



# (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110885316 B

(45) 授权公告日 2023. 03. 28

(21) 申请号 201811052776.2

A61K 31/166 (2006.01)

(22) 申请日 2018.09.10

A61K 31/4402 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61P 35/00 (2006.01)

申请公布号 CN 110885316 A

A61P 5/00 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

(43) 申请公布日 2020.03.17

A61P 25/00 (2006.01)

(73) 专利权人 上海中泽医药科技有限公司

地址 201207 上海市浦东新区中国(上海)

自由贸易试验区芳春路400号1幢3层

专利权人 上海医药工业研究院

(56) 对比文件

JP 2005272419 A, 2005.10.06

CN 105727298 A, 2016.07.06

US 2014378385 A1, 2014.12.25

WO 2005007091 A2, 2005.01.27

WO 2005007091 A2, 2005.01.27

(72) 发明人 李建其 张庆伟 郭政 浦强

曾景 钱浩

赵彩红等. 亲电酮类HDAC 抑制剂的3D-QSAR 和分子对接研究.《化学研究与应用》.2011,第23 卷(第7期),第814-820页.

(74) 专利代理机构 上海金盛协力知识产权代理 有限公司 31242

专利代理师 罗大忱

D. Andrew Knight等.Surface plasmon resonance promotion of homogeneous catalysis using a gold nanoparticle platform.《J Nanopart Res》.2014,第16卷

谭玉梅等.组蛋白去乙酰化酶抑制剂研究进展.《药学报》.2009,第44卷(第10期),第1072-1083页.

(51) Int.Cl.

C07D 239/42 (2006.01)

C07C 323/42 (2006.01)

C07D 413/04 (2006.01)

C07D 213/81 (2006.01)

C07D 239/69 (2006.01)

C07D 401/04 (2006.01)

A61K 31/505 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

审查员 陈海芳

权利要求书2页 说明书25页

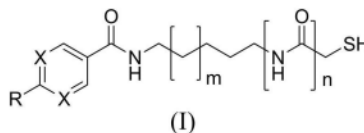
(54) 发明名称

作为组蛋白去乙酰化酶抑制剂的巯基化合物及其用途

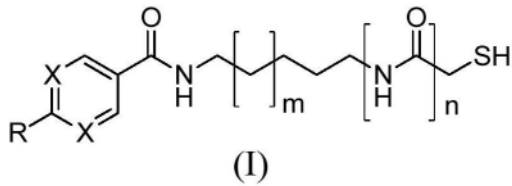
(57) 摘要

本发明公开了一种作为组蛋白去乙酰化酶抑制剂的巯基化合物及其用途,药理实验结果表明,本发明化合物对多种肿瘤细胞显示较高抗增殖活性,在细胞模型上对谷氨酸诱发的神经元细胞损伤显示保护作用,对正常细胞毒性低,潜在心脏毒性小,且药代特征理想,具有较高的血脑屏障通透性,具有作为高效低毒抗肿瘤或神经退行性疾病治疗剂的开发前景。所述的巯基化合物,为结构通式如式(I)所示的化合物或其药学

上可接受的盐、酯或前药:



1. 巯基化合物, 其特征在于, 为结构通式如式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐:



其中:

R为NH-杂芳基、N(芳基)(芳基)、N(芳基)(杂芳基)、N(芳基)(酰基)、N(芳基)(磺酰基)或N(杂芳基)(杂芳基);

所述的芳基或杂芳基为苯基、萘基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、吡咯基、咪唑基、苯并噁唑基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、三唑基、异噁唑基、喹啉基、吡咯基、吡唑基或5,6,7,8-四氢异喹啉;

所述的酰基为乙酰基、丙酰基、异丁酰基或芳基酰基;

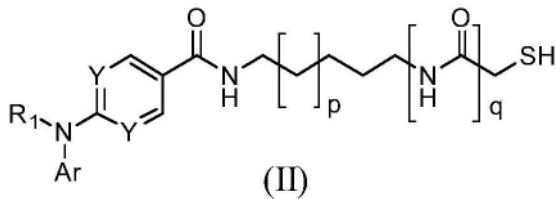
所述的磺酰基为芳基磺酰基;

X为CH或N;

m为0、1、2或3;

n为0或1。

2. 含巯基结构的化合物, 为式 (II) 所示化合物或其药学上可接受的盐,



其中:

R<sub>1</sub>为氢、烷基、芳基或杂芳基、酰基或磺酰基;

所述的烷基为C1~C5的烷基;

所述的芳基或杂芳基为苯基、萘基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、吡咯基、咪唑基、苯并噁唑基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、三唑基、异噁唑基、喹啉基、吡咯基或吡唑基;

所述的酰基为乙酰基、丙酰基、异丁酰基或芳基酰基;

所述的磺酰基为芳基磺酰基;

Y为CH或N;

p为0、1、2或3;

q为0或1。

3. 根据权利要求2所述的巯基化合物, 其特征在于, 所述的烷基为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基或异丁基。

4. 巯基化合物, 其特征在于, 选自以下化合物或其药学上可接受盐:

I-1 2-(二苯基氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)嘧啶-5-甲酰胺、

I-2 2-(二苯基氨基)-N-(6-巯基己基)嘧啶-5-甲酰胺、

I-3 4-(二苯基氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)苯甲酰胺、

- I-4 4-(二苯基氨基)-N-(6-巯基己基)苯甲酰胺、
- I-5 4-(二(嘧啶-2-基)氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)苯甲酰胺、
- I-6 4-(二(嘧啶-2-基)氨基)-N-(6-巯基己基)苯甲酰胺、
- I-7 2-((2,6-二氯苯基)(甲基)氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)嘧啶-5-甲酰胺、
- I-8 2-((2,6-二氯苯基)(甲基)氨基)-N-(6-巯基己基)嘧啶-5-甲酰胺、
- I-9N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)-2-(N-苯基乙酰氨基)嘧啶-5-甲酰胺、
- I-10N-(6-巯基己基)-2-(N-苯基乙酰氨基)嘧啶-5-甲酰胺、
- I-11 2-(苯并[d]噁唑-2-基氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)嘧啶-5-甲酰胺、
- I-12 2-(苯并[d]噁唑-2-基氨基)-N-(6-巯基己基)嘧啶-5-甲酰胺、
- I-13N-(4-((5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)氨基甲酰基)苯基)-N-苯基吡啶甲酰胺、
- I-14N-(4-((6-巯基己基)氨基甲酰基)苯基)-N-苯基吡啶甲酰胺、
- I-15N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)-2-(N-苯基苯基磺酰胺基)嘧啶-5-甲酰胺、
- I-16N-(6-巯基己基)-2-(N-苯基苯基磺酰胺基)嘧啶-5-甲酰胺、
- I-17N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)-2-(哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺、
- I-18N-(6-巯基己基)-2-(哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺、
- I-19N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)-2-(4-苯基哌嗪-1-基)嘧啶-5-甲酰胺、
- I-20N-(6-巯基己基)-2-(4-苯基哌嗪-1-基)-嘧啶-5-甲酰胺、
- I-21 2-(6,7-二甲氧基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)嘧啶-5-甲酰胺或
- I-22 2-(6,7-二甲氧基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-N-(6-巯基己基)嘧啶-5-甲酰胺。

5. 根据权利要求1~4任一项所述的巯基化合物,其特征在于,所述药学上可接受的盐,为含有药物的化学上可接受的阴离子盐。

6. 药物组合物,包括治疗有效量权利要求1~5任一项所述的巯基化合物和药学上可接受的载体。

7. 权利要求1~5任一项所述的巯基化合物在制备治疗基因表达异常而引起的疾病的药物中的应用,其特征在于,所述的基因表达异常而引起的疾病选自肿瘤、内分泌紊乱、免疫系统疾病、遗传病或神经系统疾病。

## 作为组蛋白去乙酰化酶抑制剂的巯基化合物及其用途

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一类含巯基结构的组蛋白去乙酰化酶抑制剂及其在治疗肿瘤或神经退行性疾病方面的应用。

### 背景技术

[0002] 组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases,HDACs)能够催化组蛋白和非组蛋白的去乙酰化过程,和组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferases,HATs)共同调节细胞内乙酰化水平,从而调控基因的表达。目前,已知哺乳动物HDACs有18个亚型,分为四类:I类(HDAC1、HDAC2、HDAC3、HDAC8);II类进一步分为IIa(HDAC4、HDAC5、HDAC7、HDAC9)和IIb(HDAC6、HDAC10)两个亚家族;III类(Sirt1~Sirt7);IV类(HDAC11)。

[0003] 目前已上市的组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDACi)共有5个,分别为伏立诺他(vorinostat)、贝利司他(belinostat)、帕比司他(panobinostat)、罗米地辛(romidepsin)和西达本胺(chidamide),前三者均为广谱型抑制剂,后两者选择性作用于I类亚型。伏立诺他和罗米地辛用于治疗皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL),贝利司他和西达本胺用于治疗复发及难治性外周T细胞淋巴瘤(PTCL),帕比司他与硼替佐米和地塞米松联用治疗多发性骨髓瘤(MM)。

[0004] 尽管上述HDAC抑制剂在临床上已取得良好疗效,但广谱HDAC抑制剂普遍存在如下缺点:

[0005] (1)较强的毒副作用,如恶心、呕吐、骨髓抑制等;

[0006] (2)基因毒性;

[0007] (3)药代动力学特性差,生物利用度低、半衰期短等。

[0008] 以上缺点既为肿瘤患者造成不便,也阻碍广谱HDAC抑制剂在肿瘤治疗以外领域的应用。

[0009] 目前HDACs亚型选择性抑制剂成为该领域的研究热点。其中,HDAC6亚型抑制剂备受关注。HDAC6涉及的疾病领域非常广泛,包括神经退行性疾病、炎症、自身免疫应答、肿瘤及细菌感染等。

[0010] HDAC6与肿瘤的发生、侵袭与转移密切相关。HDAC6通过上调细胞质中蛋白激酶B和细胞外调节激酶的磷酸化水平,进而激活更多致癌Ras信号通路和肿瘤细胞存活信号通路,促进肿瘤生长。HDAC6的高表达还与癌细胞的加速转移和侵袭性增强有关。

[0011] HDAC6与神经退行性疾病密切相关。神经退行性疾病是一种神经细胞发生进行性损伤与凋亡的老年性疾病,其病变机理包括线粒体功能障碍学说、氧化应激学说、蛋白质错误折叠聚集、炎症、免疫功能缺陷、基因突变等。该类疾病主要有阿尔茨海默病、肌肉萎缩性侧索硬化症、共济失调毛细血管扩张症、克雅氏病、亨廷顿病、多发性硬化症及帕金森病等。随着近年对神经退行性疾病的深入研究发现,选择性HDAC6抑制剂具有保护神经细胞生长及促进轴突再生作用。在神经退行性疾病如阿尔茨海默病、帕金森病和亨廷顿病中,抑制HDAC6可增强脑源性神经营养因子的轴突运输,对细胞保护和生存有利。选择性HDAC6抑制

剂tubastatinA (TA) 在小鼠脑梗死中可能通过抑制 HDAC6去乙酰化活性,导致 $\alpha$ -微管蛋白乙酰化水平和成纤维细胞生长因子-21 (FGF-21) 的上调,从而改善小鼠大脑中动脉栓塞的神经元细胞死亡.TA还可降低阿尔茨海默病大鼠的tau蛋白整体水平,从而提高大鼠记忆能力.TA的作用机制可能是通过抑制 HDAC6活性,增加了微管蛋白的乙酰化,从而使二级微管结构更稳定,另一方面可能导致Hsp90乙酰化水平提高,使tau蛋白二级结构降解增加。

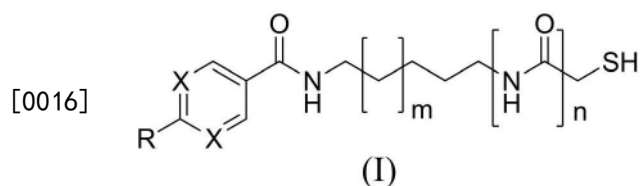
[0012] 目前文献报道的HDAC6抑制剂主要由三部分组成,包括表面识别区、连接区和锌离子结合区,其中锌离子结合区多数含有异羟肟酸结构,该结构存在基因毒性且药代动力学特性差等缺点。

[0013] 针对现有技术的缺陷分析,本发明采用药物设计及合成手段,获取一系列含巯基结构的化合物,药理实验表明本发明化合物可选择性抑制HDAC6,对多种肿瘤细胞显示较高抗增殖活性,对正常细胞毒性低,潜在心脏毒性小,且药代特征理想,具有较高的血脑屏障通透性,具有作为高效低毒抗肿瘤或神经退行性疾病治疗剂开发前景。

### 发明内容

[0014] 本发明的目的是公开一种作为组蛋白去乙酰化酶抑制剂的巯基化合物及其用途,以满足临床应用的需要。该类化合物具有HDAC6亚型选择性,且具有高效、低毒、药代动力学特性理想等特征,作为高效低毒抗肿瘤或神经退行性疾病治疗剂可满足临床需要。

[0015] 所述的巯基化合物,为结构通式如式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐、酯或前药:



[0017] 其中:

[0018] R为氢、卤素、烷基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基、氰基、三氟甲基、 $\text{NH}_2$ 、NH(烷基)、N(烷基)(烷基)、NH-芳基、NH-杂芳基、N(芳基)(芳基)、N(芳基)(杂芳基)、N(芳基)(酰基)、N(芳基)(磺酰基)或N(杂芳基)(杂芳基)。

[0019] 所述的烷基为C1~C5的烷基;

[0020] X为CH或N;

[0021] m为0、1、2或3;

[0022] n为0或1。

[0023] 优选的,所述卤素为氟或氯。

[0024] 优选的,所述的烷基为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基或异丁基,其可任选被取代;

[0025] 所述的环烷基为环丙基、环戊基或环己基,所述的环烷基可被任意取代;

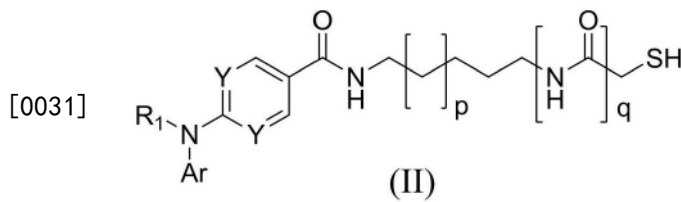
[0026] 所述的杂环烷基为吡咯基、吗啉基、哌啶基、四氢喹啉基、四氢三唑并吡嗪基、二氮杂环庚烷基或哌嗪基,所述的杂环烷基可被任意取代;

[0027] 所述的芳基或杂芳基为苯基、萘基、蒽基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、咪唑基、咪唑基、(苯并)噁唑基、(苯并)呋喃基、(苯并)噻吩基、(苯并)噻唑基、三唑基、异噁唑基、喹啉基、吡咯基、吡唑基或5,6,7,8-四氢异喹啉;所述的芳基或杂芳基可被任意取代;

[0028] 所述的酰基为乙酰基、丙酰基、异丁酰基或芳基酰基；

[0029] 所述的磺酰基为甲磺酰基或芳基磺酰基；

[0030] 本发明所述的含巯基结构的化合物，为式 (II) 所示化合物或其药学上可接受的盐、酯或前药：



[0032] 其中：

[0033]  $R_1$  为氢、烷基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基、酰基或磺酰基；

[0034] 所述的烷基为C1~C5的烷基；

[0035] Y为CH或N；

[0036] p为0、1、2或3；

[0037] q为0或1。

[0038] 所述的烷基为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基或异丁基，所述的烷基可被任意取代；

[0039] 所述的环烷基为环丙基、环戊基或环己基，所述的环烷基可被任意取代；

[0040] 所述的杂环烷基为吡咯基、吗啉基、哌啶基、四氢喹啉基、四氢三唑并吡嗪基、二氮杂环庚烷基或哌嗪基，所述的杂环烷基可被任意取代；

[0041] 所述的芳基或杂芳基为苯基、萘基、蒽基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、吡咯基、咪唑基、(苯并)噁唑基、(苯并)呋喃基、(苯并)噻吩基、(苯并)噻唑基、三唑基、异噁唑基、喹啉基、吡咯基、吡啶基或5,6,7,8-四氢异喹啉；所述的芳基或杂芳基可被任意取代；

[0042] 所述的酰基为乙酰基、丙酰基、异丁酰基或芳基酰基。

[0043] 所述的磺酰基为甲磺酰基或芳基磺酰基。

[0044] 本发明所述的含巯基结构的化合物，选自以下：

[0045] I-1 2-(二苯基氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)嘧啶-5-甲酰胺；

[0046] I-2 2-(二苯基氨基)-N-(6-巯基己基)嘧啶-5-甲酰胺；

[0047] I-3 4-(二苯基氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)苯甲酰胺；

[0048] I-4 4-(二苯基氨基)-N-(6-巯基己基)苯甲酰胺；

[0049] I-5 4-(二(嘧啶-2-基)氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)苯甲酰胺；

[0050] I-6 4-(二(嘧啶-2-基)氨基)-N-(6-巯基己基)苯甲酰胺；

[0051] I-7 2-((2,6-二氯苯基)(甲基)氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)嘧啶-5-甲酰胺；

[0052] I-8 2-((2,6-二氯苯基)(甲基)氨基)-N-(6-巯基己基)嘧啶-5-甲酰胺；

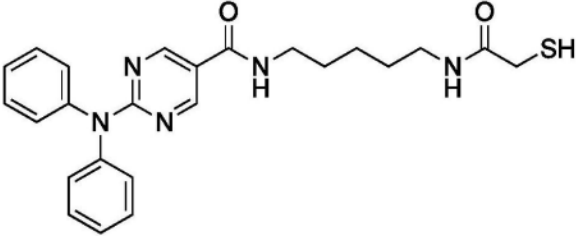
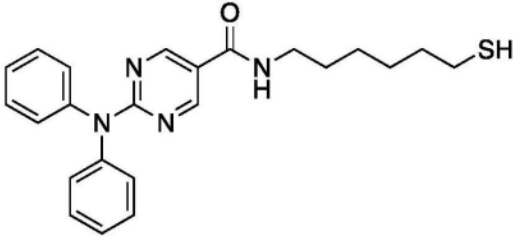
[0053] I-9 N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)-2-(N-苯基乙酰氨基)嘧啶-5-甲酰胺；

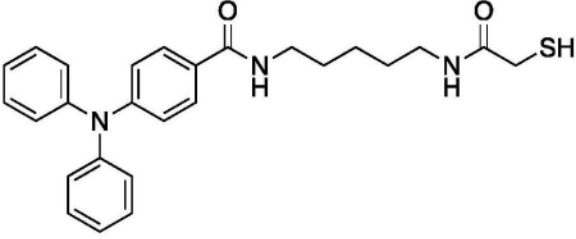
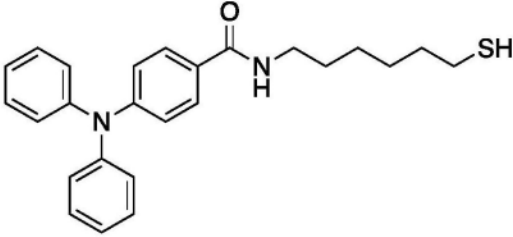
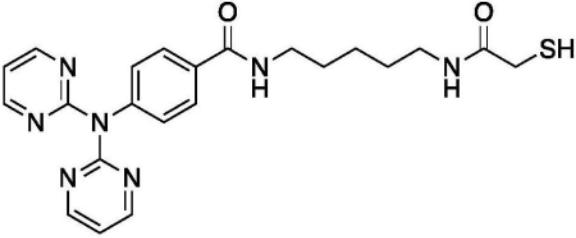
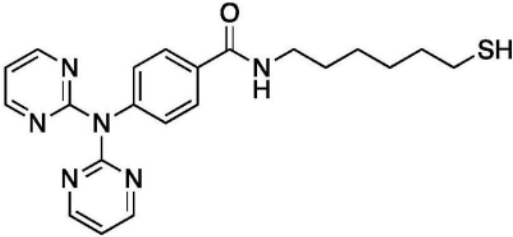
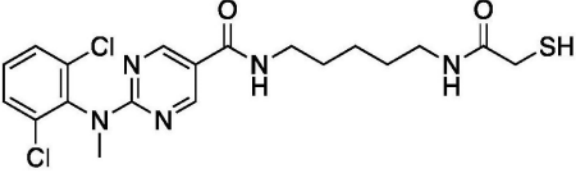
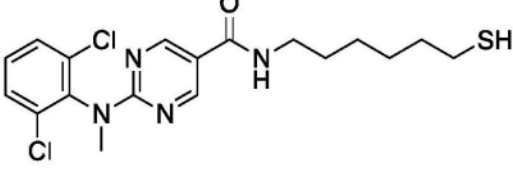
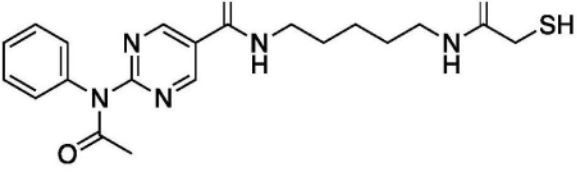
[0054] I-10 N-(6-巯基己基)-2-(N-苯基乙酰氨基)嘧啶-5-甲酰胺；

[0055] I-11 2-(苯并[d]噁唑-2-基氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)嘧啶-5-甲酰胺；

- [0056] I-12 2-(苯并[d]噁唑-2-基氨基)-N-(6-巯基己基)嘧啶-5-甲酰胺;
- [0057] I-13 N-(4-((5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)氨基甲酰基)苯基)-N-苯基吡啶甲酰胺;
- [0058] I-14 N-(4-((6-巯基己基)氨基甲酰基)苯基)-N-苯基吡啶甲酰胺;
- [0059] I-15 N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)-2-(N-苯基苯基磺酰胺基)嘧啶-5-甲酰胺;
- [0060] I-16 N-(6-巯基己基)-2-(N-苯基苯基磺酰胺基)嘧啶-5-甲酰胺;
- [0061] I-17 N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)-2-(哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺;
- [0062] I-18 N-(6-巯基己基)-2-(哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺;
- [0063] I-19 N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)-2-(4-苯基哌嗪-1-基)嘧啶-5-甲酰胺;
- [0064] I-20 N-(6-巯基己基)-2-(4-苯基哌嗪-1-基)-嘧啶-5-甲酰胺
- [0065] I-21 2-(6,7-二甲氧基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)嘧啶-5-甲酰胺或
- [0066] I-22 2-(6,7-二甲氧基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-N-(6-巯基己基)嘧啶-5-甲酰胺。
- [0067] 上述化合物结构式见下表:

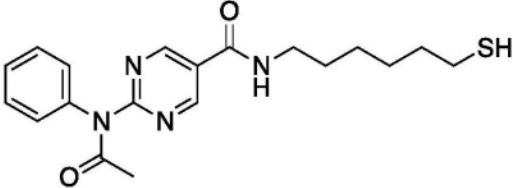
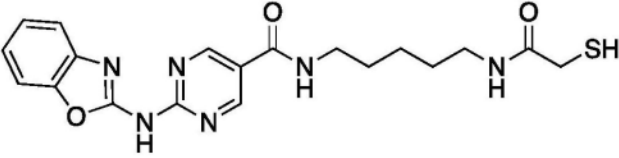
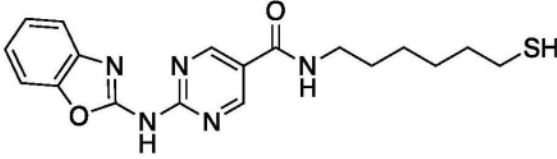
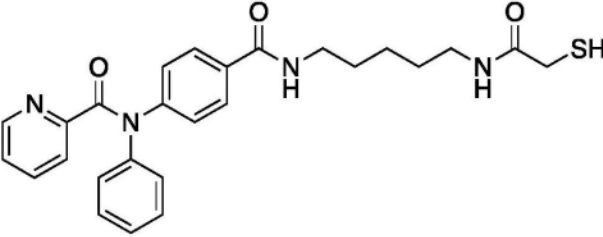
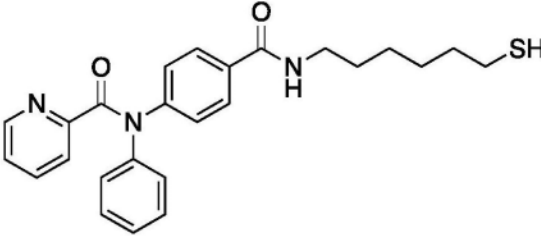
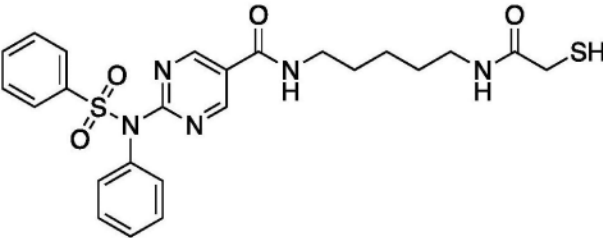
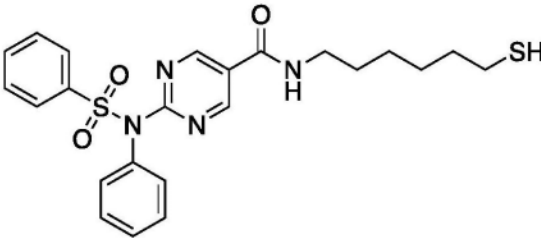
[0068]

编号	结构
I-1	
I-2	

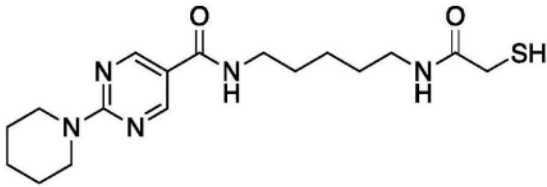
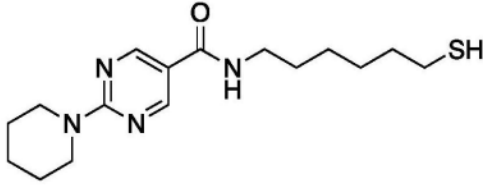
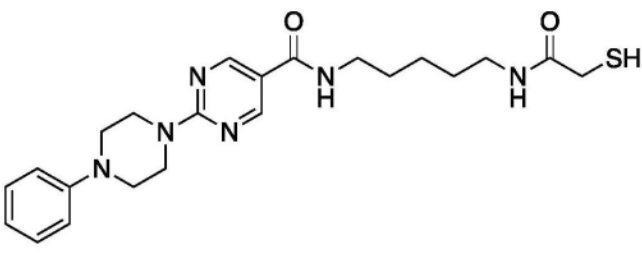
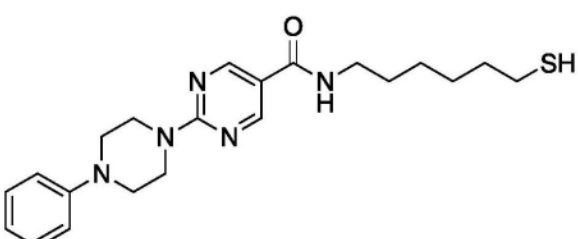
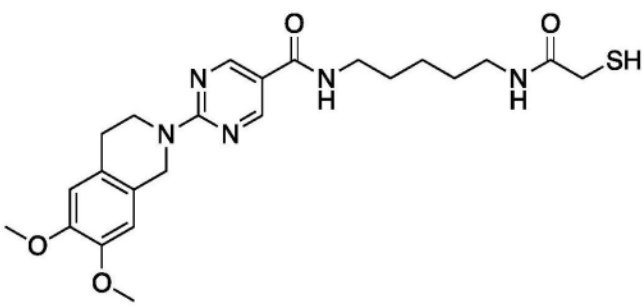
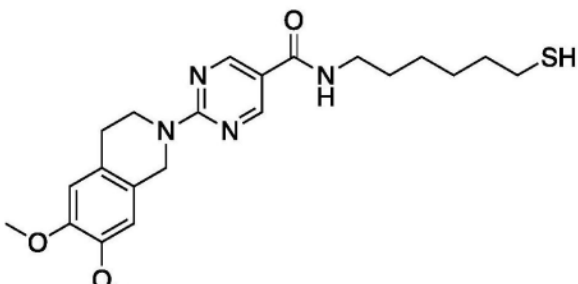
I-3	
I-4	
I-5	
I-6	
I-7	
I-8	
I-9	

[0069]



I-10	
I-11	
I-12	
I-13	
I-14	
I-15	
I-16	

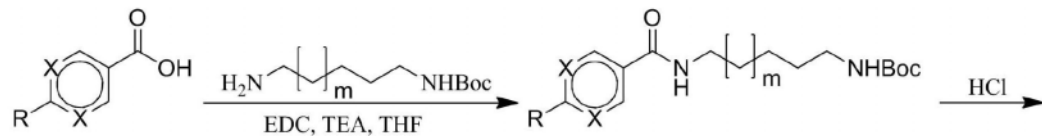
[0070]

I-17	
I-18	
I-19	
[0071] I-20	
I-21	
I-22	

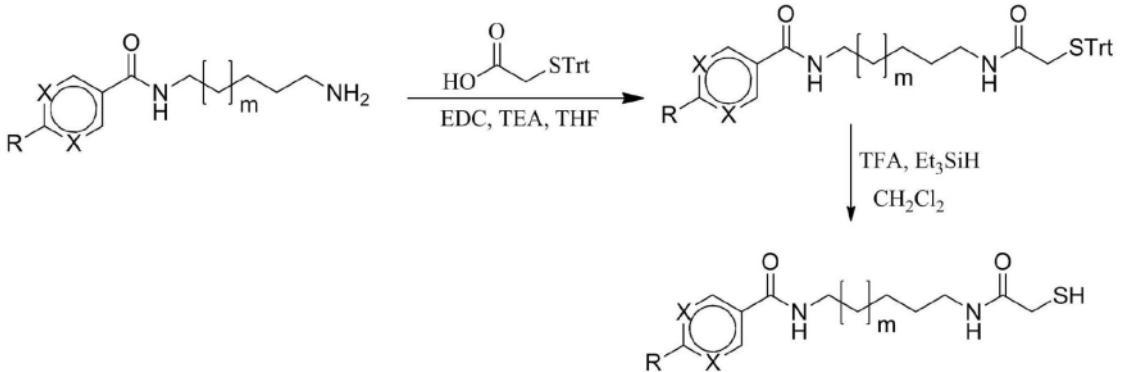
[0072] 所述的式(I)化合物及I-1至I-22任一化合物的盐,为含有药物的化学上可接受的阴离子盐,优选盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、醋酸盐、三氟醋酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、马来酸盐、富马酸盐、甲磺酸盐、苹果酸盐、对甲苯磺酸盐或草酸盐。

[0073] 本发明的化合物可采用如下合成通法进行制备:

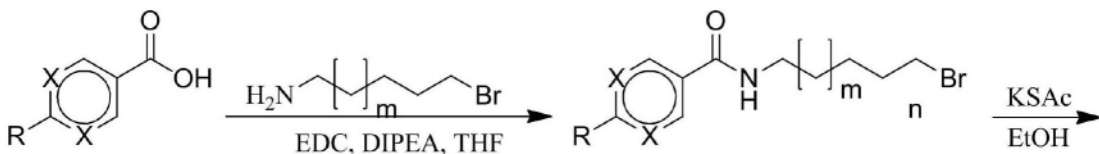
[0074] 1) 当 $n=1$ 时,按照合成通法1进行合成,如下:



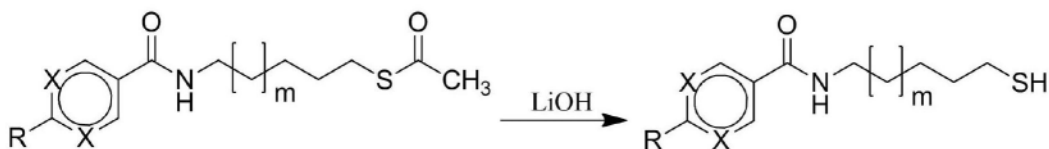
[0075]



[0076] 2) 当 $n=0$ 时,按照合成通法2进行合成,如下:



[0077]



[0078] 通过上述合成通法1或2得到包括式(I)结构的化合物,其可进一步与无机酸、有机酸在溶剂中反应,冷却析出相应的式(I)结构化合物的盐。

[0079] 上述制备方法中所用到的原料、化合物和试剂可以通过商业渠道购买。

[0080] 药理实验表明,本发明所述化合物具有以下有益效果:

[0081] 1) 本发明化合物对HDAC6抑制活性高(nM级别),显示一定选择性抑制活性(相对HDAC1)。

[0082] 2) 与现有HDAC6抑制剂相比,本发明所述化合物在有效抑制多株肿瘤细胞的同时,对正常细胞的抑制作用很弱,表现出较好的选择抑制活性。

[0083] 3) 本发明化合物在细胞模型上对谷氨酸诱发的神经元细胞损伤显示保护作用,提示其具有一定神经保护作用。

[0084] 4) 本发明所述化合物潜在心脏毒性较小,急性毒性低。

[0085] 5) 本发明化合物药代特征理想,具有较高的血脑屏障通透性。

[0086] 综上所述,本发明所述化合物作为抗肿瘤药物应用时,具有较高的血脑屏障通透性,对神经元细胞具有保护作用,提示可作为高效低毒治疗剂用于肿瘤或神经退行性疾病治疗。

[0087] 本发明所述化合物结构具有新颖性,化合物药效及安全性具有创造性及实质的科学进步。

[0088] 本发明所述化合物可以以组合物的形式通过口服、注射等途径施用于需要肿瘤治疗的哺乳动物(包括人);其中尤以口服方式最佳。用药剂量为每日0.0001mg/kg~200mg/kg体重。最佳剂量视个体而定,通常开始时剂量较小,然后逐渐增加用量。

[0089] 所述组合物包括治疗有效量的式(I)所示的化合物和药学上可接受的载体;

[0090] 所述的载体是指药学领域常规的载体,例如:稀释剂、赋形剂如水等;粘合剂如纤维素衍生物、明胶、聚乙烯吡咯烷酮等;填充剂如淀粉等;崩裂剂如碳酸钙、碳酸氢钠;另外,还可以在组合物中加入其他辅助剂如香味剂和甜味剂。

[0091] 本发明的组合物可以制备成常规的固体制剂,如片剂、胶囊等,用于口服;也可以将其制备成注射剂等剂型用于注射。

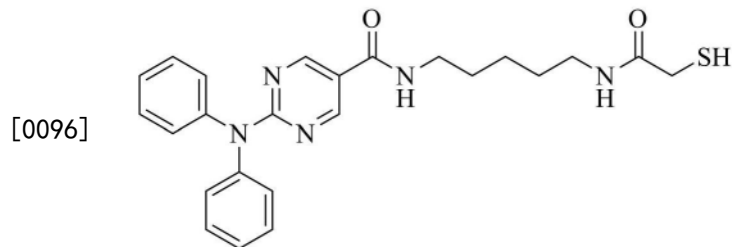
[0092] 本发明优点在于,所述化合物对HDAC6肿瘤细胞信号转导通路具有选择性抑制活性,对正常细胞毒性较低,潜在心脏毒性小,血脑屏障通透性高,对神经元细胞具有保护作用,适于作为高效低毒治疗剂用于肿瘤或神经退行性疾病治疗。

[0093] 本发明优点在于,所述化合物及其药用制剂对于治疗基因表达异常而引起的疾病,如:内分泌紊乱、免疫系统疾病、遗传病及神经系统疾病亦可能具有较好的疗效。

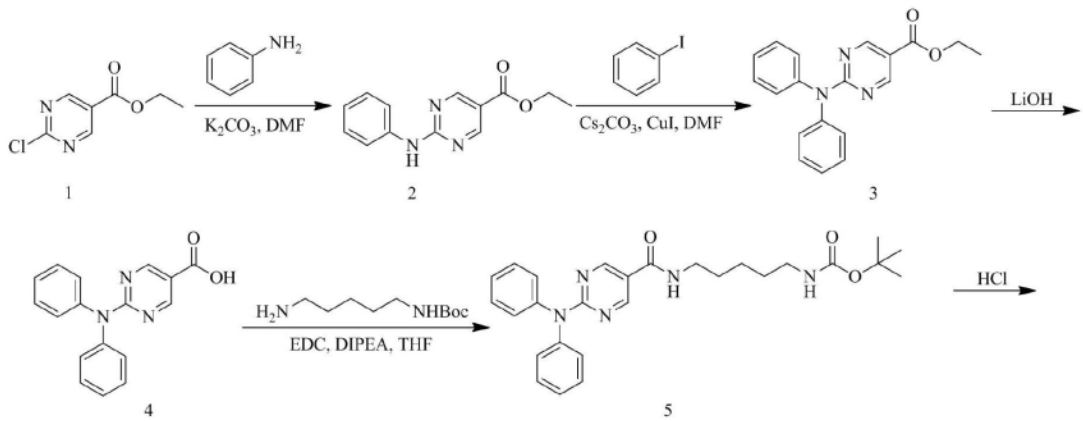
### 具体实施方式

[0094] 结合实例进一步阐明本发明的内容,但本发明的保护范围并不局限于这些实例。

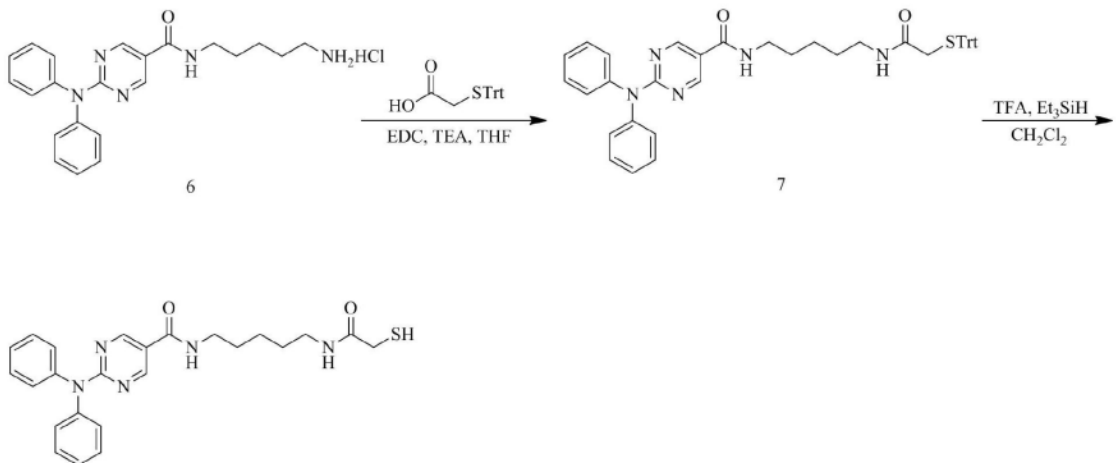
[0095] 实施例1:2-(二苯基氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)嘧啶-5-甲酰胺(I-1)及其盐制备



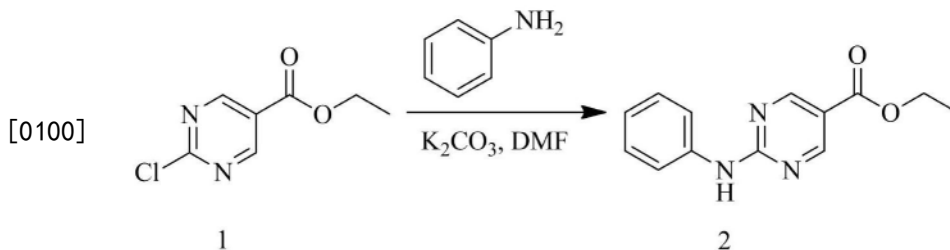
[0097] 按照合成通法1进行制备,合成路线图如下:



[0098]

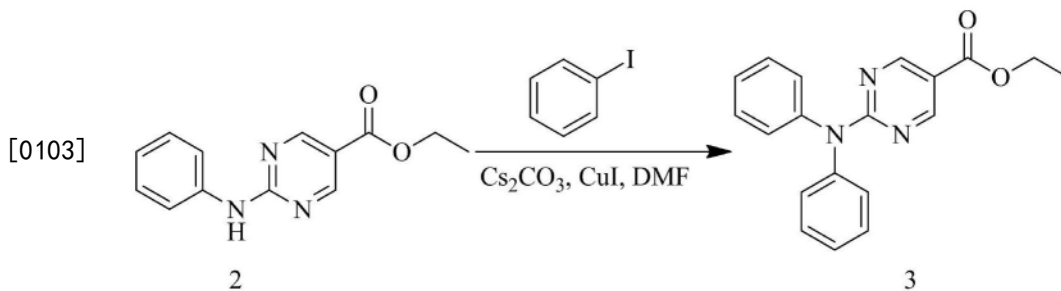


[0099] 中间体2的合成:



[0101] 于250ml三颈瓶中依次加入苯胺(7.58g, 81mmol)、2-氯嘧啶-5-甲酸乙酯(13.80g, 74mmol)、碳酸钾(20.44g, 148mmol)、DMF100ml, 在氮气保护下120℃反应6h。冷却至室温, 将反应液缓慢倾倒进200ml冰水混合物中, 室温搅拌30min, 过滤得淡黄色固体, 50℃真空干燥12h, 得产物17.25g, 收率95.88%。

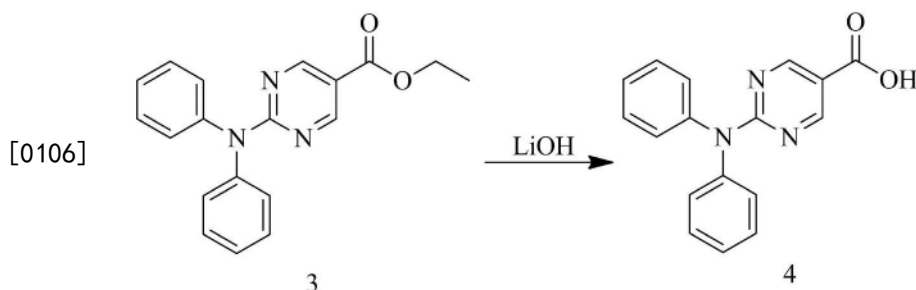
[0102] 中间体3的合成:



[0104] 于500ml三颈瓶中依次加入化合物2(17.00g, 70mmol)、碘苯(17.11g, 84mmol)、碳

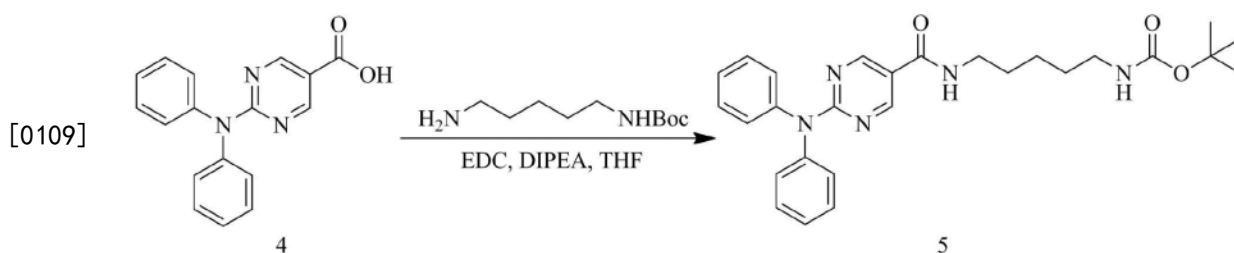
酸铯 (45.54g, 140mmol)、碘化亚铜 (6.65g, 35mmol)、DMF 200ml, 在氮气保护下 140℃ 反应 12h。冷却至室温, 加入 200ml 乙酸乙酯稀释, 过滤除去铜盐, 滤液加入 200ml 水, 室温搅拌 20min, 分液, 水相用 100ml 乙酸乙酯萃取 2 次, 合并有机相, 加入 200ml EDTA 饱和溶液, 搅拌 30min, 分出有机层, 用 100ml 饱和食盐水洗涤, 减压浓缩至干得棕色油状物, 加入 50ml 乙醇重结晶, 得淡黄色固体 15.6g, 收率 69.90%。

[0105] 中间体4的合成



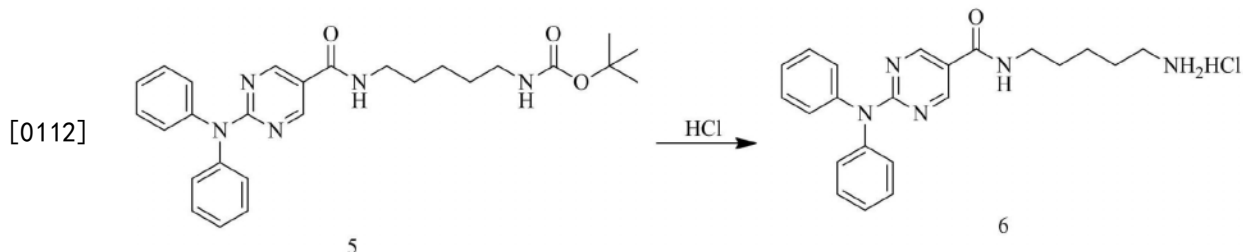
[0107] 于 250ml 三颈瓶中依次加入化合物 3 (4.2g, 13mmol)、一水合氢氧化锂 (2.20g, 53mmol)、THF 50ml、水 50ml。室温搅拌 12h, 用 2N 盐酸调节 pH 至 3, 50ml 乙酸乙酯萃取 3 次, 合并有机层, 用 100ml 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩至干得淡黄色固体 3.60g, 收率 93.97%。

[0108] 中间体5的合成



[0110] 于 100ml 三颈瓶中依次加入化合物 4 (2.50g, 9mmol)、N-(5-氨基戊基)氨基甲酸叔丁酯 (1.58g, 8mmol)、EDC (1.94g, 10mmol)、二异丙基乙胺 (2.02g, 16mmol)、THF 30ml。室温搅拌 12h, 加入 50ml 水, 50ml 乙酸乙酯萃取 3 次, 合并有机层, 用 100ml 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩至干得淡黄色固体, 柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 3:1) 纯化得白色固体 2.34g, 收率 57.33%。

[0111] 中间体6的合成



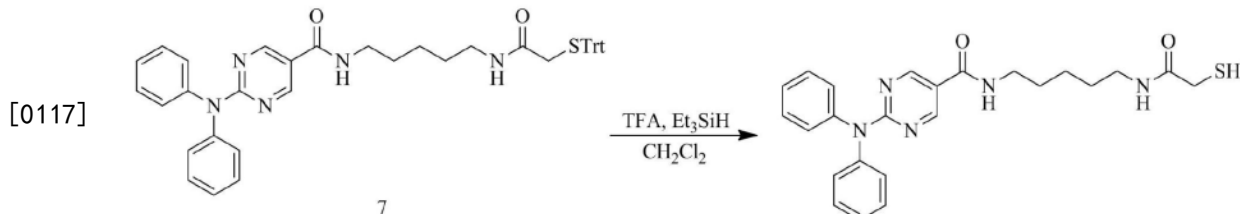
[0113] 于 100ml 三颈瓶中依次加入化合物 5 (2g, 4mmol)、2M 浓度 HCl 乙酸乙酯溶液 21ml, 40℃ 搅拌 6h。减压浓缩至干得黄色固体 1.75g, 收率 100%。

[0114] 中间体7的合成

[0115] 于 100ml 三颈瓶中依次加入三苯甲基巯基乙酸 (2.11g, 6mmol)、EDC (1.21g,

6mmol)、三乙胺(1.27g,13mmol)、THF30ml,搅拌均匀后,加入化合物6约(1.7g,4mmol)。室温搅拌12h,加入50ml水,50ml乙酸乙酯萃取3次,合并有机层,用100ml饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,减压浓缩至干,柱层析(石油醚:乙酸乙酯=2:1)纯化得白色固体1.62g,收率55.75%。

[0116] 2-(二苯基氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)嘧啶-5-甲酰胺(I-1)的合成



[0118] 于100ml三颈瓶中依次加入化合物7(700mg,1mmol)、三氟乙酸(980mg,10mmol)、三乙基硅烷(1.18g,10mmol)、二氯甲烷30ml。室温搅拌12h,加入50ml水,50ml乙酸乙酯萃取3次,合并有机层,用100ml饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,减压浓缩至干,柱层析(石油醚:乙酸乙酯=1:1)纯化得白色固体180mg,收率39.57%。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm: 1.14-1.37(2H,m), 1.46(4H,dq, J=30.2,7.2Hz), 2.70(1H,t, J=7.8Hz), 3.06(4H,t, J=6.6Hz), 3.23(2H,q, J=6.7Hz), 7.20-7.35(6H,m), 7.35-7.46(4H,m), 7.81-8.09(1H,m), 8.40(1H,t, J=5.6Hz), 8.72(2H,s); ESI-MS(+) m/z=450.3[M+H]<sup>+</sup>

[0119] 化合物I-1盐酸盐的制备:

[0120] 将化合物I-1(0.3g)、5%盐酸水溶液(0.8mmol)加入到乙醇(10mL)中,回流溶解,冷却析出白色固体,过滤,得0.3g白色I-1盐酸盐固体。

[0121] 化合物I-1甲磺酸盐的制备:

[0122] 将化合物I-1(0.3g)、甲磺酸水溶液(0.8mmol)加入到乙醇(10mL)中,回流溶解,冷却析出白色固体,过滤,得0.28g白色I-1甲磺酸盐固体。

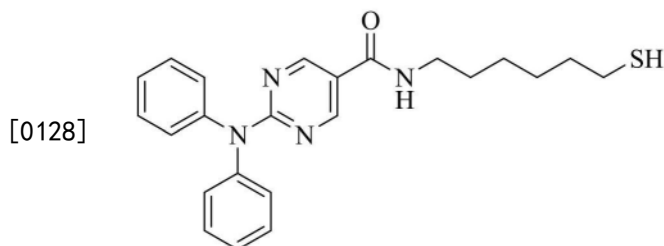
[0123] 化合物I-1氢溴酸酸盐的制备:

[0124] 将化合物I-1(0.3g)、5%氢溴酸水溶液(0.8mmol)加入到乙醇(10mL)中,回流溶解,冷却析出白色固体,过滤,得0.34g白色I-1氢溴酸酸盐固体。

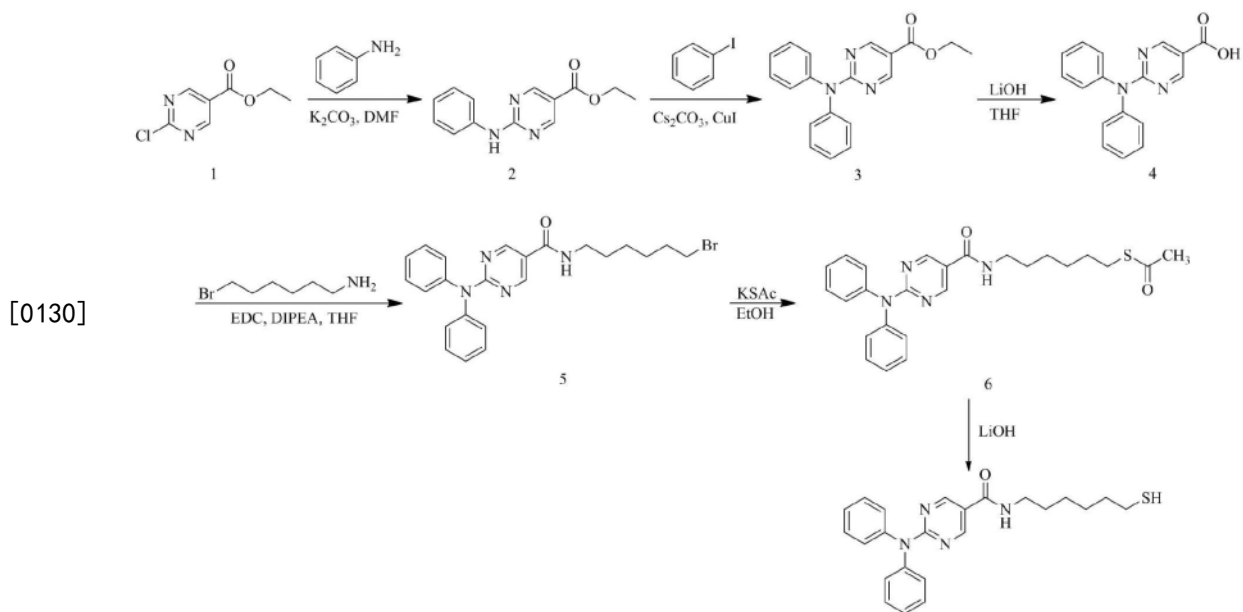
[0125] 化合物I-1草酸盐的制备:

[0126] 将化合物I-1(0.3g)、草酸二水合物(0.8mmol)加入到乙醇(10mL)中,回流溶解,冷却析出白色固体,过滤,得0.35g白色I-1草酸盐固体。

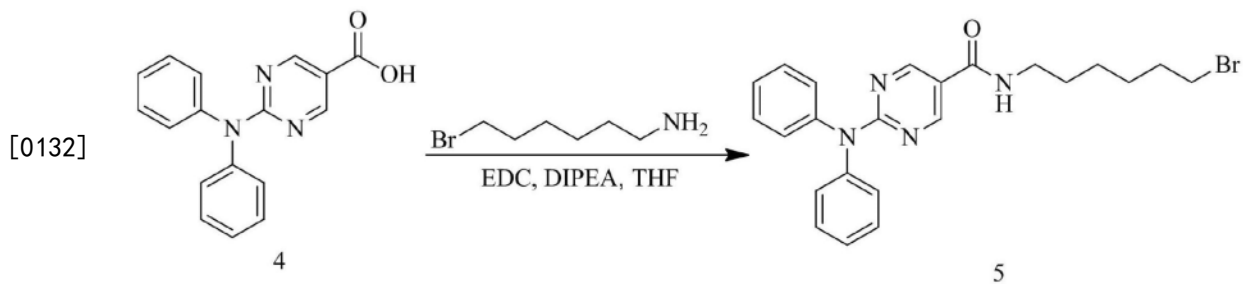
[0127] 实施例2:2-(二苯基氨基)-N-(6-巯基己基)嘧啶-5-甲酰胺(I-2)及其盐制备



[0129] 按照合成通法2进行制备,具体合成路线如下:

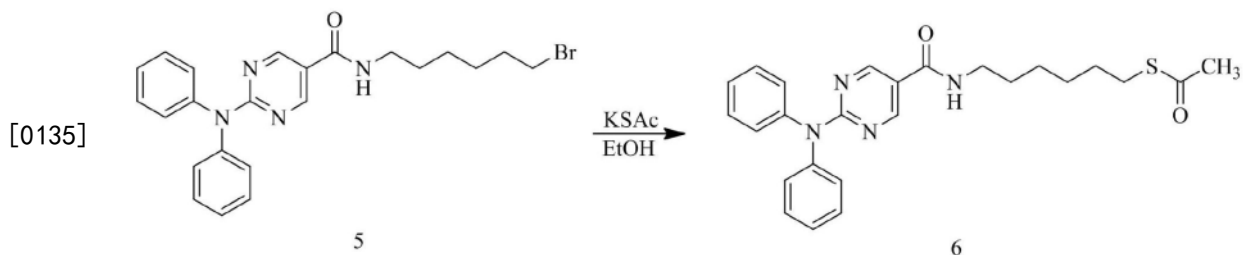


[0131] 中间体5的合成



[0133] 于100ml三颈瓶中依次加入化合物4 (1.50g, 5mmol)、6-溴-1-氨基己烷氢溴酸盐 (2.69g, 10mmol)、EDC (1.97g, 10mmol)、二异丙基乙胺 (2.02g, 16mmol)、THF 30ml。室温搅拌12h, 加入50ml水, 50ml乙酸乙酯萃取3次, 合并有机层, 用100ml饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩至干得淡黄色油状物, 柱层析(石油醚:乙酸乙酯=2:1)纯化得淡黄色油状物1.65g, 收率71.12%。

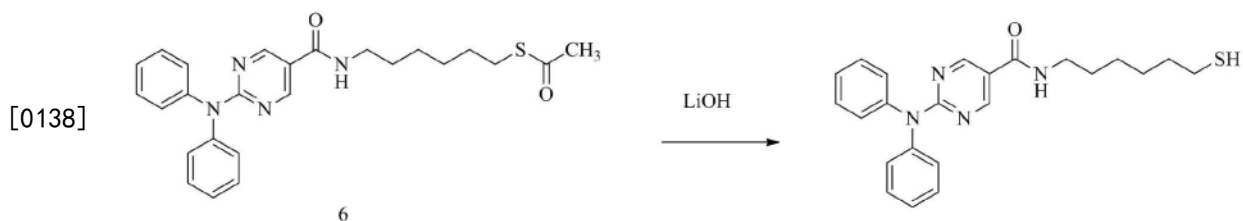
[0134] 中间体6的合成



[0136] 于100ml三颈瓶中依次加入化合物5 (1.50g, 3mmol)、硫代乙酸钾 (1.51g, 13mmol)、乙醇30ml。室温搅拌12h, 加入50ml水, 50ml乙酸乙酯萃取3次, 合并有机层, 用100ml饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩至干得淡黄色油状物, 柱层析(石油醚:乙酸乙酯=3:1)纯化得白色固体1.16g, 收率78.16%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm: 1.22-1.38 (4H, m), 1.49 (4H, h, J=6.7Hz), 2.31 (3H, s), 2.82 (2H, t, J=7.2Hz), 3.22 (2H, q, J=6.6Hz), 7.19-7.35 (6H, m), 7.40 (4H, dd, J=8.3, 7.2Hz), 8.38 (1H, t, J=5.6Hz), 8.72 (2H, s)

[0137] 2-(二苯基氨基)-N-(6-巯基己基)嘧啶-5-甲酰胺 (I-2) 的合成





[0139] 于50ml单口瓶中依次加入化合物6(1g, 2mmol)、一水合氢氧化锂(375mg, 9mmol)、THF20ml、水20ml。室温搅拌3h, 20ml乙酸乙酯萃取3次, 合并有机层, 用50ml饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩至干, 柱层析(石油醚:乙酸乙酯=3:1)纯化得白色固体350mg, 收率38.62%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm: 1.08-1.59 (10H, m), 3.23 (2H, q, J=6.7Hz), 4.71-4.85 (1H, m), 7.18-7.48 (10H, m), 8.40 (1H, t, J=5.6Hz), 8.72 (2H, s); ESI-MS (+) m/z=407.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0140] 化合物I-2氢溴酸盐的制备:

[0141] 以化合物I-2(2.0mmol)、5%氢溴酸水溶液(2.1mmol)为原料, 采用化合物I-1氢溴酸盐的制备方法, 得0.9g白色I-2氢溴酸盐固体。

[0142] 实施例3 4-(二苯基氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)苯甲酰胺(I-3)及其盐的制备

[0143] 按照通法1进行I-3制备。

[0144] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm: 1.32 (2H, q, J=8.1Hz), 1.66 (4H, dp, J=20.0, 7.8 Hz), 1.97 (1H, s), 3.32 (4H, dt, J=15.2, 7.7Hz), 3.45 (2H, s), 6.06 (1H, s), 6.29 (1H, s), 6.96 (2H, tt, J=7.4, 2.0Hz), 7.04-7.11 (4H, m), 7.20-7.28 (4H, m), 7.32-7.37 (2H, m), 7.63-7.69 (2H, m); ESI-MS (+) m/z=448.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0145] 化合物I-3苹果酸盐的制备:

[0146] 将化合物I-1(0.1mmol)、苹果酸(0.8mmol)加入到乙醇(10mL)中, 回流溶解, 冷却析出白色固体, 过滤, 得0.12g白色I-3苹果酸盐固体。

[0147] 实施例4 4-(二苯基氨基)-N-(6-巯基己基)苯甲酰胺(I-4)及其盐的制备

[0148] 按照通法2进行I-4制备。

[0149] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, Chloroform-d) δppm: 1.23-1.38 (2H, m), 1.51-1.62 (2H, m), 2.53 (1H, t, J=5.3Hz), 3.30 (1H, t, J=5.0Hz), 6.96 (1H, tt, J=7.4, 2.0Hz), 7.04-7.11 (2H, m), 7.20-7.28 (2H, m), 7.28-7.35 (1H, m), 7.63-7.69 (1H, m); ESI-MS (+) m/z=405.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0150] 化合物I-4富马酸盐的制备:

[0151] 以化合物I-4(2.3mmol)、富马酸(2.4mmol)为原料, 采用化合物T-1草酸盐的制备方法, 得1.0g白色固体。

[0152] 实施例5 4-(二(嘧啶-2-基)氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)苯甲酰胺(I-5)及其盐的制备

[0153] 按照通法1进行I-5制备。

[0154] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, Chloroform-d) δppm: 1.32 (2H, q, J=8.1Hz), 1.66 (4H, dp, J=20.1, 7.8Hz), 1.97 (1H, s), 3.32 (4H, dt, J=15.0, 7.7Hz), 3.45 (2H, s), 5.96 (1H, s), 6.27 (1H, s), 6.50 (2H, t, J=5.0Hz), 7.23-7.29 (2H, m), 7.58-7.64 (2H, m), 8.63 (4H, d, J=5.1Hz); ESI-MS (+) m/z=452.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0155] 化合物I-5草酸盐的制备:

[0156] 以化合物I-5 (2.0mmol)、酒石酸 (2.1mmol) 为原料,采用化合物I-1草酸盐的制备方法,得1.0g白色固体。

[0157] 实施例6 4-(二(嘧啶-2-基)氨基)-N-(6-巯基己基)苯甲酰胺 (I-6) 及其盐的制备

[0158] 按照通法2进行I-6制备。

[0159]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, Chloroform-d)  $\delta$ ppm: 1.23-1.38 (2H, m), 1.57 (2H, pd, J=7.8, 4.9 Hz), 2.53 (1H, t, J=7.9Hz), 3.30 (1H, t, J=7.6Hz), 6.50 (1H, t, J=5.0Hz), 7.23-7.29 (1H, m), 7.58-7.65 (1H, m), 8.63 (2H, d, J=5.1Hz); ESI-MS (+) m/z = 409.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0160] 化合物I-6盐酸盐的制备:

[0161] 以化合物I-6 (1.8mmol)、5%盐酸水溶液 (1.9mmol) 为原料,采用化合物I-1氢溴酸盐的制备方法,得0.85g白色固体。

[0162] 实施例7 2-((2,6-二氯苯基)(甲基)氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)嘧啶-5-甲酰胺 (I-7) 及其盐的制备

[0163] 按照通法1进行I-7制备。

[0164]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, Chloroform-d)  $\delta$ ppm: 1.31 (2H, t, J=7.9Hz), 1.64 (4H, p, J=7.8Hz), 1.97 (1H, s), 3.06 (2H, t, J=7.7Hz), 3.33 (2H, t, J=7.6Hz), 3.45 (2H, s), 3.91 (3H, s), 6.22 (2H, d, J=8.4Hz), 7.11 (1H, dd, J=7.9, 7.1Hz), 7.27 (2H, d, J=7.4Hz), 9.15 (2H, s); ESI-MS (+) m/z = 456.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0165] 化合物I-7氢溴酸盐的制备:

[0166] 以化合物I-7 (1.9mmol)、5%氢溴酸水溶液 (2.0mmol) 为原料,采用化合物I-1氢溴酸盐的制备方法,得0.93g白色固体。

[0167] 实施例8 2-((2,6-二氯苯基)(甲基)氨基)-N-(6-巯基己基)嘧啶-5-甲酰胺 (I-8) 及其盐的制备

[0168] 按照通法2进行I-8制备。 $^1\text{H}$  NMR (500MHz, Chloroform-d)  $\delta$ ppm: 1.23-1.38 (5H, m), 1.47-1.54 (2H, m), 1.54-1.61 (2H, m), 2.53 (2H, t, J=7.9Hz), 3.06 (2H, t, J=7.6Hz), 3.91 (3H, s), 5.83 (1H, s), 7.11 (1H, dd, J=7.9, 7.1Hz), 7.27 (2H, d, J=7.5Hz), 9.17 (2H, s); ESI-MS (+) m/z = 413.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0169] 化合物I-8草酸盐的制备:

[0170] 以化合物I-8 (2.4mmol)、二水合草酸 (2.5mmol) 为原料,采用化合物I-1草酸盐的制备方法,得1.2g白色固体,收率85%。

[0171] 实施例9 N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)-2-(N-苯基乙酰氨基)嘧啶-5-甲酰胺 (I-9) 及其盐的制备

[0172] 按照通法1进行I-9制备。 $^1\text{H}$  NMR (500MHz, Chloroform-d)  $\delta$ ppm: 1.27-1.36 (2H, m), 1.64 (4H, p, J=7.7Hz), 1.97 (1H, s), 2.25 (3H, s), 3.06 (2H, t, J=7.6Hz), 3.33 (2H, t, J=7.6 Hz), 3.45 (2H, s), 5.88 (1H, s), 6.26 (1H, s), 7.22-7.40 (5H, m), 9.52 (2H, s); ESI-MS (+) m/z = 416.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0173] 化合物I-9醋酸盐的制备:

[0174] 以化合物I-9 (2.2mmol)、冰醋酸 (2.3mmol) 为原料,采用化合物I-1氢溴酸盐的制备方法,得1.1g白色固体。

[0175] 实施例10 N-(6-巯基己基)-2-(N-苯基乙酰氨基)嘧啶-5-甲酰胺(I-10)及其盐的制备

[0176] 按照通法2进行I-10制备。

[0177]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, Chloroform-d)  $\delta_{\text{ppm}}$ : 1.23-1.38 (3H, m), 1.47-1.53 (1H, m), 1.53-1.62 (2H, m), 2.25 (2H, s), 2.53 (1H, t, J=7.9Hz), 3.06 (1H, t, J=7.6Hz), 7.23-7.40 (3H, m), 9.52 (1H, s); ESI-MS (+) m/z=373.3[M+H]<sup>+</sup>

[0178] 化合物I-10盐酸盐的制备

[0179] 以化合物I-10 (2.3mmol)、5% 盐酸水溶液 (2.4mmol) 为原料, 采用化合物I-1氢溴酸盐的制备方法, 得0.9g白色固体。

[0180] 实施例11 2-(苯并[d]噁唑-2-基氨基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)嘧啶-5-甲酰胺(I-11)及其盐的制备

[0181] 按照通法1进行I-11制备。 $^1\text{H}$  NMR (500MHz, Chloroform-d)  $\delta_{\text{ppm}}$ : 1.31 (1H, tt, J=7.8, 5.6Hz), 1.59-1.69 (2H, m), 3.06 (1H, t, J=7.6Hz), 3.33 (1H, t, J=5.0Hz), 3.45 (1H, s), 6.20 (1H, d, J=11.0Hz), 7.42-7.51 (1H, m), 7.58 (1H, ddd, J=7.1, 6.5, 2.1Hz), 9.20 (1H, s); ESI-MS (+) m/z=415.3[M+H]<sup>+</sup>

[0182] 化合物I-11马来酸盐的制备

[0183] 以化合物I-11 (2.1mmol)、马来酸 (2.2mmol) 为原料, 采用化合物I-11氢溴酸盐的制备方法, 得1.22g白色固体。

[0184] 实施例12 2-(苯并[d]噁唑-2-基氨基)-N-(6-巯基己基)嘧啶-5-甲酰胺(I-12)及其盐的制备

[0185] 按照通法2进行I-12制备。 $^1\text{H}$  NMR (500MHz, Chloroform-d)  $\delta_{\text{ppm}}$ : 1.23-1.38 (3H, m), 1.57 (2H, pd, J=7.8, 4.9Hz), 2.53 (1H, t, J=7.9Hz), 3.30 (1H, t, J=7.6Hz), 6.83-6.89 (1H, m), 7.47 (1H, pd, J=7.5, 1.8Hz), 7.55-7.64 (1H, m), 7.64-7.70 (1H, m); ESI-MS (+) m/z=372.3[M+H]<sup>+</sup>

[0186] 化合物I-12甲磺酸盐制备:

[0187] 以化合物I-12 (2.2mmol)、甲磺酸 (2.3mmol) 为原料, 采用化合物I-1氢溴酸盐的制备方法, 得1.02g白色固体。

[0188] 实施例13 N-(4-((5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)氨基甲酰基)苯基)-N-苯基吡啶甲酰胺(I-13)及其盐的制备

[0189] 按照通法1进行I-13制备。 $^1\text{H}$  NMR (500MHz, Chloroform-d)  $\delta_{\text{ppm}}$ : 1.26-1.36 (2H, m), 1.66 (4H, dp, J=20.1, 7.8Hz), 1.97 (1H, s), 3.32 (4H, dt, J=15.0, 7.7Hz), 3.45 (2H, s), 5.96 (1H, s), 6.32 (1H, s), 7.28-7.40 (5H, m), 7.50-7.57 (2H, m), 7.68-7.77 (3H, m), 7.92 (1H, td, J=8.0, 1.2Hz), 8.34 (1H, dd, J=7.9, 1.0Hz), 8.69 (1H, dd, J=5.1, 1.2Hz); ESI-MS (+) m/z=477.3[M+H]<sup>+</sup>

[0190] 化合物I-13对甲苯磺酸盐的制备:

[0191] 以化合物I-13 (2.4mmol)、对甲苯磺酸 (2.5mmol) 为原料, 采用化合物I-1氢溴酸盐的制备方法, 得1.35g白色固体。

[0192] 实施例14 N-(4-((6-巯基己基)氨基甲酰基)苯基)-N-苯基吡啶甲酰胺(I-14)及其盐的制备

[0193] 按照通法2进行I-14制备。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, Chloroform-d)  $\delta$ ppm: 1.24-1.38 (5H, m), 1.47-1.62 (4H, m), 2.53 (2H, t, J=7.9Hz), 3.06 (2H, t, J=7.6Hz), 6.11 (1H, s), 7.31-7.40 (3H, m), 7.51-7.59 (2H, m), 7.75 (1H, ddd, J=8.1, 5.0, 1.1Hz), 7.93 (1H, td, J=8.0, 1.3 Hz), 8.30 (1H, dd, J=8.0, 1.0Hz), 8.72 (1H, dd, J=4.9, 1.3Hz), 9.51 (2H, s); ESI-MS (+) m/z=434.3[M+H]<sup>+</sup>

[0194] 化合物I-14酒石酸盐的制备:

[0195] 以化合物T-14 (2.0mmol)、酒石酸 (2.1mmol) 为原料, 采用化合物I-1草酸盐的制备方法, 得1.1g白色固体。

[0196] 实施例15 N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)-2-(N-苯基苯基磺酰胺基)嘧啶-5-甲酰胺(I-15)及其盐的制备

[0197] 按照通法1进行I-15制备。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, Chloroform-d)  $\delta$ ppm: 1.31 (2H, tt, J=7.7, 5.5Hz), 1.59-1.69 (4H, m), 1.97 (1H, s), 3.06 (2H, t, J=5.0Hz), 3.33 (2H, t, J=5.0Hz), 3.45 (2H, s), 6.07 (1H, s), 6.35 (1H, s), 6.94 (1H, tt, J=7.5, 2.0Hz), 7.04-7.11 (2H, m), 7.17-7.25 (2H, m), 7.47-7.55 (2H, m), 7.58-7.66 (1H, m), 7.76-7.83 (2H, m), 9.36 (2H, s); ESI-MS (+) m/z=514.3[M+H]<sup>+</sup>

[0198] 化合物I-15柠檬酸盐的制备:

[0199] 以化合物I-15 (2.0mmol)、柠檬酸 (2.1mmol) 为原料, 采用化合物I-1草酸盐的制备方法, 得1.3g白色固体。

[0200] 实施例16 N-(6-巯基己基)-2-(N-苯基苯基磺酰胺基)嘧啶-5-甲酰胺(I-16)及其盐的制备

[0201] 按照通法2进行I-16制备。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, Chloroform-d)  $\delta$ ppm: 1.23-1.39 (2H, m), 1.55 (2H, dp, J=24.6, 7.8Hz), 2.53 (1H, t, J=7.9Hz), 3.06 (1H, t, J=7.7Hz), 6.94 (0H, tt, J=7.5, 2.0Hz), 7.04-7.11 (1H, m), 7.19-7.27 (1H, m), 7.48-7.56 (1H, m), 7.58-7.66 (0H, m), 7.82-7.89 (1H, m), 9.23 (1H, s); ESI-MS (+) m/z=471.3[M+H]<sup>+</sup>

[0202] 化合物I-16苹果酸盐的制备:

[0203] 以化合物T-16 (2.0mmol)、苹果酸 (2.1mmol) 为原料, 采用化合物I-1草酸盐的制备方法, 得1.3g白色固体。

[0204] 实施例17 N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)-2-(哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺(I-17)及其盐的制备

[0205] 按照通法1进行I-7制备。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, Chloroform-d)  $\delta$ ppm: 1.27-1.36 (2H, m), 1.51-1.74 (10H, m), 1.97 (1H, s), 3.06 (2H, t, J=7.7Hz), 3.33 (2H, t, J=7.6Hz), 3.45 (2H, s), 3.72 (4H, t, J=5.4Hz), 6.13 (1H, s), 6.21 (1H, s), 9.16 (2H, s); ESI-MS (+) m/z=366.3[M+H]<sup>+</sup>

[0206] 化合物I-17三氟乙酸盐的制备:

[0207] 以化合物I-17 (2.0mmol)、三氟乙酸 (2.1mmol) 为原料, 采用化合物I-1草酸盐的制备方法, 得0.8g白色固体。

[0208] 实施例18 N-(6-巯基己基)-2-(哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺(I-18)及其盐的制备

[0209] 按照通法2进行I-18制备。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, Chloroform-d)  $\delta$ ppm: 1.24-1.38 (3H, m), 1.47-1.62 (4H, m), 1.66-1.74 (1H, m), 2.53 (1H, t, J=7.9Hz), 3.06 (1H, t, J=7.7Hz),

3.72 (2H, t, J=5.4Hz), 9.15 (1H, s); ESI-MS (+) m/z=323.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0210] 化合物I-18磷酸盐的制备:

[0211] 以化合物I-18 (2.0mmol)、磷酸 (2.1mmol) 为原料,采用化合物I-1盐酸盐的制备方法,得1.0g白色固体。

[0212] 实施例19 N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)-2-(4-苯基哌嗪-1-基)嘧啶-5-甲酰胺 (I-19) 及其盐的制备

[0213] 按照通法1进行I-19制备。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, Chloroform-d) δppm: 1.27-1.36 (2H, m), 1.64 (4H, p, J=7.7Hz), 1.97 (1H, s), 3.02-3.10 (6H, m), 3.33 (2H, t, J=7.6Hz), 3.45 (2H, s), 4.14 (4H, t, J=5.2Hz), 5.91 (1H, s), 6.31 (1H, s), 6.84 (1H, tt, J=7.5, 2.0Hz), 6.89-6.95 (2H, m), 7.22-7.29 (2H, m), 9.18 (2H, s); ESI-MS (+) m/z=443.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0214] 化合物I-19富马酸盐的制备:

[0215] 以化合物I-19 (2.0mmol)、富马酸 (2.1mmol) 为原料,采用化合物I-1草酸盐的制备方法,得0.7g白色固体。

[0216] 实施例20 N-(6-巯基己基)-2-(4-苯基哌嗪-1-基)-嘧啶-5-甲酰胺 (I-20) 及其盐的制备

[0217] 按照通法2进行I-20制备。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, Chloroform-d) δppm: 1.23-1.38 (5H, m), 1.55 (4H, dp, J=24.6, 7.8Hz), 2.53 (2H, t, J=7.9Hz), 3.02-3.10 (6H, m), 4.14 (4H, t, J=5.2Hz), 6.84 (1H, tt, J=7.5, 2.0Hz), 6.89-6.95 (2H, m), 7.21-7.29 (2H, m), 9.17 (2H, s); ESI-MS (+) m/z=400.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0218] 化合物I-20马来酸盐的制备:

[0219] 以化合物I-20 (2.0mmol)、马来酸 (2.1mmol) 为原料,采用化合物I-1草酸盐的制备方法,得0.7g白色固体。

[0220] 实施例21 2-(6,7-二甲氧基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-N-(5-(2-巯基乙酰氨基)戊基)嘧啶-5-甲酰胺 (I-21) 及其盐的制备

[0221] 按照通法1进行I-21制备。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, Chloroform-d) δppm: 1.31 (2H, p, J=5.8 Hz), 1.59-1.69 (4H, m), 1.97 (1H, s), 2.90 (2H, td, J=5.6, 1.0Hz), 3.06 (2H, t, J=7.6Hz), 3.33 (2H, t, J=5.3Hz), 3.45 (2H, s), 3.65 (2H, t, J=5.6Hz), 3.90 (6H, s), 4.58 (2H, d, J=1.1 Hz), 6.03 (1H, s), 6.17 (1H, s), 6.76 (1H, t, J=1.0Hz), 9.18 (2H, s); ESI-MS (+) m/z=474.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0222] 化合物I-21甲磺酸盐的制备:

[0223] 以化合物I-21 (2.2mmol)、甲磺酸 (2.3mmol) 为原料,采用化合物I-1氢溴酸盐的制备方法,得1.02g白色固体。

[0224] 实施例22 2-(6,7-二甲氧基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-N-(6-巯基己基)嘧啶-5-甲酰胺

[0225] (I-22) 及其盐的制备

[0226] 按照通法2进行I-22制备。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, Chloroform-d) δppm: 1.23-1.38 (5H, m), 1.55 (4H, dp, J=24.6, 7.8Hz), 2.53 (2H, t, J=7.9Hz), 2.90 (2H, td, J=5.6, 1.0Hz), 3.06 (2H, t, J=7.6Hz), 3.65 (2H, t, J=5.6Hz), 3.90 (6H, s), 4.58 (2H, d, J=1.1Hz), 6.41 (1H, t, J=1.0Hz), 6.76 (1H, t, J=1.0Hz), 9.18 (2H, s); ESI-MS (+) m/z=431.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0227] 化合物I-22盐酸盐的制备:

[0228] 以化合物I-22 (2.2mmol)、盐酸 (2.3mmol) 为原料,采用化合物I-1氢溴酸盐的制备方法,得0.78g白色固体。

[0229] 实施例23化合物对HDAC抑制活性

[0230] 化合物的组蛋白去乙酰化酶体外抑制活性测定参照HDAC1及HDAC6抑制剂筛选试剂盒 (Biovision公司) 说明书进行。以Rocilinostat (ACY-1215) 为阳性对照。

[0231] 实验结果见表:

Compd.	IC <sub>50</sub> (nM)	
	HDAC6	HDAC1
<b>Rocilinostat (ACY-1215)</b>	14.1	58.2
<b>I-1</b>	4.32	58.6
<b>I-2</b>	10.0	302
<b>I-3</b>	5.08	99.3
<b>I-4</b>	9.45	101.8
<b>I-5</b>	7.80	201.3
<b>I-6</b>	6.04	86.5
<b>I-7</b>	3.43	53.0
<b>I-8</b>	17.2	763.6
<b>I-9</b>	13.8	432.9
[0232] <b>I-10</b>	10.1	220.5
<b>I-11</b>	5.21	60.2
<b>I-12</b>	4.91	67.9
<b>I-13</b>	5.63	66.7
<b>I-14</b>	6.21	50.4
<b>I-15</b>	9.85	621.0
<b>I-16</b>	6.63	809.2
<b>I-17</b>	11.1	402.1
<b>I-18</b>	16.8	332.6
<b>I-19</b>	10.1	220.5
<b>I-20</b>	5.26	160.2
<b>I-21</b>	4.09	367.9
<b>I-22</b>	5.63	566.7

[0233] 从上表可见,进行测试的本发明化合物对HDAC6均显示较好的抑制活性 (IC<sub>50</sub>< 20nM),抑制活性与阳性对照Rocilinostat (ACY-1215) 相当或更优。此外,与 HDAC1相比,本发明化合物可选择性抑制HDAC6。

[0234] 实施例24化合物体外对肿瘤细胞及人体正常细胞抗增殖活性测试

[0235] 测定部分本发明化合物对人结直肠癌细胞株HCT116、人肾透明细胞癌皮肤转移细胞株Caki-1、人胰腺癌细胞株PANC-1、人肝癌细胞株HepG2和人前列腺癌细胞株PC-3 及

MRC-5人正常胚肺成纤维细胞的抗增殖活性。IC<sub>50</sub>值通过CCK-8法 (Cat#CK04-13, Dojindo) 测得,选择Rocilinostat (ACY-1215) 为对照。具体结果如表 (单位为:μM) :

Compd.	IC <sub>50</sub> (μM)					
	HCT116	Caki-1	PANC-1	HepG2	PC-3	MRC-5
<b>Rocilinostat</b>	4.32	6.26	11.39	7.54	5.50	28.2
<b>I-1</b>	2.09	0.86	6.98	0.86	7.61	672.1
<b>I-3</b>	3.17	1.97	10.04	7.10	3.19	430.2
<b>I-5</b>	6.29	2.83	12.65	1.09	10.57	281.4
<b>I-6</b>	1.03	0.74	7.82	3.97	4.83	330.6
<b>I-10</b>	7.88	10.92	22.10	20.18	3.27	520.1
<b>I-11</b>	4.90	4.78	9.01	6.03	4.11	210.8
<b>I-12</b>	2.46	0.34	2.57	1.78	2.81	609.7
<b>I-13</b>	3.90	5.66	10.06	10.99	12.90	442.5
<b>I-14</b>	2.75	0.97	6.33	2.18	7.48	450.6

[0237] 从上表可见,与阳性对照Rocilinostat相比,本发明化合物对多种肿瘤细胞均显示了良好的体外抗肿瘤细胞增殖活性;部分化合物抗肿瘤细胞增殖活性优于阳性对照药。其中,化合物I-1、I-3、I-6、I-11、I-12和I-14,对人结直肠癌细胞株HCT116、人肾透明细胞癌皮肤转移细胞株Caki-1、人胰腺癌细胞株PANC-1和人肝癌细胞株HepG2均具有较高的抑制活性,优于阳性对照药Rocilinostat,具有广谱高效抗肿瘤细胞增殖的特点。

[0238] 同时,进行测试的本发明化合物相对于对照药物Rocilinostat,对MRC-5人正常胚肺成纤维细胞的抑制活性较弱,具有更低的毒副作用,揭示了本发明化合物在对于肿瘤细胞和正常细胞的抑制增殖方面具有更好的选择性,预示其作为抗肿瘤药物使用时,可能具有更低的毒副作用。

[0239] 实施例25化合物对谷氨酸诱发的神经元细胞损伤保护作用

[0240] 在细胞模型上观察谷氨酸诱发的神经元损伤以及本发明化合物可能的神经细胞保护作用。本发明分别选择1-金刚烷胺、阿魏酸及依达拉奉作为阳性对照组,应用谷氨酸诱导的神经元兴奋毒性模型 (SHSY5Y细胞损伤模型),对本发明化合物是否具有对抗谷氨酸兴奋毒性作用进行了药效学筛选。

[0241] 结果显示,给予谷氨酸 (100μM) 可明显减低神经元细胞的活力;依达拉奉组显示一定神经元细胞保护作用,且呈现剂量依赖性,而1-金刚烷胺和阿魏酸对神经元细胞保护作用较弱。

[0242] 本发明化合物对抗谷氨酸诱发的神经元兴奋毒性均具有一定的保护作用。其中,化合物I-2~I-5, I-7, I-9, I-11, I-12, I-14和I-15体外活性与同剂量阳性药依达拉奉相比,保护活性更强,且显示一定量效关系,提示本发明化合物具有神经保护作用,可用于神



经退行性相关疾病治疗。结果见表：

[0243]

组别		剂量( $\mu\text{M}$ )	N(复孔数)	细胞存活率(%)
谷氨酸 (100 $\mu\text{M}$ )	正常	PBS	2	100.00 $\pm$ 2.28
	模型	PBS	2	41.58 $\pm$ 1.13
	依达拉奉	0.1	2	41.61 $\pm$ 1.77
		1	2	50.27 $\pm$ 0.86
		10	2	66.11 $\pm$ 1.01
	阿魏酸	0.1	2	40.20 $\pm$ 1.01
		1	2	50.81 $\pm$ 1.65
		10	2	52.81 $\pm$ 1.26
	1-金刚烷 胺	0.1	2	46.79 $\pm$ 1.01
		1	2	42.17 $\pm$ 1.65
		10	2	40.81 $\pm$ 1.26
	I-1	0.1	2	50.08 $\pm$ 5.33
		1	2	53.65 $\pm$ 1.63
		10	2	56.17 $\pm$ 1.41

[0244]

I-2	0.1	2	56.78±6.23	
	1	2	68.86±2.79	
	10	2	77.12±0.92	
	I-3	0.1	2	50.34±0.33
		1	2	66.36±0.75
		10	2	74.60±1.51
	I-4	0.1	2	49.01±0.51
		1	2	61.00±3.89
		10	2	69.12±1.37
	I-5	0.1	2	53.76±1.04
		1	2	64.48±4.27
10		2	78.23±3.47	
I-6	0.1	2	44.82±1.09	
	1	2	57.69±3.51	
	10	2	58.33±1.08	
I-7	0.1	2	59.93±1.27	
	1	2	61.25±4.67	
	10	2	77.36±0.87	
I-8	0.1	2	63.76±3.06	
	1	2	58.43±1.76	
	10	2	72.35±0.56	
I-9	0.1	2	61.90±3.34	
	1	2	62.16±1.89	
	10	2	74.23±1.66	
I-10	0.1	2	50.36±1.61	
	1	2	52.27±1.45	
	10	2	63.64±1.75	
I-11	0.1	2	59.93±0.90	
	1	2	68.25±2.67	

[0245]		10	2	78.11±0.87
	I-12	0.1	2	53.76±1.09
		1	2	68.43±1.76
		10	2	82.09±1.98
	I-13	0.1	2	61.90±3.34
		1	2	70.16±0.09
		10	2	74.09±1.88
	I-14	0.1	2	60.36±3.61
		1	2	72.27±2.45
		10	2	83.64±2.75
	I-15	0.1	2	59.93±0.90
		1	2	68.25±1.07
		10	2	77.36±2.87

[0246] 实施例26化合物对hERG钾通道影响实验

[0247] 采用hERG钾离子通道抑制试验初步考察本发明部分化合物I-1、I-3、I-6、I-11、I-12和I-14体外潜在心脏毒副作用。实验结果如下表：

Compd	hERGIC <sub>50</sub> (μM)
Cabozantinib	>30
I-1	>30
I-3	>30
I-6	>30
I-11	>30
I-12	>30
I-14	>30

[0249] hERG实验结果显示，测试化合物I-1、I-3、I-6、I-11、I-12、I-14与Cabozantinib对hERG钾离子通道的抑制活性均大于30μM，提示本发明化合物潜在的的心脏毒性较低。

[0250] 实施例27化合物灌胃给药最大耐受量毒性试验

[0251] 取ICR小鼠40只，雌雄各半，体重18~20g，分为4组，每组10只动物。禁食6小时后，每组分别用灭菌塑料注射器抽取受试样品按0.3ml/10g体积口服灌胃。给药后1、2、4小时均对动物的一般体征以及动物的死亡情况进行记录。给药后连续观察14天，每天对动物的体重以及体征死亡情况进行观察和记录。对死亡动物进行解剖，观察动物脏器有没有出现肉眼可见的病理变化，对可疑的组织器官进行病理学检查。

[0252] 实验结果表明：本发明化合物对小鼠灌胃给药最大耐受量大于500mg/kg，动物耐受性较好。

[0253] 实施例28化合物PK测试

[0254] 评价本发明部分化合物I-2~I-5,I-7,I-9,I-11,I-12,I-14和I-15经单次IV和PO给予雄性SD大鼠体内的药代动力学特性,采用LC-MS/MS法测定化合物在大鼠血浆样品中的药物浓度,计算受试化合物的药代动力学参数和口服生物利用度。试验结果见表:

化合物	静脉注射半衰期(h) (大鼠2mg/Kg静注)	口服 20mg/Kg 给药半衰期 (h)	口服生物利用度(%)	血脑屏障通透性 (B/P)
I-2	0.8	1.2	43.9	1.21
I-3	0.06	0.5	2.57	1.10
I-4	2.08	2.2	34.1	1.98
[0255] I-5	0.9	1.9	24.7	1.18
I-7	2.1	2.9	44.0	1.11
I-9	2.0	4.1	31.0	0.90
I-11	0.7	1.8	27.4	1.34
I-12	0.1	0.4	1.52	0.78
I-14	0.5	1.6	20.6	1.01
I-15	1.0	2.1	30.2	1.09

[0256] 实施例29组合物片剂制备

[0257] 制备方法:将实施例1-28中任一化合物与蔗糖、玉米淀粉混合,加水湿润,搅拌均匀,干燥,粉碎过筛,加入硬脂酸钙,混合均匀,压片。每片重200mg,活性成分含量为10mg。

[0258] 实施例30组合物针剂制备

[0259] 实施例1-28中任一化合物20mg

[0260] 注射用水80mg

[0261] 制备方法:将活性成分溶解与注射用水,混合均匀,过滤,将所获得的溶液在无菌条件下分装与安瓿瓶中,每瓶10mg,活性成分含量为2mg/瓶。

[0262] 本发明虽然已以较佳实施例公开如上,但其并不是用来限定本发明,任何本领域技术人员在不脱离本发明的精神和范围内,都可以利用上述揭示的方法和技术内容对本发明技术方案做出可能的变动和修改,因此,凡是未脱离本发明技术方案的内容,依据本发明的技术实质对以上实施例所作的任何简单修改、等同变化及修饰,均属于本发明技术方案的保护范围。