



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101717364 B

(45) 授权公告日 2014. 08. 13

(21) 申请号 200910177472. 3

(22) 申请日 2009. 09. 29

(66) 本国优先权数据

200810167051. 8 2008. 10. 09 CN

(73) 专利权人 中国人民解放军军事医学科学院
毒物药物研究所

地址 100850 北京市海淀区太平路 27 号

(72) 发明人 谢蓝 田兴涛 李国雄 姜世勃
陆虹

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专
利商标事务所 11038

代理人 唐伟杰

(51) Int. Cl.

C07D 213/74 (2006. 01)

A61K 31/44 (2006. 01)

A61P 31/18 (2006. 01)

(56) 对比文件

WO 2007035309 A1, 2007. 03. 29, 说明书全文.

CN 1541215 A, 2004. 10. 27, 说明书全文.
周婷等. HIV 非核苷类逆转录酶抑制剂研究进展. 《药学学报》. 2004, 第 39 卷 (第 08 期), 666-672.

审查员 侯宝光

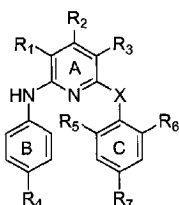
权利要求书5页 说明书26页

(54) 发明名称

作为 HIV 逆转录酶抑制剂的吡啶类化合物及其制备方法和用途

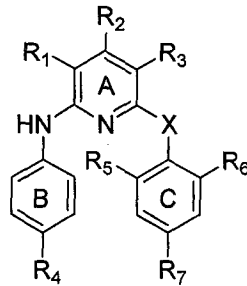
(57) 摘要

本发明涉及作为非核苷类 HIV 逆转录酶抑制剂的 2-(4-取代苯胺基)多取代吡啶类化合物、其制备方法及其用途。具体地说,本发明涉及式 I 化合物或其可药用盐,其中 R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇和 X 的定义如说明书所述。本发明式 I 化合物是一类具有新型骨架结构的抗 HIV 活性化合物。



I

1. 式 I 化合物：



I

或其可药用盐，

其中，

R_1 、 R_2 和 R_3 各自独立地为 -H、卤素、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}$ 、 $-\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{CONHR}'$ 或 $-\text{COOR}'$ ，

或者， R_1 和 R_2 或 R_2 和 R_3 可以一起形成 $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ；

R_4 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CF}_3$ 、卤素或 $-\text{COOH}$ ；

R_5 和 R_6 各自独立地为卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、或 $-\text{COOR}'$ ；

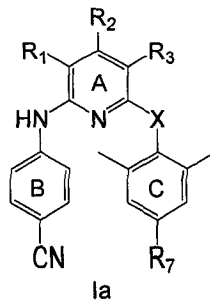
R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC}=\text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CR}'$ 、 $-\text{CH}=\text{CHR}'$ 、 $-\text{CH}=\text{CHCOR}'$ 、或 CHO ；

R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基；

X 选自 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{NR}-$ ；并且

R 为 C_{1-4} 烷基。

2. 权利要求 1 的化合物，其具有如下的式 Ia：



Ia

或其可药用盐，

其中，

R_1 和 R_3 各自独立地为 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CN}$ 或 $-\text{N}(\text{R})_2$ ；

R_2 为 -H；

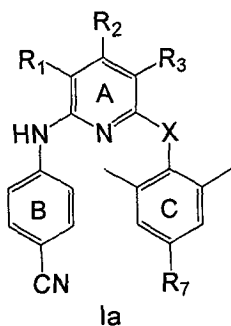
R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC}=\text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CR}'$ 、 $-\text{CH}=\text{CHR}'$ 、 $-\text{CH}=\text{CHCOR}'$ 、或 $-\text{CHO}$ ；

R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基；

X 为 $-\text{O}-$ 或 $-\text{NH}-$ ；并且

R 为 C_{1-4} 烷基。

3. 权利要求 1 的化合物，其具有如下的式 Ia：



或其可药用盐，

其中，

R_1 为 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CN}$ 或 $-\text{N}(\text{R})_2$ ；

R_2 和 R_3 为 $-\text{H}$ ；

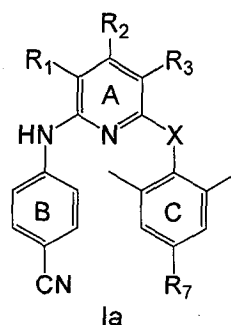
R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC}=\text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}=\text{CHCOR}'$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CR}'$ 、 $-\text{CH}=\text{CHR}'$ 、或 $-\text{CHO}$ ；

R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基；

X 为 $-\text{O}-$ 或 $-\text{NH}-$ ；并且

R 为 C_{1-4} 烷基。

4. 权利要求 1 的化合物，其具有如下的式 Ia：



或其可药用盐，

其中，

R_2 为 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、- 卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CN}$ 或 $-\text{N}(\text{R})_2$ ；

R_1 和 R_3 为 H ；

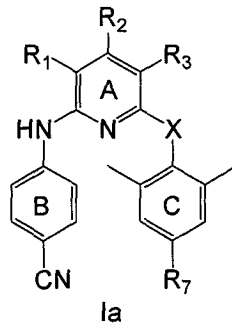
R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC}=\text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CR}'$ 、 $-\text{CH}=\text{CHR}'$ 、 $-\text{CH}=\text{CHCOR}'$ 、或 $-\text{CHO}$ ；

R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基；

X 为 $-\text{O}-$ 或 $-\text{NH}-$ ；并且

R 为 C_{1-4} 烷基。

5. 权利要求 1 的化合物，其具有如下的式 Ia：



或其可药用盐，

其中，

R_3 为 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、- 卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CN}$ 或 $-\text{N}(\text{R})_2$ ；

R_1 和 R_2 为 H；

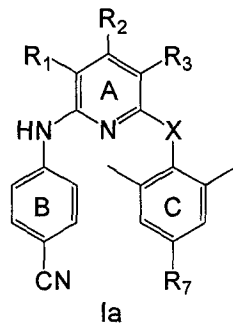
R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 、 $-\text{C} = \text{CHR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHCOR}'$ 、或 $-\text{CHO}$ ；

R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基；

X 为 $-\text{O}-$ 或 $-\text{NH}-$ ；并且

R 为 C_{1-4} 烷基。

6. 权利要求 1 的化合物，其具有如下的式 Ia：



或其可药用盐，

其中，

R_1 、 R_2 和 R_3 均为 $-\text{H}$ ；

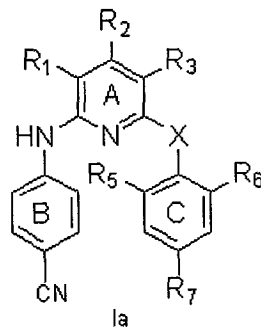
R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 、 $-\text{C} = \text{CHR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHCOR}'$ 、或 $-\text{CHO}$ ；

R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基；

X 为 $-\text{O}-$ 或 $-\text{NH}-$ ；并且

R 为 C_{1-4} 烷基。

7. 权利要求 1 的化合物，其具有如下的式 Ia：



或其可药用盐，

其中，

R_1 为 $-\text{NO}_2$ 、或 $-\text{NH}_2$ ；

R_2 和 R_3 均为 $-\text{H}$ ；

R_5 和 R_6 各自独立地为卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、或 $-\text{COOH}$ ；

R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC}=\text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CR}'$ 、 $-\text{C}=\text{CHR}'$ 、 $-\text{CH}=\text{CHCOR}'$ 、或 $-\text{CHO}$ ；

R' 为 H 、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基；

X 为 $-\text{O}-$ 或 $-\text{NH}-$ ；并且

R 为 C_{1-4} 烃基。

8. 权利要求 7 的化合物，其中 R_5 和 R_6 各自独立地为卤素、 C_{1-4} 烷基、 $-\text{NH}_2$ 、或 $-\text{OH}$ 。

9. 化合物，其选自：

2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-溴苯氧基)-3-硝基吡啶；

2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-氰基苯氧基)-3-硝基吡啶；

2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,4,6-三甲基苯氧基)-3-硝基吡啶；

2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-甲酰基苯氧基)-3-硝基吡啶；

2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-丙烯酰基苯氧基)-3-硝基吡啶；

3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-氰基苯氧基)吡啶；

3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-羟甲基苯氧基)吡啶；

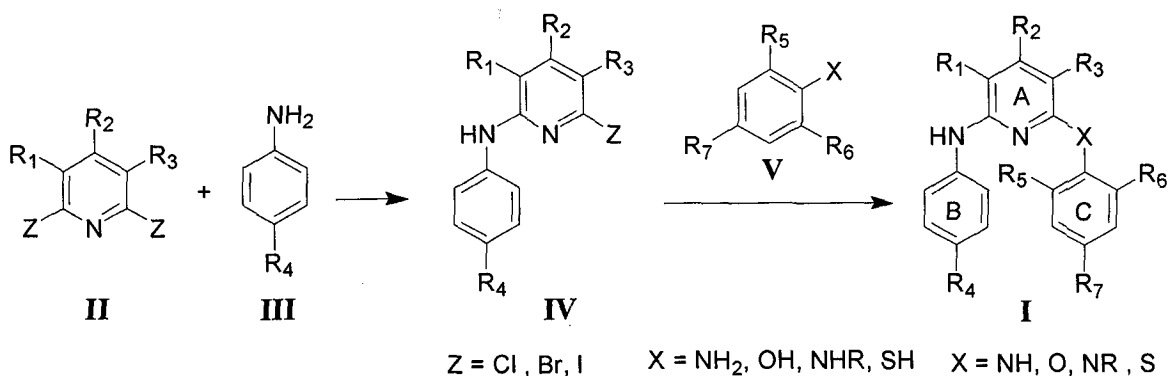
2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-羟甲基苯氧基)-3-硝基吡啶；

2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-烯丙基苯氧基)-3-硝基吡啶；和

3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-丙烯酰基苯氧基)吡啶，

或其可药用盐。

10. 权利要求 1 的化合物的制备方法，其反应路线如下所示：



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、和 X 的定义同权利要求 1 式 I 化合物所述,所述方法包括使式 II 的取代的 2,6-二卤代吡啶类化合物在碱的作用下与对位取代苯胺类化合物反应,或者进行无溶剂反应成式 IV 的 2-(4-取代苯胺基)多取代吡啶类化合物;然后使式 IV 中间体与多取代酚或苯胺类化合物进行偶联反应,或在钯类催化剂作用下加热或在微波条件下偶联生成具有式 I 的 2-(4-取代苯胺基)多取代吡啶类化合物。

11. 一种药物组合物,其包含权利要求 1 至 9 任一项的化合物或其可药用盐以及一种或多种药用载体或赋形剂。

12. 权利要求 1 至 9 任一项的化合物或其可药用盐用于制备治疗艾滋病的药物的用途。

作为 HIV 逆转录酶抑制剂的吡啶类化合物及其制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明涉及具有抗 HIV 活性的 2-(4-取代苯胺基)多取代吡啶类化合物、其制备方法、含有它们的药物组合物及其用于制备抗 HIV 的药物的用途。

[0002] 背景技术

[0003] 艾滋病毒 (HIV) 是一种 RNA 病毒。该病毒的表面是层双脂膜。膜中包裹着 2 个单链 RNA 和一些重要的酶 (如逆转录酶、蛋白水解酶、整合酶) 及结构蛋白质 (p24, p17, p7 等)。病毒的膜表面有两个非常重要的糖蛋白 gp120 和 gp41。gp120 在膜的外部, gp41 横跨双脂膜并与 gp120 形成一个复合体。它们的主要功能是识别和进攻人体免疫系统中具有 CD4 表面受体的细胞, 如淋巴细胞 (T 细胞)、巨噬细胞等。HIV 在体外不能繁殖, 必须借助于人体细胞才能复制再生。HIV 的复制过程大致可分为以下阶段: 病毒与宿主细胞的结合及融合, 病毒基因的逆转录, 整合, 转录, 和转译, 病毒的组装及释放。艾滋病毒以这样一个循环过程不断地复制, 感染人体免疫细胞, 破坏人体的免疫系统, 最终导致人体免疫功能的完全丧失, 使病人处于各类感染而毫无抵御能力的危险之中。理论上讲, 药物只要阻断病毒复制过程中的任一环节都会达到抑制病毒和治疗疾病的目的。

[0004] 到目前为止, 批准上市的用于临床抗 HIV 感染和治疗艾滋病的化学药物及其组合已有 30 多种。现有的药物按其作用机制分为五类: 核苷类逆转录酶抑制剂 (NRTIs)、非核苷类逆转录酶抑制剂 (NNRTIs)、蛋白水解酶抑制剂 (PIs), 融合抑制剂 (Enfuvirtide) 和进入抑制剂 (Maraviroc)。现有药物单独或联合使用可有效地抑制病毒在体内的复制, 但共同面对的主要问题是抗药性。HIV 病毒在与药物作用一段时间后会产生产生某种变异。变异的病毒可不再受药物的抑制, 仍象用药前一样继续在体内复制大量病毒。因此, 寻找和开发具有新结构类型, 新作用机制、新作用靶点或对具抗药性的病毒有强抑制作用的新一代抗艾滋病药物一直是近年来药物研究领域中的一个热点。

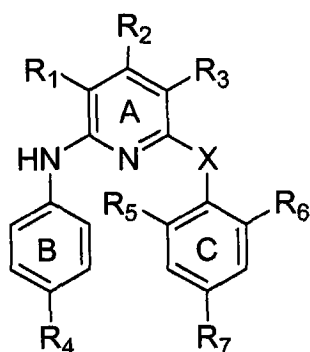
[0005] 目前, 有 4 个上市的非核苷类逆转录酶抑制剂 [奈韦拉平 (Nevirapine), 地拉韦啉 (Delavirdine), 依非韦伦 (Efavirenz), 依曲韦林 (Entravine)]。该类药物具有结构多样性、高效低毒、靶点和作用机制清楚和非竞争性抑制剂等优越之处, 在抗 HIV 组合疗法 (HAART) 中的占有重要位置。但是主要存在的问题是易产生耐药性或者日服药次数较多。为克服现有药物的弊端, 需要寻找能有效抑制野生型和多种耐药性 HIV 病毒株复制的新一代非核苷类逆转录酶抑制剂药物。

发明内容

[0006] 发明概述

[0007] 本发明第一方面提供式 I 化合物:

[0008]



I

[0009] 或其可药用盐，

[0010] 其中，

[0011] R_1 、 R_2 和 R_3 各自独立地为 -H、卤素、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}$ 、 $-\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CONHR}'$ 或 $-\text{COOR}'$ ，

[0012] 或者， R_1 和 R_2 或 R_2 和 R_3 可以一起形成 $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ；

[0013] R_4 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CH}$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、卤素、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CR}'$ 或 $-\text{CH}=\text{CHR}'$ ；

[0014] R_5 和 R_6 各自独立地为卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{COOR}'$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{H}$ 、或 C_{1-6} 烃基；

[0015] R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC}=\text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CH}$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CR}'$ 、 $-\text{CH}=\text{CHR}'$ 、 $-\text{CH}=\text{CHCOR}'$ 、 CHO 、 $-\text{C}\equiv\text{CR}''$ 、 $-\text{CH}=\text{CHR}''$ 、 $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CN}$ 、 C_{1-6} 烃基、含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元或六元杂芳基，并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α ， β 不饱和羧、烯、炔、醛基或酮基的取代基；

[0016] R' 为 H 或 C_{1-6} 烃基； R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 ；

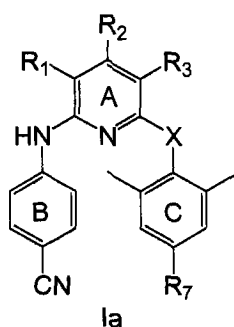
[0017] X 选自 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CO}-$ 、 $-\text{CHOH}-$ 、 $-\text{CHOR}-$ 、 $-\text{NR}-$ 、 $-\text{NCOR}-$ ；并且

[0018] R 为 C_{1-4} 烃基。

[0019] 根据本发明上文或下文任一方面的化合物，其中 X 为 $-\text{O}-$ 。

[0020] 根据本发明上文或下文任一方面的化合物，其中式 I 化合物具有如下的式 Ia：

[0021]



[0022] 或其可药用盐，

[0023] 其中，

[0024] R_1 和 R_3 各自独立地为 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CN}$ 或 $-\text{N}(\text{R})_2$ ；

[0025] R_2 为 $-\text{H}$ ；

[0026] R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH} = \text{CH}_2$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CH}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHCOR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}''$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}''$ 、 $-\text{C} \equiv \text{C}-\text{CN}$ 、含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元杂芳基,并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α , β 不饱和氰、烯、炔、醛基或酮基的取代基;

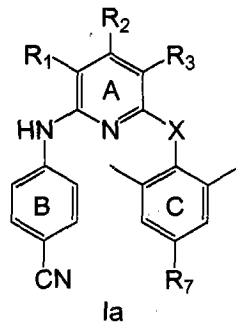
[0027] R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基; R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 ;

[0028] X 为 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 或 $-\text{NCOR}-$;并且

[0029] R 为 C_{1-4} 烷基。

[0030] 根据本发明上文或下文任一方面的化合物,其中式 I 化合物具有如下的式 Ia:

[0031]



[0032] 或其可药用盐,

[0033] 其中,

[0034] R_1 为 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CN}$ 或 $-\text{N}(\text{R})_2$;

[0035] R_2 和 R_3 为 $-\text{H}$;

[0036] R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH} = \text{CH}_2$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CH}$ 、 $-\text{CH} = \text{CHCOR}'$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}''$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}''$ 、 $-\text{C} \equiv \text{C}-\text{CN}$ 、含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元杂芳基,并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α , β 不饱和氰、烯、炔、醛基或酮基的取代基;

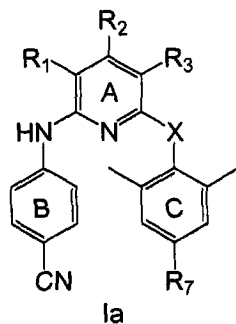
[0037] R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基; R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 ;

[0038] X 为 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 或 $-\text{NCOR}-$;并且

[0039] R 为 C_{1-4} 烷基。

[0040] 根据本发明上文或下文任一方面的化合物,其中式 I 化合物具有如下的式 Ia:

[0041]



[0042] 或其可药用盐,

[0043] 其中,

[0044] R_2 为 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、- 卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CN}$ 或 $-\text{N}(\text{R})_2$;

[0045] R_1 和 R_3 为 H;

[0046] R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH} = \text{CH}_2$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CH}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHCOR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}''$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}''$ 、 $-\text{C} \equiv \text{C}-\text{CN}$ 、含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元杂芳基,并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α 、 β 不饱和氰、烯、炔、醛基或酮基的取代基;

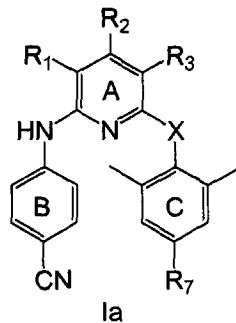
[0047] R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基; R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 ;

[0048] X 为 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{NCOR}-$;并且

[0049] R 为 C_{1-4} 烷基。

[0050] 根据本发明上文或下文任一方面的化合物,其中式 I 化合物具有如下的式 Ia:

[0051]



[0052] 或其可药用盐,

[0053] 其中,

[0054] R_3 为 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、- 卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CN}$ 或 $-\text{N}(\text{R})_2$;

[0055] R_1 和 R_2 为 H;

[0056] R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH} = \text{CH}_2$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CH}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHCOR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}''$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}''$ 、 $-\text{C} \equiv \text{C}-\text{CN}$ 、含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元杂芳基,并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α 、 β 不饱和氰、烯、炔、醛基或酮基的取代基;

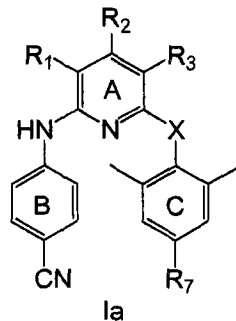
[0057] R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基; R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 ;

[0058] X 为 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{NCOR}-$;并且

[0059] R 为 C_{1-4} 烷基。

[0060] 根据本发明上文或下文任一方面的化合物,其中式 I 化合物具有如下的式 Ia:

[0061]



[0062] 或其可药用盐,

[0063] 其中,

[0064] R_1 、 R_2 和 R_3 均为 $-\text{H}$;

[0065] R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH} =$

CH_2 、 $-\text{C} \equiv \text{CH}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHCOR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}''$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}''$ 、 $-\text{C} \equiv \text{C-CN}$ 、含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元杂芳基,并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α , β 不饱和氰、烯、炔、醛基或酮基的取代基;

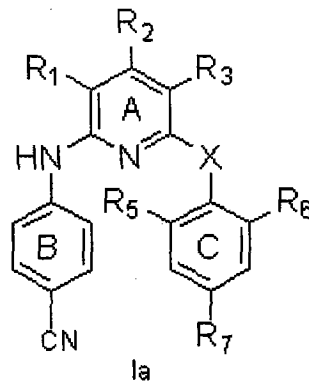
[0066] R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基; R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 ;

[0067] X 为 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 或 $-\text{NCOR}-$;并且

[0068] R 为 C_{1-4} 烷基。

[0069] 根据本发明上文或下文任一方面的化合物,其中式 I 化合物具有如下的式 Ia:

[0070]



[0071] 或其可药用盐,

[0072] 其中,

[0073] R_1 为 $-\text{NO}_2$ 、或 $-\text{NH}_2$;

[0074] R_2 和 R_3 均为 $-\text{H}$;

[0075] R_5 和 R_6 各自独立地为卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、或 $-\text{H}$;优选地, R_5 和 R_6 各自独立地为卤素、 C_{1-4} 烷基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、或 $-\text{CN}$;

[0076] R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH-CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH} = \text{CH}_2$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CH}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHCOR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}''$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}''$ 、 $-\text{C} \equiv \text{C-CN}$ 、含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元杂芳基,并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α , β 不饱和氰、烯、炔、醛基或酮基的取代基;

[0077] R' 为 H、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基; R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 ;

[0078] X 为 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 或 $-\text{NCOR}-$;并且

[0079] R 为 C_{1-4} 烷基。

[0080] 根据本发明上文或下文任一方面的化合物,其选自:

[0081] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-溴苯氧基)-3-硝基吡啶;

[0082] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-氰基苯氧基)-3-硝基吡啶;

[0083] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,4,6-三甲基苯氧基)-3-硝基吡啶;

[0084] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-甲酰基苯氧基)-3-硝基吡啶;

[0085] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-丙烯酰基苯氧基)-3-硝基吡啶;

[0086] 3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-氰基苯氧基)吡啶;

[0087] 3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-羟甲基苯氧基)吡啶;

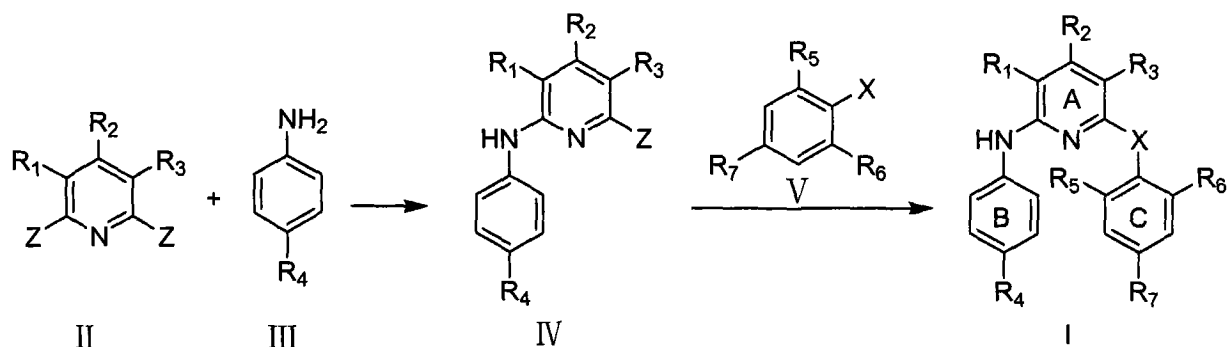
[0088] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-羟甲基苯氧基)-3-硝基吡啶;

[0089] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-烯丙基苯氧基)-3-硝基吡啶;

- [0090] 3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-丙烯氰基苯氧基)吡啶；
- [0091] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-甲基苯胺基)-3-硝基吡啶；
- [0092] 3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-溴苯氧基)吡啶；
- [0093] 3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-烯丙基苯氧基)吡啶；
- [0094] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-(1-羟基-2-硝基乙基)苯氧基)-3-硝基吡啶；
- [0095] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-(2-环丙胺基甲基)苯氧基)-3-硝基吡啶；
- [0096] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-碘苯氧基)-3-硝基吡啶；
- [0097] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-硝基苯氧基)-3-硝基吡啶；
- [0098] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-(3-甲基-3-羟基-1-丁炔基)苯氧基)-3-硝基吡啶；
- [0099] 3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-(3-甲基-3-羟基-1-丁炔基)乙炔基苯氧基)吡啶；
- [0100] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-(环丙基乙炔基)苯氧基)-3-硝基吡啶；
- [0101] 3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-(环丙基乙炔基)苯氧基)吡啶；
- [0102] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-乙炔基苯氧基)-3-硝基吡啶；
- [0103] 3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-乙炔基苯氧基)吡啶；
- [0104] 3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-氨基苯氧基)吡啶；
- [0105] 3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-碘苯氧基)吡啶；
- [0106] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,4,6-三溴苯氧基)-3-硝基吡啶；
- [0107] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二溴-4-甲酰基苯氧基)-3-硝基吡啶；
- [0108] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二溴-4-羟甲基苯氧基)-3-硝基吡啶；
- [0109] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二氟苯氧基)-3-硝基吡啶；和
- [0110] 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二溴-4-丙烯氰基苯氧基)-3-硝基吡啶，
- [0111] 或其可药用盐。

[0112] 本发明第二方面提供本发明第一方面任一项所述的化合物的制备方法，其反应路线如下所示：

[0113]



[0114] Z = Cl, Br, I X = NH₂, OH, NR', SH X = NH, O, NR', S

[0115] 其中 R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇、和 X 的定义同上文式 I 化合物所述，所述方法包括使

式 II 的取代的 2,6-二卤代吡啶类化合物在碱的作用下与对位取代苯胺类化合物反应,或者进行无溶剂反应成式 IV 的 2-(4-取代苯胺基)多取代吡啶类化合物;然后使式 IV 中间体与多取代酚或苯胺类化合物进行偶联反应,或在钯类催化剂作用下加热或在微波条件下偶联生成具有式 I 的 2-(4-取代苯胺基)多取代吡啶类化合物。

[0116] 本发明第三方面提供一种药物组合物,其包含本发明第一方面任一项所述的化合物或其可药用盐以及一种或多种药用载体或赋形剂。

[0117] 本发明第四方面提供一种本发明第一方面任一项所述的化合物或其可药用盐用于制备治疗与 HIV 感染相关的疾病或病症的药物的用途。

[0118] 本发明第五方面提供治疗与 HIV 感染相关的疾病或病症的方法,其包括给有需要的受试者施用治疗有效量的本发明第一方面任一项所述的化合物或其可药用盐。

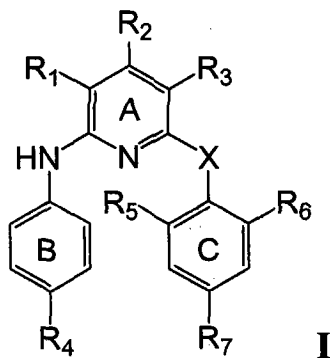
[0119] 发明详述

[0120] 本发明所引述的所有文献,它们的全部内容通过引用并入本文,并且如果这些文献所表达的含义与本发明不一致时,以本发明的表述为准。此外,本发明使用的各种术语和短语具有本领域技术人员公知的一般含义,即便如此,本发明仍然希望在此对这些术语和短语作更详尽的说明和解释,提及的术语和短语如有与公知含义不一致的,以本发明所表述的含义为准。

[0121] 本发明人在抗 HIV 新药的研究中已发现了一类新型结构的化合物具有相当强的抗 HIV 活性。

[0122] 下面进一步详细描述本发明,本发明的第一个方面涉及式 I 所示 2-(4-取代苯胺基)多取代吡啶类骨架结构的式 I 化合物:

[0123]



[0124] 或其可药用盐,

[0125] 其中,

[0126] R_1 、 R_2 和 R_3 各自独立地为 -H、卤素、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}$ 、 $-\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CONHR}'$ 或 $-\text{COOR}'$,

[0127] 或者, R_1 和 R_2 或 R_2 和 R_3 可以一起形成 $-\text{OCH}_2\text{O}-$;

[0128] R_4 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CH}$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、卤素、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CR}'$ 或 $-\text{CH}=\text{CHR}'$;

[0129] R_5 和 R_6 各自独立地为卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 或 $-\text{COOR}'$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{H}$ 、或 C_{1-6} 烃基;

[0130] R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC}=\text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CH}$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CR}'$ 、 $-\text{CH}=\text{CHR}'$ 、 $-\text{CH}=\text{CHCOR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CR}''$ 、 $-\text{CH}=\text{CHR}''$ 、 $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CN}$ 、

含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元杂芳基,并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α , β 不饱和羧、烯、炔、醛基或酮基的取代基;

[0131] R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基或环烷基; R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 ;

[0132] X 选自 $-NH-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CO-$ 、 $-CHOH-$ 、 $-CHOR-$ 、 $-NR-$ 、 $-NCOR-$;并且

[0133] R 为 C_{1-4} 烷基。

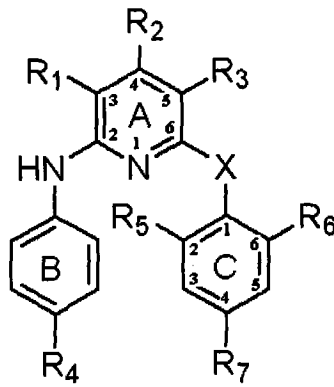
[0134] 本发明第二个方面涉及式 I 化合物或其可药用盐的制备方法。

[0135] 本发明第三个方面涉及含有至少一种式 I 化合物或其可药用盐以及一种或多种药用载体或赋形剂的药物组合物。

[0136] 本发明第四个方面涉及上述式 I 化合物或其可药用盐用于制备治疗与 HIV 感染相关的疾病或病症的药物的用途。

[0137] 在本发明式 I 化合物中, A、B、C 各环特别是 A 和 C 环在命名时的环原子编号可按如下示例性的顺序进行:

[0138]



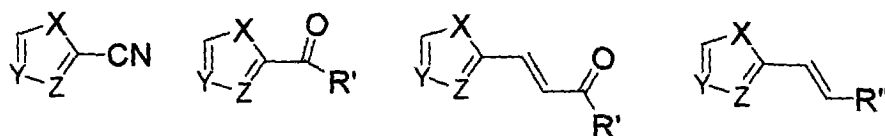
[0139] 本发明中所提及的术语“卤”、“卤素”、“Hal”或“卤代”是指氟、氯、溴、和碘。

[0140] 本发明中所采用的术语“烷基”包括烷基(例如直链烷基、支链烷基)、环烷基、烯基和炔基。在一个实施方案中,本发明所述“ C_{1-6} 烷基”包括 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{3-6} 环烯基。在一个实施方案中,本发明所述“ C_{1-6} 烷基”包括“ C_{1-4} 烷基”。在一个实施方案中,本发明所述“ C_{1-4} 烷基”包括 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、 C_{2-4} 炔基、 C_{3-4} 环烷基、 C_{3-4} 环烯基。在一个实施方案中,本发明所述“ C_{1-6} 烷基”包括甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、戊基、新戊基、己基、乙炔基、丙烯基、烯丙基、丁烯基、乙炔基、炔丙基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环丁烯基。

[0141] 本发明中所采用的术语“五元芳杂基”是指环系中含有 1-3 个选自 O、S 或 N 的杂原子的五元芳香环系,其包括但不限于呋喃、吡咯、噻吩、吡啶等。

[0142] 本发明中所提到的“在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α , β 不饱和羧、烯、炔、醛基或酮基的取代基的五元杂芳基”可示意如下,包括但不限于此:

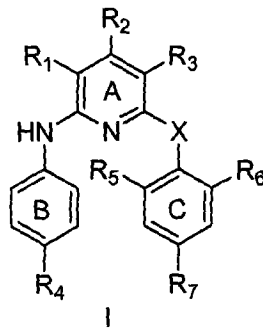
[0143]



[0144] 其中,

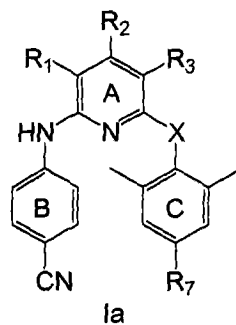
[0145] R' 可以为 H、 C_{1-6} 烷基;

- [0146] R”可以为 H、-CN、NO₂、N₃、C₁₋₄ 烷基；
 [0147] X、Y、Z 各自独立地表示选自 N、O、S 的杂原子或为碳原子。
 [0148] 根据本发明的一个实施方式，本发明涉及如下所示的式 I 化合物：
 [0149]



- [0150] 或其可药用盐，
 [0151] 其中，
 [0152] R₁、R₂ 和 R₃ 各自独立地为 -H、卤素、-NO₂、-NH₂、-NHR、-N(R)₂、-CN、-OH、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、-CF₃、-COOH、-SO₃H、-CONH₂、-CONHR' 或 -COOR'，
 [0153] 或者，R₁ 和 R₂ 或 R₂ 和 R₃ 可以一起形成 -OCH₂O-；
 [0154] R₄ 为 -CN、-CH = CH₂、-C ≡ CH、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、-CF₃、卤素、-NH₂、-OH、-COOH、-SO₃H、-C ≡ CR' 或 -CH = CHR'；
 [0155] R₅ 和 R₆ 各自独立地为卤素、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、-CF₃、-NH₂、-OH、-COOH、-SO₃H、-COOR'、-NO₂、-CN、-H、或 C₁₋₆ 烷基；
 [0156] R₇ 为 -CN、-HC = CH-CN、卤素、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、-NH₂、-CH₂-NHR'、-OH、-NO₂、-CF₃、-CH = CH₂、-C ≡ CH、-C ≡ CR'、-CH = CHR'、-CH = CHCOR'、-CHO、-C ≡ CR''、-CH = CHR''、-C ≡ C-CN、C₁₋₆ 烷基、含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元或六元杂芳基，并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、α, β 不饱和羧、烯、炔、醛基或酮基的取代基；
 [0157] R' 为 H 或 C₁₋₆ 烷基例如 C₁₋₄ 链烃或 C₃₋₆ 烷基环烷基；R'' 为 NO₂、NH₂、或 N₃；
 [0158] X 选自 -NH-、-O-、-S-、-CH₂-、-CO-、-CHOH-、-CHOR-、-NR-、-NCOR-；并且
 [0159] R 为 C₁₋₄ 烷基。

- [0160] 根据本发明的一个优选实施方式，X 为 -O-。
 [0161] 根据本发明的一个优选实施方式，本发明式 I 化合物具有如下的式 Ia：
 [0162]



- [0163] 或其可药用盐，
 [0164] 其中，

- [0165] R_1 和 R_3 各自独立地为 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CN}$ 或 $-\text{N}(\text{R})_2$ ；
- [0166] R_2 为 $-\text{H}$ ；
- [0167] R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH} = \text{CH}_2$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CH}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHCOR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}''$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}''$ 、 $-\text{C} \equiv \text{C}-\text{CN}$ 、含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元杂芳基，并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α ， β 不饱和氰、烯、炔、醛基或酮基的取代基；
- [0168] R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基； R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 ；
- [0169] X 为 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 或 $-\text{NCOR}-$ ；并且
- [0170] R 为 C_{1-4} 烷基。
- [0171] 根据本发明的另一个优选实施方式，式 I 化合物具有上述式 Ia，其中
- [0172] R_1 为 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CN}$ 或 $-\text{N}(\text{R})_2$ ；
- [0173] R_2 和 R_3 为 $-\text{H}$ ；
- [0174] R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH} = \text{CH}_2$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CH}$ 、 $-\text{CH} = \text{CHCOR}'$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}''$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}''$ 、 $-\text{C} \equiv \text{C}-\text{CN}$ 、含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元杂芳基，并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α ， β 不饱和氰、烯、炔、醛基或酮基的取代基；
- [0175] R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基； R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 ；
- [0176] X 为 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 或 $-\text{NCOR}-$ ；并且
- [0177] R 为 C_{1-4} 烷基。
- [0178] 根据本发明的另一个优选实施方式，式 I 化合物具有上述式 Ia，其中
- [0179] R_2 为 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CN}$ 或 $-\text{N}(\text{R})_2$ ；
- [0180] R_1 和 R_3 为 H；
- [0181] R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH} = \text{CH}_2$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CH}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHCOR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}''$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}''$ 、 $-\text{C} \equiv \text{C}-\text{CN}$ 、含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元杂芳基，并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α ， β 不饱和氰、烯、炔、醛基或酮基的取代基；
- [0182] R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基； R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 ；
- [0183] X 为 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{NCOR}-$ ；并且
- [0184] R 为 C_{1-4} 烷基。
- [0185] 根据本发明的另一个优选实施方式，式 I 化合物具有上述式 Ia，其中
- [0186] R_3 为 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CN}$ 或 $-\text{N}(\text{R})_2$ ；
- [0187] R_1 和 R_2 为 H；
- [0188] R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH} = \text{CH}_2$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CH}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHCOR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}''$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}''$ 、 $-\text{C} \equiv \text{C}-\text{CN}$ 、含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元杂芳基，并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α ， β 不饱和氰、烯、炔、醛基或酮基的取代基；
- [0189] R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基； R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 ；
- [0190] X 为 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{NCOR}-$ ；并且
- [0191] R 为 C_{1-4} 烷基。

[0192] 根据本发明的另一个优选实施方式,式 I 化合物具有上述式 Ia,其中

[0193] R_3 为 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、- 卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CN}$ 或 $-\text{N}(\text{R})_2$;

[0194] R_1 和 R_2 为 H;

[0195] R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH} = \text{CH}_2$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CH}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHCOR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}''$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}''$ 、 $-\text{C} \equiv \text{C}-\text{CN}$ 、含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元杂芳基,并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α , β 不饱和氰、烯、炔、醛基或酮基的取代基;

[0196] R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基; R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 ;

[0197] X 为 $-\text{O}-$ 或 $-\text{NH}-$;并且

[0198] R 为 C_{1-4} 烷基。

[0199] 根据本发明的另一个优选实施方式,式 I 化合物具有上述式 Ia,其中

[0200] R_1 和 R_2 或 R_2 和 R_3 一起为 $-\text{OCH}_2\text{O}-$,余下的 R_3 或 R_1 为 $-\text{H}$ 、 OH 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 或卤素;

[0201] R_7 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH} = \text{CH}_2$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CH}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHCOR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}''$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}''$ 、 $-\text{C} \equiv \text{C}-\text{CN}$ 、含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元杂芳基,并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α , β 不饱和氰、烯、炔、醛基或酮基的取代基;

[0202] R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基; R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 ;

[0203] X 为 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{NCOR}-$;并且

[0204] R 为 C_{1-4} 烷基。

[0205] 根据本发明上文或下文任一方面的式 I 化合物,其中 R_1 、 R_2 和 R_3 各自独立地为 $-\text{H}$ 、卤素、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、或 $-\text{NHR}$ 。在一个实施方案中, R_1 、 R_2 和 R_3 各自独立地为 $-\text{H}$ 、卤素、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 。在一个实施方案中, R_1 为 $-\text{H}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、或 $-\text{NH}_2$ 。在一个实施方案中, R_1 为 $-\text{NO}_2$ 、或 $-\text{NH}_2$ 。其中, R 为 C_{1-4} 烷基; R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基; R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 。

[0206] 根据本发明上文或下文任一方面的式 I 化合物,其中 R_4 为 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CH} = \text{CH}_2$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CH}$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、卤素、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 或 $-\text{CH} = \text{CHR}'$ 。在一个实施方案中, R_4 为 $-\text{CN}$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、卤素、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、或 $-\text{COOH}$ 。在一个实施方案中, R_4 为 $-\text{CN}$ 、 C_{1-6} 烷基、 $-\text{CF}_3$ 、卤素、 $-\text{NH}_2$ 、或 $-\text{OH}$ 。在一个实施方案中, R_4 为 $-\text{CN}$ 、 C_{1-6} 烷基、卤素、 $-\text{NH}_2$ 。其中, R 为 C_{1-4} 烷基; R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基; R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 。

[0207] 根据本发明上文或下文任一方面的式 I 化合物,其中 R_5 和 R_6 各自独立地为卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{COOR}'$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{H}$ 、或 C_{1-6} 烷基。在一个实施方案中, R_5 和 R_6 各自独立地为卤素、 C_{1-6} 烷基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、或 $-\text{H}$ 。在一个实施方案中, R_5 和 R_6 各自独立地为卤素、 C_{1-6} 烷基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、或 $-\text{H}$ 。在一个实施方案中, R_5 和 R_6 各自独立地为氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、或叔丁基。其中, R 为 C_{1-4} 烷基; R' 为 H 或 C_{1-6} 烷基; R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 。

[0208] 根据本发明上文或下文任一方面的式 I 化合物,其中 R_7 选自 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH} = \text{CH}_2$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CH}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}'$ 、 $-\text{CH} = \text{CHCOR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{C} \equiv \text{CR}''$ 、 $-\text{CH} = \text{CHR}''$ 、 $-\text{C} \equiv \text{C}-\text{CN}$ 、 C_{1-6} 烷基、含 1-3 个选自 N、O、S 的杂原子的五元或六元杂芳基,并任选在其环结构上带有醛基、酮基、氰基、 α , β 不饱和氰、烯、炔、醛基或酮基的取代基。在一个实施方案中, R_7 选自 $-\text{CN}$ 、 $-\text{HC} = \text{CH}-\text{CN}$ 、卤素、

C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-NH_2$ 、 $-CH_2-NHR'$ 、 $-OH$ 、 $-NO_2$ 、 $-CF_3$ 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C\equiv CH$ 、 $-C\equiv CR'$ 、 $-CH=CHR'$ 、 $-CH=CHCOR'$ 、 CHO 、 $-C\equiv CR''$ 、 $-CH=CHR''$ 、 $-C\equiv C-CN$ 、 C_{3-6} 环烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基。在一个实施方案中， R_7 选自 $-CN$ 、 $-HC=CH-CN$ 、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-NH_2$ 、 $-CH_2-NHR'$ 、 $-OH$ 、 $-NO_2$ 、 $-CF_3$ 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C\equiv CH$ 、 $-C\equiv CR'$ 、 $-CH=CHR'$ 、 $-CH=CHCOR'$ 、 CHO 、 $-C\equiv CR''$ 、 $-CH=CHR''$ 、 $-C\equiv C-CN$ 、 C_{3-6} 环烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基。其中， R 为 C_{1-4} 烃基； R' 为 H 或 C_{1-6} 烃基； R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 。

[0209] 根据本发明上文或下文任一方面的式 I 化合物，其中 X 选自 $-NH-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CO-$ 、 $-CHOH-$ 、 $-CHOR-$ 、 $-NR-$ 、 $-NCOR-$ 。在一个实施方案中， X 选自 $-NH-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CO-$ 、 $-NR-$ 、 $-NCOR-$ 。在一个实施方案中， X 选自 $-NH-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CO-$ 、 $-NR-$ 。在一个实施方案中， X 选自 $-NH-$ 、 $-O-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-NR-$ 。在一个实施方案中， X 选自 $-NH-$ 、 $-O-$ 。其中， R 为 C_{1-4} 烃基； R' 为 H 或 C_{1-6} 烃基； R'' 为 NO_2 、 NH_2 、或 N_3 。

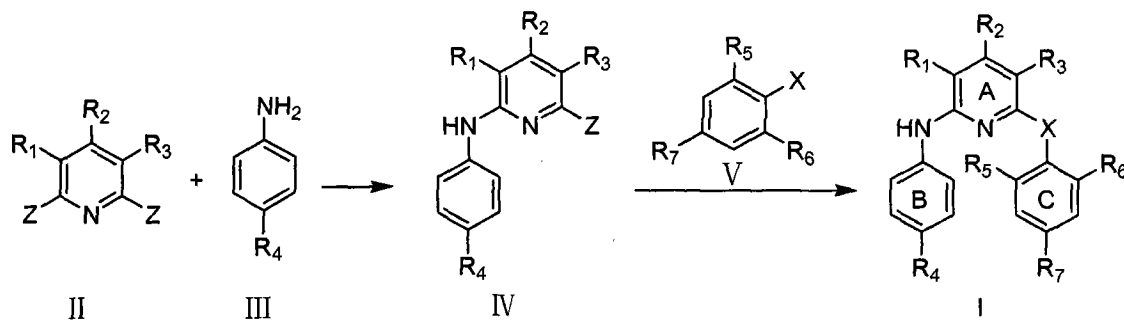
[0210] 根据本发明上文或下文任一方面的式 I 化合物，其中 R 为 C_{1-4} 烃基。在一个实施方案中， R 选自 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、 C_{2-4} 炔基、 C_{3-4} 环烷基。在一个实施方案中， R 选自甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、乙烯基、丙烯基、烯丙基、乙炔基、炔丙基、环烷基、环丁基。

[0211] 根据本发明上文或下文任一方面的式 I 化合物，其为选自本发明实施例的化合物，或其可药用盐。

[0212] 本发明式 I 的 2-(4-取代苯胺基)多取代吡啶类化合物在抑制 HIV 复制的细胞试验 (MT-2 和 H9 淋巴细胞) 中显示出强的抗 HIV 活性和高选择性。因此，对本发明化合物进行深入研究将有望开发出新的抗 HIV 药物。

[0213] 本发明化合物可通过下面反应路线制备：

[0214]



[0215] $Z = Cl, Br, I$ $X = NH_2, OH, NR'$, SH $X = NH, O, NR'$, S

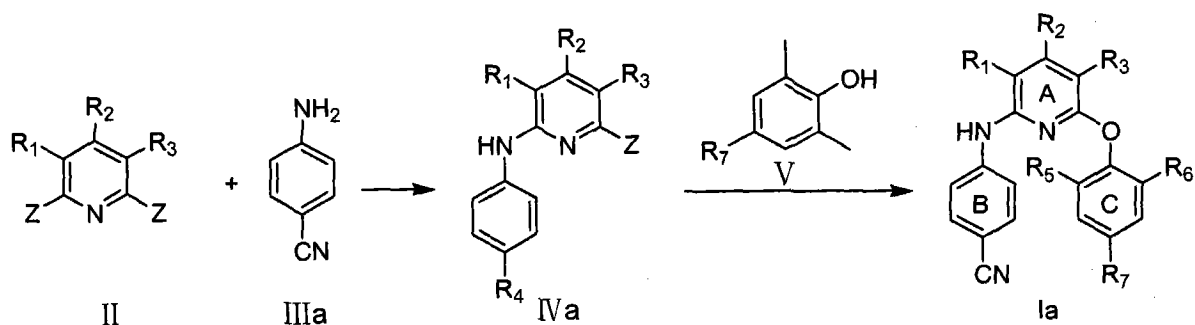
[0216] 其中 $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7$ 、和 X 的定义同上文式 I 化合物所述。

[0217] 使式 II 的取代的 2,6-二卤代取代吡啶与对位取代苯胺类化合物反应，生成 2-(4-取代苯胺基)多取代吡啶，即式 IV 中间体；然后使式 IV 中间体与多取代酚或苯胺类化合物进行偶联反应，或在钯类催化剂作用下加热或在微波条件下偶联生成具有式 I 的 2-(4-取代苯胺基)多取代吡啶类目标化合物。

[0218] 此外，式 I 中的部分目标化合物在微波反应条件下，也可以二步偶合反应同时进行，即“一锅反应”。

[0219] 例如，本发明式 Ia 化合物可按照以下合成路线制备：

[0220]



[0221] 其中, Z = 卤素, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 的定义同上文式 I 化合物所述, 可根据需要选择具有适当的 R_1 、 R_2 、 R_3 取代基的式 II 为原料。

[0222] 中间体 IV 的合成

[0223] 具体来说, 在叔丁醇钾、氢化钠、三乙胺、吡啶、N, N-二甲氨基吡啶、碳酸氢钠、碳酸钾、或碳酸钾 / 卤代亚铜存在下, 使 2,6-二卤代取代吡啶 (II) 和对位取代苯胺或苯酚在溶剂例如但不限于乙醇、叔丁醇、DMF、乙腈、THF 或 DMSO 中, 在室温至 130°C 以下, 反应 5 分钟 - 24 小时, 生成 2-(4-取代苯胺基) 多取代吡啶或 2-(4-取代苯氧基) 多取代吡啶 (IVa)。反应物 II/III 的投料摩尔比可以为 1 : 1-1 : 2。

[0224] 该反应也可在微波条件下, 以 DMF 或 DMSO 为溶剂, 温度可在 110-180°C 范围内、反应 5-30 分钟, 得到中间体 IVa。碱和反应物投料比例可以同上所述。

[0225] 该反应也可以使 II 和 III 在惰性气体保护下, 温度 50-180°C 条件下直接进行无溶剂反应, II 和 III 的投料比同上所述。

[0226] 目标化合物 I 的合成

[0227] 例如, 当通式中的 X 为 -O- 时, 其合成方法可以是:

[0228] 方法 1: 使 2-(4-取代苯胺基)-6-卤代多取代吡啶 (式 IVa) 与多取代苯酚 (式 V) 以 DMSO、DMF 等为溶剂, 以 K_2CO_3 为碱, 在 Cu 或亚铜试剂 (例如 CuI、CuBr) 为催化剂存在下、氮气保护下加热至例如 100-150°C 反应例如 2-8 小时。或者无催化剂存在条件下, 在例如 130-150°C 条件下反应例如 2-24h。

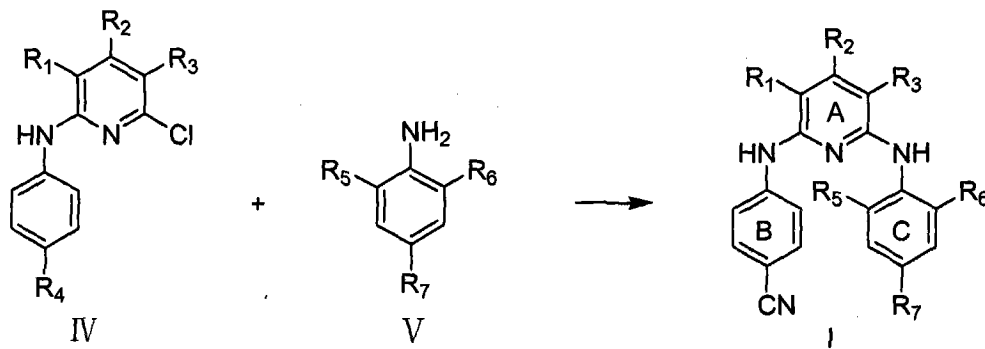
[0229] 方法 2: 在干燥乙醚中, 使式 V 的三取代苯酚与 NaH 或叔丁醇钾反应成为钠盐或钾盐, 其盐与 IVa 在 DMF 中回流 0.5-8 小时;

[0230] 方法 3: 使中间体 IVa 在 DMF 中与酚钠盐或钾盐在微波条件下反应例如 5-30 分钟;

[0231] 方法 4: 以 DMSO 为溶剂, 使中间体 IVa 与取代苯酚 (式 V) 及碳酸钾一起在微波下反应例如 5-30 分钟。

[0232] 又如, 当目标化合物通式中的 X 为 -NH- 时, 其合成方法可以是:

[0233]



[0234] 其中各取代基的定义同上式 I 所述,可根据需要选择具有适当的 R₁、R₂、R₃ 取代基的式 IV 为原料。

[0235] 方法 5:使中间体取代吡啶(式 IV)与取代苯胺(式 V)在非质子极性溶剂(如 DMSO 或 DMF 等),以铜试剂例如 Cu、CuI 或 CuBr 等为催化剂,在 K₂CO₃ 存在下、氮气保护下,在温度例如 140-160°C 反应例如 2-24 小时。

[0236] 方法 6:以钯试剂为催化试剂,甲苯为溶剂,在碳酸铯存在下、氮气保护下,使中间体取代吡啶(式 IV)与取代苯胺(式 V)在例如 100°C 左右反应例如 1-24 小时;

[0237] 方法 7:若芳胺(式 VI)为液体,则可以无需用其它溶剂,可直接将 VI 与中间体 IV 混合,在芳胺沸点温度、微波下反应约例如 15-20 分钟左右;

[0238] 方法 8:以 DMSO 或 NMP 等为溶剂,使芳胺(式 V)与中间体取代吡啶(式 IV)以 4:1 摩尔比,在叔丁醇钾存在下、在温度例如 200-250°C、微波下反应例如 15-30 分钟。

[0239] 类似地,还可以制备得到 X 为其它定义的通式 I 化合物。例如,本领域技术人员可以根据其已有的知识和本领域公知的方法,参考上述式 I 中 X 为 -NH- 的化合物的方法,获得式 I 中 X 为 -NR- 和 -NCOR- 的化合物,其中 R 为 C₁₋₄ 烷基例如甲基、乙基、丙基等。

[0240] 在本发明合成式 I 化合物的方法中,反应所用的各种原材料是本领域技术人员根据已有知识可以制备得到的,或者是可以通过文献公知的方法制得的,或者是可以通过商业购得的。以上反应方案中所用的中间体、原材料、试剂、反应条件等均可以根据本领域技术人员已有知识可以作适当改变的。或者,本领域技术人员也可以根据本发明第二方面方法合成本发明未具体列举的其它式 I 化合物。

[0241] 本发明化合物既可以其本身也可以其可药用盐的形式使用。式 I 化合物的可药用盐包括与药学上可接受的无机酸或有机酸、或者无机碱或有机碱形成的常规盐。合适的酸加成盐的例子包括与盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、硝酸、高氯酸、富马酸、乙酸、丙酸、琥珀酸、羟基乙酸、甲酸、乳酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、扑酸、丙二酸、羟基马来酸、苯乙酸、谷氨酸、苯甲酸、水杨酸、富马酸、甲苯磺酸、甲磺酸、萘-2-磺酸、苯磺酸、羟基萘甲酸、氢碘酸、苹果酸、鞣酸等形成的盐。合适的碱加成盐的例子包括与钠、锂、钾、镁、铝、钙、锌、N,N'-二苄基乙二胺、氯代普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、N-甲基葡萄糖胺和普鲁卡因等形成的盐。本文中涉及到本发明化合物时,包括式 I 化合物及其可药用盐。

[0242] 本发明式 I 化合物或其可药用盐还包括其异构体、消旋体、对映体、非对映体、对映体富集物、溶剂合物、和酯,本发明式 I 化合物以及它的异构体、消旋体、对映体、非对映体、对映体富集物、溶剂合物、和酯还可以形成溶剂合物,例如水合物、醇合物等。上述化合物还可以是前药或可在体内代谢变化后释放出所述活性成分的形式。选择和制备适当的

前衍生物是本领域技术人员公知技术。一般来说,对于本发明的目的,与药学可接受的溶剂如水、乙醇等的溶剂合物形式与非溶剂合物形式相当。

[0243] 根据本发明,本发明式 I 化合物可与常规药用载体或赋形剂组成药物组合物。该药物组合物可通过口服或非肠道途径给药。本发明的药物组合物可按本领域常规方法制备成各种剂型,包括但不限于片剂、胶囊、溶液、悬浮液、颗粒剂或注射剂等,经口服或非肠道途径给药。

[0244] 本文所用的术语“组合物”意指包括包含指定量的各指定成分的产品,以及直接或间接从指定量的各指定成分的组合产生的任何产品。

[0245] 运用本领域技术人员熟悉的药物载体可以制备成含有效剂量的本发明化合物的药物组合物。因此本发明还提供包含与一种或多种无毒药物可接受载体配制在一起的本发明化合物的药物组合物。所述药物组合物可特别专门配制成以固体或液体形式供口服给药、供胃肠外注射或供直肠给药。

[0246] 本发明的药物组合物可通过口服、直肠、胃肠外、池内、阴道内、腹膜内、局部(如通过散剂、软膏剂或滴剂)、口颊给予人类和其他哺乳动物,或者作为口腔喷雾剂或鼻腔喷雾剂给予。本文所用术语“胃肠外”指包括静脉内、肌肉内、腹膜内、胸骨内、皮下和关节内注射和输液的给药方式。

[0247] 适合于胃肠外注射的组合物可包括生理上可接受的无菌含水或非水溶液剂、分散剂、混悬剂或乳剂,及供重构成无菌可注射溶液剂或分散剂的无菌散剂。合适的含水或非水载体、稀释剂、溶剂或媒介物的实例包括水、乙醇、多元醇(丙二醇、聚乙二醇、甘油等)、植物油(如橄榄油)、可注射有机酯如油酸乙酯及它们的合适混合物。

[0248] 这些组合物也可含有辅料,如防腐剂、湿润剂、乳化剂和分散剂。通过各种抗菌剂和抗真菌剂,例如尼泊金酯类、三氯叔丁醇、苯酚、山梨酸等,可确保防止微生物的作用。还期望包括等渗剂,例如糖类、氯化钠等。通过使用能延迟吸收的物质,例如单硬脂酸铝和明胶,可达到可注射药物形式的延长吸收。

[0249] 混悬剂中除活性化合物外还可含有悬浮剂,例如乙氧基化异十八醇、聚氧乙烯山梨醇和聚氧乙烯失水山梨糖醇酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝、膨润土、琼脂和黄耆胶或者这些物质的混合物等。

[0250] 在一些情况下,为延长药物的作用,期望减慢皮下或肌内注射药物的吸收。这可通过使用水溶性差的晶体或无定形物质的液体混悬剂来实现。这样,药物的吸收速度取决于其溶解速度,而溶解速度又可取决于晶体大小和晶型。或者,胃肠外给药的药物形式的延迟吸收通过将药物溶解于或悬浮于油媒介物中来实现。

[0251] 可注射贮库制剂形式可通过在生物可降解聚合物如聚丙交酯-聚乙交酯(poly lactide-polyglycolide)中形成药物的微胶囊基质来制备。可根据药物与聚合物之比和所采用的具体聚合物的性质,对药物释放速度加以控制。其他生物可降解聚合物的实例包括聚原酸酯类(poly(orthoesters))和聚酐类(poly(anhydrides))。可注射贮库制剂也可通过将药物包埋于能与身体组织相容的脂质体或微乳中来制备。

[0252] 可注射制剂可例如通过用滤菌器过滤或通过掺入无菌固体组合物形式的灭菌剂来灭菌,所述固体组合物可在临用前溶解或分散于无菌水或其他无菌可注射介质。

[0253] 本发明化合物或其组合物可用口服方法或非胃肠道给药方式。口服给药可以是

片剂、胶囊剂、包衣剂,肠道外用制剂有注射剂和栓剂等。这些制剂是按照本领域的技术人员所熟悉的方法制备的。为了制造片剂、胶囊剂、包衣剂所用的辅料是常规用的辅料,例如淀粉、明胶、阿拉伯胶,硅石,聚乙二醇,液体剂型所用的溶剂如水、乙醇、丙二醇、植物油(如玉米油、花生油、橄榄油等)。含有本发明化合物的制剂中还有其它辅料,例如表面活性剂,润滑剂,崩解剂,防腐剂,矫味剂和色素等。在片剂、胶囊剂、包衣剂、注射剂和栓剂中含有本发明式 I 化合物的剂量是以单元剂型中存在的化合物量计算的。在单元剂型中本发明式 I 化合物一般含量为 1-5000mg,优选的单元剂型含有 10-500mg,更优选的单元剂型含有 20-300mg。具体地说,本发明可以提供的供口服给药的固体剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在此类固体剂型中,活性化合物可与至少一种惰性的药物可接受赋形剂或载体如柠檬酸钠或磷酸二钙和 / 或以下物质混合 :a) 填充剂或增量剂如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇和硅酸 ;b) 粘合剂如羧甲基纤维素、海藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯树胶 ;c) 保湿剂如甘油 ;d) 崩解剂如琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠 ;e) 溶液阻滞剂如石蜡 ;f) 吸收加速剂如季铵化合物 ;g) 湿润剂如鲸蜡醇和甘油单硬脂酸酯 ;h) 吸附剂如高岭土和膨润土以及 i) 润滑剂如滑石粉、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠和它们的混合物。在胶囊剂、片剂和丸剂的情况下,所述剂型中也可包含缓冲剂。

[0254] 相似类型的固体组合物使用赋形剂例如乳糖及高分子量聚乙二醇等,也可用作软胶囊和硬胶囊中的填充物。

[0255] 片剂、糖衣丸剂 (dragees)、胶囊剂、丸剂和颗粒剂的固体剂型可与包衣和壳料如肠溶衣材和医药制剂领域公知的其他衣材一起制备。这些固体剂型可任选含有遮光剂,且其组成还可使其只是或优先地在肠道的某个部位任选以延迟方式释放活性成分。可以使用的包埋组合物的实例包括高分子物质和蜡类。如果适合,活性化合物也可与一种或多种上述赋形剂配成微囊形式。

[0256] 供口服给药的液体剂型包括药学可接受的乳剂、溶液剂、混悬剂、糖浆剂和酏剂。液体剂型除含有活性化合物外还可含有本领域常用的惰性稀释剂,例如水或其他溶剂,增溶剂和乳化剂例如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺、油类(特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢糠醇 (tetrahydrofurfuryl alcohol)、聚乙二醇和脱水山梨糖醇的脂肪酸酯及它们的混合物。口服组合物除包含惰性稀释剂外还可包含辅料,例如湿润剂、乳化和悬浮剂、甜味剂、矫味剂和香味剂。

[0257] 供直肠或阴道给药的组合物优选是栓剂。栓剂可通过将本发明化合物与合适的非刺激性赋形剂或载体例如可可脂、聚乙二醇或栓剂蜡混合来制备,它们在室温下为固体,但在体温下则为液体,因此可在直肠腔或阴道腔内融化而释放出活性化合物。

[0258] 本发明的化合物及其组合物还考虑用于局部给药。供局部给予本发明化合物的剂量形式包括散剂、喷雾剂、软膏剂和吸入剂。在无菌条件下将活性化合物与药学可接受的载体和任何所需的防腐剂、缓冲剂或推进剂混合。眼用制剂、眼软膏剂、散剂和溶液剂也被考虑在本发明范围内。

[0259] 本发明化合物也可以脂质体形式给药。如本领域所公知,脂质体通常用磷脂或其他脂类物质制得。脂质体由分散于含水介质中的单层或多层水化液晶所形成。任何能够

形成脂质体的无毒、生理上可接受和可代谢的脂质均可使用。脂质体形式的本发明组合物除含有本发明化合物外,还可含有稳定剂、防腐剂、赋形剂等。优选的脂类是天然和合成的磷脂和磷脂酰胆碱(卵磷脂),它们可单独或者一起使用。形成脂质体的方法是本领域公知的。参见例如 Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, Volume XIV, Academic Press, New York, N. Y. (1976), p. 33。

[0260] 当用于上述治疗和 / 或预防或其他治疗和 / 或预防时, 治疗和 / 或预防有效量的一种本发明化合物可以以纯形式应用, 或者以药学可接受的酯或前药形式(在存在这些形式的情况下)应用。或者, 所述化合物可以以含有该目的化合物与一种或多种药物可接受赋形剂的药物组合物给药。词语“治疗和 / 或预防有效量”的本发明化合物指以适用于任何医学治疗和 / 或预防的合理效果 / 风险比治疗障碍的足够量的化合物。但应认识到, 本发明化合物和组合物的总日用量须由主诊医师在可靠的医学判断范围内作出决定。对于任何具体的患者, 具体的治疗有效剂量水平须根据多种因素而定, 所述因素包括所治疗的障碍和该障碍的严重程度; 所采用的具体化合物的活性; 所采用的具体组合物; 患者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食; 所采用的具体化合物的给药时间、给药途径和排泄率; 治疗持续时间; 与所采用的具体化合物组合使用或同时使用的药物; 及医疗领域公知的类似因素。例如, 本领域的做法是, 化合物的剂量从低于为得到所需治疗效果而要求的水平开始, 逐渐增加剂量, 直到得到所需的效果。一般说来, 本发明式 I 化合物用于哺乳动物特别是人的剂量可以介于 0.001 ~ 1000mg/kg 体重 / 天, 例如介于 0.01 ~ 100mg/kg 体重 / 天, 例如介于 0.01 ~ 10mg/kg 体重 / 天。

具体实施方式

[0261] 下面的实施例用于进一步说明本发明, 但其不意味着本发明仅限于此。

[0262] **制备实施例 1**: 6-氯-2-(4-氰基苯胺基)-3-硝基吡啶 (IV-1) 的制备

[0263] 2,6-二氯-3-硝基吡啶 (II-1, 193mg, 1mmol) 和对氰基苯胺 (III-1, 236mg, 2mmol) 溶于 N, N-二甲基甲酰胺 (DMF, 3mL)。冰水浴冷却, 分批加入叔丁醇钾 (224mg, 2mmol), 然后在室温下反应 2h。将反应液倒入冰水中, 用稀 HCl 调 pH 值至 5-6, 搅拌 30 分钟, 析出固体。将固体滤出, 水洗至中性, 干燥, 硅胶柱分离 (二氯甲烷为洗脱剂), 得化合物 IV-1 (186mg, 68%), 淡黄色固体, mp 175-178°C。¹H NMR (CDCl₃) δ 10.47 (1H, br s, NH), 8.53 (1H, d, J = 8.4Hz, ArH-4), 7.86 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-2', 6'), 7.70 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-3', 5'), 6.96 (1H, d, J = 8.4Hz, ArH-5); MS (m/z): 275 (M⁺)。

[0264] **制备实施例 2**: 2-苯胺基-6-氯-3-硝基吡啶 (IV-2) 的制备

[0265] 将 2,6-二氯-3-硝基吡啶 (II-1, 193mg, 1mmol)、苯胺 (III-2, 93mg, 1mmol) 和碳酸氢钠 (84mg, 1mmol) 加入到 10mL 无水乙醇中, 室温下反应 24h。将反应液倒入冰水中, 用稀 HCl 调 pH 值至 5-6, 搅拌 30 分钟, 析出固体。将固体滤出, 水洗至中性, 干燥。得化合物 IV-2 (219mg, 88%), 红色固体, mp 95-98°C。¹H NMR (CDCl₃) δ 10.28 (1H, br s, NH), 8.47 (1H, d, J = 8.4Hz, ArH-4), 7.66 (2H, d, J = 8.0Hz, ArH-2', 6'), 7.42 (2H, t, J = 8.0Hz, ArH-3', 5'), 7.21 (1H, t, J = 7.2Hz, ArH-4'), 6.81 (1H, d, J = 8.4Hz, ArH-5); MS (m/z): 250 (M⁺)。

[0266] **制备实施例 3**: 6-氯-2-(4-甲基苯胺基)-3-硝基吡啶 (IV-3) 的制备

[0267] 制备方法同 IV-2, 收率: 49%。¹H NMR (CDCl₃) δ 10.22 (1H, br s, NH), 8.45 (1H, d,

$J = 8.8\text{Hz}$, ArH-4), 7.30 (2H, d, $J = 8.4\text{Hz}$, ArH-2', 6'), 7.21 (2H, d, $J = 8.8\text{Hz}$, ArH-3', 5'), 6.77 (1H, d, $J = 8.8\text{Hz}$, ArH-5), 2.37 (3H, s, CH₃)。

[0268] 制备实施例 4: 6-氯-2-(4-甲氧基苯胺基)-3-硝基吡啶 (IV-4) 的制备

[0269] 制备方法同 IV-2, 收率: 76%。¹H NMR(CDCl₃) δ 10.17 (1H, br s, NH), 8.45 (1H, d, $J = 8.8\text{Hz}$, ArH-4), 7.53 (2H, d, $J = 8.8\text{Hz}$, ArH-2', 6'), 6.95 (2H, d, $J = 8.8\text{Hz}$, ArH-3', 5'), 6.75 (1H, d, $J = 8.8\text{Hz}$, ArH-5), 3.84 (3H, s, CH₃); MS(m/z): 280 (M⁺)。

[0270] 制备实施例 5: 6-氯-2-(4-乙氧基苯胺基)-3-硝基吡啶 (IV-5) 的制备

[0271] 制备方法同 IV-2, 收率: 86%。¹H NMR(CDCl₃) δ 10.16 (1H, br s, NH), 8.44 (1H, d, $J = 8.4\text{Hz}$, ArH-4), 7.52 (2H, d, $J = 8.8\text{Hz}$, ArH-2', 6'), 6.93 (= 2H, d, $J = 8.8\text{Hz}$, ArH-3', 5'), 6.75 (1H, d, $J = 8.4\text{Hz}$, ArH-5), 4.06 (2H, q, $J = 7.0\text{Hz}$, CH₂), 1.44 (3H, t, $J = 7.0\text{Hz}$, CH₃)。

[0272] 实施例 1: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-溴苯氧基)-3-硝基吡啶 (I-1) 的制备

[0273] 将化合物 IV-1 (274.5mg, 1mmol) 和 4-溴-2,6-二甲苯酚 (241.2mg, 1.2mmol) 溶于 1mL DMF 中, 加入碳酸钾 (345mg, 2.5mmol)。在氮气保护下, 于 130°C 条件下反应 6h。将反应物倒入冰水中, 稀盐酸调 pH 至 5-6, 搅拌 30min。滤出固体, 水洗, 干燥, 硅胶柱分离得黄色化合物 I-1 (280mg, 64%)。¹H NMR(CDCl₃) δ 10.65 (1H, br s, NH), 8.63 (1H, d, $J = 9.0\text{Hz}$, ArH-4), 7.37 (4H, m, ArH-3', 5', 3'', 5''), 7.21 (2H, d, $J = 8.6\text{Hz}$, ArH-2', 6'), 6.65 (1H, d, $J = 9.0\text{Hz}$, ArH-5), 2.08 (6H, s, CH₃-2'', CH₃-6''); MS(m/z): 439 (M⁺)。

[0274] 实施例 2: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-氰基苯氧基)-3-硝基吡啶 (I-2) 的制备

[0275] 制备方法同 I-1, 使中间体 IV-1 (274.5mg, 1mmol) 和 2,6-二甲基-4-氰基苯酚 (147.6mg, 1.2mmol) 反应得产物 I-b (225mg, 58%)。¹H NMR(CDCl₃) δ 10.68 (1H, br s, NH), 8.66 (1H, d, $J = 8.8\text{Hz}$, ArH-4), 7.53 (2H, s, ArH-3', 5'), 7.32 (2H, d, $J = 8.3\text{Hz}$, ArH-3'', 5''), 7.19 (2H, d, $J = 8.3\text{Hz}$, ArH-2'', 6''), 6.67 (1H, d, $J = 9.2\text{Hz}$, ArH-5), 2.16 (6H, s, CH₃-2'', CH₃-6''); MS(m/z) 386 (M⁺)。

[0276] 实施例 3: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,4,6-三甲基苯氧基)-3-硝基吡啶 (I-3) 的制备

[0277] 制备方法同 I-1, 中间体 IV-1 (274.5mg, 1mmol) 和 2,4,6-三甲基苯酚 (163.2mg, 1.2mmol) 反应得产物 I-3 (268.1mg, 72%)。¹H NMR(DMSO-d₆) δ 10.38 (1H, br s, NH), 8.65 (1H, d, $J = 8.8\text{Hz}$, ArH-4), 7.39 (4H, m, ArH-2', 3', 5', 6'), 7.04 (2H, s, ArH-3'', 5''), 6.78 (1H, d, $J = 8.8\text{Hz}$, ArH-5), 2.36 (3H, CH₃-4''), 2.00 (s, CH₃-2'', CH₃-6''); MS(m/z) 375 (M⁺)。

[0278] 实施例 4: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-甲酰基苯氧基)-3-硝基吡啶 (I-4) 的制备

[0279] 制备方法同 I-1, 使中间体 IV-1 (274.5mg, 1mmol) 和 3,5-二甲基-4-羟基苯甲醛 (180mg, 1.2mmol) 反应得产物 I-4 (257mg, 66%)。¹H NMR(CDCl₃) δ 10.68 (1H, br s, NH), 10.08 (1H, s, CHO), 8.66 (1H, d, $J = 8.8\text{Hz}$, ArH-4), 7.75 (2H, s, ArH-3', 5'), 7.20 (4H, s, ArH-2'', 3'', 5'', 6''), 6.69 (1H, d, $J = 9.2\text{Hz}$, ArH-5), 2.21 (6H, s, CH₃-2'', CH₃-6''); MS(m/z)

z) 389 (M^+)。

[0280] **实施例 5**: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-丙烯酰基苯氧基)-3-硝基吡啶 (I-5) 的制备

[0281] 将 $(EtO)_2P(O)CH_2CN$ (265.7mg, 1.5mmol) 溶于 15mL THF 中, 冰水浴冷却, 加入叔丁醇钾 (168mg, 1.5mmol), 搅拌 30min。再在室温下反应 30min。加入溶有化合物 I-4 (388.4mg, 1mmol) 的 15mL THF 溶液, 反应 24h。加入 100mL 水, 静置 12h。过滤, 水洗, 得黄色固体 I-5 (346mg, 84%)。 1H NMR (DMSO- d_6) δ 10.37 (1H, br s, NH), 8.68 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, ArH-4), 7.72 (1H, d, $J = 16.8$ Hz, Ar-CH = C), 7.56 (2H, s, ArH-3", 5"), 7.34 (4H, s, ArH-2', 3', 5', 6'), 6.84 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, ArH-5), 6.53 (1H, $J = 16.8$ Hz, -C = CHCN), 2.06 (6H, s, CH_3 -2", CH_3 -6") ; MS (m/z) 412 (M^+)。

[0282] **实施例 6**: 3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-氰基苯氧基)吡啶 (I-6) 的制备

[0283] 将化合物 I-2 (385.4mg, 1mmol)、5mL 环己烯、100mL 异丙醇和 100mg 10% Pd/C 的混合物在回流条件反应 3-5h, TLC 显示反应结束。趁热过滤, 滤液浓缩后柱层析分离 (乙酸乙酯和石油醚为洗脱剂), 得灰色固体化合物 I-6 (235mg, 66%)。 1H NMR (DMSO- d_6) δ 8.36 (1H, br s, NH), 7.73 (2H, s, ArH-3', 5'), 7.32 (2H, d, $J = 9.2$ Hz, ArH-3', 5'), 7.26 (2H, s, ArH-2', 6'), 7.14 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, ArH-4), 6.49 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 4.88 (2H, br s, NH_2), 2.08 (6H, s, CH_3 -2", CH_3 -6") ; MS (m/z) : 356 (M^+)。

[0284] **实施例 7**: 3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-羟甲基苯氧基)吡啶 (I-7) 的制备

[0285] 将化合物 I-4 (388.4mg, 1mmol)、 $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ (71mg, 0.3mmol) 溶于 25mL 甲醇和 25mL THF 的混合液中, 搅拌, 冰水浴冷却。待温度降至 5°C 以下时, 分批加入 $NaBH_4$ (228mg, 6mmol)。反应 30min 后, 向反应液中加入 50mL 水。用 1N 的 HCl 调节 pH 至 5-6。移去冰水浴, 将反应液加热至 50-60°C。10min 后停止加热, 待反应液冷却后分别用 50mL EtOAc 萃取三次。合并有机相, 干燥, 浓缩。柱分离得产物 I-7 (254mg, 70%)。 1H NMR (DMSO- d_6) δ 8.27 (1H, br s, NH), 7.34 (4H, s, ArH-2', 3', 5', 6'), 7.11 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, ArH-4), 7.10 (2H, s, ArH-3", 5"), 6.38 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, ArH-5), 5.22 (1H, t, $J = 6.4$ Hz, OH), 4.76 (2H, br s, NH_2), 4.49 (2H, d, $J = 6.4$ Hz, CH_2), 2.03 (6H, s, CH_3 -2", CH_3 -6") ; MS (m/z) 361 (M^+)。

[0286] **实施例 8**: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-羟甲基苯氧基)-3-硝基吡啶 (I-8) 的制备

[0287] 将化合物 I-4 (388.4mg, 1mmol) 溶于 25mL 甲醇和 25mL THF 的混合液中, 搅拌, 冰水浴冷却。待温度降至 5°C 以下时, 分批加入 $NaBH_4$ (114mg, 4mmol)。反应 30min 后, 向反应液中加入 50mL 水。用 1N 的 HCl 调节 pH 至 5-6。移去冰水浴, 将反应液加热至 50-60°C。10min 后停止加热, 待反应液冷却后分别用 50mL EtOAc 萃取三次。合并有机相, 干燥, 浓缩。柱分离得产物 I-8 (286mg, 73%)。 1H NMR (DMSO- d_6) δ 10.41 (1H, br s, NH), 8.67 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, ArH-4), 7.45 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, ArH-3', 5'), 7.37 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, ArH-2', 6'), 7.19 (2H, s, ArH-3", 5"), 6.81 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, ArH-5), 5.39 (1H, t, $J = 6.4$ Hz, OH), 4.55 (2H, d, $J = 6.4$ Hz, CH_2), 2.04 (6H, s, CH_3 -2", CH_3 -6") ; MS (m/z) : 391 (M^+)。

[0288] **实施例 9**: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-烯丙基苯氧基)-3-硝基吡啶

(I-9) 的制备

[0289] 制备方法同 I-1, 使中间体 IV-1 (274.5mg, 1mmol) 和 2,6-二甲基-4-烯丙基苯酚 (194.4mg, 1.2mmol) 反应得产物 I-9 (225mg, 56%)。¹H NMR(CDCl₃) δ 10.67 (1H, br s, NH), 8.61 (1H, d, J = 8.8Hz, ArH-4), 7.27 (4H, m, ArH-2', 3', 5', 6'), 7.01 (2H, s, ArH-3'', 5''), 6.63 (1H, d, J = 8.8Hz, ArH-5), 6.05 (1H, m, -CH=), 5.24 (2H, m, -CH₂-), 3.44 (1H, d, J = 3.2Hz, CH₂=), 2.08 (6H, s, CH₃-2'', CH₃-6'') ;MS(m/z) :401 (M⁺)。

[0290] 实施例 10 :3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-丙烯氰基苯氧基)吡啶 (I-10) 的制备

[0291] 将化合物 I-5 (411.4mg, 1mmol) 加入到 30mL 的 1,4-二氧六环和 30mL 的 H₂O 的混合溶液中, 再加入 1mL 氨水、Na₂S₂O₄ (1741mg, 10mmol), 在室温下搅拌 2h。分别用 50mL EtOAc 萃取三次。合并有机相, 干燥, 浓缩。柱分离得化合物 I-10 (192mg, 50%)。¹H NMR(DMSO-d₆) δ 8.35 (1H, br s, NH), 7.68 (1H, J = 16.8Hz, Ar-CH=C), 7.50 (2H, s, ArH-3'', 5''), 7.37 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-3', 5'), 7.25 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-2', 6'), 7.13 (1H, d, J = 8.0Hz, ArH-4), 6.45 (1H, d, J = 8.0Hz, ArH-5), 6.45 (1H, J = 16.8Hz, =CHCN), 2.06 (6H, s, CH₃-2'', CH₃-6'')。MS(m/z) :382 (M⁺)。

[0292] 实施例 11 :2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-甲基苯胺基)-3-硝基吡啶 (I-11) 的制备

[0293] 将化合物 IV-1 (274.5mg, 1mmol) 和 2,4,6-三甲基苯胺 (810mg, 6mmol) 加入微波管中, 再加入无水碳酸钾 (483mg, 3.5mmol) 和 3mL 的 t-BuOH。微波加热, 180°C 条件下反应 30min。反应结束后将反应液倒入冰水中, 用 1N 的 HCl 调节 pH 至 2-3, 搅拌。过滤, 干燥。柱分离得到黄色固体 267mg, 收率 :72%。¹H NMR(DMSO-d₆) δ 10.80 (1H, br s, NH), 9.73 (1H, br s, NH), 8.29 (1H, d, J = 9.2Hz, ArH-4), 7.50 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-2', 6'), 7.31 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-3', 5'), 7.05 (2H, s, ArH-3'', 5''), 6.47 (1H, d, J = 9.2Hz, ArH-5), 2.37 (3H, s, CH₃-4''), 2.08 (6H, s, CH₃-2'', CH₃-6'') ;MS(m/z) 374 (M⁺)。

[0294] 本领域技术人员可以根据其已有的知识和本领域公知的方法, 参考上述式 I 中 X 为 -NH- 的化合物 I-11 的方法或者从以上化合物 I-11 为起始物质, 进一步获得式 I 中 X 为 -NR- 和 -NCOR- 的化合物, 其中 R 为 C₁₋₄ 烷基例如甲基、乙基、丙基等。

[0295] 实施例 12 :3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-溴苯氧基)吡啶 (I-12) 的制备

[0296] 制备方法同 I-7, 反应原料为化合物 I-1 (439mg, 1mmol), 得灰色固体 336mg, 收率 82%, mp 190-193°C。¹H-NMR(DMSO-d₆) δ 8.35 (1H, br s, NH), 7.42 (2H, s, ArH-3'', 5''), 7.32 (4H, s, ArH-3', 4', 5', 6'), 7.12 (1H, d, J = 8.0Hz, ArH-4), 6.44 (1H, d, J = 8.0Hz, ArH-5), 4.84 (2H, br s, NH₂), 2.03 (6H, s, CH₃-2'', CH₃-6'') ;MS(m/z) :409 (M⁺)。

[0297] 实施例 13 :3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-烯丙基苯氧基)吡啶 (I-13) 的制备

[0298] 制备方法同 I-10, 反应原料为化合物 I (400mg, 1mmol), 得灰色固体 160mg, 收率 43%, mp 150-152°C。¹H-NMR(DMSO-d₆) δ 8.30 (1H, br s, NH), 7.36 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-3', 5'), 7.29 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-2', 6'), 7.11 (1H, d, J = 8.0Hz, ArH-4), 6.98 (2H, s, ArH-3'', 5''), 6.39 (1H, d, J = 8.0 Hz, ArH-5), 6.03 (1H, m, -CH=), 5.14 (2H, m, -CH₂-),

4.76 (2H, br s, NH₂), 3.36 (2H, d, J = 3.6 Hz, CH₂ =), 2.01 (6H, s, CH₃-2'', CH₃-6'') ;MS(m/z) 371 (M⁺)。

[0299] 实施例 14: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-(1-羟基-2-硝基乙基)苯氧基)-3-硝基吡啶 (I-14) 的制备

[0300] 将 388mg (1mmol) 化合物 I-4 溶于 20mL THF 中, 加入 2mL CH₃NO₂, 搅拌, 冰水浴冷却, 逐滴加入 1mL 33% 的 NaOH 溶液, 加毕后继续搅拌 1h, 而后移至室温下继续反应 12h。停止反应, 将反应液倒入 50mL 冰水中, 用二氯甲烷萃取 (25mL × 3)。无水硫酸钠干燥有机相, 浓缩, 所得固体柱层析分离 (洗脱剂: 二氯甲烷 / 甲醇 = 60/1, 200-300 目硅胶), 得黄色固体 306mg, 收率 68%, mp 230-234°C。¹H-NMR (DMSO-d₆) δ ppm 12.43 (1H, br s, NH), 8.68 (1H, d, J = 8.0 Hz, ArH-4), 7.49 (2H, d, J = 8.8 Hz, ArH-3', 5'), 7.40 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH-2', 6'), 7.33 (2H, s, ArH-3'', 5''), 6.81 (2H, d, J = 8.8 Hz, ArH-5), 6.32 (1H, d, J = 6.4 Hz, AOH), 5.33 (1H, m, CH₂NO₂CHOH), 4.94 (1H, m, CH₂NO₂), 4.66 (1H, m, CHOH), 2.06 (6H, s, CH₃-2'', CH₃-6'') ;MS (m/z) 450 (M⁺)。

[0301] 实施例 15: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-(2-环丙胺基甲基)苯氧基)-3-硝基吡啶 (I-15) 的制备

[0302] 将 388mg (1mmol) 化合物 I-4 溶于 40mL THF 和 30mL 甲醇的混合溶液中, 加入 228mg (4mmol) 环丙胺, 加入 1mL 三乙胺, 搅拌, 回流 4d。停止反应, 冰水浴冷却, 分批加入 151mg (4mmol) NaBH₄, 搅拌 30min。停止反应, 将反应液倒入 100mL 冰水中, 用 HCl (1N) 调节 pH 至 4-5, 并加热至 40-50°C, 搅拌 10min。乙酸乙酯萃取 (20mL × 3), 无水硫酸钠干燥有机相, 浓缩, 所得固体用快速制备色谱分离 (洗脱剂: 乙酸乙酯 / 石油醚, 0-50% 梯度洗脱), 得黄色固体 92mg, 收率 21%, mp 175-177°C。¹H-NMR δ ppm 10.68 (1H, br s, NH), 8.61 (1H, d, J = 9.2 Hz, ArH-4), 7.31 (2H, d, J = 8.8 Hz, ArH-3', ArH-5'), 7.26 (2H, d, J = 8.8 Hz, ArH-2', ArH-6'), 7.14 (2H, s, ArH-3'', ArH-5''), 6.63 (1H, d, J = 9.2 Hz, ArH-5), 3.90 (2H, s, CH₂), 2.10 (6H, s, CH₃-2'', CH₃-6''), 0.52 (4H, m, CH₂, CH₂) ;MS (m/z) 430 (M⁺)。

[0303] 实施例 16: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-碘苯氧基)-3-硝基吡啶 (I-16) 的制备

[0304] 制备方法同 I-1, 使中间体 IV-1 (274.5mg, 1mmol) 和 2,6-二甲基-4-碘苯酚 (297mg, 1.2mmol) 反应得产物 I-16 (399mg, 82%), mp 162-165°C。¹H-NMR (CDCl₃) δ 10.65 (1H, br s, NH), 8.63 (1H, d, J = 8.8 Hz, ArH-4), 7.54 (2H, s, ArH-3'', 5''), 7.38 (2H, d, J = 8.8 Hz, ArH-3', 5'), 7.21 (2H, d, J = 8.8 Hz, ArH-2', 6'), 6.65 (1H, d, J = 8.8 Hz, ArH-5), 2.06 (6H, s, CH₃-2'', CH₃-6'') ;MS (m/z) : 487 (M⁺)。

[0305] 实施例 17: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-硝基苯氧基)-3-硝基吡啶 (I-17) 的制备

[0306] 制备方法同 I-1, 使中间体 IV-1 (274.5mg, 1mmol) 和 2,6-二甲基-4-硝基苯酚 (200mg, 1.2mmol) 反应得产物 I-16 (271mg, 63%), mp 250-252°C。¹H-NMR (CDCl₃) δ 10.98 (1H, br s, NH), 8.68 (1H, d, J = 9.2 Hz, ArH-4), 8.10 (2H, s, ArH-3'', 5''), 7.26 (2H, d, J = 8.8 Hz, ArH-3', 5'), 7.20 (2H, d, J = 8.8 Hz, ArH-2', 6'), 6.70 (1H, d, J = 9.2 Hz, ArH-5), 2.23 (6H, s, CH₃-2'', CH₃-6'') ;MS (m/z) 406 (M⁺)。

[0307] 实施例 18: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-(3-甲基-3-羟基-1-丁炔

基)苯氧基)-3-硝基吡啶(I-18)的制备

[0308] 将486mg(1mmol)化合物I-16溶于5mL DMF中,加入69mg(0.1mmol)Pd(PPh₃)₂Cl₂, 19mg CuI(0.1mmol),0.6mL三乙胺,N₂保护,搅拌。室温下加入420mg(5mmol)2-甲基-2-羟基-3-丁炔,搅拌7h。停止反应,向反应液中加入30mL水,二氯甲烷萃取(25mL×3)。无水硫酸钠干燥有机相,浓缩,粗品用快速制备色谱分离(洗脱剂:乙酸乙酯/石油醚,0-40%梯度洗脱),得黄色固体362mg,收率78%,mp 114-116°C。¹H-NMR(DMSO-d₆) δ 10.37(1H, br s, NH), 8.67(1H, d, J = 8.8Hz, ArH-4), 7.40(2H, d, J = 8.8Hz, ArH-2', 6'), 7.34(2H, d, J = 8.8Hz, ArH-3', 5'), 7.31(2H, s, ArH-3'', 5''), 6.83(1H, d, J = 8.8Hz, ArH-5), 5.47(1H, s, OH), 2.00(6H, s, CH₃-2'', CH₃-6''), 1.53(6H, s, C≡C-C(CH₃)₂OH);MS(m/z):465(M+Na⁺)。

[0309] 实施例19:6-(2,6-二甲基-4-(3-甲基-3-羟基-1-丁炔基)乙炔基苯氧基)-2-(4-氰基苯胺基)-3-氨基吡啶(I-19)的制备

[0310] 将442mg(1mmol)化合物I-18加入到20mL THF中,加入20mL水,0.5mL氨水,室温下搅拌,加入1.93g(含量90%,10mmol)Na₂S₂O₄,搅拌2h,TLC(二氯甲烷/甲醇=15/1)显示反应完全。将反应液倒入100mL水中。用乙酸乙酯(50mL×3)萃取,无水硫酸钠干燥有机相,浓缩,进行柱层析分离(洗脱剂:二氯甲烷/甲醇=30/1,200-300目硅胶),得灰色固体198mg,收率48%,mp 155-157°C。¹H-NMR(DMSO-d₆) δ 8.33(1H, br s, NH), 8.01(1H, br s, OH), 7.41(1H, d, J = 8.8Hz, ArH-4), 7.29(4H, m, ArH-2', 3', 5', 6'), 7.23(2H, s, ArH-3'', 5''), 6.55(1H, d, J = 8.8Hz, ArH-5), 4.83(2H, br s, NH₂), 2.08(6H, s, CH₃-2'', CH₃-6''), 1.51(6H, s, C≡C-C(CH₃)₂OH);MS(m/z)413(M⁺)。

[0311] 实施例20:2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-(环丙基乙炔基)苯氧基)-3-硝基吡啶(I-20)的制备

[0312] 将化合物I-16486mg(1mmol)溶于5mL DMF中,加入69mg(0.1mmol)Pd(PPh₃)₂Cl₂, 19mg CuI(0.1mmol),0.6mL三乙胺,N₂保护,搅拌。室温下加入330mg(5mmol)环丙炔,搅拌7h。停止反应,向反应液中加入30mL水,二氯甲烷萃取(25mL×3)。无水硫酸钠干燥有机相,浓缩,粗品用快速制备色谱分离(洗脱剂:乙酸乙酯/石油醚,0-40%梯度洗脱),得黄色固体290mg,收率68%,mp 188-192°C。¹H-NMR(CDCl₃) δ 10.65(1H, br s, NH), 8.61(1H, d, J = 9.2Hz, ArH-4), 7.36(2H, d, J = 8.8Hz, ArH-3', 5'), 7.22(2H, s, ArH-3'', 5''), 7.19(2H, d, J = 8.8Hz, ArH-2', 6'), 6.64(1H, d, J = 9.2Hz, ArH-5), 2.05(6H, s, CH₃-2'', CH₃-6''), 1.52(1H, m, CH), 0.89(4H, m, 2×CH₂);MS(m/z)425(M⁺)。

[0313] 实施例21:3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-(环丙基乙炔基)苯氧基)吡啶(I-21)的制备

[0314] 将424mg(1mmol)化合物I-20加入到20mL THF中,加入20mL水,0.5mL氨水,室温下搅拌,加入1.93g(含量90%,10mmol)Na₂S₂O₄,搅拌2h,TLC(二氯甲烷/甲醇=15/1)显示反应完全。将反应液倒入100mL水中。用乙酸乙酯(50mL×3)萃取,无水硫酸钠干燥有机相,浓缩,进行柱层析分离(洗脱剂:二氯甲烷/甲醇=30/1,200-300目硅胶),得灰色固体193mg,收率49%,mp 82-85°C。¹H-NMR(CDCl₃) δ 7.33(2H, d, J = 8.4Hz, ArH-3', 5') 7.22(2H, s, ArH-3'', 5''), 7.18(3H, m, ArH-2', 6', 4), 6.36(1H, d, J = 8.0Hz, ArH-5), 2.06(6H, s, CH₃-2'', CH₃-6''), 1.51(1H, m, CH), 0.89(4H, m, 2×CH₂);MS(m/z)395(M⁺)。

[0315] 实施例22:2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-乙炔基苯氧基)-3-硝基吡啶

(I-22) 的制备

[0316] 将 442mg (1mmol) 化合物 I-18 溶于 20mL 甲苯, 加入 16mg (0.4mmol) NaOH (充分研磨), N_2 保护, 回流 24h。停止反应, 待反应液冷却后向其中加入 2 滴乙酸, 减压蒸除溶剂, 所得固体用快速制备色谱分离 (洗脱剂: 乙酸乙酯 / 石油醚, 0-40% 梯度洗脱), 得黄色固体 265mg, 收率 69%, mp 186-188°C。 $^1H-NMR(CDCl_3)$ δ 10.66 (1H, br s, NH), 8.63 (1H, d, J = 8.8Hz, ArH-4), 7.35 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-3', 5'), 7.34 (2H, s, ArH-3'', 5''), 7.19 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-2', 6'), 6.66 (1H, d, J = 8.8Hz, ArH-5), 3.17 (1H, s, C \equiv CH), 2.09 (6H, s, CH_3 -2'', CH_3 -6''); MS (m/z) 385 (M^+)。

[0317] 实施例 23: 3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-乙炔基苯氧基) 吡啶 (I-23) 的制备

[0318] 将 384mg (1mmol) 化合物 I-22 加入到 20mL THF 中, 加入 20mL 水, 0.5mL 氨水, 室温下搅拌, 加入 1.93g (含量 90%, 10mmol) $Na_2S_2O_4$, 搅拌 2h, TLC (二氯甲烷 / 甲醇 = 15/1) 显示反应完全。将反应液倒入 100mL 水中。用乙酸乙酯 (50mL \times 3) 萃取, 无水硫酸钠干燥有机相, 浓缩, 所得固体用快速制备色谱分离 (洗脱剂: 乙酸乙酯 / 石油醚, 0-60% 梯度洗脱), 得灰色固体 217mg, 收率 61%, mp 79-82°C。 $^1H-NMR(DMSO-d_6)$ δ 8.34 (1H, br s, NH), 7.37 (2H, s, ArH-3'', 5''), 7.03 (4H, m, ArH-2', 3', 5', 6'), 6.56 (1H, d, J = 8.4Hz, ArH-4), 6.44 (1H, d, J = 8.4Hz, ArH-5), 4.84 (2H, br s, NH_2), 3.36 (1H, s, CH), 2.02 (6H, s, CH_3 -2'', CH_3 -6''); MS (m/z) 355 (M^+)。

[0319] 实施例 24: 3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-氨基苯氧基) 吡啶 (I-24) 的制备

[0320] 制备方法同 I-4, 反应原料为化合物 I-17 (405mg, 1mmol), 得灰色固体 210mg, 收率 61%, mp 195-198°C。 $^1H-NMR(CDCl_3)$ δ 8.29 (1H, br s, NH), 7.47 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-3', 5'), 7.39 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-2', 6'), 7.07 (1H, d, J = 8.0Hz, ArH-4), 6.35 (2H, s, ArH-3'', 5''), 6.30 (1H, d, J = 8.0Hz, ArH-5), 4.88 (2H, br s, NH_2), 4.73 (2H, br s, NH_2), 1.89 (6H, s, CH_3 -2'', CH_3 -6''); MS (m/z) 346 (M^+)。

[0321] 实施例 25: 3-氨基-2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二甲基-4-碘苯氧基) 吡啶 (I-25) 的制备

[0322] 制备方法同 I-10, 反应原料为化合物 I-16 (486mg, 1mmol), 得灰色固体 225mg, 收率 49%, mp 186-188°C。 $^1H-NMR(CDCl_3)$ δ 7.50 (2H, s, NH_2), 7.33 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-3', 5'), 7.22 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-2', 6'), 6.98 (1H, d, J = 8.4Hz, ArH-4), 6.44 (1H, d, J = 8.4Hz, ArH-5), 2.09 (6H, s, CH_3 -2'', CH_3 -6''); MS (m/z) 357 (M^+)。

[0323] 实施例 26: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,4,6-三溴苯氧基)-3-硝基吡啶 (I-26) 的制备

[0324] 制备方法同 I-1, 使中间体 IV-1 (274.5mg, 1mmol) 和 2,4,6-三溴苯酚 (397mg, 1.2mmol) 反应, 得黄色固体 380mg, 收率 67%, mp 188-191°C。 $^1H-NMR(CDCl_3)$ δ 10.57 (1H, br s, NH), 8.68 (1H, d, J = 8.8Hz, ArH-4), 7.83 (2H, s, ArH-3'', 5''), 7.38 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-3', 5'), 7.24 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-2', 6'), 6.72 (1H, d, J = 8.8Hz, ArH-5); MS (m/z) 569 (M^+)。

[0325] 实施例 27: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二溴-4-甲酰基苯氧基)-3-硝基吡啶

(I-27) 的制备

[0326] 制备方法同 I-1, 使中间体 IV-1 (275mg, 1mmol) 和 3,5-二溴-4-羟基苯甲醛 (336mg, 1.2mmol) 反应, 得黄色固体 251mg, 收率 48%, mp 218-220°C。¹H-NMR (CDCl₃) δ 10.58 (1H, br s, NH), 10.03 (1H, s, CHO), 8.71 (1H, d, J = 9.2Hz, ArH-4), 8.18 (2H, s, ArH-3'', 5''), 7.25 (4H, m, ArH-2', 3', 5', 6'), 6.76 (1H, d, J = 9.2Hz, ArH-5); MS (m/z) 519 (M⁺)。

[0327] 实施例 28: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二溴-4-羟甲基苯氧基)-3-硝基吡啶 (I-28) 的制备

[0328] 制备方法同 I-1, 使中间体 IV-1 (274.5mg, 1mmol) 和 2,6-二溴-4-羟甲基苯酚 (338mg, 1.2mmol) 反应, 得黄色固体 271mg, 收率 52%, mp 209-213°C。¹H-NMR (CDCl₃) δ 10.57 (1H, br s, NH), 8.67 (1H, d, J = 9.2Hz, ArH-4), 7.69 (2H, s, ArH-3'', 5''), 7.36 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-3', 5'), 7.26 (2H, d, J = 8.8Hz, ArH-2', 6'), 6.73 (1H, d, J = 9.2Hz, ArH-5), 4.81 (2H, s, CH₂); MS (m/z) 521 (M⁺)。

[0329] 实施例 29: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二氟苯氧基)-3-硝基吡啶 (I-29) 的制备

[0330] 制备方法同 I-1, 使中间体 IV-1 (274.5mg, 1mmol) 和 2,6-二氟苯酚 (156mg, 1.2mmol) 反应, 得黄色固体 162mg, 收率 44%, mp 234-236°C。¹H-NMR (CDCl₃) δ 10.64 (1H, br s, NH), 8.66 (1H, d, J = 8.8Hz, ArH-4), 7.33 (5H, m, ArH-2', 3', 5', 6', 4''), 7.11 (2H, m, ArH-3'', 4'', 5''), 6.73 (1H, d, J = 8.8Hz, ArH-5); MS (m/z) 369 (M⁺)。

[0331] 实施例 30: 2-(4-氰基苯胺基)-6-(2,6-二溴-4-丙烯氰基苯氧基)-3-硝基吡啶 (I-30) 的制备

[0332] 制备方法同 I-5, 反应原料为化合物 I-27 (518mg, 1mmol), 得黄色固体 363mg, 收率 67%, mp 223-226°C。¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 10.31 (1H, br s, NH), 8.72 (1H, d, J = 8.8Hz, ArH-4), 8.17 (2H, s, ArH-3'', 5''), 7.71 (1H, d, J = 16.4Hz, Ar-CH=C), 7.44 (2H, d, J = 8.4Hz, ArH-3', 5'), 7.36 (2H, d, J = 8.4Hz, ArH-2', 6'), 6.94 (1H, d, J = 8.8Hz, ArH-5), 6.76 (1H, d, J = 16.4Hz, -C=CHCN); MS (m/z) 540 (M⁺)。

[0333] 使化合物 I-30 (539mg, 1mmol) 溶解于丙酮中, 缓慢滴入 HCl 乙醚溶液, 析出黄色结晶, 过滤, 得到化合物 I-30 的盐酸盐。

[0334] 实施例 31: 抗 HIV 活性试验 (H9 细胞模型)

[0335] 参照文献 (J. Med. Chem. 2004, 47, 756-760)。淋巴细胞 H9 在培养液 1640, 5% CO₂, 37°C 的条件下进行培养。被测试化合物最初被溶解于 DMSO 中, 随后用培养液稀释至常规筛选浓度: 100、20、4、0.8 μg/mL。培养好的 H9 细胞被分为两部分, 其中一部分用 HIV 病毒 (IIIB) (m. i. o. 0.1 ~ 0.01 infectious Units/cell) 感染, 为测活性所用。另一部分细胞不加病毒, 只加培养液, 为测毒性所用。两部分的细胞在完全相同的条件下 (37°C, 5% CO₂) 培养 4 小时之后, 用新鲜的培养液洗 3 次, 将两部分细胞分别加入到配制好的不同浓度的测试样品中或是完全的培养液中 (后者为阳性感染对照或阴性药物对照), 同时用 AZT 作阳性药对照。所有这些细胞在 5% CO₂、37°C 条件下培养 4 天。在第 4 天将受病毒感染的细胞先除去细胞膜, 胞液用 P24 抗原 ELISA 方法测定样品的活性, 用 EC₅₀ 来表示。EC₅₀ 为抑制病毒复制 50% 时的有效浓度。未加病毒部分的细胞通过数细胞的方法来确定测试样品的毒性,

用 CC_{50} 来表示。 CC_{50} 为杀死生长细胞 50% 时的浓度。

[0336] 实施例 32: 抗 HIV 活性试验 (MT-2 细胞模型)

[0337] 参 照 文 献 (Jiang, S., et al. Antimicrob. Agents Chemother. 2004, 48, 4349-4359)。在 96 孔细胞培养板中, 将 $50 \mu\text{l}$ 不同浓度的化合物溶液与等体积的 HIV-1_{IIIB} 病毒株 (100 TCID_{50}) 混合, 于 37°C 温育 30 分钟, 然后加入 $100 \mu\text{l}$ 的 MT-2 细胞 ($1 \times 10^5/\text{mL}$, 含 10% 血清的 RPMI 1640 培养液), 混合均匀, 37°C 温育过夜。第 2 天吸去 $150 \mu\text{l}$ 上清液, 补入等体积新鲜培养液, 37°C 继续温育 3 天, 于第四天记录细胞病变 (CPE) 效应。然后吸取 $100 \mu\text{l}$ 的培养上清液, 用 5% 的 Triton X-100 裂解病毒颗粒, 采用 ELISA 方法检测其中 p24 抗原。简言之, 用 HIVIG ($2 \mu\text{g}/\text{mL}$) 包被酶标板, 再用 1% 的无脂牛奶封闭, 先后加入病毒裂解液, 37°C 温育 60 分钟。在充分洗板之后, 先后加入抗 p24 单抗 -183-12H-5C, 生物素标记的羊抗鼠抗体及卵白素标记的辣根过氧化物酶。然后用 TMB 显色, 在 450nm 处检测光密度。用 CalcuSyn 软件计算化合物的半数病毒抑制浓度 (EC_{50})。

[0338] 实施例 33: 化合物的细胞毒性试验

[0339] 参 照 文 献 (Jiang, S., et al. Antimicrob. Agents Chemother. 2004, 48, 4349-4359)。在 96 孔细胞培养板中, 将 $50 \mu\text{l}$ 不同浓度的化合物溶液与等体积的 PBS 混合, 于 37°C 温育 30 分钟, 然后加入 $100 \mu\text{l}$ MT-2 (或 H9) 细胞 ($1 \times 10^5/\text{mL}$, 含 10% 血清的 RPMI 1640 培养液), 混合均匀, 37°C 温育过夜。第 2 天吸去 $150 \mu\text{l}$ 上清液, 补入等体积新鲜培养液, 37°C 继续温育 3 天后, 于第四天加入 $50 \mu\text{l}$ 新鲜配制的含 PMS 的 XTT 溶液 ($1\text{mg}/\text{mL}$), 4h 后检测 450nm 处的光密度。用 CalcuSyn 软件计算化合物的半数细胞毒性浓度 (CC_{50})。

[0340] 部分化合物的生物评价结果列于表 1:

[0341] 表 1 抗 HIV 活性试验数据 (H9 和 MT-2 细胞)

[0342]

化合物编号	细胞系	CC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	EC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	SI(CC ₅₀ /EC ₅₀)
I-1	H9	19.35	<0.025	>774
	MT-2	32.24	0.52	62
I-2	H9	>25	0.0025	>10,000
	MT-2	19.30	0.052	371
I-3	MT-2	503.18	0.118	4,264
I-5	MT-2	24.78	0.005	4,956
I-6	MT-2	11.28	0.0005	22,560
I-7	MT-2	0.79	0.002	394
I-8	MT-2	45.16	0.075	602
I-9	MT-2	>100	0.109	>917
I-10	MT-2	27.95	0.0042	6,656
I-12	MT-2	5.44	0.021	259
I-13	MT-2	2.13	0.09	24
I-14	MT-2	12.15	0.77	16
I-16	MT-2	72.19	1.18	61
I-22	MT-2	66.66	0.26	256
I-23	MT-2	2.92	0.15	19
I-25	MT-2	10.71	0.036	298
I-26	MT-2	26.97	0.179	151
I-27	MT-2	0.78	0.152	220
I-28	MT-2	36.32	0.253	145
I-29	MT-2	39.70	15.90	2
I-30	MT-2	24.80	0.045	551

[0343] SI:化合物的选择性指数,为毒性 CC₅₀ 值与活性 EC₅₀ 值之比。上表中未列的本发明其它实施例化合物也具有与上表中大多数化合物的相近的 CC₅₀、EC₅₀、和 SI 值。

[0344] 本发明的研究表明:本发明式 I 化合物是一类具有新型骨架结构的抗 HIV 活性化合物。由于该类化合物的分子柔性比较好,因此,本发明化合物对 HIV 耐药性病毒株有强的抑制活性,有可能发展成为一类具有新型结构的抗 HIV 新药。