



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102858770 A

(43) 申请公布日 2013. 01. 02

(21) 申请号 201180016541. 8

桑米特里·森古达

(22) 申请日 2011. 02. 17

沙卡·杰拉姆·谢蒂

(30) 优先权数据

(74) 专利代理机构 北京中誉威圣知识产权代理有限公司 11279

00415/CHE/2010 2010. 02. 17 IN

代理人 李春暉 彭晓玲

(85) PCT申请进入国家阶段日

(51) Int. Cl.

2012. 09. 28

*C07D 471/04* (2006. 01)

(86) PCT申请的申请数据

*A61K 31/519* (2006. 01)

PCT/IB2011/050669 2011. 02. 17

*A61P 35/00* (2006. 01)

(87) PCT申请的公布数据

*A61P 19/00* (2006. 01)

W02011/101806 EN 2011. 08. 25

*A61P 37/00* (2006. 01)

(71) 申请人 德比欧法姆有限公司

地址 瑞士洛桑市

申请人 奥里格恩探索科技有限公司

(72) 发明人 安德烈斯·MC 阿里斯特

马克西米连·姆伦

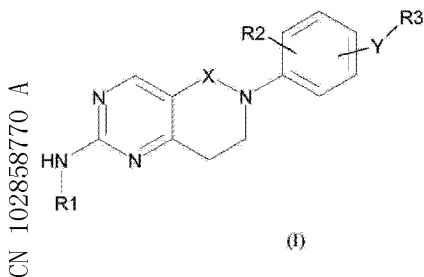
权利要求书 5 页 说明书 96 页 附图 2 页

(54) 发明名称

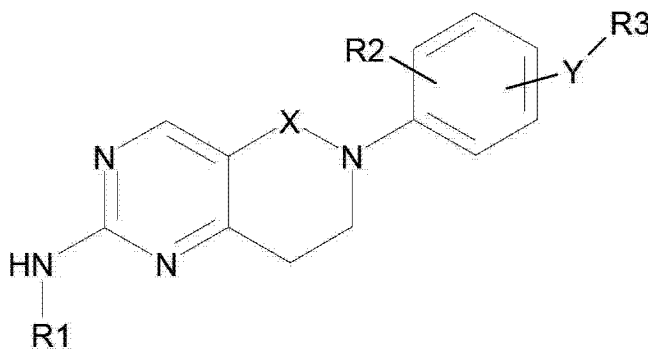
双环化合物及其作为 c-SRC/JAK 激酶双重抑制剂的用途

(57) 摘要

本发明公开了如结构式(I)的含有嘧啶和吡啶环的经取代的芳香族双环化合物, 以及其药学上可接受的盐。本发明化合物是作用为酪氨酸激酶抑制剂, 优选为 SRC 族激酶 (SFKs) 抑制剂, 特别是作为 SFK/JAK 激酶多重抑制剂, 且甚至更佳是作为 c-SRC/JAK 激酶双重抑制剂, 藉此抑制 STAT3 活化, 因此抑制特定细胞种类的异常生长。尤其是, 本发明化合物是用以治疗或抑制由于 STAT3 失调而造成的一些疾病。



1. 一种具有以下结构式 (I) 的化合物：



(I)

其中

R1 为 H、芳基、取代芳基、烷基、取代烷基、杂芳基、取代杂芳基、杂环基、取代杂环基、杂环烷基、或取代杂环烷基；

X 为 CH<sub>2</sub> 或 C=O；

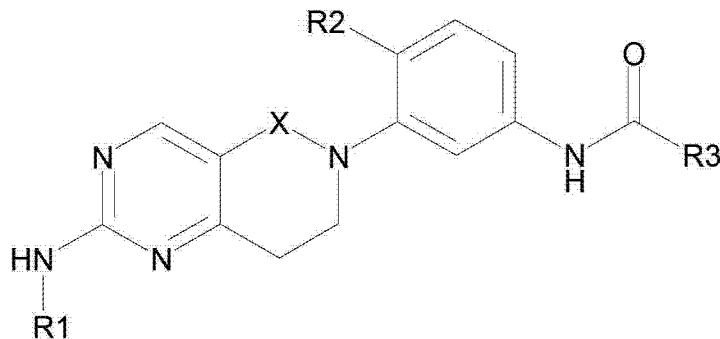
R2 为 H、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基、卤素、CF<sub>3</sub>、或 -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基；

Y 为 -NHCO-、-CONH-、-NHSO<sub>2</sub><sup>-</sup>、-NH-、-NCH<sub>3</sub>-CO-、-NHCH<sub>2</sub>-、O、-NHCONH-、或 -NHCOCH<sub>2</sub>-；

R3 为烷基、取代烷基、芳基、或取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基或杂环烷基；

或其药学上可接受的盐类。

2. 如权利要求 1 所述的化合物, 该化合物具有以下结构式 (II)：



(II)

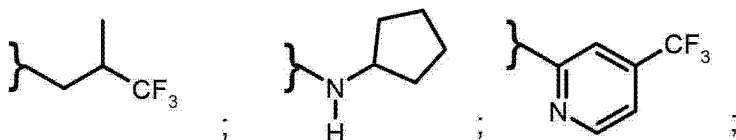
其中

R1 为氢、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) 烷基、苯基、取代苯基、吡啶、或取代吡啶；

X 为 CH<sub>2</sub> 或 C=O；

R2 为 H、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基、卤素、或 -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基；

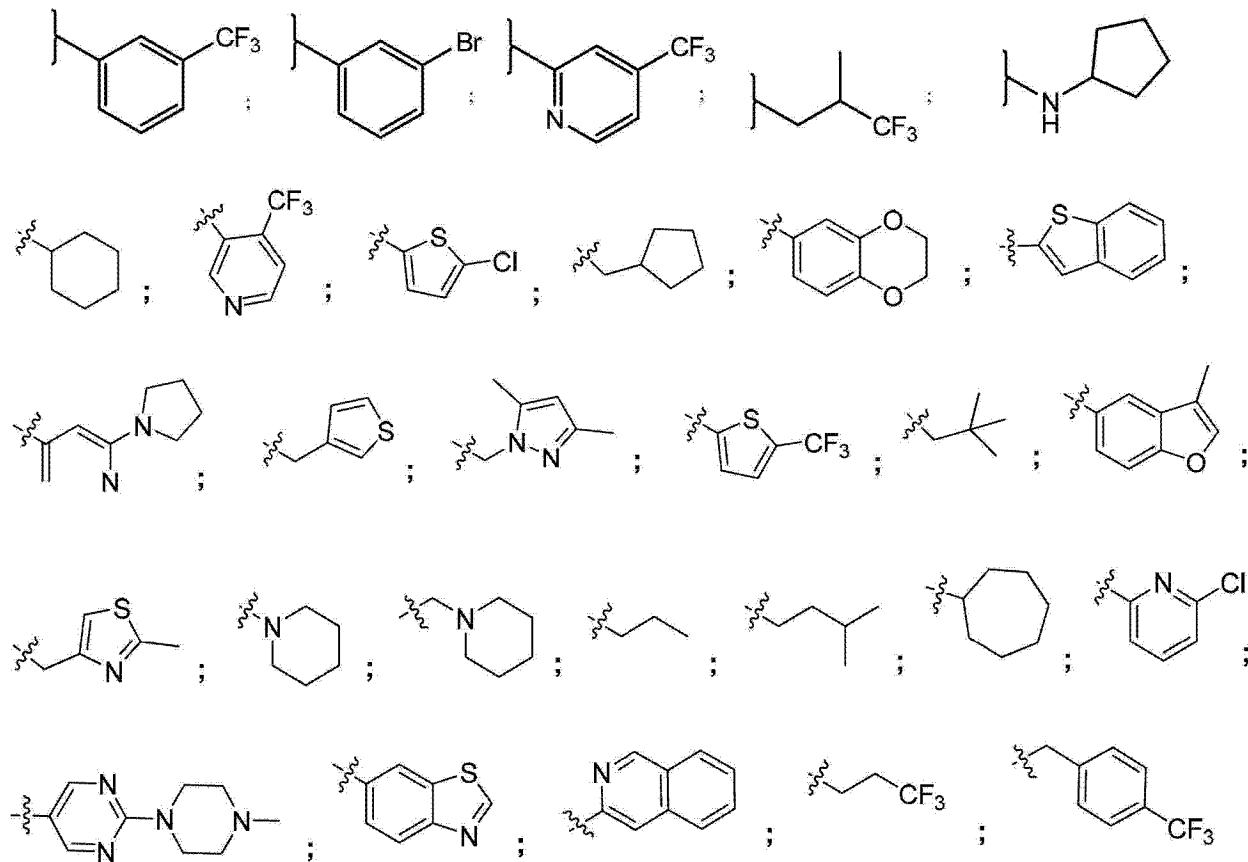
R3 为 (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基、环烷基、取代环烷基、杂环烷基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂环芳基、



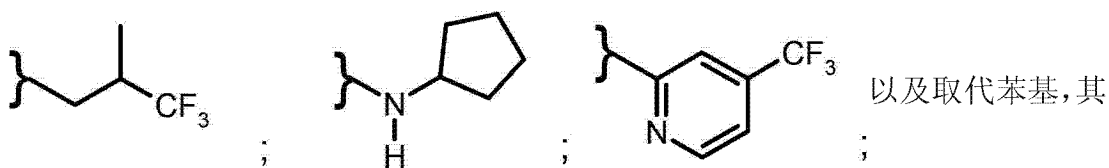
并且其中所述取代基选自包含 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 直链或支链烷基、卤素或腈基取代 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷

基、-O- 烷基 (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)、卤素的群组；  
或其药学上可接受的盐类。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物,其中 R<sub>3</sub> 选自于由以下基团构成的群组：

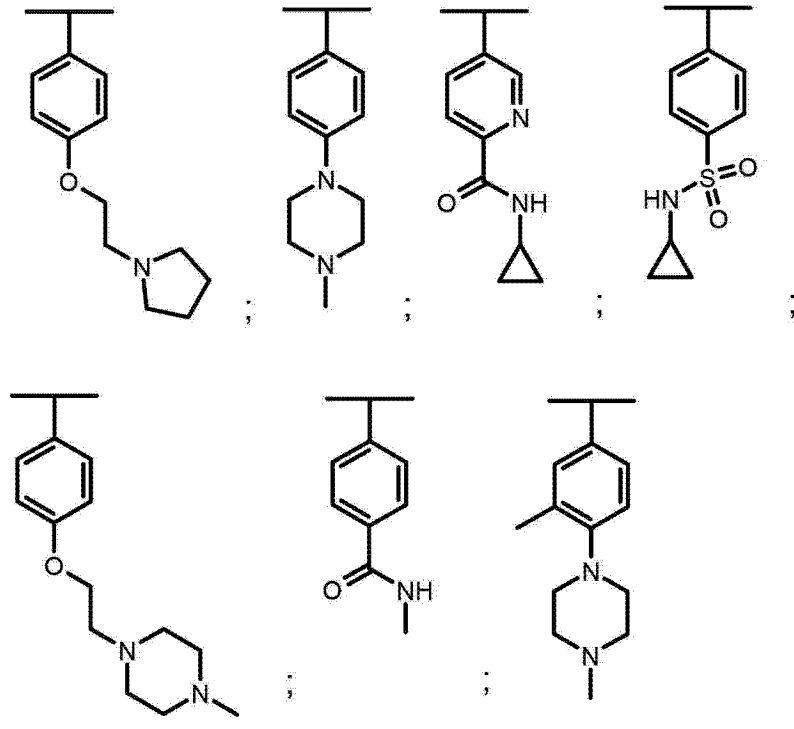


4. 如权利要求 1-3 中任一项所述的化合物,其中  
R<sub>1</sub> 为取代苯基或取代吡啶；  
X 为 CH<sub>2</sub> 或 C=O；  
R<sub>2</sub> 为 H、CH<sub>2</sub>、Cl 或 F；  
R<sub>3</sub> 选自于由以下基团构成的群组：



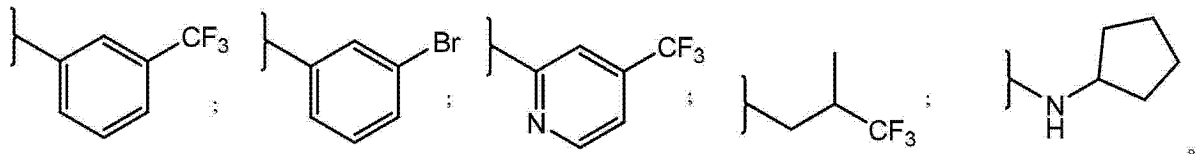
中所述取代基选自于包含 Cl、F、Br 和 CH<sub>3</sub> 的群组。

5. 如权利要求 1-4 中任一项所述的化合物,其中  
R<sub>1</sub> 选自于由以下基团构成的群组：



以及

R3 选自由以下基团构成的群组：



6. 如权利要求 1-5 中任一项所述的化合物,其选自由以下化合物构成的群组：

N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)]-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺；

N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌亲-1-基)]-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺；

5-[6-[2-甲基-5-(3-三氟甲基-苯甲酰胺基)-苯基]-5,6,7,8-四氢-吡啶[4,3-d]嘧啶-2-基胺基]-吡啶-2-羧酸环丙基酰胺；

N-{3-[2-(4-环丙基胺磺酰基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-4-甲基-苯基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺；

N-(4-氯-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)]-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺；

4-三氟甲基-吡啶-2-羧酸{4-氯-3-[2-(4-甲胺甲酰基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基}-酰胺；

4,4,4-三氟-3-甲基-N-[4-甲基-3-(2-{4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)]-乙氧基]-苯胺基}-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-苯基]-丁酰胺；

1-环戊基-3-(4-甲基-3-{2-[4-(2-吡咯烷-1-基)-乙氧基]-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-尿素；

N-(4-甲基-3-{5-氧代-2-[4-(2-吡咯烷-1-基)-乙氧基]-苯胺基]-7,8-二

氢-5H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺；

N-{4-氯-3-[2-(4-环丙胺甲酰甲氧基-苯胺基)-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-6-基]-苯基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺；

N-(4-氯-3-[2-[3-甲基-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-6-基]-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺；

3-溴-N-(4-甲基-3-[2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-6-基]-苯基)-苯甲酰胺；

N-(4-氯-3-[2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-6-基]-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺；

或其药学上可接受的盐类。

7. 如权利要求 1-6 中任一项所述的化合物,其选自自由以下化合物构成的群组：

N-(4-甲基-3-[2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-6-基]-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺；

5-[6-[2-甲基-5-(3-三氟甲基-苯甲酰胺基)-苯基]-5,6,7,8-四氢-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-2-基胺基]-吡啶-2-羧酸环丙基酰胺；

4-三氟甲基-吡啶-2-羧酸 {4-氯-3-[2-(4-甲胺甲酰基-苯胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-6-基]-苯基}-酰胺；

或其药学上可接受的盐类。

8. 如权利要求 1-7 中任一项所述的化合物,其选自自由以下化合物构成的群组：

N-(4-氯-3-[2-[3-甲基-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-6-基]-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺；

N-{4-氯-3-[2-(4-环丙胺甲酰甲氧基-苯胺基)-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-6-基]-苯基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺；

或其药学上可接受的盐类。

9. 如权利要求 1-8 中任一项所述的化合物,其用以治疗疾病。

10. 一种药物组合物,包含如权利要求 1-8 项中任一项所述的化合物,以及至少一种药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂。

11. 一种如权利要求 1-8 中任一项所述的化合物其用于经由对 c-SRC 和 JAK2 的多重目标抑制而治疗与 STAT3 路径活化相关的疾病。

12. 如权利要求 11 所述所述的化合物,其中所述疾病是癌症、自体免疫、骨相关和血液疾病。

13. 如权利要求 12 所述的化合物,其中所述癌症是乳癌、头和颈部癌、黑色素瘤、卵巢癌、肺癌、胰腺癌、结肠癌、子宫癌、胃癌、肾癌、膀胱癌、肝癌和前列腺癌；且其中所述化合物是如权利要求 7 所述的化合物中任一者。

14. 如权利要求 12 所述的化合物,其中所述癌症是多发性骨髓瘤、白血病、脊髓增生性肿瘤和淋巴瘤；且其中所述化合物是如权利要求 8 所述的化合物中任一者。

15. 一种经由对 c-SRC 和 JAK2 的多重目标抑制而治疗与 STAT3 路径活化相关的疾病的方法,包括向目标给药有效剂量的如权利要求 1-8 中任一所述的化合物或权利要求 10 所述的药物组合物。

16. 如权利要求 15 所述的方法,其中所述的疾病是癌症、自体免疫、骨相关和血液疾病。

17. 如权利要求 16 所述的方法,其中所述癌症是乳癌、头和颈部癌、黑色素瘤、卵巢癌、肺癌、胰腺癌、结肠癌、子宫癌、胃癌、肾癌、膀胱癌、肝癌和前列腺癌;且其中该化合物是如权利要求 7 所述的化合物中任一者。

18. 如权利要求 16 所述的方法,其中所述癌症是多发性骨髓瘤、白血病、脊髓增生性肿瘤和淋巴瘤;且其中所述化合物是如权利要求 8 所述的化合物中任一者。

19. 如权利要求 15 所述的方法,其中所述的给药方式是口服、经皮给药或肠胃外给药。

## 双环化合物及其作为 c-SRC/JAK 激酶双重抑制剂的用途

### 技术领域

[0001] 本发明是关于一种包含嘧啶和吡啶环的经取代的芳香族双环化合物,及其药学上可接受的盐类。本发明化合物可作用为酪氨酸激酶抑制剂,优选为 SRC 族激酶 (SFKs) 抑制剂,特别是 SFK/JAK 激酶多重抑制剂,和更优选为 c-SRC/JAK 激酶双重抑制剂,藉此抑制 STAT3 活性,因此抑制特定细胞种类的异常生长。尤其是,本发明化合物可用来治疗或抑制由于 STAT3 失调而造成的一些疾病。

### 现有技术

[0002] 发炎和癌症是由致癌性(内部的)和环境性(外部的)路径所联结(Yu et al., Nature Reviews Cancer 2009)。内部路径是由在转化后细胞中的基因或外成性变化来活化。此等变化包含那些会造成与两面神激酶(Janus 激酶, JAK) 族酪氨酸激酶相关的细胞因子受体以及有内部酪氨酸激酶活性的生长因子受体的过度表达或持续活化的变化。在受体-相关 JAK 族成员中的致癌突变亦构成某些类型的癌症。这些受体、以及非受体酪氨酸激酶(例如 c-SRC) 可由外部路径活化,外部路径为与癌症发炎相关的环境因子(其包含紫外光(UV) 辐射、化学致癌物质、感染、压力和抽烟)。藉由内部和外部路径两者所诱发的活化酪氨酸激酶可磷酸化和活化转录因子讯息转换器和转录活化剂 3(STAT3),其接着形成位移到细胞核的二聚体,在此他们直接调控一群目标基因的表现。除了上调涉及增殖、存活、侵入和转移的数种基因,STAT3 会诱发许多细胞因子、趋化因子和其它介体的表现,例如与癌症促进发炎反应相关的白细胞介素-6 和环加氧酶 4。重要的是,许多这些细胞因子、趋化因子和其它介体的受体会接着进一步活化 STAT3,因此形成自分泌和旁分泌前馈回路,其会造成对基因程序的稳定改变并且促进癌症发炎反应。

[0003] STAT3 被认为在选择性诱发和维持前致癌性发炎微环境中扮演关键角色,在恶性转化初期与癌症发展期间皆是如此。STAT3 的持续活化会调控肿瘤促进发炎反应的扩展,并且增加肿瘤细胞增殖、存活和入侵,同时抑制抗肿瘤免疫反应。因此,STAT3 为有吸引力的分子标靶,可用以发展新的癌症疗法或调控免疫反应以增进癌症治疗。

[0004] 数种小分子抑制剂,可用以有效阻碍 STAT3 讯息传递路径,已经被熟知于现有技术中(Deng et al., Current Cancer Drug Targets, 2007)。这些抑制剂,由结构来看,可被分为五种化合物。它们包含(1) 自然产物和衍生物,例如姜黄素、白藜芦醇和其它;(2) 酪氨酸磷酸化抑制剂酪氨酸磷酸化抑制剂;(3) 含铂络合物;(4) 肽类似物(peptidomimetics); 以及(5) 氮杂螺烷(azaspiranes)。

[0005] 由现有技术亦可知,取代直接和特定地抑制 STAT3,可能藉由抑制上游目标而有效地阻碍 STAT3 讯息传递路径。确实,如上所述,STAT3 转录因子为 JAK 和 c-SRC 激酶两者的下游受动器,且由这些激酶在酪氨酸 705 (Y705) 的酪氨酸磷酸化而加以活化,其为 STAT3 二聚化和 STAT3 的转录因子功能活化的首要条件。

[0006] 因此 c-SRC 和 JAK 作用在转录因子 STAT3 的上游,且它们的抑制将导致在 STAT3 相依肿瘤中对 STAT3 讯息传递路径的阻碍。文献已报导(Johnson et al., Clin. Cancer

Res, 2007 和 WO 2008/077062, Board of Regents, The University of Texas System), c-SRC 和 JAK 抑制剂具有协同抗肿瘤作用。确实, c-SRC 可藉由(例如)达沙替尼(Dasatinib)来快速且持久地抑制,其中 STAT3 只经过瞬时去活化。在以达沙替尼培养期间,加入 JAK 抑制剂(例如吡啶酮 6 或 AG490)会造成 STAT3 的持续抑制,尽管并未显示达沙替尼活化 JAK。结合 c-SRC 和 JAK 抑制会由于增加的细胞凋亡而造成协同细胞毒性。因此,使用结合治疗,可得到数种路径的持久抑制,例如 STAT3 讯息传递路径,其已知对于癌细胞存活和增殖很重要。

[0007] SRC 激酶家族(SFKs)是由非受体酪氨酸激酶所组成,其在调节用以控制细胞增殖、移动性、黏附性和存活率的讯息传递路径中扮演关键角色。在不同的癌症中,SFKs 和一些生长因子受体是过度表达。(Halpern M. S., England J. M., Kopen G. C, Christou A. A., Taylor R. L. Jr., Endogenous c-src as a Determinant of the Tumorigenicity of src Oncogenes, Proc Natl Acad Sci U S A. 1996 93(2):824-827. Haura, E. B., Zheng, Z., Song, L., Cantor, A., Bepler, G., Activated Epidermal Growth Factor Receptor-Stat-3 Signaling Promotes Tumor Survival In Vivo in Non-Small Cell Lung Cancer, Clin. Cancer Res. 2005, 11(23):8288-8294.) c-SRC 在对于区域性组织缺氧、有限养分、和对于自毁的内部细胞作用的反应中扮演一角色。在许多固体和液体肿瘤中会观察到 c-SRC 的异常表达和/或活性,其在影响化学抗性中扮演关键角色。几乎任何可导致受体酪氨酸激酶活化的生长因子皆显示能活化 c-SRC,使得 c-SRC 成为癌症疗法的非常有吸引力的标靶。由于在癌症、骨质疏松症、中风、心肌梗塞和血管渗漏等等中已经暗示有 c-SRC 的活化和或许过度表达,c-SRC 的小分子抑制剂可有利于治疗数种疾病状态。然而,使用酪氨酸激酶抑制剂来抑制 SFKs 已经被显示在头和颈鳞状癌与非小细胞肺癌细胞株中会造成细胞毒性、细胞循环停止、和细胞凋亡。(文献:Johnson, F. M., Saigal, B., Talpaz, M., and Donate, N. J., Dasatinib (BMS-354825) Tyrosine Kinase Inhibitor Suppresses Invasion and Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma and Non-small Cell Lung Cancer Cells, Clin Cancer Res, 11:6924-6932, 2005.) 在头和颈鳞状恶性肿瘤与非小细胞肺癌细胞株中,达沙替尼会造成细胞毒性、细胞循环停止和细胞凋亡。然而,尽管有 SFKs 的持久抑制与 STAT3 的初期抑制,STAT3 无法被持久地抑制。

[0008] Janus 激酶(JAKs)为细胞激酶且由四种成员构成,JAK1、JAK2、JAK3 和 TYK2。JAKs 可在由一些细胞因子所诱导的细胞行为的调节中扮演重要角色,并且是用以掌控细胞存活、增殖、分化和细胞凋亡的多样讯息传递路径的关键成员。在肿瘤形成中已经暗示有 JAK 激酶的过度活化。在 2005 年,造成组成性活化 JAK2 的 JAK2 (JAK2V617F) 的复发突变被发现在多数脊髓增生失调症的病患身上,包含真性红血球增多症、原发性血小板增多症和原发性骨髓纤维症。

[0009] 数种选择性 SRC 家族激酶抑制剂(例如 SU6656、达沙替尼,揭露于 WO 99/61444 (Warner-Lambert Company) 或 WO 2007/088014 (F. Hoffmann La Roche AG) 中),以及选择性 JAK 抑制剂(例如吡啶酮 6、AG490 或其它揭露于 WO 2009/054941 (Merck & Co., Inc)、WO 2009/029998 (Cytosia Research PTY LTD)、或 WO/2008/157208 (Incyte Corporation) 中的抑制剂)已经被报导过。SFKs 亦调控在多种癌症中的 STAT 生长路径。(Xi, S., Zhang, Q., Dyer, K. F., Lerner, E. C, Smithgall, T. E., Gooding, W.



E., Kamens, J., and Grandis, J. R., Src kinases Mediate STAT Growth Pathways in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck, *J Biol Chem*, 278:31574-31583, 2003.) 因此,对于可抑制 SFKs 和 STATs 两者的癌症治疗的药物组合物和 / 或方法,存在有重要的需求。

[0010] 然而,进一步存在有发展多目标激酶抑制剂的需求。抑制数种目标的组合(例如 SFKs 和 JAKs) 的单一化合物提供了同时抑制数种主要讯息传递路径的优点,藉此干扰数种致癌过程,同时使得治疗较容易且增进病患舒适度。因此,吾人希望可以做出能够同时抑制 SFKs(特别是 c-SRC) 和 JAKs 的小分子激酶抑制剂分子。

[0011] 藉由结合双重抑制性(例如对 SFKs(特别是 c-SRC) 和 JAKs) 于单一分子中,可有以下优点:(i) 可减少当投予针对 SFKs(特别是 c-SRC) 和 JAKs 的两个不同的激酶抑制剂时所遇到的关于对非目标的毒性的风险;(ii) 减低治疗费用;(iii) 增加病患配合度;以及(iv) 同时阻碍用以活化 STAT3 路径的并行路线会导致较佳的抗肿瘤反应。再者,由于可在不同肿瘤类型之间侦测 STAT3 活化状态,可基于在这些肿瘤中的 STAT3 状态来使用 SFKs(特别是 c-SRC) 和 JAKs 目标激酶多重抑制剂于各种类型的疾病中。

[0012] 因此,本发明目标在提供能同时抑制数种主要讯息传递路径(特别是关于 STAT3 活化状态)的化合物。这些化合物具有不可预期的功效,可呈现以下任一者:

[0013] 在 c-Src 和 JAK2 抑制之后对有效 STAT3 封锁的抑制;

[0014] 由细胞内西方点渍法(in-cell Western) 较佳有  $IC_{50} \leq 500nM$  的值来抑制 STAT3 磷酸化;

[0015] - 在已建立的使用 A431 和 A549(STAT3 阳性细胞株)的异体移植(xenogra)模型中,在带有清楚剂量反应(接近 MTD 的最高剂量)的低于 MTD 的剂量下于所建立的肿瘤中的生长抑制(>60%),以及在肿瘤中 STAT3 磷酸化的抑制。

[0016] 本发明化合物代表了展现有这三个条件之间特定和未预期的良好折衷的化合物。

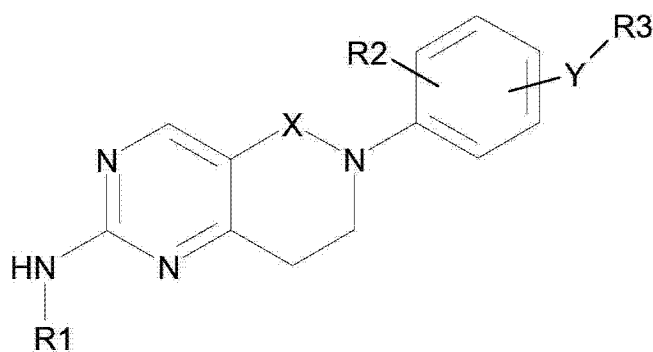
## 发明内容

[0017] 此目标已由发明人所达成,其令人讶异地产生出新的小激酶抑制剂分子 c-SRC、JAK-1、JAK-2。

[0018] 本发明提供会影响 STAT3 路径的化合物。本发明的化合物是用以做为药物组合物,例如,在此 STAT3 路径的调控被指出可治疗多种人类疾病(如癌症和 / 或自体免疫疾病)。

[0019] 本发明提供一种具有以下结构式(I)的化合物:

[0020]



(I)

[0021] 其中

[0022] R1 为 H、芳基、取代芳基、烷基、取代烷基、杂芳基、取代杂芳基、杂环基、取代杂环基、杂环烷基或取代杂环烷基；

[0023] X 为 CH<sub>2</sub> 或 C=O；

[0024] R2 为 H、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基、卤素、CF<sub>3</sub>、或 -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基；

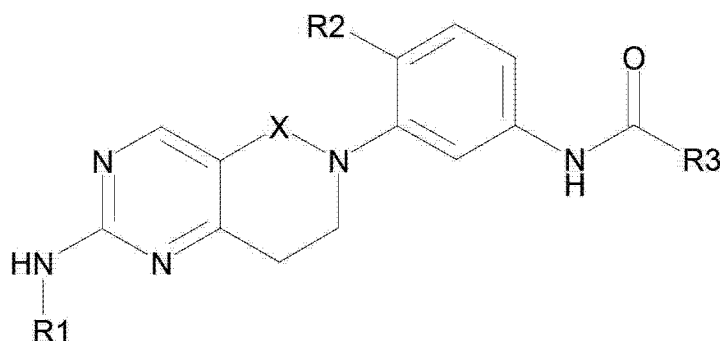
[0025] Y 为 -NHCO-、-CONH-、-NHSO<sub>2</sub><sup>-</sup>、-NH-、-NCH<sub>3</sub>-CO-、-NHCH<sub>2</sub>-、O、-NHCONH-、或 -NHCOCH<sub>2</sub>；

[0026] R3 为烷基、取代烷基、芳基、或取代芳基、杂环芳基、取代杂环芳基、环烷基、取代环烷基或杂环烷基；

[0027] 或其药学上可接受的盐类。

[0028] 本发明优选是提供一种具有以下结构式 (II) 的化合物：

[0029]



(II)

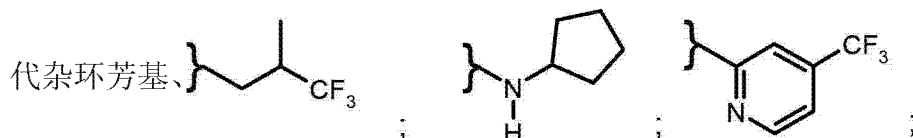
[0030] 其中

[0031] R1 为氢、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) 烷基、苯基、取代苯基、吡啶、或 取代吡啶, R1 优选为取代苯基或取代吡啶；

[0032] X 为 CH<sub>2</sub> 或 C=O；

[0033] R2 为 H、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基、卤素、或 -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基 ;R2 优选为 H、CH<sub>2</sub>、Cl 或 F；

[0034] R3 为 (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基、环烷基、取代环烷基、杂环烷基、芳基、取代芳基、杂环芳基、取



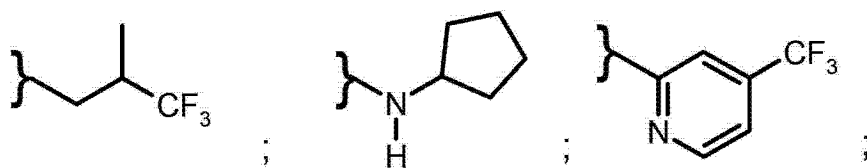
[0035] 且其中取代基选自于包含 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 直链或支链烷基、卤素或腈基取代的 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷

基、-O- 烷基 (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)、卤素；

[0036] 或其药学上可接受的盐类。

[0037] R3 优选为选自于由以下基团构成的群组：

[0038]



[0039] 以及取代苯基，其中取代基是选自于包含 Cl、F、Br 和 CH<sub>3</sub> 的群组。

[0040] 本发明化合物是用于治疗且用于与 STAT3 路径活化相关的疾病的治疗方法，本发明亦包含经由 c-SRC 和 JAK2 的多目标抑制的疗法。

[0041] 关于 STAT3 路径活化的疾病优选为癌症、自体免疫、骨相关和血液疾病。

[0042] 本发明的进一步的目标为提供一种药物组合物，其包含本发明的化合物以及至少一种药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂。

## 附图说明

[0043] 图 1 显示与Taxol®(泰素) 相比，本发明化合物的抑制活性

[0044] 图 2 显示与Taxol®相比，本发明化合物的抑制活性

[0045] 图 3 显示与厄洛替尼(Erlotinib) 相比，本发明化合物对肿瘤生长的抑制

[0046] 图 4 显示本发明化合物的酪氨酸 705 磷酸化 -STAT (pSTAT) 对肿瘤的抑制

## 具体实施方式

[0047] 除非另有定义，此处所用的所有技术和科学名词具有相同于熟悉本发明目标所属技术领域人员所通常理解的意义。如此处所用的以下定义来帮助理解本发明。在有争议的情况下，以含有名词定义的本发明说明书为准。

[0048] “包括”通常被用为指包含的意，这是表示允许一个或一个以上的特征或成份的存在。

[0049] 如用于说明书和申请专利范围中的单数形词“一 (a)”、“一 (an)”和“此 (the)”是包含有复数意涵，除非内文中另有清楚的指示。

[0050] “烷基”是指饱和脂肪族基，包含直链烷基、支链烷基、环烷（脂环）基、烷基取代环烷基、以及环烷取代烷基。在某些实施例中，直链或支链烷基骨架具有约 30 个或更少的碳原子（例如 C<sub>1</sub>-C<sub>30</sub> 直链、C<sub>3</sub>-C<sub>30</sub> 支链），或者是有约 20 个或更少的碳原子（例如 1 到 6 个碳）。

[0051] 同样地，“环烷基”是指饱和或部份饱和、单环或稠合环或螺环接多环，碳环优选为每环含有 3 到 10 个碳，例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基等等，除非有另外的指明。其包含单环系统（例如环丙基和环己基）、双环系统（例如萘烷）、以及多环系统（例如金刚烷）。此基团可为末端基或桥基。

[0052] “取代烷基”是指具有将在碳氢化合物骨架的一个或一个以上的碳上的氢加以取代的烷基团。此等取代基可包含（例如）羟基、羰基（例如羧基、烷氧羰基、甲酰基、或酰基）、硫羰基（例如硫酯、硫乙酸酯、或硫甲酸酯）、烷氧基、磷酸基、磷酸盐、次磷酸盐、氨基、

酰胺基 (amido)、脞基、亚胺基、氰基、硝基、叠氮基、氢硫基、烷硫基、硫酸盐、磺酸盐、氨磺酰基、磺酰氨基、磺酰基、杂环基、芳烷基、或芳香族或杂环芳基团。本领域技术人员应当了解，在碳氢化合物链上的取代基团其本身可为被取代的，如果合适的话。例如，取代烷基的取代基可包含经取代或未经取代的以下基团：氨基、叠氮基、亚胺基、酰胺基、磷酸基（包含磷酸盐和次磷酸盐）、磺酰基（包含硫酸盐、磺酰胺基、胺磺酰基、和磺酸盐）、以及硅基、还有醚、烷硫基、羰基（包含酮、醛、羧酸、和酯）、-CN 等等。取代烷基的例子叙述如下。环烷基可进一步以烷基、烯基、烷氧、烷硫基、氨烷基、羰基取代烷基、-CN 等等来加以取代。

[0053] 此处所用的“杂环烷基”或“杂环基”是指非芳香族的部份未饱和或全饱和的 3-10 元环系统，其包含大小为 3-8 个原子的单环以及双环或三环系统（其可包含与非芳香族环稠合的芳香族六元芳香族环或杂环芳香族环）。这些杂环烷基环包含那些具有 1-3 个杂原子（独立选自于氧、硫、和氮）的环，其中氮和硫杂原子可选择性地被氧化，而氮杂原子可选择性地被铵化。杂环在一个或一个以上的环上的位置可用取代基（例如烷基、羰基、卤素、烷氧基、羟烷基等等）加以取代。杂环的例子包含但不限于：吡咯烷基、吡啶基、吡啶烷基、咪唑基、咪唑烷基、哌啶基、哌啶基、噁唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、噻唑基、异噻唑基、以及四氢呋喃基。此基团可为末端基或桥基。

[0054] “杂原子”是指除了碳或氢的任何元素的原子。杂原子的例子包含硼、氮、氧、磷、硫和硒。

[0055] “芳烷基”是指以芳香族（例如芳香族或杂环芳香族）取代的烷基。

[0056] “烯基”和“炔基”是指类似长度的未饱和脂肪族，且为上述烷基的可能替代，但其分别含有至少一个双键或三键。“烷撑”是指由未饱和脂肪族碳氢化合物所形成的有机根；“亚烯基”表示包含碳碳双键的非环碳链。

[0057] “硝基”是指  $-\text{NO}_2$ 。

[0058] “卤素”表示氯、氟、溴或碘。

[0059] “硫氢基”是指  $-\text{SH}$ 。

[0060] “羟基”表示  $-\text{OH}$ 。

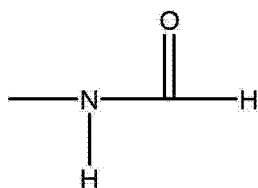
[0061] “磺酰基”是指  $-\text{SO}_2$ 。

[0062] “胺类”和“胺基”是指未经取代和经取代的胺类 ( $-\text{NH}_2$ ) 两者。经取代的胺类可用（例如）烷基、烯基、芳基、环烷基、环烯基、或杂环在一个或两个氢的位置进行取代。因此，“烷基胺”包含具有经取代或未经取代的烷基键结于其上的胺基（如上所定义）。

[0063] “氨基”是指胺基取代的羰基 ( $-\text{CONH}_2$ )，其中胺基团可用（例如）烷基、羟烷基、烯基、芳基、环烷基、环烯基、杂环烷基烷基 (heterocycloalkylalkyl)、或杂环在一个或两个氢位置上进行取代。

[0064] “酰胺基”可由以下通用化学式表示：

[0065]



[0066] 其中一个或两个氢位置可用（例如）烷基、烯基、芳基、环烷基、环烯基、或杂环来



化合物根。烷氧基的例子包含但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基、戊氧基、3-甲基丁氧基等等。

[0076] “卤烷基”与“卤烷氧基”，视情况而定，是指用一个或一个以上的卤素原子加以取代的烷基或烷氧基，其中烷基或烷氧基是如上所定义。此处所用的“卤”与“卤素”可交换使用，是指 F、Cl、Br 或 I。“卤烷基”的例子包含但不限于：三氟甲基、二氟甲基、2,2,2-三氟乙基、五氟乙基、五氯乙基、4,4,4-三氟丁基、4,4-二氟环己基、氯甲基、二氯甲基、三氯甲基、1-溴乙基等等。“卤烷氧基”的例子包含但不限于：氟甲氧基、二氟甲氧基、三氟甲氧基、2,2,2-三氟乙氧基、五氟乙氧基、五氯乙氧基、氯甲氧基、二氯甲氧基、三氯甲氧基、1-溴乙氧基等等。

[0077] “杂环羰基”或“杂环烷氧基”，视情况而定，是指与杂环基相键结的羰基或烷氧基，其中烷氧基和杂环基是如上所定义。

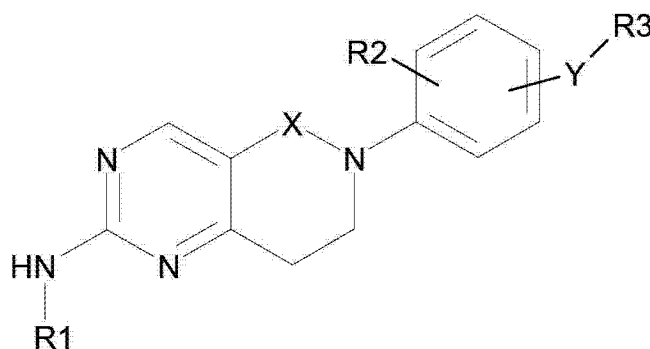
[0078] “杂环烷基”或“杂环烷基烷基”是指直接与烷基相键结的杂环根。此杂环基或杂环烷基根（如上所定义）可在烷基的任何碳原子上与主结构相键结，因而产生稳定的结构。

[0079] 除非另有定义，此处所用的“取代”是指用以下取代基的任一者以上或其任何组合的取代：羟基、卤素、羧基、氰基、硝基、氧代(oxo)(=O)、硫代(=S)、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的卤烷基、经取代或未经取代的烷氧基、经取代或未经取代的卤烷氧基、经取代或未经取代的烯基、经取代或未经取代的炔基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的芳烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的环烯烷基、经取代或未经取代的环烯基、经取代或未经取代的胺基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的杂环芳基、经取代或未经取代的杂环烷基环、经取代或未经取代的杂芳烷基、经取代或未经取代的杂环、经取代或未经取代的胍。

[0080] 邻位、间位、和对位是分别指在 1,2-、1,3-和 1,4-双取代的苯。例如，名称 1,2-二甲基苯与邻位-二甲基苯是同义词。

[0081] 本发明提供一种具有以下结构式 (I) 的化合物：

[0082]



(I)

[0083] 其中

[0084] R1 为 H、芳基、取代芳基、烷基、取代烷基、杂芳基、取代杂芳基、杂环基、取代杂环基、杂环烷基、或取代杂环烷基；

[0085] X 为 CH<sub>2</sub> 或 C=O；

[0086] R2 为 H、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基、卤素、CF<sub>3</sub>、或 -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基；

[0087] Y 为  $-\text{NHCO}-$ 、 $-\text{CONH}-$ 、 $-\text{NHSO}_2^-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{NCH}_3-\text{CO}-$ 、 $-\text{NHCH}_2-$ 、 $\text{O}$ 、 $-\text{NHCONH}-$ 、或  $-\text{NHCCH}_2-$ ；

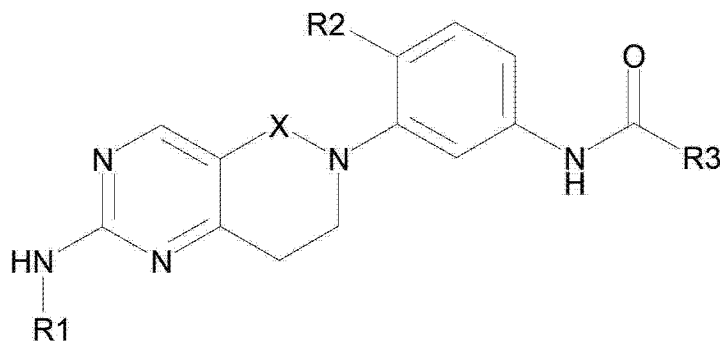
[0088] R3 为烷基、取代烷基、芳基、或取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基或杂环烷基；

[0089] 或其药学上可接受的盐类。

[0090] Y 优选为  $-\text{NHCO}-$ 。

[0091] 依据一特定实施例，本发明提供具有以下结构式 (II) 的化合物：

[0092]



(II)

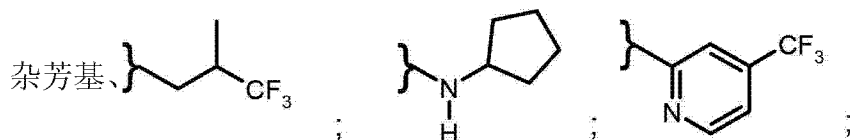
[0093] 其中

[0094] R1 为氢、 $(\text{C}_1-\text{C}_4)$  烷基、苯基、取代苯基、吡啶、或取代吡啶；

[0095] X 为  $\text{CH}_2$  或  $\text{C}=\text{O}$ ；

[0096] R2 为 H、 $(\text{C}_1-\text{C}_6)$  烷基、卤素、或  $-\text{O}-$  $(\text{C}_1-\text{C}_6)$  烷基；

[0097] R3 为  $(\text{C}_1-\text{C}_6)$  烷基、环烷基、取代环烷基、杂环烷基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代

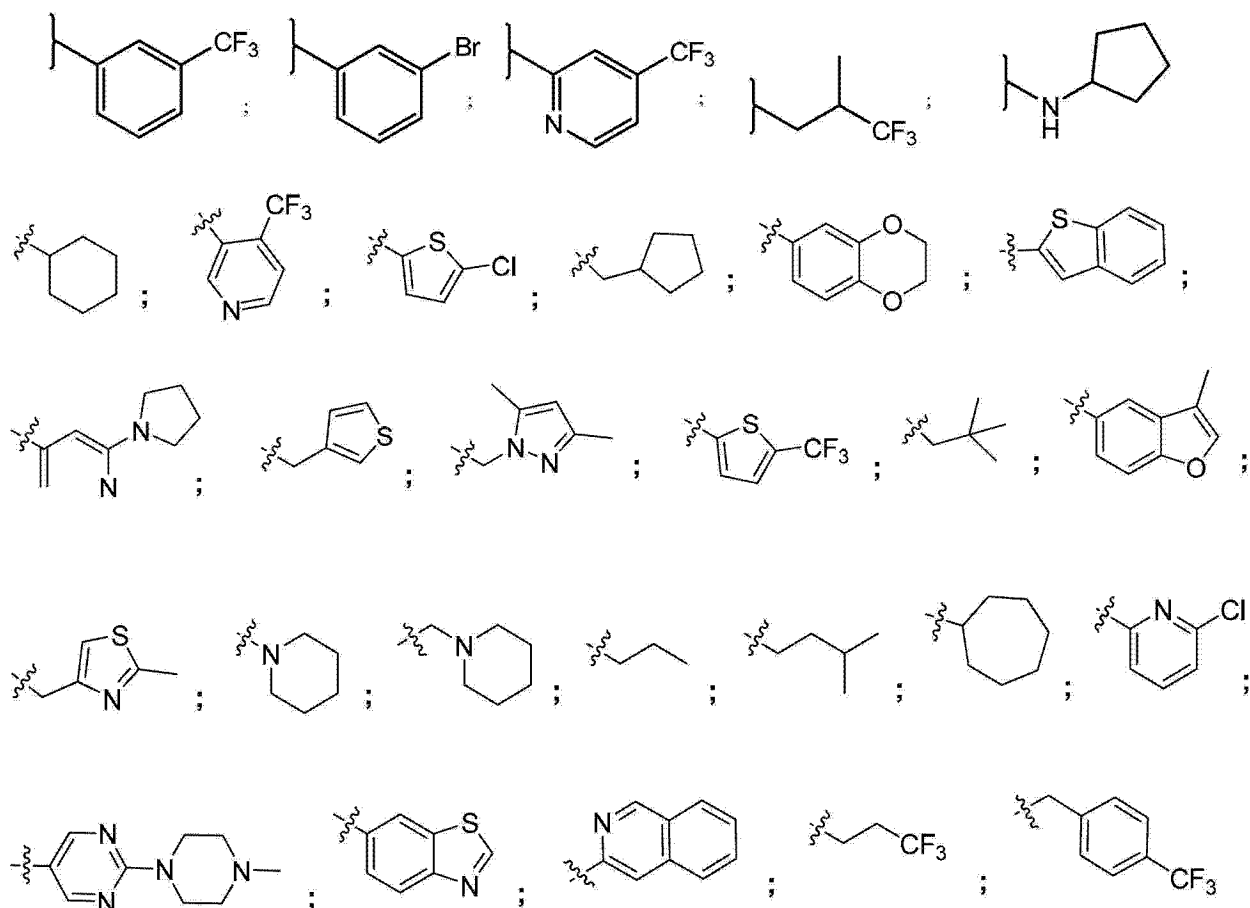


[0098] 且其中取代基选自于包含  $\text{C}_1-\text{C}_4$  直链或支链烷基、卤素或腈基取代的  $\text{C}_1-\text{C}_4$  烷基、 $-\text{O}-$  烷基 ( $\text{C}_1-\text{C}_4$ )、卤素的群组；

[0099] 或其药学上可接受的盐类。

[0100] R3 优选为选自于由以下基团构成的群组：

[0101]

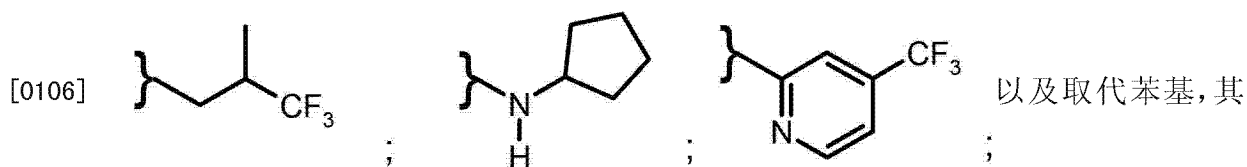


[0102] R1 优选为经取代苯基或经取代吡啶；

[0103] X 优选为  $\text{CH}_2$  或  $\text{C=O}$ ；

[0104] R2 优选为 H、 $\text{CH}_3$ 、Cl 或 F。

[0105] R3 更佳是选自于由以下基团构成的群组：

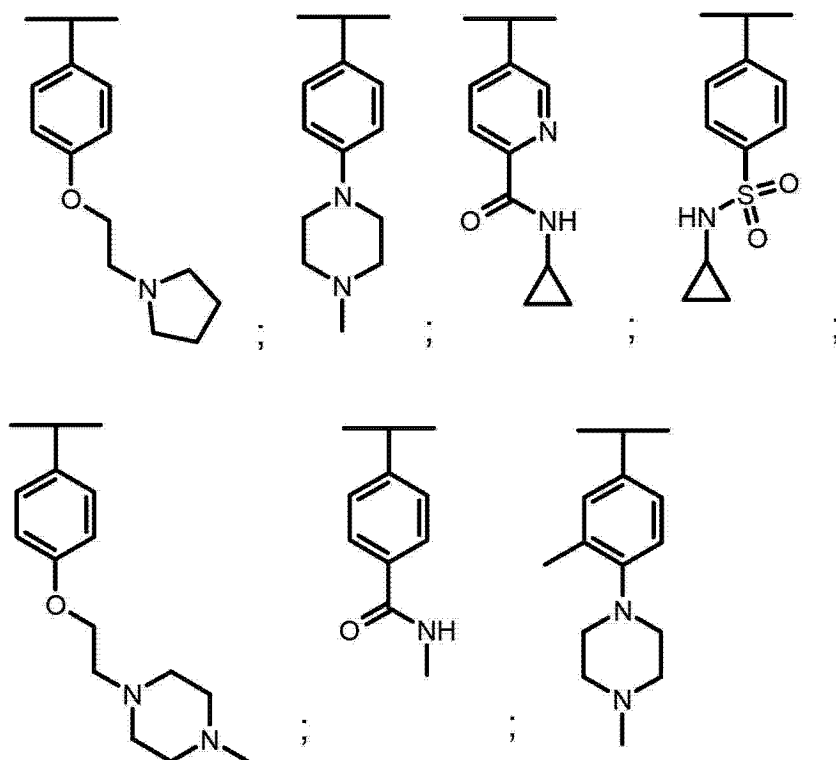


中取代基选自于由 Cl、F、Br 和  $\text{CH}_3$  构成的群组。

[0107] R1 更佳是选自于由以下基团构成的群组：

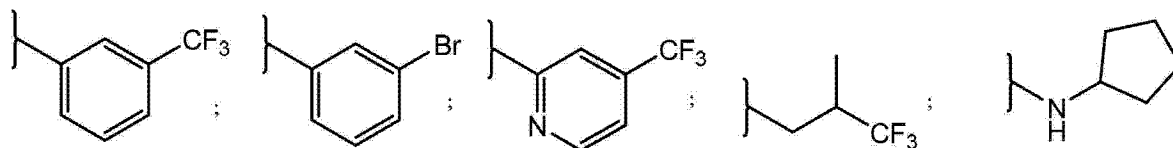
[0108]





[0109] R3 最佳是选自于由以下基团构成的群组：

[0110]



[0111] 本发明优选为包括选自于由以下化合物构成的群组的化合物：

[0112] N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-羰基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺；

[0113] N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺；

[0114] 5-{6-[2-甲基-5-(3-三氟甲基-苯甲酰胺基)-苯基]-5,6,7,8-四氢-吡啶[4,3-d]嘧啶-2-基氨基}-吡啶-2-羧酸环丙基酰胺；

[0115] N-{3-[2-(4-环丙胺磺酰基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-4-甲基-苯基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺；

[0116] N-(4-氯-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺；

[0117] 4-三氟甲基-吡啶-2-羧酸{4-氯-3-[2-(4-甲胺甲酰基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基}-酰胺；

[0118] 4,4,4-三氟-3-甲基-N-[4-甲基-3-(2-{4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-乙氧基]-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-丁酰胺；

[0119] 1-环戊基-3-(4-甲基-3-{2-[4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-尿素；

[0120] N-(4-甲基-3-{5-氧代-2-[4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯胺基]-7,8-二

氢 -5H- 吡啶 [4, 3-d] 嘧啶 -6- 基 }- 苯基 )-3- 三氟甲基 - 苯甲酰胺 ;

[0121] N- {4- 氯 -3- [2- (4- (环丙胺甲酰甲氧基) 苯胺基) -5- 氧代 -7, 8- 二氢 -5H- 吡啶 [4, 3-d] 嘧啶 -6- 基 }- 苯基 }-3- 三氟甲基 - 苯甲酰胺 ;

[0122] N- (4- 氯 -3- {2- [3- 甲基 -4- (4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基) - 苯胺基] -5- 氧代 -7, 8- 二氢 -5H- 吡啶 [4, 3-d] 嘧啶 -6- 基 }- 苯基 )-3- 三氟甲基 - 苯甲酰胺 ;

[0123] 3- 溴 -N- (4- 甲基 -3- {2- [4- (4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基) - 苯胺基] -5- 氧代 -7, 8- 二氢 -5H- 吡啶 [4, 3-d] 嘧啶 -6- 基 }- 苯基 )- 苯甲酰胺 ;

[0124] N- (4- 氯 -3- {2- [4- (4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基) 甲基] - 苯胺基] -5- 氧代 -7, 8- 二氢 -5H- 吡啶 [4, 3-d] 嘧啶 -6- 基 }- 苯基 )-3- 三氟甲基 - 苯甲酰胺 ;

[0125] 或其药学上可接受的盐类。

[0126] 依据另一特定实施例, 本发明是提供选自于由以下化合物构成的群组的化合物 :

[0127] N- (4- 甲基 -3- {2- [4- (4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基) - 苯胺基] -5- 氧代 -7, 8- 二氢 -5H- 吡啶 [4, 3-d] 嘧啶 -6- 基 }- 苯基 )-3- 三氟甲基 - 苯甲酰胺 ;

[0128] 5- {6- [2- 甲基 -5- (3- 三氟甲基 - 苯甲酰胺基) - 苯基] -5, 6, 7, 8- 四氢 - 吡啶 [4, 3-d] 嘧啶 -2- 基胺基 }- 吡啶 -2- 羧酸环丙基酰胺 ;

[0129] 4- 三氟甲基 - 吡啶 -2- 羧酸 {4- 氯 -3- [2- (4- 甲胺甲酰基 - 苯胺基) -7, 8- 二氢 -5H- 吡啶 [4, 3-d] 嘧啶 -6- 基 }- 苯基 }- 酰胺 ;

[0130] 或其药学上可接受的盐类。

[0131] 依据又一特定实施例, 本发明提供选自于由以下化合物构成的群组的化合物 :

[0132] N- (4- 氯 -3- {2- [3- 甲基 -4- (4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基) - 苯胺基] -5- 氧代 -7, 8- 二氢 -5H- 吡啶 [4, 3-d] 嘧啶 -6- 基 }- 苯基 )-3- 三氟甲基 - 苯甲酰胺 ;

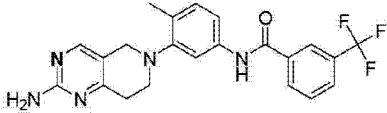
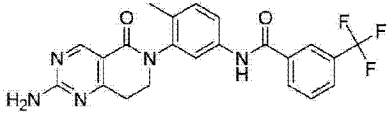
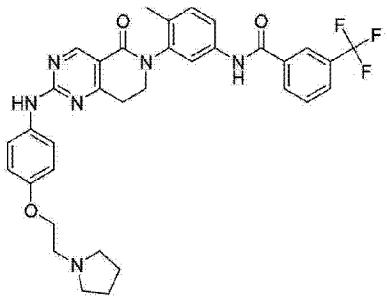
[0133] N- {4- 氯 -3- [2- (4- (环丙胺甲酰甲氧基) 苯胺基) -5- 氧代 -7, 8- 二氢 -5H- 吡啶 [4, 3-d] 嘧啶 -6- 基 }- 苯基 }-3- 三氟甲基 - 苯甲酰胺 ;

[0134] 或其药学上可接受的盐类。

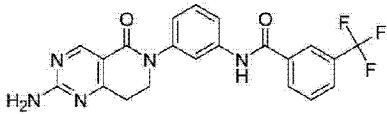
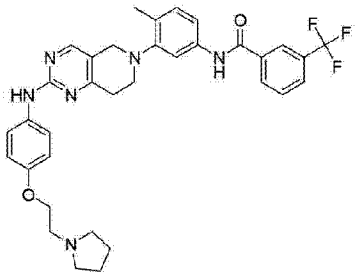
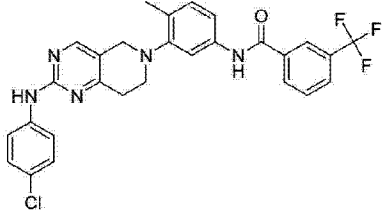
[0135] 本发明所涵盖的化合物的更多例子包含表 1 的化合物。最后一栏表示用来制备下表中每个化合物的实施例号码 (Ex)。

[0136] 表 1

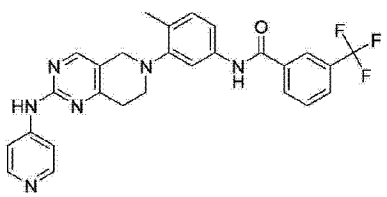
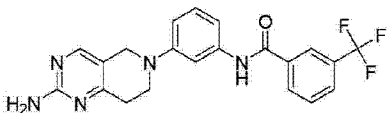
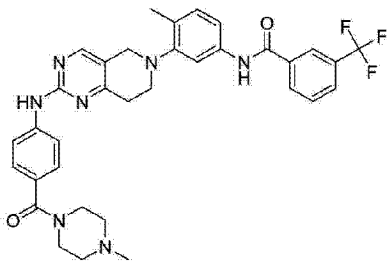
[0137]

编号	结构	物理数据 [ <sup>1</sup> H NMR 和/或 MS]	IUPAC 命名	Ex
1		<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CD <sub>3</sub> OD) δ 8.15-8.0 (m, 3H), 7.9-7.76 (m, 2H), 7.66-7.55 (m, 2H), 7.22-7.12 (m, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.0 (s, 2H), 3.3-3.2 (m, 2H), 2.96-2.85 (m, 2H), 2.3 (s, 3H) MS: m/z 428.0 (M+1),	N-[3-(2-氨基-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-4-甲基-苯基]-3-三氟甲基-苯甲酰胺	1
6		<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, DMSO-D <sub>6</sub> ) δ 10.5 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.32-8.29 (br s, 1H), 8.29-8.23 (d, 1H), 8.0-7.95 (m, 1H), 7.8 (t, 1H), 7.7-7.62 (m, 2H), 7.46-7.36 (br s, 2H), 7.34-7.27 (m, 1H), 4.0-3.88 (m, 1H), 3.76-3.66 (m, 1H), 3.18-3.04 (m, 1H), 2.78-2.86 (m, 1H), 2.16 (s, 3H) MS m/z 442.2 (M+1),	N-[3-(2-氨基-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-4-甲基-苯基]-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3
7		<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 9.4-9.1 (br s, 1H), 8.95-8.85 (m, 2H), 8.2-8.0 (m, 2H), 7.8-7.7 (m, 1H), 7.7-7.5 (m, 5H), 7.2-7.1 (d, 1H), 6.9-6.8 (d, 2H), 4.4-4.3 (t, 2H), 4.05-3.7 (m, 4H), 3.5 (t, 2H), 3.2-3.1 (m, 2H), 3.05-2.9 (m, 2H), 2.2-2.0 (m, 4H), 1.95 (s, 3H) MS: m/z 631.2 (M+1),	N-(4-甲基-3-{5-氧代-2-[4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3

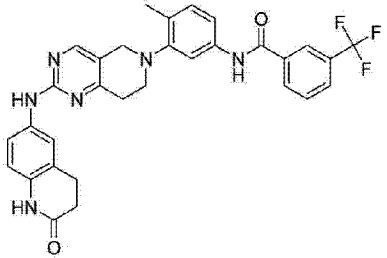
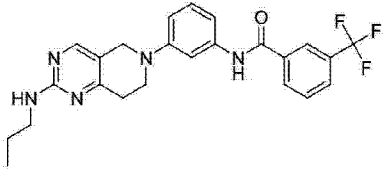
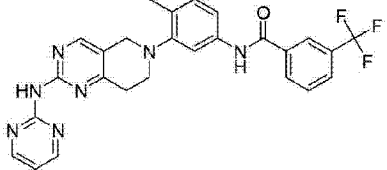
[0138]

8		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.74 (s, 1H), 8.29-8.18 (m, 2H), 7.94-7.87 (m, 1H), 7.83 (t, 1H), 7.78-7.7 (m, 1H), 7.68-7.62 (m, 1H), 7.44 (t, 1H), 7.23-6.96 (m, 1H), 4.05 (t, 2H), 3.1 (t, 2H) MS $m/z$ 428.1 (M+1),	N-[3-(2-氨基-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-苄基]-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3
9		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 12.5-12.2 (br s, 1H), 11.9 (s, 1H), 8.16-8.12 (br s, 1H), 8.1-8.04 (m, 1H), 8.0-7.96 (br s, 1H), 7.86-7.8 (m, 1H), 7.76-7.72 (br s, 1H), 7.7-7.58 (m, 2H), 7.24-7.22 (br s, 1H), 7.16-7.1 (m, 1H), 6.9-6.86 (m, 2H), 4.4-4.3 (t, 2H), 4.1 (s, 2H), 4.0-3.7 (m, 2H), 3.55 (t, 2H), 3.3 (t, 2H), 3.2 (t, 2H), 3.1-2.9 (m, 2H), 2.3 (s, 3H), 2.2-2.1 (m, 4H) MS $m/z$ 617.2 (M+1),	N-(4-甲基-3-{2-[4-(2-哌啶烷-1-基-乙氧基)-苄基]-苄基氨基}-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	2
14		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.22 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 8.06 (d, 1H), 7.84-7.78 (m, 1H), 7.75-7.7 (br s, 1H), 7.68-7.6 (m, 3H), 7.34-7.27 (m, 2H), 7.24-7.19 (m, 1H), 7.15-7.08 (m, 1H), 4.06 (s, 2H), 3.35-3.26 (m, 2H), 3.18-3.09 (m, 2H), 2.3 (s, 3H) MS $m/z$ 538.1 (M+1),	N-{3-[2-(4-氯-苯胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-4-甲基-苄基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺	1

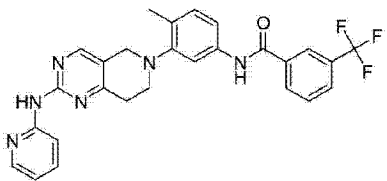
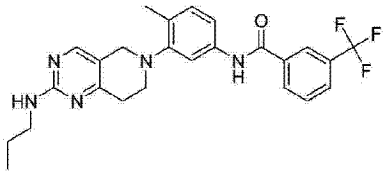
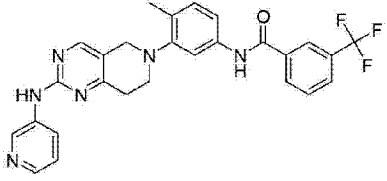
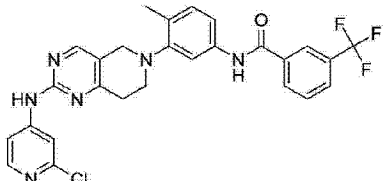
[0139]

15		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- $\text{D}_6$ ) $\delta$ 9.1-8.9 (m, 1H), 8.35-8.14 (m, 5H), 7.76-7.66 (m, 4H), 7.56 (t, 1H), 7.46-7.37 (m, 1H), 7.32-7.26 (m, 1H), 7.16-7.04 (m, 1H), 4.02 (s, 2H), 3.3-3.2 (m, 2H), 3.05-2.96 (m, 2H), 2.25 (s, 3H) MS $m/z$ 505.0 (M+1),	N-(4-甲基-3-[2-(吡啶-4-基氨基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	2
16		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- $\text{D}_6$ ) $\delta$ 10.34 (s, 1H), 8.32-8.22 (m, 2H), 8.11 (s, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.8 (t, 1H), 7.5-7.4 (br s, 1H), 7.3-7.15 (m, 2H), 6.85-6.76 (m, 1H), 6.41 (s, 2H), 4.21 (s, 2H), 3.58 (t, 2H), 2.75 (t, 2H) MS $m/z$ 414.1 (M+1),	N-[3-(2-氨基-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-苯基]-3-三氟甲基-苯甲酰胺	1
17		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- $\text{D}_6$ ) $\delta$ 10.4 (s, 1H), 9.8 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.32-8.24 (m, 2H), 8.0-7.76 (m, 1H), 7.9-7.74 (m, 3H), 7.66-7.62 (m, 1H), 7.52-7.44 (m, 1H), 7.38-7.3 (m, 2H), 7.24-7.18 (m, 1H), 4.05 (s, 2H), 3.6-3.49 (m, 2H), 3.3-3.1 (m, 2H), 3.0-2.9 (m, 2H), 2.75-2.7 (m, 2H), 2.6-2.55 (m, 2H), 2.45-2.4 (m, 2H), 2.3 (s, 3H), 1.9 (s, 3H) MS $m/z$ 630.2 (M+1),	N-(4-甲基-3-[2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-羰基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	2

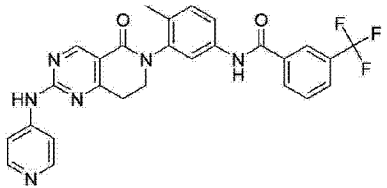
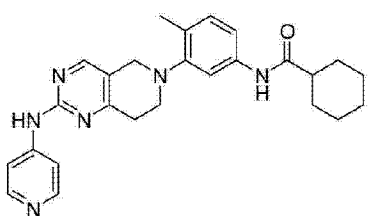
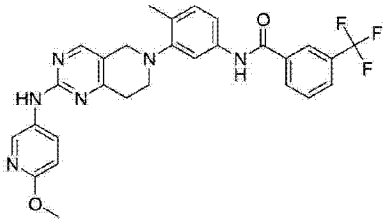
[0140]

18		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.3-8.16 (m, 3H), 7.94-7.86 (m, 1H), 7.64-7.78 (m, 2H), 7.48-7.2 (m, 4H), 6.84-6.92 (m, 1H), 4.1 (s, 2H), 3.4-3.3 (m, 2H), 3.1-2.9 (m, 4H), 2.6 (t, 2H), 2.3 (s, 3H) MS $m/z$ 573.1 (M+1),	N-{4-甲基-3-[2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢-喹啉-6-基胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-苯基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺	2
19		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 10.37 (s, 1H), 8.32-8.24 (m, 2H), 8.14 (s, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.8 (t, 1H), 7.48-7.42 (m, 1H), 7.3-7.18 (m, 2H), 6.96 (t, 1H), 6.84-6.78 (m, 1H), 4.22 (s, 2H), 3.58 (t, 2H), 3.2 (q, 2H), 2.76 (t, 2H), 1.5 (quin, 2H), 0.87 (t, 3H) MS $m/z$ 456.1 (M+1),	N-[3-(2-丙胺-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-苯基]-3-三氟甲基-苯甲酰胺	1
20		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.62 (d, 2H), 8.42 (s, 1H), 8.19-8.04 (m, 3H), 7.9-7.8 (m, 2H), 7.7-7.6 (m, 2H), 7.26-7.14 (m, 2H), 6.92 (t, 1H), 4.14 (s, 2H), 3.38-3.28 (t, 2H), 3.14-3.04 (m, 2H), 2.34 (s, 3H) MS $m/z$ 506.1 (M+1),	N-{4-甲基-3-[2-(嘧啶-2-基胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-苯基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺	2

[0141]

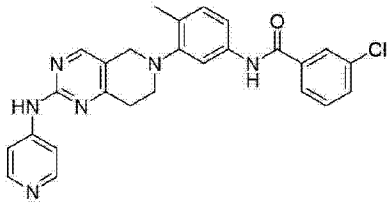
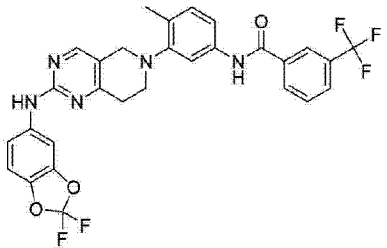
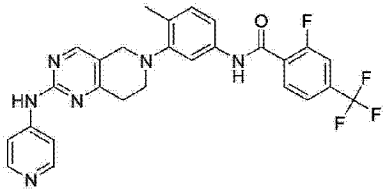
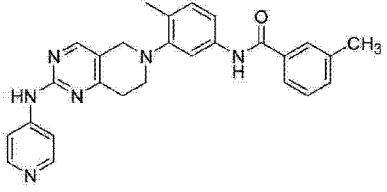
21		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.77 (s, 1H), 8.42 (d, 1H), 8.3-8.24 (m, 1H), 8.22 (s, 2H), 8.12 (d, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.82-7.58 (m, 4H), 7.25-7.16 (m, 2H), 6.94-6.86 (m, 1H), 4.06 (s, 2H), 3.32-3.26 (t, 2H), 3.8-3.0 (t, 2H), 2.3 (s, 3H) MS $m/z$ 505.0 (M+1),	N-{4-甲基-3-[2-(吡啶 -2-基氨基)-7,8-二氢 -5H-吡啶[4,3-d]嘧啶 -6-基]-苯基}-3-三氟 甲基-苯甲酰胺	2
22		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.25 (s, 1H), 8.2 (d, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.91-7.86 (m, 1H), 7.76-7.68 (m, 1H), 7.6-7.55 (m, 1H), 7.35 (dd, 1H), 7.24-7.18 (m, 1H), 5.5 (s, 1H), 3.97 (s, 2H), 3.36-3.32 (m, 2H), 3.28-3.24 (m, 2H), 2.9 (t, 2H), 2.32 (s, 3H), 1.62 (quin, 2H), 1.0-0.98 (m, 3H) MS $m/z$ 470.1 (M+1),	N-[4-甲基-3-(2-丙胺 -7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基)-苯 基]-3-三氟甲基-苯甲 酰胺	1
23		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.8-8.76 (m, 1H), 8.3-8.04 (m, 6H), 7.84-7.78 (m, 1H), 7.68-7.6 (m, 2H), 7.32-7.28 (m, 1H), 7.24-7.16 (m, 2H), 4.06 (s, 2H), 3.3 (t, 2H), 3.04 (t, 2H), 2.33 (s, 3H) MS $m/z$ 504.7 (M+1),	N-{4-甲基-3-[2-(吡啶 -3-基氨基)-7,8-二氢 -5H-吡啶[4,3-d]嘧啶 -6-基]-苯基}-3-三氟 甲基-苯甲酰胺	2
25		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.25 (s, 1H), 8.21-8.12 (m, 3H), 8.08 (d, 1H), 7.98-7.89 (m, 2H), 7.82 (d, 1H), 7.72-7.6 (m, 2H), 7.44 (dd, 1H), 7.25-7.2 (m, 1H), 7.16-7.1 (m, 1H), 4.1 (s, 2H), 3.32 (t, 2H), 3.08 (t, 2H), 2.32 (s, 3H) MS $m/z$ 539.1 (M+1),	N-{3-[2-(2-氯-吡啶 -4-基氨基)-7,8-二氢 -5H-吡啶[4,3-d]嘧啶 -6-基]-4-甲基-苯 基}-3-三氟甲基-苯甲 酰胺	2

[0142]

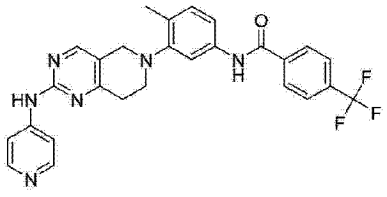
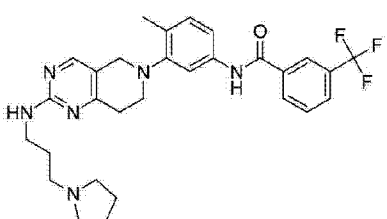
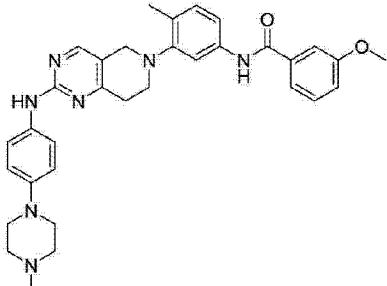
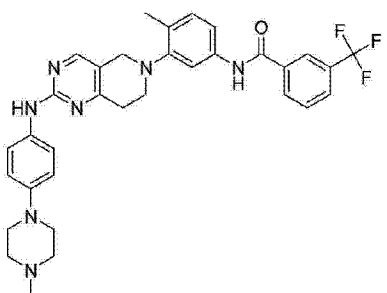
26		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 9.14 (s, 1H), 8.6-8.5 (m, 2H), 8.48-8.39 (m, 2H), 8.3-8.16 (m, 2H), 7.94-7.83 (m, 2H), 7.78-7.7 (t, 1H), 7.6-7.52 (m, 1H), 7.42-7.34 (m, 1H), 4.3-4.1 (m, 1H), 4.08-3.9 (m, 1H), 3.58-3.36 (m, 2H), 2.3 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 518.6 (M+1),	N-{4-甲基-3-[5-氧代- -2-(吡啶-4-基胺 基)-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基]-苯 基}-3-三氟甲基-苯甲 酰胺	4
27		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.82-8.74 (br s, 2H), 8.54 (d, 2H), 8.32 (s, 1H), 8.2-8.1 (m, 2H), 7.85-7.8 (m, 1H), 7.2-7.1 (m, 1H), 6.9-6.8 (m, 1H), 4.1 (s, 2H), 3.3 (t, 2H), 3.1 (t, 2H), 2.3 (s, 3H), 2.25-2.15 (m, 1H), 2.0-1.9 (m, 2H), 1.9-1.8 (m, 2H), 1.75-1.65 (m, 1H), 1.6-1.49 (m, 2H), 1.44-1.3 (m, 2H) $\text{MS m/z}$ 442.9 (M+1),	环己羧酸{4-甲基 -3-[2-(吡啶-4-基胺 基)-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基]-苯 基}-酰胺	2
29		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.38 (d, 1H), 8.25 (s, 2H), 8.08 (d, 1H), 7.94 (dd, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.82 (d, 1H), 7.7-7.6 (m, 2H), 7.26-7.1 (m, 3H), 6.76 (d, 1H), 4.05 (s, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.28 (t, 2H), 3.02 (t, 2H), 2.32 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 535.2 (M+1),	N-{3-[2-(6-甲氧基-吡 啶-3-基胺基)-7,8-二 氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧 啶-6-基]-4-甲基-苯 基}-3-三氟甲基-苯甲 酰胺	2

[0143]

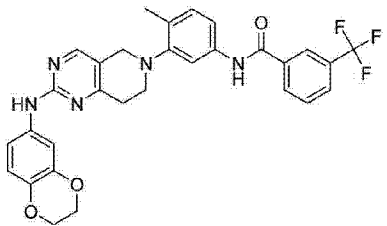
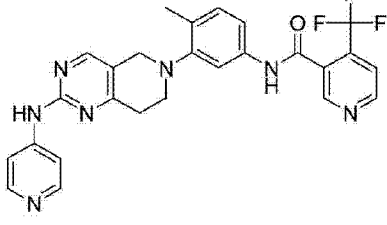
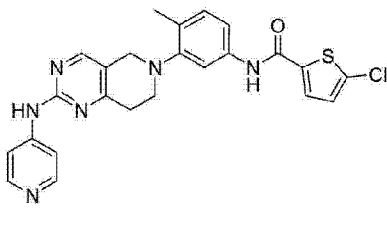
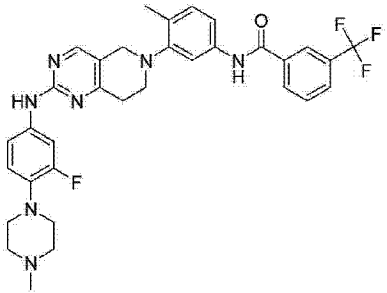


30		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.49 (s, 1H), 8.45-8.4 (m, 2H), 8.4-8.2 (br s, 2H), 7.78-7.82 (m, 2H), 7.69-7.46 (m, 3H), 7.33-7.19 (m, 2H), 4.16 (s, 2H), 3.4-3.32 (m, 2H), 3.18-3.08 (m, 2H), 2.33 (s, 3H) MS $m/z$ 471.0 (M+1),	3-氯-N-{4-甲基 -3-[2-(吡啶-4-基胺 基)-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基]-苯 基}-苯甲酰胺	2
31		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.2-8.12 (m, 2H), 8.06 (s, 1H), 7.88-7.78 (m, 3H), 7.7-7.6 (m, 2H), 7.26-7.1 (m, 3H), 7.03-6.96 (m, 2H), 4.06 (s, 2H), 3.3 (t, 2H), 3.02 (t, 2H), 2.32 (s, 3H) MS $m/z$ 584.1 (M+1),	N-{3-[2-(2,2-二氟-苯 [1,3]二噁唑-5-基胺 基)-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基]-4- 甲基-苯基}-3-三氟甲 基-苯甲酰胺	2
32		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.5 (s, 1H), 8.47-8.25 (m, 4H), 7.94-7.86 (m, 1H), 7.72-7.6 (m, 3H), 7.3-7.2 (m, 2H), 4.17 (s, 2H), 3.36 (t, 2H), 3.14 (t, 2H), 2.35 (s, 3H) MS $m/z$ 523.1 (M+1),	2-氟-N-{4-甲基 -3-[2-(吡啶-4-基胺 基)-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基]-苯 基}-4-三氟甲基-苯甲 酰胺	2
34		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.53-8.19 (m, 5H), 7.8-7.6 (m, 3H), 7.45-7.15 (m, 4H), 4.15 (s, 2H), 3.42-3.32 (m, 2H), 3.18-3.1 (m, 2H), 2.44 (s, 3H), 2.34 (s, 3H) MS $m/z$ 451.0 (M+1)	3-甲基-N-{4-甲基 -3-[2-(吡啶-4-基胺 基)-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基]-苯 基}-苯甲酰胺	2

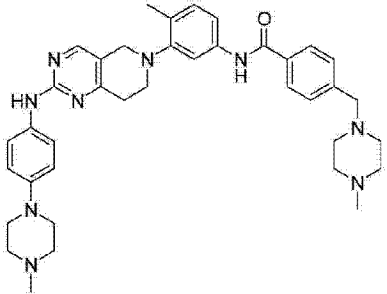
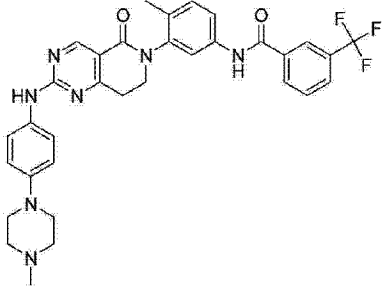
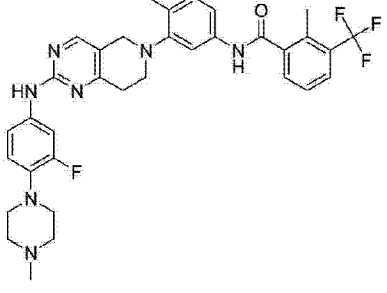
[0144]

36		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.48-8.42 (m, 2H), 8.25 (s, 1H), 8.04-7.92 (m, 3H), 7.81-7.62 (m, 6H), 7.25-7.2 (m, 1H), 7.15-7.08 (m, 1H), 4.1 (s, 2H), 3.32 (t, 2H), 3.08 (t, 2H), 2.33 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 505.1 (M+1),	N-{4-甲基-3-[2-(吡啶 -4-基胺基)-7,8-二氢 -5H-吡啶[4,3-d]嘧啶 -6-基]-苯基}-4-三氟 甲基-苯甲酰胺	2
37		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.55 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.1 (d, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.76 (d, 1H), 7.64-7.52 (m, 2H), 7.26-7.12 (m, 2H), 6.66-6.58 (m, 1H), 3.75 (s, 2H), 3.3-3.4 (m, 2H), 3.22-3.08 (m, 5H), 2.86 (t, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.13-1.98 (m, 9H) $\text{MS m/z}$ 539.2 (M+1),	N-{4-甲基-3-[2-(3-吡 咯烷-1-基-丙胺 基)-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基]-苯 基}-3-三氟甲基-苯甲 酰胺	1
38		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-D}_6$ ) $\delta$ 10.16 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.7-7.38 (m, 7H), 7.2-7.1 (m, 2H), 6.95 (d, 2H), 3.97 (s, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.4-3.1 (m, 8H), 2.96-2.86 (m, 2H), 2.8 (s, 3H), 2.24 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 564.2 (M+1),	3-甲氧基-N-(4-甲基 -3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪 -1-基)-苯胺基]-7,8-二 氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧 啶-6-基}-苯基)-苯甲 酰胺	1
39		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 11.76 (s, 1H), 8.3-8.18 (br s, 1H), 8.16-8.04 (m, 3H), 7.82 (d, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.7-7.56 (m, 3H), 7.24-7.18 (m, 1H), 7.16-7.02 (m, 1H), 6.94 (d, 2H), 4.07 (s, 2H), 3.76-3.56 (m, 4H), 3.4-3.02 (m, 8H), 2.92 (s, 3H), 2.29 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 602.2 (M+1),	N-(4-甲基-3-[2-[4-(4- 甲基-哌嗪-1-基)-苯 胺基]-7,8-二氢-5H-吡 啶[4,3-d]嘧啶-6-基]- 苯基)-3-三氟甲基-苯 甲酰胺	1

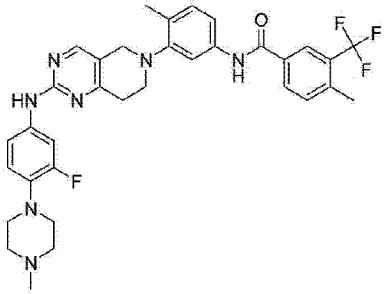
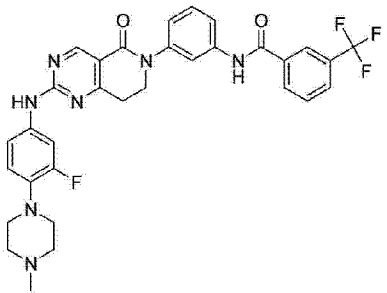
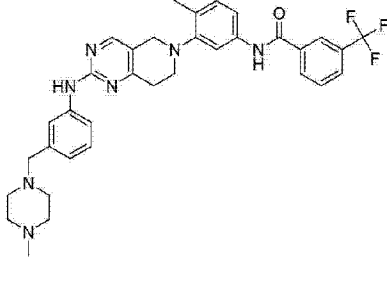
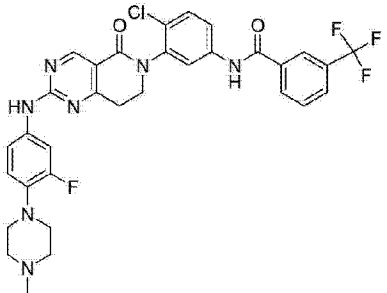
[0145]

40		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.28-8.16 (m, 3H), 7.92-7.86 (m, 1H), 7.78-7.7 (m, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.35 (dd, 1H), 7.28-7.2 (m, 2H), 6.96 (dd, 1H), 6.81-6.76 (m, 1H), 4.3-4.2 (m, 4H), 4.05 (s, 2H), 3.3-3.26 (m, 2H), 3.05-2.96 (m, 2H), 2.35 (s, 3H) MS $m/z$ 562.2 (M+1),	N-{3-[2-(2,3-二氢-苯[1,4]二噁烯-6-基胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-4-甲基-苯基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺	2
41		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 9.0-8.92 (m, 2H), 8.53 (s, 1H), 8.46 (d, 2H), 8.4-8.3 (br s, 2H), 7.85 (d, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.28-7.22 (m, 2H), 4.18 (s, 2H), 3.39-3.37 (m, 2H), 3.2-3.1 (m, 2H), 2.35 (s, 3H) MS $m/z$ 506.1 (M+1),	N-{4-甲基-3-[2-(吡啶-4-基胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-苯基}-4-三氟甲基-烟生金酰胺	2
42		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.45 (d, 2H), 8.25 (s, 1H), 7.72-7.56 (m, 4H), 7.4 (d, 1H), 7.32-7.28 (m, 1H), 7.22-7.18 (m, 1H), 7.06-7.0 (m, 1H), 6.97 (d, 1H), 4.08 (s, 2H), 3.3 (t, 2H), 3.07 (t, 2H), 2.32 (s, 3H) MS $m/z$ 477.0 (M+1),	5-氯-噻吩-2-羧酸 {4-甲基-3-[2-(吡啶-4-基胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-苯基}-酰胺	2
43		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.3-8.16 (m, 3H), 7.93-7.86 (m, 1H), 7.82-7.7 (m, 2H), 7.68-7.62 (m, 1H), 7.38-7.2 (m, 3H), 7.05 (m, 1H), 4.06 (s, 2H), 3.67-3.48 (m, 4H), 3.2-2.9 (m, 8H), 2.34 (s, 3H) MS $m/z$ 620.2 (M+1),	N-(3-{2-[3-氟-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-4-甲基-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	1

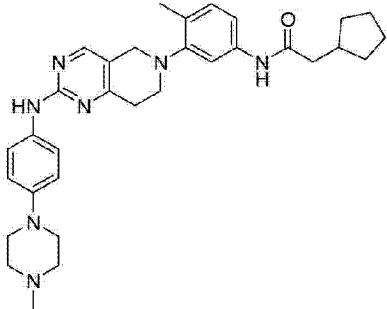
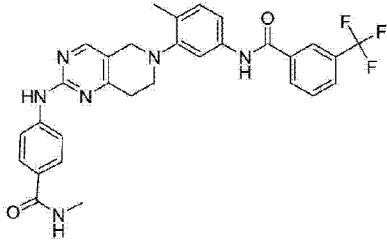
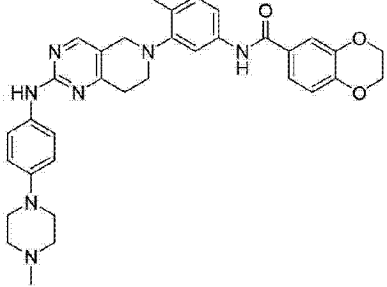
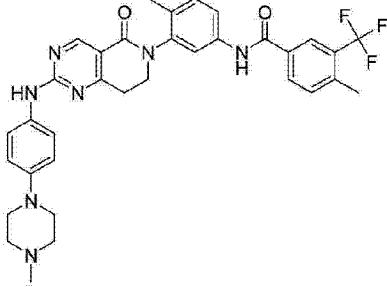
[0146]

44		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- $\text{D}_6$ ) $\delta$ 10.15 (s, 1H), 9.25 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.9 (d, 2H), 7.68-7.55 (m, 3H), 7.5-7.4 (m, 3H), 7.15 (d, 1H), 6.88 (d, 2H), 3.95 (s, 2H), 3.52 (s, 3H), 3.22-3.16 (m, 4H), 2.92-2.86 (s, 2H), 2.45-2.32 (m, 9H), 2.26-2.20 (m, 6H), 2.14 (s, 3H), 1.86 (s, 10H) MS m/z 646.2 (M+1),	N-(4-甲基-3-{2-[4-(4- 甲基-哌嗪-1-基)-苯 胺基]-7,8-二氢-5H-吡 啶[4,3-d]嘧啶-6-基}- 苯基)-4-(4-甲基-哌嗪 -1-基甲基)-苯甲酰胺	1
45		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.84 (s, 1H), 8.3-8.14 (m, 2H), 7.9 (d, 1H), 7.83-7.61 (m, 4H), 7.61-7.52 (dd, 1H), 7.35 (d, 1H), 7.04 (d, 2H), 4.18-3.98 (m, 2H), 3.95-3.25 (m, 3H), 3.7-3.55 (m, 2H), 3.28-3.01 (m, 5H), 2.98 (s, 3H), 2.28 (s, 3H) MS m/z 616.2 (M+1),	N-(4-甲基-3-{2-[4-(4- 甲基-哌嗪-1-基)-苯 胺基]-5-氧代-7,8-二 氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧 啶-6-基}-苯基)-3-三 氟甲基-苯甲酰胺	3
46		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.18 (s, 1H), 7.8-7.59 (m, 4H), 7.45-7.32 (m, 2H), 7.25-6.9 (m, 5H), 4.08 (s, 2H), 3.35-3.0 (m, 8H), 2.9-2.72 (br s, 4H), 2.6 (s, 3H), 2.5 (s, 3H), 2.34 (s, 3H) MS m/z 634.2 (M+1),	N-(3-{2-[3-氟-4-(4-甲 基-哌嗪-1-基)-苯胺 基]-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基}-4- 甲基-苯基)-2-甲基-3- 三氟甲基-苯甲酰胺	1

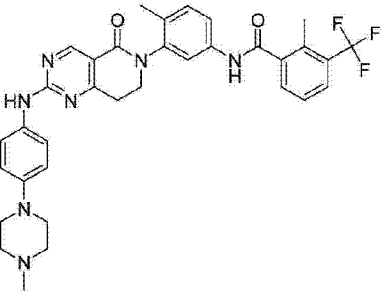
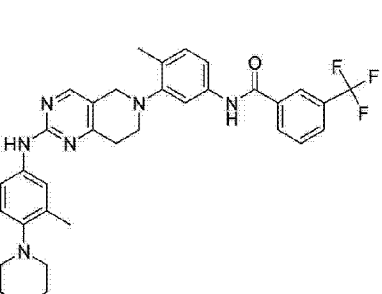
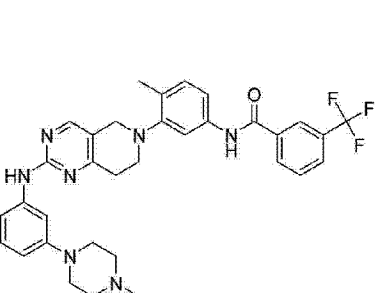
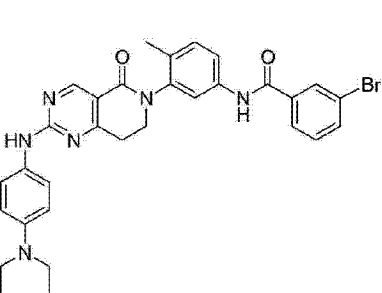
[0147]

47		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.15 (d, 2H), 7.95 (d, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.7-7.6 (m, 2H), 7.45 (d, 1H), 7.25-7.1 (m, 3H), 7.03-6.9 (m, 2H), 4.06 (s, 2H), 3.5 (s, 1H), 3.3 (t, 2H), 3.35-3.25 (m, 6H), 2.7-2.56 (m, 7H), 2.38 (s, 3H), 2.33 (s, 3H) MS $m/z$ 633.9 (M+1),	N-(3-{2-[3-氟-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-4-甲基-3-三氟甲基-苯甲酰胺	1
48		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-D}_6$ ) $\delta$ 10.6 (s, 1H), 10.32 (s, 1H), 9.9-9.7 (br s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.3-8.2 (m, 1H), 8.04-7.14 (m, 5H), 7.52-7.4 (m, 2H), 7.2-7.06 (m, 2H), 4.04 (t, 2H), 3.58-3.45 (m, 4H), 3.28-3.12 (m, 4H), 3.05-2.96 (m, 2H), 2.88 (s, 3H) MS $m/z$ 620.1 (M+1),	N-(3-{2-[3-氟-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3
49		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.36-8.2 (m, 3H), 7.98-7.66 (m, 5H), 7.45-7.35 (m, 2H), 7.28-7.12 (m, 2H), 4.12 (s, 4H), 3.54-3.46 (m, 4H), 3.41-3.36 (m, 5H), 3.31-3.21 (m, 4H), 3.1-3.02 (m, 2H), 2.95 (s, 3H), 2.36 (s, 3H) MS $m/z$ 616.2 (M+1),	N-(4-甲基-3-{2-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基甲)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺	1
50		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.9 (s, 1H), 8.3-8.2 (m, 2H), 8.0-7.9 (m, 2H), 7.82-7.72 (m, 3H), 7.62-7.58 (m, 1H), 7.42-7.36 (m, 1H), 7.1-7.0 (m, 1H), 4.1-3.9 (m, 4H), 3.2-3.0 (m, 4), 2.8-2.6 (m, 4H), 2.4 (s, 3H) MS $m/z$ 653.9 (M+1),	N-(4-氯-3-{2-[3-氟-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3

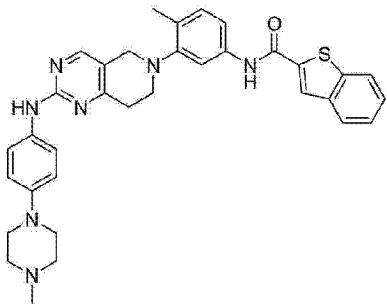
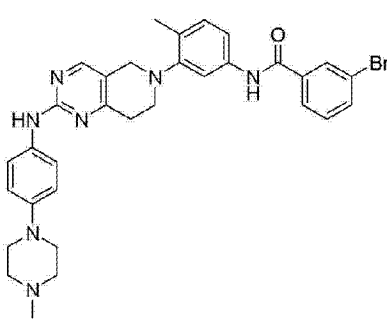
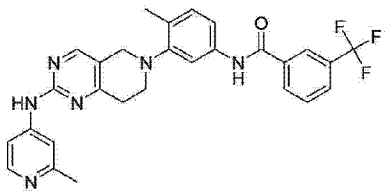
[0148]

51		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 9.77 (s, 1H), 9.26 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.6 (d, 2H), 7.46 (s, 1H), 7.3-7.04 (m, 2H), 6.49 (d, 2H), 3.92 (s, 2H), 3.2-3.02 (m, 7H), 2.95-2.65 (m, 7H), 2.35-2.12 (m, 6H), 1.91 (s, 2H), 1.85-1.45 (m, 6H), 1.03-1.01 (m, 2H) MS $m/z$ 540.3 (M+1),	2-环戊基-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-咪唑-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-乙酰胺	1
52		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-D_6$ ) $\delta$ 10.4 (s, 1H), 9.84 (s, 1H), 8.4-8.2 (m, 3H), 8.02-7.7 (m, 6H), 7.63 (s, 1H), 7.52-7.44 (d, 1H), 7.25-7.16 (d, 1H), 4.05 (s, 2H), 3.2-3.1 (m, 2H), 3.0 (s, 2H), 2.76 (s, 3H), 2.3 (s, 3H), 1.88 (s, 1H) MS $m/z$ 561.0 (M+1),	N-{3-[2-(4-(甲胺基-羰基)-苯胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-4-甲基-苯基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺	2
53		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-D_6$ ) $\delta$ 10.2-9.6 (m, 2H), 9.35 (s, 1H), 8.4-8.2 (m, 2H), 7.75-7.4 (m, 6H), 7.2-7.1 (m, 1H), 7.02-6.9 (m, 3H), 4.3 (s, 4H), 3.98 (s, 2H), 3.28-3.1 (m, 5H), 3.0-2.8 (m, 7H), 2.25 (s, 3H) MS $m/z$ 591.3 (M+1),	2,3-二氢苯[1,4]二噁烯-6-羧酸 (4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-咪唑-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-酰胺	1
54		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.85 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.1 (d, 1H), 7.8-7.7 (m, 1H), 7.2-7.54 (m, 4H), 7.38 (d, 1H), 7.04 (d, 1H), 4.18-4.02 (m, 1H), 3.95-3.82 (m, 1H), 3.3-3.2 (m, 4H), 3.2-3.1 (m, 2H), 2.82-2.7 (m, 4H), 2.6 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.3 (s, 3H) MS $m/z$ 630.1 (M+1),	4-甲基-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-咪唑-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3

[0149]

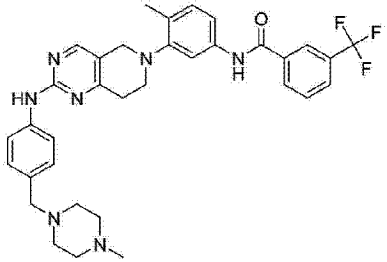
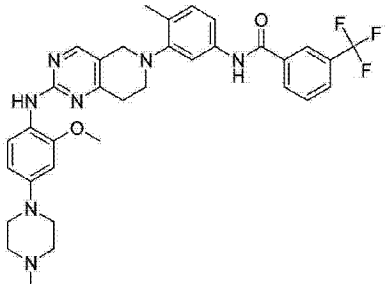
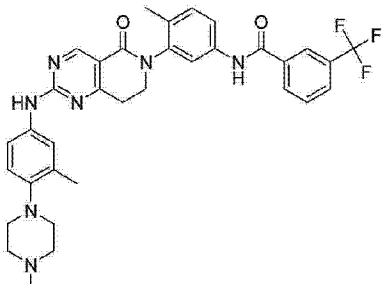
55		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.82 (s, 1H), 7.85-7.42 (m, 7H), 7.4-7.28 (m, 1H), 7.02 (d, 2H), 4.1-3.95 (m, 1H), 3.9-3.7 (m, 3H), 3.7-3.5 (m, 2H), 3.3-2.9 (m, 9H), 2.5 (s, 3H), 2.2 (s, 3H) MS $m/z$ 630.2 (M+1)	2-甲基-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3
56		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.35-8.12 (m, 3H), 7.96-7.83 (m, 1H), 7.78-7.61 (m, 2H), 7.58-7.42 (m, 2H), 7.38-7.29 (m, 1H), 7.26-7.19 (m, 1H), 7.14-7.04 (m, 1H), 4.07 (s, 2H), 3.6-3.55 (m, 2H), 3.4 (t, 2H), 3.12-2.95 (m, 8H), 2.95 (s, 3H), 2.35 (s, 6H) MS $m/z$ 616.2 (M+1),	N-(4-甲基-3-{2-[3-甲基-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	1
57		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.3-8.15 (m, 3H), 7.9-7.8 (m, 1H), 7.75-7.65 (t, 1H), 7.6 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.4-7.3 (m, 1H), 7.25-7.1 (m, 3H), 6.7-6.55 (m, 1H), 4.1-4.05 (s, 2H), 3.35-3.2 (m, 6H), 3.05-2.95 (m, 2H), 2.7-2.6 (m, 4H), 2.4 (s, 3H), 2.3 (s, 3H) MS $m/z$ 601.9 (M+1),	N-(4-甲基-3-{2-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	1
58		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.82 (s, 1H), 8.12-8.08 (t, 1H), 7.94-7.86 (m, 1H), 7.78-7.68 (m, 2H), 7.64-7.54 (m, 3H), 7.5-7.4 (m, 1H), 7.38-7.3 (m, 1H), 7.04-6.94 (m, 2H), 4.15-4.0 (m, 1H), 3.8-3.7 (m, 1H), 3.25-3.15 (m, 4H), 3.05-2.95 (m, 2H), 2.75-2.65 (m, 4H), 2.25 (s, 3H), 2.15 (s, 3H) MS $m/z$ 625.8 (M+1),	3-溴-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-苯甲酰胺	3

[0150]

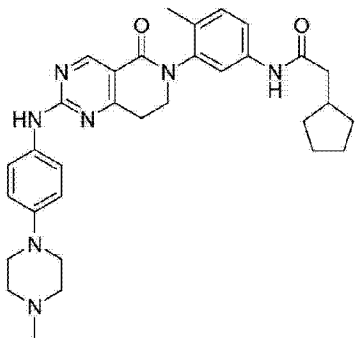
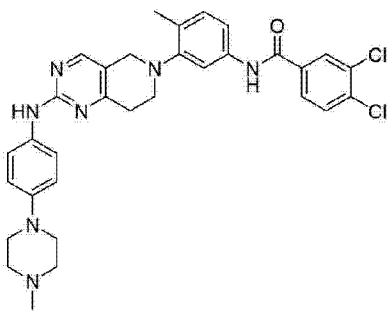
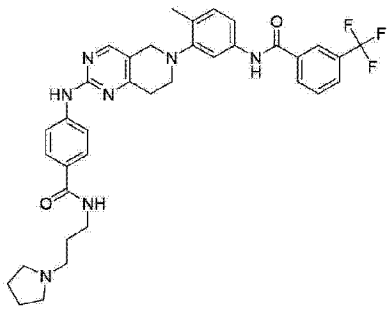
59		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}D_6$ ) $\delta$ 10.43 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.12-7.98 (m, 2H), 7.69-7.44 (m, 6H), 7.25-7.15 (d, 1H), 6.86 (d, 2H), 4.12 (q, 1H), 4.0 (s, 2H), 3.25-3.15 (m, 5H), 3.1-3.02 (m, 4H), 2.96-2.88 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.22 (s, 3H) MS $m/z$ 590.2 (M+1),	苯[b]噻吩-2-羧酸 (4- 甲基-3-{2-[4-(4-甲基- 哌嗪-1-基)-苯胺 基]-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基}-苯 基)-酰胺	1
60		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.13 (s, 1H), 8.06-7.98 (br s, 1H), 7.92-7.78 (m, 2H), 7.72-7.48 (m, 4H), 7.44-7.32 (m, 2H), 7.24-7.06 (m, 3H), 7.0-6.9 (m, 2H), 4.02 (s, 2H), 3.36-3.16 (m, 6H), 3.06-2.95 (m, 3H), 2.76-2.62 (m, 4H), 2.5-2.25 (d, 7H) MS $m/z$ 612.1 (M+1),	3-溴-N-(4-甲基 -3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪 -1-基)-苯胺基]-7,8-二 氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧 啶-6-基}-苯基)-苯甲 酰胺	1
61		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.33 (d, 1H), 8.26-8.05 (m, 4H), 7.85-7.75 (m, 1H), 7.7-7.58 (m, 2H), 7.52-7.4 (m, 2H), 7.3-7.15 (m, 3H), 4.06 (s, 2H), 3.4-3.22 (m, 2H), 3.14-2.98 (m, 2H), 2.52 (s, 3H), 2.32 (s, 3H) MS $m/z$ 518.8 (M+1),	N-(4-甲基-3-[2-(2-甲 基-吡啶-4-基胺 基)-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基]-苯 基)-3-三氟甲基-苯甲 酰胺	2

[0151]

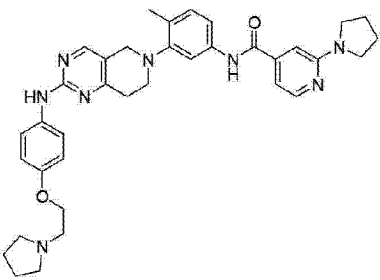
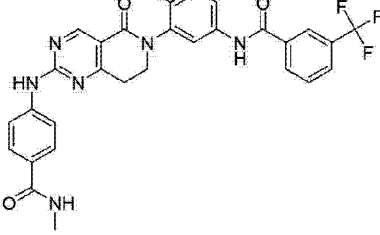
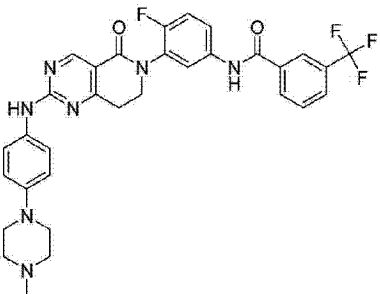
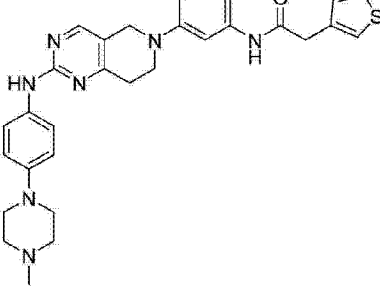


62		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.38 (m, 3H), 7.94-7.62 (m, 5H), 7.42-7.3 (m, 2H), 7.28-7.2 (m, 1H), 7.14-7.05 (m, 1H), 4.05 (d, 4H), 3.2-3.0 (m, 7H), 2.9 (s, 3H), 2.34 (s, 3H) MS m/z 616.2 (M+1),	N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	1
63		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$ ) $\delta$ 10.2 (s, 1H), 8.4-8.18 (m, 4H), 8.04-7.74 (m, 5H), 7.68-7.42 (m, 2H), 7.26-7.16 (m, 1H), 6.7-6.6 (m, 1H), 6.54-6.44 (m, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.82 (s, 5H), 3.22-3.1 (m, 8H), 2.94-2.84 (m, 3H), 2.32-2.22 (m, 9H) MS m/z 632.0 (M+1),	N-(3-{2-[2-甲氧基-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-4-甲基-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	1
64		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.76 (s, 1H), 8.23-8.06 (m, 3H), 7.84-7.59 (m, 3H), 7.56-7.41 (m, 3H), 7.3-7.2 (m, 1H), 6.98 (d, 1H), 4.04-3.92 (m, 1H), 3.8-3.7 (m, 1H), 3.11-2.94 (m, 9H), 2.64 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.18 (s, 3H) MS m/z 629.8 (M+1),	N-(4-甲基-3-{2-[3-甲基-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3

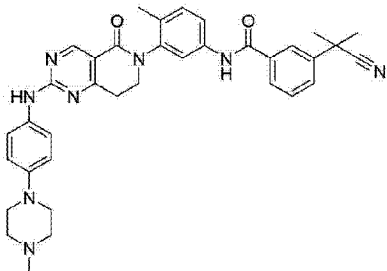
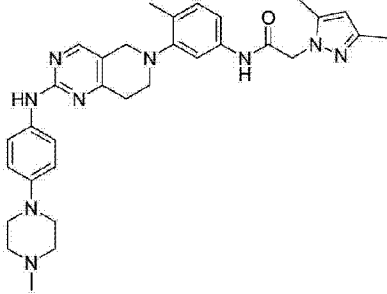
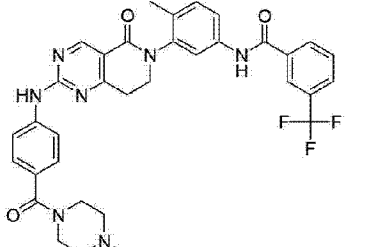
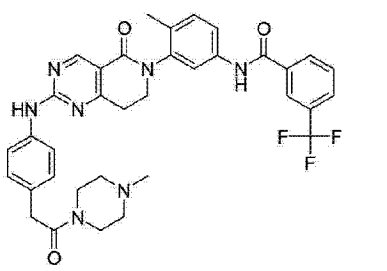
[0152]

65		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-D}_6$ ) $\delta$ 10.15-10.0 (d, 2H), 8.75 (s, 1H), 7.7-7.55 (m, 3H), 7.5-7.4 (m, 1H), 7.25-7.15 (m, 1H), 7.05-6.95 (d, 2H), 4.0-3.9 (m, 1H), 3.75-3.65 (m, 1H), 3.2-3.1 (m, 4H), 3.3-3.1 (m, 4H), 3.1-2.95 (m, 2H), 2.75-2.65 (m, 4H), 2.3-2.2 (m, 2H), 2.1 (s, 3H), 1.8-1.4 (m, 9H), 1.3-1.1 (m, 4H) MS $m/z$ 554.2 (M+1),	2-环戊基-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-咪唑-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-乙酰胺	3
66		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-D}_6$ ) $\delta$ 10.32 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 8.3-8.2 (m, 2H), 8.0-7.78 (m, 2H), 7.65-7.4 (m, 4H), 7.18 (d, 1H), 6.88 (d, 2H), 3.98 (s, 2H), 3.24-3.18 (m, 2H), 3.14-3.06 (m, 4H), 2.94-2.86 (m, 3H), 2.38-2.22 (m, 8H) MS $m/z$ 602.1 (M+1),	3,4-二氯-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-咪唑-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-苯甲酰胺	1
67		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-D}_6$ ) $\delta$ 10.46 (s, 1H), 9.9 (s, 1H), 8.5-8.2 (m, 3H), 8.05-7.7 (m, 5H), 7.68-7.42 (m, 2H), 7.25-7.15 (d, 1H), 4.05-4.0 (br s, 2H), 3.35-3.15 (m, 4H), 3.05-2.95 (br s, 2H), 2.28 (s, 2H), 2.0-1.6 (m, 13H) MS $m/z$ 658.2 (M+1),	N-{3-[2-(4-(3-吡咯烷-1-基-丙胺羰基)-苯胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-4-甲基-苯基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺	2

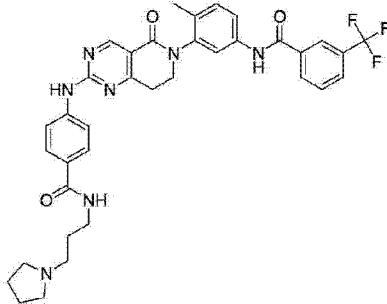
[0153]

68		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.2-8.05 (m, 2H), 7.66-7.49 (m, 3H), 7.4-6.8 (m, 6H), 4.4-4.2 (m, 2H), 3.98 (s, 2H), 3.7-3.6 (m, 2H), 3.35-3.15 (m, 6H), 3.05-2.85 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.2-1.9 (m, 12H) MS $m/z$ 619.2 (M+1)	N-(4-甲基-3-{2-[4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-2-吡咯烷-1-基-异烟生金酰胺	2
69		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}D_6$ ) $\delta$ 10.5 (d, 2H), 8.4-8.2 (m, 3H), 8.0-7.6 (m, 9H), 7.4-7.2 (d, 1H), 4.1-3.9 (m, 1H), 3.9-3.7 (m, 1H), 3.2-3.1 (m, 1H), 2.8-2.7 (m, 4H), 2.2-2.1 (s, 3H) MS $m/z$ 575.1 (M+1),	N-[4-甲基-3-(5-氧代-2-(4-甲胺羰基)-苯胺基-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-苯基]-3-三氟甲基-苯甲酰胺	4
70		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.2-8.8 (d, 2H), 8.3-7.9 (m, 2H), 7.9-7.3 (m, 7H), 7.2-6.8 (m, 3H), 4.1-3.8 (t, 2H), 3.4-3.2 (m, 4H), 3.2-3.0 (t, 2H), 2.9-2.6 (m, 4H), 2.4 (s, 3H) MS $m/z$ 620.1 (M+1),	N-(4-氟-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3
71		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.1 (s, 1H), 7.6-7.36 (m, 4H), 7.3-7.03 (m, 4H), 7.02-6.92 (d, 2H), 4.0 (s, 2H), 3.7 (s, 2H), 3.3-3.2 (m, 2H), 3.2-3.1 (m, 4H), 3.0-2.9 (m, 2H), 2.8-2.6 (m, 4H), 2.4 (s, 3H), 2.3 (s, 3H) MS $m/z$ 554.2 (M+1),	N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-2-噻吩-3-基-乙酰胺	1

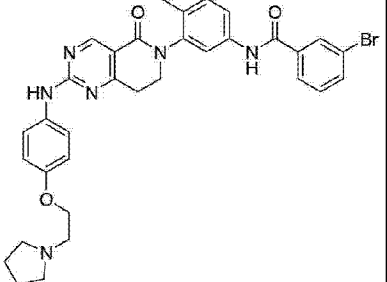
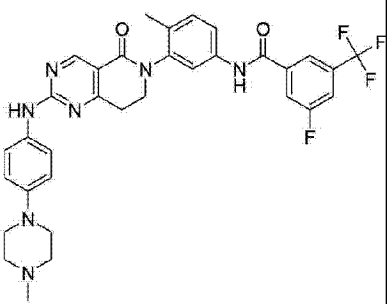
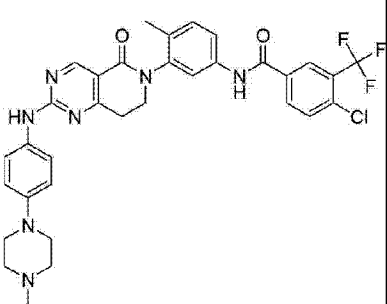
[0154]

72		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.82 (s, 1H), 8.15-8.04 (m, 1H), 7.96-7.48 (m, 7H), 7.4-7.3 (m, 1H), 7.0 (d, 2H), 4.15-3.96 (m, 1H), 3.94-3.8 (m, 1H), 3.26-3.1 (m, 6H), 2.8-2.6 (m, 4H), 2.4 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 1.8 (s, 6H) $\text{MS m/z}$ 615.3 (M+1),	3-(氰基-二甲基-甲基)-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-咪唑-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-苯甲酰胺	3
73		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.62 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.6 (d, 2H), 7.44 (s, 1H), 7.12 (s, 2H), 6.9 (d, 3H), 6.09 (s, 1H), 3.99 (s, 2H), 3.78-3.52 (m, 4H), 3.38-3.02 (m, 8H), 2.86 (s, 4H), 2.42 (d, 7H), 2.22 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 566.1 (M+1),	2-(3,5-二甲基-吡唑-1-基)-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-咪唑-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-乙酰胺	1
75		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.9 (s, 1H), 8.25-8.4 (m, 2H), 7.82-7.9 (m, 3H), 7.6-7.8 (m, 3H), 7.25-7.35 (dd, 3H), 4.05-4.15 (m, 2H), 3.6-3.92 (m, 6H), 2.5 (m, 4H), 2.2-2.4 (m, 6H) $\text{MS m/z}$ 644.1 (M+1),	N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-咪唑-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基苯甲酰胺	4
76		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.1 (d, 2H), 8.1-8.3 (m, 2H), 7.5-7.9 (m, 5H), 7.0-7.5 (m, 5H), 3.3-4.2 (m, 6H), 3.0-3.3 (d, 2H), 2.1-2.45 (m, 7H), 1.7-1.8 (s, 4H), $\text{MS m/z}$ 658.0 (M+1),	N-[4-甲基-3-(2-{4-[2-(4-甲基-咪唑-1-基)-2-氧代-乙基]-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-苯基]-3-三氟甲基苯甲酰胺	4

[0155]

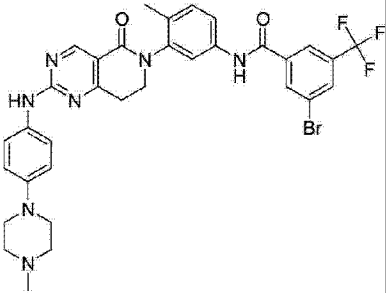
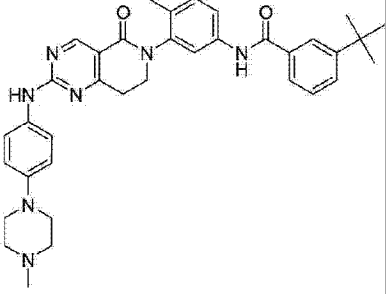
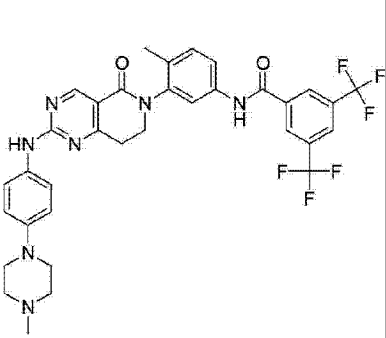
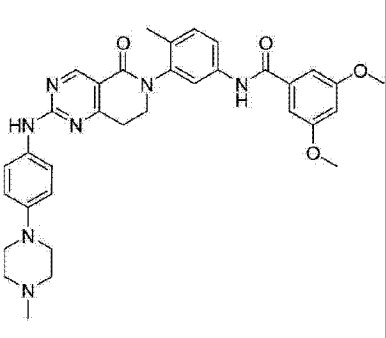
77		<p>MS m/z 672.1 (M+1), <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.92 (s, 1H), 8.36-8.12 (m, 2H), 8.05-7.66 (m, 9H), 7.66-7.50 (m, 1H), 7.45-7.22 (m, 1H), 4.1-4.0 (m, 3H), 3.6-3.4 (br s, 3H), 2.4-2.2 (s, 4H), 2.2-1.8 (m, 11H)</p>	<p>N-(4-甲基-3-(5-氧代-2-(4-(3-(吡咯烷-1-基)丙胺甲酰基)苯胺基)-7,8-二氢吡哆[4,3-d]嘧啶-6(5H)-基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺</p>	3
----	-----------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------	---

[0156]

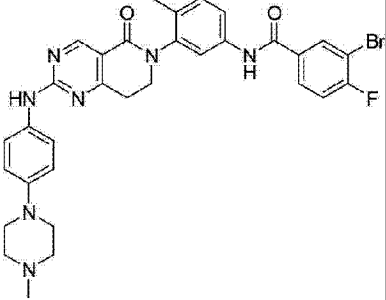
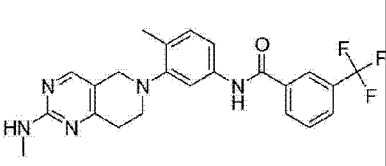
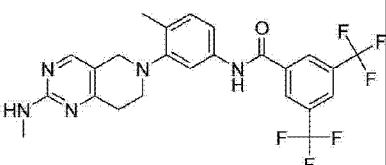
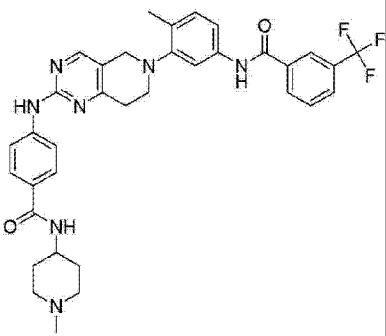
78		<p><sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 9.02-8.70 (br s, 1H), 8.26-8.02 (m, 1H), 8.02-7.18 (m, 8H), 7.18-6.80 (m, 2H), 4.4-4.2 (br s, 2H), 4.1-4.0 (br s, 2H), 3.62-3.42 (br s, 3H), 2.25 (s, 3H), 2.1-1.9 (m, 9H)</p> <p>MS m/z 642.9 (M+2)</p>	<p>3-溴-N-(4-甲基-3-(5-氧代-2-[4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-苯基)-苯甲酰胺</p>	3
79		<p><sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.95-8.65 (br s, 1H), 8.2-7.9 (m, 2H), 7.8-7.5 (m, 5H), 7.45-7.25 (d, 1H), 7.15-6.90 (d, 2H), 4.2-3.8 (m, 2H), 3.3-3.1 (m, 6H), 2.75-2.6 (m, 4H), 2.4 (s, 3H), 2.2 (s, 3H)</p> <p>MS m/z 634.1 (M+1)</p>	<p>3-氟-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-5-三氟甲基-苯甲酰胺</p>	3
80		<p><sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.28 (s, 1H), 9.0 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.15-7.95 (m, 1H), 7.65-7.45 (m, 4H), 7.45-7.36 (m, 2H), 7.1-6.9 (m, 3H), 4.00-3.82 (m, 1H), 3.82-3.65 (m, 1H), 3.4-3.0 (m, 6H), 2.7-2.5 (m, 4H), 2.36 (s, 3H), 1.76 (s, 3H)</p> <p>MS m/z 650.1 (M+1)</p>	<p>4-氯-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺</p>	3

[0157]



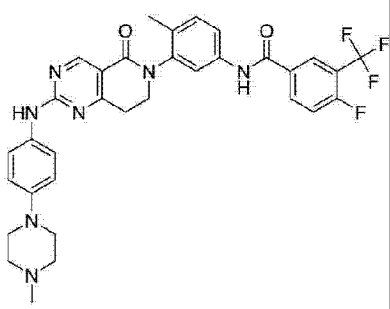
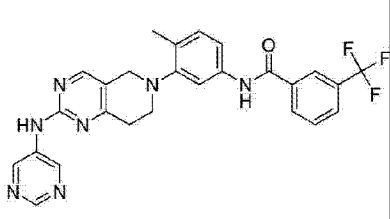
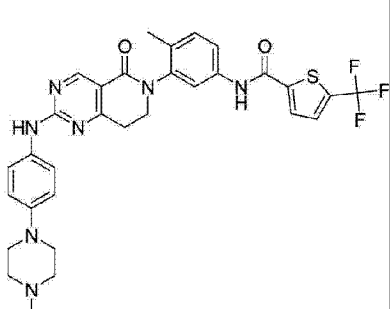
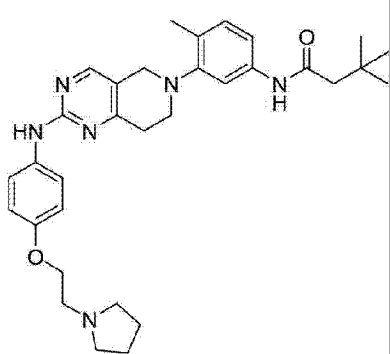
85		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO) $\delta$ 10.59 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.25 (d, 2H), 7.79-7.51 (m, 4H), 7.3 (d, 1H), 6.9 (d, 2H), 4.1-3.9 (s, 2H), 3.8-3.6 (m, 2H), 3.2-2.9 (m, 8H), 2.24-2.0 (m, 6H) MS m/z 693.9(M+1)	3-溴-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-5-三氟甲基-苯甲酰胺	3
86		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- $\text{D}_6$ ) $\delta$ 10.21 (s, 1H), 9.9 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.9-7.1 (m, 8H), 7.1-6.76 (m, 2H), 4.82-4.12 (m, 2H), 4.05-3.6 (m, 2H), 3.2-2.9 (s, 6H), 2.2 (d, 8H), 1.7-1.1 (s, 9H) MS m/z 604.2 (M+1)	三级丁基-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-苯甲酰胺	3
87		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 10.00-9.65 (br s, 1H), 9.25-8.85 (br s, 1H), 8.7-8.3 (br s, 2H), 8.1-7.8 (br s, 1H), 7.7-7.3 (m, 5H), 7.15-6.85 (m, 3H), 4.0-3.4 (m, 2H), 3.4-3.0 (m, 6H), 2.8-2.6 (m, 4H), 2.4 (s, 3H), 1.5 (s, 3H) MS m/z 684.1 (M+1)	N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3,5-双-三氟甲基-苯甲酰胺	3
88		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.99 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.8-6.8 (m, 10H), 6.6 (s, 1H), 4.08-3.90 (m, 1H), 3.9-3.6 (m, 7H), 3.35-3.05 (m, 6H), 2.92-2.75 (m, 4H), 2.36 (s, 3H), 2.17 (s, 3H) MS m/z 608.2 (M+1),	3,5-二甲氧基-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-苯甲酰胺	3

[0159]

89		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO) $\delta$ 8.75 (s, 1H), 8.49-8.2 (m, 1H), 8.19-7.82 (m, 1H), 7.81-7.4 (m, 5H), 7.4-7.19 (m, 1H), 7.1-6.8 (m, 2H), 4.08-3.90 (m, 1H), 3.86-3.70 (m, 1H), 3.35-3.05 (m, 6H), 2.92-2.75 (m, 4H), 2.36 (s, 3H), 2.17 (s, 3H) MS $m/z$ 646.0 (M+3)	3-溴-4-氟-N-(4-甲基 -3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪 -1-基)-苯胺基]-5-氧 代-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基}-苯 基)-苯甲酰胺	3
90		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.30-7.05 (m, 9H), 5.0 (s, 1H), 4.0 (s, 2H), 3.4-3.15 (m, 2H), 3.15-2.80 (m, 5H), 2.3 (s, 3H) MS $m/z$ 442.4 (M+1)	N-[4-甲基-3-(2-甲胺 基-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基)-苯 基]-3-三氟甲基-苯甲 酰胺	1
91		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.56 (s, 2H), 8.4-7.94 (m, 2H), 7.6 (s, 1H), 7.5-7.04 (m, 2H), 4.0 (s, 2H), 3.3-3.2 (m, 2H), 2.92 (s, 5H), 2.32 (s, 3H) MS $m/z$ 510.0 (M+1)	N-[4-甲基-3-(2-甲胺 基-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基)-苯 基]-3,5-双-三氟甲基- 苯甲酰胺	1
92		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.4-7.56 (m, 10H), 7.4-7.1 (m, 2H), 4.0 (s, 2H), 3.1-3.0 (m, 2H), 2.8-2.5 (m, 5H), 2.3 (s, 3H), 2.2-2.0 (m, 3H), 1.9-1.6 (m, 2H), 1.5-1.1 (m, 4H) MS $m/z$ 644.0 (M+1)	3-(2-胺基-7,8-二氢 -5H-吡啶[4,3-d]嘧啶 -6-基)-4-甲基-N-苯基 -苯甲酰胺	2

[0160]

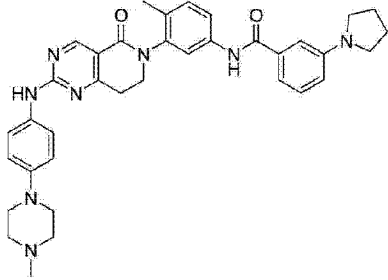
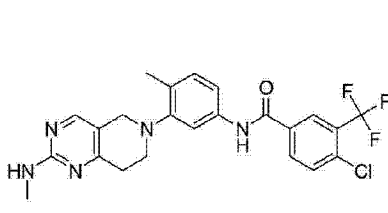
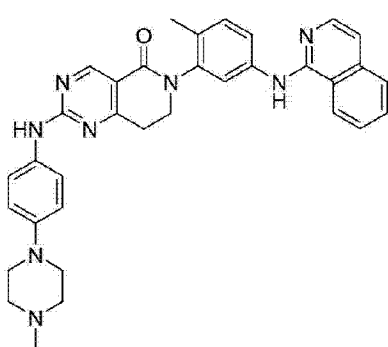
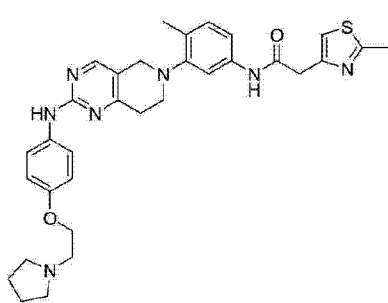


93		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO) $\delta$ 10.5 (s, 1H), 9.98 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.5-8.25 (m, 2H), 7.8-7.5 (m, 5H), 7.32 (d, 1H), 6.9 (d, 2H), 4.10-3.82 (m, 1H), 3.8-3.6 (m, 1H), 3.15-2.98 (m, 6H), 2.4-2.5 (m, 4H), 2.35 (s, 3H), 2.2 (s, 3H) MS m/z 634.0 (M+1)	4-氟-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-咪唑-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3
94		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.12 (s, 2H), 8.88 (s, 1H), 8.30-8.02 (m, 2H), 7.97-7.55 (m, 4H), 7.33-7.00 (m, 4H), 4.09 (s, 2H), 3.3 (t, 2H), 3.02 (t, 2H), 2.31 (s, 3H) MS m/z 506.1 (M+1)	N-{4-甲基-3-[2-(嘧啶-5-基胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-苯基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺	2
95		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.8 (s, 1H), 8.05-7.4 (m, 6H), 7.3 (d, 1H), 6.95 (d, 2H), 4.12-3.7 (m, 2H), 3.4-3.0 (m, 6H), 2.8-2.5 (m, 4H), 2.4 (s, 3H), 2.25 (s, 3H) MS m/z 622.1 (M+1)	5-三氟甲基-噻吩-2-羧酸 (4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-咪唑-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-酰胺	3
96		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 11.4 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.8-7.5 (m, 3H), 7.45-6.70 (m, 4H), 4.32 (s, 2H), 4.18-3.80 (m, 4H), 3.72-2.90 (m, 9H), 2.49-2.00 (m, 8H), 1.4-1.0 (m, 9H) MS m/z 543.2 (M+1)	3,3-二甲基-N-(4-甲基-3-{2-[4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-丁酰胺	1

[0161]

97		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.54 (s, 2H), 8.3-7.96 (m, 2H), 7.6 (s, 1H), 7.6-7.16 (m, 2H), 3.98 (s, 2H), 3.2-3.1 (t, 2H), 2.9 (t, 2H), 2.3 (s, 3H) MS m/z 496.0 (M+1)	N-[3-(2-氨基-7,8-二 氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧 啶-6-基)-4-甲基-苯 基]-3,5-双-三氟甲基- 苯甲酰胺	1
98		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.4-8.08 (m, 3H), 8.0-7.66 (m, 6H), 7.5-7.06 (m, 3H), 4.03 (s, 2H), 3.7 (t, 2H), 3.5 (t, 2H), 3.3-3.2 (t, 2H), 3.12-2.9 (m, 2H), 2.32 (s, 3H) MS m/z 591.1 (M+1),	N-(2-氨基-3-{2-[4-(羟 苯胺基)]-5-氧代-7,8- 二氢-5H-吡啶[4,3-d] 嘧啶-6-基}-苯基)-3- 三氟甲基-苯甲酰胺	2
99		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.5 (s, 1H), 8.4-7.00 (m, 13H), 3.9 (s, 2H), 3.7-3.4 (br s, 4H), 3.4-2.9 (m, 4H), 2.3 (s, 3H), 2.0-1.8 (br s, 4H) MS m/z 601.1 (M+1)	N-(4-甲基-3-{2-[4-(吡 咯烷-1-羰基)-苯胺 基]-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基}-苯 基)-3-三氟甲基-苯甲 酰胺	2
100		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.08 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.86-7.56 (m, 4H), 7.48-7.38 (m, 1H), 7.24-7.06 (m, 2H), 5.0 (s, 1H), 4.0 (s, 2H), 3.35-3.30 (m, 2H), 3.1-2.9 (m, 5H), 2.3 (s, 3H), 1.4 (s, 9H) MS m/z 430.1 (M+1)	3-三级丁基-N-[4 甲 基-3-(2-甲胺基-7,8-二 氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧 啶-6-基)-苯基]-苯甲 酰胺	1
101		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.0 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.1 (s, 1H), 7.82 (d, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.62-7.40 (m, 6H), 7.12 (d, 1H), 6.94 (d, 2H), 4.05-3.9 (m, 1H), 3.80-3.69 (m, 1H), 3.3-3.0 (m, 6H), 2.75-2.55 (m, 4H), 2.4 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 2.0 (s, 3H) MS m/z 602.2 (M+1)	3-甲基-苯并呋喃-5- 羧酸 (4-甲基 -3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪 -1-基)-苯胺基]-5-氧 代-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基}-苯 基)-酰胺	3

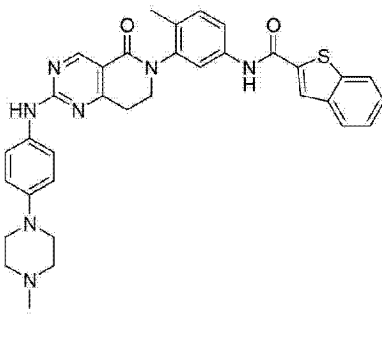
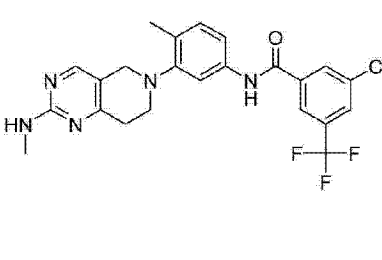
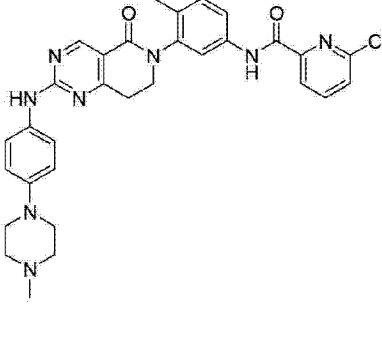
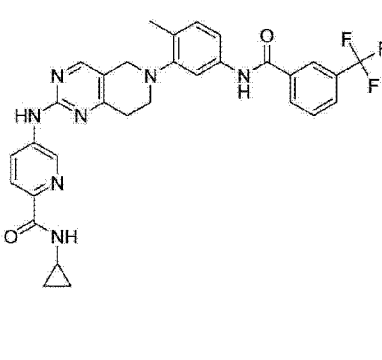
[0162]

102		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.95 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.72-7.44 (m, 4H), 7.38-7.10 (m, 3H), 7.09-6.90 (m, 4H), 6.7-6.6 (m, 1H), 4.05-3.84 (m, 1H), 3.80-3.62 (m, 1H), 3.36-3.28 (m, 9H), 3.15-2.96 (m, 2H), 2.78-2.56 (m, 4H), 2.36 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.05-1.95 (m, 3H) MS m/z 617.2 (M+1)	N-(4-甲基-3-(2-[4-(4- 甲基-哌嗪-1-基)-苯基]- 5-氧代-7,8-二氢- -5H-吡啶[4,3-d]嘧啶 -6-基)-苯基)-3-吡咯 烷-1-基-苯甲酰胺	3
103		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.34-7.84 (m, 3H), 7.54-7.40 (m, 2H), 7.39-7.04 (m, 3H), 5.2-4.9 (br s, 1H), 4.10-3.82 (s, 2H), 3.22-3.10 (m, 2H), 3.09-2.80 (m, 5H), 2.47-2.12 (s, 3H) MS m/z 476.0 (M+1)	4-氯-N-[4-甲基-3-(2- 甲胺基-7,8-二氢-5H- 吡啶[4,3-d]嘧啶-6- 基)-苯基]-3-三氟甲基 -苯甲酰胺	1
104		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.99 (s, 1H), 8.12-6.82 (m, 15H), 4.12-3.66 (m, 2H), 3.42-3.00 (m, 6H), 2.75-2.48 (m, 4H), 2.35 (s, 3H), 2.2 (s, 3H) MS m/z 571.2 (M+1)	6-[5-(异喹啉-1-基胺 基)-2-甲基-苯 基]-2-[4-(4-甲基-哌嗪 -1-基)-苯胺基]-7,8-二 氢-6H-吡啶[4,3-d]嘧 啶-5-酮	11
105		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.0 (s, 1H), 8.1 (s, 1H), 7.6-7.4 (m, 3H), 7.15-7.05 (d, 1H), 7.0-6.85 (m, 5H), 4.20-4.05 (m, 2H), 4.0 (s, 2H), 3.8 (s, 2H), 3.30-3.15 (m, 2H), 3.00-2.85 (m, 4H), 2.75 (s, 3H), 2.72-2.60 (br s, 4H), 2.25 (s, 3H), 1.85-1.75 (br s, 4H) MS m/z 584.1 (M+1)	N-(4-甲基-3-(2-[4-(2- 吡咯烷-1-基-乙氧基)- 苯胺基]-7,8-二氢-5H- 吡啶[4,3-d]嘧啶-6- 基)-苯基)-2-(2-甲基- 噻唑-4-基)-乙酰胺	1

[0163]



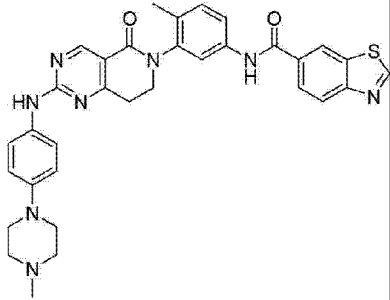
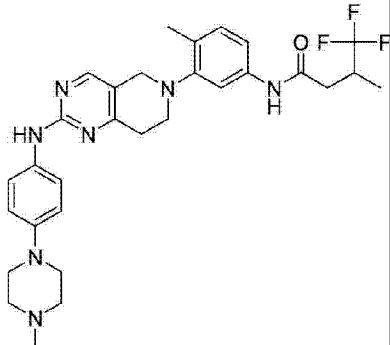
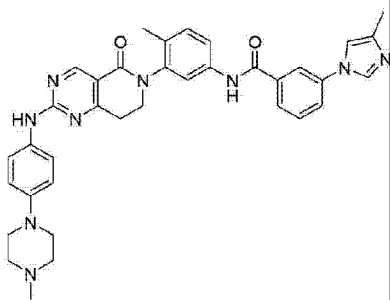
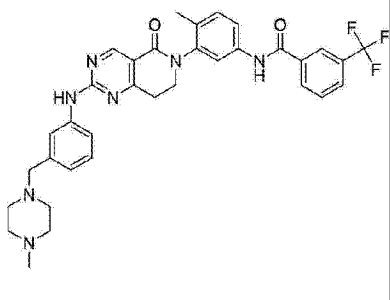


114		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.2 (s, 2H), 7.96 (s, 1H), 7.85 (d, 1H), 7.8-7.6 (m, 2H), 7.60-7.45 (m, 3H), 7.45-7.30 (m, 2H), 7.3-7.15 (m, 1H), 7.1 (d, 1H), 7.05-6.90 (m, 2H), 4.0-3.8 (m, 1H), 3.80-3.65 (m, 1H), 3.3-3.0 (m, 6H), 2.7-2.5 (m, 4H), 2.34 (s, 3H), 1.9 (s, 3H) MS $m/z$ 604.1 (M+1)	苯[b]噻吩-2-羧酸 (4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-酰胺	3
115		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.18-7.97 (m, 3H), 7.81 (d, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.38-7.05 (m, 2H), 5.1-4.9 (br s, 1H), 4.15-3.90 (m, 2H), 3.40-3.15 (m, 2H), 3.15-2.75 (m, 5H), 2.3 (s, 3H) MS $m/z$ 476.1 (M+1),	3-氯-N-[4-甲基-3-(2-甲胺基-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-苯基]-5-三氟甲基-苯甲酰胺	1
116		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.85 (s, 1H), 9.0 (s, 1H), 8.2 (d, 1H), 7.86 (t, 1H), 7.82-7.76 (m, 1H), 7.65-7.46 (m, 4H), 7.43-7.30 (m, 2H), 6.95 (d, 2H), 4.19-3.95 (m, 1H), 3.89-3.70 (m, 1H), 3.34-3.00 (m, 6H), 2.68-2.55 (m, 4H), 2.36 (s, 3H), 2.25 (s, 3H) MS $m/z$ 583.2 (M+1),	6-氯-吡啶-2-羧酸 (4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-酰胺	3
117		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.7 (d, 1H), 8.42-8.3 (m, 1H), 8.3-8.02 (m, 4H), 8.00-7.76 (m, 3H), 7.74-7.54 (m, 2H), 7.40-7.02 (m, 4H), 4.1 (s, 2H), 3.4-3.2 (m, 2H), 3.15-3.00 (m, 2H), 3.0-2.9 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 0.9-0.8 (m, 2H), 0.7-0.6 (m, 2H) MS $m/z$ 588.0 (M+1),	5-{6-[2-甲基-5-(3-三氟甲基-苯甲酰胺基)-苯基]-5,6,7,8-四氢-吡啶[4,3-d]嘧啶-2-基胺基}-吡啶-2-羧酸环丙基酰胺	2

[0166]

118		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.97 (d, 2H), 8.2 (s, 1H), 8.08-7.32 (m, 11H), 7.2-6.8 (m, 3H), 6.42 (s, 1H), 4.10-3.52 (m, 2H), 3.40-2.88 (m, 6H), 2.8-2.5 (m, 4H), 2.38 (s, 3H), 1.9 (s, 3H) MS m/z 614.0 (M+1),	N-(4-甲基-3-{2-[4-(4- 甲基-哌嗪-1-基)-苯基]- 5-氧代-7,8-二氢 -5H-吡啶[4,3-d]嘧啶 -6-基}-苯基)-3-吡啶 -1-基-苯甲酰胺	3
119		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-D}_6$ ) $\delta$ 10.42 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 9.0 (s, 1H), 8.51-8.12 (m, 4H), 8.20-7.61 (m, 4H), 7.61 (s, 1H), 7.60-7.32 (m, 2H), 7.2 (d, 1H), 4.05 (s, 2H), 3.08-2.93 (m, 2H), 2.61-2.52 (m, 2H), 2.28 (s, 3H) MS m/z 548.1 (M+1),	5-{6-[2-甲基-5-(3-三 氟甲基-苯甲酰胺基)- 苯基]-5,6,7,8-四氢-吡 啶[4,3-d]嘧啶-2-基胺 基}-吡啶-2-羧酸酰胺	2
120		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.39 (s, 1H), 9.11-9.00 (m, 1H), 8.13 (d, 2H), 7.7 (s, 1H), 7.65-7.30 (m, 5H), 7.1-6.86 (m, 3H), 4.10-3.52 (m, 2H), 3.40-2.88 (m, 6H), 2.8-2.5 (m, 4H), 2.38 (s, 3H), 1.9 (s, 3H) MS m/z 650.1 (M+1),	3-氯-N-(4-甲基 -3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪 -1-基)-苯基]-5-氧 代-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基}-苯 基)-5-三氟甲基-苯甲 酰胺	3
121		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.58 (s, 1H), 8.2-8.0 (m, 3H), 7.88-7.78 (m, 2H), 7.72-7.58 (m, 2H), 7.26-7.08 (m, 3H), 6.61 (s, 1H), 4.02 (s, 2H), 3.92-3.72 (m, 4H), 3.36-3.21 (m, 2H), 3.05-2.88 (m, 2H), 2.60-2.48 (m, 4H), 2.36 (s, 3H), 2.32 (s, 3H) MS m/z 604.2 (M+1),	N-(4-甲基-3-{2-[2-(4- 甲基-哌嗪-1-基)-嘧啶 -5-基胺基]-7,8-二氢 -5H-吡啶[4,3-d]嘧啶 -6-基}-苯基)-3-三氟 甲基-苯甲酰胺	2

[0167]

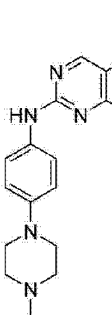
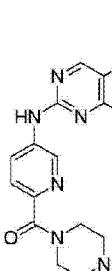
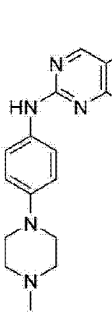
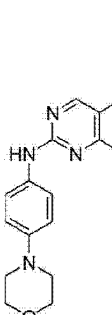
122		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.1 (s, 1H), 9.0 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.6 (s, 1H), 8.25-8.1 (d, 1H), 8.1-8.0 (m, 1H), 7.8-7.65 (m, 1H), 7.6-7.5 (m, 2H), 7.45-7.30 (m, 2H), 7.20-7.05 (m, 2H), 7.05-6.90 (m, 2H), 4.00-3.85 (m, 1H), 3.80-3.65 (m, 1H), 3.5 (s, 1H), 3.3-3.0 (m, 6H), 2.70-2.55 (m, 4H), 2.4 (s, 3H), 1.9 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 604.9 (M+1),	苯并噻唑-6-羧酸 (4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-酰胺	3
123		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.12 (s, 1H), 7.56-7.46 (m, 2H), 7.32-7.12 (m, 3H), 7.06-6.89 (m, 4H), 4.0 (s, 2H), 3.3-3.1 (m, 6H), 3.05-2.90 (m, 3H), 2.85-2.70 (m, 1H), 2.65-2.60 (m, 4H), 2.4 (s, 3H), 2.3 (s, 3H), 1.3 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 568.2 (M+1),	4,4,4-三氟-3-甲基-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-丁酰胺	1
124		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.2 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.9-7.8 (m, 2H), 7.65-7.34 (m, 7H), 7.10-7.01 (m, 2H), 7.00-6.89 (m, 2H), 4.0-3.8 (m, 1H), 3.8-3.6 (m, 1H), 3.3-2.9 (m, 6H), 2.7-2.5 (m, 4H), 2.4 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 1.85 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 628.1 (M+1),	3-(4-甲基-咪唑-1-基)-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-苯甲酰胺	3
125		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.88 (s, 1H), 8.38-8.08 (m, 3H), 7.92-7.80 (m, 1H), 7.80-7.50 (m, 6H), 7.43-7.20 (m, 2H), 7.15-6.95 (d, 1H), 4.3-3.7 (m, 4H), 3.6 (s, 2H), 3.0-2.6 (m, 8H), 2.45 (s, 3H), 2.25 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 630.0 (M+1),	N-(4-甲基-3-{2-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基)甲基]-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3,3,3-三氟甲基-苯甲酰胺	3

[0168]

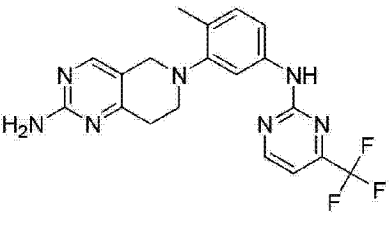
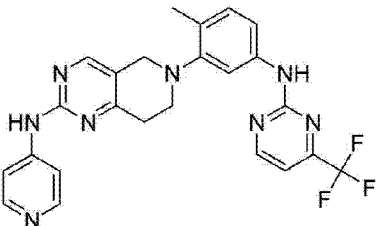
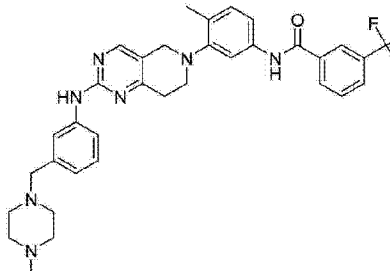
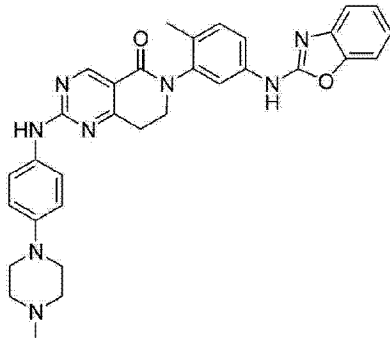


126		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.0 (s, 1H), 8.2 (s, 1H), 7.65 (d, 1H), 7.6-7.4 (m, 6H), 7.3-7.15 (m, 2H), 7.1-6.9 (m, 3H), 4.1-3.9 (m, 1H), 3.85-3.65 (m, 1H), 3.3-3.0 (m, 10H), 2.7-2.5 (m, 8H), 2.4-2.3 (m, 6H), 2.15 (s, 3H) MS m/z 646.0 (M+1),	N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺	3
127		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-D}_6$ ) $\delta$ 10.7 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 9.29 (s, 1H), 8.7 (s, 1H), 8.4-8.2 (m, 3H), 8.0-7.5 (m, 6H), 7.2 (d, 1H), 6.89 (d, 2H), 4.0 (s, 2H), 3.25 (t, 2H), 3.1-3.0 (m, 4H), 2.9 (t, 2H), 2.5-2.4 (m, 4H), 2.3 (s, 3H), 2.2 (s, 3H) MS m/z 585.1 (M+1),	异喹啉-3-羧酸 (4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-酰胺	1
128		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 9.37 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.22 (d, 1H), 8.12 (d, 1H), 7.96-7.69 (m, 4H), 7.6 (d, 2H), 7.45-7.32 (m, 1H), 7.0 (d, 2H), 4.25-4.0 (m, 1H), 3.95-3.75 (m, 1H), 3.25-3.1 (m, 6H), 2.8-2.65 (m, 4H), 2.4 (s, 3H), 2.25 (s, 3H) MS m/z 599.1 (M+1),	异喹啉-3-羧酸 (4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-酰胺	3
129		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.05 (s, 1H), 7.76-7.60 (m, 2H), 7.44-6.88 (m, 6H), 6.82-6.58 (m, 1H), 5.12-4.82 (m, 1H), 4.01 (s, 2H), 3.49-2.82 (m, 10H), 2.31 (s, 3H), 2.05 (s, 3H) MS m/z 442.9 (M+1),	N-[4-甲基-3-(2-甲胺基-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-苯基]-3-吡咯烷-1-基-苯甲酰胺	1

[0169]

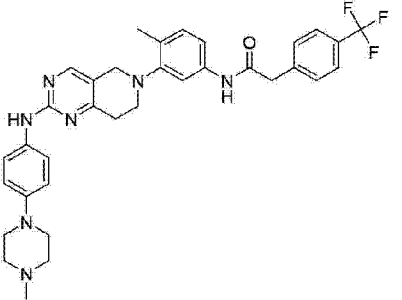
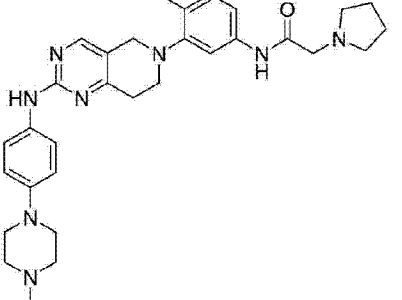
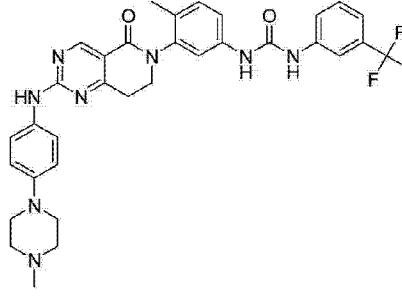
131		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.11 (s, 1H), 7.54-7.42 (m, 3H), 7.24-7.12 (m, 2H), 7.04-6.86 (m, 4H), 4.0 (s, 2H), 3.3-3.1 (m, 6H), 3.02-2.90 (m, 2H), 2.7-2.5 (m, 8H), 2.35 (s, 3H), 2.3 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 554.2 (M+1),	4,4,4-三氟-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-丁酰胺	1
132		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.85-8.64 (m, 1H), 8.40-7.96 (m, 5H), 7.90-7.50 (m, 4H), 7.48-7.00 (m, 3H), 4.05 (s, 2H), 3.94-3.60 (m, 4H), 3.4-3.1 (m, 2H), 3.1-2.9 (m, 2H), 2.60-2.15 (m, 10H) $\text{MS m/z}$ 631.2 (M+1),	N-(4-甲基-3-{2-[6-(4-甲基-哌嗪-1-羰基)-吡啶-3-基胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	2
133		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.95 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.55-7.45 (m, 2H), 7.4-7.3 (m, 2H), 7.20-7.15 (m, 2H), 7.0-6.9 (m, 2H), 4.05-3.90 (m, 1H), 3.85-3.70 (m, 1H), 3.7-3.1 (m, 6H), 2.7-2.6 (m, 4H), 2.55-2.45 (m, 4H), 2.4 (s, 3H), 2.25 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 568.1 (M+1),	4,4,4-三氟-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-丁酰胺	3
134		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.05 (s, 1H), 8.85-8.75 (br s, 1H), 8.2 (s, 1H), 8.15-8.05 (m, 1H), 7.7-7.5 (m, 5H), 7.45-7.35 (m, 2H), 7.2-7.1 (m, 1H), 7.0-6.9 (m, 2H), 4.05-3.85 (m, 5H), 3.80-3.65 (m, 1H), 3.20-3.05 (m, 6H), 2.15 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 602.9 (M+1),	N-(4-甲基-3-[2-(4-吗啉-4-基-苯胺基)-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3

[0170]

135		$^1\text{H}$ NMR (300 MHz, DMSO- $\text{D}_6$ ) $\delta$ 10.1 (s, 1H), 8.8-8.74 (m, 1H), 8.06-8.0 (br s, 1H), 7.68-7.6 (br s, 1H), 7.4-7.08 (m, 3H), 6.5-6.38 (br s, 2H), 3.9 (s, 2H), 3.2-3.1 (m, 2H), 2.84-2.7 (m, 2H), 2.2 (s, 3H) MS m/z 402.1 (M+1)	6-[2-甲基-5-(4-三氟甲基-嘧啶-2-基胺基)-苯基]-5,6,7,8-四氢-吡啶[4,3-d]嘧啶-2-基胺	6
136		$^1\text{H}$ NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.65-8.55 (m, 3H), 8.5-8.4 (br s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.2-8.1 (m, 2H), 7.85-7.75 (br s, 1H), 7.4 (s, 1H), 7.25-7.15 (m, 1H), 7.1-7.0 (m, 2H), 4.2 (s, 2H), 3.35 (t, 2H), 3.15 (t, 2H), 2.3 (s, 3H) MS m/z 478.9 (M+1)	{6-[2-甲基-5-(4-三氟甲基-嘧啶-2-基胺基)-苯基]-5,6,7,8-四氢-吡啶[4,3-d]嘧啶-2-基}-吡啶-4-基-胺	6
137		$^1\text{H}$ NMR (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.36-8.2 (m, 3H), 7.98-7.66 (m, 5H), 7.45-7.35 (m, 2H), 7.28-7.12 (m, 2H), 4.12 (s, 2H), 3.54-3.46 (m, 2H), 3.41-3.36 (m, 5H), 3.31-3.21 (m, 4H), 3.1-3.02 (m, 2H), 2.95 (s, 3H), 2.36 (s, 3H) MS m/z 616.2 (M+1)	N-(4-甲基-3-{2-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	1
138		$^1\text{H}$ NMR (300 MHz, DMSO- $\text{D}_6$ ) $\delta$ 10.7 (s, 1H), 8.8 (s, 1H), 7.7-7.0 (m, 10H), 6.95-6.85 (d, 2H), 4.1-3.95 (m, 1H), 3.85-8.7 (m, 1H), 3.3-3.0 (m, 6H), 2.5-2.4 (m, 4H), 2.24 (s, 3H), 2.15 (s, 3H) MS m/z 561.2 (M+1)	6-[5-(苯噁唑-2-基胺基)-2-甲基-苯基]-2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶[4,3-d]嘧啶-5-酮	10

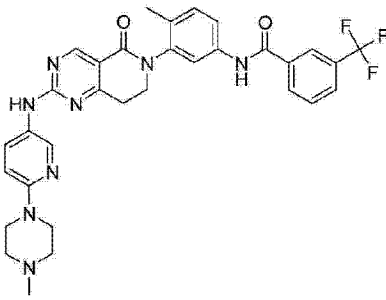
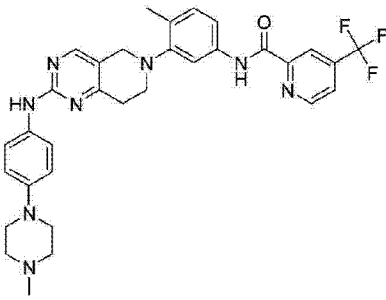
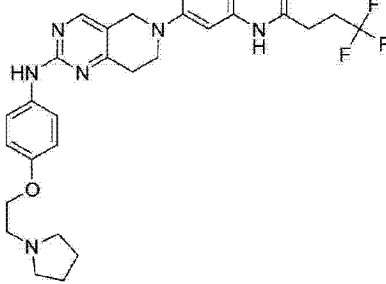
[0171]

[0172]

139		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.12 (s, 1H), 7.7-7.45 (m, 7H), 7.15 (s, 2H), 6.96 (d, 2H), 3.98 (s, 2H), 3.77 (s, 2H), 3.25-3.15 (m, 6H), 2.99-2.75 (m, 6H), 2.5 (s, 3H), 2.28 (s, 3H). $\text{MS m/z}$ 615.9 (M+1)	N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-2-(4-三氟甲基-苯基)-乙酰胺	1
140		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.16 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.7-7.4 (m, 3H), 7.25-6.8 (m, 4H), 4.02 (s, 2H), 3.4-3.14 (m, 7H), 3.08-2.92 (m, 2H), 2.85-2.65 (br s, 7H), 2.52-2.2 (d, 6H), 2.06 (s, 3H), 1.95-1.8 (br s, 3H). $\text{MS m/z}$ 541.2 (M+1)	N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-2-吡咯烷-1-基-乙酰胺	1
141		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.0 (s, 1H), 7.7-6.6 (m, 11H), 8.2-7.7 (m, 3H), 4.2-3.7 (m, 2H), 3.5-2.8 (m, 10H), 2.2-1.9 (m, 6H). $\text{MS m/z}$ 631.2 (M+1)	1-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-(3-三氟甲基-苯基)-脲素	8

[0173]

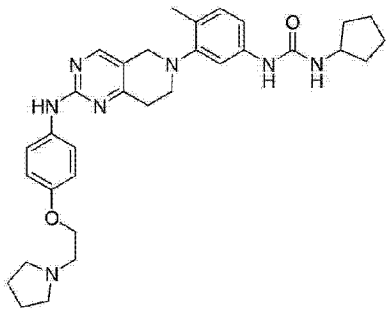
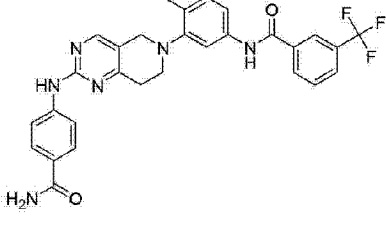
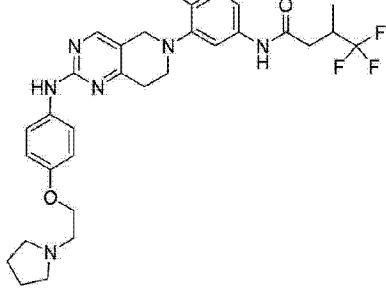
[0174]

145		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.15 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.45-8.37 (br s, 1H), 8.23-8.08 (m, 2H), 7.85 (dd, 1H), 7.74 (d, 1H), 7.66-7.52 (m, 2H), 7.40-7.30 (m, 2H), 7.06 (d, 1H), 6.72 (d, 1H), 4.00-3.88 (m, 1H), 3.70-3.67 (m, 1H), 3.55 (t, 4H), 3.15-3.05 (m, 2H), 2.55 (t, 4H), 2.36 (s, 3H), 1.75 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 617.1 (M+1)	N-(4-甲基 -3-{2-[6-(4-甲基-哌 嗪-1-基)-吡啶-3-基 胺基]-5-氧代-7,8-二 氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧 啶-6-基}-苯基)-3-三 氟甲基-苯甲酰胺	3
146		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.9 (s, 1H), 8.83 (d, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.8-7.7 (m, 2H), 7.50 (d, 2H), 7.0-6.9 (m, 5H), 4.08 (s, 2H), 3.37-2.98 (m, 8H), 2.65-2.58 (m, 4H), 2.36 (s, 3H), 2.32 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 603.1 (M+1)	4-三氟甲基-吡啶-2- 羧酸 (4-甲基 -3-{2-[4-(4-甲基-哌 嗪-1-基)-苯胺 基]-7,8-二氢-5H-吡 啶[4,3-d]嘧啶-6-基}- 苯基)-酰胺	1
147		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.13 (s, 1H), 7.55-7.45 (m, 3H), 7.22-7.13 (m, 2H), 7.00-6.90 (m, 4H), 4.14 (t, 2H), 4.00 (s, 2H), 3.25 (t, 2H), 3.00-2.90 (m, 4H), 2.70-2.60 (m, 8H), 2.30 (s, 3H), 1.90-1.80 (m, 4H) $\text{MS m/z}$ 569.2 (M+1)	4,4,4-三氟-N-(4-甲 基-3-{2-[4-(2-吡咯烷 -1-基-乙氧基)-苯胺 基]-7,8-二氢-5H-吡 啶[4,3-d]嘧啶-6-基}- 苯基)-丁酰胺	1

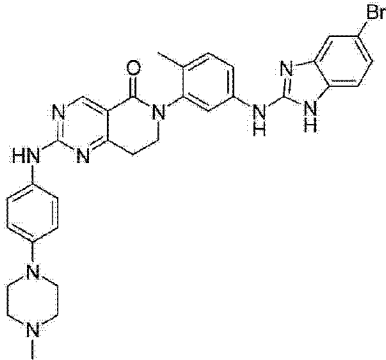
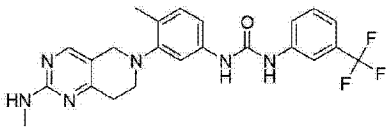
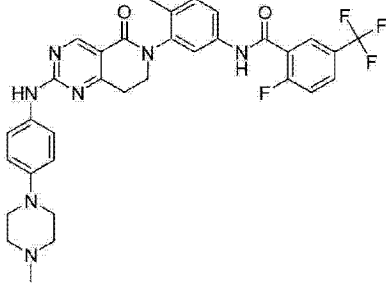
[0175]

[0176]



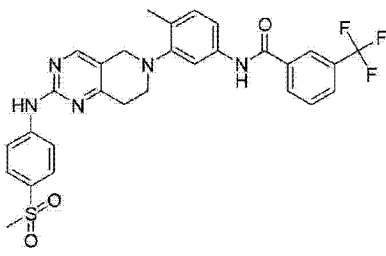
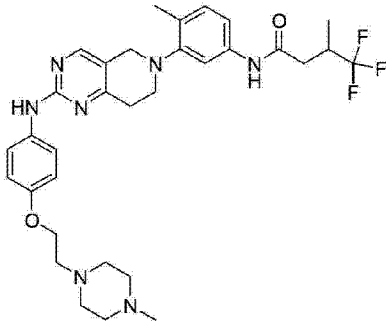
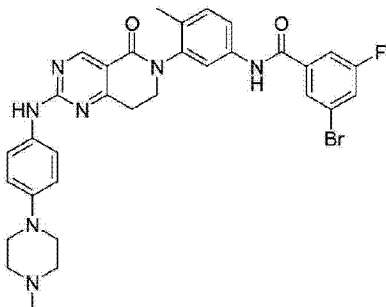
153		$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.11 (s, 1H), 7.50 (d, 2H), 7.23 (d, 1H), 7.13 (d, 1H), 6.98-6.88 (m, 3H), 6.82 (dd, 1H), 6.54 (s, 1H), 4.73 (d, 1H), 4.20-4.10 (m, 2H), 3.99 (s, 2H), 3.24 (t, 2H), 2.98 (t, 2H), 2.75-2.67 (br s, 4H), 2.29 (s, 3H), 2.06-1.95 (m, 2H), 1.90-1.80 (m, 4H), 1.8-1.5(m,10H)	1-环戊基-3-(4-甲基-3-{2-[4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-尿素	7
154		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-D}_6$ ) $\delta$ 10.4 (s, 1H), 9.84 (s, 1H), 8.42-8.24 (m, 3H), 8.02-7.72 (m, 5H), 7.62 (s, 1H), 7.52-7.44 (m, 1H), 7.28-7.10 (m, 4H), 4.0 (s, 2H), 3.3-3.2 (t,2H), 3.05-2.95 (t, 2H), 2.4 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 547.1 (M+1)	4-{6-[2-甲基-5-(3-三氟甲基-苄酰胺基)-苯基]-5,6,7,8-四氢-吡啶[4,3-d]嘧啶-2-基胺基}-苯甲酰胺	2
155		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.13 (s, 1H), 7.52-7.46 (m, 3H), 7.20-7.12 (m, 2H), 7.04-6.86 (m, 4H), 4.12 (t, 2H), 4.0 (s, 2H), 3.27 (t, 2H), 3.05-2.89 (m, 4H), 2.7-2.6 (m, 3H), 2.32-2.28 (m, 4H), 1.85-1.80 (m, 3H), 1.3-1.2 (m, 6H). $\text{MS m/z}$ 583.2 (M+1)	4,4,4-三氟-3-甲基-N-(4-甲基-3-{2-[4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-丁酰胺	1

[0178]

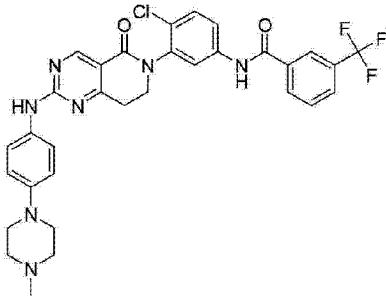
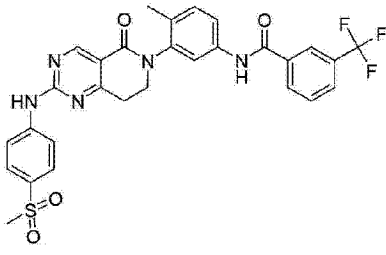
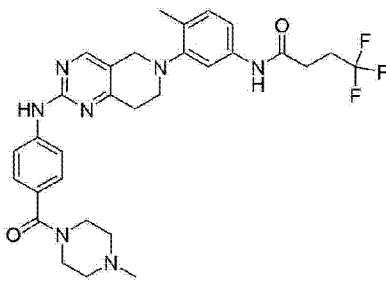
156		$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.5-8.3(bs, 1H), 7.8-7.6 (m, 3H), 7.5-6.94 (m, 7H), 3.9-3.5 (m, 8H), 3.3-3.2(m,4H),3.1 (s, 3H), 2.3 (s, 3H),	6-[5-(5-溴-1H-苯咪唑-2-基胺基)-2-甲基-苯基]-2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶[4,3-d]嘧啶-5-酮	10
157		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 7.98 (s, 1H), 7.6-7.06 (m, 8H), 6.84 (d, 1H), 5.1-5.0 (m, 1H), 3.85 (s, 2H), 3.2-2.8 (m, 7H), 2.22 (s, 3H) MS m/z 457.1 (M+1)	1-[4-甲基-3-(2-甲胺基-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-苯基]-3-(3-三氟甲基-苯基)-尿素	7
158		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-D}_6$ ) $\delta$ 11 (s, 1H), 10.0 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.00 (s, 2H), 8.04 (s, 1H), 7.82 (t, 2H), 7.72-7.55 (m, 2H), 7.3 (d, 1H), 6.92 (d, 2H), 4.05-3.90 (m, 1H), 3.80-3.69 (m, 1H), 3.3-3.0 (m, 6H), 2.5-2.4 (m, 4H), 2.23 (s, 3H), 2.17 (s, 3H)	2-氟-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-5-三氟甲基-苯甲酰胺	3

[0179]

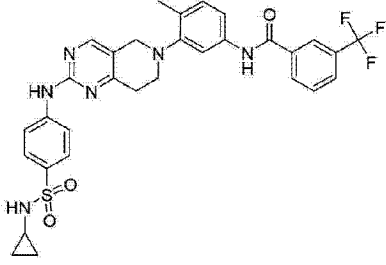
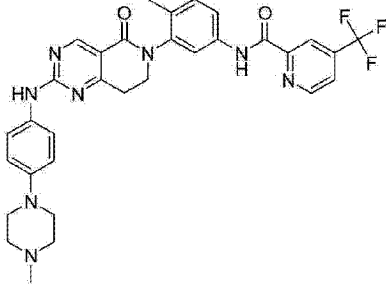
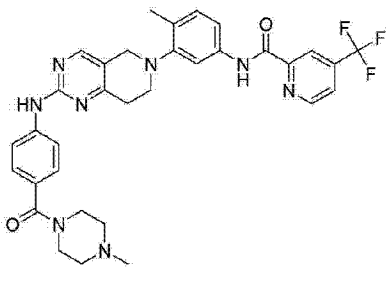


159		$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- $\text{D}_6$ ) $\delta$ 10.43 (s, 1H), 10.2 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.32-8.24 (m, 2H), 8.06-7.94 (m, 3H), 7.82-7.76 (m, 3H), 7.66-7.62 (m, 1H), 7.48 (dd, 1H), 7.21 (d, 1H), 4.05 (s, 2H), 3.26 (t, 2H), 3.14 (s, 3H), 3.00 (t, 2H), 2.27 (s, 3H)	N-{3-[2-(4-甲烷磺酰基-苯胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-4-甲基-苯基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺	2
160		$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.16 (s, 1H), 7.58-7.52 (m, 2H), 7.46 (s, 1H), 7.20-7.14 (m, 2H), 6.94-6.89 (m, 2H), 4.15 (t, 2H), 4.00 (s, 2H), 3.29 (t, 2H), 2.96 (t, 2H), 2.84 (t, 2H), 2.72 (dd, 2H), 2.7-2.5(m,8H),2.45-2.35 (m, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 1.2 (d, 3H)	4,4,4-三氟-3-甲基-N-[4-甲基-3-(2-{4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-乙氧基]-苯胺基}-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-苯基]-丁酰胺	1
161		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- $\text{D}_6$ ) $\delta$ 10.45 (s, 1H), 10.0 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.32 (s, 2H), 8.04 (s, 1H), 7.82 (t, 2H), 7.72-7.55 (m, 3H), 7.3 (d, 1H), 6.92 (d, 2H), 4.05-3.92 (m, 1H), 3.80-3.69 (m, 1H), 3.3-3.0 (m, 6H), 2.5-2.4 (m, 4H), 2.23 (s, 3H), 2.17 (s, 3H) MS $m/z$ 644.0 (M+1)	3-溴-5-氟-N-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-苯甲酰胺	3

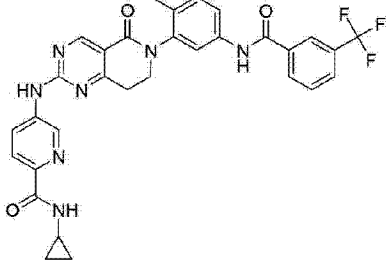
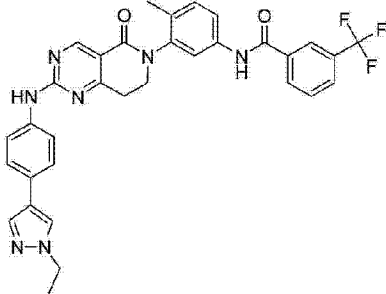
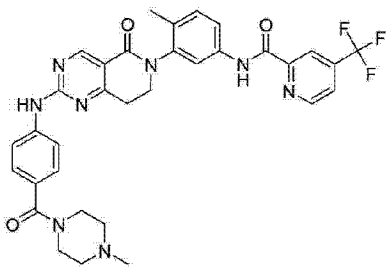
[0180]

162		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-D}_6$ ) $\delta$ 10.7 (s, 1H), 10.09 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.34-8.24 (m, 2H), 8.04-7.93 (m, 2H), 7.86-7.76 (m, 2H), 7.66-7.56 (m, 3H), 6.92 (d, 2H), 4.00-3.78 (m, 2H), 3.15-3.00 (m, 6H), 2.5-2.4 (m, 4H), 2.2 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 635.7 (M+1)	N-(4-氯-3-{2-[4-(4- 甲基-哌嗪-1-基)- 苯胺基]-5-氧代-7,8-二 氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧 啶-6-基}-苯基)-3-三 氟甲基-苯甲酰胺	3
163		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-D}_6$ ) $\delta$ 10.75 (s, 1H), 10.55 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.35-8.25 (m, 2H), 8.1 (d, 2H), 8.05-7.63 (m, 6H), 7.35 (d, 1H), 4.14-4.00 (m, 1H), 3.88-3.76 (m, 1H), 3.2-3.1(m, 5H), 2.2 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 596.0 (M+1)	N-{3-[2-(4-甲烷磺酰 基-苯胺基)-5-氧代 -7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基]-4- 甲基-苯基}-3-三氟 甲基-苯甲酰胺	4
164		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.16 (s, 1H), 7.76-7.64 (m, 3H), 7.46-7.32 (m, 3H), 7.22-7.08 (m, 3H), 3.92 (s, 2H), 3.7-3.6 (m, 5H), 3.2 (t, 2H), 3.0 (t, 2H), 2.75-2.55 (m, 4H), 2.54-2.13 (m, 10H) $\text{MS m/z}$ 582.2 (M+1)	4,4,4-三氟-N-(4-甲 基-3-{2-[4-(4-甲基- 哌嗪-1-基)- 苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡 啶[4,3-d]嘧啶-6-基}- 苯基)-丁酰胺	2

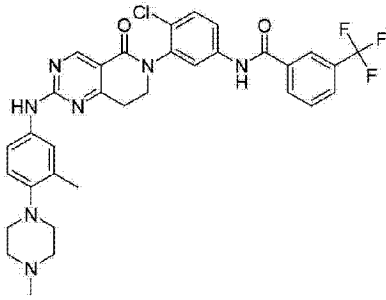
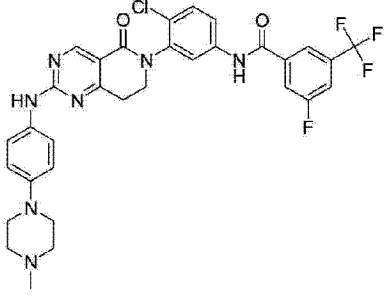
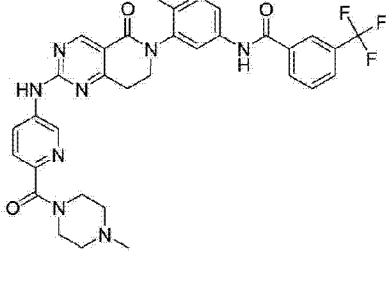
[0181]

165		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.25 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.1 (d, 1H), 7.95-7.80 (m, 7H), 7.75-7.60 (m, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.28-7.12 (m, 2H), 4.88 (s, 1H), 4.1 (s, 2H), 3.3 (t, 2H), 3.08 (t, 2H), 2.32 (s, 3H), 0.70-0.55 (m, 4H) $\text{MS m/z}$ 623.1 (M+1)	N-{3-[2-(4-环丙基胺 噻唑基-苯胺基)-7,8- 二氢-5H-吡啶[4,3-d] 嘧啶-6-基]-4-甲基- 苯基}-3-三氟甲基- 苯甲酰胺	1
166		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.1 (s, 1H), 9(s,1H),8.45-8.35 (s, 1H), 8.2 (s, 1H), 8.15-8.05 (d, 1H), 7.9-7.5 (m, 4H), 7.45-7.25 (m, 2H), 7.15-7.0 (d, 1H), 6.75-6.65 (d, 1H), 4.1-3.85 (m, 1H), 3.8-3.65 (m, 1H), 3.15-3 (m, 2H), 2.6-2.5 (t, 4H), 2.35 (s, 3H),1.75(s,3H). $\text{MS m/z}$ 617.4 (M+1)	4-三氟甲基-吡啶-2- 羧酸 (4-甲基 -3-{2-[4-(4-甲基-哌 嗪-1-基)-苯胺基]-5- 氧代-7,8-二氢-5H-吡 啶[4,3-d]嘧啶-6-基}- 苯基)-酰胺	3
167		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.9 (s, 1H), 8.82 (d, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.75-7.68 (m, 3H), 7.46-7.38 (m, 2H), 7.32-7.20 (m, 3H), 4.11 (s, 2H), 3.85-3.50 (m, 4H), 3.34 (t, 2H), 3.06 (t, 2H), 2.52-2.20 (m, 10H) $\text{MS m/z}$ 631.3 (M+1)	4-三氟甲基-吡啶-2- 羧酸 (4-甲基 -3-{2-[4-(4-甲基-哌 嗪-1-羧基)-苯胺 基]-7,8-二氢-5H-吡 啶[4,3-d]嘧啶-6-基}- 苯基)-酰胺	2

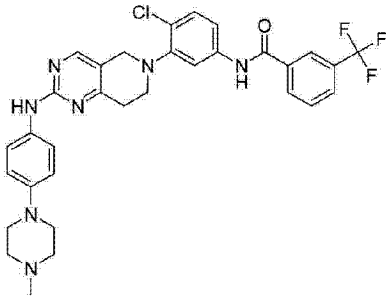
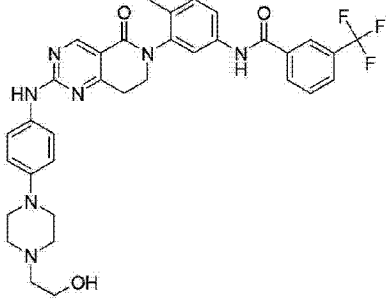
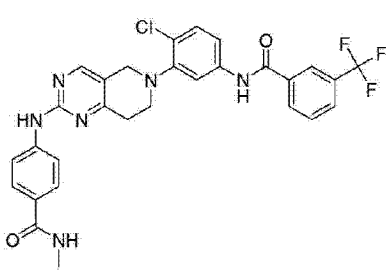
[0182]

168		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-D}_6$ ) $\delta$ 10.7 (s, 1H), 10.58 (s, 1H), 9.06 (d, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.6 (d, 1H), 8.42 (dd, 1H), 8.15 (d, 2H), 8.04-7.9 (m, 3H), 7.79-7.75 (m, 1H), 7.54 (dd, 1H), 7.32 (d, 1H), 4.11-3.98 (m, 1H), 3.85-3.72 (m, 1H), 3.22-3.10 (m, 1H), 2.95-2.82 (m, 1H), 2.18 (s, 3H), 0.25-0.10 (m, 5H) $\text{MS m/z}$ 602.2 (M+1)	5-{6-[2-甲基-5-(3-三 氟甲基-苄酰胺基)- 苯基]-5-氧代 -5,6,7,8-四氢-吡啶 [4,3-d]嘧啶-2-基胺 基}-吡啶-2-羧酸 环 丙基酰胺	4
169		$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.9 (s, 1H), 8.30-8.20 (m, 2H), 7.99 (s, 1H), 7.91 (d, 1H), 7.84-7.72 (m, 5H), 7.62 (dd, 1H), 7.54 (d, 2H), 7.36 (d, 1H), 4.23 (q, 2H), 4.15-4.05 (m, 1H), 3.93-3.85 (m, 1H), 3.23-3.13 (m, 2H), 2.30 (s, 3H), 1.50 (t, 3H)	N-(3-{2-[4-(1-乙基 -1H-吡唑-4-基)-苯胺 基]-5-氧代-7,8-二氢 -5H-吡啶[4,3-d]嘧啶 -6-基}-4-甲基-苯 基)-3-三氟甲基-苯甲 酰胺	4
170		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.99 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.82 (d, 1H), 8.52 (s, 1H), 7.84 (d, 1H), 7.79-7.70 (m, 3H), 7.64-7.54 (m, 2H), 7.45 (d, 2H), 7.34 (d, 1H), 4.15-4.04 (m, 1H), 3.90-3.80 (m, 5H), 3.35-3.10 (m, 2H), 2.50-2.25 (m, 10H) $\text{MS m/z}$ 645.2 (M+1)	4-三氟甲基-吡啶-2- 羧酸 (4-甲基 -3-{2-[4-(4-甲基-哌 嗪-1-羰基)-苯胺 基]-5-氧代-7,8-二氢 -5H-吡啶[4,3-d]嘧啶 -6-基}-苯基)-酰胺	4

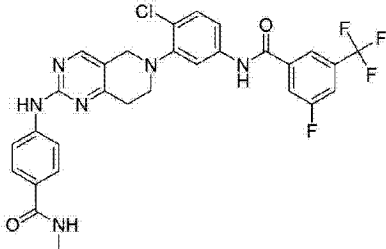
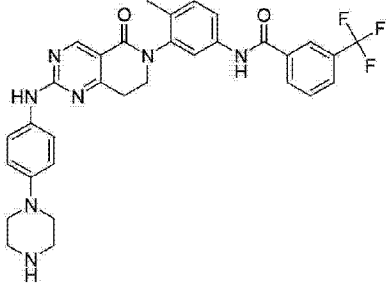
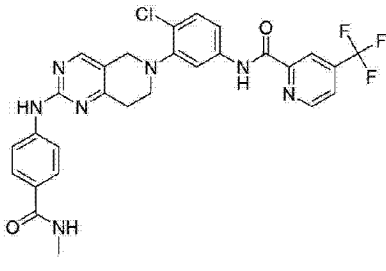
[0183]

171		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.65 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 8.26-8.10 (m, 2H), 7.9-7.7 (m, 2H), 7.65-7.45 (m, 3H), 7.23 (d, 1H), 7.1 (d, 1H), 4.0-3.8 (m, 2H), 3.40-3.05 (m, 10H), 2.9 (s, 3H), 2.34 (s, 3H) MS $m/z$ 650.3 (M+1)	N-(4-氯-3-{2-[3-甲 基-4-(4-甲基-哌嗪-1- 基)-苯胺基]-5-氧代 -7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d]嘧啶-6-基}-苯 基)-3-三氟甲基-苯甲 酰胺	3
172		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.7 (s, 1H), 9.1 (s, 1H), 8.26-8.10 (m, 2H), 7.9-7.7 (m, 3H), 7.65-7.45 (m, 3H), 7.23 (d, 1H), 7.1 (d, 1H), 4.0-3.8 (m, 2H), 3.40-3.05 (m, 10H), 2.34 (s, 3H) MS $m/z$ 655.2 (M+1)	N-(4-氯-3-{2-[4-(4- 甲基-哌嗪-1-基)-苯 胺基]-5-氧代-7,8-二 氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧 啶-6-基}-苯基)-3-氟 -5-三氟甲基-苯甲酰 胺	3
173		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 10.1 (s, 1H), 9.5 (s, 1H), 8.9 (d, 1H), 8.52 (s, 1H), 7.84 (d, 1H), 7.79-7.70 (m, 3H), 7.64-7.54 (m, 2H), 7.45 (d, 2H), 7.34 (d, 1H), 4.15-4.04 (m, 1H), 3.90-3.80 (m, 5H), 3.35-3.10 (m, 2H), 2.50-2.25 (m, 10H)	N-(4-甲基 -3-{2-[6-(4-甲基-哌 嗪-1-基)-吡啶-3- 基胺基]-5-氧代-7,8- 二氢-5H-吡啶[4,3-d] 嘧啶-6-基}-苯基)-3- 三氟甲基-苯甲酰胺	4

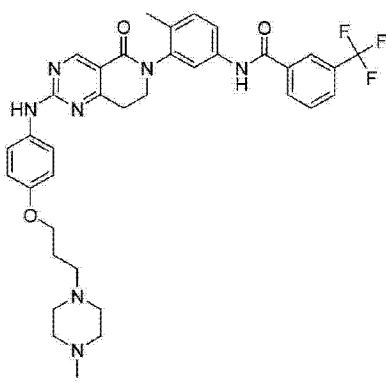
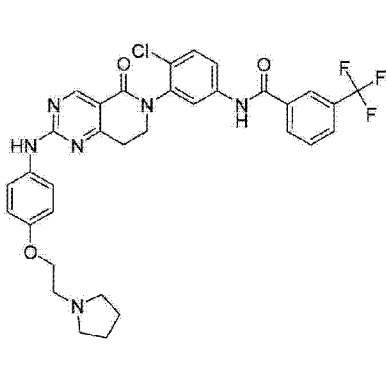
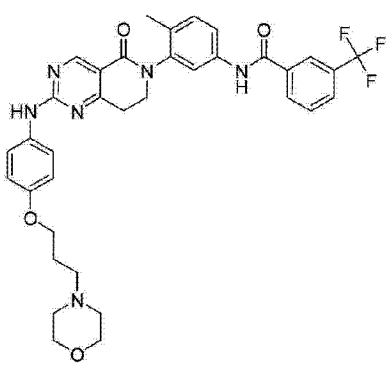
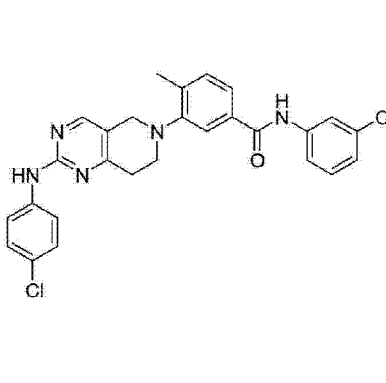
[0184]

174		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 8.3-8.18 (m, 3H), 8.0-7.88 (d, 1H), 7.8-7.7 (m, 2H), 7.6-7.4 (m, 4H), 7.1-6.9 (m, 2H), 4.18 (s, 2H), 3.5-3.4 (t, 2H), 3.2-3.14 (t, 4H), 3.05-2.95 (t, 2H), 2.7-2.6 (t, 4H), 2.38 (s, 3H). $\text{MS m/z}$ 623.2 (M+1)	N-(4-氯-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	1
175		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}D_6$ ) $\delta$ 8.75 (s, 1H), 8.34-8.24 (m, 2H), 8.0 (d, 1H), 7.83-7.56 (m, 5H), 7.32 (d, 1H), 6.92 (d, 2H), 4.45 (t, 2H), 4.05-3.92 (m, 1H), 3.8-3.7 (m, 1H), 3.53 (q, 2H), 3.12-3.04 (m, 6H), 2.5-2.4 (m, 4H), 2.2 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 646.1 (M+1)	N-[3-(2-{4-[4-(2-羟乙基)-哌嗪-1-基]-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-4-甲基-苯基]-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3
176		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.4-8.18 (m, 3H), 7.94-7.7 (m, 7H), 7.5-7.4 (m, 2H), 4.22 (s, 2H), 3.5 (t, 2H), 3.12-3.04 (t, 2H), 2.92 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 581.2 (M+1)	N-{4-氯-3-[2-(4-甲胺甲酰基-苯胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-苯基}-5-三氟甲基-苯甲酰胺	2

[0185]

177		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 10.6(s,1H),9.9(s,1H), 8.4 (s, 1H), 8.3-7.94 (m, 4H), 7.9-7.7 (m, 5H), 7.6-7.4 (m, 2H) 4.22 (s, 2H), 3.4 (t, 2H),3.0 (t, 2H), 2.8-2.7 (d, 3H) $\text{MS m/z}$ 599.1 (M+1)	N-{4-氯-3-[2-(4-甲 胺乙酰基-苯胺 基)-7,8-二氢-5H-吡 啶[4,3-d]嘧啶-6-基]- 苯基}-3-氟-5-三氟甲 基-苯甲酰胺	2
178		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.15 (s, 1H), 9.04 (s, 1H), 8.25-8.10 (m, 2H), 7.73 (d, 1H), 7.65-7.50 (m, 4H), 7.42-7.33 (m, 2H), 7.0 (dd, 3H), 4.00-3.87 (m, 1H), 3.80-3.67 (m, 1H), 3.2-3.0 (m, 11H), 1.75 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 602.2 (M+1)	N-{4-甲基-3-[5-氧代 -2-(4-哌嗪-1-基-苯胺 基)-7,8-二氢-5H-吡 啶[4,3-d]嘧啶-6-基]- 苯基}-3-三氟甲基- 苯甲酰胺	3
179		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-D}_6$ ) $\delta$ 11.0 (s, 1H), 8.9 (s, 1H), 9.05 (d, 1H), 8.42-8.36 (m, 2H), 8.25 (d, 1H), 8.15-8.10 (m, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.90-7.82 (m, 2H), 7.80-7.72 (m, 3H), 7.48 (d, 1H), 4.17 (s, 2H), 3.04-2.96 (m, 2H), 2.76 (d, 3H), 2.5 (s, 3H) $\text{MS m/z}$ 582.0 (M+1)	4-三氟甲基-吡啶-2- 羧酸 {4-氯-3-[2-(4- 甲胺乙酰基-苯胺 基)-7,8-二氢-5H-吡 啶[4,3-d]嘧啶-6-基]- 苯基}-酰胺	2

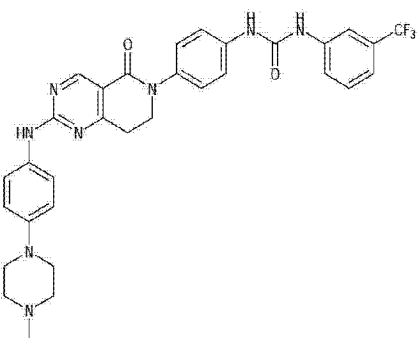
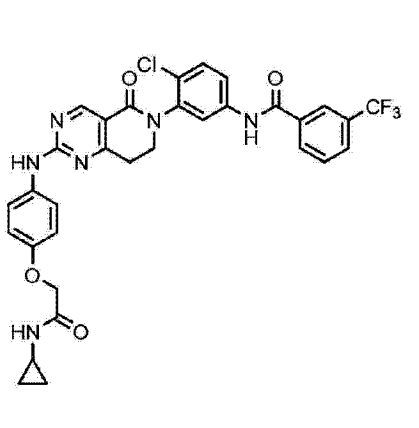
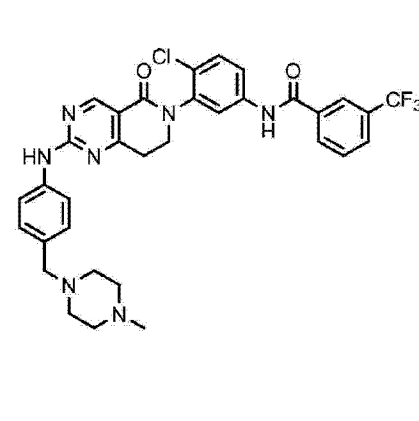
[0186]

180		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.13-9.00 (m, 2H), 8.22-8.10 (m, 2H), 7.75 (d, 1H), 7.65-7.50 (m, 4H), 7.42-7.35 (m, 2H), 7.08 (d, 1H), 6.94 (d, 2H), 4.04 (t, 3H), 3.80-3.68 (m, 1H), 3.16-3.10 (m, 2H), 2.6-2.4 (m, 10H), 2.3 (s, 3H), 2.05-1.92 (m, 2H), 1.8 (s, 3H). MS $m/z$ 674.3 (M+1)	N-[4-甲基-3-(2-{4-[3-(4-甲基-咪唑-1-基)-丙氧基]-苯胺基}-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-苯基]-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3
181		$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 8.9 (s, 1H), 8.30-8.20 (m, 2H), 8.05-7.95 (d, 2H), 7.95-7.9 (m, 1H), 7.8-7.65 (m, 4H), 7.65-7.55 (m, 1H), 7.1-7.00 (m, 2H), 4.35 (t, 2H), 4.1-3.9 (s, 2H), 3.7-3.6 (t, 2H), 3.5-3.4 (bs, 4H), 3.3-3.1 (m, 2H), 2.2-2.1 (m, 4H).	N-(4-氯-3-{5-氧代-2-[4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3
182		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.1-9.00 (m, 2H), 8.3-8.10 (m, 2H), 7.75 (d, 1H), 7.65-7.50 (m, 4H), 7.42-7.35 (m, 2H), 7.08 (d, 1H), 6.94 (d, 2H), 4.04 (t, 3H), 3.80-3.68 (m, 1H), 3.16-3.10 (m, 2H), 2.6-2.4 (m, 6H), 2.3 (s, 3H), 2.05-1.92 (m, 2H) MS $m/z$ 661.2 (M+1)	N-(4-甲基-3-{2-[4-(3-吗啉-4-基-丙氧基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3
183		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ : 8.26 (s, 1H), 8.19-8.12 (m, 1H), 7.98-7.92 (m, 1H), 7.79-7.74 (m, 1H), 7.72-7.61 (m, 3H), 7.55 (t, 1H), 7.45-7.36 (m, 2H), 7.34-7.25 (m, 2H), 4.11 (s, 2H), 3.4-3.32 (m, 2H), 3.05 (t, 2H), 2.42 (s, 3H) MS: Calculated: $m/z$ 538.1 (M+1) <sup>+</sup> ,	3-[2-(4-氯-苯胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-4-甲基-N-(3-三氟甲基-苯基)-苯甲酰胺	5

[0187]



[0188]

184		$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) $\delta$ 10.0 (s, 1H), 9.1 (s, 1H), 8.8 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.7-7.45 (m, 6H), 7.35-7.25 (m, 3H), 6.95-6.85 (d, 2H), 4-3.9 (t, 2H), 3.22-3.0 (m, 6H), 2.6-2.5 (m, 4H), 2.25 (s, 3H), MS :m/z 617.2.0 (M+1),	1-(4-{2-[4-(4-甲基-咪嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-(3-三氟甲基-苯基)-尿素	8
185		$^1\text{HNMR}$ : [ $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz] 9.6-9.4 (s, 1H), 9.2-9.0 (s, 1H), 8.3-8.04 (m, 2H), 7.96-7.84 (bs, 1H), 7.84-7.7 (d, 1H), 7.7-7.5 (m, 3H), 7.5-7.38 (m, 2H), 7.28-7.2 (d, 1H), 7.04-6.88 (d, 2H), 6.74-6.6 (bs, 1H) 4.5 (s, 2H), 4-3.75 (m, 2H), 3.35-3 (m, 2H), 2.9-2.7 (m, 1H), 0.95-0.8 (m, 2H), 0.7-0.55 (m, 2H). Mass: 651.00 = [M+1] $^+$	N-{4-氯-3-[2-(4-(环丙胺甲酰甲氧基)苯胺基)-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-苯基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3
186		$^1\text{HNMR}$ : [DMSO- $d_6$ , 400 MHz] $\delta$ 10.7 (s, 1H), 10.2 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.38-8.24 (m, 2H), 8.04-7.92 (m, 2H), 7.88-7.78 (m, 2H), 7.78-7.7 (m, 2H), 7.68-7.58 (d, 1H), 7.3-7.2 (d, 2H), 4.05-3.8 (m, 2H), 3.4 (s, 2H), 3.25-3.05 (m, 2H), 2.45-2.1 (m, 11H), Mass: 650.00 = [M+1] $^+$	N-(4-氯-3-{2-[4-(4-甲基-咪嗪-1-基)苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺	3

[0189] 依据本发明, 药学上可接受的盐是产生自酸性无机或有机化合物, 或碱性无机或有机化合物。此处所用的“药学上可接受的盐类”是指可维持特定化合物的游离酸和碱的生物药效的盐类, 且其并非是生物学上的, 不然则不适用。

[0190] 适用的盐类可藉由本领域熟知的任何适当方法加以制备, 方法包括用以下酸来处理游离碱: 无机酸 (例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等等); 或者是有机酸, 例如甲酸、醋酸、顺丁烯二酸、丁二酸、苯乙醇酸、反丁烯二酸、丙二酸、丙酮酸、二乙酸、乙醇酸、水杨酸; 吡喃糖苷酸 (pyranosidyl acid), 例如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸;  $\alpha$ -羟酸, 例如柠檬酸或酒石酸; 氨基酸, 例如天门冬氨酸或麸氨酸; 芳香族酸, 例如苯甲酸或桂皮酸; 磺酸, 例如甲磺酸、对甲苯磺酸、或乙磺酸等等。

[0191] 一般来说, 盐类是在一适当的溶剂或不同的溶剂组合中由将游离碱与化学计量相当或过量的无机或有机酸反应成盐来加以制备。例如, 可将游离碱溶解在适当酸的混合水

溶液中,并且用标准技术(例如,由蒸发溶液)来收取盐类。或者,可将游离碱加入有机溶剂(例如低级烷醇、含2-10个碳原子的对称或非对称醚、烷基酯、或其混合物等等),然后用适当酸处理以形成对应的盐类。可藉由标准收取技术(例如,藉由从混合物中过滤出所要的盐类)来收取盐类,或可藉由加入溶剂(于其中盐类为不可溶)来沉淀出盐类而由此收取。

[0192] 用以执行各种反应的适当的无机或有机溶剂的例子包含不会对反应物或产物造成负面影响的任何无机或有机溶剂,包含卤化溶剂(例如二氯甲烷、三氯甲烷)、醚类溶剂(例如二乙基醚)、和其它溶剂,例如四氢呋喃、二噁烷、二甘醇二甲醚、环辛烷、苯、或甲苯、正庚烷、环己烷、脂肪族以及环脂肪族和芳香族碳氢化合物溶剂、水、酸化水溶液、有机和无机混合溶液、乙酸乙酯、乙酸丙酯,和其混合物。

[0193] 本发明亦包含由酸性前药所形成的盐类,例如磷酸盐、与碱性无机或有机化合物。盐类中所含的较佳的无机阳离子是锂、钠、钾、铷、铵、钙、镁、锌和锰。磷酸盐的产生描述于(例如)以下文献:G. R. Pettit et al. *Anti-Cancer Drug Design* 16 (2001)185-193。

[0194] 本发明的盐类亦包含由酸性前药和有机胺所形成的盐类,包含但不限于咪唑和吗啉。亦可使用碱性氨基酸盐。依据本发明,“氨基酸”是特指自然生成的 $\alpha$ -氨基酸,但亦包含其同是化合物、异构体和衍生物。对映异构体可称为异构体的一例。衍生物可为(例如)带有保护基的氨基酸。较佳的碱性氨基酸是精氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、赖氨酸或羟赖氨酸、且特别是L-精氨酸、L-赖氨酸或L-羟赖氨酸、碱性双肽或药学上可接受的碱性氨基酸衍生物。

[0195] 本发明的化合物包含至少一个手性中心,因此可存在有不同的镜像异构形。尽管化合物优选为对映纯(enantiomerically pure),本发明的范围是欲涵盖两种对映异构体本身、以及它们按任意比例的混合物,例如消旋混合物。

[0196] 本发明的对映纯的化合物亦可藉由以下方式而由其消旋混合物获得:用手性酸进行其添加盐类的再结晶(D. L. Minor et al. *J. Med. Chem.* 37 (1994)4317-4328;美国专利第4349472号)、或者可藉由使用市售的手性相(chiral phase)的制备级HPLC来分离。获得本发明化合物的单一对映异构体的其它方法为使用非对称合成(M. J. Munchhof et al. *J. Org. Chem.* 60(1995)7086-7087;R. P. Polniaszek et al. *Tetrahedron Letters* 28(1987)4511-4514),其是藉由中间体亚胺(II)或亚胺盐(III)的非对称转移氢化而达成(N. Uematsu et al. *J. Am. Chem. Soc.* 118(1996)4916-4917;G. Meuzelaar et al. *Eur. J. Org. Chem.* 1999, 2315-2321);或者由其手性非镜像异构衍生物的解旋而获得(如本领域技术人员所知悉)。

[0197] 本发明亦包含本发明化合物的前药。“前药”是指可藉由代谢方式(例如,藉由水解、还原或氧化)在生物体内转换成结构式(I)化合物的化合物。例如,含有羟基的结构式(I)化合物的酯前药可藉由在生物体内水解而转换成母分子。含有羟基结构式(I)化合物的适当酯类可为,例如,醋酸酯、柠檬酸酯、乳酸酯、酒石酸酯、丙二酸酯、草酸酯、柳酸酯、丙酸酯、琥珀酸酯、反丁烯二酸酯、顺丁烯二酸酯、亚甲基-双- $\beta$ -羟萘酸酯、龙胆酸酯(gestisates)、羟乙基磺酸酯、双-对甲苯甲酰基酒石酸酯、甲烷磺酸酯、乙烷磺酸酯、苯磺酸酯、对甲苯磺酸酯、环己基磺酸酯、以及奎尼酸酯。作为其它例子,含有羧基的结构式(I)化合物的酯前药可藉由在生物体内水解而转换成母分子。(酯前药的例子为以下文献所述:

F. J. Leinweber, Drug Metab. Res., 18:379, 1987.)

[0198] 本发明亦包含化学修饰的母化合物以延长其循环的生命周期。具有此特性的聚乙二醇衍生物的适当例子叙述于(例如)美国专利申请案第 2005171328 号 (NEKTAR THERAPEUTICS AL CORP)、或美国专利第 6, 713, 454 号 (NOBEX CORP)。

[0199] 本发明亦提供一种药物组合物, 包含本发明的化合物以及至少一种药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂。

[0200] 将本发明的药物组合物做成制剂以符合其所需的服用路径, 其较佳为口服。例如, 本发明药物组合物可做成吸入服用的制剂, 例如喷雾或干粉末; 口服制剂, 例如锭、胶囊、凝胶、糖浆、悬浮液、溶液、粉末、或颗粒等形式; 直肠或阴道服用制剂, 例如塞药; 或是肠胃外注射制剂(包含静脉内、皮下、肌内、血管内、或渗入), 例如无菌溶液、悬浮液或乳化液。

[0201] 本发明化合物和其药学上可接受的盐, 如果许可, 可以药物组合物的形式来服用, 其中它们与药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂结合, 以便治疗任何 STAT3 诱发的失调症。关于适当的赋形剂、载体或稀释剂, 可参照描述它们的一般文献, 例如「Comprehensive Medicinal Chemistry」Vol.5 的 25.2 章、以及「Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete」, 其由 H. P. Fiedler, Editio Cantor 所著, 2002(德文)。

[0202] 在胶体药物输送系统(例如微脂体、蛋白微球体、微乳液、奈米微粒和奈米胶囊)或在巨乳液中, 本发明的化合物亦可被封装在(例如)由凝聚技术或由界面聚合作用所制备的微胶囊中, 例如分别为羟甲基纤维素或明胶微胶囊, 以及聚甲基丙烯酸甲酯微胶囊。此等技术被描述于以下文献: Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)。

[0203] 可制备缓释剂型。缓释剂型制备的适当例子包括含有本发明化合物的固体疏水性聚合物的半透性基质, 此基质是经塑形的物体形式(例如薄膜或微胶囊)。缓释基质的例子包含聚酯、水凝胶(例如聚 2-羟乙基-甲基丙烯酸酯)、或聚乙烯醇)、聚乳酸(美国专利第 3, 773, 919 号)、L- 赖氨酸和「 $\gamma$ 」乙基-L- 赖氨酸共聚物、不可分解的烯乙烯-醋酸乙烯酯、可分解的乳酸-羟乙酸共聚物, 例如 LUPRON DEPOT(TM)(由乳酸-羟乙酸共聚物和醋酸亮丙瑞林构成的可注射微球体)、以及聚-D-(-)-3-羟丁酸。

[0204] 本发明的药物组合物优选为包括从 0.001-50% 重量百分比的本发明化合物。

[0205] 本发明化合物的每日剂量将取决于所治疗的对象、服用的特定路径、欲治疗的疾病种类和严重度所需而不同。因此, 最佳剂量是由治疗任何特定病患的医生所决定。

[0206] 药物组成物可与服用指示一起被包装在容器、盒子中、或配药器中。

[0207] 本发明化合物具有以下任一种意料不到的优点:

[0208] - 在抑制 c-Src 和 JAK2 之后对有效 STAT3 封锁的抑制;

[0209] - 藉由优选为具有  $IC_{50} \leq 500nM$ 、更优选是  $\leq 400nM$ 、且甚至最优选是  $\leq 300nM$  的细胞内西方点渍法来抑制 STAT3 磷酸化;

[0210] - 在使用 A431 和 A549 (STAT3 阳性细胞株) 的已建立的异体移植模型中, 在有明显剂量反应的低于 MTD 的剂量(接近 MTD 的最高剂量)下抑制已建立的肿瘤的生长 (>60%), 以及抑制肿瘤中的 STAT3 磷酸化。

[0211] 本发明化合物代表呈现有这三个条件之间惊人的良好妥协的化合物。本发明的优选化合物是至少达到一个条件的化合物, 更优选为至少达到两个, 而理想上是达到以上所

列的三个条件。

[0212] 本发明化合物的另一优点是它们的低选择性与对 JAK3 和 / 或 TYK2 的抑制。对 JAK3 和 / 或 TYK2 的抑制优选为小于对 c-SRC、JAK2 和 / 或 JAK1 的抑制的 200 倍。

[0213] Src 族 (“SFKs”) 激酶具有可导致多样化生物效应 (包括增殖、能动性、入侵、存活和血管生成等的改变) 的多个底物。SFKs 在癌症初始和 / 或进展中的角色已经在结肠癌、胰腺癌、乳癌、非小细胞型肺癌 (NSCLC)、头和颈鳞状细胞癌 (HNSCC)、前列腺癌、其它固体肿瘤、数种血液恶性病、肝癌、某些 B 细胞白血病和淋巴瘤中被验证。参照以下文献:Talamonti et al., J. Clin. Invest., 91, 53(1993); Lutz et al., Biochem. Biophys. Res. 243, 503(1998); Rosen et al., J. Biol. Chem., 261, 13754(1986); Bolen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 2251(1987); Masaki et al., Hepatology, 27, 1257(1998); Biscardi et al., Adv. Cancer Res., 76, 61(1999); 以及 Lynch et al., Leukemia, 7, 1416(1993)。本文所述的方法和组合物可用于任何一种或多种癌症或癌失调症。

[0214] “酪氨酸激酶”是用以将磷酸根从 ATP 转移到蛋白质中酪氨酸残基上的酶。酪氨酸激酶是蛋白质激酶中较大类型的子类型。基本上,蛋白质激酶是藉由将磷酸根化学性添加到羟基或酚基官能团上来修饰蛋白质的酶。通常此等修饰藉由改变酶结构、活性、细胞位置、或与其他蛋白质的关联而造成对目标蛋白质或底物的功能改变。化学上,激酶将磷酸根从 ATP 移除,然后共价键结到具有自由羟基的三个氨基酸(丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸)的其中一者。许多激酶作用在丝氨酸和苏氨酸两者上,而某些其它的则作用在酪氨酸上。亦有一些激酶是作用在这三种氨基酸之上。

[0215] 酪氨酸激酶分为两种:胞质蛋白质和跨膜受体激酶。在人类体内,有 32 种胞质蛋白质酪氨酸激酶与 48 种受体连接的蛋白质-酪氨酸激酶。

[0216] 一般来说,酪氨酸激酶在细胞间的讯息传递中扮演关键角色。基本上,藉由细胞外配体活化细胞表面受体(例如表皮生长因子(EGF)受体)会造成酪氨酸激酶活化。然后,酪氨酸激酶产生磷酸酪氨酸残基于细胞中。磷酸酪氨酸残基作为“灯塔”并且经由 SH2 区域来吸引讯息传递蛋白质到达受体。因此,酪氨酸激酶的讯息传递机制的重要态样之一是藉由 SH2 区域(此处亦称为 Src 同源区域 2 或 Src 同源 -2)来辨认磷酸酪氨酸。

[0217] 一般来说,激酶是熟知的用以调节大部份细胞路径(特别是涉及讯息传递或细胞内讯息传送路径)的酶。由于蛋白质激酶对细胞具有很深的影响,激酶活性被高度的调节。激酶可藉由磷酸化(有时藉由激酶自身顺式磷酸化/自磷酸化)和藉由与活化剂蛋白质、抑制剂蛋白质或小分子结合而启动或停止。

[0218] 失去调控的激酶活性是疾病的惯常起因,特别是癌症,其中激酶会调节很多方面以控制细胞生长、运动和死亡的。例如,关于多种基因缺陷(例如致癌基因内的基因易位、突变等等)的致肿瘤性转化已被推论涉及白血病的产生。许多这些基因缺陷已被辨识为负责增殖和分化的讯息传递路径的主要份子。Src 族激酶“SFKs”亦被称为劳斯肉瘤病毒的转化(致肉瘤)基因。SFKs 是具有酪氨酸特异性蛋白质激酶活性的胞质蛋白质,其与细胞膜的胞质面相联结。参照以下文献:Silverman L., Sigal C. T., Resh M. D., Binding of pp[delta]Ov-src to Membranes:Evidence for Multiple Membrane Interactions, Biochem Cell Biol 1992 70(10-11):1187-92。人类基因组中有九种 Src 激酶:v-Src、c-Src、Fyn、Yes、

Fgr、Lyn、Hck、Lck、以及 Bik。这些蛋白质全都彼此紧密相关,且共享相同的调节机制。参照以下文献:Brickell, P. M., The p60c-src Family of Protein-Tyrosine Kinases: Structure, Regulation, and Function, Crit Rev Oncog. 1992;3(4):401-46。具体来说,Src 激酶为具有六个不同功能区域的 52-62 kD 的蛋白质:SH4(src 同源 4)、特异区域、SH3、SH2、SH1 以及 C-端调节区。参照以下文献:Brown, M. T., Cooper, J. A., Regulations, Substrates, and Functions of Src, Biochim. Biophys. Acta. 1996, 1287(2-3):121-49。

[0219] “Src 激酶”(在此亦称为:“Src 族激酶”、“Src 蛋白质”和“SFKs”)通常藉由磷酸酪氨酸结合模块(SH2)与其 C-端磷酸酪氨酸(Tyr 527)之间的自行抑制作用而保持关闭状态,SH2 是位于催化激酶区域之前的蛋白质内。

[0220] 在各种 STAT 路径中,STAT3 已被确认为细胞增殖的调节者。SFKs 的抑制不会持久地抑制 STAT3。尽管 SFK 抑制剂可初期的抑制 STAT3,在短时间内,STAT3 会随后重新活化且被表达。参照以下文献:Johnson, F. M., Saigal, B, Talpaz, M. and Donate, N. J., Dasatin[iota]b(BMS-354825) Tyrosine Kinase Inhibitor Suppresses Invasion and Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma and Non-Small Cell Lung Cancer Cells, Clin. Cancer Res. 11:6924-6932, 2005。

[0221] STAT(讯息转换器和转录活化剂)蛋白质是被特别活化来在细胞遇见细胞因子和生长因子时以调节基因转录的转录因子。STAT 蛋白质在细胞质中作用为讯息转换器,在细胞核中作用为转录活化剂。参照以下文献:Kisseleva T., Bhattacharya S., Braunstein J., Schindler C. W., JAK/STAT Through the JAK/STAT Pathway, Recent Advances and Future Challenges, Gene 285:1-24 (2002)。STAT 蛋白质调节细胞生长、存活和分化的许多层面。文献:Quadros, M. R., Peruzzi, F., Kari, C, and Rodeck, U., Complex Regulation of Signal Transducers and Activators of Transcription 3 Activation in Normal and Malignant Keratinocytes, Cancer Res, 64:3934-3939, 2004。七种哺乳类 STAT 家族成员分别为:STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b 以及 STAT6。

[0222] STAT3 可由生长因子受体、细胞因子受体、以及非受体酪氨酸激酶(Src 或 JAK 族激酶)来活化。如文献报导,由 EGFR、EPO-R、和 IL-6R 经由 c-Src 或 JAK2 来调节 STAT3 活化。

[0223] JAK-STAT 路径在多种层次上被负调节。蛋白质酪氨酸磷酸酶将磷酸从细胞因子受体以及活化的 STATs 上移除。文献:Hebenstreit D. et al. (2005) Drug News Perspect. Vol. 18(4), pages 243-249。近来,藉由结合或抑制 JAKs 或是与 STATs 竞争细胞因子受体上的磷酸酪氨酸结合位置,已发现的细胞因子讯息传递(SOCS)的抑制剂可抑制 STAT 磷酸化。文献:Krebs, L. et al. (2001) Stem Cells Vol. 19, pages 378-387。STATs 亦由活化的 STATs 的蛋白质抑制剂(PIAS)来负调节,PIAS 透过数种机制作用在细胞核。文献:Shuai, K. (2006) Vol. 16(2), pages 196-202。例如,PIAS1 和 PIAS3 分别藉由 STAT1 和 STAT3 来抑制转录活化,其是藉由结合或阻碍进入其所辨识的 DNA 序列来达成。

[0224] JAK-STAT 讯息传递路径参与了对细胞因子和生长因子的细胞反应的调节。利用 Janus 激酶(JAKs)以及讯息转换器与转录活化剂(STATs),此路径将这些细胞外多肽所携带的讯息转换到细胞核中,在此活化的 STAT 蛋白质会修改基因表达。尽管 STATs 起初被发现是 Janus 激酶的目标,其现在被报导为某些刺激可独立于 JAKs 而活化它们。文献:

D W Leaman, S Pisharody, T W Flickinger, M A Commane, J Schlessinger, I M Kerr, D ELevy, and G R Stark Roles of JAKs in Activation of STATs and Stimulation of c-fos Gene Expression by Epidermal Growth Factor, *Mol Cell Biol.* 1996 16(1):369-375。此路径在主要细胞命运决定中扮演核心角色, 调节细胞增殖、分化和凋亡的进程。

[0225] 不受限于理论, 本发明化合物被发现可藉由抑制上游活化剂 c-SRC 和 JAK2 (其涉及藉由 STAT3 的残基酪氨酸 705 的磷酸化来活化 STAT3) 来阻碍 STAT3 讯息传递路径。本发明化合物亦被发现可做为有效的 JAK1 抑制剂。

[0226] 因此本发明提供可同时抑制 c-SRC、JAK2 和 JAK1 的化合物。本发明化合物是 c-SRC、JAK2 和 JAK1 的多目标抑制剂, 且更佳是 c-SRC 和 JAK2 的双重抑制剂。

[0227] STAT3 路径被认为在选择性地诱发和持续诱发癌症性发炎微环境中具有关键地位, 在恶性转移初期和癌症发展期间都是。持续活化 STAT3 会调节促进肿瘤发炎反应的传播并且增加肿瘤细胞增殖、存活和入侵, 同时抑制抗肿瘤免疫反应 (Hua Yu et al.; *Nature Reviews, Cancer*, Volume 9, Nov. 2009, p. 798)。

[0228] 本申请包含用于治疗的本发明化合物。本发明化合物优选为用于治疗与 STAT3 路径活化有关的疾病, 其是经由对 c-SRC、JAK2 与 JAK1 的多目标抑制, 优选为经由对 c-SRC 和 JAK2 的多目标抑制。

[0229] 本发明的另一目的是使用本发明化合物或药物组合物来制造用以治疗或预防与 STAT3 路径活化有关的疾病的药剂, 其是经由对 c-SRC、JAK2 与 JAK1 的多目标抑制, 优选为经由对 c-SRC 和 JAK2 的多目标抑制。

[0230] 本发明更提供一种与 STAT3 路径活化有关的疾病治疗方法, 其是经由对 c-SRC、JAK2 与 JAK1 的多目标抑制, 优选为经由对 c-SRC 和 JAK2 的多目标抑制, 包含对有需要的对象施加药学上有效量的本发明化合物和 / 或本发明药物组合物。

[0231] 服用路径优选为口服、皮肤渗透或肠胃外给药。

[0232] 与 STAT3 路径活化有关的疾病优选为癌症、自体免疫、骨相关和血液疾病。

[0233] 所述癌症是关于血液肿瘤或固体肿瘤。血液肿瘤是多发性骨髓瘤、白血病 (HTLV-I- 相依、红血球白血病、急性骨髓性白血病 (AML)、慢性骨髓性白血病 (CML)、大粒状淋巴球白血病 (LGL))、脊髓增生性肿瘤和淋巴瘤 (EBV- 相关 / 巴氏淋巴瘤、蕈样真菌病、皮肤 T 细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤 (NHL)、未分化大细胞淋巴瘤 (ALCL))。固体肿瘤是乳癌、头和颈癌、黑色素瘤、卵巢癌、肺癌、胰腺癌、结肠癌、子宫癌、胃癌、肾癌、膀胱癌、肝癌和前列腺癌。

[0234] 或者是与 c-SRC 活化和 / 或 JAK1 和 / 或 JAK2 活化相关的疾病。

[0235] 依据本发明另一特定实施例, 当癌症为乳癌、头和颈癌、黑色素瘤、卵巢癌、肺癌、胰腺癌、结肠癌、子宫癌、胃癌、肾癌、膀胱癌、肝癌和前列腺癌时, 用于此等疾病的治疗方法的化合物优选为选自于由以下化合物构成的群组:

[0236] N-(4- 甲基 -3-{2-[4-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基) - 苯胺基] -5- 氧代 -7,8- 二氢 -5H- 吡啶 [4,3-d] 嘧啶 -6- 基} - 苯基) -3- 三氟甲基 - 苯甲酰胺;

[0237] 5-{6-[2- 甲基 -5-(3- 三氟甲基 - 苯甲酰胺基) - 苯基] -5,6,7,8- 四氢 - 吡啶 [4,3-d] 嘧啶 -2- 基胺基} - 吡啶 -2- 羧酸环丙基酰胺;

[0238] 4-三氟甲基-吡啶-2-羧酸{4-氯-3-[2-(4-甲胺甲酰基-苯胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-苯基}-酰胺;

[0239] 或其药学上可接受的盐类。

[0240] 依据本发明一特定实施例,当癌症为多发性骨髓瘤、白血病、脊髓增生性肿瘤和淋巴瘤时,用于此等疾病的治疗方法的化合物优选为选自于由以下化合物构成的群组:

[0241] N-(4-氯-3-{2-[3-甲基-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺;

[0242] N-{4-氯-3-[2-(4-环丙胺甲酰甲氧基-苯胺基)-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-苯基}-3-三氟甲基-苯甲酰胺;

[0243] 或其药学上可接受的盐类。

[0244] 上述化合物具有非常低的分布体积(Vd ml/kg),因此更适合于治疗血液肿瘤,因为所述化合物不会渗透或只会稍微渗透到器官和组织中。

[0245] “治疗”是指有疗效的处理和预防或防治措施。需要治疗的对象包含已经患有失调症者以及欲预防失调症对象。因此,此处欲治疗的对象可已经被诊断有此失调症,或可能易于感染或易染上此失调症。

[0246] 本文所用的“对象”或“病患”是本领域中众所周知,且此处可互换为意指哺乳类,包含狗、猫、大鼠、小鼠、猴、牛、马、山羊、绵羊、猪、骆驼、以及优选为人类。在一些实施例中,此对象是需要治疗的对象或患有疾病或失调症的对象。然而,在其它实施例中,此对象可为正常对象或已经经过标准癌症治疗的对象,例如标准化疗、标准放射疗法、标靶疗法或手术。此对象未表示特定年龄或性别。因此,成人或婴儿对象,不论男女,都包含在其中。

[0247] “治疗有效量”是指能有效治疗一对象的疾病或失调症的药量。在癌症的例子中,治疗有效量的药可减少癌细胞数量;减小肿瘤大小;抑制(即减缓一些程度和优选为停止)癌细胞渗透到周边器官;抑制(即减缓一些程度和优选为停止)肿瘤转移;抑制一些程度的肿瘤生长;抑制一些程度的肿瘤血管生成;在上皮来源肿瘤(恶性肿瘤)的情况下,抑制一些程度的上皮到间叶的转移;抑制一些程度的癌干细胞生长;增加一些程度的对抗肿瘤的免疫反应;和/或减缓一些程度的癌症相关的一种以上的症状。到达可防止存在的癌细胞生长和/或杀死它们的程度的药量可能会有细胞生长抑制性和/或细胞毒性。此处所用的“治疗有效量”是指足以防止、或优选为减少至少约30%(优选为至少50%、优选为至少70%、优选为至少80%、优选为至少90%)的目标细胞团、癌细胞或肿瘤群的生长或发展或有丝分裂活动中的临床上显著变化、或者是其它病理学特征的药量。

[0248] 选择性地,本发明化合物可连同以下常规疗法以对抗细胞增殖疾病:例如,放射和/或一种以上的化疗药剂,例如,放线菌素、六甲蜜胺、博来霉素、白消安、卡培他滨、卡铂、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、顺铂、克拉屈滨、克立他酶(Crisantaspase)、塞克罗迈得(Cyclophosphamid)、阿糖胞苷、达卡巴嗪、柔红霉素、阿霉素、阿表比星、依托泊苷、氟达拉滨、氟尿嘧啶、吉西他滨、伊达比星、异环磷酰胺、伊立替康、洛莫司汀、美法仑、巯嘌呤、甲氨蝶呤、丝裂霉素、米托蒽醌,奥沙利铂、喷司他汀(Pentostatin)、丙卡巴肼、链氮霉素、紫杉醇、替莫唑胺、塞替派、硫鸟嘌呤、拓扑替康、曲奥舒凡(Treosulfan)、长春碱、长春新碱、长春地辛或长春瑞滨。

[0249] 选择性地,本发明化合物可连同其它标靶治疗(包含其它激酶抑制剂)以对抗细

胞增殖疾病。

[0250] 熟悉本领域技术的人应当了解本发明此处所述可容许有除了这些特定描述的变化和修正。应当了解,本发明在未偏离其精神或主要特征的情况下,包含所有此等变化和修正。本发明亦包含在此说明书中所涉及或指出的所有步骤、特征、组合物和化合物,不论其为单独或共同,且为其任意和所有组合,或所述步骤或特征的任两者以上。因此,本发明的揭露应视为说明性而非限制性,本发明的范围是由随附的权利要求范围所界定,且涵盖于均等意义和范围的所有变化亦应包含于其中。

[0251] 本文所提及的所有公开物、专利申请案、专利和其它参考文献,其全文是以参考文献的方式合并于此。本文所述的公开物和申请案是仅提供做为本案申请日前揭露的文献。其不应被解释为承认由于先前的发明而使本发明不够资格早于此等公开物。此外,材料、方法、和实施例是仅为例示性而不应被视为限制性。

[0252] 以上说明当参照以下实施例而可更加全面地了解。然而,此等实施例是实施本发明的方法例,且不应用以限制本发明的范围。

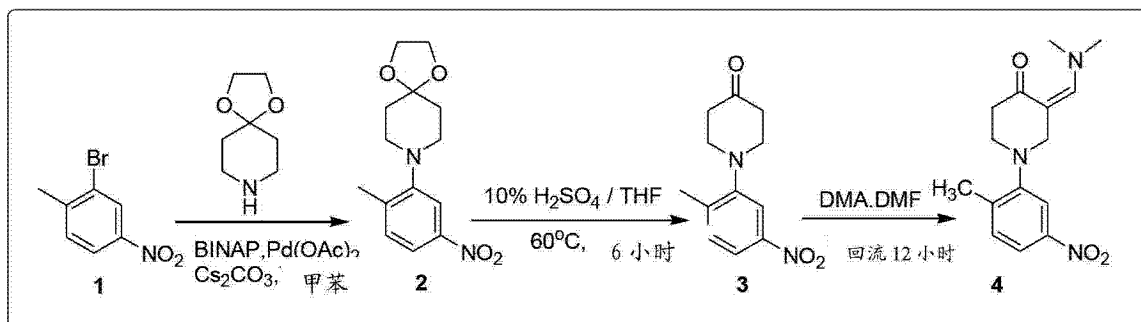
[0253] 实施例

[0254] 本发明是由以下实施例进一步例示,而非限定,其说明依据本发明的化合物的制备。

[0255] 以下化合物是做为通用合成路径的共同组成单元:

[0256] (一) 3-二甲胺亚甲基-1-(2-甲基-5-硝基-苯基)哌啶-4-酮 [4]

[0257]



[0258] 剧烈搅拌 2, 2'-双(联苯膦基)1, 1'-联萘 [BINAP] (54.35mg, 0.085mmol) 和醋酸钯 (II) [Pd(OAc)<sub>2</sub>] (6.95mg, 0.028mmol) 在干甲苯 (3ml) 中的混合物, 且透过悬浮液打氮气泡 30 分钟。将 1, 4-二氧杂-8-氮杂-螺环 [4, 5] 癸烷 (100mg, 0.699mmol)、2-溴-1-甲基-4-硝基-苯 (2-Bromo-1-methyl-4-nitro-benzene) (181.29mg, 0.839mmol)、和干碳酸铯 (683.5mg, 2.097mmol) 加入此混合物中。另外打入氮气泡 30 分钟; 将此混合物回流过夜。将混合物冷却, 以乙酸乙酯稀释, 加入水然后形成分层。用乙酸乙酯萃取水层, 然后混合两个有机萃取层。用浓盐水清洗有机层, 然后干燥 (硫酸钠)、过滤与浓缩。接着用硅胶层析法以 5-10% 乙酸乙酯 / 己烷做为洗提液来进行提纯而得到 8-(2-甲基-5-硝基-苯基)-1, 4-二氧杂-8-氮杂-螺环 [4, 5] 癸烷 [2] 黄色固体 (产率: 193mg, 82.7%)。

[0259] 将 1ml 的 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(aq) 加入甲基-5-硝基-苯基-1, 4-二氧杂-8-氮杂-螺环 [4, 5] 癸烷

[0260] (50mg, 0.179mmol) 的 THF(四氢呋喃)(1ml) 溶液中。将反应混合物加热到 60°C, 6 小时, 然后分配在乙酸乙酯和水之间。水层进一步以乙酸乙酯萃取两次, 然后用水、浓盐



水来清洗所混合的有机层部份,接着干燥(硫酸钠)、过滤。将过滤液浓缩而得到所要的化合物,即 1-(2-甲基-5-硝基-苯基)-哌啶-4-酮 [3] 褐色粘稠液体。(产率:37.5mg, 89.2%) 所得化合物不经过进一步提纯而用于下一步骤。

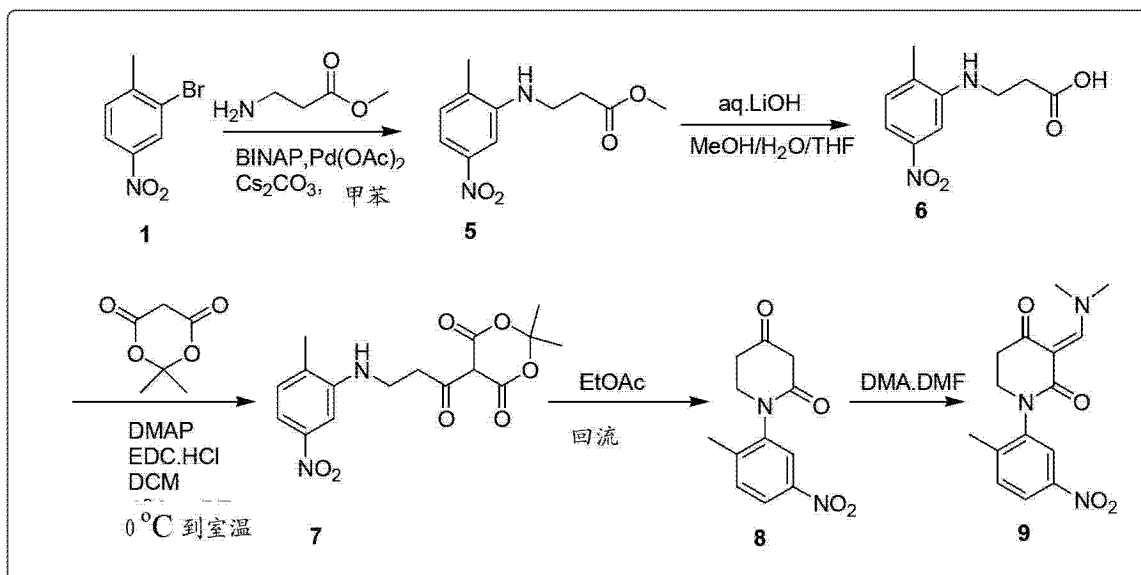
[0261] 将 1-(2-甲基-5-硝基-苯基)-哌啶-4-酮 (100mg, 0.426mmol) 在 N,N-二甲基甲酰胺二甲缩醛 (DMA、DMF) (1ml) 的溶液加热到回流 12 小时。待冷却到室温之后,将反应混合物在真空下浓缩。所得深褐色粗产物进一步用硅胶层析法以 30-60% 乙酸乙酯/己烷做为洗提液来进行提纯,而得到提纯所要的产物,即 3-二甲胺亚甲基-1-(2-甲基-5-硝基-苯基)-哌啶-4-酮 [4] 橘色固体 (产率:76.2mg, 62.02%)。

[0262]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.9 (m, 1H), 7.8 (d, 1H), 7.6 (s, 1H), 7.3 (s, 1H), 4.2 (s, 2H),

[0263] 3.2 (t, 2H), 3.1 (s, 6H), 2.6 (t, 2H), 2.4 (s, 3H)

[0264] (二) 3-二甲胺亚甲基-1-(2-甲基-5-硝基-苯基)-哌啶-2,4-二酮 [9]

[0265]



[0266] 剧烈搅拌 2,2'-双(联苯膦基)1,1'-联萘 [BINAP] (54.35mg, 0.085mmol) 和醋酸钯 (II)  $[\text{Pd}(\text{OAc})_2]$  (6.95mg, 0.028mmol) 在干甲苯 (3ml) 中的混合物,且透过悬浮液打氮气泡 30 分钟。将 3-氨基-丙酸甲基酯 (72.00mg, 0.699mmol)、2-溴-1-甲基-4-硝基-苯 (181.29mg, 0.839mmol)、和干碳酸铯 (683.5mg, 2.097mmol) 加入此混合物中。另外打入氮气泡 30 分钟;将此混合物回流过夜。将混合物冷却,以乙酸乙酯稀释,加入水然后形成分层。用乙酸乙酯萃取水层,然后结合两个有机萃取层。用浓盐水清洗有机层,然后干燥(硫酸钠)、过滤与浓缩。接着用硅胶层析法以 5-10% 乙酸乙酯/己烷做为洗提液来进行提纯而得到 3-(2-甲基-5-硝基-苯胺基)丙酸甲基酯 (5) 黄色固体 (产率:149.00mg, 74.7%)。

[0267] 用氢氧化锂 (15.00mg, 0.628mmol) 处理 3-(2-甲基-5-硝基-苯胺基)丙酸甲基酯 (100mg, 0.419mmol) 在 3ml 的混合溶剂 (1:0.3:0.5 THF/水/甲醇) 中的溶液。此混合物在室温下搅拌 6 小时,浓缩并用 2M HCl 酸化 (pH=2)。将所得的沉淀过滤、用水清洗并在真空下干燥。将粗产物以醚清洗,空气干燥过夜以得到所要的产物,即 3-(2-甲基-5-硝基-苯胺基)-丙酸 [6] 黄色固体。依质量回收 (91.2mg) 的基础,产率被假设为可定量。

[0268] 将 1-(3-二甲胺丙基)-3-乙基碳酰胺氯化氢 (EDC.HCl) (3.04gm, 158mmol) 加入

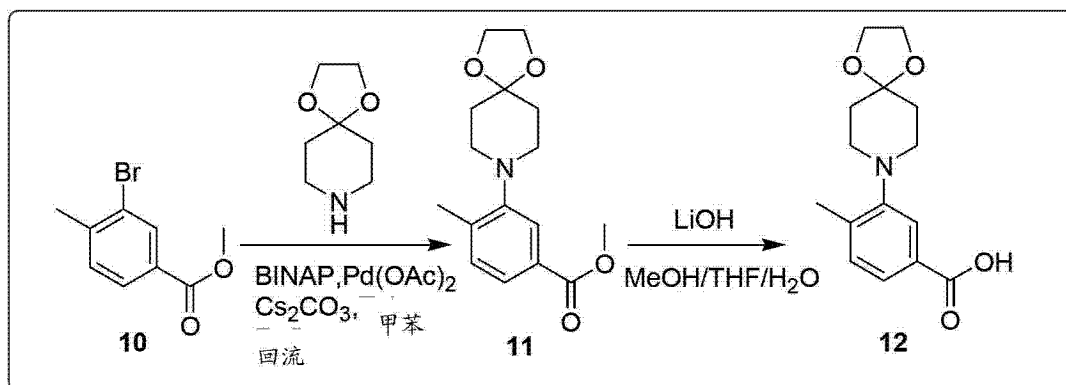
在 0° C 的 3-(2-甲基-5-硝基-苯胺基)-丙酸 (2.95gm, 13.2mmol)、2,2-二甲基-1,3-二噁-4,6-二酮 (米氏酸 (2.08gm, 14.5mmol)、和 4-二甲胺基吡啶 (DMAP) (2.42gm, 198mmol) 的无水二氯甲烷 (70ml) 溶液里,然后在室温将所得的溶液搅拌过夜。用 5% 硫酸氢钾 (aq) 清洗反应混合物 (50 ml x 4)。用无水硫酸钠干燥有机层,过滤且于真空下浓缩,因此得到粗 2,2-二甲基-5-[3-(2-甲基-5-硝基-苯胺基)丙酰基]-[1,3]二噁-4,6-二酮 (7),其溶于 60ml 的乙酸乙酯并且回流 4 小时。将反应混合物冷却到室温且于真空下浓缩。所得粗产物进一步用硅胶层析法 (洗提液:2% 甲醇三氯甲烷溶液) 来提纯,以得到所要产物,即 1-(2-甲基-5-硝基-苯基)-哌啶-2,4-二酮 [8] 黄色固体 (产率:1.91gm, 58.6%)。

[0269] 将 1-(2-甲基-5-硝基-苯基)-哌啶-2,4-二酮 (100mg, 0.402mmol) N,N-二甲基甲酰胺二甲缩醛 (DMA, DMF) (1ml) 溶液加热回流 3 小时。在冷却到室温之后,将反应混合物在真空下浓缩。所得的粗产物进一步用硅胶层析法以 30-60% 乙酸乙酯 / 己烷做为洗提液来进行提纯而得到提纯的所要产物,即 3-二甲胺亚甲基-1-(2-甲基-5-硝基-苯基)-哌啶-2,4-二酮 [9] 深红色固体 (产率:79.02mg, 65.02%)。

[0270]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  8.2-7.9 (m, 3H), 7.5-7.34 (d, 1H), 4.0-3.8 (m, 1H), 3.7-3.5 (m, 1H), 3.35 (s, 3H), 3.2 (s, 3H), 2.85-2.65 (m, 2H), 2.35 (s, 3H)

[0271] (三) 3-(1,4-二氧杂-8-氮杂-螺环 [4.5] 癸-8-基)-4-甲基-苯甲酸 [12]

[0272]



[0273] 剧烈搅拌 2,2'-双(联苯膦基)1,1'-联萘 [BINAP] (54.35mg, 0.085mmol) 和醋酸钯 (II)  $[\text{Pd}(\text{OAc})_2]$  (6.95mg, 0.028mmol) 在干甲苯 (3ml) 中的混合物,且透过悬浮液打氮气泡 30 分钟。将 1,4-二氧杂-8-氮杂-螺环 [4.5]-癸烷 (100mg, 0.699mmol)、3-溴-4-甲基-苯甲酸甲基酯 (192.1mg, 0.839mmol)、和干碳酸铯 (683.5mg, 2.097mmol) 加入此混合物中。另外打入氮气泡 30 分钟;将此混合物回流过夜。将混合物冷却,以乙酸乙酯稀释,加入水然后形成分层。用乙酸乙酯萃取水层,然后结合两个有机萃取层。用浓盐水清洗有机层,然后干燥 (硫酸钠)、过滤与浓缩。接着用硅胶层析法以 5-10% 乙酸乙酯 / 己烷做为洗提液来进行提纯而得到 3-(1,4-二氧杂-8-氮杂-螺环 [4.5] 癸-8-基)-4-甲基-苯甲酸甲基酯 [11] 黄色固体 (产率:150.5mg, 61.7%)。

[0274] 用氢氧化锂 (12.25mg, 0.514mmol) 处理 3-(1,4-二氧杂-8-氮杂-螺环 [4.5] 癸-8-基)-4-甲基-苯甲酸甲基酯 (100mg, 0.343mmol) 在 3ml 的混合溶剂 (1:0.3:0.5 THF / 水 / 甲醇) 中的溶液。将反应混合物在室温搅拌 6 小时,浓缩并用 2M HCl 来酸化 (pH=4)。将所得沉淀物过滤、以水清洗且在真空下干燥。以醚清洗粗产物,空气干燥过夜以得到所要产物,即 3-(1,4-二氧杂-8-氮杂-螺环 [4.5] 癸-8-基)-4-甲基-苯甲酸 (12)

黄色固体。依质量回收 (93.2mg) 的基础, 产率被假设为可定量。

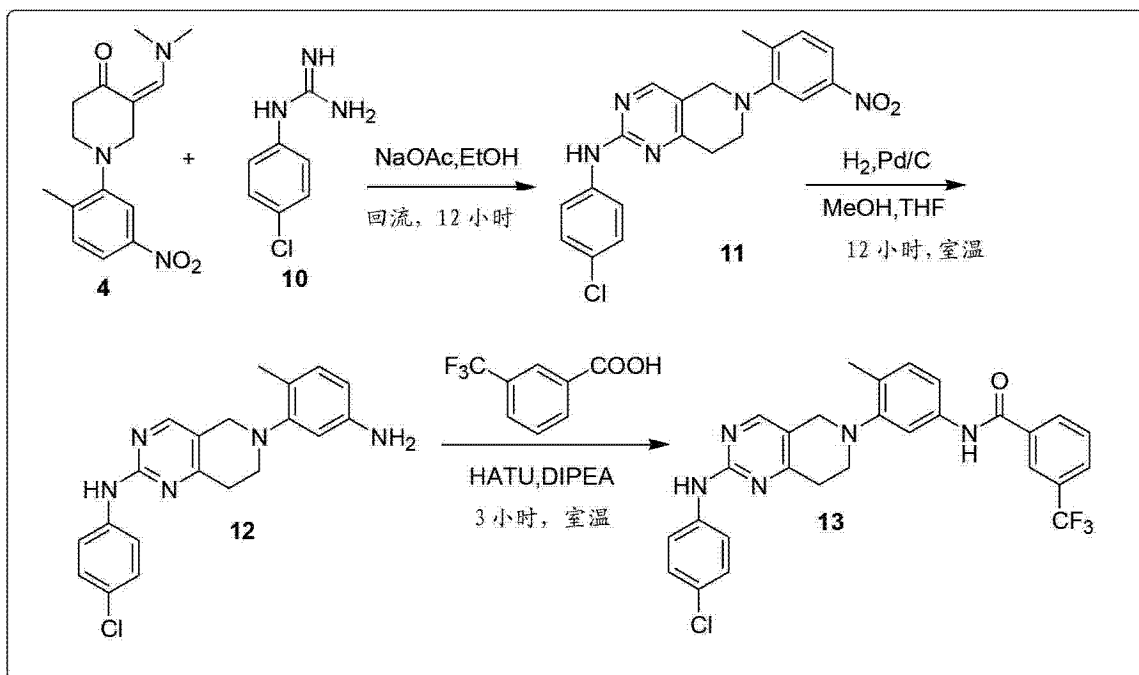
[0275]  $^1\text{H}$  NMR(300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  12.8(s, 1H), 7.58-7.50(m, 2H), 7.3-7.24(m, 1H), 3.92(s, 4H), 2.96-2.86(t, 4H), 2.3(s, 3H), 1.82-1.74(m, 2H),

[0276] 本发明中的化合物是由实施例 1-10 代表的通用合成路径所制备。在表 1 中, 每个化合物都有一个实施例号码, 对应用以制备它的特定合成路径。

[0277] 实施例 1

[0278] N-{3-[2-(4-氯-苯胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-4-甲基-苯基}-3-三氟甲基苯甲酰胺 (13)

[0279]



[0280] 将 N-(4-氯-苯基)-胍 (N-(4-Chloro-phenyl)-guanidine) (28.32gm, 167mmol) 和醋酸钠 (27.32gm, 334mmol) 加入 3-二甲胺亚甲基-1-(2-甲基-5-硝基-苯基)-哌啶-4-酮 (12.06gm, 41.7mmol) 的乙醇 (250ml) (如参考文献 1 中所制备) 溶液中, 且将溶液加热回流 12 小时。冷却到室温之后, 用水稀释反应混合物, 再用乙酸乙酯萃取。以浓盐水清洗有机层, 干燥 (硫酸钠) 且在真空下浓缩。将所得粗产物进一步用硅胶层析法以 5-10% 甲醇 / 三氯甲烷做为洗提液来提纯, 以得到提纯的所要产物 (11), 即 (4-氯-苯基)-[6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-5,6,7,8-四氢-吡啶[4,3-d]嘧啶-2-基]-胺黄色固体 (产率: 2.50gm, 15.2%)。

[0281] 将 10% Pd/C 加入 (4-氯-苯基)-[6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-5,6,7,8-四氢-吡啶[4,3-d]嘧啶-2-基]胺 (100mg, 0.25mmol) 在 THF (5ml) 和甲醇 (5ml) 混合溶剂的溶液里, 将反应混合物在氢气球下于室温搅拌 12 小时。将反应混合物过滤, 将滤液于真空下浓缩以得到 [6-(5-氨基-2-甲基-苯基)-5,6,7,8-四氢-吡啶[4,3-d]嘧啶-2-基]-(4-氯-苯基)胺 (12) 灰白色固体 (产率: 81.5mg, 88.2%)。

[0282] 将 2-(7-氮杂-1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸 (HATU) (59mg, 0.15mmol) 加入 [6-(5-氨基-2-甲基-苯基)-5,6,7,8-四氢-吡啶[4,3-d]嘧啶-2-基]-(4-氯-苯基)胺 (54.87mg, 0.15mmol)、3-三氟甲基苯甲酸 (28.51mg,

0.15mmol)、和二异丙基乙基胺 (DIPEA) (78  $\mu$  l, 0.45mmol) 的 DMF (7.5ml) 溶液中, 将反应混合物在室温搅拌 3 小时。用乙酸乙酯稀释反应混合物, 用 5% 硫酸氢钠水溶液、饱和碳酸氢钠水溶液和浓盐水来清洗。以硫酸钠干燥有机层, 并于减压下浓缩。所得粗产物用柱状层析法 (SiO<sub>2</sub>, 2-10% 甲醇于三氯甲烷中) 提纯以得到 N-{3-[2-(4-氯苯胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-4-甲基-苯基}-3-三氟甲基苯甲酰胺 (13) 淡黄色固体 (产率: 60.6mg, 75.2%)。

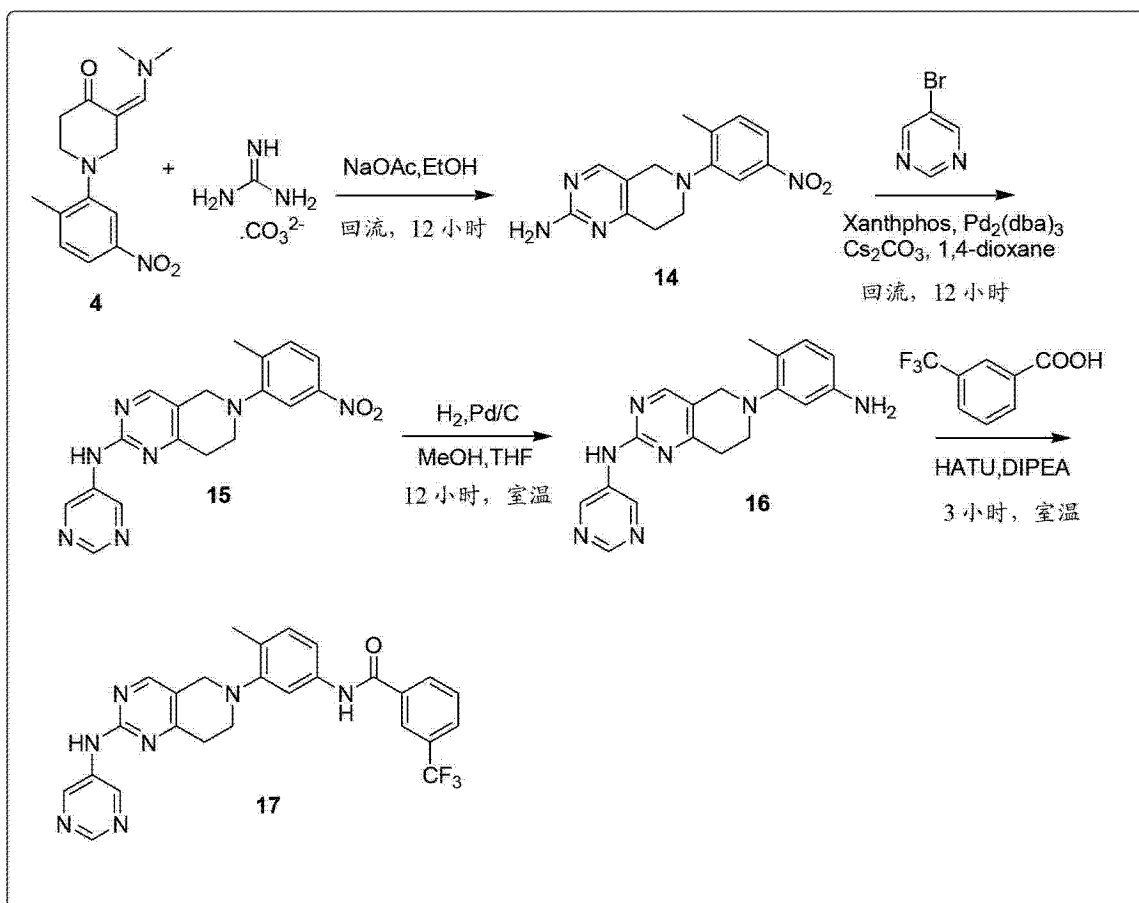
[0283] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.22(s, 1H), 8.13(s, 1H), 8.06(d, 1H), 7.84-7.78(m, 1H), 7.75-7.7(br s, 1H), 7.68-7.6(m, 3H), 7.34-7.27(m, 2H), 7.24-7.19(m, 1H), 7.15-7.08(m, 1H), 4.06(s, 2H), 3.35-3.26(m, 2H), 3.18-3.09(m, 2H), 2.3(s, 3H)

[0284] MS:m/z 538.1(M+1)<sup>+</sup>

[0285] 实施例 2

[0286] N-{4-甲基-3-[2-(嘧啶-5-基胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-苯基}-3-三氟甲基苯甲酰胺 (17)

[0287]



[0288] 将胍碳酸盐 (30.17g, 167mmol) 和醋酸钠 (27.40g, 334mmol) 加入 3-二甲胺亚甲基-1-(2-甲基-5-硝基-苯基)-哌啶-4-酮 (12.06g, 41.7mmol) (如参考文献 1 所制备) 的乙醇 (250ml) 溶液里。将反应混合物加热回流 12 小时。冷却到室温之后, 用水稀释反应混合物, 再用乙酸乙酯萃取。用浓盐水清洗有机层, 再干燥 (硫酸钠) 且蒸发。所得粗产物用硅胶层析法以 2-5% 甲醇 / 三氯甲烷做为洗提液来提纯, 以得到提纯所要产物, 即 6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶[4,3-d]嘧啶-2-基胺 (14) 黄色固体

(产率 :3.00gm, 25.2%)。

[0289] 剧烈搅拌 4,5-双(联苯-膦基)-9,9-二甲基氧杂蒽(xanthopos)(8.6mg, 0.01488mmol)和三(亚二苄基丙酮)二-钯(0)(Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>)(6.81mg, 0.00744mmol)在干 1,4-二噁烷(1,4-dioxane)(5ml)中的混合物,且透过悬浮液将氮气泡打入 30 分钟。加入 5-溴嘧啶(19.7mg, 0.1247mmol)、6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-5,6,7,8-四氢-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-2-基胺(35.57mg, 0.1247mmol)、以及干碳酸铯(100mg, 0.31mmol)。另外打入氮气泡 30 分钟;将此混合物回流过夜。将混合物冷却,以乙酸乙酯稀释,加入水然后形成分层。用乙酸乙酯萃取水层,然后结合两个有机萃取层。用浓盐水清洗有机层,然后干燥(硫酸钠)、过滤、在真空下浓缩。接着用硅胶层析法以 5-10%乙酸乙酯/己烷做为洗提液来进行提纯而得到 [6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-5,6,7,8-四氢-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-2-基]-嘧啶-5-基-胺(15)黄色固体(产率 :9.75mg, 21.7%)。

[0290] 将 10% Pd/C 加入 [6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-5,6,7,8-四氢-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-2-基]-嘧啶-5-基-胺(100mg, 0.275mmol)在 THF(3ml)和甲醇(3ml)混合溶剂的溶液里,将反应混合物在氢气球下于室温搅拌 12 小时。将反应混合物过滤,将滤液于真空下浓缩以得到 [6-(5-氨基-2-甲基-苯基)-5,6,7,8-四氢-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-2-基]-嘧啶-5-基-胺(16)(产率 :84.2mg, 92.2%)灰白色固体。

[0291] 将 HATU(59mg, 0.15mmol)加入 [6-(5-氨基-2-甲基-苯基)-5,6,7,8-四氢-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-2-基]-嘧啶-5-基-胺(50.0mg, 0.15mmol)、3-三氟甲基苯甲酸(28.5mg, 0.15mmol)、和 DIPEA(78 μ l, 0.45mmol)的 DMF 溶液里,将反应混合物在室温搅拌 3 小时。用乙酸乙酯稀释反应混合物,用 5% 硫酸氢钠水溶液、饱和碳酸氢钠水溶液和浓盐水来清洗。以硫酸钠干燥有机层,并于减压下浓缩。所得粗产物用管柱层析法(SiO<sub>2</sub>, 2-10% 甲醇于三氯甲烷中)提纯以得到 49.75mg(65.6%)的 N-{4-甲基-3-[2-(嘧啶-5-基氨基)-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-6-基]-苯基}-3-三氟甲基苯甲酰胺(17)淡黄色固体。

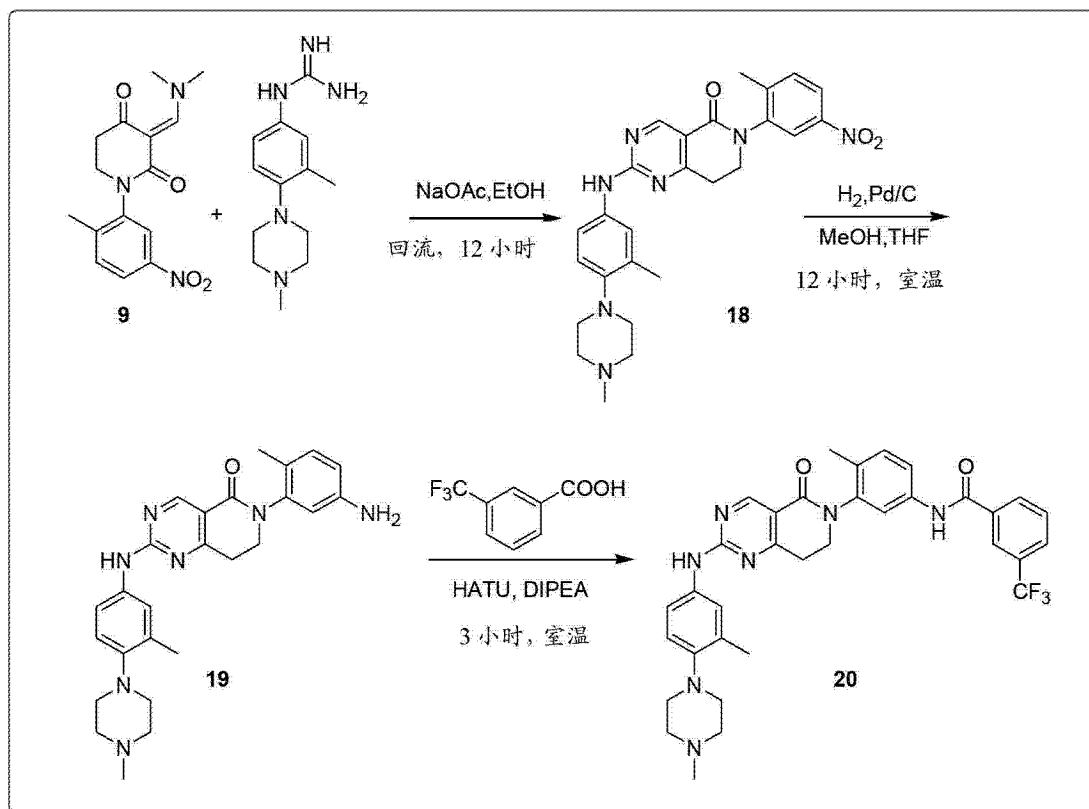
[0292] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.2-9.0(m, 2H), 8.9(s, 1H), 8.3-8(m, 2H), 7.95-7.5(m, 4H), 7.3-7.7(m, 4H), 4.1(s, 2H), 3.4-3.2(t, 2H), 3.15-2.95(t, 2H), 2.3(s, 3H)。

[0293] MS:m/z 506.4(M+1)<sup>+</sup>

[0294] 实施例 3

[0295] N-(4-甲基-3-{2-[3-甲基-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-6-基}-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺(20)

[0296]



[0297] 将N-[3-甲基-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-胍 (43.9gm, 167mmol) 和醋酸钠 (27.38gm, 334mmol) 加入3-二甲胺亚甲基-1-(2-甲基-5-硝基-苯基)-哌啶-2,4-二酮 (9) (12.6gm, 41.7mmol) (如参考文献2所制备) 的乙醇 (250ml) 溶液里, 将溶液加热回流12小时。冷却至室温后, 用水稀释反应混合物, 再用乙酸乙酯萃取。用浓盐水清洗有机层, 再用硫酸钠干燥且蒸发。所得粗产物用硅胶层析法以5-10% 甲醇 / 三氯甲烷做为洗提液来提纯, 以得到提纯的所要产物, 即2-[3-甲基-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-7,8-二氢-6H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-5-酮 (18) 固体 (产率: 3.09gm, 14.8%)。

[0298] 将10% Pd/C 加入2-[3-甲基-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-7,8-二氢-6H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-5-酮 (100mg, 0.198mmol) 在THF (5ml) 和甲醇 (5ml) 混合溶剂的溶液里, 将反应混合物在氢气球下于室温搅拌12小时。将反应混合物过滤, 将滤液于真空下浓缩以得到6-(5-氨基-2-甲基-苯基)-2-[3-甲基-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-5-酮 (19) (产率: 81.72mg, 86.9%) 灰白色固体。

[0299] 将HATU (59mg, 0.15mmol) 加入6-(5-氨基-2-甲基-苯基)-2-[3-甲基-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-5-酮 (71.0mg, 0.15mmol)、3-三氟-甲基苯甲酸 (28.5mg, 0.15mmol) 和DIPEA (78  $\mu$ l, 0.45mmol) 的DMF溶液里, 将反应混合物在室温搅拌3小时。用乙酸乙酯稀释反应混合物, 用5% 硫酸氢钠水溶液、饱和碳酸氢钠水溶液和浓盐水来清洗。以硫酸钠干燥有机层, 并于减压下浓缩。所得粗产物用柱状层析法 (SiO<sub>2</sub>, 2-10% 甲醇于三氯甲烷中) 提纯以得到71.7mg (74.2%) 的N-(3-{2-[4-(2-甲氧基-4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-6-基}-4-甲基-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺 (20) 淡黄色固体。

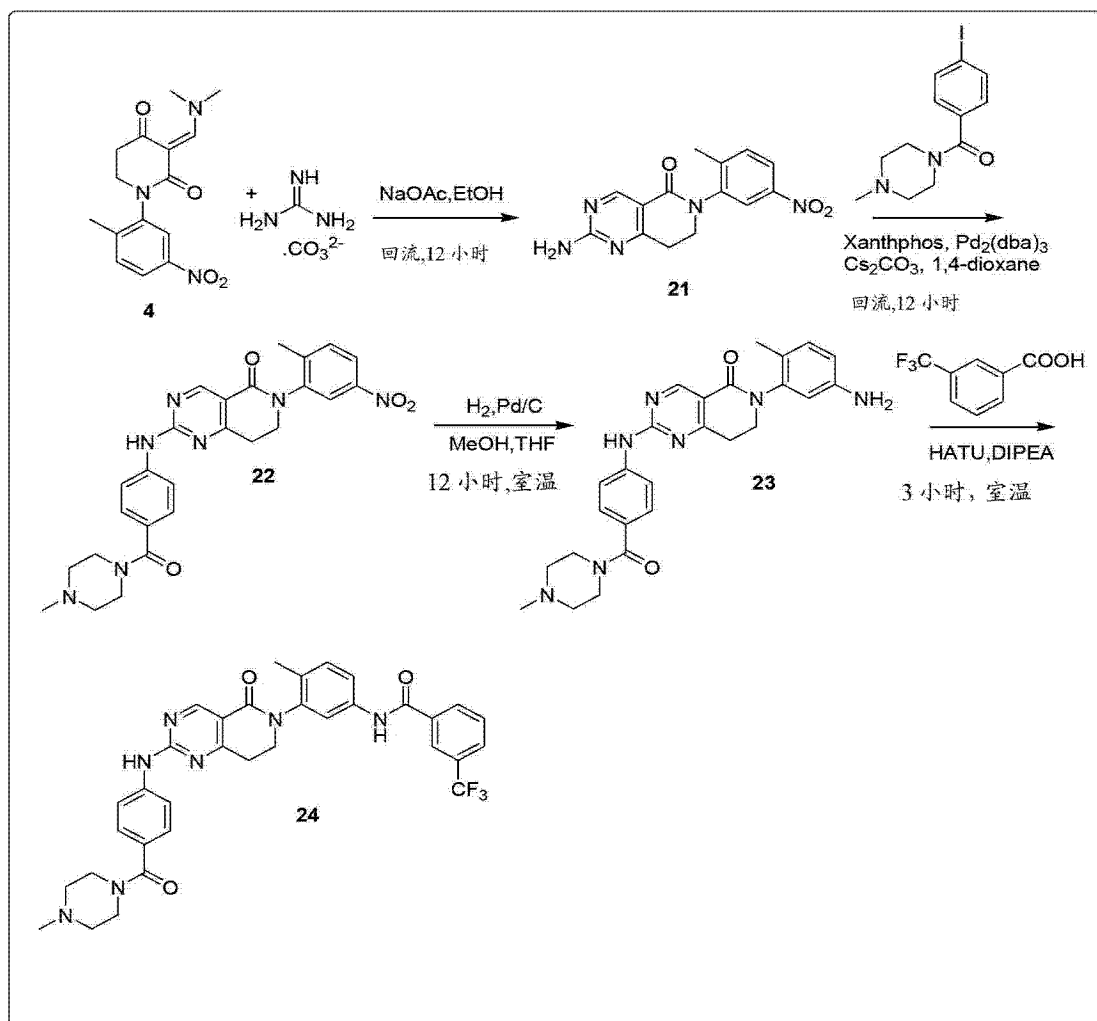
[0300]  $^1\text{H}$  NMR(300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  8.76(s, 1H), 8.25-8.04(m, 3H), 8.06(d, 1H), 7.82-7.6(m, 3H), 7.56-7.4(m, 3H), 7.2-7.35(d, 1H), 7.05-6.92(d, 1H), 4.1-3.92(m, 1H), 3.1-2.9(m, 6H), 2.6(s, 3H), 2.25(s, 3H), 2.15(s, 3H)

[0301] MS:m/z 630.5(M+1)<sup>+</sup>,

[0302] 实施例 4

[0303] N-(4-甲基-3-[2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-羰基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-苯基)-3-三氟甲基苯甲酰胺 (24)

[0304]



[0305] 将胍碳酸盐 (30.17gm, 167mmol) 和醋酸钠 (27.40gm, 334mmol) 加入 3-二甲胺亚甲基-1-(2-甲基-5-硝基-苯基)-哌嗪-2,4-二酮 (12.6gm, 41.7mmol) (如参考文献 2 所制备) 的乙醇 (250ml) 溶液里, 将溶液加热回流 12 小时。冷却到室温之后, 用水稀释反应混合物, 再用乙酸乙酯萃取。用浓盐水清洗有机层, 再干燥 (硫酸钠) 且蒸发。所得粗产物用硅胶层析法以 2-5% 甲醇 / 三氯甲烷做为洗提液来提纯, 以得到提纯的所要产物, 即 2-胺基-6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-7,8-二氢-6H-吡啶[4,3-d]嘧啶-5-酮 (21) 固体 (产率: 2.63gm, 21.2%)。

[0306] 剧烈搅拌 4,5-双(联苯-膦基)-9,9-二甲基氧杂蒽 (xantphos) (8.6mg, 0.01488mmol) 和三(亚苄基丙酮)二-钯 (0) ( $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ ) (6.81mg, 0.00744mmol) 在干 1,4-二噁烷 (5ml) 中的混合物, 且透过悬浮液将氮气泡打入 30 分钟。加入 (4-碘-苯

基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮(41.1mg,0.1247mmol)、2-氨基-6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-7,8-二氢-6H-吡啶[4,3-d]嘧啶-5-酮(37.3mg,0.1247mmol)和干碳酸铯(100mg,0.31mmol)。另外打入氮气泡30分钟;将此混合物回流过夜。将混合物冷却,以乙酸乙酯稀释,加入水然后形成分层。用乙酸乙酯萃取水层,然后结合两个有机萃取层。用浓盐水清洗有机层,然后干燥(硫酸钠)、过滤与浓缩。接着用硅胶层析法以5-10%乙酸乙酯/己烷做为洗提液来进行提纯而得到6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-羰基)苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶[4,3-d]嘧啶-5-酮(22)黄色固体(产率:12.3mg,19.7%)。

[0307] 将10% Pd/C加入6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-羰基)苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶[4,3-d]嘧啶-5-酮(100mg,0.199mmol)在THF(3ml)和甲醇(3ml)混合溶剂的溶液里,将反应混合物于氢气球下于室温搅拌12小时。将反应混合物过滤,并将滤液在真空下浓缩以得到6-(5-氨基-2-甲基-苯基)-2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-羰基)-苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶[4,3-d]嘧啶-5-酮(23)灰白色固体(产率:83.0mg,88.3%)。

[0308] 将HATU(59mg,0.15mmol)加入6-(5-氨基-2-甲基-苯基)-2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-羰基)苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶[4,3-d]嘧啶-5-酮(70.7mg,0.15mmol)、3-三氟甲基苯甲酸(28.5mg,0.15mmol)、和DIPEA(78 $\mu$ l,0.45mmol)的DMF溶液里,将反应混合物在室温搅拌3小时。用乙酸乙酯稀释反应混合物,用5%硫酸氢钠水溶液、饱和碳酸氢钠水溶液和浓盐水来清洗。以硫酸钠干燥有机层,并于减压下浓缩。所得粗产物用柱状层析法(SiO<sub>2</sub>,2-10%甲醇于三氯甲烷中)提纯以得到69.8mg(72.3%)的N-(4-甲基-3-[2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-羰基)苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-苯基)-3-三氟甲基-苯甲酰胺(24)淡黄色固体。

[0309] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  8.9(s, 1H), 8.25-8.4(m, 2H), 8.06(d, 1H), 7.82-7.9(m, 3H), 7.6-7.8(m, 3H), 7.25-7.35(dd, 3H), 4.05-4.15(m, 2H), 3.6-3.92(m, 6H), 2.5(m, 4H), 2.2-2.4(m, 6H).

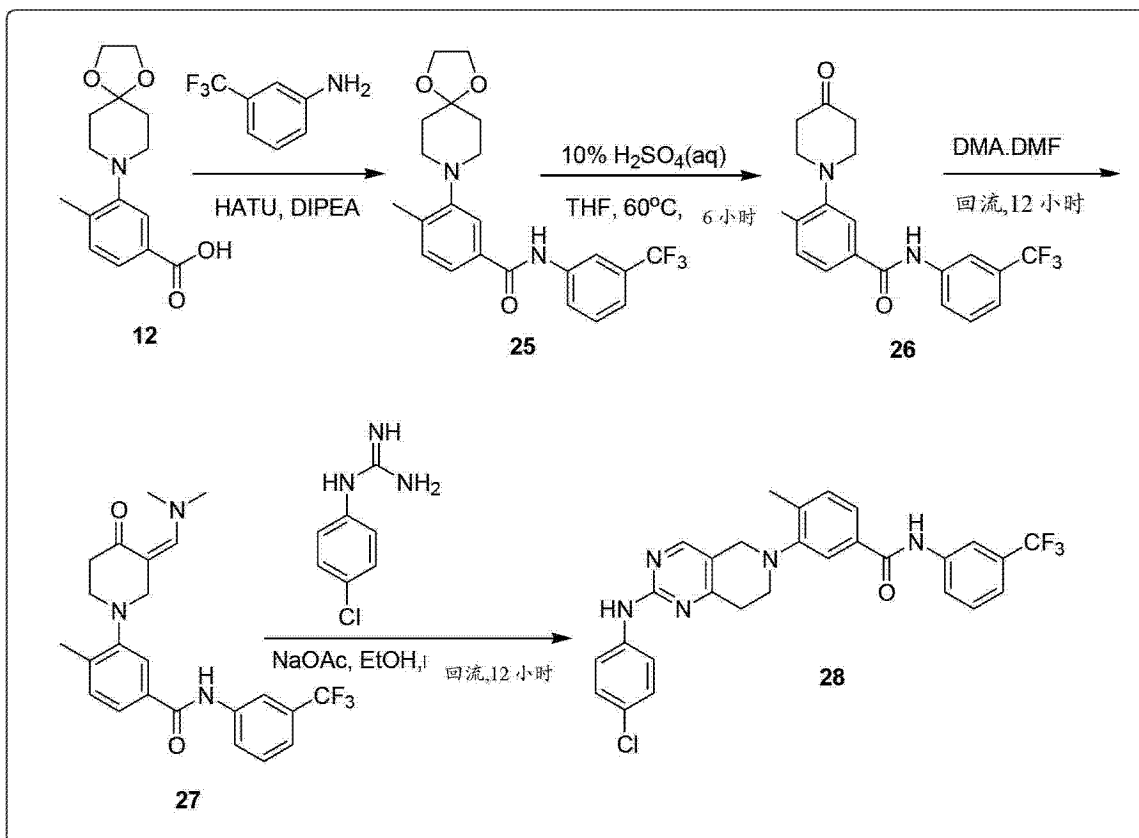
[0310] MS:m/z 644.30(M+1)<sup>+</sup>,

[0311] 实施例5

[0312] 3-[2-(4-氯-苯胺基)-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基]-4-甲基-N-(3-三氟甲基苯基)苯甲酰胺(28)

[0313]





[0314] 将 HATU(59mg, 0.15mmol) 加入 3-三氟甲基-苯基胺 (24.1mg, 0.15mmol)、3-(1,4-二氧杂-8-氮杂-螺环[4.5]癸-8-基)-4-甲基-苯甲酸 (如参考文献 3 所制备) (41.5mg, 0.15mmol)、和 DIPEA(78  $\mu$ l, 0.45mmol) 的 DMF 溶液里, 且将反应混合物于室温搅拌 3 小时。用乙酸乙酯稀释反应混合物, 用 5% 硫酸氢钠水溶液、饱和碳酸氢钠水溶液和浓盐水来清洗。以硫酸钠干燥有机层, 并于减压下浓缩。所得粗产物用管柱层析法 ( $\text{SiO}_2$ , 2-10% 甲醇于三氯甲烷中) 提纯以得到 43.1mg (68.6%) 的 3-(1,4-二氧杂-8-氮杂-螺环[4.5]癸-8-基)-4-甲基-N-(3-三氟甲基-苯基)-苯甲酰胺 (25) 淡黄色固体。

[0315] 将 3ml 的 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  水溶液加入 3-(1,4-二氧杂-8-氮杂-螺环[4.5]癸-8-基)-4-甲基-N-(3-三氟甲基-苯基)-苯甲酰胺 (100mg, 0.237mmol) 在 THF (2ml) 中的溶液里。将反应混合物于 60°C 加热 6 小时, 然后分配到乙酸乙酯和水之间。水层进一步用乙酸乙酯萃取两次, 且用水、浓盐水清洗所结合的有机层部份, 然后干燥 (硫酸钠)、过滤并浓缩以得到所要的化合物, 即 4-甲基-3-(4-氧代-哌啶-1-基)-N-(3-三氟甲基-苯基)-苯甲酰胺 (26) 褐色粘稠液体 (产率: 76.6mg, 85.6%)。所得化合物不需进一步提纯而用于下一步骤。

[0316] 将 4-甲基-3-(4-氧代-哌啶-1-基)-N-(3-三氟甲基-苯基)-苯甲酰胺 (100mg, 0.2656mmol) 于 DMA、DMF (1ml) 中的溶液加热回流 3 小时。冷却到室温之后, 将反应混合物于真空下浓缩以得到粗产物。将所得粗产物进一步用硅胶层析法以 30-60% 乙酸乙酯/己烷做为洗提液来提纯, 以得到提纯的所要产物, 即 3-(3-二甲胺亚甲基-4-氧代-哌啶-1-基)-4-甲基-N-(3-三氟甲基-苯基)-苯甲酰胺 (27) 褐色固体 (产率: 13.7mg, 12.02%)。

[0317] 将 N-(4-氯-苯基)-胍 (28.32gm, 167mmol) 和醋酸钠 (27.32gm, 334mmol) 加入

3-(3-Di 甲胺基 - 亚甲基 -4- 氧代 - 哌啶 -1- 基) -4- 甲基 -N-(3- 三氟甲基 - 苯基) 苯甲酰胺 (17.9gm, 41.7mmol) 的乙醇 (250ml) 溶液里, 将溶液加热回流 12 小时。冷却到室温之后, 用水稀释反应混合物, 再用乙酸乙酯萃取。用浓盐水清洗有机层, 再干燥 (硫酸钠) 且蒸发。所得粗产物用硅胶层析法以 5-10% 甲醇 / 三氯甲烷做为洗提液来提纯, 以得到提纯的所要产物, 即 3-[2-(4- 氯 - 苯胺基) -7, 8- 二氢 -5H- 吡啶 [4, 3-d] 嘧啶 -6- 基] -4- 甲基 -N-(3- 三氟甲基苯基) 苯甲酰胺 (28) 灰白色固体 (产率 : 1.83gm, 8.2%)。

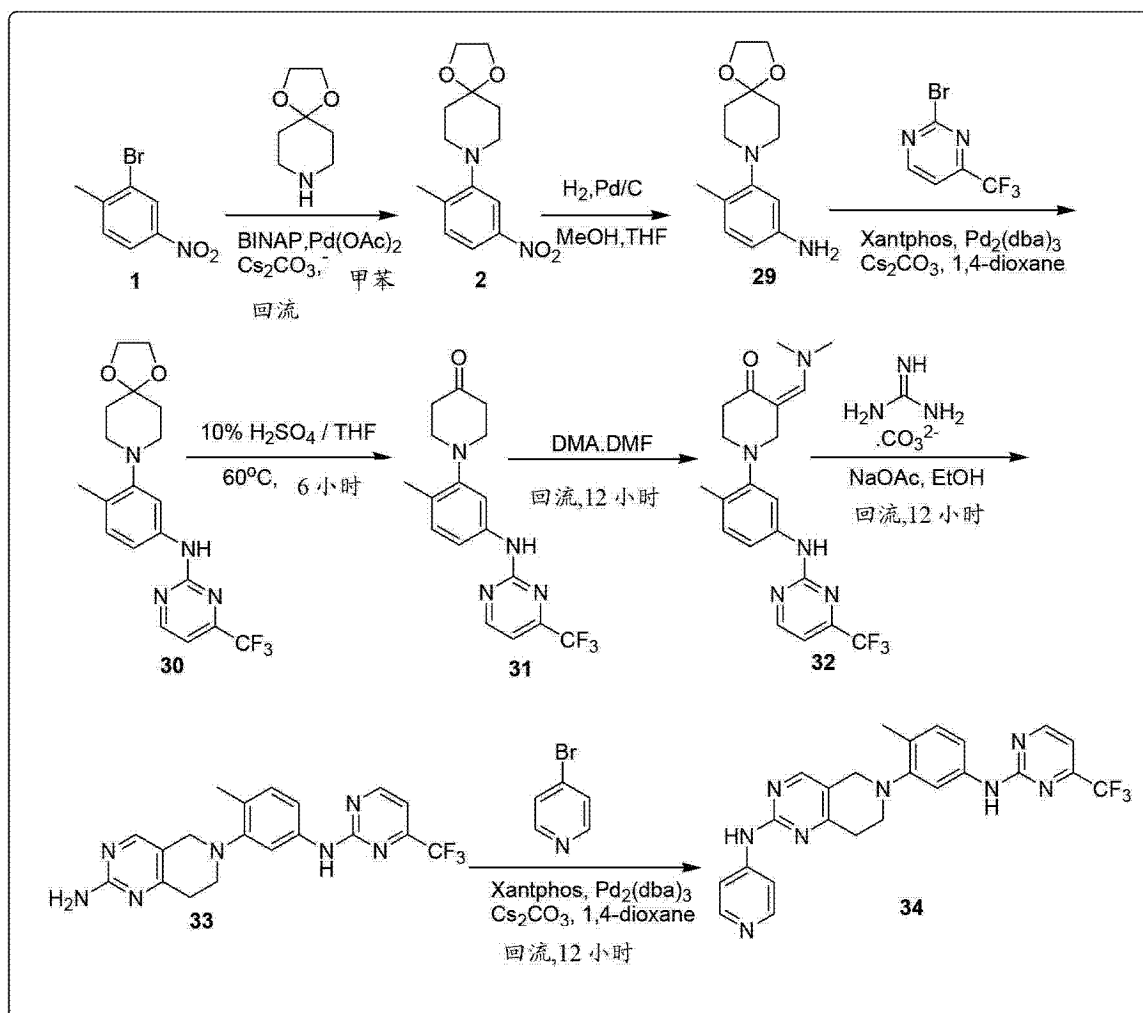
[0318]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  : 8.26 (s, 1H), 8.19-8.12 (m, 1H), 7.98-7.92 (m, 1H), 7.79-7.74 (m, 1H), 7.72-7.61 (m, 3H), 7.55 (t, 1H), 7.45-7.36 (m, 2H), 7.34-7.25 (m, 2H), 4.11 (s, 2H), 3.4-3.32 (m, 2H), 3.05 (t, 2H), 2.42 (s, 3H)

[0319] MS: 计算值 :  $m/z$  538.1 ( $\text{M}+1$ )<sup>+</sup>,

[0320] 实施例 6

[0321] {6-[2- 甲基 -5-(4- 三氟甲基嘧啶 -2- 基胺基) - 苯基] -5, 6, 7, 8- 四氢吡啶 [4, 3-d] 嘧啶 -2- 基} - 吡啶 -4- 基 - 胺 (34)

[0322]



[0323] 剧烈搅拌 2, 2' - 双 (联苯膦基) 1, 1' - 联萘 (BINAP) (54.35mg, 0.085mmol) 和醋酸钯 (II) ( $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ ) (6.95mg, 0.028mmol) 的干甲苯 (3ml) 混合物, 且透过悬浮液打入氮气泡 30 分钟。将 14- 二氧杂 -8- 氮杂 - 螺环 [4.5] - 癸烷 (100mg, 0.699mmol)、2- 溴 -1- 甲基 -4- 硝基 - 苯 (181.29mg, 0.839mmol) 和干碳酸铯 (683.5mg, 2.097mmol) 加入此混合物

中。另外打入氮气泡 30 分钟；将此混合物回流过夜。将混合物冷却，以乙酸乙酯稀释，加入水然后形成分层。用乙酸乙酯萃取水层，然后结合两个有机萃取层。用浓盐水清洗有机层，然后干燥（硫酸钠）、过滤与浓缩。接着用硅胶层析法以 5-10% 乙酸乙酯 / 己烷做为洗提液来进行提纯而得到 8-(2-甲基-5-硝基-苯基)-1,4-二氧-8-氮杂-螺环[4.5]癸烷(2) 黄色固体（产率：193mg, 82.7%）。

[0324] 将 10% Pd/C 加入 8-(2-甲基-5-硝基-苯基)-1,4-二氧杂-8-氮杂-螺环[4.5]癸烷(100mg, 0.278mmol) 于 THF (3ml) 和甲醇 (3ml) 混合溶剂的溶液里，将反应混合物在氢气球下于室温搅拌 12 小时。将反应混合物过滤，且将滤液于真空下浓缩而得到 3-(1,4-二氧杂-8-氮杂-螺环[4.5]癸-8-基)-4-甲基-苯基胺(29)（产率：84.9mg, 95.2%）灰白色固体。

[0325] 剧烈搅拌 4,5-双(联苯-膦基)-9,9-二甲基氧杂蒽(xanthopos) (8.6mg, 0.01488mmol) 和三(亚二苄基丙酮)二-钯(0) ( $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ ) (6.81mg, 0.00744mmol) 在干 1,4-二噁烷(5ml) 的混合物，且透过悬浮液将氮气泡打入 30 分钟。加入 5-溴嘧啶(19.7mg, 0.1247mmol)、3-(1,4-二氧杂-8-氮杂-螺环[4.5]癸-8-基)-4-甲基-苯基胺(30.96mg, 0.1247mmol) 和干碳酸铯(100mg, 0.31mmol)。另外打入氮气泡 30 分钟；将此混合物回流过夜。将混合物冷却，以乙酸乙酯稀释，加入水然后形成分层。用乙酸乙酯萃取水层，然后结合两个有机萃取层。用浓盐水清洗有机层，然后干燥（硫酸钠）、过滤与在真空下浓缩。接着用硅胶层析法以 5-10% 乙酸乙酯 / 己烷做为洗提液来进行提纯而得到 [3-(1,4-二氧杂-8-氮杂-螺环[4.5]癸-8-基)-4-甲基-苯基]- (4-三氟甲基-嘧啶-2-基)-胺(30) 淡黄色固体（产率：4.05mg, 29.8%）。

[0326] 将 1ml 的 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ (aq) 加入 [3-(1,4-二氧-8-氮杂-螺环[4.5]癸-8-基)-4-甲基-苯基]- (4-三氟甲基-嘧啶-2-基)-胺(50mg, 0.126mmol) 的 THF(1ml) 溶液里。将反应混合物于 60°C 加热 6 小时，然后分配在乙酸乙酯和水之间。水层进一步以乙酸乙酯萃取两次，然后用水、浓盐水来清洗所结合的有机层部份，接着干燥（硫酸钠）、过滤。将过滤液浓缩而得到所要的化合物，即 1-[2-甲基-5-(4-三氟甲基-嘧啶-2-基胺基)-苯基]-哌啶-4-酮(31) 粘稠液体（产率：40.9mg, 92.2%）。所得化合物不需进一步提纯而用于下一步骤。

[0327] 将 1-[2-甲基-5-(4-三氟甲基-嘧啶-2-基胺基)-苯基]-哌啶-4-酮(100mg, 0.285mmol) 的 N,N-二甲基甲酰胺、二甲缩醛(DMA、DMF) (1ml) 溶液加热回流 12 小时。冷却到室温之后，将反应混合物在真空下浓缩。将所得的深褐色粗产物进一步用硅胶层析法以 30-60% 乙酸乙酯 / 己烷做为洗提液来提纯，而得到提纯的所要产物，即 3-二甲基-胺基亚甲基-1-[2-甲基-5-(4-三氟甲基-嘧啶-2-基胺基)-苯基]-哌啶-4-酮(32) 橘色固体（产率：78.2mg, 68.02%）。

[0328] 将胍碳酸盐(30.17gm, 167mmol) 和醋酸钠(27.40gm, 334mmol) 加入 3-二甲基-胺基亚甲基-1-[2-甲基-5-(4-三氟甲基-嘧啶-2-基胺基)-苯基]-哌啶-4-酮(16.90gm, 41.7mmol) 的乙醇(250ml) 溶液里。将反应混合物加热回流 12 小时。冷却到室温之后，用水稀释反应混合物，再用乙酸乙酯萃取。用浓盐水清洗有机层，再干燥（硫酸钠）且蒸发。所得粗产物用硅胶层析法以 2-5% 甲醇 / 三氯甲烷做为洗提液来提纯，以得到提纯的所要产物，即 6-[2-甲基-5-(4-三氟甲基-嘧啶-2-基胺基)-苯基]-5,6,7,8-四氢-吡啶

[4, 3-d] 嘧啶 -2- 基胺 (33) 淡黄色固体 (产率 :5.00gm, 30.6%)。

[0329] 剧烈搅拌 4, 5- 双 (联苯 - 膦基) -9, 9- 二甲氧杂蒽 (xanthopos) (8.6mg, 0.01488mmol) 和三 (亚二苄基丙酮) 二 - 钯 (0) ( $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ ) (6.81mg, 0.00744mmol) 在干 1, 4- 二噁烷 (5ml) 中的混合物, 且透过悬浮液将氮气泡打入 30 分钟。加入 5- 溴吡啶 (19.7mg, 0.1247mmol)、6-[2- 甲基 -5-(4- 三氟甲基 - 嘧啶 -2- 基胺基) - 苯基] -5, 6, 7, 8- 四氢 - 吡啶 [4, 3-d] 嘧啶 -2- 基胺 (50.02mg, 0.1247mmol) 和干碳酸铯 (100mg, 0.31mmol)。另外打入氮气泡 30 分钟; 将此混合物回流过夜。将混合物冷却, 以乙酸乙酯稀释, 加入水然后形成分层。用乙酸乙酯萃取水层, 然后结合两个有机萃取层。用浓盐水清洗有机层, 然后干燥 (硫酸钠)、过滤与在真空下浓缩。接着用硅胶层析法以 5-10% 乙酸乙酯 / 己烷做为洗提液来进行提纯而得到 {6-[2- 甲基 -5-(4- 三氟甲基 - 嘧啶 -2- 基胺基) - 苯基] -5, 6, 7, 8- 四氢 - 吡啶 [4, 3-d] 嘧啶 -2- 基} - 吡啶 -4- 基 - 胺 (34) 淡黄色固体 (产率 :17.75mg, 29.8%)。

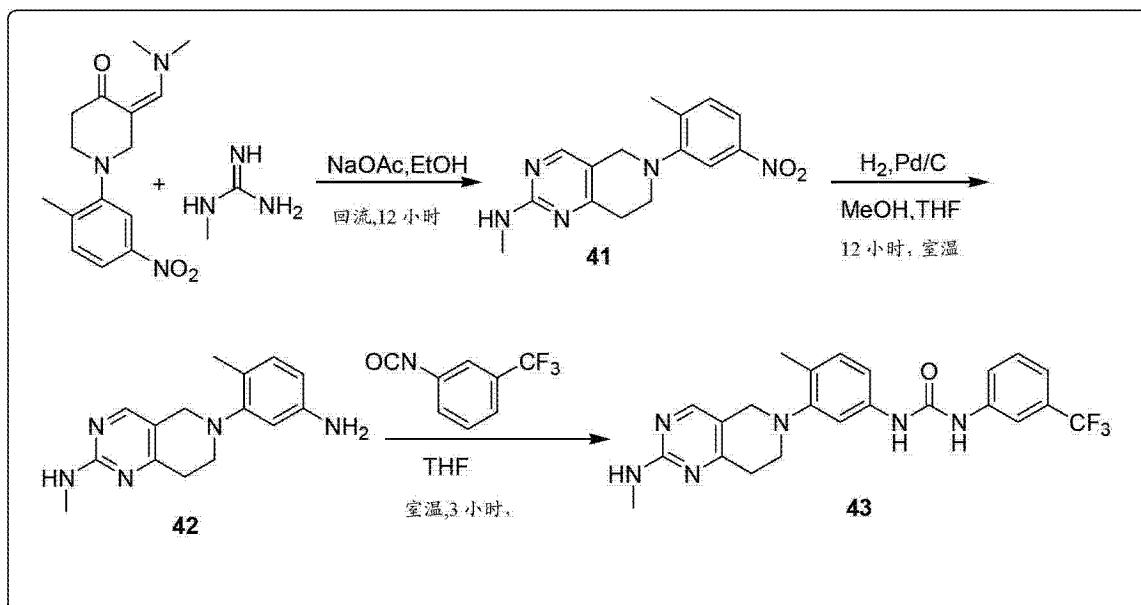
[0330]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.65-8.55 (m, 3H), 8.5-8.4 (br s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.2-8.1 (m, 2H), 7.85-7.75 (br s, 1H), 7.4 (s, 1H), 7.25-7.15 (m, 1H), 7.1-7.0 (m, 2H), 4.2 (s, 2H), 3.35 (t, 2H), 3.15 (t, 2H), 2.3 (s, 3H)

[0331] MS m/z 478.9 (M+1)

[0332] 实施例 7

[0333] 1-[4- 甲基 -3-(2- 甲胺基 -7, 8- 二氢 -5H- 吡啶 [4, 3-d] 嘧啶 -6- 基) - 苯基] -3-(3- 三氟甲基 - 苯基) - 尿素 (43)

[0334]



[0335] 将 N- 甲基胍 (12.20gm, 167mmol) 和醋酸钠 (27.32gm, 334mmol) 加入 3- 二甲胺亚甲基 -1-(2- 甲基 -5- 硝基苯基) 吡啶 -4- 酮 (12.06gm, 41.7mmol) (如参考文献 1 所制备) 的乙醇 (250ml) 溶液中, 将溶液加热回流 12 小时。冷却到室温之后, 用水稀释反应混合物, 再用乙酸乙酯萃取。以浓盐水清洗有机层, 干燥 (硫酸钠) 且在真空下浓缩。将所得粗产物进一步用硅胶层析法以 5-10% 甲醇 / 三氯甲烷做为洗提液来提纯, 以得到提纯的所要产物 (41), 即甲基 -[6-(2- 甲基 -5- 硝基 - 苯基) -5, 6, 7, 8- 四氢 - 吡啶 [4, 3-d] 嘧

啉-2-基]-胺黄色固体(产率:2.47gm,19.8%)。

[0336] 将10% Pd/C加入甲基-[6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-5,6,7,8-四氢-吡啶[4,3-d]嘧啉-2-基]-胺(100mg,0.33mmol)在THF(5ml)和甲醇(5ml)混合溶剂的溶液里,将反应混合物在氢气球下于室温搅拌12小时。将反应混合物过滤,将滤液于真空下浓缩以得到[6-(5-氨基-2-甲基-苯基)-5,6,7,8-四氢-吡啶[4,3-d]嘧啉-2-基]-甲基-胺(42)灰白色固体(产率:84.0mg,93.4%)。

[0337] 将1-异氰酸基-3-三氟甲基苯(57.3mg,0.306mmol)一次性加入[6-(5-氨基-2-甲基-苯基)-5,6,7,8-四氢-吡啶[4,3-d]嘧啉-2-基]-甲基-胺(75mg,0.278mmol)的THF(1.5ml)的澄清搅拌液中,将反应混合物于室温搅拌3小时。3小时之后,用水稀释反应混合物,再用乙酸乙酯萃取。将有机层以浓盐水清洗,以硫酸钠干燥,且浓缩到干燥而得到黏黏的物质,其以己烷清洗而得到83.4mg的1-[4-甲基-3-(2-甲基-氨基-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啉-6-基)-苯基]-3-(3-三氟甲基-苯基)-尿素(43)(产率:65.6%)淡褐色固体。

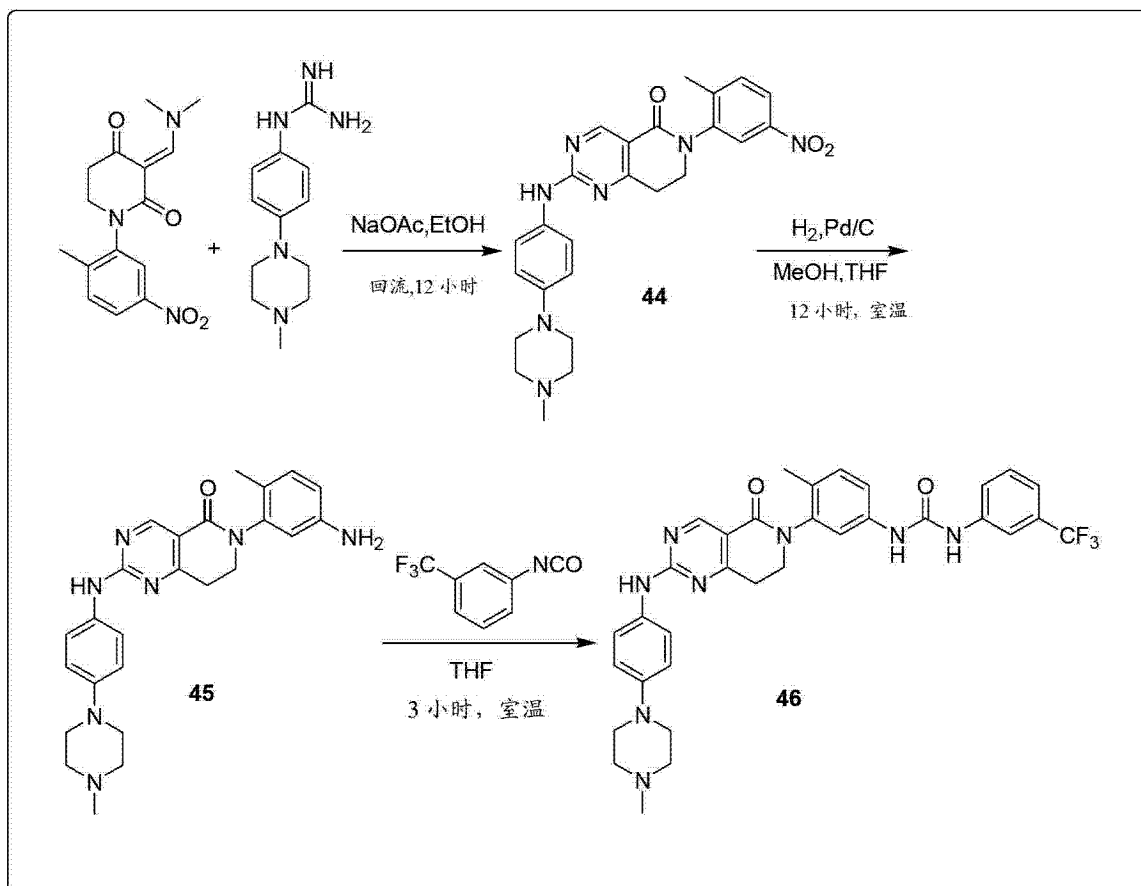
[0338]  $^1\text{H NMR}$ (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.98(s, 1H), 7.6-7.06(m, 8H), 6.84(d, 1H), 5.1-5.0(m, 1H), 3.85(s, 2H), 3.2-2.8(m, 7H), 2.22(s, 3H)

[0339] MS m/z 457.1(M+1)

[0340] 实施例8

[0341] 1-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啉-6-基}-苯基)-3-(3-三氟甲基苯基)尿素(46)

[0342]



[0343] 将 N-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-胍 (38.9gm, 167mmol) 和醋酸钠 (27.38gm, 334mmol) 加入 3-二甲胺亚甲基-1-(2-甲基-5-硝基-苯基)-哌啶-2,4-二酮 (12.6gm, 41.7mmol) (如参考文献 2 所制备) 的乙醇 (250ml) 溶液中, 将溶液加热回流 12 小时。冷却到室温之后, 用水稀释反应混合物, 再用乙酸乙酯萃取。用浓盐水清洗有机层, 再用硫酸钠来干燥且蒸发。所得粗产物用硅胶层析法以 5-10% 甲醇 / 三氯甲烷做为洗提液来提纯, 以得到提纯的所要产物, 即 6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-5-酮 (44) 固体 (产率: 4.30gm, 21.9%)。

[0344] 将 10% Pd/C 加入 6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-5-酮 (100mg, 0.211mmol) 在 THF (5ml) 和甲醇 (5ml) 混合溶剂中的溶液里, 将反应混合物在氢气球下于室温搅拌 12 小时。将反应混合物过滤, 将滤液于真空下浓缩以得到 6-(5-胺基-2-甲基-苯基)-2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-5-酮 (45) (产率: 86.45mg, 92.3%) 白色固体。

[0345] 将 1-异氰酸基-3-三氟-甲基-苯 (34.7mg, 0.186mmol) 一次性加入 6-(5-胺基-2-甲基-苯基)-2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-5-酮 (75mg, 0.169mmol) 于 THF (1.5ml) 的澄清搅拌液中, 将反应混合物于室温搅拌 3 小时。3 小时之后, 用水稀释反应混合物, 再用乙酸乙酯萃取。将有机层以浓盐水清洗, 以硫酸钠干燥, 且浓缩到干燥而得到黏黏的物质, 其以己烷清洗而得到 56.7mg 的 1-(4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-5-氧代-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-6-基}-苯基)-3-(3-三氟甲基-苯基)-尿素 (产率: 53.2%) 淡褐色固体。

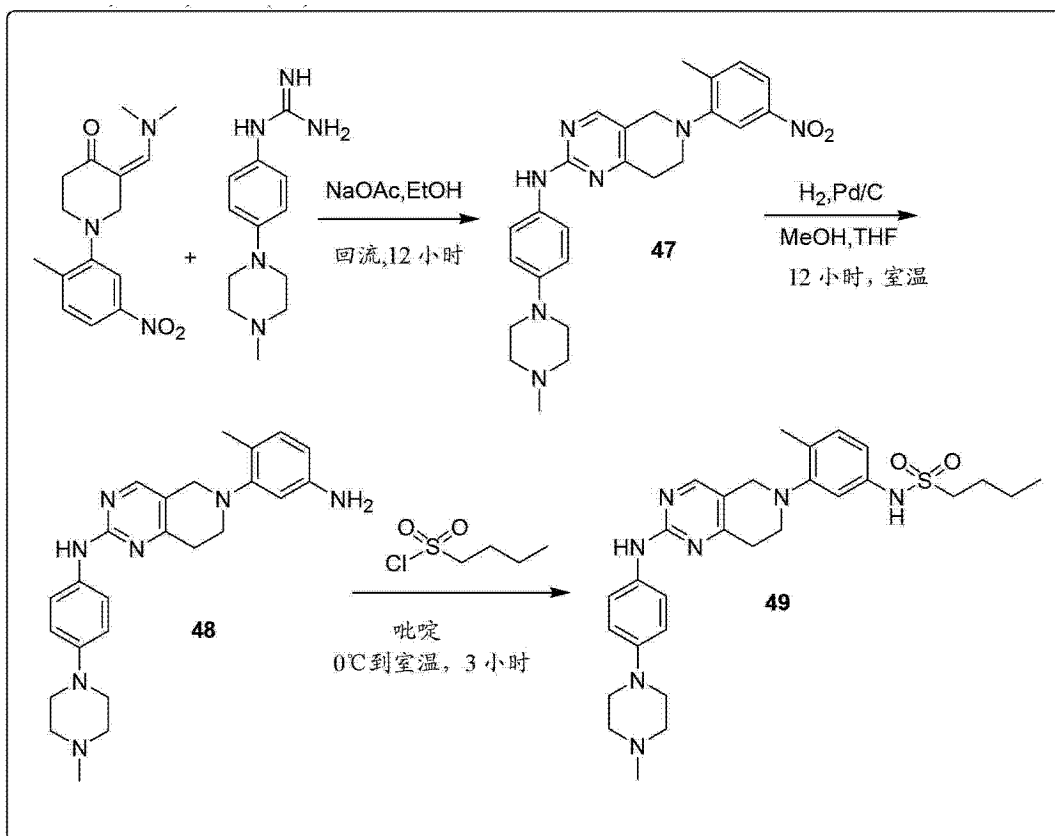
[0346]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.0 (s, 1H), 7.7-6.6 (m, 11H), 8.2-7.7 (m, 3H), 4.2-3.7 (m, 2H), 3.5-2.8 (m, 10H), 2.2-1.9 (m, 6H)

[0347] MS m/z 631.2 (M+1)

[0348] 实施例 9

[0349] 丁烷-1-磺酸 (4-甲基-3-{2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶 [4,3-d] 嘧啶-6-基} 苯基) 酰胺 (49)

[0350]



[0351] 将N-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-胍 (38.9gm, 167mmol) 和醋酸钠 (27.32gm, 334mmol) 加入3-(2-二甲胺亚甲基-1-(2-甲基-5-硝基苯基)-哌啶-4-酮) (12.06gm, 41.7mmol) (如参考文献1所制备) 的乙醇 (250ml) 溶液中, 将溶液加热回流12小时。冷却到室温之后, 用水稀释反应混合物, 再用乙酸乙酯萃取。以浓盐水清洗有机层, 干燥 (硫酸钠) 且在真空下浓缩。将所得粗产物进一步用硅胶层析法以5-10% 甲醇 / 三氯甲烷做为洗提液来提纯, 以得到提纯的所要产物 (47), 即 [6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-5, 6, 7, 8-四氢-吡啶 [4, 3-d] 嘧啶-2-基]-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-胺黄色固体 (产率: 3.65gm, 19.0%)。

[0352] 将10% Pd/C 加入 [6-(2-甲基-5-硝基-苯基)-5, 6, 7, 8-四氢-吡啶 [4, 3-d] 嘧啶-2-基]-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-胺 (100mg, 0.217mmol) 的 THF (5ml) 和甲醇 (5ml) 混合溶剂溶液中, 将反应混合物在氢气球下于室温搅拌12小时。将反应混合物过滤, 将滤液于真空下浓缩以得到 [6-(5-氨基-2-甲基-苯基)-5, 6, 7, 8-四氢-吡啶 [4, 3-d] 嘧啶-2-基]-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-胺 (48) 灰白色固体 (产率: 83.7mg, 89.6%)。

[0353] 将丁烷-1-磺酰氯 (21.3mg, 0.139mmol) 在0°C 滴加到 [6-(5-氨基-2-甲基-苯基)-5, 6, 7, 8-四氢-吡啶 [4, 3-d] 嘧啶-2-基]-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-胺 (50.0mg, 0.116mmol) 的吡啶 (1ml) 溶液中。将反应混合物于0°C 搅拌15分钟, 然后使其达到室温。接着在室温再搅拌3小时。将反应混合物于真空下浓缩。然后将反应物质用水稀释, 再用二氯甲烷萃取。用水、然后用浓盐水溶液来清洗二氯甲烷层。用硫酸钠来干燥有机层, 且于减压下浓缩。将所得粗产物用管柱层析法 (SiO<sub>2</sub>, 2-10% 甲醇于三氯甲烷中) 来提纯而得到 50.4mg (78.9%) 的丁烷-1-磺酸 (4-甲基-3-[2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-

胺基]-7,8-二氢-5H-吡啶[4,3-d]嘧啶-6-基)-苯基)-酰胺(49)灰白色固体。

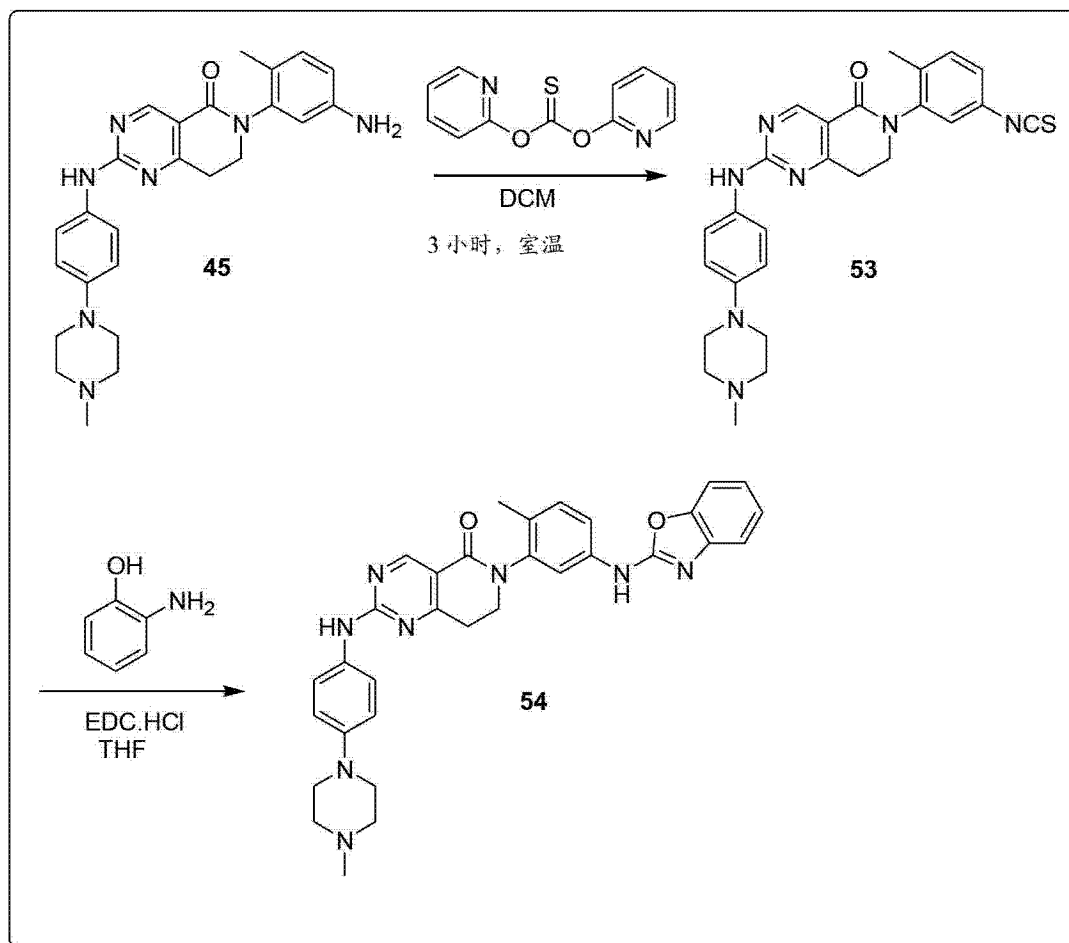
[0354]  $^1\text{H}$  NMR(300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.15(s, 1H), 7.50(d, 2H), 7.19(d, 1H), 7.00-6.80(m, 5H), 6.60-6.40(m, 1H), 4.00(s, 2H), 3.30-2.95(m, 10H), 2.60(t, 4H), 2.38(s, 3H), 2.30(s, 3H), 1.85-1.75(m, 2H), 1.50-1.36(m, 2H), 1.25(s, 2H),

[0355] MS m/z 550.2(M+1)

[0356] 实施例 10

[0357] 6-[5-(苯并噁唑-2-基胺基)-2-甲基]-2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶[4,3-d]嘧啶-5-酮(54)

[0358]



[0359] 将二(2-吡啶基)硫代碳酸酯(47mg, 0.203mmol)一次性加入6-(5-胺基-2-甲基-苯基)-2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶[4,3-d]嘧啶-5-酮(75mg, 0.169mmol)的DCM(5ml)澄清溶液中,将反应混合物于室温搅拌3小时。3小时之后,用水稀释反应混合物,再用乙酸乙酯萃取。将有机层以浓盐水清洗,以硫酸钠干燥,且浓缩到干燥而得到黏黏的物质,其以己烷清洗而得到70.3mg的6-(5-异硫氰基-2-甲基-苯基)-2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶[4,3-d]嘧啶-5-酮(53)(产率:85.6%)淡褐色物质。

[0360] 将EDC.HCl(25.6mg, 0.133mmol)加入6-(5-异硫氰基-2-甲基-苯基)-2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯胺基]-7,8-二氢-6H-吡啶[4,3-d]嘧啶-5-酮(50.0mg, 0.089mmol)、和2-胺基-酚(9.73mg, 0.089mmol)的THF(5ml)溶液中,且将反应混



合物于氮气氛下回流 12 小时。12 小时之后,将反应物质浓缩到干燥以得到粗化合物。所得粗产物经过制备级 HPLC 提纯。得到所要的化合物,即 6-[5-( 苯并噁唑 -2- 基胺基)-2- 甲基 - 苯基]-2-[4-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基)- 苯胺基]-7,8- 二氢 -6H- 吡啶 [4,3-d] 嘧啶 -5- 酮 (54), 为褐色固体 (产率 :57.7mg,63.2%)。

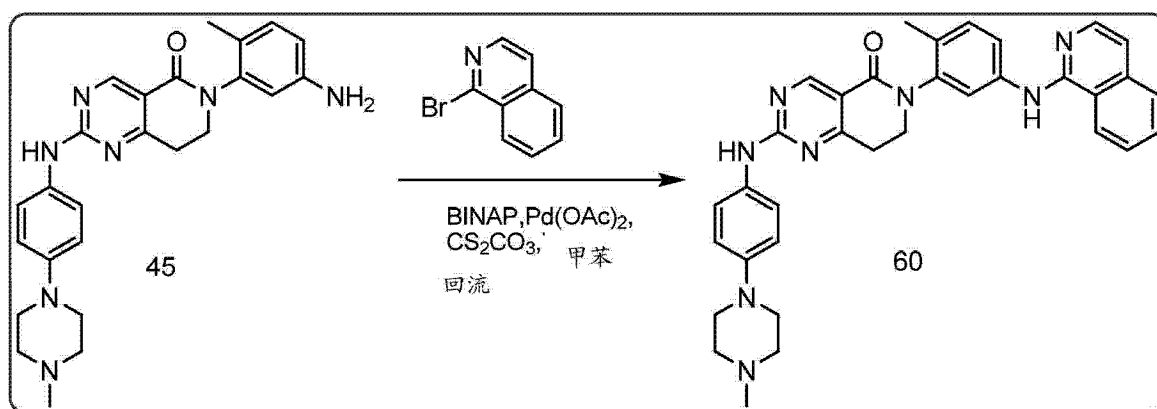
[0361]  $^1\text{H}$  NMR(300MHz, DMSO- $\text{D}_6$ )  $\delta$  10.7(s, 1H), 8.8(s, 1H), 7.7-7.0(m, 10H), 6.95-6.85(d, 2H), 4.1-3.95(m, 1H), 3.85-8.7(m, 1H), 3.3-3.0(m, 6H), 2.5-2.4(m, 4H), 2.24(s, 3H), 2.15(s, 3H)

[0362] MS m/z 561.2(M+1)

[0363] 实施例 11

[0364] 6-(5-( 异喹啉 -1- 基胺基)-2- 甲基苯基)-2-(4-(4- 甲哌嗪 -1- 基) 苯胺基)-7,8- 二氢吡啶 [4,3-d] 嘧啶 -5(6H)- 酮

[0365]



[0366] 剧烈搅拌 2,2'- 双 (联苯膦基)1,1'- 联萘 [BINAP] (28.00mg,0.0451mmol) 和醋酸钯 (II)  $[\text{Pd}(\text{OAc})_2]$  (5.00mg,0.022mmol) 在干甲苯 (3ml) 中的混合物,且透过悬浮液打氮气泡 30 分钟。将 6-(5- 胺基 -2- 甲基苯基)-2-(4-(4- 甲哌嗪 -1- 基) 苯胺基)-7,8- 二氢吡啶 [4,3-d] 嘧啶 -5(6H)- 酮 (45) (200mg,0.451mmol)、1- 溴异喹啉 (112.60mg,0.541mmol) 和干碳酸铯 (443.0mg,1.352mmol) 加入此混合物中。另外打入氮气泡 30 分钟;将此混合物回流过夜。将混合物冷却,以乙酸乙酯稀释,加入水然后形成分层。用乙酸乙酯萃取水层,然后结合两个有机萃取层。用浓盐水清洗有机层,然后干燥 (硫酸钠)、过滤与浓缩。接着用硅胶层析法以 5-10% 乙酸乙酯 / 己烷做为洗提液来进行提纯而得到 6-(5-( 异喹啉 -1- 基胺基)-2- 甲基苯基)-2-(4-(4- 甲哌嗪 -1- 基) 苯胺基)-7,8- 二氢吡啶 [4,3-d] 嘧啶 -5(6H)- 酮 (60) 黄色固体 (产率 :223mg,87.0%)。

[0367] 实施例 12- 药理学数据

[0368] c-Src 和 Jak 2 激酶检验 :

[0369] 将化合物以 TR-FRET 检验法筛选出对 JAK2 和 c-Src 激酶的抑制性。以超轻聚 GT(Perkin Elmer 公司) 做为 JAK2 和 c-Src 的底物,且 ATP 浓度的分别为  $10\ \mu\text{M}$  和  $50\ \mu\text{M}$ 。加入 1nM 的铕标示的抗磷酸酪氨酸抗体 (Perkin Elmer 公司),并以 340nm 波长的激发光来量测波长 615nm 和 665nm 的荧光放射。665 对 615nm 的比例与底物磷酸化和激酶活性成正比。使用 GraphPad Prism 软件来制作剂量 - 反应曲线配适。

[0370] 对 pStat3 的细胞内西方点渍检验法 (ICW) :

[0371] 将 A431 细胞种在 96 孔微板上。在隔夜血清饥饿之后,将细胞与化合物一起培养 2 小时。将细胞在 PBS 中用 4% 聚甲醛固定,然后在 PBS (PBST) 中用 0.1% Triton X-100 打洞。将细胞在 PBST 中用 5% BSA 阻碍 2 小时,接着用磷 Stat3 抗体培养隔夜。将细胞清洗且用铈标示的抗兔子二级抗体培养 2 小时。清洗之后将增强溶液加入孔中。将微板在铈设定下于 Victor 仪器上进行量测。赫克斯特(Hoechst)读取被用来标准化细胞数目。使用 Graphpad Prism 以标准化铈值来计算 IC50 数值。

[0372] 细胞存活率检验 (XTT 检验) :

[0373] 将 Mda-Mb-231 或 A549 细胞种在 96 孔微板上。隔天将化合物加到细胞并培养 72 小时。化合物处理以三重复进行。72 小时后,将细胞培养液从孔里吸出,加入 XTT 反应溶液,将微板培养 2-5 小时。用分光光度计以 465nm 波长来量测样品的吸收值。使用 Graphpad Prism 来计算 EC<sub>50</sub> 值。本发明实施例中所用的肿瘤细胞株是从 ATCC 购得。对细胞株的描述是包含于下表中 :

[0374]

细胞株	来源	来源和细节的超链接
B16F10	鼠黑色素瘤	<a href="#">ATCC</a>
A549	人类肺恶性肿瘤	<a href="#">ATCC</a>
A431	人类表皮恶性肿瘤	<a href="#">ATCC</a>
Mda-Mb-231	人类乳恶性肿瘤	<a href="#">ATCC</a>

[0375] 缩写表 :

[0376]

IP	:	腹膜内的
IV	:	静脉的
MTV	:	平均肿瘤体积
No	:	数目
NS	:	不显著
S	:	显著
SA	:	牺牲
SC	:	皮下的 (地)
V	:	体积
Vs	:	相对

HPC	:	羟丙环糊精
PBS	:	磷酸盐缓冲的盐水
MPK	:	毫克 / 每公斤体重
MTD	:	最大容忍剂量
TGI	:	肿瘤生长抑制
PD	:	药物动力学
ATD	:	急性毒性剂量
N / D	:	未确定

[0377] 结果：

[0378] 表 2 和 4 证明本发明化合物存在对于 c-SRC 和 JAK 激酶 (JAK2 和 JAK1) 的双重抑制性, 因此符合本发明的需求。表 2 亦展示在 A431、A549 和 MDA-MB-231 癌细胞株中对细胞生长的体外抑制性, 以及在 A431 癌细胞株中对 STAT3 磷酸化的抑制性。

[0379] 表 3 展示达沙替尼 (c-SRC 抑制剂) 和 TG101348 (高选择性 JAK2 抑制剂) 的活性。可以断定这些化合物并非双重抑制剂。此外, 与依据本发明的化合物相比, 这些化合物对 STAT3 磷酸化的抑制性效用较低。

[0380] 表 2

[0381]

化合物编号	JAK2		JAK2	c-SRC		c-SRC	MDA- MB-23 1	A549	A431	pSTAT3 抑制性
	%抑制性		IC50	%抑制性		IC50	EC50	EC50	EC50	
	100nM	1 $\mu$ M	(nM)	100nM	1 $\mu$ M	(nM)	( $\mu$ M)	( $\mu$ M)	( $\mu$ M)	(nM)
83			32			4	0.305	-	0.240	240
76			61			30	2.15	-	0.135	130
86			45			28	0.53	0.078	0.57	580
92			7			2	0.005	-	0.026	26
94			19			2	0.05	-	0.180	160
98			7			1	0.05	-	0.061	60
99			14			6	0.12	-	0.29	300
106	85	98	18	99	100	2	0.31	-	0.22	220
107	72	94	40	93	98	1	0.61	-	0.12	120
108	89	98	12	98	100	1	2.6	-	-	
75	94	99	7	92	97	7	0.76	0.475	-	
117			18	80	96		0.66	0.025	0.33	340
119			8	95	98		0.38			280

[0382]

120			36	94	95		2.5			
123			9			3	0.83			190
131			40	74	90		0.88	-	-	
132			3			5	0.041	0.047	-	480
146			5			6	0.37			350
147	88	93	21	67	90	-	0.72	-	-	
148	94	96	5	99	99	2.4	0.034	-	-	270
155			18			2	1.2	-	-	
162	92	97	6	73	81	27	1.38	1.14	0.60	350
164	68	91	46	70	79	26				
165	74	93	54	93	98	16	0.44	-	0.32	257
166	74	93	48	60	87	27				
167	95	97	5.3	97	98	27				283
170	64	93	70	26	58	-				
171	92	97	19	74	87	20	1.30	2.10	-	471
172	94	97	9	66	72		1.84	-	-	
174	94	97	8.8	95	98	-				161
176	89	94	15	87	96	13	0.33	-	-	
177	84	94	10	86	96	20	0.12	-	-	290
178	91	92	7	77	90	17	1.75	-	-	150
179	81	92	6.4	79	93	15	0.90	-	-	280
180	67	91		66	87		1.62	1.48	1.07	140
181	85	93		53	77		3.34	2.54	1.3	

[0383]

182	55	85		51	80		2.76	1.08	5.07	
7			83			16	3.60	3.40	1.45	450
17			3			2	0.044	0.01	0.092	150
45			15			10	1.83	1.07	1.4	220
137			28			7	0.074	0.426	0.67	670
58			44			19	3.82	-	-	
77	80	96				17	4.92	-	0.512	510
153			4	98	99		0.61			
160			15			66				

[0384] 表 3

[0385]

化合物	JAK2		JAK2	c-SRC		c-SRC	MDA-MB-231	A549	A431	pSTAT3 抑制性
	%抑制性		IC50	%抑制性		IC50	EC50	EC50	IC50	
	100nM	1 $\mu$ M	(nM)	100nM	1 $\mu$ M	(nM)	( $\mu$ M)	( $\mu$ M)	( $\mu$ M)	(nM)
达沙替尼		55				5	0.044	>10		1057
TG101348			2			77	0.68	1.2		>10000

[0386] 表 4

[0387]

化合物编号	JAK1		JAK1
	%抑制性		IC50
	100nM	1 $\mu$ M	(nM)
179			12

[0388]

171	61	84	
117			24
45	56	82	116
17	85	89	
15	49	73	
18	82	89	
23	84	88	
25	58	96	
26	57	79	
28	66	79	
9	58	85	

[0389] 在 B16F10 转移和存活率模块中抗肿瘤活性：

[0390] 在 60 只公 C57B16 鼠的尾端静脉中做  $0.1 \times 10^6$  B16F10 肿瘤细胞的静脉注射。在 4 组每组 15 只老鼠的肿瘤细胞注射后一天, 随机选择老鼠。15 只里面的 6 只老鼠在第 14 天被牺牲以计算肺上的转移性病灶。剩下的 9 只老鼠继续给药直到死亡 / 发病以计算存活率。

[0391] 药剂 : 20% HPC、化合物编号 45 在 PBS 的 2% 乙醇溶液中、Taxol® 在一般食盐水中

[0392] 给药途径 : 口服化合物编号 45, 和腹腔注射 Taxol®

[0393] 给药量 : 每公斤体重给 10 毫升

[0394] 给药时间表 : 转移研究组连续 14 天每天给药一次 (Q1Dx14), 存活率研究组连续每天给药一次直到死亡 / 发病

[0395] 剂量 :

[0396] 第 1 组 : 化合物编号 45 的载体对照组 -0 MPK (mg/kg)

[0397] 第 2 组 : 5MPK 的 Taxol®

[0398] 第 3 组 : 30MPK 的化合物编号 45

[0399] 第 4 组 : 100MPK 的化合物编号 45

[0400] 每天纪录动物的体重

[0401] 每天观察两次临床现象 (发病和死亡率)

[0402] 在最后给药的那天于最大时间 ( $T_{max}$ ) (0.75 小时) 结束老鼠的生命

[0403] 计算肺上的转移性病灶

[0404] 验尸期间的观察：在内部器官（例如肺、肝、肾、脾、肠）的宏观病理学，观察在宏观病理学中这些器官的组织病理学 (histopathology)。收集血浆进行药物浓度评估，且收集全血液以隔离 PBMCs 而由流式细胞仪以 PD 读取值来确定 pStat3 抑制性。相同研究亦进行于化合物编号 117 和 179。

[0405] 结果：

[0406] 图 1 和 2 展示相较于 Taxol®（紫杉醇 (Paclitaxel)，一种用于 B16-F10 模型中的标准药物)，本发明化合物有较佳的抑制性。尽管紫杉醇不具有 c-SRC 或 JAK 激酶抑制性，紫杉醇经由 STAT3 磷酸化的消失来调节 STAT3 活性（紫杉醇打断 STAT3 与微管蛋白的相互作用）。

[0407] A549 异体移植模型中的抗肿瘤性：

[0408] 实验 1

[0409] 在 48 只母无胸腺裸鼠的左腹上皮下 (SC) 注射  $5 \times 10^6$  A549 肿瘤细胞。在将平均肿瘤体积  $134 \pm 5 \text{mm}^3$  的肿瘤细胞注射到 6 组每组 8 只老鼠身上之后 14 天随机取样。

[0410] 药剂：20% HPC、化合物编号 45、117 和 179 在 PBS 的 2% 乙醇溶液中、Erlotinib® 在一般食盐水中

[0411] 给药途径：口服化合物编号 45、117、179、和 Erlotinib®

[0412] 给药量：每公斤体重给 10 毫升

[0413] 给药时间表：连续 14 天每天给药一次 (Q1Dx14)

[0414] 剂量：

[0415] 第 1 组：载体对照组

[0416] 第 2 组：Erlotinib® -100MPK

[0417] 第 3 组：化合物编号 45 - 10MPK

[0418] 第 4 组：化合物编号 45 - 30MPK

[0419] 第 5 组：化合物编号 45 - 100MPK

[0420] 第 6 组：化合物编号 117 - 30MPK

[0421] 第 7 组：化合物编号 117 - 100MPK

[0422] 第 8 组：化合物编号 179-10MPK

[0423] 第 9 组：化合物编号 179 - 30MPK

[0424] 每天纪录动物的体重

[0425] 每周纪录三次肿瘤体积

[0426] 每天观察两次临床现象（发病和死亡率）

[0427] 在最后给药的那天于最大时间 (Tmax) (0.75 小时) 结束老鼠的生命

[0428] 验尸期间的观察：在内部器官（例如肺、肝、肾、脾、肠）的宏观病理学 (gross pathology)，观察在宏观病理学中这些器官的组织病理学。收集的血浆进行药物浓度评估，且收集全血液以隔离 PBMCs (外周血单核细胞) 而由流式细胞仪以 PD 读取值来确定 pStat3 抑制性。肿瘤以液态氮快速冷冻并储存于  $-80^\circ \text{C}$  以由流式细胞仪以 PD 读取值来评估 pStat3。

[0429] 实验 2

[0430] 在 24 只母无胸腺裸鼠的左腹上皮下 (SC) 注射  $5 \times 10^6$  A549 肿瘤细胞。在将平均肿



瘤体积  $75 \pm 7 \text{mm}^3$  的肿瘤细胞注射到 3 组每组 8 只老鼠身上之后 14 天随机取样。

- [0431] 药剂 :20% HPC、化合物编号 45 在 PBS 的 2% 乙醇溶液中、
- [0432] Erlotinib® 在一般食盐水中
- [0433] 给药途径 :口服 AUDK3024 和 Erlotinib®
- [0434] 给药量 :每公斤体重给 10 毫升
- [0435] 给药时间表 :连续 14 天每天给药一次 (Q1Dx14)
- [0436] 剂量 :
- [0437] 第 1 组 :载体控制组
- [0438] 第 2 组 :化合物编号 45 - 150MPK
- [0439] 第 3 组 :Erlotinib® -100MPK
- [0440] 每天纪录动物的体重
- [0441] 每周纪录三次肿瘤体积
- [0442] 每天观察两次临床现象 (发病和死亡率)
- [0443] 在最后给药的那天于最大时间 (Tmax) (0.75 小时) 结束老鼠的生命
- [0444] 验尸期间的观察 :在内部器官 (例如肺、肝、肾、脾、肠) 的宏观病理学 (gross pathology), 观察在宏观病理学中这些器官的组织病理学。收集的血浆进行药物浓度评估, 且收集全血液以隔离 PBMCs 而由流式细胞仪以 PD 读取值来确定 pStat3 抑制性。肿瘤以液态氮快速冷冻并储存于  $-80^\circ \text{C}$  以由流式细胞仪以 PD 读取值来评估 pStat3。
- [0445] 结果 :
- [0446] 图 3 展示相较于 Erlotinib (特异性 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂), 本发明化合物具有相等或较佳的肿瘤生长抑制性, 其暗示了本发明化合物与较强的 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂的组合可能可以藉由 STAT3 和 EGFR 路径的组合抑制而导致协同作用。
- [0447] 在 A431 异体移植模型中的抗肿瘤性 :
- [0448] 在 24 只母无胸腺裸鼠的左腹上皮 (SC) 注射  $5 \times 10^6$  A431 肿瘤细胞与 Matrigel®。在将平均肿瘤体积  $90 \pm 1 \text{mm}^3$  的肿瘤细胞注射到 3 组每组 8 只老鼠身上之后 14 天随机取样老鼠。
- [0449] 药剂 :20% HPC、化合物编号 45 在 PBS 的 2% 乙醇溶液中
- [0450] Gefitinib® (吉非替尼) 在一般食盐水中
- [0451] 给药途径 :口服化合物编号 45 和 Gefitinib®
- [0452] 给药量 :每公斤体重给 10 毫升
- [0453] 给药时间表 :连续 14 天每天给药一次 (Q1Dx14)
- [0454] 在 A431 模型中的 PK-PD 实验 :
- [0455] 使肿瘤成长到  $250 \text{mm}^3$  的大小。化合物只给药一次, 且在 Tmax 时收集肿瘤以评估 pStat3。收集血浆以评估药物浓度。
- [0456] A431 模型中的药效实验 :
- [0457] 剂量 :
- [0458] 第 1 组 :载体对照组
- [0459] 第 2 组 :化合物编号 45-150MPK
- [0460] 第 3 组 :Gefitinib® -100MPK

- [0461] 每天纪录动物的体重
- [0462] 每周纪录三次肿瘤体积
- [0463] 每天观察两次临床现象（发病和死亡率）
- [0464] 在最后给药的那天于最大时间 (Tmax) (0.75 小时) 结束老鼠的生命
- [0465] 验尸期间的观察：在内部器官（例如肺、肝、肾、脾、肠）的宏观病理学 (gross pathology)，观察在宏观病理学中这些器官的组织病理学。收集的血浆进行药物浓度评估，且收集全血液以隔离 PBMCs 而由流式细胞仪以 PD 读取值来确定 pStat3 抑制性。肿瘤以液态氮快速冷冻并储存于  $-80^{\circ}\text{C}$  以由流式细胞仪以 PD 读取值来评估 pStat3。
- [0466] 判定血浆药物浓度：
- [0467] 用乙腈处理血浆样品并离心。将上层液蒸发至干燥并用动相液重新溶解，之后用 LC-MS / MS 以 MRM 模式来分析药物浓度。将肿瘤样品均质化然后以对血浆相同程序进行处理。对于血浆和肿瘤样品两者皆使用一组校正标准和质量控制样品。
- [0468] 在 PBMCs 和肿瘤中的 pStat3 定量：
- [0469] 收集血液和化合物处理
- [0470] 经由眼窝后静脉将静脉血收集到真空采血管 (BD vacutainer) (缓冲液为柠檬酸钠 0.109M, 3.2%) 抗凝试管 (BD Franklin (#8019827)) 中，然后转移到 6 孔盘中 (Costar #3516)。藉由在  $37^{\circ}\text{C}$  加入 hIL6 (10ug/mL) 反应 30 分钟来刺激 Stat3 磷酸化。在  $37^{\circ}\text{C}$  下用甲醛（最后浓度 2% v / v）固定血液 10 分钟。
- [0471] 分离 PBMCs
- [0472] 在温 Histopaque 溶液 (Sigma cat# 10771, 1:2 的比例, 3.5ml 血液 + 7.5ml Histopaque) 上覆盖血液。于室温以 1500rpm 转速离心 30 分钟（离心机 (Eppendorf) #5810R, 离心机转盘 A-4-62) (使用零减速)。使用微量吸管藉由吸取半透明层来分离血块黄层 (PBMCs)，并用 PBS-1 $\times$  清洗两次。
- [0473] 透化作用
- [0474] 藉由加入冰甲醇来使预冷却的 PBMCs 具可通透性，同时轻轻地混合（最后体积 90% MeOH v / v）并在冰上培养 30 分钟。
- [0475] 使用未标示的一级和结合的二级抗体 (Ab) 来染色
- [0476] 用 PBS 来清洗可通透的 PBMCs 一次。在室温 (RT) 使 PBMCs 重新悬浮成  $2 \times 10^6$  细胞在 200  $\mu\text{L}$  培养缓冲液中 10 分钟。加入一级 Ab (1:100 稀释) 且在 RT 培养 45 分钟。如上清洗（两次）且使其重新悬浮到荧光结合的二级 Ab (1:500 稀释) 中并于暗房在室温反应 30 分钟。清洗并于 500  $\mu\text{L}$  PBS 中重新悬浮。
- [0477] 藉由 FACS 分析 pStat3
- [0478] 使用 FACS 口径机械 (BD) 来量测 pStat3。未染色的 PBMCs 用于细胞仪设定。一级（对 pSTAT3- 磷 Y705 的兔子多株抗体 - Abcam # ab30646）与二级抗体（山羊抗兔子 IgG-Zymed81-6111）染色的 PBMCs（是做为对照组（峰值 M1）、用同位素染色的 IL-6 单独刺激细胞对照组做为阳性对照组（峰值朝右边移动 (M2)）。化合物 / 抑制剂加上 IL6 处理的细胞的峰值（朝向左侧移动）。绘制直方图（细胞数目 V/s FL1-H）。由 IL6 刺激而磷酸化 (M2 群体)、和由抑制剂对磷酸化抑制 (M2 群体下降) 的细胞的百分比藉由标示峰值 M1 和 M2 于直方图上加以计算。

[0479] 肿瘤：

[0480] 分离肿瘤，并且藉由在速度 #4 下使用 IKA 10 十秒钟使 200mg 的肿瘤破碎（每毫升 45 毫克）。经由 100u 筛出肿瘤萃取物，于 900g 离心 10 分钟。在 0.5-1ml PBS 中简短地使细胞重新悬浮。加入甲醛达到 2-4% 甲醛的最后浓度。在 37° C 下固定 10 分钟。在冰上冷却试管 1 分钟。

[0481] 透化作用

[0482] 藉由将冰 100% 甲醇缓慢加入预冷细胞中，同时轻轻地混合，以达到 90% 甲醇的最后浓度，来透化细胞。或者，在透化之前去除固定，藉由离心使细胞成粒状并重新悬浮于 90% 甲醇中。在冰上培养 30 分钟。进行染色或是将细胞储存在 -20° C 于 90% 甲醇中。分装 0.5-1x10<sup>6</sup> 细胞于每个试验管中（体积）。将 2-3ml 培养缓冲液加入每个试管并由离心冲洗。重复。在每个试验管以 100 μ l 培养缓冲液使细胞重新悬浮。如 PBMCs 以流式细胞仪分析。

[0483] 结果：

[0484] 表 5

[0485]

模型：		B16F10 模型		A549 异体移植模型		
化合物	剂量	转移抑制性	PBMCs %p Stat3 抑制性	%TGI (肿瘤生长抑制性)	PBMCs %pStat3 抑制性	肿瘤 %pStat3 抑制性
45	10MPK	n/d	n/d	28.90	55.61	44.46
	30MPK	73%	66	55.62	60.66	48.92
	100MPK	75%	73	63.86	65.28	61.51
	150MPK	n/d	n/d	53.74	76.56	57.08
泰素	5MPK	32%	25	n/a	n/a	n/a
厄洛替尼	100MPK	n/a	n/a	59.55	44.43	28.14
长春瑞滨	8MPK	n/a	n/a	51.89	28.8	25.2
吉非替尼	100MPK	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

模型:		A431 异体移植模型		
化合物	剂量	%TGI (肿瘤生长 抑制性)	PBMCs %pStat3 抑 制性	肿瘤%pStat3 抑制性
[0486] 45	10MPK	n/d	n/d	n/d
	30MPK	n/d	n/d	n/d
	100MPK	52.55	56.32	44.3
	150MPK	n/d	n/d	n/d
泰素	5MPK	n/a	n/a	n/a
厄洛替尼	100MPK	n/a	n/a	n/a
长春瑞滨	8MPK	n/a	n/a	n/a
吉非替尼	100MPK	94.25	54.1	45.44

[0487] 1. 化合物编号 45 显示在无胸腺小鼠中有良好耐受性 (到达 250MPK)。

[0488] 2. 除了在胃肠道的少量偏差以外,在无胸腺小鼠于 14 天的每日给药一次治疗之下,化合物编号 45 并未造成显著毒性效应于主要器官上。

[0489] 3. 在 B16F10 转移模型中,化合物编号 45 展现良好的抗肿瘤性。当依 Q1Dx14 给药,100MPK 的化合物编号 45 会造成肺上转移数量减少 75%。

[0490] 4. 在 B16F10 存活率模型中化合物编号 45 的抗肿瘤性会造成 37.5% 的存活率优势,其对这种侵略性模型来说是显著的 (给药:Q1Dx14)。

[0491] 5. 在 A549 异体移植模型,100MPK 的化合物编号 45 (Q1Dx14) 展示 64% 的肿瘤生长抑制性。150MPK 的较高剂量会造成 54 的 TGI,尽管从 100MPK 结果来看并非统计学上显著的。

[0492] 6. 在 A549 药效研究期间,对于高达 150MPK 的化合物编号 45 并未观察到化合物相关毒性的主要效应。

[0493] 由化合物编号 117 和 179 所得的进一步结果展示于表 6 和图 4。

[0494] 表 6

[0495]

试验	化合物 编号 45	化合物 编号 117	化合物 编号 179
MTD (MPK)	250	100	30
在 PBMCs 中%pSTAT3 抑制性 (MTD 研究)	在 100 MPK 为 84%	在 100 MPK 为 83%	在 30 MPK 为 65%
药效-100 MPK 的 B16F10 存活率优势 %转移抑制性	9 天 75%	1 天 26%	4 天 47%
药效-100 MPK 的 A549 TGI %pSTAT3 抑制性 (肿瘤)	在 100 MPK 为 64% 在 100 MPK 为 62%	在 100 MPK 为 56% 在 100 MPK 为 47%	在 30 MPK 为 68% 在 30 MPK 为 79%
药效-100 MPK 的 A431 TGI %pSTAT3 抑制性 (肿瘤)	48% 45%	54% 10%	67% 54%

[0496] 体积分布

[0497] 化合物分布的高体积表示化合物进入器官和组织, 适合治疗固体肿瘤, 而低分布体积则表示化合物具有较低的进入器官和组织的能力, 因此会留在血液循环中。故, 具有较弱分布体积的化合物 (如化合物编号 171) 较适合治疗血液 (血液性) 肿瘤。表 8 提供本发明化合物的部分体积分布值。

[0498] 表 8

[0499]

化合物编号	Vd(ml/kg)
45	5894
171	794
185	583.2
17	7700

---

162	3350
155	11807
131	7141
147	20606

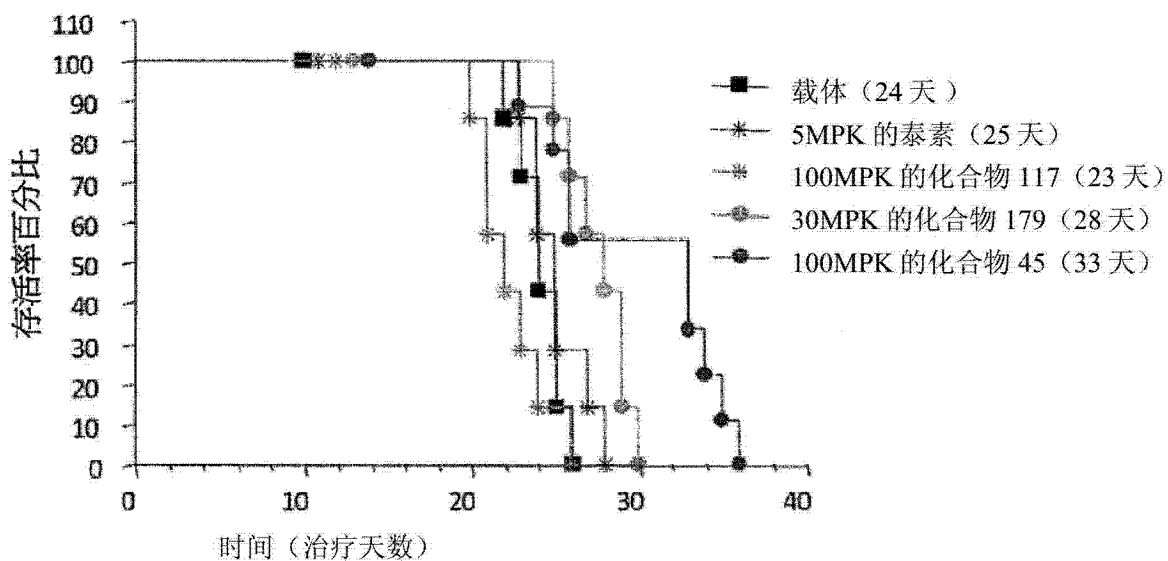


图 1

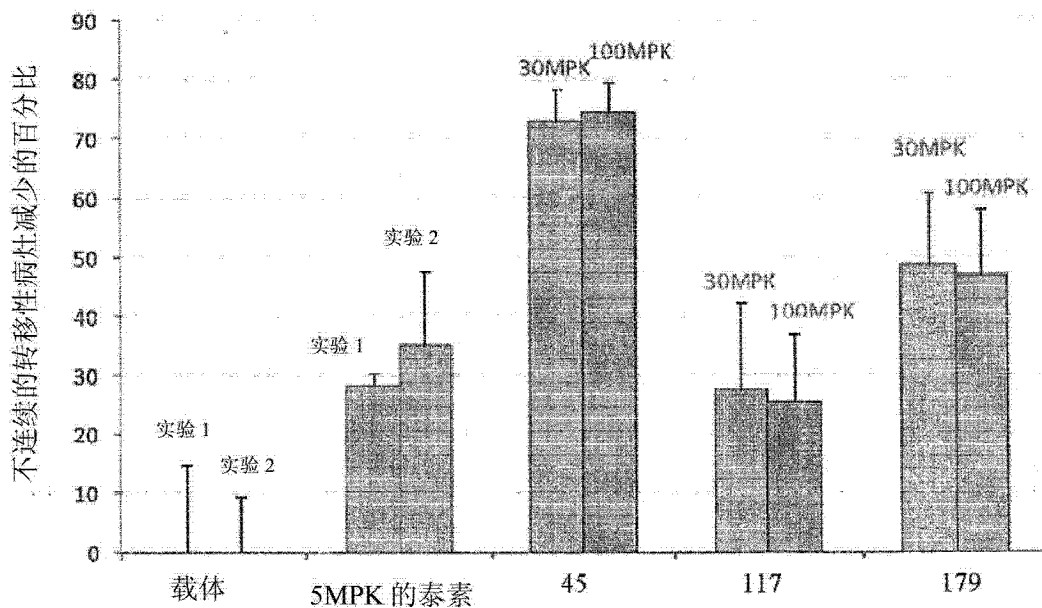


图 2

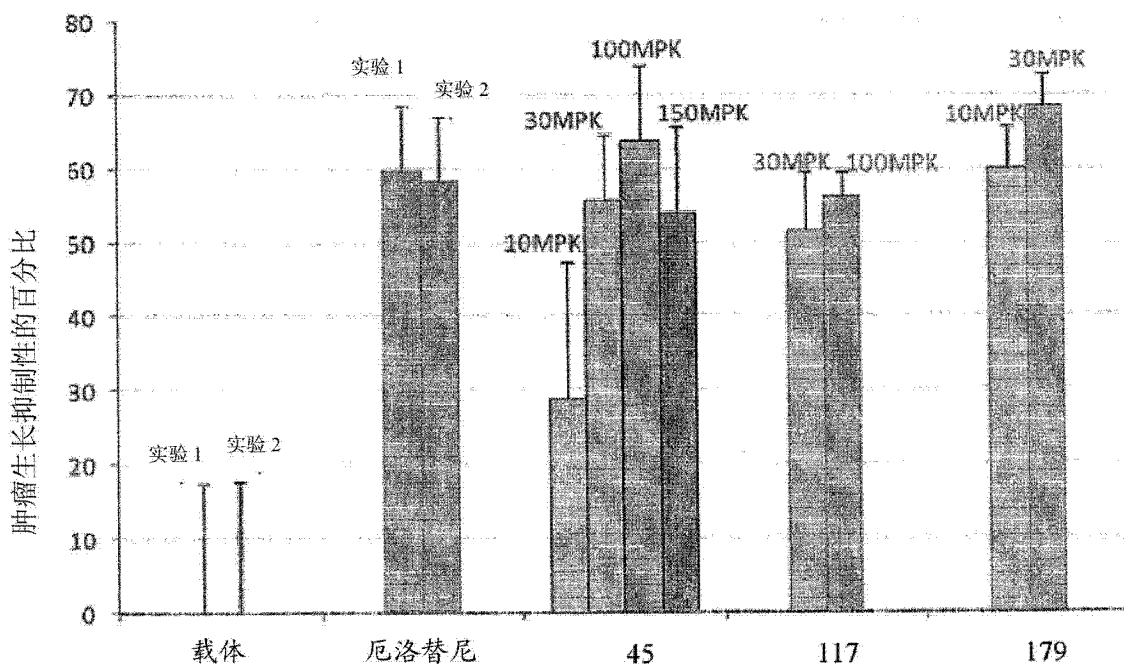


图 3

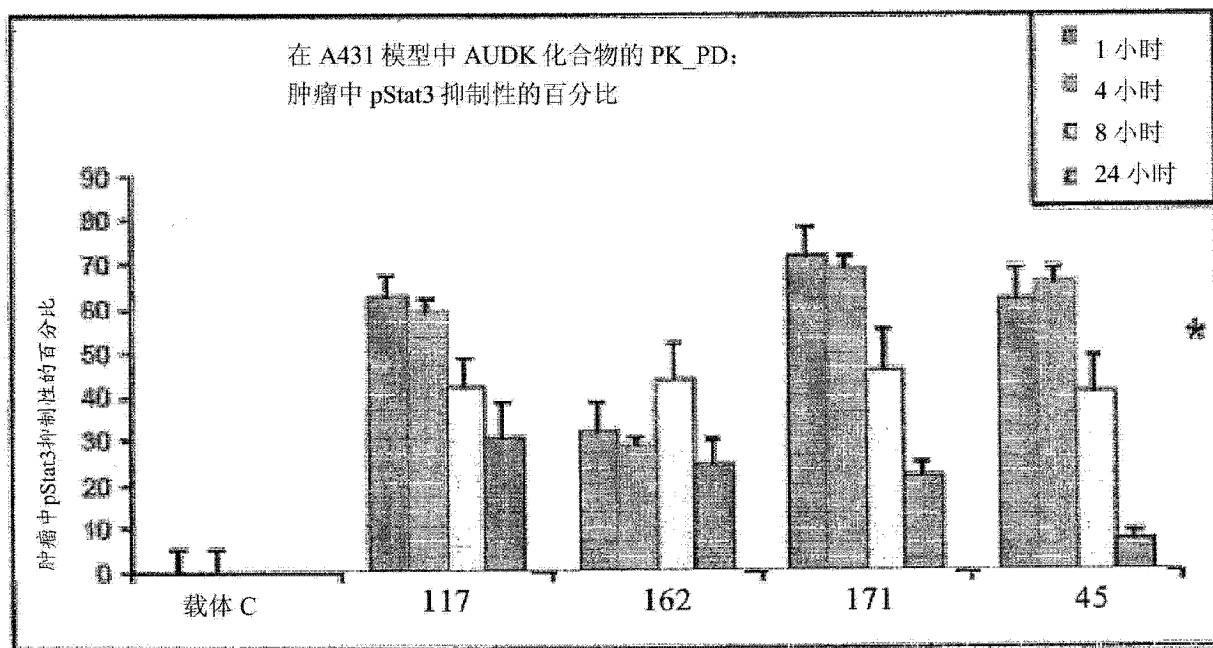


图 4