

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020 年 9 月 10 日 (10.09.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/177129 A1

(51) 国际专利分类号:
C07D 403/14 (2006.01) *A61P 33/06* (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2019/077357

(22) 国际申请日: 2019 年 3 月 7 日 (07.03.2019)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(71) 申请人: 华东理工大学(EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) [CN/CN]; 中国上海市徐汇区梅陇路 130 号, Shanghai 200237 (CN)。中国科学院上海巴斯德研究所(INSTITUT PASTEUR OF SHANGHAI, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国上海市黄浦区合肥路 411 号, Shanghai 200025 (CN)。

(72) 发明人: 李剑(LI, Jian); 中国上海市徐汇区梅陇路 130 号, Shanghai 200237 (CN)。江陆斌(JIANG, Lubin); 中国上海市黄浦区合肥路 411 号, Shanghai 200025 (CN)。凌大正(LING, Dazheng); 中国上海市徐汇区梅陇路 130 号, Shanghai 200237 (CN)。黄正辉(HUANG, Zhenghui); 中国上海市黄浦区合肥路 411 号, Shanghai 200025 (CN)。王熳炯(WANG, Manjiong); 中国上海市徐汇区梅陇路 130 号, Shanghai 200237 (CN)。李若曦(LI, Ruoxi); 中国上海市徐汇区梅陇路 130 号, Shanghai 200237 (CN)。汤同柯(TANG, Tongke); 中国上海市黄浦区合肥路 411 号, Shanghai 200025 (CN)。朱进(ZHU, Jin); 中国上海市徐汇区梅陇路 130 号, Shanghai 200237 (CN)。

(74) 代理人: 上海一平知识产权代理有限公司(XU&PARTNERS, LLC.); 中国上海市普陀区真北路 958 号天地科技广场 1 号楼 106 室, Shanghai 200333 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

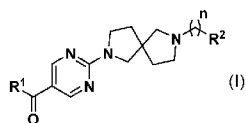
(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: 2,7-DIAZA-SPIRO[4.4]NONANE HYDROXAMIC ACID PYRIMIDINE COMPOUND, PREPARATION AND APPLICATION THEREOF

(54) 发明名称: 2,7-二氮杂-螺[4.4]壬烷类异羟肟酸嘧啶类化合物及其制备和应用



(57) Abstract: Disclosed by the present invention are a 2,7-diaza-spiro[4.4]nonane hydroxamic acid pyrimidine compound, and a preparation and an application thereof. Specifically, the present invention relates to a compound represented by formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, or a stereoisomer thereof, a method for preparing same, and an application thereof in the preparation of HDAC inhibitor-type anti-malarial drugs.

(57) 摘要: 本发明公开了一种 2,7-二氮杂-螺[4.4]壬烷类异羟肟酸嘧啶类化合物及其制备和应用。具体地, 本发明涉及一种式 I 所示的化合物、或其药学上可接受的盐、或其立体异构体, 及其制备方法, 以及其在制备 HDAC 抑制剂类抗疟疾药物中的应用。



WO 2020/177129 A1

2,7-二氮杂-螺[4.4]壬烷类异羟肟酸嘧啶类化合物及其制备和应用

技术领域

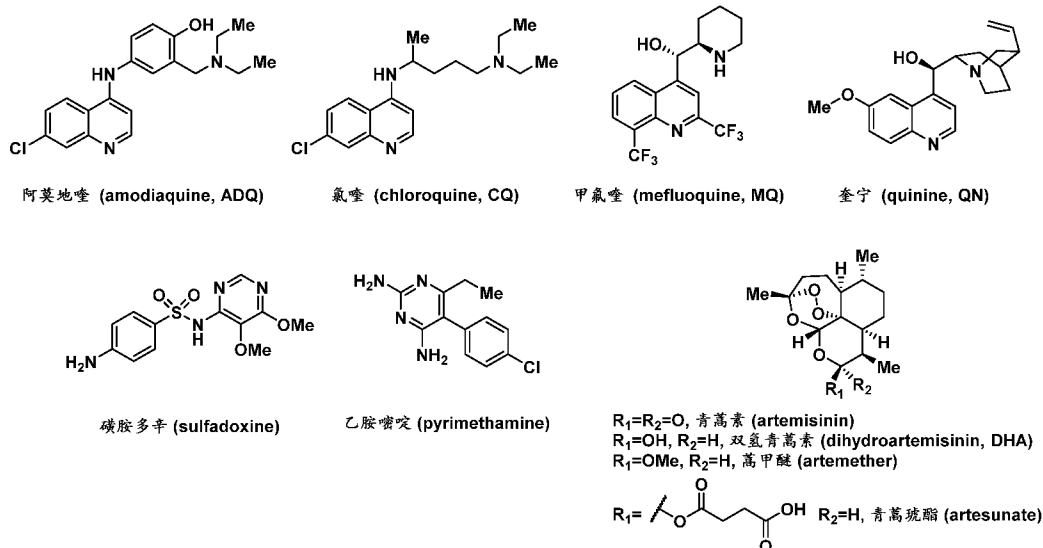
本发明涉及药物化学和药物治疗学领域，具体涉及一类 2,7-二氮杂-螺[4.4]壬烷类异羟肟酸嘧啶类化合物及其制备方法和药理用途，该类化合物可作用于组蛋白去乙酰化酶，进而用于制备治疗疟疾的药物组合物。

背景技术

疟疾 (malaria) 是一种由雌性按蚊传播、疟原虫导致的寄生虫类疾病。疟疾是当今世界公共卫生领域中最突出的问题之一，是全球流行最广、危害最大的寄生虫病。根据世界卫生组织 (World health organization, WHO) 2017 年世界疟疾报告统计，全球共有 91 个国家和地区为疟疾流行区域，共有 2.16 亿人感染疟疾，90% 的病例分布在非洲，7% 分布在东南亚地区，2% 分布在世界卫生组织东地中海区域。每年有约 45 万人因疟疾而死亡，疟疾的肆虐对当地的经济、社会发展都造成了巨大的负面影响，疟疾已成为使非洲经济陷入困境的主要因素之一。

疟疾的症状表现为以一定时间间隔发生的发冷、发热和盗汗的发作，所述的时间间隔取决于新一代疟原虫在宿主体内发育所需的时间。由恶性疟原虫引起的疟疾的特征在于严重的全身症状，甚至导致患者死亡，它是造成疟疾病例中大多数死亡的原因。恶性疟原虫能够消化红细胞中的血红蛋白，而且会改变所寄生细胞的粘附特性，使所述细胞粘附在血管壁上，造成血液流动被阻滞，导致血管栓塞。恶性疟原虫引发的脑型疟是一种非常凶险的疟疾，在脑型疟患者的体内，上述粘附特性被改变细胞阻塞脑血管，致使患者丧失意识，若不及时治疗将直接导致死亡。

目前，复方青蒿素是治疗疟疾最为有效的药物，在大多数国家已成为抗疟的一线治疗药物，如 1) 蒿甲醚+苯茛醇；2) 双氢青蒿素+哌喹；3) 青蒿琥酯+甲氟喹；4) 青蒿琥酯+阿莫地喹；5) 青蒿琥酯+SP 等。



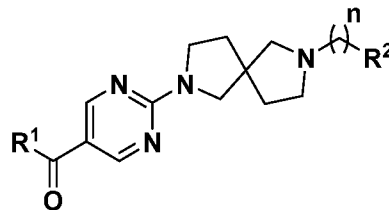
然而，耐药问题一直是疟疾防治的重大威胁。早期广泛用于疟疾治疗的喹啉类药物（奎宁、氯喹、甲氟喹等）和作用于叶酸合成过程的药物（磺胺多辛和乙胺嘧啶等）由于耐药性的肆虐，疗效已大打折扣。因此，寻找能够用于疟疾治疗的新靶标，尤其是对疟原虫生命周期中各个关键环节，开发出具有不同于现有抗疟药物的新作用机制的抗疟药物，对于解决日趋严重的耐药性问题意义重大。

因此，本领域迫切需要一种能够有效杀灭疟原虫，特别是耐药性疟原虫的药物化合物。

发明内容

5 本发明的目的是提供一种能够有效杀灭疟原虫，特别是耐药性疟原虫的药物化合物。

本发明的第一方面，提供了一种如下式 I 所示的 2,7-二氮杂-螺[4.4]壬烷类异羟肟酸嘧啶类化合物，或其药学上可接受的盐：



I

其中，

R^1 选自下组：NHOH，或 OR^3 ；

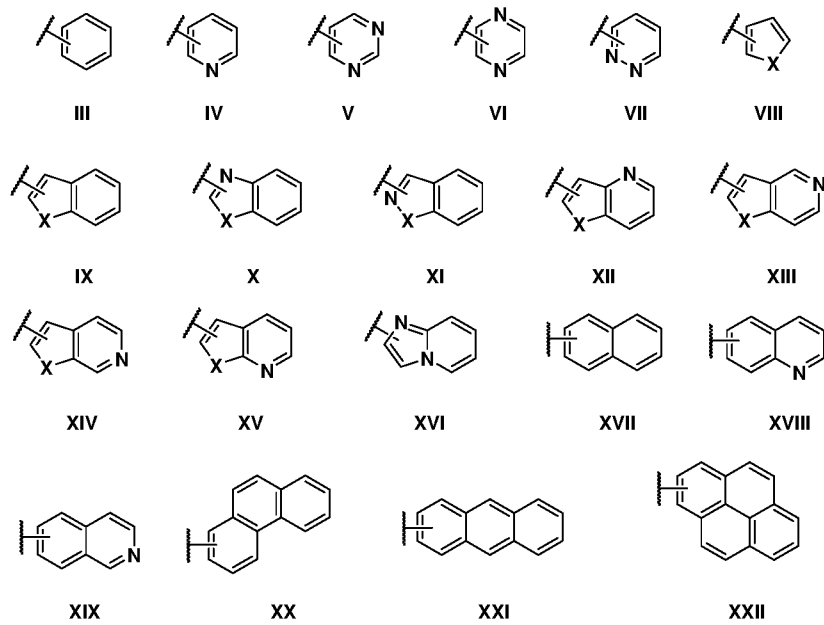
R^2 选自下组：氢，取代或未取代的 C1~C6 烷基、取代或未取代的 C3~C8 环烷基、取代或未取代的 C6-C15 单环、二环或三环芳基、取代或未取代的 5-15 元单环、二环或三环杂环基（包括饱和、部分不饱和或芳香性杂环基）；其中，所述的杂芳基包括一个或多个选自下组的杂原子作为环骨架：N、O 或 S；

R^3 选自下组：氢，取代或未取代的 C1~C3 烷基，取代或未取代的 C3~C8 环烷基、取代或未取代的 5-15 元杂环基；

$n=0$ 或 1；

20 其中，所述的取代指基团上的氢原子被一个或者多个(例如 2 个、3 个、4 个等) 选自下组的取代基所取代：卤素、氘代、C1-C6 烷氧基、卤代的 C1-C6 烷氧基、卤代的 C3-C8 环烷基、甲基磺基、 $-S(=O)_2NH_2$ 、氧代($=O$)、 $-CN$ 、羟基、 $-NH_2$ 、羧基、或取代或未取代的选自下组的基团：C1-C6 烷基、C3-C8 环烷基、C1-C6 胺基、C6-C10 芳基、具有 1-3 个选自 N、S 和 O 的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-3 个选自 N、S 和 O 的杂原子的 5-12 元杂环基，
25 且所述的取代基选自下组：卤素、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、氧代、 $-CN$ 、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、C6-C10 芳基、C1-C6 胺基、C1-C6 酰胺基、具有 1-3 个选自 N、S 和 O 的杂原子的 5-10 元杂芳基。

在另一优选例中，所述的 R^2 选自下组：H、取代或未取代的 C1~C6 烷基，取代或未取代的 C3~C8 环烷基，或取代或未取代的选自下组的基团：



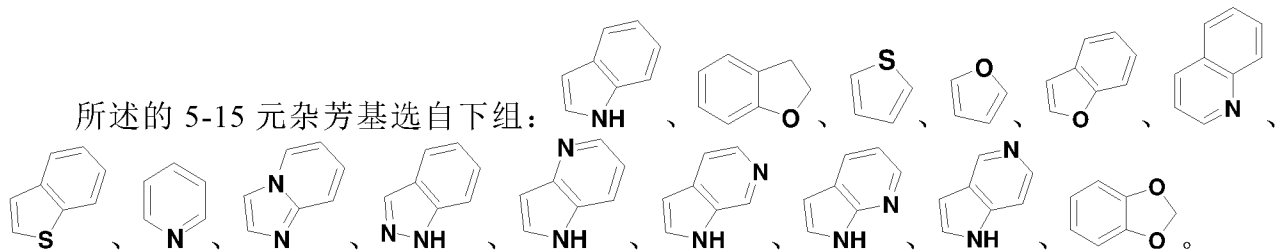
上述各式中，X 选自 N、O、S。

在另一优选例中， R^2 选自下组：氢，取代或未取代的 C1~C6 烷基、取代或未取代的 C3~C8 环烷基，取代或未取代的 C6-C15 芳基，取代或未取代的 5-15 元杂芳基；其中，

5 所述的 C3~C8 环烷基选自下组：环戊基，环己基；

所述的芳基选自下组：苯基、萘基、菲基；

所述的 5-15 元杂芳基选自下组：



在另一优选例中， R^3 选自下组：氢，C1~C3 直链烷基，C1~C6 饱和杂环基。

10 在另一优选例中，所述的直链烷基为甲基或乙基。

在另一优选例中，所述的杂环基中的杂原子为氧原子。

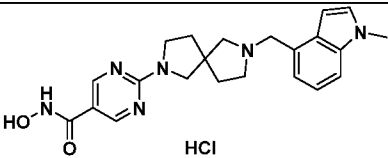
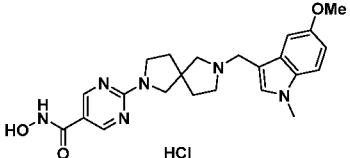
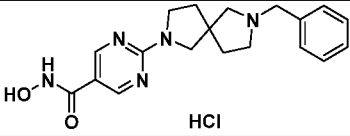
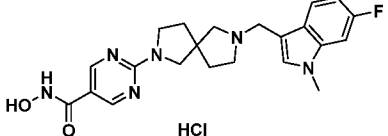
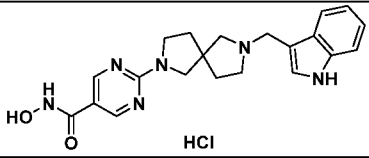
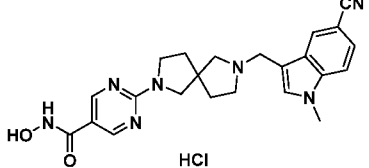
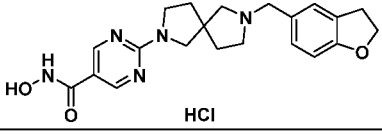
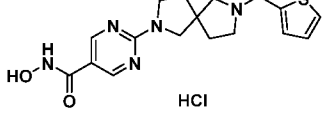
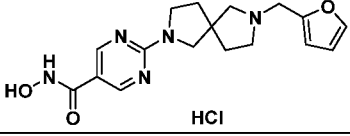
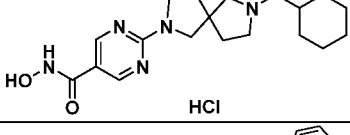
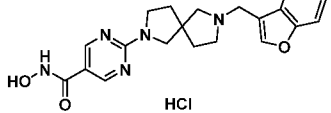
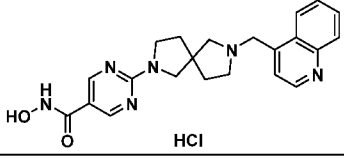
在另一优选例中，所述的 R^1 为 NHOH。

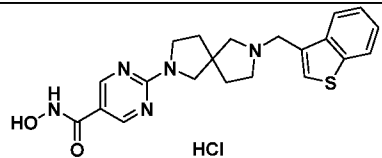
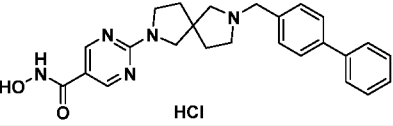
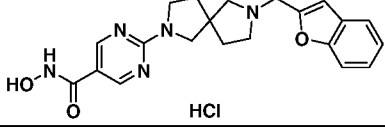
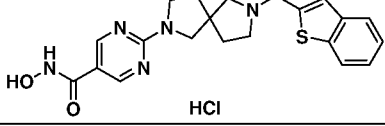
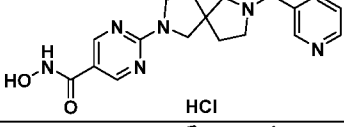
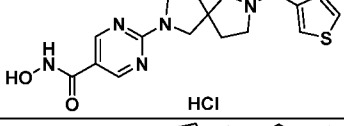
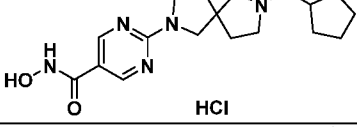
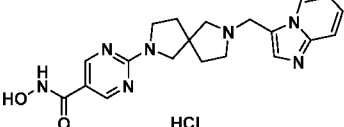
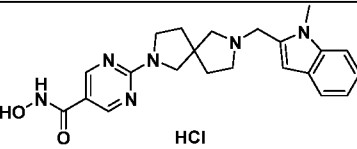
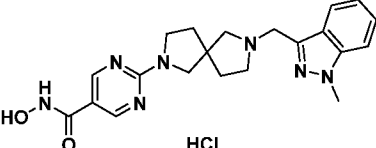
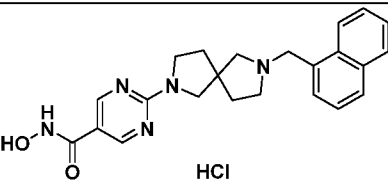
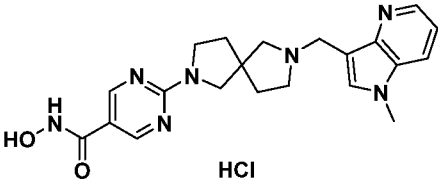
在另一优选例中，所述的单环杂芳基选自下组：吡啶基、吡咯基、呋喃基、噻吩基。

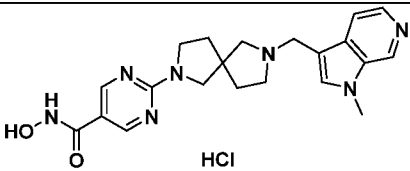
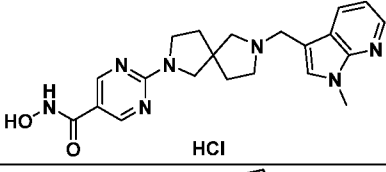
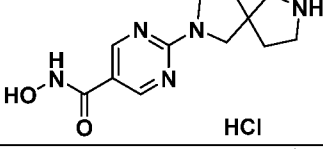
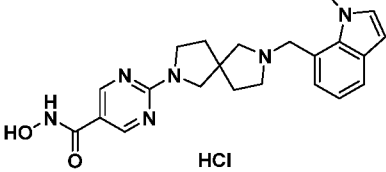
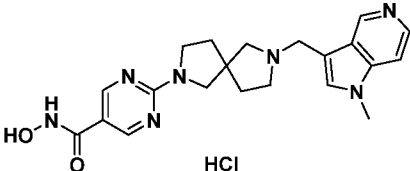
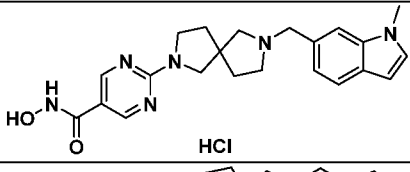
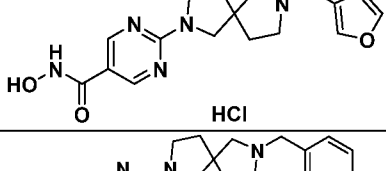
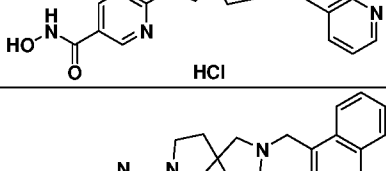
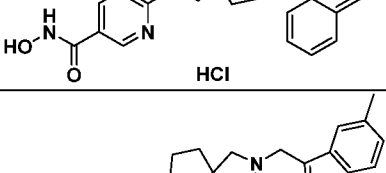
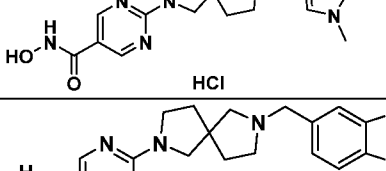
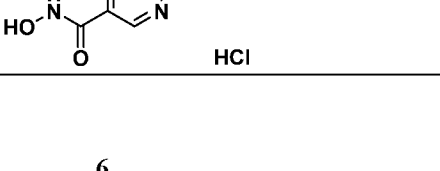
15 在另一优选例中，所述的双环杂芳基选自下组：喹啉基、异喹啉基、苯并噻吩基、苯丙呋喃基、吲哚基、氮杂吲哚基。

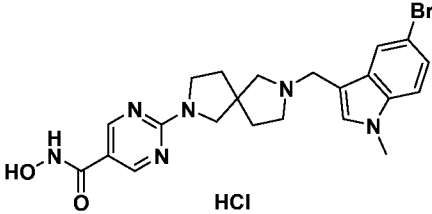
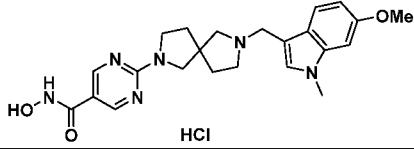
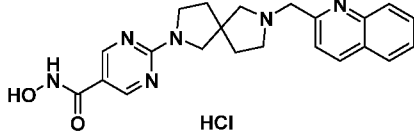
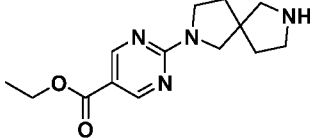
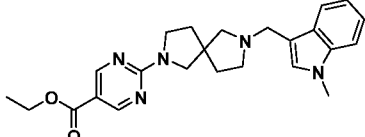
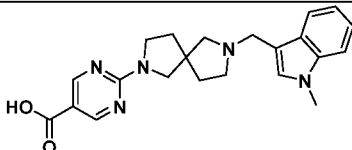
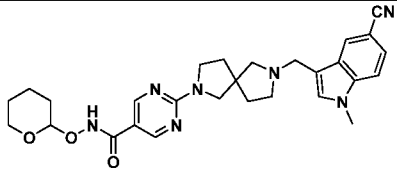
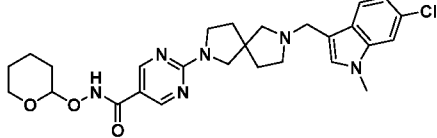
在另一优选例中，所述的式 I 化合物可选自下组：

I-0	
I-1	
I-2	

I-3	 HCl
I-4	 HCl
I-5	 HCl
I-6	 HCl
I-7	 HCl
I-8	 HCl
I-9	 HCl
I-10	 HCl
I-11	 HCl
I-12	 HCl
I-13	 HCl
I-14	 HCl

I-15	 HCl
I-16	 HCl
I-17	 HCl
I-18	 HCl
I-19	 HCl
I-20	 HCl
I-21	 HCl
I-22	 HCl
I-23	 HCl
I-24	 HCl
I-25	 HCl
I-26	 HCl

I-27	 HCl
I-28	 HCl
I-29	 HCl
I-30	 HCl
I-31	 HCl
I-32	 HCl
I-33	 HCl
I-34	 HCl
I-35	 HCl
I-36	 HCl
I-37	 HCl

I-38	
I-39	
I-40	
V	
IV	
III	
II-1	
II-2	

本发明的第二方面，提供了一种药物组合物，所述的药物组合物包括（a）治疗有效量的如本发明第一方面中所述的化合物、或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物；和（b）药学上可接受的载体。

5 在另一优选例中，所述的药物组合物用于：

（a）治疗或预防疟原虫导致的疾病或病症；或

（b）治疗或预防与 HDAC 活性或表达量相关的疾病或病症。

在另一优选例中，所述的药物组合物用于调节 HDAC 活性或表达量。

10 本发明的第三方面，提供了一种如本发明第一方面所述的式 I 化合物的用途，其用于制备治疗或预防疟原虫导致的疾病或病症的药物组合物。

在另一优选例中，所述的疾病或病症为疟疾。

在另一优选例中，所述疟原虫为耐药疟原虫或非耐药疟原虫。

在另一优选例中，所述的疟原虫为处于选自下组时期的疟原虫：肝期、配子体期、

红细胞内期。

在另一优选例中，所述的耐药疟原虫为对选自下组的药物已经产生抗性的疟原虫：青蒿素、二氢青蒿素、蒿甲醚、蒿琥酯、本芴醇、磺胺多辛、乙胺嘧啶、咯萘啶、阿托伐醌、奎宁、氯喹、哌喹、甲氟喹、阿莫地喹、伯胺喹、和他非诺喹。

5 本发明的第四方面，提供了一种如本发明第一方面所述的式 I 化合物的用途，其用于制备治疗或预防 HDAC 活性或表达量相关的疾病或病症的药物组合物。

在另一优选例中，所述的疾病或病症为肿瘤，较佳地，所述的肿瘤选自下组：肺癌、结肠癌、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、淋巴系统肿瘤。

10 应理解，在本发明范围内中，本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅，在此不再一一累述。

附图说明

15 图 1 为本发明化合物的 Western Blot 实验结果图；

图 2 为小鼠体内药效实验结果示意图；其中，图 2A 为感染后化合物 I-7 治疗后小鼠原虫曲线率，图 2B 为为感染后化合物 I-7 治疗后小鼠存活率；图 2C 为感染后化合物 I-8 治疗后小鼠原虫曲线率，图 2D 为为感染后化合物 I-8 治疗后小鼠存活率。

20 具体实施方式

本发明人经过长期而深入的研究，制备了一种具有 HDAC 抑制活性的化合物，其可以杀灭各个时期的耐药和非耐药疟原虫活性，且对人源细胞具有较低毒性，因此可以用于疟原虫导致的疾病例如疟疾的治疗。基于上述发现，发明人完成了本发明。

25 术语

除非明确另外指出，根据本发明和本文所用的术语具有以下含义：

如本文所用，术语“C1-C6 烷基”指具有 1~6 个碳原子的直链或支链烷基，例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基等，或类似基团。优选地，烷基为具有 1-3 个碳原子的直链或支链的饱和链，例如甲基、乙基、正丙基或异丙基。

30 如本文所用，术语“C3-C8 环烷基”指具有 1~8 个碳原子的环状烷基，例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基。

如本文所用，术语“C1-C6 烷氧基”指上文定义的 C1-C6 烷基，其通过氧原子连接至分子的剩余部分。优选地，C1-C6 烷氧基可包括甲氧基、乙氧基和异丙氧基。

术语“卤素”指 F、Cl、Br 和 I。

35 术语“卤代烷基”指被卤素取代的 C1-C3 的烷基。优选地，卤代烷基为三氟甲基、二氟甲基、三氟甲氧基。这里“C1-C3 烷基”指具有 1~3 个碳原子的直链或支链烷基，例如甲基、乙基、正丙基、异丙基。

术语“芳基”指 C6-C18 芳族基团，例如苯基或萘基。

40 术语“杂环”或“杂环基”指 5-15 元非芳族基团（包括饱和的、部分饱和的或不饱和的基团），其包含一个或多个选自氮、氧和硫的杂原子，具有单环或稠环(包括桥环体系和螺环体系。在稠环体系中，一个或多个环可以是环烷基、芳基或杂芳基。在一实施例中，杂环基团的氮原子和/或硫原子任选地被氧化，以提供 N-氧化物、亚磺酰基和磺

酰基部分。“杂环基”及其稠和类似物的例子包括吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、咪唑烷基、2,3-二氢呋喃(2,3-b)并吡啶基、苯并噁嗪基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、二氢吲哚基等。该术语也包括非芳香性的部分不饱和的单环，如通过氮原子连接的 2-或 4-吡啶酮或 N-取代的-(1H, 3H)-嘧啶-2,4-二酮类(N-取代的尿嘧啶)。

5 本发明中，术语“含有”、“包含”或“包括”表示各种成分可一起应用于本发明的混合物或组合物中。因此，术语“主要由...组成”和“由...组成”包含在术语“含有”中。

本发明中，术语“药学上可接受的”成分是指适用于人和/或动物而无过度不良副反应(如毒性、刺激和变态反应)，即有合理的效益/风险比的物质。

10 本发明中，术语“有效量”指治疗剂治疗、缓解或预防目标疾病或状况的量，或是表现出可检测的治疗或预防效果的量。对于某一对象的精确有效量取决于该对象的体型和健康状况、病症的性质和程度、以及选择给予的治疗剂和/或治疗剂的组合。因此，预先指定准确的有效量是没用的。然而，对于某给定的状况而言，可以用常规实验来确定该有效量，临床医师是能够判断出来的。

15 如本文所用，术语“药学上可接受的盐”指本发明化合物与酸或碱所形成的适合用作药物的盐。药学上可接受的盐包括无机盐和有机盐。一类优选的盐是本发明化合物与酸形成的盐。适合形成盐的酸包括但不限于：盐酸、氢溴酸、氢氟酸、硫酸、硝酸、磷酸等无机酸，甲酸、乙酸、丙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、苦味酸、甲磺酸、苯甲磺酸，苯磺酸等有机酸；以及天冬氨酸、谷氨酸等酸性氨基酸。

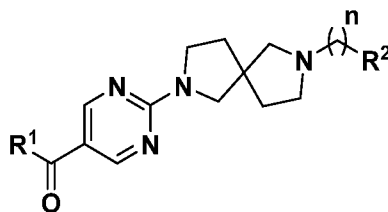
20 本发明中的一些化合物可能用水或各种有机溶剂结晶或重结晶，在这种情况下，可能形成各种溶剂化物。本发明的溶剂化物包括化学计量的溶剂化物如水合物等，也包括在用低压升华干燥法制备时形成的包含可变量水的化合物。

25 本发明还包括本发明化合物的所有合适的同位素变体。本发明化合物的同位素变体被定义为其中至少一个原子被具有相同原子数但原子质量不同于自然界中常见的原子质量的原子替代的那些。可并入本发明化合物的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟和氯的同位素，分别例如 ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{35}S 、 ^{18}F 和 ^{36}Cl 。本发明的一些同位素变体，例如，其中并入放射性同位素(例如 ^3H 或 ^{14}C)的那些，被用于药物和/或底物组织分布研究。氚代的，即， ^3H ，和碳-14，即， ^{14}C ，同位素是特别优选的，因为它们易于制备和检测。此外，用同位素(例如氘，即， ^2H)的取代，可提供由增加的代谢稳定性引起的一些治疗优势，例如，增加的体内半衰期或降低的剂量需求并因此在一些情况下可能是优选的。本发明化合物的同位素变体通常可通过常规操作制备，例如使用适当的同位素变体的合适试剂，通过示例性的方法或下文实验部分中描述的制备。

35

式 I 化合物

本发明提供了游离形式、盐形式或溶剂化物形式的下列式 I 所示的 2,7-二氮杂-螺[4.4]壬烷类异羟肟酸嘧啶类衍生物：



I

式 I 中： R^1 为 $NHOH$ ，或 OR^3 ； R^2 为氢， $C1\sim C6$ 的直链、支链或环状烷基，取代或未取代芳基。

5 其中 R^3 为氢， $C1\sim C3$ 直链烷基，含有杂原子的 $C1\sim C6$ 环状烷基； $n=0$ 或 1，当 $n=0$ 时，所述位置为直键。

本发明还包括上述化合物药学上可接受的盐。适宜的本发明取代 2,7-二氮杂-螺[4.4]壬烷类异羟肟酸嘧啶类衍生物的药用盐为碱性足够强的本发明取代嘧啶脲类衍生物与
10 酸盐成盐，例如，与无机酸或有机酸的单或二酸加成盐，所述酸可以是盐酸盐、磷酸盐、硫酸盐、三氟乙酸盐、氢溴酸盐、酒石酸盐、富马酸盐、马来酸盐、枸橼酸盐、对甲苯磺酸盐、甲磺酸盐；这些盐可通过公知的成盐方法由式 I 的化合物制备。

本发明另一个目的在于，揭示了上述取代 2,7-二氮杂-螺[4.4]壬烷类异羟肟酸嘧啶类化合物（式 I 所示化合物、或其在药学上可接受的盐）的一种用途，即式 I 所示化合物
15 或其在药学上可接受的盐在制备治疗和/或预防疟疾、杀灭各个时期耐药和非耐药疟原虫药物中的应用。

在本发明的一个优选实施方案中， $n=1$ ， R^1 为 $NHOH$ ，或 OR^3 ； R^2 为氢， $C1\sim C6$ 环状烷基，取代或未取代芳基； R^3 为氢，乙基，四氢吡喃基。

在本发明的另一个优选方案中， $n=0$ ， R^1 为 $NHOH$ ， R^2 为氢， $C3\sim C6$ 环状烷基，取代或未取代芳基。

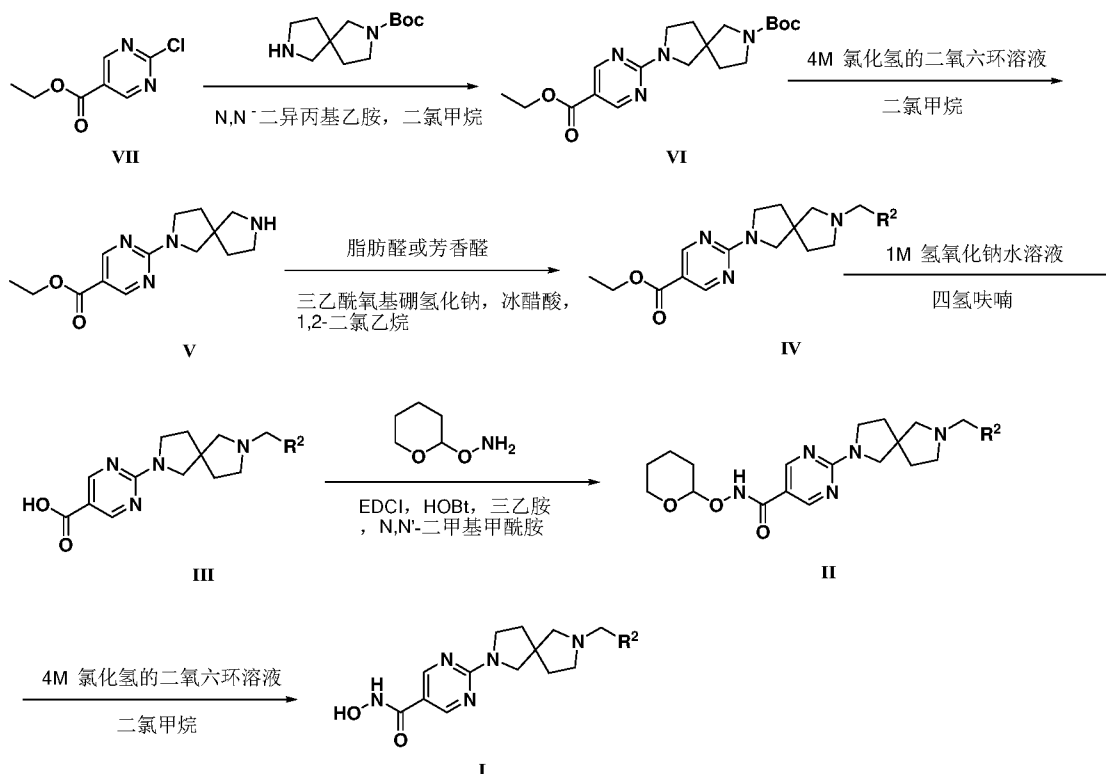
20 在本发明的另一个优选方案中， $n=0$ ， R^1 为 $NHOH$ ， R^2 为氢，环戊基，环己基，取代或未取代芳基，其中芳基选自取代或未取代的苯基、吡啶、吡咯、呋喃、噻吩、萘、喹啉、异喹啉、苯并噻吩、苯并呋喃、并有含有 1-2 个氧原子五元环的苯环、氮上取代或未取代、骨架上含有 1-2 个氮原子吡啶、噻吩，其中取代基选自： $C1\sim C4$ 烷基，烷氧基，卤素，氰基，苯基。

25 在本发明的另一个优选方案中， $n=0$ ， R^1 为 $NHOH$ ， R^2 为氢，环戊基，环己基，取代或未取代芳基，其中芳基选自取代或未取代的苯基、吡啶、吡咯、呋喃、噻吩、萘、喹啉、异喹啉、苯并噻吩、苯并呋喃、并有含有 1-2 个氧原子五元环的苯环、氮上取代或未取代、骨架上含有 1-2 个氮原子吡啶、噻吩，其中取代基为甲基、甲氧基、氟、氯、溴、氰基、苯基。

30

式 I 化合物的制备

本发明还提供通式 I 结构的取代 2,7-二氮杂-螺[4.4]壬烷类异羟肟酸嘧啶类化合物及其中间体 II~VI 的制备方法，具体合成策略分别如下：



1) 将 2-氯嘧啶-5-羧酸乙酯和 2-BOC-2,7-二氮杂-螺[4.4]壬烷加入到烧瓶, 加入二氯甲烷作溶剂, 再加入 *N,N'*-二异丙基乙胺, 氮气氛围下搅拌反应 3h。待反应完全后, 减压蒸除溶剂, 残留物用硅胶柱层析纯化, 便得到中间体 VI。

2) 将中间体 VI 溶解在二氯甲烷中, 加入 4M 氯化氢的二氧六环溶液, 搅拌反应 30 分钟。待反应完全后, 减压蒸除溶剂, 加入碳酸氢钠的饱和水溶液, 并用二氯甲烷萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压蒸除溶剂, 便得到中间体 V。

3) 将中间体 V 和相应的脂肪醛或取代或未取代的芳香醛加入到烧瓶, 加入 1,2-二氯乙烷作溶剂, 氮气氛围下搅拌反应 10h。继续加入三乙酰氧基硼氢化钠, 冰醋酸, 氮气氛围下搅拌反应 8h。待反应较完全后, 加入适量碳酸氢钠的饱和水溶液淬灭反应, 并用二氯甲烷萃取, 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 然后过滤, 减压蒸除溶剂, 残留物用硅胶柱层析纯化, 便得到中间体 IV。

4) 将中间体 IV 加入到烧瓶, 加入四氢呋喃作溶剂, 加入 1M 氢氧化钠水溶液, 升温至 60℃, 搅拌反应过夜。待反应完全后, 加入 2M 氯化氢水溶液调节 pH=2~3, 减压浓缩反应液, 并用二氯甲烷萃取, 无水硫酸钠干燥, 然后过滤, 减压蒸除溶剂, 便得中间体 III。

5) 将中间体 III、EDCI、HOBt 加入到烧瓶, 加入 *N,N'*-二甲基甲酰胺作溶剂, 氮气保护下室温搅拌 20 分钟, 再加入溶于 *N,N'*-二甲基甲酰胺的 O-(四氢吡喃-2-基)羟胺, 加入三乙胺, 氮气保护下搅拌 64 小时。待反应完全后, 加入适量水, 并用二氯甲烷萃取, 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 残留物用硅胶柱层析纯化, 便得到中间体 II。

6) 将中间体 II 加入到烧瓶, 加入二氯甲烷作溶剂, 加入 4M 氯化氢的二氧六环溶液, 搅拌反应 30 分钟。然后减压蒸除溶剂, 残留物用乙醚洗涤, 过滤得滤饼即为化合物 I。

根据上述制备方法的教导, 本领域普通技术人员无需创造性劳动, 即可获得式 I 所包含的所有化合物。

药物组合物和施用方法

由于本发明化合物具有优异的对 HDAC 的激活活性,因此本发明化合物及其各种晶型,药学上可接受的无机或有机盐,水合物或溶剂合物,以及含有本发明化合物为主要活性成分的药物组合物可用于治疗、预防以及缓解由 HDAC 的活性或表达量所导致的疾病。根据现有技术,本发明化合物可用于治疗以下疾病:肺癌、结肠癌、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、淋巴系统肿瘤、以及疟原虫导致的疾病(如疟疾)。

本发明的药物组合物包含安全有效量范围内的本发明化合物或其药理上可接受的盐及药理上可以接受的赋形剂或载体。其中“安全有效量”指的是:化合物的量足以明显改善病情,而不至于产生严重的副作用。通常,药物组合物含有 0.1-1000mg 本发明化合物/剂,更佳地,含有 0.5-500mg 本发明化合物/剂。较佳地,所述的“一剂”为一个胶囊或药片。

“药学上可以接受的载体”指的是:一种或多种相容性固体或液体填料或凝胶物质,它们适合于人使用,而且必须有足够的纯度和足够低的毒性。“相容性”在此指的是组合物中各组份能和本发明的化合物以及它们之间相互掺和,而不明显降低化合物的药效。药学上可以接受的载体部分例子有纤维素及其衍生物(如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素钠、纤维素乙酸酯等)、明胶、滑石、固体润滑剂(如硬脂酸、硬脂酸镁)、硫酸钙、植物油(如豆油、芝麻油、花生油、橄榄油等)、多元醇(如丙二醇、甘油、甘露醇、山梨醇等)、乳化剂(如吐温)、润湿剂(如十二烷基硫酸钠)、着色剂、调味剂、稳定剂、抗氧化剂、防腐剂、无热原水等。

本发明化合物或药物组合物的施用方式没有特别限制,代表性的施用方式包括(但不限于):口服、直肠、肠胃外(静脉内、肌肉内或皮下)、和局部给药。特别优选的施用方式是口服。

用于口服给药的固体剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在这些固体剂型中,活性化合物与至少一种常规惰性赋形剂(或载体)混合,如柠檬酸钠或磷酸二钙,或与下述成分混合:(a)填料或增容剂,例如,淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅酸;(b)粘合剂,例如,羟甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯基吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶;(c)保湿剂,例如,甘油;(d)崩解剂,例如,琼脂、碳酸钙、马铃薯淀粉或木薯淀粉、藻酸、某些复合硅酸盐、和碳酸钠;(e)缓溶剂,例如石蜡;(f)吸收加速剂,例如,季胺化合物;(g)润湿剂,例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯;(h)吸附剂,例如,高岭土;和(i)润滑剂,例如,滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠,或其混合物。胶囊剂、片剂和丸剂中,剂型也可包含缓冲剂。

固体剂型如片剂、糖丸、胶囊剂、丸剂和颗粒剂可采用包衣和壳材制备,如肠衣和其它本领域公知的材料。它们可包含不透明剂,并且,这种组合物中活性化合物或化合物的释放可以延迟的方式在消化道内的某一部分中释放。可采用的包埋组分的实例是聚合物物质和蜡类物质。必要时,活性化合物也可与上述赋形剂中的一种或多种形成微胶囊形式。

用于口服给药的液体剂型包括药学上可接受的乳液、溶液、悬浮液、糖浆或酞剂。除了活性化合物外,液体剂型可包含本领域中常规采用的惰性稀释剂,如水或其它溶剂,增溶剂和乳化剂,例如,乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺以及油,特别是棉籽油、花生油、玉米胚油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油或这些物质的混合物等。

除了这些惰性稀释剂外，组合物也可包含助剂，如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂和香料。

除了活性化合物外，悬浮液可包含悬浮剂，例如，乙氧基化异十八烷醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、甲醇铝和琼脂或这些物质的混合物等。

5 用于肠胃外注射的组合物可包含生理上可接受的无菌含水或无水溶液、分散液、悬浮液或乳液，和用于重新溶解成无菌的可注射溶液或分散液的无菌粉末。适宜的含水和非水载体、稀释剂、溶剂或赋形剂包括水、乙醇、多元醇及其适宜的混合物。

10 用于局部给药的本发明化合物的剂型包括软膏剂、散剂、贴剂、喷射剂和吸入剂。活性成分在无菌条件下与生理上可接受的载体及任何防腐剂、缓冲剂，或必要时可能需要的推进剂一起混合。

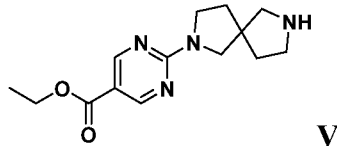
本发明化合物可以单独给药，或者与其他药学上可接受的化合物联合给药。

15 使用药物组合物时，是将安全有效量的本发明化合物适用于需要治疗的哺乳动物(如人)，其中施用剂量为药学上认为的有效给药剂量，对于 60kg 体重的人而言，日给药剂量通常为 0.2~1000mg，优选 0.5~500mg。当然，具体剂量还应考虑给药途径、病人健康状况等因素，这些都是熟练医师技能范围内的。

20 下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则百分比和份数按重量计算。实施例中的所有参数以及其余的说明，除另有说明外，都是以质量(毫克)为单位。

实施例 1

2-(2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(中间体 V)的制备



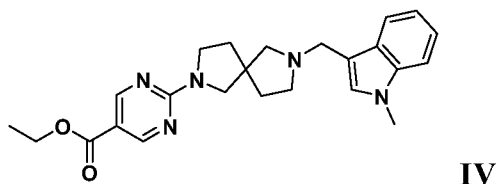
V

25 将 3765 mg (10 mmol) 7-(5-(乙氧羰基)嘧啶-2-基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-羧酸叔丁酯(中间体 VI)加入烧瓶，加入 20 mL 二氯甲烷作溶剂，加入 20 mL 4M 氯化氢的二氧六环溶液，搅拌反应 30 分钟。待反应完全后，减压蒸除溶剂，加入碳酸氢钠的饱和水溶液，并用二氯甲烷萃取，无水硫酸钠干燥，过滤，减压蒸除溶剂，得到白色固体 2460 mg，产率 89%。

30 ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.70 (dd, J = 6.6, 1.7 Hz, 2H), 4.23 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 3.68 – 3.58 (m, 2H), 3.58 – 3.49 (m, 2H), 3.21 (dt, J = 3.3, 1.6 Hz, 2H), 3.09 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 2.94 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 2.03 – 1.92 (m, 2H), 1.89 – 1.80 (m, 2H), 1.26 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

实施例 2

35 2-(7-((1-甲基-1H-吡咯-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(中间体 IV)的制备

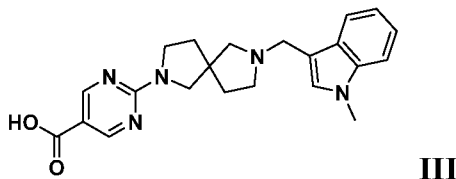


将 1105 mg (4 mmol) 2-(2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(中间体 V)和(4.4 mmol) N-甲基吲哚-3-甲醛加入烧瓶, 加入 30 mL 1,2-二氯乙烷作溶剂, 氮气氛围下搅拌反应 10h。继续加入 1687 mg (8 mmol) 三乙酰氧基硼氢化钠, 473 mg (8 mmol) 冰醋酸, 氮气氛围下搅拌反应 8h。待反应较完全后, 加入适量碳酸氢钠的饱和水溶液淬灭反应, 并用二氯甲烷萃取, 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 然后过滤, 减压蒸除溶剂, 残留物用硅胶柱层析分离纯化, 甲醇/二氯甲烷=1/20 洗脱, 得黄色油状物 1287 mg, 产率 77%。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.83 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H), 7.66 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.31 (t, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.25 (dd, $J = 8.2, 7.0$ Hz, 2H), 7.14 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.13 – 4.00 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.67 (qd, $J = 6.9, 3.4$ Hz, 2H), 3.59 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.99 – 2.88 (m, 2H), 2.16 – 2.02 (m, 2H), 1.97 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

实施例 3

2-(7-((1-甲基-1H-吲哚-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-羧酸 (中间体 III) 的制备

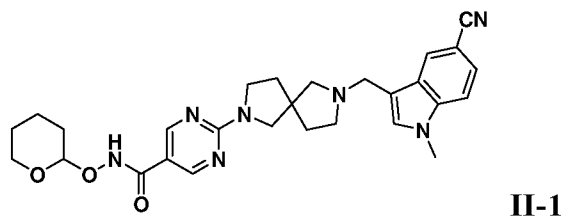


将 1287 mg (3.1 mmol) 2-(7-((1-甲基-1H-吲哚-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-羧酸乙酯(中间体 IV) 加入到烧瓶, 加入 20 mL 四氢呋喃作溶剂, 加入 20 mL 1M 氢氧化钠水溶液, 升温至 60°C, 搅拌反应过夜。待反应完全后, 加入 2M 氯化氢水溶液调节 pH=2~3, 减压浓缩反应液, 并用二氯甲烷萃取, 无水硫酸钠干燥, 然后过滤, 减压蒸除溶剂, 得黄色固体 740 mg, 产率 61%。

^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.71 (s, 2H), 7.67 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.36 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.18 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.10 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 4.53 (s, 2H), 3.78 (d, $J = 13.5$ Hz, 3H), 3.62 (td, $J = 3.9, 1.9$ Hz, 4H), 2.06 (dd, $J = 20.0, 13.2$ Hz, 4H), 1.77 (dd, $J = 6.7, 3.3$ Hz, 4H).

实施例 4

2-(7-((1-甲基-5-氰基-1H-吲哚-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-(四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)嘧啶-5-甲酰胺 (中间体 II-1) 的制备



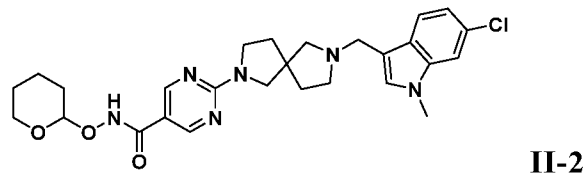
将 300 mg (0.72 mmol) 2-(7-((1-甲基-5-氰基-1H-吲哚-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-羧酸、(2.0 equiv) EDCI、(2.0 equiv) HOBt 加入到烧瓶, 加入 20 mL N,N'-二甲基甲酰胺作溶剂, 氮气保护下室温搅拌 20 分钟, 再加入(5.0 equiv)溶于 N,N'-二甲基甲酰胺的 O-(四氢吡喃-2-基)羟胺, 加入(5.0 equiv)三乙胺, 氮气保护下搅拌 64 小

时。待反应完全后，加入适量水，并用二氯甲烷萃取，饱和食盐水洗，无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，残留物用硅胶柱层析分离纯化，甲醇/二氯甲烷=1/10 洗脱，得无色固体 146 mg，产率 39%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.69 (s, 2H), 8.09 (s, 1H), 7.44 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.33 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.26 (s, 1H), 5.05 (s, 1H), 4.09 – 3.85 (m, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.65 (t, J = 11.5 Hz, 3H), 3.59 – 3.47 (m, 2H), 2.81 (s, 2H), 2.66 (s, 2H), 2.04 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 1.86 (dd, J = 18.7, 13.0 Hz, 4H), 1.64 (dd, J = 21.7, 4.8 Hz, 4H).

实施例 5

2-(7-((1-甲基-6-氯-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-(四氢-2H-吡喃-2-基)嘧啶-5-甲酰胺 (中间体 II-2) 的制备

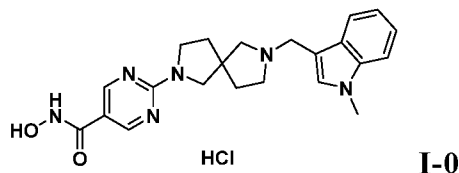


具体实施步骤同实施例 4，所需原料为 2-(7-((1-甲基-6-氯-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-羧酸，得目标产物为无色固体，收率 56%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.68 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 8.55 (s, 1H), 7.62 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.27 (dd, J = 3.4, 1.2 Hz, 1H), 7.07 (dd, J = 8.5, 1.8 Hz, 1H), 5.04 (s, 1H), 4.04 – 3.96 (m, 1H), 3.83 (d, J = 15.7 Hz, 2H), 3.70 (d, J = 18.5 Hz, 3H), 3.66 – 3.50 (m, 4H), 2.73 (s, 2H), 2.59 (s, 2H), 2.10 – 1.95 (m, 2H), 1.84 (d, J = 12.7 Hz, 4H), 1.61 (s, 8H).

实施例 6

2-(7-((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐 (化合物 I-0) 的制备

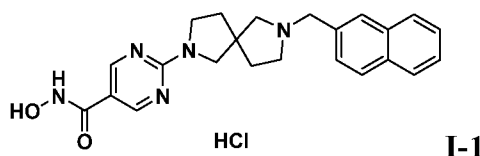


将 327 mg 2-(7-((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺加入到烧瓶，溶于 5 mL 二氯甲烷，缓慢加入 0.5 mL 氯化氢的二氧六环溶液，氮气保护下搅拌反应 30 分钟。减压蒸除溶剂，残留物用适量乙醚洗涤，抽滤，取滤饼，得目标产物为淡黄色固体，收率 63%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO) 8.69 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 7.86 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.49 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.22 (td, J = 7.3, 2.6 Hz, 1H), 7.14 (dd, J = 14.7, 7.3 Hz, 1H), 4.52 (d, J = 4.2 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.64 – 3.27 (m, 8H), 2.05 (dq, J = 20.5, 12.6, 4.0 Hz, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd C₂₂H₂₇N₆O₂ [M+H]⁺ 407.2195, found 407.2192.

实施例 7

2-(7-((萘-2-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐 (化合物 I-1) 的制备



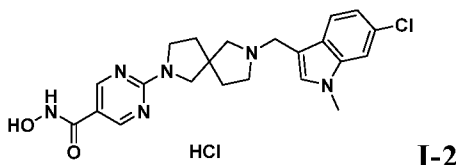
具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂

螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为白色固体, 收率 71%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.77 – 8.63 (m, 2H), 8.16 (s, 1H), 8.02 – 7.91 (m, 3H), 7.86 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.62 – 7.55 (m, 2H), 4.56 (ddd, J = 18.0, 12.7, 6.0 Hz, 2H), 3.59 (ddd, J = 18.8, 12.4, 7.6 Hz, 4H), 3.50 – 3.08 (m, 4H), 2.21 – 1.98 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 404.2087, found 404.2084.

实施例 8

2-(7-((1-甲基-6-氯-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐 (化合物 **I-2**) 的制备

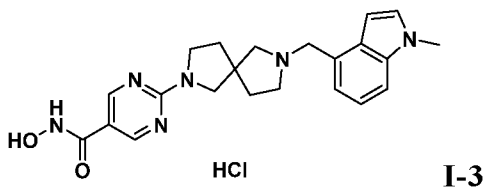


具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((1-甲基-6-氯-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为淡黄色固体, 收率 67%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.70 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.91 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.63 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.18 – 7.10 (m, 1H), 4.56 – 4.47 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.68 – 3.53 (m, 4H), 3.46 – 3.14 (m, 4H), 2.14 – 1.94 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{ClN}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 441.1806, found 441.1807.

实施例 9

2-(7-((1-甲基-1H-吡啶-4-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐 (化合物 **I-3**) 的制备

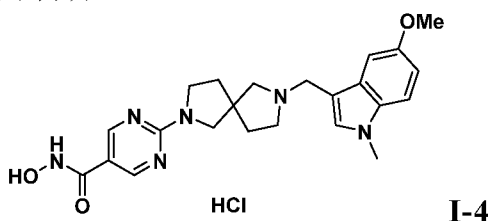


具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((1-甲基-1H-吡啶-4-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为淡绿色固体, 收率 53%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.68 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.53 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.45 (dd, J = 7.0, 3.2 Hz, 1H), 7.43 – 7.35 (m, 1H), 7.23 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 6.83 (t, J = 3.0 Hz, 1H), 4.65 (d, J = 13.1 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.67 (s, 8H), 2.14 – 1.99 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 407.2195, found 407.2194.

实施例 10

2-(7-((1-甲基-5-甲氧基-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐 (化合物 **I-4**) 的制备

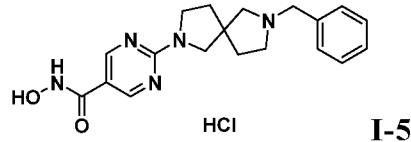


具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((1-甲基-5-甲氧基-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为淡粉色固体，收率 75%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.72 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 7.59 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.37 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.92 – 6.75 (m, 1H), 4.50 (d, J = 16.2 Hz, 2H), 3.81 (d, J = 5.2 Hz, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.69 – 3.24 (m, 8H), 2.20 – 1.93 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_6\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 437.2301, found 437.2300.

实施例 11

2-(7-苄基-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐（化合物 **I-5**）的制备

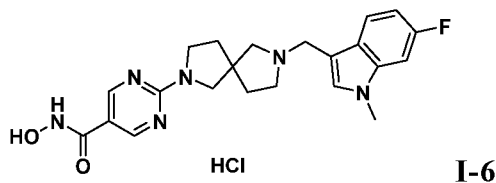


具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-苄基-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为棕色固体，收率 42%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ (dd, J = 13.3, 6.7 Hz, 2H), 7.66 (d, J = 3.4 Hz, 2H), 7.42 (t, J = 16.4 Hz, 3H), 4.37 – 4.31 (m, 2H), 3.65 – 3.53 (m, 4H), 3.46 – 3.10 (m, 4H), 2.18 – 1.95 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 354.1930, found 354.1932.

实施例 12

2-(7-((1-甲基-6-氟-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐（化合物 **I-6**）的制备

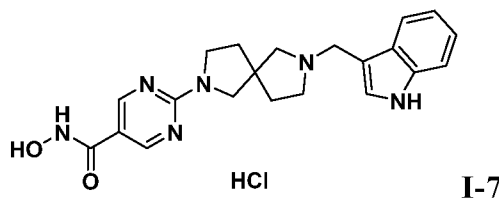


具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((1-甲基-6-氟-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为白色固体，收率 75%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.72 (s, 2H), 7.98 – 7.83 (m, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.36 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 4.50 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.65 – 3.15 (m, 8H), 2.24 – 1.92 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{FN}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 425.2101, found 425.2102.

实施例 13

2-(7-((1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐（化合物 **I-7**）的制备



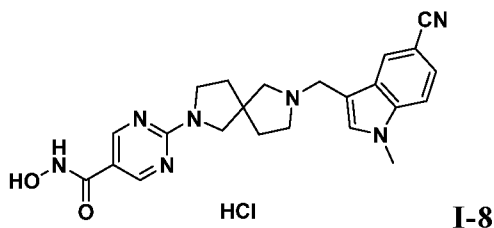
具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为白色固体，收率 68%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.56 (s, 1H), 8.71 (s, 2H), 7.84 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.66

(d, $J = 28.9$ Hz, 1H), 7.46 (t, $J = 15.0$ Hz, 1H), 7.10 (dd, $J = 22.0, 7.3$ Hz, 2H), 4.52 (s, 2H), 3.70 – 3.18 (m, 8H), 2.18 – 1.92 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $C_{21}H_{25}N_6O_2$ $[M+H]^+$ 393.2039, found 393.2041.

实施例 14

- 5 2-(7-((1-甲基-5-氰基-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐 (化合物 **I-8**) 的制备



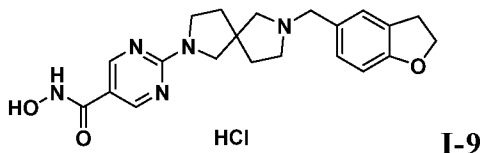
I-8

- 10 具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((1-甲基-5-氰基-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为淡黄色固体, 收率 70%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.07 (s, 1H), 8.73 – 8.64 (m, 2H), 8.50 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.70 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 4.56 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.89 (d, $J = 12.6$ Hz, 3H), 3.71 – 3.44 (m, 6H), 3.35 – 3.16 (m, 2H), 2.16 – 1.92 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $C_{23}H_{26}N_7O_2$ $[M+H]^+$ 432.2148, found 432.2149.

- 15 实施例 15

2-(7-((2,3-二氢苯并呋喃-5-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐 (化合物 **I-9**) 的制备



I-9

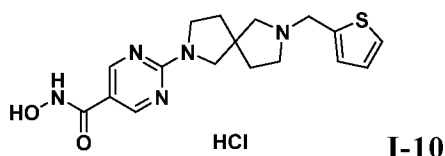
- 20 具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((2,3-二氢苯并呋喃-5-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为黄色油状物, 收率 68%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.71 (dd, $J = 13.2, 6.1$ Hz, 2H), 7.50 (s, 1H), 7.34 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 6.81 (t, $J = 10.1$ Hz, 1H), 4.56 (t, $J = 8.7$ Hz, 2H), 4.33 – 4.21 (m, 2H), 3.68 – 3.23 (m, 8H), 3.18 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 2.17 – 1.95 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd

- 25 $C_{21}H_{26}N_5O_3$ $[M+H]^+$ 396.2036, found 396.2035.

实施例 16

2-(7-((噻吩-2-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐 (化合物 **I-10**) 的制备



I-10

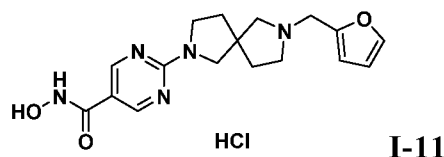
- 30 具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((噻吩-2-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为淡黄色固体, 收率 55%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.83 (d, $J = 29.2$ Hz, 1H), 8.73 (d, $J = 4.8$ Hz, 2H), 7.66

(d, J = 4.7 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 7.12 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 4.62 (s, 2H), 3.64 – 3.20 (m, 8H), 2.17 – 1.96 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd C₁₇H₂₂N₅O₂S [M+H]⁺ 360.1494, found 360.1495.

实施例 17

- 5 2-(7-((呋喃-2-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐(化合物 **I-11**) 的制备

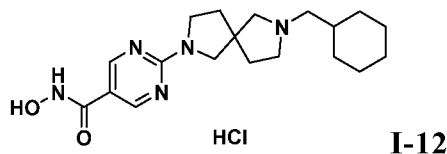


- 10 具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((呋喃-2-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为棕色固体, 收率 48%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.77 (s, 1H), 8.73 (d, J = 4.1 Hz, 2H), 7.79 (s, 1H), 6.75 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 6.55 (s, 1H), 4.47 (s, 2H), 3.64 – 3.16 (m, 8H), 2.16 – 1.92 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd C₁₇H₂₂N₅O₃ [M+H]⁺ 344.1723, found 344.1724.

实施例 18

- 15 2-(7-(环己基甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐(化合物 **I-12**) 的制备

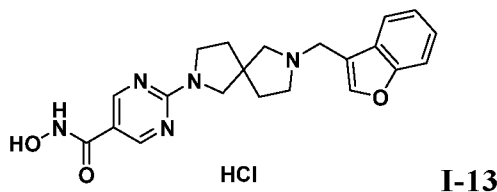


- 20 具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-(环己基甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为黄色油状物, 收率 65%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.02 (d, J = 23.6 Hz, 1H), 8.77 (s, 2H), 5.77 (s, 2H), 3.81 – 3.53 (m, 6H), 3.14 (ddd, J = 17.7, 16.2, 8.7 Hz, 2H), 3.01 (s, 2H), 2.08 (d, J = 5.3 Hz, 2H), 1.94 – 1.80 (m, 2H), 1.64 (dd, J = 25.1, 12.1 Hz, 4H), 1.22 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 1.14 – 0.80 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd C₁₉H₃₀N₅O₂ [M+H]⁺ 360.2400, found 360.2401.

实施例 19

- 25 2-(7-((苯并呋喃-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐(化合物 **I-13**) 的制备



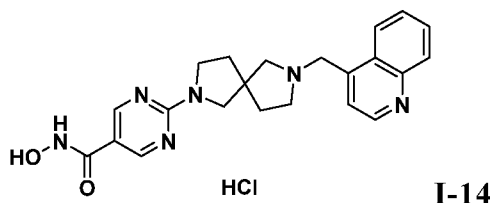
- 30 具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((苯并呋喃-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为白色固体, 收率 72%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.58 (s, 1H), 8.70 (s, 2H), 8.30 (s, 1H), 7.99 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.38 (dd, J = 16.3, 7.9 Hz, 2H), 4.58 (s, 2H), 3.53 (dt, J = 65.5, 34.0 Hz, 8H), 2.21 – 1.93 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd C₂₁H₂₄N₅O₃ [M+H]⁺

394.1879, found 394.1880

实施例 20

2-(7-((喹啉-4-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐(化合物 **I-14**) 的制备



5

具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((喹啉-4-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为淡黄色固体, 收率 60%。

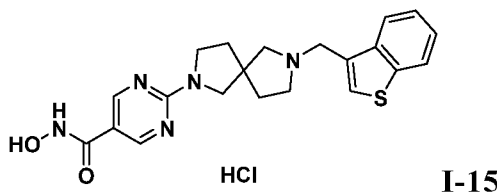
^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.35 – 9.28 (m, 1H), 8.69 (s, 2H), 8.64 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.40 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.15 – 8.08 (m, 1H), 8.00 – 7.95 (m, 1H), 5.22 (d, J = 20.8 Hz, 2H), 3.75 – 3.50 (m, 8H), 2.26 – 2.03 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 405.2039, found 405.2040.

10

实施例 21

2-(7-((苯并噻吩-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐(化合物 **I-15**) 的制备

15



具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((苯并噻吩-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为白色固体, 收率 68%。

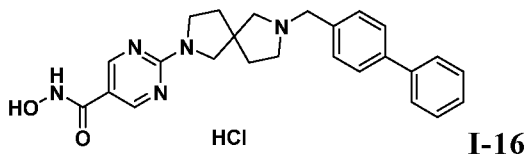
^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.71 (s, 2H), 8.28 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.19 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.52 – 7.40 (m, 2H), 4.71 (s, 2H), 3.72 – 3.33 (m, 8H), 2.20 – 1.99 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 410.1651, found 410.1652.

20

实施例 22

2-(7-(([1,1'-联苯基] -4-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐(化合物 **I-16**) 的制备

25



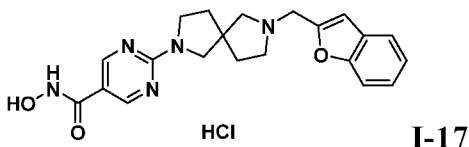
具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-(([1,1'-联苯基] -4-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为白色固体, 收率 71%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.70 (dd, J = 12.7, 6.2 Hz, 2H), 7.83 – 7.62 (m, 6H), 7.49 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.39 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 4.47 – 4.36 (m, 2H), 4.12 – 3.72 (m, 4H), 3.47 – 3.17 (m, 4H), 2.12 (dd, J = 13.8, 7.4 Hz, 2H), 2.04 (dd, J = 20.4, 13.2 Hz, 2H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 430.2243, found 430.2244.

30

实施例 23

2-(7-((苯并呋喃-2-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐(化合物 **I-17**) 的制备

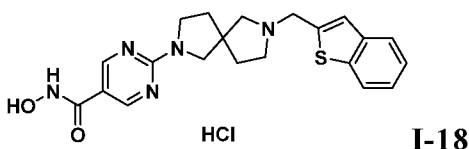


5 具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((苯并呋喃-2-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为白色固体, 收率 64%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.71 (d, J = 3.5 Hz, 2H), 7.71 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.42 – 7.36 (m, 1H), 7.30 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.25 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.68 (s, 2H), 3.65 (ddd, J = 24.6, 20.8, 10.8 Hz, 6H), 3.47 – 3.30 (m, 2H), 2.11 (dddd, J = 26.0, 20.8, 14.7, 7.7 Hz, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd C₂₁H₂₄N₅O₃ [M+H]⁺ 394.1879, found 394.1880.

实施例 24

2-(7-((苯并噻吩-2-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐(化合物 **I-18**) 的制备

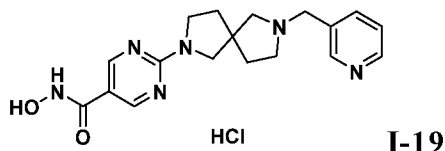


15 具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((苯并噻吩-2-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为淡黄色固体, 收率 68%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.09 (s, 2H), 8.68 (s, 2H), 8.02 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.73 (d, J = 10.7 Hz, 1H), 7.43 (dd, J = 5.8, 3.2 Hz, 2H), 4.75 (s, 2H), 3.47 – 3.23 (m, 5H), 2.08 (d, J = 36.1 Hz, 4H), 1.44 (d, J = 4.7 Hz, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd C₂₁H₂₄N₅O₂S [M+H]⁺ 410.1651, found 410.1652.

实施例 25

25 2-(7-((吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐(化合物 **I-19**) 的制备

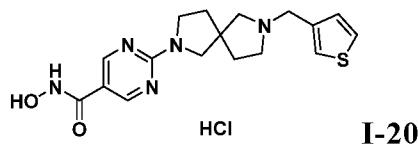


具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为棕色油状物, 收率 55%。

30 ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.13 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.79 – 8.49 (m, 3H), 7.90 (s, 1H), 4.66 – 4.53 (m, 2H), 3.71 – 3.59 (m, 2H), 3.57 (s, 2H), 3.52 – 3.18 (m, 4H), 2.22 – 1.92 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd C₁₈H₂₃N₆O₂ [M+H]⁺ 355.1882, found 355.1885.

实施例 26

35 2-(7-((噻吩-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐(化合物 **I-20**) 的制备

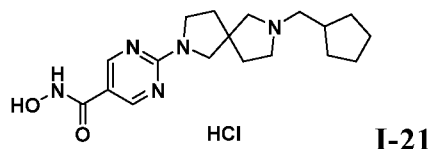


具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((噻吩-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为白色固体，收率 72%。

- 5 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.71 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 7.82 (s, 1H), 7.66 – 7.61 (m, 1H), 7.44 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 4.38 (s, 2H), 3.73 – 3.58 (m, 4H), 3.44 – 3.11 (m, 4H), 2.16 – 1.95 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 360.1494, found 360.1495.

实施例 27

- 10 2-(7-(环戊基甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐酸盐(化合物 **I-21**) 的制备

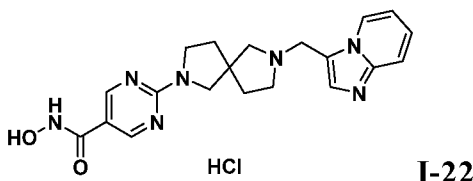


具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-(环戊基甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为棕色油状物，收率 63%。

- 15 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.90 (s, 1H), 8.69 (s, 2H), 4.36 – 4.28 (m, 4H), 4.26 – 4.19 (m, 4H), 3.10 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 1.99 (dp, J = 15.5, 7.6 Hz, 1H), 1.76 (dd, J = 11.2, 6.9 Hz, 2H), 1.63 – 1.55 (m, 2H), 1.53 – 1.45 (m, 2H), 1.22 – 1.14 (m, 2H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 346.2243, found 346.2244.

实施例 28

- 20 2-(7-((咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐酸盐(化合物 **I-22**) 的制备

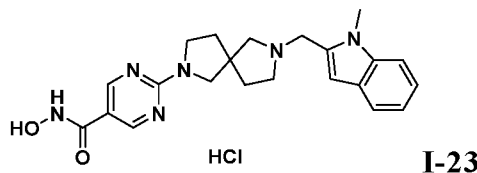


具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为白色固体，收率 66%。

- 25 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.60 (s, 1H), 9.06 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 8.70 (s, 2H), 8.13 (s, 1H), 7.81 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 4.89 (s, 2H), 3.74 – 3.44 (m, 8H), 2.07 (dd, J = 38.8, 17.8 Hz, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_7\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 394.1991, found 394.1992.

- 30 实施例 29

2-(7-((1-甲基-1H-吡咯-2-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐酸盐(化合物 **I-23**) 的制备

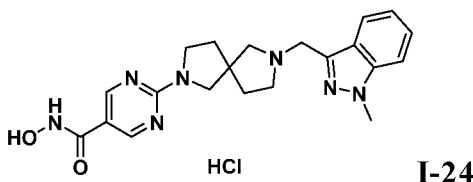


具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((1-甲基-1H-吡啶-2-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为白色固体, 收率 73%。

- 5 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.34 (s, 1H), 8.69 (dd, J = 9.6, 4.9 Hz, 2H), 7.58 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.22 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 7.07 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.83 (s, 1H), 4.67 (dd, J = 13.9, 7.3 Hz, 2H), 3.87 (d, J = 2.1 Hz, 3H), 3.75 – 3.42 (m, 8H), 2.20 – 2.01 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 407.2195, found 407.2194.

实施例 30

- 10 2-(7-((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐 (化合物 **I-24**) 的制备

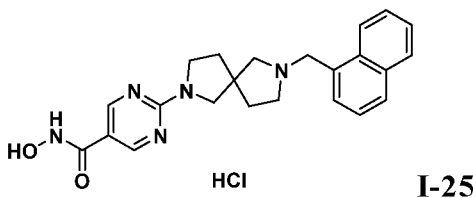


具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为白色固体, 收率 67%。

- 15 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.71 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 8.07 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.47 (t, J = 6.9 Hz, 1H), 7.24 (dd, J = 12.2, 7.3 Hz, 1H), 4.78 (s, 2H), 4.10 (s, 3H), 3.58 – 3.30 (m, 8H), 2.05 (ddd, J = 27.7, 17.0, 9.0 Hz, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_7\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 408.2148, found 408.2149.

实施例 31

- 20 2-(7-((萘-1-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐 (化合物 **I-25**) 的制备

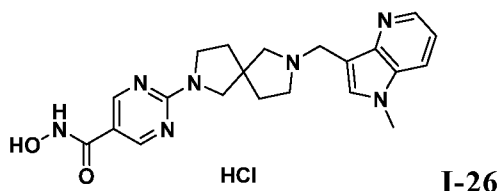


具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((萘-1-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为白色固体, 收率 70%。

- 25 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.69 (d, J = 10.5 Hz, 2H), 8.40 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.04 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 7.95 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 7.64 (ddd, J = 22.5, 14.5, 7.1 Hz, 3H), 4.93 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 3.49 (dddd, J = 50.8, 19.6, 16.8, 9.8 Hz, 8H), 2.19 – 2.09 (m, 2H), 2.02 (d, J = 6.3 Hz, 2H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 404.2087, found 404.2088.

实施例 32

- 30 2-(7-((1-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐 (化合物 **I-26**) 的制备

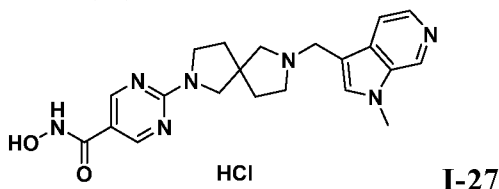


具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((1-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为棕色固体，收率 58%。

- 5 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.79 (dd, J = 11.3, 6.6 Hz, 2H), 8.68 (s, 2H), 8.45 (d, J = 9.4 Hz, 1H), 7.82 – 7.73 (m, 1H), 4.88 (s, 2H), 4.04 (s, 3H), 3.47 (s, 3H), 3.25 (d, J = 28.0 Hz, 3H), 3.07 (s, 2H), 2.09 (d, J = 33.5 Hz, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_7\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 408.2148, found 408.2149.

实施例 33

- 10 2-(7-((1-甲基-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐（化合物 **I-27**）的制备

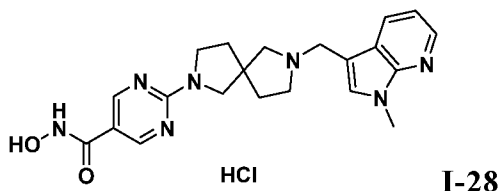


具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((1-甲基-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为棕色固体，收率 55%。

- 15 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.70 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 8.48 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 8.37 (d, J = 4.1 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.31 – 7.23 (m, 1H), 4.61 – 4.49 (m, 2H), 3.87 (d, J = 13.8 Hz, 3H), 3.69 – 3.47 (m, 6H), 3.46 – 3.39 (m, 1H), 3.33 (dd, J = 17.3, 9.1 Hz, 1H), 2.18 – 1.95 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_7\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 408.2148, found 408.2149.

实施例 34

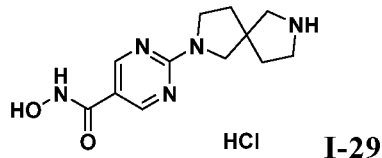
- 20 2-(7-((1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐（化合物 **I-28**）的制备



具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为白色固体，收率 70%。

- 25 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.70 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 8.38 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 7.86 (t, J = 22.3 Hz, 1H), 7.47 – 7.10 (m, 2H), 4.66 – 4.48 (m, 2H), 3.98 – 3.78 (m, 3H), 3.64 (d, J = 11.4 Hz, 1H), 3.54 (t, J = 22.3 Hz, 4H), 3.47 – 3.38 (m, 1H), 3.37 – 3.29 (m, 1H), 3.23 (dd, J = 20.5, 12.9 Hz, 1H), 2.25 – 1.85 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_7\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 408.2148, found 408.2149.

实施例 35

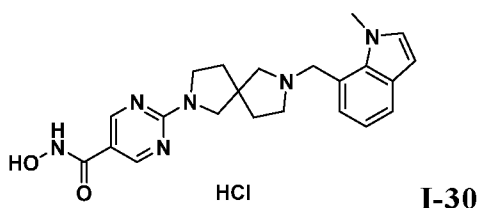
2-(2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐（化合物 **I-29**）的制备

具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为白色固体，收率 52%。

- 5 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.69 (s, 2H), 3.63 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 3.60 – 3.52 (m, 2H), 2.89 (s, 2H), 2.70 (d, J = 23.0 Hz, 2H), 2.13 – 1.93 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 264.1460, found 264.1461.

实施例 36

- 10 2-(7-((1-甲基-1H-吡咯-7-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐（化合物 **I-30**）的制备

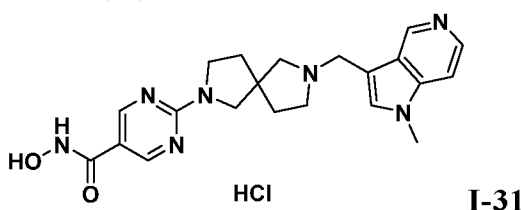


具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((1-甲基-1H-吡咯-7-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为淡粉色固体，收率 63%。

- 15 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.70 (d, J = 9.7 Hz, 2H), 7.97 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 7.47 – 7.04 (m, 4H), 4.65 (dd, J = 6.5, 2.5 Hz, 2H), 4.11 (d, J = 2.7 Hz, 3H), 3.71 – 3.48 (m, 8H), 2.18 – 2.01 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 407.2195, found 407.2196.

实施例 37

- 20 2-(7-((1-甲基-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐（化合物 **I-31**）的制备

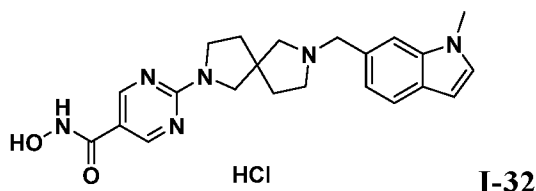


具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((1-甲基-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为白色固体，收率 69%。

- 25 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.66 (s, 1H), 9.42 (s, 1H), 8.71 (s, 2H), 8.41 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.81 (t, J = 12.6 Hz, 1H), 4.61 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.44 – 3.37 (m, 3H), 3.31 (s, 5H), 2.10 (ddd, J = 26.3, 12.4, 6.5 Hz, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_7\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 408.2148, found 408.2150.

实施例 38

- 30 2-(7-((1-甲基-1H-吡咯-6-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐（化合物 **I-32**）的制备

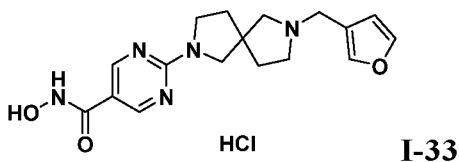


具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((1-甲基-1H-吡啶-6-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为橙色固体, 收率 70%。

- 5 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.68 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.83 – 7.68 (m, 2H), 7.62 – 7.50 (m, 1H), 7.33 (d, J = 13.7 Hz, 2H), 7.18 (s, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.63 – 3.53 (m, 4H), 3.32 (d, J = 6.3 Hz, 4H), 2.08 (d, J = 24.3 Hz, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 407.2195, found 407.2196.

实施例 39

- 10 2-(7-((呋喃-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐 (化合物 **I-33**) 的制备

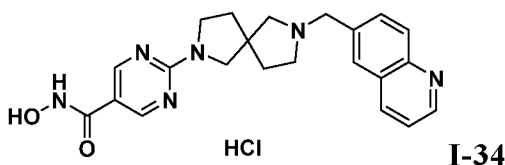


具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((呋喃-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为棕色油状物, 收率 48%。

- 15 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.86 (s, 1H), 8.61 (t, J = 11.0 Hz, 2H), 7.50 (s, 1H), 5.76 (s, 1H), 3.17 (d, J = 27.9 Hz, 8H), 2.09 (s, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 344.1725, found 344.1725.

实施例 40

- 20 2-(7-((喹啉-6-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐 (化合物 **I-34**) 的制备

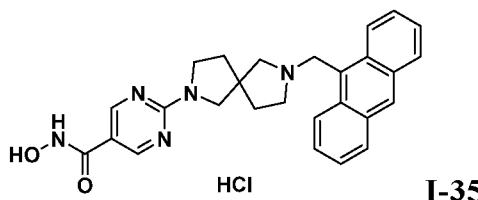


具体实施步骤同实施例 6, 所需原料为 2-(7-((喹啉-6-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺, 得目标产物为白色固体, 收率 67%。

- 25 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.36 – 9.17 (m, 2H), 8.69 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 8.63 – 8.16 (m, 4H), 8.11 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.78 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 4.65 (dd, J = 6.5, 2.4 Hz, 1H), 3.98 – 3.63 (m, 2H), 3.44 – 3.27 (m, 2H), 2.27 – 1.94 (m, 3H), 1.84 – 1.17 (m, 5H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 405.2039, found 405.2040.

实施例 41

- 30 2-(7-((萘-9-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐盐酸盐 (化合物 **I-35**) 的制备



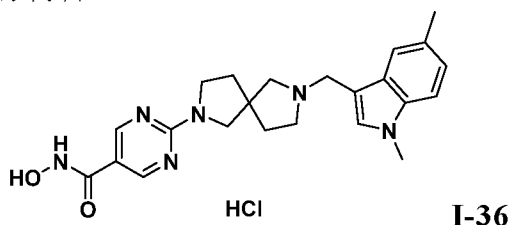
具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((9-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为白色固体，收率 73%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.75 (s, 1H), 8.86 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H), 8.82 – 8.59 (m, 4H), 8.22 (t, $J = 9.5$ Hz, 2H), 7.72 (dd, $J = 14.4, 6.2$ Hz, 2H), 7.62 (dt, $J = 17.5, 5.7$ Hz, 2H), 5.64 – 5.54 (m, 2H), 4.07 (dd, $J = 11.4, 7.8$ Hz, 1H), 3.91 – 3.72 (m, 1H), 3.70 – 3.62 (m, 2H), 3.53 – 3.41 (m, 2H), 2.22 – 2.07 (m, 2H), 2.06 – 1.84 (m, 2H), 1.71 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H).

HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 454.2243, found 454.2244.

实施例 42

2-(7-((1-甲基-5-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐 (化合物 **I-36**) 的制备

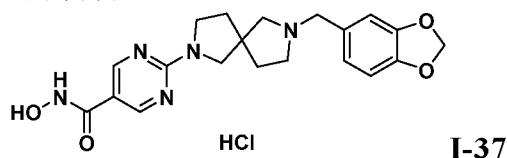


具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((1-甲基-5-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为白色固体，收率 69%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.71 (dd, $J = 13.6, 6.2$ Hz, 2H), 7.64 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.37 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.04 (dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz, 1H), 4.48 (s, 2H), 3.80 (d, $J = 11.7$ Hz, 3H), 3.67 – 3.41 (m, 6H), 3.37 – 3.28 (m, 1H), 3.27 – 3.17 (m, 1H), 2.17 – 1.93 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 421.2352, found 421.2353.

实施例 43

2-(7-((苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐 (化合物 **I-37**) 的制备



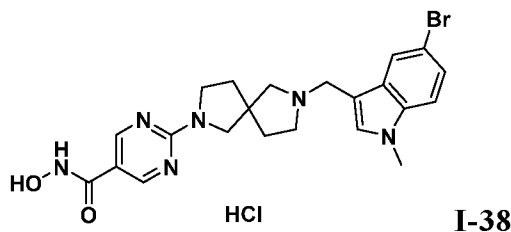
具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为白色固体，收率 74%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.69 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 7.29 – 7.23 (m, 1H), 7.06 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.98 (dd, $J = 7.9, 1.5$ Hz, 1H), 6.06 (s, 2H), 4.34 – 4.22 (m, 2H), 3.69 – 3.55 (m, 4H), 3.42 – 3.09 (m, 4H), 2.14 – 2.06 (m, 2H), 2.04 – 1.93 (m, 2H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 398.1828, found 398.1829.

实施例 44

2-(7-((1-甲基-5-溴-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐

酸盐酸盐（化合物 **I-38**）的制备

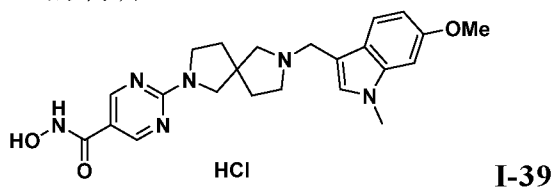


具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((1-甲基-5-溴-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为白色固体，收率 68%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.10 (s, 1H), 8.72 – 8.63 (m, 2H), 8.12 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.49 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.36 – 7.32 (m, 1H), 4.53 (d, J = 4.7 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.67 – 3.47 (m, 6H), 3.45 – 3.17 (m, 4H), 2.03 – 1.89 (m, 2H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{BrN}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 485.1301, found 485.1302.

实施例 45

2-(7-((1-甲基-6-甲氧基-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐酸盐（化合物 **I-39**）的制备

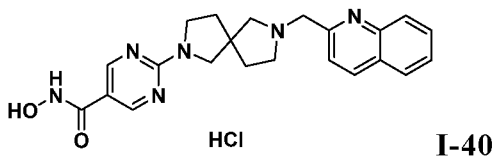


具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((1-甲基-6-甲氧基-1H-吡啶-3-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为白色固体，收率 70%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.70 (dd, J = 13.1, 6.2 Hz, 2H), 7.72 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.01 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.78 (td, J = 8.6, 2.2 Hz, 1H), 4.47 (d, J = 4.0 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.64 – 3.47 (m, 5H), 3.45 – 3.37 (m, 1H), 3.36 – 3.27 (m, 1H), 3.26 – 3.16 (m, 1H), 2.13 – 1.92 (m, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_6\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 437.2301, found 437.2302.

实施例 46

2-(7-((喹啉-2-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)嘧啶-5-异羟肟酸盐酸盐（化合物 **I-40**）的制备



具体实施步骤同实施例 6，所需原料为 2-(7-((喹啉-2-基)甲基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)-N-((四氢-2H-吡喃吡啶-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺，得目标产物为淡黄色固体，收率 69%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.16 (s, 2H), 8.70 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 8.50 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.07 (dd, J = 13.8, 8.3 Hz, 2H), 7.88 – 7.81 (m, 1H), 7.75 – 7.66 (m, 2H), 4.83 (s, 2H), 3.68 (s, 2H), 3.66 – 3.45 (m, 6H), 2.13 (qd, J = 12.2, 5.5 Hz, 4H). HRMS (ESI) m/z calcd $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 405.2039, found 405.2040.

实施例 47

(1) 化合物对两株疟原虫抑制活性的测定

化合物对疟原虫 3D7 和 Dd2 的体外生长半数有效抑制浓度(EC₅₀)的测定

5 (1) 疟原虫培养：疟原虫培养使用 PRMI (含 NaHCO₃、HEPES、Albumax I、Hypoxanthine、Genaotamicin) 完全培养基 (complete medium)，在 37 °C 培养箱 (5% CO₂、5% O₂) 中培养。

10 (2) 化合物对疟原虫的体外生长半数有效抑制浓度 (IC₅₀) 的测定：100 μL 完全培养基加入到 96 孔板中，在第一孔加入适量的 200 μM 的化合物并用完全培养基定容至 200 μL，使化合物终浓度为 1000 nM，然后按 1/2 的比例进行梯度稀释 (11 个浓度梯度)，二氢青蒿素 (DHA) 作为阳性药，不加任何化合物作为阴性组，不加疟原虫和化合物作为空白组。之后每孔加入 100 μL 的疟原虫培养物 (红细胞压积 4%，原虫率 1%) 使最终红细胞压积 2%，原虫率 1%。加样完成，96 孔板置于 37 °C 培养箱 (5% CO₂、5% O₂) 中培养 72 h。培养完成，每孔除去 100 μL 上清液，加入 100 μL 裂解液 (10× SYBR Green I、0.5% v/v Triton X-100, 0.5 mg/mL saponin、0.75 % EDTA/Tris-Cl 缓冲液)，混合均匀，室温下避光孵育 2 h。用孔板荧光读数机读取每孔数值 (最大激发光/最大接受光：485 nm/535 nm)。根据荧光值计算每孔抑制率，抑制率%=(阴性组-实验组)/(阴性组-空白组)×100%，根据浓度-抑制率，在 Graphpad Prism 中绘制生长抑制曲线并计算 IC₅₀ 值。

20 (3) 化合物活性测试结果

表 1 化合物对 3D7 和 Dd2 的 EC₅₀ 值

序号	编号	IC ₅₀ (nM)		序号	编号	IC ₅₀ (nM)	
		3D7	Dd2			3D7	Dd2
1	DHA	2.678±0.202	2.675±0.019	22	I-20	18.605±3.868	23.180±1.245
2	I-0	2.959±0.673	3.180±0.091	23	I-21	92.495±11.321	61.55±4.766
3	I-1	3.506±0.174	2.178±0.020	24	I-22	72.915±10.048	74.41±27.436
4	I-2	4.190±0.680	2.403±0.192	25	I-23	6.215±1.344	7.219±0.340
5	I-3	13.860±0.905	23.660±1.047	26	I-24	5.798±0.942	4.288±0.525
6	I-4	1.595±0.286	3.038±0.068	27	I-25	6.002±0.416	4.914±0.697
7	I-5	17.780±0.460	28.550±1.831	28	I-26	8.711±0.728	7.708±0.105
8	I-6	2.032±0.947	3.604±0.083	29	I-27	7.983±0.518	7.775±1.348
9	I-7	2.192±0.525	4.674±0.235	30	I-28	8.396±0.388	7.497±1.979
10	I-8	3.570±0.064	4.024±0.868	31	I-29	40.350±9.207	20.740±2.425
11	I-9	9.842±0.349	6.953±0.277	32	I-30	240.800±55.154	231.700±9.475
12	I-10	49.700±1.096	35.390±1.308	33	I-31	169.900±17.819	131.400±11.879

13	I-11	45.480±3.295	33.98±2.482	34	I-32	67.420±3.946	60.560±7.078
14	I-12	40.350±4.130	28.320±3.811	35	I-33	84.700±4.327	55.940±2.242
15	I-13	67.46±5.346	112.300±13.074	36	I-34	6.990±0.431	9.637±0.535
16	I-14	45.890±11.780	76.220±9.921	37	I-35	28.750±18.491	21.220±0.856
17	I-15	4.816±0.135	7.195±0.243	38	I-36	3.055±0.303	2.081±0.327
18	I-16	21.670±0.184	33.910±0.283	39	I-37	10.450±0.099	5.356±0.182
19	I-17	6.416±0.264	7.605±0.054	40	I-38	3.346±0.456	1.736±0.005
20	I-18	5.613±0.043	6.418±1.303	41	I-39	13.620±4.228	3.368±2.160
21	I-19	53.310±0.523	38.950±4.031	42	I-40	7.902±1.046	3.056±0.298

3D7 为野生型虫株，对药物无明显抗性；Dd2 对氯喹、奎宁、磺胺多辛、乙胺嘧啶、阿莫地喹具有抗性。表 1 显示化合物具有较强的体外杀虫活性，部分化合物对 3D7 和 Dd2 的 IC_{50} 值与 DHA 相当。

5 实施例 48

化合物对两株正常人细胞 HepG-2 和 293-T 半数有效抑制浓度(IC_{50})的测定

(1) 化合物对两株正常人细胞抑制活性的测定

准备 HepG-2 和 293-T 细胞，10cm dish 中于 37℃，5% CO_2 细胞培养箱内培养第一天

10 胰酶消化重悬细胞并计数，按 100 μ L/孔的体系，7000 细胞的量将细胞转接至 96 孔板中。37℃，5% CO_2 细胞培养箱内培养 24 小时；

第二天

15 1、准备化合物梯度浓度体系，2 倍稀释，体系为 100 μ L/孔。（需根据药物的毒性来确定最高浓度，一般原则是使 EC_{50} 浓度处于浓度梯度的中间，一般第一次可选取高一些的浓度来进行梯度稀释，并根据结果来调整）。

2、去掉第一天中 96 孔板细胞培养体系中的上清，并将新配置好的药物浓度体系对应加入到培养细胞的培养板孔内（设置双复孔）。37℃，5% CO_2 细胞培养箱内培养 72h。

第五天

20 1、细胞培养结束之后，去掉 96 孔板细胞培养体系中的上清，每孔加入 100 μ L 检测溶液（含 10% CCK-8 的培养基），37℃，5% CO_2 细胞培养箱内孵育 1h，然后取出用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度。

2、进行数据处理，计算不同浓度下化合物对细胞生长的抑制率，将抑制率输入 GraphPad Prism，按照非线性回归方法，计算每个药物的 EC_{50} 读值。抑制率计算公式如下：

25 抑制率(%)=[A(0)-A(加药)]/[A(0)-A(空白)] $\times$ 100%

A(加药)：具有细胞、CCK-8 溶液和药物溶液的孔的吸光度

A(空白)：具有培养基和 CCK-8 溶液而没有细胞的孔的吸光度

A(0)：具有细胞、CCK-8 溶液而没有药物溶液的孔的吸光度

选择性指数 SI 的计算

SI=IC₅₀(细胞)/EC₅₀(3D7)

(2) 化合物测试结果

表 2 化合物对 HepG-2 和 293-T 的 IC₅₀ 及 SI 值

序号	编号	IC ₅₀ (μM)		SI	
		HepG2	293T	HepG2	293T
1	I-0	0.113±0.001	0.072±0.010	38	24
2	I-1	0.651±0.063	1.159±0.193	186	331
3	I-2	0.514±0.022	1.673±0.110	123	574
4	I-3	1.284±0.152	2.155±0.081	93	155
5	I-4	0.534±0.045	0.659±0.128	176	217
6	I-5	1.204±0.068	1.787±0.037	68	101
7	I-6	0.178±0.004	0.402±0.096	88	198
8	I-7	3.173±0.338	3.276±0.146	1448	1495
9	I-8	3.817±0.145	1.193±0.233	1069	334
10	I-9	>5	2.561±0.113	>508	260
11	I-10	>5	4.540±0.323	>101	91
12	I-11	1.105±0.018	2.256±0.286	24	50
13	I-12	2.493±0.520	0.607±0.042	62	15
14	I-13	>10	3.018±0.067	>148	45
15	I-14	3.932±0.537	1.859±0.012	86	41
16	I-15	0.864±0.076	0.482±0.042	179	100
17	I-16	2.961±0.152	2.407±0.118	137	111
18	I-17	1.639±0.025	1.614±0.334	255	252
19	I-18	1.673±0.230	1.638±0.122	298	292
20	I-19	6.421±0.540	6.998±0.057	120	131
21	I-20	2.115±0.165	3.928±0.374	114	211
22	I-21	>10	>10	>108	>108
23	I-22	>5	>5	>69	>69
24	I-23	1.254±0.062	1.203±0.156	202	193
25	I-24	1.131±0.168	1.327±0.029	195	229

26	I-25	0.815±0.048	1.243±0.185	136	207
27	I-26	>10	>10	>1148	>1148
28	I-27	1.532±0.069	1.125±0.098	192	141
29	I-28	1.179±0.084	>5	140	>596
30	I-29	>20	>20	>496	>496
31	I-30	>20	>20	>83	>83
32	I-31	>20	>20	>118	>118
33	I-32	7.742±0.950	10.292±1.157	115	153
34	I-33	>20	>20	236	358
35	I-34	1.253±0.190	1.773±0.028	179	254
36	I-35	1.308±0.014	1.994±0.559	45	69
37	I-36	0.866±0.157	0.737±0.109	283	241
38	I-37	0.493±0.149	2.452±0.301	47	235
39	I-38	0.294±0.045	0.633±0.209	88	189
40	I-39	0.975±0.001	1.229±0.102	72	90
41	I-40	0.388±0.058	2.907±0.655	49	368

表 2 显示化合物对正常细胞的生长抑制较弱, 较优化合物选择性可以超过 1000。

实施例 48

部分化合物对五株的半数有效抑制浓度(EC₅₀)的测定

选取杀虫活性及细胞毒性较优的化合物, 按照实施例 47 的方法, 测试它们对五株具有不同药物抗性的临床虫株的 EC₅₀ 值, 结果如下:

表 3 化合物对五株临床虫株的 EC₅₀ 值

序号	编号	EC ₅₀ (nM)				
		GB4	C2A	CP286	6320	6218
1	DHA	3.222±1.243	3.742±2.354	5.586±2.354	5.904±2.091	5.234±3.684
2	I-7	1.892±0.727	2.006±0.040	6.095±0.669	4.007±0.088	5.292±0.155
3	I-8	2.432±0.606	2.921±0.717	6.954±0.553	5.687±0.706	7.717±0.281

GB4 对氯喹具有抗性; C2A 对奎宁具有抗性; CP286 对磺胺多辛、乙胺嘧啶、甲氟喹具有抗性; 6218 与 6320 对青蒿素类药物具有时间依赖的抗性, 只在环期同步化后 6 小时以内显示。综合表 1 和表 3, 化合物的 72 小时 IC₅₀ 值均与 DHA 相当, 显示化合物具有治疗对目前抗疟一线和二线药物耐受的疟疾, 应对疟疾耐药性的潜力。

实施例 49**部分化合物对小鼠肝微粒体代谢稳定性实验****(1) 化合物对小鼠肝微粒体代谢稳定性测试**

实验选用小鼠肝微粒体 (0.5mg/mL)，采购自 Corning 公司。阳性对照选用酮舍林 (ketanserin)，待测化合物首先配成 10 mM 的 DMSO 溶液，用乙腈稀释至 0.5 mM；取上述 0.5 mM 溶液加入含肝微粒体的缓冲液中，使化合物浓度为 1.5 μ M；取上述 1.5 μ M 化合物/肝微粒体混合液 30 μ L，加入 15 μ L 6mM 的 NADPH 溶液，使化合物最终浓度为 1.5 μ M，NADPH 最终浓度为 2 mM。化合物/肝微粒体测试液置于测试板上，在 37 $^{\circ}$ C 水浴孵育，在每个时间点 (0、5、15、30、45 分钟) 各加入 135 μ L 乙腈淬灭。待全部样品淬灭完毕，用振荡器 (IKA, MTS 2/4) 振荡样品 10 分钟 (600 rpm/min)，然后以 4495 g 离心 15 分钟 (Thermo Multifuge $\times$ 3R)。取上层清液，按 1:1 加入蒸馏水稀释，用 LC-MS 进行分析。将化合物在 5、15、30、45 分钟的峰面积响应比率 (PARR) 与时间 0 的 PARR 进行比较，以确定在每个时间点保留的测试化合物的百分比。使用 Excel 软件拟合单相指数衰减方程计算半衰期。

(2) 化合物测试结果

表 3 化合物对小鼠肝微粒体代谢稳定性

序号	编号	$T_{1/2}(\text{min})$	$CL_{\text{int}}(\text{mL/min/kg})$
1	I-1	64.15	85.07
2	I-2	105.02	51.97
3	I-6	132.57	41.17
4	I-7	400.96	13.61
5	I-8	745.27	7.32
6	I-23	53.73	101.58
7	ketanserin	23.25	234.74

实施例 50**优选化合物抑制疟原虫组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 活性验证实验****(1) 疟原虫培养**

疟原虫培养使用 RPMI (含 NaHCO_3 , HEPES, Albumax I, Hypoxanthine Genaotamicin) 完全培养基 (Complete Medium)，在 37 $^{\circ}$ C 培养箱中培养

(2) 药物配制

根据药物前期测出的 IC_{50} 值，将药物溶于 DMSO 中，配制 $200 \times 20 \times \text{IC}_{50}$ 的初浓度。药物处理 (在生物安全柜中进行)

取 44 h 左右的恶性疟原虫同完全培养基与红细胞在 50 mL 管中配制混合物 (红细胞含量为 2%，原虫率为 8%-10%)，在 6 孔板的每孔中加入 6 mL 混合物，再在每孔中加入 30 μ L 药物 (工作浓度为 $20 \times \text{IC}_{50}$)，加好之后混匀板子，并放入三气培养箱孵育 4 h。

(3) 收取蛋白样

取出 6 孔板，弃去 4 mL 上清液，余下的 2 mL 虫血混合物转入 2 mL EP 管，离心 (4000

r/2 min, 常温), 去除上清, 再将各孔用 1 mL PBS 重悬残液并转移至原 EP 管以减少损失, 再次离心去上清;

在各 EP 管中加入 2 mL 裂解液, 涡旋仪振荡混匀, 冰上裂解 10 min, 离心 (12000 r/min, 4 °C), 弃去上清液;

5 各 EP 管加入 1 mL PBS, 涡旋仪振荡混匀, 离心 (12000 r/min, 4 °C), 弃去上清液, 再重复此步骤两次;

加入 90 μL 1×PBS 重悬并转移至 1.5 mL 超声管, 再加入 10 μL 10 % SDS, 混匀后超声 5 min (30 s on/30 s off), 离心 (12000 r/min, 4 °C), 取上清液, 加入 loading, 振荡, 100 °C 加热 10 min, 样品可保存于 -20 °C。

10 (4) Western Blot

SDS-PAGE 凝胶电泳: 预制胶各孔上样 10 μL, 电压 80 V 跑 30 min 后将电压调至 120 V 再接着跑至 loading 接近分离胶下边缘。

转膜: 切取相应覆盖面积的 PVDF 膜, 采用湿转法, 快速转膜 buffer, 400 mA 恒流转 35 min, 结束后取出 PVDF 膜。

15 封闭: 将膜放于封闭液 (在 TBST 中加入 5 % 脱脂奶粉) 中, 摇床摇晃封闭 2 h。

孵一抗: 采用组蛋白 histone H3 抗体和 H3K9 乙酰化抗体, 与 5 % 脱脂奶粉按照 1: 2000 稀释, 于摇床孵育 PVDF 膜 2 h 后弃去孵育液, 加入 TBST 洗膜三次, 每次 10 min。

孵二抗: 二抗按照 1: 5000 稀释, 于摇床孵育 PVDF 膜 1 h 后弃去孵育液。

20 显色曝光: 临时配制显色液并均匀的铺在 PVDF 膜上, 可根据条带亮度调节曝光时间。

(5) 化合物 Western Blot 实验结果: 结果如图 1 中所示。结果显示, 与仅加入溶剂 DMSO、不加入药物的空白对照组相比, 加入化合物 I-7, I-8 处理的组蛋白 H3 乙酰化条带更深, 表明乙酰化水平上调, 去乙酰化酶活性被抑制, 证明了化合物是泛 pfHDAC 抑制剂, 具有 HDAC 抑制活性。

25

实施例 51

优选化合物小鼠体内药效实验

(1) 小鼠体内药效实验方法

体内药效实验选用 balb-c 小鼠感染 *P.yoelii* 模型进行。小鼠选用 6-8 周龄的雌性, 30 每个剂量组设置 5 只。阳性药为磷酸哌喹 (PPQ), 给药方式为腹腔注射, 给药前每组测量平均体重, 按 15 μL/g 注射相应体积的药液。化合物注射液的配置方法: 先溶于 5% v/v 的二甲基亚砜, 剧烈振荡, 使固体部分部分或完全溶解, 再加入 95% v/v 的 20% wt β-羟丙基环糊精水溶液, 混匀即可。*P.yoelii* 从 -78 °C 解冻后经转接两只小鼠恢复毒力, 取血, 加入 PBS 稀释。每只小鼠接种 10⁵ 只疟原虫, 感染后 24 小时开始给药, 一共给药 35 次, 每次间隔 24 小时。从感染后 24h 开始定期从小鼠尾静脉取血涂片观察, 计算原虫率:

$$\text{原虫率} = \frac{\text{被疟原虫感染的红细胞数}}{\text{红细胞总数}} \times 100\%$$

感染后观察 30 天血涂片, 计算相应的原虫率。

(2) 小鼠体内药效实验结果

40 结果如图 2 中所示。图 2A 和图 2C 中的原虫率曲线图显示与空白组相比, 化合物 I-7、I-8 在 60 mg/kg 下具有较好的杀虫活性, 小鼠在第 30 天时原虫率均为 0, 显示体内疟原虫已被清除。空白组小鼠全部死亡, 而给药组小鼠生存率为 100%, 原虫率曲线和

生存曲线（图 2B、图 2D）综合显示 **I-7**、**I-8** 在药效和毒性上具有较好的平衡。

实施例 52

优选化合物对人源 HDAC 半数有效抑制浓度(IC₅₀)的测定

5 (1) hHDAC1-3,6 测试方法：通过 Echo 将 250 nL DMSO 或化合物溶液加入到 OptiPlate TM-384 F 黑色测定板中，依次将 15 μ L 酶溶液、10 μ L GL-8 底物溶液加入测定板中。在 25 $^{\circ}$ C 下孵育 60 min，使用 Ex350-360 / Em450-465（敏感 60）的设置读取值。计算抑制率，用 GraphPad Prism 算出 IC₅₀ 值。

10 (2) hHDAC8 测试方法：通过 Echo 将 250 nL DMSO 或化合物溶液加入到 OptiPlate TM-384 F 黑色测定板中，依次加入 15 μ L 酶溶液，10 μ L 对应底物溶液，在 25 $^{\circ}$ C 反应 4 h。添加 10 μ L 终止液终止反应，使用 Ex350-360 / Em450-465 的设置读取值。计算抑制率，用 GraphPad Prism 算出 IC₅₀ 值。

15 (3) hSirt2 测试方法：通过 Echo 将 800 nL DMSO 或化合物溶液加入到 OptiPlate TM-384 F 黑色测定板中，依次加入 10 μ L 酶溶液、10 μ L 对应底物溶液，在 25 $^{\circ}$ C 反应 4 h。添加 20 μ L 终止液终止反应，使用 Ex350-360 / Em450-465 的设置读取值。计算抑制率，用 GraphPad Prism 算出 IC₅₀ 值。

(4) 化合物测试结果

序号	编号	IC ₅₀ (nM)					
		hHDAC1	hHDAC2	hHDAC3	hHDAC8	hHDAC6	hSirt2
1	I-7	1.5	4.6	4.0	83	42	>10000
2	I-8	1.8	4.6	19	66	62	>10000
3	SAHA	11	24	28	301	13	
4	suramin						5441

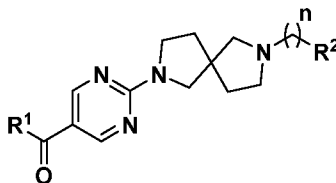
20 SAHA 与 suramin 为阳性对照。实验结果表明，化合物 **I-7**、**I-8** 对 hHDACs 有一定抑制，其中对 hHDAC1-3 有较强抑制，对 hSirt2 几乎无抑制，化合物 **I-7**、**I-8** 具有对人源 HDAC 的抑制活性，提示其可以被用于制备治疗 HDAC 活性或表达量相关的疾病如肿瘤等。

25 本发明的嘧啶-异羟肟酸类化合物分子结构较为简单，制备工艺简洁，生产成本低，在对与疟原虫生存繁殖有密切关系的 HDAC 酶抑制实验和体内外杀虫药效实验中均显示出较强的抑制活性，且安全性较现有的 HDAC 抑制剂相比更优，因此，不但有望开发成新型的单一用药方式的抗疟疾药物，而且还可以开发成与现有抗疟疾药物进行组合给药方式的抗疟疾药物。

30 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考，就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解，在阅读了本发明的上述讲授内容之后，本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改，这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

权 利 要 求

1、一种如下式 I 所示的 2,7-二氮杂-螺[4.4]壬烷类异羟肟酸嘧啶类化合物，或其药学上可接受的盐：



I

其中，

R^1 选自下组：NHOH，或 OR^3 ；

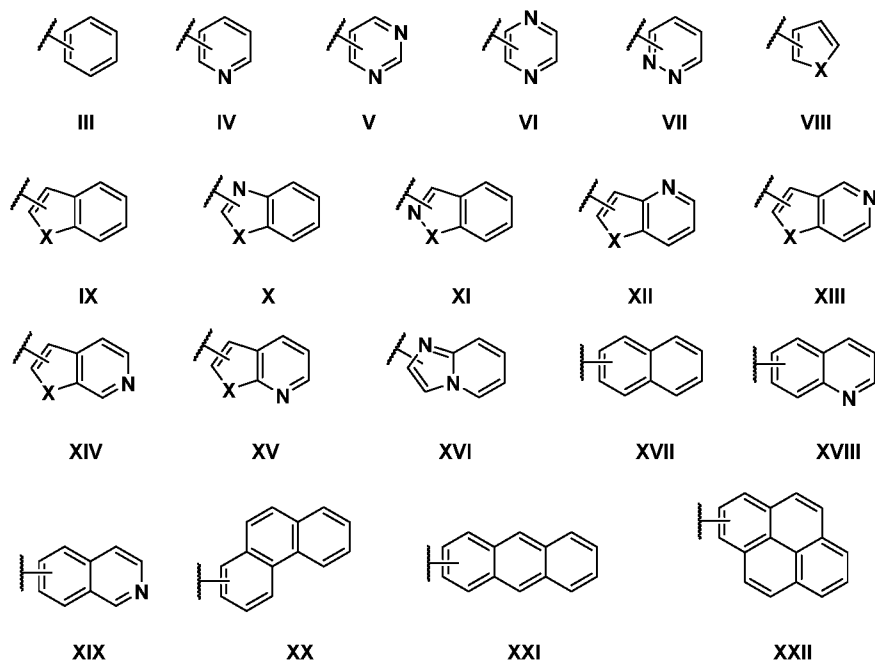
R^2 选自下组：氢，取代或未取代的 C1~C6 烷基、取代或未取代的 C3~C8 环烷基、取代或未取代的 C6-C15 单环、二环或三环芳基、取代或未取代的 5-15 元单环、二环或三环杂环基（包括饱和、部分不饱和或芳香性杂环基）；其中，所述的杂芳基包括一个或多个选自下组的杂原子作为环骨架：N、O 或 S；

R^3 选自下组：氢，取代或未取代的 C1~C3 烷基，取代或未取代的 C3~C8 环烷基、取代或未取代的 5-15 元杂环基；

$n=0$ 或 1；

其中，所述的取代指基团上的氢原子被一个或者多个(例如 2 个、3 个、4 个等) 选自下组的取代基所取代：卤素、氘代、C1-C6 烷氧基、卤代的 C1-C6 烷氧基、卤代的 C3-C8 环烷基、甲基砜基、 $-S(=O)_2NH_2$ 、氧代($=O$)、 $-CN$ 、羟基、 $-NH_2$ 、羧基、或取代或未取代的选自下组的基团：C1-C6 烷基、C3-C8 环烷基、C1-C6 胺基、C6-C10 芳基、具有 1-3 个选自 N、S 和 O 的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-3 个选自 N、S 和 O 的杂原子的 5-12 元杂环基，且所述的取代基选自下组：卤素、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、氧代、 $-CN$ 、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、C6-C10 芳基、C1-C6 胺基、C1-C6 酰胺基、具有 1-3 个选自 N、S 和 O 的杂原子的 5-10 元杂芳基。

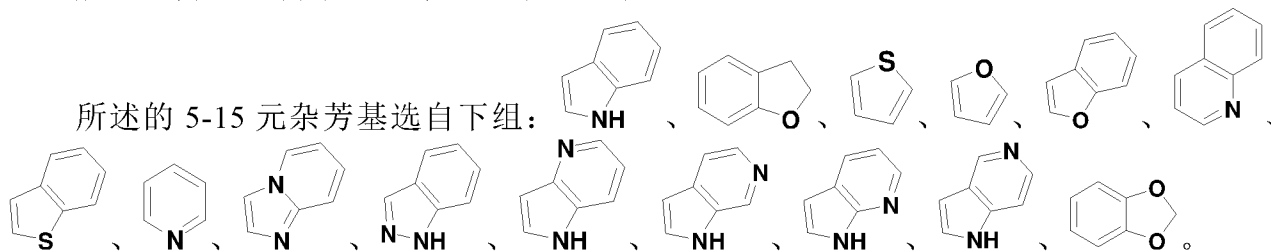
2、如权利要求 1 所述的化合物，其特征在于，所述的 R^2 选自下组：H、取代或未取代的 C1~C6 烷基，取代或未取代的 C3~C8 环烷基，或取代或未取代的选自下组的基团：



上述各式中，**X** 选自 N、O、S。

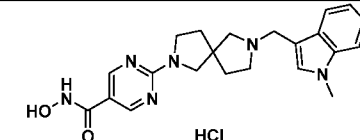
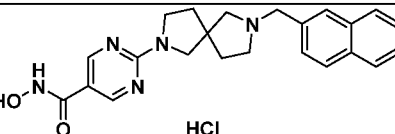
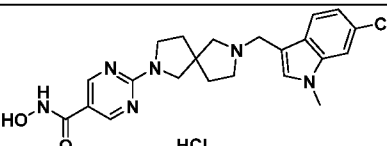
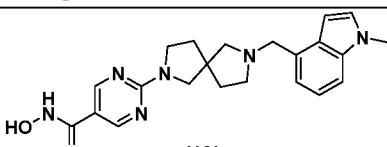
3、如权利要求1所述的化合物，其特征在于， R^2 选自下组：氢，取代或未取代的C1~C6烷基、取代或未取代的C3~C8环烷基，取代或未取代的C6-C15芳基，取代或未取代的5-15元杂芳基；其中，所述的C3~C8环烷基选自下组：环戊基，环己基；所述的芳基选自下组：苯基、萘基、菲基；

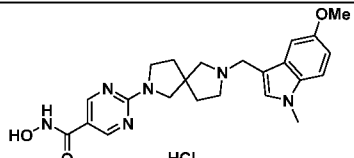
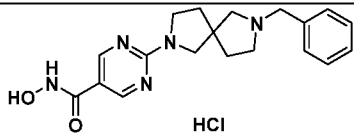
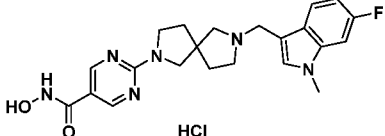
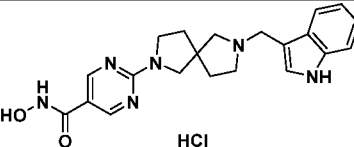
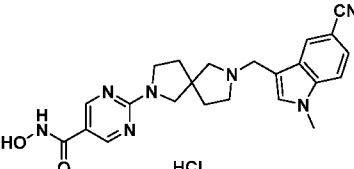
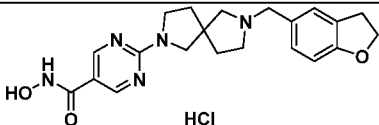
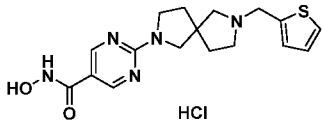
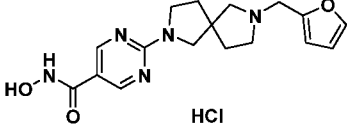
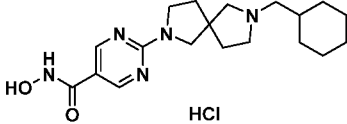
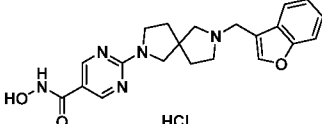
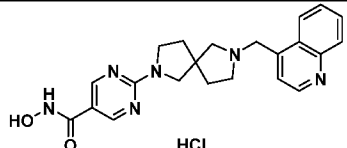
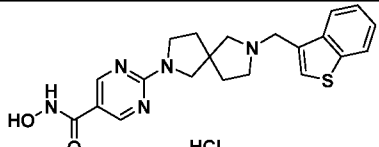
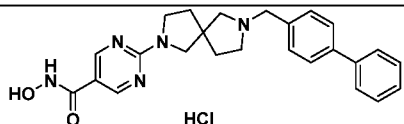
所述的 5-15 元杂芳基选自下组:

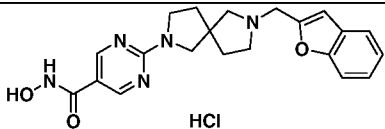
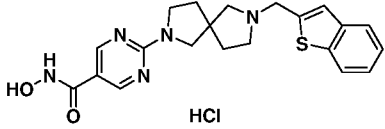
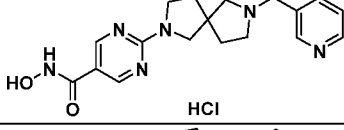
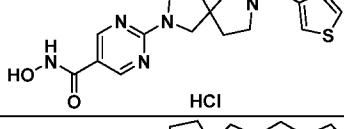
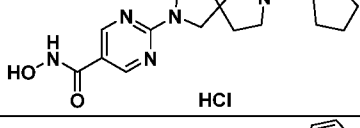
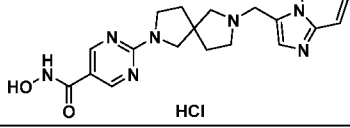
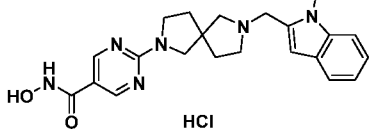
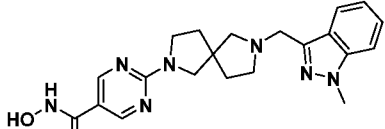
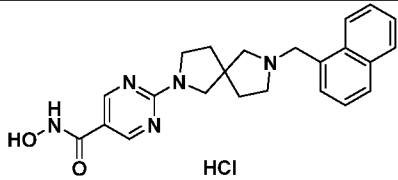
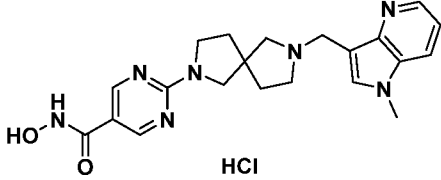
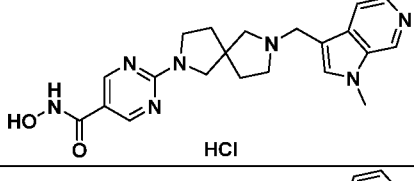
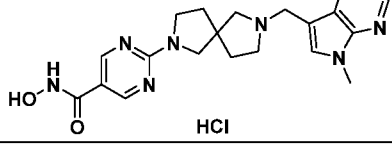


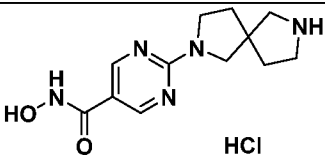
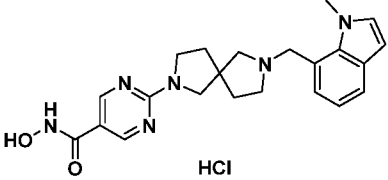
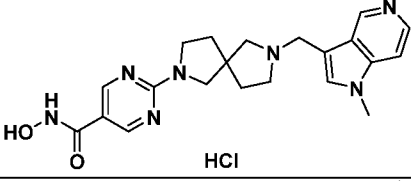
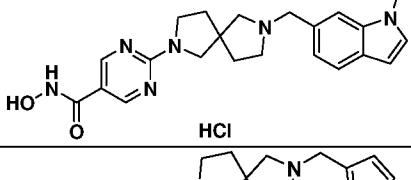
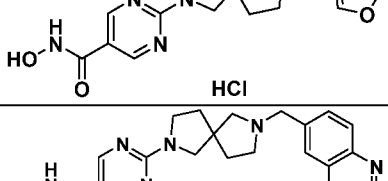
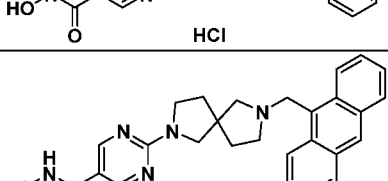
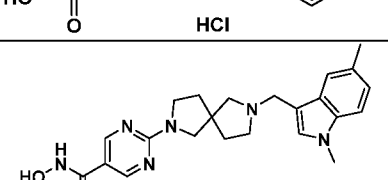
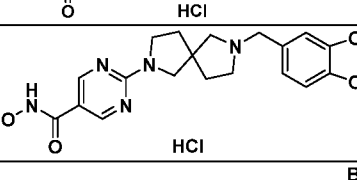
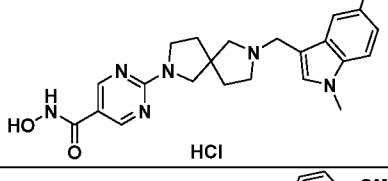
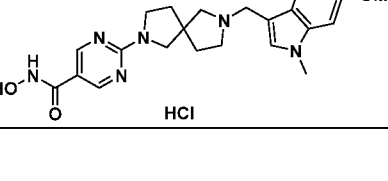
4、如权利要求 1 所述的化合物，其特征在于， R^3 选自下组：氢，C1~C3 直链烷基，
10 C1~C6 饱和杂环基。

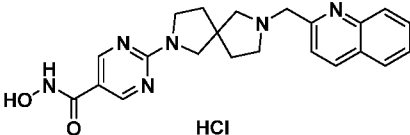
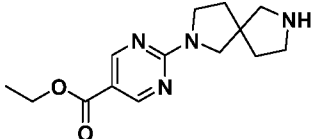
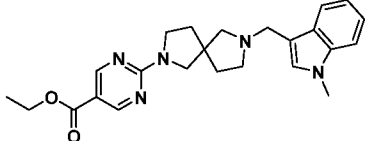
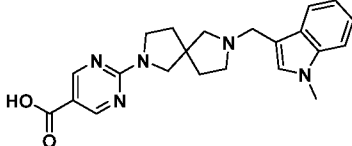
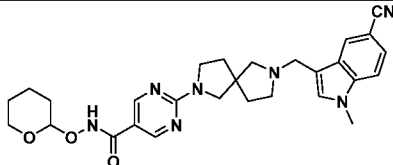
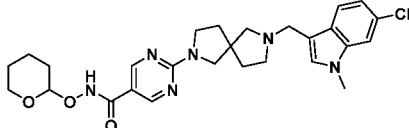
5、如权利要求 1 所述的化合物，其特征在于，所述的式 I 化合物可选自下组：

I-0	 HCl
I-1	 HCl
I-2	 HCl
I-3	 HCl

I-4	 HCl
I-5	 HCl
I-6	 HCl
I-7	 HCl
I-8	 HCl
I-9	 HCl
I-10	 HCl
I-11	 HCl
I-12	 HCl
I-13	 HCl
I-14	 HCl
I-15	 HCl
I-16	 HCl

I-17	 HCl
I-18	 HCl
I-19	 HCl
I-20	 HCl
I-21	 HCl
I-22	 HCl
I-23	 HCl
I-24	 HCl
I-25	 HCl
I-26	 HCl
I-27	 HCl
I-28	 HCl

I-29	 HCl
I-30	 HCl
I-31	 HCl
I-32	 HCl
I-33	 HCl
I-34	 HCl
I-35	 HCl
I-36	 HCl
I-37	 HCl
I-38	 HCl
I-39	 HCl

I-40	 HCl
V	
IV	
III	
II-1	
II-2	

6、一种药物组合物，其特征在于，所述的药物组合物包括（a）治疗有效量的如权利要求 1 中所述的化合物、或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物；和（b）药学上可接受的载体。

- 5 7、如权利要求 6 所述的药物组合物，其特征在于，所述的药物组合物用于：
- （a）治疗或预防疟原虫导致的疾病或病症；或
 - （b）治疗或预防与 HDAC 活性或表达量相关的疾病或病症。

8、如权利要求 1 所述的式 I 化合物的用途，其特征在于，用于制备治疗或预防疟原虫导致的疾病或病症的药物组合物。

- 10 9、如权利要求 8 所述的用途，其特征在于，所述的疾病或病症为疟疾。

10、如权利要求 1 所述的式 I 化合物的用途，其特征在于，用于制备治疗或预防 HDAC 活性或表达量相关的疾病或病症的药物组合物。

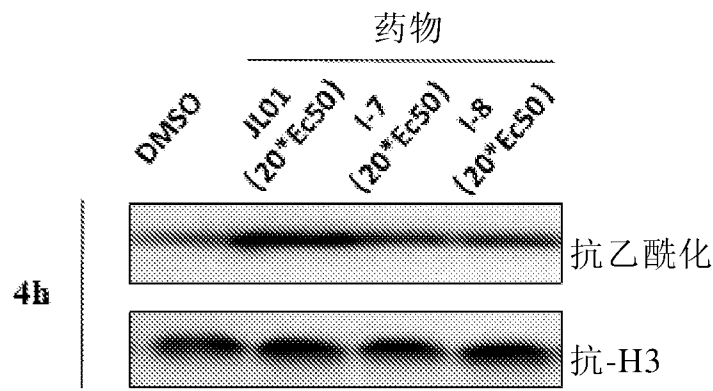


图 1

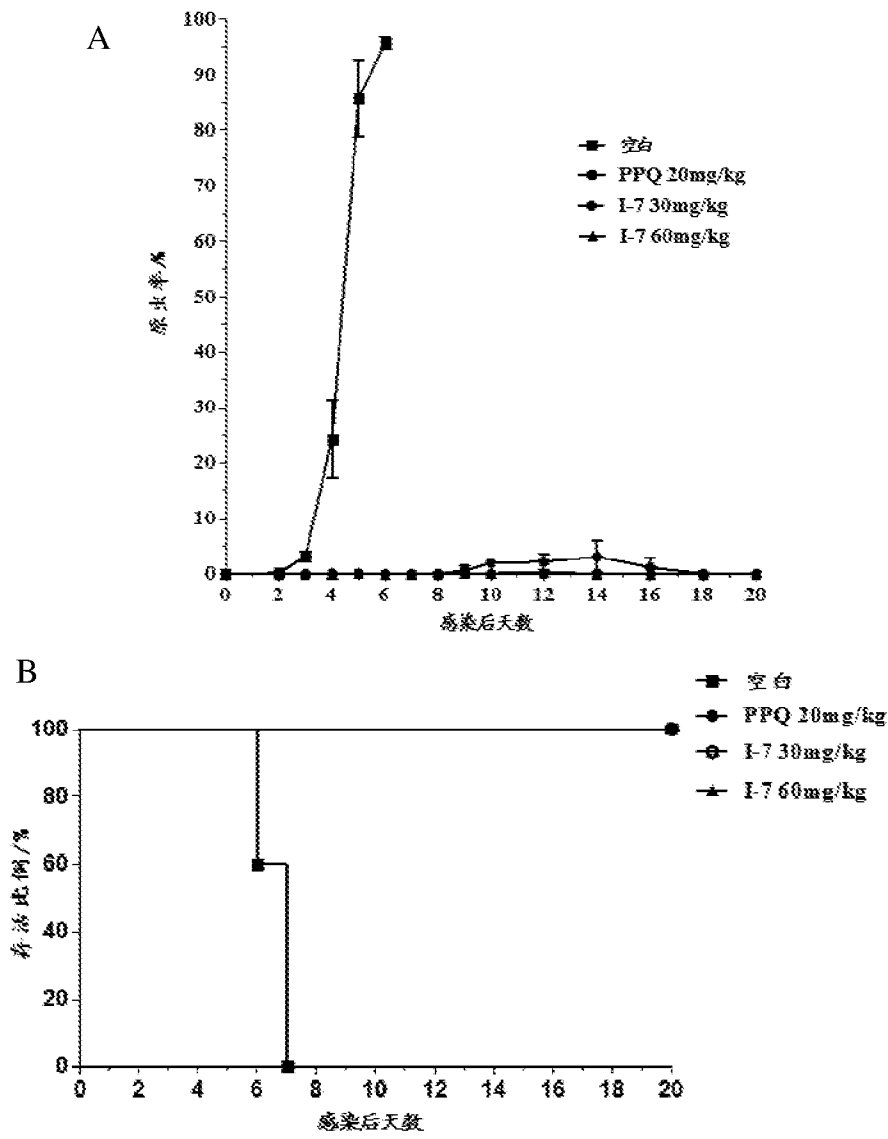


图 2

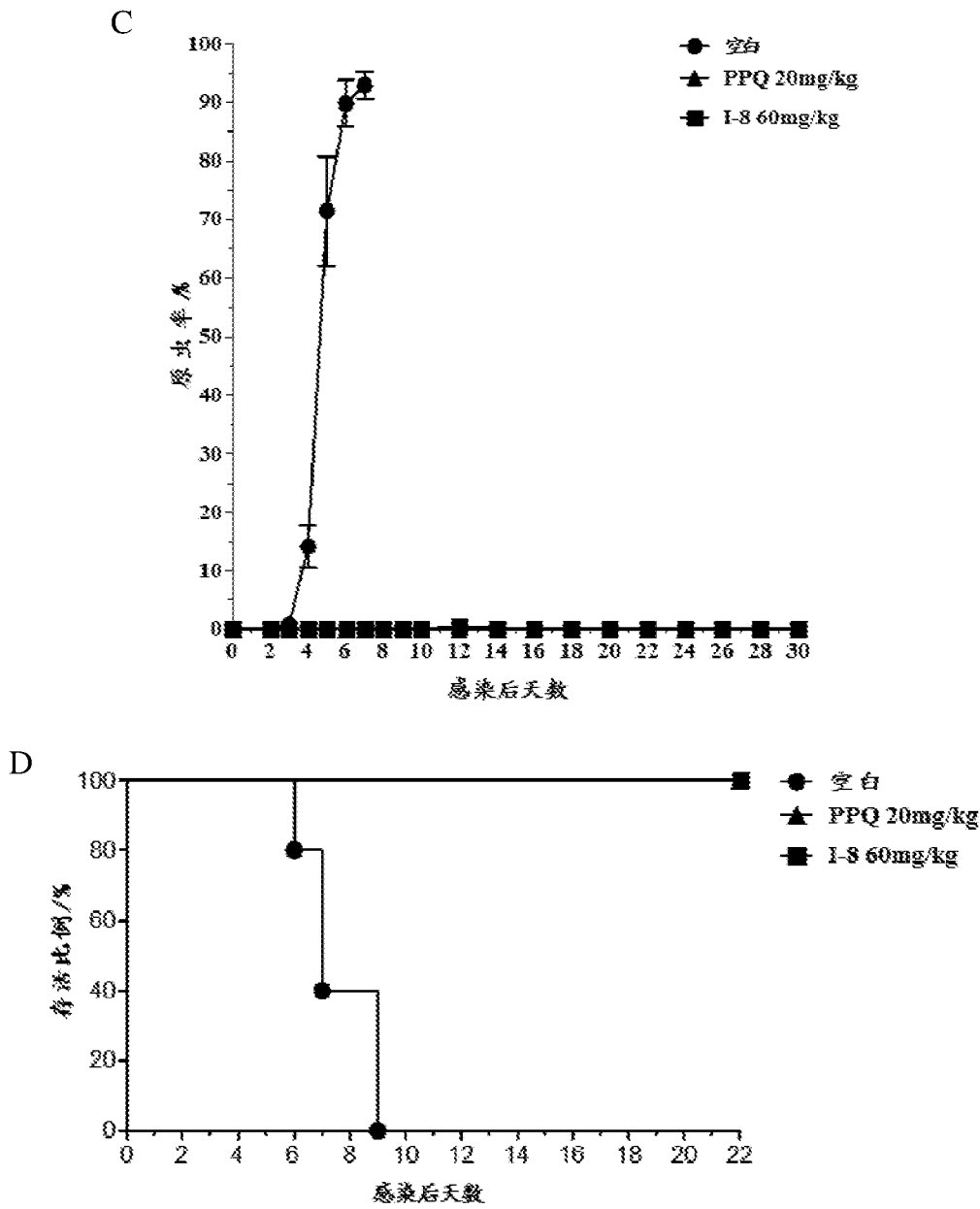


图 2 (续)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/077357

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 403/14(2006.01)i; A61K 31/506(2006.01)i; A61P 33/06(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D403/14, A61K31/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, VEN, STN(REG, CAPLUS), CNKI: 二氮杂螺, 壬烷, 嘧啶, 异羟肟酸, 疟疾, diazaspiro, nonane, pyrimidinyl, 根据式 I 进行了子结构检索, sub-structural search according to formula I

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	"RN 2196137-13-8" STN REGISTRY, 21 March 2018 (2018-03-21),	1-4
A	WO 2014026467 A1 (XUANZHU PHARMA CO., LTD.) 20 February 2014 (2014-02-20) entire document, especially embodiment 18	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 November 2019

Date of mailing of the international search report

28 November 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088

China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/077357

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2014026467	A1	20 February 2014	BR	112015003232	A2	24 October 2017
				EP	2886540	A4	24 June 2015
				CN	104487434	A	01 April 2015
				CN	104487434	B	22 May 2018
				KR	101794321	B1	01 December 2017
				EP	2886540	B1	26 July 2017
				KR	20150042846	A	21 April 2015
				ES	2641992	T3	14 November 2017
				HK	1205738	A1	24 December 2015
				US	9359371	B2	07 June 2016
				US	2015232474	A1	20 August 2015
				JP	6037489	B2	07 December 2016
				JP	2015524828	A	27 August 2015
				EP	2886540	A1	24 June 2015

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2019/077357

A. 主题的分类 C07D 403/14(2006.01)i; A61K 31/506(2006.01)i; A61P 33/06(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类											
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C07D403/14, A61K31/- 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNABS, VEN, STN (REG, CAPLUS), CNKI: 二氮杂螺, 壬烷, 嘧啶, 异羟肟酸。疟疾, diazaspiro, nonane, pyrimidinyI, 根据式I进行了子结构检索											
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>"RN 2196137-13-8" STN REGISTRY, 2018年 3月 21日 (2018 - 03 - 21),</td> <td>1-4</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2014026467 A1 (XUANZHU PHARMA CO LTD) 2014年 2月 20日 (2014 - 02 - 20) 全文, 特别是实施例18</td> <td>1-10</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	"RN 2196137-13-8" STN REGISTRY, 2018年 3月 21日 (2018 - 03 - 21),	1-4	A	WO 2014026467 A1 (XUANZHU PHARMA CO LTD) 2014年 2月 20日 (2014 - 02 - 20) 全文, 特别是实施例18	1-10
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求									
X	"RN 2196137-13-8" STN REGISTRY, 2018年 3月 21日 (2018 - 03 - 21),	1-4									
A	WO 2014026467 A1 (XUANZHU PHARMA CO LTD) 2014年 2月 20日 (2014 - 02 - 20) 全文, 特别是实施例18	1-10									
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。											
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件											
国际检索实际完成的日期 2019年 11月 21日		国际检索报告邮寄日期 2019年 11月 28日									
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		受权官员 杨轶 电话号码 86-(010)-62086352									

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/077357

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2014026467	A1	2014年 2月 20日	BR	112015003232	A2	2017年 10月 24日
				EP	2886540	A4	2015年 6月 24日
				CN	104487434	A	2015年 4月 1日
				CN	104487434	B	2018年 5月 22日
				KR	101794321	B1	2017年 12月 1日
				EP	2886540	B1	2017年 7月 26日
				KR	20150042846	A	2015年 4月 21日
				ES	2641992	T3	2017年 11月 14日
				HK	1205738	A1	2015年 12月 24日
				US	9359371	B2	2016年 6月 7日
				US	2015232474	A1	2015年 8月 20日
				JP	6037489	B2	2016年 12月 7日
				JP	2015524828	A	2015年 8月 27日
				EP	2886540	A1	2015年 6月 24日