



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105384754 B

(45)授权公告日 2018.04.20

(21)申请号 201510543750.8

A61P 17/00(2006.01)

(22)申请日 2015.08.28

A61P 3/10(2006.01)

A61P 27/02(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105384754 A

(43)申请公布日 2016.03.09

(66)本国优先权数据

201410443371.7 2014.09.02 CN

(73)专利权人 上海科州药物研发有限公司

地址 201203 上海市浦东新区哈雷路1043号305室

(72)发明人 田红旗 黄功超

(74)专利代理机构 北京布瑞知识产权代理有限公司

11505

代理人 张丹

(51)Int. Cl.

C07D 495/04(2006.01)

C07D 493/04(2006.01)

C07D 471/04(2006.01)

A61K 31/4365(2006.01)

A61K 31/436(2006.01)

A61K 31/437(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 29/00(2006.01)

A61P 1/00(2006.01)

(56)对比文件

CN 101605794 A, 2009.12.16,

CN 1261877 A, 2000.08.02,

CN 1333754 A, 2002.01.30,

CN 1446197 A, 2003.10.01,

CN 1652792 A, 2005.08.10,

CN 1874768 A, 2006.12.06,

CN 101663279 A, 2010.03.03,

CN 102458580 A, 2012.05.16,

CN 103748085 A, 2014.04.23,

WO 0037141 A1, 2000.06.29,

WO 2013142427 A1, 2013.09.26,

CN 102020651 A, 2011.04.20,

CN 101379067 A, 2009.03.04,

刘国华,等.抗肿瘤药物MEK激酶抑制剂的研究进展.《中南药学》.2013,第11卷(第5期),第372-376页.

鲁楠.MEK抑制剂的设计、合成与生物活性评价.《广西医科大学硕士学位论文》.2012,第1-103页.

审查员 孙静

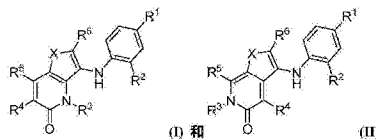
权利要求书8页 说明书34页

(54)发明名称

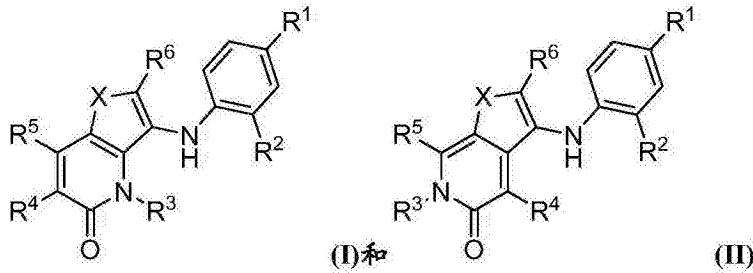
作为蛋白激酶抑制剂的杂环类化合物及其制备方法和用途

(57)摘要

本发明涉及式(I)和(II)的化合物及其药物学上可接受的盐、前药和溶剂化物,其中R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、和X如说明书中所定义。这类化合物是蛋白激酶抑制剂,尤其是蛋白激酶抑制剂Mek抑制剂,并且可用于治疗哺乳动物中癌症和炎症。本发明还公开了式(I)和(II)化合物的制备方法以及包含所述化合物的药物组合物。



1. 式 (I) 和 (II) 的化合物及其药学上可接受的盐



其中

R¹选自氢、卤素、C₁-C₁₀烷氧基、C₁-C₁₀烷硫基、卤代-C₁-C₁₀烷氧基、卤代-C₁-C₁₀烷硫基、卤代-C₁-C₁₀烷基；

R²、R⁴和R⁵各自独立地选自氢、卤素、C₁-C₁₀烷基，

其中所述C₁-C₁₀烷基可被一个或多个选自以下的基团任选取代：氧代、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、-OR⁷、-C(O)R⁷、-C(O)OR⁷、-NR⁸C(O)OR¹⁰、-OC(O)R⁷、-NR⁸SO₂R¹⁰、-SO₂NR⁷R⁸、-NR⁸C(O)R⁷、-C(O)NR⁷R⁸、-NR⁹C(O)NR⁷R⁸、-NR⁹C(NCN)NR⁷R⁸、-NR⁷R⁸；

R³选自未被取代的或被一个或多个氟原子任意取代的C₁-C₁₀烷基；

R⁶为-C(O)NR⁸OR⁷或-C(O)NR⁸R⁷；

R⁷为被1至6个羟基取代的C₁-C₆烷基，或C₃-C₁₀环烷基C₁-C₁₀烷基；

R⁸为氢或C₁-C₆烷基；

X选自氧、硫或氮；

R⁹选自氢或C₁-C₁₀的烷基；

R¹⁰选自氢或C₁-C₁₀的烷基。

2. 权利要求1的式 (I) 和 (II) 化合物，及其药学上可接受的盐，其中

R¹为氟、氯、溴、碘、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、卤代-C₁-C₆烷氧基、卤代-C₁-C₆烷硫基、卤代-C₁-C₆烷基；

R²选自氢、卤素、C₁-C₆烷基或卤代C₁-C₆烷基；

R³选自未被取代的或被一个或多个氟原子任意取代的C₁-C₄烷基；

R⁴选自氢；

R⁵选自氢、卤素、三氟甲基或C₁-C₆烷基；

R⁶为-C(O)NR⁸OR⁷或-C(O)NR⁸R⁷；

R⁷为被1至6个羟基取代的C₁-C₆烷基，或C₃-C₁₀环烷基C₁-C₁₀烷基；

R⁸为氢或C₁-C₆烷基；

X选自氧、硫或氮。

3. 权利要求1的式 (I) 和 (II) 化合物，及其药学上可接受的盐，其中

R¹为溴、碘、C₁-C₄烷硫基、卤代-C₁-C₄烷氧基、卤代-C₁-C₄烷基；

R²选自氢、氟、氯、溴、C₁-C₄烷基或卤代C₁-C₄烷基；

R³选自未被取代的或被一个或多个氟原子任意取代的C₁-C₂烷基；

R⁴选自氢；

R⁵选自氢、氟、氯、溴或C₁-C₄烷基；

R⁶为-C(O)NR⁸OR⁷或-C(O)NR⁸R⁷；

R^7 为被1至3个羟基取代的 C_1 - C_4 烷基,或 C_3 - C_8 环烷基 C_1 - C_6 烷基;

R^8 为氢或 C_1 - C_4 烷基;

X选自氧、硫或氮。

4. 权利要求1的式(I)和(II)化合物,及其药学上可接受的盐,其中

R^1 为溴、碘、甲硫基、三氟甲氧基、三氟甲基;

R^2 代表氟、氯、甲基或三氟甲基;

R^3 选自甲基、乙基、 $-CH_2F$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CH_2CH_2F$;

R^4 代表氢;

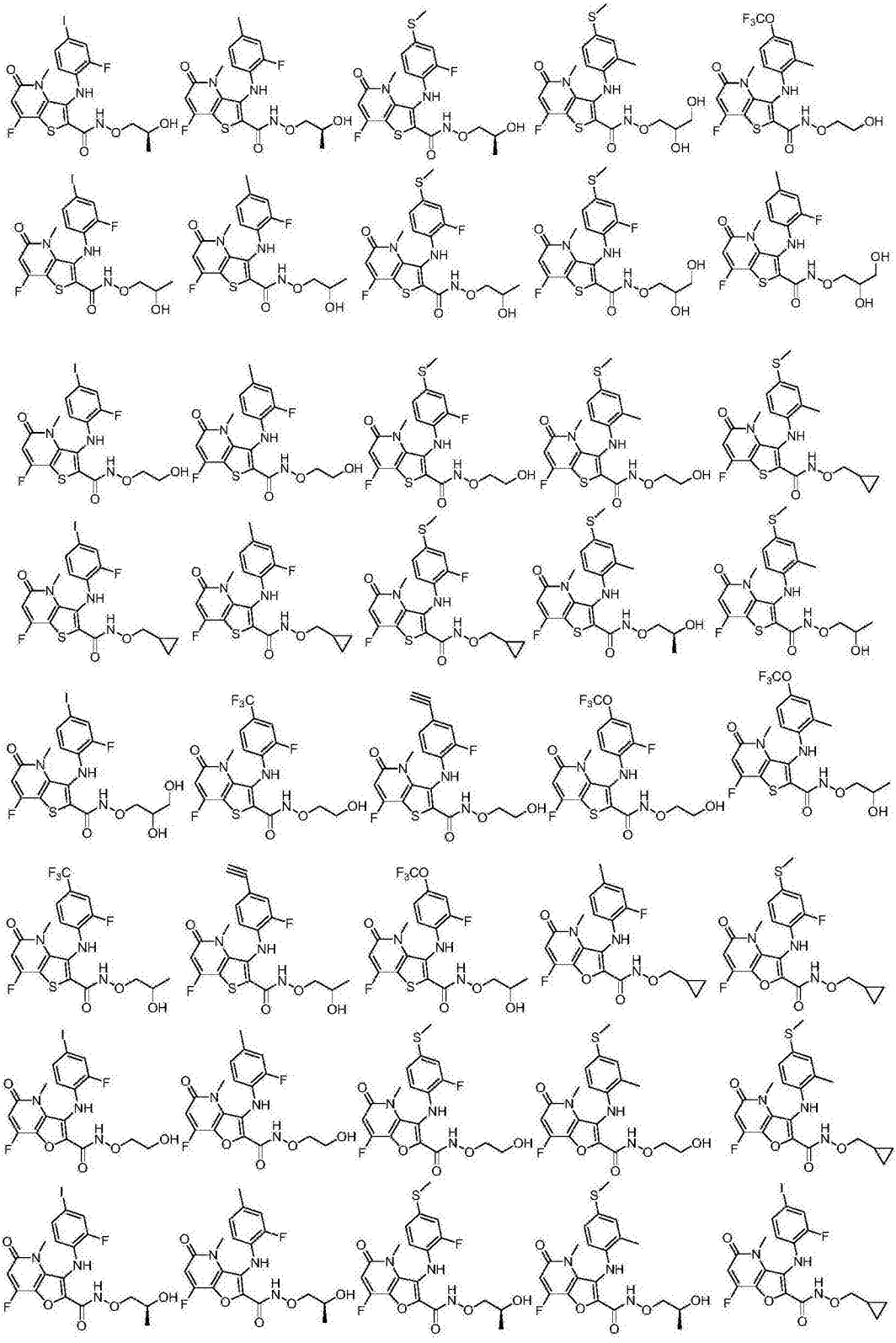
R^5 代表氢、氟、氯或甲基;

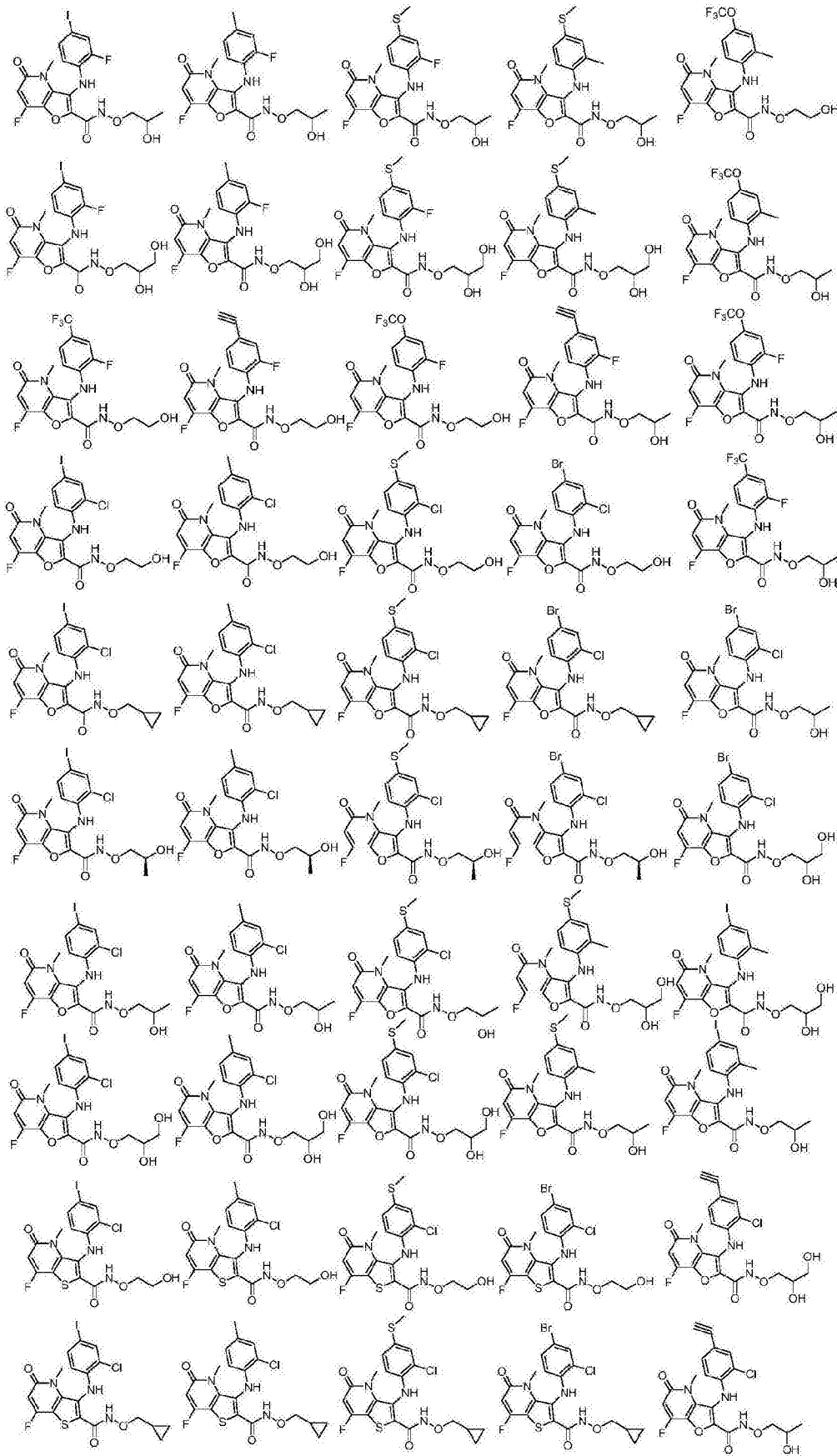
R^6 为 $-C(O)NHR^7$ 或 $-C(O)NHR^7$;

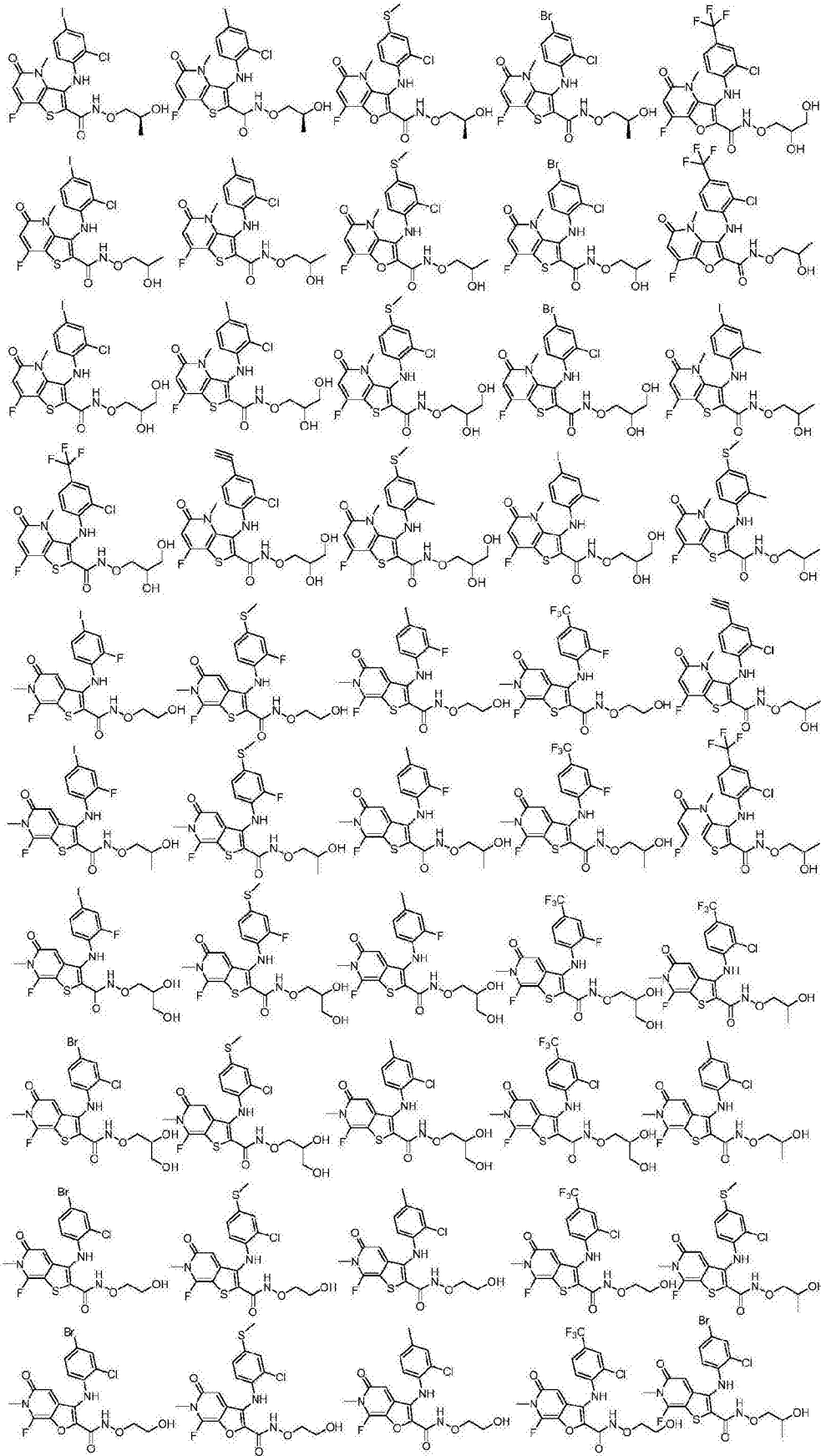
R^7 为被1至3个羟基取代的乙基、丙基或异丁基,或 C_3 - C_6 环烷基 C_1 - C_4 烷基;

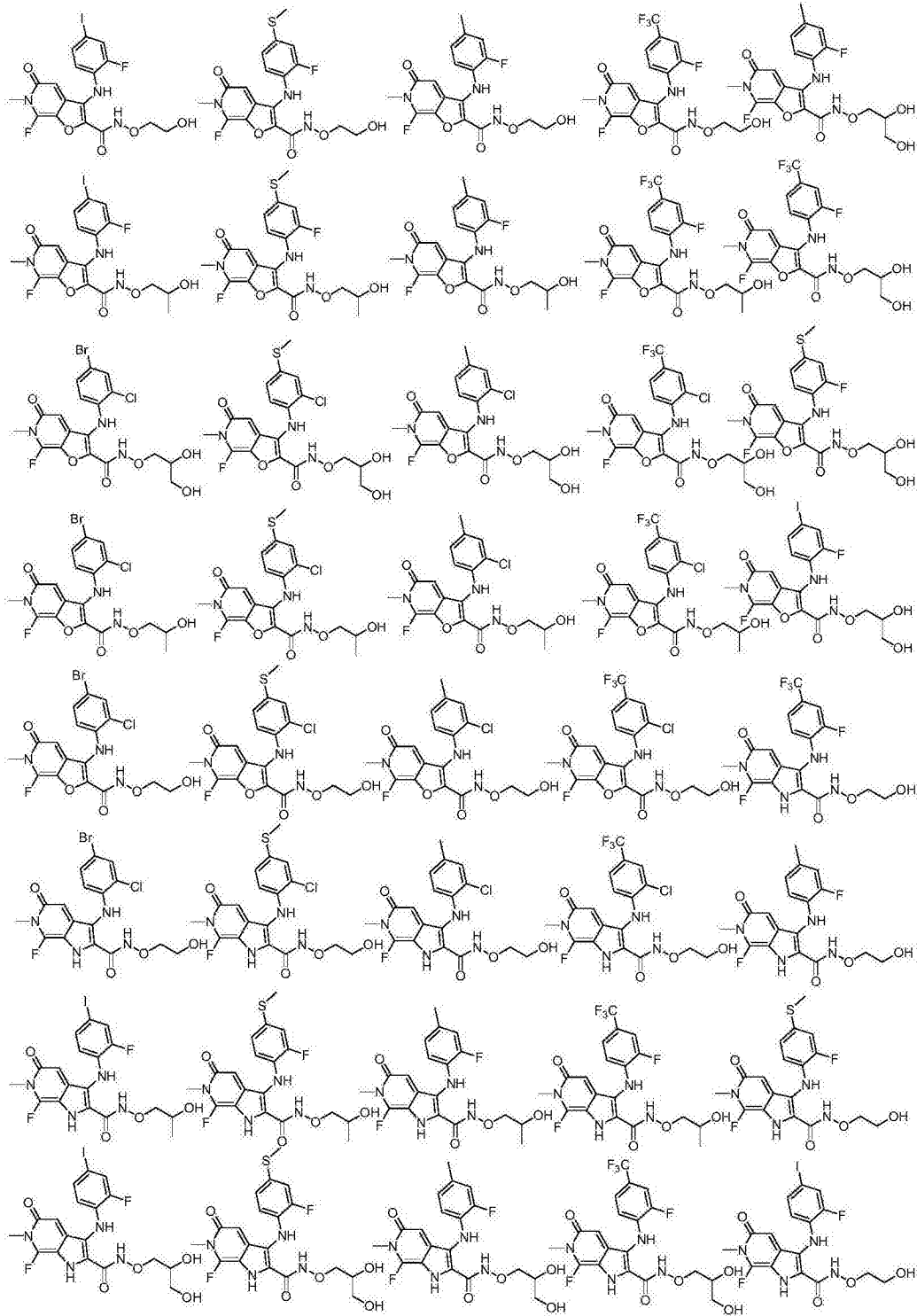
X选自氧、硫或氮。

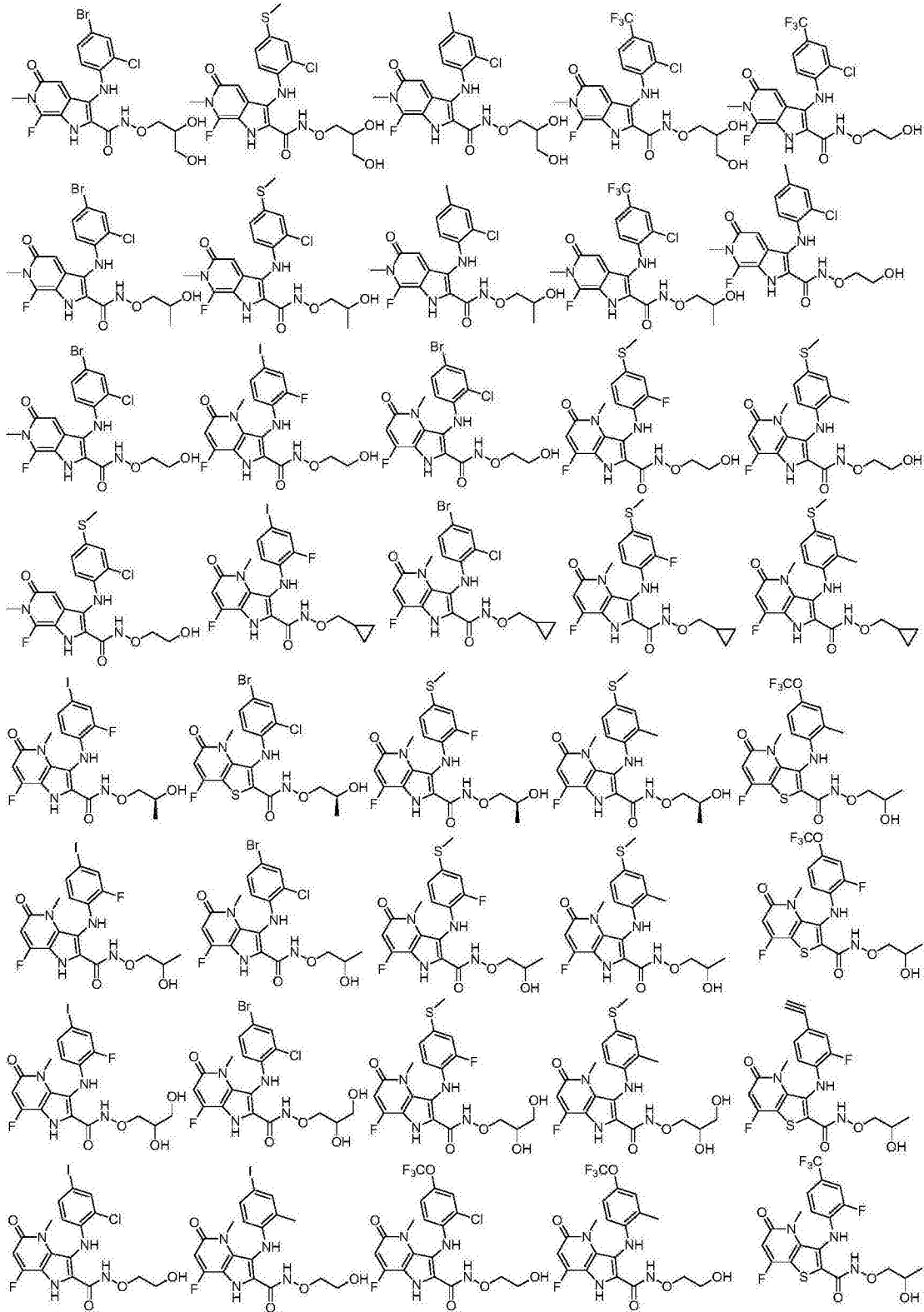
5. 一种化合物,及其药学上可接受的盐,其中所述化合物选自:

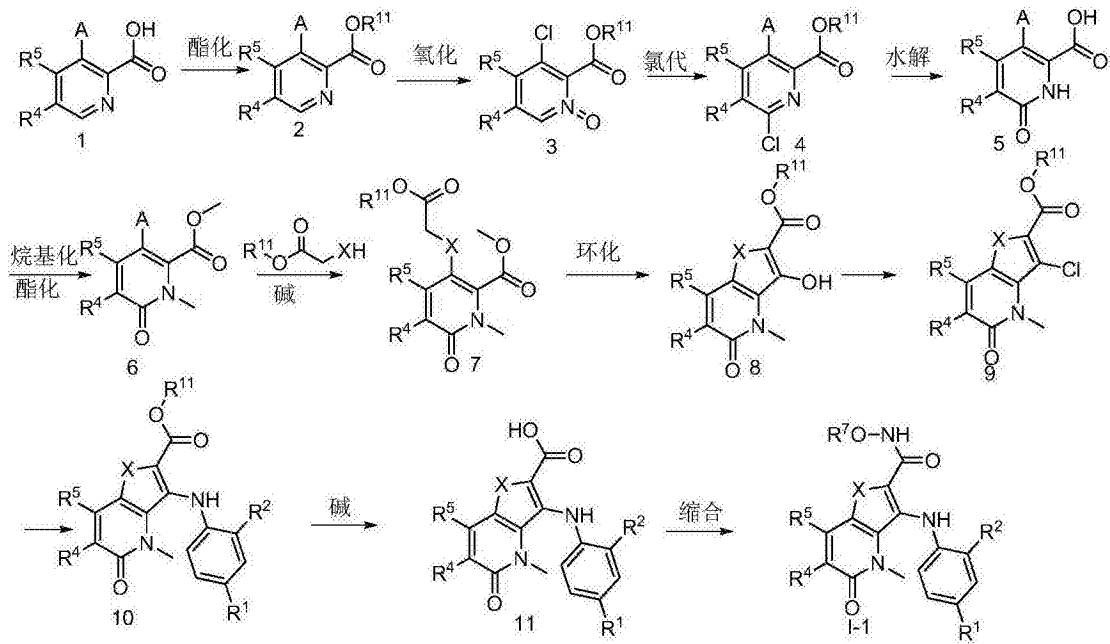












7. 一种包括权利要求1-4任一项所述的式 (I) 和 (II) 化合物、权利要求5所述的化合物或其药学上可接受的盐的药用组合物。

8. 权利要求1-4任一项所述的式 (I) 和 (II) 化合物、权利要求5所述的化合物及其药学上可接受的盐用于制造治疗哺乳动物的肿瘤、慢性炎症疾病、皮肤病、糖尿病、眼部疾病、与哺乳动物的血管发生或血管再生术相关的疾病、与慢性疼痛相关的疾病的药物的用途。

作为蛋白激酶抑制剂的杂环类化合物及其制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明涉及蛋白激酶(尤其是蛋白激酶Mek)抑制剂,更具体而言,涉及作为蛋白激酶(尤其是蛋白激酶Mek)抑制剂的杂环并吡啶化合物及其药学上可接受的盐、前药、溶剂化物、及包含这些物质的组合物,并且涉及所述杂环并吡啶化合物的制备方法,还涉及所述咪唑并吡啶衍生物及其药学上可接受的盐、前药和溶剂化物作为蛋白激酶(尤其是蛋白激酶Mek)抑制剂的用途。

背景技术

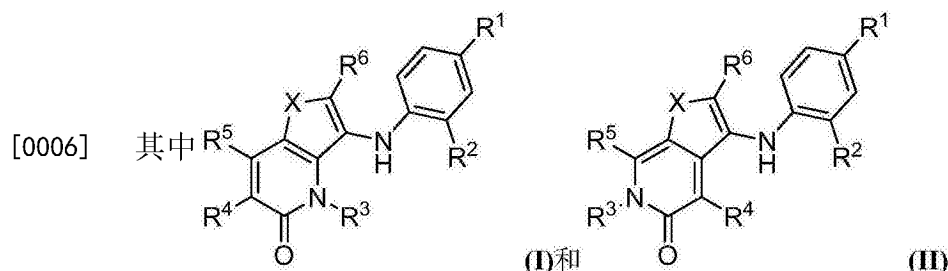
[0002] 通过生长因子和蛋白激酶控制的细胞信号转导在细胞的生长、增殖和分化起着重要的作用。在正常细胞的生长中,生长因子(如PDGF或EGF等)通过受体活化(如ErbB2、EGFR、PDGFR等)激活MAP(Mitogen-activating protein)激酶信号传导通道。Ras/Raf/Mek/Erk信号传导机制是细胞生长最重要的途径之一。在增殖性疾病中,由于生长因子受体或其下游的蛋白激酶发生基因突变或过度表达,从而导致细胞的生长失去控制,最终导致癌症。例如在某些癌症中,由于基因突变,使得该信号传导机制被持续的活化,从而导致了一些生长因子的持续产生,最后导致了细胞的生长失去了控制,从而癌变。统计数据表明,50%的结肠癌、90%以上的胰腺癌是由于Ras基因突变导致的;60%以上的恶性黑色素瘤是由于bRaf基因突变所导致的。研究表明,在多种癌症中均发现Ras/Raf/Mek/Erk信号传导机制被连续的活化或过度的活化,如胰腺癌、结肠癌、肺癌、膀胱癌、肾癌、皮肤癌、乳腺癌等等。

[0003] 由于该信号传导机制的过度活化在癌细胞的增殖和分化中起了重要作用,所以抑制该途径有助于对这类过度增殖性疾病的治疗。Mek位于Ras和Raf的下游靶,在该途径中起着关键的作用,Mek磷酸化的底物是MAP激酶Erk。如果Mek被抑制,则Ras/Raf/Mek/Erk信号传导途径就会被关闭,从而癌细胞的增殖就会被抑制。因此,Mek抑制剂可以抑制癌细胞的增长,尤其是对于Ras或Raf过度活化导致的癌症。与此同时Mek也涉及炎症类的疾病和症状,包括急性和慢性炎症。

[0004] Mek抑制剂已经在裸鼠的药效学实验中显示了一定的药效。最近一些Mek抑制剂已经进入临床,并且也显示了一定的药效。因此Mek是潜在成药性的新靶标,正因如此,越来越多的Mek抑制剂正在被开发和报道出来。例如,WO 98/43960;WO 99/01421;WO 99/01426;WO 00/41505;WO 00/42002;WO 00/41003;WO 00/41994;WO 00/42022;WO 00/42029;WO 00/68201;WO 01/68619;WO 01/005390;WO 02/06213;WO 03/077914;WO 03/077855;WO 03/077914;WO 05/023251;WO 05/023759;WO 05/051300;WO 05/051301;WO 05/051302;WO 05/051906;WO 05/000818;WO 05/007616;WO 05/009975;WO 05/046665;WO 06/134469;WO 07/044084;WO 07/014011;WO 07/121269;WO 07/121481;WO 07/071951;WO 07/044515;WO 08/021389;WO 08/076415;WO 08/089459;WO 08/078086;WO 08/120004;WO 08/124085;WO 08/125820;WO 09/018238;WO 09/074827;WO 09/013426;WO 09/093008;WO 09/093009;WO 09/093013;WO 09/153554;WO 12/059041;EP 1780191;US 2012/0238599;WO 2007/044084等等。

发明内容

[0005] 本发明的一个方面提供式 (I) 和 (II) 的化合物及其药学上可接受的盐、前药和溶剂化物



[0007] R^1 选自氢、卤素、氰基、硝基、叠氮基、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-NR^8C(O)OR^{10}$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-NR^8SO_2R^{10}$ 、 $-SO_2NR^7R^8$ 、 $-NR^8C(O)R^7$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(NCN)NR^7R^8$ 、 $-NR^7R^8$ 、 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、 C_3-C_{10} 环烷基、 C_3-C_{10} 环烷基 C_1-C_{10} 烷基、 $-S(O)_j(C_1-C_{10})$ 烷基)、 $-S(O)_j(CR^8R^9)_m-C_6-C_{14}$ 芳基、 C_6-C_{14} 芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂芳基、杂芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂环基、杂环基 C_1-C_{10} 烷基、 $-O(CR^8R^9)_m-C_6-C_{14}$ 芳基、 $-NR^8(CR^8R^9)_m-C_6-C_{14}$ 芳基、 $-O(CR^8R^9)_m$ -杂芳基、 $-NR^8(CR^8R^9)_m$ -杂芳基、 $-O(CR^8R^9)_m$ -杂环基或 $-NR^8(CR^8R^9)_m$ -杂环基；

[0008] 其中所述 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、 C_3-C_{10} 环烷基、 C_6-C_{14} 芳基、杂芳基和杂环基部分可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：氧代、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、 $-OR^7$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-NR^8C(O)OR^{10}$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-NR^8SO_2R^{10}$ 、 $-SO_2NR^7R^8$ 、 $-NR^8C(O)R^7$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(NCN)NR^7R^8$ 、 $-NR^7R^8$ 、 C_6-C_{14} 芳基、 C_6-C_{14} 芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂芳基、杂芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂环基、杂环基 C_1-C_{10} 烷基；

[0009] R^2 、 R^4 和 R^5 各自独立地选自氢、卤素、硝基、叠氮基、 $-OR^7$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-NR^8C(O)OR^{10}$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-NR^8SO_2R^{10}$ 、 $-SO_2NR^7R^8$ 、 $-NR^8C(O)R^7$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(NCN)NR^7R^8$ 、 $-NR^7R^8$ 、 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、 C_3-C_{10} 环烷基、 C_3-C_{10} 环烷基 C_1-C_{10} 烷基、 $-S(O)_j(C_1-C_{10})$ 烷基)、 $-S(O)_j(CR^8R^9)_m$ 、 C_6-C_{14} 芳基、 C_6-C_{14} 芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂芳基、杂芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂环基、杂环基 C_1-C_{10} 烷基、 $-O(CR^8R^9)_m-C_6-C_{14}$ 芳基、 $-NR^8(CR^8R^9)_m-C_6-C_{14}$ 芳基、 $-O(CR^8R^9)_m$ -杂芳基、 $-NR^8(CR^8R^9)_m$ -杂芳基、 $-O(CR^8R^9)_m$ -杂环基、 $-NR^8(CR^8R^9)_m$ -杂环基；

[0010] 其中所述 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、 C_3-C_{10} 环烷基、 C_6-C_{14} 芳基、杂芳基和杂环基部分可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：氧代、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、 $-OR^7$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-NR^8C(O)OR^{10}$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-NR^8SO_2R^{10}$ 、 $-SO_2NR^7R^8$ 、 $-NR^8C(O)R^7$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(NCN)NR^7R^8$ 、 $-NR^7R^8$ 、 C_6-C_{14} 芳基、 C_6-C_{14} 芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂芳基、杂芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂环基、杂环基 C_1-C_{10} 烷基；

[0011] R^3 选自 C_1-C_{12} 烷基，其中所述的烷基可以被一个或多个氟原子任意取代；

[0012] R^6 选自杂芳基、杂环基、 $-C(O)OR^7$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)NR^8OR^7$ 、 $-C(O)R^8OR^7$ 、 $-C(O)(C_3-C_{10})$ 环烷基)、 $-C(O)(C_1-C_{10})$ 烷基)、 $-C(O)(C_6-C_{14})$ 芳基)、 $-C(O)(杂芳基)$ 和 $-C(O)(杂环基)$ ；

[0013] 这些基团可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代： $-NR^7R^8$ 、 $-OR^7$ 、 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基和 C_2-C_{10} 炔基，它们中的每一个都任选地被1或2个选自 $-NR^7R^8$ 和 $-OR^7$ 中的基团取代；

[0014] R^7 、 R^8 和 R^9 各自独立地选自氢、 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、 C_3-C_{10} 环烷基、

C₃-C₁₀环烷基、C₁-C₁₀烷基、C₆-C₁₄芳基、C₆-C₁₄芳基C₁-C₁₀烷基、杂芳基、杂芳基C₁-C₁₀烷基、杂环基、和杂环基C₁-C₁₀烷基；

[0015] 其中所述C₁-C₁₀烷基、C₂-C₁₀烯基、C₂-C₁₀炔基、C₃-C₁₀环烷基、C₆-C₁₄芳基、杂芳基和杂环基部分可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：羟基、氧代、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、-NR' SO₂R''''、-SO₂NR' R''、-C(O) R'、-C(O) OR'、-OC(O) R'、-NR' C(O) R''''、-NR' C(O) R''、-C(O) NR' R''、-SR'、-S(O) R''''、-SO₂R''''、-NR' R''、-NR' C(O) NR'' R''''、-NR' C(NCN) NR'' R''''、-OR'、C₆-C₁₄芳基、杂芳基、C₆-C₁₄芳基C₁-C₁₀烷基、杂芳基C₁-C₁₀烷基、杂环基、和杂环基C₁-C₁₀烷基；

[0016] 或者

[0017] R⁷和R⁸与它们所连接的原子一起形成3-10元杂芳基或杂环；

[0018] 这些基团可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、-NR' SO₂R''''、-SO₂NR' R''、-C(O) R'、-C(O) OR'、-OC(O) R'、-NR' C(O) R''''、-NR' C(O) R''、-C(O) NR' R''、-SR'、-S(O) R''''、-SO₂R''''、-NR' R''、-NR' C(O) NR'' R''''、-NR' C(NCN) NR'' R''''、-OR'、C₆-C₁₄芳基、杂芳基、C₆-C₁₄芳基C₁-C₁₀烷基、杂芳基C₁-C₁₀烷基、杂环基、和杂环基C₁-C₁₀烷基；

[0019] 或者

[0020] R⁸和R⁹与它们所连接的原子一起形成3-10元杂芳基或杂环；

[0021] 这些基团可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、-NR' SO₂R''''、-SO₂NR' R''、-C(O) R'、-C(O) OR'、-OC(O) R'、-NR' C(O) R''''、-NR' C(O) R''、-C(O) NR' R''、-SR'、-S(O) R''''、-SO₂R''''、-NR' R''、-NR' C(O) NR'' R''''、-NR' C(NCN) NR'' R''''、-OR'、C₆-C₁₄芳基、杂芳基、C₆-C₁₄芳基C₁-C₁₀烷基、杂芳基C₁-C₁₀烷基、杂环基、和杂环基C₁-C₁₀烷基；

[0022] R¹⁰选自氢、C₁-C₁₀烷基、C₃-C₁₀环烷基、C₆-C₁₄芳基、C₆-C₁₄芳基C₁-C₁₀烷基、杂芳基、杂芳基C₁-C₁₀烷基、杂环基、杂环基C₁-C₁₀烷基；

[0023] 其中所述C₁-C₁₀烷基、C₃-C₁₀环烷基、C₆-C₁₄芳基、杂芳基和杂环基部分可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：氧代、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、-NR' SO₂R''''、-SO₂NR' R''、-C(O) R'、-C(O) OR'、-OC(O) R'、-NR' C(O) R''''、-NR' C(O) R''、-C(O) NR' R''、-SR'、-S(O) R''''、-SO₂R''''、-NR' R''、-NR' C(O) NR'' R''''、-NR' C(NCN) NR'' R''''、-OR'、C₆-C₁₄芳基、杂芳基、C₆-C₁₄芳基C₁-C₁₀烷基、杂芳基C₁-C₁₀烷基、杂环基、和杂环基C₁-C₁₀烷基；

[0024] R'、R''和R'''独立地选自氢、C₁-C₁₀烷基、C₂-C₆烯基、C₆-C₁₄芳基和C₆-C₁₄芳基C₁-C₁₀烷基；

[0025] R''''选自C₁-C₁₀烷基、C₂-C₆烯基、C₆-C₁₄芳基和C₆-C₁₄芳基C₁-C₁₀烷基；

[0026] 或者

[0027] R'、R''、R'''或R''''中的任意两个可与它们所连接的原子一起形成3-10元杂芳基或杂环；

[0028] 这些基团可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：卤素、氰基、硝基、三氟甲基、二氟甲氧基、三氟甲氧基、叠氮基、C₆-C₁₄芳基、杂芳基、C₆-C₁₄芳基C₁-C₁₀烷基、杂芳基C₁-C₁₀烷基、杂环基、和杂环基C₁-C₁₀烷基；

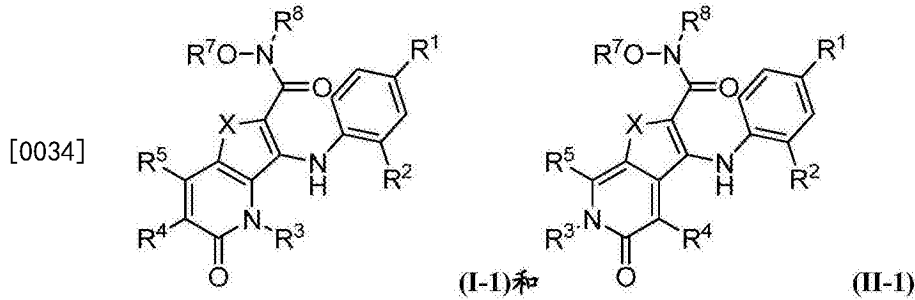
[0029] X选自氧、硫或氮；

[0030] m为0、1、2、3、4或5；并且

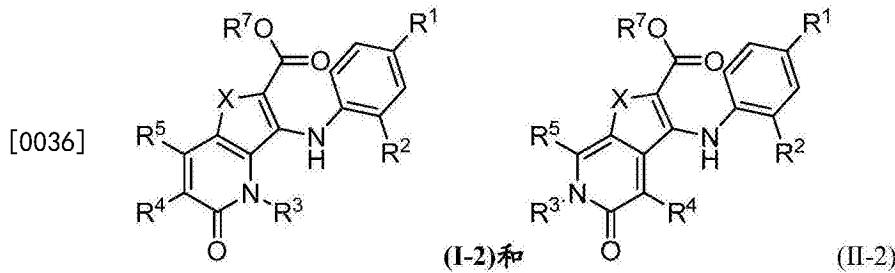
[0031] J为0、1或2。

[0032] 依据取代基的不同，式(I)和(II)化合物可以旋光异构体或不同组成的异构体混合物形式存在，所述混合物如果合适可通过常规方式分离。本发明提供了纯异构体和异构体混合物，及其制备方法和用途，以及包括它们的组合物。为简便起见，下文中将其称为式(I)化合物，其既指纯的旋光异构体，如果合适也指不同比例的异构体混合物。

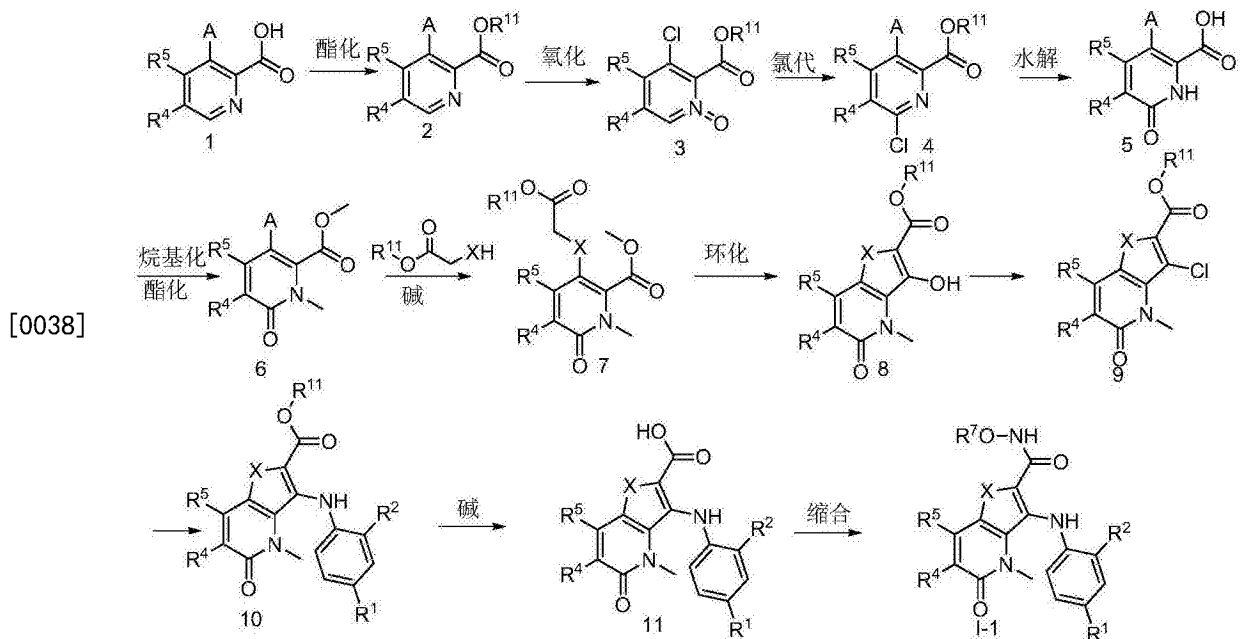
[0033] 当R⁶为-C(O)NR⁸OR⁷时，式(I)和(II)化合物具有以下结构：



[0035] 当R⁶为-C(O)OR⁷时，式(I)和(II)化合物具有以下结构：



[0037] 本发明的另一个方面提供式(I)和(II)化合物的制备方法：



[0039] 其中，A为卤素，R¹、R²、R³、R⁴、R⁵如前面所定义，R¹¹选自甲基、乙基、或者苄基等烷基。

具体实施方式

[0040] 如果没有另外指出,本文全文采用以下术语定义:

[0041] 术语“卤素”表示氟、氯、溴和碘。

[0042] 术语“C₁-C₁₀烷基”表示含有1至10个碳原子的直链或带支链的饱和烃基,例如,但不限于,甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、正己基、正庚基、正辛基、正壬基、正癸基等。

[0043] 术语“C₂-C₁₀烯基”表示含有2至10个碳原子和至少1个双键的烃基,例如,但不限于,乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-甲基乙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、1-甲基-1-丙烯基、2-甲基-1-丙烯基、1-甲基-2-丙烯基、2-甲基-2-丙烯基、1-戊烯基、2-戊烯基、3-戊烯基、4-戊烯基、1-甲基-1-丁烯基、2-甲基-1-丁烯基、3-甲基-1-丁烯基、1-甲基-2-丁烯基、2-甲基-2-丁烯基、3-甲基-2-丁烯基、1-甲基-3-丁烯基、2-甲基-3-丁烯基、3-甲基-3-丁烯基、1,1-二甲基-2-丙烯基、1,2-二甲基-1-丙烯基、1,2-二甲基-2-丙烯基、1-乙基-1-丙烯基、1-乙基-2-丙烯基、1-己烯基、2-己烯基、3-己烯基、4-己烯基、5-己烯基等。

[0044] 术语“C₂-C₁₀炔基”表示含有2至10个碳原子和至少1个三键的烃基,例如,但不限于,乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、3-丁炔基、1-甲基-2-丙炔基、1-戊炔基、2-戊炔基、3-戊炔基、4-戊炔基、1-甲基-2-丁炔基、1-甲基-3-丁炔基、2-甲基-3-丁炔基、3-甲基-1-丁炔基、1,1-二甲基-2-丙炔基、1-乙基-2-丙炔基、1-己炔基、2-己炔基、3-己炔基、4-己炔基、5-己炔基等。

[0045] 术语“C₃-C₁₀环烷基”表示含有3至10个碳的单环的、饱和烃基团,例如,但不限于,环丙基、环戊基和环己基;

[0046] 术语“C₆-C₁₄芳基”表示含有6至14个碳原子的单环或多环的芳烃基团,例如,但不限于,苯基、萘基、蒽基等。

[0047] 术语“C₃-C₁₀环烷基C₁-C₁₀烷基”表示被C₃-C₁₀环烷基取代的C₁-C₁₀烷基部分,例如,但不限于,环丙基甲基。

[0048] 术语“C₆-C₁₄芳基C₁-C₁₀烷基”表示被一个或多个C₆-C₁₄芳基部分取代的C₁-C₁₀烷基部分,例如,但不限于,苄基、苯乙基等。

[0049] 术语“杂环基”表示3元至10元的单环或二环基团,所述基团可以是完全饱和、部分饱和或完全不饱和的或为芳香的,并且可以被至少一个或多个相同或不同的选自氮、硫或氧的原子间杂,但其中两个氧原子不能直接相邻并且环上至少有一个碳原子。例如,但不限于,含有1至4个选自氧、氮和硫的杂原子的3至15元饱和或部分不饱和的杂环:单、双 或三环的杂环,其中除了碳环成员之外,含有1至3个氮原子和/或1个氧或硫原子或1个或2个氧和/或硫原子;如果环中含有多个氧原子,它们不直接毗邻;例如(但不限于)环氧乙烷基、氮丙啶基、2-四氢呋喃基、3-四氢呋喃基、2-四氢噻吩基、3-四氢噻吩基、2-吡咯烷基、3-吡咯烷基、3-异噁唑烷基、4-异噁唑烷基、5-异噁唑烷基、3-异噻唑烷基、4-异噻唑烷基、5-异噻唑烷基、3-吡唑烷基、4-吡唑烷基、5-吡唑烷基、2-噁唑烷基、4-噁唑烷基、5-噁唑烷基、2-噻唑烷基、4-噻唑烷基、5-噻唑烷基、2-咪唑烷基、4-咪唑烷基、1,2,4-噁二唑烷-3-基、1,2,4-噁二唑烷-5-基、1,2,4-噻二唑烷-3-基、1,2,4-噻二唑烷-5-基、1,2,4-三唑烷-3-基、1,3,4-噁二唑烷-2-基、1,3,4-噻二唑烷-2-基、1,3,4-三唑烷-2-基、2,3-二氢呋喃-2-基、2,3-

二氢呋喃-3-基、2,4-二氢呋喃-2-基、2,4-二氢呋喃-3-基、2,3-二氢噻吩-2-基、2,3-二氢噻吩-3-基、2,4-二氢噻吩-2-基、2,4-二氢噻吩-3-基、2-吡咯啉-2-基、2-吡咯啉-3-基、3-吡咯啉-2-基、3-吡咯啉-3-基、2-异噁唑啉-3-基、3-异噁唑啉-3-基、4-异噁唑啉-3-基、2-异噁唑啉-4-基、3-异噁唑啉-4-基、4-异噁唑啉-4-基、2-异噁唑啉-5-基、3-异噁唑啉-5-基、4-异噁唑啉-5-基、2-异噻唑啉-3-基、3-异噻唑啉-3-基、4-异噻唑啉-3-基、2-异噻唑啉-4-基、3-异噻唑啉-4-基、4-异噻唑啉-4-基、2-异噻唑啉-5-基、3-异噻唑啉-5-基、4-异噻唑啉-5-基、2,3-二氢吡唑-1-基、2,3-二氢吡唑-2-基、2,3-二氢吡唑-3-基、2,3-二氢吡唑-4-基、2,3-二氢吡唑-5-基、3,4-二氢吡唑-1-基、3,4-二氢吡唑-3-基、3,4-二氢吡唑-4-基、3,4-二氢吡唑-5-基、4,5-二氢吡唑-1-基、4,5-二氢吡唑-3-基、4,5-二氢吡唑-4-基、4,5-二氢吡唑-5-基、2,3-二氢噁唑-2-基、2,3-二氢噁唑-3-基、2,3-二氢噁唑-4-基、2,3-二氢噁唑-5-基、3,4-二氢噁唑-2-基、3,4-二氢噁唑-3-基、3,4-二氢噁唑-4-基、3,4-二氢噁唑-5-基、3,4-二氢噁唑-2-基、3,4-二氢噁唑-3-基、3,4-二氢噁唑-4-基、2-哌啶基、3-哌啶基、4-哌啶基、1,3-二噁烷-5-基、2-四氢吡喃基、4-四氢吡喃基、2-四氢噻吩基、3-六氢哒嗪基、4-六氢哒嗪基、2-六氢嘧啶基、4-六氢嘧啶基、5-六氢嘧啶基、2-哌嗪基、1,3,5-六氢三嗪-2-基以及1,2,4-六氢三嗪-3-基。

[0050] 术语“杂芳基”表示具有只限于芳香杂环体系的杂环基定义的取代基团。例如,但不限于,2-呋喃基、3-呋喃基、2-噻吩基、3-噻吩基、2-吡咯基、3-吡咯基、3-异噁唑基、4-异噁唑基、5-异噁唑基、3-异噻唑基、4-异噻唑基、5-异噻唑基、3-吡唑基、4-吡唑基、5-吡唑基、2-噁唑基、4-噁唑基、5-噁唑基、2-咪唑基、4-咪唑基、1,2,4-噁二唑-3-基、1,2,4-噁二唑-5-基、1,2,4-噻二唑-3-基、1,2,4-噻二唑-5-基、1,2,4-三唑-3-基、1,3,4-噁二唑-2-基、1,3,4-噻二唑-2-基以及1,3,4-三唑-2-基、1-吡咯基、1-吡唑基、1,2,4-三唑-1-基、1-咪唑基、1,2,3-三唑-1-基以及1,3,4-三唑-1-基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、3-哒嗪基、4-哒嗪基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-嘧啶基、2-吡嗪基、1,3,5-三嗪-2-基、1,2,4-三嗪-3-基以及1,2,4,5-四嗪-3-基、吡啶-1-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、吡啶-5-基、吡啶-6-基、吡啶-7-基、苯并咪唑-1-基、苯并咪唑-2-基、苯并咪唑-4-基、苯并咪唑-5-基、吡唑-1-基、吡唑-3-基、吡唑-4-基、吡唑-5-基、吡唑-6-基、吡唑-7-基、吡唑-2-基、1-苯并呋喃-2-基、1-苯并呋喃-3-基、1-苯并呋喃-4-基、1-苯并呋喃-5-基、1-苯并呋喃-6-基、1-苯并呋喃-7-基、1-苯并噻吩-2-基、1-苯并噻吩-3-基、1-苯并噻吩-4-基、1-苯并噻吩-5-基、1-苯并噻吩-6-基、1-苯并噻吩-7-基、1,3-苯并噻唑-2-基、1,3-苯并噻唑-4-基、1,3-苯并噻唑-5-基、1,3-苯并噻唑-6-基、1,3-苯并噻唑-7-基、1,3-苯并噁唑-2-基、1,3-苯并噁唑-4-基、1,3-苯并噁唑-5-基、1,3-苯并噁唑-6-基以及1,3-苯并噁唑-7-基、喹啉-2-基、喹啉-3-基、喹啉-4-基、喹啉-5-基、喹啉-6-基、喹啉-7-基、喹啉-8-基、异喹啉-1-基、异喹啉-3-基、异喹啉-4-基、异喹啉-5-基、异喹啉-6-基、异喹啉-7-基、以及异喹啉-8-基。

[0051] 术语“杂环基 C_1-C_{10} 烷基”表示被杂环基部分取代的 C_1-C_{10} 烷基部分,例如,但不限于,四氢吡喃基甲基等。

[0052] 术语“杂芳基 C_1-C_{10} 烷基”表示被杂芳基部分取代的 C_1-C_{10} 烷基部分,例如,但不限于,噁唑基甲基、吡啶基乙基等。

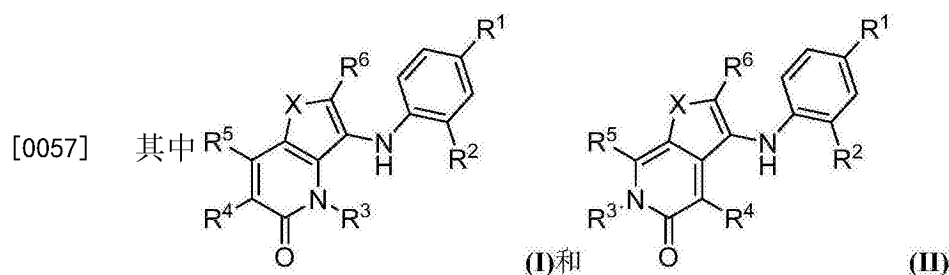
[0053] 术语“前药”是指经过生物体内转化才具有药理作用的化合物,其本身没有生物活

性或活性很低。在一个实施方案中,当本发明的化合物含有羟基时,其前药可以是其与合适的酸形成的酯,所述酸包括例如乳酸、柠檬酸、抗坏血酸等。

[0054] 术语“药学上可接受的盐”,除非另有说明,包括可存在于本发明化合物中的酸性基团的盐(例如,但不限于,钾盐、钠盐、镁盐、钙盐等)或碱性基团的盐(例如,但不限于,硫酸盐、盐酸盐、磷酸盐、硝酸盐、碳酸盐等)。

[0055] 术语“溶剂化物”是指在溶液中,溶质分子或离子通过库伦力、范德瓦尔斯力、电荷传递力、氢键等分子间力强烈地吸引相邻的溶剂分子形成的复合分子化合物。当溶剂为水时,称为水合物。

[0056] 在本发明的一些实施方案中,提供式(I)和(II)的化合物及其药学上可接受的盐、前药和溶剂化物



[0058] R^1 选自氢、卤素、氰基、硝基、叠氮基、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-NR^8C(O)OR^{10}$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-NR^8SO_2R^{10}$ 、 $-SO_2NR^7R^8$ 、 $-NR^8C(O)R^7$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(NCN)NR^7R^8$ 、 $-NR^7R^8$ 、 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、 C_3-C_{10} 环烷基、 C_3-C_{10} 环烷基 C_1-C_{10} 烷基、 $-S(O)_j(C_1-C_{10})$ 烷基)、 $-S(O)_j(CR^8R^9)_m$ 、 C_6-C_{14} 芳基、 C_6-C_{14} 芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂芳基、杂芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂环基、杂环基 C_1-C_{10} 烷基、 $-O(CR^8R^9)_m$ 、 C_6-C_{14} 芳基、 $-NR^8(CR^8R^9)_m$ 、 C_6-C_{14} 芳基、 $-O(CR^8R^9)_m$ 杂芳基、 $-NR^8(CR^8R^9)_m$ 杂芳基、 $-O(CR^8R^9)_m$ 杂环基或 $-NR^8(CR^8R^9)_m$ 杂环基;

[0059] 其中所述 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、 C_3-C_{10} 环烷基、 C_6-C_{14} 芳基、杂芳基和杂环基部分可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代:氧代、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、 $-OR^7$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-NR^8C(O)OR^{10}$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-NR^8SO_2R^{10}$ 、 $-SO_2NR^7R^8$ 、 $-NR^8C(O)R^7$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(NCN)NR^7R^8$ 、 $-NR^7R^8$ 、 C_6-C_{14} 芳基、 C_6-C_{14} 芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂芳基、杂芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂环基、杂环基 C_1-C_{10} 烷基;

[0060] R^2 、 R^4 和 R^5 各自独立地选自氢、卤素、硝基、叠氮基、 $-OR^7$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-NR^8C(O)OR^{10}$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-NR^8SO_2R^{10}$ 、 $-SO_2NR^7R^8$ 、 $-NR^8C(O)R^7$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(NCN)NR^7R^8$ 、 $-NR^7R^8$ 、 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、 C_3-C_{10} 环烷基、 C_3-C_{10} 环烷基 C_1-C_{10} 烷基、 $-S(O)_j(C_1-C_{10})$ 烷基)、 $-S(O)_j(CR^8R^9)_m$ 、 C_6-C_{14} 芳基、 C_6-C_{14} 芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂芳基、杂芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂环基、杂环基 C_1-C_{10} 烷基、 $-O(CR^8R^9)_m$ 、 C_6-C_{14} 芳基、 $-NR^8(CR^8R^9)_m$ 、 C_6-C_{14} 芳基、 $-O(CR^8R^9)_m$ 杂芳基、 $-NR^8(CR^8R^9)_m$ 杂芳基、 $-O(CR^8R^9)_m$ 杂环基、 $-NR^8(CR^8R^9)_m$ 杂环基;

[0061] 其中所述 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、 C_3-C_{10} 环烷基、 C_6-C_{14} 芳基、杂芳基和杂环基部分可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代:氧代、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、 $-OR^7$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-NR^8C(O)OR^{10}$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-NR^8SO_2R^{10}$ 、 $-SO_2NR^7R^8$ 、 $-NR^8C(O)R^7$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(O)NR^7R^8$ 、 $-NR^9C(NCN)NR^7R^8$ 、 $-NR^7R^8$ 、 C_6-C_{14} 芳基、 C_6-C_{14} 芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂芳基、杂芳基 C_1-C_{10} 烷基、杂环基、杂环基 C_1-C_{10} 烷基;

[0062] R^3 选自 C_1-C_{12} 烷基,其中所述的烷基可以被一个或多个氟原子任意取代;

[0063] R^6 选自杂芳基、杂环基、 $-C(O)OR^7$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)NR^8OR^7$ 、 $-C(O)R^8OR^7$ 、 $-C(O)(C_3-C_{10}$ 环烷基)、 $-C(O)(C_1-C_{10}$ 烷基)、 $-C(O)(C_6-C_{14}$ 芳基)、 $-C(O)$ (杂芳基)和 $-C(O)$ (杂环基)；

[0064] 这些基团可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代： $-NR^7R^8$ 、 $-OR^7$ 、 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基和 C_2-C_{10} 炔基，它们中的每一个都任选地被1或2个选自 $-NR^7R^8$ 和 $-OR^7$ 中的基团取代；

[0065] R^7 、 R^8 和 R^9 各自独立地选自氢、 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、 C_3-C_{10} 环烷基、 C_3-C_{10} 环烷基、 C_1-C_{10} 烷基、 C_6-C_{14} 芳基、 C_6-C_{14} 芳基、 C_1-C_{10} 烷基、杂芳基、杂芳基、 C_1-C_{10} 烷基、杂环基、和杂环基、 C_1-C_{10} 烷基；

[0066] 其中所述 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、 C_3-C_{10} 环烷基、 C_6-C_{14} 芳基、杂芳基和杂环基部分可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：羟基、氧代、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、 $-NR'SO_2R''$ 、 $-SO_2NR'R''$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-NR'C(O)R''$ 、 $-NR'C(O)R''$ 、 $-C(O)NR'R''$ 、 $-SR'$ 、 $-S(O)R''$ 、 $-SO_2R''$ 、 $-NR'R''$ 、 $-NR'C(O)NR''R''$ 、 $-NR'C(NCN)NR''R''$ 、 $-OR'$ 、 C_6-C_{14} 芳基、杂芳基、 C_6-C_{14} 芳基、 C_1-C_{10} 烷基、杂芳基、 C_1-C_{10} 烷基、杂环基、和杂环基、 C_1-C_{10} 烷基；

[0067] 或者

[0068] R^7 和 R^8 与它们所连接的原子一起形成3-10元杂芳基或杂环；

[0069] 这些基团可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、 $-NR'SO_2R''$ 、 $-SO_2NR'R''$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-NR'C(O)R''$ 、 $-NR'C(O)R''$ 、 $-C(O)NR'R''$ 、 $-SR'$ 、 $-S(O)R''$ 、 $-SO_2R''$ 、 $-NR'R''$ 、 $-NR'C(O)NR''R''$ 、 $-NR'C(NCN)NR''R''$ 、 $-OR'$ 、 C_6-C_{14} 芳基、杂芳基、 C_6-C_{14} 芳基、 C_1-C_{10} 烷基、杂芳基、 C_1-C_{10} 烷基、杂环基、和杂环基、 C_1-C_{10} 烷基；

[0070] 或者

[0071] R^8 和 R^9 与它们所连接的原子一起形成3-10元杂芳基或杂环；

[0072] 这些基团可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、 $-NR'SO_2R''$ 、 $-SO_2NR'R''$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-NR'C(O)R''$ 、 $-NR'C(O)R''$ 、 $-C(O)NR'R''$ 、 $-SR'$ 、 $-S(O)R''$ 、 $-SO_2R''$ 、 $-NR'R''$ 、 $-NR'C(O)NR''R''$ 、 $-NR'C(NCN)NR''R''$ 、 $-OR'$ 、 C_6-C_{14} 芳基、杂芳基、 C_6-C_{14} 芳基、 C_1-C_{10} 烷基、杂芳基、 C_1-C_{10} 烷基、杂环基、和杂环基、 C_1-C_{10} 烷基；

[0073] R^{10} 选自氢、 C_1-C_{10} 烷基、 C_3-C_{10} 环烷基、 C_6-C_{14} 芳基、 C_6-C_{14} 芳基、 C_1-C_{10} 烷基、杂芳基、杂芳基、 C_1-C_{10} 烷基、杂环基、杂环基、 C_1-C_{10} 烷基；

[0074] 其中所述 C_1-C_{10} 烷基、 C_3-C_{10} 环烷基、 C_6-C_{14} 芳基、杂芳基和杂环基部分可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：氧代、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、 $-NR'SO_2R''$ 、 $-SO_2NR'R''$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-NR'C(O)R''$ 、 $-NR'C(O)R''$ 、 $-C(O)NR'R''$ 、 $-SR'$ 、 $-S(O)R''$ 、 $-SO_2R''$ 、 $-NR'R''$ 、 $-NR'C(O)NR''R''$ 、 $-NR'C(NCN)NR''R''$ 、 $-OR'$ 、 C_6-C_{14} 芳基、杂芳基、 C_6-C_{14} 芳基、 C_1-C_{10} 烷基、杂芳基、 C_1-C_{10} 烷基、杂环基、和杂环基、 C_1-C_{10} 烷基；

[0075] R' 、 R'' 和 R''' 独立地选自氢、 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_6-C_{14} 芳基和 C_6-C_{14} 芳基、 C_1-C_{10} 烷基；

[0076] R'''' 选自 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_6-C_{14} 芳基和 C_6-C_{14} 芳基、 C_1-C_{10} 烷基；

[0077] 或者

- [0078] R'、R''、R''' 或 R'''' 中的任意两个可与它们所连接的原子一起形成3-10元杂芳基或杂环；
- [0079] 这些基团可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：卤素、氰基、硝基、三氟甲基、二氟甲氧基、三氟甲氧基、叠氮基、C₆-C₁₄芳基、杂芳基、C₆-C₁₄芳基C₁-C₁₀烷基、杂芳基C₁-C₁₀烷基、杂环基、和杂环基C₁-C₁₀烷基；
- [0080] X选自氧、硫或氮；
- [0081] m为0、1、2、3、4或5；并且
- [0082] J为0、1或2。
- [0083] 上述通式化合物(I)和(II)及下述优选的式(I)和(II)化合物优选如下取代基或基团：
- [0084] R¹优选选自氢、卤素、C₁-C₁₀烷氧基、C₁-C₁₀烷硫基、卤代-C₁-C₁₀烷氧基、卤代-C₁-C₁₀烷硫基、卤代-C₁-C₁₀烷基。
- [0085] R¹更优选为氟、氯、溴、碘、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、卤代-C₁-C₆烷氧基、卤代-C₁-C₆烷硫基、卤代-C₁-C₆烷基。
- [0086] R¹特别优选为溴、碘、C₁-C₄烷硫基、卤代-C₁-C₄烷氧基、卤代-C₁-C₄烷基。
- [0087] R¹尤其优选为溴、碘、甲硫基、三氟甲氧基、三氟甲基
- [0088] R²、R⁴和R⁵优选各自独立地选自氢、卤素、C₁-C₁₀烷基，
- [0089] 其中所述C₁-C₁₀烷基可被一个或多个选自以下的基团任选取代：氧代、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、-OR⁷、-C(O)R⁷、-C(O)OR⁷、-NR⁸C(O)OR¹⁰、-OC(O)R⁷、-NR⁸SO₂R¹⁰、-SO₂NR⁷R⁸、-NR⁸C(O)R⁷、-C(O)NR⁷R⁸、-NR⁹C(O)NR⁷R⁸、-NR⁹C(NCN)NR⁷R⁸、-NR⁷R⁸、C₆-C₁₄芳基、C₆-C₁₄芳基C₁-C₁₀烷基、杂芳基、杂芳基C₁-C₁₀烷基、杂环基、杂环基C₁-C₁₀烷基。
- [0090] R²更优选选自氢、卤素、C₁-C₆烷基、卤代C₁-C₆烷基、卤代C₁-C₆烷氧基或卤代C₁-C₆烷硫基。
- [0091] R²特别优选选自氢、氟、氯、溴、C₁-C₄烷基、卤代C₁-C₄烷基或卤代C₁-C₄烷氧基。
- [0092] R²尤其优选代表氟、氯、甲基、三氟甲基或三氟甲氧基。
- [0093] R⁴更优选选自氢。
- [0094] R⁴特别优选选自氢。
- [0095] R⁴尤其优选代表氢
- [0096] R⁵更优选选自氢、卤素或C₁-C₆烷基。
- [0097] R⁵特别优选选自氢、氟、氯、溴或C₁-C₄烷基。
- [0098] R⁵尤其优选代表氢、氟、氯或甲基。
- [0099] R₃优选未被取代的或被一个或多个氟原子任意取代的C₁-C₄烷基；
- [0100] R₃更优选未被取代的或被一个或多个氟原子任意取代的C₁-C₂烷基；
- [0101] R₃尤其优选甲基、乙基、-CH₂F、-CHF₂、-CH₂CH₂F；
- [0102] R⁶优选为-C(O)NR⁸OR⁷或-C(O)NR⁸R⁷，
- [0103] R⁷、R⁸和R⁹优选各自独立地选自氢、C₁-C₁₀烷基、C₂-C₁₀烯基、C₂-C₁₀炔基、C₃-C₁₀环烷基、C₃-C₁₀环烷基C₁-C₁₀烷基、C₆-C₁₄芳基、C₆-C₁₄芳基C₁-C₁₀烷基、杂芳基、杂芳基C₁-C₁₀烷基、杂环基、和杂环基C₁-C₁₀烷基；
- [0104] 其中所述C₁-C₁₀烷基、C₂-C₁₀烯基、C₂-C₁₀炔基、C₃-C₁₀环烷基、C₆-C₁₄芳基、杂芳基和

杂环基部分可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：羟基、氧代、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、 $-\text{NR}'\text{SO}_2\text{R}''''$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{R}''''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{R}''$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}''''$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}''''$ 、 $-\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}''''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}''''$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基、杂芳基、 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、杂芳基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、杂环基、和杂环基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基；

[0105] 或者，

[0106] R^7 和 R^8 优选与它们所连接的原子一起形成3-10元杂芳基或杂环；

[0107] 这些基团可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、 $-\text{NR}'\text{SO}_2\text{R}''''$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{R}''''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{R}''$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}''''$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}''''$ 、 $-\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}''''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}''''$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基、杂芳基、 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、杂芳基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、杂环基、和杂环基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基；

[0108] 或者，

[0109] R^8 和 R^9 优选与它们所连接的原子一起形成3-10元杂芳基或杂环；

[0110] 这些基团可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、 $-\text{NR}'\text{SO}_2\text{R}''''$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{R}''''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{R}''$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}''''$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}''''$ 、 $-\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}''''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}''''$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基、杂芳基、 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、杂芳基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、杂环基、和杂环基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基；

[0111] R^{10} 优选选自氢、 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、 $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ 环烷基、 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基、 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、杂芳基、杂芳基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、杂环基、杂环基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基；

[0112] 其中所述 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、 $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ 环烷基、 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基、杂芳基和杂环基部分可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：氧代、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、 $-\text{NR}'\text{SO}_2\text{R}''''$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{R}''''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{R}''$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}''''$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}''''$ 、 $-\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}''''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}''''$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基、杂芳基、 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、杂芳基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、杂环基、和杂环基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基；

[0113] R' 、 R'' 和 R'''' 优选独立地选自氢、 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基、 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基和 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基；

[0114] R'''' 优选选自 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基、 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基和 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基；

[0115] 或者，

[0116] R' 、 R'' 、 R'''' 或 R'''' 中的任意两个优选可与它们所连接的原子一起形成3-10元杂芳基或杂环；

[0117] 这些基团可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：卤素、氰基、硝基、三氟甲基、二氟甲氧基、三氟甲氧基、叠氮基、 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基、杂芳基、 $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ 芳基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、杂芳基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、杂环基、和杂环基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基。

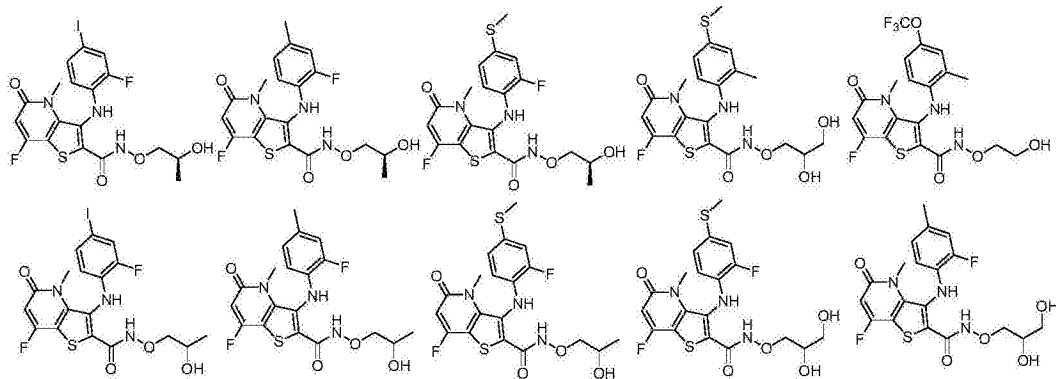
[0118] R^6 更优选为 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^8\text{OR}^7$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^8\text{R}^7$ ；

[0119] R^7 更优选为被1至6个羟基取代的 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基，或 $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ 环烷基 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基。

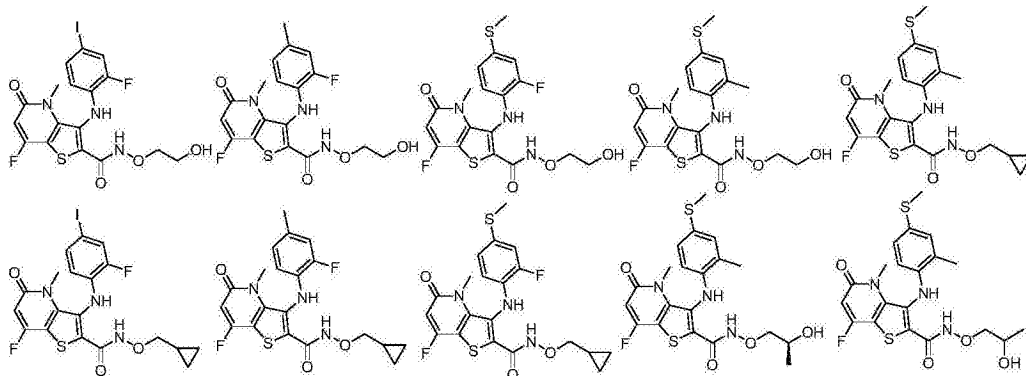
[0120] R^8 更优选为氢或 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基。

[0121] R^6 特别优选为 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^8\text{OR}^7$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^8\text{R}^7$ ；

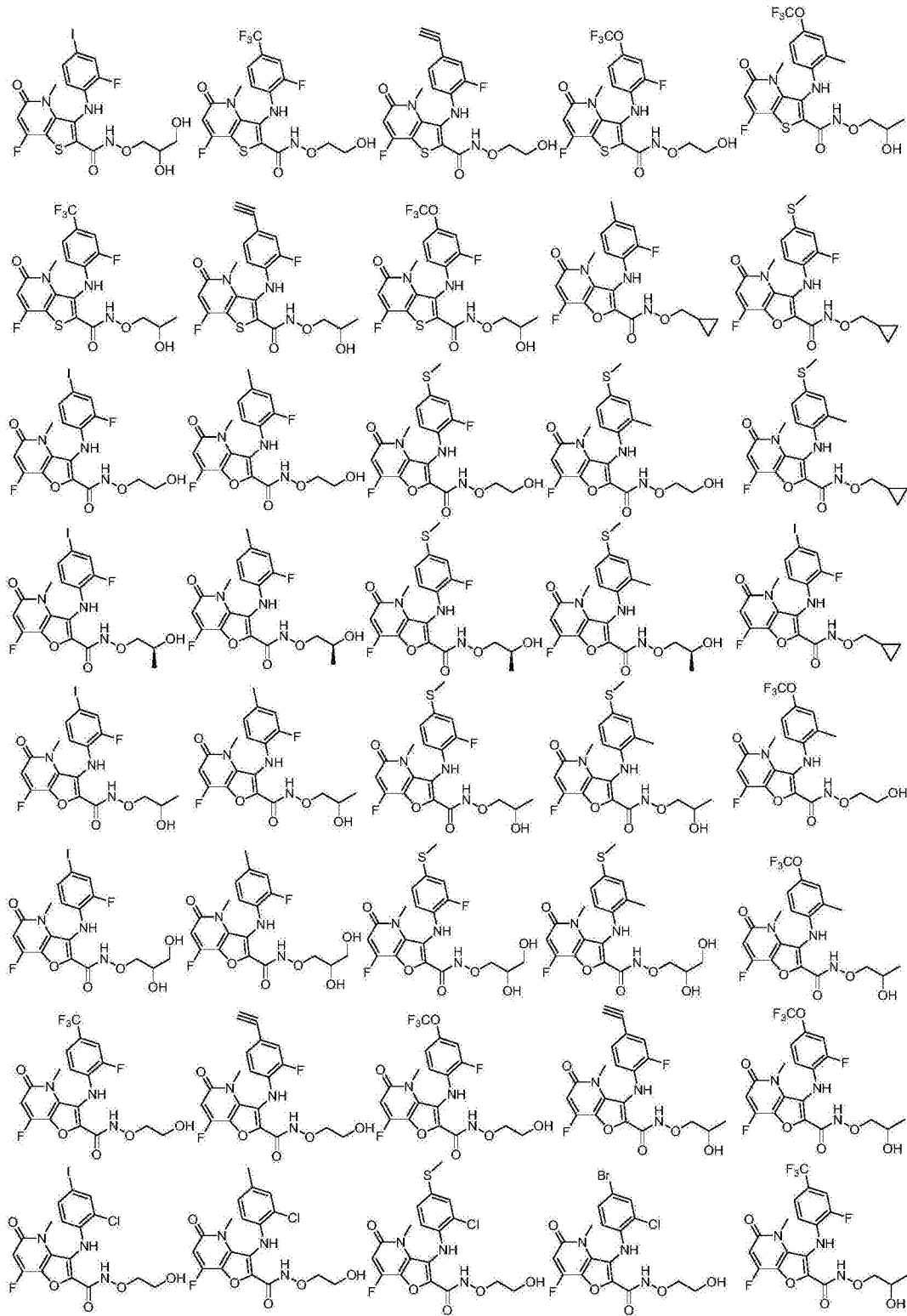
- [0122] R^7 特别优选为被1至3个羟基取代的 C_1 - C_4 烷基,或 C_3 - C_8 环烷基 C_1 - C_6 烷基。
- [0123] R^8 特别优选为氢或 C_1 - C_4 烷基。
- [0124] R^6 尤其优选为 $-C(O)NHR^7$ 或 $-C(O)NHR^7$;
- [0125] R^7 尤其优选为被1至3个羟基取代的乙基、丙基或异丁基,或 C_3 - C_6 环烷基 C_1 - C_4 烷基。
- [0126] 上述通式(I)和(II)化合物和优选的式(I)和(II)化合物中的各基团可彼此组合,即,包括所述通式(I)和(II)化合物中非优选的,及不同优选级别的取代基和基团之间的组合。以上各种组合方式既适用于最终产物,并因此也适用于前体和中间体。
- [0127] 本发明优选包含上述优选取代基和基团及其组合的式(I)和(II)化合物。
- [0128] 本发明更优选包含上述更优选取代基和基团及其组合的式(I)和(II)化合物。
- [0129] 本发明特别优选包含上述特别优选取代基和基团及其组合的式(I)和(II)化合物。
- [0130] 本发明尤其优选包含上述尤其优选取代基和基团及其组合的式(I)和(II)化合物。
- [0131] 饱和或不饱和烃基,例如 C_1 - C_{10} 烷基、烷二基或烯基,包括与杂原子的结合,例如烷氧基,均可以分别是直链或带有支链的。
- [0132] 除非另有说明,任选取代的基团可以是单取代或多取代的,其中在多取代的情况下,取代基可以相同或不同。
- [0133] 在一些具体实施方案中,提供以下式的化合物:



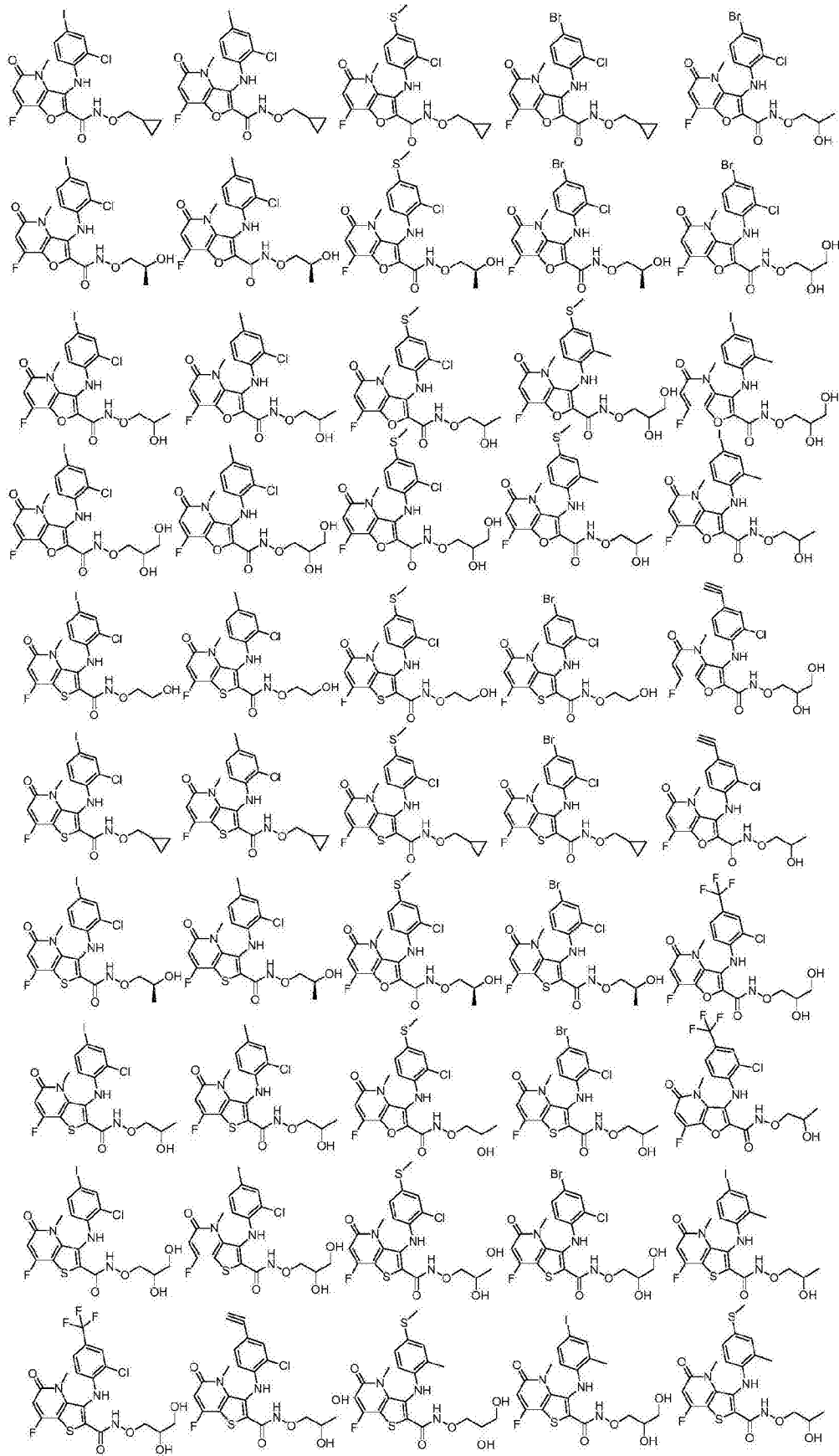
[0134]



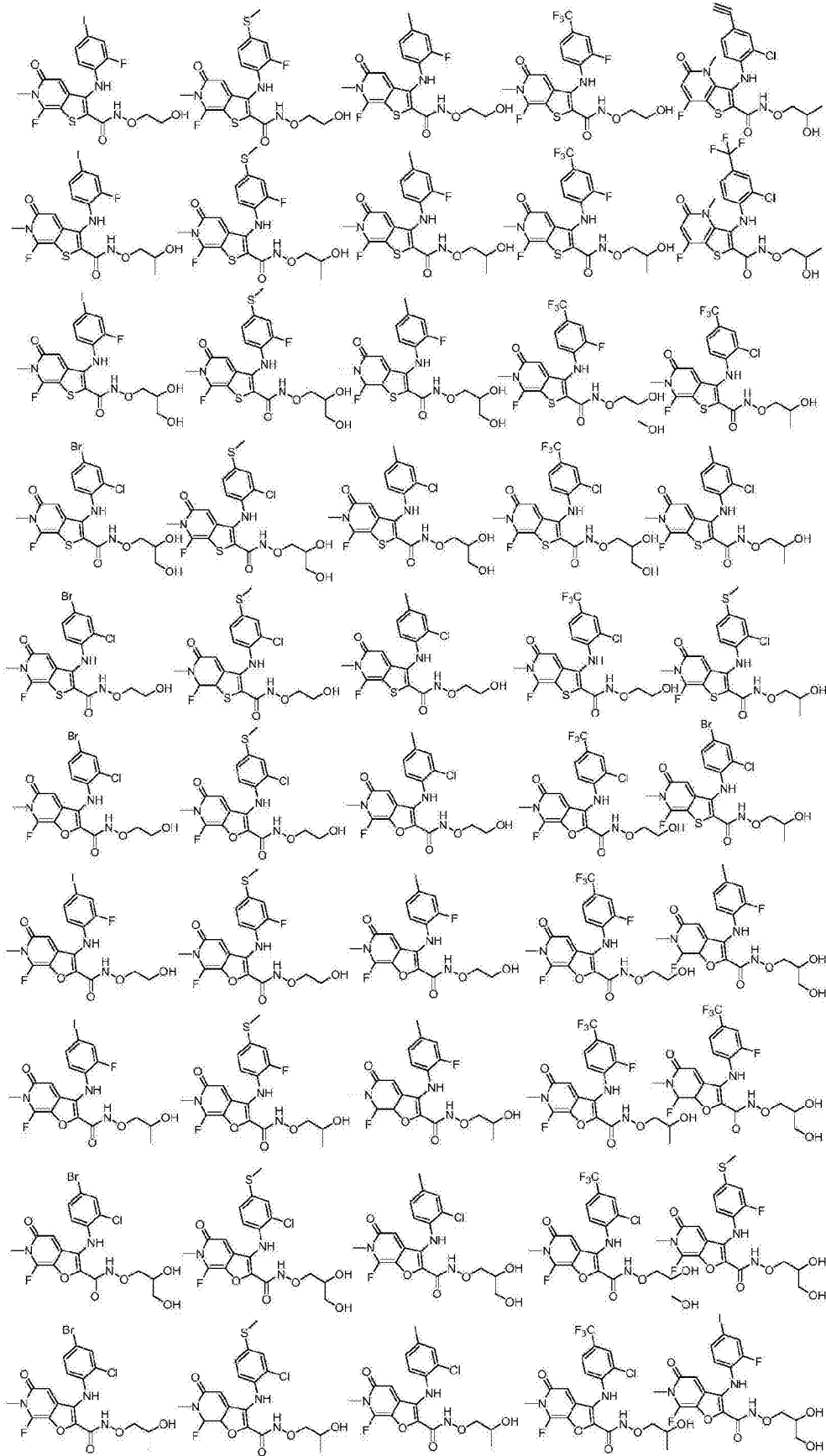
[0135]



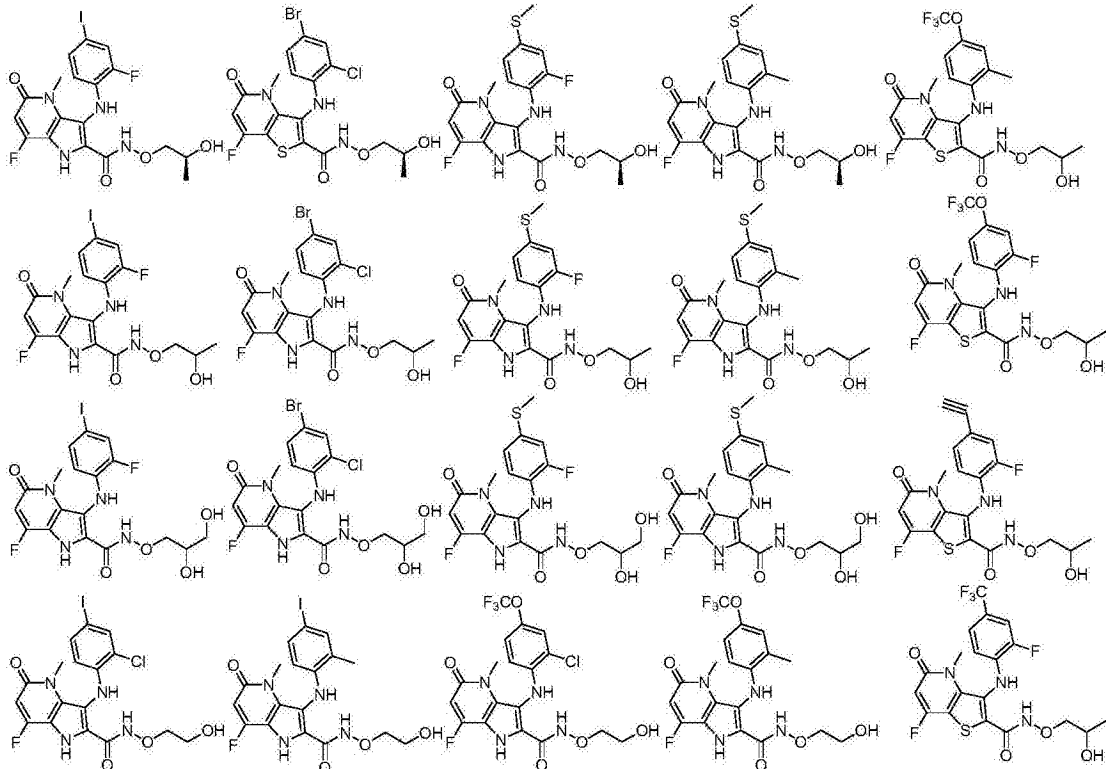
[0136]



[0137]



[0139]



[0140] 用途

[0141] 本发明的化合物可用于治疗以下疾病,例如:肿瘤(tumor),例如:血管瘤(hemangioma)、胶质瘤(glioma)、黑色素瘤(melanoma)、Kaposi's肉瘤(sarcoma)和卵巢癌(ovarian cancer)、乳腺癌(breast cancer)、肺癌(lung cancer)、胰腺癌(pancreatic cancer)、前列腺癌(prostate cancer)、结肠癌(colon cancer)、和其它肠胃癌等等;慢性炎症性疾病(chronic inflammatory disease),例如类风湿关节炎(rheumatoid arthritis)、与哺乳动物的血管发生(vasculogenesis)或血管再生术(angiogenesis)相关的疾病;动脉粥样硬化(atherosclerosis)、炎症性肠道疾病(inflammatory bowel disease);皮肤病,例如银屑病(psoriasis)、excema和硬皮病(sceroderma)、糖尿病、糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy)、早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity)、年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration);与慢性疼痛相关的疾病,包括神经痛以及由Mek级联调制的疾病,例如术后疼痛、假性肢痛(phantom limb pain)、烧伤疼痛(burn pain)、痛风(gout)、三叉神经痛(trigeminal neuralgia)、急性肝痛(acute herpetic)和肝后疼痛(postherpetic pain)、灼痛(causalgia)、糖尿病性神经病(diabetic neuropathy)、plexus avulsion、神经瘤(neuroma)、血管炎(vasculitis)、挤压伤(crush injury)、缢伤(constriction injury)、组织损伤(tissue injury)、术后疼痛(post-surgical pain)、关节痛(arthritis pain)或截肢(limb amputation)痛等。

[0142] 1. 剂量

[0143] 本领域技术人员将根据已知的方法确定用于患者的剂量,并考虑年龄、体重、健康状况、治疗的疾病类型和其他药物的存在等因素。一般而言,有效量为每天0.1至1000mg/kg

体重,优选每天1至300mg/kg体重。对于正常体重的成年受试者而言,日剂量通常为10至2500。市售可得的100mg、200mg、300mg或400mg的制剂可根据公开的方法给药。

[0144] 2. 制剂

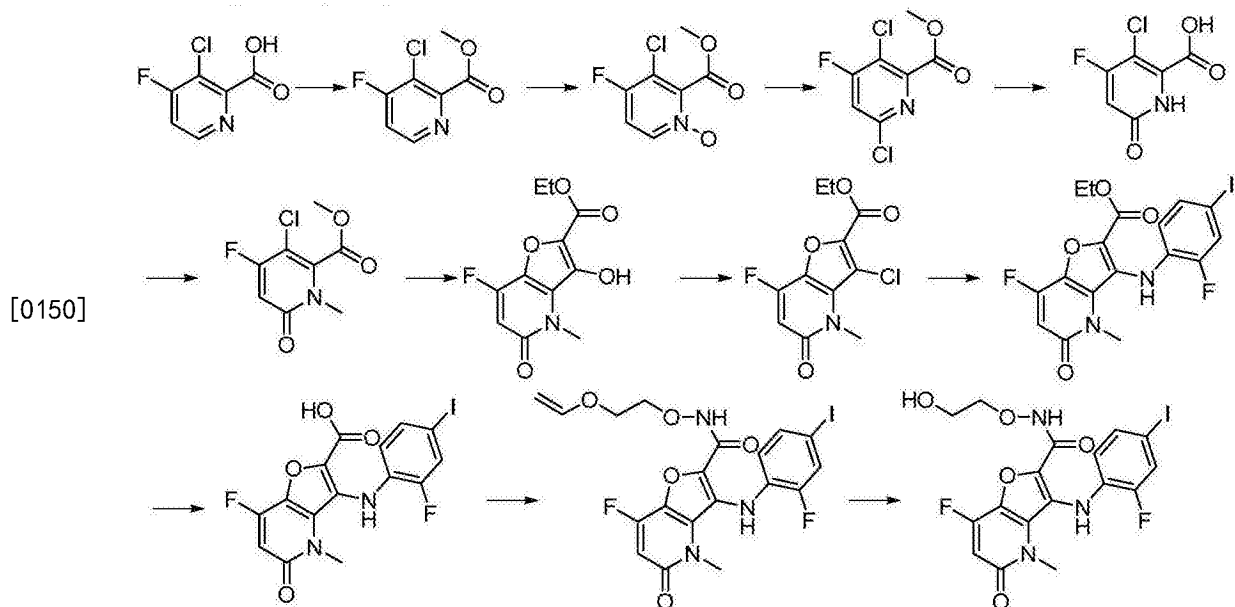
[0145] 可用多种Mek抑制剂或Mek抑制剂与其它药用试剂的结合物制成合适的制剂用于治疗上述疾病。所述药用试剂包括,例如填充剂、载体、增粘剂、着色剂、添加剂、稳定剂、增效剂、缓控制剂等。

[0146] 合适的制剂形式包括,例如溶液剂、乳剂、水基和油基悬浮剂、粉剂、粉末剂、膏剂、可溶性粉剂、颗粒剂、悬乳浓缩剂、胶囊剂、片剂、饮剂、顿服剂、丸剂、栓剂等。

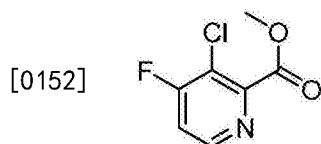
[0147] 合适的给药方式包括,例如:通过片剂、胶囊剂、饮剂、顿服剂、颗粒剂、膏剂、丸剂等形式进行肠内给药;通过例如注射(肌内、皮下、静脉内、腹膜内等)、植入进行肠胃外给药;通过鼻部给药;通过,例如,浸泡或洗浴、喷雾、泼浇和点滴、清洗等形式进行皮肤给药等。

[0148] 合成实施例

[0149] 实施例1:7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪唑并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成



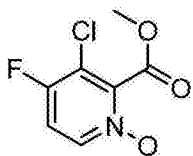
[0151] 步骤1:3-氯-4-氟吡啶羧酸甲酯的合成:



[0153] 将化合物3-氯-4-氟吡啶羧酸(10g,56.97mmol)加入反应瓶中,加入二氯亚砷(20ml),加热至78℃反应两个小时,冷却至室温,然后将反应液滴加到甲醇溶液中(50ml),在室温下反应30分钟,TLC检测反应完毕后,浓缩反应液,得到的固体用甲醇打浆,过滤,真空干燥得到目标产物。(10g,收率:92%)

[0154] 步骤2:3-氯-4-氟-2-(methoxycarbonyl)pyridine 1-oxide的合成:

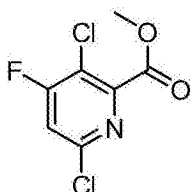
[0155]



[0156] 将化合物3-氯-4-氟吡啶羧酸甲酯(10g, 52.75mmol)加入反应瓶中,加入过氧化氢(30%, 12.56g, 110.78mmol),然后加入DCM(50ml),在冰水浴下滴加三氟乙酸(22.86g, 200.45mmol),在0℃反应一小时后升至室温,继续反应过夜,反应完毕后,加入亚硫酸氢钠水溶液淬灭反应,淬灭后用碳酸钠溶液中和反应液,DCM萃取,有机相用无水硫酸钠干燥,浓缩得到产物。(9.1g,收率:84%)。

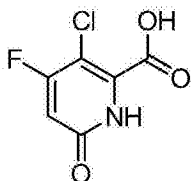
[0157] 步骤3:3,6-二氯-4-氟吡啶甲酸甲酯的合成:

[0158]



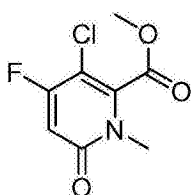
[0159] 将三氯氧磷(8.15g, 53.12mmol)加入反应瓶中,加入DCM(50ml),然后在0℃下滴加化合物(9.1g, 44.27mmol)和三乙胺(5.38g, 53.12mmol)的二氯甲烷(50ml)溶液,在0℃反应2个小时后,升至室温继续反应过夜,反应完毕后加入饱和碳酸钠溶液中和,分离有机相,有机相用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,浓缩得到产物。(9.5g,收率:95%)。m/z 225 (M+1)
步骤4:3-氯-4-氟-6-氧代-1,6-二氢吡啶-2-羧酸的合成:

[0160]



[0161] 将化合物3,6-二氯-4-氟吡啶甲酸甲酯(9.5g, 42.41mmol)加入反应瓶中,加入乙醇(50ml),然后加入NaOH(1M, 84.82ml, 84.82mmol),加热回流反应过夜,反应完毕后,冷却至室温,用浓盐酸调至PH为3,析出固体,过滤,真空干燥得到产物。(6.1g, 75%)。m/z 192.5 (M+1)
步骤5:3-氯-4-氟-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-2-羧酸甲酯的合成:

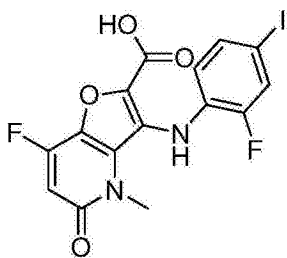
[0162]



[0163] 将化合物3-氯-4-氟-6-氧代-1,6-二氢吡啶-2-羧酸(6.1g, 31.85mmol)加入反应瓶中,加入DMF(30ml),在冰浴下分批加入NaH(60%, 2.8g, 70.06mmol),在室温反应30分钟后,加入碘甲烷(9.49g, 66.88mmol),然后继续反应2个小时,反应完毕后用饱和氯化铵溶液淬灭反应,乙酸乙酯萃取,有机相用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,浓缩,柱层析分离得到产物。(5.5g,收率:76%)

[0164] 步骤6:7-氟-3-羟基-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-羧酸乙酯的合成:

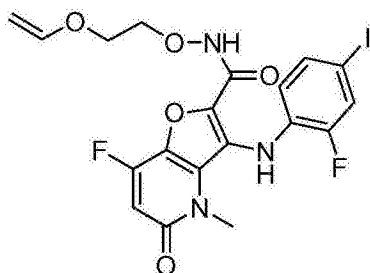
[0174]



[0175] 将化合物7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-羧酸乙酯(280mg,0.59mmol)加入反应瓶中,加入乙醇(10ml),然后加入1M NaOH(1.2ml,1.2mmol),加热至60℃反应2个小时,冷却至室温,加入乙酸调PH至4,析出固体,过滤,真空干燥得到目标化合物。(260mg,98%)m/z 447.1 (M+1)

[0176] 步骤10:7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-N-(2-(乙烯氧基)乙氧基)-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

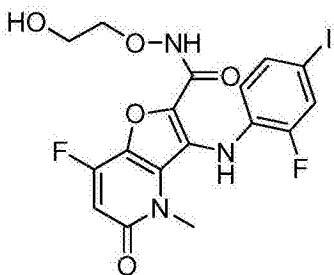
[0177]



[0178] 将化合物7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-羧酸(60mg,0.13mmol)和N-(2-(乙烯基氧基)乙基)羟胺(21mg,0.20mmol)加入反应瓶中,然后加入HOBt(27mg,0.20mmol)和EDCI(38mg,0.20mmol),在室温下反应3个小时,反应完毕后,加入水稀释反应液,用乙酸乙酯萃取,有机相用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,浓缩得到粗产物直接用于下一步。(70mg,收率:100%)。

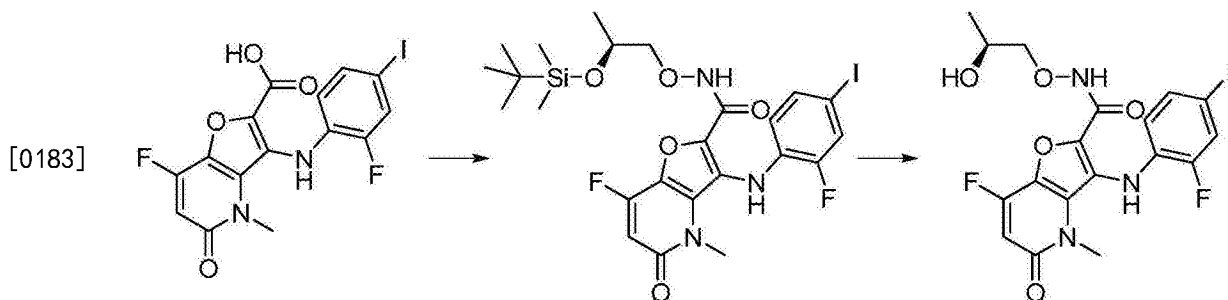
[0179] 步骤11:7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

[0180]

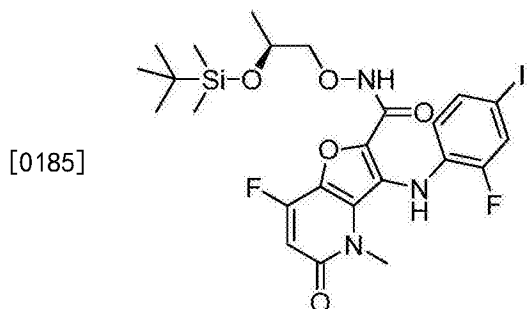


[0181] 将化合物7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-N-(2-(乙烯氧基)乙氧基)-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺(70mg,0.13mmol)加入反应瓶中,加入甲醇(2ml),然后加入1M 盐酸(0.26ml,0.26mmol),在室温下反应一个小时,反应完毕后,浓缩除去甲醇,用饱和碳酸氢钠溶液中和,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析分离得到产物。(35mg,收率:52%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ7.63(dd,1H),7.38(d,1H),6.52(m,1H),6.23(d,1H),4.91-4.35(bs,1H),3.74(m,2H),3.51(m,2H),3.25(s,3H).m/z 506.2 (M+1)

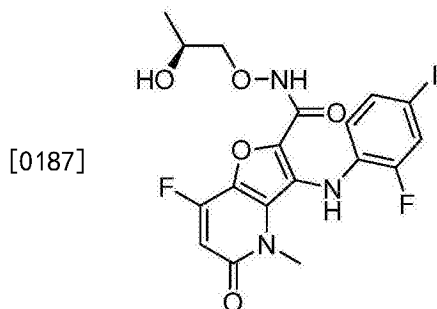
[0182] 实施例2:(S)-7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:



[0184] 步骤1: (S)-N-(2-(叔丁基二甲基硅氧基)丙氧基)-7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:



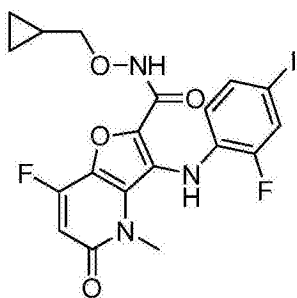
[0186] 将化合物7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-羧酸(60mg, 0.13mmol)和(S)-O-(2-(叔丁基二甲基硅氧基)丙氧基)羟胺(41mg, 0.20mmol)加入反应瓶中,然后加入HOBt(27mg, 0.20mmol)和EDCI(38mg, 0.20mmol),在室温下反应3个小时,反应完毕后,加入水稀释反应液,用乙酸乙酯萃取,有机相用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,浓缩得到粗产物直接用于下一步。(85mg, 收率:100%)。m/z 634.5 (M+1) 步骤2: (S)-7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:



[0188] 将化合物(S)-N-(2-(叔丁基二甲基硅氧基)丙氧基)-7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺(85mg, 0.13mmol)加入反应瓶中,加入THF(2ml),然后加入1M四丁基氟化铵(0.26ml, 0.26mmol),在室温下反应一个小时,反应完毕后,浓缩除去甲醇,用饱和碳酸氢钠溶液中和,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析分离得到产物。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ7.63(dd, 1H), 7.55(s, 1H), 7.38(d, 1H), 6.52(m, 1H), 4.64(bs, 1H), 3.81-3.56(m, 2H), 3.48(m, 1H), 1.21(d, 2H)。m/z 520.2 (M+1)

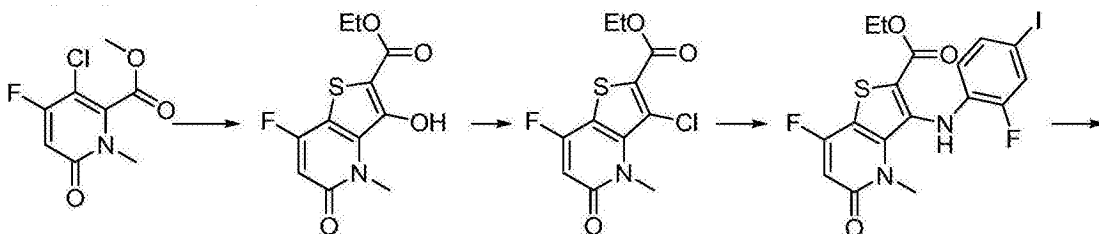
[0189] 实施例3:N-(环丙基甲基氧)-7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

[0190]

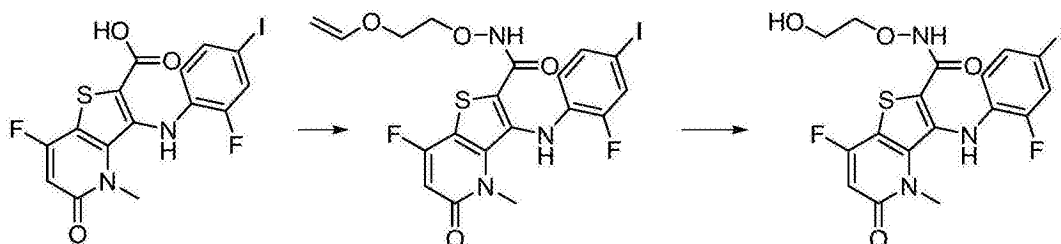


[0191] 将化合物7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪唑并[3,2-b]吡啶-2-羧酸(60mg,0.13mmol)和O-(环丙基甲基)羟胺(17mg,0.20mmol)加入反应瓶中,然后加入HOBt(27mg,0.20mmol)和EDCI(38mg,0.20mmol),在室温下反应3个小时,反应完毕后,加入水稀释反应液,用乙酸乙酯萃取,有机相用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,浓缩,柱层析分离得到产物。(38mg,收率:55%)。 δ 7.65(dd,1H),7.36(d,1H),6.53(m,1H),6.23(d,1H),3.87(d,2H),0.65(m,2H),0.41(m,1H),0.35(m,2H)。m/z 516.2(M+1)

[0192] 实施例4:7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪唑并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

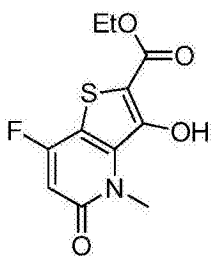


[0193]



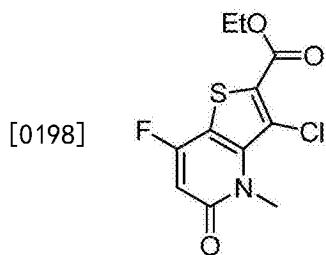
[0194] 步骤1:7-氟-3-羟基-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪唑并[3,2-b]吡啶-2-羧酸乙酯的合成:

[0195]



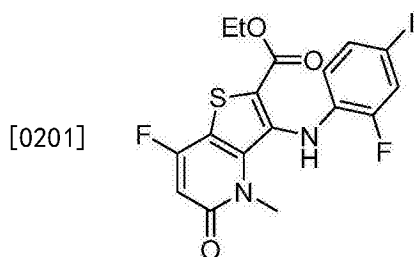
[0196] 将化合物3-氯-4-氟-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-2-羧酸甲酯(1.8g,8.20mmol)和巯基乙酸乙酯(1.00g,8.4mmol)加入反应瓶中,加入DMF(25ml),在冰水浴条件下加入氢化钠(60%,0.66g,0.39mmol),然后升至室温反应2个小时,用乙酸淬灭反应,加入水,析出固体,过滤,真空干燥得到目标产物。(2.0g,收率:94%)。m/z 272.2(M+1)

[0197] 步骤2:3-氯-7-氟-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪唑并[3,2-b]吡啶-2-羧酸乙酯的合成:



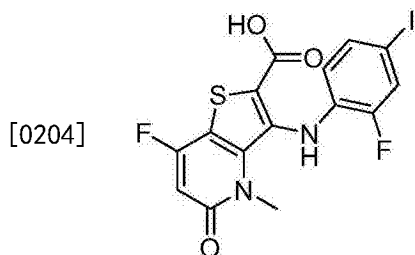
[0199] 将化合物7-氟-3-羟基-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-羧酸乙酯(2.1g,7.74 mmol)加入反应瓶中,加入二氯亚砷(5ml),加热至78℃反应2个小时,浓缩除去二氯亚砷,得到产物。(2.2g,收率:98%)

[0200] 步骤3:7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-羧酸乙酯的合成:



[0202] 将化合物2-氟-4-碘苯胺(196mg,0.83mmol)加入反应瓶中,加入无水THF(1.5ml),在-78℃氮气氛围下向反应液中滴加LiHMDS(1M,2.19ml,2.18mmol),在-78℃反应30分钟后,加入化合物3-氯-7-氟-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-羧酸乙酯(200mg,0.69mmol),在-78℃至室温反应2个小时。反应完毕后,用饱和氯化铵淬灭反应,乙酸乙酯萃取,有机相用无水硫酸钠干燥,浓缩,柱层析分离得到产物。(275mg,收率:81%)。m/z491.2(M+1)。

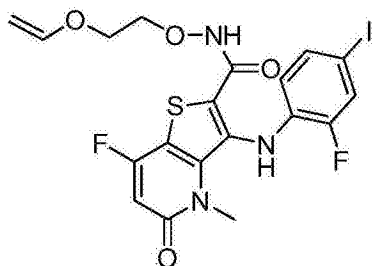
[0203] 步骤4:7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-羧酸的合成:



[0205] 将化合物7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-羧酸乙酯(275mg,0.56mmol)加入反应瓶中,加入乙醇(10ml),然后加入1M NaOH(1.2ml,1.2mmol),加热至60℃反应2个小时,冷却至室温,加入乙酸调PH至4,析出固体,过滤,真空干燥得到目标化合物。(260mg,100%)

[0206] 步骤5:7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-N-(2-(乙烯氧基)乙氧基)-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

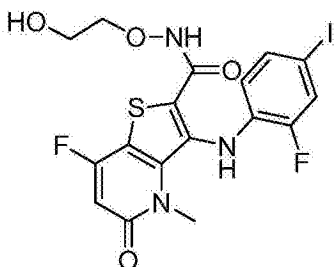
[0207]



[0208] 将化合物7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-羧酸(60mg,0.13mmol)和0-(2-(乙烯基氧基)乙基)羟胺(21mg,0.20mmol)加入反应瓶中,然后加入HOBt(27mg,0.20mmol)和EDCI(38mg,0.20mmol),在室温下反应3个小时,反应完毕后,加入水稀释反应液,用乙酸乙酯萃取,有机相用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,浓缩得到粗产物直接用于下一步。(71mg,收率:100%)。m/z 548.3 (M+1)。

[0209] 步骤6:7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

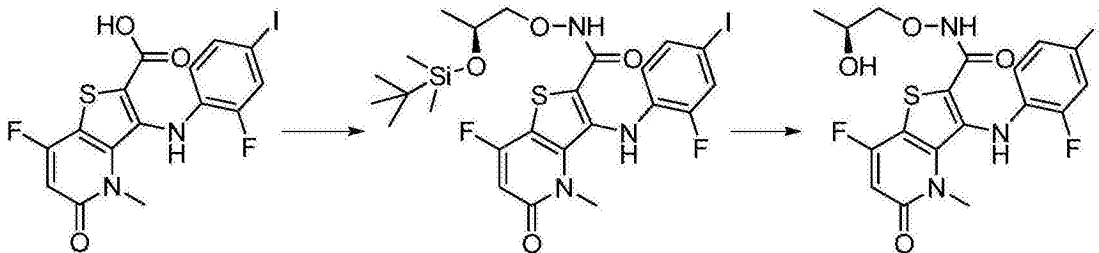
[0210]



[0211] 将化合物7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-N-(2-(乙烯氧基)乙氧基)-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺(71mg,0.13mmol)加入反应瓶中,加入甲醇(2ml),然后加入1M盐酸(0.26ml,0.26mmol),在室温下反应一个小时,反应完毕后,浓缩除去甲醇,用饱和碳酸氢钠溶液中中和,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析分离得到产物。(37mg,收率:55%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ7.64(dd,1H),7.37(d,1H),6.53(m,1H),6.23(d,1H),4.92-4.35(bs,1H),3.75(m,2H),3.52(m,2H),3.25(s,3H)。m/z 522.3 (M+1)

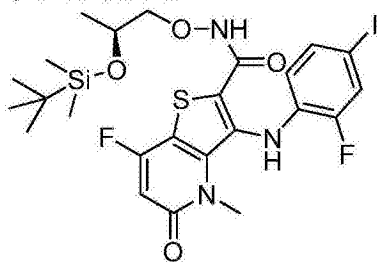
[0212] 实施例5:(S)-7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

[0213]



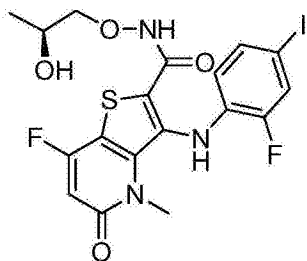
[0214] 步骤1:(S)-N-(2-(叔丁基二甲基硅氧基)丙氧基)-7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

[0215]



[0216] 将化合物7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-羧酸 (60mg, 0.13mmol) 和 (S)-O-(2-(叔丁基二甲基硅氧基)丙氧基)羟胺 (41mg, 0.20mmol) 加入反应瓶中, 然后加入HOBt (27mg, 0.20mmol) 和EDCI (38mg, 0.20mmol), 在室温下反应3个小时, 反应完毕后, 加入水稀释反应液, 用乙酸乙酯萃取, 有机相用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到粗产物直接用于下一步。(84mg, 收率: 100%)。m/z 650.6 (M+1) 步骤2: (S)-7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

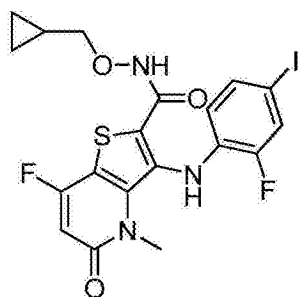
[0217]



[0218] 将化合物 (S)-N-(2-(叔丁基二甲基硅氧基)丙氧基)-7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺 (84mg, 0.13mmol) 加入反应瓶中, 加入THF (2ml), 然后加入1M四丁基氟化铵 (0.26ml, 0.26mmol), 在室温下反应一个小时, 反应完毕后, 浓缩除去甲醇, 用饱和碳酸氢钠溶液中中和, 乙酸乙酯萃取, 无水硫酸钠干燥, 柱层析分离得到产物。(30mg, 收率: 43%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ7.62 (dd, 1H), 7.34 (d, 1H), 6.51 (m, 1H), 6.22 (d, 1H), 4.62 (bs, 1H), 3.79-3.54 (m, 2H), 3.46 (m, 1H), 1.21 (d, 2H)。m/z 536.3 (M+1)

[0219] 实施例6: N-(环丙基甲基氧)-7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

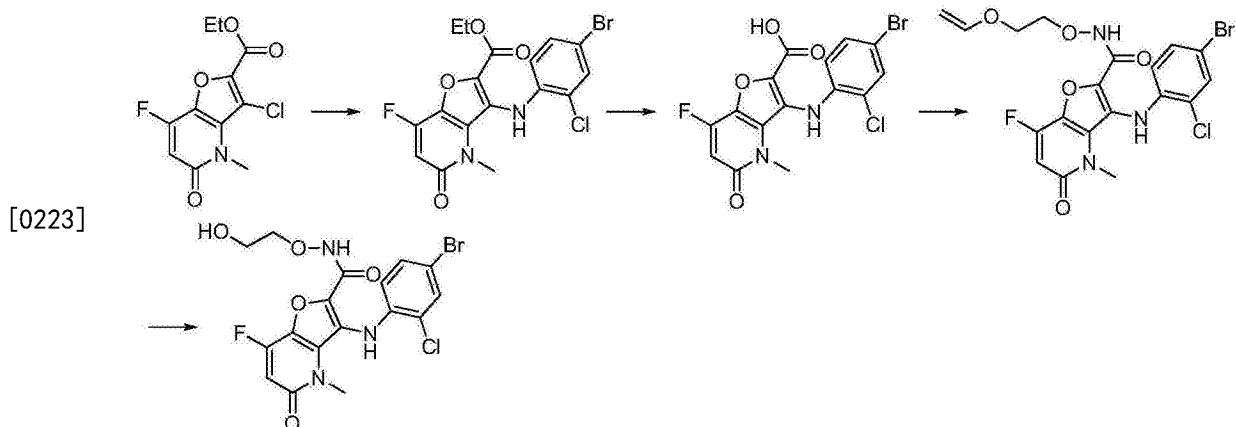
[0220]



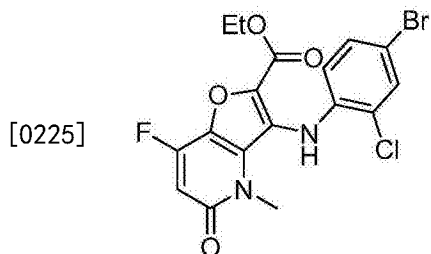
[0221] 将化合物7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-羧酸 (60mg, 0.13mmol) 和O-(环丙基甲基)羟胺 (17mg, 0.20mmol) 加入反应瓶中, 然后加入HOBt (27mg, 0.20mmol) 和EDCI (38mg, 0.20mmol), 在室温下反应3个小时, 反应完毕后, 加入水稀释反应液, 用乙酸乙酯萃取, 有机相用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析分离得到产物。(40mg, 收率: 58%)。δ7.64 (dd, 1H), 7.35 (d, 1H), 6.52 (m, 1H), 6.23

(s, 1H), 3.86 (d, 2H), 0.65 (m, 2H), 0.41 (m, 1H), 0.35 (m, 2H). m/z 532.3 (M+1)。

[0222] 实施例7: 3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-N-(2-羟基乙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

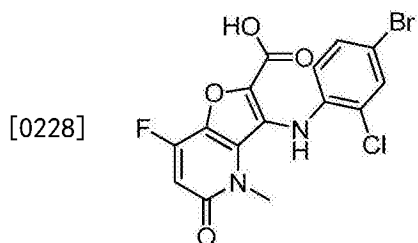


[0224] 步骤1: 7-氟-3-(2-氯-4-溴苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-羧酸乙酯的合成:



[0226] 将化合物2-氯-4-溴苯胺(181mg, 0.88mmol)加入反应瓶中,加入无水THF(1.5ml),在-78℃氮气氛围下向反应液中滴加LiHMDS(1M, 2.19ml, 2.19mmol),在-78℃反应30分钟后,加入化合物3-氟-7-氟-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-羧酸乙酯(200mg, 0.73mmol),在-78℃至室温反应2个小时。反应完毕后,用饱和氯化铵淬灭反应,乙酸乙酯萃取,有机相用无水硫酸钠干燥,浓缩,柱层析分离得到产物。(270mg, 收率:83%) m/z 444.6 (M+1)

[0227] 步骤2: 7-氟-3-(2-氯-4-溴苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-羧酸的合成

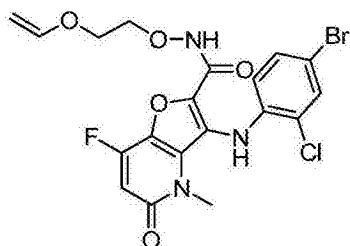


[0229] 将化合物7-氟-3-(2-氯-4-溴苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-羧酸乙酯(270mg, 0.61mmol)加入反应瓶中,加入乙醇(10ml),然后加入1M NaOH(1.22ml, 1.22mmol),加热至60℃反应2个小时,冷却至室温,加入乙酸调PH至4,析出固体,过滤,真空干燥得到目标化合物。(250mg, 99%) m/z 447.1 (M+1)

[0230] 步骤3: 7-氟-3-(2-氯-4-溴苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-N-(2-(乙氧基)乙氧基)

基)-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

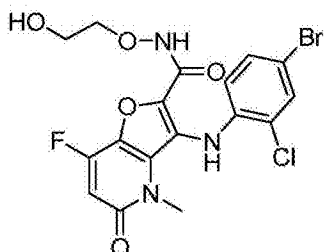
[0231]



[0232] 将化合物7-氟-3-(2-氯-4-溴苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-羧酸(70mg,0.17mmol)和O-(2-(乙烯基氧基)乙基)羟胺(26mg,0.25mmol)加入反应瓶中,然后加入HOBt(34mg,0.25mmol)和EDCI(48mg,0.25mmol),在室温下反应3个小时,反应完毕后,加入水稀释反应液,用乙酸乙酯萃取,有机相用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,浓缩得到粗产物直接用于下一步。(80mg,收率:95%)。

[0233] 步骤4:7-氟-3-(2-氯-4-溴苯基氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

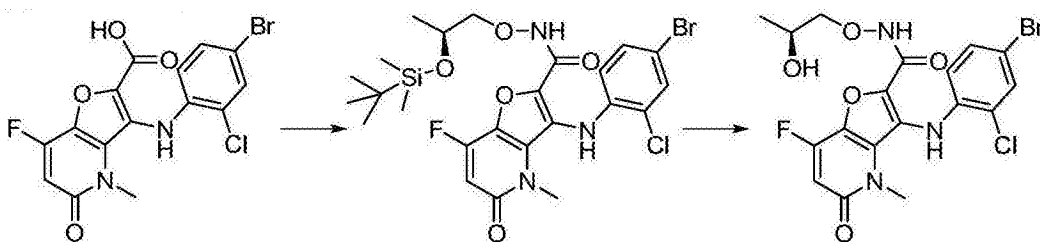
[0234]



[0235] 将化合物7-氟-3-(2-氯-4-溴苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-N-(2-(乙烯氧基)乙氧基)-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺(80mg,0.16mmol)加入反应瓶中,加入甲醇(2ml),然后加入1M盐酸(0.32ml,0.32mmol),在室温下反应一个小时,反应完毕后,浓缩除去甲醇,用饱和碳酸氢钠溶液中和,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析分离得到产物。(40mg,收率:53%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ7.62(dd,1H),7.36(d,1H),6.49(m,1H),6.23(d,1H),4.91-4.35(bs,1H),3.74(m,2H),3.51(m,2H),3.25(s,3H).m/z 475.7(M+1)

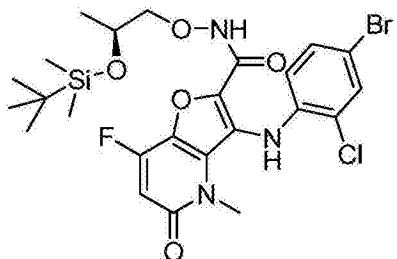
[0236] 实施例8:(S)-3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-N-(2-羟基丙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

[0237]



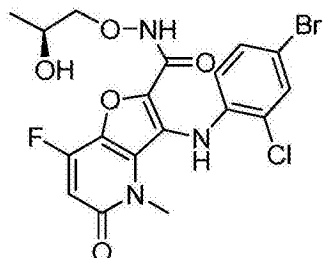
[0238] 步骤1:(S)-3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-N-(2-(叔丁基二甲基硅氧基)丙氧基)-7-氟-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪喃并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

[0239]



[0240] 将化合物3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪唑并[3,2-b]吡啶-2-羧酸(70mg,0.17mmol)和(S)-O-(2-(叔丁基二甲基硅氧基)丙氧基)羟胺(51mg,0.25mmol)加入反应瓶中,然后加入HOBt(34mg,0.25mmol)和EDCI(48mg,0.25mmol),在室温下反应3个小时,反应完毕后,加入水稀释反应液,用乙酸乙酯萃取,有机相用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,浓缩得到粗产物直接用于下一步。(100mg,收率:98%)。m/z 604(M+1)。步骤2:(S)-3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-N-(2-羟基丙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪唑并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

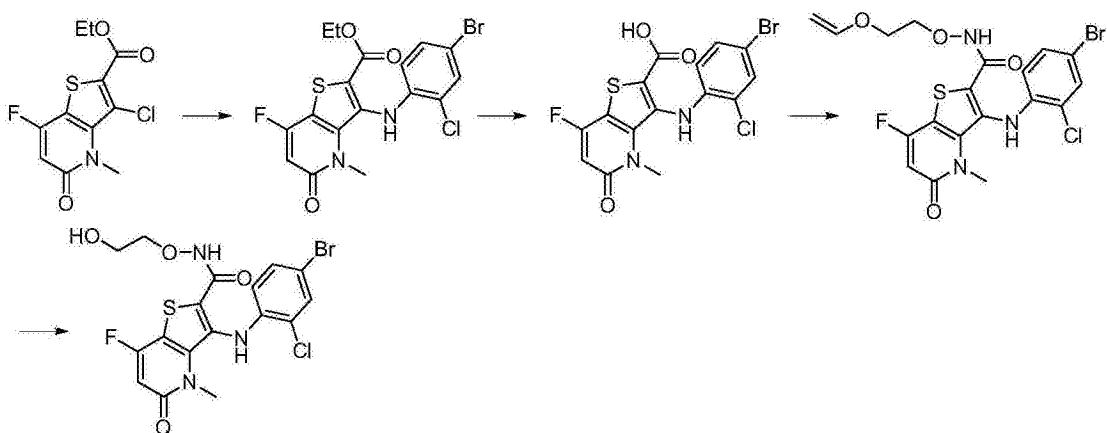
[0241]



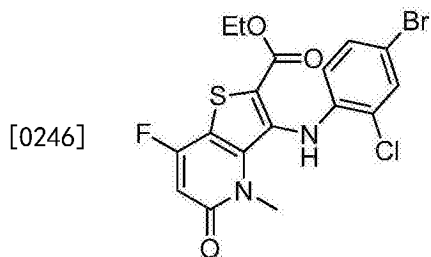
[0242] 将化合物(S)-3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-N-(2-(叔丁基二甲基硅氧基)丙氧基)-7-氟-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪唑并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺(100mg,0.16mmol)加入反应瓶中,加入THF(2ml),然后加入1M四丁基氟化铵(0.32ml,0.32mmol),在室温下反应一个小时,反应完毕后,浓缩除去甲醇,用饱和碳酸氢钠溶液中和,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析分离得到产物。(40mg,收率:49%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ7.62(dd,1H),7.34(d,1H),6.51(m,1H),6.23(d,1H),4.62(bs,1H),3.78-3.53(m,2H),3.46(m,1H),1.21(d,2H)。m/z489.7(M+1)

[0243] 实施例9:3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-N-(2-羟基乙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪唑并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

[0244]

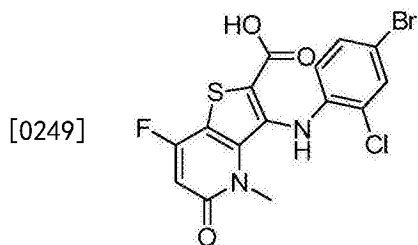


[0245] 步骤1:3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪唑并[3,2-b]吡啶-2-羧酸乙酯的合成:



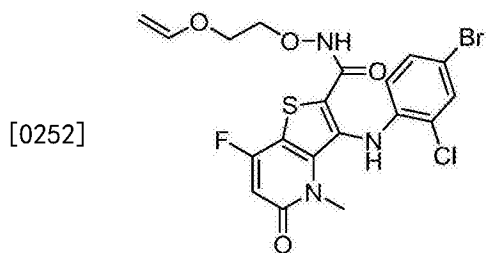
[0247] 将化合物4-溴-2-氯苯胺 (171mg, 0.83mmol) 加入反应瓶中, 加入无水THF (1.5ml), 在-78℃氮气氛围下向反应液中滴加LiHMDS (1M, 2.18ml, 2.18mmol), 在-78℃反应30分钟后, 加入化合物3-氯-7-氟-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-羧酸乙酯 (200mg, 0.69mmol), 在-78℃至室温反应2个小时。反应完毕后, 用饱和氯化铵淬灭反应, 乙酸乙酯萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析分离得到产物。(270mg, 收率: 85%)。m/z 461 (M+1)。

[0248] 步骤2: 3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-羧酸的合成:



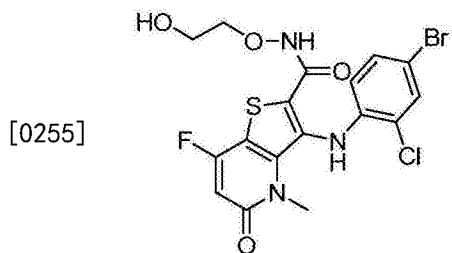
[0250] 将化合物3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-羧酸乙酯 (270mg, 0.59mmol) 加入反应瓶中, 加入乙醇 (10ml), 然后加入1M NaOH (1.2ml, 1.2mmol), 加热至60℃反应2个小时, 冷却至室温, 加入乙酸调PH至4, 析出固体, 过滤, 真空干燥得到目标化合物。(251mg, 99%)。

[0251] 步骤3: 3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-4-甲基-5-氧代-N-(2-(乙烯基氧基)乙氧基)-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:



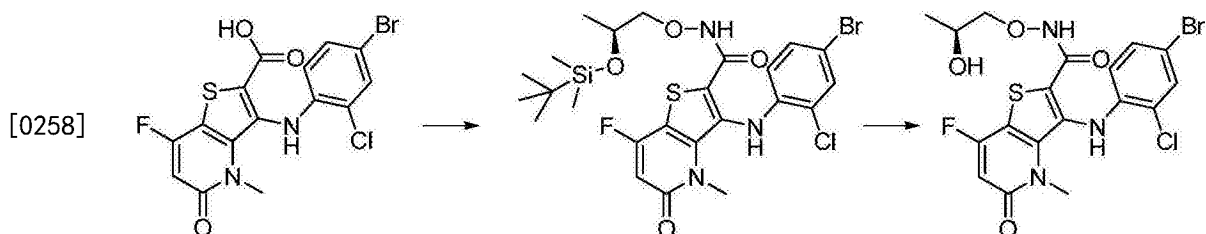
[0253] 将化合物3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-羧酸 (60mg, 0.14mmol) 和O-(2-(乙烯基氧基)乙基)羟胺 (21mg, 0.21mmol) 加入反应瓶中, 然后加入HOBt (28mg, 0.21mmol) 和EDCI (40mg, 0.21mmol), 在室温下反应3个小时, 反应完毕后, 加入水稀释反应液, 用乙酸乙酯萃取, 有机相用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到粗产物直接用于下一步。(70mg, 收率: 97%)。

[0254] 步骤4: 3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-N-(2-羟基乙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:

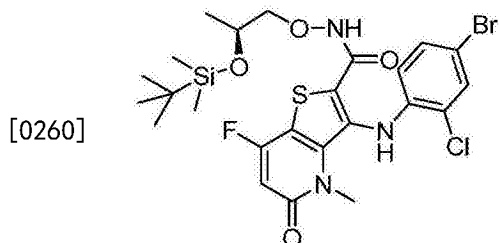


[0256] 将化合物3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-4-甲基-5-氧代-N-(2-(乙烯基氧基)乙氧基)-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺(70mg,0.14mmol)加入反应瓶中,加入甲醇(2ml),然后加入1M盐酸(0.30ml,0.30mmol),在室温下反应一个小时,反应完毕后,浓缩除去甲醇,用饱和碳酸氢钠溶液中中和,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析分离得到产物。(30mg,收率:45%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 7.63(dd,1H),7.35(d,1H),6.48(m,1H),6.21(d,1H),4.91-4.35(bs,1H),3.74(m,2H),3.51(m,2H),3.25(s,3H).m/z 491.7(M+1)。

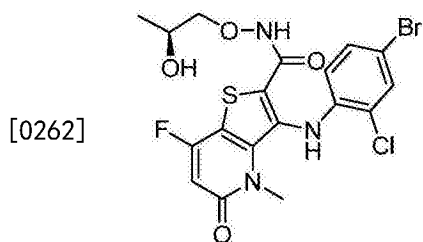
[0257] 实施例10:(S)-3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-N-(2-羟基丙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:



[0259] 步骤1:(S)-3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-N-(2-(叔丁基二甲基硅氧基)丙氧基)-7-氟-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:



[0261] 将化合物3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-羧酸(60mg,0.14mmol)和(S)-O-(2-(叔丁基二甲基硅氧基)丙氧基)羟胺(43mg,0.21mmol)加入反应瓶中,然后加入HOBt(28mg,0.21mmol)和EDCI(40mg,0.21mmol),在室温下反应3个小时,反应完毕后,加入水稀释反应液,用乙酸乙酯萃取,有机相用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,浓缩得到粗产物直接用于下一步。(86mg,收率:100%)。m/z 620(M+1)。步骤2:(S)-3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-N-(2-羟基丙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺的合成:



[0263] 将化合物(S)-3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-N-(2-(叔丁基二甲基硅氧基)丙氧基)-7-氟-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺(86mg,0.14mmol)加入反应瓶中,加入THF(2ml),然后加入1M四丁基氟化铵(0.28ml,0.28mmol),在室温下反应一个小时,反应完毕后,浓缩除去甲醇,用饱和碳酸氢钠溶液中中和,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析分离得到产物。(33mg,收率:47%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ7.61(dd,1H),7.33(d,1H),6.51(m,1H),6.21(d,1H),4.62(bs,1H),3.78-3.53(m,2H),3.46(m,1H),1.21(d,2H).m/z505.7(M+1)

[0264] 生物学实施例

[0265] 细胞活性实验

[0266] 1.细胞:人结肠癌COL0205、人黑色素瘤A375细胞,均来自中国医学科学院基础医学研究所基础医学细胞中心。

[0267] 2.试剂:Gibco DMEM/F12培养基,Gibco 0.25%胰酶/EDTA细胞消化液,MTT(5mg/ml),DMSO,PBS。

[0268] 3.仪器:37℃,5%CO₂培养箱,TECAN Infinite™200系列多功能酶标仪,超净工作台,细胞计数板。

[0269] 4.实验耗材:96孔板。

[0270] 人结肠癌COL0205细胞的活性测试实验步骤:

[0271] 1.铺板。将处于对数生长期的细胞用消化液消化,新鲜培养基终止,对细胞进行计数,用新鲜培养基将细胞浓度调整到5*10⁴个/ml,每孔加200μL,设调零孔(只加培养基)3个,其他边缘用无菌PBS填充。

[0272] 2.于37℃下在5%CO₂中孵育24小时,让细胞铺满孔底60%左右。

[0273] 3.给药。将药物用DMSO溶解,配成10mmol/L母液,再用DMSO将其进行稀释,制成1mmol/L、100μmol/L、10μmol/L、1mol/L、0.1mol/L溶液,给药时,取上述浓度溶液1μL用培养基稀释成1mL,即给药浓度为10μmol/L、1μmol/L、100nmol/L、10nmol/L、1nmol/L、0.1nmol/L、0nmol/L(对照组,加1μL DMSO用培养基稀释成1ml)。给药时,将原有孔内液体吸尽,加入含不同浓度药物的新鲜培养基,每孔200μl。

[0274] ●调零孔,只加培养基;

[0275] ●对照组,含与实验组相同体积的溶剂,用完全培养基稀释。每孔200μl;

[0276] ●实验组,将已溶解的药物用培养基稀释成0.1、1、10、100、1000、10000nM浓度,每孔200μl。

[0277] 4.于37℃下在5%CO₂中孵育。

[0278] 5.72h后,每孔加入20μL MTT溶液(5mg/ml),继续培养4h。

[0279] 6.将96孔板用平板离心机离心,1000转/5分钟。

[0280] 7.终止培养,小心吸去孔内的培养液。

[0281] 8.每孔加入150μl二甲基亚砷(DMSO),低速震荡10min,待结晶物充分溶解后,在酶标仪,490nm波长处测其吸光值。

[0282] 按下表1所示对本发明化合物编号。全部化合物1-10的IC₅₀值都小于1000nM。

[0283] 人黑色素瘤A375细胞的活性测试实验步骤:

[0284] 1.铺板。将处于对数生长期的细胞用消化液消化,新鲜培养基终止,对细胞进行计

数,用新鲜培养基将细胞浓度调整到 2.5×10^4 个/ml,每孔加200 μ L,设调零孔(只加培养基)3个,其他边缘用无菌PBS填充。

[0285] 2.于37 $^{\circ}$ C下在5%CO₂中孵育36小时,让细胞铺满孔底60%左右。

[0286] 3.给药。将药物用DMSO溶解,配成10mmol/L母液,再用DMSO将其进行稀释,制成1mmol/L、100 μ mol/L、10 μ mol/L、1mol/L、0.1mol/L溶液,给药时,取上述浓度溶液1 μ L用培养基稀释成1mL,即给药浓度为10 μ mol/L、1 μ mol/L、100nmol/L、10nmol/L、1nmol/L、0.1nmol/L、0nmol/L(对照组,加1 μ L DMSO用培养基稀释成1mL)。给药时,将原有孔内液体吸尽,加入含不同浓度药物的新鲜培养基,每孔200 μ l。

[0287] ●调零孔,只加培养基;

[0288] ●对照组,含与实验组相同体积的溶剂,用完全培养基稀释。每孔200 μ l;

[0289] ●实验组,将已溶解的药物用培养基稀释成0.1、1、10、100、1000、10000nM浓度,每孔200 μ l。

[0290] 4.于37 $^{\circ}$ C下在5%CO₂中孵育。

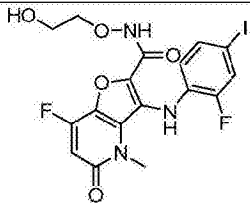
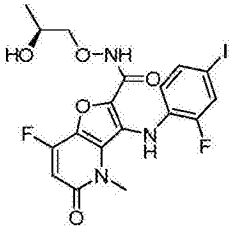
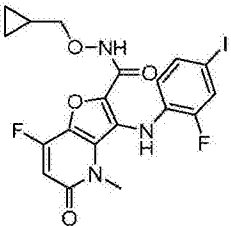
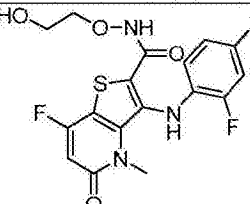
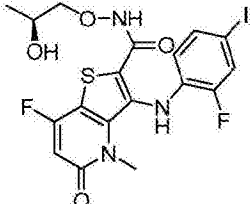
[0291] 5.72h后,每孔加入20 μ L MTT溶液(5mg/ml),继续培养4h。

[0292] 6.终止培养,小心吸去孔内的培养液。

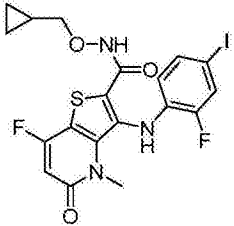
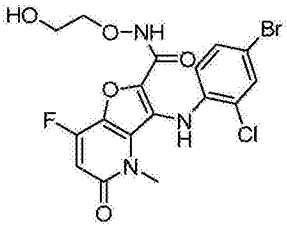
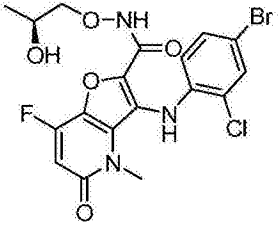
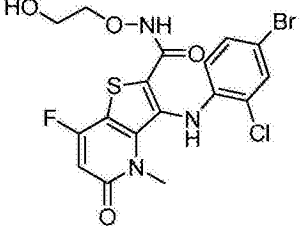
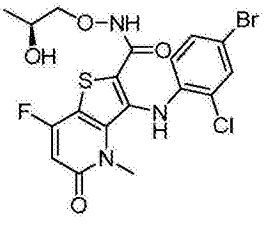
[0293] 7.每孔加入150 μ l二甲基亚砜(DMSO),低速震荡10min,待结晶物充分溶解后,在酶标仪,490nm波长处测其吸光值。

[0294] 按下表1所示对本发明化合物编号。全部化合物1-10的IC₅₀值都小于1000nM。

[0295] 表1.测试化合物

		IC50 (nM)	
		COLO 205	A375
1	 <p>7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪唑并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺</p>	13.8	5.3
2	 <p>(S)-7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪唑并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺</p>	24.1	68.4
3	 <p>N-(环丙基甲基氧)-7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢咪唑并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺</p>	179.1	997.6
4	 <p>7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺</p>	2.3	8.6
5	 <p>(S)-7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺</p>	5.8	10.6

[0296]

6	 <p>N-(环丙基甲基氧)-7-氟-3-(2-氟-4-碘苯基氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺</p>	283.5	463.8
7	 <p>3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-N-(2-羟基乙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺</p>	98.2	316.3
8	 <p>(S)-3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-N-(2-羟基丙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺</p>	238.2	915.6
9	 <p>3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-N-(2-羟基乙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺</p>	107.2	228.6
10	 <p>(S)-3-(4-溴-2-氯苯基氨基)-7-氟-N-(2-羟基丙氧基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢噻吩并[3,2-b]吡啶-2-甲酰胺</p>	98.8	204.2

[0297]