



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102216302 B

(45) 授权公告日 2013. 08. 21

(21) 申请号 200980144953. 2

(22) 申请日 2009. 11. 03

(30) 优先权数据

61/113, 273 2008. 11. 11 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 05. 11

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/063020 2009. 11. 03

(87) PCT申请的公布数据

W02010/056563 EN 2010. 05. 20

(73) 专利权人 伊莱利利公司

地址 美国印第安纳州

(72) 发明人 R·D·达利 S·约瑟夫

T·A·谢泼德

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 万雪松 郭文洁

(51) Int. Cl.

C07D 473/00 (2006. 01)

A61K 31/52 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

W0 2008075109 A1, 2008. 06. 26, 全文.

审查员 王信

权利要求书2页 说明书95页

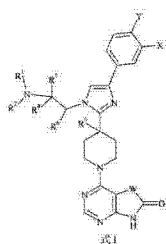
(54) 发明名称

AKT 和 P70 S6 激酶抑制剂

(57) 摘要

本发明提供下式(I)的 AKT 和 p70 S6 激酶抑

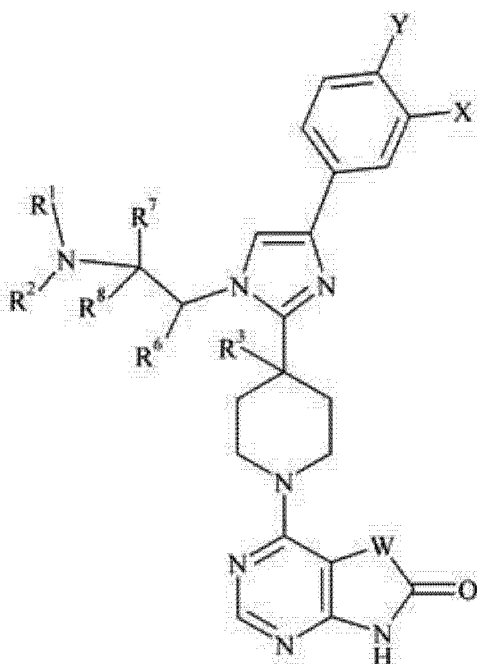
制剂:



本发明还提供包含式 I 的化

合物的药物组合物、式 I 的化合物的用途和使用
式 I 的化合物的方法。

1. 下式的化合物或其可药用盐：



其中：

X 是 F、Cl、CF₃、CN 或 H；

Y 是 F、H 或 Cl；

R¹ 和 R² 独立地为 H、C₁ - C₄ 烷基或 CH₂CH₂OH ;或 R¹ 和 R² 与和它们相连的氮原子一起形成任选在 2- 位被羟甲基或在 3- 位被羟基取代的吡咯烷环,或在 3- 位被羟基取代的氮杂环丁烷环 ;

R^3 是 H 或 OH；

R⁶ 是 H; 或 R⁶ 和 R² 与和 R² 相连的氮原子一起形成哌啶环;

R⁷ 和 R⁸ 独立地为 H 或 CH₃；或 R⁷ 和 R¹ 与和 R¹ 相连的氮原子一起形成吡咯烷环；

W 是 CR^4R^5 、 NR^{10} 、 $\text{C}=\text{O}$ 或 $\text{C}=\text{CH}-\text{R}^9$;

R^4 和 R^5 独立地为 H、 CH_3 或 CH_2CH_3 ; R^4 和 R^5 与和它们相连的碳原子一起形成环戊烷环 ; 或 R^4 或 R^5 之一是苄基, 另一是 H ;

R⁹ 是 2-噻唑基、4-吡啶基、2-甲基-4-噻唑基、2-咪唑基、5-噻唑基或 4-咪唑基；且

R¹⁰ 是 H 或 C₁-C₃ 烷基。

2. 根据权利要求 1 的化合物或其可药用盐, 其中 Y 是 F。

3. 根据权利要求 1 或权利要求 2 的化合物或其可药用盐, 其中 X 是 Cl、CF₃ 或 F。

4. 根据权利要求 1 或 2 的化合物或其可药用盐, 其中 W 是 CR^4R^5 。

5. 根据权利要求 4 的化合物或其可药用盐, 其中 R^4 和 R^5 独立地为 H 或 CH_3 , 或 R^4 和 R^5 与它们相连的碳原子一起形成环戊烷环。

6. 根据权利要求 1 或 2 的化合物或其可药用盐, 其中 W 是 NR^{10} 。

7. 根据权利要求 1 或 2 的化合物或其可药用盐, 其中 W 是 $C=CH-R^9$ 。

8. 根据权利要求 7 的化合物或其可药用盐, 其中 R^9 是 5-噻唑基。

9. 根据权利要求 1 或 2 的化合物或其可药用盐, 其中 R^1 和 R^2 独立地为 H、 $C_1 - C_4$ 烷基

或 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$;或 R^1 和 R^2 与和它们相连的氮原子一起形成任选在 2- 位被羟甲基或在 3- 位被羟基取代的吡咯烷环。

10. 根据权利要求 1 或 2 的化合物或其可药用盐,其中 R^3 是 H。

11. 根据权利要求 1 的化合物,其是 4-{4-[1-(2- 二甲基氨基 - 乙基)-4-(4- 氟 -3- 三氟甲基 - 苯基)-1H- 咪唑 -2- 基] 哌啶 -1- 基}-5, 7- 二氢 - 吡咯并 [2, 3-d]- 嘧啶 -6- 酮或其可药用盐。

12. 包含根据权利要求 1 至 11 任一项的化合物或其可药用盐和可药用载体、稀释剂或赋形剂的药物制剂。

13. 根据权利要求 1 至 11 任一项的化合物或其可药用盐,用于治疗。

14. 根据权利要求 1 至 11 任一项的化合物或其可药用盐,用于治疗多形性成胶质细胞瘤。

15. 根据权利要求 1 至 11 任一项的化合物或其可药用盐在制备用于治疗哺乳动物的多形性成胶质细胞瘤的药物中的用途。

AKT 和 P70 S6 激酶抑制剂

[0001] 发明背景

[0002] 磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/AKT/哺乳动物雷帕霉素靶(mTOR)路径包括在细胞生长和存活的控制中至关重要的许多信号点。AKT,也称作蛋白激酶 B,是在这种路径中具有关键作用的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶。PI3K 介导 AKT 的活化。PI3K 产生结合到 AKT 上的磷脂。在结合后,AKT 补充到血浆膜中并通过磷酸化活化。AKT 活化和信号传导促进细胞存活、生长和增殖。在多种癌症中涉及提高的 AKT 活化。P70 S6 激酶是丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶,其是 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的下游效应子。P70 S6 激酶将细胞中的核糖体蛋白 S6 磷酸化并响应促有丝分裂的刺激调节核糖体生物发生、细胞生长和细胞周期进程。在许多实体瘤中普遍激活 P70 S6 激酶。

[0003] 在 WO 2008/075109 中公开了一系列具有 AKT 抑制活性的取代哌啶化合物。这些化合物据公开用于治疗包括或源自异常细胞生长或异常停止的细胞死亡的疾病或病症,包括癌症。仍然需要提供可用于治疗增殖性疾病,如癌症的替代性 AKT 抑制剂。本发明提供替代性 AKT 抑制剂。本发明的优选化合物是比本领域中已知的那些更有力的 AKT 抑制剂。

[0004] 另外,需要提供可用于治疗增殖性疾病,如癌症的替代性 p70 S6 激酶抑制剂。本发明提供替代性 p70 S6 激酶抑制剂。本发明的优选化合物是比本领域中已知的那些更有力的 p70 S6 激酶抑制剂。

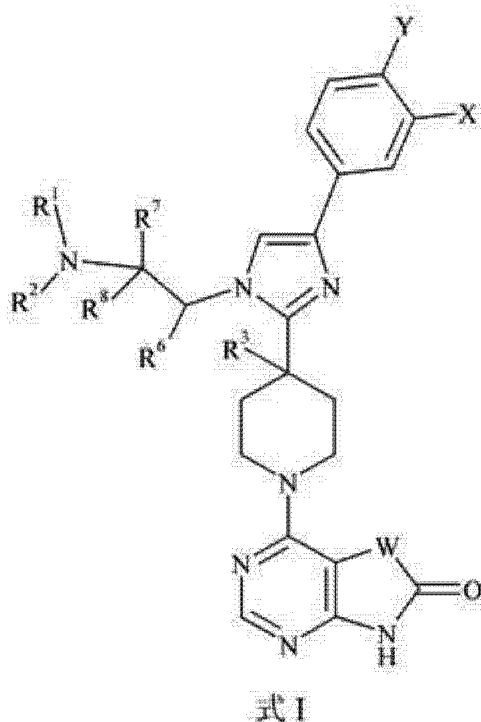
[0005] 本发明的优选化合物是 AKT 和 p70 S6 激酶的抑制剂。本发明的更优选化合物是比已知 AKT 抑制剂更有力的 AKT 抑制剂和比已知 p70 S6 激酶抑制剂更有力的 p70 S6 激酶抑制剂。

[0006] 本发明的某些化合物具有比本领域中已知的 AKT 和 / 或 p70 S6 激酶抑制剂低的 hERG 活性。

[0007] 发明概述

[0008] 本发明提供下式的化合物或其可药用盐:

[0009]



[0010] 其中：

[0011] X 是 F、Cl、CF₃、CN 或 H；

[0012] Y 是 F、H 或 Cl；

[0013] R¹ 和 R² 独立地为 H、C₁-C₄ 烷基或 CH₂CH₂OH；或 R¹ 和 R² 与和它们相连的氮原子一起形成任选在 2-位被羟甲基或在 3-位被羟基取代的吡咯烷环，或在 3-位被羟基取代的氮杂环丁烷环；

[0014] R³ 是 H 或 OH；

[0015] R⁶ 是 H；或 R⁶ 和 R² 与和 R² 相连的氮原子一起形成哌啶环；

[0016] R⁷ 和 R⁸ 独立地为 H 或 CH₃；或 R⁷ 和 R¹ 与和 R¹ 相连的氮原子一起形成吡咯烷环；

[0017] W 是 CR⁴R⁵、NR¹⁰、C=O 或 C=CH-R⁹；

[0018] R⁴ 和 R⁵ 独立地为 H、CH₃ 或 CH₂CH₃；R⁴ 和 R⁵ 与和它们相连的碳原子一起形成环戊烷环；或 R⁴ 或 R⁵ 之一是苄基，另一是 H；

[0019] R⁹ 是 2-噻唑基、4-吡啶基、2-甲基-4-噻唑基、2-咪唑基、5-噻唑基或 4-咪唑基；
且

[0020] R¹⁰ 是 H 或 C₁-C₃ 烷基。

[0021] 本发明提供包含本发明的化合物或其可药用盐，和可药用载体、稀释剂或赋形剂的药物制剂。

[0022] 本发明提供用于治疗的本发明的化合物或其可药用盐。

[0023] 本发明提供用于治疗多形性成胶质细胞瘤的本发明的化合物或其可药用盐。本发明进一步提供治疗哺乳动物的多形性成胶质细胞瘤的方法，包括给予需要这种治疗的哺乳动物有效量的本发明的化合物或其可药用盐。另外，本发明提供本发明的化合物或其可药用盐用于制造多形性成胶质细胞瘤的治疗药剂的用途。此外，本发明提供包含本发明的化合物或其可药用盐的用于治疗的药物组合物，并提供包含本发明的化合物或其可药用盐的用于治疗多形性成胶质细胞瘤的药物组合物。

[0024] 发明详述

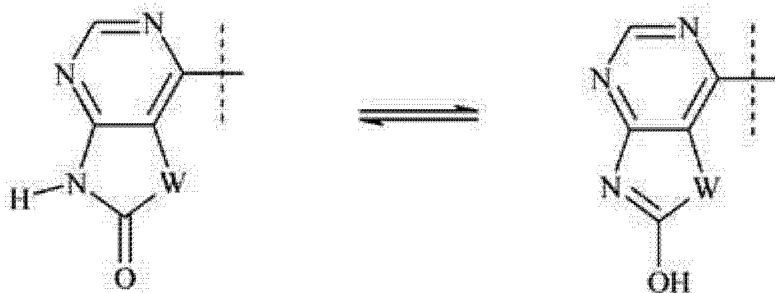
[0025] 上式中使用的一般化学术语具有它们的通常含义。例如,术语“C₁-C₄ 烷基”是指含 1 至 4 个碳原子的直链或支链的、一价、饱和脂族链,并包括,但不限于,甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基和叔丁基。同样地,术语“C₁-C₃ 烷基”包括甲基、乙基和异丙基。甲基和乙基是优选烷基。

[0026] 本发明的化合物是碱,因此与许多有机和无机酸任一反应形成可药用盐,且本发明包括式 I 的化合物的可药用盐。本文所用的术语“可药用盐”是指对活体基本无毒的式 I 的化合物的盐。此类盐包括 Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2-19 (1977) 中列举的可药用盐,它们是技术人员已知的。游离碱和盐酸盐、甲苯磺酸盐、半琥珀酸盐和三三氟甲烷磺酸盐是优选的。游离碱尤其优选。

[0027] 本发明的一些化合物具有一个或多个手性中心并可以以各种立体异构构型存在。由于这些手性中心,本发明的化合物以外消旋物、对映异构体混合物和以独立的对映异构体以及非对映体和非对映体混合物的形式存在。所有这样的外消旋物、对映异构体和非对映体在本发明的范围内。本领域普通技术人员可利用公知技术和方法,如 J. Jacques 等人, "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981, 和 E.L. Eliel 和 S.H. Wilen, "Stereochemistry of Organic Compounds", (Wiley-Interscience 1994), 和 1998 年 4 月 29 日公开的欧洲专利申请 No. EP-A-838448 公开的那些制备式 I 的化合物的具体立体异构体和对映异构体。拆分的实例包括重结晶技术或手性色谱法。

[0028] 技术人员还会认识到,式 I 的化合物以互变异构体形式存在,例如:

[0029]

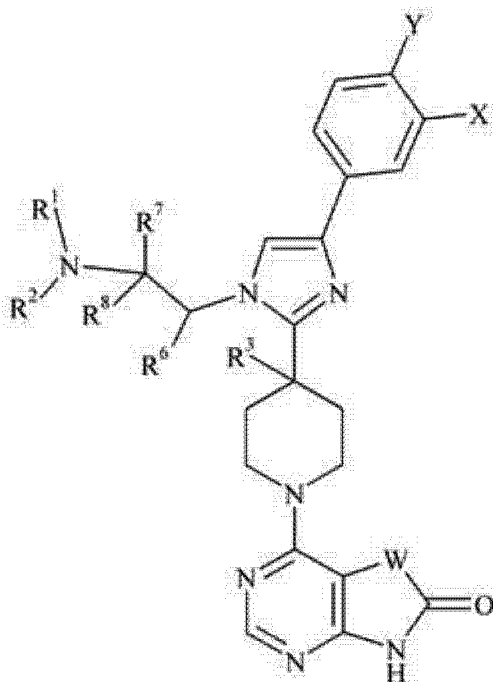


[0030] 尽管互变异构体在结构上不同,但技术人员会认识到它们平衡存在并在普通条件下容易和快速地相互转化。(参见, March, Advanced Organic Chemistry, 第三版, Wiley Interscience, New York, New York (1985), 第 66-70 页;和 Allinger, Organic Chemistry, 第二版, Worth Publishers, New York, New York, (1976), 第 173 页)。因此,以单一互变异构体形式表示式 I 的化合物也考虑了独立的两种互变异构体形式及其混合物。

[0031] 本文中公开的化合物使用 Chem Draw Ultra version v10 或 Chem Bio Viz Ultra version v11 内的命名程序命名。

[0032] 在另一实施方案中,提供下式的化合物:

[0033]



[0034] 其中：

[0035] X 是 F、Cl、CF₃、CN、H 或 CHF₂；

[0036] Y 是 F、H 或 Cl；

[0037] R^1 和 R^2 独立地为 H、 C_1-C_4 烷基或 CH_2CH_2OH ；或 R^1 和 R^2 与和它们相连的氮原子一起形成任选在 2- 位被羟甲基或在 3- 位被羟基取代的吡咯烷环，或在 3- 位被羟基取代的氮杂环丁烷环；

[0038] R^3 是 H 或 OH;

[0039] R^6 是 H; 或 R^6 和 R^2 与和 R^2 相连的氮原子一起形成哌啶环;

[0040] R^7 和 R^8 独立地为 H 或 CH_3 ; 或 R^7 和 R^1 与和 R^1 相连的氮原子一起形成吡咯烷环或哌啶环;

[0041] W 是 CR^4R^5 、 NR^{10} 、 $\text{C}=\text{O}$ 或 $\text{C}=\text{CH}-\text{R}^9$;

[0042] R^4 和 R^5 独立地为 H、 CH_3 或 CH_2CH_3 ; R^4 和 R^5 与和它们相连的碳原子一起形成环戊烷环 ; 或 R^4 或 R^5 之一是苄基, 另一是 H ;

[0043] R⁹ 是 2-噻唑基、4-吡啶基、2-甲基-4-噻唑基、2-咪唑基、5-噻唑基或 4-咪唑基；
且

[0044] R¹⁰ 是 H 或 C₁-C₃ 烷基;或其可药用盐。

[0045] 在一个实施方案中,本发明包括 Y 是 F 的式 I 的化合物。

[0046] 在另一实施方案中,本发明包括 X 是 Cl、CF₃ 或 F 的式 I 的化合物。特别地, X 是 CF₃。

[0047] 在另一实施方案中,本发明包括 W 是 CR^4R^5 、 NR^{10} 或 $\text{C}=\text{CH}-\text{R}^9$ 的式 I 的化合物。

[0048] 在另一实施方案中,本发明包括 W 是 CR^4R^5 的式 I 的化合物。特别地, R^4 和 R^5 独立地为 H 或 CH_3 ; 或 R^4 是 H 且 R^5 是 CH_2CH_3 ; 或 R^4 和 R^5 与和它们相连的碳原子一起形成环戊烷环。更特别地, R^4 和 R^5 独立地为 H 或 CH_3 ; 或 R^4 和 R^5 与和它们相连的碳原子一起形成环戊烷环。更特别地, R^4 和 R^5 独立地为 H 或 CH_3 。再更特别地, R^4 和 R^5 都是 H。

[0049] 在另一实施方案中,本发明包括 W 是 NR^{10} 的式 I 的化合物。特别地, R^{10} 是甲基或乙基。

[0050] 在另一实施方案中,本发明包括 W 是 $\text{C}=\text{CH}-\text{R}^9$ 的式 I 的化合物。特别地, R^9 是 5-噻唑基。

[0051] 在另一实施方案中,本发明包括 R^1 和 R^2 独立地为 H、 C_1-C_4 烷基或 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$;或 R^1 和 R^2 与和它们相连的氮原子一起形成任选在 2-位被羟甲基或在 3-位被羟基取代的吡咯烷环的式 I 的化合物。特别地, R^1 和 R^2 独立地为 H 或 CH_3 ;或 R^1 和 R^2 与和它们相连的氮原子一起形成吡咯烷环。更特别地, R^1 和 R^2 都是 CH_3 。

[0052] 在另一实施方案中,本发明包括 R^3 是 H 的式 I 的化合物。

[0053] 在另一实施方案中,本发明包括 R^6 是 H 的式 I 的化合物。

[0054] 在另一实施方案中,本发明包括 R^7 是 H;或 R^7 和 R^1 与和 R^1 相连的氮原子一起形成吡咯烷环的式 I 的化合物。特别地, R^7 是 H。

[0055] 在再一实施方案中,本发明包括 R^8 是 H 的式 I 的化合物。

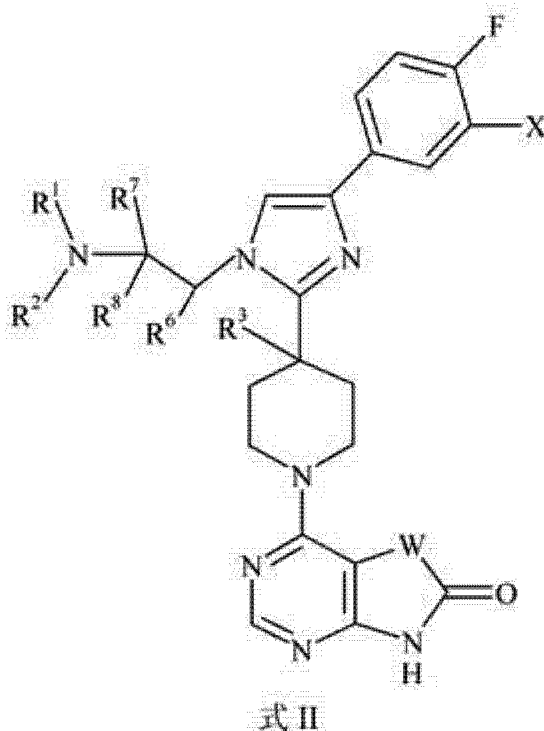
[0056] 在另一实施方案中,本发明包括 Y 是 F 且 X 是 Cl 、 CF_3 或 F 的式 I 的化合物。特别地, Y 是 F;X 是 Cl 、 CF_3 或 F;且 W 是 CR^4R^5 。更特别地, Y 是 F;X 是 Cl 、 CF_3 或 F;W 是 CR^4R^5 ;且 R^4 和 R^5 独立地为 H 或 CH_3 ,或 R^4 和 R^5 与和它们相连的碳原子一起形成环戊烷环。再更特别地, Y 是 F;X 是 Cl 、 CF_3 或 F;W 是 CR^4R^5 ; R^4 和 R^5 独立地为 H 或 CH_3 ,或 R^4 和 R^5 与和它们相连的碳原子一起形成环戊烷环;且 R^1 和 R^2 独立地为 H、 C_1-C_4 烷基或 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$,或 R^1 和 R^2 与和它们相连的氮原子一起形成任选在 2-位被羟甲基或在 3-位被羟基取代的吡咯烷环。

[0057] 在另一实施方案中,本发明包括 Y 是 F;X 是 Cl 、 CF_3 或 F;且 W 是 NR^{10} 的式 I 的化合物。特别地, Y 是 F;X 是 Cl 、 CF_3 或 F;W 是 NR^{10} ;且 R^1 和 R^2 独立地为 H、 C_1-C_4 烷基或 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$,或 R^1 和 R^2 与和它们相连的氮原子一起形成任选在 2-位被羟甲基或在 3-位被羟基取代的吡咯烷环。

[0058] 在另一实施方案中,本发明包括 Y 是 F;X 是 Cl 、 CF_3 或 F;且 W 是 $\text{C}=\text{CH}-\text{R}^9$ 的式 I 的化合物。特别地, Y 是 F;X 是 Cl 、 CF_3 或 F;W 是 $\text{C}=\text{CH}-\text{R}^9$;且 R^9 是 5-噻唑基。更特别地, Y 是 F;X 是 Cl 、 CF_3 或 F;W 是 $\text{C}=\text{CH}-\text{R}^9$; R^9 是 5-噻唑基;且 R^1 和 R^2 独立地为 H、 C_1-C_4 烷基或 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$,或 R^1 和 R^2 与和它们相连的氮原子一起形成任选在 2-位被羟甲基或在 3-位被羟基取代的吡咯烷环。

[0059] 在再一实施方案中,本发明的化合物包括下式的那些或其可药用盐:

[0060]



[0061] 其中：

[0062] X 是 F、Cl 或 CF₃；

[0063] R¹ 和 R² 独立地为 H、C₁-C₄ 烷基或 CH₂CH₂OH；或 R¹ 和 R² 与和它们相连的氮原子一起形成任选在 2- 位被羟甲基或在 3- 位被羟基取代的吡咯烷环；

[0064] R³ 是 H 或 OH；

[0065] R⁶ 是 H；或 R⁶ 和 R² 与和 R² 相连的氮原子一起形成哌啶环；

[0066] R⁷ 和 R⁸ 独立地为 H 或 CH₃；或 R⁷ 和 R¹ 与和 R¹ 相连的氮原子一起形成吡咯烷环；

[0067] W 是 CR⁴R⁵、NR¹⁰ 或 C=CH-R⁹；

[0068] R⁴ 和 R⁵ 独立地为 H 或 CH₃；或 R⁴ 和 R⁵ 与和它们相连的碳原子一起形成环戊烷环；

[0069] R⁹ 是 5- 噻唑基；且

[0070] R¹⁰ 是 H 或 C₁-C₃ 烷基。

[0071] 在一个实施方案中，本发明包括 X 是 CF₃ 的式 II 的化合物。

[0072] 在另一实施方案中，本发明包括 W 是 CR⁴R⁵ 且 R⁴ 和 R⁵ 独立地为 H 或 CH₃ 的式 II 的化合物。特别地，R⁴ 和 R⁵ 都是 H。

[0073] 在另一实施方案中，本发明包括 W 是 NR¹⁰ 且 R¹⁰ 是甲基或乙基的式 II 的化合物。

[0074] 在另一实施方案中，本发明包括 R¹ 和 R² 独立地为 H 或 CH₃；或 R¹ 和 R² 与和它们相连的氮原子一起形成吡咯烷环的式 II 的化合物。特别地，R¹ 和 R² 都是 CH₃。

[0075] 在另一实施方案中，本发明包括 R³ 是 H 的式 II 的化合物。

[0076] 在另一实施方案中，本发明包括 R⁶ 是 H 的式 II 的化合物。

[0077] 在另一实施方案中，本发明包括 R⁷ 是 H，或 R⁷ 和 R¹ 与和 R¹ 相连的氮原子一起形成吡咯烷环的式 II 的化合物。特别地，R⁷ 是 H。

[0078] 在另一实施方案中，本发明包括 R⁸ 是 H 的式 II 的化合物。

[0079] 本发明的下列化合物或其可药用盐是优选的：

- [0080] 4-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮；
- [0081] 4-{4-[1-(2-氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮；
- [0082] 4-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-((R)-1-甲基-哌啶-3-基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮；
- [0083] 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,5-二甲基-5,7-二氢吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮；
- [0084] 4-{4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮；
- [0085] 4-{4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮；
- [0086] 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮；
- [0087] 7-乙基-6-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7H-嘌呤-8(9H)-酮；
- [0088] 6-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-乙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮；
- [0089] 6-{4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-乙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮；
- [0090] 6-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-异丙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮；
- [0091] 6-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-乙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮；
- [0092] 6-{4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-乙基-7,9-二氢-嘌呤-8-酮；
- [0093] 4-{4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-乙基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮；
- [0094] 4-{4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-甲基-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮；
- [0095] 4-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,5-二甲基-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮；和
- [0096] 4-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-甲基-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮。
- [0097] 化合物 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮或其可药用盐尤其优选。
- [0098] 在一个优选实施方案中,化合物 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮或其可药用盐是结晶 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯

基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮半水合物。结晶 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮半水合物以包含至少一个下列峰的 X-射线粉末衍射图其特征:7.4、14.9、21.1、19.8 或 10.5 ($\pm 0.1^\circ$ 2θ)。优选以包含在 7.4、14.9、21.1、19.8 和 10.5 ($\pm 0.1^\circ$ 2θ) 的峰的 X-射线粉末衍射图其特征。结晶 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮半水合物也可以包含至少一个下列共振的 SSNMR 谱为特征:179.8、156.9、151.9、137.5 或 33.8 ppm。优选以包含在 179.8、156.9、151.9、137.5 和 33.8 ppm 的共振的 SSNMR 谱为特征。

[0099] 在另一实施方案中,化合物 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮或其可药用盐是 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮三三氟甲烷磺酸。4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮三三氟甲烷磺酸以包含至少一个下列峰的 X-射线粉末衍射图其特征:22.6、21.7、21.5、21.1、20.4、20.2、18.6、18.5、15.5、15.0 和 13.2 ($\pm 0.1^\circ$ 2θ)。优选以包含在 22.6、21.7、21.5、21.1、20.4、20.2、18.6、18.5、15.5、15.0 和 13.2 ($\pm 0.1^\circ$ 2θ) 的峰的 X-射线粉末衍射图其特征。4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮三三氟甲烷磺酸也可以包含至少一个下列共振的 SSNMR 谱为特征:176.9、155.4、150.0、148.0、94.6、57.7、36.4、32.0 和 27.4 ppm。优选以包含在 176.9、155.4、150.0、148.0、94.6、57.7、36.4、32.0 和 27.4 ppm 的共振的 SSNMR 谱为特征。

[0100] 在另一实施方案中,化合物 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮或其可药用盐是 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮一水合物。4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮一水合物以包含至少一个下列共振的 SSNMR 谱为特征:164.9、150.7、138.3 和 61.6 ppm。优选以包含在 164.9、150.7、138.3 和 61.6 ppm 的共振的 SSNMR 谱为特征。

[0101] 在另一实施方案中,提供选自下列的化合物:

[0102] 5-乙基-4-{4-[4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1-((S)-哌啶-2-基甲基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮三盐酸盐;

[0103] 4-{4-[4-(3-二氟甲基-4-氟苯基)-1-(((R)-1-甲基哌啶-2-基)甲基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-乙基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮;和

[0104] (R)-6-{4-[4-(3-二氟甲基-4-氟苯基)-1-((1-甲基哌啶-2-基)甲基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-乙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮。

[0105] 本发明的化合物是 AKT 和 p70 S6 激酶的抑制剂并因此可用于治疗代谢病和失调症,如肥胖症、糖尿病、代谢综合征、胰岛素抵抗、高血糖症、高氨基酸血症和高脂血症。本

发明的化合物还可用于治疗哺乳动物的癌症,特别是多形性成胶质细胞瘤、结肠腺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、顺铂耐药性小细胞肺癌、卵巢癌、白血病、胰腺癌、前列腺癌、乳腺癌、肾细胞癌、多发性骨髓瘤、卡波西肉瘤(Sodhi 等人, *Cancer Cell*, 10: 133-143 (2006))、霍奇金淋巴瘤(Dutton 等人, *J. Pathol.*, 205: 498-506 (2005))、淋巴管肌瘤病(Goncharova 等人, *J. Biol. Chem.*, 277:34, 30958-30967 (2002))、非霍奇金淋巴瘤、肉瘤和神经内分泌瘤,特别是胰腺或小肠的神经内分泌瘤(Wong 等人, 2009 *Gastrointestinal Cancers Symposium*, Abstract no. 174)。AKT 和 p70 S6 激酶的抑制剂也是哺乳动物血管生成的可用抑制剂。要治疗的哺乳动物优选是人。

[0106] 本发明的化合物或其可药用盐可用于治疗哺乳动物的癌症,特别是上述癌症的方法中,包括给予需要这种治疗的哺乳动物有效量的本发明的化合物或其可药用盐。本发明的化合物或其可药用盐可用于治疗癌症,特别是上述癌症。此外,本发明的化合物或其可药用盐可用于制造癌症,特别是上述癌症的治疗药剂。还提供了包含本发明的化合物或其可药用盐的用于治疗癌症,特别是上述癌症的药物组合物。

[0107] 本发明的化合物或其可药用盐可用于抑制哺乳动物血管生成的方法中,包括给予需要这种治疗的哺乳动物有效量的本发明的化合物或其可药用盐。本发明的化合物或其可药用盐可用于抑制血管生成。此外,本发明的化合物或其可药用盐可用于制造抑制血管生成的药剂。还提供了包含本发明的化合物或其可药用盐的用于抑制血管生成的药物组合物。

[0108] 本发明的化合物可以与其它治疗剂,特别是 mTOR (哺乳动物雷帕霉素靶)抑制剂、EGFR (表皮生长因子受体)抑制剂、吉西他滨(Gemzar®)、顺铂、tasisulam (N-[5- 溴噻吩 -2- 基) 磺酰基]-2, 4- 二氯苯甲酰胺钠)、培美曲塞(Alimta®)、多西他赛(Taxotere®)、阿霉素(Doxil®)或伊立替康(Campto®;Camptosar®)联合使用。优选的 mTOR 抑制剂包括雷帕霉素(也被称作西罗莫司)及其类似物,如依维莫司(42-O-(2- 羟基) 乙基 - 雷帕霉素;公开在 EP 1 413 581 中)、西罗莫司脂化物(temsirolimus)(42-(3- 羟基 -2-(羟基甲基)-2- 甲基丙酸酯)- 雷帕霉素;Torisel®;公开在 WO 95/28406 中)和 deforolimus (42-(次膦酸二甲酯) 雷帕霉素;公开在 WO 03/64383 中)。优选的 EGFR 抑制剂包括埃罗替尼、西妥昔单抗(Erbitux®;公开在 EP 0 359 282 中)、帕尼单抗(Vectibix®;公开在 EP 0 359 282 中)和 gefinitib (Iressa®;公开在 EP 0 566 226 中)。

[0109] 在一个实施方案中,本发明提供作为同时、分开或顺序用于治疗的联合制剂的含有本发明的化合物或其可药用盐和选自上文列举的那些的治疗剂的产品。本发明进一步提供与选自上文列举的那些的治疗剂同时、分开和顺序联合用于治疗多形性成胶质细胞瘤、结肠腺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、顺铂耐药性小细胞肺癌、卵巢癌、白血病、胰腺癌、前列腺癌、乳腺癌、肾细胞癌、多发性骨髓瘤、卡波西肉瘤、霍奇金淋巴瘤、淋巴管肌瘤病、非霍奇金淋巴瘤或肉瘤的本发明的化合物或其可药用盐。本发明进一步提供治疗选自多形性成胶质细胞瘤、结肠腺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、顺铂耐药性小细胞肺癌、卵巢癌、白血病、胰腺癌、前列腺癌、乳腺癌、肾细胞癌、多发性骨髓瘤、卡波西肉瘤、霍奇金淋巴瘤、淋巴管肌瘤病、非霍奇金淋巴瘤和肉瘤的癌症的方法,包括以联合有效的量给予需要其的患者本发明的化合物或其可药用盐和选自上文列举的那些的治疗剂。

[0110] 在另一实施方案中,本发明提供包含本发明的化合物以及可药用载体和任选其它

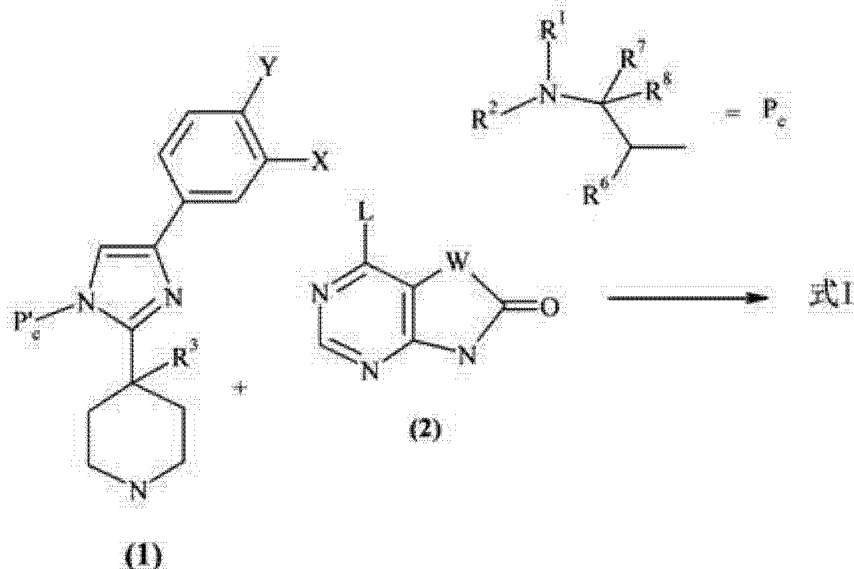
治疗剂,特别是选自上文列举的那些的治疗剂的药物组合物。

[0111] 本发明的化合物优选口服给药。本发明的化合物也优选静脉给药。根据情况,可以使用其它给药途径或甚至优选。例如,透皮给药可能非常适合在服用口服药物方面健忘或性急的患者。本发明的化合物在特定情况下也可通过经皮、肌肉内、鼻内或直肠内途径给药。给药途径可以以任何方式改变,受药物的物理性质、患者和护理人员的方便以及其它相关情况限制(Remington's Pharmaceutical Sciences, 第18版, Mack Publishing Co. (1990))。

[0112] 本领域普通技术人员可以根据业内公认的技术和程序制备式 I 的化合物。更具体地,可以如下列流程图、制品和实施例中所述制备式 I 的化合物。本领域技术人员会认识到,可以改变下列流程图中的各个步骤以提供式 I 的化合物。试剂和原材料是本领域普通技术人员易得的。除非另行指明,所有取代基如上定义。

[0113] 流程图 1

[0114]



[0115] 在升高的温度下加热在溶剂,如丙醇、异丙醇(IPA)、NN-二甲基甲酰胺(DMF)、甲醇、N-甲基-吡咯烷酮(pyrrolidene)(NMP)或二甲亚砜(DMSO)中的式(1)的取代咪唑啉、式(2)的取代酮和碱,如三乙胺(TEA)、二异丙基乙胺(DIPEA)或1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯(DBU)以形成式 I 的化合物。L 是离去基,例如,氯。或者,可以通过首先合并叔丁醇钾、N,N'-双(2,6-二异丙基苯基)咪唑-2-亚基-乙酰丙酮化物氯化钯[IPrPd(acac)Cl (J. Org. Chem. 2006, 71(10), 3816-3821)]并用氮气吹扫来进行该反应。随后添加无水1,2-二甲氧基乙烷(DME)和化合物(1)和(2)并加热至80℃。

[0116] 可以通过使化合物(1)与被亚苄基取代的式(2)的化合物反应和随后将亚苄基还原成苄基来制备 R⁴ 或 R⁵ 之一是苄基,另一是氢的式 I 的化合物。

[0117] P'。基团可代表含如上定义的取代基的所需最终胺片段(P_c)、P_c的前体或受保护的 P_c 片段。所有其它取代基如上定义。如果 P'。中的保护基是羧基苄基,可以在与化合物(2)反应之前或之后进行脱保护以提供所需胺。可以通过与浓 HCl 反应来除去羧基苄基保护基。或者,其可在四氢呋喃(THF)中在氢化锂铝存在下除去以提供如 P_c 中定义的甲基取

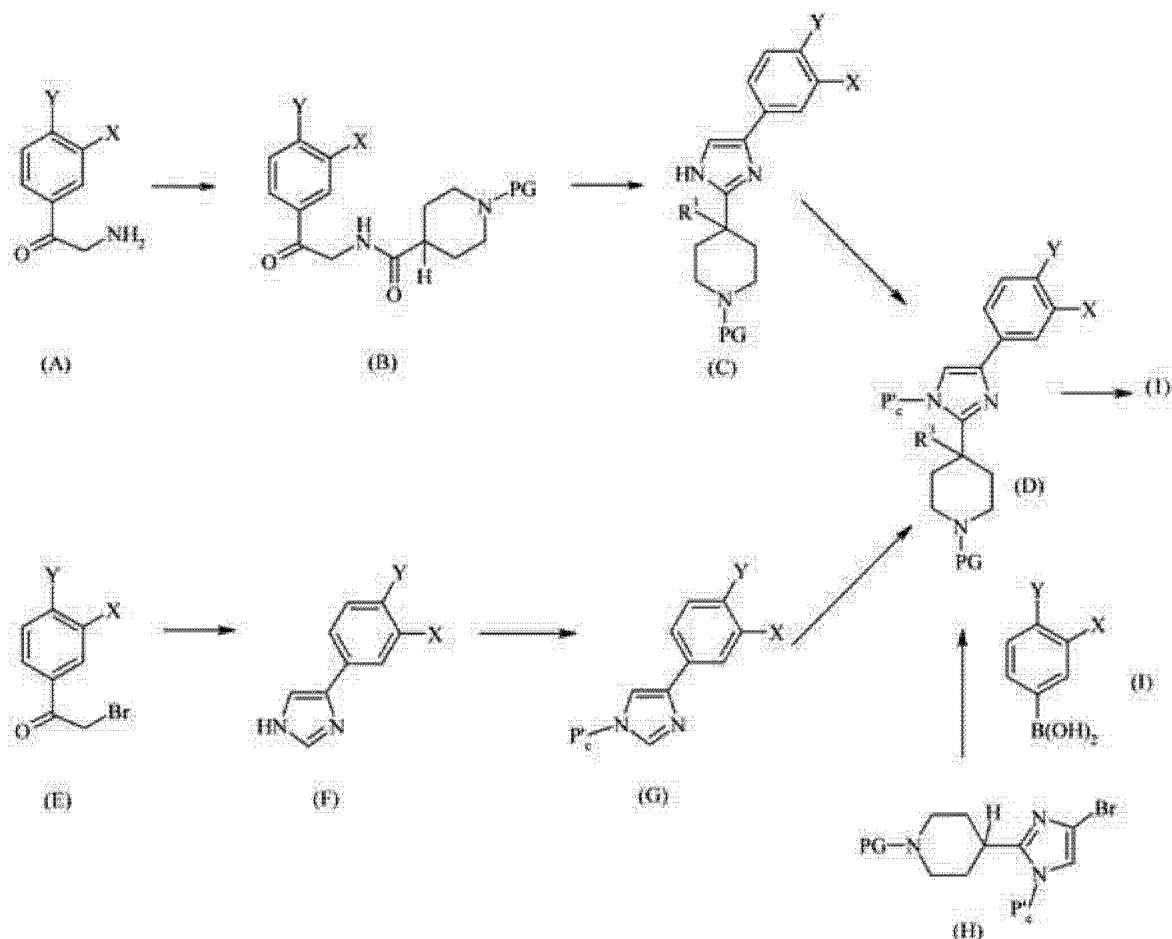
代的胺取代基。

[0118] 注：在 4-(4-{4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-[2-(异丙基-甲基-氨基)-乙基]-1H-咪唑-2-基}-哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5,6-二酮盐酸盐的情况下，可以在反应条件下观察到 5 位亚甲基氧化成酮。

[0119] 如流程图 2 中所示制备式(1)的取代咪唑哌啶化合物，其中 PG 是氮保护基，且所有其它取代基如上所述。

[0120] 流程图 2

[0121]



[0122] 可以由相应的 2-溴-苯基乙酮化合物制备式(A)的化合物。在 R^6 和 R^2 形成哌啶环的式 I 的化合物的合成中，在反应形成化合物(B)之前，受保护的哌啶环作为化合物(A)中的胺取代基存在。通过在溶剂，如 DMF 中使 3-氨基-哌啶-1-羧酸与式(E)的化合物在碱，如 TEA 存在下反应来合成胺取代的化合物。随后在合成中，可以除去哌啶-3-基上的保护基并替换成甲基取代基。

[0123] 如果 $R^3 = H$ ，在溶剂，如 THF、二氯甲烷(DCM)或 DMF 中在降低的温度下，使式(A)的胺与氮保护的哌啶羧酸在偶联剂，如氯甲酸异丁酯、1-乙基-3-[3-二甲基氨基丙基]-碳二亚胺盐酸盐(EDC)、1-丙磷酸环酐(PPA)或亚硫酰二氯和碱，如 N-甲基吗啉(NMM)、DIPEA 或 TEA 存在下反应形成式(B)的酰胺。当式(B)的化合物、乙酸铵或氯化铵和碱，如 TEA 在密封容器中在压力下暴露在微波热中时，形成式(C)的咪唑哌啶。可通过在液氮中使 2-取代-2-苯基乙醛与 4-甲酰基-哌啶-1-羧酸叔丁酯缩合整夜来制备化合物(C)的中间体，

其中苯基是未取代的。

[0124] 式(C)的化合物随后烷基化以提供式(D)的化合物,其中R³是氢。更具体地,式(C)的化合物在溶剂,如DMSO中用碱,如KOH或氢化钠脱质子,随后添加含离去基,如卤素,特别是氯的P'。大多数烷基化剂可购得或通过本领域已知的方法合成。例如,可以在盐酸水溶液或在苯中的三溴化磷中在亚硫酰二氯存在下由相应的醇制备烷基化剂。

[0125] 该烷基化剂的胺可以进一步被苄基取代。苄基可随后通过与氯甲酸苄酯反应来换成羧基苄基保护基,这可以在一个或两个步骤中进行。或者,烷基化剂可含有腈基团,将其还原形成胺。所得胺可随后被羧基苄基保护。

[0126] 可以使式(C)的化合物与 2-(2- 溴乙氧基) 四氢 -2H- 吡喃或 (2- 溴乙氧基) - 叔丁基 - 二甲基硅烷反应形成式(D)的化合物, 其中 P'。分别是 2-(四氢 - 吡喃 -2- 基氧基) 乙基或 2-(叔丁基 - 二甲基 - 硅烷氧基) - 乙基。将这些基团转化成 2- 羟基 - 乙基取代基和随后转化成 2- 甲磺氧基 - 乙基取代基。甲磺酰氧基(甲磺酰基) 离去基可随后被所需胺替代。

[0127] 如果所需P_c基团是吡咯烷-2-基甲基,通过与2-(甲苯-4-磺酰氧基甲基)-pyrrolidene-1-羧酸苄基酯反应,将羧基苄基保护的吡咯烷-2-基甲基添加到式(C)的化合物中。

[0128] 或者,式(H)的4-溴-咪唑在钨(0)催化剂存在下与硼酸苯酯化合物(I)偶联形成R³是氢的式(D)的化合物。可以由4-(1H-咪唑-2-基)-吡啶-1-羧酸叔丁酯制备式(H)的化合物。首先添加P',随后使该化合物与N-溴代琥珀酰亚胺反应形成4,5-二取代的化合物,最后通过在降低的温度与正丁基锂(nBuLi)反应来将其转化成4-溴取代的化合物(H)。可以通过上文列出方法将P'转化成所需P₂基团。

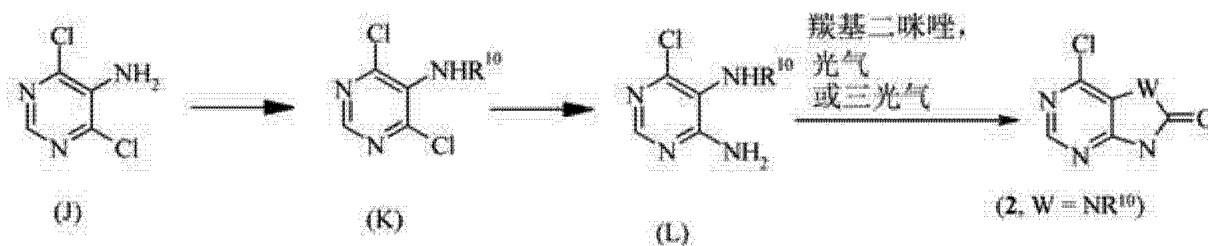
[0129] 如流程图 2 的中间序列中所示合成 R³ 是羟基的式 (D) 的化合物。首先,通过式 (E) 的酰基溴与甲酰胺在升高的温度下的反应形成式 (F) 的咪唑化合物。式 (F) 的咪唑化合物随后在如上所述的类似烷基化条件下烷基化以提供式 (G) 的化合物。在溶剂,如 THF 中在降低的温度和惰性气氛下用金属化剂,如 nBuLi 处理咪唑化合物 (G),随后用环氮保护的 4-哌啶酮处理以产生式 (D) 的化合物。

[0130] 随后除去式(D)的哌啶保护基以提供式(1)的化合物。

[0131] 式(A)的胺和式(E)的酰基溴可购得或通过本领域中已知的方法合成。

[0132] 流程图 3

[0133]



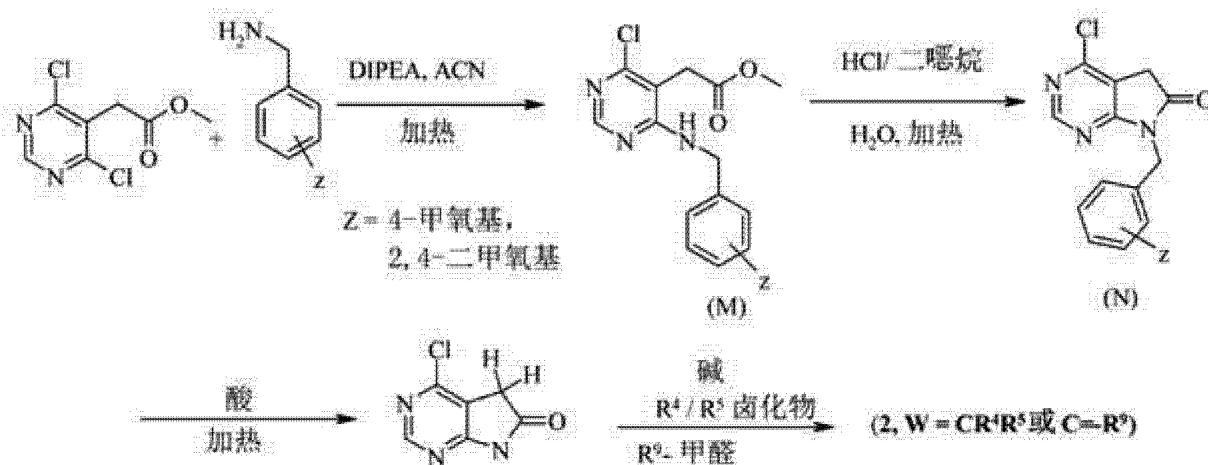
[0134] W = NR¹⁰ 的式(2)的中间体可购得或通过技术人员已知的方法合成。例如, 5-氨基-4, 6-二氯嘧啶(J)在强碱存在下用 R¹⁰- 卤化物烷基化以产生 N- 烷基化嘧啶(K)。通过在密封容器中加热, 用氨置换化合物(K)中的氯基之一, 以产生嘧啶二胺(L)。用光气、三光

气或羰基二咪唑环化产生 $W = NR^{10}$ 的中间体(2)。

[0135] 流程图 4

[0136] 通过技术人员已知的方法合成式(2)的中间体,其中 $W = CR^4R^5$ 或 $C=CH-R^9$ 。例如,

[0137]



[0138] 可以由 2-(4,6-二羟基嘧啶-5-基)乙酸甲酯制备 2-(4,6-二氯嘧啶-5-基)乙酸甲酯。又可以通过将 1,1,2-乙烷三羧酸三乙酯添加到甲醇钠的甲醇溶液中并随后加入甲脒盐酸盐来制备该二羟基化合物。

[0139] 使 2-(4,6-二氯嘧啶-5-基)乙酸甲酯与 4-甲氧基苄胺或 2,4-二甲氧基苄胺在碱,例如,DIPEA 和溶剂,例如,乙腈(ACN)存在下反应产生苄基保护的乙酸酯(M)。在酸的水溶液和热中处理化合物(M)产生苄基保护的羟基嘌呤(N)。化合物(N)在强酸,例如三氟乙酸(TFA)或 40% HBr 水溶液和热中脱保护以产生已知的中间体 4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮。可以由 5,5-二溴-4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮制备 4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮,前者又由 4-氯-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶通过与过溴溴化吡啶鎓反应来制备。

[0140] 4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮用 R^4/R^5 -卤化物和碱烷基化或与 R^9 -甲醛缩合产生化合物(2)。由 4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮通过与 1,4-二碘丁烷反应形成式(2)的化合物,其中 R^4 和 R^5 一起形成环戊烷环。

[0141] 在另一方法中,在流程图 1 的偶联反应中使用苄基保护的化合物(N)代替化合物(2),随后除去苄基保护基。

[0142] 技术人员会认识到,式 I 的化合物中并非所有取代基都耐受用于合成该化合物的某些反应条件。这些部分可以在合成中的便利时刻引入,或可以视必要或需要保护和随后脱保护。技术人员还会认识到,可以在本发明的化合物合成中的任何便利时刻除去保护基。引入和除去氮保护基的方法是本领域中公知的;参见,例如,Greene and Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 第 3 版, John Wiley and Sons, New York, 第 7 章 (1999)。此外,技术人员会认识到,在许多情况下,部分的引入次序不重要。制造式 I 的化合物所需的步骤的特定次序取决于合成的特定化合物、原料化合物以及取代中间体和产物的相对不稳定性(liability)。

[0143] 制品 1

[0144] 2-氨基-1-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)乙酮, 4-甲基苯磺酸酯

[0145] 将叠氮化钠(1.76 克; 1.05 当量(equiv))一次性添加到 2-溴-1-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)乙酮(9.19 克; 1.00 当量)在 THF (50 毫升)中的溶液中。将该混合物在室温(RT)下搅拌整夜。过滤固体并用 THF 洗涤。在 20°C 下将该粗制叠氮化物添加到三苯膦(1.06 当量; 8.64 克)和对甲苯磺酸(2.2 当量; 12.0 克)在 THF (50 毫升)中的溶液中。将该混合物搅拌整夜。过滤固体, 随后用 THF 洗涤以获得 5.5 克标题化合物。MS (ES): m/z = 217.2 [M + H]。

[0146] 以与制品 1 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0147]

制品	化合物名	物理化学数据
2	2-氨基-1-(3-氯-4-氟苯基)乙酮 4-甲基苯磺酸酯	^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ : 8.25 (m, 4H), 8.05 (ddd, J = 8.7, 4.7, 2.3 Hz, 1H), 7.66 (t, J = 8.9 Hz, 1H), 7.48-7.46 (m, 2H), 7.11 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 4.62 (s, 2H), 2.28 (s, 3H)。
3	2-氨基-1-(3,4-二氟苯基)乙酮 4-甲基苯磺酸酯	^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ : 8.25 (s, 3H), 8.11 (ddd, J = 11.0, 7.9, 2.3 Hz, 1H), 7.95-7.90 (m, 1H), 7.70 (dt, J = 10.4, 8.4 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.11 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 4.60 (s, 2H), 2.28 (s, 3H)。

。

[0148] 制品 4

[0149] 2-氨基-1-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)乙酮, 盐酸盐

[0150] 向 2-溴-1-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)乙酮(60.00 克, 1.00 当量; 210.50 毫摩尔(mmol))在乙酸乙酯(EA) (450 毫升; 4.60 摩尔(mol))中的溶液中加入 1, 3, 5, 7-四氮杂三环-[3.3.1.1^{3,7}]癸烷(Methenamine, 1.10 当量; 231.55 毫摩尔; 32.46 克)并在室温下搅拌整夜。真空除去溶剂并用甲基-叔丁基醚(MTBE)研制该固体, 过滤并真空干燥。加入乙醇(450 毫升; 7.73 摩尔), 接着氯化氢(36.5 wt/wt% 在水中)(150 毫升; 8.30 当量; 1.75 摩尔)并将该混合物搅拌整夜。真空除去溶剂并在真空中在 50°C 下干燥该固体 1 周以产生白色固体状的标题化合物(54.23 克; 100% 收率)以及一定量的铵盐。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO): 8.69-8.59 (m, 4H), 8.07-8.01 (m, 1H), 4.95 (d, J = 5.2 Hz, 2H)。原样使用该固体。

[0151] 制品 5

[0152] 4-(2-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-氧代乙基氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0153] 向哌啶-1, 4-二羧酸单-叔丁酯(1.20 当量; 252.61 毫摩尔; 57.92 克)在 THF (400 毫升)中的溶液中, 加入 NMM (3 当量; 631.52 毫摩尔; 69.66 毫升)。用干冰-丙酮浴冷却至 -10°C。逐滴加入氯甲酸异丁酯(1.1 当量; 231.56 毫摩尔; 30.26 毫升), 使温度保持在低于 -5°C。在 -5 至 10°C 下 30 分钟后, 加入悬浮在 THF (300 毫升)中的 2-氨基-1-(4-氟-3-(三氟甲基)-苯基)-乙酮盐酸盐(54.23 克; 1.00 当量; 210.51 毫摩尔)并在该浴中在 -5°C 下搅拌该混合物 20 分钟, 随后在室温下搅拌 1 小时。在水和 EA 之间分

相;用水,随后饱和 NaCl 水溶液(盐水)洗涤有机层,经无水 MgSO_4 干燥,过滤并在真空中浓缩。将该粗制品悬浮在 MTBE 中并搅拌 2 小时。过滤固体并在真空中干燥以产生标题化合物(64.44 克;70.79%)。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO): 8.37–8.26 (m, 3H), 7.74–7.68 (m, 1H), 4.61 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.91 (d, $J = 12.9$ Hz, 2H), 2.75–2.64 (m, 2H), 2.46–2.37 (m, 1H), 1.69–1.60 (m, 2H), 1.39 (s, 12H)。

[0154] 以与制品 5 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0155]

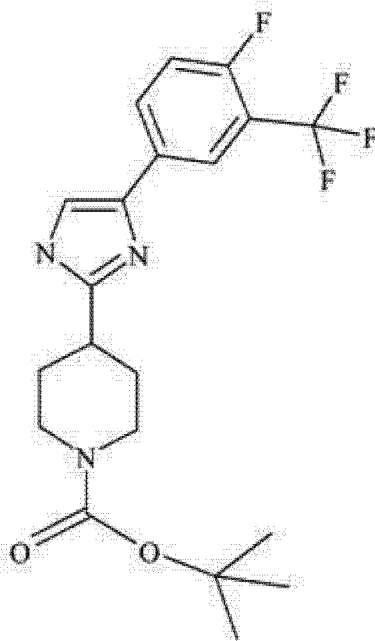
制品	化合物名	MS (ES): m/z ($M+H - t\text{Bu}$)
6	4-(2-(3-氯-4-氟苯基)-2-氧代乙基氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯	343.1
7	4-(2-(3,4-二氟苯基)-2-氧代乙基氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯	327.1

。

[0156] 制品 8

[0157] 4-[4-(4-氟-3-(三氟甲基)-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0158]



[0159] 向 4-(2-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-氧代乙基氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(29.4 克;1.00 当量;67.99 毫摩尔)在 1-丁醇(150 毫升;1.64 摩尔)中的溶液中加入乙酸铵(15 当量;1.02 摩尔;78.61 克),接着 TEA (1 当量;67.99 毫摩尔;9.48 毫升)。在密封管中在 160 °C 下搅拌该混合物。在 3 小时后,冷却至 RT 并在 EA 和水之间分相,和用水和盐水洗涤有机层。在真空中浓缩。在 MTBE 中研制该残留物,过滤并真空干燥以产生白色固体状的标题化合物(18.23 克;44.10 毫摩尔;64.86%)。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO): 12.01 (s, 1H), 8.08–8.04 (m, 2H), 7.70 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.49–7.43 (m, 1H), 3.99 (d, $J = 12.6$ Hz, 2H), 2.92–2.85 (m, 3H), 1.91–1.87 (m, 2H), 1.64–1.51 (m, 2H), 1.41 (s, 9H)。

[0160] 以与制品 8 中所述类似的方式制备下列中间体：

[0161]

制品	化合物名	MS(ES): m/z [M+H]
9	4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	380.1
10	4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	364.2

。

[0162] 制品 11

[0163] 2-氧代-2-苯基乙醛

[0164] 在 1,4-二氧杂环己烷 (15 毫升) 中加入 SeO_2 (4.6 克 ; 0.042 摩尔 ; 1.0 当量)、乙酸 (1.2 毫升 ; 0.021 摩尔 ; 0.5 当量)、水 (1.5 毫升 ; 0.083 摩尔 ; 2.0 当量) 并在 80°C 下搅拌直至该溶液变清澈。将该反应冷却至 RT, 加入苯乙酮 (5.0 克 ; 0.042 摩尔 ; 1.0 当量) 并在 80°C 下搅拌 18 小时。将该反应冷却至 RT, 经 Celite® 过滤, 用 EA 洗涤该残留物, 并经无水硫酸钠干燥。蒸发有机层, 使用在己烷中的 EA 经 50 克二氧化硅提纯以产生标题化合物 (4.0 克, 72.7%)。MS (ES+): m/z = 135 (M+H)。

[0165] 制品 12

[0166] 4-(4-苯基-1H-咪唑-2-基)-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0167] 在甲醇 (40 毫升) 中合并 4-甲酰基-哌啶-1-羧酸叔丁酯 (3.8 克 ; 0.017 摩尔 ; 0.6 当量) 和 2-氧代-2-苯基乙醛 (4.0 克 ; 0.29 摩尔 ; 1.0 当量)。将该反应从 0 冷却至 10°C。缓慢加入氢氧化铵溶液 (25% 溶液, 40 毫升)。该反应在室温下搅拌 16 小时。在真空下浓缩该反应, 用水淬灭并用二乙醚萃取。浓缩有机层并过滤固体, 用己烷洗涤并在真空下干燥以产生标题化合物 (3.0 克, 51.7%)。MS (ES+): m/z = 328 (M+H)。

[0168] 制品 13

[0169] 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0170] 将 (2-氯-乙基)-二甲基-胺盐酸盐 (1.10 当量 ; 579 微摩尔 ; 83 毫克) 一次性添加到 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯 (1 当量 ; 526 微摩尔 ; 200 毫克) 和粉状 KOH (2.5 当量 ; 1.316 毫摩尔 ; 73.8 毫克) 在 DMSO (3 毫升) 中的混合物中。升温至 50°C 并搅拌 2 小时。用 DCM 稀释, 用水、盐水洗涤, 经 MgSO_4 干燥, 过滤, 蒸发并在 40 克硅胶上用 10% 甲醇 / ACN 提纯以提供标题化合物 (194 毫克 ; 0.43 毫摩尔 ; 82%)。MS (ES+): m/z = 451 (M+H)。

[0171] 以与制品 13 中所述类似的方式制备下列中间体：

[0172]

制品	化合物名	MS (ES): m/z (M+H)
14	4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	485
15	4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	476
16	4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	511
17	4-[1-(2-二甲基氨基-2-甲基-丙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	513
18	4-(1-(2-(二甲基氨基)乙基)-4-苯基-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯	399

[0173] 制品 19

[0174] 4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0175] 在 0℃ 下将 4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯 (500 毫克; 1.38 毫摩尔) 添加到 NaH (110 毫克; 2.76 毫摩尔) 在 DMSO (50 毫升) 中的溶液中, 并在室温下搅拌 1 小时。将 (N,N-二甲基) 乙基氯盐酸盐 (238 毫克; 1.65 毫摩尔) 添加到所得混合物中并使其在室温下搅拌 18 小时。通过薄层色谱法 (TLC) 监测反应。用冰水淬灭该反应混合物并用 EA 萃取。分离有机层, 用盐水洗涤两次 (2 x 50 毫升), 经无水 Na₂SO₄ 干燥并减压蒸发。通过在硅胶 (60/120 目) 上的柱色谱法使用 DCM: 甲醇 (98:2) 作为洗脱剂提纯该残留物以产生 0.5 克 (86%) 标题化合物。LCMS = 484 (M+H)。

[0176] 以与制品 19 中所述类似的方式制备下列中间体:

制品	化合物名	MS(ES): m/z (M+H)
[0177] 20	4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-羧酸叔丁酯	462

[0178] 制品 21

[0179] 4-{4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-[2-(四氢-吡喃-2-基氧基)-乙基]-1H-咪唑-2-基}-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0180] 将 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯 (5.29 克; 13.93 毫摩尔); 粉状 KOH (111.46 毫摩尔; 6.95 克) 溶解在 DMSO (69 毫升) 中并加热至 40℃ 10 分钟。经 45 分钟逐滴加入 2-(2-溴乙氧基) 四氢-2H-吡喃 (34.83 毫摩尔; 5.48 毫升), 随后搅拌 30 分钟。冷却并用 EA 稀释和用 3 x 300 毫升饱和碳酸氢钠、盐水洗涤, 经 MgSO₄ 干燥, 过滤并蒸发。在 400 克硅胶上用 0-10%EA/DCM 提纯以提供标题化合物 (6.848 克, 97%)。MS (ES): m/z = 508 (M+H)。

[0181] 以与制品 21 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0182]

制品	化合物名	MS (ES): m/z (M+H)
22	4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-[2-(四氢-吡喃-2-基氧基)-乙基]-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	542

。

[0183] 制品 23

[0184] 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-羟基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0185] 将 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-[2-(四氢-吡喃-2-基氧基)-乙基]-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(6.85 克;13.48 毫摩尔)溶解在 THF (200 毫升)中并加入 1M 氯化氢水溶液(20 毫升)和在室温下搅拌 18 小时。用 EA 稀释,用饱和碳酸氢钠、盐水洗涤,用无水 $MgSO_4$ 干燥,过滤,和蒸发。在 330 克硅胶上用 2:1 DCM/EA 提纯该残留物以提供白色结晶固体状的标题化合物(5.07 克;89%)。MS (ES): m/z = 424 (M+H)。

[0186] 以与制品 23 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0187]

制品	化合物名	MS (ES): m/z (M+H)
24	4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-羟基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	458
25	4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-羟基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	408

。

[0188] 制品 26

[0189] 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-甲磺酰氧基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0190] 将 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-羟基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(5.07 克;11.96 毫摩尔)和 TEA (35.88 毫摩尔;5.0 毫升)悬浮在 DCM (50 毫升)中并在冰浴中冷却。经 9 分钟逐滴加入甲磺酰氯(14.35 毫摩尔;1.1 毫升)并再搅拌 30 分钟。用饱和碳酸氢钠淬灭,经 $MgSO_4$ 干燥,过滤并蒸发以提供泡沫状的标题化合物(6.246 克;104%)。MS (ES): m/z = 502 (M+H)。

[0191] 以与制品 26 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0192]

制品	化合物名	MS (ES): m/z (M+H)
27	4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-甲磺酰氧基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	536
28	4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-甲磺酰氧基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	486

。

[0193] 制品 29

[0194] 4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-[2-((R)-2-羟基甲基-吡咯烷-1-基)-乙基]-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0195] 在密封容器中加入 4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-甲磺酰氧基-乙

基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(500 毫克;1 当量;933 微摩尔);D-脯氨酸(3.00 当量;2.80 毫摩尔;283 毫克);DMF (1 毫升)并在 50℃下加热 18 小时。用 EA 稀释,用饱和碳酸氢钠、盐水洗涤,经 MgSO_4 干燥,过滤并在 40 克硅胶上用 1-10% MeOH/DCM 提纯以提供标题化合物(506.9 毫克;0.94 毫摩尔;100%)。MS (ES⁺): m/z = 541 (M+H)。

[0196] 以与制品 29 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0197]

制品	化合物名	MS (ES): m/z (M+H)
30	4-{4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-[2-(异丙基-甲基-氨基)-乙基]-1H-咪唑-2-基}-哌啶-1-羧酸叔丁酯	513
31	4-{4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-[2-(异丙基-甲基-氨基)-乙基]-1H-咪唑-2-基}-哌啶-1-羧酸叔丁酯	479
32	4-[1-(2-叔丁基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	513
33	4-[1-(2-叔丁基氨基-乙基)-4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	479
34	4-{4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-[2-(乙基-异丙基-氨基)-乙基]-1H-咪唑-2-基}-哌啶-1-羧酸叔丁酯	493

[0198] 制品 35

[0199] 4-[1-[2-(叔丁基-二甲基-硅烷氧基)-乙基]-4-(3,4-二氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0200] 在 THF(100 毫升)中合并 4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(10.0 克;0.028 摩尔;1.0 当量)、(2-溴-乙氧基)-叔丁基-二甲基-硅烷(13.16 克;0.055 摩尔;2.0 当量)、粉状 KOH(7.72 克;0.14 摩尔;5.0 当量)并在 40℃下搅拌 16 小时。用水淬灭反应并用 EA 萃取。蒸发以产生标题化合物(14.3 克,粗制)。MS (ES⁺): m/z = 522 (M+H)。

[0201] 制品 36

[0202] 4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-羟基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0203] 在 THF (100 毫升)中合并 4-[1-[2-(叔丁基-二甲基-硅烷氧基)-乙基]-4-(3,4-二氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(18.3 克;0.035 摩尔;1.0 当量)、四丁基氟化铵(20.3 克;0.07 摩尔;2.0 当量)并在室温下搅拌 3 小时。浓缩,用水淬灭反应并用 EA 萃取。蒸发有机层以产生标题化合物(3.5 克;24.49%)。MS (ES⁺): m/z = 408 (M+H)。

[0204] 制品 37

[0205] 4-(4-(3,4-二氟-苯基)-1-{2-[(2-羟基-乙基)-甲基-氨基]-乙基}-1H-咪唑-2-基)-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0206] 在 DMF (30 毫升)中合并 4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-甲磺酰氧基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(3.0 克;0.0061 摩尔;1.0 当量)、2-甲基氨基-乙醇(1.48 克;0.031 摩尔;5.0 当量)并在 40-50℃下搅拌 16 小时。用水淬灭并用二乙醚萃取。蒸发有机层,在 50 克硅胶上用 0 至 10 % MeOH/DCM 提纯。汇集馏分以产生标题

化合物(1.5 克;52.2 %)。MS (ES⁺): m/z = 465 (M+H)。

[0207] 以与制品 37 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0208]

制品	化合物名	MS (ES): m/z (M+H)
38	4-(4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-(3-羟基吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯	477
39	4-(1-(2-(3-(叔丁基-二甲基-硅烷氧基)氮杂环丁烷-1-基)乙基)-4-(3,4-二氟苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯	577

[0209] 制品 40

[0210] 苄基-(2-氯-乙基)-甲基胺, 盐酸盐

[0211] 合并氯化氢(50 毫升;4M 在二氧杂环己烷中)、N-苄基-N-甲基乙醇胺(61.12 毫摩尔;10 克)、亚硫酸二氯(73.30 毫摩尔;5.34 毫升)并加热至 90℃。搅拌 2 小时,蒸发并在醚下压碎固体,声处理 15 分钟,过滤,用醚洗涤,在真空下干燥以提供标题化合物(10.75 克;80 %)。MS (ES): m/z = 184 (M+H)。

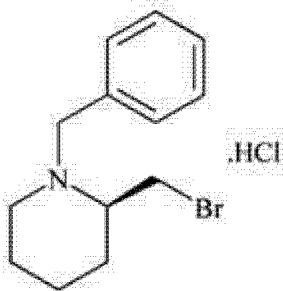
[0212] 以与对苄基-(2-氯-乙基)-甲基胺, 盐酸盐所述类似的方式由 1-苯基甲基-(2R)-吡咯烷甲醇制备下列中间体:

制品	化合物名	MS (ES): m/z (M+H)
41	(R)-1-苄基-2-氯甲基-吡咯烷盐酸盐	210

[0214] 制品 41a

[0215] (R)-1-苄基-2-(溴甲基)哌啶盐酸盐

[0216]



[0217] 将 (R)-(1-苄基哌啶-2-基) 甲醇(30.0 克,0.146 摩尔,~1.0 当量,粗制) 装在 350 毫升苯中并在氮气氛下在 0℃下加入三溴化磷(20.6 毫升,0.219 摩尔,1.5 当量) 在苯中的溶液。将反应物料在 70℃下加热 16 小时。反应完成后,用饱和碳酸钠溶液(100 毫升) 淬灭该反应并在 EA (3 x 100 毫升) 中萃取该化合物。用盐水洗涤有机层并经无水硫酸钠干燥。减压浓缩并将固体残留物溶解在二乙醚中。过滤溶解的部分并缓慢加入 HCl(1.2 当量,2 N 在二乙醚中) 并在室温下搅拌 30 分钟。过滤该沉淀盐并用 EA 接着用己烷洗涤。在高真空中干燥以得到 13.2 克盐酸盐形式的 (R)-1-苄基-2-(溴甲基) 哌啶。MS (ES): m/z=268, 270 (M+H)。

[0218] 以与制品 41a 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0219]	制品	化合物名	MS (ES): m/z (M+H)
	41b	(S)-1-苄基-2-(溴甲基)哌啶盐酸盐	268, 270

[0220] 制品 42

[0221] 4-[1-[2-(苄基-甲基-氨基)-乙基]-4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0222] 将粉状 KOH (283 毫克; 5.05 毫摩尔) 和 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯 (2.02 毫摩尔; 768 毫克) 添加到 DMSO (6 毫升) 中。随后一次性加入苄基-(2-氯-乙基)-甲基胺盐酸盐 (2.22 毫摩尔; 0.49 毫升) 并加热至 40℃ 历时 18 小时。冷却, 用 DCM/ 水稀释, 加入盐水并分离层。用水、盐水洗涤有机相, 经 MgSO₄ 干燥, 过滤并蒸发。在 120 克硅胶上用 1% MeOH/DCM 提纯以提供标题化合物 (840.5 毫克; 79 %)。MS (ES): m/z = 527 (M+H)。

[0223] 以与制品 42 中所述类似的方式制备下列中间体:

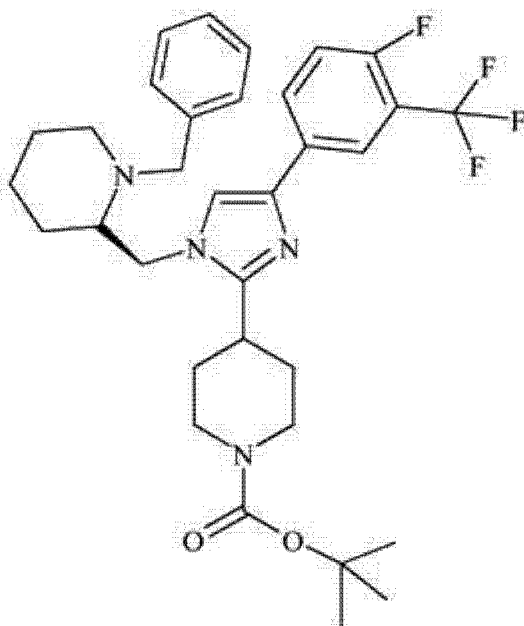
[0224]

制品	化合物名	MS (ES): m/z (M+H)
43	4-[1-[2-(苄基-甲基-氨基)-乙基]-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	561
44	4-[1-[2-(苄基-甲基-氨基)-乙基]-4-(3,4-二氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	511
45	4-[1-((S)-1-苄基-吡咯烷-2-基甲基)-4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	553
46	4-[1-(R)-1-苄基-吡咯烷-2-基甲基)-4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	553

[0225] 制品 46a

[0226] (R) 4-(1-((1-苄基哌啶-2-基)甲基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0227]



[0228] 在室温下在氮气氛围下向 4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(4.5 克, 0.011 摩尔, 1.0 当量)在 DMSO (100 毫升)中的溶液中加入粉状 KOH(3.0 克, 0.055 摩尔, 5.0 当量)并搅拌 30 分钟。向所得溶液中加入 (R)-1-苄基-2-(溴甲基)哌啶盐酸盐(5.0 克, 0.0165 摩尔, 1.5 当量)并将反应物料在室温下搅拌 16 小时。在完成后,用水(100 毫升)稀释该反应并在 EA (3 x 100 毫升)中萃取该化合物。用盐水洗涤有机层(2 x 50 毫升)并经无水硫酸钠干燥。减压浓缩有机层并在二氧化硅(100-200 目)上使用 2% 丙酮 - DCM 提纯以得到 3.0 克(46%)标题化合物。(ES⁺): m/z = 601 (M+H)。

[0229] 以与制品 46a 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0230]

制品	化合物名	MS (ES): m/z (M+H)
46b	(S)-4-(1-((1-(4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-2-基)甲基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯	601

[0231] 制品 47

[0232] 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0233] 将 4-[1-[2-(苄基-甲基-氨基)-乙基]-4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(1.47 毫摩尔;775 毫克);1,8-萘二胺, N,N,N',N'-四甲基-(0.044 毫摩尔;9.4 毫克)溶解在 1,2-二氯乙烷(DCE 20 毫升)中并在冰浴中冷却。经几分钟逐滴加入氯甲酸 1-氯乙酯(4.41 毫摩尔;0.48 毫升)以产生无色溶液;搅拌 15 分钟;随后移除冰浴并加热至 70℃ 历时 2 小时。冷却至 RT 并蒸发。将该残留物溶解在甲醇(20 毫升)中并加热至回流 40 分钟,蒸发并将该残留物溶解在 DCM 中,用碳酸氢钠、盐水洗涤,经 MgSO₄ 干燥,过滤,蒸发以提供标题化合物(681 毫克;106%)。MS (ES): m/z = 437 (M+H)。

[0234] 以与制品 47 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0235]

制品	化合物名	MS (ES): m/z (M+H)
48	4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	471
49	4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(S)-1-吡咯烷-2-基甲基-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	463
50	4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(R)-1-吡咯烷-2-基甲基-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	463

[0236] 制品 51

[0237] 4-[1-[2-(苄基氧基羰基-甲基-氨基)-乙基]-4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0238] 将 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(1.56 毫摩尔;680 毫克)溶解在 DCM(10 毫升)中并加入氯甲酸苄酯(1.56 毫摩尔;0.23 毫升)和 DIPEA (3.11 毫摩尔;0.54 毫升)。搅拌 15 分钟并蒸发。在 120 克硅胶上用 DCM 至 20% EA/DCM 提纯该残留物以提供标题化合物(741 毫克;83%)。MS (ES): m/z = 571 (M+H)。

[0239] 以与制品 51 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0240]

制品	化合物名	MS (ES): m/z (M+H)
52	4-[1-[2-(苄基氧基羰基-甲基-氨基)-乙基]-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	605
53	4-[1-((S)-1-苄基氧基羰基-吡咯烷-2-基甲基)-4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	597
54	4-[1-((R)-1-苄基氧基羰基-吡咯烷-2-基甲基)-4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯	597

[0241] 制品 55

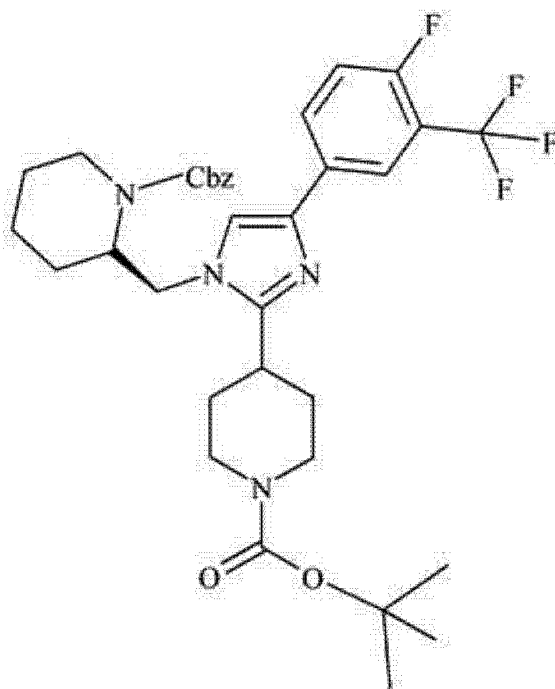
[0242] 4-[1-[2-(苄基氧基羰基-甲基-氨基)-乙基]-4-(3,4-二氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0243] 在氮气下将 4-[1-[2-(苄基-甲基-氨基)-乙基]-4-(3,4-二氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(1.8 克;0.0035 摩尔;1.0 当量)装在 ACN (40 毫升)中并在 0℃下逐滴加入氯甲酸苄酯。将该反应搅拌 30 分钟并达到室温。在室温下搅拌 1.5 小时。在完成后,用饱和碳酸氢钠溶液淬灭该反应并在 EA 中萃取。用水和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥和在真空下蒸发掉溶剂。在二氧化硅柱上使用 15% EA/己烷提纯以得到标题化合物(1.6 克;82%)。(ES+): m/z = 555 (M+H)。

[0244] 制品 55a

[0245] 2-((2-(1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-1-基)甲基)哌啶-1-羧酸(R)-苄酯

[0246]



[0247] 将(R)4-(1-((1-苄基哌啶-2-基)甲基)-4-(4-氟-3-三氟甲基苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(3.0克,0.005摩尔,1.0当量)溶解在甲苯(15毫升)中并在氮气氛下在0℃下加入氯甲酸苄酯(8.5毫升,50%在甲苯中,0.025摩尔,5.0当量)。将该反应物料在室温下搅拌16小时。在完成后,用碳酸氢钠水溶液淬灭该反应物料并在EA中萃取(3 x 100毫升),用碳酸氢钠水溶液(3 x 50毫升)洗涤有机层并经无水硫酸钠干燥。减压浓缩并在硅胶(100-200目)柱上使用2.5%丙酮-DCM作为洗脱剂提纯粗制化合物以得到2.6克(81%)绿黄色胶状液体形式的标题化合物。(ES⁺): m/z = 645 (M+H)。

[0248] 以与制品55a中所述类似的方式制备下列中间体:

[0249]

制品	化合物名	MS (ES): m/z (M+H)
55b	2-((2-(1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-1-基)甲基)哌啶-1-羧酸(S)-苄酯	645

[0250] 制品56

[0251] 4-[1-(1-苄基氧基羰基-吡咯烷-2-基甲基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0252] 在干燥圆底烧瓶中,装入在干燥DMF(30毫升)中的4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(1.5克;0.0036摩尔;1.0当量)并冷却至0℃。在氮气下分份加入NaH(0.26克;0.011摩尔;3.0当量)并在室温下搅拌30分钟。在室温下加入2-(甲苯-4-磺酰氧基甲基)-吡咯烷-1-羧酸苄酯(2.46克;0.0072摩尔;2.0当量)并在40℃下加热整夜。用冷水淬灭并在EA中萃取。用水和盐水洗涤有机层。经无水硫酸钠干燥并浓缩。在二氧化硅(100-200目)上用10至20%EA/己烷提纯该粗制残留物以产生标题化合物(1.14克;51.6%)。(ES⁺): m/z = 631 (M+H)。

[0253] 以与制品56中所述类似的方式制备下列中间体:

[0254]

制品	化合物名
57	4-[1-(1-苄基氧基羰基-吡咯烷-2-基-甲基)-4-(3,4-二氟苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯。

[0255] 参考制品 58

[0256] 4-[1-(2-苄基氧基羰基氨基-乙基)-4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0257] 将 4-[1-(2-氨基-乙基)-4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(0.94 毫摩尔;396.7 毫克)溶解在 DCM (20 毫升)中并加入 DIPEA (1.41 毫摩尔;0.25 毫升)和氯甲酸苄酯(0.94 毫摩尔;0.14 毫升)。搅拌 20 分钟并用饱和碳酸氢钠洗涤,经 MgSO_4 干燥,过滤并蒸发。在 40 克硅胶上用 0-40% EA/DCM 提纯以提供标题化合物(222 毫克;42%)。MS (ES): $m/z = 557$ (M+H)。

[0258] 以与参考制品 58 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0259]

制品	化合物名
59	4-[1-(2-苄基氧基羰基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯。

[0260] 参考制品 60

[0261] 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-氰基甲基-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0262] 合并 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(2.55 毫摩尔;969 毫克)、四-N-丁基溴化铵(0.26 毫摩尔;82 毫克)、50 重量%氢氧化钠水溶液(8.42 毫摩尔;0.45 毫升)和 DCM(25 毫升)。经 10 分钟逐滴加入溴乙腈(5.11 毫摩尔;0.36 毫升)。搅拌 45 分钟并用 DCM 稀释,用盐水、50%饱和氯化钠水溶液洗涤,经 MgSO_4 干燥,过滤并蒸发。在 150 克硅胶上用 20% EA/DCM 提纯以提供标题化合物(812 毫克;76%)。MS (ES): $m/z = 419$ (M+H)。

[0263] 以与参考制品 60 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0264]

制品	化合物名
61	4-(1-(氰基甲基)-4-(4-氟-3-(三氟-甲基)苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯。

[0265] 参考制品 62

[0266] 4-[1-(2-氨基-乙基)-4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0267] 将 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-氰基甲基-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(0.94 毫摩尔;392.9 毫克)溶解在甲醇(20 毫升)中。加入二氯化镍(1.03 毫摩尔;135 毫克)。逐份加入四氢硼酸钠(18.8 毫摩尔;717 毫克)。蒸发并在水/DCM 之间分相和搅拌 20 分钟。加入 Celite®, 搅拌 30 分钟并过滤。用 DCM、10% MeOH/DCM 漂洗固体。将 2 毫升 2M NH_3 -MeOH 添加到有机层中并蒸发。将该残留物溶解在 DCM 中,用盐水洗涤,经 MgSO_4 干燥,

经 Celite® 过滤并蒸发以提供标题化合物 (498 毫克 ;125%)。MS (ES): $m/z = 423$ (M+H)。

[0268] 以与参考制品 62 中所述类似的方式制备下列中间体 :

[0269]

制品	化合物名	MS(ES): m/z (M+H)
63	4-(1-(2-氨基乙基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯	457

。

[0270] 制品 64

[0271] 4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑

[0272] 在压力容器中装入 2-溴-1-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-乙酮 (40.0 克 ;0.14 摩尔 ;1.0 当量) 和甲酰胺 (175 毫升 ;4.38 摩尔 ;31.3 当量)。在 180℃ 下加热 3 小时。用饱和碳酸氢钠溶液淬灭并经 Celite® 过滤。用 EA 萃取并用水和盐水洗涤有机层。浓缩并在二氧化硅柱上用 0-10% MeOH-EA 提纯以产生标题化合物。(15.2 克 ;47.0%)。(ES+): $m/z = 231$ (M+H)。

[0273] 以与制品 64 中所述类似的方式制备下列中间体 :

制品	化合物名	MS (ES): m/z (M+H)
65	4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑	197

。

[0275] 制品 66

[0276] {2-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-咪唑-1-基]-乙基}-二甲基胺

[0277] 在圆底烧瓶中装入在 DMSO (281.56 毫摩尔 ;20.00 毫升) 中的 4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑 (1.85 克 ;1.00 当量 ;9.41 毫摩尔)、KOH (3.00 当量 ;28.23 毫摩尔 ;1.58 克, 压碎成细粉)。一次性加入 2-二甲基氨基乙基氯盐酸盐 (1.20 当量 ;11.29 毫摩尔 ;1.63 克) 且该溶液变黄。在 45℃ 下加热 2 天。用 EA 稀释该反应并用水、盐水洗涤, 经 $MgSO_4$ 干燥有机物 ;过滤, 并浓缩成橙色油。用 ISCO 色谱法在 Biotage 40M 柱上提纯粗制品, 以 40 毫升 / 分钟流速用 5% MeOH/DCM 至 10% MeOH/DCM 梯度洗脱以产生浅橙色油状的标题化合物 (1.09 克 ;4.07 毫摩尔 ;43.27%)。MS (ES): (m/z) = 268.0 (M+H)。

[0278] 以与制品 66 中所述类似的方式制备下列中间体 :

[0279]

制品	化合物名	MS(ES): (m/z) [M+H]
67	4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑	294
68	4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑	328
69	2-(4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-1-基)-N,N-二甲基乙胺	302

[0280] 制品 70

[0281] 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-4-羟

基-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0282] 将 {2-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-咪唑-1-基]-乙基}-二甲基胺 (1.00 当量 ; 4.07 毫摩尔 ; 1.09 克) 溶解在无水 THF (15 毫升 ; 184.33 毫摩尔) 中并将该混合物冷却至 -78°C。缓慢加入正丁基锂 (1.40 当量 ; 5.70 毫摩尔 ; 3.56 毫升) (1.6M Aldrich) 并在 -78°C 下搅拌 30 分钟, 随后经 10 分钟逐滴加入 N-叔丁氧基羰基-4-哌啶酮 (1.20 当量 ; 4.89 毫摩尔 ; 973.43 毫克) 的 THF (10 毫升) 溶液。在 20 分钟后, 将该反应升温至 RT 并搅拌 3 小时。在 EA 和水之间分相。用盐水、NaCl aq (50/50) 洗涤有机层, 并经 MgSO₄ 干燥。过滤并浓缩。通过 ISCO 色谱法在 Biotage 40M 柱上提纯该残留物, 用 100% DCM 至 10% MeOH/DCM 洗脱以产生 785 毫克 (41%) 白色固体状的标题化合物。ES(MS): (m/z) = 467.0 (M+H)。

[0283] 以与制品 70 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0284]

制品	化合物名	MS(ES): (m/z) (M+H)
71	4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-4-羟基-哌啶-1-羧酸叔丁酯	493
72	4-(4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基)-4-羟基哌啶-1-羧酸叔丁酯	527
73	4-(1-(2-(二甲基氨基)乙基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-2-基)-4-羟基哌啶-1-羧酸叔丁酯	501

。

[0285] 制品 74

[0286] 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-4-醇二盐酸盐

[0287] 将 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-4-羟基-哌啶-1-羧酸叔丁酯 (1.00 当量 ; 1.68 毫摩尔 ; 785.00 毫克) 溶解在 5 毫升 DCM 中并在室温下缓慢加入氯化氢 (24.00 毫摩尔 ; 6.00 毫升 4M 在二氧杂环己烷中)。在 5 分钟后, 该溶液变浑浊, 随后从溶液中出现油性白色固体。加入 2 毫升甲醇以使该固体重新溶解。在 30 分钟, HPLC 显示 25% 原材料。再加入 1 毫升 HCl 溶液。在室温下总共搅拌 2 小时后, 在真空下浓缩。再溶解在 DCM 中并在真空下蒸发成白色固体 ; 将该白色固体在真空炉中在 45°C 下干燥至 900 毫克标题化合物。ES(MS): (m/z) = 367.0 (M+H)。

[0288] 以与制品 74 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0289]

制品	化合物名	MS (ES): m/z (M+H)
75	4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-4-醇二盐酸盐	393.2
76	4-(4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-4-醇二盐酸盐	427
77	4-(1-(2-(二甲基氨基)乙基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-4-醇二盐酸盐	401

。

[0290] 制品 78

[0291] 2-(4-(4-氯苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)-N,N-二甲基乙胺三盐酸盐

[0292] A. 4-(1-(2-(四氢-2H-吡喃-2-基氧基)乙基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯:

[0293] 将 4-(1H-咪唑-2-基)-哌啶-1-羧酸叔丁酯(40 克;0.16 摩尔;1.0 当量)、粉状 KOH (35.6 克;0.64 摩尔;4.0 当量)、2-(2-溴-乙氧基)-四氢吡喃(66.2 克;0.32 摩尔;2.0 当量)添加到 DMSO (250 毫升)中并在室温下搅拌 2 小时。用水淬灭反应并用 EA 萃取。蒸发有机层以产生标题化合物(58 克;97%)。

[0294] B. 4-(4,5-二溴-1-(2-(四氢-2H-吡喃-2-基氧基)乙基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯:

[0295] 在 DCM (500 毫升)中加入 4-{1-[2-(四氢-吡喃-2-基氧基)-乙基]-1H-咪唑-2-基}-哌啶-1-羧酸叔丁酯(58.2 克;0.15 摩尔;1.0 当量)并冷却至 -10°C。加入 N-溴代琥珀酰亚胺(54.6 克;0.31 摩尔;2.0 当量)并使该反应达到室温。用水淬灭反应并用 DCM 萃取。蒸发有机层以产生标题化合物(78.2 克;95%)。

[0296] C. 4-(4-溴-1-(2-(四氢-2H-吡喃-2-基氧基)乙基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯:

[0297] 将 4-{4,5-二溴-1-[2-(四氢-吡喃-2-基氧基)-乙基]-1H-咪唑-2-基}-哌啶-1-羧酸叔丁酯(39.0 克;0.073 摩尔;1.0 当量)添加到 THF (600 毫升)中并在氩气氛下冷却至 -78°C。在 1 小时内逐滴加入 n-BuLi 溶液(1.6 M 在环己烷中)(53.7 毫升;0.087 摩尔;1.2 当量)并在 2 小时内使其达到 -30°C。用饱和氯化铵溶液淬灭该反应并用 EA 萃取。蒸发有机层并用硅胶色谱法提纯该残留物以产生标题化合物(13.2 克;39%)。

[0298] D. 4-(4-溴-1-(2-羟基乙基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯:

[0299] 将 4-{4-溴-1-[2-(四氢-吡喃-2-基氧基)-乙基]-1H-咪唑-2-基}-哌啶-1-羧酸叔丁酯(13.2 克;0.029 摩尔;1.0 当量)、对甲苯磺酸(6.5 克;0.034 摩尔;1.2 当量)添加到甲醇(200 毫升)中并在室温下搅拌 30 分钟。浓缩并在饱和 NaHCO₃ 水溶液和 EA 之间分相。蒸发有机层以产生标题化合物(10.0 克;93%)。

[0300] E. 4-(4-溴-1-(2-(甲磺酰氧基)乙基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯:

[0301] 将 4-[4-溴-1-(2-羟基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(10.0 克;0.027 摩尔;1.0 当量)、TEA (11.6 毫升;0.080 摩尔;3.0 当量)添加到 DCM (150 毫升)中并冷却至 0°C。逐滴加入甲磺酰氯(2.6 毫升;0.032 摩尔;1.2 当量)并搅拌 30 分钟。用饱和 NaHCO₃ 水溶液淬灭该反应并用 DCM 萃取。蒸发有机层以产生标题化合物(10.2 克;84%)。

[0302] F. 4-(4-溴-1-(2-(二甲基氨基)乙基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯:

[0303] 在 ACN(100 毫升)中加入 4-[4-溴-1-(2-甲磺酰氧基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(10.2 克;0.023 摩尔;1.0 当量)、二甲基胺(40%水溶液,22 毫升;0.18 摩尔;8.0 当量)并在 100°C 下搅拌 3 小时。浓缩,用饱和 NaHCO₃ 溶液淬灭该反应并用 EA 萃

取。浓缩有机层；在硅胶柱上用 EA/ 己烷提纯以产生标题化合物 (7.5 克 ;83.33 %)。

[0304] G. 4-(4-(4-氯苯基)-1-(2-(二甲基氨基)乙基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯：

[0305] 将 4-[4-溴-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯 (1.0 克 ;0.0024 摩尔 ;1.0 当量)、4-氯苯基硼酸 (0.58 克 ;0.0037 摩尔 ;1.5 当量)、3M Na₂CO₃ 溶液 (0.79 克 ;0.0074 摩尔 ;3.0 当量) 添加到乙醇 (5 毫升) 和甲苯 (5 毫升) 中并用氩气将该反应脱气。加入 Pd(PPh₃)₄ (0.29 克 ;0.00024 摩尔 ;0.1 当量) 并在 110℃ 下微波 20 分钟。加入 EA 并经 Celite® 床过滤。加入饱和 NaHCO₃ 水溶液并用 EA 萃取。蒸发有机层，在硅胶柱上用在 DCM 中的甲醇提纯该残留物以产生标题化合物 (0.8 克 ;粗制)。

[0306] H. 2-(4-(4-氯苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)-N,N-二甲基乙胺三盐酸盐：

[0307] 将在 1,4-二氧杂环己烷中的 4M HCl (2 毫升) 添加到在 DCM 中的 4-[4-(4-氯-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯 (0.8 克 ;0.0018 摩尔 ;1.0 当量) 中并在室温下搅拌 6 小时。浓缩该反应，从二乙醚中结晶并过滤以得到标题化合物 (0.6 克 ;74.07 %)。MS (ES⁺): m/z = 333 (M+H)。

[0308] 以与 2-(4-(4-氯苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)-N,N-二甲基乙胺三盐酸盐的制备 A. 至 H. 中描述的类似的方式制备下列中间体：

制品	化合物名	MS (ES ⁺): m/z
79	2-(4-(3-氯苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)-N,N-二甲基乙胺三盐酸盐	333 (M+H)
80	N,N-二甲基-2-(2-(哌啶-4-基)-4-(3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-1-基)乙胺三盐酸盐	367(M+H)
81	3-(1-(2-(二甲基氨基)乙基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-4-基)吡啶三盐酸盐	324
82	2-(4-(4-氟苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)-N,N-二甲基乙胺二盐酸盐	317

。

[0310] 制品 83

[0311] [4-(3-氯-4-氟-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙腈双三氟乙酸酯

[0312] 将 4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-氰基甲基-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯 (399 毫克 ;0.95 毫摩尔) 溶解在 TFA (10 毫升) 中，搅拌 15 分钟并蒸发提供标题化合物 (607 毫克 ;110%)。MS (ES): m/z = 319 (M+H)。

[0313] 制品 84

[0314] {2-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-二甲基-胺二盐酸盐

[0315] 将 4-(4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(2-(二甲基氨基)乙基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯 (194 毫克 ;0.43 毫摩尔) 溶解在 DCM (5 毫升) 和甲醇 (3 毫升) 中并加入在 1,4-二氧杂环己烷中的 4 M 氯化氢 (5 毫升 ;20 毫摩尔)。搅拌 30 分钟并蒸发；加入 DCM/MeOH 并在真空下蒸发以提供白色固体状的标题化合物 (245 毫克)。MS (ES): m/z = 351 (M+H)。

[0316] 以与制品 84 中所述类似的方式制备下列中间体：

[0317]

制品	化合物名	MS(ES): m/z (M+H)
85	{2-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-二甲基-胺二盐酸盐	385
86	4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶二盐酸盐	376
87	4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶二盐酸盐	411
88	{2-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-1,1-二甲基-乙基}-二甲基-胺三盐酸盐	413
89	4-(4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基)哌啶三盐酸盐	361
90	2-(4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)乙基氨基甲酸苄酯盐酸盐	491
91	{2-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-甲基-氨基甲酸苄酯三盐酸盐	471
92	{2-[4-(3,4-二氟-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-甲基-氨基甲酸苄酯三盐酸盐	455
93	(S)-2-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基甲基]-吡咯烷-1-羧酸苄酯双盐酸盐	497
94	(R)-2-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基甲基]-吡咯烷-1-羧酸苄酯三盐酸盐	497
95	2-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基甲基]-吡咯烷-1-羧酸苄酯二盐酸盐	531
96	2-((4-(3,4-二氟苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)甲基)吡咯烷-1-羧酸苄酯二盐酸盐	
97	{2-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-甲基-氨基甲酸苄酯二盐酸盐	505
98	((R)-1-{2-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-吡咯烷-2-基)-甲醇三盐酸盐	441
99	{2-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-异丙基-甲基-胺三盐酸盐	413
100	{2-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-异丙基-甲基-胺三盐酸盐	379
101	叔丁基-{2-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-胺三盐酸盐	413
102	叔丁基-{2-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-胺三盐酸盐	379
103	{2-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-乙基-异丙基-胺三盐酸盐	393

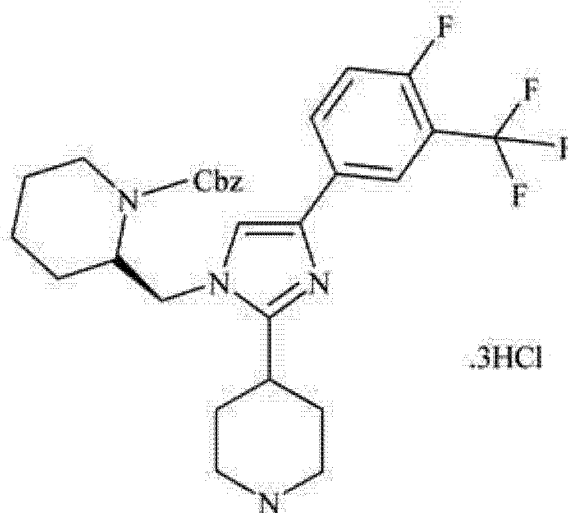
[0318]

104	二甲基-[2-(4-苯基-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基)-乙基]-胺二盐酸盐	299
105	2-({2-[4-(3,4-二氟-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-甲基-氨基)-乙醇三盐酸盐	365
106	2-(4-(3,4-二氟苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)-N,N-二甲基乙胺二盐酸盐	335
107	1-(2-(4-(3,4-二氟苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)乙基)吡咯烷-3-醇三盐酸盐	377
108	1-(2-(4-(3,4-二氟苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)乙基)氮杂环丁烷-3-醇三盐酸盐	363

[0319] 制品 108a

[0320] 2-((4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)甲基)哌啶-1-羧酸(R)-苄酯三盐酸盐

[0321]



[0322] 将 2-((2-(1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-1-基)甲基)哌啶-1-羧酸(R)-苄酯(2.6 克, 0.004 摩尔, 1.0 当量)溶解在 DCM (15 毫升)中。将该反应物料冷却至 0℃并逐滴加入 HCl (4.0 M 在二氧杂环己烷中, 5 毫升, 0.020 摩尔)。使该反应升温至 RT 并搅拌 16 小时。在完成后, 浓缩该反应并在高真空下与甲醇(5 x 20 毫升)共蒸发产生 2.2 克(83.6 %)标题化合物。(ES⁺): m/z= 545 (M+H)。

[0323] 以与制品 108a 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0324]

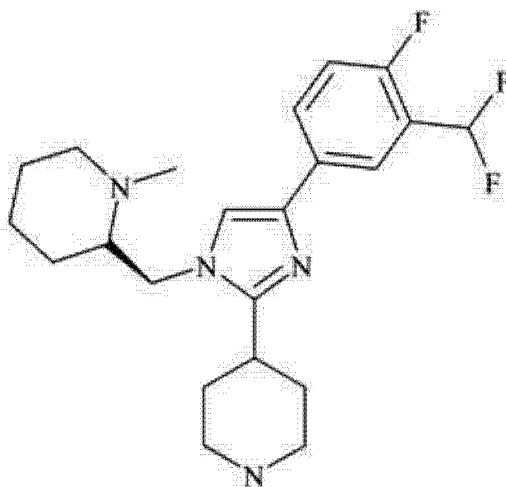
制品	化合物名	MS(ES): m/z (M+H)
108b	2-((4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)甲基)哌啶-1-羧酸(S)-苄酯三盐酸盐	545

[0325] 制品 108c

[0326] (R)-2-((4-(3-(二氟甲基)-4-氟苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)甲

基)-1-甲基哌啶

[0327]



[0328] 在 0℃下向氢化锂铝(0.638 克,0.0168 摩尔,5.0 当量)在 20 毫升 THF 中的悬浮液中分小份加入 (R)-苄基-2-((4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)甲基)哌啶-1-羧酸酯(2.2 克,0.0033 摩尔,1.0 当量)。该反应在室温下搅拌 4 小时。在完成,冷却该反应并用冰冷水和随后 10% NaOH 溶液淬灭,并在室温下搅拌,经 Celite® 过滤所得悬浮液,用 EA 洗涤该固体滤饼。经无水硫酸钠干燥该滤液并减压浓缩以得到 1.6 克标题化合物。(ES⁺): m/z 407 (M+H)。

[0329] 制品 109

[0330] 4-氯-5-(噻唑-2-基亚甲基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮

[0331] 在甲醇(1.5 毫升)中合并 4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(0.3 克;0.0017 摩尔)、噻唑-2-甲醛(0.23 毫升,0.0026 摩尔)。逐滴加入吡咯烷(0.073 毫升;0.0008 摩尔)。在室温下搅拌 15 分钟。过滤固体以产生标题化合物(0.35 克;76.08 %)。

[0332] 以与制品 109 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0333]

制品	化合物名	MS (ES ⁺): m/z
110	4-氯-5-(吡啶-4-基亚甲基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮	259
111	4-氯-5-((2-甲基噻唑-4-基)亚甲基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮	279 (M+1)
112	5-亚苄基-4-氯-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮	258 (M+1)
113	5-((1H-咪唑-5-基)亚甲基)-4-氯-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮	248 (M+1)
114	5-((1H-咪唑-2-基)亚甲基)-4-氯-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮	248 (M+1)
115	4-氯-5-(噻唑-5-基亚甲基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮	265 (M+1)

[0334] 制品 116

[0335] 5-亚苄基-4-(4-(4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(2-(二甲基氨基)乙基)-1H-咪

唑-2-基)哌啶-1-基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮

[0336] 合并{2-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-二甲基-胺三盐酸盐(0.5克;0.0013摩尔;1.0当量);5-亚苄基-4-氯-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮(0.33克;0.0013摩尔;1.0当量);DIPEA(1.7毫升0.0098摩尔;7.6当量);2-丙醇(10毫升)并在100℃下微波30分钟。冷却和在真空中浓缩。用饱和碳酸氢钠溶液稀释并用DCM萃取。用水和盐水洗涤有机层并经无水硫酸钠干燥。浓缩该粗制化合物并通过反相HPLC提纯以产生作为E和Z异构体的混合物的标题化合物(0.09克;12.2%)。MS (ES⁺): m/z = 572 (M+H)。

[0337] 以与制品116中所述类似的方式制备下列中间体:

[0338]

制品	化合物名	MS (ES ⁺): m/z
117	5-亚苄基-4-(4-(1-(2-(二甲基氨基)乙基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮	607
118	5-亚苄基-4-(4-(4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-(二甲基氨基)乙基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮	557

[0339] 制品119

[0340] 4-氯-5,5-二甲基-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮

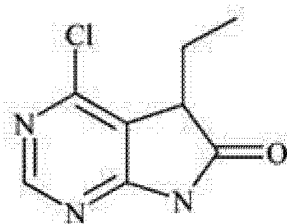
[0341] 方法A:将4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(0.25克;0.0015摩尔)添加到THF(7.5毫升)中。冷却至0℃并逐滴加入NaH(0.12克;0.0029摩尔)。在0℃下搅拌30分钟。逐滴加入甲基碘(0.18毫升,0.0029摩尔)。在0℃下搅拌30分钟,随后在室温下搅拌1小时。用饱和氯化铵水溶液淬灭该反应并用EA萃取。蒸发有机层并在硅胶柱上使用丙酮:己烷作为洗脱剂提纯该残留物以产生标题化合物(172毫克;59.03%)。MS (ES⁺): m/z = 196 (M-H)。

[0342] 方法B:将4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(1克;0.0058摩尔)、叔丁醇钾(3.31克;0.029摩尔)、CuBrMe₂S(0.12克;0.00059摩尔)添加到THF(20毫升)中。冷却至0℃并逐滴加入甲基碘(0.99毫升;0.016摩尔)。使该反应达到RT并搅拌10分钟。用饱和氯化铵水溶液淬灭并用EA萃取。蒸发有机层以产生标题化合物(0.91克;78.4%)。MS (ES⁺): m/z = 196 (M-H)。

[0343] 制品120

[0344] 4-氯-5-乙基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮

[0345]



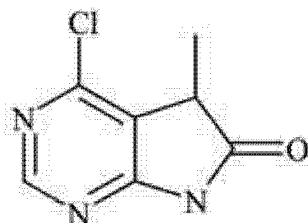
[0346] 在THF(20毫升)中加入4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(0.5克;

0.0029 摩尔 ;1.0 当量)并在氩气氛下冷却 -78°C 。逐滴加入六甲基-二硅基氨基锂(5.89 毫升,0.0059 摩尔 ;2.0 当量 ;1 M 在 THF 中)。在 -78°C 下搅拌 30 分钟。逐滴加入乙基碘(0.48 毫升 ;0.0059 摩尔 ;2.0 当量)并使反应温度缓慢达到 0°C 。搅拌 4 小时。用饱和氯化铵水溶液淬灭并用 EA 萃取。蒸发有机层以得到标题化合物(0.24 克 ;41.38 %)。

[0347] 制品 121

[0348] 4-氯-5-甲基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮

[0349]

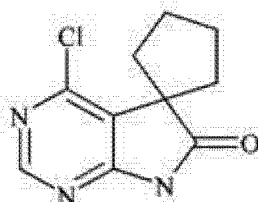


[0350] 在 THF (15 毫升)中加入 4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(0.4 克 ;0.0023 摩尔 ;1.0 当量)并在氩气氛下冷却至 -78°C 。逐滴加入六甲基-二硅基氨基锂(4.7 毫升 ;0.0047 摩尔 ;2.0 当量 ;在 THF 中 1 M)。在 -78°C 下搅拌该反应 30 分钟。逐滴加入甲基碘(0.29 毫升 ;0.0047 摩尔 ;2.0 当量),使反应温度缓慢达到 -20°C 并在 -20°C 下搅拌 2 小时。用饱和氯化铵水溶液淬灭该反应并用 EA 萃取。蒸发有机层以产生标题化合物(0.24 克 ;41.38 %)。

[0351] 制品 122

[0352] 4'-氯螺[环戊烷-1,5'-吡咯并[2,3-d]嘧啶]-6'(7'H)-酮

[0353]



[0354] 在无水 THF (20 毫升)中加入 4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(0.6 克 ;0.0035 摩尔 ;1.0 当量)并在惰性气氛下将该反应冷却至 -78°C 。逐滴加入六甲基-二硅基氨基锂(8.8 毫升 ;0.0088 摩尔 ;2.5 当量 ;1M 在 THF 中)。在 -78°C 下搅拌 30 分钟。逐滴加入 1,4-二碘丁烷(0.56 毫升 ;0.0042 摩尔 ;1.2 当量),使反应温度缓慢达到 0°C ,并搅拌 2 小时。随后使该反应达到 RT 并再搅拌 1 小时。用饱和氯化铵溶液淬灭该反应并用 EA 萃取。用水、盐水洗涤有机层,并经无水硫酸钠干燥。蒸发有机层并在 10 克二氧化硅柱上用在 DCM 中的丙酮(5%)提纯。汇集馏分以产生标题化合物(0.34 克 ;43.09%)。H NMR (DMSO- d_6): 11.68(1H, s), 8.53(1H, s), 2.0-2.1(m, 2H), 1.91-1.99(m, 6H)。

[0355] 制品 123

[0356] 4,6-二氯-N-甲基嘧啶-5-胺

[0357] 将 5-氨基-4,6-二氯嘧啶(2 克 ;0.012 摩尔)添加到 THF (60 毫升)中。冷却至 0°C 并逐份加入 NaH (0.53 克 ;0.013 摩尔)。在 0°C 下搅拌 30 分钟。逐滴加入甲基碘(0.7 毫升,0.012 摩尔)。在 0°C 下搅拌 1 小时,随后在室温下搅拌 30 分钟。用饱和氯化铵水溶

液淬灭并用 EA 萃取。蒸发有机层并通过硅胶柱使用丙酮和己烷作为洗脱剂提纯该残留物以产生标题化合物(0.6 克 ;27.64 %)。

[0358] 如制品 123 中所述制备下列中间体 :

[0359]

制品	化合物名	物理数据
124	4,6-二氯-N-乙基嘧啶-5-胺	¹ H NMR (400MHz, DMSO): δ 8.25 (s, 1H), 5.51-5.48 (t, 1H, J=6Hz), 3.48-3.41 (m, 2H), 1.09-1.07 (t, 3H, J=3.6Hz)
125	4,6-二氯-N-异丙基嘧啶-5-胺	¹ H NMR (400MHz, CDCl ₃): δ 8.23 (s, 1H), 4.14 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 1.20 (d, 6H)

[0360] 制品 126

[0361] 6-氯-N⁵-甲基嘧啶-4,5-二胺

[0362] 合并 4,6-二氯-N-甲基嘧啶-5-胺(0.6 克 ;0.0034 摩尔)和液氨(6 毫升)并在 80℃下搅拌 4 小时。用 EA 萃取和蒸发以产生标题化合物(0.41 克 ;76.78 %)。

[0363] 如制品 126 中所述制备下列中间体 :

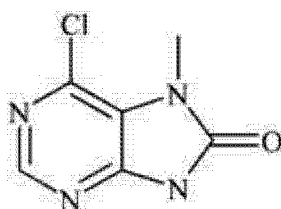
[0364]

制品	化合物名	MS (ES ⁺): m/z (M+1)
127	6-氯-N ⁵ -乙基嘧啶-4,5-二胺	173
128	6-氯-N ⁵ -异丙基嘧啶-4,5-二胺	187

[0365] 制品 129

[0366] 6-氯-7-甲基-7,9-二氢-嘌呤-8-酮

[0367]



[0368] 将 6-氯-N⁵-甲基-嘧啶-4,5-二胺(0.41 克,0.0025 摩尔)添加到 THF (12.3 毫升)中。冷却至 0℃,加入 TEA (0.51 克 ;0.005 摩尔)、三光气(0.92 克 ;0.0031 摩尔)并在室温下搅拌 1 小时。用水淬灭并用 EA 萃取。蒸发有机层以产生标题化合物(0.2 克 ;42 %)。

[0369] 以与制品 129 中所述类似的方式制备下列中间体 :

[0370]

制品	化合物名	物理数据
130	6-氯-7-乙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮	¹ H NMR (400MHz, DMSO): δ 12.51 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 4.03-3.97 (q, 2H, J=7.2Hz), 1.27-1.23 (t, 3H, J=7.2Hz)

[0371] 制品 131

[0372] 6-氯-7,9-二氢-嘌呤-8-酮

[0373] 合并 6-氯-嘧啶-4,5-二胺(7.46 毫摩尔;1.08 克);1,1'-羰基二咪唑(2 当量;14.92 毫摩尔;2.42 克)和 1,4-二氧杂环己烷(20 毫升)并在氮气下加热至回流 50 分钟。将该黄色溶液蒸发成油。加入 DCM (80 毫升),静置 1 小时,过滤并在真空炉中在 45℃ 下干燥以提供标题化合物(1.22 克;7.15 毫摩尔;96%) MS (ES+): $m/z = 169$ (M-H)。

[0374] 以与制品 131 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0375]

制品	化合物名	MS (ES+): m/z (M+1)
132	6-氯-7-异丙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮	213

[0376] 制品 133

[0377] (2-{4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-[1-(6-氧代-6,7-二氢-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-哌啶-4-基]-咪唑-1-基}-乙基)-甲基-氨基甲酸苄酯

[0378] 合并 {2-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-甲基-氨基甲酸苄酯二盐酸盐(277 微摩尔;160 毫克);4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(1.30 当量;360 微摩尔;61.1 毫克);DMF (3 毫升);TEA (7 当量;1.94 毫摩尔;270 微升)并在微波中加热至 160℃ 历时 45 分钟。蒸发,将该残留物溶解在 DCM 中,用饱和碳酸氢钠洗涤并蒸发有机层。在 40 克硅胶上用 3% MeOH/DCM 提纯该残留物以提供标题化合物(138.2 毫克;0.22 毫摩尔;78%)。MS (ES+): $m/z = 638$ (M+H)。

[0379] 以与制品 133 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0380]

制品	化合物名	MS (ES+): m/z (M+H)
134	(2-{4-(3-氯-4-氟-苯基)-2-[1-(6-氧代-6,7-二氢-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-哌啶-4-基]-咪唑-1-基}-乙基)-甲基-氨基甲酸苄酯	604
135	(2-{4-(3,4-二氟-苯基)-2-[1-(7-乙基-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-哌啶-4-基]-咪唑-1-基}-乙基)-甲基-氨基甲酸苄酯	617
136	(S)-(2-{4-(3-氯-4-氟-苯基)-2-[1-(7-乙基-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-哌啶-4-基]-咪唑-1-基}甲基-吡咯烷-1-羧酸苄酯	659
137	(R)-(2-{4-(3-氯-4-氟-苯基)-2-[1-(7-乙基-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-哌啶-4-基]-咪唑-1-基}甲基-吡咯烷-1-羧酸苄酯	659
138	2-{4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-[1-(6-氧代-6,7-二氢-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-哌啶-4-基]-咪唑-1-基}甲基-吡咯烷-1-羧酸苄酯	664
139	2-((4-(3,4-二氟苯基)-2-(1-(6-氧代-6,7-二氢-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)甲基)吡咯烷-1-羧酸苄酯	
140	2-(4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-(1-(6-氧代-6,7-二氢-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)乙基氨基甲酸苄酯	

[0381] 制品 141

[0382] 5,5-二溴-4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮

[0383] 在40℃下将过溴溴化吡啶  (3当量;70.5克;266毫摩尔)添加到4-氯-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(66.1毫摩尔;10.16克)在叔丁醇(400毫升)中的溶液中。搅拌4小时,随后加入过溴溴化吡啶  (1当量;23.5克)并搅拌18小时。分割1L EA/1.5 L水,用EA萃取三次,合并有机物并用水(3 X 200毫升)洗涤,用盐水洗涤两次,经MgSO₄干燥,过滤并蒸发。悬浮在热DCM(200毫升)中,冷却,过滤并在真空下干燥以提供褐色固体状的标题化合物(13.00克;39.7毫摩尔,60%)。MS (ES+): m/z = 328 (M+H)。

[0384] 制品 142

[0385] 4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮

[0386] 将锌(2当量;12.12毫摩尔;792毫克)添加到5,5-二溴-4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(6.06毫摩尔;1.98克)在THF(20毫升)中的悬浮液中,并在20℃(放热)下加入饱和氯化铵水溶液(3毫升)。搅拌20分钟,随后经Celite®过滤,用THF漂洗,用饱和氯化铵洗涤有机相两次。用100毫升1:1 THF:EA萃取合并的水层四次,用饱和氯化铵洗涤合并的有机相,经MgSO₄干燥,经硅胶塞过滤,用1 L 5% MeOH/DCM漂洗并蒸发滤液。将粗制固体悬浮在DCM/EA的回流混合物中并加载到330克干燥硅胶上。用0至2% MeOH/DCM色谱分离以提供标题化合物3.89克(22.93毫摩尔;59%)。MS (ES+): m/z = 168

(M-H)。

[0387] 制品 143

[0388] (R)-3-氨基-哌啶-1-羧酸苄酯

[0389] 将在二氧杂环己烷中的 4M HCl (100 毫升)添加到 (R)-3-叔丁氧基羰基氨基-哌啶-1-羧酸苄酯(71.65 毫摩尔;23.96 克)在 DCM (100 毫升)和 MeOH (10 毫升)中的溶液中。搅拌 60 分钟并蒸发。在 DCM 和饱和碳酸氢钠水溶液之间分割固体,用 DCM 萃取三次,用盐水洗涤,经 MgSO_4 干燥,经 Celite® 过滤并蒸发产生标题化合物 17.39 克(74.22 毫摩尔;104%)。MS (ES+): m/z = 235 (M+H)。

[0390] 制品 144

[0391] (R)-3-[2-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-氧代-乙基氨基]-哌啶-1-羧酸苄酯盐酸盐

[0392] 将在 15 毫升 DMF 中的 2-溴-1-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-乙酮(1.00 当量;22.57 毫摩尔;6.43 克)逐滴合并到 (R)-3-氨基-哌啶-1-羧酸苄酯(1 当量;22.57 毫摩尔;5.29 克)和 TEA (1 当量;22.57 毫摩尔;3.15 毫升)在 DMF (30 毫升)中的溶液中。搅拌 10 分钟。用 EA 稀释,用盐水洗涤 3X,经 MgSO_4 干燥,过滤,加入 1 当量在醚中的 1M HCl 并蒸发产生 10.56 克橙色残留物。溶解在 IPA (100 毫升)中,在冰浴中冷却,过滤固体,用二乙醚漂洗,在真空炉中在 40°C 下干燥以提供标题化合物(3.49 克;7.35 毫摩尔;33%)。MS (ES+): m/z = 439 (M+H)。

[0393] 制品 145

[0394] 4-(((R)-1-苄基氧基羰基-哌啶-3-基)-[2-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-氧代-乙基]-氨基甲酰基)-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0395] 在 20°C 下将亚硫酸二氯(1.2 当量;10.5 毫摩尔;765 微升)经 3 分钟逐滴添加到哌啶-1,4-二羧酸单-叔丁酯(1.00 当量;8.75 毫摩尔;2.03 克)和吡啶(5 当量;43.74 毫摩尔;3.54 毫升)在 DCM (60 毫升)中的溶液中。搅拌 90 分钟。加入 (R)-3-[2-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-氧代-乙基氨基]-哌啶-1-羧酸苄酯盐酸盐(0.80 当量;7.00 毫摩尔;3.32 克),接着经 3 分钟逐滴加入 TEA (3.5 当量;30.62 毫摩尔;4.3 毫升)并搅拌 18 小时。用 1N HCl、水、盐水洗涤有机相 3X,经 MgSO_4 干燥,过滤并蒸发。在 150 克硅胶上用 20-50% EA/DCM 提纯该残留物以提供标题化合物(2.86 克;4.41 毫摩尔;50%)。MS (ES+): m/z = 672 (M+Na)。

[0396] 制品 146

[0397] 4-[1-((R)-1-苄基氧基羰基-哌啶-3-基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0398] 在 90°C 下加热 4-(((R)-1-苄基氧基羰基-哌啶-3-基)-[2-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-氧代-乙基]-氨基甲酰基)-哌啶-1-羧酸叔丁酯(4.40 毫摩尔;2.86 克)在 DMF (2.5 毫升)和乙酸铵饱和乙酸溶液(15 毫升)中的溶液 8 小时。用 EA 稀释,用水、饱和碳酸氢钠、盐水洗涤有机相 3X,经 MgSO_4 干燥并过滤。在 80 克硅胶上用 5-20% EA/DCM 提纯该残留物以提供标题化合物(2.08 克;3.30 毫摩尔;75%)。MS (ES+): m/z = 631 (M+H)。

[0399] 制品 147

[0400] 4-[(R)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-哌啶-3-基-1H-咪唑-2-基]-哌

啉-1-羧酸叔丁酯

[0401] 用 10% 载钨碳(100 毫克)和 1 大气压氢气氢化 4-[1-((R)-1-苄基氧基羰基-哌啶-3-基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(1.71 毫摩尔;1.08 克)在甲醇(20 毫升)中的溶液 60 分钟。加入 Celite® 并过滤,用 DCM 漂洗并蒸发以提供标题化合物(834.3 毫克;1.68 毫摩尔;98%)。MS (ES+): $m/z = 497$ (M+H)。

[0402] 制品 148

[0403] 4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-((R)-1-甲基-哌啶-3-基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0404] 合并 4-[(R)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-哌啶-3-基-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(1.49 毫摩尔;741 毫克);甲醛(5 当量;7.46 毫摩尔;560 微升);三乙酰氧基硼氢化钠(2 当量;2.98 毫摩尔;632 毫克)和 THF (25 毫升)并在 20℃ 下搅拌 20 分钟。用 EA 稀释,用饱和碳酸氢钠、盐水洗涤有机相 2X,经 $MgSO_4$ 干燥,过滤并蒸发以提供标题化合物(790.3 毫克;1.55 毫摩尔;104%)。MS (ES+): $m/z = 511$ (M+H)。

[0405] 制品 149

[0406] (R)-3-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-1-甲基-哌啶

[0407] 将在二氧杂环己烷中的 4M HCl (6 毫升)添加到 4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-((R)-1-甲基-哌啶-3-基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(1.55 毫摩尔;790 毫克)在甲醇(2 毫升)和 DCM (5 毫升)中的溶液中并搅拌 1 小时。蒸发提供 847 毫克三 HCl 盐。在 DCM/ 饱和碳酸氢钠之间分割 712 毫克三 HCl 盐,经 $MgSO_4$ 干燥,过滤并蒸发以提供标题化合物(529.6 毫克;1.29 毫摩尔;94%)。MS (ES+): $m/z = 411$ (M+H)。

[0408] 以与制品 149 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0409]

制品	化合物名	MS (ES+): m/z (M+H)
150	3-(4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)哌啶-1-羧酸(R)-苄酯	531

。

[0410] 制品 151

[0411] (R)-2-{4-(3-氯-4-氟-苯基)-2-[1-(6-氧代-6,7-二氢-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-哌啶-4-基]-咪唑-1-基甲基}-吡咯烷-1-羧酸苄酯

[0412] 在 25 毫升 3 颈烧瓶中合并叔丁醇钾(1.1 当量;321 微摩尔;36.8 毫克);IPrPd(acac)Cl (0.08 当量;23.4 微摩尔;14.8 毫克)和搅拌棒并用氮气吹扫 5 分钟。加入无水 DME (3 毫升),接着 4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(1 当量;292 微摩尔;50 毫克);(R)-2-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基甲基]-pyrrolidene-1-羧酸苄酯三盐酸盐(1.1 当量;321 微摩尔;159.6 毫克)和 0.5 毫升 1,2-DME 并加热至 80℃ 历时 18 小时。用 EA 稀释,用水、饱和碳酸氢钠、盐水洗涤有机相,经 $MgSO_4$ 干燥,过滤并蒸发。在 40 克硅胶上用 5% MeOH/DCM 提纯该残留物以提供标题化合物(124.7 毫克;0.198 毫摩尔;68%)。MS (ES+): $m/z = 630$ (M+H)。

[0413] 以与制品 151 中所述类似的方式制备下列中间体:

[0414]

制品	化合物名	MS (ES+): m/z (M+1)
152	3-(4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-(1-(6-氧代-6,7-二氢-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)哌啶-1-羧酸(R)-苄酯	664

。

[0415] 制品 153

[0416] 2-(4,6-二羟基嘧啶-5-基)乙酸甲酯

[0417] 将乙烷-1,1,2-三羧酸三乙基酯(74.75克;1.00当量;303.54毫摩尔;69.41毫升)添加到甲醇钠(139.6毫升25% wt,在MeOH中,4.35M)(131.2克;2.00当量;607毫摩尔)在甲醇(224.8毫升)中的溶液中,随后在室温下加入甲脒盐酸盐(25.19克,1.01当量;306.58毫摩尔)。将该混合物搅拌整夜。在0℃下用37% HCl酸化;过滤固体并在真空中干燥整夜以产生白色固体状的标题化合物(55.89克;99.99%收率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): 8.03 (s, 1H), 3.55 (s, 3H), 3.24-3.15 (m, 2H)。

[0418] 制品 154

[0419] 2-(4,6-二氯嘧啶-5-基)乙酸甲酯

[0420] 将2-(4,6-二羟基嘧啶-5-基)乙酸甲酯(46.65克;1.00当量;253.33毫摩尔)悬浮液添加到磷酸氯(235.41毫升;10.00当量;2.53摩尔)中并在回流下搅拌3小时。在真空下蒸馏至原始体积的1/3并将该混合物倒入4℃磷酸氢二钾水溶液(2M)(2.53升;20当量;5.07摩尔)中。用EA萃取,经MgSO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。通过二氧化硅塞使用DCM作为洗脱剂提纯该粗制品以产生浅黄色固体状的标题化合物(30.32克;137.17毫摩尔;54.15%收率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): 8.89 (s, 1H), 4.03 (s, 2H), 3.69 (s, 3H)。

[0421] 制品 155

[0422] 2-(4-氯-6-(4-甲氧基苄基氨基)嘧啶-5-基)乙酸甲酯

[0423] 向2-(4,6-二氯嘧啶-5-基)乙酸甲酯(1.00当量;65.10毫摩尔;14.39克)在DMF(0.5M;1.68摩尔;130.20毫升)中的溶液中加入4-甲氧基苄胺(1.10当量;71.61毫摩尔;9.36毫升)和DIPEA(1.20当量;78.12毫摩尔;13.62毫升)并将该混合物在60℃下搅拌1小时。用冰水淬灭,用EA萃取,并用1N HCl、水和盐水洗涤有机层,经MgSO₄干燥,过滤并在真空中浓缩成黄色固体状的标题化合物(54.98毫摩尔;17.69克;84.45%)且不经进一步提纯即使用。¹H NMR (300 MHz, DMSO): 8.20 (s, 1H), 7.21-7.18 (m, 2H), 6.89-6.85 (m, 2H), 4.53 (d, J= 5.8 Hz, 2H), 3.76 (s, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.65 (s, 3H)。

[0424] 以与制品155中所述类似的方式制备下列中间体:

[0425]

制品	化合物名	物理数据
156	2-(4-氯-6-(2,4-二甲氧基苄基氨基)嘧啶-5-基)乙酸甲酯	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃): 8.33 (s, 1H), 7.21 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.46 (d, J=2.0 Hz, 1H), 6.42 (d, J ₁ =8.4 Hz, J ₂ =2.0 Hz, 1H), 6.07 (bs, 1H), 4.62 (d, J= 6.0 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 3.61 (s, 2H),

[0426] 制品 157

[0427] 4-氯-7-(4-甲氧基苄基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮

[0428] 将 2-(4-氯-6-(4-甲氧基苄基氨基)嘧啶-5-基)乙酸甲酯的溶液(16.21 克, 1.00 当量;50.38 毫摩尔)添加到 HCl (4M 在二氧杂环己烷中)(126 毫升;10 当量;503.79 毫摩尔)和水(4.54 毫升;5 当量;251.89 毫摩尔)中并在 100℃下搅拌 2 小时。在真空中除去二氧杂环己烷并用 EA 萃取。用饱和 NaHCO₃、水、随后盐水洗涤有机层。经 MgSO₄ 干燥, 过滤并在真空中浓缩。通过 ISCO 330 g 使用 EA:hex 20 至 70% 作为洗脱剂提纯该残留物以获得黄色固体状的标题化合物(11.15 克;38.49 毫摩尔;76.39%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): 8.65 (s, 1H), 7.29-7.26 (m, 2H), 6.89-6.85 (m, 2H), 4.79 (s, 2H), 3.80 (s, 2H), 3.71 (s, 3H)。

[0429] 制品 158

[0430] 4-氯-7-(2,4-二甲氧基苄基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮

[0431] 将 2-(4-氯-6-(2,4-二甲氧基苄基氨基)嘧啶-5-基)乙酸甲酯(1.00 当量;2.23 摩尔;783 克)在对甲苯磺酸(0.5 当量;1.10 摩尔;212 克)中的溶液与甲苯(12 升)合并并在回流下搅拌。在 1 小时后,在真空中除去甲苯并用 DCM 萃取。用饱和 NaHCO_{3(aq)} 和盐水洗涤有机层,经 Na₂SO₄ 干燥,过滤并真空浓缩。将残留物在甲醇(2 升)中制浆并在真空中浓缩至大约 1 升。将该浆料冷却至 10℃,过滤,用冷甲醇洗涤,和干燥以获得黄-橙色固体状的标题化合物(1.65 摩尔;527 克;74.05%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8.59 (s, 1H), 7.13 (d, J= 8.4Hz, 1H), 6.43 (d, J=2.0 Hz, 1H), 6.40 (d, J=8.5 Hz, 1H), 4.92 (d, s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.60 (s, 2H)。

[0432] 制品 159

[0433] 4-(1-(2-(二甲基氨基)乙基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0434] 将 4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(25.00 克;1.00 当量;60.47 毫摩尔)在 DMSO(200.00 毫升;2.82 摩尔)中的溶液与 KOH(粉末)(9.98 克;151.18 毫摩尔)合并,将该混合物加热至 45℃。向该溶液中加入 2-氯-N,N-二甲基乙胺盐酸盐(10.45 克;1.20 当量;72.57 毫摩尔)。在 45℃下搅拌该混合物 3 小时。将该混合物倒入冰水中,在室温下搅拌并用 EA 萃取。用水(3x)和盐水洗涤有机层;经 MgSO₄ 干燥,过滤并在真空中浓缩以产生黄色油状的标题化合物(28.00 克;57.79 毫摩尔;95.56%),不进一步提纯即使用。¹H NMR (300 MHz, DMSO): 8.04-8.00 (m, 2H), 7.74 (s, 1H), 7.46 (t, J= 9.9 Hz, 1H), 4.06-3.99 (m, 4H), 3.03-2.93 (m, 3H), 2.57 (t, J= 6.3 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 1.81-1.77 (m, 2H), 1.70-1.55 (m, 2H), 1.42 (s, 9H)。

[0435] 制品 160

[0436] 2-(4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)-N,N-二甲基乙胺二盐酸盐

[0437] 将 4-(1-(2-(二甲基氨基)乙基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(28.00 克;1.00 当量;57.79 毫摩尔)在 DCM (280.00 毫升;4.37 摩尔)中的溶液与氯化氢在甲醇中的 4M 溶液(50.56 毫升;3.50 当量;202.25 毫摩尔)合并。将该绿色悬浮液在室温下搅拌 3 小时。蒸发溶剂,加入 EA (100 毫升)并再蒸发。加入 EA (200 毫升)并将该悬浮液搅拌 30 分钟。在玻璃烧结漏斗上过滤以获得绿色固体状的标题化合物(26.00 克;56.85 毫摩尔;98.38% 收率)。m/z (M+H): 385.2。

[0438] 制品 161

[0439] 4-(4-(1-(2-(二甲基氨基)乙基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-基)-7-(4-甲氧基苄基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮

[0440] 将 4-氯-7-(4-甲氧基苄基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮(18.11 克;1.05 当量;62.52 毫摩尔)在 NMP (156.50 毫升;1.62 摩尔)中的溶液在室温下添加到 2-(4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)-N,N-二甲基乙胺二盐酸盐(31.30 克;1.00 当量;59.54 毫摩尔)和 DIPEA (51.92 毫升;297.71 毫摩尔)中并在 50℃下搅拌整夜。用水(900 毫升)和 EA (200 毫升)淬灭该反应并用 H₃PO₄ [85% 水溶液(aq.)] 将该混合物的 pH 调节至 1-2。搅拌 15 分钟并分离相。用 H₃PO₄ 溶液(15% aq. 3x100 毫升)萃取有机相。用 EA/叔丁基甲基醚(tBuOMe) (4/1) (3x150 毫升)洗涤合并的水相。用固体 K₂CO₃ 将水相的 pH 调节至 9 并用 EA 萃取(3x15 毫升)。用盐水洗涤合并的有机相,用木炭脱色,并经 Celite® 过滤。合并滤液并蒸发。使该残留物从 EA/tBuOMe 中结晶以获得浅玫瑰色固体状的标题化合物(17.00 克;26.66 毫摩尔;44.77% 收率)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 8.36 (s, 1H), 7.91-7.83 (m, 2H), 7.43-7.40 (m, 2H), 7.17-7.11 (m, 2H), 6.86-6.81 (m, 2H), 4.87 (s, 2H), 4.56 (d, J= 13.4 Hz, 2H), 4.13-4.07 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.63 (s, 2H), 3.40-3.36 (m, 2H), 3.21-3.05 (m, 3H), 2.74 (t, J= 6.6 Hz, 2H), 2.40-2.35 (m, 6H), 2.09-1.99 (m, 2H)。

[0441] 制品 162

[0442] 4-(4-(1-(2-(二甲基氨基)乙基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-基)-7-(2,4-二甲氧基苄基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮

[0443] 合并室温下的在甲醇(62.44 摩尔;2.53 升)中的 4-氯-7-(2,4-二甲氧基苄基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮(1.10 当量;868.3 毫摩尔;277.63 克)、2-(4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)-N,N-二甲基乙胺二盐酸盐(1.00 当量;789.35 毫摩尔;361.0 克)和 TEA (9077 毫摩尔;1265 毫升)在甲醇(62.44 摩尔;2.53 升)中的溶液的混合物并将该混合物在 55-60℃下搅拌整夜。使该反应混合物在水(10 升)和 EA (10 升)之间分相。用 2 N HCl (5 L) 萃取有机层。分离并用 EA (5 升)萃取水层。油在水层中分离。倾析该水性液体并留下油以回收产物。用 EA (5 升)搅拌该倾析水层并用 2 N NaOH 将该混合物的 pH 调节至 10-11。分离有机层,用盐水洗涤,并经 Na₂SO₄ 干燥。过滤并蒸发溶剂以产生标题化合物(473.3 毫摩尔;316.0 克;60 %)。

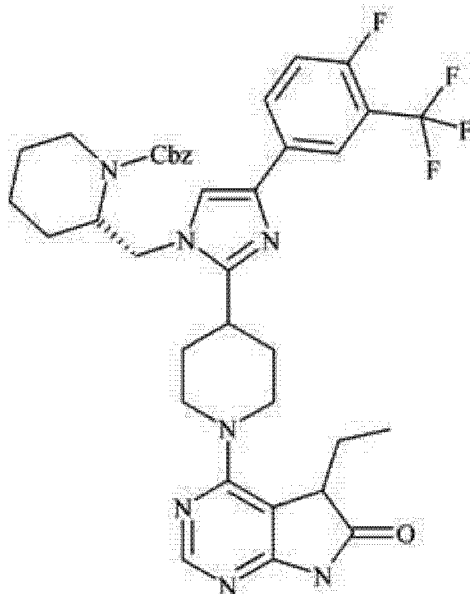
[0444] 将该倾析油溶解在水(15 升)中并用 EA (5 升)洗涤。用 EA (5 升)搅拌水层并用 2 N NaOH 将该混合物的 pH 调节至 10-11。分离有机相,用盐水洗涤,经 Na₂SO₄ 干燥。过滤并

蒸发滤液。使残留物 EA 结晶 ; 过滤并用 MTBE 洗涤。干燥以获得额外的浅玫瑰色固体状的标题化合物 (46.42 毫摩尔 ; 31.0 克 ; 5.88 %)。¹H NMR (400 MHz, DMSO): 8.18 (s, 1H), 7.99-7.95 (m, 2H), 7.71 (s, 1H), 7.43-7.39 (m, 2H), 6.76 (d, J=7.1 Hz 1H), 6.54 (d, J= 2 Hz 1H), 6.38- 6.35 (m, 1H) , 4.67 (s, 2H), 4.49 (d, J= 13.1 Hz, 2H), 4.03 (t, J=6.52, 2H), 3.89 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.15-3.09 (m, 3H), 2.57 (t, J= 6.6 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H), 1.89-1.74 (m, 4H)。

[0445] 制品 162a

[0446] 2-((2-(1-(5-乙基-6-氧代-6,7-二氢-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-1-基)甲基)哌啶-1-羧酸(2S)-苄酯

[0447]

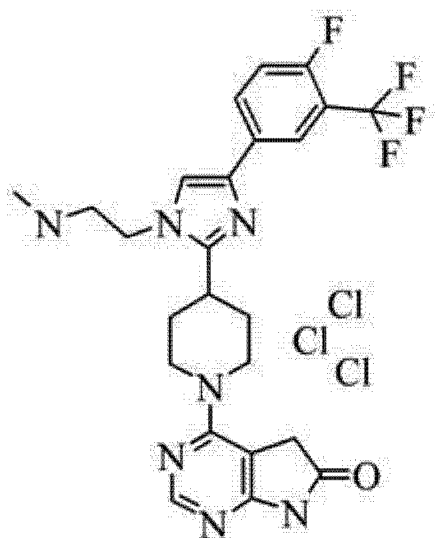


[0448] 在压力管中合并 2-((4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)甲基)哌啶-1-羧酸(S)-苄酯三盐酸盐(1.1克,0.00168摩尔,1.0当量); 4-氯-5-乙基-5,7-二氢-吡咯并[2,3d]嘧啶-6-酮(0.4克,0.002摩尔,1.2当量); DIPEA(2毫升,0.011摩尔,7.0当量)和 2-丙醇(20毫升)并在密封条件下在 120℃下加热整夜。冷却该反应物料并用水稀释。在 EA 中萃取并用盐水洗涤有机层。经无水硫酸钠干燥并浓缩粗制化合物。在硅胶(100-200目)柱上使用 10% 丙酮-DCM 作为洗脱剂提纯。汇集含所需化合物的馏分并在真空下浓缩成标题化合物。MS (ES+): m/z =706 (M+H)。

[0449] 实施例 1

[0450] 4-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮三盐酸盐

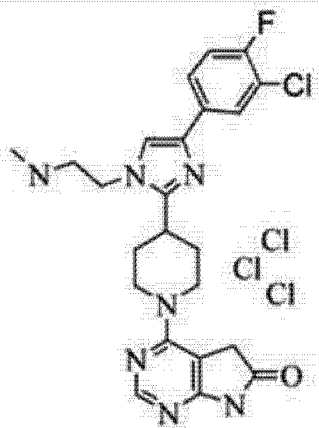
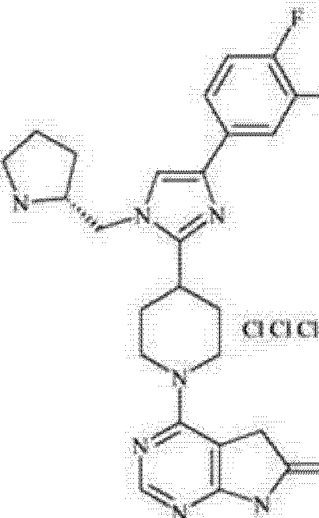
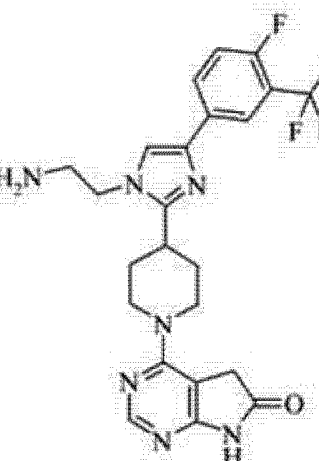
[0451]



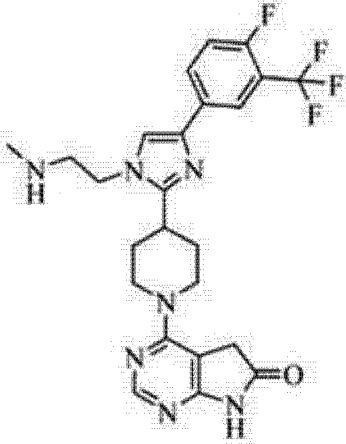
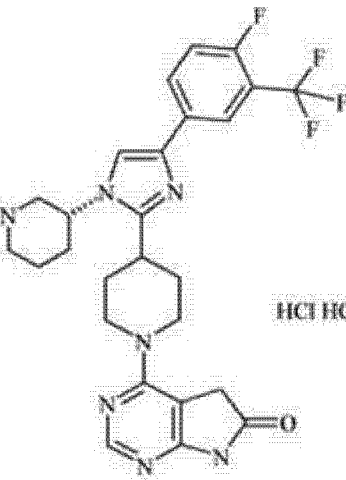
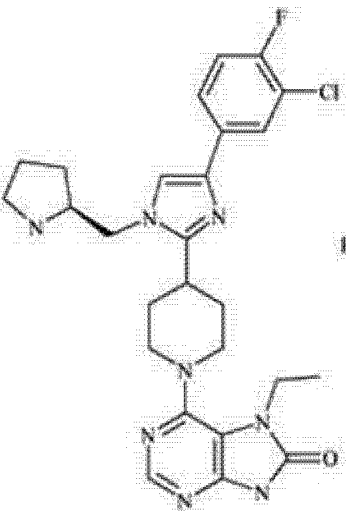
[0452] 将 (2-{4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-[1-(6-氧代-6,7-二氢-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-哌啶-4-基]-咪唑-1-基}-乙基)-甲基-氨基甲酸苄酯 (213 微摩尔; 136 毫克) 溶解在浓 HCl (8 毫升) 中并加热至 50°C 历时 60 分钟。冷却至 RT, 用醚萃取 2 次, 蒸发有机层, 用 MeOH 共蒸发该残留物 2 次, 用 DCM/MeOH 共蒸发该残留物 2 次以提供 129.6 毫克 (0.21 毫摩尔; 99%) 标题化合物。MS (ES⁺): m/z = 504 (M+H)。

[0453] 基本如对 4-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮三盐酸盐所述制备下列实施例：

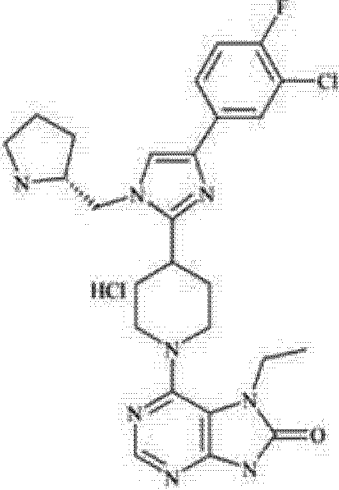
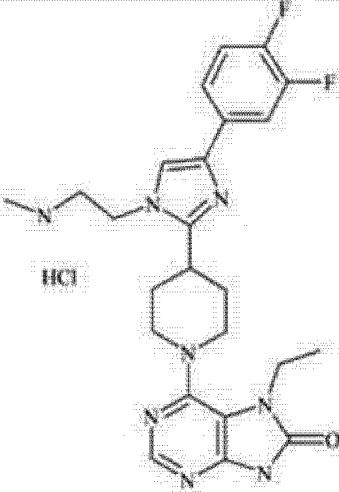
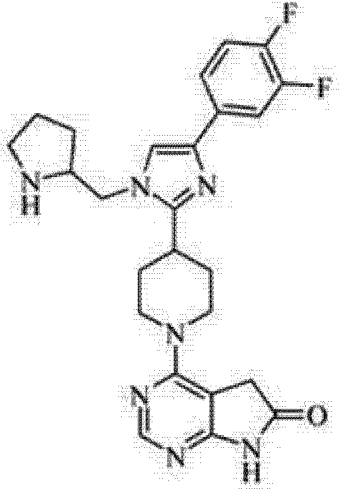
[0454]

实施例	化合物名	结构	MS (ES+): m/z
2	4-{4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氯-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮三盐酸盐		470 (M+H)
3	4-{4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(R)-1-吡咯烷-2-基甲基-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氯-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮三盐酸盐		496 (M+H)
4	4-{4-[1-(2-氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氯-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		490

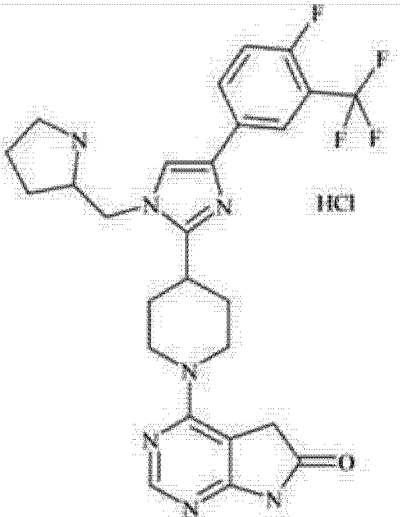
[0455]

5	4-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		504
6	(R)-4-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(哌啶-3-基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮三盐酸盐	 HCl HCl HCl	530 (M+1)
7	(S)-6-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(吡咯烷-2-基甲基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-乙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮盐酸盐	 HCl	526

[0456]

8	(R)-6-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(吡咯烷-2-基甲基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-乙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮盐酸盐		526
9	6-{4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-(甲基氨基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-乙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮盐酸盐		483
10	4-[4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(吡咯烷-2-基甲基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基]-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮		480

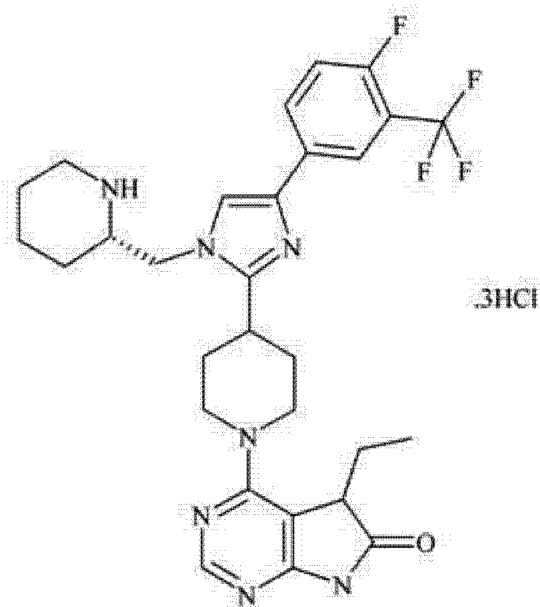
[0457]

11	4-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(吡咯烷-2-基甲基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基]-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮}盐酸盐		530 (M+1)
----	--	--	-----------

[0458] 实施例 11a

[0459] 5-乙基-4-{4-[4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1-((S)-哌啶-2-基甲基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮三盐酸盐

[0460]

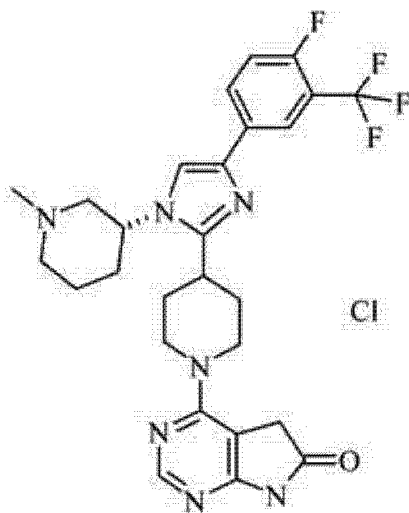


[0461] 在浓 HCl (10 毫升) 中加入 2-((2-(1-(5-乙基-6-氧代-6,7-二氢-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-1-基)甲基)哌啶-1-羧酸 (2S)-苄酯 (0.45 克; 1.0 当量) 并在 50℃ 下加热 1 小时。在完成, 浓缩该反应物料, 用甲苯提取, 研制并用二乙醚、接着 DCM 和戊烷洗涤。在真空下干燥得到 0.39 克 (90%) 灰白色固体状的标题化合物。(ES⁺): m/z = 572 (M+H)。

[0462] 实施例 12

[0463] 4-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-((R)-1-甲基-哌啶-3-基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮三盐酸盐

[0464]

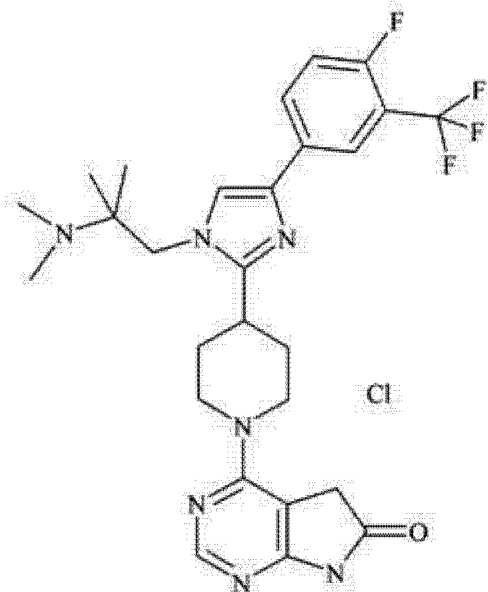


[0465] 在4毫升管瓶中合并叔丁醇钾(1.1当量;321微摩尔;36.8毫克);IPrPd(acac)Cl(0.1当量;29.2微摩尔;18.4毫克)和搅拌棒并用氮气吹扫10分钟。加入无水DME(2.5毫升),接着4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(1当量;292微摩尔;50毫克);(R)-3-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-1-甲基-哌啶(1.1当量;321微摩尔;131.8毫克)并加热至80°C 18小时。用15毫升水稀释,过滤,并用水漂洗。将该紫色固体溶解在EA中,用饱和碳酸氢钠、盐水洗涤,用无水MgSO₄干燥,过滤,蒸发并在40克硅胶上用2-10% MeOH/DCM提纯以提供99.6毫克(0.18毫摩尔;63%)游离碱形式的标题化合物。溶解在DCM中,加入1当量在醚中的1M HCl并蒸发以提供101毫克标题化合物。MS (ES⁺): m/z = 544 (M+H)。

[0466] 实施例13

[0467] 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-2-甲基-丙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮盐酸盐

[0468]

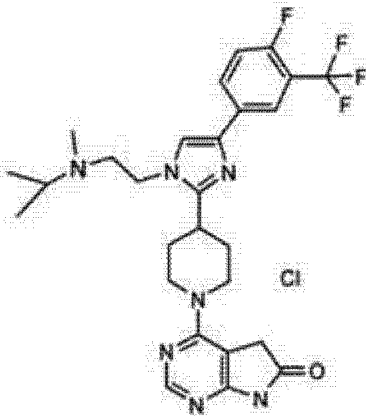
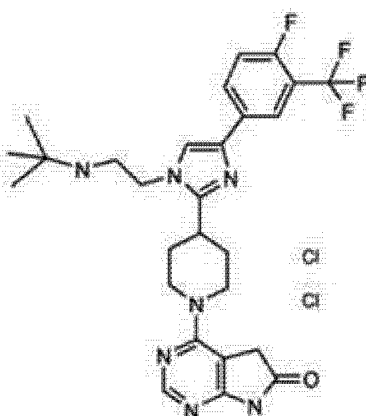
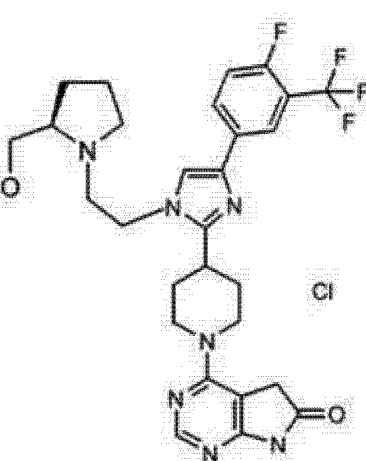


[0469] 合并{2-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-1,1-二甲基-乙基}-二甲基胺三盐酸盐(247微摩尔;200毫克);4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]

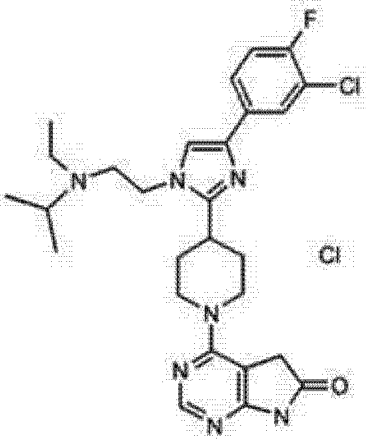
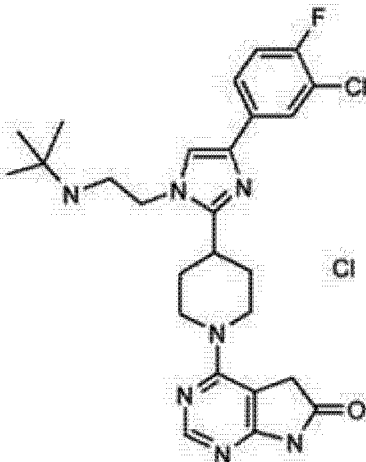
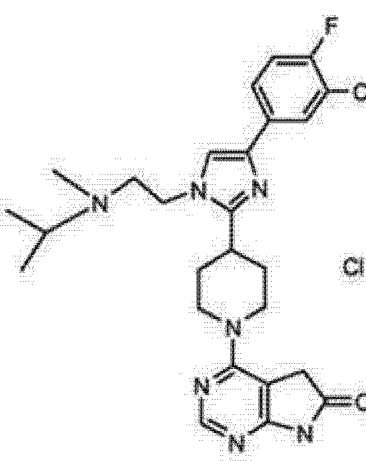
嘧啶-6-酮(1.5 当量 ;575 微摩尔 ;97.5 毫克);TEA (1.92 毫摩尔 ;267 微升);DMF (2 毫升)并在微波反应器中在 160℃下加热 30 分钟。蒸发并在 40 克硅胶上用 2-7.5 % MeOH/DCM 提纯以提供 137.3 毫克(0.25 毫摩尔 ;66%)游离碱形式的标题化合物。溶解在 DCM/MeOH 中,加入 1 当量在醚中的 1M HCl 并蒸发以提供 162.4 毫克标题化合物。MS (ES⁺): m/z = 546 (M+H)。

[0470] 基本如对 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-2-甲基-丙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮盐酸盐所述制备下列实施例:

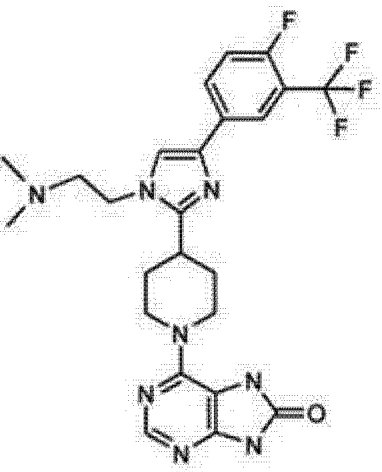
[0471]

实施例	化合物名	结构	MS (ES ⁺): m/z (M+H)
14	4-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-(异丙基-甲基-氨基)-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮盐酸盐		546
15	4-{4-[1-(2-叔丁基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮双盐酸盐		546
16	4-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-((R)-2-羟基甲基-吡咯烷-1-基)-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮盐酸盐		574

[0472]

17	4-{4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-(乙基-异丙基-氨基)-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮盐酸盐	 Cl	527
18	4-{4-[1-(2-叔丁基氨基-乙基)-4-(3-氯-4-氟-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮盐酸盐	 Cl	512
19	4-{4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-(异丙基-甲基-氨基)-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮盐酸盐	 Cl	512

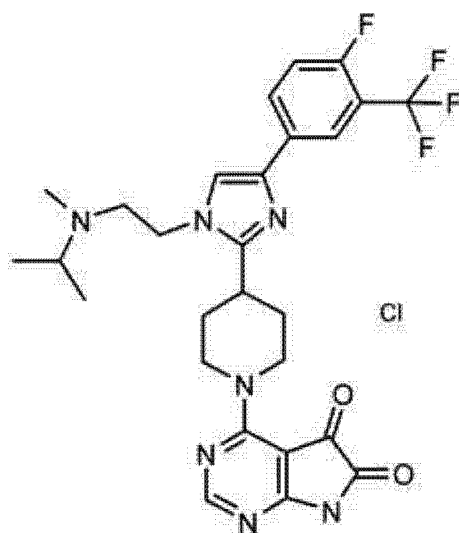
[0473]

20	6-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7,9-二氢-嘌呤-8-酮		519
----	---	--	-----

[0474] 实施例 21

[0475] 4-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-(异丙基-甲基-氨基)-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5,6-二酮盐酸盐

[0476]

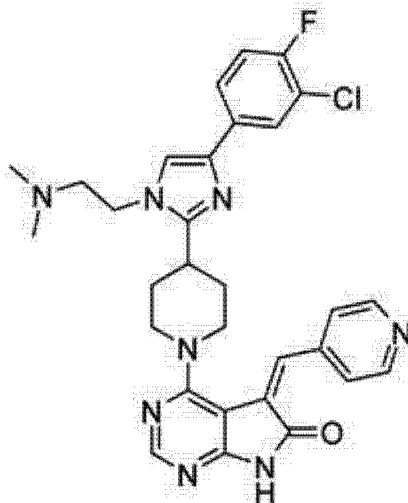


[0477] 合并 {2-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-异丙基-甲基-胺三盐酸盐(265 微摩尔;138 毫克);4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(1.3 当量;344 微摩尔;58.4 毫克);氮饱和 DMF (1 毫升)和 TEA (10 当量;2.65 毫摩尔;369 微升)并在微波中加热至 160℃ 历时 30 分钟。蒸发和将该残留物溶解在 MeOH 中,加载到 10 g SCX 上;用 MeOH,随后 DCM 洗涤;用 2M NH₃/MeOH 洗脱。蒸发产生 189 毫克深红色残留物。将该残留物溶解在 7N NH₃/MeOH 中并在压力容器中在 50℃ 下搅拌 4 小时并蒸发。该残留物在 40 克硅胶上用 5-10 % MeOH/DCM 提纯两次以提供 26.3 毫克(0.047 毫摩尔;18%)游离碱形式的标题化合物。溶解在 DCM 中并加入 2 当量(23.5 微升)4M HCl/二氧杂环己烷,蒸发提供 27.9 毫克标题化合物。MS (ES⁺): m/z = 560 (M+H)。

[0478] 实施例 22

[0479] 4-{4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-吡啶-4-基亚甲基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮

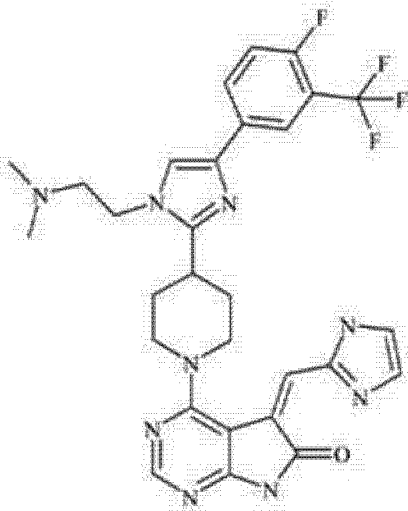
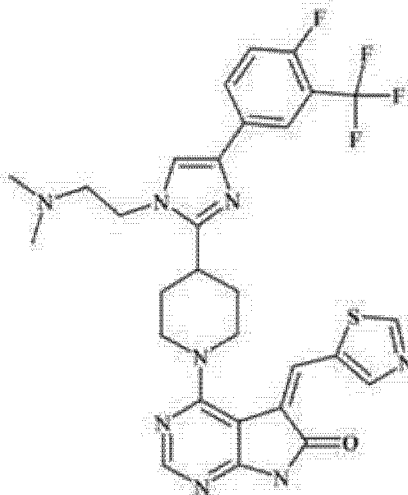
[0480]



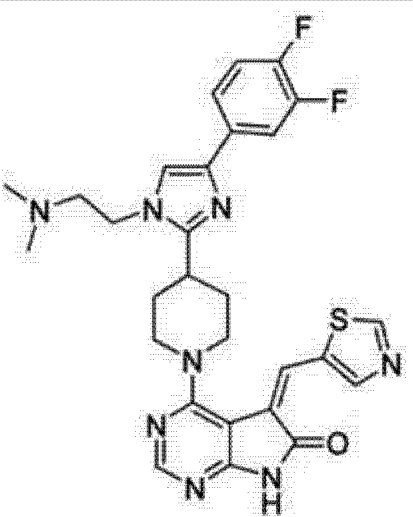
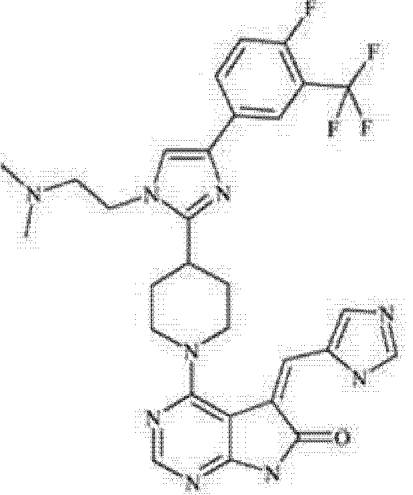
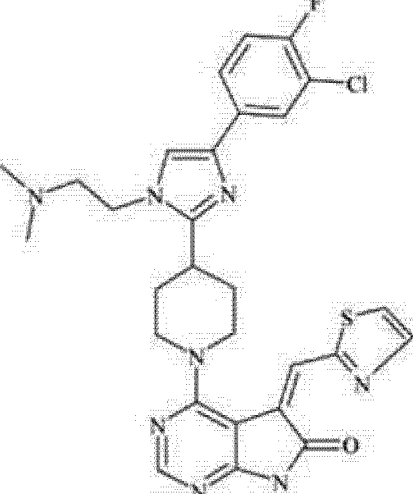
[0481] 合并 {2-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-2-哌啶-4-基-咪唑-1-基]-乙基}-二甲基-胺三盐酸盐(0.5 克;0.0013 摩尔;1.0 当量);4-氯-5-[1-吡啶-4-基-亚甲基]-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(0.34 克;0.0013 摩尔;1.0 当量);DIPEA(1.7 毫升;0.0098 摩尔;7.6 当量);2-丙醇(15 毫升)并在 80℃下微波 20 分钟。冷却并用水稀释。用 EA 萃取并用盐水洗涤。浓缩该粗制品并通过反相 HPLC 提纯以产生标题化合物,其为 E 和 Z 异构体的混合物(0.04 克;5.4%)。MS (ES⁺): m/z = 573 (M+H)。(注:所有烯烃化合物都是 E 和 Z 异构体的混合物)

[0482] 以类似于对 4-{4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-吡啶-4-基亚甲基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮描述的方式制备下列实施例。

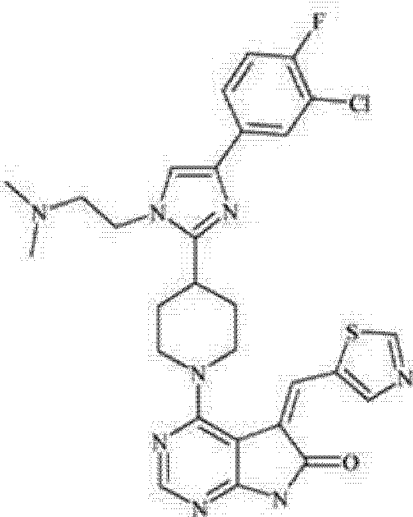
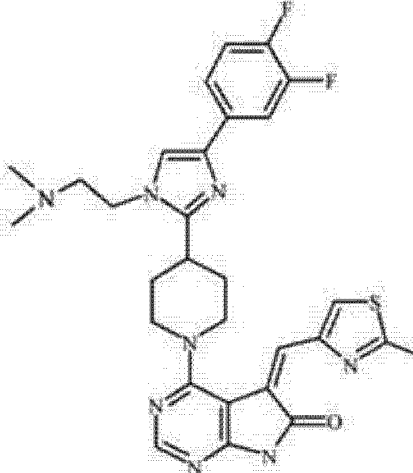
[0483]

实施例	化合物名	结构	MS (ES ⁺): m/z (M+H)
23	4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-(1H-咪唑-2-基亚甲基)-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		596
24	4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-噻唑-5-基亚甲基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		613

[0484]

25	4-{4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-噻唑-5-基亚甲基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		563
26	4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-(3H-咪唑-4-基亚甲基)-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		596
27	4-{4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-噻唑-2-基亚甲基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		579

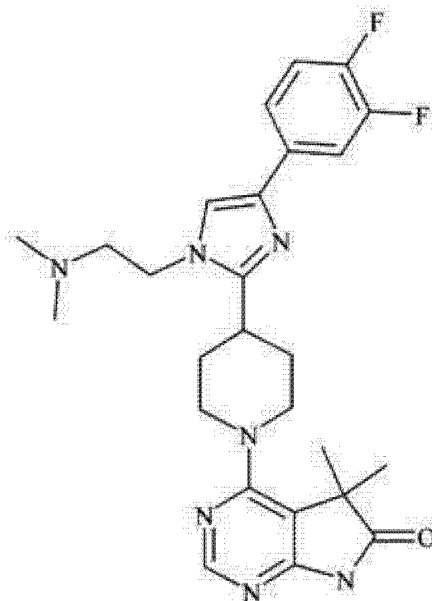
[0485]

28	4-{4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-噻唑-5-基亚甲基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		579
29	4-{4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-((2-甲基噻唑-4-基)亚甲基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮		578

[0486] 实施例 30

[0487] 4-{4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,5-二甲基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮

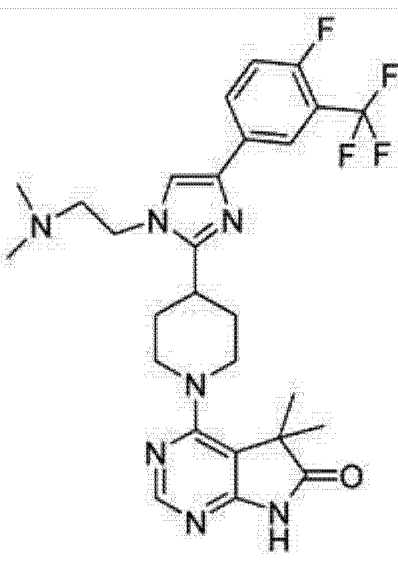
[0488]



[0489] 在 DMF (8.43 毫升) 中合并 2-(4-(3,4-二氟苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基-N,N-二甲基乙胺三盐酸盐(0.28 克;0.00064 摩尔)、4-氯-5,5-二甲基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(0.15 克;0.00076 摩尔)、TEA (0.74 毫升;0.0053 摩尔)并在微波中在 150℃ 下加热 3 小时;冷却至 RT 并在真空下蒸发。用饱和碳酸氢钠溶液淬灭该反应并用 EA 萃取。蒸发 EA 层并在填满 DCM 的二氧化硅柱(60-120 目)上首先用 2 体积 10% 丙酮/DCM,接着用 1-5% MeOH/DCM 作为洗脱剂提纯以产生标题化合物(0.05g;15.92%)。MS (ES+): $m/z = 496$ (M+H)。

[0490] 以类似于对 4-{4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,5-二甲基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮描述的方式制备下列实施例:

[0491]

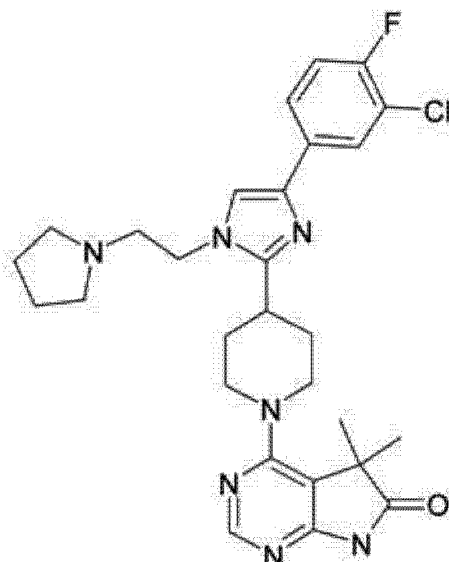
实施例	化合物名	结构	MS (ES+) m/z (M+1)
31	4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,5-二甲基-5,7-二氢吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		546

。

[0492] 实施例 32

[0493] 4-{4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,5-二甲基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮

[0494]



[0495] 将4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶三盐酸盐(0.3克;0.00062摩尔)、4-氯-5,5-二甲基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(0.16克;0.0008摩尔)、1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯(DBU,0.76毫升;0.0051摩尔)合并到IPA(10毫升)中并在120℃下搅拌16小时;冷却并浓缩。用饱和碳酸氢钠溶液淬灭该反应并用EA萃取。蒸发EA层并通过柱色谱法使用0-5% MeOH/DCM作为洗脱剂提纯以提供标题化合物(0.045克;13.5%)。MS (ES⁺): m/z = 538 (M+1)。

[0496] 以类似于对4-[4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基]-5,5-二甲基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮描述的方式制备下列化合物:

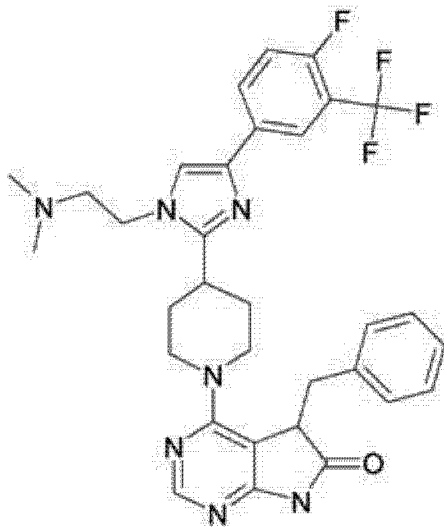
[0497]

实施例	化合物名	结构	MS (ES ⁺): m/z (M+1)
33	4-{4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,5-二甲基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		522

[0498] 实施例 34

[0499] 5-苄基-4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮

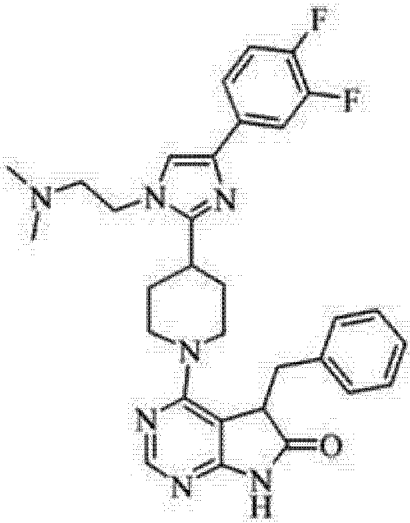
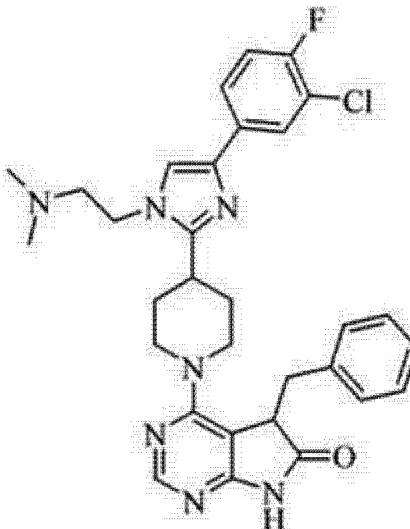
[0500]



[0501] 在乙醇(5毫升)中合并5-苄基-4-(4-(1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基)-哌啶-1-基)-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(0.3克;0.00050摩尔)、PtO₂/C(0.15克;0.00055摩尔)并在氢气气囊气氛下在80℃下搅拌16小时。将该反应冷却至RT,经Celite®过滤并浓缩。在硅胶柱上使用在DCM中的甲醇作为洗脱剂提纯以产生标题化合物(105毫克;35%)。MS (ES⁺): m/z = 608 (M+1)。

[0502] 以类似于对5-苄基-4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮描述的方式制备下列实施例:

[0503]

实施例	化合物名	结构	MS (ES+): m/z (M+1)
35	5-苄基-4-{4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		558
36	5-苄基-4-{4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		574

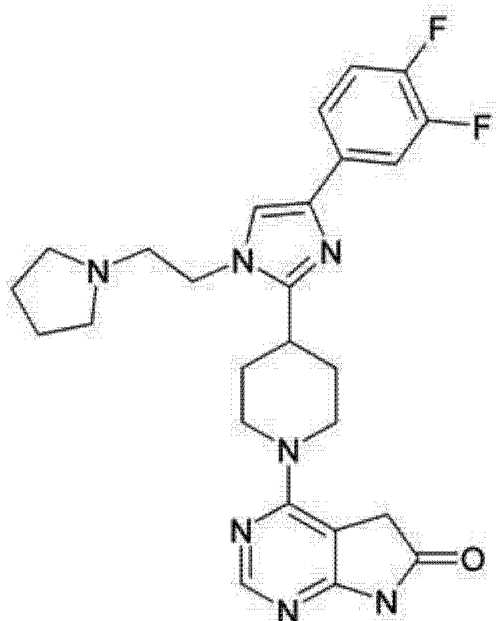
。

[0504] 实施例 37

[0505] 4-{4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮

[0506] 2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮

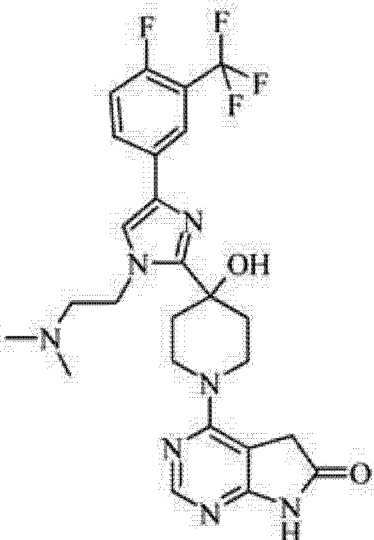
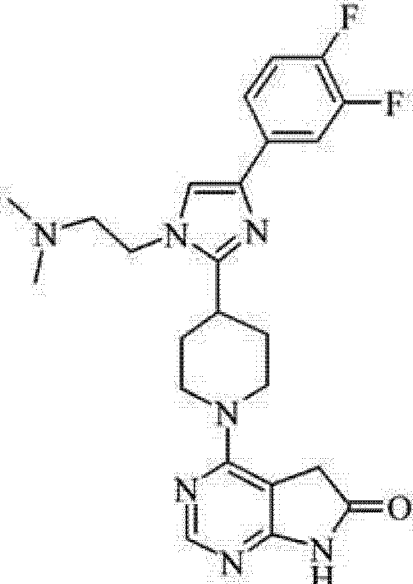
[0507]



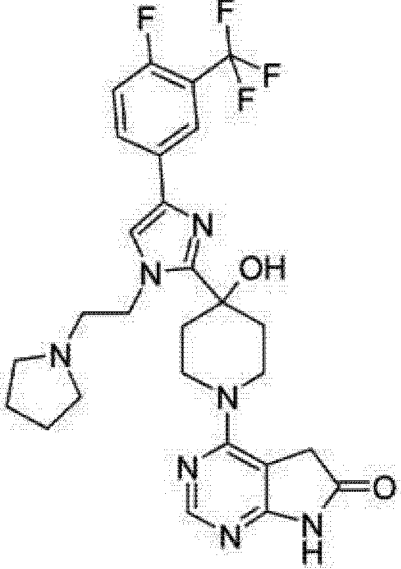
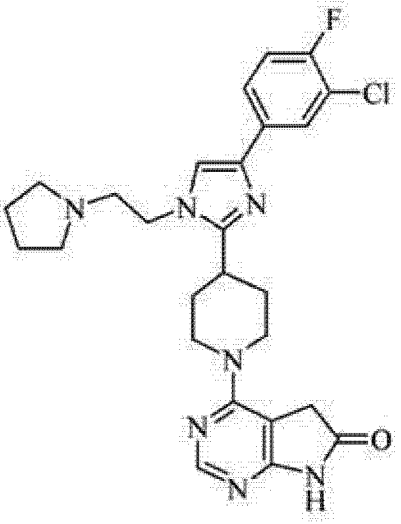
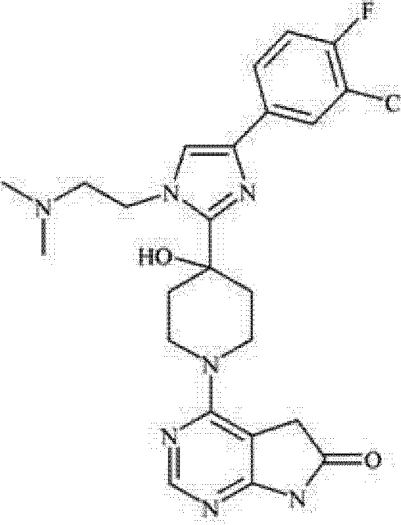
[0508] 将 4-(4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基)-哌啶三盐酸盐(0.3 克;0.00065 摩尔)、4-氯-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮(0.15 克;0.00083 摩尔)、DIPEA (1.00 毫升,0.0057 摩尔)合并到 IPA (9 毫升)中并在微波中在 80℃下加热 1 小时;冷却并浓缩。用饱和碳酸氢钠溶液淬灭并用 EA 萃取。蒸发 EA 并通过柱色谱法使用 0-10% MeOH/DCM 作为洗脱剂提纯以产生标题化合物(0.05 克;15.67%)。MS (ES⁺): m/z = 494 (M+1)。

[0509] 以类似于对 4-{4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮描述的方式制备下列实施例:

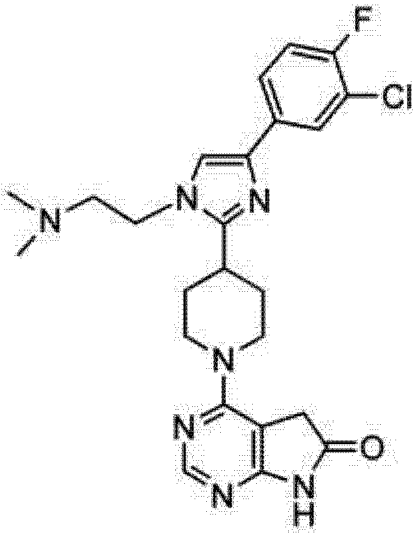
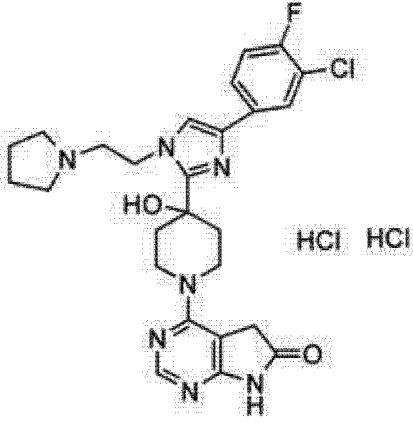
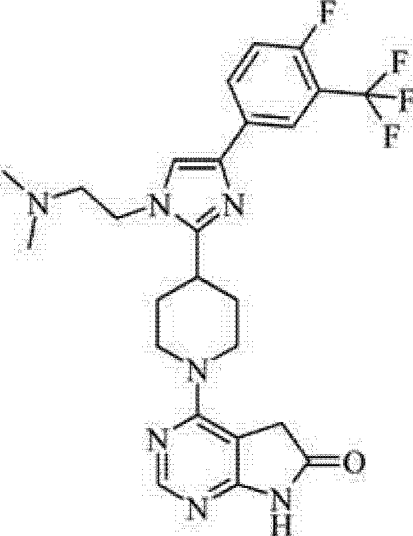
[0510]

实施例	化合物名	结构	MS (ES+) m/z (M+1)
38	4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-4-羟基-哌啶-1-基]-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		534
39	4-{4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基]-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		468

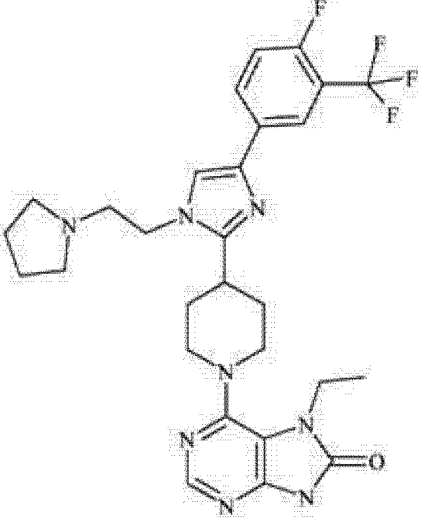
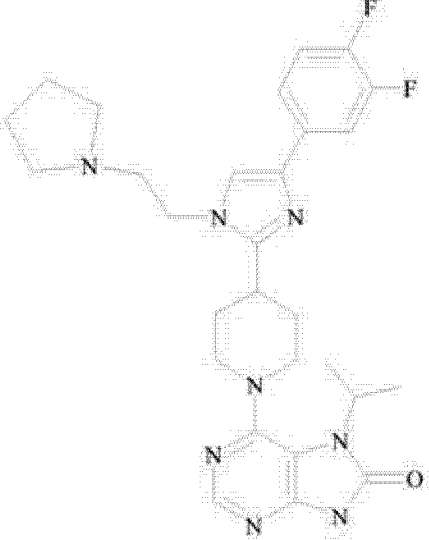
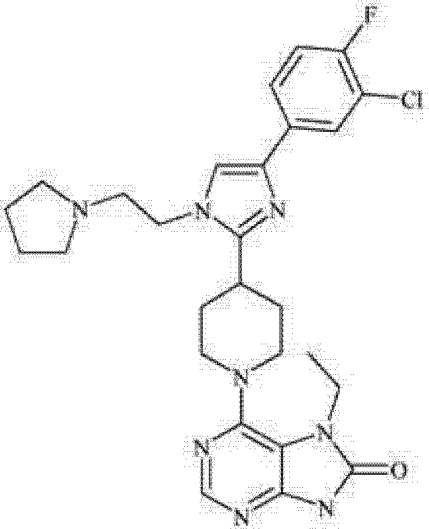
[0511]

40	4-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-4-羟基-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		560
41	4-{4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		510
42	4-{4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-4-羟基-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		500

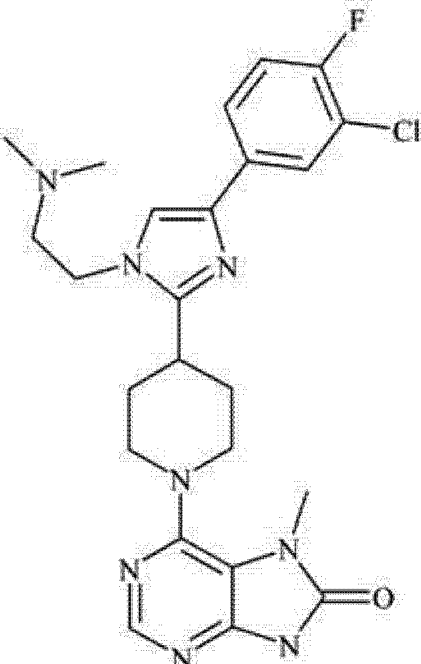
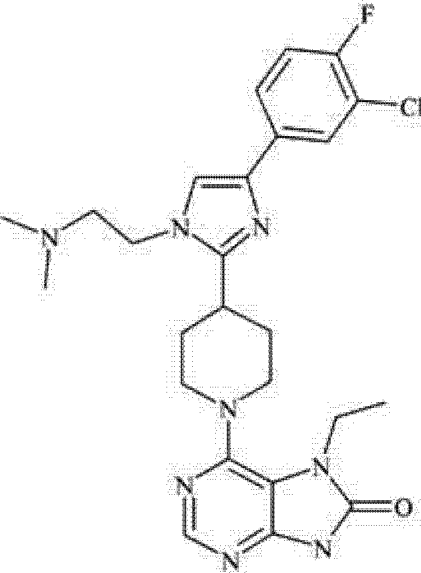
[0512]

43	4-{4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		484
44	4-{4-[4-(3-氯-4-氟-苯基)-1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-4-羟基-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮二盐酸盐	 HCl HCl	526
45	4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		518

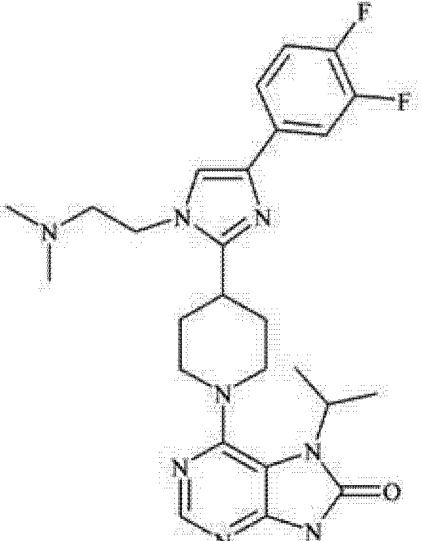
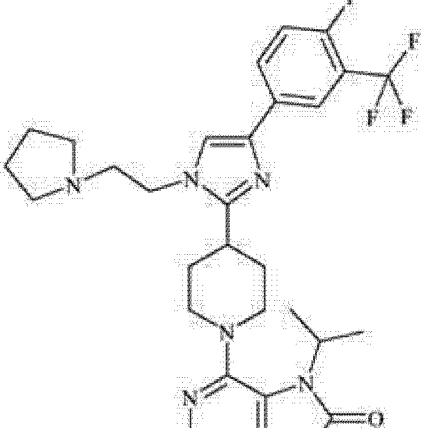
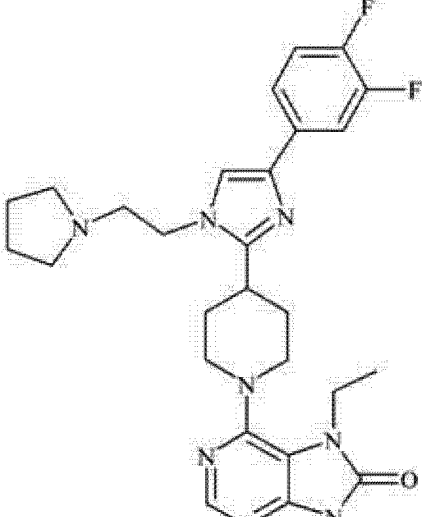
[0513]

46	7-乙基-6-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7H-嘌呤-8(9H)-酮		573
47	6-{4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-异丙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮		537
48	6-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-乙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮		540

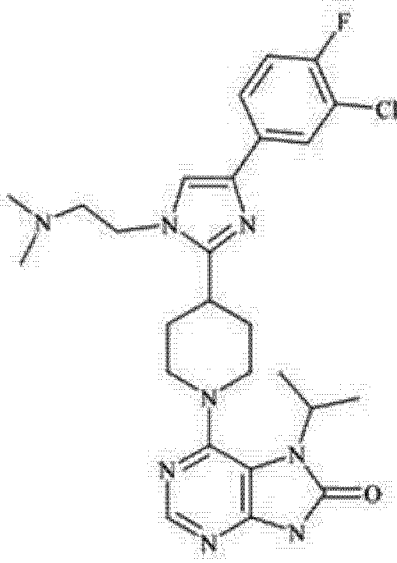
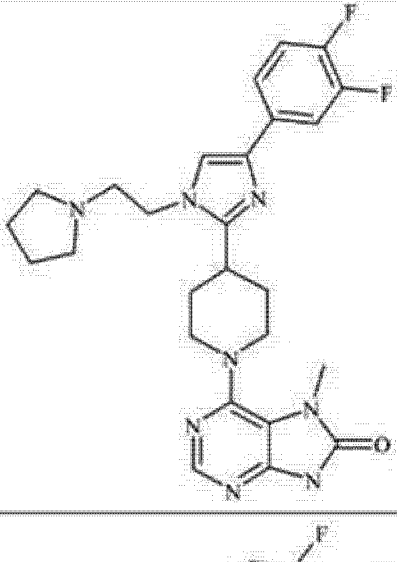
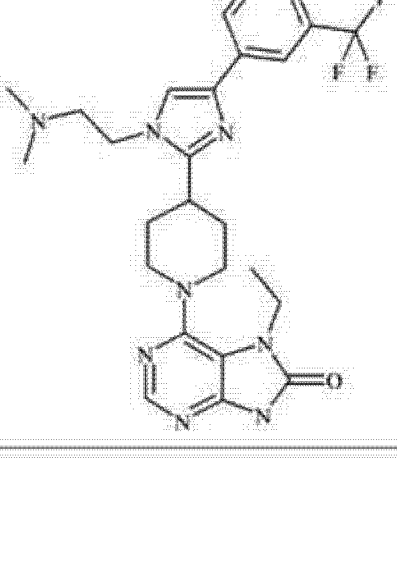
[0514]

49	6-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-甲基-7H-嘌呤-8(9H)-酮		500
50	6-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-乙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮		514

[0515]

51	6-{4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-异丙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮		511
52	6-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-异丙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮		587
53	6-{4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-乙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮		523

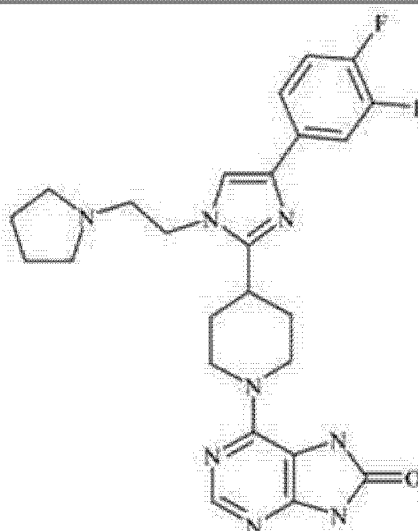
[0516]

54	6-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-异丙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮		528
55	6-{4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-甲基-7H-嘌呤-8(9H)-酮		509
56	6-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-乙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮		547

[0517]

57

6-{4-[4-(3,4-二氟
苯基)-1-(2-(吡咯烷
-1-基)乙基)-1H-咪
唑-2-基]-哌啶-1-
基}-7H-嘌呤-
8(9H)-酮



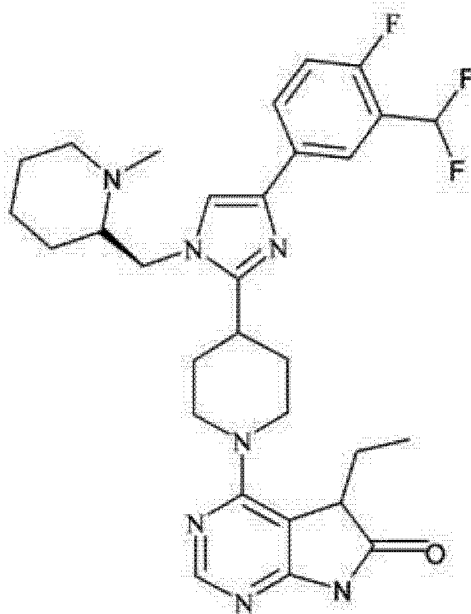
495

。

[0518] 实施例 57a

[0519] 4-{4-[4-(3-二氟甲基-4-氟苯基)-1-(((R)-1-甲基哌啶-2-基)甲基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-乙基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮

[0520]



[0521] 在压力管中合并 (R)-2-((4-(3-(二氟甲基)-4-氟苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)甲基)-1-甲基哌啶 (0.8 克, 0.0018 摩尔, 1.0 当量); 4-氯-5-乙基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮 (0.425 克, 0.00216 摩尔, 1.2 当量); DIPEA (2.3 毫升, 0.0126 摩尔, 7.0 当量) 和 IPA (15 毫升) 并在密封条件下在 120℃ 下加热整夜。冷却该反应物料并用水 (25 毫升) 稀释。在 EA (2 x 50 毫升) 中萃取并用盐水洗涤有机层 (2 x 50 毫升)。经无水硫酸钠干燥和浓缩该粗制化合物。经短二氧化硅垫 (100-200 目) 使用 0-8% MeOH-DCM 过滤该粗制品。浓缩粗制品的 LCMS 显示 70% 所需产物 ($m/z = 568$ [M+H])。经反相制备 HPLC 提纯以获得 0.055 克标题化合物。MS (ES+): $m/z = 568$ (M+H)。

[0522] 类似于对 4-{4-[4-(3-二氟甲基-4-氟苯基)-1-(((R)-1-甲基哌啶-2-基)甲

基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-乙基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮描述的方式制备下列实施例：

[0523]

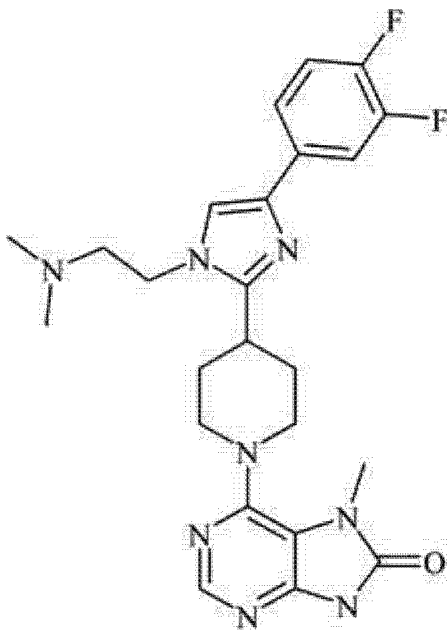
实施例	化合物名	结构	MS (ES+) m/z (M+1)
57b	(R)-6-{4-[4-(3-二氟甲基-4-氟苯基)-1-((1-甲基哌啶-2-基)甲基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-乙基-7H-嘌呤-8(9H)-酮		569

。

[0524] 实施例 58

[0525] 6-{4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-甲基-7,9-二氢-嘌呤-8-酮

[0526]



[0527] 在 NMP (9 毫升) 中合并 2-(4-(3,4-二氟苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)-N,N-二甲基乙胺·3HCl (0.3 克; 0.00068 摩尔)、6-氯-7-甲基-7,9-二氢-嘌呤-8-酮 (0.15 克; 0.00081 摩尔)、DIPEA (1.07 毫升; 0.0062 摩尔) 并在微波中在 150℃

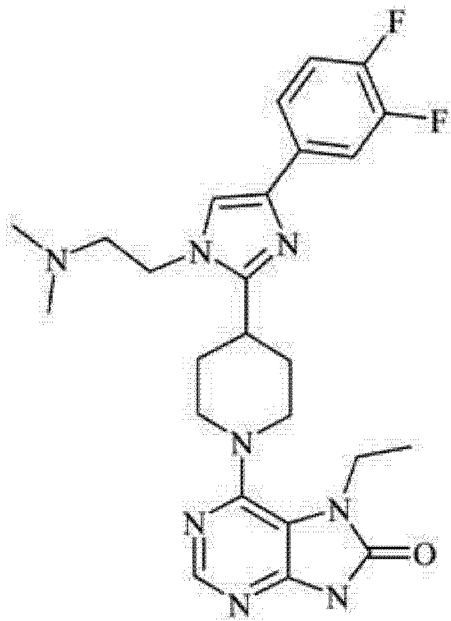
下搅拌 45 分钟。冷却,用饱和碳酸氢钠溶液淬灭该反应并用 EA 萃取。蒸发 EA 层并在硅胶上使用 DCM 和甲醇作为洗脱剂提纯以产生标题化合物(0.032 克;9.3 %)。

[0528] MS (ES⁺): m/z = 484 (M+1)。

[0529] 实施例 59

[0530] 6-{4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-乙基-7,9-二氢-嘌呤-8-酮

[0531]

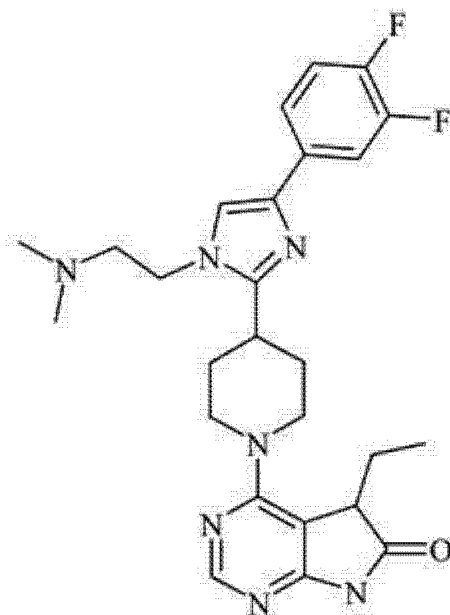


[0532] 在甲醇(5 毫升)中合并 2-(4-(3,4-二氟苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)-N,N-二甲基乙胺·3HCl(0.25 克;0.00057 摩尔);6-氯-7-乙基-7,9-二氢-嘌呤-8-酮(0.15 克;0.00074 摩尔);TEA (0.46 毫升;0.0033 摩尔)并在微波中在 160℃下加热 60 分钟。冷却,浓缩,用水淬灭并用 EA 萃取。蒸发 EA 层,用硅胶色谱法使用 0-10% MeOH/DCM 作为洗脱剂提纯该残留物以产生标题化合物(0.03 克,10%)。MS (ES⁺): m/z = 497 (M+1)。

[0533] 实施例 60

[0534] 4-{4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-乙基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮

[0535]



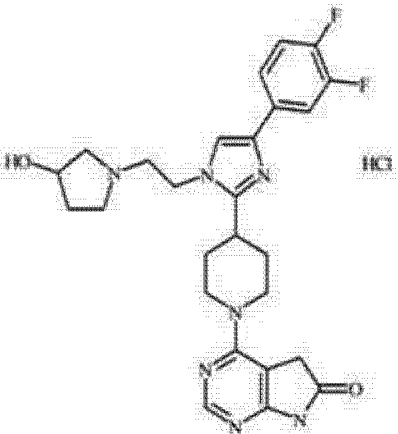
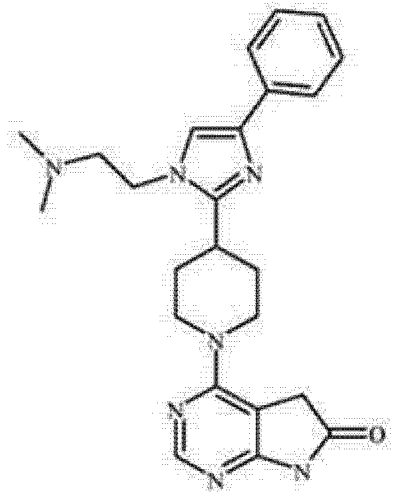
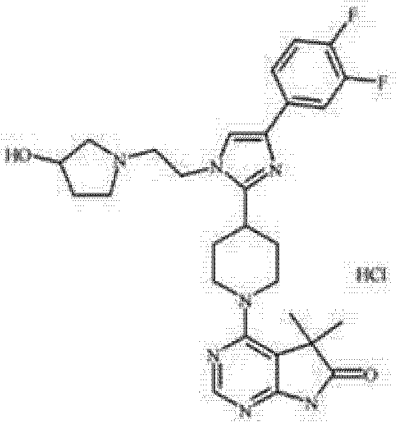
[0536] 在 IPA (10 毫升) 中合并 2-(4-(3,4-二氟苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)-N,N-二甲基乙胺 (0.35 克; 0.0010 摩尔; 1.0 当量)、4-氯-5-乙基-5,7-二氢-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-6-酮 (0.23 克; 0.0011 摩尔; 1.1 当量)、DIPEA (0.72 毫升; 0.0041 摩尔; 4.0 当量) 并在 90°C 下搅拌 16 小时。用软化水淬灭该反应并用 EA 萃取。蒸发有机层, 在硅胶柱上用 0-10% MeOH/DCM 提纯以产生标题化合物 (0.13 克; 24.13 %)。MS (ES⁺): m/z = 496 (M+H)。

[0537] 类似于对 4-{4-[4-(3,4-二氟-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-乙基-5,7-二氢-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-6-酮描述的方式制备下列实施例:

[0538]

实施例	化合物名	结构	MS (ES+): m/z (M+1)	反应条件
61	3-{1-[2-(二甲基氨基-乙基)-2-(1-(6-氧代-6,7-二氢-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基]-1H-咪唑-4-基}苯腈		457	在 100℃ 下 常规加热, 2 h
62	4'-(4-(4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-(二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-基)螺[环戊烷-1,5'-吡咯并[2,3-d]嘧啶]-6'(7H)-酮		522	常规 150℃, 20 h
63	4-{4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-(二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基)-哌啶-1-基]-5-甲基-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮		482	常规 100℃, 20 h

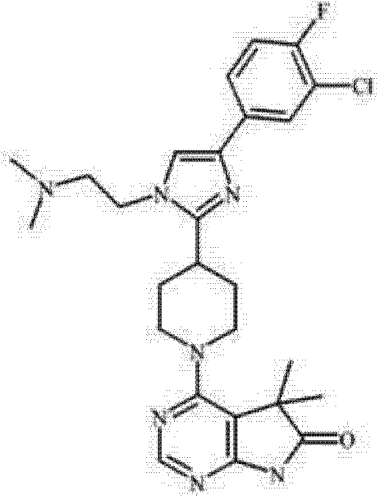
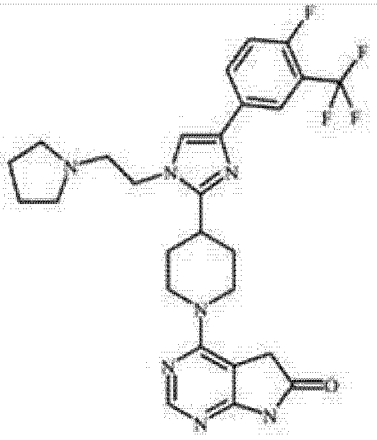
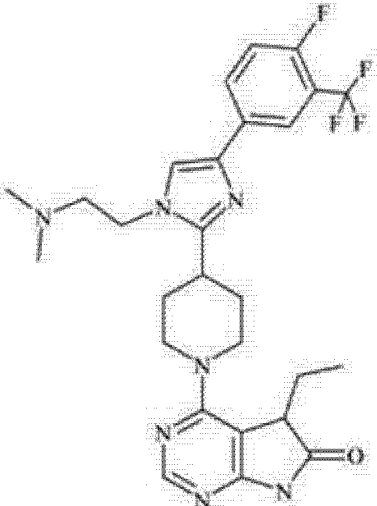
[0539]

64	4-{4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-(3-羟基吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基]-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮盐酸盐		510	常规 80°C, 20 h
65	4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-苯基-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基]-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮		432	常规 80°C, 6 h
66	4-{4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-(3-羟基吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基]-5,5-二甲基-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮盐酸盐		538	常规 80°C, 20 h

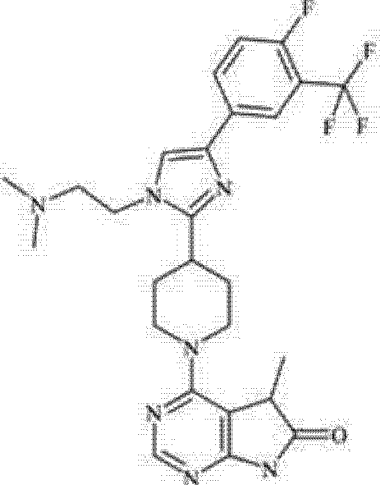
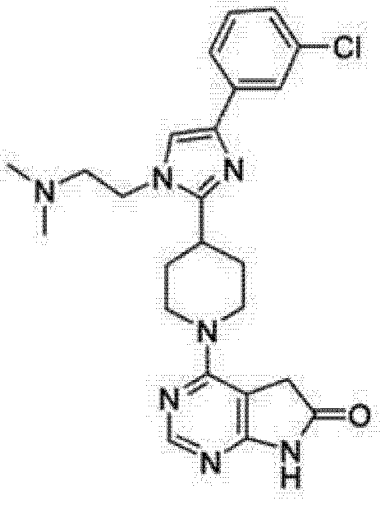
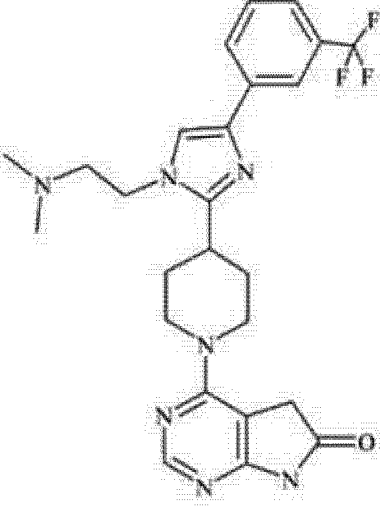
[0540]

67	4-{4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-((2-羟基乙基)(甲基氨基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基]-5,5-二甲基-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮		526	常规 130℃, 20 h
68	4-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基]-5,5-二甲基-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮		572	常规 150℃, 16 h
69	4-{4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-((2-羟基乙基)(甲基氨基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基]-5,5-二甲基-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮		498	常规 80℃, 16 h

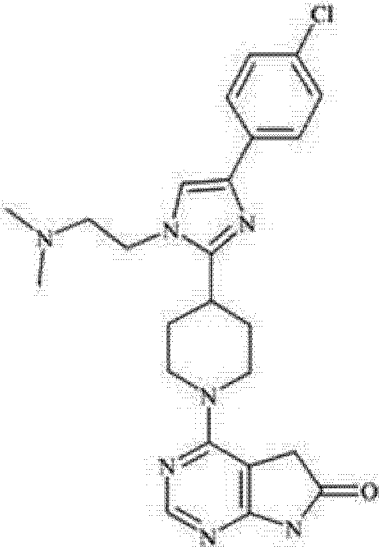
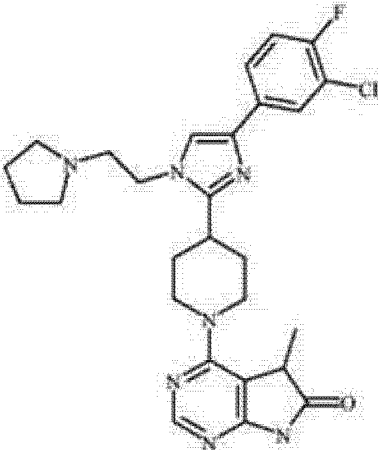
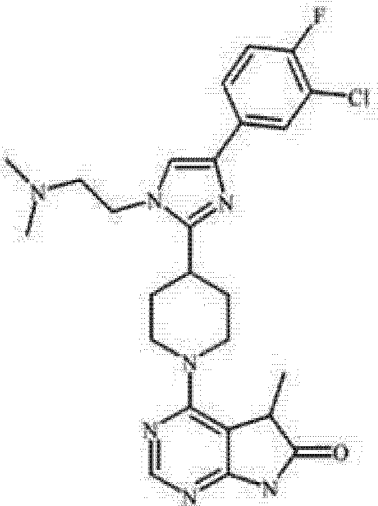
[0541]

70	4-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,5-二甲基-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮		512	微波 220℃, 2 h NMP, DBU
71	4-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮		544	微波 90 min, 80℃
72	4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-乙基-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		546	常规 110℃, 16 h

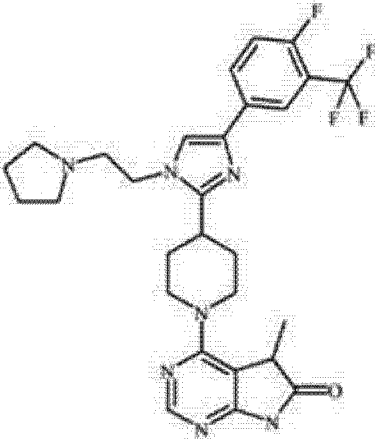
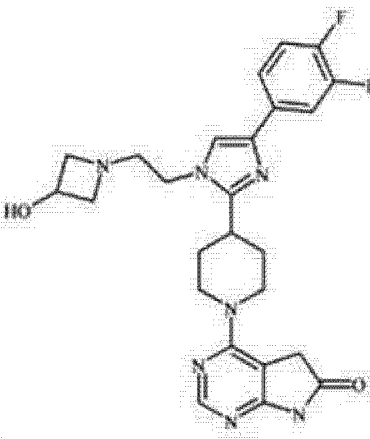
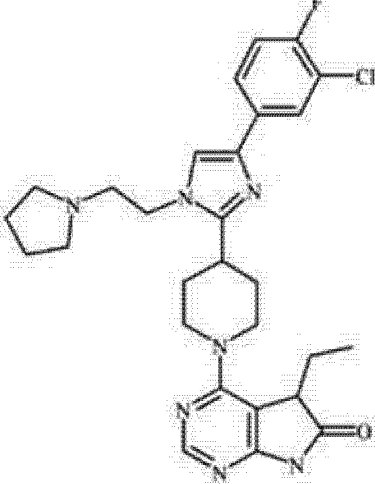
[0542]

73	4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		532	常规 150℃, 16 h
74	4-{4-[4-(3-氯-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		466	常规 80℃, 2 h
75	4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-酮		500	微波 135 ℃ (DMF 作为 溶剂), 20 min

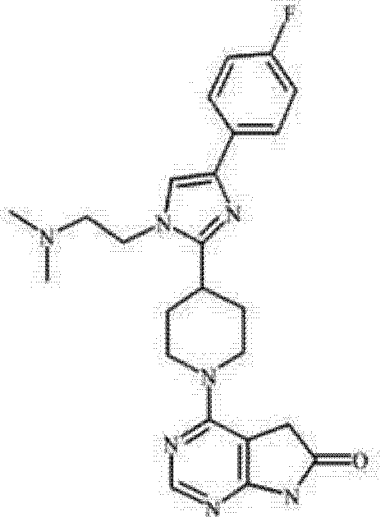
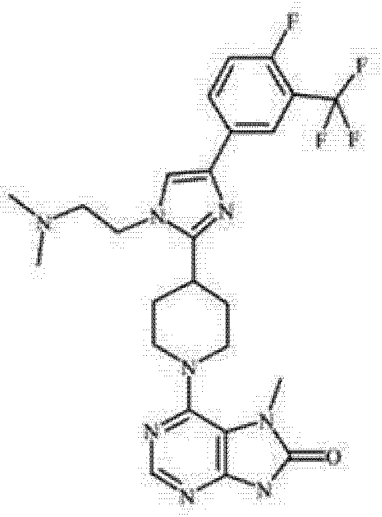
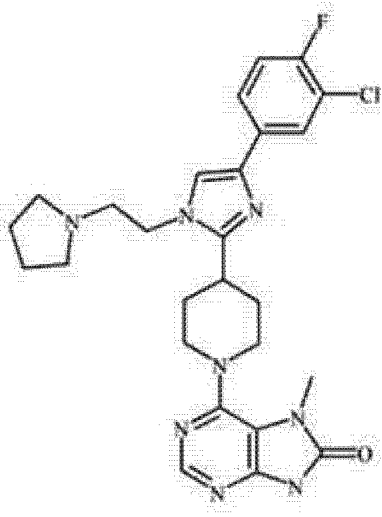
[0543]

76	4-{4-[4-(4-氯-苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]噻啶-6-酮		466	常规
77	4-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-甲基-5H-吡咯并[2,3-d]噻啶-6(7H)-酮		525	常规
78	4-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(2-二甲基氨基-乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-甲基-5H-吡咯并[2,3-d]噻啶-6(7H)-酮		499	常规

[0544]

79	4-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-甲基-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮		558	常规
80	4-{4-[4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮		496	常规
81	4-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5-乙基-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮		539	常规

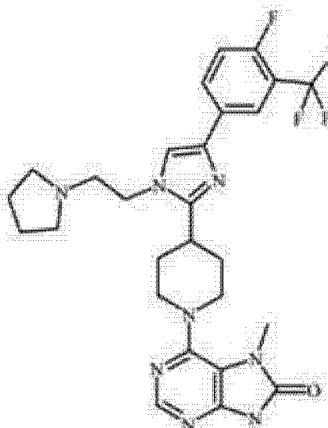
[0545]

82	4-{4-[1-(2-二甲氨基-乙基)-4-(4-氟苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮		450	常规
83	6-{4-[1-(2-二甲氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-甲基-7H-嘌呤-8(9H)-酮		533	常规
84	6-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-甲基-7H-嘌呤-8(9H)-酮		526	常规

[0546]

85

6-{4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1-(2-(吡咯烷-1-基)乙基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-基}-7-甲基-7H-嘌呤-8(9H)-酮



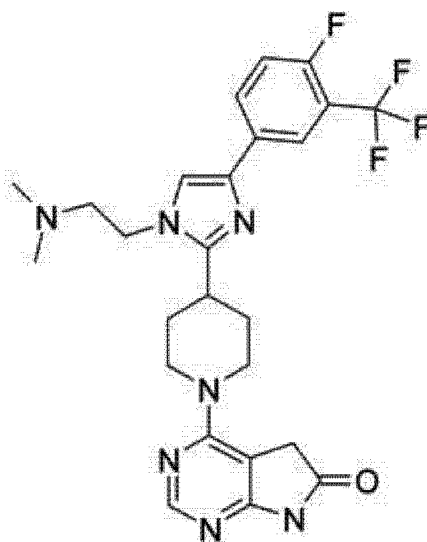
559

常规

[0547] 实施例 86

[0548] 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮

[0549]



[0550] 方法 A: 在压力管中装入 4-(4-(1-(2-(二甲基氨基)乙基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-基)-7-(4-甲氧基苄基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮(1.00 当量; 24.46 毫摩尔; 15.60 克)在 48% aq HBr (1.39 摩尔; 156.00 毫升)和乙酸(816.72 毫摩尔; 46.80 毫升)中的混合物。将该反应在 115°C 下搅拌 36 小时。在玻璃料上过滤,用水(100 毫升)洗涤固体。用 Na₂HPO₄ 溶液(10% w/w (312 毫升))沉淀滤液并在玻璃料上过滤以获得褐色固体。在真空下干燥固体并悬浮在 ACN 中,在玻璃料上过滤。将该固体再悬浮在 ACN (70 毫升)中并在玻璃料上过滤以获得乳白色固体状的标题化合物(11.05 毫摩尔; 5.72 克; 45.18%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): 10.96 (bs, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.02-7.98 (m, 2H), 7.75 (s, 1H), 7.48-7.41 (m, 1H), 4.55-4.47 (m, 2H), 4.05 (t, J= 6.4 Hz, 2H), 3.75 (s, 2H), 3.34-3.35 (m, 2H), 3.21-3.07 (m, 3H), 2.59 (t, J= 6.4 Hz, 2H), 2.21 (s, 6H), 1.83-1.73 (m, 2H)。

[0551] 方法 B: 在压力烧瓶中,装入 4-(4-(1-(2-(二甲基氨基)乙基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-基)-7-(2,4-二甲氧基苄基)-5H-吡咯并

[2, 3-d] 嘧啶 -6(7H)- 酮(1.00 当量 ;148.3 毫摩尔 ;99.0 克)在 TFA(1.98 摩尔 ;150 毫升)和苯甲醚(2.75 摩尔 ;300 毫升)中的混合物。在 120-125℃下搅拌 20 小时,随后在 140℃下搅拌 3 小时。冷却至 RT 并加入 DCM (2.5 升)和 H₂O (2.0 升)。用 0.5 N HCl (0.5 升)漂洗反应烧瓶。用 0.3 N HCl (500 毫升)萃取有机层。用 DCM (500 毫升)萃取合并的水层并用 0.1N HCl (500 毫升)萃取合并的有机层。该分离烧瓶含有焦油状残留物,用 DMF 将其从烧瓶中洗掉。用 DCM (4 升)搅拌含有产物的合并的含水酸层,添加 NaOH (50% 水溶液,130 毫升)将 pH 调节至 5。用 NaOH (5 N 水溶液,25 毫升)将该 pH 进一步调节至 11.5-12。分离层并用 DCM (2.5 升和 1.5 升)萃取水层两次。合并 DCM 层并用 15% NaCl 水溶液(2 升)洗涤。用 DCM (1 升)萃取水层。合并有机层并在真空中蒸发成灰色 / 粉色固体。用罐子(800 毫升)搅拌该固体并加热至 60℃以形成浆料。加入水(800 毫升)并在加热至 60℃。搅拌并达到室温。过滤,用 1:1 ACN: 水洗涤,随后用 ACN 洗涤。在玻璃料上过滤以获得浅粉色固体状的标题化合物(116 毫摩尔 ;60.05 克 ;78.3 %)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): 10.96 (bs, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.02-7.98 (m, 2H), 7.75 (s, 1H), 7.48-7.41 (m, 1H), 4.55-4.47 (m, 2H), 4.05 (t, J= 6.4 Hz, 2H), 3.75 (s, 2H), 3.34-3.35 (m, 2H), 3.21-3.07 (m, 3H), 2.59 (t, J= 6.4 Hz, 2H), 2.21 (s, 6H), 1.83-1.73 (m, 2H)。

[0552] 实施例 87

[0553] 结晶 4-{4-[1-(2- 二甲基氨基 - 乙基)-4-(4- 氟 -3- 三氟甲基 - 苯基)-1H- 咪唑 -2- 基] 嘧啶 -1- 基}-5,7- 二氢 - 吡咯并 [2, 3-d]- 嘧啶 -6- 酮半水合物的制备

[0554] 向配有搅拌棒的 20 毫升闪烁管中装入 211 毫克的 4-{4-[1-(2- 二甲基氨基 - 乙基)-4-(4- 氟 -3- 三氟甲基 - 苯基)-1H- 咪唑 -2- 基] 嘧啶 -1- 基}-5,7- 二氢 - 吡咯并 [2, 3-d]- 嘧啶 -6- 酮,接着 2 毫升 3:1 IPA/H₂O 溶剂混合物。用 12 毫克半水合物晶种(参见下列制备)接种该悬浮液。在室温下搅拌(~600 RPM)大约 4 天。通过真空过滤分离该产物。

[0555] 半水合物晶种的制备:

[0556] 向配有搅拌棒的 20 毫升闪烁管中装入 134 毫克 4-{4-[1-(2- 二甲基氨基 - 乙基)-4-(4- 氟 -3- 三氟甲基 - 苯基)-1H- 咪唑 -2- 基] 嘧啶 -1- 基}-5,7- 二氢 - 吡咯并 [2, 3-d]- 嘧啶 -6- 酮,接着 13 毫升 THF。在 50℃上加热下搅拌(~600 RPM)所得浆料~15 分钟直至出现溶解。使用 0.25 μm 过滤器过滤该温溶液。向该温溶液中逐滴加入 5 毫升庚烷直至存在混浊。再加入 2 毫升庚烷以提高收率并将该溶液自然冷却至室温。通过真空过滤分离产物。

[0557] X- 射线粉末衍射:

[0558] 在配有 CuKα 源(λ=1.54056 Å)和 Vantec 检测器并在 40 kV 和 50 mA 下运行的具有 0.6 mm 散度和检测器狭缝的 Bruker D4 Endeavor X- 射线粉末衍射仪上进行 X- 射线粉末衍射分析。在室温下进行该分析。以 2θ 从 4° 至 40° 以 0.009 的 2θ 的步长和 0.2 秒 / 步的扫描速率扫描样品。

[0559] 结晶 4-{4-[1-(2- 二甲基氨基 - 乙基)-4-(4- 氟 -3- 三氟甲基 - 苯基)-1H- 咪唑 -2- 基] 嘧啶 -1- 基}-5,7- 二氢 - 吡咯并 [2, 3-d]- 嘧啶 -6- 酮半水合物以包含在 7.4、14.9、21.1、19.8 和 10.5 (± 0.1° 2θ) 的峰的 X- 射线粉末衍射图为特征。

[0560] ¹³C 固态 NMR:

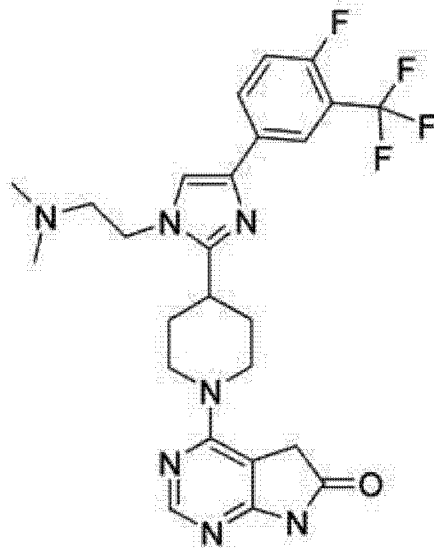
[0561] 使用在 100.622 MHz 的碳频率下运行并配有 Bruker 4mm 双共振探针的 Bruker Avance II 400 MHz NMR 能谱仪获得 ^{13}C 交叉极化 / 魔角旋转 (CP/MAS) NMR (固态 NMR 或 SSNMR) 谱。TOSS 边带抑制与使用 SPINAL64 去耦 (95.4Watts) 和 RAMP100 成型 H-核 CP 脉冲的交叉极化一起使用。采集参数如下: 90° 质子 r.f. 脉冲宽度 2.5 μs , 接触时间为 0.5 ms, 脉冲重复时间 5 s, MAS 频率 10 kHz, 谱宽 30 kHz, 采集时间为 34 ms。化学位移参照在单独实验中的金刚烷 ($\delta = 29.5$ ppm)。

[0562] 结晶 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮半水合物以包含在 179.8、156.9、151.9、137.5 和 33.8 ppm 的共振的 SSNMR 谱为特征。

[0563] 实施例 88

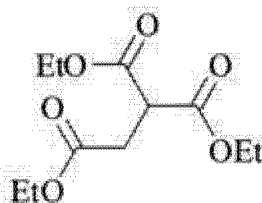
[0564] 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮

[0565]



[0566] 乙烷-1,1,2-三羧酸三乙酯:

[0567]

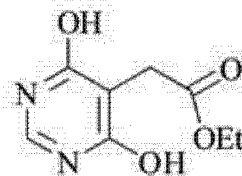


[0568] 将 400 升丙酮装入反应器。装入 71.17 千克粉状碳酸钾,使温度保持在 25-30 $^\circ\text{C}$ 。将 55 千克丙二酸二乙酯在搅拌下装入反应器,使温度保持在 25-30 $^\circ\text{C}$ 。将该反应加热 55-60 $^\circ\text{C}$ 2.5 小时。将该反应冷却至 50-54 $^\circ\text{C}$ 并将 5.225 千克碘化钠缓慢添加到该反应器中,使温度保持在 52-54 $^\circ\text{C}$ 。缓慢加入 71.5 千克溴乙酸乙酯,使温度保持在 52-54 $^\circ\text{C}$ 。搅拌 12-14 小时,使温度保持在 55-60 $^\circ\text{C}$ (回流)。将该反应冷却至 10-15 $^\circ\text{C}$,过滤该反应物料并用 110 升丙酮(在 10-15 $^\circ\text{C}$ 下)洗涤所得滤饼。将该滤液装入反应器,加热至 45-50 $^\circ\text{C}$ 并浓缩直至看不到馏出物。对浓缩的馏出物施加真空并在真空 (0.4-0.5 mmHg) 下以 80 $^\circ\text{C}$ 的外部温度蒸馏过量的未反应丙二酸二乙酯。将温度提高至 135 $^\circ\text{C}$ 并蒸馏产物以提供 45.5 千克三

乙基乙烷-1,1,2-三羧酸酯(53.72%),通过 GC,纯度为 93.2%。

[0569] 2-(4,6-二羟基嘧啶-5-基)乙酸乙酯:

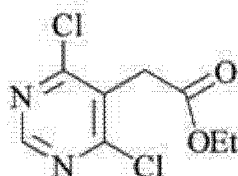
[0570]



[0571] 将 394.5 升甲醇在室温下装入反应器。将 0.3682 千克甲醇钠在室温下装入反应器,接着装入乙烷-1,1,2-三羧酸三乙酯(93.31 千克)。在室温下搅拌 3 小时。将该反应加热至 40-50°C 并在真空下完全馏出甲醇。将 263 升甲醇在 40-50°C 下装入反应器并在真空下在 40-50°C 下完全馏出甲醇。将 263 升甲醇在 40-50°C 下装入反应器,缓慢冷却至 10-15°C 以促进结晶。装入 54.54 千克甲醇钠,使温度保持在 10-15°C。将该反应缓慢加热至 RT 并搅拌 1 小时。将 26.3 千克乙酸甲脒在室温下装入反应器,并缓慢提高该反应物料的温度至回流(65-68°C)。通过使温度保持在 65-68°C,搅拌 2-9 小时。将反应温度缓慢降至 10-15°C 并通过缓慢添加 HCl 甲醇溶液(15-18%)来将反应 pH 调节至 1.5-2.0,使温度保持在 10-15°C。将该反应冷却至 0-5°C 并保持 1 小时。在 0-5°C 下经离心机过滤所得固体并将湿滤饼旋转干燥 30 分钟。用 26.3 升冷甲醇(0-5°C)洗涤湿滤饼并将湿滤饼旋转干燥 30 分钟。在真空下在 40-45°C 下干燥该材料以提供固体状的 2-(4,6-二羟基嘧啶-5-基)乙酸乙酯(35.65 千克,76.6%)。

[0572] 2-(4,6-二氯嘧啶-5-基)乙酸乙酯:

[0573]



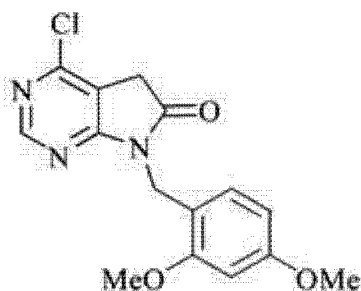
[0574] 将 525 升甲苯和 2-(4,6-二羟基嘧啶-5-基)乙酸乙酯(35 千克)在室温下装入反应器。将该反应冷却至 10-15°C 并在使温度保持在 10-15°C 的同时装入 87.5 千克三氯氧化磷。将反应器内容物冷却至 0-5°C 并在使温度保持在 0-5°C 的同时将 38.5 千克 TEA 装入反应器。加热至回流(110-115°C)并搅拌 3 小时。在 110-115°C 下在大气压下从该反应中馏出 175 升甲苯。在 45-50°C 下装入 175 升甲苯,随后在 110-115°C 下在大气压下馏出与装入量相同体积的甲苯。将该反应物料冷却至 20-22°C 并在使温度保持在 20-22°C 的同时装入 175 升水。在 20-22°C 下搅拌 15 分钟。通过 hyflo 从反应器中过滤所得深棕色乳状液(有机层)并收集滤液。用 157.5 升甲苯洗涤该 hyflo 床。将底部水层与顶部有机层分离。

[0575] 用 105 升甲苯洗涤水层,合并有机层。用 175 升 3% 氢氧化钠溶液(2x)洗涤合并的有机层。用 175 升水(2x)随后用 15% 盐水溶液(175 升)洗涤有机层。装入 175 升 15% 盐水溶液。通过使温度保持在 45-50°C,在真空下完全蒸馏有机层。将 35 升己烷加入反应物料,同时使温度保持在 45-50°C,并蒸馏该反应(2x)。

[0576] 将该反应冷却至 0-5°C 并过滤所得固体。在真空下干燥该材料以提供黄色固体状的 2-(4,6-二氯嘧啶-5-基)乙酸乙酯(25 千克,59.5%)。

[0577] 4-氯-7-(2,4-二甲氧基苄基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮:

[0578]



[0579] 将 175 升 DMF 和 2-(4,6-二氯嘧啶-5-基)乙酸乙酯(25 千克)在室温下装入反应器。将 17.55 千克 DIPEA 经 5-10 分钟装入反应器,同时使温度保持在 25-28℃。将反应器内容物冷却至 10-15℃并将该反应搅拌 5-10 分钟。通过使温度保持在 10-15℃,将 20.8 千克 2,4-二甲氧基苄胺装入反应器。将该反应缓慢加热至 60-65℃并搅拌 3 小时。将该反应缓慢冷却至 25-28℃并在使温度保持在 10-15℃的同时将 250 升水装入反应器。将该反应物料搅拌 10-15 分钟,随后将该反应加热至 25-28℃。将 125 升 DCM 加入该反应,搅拌 15 分钟并分离层。用 75 升 DCM 洗涤水层。用 75 升 1N HCl 溶液,接着水(100 升),最后用 15% 盐水(100 升)洗涤合并的有机层。在真空下在 45-50℃下蒸馏有机层。将 50 升己烷在 45-50℃下加入该反应并在真空下在 45-50℃下蒸馏该反应(2x)。将该反应冷却至 0-5℃并搅拌 30 分钟。过滤所得固体并用 50 升冷正己烷(0-5℃)洗涤湿滤饼。在真空下在 40-45℃下干燥所得固体。将甲苯(375 升)、干燥固体和 1.025 千克对甲苯装入反应器。将该反应加热至 85-90℃历时 2 小时。将该反应冷却至 80-85℃并通过添加 10% 碳酸氢钠溶液来将 pH 调节至 6.5-7.0。在真空下在 45-50℃下蒸馏该反应。将反应器内容物冷却至 25-28℃,将 3X 升甲苯加入该反应并加热至 85-90℃。搅拌 1 小时,随后将反应器内容物冷却至 25-28℃。进一步冷却至 0-5℃并过滤固体。用 75 升冷甲苯(0-5℃)洗涤湿滤饼。用 75 升冷水(0-5℃)将该固体制浆并过滤。用 37.5 升冷水(0-5℃)洗涤湿滤饼并在真空下在 40-45℃下干燥该材料以提供 4-氯-7-(2,4-二甲氧基苄基)-5H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6(7H)-酮(26.5 千克,73% 收率,通过 HPLC,98.89% 纯度)。

[0580] 2-氨基-1-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)乙酮,4-甲基苯磺酸酯:

[0581] 在冰浴中将 2-溴-1-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)乙酮(通过 HPLC,93% 纯度,1000 克;3.51 摩尔)和 THF (5 升)冷却至 <5℃。在 <5℃下经 1 小时逐滴加入叠氮化钠(239 克;3.68 摩尔,1.05 当量)在水(800 毫升)中的溶液。在 <5℃下搅拌 1 小时后,分离和弃置水层。在仍冷时,将有机层经 3 小时缓慢添加到三苯膦(920.2 克,3.51 摩尔,1.0 当量)、一水合对甲苯磺酸一水合物(1335 克,7.02 摩尔,2.0 当量)和 THF (5 升)的溶液中。在这种添加全程中使温度保持在 <15℃,固体在该添加过程中沉淀。将该反应混合物在 <20℃下搅拌 2 小时,随后过滤固体,用 THF (3 x 2 升)洗涤,并在 50℃下在真空下干燥以产生 1167.4 克(85%,针对原材料纯度校正量 92%)白色结晶固体状的 2-氨基-1-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)乙酮,4-甲基苯磺酸酯。HRMS (ESI) m/z (M+H) 222.0531, C₉H₈F₄NO 计算值 222.0537。

[0582] 4-(2-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-氧代乙基氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯:

[0583] 合并 2-氨基-1-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)乙酮, 4-甲基苯磺酸酯(1133 克; 2.88 摩尔)、哌啶-1, 4-二羧酸单-叔丁酯(795 克; 3.47 摩尔, 1.20 当量)、THF(3450 毫升)和 EA (7500 毫升)以形成白色稀浆料。在冰浴中将该浆料冷却至 $< 5^{\circ}\text{C}$ 并加入 2-丙膦酸酐(T_3P) (在 EtOAc 中的 50% 溶液)(2385 克; 3.75 摩尔, 1.3 当量)。随后经 1 小时加入 NMM (795 毫升; 7.21 摩尔, 2.5 当量), 使该温度保持 $< 10^{\circ}\text{C}$ 。将所得浆料升温至环境温度并搅拌 2 小时。通过添加水来淬灭该反应。分离有机相, 随后用 NaHCO_3 水溶液、 NaCl 水溶液洗涤。在旋转蒸发器上将有机相升温至 50°C 并加入正庚烷。在真空下蒸馏溶剂直至最终浆料体积为大约 5 升。将该浆料冷却至 RT 并过滤固体, 用正-庚烷(2 x 1L)洗涤, 随后在真空炉中在 50°C 下干燥整夜, 产生白色固体状的 4-(2-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-氧代乙基氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(1124.8 克, 90%)。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO): 8.37-8.26 (m, 3H), 7.74-7.68 (m, 1H), 4.61 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.91 (d, $J = 12.9$ Hz, 2H), 2.75-2.64 (m, 2H), 2.46-2.37 (m, 1H), 1.69-1.60 (m, 2H), 1.39 (s, 12H)。

[0584] 4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯:

[0585] 合并 4-(2-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-氧代乙基氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(100 克, 231 毫摩尔)、乙酸铵(178.3 克; 2.31 摩尔, 10 当量)和甲醇(1000 毫升)。用于这种转化的反应器是盘绕的 1/16" I. D. 不锈钢管(炉中的管的总内体积为 541 毫升)。将该反应器在炉中加热至 140°C 。通过调节器将该管中的背压控制在 250 psig 以使溶液过热高于其标准沸点。将如上制成的溶液在压力下以 6.01 毫升/分钟泵过该加热管(在该加热管中提供 90 分钟的总停留时间)。在溶液离开该炉时, 在套管热交换器中将其冷却回 20°C 。一旦整个溶液经过该反应器(8 小时总加工时间), 将所得橙色溶液在真空下在 30°C 下浓缩至 600 毫升总体积。加入 ACN(200 毫升)并将该溶液加热至 50°C 。经 2 小时在接种下逐滴加入水(700 毫升)以使该产物结晶。将所得浆料冷却至 20°C 并过滤固体, 随后在水中的 20% MeOH (2 x 200 毫升)洗涤。在真空下在 50°C 下干燥所得固体。在 50°C 下将该固体在 ACN (200 毫升)中再制浆, 将该浆料冷却至环境温度, 过滤固体并用 ACN (100 毫升)洗涤以提供灰白色固体状的 4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(54.43 克, 132 毫摩尔, 57%)。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO): 12.01 (s, 1H), 8.08-8.04 (m, 2H), 7.70 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.49-7.43 (m, 1H), 3.99 (d, $J = 12.6$ Hz, 2H), 2.92-2.85 (m, 3H), 1.91-1.87 (m, 2H), 1.64-1.51 (m, 2H), 1.41 (s, 9H)。

[0586] 4-(1-(2-(二甲基氨基)乙基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯:

[0587] 在配有机机械搅拌器、氮气入口、干燥管和热电偶的 22 升 3 颈圆底烧瓶中装入 DMSO (1385 毫升)和 4-[4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]-哌啶-1-羧酸叔丁酯(206.71 克, 0.5 摩尔, 1 当量)。将所得悬浮液加热至 $43-48^{\circ}\text{C}$, 随后一次性加入氢氧化钠粉末(50 克, 1.25 摩尔, 2.5 当量)。将所得悬浮液在 $43-48^{\circ}\text{C}$ 下搅拌 1 小时。向这种悬浮液中加入 2-氯-N,N-二甲基乙胺盐酸盐(90 克, 0.625 摩尔, 1.25 当量)。将所得悬浮液搅拌 35-40 分钟。将该反应混合物冷却至 $18-23^{\circ}\text{C}$ 并加入冷水(227.4 毫升)。一旦水添加完成, 使反应混合物温度达到 $20-25^{\circ}\text{C}$, 搅拌 60-90 分钟并过滤该悬浮液。用 DMSO(103.4 毫升)和水(51.7 毫升)的混合物洗涤该固体两次。用水(2 X 517 毫升)洗涤该固体并在抽吸过滤器上干燥固体以提供褐色固体状的目标化合物(219.9 克, 87.5% 收率)。 ^1H NMR (300 MHz,

DMSO): 8.04–8.00 (m, 2H), 7.74 (s, 1H), 7.46 (t, J= 9.9 Hz, 1H), 4.06–3.99 (m, 4H), 3.03–2.93 (m, 3H), 2.57 (t, J= 6.3 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 1.81–1.77 (m, 2H), 1.70–1.55 (m, 2H), 1.42 (s, 9H)。

[0588] 2-(4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)-N,N-二甲基乙胺三盐酸盐:

[0589] 在配有机械搅拌器、热电偶和氮气入口的 1 升 3 颈圆底烧瓶中装入乙醇 (339.2 毫升) 并冷却至 -5 至 5℃。以使温度保持在 0–15℃ 的速率逐滴加入纯乙酰氯 (78.5 克, 1 摩尔, 5 当量)。将所得溶液冷却至 0–5℃ 并搅拌 30 分钟。经 5–10 分钟加入 4-(1-(2-(二甲基氨基)乙基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯 (96.9 克, 0.2 摩尔, 1 当量)。将反应溶液升温至 RT (发生结晶) 并将所得悬浮液在 RT 下搅拌 20–28 小时。一旦反应视为完成, 过滤该反应混合物并用乙醇 (3 x 58 毫升), 随后用庚烷 (2 x 96.9 毫升) 洗涤固体。在真空下在 35–40℃ 下干燥固体以提供浅褐色固体状的目标化合物 (105.13g, >100% 收率)。m/z (M+H): 385.2。

[0590] 4-(4-(1-(2-(二甲基氨基)乙基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-基)-7-(2,4-二甲氧基苄基)-5H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-6(7H)-酮:

[0591] 合并 2-(4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-2-(哌啶-4-基)-1H-咪唑-1-基)-N,N-二甲基乙胺三盐酸盐 (98.76 克, 1 当量)、DMSO (395 毫升) 和 4-氯-7-(2,4-二甲氧基苄基)-5H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-6(7H)-酮 (1.1 当量)。将所得悬浮液加热至 60–65℃, 随后加入 TEA (6 当量)。搅拌 6 小时。以流形式加入 DMSO (395 毫升) 和水 (150 毫升) 并将所得悬浮液在 45–38℃ 下搅拌 1 小时。过滤该浆料并用 DMSO (1 体积) 和水 (1 体积) 的混合物洗涤该固体两次。用水 (3 x 200 毫升)、甲醇 (3 x 200 毫升) 和庚烷 (3 x 200 毫升) 进一步洗涤该固体。在过滤器上干燥滤饼以提供褐色固体状的目标化合物 (106.5 克, 79.75% 收率)。¹H NMR (400 MHz, DMSO): 8.18 (s, 1H), 7.99–7.95 (m, 2H), 7.71 (s, 1H), 7.43–7.39 (m, 2H), 6.76 (d, J=7.1 Hz 1H), 6.54 (d, J= 2 Hz 1H), 6.38–6.35 (m, 1H), 4.67 (s, 2H), 4.49 (d, J= 13.1 Hz, 2H), 4.03 (t, J=6.52, 2H), 3.89 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.15–3.09 (m, 3H), 2.57 (t, J= 6.6 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H), 1.89–1.74 (m, 4H)。

[0592] 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并 [2,3-d]-嘧啶-6-酮三三氟甲磺酸:

[0593] 合并 4-(4-(1-(2-(二甲基氨基)乙基)-4-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑-2-基)哌啶-1-基)-7-(2,4-二甲氧基苄基)-5H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-6(7H)-酮 (1.00 当量; 1500 克) 在 DCM (10.125 升, 6.4 体积) 中的溶液。过滤除去不溶物并将该滤液冷却至 0–5℃。加入苯甲醚 (3.0 升), 接着 TFA (3.3 升)。将该溶液冷却至 0–5℃ 并搅拌整夜。经 10 分钟加入三氟甲磺酸 (3.3 升) (导致放热至 ~25℃) 并搅拌 10 分钟, 接着加热该混合物 ~30℃ 并搅拌 6 小时。将该反应冷却至 -18℃ 并加入水 (11.25 升)。将所得悬浮液搅拌 35 分钟并过滤。来自两个反应 (如实施例 86 中所述) 的所需悬浮液一起过滤并用水 (6 升) 和 DCM (2 x 6 升) 洗涤合并的固体。将该固体悬浮在水 (6 升) 和 DCM (12 升) 的混合物中并搅拌 30 分钟。过滤固体并用水 (4 x 3 升) 和 DCM (4 x 3 升) 洗涤以提供褐色固体状的产物 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌

啉-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮三三氟甲磺酸(4062克,93.5%收率)。¹H NMR (400 MHz, d6-DMSO): 11.32 (s, 1H), 9.50 (bs, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.14-8.18 (m, 1H), 7.75-8.12 (m, 1H), 7.76 (t, J=9.2 Hz, 1H), 4.55-4.67 (m, 4H), 3.85 (s, 2H), 3.58-3.65 (m, 3H), 3.16 (t, J= 12 Hz, 2H), 2.95 (s, 6H), 2.00-2.07 (m, 2H), 1.80-2.04 (m, 2H); ¹⁹F NMR (400 MHz, d6-DMSO): -60.13 (s, 3F、芳基-CF₃), -77.80 (s, 9F、3 x HOSO₂CF₃), -114.75 (bs, 1F、芳基-F)。

[0594] X-射线粉末衍射:在配有CuKα源(λ=1.54056 Å)和Vantec检测器并在35 kV和50 mA下运行的具有0.6 mm散度和检测器狭缝的Bruker D4 Endeavor X-射线粉末衍射仪上进行X-射线粉末衍射分析。在室温下进行该分析。以2θ从4°至40°以0.009的2θ的步长和0.5秒/步的扫描速率扫描样品。

[0595] 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮三三氟甲磺酸以包含在22.6、21.7、21.5、21.1、20.4、20.2、18.6、18.5、15.5、15.0和13.2 (±0.1° 2θ)的峰的X-射线粉末衍射图为特征。

[0596] ¹³C 固态 NMR:如实施例 87 中所述进行 ¹³C 固态 NMR。4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮三三氟甲磺酸以包含在176.9、155.4、150.0、148.0、94.6、57.7、36.4、32.0和27.4 ppm的共振的SSNMR谱为特征。

[0597] 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮一水合物:

[0598] 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮三三氟甲磺酸(4060克,4.2摩尔,1当量)用水(32.5升,8体积)制浆。加入50%氢氧化钠水溶液(1014克,3.1当量)并在室温下搅拌16小时(pH=7)。加入50%氢氧化钠水溶液(33.6克,0.1当量)并搅拌1小时(pH=9-10)。过滤所得浆料并用水(4.06升,1体积)洗涤。将固体悬浮在水(20.3升,5体积)中并搅拌1小时。过滤所得浆料并用水(4.06升,1体积)洗涤。将固体悬浮在水(20.3升,5体积)中并搅拌1小时。过滤所得浆料并用水(4.06升,1体积)洗涤。将固体悬浮在水(20.3升,5体积)中并搅拌1小时。在真空下在30-35°C下干燥固体以提供灰白色固体状的4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮一水合物(2087.9克,98.1%)。

[0599] ¹³C 固态 NMR:如实施例 87 中所述进行 ¹³C 固态 NMR。4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮一水合物以包含在164.9、150.7、138.3和61.6 ppm的共振的SSNMR谱为特征。

[0600] 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮:

[0601] 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮一水合物(2056克,1当量)

在 DCM (25.7 升) 中制浆。向该浆料中加入 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮 (14.4 克) 作为晶种并加热至回流 5 小时。将该反应冷却至 RT, 搅拌 30 分钟并过滤。用 DCM (2 x 4.11 升) 洗涤所得滤饼并在真空下在 37-42°C 下干燥该固体以提供灰白色固体状的 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮 (1840 克, 79.18% 收率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): 10.96 (bs, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.02-7.98 (m, 2H), 7.75 (s, 1H), 7.48-7.41 (m, 1H), 4.55-4.47 (m, 2H), 4.05 (t, J= 6.4 Hz, 2H), 3.75 (s, 2H), 3.34-3.35 (m, 2H), 3.21-3.07 (m, 3H), 2.59 (t, J= 6.4 Hz, 2H), 2.21 (s, 6H), 1.83-1.73 (m, 2H)。

[0602] 实施例 89

[0603] 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮半琥珀酸酯

[0604] 将 2.5 克 4-{4-[1-(2-二甲基氨基-乙基)-4-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-1H-咪唑-2-基]哌啶-1-基}-5,7-二氢-吡咯并[2,3-d]-嘧啶-6-酮添加到管瓶中。加入 10 毫升在甲醇中的 1M 琥珀酸(过量酸)和 2 毫升水。在环境温度下制浆至少 1 小时, 取出粉白色浆料并通过真空过滤回收固体。用交替的几份(各~5 毫升)新鲜丙酮、甲醇反复漂洗固体, 随后用 >100 毫升(多个等分式样)水最终漂洗。为了制造一水合物, 该固体在水中在环境温度下制浆至少 24 小时并在环境真空炉中干燥整夜。收率: 92%。

[0605] p70 S6 激酶体外酶检测法

[0606] 使用 p70 S6 Transcreeper™ 激酶 ADP-FP 检测法测定对 p70 S6 激酶靶的化合物 IC₅₀ 值。这种检测法通过测量在激酶反应中形成的二磷酸腺苷(ADP) 浓度来评估在化合物抑制剂存在下的 p70 S6 激酶活性。在 96 孔半面积黑色聚苯乙烯板中进行激酶反应(25 微升反应体积)。添加三磷酸腺苷(ATP)以启动反应。最终反应条件为 10 毫摩尔浓度 N-2-羟基乙基-哌啶-N'-2-乙磺酸(HEPES) pH 7.5, 0.005% TRITON™ X-100, 0.082 毫摩尔浓度乙二醇四乙酸(EGTA), 1 毫摩尔浓度二硫苏糖醇, 10 毫摩尔浓度氯化镁, 4 微摩尔浓度底物肽, 25 微摩尔浓度 ATP, 活性 p70 S6 激酶(人重组氨基酸 1-421, T412E, N-末端组氨酸标记的), 4% DMSO 和化合物的系列稀释品(从 20,000 至 1 纳摩尔浓度稀释 1:3)。在添加 ATP 后, 该反应在室温下培养 60 分钟, 随后添加含 52 毫摩尔浓度 HEPES pH 7.5、20 毫摩尔浓度乙二胺四乙酸(EDTA)、0.4 摩尔浓度氯化钠、0.02% BRIJ-35™、10 微克/毫升抗-ADP 抗体和 4 纳摩尔浓度 ADP Far Red Tracer 的 25 微升淬灭检测试剂以淬灭。将淬灭反应培养 4-16 小时, 随后在 Tecan Ultra Evolution 读板仪中使用 Ex_{612nm} 和 Em_{633nm} 波长的偏振滤光片以荧光偏振模式读数。使用制成的 ADP/ATP 标准曲线将毫偏振 (Millipolarization) (mP) 原始数据换算成微摩尔浓度 ADP (Huss 等人, Development of a Transcreeper™ Kinase Assay for Protein Kinase A and Demonstration of Concordance of Data with a Filter-Binding Assay Format, Journal of Biomolecular Screening, 12(4);2007, 578-584)。使用抑制百分比数据推导各化合物的 IC₅₀ 值, 使用相对于板上对照物的微摩尔浓度 ADP 反应数据计算所述抑制百分比数据(活性酶 vs 100 毫摩尔浓度抑制的酶对照物)。该抑制百分比和 10 点化合物浓度数据随后使用 ACTIVITYBASE 4.0 (Assay Guidance Manual Version 5.0,

2008, Eli Lilly and Company and NIH Chemical Genomics Center) 拟合到四参数逻辑公式中。

[0607] 所举例的化合物被基本如上所述测试并被测得具有小于或等于 $0.3 \mu\text{M}$ 的 IC_{50} 值。实施例 31 被基本如上所述测试并被测得具有 $0.007 \mu\text{M}$ 的 IC_{50} 。

[0608] 这表明本发明的化合物是 p70 S6 激酶抑制剂。

[0609] AKT1 体外酶检测法

[0610] 使用 AKT1 Transcreeper™ 激酶 ADP-FP 检测法测定对 AKT1 靶的化合物 IC_{50} 值。这种检测法通过测量在激酶反应中形成的 ADP 浓度来评估在化合物抑制剂存在下的 AKT1 活性。在 96 孔半面积黑色聚苯乙烯板中进行激酶反应 (25 微升反应体积)。添加 ATP 以启动反应。最终反应条件为 56 毫摩尔浓度 HEPES pH 7.4, 0.008% TRITON™ X-100, 5 毫摩尔浓度氯化镁, 30 微摩尔浓度 Crosstide 肽, 20 微摩尔浓度 ATP, hAKT1 Human Recombinant, V-AKT 鼠科胸腺瘤病毒癌基因同源物 1 (组氨酸标记的, 在昆虫细胞中表达), 4% DMSO 和化合物的系列稀释品 (从 20,000 至 1 纳摩尔浓度稀释 1:3)。在添加 ATP 后, 该反应在室温下培养 60 分钟, 随后添加含 52 毫摩尔浓度 HEPES pH 7.5、20 毫摩尔浓度 EDTA、0.4 摩尔浓度氯化钠、0.02% BRIJ-35™、10 微克 / 毫升抗 -ADP 抗体和 4 纳摩尔浓度 ADP Far Red Tracer 的 25 微升淬灭检测试剂以淬灭。将淬灭反应培养 4-16 小时, 随后在 Tecan Ultra Evolution 读板仪中使用 $\text{Ex}_{612\text{nm}}$ 和 $\text{Em}_{633\text{nm}}$ 波长的偏振滤光片以荧光偏振模式读数。使用制成的 ADP/ATP 标准曲线将毫偏振 (Millipolarization) (mP) 原始数据换算成微摩尔浓度 ADP (Huss 等人, Development of a Transcreeper™ Kinase Assay for Protein Kinase A and Demonstration of Concordance of Data with a Filter-Binding Assay Format, Journal of Biomolecular Screening, 12(4);2007, 578-584)。使用抑制百分比数据推导各化合物的 IC_{50} 值, 使用相对于板上对照物的微摩尔浓度 ADP 反应数据计算所述抑制百分比数据 (活性酶 vs 100 毫摩尔浓度抑制的酶对照物)。该抑制百分比和 10 点化合物浓度数据随后使用 ACTIVITYBASE 4.0 (Assay Guidance Manual Version 5.0, 2008, Eli Lilly and Company and NIH Chemical Genomics Center) 拟合到四参数逻辑公式中。

[0611] 所举例的化合物被基本如上所述测试并被测得具有小于或等于 $0.3 \mu\text{M}$ 的 IC_{50} 值。实施例 31 被基本如上所述测试并被测得具有 $0.006 \mu\text{M}$ 的 IC_{50} 。这表明本发明的化合物是 AKT1 抑制剂。

[0612] U87MG 细胞中磷酸化 S6 核糖体蛋白 (S240/244) 和磷酸化 GSK3 β (S9) 的 AlphaScreen SureFire 检测

[0613] 使用用于 pS6 (TGR Biosciences, TGRS6P2S10K) 或 pGSK3 β (TGRGBS10K) 的 AlphaScreen SureFire® 测量化合物对内源性磷酸化 S6 核糖体蛋白丝氨酸 240/244 (pS6) 和磷酸化 GSK3 β 丝氨酸 9 (pGSK3 β) 的形成的影响。这是使用磷酸化被分析物的 immuno-sandwich capture 的均匀检测法, 接着使用抗体涂布的 Alphascreeen 珠检测以生成放大信号。

[0614] 将 U87MG 细胞保存在由用 10% 胎牛血清 (FBS)、1% 非必需氨基酸和 1% 丙酮酸钠补充的 DMEM 构成的 U87MG 培养基中。对该检测法而言, 通过标准程序收取细胞, 随后使用 Vi-Cell 计数。将细胞 (50,000 / 孔) 在 100 微升 U87MG 培养基中接种到 Costar #3596 96 孔板中。板在 37°C , 5% CO_2 下培养整夜。

[0615] 在检测日,用在含 6% DMSO 的培养基中稀释的 20 微升 / 孔化合物处理细胞。在 37℃ 下 1 小时后,移除培养基,每孔加入 50 微升 SureFire 溶胞缓冲剂(TGR Biosciences SureFire® 试剂盒组分)并在室温下在温和摇振下继续培养 10 分钟。将溶胞产物(6.0 微升)转移到 384 孔 ProxiPlate™ (Perkin Elmer #6006280) 中。对 pS6 检测法中,将含有 1.3 微升活化缓冲剂、0.15 微升各供体和受体珠粒(Perkin Elmer AlphaScreen IgG 检测试剂盒 6760617R)和 8.3 微升用于 pS6 检测的反应缓冲剂(TGR Biosciences, TGRS6P2S10K)的混合物添加到各孔中。对 pGSK3 β 检测法而言,将含有 0.96 微升活化缓冲剂、0.19 微升各供体和受体珠粒和 8.7 微升用于 pGSK3 β 检测法的反应缓冲剂(TGR Biosciences, TGRGBS10K)的混合物添加到各孔中。用箔密封该板,在温和摇振下在室温下培养 4 小时,随后在配有 TurboModule 的 Perkin Elmer EnVision 上使用标准 AlphaScreen® 设定(Ex_{680nm} 和 $Em_{520-620nm}$) 读数。各板上由对照物测得的抑制百分比和 10 点化合物浓度数据随后使用 ACTIVITYBASE 4.0(Assay Guidance Manual Version 5.0, 2008, Eli Lilly and Company and NIH Chemical Genomics Center) 拟合到四参数逻辑公式中。

[0616] 基本如上所述测试下列化合物并测得具有下列活性:

[0617]

实施例	pS6 - IC ₅₀ (μ M)	pGSK3 β - IC ₅₀ (μ M)
31	0.065	0.331

[0618] 这表明本发明的化合物能够抑制 p70 S6 活性和 AKT 活性。

[0619] 细胞增殖检测法

[0620] 增殖检测法使用 CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay System(可购自 Promega)以基于所存在的 ATP 的量化测定培养物中活细胞的细胞数,这传递了代谢活性细胞存在的信号。

[0621] 除仅含培养基作为空白对照物的列 1 外,将细胞在 50 微升体积的培养基(DMEM, 10% FBS, 25 mM HEPES, 1.0 mM 丙酮酸钠和 0.1 mM 非必需氨基酸)中以 2000 个细胞 / 孔接种在 96 孔板中。该板在 37℃ 和 5%CO₂ 下培养整夜。第二天,在 DMSO (500X) 中以 40 mM 制备化合物储液并在 96 孔圆底聚丙烯板中在 DMSO 中系列稀释。一式两份地在 10 个浓度下检测化合物,每板 4 个化合物。

[0622] 将 4 微升系列 DMSO 稀释物转移到 96 深孔板中并加入 1 毫升完全培养基以制造用于计量给料的 2X 储液。将 50 微升各 2X 计量给料储液轻轻转移到细胞板的相应孔中,产生 0.2% DMSO 浓度和 100 微升最终体积。将 50 毫升培养基添加到对照列(列 12)和背景列(列 1) 中。用化合物在 37℃, 5% CO₂ 下培养细胞 72 小时。

[0623] 在培养后,在各孔中加入 100 微升预制 CellTiter-Glo 试剂(Promega, Cat: G7571),随后通过在轨道式振荡器上混合来将细胞匀浆 2 分钟,并在室温下培养 10 分钟以使发光信号稳定化。在 Wallac Victor V 读板仪上记录发光原始数据并使用抑制百分比数据生成各化合物的 IC₅₀ 值。将四参数逻辑曲线拟合各剂量响应。

[0624] 基本如上所述在下列细胞系中测试下列化合物:

[0625]

实施例	A2780 IC ₅₀ (μ M)	H1155 IC ₅₀ (μ M)	OPM-2 IC ₅₀ (μ M)	U87MG IC ₅₀ (μ M)	BT474 IC ₅₀ (μ M)
45	5.9	4.9	2.3	>10	7.9

实施例	HCT116 IC ₅₀ (μ M)	PC3 IC ₅₀ (μ M)	H69 IC ₅₀ (μ M)	69AR IC ₅₀ (μ M)	786-O IC ₅₀ (μ M)
45	7.5	6.2	6.3	9.4	3.4

[0626] 这表明本发明的化合物可用于通过涉及 p70 S6 激酶和 / 或 AKT 的机制抑制这些细胞系的增殖。

[0627] 联合研究：

[0628] 联合研究使用固定比率法，其中本发明的化合物与其它治疗剂以对应于单试剂的 IC₅₀ 当量的固定浓度比率存在。该联合研究读出是使用 Cell Titer Glo 试剂的各细胞系中的细胞增殖。类似地处理对照物，但不使用本发明的化合物或其它治疗剂。根据 Zhao 等人，Clinical Cancer Research, 10, 7994-8004 (2004) 描述的方法利用网络工具进行数据分析。根据下列公式针对一系列细胞增殖抑制活性水平计算联合指数。

[0629] 在活性水平 x 下的联合指数 =

[0630] [在其它治疗剂的活性水平 x/IC_x 下该联合中其它治疗剂的浓度] + [在本发明的化合物的活性水平 x/IC_x 下该联合中本发明的化合物的浓度]

[0631] 为清楚起见，下面概括在 50% 抑制下的联合指数值。

[0632]

实施例	其它治疗剂	细胞系	在 50%抑制下的联合指数	95%置信区间
45	雷帕霉素	CAKI-1	0.33	0.096-0.97
45	雷帕霉素	ACHN	0.12	0.029-0.50
45	雷帕霉素	786-0	0.41	0.23-0.79
45	埃罗替尼	H1155	0.43	0.32-0.55
45	吉西他滨	H1155	0.87	0.72-1.03
45	顺铂	H1155	0.58	0.48-0.69
45	埃罗替尼	Calu6	0.10	0.074-0.14
45	顺铂	Calu6	0.57	0.44-0.73
45	吉西他滨	Calu6	1.13	0.58-2.14
45	Tasisulam	Calu6	1.19	0.83-1.69
45	培美曲塞	Calu6	1.96	0.99-6.67
45	培美曲塞	Calu6	0.91	0.67-1.21
45	多西他赛	Calu6	0.94	0.67-1.32
45	培美曲塞	NCIH460	0.97	0.65-1.45
45	顺铂	NCIH460	0.56	0.48-0.67
45	多西他赛	NCIH460	0.67	0.61-0.73
45	吉西他滨	NCIH460	0.86	0.76-0.97
45	埃罗替尼	NCIH460	0.38	0.34-0.43
45	顺铂	A2780	1.04	0.75-1.46
45	顺铂	A2780	0.64	0.50-0.83
45	阿霉素.HCl	A2780	0.65	0.51-0.84
45	阿霉素.HCl	A2780	0.96	0.61-1.60
45	西妥昔单抗	HCT116	2.02	0.23-14.72
45	伊立替康	HCT116	0.82	0.58-1.15

[0633] p70 S6K/AKT 体内靶抑制的测定

[0634] 将 U87MG 人成胶质细胞瘤细胞 (5×10^6) 在 0.2 毫升基质胶中皮下移植到无胸腺裸鼠的肋腹中。移植后两周, 依据一定时程、单剂 / 单时间点或用于测定 $TMED_{50}$ (阈最小有效剂量) 的剂量响应程序经口或肠胃外向小鼠给药。肿瘤在收取后快速冷冻并在剂量响应研究的情况下收集血液以测定母体化合物血浆暴露和计算 $TMEC_{50}$ (阈最小有效浓度)。肿瘤或组织在液氮中粉化并使用 Lysing Matrix D 管 (MP Biomedicals, Solon, OH, cat# 6913-500) 和 BI0101 Thermo Savant Fast Prep FP12 在 400 微升 XY 溶胞缓冲液 (10 微克 / 毫升亮抑酶肽、10 微克 / 毫升胰蛋白酶 - 胰凝乳蛋白酶抑制剂、10 微克 / 毫升甲苯磺酰基苯基 - 丙氨酰氯甲基酮、10 微克 / 毫升抑肽酶、60 mM β 甘油磷酸酯、1% Triton X100、25 mM Tris pH 7.5、2.5 mM 焦磷酸盐、150 mM NaCl、2 mM p- 甲苯磺酰基 - L- 精氨酸甲酯、15 mM 对硝基苯磷酸盐、5 mM 苄脒、1 mM 钒酸钠、10 mM NaF、50 微克 / 毫升苯基 - 甲磺酰基氟、1 mM 1,4-二硫苏糖醇 (DTT)、15 mM EDTA pH 8.0、5 mM EGTA pH 8.0、1 μ M 微囊藻素、1 μ M 冈田酸和每 10 毫升 1 个 Roche 完整蛋白酶抑制剂小片) 中溶胞。将溶胞产物等分并立即检测或储存在 -80°C 以供后继测试。采用 Meso Scale Discovery (Gaithersburg, MD) ELISA 技术测量 p70 S6K 和 AKT 的体内靶抑制以评估对下游效应子 S6RP 的丝氨酸 240/244

位点的磷酸化的影响。也使用这种技术在多路格式中评估 p70 S6K (T389)、AKT (S473) 和 GSK3 β (S9) 的磷酸化。总之,将 20 微克溶胞产物添加到含有适当捕获抗体预染的 96 孔板的碳电极中。使用钉标记的检测抗体探测相关蛋白。在含有共反应物 TPA 的读取缓冲剂存在下电流通过电极时,电化学发光导致产生光,其使用 MSD Sector 6000 仪器量化和记录。对于各研究,相对于赋形剂对照组计算抑制百分比并使用测定统计显著性用的 JMP 软件套装进行 ANOVA 分析。

[0635] 基本如上文在体内靶抑制检测法中所述测试实施例 31 并测得具有下列活性:

[0636]

IV 剂量 (mpk)	IV 后剂量 (hr)	p(S240) S6- %抑制	p(T389) p70- %抑制	p(S9)GSK3 β - %抑制	pAKT S473- %抑制
12.5	1	79.2	77.3	48.4	4.0
12.5	2	87.6	76.1	12.6	-22.3
12.5	4	94.9	76.1	20.5	-19.2
12.5	6	91.7	76.1	51.7	-26.3
12.5	8	96.4	70.7	20.1	-9.4
12.5	24	45.0	61.6	6.0	22.6

。

[0637] 这表明本发明的化合物可用于体内抑制 p70 S6 激酶和 AKT。

[0638] HERG 检测法

[0639] 在放射性配体结合检测法中评测化合物对转染 HEK-293 细胞中的人 HERG K⁺ 通道的亲和力。在含有 50 mM Tris-HCl (pH 7.4)、10 mM KCl、1.2 mM MgCl₂ 和 0.1% 牛血清白蛋白 (BSA) 的缓冲液中,在不存在或存在受试化合物的情况下,在 22°C 下用 2 nM [³H] 阿司咪唑培养细胞膜匀浆 (40 微克蛋白质) 75 分钟。在存在 10 μ M 阿司咪唑的情况下测定特异性结合。在培养后,样品在真空下通过用 0.3% PEI 预浸泡的玻璃纤维过滤器 (GF/B, Packard) 快速过滤,并使用 96 样品细胞收集器 (Unifilter, Packard) 用冰冷的 50 mM Tris-HCl 漂洗数次。将过滤器干燥,随后在闪烁计数器 (Topcount, Packard) 中用闪烁合剂 (Microscint 0, Packard) 计数放射性。结果以对照放射性配体特异性结合的抑制百分比表达。标准参照化合物是阿司咪唑,其在各实验中在几种浓度下测试以获得竞争曲线,由其计算其 IC₅₀。(Finalayson 等人, [³H] dofetilide binding in SHSY5Y and HEK293 cells expressing a HERG-like K⁺ channels, Eur. J. Pharmacol., 412: 203 (2001))。

[0640] 基本如上所述测试实施例 37 并测得具有 13.9 μ M 的 IC₅₀。

[0641] 本发明的优选化合物具有低 hERG 活性。