(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119317627 A
(43)申请公布日 2025.01.14

(21)申请号 202380041990.0
(22)申请日 2023.06.06
(30)优先权数据
22177977.0 2022.06.09 EP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.11.21
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2023/065025 2023.06.06
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/237504 EN 2023.12.14
(71)申请人 勃林格殷格翰国际有限公司
地址 德国殷格翰
(72)发明人 M·K·威尔瓦彻 G·阿斯普内斯
C·S·陶特曼 T·维瑟
L·沃特曼
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴
(51)Int.Cl.
C07D 413/06(2006.01)
C07D 417/06(2006.01)
A61K 31/513(2006.01)
A61K 31/52(2006.01)
A61K 31/519(2006.01)
A61K 31/517(2006.01)
A61K 31/5355(2006.01)
A61K 31/427(2006.01)
A61K 31/433(2006.01)
A61P 1/16(2006.01)
A61P 3/06(2006.01)

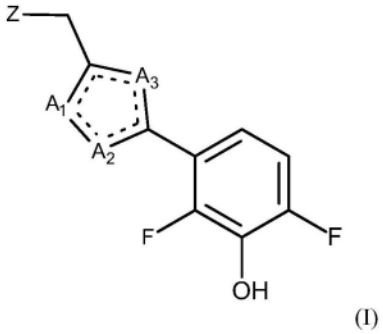
权利要求书6页 说明书71页

(54)发明名称

HSD17B13抑制剂

(57)摘要

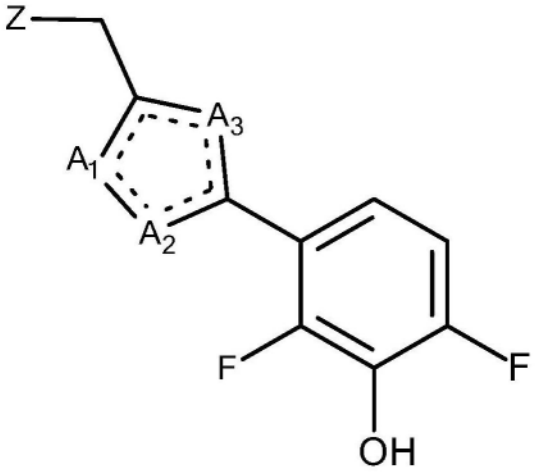
本发明涵盖式(I)的杂芳基取代的2,6-二氟苯酚化合物,其中基团A1至A3和Z具有权利要求和说明书中给出的含义;所述化合物在含有这些化合物的药物组合物中的用途以及它们作为药剂的用途,尤其是用于干扰肝脏疾病从脂肪变性到非酒精性脂肪性肝炎、纤维化和肝硬化的晚期的进展。



(I)

CN 119317627 A

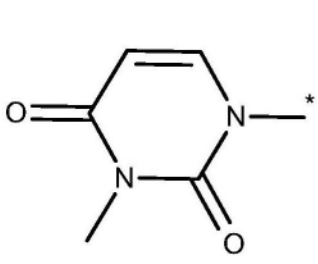
1.一种具有式(I)的化合物或其盐

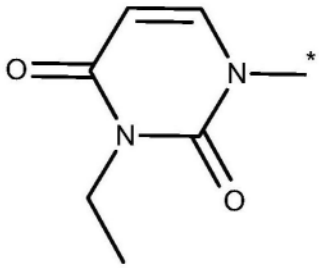


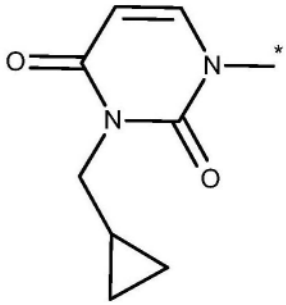
(I),

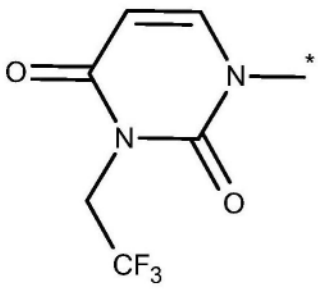
其中

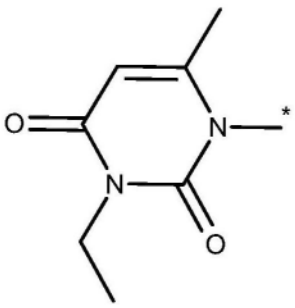
a)Z——*选自

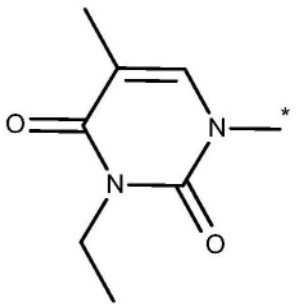


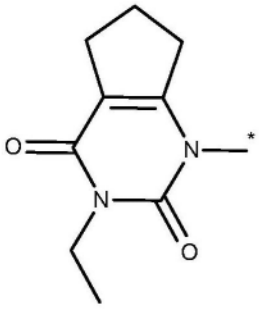


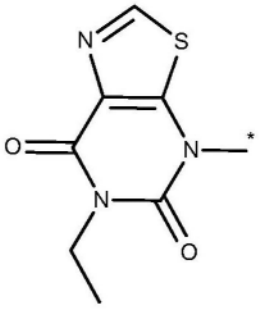


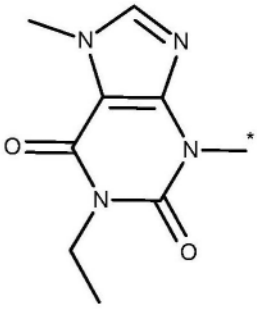


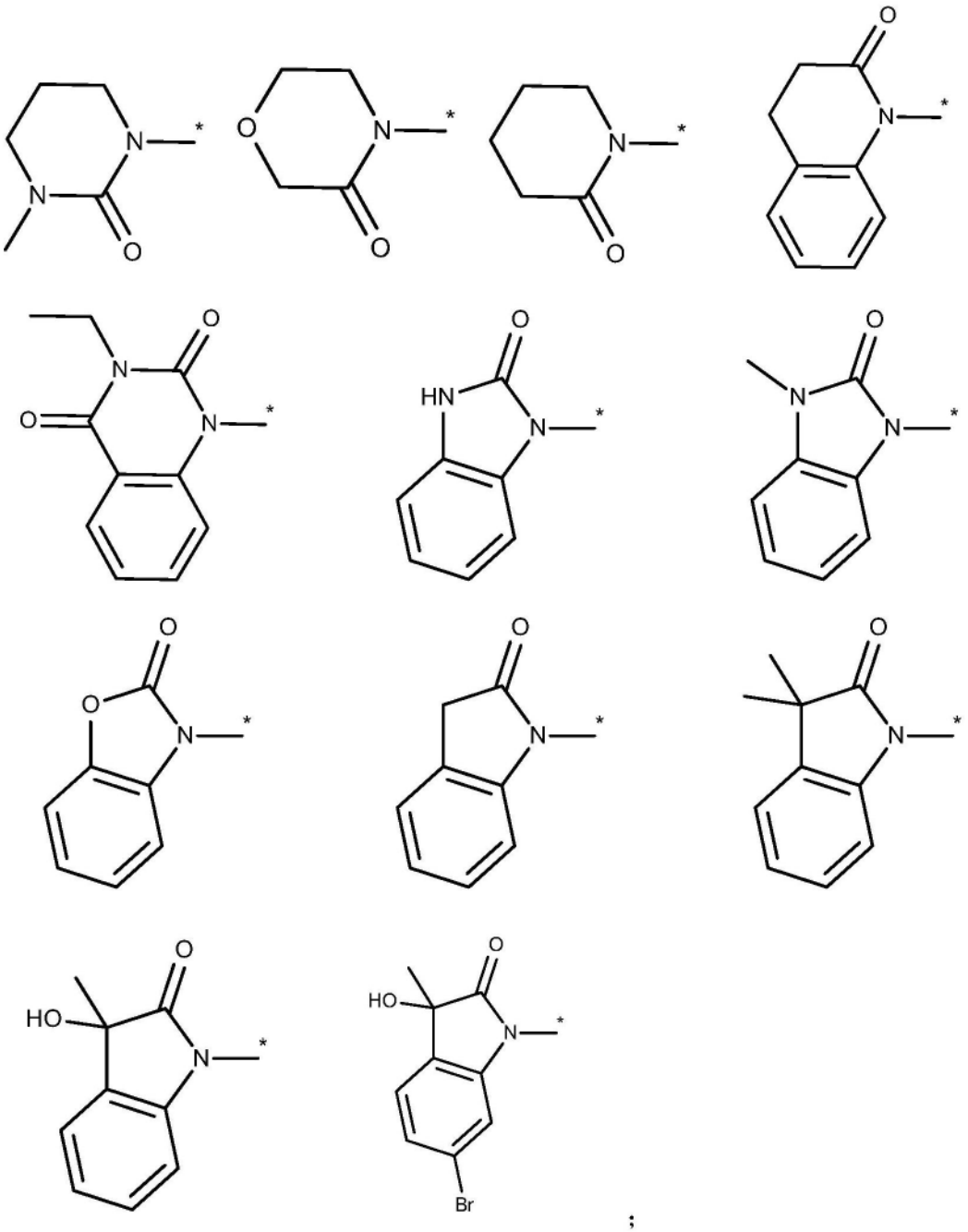






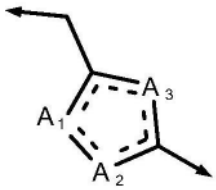


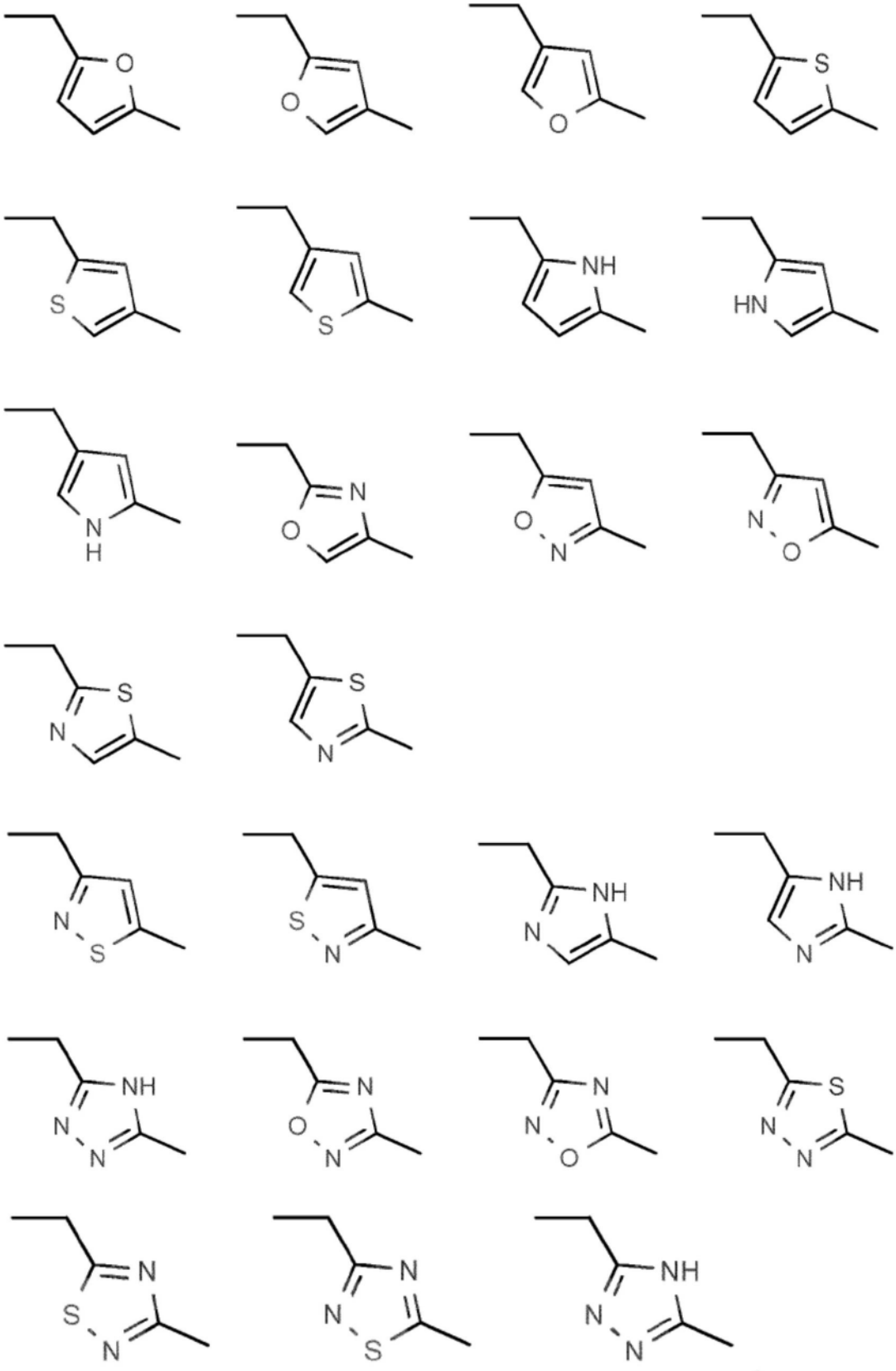




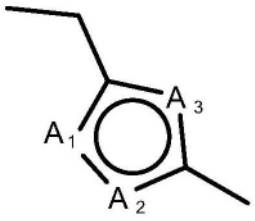
;

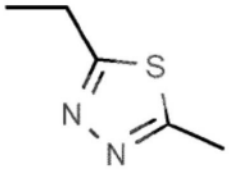
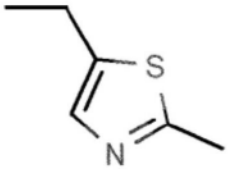
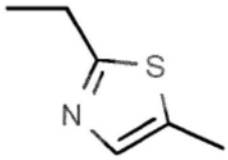
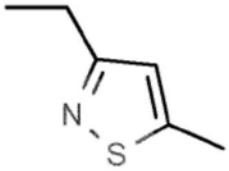
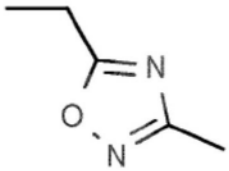
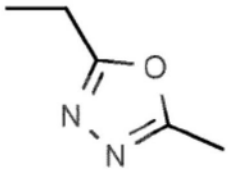
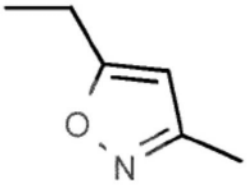
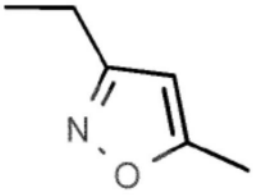
并且其中

b)  的结构选自由以下组成的结构组：



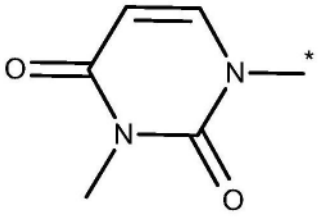
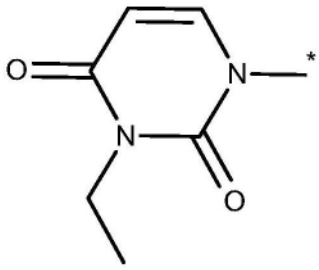
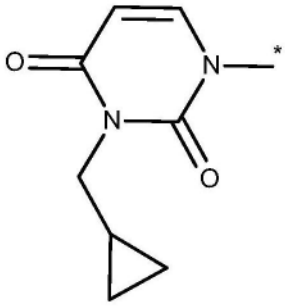
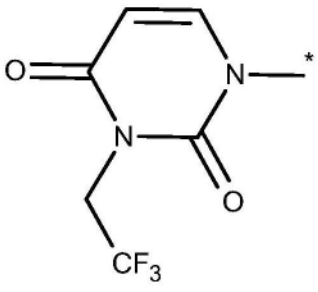
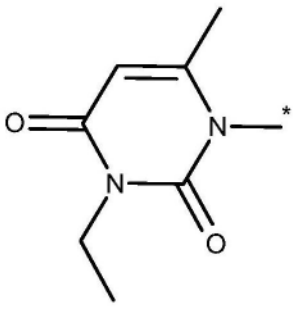
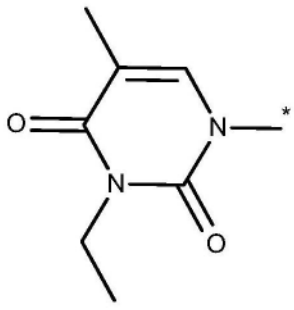
。

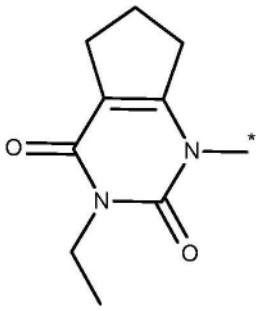
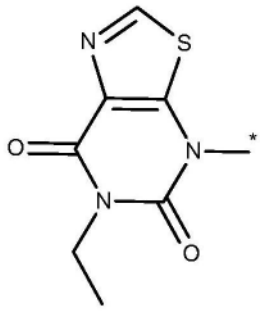
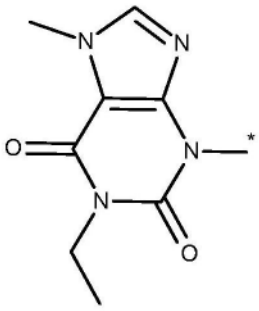
2.根据权利要求1所述的化合物,其中  的结构选自由以下组成的结构组:

和 。

3.根据权利要求1所述的化合物,其中Z——*是

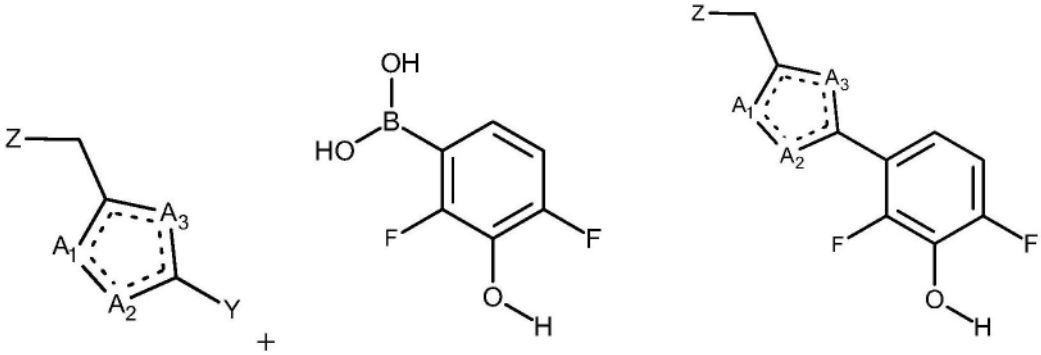




4.根据权利要求1所述的化合物或其盐,所述化合物或其盐选自式(I)化合物01-30的组。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的化合物的盐,所述化合物的盐用作药剂。

6.一种用根据权利要求1至4中任一项所述的化合物或其盐制备的药剂。

7.一种用于制备具有通式(I)的根据权利要求1所述的化合物的方法,所述方法包括使化合物X1与化合物X2反应以产生化合物(I),其中Y可以是Br、I或Cl,



X1 X2 (I)

其中在X1和(I)的化合物中,Z、A1、A2和A3具有与权利要求1中定义的相同的含义。

8.根据权利要求7所述的方法,所述方法在非质子或质子溶剂或溶剂混合物中在环境温度与所述溶剂的沸点之间、优选在50℃与120℃之间的温度下进行。

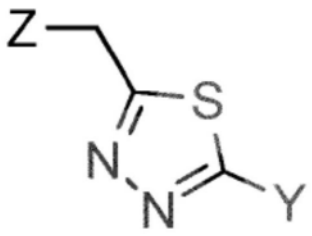
9.一种药物组合物,所述药物组合物包含至少一种根据权利要求1至4中一项或多项所述的化合物或其药学上可接受的盐以及一种或多种药学上可接受的赋形剂。

10.根据权利要求9所述的药物组合物,所述药物组合物包含治疗有效量的根据权利要求1至5中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,所述治疗有效量在所述组合物的0.1wt.-%至90wt.-%的范围内,优选在所述组合物的0.5wt.-%至50wt.-%的范围内。

11.根据权利要求1至4中一项或多项所述的化合物或其药学上可接受的盐或根据权利要求10所述的药物组合物,用于治疗或预防诸如非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)或非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的脂肪变性。

12.根据权利要求1至5中任一项所述的化合物,用于治疗和/或预防非酒精性脂肪性肝炎,其中所述化合物在至少一种其他活性物质之前、之后或一起施用。

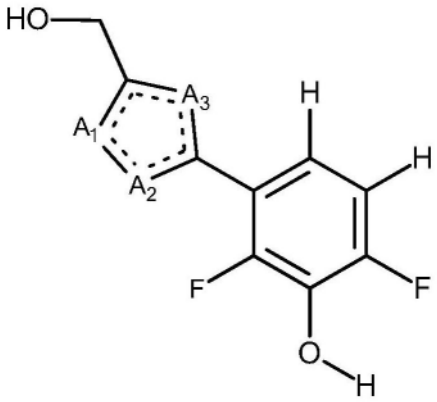
13.一种具有式(Ia)的化合物



(Ia)

所述化合物可用作制备根据权利要求1所述的式(I)的化合物的中间体化合物,其中Z如权利要求1中所定义并且Y可以是Br、I或Cl。

14.一种具有式(Ib)的化合物



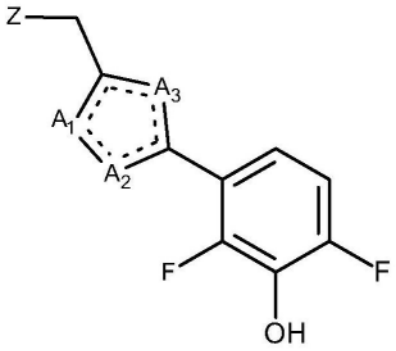
(Ib)

所述化合物可用作制备根据权利要求1所述的式(I)的化合物的中间体化合物,其中A1、A2和A3如权利要求1中所定义。

HSD17B13抑制剂

技术领域

[0001] 本发明涉及式(I)的杂芳基取代的2,6-二氟苯酚化合物,

[0002] 

(I),

[0003] 其中A_1至A_3和Z具有权利要求和说明书中给出的含义。另外公开了它们作为HSD17B13抑制剂的用途、含有所述化合物的药物组合物以及它们作为药剂(尤其是作为干扰脂肪变性的药剂)的用途。

背景技术

[0004] WO 2021/211974和WO 2022/020714披露了噻吩-甲酰胺HSD17B13抑制剂。

[0005] WO 2022/020730披露了喹唑啉酮HSD17B13抑制剂。

[0006] HSD17B13是共同作用于一系列脂质底物的氧化还原酶的17b-羟基类固醇脱氢酶家族中的成员。

[0007] 在人体中,HSD17B13 mRNA在肝脏中、主要在肝细胞中表达最多。在所述细胞内,HSD17B13与脂滴相关(Su等人,Proc National Acad Sci.111:11437-11442,2014)。

[0008] HSD17B13的生理功能是不确定的,并且已经使用体外酶测定系统鉴定出多种底物(包括雌二醇、视黄醇和白三烯B4),在所述测定系统中NAD^+(烟酰胺腺嘌呤二核苷酸,氧化形式)充当辅底物(Abdul-Husn等人,The New England Journal of Medicine.378:1096-1106,2018)。

[0009] 在人体中的功能丧失(LoF)遗传变体为HSD17B13活性在介导某些肝脏疾病的风险方面的作用提供了证据。编码截短型无酶活性蛋白质的单核苷酸多态性(SNP)rs72613567的存在与诸如肝纤维化或非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的肝脏疾病相关。

[0010] SNP rs72613567SNP还缓和肝脏疾病的增加的风险。

[0011] 发现SNP rs72613567在肝移植受体中出现的频率低于健康对照。

[0012] 编码HSD17B13 LoF变体的SNP rs62305723与NASH的降低的严重程度相关(Ma等人,Hepatology 69:1504-1519,2018)。

[0013] 已经发现编码可能的LoF变体的SNP rs80182459在某些患有慢性肝病的患者中的频率更低(Kozlitina等人,The New England Journal of Medicine 379:1876-1877,2018)。

[0014] 还发现与SNP rs72613567高度相关的SNP rs6834314与脂肪性肝病相关。

[0015] 在5名患有脂肪肝的患者中发现,设计用于耗尽人肝脏中的HSD17B13的肝细胞定向小干扰RNA(siRNA)降低血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性(肝损伤的生物标志物)。

[0016] 鉴于上文提及的数据,希望提供有效力的HSD17B13抑制剂。

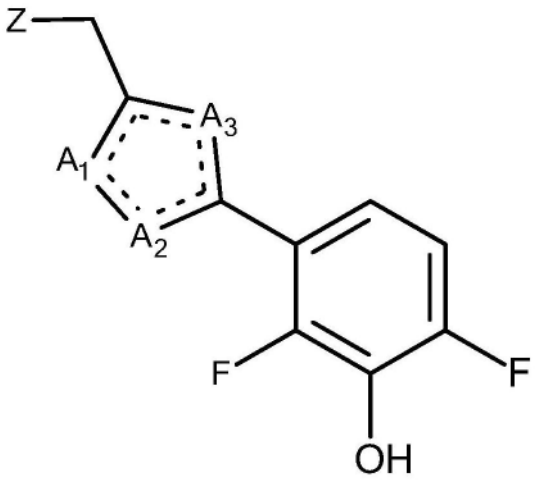
[0017] 根据本发明,“一种或多种HSD17B13抑制剂”意指在实施例4和实施例6所示的测试中抑制HSD17B13的化合物。

具体实施方式

[0018] 尚未得知式(I)的化合物(其中基团A1至A3和Z具有下文给出的含义)作为对HSD17B13具有选择性的HSD17B(17β-羟基类固醇脱氢酶)抑制剂起作用,如实施例12中通过针对HSD17B11的比较性生物化学人IC_{50}数据所示。因此,根据本发明的化合物可用于例如治疗脂肪变性,如非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)或非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

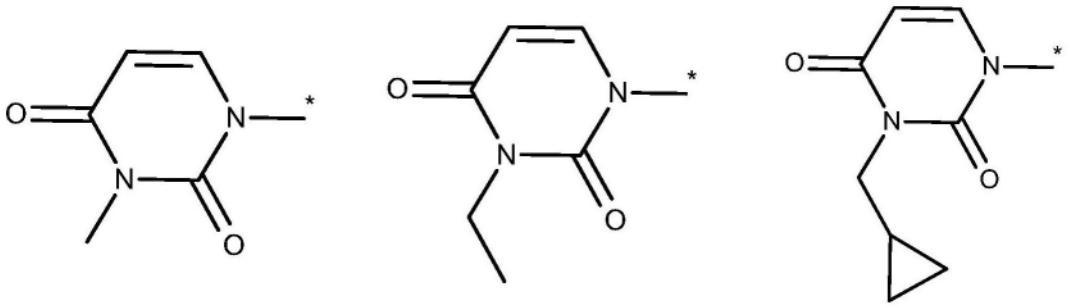
[0019] 因此,本发明涉及一种式(I)的化合物或其盐,

[0020]

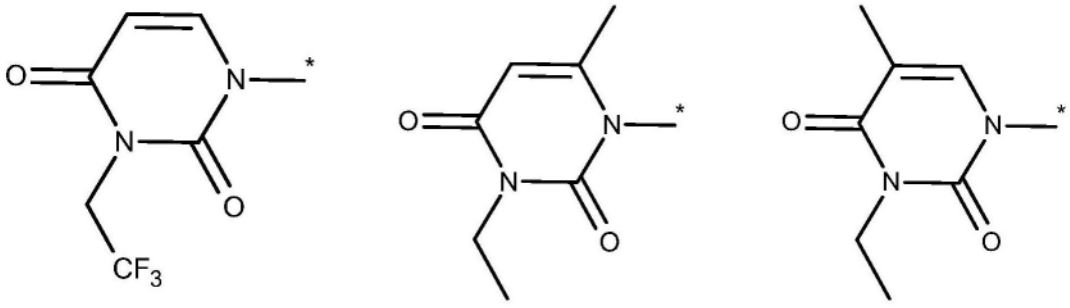


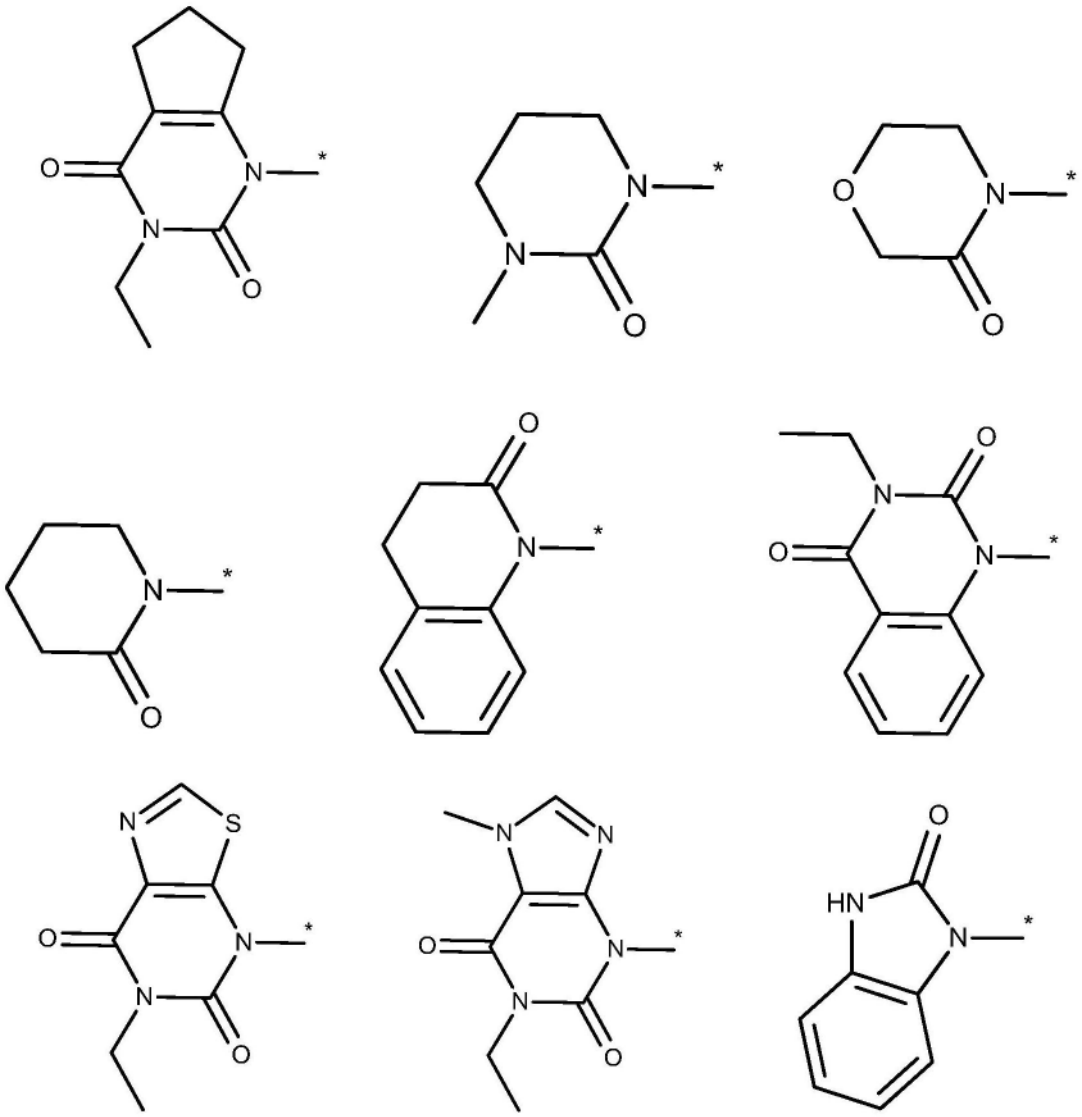
(I),

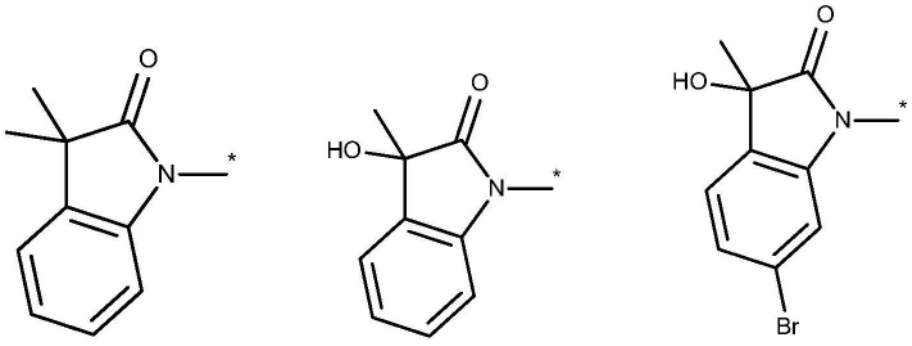
[0021] a)其中Z-*是

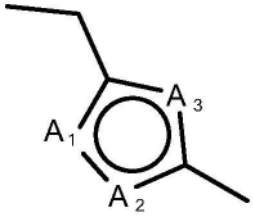


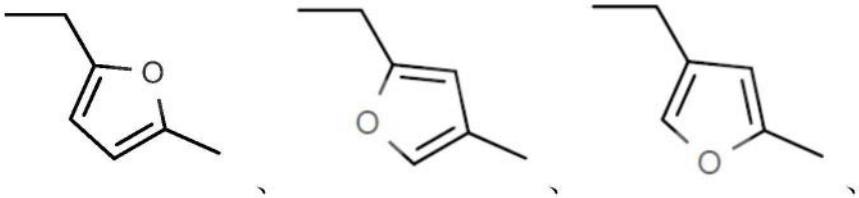
[0022]

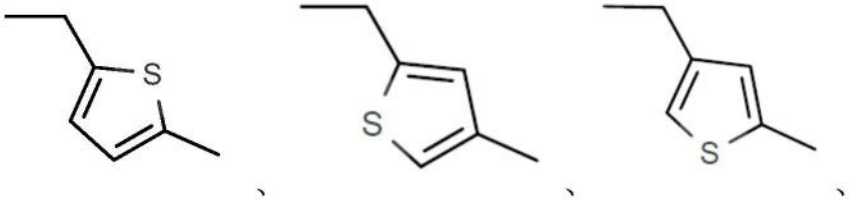


[0023] 

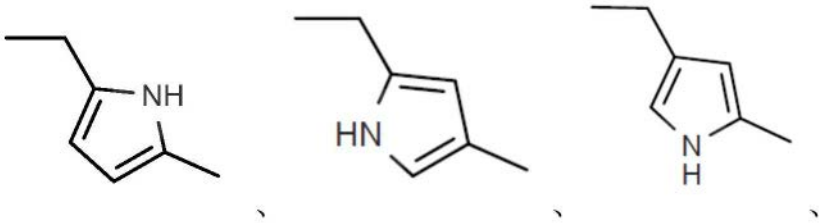
[0024]  并且b)；

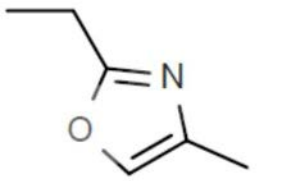
其中结构  选自由以下组成的结构组：

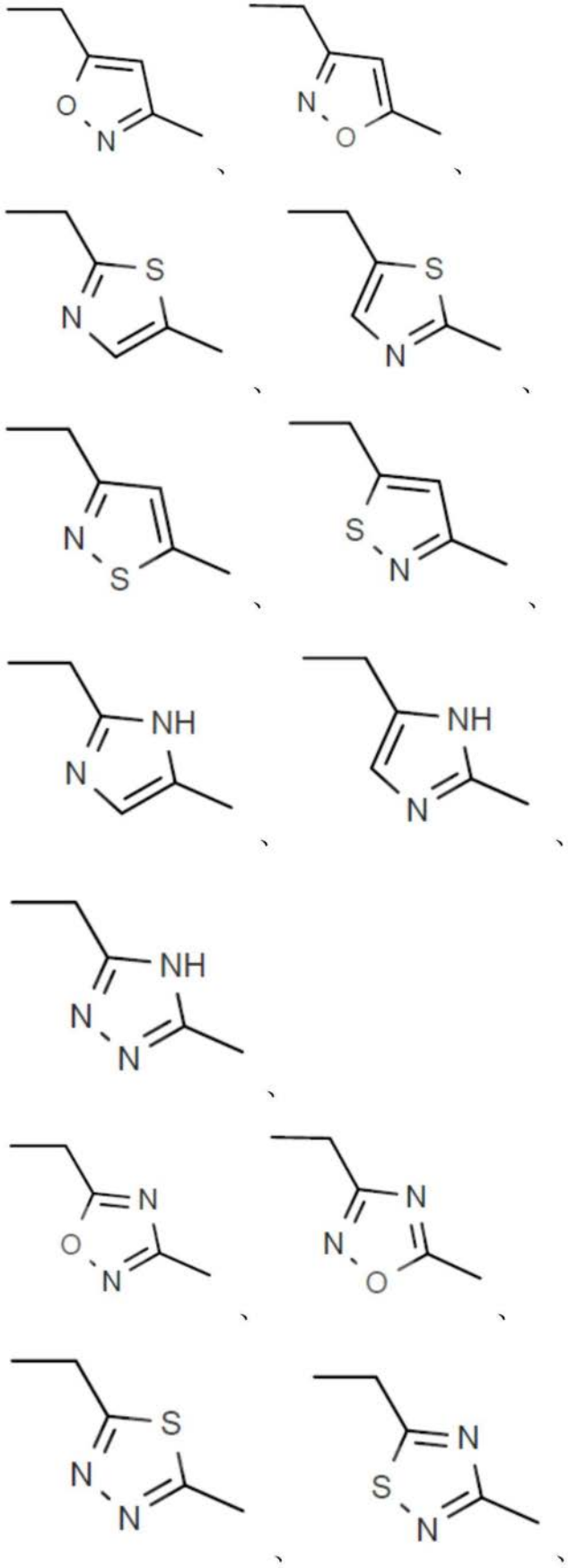


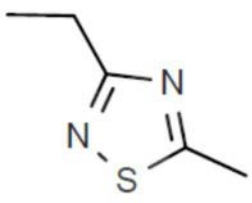
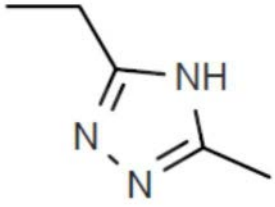


[0025]

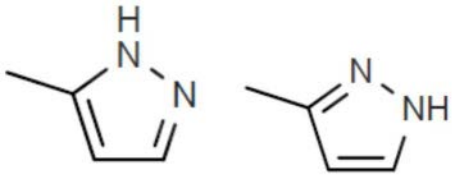




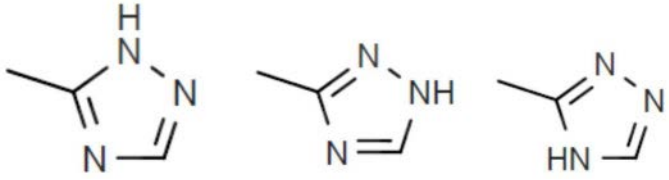
[0026] 

[0027]  和  。

[0028] 熟练技术人员知道,例如,几种杂芳基可以以不同的互变异构体(即吡唑、三唑、咪唑)的形式描述。因此,本发明的化合物可以以互变异构体的形式存在。例如,任何含有吡唑部分作为杂芳基的本发明的化合物可以以1H互变异构体、或2H互变异构体、或甚至任何量的两种互变异构体的混合物的形式存在,或者三唑部分可以以1H互变异构体、2H互变异构体或4H互变异构体、或甚至任何量的所述1H、2H或4H互变异构体的混合物的形式存在,即:

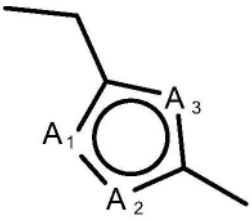
[0029] 

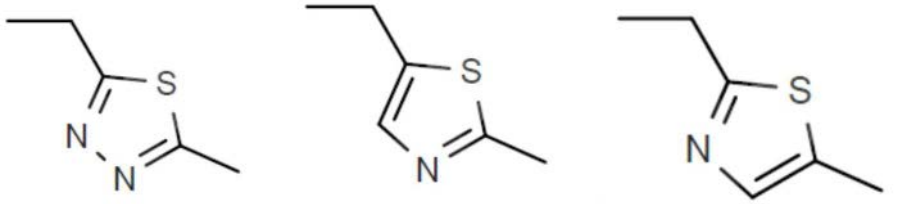
[0030] 1H-互变异构体2H-互变异构体

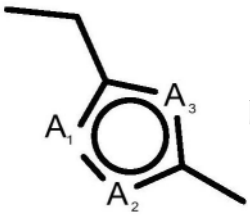
[0031] 

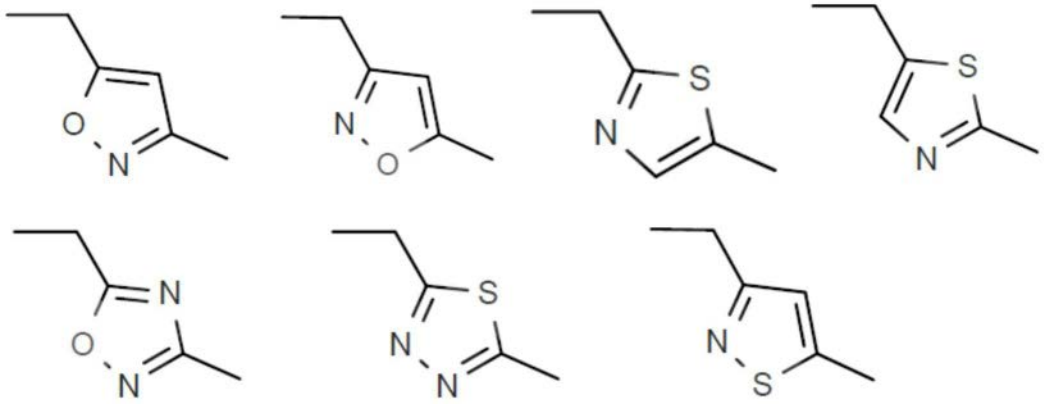
[0032] 1H-互变异构体2H-互变异构体4H-互变异构体

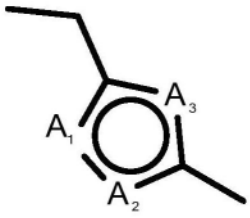
[0033] 本发明包括作为单一互变异构体的或作为任何比率的所述互变异构体的任何混合物的本发明化合物的所有可能的互变异构体。

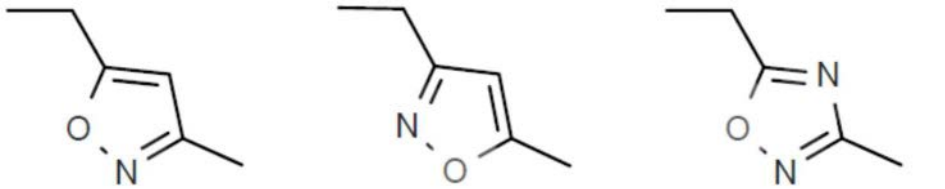
[0034] 特别地,结构  可以是

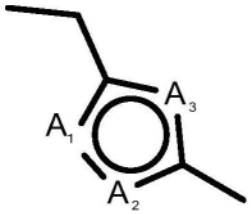
[0035] 

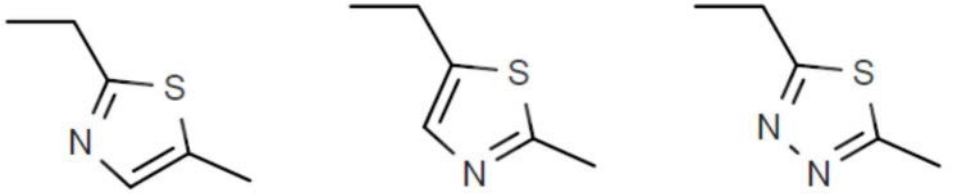
[0036] 在一组根据本发明的化合物中,  的结构选自由以下组成的结构组:

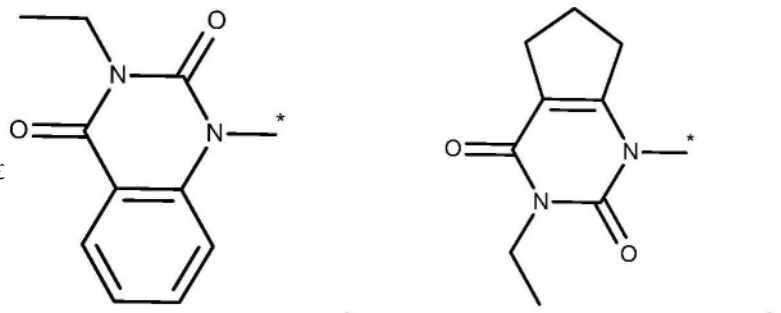
[0037] 

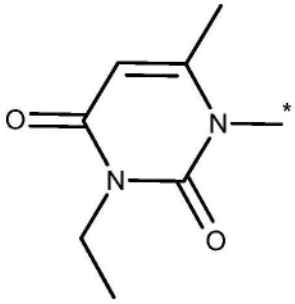
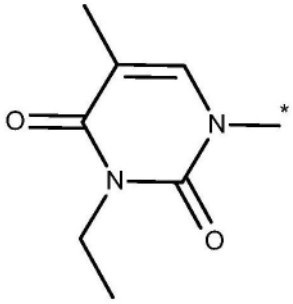
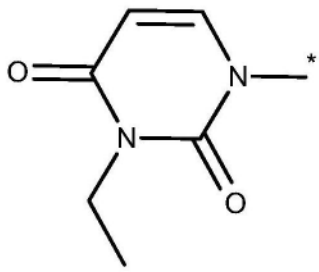
[0038] 在另一组本发明的化合物中，  的结构选自由以下组成的结构组：

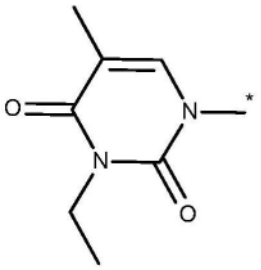
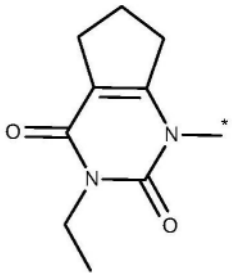
[0039] 。

[0040] 在又另一组本发明的化合物中，  的结构选自由以下组成的结构组：

[0041] 。

[0042] Z优选是 、。


、

、

。

[0043] Z的最优选结构是

和

。

[0044] 本发明涉及干扰脂肪生成的式(I)的化合物或其盐,其中对HSD17B13的选择性抑制具有治疗益处,包括但不限于治疗非酒精性脂肪性肝炎。因此,在本发明的另一方面,式(I)的化合物或其药学上可接受的盐用作药剂。本发明还涉及式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,用于在治疗人体或动物体的方法中使用。

[0045] 特别令人感兴趣的是,式(I)化合物之一或其盐在治疗代谢障碍中的用途。因此,本发明的另一方面是式(I)的化合物或其药学上可接受的盐用于制备药物组合物的用途,所述药物组合物包含至少一种式(I)的化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体,用于治疗所述障碍之一。特别优选的是它们在制备药物组合物以调节人或动物体的代谢障碍中的用途。

[0046] 在本发明的上下文中,还考虑了使用本文公开的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或立体异构体与另外的治疗剂组合治疗肝脏疾病、代谢性疾病或心血管疾病的方法。

[0047] 在一些实施方案中,另外的治疗剂用于治疗糖尿病或糖尿病相关障碍或病症。

[0048] 在一些情形下,另外的治疗剂包括他汀类药物、胰岛素增敏药物、胰岛素促分泌素、α-葡糖苷酶抑制剂、GLP激动剂、THRβ-激动剂、PDE抑制剂、DPP-4抑制剂(诸如西格列汀、维格列汀、沙格列汀、利格列汀、安奈格列汀、特力利汀、阿格列汀、吉格列汀或度格列汀)、儿茶酚胺(诸如肾上腺素、去甲肾上腺素或多巴胺)、过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)-γ激动剂(例如噻唑烷二酮(TZD)[诸如吡格列酮、罗格列酮、利格列酮(rivoglitazone)或曲格列酮])、阿格列扎、法格列扎、莫格列扎或替格列扎、过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)-α激动剂、过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)-δ激动剂、法尼酯X受体(FXR)激动剂(例如奥贝胆酸),或其组合。

[0049] 在一些情况下,他汀类药物是HMG-CoA还原酶抑制剂。

[0050] 在其他情形下,另外的治疗剂包括鱼油、贝特类、维生素(诸如烟酸、视黄酸(例如9-顺式视黄酸)、烟酰胺核糖核苷或其类似物),或其组合。在其他情形下,另外的治疗剂包括ACC抑制剂、FGF19和FGF21模拟物、CCR3/CCR5拮抗剂或其组合。

[0051] 在一些实施方案中,另外的治疗剂是vivitrol。

[0052] 在一些实施方案中,另外的治疗剂是他汀类药物,诸如HMG-CoA还原酶抑制剂、鱼油、贝特类、烟酸或其组合。在其他情形下,另外的治疗剂是防止脂质吸收的血脂异常药物,诸如奥利司他。

[0053] 在一些实施方案中,另外的治疗剂是用于治疗糖尿病和糖尿病相关障碍或病症(诸如降低食物摄取引起的体重升高和/或降低食物摄取引起的血糖升高)的维生素(诸如视黄酸或生育酚乙酸酯)。

[0054] 在一些实施方案中,另外的治疗剂是降糖剂。

[0055] 在一些实施方案中,另外的治疗剂是抗肥胖剂。

[0056] 在一些实施方案中,另外的治疗剂选自以下:过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)激动剂(γ、双或全)、二肽基肽酶(IV)抑制剂、胰高血糖素样肽-1(GLP-1)类似物、胰岛素或胰岛素类似物、胰岛素促分泌素、钠葡萄糖协同转运蛋白2(SGLT2)抑制剂、Glucophage、人胰淀素类似物、双胍类、α-葡糖苷酶抑制剂、美格列奈、噻唑烷二酮和磺酰脲类。

[0057] 在一些实施方案中,另外的治疗剂是降脂剂。

[0058] 在一些实施例中,另外的治疗剂是抗氧化剂、皮质类固醇如布地奈德、抗肿瘤坏死因子(TNF)或其组合。

[0059] 在一些实施方案中,另外的治疗剂与本文公开的化合物同时施用。

[0060] 在一些实施例中,另外的治疗剂的施用频率低于本文公开的化合物。

[0061] 在一些实施例中,另外的治疗剂的施用频率高于本文公开的化合物。

[0062] 在一些实施方案中,在施用本文公开的化合物之前施用另外的治疗剂。

[0063] 在一些实施方案中,在施用本文公开的化合物之后施用另外的治疗剂。

[0064] 在哺乳动物的治疗中,根据本发明的化合物可以在至少一种其他活性物质或活性剂(诸如利尿剂、抗高血压药、降脂剂或抗糖尿病剂)之前、之后或与它们一起施用。

[0065] 配制品

[0066] 用于施用本发明的化合物的合适制剂对于本领域普通技术人员而言将是清楚的,并且包括例如片剂、丸剂、胶囊剂、栓剂、锭剂、糖锭剂、溶液剂、酏剂、糖浆剂、小药囊剂、乳剂、吸入剂、可分散性散剂等。优选的溶液剂是用于注射(s.c、i.v、i.m)的溶液剂或用于输注的溶液剂(注射剂)。

[0067] 药物活性化合物的含量需要为足以达到下文指定的剂量范围的量,例如在作为整体的组合物的0.10wt.-%至90wt.-%、优选0.5wt.-%至50wt.-%的范围内。如有必要,指定的剂量可以每天给予几次。

[0068] 合适的片剂可以例如通过将本发明的一种或多种活性物质与已知的赋形剂混合来获得,所述赋形剂例如惰性稀释剂、载体、崩解剂、佐剂、表面活性剂、结合剂和/或润滑剂。

[0069] 包衣片剂可以相应地通过以下方式来制备:将与片剂类似地生产的核心用通常用于片剂包衣的物质(例如可力酮(collidone)或紫胶、阿拉伯树胶、滑石、二氧化钛或糖)包被。为了实现延迟释放或防止不相容性,核心可以由多层组成。类似地,片剂包衣可以由多层组成以实现延迟释放,可能使用上文提及的用于片剂的赋形剂。

[0070] 含有根据本发明的活性物质或其组合的糖浆剂或酏剂可另外含有甜味剂(诸如糖精、环己氨基磺酸盐、甘油或糖)和增味剂(例如调味剂,诸如香草醛或橙提取物)。它们还可以含有悬浮助剂或增稠剂(诸如羧甲基纤维素钠)、润湿剂(例如像脂肪醇与环氧乙烷的缩合产物)或防腐剂(诸如对-羟基苯甲酸酯)。

[0071] 用于注射和输注的溶液以常规方式制备,例如通过添加等渗剂、防腐剂(诸如对-羟基苯甲酸酯)或稳定剂(诸如乙二胺四乙酸的碱金属盐),任选地使用乳化剂和/或分散剂,同时如果使用水作为稀释剂,则例如可以任选地使用有机溶剂作为溶剂化剂或溶解助剂,并且将其转移至注射小瓶或安瓿或输注瓶中。

[0072] 胶囊剂可以例如通过将活性物质与惰性载体(诸如乳糖或山梨糖醇)混合并且将它们包装到明胶胶囊中来制备。

[0073] 合适的栓剂可以例如通过与为此目的而提供的载体(诸如中性脂肪或聚乙二醇或其衍生物)混合来制造。

[0074] 可以使用的赋形剂包括,例如,水,药学上可接受的有机溶剂,诸如石蜡(例如,石油级分)、植物油(例如,花生或芝麻油)、单官能或多官能醇(例如,乙醇或甘油),载体例如像天然矿物粉末(例如,高岭土、粘土、滑石、白垩)、合成矿物粉末(例如,高度分散的硅酸和硅酸盐),糖类(例如,蔗糖、乳糖和葡萄糖),乳化剂(例如,木质素、废亚硫酸盐液体、甲基纤维素、淀粉和聚乙烯吡咯烷酮)和润滑剂(例如,硬脂酸镁、滑石、硬脂酸和十二烷基硫酸钠)。

[0075] 通过常规方法,优选通过口服或透皮途径,最优选通过口服途径施用制剂。对于口服施用,除了上文提及的载体外,片剂当然可以含有添加剂,诸如柠檬酸钠、碳酸钙和磷酸二钙,连同诸如淀粉、优选马铃薯淀粉、明胶等各种添加剂。此外,可以同时使用润滑剂(诸如硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠和滑石)用于压片过程。在水性悬浮液中,除了上文提及的赋形剂之外,还可以将活性物质与多种增味剂或着色剂组合。

[0076] 对于肠胃外使用,可以使用具有合适的液体载体的活性物质的溶液。

[0077] 要施用的式(I)的活性成分的总量通常将在每天约0.001mg/kg体重至约200mg/kg体重的范围内,优选在每天约0.01mg/kg体重至约20mg/kg体重的范围内。临床上有用的给药方案将在每天给药一到三次至每四周给药一次的范围内。此外,“药物假期(drug holiday)”(其中在某个时间段中不用药物对患者进行给药)可能对药理作用与耐受性之间的总体平衡是有益的。单位剂量可含有约0.5mg至约1500mg活性成分,并且可每天施用一次或多次或小于每天一次。通过注射(包括静脉内注射、肌内注射、皮下注射和肠胃外注射)以及使用输注技术施用的平均每日剂量将优选为0.01mg/kg至200mg/kg的总体重。平均每日直肠剂量方案将优选为0.01mg/kg至200mg/kg的总体重。平均每日阴道剂量方案将优选为0.01mg/kg至200mg/kg的总体重。平均每日外用剂量方案将优选为0.1mg至200mg,每日施用一至四次。透皮浓度将优选为维持0.01mg/kg至200mg/kg的日剂量所需的浓度。平均每日吸入剂量方案将优选为0.01mg/kg至100mg/kg的总体重。

[0078] 有时可能需要偏离指定的量,取决于人的体重、年龄、施用途径、疾病的严重程度、个体对药物的反应、配制品的性质以及施用药物的时间或间隔(每天一剂或多剂的连续或间歇治疗)。因此,在一些情况下,使用小于上文给出的最小剂量的剂量可能是足够的,而在其他情况下,可能必须超过上限。当施用更高剂量时,将所述更高剂量分成散布于一天中的

多个更小剂量可能是适当的。

[0079] 如本文所用的“药学上可接受的盐”是指所公开的化合物的衍生物,其中母体化合物通过制备其酸盐或碱盐而被修饰。药学上可接受的盐的例子包括但不限于碱性残基(诸如胺)的矿物盐或有机酸盐;酸性残基(诸如羧酸)的碱盐或有机盐;等。

[0080] 例如,此类盐包括来自苯磺酸、苯甲酸、柠檬酸、乙磺酸、富马酸、龙胆酸、氢溴酸、盐酸、马来酸、苹果酸、丙二酸、扁桃酸、甲磺酸、4-甲基-苯磺酸、磷酸、水杨酸、琥珀酸、硫酸和酒石酸的盐。

[0081] 可以用来自氨、L-精氨酸、钙、2,2’-亚氨基双乙醇、L-赖氨酸、镁、N-甲基-D-葡糖胺、钾、钠和三(羟甲基)-氨基甲烷的阳离子形成其他药学上可接受的盐。

[0082] 本发明的药学上可接受的盐可以通过常规化学方法从含有碱性或酸性部分的母体化合物合成。通常,此类盐可以通过使这些化合物的游离酸或碱形式与足量的适当的碱或酸在水中或在有机稀释剂如醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈或其混合物中反应来制备。

[0083] 根据本发明的化合物的制备

[0084] 通用

[0085] 除非另有说明,否则所有反应均在商业上可获得的装置中使用通常在化学实验室中使用的方法进行。对空气和/或湿气敏感的起始材料储存在保护气体下,并且相应的反应和使用其的操作在保护气体(氮气或氩气)下进行。

[0086] 根据CAS规则使用MarvinSketch(Chemaxon)软件命名根据本发明的化合物。

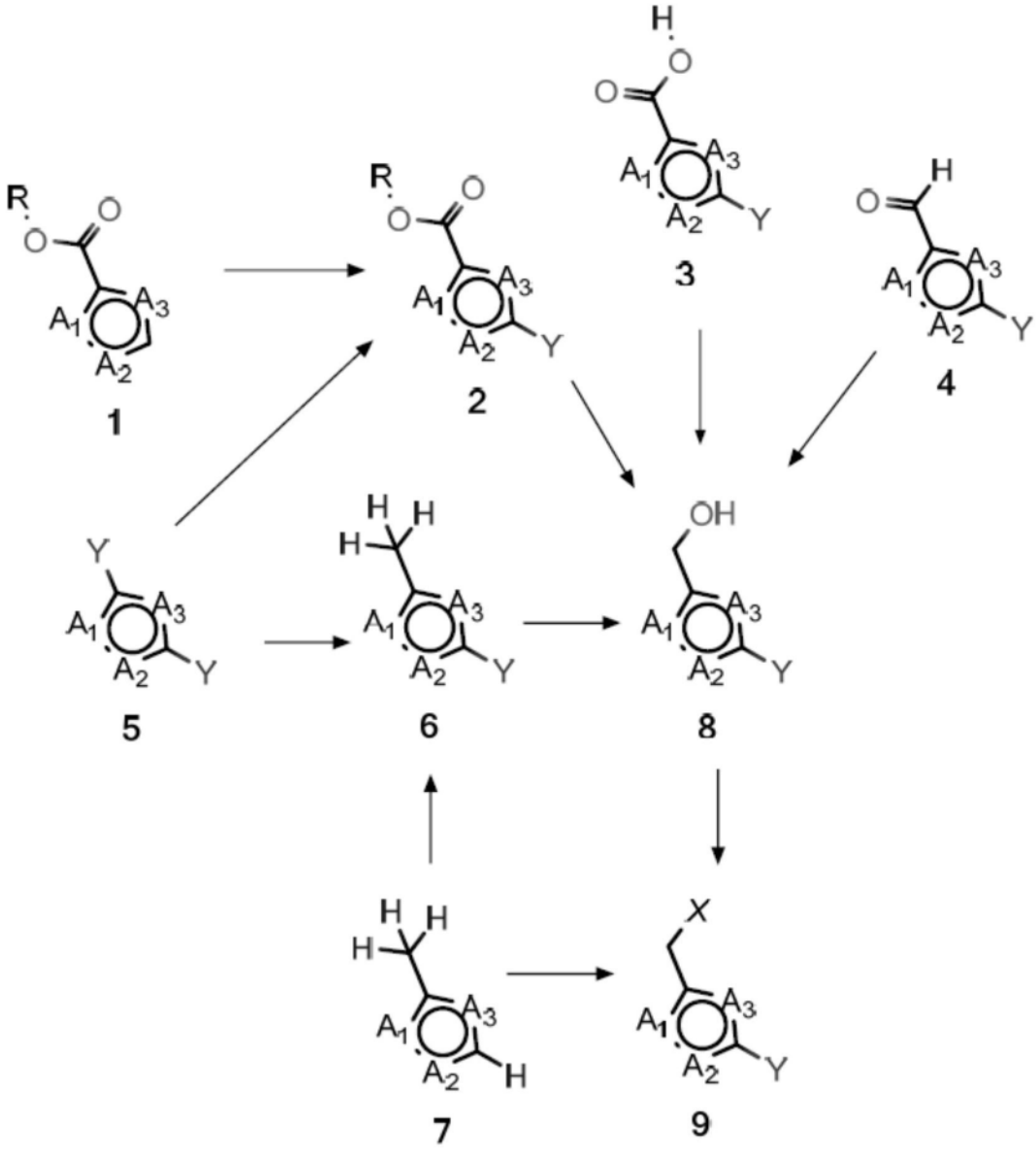
[0087] 根据本发明的化合物通过下文所述的合成方法制备,其中通式的取代基具有上文给出的含义。这些方法旨在说明本发明而不是限制其主题和对于这些实施例所要求保护的化合物的范围。在没有描述起始化合物的制备的情况下,它们是商业上可获得的或者可以与本文所述的已知化合物或方法类似地制备。根据公开的合成方法制备文献中描述的物质。

[0088] 概述

[0089] 化合物的合成:

[0090] 本发明的化合物可按下一节所述制备。下文描述的方案和程序说明了本发明的通式(I)的化合物的通用合成途径,并且不旨在是限制性的。对于本领域技术人员来说清楚的是,在方案中举例说明的转化顺序可以以多种方式修改。因此,在这些方案中举例说明的转化顺序并不旨在是限制性的。此外,任何取代基的互换可以在举例说明的转化之前和/或之后实现。这些修饰可以通过以下方式来实现:引入保护基团、切割保护基团、交换、官能团的还原或氧化、卤化、金属化、取代或本领域技术人员已知的其他反应。这些转化包括引入允许取代基进一步互换的官能度的那些转化。合适的保护基团及其引入和切割对于本领域技术人员来说是熟知的(参见例如P.G.M.Wuts和T.W.Greene的“Protective Groups in Organic Synthesis”,第4版,Wiley 2006)。具体的例子描述于后面的段落中。此外,可能可以进行两个或更多个连续步骤,在所述步骤之间不进行后处理(work-up),例如在“一锅(one-pot)”反应中,正如本领域技术人员所熟知的那样。

[0091] 根据本发明的杂芳基取代的2,6-二氟苯酚化合物的合成优选根据方案1-3所示的通用合成顺序进行。

[0092] 

[0093] 方案1:制备通式8和9的化合物的途径,其中A1、A2和A3具有与上文针对式(I)给出的含义相同的含义,X具有Cl、Br、I、甲磺酸酯或三氟甲磺酸酯的含义,并且Y具有Cl、Br或I的含义,并且R具有烷基的含义。

[0094] 起始材料的准备(方案1):

[0095] 通式1、2、3、4、5、6或7的杂环化合物(方案1)是可商购的或描述于文献中。

[0096] 步骤1-->2(方案1)

[0097] 卤化反应

[0098] 通式1的化合物转换为式2的化合物是技术人员已知的。对于Y=Br,反应可以用诸如溴、N-溴琥珀酰亚胺或溴化铜(II)的试剂进行。对于Y=Cl,反应可以用诸如N-氯琥珀酰亚胺或氯的试剂进行。对于Y=I,反应可以用诸如碘或N-碘琥珀酰亚胺的试剂进行。

[0099] 步骤2-->8(方案1)

[0100] 将酯还原为醇

[0101] 通式2的化合物转换为式8的醇是技术人员已知的,并且可以用诸如四氢化铝锂、硼氢化钠、硼氢化钙、二异丁基氢化铝的试剂进行。

[0102] 步骤3-->8(方案1)

[0103] 将羧酸还原为醇

[0104] 通式3的化合物转换为式8的醇是技术人员已知的,并且可以用诸如四氢化铝锂的试剂进行。

[0105] 步骤4-->8(方案1)

[0106] 将醛还原为醇

[0107] 通式4的化合物转换为式8的醇是技术人员已知的,并且可以用诸如硼氢化钠或氢化铝锂的试剂进行。

[0108] 步骤5-->6(方案1)

[0109] 金属催化的甲基化反应

[0110] 通式5的化合物转换为通式6的化合物是技术人员已知的,并且可以例如在铃木(Suzuki)条件下在有机溶剂(诸如DMF或二噁烷)中用诸如三甲基环三硼氧烷的试剂、诸如(1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁)二氯化钯(II)或四(三苯基膦)钯(0)的钯催化剂和诸如碳酸钾的碱进行。

[0111] 步骤7-->6(方案1)

[0112] 卤化反应

[0113] 通式7的化合物转换为通式6的化合物是技术人员已知的。对于Y=Br,反应可以用诸如溴、N-溴琥珀酰亚胺或溴化铜(II)的试剂进行。对于Y=Cl,反应可以用诸如N-氯琥珀酰亚胺或氯的试剂进行。对于Y=I,反应可以用诸如碘或N-碘琥珀酰亚胺的试剂进行。

[0114] 步骤6-->8(方案1)

[0115] 甲基的羟基化

[0116] 通式6的化合物转换为式8的醇是技术人员已知的,并且可以用诸如二氧化硒(IV)或叔丁基过氧化氢/三乙酸锰的试剂进行。

[0117] 步骤8-->9(方案1)

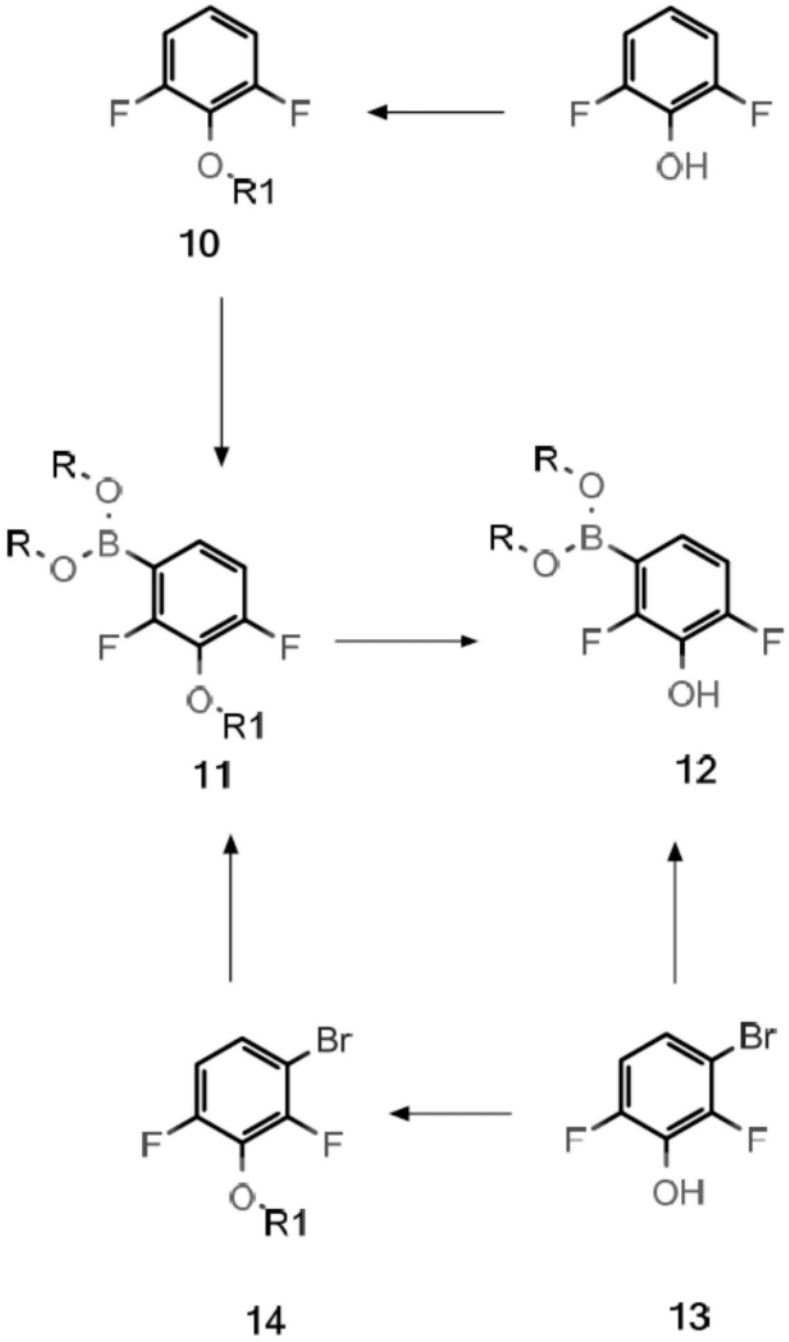
[0118] 将羟基转换为卤素(Br、Cl、I)、甲磺酸酯或三氟甲磺酸酯

[0119] 醇8转化为式9的卤化化合物可以例如使用诸如亚硫酰氯、甲磺酰氯/三乙胺或三苯基膦/四氯甲烷的氯化试剂进行(对于X=Cl)。对于X=Br,可以使用诸如三溴化磷、三甲基溴硅烷、溴化氢、四溴化碳/三苯基膦或三溴化硼/三苯基膦的试剂。对于X=I,可以使用诸如三氟化硼乙醚/碘化钾、1H-咪唑/碘/三苯基膦的试剂。对于X=甲磺酸酯,可以使用诸如甲磺酰氯的试剂和诸如三乙胺的碱。对于X=三氟甲磺酸酯,可以使用诸如三氟甲磺酸酐的试剂和诸如吡啶的碱。

[0120] 步骤7-->9(方案1)

[0121] 甲基的自由基卤化

[0122] 通式7的化合物转换为式9的卤化物是技术人员已知的。通常,使用自由基引发剂(诸如过氧化二苯甲酰或2,2'-偶氮二(异丁腈))和卤化试剂。对于X=Br,反应可以用诸如N-溴琥珀酰亚胺的卤化试剂进行。对于X=Cl,反应可以用诸如N-氯-琥珀酰亚胺的卤化试剂进行。

[0123] 

[0124] 方案2:用于制备通式11、12和14的化合物的途径,其中R具有氢或烷基的含义,并且R1可以是本领域技术人员已知的保护基团(参见例如T.W.Greene和P.G.M.Wuts的Protective Groups in Organic Synthesis,第3版,Wiley 1999)。

[0125] 起始材料的准备(方案2):

[0126] 通式10、11、12、13或14的化合物(方案2)是可商购的或描述于文献中。2,6-二氟苯酚是可商购的。

[0127] 步骤2,6-二氟苯酚-->10(方案2)

[0128] 引入苯酚保护基团

[0129] 2,6-二氟苯酚的苯酚基团可以用合适的保护基团R1掩盖,从而生成通式10的化合物。技术人员已知引入此类合适的保护基团R1的反应条件(参见例如Green、Wuts,

“Protective groups in organic synthesis”1999,John Wiley&Sons及其中的参考文献)。优选地在合成过程中使用苄基、对甲氧基苄基和3,4-甲氧基苄基作为保护基团。

[0130] 步骤10-->11(方案2)

[0131] 引入硼酸或硼酸酯

[0132] 通式10的化合物转换为式11的硼酸衍生物是技术人员已知的。对于R=H,反应可以用诸如硼酸三异丙酯的试剂和诸如正丁基锂的碱进行,随后进行反应的酸性后处理。对于R-R=-C(CH$_3$)$_2$-C(CH$_3$)$_2$-,反应可以用诸如双(频哪醇)二硼烷的试剂和诸如Pt(N,N’-二环已基咪唑-2-亚基)(二乙烯基四甲基硅氧烷)的催化剂进行。

[0133] 步骤11-->12(方案2)

[0134] 除去苯酚保护基团

[0135] 从式11的化合物除去保护基团R1生成式12的化合物。技术人员已知除去此类合适的保护基团R1的反应条件(参见例如Green、Wuts,“Protective groups in organic synthesis”1999,John Wiley&Sons及其中的参考文献)。优选地在合成过程中使用苄基、对甲氧基苄基和3,4-甲氧基苄基作为保护基团,其可通过加氢作用除去。

[0136] 步骤13-->14(方案2)

[0137] 引入苯酚保护基团

[0138] 通式13的化合物可以用合适的保护基团R1掩盖,从而生成通式14的化合物。技术人员已知引入此类合适的保护基团R1的反应条件(参见例如Green、Wuts,“Protective groups in organic synthesis”1999,John Wiley&Sons及其中的参考文献)。优选地在合成过程中使用苄基、对甲氧基苄基和3,4-甲氧基苄基作为保护基团。

[0139] 步骤14-->11(方案2)

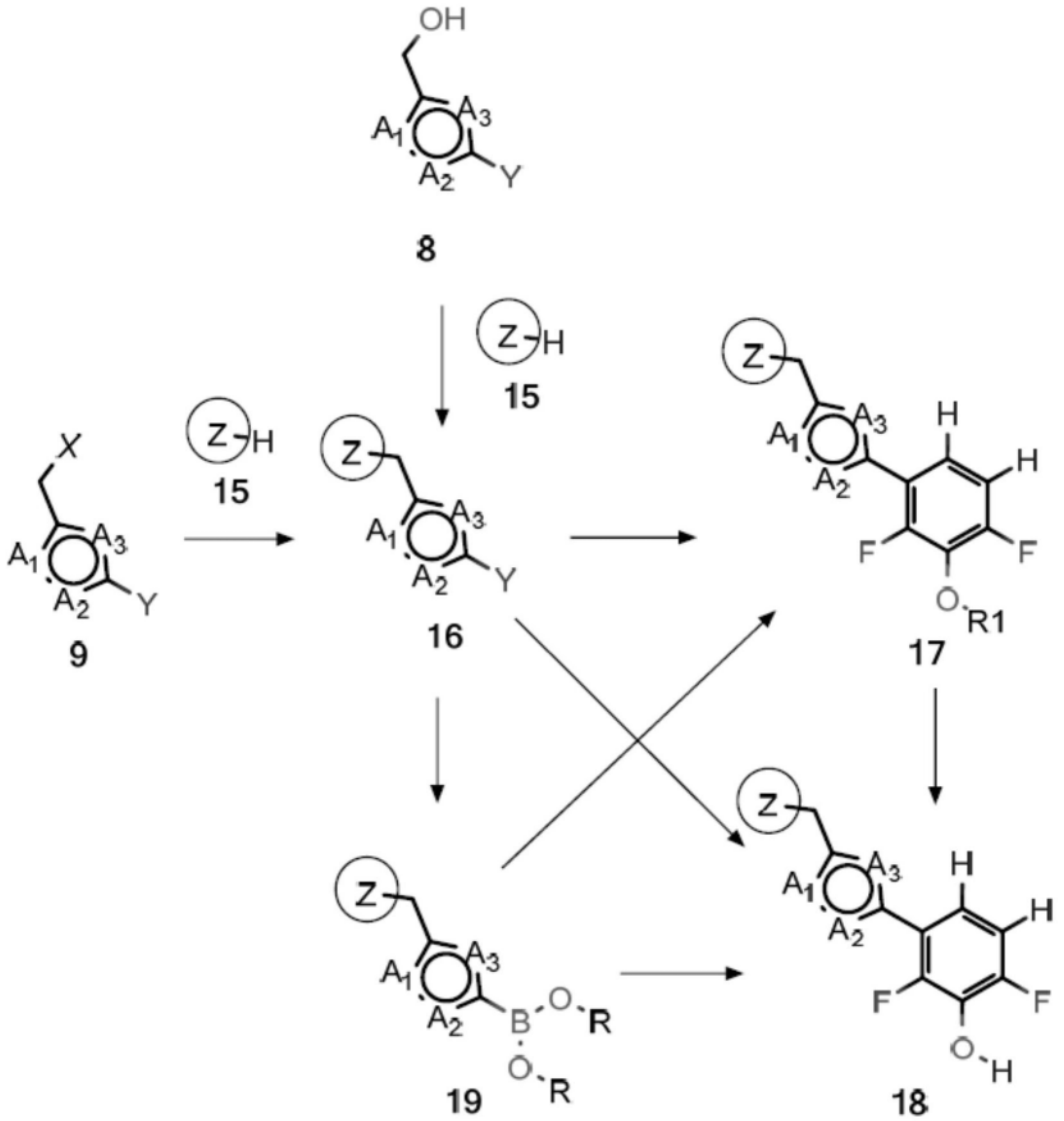
[0140] 引入硼酸酯

[0141] 通式14的化合物转换为式11的硼酸衍生物是技术人员已知的。对于R-R=-C(CH$_3$)$_2$-C(CH$_3$)$_2$-,反应可以用诸如双(频哪醇)二硼烷的试剂、诸如[1,1’-双(二苯基磷烷基)二茂铁]二氯化钯(II)的催化剂和诸如乙酸钾的碱进行。

[0142] 步骤13-->12(方案2)

[0143] 引入硼酸酯

[0144] 通式13的化合物转换为式12的硼酸衍生物是技术人员已知的。对于R-R=-C(CH$_3$)$_2$-C(CH$_3$)$_2$-,反应可以用诸如双(频哪醇)二硼烷的试剂、诸如[1,1’-双(二苯基磷烷基)二茂铁]二氯化钯(II)的催化剂和诸如乙酸钾的碱进行。

[0145] 

[0146] 方案3:制备通式18的化合物的途径,其中A1、A2、A3和Z具有与上文针对式(I)给出的含义相同的含义,X具有羟基、Cl、Br、I、甲磺酸酯或三氟甲磺酸酯的含义,Y具有Cl、Br或I的含义,R具有氢或烷基的含义。此外,R1可以是本领域技术人员已知的保护基团(参见例如T.W.Greene和P.G.M.Wuts的Protective Groups in Organic Synthesis,第3版,Wiley 1999)。

[0147] 起始材料的准备(方案3):

[0148] 通式15(方案3)的酰胺化合物是可商购的,描述于文献中或可以类似于文献程序的方式来制备。

[0149] 步骤8+15-->16(方案3)

[0150] 光延反应

[0151] 通式8的化合物和通式15的化合物转换为式16的衍生物是技术人员已知的。所述反应可以在光延条件下使用诸如以下的试剂进行:偶氮二甲酸二异丙酯/三苯基膦、偶氮二甲酸二叔丁酯/三苯基膦或偶氮二甲酸二乙酯/三苯基膦。

[0152] 步骤9+15-->16(方案3)

[0153] 酰胺的烷基化

[0154] 通式9的化合物和通式15的化合物转换为式16的衍生物是技术人员已知的。对于X＝Cl、Br或I,反应可以用诸如碳酸钾、碳酸铯、氢化钠或LDA的碱在诸如DMF、DMSO或乙腈的溶剂中进行。

[0155] 步骤16+11-->17(方案3)

[0156] 钯催化的与硼酸的反应

[0157] 式16的杂芳基卤化物可与硼酸衍生物11反应,以得到式17的化合物。硼酸衍生物可以是硼酸(R＝H)或硼酸的酯,例如其异丙酯(R＝-$CH(CH_3)_2$),优选衍生自频哪醇的酯,其中硼酸中间体形成2-芳基-4,4,5,5-四甲基-1,3,2,-二氧环戊硼烷(R-R＝-$C(CH_3)_2$-$C(CH_3)_2$-)。

[0158] 偶联反应由钯催化剂催化,例如由Pd(0)催化剂像四(三苯基膦)钯(0)[$Pd(PPh_3)_4$]、三(二苄叉丙酮)二-钯(0)[$Pd_2(dba)_3$],或由Pd(II)催化剂像二氯双(三苯基膦)-钯(II)[$Pd(PPh_3)_2Cl_2$]、XPhos Pd G2、Pd-Peppsi 2Me-Ipent Cl、乙酸钯(II)和三苯基膦,或由[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯催化。

[0159] 所述反应优选在像1,2-二甲氧基甲烷、二噁烷、DMF、DME、THF、乙醇、或异丙醇的溶剂与水的混合物中以及在像碳酸钾、碳酸氢钠、乙酸钾或磷酸钾的碱的存在下进行。

[0160] (综述:D.G.Hall,Boronic Acids,2005WILEY-VCH Verlag GmbH&Co.KGaA,Weinheim,ISBN 3-527-30991-8以及其中的参考文献)。

[0161] 所述反应在温度为室温(即大约20℃)至相应溶剂的沸点的范围内进行。更进一步,所述反应可以在高于沸点的温度下使用压力管和微波炉进行。所述反应优选在1至36小时的反应时间后完成。

[0162] 步骤17-->18(方案3)

[0163] 除去苯酚保护基团

[0164] 从式17的化合物除去保护基团R1生成式18的化合物。技术人员已知除去此类合适的保护基团R1的反应条件(参见例如Green、Wuts,"Protective groups in organic synthesis"1999,John Wiley&Sons及其中的参考文献)。优选地在合成过程中使用苄基、对甲氧基苄基和3,4-甲氧基苄基作为保护基团,其可通过加氢作用除去。

[0165] 步骤16-->19(方案3)

[0166] 引入硼酸酯

[0167] 通式16的化合物转换为式19的硼酸衍生物是技术人员已知的。对于R-R＝-$C(CH_3)_2$-$C(CH_3)_2$-,反应可以用诸如双(频哪醇)二硼烷的试剂、诸如[1,1'-双(二苯基磷烷基)二茂铁]二氯化钯(II)的催化剂和诸如乙酸钾的碱进行。

[0168] 步骤19+13-->18(方案3)

[0169] 钯催化的与硼酸的反应

[0170] 式13的芳基卤化物可与硼酸衍生物19反应,以得到式18的化合物。硼酸衍生物可以是硼酸(R＝H)或硼酸的酯,例如其异丙酯(R＝-$CH(CH_3)_2$),优选衍生自频哪醇的酯,其中硼酸中间体形成2-芳基-4,4,5,5-四甲基-1,3,2,-二氧环戊硼烷(R-R＝-$C(CH_3)_2$-$C(CH_3)_2$-)。

[0171] 偶联反应由钯催化剂催化,例如由Pd(0)催化剂像四(三苯基膦)钯(0)[$Pd(PPh_3)_4$]、三(二苄叉丙酮)二-钯(0)[$Pd_2(dba)_3$],或由Pd(II)催化剂像二氯双(三苯基膦)-

钯(II)[$Pd(PPh_3)_2Cl_2$]、XPhos Pd G2、Pd-Peppsi 2Me-Ipent Cl、乙酸钯(II)和三苯基膦，或由[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯催化。

[0172] 所述反应优选在像1,2-二甲氧基甲烷、二噁烷、DMF、DME、THF、乙醇、或异丙醇的溶剂与水的混合物中以及在像碳酸钾、碳酸氢钠、乙酸钾或磷酸钾的碱的存在下进行。

[0173] (综述:D.G.Hall,Boronic Acids,2005WILEY-VCH Verlag GmbH&Co.KGaA,Weinheim,ISBN 3-527-30991-8以及其中的参考文献)。

[0174] 所述反应在温度为室温(即大约20℃)至相应溶剂的沸点的范围内进行。更进一步,所述反应可以在高于沸点的温度下使用压力管和微波炉进行。所述反应优选在1至36小时的反应时间后完成。

[0175] 步骤16+12-->18(方案3)

[0176] 钯催化的与硼酸的反应

[0177] 式16的杂芳基卤化物可与硼酸衍生物12反应,以得到式18的化合物。硼酸衍生物可以是硼酸(R=H)或硼酸的酯,例如其异丙酯(R=-$CH(CH_3)_2$),优选衍生自频哪醇的酯,其中硼酸中间体形成2-芳基-4,4,5,5-四甲基-1,3,2,-二氧环戊硼烷(R-R=-$C(CH_3)_2$-$C(CH_3)_2$-)。

[0178] 偶联反应由钯催化剂催化,例如由Pd(0)催化剂像四(三苯基膦)钯(0)[$Pd(PPh_3)_4$]、三(二苄叉丙酮)二-钯(0)[$Pd_2(dba)_3$],或由Pd(II)催化剂像二氯双(三苯基膦)-钯(II)[$Pd(PPh_3)_2Cl_2$]、XPhos Pd G2、Pd-Peppsi 2Me-Ipent Cl、乙酸钯(II)和三苯基膦，或由[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯催化。

[0179] 所述反应优选在像1,2-二甲氧基甲烷、二噁烷、DMF、DME、THF、乙醇、或异丙醇的溶剂与水的混合物中以及在像碳酸钾、碳酸氢钠、乙酸钾或磷酸钾的碱的存在下进行。

[0180] (如以下综述:D.G.Hall,Boronic Acids,2005WILEY-VCH Verlag GmbH&Co.KGaA,Weinheim,ISBN 3-527-30991-8以及其中的参考文献)。

[0181] 所述反应在温度为室温(即大约20℃)至相应溶剂的沸点的范围内进行。更进一步,所述反应可以在高于沸点的温度下使用压力管和微波炉进行。所述反应优选在1至36小时的反应时间后完成。

[0182] 步骤19+14-->17(方案3)

[0183] 钯催化的与硼酸的反应

[0184] 式14的芳基卤化物可与硼酸衍生物19反应,以得到式17的化合物。硼酸衍生物可以是硼酸(R=H)或硼酸的酯,例如其异丙酯(R=-$CH(CH_3)_2$),优选衍生自频哪醇的酯,其中硼酸中间体形成2-芳基-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧环戊硼烷(R-R=-$C(CH_3)_2$-$C(CH_3)_2$-)。

[0185] 偶联反应由钯催化剂催化,例如由Pd(0)催化剂像四(三苯基膦)钯(0)[$Pd(PPh_3)_4$]、三(二苄叉丙酮)二-钯(0)[$Pd_2(dba)_3$],或由Pd(II)催化剂像二氯双(三苯基膦)-钯(II)[$Pd(PPh_3)_2Cl_2$]、XPhos Pd G2、Pd-Peppsi 2Me-Ipent Cl、乙酸钯(II)和三苯基膦，或由[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯催化。

[0186] 所述反应优选在像1,2-二甲氧基甲烷、二噁烷、DMF、DME、THF、乙醇、或异丙醇的溶剂与水的混合物中以及在像碳酸钾、碳酸氢钠、乙酸钾或磷酸钾的碱的存在下进行。

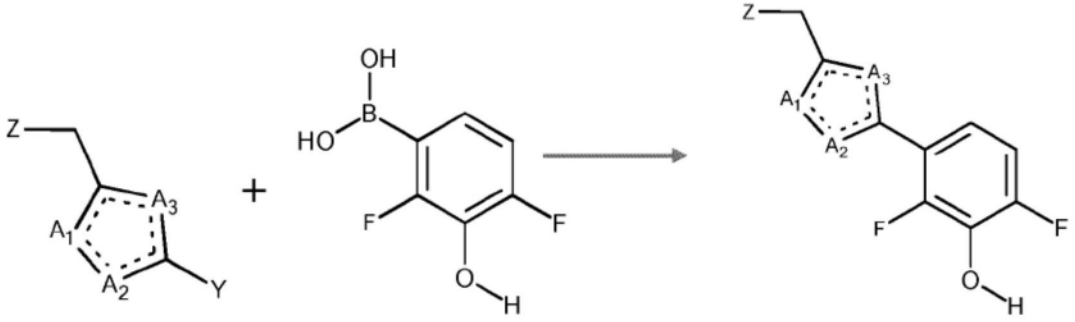
[0187] (综述:D.G.Hall,Boronic Acids,2005WILEY-VCH Verlag GmbH&Co.KGaA,

Weinheim,ISBN 3-527-30991-8以及其中的参考文献)。

[0188] 所述反应在温度为室温(即大约20℃)至相应溶剂的沸点的范围内进行。更进一步,所述反应可以在高于沸点的温度下使用压力管和微波炉进行。所述反应优选在1至36小时的反应时间后完成。

[0189] 式(I)的化合物的通用制备方法:

[0190] 本发明公开了使用化合物X1和X2来制备通式(I)的化合物的以下方法或工艺:

[0191] 

X1 X2 (I)

[0192] 用于获得通式(I)的化合物的所述方法的特征在于:

[0193] • 在通式X1的化合物中,Z、A1、A2、A3具有与针对通式(I)的化合物定义的含义相同的含义,

[0194] • 使用钯催化剂和碱使通式X1的化合物(其中Y可以是Br、I或Cl)与通式X2的化合物反应;以及

[0195] • 所述反应在溶剂或溶剂混合物中在环境温度与溶剂的沸点之间、优选在50℃与120℃之间的温度下进行。

[0196] • 通式(I)的化合物的制备可在非质子或质子溶剂或溶剂混合物中进行,优选在1,4-二噁烷、四氢呋喃或乙醇/水中进行。

[0197] • 可用于制备通式(I)的化合物的优选碱是碳酸钠或碳酸铯。

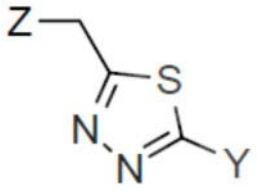
[0198] • 用于制备通式(I)化合物的优选钯催化剂是

[0199] -氯(2-二环己基膦基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯基)[2-(2'-氨基-1,1'-联苯基)]钯(II)(第2代XPhos预催化剂)或

[0200] -1,3-双(2,6-二-3-戊基苯基)咪唑-2-亚基](3-氯吡啶基)二氯化钯(II)。

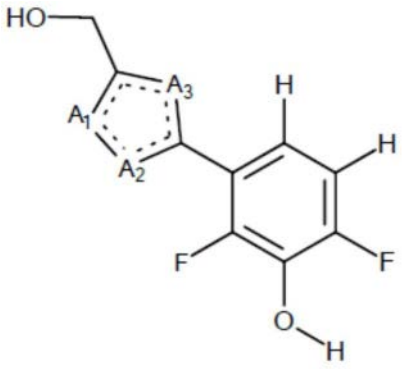
[0201] 中间体化合物:

[0202] 本发明还公开了可用于制备通式(I)的化合物的中间体化合物。特别地,本发明公开了通式Ia的化合物,其中Z如上文针对通式(I)的化合物所定义,并且Y可以是Br、I或Cl:

[0203] 

(Ia)

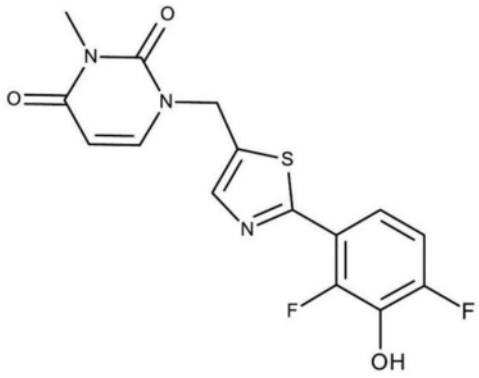
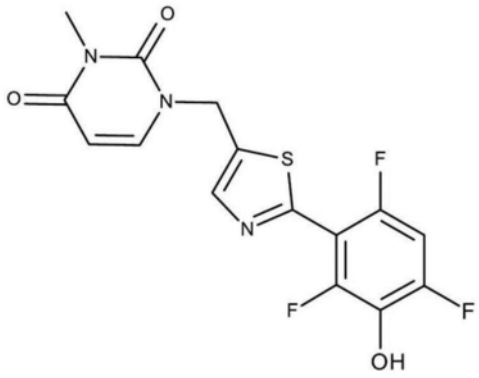
[0204] 本发明公开了可用于制备式(I)的化合物的另外的中间体化合物。特别地,本发明还公开了式(Ib)的化合物,其中A1、A2和A3如上文针对通式(I)的化合物所定义:

[0205] 

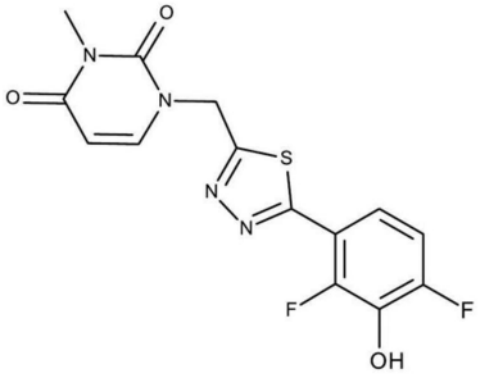
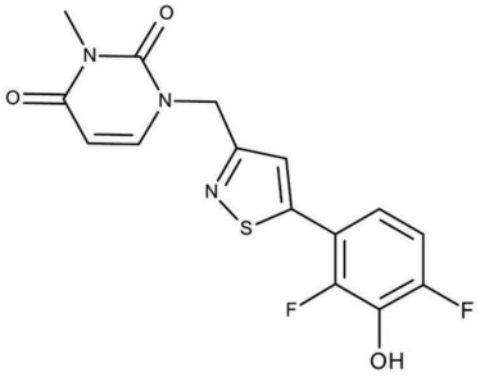
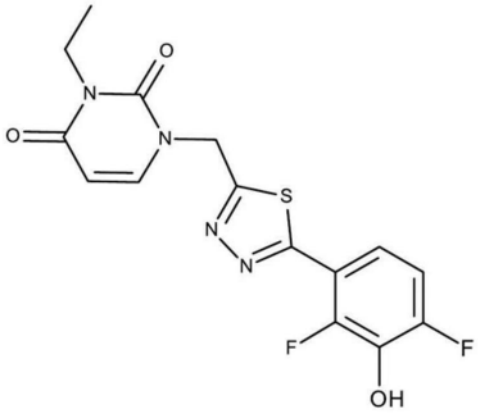
(Ib)。

[0206] 下表列出了根据本发明制备的化合物01-30。

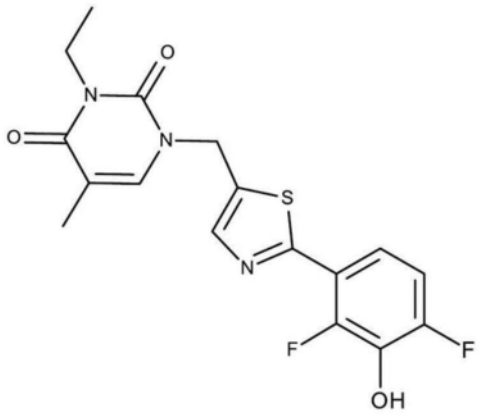
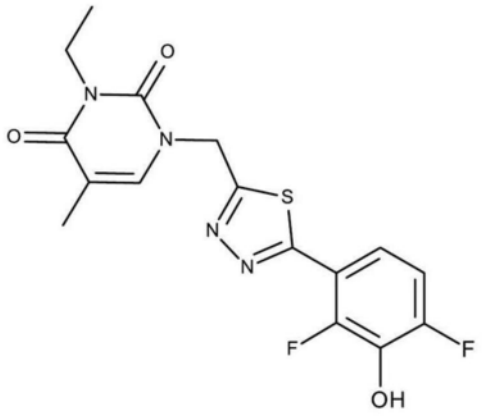
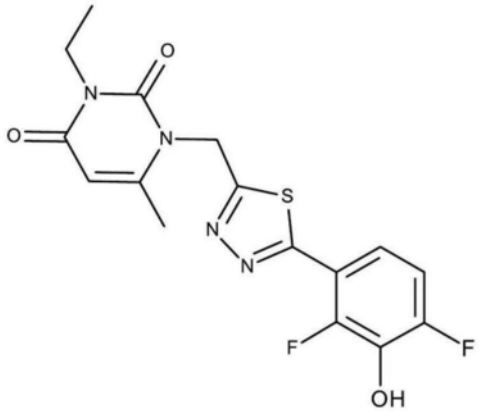
[0207]

化合物编号	式 (I)
01	
02	

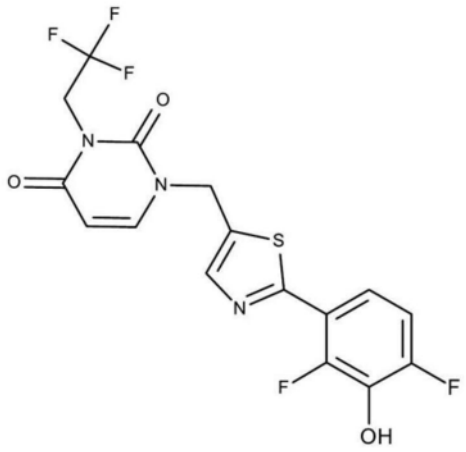
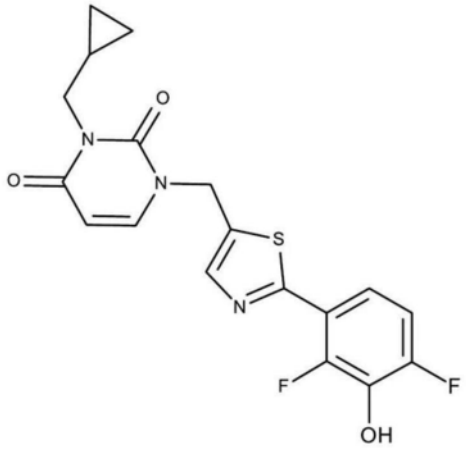
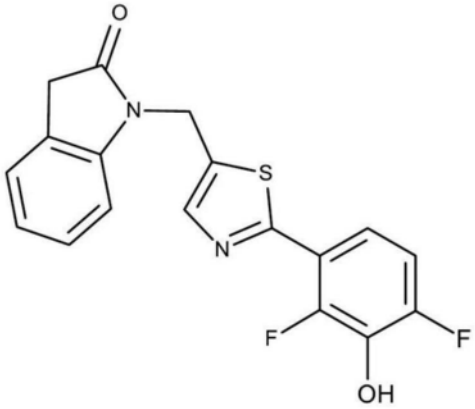
[0208]

03	
04	
05	

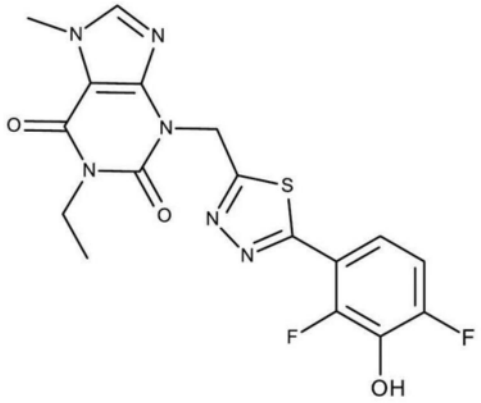
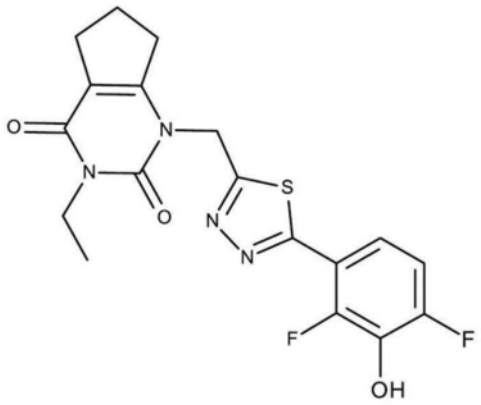
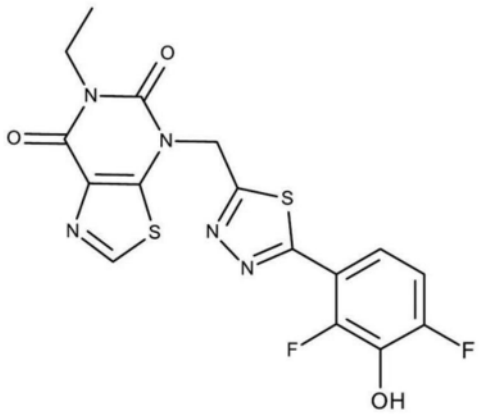
[0209]

06	
07	
08	

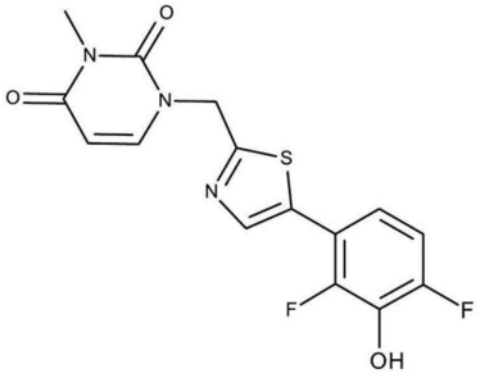
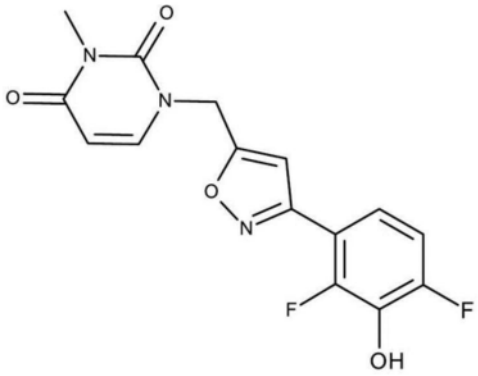
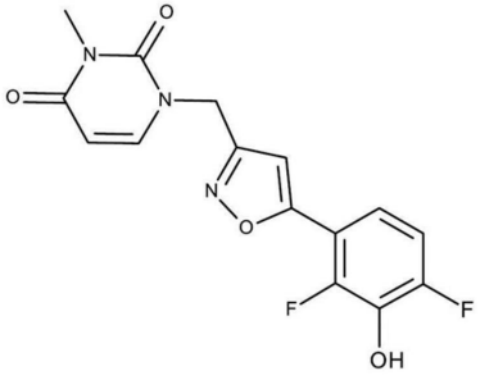
[0210]

09	
10	
11	

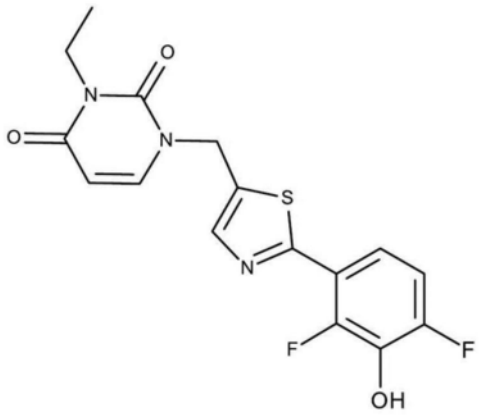
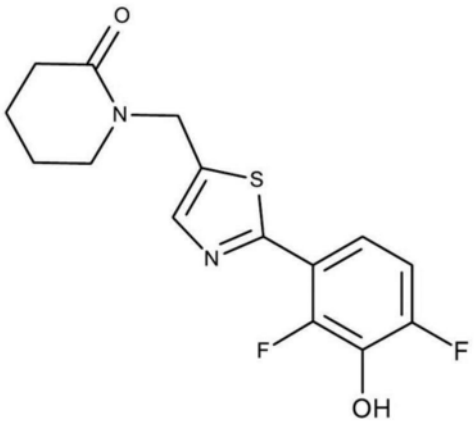
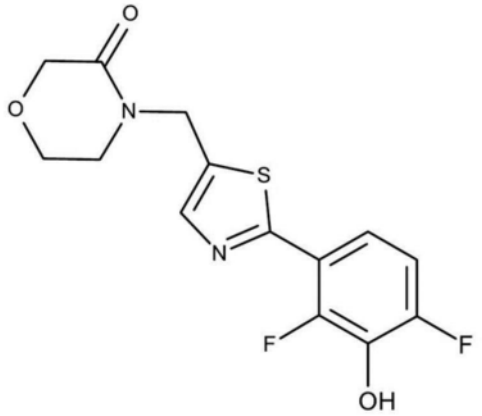
[0211]

12	
13	
14	

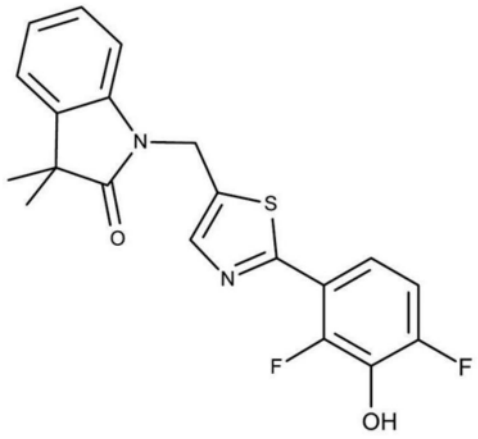
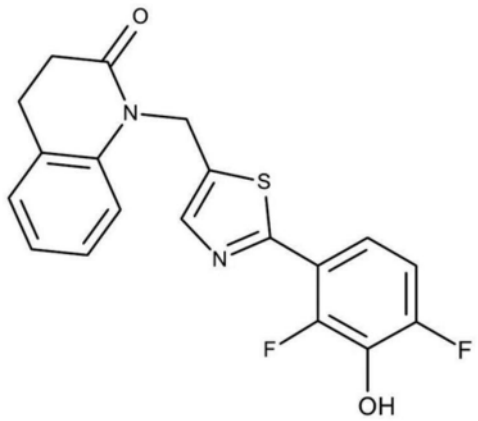
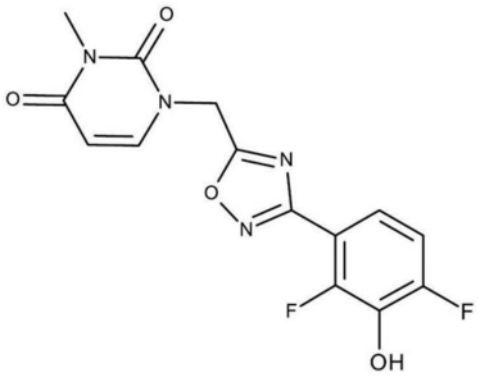
[0212]

15	
16	
17	

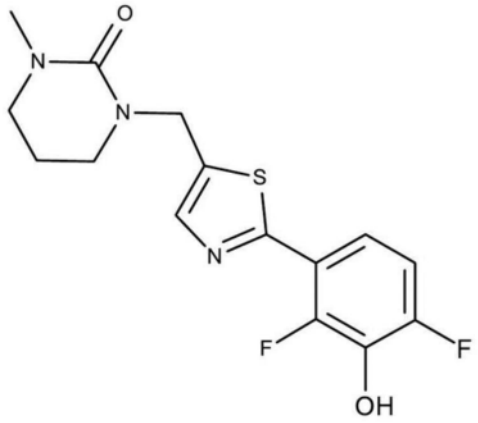
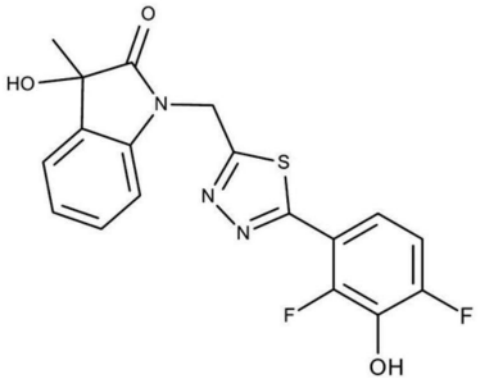
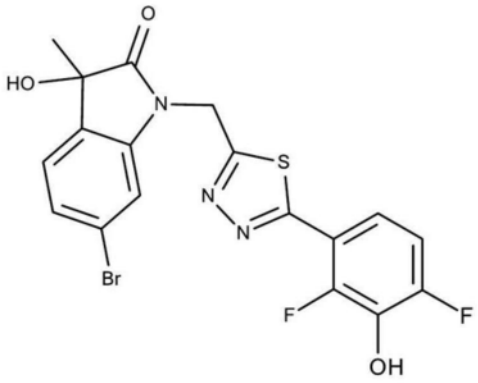
[0213]

18	
19	
20	

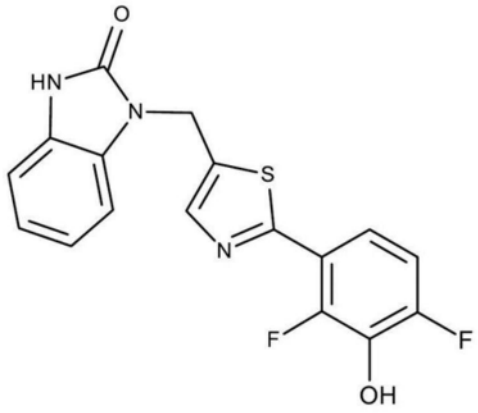
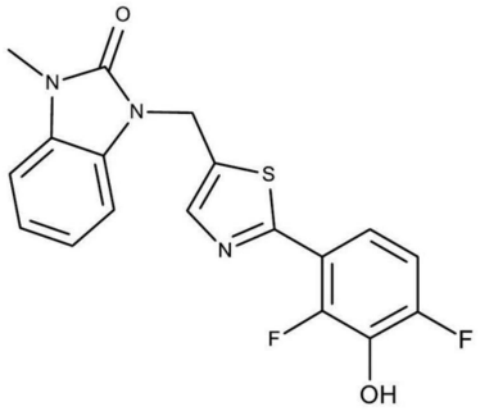
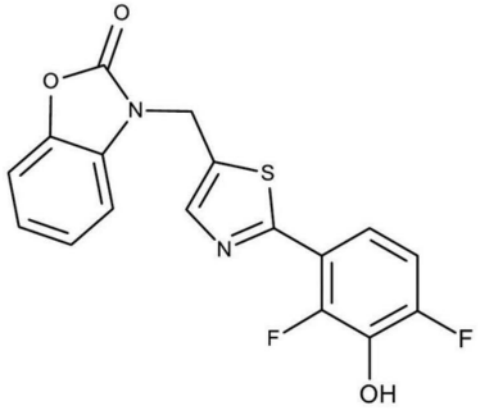
[0214]

21	
22	
23	

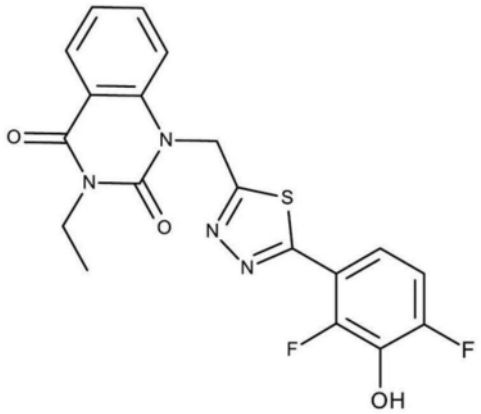
[0215]

24	
25	
26	

[0216]

27	
28	
29	

[0217]

30	

[0218] 从以下实施例中,本发明的特征和优点将变得明显,所述实施例通过举例说明本发明而不限制其范围。

[0219] 缩写

[0220]

ACN	乙腈
AcOH	乙酸
aq.	水性的
°C	摄氏度
CDI	1,1'-羰基二咪唑
conc.	浓缩的
Cs_2CO_3	碳酸铯
DCM	二氯甲烷
DIPEA	*N,N*-二异丙基乙胺
DMF	*N,N*-二甲基甲酰胺
DTAD	偶氮二甲酸二叔丁酯
EDC	({[3-(二甲基氨基)丙基]亚氨基}亚甲基)(乙基)胺
ESI-MS	电喷雾电离质谱法
Et_2O	乙醚
EtOAc	乙酸乙酯
EtOH	乙醇
h	小时
HCl	盐酸
HOBT	1-羟基苯并三唑
HPLC	高效液相色谱法
HMDS	双(三甲基硅烷基)胺
K_2CO_3	碳酸钾
KOAc	乙酸钾
KOtBu	叔丁醇钾
K_3PO_4	磷酸三钾
L	升

[0221]

$LiAlH_4$	氢化铝锂
MeOH	甲醇
$MgSO_4$	硫酸镁
min	分钟
mL	毫升
n-BuLi	正丁基锂
NaOAc	乙酸钠
Na_2SO_4	硫酸钠
NaOCl	次氯酸钠
NaOH	氢氧化钠
$PdCl_2$(dtbpf)	[1,1'-双(二-叔丁基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)
Pd(dppf)$_2$ x CH_2Cl_2	[1,1'-双(二苯基膦基)-二茂铁]二氯化钯(II)二氯甲烷复合物
Pd-Peppsi 2Me Ipent Cl	[1,3-双[2,6-双(1-乙基丙基)苯基]-4,5-二氯-咪唑-2-基]-二氯-(2-甲基-1-吡啶基)钯
RT	室温（约 20°C）
sat.	饱和的
t-BuOH	叔丁醇
TEA	三乙胺
TFA	三氟乙酸
THF	四氢呋喃
TPP	三苯基膦
XPhos	2-(二环己基磷烷基)-2',4',6'-三(异丙基)联苯
XPhos Pd G2	氯(2-二环己基膦基-2',4',6'-三-异丙基-1,1'-联苯基) (2'-氨基-1,1'-联苯-2-基)钯(II)

[0222] 实施例

[0223] 实施例1:分析型HPLC方法

[0224] 1.1方法A

[0225] 分析柱:Waters;Sunfire C18_3.0x30mm,2.5μm;柱温:60℃装置:Agilent 1200,具有DA检测器和MS检测器

[0226]

时间（min）	Vol%水（包含 0.1% TFA）	Vol% ACN	流速 [mL/min]
0.00	97.0	3.0	2.2
0.20	97.0	3.0	2.2
1.20	0.0	100.0	2.2
1.25	0.0	100.0	3.0
1.40	0.0	100.0	3.0

[0227] 1.2方法B

[0228] 分析柱:Waters;XBridge C18_3.0x30mm,2.5μm;柱温:60℃装置:Agilent 1200,具有DA检测器和MS检测器

[0229]

时间（min）	Vol%水（包含 0.1% NH_4OH）	Vol% ACN	流速 [mL/min]
0.00	97.0	3.0	2.2
0.20	97.0	3.0	2.2
1.20	0.0	100.0	2.2
1.25	0.0	100.0	3.0
1.40	0.0	100.0	3.0

[0230] 1.3方法C

[0231] 分析柱:Waters;Sunfire C18_2.1x30mm,2.5μm;柱温:60℃装置:Waters Acquity,具有DA检测器和MS检测器

[0232]

时间（min）	Vol%水（包含 0.1% TFA）	Vol% ACN	流速 [mL/min]
0.00	99.0	1.0	1.5
0.02	99.0	1.0	1.5
1.00	0.0	100.0	1.5
1.10	0.0	100.0	1.5

[0233] 1.4方法D

[0234] 分析柱:Sunfire C18_3.0x30mm,2.5μm;柱温:60℃装置:Waters Acquity,QDa检测器

[0235]

时间（min）	Vol%水（包含 0.1% TFA）	Vol% ACN（包含 0.08% TFA）	流速 [mL/min]
0.00	95.0	5.0	1.5
1.30	0.0	100.0	1.5
1.50	0.0	100.0	1.5
1.60	95.0	5.0	1.5

[0236] 1.5方法E

[0237] 分析柱:Sunfire C18_3.0x30mm,2.5μm;柱温:60℃装置:Waters Acquity,QDa检测器

[0238]

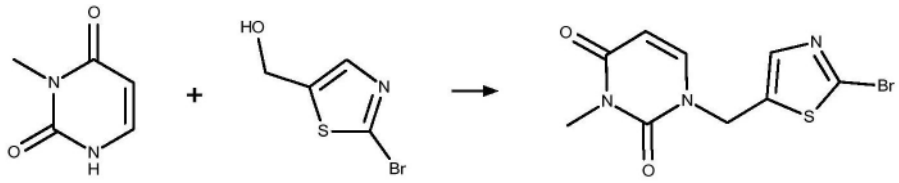
时间（min）	Vol%水（包含 0.1% TFA）	Vol% ACN（包含 0.08% TFA）	流速 [mL/min]
0.00	95.0	5.0	1.5
1.30	0.0	100.0	1.5
1.50	0.0	100.0	1.5
1.60	95.0	5.0	1.5

[0239] 实施例2:中间体的制备

[0240] 2.1中间体I

[0241] 中间体I.1(通用程序)

[0242] 1-[(2-溴-1,3-噻唑-5-基)甲基]-3-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮

[0243] 

[0244] 将3-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮(3.00g;23.79mmol)和3-溴噻唑-5-甲醇(5.08g;26.17mmol)溶解在THF(50mL)和DMF(20mL)中。添加TPP(聚合物结合的,3mmol/g;10.50g;30.92mmol),并将反应混合物在冰浴中冷却。添加DTAD(7.12g;30.92mmol)。在RT下搅拌过夜后,将反应混合物过滤并蒸发THF。将残余物倒在水上并且用EtOAc萃取几次。将合并的有机层用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,滤出并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(硅胶;DCM/MeOH,100/0直到95/5)纯化以提供产物。

[0245] $C_9H_8BrN_3O_2S$:(M=302.2g/mol)

[0246] ESI-MS:302$[M+H]^+$

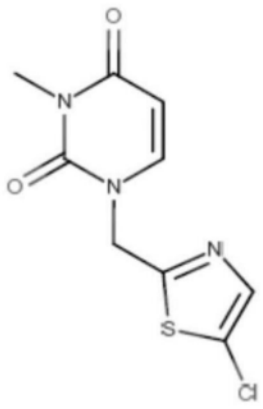
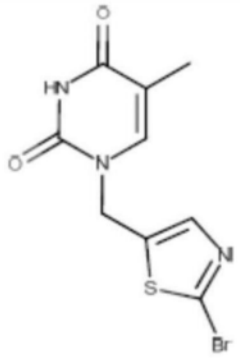
[0247] R_t(HPLC):0.67min(方法A)

[0248] 产量:4.03g;56%

[0249] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δppm:3.16(s,3H),5.10(s,2H),5.76(d,J=7.86Hz,1H),7.73(s,1H),7.84(d,J=7.86Hz,1H)。

[0250] 下表所示的中间体化合物I.2和I.3使用与针对中间体I.1所述的程序类似的程序使用合适的起始材料来制备。如本领域技术人员所理解,这些类似的实施例可能涉及通用反应条件的变化。

[0251]

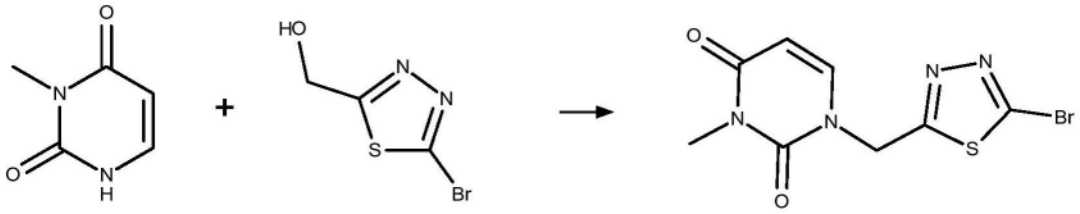
中间体	起始材料	结构	反应条件(与通用程序的偏差)
I.2	3-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮和(5-氯-1,3-噻唑-2-基)甲醇		将残余物溶解在DMF中;静置2天;滤出沉淀物
I.3	5-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮和(2-溴-1,3-噻唑-5-基)甲醇		未结合的TPP

[0252]

中间体	ESI-MS	HPLC 保留时间（方法）	1H NMR
I.2	258	0.78 min (B)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 3.16 (s, 3 H), 5.21 (s, 2 H), 5.78 (d, J = 7.86 Hz, 1 H), 7.79 (s, 1 H), 7.82 (d, J = 7.86 Hz, 1 H)。
I.3	302	0.74 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.75 (d, J = 1.01 Hz, 3 H), 5.00 (s, 2 H), 7.66 (d, J = 1.14 Hz, 1 H), 7.71 (s, 1 H), 11.40 (s, 1 H)。

[0253] 中间体I.4

[0254] 1-[(5-溴-1,3,4-噻二唑-2-基)甲基]-3-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮

[0255] 

[0256] 向(5-溴-1,3,4-噻二唑-2-基)甲醇(0.20g;1.03mmol)和TEA(0.17mL;1.23mmol)在DCM(5mL)中的搅拌混合物逐滴添加甲磺酰氯(0.10mL;1.23mmol)。在RT下搅拌1h后,添加另一份甲磺酰氯(0.04mL)并再搅拌一小时。将反应混合物用DCM和水稀释。将有机层通过相分离器滤芯分离并蒸发。将残余物吸收在DMF(3mL)中,添加3-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮(0.10g;0.79mmol)和K_2CO_3(0.28g;2.03mmol)。将反应混合物在RT下搅拌过夜,过滤并通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供产物。

[0257] $C_8H_7BrN_4O_2S$(M=303.1g/mol)

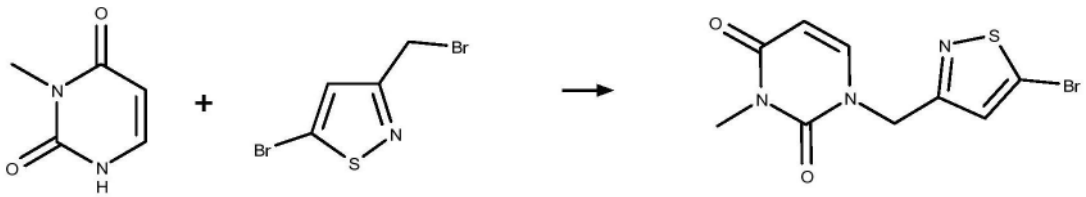
[0258] ESI-MS:303/305(Br)$[M+H]^+$

[0259] R_t(HPLC):0.71min(方法A)

[0260] 产量:0.14g;58%

[0261] 中间体I.5

[0262] 1-[(5-溴-1,2-噻唑-3-基)甲基]-3-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮

[0263] 

[0264] 将在干DMF(2mL)中的3-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮(0.04g;0.32mmol)、5-溴-3-(溴甲基)-1,2-噻唑(0.09mL;0.35mmol)和K_2CO_3(0.10g;0.70mmol)在RT下搅拌2h。将反应混合物分配在EtOAc与水之间。将有机层用盐水和水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并在减压下浓缩。

[0265] $C_9H_8BrN_3O_2S$(M=302.2g/mol)

[0266] ESI-MS:302$[M+H]^+$

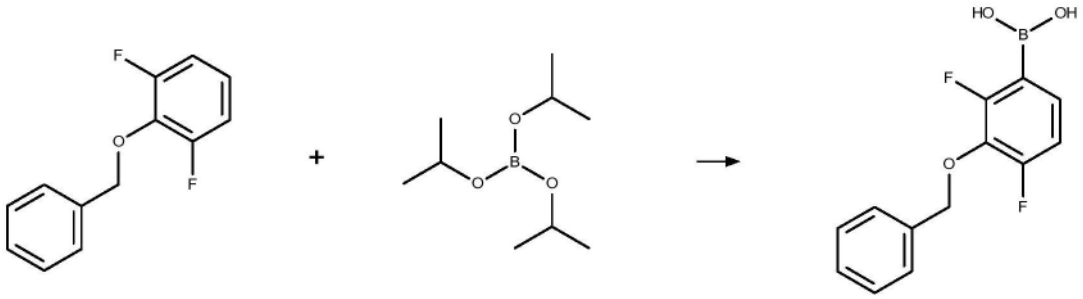
[0267] R_t(HPLC):0.71min(方法A)

[0268] 产量:0.09g;97%

[0269] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:3.15(s,3H),5.07(s,2H),5.76(d,J=7.86Hz,1H),7.56(s,1H),7.77(d,J=7.86Hz,1H)。

[0270] 2.2中间体II

[0271] [3-(苄氧基)-2,4-二氟苯基]硼酸

[0272] 

[0273] 将在THF(10mL)中的2-(苄氧基)-1,3-二氟苯(0.50g;2.27mmol)冷却至-78℃。逐滴添加n-BuLi(2.5mol/L在THF中;1.36mL;3.63mmol)并在低温下搅拌50分钟。逐滴添加硼酸三异丙酯(0.73mL;3.63mmol),在-78℃下再搅拌10min,然后在不进行冷却的情况下再搅拌30分钟。将反应用HCl(水溶液;4mol/L;5mL)淬灭并且搅拌10分钟。将混合物倒在水上并且用EtOAc萃取几次。将合并的有机层用$MgSO_4$干燥,滤出,并在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(硅胶;DCM/MeOH,带有极少量AcOH,100/0直到96/4)纯化以提供产物。

[0274] $C_{13}H_{11}BF_2O_3$(M=264.0g/mol)

[0275] ESI-MS:263[M-H]$^-$

[0276] R_t(HPLC):0.75min(方法B)

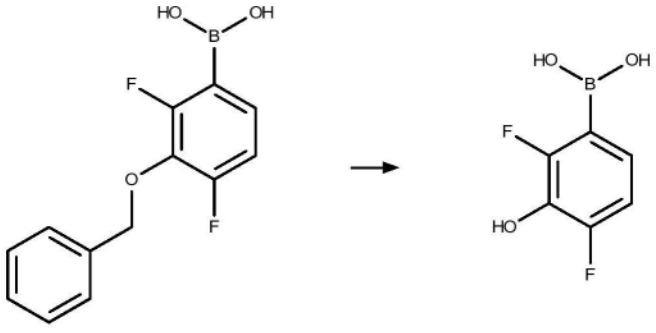
[0277] 产量:0.25g;42%

[0278] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:5.12(s,2H),7.05(ddd,J=10.27,8.62,1.39Hz,1H),7.25(dt,J=8.40,6.57Hz,1H),7.30-7.56(m,5H),8.23(br s,2H)。

[0279] 2.3中间体III

[0280] 中间体III.1

[0281] (2,4-二氟-3-羟基苯基)硼酸

[0282] 

[0283] 将在THF与MeOH(各自3mL)的混合物中的中间体II.1(0.10g;0.38mmol)在parr装置中使用Pd/C 10%(0.02g)在RT下加氢3h。将反应混合物在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供产物。

[0284] $C_6H_5BF_2O_3$(M=173.9g/mol)

[0285] ESI-MS:173[M-H]$^-$

[0286] R_t(HPLC):0.07min(方法B)

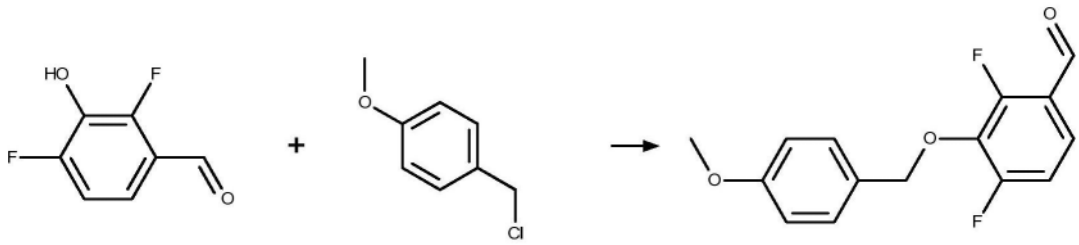
[0287] 产量:0.05g;77%

[0288] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:6.90-7.00(m,2H),8.11(br s,2H),9.81(br s,1H)。

[0289] 2.4中间体IV

[0290] 中间体IV.1(通用程序)

[0291] 2,4-二氟-3-[(4-甲氧基苯基)甲氧基]苯甲醛

[0292] 

[0293] 将1-(氯甲基)-4-甲氧基苯(0.19mL;1.39mmol)添加到2,4-二氟-3-羟基苯甲醛(0.20g;1.27mmol)和K_2CO_3(0.27g;1.94mmol)在ACN(5mL)中的混合物中。在60℃下搅拌3h后,将反应混合物过滤并用DMF/水/TFA稀释,并且通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化。将ACN在所需级分中蒸发,并且将产物分配在DCM与水之间。将有机层经$MgSO_4$干燥,过滤,并在减压下浓缩。

[0294] $C_{15}H_{12}F_2O_3$(M=278.3g/mol)

[0295] ESI-MS:277[M-H]$^-$

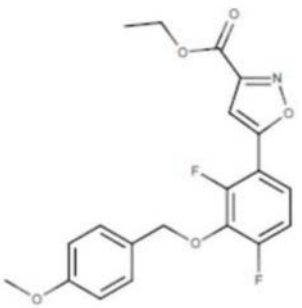
[0296] R_t(HPLC):1.12min(方法A)

[0297] 产量:0.22g;63%

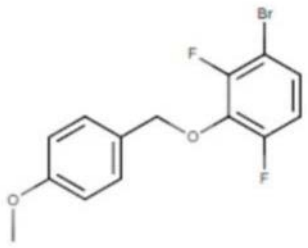
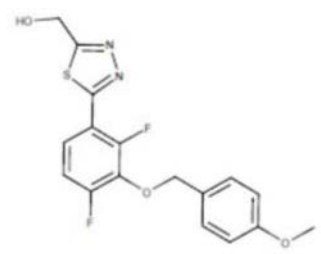
[0298] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:3.75(s,3H),5.14(s,2H),6.93(d,J=8.74Hz,2H),7.26-7.39(m,3H),7.59(ddd,J=8.81,7.41,6.08Hz,1H),10.11(s,1H)。

[0299] 下表所示的中间体化合物IV.2和IV.4使用与针对中间体IV.1所述的程序类似的程序使用合适的起始材料来制备。如本领域技术人员所理解,这些类似的实施例可能涉及通用反应条件的变化。

[0300]

中间体	起始材料	结构	反应条件(与通用程序的偏差)
IV.2	中间体 VII.1 和 4-甲氧基苄基氯		在 60°C 下搅拌 30 min,并且在 70°C 下搅拌 1 h

[0301]

IV.3	3-溴-2,6-二氟苯酚和4-甲氧基苄基氯		在70°C下搅拌2 h
IV.4	中间体VII.2和4-甲氧基苄基氯		在80°C下搅拌6.5 h；通过蒸发和用水处理产生沉淀物来纯化

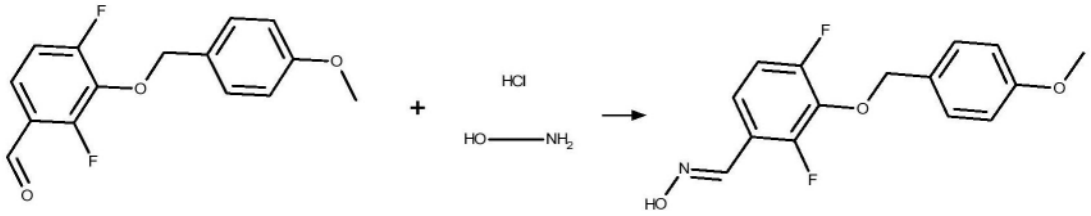
[0302]

中间体	ESI-MS	HPLC保留时间（方法）	^{1}H NMR
IV.2	390	1.20 min (A)	
IV.3			
IV.4	365	1.02 (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 3.75 (s, 3 H), 4.94 (s, 2 H), 5.17 (s, 2 H), 6.30 (br s, 1 H), 6.94 (d, J = 8.62 Hz, 2 H), 7.29 - 7.40 (m, 3 H), 7.92 (ddd, J = 8.87, 7.73, 5.96 Hz, 1 H)。

[0303] 2.5中间体V

[0304] 中间体V.1

[0305] ({2,4-二氟-3-[(4-甲氧基苯基)甲氧基]苯基}亚甲基)羟胺

[0306] 

[0307] 将在MeOH(8mL)和水(3mL)中的中间体IV.1(0.22g;0.79mmol)和NaOAc(0.08g;1.03mmol)在RT下搅拌。添加盐酸羟胺(0.04mL;1.03mmol),并将反应混合物加热至80℃持续1.5h。将反应混合物在减压浓缩,并吸收在水/EtOAc中。将水层用EtOAc萃取几次。将合并的有机层经$MgSO_4$干燥,过滤,并在减压下浓缩。

[0308] $C_{15}H_{13}F_2NO_3$(M=293.3g/mol)

[0309] ESI-MS:294$[M+H]^+$

[0310] R_t(HPLC):1.06min(方法A)

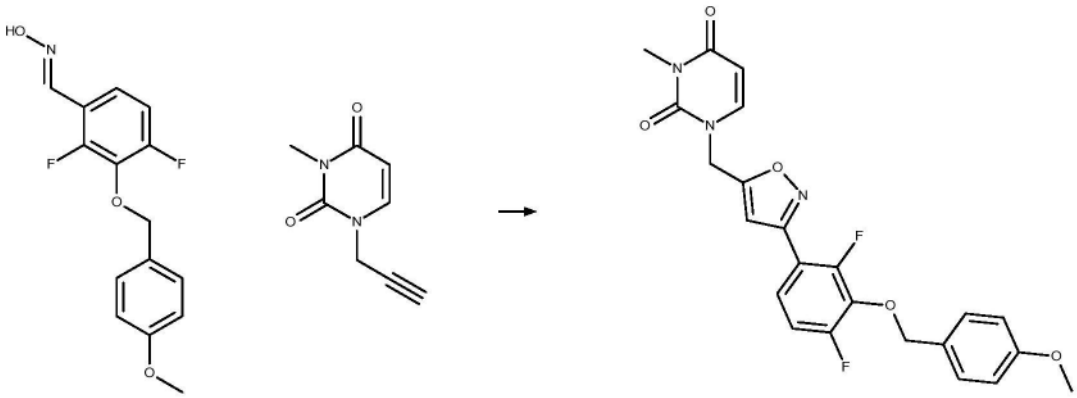
[0311] 产量:0.25g;定量

[0312] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:3.75(s,3H),5.10(s,2H),6.90-6.96(m,2H),7.10-7.19(m,1H),7.31-7.37(m,2H),7.42(ddd,J=8.81,7.79,6.08Hz,1H),8.14(s,1H),11.59(s,1H)。

[0313] 2.6中间体VI

[0314] 中间体VI.1

[0315] 1-[(3-{2,4-二氟-3-[(4-甲氧基苯基)甲氧基]苯基}-1,2-噁唑-5-基)甲基]-3-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮

[0316] 

[0317] 将在t-BuOH(4mL)和水(4mL)中的中间体V.1(0.10g;0.34mmol)、3-甲基-1-(丙基-2-炔-1-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮(0.06g;0.34mmol)和TEA(0.01mL;0.03mmol)在RT下搅拌。添加NaOCl(0.45mL;0.58mmol)。在RT下搅拌2.5h后,添加EtOAc和水。将有机层分离,经$MgSO_4$干燥,过滤,并在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供产物。

[0318] $C_{23}H_{19}F_2N_3O_5$(M=455.4g/mol)

[0319] ESI-MS:456$[M+H]^+$

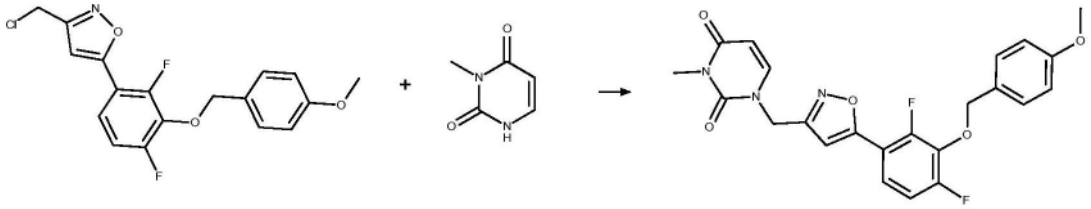
[0320] R_t(HPLC):1.07min(方法A)

[0321] 产量:0.02g;12%

[0322] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:3.17(s,3H),3.75(s,3H),5.14(s,2H),5.20(s,2H),5.81(d,J=7.86Hz,1H),6.89(d,J=2.66Hz,1H),6.93(d,J=8.74Hz,2H),7.26(td,J=9.57,1.77Hz,1H),7.35(d,J=8.62Hz,2H),7.56(ddd,J=8.90,7.83,5.96Hz,1H),7.86(d,J=7.98Hz,1H)。

[0323] 中间体VI.2(通用程序)

[0324] 1-[(5-{2,4-二氟-3-[(4-甲氧基苯基)甲氧基]苯基}-1,2-噁唑-3-基)甲基]-3-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮

[0325] 

[0326] 将在DMF(2mL)中的中间体IX.1(0.10g;0.03mmol)、3-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮(0.01g;0.05mmol)和K_2CO_3(0.01g;0.08mmol)在RT下搅拌1h并在50℃下搅拌30min。将反应混合物过滤并通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供产物。

[0327] $C_{23}H_{19}F_2N_3O_5$(M=455.4g/mol)

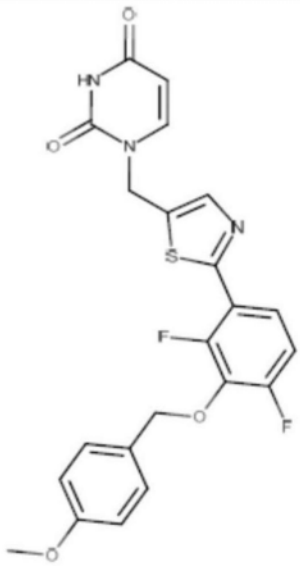
[0328] ESI-MS:456$[M+H]^+$

[0329] R_t(HPLC):1.07min(方法A)

[0330] 产量:0.01g;53%

[0331] 下文接下来的中间体化合物VI.3使用与针对中间体VI.2所述的程序类似的程序使用合适的起始材料来制备。如本领域技术人员所理解,这些类似的实施例可能涉及通用反应条件的变化。

[0332]

中间体	起始材料	结构
VI.3	中间体 IX.2 和 1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮	

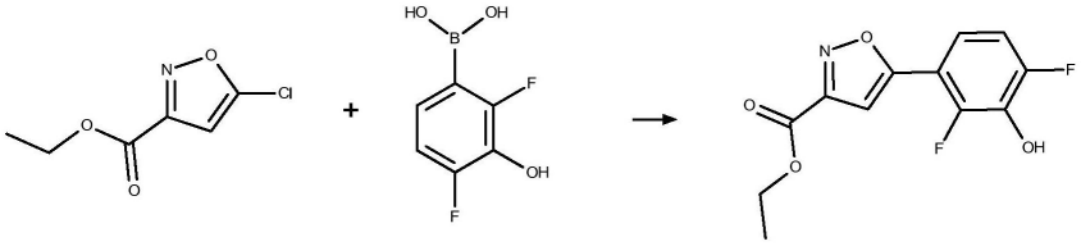
[0333]

中间体	ESI-MS	HPLC 保留时间（方法）	^{1}H NMR
VI.3	458	1.01 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 3.73 (s, 3 H), 5.11 (s, 2 H), 5.24 (d, J = 3.42 Hz, 2 H), 5.86 (d, J = 7.86 Hz, 1 H), 6.91 (d, J = 8.36 Hz, 2 H), 7.18 - 7.27 (m, 1 H), 7.33 (d, J = 8.49 Hz, 2 H), 7.84 (tt, J = 8.46, 5.67 Hz, 1 H), 7.90 - 7.99 (m, 1 H), 8.03 (d, J = 2.03 Hz, 1 H)。

[0334] 2.7中间体VII

[0335] 中间体VII.1

[0336] 5-(2,4-二氟-3-羟基苯基)-1,2-噁唑-3-甲酸乙酯

[0337] 

[0338] 将5-氯-1,2-噁唑-3-甲酸乙酯(0.15g;0.85mmol)、中间体III.1(0.22g;1.28mmol)和K_3PO_4(0.36g;1.71mmol)溶解在二噁烷(3mL)中。将反应混合物用氮气冲洗。添加Pd-Peppsi 2Me-Ipent Cl(0.04g;0.04mmol)。在65℃下搅拌20min后,将反应混合物用DMF/水稀释,并通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供产物。

[0339] $C_{12}H_9F_2NO_4$(M=269.2g/mol)

[0340] ESI-MS:270$[M+H]^+$

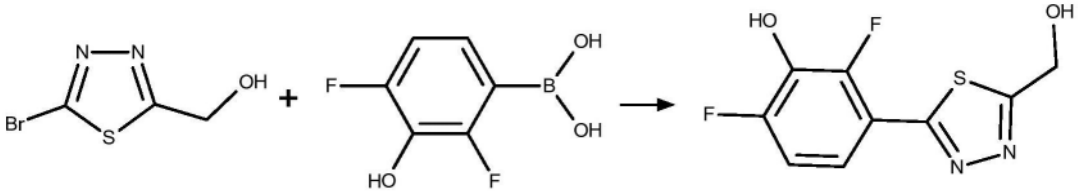
[0341] R_t(HPLC):0.98min(方法A)

[0342] 产量:0.03g;11%

[0343] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:1.35(t,J=7.16Hz,3H),4.40(q,J=7.10Hz,2H),7.16(d,J=2.91Hz,1H),7.25(td,J=9.57,1.77Hz,1H),7.43(ddd,J=8.84,7.64,5.70Hz,1H),10.77(br s,1H)。

[0344] 中间体VII.2

[0345] 2,6-二氟-3-[5-(羟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基]苯酚

[0346] 

[0347] 将反应在氮气气氛下进行。将(5-溴-1,3,4-噻二唑-2-基)甲醇(4.00g;20.51mmol)、中间体III.1(4.60g;24.61mmol)和Na_2CO_3(5.43g;51.27mmol)溶解在EtOH(50mL)和水(10mL)中。添加Pd-Peppsi 2Me-Ipent Cl(0.86g;1.03mmol),并将混合物在80℃下搅拌过夜。将反应混合物过滤并且将滤液在减压下浓缩。将残余物吸收在水中,并且将所得沉淀物滤出以提供产物。

[0348] $C_9H_6F_2N_2O_2S$(M=244.2g/mol)

[0349] ESI-MS:245$[M+H]^+$

[0350] R_t(HPLC):0.72min(方法A)

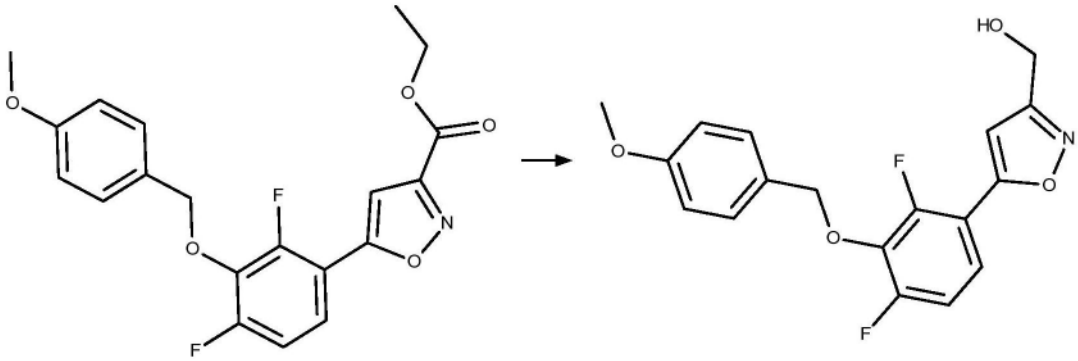
[0351] 产量:2.66g;53%

[0352] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:4.93(d,J=4.69Hz,2H),6.27(br t,J=5.39Hz,1H),7.19-7.34(m,1H),7.65(ddd,J=8.84,7.57,5.89Hz,1H),10.75(s,1H)。

[0353] 2.8中间体VIII

[0354] 中间体VIII.1

[0355] (5-{2,4-二氟-3-[(4-甲氧基苯基)甲氧基]苯基}-1,2-噁唑-3-基)甲醇

[0356] 

[0357] 将在THF(3mL)中的中间体IV.2(0.03g;0.07mmol)冷却至-20℃。逐滴添加$LiAlH_4$(在THF中的溶液;1mol/L;0.05mL;0.05mol/L)并在低温下搅拌30min。添加两滴水和NaOH(水溶液;4mol/L),并在RT下再搅拌20min。将反应混合物过滤,用水稀释,并通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供产物。

[0358] $C_{18}H_{15}F_2NO_4$(M=347.3g/mol)

[0359] ESI-MS:348$[M+H]^+$

[0360] R_t(HPLC):1.04min(方法A)

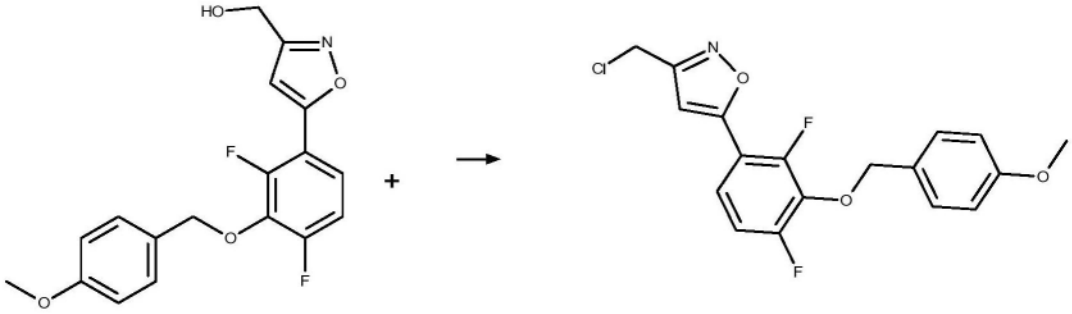
[0361] 产量:0.02g;70%

[0362] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:3.75(s,3H),4.57(d,J=6.08Hz,2H),5.16(s,2H),5.55(t,J=6.02Hz,1H),6.82(d,J=3.55Hz,1H),6.93(d,J=8.74Hz,2H),7.30(ddd,J=10.36,8.90,1.90Hz,1H),7.36(d,J=8.62Hz,2H),7.63(ddd,J=8.90,7.83,5.83Hz,1H)。

[0363] 2.9中间体IX

[0364] 中间体IX.1

[0365] 3-(氯甲基)-5-{2,4-二氟-3-[(4-甲氧基苯基)甲氧基]苯基}-1,2-噁唑

[0366] 

[0367] 将在ACN(2mL)中的中间体VIII.1(0.02g;0.024mmol)、TPP(0.01g;0.04mmol)和四氯化碳(0.02mL;0.22mmol)在80℃下搅拌2.67h。将反应混合物在减压下浓缩。将残余物作为粗产物用于进一步反应中。

[0368] $C_{18}H_{14}ClF_2NO_3$(M=365.8g/mol)

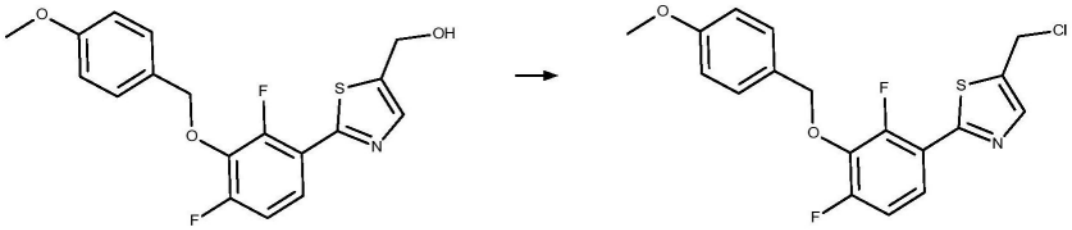
[0369] ESI-MS:366$[M+H]^+$

[0370] R_t(HPLC):1.20min(方法A)

[0371] 产量:0.01g;70%(通过HPLC-MS确定)

[0372] 中间体IX.2(通用程序)

[0373] 5-(氯甲基)-2-{2,4-二氟-3-[(4-甲氧基苯基)甲氧基]苯基}-1,3-噻唑

[0374] 

[0375] 将在DCM(10mL)中的中间体XI.1(0.99g;2.72mmol)和TEA(0.60mL;4.33mmol)在冰浴中搅拌。逐滴添加甲磺酰氯(0.32mL;4.13mmol)。在低温下搅拌5min后,将反应混合物在RT下搅拌过夜。将反应混合物用另外的DCM稀释并且用稀柠檬酸洗涤。将有机层用相分离器滤芯分离并蒸发。

[0376] $C_{18}H_{14}ClF_2NO_2S$(M=381.8g/mol)

[0377] ESI-MS:382$[M+H]^+$

[0378] R_t(HPLC):1.22min(方法A)

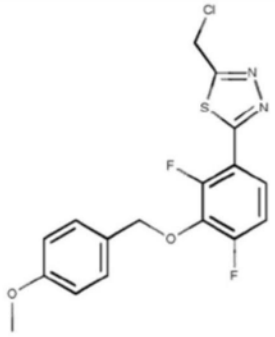
[0379] 产量:1.01g;97%

[0380] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:3.75(s,3H),5.16(s,2H),5.18(s,2H),6.93(d,J=8.74Hz,2H),7.28(td,J=9.63,1.90Hz,1H),7.36(d,J=8.62Hz,2H),7.89(ddd,J=9.00,

8.05,6.02Hz,1H),8.03(d,J＝2.28Hz,1H)。

[0381] 接下来的中间体化合物IX.3使用与针对中间体IX.2所述的程序类似的程序使用合适的起始材料来制备。如本领域技术人员所理解,这些类似的实施例可能涉及通用反应条件的变化。

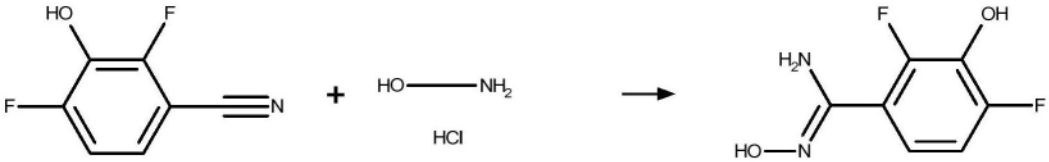
[0382]

中间体	起始材料	结构	反应条件(与通用程序的偏差)	ESI-MS	HPLC 保留时间(方法)	^{1}H NMR
IX.3	中间体IV.4			383	1.10 (A)	

[0383] 2.10中间体X

[0384] 中间体X.1

[0385] 2,4-二氟-N',3-苯二酚-1-甲脒

[0386] 

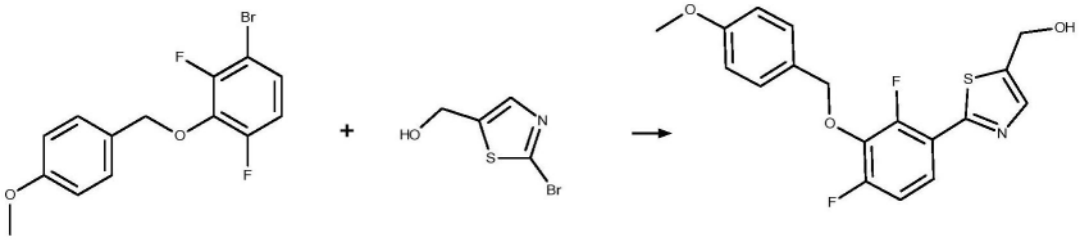
[0387] 将在EtOH(0.5mL)中的2,4-二氟-3-羟基苯腈(0.03g;0.20mmol)在RT下搅拌。逐滴添加在EtOH(1mL)中的盐酸羟胺(0.03g;0.40mmol)和TEA(0.06mL;0.04mmol)。在RT下搅拌20h后,将反应混合物在减压下浓缩并作为粗产物进一步使用。

[0388] $C_7H_6F_2N_2O_2$(M＝188.1g/mol)

[0389] 2.11中间体XI

[0390] 中间体XI.1

[0391] (2-{2,4-二氟-3-[(4-甲氧基苯基)甲氧基]苯基}-1,3-噻唑-5-基)甲醇

[0392] 

[0393] 将在二噁烷(50mL)中的中间体IV.3(3.00g;9.11mmol)、双(频哪醇合)二硼(3.50g;13.78mmol)、KOAc(2.30g;23.44mmol)和Pd(dppf)$_2$x CH_2Cl_2(0.75g;0.92mmol)在90℃下搅拌过夜。添加另外的双(频哪醇合)二硼(0.70g;2.76mmol)并将反应混合物在100℃下再搅拌2h。在冷却至RT后,添加Pd(dppf)$_2$x CH_2Cl_2(0.38g;0.46mmol)、(2-溴-1,3-噻唑-5-基)甲醇(1.80g;9.28mmol)和Na_2CO_3(水溶液;2mol/L;15.00mL;30.00mmol)并将反应混合

物在回流下搅拌6h。将混合物冷却至RT,用EtOAc稀释并且通过Celite®过滤。将滤液在减压下浓缩。将残余物分配在EtOAc与水之间。将有机层分离,经Na_2SO_4干燥,过滤,并在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(硅胶;环己烷/EtOAC 2:1至1:1)纯化。将Et_2O添加到蒸发的级分中,搅拌并滤出。将沉淀物在空气中干燥。

[0394] $C_{18}H_{15}F_2NO_3S$(M=363.4g/mol)

[0395] ESI-MS:364$[M+H]^+$

[0396] R_t(HPLC):1.07min(方法A)

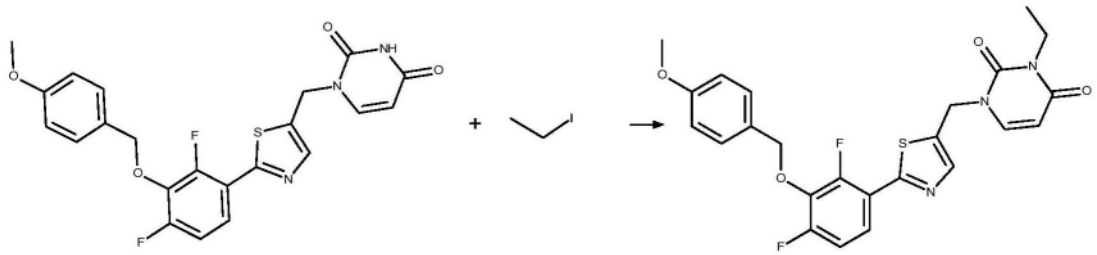
[0397] 产量:1.10g;30%

[0398] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:3.75(s,3H),4.75(d,J=5.70Hz,2H),5.16(s,2H),5.64(t,J=5.77Hz,1H),6.93(d,J=8.74Hz,2H),7.26(td,J=9.63,1.77Hz,1H),7.36(d,J=8.62Hz,2H),7.79-7.83(m,1H),7.86(ddd,J=8.93,8.11,6.02Hz,1H)。

[0399] 2.12中间体XII

[0400] 中间体XII.1(通用程序)

[0401] 1-[(2-{2,4-二氟-3-[(4-甲氧基苯基)甲氧基]苯基}-1,3-噻唑-5-基)甲基]-3-乙基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮

[0402] 

[0403] 将在DMF(3mL)中的中间体VI.3(0.03g;0.05mmol)、碘乙烷(0.01mL;0.16mmol)和K_2CO_3(0.03g;0.16mmol)在50℃下搅拌2h。将反应混合物用水稀释,过滤并通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供产物。

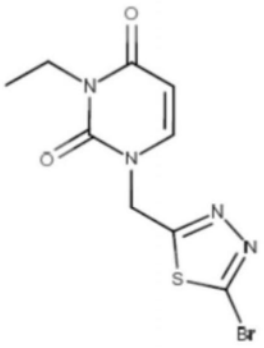
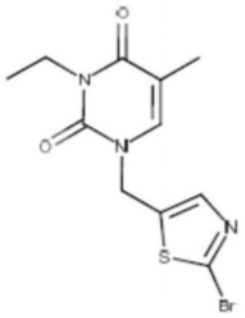
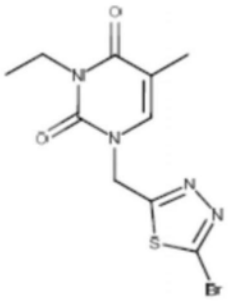
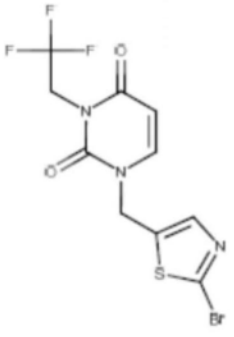
[0404] $C_{24}H_{21}F_2N_3O_4S$(M=485.5g/mol)

[0405] R_t(HPLC):1.12min(方法A)

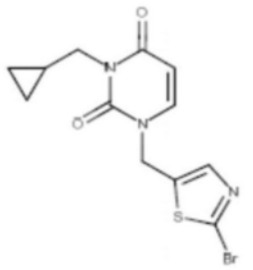
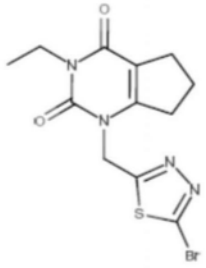
[0406] 产量:0.02g;64%

[0407] 下文接下来的中间体化合物XII.2至XII.7使用与针对中间体化合物XII.1所述的程序类似的程序使用合适的起始材料来制备。如本领域技术人员所理解,这些类似的实施例可能涉及通用反应条件的变化。

[0408]

中间体	起始材料	结构	反应条件（与通用程序的偏差）
XII.2	中间体 XIII.1 和碘乙烷		在 70°C 下搅拌；通过用 DCM 从水中萃取纯化
XII.3	中间体 I.3 和 碘乙烷		
XII.4	中间体 XIII.2 和 碘乙烷		通过使用水进行沉淀纯化
XII.5	中间体 XV.1 和 1,1,1-三氟-2-碘乙烷		

[0409]

XII.6	中间体 XV.1 和 (碘甲基)环丙烷		在 3.5 h 期间从 50°C 逐步加热至 100°C
XII.7	中间体 XIII.3 和 碘乙烷		通过在水与 DCM 之间的萃取纯化

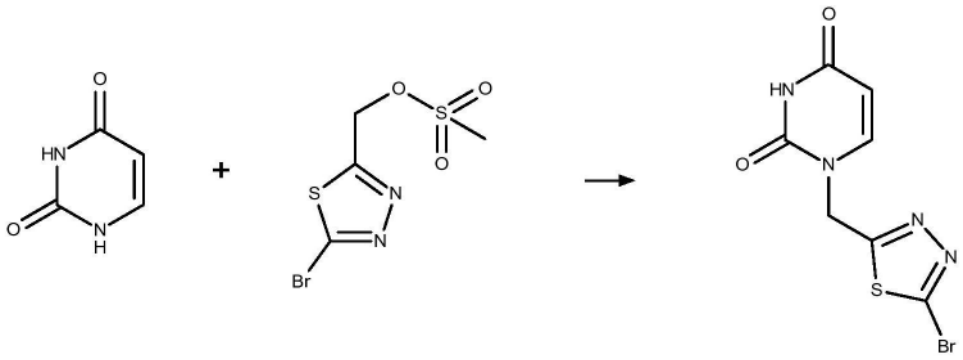
[0410]

中间体	ESI-MS	HPLC 保留时间（方法）	^{1}H NMR
XII.2	331		
XII.3	330	0.93 min (A)	
XII.4	331		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.08 (t, J = 7.03 Hz, 3 H), 1.82 (d, J = 1.14 Hz, 3 H), 3.84 (q, J = 7.10 Hz, 2 H), 5.34 (s, 2 H), 7.73 (q, J = 1.14 Hz, 1 H)。
XII.5	370	0.95 (A)	
XII.6	342	0.96 (A)	
XII.7		0.91 (A)	

[0411] 2.13中间体XIII

[0412] 中间体XIII.1(通用程序)

[0413] 1-[(5-溴-1,3,4-噻二唑-2-基)甲基]-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮

[0414] 

[0415] 将反应在氩气气氛下进行。将在ACN(15 mL)中的1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮

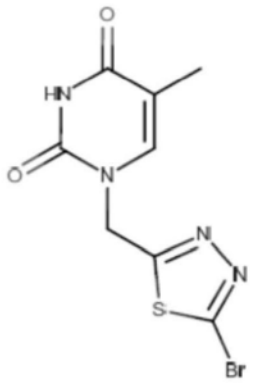
(0.50 g;4.46 mmol)和(E)-三甲基硅烷基N-(三甲基硅烷基)乙酰亚胺酸酯(2.75 mL;11.25 mmol)在RT下搅拌5 h。添加(5-溴-1,3,4-噻二唑-2-基)甲基甲磺酸酯(1.40 g;5.13 mmol)和四丁基碘化铵(tetrabutylazanium iodide,0.17 g;0.46 mmol)。在80℃下搅拌6小时并在RT下搅拌过夜后,缓慢添加30 mL水。将所得沉淀物滤出并用水、ACN和Et_2O洗涤。

[0416] $C_7H_5BrN_4O_2S$(M=289.1 g/mol)

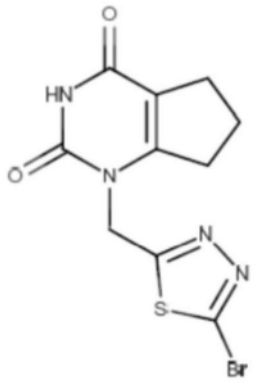
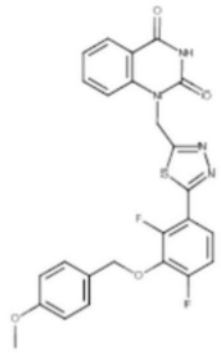
[0417] 产量:0.29 g;23%

[0418] 下文接下来的中间体化合物XIII.2至XIII.4使用与针对中间体化合物XIII.1所述的程序类似的程序使用合适的起始材料来制备。如本领域技术人员所理解,类似的实施例可能涉及通用反应条件的变化。

[0419]

中间体	起始材料	结构
XIII.2	5-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮 和 (5-溴-1,3,4-噻二唑-2-基)甲基甲磺酸酯	

[0420]

XIII.3	1H,2H,3H,4H,5H,6H,7H-环戊烯并[d]嘧啶-2,4-二酮 和 (5-溴-1,3,4-噻二唑-2-基)甲基甲磺酸酯	
XIII.4	中间体 IX.3 和 1,2,3,4-四氢喹唑啉-2,4-二酮	

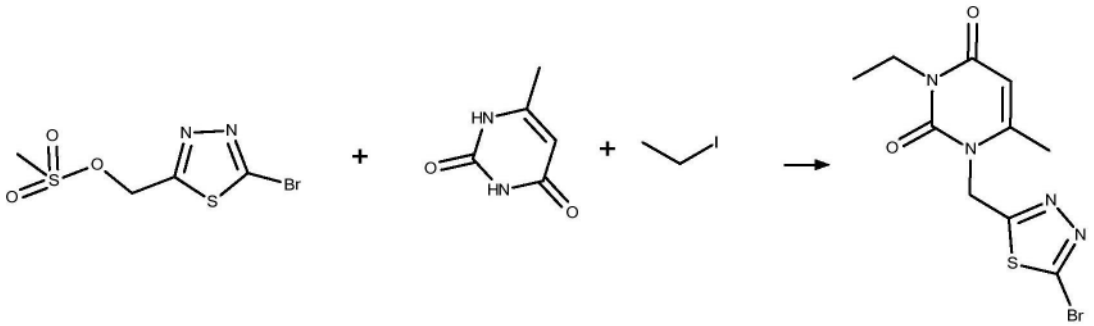
[0421]

中间体	ESI-MS	HPLC 保留时间（方法）	^{1}H NMR
XIII.2	303/305	0.67 (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.76 (d, J = 0.76 Hz, 3 H), 5.28 (s, 2 H), 7.67 (q, J = 1.01 Hz, 1 H), 11.47 (s, 1 H)。
XIII.3	329	0.67 (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.99 (br quin, J = 7.54 Hz, 2 H), 2.53 (br t, J = 7.48 Hz, 2 H), 2.93 (br t, J = 7.60 Hz, 2 H), 5.30 (s, 2 H), 11.29 (s, 1 H)。
XIII.4	509	1.00 (A)	

[0422] 2.14中间体XIV

[0423] 中间体XIV.1

[0424] 1-[(5-溴-1,3,4-噻二唑-2-基)甲基]-6-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮

[0425] 

[0426] 将(5-溴-1,3,4-噻二唑-2-基)甲基甲磺酸酯(0.20g;0.73mmol)和6-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮(0.18g;1.46mmol)溶解在DMF(5mL)中,添加K_2CO_3(0.25g;1.83mmol)。在RT下搅拌2h后,添加碘乙烷(0.15mL;1.83mmol)并在50℃下再搅拌一小时。将反应混合物通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供产物。

[0427] $C_{10}H_{11}BrN_4O_2S$(M=331.2g/mol)

[0428] ESI-MS:331$[M+H]^+$

[0429] R_t(HPLC):0.83min(方法A)

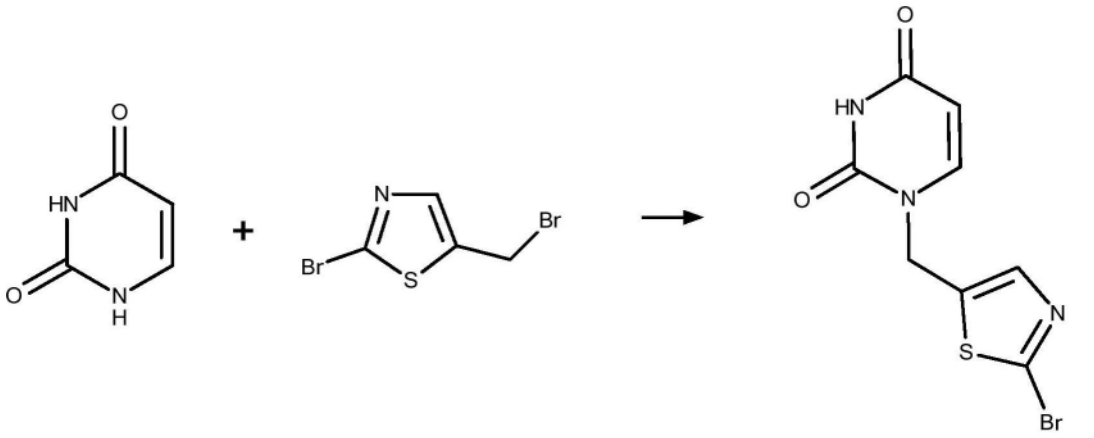
[0430] 产量:0.03g;14%

[0431] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:1.08(t,J=7.03Hz,3H),2.31(d,J=0.63Hz,3H),3.82(q,J=6.97Hz,2H),5.42(s,2H),5.71(q,J=0.63Hz,1H)。

[0432] 2.15中间体XV

[0433] 中间体XV.1

[0434] 1-[(2-溴-1,3-噻唑-5-基)甲基]-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮

[0435] 

[0436] 将反应在氮气气氛下进行。将在干ACN(10mL)中的1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮(1.35g;12.04mmol)、HMDS(2.76mL;13.25mmol)和三甲基氯硅烷(0.76mL;6.02mmol)在140℃下搅拌5h,然后在减压下浓缩。将一半残余物吸收在干ACN(22mL)中,在0℃下逐滴添加在ACN(13mL)中的2-溴-5-(溴甲基)-1,3-噻唑(2.90g;11.29mmol)。完全添加后,将混合物加热至80℃并搅拌过夜。在冷却至RT后,将反应混合物用$NaHCO_3$(9%水溶液)稀释并从EtOAc中萃取几次。将有机层分离,经Na_2SO_4干燥,过滤,并在减压下浓缩。将残余物用Et_2O处理并过滤。

[0437] $C_8H_6BrN_3O_2S$(M=288.1g/mol)

[0438] ESI-MS:288/290$[M+H]^+$

[0439] R_t(HPLC):0.67min(方法A)

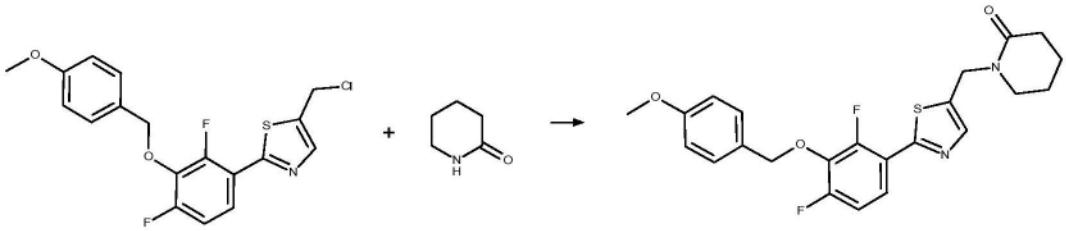
[0440] 产量:2.66g;77%

[0441] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:5.04(s,2H),5.62(d,J=7.86Hz,1H),7.71(s,1H),7.78(d,J=7.86Hz,1H),11.41(br s,1H)。

[0442] 2.16中间体XVI

[0443] 中间体XVI.1(通用程序)

[0444] 1-[(2-{2,4-二氟-3-[(4-甲氧基苯基)甲氧基]苯基}-1,3-噻唑-5-基)甲基]哌啶-2-酮

[0445] 

[0446] 将在DMF(2mL)中的哌啶-2-酮(0.03g;0.26mmol)和氢化钠(0.01g;0.26mmol)在RT下搅拌10min。添加中间体IX.2(0.04g;0.10mmol)。在搅拌2h后,将混合物用水和MeOH稀释,并通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供所需产物。

[0447] $C_{23}H_{22}F_2N_2O_3S$(M=444.5g/mol)

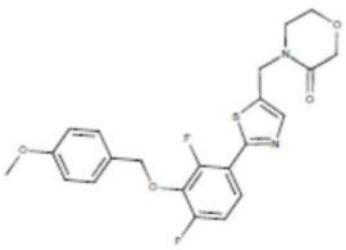
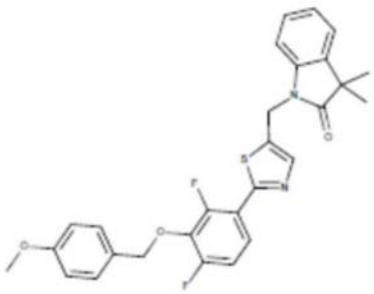
[0448] ESI-MS:445$[M+H]^+$

[0449] R_t(HPLC):1.11min(方法A)

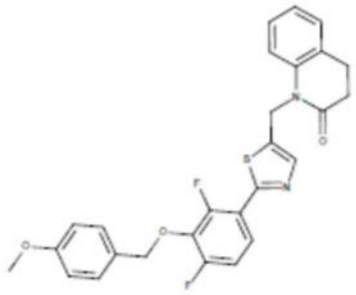
[0450] 产量:0.02g;52%

[0451] 下文接下来的中间体化合物XVI.2至XVI.4使用与针对中间体化合物XVI.1所述的程序类似的程序使用合适的起始材料来制备。如本领域技术人员所理解,这些类似的实施例可能涉及通用反应条件的变化。

[0452]

中间体	起始材料	结构	反应条件(与通用程序的偏差)
XVI.2	中间体 IX.2 和 吗啉-3-酮		
XVI.3	中间体 IX.2 和 3,3-二甲基-2,3-二氢-1H-吲哚-2-酮		

[0453]

XVI.4	中间体 IX.2 和 1,2,3,4-四氢喹啉- 2-酮		

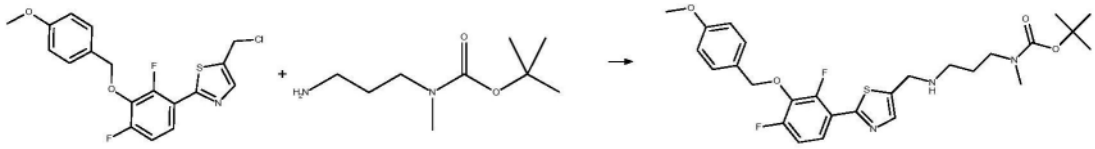
[0454]

中间体	ESI-MS	HPLC 保留时间（方法）
XVI.2	447	1.06 (A)
XVI.3	507	1.24 (A)
XVI.4	493	1.21 (A)

[0455] 2.17中间体XVII

[0456] 中间体XVII.1

[0457] N-(3-{[(2-{2,4-二氟-3-[(4-甲氧基苯基)甲氧基]苯基}-1,3-噻唑-5-基)甲基]氨基}丙基)-N-甲基氨基甲酸叔丁酯

[0458] 

[0459] 将在ACN(3.84mL)中的中间体IX.2(0.03g;0.07mmol);N-(3-氨丙基)-N-甲基氨基甲酸叔丁酯(0.01g;0.07mmol)和K_2CO_3(0.02g;0.13mmol)在80℃下搅拌2h。添加另外的三当量的胺和碱并在80℃下再搅拌1.4h。将反应混合物用水和MeOH稀释,并通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供所需产物。

[0460] $C_{27}H_{33}F_2N_3O_4S$(M=533.6g/mol)

[0461] ESI-MS:534$[M+H]^+$

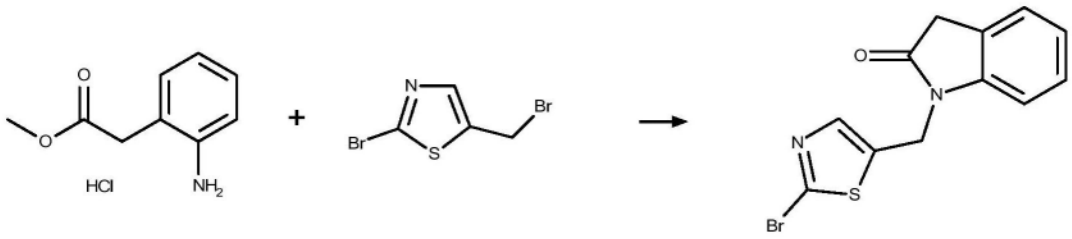
[0462] R_t(HPLC):0.94min(方法A)

[0463] 产量:0.03g;86%

[0464] 2.18中间体XVIII

[0465] 中间体XVIII.1(通用程序)

[0466] 1-[(2-溴-1,3-噻唑-5-基)甲基]-2,3-二氢-1H-吲哚-2-酮

[0467] 

[0468] 将在DCM(5 mL)中的2-(2-氨基苯基)乙酸甲酯盐酸盐(0.10 g;0.50 mmol);2-溴-5-(溴甲基)-1,3-噻唑(0.14 g;0.50 mmol)和DIPA(0.21 mL;1.24 mmol)在RT下搅拌。将反应混合物在减压下浓缩。将残余物吸收在DMF和水中,并通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供所需产物。

[0469] $C_{12}H_9BrN_2OS$(M＝309.2 g/mol)

[0470] ESI-MS:309$[M+H]^+$

[0471] R_t(HPLC):0.96 min(方法A)

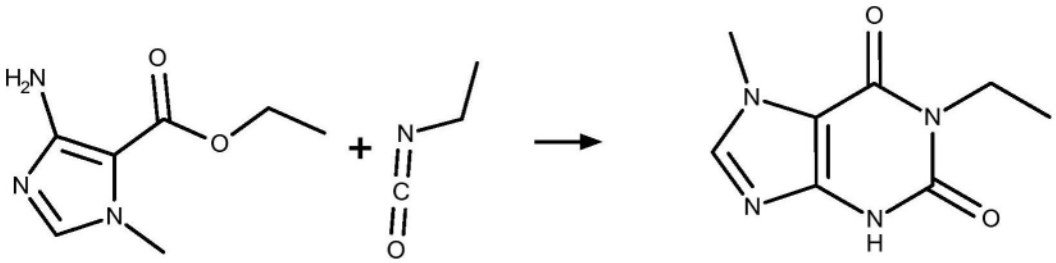
[0472] 产量:0.02 g;14%

[0473] ^{1}H NMR(400 MHz,DMSO-d_6)δppm:3.61(s,2 H),5.09(s,2 H),7.02(td,J＝7.48,1.01 Hz,1 H),7.16(d,J＝7.73 Hz,1 H),7.23-7.30(m,2 H),7.78(s,1 H)。

[0474] 2.19中间体XIX

[0475] 中间体XIX.1(通用程序)

[0476] 1-乙基-7-甲基-2,3,6,7-四氢-1H-嘌呤-2,6-二酮

[0477] 

[0478] 将在吡啶(1 mL)中的4-氨基-1-甲基-1H-咪唑-5-甲酸乙酯(溴甲基)-1,3-噻唑(0.20 g;1.15 mmol)和异氰酸乙酯(0.16 mL;1.95 mmol)在70℃下搅拌2 h。添加KOtBu(0.20 g;1.72 mmol)。在70℃下搅拌过夜后,将反应混合物用MeOH淬灭,在减压下浓缩,吸收在DMF和水中,并且通过柱色谱法(反相;SunfireC18;水/ACN/TFA)纯化以提供所需产物。

[0479] $C_8H_{10}N_4O_2$(M＝194.2 g/mol)

[0480] ESI-MS:195$[M+H]^+$

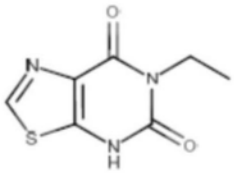
[0481] R_t(HPLC):0.28 min(方法C)

[0482] 产量:0.10 g;43%

[0483] ^{1}H NMR(400 MHz,DMSO-d_6)δppm:1.10(t,J＝6.97 Hz,3 H),3.81-3.90(m,5 H),7.90(s,1 H),11.77(s,1 H)。

[0484] 接下来的中间体化合物使用与针对中间体XIX.1所述的程序类似的程序使用合适的起始材料来制备。如本领域技术人员所理解,这些类似的实施例可能涉及通用反应条件的变化。

[0485]

中间体	起始材料	结构	反应条件（与通用程序的偏差）
XIX.2	5-氨基-1,3-噻唑-4-甲酸乙酯和异氰酸乙酯		加热至105°C，并且用于环合的碱为NH_4OH（5%水溶液）

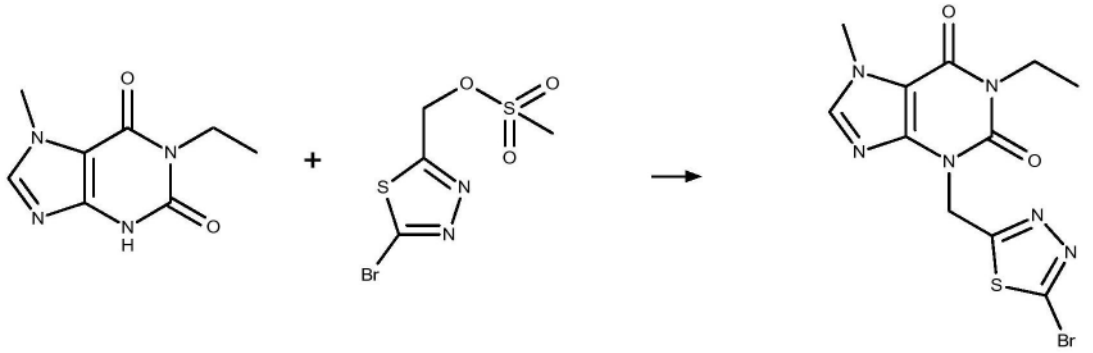
[0486]

中间体	ESI-MS	HPLC保留时间（方法）	^{1}H NMR
XIX.2	198	0.25 (C)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.13 (t, J = 7.03 Hz, 3 H), 3.89 (q, J = 6.97 Hz, 2 H), 8.73 (s, 1 H), 12.23 (br s, 1 H)。

[0487] 2.20中间体XX

[0488] 中间体XX.1(通用程序)

[0489] 3-[(5-溴-1,3,4-噻二唑-2-基)甲基]-1-乙基-7-甲基-2,3,6,7-四氢-1H-嘌呤-2,6-二酮

[0490] 

[0491] 将在DMF(6mL)中的中间体XIX.1(0.10g;0.51mmol)、(5-溴-1,3,4-噻二唑-2-基)甲基甲磺酸酯(0.27g;0.99mmol)和K_2CO_3(0.21g;1.54mmol)在80℃下搅拌2.5h。将反应混合物在减压下浓缩,吸收在水和DCM中。将有机层用水和盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并在减压下浓缩,以得到所需产物,将其不经进一步纯化而用于下一步骤中。

[0492] $C_{11}H_{11}BrN_6O_2S$(M=371.2g/mol)

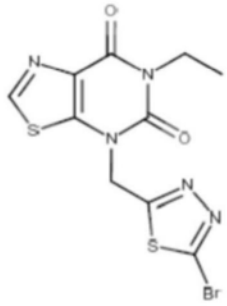
[0493] ESI-MS:371[M+H]$^+$

[0494] R_t(HPLC):0.75min(方法A)

[0495] 产量:0.20g;89%

[0496] 接下来的中间体化合物使用与针对中间体XX.1所述的程序类似的程序使用合适的起始材料来制备。如本领域技术人员所理解,这些类似的实施例可能涉及通用反应条件的变化。

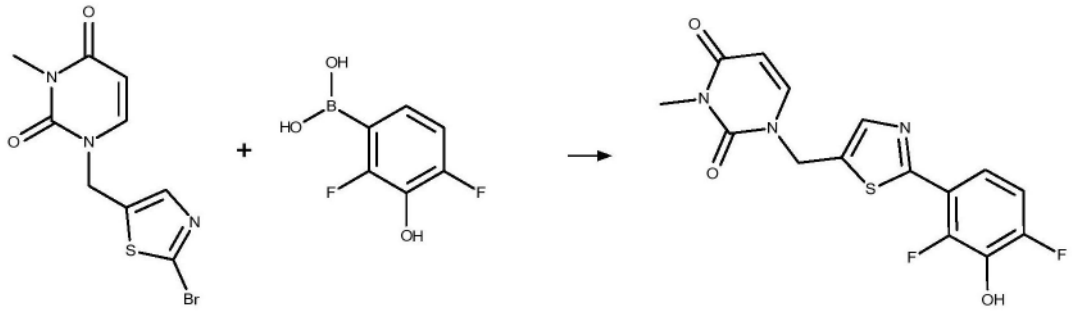
[0497]

中间体	起始材料	结构	ESI-MS	HPLC 保留时间（方法）	反应条件（与通用程序的偏差）
XX.2	中间体 XIX.2 和(5-溴-1,3,4-噻二唑-2-基)甲基		374/376	0.73 (A)	通过柱色谱法（反相；XBridge；水（ACN/NH_4OH））纯化

[0498] 实施例3:实施例化合物的制备

[0499] 3.1通用程序

[0500] 1-{[2-(2,4-二氟-3-羟基苯基)-1,3-噻唑-5-基]甲基}-3-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮(实施例化合物1)

[0501] 

[0502] 将Pd-Peppsi 2Me-Ipent Cl(0.06g;0.07mmol)添加到中间体I.1(0.40g;1.32mmol)、中间体III.1(0.35g;2.01mmol)和Cs_2CO_3(1.10g;3.38mmol)在水(1mL)和EtOH(4mL)中的搅拌混合物中。在100℃下搅拌1h后,将反应混合物通过Celite®过滤并用EtOH洗涤。将滤液在减压下浓缩。将残余物吸收在DCN和水中。蒸发有机层,并将所得沉淀物滤出,用水、MeOH和Et_2O洗涤,以得到所需产物。

[0503] $C_{15}H_{11}F_2N_3O_3S$(M=351.3g/mol)

[0504] ESI-MS:352$[M+H]^+$

[0505] R_t(HPLC):0.84min(方法A)

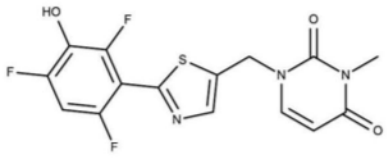
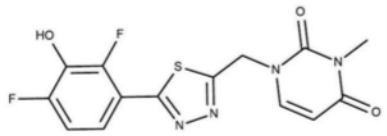
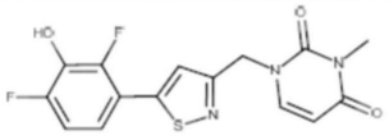
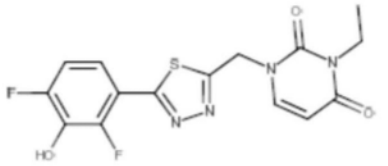
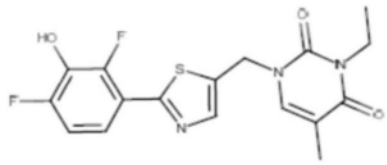
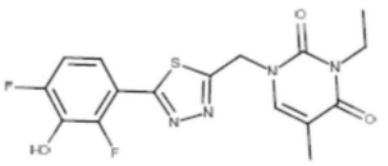
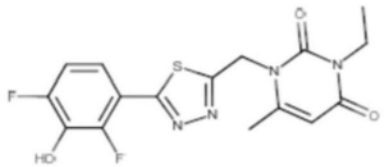
[0506] 产量:0.43g;92%

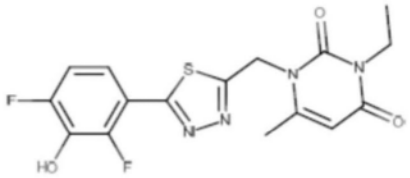
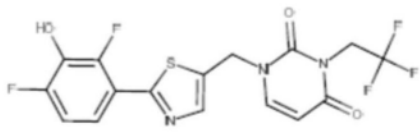
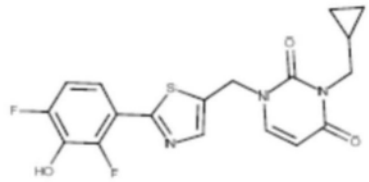
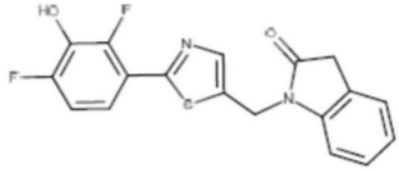
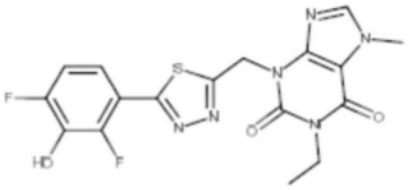
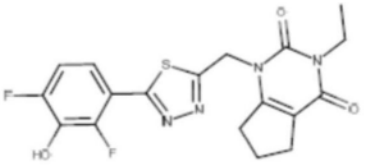
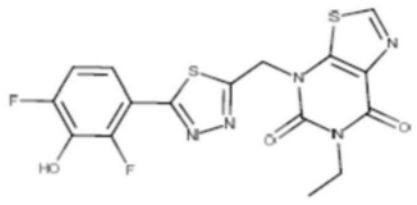
[0507] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:3.17(s,3H),5.20(s,2H),5.77(d,J=7.98Hz,1H),7.18(td,J=9.57,1.90Hz,1H),7.60(ddd,J=8.93,7.92,5.96Hz,1H),7.90(d,J=7.86Hz,1H),8.00(d,J=2.28Hz,1H),10.51-10.71(m,1H)。

[0508] 3.2实施例化合物(实施例)2-14

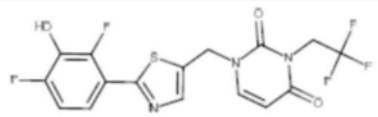
[0509] 接下来的化合物使用与在上述3.1下所述的程序类似的程序使用合适的起始材料来制备。如本领域技术人员所理解,这些类似的实施例可能涉及通用反应条件的变化。

[0510]

实施例	结构
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	

实施例	结构
8	
9	
10	
11	
12	
13	
14	

[0511]

9			

[0512]

实施例	起始材料	反应条件（与通用程序的偏差）
2	中间体 I.1 和 2,4,6-三氟-3-羟基苯硼酸	使用的催化剂：$PdCl_2(dtbpf)$ 使用的碱：Na_2CO_3 在 80°C 下 3 h；通过反相（SunFire C18；水/ACN/TFA）纯化
3	中间体 I.4 和 III.1	使用的催化剂：XPhos Pd G2 使用的碱：Na_2CO_3 在 120°C（微波炉）下 10 min；通过反相（SunFire C18；水/ACN/TFA）纯化
4	中间体 I.4+1 和 III.1	使用的催化剂：XPhos Pd G2 使用的碱：Na_2CO_3 在 85°C 下 2 h；通过反相（SunFire C18；水/ACN/TFA）纯化
5	中间体 XII.2 和 III.1	通过用 ACN 形成沉淀物纯化
6	中间体 XII.3 和 III.1	在 80°C 下搅拌 1.75 h；通过反相（SunFire C18；水/ACN/TFA）纯化
7	中间体 XII.4 和 III.1	在 90°C 下搅拌 1 h；通过用 DCM 从水中萃取纯化
8	中间体 XIV.1 和 III.1	在 80°C 下搅拌 1.25 h；通过反相（SunFire C18；水/ACN/TFA）纯化

[0513]

9	中间体 XII.5 和 III.1	在 80°C 下搅拌 1.5 h； 通过反相（SunFire C18；水/ACN/TFA） 纯化
10	中间体 XII.6 和 III.1	在 80°C 下搅拌 1.5 h；通过反相（SunFire C18；水/ACN/TFA）纯化
11	中间体 XVIII.1 和 III.1	在 80°C 下搅拌 1.25 h； 通过反相（SunFire C18；水/ACN/TFA） 纯化
12	中间体 XX.1 和 III.1	在 80°C 下搅拌 2 h；通过反相（SunFire C18；水/ACN/TFA）纯化
13	中间体 XII.7 和 III.1	在 90°C 下搅拌 1 h；通过从 ACN 进行沉淀纯化
14	中间体 XX.2 和 III.1	在 80°C 下搅拌 2 h；通过反相（SunFire C18；水/ACN/TFA）纯化

[0514] 上表所述实施例化合物2-14的分析数据

[0515]

实施例	ESI-MS	HPLC 保留时间（方法）	^{1}H NMR
2	370	0.51 (C)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 3.17 (s, 3 H), 5.22 (s, 2 H), 5.78 (d, J = 7.86 Hz, 1 H), 7.37 (td, J = 10.84, 2.15 Hz, 1 H), 7.91 (d, J = 7.86 Hz, 1 H), 8.05 (s, 1 H), 10.45 (s, 1 H)。
3	353	0.55 min (D)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 3.17 (s, 3 H), 5.47 (s, 2 H), 5.82 (d, J = 7.86 Hz, 1 H), 7.19 - 7.32 (m, 1 H), 7.58 - 7.70 (m, 1 H), 7.91 (d, J = 7.98 Hz, 1 H), 10.76 (s, 1 H)。
4	352	0.67 min (D)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 3.17 (s, 3 H), 5.13 (s, 2 H), 5.78 (d, J = 7.86 Hz, 1 H), 7.38 - 7.53 (m, 2 H), 7.70 (s, 1 H), 7.82 (d, J = 7.86 Hz, 1 H), 10.21 (s, 1 H)。

[0516]

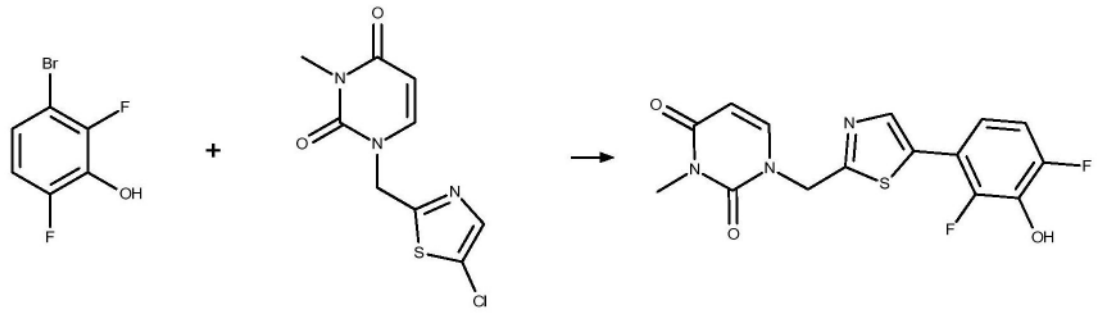
5	365 $(M-H)^-$	0.84 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.09 (t, J = 7.03 Hz, 3 H), 3.84 (q, J = 7.05 Hz, 2 H), 5.46 (s, 2 H), 5.80 (d, J = 7.86 Hz, 1 H), 7.18 - 7.32 (m, 1 H), 7.64 (ddd, J = 8.87, 7.54, 5.89 Hz, 1 H), 7.89 (d, J = 7.98 Hz, 1 H), 10.76 (br s, 1 H)。
6	380	0.93 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.09 (t, J = 7.03 Hz, 3 H), 1.81 (s, 3 H), 3.86 (q, J = 7.01 Hz, 2 H), 5.16 (s, 2 H), 7.13 - 7.24 (m, 1 H), 7.59 (td, J = 8.36, 6.08 Hz, 1 H), 7.77 (d, J = 0.89 Hz, 1 H), 7.99 (d, J = 2.03 Hz, 1 H), 10.59 (br s, 1 H)。
7	381	0.90 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.10 (t, J = 7.03 Hz, 3 H), 1.84 (d, J = 1.01 Hz, 3 H), 3.87 (q, J = 6.97 Hz, 2 H), 5.42 (s, 2 H), 7.25 (td, J = 9.57, 1.77 Hz, 1 H), 7.64 (ddd, J = 8.93, 7.54, 5.83 Hz, 1 H), 7.79 (q, J = 1.14 Hz, 1 H), 10.75 (s, 1 H)。
8	381	0.89 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.09 (t, J = 7.03 Hz, 3 H), 2.37 (s, 3 H), 3.84 (q, J = 6.97 Hz, 2 H), 5.51 (s, 2 H), 5.73 (s, 1 H), 7.20 - 7.32 (m, 1 H), 7.65 (ddd, J = 8.93, 7.54, 5.83 Hz, 1 H), 10.76 (br s, 1 H)。
9	420	0.95 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 4.64 (q, J = 9.12 Hz, 2 H), 5.24 (s, 2 H), 5.87 (d, J = 7.98 Hz, 1 H), 7.12 - 7.24 (m, 1 H), 7.60 (ddd, J = 8.90, 7.89, 6.02 Hz, 1 H), 7.93 - 8.09 (m, 2 H), 10.59 (br s, 1 H)。
10	392	0.95 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 0.27 - 0.49 (m, 4 H), 1.06 - 1.20 (m, 1 H), 3.70 (d, J = 7.10 Hz, 2 H), 5.21 (s, 2 H), 5.77 (d, J = 7.86 Hz, 1 H), 7.11 - 7.24 (m, 1 H), 7.60 (td, J = 8.40, 6.02 Hz, 1 H), 7.90 (d, J = 7.86 Hz, 1 H), 8.00 (d, J = 2.15 Hz, 1 H), 10.59 (s, 1 H)。
11	359	0.97 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 3.64 (s, 2 H), 5.18 (s, 2 H), 7.02 (td, J = 7.41, 1.01 Hz, 1 H), 7.11 - 7.22 (m, 2 H), 7.21 - 7.32 (m, 2 H), 7.57 (ddd, J = 8.93, 7.92, 5.96 Hz, 1 H), 8.05 (d, J = 2.28 Hz, 1 H), 10.56 (s, 1 H)。
12	421	0.78 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.14 (br t, J = 6.91 Hz, 3 H), 3.84 - 4.03 (m, 5 H), 5.65 (s, 2 H), 7.23 (br t, J = 9.38 Hz, 1 H), 7.55 - 7.68 (m, 1 H), 8.06 (s, 1 H)。
13	407	0.86 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.09 (t, J = 6.97 Hz, 3 H), 2.01 (quin, J = 7.54 Hz, 2 H), 2.60 (br t, J = 7.35 Hz, 2 H), 3.03 (br t, J = 7.60 Hz, 2 H), 3.85 (q, J = 6.97 Hz, 2 H), 5.44 (s, 2 H), 7.09 - 7.42 (m, 1 H), 7.64 (ddd, J = 8.90, 7.51, 5.89 Hz, 1 H), 10.76 (br s, 1 H)。

[0517]

14	424	0.78 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.17 (t, J = 6.97 Hz, 3 H), 3.97 (q, J = 6.97 Hz, 2 H), 5.68 (s, 2 H), 7.20 - 7.33 (m, 1 H), 7.64 (ddd, J = 8.84, 7.51, 5.83 Hz, 1 H), 8.83 (s, 1 H), 10.77 (s, 1 H)。

[0518] 3.3实施例化合物15

[0519] 1-{[5-(2,4-二氟-3-羟基苯基)-1,3-噻唑-2-基]甲基}-3-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮

[0520] 

[0521] 将在EtOH(2mL)中的3-溴-2,6-二氟苯酚(0.04g;0.18mmol)、双(频哪醇合)二硼(0.05g;0.18mmol)、XPhos Pd G2(0.01g;0.01mmol)、XPhos(0.01g;0.01mmol)和KOAc(0.04g;0.36mmol)在微波炉中在120℃下搅拌10min。添加中间体I.2(0.03g;0.12mmol)、Na_2CO_3(水溶液;2mol/L;0.18mL;0.36mmol)和XPhos Pd G2(0.01g;0.01mmol)并在微波炉中在120℃下再搅拌10min。将反应混合物用DMF稀释,并通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供所需产物。

[0522] $C_{15}H_{11}F_2N_3O_3S$(M=351.3g/mol)

[0523] ESI-MS:352$[M+H]^+$

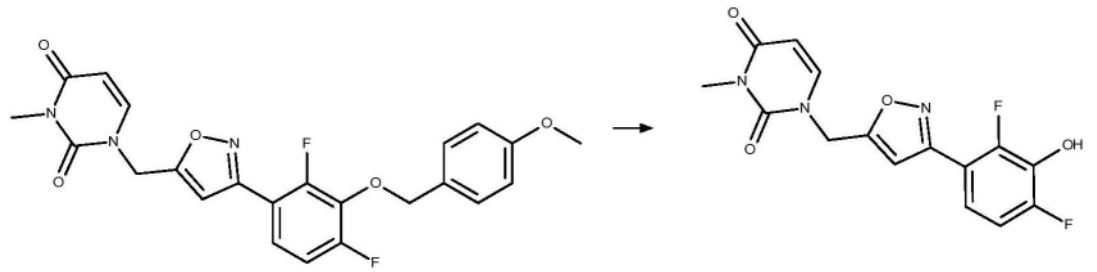
[0524] R_t(HPLC):0.61min(方法D)

[0525] 产量:0.01g;31%

[0526] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:3.17(s,3H),5.29(s,2H),5.80(d,J=7.86Hz,1H),7.09-7.25(m,2H),7.87(d,J=7.86Hz,1H),8.10(s,1H),10.49(s,1H)。

[0527] 3.4实施例化合物16

[0528] 1-{[3-(2,4-二氟-3-羟基苯基)-1,2-噁唑-5-基]甲基}-3-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮

[0529] 

[0530] 将在TFA(1.00mL;12.96mmol)和DCM(3mL)中的中间体VI.1(0.40g;1.32mmol)在RT下搅拌20min。将反应混合物在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供所需产物。

[0531] $C_{15}H_{11}F_2N_3O_4$(M=335.3g/mol)

[0532] ESI-MS:336[M+H]$^+$

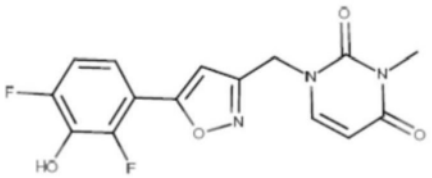
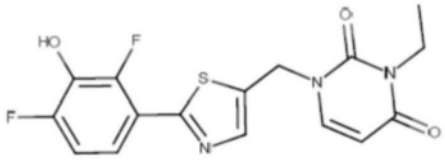
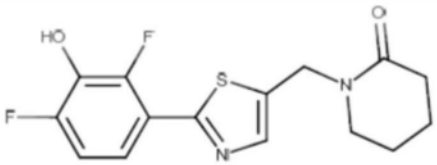
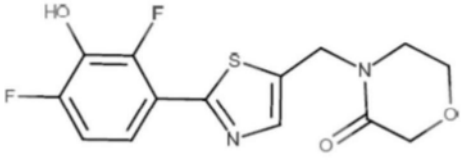
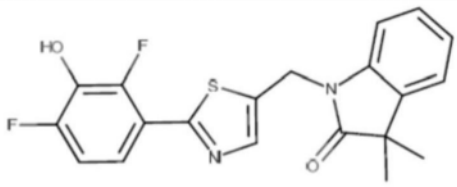
[0533] R_t(HPLC):0.83min(方法A)

[0534] 产量:0.01g;72%

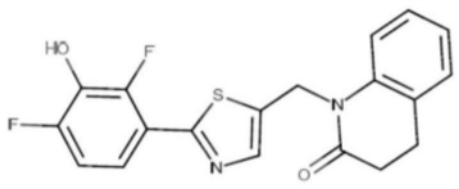
[0535] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:3.17(s,3H),5.20(s,2H),5.82(d,J=7.86Hz,1H),6.89(d,J=2.66Hz,1H),7.10-7.22(m,1H),7.28(ddd,J=8.71,7.57,5.89Hz,1H),7.86(d,J=7.86Hz,1H),10.57(s,1H)。

[0536] 接下来的实施例化合物17至22使用与在上述3.4下所述的程序类似的程序使用合适的起始材料来制备。如本领域技术人员所理解,这些类似的实施例可能涉及通用反应条件的变化。

[0537]

实施例	起始材料	结构	反应条件（与通用程序的偏差）
17	中间体 VI.2		
18	中间体 XII.1		
19	中间体 XVI.1		
20	中间体 XVI.2		
21	中间体 XVI.3		

[0538]

22	中间体 XVI.4		

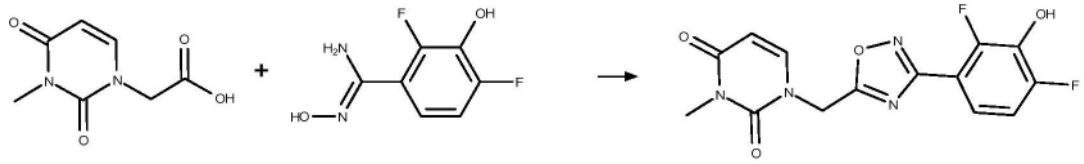
[0539] 上表所述化合物的分析数据：

[0540]

实施例	ESI-MS	HPLC 保留时间（方法）	^{1}H NMR
17	336	0.82 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 3.17 (s, 3 H), 5.10 (s, 2 H), 5.78 (d, J = 7.86 Hz, 1 H), 6.79 (d, J = 3.30 Hz, 1 H), 7.07 - 7.14 (m, 2 H), 7.83 (d, J = 7.86 Hz, 1 H)。
18	366	0.88 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.09 (t, J = 7.03 Hz, 3 H), 3.84 (q, J = 7.05 Hz, 2 H), 5.20 (s, 2 H), 5.75 (d, J = 7.98 Hz, 1 H), 7.10 - 7.29 (m, 1 H), 7.59 (td, J = 8.33, 6.02 Hz, 1 H), 7.88 (d, J = 7.98 Hz, 1 H), 7.99 (d, J = 2.28 Hz, 1 H), 10.60 (br s, 1 H)。
19	325	0.86 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.59 - 1.79 (m, 4 H), 2.27 (t, J = 6.27 Hz, 2 H), 3.29 (t, J = 5.70 Hz, 2 H), 4.69 (s, 2 H), 7.18 (td, J = 9.54, 1.84 Hz, 1 H), 7.60 (ddd, J = 8.90, 7.95, 5.96 Hz, 1 H), 7.87 (d, J = 2.28 Hz, 1 H), 10.56 (br s, 1 H)。
20	327	0.79 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 3.34 - 3.44 (m, 2 H), 3.77 - 3.88 (m, 2 H), 4.09 (s, 2 H), 4.77 (s, 2 H), 7.19 (td, J = 9.57, 1.77 Hz, 1 H), 7.61 (ddd, J = 8.93, 7.92, 5.96 Hz, 1 H), 7.91 (d, J = 2.41 Hz, 1 H), 10.57 (s, 1 H)。
21	387	1.04 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.29 (s, 6 H), 5.20 (s, 2 H), 7.02 - 7.09 (m, 1 H), 7.12 - 7.28 (m, 3 H), 7.36 (d, J = 7.22 Hz, 1 H), 7.56 (ddd, J = 8.93, 7.92, 5.96 Hz, 1 H), 8.04 (d, J = 2.28 Hz, 1 H), 10.55 (br s, 1 H)。
22	373	0.99 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 2.65 (dd, J = 8.62, 6.21 Hz, 2 H), 2.83 - 2.94 (m, 2 H), 5.37 (s, 2 H), 7.00 (td, J = 7.35, 1.01 Hz, 1 H), 7.13 - 7.19 (m, 1 H), 7.21 - 7.27 (m, 2 H), 7.27 - 7.33 (m, 1 H), 7.56 (ddd, J = 8.87, 7.98, 5.96 Hz, 1 H), 8.00 (d, J = 2.28 Hz, 1 H), 10.54 (br s, 1 H)。

[0541] 3.5实施例化合物23

[0542] 1-{[3-(2,4-二氟-3-羟基苯基)-1,2,4-噁二唑-5-基]甲基}-3-甲基-1,2,3,4-四氢嘧啶-2,4-二酮

[0543] 

[0544] 将2-(3-甲基-2,4-二氧代-1,2,3,4-四氢嘧啶-1-基)乙酸(0.04g;0.20mmol)、EDC盐酸盐(0.04g;0.20mmol)和HOBT(0.03g;0.24mmol)在DMF(1mL)中的混合物在RT下搅拌15min。将混合物添加到在DMF(1mL)中的中间体X.1(0.04g;0.20mmol)。将所得反应混合物在95℃下搅拌2h并在RT下搅拌过夜。将反应混合物用DMF/水稀释,过滤并通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供所需产物。

[0545] $C_{14}H_{10}F_2N_2O_4$(M=336.3g/mol)

[0546] ESI-MS:337$[M+H]^+$

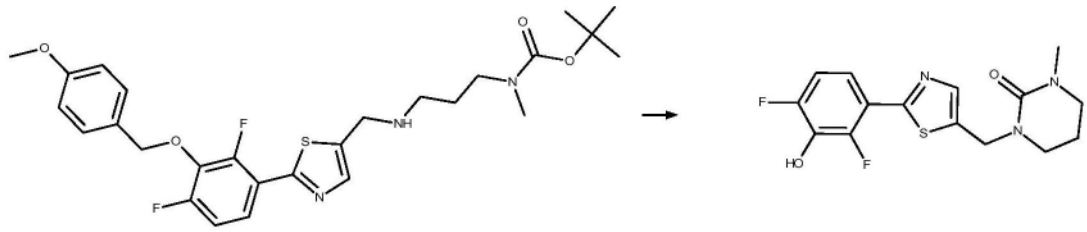
[0547] R_t(HPLC):0.47min(方法C)

[0548] 产量:0.01g;6%

[0549] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:3.17(s,3H),5.40(s,2H),5.87(d,J=7.98Hz,1H),7.22(td,J=9.54,1.71Hz,1H),7.40(ddd,J=8.87,7.35,5.96Hz,1H),7.88(d,J=7.98Hz,1H),10.67(s,1H)。

[0550] 3.6实施例化合物24

[0551] 1-{[2-(2,4-二氟-3-羟基苯基)-1,3-噻唑-5-基]甲基}-3-甲基-1,3-二嗪-2-酮

[0552] 

[0553] 将在DCM(3mL)中的中间体XVII.1(0.03g;0.06mmol)和TFA(1.00mL;12.96mmol)在RT下搅拌25min。将反应混合物在减压下浓缩。将残余物溶解在THF(3mL)中,并且添加CDI(0.01g;0.07mmol)。在50℃下搅拌2h后,将反应混合物用DMF和水稀释,并通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供所需产物。

[0554] $C_{15}H_{15}F_2N_3O_2S$(M=339.4g/mol)

[0555] ESI-MS:340$[M+H]^+$

[0556] R_t(HPLC):0.86min(方法A)

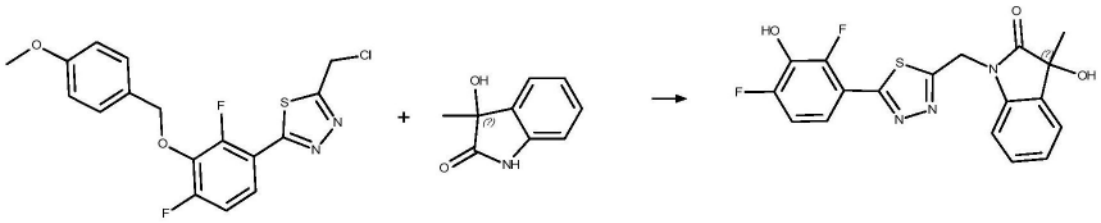
[0557] 产量:0.01g;52%

[0558] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:1.86(quin,J=5.92Hz,2H),2.82(s,3H),3.22(dt,J=20.40,5.89Hz,4H),4.63(s,2H),7.13-7.22(m,1H),7.60(ddd,J=8.78,8.02,6.02Hz,1H),7.83(d,J=2.28Hz,1H),10.55(br s,1H)。

[0559] 3.7实施例化合物25(通用程序)

[0560] 1-{[5-(2,4-二氟-3-羟基苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基]甲基}-3-羟基-3-甲基-2,

3-二氢-1H-吲哚-2-酮

[0561] 

[0562] 将在DMF(3mL)中的中间体IX.3(0.10g;0.26mmol)、3-羟基-3-甲基-2,3-二氢-1H-吲哚-2-酮(0.04g;0.26mmol)和K_2CO_3(0.09g;0.65mmol)在70℃下搅拌20h。添加水并且将反应混合物用DCM萃取几次。将有机层分离,干燥,并在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以得到中间体。将这个中间体吸收在DCM(1.5mL)和TFA(1.00mL;49.60mmol)中,并且在RT下搅拌过夜。在减压下浓缩后,将残余物吸收在ACN中,并通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化以提供所需产物。

[0563] $C_{18}H_{13}F_2N_3O_3S$(M=389.4g/mol)

[0564] ESI-MS:390$[M+H]^+$

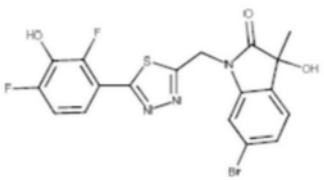
[0565] R_t(HPLC):0.79min(方法A)

[0566] 产量:0.01g;6%

[0567] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:1.44(s,3H),5.42(s,2H),6.09(br s,1H),7.09(td,J=7.45,0.82Hz,1H),7.13(d,J=7.86Hz,1H),7.24(td,J=9.60,1.84Hz,1H),7.27-7.35(m,1H),7.39(dd,J=7.35,0.76Hz,1H),7.63(ddd,J=8.93,7.54,5.83Hz,1H),10.74(s,1H)。

[0568] 接下来的实施例化合物26至30使用与在上述3.7下所述的程序类似的程序使用合适的起始材料来制备。如本领域技术人员所理解,这些类似的实施例可能涉及通用反应条件的变化。

[0569]

实施例	起始材料	结构	反应条件(与通用程序的偏差)
26	中间体 IX.3 和 6-溴-3-羟基-3-甲基-2,3-二氢-1H-吲哚-2-酮		

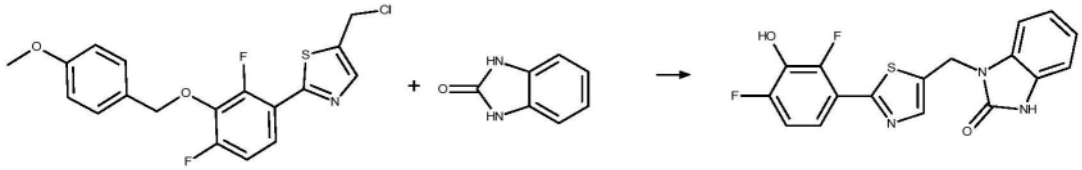
[0570] 上述实施例化合物26的分析数据

[0571]

实施例	ESI-MS	HPLC 保留时间（方法）	^{1}H NMR
26	468	0.88 min (A)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 1.43 (s, 3 H), 5.45 (s, 2 H), 6.17 (br s, 1 H), 7.21 - 7.30 (m, 2 H), 7.31 - 7.36 (m, 1 H), 7.44 (d, J = 1.65 Hz, 1 H), 7.64 (ddd, J = 8.97, 7.57, 5.89 Hz, 1 H), 10.75 (s, 1 H)。

[0572] 3.7实施例化合物27

[0573] 1-{[2-(2,4-二氟-3-羟基苯基)-1,3-噻唑-5-基]甲基}-2,3-二氢-1H-1,3-苯并二唑-2-酮

[0574] 

[0575] 将在THF(1mL)中的2,3-二氢-1H-1,3-苯并二唑-2-酮(0.03g;0.08mmol)和氢化钠(在矿物油中的55％分散物;0.01g;0.14mmol)在RT下搅拌15min。添加中间体IX.2(0.02g;0.11mmol)。在60℃下搅拌6h后,将混合物蒸发,并且吸收在水和DMF中,以通过柱色谱法(反相;XBridge C18;水/ACN/NH_4OH)纯化。将残余物吸收在TFA(在DCM中的溶液;50％;1mL)中并且在RT下搅拌过夜。将反应混合物在减压下浓缩,将残余物吸收在DMF中,并通过柱色谱法(反相;SunFire C18;水/ACN/TFA)纯化。

[0576] $C_{17}H_{11}F_2N_3O_2S$(M＝359.4g/mol)

[0577] ESI-MS:360$[M+H]^+$

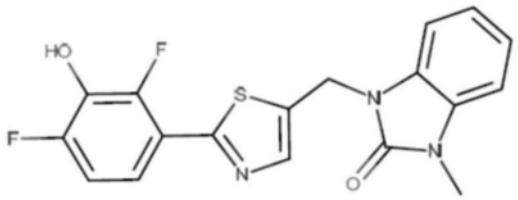
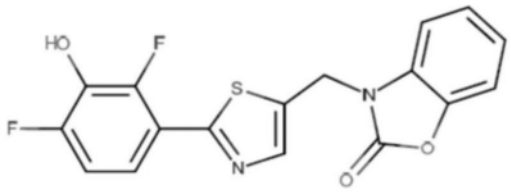
[0578] R_t(HPLC):0.71min(方法E)

[0579] 产量:0.01g;10％

[0580] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δppm:5.30(s,2H),6.97-7.05(m,3H),7.12-7.21(m,1H),7.26-7.31(m,1H),7.53-7.61(m,1H),8.05(d,J＝2.28Hz,1H),10.56(s,1H),10.96(s,1H)。

[0581] 接下来的化合物28至29使用与在上述3.5下所述的程序类似的程序使用合适的起始材料来制备。如本领域技术人员所理解,这些类似的实施例可能涉及通用反应条件的变化。

[0582]

实施例	起始材料	结构	反应条件（与通用程序的偏差）
28	中间体 IX.2 和 1-甲基-2,3-二氢-1H-1,3-苯并二唑-2-酮		
29	中间体 IX.2 和 2,3-二氢-1,3-苯并噁唑-2-酮		代替 NaH，使用 2.3 当量 Cs_2CO_3

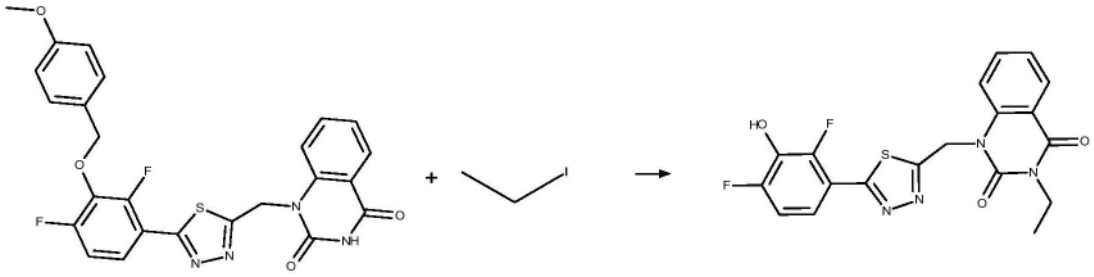
[0583] 上述化合物28和29的分析数据

[0584]

实施例	ESI-MS	HPLC 保留时间（方法）	^{1}H NMR
28	374	0.78 min (E)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm: 3.35 (s, 3 H), 5.36 (s, 2 H), 7.05 - 7.11 (m, 2 H), 7.12 - 7.21 (m, 2 H), 7.32 - 7.41 (m, 1 H), 7.56 (ddd, *J* = 8.90, 7.95, 5.96 Hz, 1 H), 8.06 (d, *J* = 2.28 Hz, 1 H), 10.56 (s, 1 H)。
29	361	0.97 min (E)	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 5.38 (s, 2 H), 7.13 - 7.21 (m, 2 H), 7.25 (td, *J* = 7.76, 1.08 Hz, 1 H), 7.36 (dd, *J* = 7.98, 0.63 Hz, 1 H), 7.47 (dd, *J* = 7.86, 0.76 Hz, 1 H), 7.54 - 7.62 (m, 1 H), 8.12 (d, *J* = 2.28 Hz, 1 H), 10.60 (br s, 1 H)。

[0585] 3.8实施例化合物30

[0586] 1-{[5-(2,4-二氟-3-羟基苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基]甲基}-3-乙基-1,2,3,4-四氢喹唑啉-2,4-二酮

[0587] 

[0588] 将在DMF(1mL)中的中间体XIII.4(0.07g;0.14mmol)、碘乙烷(0.02mL;0.21mmol)和K_2CO_3(0.04g;0.28mmol)在80℃下搅拌2h。将反应混合物在减压下浓缩并通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)纯化。将残余物吸收在TFA(1.00mL;12-96mmol)和DCM(2.5mL)中。在RT下搅拌过夜后,将混合物通过柱色谱法(反相;Sunfire C18;水/ACN/TFA)

纯化以提供所需化合物。

[0589] $C_{19}H_{14}F_2N_4O_3S$(M=416.4g/mol)

[0590] ESI-MS:417$[M+H]^+$

[0591] R_t(HPLC):0.90min(方法A)

[0592] 产量:0.01g;16%

[0593] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm:1.20(t,J=7.03Hz,3H),4.04(q,J=7.05Hz,2H),5.84(s,2H),7.24(ddd,J=10.30,8.90,1.84Hz,1H),7.31-7.37(m,1H),7.59-7.64(m,1H),7.65(d,J=8.24Hz,1H),7.76-7.81(m,1H),8.10(dd,J=7.86,1.52Hz,1H),10.75(br s,1H)。

[0594] 实施例4:生物化学人HSD17B13-RapidFire MS/MS测定。

[0595] 将雌二醇(Sigma,目录号E8875)、NAD(Roche,目录号10621650001)和重组人HSD17B13(带有C末端His标签的全长HSD17B13(Uniprot ID Q7Z5P4-1),在哺乳动物细胞中表达并纯化至同质)在测定缓冲液(100mM Tris,Sigma,目录号T2319;氯化钠,Roth,目录号3957.2;0.5mM EDTA,Invitrogen,目录号15575020;0.1%TCEP,Invitrogen,目录号T2556;0.05%BSA级分V(不含蛋白酶和脂肪酸),Serva,目录号11945;0.001%Tween20,Serva,目录号37470)中稀释。将化合物在DMSO(Sigma,目录号5879)中连续稀释,并通过Labcyte Echo 55x(测定中1%DMSO)在384孔微孔板(PP,V形底)(Greiner,目录号781280)板上点样。首先,添加6μL/孔的重组hHSD17B13(最终1nM)稀释液,随后在RT下孵育15min。其次,添加6μL/孔的稀释雌二醇(最终30μM)和NAD(最终0.5mM),混合,并在RT下孵育4h。添加1μL d4-雌酮(最终50nM;Sigma,目录号489204),随后添加溶解在90%甲醇(Sigma,目录号34860)和10%甲酸(Merck,目录号33015)中的2.4μL吉拉尔特试剂P(Girard's Reagent P)(最终6.5mM;TCI,目录号G0030),以对分析物进行衍生化并停止酶反应。在RT下孵育12-24h,之后添加70μL dH2O。

[0596] 通过与三重四极杆质谱仪(Triple Quad 6500,AB Sciex Germany GmbH,德国达姆施塔特)耦合的快速进样RapidFire自动进样器系统(Agilent,德国瓦尔德布龙)进行分析样品处理。通过真空泵将液体样品抽吸到10μL定量环(sample loop)中250ms,并且随后用水性流动相(99.5%水,0.49%乙酸,0.01%三氟乙酸,流速1.5mL/min)冲洗3000ms至C18筒柱(Agilent,德国瓦尔德布龙)上。固相萃取步骤保留分析物,同时除去干扰基质(例如,缓冲组分)。将分析物解吸并用有机流动相(49.75%甲醇,49.75%乙腈,0.49%乙酸,0.01%三氟乙酸,流速1.25mL/min)从筒柱中反向洗脱(elute back)3000ms,并且冲洗到质谱仪中进行MRM模式检测。雌酮的MRM转变为404.1<157.1Da(去簇电压27V,碰撞能量43V),并且内标D4雌酮的MRM转变为408.1<159.1Da(去簇电压27V,碰撞能量43V)。每个MRM转变的停留时间为25ms,并且MRM之间的暂停时间为5ms。质谱仪在正电离模式下(气帘气35Au,碰撞气中等,离子喷雾电压4200V,温度550℃,离子源气体1 65Au,离子源气体2 80Au)运行。在进行反向冲洗至质谱仪中时,用有机流动相冲洗定量环和相关管道,以防止分析物或基质组分在下一个样品中的携流效应(carryover)。系统的平衡时间为500ms。为了使携流效应最小化,使用RapidFire系统的洗涤站在样品之间用纯水(100%)和纯甲醇(100%)进行洗针。RapidFire系统的溶剂递送装置由两个连续运行且等度操作的HPLC泵(G1310A,Agilent,德国瓦尔德布龙)和一个二元HPLC泵通道B(G4220A,Agilent,德国瓦尔德布龙)组

成。在GMSU(Alpharetta,美国佐治亚州)进行MS数据处理,并且报告分析物/内标的峰面积比用于IC50计算。使用4参数非线性回归曲线拟合模型(Software Megalab内部开发)计算IC50值。对于数据评价和计算,将底部(无HSD17B13酶)的测量值设为0%对照,并且将顶部(包含NAD、雌酮和HSD17B13)的测量值设为100%对照。使用以下标准4参数逻辑斯谛回归公式计算IC50值:Y=底部+(顶部-底部)/(1+10^((LogIC50-X)x斜率+log((顶部-底部)/(50-底部)-1)))。

[0597] 实施例5:生物化学小鼠HSD17B13-RapidFire MS/MS测定

[0598] 将雌二醇(Sigma,目录号E8875)、NAD(Roche,目录号10621650001)和重组小鼠HSD17B13(U-Protein Express BV,荷兰)在测定缓冲液(100mM Tris,Sigma,目录号T2319;氯化钠,Roth,目录号3957.2;0.5mM EDTA,Invitrogen,目录号15575020;0.1%TCEP,Invitrogen,目录号T2556;0.05%BSA级分V(不含蛋白酶和脂肪酸),Serva,目录号11945;0.001%Tween20,Serva,目录号37470)中稀释。将化合物在DMSO(Sigma,目录号5879)中连续稀释,并通过Labcyte Echo 55x(测定中1%DMSO)在384孔微孔板(PP,V形底)(Greiner,目录号781280)板上点样。首先,添加6μL/孔的重组小鼠HSD17B13(最终50nM)稀释液,随后在RT下孵育15min。其次,添加6μL/孔的稀释雌二醇(最终30μM)和NAD(最终0.5mM),混合,并在RT下孵育3h。添加1μL d4-雌酮(最终50nM;Sigma,目录号489204),随后添加溶解在90%甲醇(Sigma,目录号34860)和10%甲酸(Merck,目录号33015)中的2.4μL吉拉尔特试剂P(最终6.5mM;TCI,目录号G0030),以对分析物进行衍生化并停止酶反应。在RT下孵育12-24h,之后添加70μL dH2O。

[0599] 通过与三重四极杆质谱仪(Triple Quad 6500,AB Sciex Germany GmbH,德国达姆施塔特)耦合的快速进样RapidFire自动进样器系统(Agilent,德国瓦尔德布龙)进行分析样品处理。通过真空泵将液体样品抽吸到10μL定量环中250ms,随后用水性流动相(99.5%水,0.49%乙酸,0.01%三氟乙酸,流速1.5mL/min)冲洗3000ms至C18筒柱(Agilent,德国瓦尔德布龙)上。固相萃取步骤保留分析物,同时除去干扰基质(例如,缓冲组分)。将分析物解吸并用有机流动相(49.75%甲醇,49.75%乙腈,0.49%乙酸,0.01%三氟乙酸,流速1.25mL/min)从筒柱中反向洗脱3000ms,并且冲洗到质谱仪中进行MRM模式检测。雌酮的MRM转变为404.1<157.1Da(去簇电压27V,碰撞能量43V),并且内标D4雌酮的MRM转变为408.1<159.1Da(去簇电压27V,碰撞能量43V)。每个MRM转变的停留时间为25ms,并且MRM之间的暂停时间为5ms。质谱仪在正电离模式下(气帘气35Au,碰撞气中等,离子喷雾电压4200V,温度550℃,离子源气体1 65Au,离子源气体2 80Au)运行。在进行反向冲洗至质谱仪中时,用有机流动相冲洗定量环和相关管道,以防止分析物或基质组分在下一个样品中的携流效应。系统的平衡时间为500ms。为了使携流效应最小化,使用RapidFire系统的洗涤站在样品之间用纯水(100%)和纯甲醇(100%)进行洗针。RapidFire系统的溶剂递送装置由两个连续运行且等度操作的HPLC泵(G1310A,Agilent,德国瓦尔德布龙)和一个二元HPLC泵通道B(G4220A,Agilent,德国瓦尔德布龙)组成。在GMSU(Alpharetta,美国佐治亚州)进行MS数据处理,并且报告分析物/内标的峰面积比用于IC50计算。使用4参数非线性回归曲线拟合模型(Software Megalab内部开发)计算IC50值。对于数据评价和计算,将底部(无HSD17B13酶)的测量值设为0%对照,并且将顶部(包含NAD、雌酮和HSD17B13)的测量值设为100%对照。使用以下标准4参数逻辑斯谛回归公式计算IC50值:Y=底部+(顶部-底部)/(1+

10^((LogIC50-X)x斜率+log((顶部-底部)/(50-底部)-1)))。

[0600] 实施例6:细胞人HSD17B13-RapidFire MS/MS测定

[0601] 在无血清培养基(DMEM,Sigma,目录号D5796;10％热灭活的FBS,Gibco,目录号100500;1x Glutamax,Gibco,目录号35050-087;1x丙酮酸钠,Gibyo,目录号11360070)中制备雌二醇(Sigma,目录号E8875)稀释液和细胞(稳定过表达人HSD17B13的-Myc/DDK标记的克隆HEK293细胞,Lakepharma)。

[0602] 在化合物测试之前24h,将25μL的0.4*10^6个细胞/mL稀释液接种在384孔微孔板(培养板,Perkin Elmer,目录号6007680)上。

[0603] 将化合物在DMSO(Sigma,目录号5879)中连续稀释,并通过Labcyte Echo55x(测定中1％DMSO)在预接种的细胞板上点样,并在加湿培养箱(rH＝95％,CO2＝5％)中在37℃下孵育30min。之后,将25μL的60μM雌二醇稀释液添加到板上,并在加湿培养箱(rH＝95％,CO2＝5％)中在37℃下孵育3h。

[0604] 取20μL上清液并添加2.5μL d4-雌酮(最终50nM;Sigma,目录号489204),随后添加溶解在90％甲醇(Sigma,目录号34860)和10％甲酸(Merck,目录号33015)中的5μL吉拉尔特试剂P(最终6.5mM;TCI,目录号G0030),以对分析物进行衍生化。在RT下孵育12-24h,之后添加70μL dH2O。

[0605] 通过与三重四极杆质谱仪(Triple Quad 6500,AB Sciex Germany GmbH,德国达姆施塔特)耦合的快速进样RapidFire自动进样器系统(Agilent,德国瓦尔德布龙)进行分析样品处理。通过真空泵将液体样品抽吸到10μL定量环中250ms,随后用水性流动相(99.5％水,0.49％乙酸,0.01％三氟乙酸,流速1.5mL/min)冲洗3000ms至C18筒柱(Agilent,德国瓦尔德布龙)上。固相萃取步骤保留分析物,同时除去干扰基质(例如,缓冲组分)。将分析物解吸并用有机流动相(49.75％甲醇,49.75％乙腈,0.49％乙酸,0.01％三氟乙酸,流速1.25mL/min)从筒柱中反向洗脱3000ms,并且冲洗到质谱仪中进行MRM模式检测。雌酮的MRM转变为404.1<157.1Da(去簇电压27V,碰撞能量43V),并且内标D4雌酮的MRM转变为408.1<159.1Da(去簇电压27V,碰撞能量43V)。每个MRM转变的停留时间为25ms,并且MRM之间的暂停时间为5ms。质谱仪在正电离模式下(气帘气35Au,碰撞气中等,离子喷雾电压4200V,温度550℃,离子源气体1 65Au,离子源气体2 80Au)运行。在进行反向冲洗至质谱仪中时,用有机流动相冲洗定量环和相关管道,以防止携流效应。

[0606] 在GMSU(Alpharetta,美国佐治亚州)进行MS数据处理,并且报告分析物/内标的峰面积比用于IC50计算。使用4参数非线性回归曲线拟合模型(Software Megalab内部开发)计算IC50值。对于数据评价和计算,将底部(带有雌二醇的细胞和10μM的内部鉴定的HSD17B13抑制剂)的测量值设为0％对照,并且将顶部(包含带有雌二醇的细胞)的测量值设为100％对照。使用以下标准4参数逻辑斯谛回归公式计算IC50值:Y＝底部+(顶部-底部)/(1+10^((LogIC50-X)x斜率+log((顶部-底部)/(50-底部)-1)))。

[0607] 实施例7:细胞人HSD17B13活力测定

[0608] 在无血清培养基(DMEM,Sigma,目录号D5796;10％热灭活的FBS,Gibco,目录号100500;1x Glutamax,Gibco,目录号35050-087;1x丙酮酸钠,Gibyo,目录号11360070)中制备雌二醇(Sigma,目录号E8875)稀释液和细胞(稳定过表达人HSD17B13的-Myc/DDK标记的克隆HEK293细胞,Lakepharma)。

[0609] 在化合物测试之前24h,将25μL的0.4*10^6个细胞/mL稀释液接种在384孔微孔板(培养板,Perkin Elmer,目录号6007680)上。

[0610] 将化合物在DMSO(Sigma,目录号5879)中连续稀释,并通过Labcyte Echo55x(测定中1%DMSO)在预接种的细胞板上点样。在加湿培养箱(rH=95%,CO2=5%)中在37℃下孵育30min。之后,将25μL的60μM雌二醇稀释液添加到板上,并在加湿培养箱(rH=95%,CO2=5%)中在37℃下孵育3h。

[0611] 将5μL CellTiter Glo 2(Promega,目录号G9242)添加到细胞板上,在室温下孵育15min,并且在PHERAstar FSX(BMG Labtech,德国奥尔滕贝格)上测量发光。

[0612] 使用4参数非线性回归曲线拟合模型(Software Megalab内部开发)计算IC50值。对于数据评价和计算,将底部(无细胞,带有雌二醇)的测量值设为0%对照,并且将顶部(包含细胞和雌二醇)的测量值设为100%对照。使用以下标准4参数逻辑斯谛回归公式计算IC50值:Y=底部+(顶部-底部)/(1+10^((LogIC50-X)*斜率+log((顶部-底部)/(50-底部)-1)))。

[0613] 实施例8:生物化学人HSD17B11-RapidFire MS/MS测定。

[0614] 将雌二醇(Sigma,目录号E8875)、NAD(Roche,目录号10621650001)和重组hHSD17B11(U-Protein Express BV,荷兰)在测定缓冲液(100mM Tris,Sigma,目录号T2319;氯化钠,Roth,目录号3957.2;0.5mM EDTA,Invitrogen,目录号15575020;0.1%TCEP,Invitrogen,目录号T2556;0.05%BSA级分V(不含蛋白酶和脂肪酸),Serva,目录号11945;0.001%Tween20,Serva,目录号37470)中稀释。将化合物在DMSO(Sigma,目录号5879)中连续稀释,并通过Labcyte Echo 55x(测定中1%DMSO)在384孔微孔板(PP,V形底)(Greiner,目录号781280)板上点样。首先,添加6μL/孔的重组hHSD17B11(最终35nM)稀释液,随后在RT下孵育15min。其次,添加6μL/孔的稀释雌二醇(最终30μM)和NAD(最终0.5mM),混合,并在RT下孵育4h。添加1μL d4-雌酮(最终50nM;Sigma,目录号489204),随后添加溶解在90%甲醇(Sigma,目录号34860)和10%甲酸(Merck,目录号33015)中的2.4μL吉拉尔特试剂P(最终6.5mM;TCI,目录号G0030),以对分析物进行衍生化并停止酶反应。在RT下孵育12-24h,之后添加70μL dH2O。

[0615] 通过与三重四极杆质谱仪(Triple Quad 6500,AB Sciex Germany GmbH,德国达姆施塔特)耦合的快速进样RapidFire自动进样器系统(Agilent,德国瓦尔德布龙)进行分析样品处理。通过真空泵将液体样品抽吸到10μL定量环中250ms,随后用水性流动相(99.5%水,0.49%乙酸,0.01%三氟乙酸,流速1.5mL/min)冲洗3000ms至C18筒柱(Agilent,德国瓦尔德布龙)上。固相萃取步骤保留分析物,同时除去干扰基质(例如,缓冲组分)。将分析物解吸并用有机流动相(49.75%甲醇,49.75%乙腈,0.49%乙酸,0.01%三氟乙酸,流速1.25mL/min)从筒柱中反向洗脱3000ms,并且冲洗到质谱仪中进行MRM模式检测。雌酮的MRM转变为404.1<157.1Da(去簇电压27V,碰撞能量43V),并且内标D4雌酮的MRM转变为408.1<159.1Da(去簇电压27V,碰撞能量43V)。每个MRM转变的停留时间为25ms,并且MRM之间的暂停时间为5ms。质谱仪在正电离模式下(气帘气35Au,碰撞气中等,离子喷雾电压4200V,温度550℃,离子源气体1 65Au,离子源气体2 80Au)运行。在进行反向冲洗至质谱仪中时,用有机流动相冲洗定量环和相关管道,以防止分析物或基质组分在下一个样品中的携流效应。系统的平衡时间为500ms。为了使携流效应最小化,使用RapidFire系统的洗涤

站在样品之间用纯水(100％)和纯甲醇(100％)进行洗针。RapidFire系统的溶剂递送装置由两个连续运行且等度操作的HPLC泵(G1310A,Agilent,德国瓦尔德布龙)和一个二元HPLC泵通道B(G4220A,Agilent,德国瓦尔德布龙)组成。在GMSU(Alpharetta,美国佐治亚州)进行MS数据处理,并且报告分析物/内标的峰面积比用于IC50计算。使用4参数非线性回归曲线拟合模型(Software Megalab内部开发)计算IC50值。对于数据评价和计算,将底部(无HSD17B13酶)的测量值设为0％对照,并且将顶部(包含NAD、雌酮和HSD17B13)的测量值设为100％对照。使用以下标准4参数逻辑斯谛回归公式计算IC50值:Y＝底部+(顶部-底部)/(1+10^((LogIC50-X)x斜率+log((顶部-底部)/(50-底部)-1)))。

[0616] 实施例9:人HSD17B11-RapidFire MS/MS测定

[0617] 将雌二醇(Sigma,目录号E8875)、NAD(Roche,目录号10621650001)和重组hHSD17B11(U-Protein Express BV,荷兰)在测定缓冲液(100mM Tris,Sigma,目录号T2319;氯化钠,Roth,目录号3957.2;0.5mM EDTA,Invitrogen,目录号15575020;0.1％TCEP,Invitrogen,目录号T2556;0.05％BSA级分V(不含蛋白酶和脂肪酸),Serva,目录号11945;0.001％Tween20,Serva,目录号37470)中稀释。将化合物在DMSO(Sigma,目录号5879)中连续稀释,并通过Labcyte Echo 55x(测定中1％DMSO)在384孔微孔板(PP,V形底)(Greiner,目录号781280)板上点样。首先,添加6μL/孔的重组hHSD17B11(最终35nM)稀释液,随后在RT下孵育15min。其次,添加6μL/孔的稀释雌二醇(最终30μM)和NAD(最终0.5mM),混合,并在RT下孵育4h。添加1μL d4-雌酮(最终50nM;Sigma,目录号489204),随后添加溶解在90％甲醇(Sigma,目录号34860)和10％甲酸(Merck,目录号33015)中的2.4μL吉拉尔特试剂P(最终6.5mM;TCI,目录号G0030),以对分析物进行衍生化并停止酶反应。在RT下孵育12-24h,之后添加70μL dH2O。

[0618] 通过与三重四极杆质谱仪(Triple Quad 6500,AB Sciex Germany GmbH,德国达姆施塔特)耦合的快速进样RapidFire自动进样器系统(Agilent,德国瓦尔德布龙)进行分析样品处理。通过真空泵将液体样品抽吸到10μL定量环中250ms,随后用水性流动相(99.5％水,0.49％乙酸,0.01％三氟乙酸,流速1.5mL/min)冲洗3000ms至C18筒柱(Agilent,德国瓦尔德布龙)上。固相萃取步骤保留分析物,同时除去干扰基质(例如,缓冲组分)。将分析物解吸并用有机流动相(49.75％甲醇,49.75％乙腈,0.49％乙酸,0.01％三氟乙酸,流速1.25mL/min)从筒柱中反向洗脱3000ms,并且冲洗到质谱仪中进行MRM模式检测。雌酮的MRM转变为404.1<157.1Da(去簇电压27V,碰撞能量43V),并且内标D4雌酮的MRM转变为408.1<159.1Da(去簇电压27V,碰撞能量43V)。每个MRM转变的停留时间为25ms,并且MRM之间的暂停时间为5ms。质谱仪在正电离模式下(气帘气35Au,碰撞气中等,离子喷雾电压4200V,温度550℃,离子源气体1 65Au,离子源气体2 80Au)运行。在进行反向冲洗至质谱仪中时,用有机流动相冲洗定量环和相关管道,以防止分析物或基质组分在下一个样品中的携流效应。系统的平衡时间为500ms。为了使携流效应最小化,使用RapidFire系统的洗涤站在样品之间用纯水(100％)和纯甲醇(100％)进行洗针。RapidFire系统的溶剂递送装置由两个连续运行且等度操作的HPLC泵(G1310A,Agilent,德国瓦尔德布龙)和一个二元HPLC泵通道B(G4220A,Agilent,德国瓦尔德布龙)组成。在GMSU(Alpharetta,美国佐治亚州)进行MS数据处理,并且报告分析物/内标的峰面积比用于IC50计算。使用4参数非线性回归曲线拟合模型(Software Megalab内部开发)计算IC50值。对于数据评价和计算,将底部(无

HSD17B13酶)的测量值设为0％对照,并且将顶部(包含NAD、雌酮和HSD17B13)的测量值设为100％对照。使用以下标准4参数逻辑斯谛回归公式计算IC50值:Y＝底部+(顶部-底部)/(1+10^((LogIC50-X)x斜率+log((顶部-底部)/(50-底部)-1)))。

[0619] 实施例10:在肝微粒体中的代谢稳定性的体外药代动力学测定

[0620] 在37℃下用合并的肝微粒体测定测试化合物的代谢降解。

[0621] 每个时间点60μl的最终孵育体积含有在RT下的TRIS缓冲液(pH 7.6,0.1M)、氯化镁(5mM)、微粒体蛋白(0.5-2mg/ml)和最终浓度为1μM的测试化合物。

[0622] 在37℃下的短预孵育期后,通过添加还原形式的β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH,1mM)使反应开始,并且在不同时间点后通过将等分试样转移到溶剂中使反应终止。

[0623] 通过离心(10000g,5min)将淬灭的孵育物沉淀。

[0624] 通过LC-MS/MS测定上清液的等分试样中剩余母体化合物的量。

[0625] 通过浓度-时间曲线的半对数图的斜率来确定半衰期(t1/2INVITRO)。

[0626] 通过考虑孵育物中的蛋白质的量来计算固有清除率(CL_INTRINSIC):

[0627] CL_INTRINSIC[μl/min/mg蛋白质]＝(Ln 2/(半衰期[min]*蛋白质含量[mg/ml]))*1000

[0628] 实施例11:在人肝细胞中的代谢稳定性的体外药代动力学测定(HHEP测定)

[0629] 在人肝细胞中进行测定以评估化合物的代谢稳定性。在人肝细胞悬浮液中测定测试化合物的代谢降解。在从冷冻保存中恢复后,将人肝细胞在DMEM(补充有3.5μg胰高血糖素/500ml、2.5mg胰岛素/500ml、3.75mg氢化可的松/500ml、5％或50％的人血清或不存在血清)中稀释,以获得1.0x10^6个细胞/ml或4.0x10^6个细胞/ml的最终细胞密度,取决于测试化合物的代谢更新速率。

[0630] 在细胞培养箱(37℃,10％CO2)中预孵育30min后,将测试化合物溶液掺加到肝细胞悬液中,导致最终测试化合物浓度为1μM,且最终DMSO浓度为0.05％。

[0631] 将细胞悬浮液在37℃下孵育(细胞培养箱,水平摇床),并且在0、0.5、1、2、4和6小时后从培养箱取出样品。将样品用乙腈(含有内标)淬灭并且通过离心沉淀。将上清液转移到96深孔板,并且作准备以供通过HPLC-MS/MS分析母体化合物的下降。

[0632] 使用每个孵育时间点的峰面积比(测试化合物/内标)相对于时间点0的峰面积比计算剩余测试化合物的百分比。将对数变换后的数据针对孵育时间绘图,并且使用通过线性回归分析得到的斜率绝对值估计体外半衰期($T_{1/2}$)。

[0633] 从体外$T_{1/2}$计算体外固有清除率(Cl_{int}),并使用120x10^6个细胞/g肝脏的肝细胞构成、25.7g肝脏/kg的人每体重肝重以及体外孵育参数按比例放大到全肝,其中应用以下公式:

[0634] CL_INTRINSIC_INVIVO[ml/min/kg]＝(CL_INTRINSIC[μl/min/10^6个细胞]x肝细胞构成[10^6个细胞/g肝脏]x肝脏因子[g/kg体重])/1000

[0635] 按20.7ml/min/kg的平均肝血流量(QH)考虑,根据充分搅拌的肝脏模型预测肝脏体内血液清除率(CL):

[0636] CL[ml/min/kg]＝CL_INTRINSIC_INVIVO[ml/min/kg]x肝血流量[ml/min/kg]/(CL_INTRINSIC_INVIVO[ml/min/kg]+肝血流量[ml/min/kg])

[0637] 结果以肝血流量的百分比表示:

[0638] QH[%]＝CL[ml/min/kg]/肝血流量[ml/min/kg])

[0639] 实施例12:实施例化合物1-30的生物学数据

[0640]

实施例化合物	IC_{50} [nM]，生物化学 人 HSD17B13	IC_{50} [nM]，生物化学 小鼠 HSD17B13	IC_{50} [nM]，细胞 人 HSD17B13	IC_{50} [nM]，生物化学 人 HSD17B11
1	9.19	319	30.9	4210
2	26.8	2420	128	8610
3	12.2	2420	40.4	
4	4.86	446	76.4	> 10300
5	25.9	2560	116	
6	11.4	1110	33.5	8630
7	624	> 10300	1760	> 10300
8	59.7	2090	183	263
9	3.85	52.8	17.5	6090
10	< 3.09	63.1	15.3	8260

[0641]

11	< 3.09	27.6	12.1	5940
12	0.993	26.8	15.1	> 10300
13	4.18	73.1	24	> 10300
14	3.67	22.4	23.5	3540
15	3.68	13.8	39.8	3260
16	150	1620	868	5900
17	272	1350	1280	8690
18	316	1710	1180	7000
19	12.6	665	60.6	1210
20	5.72	48.1	24.3	992
21	7.39	108	93.5	6320
22	4.45	25.1	34.4	5040
23	76.8	1310	157	1740
24	15.8	204	78.4	2520
25	1.99	45.9	19.6	> 10300
26	1.26	23.2	5.13	10200
27	1.59	29.9	20.6	6640
28	12.1	235	37.4	1110
29	24.9	324	68.5	991
30	1.05	15.5	< 3.23	2260