



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108699055 B

(45) 授权公告日 2020.10.23

(21) 申请号 201680081722.1
 (22) 申请日 2016.12.13
 (65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 108699055 A
 (43) 申请公布日 2018.10.23
 (30) 优先权数据
 62/266,634 2015.12.13 US
 (85) PCT国际申请进入国家阶段日
 2018.08.13
 (86) PCT国际申请的申请数据
 PCT/CN2016/109754 2016.12.13
 (87) PCT国际申请的公布数据
 W02017/101763 EN 2017.06.22
 (73) 专利权人 杭州英创医药科技有限公司
 地址 311121 浙江省杭州市余杭区仓前街
 道龙潭路20号4幢353室

(72) 发明人 张汉承 刘世峰
 (74) 专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266
 代理人 马思敏 徐迅
 (51) Int.Cl.
 C07D 471/04 (2006.01)
 C07D 519/00 (2006.01)
 A61K 31/519 (2006.01)
 A61P 31/12 (2006.01)
 A61P 35/00 (2006.01)
 (56) 对比文件
 CN 104470921 A, 2015.03.25
 审查员 王凌霄

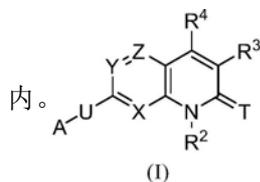
权利要求书3页 说明书36页

(54) 发明名称

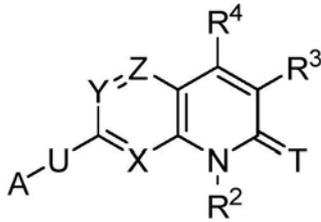
用作抗癌药物的杂环化合物

(57) 摘要

本发明提供如下所示的式(I)的化合物及其药学上可接受的盐,水合物或溶剂合物。这些化合物的药物组合物,其制备以及它们在治疗疾病和病症(包括癌症)中的用途也在本发明的范围



1. 一种如下式 (I) 所示的化合物:



(I)

或其相应的药学上可接受的盐,其中:

U为NR⁷、O;

各个X、Y各自独立地为N;

Z为CH;

T为O;

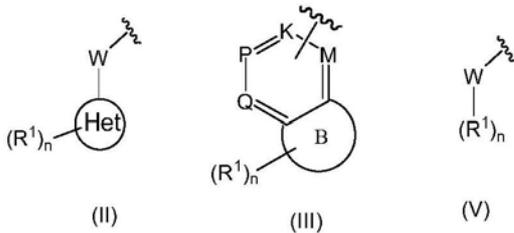
R²为环戊基;

R³为C(O)CH₃;

R⁴为甲基;

R⁷为氢;

A为式 (II)、式 (III) 或式 (V) :



其中:

“”表示式 (II)、式 (III)、或 (V) 与式 (I) 中的U相连的位点;

W为苯基或吡啶基;

当提及式 (II) 时, Het 是4-至15-元单环或多环的杂环或环烷基, 其各自独立地含有0-5个任选自下组的杂原子: N、O或S;

n为1、2或3;

各个R¹各自独立地为卤素、C₁₋₈烷基, 或(CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH); 条件是当n为1, R¹为(CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH); 或当n为2或3, 一个R¹为(CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH), 且其余R¹选自除(CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH)之外的组;

各个p和q各自独立地为0、1、2、3、4、5、6、7或8;

V为CH₂、CH=CH、NR¹³、C(O)、C(O)O、C(O)NH、6-12元芳基、CR¹⁴R¹⁵、或V¹(CH₂)_tV²;

R¹³为氢、C₁₋₄烷基;

R¹⁴和R¹⁵各自独立地为氢、卤素、C₁₋₄烷基;

V¹和V²各自独立地为CH=CH、NR¹³、C(O)NH、6-12元芳基;

t为0、1、2、3、4、或5;

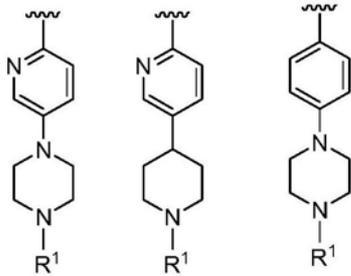
前提条件是V、V¹、V²、p、q和t符合能够形成化学上稳定的结构的条件;

当提及式 (III) 时, B 是一个含有 1-5 个各自独立地为 N、O 或 S 的杂原子的 5-至 15-元环;
K、M、P 和 Q 各自独立地为 N 或 CR⁸; 且各个 R⁸ 各自独立地为氢、卤素、C₁₋₈烷基;
n 和 R¹ 与式 (II) 中定义的相同;

当提及式 (V) 时, W、n 和 R¹ 与式 (II) 中定义的相同。

2. 如权利要求 1 中任一所述的化合物, 其特征在于, A 为式 (II), Het 是一个 4-至 8-元单杂环; n 是 1; 且 R¹ 为 (CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH)。

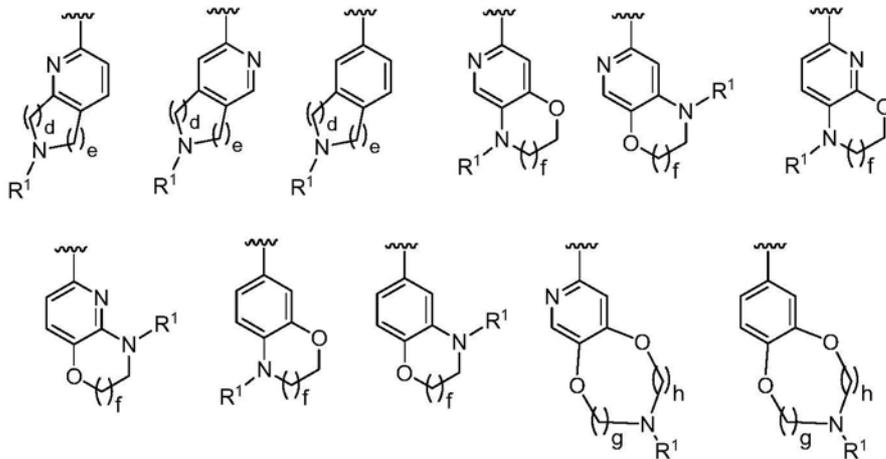
3. 如权利要求 1 或 2 中所述的化合物, 其特征在于, 式 (II) 为



其中 R¹ 为 (CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH)。

4. 如权利要求 1 中所述的化合物, 其特征在于, A 为式 (III), 其中 B 是一个含有 1-4 个各自独立地为 N 或 O 的杂原子的 5-至 12-元非芳香单环; n 是 1; K、M、P 和 Q 中最多只有一个为 N; 且 R¹ 为 (CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH)。

5. 如权利要求 1 或 4 中所述的化合物, 其特征在于, 式 (III) 选自下组:



其中

“”表示式 (III) 与式 (I) 中的 U 相连的位点;

R¹ 为 (CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH);

各个 d 和 e 各自独立地为 0、1、2, 或 3, 前提条件是 d 和 e 之和等于或大于 2;

各个 f 各自独立地为 1、2 或 3; 且

各个 g 和 h 各自独立地为 2、3 或 4。

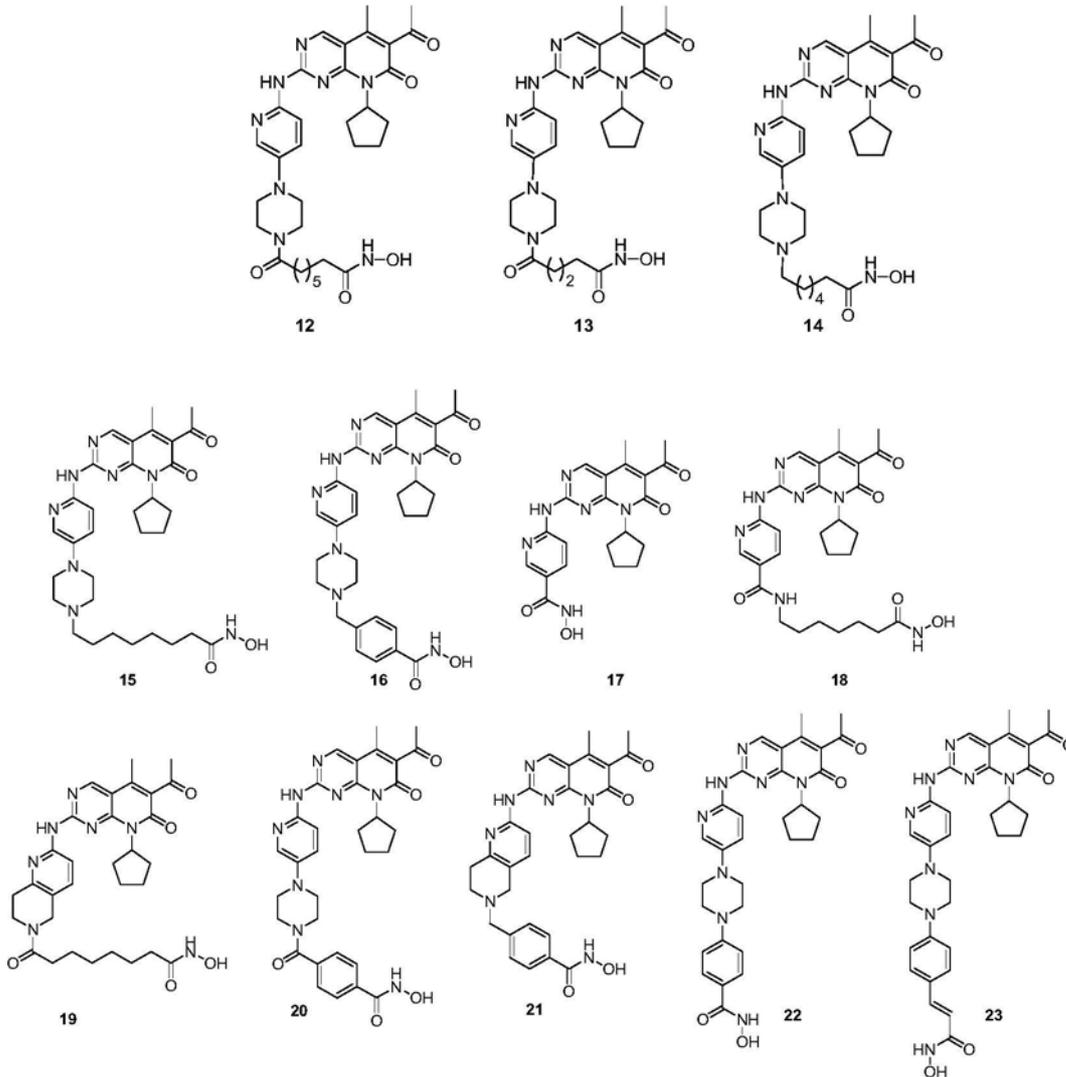
6. 如权利要求 1 中所述的化合物, 其特征在于, A 为式 (V), 其中 W 为吡啶基或苯基, n 为 1, 且 R¹ 为 (CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH)。

7. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, 当存在时, 各个 p 和 q 各自独立地为 0、1、2、3、4、5、或 6; V 为 CH₂、NR¹³、C(O)、C(O)NH、或 V¹(CH₂)_tV²; 其中 V¹ 和 V² 各自独立地为 CH=CH、NR¹³、6-12 元芳基; t 为 0、1、2, 或 3; 且 R¹³ 为氢、C₁₋₄烷基; 限制条件是 V、V¹、V²、p、q 和 t 的选择符合能

够形成化学上稳定的结构的条件。

8. 如权利要求7中所述的化合物,其特征在于,当存在时,p为0、1或2;q为0、1、2、3、4、5、6;V为CH₂、C(O)、C(O)NH、或V¹(CH₂)_tV²;其中V¹和V²各自独立地选自CH=CH或6-12元芳基;t为0;限制条件是V、V¹、V²、p、q和t的选择符合能够形成化学上稳定的结构的条件。

9. 一种选自下组的化合物:



10. 一种药物组合物,其特征在于,包括如权利要求1-9中任一所述的化合物,和药学上可接受的载体或赋形剂。

11. 如权利要求1-9中任一所述的化合物或如权利要求10中所述药物组合物在制备用于治疗 and/或预防由细胞周期蛋白依赖性激酶或组蛋白乙酰酶介导的疾病或病症的药物组合物中的用途。

12. 如权利要求11所述的用途,其特征在于,所述的疾病或病症选自下组:乳腺癌,淋巴瘤,白血病,肺癌,卵巢癌,肝癌,黑色素瘤,结肠癌,直肠癌,肾细胞癌,小肠癌、食道癌,膀胱癌,前列腺癌,或咽癌。

用作抗癌药物的杂环化合物

[0001] 发明的背景技术

[0002] 细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDKs) 是蛋白质激酶参与的重要细胞过程, 如细胞周期或转录调节。共有13CDKs激酶亚型, 不同的CDK亚型负责静止细胞的细胞周期活化, 以及细胞周期从G1到有丝分裂的进展。每个CDK激酶控制细胞周期的特定检查点。CDK激酶结合到细胞周期蛋白激活形成特定的复合体, 从而被激活。在许多人类癌症中, CDK过度活跃或CDK抑制的蛋白质不起作用。因此, 以CDK功能为靶标, 防止癌细胞不受控制的扩散是合理的 (Nature Reviews, 2009, 9, 153-166)。例如, CDK4是G1-S过渡期的关键调节器。在与细胞周期蛋白D的复合物中, CDK4可使Rb磷酸化, 驱动被p16所抑制的细胞周期进程。p16-CDK4-周期蛋白D-Rb复合体在大多数癌症中是反常的, 因此这是癌症治疗的一个引人注目的靶标。

[0003] 组蛋白去乙酰化酶 (HDACs) 是一类将乙酰基从核心组蛋白末端的赖氨酸尾部NH₂上去除的酶。目前已知有18种人组蛋白去乙酰化酶, 基于其附属结构可被分为四类。I类包括HDAC1、HDAC2、HDAC3和HDAC8, 并与酵母RPD3有同源性。HDAC4、HDAC5、HDAC7和HDAC9属于II类, 与酵母HDA1有同源性。HDAC6和HDAC10含有两个催化位点, 被归类为IIa类, 而HDAC11在其催化中心保存残留物, 由I类和II类乙酰共享, 有时放在IV类。组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (HDACIs) 正在成为一种新型的潜在抗癌药物, 并已被证明诱导分化, 细胞周期的停滞和凋亡, 并抑制迁移, 入侵和血管生成的许多癌细胞系。此外, HDAC抑制剂抑制动物模型中肿瘤的生长, 并在患者身上显示抗肿瘤活性。 (Mol. Cancer Res. October 2007, 5; 981)。

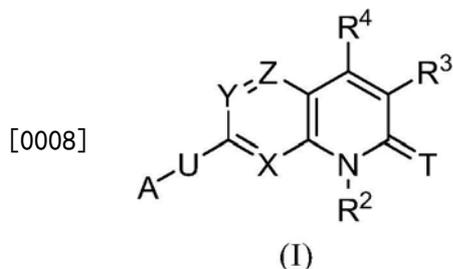
[0004] 也有越来越多的证据表明, HDAC抑制剂有潜在的治疗非恶性疾病应用于, 如治疗炎症和神经退行性疾病。

发明内容

[0005] 本发明提供新的杂环化合物及其用途, 例如作为蛋白质激酶抑制剂 (如CDKs) 和HDACs。

[0006] 本发明提供了分子式为 (I) 的化合物, 其非对映异构体或对映异构体, 当可能时, 包含其氘代衍生物, 和/或其相应的药学上可接受的盐, 前药, 水合物, 其溶剂化物。

[0007] 本发明的第一方面, 提供了一种如下式 (I) 所示的化合物, 或其在分子中任意可能的位点氘代的衍生物, 非对映异构体, 或对映异构体 (若有):



[0009] 或其相应的药学上可接受的盐、前药、水合物、或溶剂化物, 其中:

[0010] U为NR⁷、O或S;

[0011] 各个X、Y和Z各自独立地为N或CR⁸,且各个R⁸各自独立地为氢、卤素、C₁₋₈烷基、C₂₋₈烯基、C₂₋₈炔基、OR⁵、SR⁵、NR⁵R⁶、CN、C(O)R⁵,或C(O)OR⁵;

[0012] T为O;

[0013] R²为氢、C₁₋₈烷基、C₂₋₈烯基、C₂₋₈炔基、环烷基、杂环基、芳基,或杂芳基;

[0014] R³为氢、卤素、C₁₋₈烷基、C₂₋₈烯基、C₂₋₈炔基、环烷基、杂环基、芳基,杂芳基、CN、NO₂、(CR⁹R¹⁰)_mOR⁵、(CR⁹R¹⁰)_mSR⁵、(CR⁹R¹⁰)_mNR⁵R⁶、(CR⁹R¹⁰)_mC(O)R⁵、(CR⁹R¹⁰)_mC(O)OR⁵、(CR⁹R¹⁰)_mC(O)NR⁵R⁶、(CR⁹R¹⁰)_mOC(O)R⁵、(CR⁹R¹⁰)_mOC(O)OR⁵、(CR⁹R¹⁰)_mOC(O)NR⁵R⁶、(CR⁹R¹⁰)_mNR⁷C(O)R⁵、(CR⁹R¹⁰)_mNR⁷C(O)OR⁵、(CR⁹R¹⁰)_mNR⁷C(O)NR⁵R⁶、(CR⁹R¹⁰)_mS(O)R⁵,或(CR⁹R¹⁰)_mS(O)₂R⁵;

[0015] m为0、1、2或3;

[0016] R⁴为氢、卤素、C₁₋₈烷基、C₂₋₈烯基、C₂₋₈炔基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、OR⁵、NR⁵R⁶,或CN;

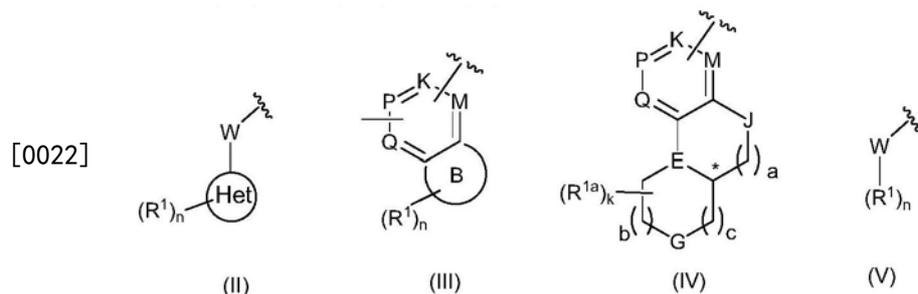
[0017] 各个R⁵和R⁶各自独立地为氢、C₁₋₈烷基、C₂₋₈烯基、C₂₋₈炔基、环烷基、杂环基、芳基,或杂芳基;

[0018] 或R⁵和R⁶与其相连的氮原子共同构成任选地具有0-3个额外的各自独立地选自N、O或S的杂原子的3-至9-元环;

[0019] R⁷为氢或C₁₋₄烷基;

[0020] 各个R⁹和R¹⁰各自独立地为氢或C₁₋₈烷基;或R⁹和R¹⁰与其相连的碳原子共同构成任选地具有0-3个额外的各自独立地选自N、O或S的杂原子的3-至9-元环;

[0021] A为式(II)、式(III)、式(IV)或式(V):



[0023] 其中:

[0024] “~”表示式(II)、式(III)、式(IV),或(V)与式(I)中的U相连的位点;

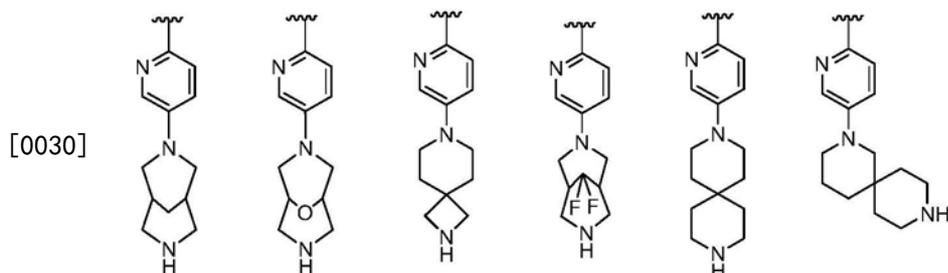
[0025] W为芳基或杂芳基;

[0026] 当提及式(II)时,Het是4-至15-元单环或多环的杂环或环烷基(其中多环的杂环或环烷基包含桥环结构或螺环结构),其各自独立地含有0-5个选自下组的杂原子:N、O、S、S(O)或S(O)₂;

[0027] n为0、1、2或3;

[0028] 各个R¹各自独立地为卤素、C₁₋₈烷基、C₂₋₈烯基、C₂₋₈炔基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、CN、OR⁵、SR⁵、NR⁵R⁶、C(O)R⁵、C(O)OR⁵、C(O)NR⁵R⁶、OC(O)R⁵、NR⁶C(O)R⁵、S(O)₂R⁵,或(CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH);条件是当n为1,R¹为(CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH);或当n为2或3,一个R¹为(CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH),且其余R¹选自除(CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH)之外的组;

[0029] 或当n为0,式(II)选自:



[0031] 各个p和q各自独立地为0、1、2、3、4、5、6、7、8、9,或10;

[0032] V为 CH_2 、 $\text{CH}=\text{CH}$ 、 $\text{C}\equiv\text{C}$ 、O、S、 NR^{13} 、 $\text{C}(\text{O})$ 、 $\text{OC}(\text{O})$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{O}$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{O}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NH}$ 、 $\text{NHC}(\text{O})$ 、 $\text{NHC}(\text{O})\text{NH}$ 、 $\text{S}(\text{O})_2$ 、 $\text{S}(\text{O})_2\text{NH}$ 、 $\text{NHS}(\text{O})_2$ 、 C_{1-8} 烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $\text{CR}^{14}\text{R}^{15}$ 、 V^1CH_2 tV^2 ;

[0033] R^{13} 为氢、 C_{1-4} 烷基、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^5$,或 $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^5$;

[0034] R^{14} 和 R^{15} 各自独立地为氢、卤素、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、 C_{2-4} 炔基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 CN 、 OR^5 、 SR^5 、 NR^5R^6 、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^5$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}^5$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^5\text{R}^6$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{R}^5$ 、 $\text{NR}^6\text{C}(\text{O})\text{R}^5$ 、 $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^5$;或 R^{14} 和 R^{15} 与其相连的碳原子共同构成任选地具有0-3个各自独立地选自N、O或S的杂原子的3-至9-元环;

[0035] V^1 和 V^2 各自独立地为 $\text{CH}=\text{CH}$ 、 $\text{C}\equiv\text{C}$ 、O、S、 NR^{13} 、 $\text{C}(\text{O})\text{NH}$ 、 $\text{NHC}(\text{O})$ 、 $\text{S}(\text{O})_2$ 、 $\text{S}(\text{O})_2\text{NH}$ 、 $\text{NHS}(\text{O})_2$ 、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基;

[0036] t为0、1、2、3、4、5;

[0037] 前提条件是V、 V^1 、 V^2 、p、q和t符合能够形成化学上稳定的结构的条件;

[0038] 当提及式(III)时,B是含有1-5个各自独立地为N、O或S的杂原子的5-至15-元环;

[0039] K、M、P和Q各自独立地为N或 CR^8 ;

[0040] n和 R^1 与式(II)中定义的相同;

[0041] 当提及式(IV)时,E为N或 CR^{11} ,其中 R^{11} 为氢、 C_{1-4} 烷基,或 OR^5 ;

[0042] J为O、S、 NR^{12} 、 CR^9R^{10} 、 $\text{C}(\text{O})$ 、 $\text{S}(\text{O})$ 、或 $\text{S}(\text{O})_2$;

[0043] G为 NR^{12} 、O、S、 $\text{S}(\text{O})$ 、 $\text{S}(\text{O})_2$,或 CR^9R^{10} ;

[0044] k为0、1、2或3;

[0045] 各个 R^{1a} 各自独立地为氢、卤素、 C_{1-4} 烷基;或两个 R^{1a} 与其相连的碳原子共同形成羰基(=O);

[0046] R^{12} 为氢原子、 C_{1-8} 烷基、 C_{2-8} 烯基、 C_{2-8} 炔基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^5$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}^5$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^5\text{R}^6$ 、 $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^5$,或 $(\text{CH}_2)_p\text{-V-(CH}_2)_q\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{OH})$;

[0047] 各个a、b和c各自独立地为0、1、2或3;

[0048] “*”表示手性中心;

[0049] 当提及式(V)时,W、n和 R^1 与式(II)中定义的相同;和

[0050] 其中每个烷基,烯基,炔基,环烷基,杂环基,芳基或杂芳基可任选并各自独立地被1-3个选自下组的取代基取代:卤素、 C_{1-8} 烷基、 C_{2-8} 烯基、 C_{2-8} 炔基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 CN 、 NO_2 、 OR^5 、 SR^5 、 NR^5R^6 、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^5$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}^5$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^5\text{R}^6$,或 $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^5$ 。

[0051] 除非另有说明,否则所述的芳基包含6-12个碳原子;杂芳基是5-至15-元杂芳基;

[0052] 环烷基是 C_{3-8} 环烷基;且杂环基是3-至12-元杂环基;

[0053] 在另一优选例中, R^2 为 C_{3-8} 环烷基; R^3 为 $\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-8}$ 烷基; R^4 为 C_{1-8} 烷基;X和Y均为N;Z为

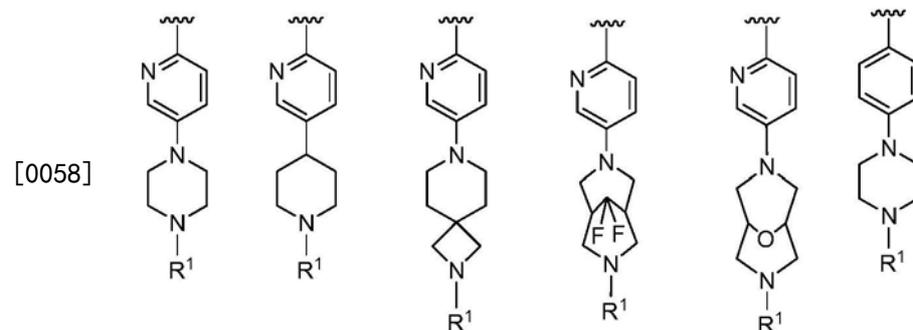
CH;且U为NH。

[0054] 在另一优选例中, R^2 为环戊基; R^3 为C(O)CH₃, R^4 为甲基; X和Y均为N; Z为CH;且U为NH。

[0055] 在另一优选例中,当提及式(II)时, Het是4-至8-元单杂环或含有1-4个各自独立地为N或O的杂原子的9-至15-元桥连或螺双环; n是1;且 R^1 为(CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH)。

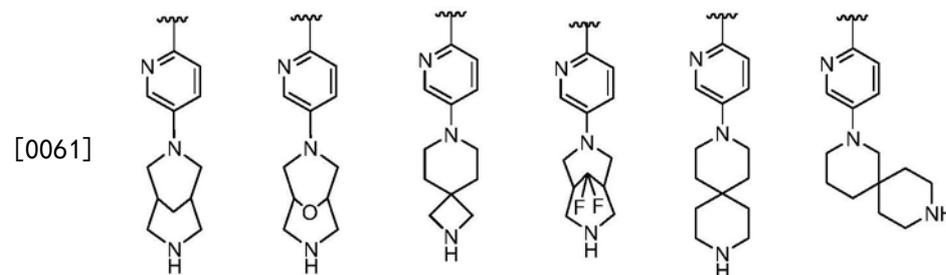
[0056] 在另一优选例中, W为苯基或吡啶基。

[0057] 在另一优选例中,式(II)为



[0059] 其中 R^1 为(CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH)。

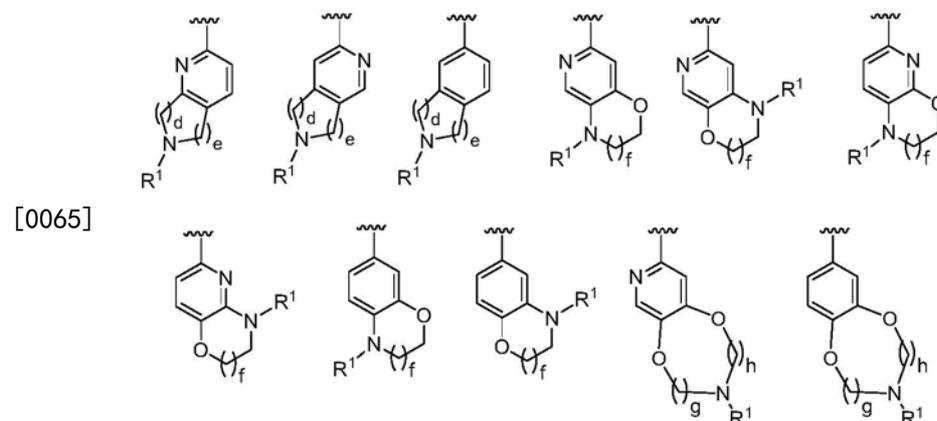
[0060] 在另一优选例中,式(II)为



[0062] 在另一优选例中,当提及式(III)时, B是含有1-4个各自独立地为N或O的杂原子的5-至12-元非芳香单环; n是1;且 R^1 为(CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH)。

[0063] 在另一优选例中,当提及式(III)时, K, M, P和Q中的至多一个为N。

[0064] 在另一优选例中,式(III)为



[0066] 其中

[0067] R^1 为(CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH) ;

[0068] 各个d和e各自独立地为0、1、2,或3,前提条件是d和e之和等于或大于2;

[0069] 各个f各自独立地为1、2或3;且

[0070] 各个g和h各自独立地为2、3或4。

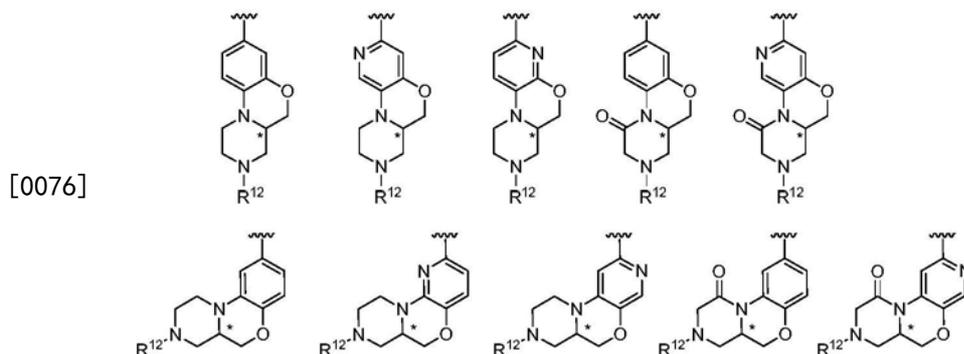
[0071] 在另一优选例中,当提及式(IV)时,其中K,M,P和Q中的至多一个为N。

[0072] 在另一优选例中,J为O、NH、NCH₃、NC(O)CH₃或CH₂;E为N;且G为NR¹²、O、S、S(O)、S(O)₂,或CR⁹R¹⁰;a、b和c各自独立地为1;R⁹、R¹⁰和R¹²如权利要求1中所述。

[0073] 在另一优选例中,J为O;E为N;且G为NR¹²或O;a、b和c各自独立地为1;k为0、1,或2;R^{1a}各自独立地为氢;或两个R^{1a}与其相连的碳原子共同形成羰基(C=O);

[0074] R¹²为氢原子、C₁₋₄烷基、C₂₋₄烯基、C₂₋₄炔基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、C(O)R⁵、C(O)OR⁵、C(O)NR⁵R⁶、S(O)₂R⁵,或(CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH)。

[0075] 在另一优选例中,式(IV)为:



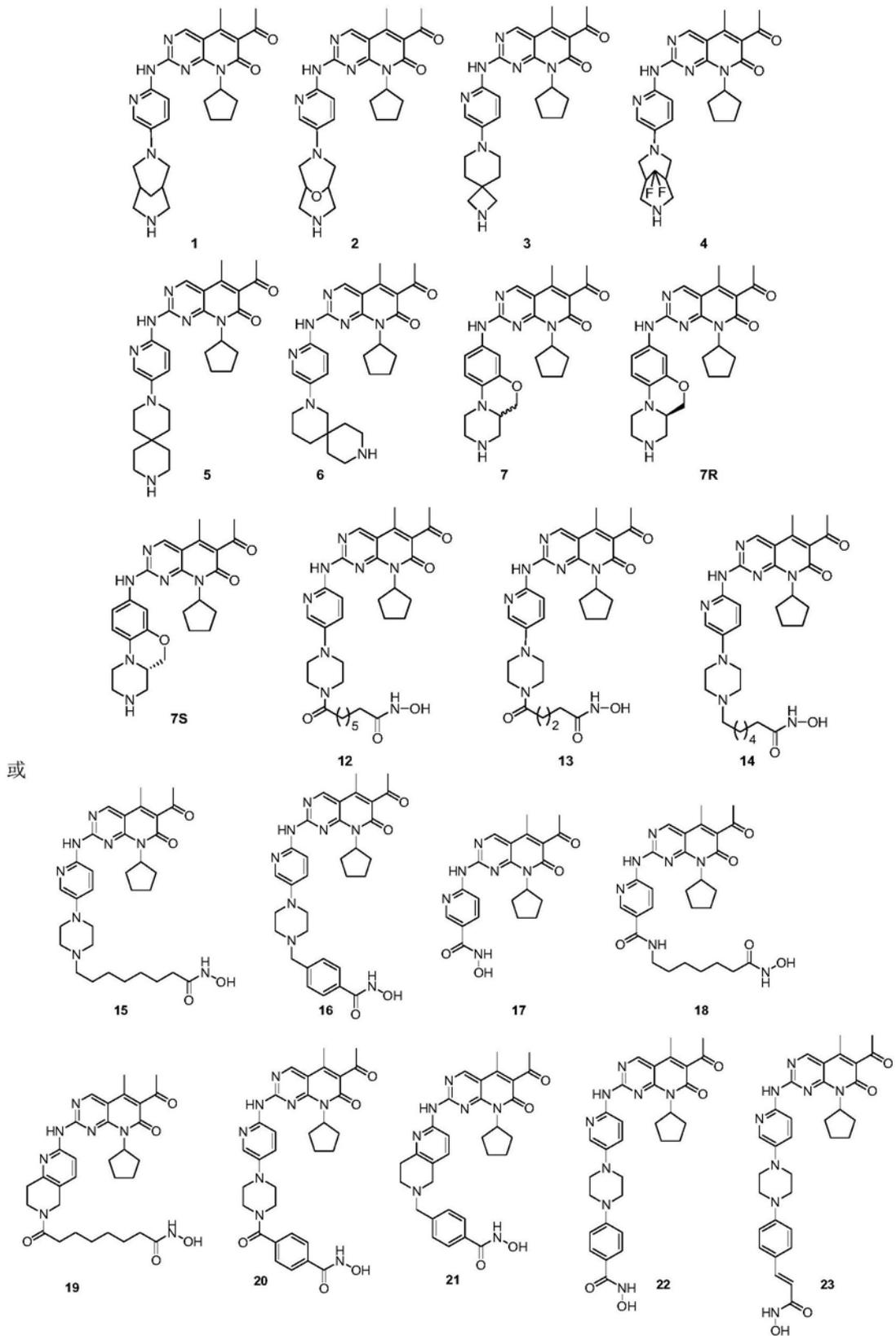
[0077] 其中R¹²如权利要求13中所述。

[0078] 如权利要求1-3中任一所述的化合物,其特征在于,式(V)中的W为苯基或吡啶基,n为1,且R¹为(CH₂)_p-V-(CH₂)_qC(O)NH(OH)。

[0079] 如权利要求1-6和8-15中任一所述的化合物,其特征在于,各个p和q各自独立地为0、1、2、3、4、5、6,或V为CH₂、CH=CH、C≡C、O、NR¹³、C(O)、C(O)O、C(O)NH、S(O)₂、S(O)₂NH,环烷基,杂环基,芳基,杂芳基,V¹(CH₂)_tV²;其中V¹和V²各自独立地为CH=CH、O、NR¹³,环烷基,杂环基,芳基,杂芳基;t为0、1、2,或3;且R¹³为氢、C₁₋₄烷基;限制条件是V、V¹、V²、p、q和t的选择符合能够形成化学上稳定的结构的条件。

[0080] 在另一优选例中,所述的式(I)化合物为:

[0081]



[0082] 本发明的第二方面,提供了一种药物组合物,包括如本发明第一方面所述的化合物,和药学上可接受的载体或赋形剂。

[0083] 本发明的第三方面,提供了一种如本发明第一方面所述的化合物在制备用于治疗 和/或预防由细胞周期蛋白依赖性激酶或组蛋白脱乙酰酶介导的疾病或病症的药物组合物

中的用途。

[0084] 本发明的第四方面,提供了一种治疗受试者中由细胞周期蛋白依赖性激酶或组蛋白脱乙酰酶介导的疾病或病症的方法,包括向有此需要的受试者施用治疗有效量的如本发明第一方面中所述的化合物,或如本发明第二方面所述的组合物。

[0085] 在另一优选例中,所述的疾病或病症选自下组:乳腺癌,淋巴瘤,白血病,肺癌,卵巢癌,肝癌,黑色素瘤,结肠癌,直肠癌,肾细胞癌,小肠癌、食道癌,膀胱癌,前列腺癌,或咽癌。

[0086] 应当理解,在本发明中,上下文具体描述的技术特征(例如实施例)可以相互组合,从而构成一种新的或优选的技术方案,不需要特别说明。

[0087] 本发明的详细描述

[0088] 定义

[0089] 如本文所用,除非另外明确指出,否则使用术语“一”,“一个”等是指一个或多个。

[0090] 如本文所使用的,词语“或”具有“或”和“和”的含义,并且等同于“和/或”-除非另外明确限于“或”。

[0091] 如本文所用,除非另有说明,否则本发明中的化合物的手性碳原子(或手性中心)任选地为R型,S型或其组合。

[0092] 如本文所用,除非另有说明,否则术语“烷基”本身或作为另一取代基(其可包括“烷基”的短形式,例如烷氧基)的一部分是指直链(即非支链)、支链或环状烃基或其组合,其可以是完全饱和的,单或多不饱和的并且可以包括二价和多价基团。当烷基之前有碳原子数修饰时,例如C₁₋₁₀时,其表示烷基含有1-10个碳原子。例如,C₁₋₈烷基的实例可以包括具有1-8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,仲丁基和叔丁基。

[0093] 如本文所用,术语“烯基”本身或作为另一个取代基的一部分是指具有至少一个碳-碳双键的直链或支链烃基。具有一个双键的烯基可以表示为-C_nH_{2n-1},具有两个双键的表示为-C_nH_{2n-3}。当一个烯基前面有碳原子数修饰,例如C₂₋₈时,它表示烯基含有2-8个碳原子。例如,C₂₋₈烯基的实例可以包括乙烯基,烯丙基,1,2-丁烯基,2,3-丁烯基和丁二烯基等。

[0094] 如本文所用,术语“炔基”本身或作为另一个取代基的一部分是指具有至少一个碳-碳三键的脂族烃基。炔基可以是直链或支链或其组合。在一些实施方案中,其可以包含2至12(例如2至8,2至6或2至4)个碳原子。当炔基的前面有碳原子数修饰时,例如C₂₋₈时,它表示炔基含有2-8个碳原子。炔基(例如C₂₋₈炔基)的实例可以包括乙烯基,丙炔基,异丙炔基,1-丁炔基,异丁炔基和仲丁炔基等。

[0095] 如本文所用,术语“环烷基”本身或作为另一取代基的一部分是指饱和或部分饱和的碳环单环,双环或三环(稠合或桥接或螺旋)环系。它可以含有3至12(例如3至10,或5至10)个碳原子。当环烷基前面有碳原子数修饰时,例如C₃₋₁₀,这意味着环烷基含有3至10个碳原子。在一些实施方案中,术语“C₃₋₁₀环烷基”可指含有3至10个碳原子的饱和或部分饱和的单环或双环烷基环系,例如环丙基,环丁基,环戊基,环己基和环庚基。以下是一些环烷基的例子。

个环例如环烷基结合形成螺状双环体系,例如两个环共享一个共同的原子。如本领域普通技术人员将认识到的,本发明所设想的取代基的组合是导致形成稳定或化学上可行的化合物的那些组合。取代基的实例包括但不限于C₁₋₈烷基,C₂₋₈烯基,C₂₋₈炔基,C₃₋₁₀环烷基,C₁₋₈烷氧基,卤素,羟基,羧基(-COOH),C₁₋₈醛,C₂₋₁₀酰基,C₂₋₁₀酯,氨基,酰氨基,苯基。例如,苯基可以任选被1-3个取代基取代,所述取代基各自独立地为卤素,C₁₋₁₀烷基,氰基,OH,硝基,C₃₋₁₀环状烃基,C₁₋₈烷氧基或氨基。

[0114] 为了方便和通常理解,术语“任选取代的”仅适用于可以用合适的取代基取代的化学实体,而不适用于不能化学取代的化学实体。

[0115] 除非特别另外定义,否则本文使用的所有术语具有本领域技术人员已知的其通常含义。

[0116] 在一个优选的实施方案中,式(I)的化合物选自上文所示的化合物。

[0117] 在一个优选实施例中,在式(I)中的每一个R¹,R^{1a},R²,R³,R⁴,R⁵,R⁶,R⁷,R⁸,R⁹,R¹⁰,R¹¹,R¹²,R¹³,R¹⁴,和R¹⁵,独立地选自上述具体化合物所包括的相应基团。

[0118] 应该理解,式(I)化合物的富含氘的衍生物或不同晶型也落入本申请的范围。

[0119] 本发明化合物的一般合成方案

[0120] 缩写

[0121] Boc₂O=二碳酸二叔丁酯

[0122] Cs₂CO₃=碳酸铯

[0123] DAST=二乙基氨基三氟化硫

[0124] DCM=二氯甲烷

[0125] DIPEA=N,N-二异丙基胺

[0126] DMAP=4-二甲基氨基吡啶

[0127] DMF=N,N-二甲基甲酰胺

[0128] DMSO=二甲基亚砷

[0129] e. e. =对映体过量百分数

[0130] EtOAc or EA=乙酸乙酯

[0131] HATU=(1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化六氟磷酸盐)

[0132] MgCl₂=氯化镁

[0133] NH₄HCO₃=碳酸氢铵

[0134] Pd(OAc)₂=乙酸钯(II)

[0135] Pd₂dba₃=三(二亚苄基丙酮)钯(0)

[0136] PE=石油醚

[0137] RT=室温

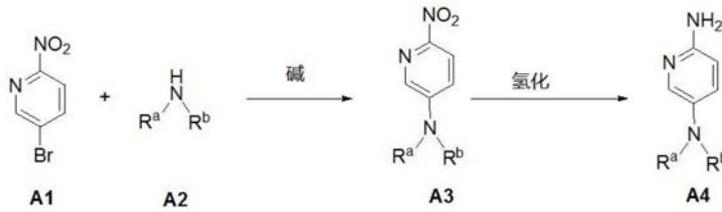
[0138] TEA=三乙胺

[0139] TFA=三氟乙酸

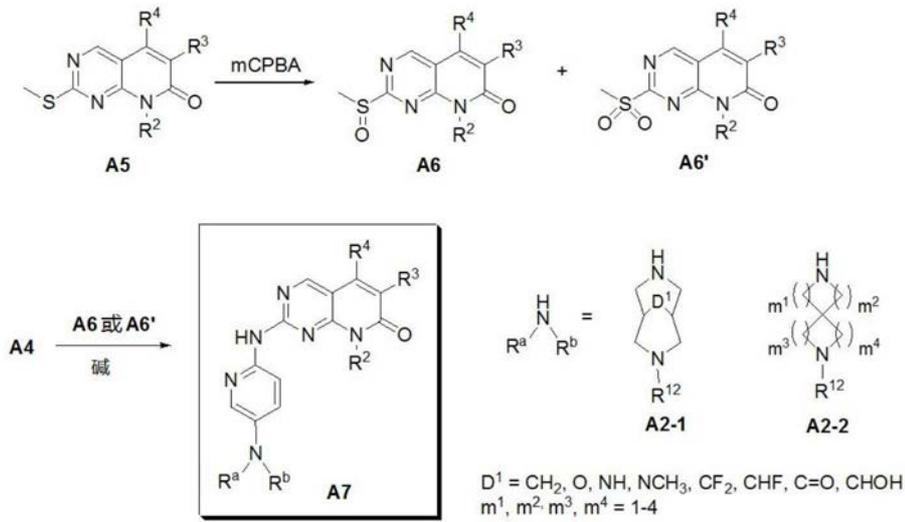
[0140] 通常,反应在惰性溶剂中,在-40至回流温度(例如100或120℃)的温度下进行,反应时间为1分钟至72小时,优选0.1-24小时或0.2-12小时。示例性的溶剂和温度是在实施例中使用的那些。

[0141] 方案A显示化合物A7的通用合成。

[0142] 方案A:

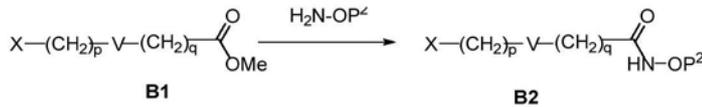


[0143]

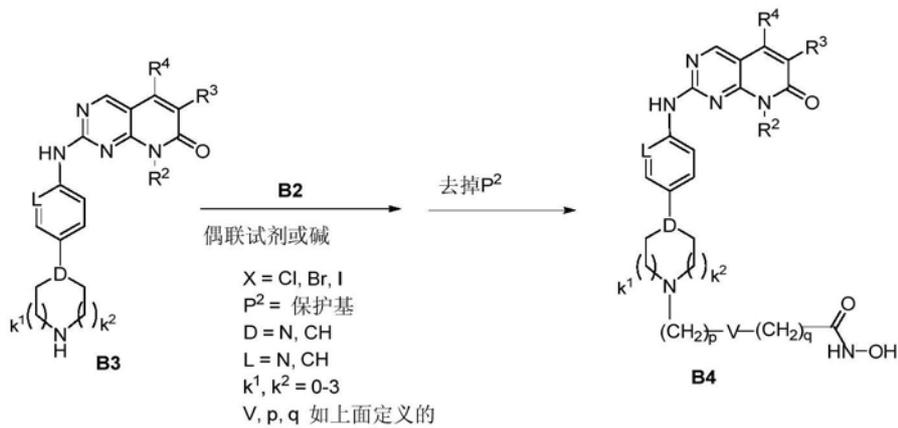


[0144] 方案B显示化合物B4的通用合成。

[0145] 方案B

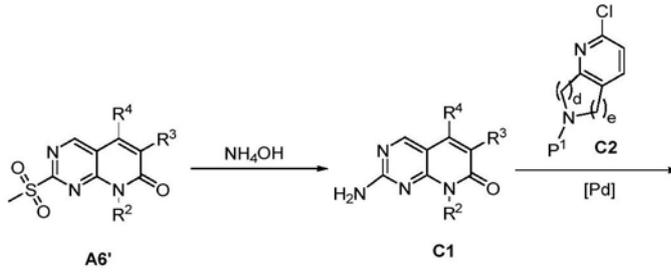


[0146]

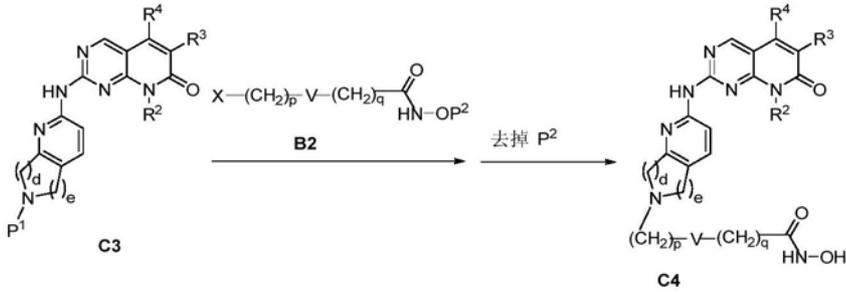


[0147] 方案C显示化合物C4的通用合成。

[0148] 方案C:

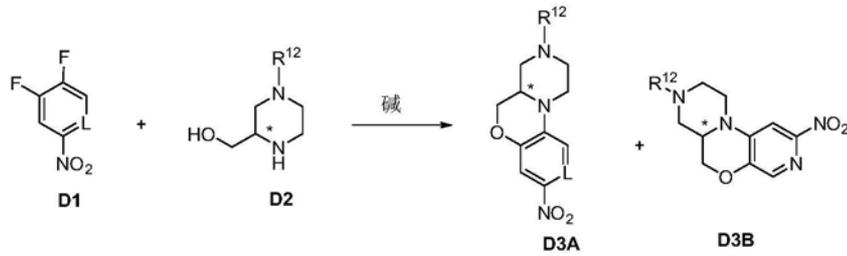


[0149]

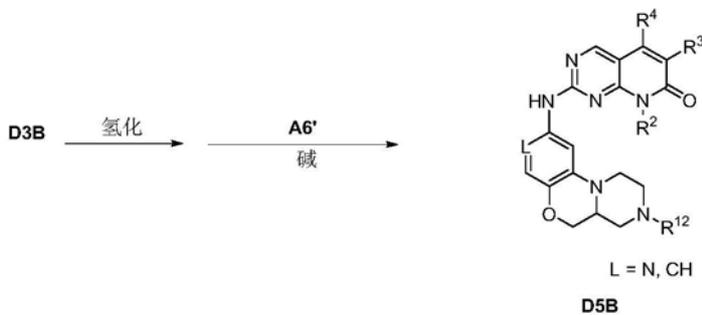
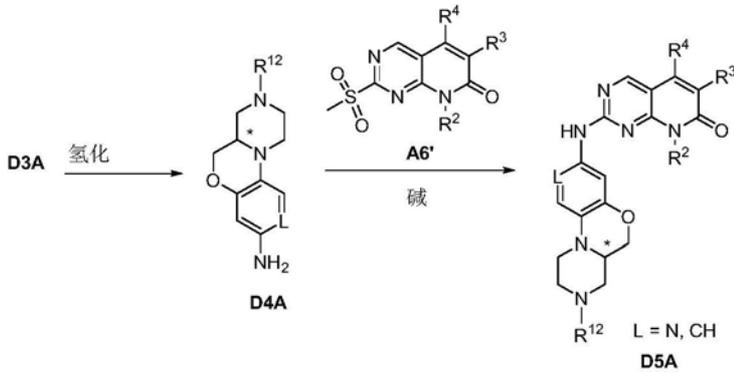


[0150] 方案D显示化合物D5A和D5B的通用合成。

[0151] 方案D:

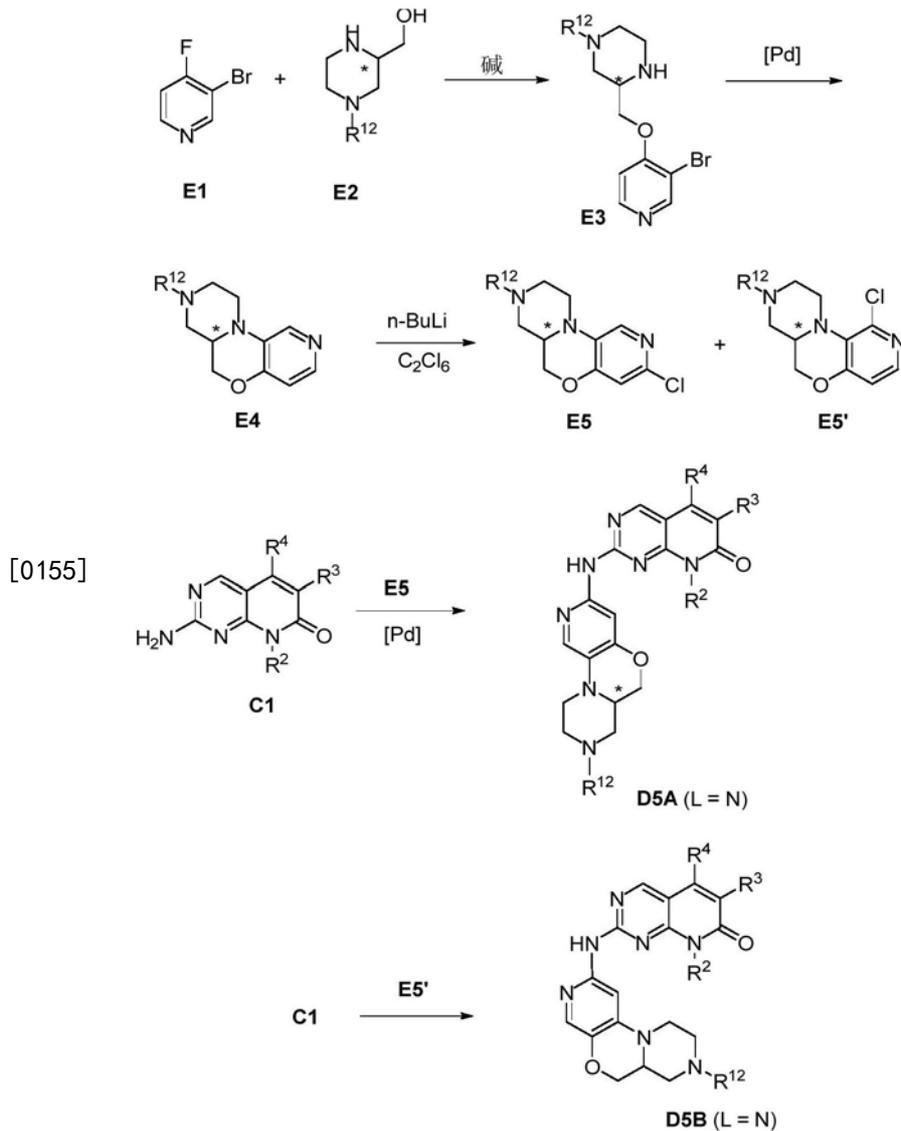


[0152]



[0153] 或者,化合物D5A (L=N) 和D5B (L=N) 可根据方案E来制备。

[0154] 方案E:



[0156] 药物组合物及其施用

[0157] 本发明提供的化合物可用作激酶抑制剂,特别是作为CDK4和/或CDK6抑制剂和/或HDAC抑制剂。因此,这些化合物对癌症具有优异的治疗效果。

[0158] 本发明的药物组合物包含 (i) 安全有效量的本发明化合物或其药学上可接受的盐和 (ii) 药学上可接受的赋形剂或载体。如本文所用,术语“安全有效量”是指足以改善患者病症且不会引起任何严重副作用的化合物的量。通常,药物组合物含有0.01-100毫克本发明化合物/剂量,优选0.10-10毫克本发明化合物/剂量。在一些实施方案中,“一剂”是指胶囊或片剂。

[0159] “药学上可接受的载体”是指一种或多种适用于人类的相容性固体或液体填充剂或凝胶材料,并且通常必须具有足够的纯度和足够低的毒性。如本文所用的术语“相容性”是指组合物的组分可以与本发明的化合物或彼此共混,并且不会显着降低化合物的功效。药学上可接受的载体的实例包括但不限于纤维素及其衍生物(如羧甲基纤维素钠,乙基纤维素钠,乙酸钠等),明胶,滑石粉,固体润滑剂(如硬脂酸和硬脂酸镁),硫酸钙,植物油(如大豆油,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)试剂(如十二烷基硫酸钠),着色剂,调味剂,稳定剂,抗氧化剂,防腐剂和无热原

水。

[0160] 对本发明化合物或药物组合物的给药途径没有特别的限制。代表性的给药途径包括但不限于：口服，肠胃外（静脉内，肌内或皮下）和局部给药。

[0161] 用于口服给药的固体剂型包括胶囊，片剂，丸剂，粉剂和颗粒剂。在这些固体剂型中，将活性化合物与至少一种常规惰性赋形剂（或载体）例如柠檬酸钠或磷酸二钙混合或与以下组分混合：(a) 填充剂或相容剂，例如淀粉，乳糖，蔗糖，葡萄糖，甘露糖醇和硅酸；(b) 粘合剂，例如羟甲基纤维素，藻酸盐，明胶，聚乙烯吡咯烷酮，蔗糖和阿拉伯胶；(c) 保湿剂，如甘油；(d) 崩解剂如琼脂，碳酸钙，马铃薯淀粉或木薯淀粉，海藻酸，某些复合硅酸盐和碳酸钠；(e) 溶解阻滞剂，例如石蜡；(f) 吸收促进剂，例如季铵化合物；(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) 润滑剂如滑石，硬脂酸钙，硬脂酸镁，固体聚乙二醇，月桂基硫酸钠或其混合物。在胶囊，片剂和丸剂中，剂型还可以含有缓冲剂。

[0162] 固体剂型例如片剂，糖丸，胶囊剂，丸剂和颗粒剂可以通过使用包衣和壳材料（例如肠溶衣和本领域已知的其他材料）来制备。它们可以含有不透明的试剂，并且在这种组合物中活性化合物或化合物的释放可以延迟在消化道的某些部分中释放。嵌入组分的实例可以是聚合物和蜡。如果需要，可以将活性化合物和一种或多种上述赋形剂制备成微胶囊。

[0163] 用于口服给药的液体剂型包括药学上可接受的乳剂，溶液剂，混悬剂，糖浆剂或酞剂。除了活性化合物以外，液体剂型还可以含有本领域已知的常规惰性稀释剂，例如水或其它溶剂，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，3-丁二醇，二甲基甲酰胺以及油，特别是棉籽油，花生油，玉米胚芽油，橄榄油，蓖麻油和芝麻油，或其混合物等。

[0164] 除了惰性稀释剂之外，组合物还可以含有添加剂，例如润湿剂，乳化剂和悬浮剂，甜味剂，调味剂和香料。

[0165] 除活性化合物外，悬浮液可含有悬浮剂，例如乙氧基化异十八醇，聚氧乙烯山梨糖醇和脱水山梨糖醇酯，微晶纤维素，甲醇铝和琼脂，或其混合物等。

[0166] 用于肠胃外注射的组合物可包含生理上可接受的无菌水溶液或无水溶液，分散液，悬浮液或乳液，以及可重新溶解于无菌注射液或分散液中的无菌粉末。合适的水性和非水性载体，稀释剂，溶剂或赋形剂包括水，乙醇，多元醇及其合适的混合物。

[0167] 用于局部给药的本发明化合物的剂型包括软膏剂，粉剂，贴剂，气雾剂和吸入剂。在无菌条件下，活性成分与生理上可接受的载体和任何防腐剂，缓冲剂或推进剂（如果需要的话）混合。

[0168] 本发明的化合物可以单独施用，或者与其他药学上可接受的化合物组合施用。

[0169] 当使用药物组合物时，将安全有效量的本发明化合物给药或递送至有需要的哺乳动物（例如人），其中给药剂量为药学有效量。对于体重约60公斤的人，日剂量通常为1至2000毫克，优选20至500毫克。当然，特定剂量还应该取决于其他因素，例如施用途径，患者健康状况等，这些都在熟练医师的技术范围内。

[0170] 本发明的化合物和药物组合物可以用于治疗癌症。如本文所用，术语“癌症”意指包括所有类型的癌性生长或致癌过程，转移性组织或恶性转化的细胞，组织或器官，而不考虑组织病理学类型或侵袭阶段。癌性疾病的实例包括但不限于实体瘤，软组织肿瘤和转移性病变。实体瘤的例子包括恶性肿瘤，例如恶性肿瘤，诸如影响前列腺，肺，乳房，淋巴，胃

肠(例如结肠)和泌尿生殖道(例如肾,尿道上皮细胞),咽的各种器官系统,肉瘤,腺癌和癌。腺癌包括恶性肿瘤,例如大多数结肠癌,直肠癌,肾细胞癌,肝癌,肺的非小细胞癌,小肠癌和食道癌。使用本发明的方法和组合物也可以治疗或预防上述癌症的转移性损害。本发明方法可用于治疗各种器官系统的恶性肿瘤,例如影响肺癌,乳腺癌,淋巴瘤,胃肠(例如结肠癌),膀胱癌,泌尿生殖道癌(例如前列腺癌),咽癌以及腺癌的恶性肿瘤,其包括恶性肿瘤如大多数结肠癌,肾细胞癌,前列腺癌和/或睾丸肿瘤,肺的非小细胞癌,小肠癌和食道癌。癌症的例子包括但不限于乳腺癌,淋巴瘤,肺癌,卵巢癌,肝癌黑素瘤,结肠癌,直肠癌,肾细胞癌,小肠癌和食管癌,膀胱癌癌症,前列腺癌或咽癌等。

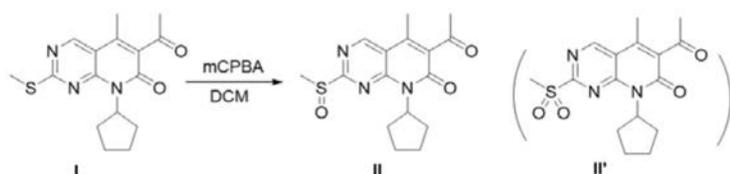
[0171] 本发明的主要优点至少包括以下内容:

[0172] 本发明提供可用作激酶抑制剂和/或组蛋白脱乙酰酶抑制剂的新型杂环化合物;

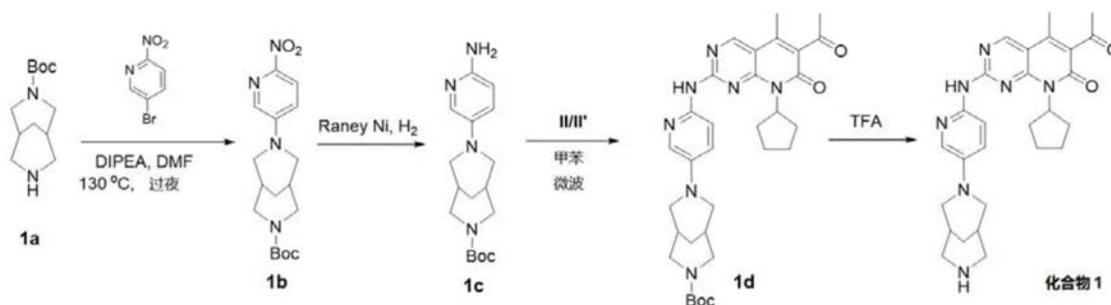
[0173] 本发明揭示了这些新颖的式(I)杂环化合物对抑制CDK4,CDK6和/或HDACs的活性具有突出的作用。

[0174] 下面参照具体实施例进一步说明本发明。应该理解的是,这些实施例仅用于说明本发明,而不是限制本发明的范围。除非另有说明,份数和百分比按重量计算。

[0175] 实施例1. 制备2-(5-(3,7-二氮杂双环[3.3.1]壬烷-3-基)吡啶-2-基氨基)-6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮(化合物1)



[0176]



[0177] 在0°C和氮气保护下,向化合物I(430mg,1.35mmol根据J. Med. Chem., 2005, 48 (7), 2371-2387的方法制备)的二氯甲烷(25mL)混合物中分批加入间氯过苯甲酸(mCPBA, >95%, 245mg, 1.35mmol)。将该混合物在室温下搅拌3小时,然后倒入饱和NaHCO₃水溶液中(100mL),并用二氯甲烷(3×100mL)萃取。将合并的有机溶液用MgSO₄干燥,真空浓缩,得到黄色油状物,然后通过快速色谱法(25%EtOAc的石油醚溶液)纯化,得到化合物II和II'(300mg,产率75%)的混合物为黄色固体。化合物II/II'的混合物不经进一步分离而用于下一步。II:ESI⁺m/z 334.1 (M+1); II':ESI⁺m/z 350.1 (M+1)。

[0178] 将5-溴-2-硝基吡啶(322mg, 1.59mmol), 3-Boc-3,7-二氮杂双环[3.3.1]壬烷盐酸盐(1a, 500mg, 1.90mmol)和DIPEA(960mg, 7.44mmol)在DMF(5mL)中的混合物在120°C下搅拌3小时。通过LC-MS检测所需化合物,并通过制备-HPLC直接纯化反应混合物,得到黄色固体化合物3-叔丁氧羰基-7-(6-硝基吡啶-3-基)-3,7-二氮杂双环[3.3.1]壬烷(1b)(258mg,收率47%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ(ppm) 8.14(d, J=9.2Hz, 1H), 8.10(d, J=2.8Hz, 1H),

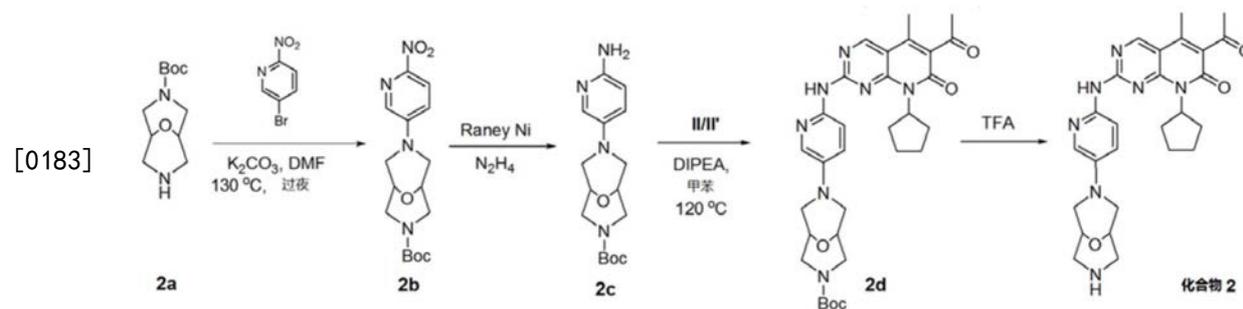
7.18 (dd, $J=9.2\text{Hz}$ and 2.8Hz , 1H), 4.45 (d, $J=13\text{Hz}$, 1H), 4.22 (d, $J=13\text{Hz}$, 1H), 4.04 (d, $J=13\text{Hz}$, 1H), 3.92 (d, $J=13\text{Hz}$, 1H), 3.28 (d, $J=13\text{Hz}$, 1H), 3.23 (d, $J=13\text{Hz}$, 1H), 3.14 (d, $J=13\text{Hz}$, 1H), 3.01 (d, $J=13\text{Hz}$, 1H), 2.17–2.08 (m, 2H), 2.00–1.90 (m, 2H), 1.13 (s, 9H); ESI⁺ m/z 371.1 (M+23 (Na⁺)), 293.1 (M-55)。

[0179] 在0℃下,向化合物1b (250mg, 0.718mmol) 和Raney镍 (100mg) 的甲醇 (50mL) 混合物中加入水合肼 (50mg), 并将混合物在室温搅拌1小时。然后将反应混合物通过硅藻土过滤。将滤液浓缩并将残余物用二氯甲烷 (3×40mL) 萃取。将合并的有机溶液用Na₂SO₄干燥并真空浓缩, 得到棕色固体化合物3-叔丁氧羰基-7-(6-氨基吡啶-3-基)-3,7-二氮杂双环[3.3.1]壬烷 (1c) (190mg, 产率87%)。ESI⁺ m/z 319.2 (M+1)。

[0180] 将3-叔丁氧羰基-7-(6-氨基吡啶-3-基)-3,7-二氮杂双环[3.3.1]壬烷 (1c) (190mg, 0.597mmol) 和II/II' (200 mg, ~0.6 mmol) 在甲苯 (20mL) 中的混合物在100℃下搅拌过夜。真空除去挥发物, 残余物经制备HPLC纯化, 得到白色固体的标题化合物1d (28mg, 产率8%)。ESI⁺ m/z 588.3 (M+1)。

[0181] 向化合物1d (28mg, 0.048mmol) 的二氯甲烷 (5mL) 溶液中加入三氟乙酸 (1mL)。将反应混合物在室温下搅拌3小时。在真空中除去挥发物, 并将残余物加入到饱和NaHCO₃水溶液中 (~4 mL, pH ~7)。混合物直接用制备HPLC纯化 (柱子: XbridgePrep C18 10um OBD, 19*250mm; 移动相: A: 水+10mm (NH₄HCO₃), B: 乙腈; 从32–52%B 10分钟梯度洗脱), 得到黄色固体化合物1 (12mg, 收率51%) (游离碱)。¹H-NMR (500MHz, CD₃OD) δ (ppm) 8.95 (s, 1H), 8.12 (d, $J=3.0\text{Hz}$, 1H), 8.01 (d, $J=9.0\text{Hz}$, 1H), 7.61 (dd, $J=9.0\text{Hz}$ and 3.0Hz , 1H), 5.99–5.95 (m, 1H), 3.89 (d, $J=12\text{Hz}$, 2H), 3.30–3.28 (m, 2H), 3.13–3.10 (m, 4H), 2.50–2.46 (m, 1H), 2.40 (s, 3H), 2.39–2.32 (m, 2H), 2.06–1.75 (m, 10H), 1.74–1.63 (m, 2H); ESI⁺ m/z 488.4 (M+1)。

[0182] 实施例2.2-(5-(9-氧杂-3,7-二氮杂双环[3.3.1]壬烷-3-基)吡啶-2-基氨基)-6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮的制备 (化合物2)



[0184] 将5-溴-2-硝基吡啶 (250mg, 1.24mmol), 碳酸钾 (342mg, 2.48mmol) 和3-Boc-9-氧杂-3,7-二氮杂双环[3.3.1]壬烷 (2a) (339mg, 1.49mmol) 在DMF (4mL) 中的混合物于120℃搅拌过夜。所得混合物用水稀释并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机溶液用Na₂SO₄干燥并真空浓缩。残余物用石油醚/乙酸乙酯重结晶, 得到棕色固体化合物2b (240mg, 产率55%)。ESI⁺ m/z 373.0 (M+23 (Na⁺)) (两个异构体在TLC上有相同的极性, 保留时间: 异构体1: 1.12分钟, 66%, 异构体2: 1.24分钟, 33%)。

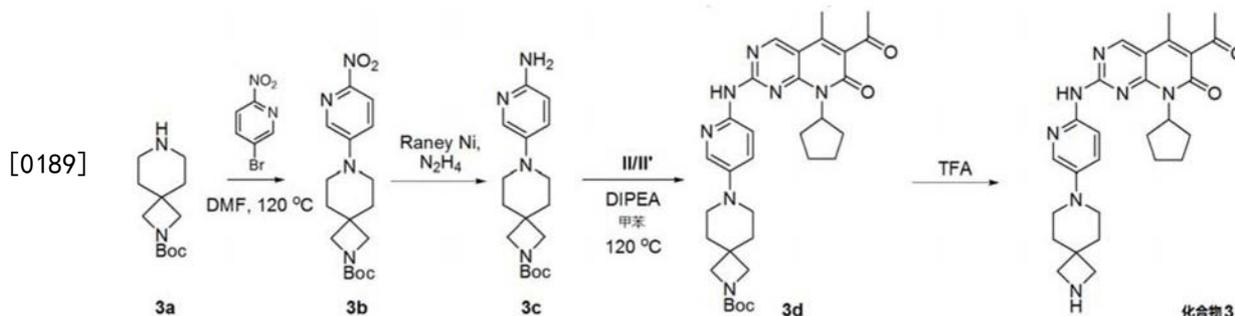
[0185] 将化合物2b (240mg, 0.68mmol, 两种异构体), Raney镍 (5.87mg, 0.10mmol) 和水合肼 (34.0mg, 0.68mmol) 在甲醇 (15mL) 中的混合物在室温下搅拌一小时。通过硅藻土过滤得

到的混合物,真空浓缩滤液,得到3-Boc-7-(6-氨基吡啶-3-基)-9-氧杂-3,7-二氮杂双环[3.3.1]壬烷(2c)(210mg,产率95%),为深黄色固体,其未经进一步纯化即用于下一步骤:ESI⁺m/z 321.1(M+1)(两个异构体在TLC上有相同的极性,保留时间:异构体1:1.17分钟,72%,异构体2:1.11分钟,27%)。

[0186] 中间体II/II'(200mg,0.60mmol)、化合物2c(210mg,0.66mmol,两种异构体)和DIPEA(116mg,0.90mmol)的甲苯(3mL)混合物在120℃下搅拌过夜。真空除去挥发物,残余物通过制备型HPLC纯化,得到黄色固体化合物2d(57mg,16%产率)。ESI⁺m/z 590.2(M+1)(两个异构体在TLC上有相同的极性,保留时间:异构体1:1.88分钟,76%,异构体2:1.91分钟,23%)。

[0187] 在室温下将化合物2d(57mg,0.10mmol)和TFA(1mL)的DCM(3mL)混合物搅拌过夜。真空除去挥发物,残余物经制备HPLC纯化,得到黄色固体化合物2(44mg)。使用手性HPLC(柱:CHIRALPAK AY-H 20*250mm,5μm(Daicel);流动相:100%乙醇(0.1%DEA))进一步纯化混合物以得到化合物2(30mg,产率61%)为黄色油(游离碱)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ(ppm) 8.80(s,1H),8.22(d,J=9.0Hz,1H),8.04(d,J=3.0Hz,1H),7.92(s,1H),7.36-7.26(m,1H),5.91-5.86(m,1H),3.89(m,2H),3.62(d,J=11.7Hz,2H),3.45(d,J=13.6Hz,2H),3.35(d,J=11.0Hz,2H),3.12(d,J=14.0Hz,2H),2.55(s,3H),2.38-2.31(m,5H),2.08-2.04(m,2H),1.91-1.85(m,2H),1.72-1.68(m,2H);ESI⁺m/z 489.9(M+1)(保留时间:7.19分钟)。

[0188] 实施例3.2-(5-(2,7-二氮杂螺[3.5]壬-7-基)吡啶-2-基氨基)-6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮的制备(化合物3)



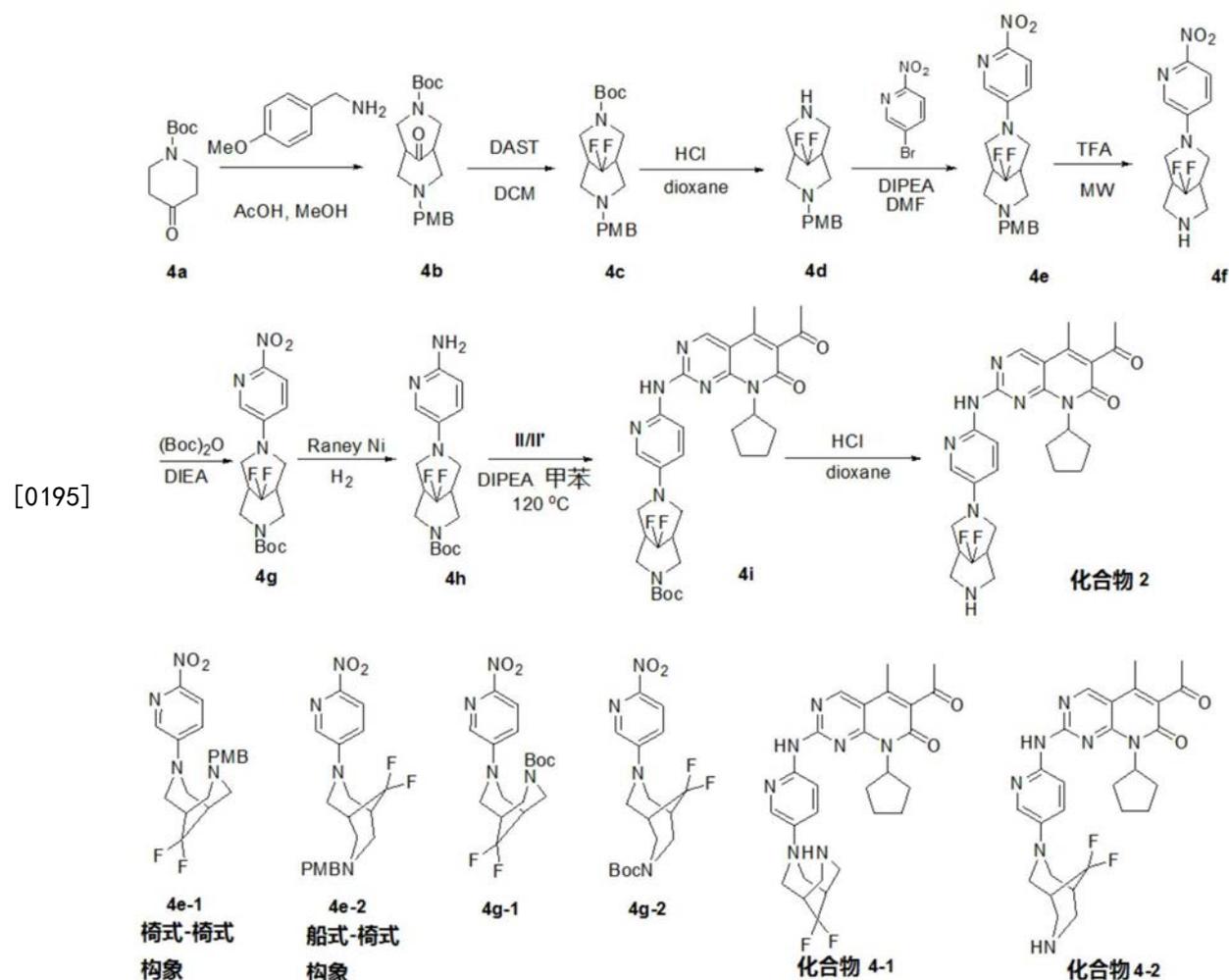
[0190] 将5-溴-2-硝基吡啶(400mg,1.77mmol),将2-Boc-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷(3a)(428mg,2.12mmol)和DIPEA(685mg,5.31mmol)的DMF(4mL)溶液在120℃搅拌过夜。所得混合物用水(50mL)稀释并用乙酸乙酯(3×30mL)萃取。将合并的有机溶液用Na₂SO₄干燥并真空浓缩。残余物用石油醚/乙酸乙酯重结晶,得到黄色固体化合物3b(737mg)。ESI⁺m/z 349.1(M+1),293.2(M-55)。

[0191] 将2-叔丁氧羰基-7-(6-硝基吡啶-3-基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷(3b)(0.45g,70%,0.91mmol),Raney镍(5.9mg,0.10mmol)和水合肼(45.2mg,0.91mmol)的甲醇(15mL)溶液在室温下搅拌1小时。通过硅藻土过滤后,滤液浓缩,得到粗化合物3c(280mg,两步收率30%),为黄色固体:ESI⁺m/z 319.4(M+1)。

[0192] 将II/II'(200mg,~0.6mmol)和2-叔丁氧羰基-7-(6-氨基吡啶-3-基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷(3c)(280mg,0.78mmol)和N,N-二异丙基乙胺(116mg,0.90mmol)的甲苯(3mL)混合物在120℃下搅拌过夜。真空除去挥发物后,剩余物用制备HPLC纯化得到黄色固体化合物3d(40mg,产率11%)。ESI⁺m/z 588.3(M+1)。

[0193] 化合物3d (30mg, 0.05mmol) 和三氟乙酸 (11mg, 0.10mmol) 在二氯甲烷 (1.5mL) 中的混合物在室温下搅拌过夜。真空除去挥发物后, 剩余物用制备HPLC (制备柱: Xbridge Prep C18 10um OBD, 19*250mm; 流动相: A: H₂O (0.01% NH₃) + 10mm (NH₄HCO₃), B: 乙腈; 32-62% 的溶剂B在10分钟内梯度) 纯化, 得到黄色固体化合物3 (5.6mg, 产率23%) (游离碱): ¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.83 (s, 1H), 8.26 (br s, 1H), 8.15 (d, J=9.2Hz, 1H), 8.06 (d, J=2.8Hz, 1H), 7.34 (dd, J=9.2Hz and 2.8Hz, 1H), 5.88 (m, 1H), 3.60-3.40 (m, 4H), 3.18-3.05 (m, 4H), 2.56 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 2.39-2.25 (m, 2H), 2.18-2.05 (m, 2H), 2.04-1.96 (m, 4H), 1.95-1.80 (m, 2H), 1.78-1.62 (m, 2H); ESI⁺m/z 488.3 (M+1)。

[0194] 实施例4.6-乙酰基-8-环戊基-2-(5-(9,9-二氟-3,7-二氮杂双环[3.3.1]壬-7-基)吡啶-2-基氨基)-5-甲基吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮的制备 (化合物4-1和4-2)



[0196] 将1-Boc-4-哌啶酮 (4a) (24g, 120mmol)、4-甲氧基苄胺 (16.4g, 120mmol) 和乙酸 (6.88mL, 120mmol) 的甲醇 (120mL) 溶液加入到回流的多聚甲醛 (8g) 的甲醇 (120mL) 悬浮液中。混合物回流1小时后, 再加入多聚甲醛 (8.0g)。反应混合液回流4小时, 然后冷却浓缩。浓缩物用乙酸乙酯 (200mL) 和氢氧化钠 (水溶液, 1M, 160mL) 分离。水相用二氯甲烷 (2x 100mL) 萃取。合并有机相, 用Na₂SO₄干燥, 过滤, 浓缩。黄色的剩余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=6:1) 纯化得到黄色油状化合物4b (25g, 产率58%): ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ 7.24 (d, J=8.4Hz, 2H), 6.86 (d, J=8.9Hz, 2H), 4.57 (d, J=13.2Hz, 1H), 4.40 (d, J=13.3Hz, 1H),

3.82 (s, 3H), 3.52 (d, J=13.4Hz, 1H), 3.42 (d, J=13.1Hz, 1H), 3.37 (d, J=13.5Hz, 1H), 3.29 (d, J=13.4Hz, 1H), 3.19 (d, J=12.5Hz, 1H), 3.16 (d, J=12.9Hz, 1H), 2.73 (dd, J=11.0, 3.4Hz, 1H), 2.64 (dd, J=10.6, 2.8Hz, 1H), 2.44 (d, J=17.3Hz, 2H), 1.55 (s, 9H); ESI⁺ m/z 361.1 (M+1)。

[0197] 在0℃下向化合物4b (25g, 69mmol) 的二氯甲烷 (50mL) 溶液中缓慢滴入DAST (27.8g, 172.5mmol)。然后混合物在室温下搅拌过夜, 用水 (50mL) 淬灭反应。混合物用二氯甲烷萃取 (3x 50mL), 合并有机相, 经Na₂SO₄干燥, 浓缩。黄色剩余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=50:1) 纯化, 得到黄色油状化合物4c (2.3g, 收率9%): ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.22 (d, J=8.8Hz, 2H), 6.84 (d, J=8.8Hz, 2H), 4.32 (d, J=12.0Hz, 1H), 4.15 (d, J=12.8Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.38 (s, 2H), 3.38-3.33 (m, 1H), 3.29-3.24 (m, 1H), 3.02-2.98 (m, 1H), 2.95-2.91 (m, 1H), 2.55-2.47 (m, 2H), 2.10-1.98 (m, 2H), 1.52 (s, 9H); ESI⁺ m/z 383.1 (M+1)。

[0198] 化合物4c (2.3g, 6mmol) 和氯化氢的1,4-二氧六环 (4M, 15mL, 60mmol) 溶液的混合物在室温下搅拌1小时。减压蒸干溶剂, 得到粗品黄色固体化合物4d (2.0g, 收率93%): ESI⁺ m/z 283.0 (M+H)⁺。

[0199] 化合物4d (2.0g, 5.6mmol) 的DMF (20mL) 溶液, 滴入N,N-二异丙基乙胺 (4.6mL, 28mmol) and 5-溴-2硝基吡啶 (1.14g, 5.6mmol)。混合物在100℃下搅拌过夜。反应完成后, 用水 (50mL) 淬灭, 二氯甲烷 (3x 50mL) 萃取。合并有机相, 减压浓缩, 剩余物用硅胶柱层析纯化得到异构体4e-1 (250mg, 产率11%) 和4e-2 (800mg, 产率35%) 为黄色油状物。化合物4e-1: ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.09 (d, J=2.8Hz, 1H), 8.24 (dd, J=9.6Hz and 2.8Hz, 1H), 6.70-6.50 (m, 4H), 6.52 (d, J=9.6Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.67-3.25 (m, 2H), 3.23 (s, 2H), 3.00-2.80 (m, 2H), 2.63-2.57 (m, 2H), 2.48-2.30 (m, 2H); ESI⁺ m/z 404.8 (M+1); 化合物4e-2: ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.22 (d, J=9.2Hz, 1H), 8.06 (d, J=2.8Hz, 1H), 7.07 (dd, J=9.2Hz and 2.8Hz, 1H), 6.86 (d, J=8.8Hz, 2H), 6.68 (d, J=8.8Hz, 2H), 3.95-3.90 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.67-3.60 (m, 2H), 3.34 (s, 2H), 2.96-2.92 (m, 2H), 2.65-2.60 (m, 2H), 2.45-2.35 (m, 2H); ESI⁺ m/z 404.8 (M+1)。

[0200] 4e-1 (250mg, 0.6mmol) 的三氟乙酸 (4mL) 溶液在微波下加热到120℃反应3小时。反应完成后, 浓缩得到棕色粗品油状物4f-1 (250mg)。ESI⁺ m/z 284.9 (M+1)。

[0201] 4e-2 (800mg, 2mmol) 的三氟乙酸 (4mL) 溶液在微波下加热到130℃反应4小时。反应完成后, 浓缩得到棕色粗品油状物4f-2 (800mg)。ESI⁺ m/z 285.0 (M+1)。

[0202] 向4f-1 (250mg, 0.6mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (232mg, 1.8mmol) 的二氯甲烷 (10mL) 溶液中加入Boc₂O (261mg, 1.2mmol) 和DMAP (7mg, 0.06mmol), 混合物在室温下搅拌1小时。反应完成后, 混合物用水 (30mL) 淬灭后, 用二氯甲烷 (3x 30mL) 萃取。合并有机相, 减压浓缩, 剩余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=5/1) 纯化得到黄色固体4g-1 (100mg, 产率43%)。 ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.96 (d, J=2.8Hz, 1H), 8.15 (dd, J=2.8, 9.2Hz, 1H), 6.58 (d, J=9.6Hz, 1H), 4.80-4.65 (m, 1H), 4.45-4.41 (m, 2H), 4.21-4.17 (m, 1H), 3.46-3.38 (m, 2H), 3.29-3.25 (m, 1H), 3.18-3.14 (m, 1H), 2.27-2.21 (m, 2H), 1.03 (s, 9H); ESI⁺ m/z 328.7 (M-Bu+1)。

[0203] 向4f-2 (800mg, 2.0mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (774mg, 6.0mmol) 的二氯甲烷

(20mL) 溶液中加入二碳酸二叔丁酯(872mg, 4.0mmol) 和DMAP(24mg, 0.2mmol), 混合物在室温下搅拌1小时。反应完成后, 混合物用水(30mL) 淬灭后, 用二氯甲烷(3x 30mL) 萃取。合并有机相, 减压浓缩, 剩余物用硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=3/1) 纯化得到黄色固体4g-2(300mg, 收率39%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ(ppm) 8.16(d, J=9.6Hz, 1H), 8.11(d, J=3.2Hz, 1H), 7.23(dd, J=2.8, 9.2Hz, 1H), 4.62-4.57(m, 1H), 4.34-4.29(m, 1H), 4.16-4.12(m, 1H), 4.00-3.96(m, 1H), 3.59-3.55(m, 1H), 3.52-3.48(m, 1H), 3.40-3.36(m, 1H), 3.27-3.23(m, 1H), 2.36(m, 2H), 1.10(s, 9H); ESI⁺m/z 328.7(M-Bu+1)。

[0204] 4g-1(90mg, 0.23mmol) 和Raney镍(90mg) 的甲醇(10mL) 混合物在氢气氛围下室温搅拌30分钟。然后反应混合物过滤, 浓缩。剩余物溶解在二氯甲烷(20mL) 中, 用Na₂SO₄干燥, 减压浓缩得到棕色油状物(1S, 5R)-7-(6-氨基吡啶基-3-基)-9,9-二氟-3,7-杂双环[3.3.1]壬-3-羧酸叔丁酯(4h-1, 70mg, 收率87%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ(ppm) 7.67(s, 1H), 6.88(d, J=8.0Hz, 1H), 6.52(d, J=8.4Hz, 1H), 4.51-4.47(m, 1H), 4.24-4.17(m, 2H), 4.09-4.05(m, 1H), 3.27-3.13(m, 6H), 2.13(br s, 2H), 1.06(s, 9H); ESI⁺m/z 355.0(M+1)。

[0205] 4g-2(60mg, 0.16mmol) 和Raney镍(60mg) 的甲醇(10mL) 混合物在氢气氛围下室温搅拌10分钟。然后反应混合物过滤, 浓缩。剩余物溶解在二氯甲烷(20mL) 中, 用Na₂SO₄干燥, 减压浓缩得到棕色油状物(1R, 5S)-7-(6-氨基吡啶基-3-基)-9,9-二氟-3,7-杂双环[3.3.1]壬-3-羧酸叔丁酯(4h-2, 30mg, 收率53%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ(ppm) 7.59(s, 1H), 7.10(d, J=8.8Hz, 1H), 6.38(d, J=8.8Hz, 1H), 4.55-4.51(m, 1H), 4.28-4.24(m, 1H), 4.06(s, 2H), 3.65-3.61(m, 1H), 3.43-3.39(m, 1H), 3.31-3.23(m, 2H), 3.19-3.09(m, 2H), 2.10(br s, 2H), 1.16(s, 9H); ESI⁺m/z 355.0(M+1)。

[0206] 4h-1(70mg, 0.20mmol), N,N-二异丙基乙胺(26mg, 0.20mmol) 和II/II'(100mg, ~0.29mmol) 在甲苯(3mL) 的混合物于130℃的微波加热下反应3小时。减压蒸去有机挥发物, 剩余物用制备HPLC(Instrument PHG007; 柱子Xbridge Prep C1810um OBD, 19x250mm; 流动相A水(0.05%三氟乙酸), B乙腈; 梯度从55-65%B用时8.2min, 维持在95%B 4min, 在12.3min终止; 流速(ml/min) 30; 检测波长(nm) 214/254.) 纯化, 得到黄色固体化合物4i-1(20mg, 收率16%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ(ppm) 8.63(s, 2H), 7.89(m, 1H), 6.91(d, J=9.2Hz, 1H), 5.76-5.71(m, 1H), 4.58-4.46(m, 2H), 4.37-4.25(m, 2H), 3.61-3.53(m, 2H), 3.39-3.24(m, 2H), 2.54(s, 3H), 2.34-2.24(m, 5H), 2.23-2.17(m, 2H), 1.99-1.91(m, 2H), 1.88-1.81(m, 2H), 1.68-1.63(m, 2H), 1.16(s, 9H); ESI⁺m/z 624.0(M+1)。

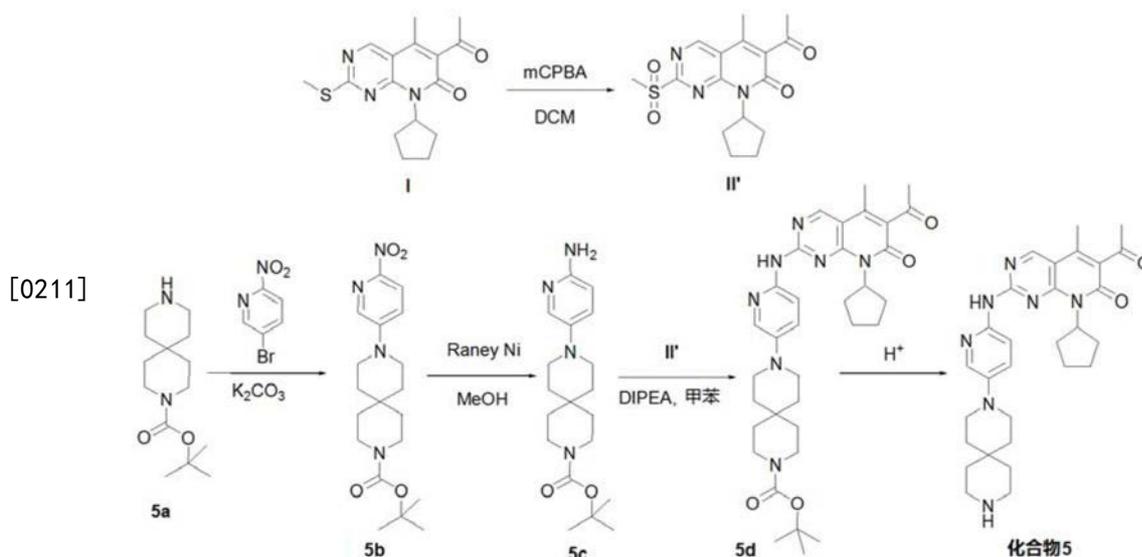
[0207] 4h-2(30mg, 0.085mmol), N,N-二异丙基乙胺(11mg, 0.085mmol) 和II/II'(54mg, ~0.16mmol) 在甲苯(3mL) 的混合物于130℃的微波加热下反应7小时。减压蒸去有机挥发物, 剩余物用制备HPLC(条件和4i-1相同) 纯化, 得到黄色固体化合物4i-2(15mg, 收率28%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ(ppm) 9.10(s, 1H), 8.15(dd, J=2.8, 9.6Hz, 1H), 7.82(d, J=2.4Hz, 1H), 7.54(d, J=9.6Hz, 1H), 6.05-5.95(m, 1H), 4.56-4.52(m, 1H), 4.43-4.39(m, 1H), 4.10-4.06(m, 1H), 3.90-3.86(m, 1H), 3.41-3.37(m, 3H), 3.30-3.25(m, 1H), 2.50(s, 3H), 2.43(s, 3H), 2.40-2.34(m, 2H), 2.34-2.26(m, 2H), 2.11-2.05(m, 2H), 1.92-1.86(m, 2H), 1.71-1.67(m, 2H), 1.33-1.28(m, 2H), 1.20(s, 9H); ESI⁺m/z 623.7(M+1)。

[0208] 化合物4i-1(20mg, 32umol) 和氯化氢(二氧六环溶液, 4M, 1mL, 4mmol) 的二氯甲烷(2mL) 混合物在室温下搅拌3小时。减压蒸去有机挥发物, 剩余物用制备HPLC(Instrument

PHG016; 柱子 Xbridge Prep C18 10um OBD, 19x 250mm; 流动相 A 水 (0.01% NH₃) + 10mm (NH₄HCO₃), B 乙腈; 梯度从 32-62% 的 B 用时 10min; 流速 (ml/min) 30; 检测波长 (nm) 214/254.) 纯化得到黄色固体 4-1 (13mg, 收率 79%) (游离碱): ¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.71 (s, 1H), 8.31 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.82 (dd, J=2.0, 8.8Hz, 1H), 7.23 (br s, 1H), 6.72 (d, J=9.2Hz, 1H), 5.82-5.77 (m, 1H), 4.34-4.30 (m, 2H), 3.46-3.42 (m, 2H), 3.31-3.23 (m, 4H), 2.54 (s, 3H), 2.35 (s, 3H), 2.33-2.23 (m, 2H), 2.22-2.17 (m, 2H), 2.03-1.90 (m, 5H), 1.61 (m, 2H); ESI⁺m/z 524.1 (M+1)。

[0209] 化合物 4i-2 (15mg, 24umol) 和氯化氢 (二氧六环溶液, 4M, 1mL, 4mmol) 的二氯甲烷 (2mL) 混合物在室温下搅拌 3 小时。减压蒸去有机挥发物, 剩余物用制备 HPLC (条件和 4-1 相同) 纯化, 得到黄色固体化合物 4-2 (9mg, 收率 71%) (游离碱): ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.83 (s, 1H), 8.30-8.19 (m, 2H), 8.06 (s, 1H), 7.37-7.26 (m, 1H), 5.91-5.86 (m, 1H), 3.78-3.74 (m, 2H), 3.45-3.42 (m, 2H), 3.41-3.31 (m, 4H), 2.55 (s, 3H), 2.38-2.33 (m, 5H), 2.28-2.21 (m, 2H), 2.08-2.04 (m, 3H), 1.91-1.88 (m, 2H), 1.73-1.69 (m, 2H); ESI⁺m/z 524.0 (M+1)。

[0210] 实施例 5: 2-(5-(3,9-螺[5.5]十一烷-3-基)吡啶-2-基氨基)-6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基吡啶基[2,3-d]嘧啶-7(8h)-酮 (化合物 5)



[0212] 室温下往化合物 I (0.8g, 2.52mmol) 的二氯甲烷 (80mL) 溶液中分批加入 mCPBA (2.59g, 15.14mmol)。加入完成后, 反应在室温下搅拌 2 小时。反应液倒入 NaHCO₃ 水溶液中, 然后用二氯甲烷 (50mL) 萃取两次。合并有机相后用饱和食盐水洗涤, Na₂SO₄ 干燥, 过滤浓缩。剩余物用 Combi-Flash (40g 硅胶, 用 20% 到 30% 的乙酸乙酯的二氯甲烷溶液洗脱) 纯化得到白色固体化合物 II' (收率 38.6%)。LC-MS 350.1 (M+H)⁺。

[0213] 5-溴-硝基吡啶 (0.2g, 0.98mmol), 5a (274mg, 1.08mmol), K₂CO₃ (408mg, 2.95mmol) 和乙腈 (4mL) 的混合物在封管中加热至 100℃ 反应 60 小时。反应液浓缩, 剩余物用 Combi-Flash (ISCO, 20g 硅胶柱, 用 50% 到 75% 的乙酸乙酯的石油醚溶液洗脱) 纯化得到 270mg 的黄色固体化合物 5b (收率 73%)。LC-MS 377.2 (M+H)⁺, 纯度 100% (UV 254nm)。

[0214] 化合物 5b (0.27g, 0.72mmol) 的溶液和 Raney Ni (~0.2g) 在氢气下室温氢化 2 小时。反应液过滤浓缩得到棕色固体化合物 5c (0.25g, 收率 97%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ:

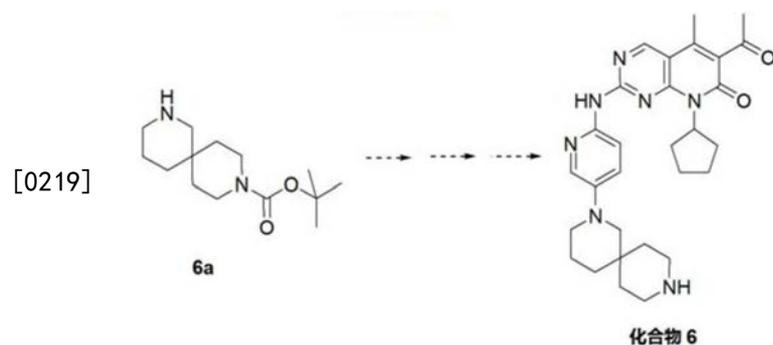
1.40-1.52 (m, 13H), 1.61-1.70 (m, 4H), 3.00 (t, 4H), 3.40 (t, 4H), 4.12 (brs, 2H), 6.48 (d, 1H), 7.18 (dd, 1H), 7.79 (d, 1H). LC-MS 347.2 (M+H)⁺。

[0215] 化合物II' (45.9mg, 0.13mmol), 化合物5c (35mg, 0.1mmol), N,N-二异丙基乙胺 (26mg, 0.2mmol) 和干燥甲苯 (4mL) 在微波反应器中加热至130℃反应10小时。混合物浓缩, 并经制备-HPLC纯化得到5d (16mg, 收率25.5%)。

[0216] 在0℃下, 往化合物5d (25mg, 0.04mmol) 的二氯甲烷 (3mL) 溶液中, 滴加入HCl的1, 4-二氧六环 (4M, 2mL, 8mmol)。加完后反应在室温下搅拌3小时。反应浓缩, 剩余物用制备 HPLC纯化得到黄色固体化合物5 (7mg, 收率33%) (游离碱)。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 1.78-2.13 (m, 14H), 2.20-2.36 (m, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.55 (s, 3H), 2.84-2.95 (m, 4H), 3.10-3.22 (m, 4H), 5.80-5.94 (m, 1H), 7.33 (dd, 1H), 7.91 (s, 1H), 8.04 (d, 1H), 8.14 (d, 1H), 8.79 (s, 1H)。LC-MS 516.3 (M+H)⁺。

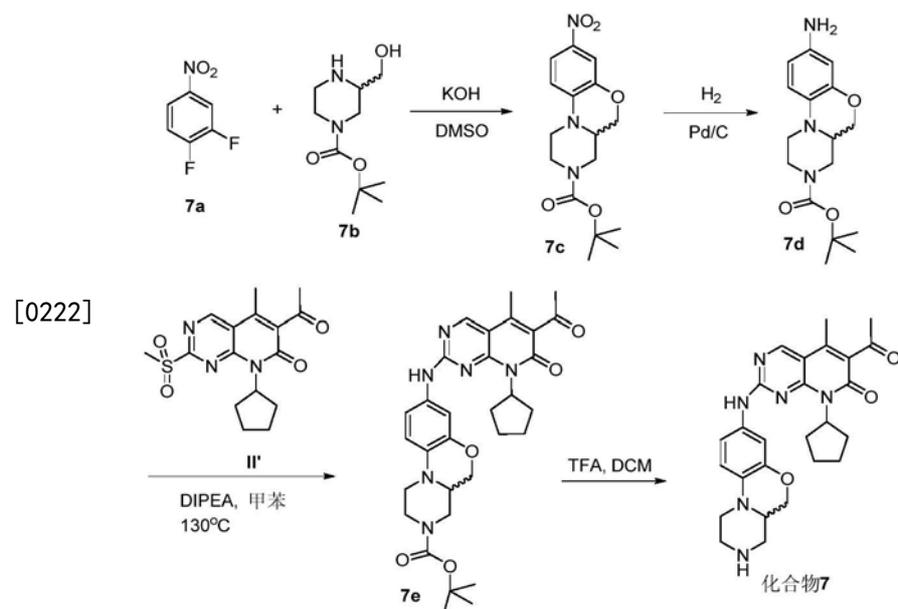
[0217] 实施例6: 制备2-(5-(2,9-螺[5.5]十一烷基-2-基)吡啶-2-基氨基)-6-乙酰基8-环戊基-5-甲基吡啶基[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮(化合物6)

[0218] 化合物6用制备化合物5所述同样的方法合成。



[0220] 化合物6 (游离碱): ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 1.43-2.25 (m, 14H), 2.28-2.36 (m, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.55 (s, 3H), 2.96 (brs, 6H), 3.10 (brs, 2H), 5.81-5.95 (m, 1H), 7.26-7.35 (m, 1H), 8.02 (s, 1H), 8.07-8.22 (m, 2H), 8.81 (s, 1H). LC-MS 516.3 (M+H)⁺。

[0221] 实施例7: 制备(R,S)-2-(1,2,3,4,4a,5-六氢吡嗪基[2,1-c][1,4]苯并噁嗪-8-氨基)-6-乙酰基8-环戊基-5-甲基吡啶基[2,3-d]嘧啶基-7(8H)-酮(化合物7); (R)-2-(1,2,3,4,4a,5-六氢吡嗪基[2,1-c][1,4]苯并噁嗪-8-氨基)-6-乙酰基8-环戊基-5-甲基吡啶基[2,3-d]嘧啶基-7(8H)-酮(化合物7R); (S)-2-(1,2,3,4,4a,5-六氢吡嗪基[2,1-c][1,4]苯并噁嗪-8-氨基)-6-乙酰基8-环戊基-5-甲基吡啶基[2,3-d]嘧啶基-7(8H)-酮(化合物7); (化合物7S)



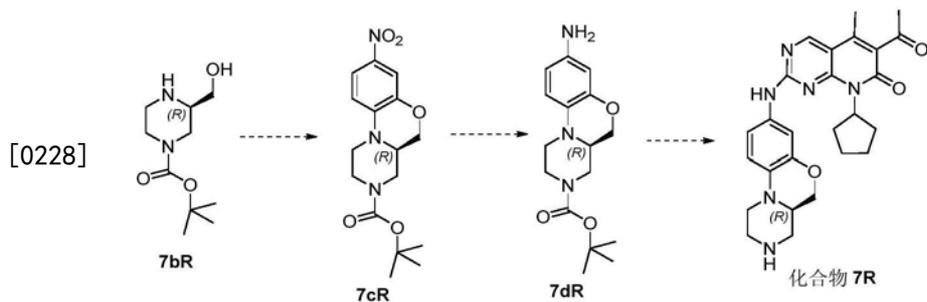
[0223] 向1,2-二氟-4-硝基苯7a (1.11g, 7.0mmol) 和3-羟甲基哌嗪-1-碳酸叔丁酯7b (1.30g, 6.0mmol) 的干燥DMSO (15mL) 溶液中加入KOH (1.01g, 18.0mmol)。混合物在室温下搅拌3小时, 然后加热到60℃反应8小时。反应完成后, 将冰水加入到反应液中。所形成的固体经过滤, 水洗, 然后用快速柱色谱 (石油醚: 乙酸乙酯=6:1) 纯化得到黄色固体产物7c (1.41g, 70.0%)。¹H-NMR (600MHz, CDCl₃): δ7.79 (dd, J=9.1Hz, 2.6Hz, 1H), 7.66 (d, J=2.6Hz, 1H), 6.76 (d, J=9.2Hz, 1H), 4.30 (dd, J=11.0Hz, 3.0Hz, 1H), 4.18-4.09 (m, 2H), 3.99 (dd, J=11.1Hz, 8.0Hz, 1H), 3.79 (d, J=11.0Hz, 1H), 3.35-3.31 (m, 1H), 3.04-2.93 (m, 2H), 2.67 (br, 1H), 1.49 (s, 9H); HRMS (+): m/z 358.1370 ([M+Na]⁺, C₁₆H₂₁N₃O₅Na⁺ calcd: 358.1373)。

[0224] 在10%的Pd-C (0.25g) 存在的条件下, 中间体7c (1.41g, 4.2mmol) 的甲醇 (20mL) 溶液被氢化 (1大气压) 过夜。悬浮物经硅藻土过滤, 滤液浓缩得到粗产品, 然后用快速柱层析纯化得到纯的棕色油状物7d (1.09g, 85.0%)。¹H-NMR (600MHz, CDCl₃): δ6.63 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.26 (dd, J=8.3Hz, 1.8Hz, 1H), 6.22 (d, J=2.3Hz, 1H), 4.18-4.16 (m, 2H), 3.98-3.94 (m, 2H), 3.56 (d, J=10.3Hz, 1H), 3.04-2.93 (m, 2H), 2.62-2.58 (m, 3H), 1.48 (s, 9H)。

[0225] 往化合物7d (60mg, 0.20mmol) 的甲苯 (1mL) 溶液中加入N,N-二异丙基乙胺 (29.6mg, 0.23mmol) 和化合物II' (40mg, 0.11mmol)。加完后, 反应在室温下搅拌3小时。反应应用二氯甲烷 (50mL) 稀释, 有机相先用水 (5mL x 2), 然后用食盐水 (5mL x 1) 洗涤。有机相经干燥 (Na₂SO₄), 过滤, 浓缩。剩余物用Combi-Flash (12g硅胶柱, 用0%至60%乙酸乙酯的石油醚溶液洗脱) 纯化得到黄色固体化合物7e (25mg, 收率38%)。LC-MS: 575 (M+1)⁺。

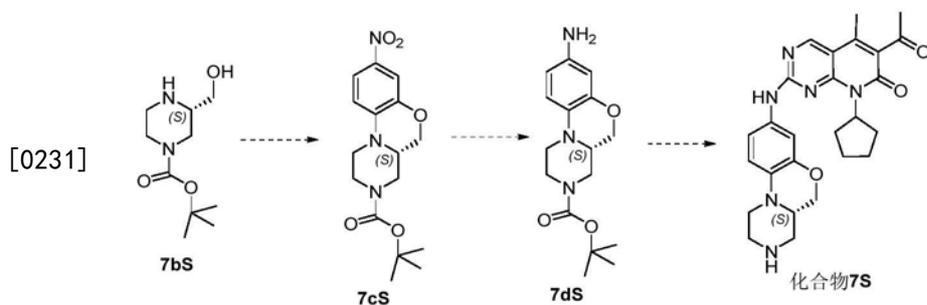
[0226] 往化合物7e (22mg, 0.038mmol) 的二氯甲烷 (8mL) 溶液中加入三氟乙酸 (1mL)。混合物室温下搅拌1小时。浓缩反应, 剩余物用制备HPLC纯化得到黄色固体化合物7 (9mg, 收率49%) (游离碱)。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ1.53-1.63 (m, 2H), 1.77-1.86 (m, 2H), 1.88-1.94 (m, 2H), 2.19-2.27 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.44-2.51 (m, 1H), 2.50 (s, 3H), 2.62 (t, 1H), 2.85-3.02 (m, 3H), 3.12 (d, 1H), 3.58 (d, 1H), 3.94 (t, 1H), 4.11 (d, 1H), 5.72-5.85 (m, 1H), 6.70 (d, 1H), 6.90 (d, 1H), 7.05 (br, s, 2H), 8.63 (s, 1H)。LC-MS: 475 (M+H)⁺。

[0227] 化合物7R用买来的手性起始原料7bR用上述制备化合物7的同样步骤制备而得。



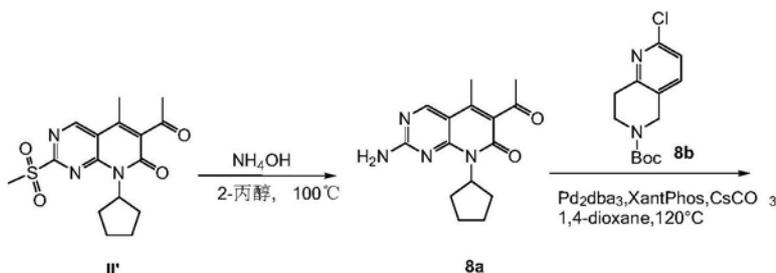
[0229] 化合物7R(游离碱):¹H NMR(CDCl₃,400Hz): δ 8.70(s,1H),7.14(br,s,1H),7.12(d,J=2.8Hz,1H),6.96(dd,J=8.8Hz,2.4Hz,1H),6.76(d,J=8.8Hz,1H),5.90-5.80(m,1H),4.19(dd,J=10.4Hz,2.4Hz,1H),4.01(dd,J=10.4Hz,8.8Hz,1H),3.64(d,J=11.6Hz,1H),3.18(d,J=12.4Hz,1H),3.10-2.96(m,3H),2.70(td,J=11.6Hz,3.2Hz,1H),2.57-2.52(m,1H),2.54(s,3H),2.35(s,3H),2.35-2.29(m,2H),1.98-1.90(m,2H),1.88-1.80(m,2H),1.66-1.58(m,2H);MS(ESI):475.3(M+H)⁺;e.e.>95%。

[0230] 化合物7S用买来的手性7bS为起始原料用上述制备化合物7的方法制备。

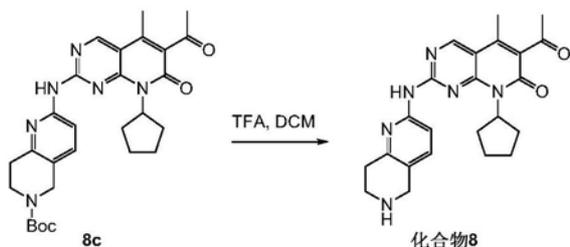


[0232] 化合物7S(游离碱):¹H NMR(CDCl₃,400Hz): δ 8.71(s,1H),7.12(br,s,1H),7.12(d,J=2.4Hz,1H),6.96(dd,J=8.8Hz,2.4Hz,1H),6.77(d,J=8.8Hz,1H),5.90-5.80(m,1H),4.19(dd,J=10.4Hz,2.8Hz,1H),4.01(dd,J=10.4Hz,9.2Hz,1H),3.64(d,J=11.2Hz,1H),3.18(d,J=12.4Hz,1H),3.11-2.96(m,3H),2.70(td,J=11.6Hz,3.2Hz,1H),2.57-2.52(m,1H),2.54(s,3H),2.35(s,3H),2.35-2.27(m,2H),1.98-1.90(m,2H),1.88-1.80(m,2H),1.66-1.58(m,2H);MS(ESI):475.3(M+H)⁺;e.e.>90%。

[0233] 实施例8:制备6-乙酰基-5-甲基-2-(5,6,7,8-四氢-1,6-氮杂萘-2-基氨基)吡啶基[2,3-d]嘧啶基-7(8H)-酮(化合物8)



[0234]

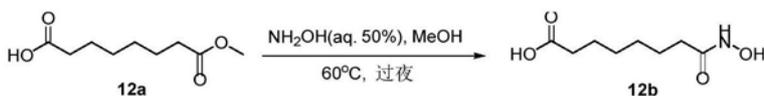


[0235] 化合物II' (450mg, 1.3mmol), 异丙醇 (2.5mL) 和氨水 (2.5mL) 的混合物加热至100℃反应2小时。混合物浓缩, 剩余物用Combi-Flash (20g硅胶柱, 用0%至10%甲醇的二氯甲烷溶液洗脱) 纯化得到290mg的白色固体化合物8a (收率78.6%)。LC-MS: 287 (M+H)⁺。

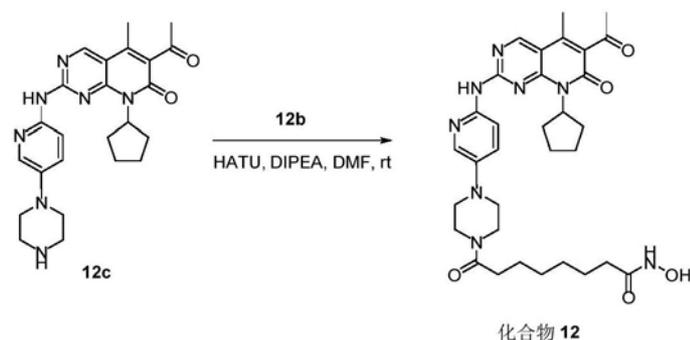
[0236] 往50mL烧瓶中加入化合物8a (290mg, 1mmol), 2-氯-7,8-二氢-1,6-萘啶-6(5H)-碳酸叔丁酯 (8b, 573mg, 2mmol), 碳酸铯 (500mg, 1.5mmol) 1,4-二氧六环 (8mL), Pd₂dba₃ (185.5mg, 0.20mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽 (58.6mg, 0.10mmol)。反应容器用氮气置换三次, 然后混合物在120℃下搅拌过夜。将反应倒入20mL水中, 乙酸乙酯50mLx3) 萃取。合并的有机相用饱和食盐水洗涤, Na₂SO₄干燥, 过滤和浓缩。剩余物用Combi-Flash (20g硅胶柱, 用0%到60%乙酸乙酯的石油醚溶液洗脱) 纯化得到290mg白色固体化合物8c (收率55%)。LC-MS: 519 (M+H)⁺。

[0237] 往化合物4 (290mg, 0.56mmol) 的二氯甲烷 (5mL) 溶液加入三氟乙酸 (1mL)。混合物在室温下搅拌1小时。浓缩混合物, 剩余物用Combi-Flash (20g硅胶, 用0%到10%7N氨水-甲醇的二氯甲烷溶液洗脱) 纯化得到220mg的浅黄色固体化合物8 (收率94%, 游离碱)。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 1.66-1.58 (m, 2H), 1.78-1.82 (m, 2H), 1.98-2.01 (m, 2H), 2.26-2.31 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.47 (s, 3H), 2.82 (t, 2H), 3.19 (t, 2H), 3.96 (s, 2H), 5.74-5.84 (m, 1H), 7.32 (d, 1H), 7.93 (s, 1H), 8.02 (d, 1H), 8.75 (s, 1H); LC-MS: 419 (M+H)⁺。

[0238] 实施例12: 制备8-(4-(6-(6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧-7,8-二氢吡啶基[2,3-d]嘧啶基-2-氨基)吡啶基-3-基)哌嗪-1-基)-8-辛羟肟酸 (化合物12)



[0239]

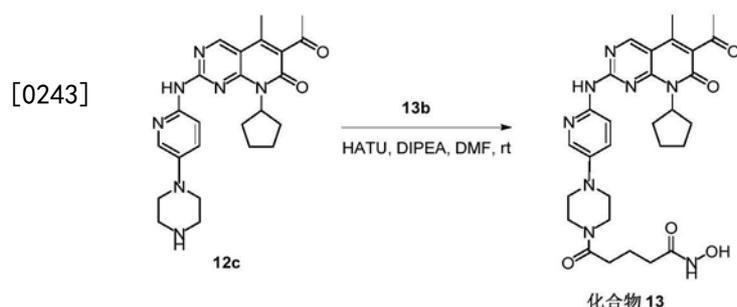
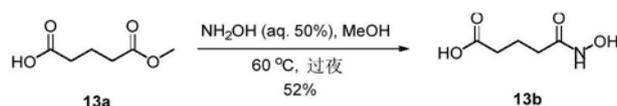


化合物 12

[0240] 往辛酸单甲酯12a (170mg, 0.899mmol) 的甲醇 (2mL) 溶液中加入NH₂OH (50%的水溶液, 1.5mL)。反应在60℃下搅拌过夜。混合物减压下浓缩, 剩余物在甲醇 (1mL) 中搅拌。得到的混合物过滤, 固体经真空干燥, 得到白色固体12b (110mg, 收率64%)。

[0241] 12b (17mg, 0.089mmole)、12c (20mg, 0.045mmole, 根据文献制备J. Med. Chem. 2005, 48 (7), 2388-2406)、HATU (38mg, 0.099mmole) 和DIPEA (25mg, 0.198mmole) 在DMF (3mL) 中的混合物在室温下搅拌过夜。混合物直接用制备HPLC (Sunfire™ Prep C18柱子, 10um x 19x 150mm; 流动相A: 水 (0.1% 甲酸); 流动相B: 乙腈; 流速 (ml/min): 25) 纯化得到黄色固体化合物12 (12.8mg, 收率46%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400Hz): δ 10.34 (s, 1H), 10.17 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.08 (d, J=3.2Hz, 1H), 7.89 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.51 (dd, J=8.8Hz, 3.2Hz, 1H), 5.88-5.77 (m, 1H), 3.61 (br, s, 4H), 3.16-3.11 (m, 4H), 2.42 (s, 3H), 2.35 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.31 (s, 3H), 2.27-2.21 (m, 2H), 1.95-1.88 (m, 4H), 1.80-1.74 (m, 2H), 1.60-1.57 (m, 2H), 1.52-1.44 (m, 4H), 1.30-1.24 (m, 4H); MS (ESI): 619.3 (M+H)⁺。

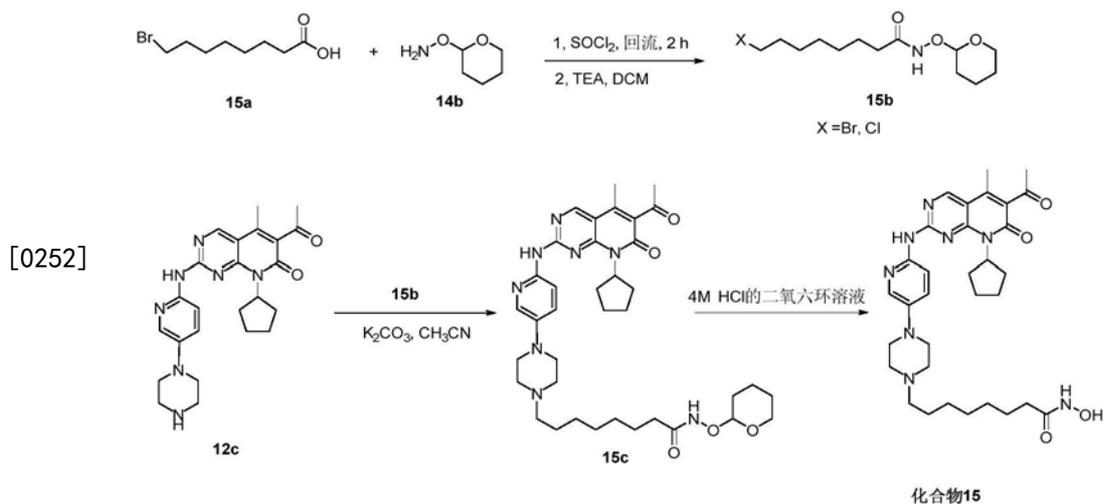
[0242] 实施例13: 制备5-(4-(6-(6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧-7,8-二氢吡啶[2,3-d]嘧啶基-2-基氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-5-羟辛酸 (化合物13)



[0244] 往戊二酸单甲酯 (13a, 300mg, 2.055mmol) 的甲醇 (2mL) 溶液中加入NH₂OH (50%水溶液, 1mL)。反应在60℃下搅拌过夜。混合物在减压下浓缩, 剩余物用乙酸乙酯 (1mL) 洗涤得到无色油状物, 减压下浓缩得到无色油状粗产品13b (160mg, 收率52%), 没有进一步纯化, 直接用于下一步。MS: 148.1 [M+H]⁺。

[0245] 室温下往化合物13b (39mg, 0.268mmol), 化合物12c (30mg, 0.067mmol) 和DIPEA (43mg, 0.335mmol) 的DMF (1mL) 混合物中加入HATU (26mg, 0.067mmol)。反应混合物在室温下搅拌过夜。混合物通过制备HPLC (分离条件同实施例12) 纯化得到黄色固体化合物13 (6mg, 收率16%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400Hz): δ 10.15 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.88-7.85 (m, 1H), 7.50 (d, J=8.8Hz, 1H), 6.68 (br, 1H), 5.85-5.81 (m, 1H), 3.60-3.02 (m, 8H), 2.42 (s, 3H), 2.37-2.24 (m, 7H), 1.89-1.88 (m, 2H), 1.77-1.71 (m, 4H), 1.65-1.50 (m, 4H); MS: 577.3 [M+H]⁺。

[0246] 实施例14: 制备7-(4-(6-(6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧-7,8-二氢吡啶[2,3-d]嘧啶基-2-基氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-5-己羟辛酸 (化合物14)

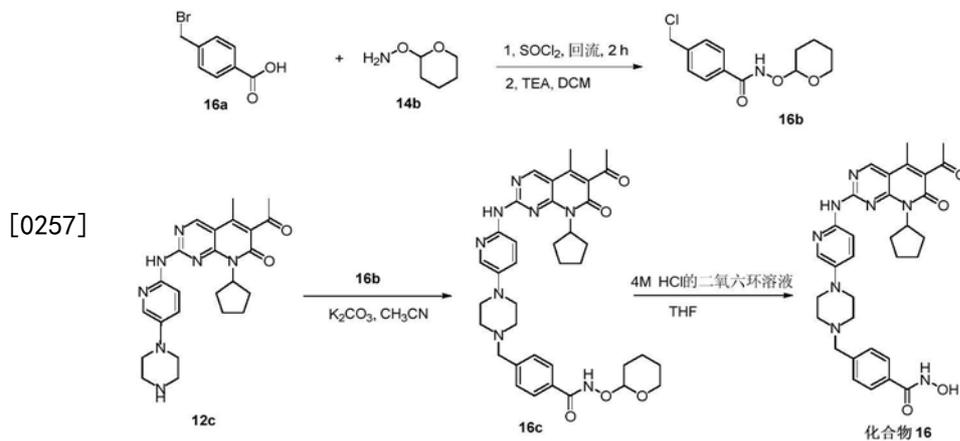


[0253] 将8-溴辛酸(15a, 515mg, 2.31mmol)溶解在 SOCl_2 (2mL)中,溶液搅拌回流2小时。然后溶液在减压下浓缩。剩余物溶解在二氯甲烷(10mL)中,然后在 0°C 下滴加入O-(四氢-2H-吡喃-2-基)羟胺(14b, 406mg, 3.46mmol)和三乙胺(467mg, 4.62mmol)在二氯甲烷(8mL)中的混合物。得到的反应混合物在室温下搅拌16小时。混合物减压下浓缩,剩余物用硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=2/1)纯化得到白色固体化合物15b(400mg, 收率59%)。MS: 322.0[M+H]⁺, 324.0[M+H]⁺。

[0254] 化合物12c(45mg, 0.10mmol)、化合物15b(90mg, 0.30mmol)、碘化钾(5mg), 和 K_2CO_3 (42mg, 0.30mmol)在DMF(1.5mL)中的混合物在 80°C 下搅拌16小时。混合物冷却至室温后,过滤,滤液用水(4mL)稀释,用乙酸乙酯(5mL x3)萃取。合并的有机相用饱和食盐水(5mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤和浓缩至干。所得的残余物用制备TLC(二氯甲烷/甲醇=15/1)纯化得到黄色固体化合物15c(40mg, 收率68%)。MS: 689.4[M+H]⁺。

[0255] 在 0°C 下往化合物15c(30mg, 0.044mmol)的二氯甲烷(1mL)溶液中加入4M氯化氢的1,4-二氧六环溶液(0.5mL)。反应在室温下搅拌3小时。混合物在室温下减压浓缩,剩余物用制备HPLC(条件与实施例12相同)纯化得到黄色固体化合物15(10mg, 收率32%)。¹H NMR(DMSO- d_6 and D_2O , 400Hz) δ 8.98(s, 1H), 8.08(d, J=2.4Hz, 1H), 7.86(d, J=9.2Hz, 1H), 7.69(d, J=9.2Hz, 1H), 5.90-5.75(m, 1H), 3.87-3.80(m, 2H), 3.65-3.55(m, 2H), 3.25-2.99(m, 6H), 2.45(s, 3H), 2.35-2.18(m, 2H), 2.33(s, 3H), 1.94(t, J=7.2Hz, 2H), 1.90-1.75(m, 4H), 1.75-1.40(m, 6H), 1.35-1.25(m, 6H); MS: 605.3[M+H]⁺。

[0256] 实施例16: 制备4-((4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧-7,8-二氢吡啶[2,3-d]嘧啶基-2-基氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)甲基)-苯羟肟酸(化合物16)

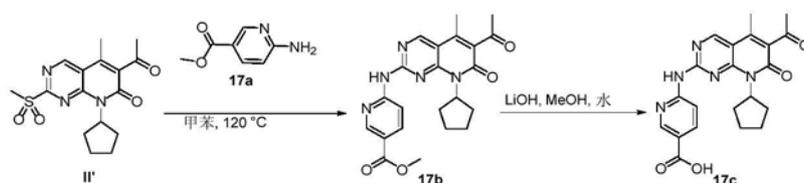


[0258] 4-(溴甲基)苯甲酸 (16a, 600mg, 2.79mmol) 溶解在 SOCl_2 (2mL), 溶液搅拌回流2小时。然后溶液在减压下浓缩。剩余物溶解在二氯甲烷 (4mL) 中, 然后滴加入0-(四氢-2H-吡喃-2-基)羟胺 (14b, 490mg, 4.19mmol) 和三乙胺 (564mg, 5.58mmol) 在二氯甲烷 (8mL) 中的混合物。得到的反应混合物在室温下搅拌2小时。混合物在减压下浓缩, 然后用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=50/1) 纯化, 得白色固体化合物16b (200mg, 收率27%)。MS: 186.2 [M-84+H]⁺。

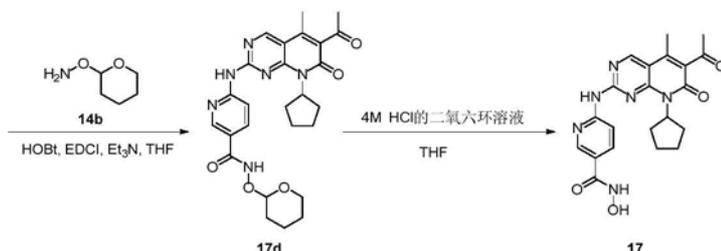
[0259] 化合物12c (40mg, 0.09mmol)、化合物16b (50mg, 0.19mmol) 和DIPEA (25mg, 0.19mmol) 在二氯甲烷 (2mL) 中的混合物于50℃搅拌16小时。混合物冷却至室温, 用水 (4mL) 稀释, 乙酸乙酯萃取 (5mL x 3)。合并有机相用饱和食盐水 (5mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压下浓缩得到剩余物。剩余物经制备薄板层析 (二氯甲烷/甲醇=15/1) 纯化得到黄色固体化合物16c (40mg, 收率66%)。MS: 681.3 [M+H]⁺。

[0260] 在0℃下往化合物16c (35mg, 0.051mmol) 的二氯甲烷 (1mL) 溶液中加入4M氯化氢的1,4-二氧六环溶液 (0.2mL)。反应在室温下搅拌3小时。混合物在室温下减压浓缩, 剩余物用制备HPLC (条件与实施例12相同) 纯化得到黄色固体化合物16 (8.96mg, 收率27%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400Hz) δ 11.25-11.13 (br s, 1H), 10.10 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.04 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.87-7.65 (m, 3H), 7.50-7.33 (m, 3H), 5.87-5.75 (m, 1H), 3.58 (s, 2H), 3.60-3.50 (m, 2H), 3.28-3.03 (m, 6H), 2.42 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.29-2.16 (m, 2H), 1.94-1.71 (m, 4H), 1.64-1.51 (m, 2H); MS: 597.3 [M+H]⁺。

[0261] 实施例17: 制备6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧-7,8-二氢吡啶[2,3-d]嘧啶基-2-基氨基)烟羟肟酸 (化合物16)



[0262]



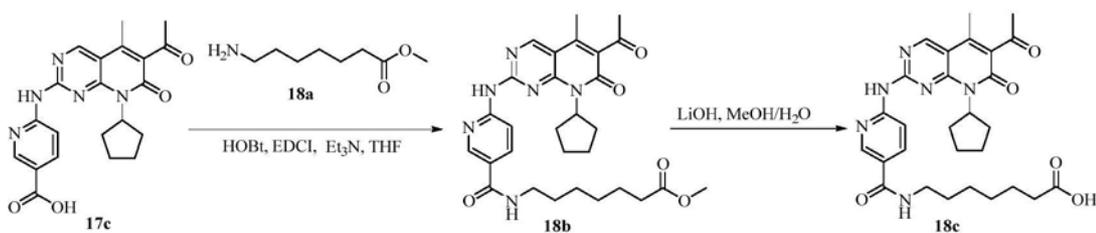
[0263] 室温下往化合物17a (131mg, 0.860mmol) 的甲苯 (2mL) 溶液中加入化合物II' (60mg, 0.172mmol)。反应混合物在120°C搅拌16小时。反应混合物冷却至室温, 然后减压下浓缩至干。剩余物经Combi-Flash (用30:1二氯甲烷: 甲醇洗脱) 纯化得到46mg的浅棕色固体化合物17b (收率64%)。MS: 422.2 [M+H]⁺。

[0264] 室温下往17b (46mg, 0.11mmol) 的1:1的甲醇和水 (5mL) 的混合物中加入LiOH (46mg, 1.09mmol), 混合物在50°C下搅拌5小时。反应混合冷却至室温, 然后加入2N盐酸调节pH=5。水溶液用乙酸乙酯 (5mL x 3) 萃取。合并有机相用饱和食盐水 (5mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到淡棕色固体化合物17c (44mg, 收率99%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400Hz) δ13.06 (br s, 1H), 10.84 (s, 1H), 9.09 (s, 1H), 8.85-8.84 (m, 1H), 8.31-8.24 (m, 2H), 5.93-5.83 (m, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 2.31-2.21 (m, 2H), 2.01-1.92 (m, 2H), 1.88-1.76 (m, 2H), 1.68-1.59 (m, 2H)。

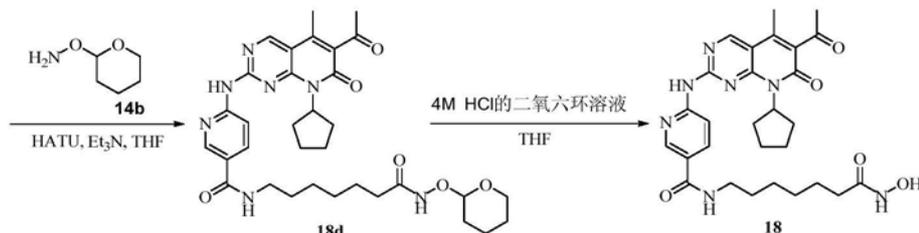
[0265] 往化合物17c (18.5mg, 0.045mmol) 的干燥THF (1.5mL) 溶液中加入HOBt (9mg, 0.068mmol)、EDCI (13mg, 0.068mmol)、Et₃N (14mg, 0.136mmol) 和O-(四氢-2H-吡喃-2-基)-羟胺 (8mg, 0.068mmol), 得到的反应混合物在室温下搅拌16小时。反应混合物减压浓缩得到剩余物, 然后用制备薄板层析 (用15:1的二氯甲烷/甲醇) 纯化得到11mg白色固体化合物17d (收率48%)。

[0266] 在0°C下往化合物17d (10mg, 0.020mmol) 的干燥THF (0.6mL) 溶液中加入4M氯化氢的1,4-二氧六环 (0.2mL) 溶液。反应是在室温下搅拌3小时。混合物在室温减压下浓缩, 剩余物用乙腈和无水乙醚洗涤得到白色固体化合物17 (3.8mg, 收率42%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400Hz) δ11.28 (br s, 1H), 10.78 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.21-8.15 (m, 2H), 5.92-5.82 (m, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 2.33-2.22 (m, 2H), 2.02-1.91 (m, 2H), 1.87-1.78 (m, 2H), 1.67-1.57 (m, 2H); MS: 423.3 [M+H]⁺。

[0267] 实施例18: 制备6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧-7,8-二氢吡啶基[2,3-d]嘧啶基-2-基)氨基)-N-(7-(羟胺)-7-氧庚基)烟羟肟酸 (化合物18)



[0268]



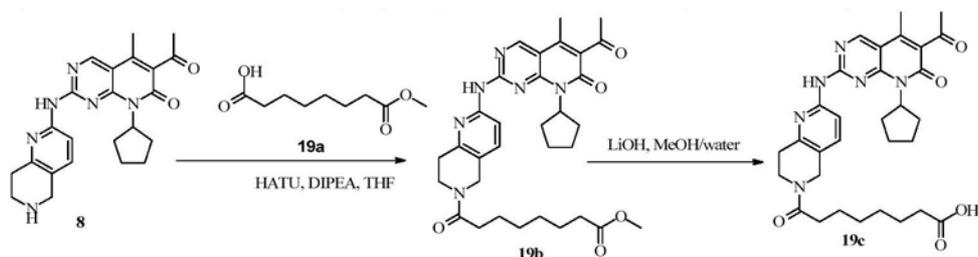
[0269] 往化合物17c (45mg, 0.111mmol) 的干燥THF (1.5mL) 溶液中加入HOBT (30mg, 0.221mmol)、EDCI (42mg, 0.221mmol)、Et₃N (34mg, 0.332mmol) 和18a (26mg, 0.166mmol), 所得的混合物在室温下搅拌16小时。反应混合物在减压下浓缩得到剩余物, 然后用制备薄板层析(用15:1的二氯甲烷/甲醇洗脱) 纯化得到58mg浅黄色固体化合物18b(收率96%)。MS: 549.4 [M+H]⁺。

[0270] 室温下往18b (58mg, 0.106mmol) 的1:1甲醇和水 (5mL) 的混合物中加入LiOH (27mg, 0.635mmol), 混合物在室温下搅拌16小时。反应混合物用2N盐酸中和至pH=5。水溶液用乙酸乙酯 (5mL x 3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (5mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液在减压下浓缩得到白色固体化合物18c (55mg, 收率97%)。MS: 535.2 [M+H]⁺。

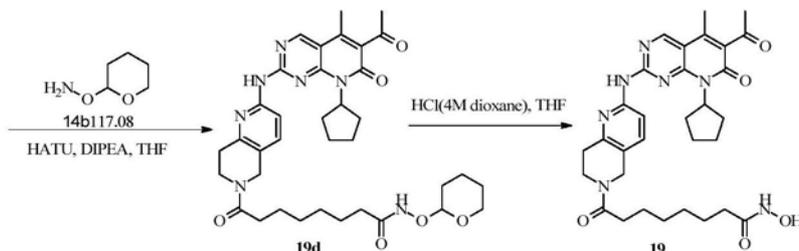
[0271] 往化合物18c (55mg, 0.103mmol) 的干燥THF (2mL) 溶液中加入HATU (59mg, 0.154mmol)、Et₃N (31mg, 0.309mmol) and 0-(四氢-2H-吡喃-2-基)-羟胺 (24mg, 0.206mmol)。所得的混合物在室温下搅拌16小时。反应混合物在减压下浓缩得到剩余物, 然后用制备薄板层析(用12:1的二氯甲烷/甲醇洗脱) 纯化得到25毫克白色固体化合物18d(收率38%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz) δ10.91 (s, 1H), 10.73 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.54-8.49 (m, 1H), 8.27-8.19 (m, 2H), 5.94-5.83 (m, 1H), 4.82-4.78 (m, 1H), 3.95-3.87 (m, 1H), 3.52-3.46 (m, 1H), 3.30-3.21 (m, 2H), 2.44 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 2.30-2.22 (m, 2H), 2.02-1.92 (m, 4H), 1.89-1.77 (m, 2H), 1.68-1.58 (m, 5H), 1.57-1.46 (m, 7H), 1.37-1.22 (m, 4H); MS: 634.4 [M+H]⁺。

[0272] 在0℃下往化合物18d (20mg, 0.032mmol) 的干燥THF (0.6mL) 溶液中加入4M氯化氢的1,4-二氧六环溶液 (0.1mL)。反应在室温下搅拌1小时。混合物在室温下减压浓缩, 得到的剩余物用乙腈和无水乙醚洗涤得到白色固体化合物18 (10.7mg, 收率58%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz) δ10.84 (s, 1H), 10.35 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.84-8.78 (m, 1H), 8.60-8.52 (m, 1H), 8.27 (dd, J=8.8Hz, J=2.0Hz, 1H), 8.19 (d, J=8.8Hz, 1H), 5.94-5.82 (m, 1H), 3.30-3.20 (m, 2H), 2.44 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 2.33-2.20 (m, 2H), 2.03-1.90 (m, 4H), 1.89-1.77 (m, 2H), 1.68-1.58 (m, 2H), 1.56-1.43 (m, 4H), 1.37-1.21 (m, 4H); MS: 550.3 [M+H]⁺。

[0273] 实施例19: 制备8-(2-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧-7,8-二氢吡啶基[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)-7,8-二氢-1,6-萘啶-6(5H)-基)-8-氧辛羟肟酸(化合物19)



[0274]



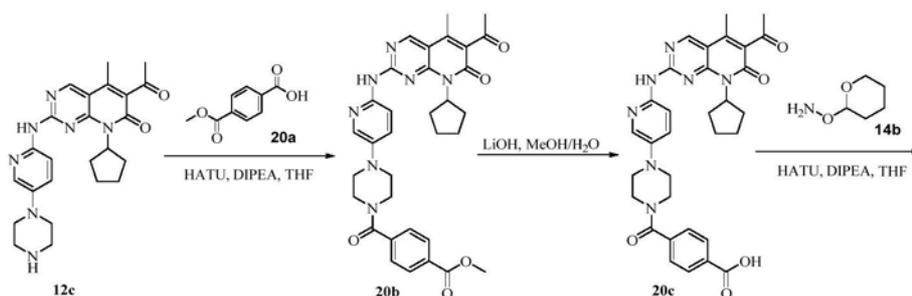
[0275] 19a (40mg, 0.215mmol)、化合物8 (45mg, 0.108mmol)、HATU (82mg, 0.215mmol)、DIPEA (42mg, 0.323mmol) 在无水THF (10mL) 中的混合物在室温下搅拌16小时。混合物用水 (20mL) 稀释, 乙酸乙酯 (10mL x 3) 萃取。合并有机相用饱和食盐水 (10mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液在减压下浓缩至干。剩余物用制备薄板层析 (二氯甲烷/甲醇=15/1) 纯化得到浅黄色固体化合物19b (50mg, 收率79%)。MS: 589.3 [M+H]⁺。

[0276] 室温下往19b (50mg, 0.085mmol) 的1:1甲醇和水 (10mL) 溶液的混合物中加入LiOH (71mg, 1.70mmol), 混合物在50℃搅拌1小时。反应混合物冷却至室温, 然后加入2N盐酸调节至pH=5。水相用乙酸乙酯 (10mL x 3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (10mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液在减压下浓缩得到白色固体化合物19c (48mg, 收率98%), 没有进一步纯化, 直接用于下一步。

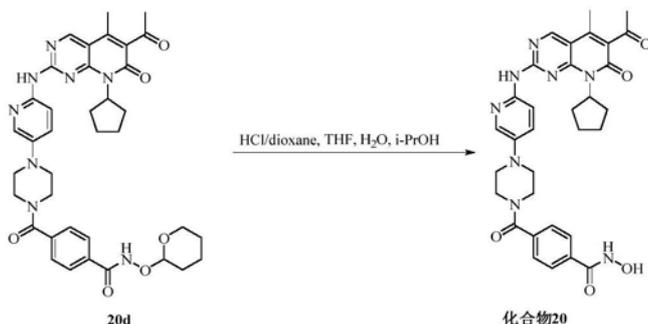
[0277] 往化合物19c (48mg, 0.084mmol) 的干燥THF (5mL) 溶液中加入HATU (48mg, 0.125mmol)、DIPEA (32mg, 0.251mmol) 和O-(四氢-2H-吡喃-2-基)-羟胺 (15mg, 0.125mmol), 所得的反应混合物在室温下搅拌16小时。反应混合物用乙酸乙酯 (20mL) 稀释, 混合物用饱和食盐水 (10mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液在减压下浓缩得到剩余物, 然后用制备薄板层析 (用25:1二氯甲烷/甲醇) 纯化得到32mg白色固体化合物19d (收率57%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400Hz) δ 10.91 (s, 1H), 10.35 (d, J=10.8Hz, 1H), 9.00 (s, 1H), 7.95-7.86 (m, 1H), 7.70-7.62 (m, 1H), 5.91-5.80 (m, 1H), 4.82-4.78 (m, 1H), 4.66 (s, 1H), 4.61 (s, 1H), 3.96-3.86 (m, 1H), 3.82-3.74 (m, 2H), 3.52-3.44 (m, 1H), 2.93-2.85 (m, 1H), 2.81-2.75 (m, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.44-2.35 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.30-2.20 (m, 2H), 2.02-1.86 (m, 4H), 1.84-1.72 (m, 2H), 1.66-1.55 (m, 5H), 1.55-1.42 (m, 7H), 1.34-1.19 (m, 4H); MS: 674.4 [M+H]⁺。

[0278] 在0℃下往化合物19d (32mg, 0.048mmol) 的干燥THF (0.6mL) 溶液中加入4M氯化氢的1,4-二氧六环溶液 (1.0mL), 反应在室温下搅拌3小时。混合物在室温下减压浓缩, 剩余物用乙腈和无水乙醚洗涤得到白色固体化合物19 (20mg, 收率71%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400Hz) δ 10.92 (br s, 1H), 10.36 (br s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.88-7.80 (m, 2H), 5.90-5.79 (m, 1H), 4.70 (s, 1H), 4.64 (s, 1H), 3.81 (t, J=5.8Hz, 2H), 3.02-2.93 (m, 1H), 2.90-2.82 (m, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.41-2.38 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.29-2.17 (m, 2H), 1.98-1.91 (m, 4H), 1.85-1.75 (m, 2H), 1.64-1.54 (m, 2H), 1.54-1.46 (m, 4H), 1.35-1.23 (m, 4H); MS: 590.3 [M+H]⁺。

[0279] 实施例20:制备4-(4-(6-(6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧-7,8-二氢吡啶[2,3-d]嘧啶基-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-羰基)-N-苯甲羟肟酸(化合物20)



[0280]



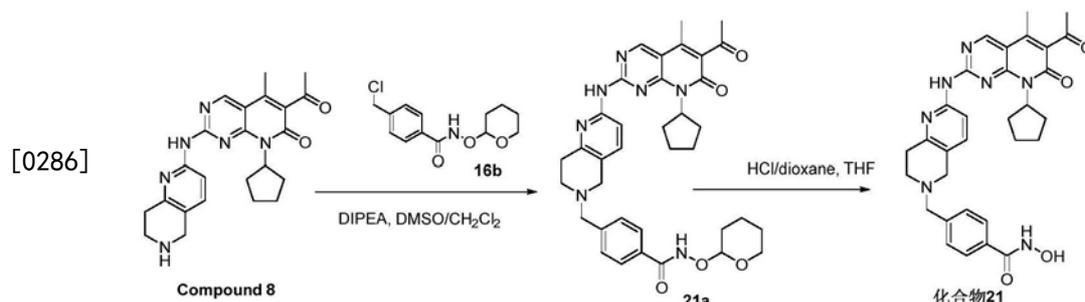
[0281] 往化合物12c (45mg, 0.089mmol) 的干燥THF (5mL) 溶液中加入HATU (51mg, 0.134mmol)、DIPEA (35mg, 0.268mmol) 和4-(甲氧羰基)苯甲酸 (24mg, 0.134mmol), 所得的混合物在室温下搅拌16小时。反应混合物用水 (10mL) 稀释, 乙酸乙酯萃取 (10mL x3)。合并有机相用饱和食盐水 (10mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液在减压下浓缩至干燥。得到的剩余物用制备薄板层析 (用15:1二氯甲烷/甲醇洗脱) 纯化得到42mg浅黄色固体化合物20b (收率77%)。MS: 610.4 [M+H]⁺。

[0282] 室温下往20b (42mg, 0.069mmol) 的1:1甲醇和水 (10mL) 溶液的混合物中加入LiOH (58mg, 1.38mmol), 混合物在50℃下搅拌1个小时。反应混合物冷却至室温, 然后加入2N盐酸调节pH=5。混合物用乙酸乙酯萃取, 合并有机相用饱和食盐水 (10mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤。溶液在减压下浓缩得到黄色固体化合物20c (40mg, 收率98%)。MS: 596.4 [M+H]⁺。

[0283] 室温下往化合物20c (40mg, 0.067mmol) 的干燥THF (10mL) 溶液中加入HATU (33mg, 0.087mmol)、DIPEA (26mg, 0.202mmol) and 0-(四氢-2H-吡喃-2-基)-羟胺 (16mg, 0.134mmol)。所得的反应混合物在室温下搅拌16小时, 然后用水 (15mL) 稀释, 乙酸乙酯 (10mL x 3) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水 (10mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液在减压下浓缩得到剩余物, 剩余物用制备薄板层析 (用15:1二氯甲烷/甲醇洗脱) 纯化得到黄色固体化合物20d (收率99%)。MS: 695.4 [M+H]⁺。

[0284] 往化合物20d (15mg, 0.022mmol) 的干燥THF (3mL) 加入的4M氯化氢的1,4-二氧六环 (0.8mL) 溶液, 水 (0.1mL) 和异丙醇 (1mL)。反应在室温下搅拌2小时。无水乙醚加入到上述混合物中, 有固体析出, 过滤。固体在真空下干燥得到浅黄色固体化合物20 (10mg, 收率77%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400Hz) δ 11.35 (s, 1H), 10.86 (brs, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.87-7.77 (m, 4H), 7.53 (d, J=8.4Hz, 2H), 5.93-5.78 (m, 1H), 3.88-3.75 (m, 2H), 3.53-3.42 (m, 2H), 3.36-3.13 (m, 4H), 2.44 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 2.29-2.16 (m, 2H), 1.98-1.89 (m, 2H), 1.86-1.74 (m, 2H), 1.66-1.54 (m, 2H)。MS: 611.3 [M+H]⁺。

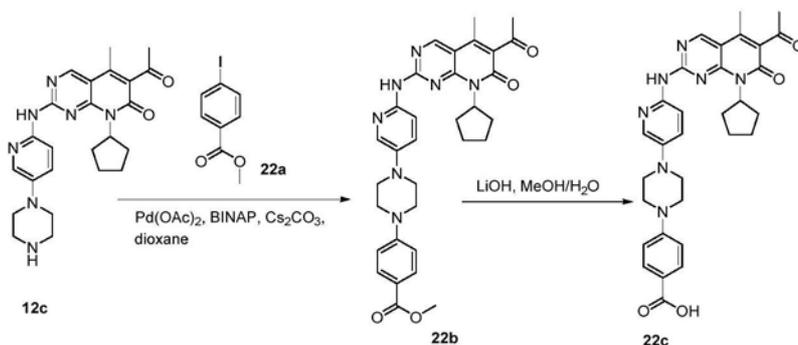
[0285] 实施例21:制备4-((2-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧-7,8-二氢吡啶[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)-7,8-二氢-1,6-萘啶-6(5H)-基)甲基)-苯甲羟肟酸(化合物21)



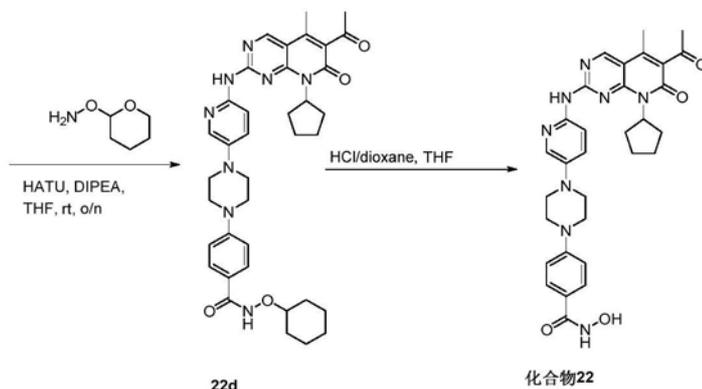
[0287] 化合物8 (45mg, 0.108mmol), 化合物16b (58mg, 0.215mmol) 和DIPEA (42mg, 0.323mmol) 在1:1DMF:DCM (5mL) 的混合物中于50℃搅拌16小时。混合物冷却至室温, 用水 (10mL) 稀释, 二氯甲烷 (10mL x 3) 萃取。合并有机相用饱和食盐水 (5mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液在减压下浓缩得到剩余物, 剩余物用制备薄板层析 (二氯甲烷/甲醇=20/1) 纯化得到黄色固体产物21a (46mg, 收率66%)。MS: 652.4[M+H]⁺。

[0288] 在0℃下往化合物21a (46mg, 0.071mmol) 的干燥THF (8mL) 溶液中加入4M氯化氢的1,4-二氧六环 (1.5mL) 溶液, 反应在室温下搅拌3小时。混合物在室温减压下浓缩, 剩余物用少量乙腈和无水乙醚洗涤, 固体粗产品用制备HPLC (条件和实施例12描述的一样) 进一步纯化得到浅黄色固体化合物21 (8.0mg, 收率20%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400Hz) δ11.4-11.00 (br, 1H), 10.28 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.87-7.62 (m, 3H), 7.54-7.36 (m, 3H), 5.92-5.76 (m, 1H), 3.77 (s, 2H), 3.55 (s, 2H), 2.89-2.73 (m, 4H), 2.42 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.29-2.17 (m, 2H), 1.98-1.83 (m, 2H), 1.83-1.70 (m, 2H), 1.65-1.53 (m, 2H); 568.3[M+H]⁺。

[0289] 实施例22:制备4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧-7,8-二氢吡啶[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-苯甲羟肟酸(化合物22)

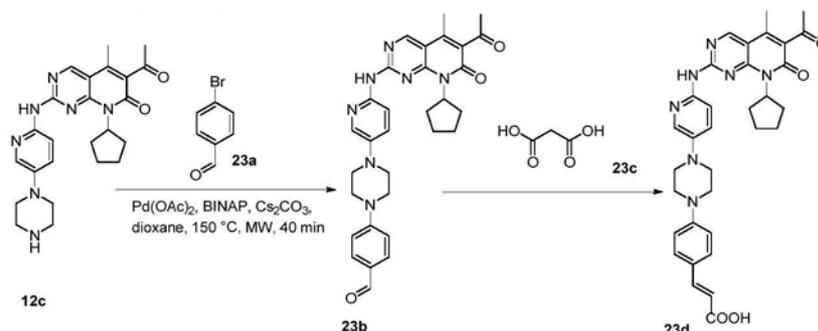


[0290]

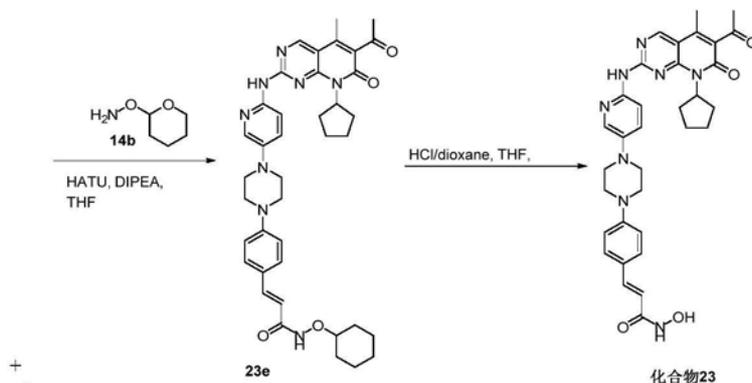


[0291] 根据上面的路线得到化合物22。583.2[M+H]

[0292] 实施例23:制备(E)-3-(4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧-7,8-二氢吡啶[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)苯基)-丙烯酸(化合物23)



[0293]



[0294] 根据上面的路线得到化合物23。MS:609.3[M+H]⁺。

[0295] 实施例24:生物测试。

[0296] CDK2,CDK4和CDK6激酶测试:

[0297] 使用移动性位移测定法来监测FAM标记的多肽磷酸化比率(多肽18用于CDK2/CycA2,多肽8用于CDK4/CycD3的),从而测量CDK各种亚型CDK2/CycA2,CDK4/CycD3和CDK6/cycD3的体外酶活性。CDK2/CycA2和CDK6/cycD3是在如下的缓冲液条件下测试活性的:50mM HEPES (pH7.5),10mM MgCl₂,0.0015%Brij-35和2mM二硫苏糖醇;CDK4/CycD3是在如下的缓冲液条件下测试活性的:20mMHEPES (pH7.5),10mM MgCl₂,0.01%Triton X-100和2mM二硫苏糖。通过100%DMSO将化合物制备成最终所需最高抑制剂浓度的50倍,并用3倍系列稀释法制备总共10个浓度的溶液。对于每个激酶亚型,酶和底物的剂量为:CDK2/CycA2 12nM,ATP Km 39μM;CDK4/CycD3 10nM,ATP Km 221μM;CDK6/cycD3 15nM,ATP Km800μM。在28°C下分别测试60分钟,180分钟,60分钟,反应用终止溶液(50mMEDTA,0.015%Brij-35,0.2%涂层试剂#3和100mM HEPES (pH 7.5))终止。在CaliperEZ Reader上收集转换率。通过用Xlfit excel加入版本4.3.1来拟合剂量-反应曲线来计算IC₅₀数值。

[0298] 代表化合物的测试结果列在如下表1中。

[0299] 表1CDK2,CDK4和CDK6的测试

[0300]

化合物	CDK4 (IC ₅₀ ,nM)	CDK6 (IC ₅₀ ,nM)	CDK2 (IC ₅₀ ,μM)
1	<10	<25	>5
2	<25	<100	>5
3	<10	<25	>5

4-1	<25	<100	<1
4-2	<50	<100	
5	<10	<25	>5
6	<10	<25	>5
7	<10	<25	<1
7R	<10	<25	<1
7S	<10	<25	<1
8	<10	<100	>1
12	<10	<25	>10
13	<25	<50	>1
14	<10	<10	
15	<10	<25	>1
16	<10	<50	>1
17	<50	<500	>1
18	<50	<1000	>1

[0301] HDAC-1, HDAC-2和HDAC-6活性测试:

[0302] 化合物对HDAC-1, HDAC-2和HDAC-6功能的抑制作用是在体外使用在384孔板格式中进行的优化的均质测定来确定. 在这个测试中, 重组的, 全长的HDAC-1, HDAC-2或HDAC-6蛋白(BPS Biosciences) 与在Km图中浓度的Ac-多肽-AMC一起培养. 反应在基于Tris的测定缓冲液中进行, 然后在脱乙酰酶和胰蛋白酶的酶活性下从底物荧光释放7-氨基-4-甲基香豆素. 荧光测量使用多标记板读数器 (Synergy MX, 355nm激发和460nm发射) 获得. 数据在逐个平板的基础上分析, 以确立随着时间的荧光的线性范围. 将数据拟合到GraphPad Prism V5.0软件中, 使用公式 ($Y = \text{底部} + (\text{顶部} - \text{底部}) / (1 + 10^{((\text{LogIC}_{50} - X) * \text{斜率})})$) 获得IC₅₀值, Y是%抑制, X是化合物浓度)。

[0303] 代表化合物的测试结果列在如下表1中。

[0304] 表2HDAC-1和HDAC-6生物测试 (IC₅₀, nM)

[0305]

化合物	HDAC1	HDAC6
12	<50	<10
14	<500	<50
15	<500	<50
16	<500	<10
17	<500	<50
18	<50	<10

[0306] 本发明的其他实施例

[0307] 上面已经参照特定的例子和实施例描述了本发明, 但是不以任何方式被构建为限制本发明的范围. 应该理解, 可以对所公开的具体示例和实施例进行各种修改和添加而不脱离本发明的精神, 并且这样的修改和添加被认为是本发明的一部分。