

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

C07D 471/04 (2006.01)

C07D 265/30 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480016017.0

[43] 公开日 2006年7月12日

[11] 公开号 CN 1802375A

[22] 申请日 2004.4.9

[21] 申请号 200480016017.0

[30] 优先权

[32] 2003.4.9 [33] US [31] 60/461,468

[86] 国际申请 PCT/US2004/011080 2004.4.9

[87] 国际公布 WO2004/092167 英 2004.10.28

[85] 进入国家阶段日期 2005.12.9

[71] 申请人 千禧药品公司

地址 美国马萨诸塞州

[72] 发明人 迈克尔·E·赫珀利

卢利·菲尔德斯·刘

弗朗科斯·索西 叶迎春

罗伯特·S·默里 拉曼·普凯什

杰里米·D·利特尔

阿尔弗雷多·卡斯特罗

霍莫兹·马兹迪耶斯尼

保罗·E·弗莱明

多米尼克·雷诺兹

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 过晓东

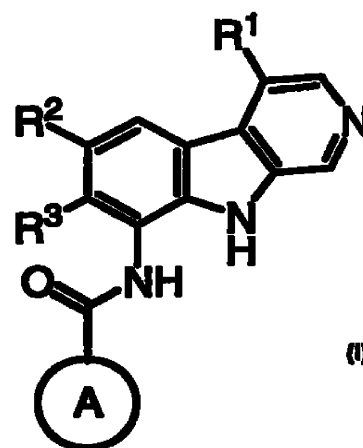
权利要求书 22 页 说明书 157 页

[54] 发明名称

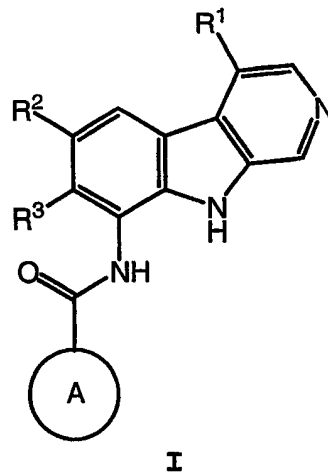
用于治疗炎性疾病的 β -咪啉

[57] 摘要

本发明提供了式(I) β -咪啉化合物, 其中环 A 为取代吡啶基、嘧啶基、咪啉基、哌啶基、哌嗪基、吡咯烷基、吡喃基、四氢呋喃基、环己基、环戊基或硫代咪啉基环, 以及 R^1 、 R^2 和 R^3 如说明书所述。该化合物为 IKK-2 抑制剂, 可用于治疗由 IKK-2 引起的疾病, 如炎症疾病和癌症。



1. 式 I 化合物或其可药用盐,



其中环 A 选自:

(a) 吡啶基或嘧啶基环, 该环被(i)-CH₂C(O)-G 和 0-1 个 R^{6a} 或(ii) 1-2 个 R^{6a} 取代, 以及

(b) 吗啉基、哌啶基、哌嗪基、吡咯烷基、吡喃基、四氢呋喃基、环己基、环戊基或硫代吗啉基环, 该环被 (i)-C(R⁹)₃、-W-G 或 -G, (ii) 0-4 个 R^{6b} 和(iii) 0-1 个环碳上的氧基或 0-2 个环硫上的氧基取代;

每个 R^{6a} 独立地选自 C₁₋₆ 脂族基团、卤素、烷氧基或氨基;

每个 R^{6b} 独立地选自 C₁₋₃ 脂族基团或 -N(R⁷)₂, 以及相同或相邻碳原子上的两个 R^{6b} 与插入的碳原子任意地一起形成含 1-2 个选自 N、O 或 S 的环杂原子的 5-6 元环;

W 为 -Q-、-Q-C(O)-、-C(R⁹)₂-C(R⁹)(R¹²)- 或 -C(R⁹)₂-[C(R⁹)(R¹²)]₂-;

Q 为 -C(R⁹)₂- 或 -C(R⁹)₂C(R⁹)₂-;

G 为 -OH、 $-\text{NR}^4\text{R}^5$ 、 $-\text{N}(\text{R}^9)\text{CONR}^4\text{R}^5$ 、 $-\text{N}(\text{R}^9)\text{SO}_2(\text{C}_{1-3}$ 脂族基团)、 $-\text{N}(\text{R}^9)\text{COCF}_3$ 、 $-\text{N}(\text{R}^9)\text{CO}$ (C_{1-6} 脂族基团)、 $-\text{N}(\text{R}^9)\text{CO}$ (杂环基)、 $-\text{N}(\text{R}^9)\text{CO}$ (杂芳基)、 $-\text{N}(\text{R}^9)\text{CO}$ (芳基)、3-7 元杂环基环或 5-6 元杂芳基, 其中 G 中的每个杂芳基、芳基和杂环基部分任意地被 1-3 个 R^{10} 取代;

R^1 为氢、卤素、 C_{1-3} 脂族基团、氨基、氰基、 $(\text{C}_{1-3}$ 烷基) $_{1-2}$ 氨基、 C_{1-3} 烷氧基、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NHCOCF}_3$ 或 $-\text{CH}_2\text{NH}_2$;

R^2 为氢、卤素, C_{1-3} 脂族基团、 $-\text{CF}_3$;

R^3 为氢、卤素、 C_{1-6} 脂族基团、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、羟基、氨基、氰基或 $(\text{C}_{1-6}$ 烷基) $_{1-2}$ 氨基;

R^4 为氢、3-7 元杂环基或 C_{1-6} 脂族基团;

R^5 为氢、 C_{1-6} 脂族基团或含 1-2 个选自 N、O 或 S 的环杂原子的 3-7 元杂环, 其中 R^5 任意地被卤素、 $-\text{OR}^7$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{SR}^8$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^8$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{CO}_2\text{R}^8$ 或 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 取代;

每个 R^7 独立地选自氢或 C_{1-4} 脂族基团, 或相同氮原子上的两个 R^7 与氮原子一起形成 5-6 元杂芳基或杂环基;

每个 R^8 独立地选自 C_{1-4} 脂族基团;

每个 R^9 独立地选自氢或 C_{1-3} 脂族基团;

每个 R^{10} 独立地选自氧代、 $-\text{R}^{11}$ 、 $-\text{T-R}^{11}$ 或 $-\text{V-T-R}^{11}$;

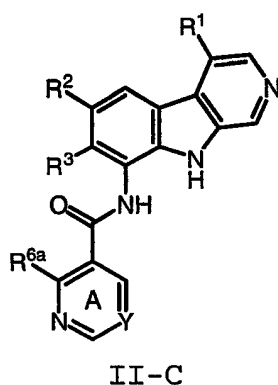
每个 R^{11} 独立地选自 C_{1-6} 脂族基团、卤素、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{OR}^7$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{SR}^8$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^8$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{CO}_2\text{R}^7$ 或 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$;

T 为直链或支链 C_{1-4} 亚烷基链;

V 为 -O-、-N(R⁷)-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-、-C(O)- 或 -CO₂-;
以及

R¹² 为氢或氨基酸侧链。

2. 根据权利要求 1 的化合物, 其中 A 为被 1-2 R^{6a} 基团取代的 3-吡啶基或 5-嘧啶基环。
3. 根据权利要求 2 的化合物, 其中该化合物具有结构式 II-C,



其中:

Y 为 N 或 CH;

R¹ 为氢、卤素、C₁₋₃ 脂族基团、氨基、氰基、(C₁₋₃ 烷基)1-2 氨基、C₁₋₃ 烷氧基、-CONH₂、-NHCOCF₃ 或 -CH₂NH₂;

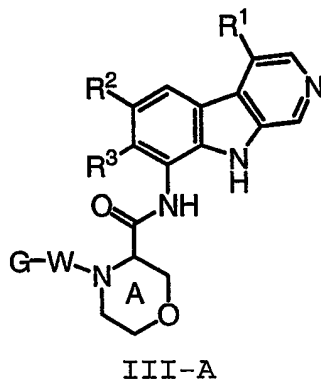
R² 为氢、卤素、C₁₋₃ 脂族基团、-CF₃;

R³ 为氢、卤素、C₁₋₆ 脂族基团、C₁₋₆ 卤代烷基、C₁₋₆ 烷氧基、羟基、氨基、氰基或(C₁₋₆ 烷基)1-2 氨基; 以及

R^{6a} 选自 C₁₋₆ 脂族基团或卤素。

4. 根据权利要求 3 的化合物, 其中 R^{6a} 为甲基。
5. 根据权利要求 4 的化合物, 其中 R¹ 为氢、甲基、氨基或氟; R² 为氢或卤素; 以及 R³ 为氢、卤素或 C₁₋₄ 烷氧基。

6. 根据权利要求 5 的化合物, 其中 Y 为 CH。
7. 根据权利要求 5 的化合物, 其中 Y 为 N。
8. 根据权利要求 1 的化合物, 其中环 A 选自: 吗啉基、哌啶基、哌嗪基、吡咯烷基、吡喃基、四氢呋喃基、环己基、环戊基或硫代吗啉基, 以及其中环 A 被下述基团取代: (i)-C(R⁹)₃ 或 -W-G, (ii) 0-4 个 R^{6b}, 以及(iii)环碳上的 0-1 个氧基或环硫上的 0-2 个氧基。
9. 根据权利要求 8 的化合物, 其中环 A 上的 -W-G 和 -C(R⁹)₃ 取代基位于与 β-吡啶相连位置的邻位。
10. 式 III-A 化合物或其可药用盐,



其中:

环 A 被 0-4 个 R^{6b} 取代;

每个 R^{6b} 独立地选自 C₁₋₃ 脂族基团或 -N(R⁷)₂, 以及相同或相邻碳原子上的两个 R^{6b} 与插入的碳原子任意地一起形成含 1-2 个选自 N、O 或 S 的环杂原子的 5-6 元环;

W 为 -Q-、-Q-C(O)-、-C(R⁹)₂-C(R⁹)(R¹²)- 或 -C(R⁹)₂-[C(R⁹)(R¹²)]₂-;

Q 为 -C(R⁹)₂- 或 -C(R⁹)₂C(R⁹)₂-;

G 为 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NR}^4\text{R}^5$ 、 $-\text{N}(\text{R}^9)\text{CONR}^4\text{R}^5$ 、 $-\text{N}(\text{R}^9)\text{SO}_2$ (C_{1-3} 脂族基团)、 $-\text{N}(\text{R}^9)\text{COCF}_3$ 、 $-\text{N}(\text{R}^9)\text{CO}$ (C_{1-6} 脂族基团)、 $-\text{N}(\text{R}^9)\text{CO}$ (杂环基)、 $-\text{N}(\text{R}^9)\text{CO}$ (杂芳基)、 $-\text{N}(\text{R}^9)\text{CO}$ (芳基)、3-7 元杂环基环或 5-6 元杂芳基, 其中 G 中的每个杂芳基、芳基和杂环基部分任意地被 1-3 个 R^{10} 取代;

R^1 为氢、卤素、 C_{1-3} 脂族基团、氨基、氰基、(C_{1-3} 烷基)1-2 氨基、 C_{1-3} 烷氧基、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NHCOCF}_3$ 或 $-\text{CH}_2\text{NH}_2$;

R^2 为氢、卤素、 C_{1-3} 脂族基团、 $-\text{CF}_3$;

R^3 为氢、卤素、 C_{1-6} 脂族基团、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、羟基、氨基、氰基或(C_{1-6} 烷基)1-2 氨基;

R^4 为氢、5-6 元杂环基或 C_{1-6} 脂族基团;

R^5 为氢、 C_{1-6} 脂族基团或含 1-2 个选自 N、O 或 S 的环杂原子的 5-6 元杂环, 其中 R^5 任意地被卤素、 $-\text{OR}^7$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{SR}^8$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^8$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{CO}_2\text{R}^8$ 或 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 取代;

每个 R^7 独立地选自氢或 C_{1-4} 脂族基团, 或相同氮原子上的两个 R^7 与氮原子一起形成 5-6 元杂芳基或杂环基;

每个 R^8 独立地选自 C_{1-4} 脂族基团;

每个 R^9 独立地选自氢或 C_{1-3} 脂族基团;

每个 R^{10} 独立地选自氧代、 $-\text{R}^{11}$ 、 $-\text{T-R}^{11}$ 或 $-\text{V-T-R}^{11}$;

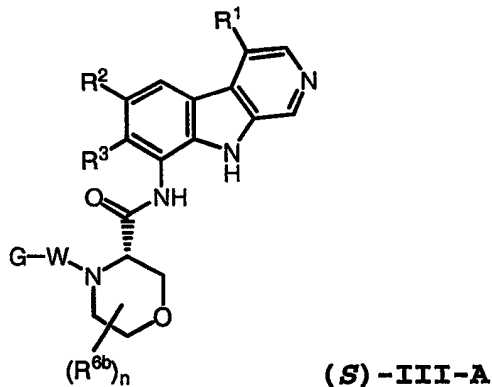
每个 R^{11} 独立地选自 C_{1-6} 脂族基团、卤素、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{OR}^7$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{SR}^8$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^8$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{CO}_2\text{R}^7$ 或 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$;

T 为直链或支链 C_{1-4} 亚烷基链;

V 为 -O-、-N(R⁷)-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-、-C(O)- 或 -CO₂-;
以及

R¹² 为氢或氨基酸侧链。

11. 根据权利要求 10 的化合物, 该化合物具有结构式(S)-III-A:



其中 n 为 0-4, 以及 R¹、R²、R³、W、G 和 R^{6b} 如权利要求 10 定义。

12. 根据权利要求 11 的化合物, 其中:

R¹ 为氢、卤素、甲基或氨基;

R² 为氢、甲基或卤素;

R³ 为氢、卤素、烷氧基或(C₁₋₆脂族基团)₂氨基;

n 为 0-2;

R^{6b} 为 C₁₋₃脂族基团;

W 为 -Q-、-Q-C(O)-、-C(R⁹)₂-C(R⁹)(R¹²)- 或 -C(R⁹)₂-[C(R⁹)(R¹²)]₂-;

Q 为 -C(R⁹)₂-或 -C(R⁹)₂C(R⁹)₂-;

G 为 -NR⁴R⁵、-N(R⁹)C(O)N R⁴R⁵、-N(R⁹)SO₂(C₁₋₃脂族基团)、-N(R⁹)C(O)CF₃、-N(R⁹)CO (C₁₋₆脂族基团)、-N(R⁹)CO(杂环基)、-N(R⁹)CO(杂芳基)、-N(R⁹)CO(芳基)、5-6 元杂环基

环或 5-6 元杂芳基，其中 G 中的每个杂芳基、芳基和杂环基部分任意地被 1-3 个 R^{10} 取代；

R^4 为氢或 C_{1-6} 脂族基团；

R^5 为氢或 C_{1-6} 脂族基团，该基团任意地被卤素、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-S(O)_2N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^8$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 取代；

每个 R^7 独立地选自氢或 C_{1-4} 脂族基团，或相同氮原子上的两个 R^7 与氮原子一起形成 5-6 元杂芳基或杂环基；

每个 R^8 独立地选自 C_{1-4} 脂族基团；

R^9 为氢；

每个 R^{10} 独立地选自氧代、 $-R^{11}$ 、 $-T-R^{11}$ 或 $-V-T-R^{11}$ ；

每个 R^{11} 独立地选自 C_{1-6} 脂族基团、卤素、 $-S(O)_2N(R^7)_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^7$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ ；

T 为直链或支链 C_{1-4} 亚烷基链；

V 为 $-O-$ 、 $-N(R^7)-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-C(O)-$ 或 $-CO_2-$ ；
以及

R^{12} 为氢、 C_{1-6} 脂族基团、取代或未取代苯基或取代或未取代苜基。

13. 根据权利要求 12 的化合物，其中：

R^1 为氢、甲基、氟或氨基；

R^2 为氟；

R^3 为氢或烷氧基；

n 为 0 或 2;

R^{6b} 为 甲基;

W 为 -Q-、 -Q-C(O)- 或 -C(R^9)₂-C(R^9)(R^{12})-;

Q 为 -C(R^9)₂- 或 -C(R^9)₂C(R^9)₂-;

G 为 -NR⁴R⁵、 -N(R^9)C(O)NR⁴R⁵、 -N(R^9)C(O)CF₃、
-N(R^9)CO (C₁₋₆ 脂族基团)、 -N(R^9)CO(杂环基)、 -N(R^9)CO(杂芳基)、 5-6 元杂环基环或 5-6 元杂芳基, 其中 G 中的每个杂芳基和杂环基部分任意地被 1-3 个 R¹⁰ 取代;

R⁴ 为 氢或 C₁₋₆ 脂族基团;

R⁵ 为 氢或 C₁₋₆ 脂族基团;

每个 R⁷ 独立地选自氢或 C₁₋₄ 脂族基团, 或相同氮原子上的两个 R⁷ 与氮原子一起形成 5-6 元杂芳基或杂环基;

每个 R⁸ 独立地选自 C₁₋₄ 脂族基团;

R⁹ 为 氢;

每个 R¹⁰ 独立地选自氧代、 -R¹¹、 -T-R¹¹ 或 -V-T-R¹¹;

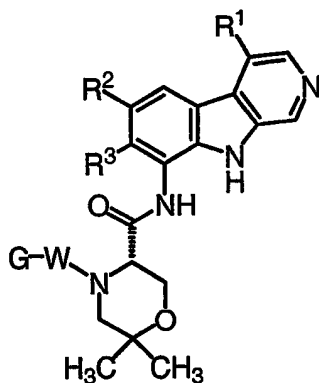
每个 R¹¹ 独立地选自 C₁₋₆ 脂族基团、 卤素、 -S(O)₂N(R^7)₂、
-OR⁷、 -CN、 -SR⁸、 -S(O)₂R⁸、 -C(O)R⁷、 -CO₂R⁷、 -N(R^7)₂、
-C(O)N(R^7)₂、 -N(R^7)C(O)R⁷、 -N(R^7)CO₂R⁷ 或
-N(R^7)C(O)N(R^7)₂;

T 为 直链或支链 C1-4 亚烷基链;

V 为 -O-、 -N(R^7)-、 -S-、 -S(O)-、 -S(O)₂-、 -C(O)- 或 -CO₂-;
以及

R¹² 为 氢、 C₁₋₆ 脂族基团、 苯基或苄基。

14. 式(S)-III-A'化合物或其可药用盐,



(S)-III-A'

其中:

R¹ 为氢、甲基、氟或氨基;

R² 为氯;

R³ 为氢或烷氧基;

W 为-Q-、-Q-C(O)-或-C(R⁹)₂-C(R⁹)(R¹²)-;

Q 为-C(R⁹)₂-或-C(R⁹)₂C(R⁹)₂-;

G 为 -NR⁴R⁵、-N(R⁹)C(O)NR⁴R⁵、-N(R⁹)C(O)CF₃、-N(R⁹)CO(C₁₋₆脂族基团)、-N(R⁹)CO(杂环基)、-N(R⁹)CO(杂芳基)、5-6元杂环基环或5-6元杂芳基, 其中G中的每个杂芳基和杂环基部分任意地被1-3个R¹⁰取代;

R⁴ 为氢或C₁₋₆脂族基团;

R⁵ 为氢或C₁₋₆脂族基团;

每个R⁷独立地选自氢或C₁₋₄脂族基团, 或相同氮原子上的两个R⁷与氮原子一起形成5-6元杂芳基或杂环基;

每个R⁸独立地选自C₁₋₄脂族基团;

R⁹ 为氢;

每个 R^{10} 独立地选自氧代、 $-R^{11}$ 、 $-T-R^{11}$ 或 $-V-T-R^{11}$;

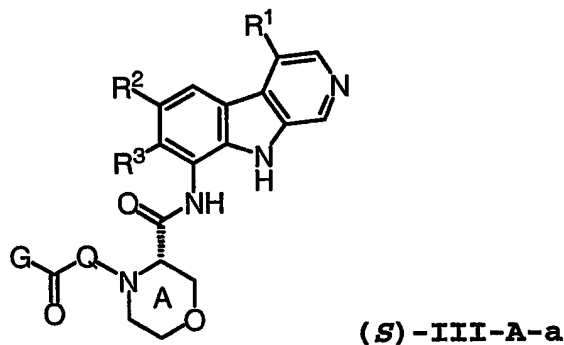
每个 R^{11} 独立地选自 C_{1-6} 脂族基团、卤素、 $-S(O)_2N(R^7)_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^7$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$;

T 为直链或支链 C_{1-4} 亚烷基链;

V 为 $-O-$ 、 $-N(R^7)-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-C(O)-$ 或 $-CO_2-$;
以及

R^{12} 为氢、 C_{1-6} 脂族基团、苯基或苄基。

15. 根据权利要求 14 的化合物, 该化合物具有结构式(S)-III-A-a,



其中:

R^1 为氢、卤素、甲基或氨基;

R^2 为氢、甲基或卤素;

R^3 为氢、卤素、烷氧基或 $(C_{1-6}$ 脂族基团)₂ 氨基;

环 A 被 0-2 个 R^{6b} 取代;

R^{6b} 为 C_{1-3} 脂族基团;

Q 为 $-C(R^9)_2-$ 或 $-C(R^9)_2C(R^9)_2-$;

G 为 $-NR^4R^5$ 或取代或未取代 5-6 元杂环基;

R^4 为氢或 C_{1-6} 脂族基团;

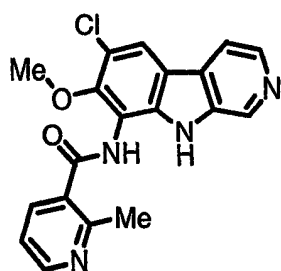
R^5 为氢或 C_{1-6} 脂族基团, 该基团任意地被卤素、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^8$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 取代;

每个 R^7 独立地选自氢或 C_{1-4} 脂族基团, 或相同氮原子上的两个 R^7 与氮原子一起形成 5-6 元杂芳基或杂环基;

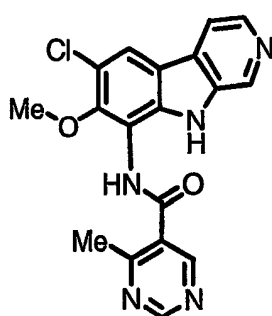
每个 R^8 独立地选自 C_{1-4} 脂族基团; 以及

每个 R^9 独立地选自 C_{1-3} 脂族基团。

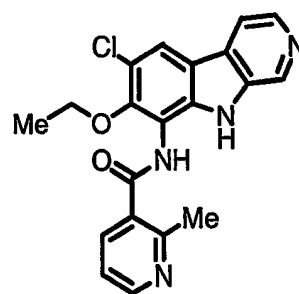
16. 选自下列结构式的化合物,



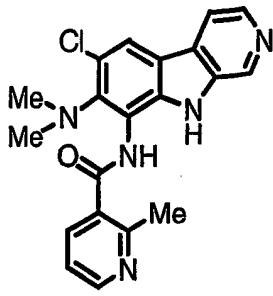
1



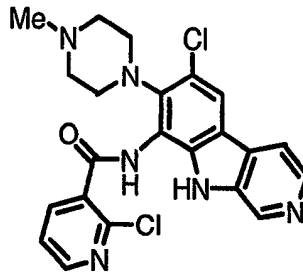
2



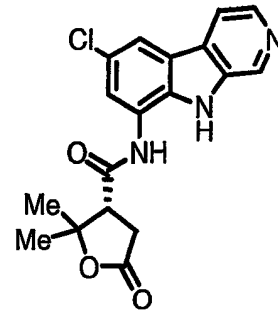
3



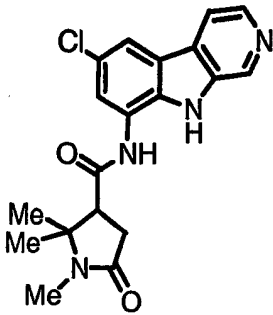
4



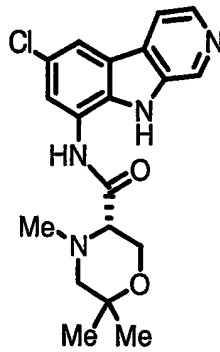
5



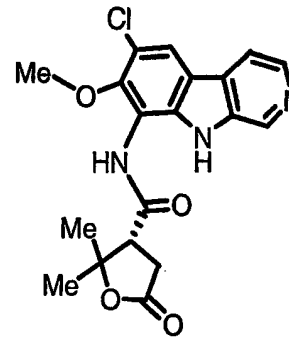
6



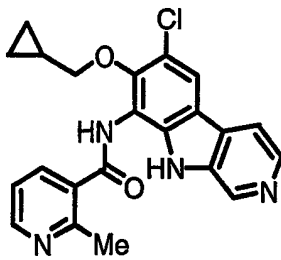
7



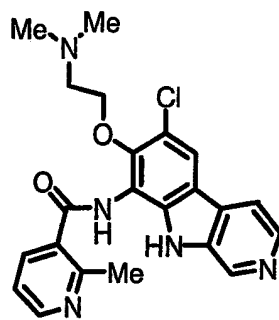
8



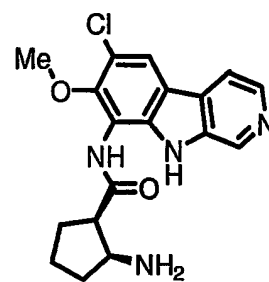
9



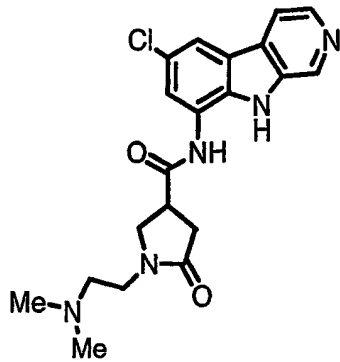
10



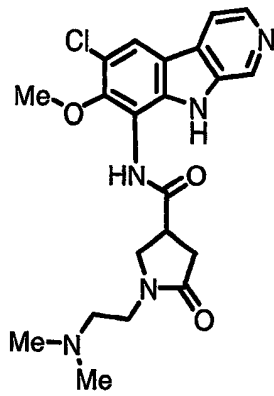
11



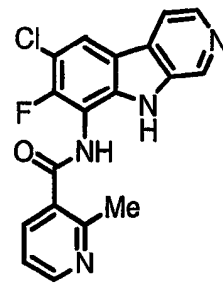
12



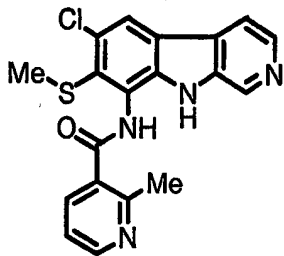
13



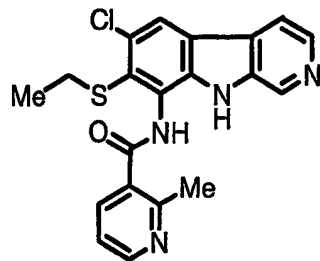
14



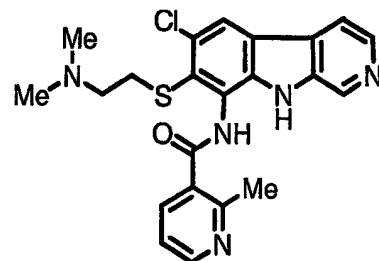
15



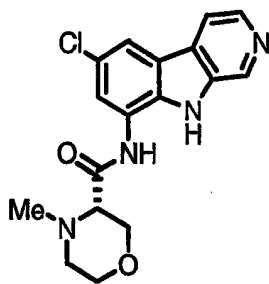
16



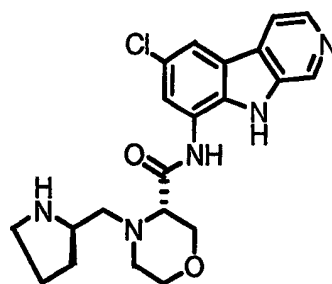
17



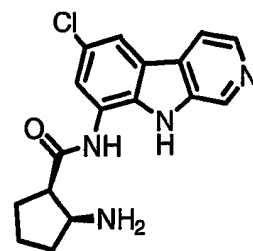
18



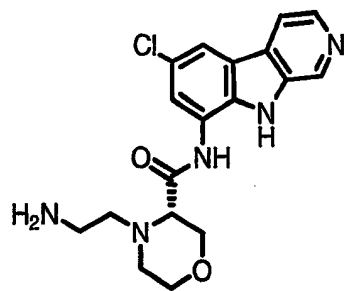
19



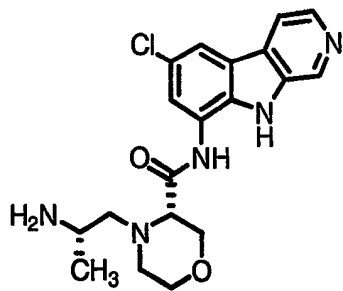
20



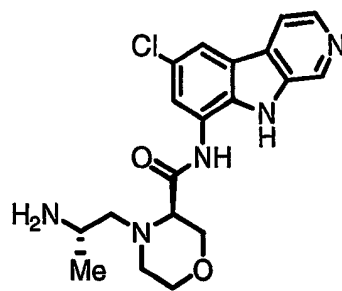
21



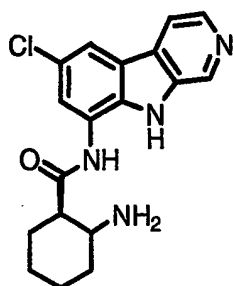
22



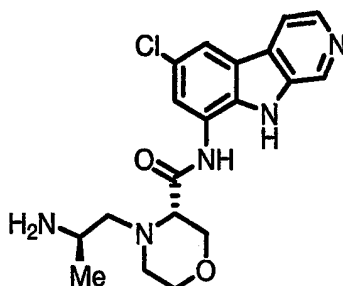
23



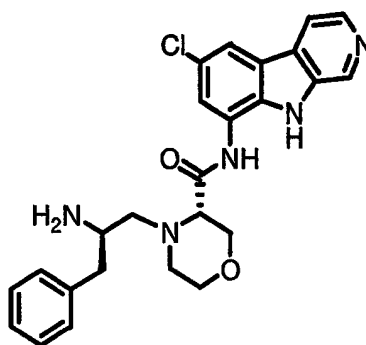
24



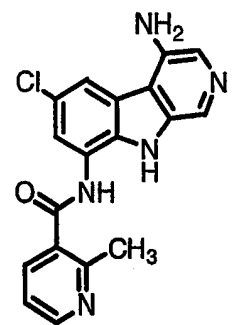
25



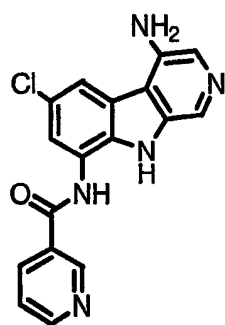
26



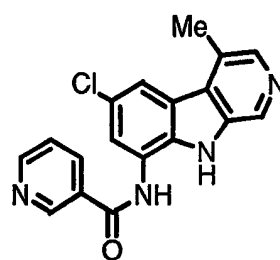
27



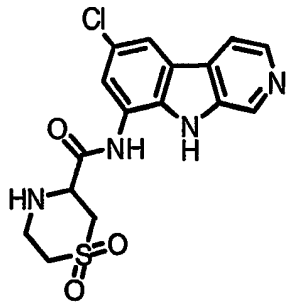
28



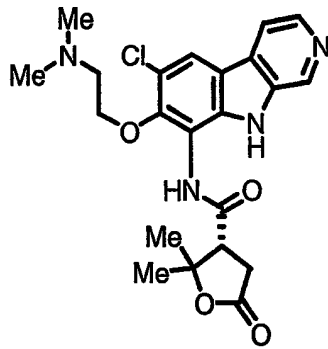
29



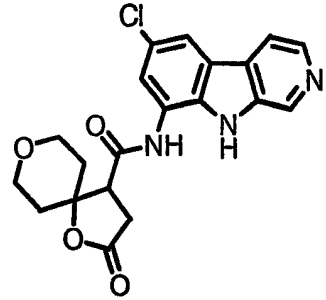
30



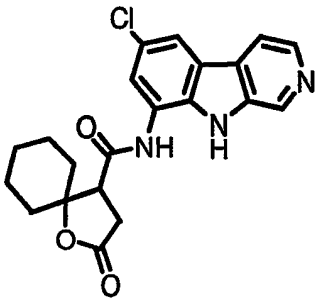
31



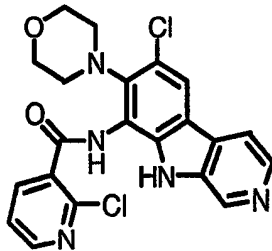
32



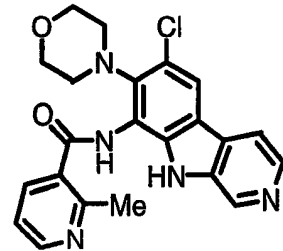
33



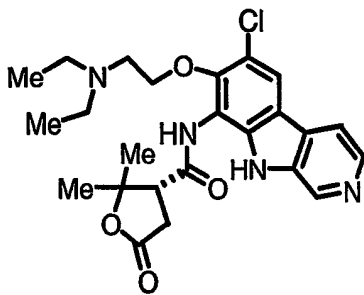
34



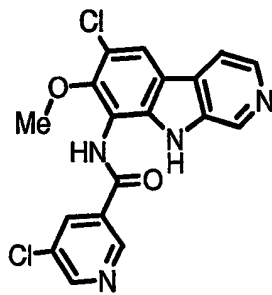
35



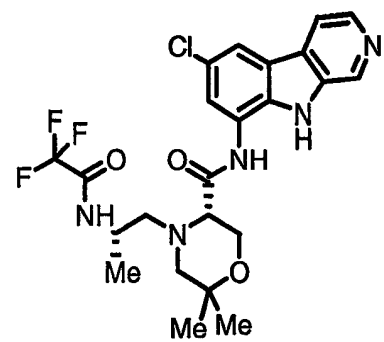
36



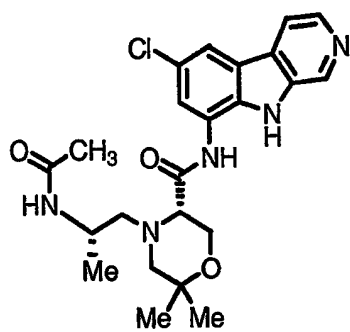
37



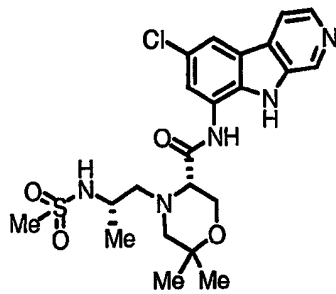
38



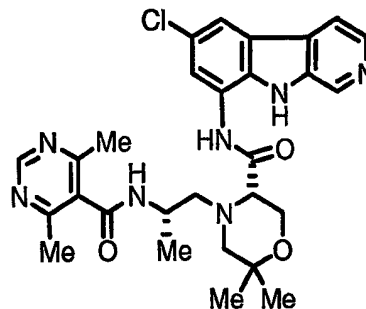
39



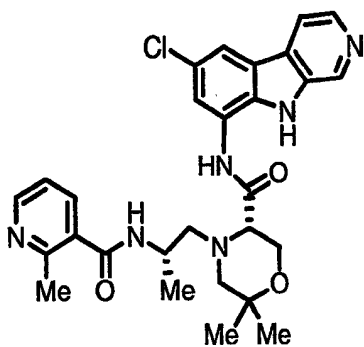
40



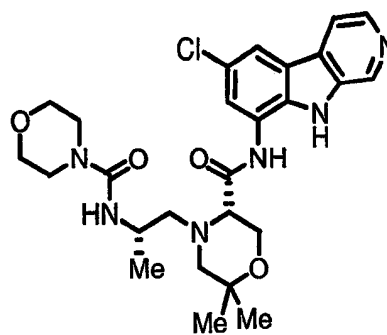
41



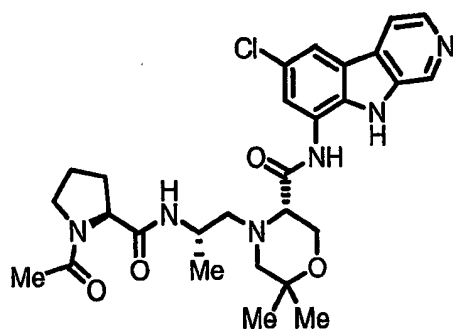
42



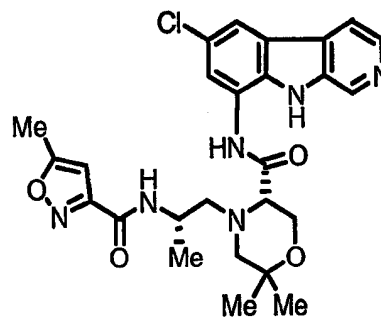
43



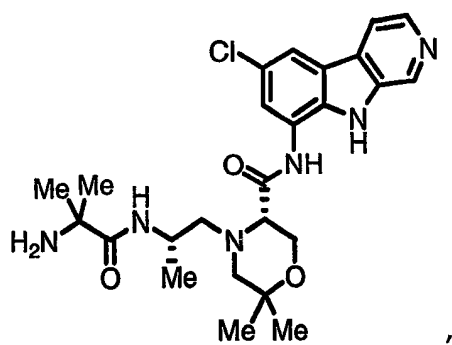
44



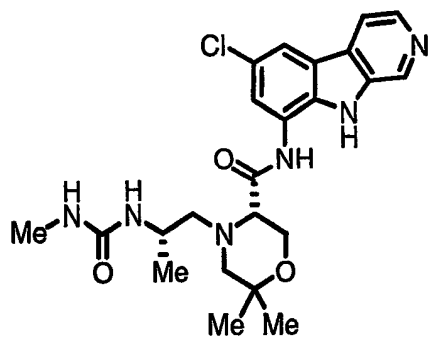
45



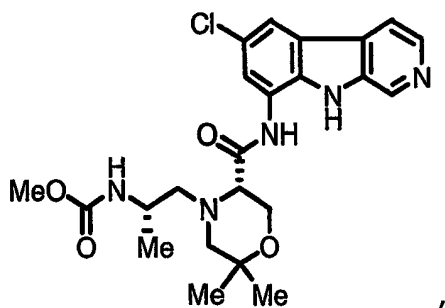
46



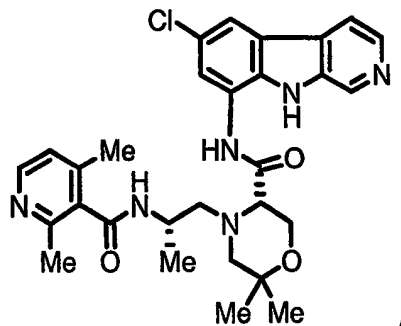
47



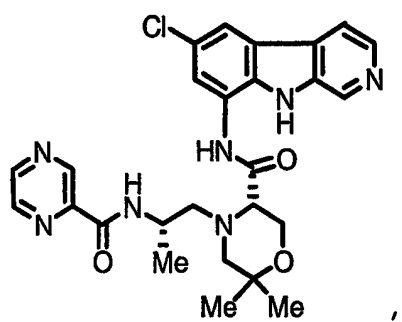
48



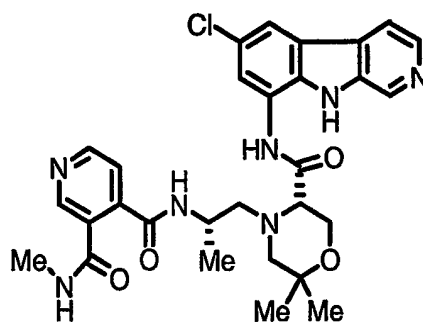
49



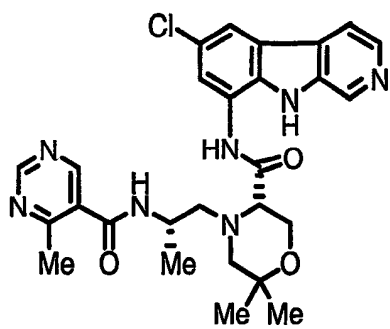
50



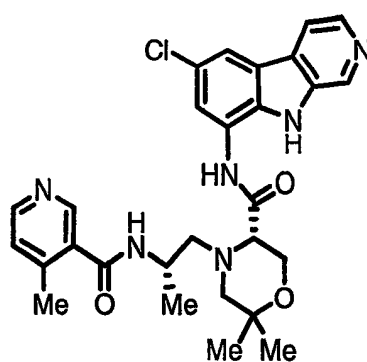
51



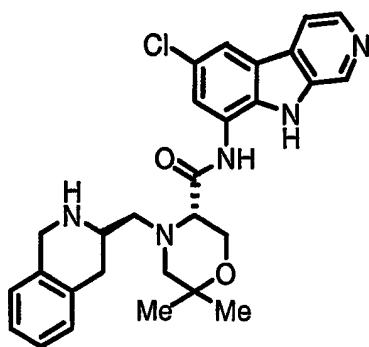
52



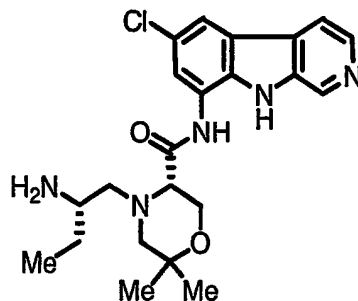
53



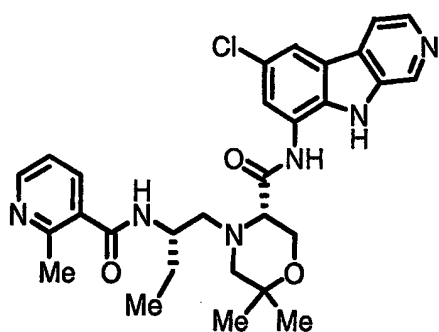
54



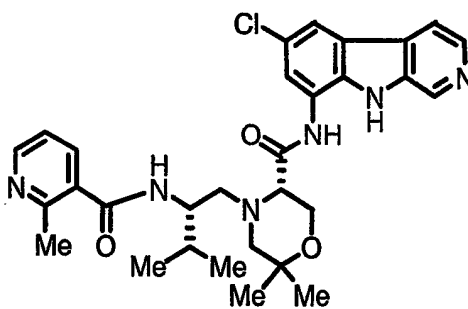
55



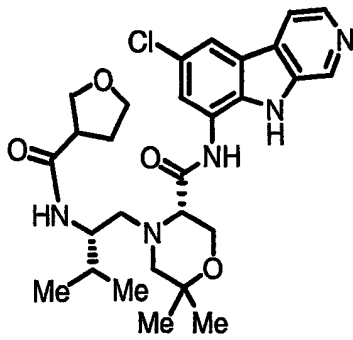
56



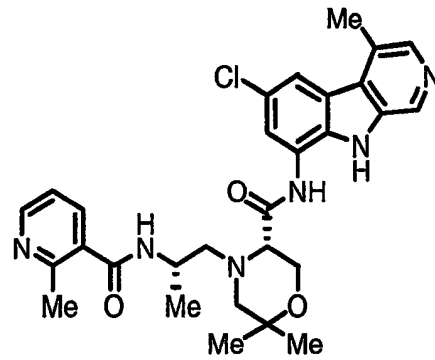
57



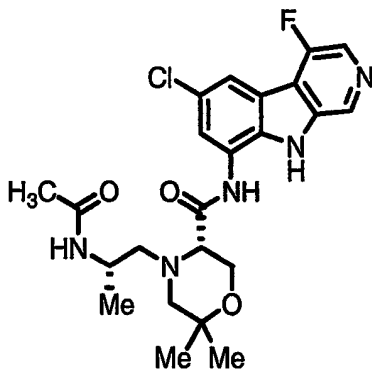
58



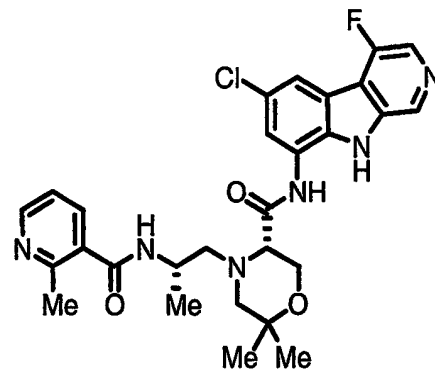
59



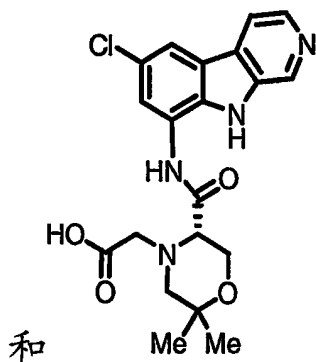
60



61



62

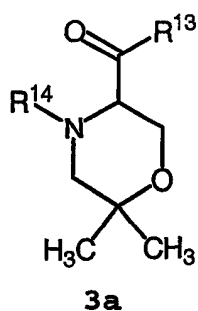


和

63

17. 一种药物组合物，该药物组合物包含权利要求 1 化合物和可药用载体。

18. 一种药物组合物，该药物组合物包含权利要求 16 化合物和可药用载体。
19. 一种治疗由 IKK 引起的疾病的方法，该方法包括对需要这类治疗的患者给用治疗有效量的权利要求 1 化合物。
20. 根据权利要求 19 的方法，其中所述疾病为炎症疾病或免疫相关疾病。
21. 根据权利要求 19 的方法，其中所述疾病选自：风湿性关节炎、哮喘、牛皮癣、鳞皮关节炎、慢性障碍性肺疾病、炎症肠疾病或多发性硬化症。
22. 根据权利要求 19 的方法，其中疾病为癌症。
23. 根据权利要求 22 的方法，其中所述癌症选自：淋巴瘤、多发性骨髓瘤、溶骨骨转移、头部和颈部鳞片状细胞癌、肺癌、前列腺癌或胰腺癌。
24. 根据权利要求 23 的方法，其中所述癌症为淋巴瘤。
25. 一种抑制患者 IKK 的方法，该方法包括对需要这类抑制的患者给用权利要求 1 的化合物。
26. 式 3a 化合物，



其中：

R^{13} 为卤素、OH、 OR^{15} 或羧酸保护基团；

R^{15} 为脂族基团、芳基、杂芳基、芳烷基或杂芳烷基；

R^{14} 为氨基保护基团、氢或-W-G；

W 为 -Q-、-Q-C(O)-、 $-C(R^9)_2-C(R^9)(R^{12})-$ 或 $-C(R^9)_2-[C(R^9)(R^{12})]_2-$ ；

Q 为 $-C(R^9)_2-$ 或 $-C(R^9)_2C(R^9)_2-$ ；

G 为 -OH、 $-NR^4R^5$ 、 $-N(R^9)CONR^4R^5$ 、 $-N(R^9)SO_2$ (C1-3 脂族基团)、 $-N(R^9)COCF_3$ 、 $-N(R^9)CO$ (C₁₋₆ 脂族基团)、 $-N(R^9)CO$ (杂环基)、 $-N(R^9)CO$ (杂芳基)、 $-N(R^9)CO$ (芳基)、3-7 元杂环基环或 5-6 元杂芳基，其中 G 中的每个杂芳基、芳基和杂环基部分任意地被 1-3 个 R^{10} 取代；

R^4 为氢、3-7 元杂环基或 C₁₋₆ 脂族基团；

R^5 为氢、C₁₋₆ 脂族基团或含 1-2 个选自 N、O 或 S 的环杂原子的 3-7 元杂环，其中 R^5 任意地被卤素、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-S(O)_2N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^8$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 取代；

每个 R^7 独立地选自氢或 C₁₋₄ 脂族基团，或相同氮原子上的两个 R^7 与氮原子一起形成 5-6 元杂芳基或杂环基；

每个 R^8 独立地选自 C₁₋₄ 脂族基团；

每个 R^9 独立地选自氢或 C₁₋₃ 脂族基团；

每个 R^{10} 独立地选自氧代、 $-R^{11}$ 、 $-T-R^{11}$ 或 $-V-T-R^{11}$ ；

每个 R^{11} 独立地选自 C₁₋₆ 脂族基团、卤素、 $-S(O)_2N(R^7)_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、

$-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{CO}_2\text{R}^7$ 或
 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$;

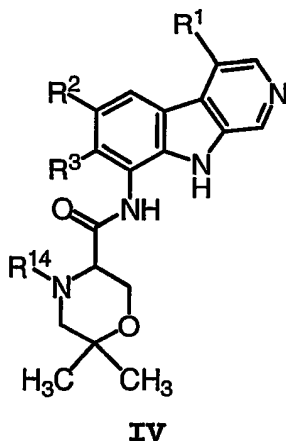
T 为直链或支链 C_{1-4} 亚烷基链;

V 为 $-\text{O}-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-$ 或 $-\text{CO}_2-$;
 以及

R^{12} 为氢或氨基酸侧链。

27. 根据权利要求 26 的化合物, 该化合物为 (S)-3a。

28. 式 IV 化合物,



其中:

R^{14} 为氨基保护基团或氢;

R^1 为氢、卤素、 C_{1-3} 脂族基团、氨基、氰基、 $(\text{C}_{1-3}$ 烷基) $_{1-2}$ 氨基、 C_{1-3} 烷氧基、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NHCOCF}_3$ 或 $-\text{CH}_2\text{NH}_2$;

R^2 为氢、卤素、 C_{1-3} 脂族基团、 $-\text{CF}_3$; 以及

R^3 为氢、卤素、 C_{1-6} 脂族基团、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、羟基、氨基、氰基或 $(\text{C}_{1-6}$ 烷基) $_{1-2}$ 氨基。

29. 根据权利要求 28 的化合物, 该化合物为 (S)-IV。

用于治疗炎性疾病的 β -咔啉

相关申请

本申请要求 2003 年 4 月 9 日申请的美国临时专利申请 60/461468 的利益。

发明领域

本发明涉及 β -咔啉化合物、其药物组合物，以及利用该组合物治疗疾病的方法。该化合物特别适用于治疗炎性疾病和癌症。

发明背景

转录(细胞核)因子 NF- κ B 是 Rel 蛋白家族成员，典型地为由 p50 和 p65 亚单位组成的杂环二聚物。NF- κ B 作为细胞溶质的组成存在于其中，其通过与 I κ B 家族抑制剂之一结合灭活。Palombella 等人在 WO 95/25533 中指出，泛蛋白-蛋白酶体途径在调节 NF- κ B 活性中起着本质性作用，负责处理 p105 和 p50，以及抑制剂蛋白 I κ B- α 的降解。Chen et al., Cell 84: 853 (1996)指出，在降解之前，I κ B- α 通过多个亚单位 I κ B 激酶复合物 (IKK)，在丝氨酸残基 32 和 36 中经历了选择性磷酸化反应。I κ B- α 被 IKK 磷酸化，其具有两种催化亚单位，即 IKK-1(I κ B 激酶 α 或 IKK- α) 和 IKK-2 (I κ B 激酶 β 或 IKK- β)。一旦被磷酸化，I κ B 就靶向泛蛋白化反应，并通过 26S 蛋白酶体降解，允许 NF- κ B 迁移至细胞核，在此与靶基因促进剂中的特定 DNA 序列结合，促进其转录。

抑制剂 IKK 可阻滞 I κ B 的磷酸化反应及其进一步的下游作用,特别是阻滞与 NF- κ B 转录因子的结合。

NF- κ B 调节控制下的基因蛋白产物包括细胞因子、趋化因子、细胞粘附分子和调节细胞生长和控制的蛋白质。重要的是,这些原炎性蛋白质也能够在自分泌或旁分泌形式下发生作用,从而进一步刺激 NF- κ B 活化。另外, NF- κ B 在正常和恶性细胞中起着作用。进一步地, NF- κ B 为杂环二聚物转录因子,与其它因子一样,其可活化大量能够为原炎性细胞因子编码的基因,所述细胞因子如 IL-1、IL-2、TNF α 或 IL-6。NF- κ B 存在于细胞的细胞溶质中,形成了含天然存在的抑制剂 I κ B 的复合物。通过细胞因子刺激细胞可导致 I κ B 的磷酸化,并接着导致蛋白水解。蛋白水解会导致 NF- κ B 活化,从而使其迁移至细胞的细胞核,活化大量的原炎性基因。

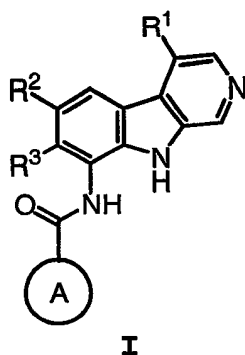
Rinehart 等人的美国专利 US 4,631,149 (1986)公开了用作抗病毒、抗细菌和抗肿瘤剂的 β -吡啶化合物

Ritzler 等人在 WO 01/68648 公开了具有 I κ B 激酶抑制活性的 β -吡啶化合物,可用于治疗炎性疾病(如风湿性关节炎)、哮喘、心肌梗塞、Alzheimer 疾病、癌瘤性疾病(细胞毒素作用增强治疗)和动脉硬化症。

人们希望有益地提供具有良好治疗性能的新 IKK 抑制剂,特别是具有治疗炎性疾病性能。

本发明描述

本发明提供了用于治疗由 IKK-2 引起的疾病(如炎性疾病和癌症)的化合物。该化合物由式 I 表示:



其中环 A 选自:

(a) 吡啶基或嘧啶基环, 该环被(i)-CH₂C(O)-G 和 0-1 个 R^{6a} 或(ii) 1-2 个 R^{6a} 取代, 以及

(b) 吗啉基、哌啶基、哌嗪基、吡咯烷基、吡喃基、四氢呋喃基、环己基、环戊基或硫代吗啉基环, 该环被(i)-C(R⁹)₃、-W-G 或 -G, (ii) 0-4 个 R^{6b} 和(iii) 0-1 个环碳上的氧基或 0-2 个环硫上的氧基取代;

每个 R^{6a} 独立地选自 C₁₋₆ 脂族基团、卤素、C₁₋₆ 烷氧基或氨基;

每个 R^{6b} 独立地选自 C₁₋₃ 脂族基团或 -N(R⁷)₂, 以及相同或相邻碳原子上的两个 R^{6b} 与插入的碳原子任意地一起形成含 1-2 个选自 N、O 或 S 的环杂原子的 5-6 元环;

W 为 -Q-、-Q-C(O)-、-C(R⁹)₂-C(R⁹)(R¹²)- 或 -C(R⁹)₂-[C(R⁹)(R¹²)]₂-;

Q 为 -C(R⁹)₂- 或 -C(R⁹)₂C(R⁹)₂-;

G 为 -OH、-NR⁴R⁵、-N(R⁹)CONR⁴R⁵、-N(R⁹)SO₂(C₁₋₃ 脂族基团)、-N(R⁹)COCF₃、-N(R⁹)CO (C₁₋₆ 脂族基团)、-N(R⁹)CO(杂环基)、-N(R⁹)CO(杂芳基)、-N(R⁹)CO(芳基)、3-7 元杂环基环或 5-6 元杂

芳基，其中 G 中的每个杂芳基、芳基和杂环基部分任意地被 1-3 个 R^{10} 取代；

R^1 为氢、卤素、 C_{1-3} 脂族基团、氨基、氰基、 $(C_{1-3}$ 烷基)₁₋₂ 氨基、 C_{1-3} 烷氧基、 $-CONH_2$ 、 $-NHCOCF_3$ 或 $-CH_2NH_2$ ；

R^2 为氢、卤素、 C_{1-3} 脂族基团、 $-CF_3$ ；

R^3 为氢、卤素、 C_{1-6} 脂族基团、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、羟基、氨基、氰基或 $(C_{1-6}$ 烷基)₁₋₂ 氨基；

R^4 为氢、3-7 元杂环基或 C_{1-6} 脂族基团；

R^5 为氢、 C_{1-6} 脂族基团或含 1-2 个选自 N、O 或 S 的环杂原子的 3-7 元杂环，其中 R^5 任意地被卤素、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-S(O)_2N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^8$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 取代；

每个 R^7 独立地选自氢或 C_{1-4} 脂族基团，或相同氮原子上的两个 R^7 与氮原子一起形成 5-6 元杂芳基或杂环基；

每个 R^8 独立地选自 C_{1-4} 脂族基团；

每个 R^9 独立地选自氢或 C_{1-3} 脂族基团；

每个 R^{10} 独立地选自氧代、 $-R^{11}$ 、 $-T-R^{11}$ 或 $-V-T-R^{11}$ ；

每个 R^{11} 独立地选自 C_{1-6} 脂族基团、卤素、 $-S(O)_2N(R^7)_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^7$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ ；

T 为直链或支链 C_{1-4} 亚烷基链；

V 为 -O-、-N(R⁷)-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-、-C(O)- 或 -CO₂-；以及

R¹² 为氢或氨基酸侧链。

这里使用的术语“脂族基团”是指直链、支链或环 C₁-C₁₂ 烃基团，其可完全饱和或含有一个或多个不饱和单元，但不是芳族基团。例如，适宜的脂族基团包括取代或未取代直链、支链或环烷基、链烯基、炔基基团及其混合物，所述混合物如(环烷基)烷基、(环烯基)烷基或(环烷基)链烯基。单独使用或作为较大基团的部分使用的术语“烷基”、“烷氧基”、“羟烷基”、“烷氧基烷基”和“烷氧羰基”包括含 1 至 12 个碳原子的直链或支链基团。单独使用或作为较大基团的部分使用的术语“链烯基”或“炔基”包括含 1 至 12 个碳原子的直链或支链基团。单独使用或作为较大基团的部分使用的术语“环烷基”包括完全饱和或含一个或多个不饱和单元的环 C₃-C₁₂ 烃基，但不是芳族基团。

术语“卤代烷基”、“卤代链烯基”和“卤代烷氧基”是指被一个或多个卤原子取代的烷基、链烯基或烷氧基。术语“卤素”是指 F、Cl、Br 或 I。

术语“杂原子”是指氮、氧或硫，其包括氮和硫的任何氧化形式及任何碱性氮的季铵化形式。另外，术语“氮”包括杂环中的可取代氮。作为实例，在含 0-3 个选自氧、硫或氮的杂原子饱和或部分不饱和环中，氮可以是 N (如在 3,4-二氢-2-吡咯基中)、NH (如在吡咯烷基中)或 NR⁺ (如在 N-取代吡咯烷基中)。

这里使用的术语“碳环”、“碳环基”、“碳环-”或“碳环的”是指 3 至 14 元脂族环系。不论是饱和或是部分不饱和，术语“碳环”、“碳环基”、“碳环-”或“碳环的”也指任意取代的环。术

语“碳环”、“碳环基”、“碳环-”或“碳环的”也包括与一个或多个芳族环或非芳族环稠合的脂族环，如在十氢萘基或四氢萘基中，其中基团或连接位置于脂族环中。

单独使用或作为较大基团的部分使用的术语“芳基”，如在“芳烷基”、“芳烷氧基”或“芳氧烷基”中芳基，包括5至14元芳环，如苯基、苄基、苯乙基、1-萘基、2-萘基、1-蒽基和2-蒽基。术语“芳基”也指任意取代的环。术语“芳基”也与术语“芳环”混用。“芳基”也包括其中芳族环与一个或多个环稠合的稠合多环芳族环系。实例包括1-萘基、2-萘基、1-蒽基和2-蒽基。正如这里所使用，术语“芳基”的范围也包括其中芳族环与一个或多个非芳族环稠合的基团，如茛满基、菲啶基或四氢萘基，其中基团或连接位置于芳族环中。

这里使用的术语“杂环”、“杂环基”或“杂环的”包括5至14元非芳族环系，优选5至10元环系，其中一个或多个环碳，优选1至4个环碳各自被杂原子如N、O或S取代。杂环的实例包括3-1H-苯并咪唑-2-酮、(1-取代)-2-氧代-苯并咪唑-3-基、2-四氢呋喃基、3-四氢呋喃基、2-四氢吡喃基、3-四氢吡喃基、4-四氢吡喃基、[1,3]-二氧杂环戊烷基、[1,3]-二硫杂环戊烷基、[1,3]-d二噁烷基、2-四氢噻吩基、3-四氢噻吩基、2-吗啉基、3-吗啉基、4-吗啉基、2-硫代吗啉基、3-硫代吗啉基、4-硫代吗啉基、1-吡咯烷基、2-吡咯烷基、3-吡咯烷基、1-哌嗪基、2-哌嗪基、1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基、4-哌啶基、4-噻唑烷基、diazolonyl、N-取代diazolonyl、1-苯并[c]吡咯酮基、苯并噁烷基、苯并吡咯烷基、苯并哌啶基、苯并氧杂环戊烷基、苯并硫杂环戊烷基和benzothianyl。正如这里所使用，术语“杂环基”或“杂环的”的范围还包括其中环杂原子的非芳族环与一个或多个芳族或非芳族的环稠合的基团，如二氢吲哚基、苯并二氢吡喃基、菲啶基或

四氢喹啉基，其中基团或连接位置于含杂原子的非芳族环中。不论是饱和或是部分不饱和，术语“杂环”、“杂环基”或“杂环”也指任意取代的环。

单独使用或作为较大基团的部分使用的术语“杂芳基”，如“杂芳烷基”或“杂芳烷氧基”，是指5至14元杂芳族环基团。杂芳基环的实例包括2-咪喃基、3-咪喃基、3-咪唑基、N-咪唑基、2-咪唑基、4-咪唑基、5-咪唑基、3-异噁唑基、4-异噁唑基、5-异噁唑基、2-噁二唑基、5-噁二唑基、2-噁唑基、4-噁唑基、5-噁唑基、1-吡咯基、2-吡咯基、3-吡咯基、1-吡唑基、2-吡唑基、3-吡唑基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-嘧啶基、3-哒嗪基、2-噻唑基、4-噻唑基、5-噻唑基、5-四唑基、2-三唑基、5-三唑基、2-噻吩基、3-噻吩基、呋唑基、苯并咪唑基、苯并噻吩基、苯并咪喃基、吲哚基、喹啉基、苯并三唑基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、苯并咪唑基、异喹啉基、吲唑基、异吲哚基、吡啶基或苯并异噁唑基。正如这里所使用，术语“杂芳基”的范围还包括其中环杂原子环与一个或多个芳族或非芳族的环稠合的基团，其中基团或连接位置于含杂原子的杂芳族环中。实例包括四氢喹啉基、四氢异喹啉基和吡啶并[3,4-d]嘧啶基。术语“杂芳基”也指任意取代的环。术语“杂芳基”可与术语“杂芳基环”或术语“杂芳族”混用。

芳基(包括芳烷基、芳烷氧基、芳氧基烷基等)或杂芳基(包括杂芳烷基和杂芳基烷氧基等)基团可包含一个或多个取代基。芳基、杂芳基、芳烷基或杂芳烷基基团的不饱和碳原子上的适宜取代基实例包括卤素、 $-R^0$ 、 $-OR^0$ 、 $-SR^0$ 、1,2-亚甲基二氧基、1,2-亚乙基二氧基、被护OH(如酰氧基)、苯基(Ph)、取代Ph、 $-O(Ph)$ 、取代 $-O(Ph)$ 、 $-CH_2(Ph)$ 、取代 $-CH_2(Ph)$ 、 $-CH_2CH_2(Ph)$ 、取代 $-CH_2CH_2(Ph)$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-N(R^0)_2$ 、 $-NR^0C(O)R^0$ 、 $-NR^0C(O)N(R^0)_2$ 、

-NR⁰CO₂R⁰、-NR⁰NR⁰C(O)R⁰、-NR⁰NR⁰C(O)N(R⁰)₂、
 -NR⁰NR⁰CO₂R⁰、-C(O)C(O)R⁰、-C(O)CH₂C(O)R⁰、-CO₂R⁰、
 -C(O)N(R⁰)₂、-OC(O)N(R⁰)₂、-S(O)₂R⁰、-SO₂N(R⁰)₂、-S(O)R⁰、
 -NR⁰SO₂N(R⁰)₂、-NR⁰SO₂R⁰、-C(=S)N(R⁰)₂、-C(=NH)-N(R⁰)₂、
 -(CH₂)_yNHC(O)R⁰、-(CH₂)_yNHC(O)CH(V-R⁰)(R⁰)；其中每个 R⁰
 独立地选自氢、取代或未取代脂族基团、未取代杂芳基或杂环、
 苯基(Ph)、取代 Ph、-O(Ph)、取代-O(Ph)、-CH₂(Ph)或取代
 -CH₂(Ph)；y 为 0-6；以及 V 为连接基团。脂族基团或 R⁰ 的苯环
 上的取代基的实例包括氨基、烷氨基、二烷氨基、氨基羰基、卤
 素、烷基、烷氨基羰基、二烷氨基羰基、烷氨基羰基氧基、二烷
 氨基羰基氧基、烷氧基、硝基、氰基、羧基、烷氧基羰基、烷基
 羰基、羟基、卤代烷氧基或卤代烷基。

脂族基团或非芳族杂环可包含一个或多个取代基。脂族基团
 或非芳族杂环的饱和碳 20 上的适宜取代基实例包括上述芳基或
 杂芳基基团的不饱和碳上的取代基以及下列基团：=O、=S、
 =NNHR*、=NN(R*)₂、=N-、=NNHC(O)R*、=NNHCO₂(烷基)、
 =NNHSO₂(烷基)或=NR*，其中每个 R* 独立地选自氢、不饱和脂
 族基团或取代脂族基团。脂族基团上的取代基实例包括氨基、烷
 氨基、二烷氨基、氨基羰基、卤素、烷基、烷氨基羰基、二烷氨
 基羰基、烷氨基羰基氧基、烷氧基、硝基、氰基、羧基、烷氧羰
 基、烷基羰基、羟基、卤代烷氧基或卤代烷基。

非芳族杂环的氮原子上的适宜取代基包括：-R⁺、-N(R⁺)₂、
 -C(O)R⁺、-CO₂R⁺、-C(O)C(O)R⁺、-C(O)CH₂C(O)R⁺、-SO₂R⁺、
 -SO₂N(R⁺)₂、-C(=S)N(R⁺)₂、-C(=NH)-N(R⁺)₂ 和 -NR⁺SO₂R⁺；其中
 每个 R⁺ 独立地选自氢、脂族基团、取代脂族基团、苯基(Ph)、取
 代 Ph、-O(Ph)、取代-O(Ph)、CH₂(Ph)、取代 CH₂(Ph)或未取代杂
 芳基或杂环。脂族基团或苯环上的取代基实例包括：氨基、烷氨

基、二烷基氨基、氨基羰基、卤素、烷基、烷氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷氨基羰基氧基、二烷基氨基羰基氧基、烷氧基、硝基、氰基、羧基、烷氧羰基、烷基羰基，羟基、卤代烷氧基或卤代烷基。

术语“连接基团”或“连接基”是指连接化合物两部分的有机部分。连接基典型地包含：原子，如氧或硫；基团单元，如-NH-、-CH₂-、-C(O)-、-C(O)NH-；或原子链，如亚烷基链。连接基的分子量范围典型地为大约 14 至 200，优选 14 至 96，其链长最多为大约 6 个原子。连接基的实例包括饱和或不饱和 C₁₋₆ 亚烷基链，其可任意地被取代，且其中该链的一个或两个饱和碳原子任意地被-C(O)-、-C(O)C(O)-、-CONH-、-CONHNH-、-CO₂-、-OC(O)-、-NHCO₂-、-O-、-NHCONH-、-OC(O)NH-、-NHNH-、-NHCO-、-S-、-SO-、-SO₂-、-NH-、-SO₂NH-或-NHSO₂-取代。

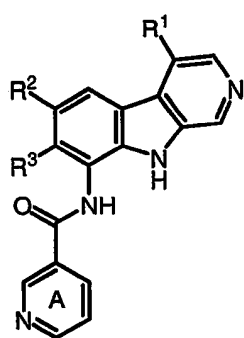
术语“亚烷基链”是指任意取代的直链或支链碳链，其可以是完全饱和，或含有一个或多个不饱和单元。任意的取代基如上文脂族基团所述。

取代基或其他可变基团的组合只有在这种组合能够得到稳定或化学可行的化合物的情况下才是允许的。所谓稳定化合物或化学可行化合物是指其中当温度维持在 40℃ 或更低、不存在潮湿或其他化学活性条件下至少一周时，化学结构基本上不发生变化的化合物。

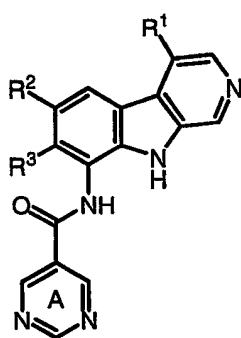
除非另外指明，这里描述的结构也指包括所有结构的立体化学形式，也就是各种不对称中心的 R 和 S 构型。由此，本发明化合物的单个立体化学异构体及其对映体和非对映体混合物都属于本发明的范围。除非另外指明，这里描述的结构也指包括仅在存在富含一个或多个同位素原子不同的化合物。例如，除了由氘

或氘代替氢，或由富含 ^{13}C -或 ^{14}C -的碳代替碳，具有本发明结构的化合物均属于本发明范围。

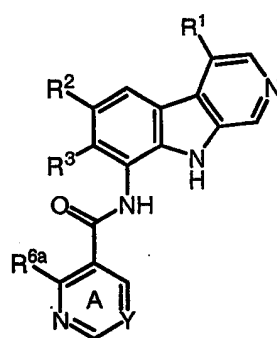
在本发明的一个实施方案中，环 A 选自被 1-2 R^{6a} 基团取代的吡啶基或嘧啶基环。在该实施方案中，优选的环 A 包括 3-吡啶基或 5-嘧啶基环，分别如下述式 II-A 和 II-B 化合物所示。



II-A



II-B



II-C (Y = N or CH)

优选地， R^{6a} 选自卤素或 C_{1-6} 脂族基团，如氯或甲基。当 R^{6a} 为脂族基团如甲基时， R^{6a} 基团的有利位置位于吡啶基环的 2-位或嘧啶基的 4-位，如上述结构式 II-C 所示。特别的环 A 部分为 2-甲基-3-吡啶基和 4-甲基-5-嘧啶基。本发明发现，其中 R^{6a} 为甲基的式 II-C 化合物在 IKK 抑制生物学试验中的效果令人惊讶地优于不带未取代环 A 吡啶的其它化合物，如上文提及的 Ritzeler 等人的 PCT 申请 WO 01/68648 中描述的那些化合物。

优选的 R^1 基团为小基团，如氢、甲基、氨基和氟。

优选的 R^2 基团包括氢和卤素。氯为优选的 R^2 卤素基团。

优选的 R^3 基团包括氢、卤素（特别是氯）和烷氧基。适宜的烷氧基基团包括 C_{1-4} 烷氧基基团，如甲氧基、乙氧基、丙氧基和氯丙基甲氧基。

在另一实施方案中，环 A 选自含 0-2 个选自氮、氧和硫的杂原子的 5-6 元非芳族环。它们通常是指式 III 化合物。非芳族环 A 基团的实例包括：吗啉基、哌啶基、哌嗪基、吡咯烷基、吡喃基、四氢呋喃基、环己基、环戊基和硫代吗啉基环。优选地，这类非芳族环被下述基团取代：(i)-C(R⁹)₃ 或 -W-G，(ii) 0-4 个 R^{6b}，以及 (iii) 环碳上的 0-1 个氧基或环硫上的 0-2 个氧基。更优选地，这类非芳族环被下述基团取代：(i)-W-G，(ii) 0-2 个 R^{6b}，以及 (iii) 环碳上的 0-1 个氧基或环硫上的 0-2 个氧基。

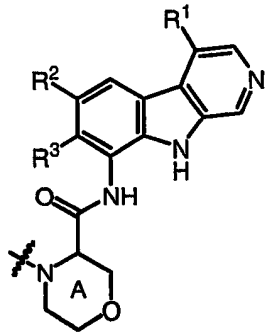
优选的 G 为 -NR⁴R⁵ 或 3-7 元杂环基。更优选的 G 为 -NR⁴R⁵ 或 5-6 元杂环基，其中 G 被 1-2 个 R¹⁰ 取代。

优选的 R⁴ 为氢、5-6 元杂环基或 C₁₋₆ 脂族基团，更优选氢或 C₁₋₆ 脂族基团。R⁴ 也可为 C₁₋₆ 烷氧基。

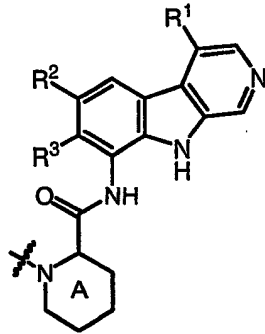
优选的 R⁵ 为氢、5-6 元杂环基或 C₁₋₆ 脂族基团，更优选氢或 C₁₋₆ 脂族基团。

其中环 A 为非芳族环的不同式 III 化合物如表 2 所示。为便于观察，除了在一些情况下的氧基，这些非芳族环 A 上的取代基没有表示出来。

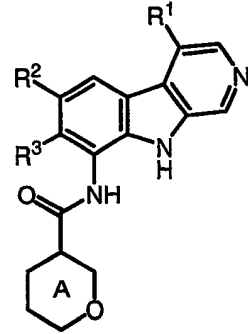
表 2 其中 A 为非芳族环的化合物



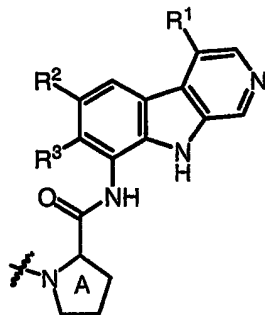
III-A



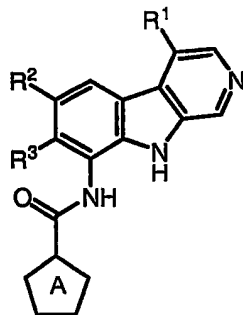
III-B



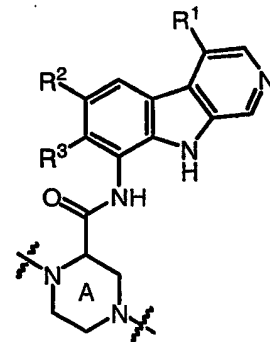
III-C



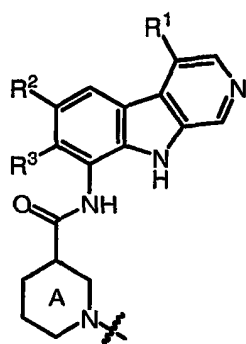
III-D



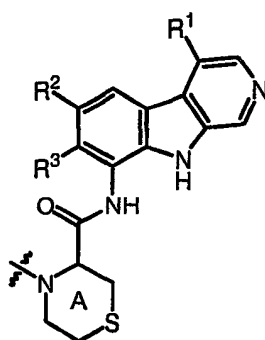
III-E



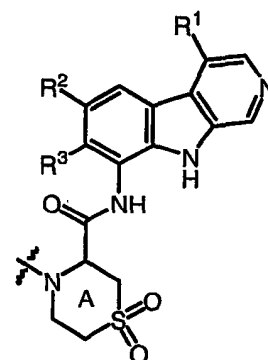
III-F



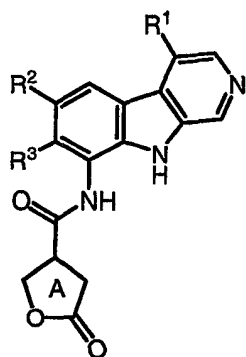
III-G



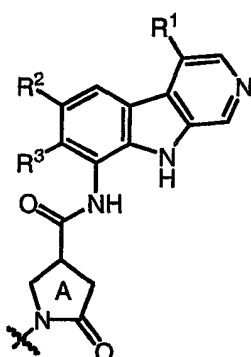
III-H



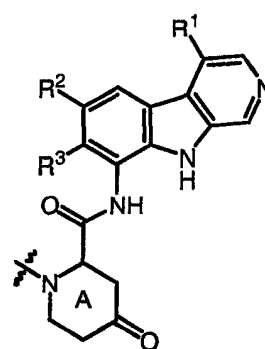
III-J



III-K



III-L



III-M

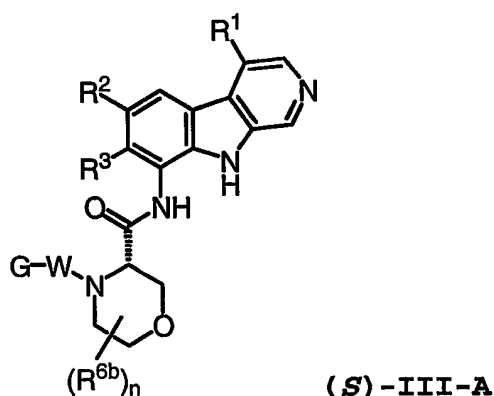
当环 A 为非芳族六-元杂环时,环 A 上的-W-G 和-C(R⁹)₃ 取代基的有利位置位于与 β-咪唑相连位置的邻位。例如,在化合物 III-A、III-B、III-D、III-H、III-J 和 III-M 中,-W-G 和-C(R⁹)₃ 的优选连接位置位于环 A 氮上,或在化合物 III-F 情况下位于 N-1 上。

优选地, W 为 -Q-、-Q-C(O)-、-C(R⁹)₂-C(R⁹)(R¹²)- 或 -C(R⁹)₂-[C(R⁹)(R¹²)]₂, 其中 R⁹ 为氢。更优选地, W 为 -Q-、-Q-C(O)- 或 -C(R⁹)₂-C(R⁹)(R¹²)-。R¹² 为氢、C₁₋₆ 脂族基团、取代或未取代苯基、取代或未取代苄基或氨基酸侧链,特别是天然氨基酸的侧链。特别的天然氨基酸的和实例包括丙氨酸、苯基丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、天冬氨酸和谷氨酸。

在一实施方案中，W 为 Q-C(O)-。在该实施方案中，优选的 Q 为 -CH₂- 或 -CH₂-CH₂-，更优选 -CH₂-。

在另一实施方案中，环 A 被 0-2 个 R^{6b} 取代。优选的 R^{6b} 为甲基。当环 A 为非芳族六元环时，一个实施方案提供了其中环 A 与 β-吡啶连接位置相对的位置上含有两个甲基基团的式 III 化合物。该实施方案的实例包括其中 A 为 6,6-二甲基-吗啉基环的化合物。优选地，这类化合物进一步地被上述 -W-G 取代。

当环 A 为吗啉基环时，人们发现其中在吗啉环的 3 位含有“S”立体化学的化合物为优选化合物，如下述式 (S)-III-A 化合物所示。



其中 n 为 0-4，以及 R¹、R²、R³、W、G 和 R^{6b} 如上文所示。类似地，人们期望“S”立体化学对于其它式 III 六-元非芳族环 A 化合物也是优选的。

一个实施方案涉及式 III-A 或 (S)-III-A 化合物，其中 R¹ 为氢、卤素、甲基或氨基；

R² 为氢、甲基或卤素；

R³ 为氢、卤素、烷氧基或 (C₁₋₆ 脂族基团)₂ 氨基；

环 A 被 0-2 个 R^{6b} 取代;

R^{6b} 为 C_{1-3} 脂族基团;

W 为 $-Q-$ 、 $-Q-C(O)-$ 、 $-C(R^9)_2-C(R^9)(R^{12})-$ 或 $-C(R^9)_2-[C(R^9)(R^{12})]_2-$;

Q 为 $-C(R^9)_2-$ 或 $-C(R^9)_2C(R^9)_2-$;

G 为 $-NR^4R^5$ 、 $-N(R^9)C(O)NR^4R^5$ 、 $-N(R^9)SO_2(C_{1-3} \text{ 脂族基团})$ 、 $-N(R^9)C(O)CF_3$ 、 $-N(R^9)CO(C_{1-6} \text{ 脂族基团})$ 、 $-N(R^9)CO(\text{杂环基})$ 、 $-N(R^9)CO(\text{杂芳基})$ 、 $-N(R^9)CO(\text{芳基})$ 、5-6 元杂环基环或 5-6 元杂芳基, 其中 G 中的每个杂芳基、芳基和杂环基部分任意地被 1-3 个 R^{10} 取代;

R^4 为氢或 C_{1-6} 脂族基团;

R^5 为氢或 C_{1-6} 脂族基团, 该基团任意地被卤素、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-S(O)_2N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^8$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 取代;

每个 R^7 独立地选自氢或 C_{1-4} 脂族基团, 或相同氮原子上的两个 R^7 与氮原子一起形成 5-6 元杂芳基或杂环基;

每个 R^8 独立地选自 C_{1-4} 脂族基团;

R^9 为氢;

每个 R^{10} 独立地选自氧代、 $-R^{11}$ 、 $-T-R^{11}$ 或 $-V-T-R^{11}$;

每个 R^{11} 独立地选自 C_{1-6} 脂族基团、卤素、 $-S(O)_2N(R^7)_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^7$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$;

T 为直链或支链 C_{1-4} 亚烷基链;

V 为 $-O-$ 、 $-N(R^7)-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-C(O)-$ 或 $-CO_2-$; 以及

R^{12} 为氢、 C_{1-6} 脂族基团、取代或未取代苯基或取代或未取代苄基。

另一实施方案涉及式 III-A 或 (S)-III-A 化合物, 其中:

R^1 为氢、甲基、氟或氨基;

R^2 为氟;

R^3 为氢或烷氧基;

环 A 被 $-W-G$ 和 0-2 个 R^{6b} 取代;

R^{6b} 为甲基;

W 为 $-Q-$ 、 $-Q-C(O)-$ 或 $-C(R^9)_2-C(R^9)(R^{12})-$;

Q 为 $-C(R^9)_2-$ 或 $-C(R^9)_2C(R^9)_2-$;

G 为 $-NR^4R^5$ 、 $-N(R^9)C(O)NR^4R^5$ 、 $-N(R^9)C(O)CF_3$ 、 $-N(R^9)CO$ (C_{1-6} 脂族基团)、 $-N(R^9)CO$ (杂环基)、 $-N(R^9)CO$ (杂芳基)、5-6 元杂环基环或 5-6 元杂芳基, 其中 G 中的每个杂芳基和杂环基部分任意地被 1-3 个 R^{10} 取代;

R^4 为氢或 C_{1-6} 脂族基团;

R^5 为氢或 C_{1-6} 脂族基团;

每个 R^7 独立地选自氢或 C_{1-4} 脂族基团, 或相同氮原子上的两个 R^7 与氮原子一起形成 5-6 元杂芳基或杂环基;

每个 R^8 独立地选自 C_{1-4} 脂族基团;

R^9 为氢;

每个 R^{10} 独立地选自氧代、 $-R^{11}$ 、 $-T-R^{11}$ 或 $-V-T-R^{11}$;

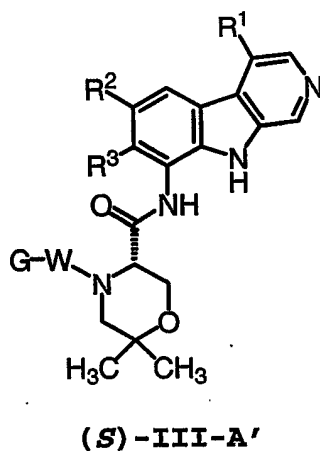
每个 R^{11} 独立地选自 C_{1-6} 脂族基团、卤素、 $-S(O)_2N(R^7)_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^7$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$;

T 为直链或支链 C_{1-4} 亚烷基链;

V 为 $-O-$ 、 $-N(R^7)-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-C(O)-$ 或 $-CO_2-$; 以及

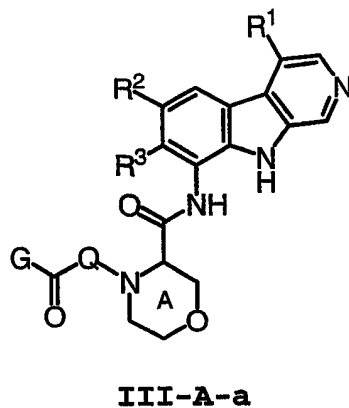
R^{12} 为氢、 C_{1-6} 脂族基团、苯基或苄基。

优选的式 III-A 化合物为式(S)-III-A'化合物:



其中 R¹、R²、R³、W 和 G 如上文(S)-III-A 中的定义。

另一实施方案涉及式 III-A-a 化合物或其可药用盐,



其中:

Q 为 -CH₂-、-CH(R⁹)-或 -C(R⁹)₂-;

G 为 -NR⁴R⁵ 或 3-7 元杂环基或杂芳基环, 该基团任意地被 1-2 个 R¹⁰ 取代;

R^1 为氢、卤素、 C_{1-3} 脂族基团、氨基、氰基、 $(C_{1-3}$ 烷基)₁₋₂ 氨基、 C_{1-3} 烷氧基、 $(C_{1-3}$ 脂族基团)-C(O)-、 $(C_{1-6}$ 脂族基团)-CO₂- 或 $(C_{1-3}$ 脂族基团)-C(O)NH-;

R^2 为氢、卤素、 C_{1-3} 脂族基团、 C_{1-3} 烷氧基、 C_{1-3} 卤代烷氧基 或 C_{1-3} 卤代烷基;

R^3 为氢、卤素、 C_{1-6} 脂族基团、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、羟基、氨基、氰基或 $(C_{1-6}$ 烷基)₁₋₂ 氨基;

R^4 为氢或 C_{1-6} 脂族基团;

R^5 为 C_{1-6} 脂族基团, 该基团任意地被卤素、-OR⁷、-CN、-SR⁸、-S(O)₂R⁸、-C(O)R⁷、-CO₂R⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)CO₂R⁸ 或 -N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂ 取代;

环 A 被 0-4 个 R^{6b} 取代;

每个 R^{6b} 独立地选自 C_{1-6} 脂族基团;

每个 R⁷ 独立地选自氢或 C_{1-4} 脂族基团, 或相同氮原子上的两个 R⁷ 与氮原子一起形成 5-6 元杂芳基或杂环基;

每个 R⁸ 独立地选自 C_{1-4} 脂族基团;

每个 R⁹ 独立地选自 C_{1-3} 脂族基团;

每个 R¹⁰ 独立地选自 -R¹¹、-T-R¹¹ 或 -V-T-R¹¹;

每个 R¹¹ 独立地选自 C_{1-6} 脂族基团、卤素、-OR⁷、-CN、-SR⁸、-S(O)₂R⁸、-C(O)R⁷、-CO₂R⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)CO₂R⁷ 或 -N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂;

T 为直链或支链 C_{1-4} 亚烷基链； 以及

V 为 $-O-$ 、 $-N(R^7)-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-C(O)-$ 或 $-CO_2-$ 。

一个实施方案涉及式 III-A-a 化合物， 其中：

Q 为 $-CH_2-$ 或 $-CH(R^9)-$ ；

G 为 $-NR^4R^5$ 或 5-6 元杂环基或杂芳基环， 该基团任意地被 1-2 个 R^{10} 取代；

R^1 为氢、 卤素、 C_{1-2} 脂族基团、 氨基或 $(C_{1-2} \text{烷基})_{1-2}$ 氨基；

R^2 为氢、 卤素、 C_{1-2} 脂族基团、 C_{1-2} 烷氧基或 C_{1-2} 卤代烷基；

R^3 为氢、 卤素、 C_{1-2} 脂族基团、 C_{1-2} 烷氧基或 C_{1-2} 卤代烷基；

R^4 为氢或 C_{1-6} 脂族基团；

R^5 为 C_{1-6} 脂族基团， 该基团任意地被卤素、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^8$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 取代；

环 A 被 0-2 个 R^{6b} 取代；

每个 R^{6b} 独立地选自 C_{1-3} 脂族基团；

每个 R^7 独立地选自氢或 C_{1-4} 脂族基团， 或相同氮原子上的两个 R^7 与氮原子一起形成 5-6 元杂芳基或杂环基；

R^8 为 C_{1-4} 脂族基团；

R^9 独立地选自 C_{1-3} 脂族基团;

每个 R^{10} 独立地选自 $-R^{11}$ 、 $-T-R^{11}$ 或 $-V-T-R^{11}$;

每个 R^{11} 独立地选自 C_{1-6} 脂族基团、卤素、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^7$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$;

T 为直链或支链 C_{1-4} 亚烷基链; 以及

V 为 $-O-$ 、 $-N(R^7)-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-C(O)-$ 或 $-CO_2-$ 。

另一实施方案涉及式 III-A-a 化合物, 其中:

Q 为 $-CH_2-$ 或 $-CH(R^9)-$;

G 为 $-NR^4R^5$ 或含 1-2 个选自氧或氮的杂原子的 5-6 元杂环基, 该基团任意地被 1-2 个 R^{10} 取代;

R^1 为氢、卤素、甲基、氨基或 $(C_{1-2}$ 烷基)₁₋₂ 氨基;

R^2 为氢、卤素、 C_{1-2} 脂族基团或 C_{1-2} 卤代烷基;

R^3 为氢、卤素或 C_{1-2} 脂族基团;

R^4 为氢或 C_{1-6} 脂族基团;

R^5 为 C_{1-6} 脂族基团, 该基团任意地被卤素、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^8$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 取代;

环 A 被 0 或 2 个 R^{6b} 取代;

每个 R^{6b} 独立地选自 C_{1-3} 脂族基团;

每个 R^7 独立地选自氢或 C_{1-4} 脂族基团, 或相同氮原子上的两个 R^7 与氮原子一起形成 5-6 元杂芳基或杂环基;

R^8 为 C_{1-4} 脂族基团;

R^9 独立地选自 C_{1-3} 脂族基团;

每个 R^{10} 独立地选自 $-R^{11}$ 、 $-T-R^{11}$ 或 $-V-T-R^{11}$;

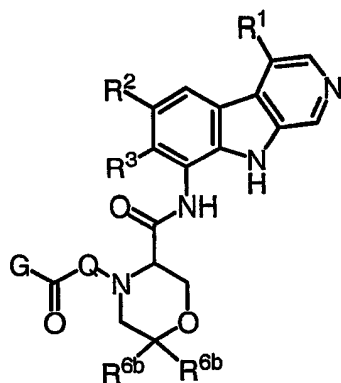
每个 R^{11} 独立地选自 C_{1-6} 脂族基团、卤素、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^7$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$;

T 为直链或支链 C_{1-4} 亚烷基链; 以及

V 为 $-O-$ 、 $-N(R^7)-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-C(O)-$ 或 $-CO_2-$ 。

在优选的式 III-A-a 化合物中, Q 为 $-CH_2-$; G 选自任意取代的哌啶基、哌嗪基、吗啉基、吡咯烷基或 $-NR^4R^5$; R^4 为氢或 C_{1-6} 脂族基团; 以及 R^5 为 C_{1-6} 脂族基团、5-6 元杂环基或 C_{1-6} 羟烷基。在更优选的该化合物中, G 为未取代或被独立选自 C_{1-3} 烷基、HO-烷基、烷氧羰基、一或二烷氨基羰基和 HO_2C- 烷基的 1-2 个基团取代。在每个上述实施方案的式 III-A-a 化合物中, 位于吗啉 3-位上(S)立体化学为优选。

另一实施方案涉及式 III-A-aa 化合物及其可药用盐，



其中：

Q 为 $-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{CH}(\text{R}^9)-$ ；

G 为 $-\text{NR}^4\text{R}^5$ 或 3-7 元杂环基，该基团任意地被 1-2 个 R^{10} 取代；

R^1 为氢、卤素、 C_{1-2} 烷基、氨基或 $(\text{C}_{1-2} \text{烷基})_{1-2}$ 氨基；

R^2 为氢、卤素、 C_{1-2} 脂族基团、 C_{1-2} 烷氧基或 C_{1-2} 卤代烷基；

R^3 为氢、卤素、 C_{1-2} 脂族基团、 C_{1-2} 烷氧基或 C_{1-2} 卤代烷基；

R^4 为氢或 C_{1-6} 脂族基团；

R^5 为 C_{1-6} 脂族基团，该基团任意地被卤素、 $-\text{OR}^7$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{SR}^8$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^8$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{CO}_2\text{R}^8$ 或 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 取代；

每个 R^{6b} 独立地选自 C_{1-6} 脂族基团；

每个 R^7 独立地选自氢或 C_{1-4} 脂族基团, 或相同氮原子上的两个 R^7 与氮原子一起形成 5-6 元杂芳基或杂环基;

R^8 为 C_{1-4} 脂族基团;

R^9 独立地选自 C_{1-3} 脂族基团;

每个 R^{10} 独立地选自 $-R^{11}$ 、 $-T-R^{11}$ 或 $-V-T-R^{11}$;

每个 R^{11} 独立地选自 C_{1-6} 脂族基团、卤素、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^7$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$;

T 为直链或支链 C_{1-4} 亚烷基链; 以及

V 为 $-O-$ 、 $-N(R^7)-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-C(O)-$ 或 $-CO_2-$ 。

另一实施方案涉及式 III-A-aa 化合物, 其中:

Q 为 $-CH_2-$;

G 为 $-NR^4R^5$ 或 5-6 元杂环基, 该基团任意地被 1-2 个 R^{10} 取代;

R^1 为氢、卤素或甲基;

R^2 为氢、卤素、 C_{1-2} 脂族基团、 C_{1-2} 烷氧基或 C_{1-2} 卤代烷基;

R^3 为氢;

R^4 为氢或 C_{1-6} 脂族基团;

R^5 为 C_{1-6} 脂族基团, 该基团任意地被卤素、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^8$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 取代;

每个 R^{6b} 独立地选自氢或 C_{1-6} 脂族基团;

每个 R^7 独立地选自氢或 C_{1-4} 脂族基团, 或相同氮原子上的两个 R^7 与氮原子一起形成 5-6 元杂芳基或杂环基;

R^8 为 C_{1-4} 脂族基团;

每个 R^{10} 独立地选自 $-R^{11}$ 、 $-T-R^{11}$ 或 $-V-T-R^{11}$;

每个 R^{11} 独立地选自 C_{1-6} 脂族基团、卤素、 $-OR^7$ 、 $-CN$ 、 $-SR^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)CO_2R^7$ 或 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$;

T 为直链或支链 C_{1-4} 亚烷基链; 以及

V 为 $-O-$ 、 $-N(R^7)-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-C(O)-$ 或 $-CO_2-$ 。

在优选的式 III-A-aa 化合物中,

Q 为 $-CH_2-$;

G 选自任意取代的哌啶基、哌嗪基、吗啉基、吡咯烷基或 $-NR^4R^5$;

R^1 为氢、卤素或甲基;

R^2 为卤素;

R^3 为氢;

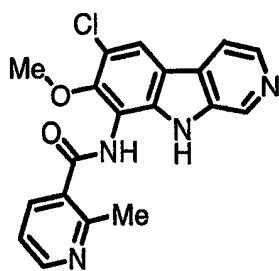
R^4 为氢或 C_{1-6} 脂族基团;

R^5 为 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 脂族基团或 C_{1-6} 羟烷基;

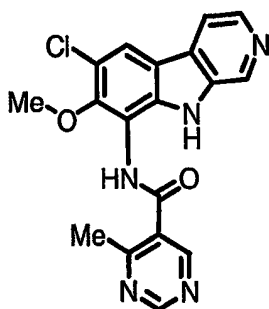
每个 R^{6b} 独立地选自氢或 C_{1-3} 脂族基团。优选地, 每个 R^{6b} 为氢或甲基。对于上述每个实施方案中的式 III-A-aa 化合物, (S) 立体化学优选位于环 A 咪啉的 3-位上。

特定式 I 化合物的实例如下列表 3 和 4 所示。

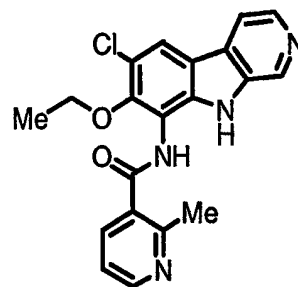
表 3 式 I 化合物的特例



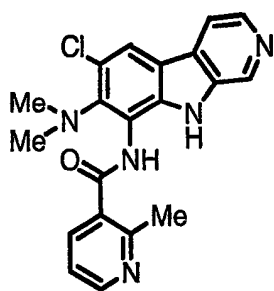
1



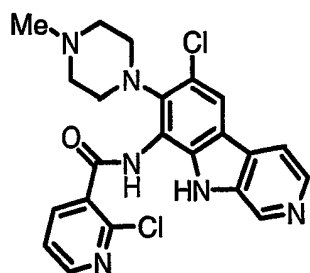
2



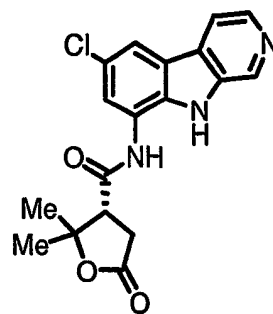
3



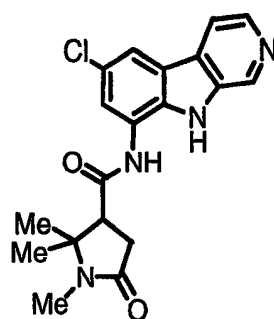
4



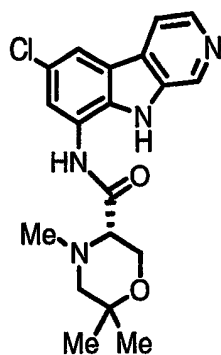
5



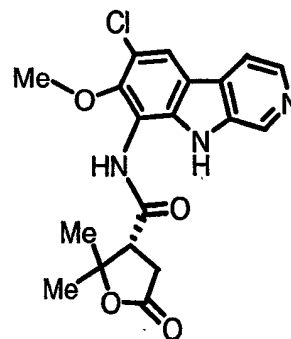
6



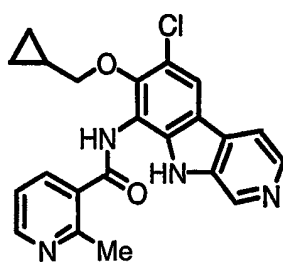
7



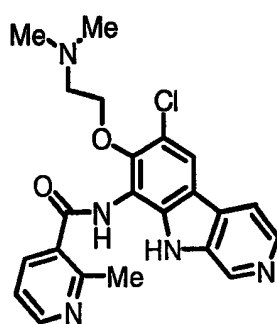
8



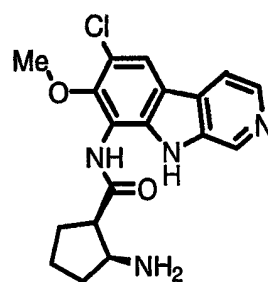
9



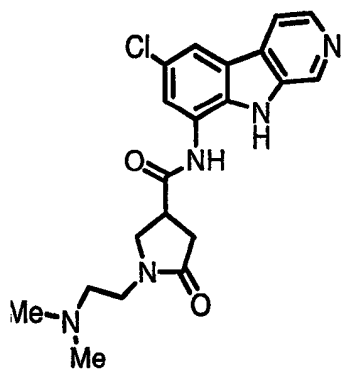
10



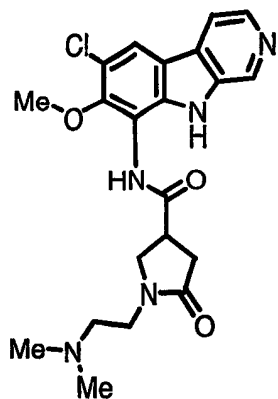
11



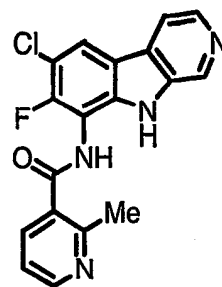
12



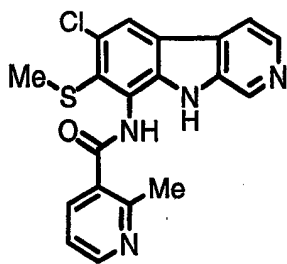
13



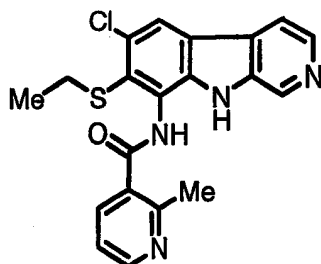
14



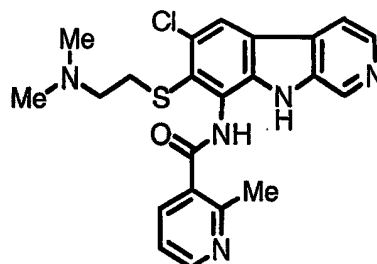
15



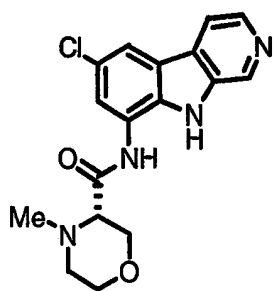
16



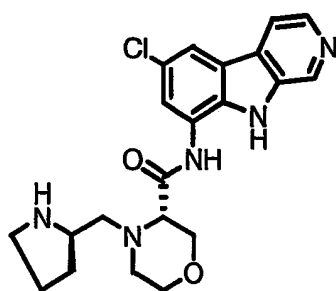
17



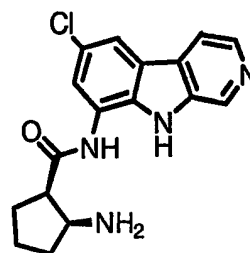
18



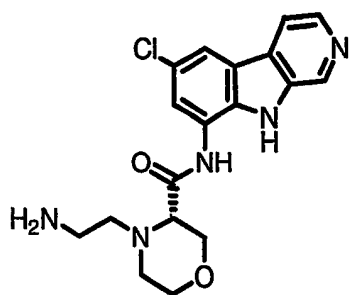
19



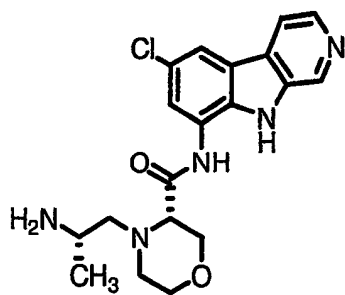
20



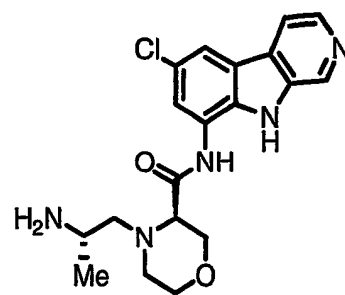
21



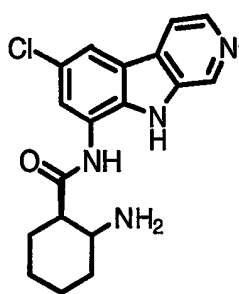
22



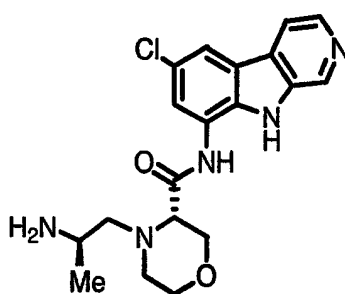
23



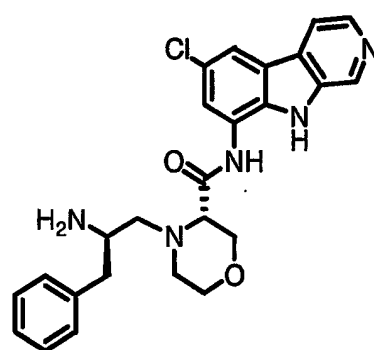
24



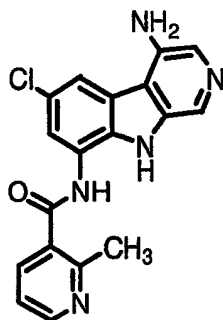
25



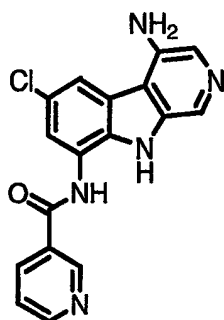
26



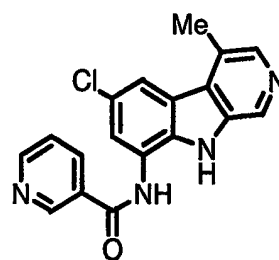
27



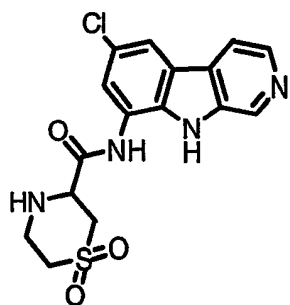
28



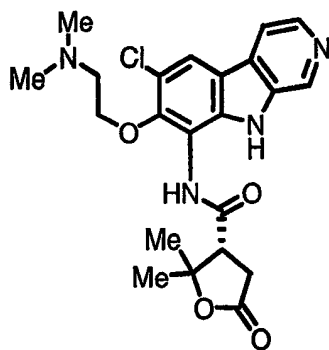
29



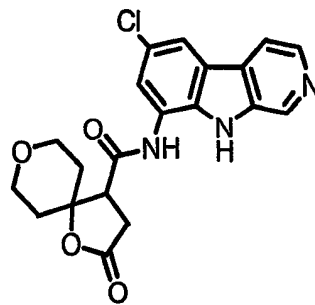
30



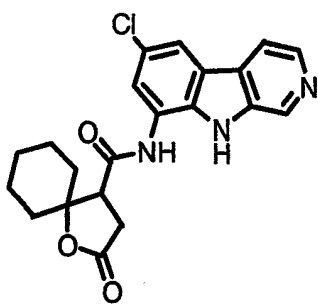
31



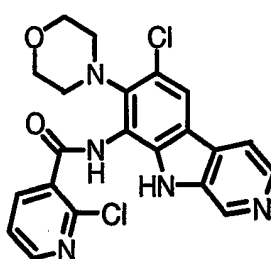
32



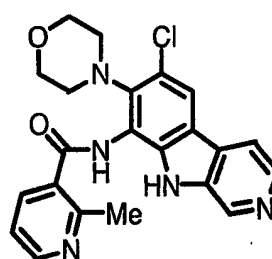
33



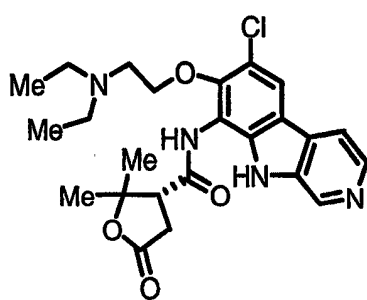
34



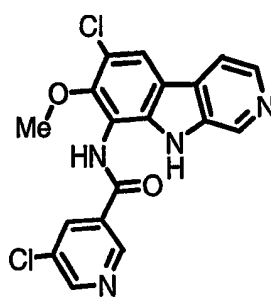
35



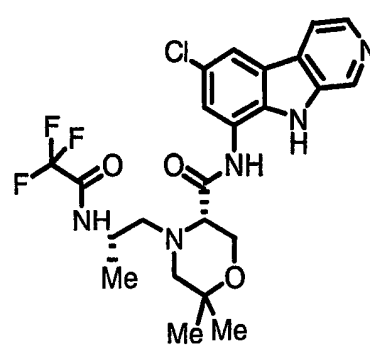
36



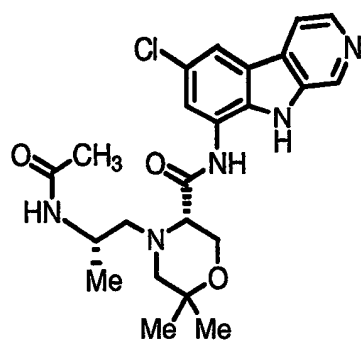
37



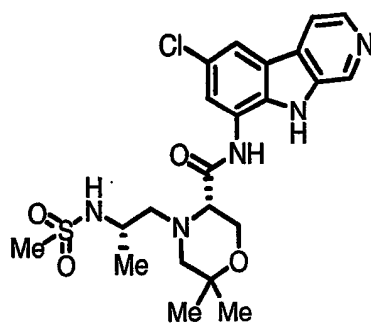
38



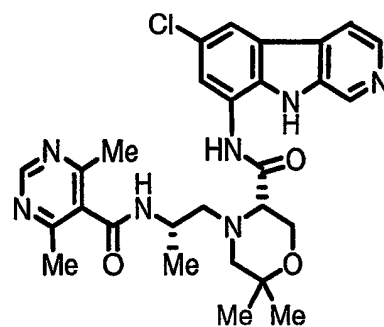
39



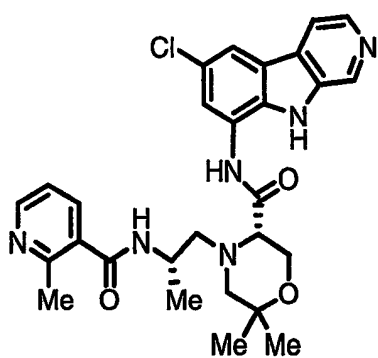
40



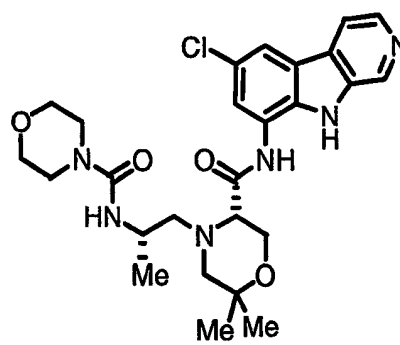
41



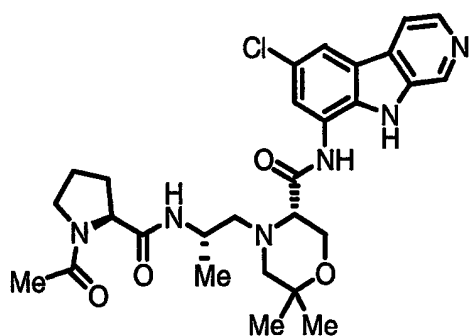
42



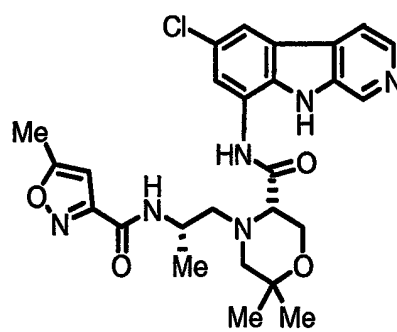
43



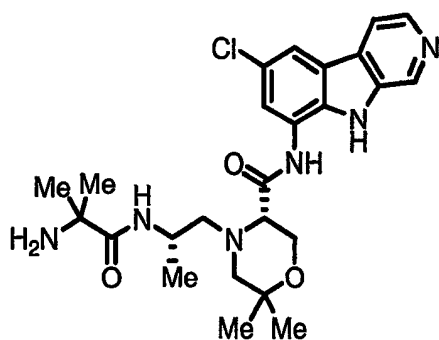
44



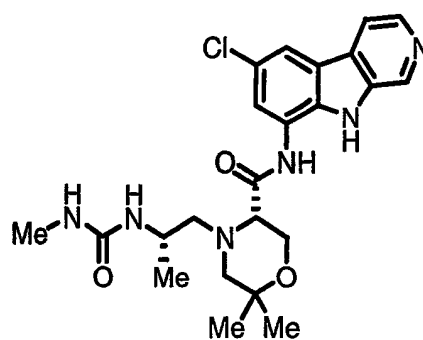
45



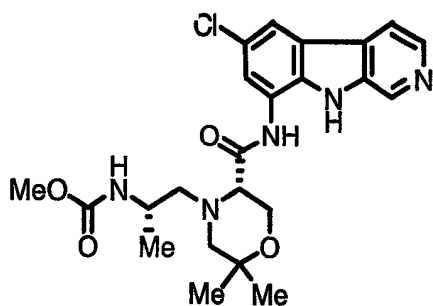
46



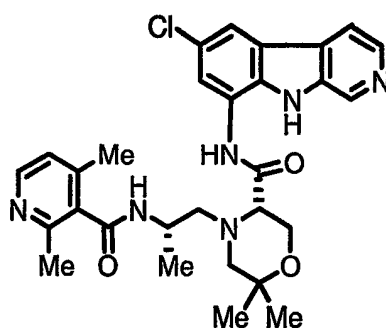
47



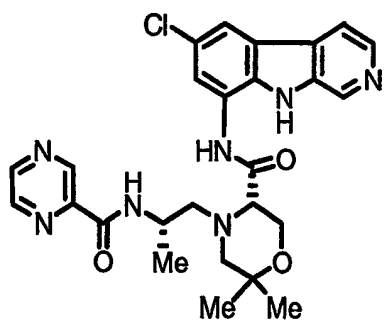
48



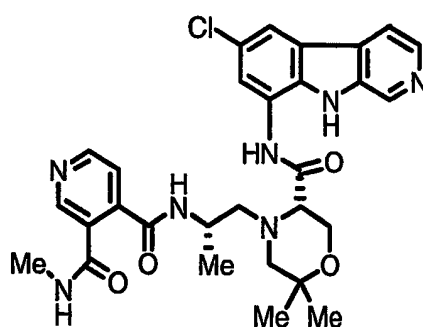
49



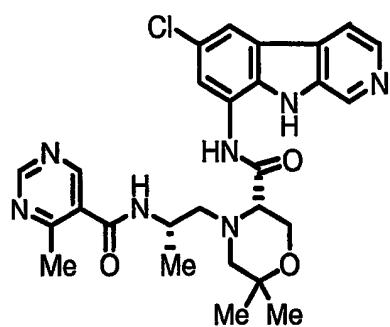
50



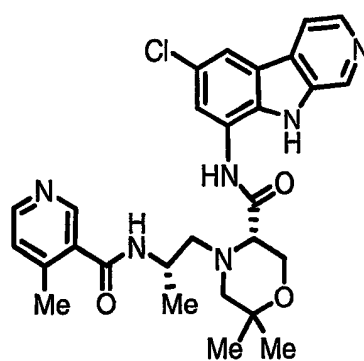
51



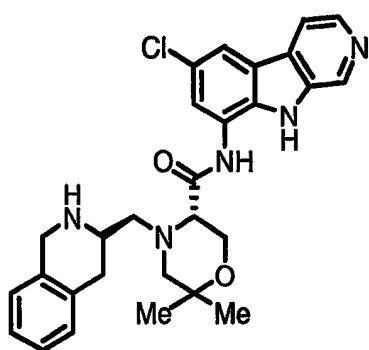
52



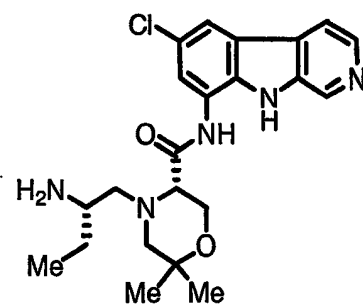
53



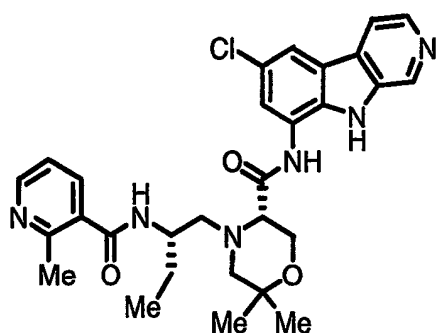
54



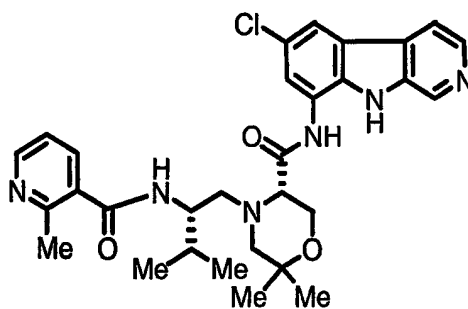
55



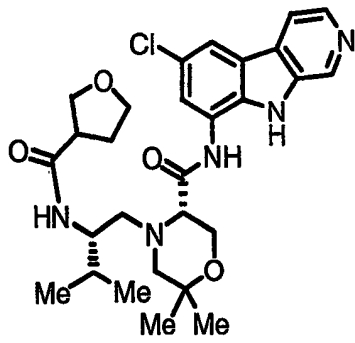
56



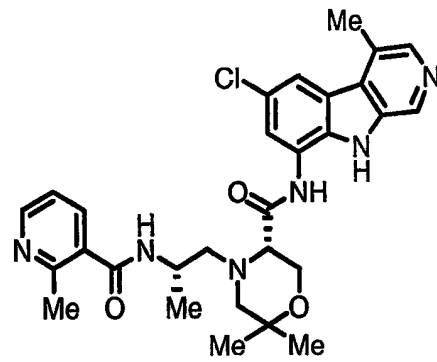
57



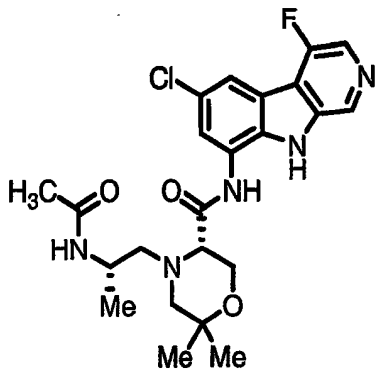
58



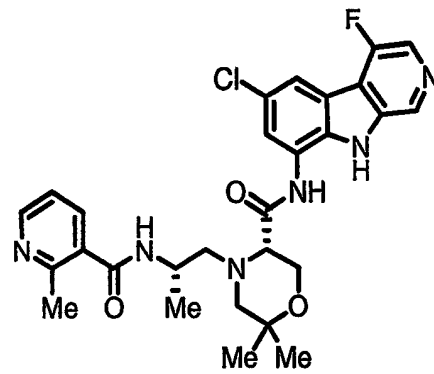
59



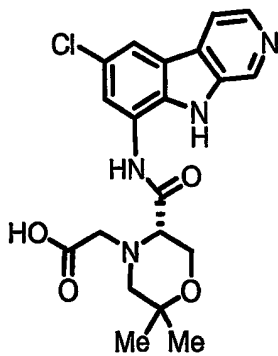
60



61



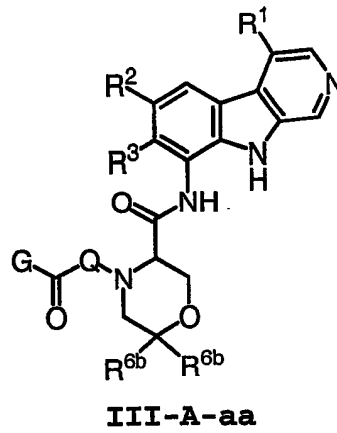
62



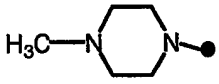
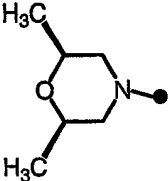
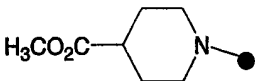
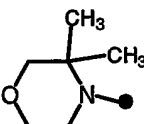
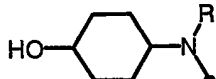
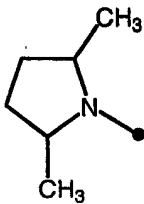
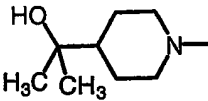
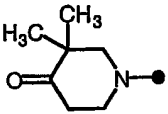
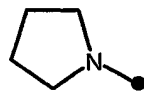
63

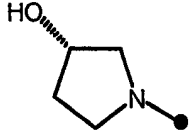
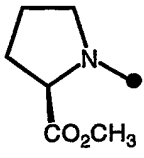
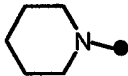
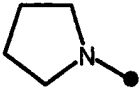
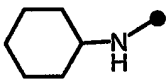
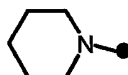
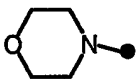
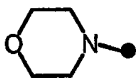
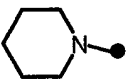
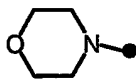
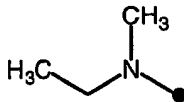
下列表 4 表示了式 III-A-aa 化合物的特例。

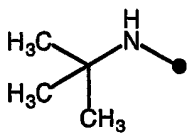
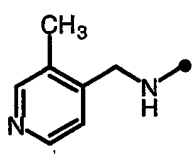
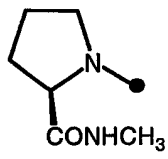
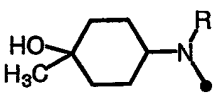
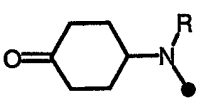
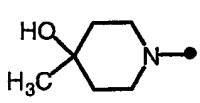
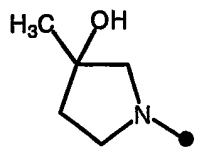
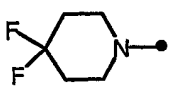
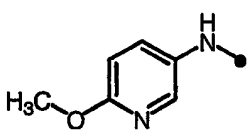
表 4 式 III-A-a 化合物的特例

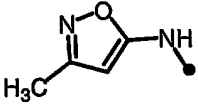
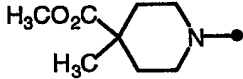



No.	R ¹	R ^{6b} /R ^{6b}	Q	G
64	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
65	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
66	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
67	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	HO-CH ₂ CH ₂ N(CH ₃)-
68	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
69	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
70	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
71	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	

No.	R ¹	R ^{6b} /R ^{6b}	Q	G
72	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	Et ₂ N-
73	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
74	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
75	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
76	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
77	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
78	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
79	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
80	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
81	CH ₃	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	

No.	R ¹	R ^{6b} /R ^{6b}	Q	G
82	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
83	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
84	CH ₃	H/H	CH ₂	
85	CH ₃	H/H	CH ₂	
86	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
87	CH ₃	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
88	CH ₃	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
89	F	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
90	F	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
91	H	CH ₃ /CH ₃	R-CH(CH ₃)	
92	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	

No.	R ¹	R ^{6b} /R ^{6b}	Q	G
93	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
94	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	Me ₂ N-
95	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	(CH ₃ O)(CH ₃)N-
96	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
97	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
98	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
99	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
100	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
101	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
102	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
103	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	

No.	R ¹	R ^{6b} /R ^{6b}	Q	G
104	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
105	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	
106	H	CH ₃ /CH ₃	CH ₂	

基于其 IκB 激酶抑制性能及其它药学性能, 优选实例序号为 1-30、39-62 和 64-106 的化合物。更优选的化合物实例序号为 1、2、7、10、11、13、16、17、19-27、39-62、64-106。

本发明化合物可通过各种路径服药于人和其他哺乳动物, 给药路径包括口服剂量形式和注射剂形式 (静内、肌内、腹膜内、皮下等)。包含本发明化合物的许多其它剂量形式可容易地由本领域技术人员, 利用下述适宜药物赋形剂 (或载体) 制成。

可药用赋形剂 (载体) 的实例和制造各种组合物的方法可参见 A.gennaro (ed.), Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD (2000), 该文献及其引用文献一起引作参考。可药用赋形剂 (载体) 包括调味剂、药物级染料或颜料、溶剂、助溶剂、缓冲液系、表面活性剂、防腐剂、甜味剂、粘性剂、填料、润滑剂、脱模剂 (glidants)、崩解剂、粘合剂和树脂。

常规的调味剂可按照如 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Mack Publishing Co., pp. 1288-1300 (1990) 中描述的方法

使用，该文献及其引用文献一起引作参考。本发明药物组合物一般含有大约 0 至 2% 的调味剂。

常规的染料和/或颜料也可如 the American Pharmaceutical Association & the Pharmaceutical Society of Great Britain 编辑的 Handbook of Pharmaceutical Excipients, pp. 81-90 (1986) 中描述的方法使用，该文献及其引用文献一起引作参考。本发明药物组合物一般含有大约 0 至 2% 的染料和/或颜料。

本发明药物组合物一般含有大约 0.1 至 99.9% 的溶剂。优选的溶剂为水。优选的助溶剂包括乙醇、丙三醇、丙二醇、聚乙二醇和乙二醇等。本发明药物组合物含有大约 0 至 50% 的助溶剂。

优选的缓冲液系包括乙酸、硼酸、碳酸、磷酸、琥珀酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、乳酸、甘油酸、葡糖酸、丙二酸和谷氨酸及其钠盐、钾盐和铵盐。特别优选的缓冲液为磷酸、酒石酸、柠檬酸和乙酸及其盐。本发明药物组合物一般包含大约 0 至 5% 的缓冲液。

优选的表面活性剂包括聚氧乙烯山梨聚糖脂肪酸酯、聚氧乙烯单烷基酯、蔗糖单酯和羊毛脂酯和醚，烷基硫酸酯盐及脂肪酸钠、钾和铵盐。本发明药物组合物一般包含大约 0 至 2% 的表面活性剂。

优选的防腐剂包括苯酚、对羟基苯甲酸的烷基酯、邻苯基苯酚苯甲酸及其盐、硼酸及其盐、山梨酸及其盐、氯丁醇、苯甲醇、噻汞撒、苯基乙酸和硝酸银、硝基烷基磺酸盐、氯化苄烷铵、氯化鲸蜡基吡啶盐、对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯。特别优选的防腐剂为苯甲酸盐、氯化鲸蜡基吡啶盐、对羟基苯甲酸甲

酯和对羟基苯甲酸丙酯。本发明药物组合物一般包含大约0至2%的防腐剂。

优选的甜味剂包括蔗糖、葡萄糖、糖精、山梨糖醇、甘露醇和天冬氨酸苄丙氨酸甲酯。特别优选的甜味剂为蔗糖和糖精。本发明药物组合物一般包含大约0至5%的甜味剂。

优选的粘性剂包括甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、羟丙基-甲基纤维素、羟丙基纤维素、藻酸钠、丙烯酸聚合物、聚乙烯吡咯烷酮、阿拉伯胶、瓜尔胶、黄原胶和黄蓍胶。特别优选的粘性剂为甲基纤维素、丙烯酸聚合物、黄原胶、瓜尔胶、聚乙烯吡咯烷酮、羧甲基纤维素钠和硅酸铝镁。本发明药物组合物一般包含大约0至5%的粘性剂。

优选的填料包括乳糖、甘露醇、山梨糖醇、三盐基磷酸钙、二盐基磷酸钙、可压缩糖、淀粉、硫酸钙、右旋糖和微晶纤维素。本发明药物组合物一般包含大约0至75%的填料。

优选的润滑剂/脱模剂包括硬脂酸镁、硬脂酸和滑石。本发明药物组合物一般包含大约0至7%的润滑剂/脱模剂，优选大约1至5%。

优选的崩解剂包括淀粉、淀粉乙醇酸钠、聚乙烯聚吡咯烷酮、croscarmellose sodium和微晶纤维素。本发明药物组合物一般包含大约0至20%的的崩解剂，优选大约4至15%。

优选的粘合剂包括阿拉伯胶、黄蓍胶、羟丙基纤维素、预胶化淀粉、凝胶、聚乙烯吡咯烷酮、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、食糖溶液（如蔗糖和山梨糖醇）和乙基纤维素。本发明药物组合物一般包含大约0至12%的的粘合剂，优选大约1至10%。

有经验的制剂制造者公知的其他试剂可与本发明化合物混合，制成单独的制剂形式。此外，其他的药剂可作为多种剂型的一部分单独给药于哺乳动物。

对于制造包含本发明化合物的药物组合物，惰性可药用赋形剂或载体可以是固体或液体。固体形式的制剂包括粉剂、片剂、可分散颗粒剂、胶囊剂、药包和栓剂。一般地，粉剂和片剂可包含大约 5 至 95% (重量) 的活性成分。本领域公知的适宜固体载体包括如，碳酸镁、硬脂酸镁、滑石、食糖和乳糖。片剂、粉剂、药包和胶囊剂可用作适于口服给药的固体剂型。可药用载体的实例及制造各种组合物的方法可参见 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Mack Publishing Co. (1990)。

液体形式的制剂包括溶液、悬浮液和乳液。通常的液体形式制剂包括用于非肠道注射的水和水-丙二醇溶液，或用于口服溶液、悬浮液和乳液的所加入的甜味剂和遮光剂。液体形式的制剂也可包括用于鼻内给药的溶液。

适于吸入法给药的气溶胶制剂包括溶液和粉状形式的固体，其可与可药用载体组合，所述载体如惰性压缩气体（例如氮气）。

药物剂型还包括杂能够在使用前迅速转变成适于经口或非肠道给药的液体形式制剂的固体形式制剂。这类液体形式制剂包括溶液、悬浮液和乳液。

本发明化合物也可通过经皮肤给药。经皮组合物可采用霜剂、洗液、气溶胶和乳液形式，可包括本领域为此目的常用的基质或存储类型的经皮补片。

本发明化合物的优选给药方式是口服。优选地，药物制剂为单位剂量形式。在这种形式下，制剂可再分成包含适量活性成分，如获得所需目的的有效剂量的体积适当的单位剂型。

制剂单位剂型中的活性成分（化合物）的量可根据特定的应用，在大约 0.01 至 4,000mg 之间变化或调节，优选大约 0.01 至 1,000mg，更优选大约 0.01 至 500mg，甚至更优选大约 0.01 至 250mg。对于口服给药，典型的推荐日剂量一般在大约 0.02 至 2,000mg/天的范围，分一至四个剂量形式。为了方便，总的日剂量可根据需要在一天中分次、分批服用。典型地，本发明药物组合物每天可分 1 大约 1 至 5 次服用，或者是连续输注。这种给药可用于慢性或急性治疗。与赋形剂或载体材料组合生成单个剂量形式的活性成分的量将根据待治疗主体和特定的给药方式改变。典型的制剂一般包含大约 5 至 95% (w/w) 的活性化合物。优选地，这类制剂包含大约 20 至 80wt % 的活性化合物。

用于与本发明化合物结合的可药用赋形剂或载体以足以提供剂量关系的实际尺寸的浓度形式使用。总而言之，可药用赋形剂或载体的用量大约为本发明药物组合物重量的 0.1 至 99.9%，优选大约为重量的 20 至 80%。

为了改善患者病情，如果应用本发明化合物、组合物或其组合的话，其用量可为维持剂量。由此，给药的剂量或频率或二者可作为症状的函数降低至能够保持改善病情的水平。当症状已经减轻至所需水平时，治疗应当停止。但是，患者可根据任何病灶复发，可进行长期间隙式治疗。

任何特定患者的特殊剂量和治疗方案可根据下列各种因素改变：所使用的特定化合物的活性，患者的年龄、体重、一般身体状况、性别和饮食习惯，给药时间，排泄速率，特殊药物组合，

待治疗病症的严重程度和变化过程，待治疗病症的患者分布及临床医生的判断。特定情况下的适当剂量形式的确定是由本领域技术人员进行的。本发明化合物或其可药用盐的给药剂量和频率将由临床医生根据上述因素调节。有经验的技工进行比上述剂量或高或低的调节也是需要的。

本发明化合物被理解为能够提供许多疾病、症状和不适的有效治疗，特别是那些炎性或本质上免疫相关的疾病，包括给药期间合理时间的发作及给药后的合理时间间隔。尽管食物、饮食、已有的情况、酒精及其它系统情况可延长给药后本发明药物的延时，但应当理解为优化的剂量形式可在合理的时间内获得有效的药物治疗效果。

本发明化合物可以未溶剂化和溶剂化形式存在，包括水解形式。一般地，对于本发明的目的，含有可药用溶剂如水、乙醇等的溶剂化形式等同于未溶剂化形式。

本发明化合物可与有机和无机酸形成可药用盐。能够生成盐的适宜酸的实例为盐酸、硫酸、磷酸、乙酸、柠檬酸、丙二酸、水杨酸、苹果酸、富马酸、琥珀酸、抗坏血酸、马来酸、甲磺酸及其它本领域技术任意公知的无机酸和羧酸。根据常规的方式，将游离碱形式与足够量的所需酸接触生成盐，即可制得盐。通过利用适宜的稀溶液，如稀的氢氧化钠、碳酸钾、碳酸氢铵或碳酸氢钠处理，即可再生成游离碱形式。游离碱形式在一些物理性能方面有些不同于其对应的盐形式，如在极性溶剂的溶解性，但对于本发明的目的，盐其它方面等同于其游离碱形式。

考虑到药理学性能，本发明化合物适用于预防和/或治疗涉及I κ B激酶活性增强的疾病、不适和症状。所述疾病包括，如关节炎（如风湿性关节炎(RA)、风湿性脊椎炎、痛风性关节炎、外伤

关节炎风疹关节炎、牛皮癣关节炎、骨关节炎和其它关节炎疾病)、急性滑膜炎、肺结核、动脉硬化症、肌力衰退、萎靡不振、Reiter 综合征、内血毒症、脓毒病、败血症、内毒休克、革兰氏阴性脓毒病、痛风、毒性休克综合征、肺部炎性疾病(如哮喘、急性呼吸性窘迫综合征、慢性障碍性肺疾病、硅肺病、肺部肉状瘤病等)、骨再吸收疾病、再灌注伤害、瘤病、白血病、肉瘤、淋巴节瘤、皮肤瘤、淋巴瘤、中风、移植物抗宿主反应、移植物抗宿主疾病(GVHD)、同种异体移植物排异和麻疯病。

进一步地,本发明化合物可用于治疗与免疫相关的疾病、症状和不适,如感染,例如病毒感染(如 HIV、细胞巨化病毒(CMV)、流行性感冒、腺病毒疱疹病毒等)、寄生感染(如瘴气,例如大脑瘴气)及酵母和真菌感染(如真菌脑膜炎)。另外,本发明化合物可用于治疗由感染引起的发热和肌痛、获得性免疫缺乏综合征(AIDS)、与 AIDS 相关的综合征(ARC)、对于感染或恶性肿瘤为次要的恶病质、对于 AIDS 或癌症为次要的恶病质、瘢痕疙瘩和疤痕组织形成、pyresis、糖尿病和炎性肠疾病(IBD)(如 Crohn 疾病和溃疡性结肠炎)。本发明化合物还也用于治疗其中显示出 TNF- α 过度表达的与大脑相关的疾病或创伤,如多发性硬化症(MS)、缺血性脑伤害(例如脑梗塞(休克)和头部外伤)。本发明化合物还可用于治疗牛皮癣、Alzheimer 综合征、肿瘤疾病(细胞毒素治疗的增强)、心肌梗死、慢性障碍性肺疾病(COPD)和急性呼吸窘迫综合征(ARDS)。

在一个实施方案中,本发明化合物用于治疗癌症,特别是治疗 IKK 活性异常高的癌症。可被治疗的癌症类型包括:淋巴瘤,如扩散性大 B-细胞、初级纵隔 B-细胞;多发性骨髓瘤;溶骨骨转移;头部和颈部鳞片状细胞癌;前列腺癌;胰腺癌和非小细胞肺癌。在一个实施方案中,本发明化合物用于治疗 ABC 淋巴瘤。

为了治疗癌症，化合物可以以单药剂或以与其他对治疗癌症有用的公知药剂组合使用。这类其他药剂包括 bortezomib；卡培他滨；吉西他滨；伊立替康；氟达拉滨；5-氟尿嘧啶或 5-氟尿嘧啶/亚叶酸；紫杉烷类，包括例如紫杉醇和多西他赛；铂试剂，包括例如施铂锭、卡铂和奥沙利铂；安慈拉环素类，包括例如多柔比星和多柔比星脂质体；米托蒽醌；地塞米松；长春新碱；依托泊苷；泼尼松；沙利度胺；曲妥单抗；替莫唑胺和烷基化试剂，如美法仑、苯丁酸氮芥和环磷酰胺。

式(I)化合物特别适用于治疗炎性和免疫相关的疾病、不适和症状，更特别是炎性疾病类，如 RA、哮喘、IBD、牛皮癣、COPD 和 MS。本发明欣赏将本发明化合物用于治疗与 NF- κ B、TNF- α 及其中 IKK 被公知调节其活性的其他途径酶的活性相关的疾病、不适或症状。

本发明化合物也可用于治疗与骨相关的疾病、症状或不适，其中存在着由于新的骨生成降低或骨的再吸收增强或者这两种情况共存而引起的骨不足或缺乏。特别的实例包括：骨质疏松症、牙周疾病、骨髓炎、风湿性关节炎、无菌关节松动和骨质溶解损伤(典型相关癌症)。人们已经公知，以关节发炎为特征的风湿性关节炎还与软骨和骨的破坏有关。进一步地，已有报道，在胶原质引起的关节炎的鼠科模型中，IKK 抑制剂提供了软骨和骨的损失抑制。参见 McIntyre et al., *Arthritis Rheumatism* (2003), 48 (9), 2652-2659。

骨质疏松症是应用于许多独特疾病的宽泛术语，其中骨质下降。这些疾病包括初级骨质疏松症（例如更年期后、老年骨质疏松症及青少年骨质疏松症）和二次骨质疏松症。二次骨质疏松症的实例可以是那些与慢性疾病、内分泌机能不良疾病、药物物质相关症状及血液学疾病相关的症状。所述慢性疾病如慢性肾病、

肝脏机能不全、胃肠吸收不良、慢性流动不畅和慢性炎症性疾病(包括风湿性关节炎、骨关节炎、牙周疾病和无菌关节松动);所述内分泌机能不良疾病如糖尿病、甲状腺机能亢进、甲状旁腺功能亢进、性腺机能减退和垂体机能减退;所述药物物质如皮质甾类、肝磷脂、抗惊厥药物、酒精和免疫抑制剂;以及所述血液学疾病如转移疾病、骨髓瘤白血病、高歇病和贫血症。直接抑制 I κ B 或间接抑制 NF- κ B 路径已经被报道可用于治疗骨质疏松症和骨关节炎。参见例如 PCT 申请 WO 2003104219、WO 2003103658、WO 2003029242、WO 2003065972 和 WO 9965495。因此,本发明也提供了治疗或预防患者骨损失的方法,该方法包括对患者给用本发明化合物。也提供了产生患者骨生成的方法,该方法包括给用本发明化合物。

本发明另一实施方案提供了抑制与抑制 IKK 接触反应活性和/或 I κ B 磷酸化反应相关的 NF- κ B 依赖基因表达活性的方法,该方法包括对需要的患者给用适量权利要求 1 化合物或其可药用盐或其溶剂化物或其药物组合物,其用量可有效抑制 IKK 接触反应活性和/或 I κ B 磷酸化反应,从而可抑制 NF- κ B 依赖基因表达活性。

在本发明一个实施方案中,本发明提供了在需要治疗的患者中治疗或预防炎性或免疫相关生理学不适、症状或疾病的方法,该方法包括对患者给用适量至少一种权利要求 1 化合物或其可药用盐或其溶剂化物或其药物组合物,其用量可有效治疗或预防炎性或免疫相关生理学不适、症状或疾病。优选地,炎症性疾病、不适或症状为风湿性关节炎、哮喘、牛皮癣、鳞皮关节炎、慢性障碍性肺疾病(COPD)、炎性肠疾病或多发性硬化症。

本发明涉及式(I)化合物、制备本发明化合物的方法、制备包含至少一种本发明化合物及至少一种可药用载体或赋形剂的药

物组合物的方法，以及利用一种或多种本发明化合物治疗各种不适、症状和疾病，特别是实质上为炎性或免疫相关的疾病的方法。本发明化合物及其可药用盐和中性组合物可与可药用赋形剂或载体一起制成药剂，所得组合物可体内给用哺乳动物，如灵长类哺乳动物，例如黑猩猩和人（如雄性和雌性），以及动物（如狗、猫、牛、马等），从而治疗各种不适、症状和疾病。进一步地，本发明化合物可用于制备可用于治疗各种不适、症状和疾病的药物。

尽管一种或多种本发明化合物可用于单一治疗不适、疾病或症状，但其也可以用于组合治疗，其中本发明化合物或组合物（治疗药剂）与一种或多种用于治疗相同和/或不同类型不适、症状和疾病的治疗药剂组合使用。组合治疗包括同时或顺序给用治疗药剂。此外，治疗药剂可组合成供患者服用的一种组合物。

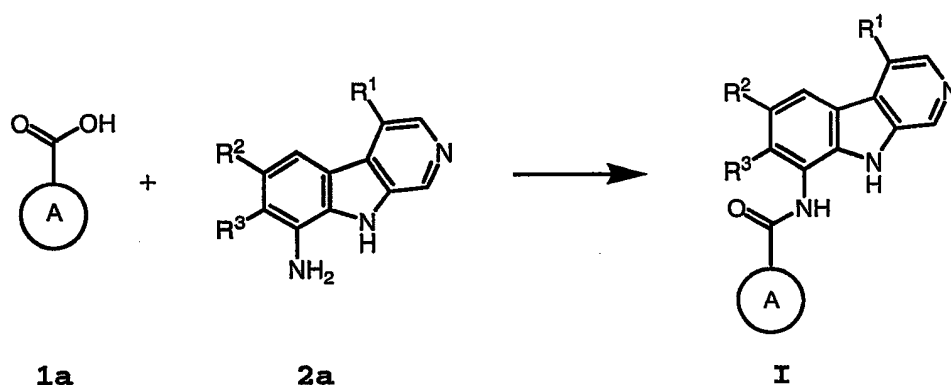
在一个实施方案中，本发明化合物用于与其他治疗药剂组合，例如其他 IKK 抑制剂、其他用于治疗 NF- κ B 和 TNF- α 相关疾病的药剂，以及其他用于治疗其他不适、症状和疾病的药剂。特别地，引起细胞凋亡的药剂，如破坏细胞循环或线粒体功能的药剂，可用于与本发明 IKK 抑制剂组合。与 IKK 抑制剂组合的实例性药剂包括抗增生药剂（如甲氨蝶呤）和美国专利申请公开 No. US2003/0022898, p 14, para. [0173-0174] 中公开的药剂，该文献整体在此引作参考。在一些实施方案中，本发明化合物与选自细胞毒素剂、放射线疗法和免疫治疗的治疗药剂一起组合服用。适于与本发明 IKK 抑制剂组合使用的细胞毒素剂的非限定性实例包括：卡培他滨；吉西他滨；伊立替康；氟达拉滨；5-氟尿嘧啶或 5-氟尿嘧啶/亚叶酸；紫杉烷类，包括例如紫杉醇和多西他赛；铂试剂，包括例如施铂锭、卡铂和奥沙利铂；安慈拉环素类，包括例如多柔比星和多柔比星脂质体；米托蒽醌；地塞米松；长

春新碱；依托泊苷；泼尼松；沙利度胺；曲妥单抗；替莫唑胺和烷基化试剂，如美法仑、苯丁酸氮芥和环磷酰胺。人们应当可以理解，也可采用其他组合，属于本发明的范围。

本发明的再一方面提供了一种药盒，该药盒包含单独包装的分开容器，其中本发明药物化合物、组合物和/或其盐与可药用载体组合使用，从而治疗 IkB 激酶起作用的不适、症状和疾病。

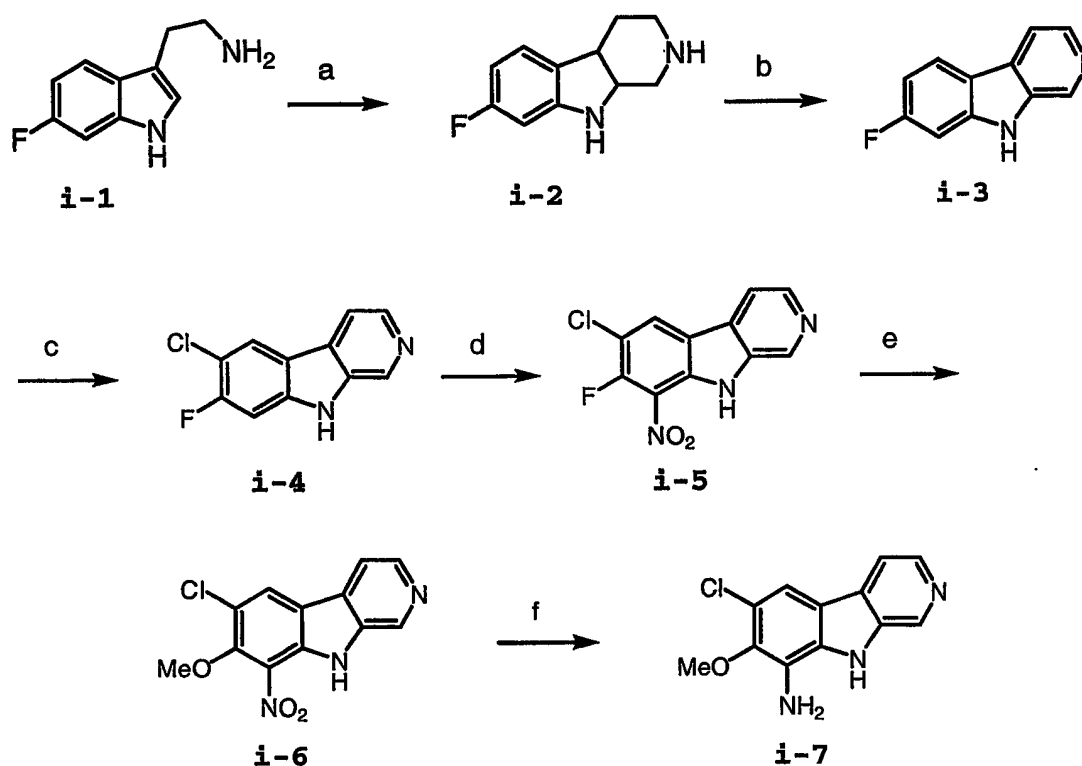
本发明化合物可通过本领域公知的制备类似化合物的方法制备，如下述一般流程所示，以及参照下文制备性实施例的方法制备。

流程 I



上述流程 I 表示了获得式 I 化合物的一般路线。环 A 羧酸 1a 可与所需的氨基 β -咔啉 2a 偶合，得到 I。可用于制备本发明化合物的许多 1a 中间体都可由公知的起始原料和化学方法容易地得到，特别是可从这里详述的合成实施例得到。流程 II-IV 描述了制备各种 β -咔啉中间体 2a 的路线。

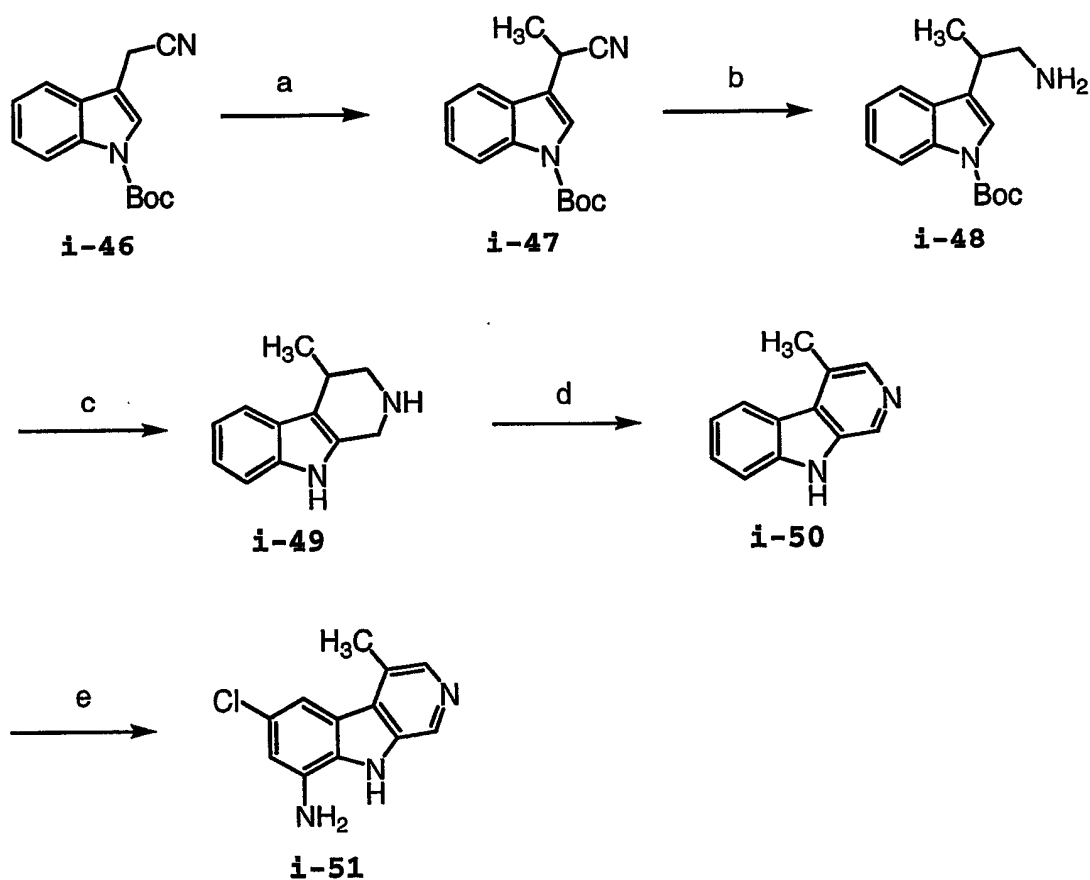
流程 II



步骤：(a) (i) HCOCO₂H (ii) HCl (b) Pd/C (c) NCS (d) NaNO₂ (e) NaOMe (f) Pt/H₂

上述流程 II 表示了制备其中 R¹ 为氢、R² 为氯和 R³ 为烷氧基的 β -咔啉部分的路线。尽管该流程表示了 R³ 为烷氧基的实例，但对于本领域技术人员来讲，含其它 R³ 烷氧基基团的 β -咔啉也可通过利用其他烷醇钠或金属替代步骤(e)的 NaOMe 获得。

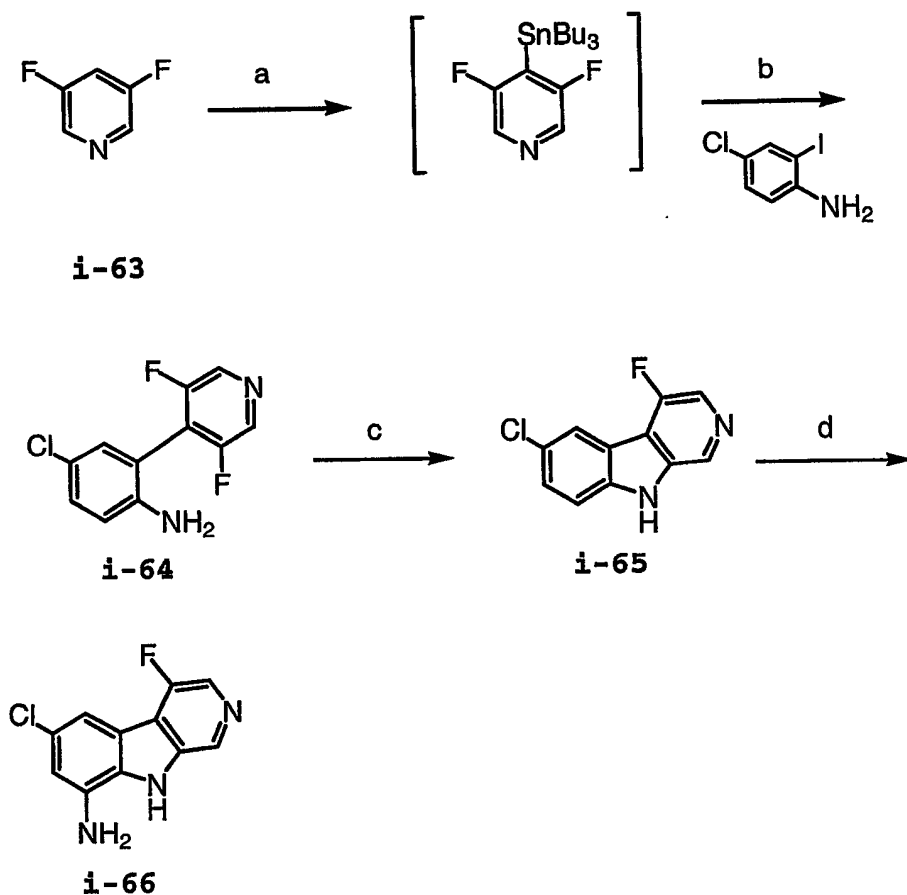
流程 III



步骤: (a) NaHMDS, MeI (b) H₂, 阮内镍, PtO (c) i. TFA
 ii. CHOCO₂H iii. HCl (d) Pd/C, 二甲苯, 160°C (e) i. NCS, 1N
 HCl ii. NaNO₂, TFA iii. H₂, Pt

上述流程 III 表示了制备其中 R¹ 为烷基 (如甲基)、R² 为卤素 (如氯) 和 R³ 为氢的 β-吡啶中间体路线。本领域技术人员可以理解, 上述流程可改进为制备其中 R¹ 为甲基以外的其它烷基或 R² 为氯以外的其它卤素基团的化合物。

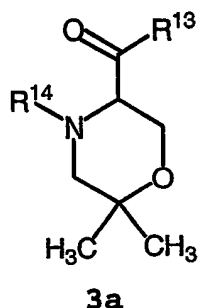
流程 IV



步骤：(a) i. LDA, THF, -78°C , ii. SnBu_3Cl (b) 5% Pd $(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, 10% CuI, DMF, 回流过夜 (c) 3 当量 NHMDS, THF, 室温过夜 (d) i. TFA/ NaNO_3 , ii. 饱和 NaHCO_3 , iii. 5% Pt (S), $\text{NH}_4\text{O}_2\text{CH}$

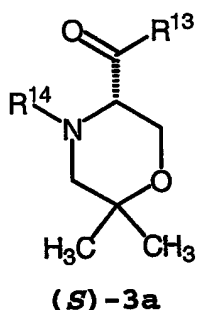
上述流程 IV 表示了制备其中 R^1 为氟、 R^2 为氯和 R^3 为氢的 β -吡啶中间体的路线。人们应当理解，对该流程进行简单的改进即可允许制备其它中间体。例如，通过利用在 4-位上带有除了氯之外的另一 2-碘苯胺替代步骤(b)中的 4-氯-2-碘苯胺，即可引入另一 R^2 基团。

对制备式 III-A-aa 特别有用的中间体是中间体 3a,



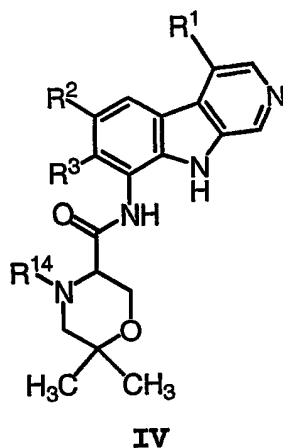
其中： R^{13} 为卤素、OH、 OR^{15} 或羧酸保护基团； R^{14} 为氨基保护基团、氢或上文定义的-W-G；以及 R^{15} 为有机基团。氨基保护基团是本领域公知的。氨基保护基团的实例包括烷氧羰基基团，如叔丁氧基羰基(t-BOC)和苄基基团。吗啉环 3-位上的羧酸基团可作为任何稳定的酯基基团被保护起来，所述酯基基团如简单的烷基或芳基酯，例如甲酯、乙酯、苄酯或五氟苯基酯。在一个实施方案中， R^{14} 为-W-G， R^{13} 为-OH、卤素或羧酸保护基团。各种保护基团详细地描述在 John Wiley and Sons 出版的 Protecting groups in Organic Synthesis, Theodora W. Greene and Peter G. M. Wuts, 3rd edition, 1999 中。

中间体 3a 的优选对映体为(S)-3a,



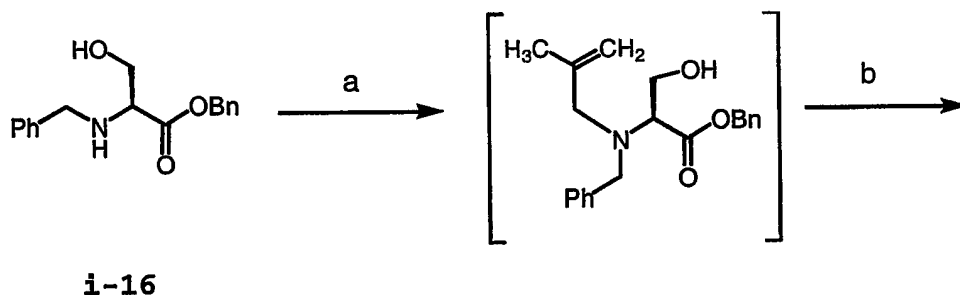
其中 R^{13} 和 R^{14} 如上文定义。

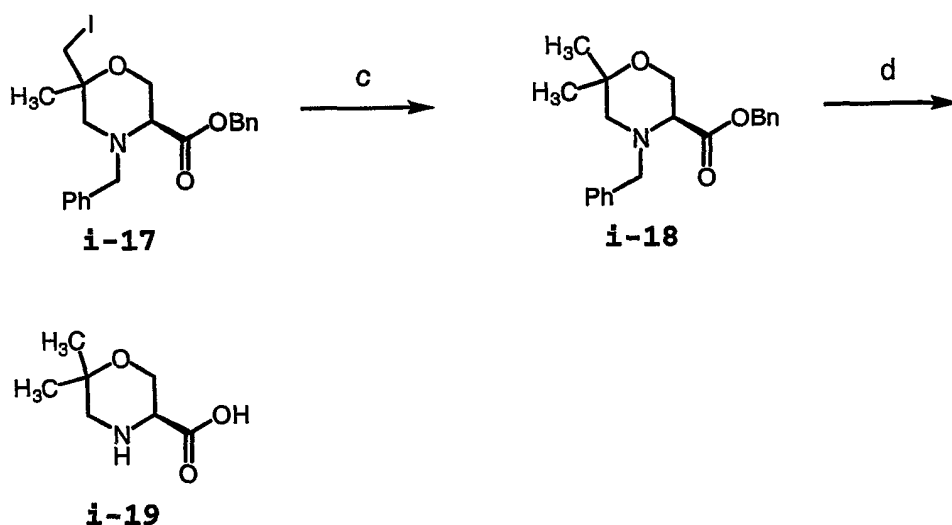
作为羧酸或其活性形式（如酰氯）的中间体 3a 或(S)-3a 可如上文流程 I 所示，予适当的氨基-β-吡啶偶合，酰胺偶合反应可提供进一步有用的中间体，如下文式 IV 化合物所示：



其中 R^{14} 为氨基保护基团，以及 R^1 、 R^2 和 R^3 如上文定义。本领域技术人员应当理解，式 III-A-aa 的有些化合物（其中 R^{6b} 为甲基）可通过去除 R^{14} 保护基团，且利用公知的方法连接-W-G 位置，由式 IV 化合物制得。此外，式 III-A-aa 化合物可通过首先制得其中 R^{14} 为-W-G 和 R^{13} 为羧酸或其衍生物的中间体 3a 制备。然后，与适当的氨基-β 吡啶进行的酰胺偶合反应直接得到式 III-A-aa 化合物。

流程 V

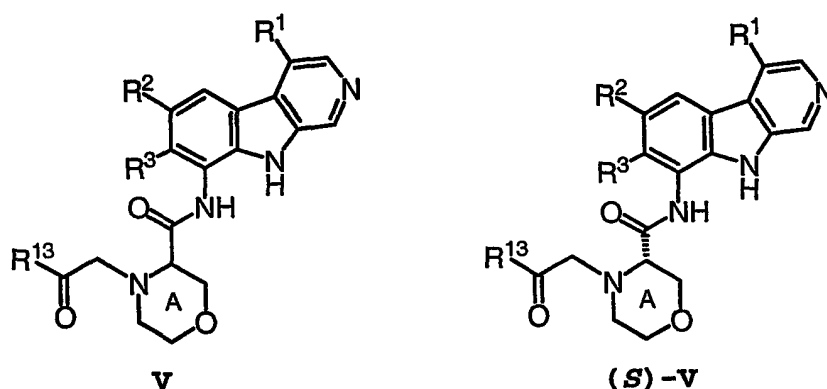




步骤：(a) K_2CO_3 , KI, 3-溴-2-甲基-丙烯, MeCN (b) I_2 , $NaHCO_3$, MeCN (c) Bu_3SnH , AIBN, 甲苯, $110^\circ C$ (d) $H_2, 20\%$ $Pd(OH)_2/C$, 10% AcOH/MeOH

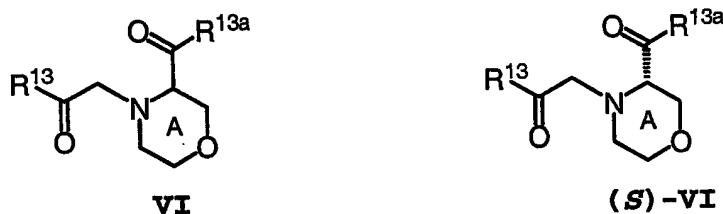
上述流程 V 表示了制备式 3a 中间体, 包括未保护的 i-19 的路线。能够得到不同 3a 中间体的 i-19 中的氨基和羧酸基团的选择性保护和脱保护将是本领域技术人员知识能够完成的。

制备式 III-A-aa 化合物的另一有用中间体是式 V 化合物, 优选(S)-V,



其中： R^{13} 为卤素或其它离去基团、OH、 OR^{15} ，或羧酸保护基团； R^{15} 为有机基团，如 C_{1-6} 脂族基团、芳基或苄基，环 A 带有 0-2 或 0-4 个 R^{6b} ，以及 R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^{6b} 如上文定义。

制备本发明化合物的另一有用中间体为 VI，优选(S)-VI，



其中 R^{13} 和 R^{13a} 之一为 OH 或离去基团，如卤素，其它为 OR^{15} 或羧酸保护基团， R^{15} 为有机基团，如 C_{1-6} 脂族基团、芳基或苄基，环 A 带有 0-2 个 R^{6b} ，以及 R^{6b} 如上文定义。

合成实施例

下列缩略语用于制备方法中：RT 或 rt 为室温；h、hr 或 hrs 为小时；min 为分钟；TFA 为三氟乙酸；DMSO 为二甲亚砜；NCS 为 N-氯琥珀酰亚胺；EDCI 为 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺盐酸盐；EtOAc 为乙酸乙酯；DIEA 为二异丙基乙胺；DCM 为二氯甲烷；DDQ 二氯二氰基苯并醌；mCPBA 为偏氯过苯甲酸；MeOH 为甲醇；EtOH 为乙醇；MeCN 为乙腈；TLC 为薄层色谱(法)；AIBN 为偶氮双丁腈； NH_4OAc 为乙酸铵；NaOAc 为乙酸钠；Et₂O 为二乙基醚；AcOH 为乙酸；以及 DMF 为二甲基甲酰胺。TBTU 为 N,N,N',N'-四甲基-o-(苯并三唑-1-基)四氟硼酸铯。

中间体 1: 7-氟-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉-1-羧酸

向 10g (46.6mmol) 市购 6-氟色胺盐酸盐中加入 50ml 1M 乙酸盐缓冲液(pH 4.4)，得到悬浮液，将其在室温(RT)下搅拌。然后，

将于乙酸乙酯中的乙醛酸一水合物(1.1eq, 51.28mmol, 4.72g)悬浮液一批加入到上述搅拌悬浮液中。悬浮液在室温下搅拌过夜(16h), 通过过滤收集沉淀的固体, 利用 H₂O 和乙酸乙酯洗涤。然后真空干燥样品得到定量收率的亮黄色固体。

¹H-NMR (300 MHz, acetic acid-d₄): δ 3.04 (m, 2H), 3.56 (m, 1H), 3.83 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 7.13 (dd, 1H), 7.34 (dd, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.17min.

MS (M+H⁺): 235.0

中间体 2: 7-氟-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉

在 500ml 圆底烧瓶中, 将 7-氟-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉-1-羧酸(5g, 21.36mmol)悬浮在 130ml 3N HCl 中, 在搅拌条件下回流过夜(16hr)。在冷却时沉淀出亮棕色固体, 过滤收集, 利用 H₂O 洗涤。将上述过滤得到的盐溶解在热甲醇(200ml)中, 利用 3M K₂CO₃ (5-10ml)处理, 直至 pH 大约为 9。将 100ml H₂O 加入到该混合物中, 然后允许在室温下搅拌。在旋转蒸发器上蒸发甲醇, 得到所需游离碱的白色水悬浮液, 过滤收集(3.2g, 79%收率)。

¹H-NMR (300 MHz, methanol-d₄): δ 2.73 (t, 2H), 3.11 (t, 2H), 3.94 (s, 2H), 6.73 (m, 1H), 6.94 (m, 1H), 7.30 (dd, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.25min.

MS (M+H⁺): 191.1

中间体 3: 7-氟-9H-β-咔啉

在安装有向大气开口的冷凝器的 250ml 圆底烧瓶中，将 7-氟-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉(3.5g, 18.42mmol)悬浮在二甲苯(60ml)中，并加热。向该热反应混合物中加入 Pd/C (10wt%, 0.2eq, 700mg)，在二甲苯中回流混合物过夜(12-14 小时)。然后通过硅藻土垫过滤溶液，接着在旋转蒸发器上蒸发收集的滤液，得到所需的产物，为棕色固体(3.0g, 88%收率)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 7.10 (m, 1H), 7.37 (dd, 1H), 8.10 (d, 1H), 8.28 (dd, 1H), 8.35 (dd, 1H), 8.89 (s, 1H), 11.74 (s, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.88min.

MS($\text{M}+\text{H}^+$): 187.1

中间体 4: 6-氟-7-氟-9H-β-咔啉

将 7-氟-9H-β-咔啉(2.15g, 11.58mmol)悬浮在 100ml 1N HCl 中。向该混合物中加入 NCS (1.85g, 13.89mmol, 1.2eq)，在室温下搅拌所得混合物过夜。然后过滤反应混合物，得到亮黄色固体(2.1g, 83%收率)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 7.86 (d, 1H), 8.64 (d, 1H), 8.79 (d, 1H), 8.91 (d, 1H), 9.33 (s, 1H), 13.05 (s, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 2.19min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 221.1

中间体 5: 6-氟-7-氟-8-硝基-9H-β-咔啉

将 6-氯-7-氟-9H-β-咔啉(2.1g, 9.54mmol)放入圆底烧瓶(250ml)中, 加入 NaNO₃ (1.136g, 13.36mmol, 1.4eq)。向烧瓶中加入 TFA (48ml), 所得混合物回流过夜。然后在旋转蒸发器上除去 TFA。将所得浆状液悬浮在水(50ml)中, 并彻底超声波降解。接着过滤所得悬浮液, 得到黄色固体(2.0g, 80%收率)。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 8.21 (d, 1H), 8.46 (d, 1H), 9.04 (m, 2H), 12.55 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 2.24min.

MS (M+H⁺): 266.2

中间体 6: 6-氯-7-甲氧基-8-硝基-9H-β-咔啉

在氩气气氛下, 将甲醇(0.462ml, 11.4mmol)加入到 NaH (684mg, 17.1mmol)的 DMF (10ml)搅拌悬浮液中。所得溶液允许在室温下搅拌 20min。将 6-氯-7-氟-8-硝基-9H-β-咔啉(500mg, 1.9mmol)加入到搅拌溶液中, 允许所得混合物在室温下搅拌。在加入 H₂O 时, 沉淀出棕色固体, 过滤得到所需的 6-氯-7-甲氧基-8-硝基-9H-β-咔啉(510mg, 97%收率)。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 4.02 (s, 3H), 8.52 (d, 1H), 8.60 (d, 1H), 9.05 (s, 1H), 9.12 (s, 1H), 12.78 (b, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 2.28min.

MS (M+H⁺): 278

中间体 7: 6-氯-7-甲氧基-9H-β-咔啉-8-基胺

将 6-氯-7-甲氧基-8-硝基-9H-β-咔啉(510mg, 1.84mmol)悬浮在 50ml 甲醇中, 加入 100mg Pd/C (10%)。将烧瓶安装氢气气球, 在室温下搅拌反应混合物过夜。通过硅藻土垫过滤并蒸发甲醇, 得到深棕色固体。将该残留物悬浮在甲醇(15ml)中, 在剧烈搅拌下, 将其加入到饱和 NaHCO₃ (100ml)溶液中。过滤收集沉淀出的亮棕色固体, 彻底地真空干燥, 得到所需产物(512mg, 定量收率)。

¹H-NMR (300 MHz, methanol-d₄): δ 3.90 (s, 3H), 7.63 (s, 1H), 8.11 (d, 1H), 8.27 (d, 1H), 8.84 (s, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.12min.

MS (M+H⁺): 248

中间体 8: 6-氯-9H-β-咔啉-8-基胺

根据中间体 1 至中间体 7 描述的方法制备靶向化合物, 其中中间体 1 的起始原料为未取代色胺。6-氯-9H-β-咔啉-8-基胺的另一种合成方法描述在 PCT 申请 WO 01/68648 A1 第 34 页实施例 15 中, 该文献的全部在此引作参考。

方法 A: 6,7,8-取代-β-咔啉的偶合步骤

将 6,7,8-取代-9H-β-咔啉(1mmol)、EDCI (1.6mmol)和适当的羧酸(1.2mmol)放入圆底烧瓶中, 悬浮在吡啶(5ml)中。所得混合物在 60°C 下加热过夜。然后通过旋转蒸发除去吡啶, 加入 5% Na₂CO₃ 溶液。通过过滤收集沉淀出的所得固体。色谱纯化得到所需产物。

方法 B: 6,8-取代- β -咔啉偶合步骤

将待偶合的 6,8-取代-9H- β -咔啉(1.0mmol)、EDCI (1.6mmol) 和羧酸(1.2mmol)放入圆底烧瓶中, 悬浮在吡啶(5ml)中。所得混合物搅拌过夜。旋转蒸发除去吡啶, 加入 5% Na₂CO₃ 溶液。通过过滤收集沉淀出的所得固体。色谱纯化得到所需产物。

实施例 1: N-(6-氯-7-甲氧基-9H- β -咔啉-8-基)-2-甲基-烟酰胺

将 6-氯-7-甲氧基-9H- β -咔啉-8-基胺(100mg, 0.4mmol)、EDCI (125mg, 0.64mmol)和 2-甲基烟酸(66mg, 0.48mmol)放入圆底烧瓶中, 悬浮在吡啶(2ml)中。所得混合物在 80℃下加热过夜。通过旋转蒸发除去吡啶, 加入 5% Na₂CO₃ 溶液。过滤收集沉淀出的所得固体。色谱纯化得到所需产物, 收率为 50-70%。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ : 2.71 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 7.45 (dd, 1H), 8.15 (d, 1H), 8.21 (d, 1H), 8.38 (d, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.61 (d, 1H), 8.92 (s, 1H), 10.33 (s, 1H), 11.57 (s, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.77min.

MS (M+H⁺): 367.1

实施例 2: 4-甲基-嘧啶-5-羧酸(6-氯-7-甲氧基-9H- β -咔啉-8-基)- 酰胺

根据方法 A 的步骤, 由 6-氯-7-甲氧基-9H- β -咔啉-8-基胺和 4-甲基-5-嘧啶羧酸制备所需化合物, 收率为 80%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 2.75 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 8.19 (d, 1H), 8.41 (d, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 9.20 (s, 1H), 9.25 (s, 1H), 10.63 (s, 1H), 11.67 (s, 1H).

保留时间(LC法: 甲酸标准): 0.95min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 368

中间体 9: 6-氯-7-乙氧基-8-硝基-9H- β -咔啉

将乙醇钠(232mg, 3.4mmol)加入到 6-氯-7-乙氧基-8-硝基-9H- β -咔啉(200mg, 0.76mmol)的 DMSO (4ml)溶液中, 允许反应混合物搅拌过夜。利用水稀释反应混合物, 通过加入 1N HCl 调节溶液 pH 至大约 4。利用 EtOAc 萃取 (3 \times) 水溶液。干燥合并的 EtOAc 层, 并蒸发。快速色谱纯化粗产物, 得到所需的产物, 收率为 40-60%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 1.44 (t, 3H), 4.24 (q, 2H), 8.21 (d, 1H), 8.46 (d, 1H), 8.91 (s, 1H), 9.02 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 2.37min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 291.9

中间体 10: 6-氯-7-乙氧基-9H- β -咔啉-8-基胺

将 6-氯-7-乙氧基-8-硝基-9H- β -咔啉(160mg, 0.55mmol)悬浮在 4ml 甲醇中, 加入 25mg Pd/C (10%)。烧瓶安装有氢气气球, 反应混合物在室温下搅拌过夜。通过硅藻土垫过滤并蒸发甲醇, 得到深棕色固体, 其被确定为所需的 6-氯-7-环丙基甲氧基-9H- β -咔啉-8-基胺(80mg, 55%)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, Methanol- d_4/CDCl_3): δ 1.26 (t, 3H), 3.91 (q, 2H), 7.34 (s, 1H), 7.71 (d, 1H), 8.02 (s, 1H), 8.56 (s, 1H).

保留时间(LC法: 甲酸标准): 1.16min.

MS($\text{M}+\text{H}^+$): 262.0

实施例 3: N-(6-氯-7-乙氧基-9H- β -吡啶-8-基)-2-甲基-烟酰胺

根据方法 A 的步骤, 由 6-氯-7-乙氧基-9H- β -吡啶-8-基胺和 2-甲基烟酸制得所需化合物, 收率为 40%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOH- d_4): δ 1.39 (t, 3H), 2.76 (s, 3H), 4.14 (q, 2H), 7.43 (dd, 1H), 8.05 (d, 1H), 8.26 (m, 3H), 8.55 (d, 1H), 8.79 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.98min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 381.3

中间体 11: 6-氯-7-(N,N)-二甲氨基-8-硝基-9H- β -吡啶

在氩气气氛下, 将 N,N-二甲胺盐酸盐(278mg, 3.4mmol)加入到 6-氯-7-氟-8-硝基-9H- β -吡啶(300mg, 1.13mmol)的 DMSO (8ml) 搅拌溶液中。接着加入 DIEA (0.83ml, 4.65mmol), 反应混合物在 60°C 下加热过夜。在允许冷却反应混合物至室温后, 加入水, 沉淀出深桔黄色固体。过滤固体, 利用水洗涤, 干燥得到所需产物 (230mg, 70%收率)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 4.06 (s, 6H), 7.23 (d, 1H), 7.53 (d, 1H), 7.66 (s, 1H), 8.05 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 2.41min.

MS (M+H⁺): 290.9

中间体 12: 6-氯-7-(N,N)-二甲氨基-9H-β-咔啉-8-基胺

将 6-氯-7-(N,N)-二甲氨基-8-硝基-9H-β-咔啉(828mg, 2.86mmol)悬浮在 30ml 甲醇中, 加入 166mg Pd/C (10%)。烧瓶安装有氢气气球, 反应混合物在环境温度下搅拌过夜。通过硅藻土垫过滤, 并蒸发甲醇, 得到深棕色固体, 其被确定为所需的 6-氯-7-(N,N)-二甲氨基-9H-β-咔啉-8-基胺(500mg, 67%收率)。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 2.80 (s, 6H), 5.42 (s, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.95 (d, 1H), 8.23 (d, 1H), 8.86 (d, 1H).
Retention Time (LC, method: ammonium acetate standard): 2.32 min.

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 2.32min.

MS (M+H⁺): 261.1

实施例 4: N-(6-氯-7-(N,N)-二甲氨基-9H-β-咔啉-8-基)-2-甲基-烟酰胺

根据方法 A 的步骤, 由 6-氯-7-(N,N)-二甲氨基-9H-β-咔啉-8-基胺和 2-甲基烟酸制得所需的化合物, 收率为 40-60%。

¹H-NMR (300 MHz, Methanol-d₄/CDCl₃): δ 2.82 (s, 3H), 2.94 (s, 6H), 7.33 (m, 1H), 8.02 (m, 3H), 8.34 (d, 1H), 8.61 (d, 1H), 8.95 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 2.29min.

MS (M+H⁺): 380.3

中间体 13: 6-氯-7-(4-甲基-哌嗪-1-基)-8-硝基-9H-β-咔啉

向 6-氯-7-氟-8-硝基-9H-β-咔啉(200mg, 0.755mmol)的 DMSO (4ml)溶液中通过注射器加入 1-甲基哌嗪(226mg, 2.26mmol)和 DIEA (400mg, 3.09mmol)。允许反应在室温下搅拌过夜。在加入水时, 沉淀出桔黄色固体。过滤固体, 洗涤并干燥, 得到 236 mg (91%收率)所需的 6-氯-7-(4-甲基-哌嗪-1-基)-8-硝基-9H-β-咔啉。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 2.24 (s, 3H), 2.48 (m, 4H), 3.13 (m, 4H), 8.13 (d, 1H), 8.40 (d, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 12.05 (s, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.72min.

MS (M+H⁺): 346

中间体 14: 6-氯-7-(4-甲基-哌嗪-1-基)-8-氨基-9H-β-咔啉

在氩气气氛下, 将 236mg 6-氯-7-(4-甲基-哌嗪-1-基)-8-硝基-9H-β-咔啉悬浮在 100ml 甲醇中, 加入 10% Pd/C (48mg)。利用氩气冲洗 (3 ×) 烧瓶, 在氩气气氛下, 于室温下搅拌反应混合物过夜。过滤反应混合物, 利用硅藻土垫除去 Pd/C。蒸发反应混合物, 除去溶剂, 快速色谱纯化得到 119mg (55%收率)所需 6-氯-7-(4-甲基-哌嗪-1-基)-8-氨基-9H-β-咔啉。

¹H-NMR (300 MHz, methanol-d₄): δ 2.39 (s, 3H), 2.46 (m, 2H), 2.87 (m, 4H), 3.83 (m, 2H), 7.50 (s, 1H), 7.97 (d, 1H), 8.24 (d, 1H), 8.78 (s, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵极): 1.32min.

MS (M+H⁺): 316

实施例 5: 2-氯-N-[6-氯-7-(4-甲基-哌嗪-1-基)-9H-β-咔啉-8-基]-烟酰胺

根据方法 A 的步骤, 由 6-氯-7-(4-甲基-哌嗪-1-基)-8-氨基-9H-β-咔啉和 2-氯-烟酸制得所需化合物, 收率为 25%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 2.21 (s, 3H), 2.33 (m, 2H), 2.54 (m, 2H), 3.24 (m, 4H), 7.73 (dd, 1H), 8.12 (d, 1H), 8.35 (d, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.48 (dd, 1H), 8.61 (dd, 1H), 8.91 (s, 1H), 10.40 (s, 1H), 11.33 (s, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.46min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 455

中间体 15: 拆分外消旋-芸香酸

将芸香酸溶解在 10:1 EtOAc-MeOH [10g 芸香酸(17.7g 盐), 于 550ml]混合物中, 加热至 50-55°C, 接着加入(S)-(-)- α -甲基-苄胺。搅拌反应混合物 2 分钟, 然后放置在室温下 15 分钟。利用浓缩盐(利用 3 次重结晶, 小规模制得)接种反应混合物, 利用超声波降解标本 10-15 秒钟, 放置在室温下过夜。滤出该固体, 利用 EtOAc 洗涤, 并真空干燥。通过再溶解盐(24mg/ml), 在相同溶剂混合物中进行重结晶。然后将该混合物加热至温和回流一小段时间(几乎没有晶体残留在悬浮液中)。将混合物放置在室温下过夜。根据先前的方法处理固体。

利用由 TBTU 偶合反应得到的对应酰胺的质子 NMR, 粗略地测定过量的非对映体。

(R)-(+)-芸香酸的再生：将盐溶解在水(320mg/ml)中，加热至 65℃，加入 1.2 当量的 6M HCl 溶液。然后将反应混合物置于 4℃ 下过夜。滤出固体，利用小部分冷水洗涤，在高真空下干燥(收率 25-30%)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 1.30 (s, 3H), 1.52 (s, 3H), 2.74 (dd, 1H), 2.85 (dd, 1H), 3.25 (t, 1H).

保留时间(LC 法：乙酸铵标准): 0.33min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 159.0

实施例 6: 2,2-二甲基-5-氧代-四氢-咪喃-3-羧酸 (6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 B 的步骤，由 6-氯-9H- β -咔啉-8-基胺和(R)-芸香酸(中间体 15)制得所需化合物，收率为 80-90%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 1.44 (s, 3H), 1.59 (s, 3H), 2.91 (dd, 1H), 3.08 (dd, 1H), 3.38 (dd, 1H), 7.85 (m, 1H), 8.17 (d, 1H), 8.25 (d, 1H), 8.39 (d, 1H), 9.05 (s, 1H), 10.26 (s, 1H), 11.72 (s, 1H).

保留时间(LC 法：乙酸铵标准): 1.22min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 358.3

实施例 7: 1,2,2-三甲基-5-氧代-吡咯烷-3-羧酸 (6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 B 的步骤，由 6-氯-9H- β -咔啉-8-基胺和 1,2,2-三甲基-5-氧代-吡咯烷-3-羧酸制得所需化合物，收率为 68%。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300MHz) δ 1.23 (s, 3H), 1.45 (s, 3H), 2.59 (dd, 1H), 2.66 (s, 3H), 2.70 (dd, 1H), 3.17 (t, 1H), 7.91 (m, 1H), 8.18 (d, 1H), 8.24 (d, 1H), 8.40 (d, 1H), 9.07 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 11.32 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.17min.

MS ($M+H^+$): 371.3

中间体 16: N-苄基-丝氨酸苄酯

向 L-丝氨酸-苄酯-HCl (2.3g)、苯甲醛(1.05eq.)和乙酸钠(1eq.)的甲醇混合物中加入氰基硼氢化钠(1.0eq.)。所得混合物在环境温度下搅拌 15 小时, 然后分配在乙醚和饱和碳酸氢钠之间。利用 1M HCl (3 \times) 萃取分离的有机相。利用乙醚洗涤合并的有机萃取液, 利用 4.5M K_2CO_3 水溶液碱化, 利用乙醚萃取。利用盐水洗涤合并的萃取液, 在硫酸钠上干燥, 并浓缩至干, 得到 2.32g 所需化合物 (蜡状固体, 81%收率)。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, $CDCl_3$): δ 3.48 (dd, 1H), 3.64 (dd, 1H), 3.74 (d, 1H), 3.80 (dd, 1H), 3.88 (d, 1H), 5.18 (s, 2H), 7.25-7.39 (m, 10H).

MS ($M+H^+$): 286

中间体 17: 4-苄基-6-碘甲基-6-甲基-吗啉-3-羧酸苄酯

在环境温度下, 向 N-苄基-丝氨酸苄酯(中间体 16, 6.35g)的 90ml MeCN 溶液中加入 3-溴-2-甲基-丙烯(5.6ml)、KI (740mg)和 K_2CO_3 (7.7g)。反应混合物在环境温度下搅拌 72 小时。加入 1ml 3-溴-2-甲基-丙烯, 再搅拌反应混合物 15 小时。基于 TLC 检测(1:1;

EtOAc-己烷), 只有少量起始原料保留在其中。向所得混合物中加入 11.2g 碘。搅拌 4 小时后, TLC (10% EtOAc/己烷)表明转化完全。将反应混合物分配在乙醚(300ml)与 0.5 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (100ml) 之间。利用水、饱和 NaHCO_3 和盐水顺序地洗涤分离的有机相, 在 MgSO_4 上干燥, 浓缩至干。硅胶色谱(5%EtOAc/己烷)纯化残留物, 得到 6.65g 化合物 4-苄基-6-碘甲基-6-甲基-吗啉-3-羧酸苄酯 (黄色油状物, 64%收率, 大约 4:1 混合物)。

主要成分:

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ 1.22 (s, 3H), 2.50 (d, 1H), 3.16-3.36 (m, 3H), 3.75-3.95 (m, 4H), 4.06 (dd, 1H), 5.16 (d, 1H), 5.21 (d, 1H), 7.28-7.36 (m, 10H).

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 466

中间体 18: 4-苄基-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸苄酯

在温和回流条件下, 在 1.5 小时内, 向 4-苄基-6-碘甲基-6-甲基-吗啉-3-羧酸苄酯(中间体 17, 1.23g)和氢化三丁基锡(1.8ml, 2.5eq.)的 11ml 甲苯溶液中加入 AIBN 的甲苯溶液(25mg/ml)。允许冷却混合物, 并浓缩至干。将残留物分配在 15% 1M HCl 的乙腈溶液与己烷之间。利用乙腈溶液萃取分离的己烷相两次。利用己烷洗涤合并的乙腈溶液两次, 并浓缩。将残留物分配在乙醚与 1M K_2CO_3 之间。利用 0.4M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 和盐水顺序地洗涤分离的醚相, 在 MgSO_4 上干燥并浓缩。硅胶(7.5% EtOAc/己烷)纯化残留物, 得到 760mg (油状物, 85%收率)化合物 4-苄基-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸苄酯。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ 1.21 (s, 3H), 1.24 (s, 3H), 2.12 (d, 1H), 2.84 (d, 1H), 3.29 (t, 1H), 3.58 (d, 1H), 3.95-4.05 (m, 2H), 5.15 (d, 1H), 5.21 (d, 1H), 7.28-7.36 (m, 10H).

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 340

中间体 19: 6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸

向 4-苄基-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸苄酯(中间体 18, 1.25g)的 40ml 10% AcOH/MeOH (在氮气气氛下)溶液中加入 250mg 20% $\text{Pd}(\text{OH})_2$ /木炭。利用氢气(气球)净化反应混合物,在环境温度下搅拌 72 小时。向所得灰色混合物中加入 4ml 水,以帮助溶解。过滤除去催化剂,浓缩滤液至干。利用乙醇共蒸发(2 \times)残留物,然后利用 EtOAc 研磨。滤出生成的白色固体,高真空干燥,得到 559mg 6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(95%收率)。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, D_2O): δ 1.35 (s, 3H), 1.38 (s, 3H), 3.11 (d, 1H), 3.32 (d, 1H), 3.81-3.87 (m, 1H), 4.05 (bt, 1H), 4.17 (bd, 1H).

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 160

中间体 20: 4,6,6-三甲基-吗啉-3-羧酸

向 6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(中间体 19, 540mg)的 17ml 乙醇(在氮气气氛下)溶液中加入 100mg 10% Pd/C 和 830 μl (~3eq.) 37% 甲醛水溶液。利用氢气(气球)净化混合物,在环境温度下搅拌 5 小时。向所得灰色混合物中加入 4ml 水和 4ml 甲醇,以帮助溶解。过滤除去催化剂,浓缩滤液至干。利用 EtOAc 研磨残留物。

滤出生成的白色固体，高真空干燥，得到 574mg 4,6,6-三甲基-吗啉-3-羧酸(97%收率)。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, D_2O): δ 1.35 (s, 3H), 1.43 (s, 3H), 2.94 (s, 3H), 3.08 (d, 1H), 3.41 (d, 1H), 3.68 (dd, 1H), 3.96 (t, 1H), 4.14 (dd, 1H).

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 174

实施例 8: 4,6,6-三甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 B 的步骤，由 6-氯-9H- β -咔啉-8-基胺和 4,6,6-三甲基-吗啉-3-羧酸制得所需化合物，收率为 61%。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 300MHz) δ 1.15 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.98 (d, 1H), 2.26 (s, 3H), 2.72 (d, 1H), 2.80 (dd, 1H), 3.79 (m, 2H), 7.91 (s, 1H), 8.03-8.08 (m, 2H), 8.22 (d, 1H), 8.97 (s, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.33min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 373.2

实施例 9: 2,2-二甲基-5-氧代-四氢-咪喃-3-羧酸(6-氯-7-甲氧基-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 A 的步骤，由 6-氯-7-甲氧基-9H- β -咔啉-8-基胺和 (R)-芸香酸制得所需化合物，收率为 60-80%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 1.48 (s, 3H), 1.61 (s, 3H), 3.03 (m, 2H), 3.51 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 8.16 (m, 1H), 8.37 (m, 1H), 8.43 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 10.10 (s, 1H), 11.33 (s, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.94min.

MS (M+H⁺): 388

中间体 21: 6-氯-7-环丙基甲氧基-8-硝基-9H-β-咔啉

在氩气气氛下, 将环丙基甲基醇(0.921ml, 11.4mmol)加入到 NaH (455mg, 11.4mmol)的 DMF (20ml)搅拌悬浮液中。允许所得溶液在室温下搅拌 20 分钟。向搅拌溶液中加入 6-氯-7-氟-8-硝基-9H-β-咔啉(500mg, 1.9mmol), 允许在室温下搅拌所得混合物。在加入 H₂O 时, 沉淀出棕色固体, 过滤得到所需的 6-氯-7-环丙基甲氧基-8-硝基-9H-β-咔啉(510mg, 85%)。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 0.35 (m, 2H), 0.59 (m, 2H), 1.32 (m, 1H), 4.04 (d, 2H), 8.21 (d, 1H), 8.46 (d, 1H), 8.90 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 12.32 (b, 1H)

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 2.63min.

MS (M+H⁺): 318

中间体 22: 6-氯-7-环丙基甲氧基-9H-β-咔啉-8-基胺

将 6-氯-7-环丙基甲氧基-8-硝基-9H-β-咔啉(510mg, 1.61mmol)悬浮在 12ml 甲醇中, 加入 100mg Pd/C (10%)。烧瓶安装有氢气气球, 反应混合物在室温下搅拌过夜。在通过硅藻土垫过滤并蒸发甲醇时, 得到深棕色固体。将残留物悬浮在甲醇(10ml)中, 在剧烈搅拌下加入到饱和 NaHCO₃ (100ml)溶液中。过滤收集沉淀出的亮棕色固体, 彻底真空干燥, 得到所需 6-氯-7-环丙基甲氧基-9H-β-咔啉-8-基胺(371 mg, 80%收率)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, methanol- d_4): δ 0.36 (m, 2H), 0.61 (m, 2H), 1.37 (m, 1H), 3.88 (d, 2H), 7.58 (s, 1H), 7.96 (d, 1H), 8.23 (d, 1H), 8.76 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 2.28min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 288

实施例 10: N-(6-氯-7-环丙基甲氧基-9H- β -咔啉 8-基)-2-甲基-烟酰胺

根据方法 A 的步骤, 由 6-氯-7-环丙基甲氧基-9H- β -咔啉 8-基胺和 2-甲基烟酸制得所需化合物, 收率为 40-60%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOH- d_4): δ 0.29 (m, 2H), 0.55 (m, 2H), 1.29 (m, 1H), 2.78 (s, 3H), 3.95 (m, 2H), 7.46 (dd, 1H), 8.08 (m, 1H), 8.30 (m, 3H), 8.59 (m, 1H), 8.81 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 2.18min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 405

中间体 23: 6-氯-7-(N,N)-二甲氨基乙氧基-8-硝基-9H- β -咔啉

在氩气气氛下, 将 N,N-二甲氨基乙醇(6.0eq)加入到 NaH (6.0eq)的 DMF 搅拌悬浮液中。允许在室温下搅拌所得溶液 20 分钟。将 6-氯-7-氟-8-硝基-9H- β -咔啉(1.0eq)加入到搅拌溶液中, 允许在室温下搅拌所得混合物。在加入 H_2O 时, 沉淀出棕色固体, 过滤得到所需的 6-氯-7-(N,N)-二甲氨基乙氧基-8-硝基-9H- β -咔啉 (定量收率)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 2.23 (s, 6H), 2.74 (t, 2H), 4.28 (t, 2H), 8.21 (d, 1H), 8.46 (d, 1H), 8.90 (s, 1H), 9.02 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.26min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 335

中间体 24: 6-氯-7-(N,N)-二甲氨基乙氧基-9H- β -咔啉-8-基胺

将 6-氯-7-(N,N)-二甲氨基乙氧基-8-硝基-9H- β -咔啉(500mg, 1.5mmol)悬浮在 12ml 甲醇中, 加入 100mg Pd/C(10%)。烧瓶安装有氢气气球, 反应混合物在室温下搅拌过夜。在通过硅藻土垫过滤并蒸发甲醇, 得到深棕色固体。将残留物悬浮在甲醇(10ml)中, 在剧烈搅拌下, 将其加入到饱和 NaHCO_3 (100ml)中。过滤收集沉淀的固体, 真空彻底干燥, 得到所需的 6-氯-7-(N,N)-二甲氨基乙氧基-9H- β -咔啉-8-基胺(380mg, 83%)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, methanol- d_4): δ 2.43 (s, 6H), 2.84 (t, 2H), 4.11 (t, 2H), 7.47 (s, 1H), 7.88 (d, 1H), 8.20 (d, 1H), 8.72 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.34min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 305

实施例 11: N-[6-氯-7-(2-二甲氨基-乙氧基)-9H- β -咔啉-8-基]-2-甲基-烟酰胺

根据方法 A 的步骤, 由 6-氯-7-(N,N)-二甲氨基乙氧基-9H- β -咔啉-8-基胺和 2-甲基烟酸制得所需化合物, 收率 40-60%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 1.92 (s, 6H), 2.49 (m, 2H), 2.68 (s, 3H), 4.25 (m, 2H), 7.50 (dd, 1H), 8.16 (m, 2H), 8.38 (d, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.66 (m, 1H), 9.00 (s, 1H), 11.27 (s, 1H), 11.78 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.52min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 424

实施例 12: 2-氨基-环戊烷环戊烷羧酸(6-氯-7-甲氧基-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

利用方法 A 的步骤, 将 6-氯-7-甲氧基-9H- β -咔啉-8-基胺与 2-叔丁氧基羰基氨基-环戊烷羧酸反应。向该产物中加入~5ml 4N HCl/二噁烷, 允许将所的混合物在室温下搅拌。利用 LC-MS 监测反应, 直至反应完全。接着蒸发, 除去所有的溶剂, 得到粗 HCl 盐。然后通过制备性 HPLC 纯化所需产物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 1.68 (m, 1H), 1.84 (m, 2H), 2.06 (m, 2H), 2.20 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.67 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 8.24 (d, 2H), 8.61 (d, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.78 (d, 1H), 9.19 (s, 1H), 10.58 (s, 1H), 13.20 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.54min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 359

中间体 25: 1-(2-二甲氨基-乙基)-5-氧代-吡咯烷-3-羧酸

将可市购的衣康酸和 N,N-二甲基乙二胺的混合物加热至 160 $^{\circ}\text{C}$ 大约 20-25 分钟。允许将混合物冷却至 100 $^{\circ}\text{C}$, 然后利用 MeOH

稀释，以防固化。从 MeOH/EtOAc 重结晶后，得到产物，收率为 56%。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, D_2O): δ 2.63 (dd, 1H), 2.80 (dd, 1H), 2.95 (s, 6H), 3.15-3.25 (m, 1H), 3.32-3.44 (m, 1H), 3.44-3.76 (m, 4H), 3.82-3.94 (m, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 0.13min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 201.0

实施例 13: 1-(2-二甲氨基-乙基)-5-氧代-吡咯烷-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 B 的步骤, 由 6-氯-9H- β -咔啉-8-基胺和 1-(2-二甲氨基-乙基)-5-氧代-吡咯烷-3-羧酸制得产物, 为二-HCl 盐, 收率为 70-80%。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, D_2O): δ 2.97 (dd, 1H), 3.03 (s, 6H), 3.08 (dd, 1H), 3.51 (t, 2H), 3.76-3.89 (m, 3H), 3.95 (dd, 1H), 4.01 (dd, 1H), 7.75 (d, 1H), 8.24 (d, 1H), 8.45 (dd, 1H), 8.52 (dd, 1H), 9.10 (bs, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 0.99min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 400

实施例 14: 1-(2-二甲氨基-乙基)-5-氧代-吡咯烷-3-羧酸(6-氯-7-甲氧基-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 A 的步骤, 由 6-氯-7-甲氧基-9H- β -咔啉-8-基胺和 1-(2-二甲氨基-乙基)-5-氧代-吡咯烷-3-羧酸制得产物, 以己烷

/EtOH/MeOH (85/7.5/7.5)为洗脱液, 利用半制备性 Chiralcel OD 柱纯化, 收率为 60%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.44 (s, 6H), 2.75 (t, 2H), 2.88 (d, 2H), 3.56 (t, 2H), 3.66 (m, 1H), 3.85 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 8.03 (d, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.28 (d, 1H), 8.79 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.42min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 430

中间体 26: 6-氯-7-氟-9H- β -咔啉-8-基胺

利用氩气, 使 6-氯-7-氟-8-硝基-9H- β -咔啉(500mg, 1.88mmol) 的 MeOH (25ml) 浆状物脱气。加入 Pd/C (20%w/w, 50mg), 利用氩气冲洗反应容器。在氩气气氛下搅拌 6 小时, 然后通过硅藻土过滤, 减压浓缩得到 6-氯-7-氟-9H- β -咔啉-8-基胺(400mg), 为棕色固体。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11.48 (br s, 1); 8.99 - 8.98 (m, 1); 8.37 - 8.35 (m, 1); 8.11 - 8.09 (m, 1); 7.74 - 7.72 (m, 1); 5.65 (br s, 2).

HCOOH 标准条件。

DAD R_f = 1.00min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 236

实施例 15: N-(6-氯-7-氟-9H-β-吡啶-8-基)-2-甲基-烟酰胺

在室温下搅拌 6-氯-7-氟-9H-β-吡啶-8-基胺 (100mg, 0.424mmol) 的吡啶 (2.5ml) 溶液。加入 2-甲基烟酸 (70mg, 0.509mmol), 接着加入 EDCI (130mg, 0.678mmol)。将悬浮液在 100 °C 下搅拌一天。减压除去吡啶, 所得深色油状物由饱和 NaHCO₃ 水溶液研磨, 过滤生成的沉淀, 利用 MeOH 洗涤。利用 2M HCl 的 Et₂O 溶液处理该物质, 得到灰色固体, 为 N-(6-氯-7-氟-9H-β-吡啶-8-基)-2-甲基-烟酰胺二-HCl 盐。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 13.15 (s, 1); 11.03 (s, 1); 9.33 (s, 1); 8.99 - 8.97 (m, 1); 8.92 - 8.89 (m, 1); 8.79 - 8.73 (m, 2); 8.50 (m, 1); 7.70 (m, 1); 2.80 (s, 3).

HCOOH 标准条件。

DAD R_f = 0.91min.

MS (M+H⁺): 355

中间体 27: 6-氯-7-甲基硫烷基-8-硝基-9H-β-吡啶

将 6-氯-7-氟-8-硝基-β-吡啶(中间体 5, 3.959g, 14.9mmol)和 100ml 无水 DMF 装入安装有磁性搅拌器的 250ml 圆底烧瓶中。将所得桔黄色混合物冷却至 0 °C (冰水浴), 向其中慢慢加入粉末状硫代甲醇钠(1.809g, 25.8mmol)。反应混合物在 0 °C 下搅拌 1 小时, 温热至室温, 慢慢加入到 4:1 H₂O/饱和碳酸氢钠水溶液 (500ml)的搅拌混合物中。通过吸滤收集沉淀固体, 空气干燥得到 4.017g 6-氯-7-甲基硫烷基-8-硝基-9H-β-吡啶, 为桔黄色粉末。粗产物在下一步骤中直接使用。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, Methanol- d_4): δ 8.91 (1H, d) 8.63 (1H, s) 8.42 (1H, d) 8.17 (1H, dd) 2.54 (3H, s).

LCMS (甲酸标准法) 保留时间= 1.43min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 294

中间体 28: 6-氯-7-甲基硫烷基-9H- β -咔啉-8-基胺

将 6-氯-7-甲基硫烷基-8-硝基-9H- β -咔啉(4.011g, 13.6mmol) 和 200ml 无水乙醇装入安装有磁性搅拌器的 500ml 圆底烧瓶中。向所得混合物中加入氯化铵水溶液(75ml 0.33M 溶液, 24.7mmol)、盐酸溶液(10ml 1M 溶液, 10mmol)和铁粉(7.734g, 138mmol)。加热所得混合物至 60 $^{\circ}\text{C}$ (油浴), 剧烈搅拌 3.5 小时。将反应冷却至室温, 利用 EtOAc (75ml)稀释, 加入活性炭(约 2.5g)。所得混合物再在室温下搅拌 1.5 小时, 通过硅藻土垫过滤, 浓缩(旋转蒸发, 然后真空泵)所得滤液, 得到 5.153g 微黄色-桔黄色固体。将固体溶解在 MeOH (50-100ml)中, 在搅拌条件下慢慢加入到碳酸氢钠饱和溶液(500ml)中。混合物在室温下搅拌 45 分钟, 通过吸滤收集所得固体, 并空气干燥, 得到 3.476g 6-氯-7-甲基硫烷基-9H- β -咔啉-8-基胺, 为褐色固体, 该固体可在无需进一步纯化条件下用于下一步骤。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, Methanol- d_4): δ 8.87 (1H, s) 8.35-8.24 (1H, m) 8.16-8.06 (1H, m) 7.67 (1H, s) 2.32 (3H, s).

LCMS (乙酸铵标准法)保留时间= 2.12min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 264

实施例 16: N-(6-氯-7-甲基硫烷基-9H-β-咔啉-8-基)-2-甲基-烟酰胺

将于 80ml 无水吡啶中的 6-氯-7-甲基硫烷基-9H-β-咔啉-8-基胺(中间体 28, 2.336g, 8.86mmol)和烟酸 2-甲酯(3.219g, 23.4mmol)装入安装有磁性搅拌器的 250ml 圆底烧瓶中。在室温下, 向所得反应混合物中加入固体 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺盐酸盐(7.080g, 36.9mmol), 将反应混合物加热至 100℃ (油浴) 两天。将所得混合物冷却至室温, 浓缩(旋转蒸发)得到棕色残留物。将残留物溶解在 MeOH (50ml)中, 慢慢加入到 5:1 H₂O/饱和碳酸氢钠(600ml)的搅拌混合物中, 在室温下搅拌~18 小时。通过吸滤收集沉淀的固体, 利用 Et₂O (2 × 150ml)洗涤, 空气干燥得到 3.036g 粗 N-(6-氯-7-甲基硫烷基-9H-β-咔啉-8-基)-2-甲基-烟酰胺, 为棕色固体。通过 HPLC 纯化该粗产物(收率为~40-60%)。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 11.72 (1H, s) 10.50 (1H, s) 8.97 (1H, s) 8.62 (1H, dd) 8.57 (1H, s) 8.41 (1H, d) 8.33-8.27 (1H, m) 8.21 (1H, d) 2.73 (3H, s) 2.41 (3H, s).

LCMS (乙酸铵标准法) 保留时间= 1.89min.

MS (M+H⁺): 383

中间体 29: 6-氯-7-乙基硫烷基-8-硝基-9H-β-咔啉

将于 5ml 无水 DMF 中的 6-氯-7-乙基-8-硝基-9H-β-咔啉(102mg, 0.38mmol)装入安装有磁性搅拌器的 25ml 圆底烧瓶中。中室温下, 向所得桔黄色混合物中慢慢加入粉末状硫代乙醇钠(80%, 纯的, 69.7mg, 0.66mmol)。反应混合物中室温下搅拌 45 分钟, 然后滴加 5:1 H₂O/饱和碳酸氢钠(~30ml)混合物。吸滤收集所得沉淀固

体, 利用 1:1 己烷/二乙醚(2 × 20ml)洗涤, 空气干燥得到 95.0mg 6-氯-7-乙基硫烷基-8-硝基-9H-β-吡啶, 为桔黄色固体(79%)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD , ppm) δ 8.91 (1H, s) 8.63 (1H, s) 8.42 (1H, d) 8.18 (1H, d) 3.04 (2H, q) 1.20 (3H, t).

保留时间(LC, 甲酸标准法): 1.71min.

MS (M+H⁺): 308

中间体 30: 6-氯-7-乙基硫烷基-9H-β-吡啶-8-基胺

将于 10ml 无水乙醇中的 6-氯-7-乙基硫烷基-8-硝基-9H-β-吡啶(85.0mg, 0.28mmol)装入安装有磁性搅拌器的 50ml 圆底烧瓶中。在室温下, 将所得桔黄色混合物中加入 0.33M 氯化铵水溶液(2.0ml, 0.66mmol)和铁粉(680mg, 12.2mmol)。将反应混合物加热至 60°C, 剧烈搅拌 20 小时。接着将混合物冷却至室温, 利用乙酸乙酯(15ml)稀释, 加入活性炭(~180mg)。通过硅藻土垫过滤所得混合物, 浓缩滤液, 得到 77.8mg 6-氯-7-乙基硫烷基-9H-β-吡啶-8-基胺, 为黄色固体(>99%)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD , ppm) δ 8.94 (1H, s) 8.33-8.29 (1H, m) 8.21-8.18 (1H, m) 7.73 (1H, s) 2.85 (2H, q) 1.21 (3H, t).

LCMS (乙酸铵标准法) 保留时间= 2.13min.

(M⁺ = 278; M⁻=276)

实施例 17: N-(6-氯-7-乙基硫烷基-9H-β-咔啉-8-基)-2-甲基-烟酰胺

将于 3ml 无水吡啶中的 6-氯-7-乙基硫烷基-9H-β-咔啉-8-基胺 (37.2mg, 0.13mmol) 和 2-甲基烟酸 (36.2mg, 0.26mmol) 装入安装有磁性搅拌器的 25ml 圆底烧瓶中。在室温下, 向所得亮桔黄色混合物中加入固体 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺盐酸盐 (73.2mg, 0.38mmol), 将所得反应混合物加热至 80°C 5 天。接着, 将反应混合物温热至室温并浓缩得到棕色粘稠状糖浆。将该糖浆溶解在最小量的 MeOH (~2ml) 中, 慢慢加入到 5:1 H₂O/饱和碳酸氢钠(~20ml) 混合物中, 在室温下搅拌 2.5 小时。通过吸滤收集所得沉淀固体, 利用 1:1 己烷/二乙醚(2 × 20ml) 洗涤, 空气干燥得到 21.0mg N-(6-氯-7-乙基硫烷基-9H-β-咔啉-8-基)-2-甲基-烟酰胺, 为褐色固体(~38%)。LCMS (乙酸铵标准法) 保留时间 = 2.33min.。(M⁺ = 397; M⁻ = 395)。

¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD, ppm) δ 8.89 (1H, s) 8.63-8.58 (1H, m) 8.44-8.38 (2H, m) 8.36 (1H, d) 8.15 (1H, d) 7.52-7.44 (1H, m) 2.98 (2H, q) 2.84 (3H, s) 1.20 (3H, t).

中间体 31: [2-(6-氯-8-硝基-9H-β-咔啉-7-基硫烷基)-乙基]-二甲基-胺

将于 2ml 无水 DMF 中的 6-氯-7-氟-8-硝基-9H-β-咔啉(98mg, 0.37mmol) 装入安装有磁性搅拌器的 25ml 圆底烧瓶中。将于 2ml 无水 DMF 中的 2-二甲氨基-乙硫醇盐酸盐(100mg, 0.70mmol) 装入安装有磁性搅拌器的第二 10ml 圆底烧瓶中。通过注射器向所得悬浮液中加入正丁基锂(0.43ml 1.6M 己烷溶液, 0.69mmol), 混合物在室温下搅拌 5 分钟。然后, 通过注射器, 将硫代阴离子溶液

加入到 6-氯-7-氟-8-硝基-9H-β-咔啉中，所得红色溶液在室温下搅拌 30 分钟。将反应混合物慢慢加入到 5:1 H₂O/饱和碳酸氢钠溶液(30ml)的混合物中，允许在室温下静置数小时。通过吸滤收集所得沉淀固体，空气干燥得到 109mg [2-(6-氯-8-硝基-9H-β-咔啉-7-基硫烷基)-乙基]-二甲基-胺，为桔黄色固体(83%)。

LCMS (乙酸铵标准法) 保留时间= 1.35min.

(M⁺ = 351; M⁻ = 349)

¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD, ppm) δ 8.92 (1H, d, J = 1.0 Hz)
8.66 (1H, s) 8.43 (1H, d) 8.19 (1H, dd) 3.18-3.13 (2H, m)
2.57-2.52 (2H, m) 2.21 (6H, s).

中间体 32: 6-氯-7-(2-二甲氨基-乙基硫烷基)-9H-β-咔啉-8-基胺

将于 8ml 无水乙醇中的[2-(6-氯-8-硝基-9H-β-咔啉-7-基硫烷基)-乙基]-二甲基-胺(106mg, 0.30mmol)装入安装有磁性搅拌器的 50ml 圆底烧瓶中。在室温下，向所得桔黄色混合物中加入 0.33M 氯化铵溶液(1.95ml, 0.64mmol)和铁粉(540mg, 9.67mmol)。将反应混合物加热至 60℃，剧烈搅拌 20 小时。然后，将混合物冷却至室温，利用乙酸乙酯(20ml)稀释，加入活性炭(约 150mg)。通过硅藻土垫过滤所得混合物，浓缩所得滤液，得到 103mg 6-氯-7-(2-二甲氨基-乙基硫烷基)-9H-β-咔啉-8-基胺，为黄色固体。该粗产物可直接用于下列偶合步骤中。

LCMS (乙酸铵标准法)保留时间= 1.34min.

(M⁺ = 321; M⁻ = 319)

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD , ppm) δ 8.87 (1H, s) 8.30 (1H, d)
8.06 (1H, d) 7.75 (1H, s) 3.23-3.13 (4H, m) 2.84 (6H, s).

实施例 18: N-[6-氯-7-(2-二甲氨基-乙基硫烷基)-9H- β -咔啉-8-基]-2-甲基-烟酰胺

将于 4.5ml 无水吡啶中的 6-氯-7-(2-二甲氨基-乙基硫烷基)-9H- β -咔啉-8-基胺(45.2mg, 0.14mmol)和 2-甲基烟酸(39.0mg, 0.28mmol)装入安装有磁性搅拌器的 25ml 圆底烧瓶中。在室温下, 向所的亮桔黄色混合物中加入固体 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺盐酸盐(95.0mg, 0.49mmol)。将所的反应混合物加热至 80 $^{\circ}\text{C}$ 3 天。接着, 将反应冷却至室温, 浓缩得到棕色粘稠状糖浆。将该糖浆溶解在最小量的 MeOH (~2ml)中, 慢慢加入到 5:1 H_2O /饱和碳酸氢钠混合物(~25ml), 利用乙酸乙酯(3 \times 30ml)萃取。利用盐水(1 \times 30ml)洗涤合并的有机层, 在 Na_2SO_4 上干燥, 过滤并浓缩, 得到棕色残留物(79.6mg)。将残留物溶解在 MeOH (~5ml)中, 通过棉塞过滤。向所得的滤液中加入于 1,4-二噁烷中的 HCl (1.0ml, 4.0mmol), 在室温下搅拌所得的溶液 3 小时, 将其在搅拌条件下滴加到二乙醚(30ml)中。通过吸滤收集所得的沉淀产物, 利用乙醚洗涤, 空气干燥得到 36.3mg N-[6-氯-7-(2-二甲氨基-乙基硫烷基)-9H- β -咔啉-8-基]-2-甲基-烟酰胺三盐酸盐, 为黄色粉末。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD , ppm) δ 8.95 (1H, s) 8.62 (1H, dd)
8.43 (1H, s) 8.38-8.34 (2H, m) 8.16 (1H, d) 7.50 (1H, dd)
3.09 (2H, t) 2.85 (3H, s) 2.30 (2H, t) 1.99 (6H, s).

LCMS (乙酸铵标准法) 保留时间= 1.56min.

($\text{M}^+ = 440$; $\text{M}^- = 438$)

中间体 33: 吗啉-3(S),4-二羧酸 4-叔丁酯

在室温下搅拌吗啉-3(S)-羧酸(2.00g, 15.3mmol)的 DMF (75ml) 悬浮液。加入三乙胺(7.47ml, 53.6mmol)和二碳酸二叔丁酯(BOC₂O, 4.02g, 18.4mmol)。在室温下搅拌悬浮液 1 小时, 同时反应生成清亮的黄色溶液。浓缩溶液, 使体积减小(~25ml), 利用水(15ml)和 1N HCl (15ml)稀释。将混合物注入到分液漏斗中, 进一步利用水(100ml)和盐水(100ml)稀释, 利用 Et₂O (3 × 100ml)萃取。利用盐水洗涤有机层, 干燥、过滤并浓缩, 得到白色固体。将含有过量 BOC₂O 的固体溶解在 Et₂O (500ml)中, 利用 1N NaOH (3 × 100ml)萃取。利用 6N HCl 酸化水层, 得到大约 pH 2, 然后迅速利用 Et₂O (3 × 100ml)萃取。干燥 Et₂O 层, 过滤并浓缩得到白色固体(3.07g)。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 12.95 (br s, 1); 4.34 - 4.30 (m, 1); 4.18 - 4.10 (m, 1); 3.83 - 3.74 (m, 1); 3.59 - 3.51 (m, 2); 3.39 - 3.32 (m, 1); 3.21 - 2.95 (m, 1); 1.41 - 1.36 (m, 9).

NH₄Oac 标准溶液。

ELSD R_f = 1.08min.

M-H = 230.

实施例 19: 4-甲基-吗啉-3(S)-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

在室温下搅拌吗啉-3(S)-羧酸(3.00g, 22.9mmol)的 EtOH (115ml)浆状液。加入 CH₂O (3.42ml, 45.8mmol, 37% w/w, 于水中)水溶液, 接着加入 Pd(OH)₂ (600mg, 20%w/w, 于碳上)。烧瓶中充满氢气(1 大气压), 在室温下于氢气气球中搅拌灰色浆状液 24

小时。利用氮气冲洗烧瓶，利用 MeOH 稀释浆状液，通过滤纸过滤，浓缩减小体积。通过 0.45 μ m 注射过滤器过滤浅灰色溶液，除去残留的 Pd(OH)₂，浓缩得到清亮无色油状物。将该油状物置于高压下 24 小时，分离白色固体泡沫。将泡沫溶解在吡啶(200ml)中，得到 6-氯-9H- β -咔啉-8-基胺(3.74g, 17.2mmol)，接着通过 EDCI (5.87g, 30.6mmol)。将清亮浅桔黄色溶液在室温下搅拌 24 小时。利用 H₂O (300ml)稀释溶液，将其注入到含 EtOAc (300ml)的分液漏斗中。振荡混合物，分层。利用 EtOAc (3 \times 150ml)萃取水层，利用水和盐水洗涤合并的有机层。干燥有机层，过滤并浓缩得到棕色油状物，将其置于高真空中。利用 MeOH 研磨所得棕色泡沫，过滤生成的沉淀，利用 MeOH 洗涤。通过手性 HPLC 纯化所得浅黄色固体，得到白色固体(3.23g)。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 11.36 (s, 1); 10.02 (s, 1); 9.04 (s, 1); 8.38 (d, 1); 8.22 - 8.21 (m, 1); 8.15 (d, 1); 7.91 - 7.90 (m, 1); 4.00 (dd, 1); 3.85 - 3.81 (m, 1); 3.69 - 3.58 (m, 2); 2.99 - 2.95 (dd, 1); 2.89 - 2.85 (m, 1); 2.32 (s, 3); 2.32 - 2.24 (m, 1).

NH₄Oac 标准溶液。

DAD R_f = 1.89min.

M+H = 345.

手性制备性 HPLC: 10% v/v EtOH/己烷。

Chiralcel OD 柱。

R_f = 11.5-14min.

产物对映体纯度 \geq 99% ee.

方法 C: 制备 4-吗啉取代的类似物的步骤

如中间体 34、中间体 35 和 实施例 20 所述:

中间体 34: 3(S)-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-吗啉-4-羧酸叔丁酯

在室温下搅拌吗啉-3(S),4-二羧酸 4-叔丁酯(2.83g, 12.7mmol) 的吡啶(106ml)溶液。加入 6-氯-9H-β-咔啉-8-基胺(2.30g, 10.6mmol)。接着加入 EDCI(4.06g, 21.2mmol)。在室温下搅拌清亮桔黄色至棕色的溶液 14 小时。利用 H₂O(120ml)稀释溶液, 将其注入到含 EtOAc(200ml)、H₂O(100ml)和盐水(100ml)的分液漏斗中。振荡混合物, 分层。利用 EtOAc(2 × 50ml)萃取水层, 利用盐水洗涤合并的有机层。干燥有机层, 过滤并浓缩, 体积减小, 然后滴加到 1:1 Et₂O/己烷(500ml)搅拌溶液中。过滤生成的沉淀, 利用 1:1 Et₂O/己烷洗涤。浓缩滤液, 体积减小, 收集第二次生成的沉淀。浆固体产物置于高真空中 2 小时, 得到 3(S)-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-吗啉-4-羧酸叔丁酯, 为浅黄色至浅棕色的固体(4.36g)。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 11.30 (s, 1); 10.13 (s, 1); 9.06 (s, 1); 8.40 - 8.38 (m, 1); 8.19 - 8.16 (m, 2); 7.98 (s, 1); 4.67 - 4.47 (m, 2); 3.96 - 3.60 (m, 2); 3.64 - 3.39 (m, 3); 1.42 (s, 9)。

NH₄Oac 标准条件。

DAD R_f = 2.31min.

M+H = 431.

中间体 35: 2(R)-[3(S)-(6-氯-9H- β -咔啉-8-基氨基甲酰基)-吗啉-4-基甲基]-吡咯烷-1-羧酸叔丁酯

在室温下搅拌 3(S)-(6-氯-9H- β -咔啉-8-基氨基甲酰基)-吗啉-4-羧酸叔丁酯(1.00g, 2.32mmol)的 CH_2Cl_2 (6ml)溶液。加入三氟乙酸(6ml), 溶液在室温下搅拌 45 分钟, 然后浓缩得到残留物。由 CH_2Cl_2 再次浓缩残留物, 得到黄色-棕色固体, 将其在氩气气氛下溶解在 THF (13ml)中, 为确保完全溶解, 有时需要加热。加入 N-(叔丁氧基羰基)-D-脯氨酸(prolinal) (693mg, 3.48mmol)的 THF (2ml)溶液, 接着加入三乙酰氧基硼氢化钠(738mg, 3.48mmol)。溶液在室温下搅拌 30 分钟, 然后通过加入 1N NaOH (30ml)水溶液骤冷。将混合物注入到包含 EtOAc (100ml)、 H_2O (100ml)和盐水(100ml)的分液漏斗中。振荡混合物, 分层。利用 EtOAc (2 \times 50ml)萃取水层, 利用盐水洗涤合并的有机层。干燥有机层, 过滤并浓缩, 得到亮棕色固体。柱色谱纯化(2%-4% MeOH/ CH_2Cl_2), 得到 2(R)-[3(S)-(6-氯-9H- β -咔啉-8-基氨基甲酰基)-吗啉-4-基甲基]-吡咯烷-1-羧酸叔丁酯, 为白色固体(915mg)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 11.30 (s, 1); 9.88 (s, 1); 9.04 (s, 1); 8.39 - 8.37 (m, 1); 8.20 - 8.15 (m, 2); 7.95 (s, 1); 3.99 - 3.82 (m, 3); 3.69 - 3.63 (m, 2); 3.44 - 3.32 (m, 1); 3.27 - 3.11 (m, 3); 2.92 - 2.80 (m, 1); 2.44 - 2.32 (m, 1); 1.99 - 1.67 (m, 5); 1.33 (s, 9).

HCOOH 标准溶液。

DAD R_f = 1.39min.

M+H = 514.

手性 HPLC。

检测样品的对映体纯度。样品为 $\geq 97\%$ ee。

Chiralpak AD 柱。

含 0.1% Et₂NH 的 15% v/v EtOH/己烷。

实施例 20: 4-吡咯烷-2(R)-基甲基-吗啉-3(S)-羧酸(6-氯-9H-β-
吡啶-8-基)-酰胺, HCl 盐)

向 2(R)-[3(S)-(6-氯-9H-β-吡啶-8-基氨基甲酰基)-吗啉-4-基甲基]-吡咯烷-1-羧酸叔丁酯(850mg, 1.65mmol)的 MeOH (16ml)溶液中加入浓 HCl (13ml)。溶液在室温下搅拌 30-45 分钟, 此时生成黄色沉淀。浓缩反应混合物, 得到 4-吡咯烷-2(R)-基甲基-吗啉-3(S)-羧酸(6-氯-9H-β-吡啶-8-基)-酰胺, HCl 盐, 为浅黄色固体 (755mg)。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ. 13.30 (s, 1); 11.56 (br s, 1); 9.63 (br s, 1); 9.46 (s, 1); 8.87 - 8.85 (m, 1); 8.66 - 8.57 (m, 2); 8.25 (s, 1); 4.38 - 4.26 (m, 1); 4.24 - 4.08 (m, 1); 4.04 - 3.86 (m, 2); 3.86 - 3.68 (m, 2); 3.57 - 3.39 (m, 1); 3.39 - 3.02 (m, 4); 2.99 - 2.76 (m, 1); 2.10 - 1.84 (m, 3); 1.75 - 1.56 (m, 1)。

HCOOH 标准溶液。

DAD R_f = 0.81min.

M+H = 414。

中间体 36: 顺式-2-(叔丁氧基羰基氨基)-环戊烷羧酸(6-氯-9H-吡啶-8-基)酰胺

在室温下搅拌顺式-2-(叔丁氧基羰基氨基)-环戊烷羧酸(550mg, 2.4mmol)的吡啶(10ml)溶液。加入 6-氯-9H-β-咔啉-8-基胺(436mg, 2.0mmol), 接着加入 EDCI (615mg, 3.2mmol), 在室温下搅拌桔黄色溶液 1.5 小时。利用 H₂O (20ml)稀释溶液, 将其注入到含 H₂O (50ml)和 EtOAc (100ml)的分液漏斗中。振荡混合物, 分层。利用 EtOAc (100ml)萃取水层。利用盐水洗涤合并的有机层, 在 MgSO₄ 上干燥, 过滤并浓缩, 得到桔黄色油状固体, 接着利用于 Et₂O (20ml)中的 5% MeOH 研磨, 过滤收集得到顺式-2-(叔丁氧基羰基氨基)-环戊烷羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)酰胺, 为亮黄色固体(740mg)。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 11.17 (s, 1); 9.89 (s, 1); 9.04 (s, 1); 8.36 (d, 1); 8.18 - 8.08 (m, 2); 7.95 (s, 1); 6.92 (d, 1); 4.32 - 4.22 (m, 1); 3.16 - 3.09 (m, 1); 2.13 - 2.01 (m, 1); 1.96 - 1.75 (m, 3); 1.74 - 1.59 (m, 1); 1.58 - 1.42 (m, 1); 1.07 (s, 9).

NH₄OAc 标准条件。

DAD R_f = 2.52min.

M+H = 429.

实施例 21: 顺式-2-氨基-环戊烷羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

在室温下搅拌 2-(叔丁氧基羰基氨基)-环戊烷羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)酰胺(736mg, 1.72mmol)的上那幅乙酸(5ml)溶液 20 分钟, 然后浓缩得到桔黄色油状物。将该油状物溶解在 MeOH (5ml)中, 利用饱和碳酸氢钠水溶液(25ml)中和。利用 H₂O (25ml)和 EtOAc (100ml)进一步稀释所得混合物。除去水层, 利用 EtOAc (100ml)萃取。利用盐水洗涤合并的有机层, 在 MgSO₄ 上干燥,

过滤并浓缩，得到黄色固体(507mg)。将这些固体溶解在 MeOH (5ml)中，加入 HCl 的二噁烷(4M, 1.5ml)溶液。搅拌亮黄色溶液 30 分钟，然后浓缩得到顺式-2-氨基-环戊烷羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺，为黄色粉末(600mg)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 9.29 (s, 1); 8.75 (d, 1); 8.53 (d, 1); 8.37 (s, 1); 8.02 (s, 1); 4.05 - 3.95 (m, 1); 3.42 - 3.34 (m, 1); 2.46 - 1.80 (m, 6).

NH_4OAc 标准条件。

DAD $R_f = 1.65\text{min}$.

$\text{M}+\text{H} = 329$ 。

实施例 22: 4-(2-氨基-乙基)-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺, HCl 盐

根据方法 C 步骤，利用被 2-氨基乙醛还原烷基化的外消旋吗啉-3-羧酸。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOH- d_4): δ 9.37 (s, 1); 8.76 (d, 1); 8.55 (d, 1); 8.44 (d, 1); 8.06 (d, 1); 4.68 - 4.55 (m, 2); 4.17 - 3.99 (m, 3); 3.84 - 3.73 (m, 2); 3.57 - 3.39 (m, 4).

NH_4OAc 标准条件。

DAD $R_f = 1.69\text{min}$.

$\text{M}+\text{H} = 374$ 。

实施例 23: 4-(2(S)-氨基-丙基)-吗啉-3(S)-羧酸(6-氯-9H-β-咔
啉-8-基)-酰胺,HCl 盐 (第一洗脱非对映体)

根据方法 C 的步骤, 利用被适当的丙胺醛还原烷基化的外消旋吗啉-3-羧酸。在脱保护步骤之前, 通过柱色谱纯化, 分离非对映体。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 9.32 (s, 1); 8.76 (d); 8.55 (d, 1); 8.41 (s, 1); 8.08 (s, 1); 4.38 (d, 1); 4.32 - 4.21 (m, 1); 4.16 - 4.09 (m, 1); 4.04 - 3.95 (m, 2); 3.79 - 3.57 (m, 2); 3.47 - 3.40 (m, 1); 3.22 - 3.05 (m, 2); 1.44 (d, 3).

NH_4OAc 标准条件。

DAD $R_f = 1.38\text{min}$.

$M+H = 388$.

实施例 24: 4-(2(S)-氨基-丙基)-吗啉-3(R)-羧酸(6-氯-9H-β-咔
啉-8-基)-酰胺,HCl 盐 (第二洗脱非对映体)

根据方法从的步骤, 利用被适当的丙胺醛还原烷基化的外消旋吗啉-3-羧酸。在脱保护步骤之前, 通过柱色谱纯化, 分离非对映体。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 9.34 (s, 1); 8.77 (d, 1); 8.55 (d, 1); 8.42 (s, 1); 8.06 (s, 1); 4.42 (d, 1); 4.30 - 4.12 (m, 1); 4.07 - 3.92 (m, 3); 3.89 - 3.74 (m, 1); 3.65 - 3.49 (m, 1); 3.25 - 2.90 (m, 3); 1.36 (d, 3).

NH_4OAc 标准条件。

DAD $R_f = 1.57\text{min.}$

M+H = 388.

实施例 25: 2-氨基-环己烷羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

在室温下搅拌顺式-2-(叔丁氧基羰基氨基)-环己烷羧酸(255mg, 1.05mmol)的吡啶(10ml)溶液。加入 6-氯-9H- β -咔啉-8-基胺(218mg, 1.00mmol), 接着加入 EDCI (315mg, 1.64mmol), 在室温下搅拌略显混浊的浅桔黄色溶液 16 小时。利用 H₂O (20ml)稀释溶液, 将其注入到含 H₂O (50ml)和 EtOAc (50ml)的分液漏斗中。利用 EtOAc (50ml)萃取水层, 利用盐水洗涤合并的有机层。干燥有机层, 过滤并浓缩, 得到黄色油状物, 将其置于高真空中 4 小时。在室温下, 将所得黄色-棕色玻璃体在 CH₂Cl₂ (10ml)中成浆状物。加入三氟乙酸(5ml), 将浆状物立即溶解, 生成亮桔黄色溶液。在室温下搅拌溶液 45 分钟, 然后浓缩得到棕色残留物。利用甲苯(3 × 10ml)共沸残留物, 得到黄色固体。通过向 H₂O (50ml)加入小量体积的 10% Na₂CO₃ 水溶液, 直至水溶液 pH 达到 10, 制备稀 Na₂CO₃ 水溶液。将黄色固体溶解在少量 MeOH 中, 在搅拌条件下将其滴加到水溶液中。过滤生成的沉淀, 利用 H₂O 洗涤, 将其置于高真空中, 得到 2-氨基-环己烷羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺, 为浅黄色固体(147mg)。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 9.00 (s, 1); 8.37 - 8.34 (m, 1); 8.16 - 8.13 (m, 2); 7.83 (m, 1); 5.66 - 5.00 (br s, 2); 3.42 - 3.40 (m, 1); 2.70 - 2.62 (m, 1); 2.02 - 1.90 (m, 1); 1.70 - 1.54 (m, 5); 1.42 - 1.29 (m, 2).

NH₄OAc 标准条件。

DAD $R_f = 1.46\text{min.}$

M+H = 343.

实施例 26: 4-(2(R)-氨基-丙基)-吗啉-3(S)-羧酸(6-氯-9H-β-咔
啉-8-基)-酰胺,HCl 盐

根据方法 C 的步骤, 利用被适当的丙胺醛还原烷基化的外消旋吗啉-3-羧酸。在脱保护步骤之前, 通过柱色谱纯化, 分离非对映体。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 9.35 (s, 1); 8.77 (m, 1); 8.55 (m, 1); 8.43 (s, 1); 8.01 (s, 1); 4.45 (d, 1); 4.26 (m, 1); 4.09-3.91 (m, 3); 3.79 (m, 1); 3.63 (m, 1); 3.28-2.99 (m, 3); 1.37 (d, 3).

NH_4OAc 标准条件。

DAD $R_f = 1.39\text{min}$.

$\text{M}+\text{H} = 388$.

实施例 27: 4-(2(R)-氨基-3-苯基-丙基)-吗啉-3(S)-羧酸(6-氯
-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺,HCl 盐

根据方法 C 的步骤, 利用被适当的丙胺醛还原烷基化的外消旋吗啉-3-羧酸。在脱保护步骤之前, 通过柱色谱纯化, 分离非对映体。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 9.34 (s, 1); 8.77 (d, 1); 8.55 (d, 1); 8.42 (s, 1); 8.04 (s, 1); 7.44 - 7.23 (m, 5); 4.39 (d, 1); 4.65 - 4.07 (m, 1); 4.40 - 3.82 (m, 4); 3.50 - 3.25 (m, 1); 3.30 - 3.14 (m, 1); 3.11 - 2.88 (m, 3); 2.85 - 2.69 (m, 1).

NH_4OAc 标准条件。

DAD $R_f = 1.90\text{min}$.

M+H= 464.

方法 D: 色谱法条件

LCMS

柱的类型: Phenomenex Luna C18 (2)柱, 5 μm , 尺寸 50 × 4.6mm

操作时间: 5.00 分钟

NH₄Oac 条件:

溶剂 A: 10mM NH₄OAc, 99% H₂O, 1% MeCN

溶剂 B: 10mM NH₄OAc, 5% H₂O, 95% MeCN

标准梯度:

初始条件 - 95% A, 5% B

3.5 分钟梯度, 由 5%至 100% B

3.5-4.3 分钟, 维持在 100% B

4.3-5 分钟, 初始条件

极性梯度:

初始条件 - 70% A, 30% B

3.5 分钟梯度，由 70%至 100% B

3.5-4.3 分钟，维持在 100% B

4.3-5 分钟，初始条件

非极性梯度：

初始条件 - 100% A

3.5 分钟梯度，由 0%至 50% B

3.5-4.3 分钟，维持在 100% B

4.3-5 分钟，初始条件

HCOOH 条件：

溶剂 C: 0.1% HCOOH, 99% H₂O, 1% MeCN

溶剂 D: 0.1% HCOOH, 5% H₂O, 95% MeCN

标准梯度：

初始条件 - 95% C, 5% D

3.5 分钟梯度，由 5%至 100% D

3.5-4.3 分钟，维持在 100% D

4.3-5 分钟，初始条件

极性梯度:

初始条件 - 70% C, 30% D

3.5 分钟梯度, 由 70%至 100% D

3.5-4.3 分钟, 维持在 100% D

4.3-5 分钟, 初始条件

非极性梯度:

初始条件 - 100% C

3.5 分钟梯度, 由 0%至 50% D

3.5-4.3 分钟, 维持在 100% D

4.3-5 分钟, 初始条件

中间体 37: 6-氯-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉,HCl 盐

将 5-氯色胺盐酸盐(5g, 20mmol, 1 当量)溶解在 40ml 3M NaOAc 缓冲液(pH = 4.8)和 40ml 水中, 一次加入乙二酸(1.84g, 20mmol, 1 当量), 溶液在室温下搅拌过夜。过滤所得粘稠浆状物, 将亮绿色固体悬浮在 100ml 6N HCl 中, 在回流冷凝器条件下于 125℃下加热 1 小时, 间隙加入浓 HCl (每隔 15 分钟加入 2ml)。冷却至室温后, 过滤分离出 4.38g (90%) 6-氯-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉,HCl 盐, 为兰-灰色固体。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11.33 (br, 2H), 9.62 (br, 2H), 7.53 (d, 1), 7.39 (d, 1), 7.09 (dd, 1), 4.33 (br, 2H), 2.92 (t, 2)

甲酸标准条件。

DAD RT = 1.56min.

M+H = 207.

中间体 38: (6-氯-1,3,4,9-四氢- β -咔啉-2-基)-苯基-甲酮

在 N_2 下, 将 6-氯-2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉, HCl 盐(10.2g, 42mmol, 1 当量)悬浮在 100ml 无水吡啶中, 在冰水浴中冷却至 0 $^\circ\text{C}$ 。将苯甲酰氯(7.3ml, 63mmol, 1.5 当量)滴加到冷溶液中, 之后除去反应的冰浴, 允许其在室温下搅拌过夜。通过加入水骤冷反应, 直至被固体堵塞。过滤收集这些固体, 利用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤, 将其再悬浮在水中, 进行超声波降解并再过滤, 得到 1.27g (94%) (6-氯-1,3,4,9-四氢- β -咔啉-2-基)-苯基-甲酮, 为结晶桔黄色固体。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 10.65 - 10.59 (br, 1H), 7.0 - 7.5 (m, 9H), 4.60 - 4.83 (br, 2H), 3.62 - 3.99 (br, 2H), 2.75 (br., 2H).

甲酸标准条件。

DAD RT = 2.68min.

M+H = 311.

中间体 39: 2-苯甲酰基-6-氯-1,2,3,9-四氢- β -咔啉-4-酮

(6-氯-1,3,4,9-四氢-β-咔啉-2-基)-苯基-甲酮(1.76g, 5.66mmol, 1 当量)和 DDQ (2.31g, 10.2mmol, 1.8 当量)作为固体, 进行混合, 冷却至-78℃。将 15ml 9:1 THF/H₂O 溶液冷却至-78℃, 将所得浆状物加入到冷却的固体中, 接着加入 15ml THF (也冷却至-78℃)。在-78℃下搅拌深兰色溶液 2 小时, 然后渐渐温热至室温, 再搅拌 2 小时。通过加入 1N NaOH 骤冷反应, 利用 3 × 150ml EtOAc 萃取。利用 2 × 100ml 1 N HCl 和 1 × 100ml 盐水洗涤合并的有机层, 在 MgSO₄ 上干燥, 过滤并浓缩, 得到 1.38g (75%) 2-苯甲酰基-6-氯-1,2,3,9-四氢-β-咔啉-4-酮, 为油状桔黄色固体。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 12.11 - 12.48 (br, 1H), 7.29 - 7.88 (m, 8H), 4.93 - 5.18 (br, 2H), 4.60 - 4.46 (br, 2H).

精确质量 (Exact Mass): 324.07。

甲酸标准条件

DAD RT = 2.15min.

M+H = 325。

中间体 40: 4-氨基-6-氯-β-咔啉

将粗 2-苯甲酰基-6-氯-1,2,3,9-四氢-β-咔啉-4-酮(4g)溶解在 30ml 无水胼中, 在 N₂ 下回流(130℃油浴)搅拌 6 小时之后允许将反应冷却至室温, 静置过夜。过滤分离出沉淀黄色固体, 利用水 (2 × 5ml) 洗涤, 得到 785mg (30%) 4-氨基-6-氯 β-咔啉, 为灰白色固体。将另外水加入到合并的滤液中, 直至进一步产生沉淀。也通过过滤分离这些固体, 得到 1.056g (39%) 4-氨基-6-氯-β-咔啉, 为黄色固体(69% 总收率)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11.48 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.42 - 7.52 (m, 2H), 5.86 (s, 2H).

甲酸标准条件。

DAD RT = 1.68min.

M+H = 218.

中间体 41: N-(6-氯-9H- β -咔啉-4-基)-2,2,2-三氟-乙酰胺

将 4-氨基-6-氯- β -咔啉(1.05g, 4.82mmol, 1 当量)溶解在 4ml 无水吡啶和 20ml THF 中, 在 N_2 下冷却至 0°C 。向冷却溶液中滴加三氟乙酸酐(3.4ml, 24mmol, 5 当量)。加料完成后, 将反应从冰浴上离去, 在室温下搅拌~1.5 小时。通过慢慢加入水(10ml)骤冷反应, 利用 $2 \times 150\text{ml}$ EtOAc 萃取, 利用 $2 \times 100\text{ml}$ 饱和碳酸氢钠溶液和 $1 \times 100\text{ml}$ 盐水洗涤, 在 MgSO_4 上干燥, 过滤并浓缩, 得到桔黄色固体。在 10-15ml Et_2O 中研磨这些固体并过滤收集, 得到 1.23g (81%) N-(6-氯-9H- β -咔啉-4-基)-2,2,2-三氟-乙酰胺, 为黄色固体。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; DMSO- d_6): δ 12.11 (s, 1H), 11.89 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.60-7.70 (m, 2H).

甲酸标准条件。

DAD RT = 2.12min.

M+H = 314.

中间体 42: N-(6-氯-8-硝基-9H-β-咔啉-4-基)-2,2,2-三氟-乙酰胺

将 N-(6-氯-9H-β-咔啉-4-基)-2,2,2-三氟-乙酰胺 (125mg, 0.4mmol, 1 当量)溶解在 2ml TFA 中, 一次加入 NaNO₂ (541mg, 7.84mmol, 2 当量)。溶液在室温下搅拌 4 小时。通过旋转蒸发除去挥发物, 将所得油状桔黄色固体悬浮在水中, 利用饱和碳酸氢钠溶液中和, 过滤得到 132 mg(92%) N-(6-氯-8-硝基-9H-β-咔啉-4-基)-2,2,2-三氟-乙酰胺。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 12.87 (s, 1H), 12.03 (s, 1H), 9.11 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.26 (s, 1H).

甲酸标准条件。

DAD RT = 2.27min.

M+H = 359.

中间体 43: N-(8-氨基-6-氯-9H-β-咔啉-4-基)-2,2,2-三氟-乙酰胺

将粗 N-(6-氯-8-硝基-9H-β-咔啉-4-基)-2,2,2-三氟-乙酰胺 (130mg, 0.36mmol)溶解在 7ml MeOH 中, 反应容器为 3 × N₂ 冲洗的真空。迅速加入铂(20mg, 20% wt, 于活性碳上), 反应容器再利用 3 × N₂ 冲洗, 接着再利用 H₂ 冲洗循环 3 次。再在 1 大气压 H₂ 下搅拌反应过夜。结束后, 利用 H₂ 冲洗, 通过硅藻土过滤。利用甲醇清洗硅藻土数次, 直至变得清亮。浓缩合并的滤液, 得到 N-(8-氨基-6-氯-9H-β-咔啉-4-基)-2,2,2-三氟-乙酰胺, 为黄色固体(112mg, 95%)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11.83 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.10 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 5.87 (br, 2H).

甲酸标准条件。

DAD RT = 1.95min.

M+H = 329.

中间体 44: N-[6-氯-4-(2,2,2-三氟-乙酰氨基)-9H- β -咪啉-8-基]-2-甲基-烟酰胺

在 N_2 下, 将 N-(8-氨基-6-氯-9H- β -咪啉-4-基)-2,2,2-三氟-乙酰胺(90mg, 0.274mmol, 1 当量)和 2-甲基烟酸(45mg, 0.329mmol, 1.2 当量)溶解在 1.5ml 无水吡啶中。一次加入 EDCI (84mg, 0.438mmol, 1.6 当量), 在室温下搅拌反应混合物 2 小时。利用水骤冷反应, 过滤收集所得黑色固体。在 3:1 甲醇-DMSO 溶液中研磨这些固体, 得到 N-[6-氯-4-(2,2,2-三氟-乙酰氨基)-9H- β -咪啉-8-基]-2-甲基-烟酰胺, 为亮黄色固体(41mg, 3%)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11.94 (br, 1H), 11.78 (s, 1H), 10.61 (s, 1), 9.00 (s, 1), 8.64 (d, 1), 8.38 (s, 1H), 8.13 (d, 1), 8.01 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.45 (m, 1H), 2.68 (s, 3H).

甲酸标准条件。

DAD RT = 1.98min.

M+H = 448.

中间体 45: N-[6-氯-4-(2,2,2-三氟-乙酰氨基)-9H-β-咔啉-8-基]-烟酰胺

在 N₂ 下, 将 N-(8-氨基-6-氯-9H-β-咔啉-4-基)-2,2,2-三氟-乙酰胺(90mg, 0.274mmol, 1 当量)和 2-甲基烟酸(40mg, 0.329mmol, 1.2 当量)溶解在 1.5ml 无水吡啶中。一次加入 EDCI (84mg, 0.438mmol, 1.6 当量), 将反应混合物在室温下搅拌 2 小时。骤冷反应, 利用先前的方法处理, 得到 38mg (32%)-[6-氯-4-(2,2,2-三氟-乙酰氨基)-9H-β-咔啉-8-基]-烟酰胺。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 11.89 (br, 1H), 10.73 (s, 1), 9.28 (s, 1), 8.97 (s, 1), 8.84 (d, 1), 8.43 (d, 1), 8.37 (s, 1), 7.85 (s, 1), 7.76 (s, 1), 7.67 (m, 1).

甲酸标准条件。

DAD RT = 1.94min.

M+H = 434.

实施例 28: N-(4-氨基-6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-2-甲基-烟酰胺

将 N-[6-氯-4-(2,2,2-三氟-乙酰氨基)-9H-β-咔啉-8-基]-烟酰胺 (41mg, 0.092mmol, 1 当量)悬浮在 5ml MeOH 中, 向其中加入 2ml K₂CO₃ (127mg, 0.92mmol, 10 当量)水溶液。将所得清亮溶液加热自 60°C 16 小时, 然后允许冷却至室温。加入额外的水, 生成精细的固体, 过滤收集, 利用 10ml 于 Et₂O 中的 5% MeOH 洗涤一次, 在高真空下干燥, 得到 18mg N-(4-氨基-6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-2-甲基-烟酰胺, 为粉末黄色固体(56%收率)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11.18 (s, 1H), 10.41 (s, 1H), 8.62 (d, $J = 3.6$, 1H), , 8.32 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.11 (d, $J = 7.5$, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.43 (m, 1H), 5.91 (br, 2H), 2.66 (s, 3H).

甲酸标准条件。

DAD RT = 1.63min.

M+H = 352.

实施例 29: N-(4-氨基-6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-烟酰胺

将 N-[6-氯-4-(2,2,2-三氟-乙酰氨基)-9H- β -咔啉-8-基]-烟酰胺 (38mg, 0.088mmol, 1 当量) 悬浮在 5ml MeOH 中, 向其中加入 2ml K_2CO_3 (121mg, 0.92mmol, 10 当量) 水溶液。将所得清亮溶液加热至 60°C 11 小时。冷却至室温后, 过滤收集沉淀的精细固体, 利用 10ml 水洗涤一次, 得到 2.78mg (10%) N-(4-氨基-6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-烟酰胺。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11.32 (s, 1H), 10.56 (s, 1H), 9.26 (s, 1H), 8.82 (d, 1), 8.42 (d, 1), 8.36 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.64 (m, 1H), 5.91 (br, 2H).

甲酸标准条件。

DAD RT = 1.55min.

M+H = 338.

中间体 46: 3-氰基甲基-吡啶-1-羧酸叔丁酯

在室温下搅拌 3-吡啶乙腈(10g, 64mmol)的 DMF (160ml)溶液。向其中加入 K_2CO_3 (13.3g, 96mmol)和二碳酸二叔丁酯(15.35g, 70mmol), 在室温下搅拌反应混合物 12 小时。向反应混合物中加入 H_2O (100ml), 过滤收集所得沉淀。将固体溶解在热甲醇(20ml)中, 允许溶液慢慢冷却, 生成亮桔黄色固体, 过滤分离得到 3-氰基甲基-吡啶-1-羧酸叔丁酯(9.2g)。

1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8.08 (d, 1); 7.70 - 7.66 (m, 2); 7.42 - 7.29 (m, 2); 4.12 (s, 2); 1.63 (3, 9)。

NH_4OAc 标准条件。

DAD R_f = 3.31min.

$M+H$ = 257.

中间体 47: 3-(氰基-甲基-甲基)-吡啶-1-羧酸叔丁酯

在氩气气氛下, 将 3-氰基甲基-吡啶-1-羧酸叔丁酯(2.15g, 8.39mmol)的 THF (40ml)搅拌溶液冷却至 $-78^\circ C$ 。向其中加入二(三甲基甲硅烷基)酰胺钠(1M, 于 THF, 10ml, 10mmol), 搅拌冷溶液 30 分钟。向其中加入碘甲烷(627 μ L, 10mmol), 搅拌反应混合物 1.5 小时, 此时渐渐温热至 $0^\circ C$ 。向其中加入 H_2O (100ml), 将溶液温热至室温, 利用 EtOAc (250ml)稀释。除去水层, 利用 EtOAc (250ml)萃取。利用 HCl (1N, 3 \times 50ml)洗涤合并的有机层, 接着利用盐水洗涤, 在 $MgSO_4$ 上干燥, 过滤并浓缩, 得到桔黄色油状物。色谱纯化(己烷:乙酸乙酯), 得到 3-(氰基-甲基-甲基)-吡啶-1-羧酸叔丁酯(1.8g)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8.09 (d, 1); 7.73 (d, 1); 7.69 (s, 1); 7.74 - 7.29 (m, 2); 4.56 (q, 1); 1.66 (d, J = 7.2, 3); 1.63 (s, 9).

中间体 48: 3-(2-氨基-1-甲基-甲基)-吡啶-2-羧酸叔丁酯

在室温下搅拌 3-(氨基-甲基-甲基)-吡啶-1-羧酸叔丁酯 (850mg, 3.14mmol) 的甲醇 (15ml) 溶液。向其中加入阮内镍催化剂 (50% g/wt, 悬浮于 H_2O 中, 1ml), 将反应容器盖上盖, 利用氩气真空冲洗 3 次, 接着利用氢气冲洗。在 1 大气压氢气下搅拌混合物 22 小时, 利用氩气真空冲洗, 通过硅藻土过滤。浓缩滤液, 得到油状物 (670mg), 通过 LCMS 确定其主要包含所需的化合物 3-(2-氨基-1-甲基-甲基)-吡啶-1-羧酸叔丁酯。

NH_4OAc 标准条件。

DAD $R_f = 1.78\text{min}$.

$\text{M} + \text{H} = 275$.

中间体 49: 4-甲基-2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉-1-羧酸

将粗 3-(2-氨基-1-甲基-甲基)-吡啶-1-羧酸叔丁酯 (670mg, 大约 2.44mmol) 溶解在三氟乙酸 (2ml) 中, 在室温下搅拌 30 分钟, 然后减压浓缩得到油状固体。在室温下, 将所得油状物溶解在 3M $\text{NaOAc}:\text{AcOH}$ 缓冲液 ($\text{pH} = 4.8$, 12ml) 和 H_2O (6ml) 中。向其中加入乙二酸 (225mg, 2.44mmol), 反应混合物在室温下搅拌 4 小时, 然后浓缩至干。LCMS 确定所得固体主要包含所需化合物 4-甲基-2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉-1-羧酸, 盖化合物可在不进行纯化条件下用于下一步骤。

NH_4OAc 标准条件。

DAD $R_f = 1.24\text{min}$.

$M+H = 231$ 。

中间体 50: 4-甲基-2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉

将粗 4-甲基-2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉-1-羧酸(大约 2.44mmol)悬浮在 H_2O (5ml)和 HCl (12N, 5ml)中, 将悬浮液在 120°C 下加热 1 小时, 然后允许冷却至室温。通过除去深桔黄色-棕色固体, 然后溶解在甲醇(5ml)中。向其中加入饱和碳酸氢钠溶液(20ml), 生成粘稠状黄色浆状物。过滤盖反应混合物, 得到黄色固体, LCMS 确定其主要包含 4-甲基-2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉(386mg)。

NH_4OAc 标准条件。

DAD $R_f = 1.23\text{min}$.

$M+H = 187$ 。

中间体 51: 4-甲基-9H- β -咔啉

将 4-甲基-2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉(214mg, 1.17mmol)悬浮在二甲苯(10ml)中。向其中加入 Pd (10%wt, 于碳上, 21mg)催化剂, 反应混合物在 160°C 下搅拌 24 小时, 然后冷却至室温, 通过硅藻土过滤。浓缩滤液至干, 得到 4-甲基-9H- β -咔啉(210mg)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 11.73 (br s, 1); 8.78 (br s, 1); 8.19 (d, 1); 8.13 (s, 1); 7.62 (br s, 1); 7.53 (t, 1); 7.25 (t, 1); 2.78 (s, 3)。

NH₄OAc 标准条件。

DAD R_f = 2.24min.

M+H = 183。

中间体 52: 6-氯-4-甲基-9H-β-咔啉

将 4-甲基-9H-β-咔啉(97mg, 0.532mmol)溶解在 HCl (1N, 4ml) 中, 在室温下搅拌。向其中加入 NCS (85mg, 0.637mmol), 搅拌反应混合物 5 小时。向其中加入饱和碳酸氢钠溶液(20ml), 利用 EtOAc (100ml)萃取反应混合物两次。利用盐水洗涤合并的有机层, 在 MgSO₄ 上干燥, 过滤并浓缩, 得到 6-氯-4-甲基-9H-β-咔啉(108mg), 为油状物。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 8.67 (s, 1); 8.19 (s, 1); 8.11 (s, 1); 7.57 - 7.54 (m, 2); 2.82 (s, 3)。

NH₄OAc 标准条件。

DAD R_f = 2.48min.

M+H = 217。

中间体 53: 6-氯-4-甲基-8-硝基-9H-β-咔啉

在室温下搅拌 6-氯-4-甲基-9H-β-咔啉(100mg, 0.462mmol)的三氟乙酸(10ml)溶液。向其中加入 NaNO₃ (106mg, 1.25mmol), 搅拌反应混合物 30 分钟, 然后浓缩得到桔黄色残留物。将残留物溶解在 MeOH (5ml)中, 通过加入饱和碳酸氢钠溶液(20ml)中和, 生成黄色固体, 过滤收集, 利用 H₂O (10ml)和 Et₂O (2 × 10ml)洗涤, 得到 6-氯-4-甲基-8-硝基-9H-β-咔啉(82mg)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8.90 (s, 1); 8.65 (s, 1); 8.55 (s, 1); 8.29 (s, 1); 2.89 (s, 3).

NH_4OAc 标准条件。

DAD $R_f = 3.00\text{min}$.

$M+H = 262$ 。

中间体 54: 6-氯-4-甲基-9H- β -咔啉-8-基胺

在室温下搅拌 6-氯-4-甲基-8-硝基-9H- β -咔啉 (80mg, 0.31mmol) 的 MeOH (10ml) 溶液。向其中加入铂 (10%wt, 于碳上, 24mg) 催化剂, 将反应容器盖上盖, 利用氩气冲洗 3 次, 接着类似地利用氢气冲洗。反应混合物在 1 大气压氢气下搅拌 1.5 小时, 然后利用氩气冲洗真空, 利用 DCM (10ml) 稀释, 通过 0.2 μM 注射过滤器过滤。浓缩滤液得到 6-氯-4-甲基-9H- β -咔啉-8-基胺 (67mg), 为亮棕色油状物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 9.04 (s, 1); 8.29 (s, 1); 7.74 (d, 1); 7.10 (d, 1); 2.98 (s, 3).

NH_4OAc 标准条件。

DAD $R_f = 1.89\text{min}$.

$M+H = 231$ 。

实施例 30: N-(6-氯-4-甲基-9H-β-咔啉-8-基)-烟酰胺

在氩气气氛下,于室温下搅拌 6-氯-4-甲基-9H-β-咔啉-8-基胺 (43mg, 0.19mmol)的吡啶(4ml)溶液。向其中加入烟酰氯盐酸盐 (40mg, 0.22mmol), 搅拌反应混合物 12 小时。利用 H₂O (5ml)稀释溶液, 将其注入到含 H₂O (5ml)和 EtOAc (25ml)的分液漏斗中。振荡反应混合物, 分层。利用 EtOAc (2 × 25ml)萃取水层。利用饱和碳酸氢钠溶液(15ml)洗涤合并的有机层, 接着利用盐水洗涤, 然后在 MgSO₄上干燥, 过滤并浓缩, 得到 N-(6-氯-4-甲基-9H-β-咔啉-8-基)-烟酰胺(5.2mg), 为桔黄色粘稠油状物。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 11.67 (s, 1); 10.70 (s, 1); 9.27 (s, 1); 8.83 (s, 2); 8.45 (s, 1); 8.20 - 8.12 (m, 2); 7.83 (s, 1); 7.66 (s, 1); 2.80 (s, 3).

NH₄OAc 标准条件。

DAD R_f = 1.92min.

M+H = 337.

中间体 55: 1,1-二氧化-1λ⁶-硫代吗啉-3,4-二羧酸 4-叔丁酯

将硫代吗啉-3,4-二羧酸 4-叔丁酯(120mg, 0.485mmol)溶解在 Et₂O (8ml)中。向盖溶液中加入 mCPBA (172mg, 0.994mmol), 接着加入第二份 mCPBA (84mg, 0.485mmol)。过滤生成的沉淀, 利用 Et₂O 洗涤, 得到白色固体 1,1-二氧化-1λ⁶-硫代吗啉-3, 4-二羧酸 4-叔丁酯(74mg)。

实施例 31: 1,1-二氧代-1 λ^6 -硫代吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

将于吡啶(2ml)中的 6-氯-7-氟-9H- β -咔啉-8-基胺(43mg, 0.198mmol)、1,1-二氧代-1 λ^6 -硫代吗啉-3,4-二羧酸 4-叔丁酯(72mg, 0.257mmol)和 EDCI (76mg, 0.396mmol)浆状物加热至 70°C。1 小时后, 减压除去溶剂, 将所得黑色油状物溶解在 MeOH (1ml)中。将 MeOH 溶液滴加到搅拌 NaHCO₃ 水溶液中, 生成黄色沉淀。过滤固体, 干燥, 将其溶解在于 Et₂O 的 2M HCl 中。搅拌过夜后, 过滤所得黄色固体, 干燥得到黄色固体 1,1-二氧代-1 λ^6 -硫代吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺的二-HCl 盐(78mg)。

¹H-NMR (300 MHz, MeOH-d₄): δ 9.26 (s, 1); 8.74 (d, 1); 8.54 (d, 1); 8.37 (d, 1); 7.94 (d, 1); 5.01 (dd, 1); 4.15 - 3.75 (m, 4); 3.64 - 3.58 (m, 2)。

NH₄OAc 标准条件。

DAD R_f = 1.57min.

M+H = 379。

中间体 56: 6,6-二甲基-吗啉-3,4-二羧酸 4-叔丁酯

向 6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(5.56g, 34.9mmol)的二噁烷(58ml)溶液中加入碳酸钾水溶液(1M, 58ml)。向所得清亮无色溶液中加入二碳酸二叔丁酯(9.14g, 41.9mmol)。在室温下搅拌溶液过夜。利用水(200ml)稀释反应混合物, 溶液 pH 确定为大约为 7。将反应混合物注入到分液漏斗中, 利用 Et₂O (2 × 100ml)萃取, 除去过量的二碳酸二叔丁酯。在搅拌条件下, 通过加入 6N HCl 水溶液

酸化水层，直至 pH 达到 3。利用 Et₂O (2 × 200ml) 迅速萃取混合物，合并有机层，在硫酸镁上干燥，过滤并浓缩，得到清亮无色油状物。将该油状物溶解在 Et₂O (50ml) 中，利用己烷 (150ml) 研磨，浓缩得到白色固体。将该固体产物置于高真空泵中数小时，之后得到 8.85g 6,6-二甲基-吗啉-3,4-二羧酸 4-叔丁酯(97%收率)。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 12.95 (s, 1); 4.35 ("dd", 1); 3.98 - 3.83 (m, 2); 3.48 ("dd", 1); 2.81 ("dd", 1); 1.39 ("dd", 9); 1.15 (s, 3); 1.08 ("dd", 3).

NH₄OAc 标准条件。

DAD R_f = 0.98min.

M-H = 258.

中间体 57: (S)-5-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯

根据方法 C 的步骤，由 6-氯-9H-β-咔啉-8-基胺和 6,6-二甲基-吗啉-3,4-二羧酸 4-叔丁酯制得所需化合物，收率为 87%。

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300MHz) δ 11.33 (s, 1); 10.14 (s, 1); 9.05 (s, 1); 8.38 (d, 1); 8.21 (d, 1); 8.16 (d, 1); 7.94 (s, 1); 4.70 - 4.56 (m, 1); 4.25 - 4.14 (m, 1); 4.07 (dd, 1); 3.64 - 3.56 (m, 1); 3.30 - 3.14 (m, 1); 1.41 ("dd", 9); 1.21 (s, 3); 1.15 (s, 3).

NH₄OAc 标准条件。

DAD R_f = 1.84min.

M+H = 459.

手性 HPLC: 2 95% ee.

Chiralpak AD 柱。

15% v/v EtOH/己烷, 含 0.1% Et₂NH。

中间体 58: [(S)-4-((S)-2-氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺三氟乙酸盐

根据与中间体 35 向他的步骤, 由(S)-5-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯, 并在还原环烷基化反应中利用 Boc-丙胺醛, 制得所需的化合物, 收率为 60%。

¹H-NMR (300 MHz, D₂O): δ 1.16 (d, 3H), 1.25 (s, 3H), 1.28 (s, 3H), 2.41 (d, 1H), 2.59 (dd, 1H), 2.89 (dd, 1H), 2.95 (d, 1H), 3.35-3.50 (m, 2H), 3.95-4.15 (m, 2H), 7.59 (d, 1H), 7.97 (d, 1H), 8.11 (d, 1H), 8.30 (d, 1H), 8.40 (d, 1H), 8.94 (s, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.57min.

MS (M+H⁺): 416.2.

方法 E: 利用[(S)-4-((S)-2-氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺三氟乙酸盐的偶合步骤

将待偶合的[(S)-4-((S)-2-氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺三氟乙酸盐(1.0mmol)、TBTU(1.2mmol)、酸(1.25mmol)和 Et₃N(4-6mmol, 碱性 pH)加入到乙腈(10ml)中。将所得混合物在环境温度下搅拌 4-15 小时。然后, 将反应混合物分配在 EtOAc 和 10% Na₂CO₃ 水溶液中。利用 EtOAc 进一步萃取分离的水相。利用 10% Na₂CO₃ 水溶液和盐水顺序地

洗涤合并的萃取液，在 Na_2SO_4 上干燥，并彻底浓缩。硅胶纯化 (2-7% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) 残留物，得到相应的产物。

实施例 39: 6,6-二甲基-4-[2-(2,2,2-三氟-乙酰氨基)-丙基]-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

将 4-(2-氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺(3 CF_3COOH 盐) (1.5g) 悬浮在二氯甲烷(80ml)及 5 当量三乙胺中。加入三氟乙酸酐(56 μL , 2 当量), 混合物在室温下搅拌 1 小时。旋转蒸发除去溶剂。通过硅胶快速色谱纯化(5% 甲醇/二氯甲烷, 产物 R_f 0.3) 产物, 得到 1g。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, relative to CDCl_3 peak at 7.3 ppm) δ 10 (s, 1H), 9.7 (d, 1H), 8.7 (s, 1H), 8.6 (s, 1H), 8.2 (d, 1H), 7.6 (s, 2H), 6.6 (s, 1H), 4.3 (m, 1H), 3.9 (m, 1H), 3.8 (t, 1H), 3.2 (m, 1H), 2.7-2.9 (m, 2H), 2.5 (m, 1H), 2.2 (d, 1H), 1.4 (d, 3H), 1.3 (s, 3H), 1.2 (s, 3H).

LCMS (乙酸铵标准法) 保留时间 = 1.84min.

($\text{M}^+ = 512$; $\text{M}^- = 510$).

实施例 40: 4-((S)-2-乙酰氨基-丙基)-6,6-二甲基吗啉-3-(S)-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

根据先前实施例的方法, 由 4-(2-氨基-丙基)-6,6-二甲基吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺(3 CF_3COOH 盐) 和乙酸酐制得所需化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, methyl- d_3 alcohol- d): δ 1.15 (d, 3H), 1.23 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 2.24 (d, 1H), 2.38 (m, 1H), 2.68 (m, 1H), 2.92 (d, 1H), 3.24 (m, 1H), 3.98 (m, 2H), 4.22 (m, H), 7.78 (d, 1H), 7.98 (m, 2H), 8.27 (d, 1H), 8.84 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.54min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 458.

实施例 41: 4-((S)-2-甲磺酰基氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-(S)-羧酸(6-氯-9H-b-吡啶-8-基)-酰胺

根据方法 E 制得所需化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, methyl- d_3 alcohol- d): δ 1.28 (s, 3H), 1.29 (d, 3H), 1.43 (s, 3H), 2.28 (d, 1H), 2.57 (m, 1H), 2.66 (m, 1H), 2.98 (s, 3H), 3.03 (d, 1H), 3.34 (m, 1H), 3.66 (m, 1H), 4.05 (m, 2H), 7.67 (d, 1H), 8.10 (m, 2H), 8.32 (d, 1H), 8.89 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.54min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 494.

实施例 42: 4-{2-[(4,6-二甲基-嘧啶-5-羧基)-氨基]-丙基}-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -吡啶-8-基)-酰胺

根据方法 E 的步骤, 利用[4-(2-氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-基甲基]-(6-氯-9H- β -吡啶-8-基)-胺和 4,6-二甲基嘧啶-5-羧酸制得所需化合物, 收率为 51%。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO): δ 11.27 (1H, s), 10.02 (1H, s), 9.0 (1H, s), 8.86 (1H, s), 8.5 (1H, d), 8.3 (1H, d), 8.22 (2H, m), 7.88 (1H, s), 4.1 (1H, m), 3.9 (2H, m), 2.99 (2H, m), 2.36 (6H, s), 2.1 (2H, m), 1.3 (3H, s), 1.24 (6H, m).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.50min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 551

实施例 43: (S)-6,6-二甲基-4-[(S)-2-[(2-甲基-吡啶-3-羰基)氨基]丙基]-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 E 的步骤, 由(S)-4-((S)-2-氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺三氟乙酸盐和 2-甲基-烟酸制得所需化合物, 收率为 75%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 1.21 (s, 3H), 1.22 (d, 3H), 1.36 (s, 3H), 2.10 (d, 1H), 2.42 (m, 1H), 2.60 (m, 1H), 2.99 (d, 1H), 3.20 (m, 1H), 3.92 (m, 2H), 4.22 (m, 1H), 7.22 (dd, 1H), 7.65 (d, 1H), 7.90 (s, 1H), 8.16 (d, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.31 (d, 1H), 8.38 (d, 1H), 8.45 (d, 1H), 9.02 (s, 1H), 10.04 (s, 1H), 11.26 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 2.16min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 535.5.

实施例 44: 6,6-二甲基-4-{2-[(四氢-吡喃-4-羰基)-氨基]-丙基}-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-b-咔啉-8-基)-酰胺

将 4-(2-氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-b-咔啉-8-基)-酰胺 (3 CF₃COOH 盐酸盐) (300mg) 悬浮在二氯甲烷(12ml) 及 3 当量三乙胺中。加入吗啉-4-羰基氯(70mg, 1.3 当量), 在室温下搅拌过夜。旋转蒸发溶剂。通过在硅胶板上的制备性 TLC (10/90 甲醇/乙酸乙酯洗脱, 产物 R_f 0.4) 分离出产物, 收率 83 mg。

¹H-NMR (300 MHz, relative to CD₃OD peak at 3.3 ppm) δ 8.8 (s, 1H), 8.27 (d, 1H), 7.9-7.99 (m, 3H), 3.95-4.15 (m, 2H), 3.85-3.95 (m, 2H), 3.5-3.6 (m, 5H), 3.3-3.45 (m, 2H), 3.15-3.3 (m, 2H), 2.85-2.95 (d, 1H), 2.6-2.72 (m, 1H), 2.3-2.43 (m, 1H), 2.2-2.28 (d, 1H), 2.0 (s, 2H), 1.35-1.45 (d, 3H), 1.05-1.25 (m, 6H).

LCMS (乙酸铵标准法) 保留时间 = 2.39min.

(M⁺ = 529; M⁻ = 527)。

实施例 45: 4-{(S)-2-[(1-乙酰基-吡咯烷-2-(S)-羰基)-氨基]-丙基}-6,6-二甲基-吗啉-3-(S)-羧酸(6-氯-9H-b-咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 E 的步骤制得所需化合物。

¹H-NMR (300 MHz, methyl-d₃ alcohol-d): δ 1.21 (d, 3H), 1.28 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.95 (m, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.17 (m, 1H), 2.28 (d, 1H), 2.51 (m, 1H), 2.74 (m, 1H), 3.05 (d, 1H), 3.30 (m, 1H), 3.55 (m, 1H), 3.61 (m, 1H), 4.05 (m, 2H), 4.18 (m, 1H), 4.34 (m, 1H), 7.78 (d, 1H), 8.10 (m, 2H), 8.33 (d, 1H), 8.90 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 2.07min.

MS (M+H⁺): 555.

实施例 46: 6,6-二甲基-4-{2-[(5-甲基-异噁唑-3-羰基)-氨基]-丙基}-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 E 的步骤, 利用[4-(2-氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-基甲基]-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-胺和 5-甲基异噁唑羰基氯制得所需化合物, 收率为 61%。

¹H-NMR (300MHz, DMSO): δ 11.2 (1H, s), 9.98 (1H, s), 9.0 (1H, s), 8.7 (1H, d), 8.6 (1H, d), 8.2 (2H, m), 7.9 (1H, s), 6.47 (1H, s), 3.87 (2H, m), 3.17 (2H, m), 2.9 (1H, d), 2.7 (1H, m), 2.3 (4H), 2.1 (1H, d), 1.29 (3H, s), 1.15 (6H, m).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.81min.

MS (M+H⁺): 526.

实施例 47: 6,6-二甲基-4-[2-(3-甲基-脲基)-丙基]-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

将 4-(2-氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺(3 HCl 盐) (300mg) 悬浮在二氯甲烷(10ml)中, 同时加入三乙胺(4 当量)和异氰酸甲酯(2 当量)。在室温下 1 小时后, 旋转蒸发除去溶剂。快速硅胶色谱纯化(5% 甲醇/二氯甲烷, 产物 R_f = 0.3)产物, 得到 200mg。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, relative to CDCl_3 peak at 7.3 ppm) δ 12.3 (s, 1H), 10.2 (s, 1H), 8.9 (s, 1H), 8.6 (s, 1H), 8.4 (d, 1H), 7.9 (d, 1H), 7.8 (s, 1H), 5.4 (s, 1H), 5.2 (d, 1H), 4.2 (s, 1H), 3.8 (m, 2H), 3.2 (m, 1H), 2.6-3 (m, 7H), 2.3 (d, 1H), 2.2 (t, 1H), 1.4 (s, 3H), 1.2 (s, 3H), 1.1 (d, 3H)

LCMS (乙酸铵标准法)保留时间 = 1.62min.

($\text{M}^+ = 473$; $\text{M}^- = 471$).

实施例 49: {(S)-2-[(S)-5-(6-氯-9H- β -咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-1-甲基-乙基}-氨基甲酸甲酯

在 1.5 小时内, 向(S)-4-((S)-2-氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺盐酸盐(3.45g, 6.59mmol)的 68ml 无水吡啶溶液中加入三份氯甲酸甲酯(9.2ml, 27.6mmol, 4.2 当量)的 3M DCM 溶液。2 小时后, 加入 10ml 水, 浓缩混合物至干。将残留物分配在 150ml EtOAc 和 100ml 0.5M K_2CO_3 水溶液。利用 50ml EtOAc 萃取分离的水相。利用水(2 \times 50ml)和盐水(50ml)顺序地洗涤合并的有机萃取物, 在 Na_2SO_4 上干燥, 并浓缩至干。硅胶纯化(5% MeOH/ CH_2Cl_2)残留物, 得到 2.48g (粘稠油状物, 77%收率)所需产物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 1.15 (d, 3H), 1.28 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 2.33 (dd, 1H), 2.42 (d, 1H), 2.78 (dd, 1H), 2.86 (d, 1H), 3.32 (dd, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.92 (t, 1H), 4.01 (dd, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.78 (d, 1H), 7.95 (d, 1H), 7.97 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.50 (d, 1H), 8.98 (s, 1H), 9.88 (s, 1H), 10.94 (s, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.70min.

MS (M+H⁺): 474.1

实施例 50: 4-{2-[(2,4-二甲基-吡啶-3-羰基)-氨基]-丙基}-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 E 的步骤, 由[4-(2-氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-基甲基]-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-胺和 2,4-二甲基烟酸制得所需化合物, 收率为 50%。

¹H-NMR (300MHz, DMSO): δ 11.27 (1H, s), 10 (1H, s), 8.9 (1H, s), 8.37 (2H, d), 8.24 (3H, m), 7.8 (1H, s), 7.04 (1H, d), 3.91 (2H, m), 3.1 (2H, m), 2.36 (4H, m), 2.1 (3H, m), 2.05 (1H, d), 1.3 (3H, s), 1.2 (6H, m).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.53min.

MS (M+H⁺): 550

实施例 51: 6,6-二甲基-4-{2-[(吡嗪-2-羰基)-氨基]-丙基}-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

根据实施例 E 的步骤, 由[4-(2-氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-基甲基]-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-胺和 2-吡嗪羧酸制得所需化合物, 收率为 62%。

¹H-NMR (300MHz, DMSO): δ 12.9 (1H, s), 10.89 (1H, s), 9.42 (1H, s), 9.0 (1H, s), 8.8 (1H, d), 8.6 (1H, d), 8.4 (1H, s), 8.2 (1H, m), 4.5 (1H, m), 4.1 (2H, m), 3.1 (1H, m), 2.1 (4H, m), 1.23 (9H, m).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.69min.

MS (M⁺): 522.2

实施例 52: 吡啶-3,4-二羧酸 4-({2-[5-(6-氯-9H-β-吡啶-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-1-甲基-乙基}-酰胺) 3-甲酰胺

向[4-(2-氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-基甲基]-(6-氯-9H-β-吡啶-8-基)-胺 (100mg, 0.132mmol)的 0.6ml 无水乙腈中加入 3,4-吡啶二甲酸酐(21mg, 0.15mmol)和三乙胺(102ml, 0.8mmol)。反应混合物在室温下搅拌 1 小时。然后减压除去溶剂, 将残留物收集在吡啶(0.6ml)中。向所得混合物中加入于 THF (0.2ml, 0.4mmol) 中的 2M 甲胺溶液和 EDCI (40mg, 0.21mmol)。搅拌反应混合物 4 小时, 减压除去溶剂, 将残留物分配在 EtOAc 和 1M K₂CO₃ 水溶液中。利用 EtOAc 萃取分离的水相两次。利用水和盐水顺序洗涤合并的有机相, 在 MgSO₄ 上干燥, 彻底浓缩。硅胶纯化(10% MeOH-CH₂Cl₂)残留物, 得到标题化合物, 为白色固体, 收率为 36%。

¹H-NMR (300MHz, DMSO): δ 9.24 (1H, s), 8.17 (1H, s), 7.81 (2H, m), 7.5 (3H, m), 7.3 (1H, s), 7.0 (1H, s) 6.5 (1H, d), 3.08 (2H, d), 3.35 (1H, m), 2.4 (3H, m), 1.86 (4H, m), 0.5 (3H, s), 0.37 (6H, m)。

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.46min.

MS (M+H⁺): 579

实施例 53: 6,6-二甲基-4-{(4-甲基-嘧啶-5-羧基)-氨基}-丙基}-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-吡啶-8-基)-酰胺

根据方法 E 的步骤, 由[4-(2-氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-基甲基]-(6-氯-9H-β-吡啶-8-基)-胺和 4-甲基-嘧啶-5-羧酸制得所需化合物, 收率为 55%。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO): δ 11.26 (1H, s), 10.04 (1H, s) 9.04 (2H, m), 8.66 (1H, d) 8.3 (2H, m) 8.22-8.17 (2H, m), 7.9 (1H, s), 4.2 (1H, m), 3.93 (2H, m), 3.2 (1H, m), 2.98 (2H, m), 2.6 (3H, m), 2.1 (2H, m), 1.36 (3H, s), 1.23 (6H, m).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.55min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 537

实施例 54: (S)-6,6-二甲基-4-[(S)-2-[(4-甲基-吡啶-3-羰基)-氨基]-丙基]-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 E 的步骤, 由(S)-4-((S)-2-氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺三氟乙酸盐和 4-甲基-烟酸制得所需化合物, 收率为 79%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 1.21 (s, 3H), 1.22 (d, 3H), 1.36 (s, 3H), 2.10 (d, 1H), 2.40 (m, 1H), 2.62 (m, 1H), 2.99 (d, 1H), 3.22 (m, 1H), 3.94 (m, 2H), 4.23 (m, 1H), 7.26 (d, 1H), 7.90 (s, 1H), 8.16 (d, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.34-8.46 (m, 3H), 9.02 (s, 1H), 10.04 (s, 1H), 11.27 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 2.22min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 535.5

实施例 47: 4-[2-(2-氨基-2-甲基-丙酰基)]-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

在室温下, 搅拌{2-[5-(6-氯-9H- β -咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-1-甲基-乙基}-氨基甲酸叔丁酯(70.2mg, 0.14mmol)的 TFA (2ml)溶液。15 分钟后, 浓缩反应, 利用 CH_2Cl_2

(2 × 5ml)共沸粗产物。在室温下搅拌于 MeCN (1ml)中的粗中间体、TBTU (54.0mg, 0.17mmol)、三乙胺(0.2ml, 1.43mmol)和 2-叔丁氧基羰基氨基-2-甲基-丙酸(45.0mg, 0.22mmol)的混合物 18 小时。利用 H₂O (20ml)稀释溶液, 将其注入到含 EtOAc (50ml)和盐水(50ml)的分液漏斗中。振荡混合物, 分层。利用 EtOAc (2 × 50ml)萃取水层。干燥合并的有机层, 过滤并浓缩。快速色谱纯化粗产物, 得到黄色固体(51.0mg, 62%), NMR 和 LCMS 显示该产物为 4-[2-(2-氨基-2-甲基-丙酰基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 12.94 (br s, 1); 11.36 (br s, 1); 10.16 (s, 1); 9.06 (s, 1); 8.39 (d, 1); 8.22 (d, 1); 8.19 (d, 1); 7.95 (s, 1); 4.77 - 4.52 (m, 1); 4.28 - 4.13 (m, 1); 4.13 - 4.00 (m, 1); 3.68 - 3.52 (m, 1); 3.22 - 3.12 (m, 1); 1.44 (s, 3); 1.41 - 1.38 (m, 6); 1.28 - 1.24 (m, 2); 1.22 (s, 3); 1.25 (s, 3); 1.11 - 1.07 (m, 1).

NH₄OAc 标准条件。

DAD R_f = 1.31min.

M+H = 501.

实施例 55: 6,6-二甲基-4-(1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基甲基)-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)酰胺

根据方法 C 描述的步骤, 利用 6,6-二甲基吗啉-3-羧酸和(s)-四氢异喹啉醛制得所需的化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, D_2O): δ 9.1 (1H, s), 8.68 (1H, d), 8.52 (1H, d), 8.41 (1H, d), 7.68 (1H, d), 7.27 (1H, d), 7.06 (1H, m), 6.97 (1H, d), 6.84 (1H, m), 4.31 (2H, m), 4.09 (2H, m), 3.68 (1H, m), 3.56 (1H, t), 3.2 (2H, m), 3.06 (2H, m), 2.7 (2H, m) 1.48 (3H, s), 1.32 (3H, s)

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 2.43min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 505

中间体 59: 6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺,HCl 盐

向 5-(6-氯-9H- β -咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯(10.4g, 22.7mmol)的甲醇(41ml) 清亮棕色溶液 中加入于二噁烷中的 HCl (4M, 91ml)。反应在室温下搅拌 30 分钟, 此时开始生成浅棕色沉淀。将混合物注入到剧烈搅拌的 250mL 体积的 Et_2O 中。所得浆状物在室温下搅拌 15 分钟, 然后过滤, 得到浅桔黄色固体。将固体置于高真空泵中过夜, 之后得到 9.71g 6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺(99%收率)。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 300MHz) δ 13.47 (s, 1); 11.77 (s, 1); 9.42 (s, 1); 8.86 (d, 1); 8.66 (d, 1); 8.58 (d, 1); 8.25 (d, 1); 4.41 - 4.37 (m, 2); 4.05 (dd, 1); 3.32 - 3.28 (m, 1); 3.04 - 3.00 (m, 1); 1.34 (s, 3); 1.30 (s, 3).

NH_4OAc 标准条件。

DAD R_f = 1.48min.

$\text{M}+\text{H} = 359$ 。

实施例 56: 4-(2-氨基-丁基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-吡啶-8-基)-酰胺(也是中间体 60)

根据方法 C 的步骤, 利用 5-(6-氯-9H-β-吡啶-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯和适当的醛, (1-甲酰基-丙基)-氨基甲酸叔丁酯, 得到所需化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300MHz) δ .9.06 (s, 1); 8.37 (d, 1); 8.19 (d, 1); 8.15 (d, 1); 7.85 (d, 1); 6.75 (br s, 2); 3.96 - 3.85 (m, 2); 3.17 - 3.13 (m, 1); 2.89 (d, 1); 2.78 - 2.74 (m, 1); 2.67 - 2.59 (m, 1); 2.26 - 2.20 (m, 1); 2.14 (d, 1); 1.58 - 1.50 (m, 1); 1.32 (s, 3); 1.32 - 1.23 (m, 1); 1.18 (s, 3); 0.87 (t, 3).

NH_4OAc 标准条件。

DAD $R_f = 1.27\text{min}$.

$M+H = 430$ 。

实施例 57: 6,6-二甲基-4-{2-[(2-甲基-吡啶-3-羰基)-氨基]-丁基}-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-吡啶-8-基)-酰胺, HCl 盐

向 4-(2-氨基-丁基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-吡啶-8-基)-酰胺 (100mg, 0.233mmol)的吡啶(4ml)溶液中加入 2-甲基-烟酸(38.4mg, 0.280mmol)和 EDCI (71.5mg, 0.373mmol)。溶液在室温下搅拌过夜, 然后利用水(5ml)稀释。将混合物注入到分液漏斗中, 进一步利用水(20ml)稀释。利用 EtOAc ($2 \times 20\text{ml}$)萃取混合物, 利用盐水洗涤合并的有机层。有机层在硫酸镁上干燥, 过滤并浓缩, 得到黄-棕色油状物, 产物通过柱色谱纯化。将所得黄色固体溶解在甲醇(2ml)中, 加入于 Et_2O 中的 HCl (2M, 2ml)。搅拌混合物 5 分钟, 然后浓缩得到 103mg 6,6-二甲基-4-{2-[(2-甲基

-吡啶-3-羰基)-氨基]-丁基}-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺(71%收率)。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300MHz) δ 13.31 (br s, 1); 11.41 (br s, 1); 11.14 (br s, 1); 9.44 (s, 1); 8.85 (d, 1); 8.73 - 8.64 (m, 3); 8.52 (s, 1); 8.32 (s, 1); 7.72 (s, 1); 4.64 - 3.55 (m, 6); 3.24 - 3.06 (m, 1); 2.95 - 2.81 (m, 1); 2.71 (s, 3); 1.89 - 1.74 (m, 1); 1.55 - 1.41 (m, 1); 1.32 (s, 3); 1.23 (s, 3); 0.93 (t, 3).

NH_4OAc 标准条件。

DAD R_f = 1.66min.

$M+H$ = 549.

中间体 61: 4-(2-氨基-3-甲基-丁基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 C 的步骤, 利用 5-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯和适当的醛, (1-甲酰基-2-甲基-丙基)-氨基甲酸叔丁酯。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300MHz) δ 9.05 (s, 1); 8.37 (d, 1); 8.21 (d, 1); 8.16 (dd, 1); 7.90 (d, 1); 6.71 (br s, 2); 3.93 - 3.86 (m, 2); 3.18 - 3.14 (m, 1); 2.91 (d, 1); 2.70 - 2.65 (m, 2); 2.21 (dd, 1); 2.15 (d, 1); 1.74 - 1.66 (m, 1); 1.31 (s, 3); 1.19 (s, 3); 0.85 (d, 3); 0.80 (d, 3).

NH_4OAc 标准条件。

DAD R_f = 1.27min.

M+H = 444.

实施例 58: 6,6-二甲基-4-{3-甲基-2-[(2-甲基-吡啶-3-羰基)-氨基]-丁基}-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

向 4-(2-氨基-3-甲基-丁基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺 (1.47g, 3.31mmol)的吡啶(35ml)溶液中加入 2-甲基-烟酸(544mg, 3.97mmol)和 EDCI (1.02g, 5.30mmol)。溶液在室温下搅拌 6.5 小时, 然后利用水(100ml)稀释。将混合物注入到分液漏斗中, 进一步利用水(50ml)和 EtOAc (150ml)稀释。振荡混合物, 分层。利用 EtOAc (3 × 50ml)萃取水层, 然后利用盐水洗涤合并的有机层。有机层在硫酸镁上干燥, 过滤并浓缩, 得到桔黄色半固体残留物, 将其进行柱色谱纯化。将所得黄色固体放置在高真空泵中过夜, 之后得到 1.43g 6,6-二甲基-4-{3-甲基-2-[(2-甲基-吡啶-3-羰基)-氨基]-丁基}-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺(77%收率)。

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300MHz) δ 11.32 (s, 1); 10.08 (s, 1); 9.02 (s, 1); 8.46 (dd, 1); 8.38 (d, 1); 8.21 - 8.14 (m, 3); 7.97 (d, 1); 7.64 (dd, 1); 7.23 (dd, 1); 4.23 - 4.14 (m, 1); 3.99 - 3.87 (m, 2); 3.22 - 3.19 (m, 1); 3.02 (d, 1); 2.85 (dd, 1); 2.52 (s, 3); 2.30 (dd, 1); 2.11 (d, 1); 2.05 - 1.95 (m, 1); 1.32 (s, 3); 1.21 (s, 3); 0.93 (d, 3); 0.86 (d, 3) ..

NH₄OAc 标准条件。

DAD R_f = 1.67min.

M+H = 563.

实施例 59: 6,6-二甲基-4-{3-甲基-2-(S)-[(四氢-咪喃-3-羰基)-氨基]-丁基}-吗啉-3-(S)-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 E 的步骤, 由中间体 61 和适当的酸制得所需化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, methyl- d_3 alcohol- d): δ 0.87 (m, 6H), 1.25 (d, 3H), 1.37 (d, 3H), 1.81 (m, 1H), 2.10-2.47 (m, 4H), 2.93 (m, 2H), 3.10 (m, 1H), 3.26 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.86-4.07 (m, 6H), 7.86 (d, 1H), 8.10 (m, 2H), 8.32 (d, 1H), 8.89 (s, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.73min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 542.

中间体 62: {(S)-2-[(S)-5-(6-氯-4-甲基-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-1-甲基-乙基}-氨基甲酸叔丁酯

在室温下, 搅拌(S)-4-((S)-2-叔丁氧基羰基氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(3.316g, 10.5mmol) (通过利用 N-(叔丁氧基羰基)-1-丙胺醛还原烷基化(S)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸制得)的无水吡啶(75ml)溶液。加入 6-氯-4-甲基-9H-β-咔啉-8-基胺(1.869g, 8.09mmol), 接着加入 EDCI (2.894g, 15.1mmol)。在氩气气氛下, 于室温下搅拌反应 14-18 小时。部分浓缩反应, 利用 H_2O (20ml) 稀释, 将其转移至分液漏斗中。利用盐水(50ml)稀释混合物, 利用 EtOAc ($3 \times 100\text{ml}$) 萃取。利用盐水洗涤合并的有机层, 干燥, 过滤并浓缩, 得到黑色残留物。柱色谱纯化(0-8% MeOH/ CH_2Cl_2), 得到 {(S)-2-[(S)-5-(6-氯-4-甲基-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-1-甲基-乙基}-氨基甲酸叔丁酯, 为亮棕褐色固体(2.688g)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11.25 (s, 1) 9.94 (s, 1) 8.88 (s, 1) 8.18 (s, 1) 8.02 (s, 1) 7.92 (s, 1) 6.73 (d, 1) 3.95 - 3.85 (m, 2) 3.66 (br s, 1) 3.16 - 3.08 (m, 1) 2.88 (d, 1) 2.76 (s, 3) 2.51 - 2.40 (m, 1) 2.23 (dd, 1) 1.99 (d, 1) 1.34 (br s, 12) 1.17 (s, 3) 1.08 (d, 3).

NH_4OAc 标准条件。

ELSD $R_f = 2.07\text{min}$.

$M+H = 530$.

实施例 60: (S)-6,6-二甲基-4-[(S)-2-[(2-甲基-吡啶-3-羰基)-氨基]-丙基]-吗啉-3-羧酸(6-氯-4-甲基-9H- β -吡啶-8-基)酰胺

在室温下, 搅拌{(S)-2-[(S)-5-(6-氯-4-甲基-9H- β -吡啶-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-1-甲基-乙基}-氨基甲酸叔丁酯(2.688g, 5.08mmol)的 EtOH (60ml)溶液。加入浓 HCl (10ml), 反应在氩气下于室温搅拌 14 小时。浓缩反应得到黄色固体(2.84g)。将固体溶解在无水吡啶(40ml)中, 在氩气下于室温搅拌。加入三乙胺(2.20ml, 15.7mmol)和 EDCI (1.39g, 7.28mmol)。反应混合物在室温下搅拌 10 分钟, 加入 2-甲基-烟酸(0.868g, 6.33mmol)。反应混合物在室温下搅拌 14-18 小时, 利用 H_2O (40ml)稀释。将反应混合物注入到含 H_2O (40ml)、盐水(40ml)和 EtOAc (40ml)的分液漏斗中。振荡混合物, 分层。利用 EtOAc ($2 \times 40\text{ml}$)萃取水层, 利用盐水洗涤合并的有机层。干燥有机层, 过滤并浓缩。将所得残留物溶解在 EtOAc (10-20ml)中, 滴加到 4:1 己烷/ Et_2O 搅拌溶液(300ml)中。过滤收集生成的沉淀, 空气干燥得到(S)-6,6-二甲基-4-[(S)-2-[(2-甲基-吡啶-3-羰基)-氨基]-丙基]-吗啉-3-羧酸(6-氯-4-甲基-9H- β -吡啶-8-基)-酰胺, 为棕褐色固体(3.151g)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11.28 (s, 1) 9.98 (s, 1) 8.81 (s, 1) 8.45 - 8.39 (m, 1) 8.26 (d, 1) 8.13 (s, 1) 7.97 (s, 1) 7.89 (s, 1) 7.64 - 7.56 (m, 1) 7.24 - 7.12 (m, 1) 4.25 - 4.10 (m, 1) 3.91 - 3.82 (m, 2) 3.20 - 3.10 (m, 1) 2.94 (d, 1) 2.71 (s, 3) 2.61 - 2.49 (m, 1) 2.37 (s, 3) 2.06 - 2.02 (m, 2) 1.30 (s, 3) 1.16 (d, 3) 1.15 (s, 3).

NH₄OAc 标准条件。

ELSD $R_f = 1.57\text{min}$.

$M+H = 549$ 。

中间体 63: 3,5-二氟-4-三丁基锡烷基-吡啶

在氮气(N_2)气氛下, 于 -78°C , 通过滴液漏斗将正丁基锂(1.0当量, 76mmol, 47.6ml, 1.6M, 于己烷中)加入到二异丙胺(1.05当量, 80mmol, 11.2ml)的 THF (300ml)溶液中。在 -78°C 下搅拌溶液 30 分钟, 然后通过注射器滴加 3,5-二氟吡啶(1.05 当量, 80mmol, 9.2g)的 THF (20ml)溶液。可观察到生成浅褐色沉淀。反应在 -78°C 下搅拌 90 分钟, 然后通过注射器滴加氯化三丁基锡(1.0 当量, 76mmol, 20.7ml), 将所得溶液在 2 小时内温热至室温。加入水(5ml), 旋转蒸发大约 250ml THF。利用二乙醚(350ml)稀释所得物质, 利用水($2 \times 200\text{ml}$)、饱和氯化钠溶液($1 \times 150\text{ml}$)顺序洗涤, 在硫酸镁上干燥, 过滤并真空浓缩, 得到 3,5-二氟-4-三丁基锡烷基-吡啶, 为无色油状物(27.5g, 88%)。可在不进行进一步纯化的条件下使用粗产物。

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 3.35min.

MS ($M+H^+$): 406.

中间体 64: 4-氯-2-(3,5-二氟-吡啶-4-基)-苯基胺

Stille 偶合: 利用 N_2 , 将粗中间体 63(1.1 当量, 70mmol, 27.5g) 的二甲基甲酰胺(256ml)溶液和 2-碘-4-氯-苯基胺 (1.0 当量, 64mmol, 16.2g)进行脱气 15 分钟。加入二氯二(三苯基膦)钯(II) (0.05 当量, 3.2mmol, 2.2g)和碘化铜(I) (0.1 当量, 6.4mmol, 1.2g), 悬浮液在 N_2 下回流加热 15 小时。将混合物冷却至室温, 通过一小段 celite[®]塞过滤, 在旋转蒸发器上除去二甲基甲酰胺。将粗产物溶解在乙腈(300ml)中, 利用己烷(2 × 200ml)洗涤, 真空浓缩。将产物溶解在乙酸乙酯(400ml)中, 利用水(2 × 200ml)、饱和碳酸氢钠溶液(1 × 200ml)、饱和氯化钠溶液(200ml)顺序洗涤, 在硫酸镁上干燥, 过滤并真空浓缩。利用二乙醚(50ml)研磨所得固体, 将黑色消去, 然后溶解在最小量体积的甲醇中, 过滤除去不溶杂质, 真空浓缩得到 4-氯-2-(3,5-二氟-吡啶-4-基)-苯基胺, 为棕褐色固体(12.3g, ~80%), 可在不进行进一步纯化条件下用于下一步骤。

1H -NMR (300 MHz, $dmsO-d_6$): δ 5.28 (s, 2H), 6.77 (d, 1H), 7.08 (d, 1H), 7.19 (dd, 1H) and 8.58 (s, 2H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.70min.

MS ($M+H^+$): 未观察到。

中间体 65: 6-氯-4-氟-9H- β -咔啉

在 N_2 下, 于室温, 通过滴液漏斗将二(三甲基甲硅烷基)酰胺钠(3.0 当量, 130mmol, 130ml, 1.0M, 于 THF 中)加入到粗中间体 64 (1.0 当量, 43mmol, 10.4g)的 THF 溶液中。搅拌 15 小时后, 通过小心滴加饱和氯化铵溶液(100ml), 使过量的碱骤冷, 在旋转蒸

发器上除去大部分 THF。利用乙酸乙酯(400ml, 然后 2 × 200ml)萃取所得浆状物, 再利用饱和碳酸氢钠溶液(300ml)、饱和氯化钠溶液(300ml)顺序洗涤合并的有机物, 在硫酸镁上干燥并过滤。加入硅胶, 在旋转蒸发器上浓缩浆状物。利用 Biotage Flash 75 纯化系统(短柱)纯化该物质, 利用 96:4 二氯甲烷/甲醇洗脱, 得到 6-氯-4-氟-9H-β-咔啉, 为灰白色固体(7.8g, 82%)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, dmsO-d_6): δ 7.71-7.61 (m, 3H), 8.11 (d, 1H) and 12.16 (s, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.70min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 221.

中间体 66: 6-氯-4-氟-9H-β-咔啉-8-基胺

将硝酸钠(1.5 当量, 53mmol, 4.5g)滴加到中间体 65 (1.0 当量, 35mmol, 7.8g)的三氟乙酸(200ml)溶液中, 所得混合物在 70℃ 下加热 3 小时。在冷却至室温后, 在旋转蒸发器上除去三氟乙酸, 得到粗固体, 将其悬浮在小量体积的甲醇中, 滴加到剧烈搅拌的碳酸氢钠溶液(500ml)的混合物中。搅拌所得浆状物 15 分钟, 然后吸滤收集沉淀固体, 利用水(300ml)洗涤, 真空干燥得到 6-氯-4-氟-8-硝基-9H-β-咔啉(大约 9.5g), 该产物可在不进行进一步纯化的条件下用于下一步骤。

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.79min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 266

将硫酸钡(~0.1 当量, 1g)加入到 6-氯-4-氟-8-硝基-9H-β-咔啉(1.0 当量, 35mmol, 9.3g)和甲酸铵(3.0 当量, 105mmol, 6.6g)的乙

醇(175ml)悬浮液中, 所得混合物在 75°C 下加热 4 小时。在冷却至室温后, 通过一小段 Celite® 塞过滤混合物, 利用大量的甲醇洗涤, 然后真空浓缩滤液, 得到浅褐色固体。将固体悬浮在最小量体积的甲醇中, 滴加到剧烈搅拌的饱和碳酸氢钠溶液和饱和氯化钠溶液的混合物中。搅拌 15 分钟后, 吸滤收集沉淀固体, 利用水(200ml)洗涤, 真空干燥, 得到 6-氯-4-氟-9H-β-咔啉-8-基胺 (5.8g, 70%, 2 步), 为浅褐色粉末。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, dmsO-d_6): δ 5.76 (s, 2H), 6.81 (d, 1H), 7.29 (d, 1H), 8.24 (d, 1H), 8.82 (d, 1H), and 11.71 (s, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.59min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 236.

实施例 61: 4-(2-乙酰基氨基-丙基)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸
(6-氯-4-氟-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

由中间体 66 和乙酸酐制备所需化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, dmsO-d_6): δ 11.70 (s, 1H), 10.17 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.34 (d, 1H), 7.95 (s, 2H), 7.81 (d, 1H), 4.05-3.95 (m, 1H), 3.92-3.83 (m, 2H), 3.18-3.12 (m, 1H), 2.87 (d, 1H), 2.55-2.47 (m, 1H), 2.40-2.31 (m, 1H), 2.03 (d, 1H), 1.78 (s, 3H), 1.32 (s, 3H), 1.63 (s, 3H) and 1.08 (d, 3H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.73min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 474.

实施例 62: 6,6-二甲基-4-{2-[(2-甲基-吡啶-3-羰基)-氨基]-丙基}-吗啉-3-羧酸(6-氯-4-氟-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 E 的步骤, 由中间体 66 和甲基烟酸制得所需化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, dmsO-d_6): δ 11.63 (s, 1H), δ 10.10 (s, 1H), δ 8.90 (s, 1H), δ 8.44 (d, 1H), δ 8.34 (s, 1H), δ 8.29 (d, 1H), 7.94 (s, 2H), 7.65 (d, 1H), 7.21 (dd, 1H), 4.25-4.15 (m, 1H), 3.97-3.88 (m, 2H), 3.24-3.15 (m, 1H), 2.99 (d, 1H), 2.59 (t, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.40 (dd, 1H), 2.09 (d, 1H), 1.35 (s, 3H), 1.21 (d, 3H) and 1.20 (s, 3H)
Retention Time (LC, method: ammonium acetate standard): 1.67 min. MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 553.

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.67min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 553.

实施例 63: [(S)-5-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸

向(S)-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺(2.6g, 6.0mmol)的 60ml 甲醇悬浮液中加入 1.7ml 三乙胺(2.0 当量)、氰基硼氢化钠(575mg, 9.1mmol)和乙醛酸(780mg, 8.5mmol)。反应混合物在环境温度下搅拌 1.5 小时。加入水(5ml), 浓缩混合物, 得到粘稠黄色浆状物。然后再加入水(30ml), 所得浆状物在环境温度下搅拌 10 分钟, 过滤。利用水洗涤收集的黄色固体, 高真空干燥, 得到 1.80g (71%)所需产物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 1.17 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 2.81 (d, 1H), 3.34 (d, 1H), 3.46 (d, 1H), 3.56 (dd, 1H), 3.84-3.90 (m, 2H), 7.92 (s, 1H), 8.15 (d, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.36 (d, 1H), 9.01 (s, 1H), 10.28 (s, 1H), 11.40 (s, 1H) .

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.26min.

MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 417.1.

方法 F: 由[(S)-5-(6-氯-9H- β -咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸偶合反式酰胺的步骤

将待偶合的[(S)-5-(6-氯-9H- β -咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸(1.0mmol)、EDCI (1.6mmol)和胺(1.2mmol)装入圆底烧瓶, 悬浮在吡啶(5ml)中。搅拌所得混合物过夜。然后减压除去吡啶, 将残留物分配在 EtOAc 和 5% Na_2CO_3 水溶液中。利用 EtOAc 进一步萃取分离的水相。利用水和盐水顺序洗涤合并的萃取物, 在 Na_2SO_4 上干燥, 彻底浓缩。硅胶纯化残留物, 得到所需产物。

实施例 64: (S)-6,6-二甲基-4-(2-氧代-2-吡咯烷-1-基-乙基)-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 F 的步骤, 由[(S)-5-(6-氯-9H- β -咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸和吡咯烷制得所需化合物, 收率为 82%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 1.21 (s, 3H), 1.29 (s, 3H), 1.75-1.92 (m, 4H), 2.46 (d, 1H), 2.77 (d, 1H), 3.35-3.68 (m, 7H), 3.94 (m, 2H), 8.08 (s, 1H), 8.19 (d, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.41 (d, 1H), 9.05 (s, 1H), 10.71 (s, 1H), 11.51 (s, 1H) .

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.75min.

MS (M+H⁺): 470.3。

实施例 65: (S)-6,6-二甲基-4-(2-氧代-2-哌啶-1-基-乙基)-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 F 的步骤, 由[(S)-5-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸和哌啶制得所需化合物, 收率为 90%。

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 1.17 (s, 3H), 1.29 (s, 3H), 1.35-1.60 (m, 6H), 2.25 (d, 1H), 2.71 (d, 1H), 3.15 (d, 1H), 3.26 (dd, 1H), 3.37 (dd, 1H), 3.45-3.65 (m, 2H), 3.65 (d, 1H), 3.70 (m, 1H), 3.89 (m, 2H) 7.95 (d, 1H), 8.15 (d, 1H), 8.20 (d, 1H), 8.37 (d, 1H), 9.01 (s, 1H), 10.43 (s, 1H), 11.32 (s, 1H)。

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.86min.

MS (M+H⁺): 484.3。

实施例 66: (S)-6,6-二甲基-4-(2-吗啉-4-基-2-氧代-乙基)-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 F 的步骤, 由[(S)-5-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸和吗啉制得所需化合物, 收率为 86%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 1.17 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 2.19 (d, 1H), 2.71 (d, 1H), 3.03 (d, 1H), 3.16 (d, 1H), 3.22 (dd, 1H), 3.45-3.72 (m, 7H), 3.80-3.98 (m, 3H), 7.94 (d, 1H), 8.15 (d, 1H), 8.21 (d, 1H), 8.37 (d, 1H), 9.03 (s, 1H), 10.35 (s, 1H), 11.28 (s, 1H) .

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.56min.

MS(M+H⁺): 486.3.

实施例 67: (S)-4-[(2-羟基-乙基)-甲基-氨基甲酰基]-甲基}-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 F 的步骤, 由[(S)-5-(6-氯-9H- β -咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸和 2-甲基氨基-乙醇制得所需化合物, 收率为 55%。

$^1\text{HNMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 1.21 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 2.39 (m, 1H), 2.75 (bd, 1H), 2.96 (s, 1.5H), 3.17 (s, 1.5H), 3.50-3.65 (m, 2.5H), 3.70-3.85 (m, 1.5H), 3.93 (m, 2H), 4.69 (m, 0.5H), 4.94 (m, 0.5H), 8.05 (d, 1H), 8.18-8.25 (m, 2H), 8.42 (d, 1H), 9.06 (s, 1H), 10.68 (s, 1H), 11.38 (s, 1H) .

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.47min.

MS (M+H⁺): 474.

实施例 68: (S)-6,6-二甲基-4-(吡啶-3-基氨基甲酰基甲基)-吗
啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 F 的步骤, 由[(S)-5-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸和 3-氨基吡啶制得所需化合物。分离该产物, 为盐酸盐, 收率为 55%。

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 1.34 (s, 3H), 1.54 (s, 3H), 2.60 (d, 1H), 3.4 (d, 1H), 3.50 (d, 1H), 3.70 (t, 1H), 3.81 (d, 1H) 4.23 (d, 2H), 7.69 (d, 1H), 7.98 (d, 1H), 8.01 (d, 1H), 8.17 (d, 1H), 8.42 (d, 1H), 8.48-8.55 (m, 3H), 9.09 (s, 1H), 9.30 (d, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.56min.

MS($\text{M}+\text{H}^+$): 493.2.

实施例 69: (S)-6,6-二甲基-4-[(吡啶-4-基甲基)-氨基甲酰基]-甲基}-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 F 的步骤, 由[(S)-5-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸和 4-(氨基甲基)吡啶制得所需化合物。分离该产物, 为盐酸盐, 收率为 53%。

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 1.34 (s, 3H), 1.49 (s, 3H), 2.64 (d, 1H), 3.03 (d, 1H), 3.48 (d, 1H), 3.72 (t, 1H), 3.74 (d, 1H), 4.15-4.25 (m, 2H), 7.66 (d, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 8.21 (d, 1H), 8.44 (d, 1H), 8.53 (d, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 9.08 (s, 1H).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.47min.

MS (M+H⁺): 507.3。

实施例 70: 4-[2-(4-羟甲基-哌啶-1-基)-2-氧代-乙基]-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

将[5-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸(200mg, 0.48mmol)和哌啶-4-基-甲醇(111mg, 0.96mmol)溶解在吡啶(4ml)中。在室温下, 搅拌所得黄色溶液 10 分钟, 然后一次加入 EDC (184mg, 0.96mmol)。允许搅拌反应混合物过夜 (16h)。加入水(4ml), 减压浓缩混合物。将所得残留物分配在乙酸乙酯(50ml)和 1M 碳酸钾水溶液中。利用乙酸乙酯(3 × 50ml)反萃取水层, 利用水和盐水洗涤合并的萃取物, 在硫酸钠上干燥, 过滤并浓缩。硅胶色谱纯化(二氯甲烷和甲醇梯度洗脱)粗残留物, 得到纯 4-[2-(4-羟甲基-哌啶-1-基)-2-氧代-乙基]-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺, 为黄色泡沫(152mg, 62%)。通过将 2 当量浓 HCl 加入到游离碱的乙醇溶液中, 可制得二-HCl 盐。浓缩, 接着乙醚研磨, 得到盐, 为可自由流动的黄色粉末。

¹H-NMR (freebase, 300 MHz, CDCl₃) δ: 11.03 (d, 1 H), 10.51 (d, 1 H), 8.97 - 8.80 (m, 1 H), 8.47 - 8.27 (m, 2 H), 7.94 - 7.76 (m, 2 H), 4.84 (d, 1 H), 4.16 - 3.77 (m, 3 H), 3.68 - 3.26 (m, 5 H), 3.08 (ddd, 1 H), 2.89 - 2.64 (m, 2 H), 2.50 - 2.37 (m, 2 H), 1.98 - 1.70 (m, 3 H), 1.38 (s, 3 H), 1.25 (s, 3 H), 1.19 - 0.97 (m, 1)。

MS (NH₄OAc 标准条件, ES+) e/z = 514 (M+H)⁺

DAD R_f = 1.51 min

实施例 71: 4-[2-(4-羟基-哌啶-1-基)-2-氧代-乙基]-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-吡啶-8-基)-酰胺

根据方法 F 的步骤, 由[5-(6-氯-9H-β-吡啶-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸和 4-羟基哌啶制得所需化合物, 收率为 31%。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, D_2O): δ 8.85 (1H, s), 8.19 (2H, s), 7.82 (1H, s), 7.44 (1H, s), 4.15 (2H, m), 3.9-3.75 (4H, m), 3.6 (2H, m), 3.56 (2H, m), 3.12 (1H, m), 2.9 (3H, m), 2.8 (1H, m), 1.7 (2H, m) 1.34 (3H, s), 1.19 (3H, s)

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.5 min

MS (M+H⁺): 501

实施例 72: 4-二乙基氨基甲酰基甲基-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-吡啶-8-基)-酰胺

根据方法 F 的步骤, 由[5-(6-氯-9H-β-吡啶-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸和二乙胺制得所需化合物, 收率为 60%。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, D_2O): δ 8.87 (1H, s), 8.26 (2H, m), 7.8 (1H, s), 7.52 (1H, s), 4.1 (3H, m), 3.8 (2H, m), 3.22 (2H, m), 3.0 (1H, d), 2.7 (1H, d), 1.3 (3H, s), 1.19 (3H, s), 0.09 (6H, m).

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.96min

MS (M+H⁺): 472

实施例 73: 6,6-二甲基-4-[-2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 F 的步骤, 由[5-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸和 1-甲基哌嗪制得所需化合物, 收率为 12%。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO) δ 11.28 (1H, s), 10.35 (1H, s), 9.01 (1H, s), 8.37 (1H, s), 8.21-8.15 (2H, m), 7.9 (1H, s), 3.89 (2H, m), 3.7 (5H, m), 3.1 (2H, m), 2.85 (2H, m), 2.49 (3H, s), 2.4 (3H, m), 1.2 (3H, s), 1.16 (3H, s)

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.34min.

MS (M+H⁺): 500

实施例 74: 4-[-2-(2,6-二甲基-吗啉-4-基)-2-氧代-乙基]-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

根据方法 F 的步骤, 由[5-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸和 2,6-二甲基吗啉制得所需化合物。色谱纯化得到所需产物, 收率为 70-80%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl₃): δ 9.31 (s, 1H), 8.75 (d, 1H), 8.55 (d, 1H), 8.37 (d, 1H), 8.14 (m, 1H), 4.73 (m, 2H), 4.96 (m, 1H), 4.37 (m, 2H), 3.69 (m, 2H), 3.57 (m, 4H), 2.82 (t, 1H), 2.47 (t, 1H), 1.50 (d, 3H), 1.42 (d, 3H), 1.18 (m, 6H)

保留时间(LC 法: 甲酸标准): 1.14 min (二级管排列)。

MS(M+H⁺): 514, (M-H⁺): 512

实施例 75: 1-{2-[5-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酰基}-哌啶-4-羧酸甲酯

将[5-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸(200mg, 0.48mmol)和异哌啶甲酸甲酯(137mg, 130uL, 0.96mmol)溶解在吡啶(4ml)中,在室温下搅拌 10 分钟。加入 EDC,允许反应混合物在室温下搅拌过夜(16h)。加入另外的异哌啶甲酸甲酯(137uL, 0.96mmol),再搅拌混合物 24 小时。加入水(4ml),浓缩混合物。将粗残留物分配在乙酸乙酯(75ml)和 1M 碳酸钾水溶液(50ml)中。利用另外的乙酸乙酯(75 + 50ml)反萃取水相。利用水和盐水洗涤合并的萃取物,在硫酸钠上干燥,过滤,浓缩并进行硅胶色谱纯化(二氯甲烷/甲醇梯度洗脱),得到游离碱,为黄色泡沫(150mg, 57%)。通过将 2 当量浓 HCl 加入到游离碱的乙醇溶液中,可制得二-HCl 盐。浓缩,接着乙醚研磨,得到盐,为可自由流动的黄色粉末。

$^1\text{H-NMR}$ (freebase, 300 MHz, CDCl_3) δ 11.04 (d, 1 H), 10.48 (d, 1 H), 8.95 (s, 1 H), 8.48 - 8.31 (m, 2 H), 7.96 - 7.79 (m, 2 H), 4.48 (dd, 1 H), 4.13 - 3.92 (m, 2 H), 3.88 - 2.97 (m, 9 H), 2.84 - 2.35 (m, 3 H), 2.09 - 1.90 (m, 2 H), 1.85 - 1.52 (m, 2 H), 1.38 (s, 3 H), 1.23 (s, 3 H).

MS (NH_4OAc 标准条件, ES+) $e/z = 542$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺

DAD $R_f = 1.72$ min

实施例 76: (S)-4-[2-(3,3-二甲基-吗啉-4-基)-2-氧代-乙基]-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺-二-盐酸盐

将 2,2-二甲基吗啉 (3.0g, 26.1mmol) (根据 Cottle, D. L., et al. J. Org. Chem. 1946, 11, 286-291 描述的步骤制得)溶解在二氯甲烷

(60ml)中。加入三乙胺(3.6ml, 2.66g, 26.1mmol), 反应冷却至-10℃。滴加溴乙酰氯(2.2ml, 4.08g, 26.1mmol), 将溶液慢慢温热至室温。反应真空浓缩至干, 再溶解在乙酸乙酯中, 使其通过硅胶垫。哦洗脱液, 得到黄色油状物(3.45g, 56%), 直接送入下一步骤。

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.20min.

MS (M+H⁺): 237.

将中间体 59 (60mg, 0.14mmol)悬浮在二氯甲烷(3ml)中。加入 1M 碳酸钾溶液(0.5ml)。分离有机层, 在 MgSO₄上干燥并浓缩至干。将游离碱溶解在 DMF(1ml)中, 在室温下搅拌。将 2-溴-1-(3,3-二甲基-吗啉-4-基)-乙酮(30mg, 0.13mmol)溶解在 DMF(1ml)中, 并滴加。反应在室温下搅拌 3 小时, 真空浓缩至干。快速阻色谱纯化(93:7 二氯甲烷:甲醇), 得到黄色油状物, 将其溶解在 4N HCl/二噁烷(2ml)中。真空浓缩得到标题化合物, 为黄色固体(22mg, 29%)。

¹HNMR (300 MHz, MeOH-d₄): δ 1.35 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.43 (s, 6H), 2.98 (m, 1H), 3.45 (m, 4H), 3.56 (m, 1H), 3.76 (m, 3H), 4.30 (m, 4H), 8.04 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.52 (d, 1H), 8.73 (d, 1H), 9.24 (s, 1H)

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 1.16min.

MS (M+H⁺): 514

实施例 77:4-[(反式-4-羟基-环己基氨基甲酰基)-甲基-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺

将[5-(6-氯-9H-β-咔啉-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸(200mg, 0.48mmol)、反式-4-氨基环己醇盐酸盐(145mg, 0.96mmol)和二异丙基乙胺(124mg, 167μL, 0.96mmol)溶解在吡啶(4ml)中, 在室温下搅拌 10 分钟。加入 EDC (184mg), 反应在室温下搅拌过夜(16h)。加入水(2ml), 减压浓缩所得混合物。利用 50ml 1M 碳酸钾溶液稀释所得残留物, 利用乙酸乙酯(75 + 2 × 50ml)萃取。利用水和盐水洗涤合并的萃取物, 过滤并浓缩。硅胶色谱纯化(甲醇/二氯甲烷梯度洗脱)粗残留物, 得到纯 4-[(反式-4-羟基-环己基氨基甲酰基)-甲基]-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺(148mg, 59%), 为黄色泡沫。通过将 2 当量浓 HCl 加入到游离碱的乙醇溶液中, 可制得二-HCl 盐。浓缩, 接着乙醚研磨, 得到盐, 为可自由流动的黄色粉末。

$^1\text{H-NMR}$ (freebase, 300 MHz, CDCl_3) δ 11.71 (br s, 1 H), 10.21 (s, 1 H), 9.06 (s, 1 H), 8.45 - 8.27 (m, 2 H), 8.08 - 7.84 (m, 2 H), 6.36 (br s, 1 H), 4.13 - 3.81 (m, 3 H), 3.72 - 3.56 (m, 1H), 3.51 - 3.37 (m, 2 H), 3.03 (d, 1 H), 2.79 - 2.26 (m, 5 H), 2.16 - 1.94 (m, 4 H), 1.54 - 1.30 (m, 5 H), 1.22 (s, 3 H).

MS (NH_4OAc 标准条件, ES^+) $e/z = 514 (\text{M}+\text{H})^+$

DAD $R_f = 1.39\text{min}$

实施例 78: (S)-4-[2-((2R,5R)-2,5-二甲基-吡咯烷-1-基)-2-氧代-乙基]-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-咔啉-8-基)-酰胺-二-盐
酸盐

将(2R,5R)-2,5-二甲基-吡咯烷盐酸盐(270mg, 2.0mmol) (利用 Masamune, S., et al. J. Org. Chem. 1989,54, 1756 描述的步骤制得) 溶解在二氯甲烷(3ml)中, 冷却至 0℃。加入三乙胺(405mg, 0.56ml, 4.0mmol)。将氯乙酰氯(226mg, 0.16ml, 2.0mmol)溶解在二氯甲烷(1ml)中, 并滴加。将混合物温热至室温, 再搅拌 30 分钟。利用二氯甲烷(5ml)稀释反应, 利用 1N HCl 和盐水萃取, 然后在 MgSO₄ 上干燥。浓缩有机层, 得到棕色油状物(242mg, 82%)。

保留时间(LC 法: 乙酸铵标准): 1.24min.

MS (M+H⁺): 176.5。该产物可在不进行进一步纯化下用于下一步。

将中间体 59 (495mg, 1.15mmol)溶解在乙腈(8ml)和水(2ml)的混合物中。加入碳酸钾(477mg, 3.45mmol), 将反应温热至 40℃。将 2-氯-1-((2R,5R)-2,5-二甲基-吡咯烷-1-基)-乙酮(242mg, 1.38mmol) (如上制备)溶解在乙腈(1ml)中, 并滴加。反应温热至 80℃, 搅拌过夜。反应冷却至 40℃。将碘化钠(207mg, 1.38mmol)溶解在丙酮(1ml)中, 一次加入。反应在 40℃下搅拌过夜。真空浓缩反应, 利用乙酸乙酯(40ml)稀释。利用水、盐水萃取有机层两次, 在 MgSO₄ 上干燥。过滤有机层, 真空浓缩得到桔黄色泡沫。快速柱色谱纯化(95:5 二氯甲烷:甲醇), 得到黄色固体, 将其溶解在 4N HCl/二噁烷(1ml)中, 浓缩至干。利用乙醚研磨, 得到标题化合物, 为黄色固体(18mg, 3%)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOH- d_4): δ 1.23 (dd, 6H), 1.38 (s, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.65 (m, 2H), 2.23 (m, 2H), 3.18 (m, 1H), 3.50 (m, 1H), 3.66 (m, 1H), 4.18 (m, 2H), 4.35 (m, 4H), 8.15 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.55 (d, 1H), 8.78 (d, 1H), 9.29 (s, 1H).

保留时间(LC法: 乙酸铵标准): 2.02min.

MS ($M+H^+$): 498.

实施例 79: 4-{2-[4-(1-羟基-1-甲基-乙基)-哌啶-1-基]-2-氧代-乙基}-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-b-吡啶-8-基)-酰胺

在 N_2 下, 于 0°C 下搅拌 1-{2-[5-(6-氯-9H-b-吡啶-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酰基}-哌啶-4-羧酸甲酯(62mg, 0.11mmol)的无水乙醚和甲苯(1ml:1ml)混合物的溶液。向该溶液中慢慢加入溴化甲基镁(3.0M, 于乙醚中, 306 μl , 0.917mmol)。反应混合物在室温下搅拌过夜, 然后通过加入碳酸氢钠水溶液骤冷。所得混合物进一步利用水(10ml)和乙酸乙酯(30ml)稀释。除去水层, 利用乙酸乙酯(30 \times 2ml)萃取。合并有机层, 利用盐水洗涤, 在硫酸镁上干燥, 过滤并浓缩得到黄色固体(85mg)。通过 HPLC 纯化残留物, 得到纯产物(13mg, 20%)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, H_2O): δ 10.94 (d, 1 H), 10.47 (d, 1 H), 8.94 (s, 1 H), 8.41 (d, 1 H), 8.32 (d, 1 H), 7.89 - 7.81 (m, 2H), 4.91 (d, 1 H), 4.04 - 3.91 (m, 2 H); 3.64 - 3.57 (m, 1 H), 3.43 (s, 1 H), 3.37 - 3.31 (m, 1 H), 3.15 - 2.90 (m, 1 H), 2.77 - 2.58 (m, 2 H), 2.47 - 2.41 (m, 1 H), 2.00 - 1.86 (m, 2 H), 1.53 - 1.03 (m, 17 H).

NH_4OAc 标准条件。

DAD $R_f = 1.85\text{min}$

M+H = 542

实施例 80: 4-[2-(3,3-二甲基-4-氧代-哌啶-1-基)-2-氧代-乙基-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H- β -咔啉-8-基)-酰胺

将 4-氧代-哌啶-1-羧酸叔丁酯(5g, 25mmol)溶解在四氢呋喃(100ml)中, 将所得溶液冷却至 0°C。将氢化钠(60%, 于矿物油中, 2.10g, 53mmol)一次加入到冷却溶液中, 允许将所得混浊混合物搅拌 10 分钟。接着加入甲基碘, 允许在数小时内将混合物温热至室温。继续搅拌过夜(12h)。减压浓缩亮桔黄色混合物。将残留物分配在乙醚和水中。利用另外的乙醚反萃取水相。利用水和盐水洗涤合并的萃取物, 在硫酸钠上干燥, 过滤并浓缩得到浅黄色固体。利用 4%乙酸乙酯的己烷溶液(50ml)研磨该固体, 得到 3,3-二甲基-4-氧代-哌啶-1-羧酸叔丁酯, 为膏状有色固体(1.8g, 32%)。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 3.73 (t, 2 H), 3.43 (br s, 2 H), 2.49 (t, 2 H), 1.49 (s, 9 H), 1.13 (s, 6 H).

将制得的 3,3-二甲基-4-氧代-哌啶-1-羧酸叔丁酯(450mg, 1.97mmol)溶解在二氯甲烷(10ml)中。加入三氟乙酸(305 μL), 所得溶液在室温下搅拌 2 小时。加入另外的三氟乙酸(300 μL), 反应在室温下搅拌 3 天。浓缩浅黄色溶液, 得到油状残留物, 利用乙醚研磨。吸滤收集固体, 真空干燥, 分离出 3,3-二甲基-哌啶-4-酮, 为三氟乙酸盐(381mg, 80%)。

$^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO, 300 MHz) δ 3.44 - 3.33 (m, 4 H), 2.63 - 2.57 (m, 2 H), 1.11 (s, 6 H).

将[5-(6-氯-9H-β-吡啶-8-基氨基甲酰基)-2,2-二甲基-吗啉-4-基]-乙酸(100mg, 0.24mmol)、3,3-二甲基-哌啶-4-酮三氟乙酸盐(116mg, 0.48mmol)和二异丙基乙胺(62mg, 85μL)溶解在吡啶(3ml)中, 搅拌 10 分钟。加入 EDC (92mg, 0.48mmol), 混合物在室温下搅拌 4 天。加入水(3ml), 浓缩骤冷的反应。将残留物分配在乙酸乙酯(50ml)与 1M 碳酸钠水溶液(50ml)之间。利用另外的乙酸乙酯(50ml)萃取有机相, 合并萃取物。利用水和盐水洗涤萃取物, 在硫酸钠上干燥, 过滤并减压浓缩。硅胶色谱纯化(氯仿、乙酸乙酯、甲醇梯度洗脱)所得残留物, 得到 4-[2-(3,3-二甲基-4-氧代-哌啶-1-基)-2-氧代-乙基]-6,6-二甲基-吗啉-3-羧酸(6-氯-9H-β-吡啶-8-基)-酰胺, 为黄色泡沫(91mg, 73%)。通过将 2 当量浓 HCl 加入到游离碱的乙醇溶液中, 可制得二-HCl 盐。浓缩, 接着乙醚研磨, 得到盐, 为可自由流动的黄色粉末。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 10.67 (s, 1 H), 10.37 (d, 1 H), 8.93 (s, 1 H), 8.41 (d, 1 H), 8.15 (dd, 1 H), 7.82 (d, 1 H), 7.71 (d, 1 H), 4.07 - 3.92 (m, 3 H), 3.83 - 3.89 (m, 6 H), 2.79 - 2.68 (m, 1 H), 2.62 - 2.40 (m, 3 H), 1.41 - 1.36 (m, 3 H), 1.27 - 1.22 (m, 3 H), 1.18 - 1.13 (m, 3 H), 1.07 - 0.99 (m, 3 H).

MS (NH_4OAc 标准条件, ES+) $e/z = 526 (\text{M}+\text{H})^+$

DAD $R_f = 1.79\text{min}$

实施例 81: 6,6-二甲基-4-(2-氧代-2-吡咯烷-1-基-乙基)-吗啉-3-羧酸(6-氯-4-甲基-9H-β-吡啶-8-基)-酰胺

根据方法 C、E 和 F 的步骤, 有 6-氯-4-甲基-9H-β-吡啶-8-基胺(中间体 54)和吡咯烷制得所需化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD- d_4) δ 9.17 (s, 1) 8.39 (s, 1) 8.26 (d, 1) 8.17 (d, 1) 4.74 - 4.52 (m, 3) 4.47 - 4.30 (m, 1) 3.80 - 3.52 (m, 3) 3.48 - 3.34 (m, 4) 3.01 (s, 3) 1.76 - 1.55 (m, 4) 1.50 (s, 3) 1.43 (s, 3).

NH_4OAc 标准条件 ELSD $R_f = 2.01\text{min}$.

$M+H = 498$

生物学试验

本发明化合物是有效的 I κ B 激酶(IKK)抑制剂, 因此可用于治疗由该激酶活性引起或加重的疾病。本发明式 I 化合物的体外和体内 I κ B 激酶抑制剂活性可通过各种本领域公知的方法测定。本发明化合物展示的 I κ B 激酶有效亲和力可以以 IC_{50} 值 (单位: nM) 测定, IC_{50} 是提供 I κ B 激酶 50% 抑制所需要的化合物浓度 (单位: nM)。

下列是用于评价和选择调节 IKK 的化合物的测定实施例。

测定 I κ B 激酶抑制

用于检测和测量候选药物制剂对 I κ B 激酶的抑制活性可使用横跨 I κ B Ser32 和 Ser36 的多肽(SwissProt Accession No. P25963, Swiss Institute of Bioinformatics, geneva, Switzerland)和检测磷酸化产物的试剂, 如仅与磷酸化形式多肽结合的特定抗体, 可以是单克隆或多克隆 (例如可市购的抗-二氧磷基-丝氨酸 32 I κ B 抗体)。在通过抗-二氧磷基-丝氨酸 32 I κ B 抗体检测磷酸化产物的实施例中, 一旦形成抗体-二氧磷基-多肽复合物, 该复合物可通过多种分析方法检测 (如放射能、发光、荧光、或光学吸收率)。

为了使用 DELFIA (分裂增强镧系元素荧光免疫测定)方法(时间分辨荧光计, Perkin Elmer Life and Analytical Sciences Inc., Boston, MA), 复合物可固定在生物素结合板 (如 Neutravidin 涂层板)上, 利用与钬共轭的二级抗体检测, 或者固定在抗体结合板 (如 Protein-A 涂层板)上, 利用与钬共轭的生物素结合蛋白质检测。通过利用对应于基质多肽的合成磷酸肽, 活性水平可与标准曲线相关。如何制备适用于进行该测定的物质, 详细描述在下文中。

分离 I κ B 激酶复合物

I κ B- α 激酶复合物根据下述方法制备: 利用 40ml 50mM HEPES pH 7.5 稀释 10ml HeLa S3 细胞萃取物 S100 片段(Lee et al. (1997) Cell 88: 213-222)。然后, 加入 40%硫酸铵, 在冰上孵育 30 分钟。将所得沉淀小球再溶解在 5ml SEC 缓冲液(50 mM HEPES pH 7.5, 1mM DTT, 0.5 mM EDTA, 10 mM 2-甘油磷酸), 通过在 20,000 \times g 离心过滤 15 分钟, 使其澄清, 通过 0.22 μ m 滤纸单元过滤。将样品安装在 320ml SUPEROSE-6 硅胶过滤 FPLC 柱 (Amersham Biosciences AB, Uppsala, Sweden)中, 利用 SEC 缓冲液平衡, 在 4 $^{\circ}$ C 下, 以 2ml/min 速率操作。收集横跨 670-kDa 分子量标记的片段, 用于活化。然后通过 37 $^{\circ}$ C 下, 利用 100nM MEKK1 Δ (Lee et al. (1997) Cell 88: 213-222)、250 μ M MgATP、10mM MgCl₂、5mM DTT、10mM 2-甘油磷酸、2.5 μ M Microcystin-LR 孵育 45 分钟, 活化含收集物质的激酶。活化的酶存放在-80 $^{\circ}$ C 下, 直至再次使用。

测定 I κ B 激酶磷酸转移酶活性

在 96 孔板的各个孔中, 将 5 μ L 含有不同浓度化合物的 20% DMSO 溶液与 40 μ L 用分析缓冲溶液 (50mM pH=7.5 的 HEPES,

5mM DTT, 10mM MgCl₂, 10mM 2-甘油磷酸, 2μM 微胱氨酸-LR, 0.1% 牛血清蛋白) 1:25 稀释的活性酶混合, 25°C 下预培养 30 分钟。随后每孔中加入 5μL 含 200μM 酶底物 (biotin-(CH₂)₆-DRHDSGLD (phosphoS) MKD-CONH₂) 和 500μM ATP 的溶液, 培养 1 小时后用 50μL 含 50mM pH=7.5 的 HEPES、0.1% 牛血清蛋白、100mM EDTA 的溶液使反应淬灭。将 5μL 淬灭后的反应激酶转至装有 90μL 2μg/mL 逆磷酸 IκB S32/S36 抗体 (Cell Signaling Technologies Beverly, MA, USA) 的蛋白质 A 板 (Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL, USA)。将样品振荡下培养 2 小时。用 PBS+0.05% Tween20 洗三次后, 在每孔中加入 90μL 0.1μg/mL 的链球菌卵白素-钒螯合物 (Perkin Elmer Life and Analytical Sciences, Boston, MA, USA) 并振荡下培养 1 小时。用 PBS+0.05% Tween20 洗三次后, 在每孔中加入 100μL DELFIA 增强剂 (Perkin Elmer Life and Analytical Sciences, Boston, MA, USA)。之前的分析显示, 钒信号强弱与酶稀释的浓度和时间呈线性, 因此, 可以用其来测定备选药剂的抑制活性。

本发明的化合物是 IKK 复合物的活性抑制剂。可以确定它们具有不同程度对 IκB 激酶的抑制活性。下面的分析步骤中, 如体外和基于细胞的分析中, 该发明的化合物对 IκB 激酶抑制的平均 IC₅₀ 值大都在大约 10 毫摩尔以下, 优选在大约 1.0 毫摩尔以下, 更优选大约 100 纳摩尔以下。同时, 相对于 IKK-1, 这些化合物对 IKK-2 有选择性。

细胞分析

多发性骨髓瘤 (MM) 细胞系和得自患者的 MM 细胞分离

RPMI8226 和 U266 人 MM 细胞得自 American Type Culture Collection (Manassas, VA)。所有得细胞系培养在含有 10% 胎儿

牛血清 (FBS, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO)、2mM L-谷氨酸、100U/mL 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素 (GIBCO 牌细胞培养产品得自于 Invitrogen Life Technologies, Calsbad, CA) 的 RPMI-1640 中。得自患者的 MM 细胞则由患者的骨髓 (BM) 吸出物用 ROSETTESEP (B 细胞浓缩工具) 提纯。MM 细胞的纯度用 PE-共扼 anti-CD138 抗体由血细胞计数器 (BD Biosciences, Bedford, MA) 确定。

骨髓基质细胞培养

骨髓 (BM) 样本从多发性骨髓瘤 (MM) 病人获得。由聚蔗糖密度梯度离心分离的单核细胞 (MNCs) 按文献 (Uchiyama et al., Blood 1993, 82:3712-3720) 的方法用来建立长期的骨髓培养。细胞收入含有 0.25% 的胰岛素和 0.02% EDTA 的 Hank 缓冲盐溶液 (HBSS), 然后清洗, 离心收集。

通过 DNA-合成速度检测细胞增生

增生按以前文献 (Hideshima et al., Blood 96:2943 (2000)) 中描述的方法测量。MM 细胞 (3×10^4 个/孔) 在介质或该发明中的 IKK 抑制剂存在条件下, 于 37 $^{\circ}$ C 在 96 孔板 (Corning Life Sciences, Corning, NY) 上培养 48 小时。DNA 合成由掺入每个细胞的 [3 H]-胸腺嘧啶 (New England Nuclear division of Perkin Elmer Life and Analytical Sciences, Boston, MA) 测定。在 48 小时培养过程中的最后 8 小时给细胞加入 [3 H]-胸腺嘧啶。所有实验都平行三组。

MTT 细胞生存能力分析

MM 细胞生长中出现化合物的抑制作用通过检测由代谢活动细胞引起的黄色四唑 (3-(4,5-二甲基噻唑基-2), 5-二苯基四唑

溴)的减少得到评估(J. Immunol. Methods 174:311-320, 1994)。48小时培养的细胞在最后4小时每孔加入10 μ L 5mg/mL的MTT, 随后加入100 μ L含有0.04N HCl的异丙醇。用分光光度计(Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA)测定570nm处的吸收峰。

用电泳迁移率变动测定分析NF- κ B活化作用

电泳迁移率变动分析(EMSA)在以前文献(Hideshima et al., Oncogene 2001, 20:4519)中已经被使用过。首先MM细胞与本发明的IKK抑制剂(10 μ M)一起培养90分钟, 然后用5ng/mL的TNF- α 激活10到20分钟。然后离心使细胞团聚, 悬浮于400 μ L的低渗裂解缓冲液(20mM HEPES, pH=7.9, 10mM KCl, 1mM EDTA, 0.2% Triton X-200, 1mM Na₃VO₄, 5mM NaF, 1mM PMSF, 5 μ g/mL亮肽素, 5 μ g/mL抑肽酶), 在冰中放置20分钟。4 $^{\circ}$ C下14000转离心5分钟。然后用100 μ L高渗裂解缓冲溶液(20mM HEPES, pH=7.9, 400mM NaCl, 1mM EDTA, 5mM NaF, 1mM PMSF, 5 μ g/mL亮肽素, 5 μ g/mL抑肽酶)提取团聚的细胞核, 在冰中放置20分钟。4 $^{\circ}$ C下14000转离心5分钟后收集上层清液作为细胞核提取物。双链NF- κ B交感低聚核苷酸探针(5'-GGGGACTTTCCC-3', Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz CA)用[³²P]ATP(50 μ Ci at 222TBq/mM; New England Nuclear division of Perkin Elmer Life and Analytical Sciences, Boston, MA)尾端标记。在总量为10 μ L的结合缓冲液(10mM Tris-HCl, pH=7.5, 50mM NaCl, 1mM MgCl₂, 0.5mM EDTA, 0.5mM DTT, 4%甘油溶液(体积比)和0.5 μ g聚(dI-dC)(Amersham Biosciences AB, Uppsala, Sweden))中, 使1ng低聚核苷酸和5 μ g核蛋白在室温下进行结合反应, 持续20分钟。为测定迁移率, 在反应物混合前5分钟, 也即加入放射性探针之后, 加入1 μ g anti-p65 NF- κ B Ab。样品装于4%的聚丙烯酰胺凝胶上, 转至Whatman纸

(Whatman International, Maidstone, U.K.) 上, 用自动放射性成像仪成像。

弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 细胞增生分析

将类 ABC (Ly3 和 Ly10) 和类 GCB (Ly7 和 Ly19) DLBCL 细胞系 (Alizadeh et al (2000) Nature 403:503-511; Davis et al. (2001) J. Exp. Med. 194:1861-1874) 培养于生长培养基 (GM, Iscove's DMEM+10%FBS) 上, 每周传代培养两次。在进行增生分析前, 细胞置于 Iscove's DMEM 基质和 0.5%FBS 上, 不加任何其他营养质放置过夜。在分析当天, 对细胞进行计数并用台盼蓝染色法测定存活性。对于 Ly3 和 Ly10 细胞, 96 孔板的每孔中加入 5000 个, 而对于 Ly7 和 Ly19 细胞, 每孔加入 10000 个。IKK 抑制剂首先溶于 DMSO 中, 然后稀释至 GM 中, 使最终浓度为 80 μ M-0.01 μ M。每个浓度都平行三组实验。用标准 WST-1 细胞存活性分析 (Roche Applied Science, Indianapolis, IN) 确定细胞的存活性。

人体外周血细胞 (PBMC) 因子释放分析

人体 PBMC 细胞从普通捐赠人的整个血液中用聚蔗糖密度梯度离心分离法提纯。用 PBS 清洗之后, PBMC 重新悬浮于 AIM-V 基质中。在 96 孔板每孔的, 加入 1 μ L 一系列比例稀释于 100% DMSO 的该发明的 IKK 抑制剂, 与 180 μ L 含 4.5×10^5 个在 AIM-V 基质中的 PBMC 混合。将上述反应物在 37 $^{\circ}$ C 下预培养 40 分钟后, 用 20 μ L LPS (20ng/mL) 或 anti-CD3 (0.25 μ g/mL) 和 anti-CD28 (0.25 μ g/mL) 在 37 $^{\circ}$ C 下激活细胞 5 小时。收集上层清液, 然后用标准的商业化的 ELISA 工具测定 IL-1 β 或者 TNF- α 的释放。

人体软骨细胞基质金属蛋白酶 (MMPs) 释放分析

人体软骨细胞系 SW1353 (ATCC, Manassas, VA) 培养于含有 10% 胎儿牛血清 (Hyclone, Logan, UT)、2mM L-谷氨酸 (GIBCO 牌细胞培养产品得自于 Invitrogen Life Technologies, Calsbad, CA) 和 1% Pen/Strep (GIBCO) 基质。将细胞植入 96 孔聚-D-赖氨酸板 (BD BIOCOCAT, Black/Clear bottom, BD Biosciences, Bedford, MA)。在 96 孔板的各孔中分别加入 1 μ L 一系列比例稀释的 IKK 抑制剂并混入 180 μ L 4.5×10^5 个软骨细胞。在 37 $^{\circ}$ C 下预培养 1 小时后, 用 20 μ L IL-1 β (10ng/mL, R&D Systems Inc.) 在 37 $^{\circ}$ C 下激活细胞 24 小时。然后收集上层清液并用商业化的 ELISA 工具测试基质金属蛋白酶的产量。

人体成纤维样滑膜细胞 (HFLS) 分析

提取自关节置换手术所得 RA 滑液组织的 HFLS 细胞由 Cell Applications Inc. (San Diego, CA) 提供。用商业化的 ELISA 工具测试该发明的 IKK 抑制剂阻止上述细胞中 IL-6 或 IL-8 通过 TNF-或 IL-1 β -诱导释放方式的能力。细胞培养条件和方法参照 Aupperle 等人的论文 (Journal of Immunology, 163:427-433 (1999))。

得自人脐带血的柱状细胞分析

人脐带血得自 Cambrex (Walkersville, MD)。柱状细胞的分化和培养方法参照 Hsieh 等人的论文 (J. Exp. Med., 193:123-133 (2001))。用商业化的 ELISA 工具测试该发明的 IKK 抑制剂阻止 IgE-或 LPS-诱导 TNF α 释放的能力。

破骨细胞的分化和功能分析

低温贮藏的人破骨细胞前体得自 Cambrex (Walkersville, MD)。细胞分化培养依照厂商提供的说明。参照之前一些文献(参看 Khapli, S. M., Journal of Immunol, 171:142-151(2003); Karsdal, M. A., J Biol Chem, 278:44975-44987(2003); Takami, M. Journal of Immunol, 169:1516-1523 (2002)) 的方法测试该发明的 IKK 抑制剂阻止分化、骨吸收和胶原质降解的能力。

风湿性关节炎的大鼠模型

该发明中的一些特定化合物被发现在某些风湿性关节炎的大鼠模型实验中具有活性。已经有文献记载了这些测试, 包括由 Conway 等人在《Inhibition of Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) Production and Arthritis in the Rat by GW3333, a Dual Inhibitor of TNF-Converting Enzyme and Matrix Metalloproteinases 》(J. Pharmacol. Exp. Ther. 298 (3) , 900-908 (2001)) 中发表的标准 LPS 模型; Barry M. Weichman 的《Rat Adjuvant Arthritis: A Model of Chronic Inflammation》(1989, Alan R. Liss Inc Publisher) 中 363-380 页的用药理学方法描述的参照炎症的大鼠辅助人工关节炎模型; 以及 DE Trentham 和 RA Dynesuis-Trentham 的《Type II collagen Induced Arthritis in the Rat》(1989, Alan R. Liss Inc Publisher) 中 395-413 页的用药理学方法描述的参照炎症的大鼠胶原质人工关节炎模型。此外还有 A. Bendele, J. McComb, T. Gould, T. McAbee, G. Sennello, E. Chlipala 和 M. Guy 等人在 Toxicologic Pathology 卷 27(1) 134-142 页发表的《Animal Models of Arthritis: Relevance to Human Disease》(1999)。

基于上述提到的大鼠模型的结果，具有分子式 II-C 的化合物对比于 A 环为嘧啶环的化合物具有令人惊奇的优越性。同时，在大鼠模型中，具有分子式 III-A-a 的，特别是具有分子式 III-A-aa 的，对比于 A 环为吗啉环的化合物具有令人惊奇的优越性。

虽然我们陈述了一些这个发明的实体应用，很明显，运用这个发明中的化合物和方法，我们的基本例子可以稍做转化来提供其他实体应用。因此，明显这个发明的范围应该由附加的权利要求来定义，而不是已经用例子的形式呈现的实体应用。