



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108431000 A

(43)申请公布日 2018.08.21

(21)申请号 201680066473.9

(22)申请日 2016.11.15

(30)优先权数据

15382565.8 2015.11.16 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.05.14

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2016/077712 2016.11.15

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/085053 EN 2017.05.26

(71)申请人 基础应用医学研究基金会

地址 西班牙潘普洛纳

(72)发明人 X·阿吉雷·埃娜

J·奥亚扎巴尔·圣玛丽娜

F·普罗斯佩尔·卡多索

M·O·拉巴尔·格雷西亚

E·圣·乔斯·埃内里斯

J·A·桑切斯·阿里亚斯

(74)专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司 11127

代理人 庞东成 龚泽亮

(51)Int.Cl.

C07D 471/04(2006.01)

A61K 31/4745(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 37/00(2006.01)

权利要求书4页 说明书53页

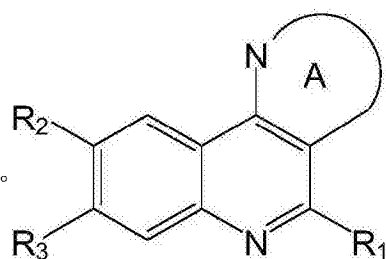
(54)发明名称

作为DNA甲基转移酶抑制剂的新型化合物

(57)摘要

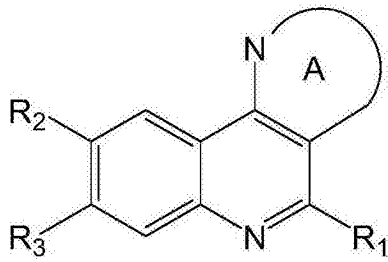
本发明涉及式(I)的化合物,或者其药学上或兽医学上可接受的盐,或者其立体异构体或混合物,其中,A、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>如本文所定义,其是选自DNMT1、DNMT3A和DNMT3B组成的组中的一种或多种DNMT的抑制剂。本发明还涉及含有其的药用或兽医组合物,并涉及它们在药物中的应用,特别是在治疗 and/或预防癌症、纤维化和/或免疫

调节中的应用。



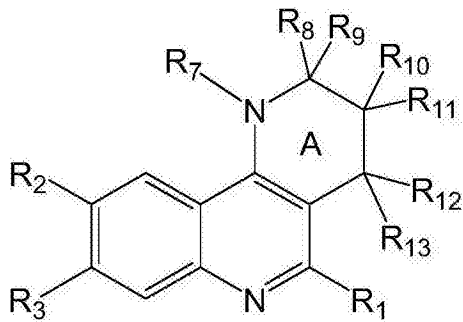
(I)

1. 式 (I) 的化合物, 或者其药学上或兽医学上可接受的盐, 或者式 (I) 的化合物或任何其药学上或兽医学上可接受的盐的任何立体异构体或它们的混合物,

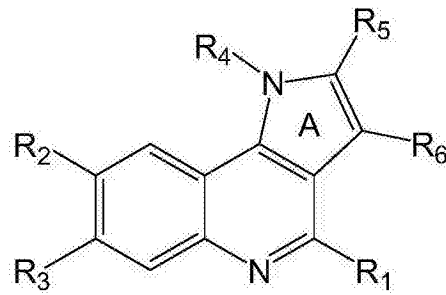


(I)

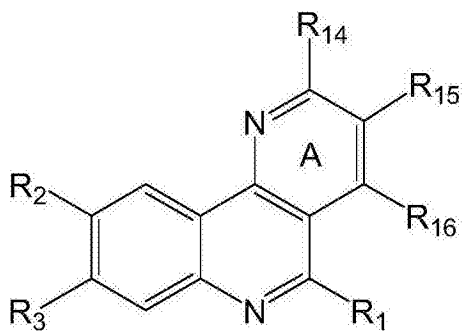
其选自由式 (Ib)、(Ia)、(Ic) 和 (Id) 的化合物组成的组:



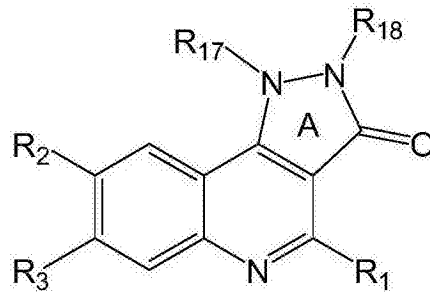
(Ib)



(Ia)



(Ic)



(Id)

其中

R<sub>1</sub> 是 Cy<sup>1</sup> 并且通过碳原子连接至喹啉;

Cy<sup>1</sup> 是选自由下述基团组成的组中的已知环体系:

(i) 苯基;

(ii) 5或6元杂芳环;

(iii) 3至7元碳环或杂环单环, 其为饱和的或部分不饱和的;

(iv) 3至7元饱和或部分饱和或芳香族的碳环或杂环单环, 其稠合、桥接稠合或者螺稠合至3至7元饱和或部分饱和或芳香族的碳环或杂环单环;

(v) 与6至14元饱和或部分不饱和的碳环或杂环双环稠合的苯基, 其中, 所述双环的环是螺稠合的; 和

(vi) 与6至14元饱和或部分不饱和的碳环或杂环双环稠合的5至6元杂芳环, 其中, 所述

双环的环为螺稠合的；

其中, Cy<sup>1</sup>可选地取代有：

- a) 一个Cy<sup>2</sup>或一个Cy<sup>3</sup>, 和/或
- b) 一个或多个取代基R<sup>c</sup>, 和/或
- c) 一个或多个取代基Z<sup>1</sup>, 所述Z<sup>1</sup>可选地取代有一个或多个取代基R<sup>c</sup>和/或一个Cy<sup>2</sup>；

其中, Cy<sup>2</sup>或Cy<sup>3</sup>可选地取代有一个或多个独立地选自R<sup>c</sup>和Z<sup>2</sup>的取代基, 所述Z<sup>2</sup>可选地取代有一个或多个取代基R<sup>c</sup>；

R<sub>2</sub>选自由H、R<sup>g</sup>、卤素、-NO<sub>2</sub>、-CN、-OR<sup>g</sup>、-OC(O)R<sup>g</sup>、-OC(O)OR<sup>g</sup>、-OC(O)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>C(O)R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>C(O)OR<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>C(O)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>S(O)<sub>2</sub>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>SO<sub>2</sub>NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-SR<sup>g</sup>、-S(O)R<sup>g</sup>、-S(O)OR<sup>g</sup>、-SO<sub>2</sub>R<sup>g</sup>、-SO<sub>2</sub>(OR<sup>g</sup>)、-SO<sub>2</sub>NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-SC(O)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-C(O)R<sup>g</sup>、-C(O)OR<sup>g</sup>、-C(O)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>和-C(O)NR<sup>g</sup>OR<sup>g</sup>和-C(O)NR<sup>g</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>g</sup>组成的组；

R<sub>3</sub>是-OR<sup>d</sup>；

R<sub>4</sub>、R<sub>7</sub>、R<sub>17</sub>、R<sub>18</sub>独立地是H或R<sup>d</sup>；

R<sub>5</sub>、R<sub>8</sub>、R<sub>10</sub>、R<sub>14</sub>、R<sub>15</sub>独立地选自由H、R<sup>e</sup>、OR<sup>f</sup>、-NR<sup>f</sup>R<sup>g</sup>、NR<sup>a</sup>COR<sup>f</sup>和R<sup>f</sup>组成的组；

R<sub>6</sub>、R<sub>9</sub>、R<sub>11</sub>、R<sub>12</sub>、R<sub>13</sub>、R<sub>16</sub>独立地选自由H、R<sup>a</sup>和一个或多个卤素原子组成的组；

各个R<sup>a</sup>独立地选自由下述基团组成的组：(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基、(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)烯基、(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)炔基、具有一个或多个双键和一个或多个三键的(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)烃链, 其中, 各个R<sup>a</sup>可选地取代有一个或多个卤素原子,

各个R<sup>a</sup>独立地是H或R<sup>a</sup>；

各个R<sup>c</sup>独立地选自卤素、-NO<sub>2</sub>、-CN、-OR<sup>g</sup>、-OC(Y)R<sup>g</sup>、-OC(Y)OR<sup>g</sup>、-OC(Y)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>C(Y)R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>C(Y)OR<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>C(Y)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>S(O)<sub>2</sub>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>SO<sub>2</sub>NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-SR<sup>g</sup>、-S(O)R<sup>g</sup>、-S(O)OR<sup>g</sup>、-SO<sub>2</sub>R<sup>g</sup>、-SO<sub>2</sub>(OR<sup>g</sup>)、-SO<sub>2</sub>NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-SC(Y)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-C(Y)R<sup>g</sup>、-C(Y)OR<sup>g</sup>、-C(Y)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-C(Y)NR<sup>g</sup>OR<sup>g</sup>和-C(O)NR<sup>g</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>g</sup>；

各个R<sup>d</sup>独立地是R<sup>e</sup>或R<sup>f</sup>；

各个R<sup>e</sup>独立地是Cy<sup>5</sup>, 所述Cy<sup>5</sup>可选地取代有：

- a) 一个Cy<sup>7</sup>；和/或
- b) 一个或多个取代基R<sup>c</sup>, 和/或
- c) 一个或多个取代基Z<sup>4</sup>, 所述Z<sup>4</sup>可选地取代有一个或多个取代基R<sup>c</sup>和/或一个Cy<sup>7</sup>；

其中, Cy<sup>7</sup>可选地取代有一个或多个独立地选自R<sup>c</sup>和Z<sup>5</sup>的取代基, 所述Z<sup>5</sup>可选地取代有一个或多个取代基R<sup>c</sup>；并且

各个R<sup>f</sup>独立地是Z<sup>3</sup>, 所述Z<sup>3</sup>可选地取代有一个或多个取代基R<sup>c</sup>和/或一个Cy<sup>6</sup>；其中, Cy<sup>6</sup>可选地取代有：

- a) 一个Cy<sup>8</sup>；和/或
- b) 一个或多个取代基R<sup>c</sup>, 和/或
- c) 一个或多个取代基Z<sup>6</sup>, 所述Z<sup>6</sup>可选地取代有一个或多个取代基R<sup>c</sup>和/或一个Cy<sup>8</sup>；

其中, Cy<sup>8</sup>可选地取代有一个或多个独立地选自R<sup>c</sup>和Z<sup>7</sup>的取代基, 所述Z<sup>7</sup>可选地取代有一个或多个取代基R<sup>c</sup>；

各个R<sup>f</sup>独立地是H或R<sup>f</sup>；

各个R<sup>g</sup>独立地选自由(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基、(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)烯基、(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)炔基、具有一个或多个双键和一

个或多个三键的(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)烃链以及3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环组成的组,其中,各个R<sup>g</sup>可选地取代有一个或多个卤素原子,

各个R<sup>g</sup>独立地是H或R<sup>g</sup>;

Y是O、S或NR<sup>g</sup>;

Z<sup>1</sup>至Z<sup>7</sup>独立地选自由(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)烷基、(C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>)烯基、(C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>)炔基和具有一个或多个双键和一个或多个三键的(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)烃链组成的组;

Cy<sup>2</sup>、Cy<sup>7</sup>和Cy<sup>8</sup>独立地是选自由下述基团组成的组中的已知环体系:苯基;饱和或部分不饱和的3至7元碳环或杂环单环;和5或6元杂芳环;

Cy<sup>3</sup>、Cy<sup>5</sup>和Cy<sup>6</sup>独立地是选自由下述基团组成的组中的已知环体系:苯基;5或6元杂芳环;饱和或部分不饱和的3至7元碳环或杂环单环;和3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环,其稠合、桥接稠合或者螺稠合至3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环;

其中,在碳环中,所有环成员都是碳原子;在杂环和杂芳环中,一个或多个环成员选自N、O和S;并且,在所有饱和或部分不饱和的环中,所述环的一个或两个成员可选地是C(O)和/或C(NH)和/或C[N(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基]。

2.如权利要求1所述的式(I)的化合物,其是式(Ib)的化合物。

3.如权利要求1所述的式(I)的化合物,其是式(Ia)的化合物。

4.如权利要求1~3中任一项所述的式(I)的化合物,其中,Cy<sup>1</sup>是通过碳原子连接至喹啉的已知环体系,选自由下述基团组成的组:

(i)苯基;

(ii)5或6元杂芳环;

(iii)3至7元碳环或杂环单环,其是饱和或部分不饱和的;

其中,Cy<sup>1</sup>可选地如权利要求1所定义被取代。

5.如权利要求4所述的式(I)的化合物,其中,R<sub>1</sub>是通过碳原子连接至喹啉的5至6元杂芳香族单环。

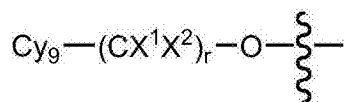
6.如权利要求1~5中任一项所述的式(I)的化合物,其中,R<sub>2</sub>选自H、卤素、-CN和-OR<sup>g</sup>。

7.如权利要求6所述的式(I)的化合物,其中,R<sub>2</sub>是H或-OR<sup>g</sup>。

8.如权利要求1~7中任一项所述的式(I)的化合物,其中,R<sup>3</sup>中的R<sup>d</sup>是含有至少一个N原子的部分。

9.如权利要求8所述的式(I)的化合物,其中,R<sup>d</sup>是Z<sup>3</sup>,其中Z<sup>3</sup>是取代有如权利要求1所定义的一个或多个取代基的(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基。

10.如权利要求1~9中任一项所述的式(I)的化合物,其中,R<sup>3</sup>是式(XL)的部分:



(XL)

其中

Cy<sub>9</sub>是3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环或者3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环,其稠合、桥接稠合或者螺稠合至3至7元饱和或部分不饱

和或芳香族的碳环或杂环单环,并且Cy<sup>9</sup>可选地取代有一个或多个选自卤素和(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基的取代基,所述(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基可选地取代有一个或多个卤素原子,

X<sup>1</sup>和X<sup>2</sup>独立地是H或卤素,并且

r是选自0至6的值。

11. 如权利要求1~10中任一项所述的式(I)的化合物,其中,R<sub>4</sub>~R<sub>18</sub>是H。

12. 如权利要求1~10中任一项所述的式(I)的化合物,其中,R<sub>6</sub>、R<sub>9</sub>、R<sub>11</sub>~R<sub>13</sub>和R<sub>16</sub>是H; R<sub>4</sub>~R<sub>5</sub>之一、R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub>和R<sub>10</sub>之一、R<sub>14</sub>~R<sub>15</sub>之一以及R<sub>17</sub>和R<sub>18</sub>之一独立地是取代有Cy<sup>6</sup>的(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)烷基,所述Cy<sup>6</sup>可选地取代有一个或多个选自由下述基团组成的组中的取代基:

卤素,

-C(O)R<sup>g</sup>,

-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基,其可选地取代有一个或多个卤素原子;和

3至7元饱和和碳环单环;

其中,Cy<sup>6</sup>是3至7元碳环或杂环的饱和或部分不饱和的单环;或者3至7元饱和的碳环或杂环单环,其螺稠合至3至7元饱和的碳环或杂环单环,并且

R<sup>g</sup>是H或可选地取代有一个或多个卤素原子的(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基;并且

R<sub>4</sub>~R<sub>5</sub>、R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub>和R<sub>10</sub>、R<sub>14</sub>~R<sub>15</sub>和R<sub>17</sub>和R<sub>18</sub>中的其他基团是H。

13. 一种药用或兽医用组合物,其包含治疗有效量的权利要求1~12中任一项所定义的式(I)的化合物,或者其药学上或兽医学上可接受的盐,或者式(I)的化合物或其药学上或兽医学上可接受的盐的任何立体异构体,以及一种或多种药学上或兽医学上可接受的赋形剂或载体。

14. 在治疗和/或预防癌症、纤维化和/或免疫调节中供使用的如权利要求1~12中任一项所述的式(I)的化合物或如权利要求13所述的药用或兽医用组合物。

15. 如权利要求14所述的供使用的式(I)的化合物或药用组合物,其中,所述癌症选自由急性淋巴细胞性白血病(ALL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、结肠直肠癌、成胶质细胞瘤、肝癌、黑素瘤、胰腺癌、前列腺癌、肾癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、急性髓性白血病、套细胞淋巴瘤和多发性骨髓瘤组成的组。

## 作为DNA甲基转移酶抑制剂的新型化合物

[0001] 本申请要求2015年11月16日提交的欧洲专利申请EP15382565.8的权益。

[0002] 本发明涉及3,4-杂环-喹啉化合物,其是DNA甲基转移酶的抑制剂。还涉及含有它们的药用或兽医用组合物,以及它们在药物中的应用,特别是作为抗癌药、抗纤维化剂和免疫调节剂的应用。

### 背景技术

[0003] 近年来,已经表明癌症是遗传和表观遗传疾病,其中表观遗传和遗传改变相互作用以驱动癌症发展。然而,与基因突变不同,表观遗传学改变是可逆的,因此,恢复表观遗传平衡的药物代表令人兴奋的潜在癌症治疗目标。表观遗传学是指基因表达模式中可遗传的改变,其独立于原始DNA序列中的改变而发生。主要的表观遗传机制是DNA甲基化和共价组蛋白修饰,其在转录调节中起重要作用。

[0004] DNA甲基化是一种表观遗传修饰,其调节基因表达而不改变DNA碱基序列,并通过沉默肿瘤抑制基因而在癌症中发挥重要作用。DNA甲基转移酶(DNMT)是催化DNA甲基化的酶。DNMT1编码维持性甲基转移酶,DNMT3A和DNMT3B编码从头甲基转移酶。

[0005] DNMT1和DNMT3A/3B在如乳腺癌、胃癌、胰腺癌、前列腺癌、肝细胞癌、卵巢癌、肾癌、成视网膜细胞瘤、神经胶质瘤或弥漫性大B细胞淋巴瘤等数种癌症中过表达。如泽布拉恩(Zebularine)、地西他滨(decitabine)和氮杂胞苷(azacytidine)等DNA去甲基化试剂抑制细胞增殖并诱导特别是急性淋巴细胞性白血病、急性髓性白血病、肝癌、肺癌、乳腺癌、胃癌或宫颈癌中的凋亡(Vilas-Zornoza A.等,PLoS ONE 2011,6(2):p.e17012)。地西他滨目前已被美国食品药品监督管理局批准用于骨髓发育不良综合征。另一方面,DNA甲基化在纤维化的发病机制中起关键作用(Neary,R.et al,Fibrogenesis&Tissue Repair 2015,8:18)。此外,DNA甲基转移酶抑制也促进人间充质干细胞的免疫调节和迁移(Lee S.等,Scientific Reports 2015,5:8020)。

[0006] 然而,许多工作致力于开发新型非核苷抑制剂以克服这些氮杂核苷的限制,例如化学不稳定性和为了活性而结合到DNA。

[0007] G9a也称为EHMT2,是组蛋白甲基转移酶,其将组蛋白H3的9位赖氨酸单甲基化和二甲基化(分别是H3K9me1和H3K9me2)。与正常组织相比,G9a在许多癌症中表达较高。癌症转录组分析显示在许多肿瘤(包括肝细胞癌、结肠癌、前列腺癌、肺癌、膀胱癌和浸润性移行细胞癌)中和在B细胞慢性淋巴细胞性白血病中高表达(Shankar SR.等,Epigenetics 2013,8(1):p.16-22)。G9a在膀胱和肺癌细胞系中的敲弱引起生长抑制和凋亡。对前列腺癌的研究进一步证实了其在癌症发生中的作用,其中G9a的下调导致癌细胞中的中心体破裂,染色体不稳定,细胞生长受抑制和细胞衰老增加。在侵袭性肺癌中,高水平的G9a与不良预后相关,增加细胞迁移和体外侵袭以及体内转移。G9a在胰腺癌中也过表达,并且G9a的抑制在这种类型的癌症中诱导细胞衰老。在急性髓性白血病小鼠模型中,G9a的丧失显著延迟疾病进展并降低白血病干细胞频率。

[0008] 有趣的是,DNA甲基转移酶-1(DNMT1)与G9a物理上相互作用以协调细胞分裂过程

中的DNA和组蛋白甲基化 (Esteve P.O.等, Genes Dev 2006, 20:3089-3103), 促进靶基因的转录沉默 (Tachibana M.等, EMBO J 2008, 27:2681-2690)。在这个意义上, DNA和H3K9甲基化水平的同时降低导致肿瘤抑制基因的再激活并抑制癌细胞增殖 (Wozniak R.J.等, Oncogene 2007, 26, 77-90; Sharma S.等, Epigenetics Chromatin 2012.5, 3(2012))。

[0009] 仍然需要开发在治疗和/或预防癌症、纤维化和免疫调节中显示改善活性的化合物。

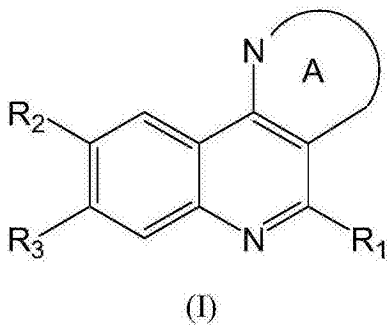
### 发明内容

[0010] 如本发明的实施例所证明的, 发明人发现了能够抑制一种或多种DNA甲基转移酶 (DNMT, 包括DNMT1、DNMT3A和/或DNMT3B) 的具有3,4-杂环喹啉核心的新型化合物。因此这些化合物是DNMT的抑制剂, 并且可用于治疗和/或预防癌症、纤维化和/或免疫调节。

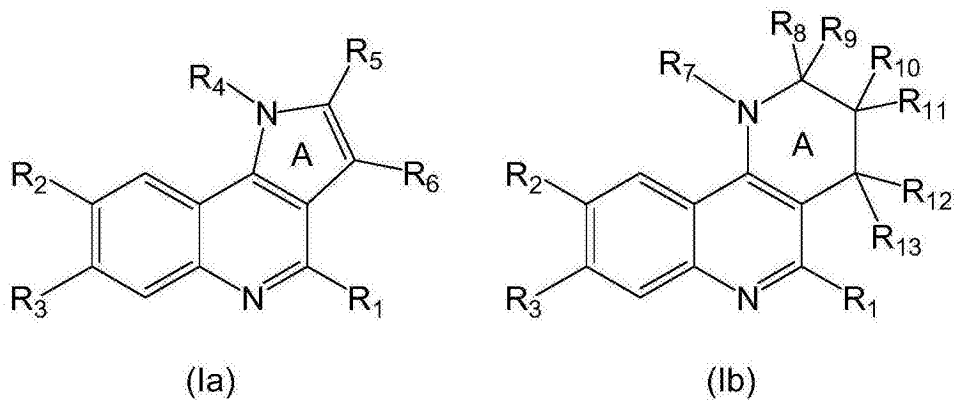
[0011] 此外, 本发明的一些化合物还能够抑制组蛋白甲基转移酶G9a, 作为双重抑制剂。关于它们在癌症中的应用, 本发明的这些化合物具有以下优点: 它们针对两种不同的靶标, 在体外测试、基于细胞的测定中或在动物模型中已经证明可用于治疗癌症。本发明的这些化合物对两种病理生理事件有影响的事实可能引起更有效的治疗。

[0012] 因此, 本发明的第一方面涉及一种式 (I) 的化合物, 或者其药学上或兽医学上可接受的盐, 或者式 (I) 的化合物的或任何其药学上或兽医学上可接受的盐的任何立体异构体或它们的混合物,

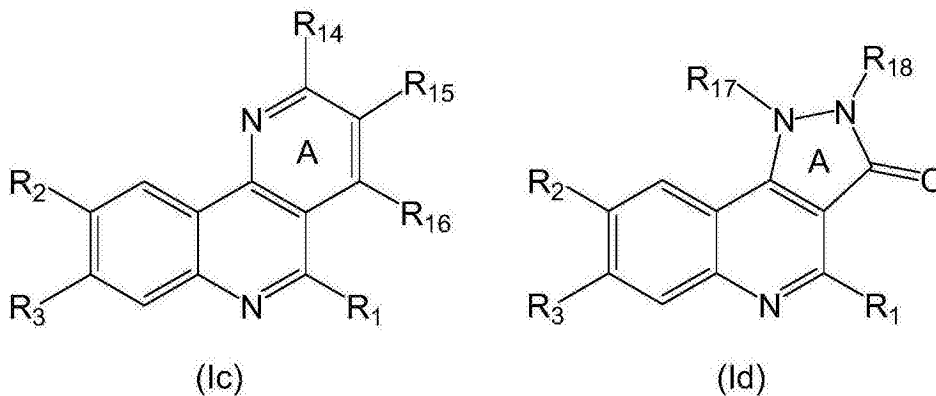
[0013]



[0014] 其选自由式 (Ia)、(Ib)、(Ic) 和 (Id) 的化合物组成的组:



[0015]



[0016] 其中

[0017]  $R_1$ 选自自由 $R^a$ 、 $Cy^1$ 、卤素、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-OR^b$ 、 $-OC(O)R^b$ 、 $-OC(O)OR^b$ 、 $-OC(O)NR^bR^b$ 、 $-NR^bR^b$ 、 $-NR^bC(O)R^b$ 、 $-NR^bC(O)OR^b$ 、 $-NR^bC(O)NR^bR^b$ 、 $-NR^bS(O)_2R^b$ 、 $-NR^bSO_2NR^bR^b$ 、 $-SR^b$ 、 $-S(O)R^b$ 、 $-S(O)OR^b$ 、 $-SO_2R^b$ 、 $-SO_2(OR^b)$ 、 $-SO_2NR^bR^b$ 、 $-SC(O)NR^bR^b$ 、 $-C(O)R^b$ 、 $-C(O)OR^b$ 、 $-C(O)NR^bR^b$ 、 $-C(O)NR^bOR^b$ 和 $-C(O)NR^bSO_2R^b$ 组成的组；

[0018]  $Cy^1$ 是选自自由下述基团组成的组中的已知环体系：

[0019] (i) 苯基；

[0020] (ii) 5或6元杂芳环；

[0021] (iii) 3至7元碳环或杂环单环，其为饱和的或部分不饱和的；

[0022] (iv) 3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环，其稠合、桥接稠合或者螺稠合至3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环；

[0023] (v) 与6至14元饱和或部分不饱和的碳环或杂环双环稠合的苯基，其中所述双环的环是螺稠合的；和

[0024] (vi) 与6至14元饱和或部分不饱和的碳环或杂环双环稠合的5至6元杂芳环，其中，所述双环的环为螺稠合的；

[0025] 其中， $Cy^1$ 可选地取代有：

[0026] a) 一个 $Cy^2$ 或一个 $Cy^3$ ，和/或

[0027] b) 一个或多个取代基 $R^c$ ，和/或

[0028] c) 一个或多个取代基 $Z^1$ ，所述 $Z^1$ 可选地取代有一个或多个取代基 $R^c$ 和/或一个 $Cy^2$ ；

[0029] 其中， $Cy^2$ 或 $Cy^3$ 可选地取代有一个或多个独立地选自 $R^c$ 和 $Z^2$ 的取代基，所述 $Z^2$ 可选



地取代有一个或多个取代基 $R^c$ ;

[0030]  $R_2$ 选自自由H、 $R^g$ 、卤素、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-OR^g$ 、 $-OC(O)R^g$ 、 $-OC(O)OR^g$ 、 $-OC(O)NR^gR^g$ 、 $-NR^gR^g$ 、 $-NR^gC(O)R^g$ 、 $-NR^gC(O)OR^g$ 、 $-NR^gC(O)NR^gR^g$ 、 $-NR^gS(O)_2R^g$ 、 $-NR^gSO_2NR^gR^g$ 、 $-SR^g$ 、 $-S(O)R^g$ 、 $-S(O)OR^g$ 、 $-SO_2R^g$ 、 $-SO_2(OR^g)$ 、 $-SO_2NR^gR^g$ 、 $-SC(O)NR^gR^g$ 、 $-C(O)R^g$ 、 $-C(O)OR^g$ 、 $-C(O)NR^gR^g$ 、 $-C(O)NR^gOR^g$ 和 $-C(O)NR^gSO_2R^g$ 组成的组;

[0031]  $R_3$ 选自自由 $R^d$ 、 $-OR^d$ 、 $-NR^dR^g$ 和 $-NR^aCOR^d$ 组成的组;其中 $R_3$ 含有至少一个选自N、O、S和F的原子;

[0032]  $R_4$ 、 $R_7$ 、 $R_{17}$ 、 $R_{18}$ 独立地是H或 $R^d$ ;

[0033]  $R_5$ 、 $R_8$ 、 $R_{10}$ 、 $R_{14}$ 、 $R_{15}$ 独立地选自自由H、 $R^e$ 、 $OR^f$ 、 $-NR^fR^g$ 、 $NR^aCOR^f$ 和 $R^f$ 组成的组;

[0034]  $R_6$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 、 $R_{12}$ 、 $R_{13}$ 、 $R_{16}$ 独立地选自自由H、 $R^a$ 和一个或多个卤素原子组成的组;

[0035] 各个 $R^a$ 独立地选自自由 $(C_1-C_6)$ 烷基、 $(C_2-C_6)$ 烯基、 $(C_2-C_6)$ 炔基、具有一个或多个双键和一个或多个三键的 $(C_2-C_6)$ 烃链组成的组,其中各个 $R^a$ 可选地取代有一个或多个卤素原子,

[0036] 各个 $R^a$ 独立地是H或 $R^a$ ;

[0037] 各个 $R^b$ 独立地选自自由下述基团组成的组: $(C_1-C_6)$ 烷基、 $(C_2-C_6)$ 烯基、 $(C_2-C_6)$ 炔基、具有一个或多个双键和一个或多个三键的 $(C_2-C_6)$ 烃链,其中,任何这些基团可选地取代有一个或多个卤素原子,并且 $Cy^4$ 可选地取代有一个或多个取代基 $R^c$ ;

[0038] 各个 $R^b$ 独立地是H或 $R^b$ ;

[0039] 各个 $R^c$ 独立地选自卤素、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-OR^g$ 、 $-OC(Y)R^g$ 、 $-OC(Y)OR^g$ 、 $-OC(Y)NR^gR^g$ 、 $-NR^gR^g$ 、 $-NR^gC(Y)R^g$ 、 $-NR^gC(Y)OR^g$ 、 $-NR^gC(Y)NR^gR^g$ 、 $-NR^gS(O)_2R^g$ 、 $-NR^gSO_2NR^gR^g$ 、 $-SR^g$ 、 $-S(O)R^g$ 、 $-S(O)OR^g$ 、 $-SO_2R^g$ 、 $-SO_2(OR^g)$ 、 $-SO_2NR^gR^g$ 、 $-SC(Y)NR^gR^g$ 、 $-C(Y)R^g$ 、 $-C(Y)OR^g$ 、 $-C(Y)NR^gR^g$ 、 $-C(Y)NR^gOR^g$ 和 $-C(O)NR^gSO_2R^g$ ;

[0040] 各个 $R^d$ 独立地是 $R^e$ 或 $R^f$ ;

[0041] 各个 $R^e$ 独立地是 $Cy^5$ ,所述 $Cy^5$ 可选地取代有:

[0042] a) 一个 $Cy^7$ ;和/或

[0043] b) 一个或多个取代基 $R^c$ ,和/或

[0044] c) 一个或多个取代基 $Z^4$ ,所述 $Z^4$ 可选地取代有一个或多个取代基 $R^c$ 和/或一个 $Cy^7$ ;

[0045] 其中, $Cy^7$ 可选地取代有一个或多个独立地选自 $R^c$ 和 $Z^5$ 的取代基,所述 $Z^5$ 可选地取代有一个或多个取代基 $R^c$ ;并且

[0046] 各个 $R^f$ 独立地是 $Z^3$ ,所述 $Z^3$ 可选地取代有一个或多个取代基 $R^c$ 和/或一个 $Cy^6$ ;其中, $Cy^6$ 可选地取代有:

[0047] a) 一个 $Cy^8$ ;和/或

[0048] b) 一个或多个取代基 $R^c$ ,和/或

[0049] c) 一个或多个取代基 $Z^6$ ,所述 $Z^6$ 可选地取代有一个或多个取代基 $R^c$ 和/或一个 $Cy^8$ ;

[0050] 其中, $Cy^8$ 可选地取代有一个或多个独立地选自 $R^c$ 和 $Z^7$ 的取代基,所述 $Z^7$ 可选地取代有一个或多个取代基 $R^c$ ;

[0051] 各个 $R^f$ 独立地是H或 $R^f$ ;

[0052] 各个 $R^g$ 独立地选自自由下述基团组成的组: $(C_1-C_6)$ 烷基、 $(C_2-C_6)$ 烯基、 $(C_2-C_6)$ 炔基、具有一个或多个双键和一个或多个三键的 $(C_2-C_6)$ 烃链,以及3至7元饱和或部分不饱和或芳

香族的碳环或杂环单环,其中,各个R<sup>g</sup>可选地取代有一个或多个卤素原子,

[0053] 各个R<sup>g</sup>独立地是H或R<sup>g</sup>;

[0054] Y是O、S或NR<sup>g'</sup>;

[0055] Z<sup>1</sup>至Z<sup>7</sup>独立地选自由(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)烷基、(C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>)烯基、(C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>)炔基和具有一个或多个双键和一个或多个三键的(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)烃链组成的组;

[0056] Cy<sup>2</sup>、Cy<sup>7</sup>和Cy<sup>8</sup>独立地是选自由下述基团组成的组中的已知环体系:苯基;饱和或部分不饱和的3至7元碳环或杂环单环;和5或6元杂芳环;

[0057] Cy<sup>3</sup>、Cy<sup>4</sup>、Cy<sup>5</sup>和Cy<sup>6</sup>独立地是选自由下述基团组成的组中的已知环体系:苯基;5或6元杂芳环;饱和或部分不饱和的3至7元碳环或杂环单环;和稠合、桥接稠合或者螺稠合至3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环的3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环;

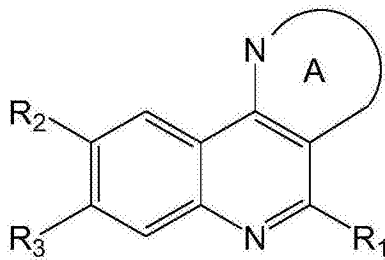
[0058] 其中,在碳环中,所有环成员都是碳原子;在杂环和杂芳环中,一个或多个环成员选自N、O和S;并且其中,在所有饱和或部分不饱和的环中,所述环的一个或两个成员可选地是C(O)和/或C(NH)和/或C[N(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基];

[0059] 条件是式(I)的化合物与下述化合物不同:

[0060] 7,8-二乙氧基-1,2-二氢-4-甲基-3H-吡咯并[3,2-c]喹啉-3-酮;7,8-二乙氧基-1,2-二氢-4-甲基-3H-吡咯并[3,2-c]喹啉-3-酮盐酸盐;7-甲氧基-1-(3-甲氧基苯基)-2,3,4-三(三氟甲基)-1H-吡咯并[3,2-c]喹啉;8-氟-2,5-二氢-4-甲基-7-(4-吗啉基)-2-苯基-3H-吡啶并[4,3-c]喹啉-3-酮;8-氟-2,5-二氢-4-甲基-2-苯基-7-(1-哌嗪基)-3H-吡啶并[4,3-c]喹啉-3-酮;2-(4-溴苯基)-4-(丁基氨基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡啶并[4,3-c]喹啉-3-酮;2-(3-溴苯基)-4-(丁基氨基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡啶并[4,3-c]喹啉-3-酮;4-(丁基氨基)-2-(4-氯苯基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡啶并[4,3-c]喹啉-3-酮;4-(丁基氨基)-2-(3-氯苯基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡啶并[4,3-c]喹啉-3-酮;4-(丁基氨基)-2-(4-氟苯基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡啶并[4,3-c]喹啉-3-酮;4-(丁基氨基)-2-(3-氟苯基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡啶并[4,3-c]喹啉-3-酮;4-(环戊基氨基)-2-(3,5-二氟苯基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡啶并[4,3-c]喹啉-3-酮;2-(4-溴苯基)-4-(环戊基氨基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡啶并[4,3-c]喹啉-3-酮;2-(3-溴苯基)-4-(环戊基氨基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡啶并[4,3-c]喹啉-3-酮;2-(4-氯苯基)-4-(环戊基氨基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡啶并[4,3-c]喹啉-3-酮;2-(3-氯苯基)-4-(环戊基氨基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡啶并[4,3-c]喹啉-3-酮;4-(环戊基氨基)-2-(4-氟苯基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡啶并[4,3-c]喹啉-3-酮;和4-(环戊基氨基)-2-(3-氟苯基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡啶并[4,3-c]喹啉-3-酮。

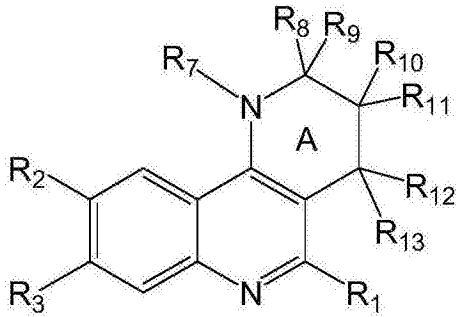
[0061] 本发明的第二方面涉及式(I)的化合物,或者其药学上或兽医学上可接受的盐,或者式(I)的化合物的或任何其药学上或兽医学上可接受的盐的任何立体异构体或它们的混合物,

[0062]

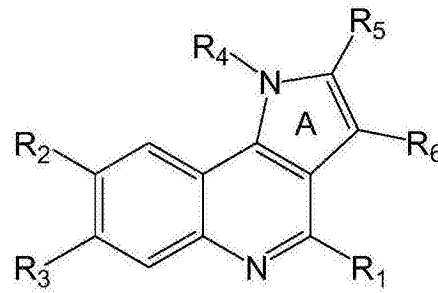


(I)

[0063] 其选自由式 (Ib)、(Ia)、(Ic) 和 (Id) 的化合物组成的组:

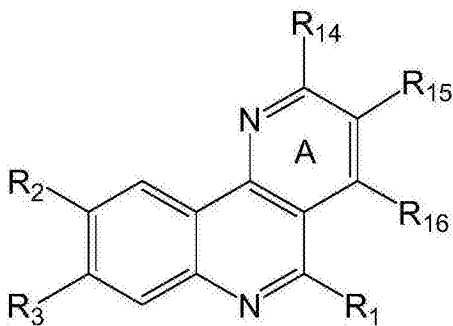


(Ib)

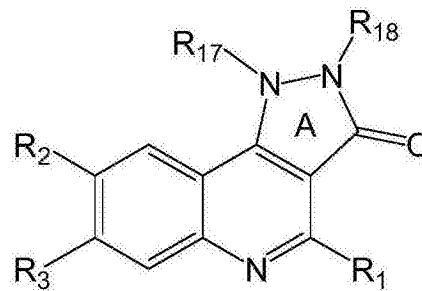


(Ia)

[0064]



(Ic)



(Id)

[0065] 其中

[0066]  $R_1$  是  $Cy^1$  并且通过碳原子连接至喹啉;[0067]  $Cy^1$  是选自由下述基团组成的组中的已知环体系:

[0068] (i) 苯基;

[0069] (ii) 5或6元杂芳环;

[0070] (iii) 3至7元碳环或杂环单环, 其为饱和的或部分不饱和的;

[0071] (iv) 3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环, 其稠合、桥接稠合或者螺稠合至3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环;

[0072] (v) 与6至14元饱和或部分不饱和的碳环或杂环双环稠合的苯基, 其中, 所述双环的环是螺稠合的; 和

[0073] (vi) 与6至14元饱和或部分不饱和的碳环或杂环双环稠合的5至6元杂芳环, 其中, 所述双环的环为螺稠合的;

[0074] 其中,  $Cy^1$  可选地取代有:

- [0075] a) 一个Cy<sup>2</sup>或一个Cy<sup>3</sup>, 和/或
- [0076] b) 一个或多个取代基R<sup>c</sup>, 和/或
- [0077] c) 一个或多个取代基Z<sup>1</sup>, 所述Z<sup>1</sup>可选地取代有一个或多个取代基R<sup>c</sup>和/或一个Cy<sup>2</sup>;
- [0078] 其中, Cy<sup>2</sup>或Cy<sup>3</sup>可选地取代有一个或多个独立地选自R<sup>c</sup>和Z<sup>2</sup>的取代基, 所述Z<sup>2</sup>可选地取代有一个或多个取代基R<sup>c</sup>;
- [0079] R<sub>2</sub>选自由下述基团组成的组: H、R<sup>g</sup>、卤素、-NO<sub>2</sub>、-CN、-OR<sup>g</sup>、-OC(O)R<sup>g</sup>、-OC(O)OR<sup>g</sup>、-OC(O)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>C(O)R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>C(O)OR<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>C(O)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>S(O)<sub>2</sub>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>SO<sub>2</sub>NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-SR<sup>g</sup>、-S(O)R<sup>g</sup>、-S(O)OR<sup>g</sup>、-SO<sub>2</sub>R<sup>g</sup>、-SO<sub>2</sub>(OR<sup>g</sup>)、-SO<sub>2</sub>NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-SC(O)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-C(O)R<sup>g</sup>、-C(O)OR<sup>g</sup>、-C(O)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-C(O)NR<sup>g</sup>OR<sup>g</sup>和-C(O)NR<sup>g</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>g</sup>;
- [0080] R<sub>3</sub>是-OR<sup>d</sup>;
- [0081] R<sub>4</sub>、R<sub>7</sub>、R<sub>17</sub>、R<sub>18</sub>独立地是H或R<sup>d</sup>;
- [0082] R<sub>5</sub>、R<sub>8</sub>、R<sub>10</sub>、R<sub>14</sub>、R<sub>15</sub>独立地选自由下述基团组成的组: H、R<sup>e</sup>、OR<sup>f</sup>、-NR<sup>f</sup>R<sup>g</sup>、NR<sup>a</sup>、COR<sup>f</sup>和R<sup>f</sup>;
- [0083] R<sub>6</sub>、R<sub>9</sub>、R<sub>11</sub>、R<sub>12</sub>、R<sub>13</sub>、R<sub>16</sub>独立地选自由下述基团组成的组: H、R<sup>a</sup>和一个或多个卤素原子;
- [0084] 各个R<sup>a</sup>独立地选自由下述基团组成的组: (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基、(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)烯基、(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)炔基、具有一个或多个双键和一个或多个三键的(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)烃链, 其中, 各个R<sup>a</sup>可选地取代有一个或多个卤素原子,
- [0085] 各个R<sup>a</sup>独立地是H或R<sup>a</sup>;
- [0086] 各个R<sup>c</sup>独立地选自卤素、-NO<sub>2</sub>、-CN、-OR<sup>g</sup>、-OC(Y)R<sup>g</sup>、-OC(Y)OR<sup>g</sup>、-OC(Y)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>C(Y)R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>C(Y)OR<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>C(Y)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>S(O)<sub>2</sub>R<sup>g</sup>、-NR<sup>g</sup>SO<sub>2</sub>NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-SR<sup>g</sup>、-S(O)R<sup>g</sup>、-S(O)OR<sup>g</sup>、-SO<sub>2</sub>R<sup>g</sup>、-SO<sub>2</sub>(OR<sup>g</sup>)、-SO<sub>2</sub>NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-SC(Y)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-C(Y)R<sup>g</sup>、-C(Y)OR<sup>g</sup>、-C(Y)NR<sup>g</sup>R<sup>g</sup>、-C(Y)NR<sup>g</sup>OR<sup>g</sup>和-C(O)NR<sup>g</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>g</sup>;
- [0087] 各个R<sup>d</sup>独立地是R<sup>e</sup>或R<sup>f</sup>;
- [0088] 各个R<sup>e</sup>独立地是Cy<sup>5</sup>, 所述Cy<sup>5</sup>可选地取代有:
- [0089] d) 一个Cy<sup>7</sup>; 和/或
- [0090] e) 一个或多个取代基R<sup>c</sup>, 和/或
- [0091] f) 一个或多个取代基Z<sup>4</sup>, 所述Z<sup>4</sup>可选地取代有一个或多个取代基R<sup>c</sup>和/或一个Cy<sup>7</sup>;
- [0092] 其中, Cy<sup>7</sup>可选地取代有一个或多个独立地选自R<sup>c</sup>和Z<sup>5</sup>的取代基, 所述Z<sup>5</sup>可选地取代有一个或多个取代基R<sup>c</sup>; 并且
- [0093] 各个R<sup>f</sup>独立地是Z<sup>3</sup>, 所述Z<sup>3</sup>可选地取代有一个或多个取代基R<sup>c</sup>和/或一个Cy<sup>6</sup>; 其中, Cy<sup>6</sup>可选地取代有:
- [0094] d) 一个Cy<sup>8</sup>; 和/或
- [0095] e) 一个或多个取代基R<sup>c</sup>, 和/或
- [0096] f) 一个或多个取代基Z<sup>6</sup>, 所述Z<sup>6</sup>可选地取代有一个或多个取代基R<sup>c</sup>和/或一个Cy<sup>8</sup>;
- [0097] 其中, Cy<sup>8</sup>可选地取代有一个或多个独立地选自R<sup>c</sup>和Z<sup>7</sup>的取代基, 所述Z<sup>7</sup>可选地取代有一个或多个取代基R<sup>c</sup>;
- [0098] 各个R<sup>f</sup>独立地是H或R<sup>f</sup>;
- [0099] 各个R<sup>g</sup>独立地选自由下述基团组成的组: (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基、(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)烯基、(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)炔基、

具有一个或多个双键和一个或多个三键的(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)烃链,以及3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环,其中,各个R<sup>g</sup>可选地取代有一个或多个卤素原子,

[0100] 各个R<sup>g</sup>独立地是H或R<sup>g</sup>;

[0101] Y是O、S或NR<sup>g</sup>;

[0102] Z<sup>1</sup>-Z<sup>7</sup>独立地选自由下述基团组成的组:(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)烷基、(C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>)烯基、(C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>)炔基和具有一个或多个双键和一个或多个三键的(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)烃链;

[0103] Cy<sup>2</sup>、Cy<sup>7</sup>和Cy<sup>8</sup>独立地是选自由下述基团组成的组中的已知环体系:苯基;饱和或部分不饱和的3至7元碳环或杂环单环;和5或6元杂芳环;

[0104] Cy<sup>3</sup>、Cy<sup>5</sup>和Cy<sup>6</sup>独立地是选自由下述基团组成的组中的已知环体系:苯基;5或6元杂芳环;饱和或部分不饱和的3至7元碳环或杂环单环;和3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环,其稠合、桥接稠合或者螺稠合至3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环;

[0105] 其中,在碳环中,所有环成员都是碳原子;在杂环和杂芳环中,一个或多个环成员选自N、O和S;并且其中,在所有饱和或部分不饱和的环中,所述环的一个或两个成员可选地是C(O)和/或C(NH)和/或C[N(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基]。

[0106] 本发明的第三方面涉及药用或兽医用组合物,其包含有效量的如上定义的式(I)的化合物,或者其药学上或兽医学上可接受的盐,或者式(I)的化合物或其药学上或兽医学上可接受的盐的任何立体异构体,以及一种或多种药学上或兽医学上可接受的赋形剂或载体。

[0107] 本发明的第四方面涉及在治疗和/或预防癌症、纤维化和/或免疫调节中供使用的如上定义的式(I)的化合物或药用或兽医用组合物。因此,本发明的第三方面涉及如上定义的式(I)的化合物在制造用于治疗 and/或预防癌症、纤维化和/或免疫调节的药物中的应用,并且可以配制为用于治疗 and/或预防癌症、纤维化和/或免疫调节的方法,所述方法包括对有需要的对象(包括人)施用有效量的之前所定义的如上定义的式(I)的化合物以及一种或多种药学上或兽医学上可接受的赋形剂或载体。

## 具体实施方式

[0108] 除非另有说明,否则本申请在此使用的所有术语应以其本领域已知的普通含义来理解。除非其他明确阐述的定义提供更广泛的定义,否则本申请中使用的对于某些术语的其他更具体的定义如下所述并且旨在适用于整个说明书和权利要求书。

[0109] 术语“碳环”体系指其中所有环成员都含有碳原子的已知环系。术语“杂环”体系指其中如果化学上可行,一个或多个环成员,优选1、2、3或4个环成员选自NH、N、O和S的已知环体系。杂环的其余环成员独立地选自C、CH、CH<sub>2</sub>、O、N、NH和S。除非另有说明,“杂环”体系可以通过环体系的C或N原子连接至其余的分子。碳环和杂环都可以是饱和的、部分不饱和的或芳香族的,并且可以是未取代的或如本文所述被取代,取代基位于任何可用的位置上。因此,在为CH或CH<sub>2</sub>的碳环的环成员或者在为CH、CH<sub>2</sub>或NH的杂环的环成员中,这些环成员的一个或多个H原子可被本文公开的另一部分取代。

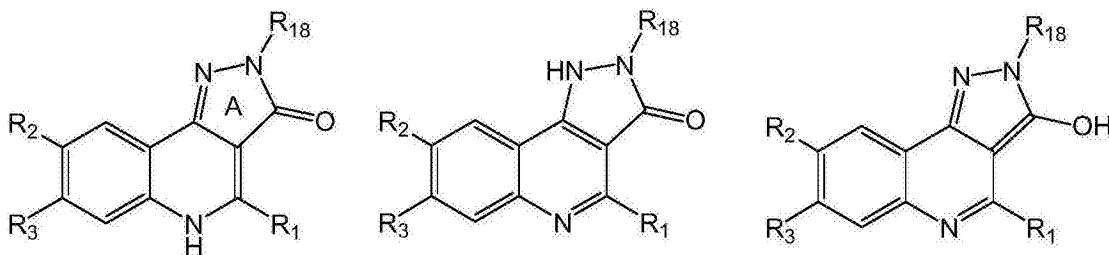
[0110] 为了本发明的目的,在“稠合”环中,稠合通过两个相邻环所共有的一个键进行;在“桥接稠合”环中,稠合通过两个环共有的一系列原子(桥头)进行;在“螺稠合”环中,稠合通

过两个相邻环(包括桥接环)共有的仅仅一个原子(螺原子)、优选碳原子进行。

[0111] 术语“杂芳族”环是指已知的芳香族环系,其中如果化学上可行,一个或多个环成员,优选1、2、3或4个环成员选自NH、N、O和S。杂芳环的其余环成员独立地选自C、CH、O、N、NH和S。杂芳环可以是未取代的或如本文所述被取代,取代基位于任何可用位置上。因此,在为CH或NH的杂芳环的环成员中,H原子可被另一部分取代,如本文所公开的。

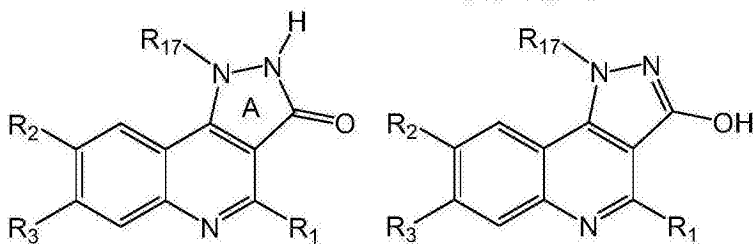
[0112] 本发明还包括式(I)的化合物的互变异构形式。术语“互变异构体”是指其结构在原子(通常为氢原子)和一个或多个多重键的位置上不同,并且能够容易且可逆地从一个变为另一个的异构体。本申请中不区分地使用互变异构体。因此,作为实例,羟基苯基必须被认为等同于其互变异构形式:环己-2,4-二烯酮。作为进一步的实例,如下所示,当 $R_{17}$ 为H或 $R_{18}$ 为H时,作为式(I<sub>d</sub>)的化合物的式(I)的化合物可以作为不同的互变异构体存在:

[0113] 对于本发明的目的,所有互变异构体都被认为是等同的:



(I<sub>d</sub>)  $R_{17} = H$

[0114]



(I<sub>d</sub>)  $R_{18} = H$

[0115] 本文使用的术语“已知的环体系”是指化学上可行并且在本领域中已知的环体系,因此意图排除那些化学上不可能的环体系。

[0116] 对于本发明的目的,在所有饱和或部分不饱和的环中,环的一个或两个成员可选地为C(O)和/或C(NH)和/或C[N(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基]。

[0117] 术语(C<sub>1</sub>-C<sub>n</sub>)烷基是指含有1至n个碳原子和仅仅单键的饱和支链或直链烃链。术语(C<sub>2</sub>-C<sub>n</sub>)烯基是指包含2至n个碳原子和至少一个或多个双键的不饱和的支链或直链烃链。术语(C<sub>2</sub>-C<sub>n</sub>)炔基是指包含2至n个碳原子和至少一个或多个三键的饱和的支链或直链烃链。对于本发明的目的,具有一个或多个双键和一个或多个三键的(C<sub>2</sub>-C<sub>n</sub>)烃链是含有2至n个碳原子的支链或直链烃链。

[0118] 卤素取代基是指氟、氯、溴或碘。

[0119] 在本发明的提及式(I)或式(II)的化合物的实施方式中,如果某些基团的取代或未取代未规定(例如,通过指出该基团的特定取代或者通过指出该基团未被取代),则必须理解的是,该基团的可能取代是如式(I)或式(II)的定义中那样的取代。此外,表述“如本文所定义被取代”,“如先前定义被取代”或任何等同表述必须被理解为该基团的可能取代是

如式(I)或式(II)的定义中那样的取代。

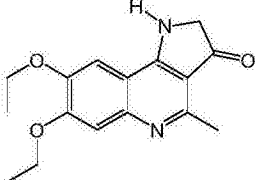
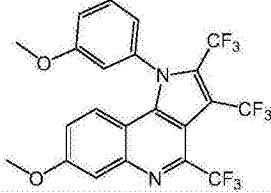
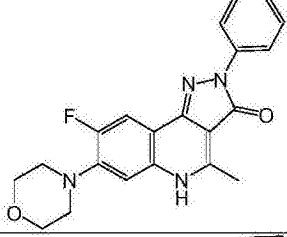
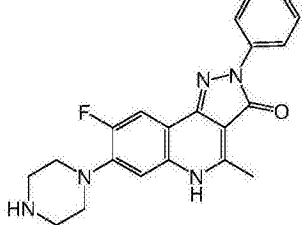
[0120] “保护基团”(PG)是指当连接到分子中的反应性基团时掩蔽、减少或防止该反应活性的原子组合。

[0121] 表述“取代有一个或多个”是指基团可以取代有一个或多个取代基,优选取代有1、2、3或4个取代基,条件是该基团具有足够的易于被取代的位置。

[0122] 对于本发明的目的,室温是20~25℃。

[0123] 在涉及式(I)的化合物的本发明的第一方面中,本发明的化合物不同于表1中列出的化合物:

[0124]

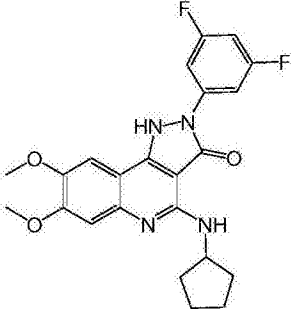
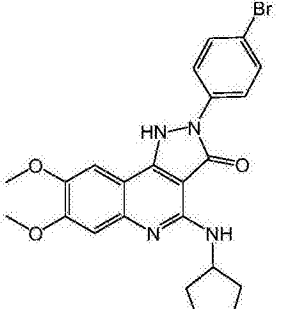
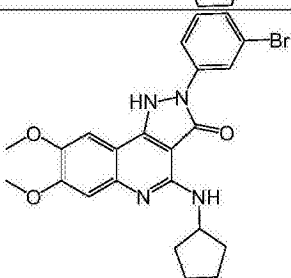
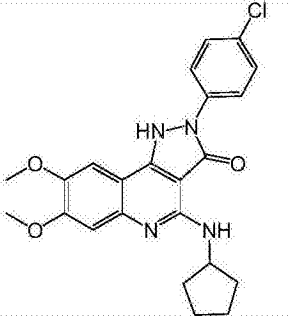
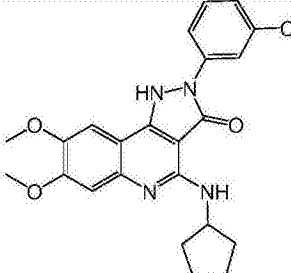
化合物编号	化合物名称(CAS登记号)	化学式	参考文献
1 (Ia)	7,8-二乙氧基-1,2-二氢-4-甲基-3H-吡咯并[3,2-c]喹啉-3-酮(1348739-57-0)及其盐酸盐(1348643-38-8)		无参考文献
2 (Ia)	7-甲氧基-1-(3-甲氧基-苯基)-2,3,4-三(三氟-甲基)-1H-吡咯并[3,2-c]喹啉(192521-71-4)		J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1997, (10), 1457-1463.
3 (Ia)	8-氟-2,5-二氢-4-甲基-7-(4-吗啉基)-2-苯基-3H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮(1092483-70-9)		US20080306049
4 (Id)	8-氟-2,5-二氢-4-甲基-2-苯基-7-(1-哌嗪基)-3H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮(1092483-69-6)		US20080306049

[0125]

化合物编号	化合物名称(CAS登记号)	化学式	参考文献
5 (Id)	2-(4-溴苯基)-4-(丁基氨基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (910045-56-6)		CN1830978
6 (Id)	2-(3-溴苯基)-4-(丁基氨基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (910045-55-5)		CN1830978
7 (Id)	4-(丁基氨基)-2-(4-氯苯基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (910045-54-4)		CN1830978
8 (Id)	4-(丁基氨基)-2-(3-氯苯基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (910045-53-3)		CN1830978
9 (Id)	4-(丁基氨基)-2-(4-氟苯基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (910045-52-2)		CN1830978
10 (Id)	4-(丁基氨基)-2-(3-氟苯基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (910045-51-1)		CN1830978



[0126]

化合物 编号	化合物名称(CAS登记号)	化学式	参考文献
11 (Id)	4-(环戊基氨基)-2-(3,5-二氟苯基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (910045-50-0)		CN1830978
12 (Id)	2-(4-溴苯基)-4-(环戊基氨基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (910045-49-7)		CN1830978
13 (Id)	2-(3-溴苯基)-4-(环戊基氨基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (910045-48-6)		CN1830978
14 (Id)	2-(4-氯苯基)-4-(环戊基氨基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (910045-47-5)		CN1830978
15 (Id)	2-(3-氯苯基)-4-(环戊基氨基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (910045-46-4)		CN1830978

[0127]

化合物编号	化合物名称(CAS登记号)	化学式	参考文献
16 (Id)	4-(环戊基氨基)-2-(4-氟苯基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (910045-45-3)		CN1830978
17 (Id)	4-(环戊基氨基)-2-(3-氟苯基)-1,2-二氢-7,8-二甲氧基-3H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (910045-44-2)		CN1830978

[0128] 表1

[0129] 如从上表中可以看出的,所述化合物是没有相关的参考文献的商业产品或公开于参考文献US20080306049 ((Therapeutic pyrazoloquinoline derivatives); Chambers R D.,等,Journal of the Chemical Society,Perkin Transactions 1:Organic and Bio-Organic Chemistry (1997), (10), 1457-1463;和CN1830978 (吡唑并[4,3c]喹啉-3-酮化合物、其制备方法及其应用))中。这些文献都没有描述这些化合物抑制组蛋白甲基转移酶G9a和/或DNA甲基转移酶(DNMT1、DNMT3A或DNMT3B)的能力,也没有描述它们在治疗和/或预防癌症、纤维化和/或免疫调节中的用途。

[0130] 对可使用的本发明的化合物的盐的类型没有限制,只要它们在用于治疗目的是药学上或兽医学上可接受的即可。术语“药学上或兽医学上可接受的盐”包括通常用于形成碱金属盐和形成游离酸或游离碱的加成盐的盐。

[0131] 式(I)的化合物的药学上或兽医学上可接受的盐的制备可以通过本领域已知的方法进行。例如,它们可以通过常规化学方法由含有碱性或酸性部分的母体化合物制备。通常,这些盐例如通过使这些化合物的游离酸或碱形式与化学计量比量的适当的药学上或兽医学上可接受的碱或酸在水中或在有机溶剂中或在它们的混合物中反应来制备。式(I)的化合物及其盐在某些物理性质上可能不同,但它们对于本发明的目的是等同的。

[0132] 本发明的化合物可以是作为游离溶剂化化合物或者作为溶剂化物(例如水合物)的结晶形式,并且意图是两种形式都在本发明的范围内。溶剂化的方法在本领域中通常是已知的。通常,使用药学上或兽医学上可接受的溶剂(例如水、乙醇等)的溶剂化形式对于本发明的目的与非溶剂化形式等同。

[0133] 本发明的一些化合物可以具有可产生各种立体异构体的手性中心。如本文所用,术语“立体异构体”是指个体化合物的所有异构体,其区别仅在于它们的原子在空间中的取向。术语立体异构体包括镜像异构体(对映异构体),镜像异构体的混合物(外消旋体、外消

旋混合物),几何(顺式/反式或顺式/反式或E/Z)异构体,以及具有多于一个手性中心的彼此不是镜像的化合物的异构体(非对映异构体)。本发明涉及这些立体异构体中的每一种以及它们的混合物。

[0134] 非对映异构体和对映异构体可以通过如色谱或分级结晶等常规技术分离。光学异构体可以通过常规的光学拆分技术拆分,从而得到光学纯的异构体。该拆分可以对任何手性合成中间体或对本发明的化合物进行。光学纯异构体也可以使用对映异构体特异性合成分别获得。

[0135] 在涉及式(I)的化合物的本发明的所有实施方式中,即使没有具体提及它们,也总是设想了其药理学上或兽医学上可接受的盐或者任何式(I)的化合物或任何其药理学上可接受的盐的立体异构体或混合物。

[0136] 在一个实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如前所述的式(I)的化合物,其为式(Ia)的化合物。

[0137] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如前所述的式(I)的化合物,其为式(Ib)的化合物。

[0138] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如第一方面中所述的式(I)的化合物,其中, $R_1$ 选自由下述基团组成的组: $R^a$ 、 $Cy^1$ 、 $-OR^b$ 、 $-NR^b R^b$ 、 $-NR^b C(O)R^b$ 、 $-NR^b S(O)_2R^b$ 、 $-SO_2NR^b R^b$ 和 $-C(O)NR^b R^b$ ;其中, $Cy^1$ 可选地如之前所定义的被取代。

[0139] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如第一方面中所述的式(I)的化合物,其中, $R_1$ 是 $Cy^1$ ,其可选地如之前所定义的被取代。更具体而言, $Cy^1$ 是选自由下述基团组成的组中的已知环体系:

[0140] (i) 苯基;

[0141] (ii) 5或6元杂芳环;

[0142] (iii) 3至7元碳环或杂环单环,其为饱和的或部分不饱和的;

[0143] (iv) 3至7元饱和或部分饱和或芳香族的碳环或杂环单环,其稠合、桥接稠合或者螺稠合至3至7元饱和或部分饱和或芳香族的碳环或杂环单环;

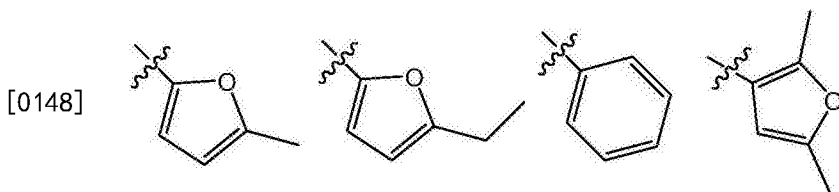
[0144] 甚至更具体而言, $R_1$ 是 $Cy^1$ ,其可选地如之前所定义的被取代,其中, $Cy^1$ 是选自由如上定义的(i)、(ii)和(iii)组成的组中的已知环体系。

[0145] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如第一方面中所述的式(I)的化合物,其中, $R_1$ 是可选地如之前所定义的被取代的 $Cy^1$ ,并且通过碳原子连接至喹啉。

[0146] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如前所述的式(I)的化合物,其中, $R_1$ 选自由下述基团组成的组:苯基、5至6元杂芳族单环和4至6元饱和碳环或杂环单环,并且 $R_1$ 是可选地如之前所定义的被取代。更具体而言, $R_1$ 是通过碳原子连接至喹啉并且可选地如之前所定义的被取代的5至6元杂芳族单环,更具体而言, $R_1$ 选自由下述基团组成的组:2-噻吩、3-噻吩、2-吡咯、3-吡咯、2-咪唑和3-咪唑。在更具体的实施方式中, $R_1$ 选自由下述基团组成的组:2-噻吩、3-噻吩、2-吡咯、3-吡咯、2-咪唑和3-咪唑,其中, $R_1$ 可选地取代有一个或多个( $C_1-C_6$ )烷基。

[0147] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征

组合,本发明涉及如之前所述的式(I)的化合物,其中, $R_1$ 选自由以下部分组成的组:

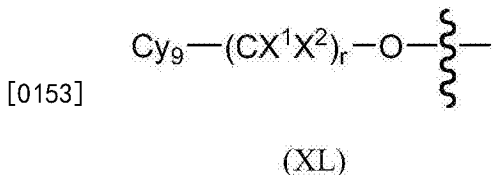


[0149] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如之前所述的式(I)的化合物,其中, $R_2$ 选自H、卤素、-CN和-OR<sup>g'</sup>,更具体而言, $R_2$ 选自H、卤素和-OR<sup>g'</sup>;进一步具体而言, $R_2$ 是H或-OR<sup>g'</sup>;并且进一步具体而言, $R_2$ 是-OR<sup>g'</sup>,其中, $R^{g'}$ 是可选地取代有一个或多个卤素原子的(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基。进一步具体而言, $R_2$ 是-OCH<sub>3</sub>。

[0150] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如第一方面中所述的式(I)的化合物,其中 $R_3$ 选自由下述基团组成的组:-OR<sup>d</sup>和-NR<sup>d</sup>R<sup>g'</sup>。更具体而言, $R_3$ 是-OR<sup>d</sup>,并且进一步具体而言, $R_3$ 中的R<sup>d</sup>是含有至少一个N原子的部分。

[0151] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如之前所述的式(I)的化合物,其中, $R_3$ 中的R<sup>d</sup>是Z<sup>3</sup>,其中Z<sup>3</sup>是取代有一个或多个如之前所定义的取代基的(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基,在后一实施方式中更具体而言,Z<sup>3</sup>是取代有Cy<sup>6</sup>的(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基,其中,Cy<sup>6</sup>可选地如之前所定义的被取代;进一步具体而言,在后一实施方式中,Cy<sup>6</sup>是3至7元碳环或杂环单环,其是饱和或部分不饱和的。

[0152] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如之前所述的式(I)的化合物,其中 $R_3$ 是式(XL)的部分:



[0154] 其中

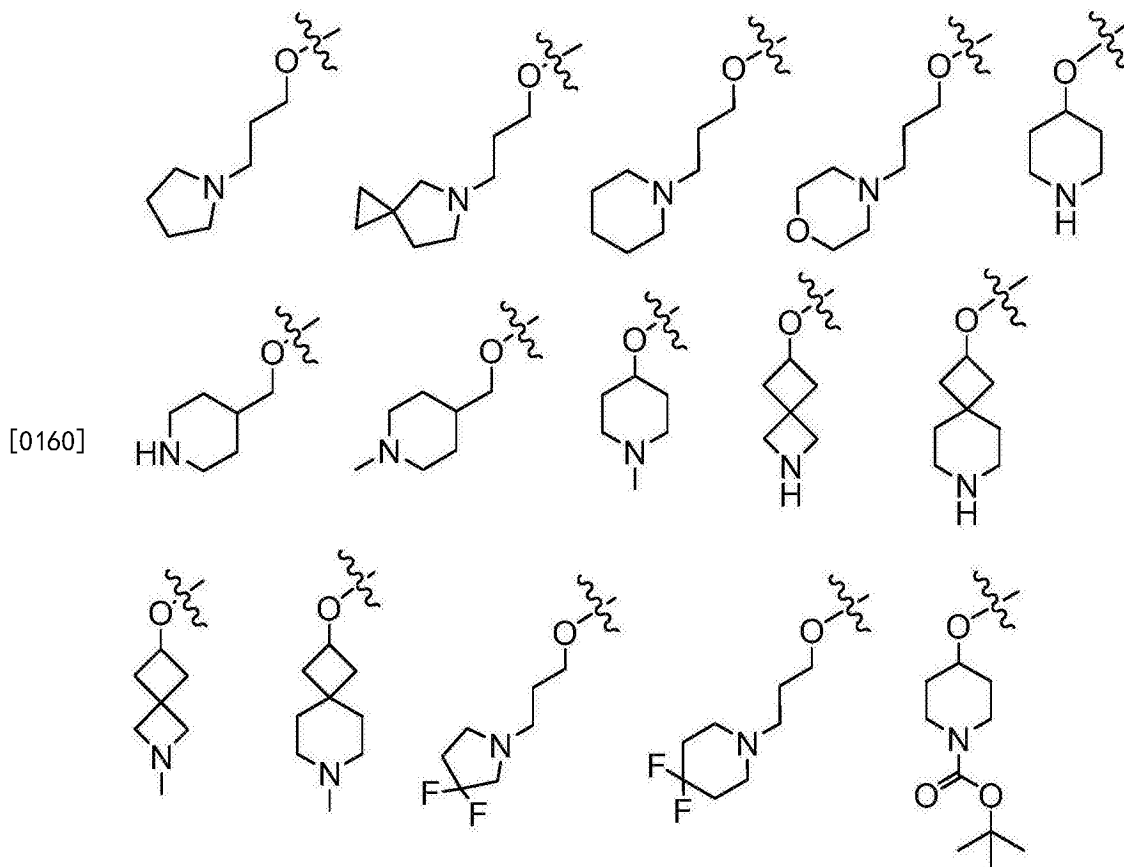
[0155] Cy<sub>9</sub>是3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环,或者稠合、桥接稠合或者螺稠合至3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环的3至7元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环,并且Cy<sub>9</sub>可选地取代有一个或多个选自卤素和(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基的取代基,所述(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基可选地取代有一个或多个卤素原子,

[0156] X<sup>1</sup>和X<sup>2</sup>独立地是H或卤素,并且

[0157] r是选自0至6的值。

[0158] 更具体而言, $R_3$ 是式(XL)的部分,其中Cy<sub>9</sub>是3至7元饱和的杂环单环或者螺稠合至3至7元饱和的碳环或杂环单环的3至7元饱和的碳环或杂环单环,并且Cy<sub>9</sub>可选地如之前所定义的被取代,X<sup>1</sup>和X<sup>2</sup>是H,r是选自0至6的值。

[0159] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如之前所述的式(I)的化合物,其中, $R_3$ 选自由以下部分组成的组:



[0161] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如之前所述的式(I)的化合物,其中, $R_5$ 、 $R_8$ 、 $R_{10}$ 、 $R_{14}$ 、 $R_{15}$ 独立地选自由H、 $R^e$ 和 $R^f$ 组成的组。

[0162] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如之前所述的式(I)的化合物,其中, $R_8$ 是H并且 $R_{10}$ 是 $R^e$ 或 $R^f$ ,或者作为另选, $R_8$ 是 $R^e$ 或 $R^f$ ,并且 $R_{10}$ 是H。

[0163] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如之前所述的式(I)的化合物,其中, $R_{14}$ 是H并且 $R_{15}$ 是 $R^e$ 或 $R^f$ ,或者作为另选, $R_{14}$ 是 $R^e$ 或 $R^f$ ,并且 $R_{15}$ 是H。

[0164] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如之前所述的式(I)的化合物,其中, $R_6$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 、 $R_{12}$ 、 $R_{13}$ 和 $R_{16}$ 是H。

[0165] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如之前所述的式(I)的化合物,其中, $R_4$ 和 $R_7$ 是H。

[0166] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如之前所述的式(I)的化合物,其中, $R_{17}$ 是H并且 $R_{18}$ 是 $R^d$ ,或者作为另选, $R_{17}$ 是 $R^d$ 并且 $R_{18}$ 是H。

[0167] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如之前所述的式(I)的化合物,其中, $R_4 \sim R_{18}$ 是H。

[0168] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如之前所述的式(I)的化合物,其中, $R_4 \sim R_6$ 中的一个不是H,并且 $R_4 \sim R_6$ 中

的其他是H,或者 $R_7 \sim R_{13}$ 中的一个不是H,并且 $R_7 \sim R_{13}$ 中的其他是H,或者其中 $R_{14} \sim R_{16}$ 中的一个不是H,并且 $R_{14} \sim R_{16}$ 中的其他是H,或者其中 $R_{17}$ 和 $R_{18}$ 中的一个不是H,并且 $R_{17}$ 和 $R_{18}$ 中的另一个是H。

[0169] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及如之前所述的式(I)的化合物,其中, $R_6$ 、 $R_9$ 、 $R_{11} \sim R_{13}$ 和 $R_{16}$ 是H; $R_4 \sim R_5$ 中的一个不是H,并且 $R_4 \sim R_5$ 中的另一个是H; $R_7$ 、 $R_8$ 和 $R_{10}$ 中的一个不是H,并且 $R_7$ 、 $R_8$ 和 $R_{10}$ 中的其他是H; $R_{14} \sim R_{15}$ 中的一个不是H,并且 $R_{14} \sim R_{15}$ 中的另一个是H;并且 $R_{17}$ 和 $R_{18}$ 中的一个不是H,并且 $R_{17}$ 和 $R_{18}$ 中的另一个是H。在更具体的实施方式中, $R_4$ 、 $R_6$ 、 $R_7$ 、 $R_9 \sim R_{13}$ 和 $R_{15} \sim R_{17}$ 是H;并且 $R_5$ 、 $R_8$ 、 $R_{14}$ 和 $R_{18}$ 不是H。

[0170] 更具体而言,在后两个实施方式中,不是H的取代基 $R_4 \sim R_{18}$ 独立地是可选地取代有一个或多个取代基的( $C_1$ - $C_{12}$ )烷基,所述取代基选自由下述基团组成的组:

[0171] 卤素,

[0172]  $-NR^{g'} R^{g'}$ ,

[0173]  $-NR^{g'} C(O) R^{g'}$ ,和

[0174] 可选地取代有一个或多个取代基的 $Cy^6$ ,所述取代基选自由下述基团组成的组:

[0175] 卤素,

[0176]  $-NR^{g'} R^{g'}$ ,

[0177]  $-NR^{g'} C(O) R^{g'}$ ,

[0178]  $-C(O) R^{g'}$ ,

[0179] 可选地取代有一个或多个卤素原子的-( $C_1$ - $C_6$ )烷基;和

[0180] 3至7元碳环或杂环单环,其是饱和或部分不饱和的;

[0181] 其中, $Cy^6$ 是3至7元碳环或杂环饱和或部分不饱和的单环;或者螺稠合至3至7元饱和的碳环或杂环单环的3至7元饱和碳环或杂环单环,并且各个 $R^{g'}$ 独立地选自H或可选地取代有一个或多个卤素原子的( $C_1$ - $C_6$ )烷基。

[0182] 甚至更具体而言,在该实施方式中,不是H的取代基的 $R_4 \sim R_{18}$ (优选 $R_5$ 、 $R_8$ 、 $R_{14}$ 和 $R_{18}$ )独立地是取代有 $Cy^6$ 的( $C_1$ - $C_{12}$ )烷基,所述 $Cy^6$ 可选地取代有一个或多个选自由下述基团组成的组中的取代基:

[0183] 卤素,

[0184]  $-C(O) R^{g'}$ ,

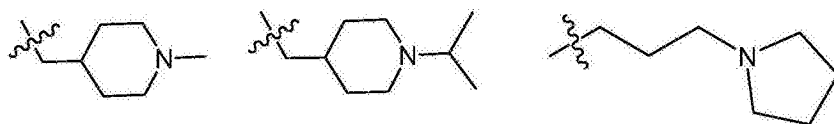
[0185] -( $C_1$ - $C_6$ )烷基,其可选地取代有一个或多个卤素原子;和

[0186] 3至7元饱和碳环单环;

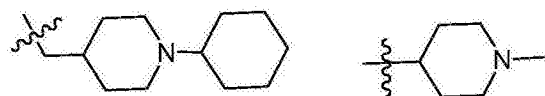
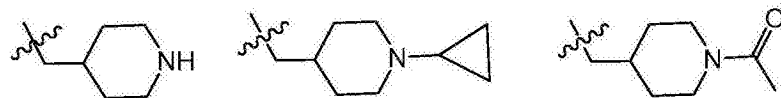
[0187] 其中, $Cy^6$ 是3至7元碳环或杂环饱和或部分不饱和的单环;或者螺稠合至3至7元饱和碳环或杂环单环的3至7元饱和碳环或杂环单环,并且

[0188]  $R^{g'}$ 是H或( $C_1$ - $C_6$ )烷基,所述( $C_1$ - $C_6$ )烷基可选地取代有一个或多个卤素原子。

[0189] 甚至更具体而言,在该实施方式中,不是H的取代基的 $R_4 \sim R_{18}$ (优选 $R_5$ 、 $R_8$ 、 $R_{14}$ 和 $R_{18}$ )选自由甲基和选自以下的部分组成的组:



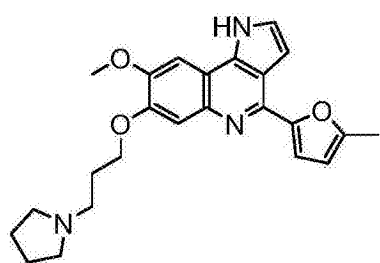
[0190]



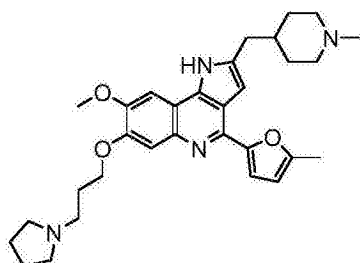
[0191] 以上定义的实施方式适用于所有式(I)的化合物(即,在可能的情况下,在本发明的任何方面和实施方式中定义的式(I)的化合物)。

[0192] 在本发明的另一实施方式中,式(I)的化合物选自由下述化合物组成的组:

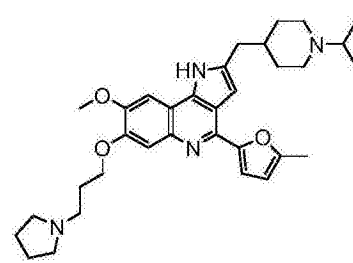
[0193]



1-01

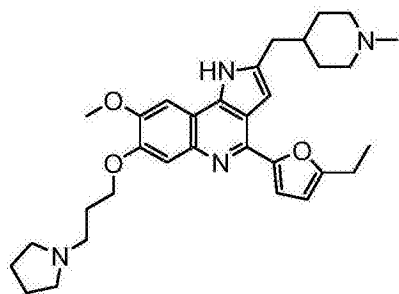


1-02

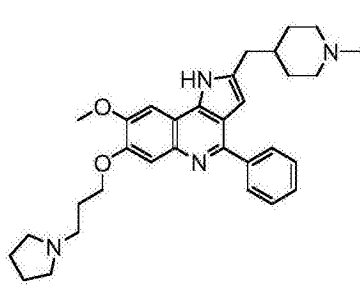


1-03

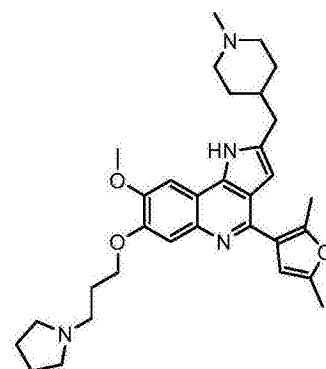
[0194]



1-04



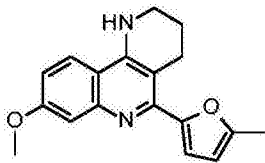
1-05



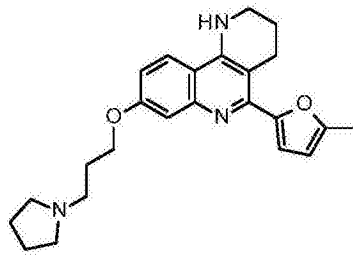
1-06

[0195] 在本发明的另一实施方式中,式(I)的化合物选自由下述化合物组成的组:

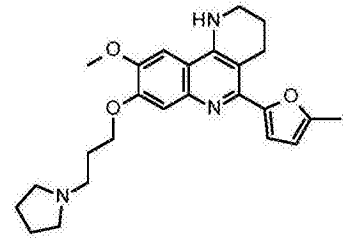
[0196]



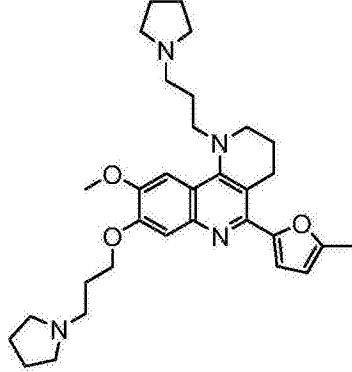
2-01



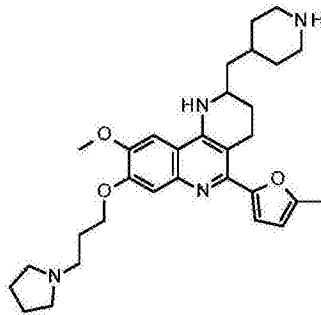
2-02



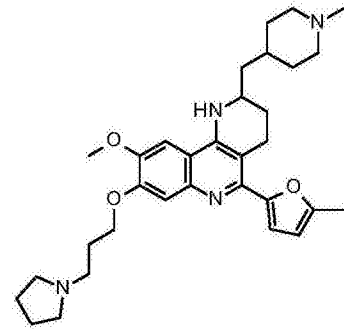
2-03



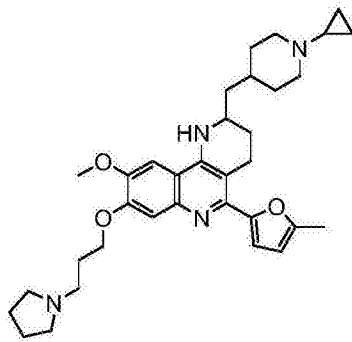
2-04



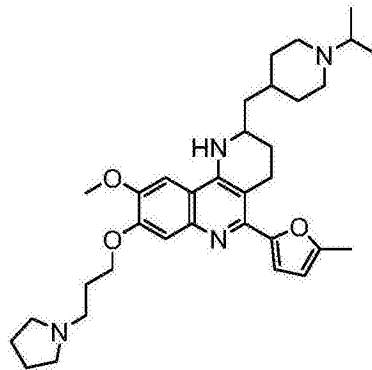
2-05



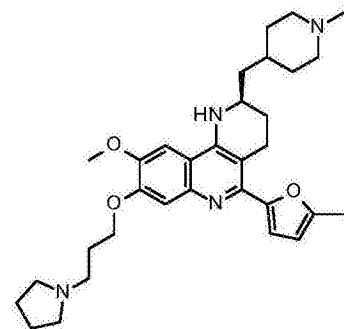
2-06



2-07

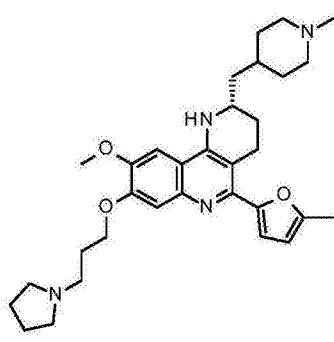


2-08

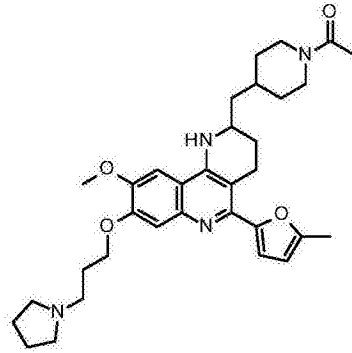
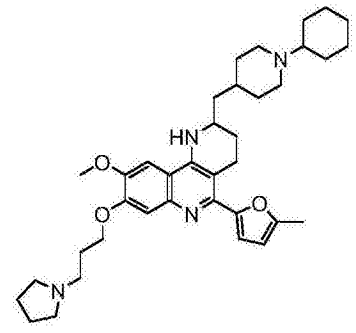
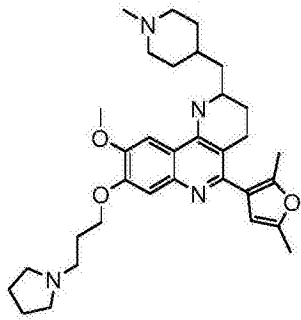


2-09

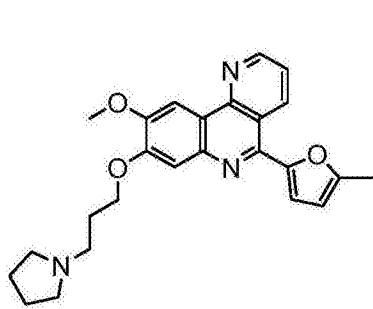




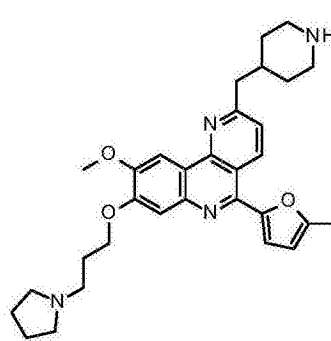
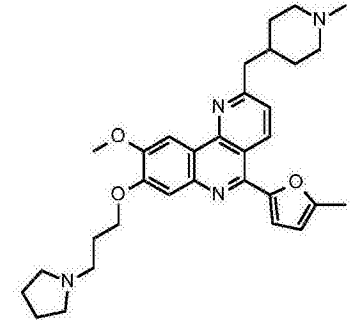
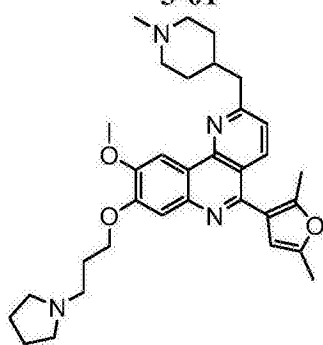
[0197]

**2-10****2-11****2-12****2-13**

[0198] 在本发明的另一实施方式中,式(I)的化合物选自由下述化合物组成的组:

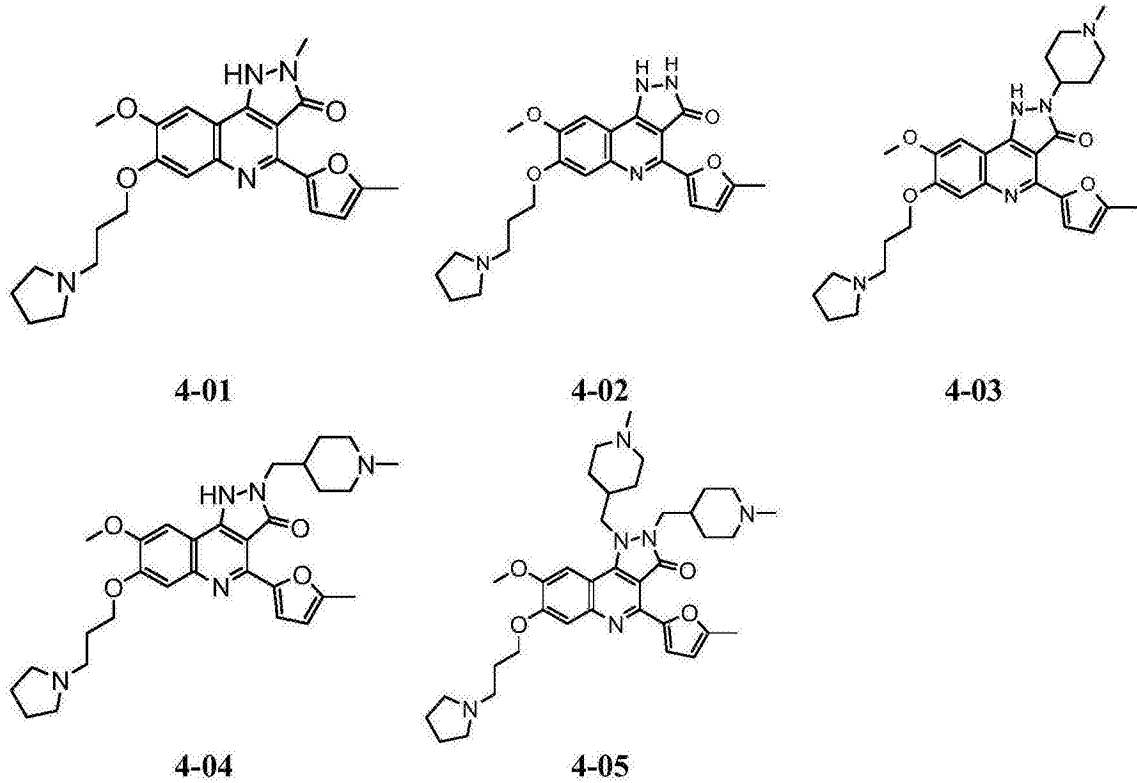


[0199]

**3-01****3-02****3-03****3-04**

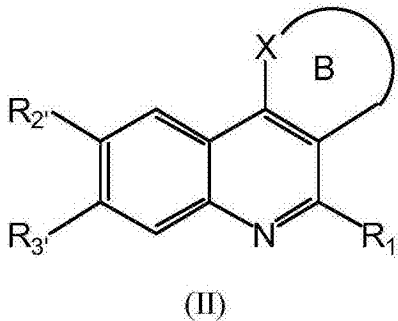
[0200] 在本发明的另一实施方式中,式(I)的化合物选自由下述化合物组成的组:

[0201]



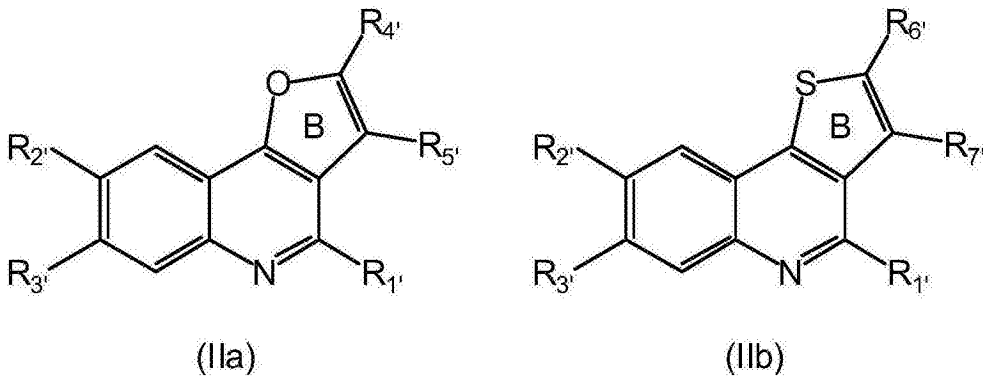
[0202] 发明人已经发现,还包含3,4-杂环-喹啉的式(II)的化合物也是DNMT的抑制剂。因此,本发明还涉及式(II)的化合物,或者其药学上或兽医学上可接受的盐,或者式(II)的化合物或任何其药学上或兽医学上可接受的盐的任何立体异构体或混合物,

[0203]



[0204] 其选自自由式(IIa)和(IIb)的化合物组成的组:

[0205]



[0206] 其中

[0207] R<sub>1</sub>' 选自由下述基团组成的组: R<sup>h</sup>、Cy<sup>1'</sup>、卤素、-NO<sub>2</sub>、-CN、-OR<sup>i</sup>、-OC(O)R<sup>i'</sup>、-OC(O)

$OR^{i'}$ 、 $-OC(O)NR^{i'}R^{i'}$ 、 $-NR^{i'}R^{i'}$ 、 $-NR^{i'}C(O)R^{i'}$ 、 $-NR^{i'}C(O)OR^{i'}$ 、 $-NR^{i'}C(O)NR^{i'}R^{i'}$ 、 $-NR^{i'}S(O)_2R^{i'}$ 、 $-NR^{i'}SO_2NR^{i'}R^{i'}$ 、 $-SR^{i'}$ 、 $-S(O)R^{i'}$ 、 $-S(O)OR^{i'}$ 、 $-SO_2R^{i'}$ 、 $-SO_2(OR^{i'})$ 、 $-SO_2NR^{i'}R^{i'}$ 、 $-SC(O)NR^{i'}R^{i'}$ 、 $-C(O)R^{i'}$ 、 $-C(O)OR^{i'}$ 、 $-C(O)NR^{i'}R^{i'}$ 、 $-C(O)NR^{i'}OR^{i'}$ 和 $-C(O)NR^{i'}SO_2R^{i'}$ ;

[0208]  $Cy^{1'}$  是选自由下述基团组成的组中的已知环体系:

[0209] (i) 苯基;

[0210] (ii) 5或6元杂芳环;

[0211] (iii) 3至7元碳环或杂环单环,其为饱和的或部分不饱和的;

[0212] (iv) 3至7元饱和或部分饱和或芳香族的碳环或杂环单环,其稠合、桥接稠合或者螺稠合至3至7元饱和或部分饱和或芳香族的碳环或杂环单环;

[0213] (v) 与6至14元饱和或部分不饱和的碳环或杂环双环稠合的苯基,其中,所述双环的环是螺稠合的;和

[0214] (vi) 与6至14元饱和或部分不饱和的碳环或杂环双环稠合的5至6元杂芳环,其中,所述双环的环为螺稠合的;

[0215] 其中, $Cy^{1'}$  可选地取代有:

[0216] a) 一个 $Cy^{2'}$  或一个 $Cy^{3'}$ ,和/或

[0217] b) 一个或多个取代基 $R^j$ ,和/或

[0218] c) 一个或多个取代基 $Z^{1'}$ ,所述 $Z^{1'}$  可选地取代有一个或多个取代基 $R^j$ 和/或一个 $Cy^{2'}$ ;

[0219] 其中, $Cy^{2'}$  或 $Cy^{3'}$  可选地取代有一个或多个独立地选自 $R^j$ 和 $Z^{2'}$  的取代基,所述 $Z^{2'}$  可选地取代有一个或多个取代基 $R^j$ ;

[0220]  $R_2'$  选自由下述基团组成的组: $R^n$ 、卤素、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-OR^n$ 、 $-OC(O)R^n$ 、 $-OC(O)OR^n$ 、 $-OC(O)NR^nR^n$ 、 $-NR^nR^n$ 、 $-NR^nC(O)R^n$ 、 $-NR^nC(O)OR^n$ 、 $-NR^nC(O)NR^nR^n$ 、 $-NR^nS(O)_2R^n$ 、 $-NR^nSO_2NR^nR^n$ 、 $-SR^n$ 、 $-S(O)R^n$ 、 $-S(O)OR^n$ 、 $-SO_2R^n$ 、 $-SO_2(OR^n)$ 、 $-SO_2NR^nR^n$ 、 $-SC(O)NR^nR^n$ 、 $-C(O)R^n$ 、 $-C(O)OR^n$ 、 $-C(O)NR^nR^n$ 、 $-C(O)NR^nOR^n$ 和 $-C(O)NR^nSO_2R^n$ ;

[0221]  $R_3'$  选自由下述基团组成的组: $R^k$ 、 $-OR^k$ 、 $-NR^kR^n$ 和 $-NR^hCOR^k$ ;其中, $R_3'$  含有至少一个选自N、O、S和F的原子;

[0222]  $R_4'$  和 $R_6'$  独立地选自由下述基团组成的组: $H$ 、 $R^l$ 、 $OR^m$ 、 $-NR^mR^n$ 、 $NR^hCOR^m$ 和 $R^m$ ;

[0223]  $R_5'$  和 $R_7'$  独立地选自由下述基团组成的组: $H$ 、 $R^h$ 和一个或多个卤素原子;

[0224] 各个 $R^h$ 独立地选自由下述基团组成的组:( $C_1-C_6$ )烷基、( $C_2-C_6$ )烯基、( $C_2-C_6$ )炔基、具有一个或多个双键和一个或多个三键的( $C_2-C_6$ )烃链,其中,各个 $R^h$ 可选地取代有一个或多个卤素原子,

[0225] 各个 $R^h$ 独立地是 $H$ 或 $R^h$ ;

[0226] 各个 $R^i$ 独立地选自由下述基团组成的组:( $C_1-C_6$ )烷基、( $C_2-C_6$ )烯基、( $C_2-C_6$ )炔基、具有一个或多个双键和一个或多个三键的( $C_2-C_6$ )烃链,其中,这些基团中任一个可选地取代有一个或多个卤素原子,并且 $Cy^{4'}$  可选地取代有一个或多个取代基 $R^j$ ;

[0227] 各个 $R^i$ 独立地是 $H$ 或 $R^i$ ;

[0228] 各个 $R^j$ 独立地选自:卤素、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-OR^n$ 、 $-OC(Y)R^n$ 、 $-OC(Y)OR^n$ 、 $-OC(Y)NR^nR^n$ 、 $-NR^nR^n$ 、 $-NR^nC(Y)R^n$ 、 $-NR^nC(Y)OR^n$ 、 $-NR^nC(Y)NR^nR^n$ 、 $-NR^nS(O)_2R^n$ 、 $-NR^nSO_2NR^nR^n$ 、 $-SR^n$ 、 $-S(O)R^n$ 、 $-S(O)OR^n$ 、 $-SO_2R^n$ 、 $-SO_2(OR^n)$ 、 $-SO_2NR^nR^n$ 、 $-SC(Y)NR^nR^n$ 、 $-C(Y)R^n$ 、 $-C(Y)$

$OR^{n'}$ 、 $-C(Y)NR^{n'}R^{n'}$ 、 $-C(Y)NR^{n'}OR^{n'}$  和  $-C(O)NR^{n'}SO_2R^{n'}$ ;

[0229] 各个  $R^k$  独立地是  $R^1$  或  $R^m$ ;

[0230] 各个  $R^1$  独立地是  $Cy^{5'}$ , 所述  $Cy^{5'}$  可选地取代有:

[0231] a) 一个  $Cy^{7'}$ ; 和/或

[0232] b) 一个或多个取代基  $R^j$ , 和/或

[0233] c) 一个或多个取代基  $Z^{4'}$ , 所述  $Z^{4'}$  可选地取代有一个或多个取代基  $R^j$  和/或一个  $Cy^{7'}$ ;

[0234] 其中,  $Cy^{7'}$  可选地取代有一个或多个独立地选自  $R^j$  和  $Z^{5'}$  的取代基, 所述  $Z^{5'}$  可选地取代有一个或多个取代基  $R^j$ ; 并且

[0235] 各个  $R^m$  独立地是  $Z^{3'}$ , 所述  $Z^{3'}$  可选地取代有一个或多个取代基  $R^j$  和/或一个  $Cy^{6'}$ ; 其中,  $Cy^{6'}$  可选地取代有:

[0236] a) 一个  $Cy^{8'}$ ; 和/或

[0237] b) 一个或多个取代基  $R^j$ , 和/或

[0238] c) 一个或多个取代基  $Z^{6'}$ , 所述  $Z^{6'}$  可选地取代有一个或多个取代基  $R^j$  和/或一个  $Cy^{8'}$ ;

[0239] 其中,  $Cy^{8'}$  可选地取代有一个或多个独立地选自  $R^j$  和  $Z^{7'}$  的取代基, 所述  $Z^{7'}$  可选地取代有一个或多个取代基  $R^j$ ;

[0240] 各个  $R^m$  独立地是 H 或  $R^m$ ;

[0241] 各个  $R^n$  独立地选自由下述基团组成的组:  $(C_1-C_6)$  烷基、 $(C_2-C_6)$  烯基、 $(C_2-C_6)$  炔基、具有一个或多个双键和一个或多个三键的  $(C_2-C_6)$  烃链, 以及 3 至 7 元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环, 其中, 各个  $R^n$  可选地取代有一个或多个卤素原子,

[0242] 各个  $R^{n'}$  独立地是 H 或  $R^{n'}$ ;

[0243] Y 是 O、S 或  $NR^{n'}$ ;

[0244]  $Z^{1'} \sim Z^{7'}$  独立地选自由下述基团组成的组:  $(C_1-C_{12})$  烷基、 $(C_2-C_{12})$  烯基、 $(C_2-C_{12})$  炔基和具有一个或多个双键和一个或多个三键的  $(C_2-C_6)$  烃链;

[0245]  $Cy^{2'}$ 、 $Cy^{7'}$  和  $Cy^{8'}$  独立地是选自由下述基团组成的组的已知环体系: 苯基; 3 至 7 元碳环或杂环单环, 其是饱和或部分不饱和的; 和 5 或 6 元杂芳环;

[0246]  $Cy^{3'}$ 、 $Cy^{4'}$ 、 $Cy^{5'}$  和  $Cy^{6'}$  独立地是选自由下述基团组成的组的已知环体系: 苯基; 5 或 6 元杂芳环; 3 至 7 元碳环或杂环单环, 其是饱和或部分不饱和的; 和 3 至 7 元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环, 其稠合、桥接稠合或者螺稠合至 3 至 7 元饱和或部分不饱和或芳香族的碳环或杂环单环;

[0247] 其中, 在碳环中, 所有环成员都是碳原子; 在杂环和杂芳环中, 一个或多个环成员选自 N、O 和 S; 并且其中, 在所有饱和或部分不饱和的环中, 所述环的一个或两个成员可选地是 C(O) 和/或 C(NH) 和/或 C[N( $C_1-C_4$ ) 烷基]。

[0248] 在一个实施方式中, 可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合, 本发明涉及式 (II) 的化合物, 其中,  $R_1'$  选自由下述基团组成的组:  $R^h$ 、 $Cy^{1'}$ 、 $-OR^i$ 、 $-NR^i$ 、 $R^i$ 、 $-NR^iC(O)R^i$ 、 $-NR^iS(O)_2R^i$ 、 $-SO_2NR^iR^i$  和  $-C(O)NR^iR^i$ ; 其中,  $Cy^{1'}$  可选地如之前所定义的被取代。更具体而言,  $R_1'$  是  $Cy^{1'}$ , 其可选地如之前所定义的被取代。甚至更具体而言,  $Cy^{1'}$  是选自由下述基团组成的组的已知环体系:

[0249] (i) 苯基;

[0250] (ii) 5或6元杂芳环;

[0251] (iii) 3至7元碳环或杂环单环,其是饱和或部分不饱和的;

[0252] 其中,Cy<sup>1'</sup> 可选地如之前所定义的被取代。

[0253] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及式 (II) 的化合物,其中,R<sub>2</sub>' 选自卤素、-CN和-OR<sup>n</sup>。更具体而言,R<sub>2</sub>' 是-OR<sup>n</sup>。

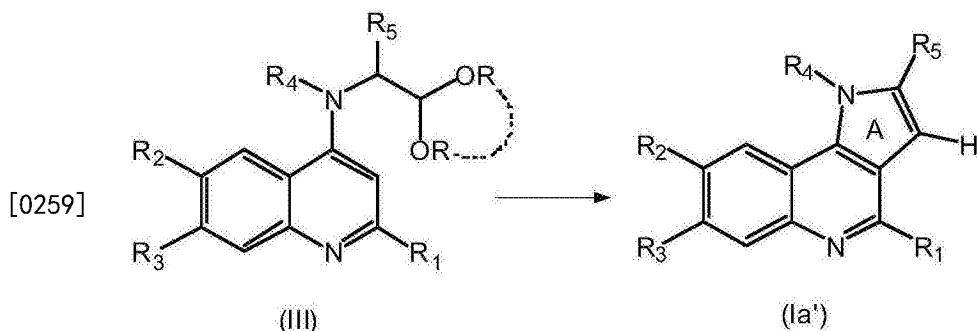
[0254] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及式 (II) 的化合物,其中,R<sub>3</sub>' 选自由-OR<sup>k</sup>和-NR<sup>k</sup>R<sup>n</sup> 组成的组。更具体而言,R<sub>3</sub>' 是-OR<sup>k</sup>。甚至更具体而言,R<sup>k</sup>是含有至少一个N原子的部分。

[0255] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及式 (II) 的化合物,其中,R<sub>3</sub>' 中的R<sup>k</sup>是Z<sup>3p</sup>,其中Z<sup>3p</sup> 是取代有一个或多个如之前所定义的取代基的(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基。

[0256] 此外,以上对于式 (I) 的化合物中的基团R<sub>5</sub>所定义的实施方式也适用于式 (II) 的化合物中的基团R<sub>4</sub>' 和R<sub>6</sub>',并且以上对于式 (I) 的化合物中的基团R<sub>6</sub>所定义的实施方式也适用于式 (II) 的化合物中的基团R<sub>5</sub>' 和R<sub>7</sub>'。

[0257] 式 (I) 的化合物的制备方法以及用于这些方法中的中间体也是本发明的一部分。

[0258] 例如,作为其中R<sub>6</sub>是H的式 (I) 的化合物(即,化合物(Ia'))可以由式 (III) 的化合物获得:



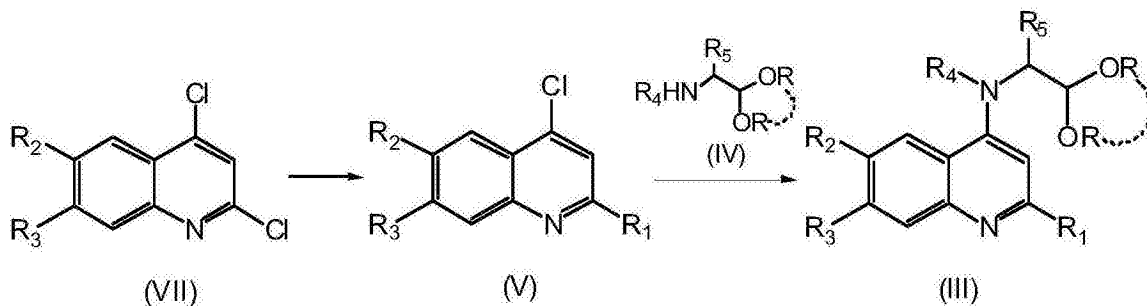
#### 方案 1

[0260] 其中,R<sub>1</sub>~R<sub>5</sub>如之前所定义,并且R是(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基,或者作为另选,两个相邻的基团-OR与它们所连接的原子一起形成5或6元环。

[0261] 该转化可以在BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O的存在下,在诸如二氯甲烷(DCM)等合适溶剂的存在下,于合适的温度(优选冷却,特别是在约0℃)进行。作为另选,该转化还可以在TiCl<sub>4</sub>的存在下、在诸如二氯乙烷或二氯甲烷(DCM)等合适溶剂的存在下,于合适的温度(优选加热,特别是在约60℃)进行,然后使用(HCHO)<sub>n</sub>或丙酮获得的中间体在AcOH或HCOOH或诸如NaBH<sub>3</sub>CN等还原剂的存在下,在诸如甲醇或异丙醇等合适溶剂的存在下,在合适的温度下(优选加热,特别是在约50~60℃)反应。

[0262] 式 (III) 的化合物可以由式 (VII) 的喹啉获得,如下述方案中所示,式 (VII) 的喹啉转化成式 (V) 的喹啉,随后式 (V) 的喹啉与式 (IV) 的化合物反应:

[0263]



方案 2

[0264] 其中,  $R_1 \sim R_5$  如之前所定义, 并且  $R$  是  $(C_1-C_6)$  烷基, 或者作为另选, 两个相邻的基团  $-OR$  与它们所连接的原子一起形成 5 或 6 元环。

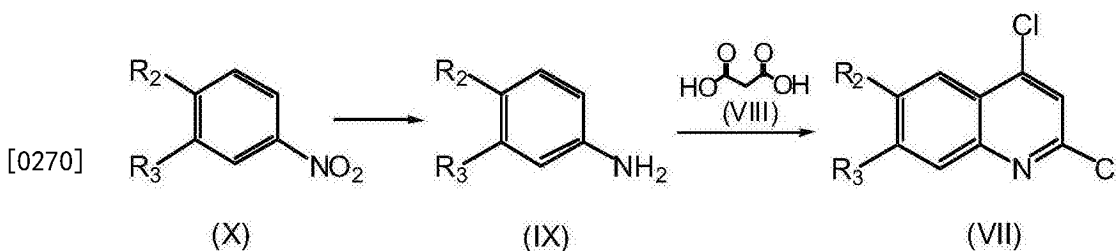
[0265] 例如, 当  $R_1$  是  $R^a$  或  $Cy^1$  时, 第一转化可以在诸如四(三苯基膦)钯(0) ( $Pd(PPh_3)_4$ ) 等钯催化剂和诸如  $K_2CO_3$  或  $Na_2CO_3$  等碱的存在下, 在诸如二噁烷(可选地与水混合)等合适的溶剂中, 于合适的温度(优选加热, 特别是在约  $80 \sim 110^\circ C$ ) 下使用式  $R_1B(OR')_2$  (VIa) 的硼衍生物进行, 其中,  $R_1$  是  $R^a$  或  $Cy^1$ , 并且  $R'$  是  $H$ 、 $(C_1-C_6)$  烷基或者作为另选, 两个  $R'$  基团与它们所连接的  $B$  原子一起形成环。

[0266] 当  $R_1$  是  $-OR^b$  时, 第一转化可以在诸如  $Na$  等金属的存在下, 在诸如  $MeOH$  等合适的溶剂中, 使用式  $R^bOH$  (VIb) 的醇进行。

[0267] 当  $R_1$  是  $-NR^bR^b$  时, 第一转化可以在诸如三(二亚苄基丙酮)二钯(0) ( $Pd_2(dba)_3$ ) 等钯催化剂、诸如二苯基-2-基-二环己基-磷烷、(2,2'-双(二苯基膦基)-1,1'-联萘) (BINAP) 等有机磷化合物和诸如  $Cs_2CO_3$  等碱的存在下, 在诸如二噁烷等合适的溶剂中, 于合适的温度(优选加热)下, 使用式  $HNR^bR^b$  (VIc) 的胺进行。

[0268] 从 (V) 至 (III) 的第二转化可以在诸如二(二亚苄基丙酮)钯(0) ( $Pd(dba)_2$ ) 或三(二亚苄基丙酮)二钯(0) ( $Pd_2(dba)_3$ ) 等钯催化剂、诸如二苯基-2-基-二环己基-磷烷、(2,2'-双(二苯基膦基)-1,1'-联萘) (BINAP) 等有机磷化合物和诸如  $Cs_2CO_3$  等碱的存在下进行。反应在诸如二噁烷等合适的溶剂中, 于合适的温度(优选加热)下进行。

[0269] 式 (VII) 的化合物可以由式 (X) 的化合物获得, 如下述方案中所示, 式 (X) 的化合物首先转化成式 (IX) 的化合物, 随后式 (IX) 的化合物与式 (VIII) 的化合物反应:

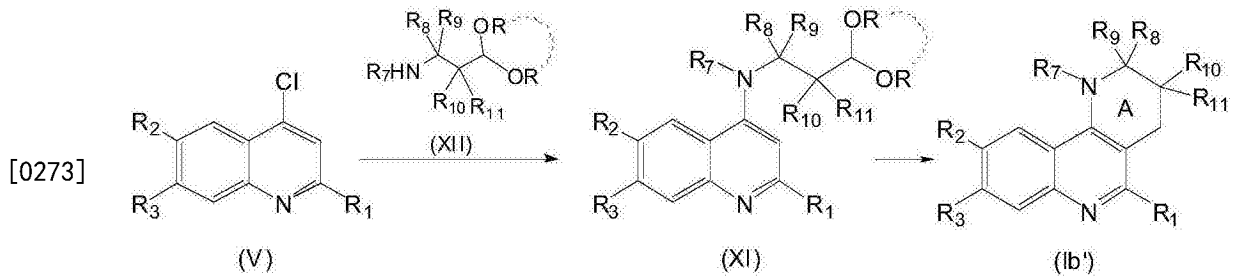


方案 3

[0271] 式 (X) 的化合物的还原可以通过例如在  $Pd/C$  的存在下在诸如甲醇等合适的溶剂中氢化而进行, 而式 (IX) 的化合物转化成式 (VII) 的化合物在诸如  $POCl_3$  等卤化剂的存在下在合适的温度(优选加热)下进行。

[0272] 作为其中  $R_{12}$  和  $R_{13}$  是  $H$  的式 (Ib) 的化合物(即式 (Ib')) 的化合物) 的式 (I) 的化合物

可以由式(V)的化合物获得,如下述方案中所示,式(V)的化合物与式(XII)的化合物反应得到式(XI)的喹啉,然后将式(XI)的喹啉转化成式(Ib')的化合物:



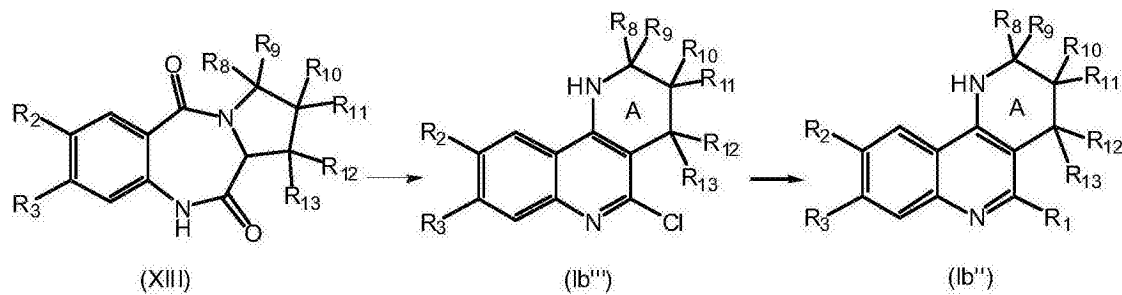
#### 方案 4

[0274] 其中 $R_1 \sim R_3, R_7, R_{11}$ 如之前所定义,并且R是(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基,或者作为另选,两个相邻的基团-OR与它们所连接的原子一起形成5或6元环。

[0275] 第一转化可以在与式(V)的化合物转化成式(III)的化合物所述条件相同的条件下进行。第二转化可以在TiCl<sub>4</sub>的存在下,在诸如二氯甲烷(DCM)或二氯乙烷等合适的溶剂的存在下,在合适的温度(优选加热,特别是在约60°C)下进行,然后必要时,可选地例如在Pd/C的存在下在诸如甲醇等合适的溶剂中将获得的中间体氢化;或者作为另选,将获得的中间体氢化,然后使其在AcOH和诸如NaBH<sub>3</sub>CN等还原剂的存在下,在诸如甲醇等合适的溶剂中,在合适的温度(优选加热,特别是在约50~60°C)下与(HCHO)<sub>n</sub>、(1-乙氧基环丙基)-三甲基-硅烷、丙酮或环己酮反应;或者作为另选,将获得的中间体氢化,然后使其在诸如Et<sub>3</sub>N(三乙胺)等碱的存在下,在诸如二氯甲烷(DCM)等合适的溶剂中与诸如乙酰氯等酰基氯反应。

[0276] 作为另选,作为其中R<sub>7</sub>是H的式(Ib)的化合物(即式(Ib''))的化合物)的式(I)的化合物,也可以由式(XIII)的化合物获得,式(XIII)的化合物首先转化成式(Ib''')的化合物,然后转化成式(Ib'')的化合物:

[0277]



#### 方案 5

[0278] 其中, $R_1 \sim R_3, R_8 \sim R_{13}$ 如之前所定义。

[0279] 式(XIII)的化合物转化成式(Ib''')的化合物在诸如POCl<sub>3</sub>等卤化剂的存在下,可选地在催化量的吡啶的存在下,在合适的温度(优选加热)下进行。

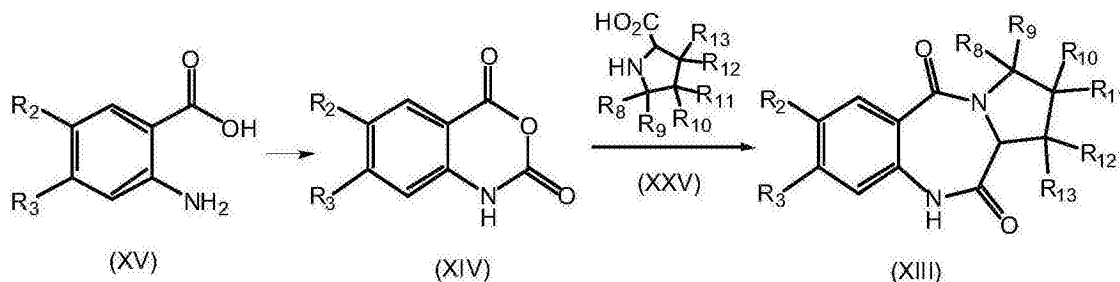
[0280] 当R<sub>1</sub>是R<sup>a</sup>或Cy<sup>1</sup>时,式(Ib''')的化合物转化成式(Ib'')的化合物可以在与式(VII)的化合物转化成式(V)的化合物所述条件相同的条件下使用式R<sub>1</sub>B(OR')<sub>2</sub>(VIa)的硼衍生物进行,其中,R<sub>1</sub>是R<sup>a</sup>或Cy<sup>1</sup>,并且R'是H、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基,或者作为另选,两个R'基团与它们所连接的B原子一起可以形成环。

[0281] 当 $R_1$ 是 $-OR^b$ 时,第二转化可以在与式(VII)的化合物转化成式(V)的化合物所述相同的条件下使用式 $R^bOH$ (VIb)的醇进行。

[0282] 当 $R_1$ 是 $-NR^b R^b$ 时,第二转化可以在与式(VII)的化合物转化成式(V)的化合物所述相同的条件下使用式 $HNR^b R^b$ (VIc)的胺进行。

[0283] 式(XIII)的化合物可以由式(XV)的化合物获得,如下述方案中所示,式(XV)的化合物首先转化成式(XIV)的化合物,然后使后者与式(XXV)的化合物反应:

[0284]

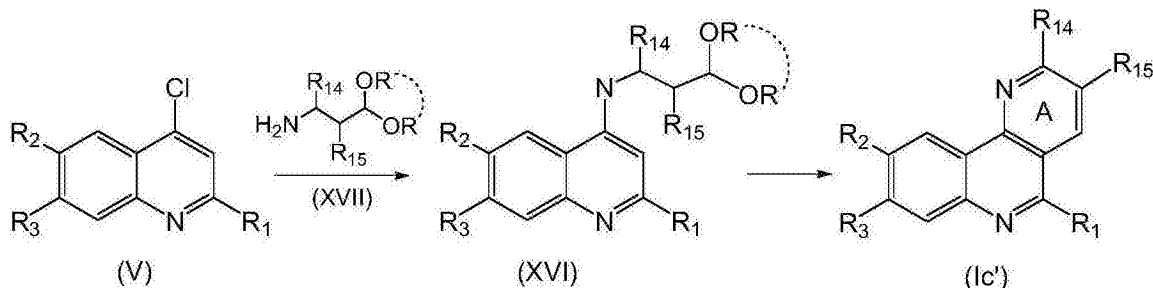


方案 6

[0285] 式(XV)的化合物转化成式(XIV)的化合物在 $(CCl_3CO)_2CO$ 的存在下,在合适的温度(优选加热)下进行,而式(XIV)的化合物转化成式(XIII)的化合物通过与式(XXV)的化合物在诸如DMF等合适的溶剂中在合适的温度(优选加热)下进行。

[0286] 作为其中 $R_{16}$ 是H的式(Ic)的化合物(即式(Ic')的化合物)的式(I)的化合物,可以由式(V)的化合物获得,如下述方案中所示,式(V)的化合物与式(XVII)的化合物反应得到式(XVI)的喹啉,然后(XVI)的喹啉转化成式(Ic')的化合物:

[0287]



方案 7

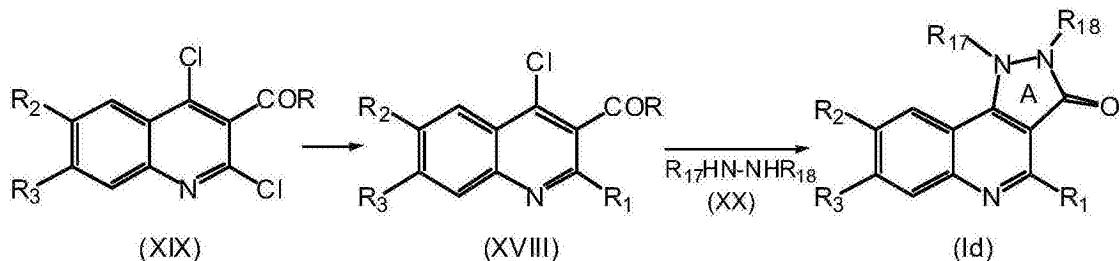
[0288] 其中, $R_1 \sim R_3$ 、 $R_{14}$ 和 $R_{15}$ 如之前所定义,并且R是 $(C_1-C_6)$ 烷基,或者作为另选,两个相邻基团 $-OR$ 与它们所连接的原子一起形成5或6元环。

[0289] 第一转化可以在与式(V)的化合物转化成式(III)的化合物所述条件相同的条件下进行。第二转化可以在 $TiCl_4$ 的存在下,在诸如二氯甲烷(DCM)或二氯乙烷等合适的溶剂的存在下,在合适的温度(优选加热,特别是在约 $60^\circ C$ )下进行,然后必要时,可选地将获得的中间体在AcOH和诸如 $NaBH_3CN$ 等还原剂的存在下,在诸如甲醇等合适的溶剂中,在合适的温度(优选加热,特别是在约 $50 \sim 60^\circ C$ )下与 $(HCHO)_n$ 反应。

[0290] 此外,作为式(Id)的化合物的式(I)的化合物可以由式(XIX)的化合物获得,如下述方案中所示,式(XIX)的化合物转化成式(XVIII)的化合物,然后式(XVIII)的化合物转化成式(Id)的喹啉:



[0291]



## 方案 8

[0292] 其中,  $R_1 \sim R_3$ 、 $R_{17}$ 和 $R_{18}$ 如之前所定义,并且R是(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基。

[0293] 例如,当 $R_1$ 是 $R^a$ 或 $Cy^1$ 时,第一转化可以在与式(VII)的化合物转化成式(V)的化合物所述条件相同的条件下使用式 $R_1B(OR')_2$ (VIa)的硼生物进行,其中, $R_1$ 是 $R^a$ 或 $Cy^1$ ,并且 $R'$ 是H、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基,或者作为另选,两个 $R'$ 基团与它们所连接的B原子一起可以形成环。

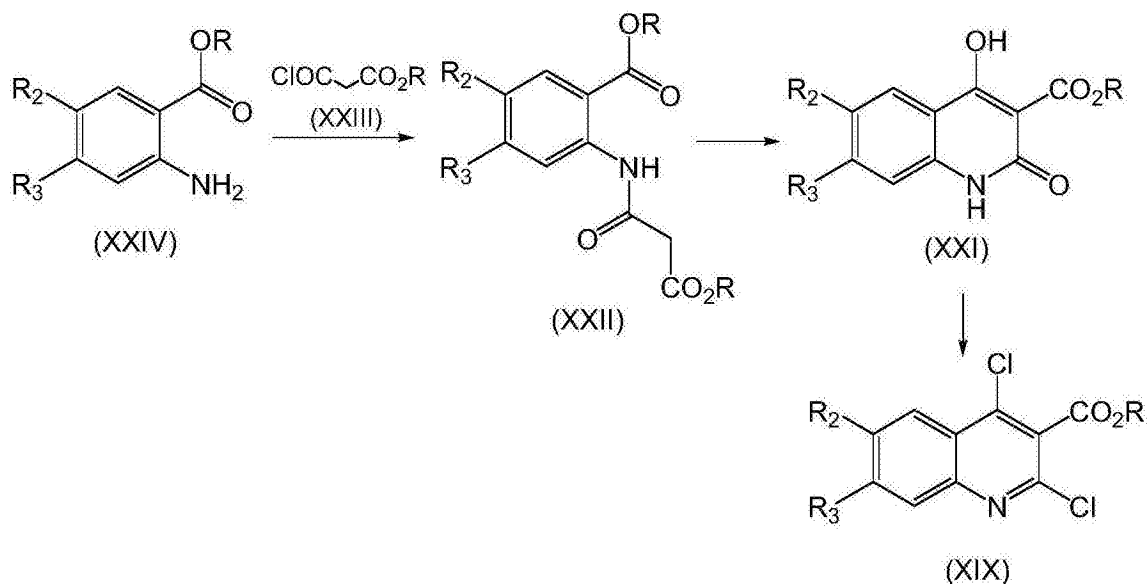
[0294] 当 $R_1$ 是 $-OR^b$ 时,第一转化可以在与式(VII)的化合物转化成式(V)的化合物所述条件相同的条件下使用式 $R^bOH$ (VIb)的醇进行。

[0295] 当 $R_1$ 是 $-NR^bR^b$ 时,第一转化可以在与式(VII)的化合物转化成式(V)的化合物所述条件相同的条件下使用式 $HNR^bR^b$ (VIc)的胺进行。

[0296] 第二转化可以在诸如N,N-二异丙基乙基胺(DIEA)的存在下,在诸如乙醇等合适的溶剂的存在下,在合适的温度(优选加热)下进行。必要时,在该反应后可以随后进行另外的反应步骤,例如使所获得的中间体a)在诸如 $K_2CO_3$ 等碱和诸如二甲基甲酰胺(DMF)等合适的溶剂的存在下,在合适的温度(优选加热)下与4-甲基磺酰氧基-哌啶-1-甲酸叔丁酯或4-(甲基磺酰氧基甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯反应,b)添加HCl/EtOAc,c)在AcOH和诸如 $NaBH(OAc)_3$ 等还原剂的存在下,在诸如甲醇等合适的溶剂的存在下,在合适的温度(优选加热)下,添加 $(HCHO)_n$ 。

[0297] 式(XIX)的化合物可以由式(XXIV)的化合物按照如下述方案中所示的合成路线获得:

[0298]

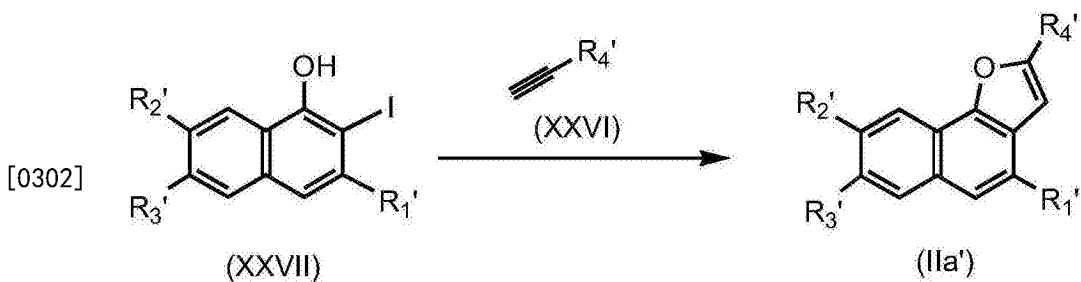


## 方案 9

[0299] 式 (XXIV) 的化合物可以与式 (XXIII) 的化合物在诸如吡啶等碱和可选的 4-二甲基氨基吡啶 (DMAP) 的存在下, 在诸如 DCM 等合适的溶剂中反应。式 (XXII) 的化合物可以在双 (三甲基甲硅烷基) 酰胺钾 (KHMDs) 的存在下, 在诸如四氢呋喃等合适的溶剂中, 在合适的温度下, 转化成式 XXI 的化合物。并且式 (XXI) 的化合物可以在 POCl<sub>3</sub> 的存在下并且优选加热, 转化成式 (XIX) 的化合物。

[0300] 作为另选, 上述反应可以以不同的顺序进行。式 (I) 的化合物可以转化成其他式 (I) 的化合物。式 (IV)、(VI)、(VIII)、(X)、(XII)、(XV)、(XVII)、(XX)、(XXIII) ~ (XV) 的化合物是商业上可获得的, 或者可以通过常规合成方法获得。

[0301] 作为其中 R<sub>5</sub>' 是 H 的式 (IIa) 的化合物 (即式 (IIa') 的化合物) 的式 (II) 的化合物, 可以由式 (XXVII) 的化合物获得:

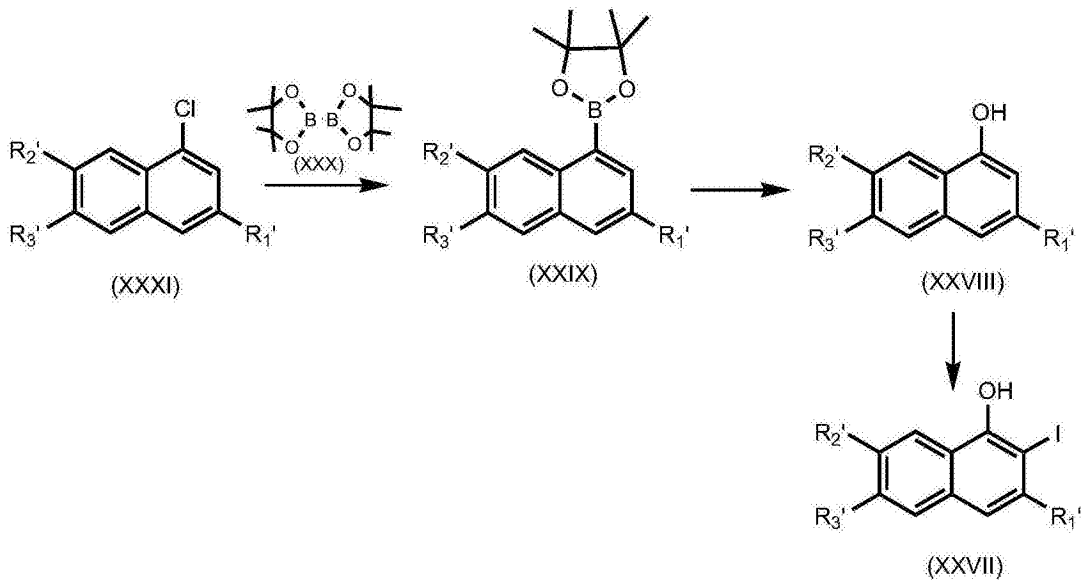


## 方案 10

[0303] 其中, R<sub>1</sub>' ~ R<sub>4</sub>' 如之前所定义。

[0304] 该转化可以在诸如四 (三苯基膦) 钯 (0) (Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>) 等钯催化剂和 CuI 的存在下, 在诸如乙腈 (可选地混合有三乙胺) 等合适的溶剂中, 在合适的温度 (优选加热) 下进行。

[0305] 式 (XXVII) 的化合物可以由式 (XXXI) 的化合物按照如下述方案中所示的合成路线获得:



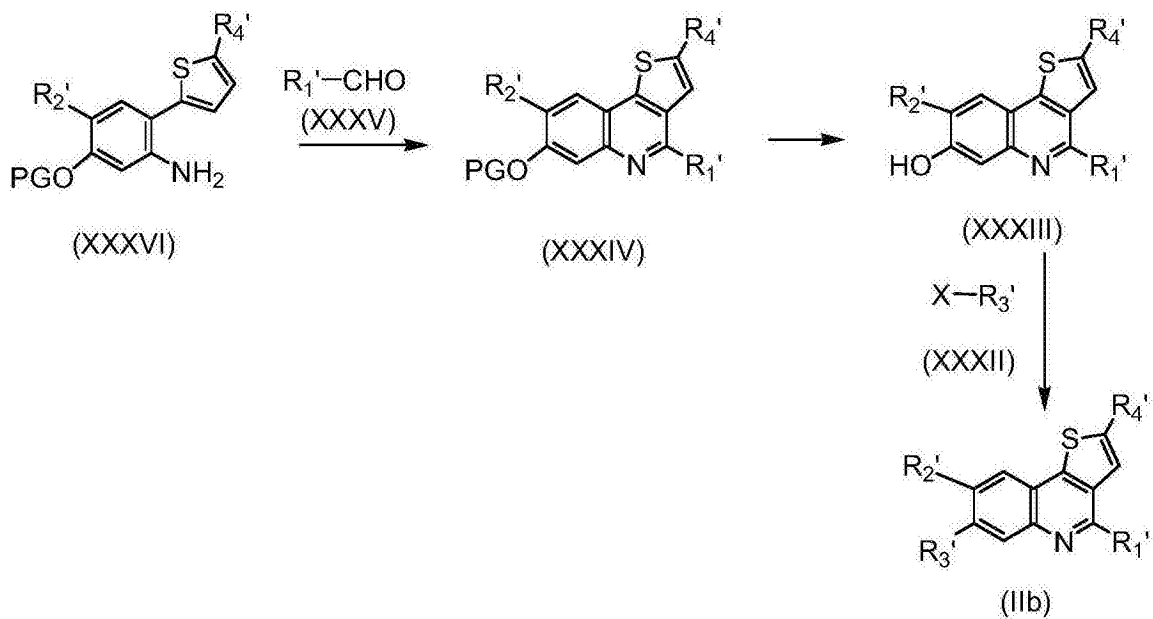
[0306]

## 方案 11

[0307] 第一转化可以在诸如[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯( $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ )和KOAc等钯催化剂碱的存在下,在诸如二噁烷等合适的溶剂中,在合适的温度(优选加热)下进行。式(XXIX)的化合物可以在 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的存在下,在诸如二氯甲烷(DCM)等合适的溶剂中转化成式(XXVIII)的化合物。并且第三转化可以在KI和 $\text{I}_2$ 的存在下在NaOH的水溶液中进行。

[0308] 作为式(IIb)的化合物的式(II)的化合物可以由式(XXXVI)的化合物。

[0309]



## 方案 12

[0310] 其中, $R_1' \sim R_4'$ 如之前所定义,PG是保护基,并且X是卤素。

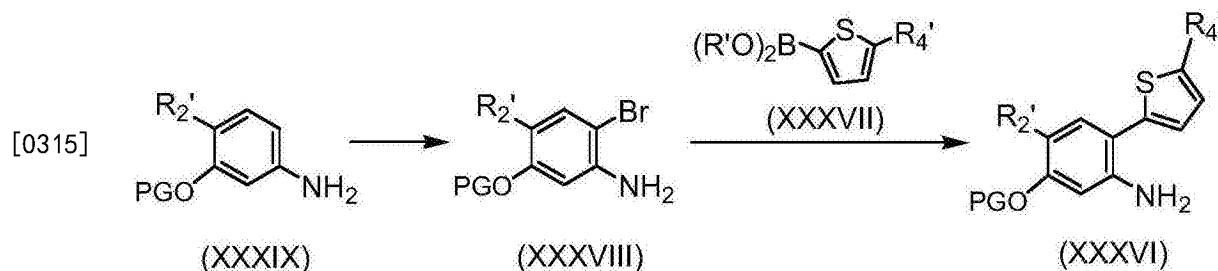
[0311] 式(XXXVI)的化合物转化成式(XXXIV)的化合物可以在TFA的存在下在合适的温度(优选加热)下进行。

[0312] 第二转化包括除去羟基保护基,其通过本领域公知的标准方法进行,例如描述于T.W.Green和P.G.M.Wuts,Protective Groups in Organic Chemistry(Wiley,第3版,

1999,第2章,17-200页)。代表性的羟基保护基包括其中羟基被酰化或烷基化的那些基团,例如苄基和三苯甲基醚以及烷基醚、四氢吡喃基醚、三烷基甲硅烷基醚和烯丙基醚。当羟基保护基是苄基时,脱保护可以通过氢化进行,例如,在Pd/C存在下,在诸如甲醇等合适的溶剂中进行。

[0313] 最后,第三转化可以在诸如Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>等碱的存在下,在诸如DMF等合适的溶剂中,并且在合适的温度(优选加热)下使用式(XXXII)的烷基卤化物进行。

[0314] 式(XXXVI)的化合物可以由式(XXXIX)的化合物按照如下述方案中所示的合成路线获得:



[0316] 方案 13

[0317] 其中,R<sub>2</sub>'和R<sub>4</sub>'如之前所定义,并且R'是H、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基,或者作为另选,两个R'基团与它们所连接的B原子一起可以形成环。

[0318] 式(XXXIX)的化合物转化成式(XXXVIII)的化合物可以在诸如乙腈等合适的溶剂中使用诸如N-溴琥珀酰亚胺(NBS)等溴化剂进行,而式(XXXVIII)的化合物转化成式(XXXVI)的化合物可以在诸如四(三苯基膦)钯(0)(Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>)等钯催化剂和诸如K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>或Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>等碱的存在下,在诸如二噁烷(可选地混合有水)等合适的溶剂中,在合适的温度(优选加热)下进行。

[0319] 式(I)的化合物可以转化成其他式(I)的化合物。式(XXVI)、(XXX)~(XXXII)、(XXXV)、(XXXVII)和(XXXIX)的化合物是商业上可获得的,或者可以通过常规合成方法获得。

[0320] 本发明还涉及药用或兽医用组合物,其包含有效量的如上所定义的式(I)或式(II)的化合物,或者其药学上或兽医学上可接受的盐,或者式(I)或式(II)的化合物或其药学上或兽医学上可接受的盐的任何立体异构体,以及药学上或兽医学上可接受的赋形剂或载体。

[0321] 本文所用的表述“治疗有效量”是指在施用时足以防止所针对的疾病的一种或多种症状的发展或在一定程度上缓解的化合物的量。获得治疗益处的本发明化合物的具体剂量可根据个体患者的具体情况而变化,包括患者的尺寸、体重、年龄和性别、疾病的性质和阶段、疾病的侵袭性和施用途径。例如,可以使用约0.01至约300mg/kg的剂量。

[0322] 表述“药学上或兽医学上可接受的赋形剂或载体”是指药学上或兽医学上可接受的物质、组合物或载体。每种成分在与药用或兽医用组合物的其它成分相容的意义上必须是药学上或兽医学上可接受的。它还必须适合于与人和动物的组织或器官接触,而没有过度的毒性、刺激、过敏反应、免疫原性或合理的利益/风险比相称的其它问题或并发症。

[0323] 药用或兽医用制剂的选择将取决于活性化合物的性质及其施用途径。可以使用任何施用途径,例如口服、肠胃外和局部施用。

[0324] 例如,药用或兽医用组合物可以配制用于口服施用,并且可以含有一种或多种生理上相容的载体或赋形剂,为固体或液体形式。这些制剂可以含有常规成分,例如粘合剂、填料、润滑剂和可接受的润湿剂。

[0325] 药用或兽医用组合物可以与常规可注射液体载体(例如水或合适的醇)组合而配制成用于胃肠外施用。用于注射的常规要用或兽医用赋形剂(例如稳定剂、增溶剂和缓冲剂),可以包括在这样的组合物中。这些要用或兽医用组合物可以肌内、腹膜内或静脉内注射。

[0326] 药用组合物可以配制用于局部施用。制剂包括霜剂、洗剂、凝胶、粉剂、溶液和贴剂,其中,化合物分散或溶解于合适的赋形剂中。

[0327] 药物组合物可以是任何形式,特别是包括片剂、丸剂、胶囊、水性或油性溶液、悬浮液、乳液或适于在使用前用水或其它合适的液体介质重构的干粉形式,以用于立即或延迟释放。

[0328] 合适的赋形剂和/或载体及其量可由本领域技术人员根据所制备的制剂的类型容易地确定。

[0329] 如上所述,具有3,4-杂环喹啉核心并如前所定义被取代的本发明化合物是DNMT的抑制剂。对于本发明的目的,这意味着当在本发明中描述的酶学测定中测量DNMT的抑制时,如上定义的化合物能够以 $\leq 10\mu\text{M}$ ,优选 $\leq 1\mu\text{M}$ ,更优选 $\leq 500\text{nM}$ 的 $\text{IC}_{50}$ 值抑制一种或多种选自自由DNMT1、DNMT3A和DNMT3B组成的组中的DNMT,特别是DNMT1。

[0330] 在一个实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及式(I)或式(II)的化合物,其另外是G9a的抑制剂。对于本发明的目的,这意味着当在本发明中描述的酶学测定中测量G9a的抑制时,如上定义的化合物能够以 $\leq 10\mu\text{M}$ ,优选 $\leq 1\mu\text{M}$ ,更优选 $\leq 500\text{nM}$ 的 $\text{IC}_{50}$ 值抑制G9a,并且还能够抑制一种或多种如上所述的DNMT。

[0331] 因此,本发明涉及供用作药物的如上定义的式(I)的化合物或式(II)的化合物或者包含式(I)或式(II)的化合物的药用组合物。

[0332] 另外,本发明涉及在癌症、纤维化和/或免疫调节的治疗中,特别是通过抑制一种或多种选自自由DNMT1、DNMT3A和DNMT3B组成的组中的DNMT(特别是DNMT1)而介导的癌症、纤维化和/或免疫调节的治疗中供使用的如上定义的式(I)的化合物或式(II)的化合物或者包含式(I)或式(II)的化合物的药用组合物。

[0333] 因此,本发明的该方面涉及如上定义的式(I)的化合物或式(II)的化合物或者包含式(I)或式(II)的化合物的药用组合物在制备用于癌症、纤维化和/或免疫调节的治疗和/或预防的药物,特别是通过抑制一种或多种选自自由DNMT1、DNMT3A和DNMT3B组成的组中的DNMT(特别是DNMT1)而介导的癌症、纤维化和/或免疫调节的治疗和/或预防的药物中的应用。

[0334] 其还设想为治疗和/或预防癌症、纤维化和/或免疫调节的方法,特别是通过抑制一种或多种选自自由DNMT1、DNMT3A和DNMT3B组成的组中的DNMT(特别是DNMT1)而介导的治疗和/或预防癌症、纤维化和/或免疫调节的方法,所述方法包括在有需要的对象(包括人)中施用有效量的之前定义的式(I)的化合物或式(II)的化合物或者包含如上定义的式(I)或式(II)的化合物的药用组合物,以及一种或多种药学上或兽医学上可接受的赋形剂或载

体。

[0335] 在一个实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,本发明涉及式(I)或式(II)的化合物,癌症、纤维化和/或免疫调节通过组蛋白甲基转移酶G9a和一种或多种选自DNMT1、DNMT3A和DNMT3B组成的组中的DNMT(特别是DNMT1)的双重抑制而介导。

[0336] 对于本发明的目的,疾病的术语“治疗”是指当药物用于表现出疾病发作症状的对象时,停止或延迟疾病进展。术语“预防”是指当药物用于没有显示疾病发作的症状但具有高发病风险的对象中时,停止或延迟疾病发作的症状。

[0337] 在一个实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,所述癌症选自血液癌和实体瘤组成的组。更具体而言,血液癌选自白血病(包括急性淋巴细胞性白血病(ALL)和急性髓性白血病)、淋巴瘤(包括弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)和套细胞淋巴瘤)和多发性骨髓瘤组成的组;实体瘤选自膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、结肠直肠癌、成胶质细胞瘤、肝癌、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌)、黑素瘤、胰腺癌、前列腺癌和肾癌组成的组。

[0338] 在另一实施方式中,可选地与上文或下文所述的各种实施方式的一个或多个特征组合,所述癌症选自下述基团组成的组:急性淋巴细胞性白血病(ALL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、结肠直肠癌、成胶质细胞瘤、肝癌、黑素瘤、胰腺癌、前列腺癌、肾癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、急性髓性白血病、套细胞淋巴瘤和多发性骨髓瘤。

[0339] 在整个说明书和权利要求书中,词语“包含”及其变型不意图排除其他技术特征、添加物、成分或步骤。此外,词语“包括”涵盖“由……组成”的情况。本发明的其它目的、优点和特征对于本领域技术人员来说在阅读本说明书后将变得明白,或者可以通过本发明的实践来了解。提供以下实施例作为说明,并且它们不旨在限制本发明。此外,本发明涵盖本文所述的具体和优选实施方式的所有可能的组合。

[0340] 实施例

[0341] 制备型HPLC纯化方法的一般程序:

[0342] 使用来自233泵(二元)的Gilson281、自动进样器和UV检测器进行HPLC测量。通过LC-MS检测级分。MS检测器配置有电喷雾电离源。源温度保持在300~350℃。

[0343] HPLC方法(纯化方法):

[0344] 方法1:在Luna C18(100×30mm;4μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.075%三氟乙酸的水;溶剂B:含0.075%三氟乙酸的乙腈。梯度:在室温下,25mL/min,在6分钟内,20%B至40%B;然后25mL/min,40%B,2分钟,UV检测器。

[0345] 方法2:在luna C18(100×30mm;4μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.075%三氟乙酸的水;溶剂B:含0.075%三氟乙酸的乙腈。梯度:在室温下,20mL/min,在6分钟内,25%B至45%B;然后25mL/min,40%B,3分钟,UV检测器。

[0346] 方法3:在luna C18(100×30mm;5μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.1%三氟乙酸的水;溶剂B:乙腈。梯度:在室温下,20mL/min,在12分钟内,5%B至40%B;然后20mL/min,100%B,4分钟,UV检测器。

[0347] 方法4:在luna C18(100×30mm;5μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.1%三氟乙酸的

水;溶剂B:乙腈。梯度:在室温下,20mL/min,在12分钟内,15%B至35%B;然后20mL/min,100%B,3分钟,UV检测器。

[0348] 方法5:在luna C18 (100×30mm;5μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.1%三氟乙酸的水;溶剂B:乙腈。梯度:在室温下,20mL/min,在12分钟内,7%B至40%B;然后20mL/min,100%B,4分钟,UV检测器。

[0349] 方法6:在luna C18 (100×30mm;4μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.075%三氟乙酸的水;溶剂B:含0.075%三氟乙酸的乙腈。梯度:在室温下,25mL/min,在6分钟内,20%B至45%B;然后25mL/min,40%B,3分钟,UV检测器。

[0350] 方法7:在luna C18 (100×30mm;5μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.1%三氟乙酸的水;溶剂B:乙腈。梯度:在室温下,80mL/min,在30分钟内,20%B至50%B;然后80mL/min,100%B,5分钟,UV检测器。

[0351] 方法8:在luna C18 (100×30mm;5μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.1%三氟乙酸的水;溶剂B:乙腈。梯度:在室温下,20mL/min,在12分钟内,10%B至30%B;然后20mL/min,100%B,3分钟,UV检测器。

[0352] 方法9:在luna C18 (100×30mm;4μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.05%盐酸的水;溶剂B:乙腈。梯度:在室温下,20mL/min,在12分钟内,1%B至30%B;然后20mL/min,100%B,4分钟,UV检测器。

[0353] 方法10:在luna C18 (100×30mm;5μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.05%盐酸的水;溶剂B:乙腈。梯度:在室温下,25mL/min,在12分钟内,1%B至30%B;然后25mL/min,100%B,4分钟,UV检测器。

[0354] 方法11:在luna C18 (100×30mm;5μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.1%三氟乙酸的水;溶剂B:甲醇。梯度:在室温下,25mL/min,在12分钟内,30%B至60%B;然后25mL/min,100%B,4分钟,UV检测器。

[0355] 方法12:在luna C18 (100×30mm;5μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.1%三氟乙酸的水;溶剂B:乙腈。梯度:在室温下,20mL/min,在12分钟内,5%B至45%B;然后20mL/min,100%B,2分钟,UV检测器。

[0356] 方法13:在luna C18 (100×30mm;5μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.1%三氟乙酸的水;溶剂B:乙腈。梯度:在室温下,20mL/min,在12分钟内,30%B至55%B;然后20mL/min,100%B,2分钟,UV检测器。

[0357] 方法14:在luna C18 (100×30mm;5μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.1%三氟乙酸的水;溶剂B:乙腈。梯度:在室温下,20mL/min,在12分钟内,20%B至30%B;然后20mL/min,100%B,2分钟,UV检测器。

[0358] 方法15:在luna C18 (100×30mm;5μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.1%三氟乙酸的水;溶剂B:乙腈。梯度:在室温下,20mL/min,在12分钟内,20%B至35%B;然后20mL/min,100%B,5分钟,UV检测器。

[0359] 方法16:在luna C18 (100×30mm;5μm)上进行反相HPLC。溶剂A:含0.1%三氟乙酸的水;溶剂B:乙腈。梯度:在室温下,20mL/min,在12分钟内,10%B至30%B;然后20mL/min,100%B,5分钟,UV检测器。

[0360] HPLC分析的一般程序:

[0361] HPLC分析使用具有Luna-C18 (2) 柱 (2.0X 50mm, 5 $\mu$ m) 的Shimadzu LC-20AB或LC-20AD在40 $^{\circ}$ C和UV检测下进行。

[0362] 方法1: 溶剂A: 具有0.056% TFA的水; 溶剂B: 具有0.056% TFA的己烷。梯度: 在100%A的起始条件下0.01分钟后, 用4分钟将溶剂B增加至60%, 在60%保持0.8分钟, 然后施加相对于起始条件的线性梯度0.02分钟, 并保持0.68分钟以将柱再平衡, 给出5.90分钟的循环时间。流速从0.01分钟起至5.21分钟为0.8mL/min, 在0.02分钟内增加至1.2mL/min, 并保持至运行结束。

[0363] 方法2: 溶剂A: 具有0.056% TFA的水; 溶剂B: 具有0.056% TFA的己烷。梯度: 在90%A和10%B的起始条件下0.1分钟后, 用4分钟将溶剂B增加至80%, 在80%保持0.9分钟, 然后施加相对于起始条件的线性梯度0.02分钟, 并保持0.58分钟以将柱再平衡, 给出5.50分钟的循环时间。流速从0.01分钟起至4.90分钟为0.8mL/min, 在0.03分钟内增加至1.2mL/min, 并保持至运行结束。

[0364] 方法3: 溶剂A: 具有0.037% TFA的水; 溶剂B: 具有0.018% TFA的己烷。梯度: 在90%A和10%B的起始条件下0.01分钟后, 用4分钟将溶剂B增加至80%, 在80%保持0.9分钟, 然后施加相对于起始条件的线性梯度0.02分钟, 并保持0.58分钟以将柱再平衡, 给出5.50分钟的循环时间。流速从0.01分钟起至4.90分钟为0.8mL/min, 在0.03分钟内增加至1.2mL/min, 并保持至运行结束。

[0365] SFC分离法的方案:

[0366] SFC分离使用具有chiralcel OD-H柱 (250x 30mm, 5 $\mu$ m) 的Gilson 281半制备型HPLC系统进行。溶剂A: 正己烷; 溶剂B: 乙醇 (0.1% NH<sub>3</sub> · H<sub>2</sub>O)。流动相: 25%B和75%A, 25g/min。220nm的UV检测器。每次注射10mg。

[0367] 在实施例中使用以下缩写:

[0368] HPLC: 高效液相色谱; TLC: 薄层色谱; MW: 微波; calc.: 计算值; conc.: 浓; rt: 室温; Rt: 保留时间; Boc: 叔丁氧基羰基; DMAP: 4-二甲基氨基吡啶; DCM: 二氯甲烷; DIAD: 偶氮二羧酸二异丙酯; DMF: 二甲基甲酰胺; DMSO: 二甲基亚砷; eq: 当量; ESI-MS: 电喷雾电离质谱; Et<sub>3</sub>N: 三乙胺; TFA: 三氟乙酸; THF: 四氢呋喃; DEAD: 偶氮二羧酸二乙基酯; BINAP: 2, 2'-双(二苯基膦基)-1, 1'-联萘; EtOAc: 乙酸乙酯; EtOH: 乙醇; MeOH: 甲醇; MTBE: 甲基叔丁基醚; Ph: 苯基; AcOH: 乙酸。

[0369] 试剂R-03b: 4-(2-氨基-3,3-二乙氧基-丙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯的制备

[0370] 将TEA (3.70g, 36.52mmol) 中的4-甲酰基哌啶-1-甲酸叔丁酯 (7.46g, 35.00mmol) 和1,1-二乙氧基-2-硝基-乙烷 (4.97g, 30.43mmol) 的混合物在18 $^{\circ}$ C下搅拌8小时。然后添加DMAP (372mg, 3.03mmol) 的Ac<sub>2</sub>O (4.66g, 45.65mmol) 溶液, 并将所得混合物在18 $^{\circ}$ C下搅拌7小时。反应用水淬灭, 然后用EtOAc萃取。将合并的有机相用饱和盐水洗涤, 用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并真空浓缩。残余物通过柱色谱进行纯化, 得到中间体4-[(E)-3,3-二乙氧基-2-硝基-丙-1-烯]哌啶-1-甲酸叔丁酯 (4.68g, 43%), 为黄色液体。将该中间体 (3.00g, 8.37mmol) 在含有PtO<sub>2</sub> (475.2mg, 2.09mmol) 的无水EtOH (80mL) 和CHCl<sub>3</sub> (6mL) 中的搅拌悬浮液置于15 $^{\circ}$ C的H<sub>2</sub> (50Psi) 下。搅拌40小时后, 将混合物通过硅藻土过滤并用EtOH洗涤。将滤液浓缩至干燥, 得到所需的4-(2-氨基-3,3-二乙氧基-丙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 (3.35g, 99%粗品), 为黄色浆状物, 其未进行进一步纯化而用于下一步骤。ESI-MS (M+1): 331.3, C<sub>17</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>计算值:



330.3。

[0371] 试剂R-04b:4-[2-氨基-3-(1,3-二氧戊环-2-基)丙基]哌啶-1-甲酸叔丁酯的制备

[0372] 在0℃向商业上可获得的2-(2-溴乙基)-1,3-二氧戊环(40.73g,225mmol)的无水DMSO(350mL)溶液缓慢地添加NaNO<sub>2</sub>(27.95g,405mmol)的无水DMSO(350mL)溶液,并将所得混合物在18℃于N<sub>2</sub>下搅拌6小时。然后,将反应混合物倒入水中并用MTBE萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。粗产物通过硅胶柱色谱纯化,得到中间体2-(2-硝基乙基)-1,3-二氧戊环(12.50g,38%),为黄色液体。将该中间体(3.97g,27mmol)和4-甲酰基哌啶-1-甲酸叔丁酯(6.61g,31)在TEA(3.00g,30mmol)中的混合物在18℃下搅拌8小时。然后加入DMAP(330mg,2.70mmol)的Ac<sub>2</sub>O(4.13g,40mmol)溶液,并将反应混合物在18℃下搅拌7小时。反应用水淬灭,然后用EtOAc萃取。将合并的有机相用饱和盐水洗涤,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过硅胶柱色谱纯化,得到中间体4-[(Z)-3-(1,3-二氧戊环-2-基)-2-硝基-丙-1-烯]哌啶-1-甲酸叔丁酯(5.64g,61%),为黄色液体。最后,将该中间体(2.50g,7.30mmol)在含有PtO<sub>2</sub>(414mg,1.83mmol)的无水EtOH(100mL)和CHCl<sub>3</sub>(8mL)中的搅拌悬浮液置于18℃的H<sub>2</sub>(50Psi)下。15小时后,将混合物通过硅藻土过滤并用EtOH洗涤。将滤液浓缩至干,得到所需试剂R-04b(2.02g,88%粗品),为黄色浆状物,其未进行进一步纯化而用于下一步骤。ESI-MS(M+):315.3,C<sub>16</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>计算值:314.2。

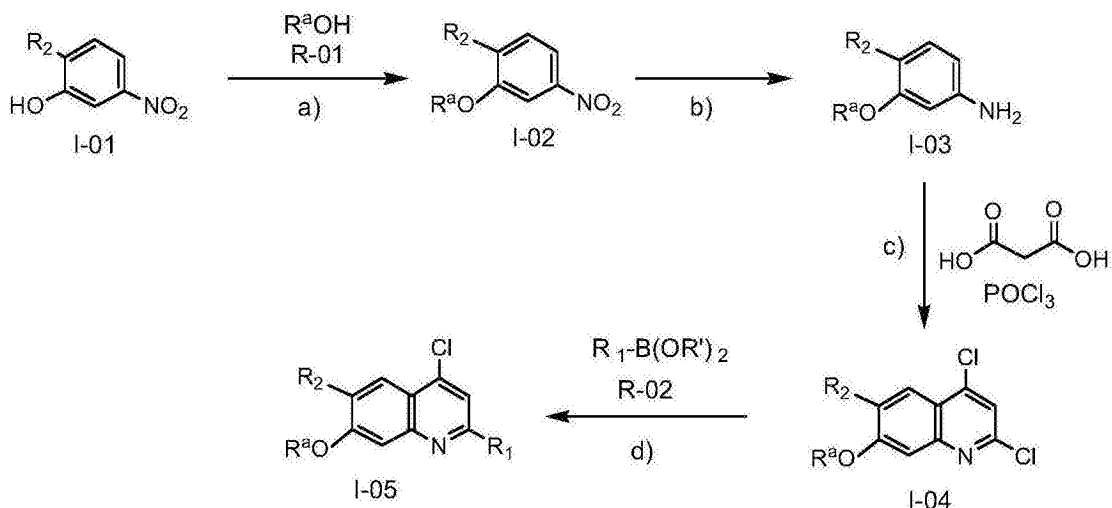
[0373] 试剂4-甲基磺酰氧基哌啶-1-甲酸叔丁酯的制备

[0374] 在0℃于N<sub>2</sub>下向商业上可获得的4-羟基哌啶-1-甲酸叔丁酯(1.00g,4.97mmol)和MsCl(854mg,7.46mmol)在DCM(20mL)中的混合物一次性添加Et<sub>3</sub>N(1.01g,9.94mmol)。将混合物在25℃下搅拌2小时。然后,将混合物倒入冰水(w/w=1/1)中并用DCM萃取。将合并的有机相用饱和盐水洗涤,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩,得到4-甲基磺酰氧基哌啶-1-甲酸叔丁酯(1.30g,94%),为白色固体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ(ppm)4.91-4.85(m,1H),3.70-3.68(m,2H),3.33-3.27(m,2H),3.04(s,3H),1.97-1.94(m,2H),1.83-1.80(m,2H),1.46(s,9H)。

[0375] 试剂4-(甲基磺酰氧基甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯的制备

[0376] 在0℃于N<sub>2</sub>下向商业上可获得的4-(羟基甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(1.00g,4.64mmol)和MsCl(797mg,6.96mmol)在DCM(30mL)中的混合物一次性添加Et<sub>3</sub>N(939mg,9.28mmol),并将混合物在25℃下搅拌2小时。然后,溶液用DCM萃取。将合并的有机相用饱和盐水洗涤,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩,得到4-(甲基磺酰氧基甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(1.30g,95%),为白色固体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ(ppm)4.12(br s,2H),4.08-4.04(m,2H),2.99(s,3H),2.72-2.66(m,2H),1.91-1.88(m,1H),1.73-1.70(m,2H),1.43(s,9H),1.23-1.17(m,2H)。

[0377] 合成路线1



[0378]

[0379] 条件:a) PPh<sub>3</sub> (2.0当量), 3-吡咯烷-1-基-丙-1-醇 (R-01a, 1.0当量), DEAD (2.0当量), THF, 0℃, 然后室温, 5h; b) Pd/C, MeOH, H<sub>2</sub>, 室温, 3h; c) POCl<sub>3</sub>, 丙二酸 (1.1当量), 室温, 4h, 然后90℃, 过夜; d) Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0.1-0.3当量), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>或K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.0-3.0当量), R-02 (1.0-1.1当量), 1,4-二噁烷/H<sub>2</sub>O (15:1或10:1), 110℃, MW, 4h, 或80℃常规加热, 12h。

[0380] 在上述方案中, R<sub>2</sub>是H或O (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基, R<sup>a</sup>是含有氮和/或氧原子的烃链, R<sub>1</sub>是芳基或杂芳基, 并且R' 是H、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基或者作为另选, 两个R' 基团与它们所连接的B原子一起可以形成环。

[0381] 中间体I-02a: 1-[3-(2-甲氧基-5-硝基-苯氧基)丙基]-吡咯烷的制备

[0382] 在0℃下向商业上可获得的2-甲氧基-5-硝基-苯酚 (I-01a, 19.6g, 0.12mol) 的THF (200mL) 溶液添加PPh<sub>3</sub> (61g, 0.23mol)、商业上可获得的3-吡咯烷-1-基-丙-1-醇 (R-01a, 15g, 0.12mol) 和DEAD (40g, 0.23mol), 将该溶液在室温下搅拌5小时。将反应混合物浓缩并用AcOEt萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩, 得到粗产物, 将其通过柱色谱纯化, 得到中间体I-02a (14g, 44%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1): 281, C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>计算值为: 280.1。

[0383] 中间体I-02b: 1-[3-(3-硝基苯氧基)丙基]吡咯烷的制备

[0384] 中间体I-02b以与中间体I-02a相似的方式从商业上可获得的3-硝基苯酚 (I-01b) 开始获得。粗产物通过柱色谱纯化, 获得中间体I-02b, 为黄色固体 (37%产率)。ESI-MS (M+1): 251, C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>计算值为: 250.1。

[0385] 中间体I-03a: 4-甲氧基-3-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)苯胺的制备

[0386] 向中间体I-02a (14g, 0.05mol) 的MeOH (200mL) 溶液添加Pd/C (3g)。在H<sub>2</sub>气氛下将该溶液在室温下搅拌3小时。然后, 将溶液过滤并浓缩, 得到中间体I-03a (12g, 96%), 为黄色油状物。ESI-MS (M+1): 251, C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>计算值: 250.1。

[0387] 中间体I-03b: 3-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)苯胺的制备

[0388] 中间体I-03b以与中间体I-03a相似的方式从中间体I-02b开始获得 (96%产率)。ESI-MS (M+1): 221, C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O计算值: 220.1。

[0389] 中间体I-04a: 2,4-二氯-6-甲氧基-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)喹啉的制备

[0390] 在室温下向中间体I-03a (12.4g, 0.049mol) 的POCl<sub>3</sub> (200mL) 溶液添加丙二酸 (5.67, 0.055mol)。在室温下搅拌4小时后, 将溶液在90℃加热过夜。然后, 将溶液浓缩, 倒入

冰水中并用EtOAc萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩,得到中间体I-04a (10g, 58%), 为浅黄色固体。ESI-MS (M+1) : 355, C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>计算值: 354.1。

[0391] 中间体I-04b: 2,4-二氯-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)喹啉的制备

[0392] 中间体I-04b以与中间体I-04a相似的方式从中间体I-03b开始获得 (34%产率)。ESI-MS (M+1) : 325, C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O计算值: 324.1。

[0393] 中间体I-05a: 4-氯-6-甲氧基-2-(5-甲基-2-咪喃基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)喹啉的制备

[0394] 向中间体I-04a (600mg, 1.7mmol) 的1,4-二噁烷/H<sub>2</sub>O (15:1, 16mL) 溶液添加Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.54g, 5.1mmol)、Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0.22g, 0.17mmol) 和4,4,5,5-四甲基-2-(5-甲基-2-咪喃基)-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷 (R-02a, 0.39g, 1.87mmol)。在微波下将溶液在110℃下搅拌4小时。然后,混合物用水淬灭并用EtOAc萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩,得到粗产物,其通过制备型HPLC纯化(一般程序,方法1),得到中间体I-05a (400mg, 59%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1) : 401.2, C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>计算值: 400.1。

[0395] 中间体I-05b: 4-氯-2-(5-甲基-2-咪喃基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)喹啉的制备

[0396] 中间体I-05b以与中间体I-05a相似的方式从中间体I-04b开始获得。粗产物通过制备型TLC纯化,获得中间体I-05b,为黄色固体 (88%产率)。ESI-MS (M+1) : 371, C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>计算值: 370.1。

[0397] 化合物I-05c: 4-氯-2-(5-乙基-2-咪喃基)-6-甲氧基-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)喹啉的制备

[0398] 中间体I-05c以与中间体I-05a相似的方式使用试剂2-(5-乙基-2-咪喃基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷 (R-02b) 获得。粗产物通过柱色谱纯化,获得中间体I-05c,为褐色油状物。ESI-MS (M+1) : 414.3, C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>计算值: 414.2。

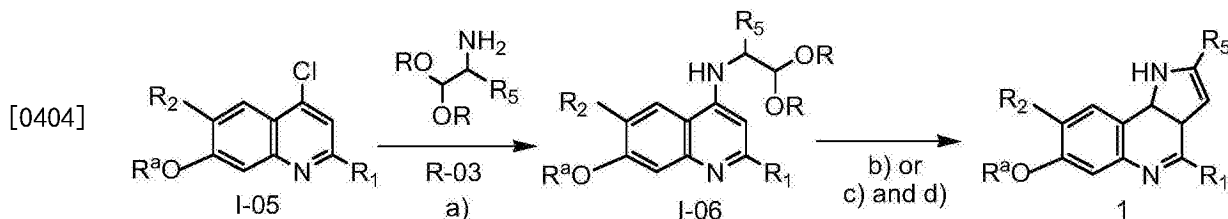
[0399] 中间体I-05d: 4-氯-6-甲氧基-2-苯基-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)喹啉的制备

[0400] 将苯基硼酸 (R-02c, 539mg, 4.42mmol)、中间体I-04a (1.56g, 4.42mmol)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.22g, 8.84mmol) 和Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (1.53g, 1.33mmol) 在H<sub>2</sub>O/1,4-二噁烷 (1:10, 11mL) 中的混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次。然后,混合物在N<sub>2</sub>气氛下在80℃下搅拌12小时。将反应混合物真空浓缩,得到粗产物,将其通过柱色谱纯化,得到中间体I-05d (1.00g, 57%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1) : 397.2, C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>计算值: 396.1。

[0401] 中间体I-05e: 4-氯-2-(2,5-二甲基-3-咪喃基)-6-甲氧基-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)喹啉的制备

[0402] 将中间体I-04a (500mg, 1.41mmol)、2-(2,5-二甲基-3-咪喃基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷 (R-02d, 313mg, 1.41mmol)、Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (163mg, 141.00μmol) 和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (390mg, 2.82mmol) 在二噁烷 (20mL) /H<sub>2</sub>O (2mL) 中的混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次。然后,混合物在N<sub>2</sub>气氛下在110℃下搅拌16小时。将混合物冷却至20℃并在40℃减压浓缩。将残余物倒入水 (100mL) 中并用乙酸乙酯 (100mL × 3) 萃取。将合并的有机相用盐水 (100mL × 2) 洗涤,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过柱色谱纯化 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯 = 50/1至1:1, DCM/MeOH = 50/1至1:1), 得到I-05e (400mg, 68%产率), 为黄色固体。ESI-MS (M+1) : 415.2, C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>计算值: 414.2。

## [0403] 合成路线2



[0405] 条件: a) R-03 (5.0-8.0当量),  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (2.0-2.5当量), BINAP (0.1-0.4当量),  $\text{Pd}(\text{dba})_2$  或  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (0.1-0.2当量), 1,4-二噁烷, 110-130 $^\circ\text{C}$ , 12-40h; b)  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (1.0当量), DCM, 0 $^\circ\text{C}$ , 1h; c)  $\text{TiCl}_4$  (2.5当量),  $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ , 60 $^\circ\text{C}$ , 6-10h; d)  $(\text{HCHO})_n$  或丙酮 (2-8.0当量), AcOH (8.0-10当量) 或  $\text{HCOOH}$  (0.2当量),  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  (2-8.0当量), MeOH 或 *i*-PrOH, 50-60 $^\circ\text{C}$ , 6-10h。

[0406] 在上述方案中,  $\text{R}_2$  是 H 或 O ( $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ ) 烷基,  $\text{R}^a$  是含有氮和/或氧原子的烃链,  $\text{R}_1$  是芳基或杂芳基,  $\text{R}_5$  是 H、环 (Cy) 或烃链, 所述烃链可选地含有氮、氧和/或氟原子, 并且 R 是 ( $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ ) 烷基, 或者作为另选, 两个相邻基团 -OR 与它们所连接的原子一起形成 5 或 6 元环。

[0407] 中间体 I-06a: N-(2,2-二甲氧基乙基)-6-甲氧基-2-(5-甲基-2-咪喃基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基) 喹啉-4-胺的制备

[0408] 在  $\text{N}_2$  下于 25 $^\circ\text{C}$  向中间体 I-05a (250mg, 623 $\mu\text{mol}$ ) 和 2,2-二甲氧基乙胺 (R-03a, 328mg, 3.12mmol) 在 1,4-二噁烷 (20mL) 中的混合物一次性添加  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (406mg, 1.25mmol)、 $\text{Pd}(\text{dba})_2$  (36mg, 62 $\mu\text{mol}$ ) 和 BINAP (39mg, 62 $\mu\text{mol}$ )。将混合物在 25 $^\circ\text{C}$  下搅拌 10 分钟, 然后加热至 110 $^\circ\text{C}$  并搅拌 12 小时。将混合物真空浓缩并将残余物通过制备型 TLC 纯化, 得到中间体 I-06a (100mg, 34%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1): 470.3,  $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_5$  计算值: 469.2。

[0409] 化合物 1-01: 8-甲氧基-4-(5-甲基-2-咪喃基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1H-吡咯并[3,2-c]喹啉的制备

[0410] 在  $\text{N}_2$  下于 0 $^\circ\text{C}$  向中间体 I-06a (40mg, 85 $\mu\text{mol}$ ) 在 DCM (2mL) 中的混合物一次性添加  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (12mg, 85 $\mu\text{mol}$ ), 将混合物在 0 $^\circ\text{C}$  下搅拌 1 小时。然后, 混合物通过制备型 HPLC 纯化 (一般程序, 方法 2), 得到化合物 1-01 (5.00mg, 15%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1): 406.2,  $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3$  计算值: 405.2。

[0411] 中间体 I-06b: 4-[3,3-二乙氧基-2-[[6-甲氧基-2-(5-甲基-2-咪喃基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-4-喹啉基]氨基]丙基]哌啶-1-甲酸叔丁酯的制备

[0412] 向中间体 I-05a (400mg, 997 $\mu\text{mol}$ ) 和 4-(2-氨基-3,3-二乙氧基-丙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 (R-03b, 2.64g, 7.98mmol) 的 1,4-二噁烷 (60mL) 溶液连续地添加  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (182mg, 199 $\mu\text{mol}$ )、 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (812mg, 2.49mmol) 和 BINAP (248mg, 399 $\mu\text{mol}$ )。所得混合物在  $\text{N}_2$  下于 130 $^\circ\text{C}$  搅拌 40 小时。然后, 将混合物用水稀释, 并用  $\text{EtOAc}$  萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 用  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 过滤并浓缩, 得到粗产物, 将其通过柱色谱纯化, 得到中间体 I-06b (450mg, 65%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1): 695.5,  $\text{C}_{39}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_7$  计算值: 694.4。

[0413] 化合物 1-02: 8-甲氧基-4-(5-甲基-2-咪喃基)-2-[(1-甲基-4-哌啶基)甲基]-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1H-吡咯并[3,2-c]喹啉的制备

[0414] 向中间体 I-06b (440mg, 633 $\mu\text{mol}$ ) 的  $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$  (50mL) 溶液缓慢地添加  $\text{TiCl}_4$  (300mg, 1.58mmol)。所得混合物在  $\text{N}_2$  下于 60 $^\circ\text{C}$  搅拌 10 小时。然后, 通过添加  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (8mL,

25%) 和Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (9.0g) 来淬灭反应, 并将所得混合物在15℃下搅拌1小时。将溶液过滤并浓缩, 得到所需的中间体8-甲氧基-4-(5-甲基-2-呋喃基)-2-(4-哌啶基甲基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1H-吡咯并[3,2-c]喹啉(175mg, 55%), 为黄色固体。在N<sub>2</sub>下于16℃向该中间体(170mg, 338μmol) 和(HCHO)<sub>n</sub> (243mg, 2.7mmol) 在MeOH (40mL) 中的混合物一次性添加AcOH (162mg, 2.7mmol) 和NaBH<sub>3</sub>CN (170mg, 2.7mmol)。然后, 将混合物在50℃下搅拌10小时。将混合物冷却至16℃, 过滤并真空浓缩。残余物通过制备型HPLC纯化(一般程序, 方法1), 得到期望的化合物1-02 (14.3mg, 8.2%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1): 517.4, C<sub>31</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>计算值: 516.3。HPLC分析方法1, 保留时间=2.85min。

[0415] 化合物1-03: 2-[(1-异丙基-4-哌啶基)甲基]-8-甲氧基-4-(5-甲基-2-呋喃基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1H-吡咯并[3,2-c]喹啉的制备

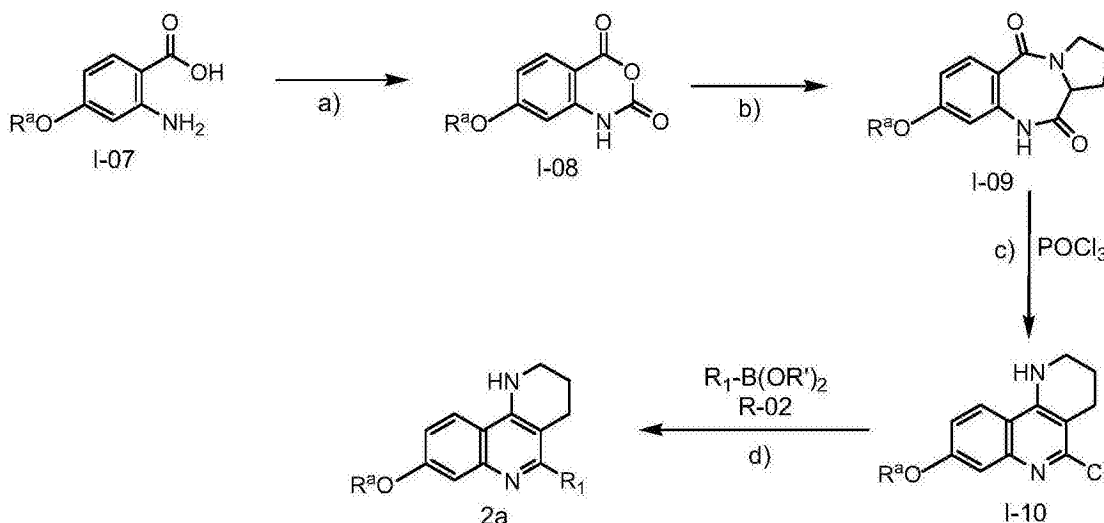
[0416] 向中间体I-06b (440mg, 633μmol) 的ClCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl (50mL) 溶液缓慢地添加TiCl<sub>4</sub> (300mg, 1.58mmol)。所得混合物在N<sub>2</sub>下于60℃搅拌10小时。然后, 通过添加NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O (8mL, 25%) 和Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (9.0g) 来淬灭反应, 并将所得混合物在15℃下搅拌1小时。将溶液过滤并浓缩, 得到所需的中间体8-甲氧基-4-(5-甲基-2-呋喃基)-2-(4-哌啶基甲基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1H-吡咯并[3,2-c]喹啉(175mg, 55%), 为黄色固体。向该中间体(24mg, 48μmol) 添加丙酮(15.3mg, 262μmol)、CH<sub>3</sub>COOH (262μg, 4.38μmol) 和NaBH<sub>3</sub>CN (16.5mg, 262μmol) 在异丙醇(5mL) 中的混合物, 将其脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次。然后, 将混合物在N<sub>2</sub>气氛下于60℃搅拌6小时。将反应混合物真空浓缩, 得到粗产物, 将其通过制备型HPLC纯化(一般程序, 方法3), 获得化合物1-03 (12.2mg, 47%), 为红色胶状物。ESI-MS (M+1): 545.4, C<sub>33</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>计算值: 544.3。HPLC分析方法2, 保留时间=1.48min。

[0417] 除非下表中另外指出, 否则按照化合物1-02的相同合成路线并且使用相同的试剂, 获得以下化合物:

[0418]

实施例	制备型 HPLC 方法	[M+1] <sup>+</sup>	中间体/试剂
1-04	4	531.4	I-05c / 4-(2-氨基-3,3-二乙氧基-丙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(R-03b)
1-05	5	513.4	I-05d / 4-(2-氨基-3,3-二乙氧基-丙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(R-03b)
1-06	12	531.4	I-05e / 4-(2-氨基-3,3-二乙氧基-丙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(R-03b)

[0419] 合成路线3



[0420]

[0421] 条件:a)  $(\text{CCl}_3\text{CO})_2\text{CO}$  (0.67当量),  $80^\circ\text{C}$ , 4h; b) 吡咯烷-2-羧酸 (2.0当量), DMF,  $140^\circ\text{C}$ , 6h; c)  $\text{POCl}_3$ , 吡啶 (cat),  $120^\circ\text{C}$ , 12h; d) R-02 (1.0当量),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (2.0当量),  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (cat), 1,4-二噁烷/ $\text{H}_2\text{O}$  (15:1),  $110^\circ\text{C}$ , MW, 4h。

[0422] 在上述方案中,  $\text{R}^a$ 是含有氮和/或氧原子的烃链,  $\text{R}_1$ 是芳基或杂芳基, 并且  $\text{R}'$  是  $\text{H}$ 、 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$  烷基或者作为另选, 两个  $\text{R}'$  基团与它们所连接的B原子一起可以形成环。

[0423] 中间体I-08a:7-甲氧基-1H-3,1-苯并噁嗪-2,4-二酮的制备

[0424] 向商业上可获得的2-氨基-4-甲氧基-苯甲酸 (I-07a, 1.67g, 10mmol) 的THF (50mL) 溶液缓慢地添加  $(\text{CCl}_3\text{CO})_2\text{CO}$  (1.99g, 6.7mmol), 将溶液加热至  $80^\circ\text{C}$  4小时。然后, 将溶液浓缩并用EtOAc萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 用无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥并浓缩, 得到粗产物, 将其通过制备型HPLC纯化(一般程序, 方法6), 得到中间体I-08a (1.7g, 88%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1): 194,  $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}_4$  计算值: 193.0。

[0425] 中间体I-09a:3-甲氧基-6a,7,8,9-四氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂䓬-6,11-二酮的制备

[0426] 向中间体I-08a (1.94g, 10mmol) 的DMF (50mL) 溶液缓慢地添加吡咯烷-2-羧酸 (2.30g, 20mmol), 并将溶液加热至  $140^\circ\text{C}$  6小时。然后, 将溶液浓缩并用EtOAc萃取。合并的有机层用盐水洗涤, 用无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥并浓缩, 得到中间体I-09a (1.5g, 61%), 为白色固体, 其未进行进一步纯化而用于下一步骤。

[0427] 中间体I-10a:5-氯-8-甲氧基-1,2,3,4-四氢苯并[h][1,6]萘啶的制备

[0428] 向中间体I-09a (246mg, 1mmol) 的  $\text{POCl}_3$  (20mL) 溶液添加吡啶 (1mL, 催化剂), 并将溶液加热至  $120^\circ\text{C}$  12小时。然后, 将溶液用水淬灭并用EtOAc萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 用无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥并浓缩, 得到粗产物, 将其通过制备型HPLC纯化(一般程序, 方法6), 得到中间体I-10a (150mg, 61%), 为白色固体。ESI-MS (M+1): 249.1,  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}$  计算值: 248.1。

[0429] 化合物2-01:8-甲氧基-5-(5-甲基-2-咪唑基)-1,2,3,4-四氢苯并[h][1,6]萘啶的制备

[0430] 向中间体I-10a (124mg, 0.5mmol) 的1,4-二噁烷/ $\text{H}_2\text{O}$  (15:1, 16mL) 溶液添加  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (106mg, 1mmol)、 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (20mg, catalyst) 和4,4,5,5-四甲基-2-(5-甲基咪唑-2-基)-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷 (R-02a) (104mg, 0.5mmol)。在微波下将溶液加热至  $110^\circ\text{C}$  达4小时。然后, 混合物用水淬灭并用EtOAc萃取。将有机层用盐水洗涤, 用无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 浓缩, 得到

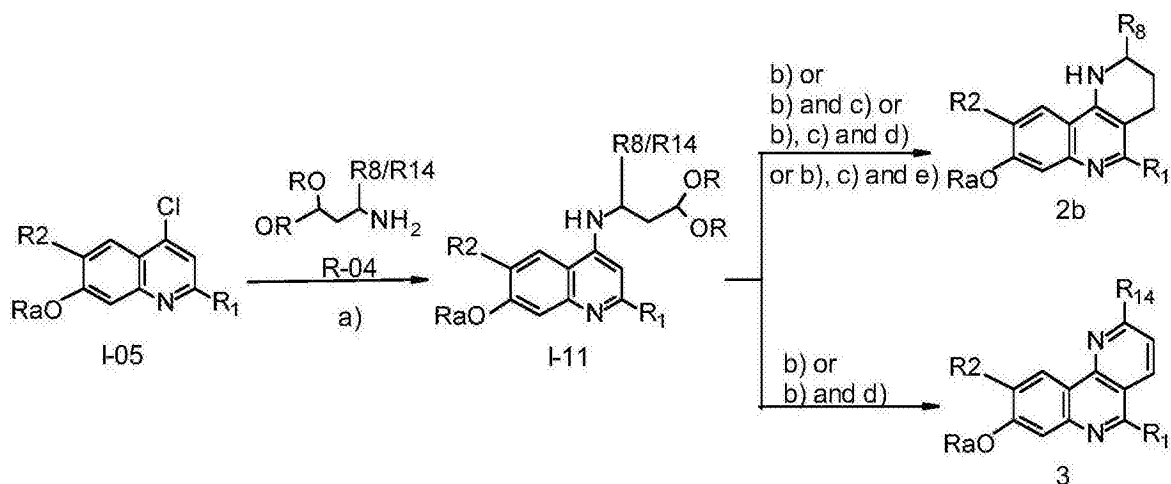
粗产物,将其通过制备型HPLC纯化(一般程序,方法6),得到化合物2-01(30mg,20%),为黄色固体。ESI-MS (M+1):295.1, $C_{18}H_{18}N_2O_2$ 计算值:294.1。

[0431] 化合物2-02:5-(5-甲基-2-咪喃基)-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1,2,3,4-四氢苯并[h][1,6]萘啶的制备

[0432] 向化合物2-01(0.3g,1.02mmol)的DCM(10mL)溶液添加 $BBr_3$ (2.5g,10.2mmol),并将该溶液在室温下搅拌2小时。然后,浓缩混合物并用EtOAc萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,用无水 $Na_2SO_4$ 干燥并浓缩,得到粗产物,将其通过柱色谱纯化,得到中间体5-(5-甲基-2-咪喃基)-1,2,3,4-四氢苯并[h][1,6]萘啶-8-醇(100mg,35%),为浅黄色固体。向该中间体(100mg,0.36mmol)和1-(3-氯丙基)吡咯烷(264mg,1.79mmol)的DMF(5mL)溶液添加 $Cs_2CO_3$ (232mg,0.07mmol)和KI(6mg,0.003mmol),并将该溶液加热至110℃2小时。然后,混合物用水淬灭并用EtOAc萃取。将有机层用盐水洗涤,用无水 $Na_2SO_4$ 干燥,浓缩,得到粗产物,将其通过制备型HPLC纯化(一般程序,方法1),得到纯化合物2-02(12.8mg,9%),为黄色固体。ESI-MS (M+1):392, $C_{24}H_{29}N_3O_2$ 计算值:391.2。

[0433] 合成路线4

[0434]



[0435] 条件:a) R-04(1.0-4.0当量), $Cs_2CO_3$ (2.0-2.5当量), $Pd(dba)_2$ 或 $Pd_2(dba)_3$ (0.1-0.2当量),BINAP(0.1-0.4当量),1,4-二噁烷,110-120℃,12-16h;b)  $TiCl_4$ (0.1-2.5当量),DCM或 $ClCH_2CH_2Cl$ ,60℃,2-12h;c)  $Pd/C$ , $H_2$ ,MeOH,15-20℃,2h;d)  $(HCHO)_n$ , (1-乙氧基环丙基)-三甲基-硅烷,丙酮或环己酮(6.0-8.0当量), $NaBH_3CN$ (3.0-8.0当量),AcOH(6.0-8.0当量)或 $HCOOH$ (3当量),MeOH,叔丁醇或异丙醇,50-70℃,2-20h;e) 乙酰氯(1.4当量), $Et_3N$ (3.0当量),DCM,25℃,2h。

[0436] 在上述方案中, $R_2$ 是H或 $O(C_1-C_6)$ 烷基, $R^a$ 是含有氮和/或氧原子的烃链, $R_1$ 是芳基或杂芳基, $R_8$ 和 $R_{14}$ 是H、环(Cy)或可选地含有氮、氧和/或氟原子的烃链, $R$ 是 $(C_1-C_6)$ 烷基,或者作为另选,两个相邻基团-OR与它们所连接的原子一起形成5或6元环。

[0437] 中间体I-11a:N-(3,3-二乙氧基丙基)-6-甲氧基-2-(5-甲基-2-咪喃基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)喹啉-4-胺的制备

[0438] 在 $N_2$ 下于25℃向中间体I-05a(300mg,748 $\mu$ mol)和3,3-二乙氧基丙-1-胺(R-04a,110mg,748 $\mu$ mol)的1,4-二噁烷(10mL)溶液一次性添加 $Pd(dba)_2$ (43mg,74 $\mu$ mol)、BINAP(47mg,75 $\mu$ mol)和 $Cs_2CO_3$ (487mg,1.50mmol)。将混合物在25℃下搅拌10分钟,然后加热至110

℃并搅拌12小时。然后,将混合物真空浓缩并将残余物通过制备型TLC纯化,得到中间体I-11a (250mg, 65%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1) : 512.3, C<sub>29</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>计算值: 511.3。

[0439] 化合物2-03:9-甲氧基-5-(5-甲基-2-呋喃基)-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1,2,3,4-四氢苯并[h][1,6]萘啶和3-01:9-甲氧基-5-(5-甲基-2-呋喃基)-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)苯并[h]-[1,6]萘啶的制备

[0440] 在N<sub>2</sub>下于25℃向中间体I-11a (80mg, 156μmol) 在DCM (10mL) 中的混合物一次性添加TiCl<sub>4</sub> (3mg, 15.6μmol), 并将混合物在25℃下搅拌12小时。然后,将混合物在45℃下减压浓缩,并将残余物通过制备型HPLC纯化(一般程序,方法2),得到作为黄色固体的化合物2-03 (10mg, 15%) [ESI-MS (M+1) : 422, C<sub>25</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>计算值: 421.2]和作为黄色固体的化合物3-01 (15mg, 23%) [ESI-MS (M+1) : 418.1, C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>计算值: 417.2]。

[0441] 化合物2-04:9-甲氧基-5-(5-甲基-2-呋喃基)-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1-(3-吡咯烷-1-基丙基)-3,4-二氢-2H-苯并[h][1,6]萘啶的制备

[0442] 向化合物2-03 (135mg, 0.32mmol) 和1-(3-氯丙基)吡咯烷 (264mg, 1.79mmol) 的DMF (5mL) 溶液缓慢地添加Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20mg, 0.064mmol) 和KI (6mg, 0.003mmol), 并将该溶液加热至110℃2小时。然后,混合物用水淬灭并用EtOAc萃取。将有机层用盐水洗涤,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,浓缩,得到粗产物,将其通过制备型HPLC纯化(一般程序,方法1),得到纯化合物2-04 (7.4mg, 4%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1) : 533, C<sub>32</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>计算值: 532.3。

[0443] 中间体I-11b:4-[3-(1,3-二氧戊环-2-基)-2-[[6-甲氧基-2-(5-甲基-2-呋喃基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-4-喹啉基]氨基]丙基]哌啶-1-甲酸叔丁酯的制备

[0444] 将中间体I-05a (3g, 7.48mmol)、4-[2-氨基-3-(1,3-二氧戊环-2-基)丙基]哌啶-1-甲酸叔丁酯 (R-04b, 9.41g, 29.92mmol)、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (6.1g, 18.71mmol)、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (1.37g, 1.50mmol) 和BINAP (1.86g, 2.99mmol) 在二噁烷 (100mL) 中的混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次。然后,将混合物在N<sub>2</sub>气氛下在120℃下搅拌16小时。将溶液真空浓缩并将残余物通过硅胶柱色谱纯化,然后用制备型HPLC纯化(一般程序,方法7),得到中间体I-11b (2g, 39%), 为褐色固体。ESI-MS (M+1) : 679.5, C<sub>38</sub>H<sub>54</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>计算值: 678.4。

[0445] 化合物2-05:9-甲氧基-5-(5-甲基-2-呋喃基)-2-(4-哌啶基甲基)-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1,2,3,4-四氢苯并[h][1,6]萘啶的制备

[0446] 向中间体I-11b (100mg, 0.14mmol) 的ClCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl (10mL) 溶液添加TiCl<sub>4</sub> (70mg, 0.37mmol), 并将混合物在60℃下搅拌2小时。然后,将反应混合物倒入水 (50mL) 和NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O (25%, 5mL) 中。将混合物通过硅藻土垫过滤并将滤液用DCM萃取。合并的有机相用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并真空浓缩,得到粗中间体9-甲氧基-5-(5-甲基-2-呋喃基)-2-(4-哌啶基甲基)-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1,2-二氢苯并[h][1,6]萘啶,将其通过制备型HPLC纯化(一般程序,方法8),获得纯中间体 (50mg, 66%), 为黄色固体。在N<sub>2</sub>气氛下向该中间体 (50mg, 97μmol) 的MeOH (40mL) 溶液添加Pd/C (10%, 0.1g)。将悬浮液脱气并用H<sub>2</sub>吹扫3次。将混合物在H<sub>2</sub> (15Psi) 下于15℃搅拌2小时。然后,将反应混合物通过硅藻土垫过滤,并将滤液真空浓缩,得到粗产物。粗产物通过制备型HPLC纯化(一般程序,方法9),获得化合物2-05 (5mg, 10%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1) : 519.4, C<sub>31</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>计算值: 518.3。

[0447] 化合物2-06:9-甲氧基-5-(5-甲基-2-呋喃基)-2-[(1-甲基-4-哌啶基)甲基]-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1,2,3,4-四氢苯并[h][1,6]萘啶的制备



[0448] 在N<sub>2</sub>下于16℃向化合物2-05 (26.0mg, 50μmol) 和 (HCHO)<sub>n</sub> (12.1mg, 401μmol) 在MeOH (30mL) 中的混合物一次性添加NaBH<sub>3</sub>CN (25.2mg, 401μmol) 和AcOH (24.1mg, 401μmol)。将混合物在50℃下搅拌2小时。然后, 将反应混合物冷却至16℃, 过滤并真空浓缩。残余物通过制备型HPLC纯化(一般程序, 方法1), 得到期望的化合物2-06 (5.8mg, 22%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1): 533.4, C<sub>32</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>计算值: 532.3。HPLC分析方法1, 保留时间=2.70min。

[0449] 化合物2-07: 2-[(1-环丙基-4-哌啶基)甲基]-9-甲氧基-5-(5-甲基-2-呋喃基)-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1,2,3,4-四氢苯并[h][1,6]萘啶的制备

[0450] 向化合物2-05 (40mg, 77μmol) 的叔丁醇 (5mL) 溶液添加(1-乙氧基环丙基)-三甲基-硅烷 (73mg, 462μmol)、NaBH<sub>3</sub>CN (29mg, 462μmol) 和AcOH (28mg, 462μmol)。将混合物在60℃下搅拌40小时。然后, 将反应混合物真空浓缩, 得到残余物, 将其通过制备型HPLC纯化(一般程序, 方法10), 得到化合物2-07 (8.5mg, 20%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1): 559.5, C<sub>34</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>计算值: 558.3。

[0451] 化合物2-08: 2-[(1-异丙基-4-哌啶基)甲基]-9-甲氧基-5-(5-甲基-2-呋喃基)-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1,2,3,4-四氢苯并[h][1,6]萘啶的制备

[0452] 向化合物2-05 (40mg, 77μmol) 的异丙醇 (5mL) 溶液添加丙酮 (27mg, 462μmol)、NaBH<sub>3</sub>CN (29mg, 462μmol) 和AcOH (28mg, 462μmol)。将混合物在60℃下搅拌16小时。然后, 将反应混合物真空浓缩, 得到残余物, 将其通过制备型HPLC纯化(一般程序, 方法9), 得到纯化化合物2-08 (5mg, 12%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1): 561.5, C<sub>34</sub>H<sub>48</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>计算值: 560.3。

[0453] 化合物2-09和2-10: (2R)-9-甲氧基-5-(5-甲基-2-呋喃基)-2-[(1-甲基-4-哌啶基)甲基]-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1,2,3,4-四氢苯并[h][1,6]萘啶和(2S)-9-甲氧基-5-(5-甲基-2-呋喃基)-2-[(1-甲基-4-哌啶基)甲基]-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1,2,3,4-四氢苯并[h][1,6]萘啶的制备

[0454] 将化合物2-06 (100mg) 通过SFC(上述一般方法) 纯化, 得到作为白色固体的化合物2-09 (25.7mg, 48μmol) 和作为白色固体的化合物2-10 (19.6mg, 37μmol) (立体化学随机分配)。

[0455] 2-08: ESI-MS (M+1): 533.4, C<sub>32</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>计算值: 532.34。HPLC分析方法1, 保留时间=2.69min。

[0456] 2-09: ESI-MS (M+1): 533.4, C<sub>32</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>计算值: 532.34。HPLC分析方法1, 保留时间=2.71min。

[0457] 化合物2-11: 1-[4-[[9-甲氧基-5-(5-甲基-2-呋喃基)-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1,2,3,4-四氢苯并[h][1,6]萘啶-2-基]甲基]-1-哌啶基]乙酮的制备

[0458] 将化合物2-05 (30mg, 58μmol)、Et<sub>3</sub>N (17mg, 173μmol) 和乙酰氯 (6.81mg, 86μmol) 在DCM (5mL) 中的混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次。然后, 将混合物在N<sub>2</sub>气氛下于25℃搅拌2小时。然后, 将反应混合物真空浓缩并通过制备型HPLC纯化(一般程序, 方法11), 得到化合物2-11 (5.80mg, 18%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1): 561.4, C<sub>33</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>计算值: 560.34。HPLC分析方法2, 保留时间=2.13。

[0459] 化合物2-12: 2-[(1-环己基-4-哌啶基)甲基]-9-甲氧基-5-(5-甲基-2-呋喃基)-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1,2,3,4-四氢苯并[h][1,6]萘啶的制备

[0460] 化合物2-12以与化合物2-06相似的方式使用环己酮获得。通过制备型HPLC进行纯

化(一般程序,方法11),16%产率。ESI-MS (M+1):601.5, C<sub>37</sub>H<sub>52</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>计算值:600.40。HPLC分析方法2,保留时间=1.79

[0461] 化合物3-02:9-甲氧基-5-(5-甲基-2-咪喃基)-2-(4-哌啶基甲基)-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)苯并[h][1,6]萘啶的制备

[0462] 在20℃下向化合物中间体I-11b (310.0mg, 456μmol)的ClCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl (50mL)溶液缓慢地添加TiCl<sub>4</sub> (216mg, 1.14mmol),并将所得混合物在60℃下搅拌12小时。然后,通过添加NH<sub>4</sub>OH (12mL, 25%)然后Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (15g)淬灭反应。所得混合物在15℃下搅拌1小时,然后过滤。将滤液浓缩并通过制备型HPLC纯化(一般程序,方法1),得到期望的化合物3-02 (36.0mg, 15%),为黄色固体。ESI-MS (M+1):515.4, C<sub>31</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>计算值:514.3。HPLC分析方法1,保留时间=2.92min。

[0463] 化合物3-03:9-甲氧基-5-(5-甲基-2-咪喃基)-2-[(1-甲基-4-哌啶基)甲基]-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)苯并[h][1,6]萘啶的制备

[0464] 在N<sub>2</sub>下向化合物3-02 (36mg, 70μmol)和(HCHO)<sub>n</sub> (16.8mg, 560μmol)在MeOH (30mL)中的混合物一次性添加NaBH<sub>3</sub>CN (35.2mg, 560μmol)和AcOH (33.6mg, 560μmol),并将混合物在50℃下搅拌2小时。然后,将混合物冷却至16℃,过滤并真空浓缩。残余物通过制备型HPLC(一般程序,方法1)纯化,得到化合物3-03 (32.6mg, 88%),为黄色固体。ESI-MS (M+1):529.4, C<sub>32</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>计算值:528.3。HPLC分析方法1,保留时间=3.02min。

[0465] 中间体I-11c:4-(2-((2-(2,5-二甲基咪喃-3-基)-6-甲氧基-7-(3-(吡咯烷-1-基)丙氧基)喹啉-4-基)氨基)-3-(1,3-二氧戊环-2-基)丙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯的制备

[0466] 将中间体I-05e (1.00g, 2.41mmol)、4-[2-氨基-3-(1,3-二氧戊环-2-基)丙基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(R-04b, 909.30mg, 2.89mmol)、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.57g, 4.82mmol)、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (221mg, 241μmol)和BINAP (150mg, 241μmol)在二噁烷(50mL)中的混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次。然后,将混合物在N<sub>2</sub>气氛下在120℃下搅拌12小时。将混合物冷却至20℃并在40℃减压浓缩。将残余物倒入水(50mL)中并用乙酸乙酯(50mL×3)萃取。将合并的有机相用盐水洗涤(50mL×2),用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过制备型HPLC纯化(一般程序,方法13),得到中间体I-11c。然后用NaHCO<sub>3</sub>(s)酸化至pH=8,得到中间体I-11c (500mg, 30%),为黄色固体。ESI-MS (M+1):693.4, C<sub>39</sub>H<sub>56</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>计算值:692.41。

[0467] 化合物2-13:9-甲氧基-5-(2,5-二甲基-3-咪喃基)-2-[(1-甲基-4-哌啶基)甲基]-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1,2,3,4-四氢-苯并[h][1,6]萘啶的制备

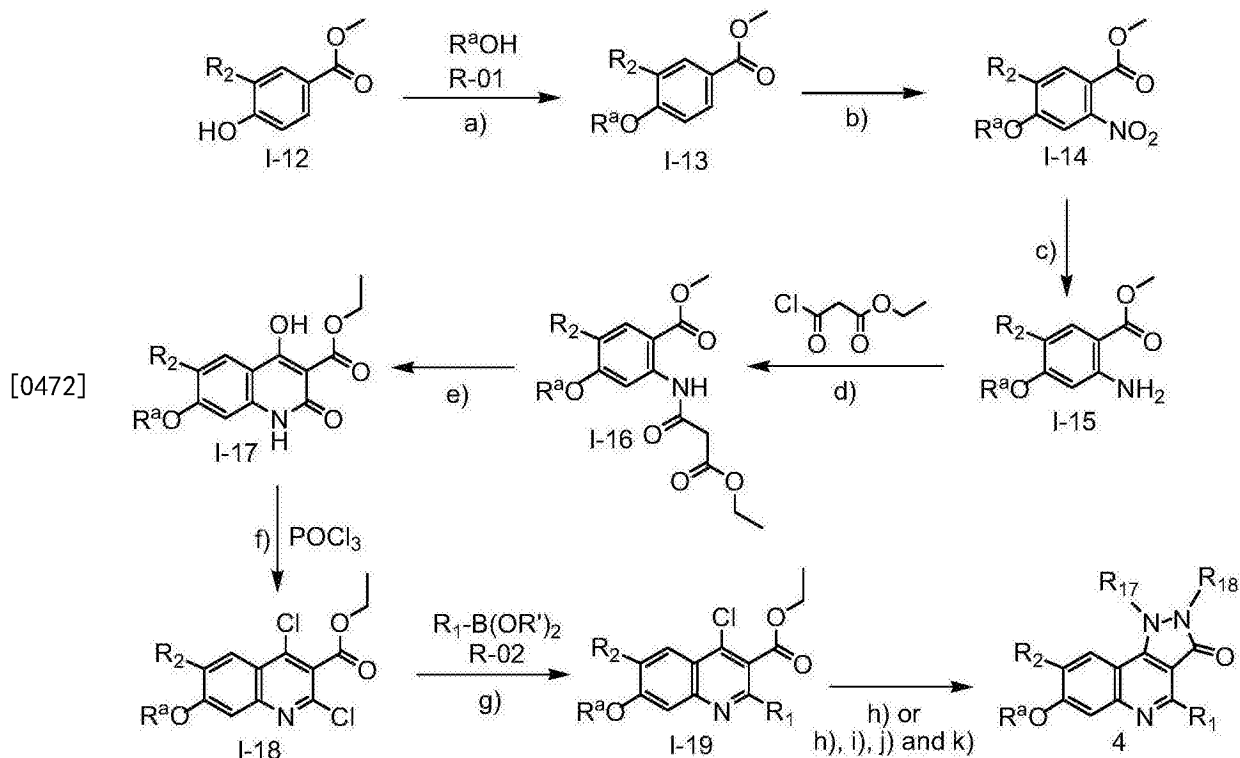
[0468] 将中间体I-11c (200mg, 288.65μmol)、TiCl<sub>4</sub> (55mg, 289.96μmol)在ClCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl (10mL)中的混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次,然后将混合物在N<sub>2</sub>气氛下在60℃下搅拌2小时。然后,将反应混合物通过NH<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O (1mL, 25%)淬灭并且添加Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2g),在15℃下搅拌1小时,然后过滤并浓缩,得到粗中间体5-(2,5-二甲基-3-咪喃基)-9-甲氧基-2-(4-哌啶基甲基)-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1,2-二氢苯并[h][1,6]萘啶,将其通过制备型HPLC纯化(一般程序,方法14),获得纯中间体(50mg, 27%),为黄色固体。在H<sub>2</sub>气氛下向该中间体(40mg, 62.04μmol)的MeOH (10mL)溶液添加Pd/C (10%, 10mg)。将悬浮液脱气并用H<sub>2</sub>吹扫3次。混合物在H<sub>2</sub> (15Psi)下于20℃搅拌2小时。然后过滤反应混合物并在40℃减压浓缩得到中间体5-(2,5-二甲基-3-咪喃基)-9-甲氧基-2-(4-哌啶基甲基)-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1,2,3,4-四氢苯并[h][1,6]萘啶(30mg, 75%),为黄色固体。将该中间体(30mg, 46.39μmol)、HCOOH

(7mg, 139.16 $\mu$ mol)、(HCHO)<sub>n</sub> (13mg, 139.16 $\mu$ mol) 和 NaBH<sub>3</sub>CN (9mg, 139.16 $\mu$ mol) 在 MeOH (3mL) 中的混合物脱气并用 N<sub>2</sub> 吹扫 3 次。然后, 将混合物在 N<sub>2</sub> 气氛下于 70 $^{\circ}$ C 搅拌 2 小时。将混合物过滤并真空浓缩, 得到粗产物, 将其通过制备型 HPLC 纯化 (一般程序, 方法 14), 得到期望的化合物 2-13 (1.80mg, 5.9%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1): 547.4, C<sub>33</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> 计算值: 546.36。HPLC 分析方法 3, 保留时间 = 1.57min。

[0469] 化合物 3-04: 9-甲氧基-5-(2,5-二甲基-3-咪喃基)-2-[(1-甲基-4-哌啶基)甲基]-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基) 苯并[h][1,6-] 萘啶的制备

[0470] 将中间体 I-11c (200mg, 288.65 $\mu$ mol)、TiCl<sub>4</sub> (55mg, 289.66 $\mu$ mol) 在 ClCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl (30mL) 中的混合物脱气并用 N<sub>2</sub> 吹扫 3 次, 然后将混合物在 N<sub>2</sub> 气氛下于 60 $^{\circ}$ C 搅拌 3 小时。然后, 将反应混合物通过 NH<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O (3mL, 25%) 淬灭并且添加 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (10g), 在 15 $^{\circ}$ C 下搅拌 1 小时, 然后过滤并浓缩, 得到粗中间体, 将其通过制备型 HPLC 纯化 (一般程序, 方法 15), 获得纯中间体 5-(2,5-二甲基-3-咪喃基)-9-甲氧基-2-(4-哌啶基甲基)-8-(3-吡咯烷-1-基丙氧基) 苯并[h][1,6-] 萘啶 (40mg, 21.56%), 为黄色固体。将该中间体 (40mg, 62.24 $\mu$ mol)、HCOOH (9mg, 186.72 $\mu$ mol)、(HCHO)<sub>n</sub> (17mg, 186.72 $\mu$ mol) 和 NaBH(OAc)<sub>3</sub> (40mg, 186.72 $\mu$ mol) 在 MeOH (5mL) 中的混合物脱气并用 N<sub>2</sub> 吹扫 3 次, 然后将混合物在 N<sub>2</sub> 气氛下于 60 $^{\circ}$ C 搅拌 16 小时。将混合物冷却至 20 $^{\circ}$ C 并在 40 $^{\circ}$ C 减压浓缩。粗产物通过制备型 HPLC 纯化 (一般程序, 方法 16), 得到化合物 3-04 (3.00mg, 7.32%), 为黄色浆状物。ESI-MS (M+1): 543.5, C<sub>33</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> 计算值: 542.33。HPLC 分析方法 3, 保留时间 = 2.93min。

[0471] 合成路线 5



[0473] 条件: a) DIAD (2.0 当量), R-01 (1.0 当量), PPh<sub>3</sub> (2.0 当量), THF, 室温, 30h; b) SnCl<sub>4</sub> (1.65 当量), HNO<sub>3</sub> (1.65 当量), DCM, -25 $^{\circ}$ C, 2h, 然后室温, 4h; c) Pd/C, H<sub>2</sub>, MeOH, 室温, 30h; d) 吡啶 (4.0 当量), DMAP (0.05 当量), DCM, 0 $^{\circ}$ C, 1h, 然后 3-氯-3-氧-丙酸乙酯 (1.0 当量), 室温, 15h; e) KHMDS (4.0 当量), THF, -70 $^{\circ}$ C, 然后室温过夜; f) POCl<sub>3</sub>, 120 $^{\circ}$ C, 15h; g) R-02 (1.1 当

量), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0.1当量), 1,4-二噁烷, 85°C, 20h; h) 胍水合物或甲基胍 (10当量), DIEA (16当量), EtOH, 100°C, MW, 6h; i) 4-甲基磺酰氧基哌啶-1-甲酸叔丁酯或4-(甲基磺酰氧基甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 (1.0-0.8当量), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.5当量), DMF, 60°C, 4h; j) HCl/EtOAc (1.0N), 22°C, 3h; k) (HCHO)<sub>n</sub> (6.0当量), AcOH (3.0当量), NaBH(OAc)<sub>3</sub> (6.0当量), MeOH, 60°C, 15h。

[0474] 在上述方案中, R<sub>2</sub>是H或O (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基, R<sub>a</sub>是含有氮和/或氧原子的烃链, R<sub>1</sub>是芳基或杂芳基, R<sub>17</sub>和R<sub>18</sub>是H、环(Cy)或可选地含有氮、氧和/或氟原子的烃链, 并且R' 是H、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基或者作为另选, 两个R' 基团与它们所连接的B原子一起可以形成环。

[0475] 中间体I-13a: 3-甲氧基-4-(3-吡咯烷-1-基丙氧基) 苯甲酸甲酯的制备

[0476] 在0°C下向商业上可获得的4-羟基-3-甲氧基-苯甲酸甲酯 (I-12a, 146g, 800mmol) 的THF (4L) 溶液添加DIAD (323g, 1.60mol)、3-吡咯烷-1-基丙-1-醇 (R-01a, 103g, 800mmol) 和PPh<sub>3</sub> (419g, 1.60mol), 并将该溶液在室温下搅拌30小时。然后, 将反应混合物浓缩并用EtOAc萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩, 得到粗产物, 将其通过柱色谱纯化, 得到中间体I-13a (176g, 75%)。ESI-MS (M+1): 294.0, C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>计算值: 293.2。

[0477] 中间体I-14a: 5-甲氧基-2-硝基-4-(3-吡咯烷-1-基丙氧基) 苯甲酸甲酯的制备

[0478] 在-25°C下向中间体I-13a (53g, 180mmol) 在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (300mL) 中的混合物滴加SnCl<sub>4</sub> (77g, 297mmol) 和HNO<sub>3</sub> (18.71g, 297mmol) 的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (300mL) 溶液。将混合物在-25°C搅拌2小时, 并在室温下搅拌4小时。然后, 反应用水淬灭并用EtOAc萃取。将合并的有机相用饱和盐水洗涤, 用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并真空浓缩。残余物通过柱色谱纯化, 得到中间体I-14a (58g, 95%), 为黄色油状物。ESI-MS (M+1): 339.3, C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>计算值: 338.1。

[0479] 中间体I-15a: 2-氨基-5-甲氧基-4-(3-吡咯烷-1-基丙氧基) 苯甲酸甲酯的制备

[0480] 向中间体I-14a (58g, 172mmol) 的MeOH (1000mL) 溶液添加Pd/C (8.00g, 74mmol), 并将混合物在H<sub>2</sub> (45Psi) 下于室温搅拌30小时。然后将溶液过滤, 浓缩滤液得到粗中间体I-15a (55g, 99%粗品), 为黄色液体, 将其直接用于下一步骤。ESI-MS (M+1): 309.0, C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>计算值: 308.2。

[0481] 中间体I-16a: 2-[(3-乙氧基-3-氧-丙酰基) 氨基]-5-甲氧基-4-(3-吡咯烷-1-基丙氧基) 苯甲酸甲酯的制备

[0482] 在氮气下于0°C将DMAP (348mg, 2.85mmol) 和吡啶 (15.8g, 200mmol) 添加至中间体I-15a (17.6g, 57mmol) 在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (60mL) 中的搅拌悬浮液, 并将所得溶液在0°C下搅拌1小时。然后, 在氮气下用10分钟的时间添加3-氯-3-氧-丙酸乙酯 (9.02g, 60mmol), 并将所得溶液在室温下搅拌15小时。反应用水淬灭并用DCM萃取。将合并的有机相用饱和盐水洗涤, 用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并真空浓缩。残余物通过柱色谱纯化, 得到中间体I-16a (14.3g, 59%)。ESI-MS (M+1): 423.0, C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>计算值: 422.2。

[0483] 中间体I-17a: 4-羟基-6-甲氧基-2-氧-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1H-喹啉-3-甲酸乙酯的制备

[0484] 在-70°C下向中间体I-16a (10g, 23mmol) 的THF (120mL) 溶液连续添加KHMDs (92mL, 1.0N THF溶液, 92mmol), 并将所得混合物在室温下搅拌过夜。然后, 将溶液用水稀释并用EtOAc萃取。有机层用水和盐水洗涤, 然后浓缩, 得到中间体I-17a (10.0g), 其直接用于下一步骤。ESI-MS (M+1): 391.2, C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>计算值: 390.2。

[0485] 中间体I-18a:2,4-二氯-6-甲氧基-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)喹啉-3-甲酸乙酯的制备

[0486] 在120℃下将中间体I-17a (10g, 25mmol) 的POCl<sub>3</sub> (100mL) 溶液搅拌15小时。然后, 浓缩混合物, 得到粗化合物, 将其通过柱色谱纯化, 得到纯中间体I-18a (2.77g, 26%)。ESI-MS (M+1): 427.1, C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>计算值: 426.1。

[0487] 中间体I-19a:4-氯-6-甲氧基-2-(5-甲基-2-呋喃基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)喹啉-3-甲酸乙酯的制备

[0488] 向中间体I-18a (3.45g, 8.0mmol) 的1,4-二噁烷 (50mL) 溶液连续添加Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (923mg, 800μmol) 和4,4,5,5-四甲基-2-(5-甲基-2-呋喃基)-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷 (R-02a, 1.83g, 8.8mmol)。所得混合物在85℃下搅拌20小时。然后, 将溶液用水稀释并用EtOAc萃取。有机层用水和盐水洗涤, 然后浓缩获得粗产物, 其通过制备型HPLC纯化 (一般程序, 方法1), 获得纯中间体I-19a (1.52g, 40%)。ESI-MS (M+1): 473.3, C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>计算值: 472.2。

[0489] 化合物4-01:8-甲氧基-2-甲基-4-(5-甲基-2-呋喃基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮的制备

[0490] 向中间体I-19a (50mg, 105μmol) 的EtOH (10mL) 溶液添加甲基胍 (50mg, 1.09mmol, 50%水溶液) 和DIEA (205mg, 1.59mmol), 并将混合物在微波下于100℃搅拌6小时。然后, 将溶液浓缩, 得到粗产物, 将其通过制备型HPLC纯化 (一般程序, 方法1), 获得纯化化合物4-01 (9.1mg, 20%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1): 437.2, C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>计算值: 436.2。HPLC分析方法1, 保留时间=2.66min。

[0491] 化合物4-02:8-甲氧基-4-(5-甲基-2-呋喃基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1,2-二氢吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮的制备

[0492] 化合物以4-02与化合物4-01相似的方式使用胍水合物获得。粗产物通过制备型HPLC纯化 (一般程序, 方法1), 获得化合物4-02, 为黄色固体 (58%产率)。ESI-MS (M+1): 423.2, C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>计算值: 422.2。HPLC分析方法2, 保留时间=1.66min。

[0493] 化合物4-03:8-甲氧基-4-(5-甲基-2-呋喃基)-2-(1-甲基-4-哌啶基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮的制备

[0494] 向化合物4-02 (120mg, 284μmol) 和4-甲基磺酰氧基哌啶-1-甲酸叔丁酯 (63mg, 227μmol) 的无水DMF (15mL) 溶液添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (98mg, 710μmol), 并将混合物在60℃下搅拌4小时。然后, 反应用水淬灭并用EtOAc萃取。将合并的有机相用盐水洗涤, 用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 浓缩并通过制备型HPLC纯化 (一般程序, 方法1), 得到中间体4-[8-甲氧基-4-(5-甲基-2-呋喃基)-3-氧-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1H-吡唑并[4,3-c]喹啉-2-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯 (128mg, 74%), 为黄色固体。将该中间体 (210mg, 347μmol) 的HCl/EtOAc (40mL, 1.0N) 溶液在22℃下搅拌3小时。然后将混合物浓缩至干, 得到粗中间体8-甲氧基-4-(5-甲基-2-呋喃基)-2-(4-哌啶基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (192mg, 粗品), 其未进行进一步纯化而直接用于下一步骤。在N<sub>2</sub>下于20℃向该中间体 (188mg, 347μmol) 和 (HCHO)<sub>n</sub> (187mg, 2.08mmol) 在MeOH (20mL) 中的混合物一次性添加HCOOH (50mg, 1.04mmol) 和NaBH(OAc)<sub>3</sub> (441mg, 2.08mmol), 并将混合物在20℃下搅拌10分钟, 然后加热至60℃并搅拌15小时。将混合物冷却至20℃, 过滤并真空浓缩。残余物通过制备型HPLC纯化 (一般程序, 方法1), 得到化合物4-03 (26.9mg, 15%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1): 520.3,

C<sub>29</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>计算值:519.3。HPLC分析方法1,保留时间=2.45min。

[0495] 化合物4-04:8-甲氧基-4-(5-甲基-2-呋喃基)-2-[(1-甲基-4-哌啶基)甲基]-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮的制备

[0496] 向化合物4-02 (100mg, 236 $\mu$ mol) 和4-(甲基磺酰氧基甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 (55mg, 189 $\mu$ mol) 的无水DMF (15mL) 溶液添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (82mg, 592 $\mu$ mol), 并将混合物在60 $^{\circ}$ C下搅拌4小时。然后,反应用水淬灭并用EtOAc萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,浓缩并通过制备型HPLC纯化(一般程序,方法1),得到中间体4-[[8-甲氧基-4-(5-甲基-2-呋喃基)-3-氧-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1H-吡唑并[4,3-c]喹啉-2-基]甲基]哌啶-1-甲酸叔丁酯 (83mg, 57%), 为黄色固体。将该中间体 (125mg, 202 $\mu$ mol) 的HCl/EtOAc (40mL, 1.0N) 溶液在22 $^{\circ}$ C下搅拌3小时。然后将混合物浓缩至干,得到中间体8-甲氧基-4-(5-甲基-2-呋喃基)-2-(4-哌啶基甲基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-1H-吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (115mg, 粗品), 其未进行进一步纯化而直接用于下一步骤。在N<sub>2</sub>下于20 $^{\circ}$ C向该中间体 (112mg, 202 $\mu$ mol) 和(HCHO)<sub>n</sub> (109mg, 1.21mmol) 在MeOH (20mL) 中的混合物一次性添加HCOOH (29mg, 605 $\mu$ mol) 和NaBH(OAc)<sub>3</sub> (256mg, 1.21mmol)。将混合物在20 $^{\circ}$ C下搅拌10分钟,然后加热至60 $^{\circ}$ C并搅拌15小时。过滤混合物,真空浓缩滤液并通过制备型HPLC纯化(一般程序,方法1),得到化合物4-04 (15.8mg, 15%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1): 534.4, C<sub>30</sub>H<sub>39</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>计算值:533.3。HPLC分析方法1,保留时间=2.65min。

[0497] 化合物4-05:8-甲氧基-4-(5-甲基-2-呋喃基)-1,2-双[(1-甲基-4-哌啶基)甲基]-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮的制备

[0498] 向化合物4-02 (50mg, 118 $\mu$ mol) 和化合物4-(甲基磺酰氧基甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 (39.5mg, 142 $\mu$ mol) 的无水DMF (15mL) 溶液添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (41mg, 296 $\mu$ mol), 并将混合物在60 $^{\circ}$ C下搅拌4小时。然后,反应用水淬灭并用EtOAc萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,浓缩并通过制备型HPLC纯化(一般程序,方法1),得到中间体4-[[2-[(1-叔丁氧基羰-4-哌啶基)甲基]-8-甲氧基-4-(5-甲基-2-呋喃基)-3-氧-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)吡唑并[4,3-c]喹啉-1-基]甲基]哌啶-1-甲酸叔丁酯 (42mg, 44%), 为黄色固体。将该中间体 (183mg, 224 $\mu$ mol) 的HCl/EtOAc (40mL, 1.0N) 溶液在22 $^{\circ}$ C下搅拌3小时。然后将混合物浓缩至干,得到中间体8-甲氧基-4-(5-甲基-2-呋喃基)-1,2-双(4-哌啶基甲基)-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)吡唑并[4,3-c]喹啉-3-酮 (156mg, 粗品), 其未进行进一步纯化而直接用于下一步骤。在N<sub>2</sub>下于22 $^{\circ}$ C向该中间体 (138mg, 224 $\mu$ mol) 和(HCHO)<sub>n</sub> (HCHO)<sub>n</sub> (121mg, 1.34mmol) 在MeOH (20mL) 中的混合物一次性添加HCOOH (32mg, 672 $\mu$ mol) 和NaBH(OAc)<sub>3</sub> (285mg, 1.34mmol)。将混合物在20 $^{\circ}$ C下搅拌10分钟,然后加热至60 $^{\circ}$ C并搅拌15小时。将混合物冷却至20 $^{\circ}$ C并过滤。真空浓缩滤液并通过制备型HPLC纯化(一般程序,方法1),得到化合物4-05 (33mg, 23%), 为黄色固体。ESI-MS (M+1): 645.5, C<sub>37</sub>H<sub>52</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>计算值:644.4。HPLC分析方法1,保留时间=2.37min。

[0499] 生物测试

[0500] G9a酶活性测定

[0501] 测量G9a酶活性的生物化学测定依赖于销穴状化合物(供体)和XL665(受体)之间的时间分辨荧光能量转移(TR-FRET)。在G9a的酶促反应之后,当生物素化的组蛋白单甲基-K3K9肽与穴状化合物标记的抗二甲基组蛋白H3K9抗体(CisBio Cat#61KB2KAE)和链霉亲和

素XL665 (CisBio Cat#610SAXLA) 一起温育时,观察到TR-FRET。

[0502] 在杆状病毒感染的Sf9细胞表达系统中表达的人G9a酶获自BPSBiosciences (Cat.#51001)。

[0503] 酶活性测定在白色384孔板中进行,最终体积为20 $\mu$ l,如下:

[0504] ●在测定缓冲液(50mM Tris-HCl,10mM NaCl,4mM DTT,0.01%Tween-20,pH9)中制备4 $\mu$ l的2.5x浓缩的载剂或所研究的化合物。DMSO的最终百分比为0.5%。

[0505] ●在测定缓冲液中稀释的2 $\mu$ l的1nM MG9a酶。最终浓度为0.2nM。

[0506] ●通过添加4 $\mu$ l含有20 $\mu$ M S-腺苷甲硫氨酸和40nM生物素化组蛋白单甲基-H3K9肽的底物混合物开始反应。

[0507] ●反应在室温下进行1小时。

[0508] ●通过添加5 $\mu$ l穴状化合物标记的抗二甲基组蛋白H3K9抗体终止酶活性。最终浓度150nM。

[0509] ●然后,添加5 $\mu$ l链霉亲和素XL665珠。最终浓度为16 $\mu$ M。

[0510] ●在室温下温育1小时后读取培养板。

[0511] 对于每个孔,在620nm和665nm测量荧光。然后计算比率(665nm/620nm),以使培养基干扰最小化。在化合物的载剂存在下获得阳性对照。在不存在G9a酶活性的情况下获得阴性对照。利用GraphPrism使用4参数抑制曲线确定计算的IC<sub>50</sub>值。

[0512] DNMT1酶活性测定

[0513] 测量DNMT1酶活性的生化测定依赖于使用EPIgeneous甲基转移酶测定(CisBio Cat#62SAHPEB)的lumi4-Tb(供体)和d2(受体)之间的时间分辨荧光能量转移(TR-FRET)。当对用Lumi4-Tb标记的S-腺苷高半胱氨酸具有特异性的抗体与d2-标记的S-腺苷高半胱氨酸一起温育时,观察到TR-FRET。TR-FRET信号与样品中DNMT1酶活性的产物SAH的浓度成反比。人DNMT1获自Reaction Biology Corp.(Cat#DMT-21-124)。

[0514] 酶活性测定在白色384孔板中进行,最终体积为20 $\mu$ l,如下:

[0515] ●在测定缓冲液(50mM Tris-HCl,1mM EDTA,1mM DTT,0.1%TritonX-100,5%甘油,pH7.5)中制备4 $\mu$ l的2.5x浓缩的载剂或所研究的化合物。DMSO的最终百分比为0.5%。

[0516] ●在测定缓冲液中稀释的2 $\mu$ l的1nM DNMT1酶。最终浓度为20nM。

[0517] ●通过加入4 $\mu$ l含有1 $\mu$ M S-腺苷甲硫氨酸和1 $\mu$ M聚脱氧肌苷聚脱氧胞嘧啶(pdI-pdC)DNA的底物混合物来开始反应。

[0518] ●反应在37 $^{\circ}$ C下进行15分钟。

[0519] ●通过添加2 $\mu$ l EPIgeneous甲基转移酶测定中的缓冲液1来停止酶活性。

[0520] ●在室温下10分钟后,向其中添加4 $\mu$ l的在EPIgeneous甲基转移酶测定的缓冲液2中稀释50x的对用Lumi4-Tb标记的S型腺苷酸高半胱氨酸具有特异性的抗体。

[0521] ●添加4 $\mu$ l在EPIgeneous甲基转移酶测定的缓冲液2中稀释31x的d2标记的S-腺苷高半胱氨酸。

[0522] ●在室温下温育1小时后读取培养板。

[0523] 对于每个孔,在620nm和665nm测量荧光。然后计算比率(665nm/620nm),以使培养基干扰最小化。在化合物的载剂存在下获得阳性对照。在不存在G9a酶活性的情况下获得阴性对照。利用GraphPrism使用4参数抑制曲线确定计算的IC<sub>50</sub>值。

[0524] 表2显示了所选化合物对G9a和DNMT的抑制值 ( $IC_{50}$ ) ;其中,  $1\mu M \leq IC_{50} \leq 10\mu M (+)$  ,  $500nM \leq IC_{50} < 1\mu M (++)$  ,  $100nM \leq IC_{50} < 500nM (+++)$  ,  $IC_{50} < 100nM (++++)$  ,  $IC_{50} > 10\mu M (N.A. \text{无活性})$ 。

化合物	G9a $IC_{50}(M)$	DNMT1 $IC_{50}(M)$
1-02	+++	+++
1-03	+++	++
1-04	+++	++
1-05	+++	++
1-06	++	+

化合物	G9a $IC_{50}(M)$	DNMT1 $IC_{50}(M)$
2-01	N.A.	+
2-02	+	++
2-03	++++	+
2-04	N.A.	++
2-05	++++	++
2-06	++++	+++
2-07	++++	++
2-08	++++	++
2-09	++++	++
2-10	++++	++
2-11	++++	+
2-12	++++	++
2-13	++++	+
3-01	+	+
3-02	+++	++
3-03	++++	+
3-04	+++	N.A.
4-03	N.A.	+
4-04	N.A.	+
4-05	N.A.	+

[0527] 表2

[0528] 细胞增殖测定

[0529] 使用CellTiter 96Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay (Promega, Madison, W) 在48小时的体外处理后分析细胞增殖。这是用于测定增殖中的活细胞数的比色法。

[0530] 为了进行测定,除了OCILY-3和OCILY-10细胞系以 $0.5 \times 10^6$ 细胞/ml (50,000细胞/孔,  $100\mu l$ /孔)的密度培养, HepG2、Hep3B和PLC/PRF/5细胞系以3000细胞/孔,  $100\mu l$ /孔的密度培养以外,在96孔板中以 $1 \times 10^6$ 细胞/ml的密度培养悬浮细胞 (100,000细胞/孔,  $100\mu l$ /孔),一式三份。从80~90%铺满的烧瓶获得贴壁细胞,并将 $100\mu l$ 细胞以5000细胞/孔的密度接种在96孔板中,一式三份。在加入化合物之前,使贴壁细胞附着于孔的底部12小时。在所有情况下,仅使用60个内部孔以避免任何边界效应。

[0531] 处理48小时后,将具有悬浮细胞的板以800g离心10分钟,除去培养基。轻拍具有贴



壁细胞的板以除去培养基。然后,将细胞与100u1/孔的培养基和20u1/孔的CellTiter 96Aqueous One Solution试剂一起温育。在37℃温育1~3小时后,在96孔板读数器中在490nm处测量吸光度。在仅有细胞系培养基和溶液试剂的孔中测量背景吸光度。数据计算为处理的细胞的总吸光度/未处理的细胞的吸光度的百分比。

[0532] 表3显示了所选化合物对建立的细胞系和原代培养物的功能响应( $GI_{50}$ ,其是细胞增殖最大抑制的50%时化合物的浓度);其中, $GI_{50} \geq 10\mu M$ (+),  $1\mu M \leq GI_{50} < 10\mu M$ (++),  $100nM \leq GI_{50} < 1\mu M$ (+++),  $GI_{50} < 100nM$ (++++)。这些癌细胞系和原代培养物对应于急性淋巴细胞性白血病(ALL) CEM0-1,对应于活化的B细胞样弥漫性大B细胞淋巴瘤(ABC-DLBCL) OCI-Ly3和 OCI-Ly10,以及对应于肝细胞癌细胞(HCC) HepG2、Hep3B和PLC/PRF/5。

[0533]

实施例	CEMO-1	OCI-Ly3	OCI-Ly10	HEPG2	HEP3B	PLC/PRF/5
1-02	+++	+++	++	++	++	+++
1-03	++			++	++	+++
1-04	+++			++	++	+++
2-03	++					
2-06	++			+	+	++
2-07	++			++	++	++
2-08	++			++	++	++
2-12	+++			+++	+++	

[0534] 表3

[0535] 表3中的化合物抑制急性淋巴细胞性白血病(ALL)、活化的B细胞样弥漫性大B细胞淋巴瘤(ABC-DLBCL)和肝癌(HCC)细胞系的增殖。

[0536] 本申请中引用的参考文献

[0537] -Vilas-Zornoza A.等,“Frequent and Simultaneous Epigenetic Inactivation of TP53 Pathway Genes in Acute Lymphoblastic Leukemia”, PLoS ONE 2011.6(2):p.e17012.

[0538] -Neary,R.等,“Epigenetics and the overhealing wound:the role of DNA methylation in fibrosis”, Fibrogenesis&Tissue Repair,2015,8:18.

[0539] -Lee S.等,“DNA methyltransferase inhibition accelerates the immunomodulation and migration of human mesenchymal stem cells” Scientific Reports 2015,5:8020.

[0540] -Shankar SR.等,“G9a,a multipotent regulator of gene expression”, Epigenetics,2013.8(1):p.16-22.

[0541] -Esteve PO.等,“Direct interaction between DNMT1and G9a coordinates DNA and histone methylation during replication”, Genes Dev 2006,20:3089-3103.

[0542] -Tachibana M.等,“G9a/GLP complexes independently mediate H3K9and DNA methylation to silence transcription”, The EMBO Journal 2008,27:2681-2690.

[0543] -Wozniak RJ.等,“5-Aza-2'-deoxycytidine-mediated reductions in G9A histone methyltransferase and histone H3K9di-methylation levels are linked to

tumor suppressor gene reactivation”, *Oncogene* 2007, 26, 77-90.

[0544] -Sharma S.等, “Lysine methyltransferase G9a is not required for DNMT3A/3B anchoring to methylated nucleosomes and maintenance of DNA methylation in somatic cells”, *Epigenetics Chromatin* 2012, 5, 3.

[0545] -Chambers R D., 等, “Reactions involving fluoride ion. Part 42. Heterocyclic compounds from perfluoro-3,4-dimethylhexa-2,4-diene”, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry* (1997), (10), 1457-1463.

[0546] -US20080306049

[0547] -CN1830978

[0548] -Green和P.G.M.Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, Wiley, 第3版, 1999, 第2章17-200页和第5章369-451页。