



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 112239465 A

(43)申请公布日 2021.01.19

(21)申请号 201910643061.2

(22)申请日 2019.07.16

(71)申请人 微境生物医药科技(上海)有限公司

地址 201203 上海市浦东新区自由贸易试  
验区李冰路67弄11号

(72)发明人 樊后兴 谢雨礼

(74)专利代理机构 上海弼兴律师事务所 31283

代理人 薛琦 王卫彬

(51)Int.Cl.

C07D 417/14(2006.01)

C07D 401/14(2006.01)

A61K 31/4545(2006.01)

A61P 35/02(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

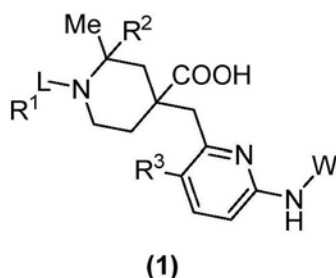
权利要求书4页 说明书29页

(54)发明名称

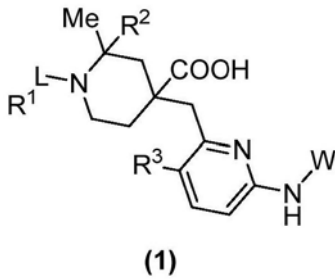
极光激酶抑制剂及其用途

(57)摘要

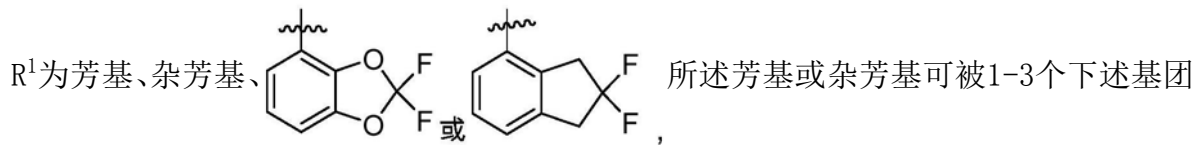
本发明涉及一类新型吡啶类化合物及其制备方法和用途。具体地,本发明涉及式(1)所示的化合物及其制备方法,以及式(1)化合物及其药学上可接受的盐或酯作为极光激酶(Aurora Kinase)抑制剂在抗肿瘤药物制备中的用途。



1. 一种结构如通式 (1) 所示的化合物或其各光学异构体、各晶型、药学上可接受的盐或酯：



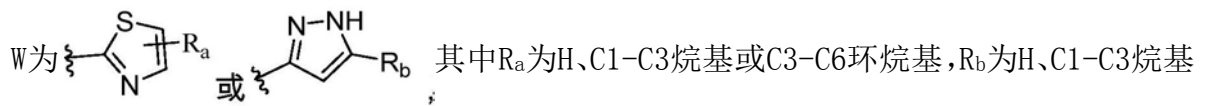
式 (1) 中：



所取代：卤素、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基、卤素取代C1-C3烷基、卤素取代C1-C3烷氧基；

R<sup>2</sup>为H或甲基；

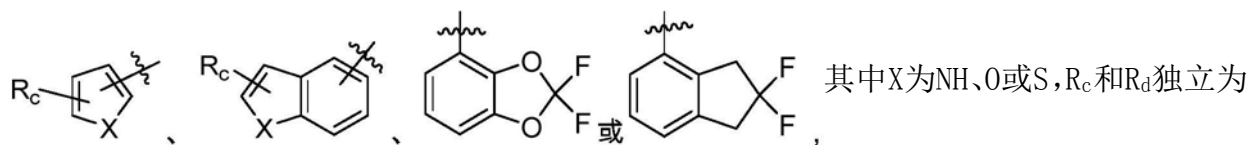
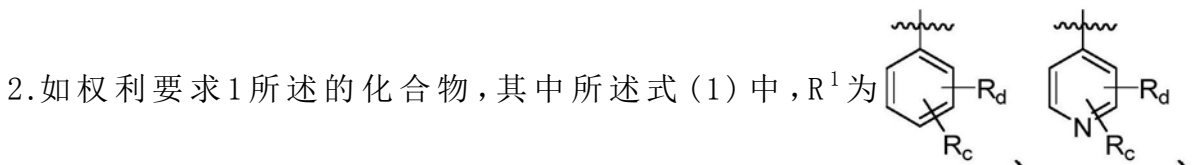
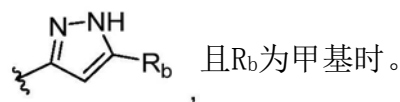
R<sup>3</sup>为H或F；



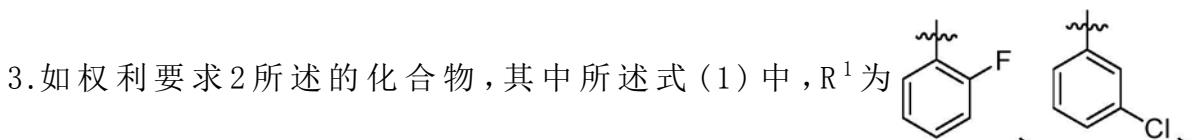
或C3-C6环烷基；和

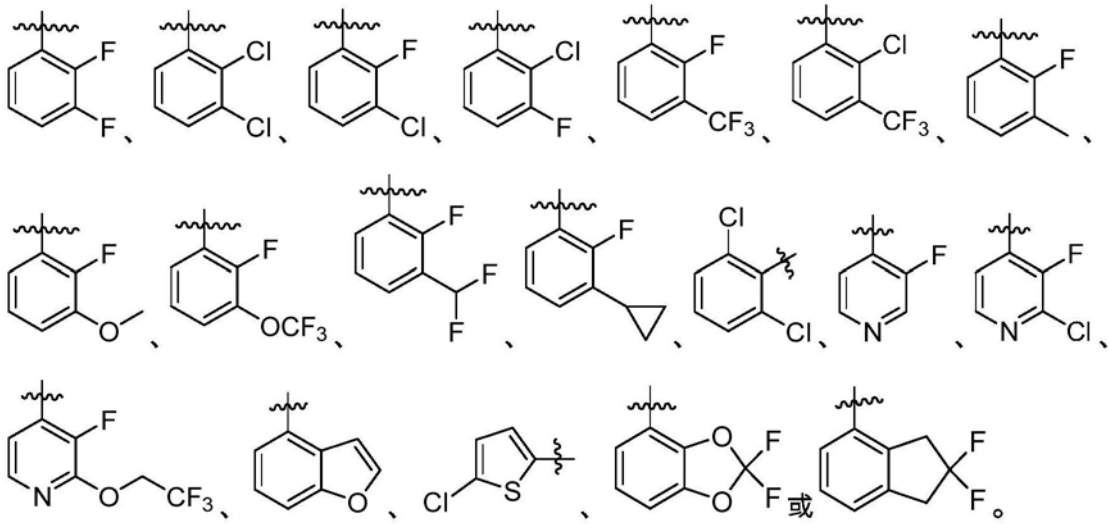


为H、C2-C3烷基或C3-C6环烷基时；或L为CO、CD<sub>2</sub>、CHMe、C (Me)<sub>2</sub>、 当W为

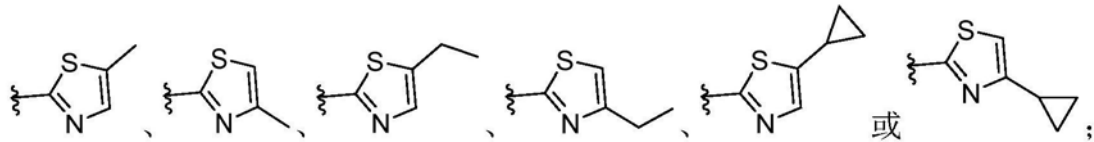
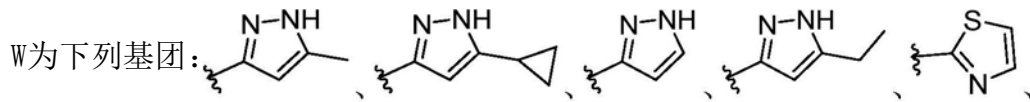


H、卤素、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基、卤素取代C1-C3烷基或卤素取代C1-C3烷氧基。

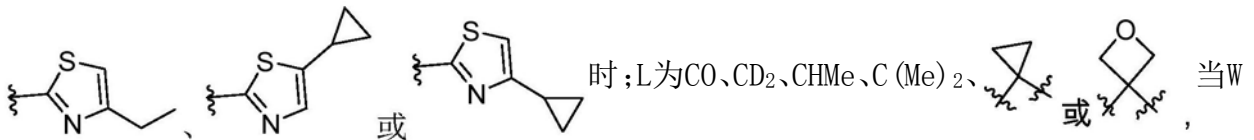
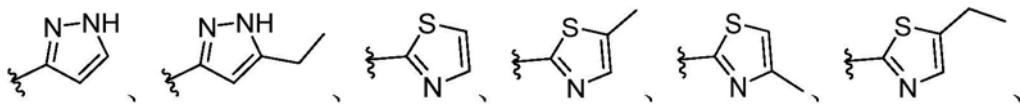
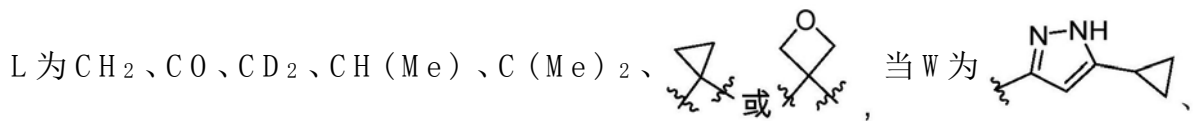


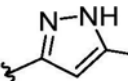


4. 如权利要求1所述的化合物,其中所述式(1)中,

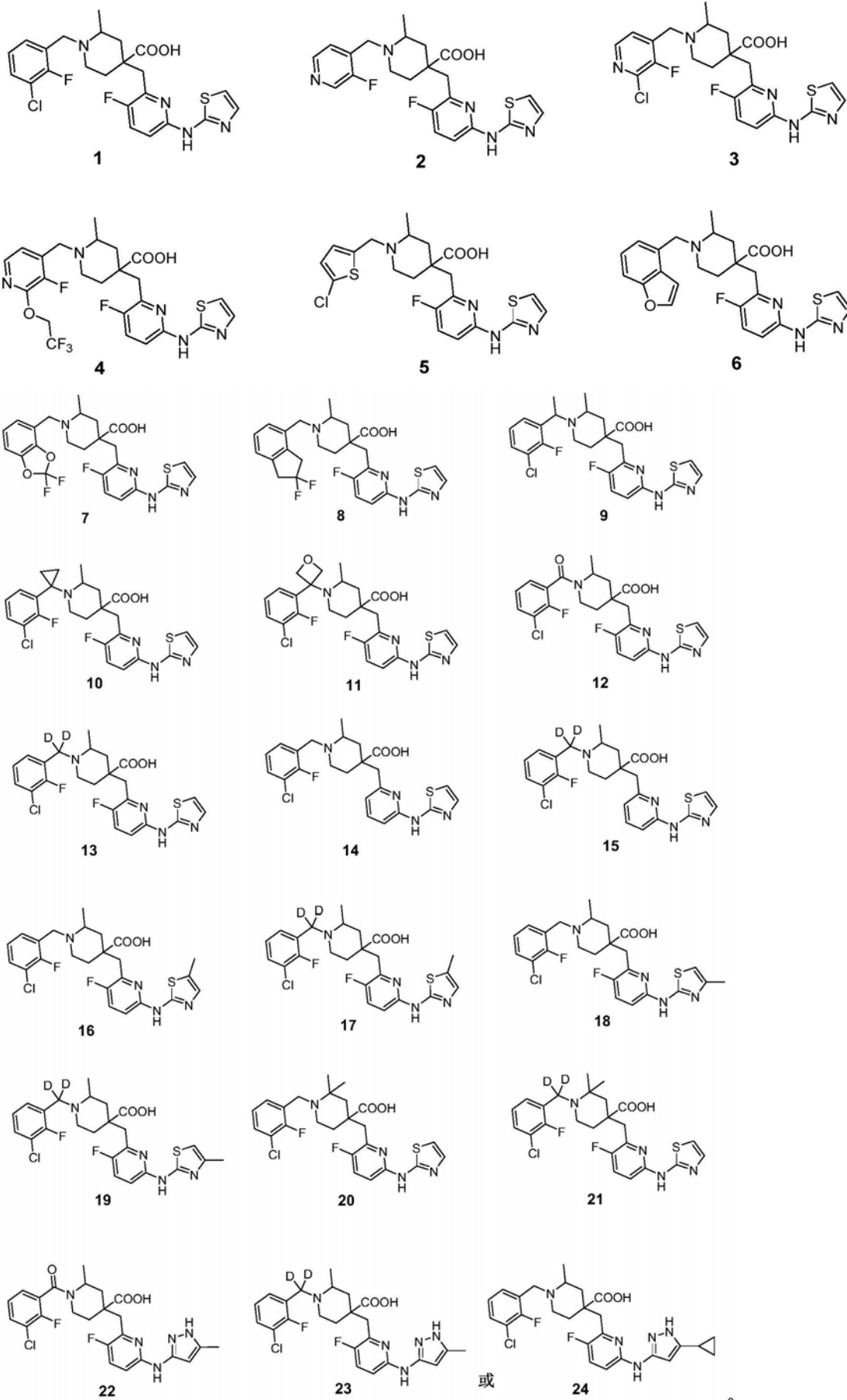


和



为时。

5. 如权利要求1-4所述的化合物,或其一种药学上可接受的盐或酯,其中所述化合物具有以下结构之一:



6. 以权利要求1-5中任一项所述的化合物、或其各光学异构体、各晶型、药学上可接受的盐或酯作为有效成分的极光激酶抑制剂。

7. 药物组合物,其特征在於:权利要求1-5中任一项所述的化合物作为有效成分,并含有可药用载体或稀释剂。

8. 一种权利要求1-5任一项所述的化合物、或其各光学异构体、各晶型、药学上可接受的盐或酯的用途,其特征在於,作为极光激酶抑制剂在抗肿瘤药物制备中的用途。

## 极光激酶抑制剂及其用途

### 技术领域

[0001] 本发明属涉及药物化学领域,更具体而言,涉及具有极光激酶(Aurora Kinase)抑制作用的新化合物,及其制备方法和该类化合物在抗肿瘤药物制备中的用途。

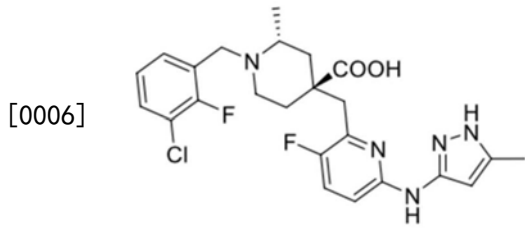
### 背景技术

[0002] 极光激酶(Aurora kinase)是一类新型的苏氨酸/丝氨酸蛋白激酶,在中心体复制、两极纺锤体形成、染色体重排和染色体检查点监测等重要的有丝分裂过程中发挥着至关重要的作用[Cancer Metastasis Rev.,2003,22,451]。目前已知人类细胞中存在3种结构和功能高度相关的Aurora激酶亚型:Aurora-A、Aurora-B和Aurora-C。Aurora-A在分裂前期位于中心体周围、中期位于纺锤体附近的微管、后期和末期位于极性微管上。它主要负责中心体的复制和分离、双极纺锤体聚集、有丝分裂的进入和推出、对中心体的成熟和纺锤体的装配起着重要的作用[Nat.Rev.Cancer,2005,5,42]。Aurora-B在有丝分裂早期位于染色体的着丝粒区域,分裂后期则从着丝粒移到微管。Aurora-B调控着丝粒的功能、染色体排列和分离、纺锤体检测功能、胞质分裂[Mol.Cancer Ther.,2009,8,2046-2056]。目前,对Aurora-C研究相对较少,其在有丝分裂中的具体作用并没有明确的定义。Aurora-C在睾丸中高水平表达,可能在雄性动物中起到特殊的作用[Proc Natl Acad Sci USA,2002,99(24):15440-15445.]。

[0003] Aurora-A编码基因定位于20q13.2,该区在许多肿瘤中普遍存在扩增,如乳腺癌、结肠癌、卵巢癌和甲状腺癌等。Aurora-A在体外的异位高表达导致细胞显示诸如中心体扩增、非整倍体、染色体不稳定、端粒延长等多种癌细胞特征[J.Cell Sci.,2007,120,2987]。观察发现,Aurora-A自身表达,或者激活搭档TPX-2,与人类癌细胞染色体不稳定有关。此外,Aurora-A还会干扰重要的肿瘤抑制因子及促凋亡蛋白例如p53的功能。其中Aurora-A通过磷酸化Ser215干扰p53的正常功能。它还能磷酸化p53的Ser315位点引起p53的降解。

[0004] Aurora-B在17p13.1基因组区域的基因图谱在某些人类癌症区域有变化[J.Clin.Pathol.,2007,60(2):218-221]。Aurora-B的mRNA和蛋白质在大多数主要的肿瘤中存在过度表达,例如结肠癌;口腔癌、肺癌(非小细胞)。Aurora-B是染色体过客蛋白(CPC)的一分子,也是CPC的核心成员。Aurora-B主要是通过底物磷酸化过程参与有丝分裂,主要底物包括:INCENP、CENP-A、Survivin等。Aurora-B过度表达增强致癌基因ras信号转导通路。

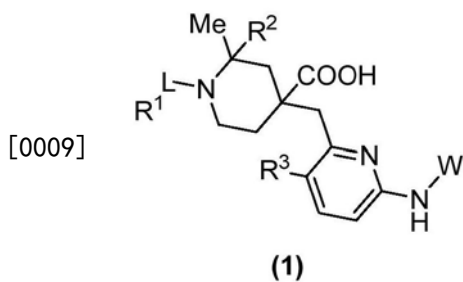
[0005] Aurora激酶独特的药理作用机制以及与恶性肿瘤的关系,使得它成为抗肿瘤药物研究的重要靶点,而其抑制剂也被认为是具有良好开发前景的新型抗肿瘤药物。LY-3295668是一个含吡啶主环的Aurora-A激酶抑制剂[W02016077161],现在处于临床1期阶段。LY-3295668的结构式如下:



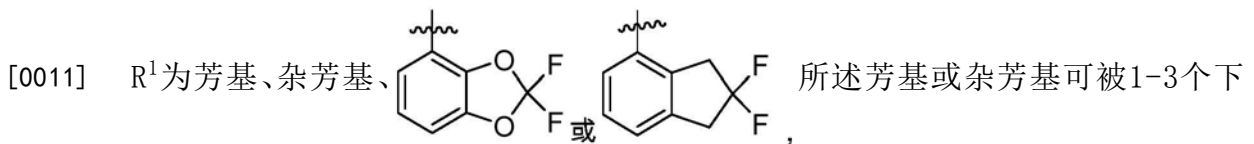
[0007] 然而LY-3295668和其它的Aurora-A激酶抑制剂都有一些缺点,比如Aurora激酶活性不够高,口服吸收性质较差,体内抗肿瘤活性也有待提高。因此针对现有Aurora激酶抑制剂存在的问题,找到具有更强体外活性和体内活性的新型Aurora抑制剂具有重要的意义。

发明内容

[0008] 本发明旨在提供结构如式(1)所示的新型Aurora Kinase抑制剂,或其光学异构体、药学上可接受的盐或酯:



[0010] 式(1)中:



[0012] R<sup>2</sup>为H或甲基;

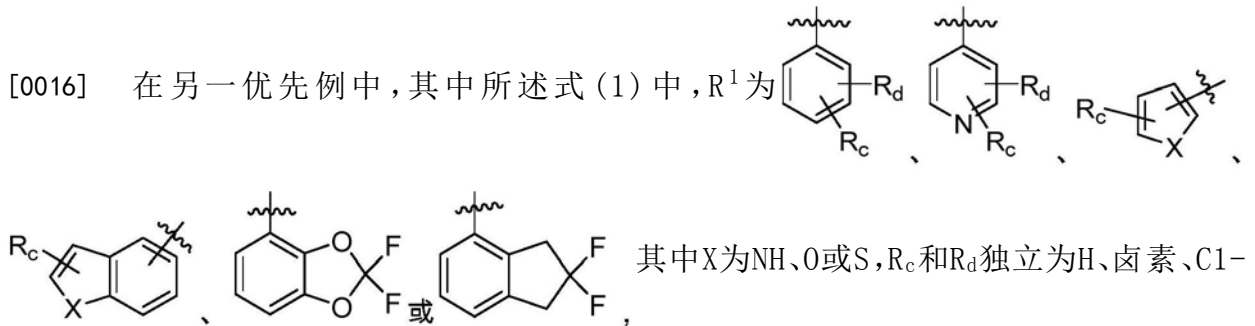
[0013] R<sup>3</sup>为H或F;

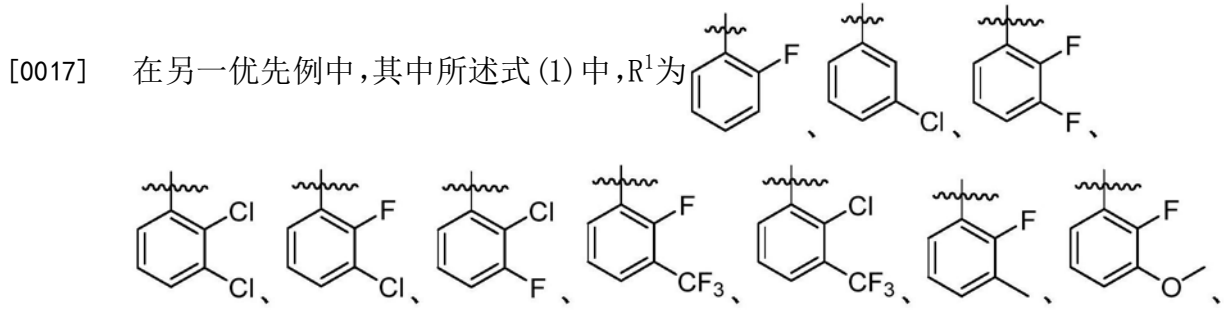
[0014] W为 其中R<sub>a</sub>为H、C1-C3烷基或C3-C6环烷基,R<sub>b</sub>为H、C1-C3烷基或C3-C6环烷基;和

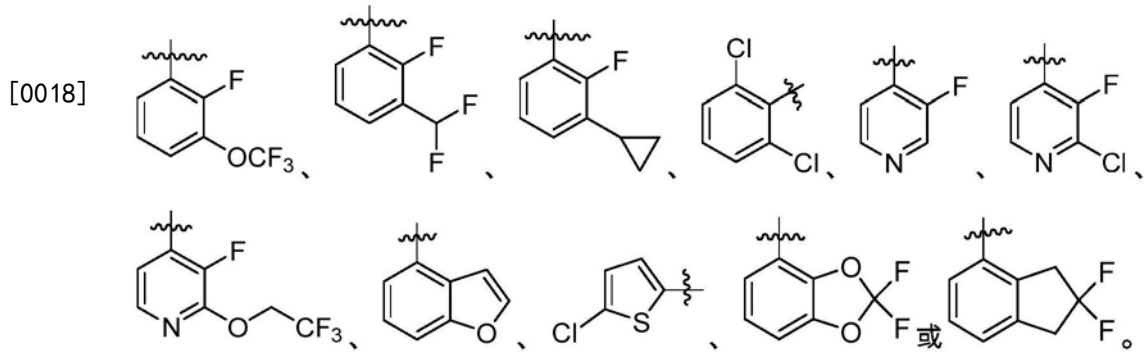
[0015] L为CH<sub>2</sub>、CO、CD<sub>2</sub>、CH(Me)、C(Me)<sub>2</sub>、 或 , 当W为 或 ,

且R<sub>b</sub>为H、C2-C3烷基或C3-C6环烷基时;或L为CO、CD<sub>2</sub>、CHMe、C(Me)<sub>2</sub>、 或 , 当W为

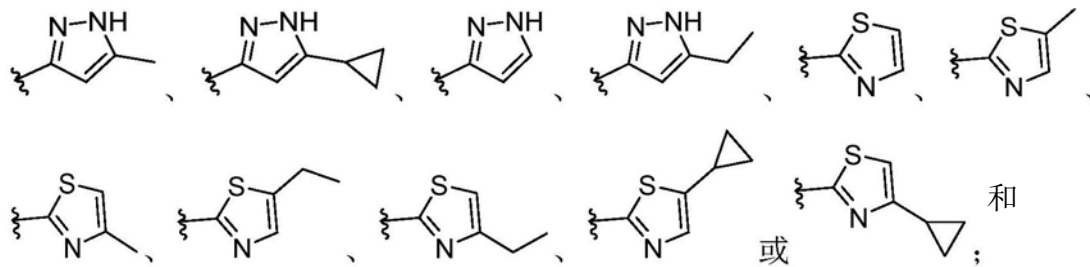
且R<sub>b</sub>为甲基时。


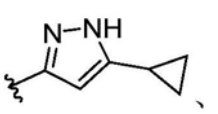

[0016] 在另一优先例中,其中所述式(1)中, $R^1$ 为  其中X为NH、O或S, $R_c$ 和 $R_d$ 独立为H、卤素、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基、卤素取代C1-C3烷基或卤素取代C1-C3烷氧基。

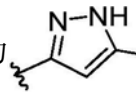
[0017] 在另一优先例中,其中所述式(1)中, $R^1$ 为 

[0018] 

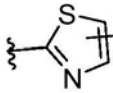
[0019] 在另一优先例中,其中所述式(1)中,W为下列基团:W为下列基团:

 和

[0020] L为 $CH_2$ 、CO、 $CD_2$ 、 $CH(Me)$ 、 $C(Me)_2$ 、 当W为  时;L为CO、 $CD_2$ 、 $CHMe$ 、 $C(Me)_2$ 、 当W

为  时。

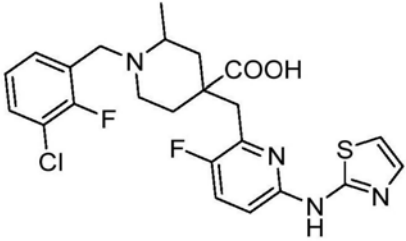
[0021] 通过合成和仔细研究了多类涉及具有极光激酶 (Aurora Kinase) 抑制作用的新化合物,发明人发现在通式 (1) 化合物中,当-L-基团从CH<sub>2</sub>改变成适当大小的基团所取代,比

如CD<sub>2</sub>,和/或者,当W是  R<sub>a</sub>基团时,化合物具有极强的Aurora-A激酶活性,同时

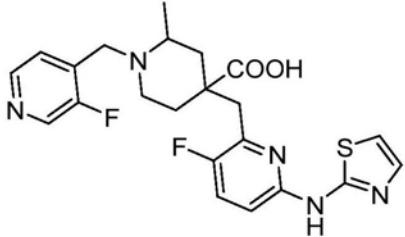
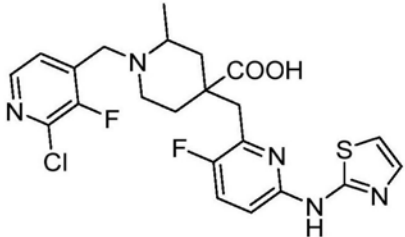
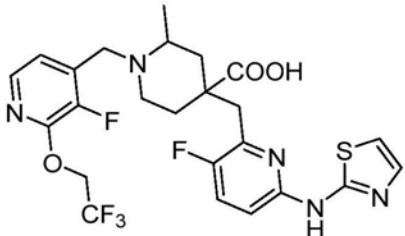
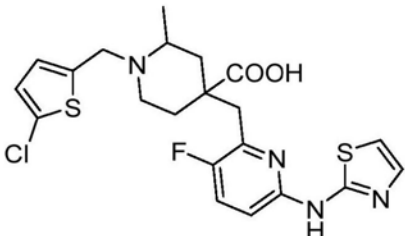
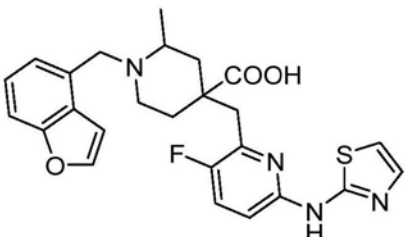
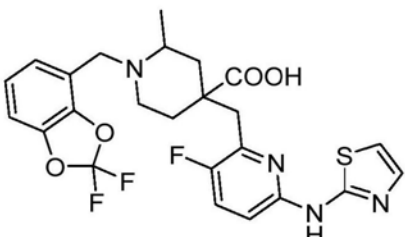
Aurora-B活性和体内抗肿瘤活性得到大幅提高。

[0022] 在各种不同实施方式中,化合物具有下表1中所列结构中的一个:

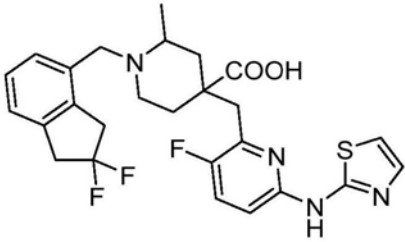
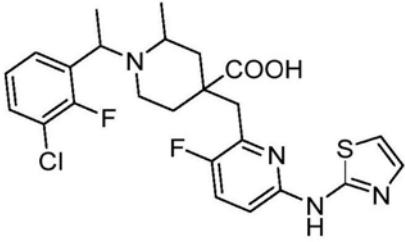
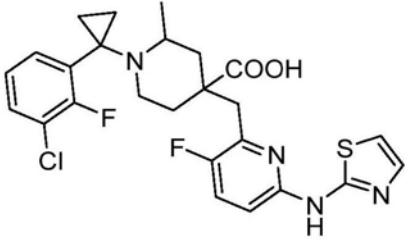
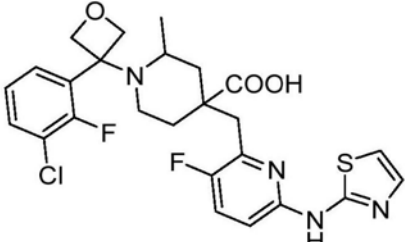
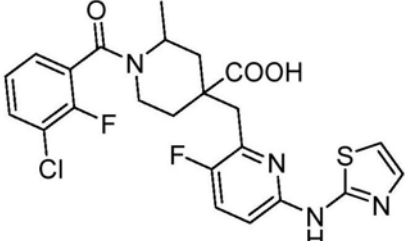
[0023] 表1:本发明代表性化合物列表:

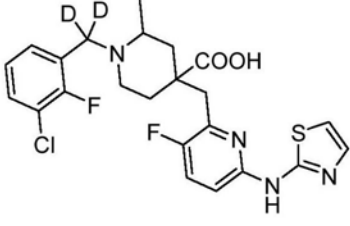
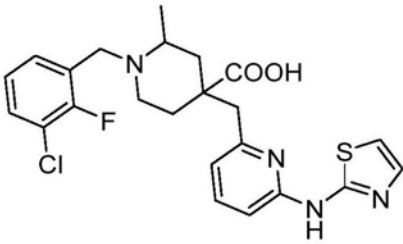
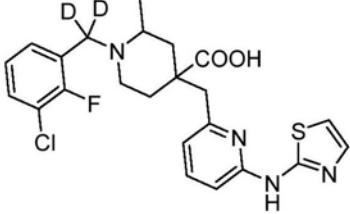
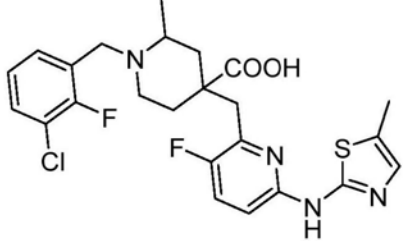
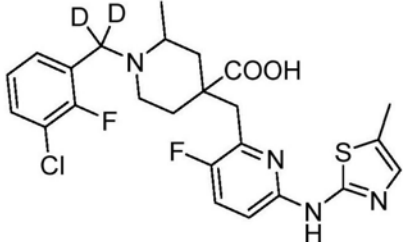
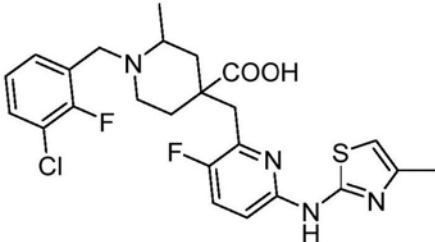
编号	化合物结构	化合物名称
[0024] 1		1-(3-氯-2-氟苄基)-4-((6-(3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸

[0025]

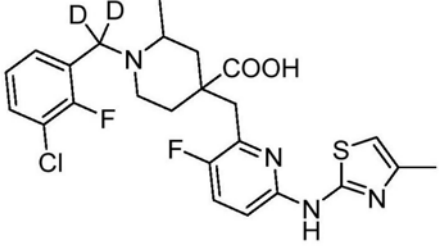
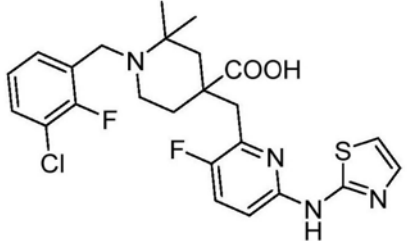
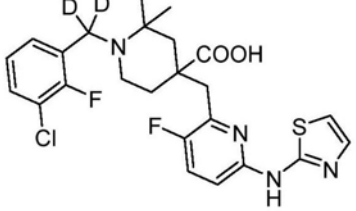
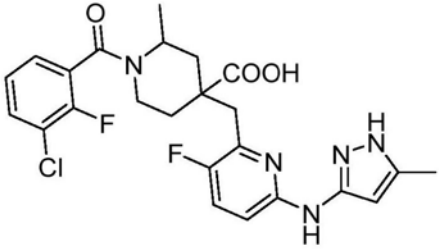
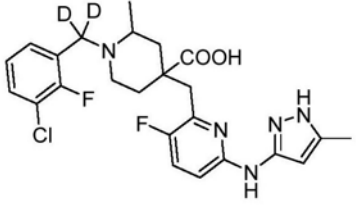
2		4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-1-((3-氟吡啶-4-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸
3		1-((2-氯-3-氟吡啶-4-基)甲基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸
4		1-((3-氟-2-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-4-基)甲基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸
5		1-((5-氯噻吩-2-基)甲基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸
6		1-(苯并呋喃-4-基甲基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸
7		1-((2,2-二氟苯并[d][1,3]二噁唑-4-基)甲基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲

[0026]

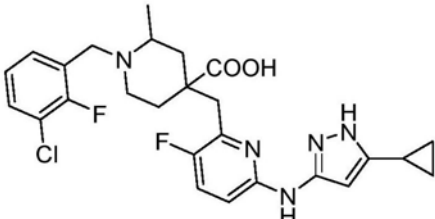
		基)-2-甲基哌啶-4-羧酸
8		1-((2,2-二氟-2,3-二氢-1H-茚-4-基)甲基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸
9		1-(1-(3-氯-2-氟苯基)乙基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸
10		1-(1-(3-氯-2-氟苯基)环丙基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸
11		1-(3-(3-氯-2-氟苯基)氧杂环丁烷-3-基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸
12		1-(3-氯-2-氟苯甲酰基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸

13		1-((3-氯-2-氟苄基)甲基 - <i>d</i> 2)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基) 吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧 酸
14		1-(3-氯-2-氟苄基)-2-甲基 -4-((6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基) 甲基)哌啶-4-羧酸
15		1-((3-氯-2-氟苄基)甲基- <i>d</i> 2)-2-甲 基-4-((6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2- 基)甲基)哌啶-4-羧酸
16		1-(3-氯-2-氟苄基)-4-((3-氟-6-((5- 甲基噻唑-2-基)氨基)吡啶-2-基)甲 基)-2-甲基哌啶-4-羧酸
17		1-((3-氯-2-氟苄基)甲基 - <i>d</i> 2)-4-((3-氟-6-((5-甲基噻唑-2- 基)氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基 哌啶-4-羧酸
18		1-(3-氯-2-氟苄基)-4-((3-氟-6-((4- 甲基噻唑-2-基)氨基)吡啶-2-基)甲 基)-2-甲基哌啶-4-羧酸

[0027]

19		<p>1-((3-氯-2-氟苄基)甲基 -d2)-4-((3-氟-6-((4-甲基噻唑-2-基)氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基 哌啶-4-羧酸</p>
20		<p>1-(3-氯-2-氟苄基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2,2-二甲基哌啶-4-羧酸</p>
21		<p>1-((3-氯-2-氟苄基)甲基 -d2)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基) 吡啶-2-基)甲基)-2,2-二甲基哌啶 -4-羧酸</p>
22		<p>1-(3-氯-2-氟苯甲酰基)-4-((3-氟 -6-((5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基) 吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧 酸</p>
23		<p>1-((3-氯-2-氟苄基)甲基 -d2)-4-((3-氟-6-((5-甲基-1H-吡唑 -3-基)氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲 基哌啶-4-羧酸</p>

[0028]

[0029]		<p>24</p> <p>1-(3-氯-2-氟苄基)-4-((6-((5-环丙基-1H-吡唑-3-基)氨基)-3-氟吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸</p>
--------	---	--

[0030] 本发明的另一个目的是提供了一种药物组合物,它含有药理上可接受的赋形剂或载体,以及本发明的通式(1)化合物、或其各光学异构体、药学上可接受的盐或酯做为活性成分。

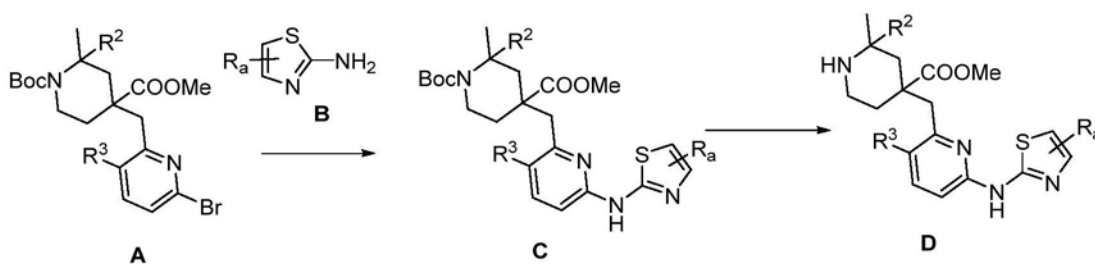
[0031] 本发明的再一个目的提供了本发明的上述化合物、或其各光学异构体、药学上可接受盐或酯用于制备治疗Aurora相关的疾病、特别是抗肿瘤药物中的应用。化合物的合成

[0032] 下面具体地描述本发明表1化合物的制备方法,但这些具体方法不对本发明构成任何限制。

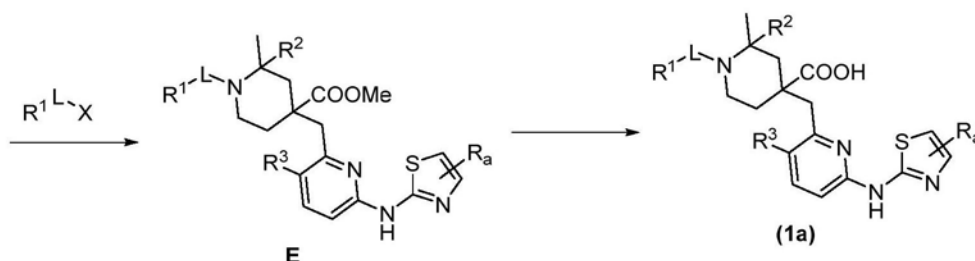
[0033] 以上说明的表1化合物可使用标准的合成技术或公知的技术与文中结合的方法来合成。此外,在此提到的溶剂,温度和其他反应条件可以改变。用于表1化合物的合成的起始物料可以由合成或从商业来源上获得,如,但不限于Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wis.)或Sigma Chemical Co. (St.Louis,Mo.)。本文所述的化合物和其他具有不同取代基的有关化合物可使用公知的技术和原料来合成,包括发现于March,ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY 4<sup>th</sup> Ed., (Wiley 1992); Carey和Sundberg,ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY 4<sup>th</sup> Ed., Vols.A和B (Plenum 2000,2001), Green和Wuts,PROTECTIVE GROUPS IN ORGANIC SYNTHESIS 3<sup>rd</sup> Ed., (Wiley 1999)中的方法。化合物制备的一般方法可通过使用适当的试剂和在此提供的分子式中引入不同基团的条件来改变。

[0034] 一方面,本文所述的化合物根据工艺中公知的方法。然而方法的条件,例如反应物、溶剂、碱、所用化合物的量、反应温度、反应所需时间等不限于下面的解释。本发明化合物还可以任选将在本说明书中描述的或本领域已知的各种合成方法组合起来而方便的制得,这样的组合可由本发明所属领域的技术人员容易的进行。一方面,本发明还提供了一种所述的表1所示化合物的制备方法,其采用下列方法A或方法B制备:

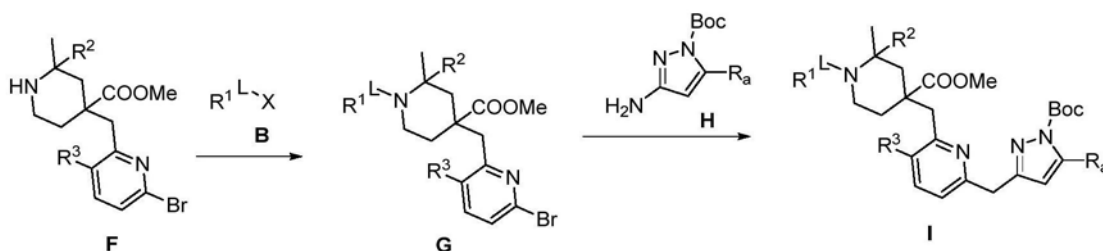
[0035] 方法A包含下列步骤:首先化合物A和化合物B在碱性条件下,金属钯催化剂和配体存在下反应生成化合物C,化合物C酸性条件下脱除Boc保护基得到化合物D,化合物D和R<sup>1</sup>-L-X反应生成E,最后化合物E在酸性或碱性条件下进行酯水解反应得到目标化合物1(a)。



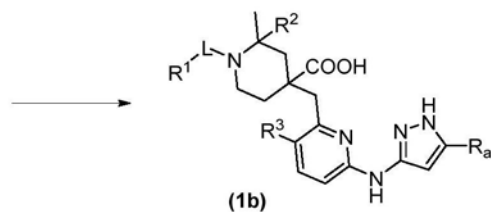
[0036]

[0037] 上述反应方程式中,  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R_a$ 和L的定义如前所述, X为Br、Cl、OTf或OH等基团。

[0038] 方法B包含下列步骤:首先化合物F和化合物B反应生成化合物G,接着化合物G和化合物H在碱性条件下,金属钯催化剂和配体存在下反应生成化合物I,最后化合物I在强酸性条件下进行酯水解并脱除Boc保护基得到目标化合物1 (b)。



[0039]

[0040] 上述反应方程式中,  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R_a$ 和L的定义如前所述, X为Br、Cl、OTf或OH等基团。

[0041] 化合物的进一步形式

[0042] 术语“药学上可接受的盐”指一种化合物的存在形式,该形式不会引起对给药有机体的重要的刺激,且不会使化合物的生物活性和性质消失。本发明化合物的盐指有机化学领域中所使用的惯用的盐,例如能够列举在具有羧基时的该羧基的碱添加盐、或者具有胺基或碱性杂环基时该胺基或碱性杂环基的酸添加盐的盐类。

[0043] 作为该碱添加盐,可以列举例如钠盐、钾盐等碱金属盐;例如钙盐、镁盐等碱土金属盐;例如铵盐;例如三甲胺盐、三乙胺盐、二环己胺盐、乙醇胺盐、二乙醇胺盐、三乙醇胺盐、普鲁卡因盐、 $N,N'$ -二苄基亚乙基二胺盐等有机胺盐等。

[0044] 作为该碱添加盐,可以列举例如盐酸盐、硫酸盐、硝酸盐、磷酸盐等无机酸盐;例如乙酸盐、甲酸盐、马来酸盐、富马酸盐、柠檬酸盐、草酸盐、抗坏血酸盐等有机酸盐;例如甲磺酸盐、苯环酸盐、对甲苯磺酸盐等磺酸盐等。

[0045] 应理解药学上可接受的盐的参考包括溶剂添加形式或结晶形式,尤其是溶剂化物或多晶型。溶剂化物含有化学计量或非化学计量的溶剂,且是在与药学上可接受溶剂如水,乙醇等,结晶化过程中选择性形成的。当溶剂是水时形成水合物,或当溶剂是乙醇时形成醇化物。表1化合物的溶剂化物按照本文所述的方法,很方便的制得或形成。举例说明,表1化合物的水合物从水/有机溶剂的混合溶剂中重结晶而方便的制得,使用的有机溶剂包括但不限于,二氧杂环乙烷,四氢呋喃,乙醇或甲醇。此外,在此提到的化合物能够以非溶剂化和溶剂化形式存在。总之,对于在此提供的化合物和方法为目的,溶剂化形式被认为相当于非溶剂化形式。

[0046] 在其他具体实施例中,表1化合物被制备成不同的形式,包括但不限于,无定形,粉碎形和毫微-粒度形式。此外,表1化合物包括结晶型,也可以作为多晶型。多晶型包括化合物的相同元素组成的不同晶格排列。多晶型通常有不同的X-射线衍射图,红外光谱,熔点,密度,硬度,晶型,光和电的性质,稳定性和溶解性。不同的因素如重结晶溶剂,结晶速率和贮存温度可能引起单一晶型为主导。

[0047] 在另一个方面,表1化合物有一个或多个立体中心,并因此以消旋体、外消旋混合物、单一对映体、非对映异构体化合物和单一非对映体的形式出现。可以存在的不对称中心,取决于分子上各种取代基的性质。每个这种不对称中心将独立地产生两个旋光异构体,并且所有可能的旋光异构体和非对映体混合物以及纯或部分纯的化合物包括在本发明的范围之内。本发明意味着包括这些化合物的所有这种异构形式。

[0048] 治疗用途

[0049] 文中描述的化合物或组合物通常可用于抑制Aurora激酶,因此可用于治疗与Aurora激酶活性相关的一种或多种病症。因此,在某些实施方式中,本发明提供了用于治疗Aurora激酶介导的病症的方法,所述方法包括向有需要的患者施用本发明化合物、或其药学上可接受的组合物的步骤。

[0050] 可用本发明化合物治疗的癌症包括但不限于,血液恶性肿瘤(白血病、淋巴瘤、骨髓瘤包括多发性骨髓瘤、骨髓异常增生综合症和骨髓增生性综合症)和实体瘤(癌例如前列腺、乳腺、肺、结肠、胰腺、肾、卵巢以及软组织癌和骨肉瘤,以及间质瘤)等。

[0051] 给药途径

[0052] 本发明的化合物及其药学上可接受的盐可制成各种制剂,其中包含安全、有效量范围内的本发明化合物或其药学上可接受的盐及药理上可以接受的赋形剂或载体。其中“安全、有效量”指的是:化合物的量足以明显改善病情,而不至于产生严重的副作用。化合物的安全、有效量根据治疗对象的年龄、病情、疗程等具体情况来确定。

[0053] “药学上可以接受的赋形剂或载体”指的是:一种或多种相容性固体或液体填料或凝胶物质,它们适合于人使用,而且必须有足够的纯度和足够低的毒性。“相容性”在此指的是组合物中各组份能与本发明的化合物以及它们之间相互掺和,而不明显降低化合物的药效。药理上可以接受的赋形剂或载体部分例子有纤维素及其衍生物(如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素钠、纤维素乙酸酯等)、明胶、滑石、固体润滑剂(如硬脂酸、硬脂酸镁)、硫酸钙、植物油(如豆油、芝麻油、花生油、橄榄油等)、多元醇(如丙二醇、甘油、甘露醇、山梨醇等)、乳化剂(如吐温®)、润湿剂(如十二烷基硫酸钠)、着色剂、调味剂、稳定剂、抗氧化剂、防腐剂、无热原水等。

[0054] 施用本发明化合物时,可以口服、直肠、肠胃外(静脉内、肌肉内或皮下)、局部给药。

[0055] 用于口服给药的固体剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在这些固体剂型中,活性化合物与至少一种常规惰性赋形剂(或载体)混合,如柠檬酸钠或磷酸二钙,或与下述成分混合:(a) 填料或增容剂,例如,淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅酸;(b) 粘合剂,例如,羟甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯基吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶;(c) 保湿剂,例如,甘油;(d) 崩解剂,例如,琼脂、碳酸钙、马铃薯淀粉或木薯淀粉、藻酸、某些复合硅酸盐、和碳酸钠;(e) 缓溶剂,例如石蜡;(f) 吸收加速剂,例如,季胺化合物;(g) 润湿剂,例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯;(h) 吸附剂,例如,高岭土;和(i) 润滑剂,例如,滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠,或其混合物。胶囊剂、片剂和丸剂中,剂型也可包含缓冲剂。

[0056] 固体剂型如片剂、糖丸、胶囊剂、丸剂和颗粒剂可采用包衣和壳材制备,如肠衣和其它本领域公知的材料。它们可包含不透明剂,并且,这种组合物中活性化合物或化合物的释放可以延迟的方式在消化道内的某一部分中释放。可采用的包埋组分的实例是聚合物物质和蜡类物质。必要时,活性化合物也可与上述赋形剂中的一种或多种形成微胶囊形式。

[0057] 用于口服给药的液体剂型包括药学上可接受的乳液、溶液、悬浮液、糖浆或酞剂。除了活性化合物外,液体剂型可包含本领域中常规采用的惰性稀释剂,如水或其它溶剂,增溶剂和乳化剂,例知,乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺以及油,特别是棉籽油、花生油、玉米胚油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油或这些物质的混合物等。

[0058] 除了这些惰性稀释剂外,组合物也可包含助剂,如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂和香料。

[0059] 除了活性化合物外,悬浮液可包含悬浮剂,例如,乙氧基化异十八烷醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、甲醇铝和琼脂或这些物质的混合物等。

[0060] 用于肠胃外注射的组合物可包含生理上可接受的无菌含水或无水溶液、分散液、悬浮液或乳液,和用于重新溶解成无菌的可注射溶液或分散液的无菌粉末。适宜的含水和非水载体、稀释剂、溶剂或赋形剂包括水、乙醇、多元醇及其适宜的混合物。

[0061] 用于局部给药的本发明化合物的剂型包括软膏剂、散剂、贴剂、喷射剂和吸入剂。活性成分在无菌条件下与生理上可接受的载体及任何防腐剂、缓冲剂,或必要时可能需要的推进剂一起混合。

[0062] 本发明化合物可以单独给药,或者与其他药学上可接受的化合物联合给药。使用药物组合物时,是将安全有效量的本发明化合物适用于需要治疗的哺乳动物(如人),其中施用剂量为药学上认为的有效给药剂量,对于60kg体重的人而言,日给药剂量通常为1~1000mg,优选10~500mg。当然,具体剂量还应考虑给药途径、病人健康状况等因素,这些都是熟练医师技能范围内的。

[0063] 本发明提到的上述特征,或实施例提到的特征可以任意组合。本案说明书所揭示的所有特征可与任何组合物形式并用,说明书中所揭示的各个特征,可以任何可提供相同、均等或相似目的的替代性特征取代。因此除有特别说明,所揭示的特征仅为均等或相似特征的一般性例子。

[0064] 在下面的说明中将会详细阐述上述化合物、方法、药物组合物的各个具体方面、特性和优势,使本发明的内容变得十分明了。在此应理解,下述的详细说明及实例描述了具体的实施例,仅用于参考。在阅读了本发明的说明内容后,本领域的技术人员可对本发明作各种改动或修改,这些等价形势同样落于本申请所限定的范围。

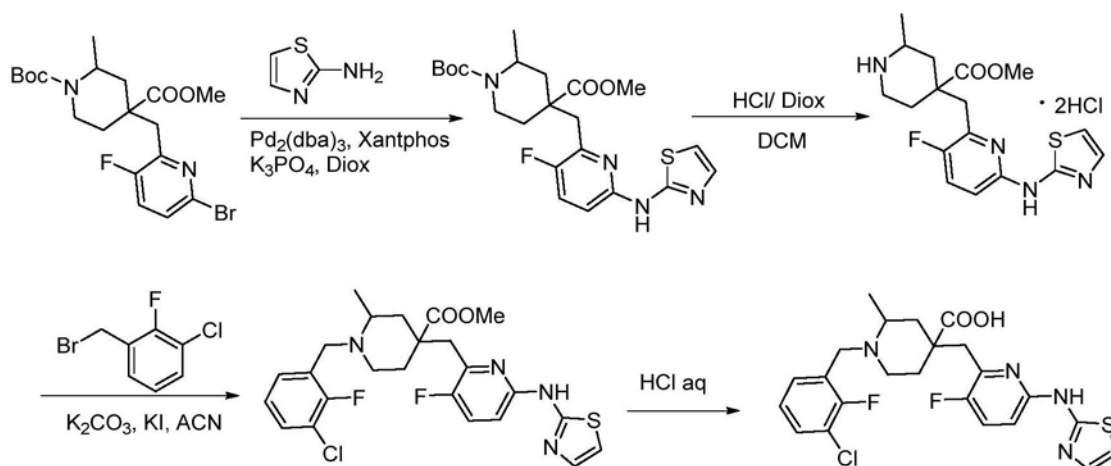
[0065] 所有实施例中,熔点用X-4熔点仪测定,温度计未校正;<sup>1</sup>H-NMR用Varian Mercury 400核磁共振仪记录,化学位移以 $\delta$  (ppm)表示;分离用硅胶未说明均为200-300目,洗脱液的配比均为体积比。

[0066] 本发明采用下述缩略词:ACN代表乙腈;Ar代表氩气;CBr<sub>4</sub>代表司溴化碳;CDCl<sub>3</sub>代表氘代氯仿;CD<sub>3</sub>OD代表氘代甲醇;DCM代表二氯甲烷;DIPEA代表二异丙基乙基胺;Diox代表1,4-二氧六环;DMF代表二甲基甲酰胺;DMSO代表二甲基亚砜;EA代表乙酸乙酯;EDC1代表1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐;h代表小时;HOBt代表1-羟基苯并三氮唑;K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>代表碳酸钾;KI代表碘化钾;K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>代表磷酸钾;LC-MS代表液相-质谱;LiAlD<sub>4</sub>代表氘代锂铝氢;LiOH代表氢氧化锂;mL代表毫升;MeOH代表甲醇;min代表分钟;MS代表质谱;NMR代表核磁共振;Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>代表三(二亚苄基丙酮)二钯;PE代表石油醚;PPh<sub>3</sub>代表三苯基膦;Tf<sub>2</sub>O代表三氟甲磺酐;Xantphos代表4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽。

### 具体实施方式

[0067] 实施例1 1-(3-氯-2-氟苄基)-4-((6-(3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物1)的合成

[0068]



[0069] 1-(叔丁基)4-甲基4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-1,4-双甲酸酯

[0070] 250mL单口瓶中加入1-(叔丁基)4-甲基4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-1,4-双甲酸酯(5g,11.23mmol,参照专利W02016077161中的方法合成得到),2-氨基噻唑(956mg,9.55mmol),无水磷酸钾(6g,28.08mmol),Xantphos(650mg,1.123mmol)和Dioxane(100mL),Ar置换保护后加入Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(514mg,0.562mmol),Ar保护下升温至回流反应5h.LC-MS监测反应完成后,体系减压浓缩,残留物柱层析纯化(DCM/MeOH=50/0to 50/1)得黄色固体(4.0g,收率89%),ESI-MS m/z:465.2[M+H]<sup>+</sup>。

[0071] 4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶甲酸甲酯

[0072] 100mL单口瓶中加入1-(叔丁基)-4-甲基-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-1,4-双甲酸酯(4g, 8.61mmol), DCM (20mL) 和HCl/Dioxane (22mL, 4M, 88mmol), 室温下搅拌20h。LC-MS检测反应完成后。反应液浓缩, 残留物加入EA (30mL) 室温搅拌30min, 过滤, 干燥, 得黄色固体产物(4.1g, 收率100%), ESI-MS  $m/z$ : 365.2  $[M+H]^+$ 。

[0073] 1-(3-氯-2-氟苄基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-甲酸甲酯

[0074] 100mL单口瓶中加入4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶甲酸甲酯(800mg, 1.83mmol), 1-(溴甲基)-3-氯-2-氟苯(500mg, 2.19mmol),  $K_2CO_3$  (1.264g, 9.15mmol), KI (20mg) 和ACN (20mL), 室温反应约2h。LC/MS检测反应完全, 加水(100mL)析出固体, 抽滤, 滤饼以水(20mLx2)洗2次后加PE (50mL) 打浆, 抽滤, 滤饼以PE (20mLx2) 洗2次, 晾干得初产物1-(3-氯-2-氟苄基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-甲酸甲酯

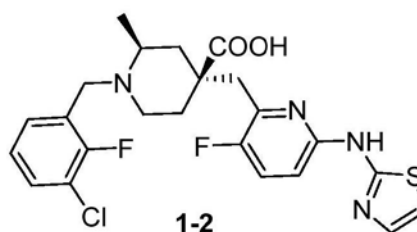
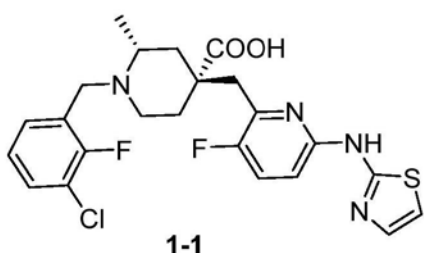
[0075] (935mg, 收率100%), 直接投下一步, ESI-MS  $m/z$ : 510.2  $[M+H]^+$ 。

[0076] 1-(3-氯-2-氟苄基)-4-((6-(3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸

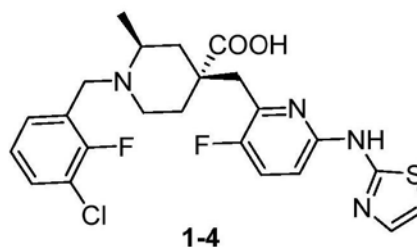
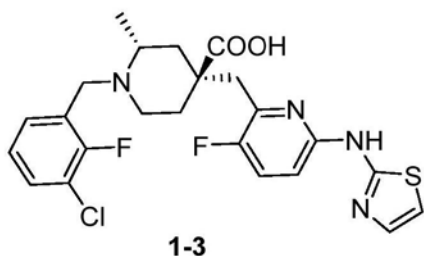
[0077] 100mL单口瓶中加入1-(3-氯-2-氟苄基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-甲酸甲酯(935mg, 1.83mmol), 水(15mL), 浓HCl (15mL), 105°C回流反应约5h。LC/MS检测反应完全, 将反应液减压浓缩至干, 残留物加ACN (30mL) 室温打浆, 抽滤, 滤饼用ACN (5mL\*2) 洗涤, 晾干得淡黄色粉末状产物(818mg, 收率90%)。

[0078]  $^1H$  NMR (400MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 11.68 (s, 1H), 10.59 (s, 1H), 7.76 (t,  $J=7.2$ Hz, 1H), 7.73-7.68 (m, 1H), 7.61 (t,  $J=9.2$ Hz, 1H), 7.43 (d,  $J=3.7$ Hz, 1H), 7.34 (t,  $J=7.9$ Hz, 1H), 7.01 (q,  $J=3.9$ Hz, 2H), 4.72 (d,  $J=13.3$ Hz, 1H), 4.36 (dd,  $J=13.6, 8.3$ Hz, 1H), 3.88 (s, 2H), 3.26-3.21 (m, 2H), 3.09 (d,  $J=12.9$ Hz, 1H), 2.16-1.95 (m, 4H), 1.50 (d,  $J=6.0$ Hz, 3H); ESI-MS  $m/z$ : 493.1  $[M+H]^+$ 。

[0079] 通过不同的手性原料或者手性分离的方法, 可以得到化合物1的四个不同的光学异构体, 结构式如下:



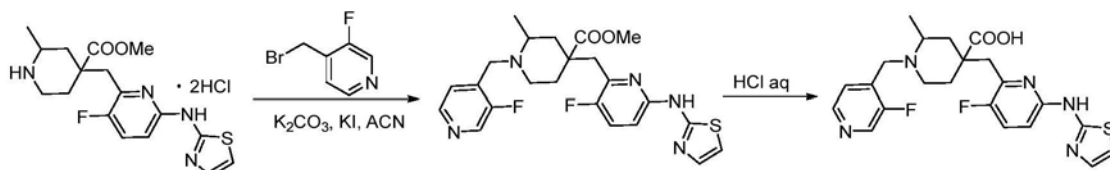
[0080]



[0081] 实施例2 4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-1-((3-氟吡啶-4-基)

甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物2)的合成

[0082]

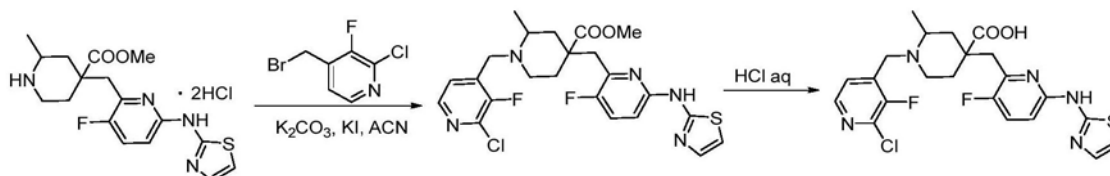


[0083] 以4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯盐酸盐和4-(溴甲基)-3-氟吡啶为原料,采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0084]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 12.45 (s, 1H), 11.45 (s, 1H), 8.74 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 1H), 8.54 (d,  $J=4.9\text{Hz}$ , 1H), 8.03 (t,  $J=5.7\text{Hz}$ , 1H), 7.68 (t,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H), 7.50 (d,  $J=4.0\text{Hz}$ , 1H), 7.13 (q,  $J=3.7, 3.3\text{Hz}$ , 2H), 4.71 (d,  $J=13.3\text{Hz}$ , 1H), 4.43 (dd,  $J=13.5, 7.9\text{Hz}$ , 1H), 3.93 (s, 1H), 3.39 (dt,  $J=14.8, 9.1\text{Hz}$ , 1H), 3.30-3.23 (m, 2H), 3.09 (d,  $J=13.1\text{Hz}$ , 1H), 2.08 (t,  $J=15.2\text{Hz}$ , 3H), 1.92 (d,  $J=15.2\text{Hz}$ , 1H), 1.51 (d,  $J=6.2\text{Hz}$ , 3H); ESI-MS  $m/z$ : 460.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0085] 实施例3 1-((2-氯-3-氟吡啶-4-基)甲基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物3)的合成

[0086]

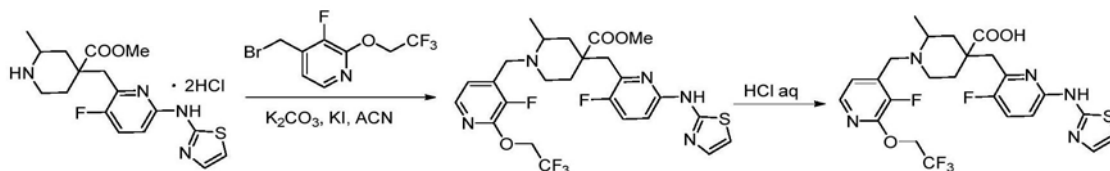


[0087] 以4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯盐酸盐和4-(溴甲基)-2-氯-3-氟吡啶为原料,采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0088]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 11.22 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.57 (t,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H), 7.37 (d,  $J=3.6\text{Hz}$ , 1H), 6.98-6.89 (m, 2H), 4.76 (m, 1H), 4.41 (m, 1H), 3.89 (s, 2H), 3.23 (m, 3H), 2.13 (m, 2H), 1.82 (m, 2H), 1.36 (d,  $J=6.4\text{Hz}$ , 3H); ESI-MS  $m/z$ : 494.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0089] 实施例4 1-((3-氟-2-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-4-基)甲基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物4)的合成

[0090]



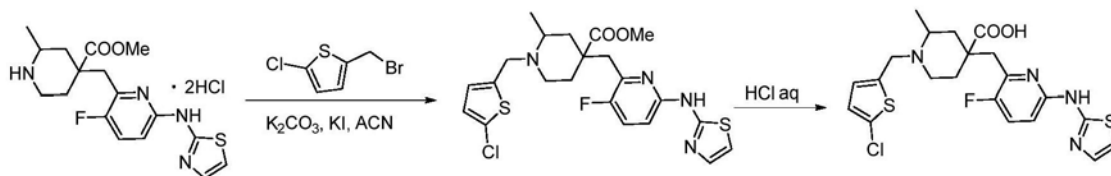
[0091] 以4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯盐酸盐和4-(溴甲基)-3-氟-2-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶为原料,采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0092]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$ : 7.64 (dd,  $J=8.3, 7.4\text{Hz}$ , 1H), 7.32-7.27 (m, 2H), 7.23 (t,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H), 7.17 (dd,  $J=7.8, 1.5\text{Hz}$ , 1H), 7.02 (d,  $J=7.2\text{Hz}$ , 1H), 6.90-6.86 (m,

2H), 3.84-3.77 (m, 2H), 3.73 (s, 2H), 3.44 (t, J=5.1Hz, 2H), 2.69 (t, J=5.1Hz, 2H), 2.64-2.58 (m, 3H), 1.53 (d, J=6.0Hz, 3H); ESI-MS  $m/z$ : 558.2 [M+H]<sup>+</sup>.

[0093] 实施例5 1-((5-氯噻吩-2-基)甲基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物5)的合成

[0094]

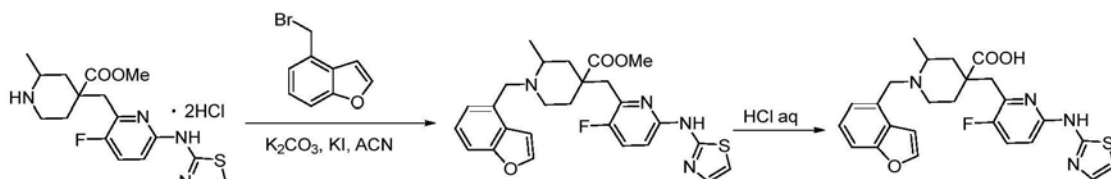


[0095] 以4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯盐酸盐和2-(溴甲基)-5-氯噻吩为原料,采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0096] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, Methanol-d<sub>4</sub>) δ: 7.69 (t, J=8.7Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.25 (q, J=9.5, 7.5Hz, 2H), 7.15 (dd, J=9.0, 3.0Hz, 1H), 7.00 (dd, J=30.0, 3.5Hz, 1H), 4.62-4.37 (m, 2H), 3.80 (d, J=26.4Hz, 2H), 3.39 (d, J=6.4Hz, 2H), 3.21-3.11 (m, 1H), 2.33-1.98 (m, 4H), 1.45 (d, J=6.0Hz, 3H); ESI-MS  $m/z$ : 481.1 [M+H]<sup>+</sup>.

[0097] 实施例6 1-(苯并呋喃-4-基甲基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物6)的合成

[0098]

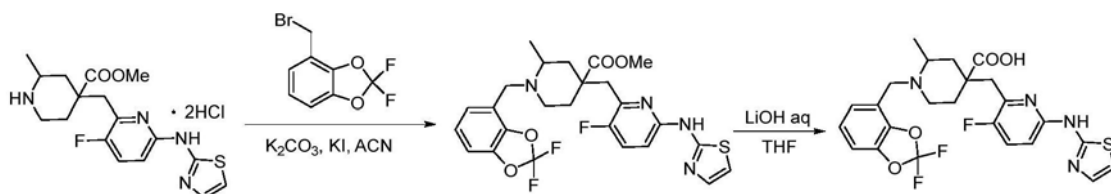


[0099] 以4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯盐酸盐和4-(溴甲基)苯并呋喃为原料,采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0100] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 7.62 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.50 (t, J=9.1Hz, 1H), 7.32 (d, J=3.4Hz, 1H), 7.24 (dd, J=7.1, 2.1Hz, 1H), 7.19-7.11 (m, 2H), 6.89 (d, J=5.1Hz, 2H), 6.65 (d, J=7.2Hz, 1), 3.84 (d, J=14.1Hz, 1H), 3.69 (d, J=14.2Hz, 1H), 3.05 (s, 2H), 2.77-2.73 (m, 1H), 2.65-2.57 (m, 1H), 2.49-2.42 (m, 1H), 1.84-1.75 (m, 1H), 1.72-1.63 (m, 2H), 1.57 (t, J=11.9Hz, 1H), 1.16 (d, J=6.0Hz, 3H); ESI-MS  $m/z$ : 481.2 [M+H]<sup>+</sup>.

[0101] 实施例7 1-((2,2-二氟苯并[d][1,3]二噁唑-4-基)甲基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物7)的合成

[0102]



[0103] 以4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯盐酸盐和4-(溴甲基)-2,2-二氟苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯为原料,采用实施例1中的合成方法

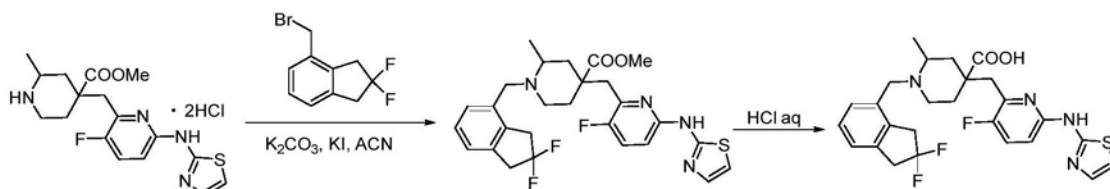
得到中间体1-((2,2-二氟苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-4-基)甲基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-甲酯甲基。

[0104] 100mL单口瓶中加入上述中间体(100mg, 0.187mmol), THF (10mL), H<sub>2</sub>O (5mL) 和 LiOH·H<sub>2</sub>O (79mg, 1.88mmol), Ar保护下升至60℃搅拌反应10h, LC-MS监测反应完成后, 混合液浓缩至剩余约7.5mL, 残留物过反相Flash纯化得目标产物(60mg, 收率62%)。

[0105] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 7.50 (t, J=9.1Hz, 1H), 7.32 (d, J=3.4Hz, 1H), 7.24 (dd, J=7.1, 2.1Hz, 1H), 7.19-7.11 (m, 2H), 6.89 (d, J=5.1Hz, 2H), 3.94 (d, J=14.1Hz, 1H), 3.39 (d, J=14.2Hz, 1H), 3.05 (s, 2H), 2.75-2.71 (m, 1H), 2.61-2.52 (m, 1H), 2.45-2.40 (m, 1H), 1.83-1.79 (m, 1H), 1.75-1.62 (m, 2H), 1.54 (t, J=11.9Hz, 1H), 1.06 (d, J=6.0Hz, 3H); ESI-MS m/z: 521.2 [M+H]<sup>+</sup>。

[0106] 实施例8 1-((2,2-二氟-2,3-二氢-1H-茚-4-基)甲基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物8)的合成

[0107]

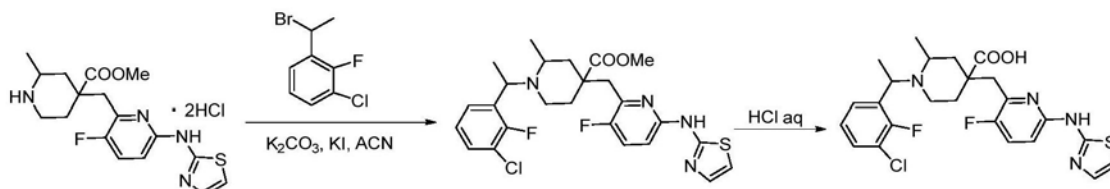


[0108] 以4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯盐酸盐和4-(溴甲基)-2,2-二氟-2,3-二氢-1H-茚为原料, 采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0109] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 7.52 (t, J=9.1Hz, 1H), 7.30 (d, J=3.4Hz, 1H), 7.23 (dd, J=7.1, 2.1Hz, 1H), 7.19-7.11 (m, 2H), 6.89 (d, J=5.0Hz, 2H), 5.34-5.21 (m, 4H), 3.94 (d, J=14.1Hz, 1H), 3.39 (d, J=14.2Hz, 1H), 3.05 (s, 2H), 2.75-2.71 (m, 1H), 2.61-2.50 (m, 1H), 2.45-2.40 (m, 1H), 1.83-1.79 (m, 1H), 1.75-1.65 (m, 2H), 1.54 (t, J=11.9Hz, 1H), 1.07 (d, J=6.0Hz, 3H); ESI-MS m/z: 517.2 [M+H]<sup>+</sup>。

[0110] 实施例9 1-(1-(3-氯-2-氟苯基)乙基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物9)的合成

[0111]

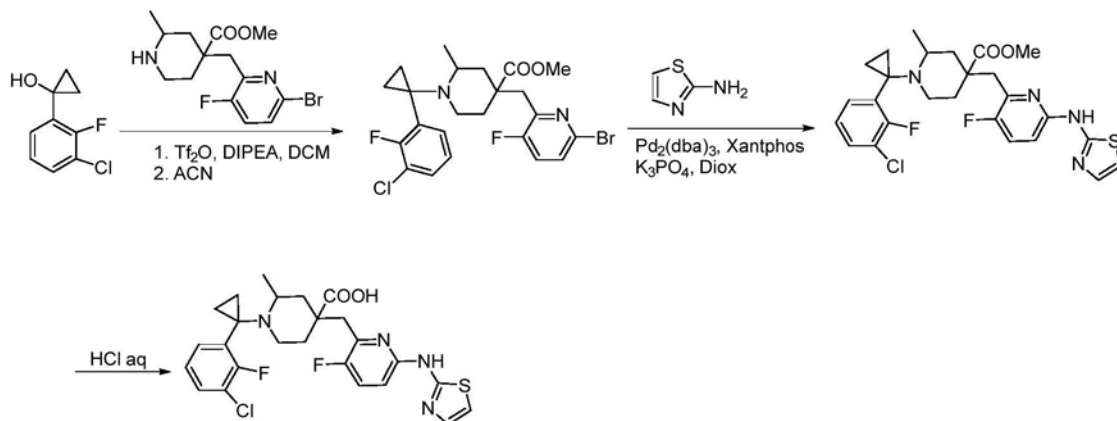


[0112] 以4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯盐酸盐和1-(1-溴乙基)-3-氯-2-氟苯为原料, 采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0113] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 12.27 (s, 1H), 11.15 (s, 1H), 7.55 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.49-7.34 (m, 2H), 7.18 (t, J=7.8Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.86 (d, J=8.3Hz, 1H), 6.67 (d, J=7.3Hz, 1H), 4.41 (m, 1H), 3.11 (d, J=16.6Hz, 2H), 3.02 (m, 2H), 2.85 (m, 1H), 1.76-1.52 (m, 4H), 1.30 (d, J=6.7Hz, 3H), 1.06 (q, J=7.1, 6.4Hz, 3H); ESI-MS m/z: 507.2 [M+H]<sup>+</sup>。

[0114] 实施例10 1-(1-(3-氯-2-氟苯基)环丙基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物10)的合成

[0115]



[0116] 4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-1-(1-(3-氯-2-氟苯基)环丙基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯

[0117] 100mL三口瓶中加入1-(3-氯-2-氟苯基)环丙烷-1-醇(400mg, 2.145mmol), 干燥的二氯甲烷(10mL), DIPEA(692mg, 5.362mmol), Ar保护下降温至-45℃, 后滴加Tf<sub>2</sub>O(726mg, 2.574mmol)的二氯甲烷(10mL)溶液, 滴毕, 混合液-50-40℃, 下搅拌2h。后加入4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯(444mg, 1.287mmol)的乙腈(10mL)溶液, 体系升至室温搅拌反应2h。LC-MS监测反应完成后, 体系加水(20mL)淬灭, 分液, 水相用DCM(20mL)萃取, 合并有机相浓缩至干, 残留物柱层析纯化得产物(284mg, 收率43%), ESI-MS m/z: 533.2[M+H]<sup>+</sup>。

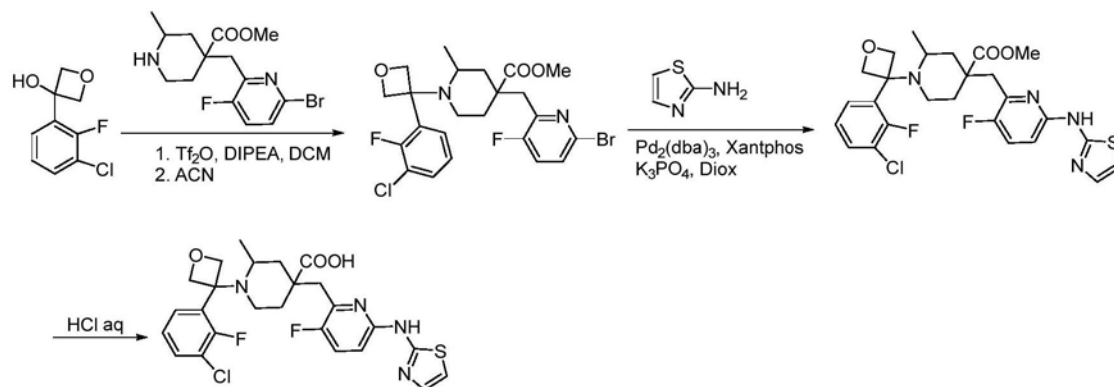
[0118] 1-(1-(3-氯-2-氟苯基)环丙基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸

[0119] 后以4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-1-(1-(3-氯-2-氟苯基)环丙基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯和2-氨基噻唑为原料, 参照实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0120] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 12.11(s, 1H), 11.02(s, 1H), 7.57(d, J=8.1Hz, 1H), 7.43-7.33(m, 2H), 7.15(t, J=7.8Hz, 1H), 7.02(s, 1H), 6.84(d, J=8.3Hz, 1H), 6.65(d, J=7.3Hz, 1H), 3.41(d, J=16.6Hz, 2H), 3.02(m, 3H), 2.23-1.89(m, 4H), 1.30(d, J=6.7Hz, 3H), 0.75-0.62(m, 4H); ESI-MS m/z: 519.2[M+H]<sup>+</sup>。

[0121] 实施例11 1-(3-(3-氯-2-氟苯基)氧杂环丁烷-3-基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物11)的合成

[0122]

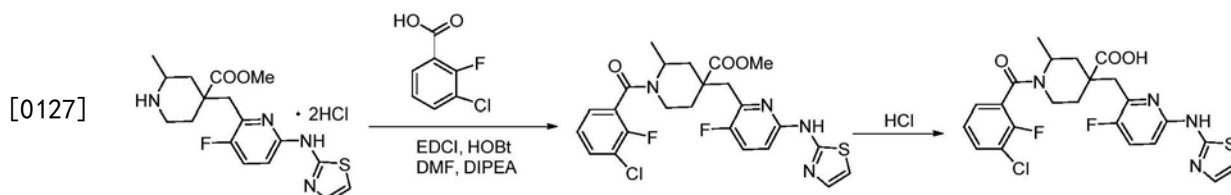


[0123] 以4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯和3-(3-氯-2-氟苯基)氧杂环丁烷-3-醇为原料,参照实施例10中的合成方法得到中间体4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-1-(3-(3-氯-2-氟苯基)氧杂环丁烷-3-基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯。

[0124] 后以上述中间体和2-氨基噻唑为原料,参照实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0125]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.46 (m, 2H), 7.35-7.16 (m, 3H), 6.93 (dt,  $J=8.9, 3.3\text{Hz}$ , 1H), 6.87 (t,  $J=4.1\text{Hz}$ , 1H), 4.77 (s, 1H), 4.70-4.47 (m, 2H), 4.31 (d,  $J=12.2\text{Hz}$ , 1H), 4.14 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 3.98 (ab,  $J=29.9, 12.4\text{Hz}$ , 1H), 3.67 (t,  $J=11.3\text{Hz}$ , 1H), 3.17-2.96 (m, 2H), 2.50-2.13 (m, 3H), 2.08-1.95 (m, 1H), 1.89 (d,  $J=12.4\text{Hz}$ , 1H), 1.41 (d,  $J=6.9\text{Hz}$ , 3H); ESI-MS  $m/z$ : 535.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0126] 实施例12 1-(3-氯-2-氟苯基)-2-甲基-4-((6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)哌啶-4-羧酸(化合物12)的合成



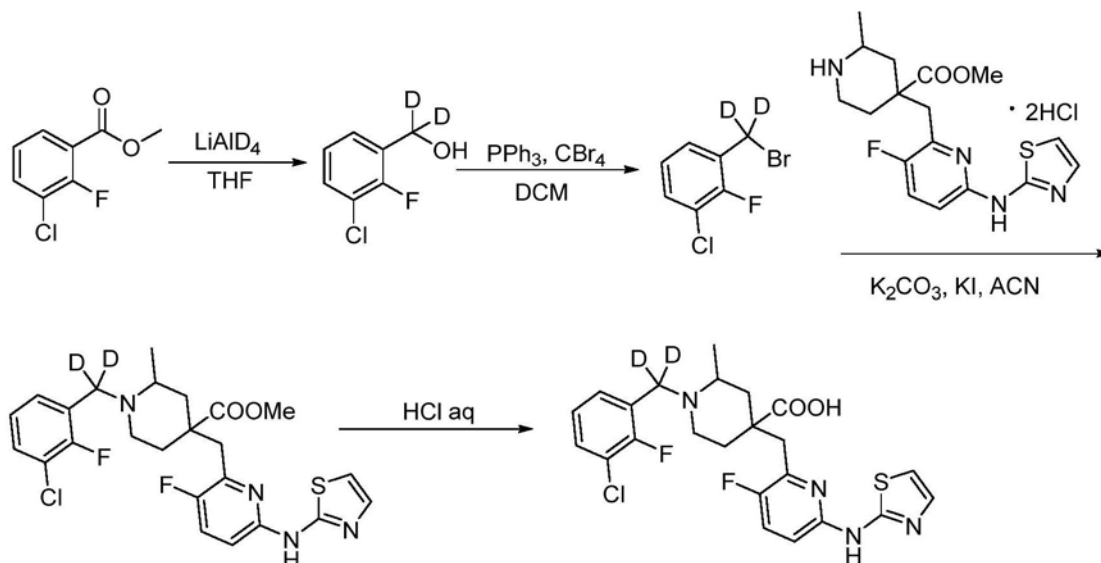
[0128] 100mL单口瓶中加入3-氯-2-氟苯甲酸(262mg, 1.50mmol), DMF (20mL), EDCI (431mg, 2.25mmol), HOBT (304mg, 2.25mmol) 和DIPEA (970mg, 7.52mmol), 混合液Ar保护下室温搅拌30min, 后加入4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯盐酸盐(437mg, 1.0mmol), 体系室温搅拌20h. LC-MS监测反应完成后, 体系加水(40mL)淬灭, EA (50mL\*2) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠溶液洗涤, 浓缩, 残留物柱层析纯化得中间体(365mg, 收率70%)。

[0129] 以上述中间体为原料, 采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0130]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.68 (t,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 7.62-7.52 (m, 2H), 7.43 (dt,  $J=12.0, 7.9\text{Hz}$ , 1H), 7.27 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 1H), 7.21 (d,  $J=4.3\text{Hz}$ , 1H), 7.12 (dd,  $J=8.9, 3.0\text{Hz}$ , 1H), 3.73 (s, 2H), 3.22-3.12 (m, 3H), 2.13-1.88 (m, 4H), 1.45 (d,  $J=6.0\text{Hz}$ , 3H); ESI-MS  $m/z$ : 475.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0131] 实施例13 1-((3-氯-2-氟苯基)甲基-d2)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物13)的合成

[0132]



[0133] 1-(溴甲基-d2)-3-氯-2-氟苯

[0134] 100mL三口瓶中加入2-氟-3-氯苯甲酸甲酯(658mg, 3.49mmol), THF (dry, 10mL), 冰浴下加LiAlD<sub>4</sub>(146mg, 3.49mmol), 继续反应约0.5h。TLC检测(PE/EA=10/1)反应完全, 冰浴下加水(20mL)淬灭反应, 加饱和氯化钠溶液(20mL)以及EA(20mL\*2)萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干得(3-氯-2-氟苯基)甲基-d2-醇, 粗品直接投下一步。

[0135] 100mL单口瓶中加入(3-氯-2-氟苯基)甲基-d2-醇(657mg, 4.02mmol), DCM(20mL)和CBr<sub>4</sub>(2g, 6.03mmol), 分批加PPh<sub>3</sub>(1.371g, 5.23mmol), 室温反应约1h。TLC检测(PE/EA=10/1)反应完全。粗品柱层析(PE, 800mL)纯化得无色油状物1-(溴甲基-d2)-3-氯-2-氟苯(921mg, 收率100%)。

[0136] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ7.34(ddd, J=8.3, 6.9, 1.7Hz, 1H), 7.27(ddd, J=7.9, 6.5, 1.7Hz, 1H), 7.05(td, J=7.9, 1.2Hz, 1H)。

[0137] 1-((3-氯-2-氟苯基)甲基-d2)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-甲酸甲酯

[0138] 100mL单口瓶中加入4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶甲酸甲酯(800mg, 1.83mmol), 1-(溴甲基-d2)-3-氯-2-氟苯(495mg, 2.19mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.264g, 9.15mmol), KI(20mg)和ACN(20mL), 室温反应约2h。LC/MS检测反应完全, 加水(100mL)析出固体, 抽滤, 滤饼以水(20mL\*2)洗2次后加PE(50mL)打浆, 抽滤, 滤饼以PE(20mL\*2)洗2次, 晾干得初产物1-((3-氯-2-氟苯基)甲基-d2)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-甲酸甲酯(931mg, 收率100%), 直接投下一步, ESI-MS m/z: 509.2[M+H]<sup>+</sup>。

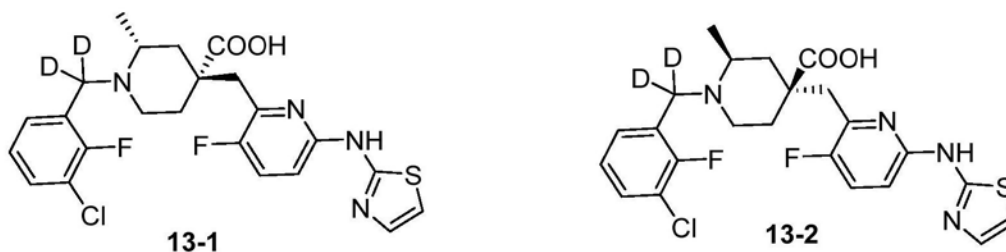
[0139] 1-((3-氯-2-氟苯基)甲基-d2)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸

[0140] 100mL单口瓶中加入1-((3-氯-2-氟苯基)甲基-d2)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-甲酸甲酯(931mg, 1.83mmol), 水(15mL), 浓HCl(15mL), 105℃回流反应约5h。LC/MS检测反应完全, 将反应液减压浓缩至干, 残留物加ACN(30mL)室温打浆, 抽滤, 滤饼用ACN(5mL\*2)洗涤, 晾干得淡黄色粉末状产物(815mg, 收率

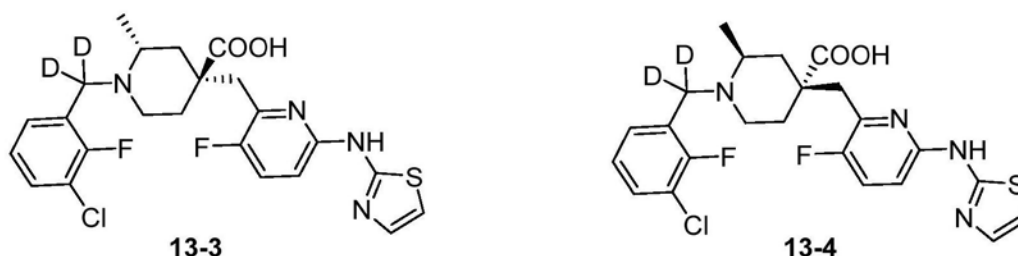
90%)。

[0141]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.73 (t,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.70-7.55 (m, 3H), 7.36-7.24 (m, 2H), 7.20 (dd,  $J=8.8, 2.9\text{Hz}$ , 1H), 3.96 (s, 2H), 3.57-3.44 (m, 2H), 3.36 (s, 1H), 2.41-1.96 (m, 4H), 1.53 (m, 3H); ESI-MS  $m/z$ : 495.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0142] 通过不同的手性原料或者手性分离的方法,可以得到化合物13的四个不同的光学异构体,结构式如下:

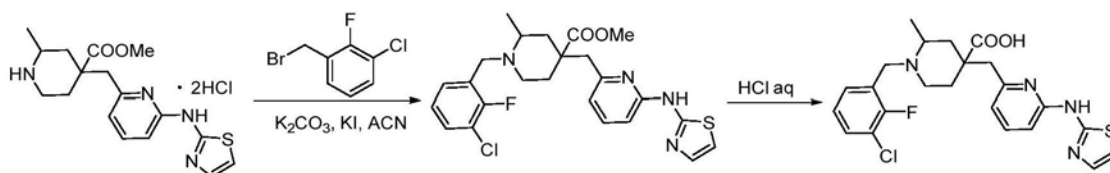


[0143]



[0144] 实施例14 1-(3-氯-2-氟苯甲酰基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物14)的合成

[0145]

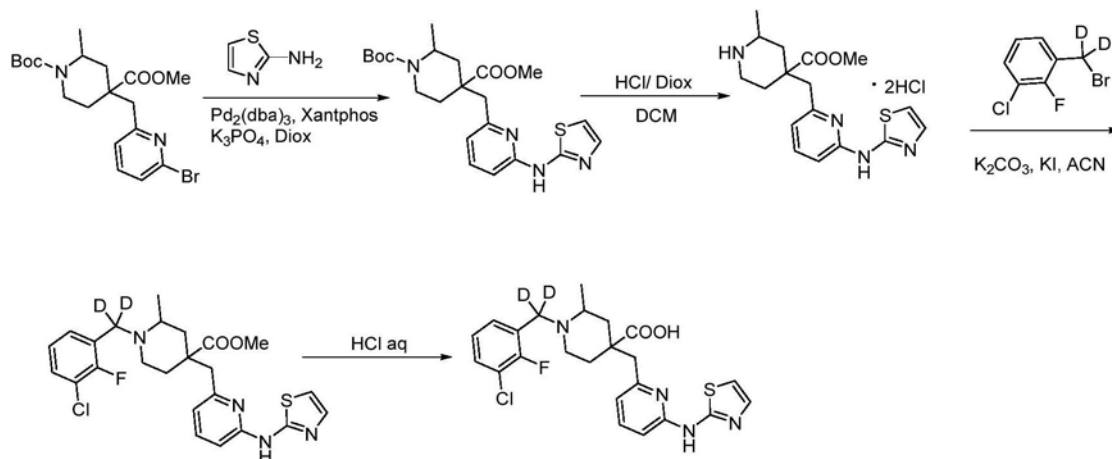


[0146] 以2-甲基-4-((6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)哌啶-4-羧酸甲酯盐酸盐和1-(溴甲基)-3-氯-2-氟苯为原料,采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0147]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 11.88 (s, 1H), 10.79 (s, 1H), 7.74 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 1H), 7.72-7.63 (m, 2H), 7.55 (t,  $J=9.2\text{Hz}$ , 1H), 7.41 (d,  $J=3.7\text{Hz}$ , 1H), 7.32 (t,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H), 7.06 (q,  $J=3.9\text{Hz}$ , 2H), 4.73 (d,  $J=13.3\text{Hz}$ , 1H), 4.38 (dd,  $J=13.6, 8.3\text{Hz}$ , 1H), 3.68 (s, 2H), 3.26-3.24 (m, 2H), 3.02 (d,  $J=12.9\text{Hz}$ , 1H), 2.15-1.91 (m, 4H), 1.52 (d,  $J=6.0\text{Hz}$ , 3H); ESI-MS  $m/z$ : 507.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0148] 实施例15 1-((3-氯-2-氟苯基)甲基-d2)-2-甲基-4-((6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)哌啶-4-羧酸(化合物15)的合成

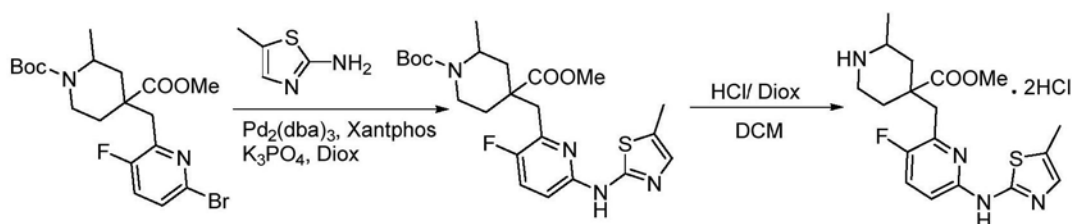
[0149]



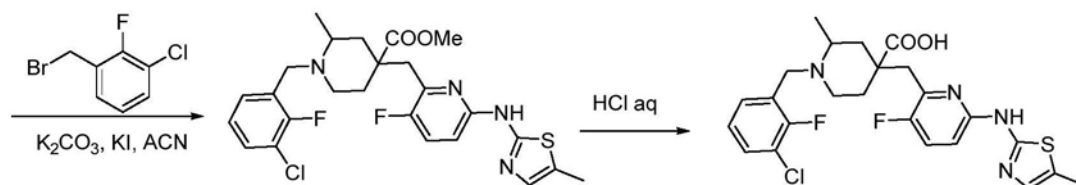
[0150] 以1-(叔丁基)4-甲基4-((6-溴吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-1,4-双甲酸酯和2-氨基噻唑为原料,采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0151]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.78 (t,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.70-7.55 (m, 3H), 7.36-7.24 (m, 3H), 7.23 (dd,  $J=8.8, 2.9\text{Hz}$ , 1H), 3.92 (s, 2H), 3.57-3.44 (m, 2H), 3.36 (m, 1H), 2.41-1.96 (m, 4H), 1.55 (m, 3H); ESI-MS  $m/z$ : 477.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0152] 实施例16 1-(3-氯-2-氟苄基)-4-((3-氟-6-((5-甲基噻唑-2-基)氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物16)的合成



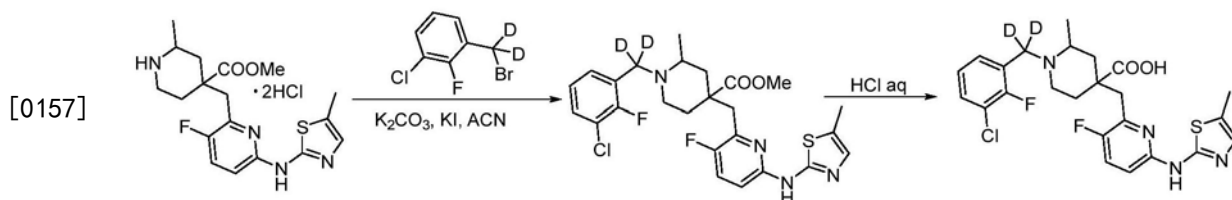
[0153]



[0154] 以1-(叔丁基)4-甲基4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-1,4-双甲酸酯和5-甲基-2-氨基噻唑为原料,采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0155]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 11.66 (s, 1H), 10.59 (s, 1H), 7.76 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 1H), 7.72-7.66 (m, 2H), 7.55 (t,  $J=9.2\text{Hz}$ , 1H), 7.34 (t,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H), 7.01 (m, 1H), 4.72 (d,  $J=13.3\text{Hz}$ , 1H), 4.36 (dd,  $J=13.6, 8.3\text{Hz}$ , 1H), 3.88 (s, 2H), 3.26-3.21 (m, 2H), 3.09 (d,  $J=12.9\text{Hz}$ , 1H), 2.27 (s, 3H), 2.16-1.95 (m, 4H), 1.50 (d,  $J=6.0\text{Hz}$ , 3H); ESI-MS  $m/z$ : 508.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0156] 实施例17 1-((3-氯-2-氟苄基)甲基-d2)-4-((3-氟-6-((5-甲基噻唑-2-基)氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物17)的合成



[0158] 以4-((3-氟-6-((5-甲基噻唑-2-基)氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯盐酸盐和1-(溴甲基-d2)-3-氯-2-氟苯为原料,采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0159]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.75 (t,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.72-7.56 (m, 3H), 7.28 (s, 1H), 7.20 (dd,  $J=8.8, 2.9\text{Hz}$ , 1H), 3.96 (s, 2H), 3.57-3.44 (m, 2H), 3.36 (s, 1H), 2.57 (s, 3H), 2.41-1.96 (m, 4H), 1.53 (m, 3H); ESI-MS  $m/z$ : 510.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

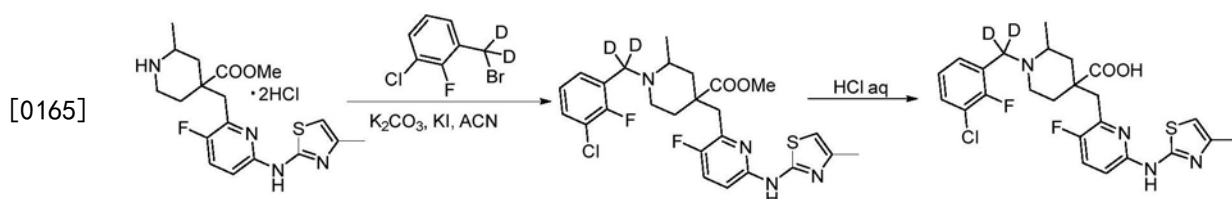
[0160] 实施例18 1-(3-氯-2-氟苄基)-4-((3-氟-6-((4-甲基噻唑-2-基)氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物18)的合成

[0161]

[0162] 以1-(叔丁基)4-甲基4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-1,4-双甲酸酯和4-甲基-2-氨基噻唑为原料,采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0163]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 11.64 (s, 1H), 10.53 (s, 1H), 7.73 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 1H), 7.70-7.66 (m, 2H), 7.55 (t,  $J=9.2\text{Hz}$ , 1H), 7.34 (t,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H), 6.56 (s, 1H), 4.68 (d,  $J=13.3\text{Hz}$ , 1H), 4.37 (dd,  $J=13.6, 8.3\text{Hz}$ , 1H), 3.83 (s, 2H), 3.26-3.21 (m, 2H), 3.06 (d,  $J=12.9\text{Hz}$ , 1H), 2.17 (s, 3H), 2.14-1.93 (m, 4H), 1.51 (d,  $J=6.0\text{Hz}$ , 3H); ESI-MS  $m/z$ : 508.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0164] 实施例19 1-((3-氯-2-氟苄基)甲基-d2)-4-((3-氟-6-((4-甲基噻唑-2-基)氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物19)的合成

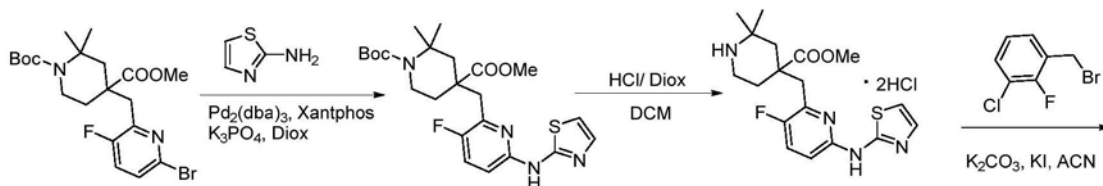


[0166] 以4-((3-氟-6-((4-甲基噻唑-2-基)氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸

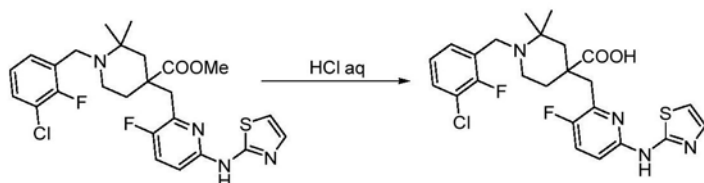
甲酯盐酸盐和1-(溴甲基-d2)-3-氯-2-氟苯为原料,采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0167]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.76 (t,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.73-7.57 (m, 3H), 7.22 (dd,  $J=8.8, 2.9\text{Hz}$ , 1H), 6.58 (s, 1H), 3.92 (s, 2H), 3.44-3.31 (m, 2H), 3.16 (m, 1H), 2.19 (s, 3H), 2.15-1.86 (m, 4H), 1.51 (m, 3H); ESI-MS  $m/z$ : 510.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0168] 实施例20 1-(3-氯-2-氟苄基)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2,2-二甲基哌啶-4-羧酸(化合物20)的合成



[0169]

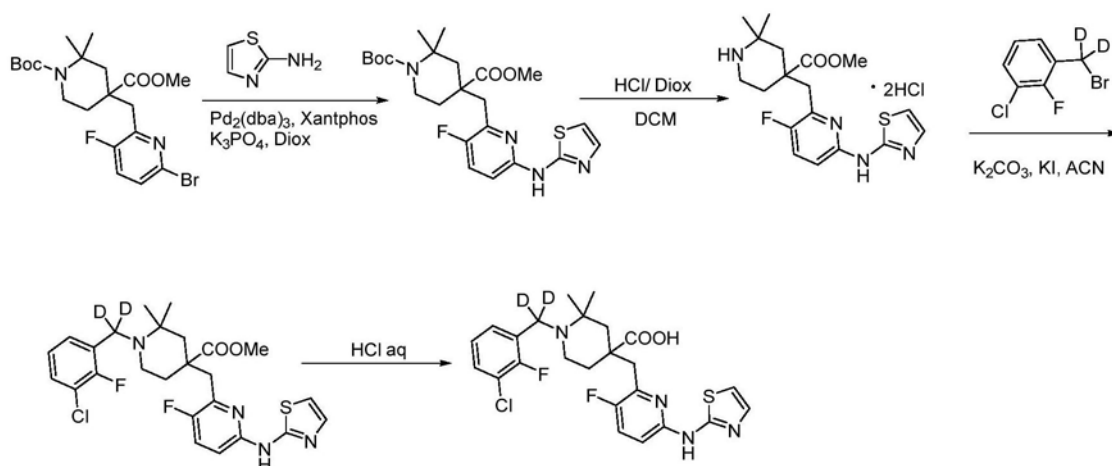


[0170] 以1-(叔丁基)4-甲基4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-2,2-双甲基哌啶-1,4-双甲酸酯和2-氨基噻唑为原料,采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0171]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.76 (t,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.70-7.51 (m, 3H), 7.35-7.24 (m, 2H), 7.18 (dd,  $J=8.8, 2.9\text{Hz}$ , 1H), 4.61 (d,  $J=13.3\text{Hz}$ , 1H), 4.32 (dd,  $J=13.6, 8.3\text{Hz}$ , 1H), 3.94 (s, 2H), 3.34-3.22 (m, 2H), 2.31 (s, 2H), 2.02-1.81 (m, 2H), 1.45 (s, 6H); ESI-MS  $m/z$ : 508.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0172] 实施例21 1-((3-氯-2-氟苄基)甲基-d2)-4-((3-氟-6-(噻唑-2-基氨基)吡啶-2-基)甲基)-2,2-二甲基哌啶-4-羧酸(化合物21)的合成

[0173]

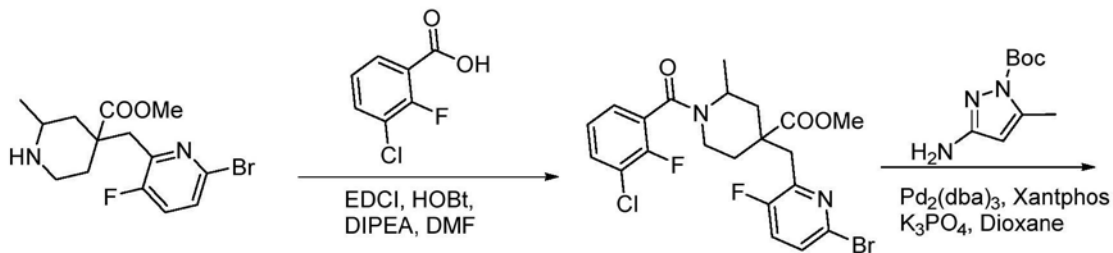


[0174] 以1-(叔丁基)4-甲基4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-2,2-双甲基哌啶-1,4-双甲酸酯和2-氨基噻唑为原料,采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

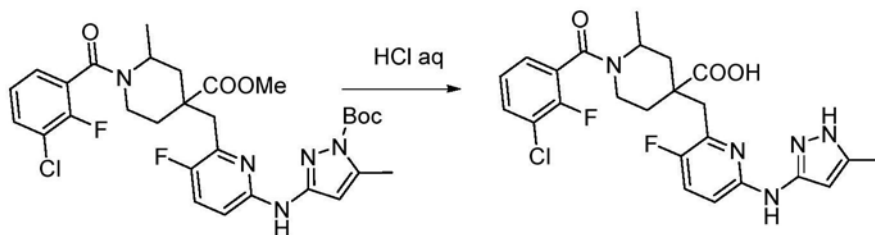
[0175]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.75 (t,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.70-7.55 (m, 3H), 7.37-7.26 (m, 2H), 7.20 (dd,  $J=8.8, 2.9\text{Hz}$ , 1H), 3.96 (s, 2H), 3.57-3.44 (m, 2H), 2.32 (s, 2H), 2.02-1.85

(m, 2H), 1.43 (s, 6H); ESI-MS  $m/z$ : 509.2 [M+H]<sup>+</sup>.

[0176] 实施例22 1-(3-氯-2-氟苯甲酰基)-4-((3-氟-6-((5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物22)的合成



[0177]



[0178] 4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-1-(3-氯-2-氟苯甲酰基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯:

[0179] 100mL单口瓶中加入3-氯-2-氟苯甲酸(262mg, 1.50mmol), DMF(20mL), EDCI(431mg, 2.25mmol), HOBT(304mg, 2.25mmol)和DIPEA(970mg, 7.52mmol), 混合液Ar保护下室温搅拌30min, 后加入4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯(345mg, 1.0mmol), 体系室温搅拌20h。LC-MS监测反应完成后, 体系加水(40mL)淬灭, EA(50mL\*2)萃取, 合并有机相用饱和氯化钠溶液洗涤, 浓缩, 残留物柱层析纯化得4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-1-(3-氯-2-氟苯甲酰基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯(426mg, 收率85%)。ESI-MS  $m/z$ : 501.1/503.1 [M+H]<sup>+</sup>。

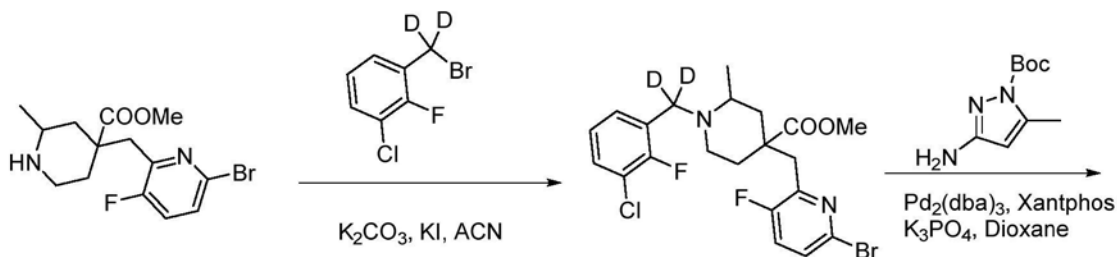
[0180] 1-(3-氯-2-氟苯甲酰基)-4-((3-氟-6-((5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸

[0181] 100mL单口瓶中加入4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-1-(3-氯-2-氟苯甲酰基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯(426mg, 0.85mmol), 1-Boc-5-甲基-3-氨基吡唑(201mg, 1.02mmol), Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(92mg, 0.10mmol), Xantphos(116mg, 0.20mmol), K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(96mg, 0.45mmol)和1,4-dioxane(10mL), Ar保护下升温至100°C反应约5h。LC/MS检测反应完全。粗品柱层析纯化(PE/EA=10/1to 5/1)得黄色泡状固体4-((6-((1-(叔丁氧基羰基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)-3-氟吡啶-2-基)甲基)-1-(3-氯-2-氟苯甲酰基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯(394, 收率75%), ESI-MS  $m/z$ : 618.1 [M+H]<sup>+</sup>。

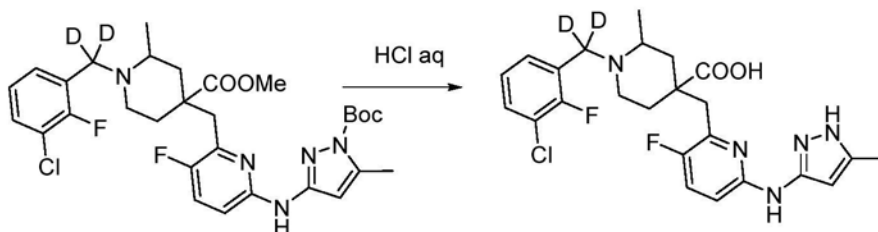
[0182] 以上述中间体为原料, 采用实施例1中的合成方法得到目标化合物。

[0183] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.65 (dt, J=16.0, 8.4Hz, 3H), 7.35 (t, J=7.9Hz, 1H), 6.92 (dd, J=9.0, 3.1Hz, 1H), 6.14-6.05 (m, 1H), 3.93 (dd, J=11.5, 6.1Hz, 1H), 2.57-2.49 (m, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.23-2.00 (m, 4H), 1.61-1.48 (m, 3H); ESI-MS  $m/z$ : 504.2 [M+H]<sup>+</sup>。

[0184] 实施例23 1-((3-氯-2-氟苯基)甲基-d<sub>2</sub>)-4-((3-氟-6-((5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物23)的合成



[0185]



[0186] 4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-1-((3-氯-2-氟苯基)甲基-d2)-2-甲基哌啶-4-甲酸甲酯

[0187] 100mL单口瓶中加入4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-甲酸甲酯(1g, 2.62mmol, 参照专利W02016077161中的方法合成得到), 1-(溴甲基-d2)-3-氯-2-氟苯(650mg, 2.88mmol),  $K_2CO_3$  (1.811g, 13.1mmol), KI (10mg) 和ACN (20mL), 室温反应约2h。LC/MS检测反应完全。反应液浓缩干, 柱层析纯化(PE/EA=20/1 to 8/1)得无色油状4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-1-((3-氯-2-氟苯基)甲基-d2)-2-甲基哌啶-4-甲酸甲酯(985mg, 收率77%), ESI-MS  $m/z$ : 489.1/491.1  $[M+H]^+$ 。

[0188] 4-((6-((1-(叔丁氧羰基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)-3-氟吡啶-2-基)甲基)-1-((3-氯-2-氟苯基)甲基-d2)-2-甲基哌啶-4-甲酸甲酯

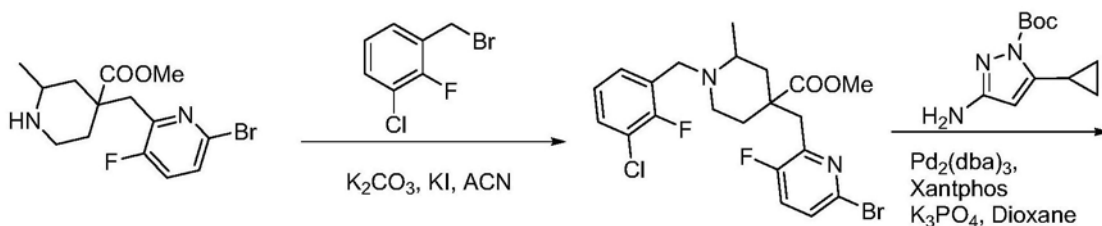
[0189] 100mL单口瓶中加入4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-1-((3-氯-2-氟苯基)甲基-d2)-2-甲基哌啶-4-甲酸甲酯(985mg, 2.01mmol), 1-Boc-5-甲基-3-氨基吡唑(476mg, 2.41mmol),  $Pd_2(dba)_3$  (92mg, 0.10mmol), Xantphos (116mg, 0.20mmol),  $K_3PO_4$  (1.067mmol) 和1,4-dioxane (20mL), Ar保护下升温至100℃反应约5h。LC-MS检测反应完全。粗品柱层析纯化(PE/EA=10/1 to 5/1)得黄色泡状固体4-((6-((1-(叔丁氧羰基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)-3-氟吡啶-2-基)甲基)-1-((3-氯-2-氟苯基)甲基-d2)-2-甲基哌啶-4-甲酸甲酯(1.03g, 收率84%), ESI-MS  $m/z$ : 605.3  $[M+H]^+$ 。

[0190] 1-((3-氯-2-氟苯基)甲基-d2)-4-((3-氟-6-((5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸

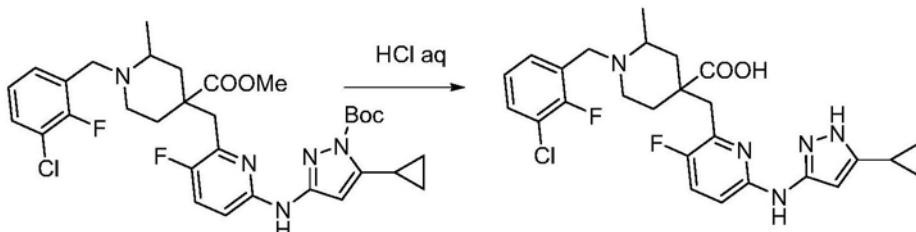
[0191] 100mL单口瓶中加入4-((6-((1-(叔丁氧羰基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)-3-氟吡啶-2-基)甲基)-1-((3-氯-2-氟苯基)甲基-d2)-2-甲基哌啶-4-甲酸甲酯(1.03g, 1.70mmol), 水(15mL), 浓HCl(15mL), 105℃回流反应约5h。LC-MS检测反应完全, 将反应液减压浓缩至干, 残留物加ACN(30mL)室温打浆, 抽滤, 滤饼用ACN(5mL\*2)洗涤, 晾干得淡黄色粉末状固体(844mg, 收率88%)。

[0192]  $^1H$  NMR (400MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.63 (dt,  $J=16.0, 8.4Hz$ , 3H), 7.32 (t,  $J=7.9Hz$ , 1H), 6.90 (dd,  $J=9.0, 3.1Hz$ , 1H), 6.04-6.01 (m, 1H), 3.96 (dd,  $J=11.5, 6.1Hz$ , 1H), 3.58-3.30 (m, 4H), 2.40 (s, 3H), 2.23-2.00 (m, 5H), 1.61-1.48 (m, 3H); ESI-MS  $m/z$ : 492.2  $[M+H]^+$ 。

[0193] 实施例24 1-(3-氯-2-氟苄基)-4-((6-((5-环丙基-1H-吡唑-3-基)氨基)-3-氟吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸(化合物24)的合成



[0194]



[0195] 以4-((6-溴-3-氟吡啶-2-基)甲基)-2-甲基哌啶-4-羧酸甲酯和1-(溴甲基)-3-氯-2-氟苯,以及3-氨基-5-环丙基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯为原料,采用实施例23中的合成方法得到目标化合物。

[0196]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.61 (dt,  $J=16.0, 8.4\text{Hz}$ , 3H), 7.34 (t,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H), 6.85 (dd,  $J=9.0, 3.1\text{Hz}$ , 1H), 6.01-5.95 (m, 1H), 4.56 (d,  $J=13.3\text{Hz}$ , 1H), 4.13 (dd,  $J=13.6, 8.3\text{Hz}$ , 1H), 3.93 (dd,  $J=11.5, 6.1\text{Hz}$ , 1H), 3.68-3.41 (m, 4H), 2.23-2.00 (m, 4H), 1.61-1.48 (m, 4H), 0.85-0.67 (m, 4H); ESI-MS  $m/z$ : 516.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0197] 实施例25Aurora激酶抑制活性的测试

[0198] 上述化合物对于Aurora激酶活性在体外的抑制活性测定通过Caliper Mobility Shift Assay方法测定。化合物从 $10\mu\text{M}$ 开始依次三倍稀释,总共得到10个浓度,先将酶和激酶反应液(20mM HEPES, pH 7.5, 0.01% Triton X-100)混合后,加入入梯度稀释的化合物。在室温孵育10分钟,让化合物和酶充分结合。然后加入FAM标记的多肽作为底物在 $2^\circ\text{C}$ 进行激酶反应,一定的时间后,加入终止液终止。然后采用Caliper读取转化率,换算成抑制率数据后通过统计软件计算获得 $\text{IC}_{50}$ 值,以不加药的溶剂空白作为阴性对照,以LY-3295668作为阳性对照。上述各化合物的结果列于表2中。

[0199] 实施例26H1975细胞抗增殖活性的测试

[0200] 把对数生长期的肿瘤(肺癌H1975)细胞消化后,吹打成单细胞悬液,分别接种于384孔培养板;每孔 $5 \times 10^3$ 个细胞,每孔加入培养基 $50\mu\text{L}$ ,  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中培养过夜。待细胞贴壁后,分别加入适当浓度的受试化合物和阳性对照药物,配置五种不同浓度的样品,以空白组为阴性对照组,在培养箱中再培养72h。然后,每孔加入 $50\mu\text{l}$  CTL plus,通过测量细胞中ATP的含量评价细胞的数量。用GRAPHPAD进行拟合,计算 $\text{IC}_{50}$ ,结果列于表2中。

[0201] 表2. 本发明部分化合物对Aurora激酶活性和对H1975细胞的抗增殖活性

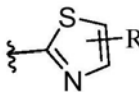
[0202]

化合物	Aurora, IC <sub>50</sub> (nM)		H1975, IC <sub>50</sub> (μM)
	A	B	
<b>1</b>	0.64	20	0.022
<b>3</b>	0.73	321	0.195
<b>7</b>	1.10	822	0.099
<b>9</b>	0.98	126	0.081
<b>13</b>	0.74	15	0.025
<b>20</b>	1.42	435	0.156
<b>22</b>	1.21	1142	0.155
<b>23</b>	0.66	1955	0.415

[0203]

<b>LY-3295668</b>	0.86	1440	0.102
-------------------	------	------	-------

[0204] 以上数据说明通式 (1) 化合物中, 当-L-基团从CH<sub>2</sub>改变成适当大小的基团所取代,

比如CD<sub>2</sub>, 和/或者, 当W是  基团时, 化合物具有极强的Aurora-A激酶活性, 同时

Aurora-B激酶活性和H1975细胞抗增殖活性得到大幅提高。

[0205] 实实施例27小鼠体内抗肿瘤活性评价

[0206] 人肺癌H1975细胞用含10%胎牛血清的1640于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中常规培养, 传代后, 待细胞达到所需量时, 消化收集细胞。将8×10<sup>6</sup>个H1975细胞注射入每只裸小鼠左侧腋下, 待肿瘤生长至80mm<sup>3</sup>后, 将动物随机分组开始给药。分别为1) 溶剂对照组, 6只; 2) LY-3295668组和化合物13组, 每组6只。溶剂对照组每天一次灌胃5%DMSO+45%PEG400+50%水的溶剂; LY-3295668组和化合物13组灌胃1mg/mL的化合物溶液0.1mL/10g (60mg/kg/day)。每两天测定肿瘤体积, 测量小鼠体重, 于给药第21天处死裸小鼠。计算相对肿瘤体积 (RTV)、相对肿瘤增值率 (T/C) 和肿瘤生长抑制率, 并进行统计学检测。试验结果见下表3。

[0207] 表3化合物对人非小细胞肺腺癌NCI-H1975裸小鼠移植瘤的实验治疗作用

[0208]

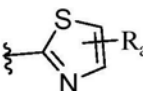
化合物	剂量 (mg/kg)	给药 方案	平均体重(g)		肿瘤体积 (mm <sup>3</sup> )		RTV	T/C(%)	TGI(%)
			D1	D21	D1	D21			
Vehicle	(-)	qd*21	17.63±0.5 2	19.37±0. 59	82.94 ±6.96	1621.28 ±215.82	19.57 ±2.67	(-)	(-)
LY-3295 668	60	qd*21	17.85±0.4 5	18.58±0. 46	82.56 ±7.60	611.95 ±80.83**	7.66± 1.16**	39.17	65.59

[0209]

13	60	qd*21	17.82±0.4 5	19.00±0. 68	82.50 ±7.11	373.74 ±35.20***	4.72± 0.59** *	24.11	81.07
----	----	-------	----------------	----------------	----------------	---------------------	----------------------	-------	-------

[0210] 与对照相比\*:P<0.05,\*\*:P<0.01,\*\*\*:P<0.001,\*\*\*\*:P<0.0001;D1:开始给药时间。RTV:相对肿瘤体积,计算公式为:RTV=V<sub>t</sub>/V<sub>0</sub>。T/C(%)=T<sub>RTV</sub>/C<sub>RTV</sub> X 100。T<sub>RTV</sub>:为治疗组RTV;C<sub>RTV</sub>:为阴性对照组RTV。TGI(%) :肿瘤生长抑制率(%)。疗效评价标准:T/C(%)>60为无效;T/C(%)≤60,并经统计学处理P<0.05为有效。

[0211] 从上表3可以看出,化合物13和阳性对照LY-3295668相比,体内抗肿瘤活性明显增强,说明通式(1)化合物中,当-L-基团从CH<sub>2</sub>改变成适当大小的基团所取代,比如CD<sub>2</sub>,和/或

者,当W是  基团时,化合物的体内抗肿瘤活性得到大幅提高。这对靶向极光激酶

治疗肿瘤具有重要的意义。