



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101812063 A

(43) 申请公布日 2010.08.25

(21) 申请号 201010127022.6

(22) 申请日 2010.03.18

(71) 申请人 中国医学科学院医药生物技术研究
所

地址 100050 北京市崇文区天坛西里1号

(72) 发明人 王玉成 白晓光 邵荣光 王菊仙
郭欣 李祎亮 任开环

(74) 专利代理机构 北京华科联合专利事务所
11130

代理人 杨厚 王为

(51) Int. Cl.

C07D 487/04 (2006.01)

C07D 498/04 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/4162 (2006.01)

A61K 31/42 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 15 页

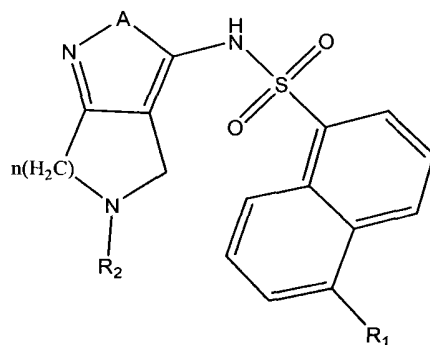
(54) 发明名称

α -萘磺酰胺基五元杂环类化合物及其抑瘤
活性

(57) 摘要

本发明涉及 α -萘磺酰胺基五元杂环类化合物及其在抗肿瘤治疗中的应用, 研究表明, α -萘磺酰胺基五元杂环类化合物及其异构体、立体异构体或立体异构体的混合物以及药学上可接受的盐或前体物, 均对肿瘤细胞有抑制作用, 其中近半数化合物在细胞水平上抑制率优于 ML-7 阳性对照药, 可望为研发抗肿瘤药物奠定基础。

1. α -萘磺酰胺基五元杂环类化合物及其异构体、立体异构体或立体异构体的混合物以及药学上可接受的盐或前体物,其结构如通式(1)所示:



(1)

式中:

$n = 1$ 或 2 ;

R₁ 独立代表 H、F、Cl、Br、I;

R₂ 独立代表 H 或者 R₄、-COR₄、-COOR₄、-CONHR₄、-CONR₄R₅、-NH-C(=NH)NHR₄、-C(=NH)NHR₄、-SO₂R₄、-SO₂NHR₄、-SO₂NR₄R₅, 其中 R₄ 和 R₅ 各自独立代表氢原子或者任选被 C₁-C₆ 烷基、C₃-C₆ 环烷基、C₄-C₆ 链烯基、C₄-C₆ 链炔基、芳基、杂芳基取代;

A 代表 O 或 NR;

R 独立代表氢原子或者 R₃、-COR₃、-SO₂R₃, 其中 R₃ 独立代表 C₁-C₆ 烷基、C₃-C₆ 环烷基、C₂-C₆ 链烯基或者 C₂-C₄ 炔基、C₄-C₁₀ 环烷基烷基、芳基、杂芳基, 每个 C₁-C₆ 烷基、C₃-C₆ 环烷基、C₂-C₆ 链烯基或者 C₂-C₄ 炔基、C₄-C₁₀ 环烷基烷基任选被 1~3 个独立选自下列取代基取代: C₁-C₄ 烷基、C₃-C₆ 环烷基、卤素、C₁-C₄ 卤代烷基、氰基、硝基、-NR₆R₇、-NR₆COR₈、-NR₆COOR₉、COR₈、-OR₉、-CONR₆R₇、-CO(NOR₈)R₉、-COOR₉、-SR₉、-SO₂R₉、-SO₂NR₆R₇、-NR₆SO₂R₉;

芳基为苯基或萘基, 每个任选被 1~5 个独立选自下列的取代基取代: C₁-C₆ 烷基、C₃-C₆ 环烷基、卤素、C₁-C₄ 卤代烷基、氰基、硝基、-NR₆R₇、-CONR₆R₇、-NR₆COR₈、-OR₉、-COOR₉、-SR₉、-SO₂R₉、-SO₂NR₆R₇、-NR₆SO₂R₉;

杂芳基为吡啶基、嘧啶基、三嗪基、呋喃基、吡喃基、喹啉基、异喹啉基、噻吩基、咪唑基、噻唑基、吡咯基、恶唑基、苯并呋喃基、苯并噻唑基、异恶唑基、吡唑基、2,3-二氢苯并噻吩基或 2,3-二氢苯并呋喃基, 每个任选被 1~5 个独立选自下、下列的取代基取代: C₁-C₆ 烷基、C₃-C₆ 环烷基、卤素、C₁-C₄ 卤代烷基、氰基、硝基、-NR₆R₇、-CONR₆R₇、-NR₆COR₈、-OR₉、-COOR₉、-SR₉、-SO₂R₉、-SO₂NR₆R₇、-NR₆SO₂R₉;

R₆、R₇、R₈、R₉ 各自独立代表氢原子或者 C₁-C₆ 烷基或苯基。

2. 如权利要求 1 所述的化合物及其异构体、立体异构体或立体异构体的混合物以及药学上可接受的盐或前体物,其特征是,通式(1)的化合物以几何学和光学异构体存在,并且所有异构体为分离的、纯的或部分纯化的立体异构体或其外消旋混合物。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物及其异构体、立体异构体或立体异构体的混合物以及药学上可接受的盐或前体物,其特征是,通式(1)的化合物可选择性地以药学上可接受的酸加成盐,金属盐或者选择性烷基化铵盐存在,包括无机和有机酸加成盐,诸如盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、琥珀酸盐、延胡索酸盐、马来酸盐、柠檬酸

盐、乳酸盐、酒石酸盐、扁桃酸盐、草酸盐或者类似的药学上可接受的无机或者有机酸加成盐,也可按常规转化方法制备它们的碱金属盐、碱土金属盐、银盐、钡盐等。

4. 权利要求 1、2 或 3 所述化合物及其异构体、立体异构体或立体异构体的混合物以及药学上可接受的盐或前体物在制备抗肿瘤药物中的应用。

α - 萘磺酰胺基五元杂环类化合物及其抑瘤活性

技术领域：

[0001] 本发明涉及 α - 萘磺酰胺基五元杂环类化合物及其在抗肿瘤治疗中的应用。

背景技术：

[0002] 2003 年, 美国专利 (US20030171357A1) 公开了一系列可用作蛋白激酶抑制剂的 3- 氨基吡唑化合物, 尤其相关文献 [P. Pevarello, et al. J. Med. Chem. 2004, 47 (13), 3367-3380]; P. Pevarello, et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2006, 16, 1084-1090; Daniele Fancelli, et al. J. Med. Chem. 2005, 48, 3080-3084] 中发现其作为 CDK2 抑制剂, 可有效地抑制肿瘤细胞的恶性生长, 且对 CDK2 有很好的选择性。细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin dependent kinase, CDK) 是丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶, 它决定着细胞周期是否有序进行, 其只有与相应的细胞周期蛋白结合后才具有活性。主要有七种 CDK (CDK1 ~ 7), 在整个细胞周期中的含量基本上是稳定的。与肿瘤发生关系密切的主要有 CDK2、CDK4 和 CDK6, 它们在肿瘤细胞中常常有扩增和过表达的现象。其中 CDK2 可分别由 cyclinE 和 cyclinA 激活, 使细胞通过 G1/S 期检验点进入并通过 S 期, 是促进哺乳动物细胞增殖的关键性调控蛋白。肿瘤的发生与 G1/S 期检验点失控密切相关, 目前发现, CDK2、cyclinE、cyclinA 的过表达与肿瘤的发生密切相关, 抑制 CDK2 的活性能够抑制肿瘤细胞的生长。

[0003] 1988 年, 日本专利 (JP63017870A) 公开了一系列卤代萘磺酰胺类化合物, 其中 ML-7、ML-9 等是肌球蛋白轻链激酶的特异性抑制剂 [Masahiro Saitoh, et al. J Biol Chem. 1987, 262 (16), 7796-7801]。肌球蛋白轻链激酶 (MLCK) 是三磷酸肌醇 (IP3)、Ca²⁺- 钙调蛋白 (CaM) 信息转导途径的一种重要蛋白质, 能促使肌球蛋白轻链 (MLC, myosin light chain) 磷酸化。肌球蛋白轻链磷酸化调节肌球蛋白的收缩, 参与诸如细胞运动、粘附、组织修复、癌症转移和疾病发生等重要的生命活动。ML-7 不但对细胞骨架的结构和动力学十分重要, 2005 ~ 2006 年美国学者还发现, 在培养的胸腺癌和前列腺癌细胞系中, ML-7 可以诱导细胞自杀或者程序性死亡 (Lian-Zhi Gu, et al. Mol Cell Biol, 2006, 42 : 948-957; Fazal F, et al. Mol Cell Biol, 2005, 25 : 6259-6266), ML-7 与治疗固体肿瘤的依托泊苷 (etoposide) 混用治疗癌细胞, 可提升依托泊苷杀死癌细胞的能力, 同时发现, 活体对 ML-7 似乎有较高耐受度, 且其本身在活体中没有明显的毒副作用。

[0004] 由于肿瘤细胞的生长不仅依赖于快速的细胞分裂及癌细胞的活动力, 而且还须高度依赖于细胞骨架。基于上述两种激酶抑制剂的抑瘤特点, 本发明设计并合成出一系列 α - 萘磺酰胺基五元杂环类全新化合物, 均能双靶点作用于肿瘤细胞生长的增殖和转移双环节, 其中许多化合物在细胞水平上优于 ML-7 阳性对照试剂盒。

[0005] 本发明所述的 α - 萘磺酰胺基五元杂环类化合物及其在抗瘤方面的新用途, 迄今尚未见有国内外的相关报道。

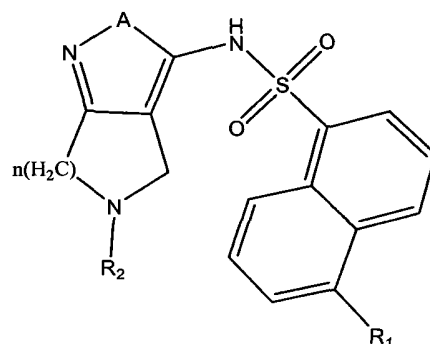
发明内容：

[0006] 本发明的目的是, 提供具有抑瘤活性的 α - 萘磺酰胺基五元杂环类化合物。

[0007] 本发明的另一目的是,提供 α -萘磺酰胺基五元杂环类化合物的异构体、立体异构体或立体异构体的混合物以及药学上可接受的盐或前体物。

[0008] 本发明所说 α -萘磺酰胺基五元杂环类化合物的结构如式(1)所示:

[0009]



(1)

[0010] 式中:

[0011] $n = 1$ 或 2 ;

[0012] R_1 独立代表 H、F、Cl、Br、I;

[0013] R_2 独立代表 H 或者 R_4 、 $-\text{COR}_4$ 、 $-\text{COOR}_4$ 、 $-\text{CONHR}_4$ 、 $-\text{CONR}_4\text{R}_5$ 、 $-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})\text{NHR}_4$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})\text{NHR}_4$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}_4$ 、 $-\text{SO}_2\text{NHR}_4$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}_4\text{R}_5$, 其中 R_4 和 R_5 各自独立代表氢原子或者任选被 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_6 环烷基、 C_4 - C_6 链烯基、 C_4 - C_6 链炔基、芳基、杂芳基取代;

[0014] A 代表 O 或 NR;

[0015] R 独立代表氢原子或者 R_3 、 $-\text{COR}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}_3$, 其中 R_3 独立代表 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_6 环烷基、 C_2 - C_6 链烯基或者 C_2 - C_4 炔基、 C_4 - C_{10} 环烷基烷基、芳基、杂芳基, 每个 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_6 环烷基、 C_2 - C_6 链烯基或者 C_2 - C_4 炔基、 C_4 - C_{10} 环烷基烷基任选被 1~3 个独立选自下列取代基取代: C_1 - C_4 烷基、 C_3 - C_6 环烷基、卤素、 C_1 - C_4 卤代烷基、氰基、硝基、 $-\text{NR}_6\text{R}_7$ 、 $-\text{NR}_6\text{COR}_8$ 、 $-\text{NR}_6\text{COOR}_9$ 、 $-\text{COR}_8$ 、 $-\text{OR}_9$ 、 $-\text{CONR}_6\text{R}_7$ 、 $-\text{CO}(\text{NOR}_8)\text{R}_9$ 、 $-\text{COOR}_9$ 、 $-\text{SR}_9$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}_9$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}_6\text{R}_7$ 、 $-\text{NR}_6\text{SO}_2\text{R}_9$;

[0016] 芳基为苯基或萘基, 每个任选被 1~5 个独立选自下列的取代基取代: C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_6 环烷基、卤素、 C_1 - C_4 卤代烷基、氰基、硝基、 $-\text{NR}_6\text{R}_7$ 、 $-\text{CONR}_6\text{R}_7$ 、 $-\text{NR}_6\text{COR}_8$ 、 $-\text{OR}_9$ 、 $-\text{COOR}_9$ 、 $-\text{SR}_9$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}_9$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}_6\text{R}_7$ 、 $-\text{NR}_6\text{SO}_2\text{R}_9$;

[0017] 杂芳基为吡啶基、嘧啶基、三嗪基、呋喃基、吡喃基、噻吩基、异噻吩基、噻吩基、咪唑基、噻唑基、吡咯基、恶唑基、苯并呋喃基、苯并噻唑基、异恶唑基、吡唑基、2,3-二氢苯并噻吩基或 2,3-二氢苯并呋喃基, 每个任选被 1~5 个独立选自下、下列的取代基取代: C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_6 环烷基、卤素、 C_1 - C_4 卤代烷基、氰基、硝基、 $-\text{NR}_6\text{R}_7$ 、 $-\text{CONR}_6\text{R}_7$ 、 $-\text{NR}_6\text{COR}_8$ 、 $-\text{OR}_9$ 、 $-\text{COOR}_9$ 、 $-\text{SR}_9$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}_9$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}_6\text{R}_7$ 、 $-\text{NR}_6\text{SO}_2\text{R}_9$;

[0018] R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 各自独立代表氢原子或者 C_1 - C_6 烷基或苯基。

[0019] 通式(I)的化合物以几何学和光学异构体存在, 并且所有异构体为分离的、纯的或部分纯化的立体异构体或其外消旋混合物。

[0020] 通式(I)的化合物可选择性地以药学上可接受的酸加成盐, 金属盐或者选择性烷基化铵盐存在, 包括无机和有机的酸加成盐, 诸如盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、琥珀酸盐、延胡索酸盐、马来酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、酒石酸盐、扁桃酸盐、

草酸盐或者类似的药学上可接受的无机或者有机酸加成盐,也可按常规转化方法制备它们的碱金属盐、碱土金属盐、银盐、钡盐等。

[0021] 本发明具体包括以下化合物,以及它们的异构体、立体异构体或立体异构体的混合物以及药学上可接受的盐或前体物:

[0022] 1)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-萘-1-磺酰胺;

[0023] 2)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺;

[0024] 3)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺;

[0025] 4)N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-萘-1-磺酰胺;

[0026] 5)N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺;

[0027] 6)N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺;

[0028] 7)N-{5-乙酰基-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-萘-1-磺酰胺;

[0029] 8)N-{5-乙酰基-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺;

[0030] 9)N-{5-乙酰基-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺;

[0031] 10)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-萘-1-磺酰胺;

[0032] 11)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺;

[0033] 12)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺;

[0034] 13)N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-萘-1-磺酰胺;

[0035] 14)N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺;

[0036] 15)N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺;

[0037] 16)N-{5-乙酰基-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-萘-1-磺酰胺;

[0038] 17)N-{5-乙酰基-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺;

[0039] 18)N-{5-乙酰基-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺;

[0040] 19)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-萘-1-磺酰胺;

[0041] 20)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺;

[0042] 21)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡

唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺；

[0043] 22)N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-萘-1-磺酰胺；

[0044] 23)N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺；

[0045] 24)N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺；

[0046] 25)N-{5-乙酰基-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-萘-1-磺酰胺；

[0047] 26)N-{5-乙酰基-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺；

[0048] 27)N-{5-乙酰基-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺；

[0049] 28)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6,7-三氢-1H-吡唑[4,3-c]吡啶-3-基}-萘-1-磺酰胺；

[0050] 29)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6,7-三氢-1H-吡唑[4,3-c]吡啶-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺；

[0051] 30)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6,7-三氢-1H-吡唑[4,3-c]吡啶-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺；

[0052] 31)N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6,7-三氢-1H-吡唑[4,3-c]吡啶-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺；

[0053] 32)N-{5-乙酰基-4,6,7-三氢-1H-吡唑[4,3-c]吡啶-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺；

[0054] 33)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6,7-三氢异恶唑[4,3-c]吡啶-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺；

[0055] 34)N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6,7-三氢异恶唑[4,3-c]吡啶-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺；

[0056] 35)N-{5-乙酰基-4,6,7-三氢异恶唑[4,3-c]吡啶-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺；

[0057] 36)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6,7-三氢-2-甲基吡唑[4,3-c]吡啶-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺；

[0058] 37)N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6,7-三氢-2-甲基吡唑[4,3-c]吡啶-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺；

[0059] 38)N-{5-乙酰基-4,6,7-三氢-2-甲基吡唑[4,3-c]吡啶-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺；

[0060] 实施方案：

[0061] 以下实施例仅为帮助本领域技术人员更好地理解本发明，但不以任何方式限制本发明。

[0062] <实施例1>N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺

[0063] (a) 3-氨基-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-5-羧酸叔丁基酯的制备

[0064] N_2 保护下,将 1-叔丁氧羰基-3-氰基-4-吡咯烷酮 9.0g,0.043mol(合成方法参见 Daniele Fancelli, et al. J. Med. Chem. 2005, 48, 3080-3084)、盐酸胍 (4.5g, 0.0428mol) 和乙醇 (250mL) 的混合物于 60℃ 搅拌反应 3h 后,冷却至 0℃ 缓慢滴加饱和的碳酸氢钠水溶液 600mL,继续搅拌 30min 后,将所得反应液减压旋蒸除去大部分的乙醇和水,剩余液用乙酸乙酯 (300mL) 萃取,有机相无水硫酸钠干燥,抽滤,滤液蒸除溶剂得到淡黄色粗品,经硅胶柱分离纯化 (石油醚 / 乙酸乙酯 = 6 : 1),真空干燥得白色粉末状固体 3.5g,收率 36%。

[0065] 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm : 1.42 (9H, s), 4.12 (4H, m), 5.03 (2H, br s), 11.18 (1H, br s)。

[0066] MS (ESI, m/z) : 225.6 ($M^+ + 1$, 100%)

[0067] (b) 1-乙氧羰基-5-叔丁氧羰基-3-氨基-4,6-二氢吡咯 [3,4-c] 吡唑的制备

[0068] 取氯甲酸乙酯 (8.9mL, 93mmol) 于 250mL 四氢呋喃中,于 0-5℃ 下缓慢滴加至实施例 1 步骤 (a) 的产物 (20g, 89mmol) 与 DIEA (92mL, 528mmol) 的 500mL 四氢呋喃溶液中,保持 0-5℃ 2 小时,允许升至室温,搅拌过夜。所得混合物旋干,残余物用乙酸乙酯 (200mL) 溶解,水洗,有机层无水硫酸钠干燥,抽滤,旋干,残余物经硅胶柱分离纯化 (石油醚 / 乙酸乙酯 = 10 : 1),真空干燥得白色粉末状固体 18g,收率 68%。

[0069] 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm : 1.26, 1.27 (3H, 2t, J = 7.2Hz, rotamers), 1.44 (9H, s), 4.14-4.20 (2H, m), 4.26 (2H, q, J = 7.2Hz), 4.44-4.47 (2H, m), 5.69 (2H, s)。

[0070] MS (ESI, m/z) : 297 ($M^+ + 1$, 100%)

[0071] (c) N-{5-叔丁氧羰基-4,6-二氢-1-乙氧羰基吡咯 [3,4-c] 吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺的制备

[0072] 将 5-氯-1-萘磺酰氯 (2.72g, 10.5mmol) 溶于 40mL 的无水乙腈中, N_2 保护,缓慢滴加至实施例 1 步骤 (b) 产物 (2.79g, 9.44mmol)、30mL 的无水吡啶和 60mL 无水乙腈混合物中,45 ~ 60℃ 反应 6 小时,旋干,二氯甲烷 (100mL) 萃取,水洗,无水硫酸钠干燥,抽滤,旋干,残余物经硅胶柱分离纯化 (石油醚 / 乙酸乙酯 = 10 : 1) 真空干燥得白色粉末状固体 3.28g,收率 60%。

[0073] 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm : 1.26, 1.27 (3H, 2t, J = 7.2Hz, 旋转异构体), 1.42 (9H, s), 4.10-4.20 (2H, m), 4.26 (2H, q, J = 7.2Hz), 4.44-4.47 (2H, m), 7.75-7.84 (1H, m), 7.89 (1H, s), 7.91 (1H, s), 8.27-8.28 (1H, m), 8.52-8.55 (1H, m), 8.68-8.72 (1H, m), 11.96, 12.04 (1H, 2s, 旋转异构体)。

[0074] MS (ESI, m/z) : 521.3 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0075] (d) N-{4,5,6-三氢-1-乙氧羰基吡咯 [3,4-c] 吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺盐酸盐的制备

[0076] 将实施例 1 步骤 (c) 产物 (3.0g, 5.8mmol) 溶于 60mL 干燥的二氯甲烷中,通盐酸气 3 ~ 5 小时,有大量白色沉淀生成,抽滤,二氯甲烷 (20mL) 洗涤,滤饼真空干燥得 2.60g,收率 98%。

[0077] MS (ESI, m/z) : 421.2 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0078] (e) N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1-乙氧羰基吡咯 [3,4-c] 吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺的制备

[0079] 将异氰酸正丁酯 (0.62g, 6.2mmol) 的二氯甲烷 (5mL) 混合液滴加入实施例 1 步骤

(d) 的产物 (2.0g, 4.8mmol) 的二氯甲烷 (40mL) 和 DIEA (3.72g, 28.8mmol) 的悬浮液中, 室温搅拌 18 小时, 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥有机相, 旋干, 真空干燥, 得白色粉末状固体 1.95g, 收率 78%。

[0080] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ ppm : 0.82 (3H, t, $J = 7.2\text{Hz}$), 1.22 (2H, m), 1.40 (2H, m), 3.11 (2H, m), 4.11-4.38 (3H, m), 6.25 (1H, s), 7.78-7.87 (1H, m), 7.89 (1H, s), 7.92 (1H, s), 8.30-8.33 (1H, m), 8.51-8.52 (1H, m), 8.71-8.73 (1H, m), 11.21 (1H, 2s)。

[0081] MS (ESI, m/z) : 521 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0082] (f) N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1H-吡咯 [3,4-c] 吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺的制备

[0083] 将三乙胺的 10% 甲醇溶液 22mL 与实施例 1 步骤 (e) 的产物 (1.9g, 3.7mmol) 的混合液于 30℃ 下搅拌 3 小时, 减压旋干, 残留物加乙醚研磨, 抽滤, 乙醚 (40mL) 洗涤, 真空干燥得到白色粉末状固体化合物 2) 0.91g, 收率 55%。

[0084] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ ppm : 0.84 (3H, t, $J = 7.2\text{Hz}$), 1.26 (2H, m), 1.40 (2H, m), 3.08 (2H, m), 4.15 (1H, s), 4.24 (1H, s), 6.23 (1H, s), 7.68-7.79 (1H, m), 7.86 (1H, s), 7.88 (1H, s), 8.24-8.26 (1H, d), 8.47-8.49 (1H, d), 8.68-8.70 (1H, d), 10.97 (1H, s), 12.25 (1H, s)。

[0085] MS (ESI, m/z) : 448.3 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0086] < 实施例 2 > N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1H-吡咯 [3,4-c] 吡唑-3-基}-萘-1-磺酰胺

[0087] (a) N-{5-叔丁氧羰基-4,6-二氢-1-乙氧羰基吡咯 [3,4-c] 吡唑-3-基}-萘-1-磺酰胺的制备

[0088] 根据实施例 1 步骤 (c) 的方法, 用实施例 1 步骤 (b) 的产物和 1-萘磺酰氯反应制备, 得到副标题化合物, 为白色粉末状, 收率 69%。

[0089] MS (ESI, m/z) : 487 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0090] (b) N-{4,5,6-三氢-1-乙氧羰基吡咯 [3,4-c] 吡唑-3-基}-萘-1-磺酰胺盐酸盐的制备

[0091] 根据实施例 1 步骤 (d) 的方法制备, 用实施例 2 步骤 (a) 的产物制备, 得到副标题化合物, 为白色粉末状, 收率 100%。

[0092] MS (ESI, m/z) : 387 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0093] (c) N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1-乙氧羰基吡咯 [3,4-c] 吡唑-3-基}-萘-1-磺酰胺的制备

[0094] 根据实施例 1 步骤 (e) 的方法制备, 用实施例 2 步骤 (b) 的产物制备, 得到副标题化合物, 为白色粉末状, 收率 72%。

[0095] (d) N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1H-吡咯 [3,4-c] 吡唑-3-基}-萘-1-磺酰胺的制备

[0096] 根据实施例 1 步骤 (f) 的方法制备, 用实施例 2 步骤 (c) 的产物制备, 得到化合物 1), 为白色粉末状, 收率 58%。

[0097] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ ppm : 0.85 (3H, t, $J = 7.2\text{Hz}$), 1.24 (2H, m), 1.38 (2H, m), 3.03 (2H, m), 4.20 (2H, s), 4.25 (2H, s), 6.20 (1H, s), 7.32-7.60 (1H, m), 7.67 (1H, s),

7. 70 (1H, s), 8. 21-8. 24 (1H, d), 8. 40-8. 43 (1H, d), 8. 63-8. 65 (1H, d), 10. 07 (1H, s)。

[0098] MS (ESI, m/z) :414 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0099] < 实施例 3>N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺

[0100] (a)N-{5-叔丁氧羰基-4,6-二氢-1-乙氧羰基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺的制备

[0101] 根据实施例 1 步骤 (c) 的方法,用实施例 1 步骤 (b) 的产物和 5-碘-1-萘磺酰氯反应制备,得到副标题化合物,为白色粉末状,收率 50%。

[0102] MS (ESI, m/z) :613. 3 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0103] (b)N-{4,5,6-三氢-1-乙氧羰基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺盐酸盐的制备

[0104] 根据实施例 1 步骤 (d) 的方法制备,用实施例 3 步骤 (a) 的产物制备,得到副标题化合物,为白色粉末状,收率 100%。

[0105] MS (ESI, m/z) :513. 2 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0106] (c)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1-乙氧羰基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺的制备

[0107] 根据实施例 1 步骤 (e) 的方法制备,用实施例 3 步骤 (b) 的产物制备,得到副标题化合物,为白色粉末状,收率 76%。

[0108] MS (ESI, m/z) :612 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0109] (d)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺的制备

[0110] 根据实施例 1 步骤 (f) 的方法制备,用实施例 3 步骤 (c) 的产物制备,得到化合物 3),为白色粉末状,收率 60%。

[0111] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm :0. 83 (3H, t, $J = 7. 2\text{Hz}$), 1. 26 (2H, m), 1. 39 (2H, m), 3. 01 (2H, m), 4. 22 (2H, s), 4. 24 (2H, s), 6. 23 (1H, s), 7. 22-7. 35 (1H, m), 7. 42 (1H, s), 7. 58 (1H, s), 7. 90-7. 92 (1H, d), 8. 12-8. 15 (1H, d), 8. 29-8. 33 (1H, d), 11. 07 (1H, s)。

[0112] MS (ESI, m/z) :540 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0113] < 实施例 4>N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺

[0114] (a)N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1-乙氧羰基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺的制备

[0115] 根据实施例 1 步骤 (e) 的方法,用实施例 1 步骤 (d) 的产物和异氰酸苯酯反应制备,得到副标题化合物,为白色粉末状,收率 71%。

[0116] MS (ESI, m/z) :541 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0117] (b)N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺的制备

[0118] 根据实施例 1 步骤 (f) 的方法制备,用实施例 4 步骤 (a) 的产物制备,得到化合物 5),为白色粉末状,收率 65%。

[0119] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm :4. 21 (2H, s), 4. 28 (2H, s), 6. 30 (1H, s),

6.44 (1H, d), 6.59 (1H, s), 7.66–7.75 (1H, m), 7.83 (1H, s), 7.86 (1H, s), 8.24–8.27 (1H, d), 8.45–8.47 (1H, d), 8.64–8.69 (1H, d), 10.89 (1H, s), 12.00 (1H, s)。

[0120] MS (ESI, m/z) :469 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0121] < 实施例 5> N-{5-乙酰基-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺

[0122] (a) N-{5-乙酰基-4,6-二氢-1-乙氧羰基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺的制备

[0123] 根据实施例 1 步骤 (e) 的方法, 用实施例 1 步骤 (d) 的产物和乙酰氯反应制备, 得到副标题化合物, 为白色粉末状, 收率 85%。

[0124] MS (ESI, m/z) :464 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0125] (b) N-{5-乙酰基-4,6-二氢-1H-吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺的制备

[0126] 根据实施例 1 步骤 (f) 的方法制备, 用实施例 5 步骤 (a) 的产物制备, 得到化合物 8), 为白色粉末状, 收率 61%。

[0127] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 2.08 (3H, s), 4.25 (2H, s), 4.34 (2H, s), 6.20 (1H, s), 7.66–7.70 (1H, m), 7.82 (1H, s), 7.85 (1H, s), 8.21–8.23 (1H, d), 8.50–8.53 (1H, d), 8.69–8.72 (1H, d), 10.95 (1H, s), 12.15 (1H, s)。

[0128] MS (ESI, m/z) :391 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0129] < 实施例 6> N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺

[0130] (a) 3-氨基-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-5-羧酸叔丁基酯的制备

[0131] N_2 保护下, 将 1-叔丁氧羰基-3-氰基-4-吡咯烷酮 (9.0g, 0.043mol)、盐酸羟氨 (3.03g, 0.043mol) 和乙醇 (250ml) 的混合物于 60℃ 搅拌反应 3h, 后冷却至 0℃ 缓慢滴加饱和的碳酸氢钠水溶液 600mL, 继续搅拌 30min 后, 将所得反应液减压旋蒸除去大部分的乙醇和水, 剩余液用乙酸乙酯 (300mL) 萃取, 有机相无水硫酸钠干燥, 抽滤, 滤液蒸除溶剂, 粗品经硅胶柱分离纯化 (石油醚 / 乙酸乙酯 = 6 : 1), 真空干燥得白色粉末状固体 2.9g, 收率 30%。

[0132] MS (ESI, m/z) :226 ($M^+ + 1$, 100%)

[0133] (b) N-{5-叔丁氧羰基-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺的制备

[0134] 将 5-氯-1-萘磺酰氯 (2.72g, 10.5mmol) 溶于 40mL 的无水乙腈中, N_2 保护, 缓慢滴加至实施例 6 步骤 (a) 产物 (2.41g, 9.44mmol)、30mL 的无水吡啶和 60mL 无水乙腈混合物中, 45 ~ 60℃ 反应 6 小时, 旋干, 二氯甲烷 (100mL) 萃取, 水洗, 无水硫酸钠干燥, 抽滤, 旋干, 残余物经硅胶柱分离纯化 (石油醚 / 乙酸乙酯 = 10 : 1), 真空干燥得白色粉末状固体 2.12g, 收率 45%。

[0135] MS (ESI, m/z) :451 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0136] (c) N-{4,6-三氢-5H-吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺盐酸盐的制备

[0137] 将实施例 6 步骤 (b) 产物 (2.0g, 4.4mmol) 溶于 60mL 干燥的二氯甲烷中, 通盐酸气

3 ~ 5 小时,有大量白色沉淀生成,抽滤,二氯甲烷洗涤,滤饼真空干燥得 1.7g,收率 100%。

[0138] MS(ESI, m/z) :350 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0139] (d)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺的制备

[0140] 将异氰酸正丁酯(0.34g, 3.4mmol)的二氯甲烷(5mL)混合液滴加入实施例6步骤(c)的产物(1.0g, 2.9mmol)的二氯甲烷(20mL)和 DIEA(2.25g, 17.4mmol)的悬浮液中,室温搅拌 18 小时,饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥有机相,旋干,真空干燥,得白色粉末状固体化合物 11)1.17g,收率 77%。

[0141] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ ppm :0.90(3H, t, $J = 7.2\text{Hz}$), 1.27(2H, m), 1.41(2H, m), 3.05(2H, m), 4.22(2H, s), 4.37(2H, s), 6.31(1H, s), 7.69-7.80(1H, m), 7.84(1H, d), 7.87(1H, d), 8.23-8.25(1H, m), 8.49-8.51(1H, m), 8.69-8.73(1H, m), 10.91(1H, 2s)。

[0142] MS(ESI, m/z) :450 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0143] <实施例 7>N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺

[0144] (a)N-{5-叔丁氧羰基-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺的制备

[0145] 根据实施例6步骤(b)的方法,用实施例6步骤(a)的产物和 5-碘-1-萘磺酰氯反应制备,得到副标题化合物,为白色粉末状,收率 43%。

[0146] MS(ESI, m/z) :542 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0147] (b)N-{4,6-三氢-5H-吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺盐酸盐的制备

[0148] 根据实施例6步骤(c)的方法制备,用实施例7步骤(a)的产物制备,得到副标题化合物,为白色粉末状,收率 100%。

[0149] MS(ESI, m/z) :442 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0150] (c)N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺的制备

[0151] 根据实施例6步骤(d)的方法制备,用实施例7步骤(b)的产物制备,得到化合物 12),为白色粉末状,收率 74%。

[0152] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ ppm :0.90(3H, t, $J = 7.2\text{Hz}$), 1.27(2H, m), 1.41(2H, m), 3.05(2H, m), 4.22(2H, s), 4.37(2H, s), 6.31(1H, s), 7.24-7.36(1H, m), 7.45(1H, d), 7.61(1H, d), 7.91-7.94(1H, m), 8.14-8.17(1H, m), 8.31-8.34(1H, m), 10.96(1H, 2s)。

[0153] MS(ESI, m/z) :541 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0154] <实施例 8>N-{5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6-二氢吡咯[3,4-c]异恶唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺

[0155] 根据实施例6步骤(d)的方法,用实施例6步骤(c)的产物和异氰酸苯酯反应制备,得到化合物 14),为白色粉末状,收率 71%。

[0156] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ ppm :4.22(1H, s), 4.31(1H, s), 6.30(1H, s), 6.43(1H, d), 6.58(1H, s), 7.67-7.78(1H, m), 7.83(1H, s), 7.87(1H, s), 8.25-8.28(1H, d), 8.46-8.48(1H, d), 8.67-8.70(1H, d), 11.01(1H, s), 12.13(1H, s)。

[0157] MS(ESI, m/z) :470 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0158] < 实施例 9>N-{5-[(N- 苯基氨基) 甲酰基]-4,6- 二氢吡咯 [3,4-c] 异恶唑-3-基}-5- 碘萘-1- 磺酰胺

[0159] 根据实施例 6 步骤 (d) 的方法,用实施例 7 步骤 (b) 的产物和异氰酸苯酯反应制备,得到化合物 15),为白色粉末状,收率 69%。

[0160] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ ppm :4. 22 (1H, s), 4. 31 (1H, s), 6. 30 (1H, s), 6. 43 (1H, d), 6. 58 (1H, s), 7. 22-7. 35 (1H, m), 7. 42 (1H, s), 7. 58 (1H, s), 7. 92-7. 95 (1H, d), 8. 12-8. 15 (1H, d), 8. 31-8. 34 (1H, d), 11. 07 (1H, 2s)。

[0161] MS(ESI, m/z) :561 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0162] < 实施例 10>N-{5- 乙酰基-4,6- 二氢吡咯 [3,4-c] 异恶唑-3-基}-5- 氯萘-1- 磺酰胺

[0163] 根据实施例 1 步骤 (e) 的方法,用实施例 6 步骤 (c) 的产物和乙酰氯反应制备,得到化合物 17),为白色粉末状,收率 86%。

[0164] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ ppm :2. 07 (3H, s), 4. 21 (2H, s), 4. 33 (2H, s), 6. 21 (1H, s), 7. 65-7. 69 (1H, m), 7. 81 (1H, s), 7. 83 (1H, s), 8. 27-8. 30 (1H, d), 8. 51-8. 53 (1H, d), 8. 69-8. 71 (1H, d), 10. 90 (1H, s), 12. 10 (1H, s)。

[0165] MS(ESI, m/z) :392 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0166] < 实施例 11>N-{5- 乙酰基-4,6- 二氢吡咯 [3,4-c] 异恶唑-3-基}-5- 碘萘-1- 磺酰胺

[0167] 根据实施例 1 步骤 (e) 的方法,用实施例 7 步骤 (b) 的产物和乙酰氯反应制备,得到化合物 18),为白色粉末状,收率 89%。

[0168] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ ppm :2. 02 (3H, s), 4. 20 (2H, s), 4. 23 (2H, s), 6. 24 (1H, s), 7. 20-7. 35 (1H, m), 7. 41 (1H, s), 7. 59 (1H, s), 7. 90-7. 92 (1H, d), 8. 12-8. 15 (1H, d), 8. 29-8. 33 (1H, d), 12. 07 (1H, s)。

[0169] MS(ESI, m/z) :484 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0170] < 实施例 12>N-{5-[(N- 正丁基氨基) 甲酰基]-4,6- 二氢-2- 甲基吡咯 [3,4-c] 吡唑-3-基}-5- 氯萘-1- 磺酰胺

[0171] (a) 3- 氨基-4,6- 二氢-2- 甲基吡咯 [3,4-c] 吡唑-5- 羧酸叔丁基酯的制备

[0172] N_2 保护下,将 1- 叔丁氧羰基-3- 氰基-4- 吡咯烷酮 (10. 5g, 0. 05mol)、40% 甲基胍水溶液 (5. 8g, 0. 05mol) 和乙醇 (150mL) 的混合物于室温搅拌反应 20h。反应完毕蒸干溶剂,所得残余物溶于二氯甲烷 (30mL),用饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,旋干,残余物经硅胶柱分离纯化 (石油醚 / 乙酸乙酯 = 10 : 1),真空干燥得白色固体 4. 76g,收率 40%。

[0173] MS(ESI, m/z) :239 ($M^+ + 1$, 100%)

[0174] (b) N-{5- 叔丁氧羰基-4,6- 二氢-2- 甲基吡咯 [3,4-c] 吡唑-3-基}-5- 氯萘-1- 磺酰胺的制备

[0175] 将 5- 氯-1- 萘磺酰氯 (5. 9g, 22. 7mmol) 溶于 60mL 的无水乙腈中, N_2 保护,缓慢滴加至实施例 12 步骤 a 产物 (4. 5g, 19mmol)、40mL 的无水吡啶和 100mL 无水乙腈混合物中,45 ~ 60 $^\circ\text{C}$ 反应 6 小时,旋干,二氯甲烷 (150mL) 萃取,水洗,无水硫酸钠干燥,抽滤,旋干,

残余物经硅胶柱分离纯化(石油醚/乙酸乙酯=10:1),真空干燥得类白色粉末状固体 6.33g, 收率 72%。

[0176] MS(ESI, m/z): 464 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0177] (c) N-{4,6-二氢-5H-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺盐酸盐的制备

[0178] 将实施例 12 步骤 (b) 产物 (3.0g, 5.8mmol) 溶于 60mL 干燥的二氯甲烷中, 通盐酸气 3~5 小时, 有大量白色沉淀生成, 抽滤, 二氯甲烷洗涤, 真空干燥得白色固体 2.3g, 收率 100%。

[0179] MS(ESI, m/z): 363 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0180] (d) N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺的制备

[0181] 将异氰酸正丁酯 (0.59g, 6.0mmol) 的二氯甲烷 (5mL) 混合液滴加入实施例 12 步骤 (c) 的产物 (2.0g, 5.0mmol) 的二氯甲烷 (40mL) 和 DIEA (3.88g, 30mmol) 的悬浮液中, 室温搅拌 20 小时, 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥有机相, 旋干, 残余物经硅胶柱分离纯化(石油醚/乙酸乙酯=3:1), 真空干燥得白色粉末状固体化合物 20) 1.85g, 收率 80%。

[0182] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 0.82 (3H, t, $J = 7.2\text{Hz}$), 1.25 (2H, m), 1.38 (2H, m), 3.04 (2H, m), 4.09 (2H, s), 4.11 (2H, s), 7.66-7.72 (1H, m), 7.82-7.85 (1H, d), 8.21-8.24 (1H, m), 8.40-8.43 (1H, m), 8.63-8.65 (1H, m), 10.07 (1H, s)。

[0183] MS(ESI, m/z): 464 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0184] <实施例 13> N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺

[0185] (a) N-{5-叔丁氧羰基-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺的制备

[0186] 根据实施例 12 步骤 (b) 的方法, 用实施例 12 步骤 (a) 的产物和 5-碘-1-萘磺酰氯反应制备, 得到副标题化合物, 为白色粉末状, 收率 74%。

[0187] MS(ESI, m/z): 555 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0188] (b) N-{4,6-二氢-5H-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺盐酸盐的制备

[0189] 根据实施例 12 步骤 (c) 的方法, 用实施例 13 步骤 (a) 的产物制备, 得到副标题化合物, 为白色粉末状, 收率 100%。

[0190] MS(ESI, m/z): 455 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0191] (c) N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基}-5-碘萘-1-磺酰胺的制备

[0192] 根据实施例 12 步骤 (d) 的方法, 用实施例 13 步骤 (b) 的产物和异氰酸正丁酯反应制备, 得到化合物 21), 为白色粉末状, 收率 76%。

[0193] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 0.83 (3H, t, $J = 7.2\text{Hz}$), 1.26 (2H, m), 1.39 (2H, m), 3.01 (2H, m), 4.22 (2H, s), 4.24 (2H, s), 6.23 (1H, s), 7.22-7.35 (1H, m), 7.42 (1H, s), 7.58 (1H, s), 7.90-7.92 (1H, d), 8.12-8.15 (1H, d), 8.29-8.33 (1H, d), 11.00 (1H, s)。

[0194] MS(ESI, m/z): 554 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0195] <实施例 14>N-[5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基]-5-氯萘-1-磺酰胺

[0196] 根据实施例 12 步骤 (d) 的方法,用实施例 12 步骤 (c) 的产物和异氰酸苯酯反应制备,得到化合物 23),为白色粉末状,收率 61%。

[0197] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ ppm:3.69(3H, s),4.09(2H, s),4.11(2H, s),7.66-7.72(1H, m),7.82-7.85(1H, d),8.21-8.24(1H, m),8.40-8.43(1H, m),8.63-8.65(1H, m),10.07(1H, s)。

[0198] MS(ESI, m/z):483(M^+ +1,100%)。

[0199] <实施例 15>N-[5-[(N-苯基氨基)甲酰基]-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基]-5-碘萘-1-磺酰胺

[0200] 根据实施例 12 步骤 (d) 的方法,用实施例 13 步骤 (b) 的产物和异氰酸苯酯反应制备,得到化合物 24),为白色粉末状,收率 54%。

[0201] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ ppm:4.12(1H, s),4.21(1H, s),6.33(1H, s),6.43(1H, d),6.58(1H, s),7.22-7.35(1H, m),7.42(1H, s),7.58(1H, s),7.92-7.95(1H, d),8.12-8.15(1H, d),8.31-8.34(1H, d),11.07(1H, 2s)

[0202] MS(ESI, m/z):574(M^+ +1,100%)。

[0203] <实施例 16>N-[5-乙酰基-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基]-5-氯萘-1-磺)。

[0204] 根据实施例 12 步骤 (d) 的方法,用实施例 12 步骤 (c) 的产物和乙酰氯反应制备,得到化合物 26),为白色粉末状,收率 90%。

[0205] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ ppm:2.02(3H, s),4.20(2H, s),4.23(2H, s),6.23(1H, s),7.68-7.79(1H, m),7.86(1H, s),7.88(1H, s),8.24-8.26(1H, d),8.47-8.49(1H, d),8.68-8.70(1H, d),10.97(1H, s),12.25(1H, s)。

[0206] MS(ESI, m/z):405(M^+ +1,100%)。

[0207] <实施例 17>N-[5-乙酰基-4,6-二氢-2-甲基吡咯[3,4-c]吡唑-3-基]-5-碘萘-1-磺胺

[0208] 根据实施例 12 步骤 (d) 的方法,用实施例 13 步骤 (b) 的产物和乙酰氯反应制备,得到化合物 27),为白色粉末状,收率 89%。

[0209] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ ppm:2.02(3H, s),4.20(2H, s),4.23(2H, s),6.23(1H, s),7.22-7.35(1H, m),7.42(1H, s),7.58(1H, s),7.90-7.92(1H, d),8.12-8.15(1H, d),8.29-8.33(1H, d),11.07(1H, s)。

[0210] MS(ESI, m/z):497(M^+ +1,100%)。

[0211] <实施例 18>N-[5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6,7-三氢-1H-吡唑[4,3-c]吡啶-3-基]-5-氯萘-1-磺酰胺

[0212] (a) 1-叔丁氧羰基-3-氰基-4-吡咯烷酮的制备

[0213] 将 184.2 克 (1.2mol) 丙氨酸乙酯盐酸盐和 600mL 甲醇投入 2000mL 三口烧瓶中,机械搅拌、溶清。后加入 NaOH 固体 16g \times 3 次 (1.2mol),冰水浴 50min,撤去冰浴,油浴下加热至 70 $^{\circ}\text{C}$,滴加丙烯腈 80g($\rho = 0.805$,100mL),滴加完毕,回流反应 4 小时,冷却至室温,加 218g(BOC)2O(1.0mol),分 6 次 2 小时内加完,室温反应,呈白色悬浊液,继续搅拌 4 小时

后抽滤,滤饼用 60mL 甲醇洗涤 1 次,合并滤液、旋蒸除去甲醇,加入 400mL 乙酸乙酯提取,用 200mL×3 次水洗,有机层用 40g 无水硫酸镁干燥,抽滤、旋蒸除去溶剂,得到淡黄色油状液体 268g。将 43g NaH(含量 70%)和 700mL 干燥过的甲苯加入 2000mL 三口烧瓶中,电动搅拌,加热回流 110℃左右,回流后开始滴加之前所得淡黄色油状液体 268g,50min 滴完,反应 3 小时后冷却,加水 800mL 使固状物溶清,抽滤,合并滤液,于分液漏斗静置分层,分出下层水层,水层用甲苯 400mL 反萃取一次,分出水层,再用石油醚 (250mL×2) 反萃取两次,水层用冰醋酸调至 pH~6 左右,底部析出大量油状物,分液漏斗分层,下层油状物用乙酸乙酯 600mL 溶清,300mL×3 次水洗,有机层无水硫酸镁干燥,抽滤,减压旋蒸除去溶剂,得黄色粘稠状液体 191g,收率 71%。

[0214] MS(ESI, m/z) :224 ($M^+ + 1$, 100%)

[0215] (b) 3-氨基-4,6,7-三氢-1H-吡唑 [4,3-c] 吡啶-5-羧酸叔丁基酯的制备

[0216] 根据实施例 1 步骤 (a) 的方法,用 1-叔丁氧羰基-3-氰基-4-哌啶烷酮和盐酸胍反应制备,得到副标题化合物,为类白色粉末状,收率 27%。

[0217] MS(ESI, m/z) :239 ($M^+ + 1$, 100%)

[0218] (c) 1-乙氧羰基-5-叔丁氧羰基-3-氨基-4,6,7-三氢吡唑 [4,3-c] 吡啶的制备

[0219] 根据实施例 1 步骤 (b) 的方法,用实施例 18 步骤 (b) 的产物和氯甲酸乙酯反应制备,得到副标题化合物,为类白色粉末状,收率 72%。

[0220] MS(ESI, m/z) :311 ($M^+ + 1$, 100%)

[0221] (d) N-{5-叔丁氧羰基-4,6,7-三氢-1-乙氧羰基吡唑 [4,3-c] 吡啶-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺的制备

[0222] 根据实施例 1 步骤 (c) 的方法,用实施例 18 步骤 (c) 的产物和 5-氯-1-萘磺酰氯反应制备,得到副标题化合物,为类白色粉末状,收率 63%。

[0223] MS(ESI, m/z) :536 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0224] (e) N-{4,6,7-三氢-1-乙氧羰基-5H-吡唑 [4,3-c] 吡啶-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺盐酸盐的制备

[0225] 根据实施例 1 步骤 (d) 的方法,用实施例 18 步骤 (d) 的产物制备,得到副标题化合物,为白色粉末状,收率 100%。

[0226] MS(ESI, m/z) :436 ($M^+ + 1$)。

[0227] (f) N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6,7-三氢-1-乙氧羰基吡唑 [4,3-c] 吡啶-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺的制备

[0228] 根据实施例 1 步骤 (e) 的方法,用实施例 18 步骤 (e) 的产物和异氰酸正丁酯反应制备,得到副标题化合物,为白色粉末状,收率 58%。

[0229] MS(ESI, m/z) :535 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0230] (g) N-{5-[(N-正丁基氨基)甲酰基]-4,6,7-三氢-1H-吡唑 [4,3-c] 吡啶-3-基}-5-氯萘-1-磺酰胺的制备

[0231] 根据实施例 1 步骤 (f) 的方法,用实施例 18 步骤 (f) 的产物制备,得到化合物 29,为白色粉末状,收率 45%。

[0232] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ ppm :0.86(3H, t, $J = 7.2\text{Hz}$), 1.26(2H, m), 1.40(2H, m), 2.91(2H, t), 3.04(2H, m), 4.02(2H, s), 4.47(2H, s), 6.31(1H, s), 7.68-7.80(1H,

m), 7.84 (1H, d), 7.87 (1H, d), 8.23-8.25 (1H, m), 8.49-8.51 (1H, m), 8.69-8.73 (1H, m), 10.90 (1H, 2s)。

[0233] MS (ESI, m/z): 463 ($M^+ + 1$, 100%)。

[0234] < 实施例 19> 本发明化合物的抗瘤活性试验

[0235] 本发明采用磺基罗丹明 B 法 (sulforhodamine B, SRB), 以 ML-7 作为阳性对照药, 计算肿瘤细胞生长的抑制率。

[0236] 根据肿瘤细胞生长速率, 将处于对数生长期的乳腺癌细胞 MCF7 以 200 μ L/孔接种于 96 孔培养板, 各孔细胞密度为 3000/孔, 贴壁生长 24h 后, 分别加入实施例化合物 1)、2)、3)、5)、8)、11)、12)、14)、15)、17)、18)、20)、21)、23)、24)、26)、27)、29), 每个浓度设 3 复孔, 并设相应浓度的生理盐水溶媒对照及细胞调零孔。肿瘤细胞在 37°C、5% CO_2 条件下培养 48h。取出培养板, 每孔加入 50% (m/v) 的三氯乙酸 (TCA) 50 μ L 固定细胞, 4°C 放置 1h。弃固定液, 用蒸馏水洗涤 5 次, 空气中自然干燥, 每孔加 SRB 溶液 (1% 醋酸配制的 0.4% 的磺基罗丹明 B 溶液, 磺基罗丹明 B 是一种在酸性条件下可特异性地与细胞内蛋白结合的染料) 100 μ L, 室温下放置 10-30min, 去上层清液, 用 1% 醋酸洗涤 5 次, 空气干燥, 最后加入 150 μ L/孔的 Tris 缓冲溶液 (三羟甲基氨基甲烷缓冲溶液, pH 7.2 ~ 9.0), 在平板器上振荡 5min。在酶联免疫检测仪 (Model 3550, Bio-Rad) 测定 OD 值, 用空白对照调零, 所用波长为 492nm, 按以下公式计算肿瘤细胞生长的抑制率: 抑制率 = $[(\text{OD}_{492} \text{ 对照孔} - \text{OD}_{492} \text{ 给药孔}) / (\text{OD}_{492} \text{ 对照孔})] \times 100\%$ 。

[0237] 实施例的 18 个化合物, 终浓度为 100 μ mol/L, 同时设立相应浓度的 ML-7 为对照。化合物在浓度为 100 μ mol/L 时, 乳腺癌细胞生长抑制率如表 1 所示。

[0238] 表 1 浓度为 100 μ mol/L 时乳腺癌细胞生长抑制率 (%)

[0239]

试验化合物	抑制率 (%)
对照药 ML-7	82.7
化合物 1)	60.3
化合物 2)	87.4
化合物 3)	91.5
化合物 5)	85.3
化合物 8)	83.7
化合物 11)	37.3
化合物 12)	43.6

试验化合物	抑制率 (%)
化合物 14)	37.5
化合物 15)	40.8
化合物 17)	50.2
化合物 18)	38.8
化合物 20)	78.9
化合物 21)	81.8
化合物 23)	83.8
化合物 24)	87.5
化合物 26)	78.8
化合物 27)	84.4
化合物 29)	90.5

[0240] 实验结果表明,表 1 中所有测试化合物均对肿瘤细胞有抑制作用,其中近半数化合物在细胞水平上抑制率要优于 ML-7 阳性对照药。