



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113105394 A

(43) 申请公布日 2021.07.13

(21) 申请号 202110248350.X *A61P 31/18* (2006.01)  
(22) 申请日 2021.03.08 *A61K 31/505* (2006.01)  
(71) 申请人 复旦大学 *A61K 31/506* (2006.01)  
地址 200433 上海市杨浦区邯郸路220号  
(72) 发明人 陈芬儿 庄春林 定力  
(74) 专利代理机构 上海正旦专利代理有限公司  
31200  
代理人 陆飞 陆尤

(51) Int. Cl.  
*C07D 239/48* (2006.01)  
*C07D 401/12* (2006.01)  
*C07D 405/12* (2006.01)  
*C07D 409/12* (2006.01)  
*C07D 403/12* (2006.01)  
*C07D 401/14* (2006.01)

权利要求书2页 说明书18页

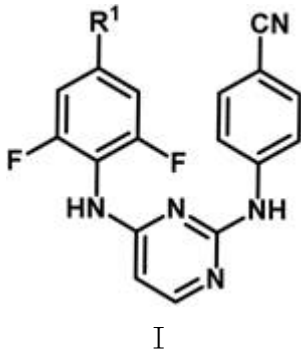
(54) 发明名称

一种含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类衍生物及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明属于医药技术领域,具体为一种含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类衍生物及其制备和应用。本发明的化合物结构含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类衍生物,包含其药用盐,其立体化学异构体,其水合物和溶剂化物,其同样生物功能的前体和衍生物;本发明还包括其制备方法以及含有一个或多个此类化合物的组合物在治疗艾滋病等相关药物中的应用。体外细胞水平抗HIV-1活性实验结果显示,该类小分子具有较强的抗HIV-1生物活性,可以显著的抑制被HIV-1病毒感染的MT-4细胞内的病毒复制,并且具有较低的细胞毒性。并对其进行成盐改造,可有效改善原药水溶性,有望成为抗HIV的候选药物。

1. 一种含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类衍生物,其特征在于,结构式为如下(I)式所示:



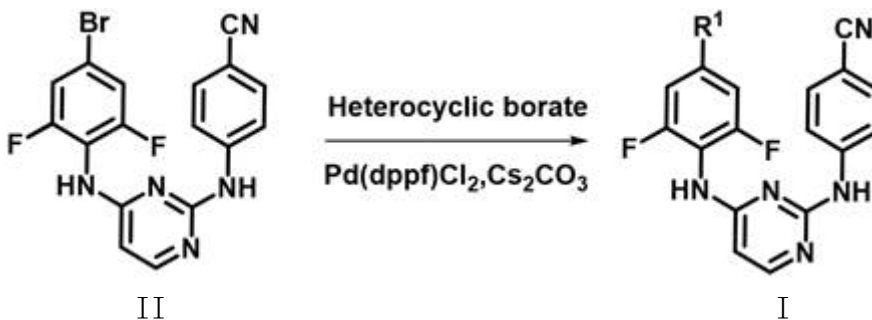
其中,  $R^1$  选自呋喃基, 噻吩基, 吡唑基, 咪唑基, 噻唑基, 吡啶基, 嘧啶基, 对氨基苯基,  $C_{7-10}$  芳杂环基, 任选被取代的呋喃基, 噻吩基, 吡唑基, 咪唑基, 噻唑基, 吡啶基, 嘧啶基,  $C_{7-10}$  芳杂环基。

2. 根据权利要求1所述含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类衍生物,其特征在于,还包括其药用盐,其立体化学异构体,其水合物和溶剂化物,其多晶或共晶及单一对映体的X射线衍射单晶,其同样生物功能的前体和衍生物。

3. 根据权利要求2所述含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类衍生物,其特征在于,所述药用盐,包括盐酸盐、氢溴酸盐、甲酸盐、甲磺酸盐、三氟甲磺酸盐、硫酸盐、磷酸盐、醋酸盐、对甲苯磺酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、富马酸盐或苹果酸盐,以及药学上可接受的前体药物和衍生物。

4. 如权利要求1所述的含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类衍生物的制备方法,其特征在于,具体步骤为:

在溶剂中,化合物II 4-((4-((4-溴-2,6-二氟苯基)(甲基)氨基)嘧啶-2-)氨基)苯腈在Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>的作用下经Suzuki-偶联反应,得到所述化合物I,其反应通式如下:



使用的溶剂为甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、叔丁醇、二氯甲烷、二氯乙烷、甲苯、四氢呋喃、乙醚、异丙醚、甲基叔丁基醚、1,4-二氧六环、乙酸乙酯中的一种或者多种;

所述的化合物II与杂环硼酸的摩尔比为1:1- 1:8;

所述的化合物II与Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>的摩尔比为1:0.01- 1:0.10;

所述的化合物II与Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>的摩尔比为1:1- 1:2;

反应温度为0~200℃;

反应时间为4~24h。

5. 一种药物组合物,其特征在于,含有有效剂量的如权利要求1-3中所述的任一化合物

以及药用载体。

6. 如权利要求1所述的含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类衍生物在制备预防和治疗艾滋病的药物中的应用。

## 一种含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类衍生物及其制备方法和应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,具体涉及一种含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类衍生物及其制备方法和应用。

### 背景技术

[0002] 艾滋病,即获得性免疫缺陷综合症(Acquired immunodeficiency syndrome, AIDS),是由人类免疫缺陷病毒(Human immunodeficiency virus,HIV-1)感染导致免疫缺陷,从而引发一系列致病性感染及肿瘤的重大流行性传染病。自1981年美国疾病控制中心(CDC)确认首例病例以来,艾滋病在世界各地迅速蔓延,成为一项全球重要的公共卫生问题,到目前为止已造成3200多万人死亡。

[0003] 逆转录酶(Reverse transcriptase,RT)在HIV病毒复制的生命周期中发挥着关键性作用,负责病毒RNA逆转录成DNA-RNA杂合体及杂合体中RNA降解形成单链病毒DNA,之后再由整合酶将病毒DNA整合到宿主细胞,因此逆转录酶成为抗艾滋病药物设计的重要靶点之一。当前,已有超过一半的抗HIV上市药物均为逆转录酶抑制剂(RTIs)。

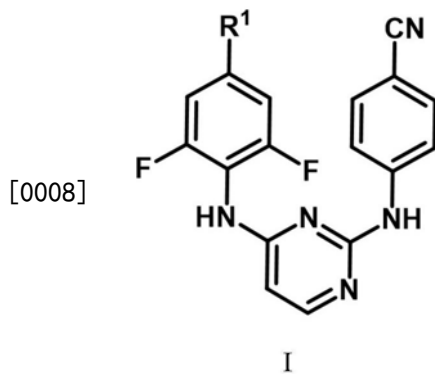
[0004] 在现有的抗HIV-1药物中,非核苷类逆转录酶抑制剂(NNRTIs)因其高效低毒等优点在艾滋病的临床治疗占有重要地位,成为高效抗逆转录病毒治疗(HAART)的主要组成部分。截止至2019年底,已有50多种具有不同化学结构的HIV-1非核苷类逆转录酶抑制剂被发现,其中6种已被美国食品和药物管理局(FDA)批准用于治疗艾滋病,分别是奈韦拉平(nevirapine,NVP),地拉韦啉(delavirdine,DLV),依法韦伦(efavirenz,EFV),依曲韦林(etravirine,ETR),利匹韦林(rilpivirine,RPV)和多拉维林(doravirine,DOR)。目前临床上使用的NNRTIs主要是第二代HIV抑制剂:二芳基嘧啶类化合物,利匹韦林(Rilpivirine,RPV)和依曲韦林(Etravirine,ETR)。然而,病毒突变株的迅速出现及该类化合物较差的水溶性(ETR, $<<1\mu\text{g}/\text{mL}$ ;RPV,20ng/mL)以及在长期服用中造成的副作用都限制了他们在临床上的使用,因此进一步开发具有广谱抗病毒活性和优良药代动力学特性的新型高效非核苷类逆转录酶抑制剂成为药物化学家们研究的热点之一。

[0005] 本发明旨在对二芳基嘧啶类非核苷类逆转录酶抑制剂的结构优化及成盐优化,药理毒理性的考察,以期获得具有优良抗病毒活性及药代动力学特性的新型高效非核苷类逆转录酶抑制剂。

### 发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种生物活性强、细胞毒性较小的含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类化合物及其制备方法和用途。

[0007] 本发明提供的含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类衍生物,具有如下(I)式所示的结构式:



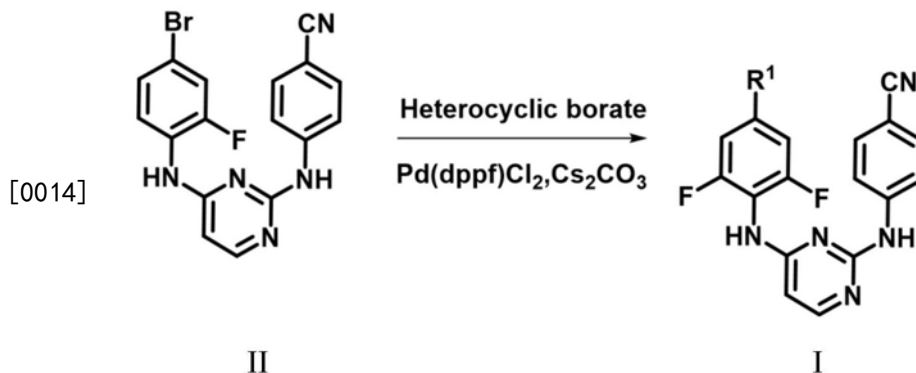
[0009] 其中,  $R^1$  选自咪喃基, 噻吩基, 吡唑基, 咪唑基, 噻唑基, 吡啶基, 嘧啶基, 对氨基苯基,  $C_{7\sim 10}$  芳杂环基, 任选被取代的咪喃基, 噻吩基, 吡唑基, 咪唑基, 噻唑基, 吡啶基, 嘧啶基,  $C_{7\sim 10}$  芳杂环基。

[0010] 本发明提供的含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类衍生物, 还包括其药用盐, 其立体化学异构体, 其水合物和溶剂化物, 其多晶或共晶及单一对映体的X射线衍射单晶, 其同样生物功能的前体和衍生物。

[0011] 本发明涉及的含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类衍生物的药用盐, 包括盐酸盐、氢溴酸盐、甲酸盐、甲磺酸盐、三氟甲磺酸盐、硫酸盐、磷酸盐、醋酸盐、对甲苯磺酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、富马酸盐或苹果酸盐。

[0012] 本发明还提出含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类衍生物的制备方法, 具体步骤为:

[0013] 在溶剂中, 化合物II (4-((4-(4-溴-2,6-二氟苯基)(甲基)氨基)嘧啶-2-)氨基)苯腈) 在  $Pd(dppf)Cl_2$ 、碳酸铯 ( $Cs_2CO_3$ ) 的作用下经Suzuki-偶联反应, 得到所述化合物I, 其制备的反应通式如下:



[0015] 反应条件如下:

[0016] 使用的溶剂为甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、叔丁醇、二氯甲烷、二氯乙烷、甲苯、四氢呋喃、乙醚、异丙醚、甲基叔丁基醚、1,4-二氧六环、乙酸乙酯中的一种或者多种;

[0017] 所述的化合物II与杂环硼酸的摩尔比为1:1-1:8;

[0018] 所述的化合物II与  $Pd(dppf)Cl_2$  的摩尔比为1:0.01-1:0.10;

[0019] 所述的化合物II与  $Cs_2CO_3$  的摩尔比为1:1-1:2;

[0020] 反应温度为  $0\sim 200^\circ C$ ;

[0021] 反应时间为4~24h。

[0022] 本发明还涉及一种药物组合物, 该组合物含有有效剂量的上述化合物和相关的药

用载体。

[0023] 本发明还涉及所述化合物或组合物在制备预防和治疗艾滋病药物中的应用。

[0024] 本发明基于含芳杂环结构的联苯二芳基嘧啶类衍生物与HIV逆转录酶的结合模式,结合计算机辅助药物设计,利用经典的生物电子等排策略,将二氟联苯DPAY类抑制剂联苯片段中的对氰基苯胺片段,替换成芳香杂环片段,以保有原有的化合物与结合口袋中芳香性氨基酸残基Y181, Y188之间的 $\pi$ - $\pi$ 堆积作用。同时,引入杂原子以改善分子整体的水溶性,并且提高抑制剂分子的成药性参数。此外,抑制剂分子骨架中,中心嘧啶母环可维持与氨基酸残基E138, K101形成氢键,从而稳定结合构象。进一步提高抑制剂分子抗HIV病毒株的生物活性。体外细胞水平抗HIV-1活性实验结果显示,该系列化合物具有显著的抗HIV-1活性,并且具有较低的细胞毒性。同时,对该类分子进行成盐改造,经溶解度实验证实,该系列化合物的药用盐在多种pH范围下均表现出优秀的水溶性,具有良好的临床应用前景。

### 具体实施方式

[0025] 通过下述实施实例可以更好地理解本发明内容,但是不能限制本发明的内容。

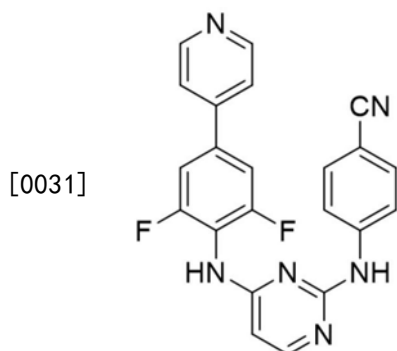
[0026] 实施例1:目标产物(I)的制备

[0027] 化合物II在Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>、碳酸铯的作用下经Suzuki-偶联反应,得到所述化合物I。其中溶剂为甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、叔丁醇、二氯甲烷、二氯乙烷、甲苯、四氢呋喃、乙醚、异丙醚、甲基叔丁基醚、1,4-二氧六环、乙酸乙酯等中的一种或者多种;反应温度为0~200℃,反应时间为4~14h。

[0028] 以含有不同取代基的原料利用上述方法分别制得目标化合物,部分结果如下:

[0029] 室温下,将4-((4-((4-溴-2,6-二氟苯基)(甲基)胺基)嘧啶-2-)胺基)苯腈(1.0mmol),碳酸铯(2.0mmol)和4-吡啶硼酸(1.2mmol)加入到1,4-二氧六环(6mL)中,经N<sub>2</sub>置换三次,调整反应温度至110℃,搅拌4h。经TLC(PE/EA=1/1)检测,原料消失,反应完全。调整反应温度至室温,依次用饱和亚硫酸钠溶液(20mL×2)、饱和碳酸钠溶液(20mL×2)、水(20mL×2)、饱和食盐水(20mL×2)洗涤,有机相经无水硫酸钠干燥过夜。过滤,浓缩,甲醇重结晶,得到固体一目标化合物(I)。具体化合物列举如下:

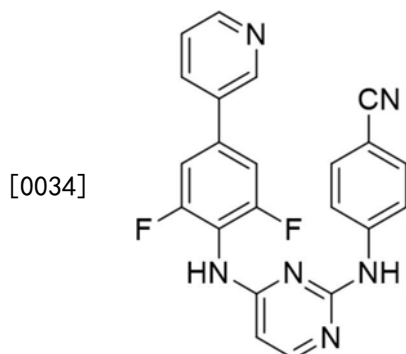
[0030] 化合物1:R<sup>1</sup>为4-吡啶基,结构式为:



[0032] 白色粉状固体;收率75%;熔点:287.1-288.1℃。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:9.76(s, 1H, NH), 9.41(s, 1H, NH), 8.70(m, 2H, ArH), 8.14(d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 7.87-7.83(m, 4H, ArH), 7.65(dd, J=8.0Hz, J=100Hz 4H, ArH), 6.36(d, J=4.0Hz, 1H, pyrimidine-H).<sup>13</sup>C NMR(100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:161.8, 160.1-157.6(dd, J<sub>C-F</sub>=6Hz, J<sub>C-F</sub>=

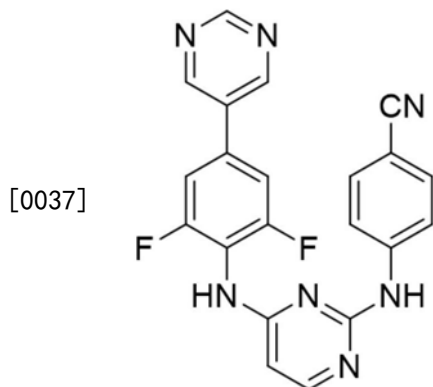
242Hz), 157.2, 150.9, 145.7, 136.7 (t,  $J_{C-F}=11\text{Hz}$ ), 133.1, 121.6, 120.1, 118.5, 117.0, 111.1, 110.9, 102.1, 99.4. HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>22</sub>H<sub>14</sub>F<sub>2</sub>N<sub>6</sub>[M+Na]<sup>+</sup> 400.1248, found 423.1140. HPLC: t<sub>R</sub>=11.010min, 99.09%, (λ=254nm)。

[0033] 化合物2: R<sup>1</sup>为3-吡啶基, 结构式为:



[0035] 操作同上。白色粉状固体; 收率82%; 熔点: 232.2-232.9°C。 <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.77 (s, 1H, NH), 9.36 (s, 1H, NH), 9.07 (m, 1H, ArH), 8.65 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 8.26-8.23 (m, 1H, ArH), 8.14 (d, J=4Hz, 1H, ArH), 7.81-7.76 (m, 4H, ArH), 7.56-7.52 (m, 3H, ArH), 6.36 (d, J=4.0Hz, 1H, pyrimidine-H)。 <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 162.0, 160.2-157.7 (dd,  $J_{C-F}=6\text{Hz}$ ,  $J_{C-F}=240\text{Hz}$ ), 159.6, 157.1, 149.9, 148.2, 145.7, 136.9 (t,  $J_{C-F}=10\text{Hz}$ ), 134.7, 133.1, 124.4, 120.1, 118.5, 115.9 (t,  $J_{C-F}=16\text{Hz}$ ), 111.0, 110.8, 102.1, 99.3. HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>22</sub>H<sub>14</sub>F<sub>2</sub>N<sub>6</sub>[M+Na]<sup>+</sup> 400.12481, found 423.1147. HPLC: t<sub>R</sub>=0.707min, 99.51%, (λ=254nm)。

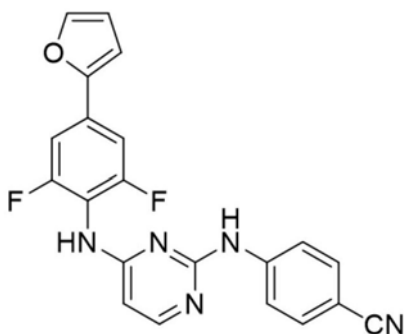
[0036] 化合物3: R<sup>1</sup>为3-嘧啶基, R<sup>2</sup>为H, 结构式为:



[0038] 操作同上。白色粉状固体; 收率95%; 熔点: 256.8-257.2°C。 <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.74 (s, 1H, NH), 9.37 (s, 1H, NH), 9.29 (s, 2H, ArH), 9.24 (s, 1H, ArH), 8.12 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 7.82 (dd, J=8Hz, J=28Hz, 4H, ArH), 7.53 (d, J=8Hz, 2H, ArH), 6.35 (d, J=8.0Hz, 1H, pyrimidine-H)。 <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 161.8, 160.1-157.6 (dd,  $J_{C-F}=6\text{Hz}$ ,  $J_{C-F}=240\text{Hz}$ ), 159.6, 158.4, 157.2, 155.4, 145.6, 133.2, 131.3, 120.1, 118.5, 116.7 (t,  $J_{C-F}=18\text{Hz}$ ), 111.2, 111.0, 102.2, 99.4. HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>21</sub>H<sub>13</sub>F<sub>2</sub>N<sub>7</sub>[M+Na]<sup>+</sup> 401.1200, found 424.1103. HPLC: t<sub>R</sub>=4.22min, 95.20%, (λ=254nm)。

[0039] 化合物4: R<sup>1</sup>为2-咪喃基, 结构式为:

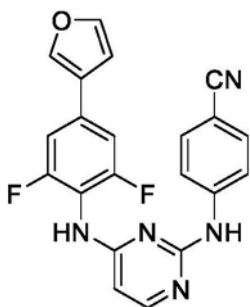
[0040]



[0041] 操作同上。白色粉状固体；收率92%；熔点：205.4-205.9℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 9.77 (s, 1H, NH), 9.29 (s, 1H, NH), 8.11 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 7.83 (s, 1H, ArH), 7.60 (d, J=8Hz, 2H, ArH), 7.82-7.49 (dd, J=12Hz, J=112Hz, 4H, ArH), 7.20 (d, J=4.0Hz, 1H), 6.67 (s, 1H, ArH), 6.34 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 162.0, 160.2-157.7 (dd, J<sub>C-F</sub>=6Hz, J<sub>C-F</sub>=239Hz), 159.5, 157.1, 151.3, 145.8, 144.5, 133.0, 130.1 (t, J<sub>C-F</sub>=10Hz), 120.1, 118.5, 115.0 (t, J<sub>C-F</sub>=17Hz), 113.0, 108.7, 107.5, 107.2, 102.1, 99.2。HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>21</sub>H<sub>13</sub>F<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O [M+H]<sup>+</sup> 389.1088, found 390.1161。HPLC: t<sub>R</sub>=5.85min, 99.36%, (λ=254nm)。

[0042] 化合物5: R<sup>1</sup>为3-呋喃基, 结构式为:

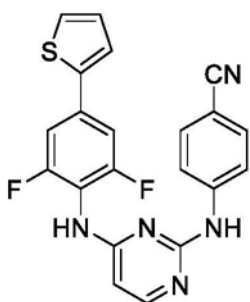
[0043]



[0044] 操作同上。白色粉状固体；收率89%；熔点：191.7-192.4℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 9.78 (s, 1H, NH), 9.26 (s, 1H, NH), 8.41 (s, 1H, ArH), 8.14-8.12 (m, 1H, ArH), 7.84-7.78 (m, 3H, ArH), 7.64-7.50 (m, 4H, ArH), 7.13 (d, J=4.0Hz, 1H), 6.35 (s, 1H, ArH). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 162.2, 160.3-157.0 (dd, J<sub>C-F</sub>=7Hz, J<sub>C-F</sub>=239Hz), 159.6, 157.0, 145.8, 145.1, 141.2, 133.0, 132.4 (t, J<sub>C-F</sub>=11Hz), 124.7, 120.1, 118.5, 114.4 (t, J<sub>C-F</sub>=17Hz), 109.4 (d, J<sub>C-F</sub>=24Hz), 109.1, 102.2, 99.2。HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>21</sub>H<sub>13</sub>F<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O [M+H]<sup>+</sup> 389.1088, found 390.1159。HPLC: t<sub>R</sub>=5.32min, 97.95%, (λ=254nm)。

[0045] 化合物6: R<sup>1</sup>为2-噻吩基, 结构式为:

[0046]

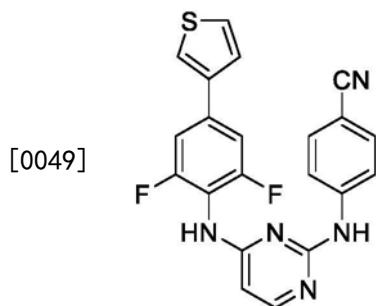


[0047] 操作同上。白色粉状固体；收率95%；熔点：259.8-260.2℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-



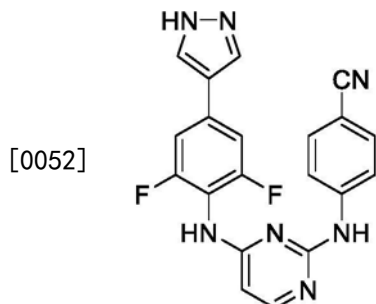
$d_6$ )  $\delta$ : 9.72 (s, 1H, NH), 9.26 (s, 1H, NH), 8.10 (d,  $J=4$ Hz, 1H, pyrimidine-H), 7.77 (d,  $J=8$ Hz, 2H, ArH), 7.74 (dd,  $J=4$ Hz,  $J=16$ Hz, 2H, ArH), 7.58 (d,  $J=8.0$ Hz, 2H), 7.48 (d,  $J=8.0$ Hz, 2H), 7.19 (t,  $J=4.0$ Hz, 1H, ArH), 6.32 (d,  $J=4$ Hz, 1H, pyrimidine-H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.0, 160.2-157.7 (dd,  $J_{\text{C-F}}=6$ Hz,  $J_{\text{C-F}}=241$ Hz), 159.5, 157.1, 145.8, 141.1, 133.0, 129.3, 127.8, 126.1, 120.1, 118.5, 115.0 (t,  $J_{\text{C-F}}=17$ Hz), 109.5, 109.2, 102.1, 99.2. HRMS (ESI $^+$ ):  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{13}\text{F}_2\text{N}_5\text{S}[\text{M}+\text{H}]^+$  405.0860, found 406.0919. HPLC:  $t_{\text{R}}=7.48$ min, 98.11%, ( $\lambda=254$ nm)。

[0048] 化合物7:  $\text{R}^1$ 为3-噻吩基, 结构式为:



[0050] 操作同上。白色粉状固体; 收率82%; 熔点: 220.0-221.0 $^{\circ}\text{C}$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.72 (s, 1H, NH), 9.23 (s, 1H, NH), 8.13 (m, 1H, ArH), 8.10 (d,  $J=4$ Hz, 1H, pyrimidine-H), 7.72-7.68 (m, 4H, ArH), 7.79-7.47 (dd,  $J=8$ Hz,  $J=112$ Hz, 4H, ArH), 6.31 (d,  $J=4$ Hz, 1H, pyrimidine-H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.1, 160.2-157.8 (dd,  $J_{\text{C-F}}=6$ Hz,  $J_{\text{C-F}}=241$ Hz), 159.6, 145.8, 139.5, 135.2, 133.1, 128.1, 126.7, 123.4, 120.1, 118.5, 114.6 (t,  $J_{\text{C-F}}=15$ Hz), 110.0, 109.8, 102.1, 99.2. HRMS (ESI $^+$ ):  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{13}\text{F}_2\text{N}_5\text{S}[\text{M}+\text{H}]^+$  405.0860, found 406.0935. HPLC:  $t_{\text{R}}=7.19$ min, 97.26%, ( $\lambda=254$ nm)。

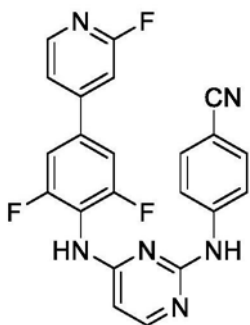
[0051] 化合物8:  $\text{R}^1$ 为4-咪唑基, 结构式为:



[0053] 操作同上。白色粉状固体; 收率52%; 熔点: 273.4-274.1 $^{\circ}\text{C}$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 13.11 (s, 1H, pyrazole-H), 9.72 (s, 1H, NH), 9.16 (s, 1H, NH), 8.41 (s, 1H, pyrazole-H), 8.12-8.09 (m, 2H, ArH), 7.80-7.48 (dd,  $J=8.0$ Hz,  $J=112$ Hz, 4H, ArH), 7.58 (d,  $J=8.0$ Hz, 2H, ArH), 6.30 (m, 1H, pyrimidine-H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.3, 160.4-157.9 (dd,  $J_{\text{C-F}}=6$ Hz,  $J_{\text{C-F}}=238$ Hz), 159.6, 157.0, 145.7, 137.2, 133.6 (t,  $J_{\text{C-F}}=9$ Hz), 133.0, 127.0, 120.1, 119.9 (t,  $J_{\text{C-F}}=3$ Hz), 118.5, 113.1 (t,  $J_{\text{C-F}}=17$ Hz), 108.9 (d,  $J_{\text{C-F}}=24$ Hz), 102.0. HRMS (ESI $^+$ ):  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{F}_2\text{N}_7[\text{M}+\text{Na}]^+$  389.1200, found 412.1092. HPLC:  $t_{\text{R}}=4.206$ min, 96.01%, ( $\lambda=254$ nm)。

[0054] 化合物9:  $\text{R}^1$ 为2-氟-4-吡啶基, 结构式为:

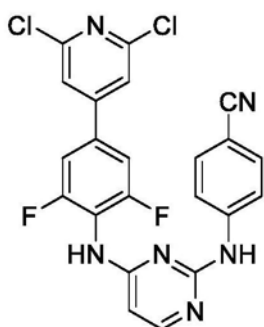
[0055]



[0056] 操作同上。白色粉状固体；收率82%；熔点：259.0-260.0℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 9.75 (s, 1H, NH), 9.44 (s, 1H, NH), 8.38 (d, J=8Hz, 1H, ArH), 8.14 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 7.92 (d, J=12Hz, 2H, ArH), 7.88 (d, J=4Hz, 1H, ArH), 7.79-7.52 (dd, J=8.0Hz, J=92Hz, 4H, ArH), 7.74 (s, 1H, ArH), 6.38 (d, J=8Hz, 1H, pyrimidine-H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 165.8-163.5 (d, J<sub>C-F</sub>=219Hz), 161.7, 159.9-157.4 (dd, J<sub>C-F</sub>=6Hz, J<sub>C-F</sub>=240Hz), 159.5, 157.2, 150.7 (d, J<sub>C-F</sub>=8Hz), 148.8 (d, J<sub>C-F</sub>=15Hz), 145.7, 135.3 (t, J<sub>C-F</sub>=11Hz), 133.1, 120.1, 119.9 (d, J<sub>C-F</sub>=4Hz), 118.5, 117.7 (t, J<sub>C-F</sub>=16Hz), 111.5-111.3 (dd, J<sub>C-F</sub>=6Hz, J<sub>C-F</sub>=13Hz), 107.5-107.1 (d, J<sub>C-F</sub>=39Hz), 102.2, 99.4. HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>22</sub>H<sub>13</sub>F<sub>3</sub>N<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 418.1154, found 441.1042. HPLC: t<sub>R</sub>=5.73min, 97.47%, (λ=254nm)。

[0057] 化合物10: R<sup>1</sup>为2,6-二氯-4-吡啶基, 结构式为:

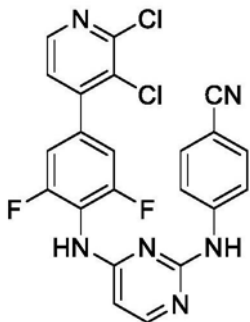
[0058]



[0059] 操作同上。白色粉状固体；收率96%；熔点：205.3-205.9℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 9.76 (s, 1H, NH), 9.47 (s, 1H, NH), 8.56 (d, J=8Hz, 1H, pyrimidine-H), 8.37-8.08 (m, 5H, ArH), 7.95 (d, J=8Hz, 1H, ArH), 7.78-7.52 (dd, J=8.0Hz, J=88Hz, 4H, ArH), 6.38 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 161.6, 159.8-159.7 (d, J<sub>C-F</sub>=6Hz), 159.5, 157.3, 150.7, 145.6, 133.6 (t, J<sub>C-F</sub>=10Hz), 133.1, 123.1, 121.2, 120.1, 118.5, 118.3 (t, J<sub>C-F</sub>=16Hz), 111.9-111.7 (dd, J<sub>C-F</sub>=25Hz), 102.2, 99.5. HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>22</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>F<sub>2</sub>N<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 468.0469, found 491.0366. HPLC: t<sub>R</sub>=7.59min, 98.31%, (λ=254nm)。

[0060] 化合物11: R<sup>1</sup>为2,3-二氯-4-吡啶基, 结构式为:

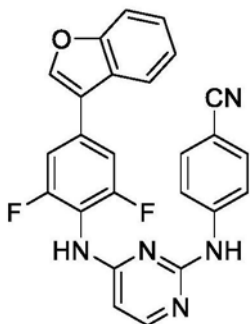
[0061]



[0062] 操作同上。白色粉状固体；收率88%；熔点：268.1-268.7℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.75 (s, 1H, NH), 9.45 (s, 1H, NH), 8.66-8.09 (m, 4H, ArH), 7.78-7.52 (dd, J=8.0Hz, 4H, ArH), 7.97 (d, J=8.0Hz, 1H, pyrimidine-H), 6.37 (d, J=4.0Hz, 1H, pyrimidine-H)。<sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 161.7, 159.5, 159.1-156.6 (dd, J<sub>C-F</sub>=6Hz, J<sub>C-F</sub>=241Hz), 157.3, 149.5, 148.8, 148.0, 145.6, 135.3 (t, J<sub>C-F</sub>=10Hz), 133.1, 128.1, 125.9, 120.1, 118.5, 117.1 (t, J<sub>C-F</sub>=17Hz), 113.7-113.5 (dd, J<sub>C-F</sub>=7Hz, J<sub>C-F</sub>=13Hz), 102.2, 99.4。HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>22</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>F<sub>2</sub>N<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup> 468.1510, found 469.0545。HPLC: t<sub>R</sub>=7.39min, 97.32%, (λ=254nm)。

[0063] 化合物12: R<sup>1</sup>为3-苯并呋喃基, 结构式为:

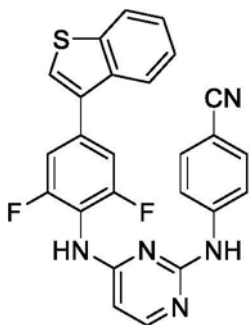
[0064]



[0065] 操作同上。白色粉状固体；收率92%；熔点：236.2-236.9℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.76 (s, 1H, NH), 9.33 (s, 1H, NH), 8.61 (s, 1H, ArH), 8.15 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 8.05 (d, J=8Hz, 1H, ArH), 7.82-7.52 (dd, J=8.0Hz, J=10Hz, 4H, ArH), 7.74-7.68 (m, 3H, ArH), 7.48-7.40 (m, 2H, ArH), 6.37 (d, J=4.0Hz, 1H, pyrimidine-H)。<sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 162.1, 159.6, 160.2-157.7 (dd, J<sub>C-F</sub>=7Hz, J<sub>C-F</sub>=239Hz), 157.1, 155.7, 145.8, 144.7, 133.1, 131.6 (t, J<sub>C-F</sub>=10Hz), 125.6, 125.3, 124.2, 120.8, 120.1, 119.8, 118.5, 115.1 (t, J<sub>C-F</sub>=16Hz), 112.4, 111.0-110.7 (d, J<sub>C-F</sub>=25Hz), 102.1, 99.2。HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>25</sub>H<sub>15</sub>F<sub>2</sub>N<sub>7</sub>O [M+H]<sup>+</sup> 439.1245, found 440.1311。HPLC: t<sub>R</sub>=8.43min, 96.50%, (λ=254nm)。

[0066] 化合物13: R<sup>1</sup>为3-苯并噻吩基, 结构式为:

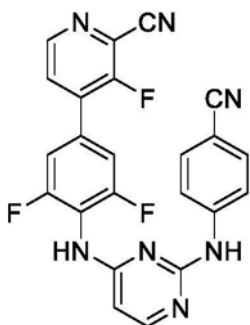
[0067]



[0068] 操作同上。白色粉状固体；收率96%；熔点：223.3-224.0℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.78 (s, 1H, NH), 9.35 (s, 1H, NH), 8.15 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 8.13 (s, 1H, ArH), 8.07 (s, 1H, ArH), 8.00 (d, J=8Hz, 1H, ArH), 7.81 (d, J=12.0Hz, 2H, ArH), 7.58-7.47 (m, 6H, ArH), 6.38 (d, J=4.0Hz, 1H, pyrimidine-H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 162.1, 159.6, 160.0-157.5 (dd, J<sub>C-F</sub>=6Hz, J<sub>C-F</sub>=241Hz), 157.1, 145.8, 140.6, 137.0, 135.1 (t, J<sub>C-F</sub>=10Hz), 134.9, 133.1, 127.0, 125.4 (d, J<sub>C-F</sub>=12Hz), 123.9, 122.7, 120.1, 118.5, 115.4 (t, J<sub>C-F</sub>=16Hz), 112.5-112.3 (dd, J<sub>C-F</sub>=6Hz, J<sub>C-F</sub>=12Hz), 102.1, 99.3. HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>25</sub>H<sub>15</sub>F<sub>2</sub>N<sub>5</sub>S [M+Na]<sup>+</sup> 455.1016, found 456.1074. HPLC: t<sub>R</sub>=8.85min, 96.98%, (λ=254nm)。

[0069] 化合物14: R<sup>1</sup>为3-氟-2-氰基-4-吡啶基, 结构式为:

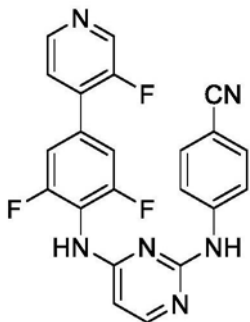
[0070]



[0071] 操作同上。白色粉状固体；收率66%；熔点：265.4-266.1℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.78 (s, 1H, NH), 9.48 (s, 1H, NH), 9.19 (s, 1H, ArH), 8.66 (s, 1H, ArH), 8.16 (d, J=8Hz, 1H, pyrimidine-H), 7.98 (d, J=8Hz, 1H, ArH), 7.80-7.54 (dd, J=8.0Hz, J=84Hz, 4H, ArH), 6.39 (d, J=4.0Hz, 1H, pyrimidine-H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 163.1, 161.6, 160.4, 159.5, 159.8-157.3 (dd, J<sub>C-F</sub>=4Hz, J<sub>C-F</sub>=246Hz), 157.3, 146.1, 146.0, 145.6, 139.5 (d, J<sub>C-F</sub>=5Hz), 133.2, 123.4 (d, J<sub>C-F</sub>=19Hz), 120.8 (d, J<sub>C-F</sub>=15Hz), 120.1, 118.4, 117.9 (t, J<sub>C-F</sub>=16Hz), 114.1 (d, J<sub>C-F</sub>=5Hz), 112.0-111.8 (d, J<sub>C-F</sub>=25Hz), 102.2, 99.5. HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>23</sub>H<sub>12</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub> [M+H]<sup>+</sup> 443.1106, found 444.1179. HPLC: t<sub>R</sub>=7.62min, 95.00%, (λ=254nm)。

[0072] 化合物15: R<sup>1</sup>为3-氟-4-吡啶基, 结构式为:

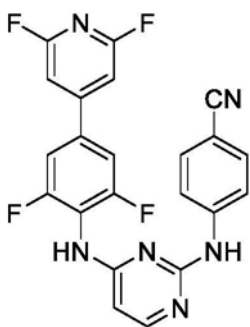
[0073]



[0074] 操作同上。白色粉状固体；收率88%；熔点：271.5-272.3℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 9.78 (s, 1H, NH), 9.45 (s, 1H, NH), 8.76 (d, J=8Hz, 1H, ArH), 8.59 (d, J=4Hz, 1H, ArH), 8.16 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 7.79-7.76 (m, 3H, ArH), 7.68-7.52 (dd, J=8.0Hz, J=44Hz, 4H, ArH), 6.39 (d, J=4.0Hz, 1H, pyrimidine-H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 161.8, 159.5, 157.7-155.1 (d, J<sub>C-F</sub>=255Hz), 157.2, 157.1 (d, J<sub>C-F</sub>=6Hz), 146.9 (d, J<sub>C-F</sub>=5Hz), 145.7, 139.5 (d, J<sub>C-F</sub>=25Hz), 133.1, 131.6 (t, J<sub>C-F</sub>=11Hz), 124.8, 120.1, 118.5, 117.3 (t, J<sub>C-F</sub>=16Hz), 113.4 (d, J<sub>C-F</sub>=23Hz), 102.2, 99.4. HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>22</sub>H<sub>13</sub>F<sub>3</sub>N<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup> 418.1154, found 419.1222. HPLC: t<sub>R</sub>=5.83min, 97.42%, (λ=254nm)。

[0075] 化合物16: R<sup>1</sup>为2,6-二氟-4-吡啶基, 结构式为:

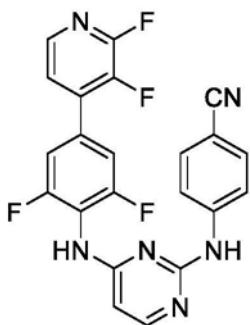
[0076]



[0077] 操作同上。白色粉状固体；收率57%；熔点：248.8-249.2℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 9.77 (s, 1H, NH), 9.48 (s, 1H, NH), 8.16 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 7.99-7.53 (dd, J=8.0Hz, J=168Hz, 4H, ArH), 7.79-7.77 (m, 4H, ArH), 6.39 (d, J=4.0Hz, 1H, pyrimidine-H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 163.5-161.1 (dd, J<sub>C-F</sub>=17Hz, J<sub>C-F</sub>=224Hz), 161.6, 159.5, 157.3, 155.4, 145.6, 134.1, 133.1, 120.1, 118.5, 118.3 (t, J<sub>C-F</sub>=16Hz), 118.3 (d, J<sub>C-F</sub>=25Hz), 104.7, 104.4, 102.2, 99.5. HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>22</sub>H<sub>12</sub>F<sub>4</sub>N<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup> 436.1060, found 437.1132. HPLC: t<sub>R</sub>=6.74min, 98.87%, (λ=254nm)。

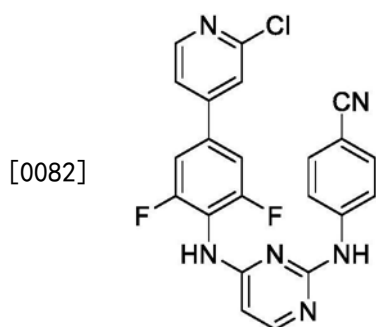
[0078] 化合物17: R<sup>1</sup>为2,3-二氟-4-吡啶基, 结构式为:

[0079]



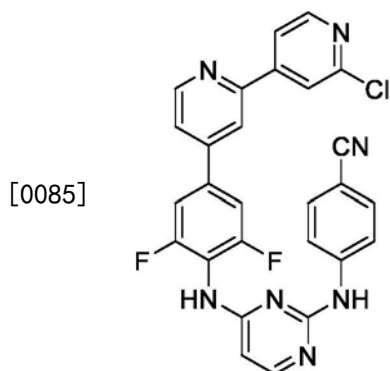
[0080] 操作同上。白色粉状固体;收率65%;熔点:257.4-257.9℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ9.79 (s, 1H, NH), 9.48 (s, 1H, NH), 8.16 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 8.19-8.15 (m, 2H, ArH), 7.79-7.53 (dd, J=8Hz, J=88Hz, 4H, ArH), 7.73-7.69 (m, 3H, ArH), 6.40 (d, J=8.0Hz, 1H, pyrimidine-H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:161.7, 159.5, 157.3, 159.5-156.9 (dd, J<sub>C-F</sub>=16Hz, J<sub>C-F</sub>=241Hz), 153.7-151.2 (dd, J<sub>C-F</sub>=15Hz, J<sub>C-F</sub>=217Hz), 145.6, 144.0-141.5 (dd, J<sub>C-F</sub>=29Hz, J<sub>C-F</sub>=230Hz), 142.2 (q, J<sub>C-F</sub>=7Hz), 137.5, 133.1, 130.6, 123.7, 120.1, 118.5, 117.8 (t, J<sub>C-F</sub>=17Hz), 113.5 (d, J<sub>C-F</sub>=22Hz), 102.2, 99.5. HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>22</sub>H<sub>12</sub>F<sub>4</sub>N<sub>6</sub>[M+Na]<sup>+</sup>436.1060, found 459.0957. HPLC: t<sub>R</sub>=6.75min, 97.58%, (λ=254nm)。

[0081] 化合物18:R<sup>1</sup>为2-氟-4-吡啶基,结构式为:



[0083] 操作同上。白色粉状固体;收率80%;熔点:196.1-197.2℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.04 (s, 1H, NH), 9.71 (s, 1H, NH), 8.82 (d, J=4Hz, 1H, ArH), 8.44 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 8.33 (s, 1H, ArH), 8.20 (d, J=8Hz, 3H, ArH), 8.81-7.81 (dd, J=8Hz, J=92Hz, 4H, ArH), 6.65 (d, J=4.0Hz, 1H, pyrimidine-H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:161.7, 159.5, 157.2, 160.0-157.4 (dd, J<sub>C-F</sub>=6Hz, J<sub>C-F</sub>=241Hz), 152.0, 151.0, 148.4, 145.7, 135.1 (t, J<sub>C-F</sub>=10Hz), 133.1, 121.9, 121.0, 120.1, 118.5, 117.7 (t, J<sub>C-F</sub>=17Hz), 111.6-111.3 (dd, J<sub>C-F</sub>=6Hz, J<sub>C-F</sub>=13Hz), 102.2, 99.4. HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>22</sub>H<sub>13</sub>ClF<sub>2</sub>N<sub>6</sub>[M+H]<sup>+</sup>434.0858, found 457.0751. HPLC: t<sub>R</sub>=6.37min, 97.99%, (λ=254nm)。

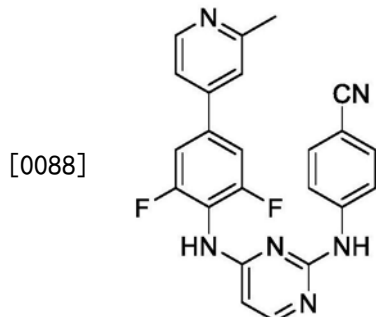
[0084] 化合物19:R<sup>1</sup>为二联吡啶基,结构式为:



[0086] 操作同上。白色粉状固体;收率88%;熔点:291.5-291.9℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ9.77 (s, 1H, NH), 9.45 (s, 1H, NH), 8.88 (d, J=8Hz, 1H, ArH), 8.62-8.59 (m, 2H, ArH), 8.41 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 8.16 (m, 1H, ArH), 8.09-8.02 (m, 3H, ArH), 7.81-7.53 (dd, J=8Hz, J=100Hz, 4H, ArH), 6.39 (d, J=4.0Hz, 1H, pyrimidine-H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:161.8, 159.5, 157.2, 160.1-157.6 (dd, J<sub>C-F</sub>=5Hz, J<sub>C-F</sub>=240Hz), 153.5, 151.9,

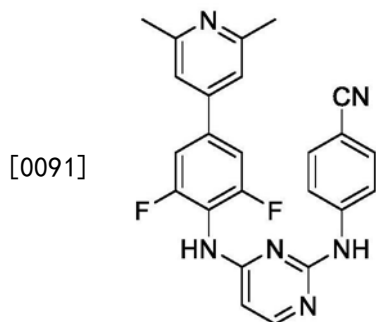
151.3, 151.0, 149.5, 146.4, 145.7, 136.2 (t,  $J_{C-F}=10\text{Hz}$ ), 133.1, 122.4, 121.8, 120.9, 120.1, 119.3, 118.5, 117.3 (t,  $J_{C-F}=17\text{Hz}$ ), 111.53-111.28 (dd,  $J_{C-F}=4\text{Hz}$ ,  $J_{C-F}=16\text{Hz}$ ), 102.2, 99.4. HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>27</sub>H<sub>16</sub>ClF<sub>2</sub>N<sub>7</sub> [M+H]<sup>+</sup> 511.1124, found 511.9097. HPLC: t<sub>R</sub>=7.58min, 98.27%, ( $\lambda=254\text{nm}$ ).

[0087] 化合物20: R<sup>1</sup>为2-甲基-4-吡啶基, 结构式为:



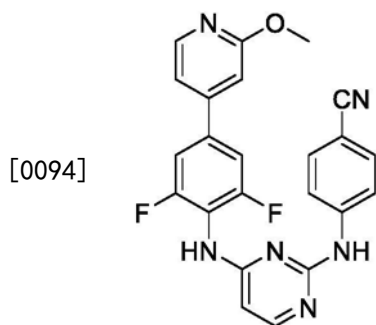
[0089] 操作同上。白色粉状固体; 收率88%; 熔点: 224.4-225.1°C。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  9.76 (s, 1H, NH), 9.38 (s, 1H, NH), 8.56 (d, J=4Hz, 1H, ArH), 8.14 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 7.83-7.79 (m, 3H, ArH), 7.77-7.50 (dd, J=32Hz, J=92Hz, 4H, ArH), 7.65 (d, J=4Hz, 1H, ArH), 6.36 (d, J=4.0Hz, 1H, pyrimidine-H), 2.57 (s, 3H, CH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 161.9, 160.1-157.6 (dd,  $J_{C-F}=6\text{Hz}$ ,  $J_{C-F}=240\text{Hz}$ ), 159.5, 159.4, 157.2, 150.2, 145.7, 145.0, 137.1 (t,  $J_{C-F}=10\text{Hz}$ ), 133.1, 120.9, 120.1, 118.7, 118.5, 116.8 (t,  $J_{C-F}=16\text{Hz}$ ), 111.1-110.8 (dd,  $J_{C-F}=5\text{Hz}$ ,  $J_{C-F}=14\text{Hz}$ ), 102.1, 99.3, 24.6. HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>23</sub>H<sub>16</sub>F<sub>2</sub>N<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup> 414.1405, found 415.1470. HPLC: t<sub>R</sub>=5.83min, 99.26%, ( $\lambda=254\text{nm}$ ).

[0090] 化合物21: R<sup>1</sup>为2,6-二甲基-4-吡啶基, 结构式为:



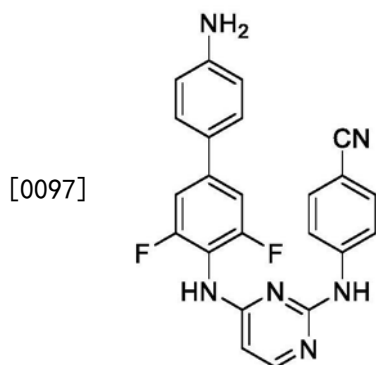
[0092] 操作同上。白色粉状固体; 收率88%; 熔点: 250.1-251.0°C。 <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  9.77 (s, 1H, NH), 9.37 (s, 1H, NH), 8.14 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 7.77 (d, J=8Hz, 4H, ArH), 7.52-7.50 (m, 4H, ArH), 6.37 (d, J=4.0Hz, 1H, pyrimidine-H), 2.52 (s, 6H, CH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 161.9, 160.1-157.6 (dd,  $J_{C-F}=6\text{Hz}$ ,  $J_{C-F}=240\text{Hz}$ ), 159.5, 158.6, 157.2, 145.7, 145.4, 137.5 (t,  $J_{C-F}=10\text{Hz}$ ), 133.1, 120.1, 118.5, 118.0, 116.7 (t,  $J_{C-F}=17\text{Hz}$ ), 111.0-110.8 (dd,  $J_{C-F}=5\text{Hz}$ ,  $J_{C-F}=13\text{Hz}$ ), 102.1, 99.3, 24.5. HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>24</sub>H<sub>18</sub>F<sub>2</sub>N<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup> 428.1561, found 429.1627. HPLC: t<sub>R</sub>=6.51min, 97.84%, ( $\lambda=254\text{nm}$ ).

[0093] 化合物22: R<sup>1</sup>为2-甲氧基-4-吡啶基, 结构式为:



[0095] 操作同上。白色粉状固体；收率93%；熔点：246.2-246.7℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.75 (s, 1H, NH), 9.38 (s, 1H, NH), 8.29 (d, J=8Hz, 1H, ArH), 8.14 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 7.83-7.78 (m, 4H, ArH), 7.53-7.45 (m, 3H, ArH), 7.30 (s, 1H, ArH), 6.37 (d, J=4.0Hz, 1H, pyrimidine-H), 3.93 (s, 3H, CH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 165.1, 161.9, 159.5, 160.0-157.5 (dd, J<sub>C-F</sub>=6Hz, J<sub>C-F</sub>=240Hz), 157.2, 148.2, 147.9, 145.7, 136.7 (t, J<sub>C-F</sub>=10Hz), 133.1, 120.1, 118.5, 117.0 (t, J<sub>C-F</sub>=17Hz), 115.2, 111.2-110.9 (dd, J<sub>C-F</sub>=5Hz, J<sub>C-F</sub>=13Hz), 108.1, 99.4, 53.8。 HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>23</sub>H<sub>16</sub>F<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O [M+Na]<sup>+</sup> 430.1354, found 453.1243。 HPLC: t<sub>R</sub>=6.89min, 98.07%, (λ=254nm)。

[0096] 化合物23: R<sup>1</sup>为对胺基苯基<sub>3</sub>, 结构式为:



[0098] 操作同上。白色粉状固体；收率95%；熔点：236.1-236.9℃。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.72 (s, 1H, NH), 9.16 (s, 1H, NH), 8.11 (d, J=4Hz, 1H, pyrimidine-H), 7.81-7.79 (m, 2H, ArH), 7.53-7.45 (m, 6H, ArH), 6.68 (d, J=8.0Hz, 2H, ArH), 6.30 (m, 1H, pyrimidine-H), 5.45 (s, 2H, NH<sub>2</sub>)。 <sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 162.3, 159.6, 157.0, 160.4-157.9 (dd, J<sub>C-F</sub>=7Hz, J<sub>C-F</sub>=238Hz), 150.0, 145.8, 141.1 (t, J<sub>C-F</sub>=10Hz), 133.0, 127.8, 124.8, 120.1, 118.5, 114.6, 113.0 (t, J<sub>C-F</sub>=17Hz), 108.7-108.5 (dd, J<sub>C-F</sub>=6Hz, J<sub>C-F</sub>=13Hz), 102.0, 99.0。 HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z calcd for C<sub>23</sub>H<sub>16</sub>F<sub>2</sub>N<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup> 414.1405, found 415.1470。 HPLC: t<sub>R</sub>=5.29min, 95.11%, (λ=254nm)。

[0099] 实施2: 化合物的成盐改造及水溶性测量

[0100] 对化合物进行成盐改造, 并通过标准曲线法对成盐产物进行多pH范围的水溶性测量。

[0101] 成盐复合物的制备: 在室温或加热条件下, 使某一完全在溶剂中完全溶解, 随后加入待成盐的酸, 于N<sub>2</sub>保护下搅拌18-48h, 直至有大量固体析出。过滤即得该分子的成盐复合物。此处所选溶剂为甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、二氯甲烷、二氯乙烷、四氢呋喃、乙醚、甲基叔丁基醚、乙酸乙酯, 正己烷、环己烷、石油醚中的一种或者多种。以下以4-吡啶基



取代的化合物为例具体阐述盐酸盐的制备方法及其水溶性测试结果。

[0102] 在33℃下,将4-吡啶基取代1 (100mg) 溶于15ml乙酸乙酯中,加入10滴酸,于33℃搅拌24h。待有大量固体析出,过滤,获得目标物的成盐复合物。分别取该复合物5-10mg,依次加入pH=2.0、7.0、7.4的缓冲液水溶液种,并于20~25℃下搅拌超过18h,滤取上清液,经反相HPLC分析,测试该复合物在多种pH范围下的水溶性。其水溶性结果如下:

[0103] 表1. 化合物1及其成盐复合物水溶性结果

Compound	Solubility ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	pH = 2.0	pH = 7.0	pH = 7.4
1	237	24.3	24.2
[0104] 1·HCl	610.9	24.9	24.8
1·HBr	577	24.3	24.3
1·CH <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> OH	169.5	<< 1	<< 1
1·CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> OH	173.9	<< 1	<< 1
1·HCO <sub>2</sub> H	557.0	24.6	24.2
1·AcOH	184.4	<< 1	<< 1
1·CF <sub>3</sub> COOH	475.8	<< 1	<< 1
[0105] 1·H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	35.7	<< 1	<< 1
1·succinic acid	146	<< 1	<< 1
1·maleic acid	145	<< 1	<< 1

[0106] 实施例2: 抗HIV生物活性测试

[0107] 体外细胞水平的抗HIV病毒活性由比利时Katholieke大学的Rega药物研究所测定,主要包括:对HIV感染的MT-4细胞的抑制活性及细胞毒性两方面。方法如下:使化合物在HIV感染的MT-4细胞中,于感染HIV不同时间,用MTT法测定药物对HIV诱导的细胞病变的保护作用,计算使50%的细胞免于HIV诱导的细胞病变所需的浓度半数有效浓度EC<sub>50</sub>,毒性测定与抗HIV活性实验平行进行,也是在MT-4细胞培养中,用MTT法测定使50%的未感染细胞发生细胞病变的浓度(CC<sub>50</sub>),并计算选择性指数SI=CC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>。

[0108] 材料与方法:

[0109] 各化合物的抗HIV活性由药物对HIV在细胞中引起的细胞病变的抑制作用效率来监控。采用MT-4细胞进行细胞培养。采用的病毒株有:HIV-1病毒株III<sub>B</sub>及HIV-2病毒株ROD。

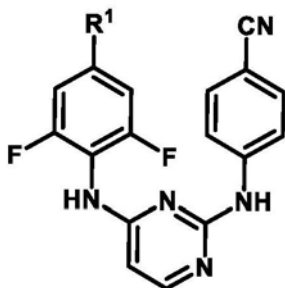
[0110] 具体操作如下:将化合物用DMSO或水溶解后在磷酸盐缓冲食盐水溶液稀释,将3×10<sup>5</sup>MT-4细胞用100 $\mu\text{L}$ 各化合物不同浓度此溶液在37℃预培养1h,然后向该化合物中加入100 $\mu\text{L}$ 适当的病毒稀释液,将细胞于37℃培养1h。洗涤三次后,将细胞再次分别悬浮于含有或不含有化合物的培养介质中。接着将细胞在5%CO<sub>2</sub>氛围中,于37℃下再培养7天,并于感染后第三天用含有或不含有化合物的培养介质替换补充培养液。每种培养液条件重复操作两次。对病毒的细胞病变作用每天都用反向光学显微镜监控。典型来讲,本实验中所用的病毒稀释液常常会在病毒感染后第五天导致细胞病变。药物抑制浓度以药物对病毒细胞病变作用产生50%抑制作用而同时对细胞无直接毒性的浓度(CC<sub>50</sub>)表示。需要强调的是,当化合物水溶性较差,需要DMSO才能溶解时,DMSO比浓度相对于水来讲,一般低于10%(DMSO在MT-4细胞培养介质中最终浓度小于2%)。因为DMSO能影响测试化合物的抗病毒活性,对含有相

同浓度DMSO溶液抗病毒活性对比空白实验也应该平行进行。另外,DMSO最终浓度(1/1000)远远低于HIV-1在T细胞中复制所需的浓度。

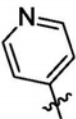
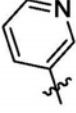
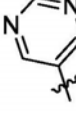
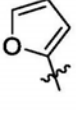

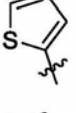

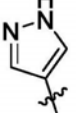
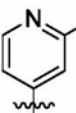
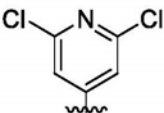
[0111] 本发明用已上市药物奈维拉平(Nevirapine,NVP)、依非韦伦(Efavirenz,EFV)和依曲韦林(Etravirine,ETV)作对照品,部分目标化合物对HIV的抑制活性结果见表1(化合物1-23在MT-4细胞中的抗HIV活性及细胞毒性)。

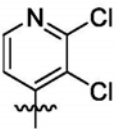
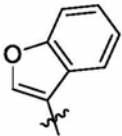
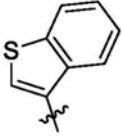
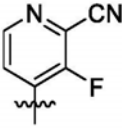
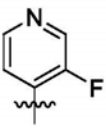
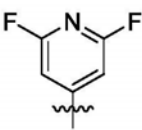
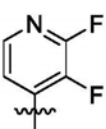
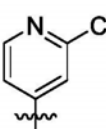
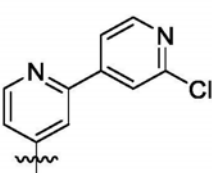
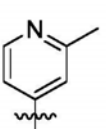
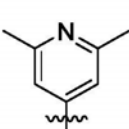
[0112] 表2<sup>[a]</sup>

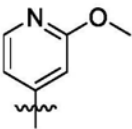
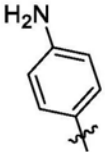
[0113]



I

compound	R <sup>1</sup>	EC <sub>50</sub> (nM) <sup>a</sup>	CC <sub>50</sub> (μM) <sup>b</sup>	SI(III <sub>B</sub> ) <sup>c</sup>
1		1.0±0	>313	>312,500
2		7.4±1.76	242±42	32,698
3		11.9±3.2	2.7±1.7	229
4		2.1±0	16.6±6.9	7910
5		3.2±0.18	10.6±1.8	3291
[0114] 6		4.1±2.0	>308	>74,627
7		3.9±1.4	55.4±18.7	14032
8		10±6.0	3.1±1.7	298
9		3.8±3.2	5.0±0.9	1311
10		56±32.6	5.4±0.54	97

11		$5.5 \pm 0.7$	$20 \pm 16$	3673
12		$44 \pm 10.1$	$87 \pm 54$	1991
13		$222 \pm 139$	$29 \pm 11$	132
14		$1.98 \pm 0.42$	$>282$	$>142,857$
15		$1.3 \pm 0.6$	$3.3 \pm 1.5$	2566
16		$5.6 \pm 1.5$	$11 \pm 6.8$	1966
[0115]				
17		$2.0 \pm 0.48$	$>286$	$>147,059$
18		$6.8 \pm 3.4$	$4.2 \pm 0.45$	622
19		$16.8 \pm 3.0$	$51 \pm 41$	3068
20		$4.1 \pm 1.1$	$3.2 \pm 1.1$	777
21		$56 \pm 18$	$1.2 \pm 0.11$	21

	22		13±2.9	6.7±0.98	501
[0116]	23		9.2±3.6	>303	>32,895
	<b>NVP</b>	-	209±66	>15	>72
	<b>ETR</b>	-	4±0.68	>4.60	>1159
	<b>EFV</b>	-	4±1.5	>6.33	>1600

[0117] <sup>a</sup>所有数据代表至少三个独立实验的平均值；<sup>b</sup>EC<sub>50</sub>:使50%的细胞免受病毒感染的有效浓度；<sup>c</sup>CC<sub>50</sub>:使50%的细胞发生病变时的药物浓度；<sup>d</sup>SI:选择指数,CC<sub>50</sub>值与EC<sub>50</sub>值的比值,用于判断药物效果的安全范围。

[0118] 实验结果表明,化学通式中所包含的化合物普遍具有较强的抗HIV-1病毒活性,较小的细胞毒性和较高的选择性指数。

[0119] 本发明不限于上述实例。