、鼻和喉部位的肿瘤)、口癌、喉癌、喉癌和食道癌;骨及其支持组织和结缔组织的癌症如恶性或良性骨瘤,例如恶性成骨肉瘤、良性骨瘤、软骨瘤;如恶性软骨肉瘤或良性软骨瘤、骨肉瘤;膀胱以及雄性和雌性泌尿生殖系统的内部和外部器官和结构的肿瘤、软组织瘤、软组织肉瘤、维尔姆斯肿瘤、或内分泌腺和外分泌腺的癌症如甲状腺癌、甲状旁腺癌、垂体癌、肾上腺癌、唾液腺癌。

[0377] 感染性疾病

[0378] 此外,本发明涉及治疗和 / 或预防感染性疾病的方法,所述方法包括给药有效量的至少一种式 I 的细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂。

[0379] 已知某些宿主细胞 CDK 参与病毒复制,即 CDK2、CDK7、CDK8 和 CDK9(J. Virol. 2001; 75:7266-7279)。特别地,已描述了 CDK9 激酶活性在调节 HIV-1 转录延伸和组蛋白甲基化中的作用(J. Virol. 2004, 78(24):13522-13533)。

[0380] 因此,在优选的实施方案中,本发明涉及治疗和 / 或预防感染性疾病的方法,所述方法包括给药有效量的至少一种式 I 的细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂,其中所述化合物对 CDK9 较之对其他 CDK 显示出增加的选择性。

[0381] 如在本文中使用的,术语“感染性疾病”包括由病原体如病毒、细菌、真菌和 / 或寄生虫所致的感染。

[0382] 病毒诱导的感染性疾病包括因感染以下病毒所致的疾病,所述病毒包括:反转录病毒、人内源性反转录病毒、嗜肝性 DNA 病毒、疱疹病毒、虫媒病毒、腺病毒、披膜病毒类和痘病毒类。特别地,感染性疾病是由以下病毒引起的,所述病毒包括但不限于病毒如 HIV-1、HIV-2、HTLV-I 和 HTLV-II,嗜肝性 DNA 病毒如 HBV,疱疹病毒如单纯疱疹病毒 I 型(HSV I)、单纯疱疹病毒 II 型(HSV II)、EB 病毒(EBV)、水痘带状疱疹病毒(VZV)、人巨细胞病毒

(HCMV) 或人疱疹病毒 8 型 (HHV-8)、虫媒病毒例如 HCV、西尼罗河病毒或黄热病毒、人乳头状瘤病毒、痘病毒类、辛德毕斯病毒或腺病毒。

[0383] 感染性疾病的实例包括但不限于：AIDS、包柔螺旋体病、肉毒中毒、腹泻、BSE (牛海绵状脑病)、切昆贡亚热、霍乱、CJD (克 - 雅二氏病)、结膜炎、巨细胞病毒感染、登革热、脑炎、东方马脑炎、西方马脑炎、EB 病毒感染、大肠杆菌感染、经食物感染、口蹄疫、真菌性皮炎、胃肠炎、幽门螺旋杆菌感染、肝炎 (HCV、HBV)、带状疱疹、HIV 感染、流行性感、疟疾、麻疹、脑膜炎、脑膜脑炎、传染性软疣、蚊媒疾病、细小病毒感染、鼠疫、PCP (肺孢子虫病)、脊髓灰质炎、原发性胃肠炎、Q 热、狂犬病、呼吸道合胞体病毒 (RSV) 感染、风湿热、鼻炎、裂谷热、轮状病毒感染、沙门氏菌病、肠炎沙门菌、疥疮、细菌性痢疾、天花、链球菌感染、破伤风、中毒性休克综合征、结核病、溃疡 (消化性溃疡病)、出血热、痘症、疣、西尼罗河病毒感染 (西尼罗河脑炎)、百日咳、黄热病。

[0384] 心血管疾病

[0385] 此外，本发明涉及治疗和 / 或预防心血管疾病的方法，所述方法包括给药有效量的至少一种式 I 的细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂。

[0386] 已报告心血管疾病领域构成 CDK 抑制剂可能的临床应用 (Pharmacol Ther 1999, 82 (2-3) :279-284)。此外，已知抑制细胞周期蛋白 T/CDK9 复合物，而且更具体地，抑制 CDK9 可以在心血管疾病如心力衰竭的治疗中起有益作用 (WO2005/027902)。

[0387] 因此，在优选的实施方案中，本发明涉及治疗和 / 或预防心血管疾病的方法，所述方法包括给药有效量的至少一种式 I 的细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂，其中所述化合物对 CDK9 较之对其他 CDK 显示出增加的选择性。

[0388] 术语“心血管疾病”包括但不限于心脏和血管系统的病症，例如充血性心力衰竭、心肌梗死、心脏缺血性疾病如稳定型心绞痛、不稳定型心绞痛和无症状性缺血，所有种类的房性和室性心律失常、高血压性血管疾病、外周血管疾病、冠状动脉心脏病和动脉粥样硬化。此外，如在本文中使用的，该术语包括但不限于：成人先天性心脏病、动脉瘤、心绞痛、血管神经性水肿、主动脉瓣狭窄、主动脉瘤、主动脉瓣反流、心律失常性右心室发育不良、动静脉畸形、心房颤动、贝赫切特综合征、心动过缓、心脏扩大症、心肌病如充血型心肌病、肥厚型心肌病和限制型心肌病、颈动脉狭窄、脑出血、丘 - 施二氏综合征、胆固醇栓塞、细菌性心内膜炎、纤维肌性发育不良、充血性心力衰竭、心脏瓣膜疾病如瓣膜闭锁不全或瓣膜狭窄、心脏病发作、硬脑膜外血肿或硬脑膜下血肿、希 - 林二氏病、充血、高血压、肺动脉高压、肥大性生长，左心室肥大、右心室肥大、左心发育不全综合征、低血压、间歇性跛行、缺血性心脏病、克 - 特 - 韦三氏综合征、延髓外侧综合征、二尖瓣脱垂、QT 延长综合征二尖瓣脱垂、心肌缺血、心肌炎、心包膜病症、心包炎、外周血管疾病、静脉炎、结节性多动脉炎、肺动脉瓣闭锁、雷诺病、再狭窄、风湿性心脏病、Sneddon 综合征、狭窄、上腔静脉综合征、X 综合征、心动过速、遗传性出血性毛细血管扩张症、毛细血管扩张、颞动脉炎、血栓闭塞性血管炎、血栓形成、血栓栓塞、静脉曲张、血管疾病、血管炎、血管痉挛、心室纤颤、威廉斯综合征、外周血管疾病、静脉曲张和小腿溃疡、深静脉血栓形成以及午 - 帕 - 怀三氏综合征。

[0389] 此外，术语心血管疾病包括由先天性缺陷、遗传缺陷、环境影响 (即饮食影响、生活方式、压力等) 以及其他缺陷或影响所致的疾病。

[0390] 神经变性疾病

[0391] 已描述 CDK 抑制剂发挥神经保护功效。特别地,已报告在神经变性疾病如阿尔茨海默病中,CDK 抑制剂阻止神经元死亡 (Biochem Biophys Res Commun 2002(297): 1154-1158;Trends Pharmacol Sci 2002(23):417-425;Pharmacol Ther 1999,82(2-3): 279-284)。

[0392] 因此,预期在神经变性疾病的治疗中作为 CDK 抑制剂的式 I 的化合物提供有益的功效。

[0393] 因此,本发明涉及治疗和 / 或预防神经变性疾病的方法,所述方法包括给药有效量的至少一种式 I 的细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂。

[0394] 如在本文中使用的,术语“神经变性疾病”包括中枢神经系统的病症以及周围神经系统的病症,包括但不限于:脑损伤、脑血管疾病及它们的后遗症、帕金森病、皮质基底节变性、运动神经元疾病、痴呆包括 ALS、多发性硬化、外伤性脑损伤、中风、中风后、外伤性脑损伤后和小血管脑血管疾病、痴呆例如阿尔茨海默病、血管性痴呆、Lewy 体痴呆、额颞型痴呆以及与染色体 17 相关的帕金森症、额颞型痴呆包括匹克病、进行性核麻痹 (progressive nuclear palsy)、皮质基底节变性、亨廷顿病、丘脑变性、克 - 雅二氏痴呆、HIV 痴呆、伴有痴呆的精神分裂症、科尔萨科夫精神病和 AIDS 相关性痴呆。

[0395] 类似地,认知相关性病症,例如轻度认知缺损、年龄相关性记忆缺损、年龄相关性认知衰退、血管性认知缺损、患有学习失能的儿童的注意缺陷障碍、注意缺陷障碍伴多动症以及记忆障碍,也被认为是神经变性疾病。

[0396] 具体地,本发明涉及用于治疗上述类型的疼痛及相关病症和炎性病症、免疫性疾病、增殖性疾病、感染性疾病、心血管疾病和神经变性疾病的方法,其中术语“治疗”包括预防、改善或治疗疼痛及相关病症和炎性病症、免疫性疾病、增殖性疾病、感染性疾病、心血管疾病和神经变性疾病。

[0397] 因此,在本发明的进一步的方面,提供用于医学,特别是用于治疗或预防由细胞周期蛋白依赖性激酶尤其是 CDK9 的活性介导的疾病和病症的通式 (I) 的化合物。

[0398] 进一步提供通式 (I) 的化合物在制备用于治疗或预防由细胞周期蛋白依赖性激酶尤其是 CDK9 的活性介导的疾病和病症的药剂中的用途。

[0399] 此外,本发明提供治疗或预防由细胞周期蛋白依赖性激酶尤其是 CDK9 的活性介导的疾病和病症的方法,所述方法包括向需要这样的治疗的患者给药有效量的通式 (I) 的化合物。

[0400] 如上所述,由细胞周期蛋白依赖性激酶的活性介导的病症包括疼痛、炎性病症、增殖性疾病、免疫性疾病、感染性疾病、心血管疾病和神经变性疾病。

[0401] 以上详细讨论了属于这些类别的具体病症和疾病。

[0402] 药物组合物

[0403] 本发明的优选实施方案包括给药组合物,所述组合物包含作为活性成分的至少一种式 I 的细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂,以及至少一种药学可接受的 (即无毒性的) 载体、赋形剂和 / 或稀释剂。这样的组合物构成本发明的进一步的方面。

[0404] 适合地,所述组合物包含作为活性成分的至少一种式 I 的细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂,其中所述至少一种细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂对 CDK9 比其他 CDK 具有增加的选择性。

[0405] 此外,本发明还包括兼有至少两种 CDK 的抑制剂和 / 或其药学可接受的盐的组合物。所述至少两种抑制剂可以抑制相同的细胞周期蛋白依赖性激酶或者还可以抑制不同类型的细胞周期蛋白依赖性激酶,例如,所述组合物中的一种抑制剂可以抑制 CDK9 而另一种抑制剂能够抑制例如 CDK2。

[0406] “药学可接受的盐”意指保持式 I 的化合物的生物学有效性和性质并且由适合的无毒性有机或无机酸或者有机或无机碱形成的常规的酸加成盐或碱加成盐。酸成盐的实例包括得自无机酸如盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、氨基磺酸、磷酸和硝酸的那些,以及得自有机酸如对甲苯磺酸、水杨酸、甲磺酸、草酸、琥珀酸、柠檬酸、苹果酸、乳酸、富马酸等的那些。

[0407] 关于疼痛治疗,单一疼痛药物由于它仅干扰许多疼痛转导途径中的一种,通常仅部分地有效地缓解疼痛。因此,也意图联合作用于疼痛感知过程中不同点的减轻疼痛的药剂(镇痛药),给药式 I 的 CDK 抑制剂。

[0408] “镇痛药”包括使疼痛感知减弱的分子或分子组合。镇痛药采用不同于抑制 CDK 的作用机制。

[0409] 一类镇痛药,例如非甾体抗炎药(NSAID),其下调被伤害感受器检测到的刺激的化学信使,另一类的药物,例如阿片样物质,改变中枢神经系统中感受伤害性信息的处理。其他镇痛药是局部麻醉药、抗惊厥药和抗抑郁药如三环抗抑郁药。除了 CDK 抑制剂之外,给药一种或多种药物可以更有效地缓解疼痛。

[0410] 用于本发明的方法和组合物的优选的 NSAID 是阿司匹林、醋氨酚、布洛芬和吲哚美辛。此外,环加氧酶-2(COX-2)抑制剂如特异性的 COX-2 抑制剂(例如塞来昔布、COX189 和罗非昔布)也可以在本发明的方法或组合物中用作镇痛剂。

[0411] 优选的三环抗抑郁药选自:氯米帕明、阿莫沙平、去甲替林、阿米替林、丙米嗪、地昔帕明、多塞平、曲米帕明、普罗替林和双羟萘酸丙米嗪。

[0412] 此外,在本发明的方法和组合物中,还优选使用以下药物作为镇痛药:抗惊厥药(如加巴喷丁)、GABA_B激动药(如 L-巴氯芬)、阿片样物质、辣椒素(vanniloid)受体拮抗药和大麻素(CB)受体激动药如 CB1 受体。

[0413] 在制备本发明的细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂组合物时,可以遵循公知的药理学来源的标准建议,例如 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第 19 版, (Mack Publishing, 1995)。

[0414] 按照已知的方法,在常规的固体或液体载体或稀释剂和常规的药用(pharmaceutically-made)辅料中,可以制备适合的剂量水平的本发明的药物组合物。优选的制剂是适合于口服给药。这些给药形式包括例如丸剂、片剂、薄膜衣片剂、包衣片剂、胶囊剂、散剂和贮库制剂(deposit)。

[0415] 此外,本发明还包括用于肠胃外给药的药物制剂,肠胃外给药包括皮肤给药、皮内给药、胃内给药、皮内给药(intracutan)、血管内给药、静脉内给药、肌肉内给药、腹膜内给药、鼻内给药、阴道内给药、含服给药(intrabuccal)、经皮给药(percutaneous)、直肠给药、皮下给药、舌下给药、局部给药或透皮给药,其中所述制剂除了包含常规的载体和 / 或稀释剂之外还包含至少一种本发明的抑制剂和 / 或其药学可接受的盐作为活性成分。

[0416] 包含至少一种本发明的抑制剂和 / 或其药学可接受的盐作为活性成分的本发明的药物组合物,典型地会与根据期望的给药形式选择的适合的载体材料一起给药,即对于

口服给药采用片剂、胶囊剂（固体填充的胶囊剂、半固体填充的胶囊剂或液体填充的胶囊剂）、配制型散剂（powders for constitution）、凝胶剂、酏剂、可分散的颗粒剂、糖浆剂、混悬剂等形式，并且符合常规的药学实践。例如，对于采用片剂或胶囊剂的形式口服给药，可以将活性药物组分与任何口服无毒性的药学可接受的载体混合，优选地与惰性载体如乳糖、淀粉、蔗糖、纤维素、硬脂酸镁、磷酸二钙、硫酸钙、滑石、甘露醇、乙醇（液体填充的胶囊剂）等混合。

[0417] 此外，还可以将适合的粘合剂、润滑剂、崩解剂和着色剂混合入片剂或胶囊剂中。散剂和片剂可以包含约 5 重量% - 约 95 重量%的如本文所述的式 I 的细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂或其类似物或各自的药学活性盐作为活性成分。

[0418] 适合的粘合剂非限制性地包括淀粉、明胶、天然糖例如葡萄糖或 β 乳糖、玉米甜味剂、天然的和合成的树胶如阿拉伯胶、黄蓍胶、或者油酸钠、藻酸钠、羧甲基纤维素、聚乙二醇和蜡。在适合的润滑剂中，可以提及硼酸、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠等。

[0419] 适合的崩解剂包括淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土、黄原胶、瓜尔胶等。

[0420] 适当时，还可以包含甜味剂和调味剂以及防腐剂。下文中更详细地讨论崩解剂、稀释剂、润滑剂、粘合剂等。

[0421] 作为可靶向的药物载体的适合的聚合物可以包括聚乙烯吡咯烷酮、吡喃共聚物、聚羟丙基甲基丙烯酸酰胺苯酚、聚羟乙基天冬酰胺苯酚、或被棕榈酰基取代的聚氧乙烯基聚赖氨酸。此外，本发明的化合物可以与用于实现药物的控制释放的生物可降解的聚合物类偶联，例如聚乳酸、聚 ϵ -己内酯、聚羟基丁酸、聚原酸酯、聚缩醛、聚二氢吡喃、聚氰基丙烯酸酯、以及水凝胶的交联的或两性的嵌段共聚物。

[0422] 此外，本发明的药物组合物可以制备成缓释剂型来提供组分或活性成分中的任何一种或多种的速度控制释放，以优化治疗效力如抗组胺活性等。适合的缓释剂型包括：具有充满活性成分并定型成片剂形式的不同崩解速度的层或控释聚合物基质的片剂，或者包含这样的被充满的或包裹的多孔聚合物基质的胶囊。

[0423] 液体形式的制剂包括溶液剂、混悬剂和乳剂。作为实例，可以提及：用于肠胃外注射的水或水 / 丙二醇溶液剂，或者对于口服溶液剂、混悬剂和乳剂添加甜味剂和遮光剂。液体形式制剂还可以包括用于鼻内给药的溶液剂。

[0424] 适用于吸入的气雾剂制剂可以包括可以与药学可接受的载体如惰性压缩气体如氮气混合存在的溶液和粉末形式的固体。

[0425] 为了制备栓剂，首先，将低熔点蜡如脂肪酸甘油酯如可可脂的混合物溶解，然后，例如通过搅拌，将活性成分均质地分散于其中。接着将熔融的均质的混合物倾入适宜大小的模具中，使其冷却并由此固化。

[0426] 还包括这样的固体形式制剂，其被设计成在使用前即刻被转化成液体形式制剂用于口服给药或肠胃外给药。这样的液体剂型包括溶液剂、混悬剂和乳剂。

[0427] 本发明的化合物还可以透皮递送。透皮组合物可以采用乳膏剂、洗剂、气雾剂和 / 或乳剂的形式，并且可以被包含在本领域已知的用于此目的的基质或贮库型透皮贴剂中。

[0428] 如在本文中使用的，术语胶囊指由例如甲基纤维素、聚乙烯醇或变性的明胶或淀粉制成的用于容纳或封装包含活性成分的组合物特定容器或外壳。硬壳胶囊典型地由混

合的或较高凝胶强度的来自骨或猪皮的明胶制成。胶囊本身可以包含少量的染料、遮光剂、增塑剂和 / 或防腐剂。对于片剂而言,应理解压制的或模制的固体剂型包括活性成分和适合的稀释剂。通过压制混合物或经湿法制粒、干法制粒所得的颗粒,或者通过本领域技术人员熟知的压制方法,可以制备所述片剂。

[0429] 口服凝胶剂意指将活性成分分散于或溶于亲水性半固体基质。

[0430] 配制型散剂包含粉末混合物,其包含活性成分和可以悬浮于如水或果汁中的适合的稀释剂。

[0431] 适合的稀释剂是通常构成所述组合物或剂型的主要部分的物质。适合的稀释剂包括糖类,例如乳糖、蔗糖、甘露醇和山梨糖醇、得自小麦、玉米、稻米和马铃薯的淀粉,以及纤维素如微晶纤维素。在所述组合物中,稀释剂可以占总组合物的重量的约 5% -95%,优选地约 25 重量% - 约 75 重量%,而且更适合地约 30 重量% - 约 60 重量%。

[0432] 术语崩解剂指加入所述组合物中以帮助药物的药学活性成分崩解和释放的材料。适合的崩解剂包括淀粉、“冷水可溶的”改性淀粉例如羧甲基淀粉钠,天然的和合成的树胶例如刺槐豆胶、梧桐胶、瓜尔胶、黄蓍胶和琼脂,纤维素衍生物例如甲基纤维素和羧甲基纤维素钠、微晶纤维素和交联的微晶纤维素如交联羧甲基纤维素钠,藻酸盐如藻酸和藻酸钠,粘土如膨润土,以及泡腾剂混合物。在所述组合物中,崩解剂可以占所述组合物中重量的约 2% - 约 20%,更适合地约 5 重量% - 约 10 重量%。

[0433] 粘合剂是使粉末微粒结合或“粘合”在一起并通过形成颗粒使它们内聚从而用作制剂中的“粘合剂”的物质。粘合剂使稀释剂或填充剂中已存在的内聚力增加。适合的粘合剂包括:糖类例如蔗糖、得自小麦、玉米、稻米和马铃薯的淀粉,天然树胶如阿拉伯胶、明胶和黄蓍胶,海藻的衍生物例如藻酸、藻酸钠和藻酸钙铵,纤维素材料例如甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和羟基丙基甲基纤维素,聚乙烯吡咯烷酮,以及无机化合物例如硅酸镁铝。在所述组合物中,粘合剂可以占所述组合物重量的约 2% - 约 20%,适合地约 3 重量% - 约 10 重量%,而且更适合地为约 3 重量% - 约 6 重量%。

[0434] 润滑剂指,加入剂型中,通过减少摩擦或磨损,使片剂颗粒等在压制后能够脱离模具或模圈的一类物质。适合的润滑剂包括:硬脂酸金属盐例如硬脂酸镁、硬脂酸钙或硬脂酸钾、硬脂酸、高熔点蜡,以及其他水溶性润滑剂例如氯化钠、苯甲酸钠、乙酸钠、油酸钠、聚乙二醇和 D, L- 亮氨酸。润滑剂通常在压制前的最后一步时添加,因为它们必须存在于颗粒表面。在所述组合物中,润滑剂可以占所述组合物重量的约 0.2% - 约 5%,适合地约 0.5 重量% - 约 2 重量%,而且更适合地约 0.3 - 约 1.5 重量%。

[0435] 助流剂是防止所述药物组合物的组分烘焙在一起并改善颗粒的流动性使得流动平滑且一致的材料。适合的助流剂包括二氧化硅和滑石。

[0436] 在所述组合物中,助流剂可以占最终组合物重量的约 0.1% - 约 5%,适合地约 0.5 重量% - 约 2 重量%。

[0437] 着色剂是为所述组合物或所述剂型提供着色的赋形剂。这样的赋形剂可以包括吸附至适合的吸附剂如粘土或氧化铝上的食品级染料。着色剂可以占所述组合物重量的约 0.1% - 约 5%,适合地约 0.1 重量% - 约 1 重量%。

[0438] 本发明涉及向有此需要的个体给药包含作为活性成分的细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂的组合物来治疗任何类型的疼痛、炎症病症、免疫性疾病、增殖性疾病、心血管疾

病或神经变性疾病。

[0439] “有此需要的个体”包括动物,适合地包括哺乳动物,而且最适合地包括人类,预期它们在不久的将来遭受任何类型的疼痛、炎症病症、免疫性疾病、增殖性疾病、心血管疾病或神经变性疾病,或者它们正遭受所述病症。例如,这样的动物或人类可能患有目前引起疼痛并且可能继续引起疼痛的进行中的病症,或者所述动物或人类已经受,正经受或将要经受通常产生疼痛后果的操作或事件。慢性疼痛病症如糖尿病神经性痛觉过敏和胶原血管病是第一种类型的实例;牙科手术(work),特别是在炎症或神经损伤部位,和毒素暴露(包括暴露于化学治疗药)是后一类型的实例。

[0440] 为了达到期望的治疗效果,必须按治疗有效量给药各个细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂。

[0441] 术语“治疗有效量”用于表示引起所述生物学或医学反应的活性化合物或药剂的量。此反应可以发生在研究者、兽医、医生或其他临床医师正研究的组织、系统、动物或人类中,并且包括缓解正受治疗的疾病的症状。在本发明的上下文中,治疗有效量包括,例如,减轻疼痛特别是减轻炎症疼痛或神经性疼痛的量。特别地,治疗有效量表示在受治疗个体中发挥痛觉减退效应的量。

[0442] 这样的有效量会随个体不同而不同,取决于所述个体对例如疼痛的正常敏感性、其高度、重量、年龄和健康状况、疼痛源、CDK 抑制剂的给药方式、给药的特定抑制剂以及其他因素。因此,建议凭经验确定在特定系列情况下针对特定个体的有效量。

[0443] 现在将参考实施例和附图更详细地描述本发明,其中:

[0444] 图 1 示意地描述保留性神经损伤模型(spared nerve injury model)(SNI 模型,由 Decosterd 和 Woolf(2000) 开发,其特征结扎并切断坐骨神经的两个分支(即胫神经和腓总神经)而保留腓肠神经完整无损。

[0445] 图 2 示意地描述 CDK9 作为靶在疼痛形成中的可能作用。

[0446] 图 3 描述在给药化合物 1A 和 16A 后,用 LPS 诱导的小鼠进行细胞因子(TNF α) 测量的结果。

[0447] 图 4A 和图 4B 描述给药化合物 1A、16A、20A 和 25A 对 LPS 诱导的 THP-1 巨噬细胞中 TNF α 和 IL-6 的表达的效力。图 4A 表示在 LPS 诱导的 THP-1 巨噬细胞中 TNF α 测量的结果。图 4B 表示在 LPS 诱导的 THP-1 巨噬细胞中 IL-6 测量的结果。

[0448] 制备所述化合物的通用方法

[0449] 所有试剂购自 ACROS Organics、Aldrich、Lancaster、Maybridge 和 Boron Molecular。

[0450] 在 Surveyor MSQ(Thermo Finnigan, USA) 上使用 APCI 电离进行所述化合物的 LC/MS 分析。

[0451] 在<<MERCURY plus 400MHz>>波谱仪(Varian)上记录 ^1H NMR 谱。用残余溶剂质子共振作为内标,相对于四甲基硅烷(TMS),以 ppm 给出化学位移值。

[0452] 在 Sanyo Gallenkamp 仪上测定熔点。

[0453] 分析方法

[0454] NMR 谱在 Bruker AM 400 波谱仪上或者在 Varian 400MHz Mercury Plus 波谱仪上进行。使用以下缩写:s(单峰)、d(双峰)、dd(双重双峰)、t(三重峰)和 m(多重

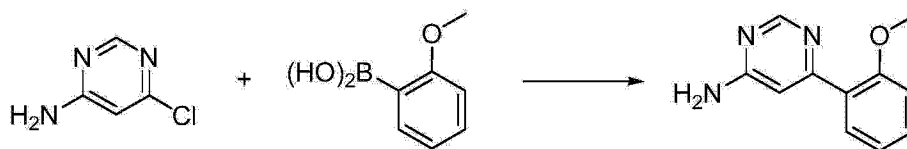
峰)。ESI-MS:用配置有 Ionspray™ 接口的 MDS Sciex API 365 质谱仪 (MDS Sciex;Thorn Hill, ON, Canada) 测定质谱。通过针对 Windows NT™ 的 Applied Biosystems (Foster City, CA, USA) Analyst™ 软件控制仪器设置、数据采集和处理。通过正电离 Q1 扫描模式进行 50 - 100 次扫描以累加峰。用在 0.5% 甲酸中的 50% 甲醇稀释样品溶液,达到浓度约 10 µg/ml。通过微量注射器 (1ml),经输液泵 (Havard Apparatus 22;Havard Instruments; Holliston, MA, USA) 和熔融石英毛细管,以 20ul/min 的速度将各样品溶液直接输入。使用 Macherey Nagel **Polygram**® SIL G/UV₂₄₅ 进行薄层色谱法 (TLC)。通过在 254nm 使用 UV 灯,然后用高锰酸钾或茚三酮染色,实现显色。在使用前蒸馏溶剂。所有可商购的试剂未经进一步纯化使用。使用 Merck-Hitachi 装置:AcN-水 (流速:1ml min⁻¹),柱:LiChrosphere 5um RP18e,125×4.0mm (Merck),泵:L-7100Merck-Hitachi,进行分析型 HPLC。使用梯度 A、B 和 C 来检测纯化的实施例的化合物。梯度 A 的特征:从在 t = 0min 时 AcN-水 (5/95),在 15min 内达到 AcN-水 (50/50),在另外 5min 后达到 AcN-水 (95/5),在 AcN-水 (95/5) 再保持 3min;梯度 B 的特征:从在 t = 0min 时 AcN-水 (5/95),在 15min 内达到 AcN-水 (60/40),在另外 5min 后达到 AcN-水 (95/5),在 AcN-水 (95/5) 再保持 10min;梯度 C 的特征:从在 t = 0min 时 AcN-水 (20/80),在 30min 内达到 AcN-水 (95/5)。使用 Merck-Hitachi 装置:AcN-水 (流速:6ml/min),柱:LUNA C18 (2) 100A,250×21.2mm,10 µ (Merck),接口:D-7000,UV-VIS Detector:L-7420,泵:L-6250Merck-Hitachi,进行制备型 HPLC。

[0455] 表 1 实施例

[0456] 方法以及原料的制备

[0457] 制备 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-胺,制备 A 类嘧啶的通用方法。

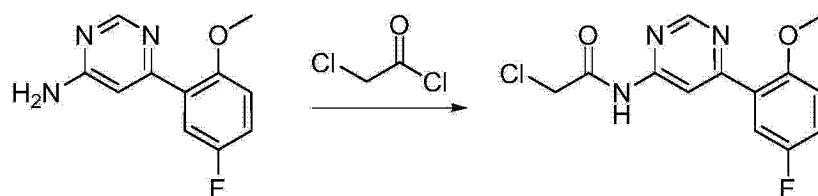
[0458]



[0459] 向 2-甲氧基苯基硼酸 (20.0g, 155mmol) 在 500ml 1,4-二氧六环中的溶液加入 200ml 饱和碳酸钠水溶液。在室温下,用氩气吹洗 30min。将 4-氨基-6-氯嘧啶 (28.1g, 186mmol) 和四(三苯基膦)钯 (9.00g, 77.5mmol) 同时加入反应混合物中,并再通入氩气 40min。将反应混合物加热至回流,保持 16h,经 TLC 确认反应结束,然后在减压下浓缩混合物。在 DCM 和水之间分配剩余物。分出有机层,用盐水、水洗涤,干燥 (Na₂SO₄),然后浓缩。通过硅胶柱色谱纯化所得粗品剩余物,用在 DCM 中的 15% 乙酸乙酯洗脱,得到 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-胺 (18.0g, 58%)。¹H-NMR:(DMSO-d₆) δ = 8.17 (1H, s), 7.71 (1H, d), 7.41 (1H, t), 6.96-7.06 (2H, m), 6.95 (1H, s), 3.98 (3H, s); MS (m/z) = 202.1 (M+H)。

[0460] 制备 2-氯-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)乙酰胺,制备 B 类嘧啶的通用方法。

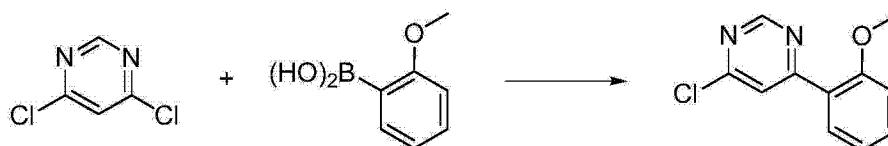
[0461]



[0462] 在室温下,将氯代乙酰氯 (2.30g, 1.62ml, 20.4mmol) 缓慢地加入 6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-胺 (3.00g, 13.7mmol) 在氯仿 (15ml) 中的悬浮液中。将 NEt_3 (2.80g, 3.87ml, 27.5mmol) 加入反应混合物并搅拌 24h。反应结束后,蒸发易挥发成分。使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (200-400 目) 上通过快速柱色谱纯化剩余物,然后干燥,得到 2.20g (54.4%) 期望的化合物。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6): δ = 11.27 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 7.75 (dd, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.24 (m, 2H), 4.43 (s, 2H), 3.86 (s, 3H); $\text{ms}(\text{m/z})$: 296 (M+H); HPLC 纯度: 98.3%。

[0463] 制备 4-氯-6-(2-甲氧基苯基)嘧啶, 制备 C 类嘧啶的通用方法。

[0464]

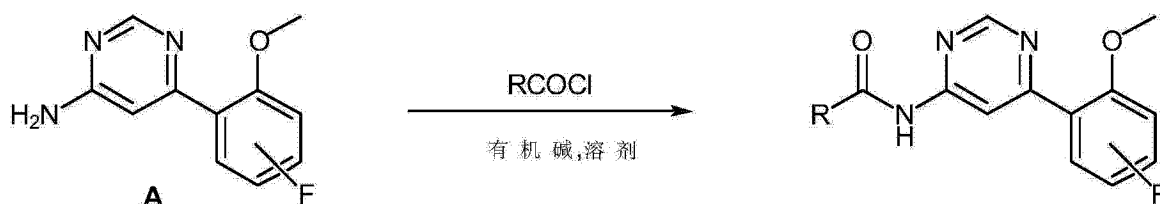


[0465] 向 2-甲氧基苯基硼酸 (10.0g, 66.1mmol) 在 THF (100ml) 和水 (40ml) 中的溶液加入 4,6-二氯嘧啶 (10.1g, 67.8mmol)。在 0℃, 将二醋酸钡 (750mg, 3.30mmol) 和 PPh_3 (1.76g, 6.70mmol) 和碳酸钠 (21.3g, 201mmol) 加入反应混合物中。在室温下搅拌反应混合物过夜, 通过 TLC 监测反应。反应完成后, 在减压下浓缩反应混合物。用乙酸乙酯和水萃取剩余物。分出有机层, 用盐水洗涤, 干燥 (Na_2SO_4), 然后浓缩。通过硅胶柱色谱纯化所得粗品剩余物, 用 30% 在己烷中的乙酸乙酯洗脱, 得到期望的产物化合物 9.0g (61.9%)。

[0466] 方法

[0467] 方法 1: (通过酰氯)

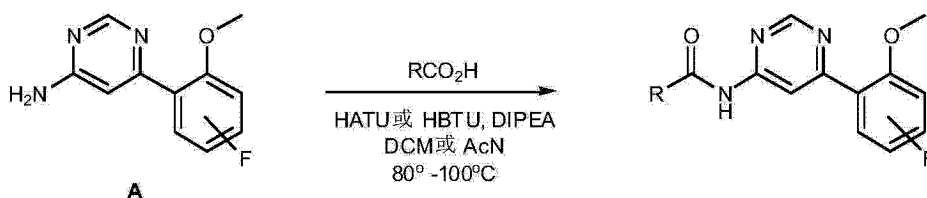
[0468]



[0469] 将亚硫酸氯 (2eq) 滴加入冷却的羧酸 RCOOH (1eq) 和 2 滴无水 DMF 在无水 DCM 中的混合物, 并在室温 (或加热回流) 下搅拌 1-2h。蒸发易挥发物, 然后将剩余的酰氯溶于无水 DCM/AcN。在另一个烧瓶中, 加入胺 A (1eq) 和 NEt_3 (3-4eq) 在无水 DCM/AcN 中的混合物, 并在室温下滴加酰氯的溶液。搅拌反应混合物 1-2h, 然后添加到过量的碳酸氢钠溶液中终止反应。分出有机层, 然后用 DCM 萃取水层。依次地用水和盐水洗涤合并的有机层, 干燥 (Na_2SO_4), 然后在真空中浓缩至粗品剩余物。剩余物经制备型 TLC/HPLC 分离出纯化合物。

[0470] 方法 2: (通过 HATU/HBTU 偶联)

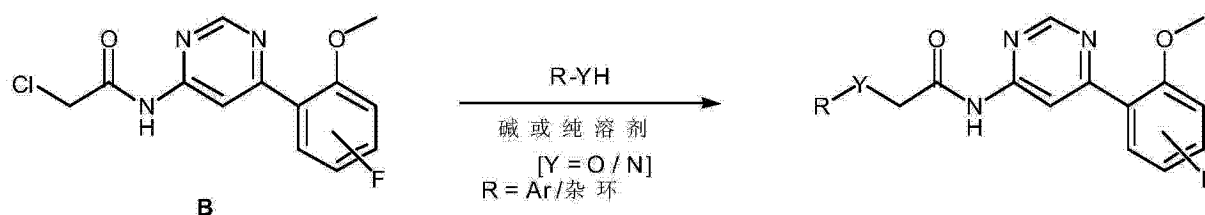
[0471]



[0472] 在密封管中,将 DIPEA (2eq) 加入羧酸 RCOOH (1eq) 在 DCM 或 AcN 中的溶液中,并搅拌 15-20min。加入 HATU 或 HBTU (1eq),然后用氩吹洗混合物 10min。在室温下搅拌反应物质直至继而产生澄清的溶液。加入胺 A (1eq),再吹洗混合物 10min,然后在密封管中在 80-100°C 加热 2-18h。冷却反应混合物,然后按照方法 1 中进行后处理。经制备型 TLC/HPLC 纯化,得到纯化合物。

[0473] 方法 3:(通过氯乙酰基衍生物 B)

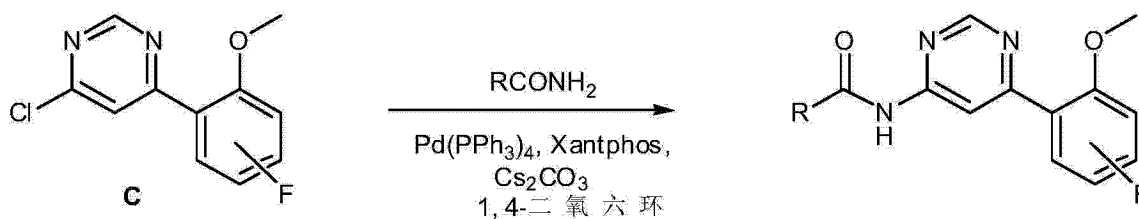
[0474]



[0475] 将胺/羟基衍生物 R-YH ($\text{Y} = \text{O}/\text{N}$; 2eq) [纯的或者含有 2eq 碳酸钾] 溶于无水 AcN/DMF 并搅拌 0.5h。加入氯乙酰基衍生物 B (1eq) 在无水 AcN/DMF 中的溶液,并在室温(或在 80-85°C)下搅拌整个混合物 2-8h。用过量的水稀释反应混合物,然后用乙酸乙酯萃取。然后依次地用水、盐水洗涤有机层,干燥 (Na_2SO_4),然后在真空中浓缩至干。如此所得的剩余物经制备型 TLC/HPLC 纯化得到纯化合物。

[0476] 方法 4:(通过酰胺上的 Buchwald 型反应)

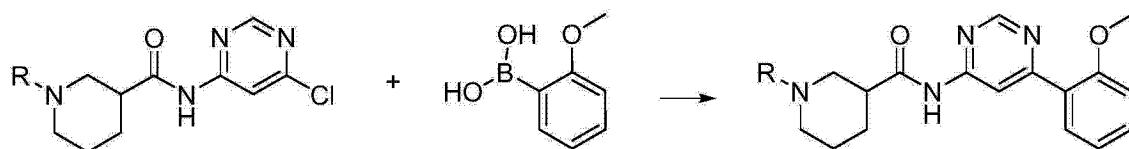
[0477]



[0478] 在干燥的密封管中,将四(三苯基膦)钯 (0) (5mol%) 加入酰胺 RCONH_2 (1eq) 和 C (1eq) 在无水 1,4-二氧六环中的混合物中,然后用氩吹洗 15min。加入碳酸铯 (2eq) 和 Xantphos (10mol%),并再用氩吹洗全部物质 15min,然后密封。然后在 120°C 加热反应混合物 3-6h,接着冷却至室温。然后将其倾入过量的水中,并用乙酸乙酯萃取。用水、盐水洗涤有机层,干燥 (Na_2SO_4),然后在真空中浓缩至干。如此所得的剩余物经制备型 TLC/HPLC 纯化得到纯化合物。

[0479] 方法 5:(通过用有机硼酸和相应的氯嘧啶进行的 Suzuki 偶联)

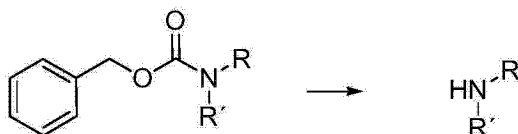
[0480]



[0481] 在 0℃, 向硼酸 (1.25mmol) 在 THF 和水 (6ml, 1:1) 的混合物中的溶液, 加入 6-氯嘧啶-4-基氨基甲酰基哌啶 (1.0mmol), 然后加入醋酸钯 (2.1mmol)、PPh₃ (2.1mmol) 和饱和碳酸钠溶液 (2ml)。在室温下搅拌反应混合物 30h, 然后通过硅藻土 (celite) 层过滤, 用乙酸乙酯洗涤硅藻土层。用乙酸乙酯萃取水层, 合并有机层, 用盐水洗涤, 干燥 (Na₂SO₄), 然后在减压下蒸发。用己烷 / 乙酸乙酯作为洗脱剂, 经柱色谱纯化粗产物, 得到纯产物。

[0482] 方法 6 : (通过在氢气氛下用氢氧化钯进行的脱保护)

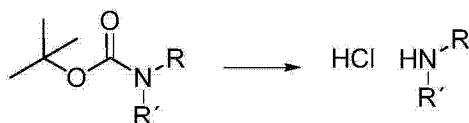
[0483]



[0484] 在氮气氛下, 向 Cbz-保护的化合物 (15mmol) 在 50ml 甲醇中的溶液加入 20% 氢氧化钯 (1.5g), 然后在氢气氛下在室温下搅拌混合物 8h。通过硅藻土过滤反应混合物, 然后蒸发溶剂。将所得混合物溶于乙醚, 搅拌, 过滤, 用乙醚洗涤, 然后在真空下干燥, 得到粗产物, 并通过制备型 TLC/HPLC 纯化粗产物。

[0485] 方法 7 : (通过使用 HCl 在酸性条件下进行的脱保护)

[0486]



[0487] 在室温下, 向 Boc-保护的化合物 (1mmol) 在 20ml 的 1,4-二氧六环中的溶液, 加入 HCl 在 1,4-二氧六环中的溶液 (4M, 20ml), 并搅拌混合物 3h。此后, 蒸发溶剂得到粗品胺盐酸盐, 并通过制备型 TLC/HPLC 纯化粗品胺盐酸盐。

[0488] 方法 8 : (通过混合酸酐)

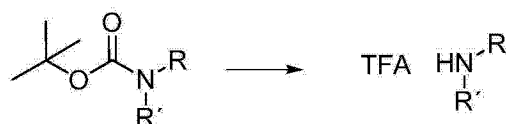
[0489]



[0490] 将 NMM (131mg, 143 μl, 1.3mmol) 加入到搅拌的冷却 (-15℃) 碳酸 (1.3mmol) 在无水 THF (4ml) 中的溶液中。滴加 CAIBE (178mg, 170 μl, 1.3mmol)。搅拌 15min 后, 加入在无水 THF (2ml) 中的适合的胺 (1.3mmol), 并搅拌混合物 14h, 在此期间, 使其温热至室温。在真空中蒸发溶剂, 然后将所得剩余物溶于乙酸乙酯 (10ml), 用 1N HCl、水、NaHCO₃ 水溶液和盐水 (每步洗涤 5ml) 洗涤, 然后用 Na₂SO₄ 干燥。过滤后, 在减压下蒸发溶剂。通过适合的色谱方法纯化粗品化合物。

[0491] 方法 9 : (通过用 TFA 在酸性条件下进行的脱保护)

[0492]



[0493] 向 Boc-保护的化合物 (0.1mmol) 在少量 DCM 中的溶液加入 TFA/DCM(4ml, 1:1) 的混合物。在室温下搅拌此溶液 2h, 然后在减压下除去溶剂。通过制备型 TLC/HPLC 纯化所得剩余物。

[0494] 方法 10 : (通过用拉尼镍进行的氢化)

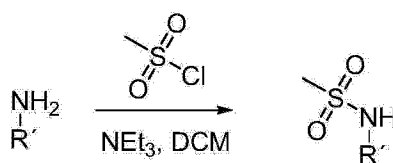
[0495]



[0496] 在氮气氛下, 向硝基衍生物 (2mmol) 在 10ml 甲醇中的溶液加入 Raney-镍 (0.2g), 然后在氢气氛下, 在室温下搅拌混合物 8h。通过硅藻土过滤反应混合物, 然后蒸发溶剂。将所得混合物溶于乙醚, 搅拌, 过滤, 用乙醚洗涤, 然后在真空下干燥, 得到粗产物, 通过制备型 TLC/HPLC 纯化粗产物。

[0497] 方法 11 : (通过与甲磺酰氯偶联)

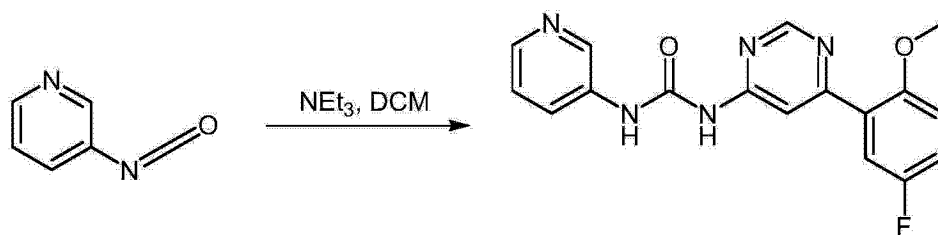
[0498]



[0499] 在 0℃, 向胺 (1mmol) 和 NEt₃ (2mmol) 在 DCM (10ml) 中的溶液加入甲磺酰氯 (1.05mmol)。再另外搅拌 0.5h 后, 用乙酸乙酯 (10ml) 稀释反应混合物, 用水和盐水洗涤 (每个洗涤步骤 5ml), 然后用 Na₂SO₄ 干燥。过滤后, 在减压下蒸发溶剂。通过适合的色谱方法纯化粗品化合物。

[0500] 方法 12 : (通过异氰酸酯与胺的反应)

[0501]



[0502] 在 0℃下, 向异氰酸酯 (1mmol) 在甲苯 (10ml) 中的溶液加入胺 (1mmol) 在甲苯 (2ml) 中的溶液。在密封管中, 在 130-140℃加热所得混合物 36h。用乙酸乙酯 (10ml) 稀释反应混合物, 用水和盐水 (每步洗涤 5ml) 洗涤, 然后用 Na₂SO₄ 干燥。过滤后, 在减压下蒸发溶剂。通过适合的色谱方法纯化粗品化合物。

[0503] 实施例的合成

[0504] 实施例 1 : (3R)-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-N-甲基哌啶-3-甲酰胺

[0505] 制备前体 3-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基)哌啶-1-甲酸 (R)-苄

酯。

[0506] 在室温下,向 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-胺 (5.80g, 28.8mmol) 在 60mlDCM 中的溶液加入 4-二甲基氨基吡啶 (4.16g, 34.0mmol), 然后滴加 N-Cbz-3-哌啶甲酰氯 (8.00g, 28.4mmol) [从 N-Cbz-3-哌啶甲酸和草酰氯制备]。搅拌反应混合物 2h, 然后用水洗涤。分出有机层, 干燥 (Na_2SO_4), 然后浓缩。使所得粗品剩余物通过硅胶垫, 用 25% 在己烷中的乙酸乙酯洗脱, 得到 3-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基-氨基甲酰基)哌啶-1-甲酸 (R)-苄酯 (8.5g, 收率: 67%)。

[0507] $^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) δ = 8.95 (1H, s), 8.78 (1H, s), 8.20 (1H, bs), 7.91 (1H, dd), 7.45-7.35 (5H, m), 7.16-7.00 (2H, m), 5.20 (2H, s), 4.40-4.26 (1H, m), 4.18-4.02 (1H, m), 3.98 (3H, s), 3.41-3.17 (2H, m), 3.08-2.92 (1H, m), 2.60-2.41 (1H, m), 2.18-1.55 (4H, m); MS (m/z) = 407.1。

[0508] 制备实施例 1

[0509] 在氮气氛下, 向 3-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基-氨基甲酰基)哌啶-1-甲酸 (R)-苄酯 (7.0g) 在 50ml 甲醇中的溶液加入 10% 氢氧化钡 (1.5g), 然后在氢气氛下, 在室温下搅拌混合物 8h。通过硅藻土过滤反应混合物, 然后蒸发溶剂。将所得混合物溶于乙醚, 搅拌, 过滤, 用乙醚洗涤, 然后在真空下干燥, 得到为白色固体的实施例 1 (3.5g, 收率: 72%)。

[0510] $^1\text{H-NMR}$: ($\text{DMSO}-d_6$) δ = 11.10 (1H, s), 8.95 (1H, s), 8.67 (1H, s), 7.84 (1H, d, J = 10Hz), 7.48 (1H, dd), 7.20-7.04 (2H, m), 3.98 (3H, s), 3.06-2.56 (5H, m), 1.96-1.32 (4H, m); MS (m/z) = 312.9 (M+H); mp: 210-213°C; 分析纯度: 95.5%; 手性纯度 [R = 91.62% 和 S = 8.37%]。

[0511] 实施例 2: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺 *TFA

[0512] 制备前体 3-[6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯。

[0513] 在 0°C, 向 5-氟-2-甲氧基苯基硼酸 (0.20g, 1.1mmol) 在 THF 和水 (6ml, 1:1) 的混合物中的溶液, 加入 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基甲酰基)哌啶-1-甲酸苄酯 (0.35g, 1.0mmol), 然后加入醋酸钡 (12mg, 0.054mmol)、 PPh_3 (31mg, 0.12mmol) 和饱和碳酸钠溶液 (2ml)。在室温搅拌反应混合物 30h, 然后通过硅藻土层过滤, 并用乙酸乙酯洗涤硅藻土层。用乙酸乙酯萃取水层, 合并有机层, 用盐水洗涤, 干燥, 然后在减压下蒸发。用己烷/乙酸乙酯 (4:1) 作为洗脱剂, 通过柱色谱纯化粗产物, 得到 0.31g (收率: 53.8%) 的 3-[6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯。

[0514] 制备实施例 2

[0515] 在氢气氛下, 过夜搅拌 3-[6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯 (0.25g, 0.5mmol)、甲醇 (7ml) 和 20% 氢氧化钡 (0.12g, 50% w/w) 的混合物。然后将其通过硅藻土层过滤, 并用甲醇洗涤硅藻土层。在减压下蒸发滤液, 然后通过柱色谱纯化, 得到 0.125g 期望的产物和不可分离的杂质。通过制备型 HPLC 进一步纯化, 得到 2mg (收率: 0.8%) 的 N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺, 为 TFA 盐。

[0516] $^1\text{HNMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$ 和 D_2O): δ 1.6-1.7 (m, 2H), 1.75-1.9 (m, 1H), 2-2.1 (m, 1H)

, 2.8-3.0 (m, 2H), 3.0-3.1 (m, 1H), 3.15-3.2 (m, 1H), 3.3-3.35 (m, 1H), 3.8 (s, 3H), 7.1-7.2 (m, 1H), 7.35-7.4 (m, 1H), 7.6-7.7 (m, 1H), 8.8 (s, 1H), 8.9 (s, 1H); MS (m/z): 331 (M+H)。

[0517] 实施例 3: N-(6-(2-氟-6-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺 *TFA

[0518] 制备前体 3-[6-(2-氟-6-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯。

[0519] 在 0℃, 向 2-氟-6-甲氧基苯基硼酸 (0.20g, 1.1mmol) 在 THF 和水 (6ml, 1:1) 的混合物中的溶液, 加入 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基甲酰基)哌啶-1-甲酸苄酯 (0.35g, 0.93mmol), 然后加入醋酸钯 (12mg, 54 μmol)、PPh₃ (31mg, 0.12mmol) 和饱和碳酸钠溶液 (2ml)。在室温下搅拌反应混合物 30h, 然后通过硅藻土层过滤, 用乙酸乙酯洗涤硅藻土层。用乙酸乙酯萃取水层, 合并有机层, 用盐水洗涤, 干燥, 然后在减压下蒸发。用己烷/乙酸乙酯 (4:1) 作为洗脱剂, 经柱色谱纯化粗产物, 得到 0.31g (收率: 66.7%) 3-[6-(2-氟-6-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯。

[0520] 制备实施例 3

[0521] 在氢气氛下, 过夜搅拌 3-[6-(2-氟-6-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯 (0.3g, 0.6mmol)、甲醇 (7ml) 和 20% 氢氧化钯 (0.12g, 50% w/w) 的混合物。然后通过硅藻土层过滤, 并用甲醇洗涤硅藻土层。在减压下蒸发滤液, 然后通过柱色谱纯化, 得到 0.2g (93.8% 收率) 期望的产物和不可分离的杂质。通过制备型 HPLC 进一步纯化, 得到 2mg (收率: 0.9%) 的 N-(6-(2-氟-6-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺, 为 TFA 盐。

[0522] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆ 和 D₂O): δ = 1.6-1.7 (m, 2H), 1.75-1.8 (m, 2H), 2-2.1 (m, 2H), 3.0-3.2 (m, 2H), 3.3-3.35 (m, 1H), 3.6 (s, 3H), 6.8-6.9 (m, 1H), 6.95-7.0 (m, 1H), 7.4-7.5 (m, 1H), 8.1 (s, 1H), 8.9 (s, 1H); MS (m/z): 331 (M+H)。

[0523] 实施例 4: N-(6-(2,6-二甲氧基苯基)嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺 *TFA

[0524] 制备前体 3-[6-(2,6-二甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯。

[0525] 向 2,6-二甲氧基苯基硼酸 (0.60g, 3.3mmol) 在二甲氧基乙烷/水 (8ml, 3:1) 的混合物中的溶液, 加入 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基甲酰基)哌啶-1-甲酸苄酯 (0.82g, 2.2mmol), 然后加入四(三苯基膦)钯 (0) (0.15g, 0.13mmol) 和饱和碳酸钾溶液 (2ml)。在 90℃ 加热反应混合物 2h, 然后将其冷却至室温, 接着通过硅藻土层过滤, 并用乙酸乙酯洗涤硅藻土层。用乙酸乙酯萃取水层, 合并有机层, 用盐水洗涤, 干燥 (Na₂SO₄), 然后在减压下蒸发。用己烷/乙酸乙酯 (4:1) 作为洗脱剂, 通过柱色谱纯化粗产物, 得到 0.80g (收率: 53%) 的 3-[6-(2,6-二甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯。

[0526] 制备实施例 4

[0527] 方法: 6, 收率: 0.2%。

[0528] 在氢气氛下, 过夜搅拌 3-[6-(2,6-二甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯 (800mg, 1.68mmol)、甲醇 (7ml) 和 20% 氢氧化钯 (400mg, 50% w/w) 的混合物。然后将其通过硅藻土层过滤, 并用甲醇洗涤硅藻土层。在减压下蒸发滤液, 然后通过柱色谱纯化, 得到 120mg 期望的产物和不可分离的杂质。通过制备型 HPLC 进一步纯化, 得到 2mg 的哌啶-3-甲酸 [6-(2,6-二甲氧基苯基)嘧啶-4-基] 酰胺, 为 TFA 盐。

[0529] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6 和 D_2O) : $\delta = 1.6-1.7$ (m, 2H), 1.75-1.9 (m, 1H), 2-2.1 (m, 1H), 2.8-3.0 (m, 2H), 3.0-3.1 (m, 1H), 3.15-3.2 (m, 1H), 3.3-3.35 (m, 1H), 3.6 (s, 6H), 6.8 (d, 2H), 7.35-7.5 (m, 1H), 7.9 (s, 1H), 8.9 (s, 1H) ;MS (m/z) :342 (M+H)。

[0530] 实施例 5 和 6 :N-(6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶 -4-基) -6-氧代哌啶 -3-甲酰胺, 制备外消旋混合物

[0531] 在用冰冷却的条件下, 向 6-氧代哌啶 -3-甲酸 (0.21g, 1.5mmol) 在无水 DMF (10ml) 中的溶液加入 HBTU (1.13g, 2.98mmol) 和 DIPEA (0.30g, 0.39ml, 2.3mmol), 然后在室温下搅拌 45min。在用冰冷却的条件下, 向此反应混合物滴加在无水 DMF 中的胺 A (0.30g, 1.5mmol)。然后在 120℃ 加热反应混合物 4h。反应结束后, 将其冷却, 完全蒸发 DMF, 然后将其溶于乙酸乙酯 (30ml), 接着用水 (2x 15ml) 洗涤, 然后用盐水洗涤, 干燥 (Na_2SO_4), 在减压下蒸发。使用快速硅胶 (10% 甲醇 /DCM) 通过柱色谱进行最终纯化, 得到 78mg (收率 :17%) 期望的产物。

[0532] 分离 N-(6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶 -4-基) -6-氧代哌啶 -3-甲酰胺的外消旋混合物得到实施例 5 和 6

[0533] 通过用手性 HPLC 纯化, 将实施例 5 和 6 分离成对映体, 由 82.5mg 的外消旋混合物得到 40mg 各对映体, 利用以下方法 :

[0534] 制备型方法 :柱 :250x 50mm CHIRALPAK[®] AD-H 5 μm ;流动相 :庚烷 / 乙醇 / 二乙胺 :70/30/0.1 ;流速 :120ml/min ;检测 :UV 325nm ;温度 :25℃ ;

[0535] 分析型方法 :柱 :250x 4.6mm CHIRALPAK[®] IB 5 μm ;流动相 :庚烷 / 乙醇 / 二乙胺 :70/30/0.1 ;流速 :1ml/min ;检测 :DAD 280nm ;温度 :30℃。

[0536] 实施例 5 : ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) : $\delta = 2.02-2.08$ (m, 1H), 2.12-2.20 (m, 1H), 2.40-2.48 (m, 2H), 2.92-3.02 (m, 1H), 3.46-3.54 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 7.07 (t, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.47 (t, 1H), 7.77 (d, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.84 (s, 1H) ;MS (m/z) :327 (M+H) ;HPLC ($\lambda = 280\text{nm}$, [分析型方法]) :rt 14.1min (99.3%) ;mp :205-208℃ ;Spec. opt. rot. :41.08。

[0537] 实施例 6 : ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) : $\delta = 2.02-2.08$ (m, 1H), 2.12-2.20 (m, 1H), 2.40-2.48 (m, 2H), 2.92-3.02 (m, 1H), 3.46-3.54 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 7.07 (t, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.47 (t, 1H), 7.77 (d, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.84 (s, 1H) ;MS (m/z) :327 (M+H) ;HPLC ($\lambda = 280\text{nm}$, [分析型方法]) :rt 18.5min (99.0%) ;mp :203-207℃ ;Spec. opt. rot. : -40.67。

[0538] 实施例 7 :N-(6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶 -4-基) -2-(吡啶 -4-基) 乙酰胺

[0539] 按照方法 4 合成实施例 7, 用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (200-400 目) 上通过快速柱色谱纯化, 收率 :41%。

[0540] ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) : $\delta = 2.69-2.73$ (m, 2H), 3.31 (s, 3H), 3.43-3.49 (m, 3H), 3.50-3.53 (m, 2H), 3.75 (dd, 1H), 3.82 (t, 1H), 3.91 (s, 3H), 7.10 (td, 1H), 7.17 (d, 1H), 7.49-7.54 (m, 1H), 7.74 (dd, 1H), 8.70 (d, 1H), 8.89 (d, 1H) ;MS (m/z) :371 (M+H) ;HPLC ($\lambda = 214\text{nm}$, [A]) :rt 12.0min (99%)。

[0541] 实施例 8 :N-(6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶 -4-基) -1-甲基 -5-氧代吡咯烷 -3-甲酰胺

[0542] 按照方法 4 合成实施例 8, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (200-400 目)

上通过快速柱色谱纯化, 收率: 51%。

[0543] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CD_3OD) : δ = 2.70 (d, 2H, $\text{CH}-\text{CH}_2$), 2.82 (s, 3H, CH_3), 3.45-3.53 (m, 1H, $\text{CH}-\text{CH}_2$), 3.65-3.74 (m, 2H, CH_2), 3.90 (s, 3H, $\text{O}-\text{CH}_3$), 7.10 (t, ^3J = 7.5Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.18 (d, ^3J = 8.3Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.49-7.54 (m, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.75 (dd, ^3J = 7.9Hz, ^4J = 1.6Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 8.70 (d, ^5J = 0.8Hz, 1H, 嘧啶 -Ar), 8.89 (s, br., 1H, 嘧啶 -Ar); MS(m/z) : 327 (M+H); HPLC (λ = 214nm, [A]) : rt 11.3min (98%)。

[0544] 实施例 9 : 1-乙基-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-5-氧代吡咯烷-3-甲酰胺

[0545] 按照方法 4 合成实施例 9, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (200-400 目) 上通过快速柱色谱纯化, 收率: 56.7%。

[0546] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CD_3OD) : δ = 1.10-1.15 (m, 3H, CH_2-CH_3), 2.71 (d, ^3J = 7.9Hz, 2H, CH_2-CH_3), 3.30-3.33 (m, 2H, CH_2-CH), 3.42-3.52 (m, 1H, CH_2-CH), 3.66-3.76 (m, 2H, CH_2-CH), 3.90 (d, 3H, $\text{O}-\text{CH}_3$), 7.07-7.12 (m, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.19 (d, ^3J = 8.3Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.49-7.54 (m, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.74 (dd, ^3J = 7.9Hz, ^4J = 1.7Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 8.70 (d, ^5J = 1.2Hz, 1H, 嘧啶 -Ar), 8.90 (d, ^5J = 1.2Hz, 1H, 嘧啶 -Ar); MS(m/z) : 341 (M+H); HPLC (λ = 214nm, [A]) : rt 12.4min (99%)。

[0547] 实施例 10 : N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)环丙烷-1,1-二甲酰胺

[0548] 按照方法 4 合成实施例 10, 使用 Sunfire C18 柱 (250x 50mm; 10 μ), 流动相: 0.1% 甲酸 (aq): AcN (50:50) 并且流速: 118ml/min, λ = 210nm, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0549] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ = 12.58 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 7.73-7.70 (dd, 1H), 7.52 (s, br., 1H), 7.35-7.32 (m, 2H), 7.24-7.20 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 1.56 (d, 4H); MS(m/z) : 331 (M+H); HPLC (λ = 214nm, [A]) : rt 13.5min (100%); mp : 190°C。

[0550] 实施例 11 : N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-1,4,5,6-四氢-6-氧代-1-丙基哒嗪-3-甲酰胺

[0551] 按照方法 4 合成实施例 11, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm; 10 μ), 流动相: 0.01M NH_4OAc (aq): AcN (35:65), 并且流速: 4ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0552] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : δ = 9.41 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 7.78-7.75 (dd, 1H), 7.16-7.11 (m, 1H), 6.99-6.95 (m, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.83 (t, 2H), 2.97 (t, 2H), 2.60 (t, 2H), 1.78-1.70 (m, 2H), 0.96 (t, 3H); MS(m/z) : 386 (M+H); HPLC (λ = 214nm, [A]) : rt 19.0min (100%); mp : 200°C。

[0553] 实施例 12 : 1-仲丁基-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-5-氧代吡咯烷-3-甲酰胺

[0554] 按照方法 4 合成实施例 12, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (200-400 目) 上通过快速柱色谱纯化, 收率: 36.2%。

[0555] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CD_3OD) : δ = 0.86 (td, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 2.1Hz, 3H, CH_2-CH_3), 1.15 (d, ^3J = 6.6Hz, 3H, $\text{CH}-\text{CH}_3$), 1.48-1.59 (m, 2H, CH_2-CH_3), 2.71-2.75 (m, 2H, $\text{CH}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})$), 3.42-3.52 (m, 1H, $\text{CH}-\text{C}(\text{O})$), 3.55-3.70 (m, 2H, $\text{N}-\text{CH}_2$), 3.91 (d, 3H, $\text{O}-\text{CH}_3$), 3.99-4.06 (m, 1H, $\text{CH}-\text{N}$), 7.10 (td, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 0.8Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.18 (d, ^3J = 8.3Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.49-7.54 (m, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.75 (dd, ^3J = 7.9Hz, ^4J =

1. 7Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 8. 70(s, 1H, 嘧啶 -Ar), 8. 90(s, 1H, 嘧啶 -Ar) ;MS(m/z) :369(M+H) ; HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 13. 2min(100%)。

[0556] 实施例 13 :N-(6-(2- 甲氧基苯基) 嘧啶 -4- 基)-1-(3- 甲氧基丙基)-5- 氧代吡咯烷-3- 甲酰胺

[0557] 按照方法 4 合成实施例 13, 收率 :44. 3%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (200-400 目) 上通过快速柱色谱纯化。

[0558] ^1H NMR(400MHz, CD_3OD) : δ = 1. 79(qu, ^3J = 6. 6Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 2. 68-2. 72(m, 2H, CH_2), 3. 29(s, 3H, CH_3), 3. 31-3. 50(m, 5H, CH_2), 3. 65-3. 75(m, 2H, CH_2), 3. 88(s, 3H, O-CH_3), 7. 05(t, ^3J = 7. 5Hz, 1H, 甲 氧 基 -Ar), 7. 13(d, ^3J = 8. 3Hz, 1H, 甲 氧 基 -Ar), 7. 42-7. 48(m, 1H, 甲 氧 基 -Ar), 7. 75(dd, ^3J = 7. 9Hz, ^4J = 2. 1Hz, 1H, 甲 氧 基 -Ar), 8. 66(s, 1H, 嘧 啶 -Ar), 8. 82(s, 1H, 嘧 啶 -Ar) ;MS(m/z) :385(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 11. 1min(96. 2%)。

[0559] 实施例 14 :N-(6-(4- 氟 -2- 甲氧基苯基) 嘧啶 -4- 基)-6- 氧代哌啶-3- 甲酰胺

[0560] 按照方法 2 合成实施例 14, 收率 :47. 6%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (200-400 目) 上通过快速柱色谱纯化, 然后使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x 21. 2mm ; 10 μ), 流动相 :0. 1% TFA(aq) :梯度 :在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速 :6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0561] MS(m/z) :345(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 9. 7min(100%) ;mp :148 $^{\circ}\text{C}$ 。

[0562] 实施例 15 :N-(6-(2- 乙氧基苯基) 嘧啶 -4- 基)-6- 氧代哌啶-3- 甲酰胺

[0563] 按照方法 2 合成实施例 15, 收率 :5. 2%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (200-400 目) 上通过快速柱色谱纯化, 然后使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x 21. 2mm ; 10 μ), 流动相 :0. 1% TFA(aq) :梯度 :在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速 :6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0564] MS(m/z) :341(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [B]) :rt 11. 2min(99. 7%) ;mp :117 $^{\circ}\text{C}$ 。

[0565] 实施例 16 :N-(6-(2- 乙氧基 -5- 氟苯基) 嘧啶 -4- 基)-6- 氧代哌啶-3- 甲酰胺

[0566] 按照方法 2 合成实施例 16, 收率 :4. 1%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (200-400 目) 上通过快速柱色谱纯化, 然后使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x 21. 2mm ; 10 μ), 流动相 :0. 1% TFA(aq) :梯度 :在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速 :6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0567] MS(m/z) :359(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [B]) :rt 11. 3min(95. 2%) ;mp :208 $^{\circ}\text{C}$ 。

[0568] 实施例 17 :N-(6-(5- 氟 -2- 甲氧基苯基) 嘧啶 -4- 基)-6- 氧代哌啶-3- 甲酰胺

[0569] 按照方法 2 合成实施例 17, 收率 :5. 5%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm ; 10 μ), 流动相 :0. 01M NH_4OAc (aq) :AcN(35:65), 并且流速 :48ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0570] ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6) : δ = 11. 06(s, 1H), 8. 94(s, 1H), 8. 76(s, 1H), 7. 72-7. 69(dd, 1H), 7. 50(s, 1H), 7. 36-7. 32(m, 1H), 7. 25-7. 21(m, 1H), 3. 87(s, 3H), 3. 27(与溶剂重合, $\sim$ 2H), 2. 98-2. 96(m, 1H), 2. 24-2. 18(m, 2H), 2. 01(m, 1H), 1. 89(m, 1H) ;MS(m/z) : 345(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 11. 4min(97%) ;mp :245 $^{\circ}\text{C}$ 。

[0571] 实施例 18 :N-(6-(5- 氟 -2- 甲氧基苯基) 嘧啶 -4- 基)-5- 氧代吡咯烷-3- 甲酰

基 -Ar), 7.38-7.43(m, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.89(s, br., 1H, 甲氧基 -Ar), 8.73(s, br., 1H, 嘧啶 -Ar), 9.10(d, $^5J = 1.2\text{Hz}$, 1H, 嘧啶 -Ar); 399MS(m/z): (M+H); HPLC($\lambda = 214\text{nm}$, [C]): rt 13.1min(100%)。

[0586] 实施例 23: (2S)-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)吡咯烷-2-甲酰胺*HCl

[0587] 按照方法 7 合成实施例 23, 收率: 95%, 通过用乙醚洗涤进行纯化。

[0588] ^1H NMR(400MHz, CD_3OD): $\delta = 2.08-2.14(\text{m}, 2\text{H}, \text{CH}_2)$, $2.14-2.25(\text{m}, 1\text{H}, \text{CH}_2)$, $2.53-2.63(\text{m}, 1\text{H}, \text{CH}_2)$, $3.38-3.52(\text{m}, 2\text{H}, \text{CH}_2)$, $3.95(\text{s}, 3\text{H}, \text{CH}_3)$, $4.62(\text{dd}, ^3J = 8.7\text{Hz}, ^3J = 6.6\text{Hz}, 1\text{H}, \text{CH}-\text{CH}_2)$, $7.19(\text{td}, ^3J = 7.5\text{Hz}, ^4J = 0.8\text{Hz}, 1\text{H}, \text{甲氧基}-\text{Ar})$, $7.27(\text{d}, ^3J = 8.3\text{Hz}, 1\text{H}, \text{甲氧基}-\text{Ar})$, $7.62-7.67(\text{m}, 1\text{H}, \text{甲氧基}-\text{Ar})$, $7.75(\text{dd}, ^3J = 7.9\text{Hz}, ^4J = 1.7\text{Hz}, 1\text{H}, \text{甲氧基}-\text{Ar})$, $8.75(\text{d}, ^5J = 1.2\text{Hz}, 1\text{H}, \text{嘧啶}-\text{Ar})$, $9.10(\text{d}, ^5J = 1.2\text{Hz}, 1\text{H}, \text{嘧啶}-\text{Ar})$; MS(m/z): 299(M+H); HPLC($\lambda = 214\text{nm}$, [A]): rt 8.1min(96%)。

[0589] 实施例 24: N-(6-(2-乙氧基-4-氟苯基)嘧啶-4-基)-6-氧代哌啶-3-甲酰胺

[0590] 按照方法 2 合成实施例 24, 收率: 1.5%, 使用在氯仿中的甲醇(0-10%), 在硅胶(200-400 目)上通过快速柱色谱纯化, 然后使用 LUNA C18(2)100A 柱(250x 21.2mm; 10μ), 流动相: 0.1% TFA(aq); 梯度: 在 45min 内, 由在 $t = 0\text{min}$ 时 AcN-水(40/60)至 AcN-水(95/5), 流速: 6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0591] MS(m/z): 359(M+H); HPLC($\lambda = 214\text{nm}$, [A]): rt 10.9min(100%); mp: 222°C。

[0592] 实施例 25: N-(6-(4-氟-2-异丙氧基苯基)嘧啶-4-基)-6-氧代哌啶-3-甲酰胺

[0593] 按照方法 2 合成实施例 25, 收率: 2.1%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱(250x 21.2mm; 10μ), 流动相: 0.1% TFA(aq); 梯度: 在 45min 内, 由在 $t = 0\text{min}$ 时 AcN-水(40/60)至 AcN-水(95/5), 流速: 6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0594] MS(m/z): 373(M+H); HPLC($\lambda = 214\text{nm}$, [B]): rt 11.8min(100%); mp: 105°C。

[0595] 实施例 26: N-(6-(5-氟-2-异丙氧基苯基)嘧啶-4-基)-6-氧代哌啶-3-甲酰胺

[0596] 按照方法 2 合成实施例 26, 收率: 18.7%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱(250x 21.2mm; 10μ), 流动相: 0.1% TFA(aq); 梯度: 在 45min 内, 由在 $t = 0\text{min}$ 时 AcN-水(40/60)至 AcN-水(95/5), 流速: 6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0597] MS(m/z): 373(M+H); HPLC($\lambda = 214\text{nm}$, [B]): rt 12.2min(96.4%); mp: 236°C。

[0598] 实施例 27: N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)环戊烷甲酰胺

[0599] 按照方法 2 合成实施例 27, 收率: 11.2%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱(250x 21.2mm; 10μ), 流动相: 0.1% TFA(aq); 梯度: 在 45min 内, 由在 $t = 0\text{min}$ 时 AcN-水(40/60)至 AcN-水(95/5), 流速: 6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0600] MS(m/z): 298(M+H); HPLC($\lambda = 214\text{nm}$, [B]): rt 17.1min(98.1%)。

[0601] 实施例 28: 2-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基)-4,4-二氟吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0602] 按照方法 4 合成实施例 28, 收率: 70.2%, 使用在氯仿中的甲醇(0-10%), 在硅胶(200-400 目)上通过快速柱色谱纯化。

[0603] ^1H NMR(400MHz, CD_3OD , 旋转异构体): $\delta = 1.36, 1.47(\text{s}, 9\text{H}, \text{tert.}-\text{Bu})$, $2.49-2.6$

2(m, 1H, CH₂), 2.80-2.90(m, 1H, CH₂), 3.80-3.88(m, 2H, CH₂), 3.91(s, 3H, CH₃), 4.59-4.64, 4.65-4.71(m, 1H, CH-CH₂), 7.08(t, ³J = 7.5Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 7.17(d, ³J = 8.3Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 7.47-7.53(m, 1H, 甲氧基-Ar), 7.75-7.81(m, 1H, 甲氧基-Ar), 8.68-8.74(m, 1H, 嘧啶-Ar), 8.89(s, br., 1H, 嘧啶-Ar); MS(m/z): 435(M+H); HPLC(λ = 214nm, [C]): rt 16.1min(100%)。

[0604] 实施例 29: 4,4-二氟-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)吡咯烷-2-甲酰胺*HCl

[0605] 按照方法 7 合成实施例 29, 收率: 93%, 通过用乙醚洗涤进行纯化。

[0606] ¹HNMR(400MHz, CD₃OD): δ = 2.80-2.94(m, 1H, CH₂), 3.09-3.21(m, 1H, CH₂), 3.88-3.97(m, 2H, CH₂), 3.96(s, 3H, CH₃), 4.98(t, ³J = 8.7Hz, 1H, CH-CH₂), 7.17-7.22(m, 1H, 甲氧基-Ar), 7.28(d, ³J = 7.9Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 7.63-7.68(m, 1H, 甲氧基-Ar), 7.76(dd, ³J = 7.9Hz, ⁴J = 1.7Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 8.74(s, br., 1H, 嘧啶-Ar), 8.89(d, ⁵J = 0.8Hz, 1H, 嘧啶-Ar); MS(m/z): 335(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 9.3min(96.3%)。

[0607] 实施例 30: 2-氨基-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)环己烷甲酰胺*HCl

[0608] 按照方法 2 合成实施例 30, 收率: 23.1%, 然后按照方法 7, 使用 LUNAC18(2)100A 柱(250x 21.2mm; 10 μ), 流动相: 0.1% TFA(aq); 梯度: 在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN-水(40/60)至 AcN-水(95/5), 流速: 6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0609] MS(m/z): 327(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 10.1min(94.1%)。

[0610] 实施例 31: 3-氨基-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)环己烷甲酰胺*HCl

[0611] 按照方法 7 从实施例 32 合成实施例 31, 收率: 81%, 通过用乙醚洗涤进行纯化。

[0612] MS(m/z): 327(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 9.9min(100%)。

[0613] 实施例 32: 3-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基)环己基氨基甲酸叔丁酯

[0614] 按照方法 2 合成实施例 32, 收率: 23.1%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱(250x 21.2mm; 10 μ), 流动相: 0.1% TFA(aq); 梯度: 在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN-水(40/60)至 AcN-水(95/5), 流速: 6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0615] MS(m/z): 427(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 19.0min(95.3%)。

[0616] 实施例 33: 4-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基)环己基氨基甲酸叔丁酯

[0617] 按照方法 2 合成实施例 33, 收率: 22%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱(250x 21.2mm; 10 μ), 流动相: 0.1% TFA(aq); 梯度: 在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN-水(40/60)至 AcN-水(95/5), 流速: 6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0618] MS(m/z): 427(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 18.6min(95.3%)。

[0619] 实施例 34: 4-氨基-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)环己烷甲酰胺*HCl

[0620] 按照方法 7 从实施例 33 合成实施例 34, 收率: 76.7%, 通过用乙醚洗涤进行纯化。

[0621] MS(m/z): 327(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 9.7min(98.1%)。

[0622] 实施例 35: 2-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0623] 按照方法 4 合成实施例 35, 收率: 57.7%, 使用在氯仿中的甲醇(0-10%), 在硅胶

(200-400 目) 上通过快速柱色谱纯化。

[0624] ^1H NMR(400MHz, CD_3OD , 旋转异构体): δ = 1.39, 1.49(s, br., 9H, tert.-Bu), 2.36-2.68(m, 2H, CH_2), 3.60-3.86(m, 2H, CH_2), 3.88(s, 3H, CH_3), 4.50-4.62(m, 1H, $\text{CH}-\text{CH}_2$), 5.18(m, 0.5H, $\text{CH}-\text{CH}_2$), 5.31(m, 0.5H, $\text{CH}-\text{CH}_2$), 7.06(t, ^3J = 7.5Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 7.13(d, ^3J = 8.3Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 7.43-7.48(m, 1H, 甲氧基-Ar), 7.75-7.81(m, 1H, 甲氧基-Ar), 8.67(s, br., 1H, 嘧啶-Ar), 8.83(s, 1H, 嘧啶-Ar); MS(m/z): 417(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 16.5min(95%)。

[0625] 实施例 36: 4-氟-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)吡咯烷-2-甲酰胺*HCl

[0626] 按照方法 7 从实施例 35 合成实施例 36, 收率: 100%, 通过用乙醚洗涤进行纯化。

[0627] ^1H NMR(400MHz, CD_3OD): δ = 2.62-2.74(m, 1H, CH_2), 2.80-2.99(m, 1H, CH_2), 3.57-3.72(m, 1H, CH_2), 3.78-3.88(m, 1H, CH_2), 3.98(s, 3H, CH_3), 4.88(dd, ^3J = 3.3Hz, ^3J = 10.8Hz, 1H, $\text{CH}-\text{CH}_2$), 5.41(t, ^3J = 3.8Hz, 0.5H, $\text{CH}-\text{CH}_2$), 5.54(t, ^3J = 3.8Hz, 0.5H, $\text{CH}-\text{CH}_2$), 7.19-7.25(m, 1H, 甲氧基-Ar), 7.31(d, ^3J = 8.3Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 7.67-7.72(m, 1H, 甲氧基-Ar), 7.74(m, ^3J = 7.9Hz, ^4J = 1.7Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 8.76(d, ^5J = 7.9Hz, 1H, 嘧啶-Ar), 9.18(d, ^5J = 7.9Hz, 1H, 嘧啶-Ar); MS(m/z): 317(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 8.6min(100%)。

[0628] 实施例 37: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)哌啶-2-甲酰胺*TFA

[0629] 按照方法 2 合成实施例 37 的 Boc- 保护的前体, 分离纯化后, 通过方法 9 制备实施例 37, 收率: 28.7%。

[0630] MS(m/z): 331(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 9.0min(100%); mp: 122°C。

[0631] 实施例 38: 4-氨基-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)环己烷甲酰胺*TFA

[0632] 按照方法 2 合成实施例 38 的 Boc- 保护的前体, 分离纯化(收率: 60.5%)后, 通过方法 9 制备实施例 38, 收率: 39.2%, 使用硅胶(GF254)并用 3% 在氯仿中的 MeOH 洗脱, 通过制备型 TLC 纯化。

[0633] MS(m/z): 345(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 9.3min(98.4%); mp: 162°C。

[0634] 实施例 39: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-四氢-2H-吡喃-4-甲酰胺

[0635] 按照方法 2 合成实施例 39, 收率: 39.2%, 使用在氯仿中的甲醇(0-10%), 在硅胶(200-400 目)上通过快速柱色谱纯化。

[0636] MS(m/z): 332(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 13.9min(100%); mp: 155°C。

[0637] 实施例 40: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-氧代哌啶-4-甲酰胺

[0638] 按照方法 2 合成实施例 40, 收率: 12.3%, 使用硅胶(GF254)并用 3% 在氯仿中的 MeOH 洗脱, 通过制备型 TLC 纯化。

[0639] MS(m/z): 345(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 11.9min(100%); mp: 225°C。

[0640] 实施例 41: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-氧代哌啶-3-甲酰胺

[0641] 按照方法 2 合成实施例 41, 收率: 6.7%。

[0642] MS(m/z): 345(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 13.6min(99.3%); mp: 180°C。

[0643] 实施例 42: 四氢-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2H-吡喃-4-甲酰胺

[0644] 按照方法 2 合成实施例 42, 收率:21.9%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x 21.2mm; 10 μ), 流动相:0.1% TFA(aq):梯度:在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速:6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0645] MS(m/z):314(M+H);HPLC(λ = 214nm, [B]):rt 11.9min(100%)。

[0646] 实施例 43:四氢-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2H-噻喃-4-甲酰胺

[0647] 按照方法 2 合成实施例 43, 收率:8.4%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x 21.2mm; 10 μ), 流动相:0.1% TFA(aq):梯度:在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速:6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0648] MS(m/z):330(M+H);HPLC(λ = 214nm, [B]):rt 14.8min(85.7%)。

[0649] 实施例 44:4-乙酰胺基-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)环己烷甲酰胺

[0650] 按照方法 2 合成实施例 44, 收率:19.2%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (200-400 目) 上通过快速柱色谱纯化。

[0651] ¹HNMR(400MHz, CDCl₃): δ = 1.66-1.75(m, 2H), 1.76-1.88(m, 6H), 1.99(s, 3H), 2.51-2.57(m, 1H), 3.94(s, 3H), 4.11-4.13(m, 1H), 5.81(s, br., 1H), 6.97(dd, 1H), 7.14-7.19(m, 1H), 7.78(dd, 1H), 8.88(s, 1H), 9.02(s, 1H), 9.56(s, br., 1H);MS(m/z):387(M+H);HPLC(λ = 214nm, [A]):rt 14.2min(99.1%)。

[0652] 实施例 45:3-氨基-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)环己烷甲酰胺 *HCl

[0653] 按照方法 2 合成实施例 45 的 Boc- 保护的前体, 分离和纯化后 (收率:42.2%), 通过方法 7 制备实施例 45, 收率:69.2%。

[0654] MS(m/z):345(M+H);HPLC(λ = 214nm, [A]):rt 10.1min(100%)。

[0655] 实施例 46:(1S, 2R)-2-氨基-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)环己烷甲酰胺 *HCl

[0656] 按照方法 2 合成实施例 46 的 Boc- 保护的前体, 分离和纯化后 (收率:16.4%), 通过方法 7 制备实施例 46, 收率:45.3%。

[0657] MS(m/z):345(M+H);HPLC(λ = 214nm, [A]):rt 10.2min(100%);mp:272°C。

[0658] 实施例 47:四氢-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2H-吡喃-2-甲酰胺

[0659] 按照方法 2 合成实施例 47, 收率:28.4%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x 21.2mm; 10 μ), 流动相:0.1% TFA(aq):梯度:在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速:6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0660] MS(m/z):314(M+H);HPLC(λ = 214nm, [B]):rt 15.2min(97.2%)。

[0661] 实施例 48:N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)环丁烷甲酰胺

[0662] 按照方法 2 合成实施例 48, 收率:29.4%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x 21.2mm; 10 μ), 流动相:0.1% TFA(aq):梯度:在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速:6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0663] MS(m/z):284(M+H);HPLC(λ = 214nm, [B]):rt min(92.1%)。

[0664] 实施例 49:N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)环己烷甲酰胺

[0665] 按照方法 2 合成实施例 49, 收率:17.8%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x

21.2mm;10 μ), 流动相:0.1% TFA(aq):梯度:在45min内,由在t=0min时AcN-水(40/60)至AcN-水(95/5),流速:6ml/min,通过制备型HPLC纯化。

[0666] MS(m/z):312(M+H);HPLC(λ = 214nm, [B]):rt 16.7min(98%)。

[0667] 实施例50:3-乙酰胺基-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)环己烷甲酰胺

[0668] 按照方法2合成实施例50,收率:13.5%,使用LUNA C18(2)100A柱(250x21.2mm;10 μ),流动相:0.1% TFA(aq):梯度:在45min内,由在t=0min时AcN-水(40/60)至AcN-水(95/5),流速:6ml/min,通过制备型HPLC纯化。

[0669] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ = 1.10-1.20(m, 2H), 1.36-1.54(m, 4H), 1.88-1.94(m, 2H), 1.98(s, 3H), 2.22-2.28(m, 1H), 2.58-2.66(m, 1H), 3.92(s, 3H), 5.52(d, 1H), 7.01-7.13(m, 2H), 7.46-7.50(m, 1H), 7.85-7.88(m, 1H), 8.87(s, 1H), 9.06(s, 1H), 9.78(s, br., 1H); MS(m/z):369(M+H);HPLC(λ = 214nm, [A]):rt 11.6min(99.8%)。

[0670] 实施例51:4-甲基磺酰氨基-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)苯甲酰胺

[0671] 按照方法11合成实施例51。

[0672] 实施例52:3-甲基磺酰氨基-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-4-甲基苯甲酰胺

[0673] 按照方法11合成实施例52。

[0674] 实施例53:3-甲基磺酰氨基-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)苯甲酰胺

[0675] 按照方法11合成实施例53。

[0676] 实施例54:N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)吡啶酰胺

[0677] 按照方法4合成实施例54,收率:25.8%,使用LUNA C18(2)100A柱(250x21.2mm;10 μ),流动相:0.1% TFA(aq):梯度:在45min内,由在t=0min时AcN-水(40/60)至AcN-水(95/5),流速:6ml/min,通过制备型HPLC纯化。

[0678] ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 4.01(s, 3H), 7.13-7.17(m, 1H), 7.27-7.47(m, 1H), 7.53-7.57(m, 1H), 7.78-7.82(m, 1H), 8.07-8.09(m, 1H), 8.17-8.21(m, 1H), 8.21-8.31(m, 1H), 8.81-8.83(m, 1H), 9.03(s, 1H), 9.05(s, 1H), 10.6(s, 1H);MS(m/z):307.6(M+H);HPLC(λ = 214nm, [A]):rt 18.5min(97.4%)。

[0679] 实施例55:N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-5-甲基异噁唑-3-甲酰胺

[0680] 按照方法2合成实施例55,收率:38.7%,使用Zodiacsil 120-5-C18柱(250x32mm;10 μ),流动相:0.01M NH_4OAc (aq):AcN(35:65),并且流速:40ml/min,通过制备型HPLC纯化。

[0681] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ = 8.93(s, 2H), 8.88(s, 1H), 8.41(s, br., 1H), 7.77-7.74(dd, 1H), 7.17-7.12(m, 1H), 6.99-6.95(m, 1H), 3.94(s, 3H), 2.60(s, 3H);MS(m/z):329(M+H);HPLC(λ = 214nm, [A]):rt 16.9min(92%);mp:170 $^{\circ}\text{C}$ 。

[0682] 实施例56:5-乙基-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)吡啶-2-甲酰胺

[0683] 按照方法2合成实施例56,收率:13.8%,使用硅胶(GF254)并用10%在氯仿中的乙酸乙酯洗脱,通过制备型TLC纯化。

[0684] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ = 10.63(s, 1H), 9.02(s, 1H), 8.99(s, 1H), 8.50(s, 1H), 8.20(d, 1H), 7.77-7.73(m, 2H), 7.13-7.10(m, 1H), 6.99-6.95(m, 1H), 3.95(s, 3H), 2.77(q

, 2H), 1.32(t, 3H); MS(m/z): 353(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 21.1min(100%); mp: 176°C。

[0685] 实施例 57: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-7-甲基H-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-甲酰胺

[0686] 按照方法 2 合成实施例 57, 收率: 5.7%, 通过在甲醇中搅拌粗品化合物, 然后过滤不溶的固体来纯化。再次重复此过程, 在真空中干燥, 得到纯产物。

[0687] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6): δ = 9.19(s, 1H), 9.12(s, 1H), 9.0(s, 1H), 8.97(s, 1H), 7.84-7.81(dd, 1H), 7.71(s, 1H), 7.45-7.41(m, 2H), 7.31-7.29(m, 1H), 3.94(s, 3H), 2.58(s, 3H); MS(m/z): 378(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 14.8min(100%)。

[0688] 实施例 58: 5-乙基-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)异噁唑-3-甲酰胺

[0689] 按照方法 4 合成实施例 58, 收率: 14.5%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x32mm; 10 μ), 流动相: 0.01M NH_4OAc (aq): AcN(30:70), 并且流速: 48ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0690] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ = 9.22(s, 1H), 8.98(d, 1H), 8.92(s, 1H), 7.80-7.77(dd, 1H), 7.16-7.11(m, 1H), 6.99-6.96(m, 1H), 6.55(s, 1H), 3.94(s, 3H), 2.87(q, 2H), 1.36(t, 3H); MS(m/z): 343(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 19.9min(100%); mp: 175°C。

[0691] 实施例 59: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-6-甲基吡啶并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0692] 按照方法 4 合成实施例 59, 收率: 20.4%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x32mm; 10 μ), 流动相: 0.01M NH_4OAc (aq): AcN(35:65), 并且流速: 48ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0693] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6): δ = 10.65(s, 1H), 9.31(s, 1H), 8.98(s, 1H), 8.92(s, 1H), 8.75(s, 1H), 7.79-7.76(dd, 2H), 7.38(m, 1H), 7.28(m, 1H), 3.93(s, 3H), 2.44(s, 3H); MS(m/z): 379(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 18.1min(98%); mp: 265°C。

[0694] 实施例 60: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-1,2-二氢-2-氧代喹啉-4-甲酰胺

[0695] 按照方法 4 合成实施例 60, 收率: 5.7%, 使用硅胶 (GF254) 并用 3% 在氯仿中的 MeOH 洗脱, 通过制备型 TLC 纯化。

[0696] MS(m/z): 391(M+H); HPLC(λ = 214nm, [B]): rt 14.6min(100%); mp: 276°C。

[0697] 实施例 61: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-氧代-2-苯基乙酰胺

[0698] 按照方法 1 合成实施例 61, 收率: 2.5%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x32mm; 10 μ), 流动相: 0.1% 甲酸(aq): AcN(25:75), 并且流速: 4ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0699] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ = 9.53(s, br., 1H), 9.01(s, 1H), 8.95(s, 1H), 8.40(d, 2H), 7.81-7.78(dd, 1H), 7.69(t, 1H), 7.54(t, 1H), 7.15(m, 1H), 7.00-6.97(m, 1H), 3.95(s, 3H); MS(m/z): 352(M+H); HPLC(λ = 214nm, [B]): rt 19.4min(92.7%); mp: 146°C。

[0700] 实施例 62: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(2,4,5-三氟苯基)乙酰胺

[0701] 按照方法 2 合成实施例 62, 收率: 34%, 用 0-5% 在氯仿中的 MeOH 作为洗脱剂, 在硅胶 (100-200 目) 上, 通过柱色谱纯化。

[0702] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) : δ = 11.20 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 7.70-7.67 (m, 1H), 7.55-7.50 (m, 2H), 7.32-7.29 (m, 1H), 7.21-7.17 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.81 (s, 2H); MS (m/z) : 392 (M+H); HPLC (λ = 214nm, [B]) : rt 18.7min (100%); mp : 208°C。

[0703] 实施例 63 : N-(6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶 -4-基) -2-(吡啶 -2-基) 乙酰胺

[0704] 按照方法 4 合成实施例 63, 收率: 85%, 使用 LUNA C18(2) 100A 柱 (250x 21.2mm; 10 μ), 流动相: 0.1% TFA(aq); 梯度: 在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速: 6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0705] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) : δ = 3.79 (s, 2H), 4.11 (s, 3H), 7.03 - 7.06 (m, 1H), 7.13 - 7.15 (m, 1H), 7.42 - 7.59 (m, 2H), 7.59 - 7.61 (m, 1H), 7.83 - 7.86 (m, 1H), 8.00 - 8.04 (m, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 11.19 (s, 1H); MS (m/z) : 321.1 (M+H); HPLC (λ = 214nm, [A]) : rt 9.77min (98%)。

[0706] 实施例 64 : (2R)-N-(6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶 -4-基) -2-苯基丙酰胺

[0707] 按照方法 2 合成实施例 64, 收率: 3.1%, 使用 LUNA C18(2) 100A 柱 (250x 21.2mm; 10 μ), 流动相: 0.1% TFA(aq); 梯度: 在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速: 6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0708] MS (m/z) : 334 (M+H); HPLC (λ = 214nm, [A]) : rt min (100%)。

[0709] 实施例 65 : (2S)-N-(6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶 -4-基) -2-苯基丙酰胺

[0710] 按照方法 2 合成实施例 65, 收率: 7.9%, 使用 LUNA C18(2) 100A 柱 (250x 21.2mm; 10 μ), 流动相: 0.1% TFA(aq); 梯度: 在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速: 6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0711] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : δ = 1.58 (d, ^3J = 7.0Hz, 3H, CH_3), 3.94-3.99 (m, 4H, OCH_3 , CH-CH_3), 7.04 (d, ^3J = 8.3Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.09 (td, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 0.8Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.25-7.31 (m, 1H, 苯基 -Ar), 7.32-7.40 (m, 4H, 苯基 -Ar), 7.48-7.53 (m, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.86 (dd, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 1.7Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 8.99 (s, 1H, 嘧啶 -Ar), 9.03 (s, 1H, 嘧啶 -Ar), 10.30 (s, br., 1H, NH); MS (m/z) : 334 (M+H); HPLC (λ = 214nm, [A]) : rt 19.1min (98.8%)。

[0712] 实施例 66 : N-(6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶 -4-基) -2-(2-硝基苯基) 乙酰胺

[0713] 按照方法 2 合成实施例 66, 收率: 5.1%, 使用 LUNA C18(2) 100A 柱 (250x 21.2mm; 10 μ), 流动相: 0.1% TFA(aq); 梯度: 在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速: 6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0714] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : δ = 3.90 (s, 3H, CH_3), 4.36 (s, 2H, CH_2), 7.02 (d, ^3J = 8.3Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.08 (td, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 0.8Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.42 (dd, ^3J = 7.9Hz, ^4J = 1.2Hz, 1H, 硝基 -Ar), 7.52 (td, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 1.7Hz, ^4J = 0.8Hz, 2H, 硝基 -Ar), 7.63 (td, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 1.2Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.82 (dd, ^3J = 7.9Hz, ^4J = 1.7Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 8.16 (dd, ^3J = 8.3Hz, ^4J = 1.2Hz, 1H, Ar), 8.93 (s, 1H, 嘧啶 -Ar), 9.45 (s, 1H, 嘧啶 -Ar), 11.44 (s, br., 1H, NH); MS (m/z) : 365 (M+H); HPLC (λ = 214nm, [C]) : rt 12.9min (99%)。

[0715] 实施例 67 :2-(3,4,5-三氟苯基)-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)乙酰胺

[0716] 按照方法 2 合成实施例 67, 收率 :4.3%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x 21.2mm ; 10 μ), 流动相 :0.1% TFA(aq) :梯度 :在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速 :6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0717] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : δ = 3.79 (s, 2H, CH_2), 3.93 (s, 3H, CH_3), 6.96-7.05 (m, 3H, 1x 甲氧基 -Ar, 2x 氟 -Ar), 7.09 (td, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 0.8Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.46-7.52 (m, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.92 (dd, ^3J = 7.9Hz, ^4J = 1.7Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 8.92 (s, 1H, 嘧啶 -Ar), 9.15 (s, 1H, 嘧啶 -Ar), 11.44 (s, br., 1H, NH) ;MS (m/z) : 374 (M+H) ;HPLC (λ = 214nm, [A]) :rt 19.2min (99.6%)。

[0718] 实施例 68 :N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(萘-1-基)乙酰胺

[0719] 按照方法 2 合成实施例 68, 收率 :4.1%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x 21.2mm ; 10 μ), 流动相 :0.1% TFA(aq) :梯度 :在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速 :6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0720] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : δ = 3.92 (s, 3H, CH_3), 4.00 (s, 2H, CH_2), 7.01 (d, ^3J = 8.3Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.07 (td, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 0.8Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.43-7.51 (m, 4H, 萘基 -Ar), 7.80-7.86 (m, 4H, 3x 萘基 -Ar, 1x 甲氧基 -Ar), 7.89 (dd, ^3J = 7.9Hz, ^4J = 1.7Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 8.16 (dd, ^3J = 8.3Hz, ^4J = 1.2Hz, 1H, Ar), 8.94 (d, ^5J = 0.8Hz, 1H, 嘧啶 -Ar), 8.97 (d, ^5J = 0.8Hz, 1H, 嘧啶 -Ar), 9.78 (s, br., 1H, NH) ;MS (m/z) :370 (M+H) ;HPLC (λ = 214nm, [C]) :rt 17.7min (99.7%)。

[0721] 实施例 69 :2-(3-甲氧基苯基)-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)乙酰胺

[0722] 按照方法 2 合成实施例 69, 收率 :8.2%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x 21.2mm ; 10 μ), 流动相 :0.1% TFA(aq) :梯度 :在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速 :6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0723] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : δ = 3.80 (s, 5H, CH_2+CH_3), 3.92 (s, 3H, CH_3), 6.86 (dd, ^3J = 7.9Hz, ^4J = 2.5Hz, 1H, 亚甲基 -Ar), 6.88-6.90 (m, 1H, 亚甲基 -Ar), 6.92 (d, ^3J = 7.5Hz, 1H, 亚甲基 -Ar), 7.01 (d, ^3J = 8.7Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.07 (td, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 0.8Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.29 (t, ^3J = 7.9Hz, 1H, 亚甲基 -Ar), 7.44-7.48 (m, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.88 (dd, ^3J = 7.9Hz, ^4J = 1.7Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 8.90 (s, 1H, 嘧啶 -Ar), 8.99 (s, 1H, 嘧啶 -Ar), 9.49 (s, br., 1H, NH) ;MS (m/z) :350 (M+H) ;HPLC (λ = 214nm, [C]) :rt 13.8min (97.7%)。

[0724] 实施例 70 :1-(4-氯苯基)-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)环丁烷甲酰胺

[0725] 按照方法 2 合成实施例 70, 收率 :7.2%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x 21.2mm ; 10 μ), 流动相 :0.1% TFA(aq) :梯度 :在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速 :6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0726] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : δ = 1.89-2.00 (m, 2H, CH_2), 2.02-2.11 (m, 2H, CH_2), 2.53-2.61 (m, 2H, CH_2), 2.87-2.95 (m, 2H, CH_2), 3.93 (s, 3H, CH_3), 7.03 (d, ^3J = 7.9Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.07 (td, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 0.8Hz, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.33-7.39 (m, 4H, 氯 -Ar), 7.48-7.53 (m, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.82 (dd, ^3J = 7.9Hz, ^4J = 1.7Hz, 1H, 甲氧基 -Ar)

基 -Ar), 8.91 (s, 1H, 嘧啶 -Ar), 8.92 (s, 1H, 嘧啶 -Ar), 9.01 (s, br., 1H, NH); MS(m/z): 394 (M+H); HPLC(λ = 214nm, [C]): rt 15.8min(99.3%)。

[0727] 实施例 71: 2-(2-甲氧基苯基)-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)乙酰胺

[0728] 按照方法 3 合成实施例 71, 收率: 3.5%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (40 微米) 上, 通过快速柱色谱纯化。

[0729] MS(m/z): 350 (M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 16.1min(95.9%)。

[0730] 实施例 72: N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0731] 按照方法 2 合成实施例 72, 收率: 3.5%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (40 微米) 上, 通过快速柱色谱纯化。

[0732] MS(m/z): 310 (M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 11.8min(97%); mp: 138°C。

[0733] 实施例 73: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-1-(4-甲氧基苯基)环丙烷甲酰胺

[0734] 按照方法 1 合成实施例 73, 收率: 17.1%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm; 10 μ), 流动相: 0.1% 甲酸 (aq): AcN(25:75), 并且流速: 4ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0735] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ = 8.80 (s, 2H), 7.89 (s, 1H), 7.67 (d, 1H), 7.40 (d, 2H), 7.12-7.08 (m, 1H), 6.97-6.92 (m, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 1.72 (s, 2H), 1.21 (s, 2H); MS(m/z): 394 (M+H); HPLC(λ = 214nm, [B]): rt 21.1min(96.6%); mp: 145°C。

[0736] 实施例 74: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(2-甲氧基苯基)乙酰胺

[0737] 按照方法 1 合成实施例 74, 收率: 11.3%, 使用硅胶 (GF254) 并用 3% 在氯仿中的 MeOH 洗脱, 通过制备型 TLC 纯化。

[0738] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ = 8.86 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.51 (s, br., 1H), 7.71-7.70 (dd, 1H), 7.33-7.29 (m, 2H), 7.14-7.06 (m, 1H), 7.01-6.94 (m, 3H), 3.97 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.77 (s, 2H); MS(m/z): 368 (M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): 18.1rt min(96.3%); mp: 170°C。

[0739] 实施例 75: 2-(3,4-二甲氧基苯基)-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)乙酰胺

[0740] 按照方法 2 合成实施例 75, 收率: 2.8%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (40 微米) 上, 通过快速柱色谱纯化。

[0741] MS(m/z): 380 (M+H); HPLC(λ = 214nm, [B]): rt 13.6min(100%); mp: 194°C。

[0742] 实施例 76: 1-(4-甲氧基苯基)-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)环丙烷甲酰胺

[0743] 按照方法 2 合成实施例 76, 收率: 2.7%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x 21.2mm; 10 μ), 流动相: 0.1% TFA(aq): 梯度: 在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN-水 (40/60) 至 AcN-水 (95/5), 流速: 6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0744] MS(m/z): 376 (M+H); HPLC(λ = 214nm, [19, 1]): rt 19.1min(100%); mp: 123°C。

[0745] 实施例 77: N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-氧代-2-苯基乙酰胺

[0746] 按照方法 2 合成实施例 77, 收率: 10.3%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (40 微米) 上, 通过快速柱色谱纯化。

[0747] MS(m/z) :334(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [B]) :rt 18.1min(100%) ;mp :109℃。

[0748] 实施例 78 :N-(6-(2- 甲氧基苯基) 嘧啶 -4- 基)-2-(吡啶 -4- 基) 乙酰胺

[0749] 按照方法 4 合成实施例 78, 收率 :25.5%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (40 微米) 上通过快速柱色谱纯化。

[0750] MS(m/z) :321(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [B]) :rt 7.2min(98.6%) ;mp :128℃。

[0751] 实施例 79 :N-(6-(2- 甲氧基苯基) 嘧啶 -4- 基)-2-(噻吩 -2- 基) 乙酰胺

[0752] 按照方法 4 合成实施例 79, 收率 :55%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (40 微米) 上通过快速柱色谱纯化。

[0753] MS(m/z) :326(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [B]) :rt 13.2min(96.2 %) ;mp :135℃ ;HRMS :理论值 :348.0777600, 实测值 :348.0777185(NaC17H15N3O2S), 理论值 :326.0958800, 实测值 :326.0957739(C17H16N3O2S)。

[0754] 实施例 80 :N-(6-(2- 甲氧基苯基) 嘧啶 -4- 基)-2-(吡啶 -3- 基) 乙酰胺

[0755] 按照方法 8 合成实施例 80, 收率 :37.3%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (40 微米) 上通过快速柱色谱纯化。

[0756] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) : δ = 3.79(s, 3H, OCH₃), 4.12(s, 2H, CH₂), 7.05(t, ^3J = 7.5Hz, 1H, Ar), 7.14(d, ^3J = 8.3Hz, 1H, Ar), 7.42-7.46(m, 1H, Ar), 7.84-7.87(m, 3H, Pyr., Ar), 8.60(s, 1H, 嘧啶), 8.77(d, ^3J = 6.0Hz, 2H, Pyr.), 8.92(s, 1H, 嘧啶), 11.26(s, 1H, NH) ; MS(m/z) :321(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [B]) :rt 8.4min(92%) ;mp :87℃。

[0757] 实施例 81 :N-(6-(5- 氟 -2- 甲氧基苯基) 嘧啶 -4- 基)-2-(吡啶 -2- 基) 乙酰胺

[0758] 按照方法 2 合成实施例 81, 收率 :23.8%, 用 0-3% 在氯仿中的 MeOH 作为洗脱剂, 在硅胶 (200-400 目) 上通过快速柱色谱纯化。

[0759] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) : δ = 11.17(s, 1H), 8.95(s, 1H), 8.75(s, 1H), 8.51(d, 1H), 7.77-7.69(m, 2H), 7.41-7.20(m, 4H), 4.01(s, 2H), 3.83(s, 3H) ; MS(m/z) :339(M+H) ; HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 9.8min(100%) ;mp :176℃。

[0760] 实施例 82 :N-(6-(5- 氟 -2- 甲氧基苯基) 嘧啶 -4- 基)-2-(吡啶 -3- 基) 乙酰胺

[0761] 按照方法 4 合成实施例 82, 收率 :12.1%, 用 0-3% 在氯仿中的 MeOH 作为洗脱剂, 在硅胶 (200-400 目) 上通过快速柱色谱纯化。

[0762] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) : δ = 11.22(s, 1H), 8.95(s, 1H), 8.73(s, 1H), 8.53(s, 1H), 8.47(d, 1H), 7.76-7.69(m, 2H), 7.38-7.31(m, 2H), 7.22-7.19(m, 1H), 3.87(s, 2H), 3.83(s, 3H) ; MS(m/z) :339(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 9.2min(100%) ;mp :197℃。

[0763] 实施例 83 :N-(6-(5- 氟 -2- 甲氧基苯基) 嘧啶 -4- 基)-2-(吡啶 -4- 基) 乙酰胺

[0764] 按照方法 2 合成实施例 83, 收率 :16.1%, 使用 40% 在氯仿中的乙酸乙酯, 通过在硅胶 (GF254) 上进行两次制备型 TLC 来纯化。

[0765] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) : δ = 11.24(s, 1H), 8.95(s, 1H), 8.73(s, 1H), 8.52(d, 2H), 7.70(d, 1H), 7.36-7.34(m, 3H), 7.23-7.20(m, 1H), 3.87(s, 2H), 3.83(s, 3H) ; MS(m/z) :339(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 9.3min(98.9%) ;mp :197℃。

[0766] 实施例 84 :N-(6-(5- 氟 -2- 甲氧基苯基) 嘧啶 -4- 基)-2-(1H- 吡唑 -1- 基) 乙酰胺

[0767] 按照方法 2 合成实施例 84, 收率 :4.8%, 使用 5% 在氯仿中的 MeOH, 通过在硅胶

(GF254) 上进行制备型 TLC 纯化。

[0768] ^1H NMR(400MHz, CD_3OD) : δ = 8.87(s, 1H), 8.74(s, 1H), 7.74(s, 1H), 7.65(d, 1H), 7.57(s, 1H), 7.20-7.13(m, 2H), 6.37(s, 1H), 5.17(s, 2H), 3.87(s, 3H) ;MS(m/z) :328(M+H) ; HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 13.9min(100%) ;mp :190°C。

[0769] 实施例 85 :N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(1H-咪唑-1-基)乙酰胺

[0770] 按照方法 2 合成实施例 85, 收率 :23.6%, 使用 0-10% 在氯仿中的 MeOH, 在硅胶 (60-120 目) 上通过柱色谱纯化。

[0771] ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ = 11.28(s, 1H), 8.97(s, 1H), 8.71(s, 1H), 7.74-7.68(m, 2H), 7.35-7.32(m, 1H), 7.24-7.20(m, 2H), 6.93(s, 1H), 5.05(s, 2H), 3.84(s, 3H) ;MS(m/z) :328(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 8.9min(96.6%) ;mp :243°C。

[0772] 实施例 86 :N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(噻吩-2-基)乙酰胺

[0773] 按照方法 2 合成实施例 86, 收率 :20.7%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (100-200 目) 上通过快速柱色谱纯化。

[0774] ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ = 11.17(s, 1H), 8.95(s, 1H), 8.74(s, 1H), 7.72-7.69(dd, 1H), 7.41(d, 1H), 7.35-7.32(m, 1H), 7.24-7.20(m, 1H), 7.00-6.97(m, 2H), 4.03(s, 2H), 3.85(s, 3H) ;MS(m/z) :344(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 18.2min(98.3%) ;mp :160°C。

[0775] 实施例 87 :N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-1-(4-甲氧基苯基)环己烷甲酰胺

[0776] 按照方法 1 合成实施例 87, 收率 :18.2%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x32mm ;10 μ), 流动相 :0.1% 甲酸 (aq) :AcN(25:75), 并且流速 :4ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0777] ^1H NMR(400MHz, CD_3OD) : δ = 8.76(s, 2H), 7.62-7.59(dd, 1H), 7.40(d, 2H), 7.22-7.14(m, 2H), 6.94(d, 2H), 3.93(s, 3H), 3.78(s, 3H), 2.47-2.43(m, 2H), 1.99-1.95(m, 2H), 1.65-1.63(m, 2H), 1.43-1.42(m, 2H), 0.91-0.85(m, 2H) ;MS(m/z) :436(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 21.7min(100%) ;mp :129°C。

[0778] 实施例 88 :N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(3,4-二甲氧基苯基)乙酰胺

[0779] 按照方法 2 合成实施例 88, 收率 :29.4%, 使用硅胶 (GF254) 并用 3% 在氯仿中的 MeOH 洗脱, 通过制备型 TLC 纯化。

[0780] ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ = 11.07(s, 1H), 8.93(s, 1H), 8.73(s, 1H), 7.71-7.68(dd, 1H), 7.36-7.31(m, 1H), 7.23-7.19(m, 1H), 6.96(s, 1H), 6.91-6.85(m, 2H), 3.84(s, 3H), 3.74(s, 3H), 3.72(s, 3H), 3.70(s, 2H) ;MS(m/z) :398(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 16.9min(100%) ;mp :168°C。

[0781] 实施例 89 :2-(5-氯吡啶-2-基氧基)-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)乙酰胺

[0782] 按照方法 2 合成实施例 89, 收率 :5.7%, 用 10% 在氯仿中的乙酸乙酯作为洗脱剂, 在硅胶 (GF254) 上通过制备型 TLC 纯化。

[0783] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) : δ = 8.92(s, 1H), 8.91(s, 1H), 8.72(s, 1H), 8.12(d, 1H), 7.78-7.74(dd, 1H), 7.66-7.63(dd, 1H), 7.15-7.10(m, 1H), 6.98-6.91(m, 2H), 4.97(s, 2H), 3.93(s, 3H); MS(m/z) : 389(M+H); HPLC(λ = 214nm, [C]) : rt 18.8min(98.7%); mp : 185°C。

[0784] 实施例 90 : N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(1H-吡咯-3-基)乙酰胺

[0785] 按照方法 2 合成实施例 90, 收率 : 4.6%, 用 10% 在氯仿中的乙酸乙酯作为洗脱剂, 在硅胶 (GF254) 上通过制备型 TLC 纯化。

[0786] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) : δ = 8.8(s, 1H), 8.84(s, 1H), 8.34(s, br., 1H), 8.18(s, 1H), 7.73-7.70(dd, 1H), 7.13-7.09(m, 1H), 6.97-6.93(m, 1H), 6.86(s, 1H), 6.81(s, 1H), 6.22(s, 1H), 3.92(s, 3H), 3.69(s, 2H); MS(m/z) : 327(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]) : rt 15.4min(100%); mp : 150°C。

[0787] 实施例 91 : N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(噻吩-3-基)乙酰胺

[0788] 按照方法 2 合成实施例 91, 收率 : 19.9%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm; 10 μ), 流动相 : 0.1% 甲酸 (aq) : AcN(25:75) 并且流速 : 48ml/min, λ = 235nm, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0789] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) : δ = 8.86(s, 1H), 8.84(s, 1H), 7.90(s, 1H), 7.74-7.71(d, 1H), 7.43-7.41(m, 1H), 7.14-7.07(m, 3H), 6.99-6.93(m, 1H), 3.92(s, 3H), 3.83(s, 2H); MS(m/z) : 344(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]) : rt 18.2min(94.4%); mp : 172°C。

[0790] 实施例 92 : (2R)-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-苯基丙酰胺

[0791] 按照方法 1 合成实施例 92, 收率 : 8.5%, 使用 50% 在石油醚中的乙酸乙酯, 用硅胶 (GF254) 通过制备型 TLC 纯化。

[0792] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) : δ = 8.83(s, 1H), 8.81(s, 1H), 7.91(s, br., 1H), 7.71-7.68(dd, 1H), 7.40-7.30(m, 5H), 7.13-7.09(m, 1H), 6.96-6.93(m, 1H), 3.90(s, 3H), 3.76(q, 1H), 1.60(d, 3H); MS(m/z) : 352(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]) : rt 19.4min(91.5%); 浅棕色半固体。

[0793] 实施例 93 : (2S)-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-苯基丙酰胺

[0794] 按照方法 1 合成实施例 93, 收率 : 8.7%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 46mm; 5 μ), 流动相 : 0.01M NH_4OAc (aq) : AcN(55:45), 并且流速 : 48ml/min, λ = 235nm, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0795] ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ = 11.07(s, 1H), 8.91(s, 1H), 8.75(s, 1H), 7.70-7.66(dd, 1H), 7.40(d, 2H), 7.36-7.26(m, 3H), 7.24-7.20(m, 2H), 4.08(q, 1H), 3.86(s, 3H), 1.42(d, 3H); MS(m/z) : 352(M+H); HPLC(λ = 214nm, [C]) : rt 17.7min(100%); mp : 110°C。

[0796] 实施例 94 : N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(2-硝基苯基)乙酰胺

[0797] 按照方法 2 合成实施例 94, 收率 : 6.6%, 使用 Gemini C18 柱 (50x 30mm; 5 μ) 并且流动相 : 0.01M NH_4OAc (aq) : AcN(60:40), 流速 : 1ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0798] ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ = 8.96(s, 1H), 8.63(s, 1H), 8.09(d, 1H), 7.76-7.68(m, 2H), 7.61-7.57(m, 2H), 7.35-7.30(m, 1H), 7.21-7.17(m, 1H), 4.27(s, br., 2H), 3.80(s, 3H); MS(m/z) : 383(M+H); HPLC(λ = 214nm, [C]) : rt 14.9min(90.7%); mp : 177°C。

[0799] 实施例 95 : N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(5-(苯氧基甲

基)-2H-四唑-2-基)乙酰胺

[0800] 按照方法3合成实施例95, 收率:10.8%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm; 10 μ), 流动相:0.01M NH₄OAc(aq):AcN(40:60), 并且流速:4ml/min, 通过制备型HPLC纯化。

[0801] ¹HNMR(400MHz, DMSO-d₆): δ = 11.57(s, 1H), 9.01(s, 1H), 8.65(s, 1H), 7.75-7.71(dd, 1H), 7.37-7.30(m, 3H), 7.23-7.20(m, 1H), 7.07(d, 2H), 6.98(t, 1H), 5.90(s, 2H), 5.41(s, 2H), 3.82(s, 3H); MS(m/z): 436(M+H); HPLC(λ = 214nm, [C]): rt 17.1min(100%); mp: 155°C。

[0802] 实施例96: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(5-(苯氧基甲基)-1H-四唑-1-基)乙酰胺

[0803] 按照方法3, 合成实施例96, 收率:13.6%, 其为实施例95的副产物, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm; 10 μ), 流动相:0.01M NH₄OAc(aq):AcN(40:60), 并且流速:4ml/min, 通过制备型HPLC纯化。

[0804] ¹HNMR(400MHz, DMSO-d₆): δ = 11.52(s, 1H), 8.99(s, 1H), 8.62(s, 1H), 7.74-7.70(dd, 1H), 7.37-7.32(m, 1H), 7.29-7.19(m, 3H), 6.99-6.93(m, 3H), 5.68(s, 2H), 5.52(s, 2H), 3.80(s, 3H); MS(m/z): 436(M+H); HPLC(λ = 214nm, [C]): rt 15.1min(83.5%); mp: 190°C。

[0805] 实施例97: 2-(3-(1H-四唑-1-基)苯氧基)-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)乙酰胺

[0806] 按照方法2合成实施例97, 收率:52.3%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm; 10 μ), 流动相:0.1%甲酸(aq):AcN(40:60), 并且流速:48ml/min, 通过制备型HPLC纯化。

[0807] ¹HNMR(400MHz, DMSO-d₆): δ = 11.12(s, 1H), 10.09(s, 1H), 8.98(s, 1H), 8.73(s, 1H), 7.74-7.71(dd, 1H), 7.60-7.51(m, 3H), 7.37-7.32(m, 1H), 7.24-7.16(m, 2H), 5.01(s, 2H), 3.84(s, 3H); MS(m/z): 422(M+H); HPLC(λ = 214nm, [C]): rt 14.1min(97.8%); mp: 213°C。

[0808] 实施例98: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(呋喃-2-基)乙酰胺

[0809] 按照方法2合成实施例98, 收率:5.1%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm; 10 μ), 流动相:0.01M NH₄OAc(aq):AcN(40:60), 并且流速:48ml/min, 通过制备型HPLC进行初步纯化。通过使用10%在石油醚中的乙酸乙酯进行制备型TLC并用乙醚洗涤来进一步纯化, 得到纯产物。

[0810] ¹HNMR(400MHz, CDCl₃): δ = 8.88(s, 1H), 8.83(s, 1H), 8.09(s, br., 1H), 7.75-7.72(dd, 1H), 7.46(s, 1H), 7.26(与溶剂重合, ~ 1H), 7.12-7.09(m, 1H), 6.96-6.93(m, 1H), 6.42(m, 1H), 6.35(d, 1H), 3.91(s, 2H), 3.84(s, 1H); MS(m/z): 328(M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 17.2min(100%); mp: 141°C。

[0811] 实施例99: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(呋喃-3-基)乙酰胺

[0812] 按照方法2合成实施例99, 收率:11.5%, 使用0-45%在石油醚中的乙酸乙酯, 在中性氧化铝上通过柱色谱纯化。

[0813] ¹HNMR(400MHz, CDCl₃): δ = 8.86(s, 1H), 8.84(s, 1H), 8.00(s, 1H), 7.75-7.71(dd

, 1H), 7.50 (s, 2H), 7.14-7.10 (m, 1H), 6.97-6.93 (m, 1H), 6.43 (s, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.64 (s, 2H); MS (m/z): 328 (M+H); HPLC (λ = 214nm, [A]): rt 16.9min (100%); mp: 168°C。

[0814] 实施例 100: 2-(5-氯吡啶-2-基氧基)-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)乙酰胺

[0815] 按照方法 2 合成实施例 100, 收率: 5.7%, 用 10% 在氯仿中作的乙酸乙酯为洗脱剂, 在硅胶 (GF254) 上通过制备型 TLC 纯化。

[0816] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ = 8.92 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.12 (d, 1H), 7.78-7.74 (dd, 1H), 7.66-7.63 (dd, 1H), 7.15-7.10 (m, 1H), 6.98-6.91 (m, 2H), 4.97 (s, 2H), 3.93 (s, 3H); MS (m/z): 389 (M+H); HPLC (λ = 214nm, [C]): rt 18.8min (98.7%); mp: 185°C。

[0817] 实施例 101: 2-(4-氨基苄氧基)-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)乙酰胺

[0818] 按照方法 1 合成实施例 101 的前体, 分离和纯化后 (收率: 25.6%), 通过方法 10 制备实施例 101, 收率: 54.5%, 用 20-25% 在石油醚中的乙酸乙酯作为洗脱剂, 在硅胶 (100-200 目) 上通过柱色谱纯化。

[0819] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ = 9.01 (s, br., 1H), 8.93 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 7.76-7.72 (dd, 1H), 7.17-7.10 (m, 3H), 6.96-6.93 (m, 1H), 6.68 (d, 2H), 4.54 (s, 2H), 4.07 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.73 (s, br., 2H); MS (m/z): 383 (M+H); HPLC (λ = 214nm, [A]): rt 11.4min (89.6%); mp: 153°C。

[0820] 实施例 102: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(1H-吡咯-2-基)乙酰胺

[0821] 按照方法 4 合成实施例 102, 收率: 8.4%, 使用硅胶 (GF254) 并用 10% 在氯仿中的乙酸乙酯洗脱, 通过制备型 TLC 纯化。

[0822] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 10.92 (s, 1H), 10.64 (s, 1H), 8.93 (d, 1H), 8.76 (s, 1H), 7.73-7.70 (dd, 1H), 7.37-7.31 (m, 1H), 7.24-7.20 (m, 1H), 6.65 (s, 1H), 5.94-5.90 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.73 (s, 2H); MS (m/z): 327 (M+H); HPLC (λ = 214nm, [A]): rt 16.4min (93.2%); mp: 186°C。

[0823] 实施例 103: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(5-(吡啶-3-基)-2H-四唑-2-基)乙酰胺

[0824] 按照方法 3 合成实施例 103, 收率: 25.5%, 产物从反应混合物中沉淀析出, 过滤, 用水洗涤, 然后在真空中干燥, 得到纯产物。

[0825] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 11.61 (s, 1H), 9.26 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.76 (d, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.45 (d, 1H), 7.75-7.74 (dd, 1H), 7.63 (m, 1H), 7.34 (m, 1H), 7.21 (m, 1H), 5.98 (s, 2H), 3.82 (s, 3H); MS (m/z): 407 (M+H); HPLC (λ = 214nm, [A]): 13.2rt min (95%); mp: 277°C。

[0826] 实施例 104: 1-(4-甲氧基苯基)-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)环己烷甲酰胺

[0827] 按照方法 2 合成实施例 104, 收率: 4.7%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x21.2mm; 10 μ), 流动相: 0.1% TFA(aq); 梯度: 在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN-水 (40/60) 至 AcN-水 (95/5), 流速: 6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0828] MS(m/z) :418 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [B]) :rt 20.2min(100%)。

[0829] 实施例 105 :2-(4- 甲氧基苯基)-N-(6-(2- 甲氧基苯基) 嘧啶-4- 基) 乙酰胺

[0830] 按照方法 2 合成实施例 105, 收率 :1.5%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (40 微米) 上通过快速柱色谱纯化。

[0831] MS(m/z) :350 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [B]) :rt 14.3min(95.9%)。

[0832] 实施例 106 :2-(2, 3, 5- 三氟苯基)-N-(6-(2- 甲氧基苯基) 嘧啶-4- 基) 乙酰胺

[0833] 按照方法 2 合成实施例 106, 收率 :32.2%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x 21.2mm ;10 μ), 流动相 :0.1% TFA(aq) :梯度 :在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速 :6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0834] MS(m/z) :374 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [C]) :rt 16.5min(97.8%)。

[0835] 实施例 107 :N-(6-(2- 甲氧基苯基) 嘧啶-4- 基)-2-(4-((4- 甲基哌嗪-1- 基) 甲基) 苯基) 乙酰胺

[0836] 按照方法合成实施例 107, 收率 :2%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (40 微米) 上通过快速柱色谱纯化。

[0837] ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) : δ = 2.84 (s, 3H, N- CH_3), 2.90-2.96 (m, 4H, 2x CH_2), 3.83 (d, ^3J = 5.0Hz, 4H, 2x CH_2), 3.88 (s, 3H, O- CH_3), 7.08 (td, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 0.8Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 7.16 (d, ^3J = 8.3Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 7.48-7.53 (m, 1H, 甲氧基-Ar), 7.72 (dd, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 1.7Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 8.65 (d, ^5J = 0.8Hz, 1H, 嘧啶-Ar), 8.89 (d, ^5J = 1.2Hz, 1H, 嘧啶-Ar) ;MS(m/z) :432 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 8.2min(92.1%)。

[0838] 实施例 108 :2-(2, 5- 二甲氧基苯基)-N-(6-(2- 甲氧基苯基) 嘧啶-4- 基) 乙酰胺

[0839] 按照方法 2 合成实施例 108, 收率 :63.2%, 使用 LUNA C18(2)100A 柱 (250x 21.2mm ;10 μ), 流动相 :0.1% TFA(aq) :梯度 :在 45min 内, 由在 t = 0min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速 :6ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0840] MS(m/z) :380 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 17.4min(91%)。

[0841] 实施例 109 :N-(6-(2- 乙氧基-5- 氟苯基) 嘧啶-4- 基)-2-(吡啶-3- 基) 乙酰胺

[0842] 按照方法 2 合成实施例 109, 收率 :17.7%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm ;10 μ), 流动相 :0.1% 甲酸 (aq) :AcN(25:75), 并且流速 :4ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0843] MS(m/z) :353 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 10.5min(100%) ;mp :175 $^{\circ}\text{C}$ 。

[0844] 实施例 110 :N-(6-(5- 氟-2- 异丙氧基苯基) 嘧啶-4- 基)-2-(吡啶-3- 基) 乙酰胺

[0845] 按照方法 2 合成实施例 110, 收率 :25.7%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm ;10 μ), 流动相 :0.1% 甲酸 (aq) :AcN(25:75), 并且流速 :4ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0846] MS(m/z) :367 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 11.4min(100%) ;mp :175 $^{\circ}\text{C}$ 。

[0847] 实施例 111 :N-(6-(2- 乙氧基-5- 氟苯基) 嘧啶-4- 基)-2-(吡啶-4- 基) 乙酰胺

胺

[0848] 按照方法 2 合成实施例 111, 收率: 18.6%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm; 10 μ), 流动相: 0.1% 甲酸 (aq): AcN (25:75), 并且流速: 4ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0849] MS(m/z): 353 (M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 16.6min(100%); mp: 221°C。

[0850] 实施例 112: N-(6-(5-氟-2-异丙氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(吡啶-4-基)乙酰胺

[0851] 按照方法 2 合成实施例 112, 收率: 27%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm; 10 μ), 流动相: 0.1% 甲酸 (aq): AcN (25:75), 并且流速: 4ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0852] MS(m/z): 367.2 (M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 11.44min(97.4%)。

[0853] 实施例 113: N-(6-(2-乙氧基-4-氟苯基)嘧啶-4-基)-2-(吡啶-4-基)乙酰胺

[0854] 按照方法 2 合成实施例 113, 收率: 19%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm; 10 μ), 流动相: 0.1% 甲酸 (aq): AcN (25:75), 并且流速: 4ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0855] MS(m/z): 353.4 (M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 10.32min(100%)。

[0856] 实施例 114: N-(6-(2-乙氧基-4-氟苯基)嘧啶-4-基)-2-(吡啶-3-基)乙酰胺 *HCl

[0857] 按照方法 2 合成实施例 114, 收率: 17%, 然后通过溶于 DCM 并添加 1.2eq. 的 HCl 乙醚溶液来转化成 HCl-盐。

[0858] MS(m/z): 353.5 (M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 10.38min(98.6%)。

[0859] 实施例 115: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-甲基-2-(吡啶-4-基)丙酰胺

[0860] 按照方法 2 合成实施例 115, 收率: 25%。

[0861] MS(m/z): 367.3 (M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 11.03min(99.6%)。

[0862] 实施例 116: N-(6-(2-乙氧基-4-氟苯基)嘧啶-4-基)-2-(吡啶-4-基)乙酰胺 *HCl

[0863] 按照方法 2 合成实施例 116, 收率: 20%, 然后通过溶于 DCM 并添加 1.2eq. 的 HCl 乙醚溶液来转化成 HCl-盐。

[0864] MS(m/z): 339.3 (M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 9.31min(96.0%)。

[0865] 实施例 117: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(吡啶-4-基硫基)乙酰胺

[0866] 按照方法 3 合成实施例 117, 收率: 8.6%。

[0867] MS(m/z): 371.3 (M+H); HPLC(λ = 214nm, [A]): rt 10.35min(96.0%)。

[0868] 实施例 118: N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(吡啶-3-基氧基)丙酰胺

[0869] 按照方法 2 合成实施例 118, 收率: 38.6%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (100-200 目) 上通过快速柱色谱纯化。

[0870] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ = 1.68(d, 3H, CH_3), 3.93(s, 3H, CH_3), 4.83(q, ^3J =

6.6Hz, 1H, CH), 7.01(d, $^3J = 8.3\text{Hz}$, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.07(t, $^3J = 7.5\text{Hz}$, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.25-7.29(m, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.40-7.45(m, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.94(dd, $^3J = 6.1\text{Hz}$, $^4J = 1.6\text{Hz}$, 1H, 吡啶 -Ar), 8.32(s, br., 1H, 吡啶 -Ar), 8.42(s, br., 1H, 吡啶 -Ar), 8.81-8.83(m, 2H, 嘧啶 -Ar, 吡啶 -Ar), 8.90(d, $^5J = 1.3\text{Hz}$, 1H, 嘧啶 -Ar); MS(m/z): 351(M+H); HPLC($\lambda = 214\text{nm}$, [A]): rt 10.1min(96.9%)。

[0871] 实施例 119: N-(6-(5-氟-2-异丙氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(吡啶-3-基)乙酰胺 *HCl

[0872] 按照方法 2 合成实施例 119, 收率: 24%, 然后通过溶于 DCM 并添加 1.2eq. 的 HCl 乙醚溶液来转化成 HCl-盐。

[0873] MS(m/z): 367.1(M+H); HPLC($\lambda = 214\text{nm}$, [A]): rt 11.1min(94%)。

[0874] 实施例 120: N-(6-(5-氟-2-异丙氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(吡啶-4-基)乙酰胺 *HCl

[0875] 按照方法 2 合成实施例 120, 收率: 23%, 然后通过溶于 DCM 并添加 1.2eq. 的 HCl 乙醚溶液来转化成 HCl-盐。

[0876] MS(m/z): 367.2(M+H); HPLC($\lambda = 214\text{nm}$, [A]): rt 11.2min(83%)。

[0877] 实施例 121: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-4-甲氧基-2-(吡啶-3-基)丁酰胺

[0878] 按照方法 2 合成实施例 121, 收率: 80%, 使用硅胶 (GF254) 并用 3% 在氯仿中的 MeOH 洗脱, 通过制备型 TLC 纯化。

[0879] MS(m/z): 397(M+H); HPLC($\lambda = 214\text{nm}$, [A]): rt 10.7min(100%)。

[0880] 实施例 122: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-3-(吡啶-4-基)丙酰胺 *HCl

[0881] 按照方法 2 合成实施例 122, 收率: 32%, 然后通过溶于 DCM 并添加 1.2eq. 的 HCl 乙醚溶液来转化成 HCl-盐。

[0882] MS(m/z): 353(M+H); HPLC($\lambda = 214\text{nm}$, [A]): rt 9.7min(100%)。

[0883] 实施例 123: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(吡啶-3-基氧基)乙酰胺

[0884] 按照方法 3 合成实施例 123, 收率: 21%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x32mm; 10 μ), 流动相: 0.01M NH_4OAc (aq): AcN(35:65), 并且流速: 48ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0885] MS(m/z): 355(M+H); HPLC($\lambda = 214\text{nm}$, [A]): rt 10min(100%)。

[0886] 实施例 124: N-(6-(2-乙氧基-4-氟苯基)嘧啶-4-基)-2-(吡啶-3-基)乙酰胺

[0887] 按照方法 2 合成实施例 124, 收率: 14.7%, 使用硅胶 (GF254) 并用 60% 在石油醚中的乙酸乙酯洗脱, 通过制备型 TLC 纯化。

[0888] MS(m/z): 339(M+H); HPLC($\lambda = 214\text{nm}$, [A]): rt 8.9min(98.5%)。

[0889] 实施例 125: N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(吡啶-4-基)丙酰胺

[0890] 按照方法 2 合成实施例 125, 收率: 35.9%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x32mm; 10 μ), 流动相: 0.01M NH_4OAc (aq): AcN(35:65), 并且流速: 48ml/min, 通过制备型

HPLC 纯化。

[0891] MS(m/z) :335 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 10.1min(96.2%)。

[0892] 实施例 126 :N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(吡啶-3-基)丙酰胺

[0893] 按照方法 2 合成实施例 126, 收率 :53.7%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm ;10 μ), 流动相 :0.01M NH_4OAc (aq) :AcN(35:65), 并且流速 :40ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0894] MS(m/z) :335 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 10min(98.4%)。

[0895] 实施例 127 :N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-1-(吡啶-4-基)环丙烷甲酰胺 *HCl

[0896] 按照方法 4 合成实施例 127, 收率 :45.2%, 使用硅胶 (GF254), 通过制备型 TLC 纯化, 然后溶于 DCM 并添加 1.2eq. 的 HCl 乙醚溶液来转化成 HCl- 盐。

[0897] MS(m/z) :365 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 10.6min(100%) ;mp :142°C。

[0898] 实施例 128 :N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(4-甲基吡啶-3-基)乙酰胺

[0899] 按照方法 4 合成实施例 128, 收率 :71%, 使用硅胶 (GF254), 通过制备型 TLC 纯化。

[0900] MS(m/z) :353 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 9.8min(92.7%) ;mp :260°C。

[0901] 实施例 129 :3-氨基-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(吡啶-3-基)丙酰胺 *HCl

[0902] 按照方法 2 合成实施例 129, 收率 :13%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm ;10 μ), 流动相 :0.01M NH_4OAc (aq) :AcN(35:65), 并且流速 :40ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化, 然后进行方法 7(收率 :100%)。

[0903] MS(m/z) :368 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 8.0min(100%)。

[0904] 实施例 130 :N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(3-甲基吡啶-4-基)乙酰胺 *HCl

[0905] 按照方法 2 合成实施例 130, 收率 :16.4%, 用 30% 在石油醚中的乙酸乙酯作为洗脱剂, 在硅胶 (100-200 目) 上通过柱色谱纯化, 然后通过溶于 DCM 并添加 1.2eq. HCl 乙醚溶液来转化成 HCl- 盐。

[0906] MS(m/z) :353 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 9.8min(100%)。

[0907] 实施例 131 :N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(嘧啶-2-基氧基)乙酰胺

[0908] 按照方法 2 合成实施例 131, 收率 :25.1%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (100-200 目) 上通过快速柱色谱纯化。

[0909] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) : δ = 3.92(s, 3H, CH_3), 5.04(s, 2H, CH_2), 7.01(d, 1H, 甲氧基-Ar), 7.04-7.08(m, 1H, 甲氧基-Ar), 7.38-7.45(m, 1H, 甲氧基-Ar), 7.92(dd, 1H, 甲氧基-Ar), 8.57(d, 2H, 嘧啶-Ar), 8.81(s, br., 1H, 嘧啶-Ar), 8.91(s, br., 2H, 嘧啶-Ar) ; MS(m/z) :338 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 11.7min(97%)。

[0910] 实施例 132 :2-(2-溴吡啶-3-基氧基)-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)乙酰胺 *TFA

[0911] 按照方法 2 合成实施例 132, 收率 :14%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (100-200 目) 上通过快速柱色谱进行第一步纯化, 使用 LUNA C18(2) 100A 柱 (250x 21.2mm ;

10 μ), 流动相: 0.1% TFA(aq): 梯度: 在 45min 内, 由在 $t = 0$ min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速: 6ml/min, 通过制备型 HPLC 进行最终纯化, 为 TFA 盐。

[0912] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): $\delta = 3.92$ (s, 3H, CH_3), 4.72 (s, 2H, CH_2), 7.02 (d, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.08 (td, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.20 (dd, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.27-7.30 (m, 1H, 甲氧基 -Ar), 7.90 (dd, 1H, 吡啶 -Ar), 8.13 (dd, 1H, 吡啶 -Ar), 8.82 (d, 1H, 嘧啶 -Ar), 9.03 (d, 1H, 嘧啶 -Ar), 8.91 (s, br., 1H, 吡啶 -Ar); MS(m/z): 415 (M+H); HPLC ($\lambda = 214\text{nm}$, [A]): rt 16.5min (100%)。

[0913] 实施例 133: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-3-(4-甲基吡啶-3-基)丙酰胺 *HCl

[0914] 按照方法 2 合成实施例 133, 收率: 45%, 然后通过溶于 DCM 并添加 1.2eq. 的 HCl 乙醚溶液来转化成 HCl- 盐。

[0915] MS(m/z): 367 (M+H); HPLC ($\lambda = 214\text{nm}$, [A]): rt 11.7min (98.1%); mp: 分解: 110°C。

[0916] 实施例 134: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-6,7-二氢-5H-环戊二烯并 [b] 吡啶-7-甲酰胺 *HCl

[0917] 按照方法 4 合成实施例 134, 收率: 10%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm; 10 μ), 流动相: 0.01M NH_4OAc (aq): AcN (35:65) 并且流速: 40ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化, 然后通过溶于 DCM 并添加 1.2eq. 的 HCl 乙醚溶液来转化成 HCl- 盐。

[0918] MS(m/z): 365 (M+H); HPLC ($\lambda = 214\text{nm}$, [A]): rt 13.7min (83.2%); mp: 分解: 200°C。

[0919] 实施例 135: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-6,7-二氢-5H-环戊二烯并 [b] 吡啶-7-甲酰胺

[0920] 按照方法 2 合成实施例 135, 收率: 3%, 使用在氯仿中的甲醇 (0-10%), 在硅胶 (100-200 目) 上通过快速柱色谱进行第一步纯化, 使用 LUNA C18 (2) 100A 柱 (250x 21.2mm; 10 μ), 流动相: 0.1% TFA(aq): 梯度: 在 45min 内, 由在 $t = 0$ min 时 AcN- 水 (40/60) 至 AcN- 水 (95/5), 流速: 6ml/min, 通过制备型 HPLC 进行最终纯化, mp: 220°C。

[0921] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): $\delta = 5.08$ (s, 2H, CH_2), 7.34 (d, 1H), 7.54-7.59 (m, 1H), 7.64-7.68 (m, 2H), 7.74 (d, 1H), 7.79-7.84 (m, 1H), 7.90-7.95 (m, 1H), 7.97 (d, 1H), 8.24-8.33 (m, 3H), 8.72 (d, 1H); MS(m/z): 403 (M+H); HPLC ($\lambda = 214\text{nm}$, [A]): rt 18.1min (92.1%)。

[0922] 实施例 136: 2-氨基-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(吡啶-3-基)乙酰胺 *HCl

[0923] 按照方法 2 合成实施例 136, 收率: 24%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x 32mm; 10 μ), 流动相: 0.01M NH_4OAc (aq): AcN (35:65), 并且流速: 40ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化, 然后进行方法 7 (收率: 100%)。

[0924] MS(m/z): 354 (M+H); HPLC ($\lambda = 214\text{nm}$, [A]): rt 9.8min (78.7%)。

[0925] 实施例 137: N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(哌嗪-1-基)-2-(吡啶-3-基)乙酰胺 *TFA

[0926] 按照方法 2 和 9 合成实施例 137, 方法 2 的收率: 15%, 方法 9 的收率: 95%。

[0927] MS(m/z): 423 (M+H); HPLC ($\lambda = 214\text{nm}$, [A]): rt 9.4min (98.1%)。

- [0928] 实施例 138 :N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)哌啶-1-甲酰胺
- [0929] 按照方法 4 合成实施例 138, 收率 :35%。
- [0930] MS(m/z) :313 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 12.2min(100%)。
- [0931] 实施例 139 :N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)哌啶-1-甲酰胺 *TFA
- [0932] 按照方法 4 合成实施例 139, 然后进行方法 9, 收率 :5%。
- [0933] MS(m/z) :314 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 旋转异构体 :7.1+7.4min(94.4%)。
- [0934] 实施例 140 :4-乙基-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)哌嗪-1-甲酰胺 *HCl
- [0935] 按照方法 4 合成实施例 140, 收率 :25.3%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x32mm; 10 μ), 流动相 :0.1% 甲酸 (aq) :AcN(25:75), 并且流速 :4ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化, 然后用 5% 在石油醚中的丙酮洗涤, 接着通过溶于 DCM 并添加 1.2eq. 的 HCl 乙醚溶液来转化成 HCl- 盐, 收率 :100%。
- [0936] MS(m/z) :360 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 9.1min(99%) ;mp :219°C。
- [0937] 实施例 141 :1-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-3-(吡啶-3-基)脲 *HCl
- [0938] 按照方法 12 合成实施例 141, 收率 :21.2%, 通过用 5% 在 DCM 中的甲醇稀释以沉淀析出固体来纯化, 然后通过溶于 DCM 并添加 1.2eq. 的 HCl 乙醚溶液来转化成 HCl- 盐, 收率 :100%。
- [0939] MS(m/z) :340 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [B]) :rt 10.2min(99.8%) ;mp :224°C。
- [0940] 实施例 142 :1-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)脲
- [0941] 按照方法 4 合成实施例 142, 收率 :11.8%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x32mm; 10 μ), 流动相 :0.1% 甲酸 (aq) :AcN(25:75), 并且流速 :4ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。
- [0942] MS(m/z) :262 (M) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 12.3min(98%) ;mp :170°C。
- [0943] 实施例 143 :N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(吡咯烷-1-基)乙酰胺
- [0944] 按照方法 3 合成实施例 143, 收率 :11.2%, 用 1% 在氯仿中的甲醇作为洗脱剂, 通过制备型 TLC 纯化 (硅胶 GF254)。
- [0945] ¹HNMR (400MHz, CDCl₃) : δ = 9.76 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 7.77-7.74 (dd, 1H), 7.14-7.12 (m, 1H), 6.97-6.94 (m, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.34 (s, 2H), 2.72 (m, 4H), 1.88 (m, 4H) ;MS(m/z) :331 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [B]) :rt 9.1min(98.3%) ;mp :115°C。
- [0946] 实施例 144 :N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(2-氧代哌啶-1-基)乙酰胺
- [0947] 按照方法 2 合成实施例 144, 收率 :8.8%, 用 7% 在氯仿中的 MeOH 作为洗脱剂, 通过进行两次制备型 TLC 来纯化。
- [0948] ¹HNMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ = 8.94 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 7.69-7.66 (dd, 1H), 7.37-7.32 (m, 1H), 7.24-7.20 (m, 1H), 4.20 (s, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.34 (m, 2H), 2.26 (m, 2H), 1.75 (s, br., 4H) ;MS(m/z) :359 (M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 12.9min(100%) ;mp :220°C。
- [0949] 实施例 145 :N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-3-(2-氧代哌啶-1-基)

丙酰胺

[0950] 按照方法 2 合成实施例 145, 收率 :13.9%, 用 5% 在氯仿中的 MeOH 作为洗脱剂, 在硅胶 (GF254) 上通过制备型 TLC 纯化。

[0951] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ = 8.92 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 7.71-7.68 (dd, 1H), 7.37-7.32 (m, 1H), 7.24-7.21 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.59-3.56 (与溶剂重合, $\sim$ 1H), 3.55 (t, 2H), 3.30 (t, 2H), 2.69 (t, 2H), 2.20 (t, 2H), 1.70-1.67 (m, 4H) ; MS (m/z) : 373 (M+H) ; HPLC (λ = 214nm, [A]) : rt 13.3min (%) ; mp : 208°C。

[0952] 实施例 146 : 2-(4-苄基哌嗪-1-基)-N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)乙酰胺

[0953] 按照方法 3 合成实施例 146, 收率 :29.2%, 用 1% 在氯仿中的甲醇作为洗脱剂, 通过制备型 TLC 纯化 (硅胶 GF254)。

[0954] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CD_3OD) : δ = 8.86 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 7.67-7.64 (dd, 1H), 7.33-7.31 (m, $\sim$ 4H), 7.25-7.15 (m, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.57 (s, 2H), 3.26 (s, 2H), 2.67 (s, br., 4H), 2.60 (s, br., 4H) ; MS (m/z) : 436 (M+H) ; HPLC (λ = 214nm, [A]) : rt 11.9min (93.8%) ; mp : 136°C。

[0955] 实施例 147 : N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(4,4-二甲基-2,5-二氧代咪唑烷-1-基)乙酰胺

[0956] 按照方法 3 合成实施例 147, 收率 :25.4%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x32mm; 10 μ), 流动相 : 0.1% 甲酸 (aq) : AcN (25:75), 并且流速 : 4ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0957] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CD_3OD) : δ = 8.87 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 7.64-7.61 (dd, 1H), 7.23-7.12 (m, 3H), 4.39 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 1.45 (s, 6H) ; MS (m/z) : 388 (M+H) ; HPLC (λ = 214nm, [A]) : rt 13.0min (97.7%) ; mp : 260°C。

[0958] 实施例 148 : N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-氧代-2-(哌啶-1-基)乙酰胺

[0959] 按照方法 2 合成实施例 148, 收率 :26.3%, 使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱 (250x32mm; 10 μ), 流动相 : 0.1% 甲酸 (aq) : AcN (25:75), 并且流速 : 4ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

[0960] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : δ = 9.60 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 7.76-7.73 (dd, 1H), 7.15-7.10 (m, 1H), 6.98-6.94 (m, 1H), 4.03-4.01 (m, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.66 (t, 2H), 1.70 (s, br., 6H) ; MS (m/z) : 359 (M+H) ; HPLC (λ = 214nm, [A]) : rt 17.1min (100%) ; mp : 165°C。

[0961] 实施例 149 : N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙酰胺

[0962] 按照方法 2 合成实施例 149, 收率 :14.5%, 用乙酸乙酯作为洗脱剂, 在中性氧化铝上通过快速柱色谱纯化。

[0963] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : δ = 8.92 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.68 (s, br., 1H), 7.75-7.72 (dd, 1H), 7.14-7.09 (m, 1H), 6.99-6.93 (m, 1H), 4.13 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.56 (t, 2H), 2.51 (t, 2H), 2.17-2.14 (m, 2H) ; MS (m/z) : 345 (M+H) ; HPLC (λ = 214nm, [A]) : rt

12.1min(97.6%) ;mp :219℃。

[0964] 实施例 150 :N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙酰胺

[0965] 按照方法 4 合成实施例 150,收率:88.2%,使用在氯仿中的甲醇(0-10%),在硅胶(100-200 目)上通过快速柱色谱纯化。

[0966] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CD_3OD) : δ = 2.07-2.15(m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 2.44(t, ^3J = 7.5Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C(O)}$), 3.56(t, ^3J = 7.5Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$), 3.88(s, 3H, CH_3), 4.22(s, 2H, $\text{N-CH}_2\text{-C(O)}$), 7.06(t, ^3J = 7.5Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 7.14(d, ^3J = 8.3Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 7.43-7.48(m, 1H, 甲氧基-Ar), 7.76(dd, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 1.7Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 8.61(s, 1H, 嘧啶-Ar), 8.82(s, 1H, 嘧啶-Ar) ;MS(m/z) :327(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 10.9min(100%)。

[0967] 实施例 151 :2-(2,5-二氢-1-异丁基-5-氧代-1H-吡唑-3-基)-N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)乙酰胺

[0968] 按照方法 2 合成实施例 151,收率:3.4%,使用 LUNA C18(2)100A 柱(250x 21.2mm;10 μ),流动相:0.1% TFA(aq):梯度:在 45min 内,由在 t = 0min 时 AcN-水(40/60)至 AcN-水(95/5),流速:6ml/min,通过制备型 HPLC 纯化。

[0969] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CD_3OD) : δ = 0.91(d, ^3J = 6.6Hz, 6H, 2x CH_3), 2.09-2.20(m, 1H, CH-CH_2), 3.80(d, ^3J = 7.5Hz, 2H, CH-CH_2), 3.89(s, 3H, CH_3), 3.90-3.92(m, 2H, CH_2), 7.11(td, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 0.8Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 7.18(d, ^3J = 7.9Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 7.51-7.56(m, 1H, 甲氧基-Ar), 7.73(dd, ^3J = 7.5Hz, ^4J = 1.7Hz, 1H, 甲氧基-Ar), 8.68(d, ^5J = 0.8Hz, 1H, 嘧啶-Ar), 8.92(d, ^5J = 0.8Hz, 1H, 嘧啶-Ar) ;MS(m/z) :382(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 13.4min(86.7%)。

[0970] 实施例 152 :N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(2,5-二氢-1-异丁基-5-氧代-1H-吡唑-3-基)乙酸

[0971] 按照方法 4 合成实施例 152,收率:9.9%,使用 Gemini C18(50x 30mm;5 μ)柱,通过制备型 HPLC 纯化。

[0972] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : δ = 9.22(s, 1H), 8.93(s, 1H), 8.78(s, 1H), 8.55(s, 1H), 7.75(dd, 2H), 7.20-7.15(m, 2H), 6.95(m, 2H), 6.12(s, 1H), 4.30(s, 2H), 4.03(d, 2H), 3.91(d, 6H), 2.15(m, 1H), 1.04(d, 6H) ;MS(m/z) :400(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 22.2min(86.2%)。

[0973] 实施例 153 :N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(哌啶-4-基)乙酰胺*HCl

[0974] 按照方法 2 合成实施例 153,收率:27.4%,然后作为最后几步,按照方法 9 脱保护,通过溶于 NaHCO_3 水溶液来转化成游离碱,然后通过溶于 DCM 并添加 1.2eq. 的 HCl 乙醚溶液来转化成 HCl-盐,收率:23.3%。

[0975] MS(m/z) :345(M+H) ;HPLC(λ = 214nm, [A]) :rt 9.4min(95.8%)。

[0976] 实施例 154 :N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(2,6-二氧代哌啶-4-基)乙酰胺

[0977] 按照方法 2 合成实施例 154,收率:4.0%,使用 Zodiacsil 120-5-C18 柱(250x

32mm;10 μ), 流动相:0.1%甲酸(aq):AcN(25:75), 并且流速:4ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化, 然后用乙醚洗涤。

[0978] MS(m/z):355(M+H);HPLC(λ = 214nm, [A]):rt 10.6min(92.5%)。

[0979] 实施例 155:N-(6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(2-氧代哌啶-4-基)乙酰胺

[0980] 按照方法 2 合成实施例 155, 收率:4.4%, 使用在氯仿中的甲醇(0-10%), 在硅胶(40 微米)上通过快速柱色谱纯化, 然后使用硅胶(GF254)并用 3%在氯仿中的 MeOH 洗脱, 通过制备型 TLC 纯化。

[0981] MS(m/z):359(M+H);HPLC(λ = 214nm, [A]):rt 12.6min(99.5%);mp:217 $^{\circ}$ C。

[0982] 实施例 156:N-(6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基)-2-(5-氧代吡咯烷-3-基)乙酰胺

[0983] 按照方法 2 合成实施例 156, 收率:3.8%, 使用 Zodiacsil[®] 120-5-C18 柱(250x 32mm;10 μ), 流动相:0.1%甲酸(aq):AcN(25:75) 并且流速:4ml/min, 通过制备型 HPLC 纯化。

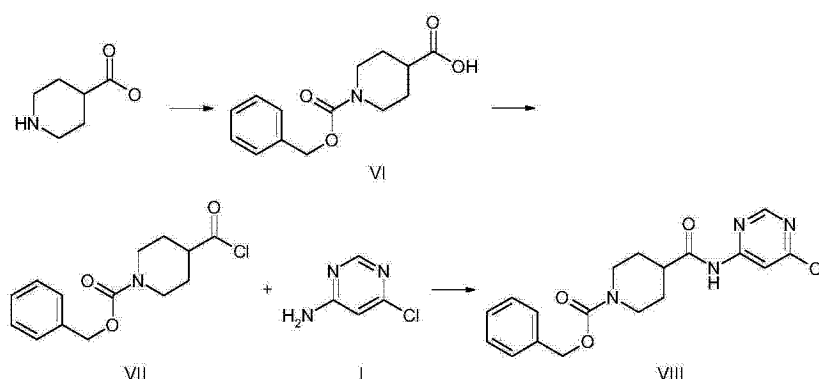
[0984] MS(m/z):327(M+H);HPLC(λ = 214nm, [A]):rt 10.4min(100%);mp:220 $^{\circ}$ C。

[0985] 表 2 中的实施例:

[0986] 方法

[0987] 制备共同的中间体(VIII):

[0988]



[0989] 制备 Cbz-哌啶-4-甲酸(VI):

[0990] 在 0 $^{\circ}$ C, 在 0.5h 内, 向哌啶-4-甲酸(5.0g, 38.7mmol) 和 NaOH(1.86g, 46.5mmol) 在 H₂O(15ml) 中的搅拌溶液, 滴加 50%氯甲酸苄酯的甲苯溶液(13.6mL, 40.6mmol)。在室温下搅拌反应混合物 6 小时。通过 TLC 监测反应进程。结束后, 用稀 HCl(pH 3) 酸化反应混合物, 然后用乙酸乙酯(3 $\times$ 100ml) 萃取。用硫酸钠干燥合并的有机相, 然后浓缩。通过快速柱色谱纯化粗产物(硅胶, 用 30%乙酸乙酯/正己烷洗脱), 得到为浅黄色油的哌啶-1,4-二甲酸单苄酯(VI)(6.5g, 64%)。

[0991] HPLC 纯度 λ = 220nm:95%。

[0992] ESMS:m/z = 264(M+1)。

[0993] 制备化合物(VII):

[0994] 将哌啶-1,4-二甲酸单苄酯(VI)(5.0g, 19mmol) 悬浮于亚硫酸氯中(10ml) 并在室温下搅拌 1 小时。蒸出过量的亚硫酸氯, 然后即刻将所得粗品 4-氯羰基哌啶-1-甲酸苄

酯 (VII) 用于下一反应。

[0995] 制备化合物 (VIII) :

[0996] 将 4-氯嘧啶-1-甲酸苄酯 (VII) (5.70g, 20.2mmol)、4-氨基-6-氯嘧啶 (I) (2.10g, 16.2mmol) 和 4-(N,N-二甲基氨基)吡啶 (2.90g, 23.7mmol) 在二氯甲烷 (50ml) 中的混合物加热至回流温度, 保持 18 小时。通过 TLC 监测反应进程, 然后蒸馏完全蒸出二氯甲烷。将碳酸氢钠水溶液加入剩余物, 用乙酸乙酯 (3×100ml) 萃取混合物。分出有机层, 用硫酸钠干燥, 然后浓缩, 得到为黄色固体的 4-(6-氯嘧啶-4-基氨基甲酰基) 嘧啶-1-甲酸苄酯 (VIII) (5.9g, 79%)。

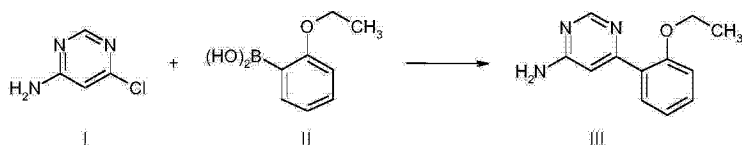
[0997] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$; 82%。

[0998] ESMS: $m/z = 375 (M+1)$ 。

[0999] 实施例的合成

[1000] 实施例 1A: 合成嘧啶-4-甲酸 [6-(2-乙氧基苯基) 嘧啶-4-基] 酰胺 (化合物 #1A)

[1001]

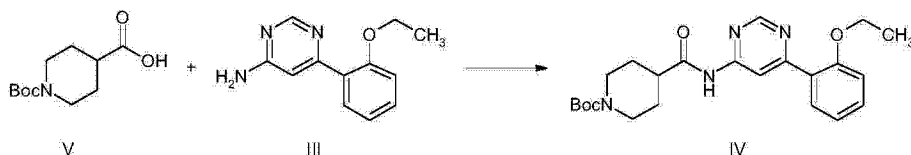


[1002] 向 2-乙氧基苯基硼酸 (II) (1.73g, 10.4mmol) 在 30ml 的 1,4-二氧六环中的溶液加入 10ml 饱和碳酸钠水溶液。在室温下用氩气吹洗 10min。将 6-氯嘧啶-4-基胺 (I) (1.50g, 11.5mmol) 和四(三苯基膦)钯 (0) (0.66g, 0.57mmol) 同时地加入反应混合物中, 并再通入氩气 5min。加热反应混合物至回流, 保持 12 小时。经 TLC 表明反应结束后, 在减压下浓缩混合物。在二氯甲烷和水之间分配剩余物。分出有机层, 用水和盐水洗涤, 用硫酸钠干燥, 然后浓缩。用 15% 在二氯甲烷中的乙酸乙酯洗脱, 通过柱色谱纯化所得粗品剩余物, 得到 6-(2-乙氧基苯基) 嘧啶-4-基胺 (III) (2.17g, 87.3%)。

[1003] $^1\text{H NMR} (\text{CDCl}_3) \delta = 8.64 (1\text{H}, \text{s}), 7.90-7.86 (1\text{H}, \text{m}), 7.41-6.88 (4\text{H}, \text{m}), 4.85 (2\text{H}, \text{bs}), 4.15 (2\text{H}, \text{q}), 1.40 (3\text{H}, \text{t})$ 。

[1004] MS: $m/z = 216 (M+1)$ 。

[1005]

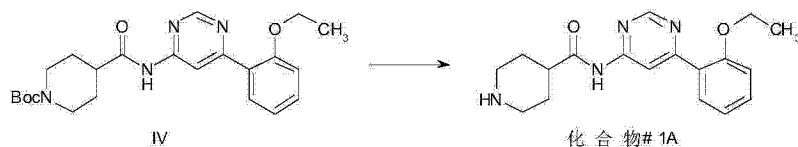


[1006] 在 0°C, 向嘧啶-1,4-二甲酸单叔丁酯 (V) (1.27g, 5.54mmol) 在无水二氯甲烷中的搅拌溶液, 加入 HOBt (1.27g, 9.30mmol) 和 EDCI (1.78g, 9.30mmol), 然后搅拌反应混合物 5-10 分钟。然后加入 6-(2-乙氧基苯基) 嘧啶-4-基胺 (III) (1.00g, 4.65mmol), 然后在氮气氛围下加热反应混合物至回流, 保持 48 小时。用二氯甲烷稀释反应混合物, 然后用 1N HCl、碳酸氢钠水溶液、水和盐水洗涤, 接着用无水硫酸钠干燥。在减压下除去溶剂, 然后通过柱色谱纯化粗产物, 得到 4-[6-(2-乙氧基苯基) 嘧啶-4-基氨基甲酰基] 嘧啶-1-甲酸叔丁酯 (IV) (0.79g, 40%)。

[1007] $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ = 8.86-8.83 (2H, m), 8.17 (1H, bs), 8.05-7.88 (1H, m), 7.42-7.28 (1H, m), 7.16-6.87 (2H, m), 4.25-4.08 (4H, m), 2.86-2.68 (2H, m), 2.48-2.28 (1H, m), 2.00-1.62 (4H, m), 1.59-1.41 (12H, m)。

[1008] MS : m/z = 427 (M+1)。

[1009]



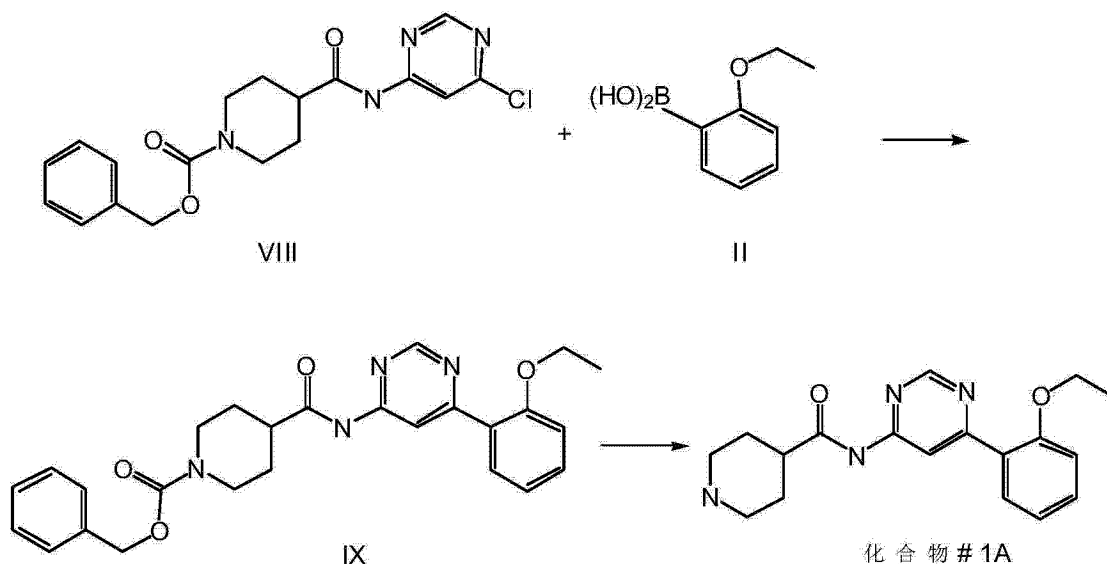
[1010] 在 0℃, 向 4-[6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸叔丁酯 (IV) (0.500g, 1.17mmol) 在无水二氯甲烷 (1.5ml) 中的搅拌溶液加入 TFA (1.5ml), 然后搅拌反应混合物 2-3 小时。反应结束后 (经 TLC 监测), 在减压下除去溶剂混合物, 然后将二氯甲烷加入剩余物。加入固体碳酸钠, 然后搅拌混合物 3-4 小时。其后过滤混合物并用二氯甲烷洗涤。在减压下浓缩合并的滤液, 得到固体, 用 10% 乙酸乙酯 / 己烷洗涤此固体以除去非极性杂质, 得到为纯白色固体的哌啶-4-甲酸 [6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基] 酰胺 (化合物 #1A) (0.19g, 50%)。

[1011] $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ = 8.87-8.84 (2H, m), 8.01-7.84 (2H, m), 7.42-7.27 (1H, m), 7.15-6.89 (2H, m), 4.18 (2H, q), 3.24-3.16 (2H, m), 2.80-2.60 (2H, m), 2.47-2.38 (1H, m), 2.01-1.63 (4H, m), 1.45 (3H, t)。

[1012] MS : m/z = 327 (M+1)。

[1013] 实施例 1A 的备选合成

[1014]



[1015] 步骤 I :

[1016] 在室温下, 在氮气氛下, 向 4-(6-氯嘧啶-4-基氨基甲酰基)哌啶-1-甲酸苄酯 (VIII) (6.15g, 16.4mmol)、2-乙氧基苯基硼酸 (II) (3.00g, 18.1mmol) 在饱和碳酸钠溶液 (10ml) 和 1,4-二氧六环 (10ml) 中的搅拌混合物, 加入醋酸钯 (II) (0.81g, 3.6mmol), 然后加入三苯基膦 (0.94g, 3.6mmol)。在 110℃ 下, 加热并回流所得反应混合物 1 小时, 并且通过

TLC 监测。通过硅藻土层过滤反应混合物,然后用乙酸乙酯 (3×100ml) 萃取滤液。分出有机层,合并,用硫酸钠干燥,过滤,然后在减压下浓缩。通过快速柱色谱纯化粗产物 (硅胶,用 50% 乙酸乙酯 / 正己烷洗脱),得到为浅黄色油的 4-[6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯 (IX) (3.8g, 50%)。

[1017] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$:94%。

[1018] ESMS : $m/z = 461$ (M+1)。

[1019] 步骤 II:

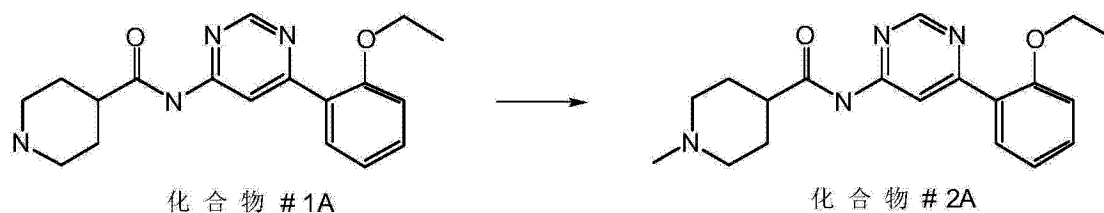
[1020] 在氮气氛下,将 4-[6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯 (IX) (1.47g, 3.19mmol) 溶于甲醇 (20ml),然后加入 10% Pd/C (0.81g)。在氢囊压下,在室温下搅拌反应 18 小时。通过硅藻土层,从反应混合物中过滤催化剂,然后将滤液蒸发至干,得到哌啶-4-甲酸 [6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #1A) (0.61g, 58%)。

[1021] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$:87%。

[1022] ESMS : $m/z = 327$ (M+1)。

[1023] 实施例 2A:合成 1-甲基哌啶-4-甲酸 [6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #2A)

[1024]



[1025] 在 0℃,向哌啶-4-甲酸 [6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #1A) (0.28g, 0.86mmol) 和 33% 福尔马林溶液 (0.045ml) 在 10ml AcN:MeOH:H₂O (2:1:1) 中的搅拌混合物,加入 NaCNBH₃ (0.13g, 2.1mmol)。在室温下搅拌反应混合物 30min,然后用乙酸乙酯 (3×20ml) 萃取。分出有机层,合并,用硫酸钠干燥,过滤,然后在减压下浓缩。通过制备型 HPLC 纯化粗产物 (C-18, 含有 0.05% TFA 的 AcN:H₂O),得到为白色固体的 1-乙基哌啶-4-甲酸 [6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #2A) (0.195g, 66%)。

[1026] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$:99%。

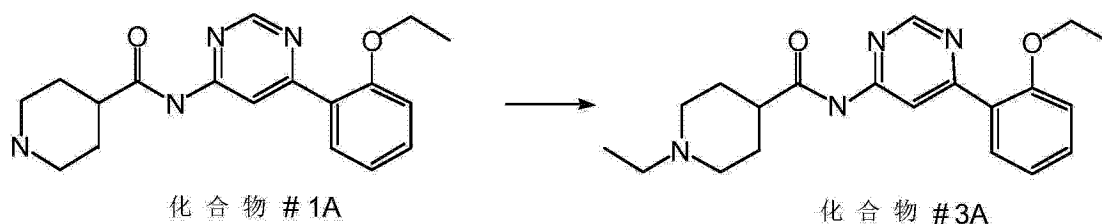
[1027] ESMS : $m/z = 341$ (M+1)。

[1028] ¹HNMR (500MHz, DMSO-d₆) $\delta = 11.0$ (s, -NH, 1H); 9.20 (br, -NH, 1H); 8.95 (s, Ar-H, 1H); 8.85 (s, Ar-H, 1H); 8.0 (m, Ar-H, 1H); 7.45 (m, Ar-H, 1H); 7.2 (m, Ar-H, 1H); 7.05 (m, Ar-H, 1H); 4.2 (q, J = 7.4Hz, -OCH₂CH₃, 2H); 3.41 (m, 2H); 2.95 (m, 2H); 3.0 (m, 2H); 2.80 (s, -NCH₃, 3H); 2.5 (br, 与 DMSO 重叠, 1H); 2.1 (m, 2H); 1.8 (m, 2H); 1.4 (t, J = 7.4Hz, -OCH₂CH₃, 2H)。

[1029] 熔点:65-67℃。

[1030] 实施例 3A:合成 1-乙基哌啶-4-甲酸 [6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #3A)

[1031]



[1032] 在室温下,向哌啶-4-甲酸[6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺(化合物#1A)(0.20g, 0.61mmol)和碳酸钾(0.10g, 0.72mmol)在DMF(3ml)中的搅拌溶液加入溴乙烷(0.07g, 0.05ml, 0.61mmol)。在60℃加热反应混合物1小时。通过TLC监测反应进程。将反应混合物倾入冰水中,然后用乙酸乙酯萃取(3×100mL)。分出有机层,合并,用硫酸钠干燥,过滤,然后在减压下浓缩。通过用乙醚(3ml)研制来纯化粗产物,过滤,然后在高真空度下干燥,得到为白色固体的1-乙基哌啶-4-甲酸[6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺(化合物#3A)(0.093g, 43%)。

[1033] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$; 96%。

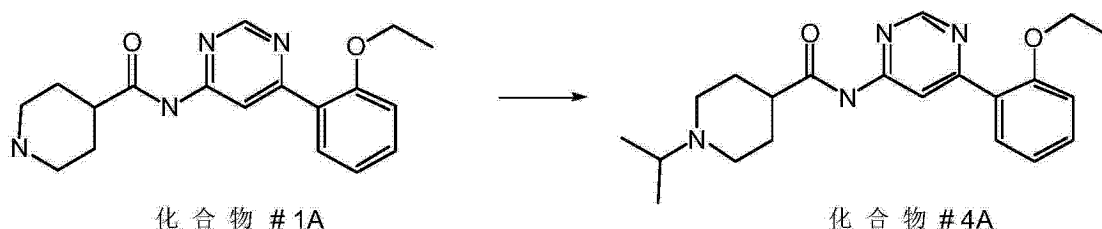
[1034] ESMS: $m/z = 355 (M+1)$ 。

[1035] ^1H NMR(500MHz, CDCl_3) $\delta = 8.95(\text{s}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $8.90(\text{s}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $8.0(\text{s}, \text{Ar-H}$ 和 $-\text{NH}$, $2\text{H})$; $7.4(\text{s}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $7.05 - 7.0(\text{m}, \text{Ar-H}, 2\text{H})$; $4.2(\text{q}, J = 7.4\text{Hz}, -\text{OCH}_2\text{CH}_3, 2\text{H})$; $3.05(\text{m}, 2\text{H})$; $2.4(\text{q}, J = 7.3\text{Hz}, -\text{NCH}_2\text{CH}_3, 2\text{H})$; $2.35(\text{s}, 1\text{H})$; $2.1 - 1.8(\text{m}, 6\text{H})$; $1.5(\text{t}, J = 7.4\text{Hz}, -\text{OCH}_2\text{CH}_3, 3\text{H})$; $0.5(\text{t}, J = 7.3\text{Hz}, -\text{NCH}_2\text{CH}_3, 3\text{H})$ 。

[1036] 熔点: $137-139^\circ\text{C}$ 。

[1037] 实施例 4A: 合成 1-异丙基哌啶-4-甲酸[6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺(化合物#4A)

[1038]



[1039] 在室温下,向哌啶-4-甲酸[6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺(化合物#1A)(0.35g, 1.0mmol)和碳酸钾(0.17g, 1.2mmol)在DMF(4ml)中的搅拌溶液加入2-溴丙烷(0.10ml, 1.07mmol)。在60℃加热反应混合物1小时。通过TLC监测反应进程。将反应混合物倾入冰水中,然后用乙酸乙酯萃取(3×100ml)。分出有机层,合并,用硫酸钠干燥,过滤,然后在减压下浓缩。通过制备型HPLC纯化粗产物(C-18, $\text{AcN}:\text{H}_2\text{O}$ 含有 0.05% TFA),然后冷冻干燥,得到为白色固体的1-异丙基哌啶-4-甲酸[6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺(化合物#4A)(0.2g, 51%)。

[1040] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$; 99%。

[1041] ESMS: $m/z = 369 (M+1)$ 。

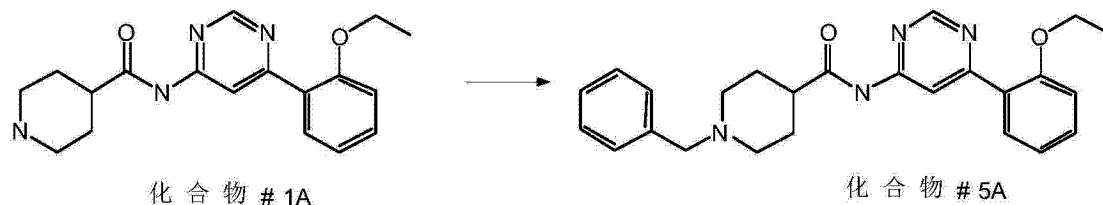
[1042] ^1H NMR(500MHz, CDCl_3) δ : $8.95(\text{s}, \text{Ar-H}, 2\text{H})$; $8.4(\text{br}, -\text{NH}, 1\text{H})$; $8.05(\text{m}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $7.42(\text{m}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $7.1 - 7.0(\text{m}, \text{Ar-H}, 2\text{H})$; $4.2(\text{q}, J = 7.4\text{Hz}, -\text{OCH}_2\text{CH}_3, 2\text{H})$; $4.0(\text{m}, 1\text{H})$; $3.6(\text{m}, 2\text{H})$; $3.3(\text{m}, 2\text{H})$; $2.8 - 2.5(\text{m}, 3\text{H})$; $2.2(\text{m}, 2\text{H})$; $1.3(\text{t}, J = 7.4\text{Hz}, -\text{OCH}_2\text{CH}_3, 3\text{H})$;

1. 10 (d, 6H)。

[1043] 熔点: 173–175°C

[1044] 实施例 5A: 合成 1-苄基哌啶-4-甲酸 [6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #5A)

[1045]



[1046] 在室温下, 向哌啶-4-甲酸 [6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #1A) (0.60g, 1.84mmol) 和碳酸钾 (0.25g, 1.8mmol) 在 DMF (40mL) 中的搅拌溶液加入苄基溴 (0.31g, 0.22mL, 1.84mmol)。在 60°C 加热反应混合物 1 小时并通过 TLC 监测反应进程。将混合物倾入冰水中, 然后用乙酸乙酯萃取 (3×100mL)。分出有机层, 合并, 用硫酸钠干燥, 过滤, 然后在减压下浓缩。用无水乙醚研制粗产物, 然后过滤固体, 得到为黄色固体的 1-苄基-哌啶-4-甲酸 [6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #5A) (0.165g, 21%)。

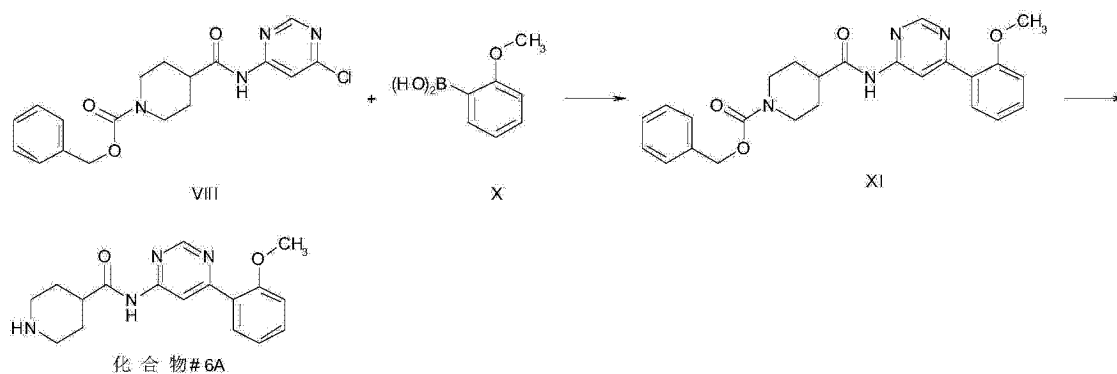
[1047] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$: 96%。

[1048] ESMS: $m/z = 417 (M+1)$ 。

[1049] $^1\text{H NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) $\delta = 10.8$ (s, -NH, 1H); 8.90 (s, Ar-H, 1H); 8.89 (s, Ar-H, 1H); 7.42 (m, Ar-H, 1H); 7.30 (m, Ar-H, 5H); 7.2 (m, Ar-H, 1H); 7.05 (m, Ar-H, 1H); 4.2 (q, OCH_2CH_3 , 2H); 3.42 (s, 2H); 2.9 (br, 2H); 2.5 (br, 与 DMSO 质子重叠, 1H); 2.0 (m, 2H); 1.8 (m, 2H); 1.6 (m, 2H); 1.4 (t, $J = 7.3\text{Hz}$, OCH_2CH_3 , 3H)。

[1050] 实施例 6A: 合成哌啶-4-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #6A)

[1051]



[1052] 步骤 I:

[1053] 在室温下, 在氮气氛围下, 向 4-(6-氯嘧啶-4-基氨基甲酰基)哌啶-1-甲酸苄酯 (VIII) (0.730g, 1.95mmol)、2-甲氧基苯基硼酸 (0.300g, 1.97mmol) 在饱和碳酸钠溶液 (10mL) 和 1,4-二氧六环 (10mL) 中的搅拌混合物, 加入醋酸钯 (II) (0.088g, 0.39mmol), 然后加入三苯基膦 (0.103g, 0.39mmol)。在 110°C 加热回流所得混合物 1 小时并通过 TLC 监测。通过硅藻土层过滤反应混合物, 然后用乙酸乙酯萃取滤液 (3×100mL)。分出有机层, 合

并,用硫酸钠干燥,然后在减压下浓缩。通过快速柱色谱纯化粗产物(硅胶,用50%乙酸乙酯/正己烷洗脱),得到为白色固体的4-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯(XI)(0.47g,53%)。

[1054] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$:89%。

[1055] ESMS : $m/z = 447$ (M+1)。

[1056] 步骤 II :

[1057] 将4-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯(XI)(0.45g,1.00mmol)溶于甲醇:二氯甲烷(4:1)(24ml),然后在氮气氛下加入10% Pd/C(0.2g)。在氢囊压下,在室温下搅拌反应18小时。通过硅藻土层过滤,从反应混合物中除去催化剂,然后将滤液蒸发至干。其后,用无水乙醚(10ml)处理粗产物,然后过滤固体,得到为白色固体的哌啶-4-甲酸[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺(化合物#6A)(0.19g,42%)。

[1058] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$:97%。

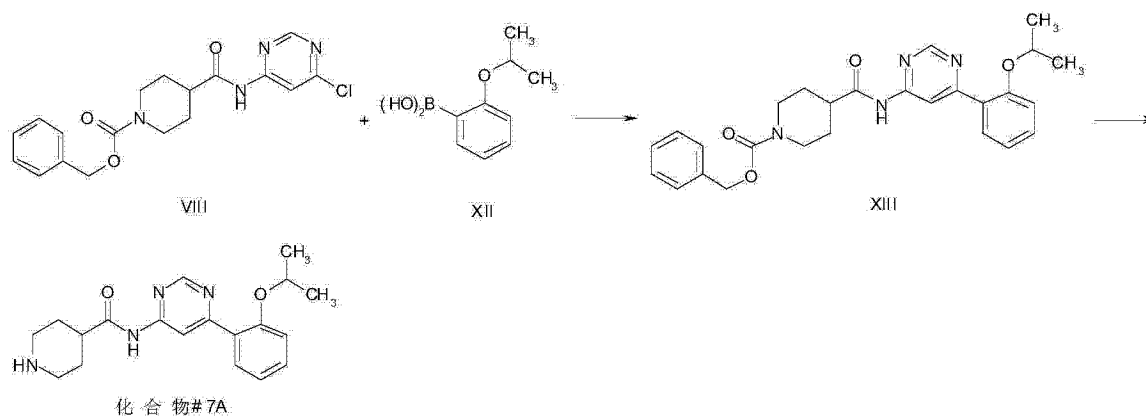
[1059] ESMS : $m/z = 313$ (M+1)。

[1060] ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) $\delta = 11.2$ (s, -NH, 1H); 9.05 (s, br., NH, 1H); 8.95 (s, Ar-H, 1H); 8.70 (s, Ar-H, 1H); 7.95 (m, Ar-H, 1H); 7.5 (m, Ar-H, 1H); 7.2 (m, Ar-H, 1H), 7.1 (m, Ar-H, 1H); 3.95 (s, 3H); 3.3 (m, 2H); 2.95 (m, 3H); 2.05 (m, 2H); 1.85 (m, 2H)。

[1061] 熔点:279-280°C。

[1062] 实施例 7A:合成哌啶-4-甲酸[6-(2-异丙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺(化合物#7A)

[1063]



[1064] 步骤 I :

[1065] 在室温下,在氮气氛下,向4-(6-氯嘧啶-4-基氨基甲酰基)哌啶-1-甲酸苄酯(VIII)(0.830g,2.22mmol)、2-异丙氧基苯基硼酸(0.400g,2.22mmol)在饱和碳酸钠溶液(10ml)和1,4-二氧六环(10ml)中的搅拌混合物,加入醋酸钨(II)(0.1g,0.44mmol),然后加入三苯基膦(0.11g,0.42mmol)。在110°C加热回流所得混合物1小时并通过TLC监测。通过硅藻土层过滤反应混合物,然后用乙酸乙酯萃取滤液(3×100ml)。分出有机层,合并,用硫酸钠干燥,然后在减压下浓缩。通过快速柱色谱纯化粗产物(硅胶,用50%乙酸乙酯/正己烷洗脱),得到为白色固体的4-[6-(2-异丙氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌

将滤液蒸发至干。其后,用无水乙醚(10ml)研制粗产物,然后滤出固体,得到为白色固体的哌啶-4-甲酸[6-(2-环丙基甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺(化合物#8A)(0.11g, 37%)。

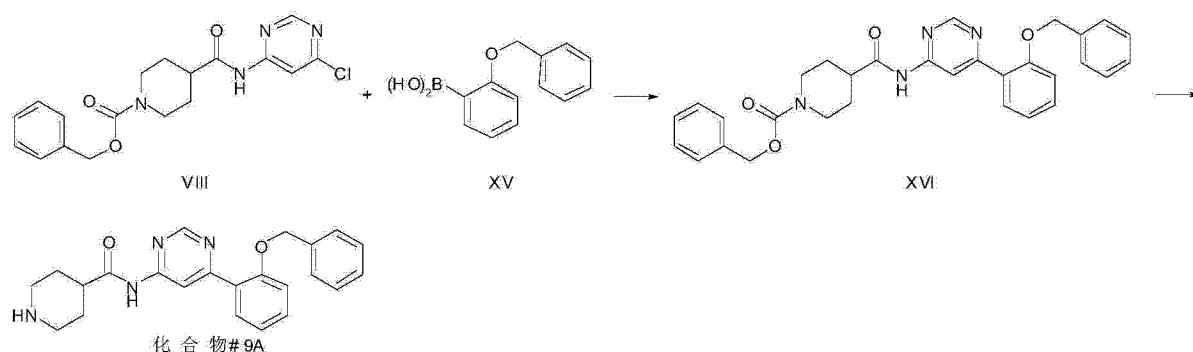
[1081] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$; 97%。

[1082] ESMS: $m/z = 353 (M+1)$ 。

[1083] $^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 8.90 (s, Ar-H, 1H); 8.95 (s, Ar-H, 1H); 8.05 (m, -NH, 1H); 8.0 (m, Ar-H, 1H); 7.4 (m, Ar-H, 1H); 7.05 (m, Ar-H, 1H); 6.95 (m, Ar-H, 1H), 3.95 (d, OCH_2 , 2H); 3.0 (m, 2H); 2.40 (br, 3H); 2.1 - 1.9 (br, 4H); 1.2. (m, 1H); 0.6 (m, 2H); 0.45 (m, 2H)。

[1084] 实施例 9A: 合成哌啶-4-甲酸[6-(2-苄氧基苯基)嘧啶-4-基]-(化合物#9A)

[1085]



[1086] 步骤 I:

[1087] 在氮气氛围下,在室温下,向 4-(6-氯嘧啶-4-基氨基甲酰基)哌啶-1-甲酸苄酯(VIII)(0.74g, 2.0mmol)和 2-苄氧基苯基硼酸(0.50g, 2.2mmol)在饱和碳酸钠溶液(4ml)和 1,4-二氧六环(4ml)中的搅拌混合物加入醋酸钯(II)(0.09g, 0.40mmol),然后加入三苯基膦(0.105g, 0.400mmol)。在 110°C 加热回流所得混合物 1 小时并通过 TLC 监测。通过硅藻土层过滤反应混合物,然后用乙酸乙酯萃取滤液(3×100ml)。分出有机层,合并,用硫酸钠干燥,然后在减压下浓缩。通过制备型 HPLC 纯化粗产物,得到 4-[6-(2-苄氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯(XVI)(0.65g, 62%)。

[1088] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$; 95%。

[1089] ESMS: $m/z = 523 (M+1)$ 。

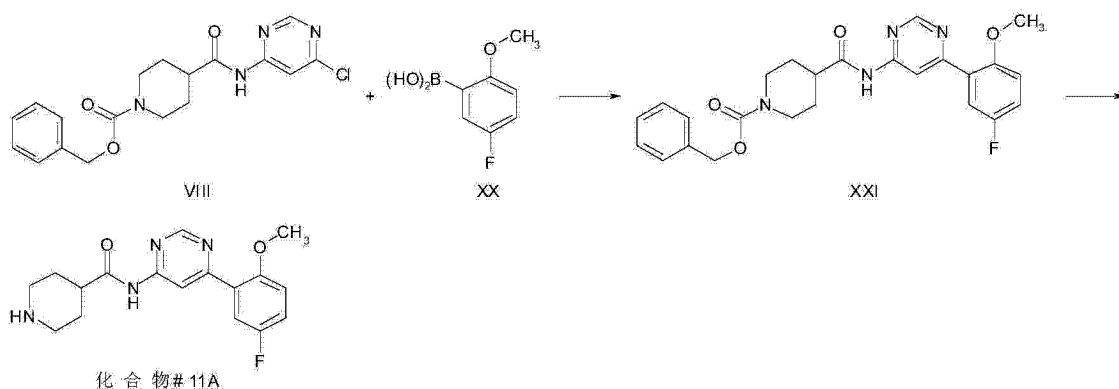
[1090] 步骤 II:

[1091] 将 4-[6-(2-苄氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯(XVI)(0.5g, 1mmol)溶于 33% HBr(在乙酸中, 3ml)中,并在室温下搅拌 45 分钟。沉淀析出黄色固体;在 0°C 用氢氧化钠水溶液终止反应混合物,然后用乙酸乙酯萃取(3×10ml)。分出有机相,合并,用硫酸钠干燥,然后在减压下浓缩。通过制备型 HPLC 纯化粗产物(C-18, 含有 0.05% TFA 的 $\text{AcN}:\text{H}_2\text{O}$),然后冷冻干燥,得到为白色固体的哌啶-4-甲酸[6-(2-苄氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺(化合物#9A)(0.028g, 7%)。

[1092] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$; 98%。

[1093] ESMS: $m/z = 389 (M+1)$ 。

[1094] $^1\text{H NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.2 (s, -NH, 1H); 9.40 (s, br., -NH, 1H); 8.95 (s, Ar-H, 1H); 8.70 (s, Ar-H, 1H); 7.8 (m, Ar-H, 1H); 7.5 (br, Ar-H, 5H);



[1108] 步骤 I :

[1109] 在氮气氛下,在室温下,向 4-(6-氯嘧啶-4-基氨基甲酰基)哌啶-1-甲酸苄酯(VIII)(0.60g, 1.6mmol)和 5-氟-2-甲氧基苯基硼酸(0.300g, 1.76mmol)在饱和碳酸钠溶液(5ml)和 1,4-二氧六环(5ml)中的搅拌混合物,加入醋酸钯(II)(0.072g, 0.32mmol),然后加入三苯基膦(0.084g, 0.32mmol)。在 110℃加热回流所得混合物 1 小时,并且通过 TLC 监测反应。通过硅藻土层过滤反应混合物,然后用乙酸乙酯萃取滤液(3×100ml)。分出有机层,合并,用硫酸钠干燥,然后在减压下浓缩。通过快速柱色谱纯化粗产物(硅胶,用 50% 乙酸乙酯/正己烷洗脱),得到为浅黄色油的 4-[6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯(XXI)(0.39g, 52%)。

[1110] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$:80%)。

[1111] ESMS: $m/z = 465(M+1)$ 。

[1112] 步骤 II :

[1113] 在氮气氛下,将 4-[6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯(XXI)(0.39g, 0.84mmol)溶于甲醇(15ml),然后加入 10% Pd/C(0.2g)。在氢囊压下,在室温下搅拌混合物 18 小时。通过硅藻土层过滤,从反应混合物中除去催化剂,然后将滤液蒸发至干。用无水乙醚(5ml)研制所得粗产物,然后滤出固体,得到为白色固体的哌啶-4-甲酸[6-(5-氟-2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺(化合物 #11A)(0.076g, 27%)。

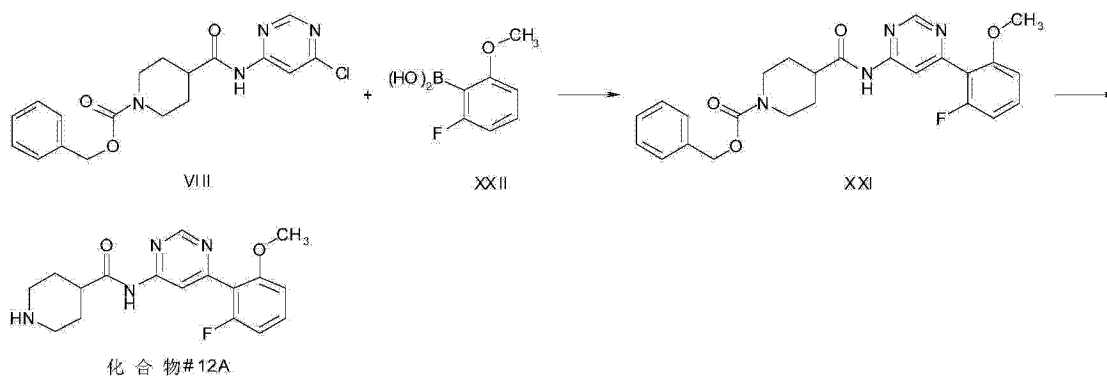
[1114] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$:98%。

[1115] ESMS: $m/z = 331(M+1)$ 。

[1116] $^1\text{H NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) $\delta = 11$ (s, -NH, 1H); 8.99(s, Ar-H, 1H); 8.89(s, Ar-H, 1H); 7.70(m, Ar-H, 1H); 7.20(m, Ar-H, 1H); 3.95(s, OCH_3 , 3H); 2.90(m, 2H); 2.55(br, 3H, 与 DMSO 质子重叠); 2.00(m, 2H); 1.80(br, 2H)。

[1117] 实施例 12A:合成哌啶-4-甲酸[6-(2-氟-6-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺(化合物 #12A)

[1118]



[1119] 步骤 I:

[1120] 在氮气氛下,在室温下,向 4-(6-氯嘧啶-4-基氨基甲酰基)哌啶-1-甲酸苄酯(VIII)(0.75g, 2mmol)和 6-氟-2-甲氧基苯基硼酸(0.37g, 2.2mmol)在饱和碳酸钠溶液(4ml)和 1,4-二氧六环(4ml)中的搅拌混合物,加入醋酸钨(II)(0.09g, 0.4mmol),然后加入三苯基膦(0.105g, 0.00mmol)。在 110℃加热回流所得混合物 1 小时,并通过 TLC 监测反应。通过硅藻土层过滤反应混合物,然后用乙酸乙酯萃取滤液(3×100ml)。分出有机层,合并,用硫酸钠干燥,然后在减压下浓缩。通过制备型 HPLC 纯化所得粗产物(C-18, 含有 0.05% TFA 的 AcN:H₂O),得到 4-[6-(2-氟-6-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯(XXIII)(0.05g, 4%)。

[1121] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$:98%。

[1122] ESMS :m/z = 465 (M+1) .

[1123] 步骤 II:

[1124] 在氮气氛下,将4-[6-(2-氟-6-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯 (XXIII) (0.05g, 0.1mmol) 溶于甲醇 (5ml), 然后加入 10% Pd/C (0.03g)。在氢囊压下,在室温下搅拌混合物 18 小时。通过硅藻土层过滤,从反应混合物中除去催化剂,然后将滤液蒸发至干。用无水乙醚 (2ml) 研制所得粗产物,然后浓缩,得到为白色固体的哌啶-4-甲酸 [6-(2-氟-6-甲氧基苯基)嘧啶-4-基] 酰胺 (化合物 #12A) (0.029g, 81%)。

[1125] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$:96%。

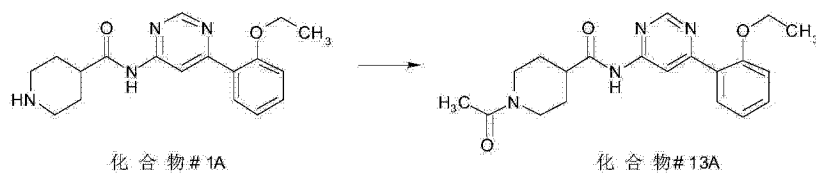
[1126] ESMS :m/z = 331 (M+1) .

[1127] ^1H NMR(500MHz, DMSO- d_6) δ 11.2(s, -NH, 1H) ;9.0(s, Ar-H, 1H) ;8.60(br, -NH, 1H) ;8.10(s, Ar-H, 1H) ;7.50(m, Ar-H, 1H) ;7.05(m, Ar-H, 1H) ;6.95(m, Ar-H, 1H) ;3.85(s, 3H) ;3.3(m, 2H, 与 DMSO 质子重叠) ;3.0-2.8(m, 2H) ;2.5(br, 1H, 与 DMSO 质子重叠) ;2.0(m, 2H) ;1.75(m, 2H)。

[1128] 熔点:140-143℃

[1129] 实施例 13A:合成 1-乙酰基哌啶-4-甲酸 [6-(2-乙氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #13A)

[1130]



[1131] 在 0℃, 向哌啶-4-甲酸 [6-(2-乙氧基苯基) 嘧啶-4-基] 酰胺 (化合物 #1A) (0.25g, 0.76mmol) 和 NEt_3 (0.01mL, 0.76mmol) 在 THF (10mL) 中的搅拌混合物加入乙酰氯 (0.053mL, 0.76mmol)。在室温下搅拌混合物 20min, 然后蒸出溶剂; 将剩余物溶于水, 然后用乙酸乙酯萃取 ($3 \times 10\text{mL}$)。分出有机层, 合并, 用硫酸钠干燥, 过滤, 然后在减压下浓缩。用无水乙醚研制所得粗产物, 然后滤出固体, 得到为白色固体的 1-乙酰基哌啶-4-甲酸 [6-(2-乙氧基苯基) 嘧啶-4-基] 酰胺 (化合物 #13A) (0.208g, 73%)。

[1132] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$; 98%。

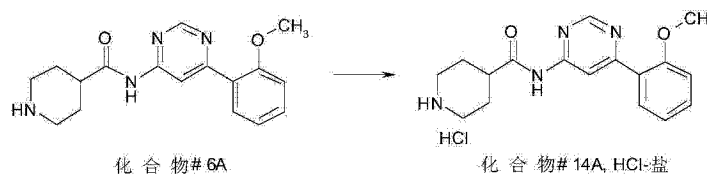
[1133] ESMS: $m/z = 369 (M+1)$ 。

[1134] $^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) $\delta = 8.90 (\text{s}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $8.95 (\text{s}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $8.05 (\text{m}, -\text{NH}, 1\text{H})$; $8.0 (\text{m}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $7.4 (\text{m}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $7.1 (\text{m}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $7.0 (\text{m}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $4.62 (\text{d}, 1\text{H})$; $4.2 (\text{q}, J = 7.3\text{Hz}, \text{OCH}_2\text{CH}_3, 2\text{H})$; $3.95 (\text{d}, 1\text{H})$; $3.1 (\text{m}, 1\text{H})$; $2.75 (\text{m}, 1\text{H})$; $2.55 (\text{m}, 1\text{H})$; $2.05 (\text{s}, 3\text{H})$; $2.0 (\text{m}, 2\text{H})$; $1.8 (\text{m}, 2\text{H})$; $1.45 (\text{t}, J = 7.3\text{Hz}, \text{OCH}_2\text{CH}_3, 3\text{H})$ 。

[1135] 熔点: $171-173^\circ\text{C}$

[1136] 实施例 14A: 合成哌啶-4-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基] 酰胺盐酸盐 (化合物 #14A) (HCl 盐)

[1137]



[1138] 将哌啶-4-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基] 酰胺 (化合物 #6A) (2.0g, 6.4mmol) 溶于 HCl 在 1,4-二氧六环中的饱和溶液 (50mL) 中, 并在室温下搅拌此澄清的溶液半小时。浅黄色固体沉淀析出。加入乙醚 (50mL) 以析出更多此固体。过滤后, 用乙醚 (50mL) 洗涤固体, 然后在高真空度下干燥, 得到为白色固体的哌啶-4-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基] 酰胺盐酸盐 (化合物 #14A, 化合物 #6A 的 HCl 盐), 2.2g, 98%)。

[1139] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$; 98%。

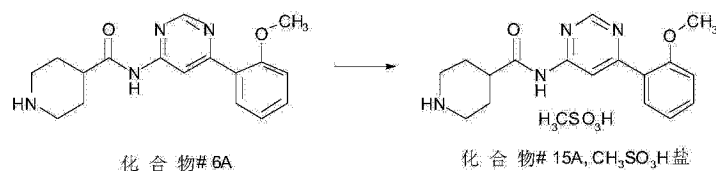
[1140] ESMS: $m/z = 313 (M+1)$ 。

[1141] $^1\text{H NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) $\delta = 11.2 (\text{s}, -\text{NH}, 1\text{H})$; $9.05 (\text{br}, \text{NH}, 1\text{H})$; $8.95 (\text{s}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $8.70 (\text{s}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $7.95 (\text{m}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $7.5 (\text{m}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $7.2 (\text{m}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $7.1 (\text{m}, \text{Ar-H}, 1\text{H})$; $3.95 (\text{s}, -\text{OCH}_3, 3\text{H})$; $3.3 (\text{m}, 2\text{H})$; $2.95 (\text{m}, 3\text{H})$; $2.05 (\text{m}, 2\text{H})$; $1.85 (\text{m}, 2\text{H})$ 。

[1142] 熔点: $214-217^\circ\text{C}$

[1143] 实施例 15A: 合成哌啶-4-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基] 酰胺甲磺酸盐 (化合物 #15A) (甲磺酸盐)

[1144]



[1145] 在 0℃, 向哌啶-4-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基] 酰胺 (化合物 #6A) (2.5g, 8mmol) 在甲醇:氯仿 (1:1, 75ml) 中的澄清溶液滴加入甲磺酸 (5ml, 80mmol), 然后在室温下搅拌形成的澄清溶液半小时。白色固体沉淀析出, 然后加入乙醚 (150ml) 以析出更多此固体, 其后滤出固体并用乙醚 (50ml) 洗涤。将此粗品固体溶于 90ml 的氯仿: 甲醇 (2:1), 然后在 60℃ 加热混合物以变成澄清溶液。然后加入乙醚 (90ml), 并在室温下放置混浊溶液 1 小时。滤出形成的结晶固体, 用乙醚 (50ml) 洗涤, 然后在高真空度下干燥, 得到为白色固体的哌啶-4-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基] 酰胺甲磺酸盐 (化合物 #15A, 化合物 #6A 的甲磺酸盐) (2.9g, 89%)。

[1146] HPLC 纯度 $\lambda = 220\text{nm}$: 99%。

[1147] ESMS: $m/z = 313 (M+1)$ 。

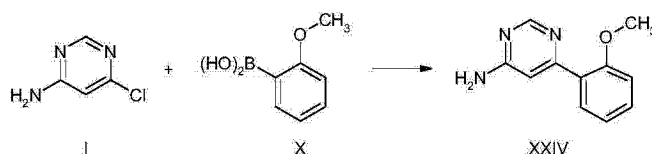
[1148] ¹HNMR (500MHz, DMSO-d₆) $\delta = 11.2 (s, -NH, 1H)$; $9.0 (s, Ar-H, 1H)$; $8.7 (s, Ar-H, 1H)$; $8.6 (br, NH, 1H)$; $8.4 (br, 1H)$; $7.92 (m, Ar-H, 1H)$; $7.55 (m, Ar-H, 1H)$; $7.25 (m, Ar-H, 1H)$; $7.1 (m, Ar-H, 1H)$; $3.95 (s, -OCH_3, 3H)$; $3.35 (m, 2H)$; $2.9 (m, 3H)$; $2.35 (s, CH_3SO_3H, 3H)$; $2.05 (m, 2H)$; $1.80 (m, 2H)$ 。

[1149] 熔点: 268-270℃

[1150] 实施例 16A: 合成哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基] 酰胺 (化合物 #16A)

[1151] 步骤 I:

[1152]



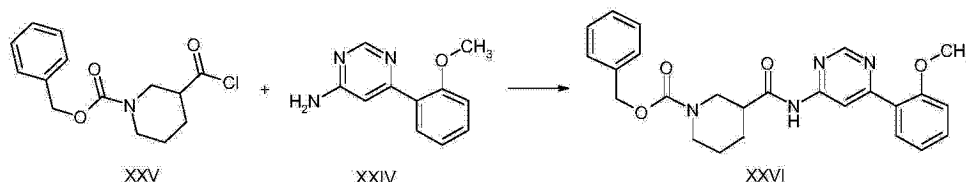
[1153] 向 2-甲氧基苯基硼酸 (X) (10.3g, 68.2mmol) 在 300ml 的 1,4-二氧六环中的溶液加入 100ml 饱和碳酸钠水溶液。在室温下用氩气吹洗 30min。然后同时加入 4-氨基-6-氯嘧啶 (I) (8.8g, 68.2mmol) 和四(三苯基膦)钯 (0) (3.9g, 3.4mmol), 然后再向混合物通入氩气 20min。加热反应混合物至回流, 保持 12 小时 (经 TLC 确认反应结束), 然后在减压下浓缩。在二氯甲烷和水之间分配剩余物。分出有机层, 用水和盐水洗涤, 用硫酸钠干燥, 然后浓缩。用 15% 在二氯甲烷中的乙酸乙酯洗脱, 通过硅胶柱色谱纯化所得粗品剩余物, 得到 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基胺 (XXIV) (8.0g)。

[1154] ¹HNMR (DMSO-d₆) $\delta = 8.17 (1H, s)$, $7.71 (1H, d)$, $7.41 (1H, t)$, $6.96-7.06 (2H, m)$, $6.95 (1H, s)$, $3.98 (3H, s)$ 。

[1155] MS: $m/z = 202.1 (M+1)$ 。

[1156] 步骤 II:

[1157]



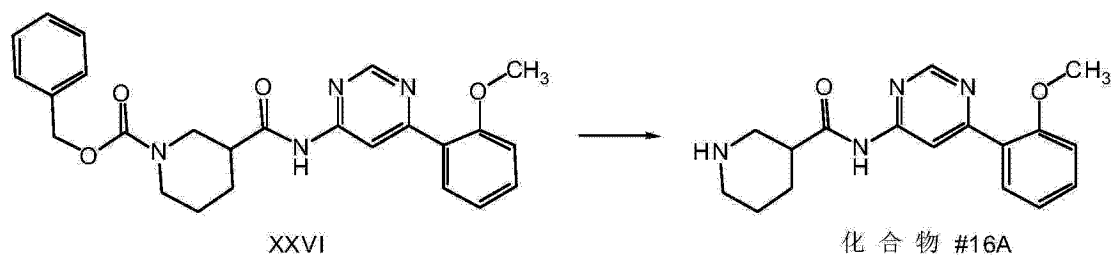
[1158] 在室温下,向 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基胺 (XXIV) (5g) 在 20ml 二氯甲烷中的溶液加入 4-二甲基氨基吡啶 (1.2eq), 然后滴加入 3-氯羰基哌啶-1-甲酸苄酯 (XXV) (1.1eq.)。搅拌反应混合物 2 小时,然后用水洗涤。分出有机层,用硫酸钠干燥,然后浓缩。使所得粗品剩余物通过硅胶垫并用 25% 在己烷中的乙酸乙酯洗脱,得到 3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯 (XXVI) (5.1g)。

[1159] $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ = 8.95 (1H, s), 8.78 (1H, s), 8.20 (1H, bs), 7.91 (1H, dd), 7.45-7.35 (5H, m), 7.16-7.00 (2H, m), 5.20 (2H, s), 4.40-4.26 (1H, m), 4.18-4.02 (1H, m), 3.98 (3H, s), 3.41-3.17 (2H, m), 3.08-2.92 (1H, m), 2.60-2.41 (1H, m), 2.18-1.55 (4H, m)。

[1160] MS :m/z = 407.1 (M+1)。

[1161] 步骤 III :

[1162]



[1163] 在氮气氛下,向化合物 3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯 (3g) 在 20mL 甲醇中的溶液加入 10% 氢氧化钡 (300mg), 然后在氢气氛下,在室温下搅拌混合物 4 小时。通过硅藻土过滤反应混合物,然后蒸发溶剂。将乙醚加入产物中,搅拌混合物,过滤并用乙醚再洗涤所得固体,然后在真空下干燥,得到为白色固体的哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基] 酰胺 (化合物 #16A) (1.8g)。

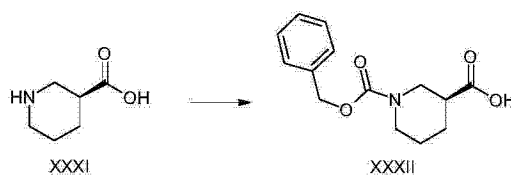
[1164] MS :m/z = 312.9 (M+1)。

[1165] $^1\text{H NMR}(\text{DMSO}-d_6)$ δ = 11.10 (1H, s), 8.95 (1H, s), 8.67 (1H, s), 7.84 (1H, d, J = 10 Hz), 7.48 (1H, dd), 7.20-7.04 (2H, m), 3.98 (3H, s), 3.06-2.56 (5H, m), 1.96-1.32 (4H, m)。

[1166] 实施例 17A :合成 (S)-哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基] 酰胺 (化合物 #17A)

[1167] 步骤 I

[1168]



[1169] 将 (S)-哌啶-3-甲酸 (XXXI) (10.0g, 77.4mmol) 在 80ml THF 和 50ml 水的混合物中的溶液冷却至 0℃, 然后同时加入碳酸氢钠 (13.0g, 15.5mmol) 和氯甲酸苄酯

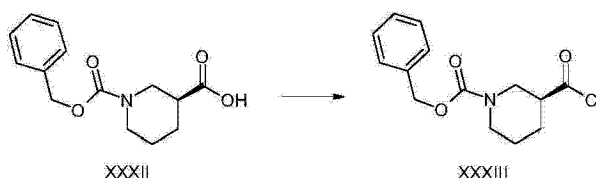
(15.8g, 92.9mmol)。在 0℃ 搅拌反应混合物 6 小时, 然后在减压下浓缩。用乙醚萃取水层以除去过量的氯甲酸苄酯, 然后用 1M HCl 溶液酸化至 pH 6, 其后用乙酸乙酯萃取。分出有机层, 用硫酸钠干燥, 然后浓缩, 得到 (S)-哌啶-1,3-二甲酸 1-苄酯 (XXXII) (10.0g, 49%)。

[1170] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ = 7.38 (5H, m), 5.12 (2H, s), 4.19-3.90 (2H, m), 3.02 (1H, m), 2.44 (1H, m), 2.05 (1H, m), 1.80-1.40 (3H, m)。

[1171] MS : m/z = 263.9 (M+1)。

[1172] 步骤 II

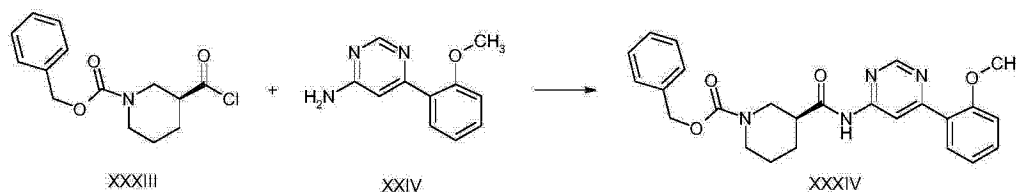
[1173]



[1174] 将 (S)-哌啶-1,3-二甲酸 1-苄酯 (XXXII) (12.0g, 45.6mmol) 溶于纯草酰氯 (30ml), 加入 0.2mL DMF, 并在室温搅拌混合物 1 小时。通过 TLC 监测反应结束, 其表明在用少量甲醇处理后形成非极性点。然后在减压下浓缩反应混合物, 得到 (S)-3-氯羰基哌啶-1-甲酸苄酯 (XXXIII) (12.66g), 将其直接用于下一反应。

[1175] 步骤 III

[1176]



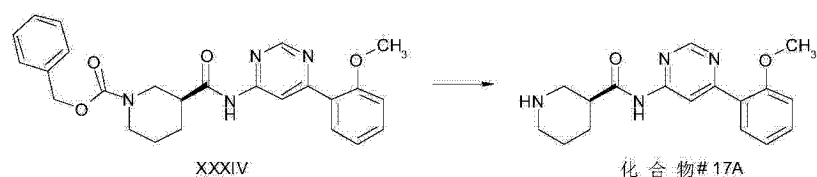
[1177] 在室温下, 向 6-(2-甲氧基苯基)吡啶-4-基胺 (XXIV) (7.80g, 39.1mmol) 在 90ml 二氯甲烷中的溶液加入 4-二甲基氨基吡啶 (5.70g, 47.0mmol), 然后滴加入 N-(S)-3-氯羰基哌啶-1-甲酸苄酯 (XXXIII) (11.0g, 39.1mmol)。搅拌反应混合物 2 小时, 然后用水洗涤。分出有机层, 用硫酸钠干燥, 然后浓缩。使所得粗品剩余物通过硅胶垫, 用 25% 在己烷中的乙酸乙酯洗脱, 得到 (S)-3-[6-(2-甲氧基苯基)吡啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯 (XXXIV) (9.4g, 54%)。

[1178] MS : m/z = 407.1 (M+1)。

[1179] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) δ = 8.95 (1H, s), 8.78 (1H, s), 8.20 (1H, bs), 7.91 (1H, dd), 7.45-7.35 (5H, m), 7.16-7.00 (2H, m), 5.20 (2H, s), 4.40-4.26 (1H, m), 4.18-4.02 (1H, m), 3.98 (3H, s), 3.41-3.17 (2H, m), 3.08-2.92 (1H, m), 2.60-2.41 (1H, m), 2.18-1.55 (4H, m)。

[1180] 步骤 IV

[1181]



[1182] 在氮气氛下, 向 (S)-3-[6-(2-甲氧基苯基)吡啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲

酸苄酯 (XXXIV) (7.0g) 在 50ml 甲醇中的溶液加入 10% 氢氧化钾 (1.5g), 然后在氢气氛下, 在室温下搅拌混合物 8 小时。通过硅藻土过滤反应混合物, 然后蒸发溶剂。将所得产物溶于乙醚, 搅拌, 过滤, 用乙醚洗涤, 然后在真空下干燥, 得到为白色固体的 (S)-哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基] 酰胺 (化合物 #17A) (3.0g, 62%), 熔点 163-165°C。

[1183] MS :m/z = 312.9 (M+1)。

[1184] ^1H NMR (DMSO- d_6) δ = 11.10 (1H, bs), 8.95 (1H, s), 8.67 (1H, s), 7.84 (1H, d, J = 10H z), 7.48 (1H, dd), 7.20-7.04 (2H, m), 3.98 (3H, s), 3.06-2.56 (5H, m), 1.99-1.32 (4H, m)。

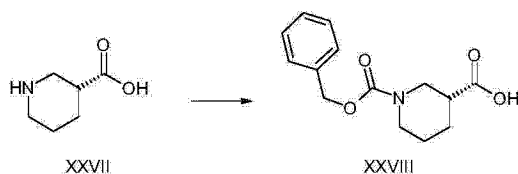
[1185] 分析纯度 :98.2% ; 手性纯度 : (R)-对映体 :8.82%, (S)-对映体 :91.17%。

[1186] 熔点 :163-165°C。

[1187] 实施例 18A : 合成 (R)-哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基] 酰胺 (R) (化合物 #18A)

[1188] 步骤 II

[1189]



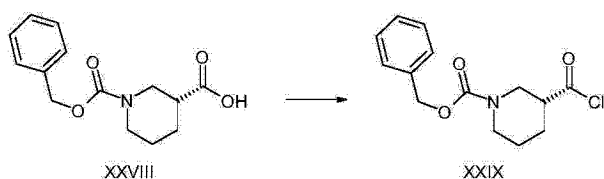
[1190] 将 (R)-哌啶-3-甲酸 (XXVII) (5.0g, 39mmol) 在 50ml THF 和 20ml 水的混合物中的溶液冷却至 0°C, 然后同时加入碳酸氢钠 (6.5g, 77.4mmol) 和氯甲酸苄酯 (8.0g, 46.4mmol)。在 0°C 搅拌反应混合物 30min, 接着在室温下搅拌 3 小时, 然后在减压下浓缩。用乙醚萃取剩下的水相以除去过量的氯甲酸苄酯, 然后用 1M HCl 溶液酸化至 pH 6, 接着用乙酸乙酯萃取。分出有机层, 用硫酸钠干燥, 然后蒸发, 得到 (R)-哌啶-1,3-二甲酸 1-苄酯 (XXVIII) (3.7g, 36%)。

[1191] MS :m/z = 263.9 (M+1)。

[1192] ^1H NMR (DMSO- d_6) δ = 7.38 (5H, m), 5.12 (2H, s), 4.19-3.90 (2H, m), 3.02 (1H, m), 2.44 (1H, m), 2.05 (1H, m), 1.80-1.40 (3H, m)。

[1193] 步骤 III

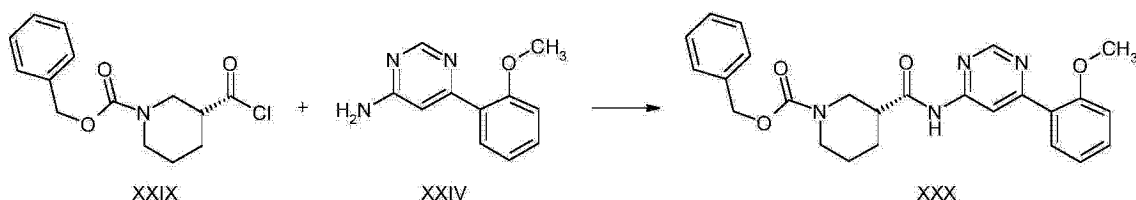
[1194]



[1195] 将 (R)-哌啶-1,3-二甲酸 1-苄酯 (XXVIII) (8.00g, 30.4mmol) 溶于纯草酰氯 (20ml), 加入 0.2ml DMF, 然后在室温下搅拌混合物 1 小时。通过 TLC 监测反应结束, 其表明在用少量甲醇处理后形成非极性点。在减压下浓缩反应混合物, 得到 (R)-3-氯羰基哌啶-1-甲酸苄酯 (XXIX) (8.33g), 将其直接用于下一反应。

[1196] 步骤 IV

[1197]



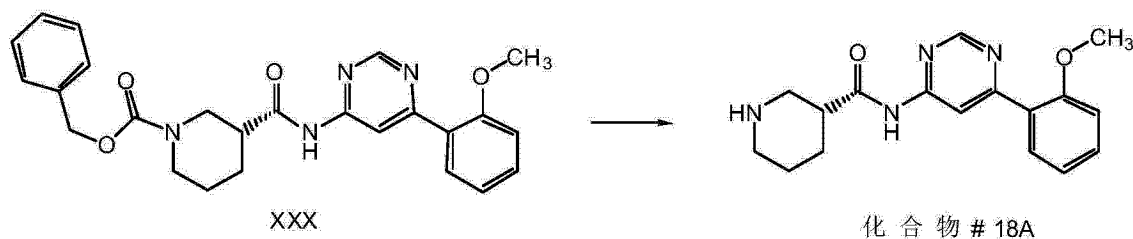
[1198] 在室温下,向 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基胺 (XXIV) (5.80g, 28.5mmol) 在 60ml 二氯甲烷中的溶液加入 4-二甲基氨基吡啶 (4.16g, 34.2mmol), 然后滴加入 (R)-3-氯羰基哌啶-1-甲酸苄酯 (XXIX) (8.00g, 28.5mmol)。搅拌反应混合物 2 小时,然后用水洗涤。分出有机层,用硫酸钠干燥,然后浓缩。使所得粗品剩余物通过硅胶垫,并用 25% 在己烷中的乙酸乙酯洗脱,得到 (R)-3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯 (XXX) (8.5g, 67%)。

[1199] MS :m/z = 407.1 (M+1)。

[1200] $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ = 8.95 (1H, s), 8.78 (1H, s), 8.20 (1H, bs), 7.91 (1H, dd), 7.45-7.35 (5H, m), 7.16-7.00 (2H, m), 5.20 (2H, s), 4.40-4.26 (1H, m), 4.18-4.02 (1H, m), 3.98 (3H, s), 3.41-3.17 (2H, m), 3.08-2.92 (1H, m), 2.60-2.41 (1H, m), 2.18-1.55 (4H, m)。

[1201] 步骤 V

[1202]



[1203] 在氮气氛下,向 (R)-3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯 (XXX) (7.0g) 在 50mL 甲醇中的溶液加入 10% 氢氧化钾 (1.5g), 然后在氢气氛下,在室温下搅拌混合物 8 小时。通过硅藻土过滤反应混合物,然后蒸发溶剂。将所得产物溶于乙醚,搅拌,过滤,用乙醚洗涤剩余物,然后在真空下干燥,得到为白色固体的 (R)-哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #18A) (3.5g, 72%), 熔点 210-213°C。

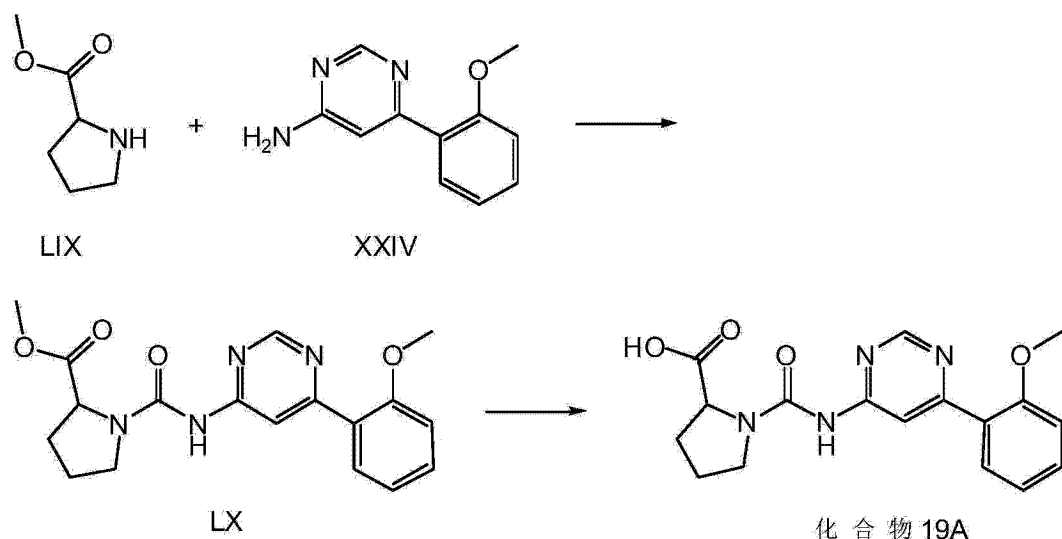
[1204] 分析纯度 :95.49%, 手性纯度 : (R)-对映体 91.62%, (S)-对映体 8.37%。

[1205] MS :m/z = 312.9 (M+1)。

[1206] $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ = 11.10 (1H, s), 8.95 (1H, s), 8.67 (1H, s), 7.84 (1H, d, J = 10Hz), 7.48 (1H, dd), 7.20-7.04 (2H, m), 3.98 (3H, s), 3.06-2.56 (5H, m), 1.96-1.32 (4H, m)。

[1207] 实施例 19A :合成 1-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基氨基甲酰基]吡咯烷-2-甲酸 (化合物 19A)

[1208]



[1209] 步骤 1:

[1210] 在 -78°C , 将氯甲酸苯酯 (0.20g, 1.3mmol) 滴加入 6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基胺 (0.26g, 1.3mmol) 和 DIPEA (0.33g, 2.6mmol) 在无水二氯甲烷 (10ml) 中的溶液, 并在室温下搅拌混合物过夜。然后蒸发二氯甲烷, 加入无水 1,4-二氧六环和脯氨酸甲酯盐酸盐 (0.26g, 1.3mmol) 和 DIPEA (0.33g, 2.6mmol), 然后在 70°C 加热混合物过夜。蒸发溶剂, 然后用乙酸乙酯萃取粗产物 (2x 100ml)。用水 (2x 50ml) 和盐水洗涤合并的有机相, 用无水硫酸钠干燥, 然后在真空旋转蒸发器中浓缩。通过硅胶柱色谱纯化剩余物 (洗脱剂: 70% 乙酸乙酯 / 己烷), 得到 1-[6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基氨基甲酰基] 吡咯烷-2-甲酸甲酯。收率: 500mg, ~定量。

[1211] 步骤 2:

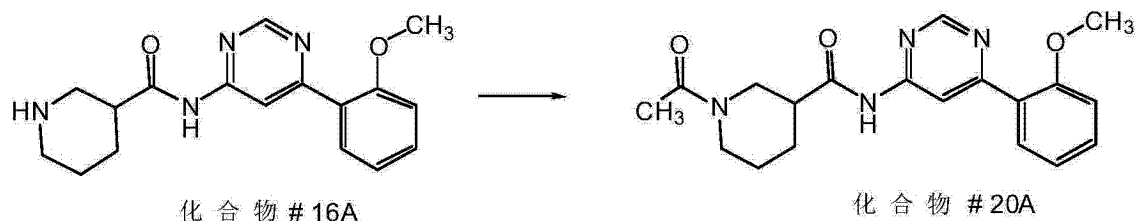
[1212] 在冰浴温度下, 在 10min 内, 向 1-[6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基氨基甲酰基] 吡咯烷-2-甲酸甲酯 (LX) (500mg, 1.40mmol) 在 THF 和水 (1:1) 的混合物中的溶液加入 LiOH 水溶液 (0.118g, 2.80mmol), 然后在室温下搅拌 2 小时。蒸发 THF, 然后用 2N HCl 酸化水溶液。然后用乙酸乙酯 (2x 100ml) 萃取此水相, 用水和盐水洗涤合并的有机相, 用无水硫酸钠干燥, 然后在真空旋转蒸发器中浓缩, 得到为白色固体的 1-[6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基氨基甲酰基] 吡咯烷-2-甲酸。收率: 210mg, 43.8%。

[1213] MS: $m/z = 343 (M+1)$ 。

[1214] $^1\text{H NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) $\delta = 1.91-1.99$ (3H, m), 2.19 (1H, m), 3.65-3.56 (2H, m), 3.84 (3H, s), 4.04-4.03 (1H, m), 7.10-7.07 (1H, m), 7.18 (1H, d, $J = 8.35\text{Hz}$), 7.49-7.46 (1H, m), 7.81 (1H, d, $J = 7.5\text{Hz}$), 8.41 (1H, s), 8.82 (1H, s), 9.43 (1H, br. s), 12.25 (1H, br. s)。

[1215] 实施例 20A: 合成 1-乙酰基哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基] 酰胺 (化合物 #20A)

[1216]



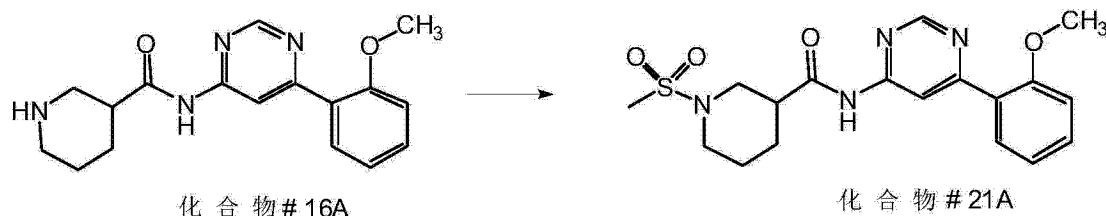
[1217] 将哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #16A) (110mg, 0.352mmol) 溶于 5ml 无水二氯甲烷, 冷却至 0℃, 然后同时加入 4-N,N-二甲基氨基吡啶 (90mg, 0.70mmol) 和乙酸酐 (54mg, 0.53mmol)。在室温下搅拌反应混合物 3 小时, 用碎冰处理, 然后在水和二氯甲烷之间分配。分出有机层, 用硫酸钠干燥, 然后浓缩, 得到 1-乙酰基哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #20A) (105mg, 84.13%)。

[1218] MS : $m/z = 356.1 (M+1)$ 。

[1219] $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) $\delta = 11.0$ (1H, s), 8.95 (1H, s), 8.69 (1H, 2s), 7.88 (1H, d, $J = 10\text{Hz}$), 7.48 (1H, t), 7.20 (1H, d, $J = 10\text{Hz}$), 7.09 (1H, t), 4.36 (1H, m), 3.92 (3H, s), 3.06-2.56 (5H, m), 2.08-1.32 (7H, m)。

[1220] 实施例 21A: 合成 1-甲磺酰基哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #21A)

[1221]



[1222] 将哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #16A) (110mg, 0.352mmol) 溶于 5mL 无水二氯甲烷, 冷却至 0℃, 然后同时加入三乙胺 (13.0g, 15.5mmol) 和甲磺酰氯 (60mg, 0.53mmol)。在室温下搅拌混合物 2 小时, 用碎冰处理, 然后在水和二氯甲烷之间分配。分出有机层, 用硫酸钠干燥, 然后浓缩, 得到 1-甲磺酰基哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #21A) (90mg, 80.3%)。

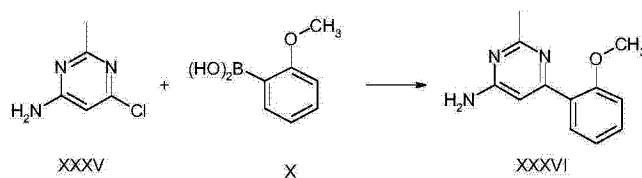
[1223] MS : $m/z = 391.46 (M+1)$ 。

[1224] $^1\text{H NMR}$: (DMSO- d_6) $\delta = 11.2$ (1H, s), 8.94 (1H, s), 8.67 (1H, 1), 7.88 (1H, d, $J = 10\text{Hz}$), 7.48 (1H, t), 7.20 (1H, d, $J = 10\text{Hz}$), 7.07 (1H, t), 3.88 (3H, s), 3.72 (1H, m), 3.60-3.02 (2H, m), 2.98 (3H, s), 2.96-2.60 (2H, m), 2.02-1.43 (4H, m)。

[1225] 实施例 22A: 合成哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)-2-甲基嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #22A)

[1226] 步骤 I

[1227]

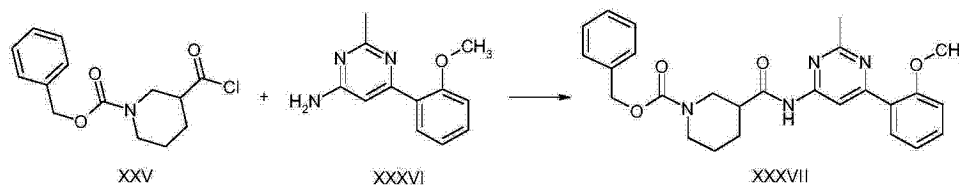


[1228] 向 2-甲氧基苯基硼酸 (X) (1g, 6.6mmol) 在 THF (10ml) 和水 (4ml) 中的溶液加入 6-氯-2-甲基嘧啶-4-基胺 (XXXV) (0.947g, 6.6mmol)。在 0℃, 将二醋酸钨 (0.074g, 0.3mmol)、三苯基膦 (0.175g, 6.6mmol) 和碳酸钠 (2.06g, 19.8mmol) 加入混合物。在室温下过夜搅拌反应混合物, 并通过 TLC 监测反应。反应结束后, 在减压下浓缩反应混

合物,然后用乙酸乙酯和水萃取剩余物。分出有机层,用盐水洗涤,用硫酸钠干燥,然后浓缩。通过硅胶柱色谱纯化所得粗品剩余物,用 25%—30%在己烷中的乙酸乙酯洗脱,得到 0.450g 6-(2-甲氧基苯基)-2-甲基嘧啶-4-基胺 (XXXVI)。

[1229] 步骤 II

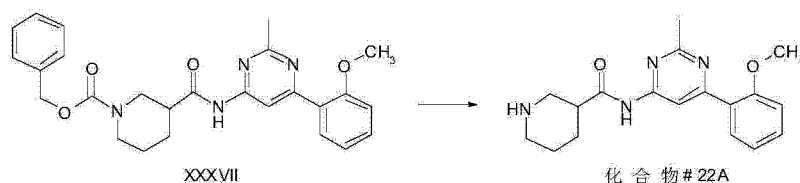
[1230]



[1231] 将 6-(2-甲氧基苯基)-2-甲基嘧啶-4-基胺 (XXXVI) (0.111g, 0.512mmol) 溶于 3ml 无水二氯甲烷,在室温下,滴加 DMAP (0.075g, 0.614mmol) 和 3-氯羰基哌啶-1-甲酸苄酯 (XXV) (0.155g, 0.563mmol) 在二氯甲烷 (1ml) 中的溶液,并搅拌反应混合物 3 小时。然后将水加入反应混合物,然后用二氯甲烷萃取。分出有机层,用无水磷酸钠干燥,然后浓缩,得到 0.270g 3-[6-(2-甲氧基苯基)-2-甲基嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯 (XXXVII)。

[1232] 步骤 V

[1233]



[1234] 将 3-[6-(2-甲氧基苯基)-2-甲基嘧啶-4-基氨基甲酰基]哌啶-1-甲酸苄酯 (XXXVII) (0.270g, 0.586mmol) 溶于甲醇 (5ml),并向其加入 10% Pd(OH)₂ (0.125g),然后在氢气氛下过夜搅拌混合物。通过 TLC 监测反应。结束后,通过硅藻土层过滤反应混合物,然后浓缩,得到粘性油,在乙醚中搅拌此粘性油,沉淀析出白色固体。过滤得到 0.160g 哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)-2-甲基嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #22A)。

[1235] MS :m/z = 327 (M+1)。

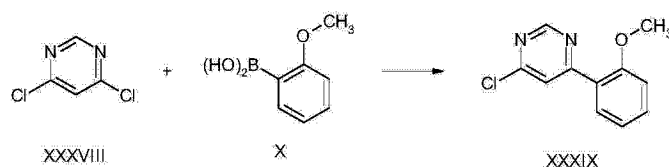
[1236] ¹HNMR (400MHz, DMSO-d₆) δ = 1.5-1.6 (m, 2H) ; 1.7-1.9 (m, 2H) ; 2.0-2.1 (m, 2H) ; 2.5 (s, 3H) ; 2.8-3.0 (t, 1H) ; 3.0-3.1 (m, 2H) ; 3.1-3.2 (d, 2H) ; 3.1-3.2 (d, 2H) ; 3.8 (s, 3H) ; 7.0-7.1 (m, 1H) ; 7.1-7.2 (m, 1H) ; 7.4-7.5 (m, 1H) ; 7.8-7.9 (m, 1H) ; 8.5 (s, 1H) ; 8.8 (bs, 2H) ; 11.0 (s, 1H)。

[1237] 熔点 :229 - 230℃

[1238] 实施例 23A :合成 1-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]-3-哌啶-3-基脒盐酸盐 (化合物 #23A)

[1239] 步骤 I

[1240]



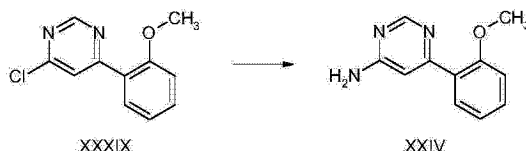
[1241] 向 250ml 圆底烧瓶加入 4,6-二氯嘧啶 (2.67g, 17.95mmol)、2-甲氧基苯基硼酸 (3.00g, 19.7mmol)、乙腈 (50ml) 和碳酸钠 (2.95g, 26.9mmol)。用氮气吹洗混合物 15 分钟, 然后加入 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.48g, 0.41mmol), 接着在 80°C , 在氮气氛下加热所得黄色混合物 48 小时。冷却后, 用 NaHCO_3 水溶液稀释溶液, 然后用二氯甲烷萃取。用硫酸钠干燥合并的有机萃取液, 过滤, 然后在真空中浓缩。通过硅胶色谱纯化剩余物 (2-5% 乙酸乙酯/己烷), 得到为白色固体的 4-氯-6-(2-甲氧基苯基)嘧啶。收率: 2.5g

[1242] MS : $m/z = 221 (\text{M}+1)$ 。

[1243] ^1H NMR (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) $\delta = 3.95 (3\text{H}, \text{s}), 7.03 (1\text{H}, \text{d}, J = 8.5\text{Hz}), 7.12-7.09 (1\text{H}, \text{m}), 7.49-7.46 (2\text{H}, \text{m}), 8.09-8.06 (1\text{H}, \text{m}), 9.02 (1\text{H}, \text{s})$ 。

[1244] 步骤 II

[1245]



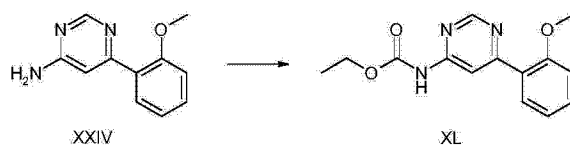
[1246] 将 25% 氨溶液 (10ml) 加入 4-氯-6-(2-甲氧基苯基)嘧啶 (2g, 9.06mmol) 在 1,4-二氧六环 (10ml) 中的溶液, 然后在 110°C , 在密封管中在持续搅拌下加热混合物 8 小时。将反应混合物冷却至室温, 在减压下浓缩, 然后用乙酸乙酯萃取。用硫酸钠干燥合并的有机萃取液, 过滤, 然后在真空中浓缩, 得到为白色固体的 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基胺。收率: 1.6g, 87.9%。

[1247] MS : $m/z = 202 (\text{M}+1)$ 。

[1248] ^1H NMR (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) $\delta = 3.85 (3\text{H}, \text{s}), 6.81 (2\text{H}, \text{br. s}), 7.06-7.01 (2\text{H}, \text{m}), 7.14 (1\text{H}, \text{d}, J = 8.2\text{Hz}), 7.43-7.40 (1\text{H}, \text{m}), 7.85 (1\text{H}, \text{d}, J = 7.4\text{Hz}), 8.41 (1\text{H}, \text{s})$ 。

[1249] 步骤 III

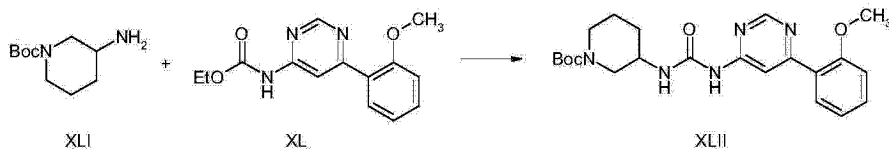
[1250]



[1251] 向 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基胺 (XXIV) (1.0g, 4.9mmol) 和碳酸钾 (4.0g, 29mmol) 在 2-丁酮 (10ml) 中的混合物, 加入甲酸氯乙酯 (0.50ml, 4.9mmol), 然后在 80°C 使混合物回流 3 小时。通过 TLC 监测反应。反应结束后, 加入水, 然后用乙酸乙酯萃取混合物。分出有机层, 用无水硫酸钠干燥, 然后浓缩, 得到 0.60g [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基] 氨基甲酸乙酯 (XL)。

[1252] 步骤 IV

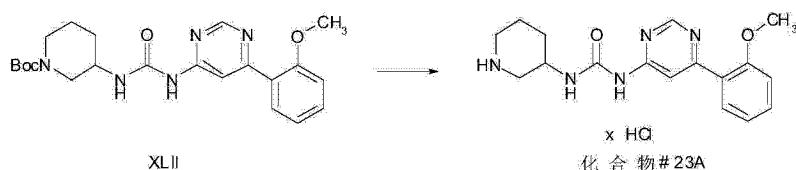
[1253]



[1254] 使 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]氨基甲酸乙酯 (XL) (0.32g, 1.1mmol)、3-氨基哌啶-1-甲酸叔丁酯 (XLI) (0.23g, 1.1mmol) 和甲苯 (4ml) 的混合物在 120℃ 和 100psi 压力下接受微波条件 10min。通过 TLC 监测反应。反应结束后,加入水,然后用乙酸乙酯萃取混合物。分出有机层,用无水硫酸钠干燥,然后浓缩,得到 0.40g 3-{3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脒基}哌啶-1-甲酸叔丁酯 (XLII)。

[1255] 步骤 V

[1256]



[1257] 将 HCl 乙醚溶液 (2ml) 加入 3-{3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脒基}哌啶-1-甲酸叔丁酯 (XLII) (0.20g, 0.47mmol) 在无水二氯甲烷 (2ml) 中的溶液,然后在室温下搅拌混合物 2 小时。通过 TLC 监测反应。结束后,从反应混合物中除去溶剂,得到 0.20g 1-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]-3-哌啶-3-基脒盐酸盐 (化合物 #23A)。

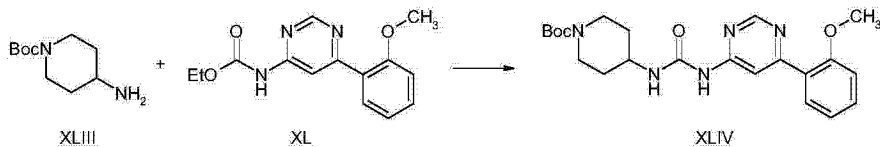
[1258] MS :m/z = 328 (M+1)。

[1259] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 1.1-1.2 (m, 1H) ; 1.6-1.7 (m, 2H) ; 1.9-2.1 (m, 2H) ; 2.9-3.1 (m, 2H) ; 3.2-3.3 (m, 2H) ; 4.0 (s, 3H) ; 7.0-7.1 (m, 1H) ; 7.1-7.2 (m, 1H) ; 7.4-7.5 (m, 1H) ; 7.8-7.9 (m, 1H) ; 8.19 (d, 1H) ; 8.2 (s, 1H) ; 8.8 (s, br., 1H) ; 8.9 (s, 1H) ; 10.0 (s, 1H)。

[1260] 实施例 24A :合成 1-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]-3-哌啶-4-基脒盐酸盐 (化合物 #24A)

[1261] 步骤 I :

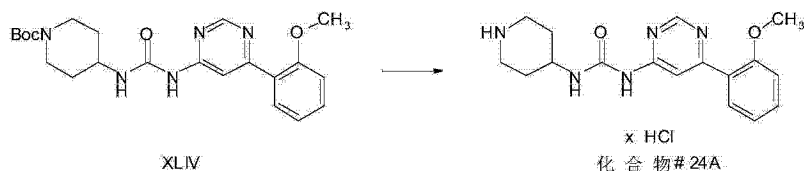
[1262]



[1263] 使 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]氨基甲酸乙酯 (XL) (0.30g, 1.1mmol)、4-氨基哌啶-1-甲酸叔丁酯 (0.23g, 1.1mmol) 和甲苯 (4ml) 的混合物在 120℃ 和 100psi 压力下接受在微波条件 10 分钟。通过 TLC 监测反应。反应结束后,加入水,然后用乙酸乙酯萃取混合物。分出有机层,用无水硫酸钠干燥,然后浓缩,得到 0.250g 的 4-{3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脒基}哌啶-1-甲酸叔丁酯 (XLIV)。

[1264] 步骤 II :

[1265]



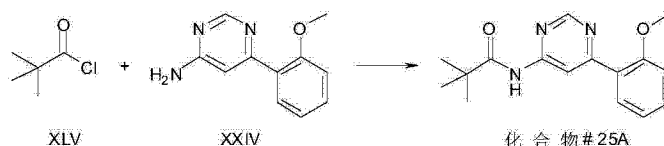
[1266] 向 4-[3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脲基]哌啶-1-甲酸叔丁酯 (XLIV) (0.250g, 0.585mmol) 在无水二氯甲烷 (2ml) 中的溶液, 加入 HCl 乙醚溶液 (2ml), 然后在室温下搅拌混合物 2 小时。通过 TLC 监测反应。结束后, 从反应混合物中除去溶剂, 得到 0.20g 的 1-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]-3-哌啶-4-基脲盐酸盐 (化合物 #24A)。

[1267] MS : $m/z = 328 (M+1)$ 。

[1268] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) $\delta = 1.1-1.2$ (m, 1H) ; $1.5-1.7$ (m, 2H) ; $1.9-2.0$ (m, 2H) ; $2.9-3.1$ (m, 2H) ; $3.2-3.3$ (m, 2H) ; 3.9 (s, 3H) ; $7.0-7.1$ (m, 1H) ; $7.1-7.2$ (m, 1H) ; $7.4-7.5$ (m, 1H) ; $7.8-7.9$ (m, 2H) ; $8.0-8.1$ (m, 1H) ; 8.2 (s, 1H) ; 8.5 (bs, 1H) ; 8.7 (bs, 1H) ; 8.8 (s, 1H) ; 9.6 (s, 1H)。

[1269] 实施例 25A : 合成 N-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]-2,2-二甲基丙酰胺 (化合物 #25A)

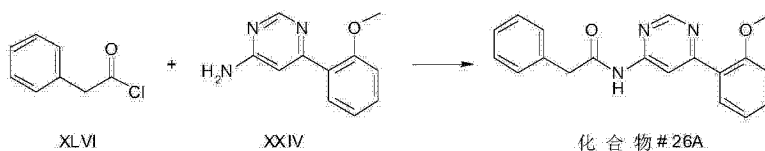
[1270]



[1271] 在冰浴温度下, 在氮气氛围下, 向 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基胺 (XXIV) (0.15g, 0.74mmol) 在 THF (10ml) 中的溶液加入 NEt_3 (0.210ml, 1.49mmol), 然后在相同温度下加入三甲基乙酰氯 (XLV) (0.819mmol)。在 0°C 搅拌反应混合物 1 小时, 然后升至室温并再搅拌 1 小时。反应结束后, 在减压下除去溶剂。将反应粗产物溶于乙酸乙酯 (50ml), 然后用水洗涤 (2x 20ml)。分出有机层, 用盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 然后在减压下浓缩至干, 得到粗产物, 其经硅胶柱色谱 (20% 乙酸乙酯 / 己烷) 进一步纯化, 得到 N-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]-2,2-二甲基丙酰胺。收率 : 106mg, 50%。

[1272] 实施例 26A : 合成 N-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]-2-苯基乙酰胺 (化合物 #26A)

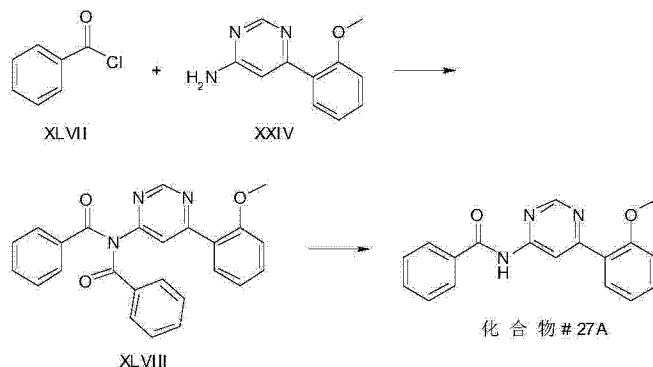
[1273]



[1274] 在冰浴温度下, 在氮气氛围下, 向 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基胺 (XXIV) (0.15g, 0.74mmol) 在 THF (10ml) 中的溶液加入 NEt_3 (0.210ml, 1.49mmol), 然后在相同温度下加入苯基乙酰氯 (XLVI) (0.819mmol)。在 0°C 搅拌反应混合物 1 小时, 然后升至室温并再搅拌 1 小时。如上所述进行常规后处理, 然后经硅胶柱色谱纯化 (30% 乙酸乙酯 / 己烷), 得到 N-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]-2-苯基乙酰胺。收率 : 75mg, 30%。

[1275] 实施例 27A : 合成 N-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]苯甲酰胺 (化合物 #27A)

[1276]



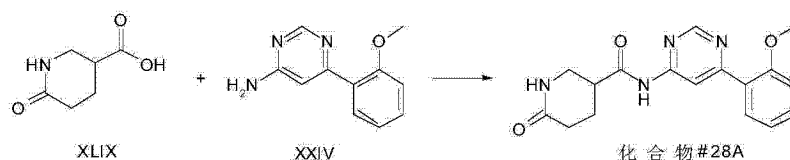
[1277] 在冰浴温度下,在氮气氛下,向 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基胺 (XXIV) (0.15g, 0.74mmol) 在 THF (10ml) 中的溶液加入 NEt_3 (0.210ml, 1.49mmol), 然后在相同温度下加入苯甲酰氯 (XLVII) (0.819mmol)。在 0℃ 搅拌反应混合物 1 小时, 然后升至室温并再搅拌 1 小时。如上所述进行常规后处理, 然后经硅胶柱色谱纯化 (20% 乙酸乙酯 / 己烷), 得到 N-苯甲酰基-N-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]苯甲酰胺 (XLVIII)。收率: 122mg, 40%。

[1278] 在冰浴温度下, 将 1N NaOH 水溶液 (2equiv.) 缓慢地加入所得 N-苯甲酰基-N-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]苯甲酰胺和 2ml 水-甲醇的混合物。

[1279] 经 TLC 监测, 在 10 分钟内反应结束。除去溶剂, 然后将剩余物溶于二氯甲烷 (50ml), 接着用水洗涤 (2x 20ml), 然后用盐水洗涤。用无水硫酸钠干燥合并的有机层, 然后浓缩至干, 得到粗产物, 其经硅胶柱色谱进一步纯化 (用 20 乙酸乙酯 / 己烷), 得到 N-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]苯甲酰胺。收率: 45, 5mg, 50%。

[1280] 实施例 28A: 合成 6-氧代哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺 (化合物 #28A)

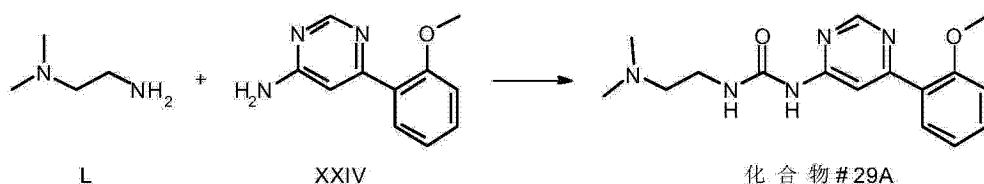
[1281]



[1282] 在冰冷条件下, 向 6-氧代哌啶-3-甲酸 (XLIX) (0.22g, 1.5mmol) 在无水 DMF (10ml) 中的溶液加入 HBTU (1.13g, 2.98mmol) 和 DIPEA (0.40ml, 2.3mmol), 然后在室温下搅拌 45 分钟。在冰浴温度下, 向此反应混合物滴加在无水 DMF 中的 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基胺 (XXIV) (0.30g, 1.5mmol)。然后在 120℃ 加热反应混合物 4 小时。反应结束后, 冷却, 然后完全蒸发 DMF。将剩余物溶于乙酸乙酯 (30ml), 用水 (2x 15ml) 和盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 然后在减压下蒸发。通过使用硅胶快速柱色谱 (10% 甲醇 / 二氯甲烷) 最终纯化, 得到 6-氧代哌啶-3-甲酸 [6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]酰胺。收率: 78.2mg, 17%。

[1283] 实施例 29A: 合成 1-(2-二甲基氨基乙基)-3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脲 (化合物 #29A)

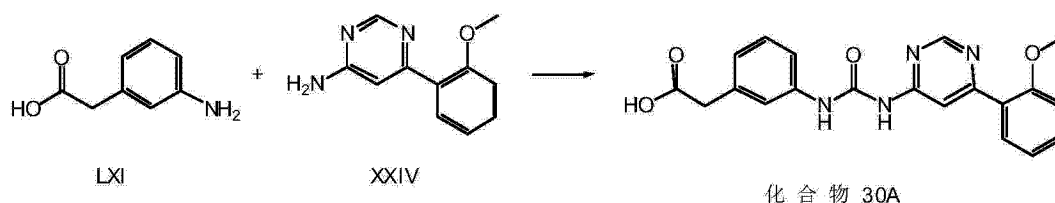
[1284]



[1285] 在 -78°C ，向 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基胺 (XXIV) (0.400g, 1.98mmol) 和 DIPEA (0.300g, 2.38mmol) 在无水二氯甲烷 (10ml) 中的溶液滴加入氯甲酸苯酯 (0.370g, 1.98mmol)。然后在室温下搅拌反应混合物 16 小时。蒸发二氯甲烷，然后将剩余物溶于 1,4-二氧六环 (15ml)。加入 N,N-二甲基乙二胺 (L) (0.160g, 1.98mmol)，然后回流混合物 14 小时。蒸发溶剂，然后将粗产物再溶于乙酸乙酯，用水 (2x 50ml) 和盐水洗涤，用无水硫酸钠干燥，然后在减压下浓缩。所得固体粗产物经硅胶柱色谱 (15% 甲醇 / 二氯甲烷) 进一步纯化，得到 1-(2-二甲基氨基乙基)-3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脲。收率：293mg, 47%。

[1286] 实施例 30A：合成 (3-{3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脲基}苯基)乙酸 (化合物 30A)

[1287]



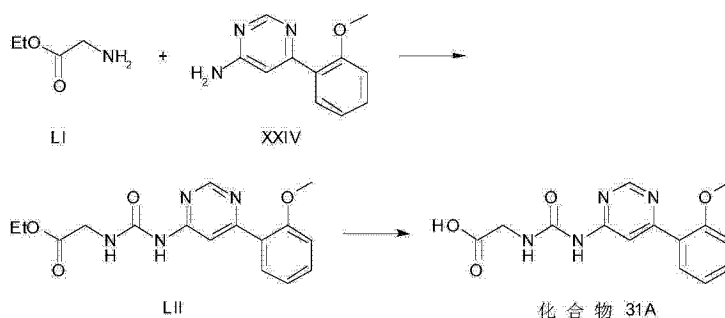
[1288] 在 -78°C ，将氯甲酸苯酯 (0.15g, 99mmol) 滴加入 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基胺 (XXIV) (0.20g, 0.99mmol) 和 DIPEA (0.250g, 1.98mmol) 在无水二氯甲烷 (10ml) 中的溶液，然后在室温下过夜搅拌混合物。然后蒸发二氯甲烷，加入无水 1,4-二氧六环和 (3-氨基苯基)乙酸 (0.15g, 0.99mmol)，并在 70°C 过夜加热混合物。蒸发溶剂，然后用乙酸乙酯萃取粗产物 (2x 100ml)。用水 (2x 50ml) 和盐水洗涤合并的有机相，用无水硫酸钠干燥，然后在真空旋转蒸发器中浓缩。用乙醚洗涤剩余物，得到为有色固体的 (3-{3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脲基}苯基)乙酸。

[1289] MS : $m/z = 379 (M+1)$ 。

[1290] $^1\text{H NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 3.57 (2H, s), 3.90 (3H, s), 6.96 (1H, d, $J = 7.5\text{Hz}$), 7.11 (1H, d, $J = 7.5\text{Hz}$), 7.21 (1H, d, $J = 8\text{Hz}$), 7.20 (1H, d, $J = 8\text{Hz}$), 7.45-7.43 (1H, s), 7.50 (1H, d, $J = 6.5\text{Hz}$), 7.94 (1H, d, $J = 3\text{Hz}$), 8.23 (1H, s), 8.88 (1H, s), 9.82 (1H, br. s), 10.21 (1H, br. s), 12.34 (1H, br. s)。

[1291] 实施例 31A：合成 {3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脲基}乙酸 (化合物 31A)

[1292]



[1293] 步骤 1:

[1294] 在 -78°C , 将氯甲酸苯酯 (0.370g, 1.98mmol) 滴加入 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基胺 (XXIV) (0.25g, 1.2mmol) 和 DIPEA (0.31g, 2.4mmol) 在二氯甲烷 (10ml) 中的溶液, 然后在室温下过夜搅拌混合物。然后蒸发二氯甲烷, 加入无水 1,4-二氧六环和甘氨酸乙酯盐酸盐 (0.17g, 1.2mmol) 和 DIPEA (0.31g, 2.4mmol), 然后在 70°C 过夜加热混合物。蒸发溶剂, 然后用乙酸乙酯萃取粗产物 (2x 100ml)。用水 (2x 50ml) 和盐水洗涤乙酸乙酯相, 用无水硫酸钠干燥, 然后在真空旋转蒸发器中浓缩。剩余物经硅胶柱色谱纯化 (洗脱剂: 70% 乙酸乙酯 / 己烷), 得到 {3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脲基}乙酸乙酯。收率: 190mg, 47.8%。

[1295] 步骤 2:

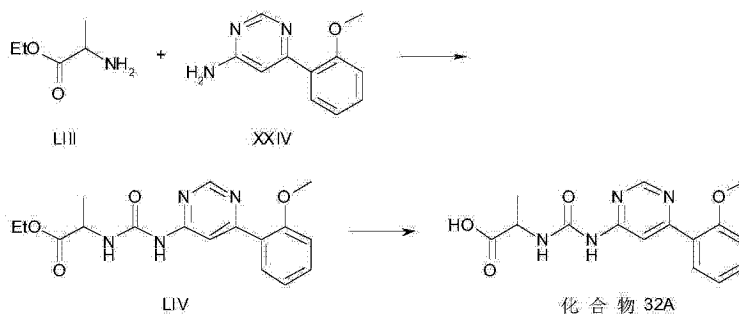
[1296] 在冰浴温度下, 在 10min 内, 向 {3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脲基}乙酸乙酯 (LII) (190mg, 0.57mmol) 在 THF 和水的混合物 (1:1) 中的溶液加入 LiOH (50.0mg, 1.12mmol) 水溶液, 然后搅拌混合物 2 小时。蒸发 THF, 然后用 2N HCl 酸化水溶液。其后用乙酸乙酯 (2x 100ml) 萃取此水相。分出有机相, 合并, 用水和盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 然后在真空旋转蒸发器中浓缩, 得到为白色固体的 {3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脲基}乙酸。收率: 184mg, ~定量。

[1297] MS: $m/z = 303 (M+1)$ 。

[1298] $^1\text{H NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) $\delta = 3.73$ (3H, s), 3.91 (2H, s), 7.12-7.10 (1H, m), 7.21 (1H, d, $J = 8\text{Hz}$), 7.54-7.51 (1H, m), 7.86 (1H, d, $J = 7.5\text{Hz}$), 8.18 (2H, m), 8.21 (1H, br. s), 8.87 (1H, br. s), 10.28 (1H, br. s)。

[1299] 实施例 32A: 合成 2-({3-[6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基]脲基}丙酸) (化合物 32A)

[1300]



[1301] 步骤 1:

[1302] 在 -78°C , 将氯甲酸苯酯 (0.21g, 1.4mmol) 滴加入 6-(2-甲氧基苯基)嘧啶-4-基

胺 (XXIV) (0.28g, 1.4mmol) 和 DIPEA (0.35g, 2.8mmol) 在无水二氯甲烷 (10ml) 中的溶液, 然后在室温下过夜搅拌混合物。其后蒸发二氯甲烷, 加入无水 1,4-二氧六环和丙氨酸乙酯盐酸盐 (0.21g, 1.4mmol) 和 DIPEA (0.35g, 2.8mmol), 然后在 70℃ 过夜加热混合物。蒸发溶剂, 然后用乙酸乙酯萃取粗产物 (2x 100ml)。用水 (2x 50ml) 和盐水洗涤合并的有机相, 用无水硫酸钠干燥, 然后在真空旋转蒸发器中浓缩。剩余物经硅胶柱色谱纯化 (洗脱剂: 45% 乙酸乙酯 / 己烷), 得到 2-{3-[6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基] 脲基} 丙酸乙酯。收率: 470mg, 97.2%。

[1303] 步骤 2:

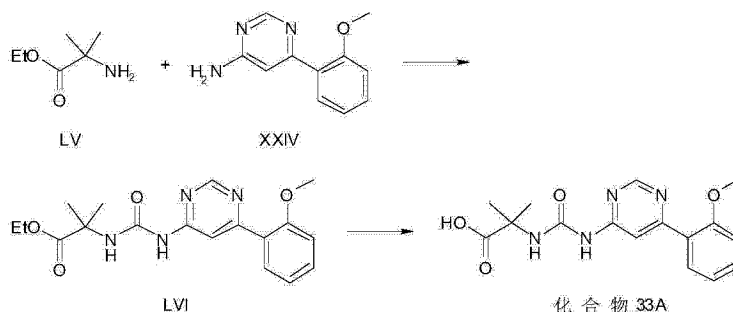
[1304] 在冰浴温度下, 在 30min 内, 向 2-{3-[6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基] 脲基} 丙酸乙酯 (LIV) (470mg, 1.4mmol) 在 THF 和水的混合物 (1:1) 中的溶液加入 LiOH 水溶液 (0.11g, 2.7mmol), 然后搅拌 2 小时。蒸发 THF, 然后用 2N HCl 酸化水溶液。然后用乙酸乙酯 (2x 100ml) 萃取此水相, 分出并合并有机相, 然后用水和盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 然后在真空旋转蒸发器中浓缩, 得到为白色固体的 2-{3-[6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基] 脲基} 丙酸 (化合物 #32A)。收率: 223mg, 50.4%。

[1305] MS: $m/z = 317 (M+1)$ 。

[1306] $^1\text{H NMR}$ (500MHz, DMSO-d_6) $\delta = 1.38-1.37$ (3H, d, $J = 6.5\text{Hz}$), 3.87 (3H, s), 4.29-4.26 (1H, m), 7.10 (1H, d, $J = 7.5\text{Hz}$), 7.19 (1H, d, $J = 7.5\text{Hz}$), 7.48 (1H, s), 7.92 (1H, m), 8.11 (1H, s), 8.27 (1H, br. s), 8.80 (1H, s), 9.74 (1H, s), 12.80 (1H, br. s)。

[1307] 实施例 33A: 合成 2-{3-[6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基] 脲基}-2-甲基丙酸 (化合物 33A)

[1308]



[1309] 步骤 1:

[1310] 在 -78℃, 将氯甲酸苯酯 (0.21g, 1.4mmol) 滴加入 6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基胺 (XXIV) (0.28g, 1.4mmol) 和 DIPEA (0.36g, 2.8mmol) 在无水二氯甲烷 (10ml) 中的溶液, 然后在室温下过夜搅拌混合物。其后蒸发二氯甲烷, 加入无水 1,4-二氧六环和 2-氨基-2-甲基丙酸乙酯 (0.17g, 1.2mmol) 和 DIPEA (0.36g, 2.8mmol), 然后在 70℃ 过夜加热混合物。蒸发溶剂, 然后用乙酸乙酯萃取粗产物 (2x 100ml)。用水 (2x 50ml) 和盐水洗涤合并的有机相, 用无水硫酸钠干燥, 然后在真空旋转蒸发器中浓缩。剩余物经硅胶柱色谱纯化 (洗脱剂: 30% 乙酸乙酯 / 己烷), 得到 2-{3-[6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基] 脲基}-2-甲基丙酸乙酯。收率: 370mg, 73.5%。

[1311] 步骤 2:

[1312] 在冰浴温度下, 在 10min 内, 向 2-{3-[6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基] 脲基}

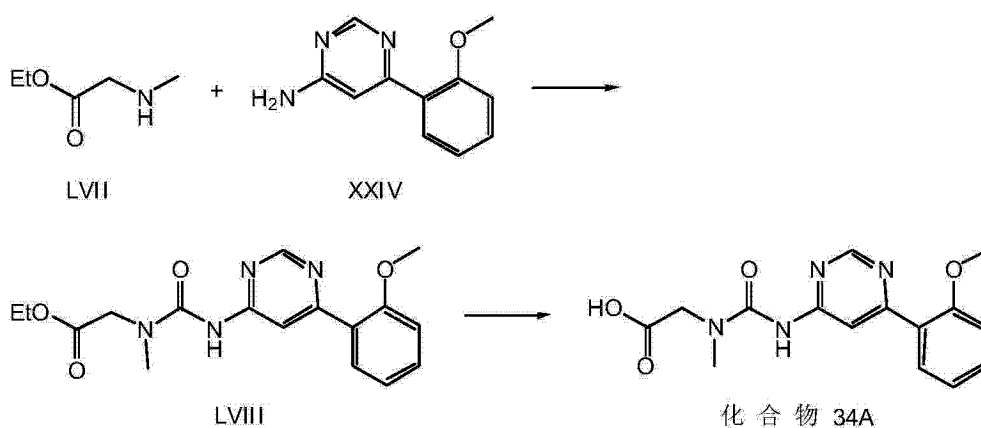
基}-2-甲基丙酸乙酯 (LVI) (370mg, 1.03mmol) 在 THF 和水的混合物 (1:1) 中的溶液加入 LiOH 水溶液 (87.0mg, 2.06mmol), 然后在室温下搅拌 2 小时。蒸发 THF, 然后用 2N HCl 酸化水溶液。然后用乙酸乙酯 (2x 100ml) 萃取此水相, 然后用水和盐水洗涤合并的有机相, 用无水硫酸钠干燥, 然后在真空旋转蒸发器中浓缩, 得到为白色固体的 2-[3-[6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基] 脒基]-2-甲基丙酸。收率: 235mg, 69.1%。

[1313] MS: $m/z = 331 (M+1)$ 。

[1314] $^1\text{H NMR}$ (500MHz, DMSO-d_6) δ 1.48 (6H, s), 3.87 (3H, s), 7.10-7.04 (1H, m), 7.18 (1H, d, $J = 8\text{Hz}$), 7.5-7.46 (1H, m), 7.90 (1H, d, 7.5Hz), 8.04 (1H, s), 8.37 (1H, br. s), 8.78 (1H, s), 9.62 (1H, br. s), 12.50 (1H, br. s)。

[1315] 实施例 34A: 合成 {3-[6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基]-1-甲基脒基} 乙酸 (化合物 34A)

[1316]



[1317] 步骤 1:

[1318] 在 -78°C , 将氯甲酸苯酯 (0.21g, 1.4mmol) 滴加入 6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基胺 (XXIV) (0.28g, 1.4mmol) 和 DIPEA (0.35g, 2.8mmol) 在无水二氯甲烷 (10ml) 中的溶液, 然后在室温下过夜搅拌混合物。其后蒸发二氯甲烷, 加入无水 1,4-二氧六环、肌氨酸乙酯盐酸盐 (0.213g, 1.4mmol) 和 DIPEA (0.35g, 2.8mmol), 然后在 70°C 过夜加热混合物。蒸发溶剂, 然后用乙酸乙酯萃取粗产物 (2x 100ml)。用水 (2x 50ml) 和盐水洗涤合并的有机相, 用无水硫酸钠干燥, 然后在真空旋转蒸发器中浓缩。剩余物经硅胶柱色谱纯化 (洗脱剂: 70% 乙酸乙酯 / 己烷), 得到 {3-[6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基]-1-甲基脒基} 乙酸乙酯。收率: 217mg, 44.9%。

[1319] 步骤 2:

[1320] 在冰浴温度下, 在 10min 内, 向 {3-[6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基]-1-甲基脒基} 乙酸乙酯 (LVIII) (370mg, 1.03mmol) 在 THF 和水的混合物 (1:1) 中的溶液加入 LiOH 水溶液 (87.0mg, 2.06mmol), 然后在室温下搅拌 2 小时。蒸发 THF, 然后用 2N HCl 酸化水溶液。然后用乙酸乙酯 (2x 100ml) 萃取此水相, 然后用水和盐水洗涤合并的有机相, 用无水硫酸钠干燥, 然后在真空旋转蒸发器中浓缩, 得到为棕色固体的 {3-[6-(2-甲氧基苯基) 嘧啶-4-基]-1-甲基脒基} 乙酸。收率: 34mg, 10.4%。

[1321] MS: $m/z = 317 (M+1)$ 。

[1322] $^1\text{H NMR}$ (500MHz, DMSO-d_6) $\delta = 3.03$ (3H, s), 3.85 (3H, s), 4.11 (2H, s), 7.10-7.07 (1

H, s), 7.18 (1H, d, J = 8Hz), 7.49-7.76 (1H, m), 7.82 (1H, d, J = 6.5Hz), 8.36 (1H, s), 8.82 (1H, s), 9.57 (1H, br. s), 12.70 (1H, br. s)。

[1323] 生物学实施例

[1324] 生物学实施例 1

[1325] I. 用于分析炎性疼痛和神经性疼痛的行为动物模型

[1326] 用于分析炎性疼痛和神经性疼痛的若干动物模型是已知的。所述模型具有共同的特征：在例如形成神经损害（如保留性神经损伤，SNI）后，或者使实验动物暴露于伤害性刺激后（如注射福尔马林或角叉菜胶），通过可定量的行为成分如对用 von Frey 毛的机械性刺激（或对使用激光源的温度刺激或舔舐行为）的缩足阈值，测量由所述干预形成的疼痛体征。将这些反应解释为等同于人类的机械性和温度异常性疼痛（对机械性刺激的超敏感性）或痛觉过敏。

[1327] 保留性神经损伤模型（SNI 模型，由 Decosterd 和 Woolf (2000) 开发，参见图 1）的特征在于临床上相关的神经损害的形成和外科手术干预之后的行为实验（如 von Frey 测定）。所述模型成为常用的神经损伤模型，其由结扎和切断坐骨神经的两个分支（即胫神经和腓总神经）并保持腓肠神经完整无损组成。所述 SNI 模型引起机械性敏感性和冷敏感性的快速（少于 24 小时）、持久和重要的变化，这些变化接近地模拟临床神经性疼痛的特征。已表明具有这些类型的神经损伤的动物显现出与神经性疼痛患者报告的那些相似的对机械性刺激的异常痛觉和超敏感性（异常性疼痛）。

[1328] 或者，在小鼠中的福尔马林测定是炎性疼痛和神经性疼痛的伤害感受的有效且可靠的行为模型。它对各类镇痛药灵敏 (Hunskar S, Hole K, Pain. 1987 Jul ;30(1) : 103-14.)。所述伤害性刺激由在左后爪的背侧面的皮肤下注射 10 μ l 稀福尔马林 (2% 在盐水中) (皮下或足底注射入左后爪)。其反应是舔舐和缩回被注射的爪。

[1329] 对于角叉菜胶测定，将 25 μ l 1% 角叉菜胶（在盐水中）皮下注射入小鼠单只后爪（同侧爪）。随后的炎症导致该爪持久性肿胀和超敏感性（对机械性刺激和温度刺激）。角叉菜胶测定是用于预测测试化合物的抗炎活性的标准实验室测定。使用爪水肿测定和 Hargreaves 测定（因光源的温度刺激而缩足）来读数。

[1330] 至于本发明，在 SNI 模型、角叉菜胶测定和福尔马林测定中，测定给药式 I 的细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 抑制性化合物对产生炎性疼痛和神经性疼痛的效力。下文详述实验步骤和结果。

[1331] 生物学实施例 2

[1332] A. 保留性神经损伤 (SNI) - 慢性神经性疼痛模型

[1333] 如上所述，保留性神经损伤 (SNI) 模型（参见图 1）包括损伤实验动物的坐骨神经的三个末端分支中的两支（胫神经和腓总神经），保持腓肠神经完整无损。SNI 在未受损的腓肠神经皮肤范围产生机械性和温度异常性疼痛 (Decosterd 和 Woolf, Pain 2000 ;87 : 149-158. (2) Tsujino 等, Mol. Cel. Neurosci. 2000 ;15 :170-182)。

[1334] 1. 在野生型小鼠中形成保留性神经损伤（神经损害）

[1335] 在外科手术准备前，按 4 μ l/g，用 1:1:2 比例的 Hypnorm (0.315mg/ml 枸橼酸芬太尼 + 10mg/ml 氟阿尼酮 ;Janssen)/Hypnovel (5mg/ml 咪达唑仑 ;Roche Applied Sciences)/水麻醉野生型小鼠（品系 C3HeB/FeJ）（年龄、性别和体重匹配的）。

[1336] 随后,在无菌的预防措施下,在所有小鼠的同侧右后腿的膝盖水平的略上方做切口,暴露坐骨神经的三个末端分支:腓总神经、胫神经和腓肠神经。用 7/0 丝紧紧地结扎腓总神经和胫神经,然后结扎的远端切断,切除 $\approx 2\text{mm}$ 的远端神经残段。在操作期间保持腓肠神经分支不受损伤(本文表示为“同侧 SNI”)。缝合覆盖在上面的肌肉和皮肤,并使动物恢复健康和治愈伤口。在相同小鼠中,暴露但不损伤对侧左后腿的坐骨神经分支(本文表示为“对侧 SNI”)。下文中将经受保留性神经损伤的小鼠表示为“SNI 小鼠”。

[1337] 2. 向 SNI 小鼠给药 CDK 抑制性化合物

[1338] 术后恢复和伤愈后,SNI 小鼠口服 (p. o.) 接受 CDK 抑制性化合物的注射液。在此实施例中,给药化合物 #16A。

[1339] 在 von Frey 测定(机械性异常性疼痛)前 30min,口服给药 30mg/kgCDK 抑制剂(溶于 400 μl 2%羟丙基纤维素;0.25%乳酸(85%溶液))。作为阴性对照,在 von Frey 测定前 30min,通过单次口服给药相同量(400 μl)的 2%羟丙基纤维素;0.25%乳酸(85%溶液)载体。

[1340] 在 SNI 后第 107 天,注射抑制剂或载体,并随后在 von Frey 测定中测定对机械性刺激的缩足阈值。在各注射后 30min,在 von Frey 测定中,测定对机械性刺激的反射感受伤害的反应。

[1341] 如下所述,在 von Frey 测定中,分析向 SNI 小鼠给药 CDK 抑制剂对产生机械性异常性疼痛的效力。

[1342] 3. 给药 CDK 抑制性化合物后 SNI 小鼠的行为试验(von Frey 测定)

[1343] 在 von Frey 测定中,测试经受 SNI 并随后给药本发明的化合物的小鼠,来测定神经损伤后和给药后的机械性异常性疼痛的体征(Decosterd and Woolf, Pain 2000 ;87 : 149-158)。此测定法测定机械性阈值,在此阈值时,正常情况下并疼痛的刺激被动物认为是不舒服或疼痛的。分别建立同侧 SNI 和对侧 SNI 的基线。

[1344] 使用根据 Chaplan 等(1994)以及 Malmberg 和 Basbaum(1998)的“up-down”法,定量 SNI 小鼠的机械性阈值。

[1345] 将小鼠置于直径约 9.5cm,14cm 高,带有近顶部的 4 个通风孔和有机玻璃盖的有机玻璃圆筒中。将所述圆筒置于高处的网面(7x7mm²)上。在试验日前,使小鼠适应测试圆筒 1-2 小时。在试验日,使小鼠适应圆筒约 1 小时,其中适应时间取决于因素如小鼠的品系以及以前已被测试的次数。通常,当小鼠平静并停止探索新环境时,可以开始测试。

[1346] 为了测试小鼠,使用细丝 2.44、2.83、3.22、3.61、3.84、4.08 和 4.31(力量范围=0.04-2.0g)。首先使用 3.61mN 细丝。将所述细丝温和地施加于一只爪的足底表面,使其弯曲,然后保持适当的位置 2-4 秒。每当出现对刺激的正反应(屈曲反应)时,施加强弱一级的 von Frey 毛;每当出现负反应(无反应)时,施加强一级的力量。继续测试,直至在第一次反应变化后,得到了对另外 4 次刺激的反应。测试的最高力量为 4.31。截止阈值为 2g。

[1347] 按照在 Chaplan 等, Journal of Neuroscience Methods. 53(1) :55-63, 1994Jul 中所述,使用得分系列(即“屈曲反应”和“无反应”)以及施加的最后的细丝的力量,来测定机械性阈值。测定的阈值是预期动物会以 50%的几率对其作出反应的力量。完成 von Frey 测定后,处死小鼠。

[1348] 4. 给药化合物 #16A 对产生神经性疼痛的效力

[1349] 如上所述向 SNI 小鼠给药化合物 #16A。如上所述进行 Von Frey 测定。化合物 #16A 对 SNI 小鼠具有痛觉减退效力。在术后的第 107 天,在动物的同侧和对侧爪进行 Von Frey 测定。经化合物 #16A 治疗的动物表现出阈值显著提高,表明对机械性刺激敏感性降低(减轻异常性疼痛)。相比之下,经仅口服载体治疗的动物表现出低阈值,表明高的异常性疼痛。

[1350] 这些结果表明,化合物 #16A 在慢性神经性疼痛的模型中作为痛觉减退药物是有效的。

[1351] 生物学实施例 3

[1352] 福尔马林测定 - 炎性过程 / 炎性疼痛和慢性神经性疼痛的模型

[1353] 在小鼠中的福尔马林测定是伤害感受的有效且可靠的行为模型,并且对各类镇痛药灵敏(Hunskar S, Hole K, Pain. 1987 Jul ;30(1):103-14.)。所述伤害性刺激是将 10 μ l 稀福尔马林(2%在盐水中)皮下或足底注射入左后爪。其反应是舔舐和缩回被注射爪。所述反应表现为两个阶段——注射后 0-5min 的早期 / 急性期,以及注射后 5-30min 的后期 / 慢性期——这反映炎性过程的不同部分(Abbott 等,1995)。以下方案描述进行该实验的一种可能方式:

[1354] 1. 注射福尔马林和给药 CDK 抑制性化合物

[1355] 在此测定中,使用年龄、性别和体重匹配的野生型小鼠(C3HeB/FeJ)。在注射福尔马林前,将动物随机地细分成实验组,每组 10 只动物。在注射福尔马林前 30min,可以通过 i. p. 注射给药适合剂量的 CDK 抑制剂(溶于(400 μ l)的 2%羟丙基纤维素;0.25%乳酸(85%溶液))。类似地,在注射福尔马林前 30min,可以通过 i. p. 注射给药 I κ 激酶(IKK)抑制剂(30mg/kg)(在(400 μ l)2%羟丙基纤维素;0.25%乳酸(85%溶液)中)(阳性对照),或者仅仅注射载体((400 μ l)2%羟丙基纤维素;0.25%乳酸(85%溶液))(阴性对照)。

[1356] 为了注射福尔马林,用纸巾抓着小鼠,以免其动作干扰注射。将被注射的后爪抓在拇指和食指间,然后使用 Hamilton 注射器将 10 μ l 福尔马林(2%)在两个前隆凸之间皮下注射入(s. c.)后爪足底。如下所述,分析经福尔马林处理的小鼠和经抑制剂治疗的小鼠的行为。

[1357] 2. 注射福尔马林和给药 CDK 抑制性化合物后小鼠的行为分析

[1358] 通过自动跟踪系统(Ethovision 3.0Color Pro, Noldus, Wageningen, Netherlands)监视经福尔马林处理的小鼠的行为即舔舐和缩足,持续指定的时间:注射福尔马林后 5min 开始测定,然后在注射福尔马林后 30min 结束。此时间段包含福尔马林引起的伤害感受(痛觉)的 II 期(痛觉过敏)。

[1359] 分别使用两种不同的荧光染料来局部地标记被注射的后爪(黄色染料)(Lumogenyellow;BASF Pigment, Cologne, Germany)和对侧爪(蓝色染料)(Lumogenviolet;Kremer Pigmente, Aichstetten, Germany)。为了测定舔舐行为,用 CCD 照相机监视小鼠。监视并录像后,使用 EthoVision 软件(Ethovision 3.0Color Pro, Noldus, Wageningen, Netherlands)或者通过手动分析,来分析录像。测定荧光点大小和荧光强度,然后计算经舔和咬后荧光点大小的减小。通过比较被治疗爪对未被治疗爪的点大小的减少,来自动计算总的舔舐时间强度。

[1360] 作为测定读数的另一种变型,根据录像文件手工地跟踪各个动物的舔舐行为。在注射福尔马林后 30 分钟内记录舔舐时间,并针对 3 种不同的舔舐区(足背、足底、足趾)进行细分。可以计算各动物以及各实验组的总舔舐时间,并且用作测定化合物效力的参数。

[1361] 结果发现,在注射福尔马林前接受载体处理的小鼠(阴性对照)表现出持久的舔舐时间并且在经福尔马林治疗处理的爪上荧光点的大小显著减小。

[1362] 相比之下,在经测试化合物/福尔马林处理的小鼠中,可以观察到舔舐时间缩短,并且因此经福尔马林处理的爪的荧光点大小未显著缩小。在经 IKK 激酶抑制剂(IKK;IKK 的功能参见图 2,阳性对照)处理的对照小鼠中,观察到同样的功效,即舔舐时间缩短并且荧光点大小变化微小。

[1363] 此观察结果表明,在经 CDK9 抑制剂治疗的小鼠中,炎性疼痛/慢性炎性疼痛知觉减弱,并表明测试化合物的痛觉减退效力。

[1364] 生物学实施例 4

[1365] 小鼠中的角叉菜胶测定 - 炎症和炎性疼痛的模型

[1366] 角叉菜胶引起的爪水肿模型是用于预测各化合物的抗炎活性和减轻炎症诱导的疼痛知觉的标准实验室测定。以下方案描述进行该实验的一种可能方式。

[1367] 基本测定包括测定对刺激物如角叉菜胶作出的水肿和机械性以及温度超敏感性的反应。

[1368] 通过将 25 μ l 1%角叉菜胶(在盐水中)皮下注射入小鼠后爪(同侧爪)来诱导炎症和产生的炎性疼痛。在注射角叉菜胶前 30min,通过 i. p. 注射向 10 只小鼠的各组给药式 I 的化合物(30mg/kg 体重)、载体((400 μ l)2%羟丙基纤维素;0.25%乳酸(85%溶液))和盐水(生理 NaCl)。对侧爪不接受角叉菜胶注射。

[1369] 1.1 给药 CDK 抑制性化合物对经角叉菜胶处理的小鼠的效力

[1370] 通过在被注射的(同侧)爪的跖骨区处从足背到足底测得的爪大小增大来检测由注射角叉菜胶引起的爪水肿。同侧爪和对侧爪的大小用作炎症的替代标志,并在角叉菜胶注射后若干时间点测量:注射前(-1)、注射后 2h(2)、3h(3)、4h(4)、5h(5)、6h(6)、24h(24)。

[1371] 与注射角叉菜胶前 30 分钟所注射的处理物质的类型无关,在角叉菜胶注射后的第 1 小时内,所有小鼠的爪大小可能增大例如 2-3mm(+10%)。在所述时间过程期间,直至注射角叉菜胶后 24h,角叉菜胶注射前接受 CDK 抑制性化合物处理的小鼠可能显示出水肿减小:爪大小的增加可能下降,例如从 10%降至 8%。相比之下,在此时间点,对照小鼠的爪大小可能平均增大 30%。在角叉菜胶注射后 24h 后,经角叉菜胶处理的所有爪的大小可以增大,在注射后 96h 至其最大值。

[1372] 作为角叉菜胶测定的读数,可以进行 Hargreaves 测定,其中所述测定能够测定对辐射热的温度敏感性。Hargreaves 测定(Hargreaves 等,1988)通过当动物站立在有机玻璃室中时,将辐射热源聚焦在动物后爪的足底表面,来测定自由移动的动物的伤害感受敏感性。具体地,将爪的底部暴露于发光源,产生例如 55°C 的温度。测定照射开始与抬起/拉起被照射爪之间的潜伏期作为温度敏感性。

[1373] 分别对用如本文公开的 CDK9 抑制剂和角叉菜胶处理的小鼠,或者用萘普生和角叉菜胶处理的小鼠,或者用溶剂和角叉菜胶处理的小鼠进行 Hargreaves 测定。用 CDK 抑制剂和角叉菜胶处理的小鼠较之阴性对照小鼠可能表现出更长的潜伏期。此结果表明如本文

公开的 CDK 抑制剂的痛觉减退效力。

[1374] 生物学实施例 5

[1375] 在大鼠中的角叉菜胶测定 - 炎症和炎性疼痛的模型

[1376] 以下描述在大鼠中进行角叉菜胶测定的一种可能的方式。

[1377] 按照 Winter 等人所述的方案 (Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 111, 544-547, 1962), 在患有炎性疼痛的大鼠中, 所述测定检测镇痛 / 抗炎活性。

[1378] 将角叉菜胶悬浮液注射入大鼠 (200 - 250g) 右后爪的底表面 (每爪 0.75mg, 在 0.05ml 生理盐水中)。2 小时后, 依次地对大鼠的两只后爪施加触觉刺激和温度刺激。

[1379] 对于触觉刺激, 将动物置于倒置的丙烯酸塑料箱 (18x 11.5x 13cm) 下网格底上。然后, 用渐强的力量首先将电子 Von Frey 探针尖 (Bioseb, 模型 1610) 施加于无炎症的后爪, 其后施加于发炎的后爪, 并且自动记录引起缩足所需的力。实施此方案 3 次并计算对于每爪的平均力量。

[1380] 对于温度刺激, 仪器 (Ugo Basile, Reference :7371) 由置于在高处的玻璃底上的各个丙烯酸塑料箱 (17x 11x 13cm) 组成。将大鼠置于箱内并使其自由适应 10 分钟。然后, 首先将可移动的红外辐射源 ($96 \pm 10 \text{ mW/cm}^2$) 聚焦在无炎症的后爪上, 其后聚焦在发炎的后爪上, 并且自动记录缩足潜伏期。为了防止组织损伤, 所述热源在 45 秒后自动关闭。

[1381] 行为测量后, 通过使用数字式器官充满度测量器 (Letica, 7500 型, 其显示由爪浸没产生的排水量, 以 ml 计) 测定各后爪的体积, 来评价爪水肿。

[1382] 每组研究 10 只大鼠。盲法进行该试验。

[1383] 按 2 种剂量 (10mg/kg 和 30mg/kg) 在测试之前 60 分钟口服给药, 来评价测试物质如本文所述的式 I 的 CDK 抑制剂, 并与载体对照组比较。

[1384] 用在相同实验条件下给药的吗啡 (128mg/kg p. o.) 和乙酰水杨酸 (512mg/kg p. o.) 作为对照物质。

[1385] 因此所述实验包括 6 组。使用非配对 t 检验, 通过对比治疗组和载体对照来分析数据。

[1386] 分别地对经如本文公开的 CDK9 抑制剂和角叉菜胶处理的大鼠, 或者经萘普生和角叉菜胶处理的大鼠, 或者经溶剂和角叉菜胶处理的大鼠, 进行 Hargreaves 测定。经 CDK 抑制剂和角叉菜胶处理的大鼠较之阴性对照大鼠应表现出更长的潜伏期。此结果表明如本文公开的 CDK 抑制剂的痛觉减退效力。

[1387] 生物学实施例 6

[1388] A. LPS 体内测定 (LPS) - 体内细胞因子抑制模型

[1389] 对于 LPS 诱导的感染性休克模型, 对小鼠腹膜内 (i. p.) 注射 $30 \mu\text{g}$ 在盐水中的细菌脂多糖 (LPS ;L2630SIGMA)。所述 LPS- 介导的炎性信号转导级联的引发导致细胞因子如 $\text{TNF } \alpha$ 、IL-6 和 IL1 β 的血清浓度增加。在指定的时间点, 可以从这些动物采集血液。此后, 分离血清, 然后可以将样品贮藏在 -80°C 直至使用商品 ELISA 测定法测定细胞因子浓度 (AL Moreira 等, Braz J Med Biol Res 1997 ;30 :1199-1207)。

[1390] 已公认炎性介质如细胞因子 $\text{TNF } \alpha$ 、IL6 和 IL1 β 可以引起持续性疼痛状况和炎性病症。在从外周组织的免疫细胞如巨噬细胞和 CNS 组织的小胶质细胞中释放后, 这些介质似乎不仅在炎性疼痛和神经性疼痛中而且在炎性病症如类风湿性关节炎中发挥关键作

用 (F Marchand 等人, Nat Rev Neurosci 2005 ;6(7) ;521-532)。因此,抑制肿瘤坏死因子 α (TNF α) 还代表用于治疗炎症性疾病的相关靶 [Lavagno 等人, Eur J Pharmacol 2004 ; 501, 199-208]。

[1391] LPS 体内测定可以用作探讨通过药理学处理抑制细胞因子表达的有效模型。

[1392] 1. 在野生型小鼠中诱导细胞因子表达

[1393] 向野生型小鼠 (品系 C3HeB/FeJ) (年龄、性别和体重匹配的) 腹膜内注射 30 μ g LPS (SIGMA)。给药 LPS 后 90 分钟,用 0.1ml/10g 体重的氯胺酮 - 甲苯噻嗪 (50/20mg/ml) 麻醉这些动物,然后通过心脏穿刺采血用于制备血清。

[1394] 2. 向 LPS 小鼠给药 CDK 抑制性化合物

[1395] 向 LPS 小鼠的药理学治疗组 ($n = 4$) 分别地腹膜内注射 (i. p.) CDK 抑制性化合物或载体 (阴性对照)。具体地,给药化合物 #1A 和 16A。

[1396] 在 LPS 刺激前 30min,作为单次剂量,给药 10mg/kg 或 30mg/kg (化合物 / 体重) CDK 抑制剂 (溶于 20% DMSO、5% Tween 80、10% Tris 1M pH8、20% PEG400、45% PBS)。以相同的方式给药载体对照。

[1397] LPS 刺激后 90 分钟 (min),从小鼠采集血样。以前,在按时间过程实验的该动物模型中,已确认 90min 时间点为 TNF α 表达的峰值。

[1398] 如下所述,以商业化的 ELISA 测定法分析用 CDK 抑制剂的药理学治疗对 LPS 小鼠的细胞因子水平的效力。

[1399] 3. 测定给药 CDK 抑制性化合物后 LPS 小鼠的细胞因子血清浓度

[1400] 心脏穿刺后,将取自 LPS 动物的血样 ($\sim 500 \mu$ l / 动物) 在湿冰上放置 (incubated) 30min。此后,在 13,000rpm 下,使样品离心 15min。从凝块中分出血清并冷冻贮藏在 -80°C 。

[1401] 按照制造商的说明书,使用商品化的 ELISA 试剂盒 (Natutec) 测定样品中 TNF α 和 IL6 的血清浓度。

[1402] 4. 给药化合物 #1A 和 16A 对细胞因子的蛋白表达的效力

[1403] 如上所述,向 LPS 小鼠给药化合物 #1A 和 16A。如上所述进行基于 ELISA 的细胞因子血清浓度测定。比较用化合物 #1A 和 16A 治疗的动物与用载体治疗的对照动物,显示出对血清中的 TNF α 和 IL6 蛋白浓度的显著抑制效力。在图 3 中显示给药化合物 #1A 和 16A 对 LPS 诱导的小鼠的结果,其描述了用 LPS 诱导的小鼠进行细胞因子 (TNF α) 测定的结果。

[1404] 这些结果表明,在细胞因子表达的模型中,化合物 #1A 和 16A 是细胞因子 TNF α 和 IL6 的有效抑制药。

[1405] 生物学实施例 7

[1406] A. 体外 THP-1 测定 - 细胞因子抑制作用的体外模型

[1407] 人类 THP-1 细胞系可以用作由脂多糖 (LPS) 或肿瘤坏死因子 α [TNF α] 介导的细胞因子表达的体外模型。

[1408] 当用 LPS 诱导或者由 TNF α 本身诱导 (自分泌诱导) 时,单核细胞系的 THP-1 细胞 (ATCC ;TIB-202) 可以分化成表达促炎细胞因子如 TNF α 、IL6 和 IL1 β 的巨噬细胞样细胞。

[1409] 已公认炎症介质如细胞因子 TNF α 、IL6 和 IL1 β 可以引起持续性疼痛状况和炎

性病症。在从外周组织的免疫细胞如巨噬细胞和 CNS 组织的小胶质细胞中释放后,这些介质似乎不仅在炎症疼痛和神经性疼痛中而且在炎症病症如类风湿性关节炎中发挥关键作用 (F Marchand 等人, Nat Rev Neurosci 2005 ;6 (7) ;521-532)。因此,抑制肿瘤坏死因子 α (TNF α) 还代表用于治疗炎症性疾病的相关靶 [Lavagno 等人, Eur J Pharmacol 2004 ; 501, 199-208]。

[1410] 因此, THP-1 体外测定可以用作探讨细胞因子表达的药理学抑制的有效筛选模型 (U Singh 等人, Clin Chem 2005 ;51(12) ;2252-6], K Rutault 等人, J Biol Chem 2001 ; 276 (9) ;6666-74]。

[1411] 1. THP-1 细胞的生长和分化

[1412] 使 THP-1 细胞生长在添加 10% FCS 和 1% Pen/Strep 的改良 RPMI-1640 培养基 (ATCC, Cat. No. 30-2001) 中。为了细胞因子抑制测定,以 5×10^5 细胞 /ml 的密度,将细胞接种于 6-孔板中的添加 100ng/ml PMA 的标准生长培养基 (Sigma, P1585) 中,来诱导分化成巨噬细胞样细胞。24 小时后,所述培养基用标准生长培养基 (无 PMA) 替代,并且再孵育细胞 48 小时以完成分化。

[1413] 2. 用 CDK 抑制性化合物和 LPS 刺激处理分化的 THP-1 细胞

[1414] 分化 72h 后,用无血清的生长培养基替代上述培养基,然后,加入各自溶于 DMSO 的浓度为 0.5-5 μ M 的 CDK 抑制性化合物和对照化合物如阳性对照和阴性对照 (孔中 DMSO 的终浓度是 0.1%)。将细胞与化合物一起孵育 60min,然后再用 100ng/ml LPS (Sigma, L2630) 刺激另外 4-48 小时。收集上清液,并即刻使用可商购的夹心 ELISA 测定法 (eBioscience, Cat. No88-7346, 88-7066, 88-7010) 测定细胞因子如 TNF α 、IL-6 和 IL-1 β 的表达,或者冷冻贮藏在 20°C 直至评价。

[1415] 3. 测定给药 CDK 抑制性化合物后 THP-1 上清液中的细胞因子浓度

[1416] 按照制造商的说明书,使用商品化的 ELISA 试剂盒 (eBioscience) 测定细胞培养上清液内 TNF α 、IL6 和 IL1 β 的浓度。

[1417] 4. 用 CDK 抑制性化合物治疗对 THP-1 细胞上清液中细胞因子的蛋白表达的效力

[1418] 如上所述 (参见第 2 节),平行三份地向分化的 THP-1 细胞施用 CDK-抑制性化合物 #1A、16A、20A 和 25A。单独与测试化合物或对照化合物 (p38 抑制剂 SB203580 和 IKK 抑制剂 BMS345541) 一起预孵育 60min 后,用 LPS 刺激细胞。孵育 4-48h 后,收集上清液,然后,如以上第 3 节所述,进行基于 ELISA 的细胞因子上清液浓度测定。

[1419] 用化合物 #1A、16A、20A 和 25A 处理的细胞以及用对照化合物处理的细胞相对经载体 (DMSO) 处理的细胞的比较显示出,化合物 #1A、16A、20A 和 25A 对细胞上清液中 TNF α 和 IL6 蛋白浓度的显著抑制效力。与对照化合物 SB203580 或 BMS345541 相比,这些化合物显示出相似的或更好的对 TNF α /IL-6 表达的抑制作用。

[1420] 在图 4A 和图 4B 中显示给药化合物 #1A、16A、20A 和 25A 对 LPS 诱导的 THP-1 巨噬细胞中 TNF α 和 IL-6 的表达的效力。图 4A 表示在 LPS-诱导的 THP-1 巨噬细胞中 TNF α 的测定结果,而图 4B 表示在 LPS-诱导的 THP-1 巨噬细胞中 IL-6 的测定结果。

[1421] 这些结果表明,CDK 抑制性化合物 #1A、16A、20A 和 25A 是细胞因子 TNF α 和 IL-6 的表达的有效抑制剂。

[1422] 生物学实施例 8

[1423] A. 体外激酶抑制测定

[1424] 在体外激酶抑制测定中,测定化合物 1A-30A 对细胞周期蛋白依赖性激酶 CDK2/CycA、CDK4/CycD1、CDK5/p35NCK、CDK6/CycD1 和 CDK9/CycT 的 IC_{50} 谱。将在这些测定中所得的 IC_{50} 值用于评价所述化合物对 CDK9 抑制的特异性选择性和效力。

[1425] 在这些测定中所得的结果用于挑选对 CDK9 显示出特异性的化合物。具体地,意图将 CDK9 特异性化合物与对其他 CDK 即对 CDK2、CDK4、CDK5 和 CDK6 中的一些或全部也具有显著抑制效力的其他化合物区分开。为了避免抑制细胞周期相关的 CDK2、CDK4、CDK5 和 CDK6 时可能发生的不利(细胞生长抑制/细胞毒)效应,这种区分是必要的。

[1426] 此外,这些数据用于建立构效关系(SAR)以辅助设计出在效力和选择性方面新的且甚至改进的结构/化合物。

[1427] 1. 测试化合物

[1428] 以在 100% DMSO 中的 $1 \times 10^{-02}M$ 储备溶液使用化合物,在 3 块 96 孔 V 形微量滴定板(下文中,所述板被称为“总平板”)的第 2 列各 $100 \mu l$ 。

[1429] 然后,用 100% DMSO 作为溶剂,使在总平板的第 2 列中的 $1 \times 10^{-02}M$ 储备溶液接受系列的半对数稀释,得到 10 种不同浓度,在第 12 列中,稀释终点为 $3 \times 10^{-07}M/100\%$ DMSO。第 1 列和第 7 列充满 100% DMSO 作为对照。然后,使用 96 道移液器,将系列稀释的复制板的各孔 $2 \times 5 \mu l$ 等分成 2 套相同的“化合物稀释板”。

[1430] 在激酶抑制测定当天,将 $45 \mu l H_2O$ 加入一套化合物稀释板的各孔。为了最大限度地减少沉淀,仅在将化合物溶液转移至测定板前的几分钟,将 H_2O 加入所述板。充分震荡板,得到半对数级的浓度为 $1 \times 10^{-03}M/10\%$ DMSO 至 $3 \times 10^{-08}M/10\%$ DMSO 的“化合物稀释板/10% DMSO”。这些板用于转移 $5 \mu l$ 化合物溶液至“测定板”。在工作日结束时,弃去化合物稀释板。对于测定(参见下文),从化合物稀释板的各孔将 $5 \mu l$ 溶液转移至测定板。测定的终体积为 $50 \mu l$ 。在从 $1 \times 10^{-04}M$ 至 $3 \times 10^{-09}M$ 范围内的 10 种最终测定浓度测定所有化合物。在所有情况中,反应混合物中的最终 DMSO 浓度为 1%。

[1431] 2. 重组蛋白激酶

[1432] 为了测定抑制谱,使用以下 5 种蛋白激酶:CDK2/CycA、CDK4/CycD1、CDK5/p35NCK、CDK6/CycD1 和 CDK9/CycT。通过杆状病毒表达系统,在 Sf9 昆虫细胞中,表达所述蛋白激酶,其为人重组 GST- 融合蛋白或者 His- 标记的蛋白。使用 GSH- 琼脂糖(Sigma)或者 Ni-NTH- 琼脂糖(Qiagen),通过亲和色谱法纯化激酶。通过 SDS-PAGE/ 银染色测定各激酶的纯度,并且通过使用激酶特异性抗体的蛋白质印迹分析或者通过质谱来检验各激酶的身份。

[1433] 3. 蛋白激酶测定

[1434] 在得自 Perkin Elmer/NEN(Boston, MA, USA) 的 96 孔 FlashPlates™ 中,在 $50 \mu l$ 反应体积中进行所有的激酶测定。按以下顺序分 4 步移液反应混合物:

[1435] • $20 \mu l$ 测定缓冲液(标准缓冲液)

[1436] • $5 \mu l$ ATP 溶液(在 H_2O 中)

[1437] • $5 \mu l$ 测试化合物(在 10% DMSO 中)

[1438] • $10 \mu l$ 底物/ $10 \mu l$ 酶溶液(预混的)

[1439] 对所有酶的测定包含:60mM HEPES-NaOH(pH 7.5)、3mM $MgCl_2$ 、3mM $MnCl_2$ 、3 μM 原

钒酸钠、1.2mM DTT、50 μ g/ml PEG20000、1 μ M [33 P]-ATP (约 5x 1005cpm/孔)。

[1440] 每孔使用以下量的酶和底物：

[1441]

#	激酶	激酶 批号	激酶 ng/50 μ l	底物	底物 ng/50 μ l
1	CDK2/CycA	SP005	100	组蛋白 H1	250
2	CDK4/CycD1	SP005	50	Rb-CTF (批号 009)	500
3.	CDK5/p35NCK	SP001	50	Rb-CTF (批号 009)	1000
3	CDK6/CycD1	SP003	400	Rb-CTF (批号 009)	500
4	CDK9/CycT	003	100	Rb-CTF (批号 009)	1000

[1442] 在 30℃ 温育反应混合物 80 分钟。用 50 μ l 2% (v/v) H_3PO_4 终止反应，抽吸板，并用 200 μ l H_2O 或 200 μ l 0.9% (w/v) NaCl 清洗两次。用微板闪烁计数器 (Microbeta, Wallac) 测定 ^{33}P 的结合。

[1443] 使用 BeckmanCoulter/Sagian 自动系统进行所有测定。

[1444] 4. 评价原始数据

[1445] 将各测定板的第 1 列 ($n = 8$) 的计数的中位值定义为“低对照”。此值反映了在不存在蛋白激酶但存在底物的情况下放射性与板的非特异性结合。将各测定板的第 7 列 ($n = 8$) 的计数的中位值当作“高对照”，即不存在任何抑制剂情况下的完全活性。高对照和低对照之间的差值被称为 100% 活性。作为数据评价的部分，将得自特定板的低对照值从相应板的高对照值以及从所有 80 个“化合物值”中减去。使用以下公式，计算特定板的各孔的残留活性 (%)：

[1446] 残留活性 (%) = $100X[(\text{化合物的 cpm} - \text{低对照})/(\text{高对照} - \text{低对照})]$

[1447] 使用 Quattro Workflow V2.0.1.3 (Quattro Research GmbH, Munich, Germany; www.quattro-research.com)，计算各浓度的残留活性和化合物 IC_{50} 值。使用的模型是“S 形反应 (可变斜率)”，参数“最高”设定在 100%，“最低”设定在 0%。测试时，化合物 1A-30A 的 IC_{50} 值均在 1nM 和 10 μ M 之间。

[1448] 结果

[1449] 表 3 给出实施例 1 - 157 的生物学数据。

[1450] 表 3：

[1451]

化合物	效力	CDK9- IC_{50}	CDK9-0.1M
1	0.99	10	
2	0.28	0.018	26
3	0.77	0.039	45

4	1.39		75
5	0.22	0.019	
6	1.02	0.173	
7	0.83		59
8	0.64		41
9	0.71		48
10	1.17		96
11	1.17		106
12	1.31		63
13	1.33		48

[1452]

化合物	效力	CDK9-IC ₅₀	CDK9-0.1M
14	1		58
15	0.43		27
16	0.71		28
17	0.79		84
18	0.25		17
19	0.99		29
20	1.06		108
21	1.3		109
22	1.02		107
23	1.14		61
24	0.23		17
25	0.13		10

26	0.49		21
27	0.21		12
28	0.95		108
29	1.07		84
30	0.52		33
31	0.51		30
32	0.15		10
33	0.4		19
34	0.15		12
35	1.13		106
36	1.1		88
37	1.09		81
38	0.16		9
39	0.87		42
40	1.17		56
41	0.98		45
42			

[1453]

化合物	效力	CDK9-IC ₅₀	CDK9-0.1M
43			
44			
45	0.97		38
46	0.87		34
47			

48			
49			
50			
51	1.08	1.25	
52	1.06	0.116	
53	1.01	1.08	
54	1.08		111
55	1.01		56
56	1.12		83
57	1.06		100
58	0.98		102
59	1		112
60	1.1		116
61	0.95		86
62	0.92		27
63	1.21		70
64	0.94		21
65	0.4		17
66	1.09		26
67	0.96		23
68	1.02		23
69	0.55		17
70	1.08		104
71	1		74

[1454]

化合物	效力	CDK9-IC ₅₀	CDK9-0.1M
72	1.12		58
73	1.19		92
74	0.97		61
75	0.44		48
76	0.95		88
77	1.17		92
78	0.52		36
79	0.25		23
80	0.39		28
81	0.86		55
82	0.07	0.015	26
83	0.19	0.029	21
84	0.99		46
85	0.97		37
86	0.21		10
87	0.98		83
88	0.3		14
89	0.11	0.005	3
90	0.72		31
91	0.85		22
92	0.92		44
93	0.04		12

94	0.99		28
95	1.25		15
96	1.18		12
97	1.11		18
98	0.22		24
99	0.37		23
100	1.4		55

[1455]

化合物	效力	CDK9-IC ₅₀	CDK9-0.1M
101	1.22		60
102	0.44		20
103	1.05		52
104	0.74		107
105	1.19		92
106	0.95		38
107	0.79		33
108	0.91		79
109	0.64		32
110	0.37		22
111	0.9		49
112	0.48		26
113	0.12		15
114	0.07		15
115	1.01		95

116	0.07		20
117	0.25		22
118			
119	0.14		6
120	0.14		11
121	0.82		92
122	0.28		13
123	0.89		71
124	0.13		10
125			
126			
127			
128			
129			

[1456]

化合物	效力	CDK9-IC ₅₀	CDK9-0.1M
130			
131			
132			
133			
134			
135			
136			
137			

138	1.2		82
139	0.96		80
140	1.24		93
141	1.09		57
142			
143			
144	1.17		52
145	0.73		66
146	0.96		84
147	0.9		58
148	0.93		59
149	1.01		127
150	0.91		32
151	1.06		31
152	1.01		83
153			
154	0.84		18
155	0.49		25
156			
157			

[1457] 通用缩写

[1458] Ac 乙酸酯（盐）

[1459] AcN 乙腈

[1460] Boc 叔丁氧羰基

[1461] CAIBE 氯甲酸异丁酯

[1462] Cbz 苄氧羰基

[1463] DCM 二氯甲烷

- [1464] DIPEA 二异丙基乙胺
- [1465] DMF 二甲基甲酰胺
- [1466] ESMS 电喷雾质谱法
- [1467] HATU 2-(1H-7-氮杂苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脒六氟磷酸盐
- [1468] HBTU 0-苯并三唑-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸盐
- [1469] HOBT 1-羟基苯并三唑
- [1470] HPLC 高效液相色谱法
- [1471] NEt₃ 三乙胺
- [1472] NMM N-甲基吗啉
- [1473] rt 保留时间
- [1474] Ph 苯基
- [1475] PPh₃ 三苯基膦
- [1476] THF 四氢呋喃
- [1477] TFA 三氟乙酸
- [1478] TLC 薄层色谱法

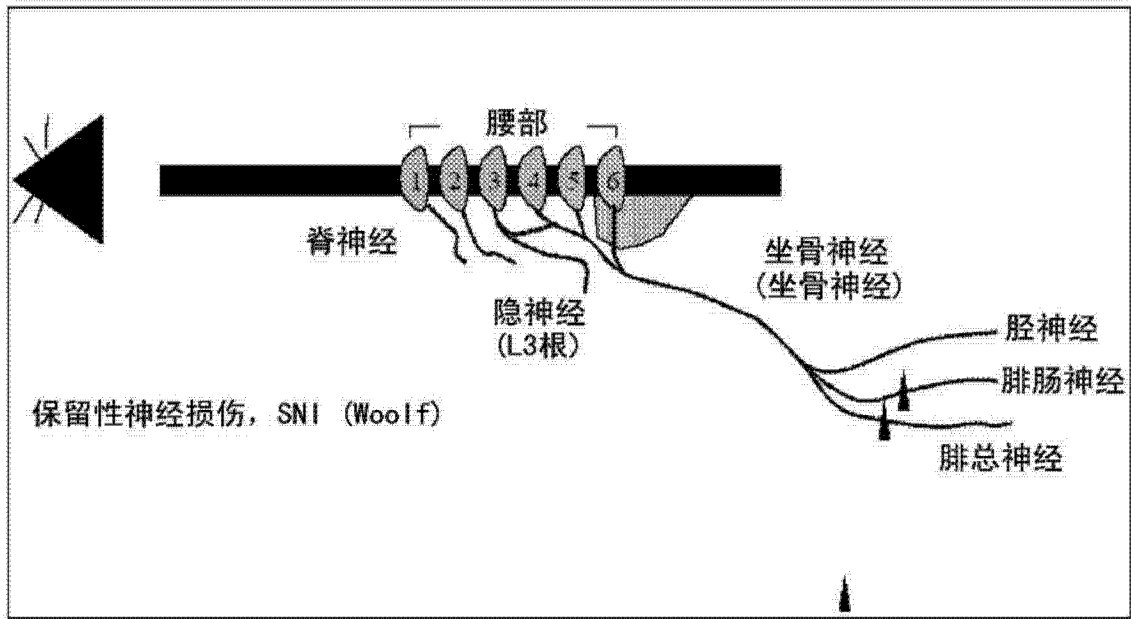


图 1

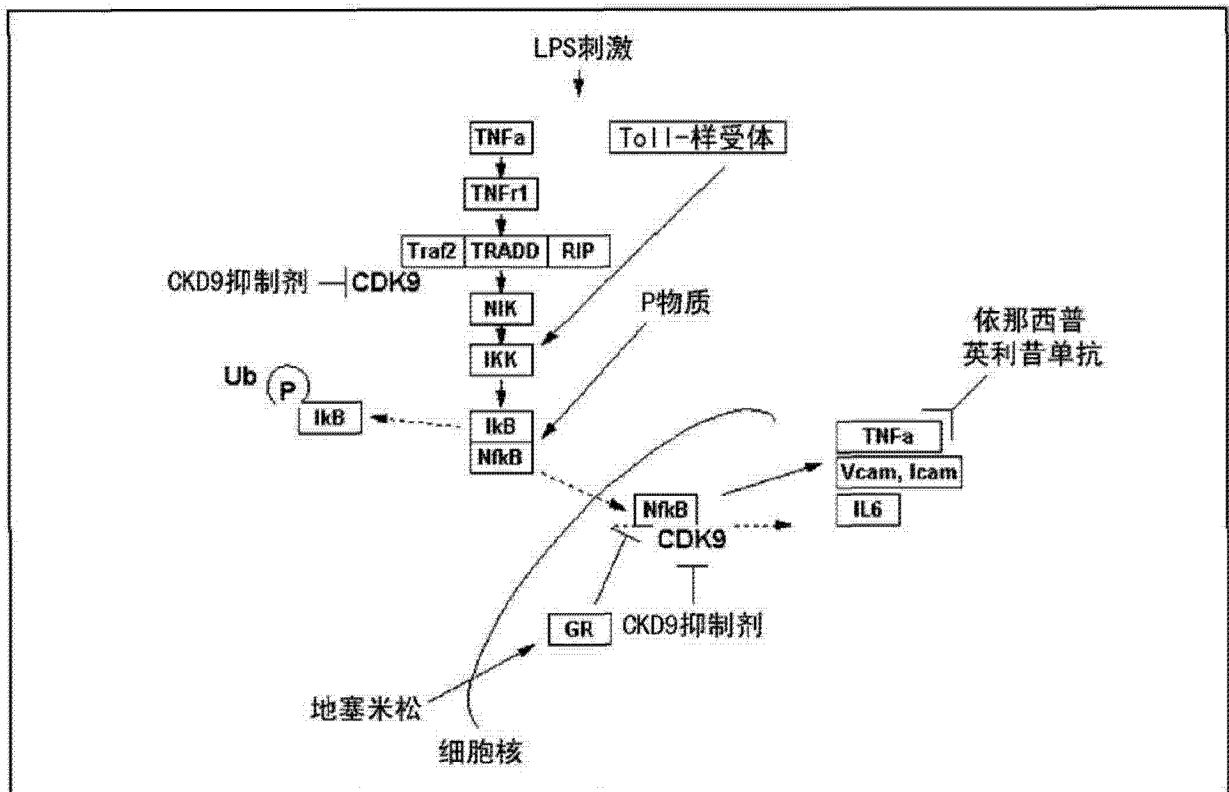


图 2

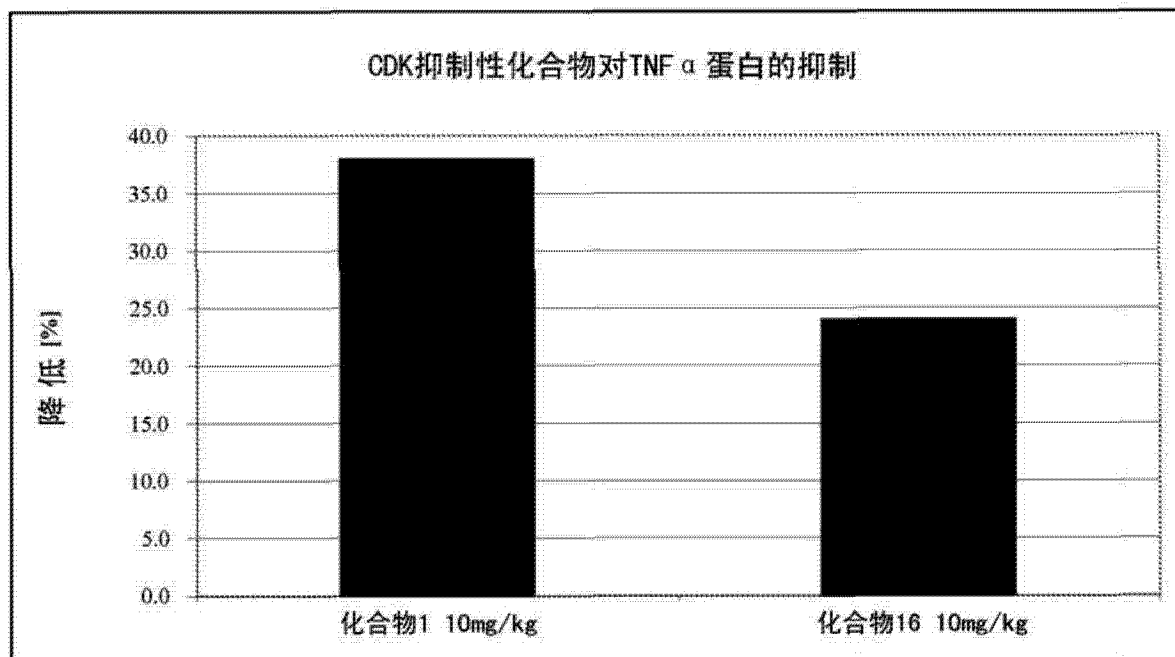


图 3

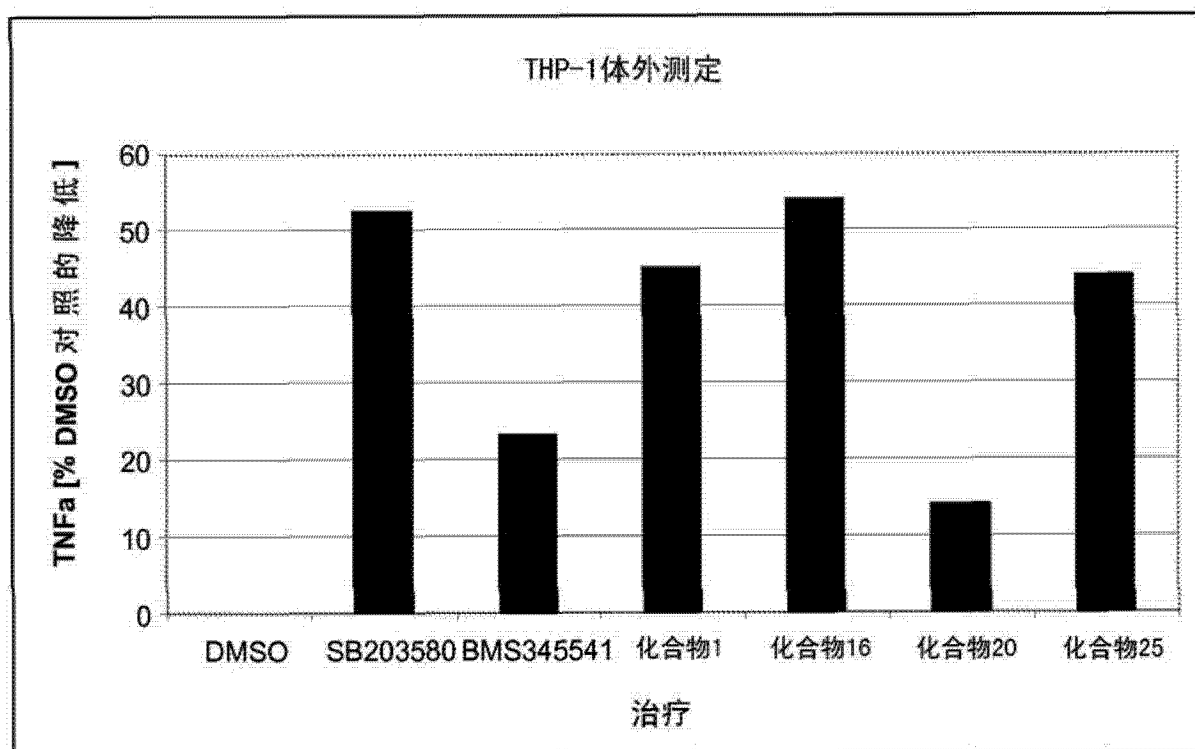


图 4A

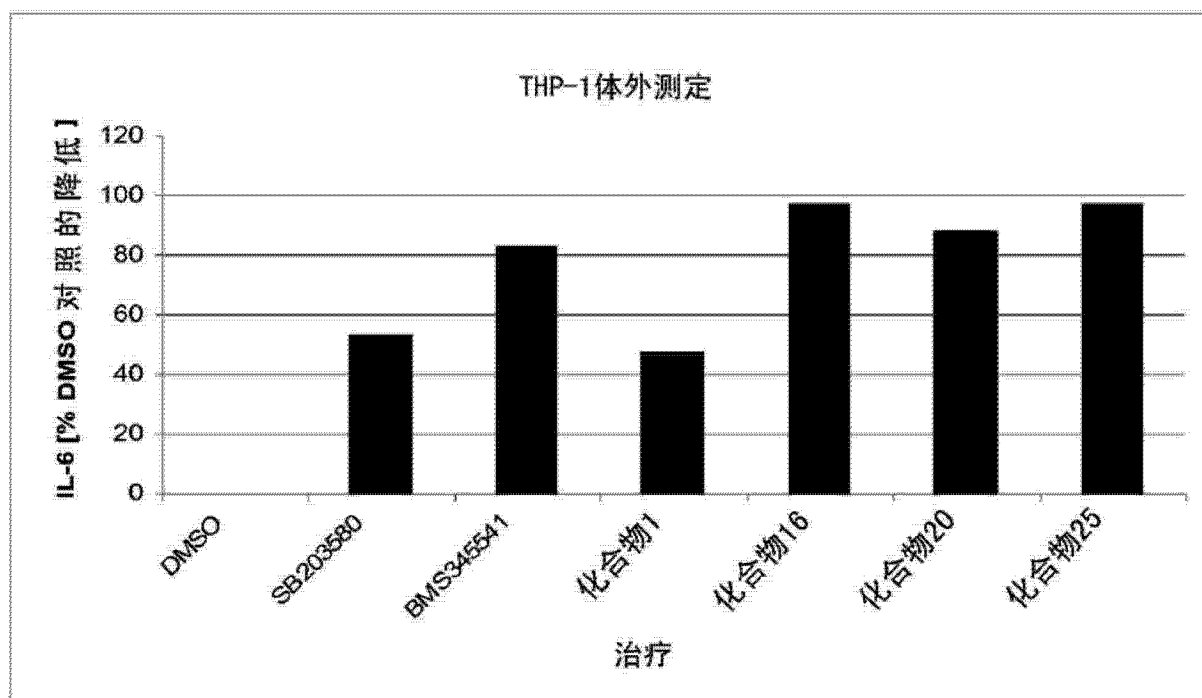


图 4B