(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119604503 A
(43)申请公布日 2025.03.11

(21)申请号 202380051020.9
(22)申请日 2023.06.29
(30)优先权数据
22182511.0 2022.07.01 EP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.12.30
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2023/067758 2023.06.29
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2024/003208 EN 2024.01.04
(71)申请人 豪夫迈·罗氏有限公司
地址 瑞士巴塞尔
(72)发明人 G·德科雷特
K·格罗布克·泽宾登 W·哈普
L·克雷斯 X·卢卡斯·卡布雷
J-Y·瓦克 R·维穆斯
(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
专利代理师 郜红
(51)Int.Cl.
C07D 471/04(2006.01)
C07D 487/04(2006.01)
A61K 31/444(2006.01)
A61K 31/519(2006.01)
A61P 19/02(2006.01)
A61P 3/10(2006.01)
A61P 1/16(2006.01)
A61P 29/00(2006.01)

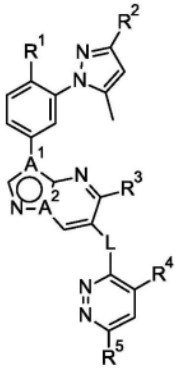
权利要求书4页 说明书47页

(54)发明名称

咪唑并[4,5-B]吡啶和吡唑并[1,5-A]嘧啶衍生物作为SIK调节剂用于类风湿性关节炎的治疗

(57)摘要

本发明涉及式(I)化合物，

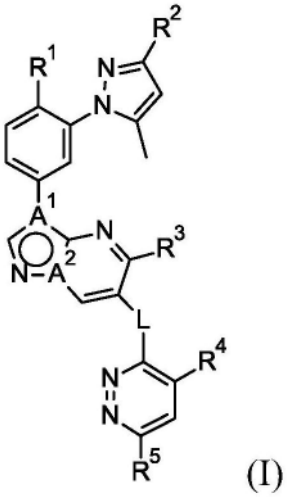


(I)

其作为SIK调节剂用于类风湿性关节炎、幼年型类风湿性关节炎、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性硬化性胆管炎、巨细胞血管炎、炎症性肠病(IBD)、动脉粥样硬化、2型糖尿病或肾小球性肾炎的治疗或预防。优选的化合物为例如咪唑并[4,5-b]吡啶衍生物或吡唑并[1,5-a]嘧啶衍生物。

CN 119604503 A

1.一种式(I)化合物,



(I)

其中

A^1为-C-或-N-;

A^2为-C-或-N-;条件是如果A1为-C-,则A2为-N-;并且条件是如果A_1为-N-,则A_2为-C-;

R^1为氰基、羟基烷基、烷基羰基、卤代烷氧基、羟基、烷氧基、卤素、卤代烷基、烷基或环烷基;

R^2为氰基、羟基烷基、卤代烷氧基、羟基、烷氧基、卤素、卤代烷基或烷基;

R^3为烷氧基、烷基、卤代烷基、卤代烷氧基、卤素或氢;

R^4为氢、烷基、烷氧基、卤代烷基、烷基氨基羰基或二烷基氨基羰基;

R^5为氢、烷基、卤素、卤代烷基或烷氧基;并且

L为-O-或-NH-;

或其药用盐。

2.根据权利要求1所述的化合物,其中R^1为氰基或羟基烷基。

3.根据权利要求1或2所述的化合物,其中R^1为氰基或羟基乙基。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中R^2为氰基、卤代烷基或卤代烷氧基。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的化合物,其中R^2为氰基、二氟甲基或二氟甲氧基。

6.根据权利要求1至5中任一项所述的化合物,其中R^3为氢或烷氧基。

7.根据权利要求1至6中任一项所述的化合物,其中R^3为氢或甲氧基。

8.根据权利要求1至7中任一项所述的化合物,其中R^4为氢或二烷基氨基羰基。

9.根据权利要求1至8中任一项所述的化合物,其中R^4为氢或二甲基氨基羰基。

10.根据权利要求1至9中任一项所述的化合物,其中R^5为氢或烷基。

11.根据权利要求1至10中任一项所述的化合物,其中R^5为氢或甲基。

12.根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,其中A^1为-C-并且A^2为-N-。

13.根据权利要求1至12中任一项所述的化合物,其中A^1为-N-并且A^2为-C-。

14.根据权利要求1至13中任一项所述的化合物,其中L为-NH-。

15.根据权利要求1至14中任一项所述的式(I)化合物,其选自:

1-[2-(1-羟基乙基)-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈;

1-[2-(1-羟基乙基)-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈;

1-[2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-[6-(哒嗪-3-基氨基)咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]乙醇;

3-[[3-[4-氰基-3-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯基]-5-甲氧基-咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基]氨基]-N,N,6-三甲基-哒嗪-4-甲酰胺;

1-[2-(1-羟基乙基)-5-[6-(6-甲基哒嗪-3-基)氧基吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]-5-甲基吡唑-3-甲腈;

3-[[3-[4-氰基-3-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯基]咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基]氨基]-N,N,6-三甲基-哒嗪-4-甲酰胺;

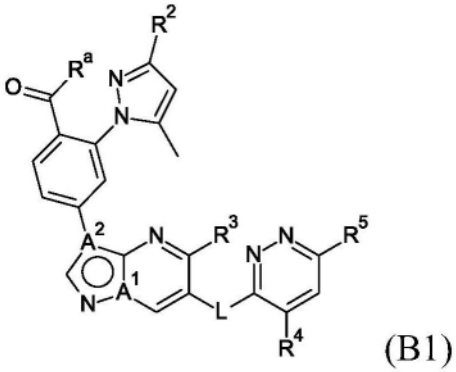
1-[3-氟-2-(1-羟基乙基)-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈;和

1-[2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]乙醇;

或其药用盐。

16.一种制备根据权利要求1至41中任一项所述的化合物的方法,所述方法包括以下步骤中的一个:

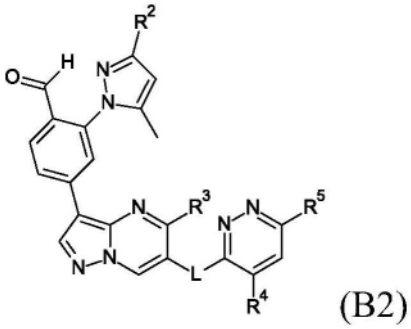
(a)使式(B1)化合物



(B1)

与合适的还原剂在合适的溶剂的存在下反应,

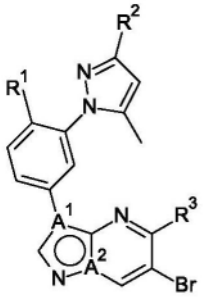
(b)使式(B2)化合物



(B2)

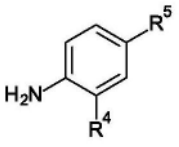
与合适的格氏试剂在合适的溶剂的存在下反应,

(c)使式(B3)化合物



(B3)

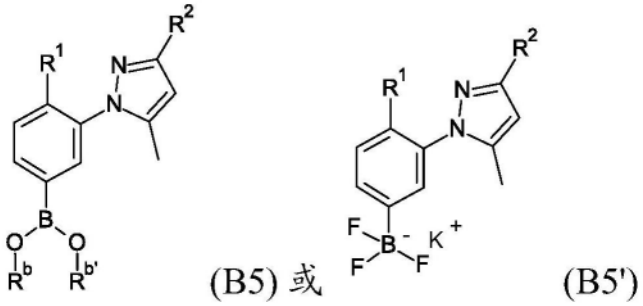
与式(B4)化合物



(B4)

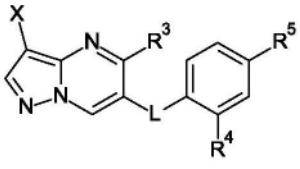
在合适的碱、合适的催化剂和合适的溶剂的存在下反应,或者

(d)使式(B5)或(B5)化合物



(B5)或 (B5')

与式(B6)化合物



(B6)

在合适的溶剂的存在下反应,

其中L、A^1、A^2、R^1、R^2、R^3、R^4和R^5如权利要求1至14中任一项中所定义;X为卤素;R^a为烷基,R^b和R^b'独立地选自氢和烷基,或者R^b和R^b'与它们所连接的氧原子一起形成五元至六元环,其余环成员为任选地经一个或两个烷基取代基取代的碳原子。

17.根据权利要求1至15中任一项所述的化合物,其根据权利要求16所述的方法进行制备。

18.根据权利要求1至15中任一项所述的式(I)化合物或其药用盐,其用于作为治疗活性物质使用。

19.一种药物组合物,其包含根据权利要求1至15中任一项所述的式(I)化合物或其药用盐,以及治疗惰性载体。

20.根据权利要求1至15中任一项所述的式(I)化合物或其药用盐用于类风湿性关节炎、幼年型类风湿性关节炎、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性硬化性胆管炎、巨细胞血管炎、炎症性肠病(IBD)、动脉粥样硬化、2型糖尿病或肾小球性肾炎的治疗或预防的用途。

21.根据权利要求1至15中任一项所述的式(I)化合物或其药用盐用于制备药物的用

途,所述药物用于类风湿性关节炎、幼年型类风湿性关节炎、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性硬化性胆管炎、巨细胞血管炎、炎症性肠病(IBD)、动脉粥样硬化、2型糖尿病或肾小球性肾炎的治疗或预防。

22.根据权利要求1至15中任一项所述的式(I)化合物或其药用盐,其用于在类风湿性关节炎、幼年型类风湿性关节炎、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性硬化性胆管炎、巨细胞血管炎、炎症性肠病(IBD)、动脉粥样硬化、2型糖尿病或肾小球性肾炎的治疗或预防中使用。

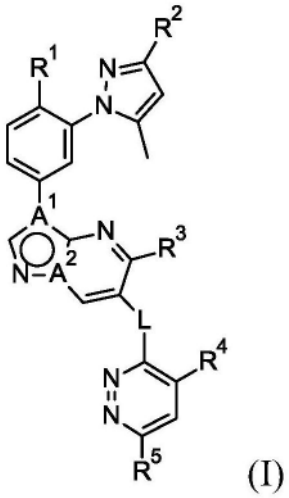
23.一种用于类风湿性关节炎、幼年型类风湿性关节炎、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性硬化性胆管炎、巨细胞血管炎、炎症性肠病(IBD)、动脉粥样硬化、2型糖尿病或肾小球性肾炎的治疗或预防的方法,所述方法包括向有此需要的患者施用有效量的根据权利要求1至15中任一项所述的式(I)化合物或其药用盐。

24.如说明书所述的本发明。

咪唑并[4,5-B]吡啶和吡唑并[1,5-A]嘧啶衍生物作为SIK调节剂用于类风湿性关节炎的治疗

[0001] 本发明涉及可用于哺乳动物的治疗和/或预防的有机化合物,并且更具体地涉及调节SIK活性的化合物。

[0002] 本发明具体地涉及一种式(I)化合物,

[0003] 

(I)

[0004] 其中

[0005] A^1为-C-或-N-;

[0006] A^2为-C-或-N-;条件是如果A^1为-C-,则A^2为-N-;并且条件是如果A^1为-N-,则A^2为-C-;

[0007] R^1为氰基、羟基烷基、烷基羰基、卤代烷氧基、羟基、烷氧基、卤素、卤代烷基、烷基或环烷基;

[0008] R^2为氰基、羟基烷基、卤代烷氧基、羟基、烷氧基、卤素、卤代烷基或烷基;

[0009] R^3为烷氧基、烷基、卤代烷基、卤代烷氧基、卤素或氢;

[0010] R^4为氢、烷基、烷氧基、卤代烷基、烷基氨基羰基或二烷基氨基羰基;R^5为氢、烷基、卤素、卤代烷基或烷氧基;并且

[0011] L为-O-或-NH-;

[0012] 或其药用盐。

[0013] 盐诱导激酶(SIK)属于AMP激活蛋白激酶(AMPK)亚家族,称为AMPK相关激酶。共有三个成员,分别命名为SIK1、SIK2和SIK3,它们的表达范围广泛。它们的主要生物学作用是通过控制两类关键转录调控因子的磷酸化和亚细胞定位来修饰基因表达:CRTC(cAMP调节的转录共激活因子)和IIa类HDAC(组蛋白脱乙酰酶)。事实上,在基础状态下,CRTC和HDAC均被SIK激酶磷酸化,并通过与其细胞质伴侣14-3-3相互作用而隔离在细胞质中。响应于通常会增加细胞内cAMP水平的细胞外信号,SIK激酶的活性受到抑制,CRTC和HDAC不再磷酸化,并且因此从14-3-3中释放。因此,它们可以易位到细胞核中并调节基因表达(Wein等人综述,Trends Endocrinol Metab.20180ct;29(10):723-735)。

[0014] 在巨噬细胞中,SIK激酶的抑制导致1)CRTC3穿梭至细胞核并增加IL-10的转录;2)

HDAC4/5易位到细胞核中,并随后NF-κB脱乙酰化,导致促炎细胞因子的转录减少(Clark等人,Proc Natl Acad Sci U S A.2012年10月16日;109(42):16986-91.)。

[0015] 巨噬细胞对于维持组织稳态、介导炎症和促进炎症消退至关重要。为了实现这种功能的多样性,巨噬细胞有能力根据环境线索进行不同的"极化"。沿着其激活状态连续体的两种极端表型是"M1"或"促炎巨噬细胞"和"M2"或"促消退巨噬细胞"。

[0016] 引人注目的是,对细胞内SIK激酶的抑制覆盖了这些细胞外巨噬细胞极化信号,并将它们推向促消退表型。这伴随着IL-10的增加(通过干扰SIK-CRTC3途径)以及伴随的TNF-α、IL-12和IL-6的减少(通过干扰SIK-HDAC4/5和NF-κB途径)。SIK抑制后高水平的IL-10和低水平的促炎细胞因子将促进炎症的消退。对SIK途径的探索最初在巨噬细胞(Clark等人,Proc Natl Acad Sci U S A.2012年10月16日;109(42):16986-91)和树突状细胞(Sundberg等人,Proc Natl Acad Sci U S A.2014年8月26日;111(34):12468-73)中进行了描述,并且泛SIK抑制剂的治疗潜力已在小鼠LPS(脂多糖)攻击模型(Sundberg等人,ACS Chem Biol.2016年8月19日;11(8):2105-11)和结肠炎模型(Fu等人,Inflamm Bowel Dis.2021年10月20日;27(11):1821-1831)中得到证实。此后,SIK已被证明在包括肥大细胞在内的几种免疫细胞的功能中发挥着重要作用(Darling等人,J Biol Chem.2021年1-6月;296:100428)。重要的是,SIK1在巨噬细胞中表达较差,并且本发明的一个实施例是不影响SIK1的SIK2/3抑制剂,从而限制潜在的SIK1相关毒性。

[0017] SIK抑制剂在以下疾病中具有很高的治疗潜力:1)以促炎性巨噬细胞流入组织以及组织稳态和愈合功能受损为特征的疾病,或2)抗TNF疗法有益(部分或完全)或IL10水平不足的疾病。具有炎症性巨噬细胞特征的疾病是例如类风湿性关节炎、幼年型类风湿性关节炎、NASH、原发性硬化性胆管炎、巨细胞血管炎和炎症性肠病("IBD")、动脉粥样硬化、2型糖尿病和肾小球性肾炎。

[0018] 已证实与IL-10和TNF-α相关的疾病是IBD。降低IL-10功能的基因改变(诸如IL-10或其受体中的SNP)与人类IBD风险增加相关。另外,抗TNF疗法是成功的,但只有一小部分IBD患者有反应,而且这种有限的反应大部分会随着时间的推移而消失。所描述的SIK抑制剂的双重作用(增加IL-10和降低TNF-α)使其特别适用于IBD的治疗。

[0019] 所有三种SIK激酶亚型均在人体组织中广泛表达,其中在皮肤和脂肪组织中观察到SIK1的最高表达,在脂肪组织中观察到SIK2的最高表达,并在睾丸和大脑中观察到SIK3的最高表达。与它们在巨噬细胞中的作用类似,这些细胞中的SIK响应细胞外信号而磷酸化CRTC和II类HDAC,随后改变几种细胞因子的表达。

[0020] 除了其生理作用外,有报道称SIK表达失调与一些疾病有关。例如,SIK2被描述为原发性硬化性胆管炎的风险位点,原发性硬化性胆管炎是一种通常与IBD相关的纤维化疾病。另外,SIK2和SIK3在卵巢癌和前列腺癌中的表达较高,并且与低存活率相关(Miranda等人,Cancer Cell.2016年8月8日;30(2):273-289;Bon等人,Mol Cancer Res.2015年4月;13(4):620-635)。

[0021] 迄今为止,许多由先天免疫系统失调引起的疾病缺乏有效的疗法,并且对新疗法的医疗需求尚未得到满足。本发明涉及一种新型化合物,其是用于治疗炎症性、过敏性和自身免疫性疾病的高活性SIK抑制剂。因此,除了炎症、过敏性和自身免疫性疾病之外,SIK抑制剂还可能与癌症、代谢性疾病、骨密度失调疾病、色素沉着相关疾病或美容、纤维化疾病

和抑郁症具有潜在相关性。

[0022] 在本说明书中,术语“烷基”在单独或组合下指具有1至8个碳原子的直链或支链烷基基团、特别是具有1至6个碳原子的直链或支链烷基基团并且更特别是具有1至4个碳原子的直链或支链烷基基团。直链和支链C1-C8烷基基团的实例包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、异构戊基、异构己基、异构庚基和异构辛基,特别地为甲基、乙基、丙基、丁基和戊基。烷基的特定示例为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基和异丁基。甲基、乙基、丙基和丁基,如异丁基,为式(I)化合物中“烷基”的进一步特定示例。

[0023] 术语“环烷基”在单独或组合下指具有3至8个碳原子的环烷基环、特别是具有3至6个碳原子的环烷基环。环烷基的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。“环烷基”的特定示例是环丙基和环丁基。

[0024] 术语“烷氧基(alkoxy)”或“烷氧基(alkyloxy)”单独或组合表示式“烷基-O-”的基团,其中术语“烷基”具有先前给出的含义,诸如甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基和叔丁氧基。“烷氧基”的特定示例是甲氧基和乙氧基。

[0025] 术语“氧基”在单独或组合下指-O-基团。

[0026] 术语“卤素”或“卤代”单独或组合地表示氟、氯、溴或碘并且特别地为氟、氯或溴,更特别地为氟。术语“卤代”与另一基团组合表示所述基团经至少一个卤素取代,特别是经一至五个卤素、特别是一至四个卤素即一个、两个、三个或四个卤素取代。

[0027] 术语“卤代烷基”单独或组合表示经至少一个卤素取代、特别是经一至五个卤素、特别是一至三个卤素、更特别是两至三个卤素取代的烷基基团。具体的“卤代烷基”为氟甲基、氟乙基、氟丙基、氟丁基、二氟甲基、二氟乙基、三氟甲基和三氟乙基。

[0028] 术语“卤代烷氧基”单独或组合表示经至少一个卤素取代、特别是经一至五个卤素、特别是一至三个卤素取代的烷氧基基团。特定“卤代烷氧基”是氟甲氧基、氟乙氧基和氟丙氧基。

[0029] 术语“羟基”(hydroxyl/hydroxy)在单独或组合下指-OH基团。

[0030] 术语“羰基”在单独或组合下指-C(O)-基团。

[0031] 术语“氨基”单独或组合地表示伯氨基基团(-NH_2)、仲氨基基团(-NH-)或叔氨基基团(-N-)。

[0032] 术语“烷基氨基”为连接至-NH-基团的烷基基团。术语“二烷基氨基”表示连接至-N-原子的两个烷基基团。

[0033] 术语“烷基羰基”为连接至-C(O)-基团的烷基基团。具体的“烷基羰基”为甲基羰基(也称为乙酰基)和乙基羰基。

[0034] 术语“磺酰基”单独或组合表示-SO_2-基团。

[0035] 术语“药用盐”表示在生物学上或其他方面不是不期望的盐。“药用盐”包括酸加成盐和碱加成盐两者。“药用酸加成盐”是指与无机酸和有机酸形成的那些药用盐,所述无机酸诸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、碳酸、磷酸等,所述有机酸可以选自脂肪族、脂环族、芳族、芳脂族、杂环、羧酸和磺酸类有机酸,诸如甲酸、乙酸、丙酸、乙醇酸、葡萄糖酸、乳酸、丙酮酸、草酸、苹果酸、马来酸、丙二酸、丁二酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、天冬氨酸、抗坏血酸、谷氨酸、邻氨基苯甲酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、双羟萘酸、苯乙酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、和水杨酸等。术语“药用碱加成盐”表示与有机或无机碱形成的那些药用盐。可接受的无

机碱的实例包括钠、钾、铵、钙、镁、铁、锌、铜、锰和铝盐。衍生自药用有机无毒碱的盐包括伯胺、仲胺和叔胺,取代胺(包括天然存在的取代胺)、环胺和碱性离子交换树脂(诸如异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、2-二乙氨基乙醇、氨丁三醇、二环已胺,赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、哈胺(hydrabamine)、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡糖胺、甲基葡糖胺、可可碱、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶和多胺树脂)的盐。

[0036] 术语“本发明的一种或多种化合物”是指如式(I)的化合物及其立体异构体、互变异构体、溶剂化物和盐(例如,药用盐)。

[0037] 互变异构形式,即与式(I)化合物互变的结构异构体,特别是在溶液中,在一些情况下可以存在并且应理解为包括在本发明中。

[0038] 如果式(I)的起始材料或化合物之一含有一个或多个在一个或多个反应步骤的反应条件下不稳定或有反应性的官能团,则可在应用本领域公知方法的关键步骤之前引入适当的保护基团(如例如在T.W.Greene和P.G.M.Wuts,第3版,1999,Wiley,New York的“Protective Groups in Organic Chemistry”中所述)。此类保护基团可以在合成的后期使用文献中描述的标准方法除去。保护基团的实例是叔丁氧基羰基(Boc)、9-芴基甲基氨基甲酸酯(Fmoc)、2-三甲基甲硅烷基乙基氨基甲酸酯(Teoc)、苄氧基羰基(Cbz)和对甲氧基苄氧羰基(Moz)。

[0039] 式(I)化合物可含有几个不对称中心并且可以光学纯的对映体、对映体的混合物诸如外消旋体、非对映异构体的混合物、非对映异构外消旋体或非对映异构外消旋体的混合物的形式存在。

[0040] 术语“不对称碳原子”意指具有四个不同取代基的碳原子。根据Cahn-Ingold-Prelog顺序规则,不对称碳原子可以为“R”或“S”构型。

[0041] 此外,本发明包括式(I)化合物的全部光学异构体(只要适用),即,非对映异构体、非对映体混合物、外消旋混合物、它们的全部相应对映体和/或互变异构体以及其溶剂化物。

[0042] 如果需要,可以分离本发明化合物的外消旋混合物,从而分离单独的对映体。分离可以通过本领域熟知的方法进行,诸如将化合物的外消旋混合物偶联至对映体纯的化合物以形成非对映体混合物,接着通过标准方法诸如分级结晶或色谱法分离单独的非对映体。

[0043] 在一些提供光学纯对映体的实施例中,光学纯对映体意为该化合物含有按重量计>90%的所希望的异构体,特别是按重量计>95%的所希望的异构体,或更特别是按重量计>99%的所希望的异构体,所述重量百分比基于该化合物的异构体的总重量。可通过手性选择性合成或通过对映体的分离来制备手性纯化合物或手性富集的化合物。可以对终产物,或者可替代地对合适的中间体进行对映体的分离。

[0044] 本文所描述的结构还意在包括仅在一个或多个富含同位素的原子存在下不同的化合物。放射性同位素的特定实例是^{2}H、^{3}H、^{13}C、^{14}C和^{18}F。例如,其中一个或多个氢原子被氘或氚替换,或者一个或多个碳原子被富含^{13}C或^{14}C的碳替换的结构在本发明的范围内。

[0045] 因此,本发明涉及:

[0046] 根据本发明所述的化合物,其中R^{1}为氰基或羟基烷基;

[0047] 根据本发明所述的化合物,其中R^{1}为氰基或羟基乙基;

[0048] 根据本发明所述的化合物,其中R^{2}为氰基、卤代烷基或卤代烷氧基;

[0049] 根据本发明所述的化合物,其中R^2为氰基、二氟甲基或二氟甲氧基;

[0050] 根据本发明所述的化合物,其中R^3为氢或烷氧基;

[0051] 根据本发明所述的化合物,其中R^3为氢或甲氧基;

[0052] 根据本发明所述的化合物,其中R^4为氢或二烷基氨基羰基;

[0053] 根据本发明所述的化合物,其中R^4为氢或二甲基氨基羰基;

[0054] 根据本发明所述的化合物,其中R^5为氢或烷基;

[0055] 根据本发明所述的化合物,其中R^5为氢或甲基;

[0056] 根据本发明所述的化合物,其中A^1为-C-并且A^2为-N-;

[0057] 根据本发明所述的化合物,其中A^1为-N-并且A^2为-C-;

[0058] 根据本发明所述的化合物,其中L为-N-;并且

[0059] 根据本发明所述的化合物,其中L为-O-;

[0060] 本发明进一步涉及一种式(I)化合物,该化合物选自

[0061] 1-[2-(1-羟基乙基)-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈;

[0062] 1-[2-(1-羟基乙基)-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈;

[0063] 1-[2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-[6-(哒嗪-3-基氨基)咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]乙醇;

[0064] 3-[[3-[4-氰基-3-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯基]-5-甲氧基-咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基]氨基]-N,N,6-三甲基-哒嗪-4-甲酰胺;

[0065] 1-[2-(1-羟基乙基)-5-[6-(6-甲基哒嗪-3-基)氧基吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]-5-甲基吡唑-3-甲腈;

[0066] 3-[[3-[4-氰基-3-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯基]咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基]氨基]-N,N,6-三甲基-哒嗪-4-甲酰胺;

[0067] 1-[3-氟-2-(1-羟基乙基)-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈;和

[0068] 1-[2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]乙醇;

[0069] 或其药用盐。

[0070] 本发明进一步具体地涉及一种式(I)化合物,该化合物选自

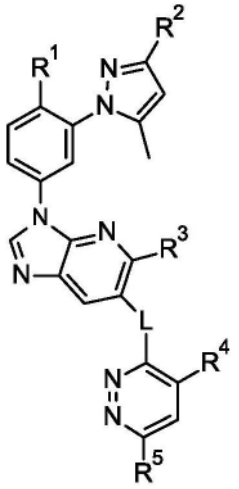
[0071] 1-[2-(1-羟基乙基)-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈;

[0072] 1-[2-(1-羟基乙基)-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈;和

[0073] 1-[3-氟-2-(1-羟基乙基)-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈;

[0074] 或其药用盐。

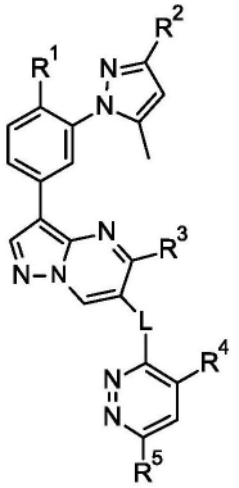
[0075] 本发明的一个实施方案涉及根据本发明的化合物,其中该化合物为式(II)的化合物

[0076] 

(II)

[0077] 其中L、R^1、R^2、R^3、R^4和R^5如本文所描述。

[0078] 本发明的一个实施方案涉及根据本发明的化合物,其中该化合物为式(III)的化合物

[0079] 

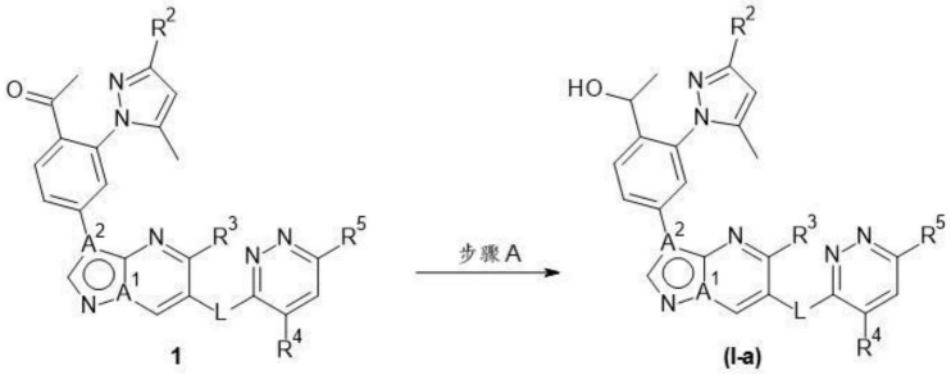
(III)

[0080] 其中L、R^1、R^2、R^3、R^4和R^5如本文所描述。

[0081] 式(I)化合物的合成可以例如根据如下在常规方案1至11中所描述的非详尽的程序或者根据本领域技术人员已知的方法来完成。在一些情况下,可以修改反应步骤的顺序并且可以以如本文所公开的不同的方式来组合不同方案的各个步骤。

[0082] 方案1

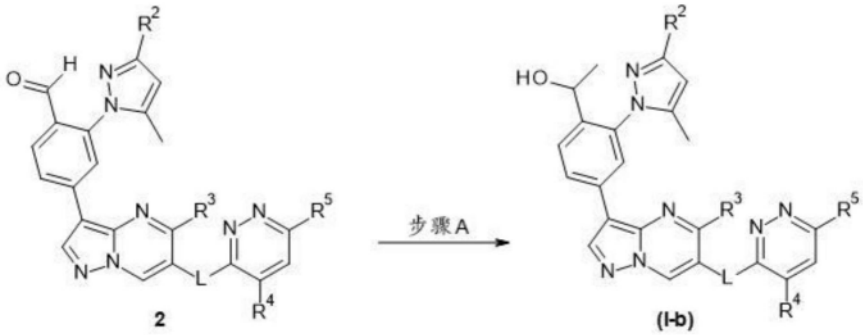
[0083] 在方案1中,描述了式(I-a)化合物的合成。在下面的方案中,L、A^1、A^2、R^2、R^3、R^4和R^5如上所定义。式(I-a)化合物是如本文所述的式(I)化合物,其中R^1为羟基乙基。

[0084] 

[0085] 步骤A:中间体1可以用还原剂诸如MeOH中的$NaBH_4$带有共溶剂诸如THF、1,4-二噁烷、EtOH或二氯甲烷在-40℃至室温之间的温度转化为式(I-a)化合物。

[0086] 方案2

[0087] 在方案2中,描述了式(I-a)化合物的合成。在下面的方案中,A^1为-C-并且A^2为-N-;L、R^2、R^3、R^4和R^5如上所定义。式(I-b)化合物为如本文所述的式(I)化合物,其中R^1为羟基乙基,A^1为-C-并且A^2为-N-。

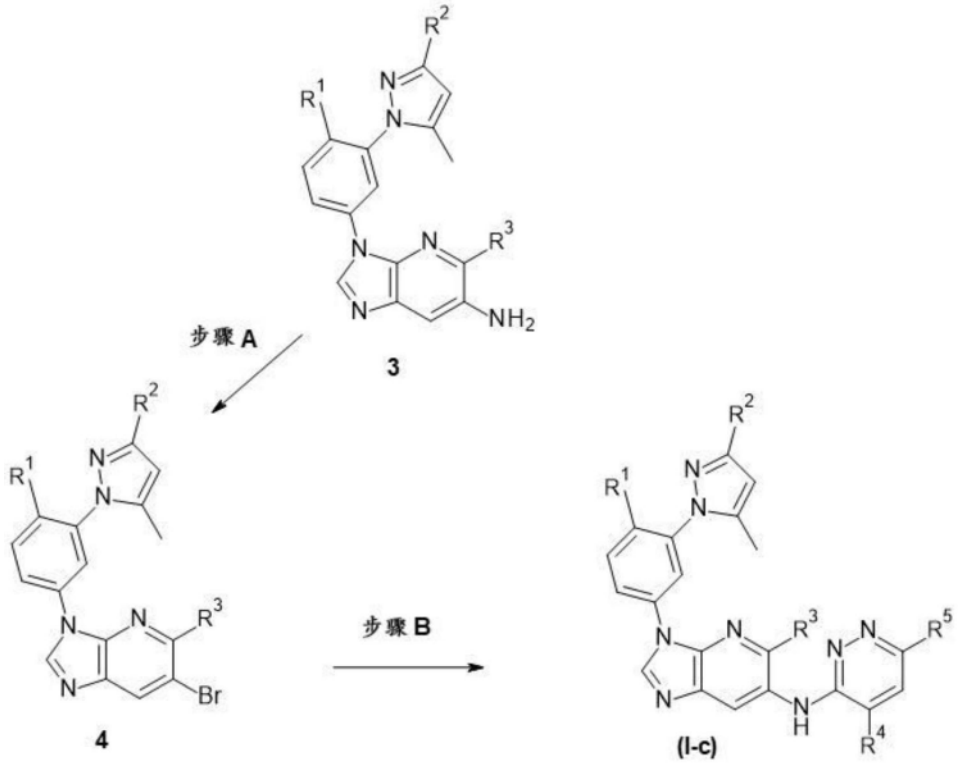
[0088] 

[0089] 步骤A:中间体2可以通过在溶剂诸如THF中在约-70℃至约0℃之间的温度与甲基溴化镁进行格氏反应转化为式(I-b)化合物。

[0090] 方案3

[0091] 在方案3中,描述了式(I-c)化合物的合成。在下面的方案中,A^1为-N-,A^2为-C-并且L为-NH-;R^1、R^2、R^3、R^4和R^5如上所定义。式(I-c)化合物为如本文所述的式(I)化合物,其中A^1为-N-并且A^2为-C-。

[0092]



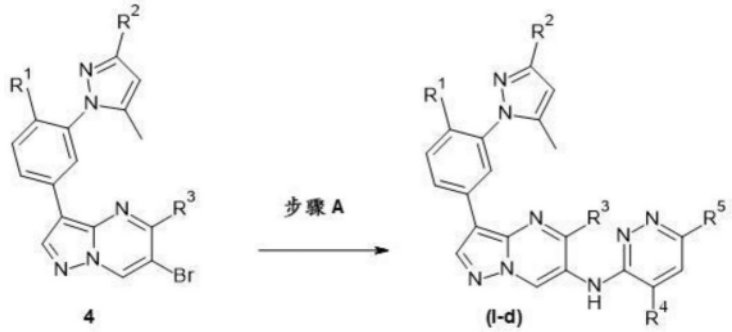
[0093] 步骤A:中间体3可以通过与溴化物源诸如二溴化铜(I)、亚硝酸盐源诸如亚硝酸异戊酯在溶剂诸如乙腈中在60℃至80℃之间的温度进行Sandmeyer反应而转化为相应的溴中间体4。

[0094] 步骤B:式(I-c)化合物可以经由使用合适的碱诸如Cs_2CO_3、K_2CO_3或K_3PO_4以及合适的钯催化剂诸如例如t-BuXPhos-Pd-G3或[t-BuBrettPhos Pd(烯丙基)]OTf在溶剂诸如1,4-二噁烷中,在80℃至100℃之间的温度,中间体4与氨基哒嗪反应物的Buchwald-Hartwig偶联来获得。

[0095] 方案4

[0096] 在方案4中,描述了式(I-d)化合物的合成。在下面的方案中,A^1为-C-,A^2为-N-,L为-NH-并且R^1为氰基、烷基羰基或卤代烷基;R^1、R^2、R^3、R^4和R^5如上所定义。式(I-d)化合物为如本文所述的式(I)化合物,其中A^1为-C-并且A^2为-N-。

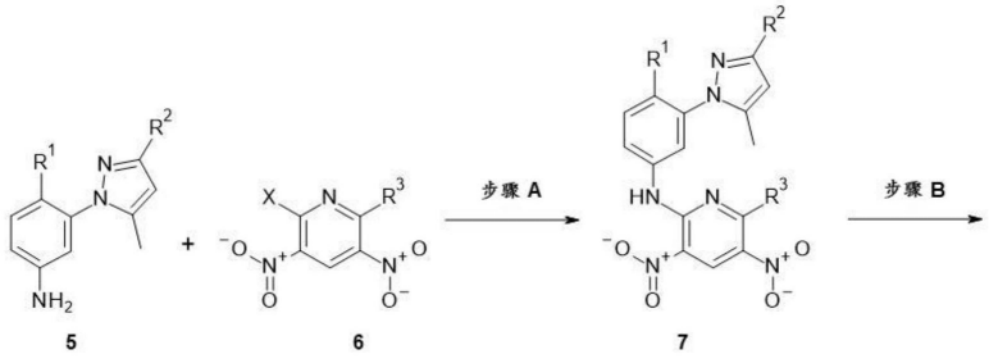
[0097]



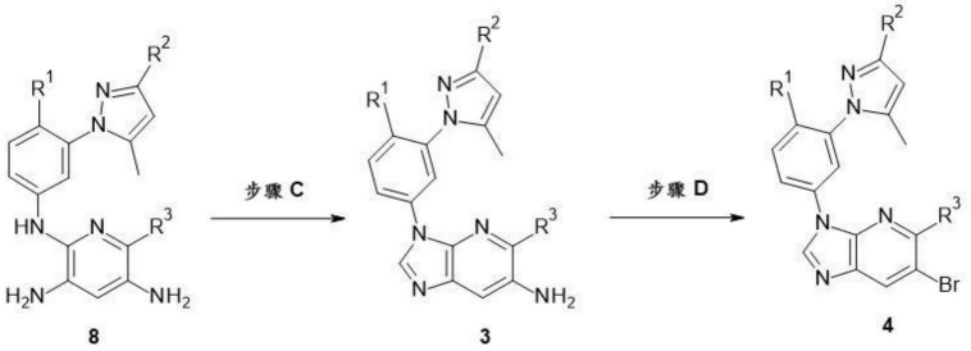
[0098] 步骤A:式(I-d)化合物可以经由使用合适的碱诸如Cs_2CO_3、K_2CO_3或K_3PO_4以及合适的钯催化剂诸如例如t-BuXPhos-Pd-G3或[t-BuBrettPhos Pd(烯丙基)]OTf在溶剂诸如1,4-二噁烷中,在80℃至90℃之间的温度,中间体4与氨基哒嗪反应物的Buchwald-Hartwig偶联来获得。

[0099] 方案5

[0100] 在下面的方案中,A^1为-N-,A^2为-C-并且R^1为氰基、烷基羰基或卤代烷基;R^2、R^3、R^4和R^5如上所定义。



[0101]



[0102] 步骤A:中间体7可以通过使苯胺5与氟代或氯代吡啶6在溶剂诸如甲醇、THF、乙腈、DMF、NMP或DMSO中在约0℃至约70℃之间的温度反应来获得。

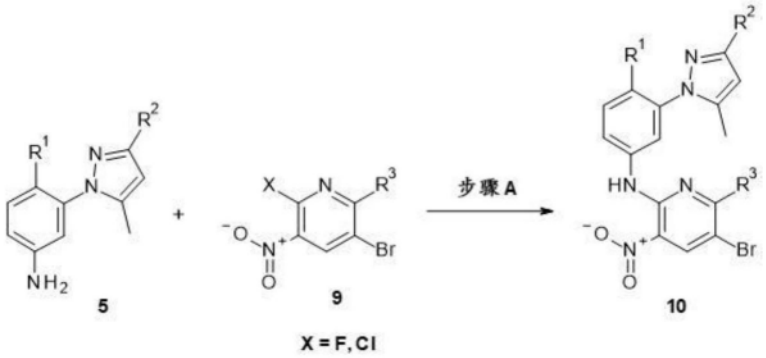
[0103] 步骤B:芳族胺中间体8可以通过在溶剂诸如EtOH或水中在氯化铵或替代地乙酸存在下在50℃的温度使用还原剂诸如Fe还原相应的硝基前体7来获得。替代地,可以用雷尼镍或Pd/C作为催化剂来实现还原。

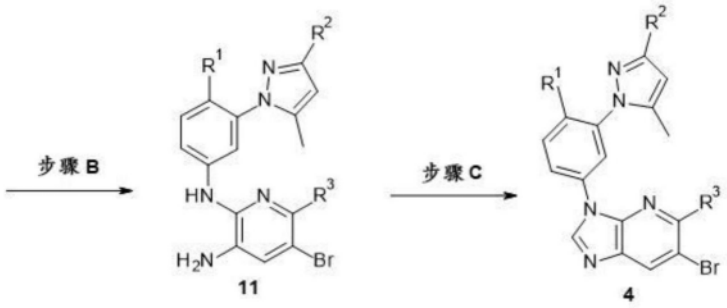
[0104] 步骤C:中间体3可以由苯胺中间体8通过在TsOH存在下在溶剂诸如EtOH或MeOH中在约80℃至约120℃之间的温度与三甲氧基甲烷缩合获得。

[0105] 步骤D:苯胺中间体3可以通过与溴化物源诸如二溴化铜(II)、亚硝酸盐源诸如亚硝酸异戊酯在溶剂诸如乙腈中在约60℃至约80℃之间的温度进行Sandmeyer反应而转化为相应的溴中间体4。

[0106] 方案6

[0107] 在下面的方案中,A^1为-N-,A^2为-C-并且R^1为氰基、烷基羰基或卤代烷基;R^2、R^3、R^4和R^5如上所定义。

[0108] 



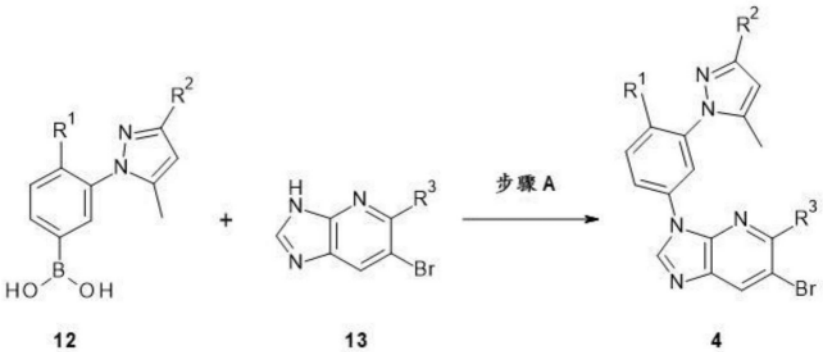
[0109] 步骤A:中间体10可以通过使苯胺5与氟代或氯代吡啶9在溶剂诸如MeOH、THF、乙腈、DMF或DMSO中在约0℃至约70℃之间的温度反应来获得。可能需要苯胺的去质子化,诸如在合适的非质子溶剂中使用碱诸如双(三甲基甲硅烷基)氨基锂。

[0110] 步骤B:苯胺中间体11可以通过在溶剂诸如EtOH或水中在氯化铵存在下在约50℃的温度使用还原剂诸如Fe还原相应的硝基前体10来获得。

[0111] 步骤C:苯胺中间体4可以通过中间体11在TsOH存在下在溶剂诸如MeOH中在约80℃至约120℃之间的温度与三甲氧基甲烷缩合来获得。

[0112] 方案7

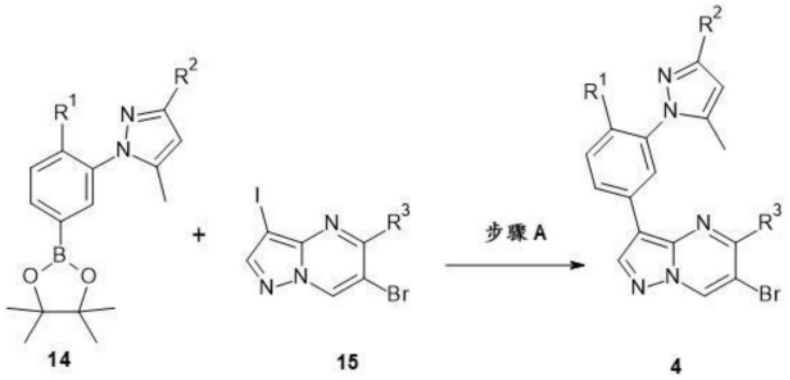
[0113] 在下面的方案中,A^1为-N-,A^2为-C-并且R^1为氰基、烷基羰基或卤代烷基;R^2、R^3、R^4和R^5如上所定义。

[0114] 

[0115] 步骤A:中间体4可以通过在$Cu(OAc)_2$存在下,在溶剂诸如MeOH、EtOH、二氯甲烷或乙腈中,在氧气氛下,在约50℃至约100℃之间的温度,硼酸中间体12与氮杂苯并咪唑中间体13的Chan-Lam偶联来获得。

[0116] 方案8

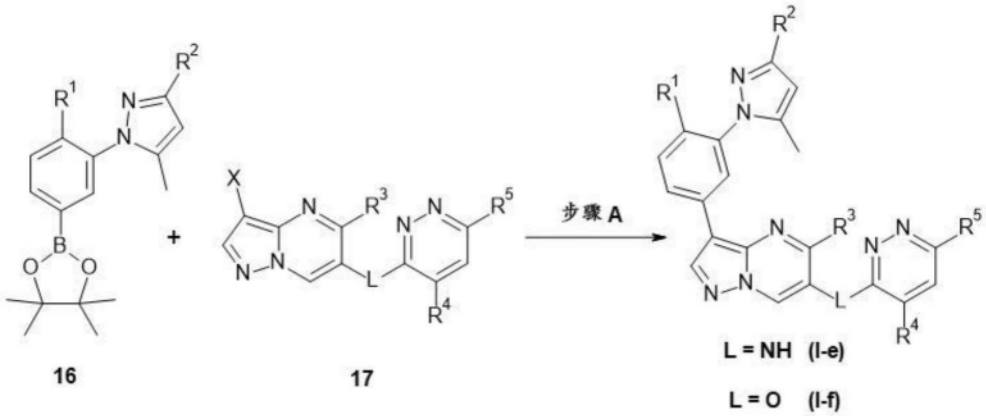
[0117] 在下面的方案中,A^1为-C-,A^2为-N-并且R^1为氰基、烷基羰基或卤代烷基;R^2、R^3、R^4和R^5如上所定义。

[0118] 

[0119] 步骤A:中间体4可以通过在催化剂诸如$Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$络合物和碱诸如$K_2CO_3$或$Cs_2CO_3$存在下在溶剂诸如1,4-二噁烷、THF、DMF、DMA、NMP、甲苯、H_2O或其混合物中,在约50℃至约80℃之间的温度,硼酸酯14与碘前体15的Suzuki偶联来获得。

[0120] 方案9

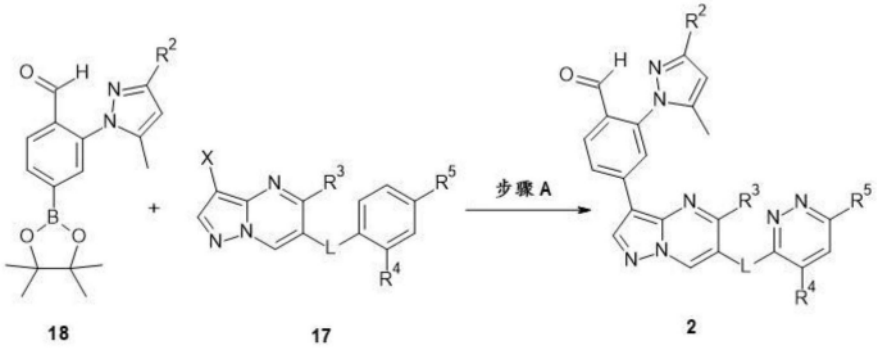
[0121] 在下面的方案中,A^1为-C-,A^2为-N-并且R^1为氰基、烷基羰基或卤代烷基;L、R^2、R^3、R^4和R^5如上所定义。在下面的方案中,X为卤素,优选地溴。式(I-e)化合物为如本文所述的式(I)化合物,其中A^1为-C-,A^2为-N-并且L为-NH-。式(I-f)化合物为如本文所述的式(I)化合物,其中A^1为-C-,A^2为-N-并且L为-O-。

[0122] 

[0123] 步骤A:式(I-e)或(I-f)的化合物可以通过在催化剂诸如$Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$络合物和碱诸如$K_2CO_3$或$Cs_2CO_3$的存在下在溶剂诸如1,4-二噁烷、THF、DMF、DMA、NMP、甲苯、H_2O或其混合物中,在约50℃至约80℃之间的温度,硼酸16与卤代前体17的Suzuki偶联来获得。

[0124] 方案10

[0125] 在下面的方案中,L、R^2、R^3、R^4和R^5如本文所定义。

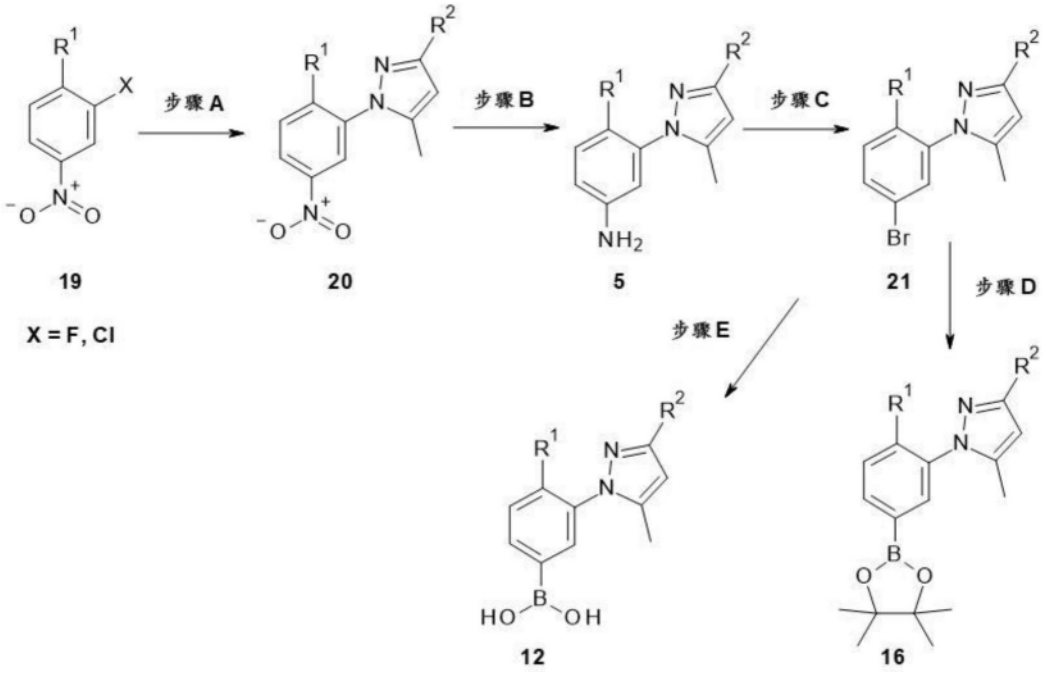
[0126] 

[0127] 步骤A:中间体2可以通过在催化剂诸如$Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$络合物和碱诸如$K_2CO_3$

或Cs_2CO_3存在下在溶剂诸如1,4-二噁烷、THF、DMF、DMA、NMP、甲苯、H_2O或其混合物中,在约50℃至约80℃的温度,硼酸酯18与卤代前体17的Suzuki偶联来获得。

[0128] 方案11

[0129] 在下面的方案中,R^1为氰基、烷基羰基或卤代烷基;R^2如上所定义。



[0131] 步骤A:中间体20可以通过在碱诸如DIPEA、$NaHCO_3$、K_2CO_3、Cs_2CO_3或DBU的存在下,在溶剂诸如DMSO、DMF中,在约50℃至约100℃的温度,使相应的氟或氯前体19与合适的吡唑结构单元反应来获得。

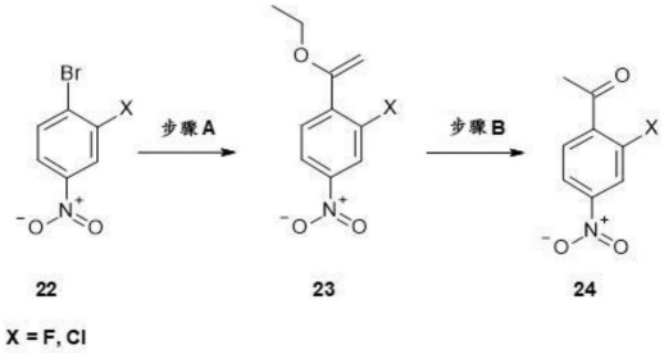
[0132] 步骤B:苯胺中间体5可以通过在溶剂诸如EtOH或水中在氯化铵存在下使用还原剂诸如Fe还原相应的硝基前体20来获得。

[0133] 步骤C:苯胺中间体5可以通过与溴源诸如二溴化铜(II)、亚硝酸盐源诸如亚硝酸异戊酯在溶剂诸如乙腈中在约60℃至约80℃之间的温度进行Sandmeyer反应而转化为相应的溴中间体21。

[0134] 步骤D:硼酸酯中间体16可以通过在催化剂诸如$Pd(dppf)Cl_2$和碱诸如K_2CO_3或KOAc存在下,在溶剂诸如DMSO或1,4-二噁烷中在约90℃的温度,溴代中间体21与双(频哪醇合)二硼的反应来获得。

[0135] 步骤E:硼酸中间体12可以通过在催化剂诸如$Pd(dppf)Cl_2$和碱诸如K_2CO_3或KOAc存在下,在溶剂诸如DMSO、1,4-二噁烷中在约90℃的温度,溴代中间体21与双(频哪醇合)二硼的反应来获得。

[0136] 方案12

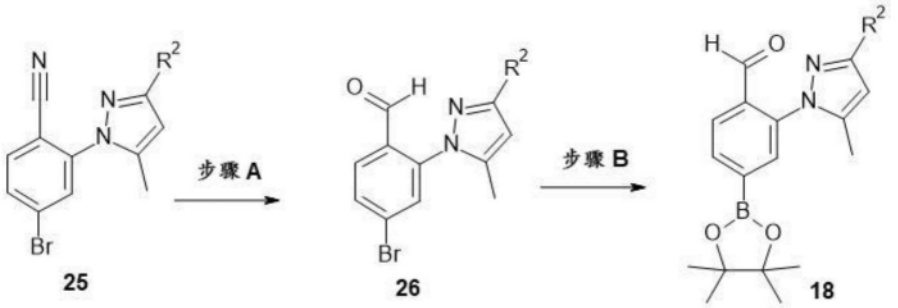
[0137] 

[0138] 步骤A:烷氧基乙烯基中间体23可以通过在钯催化剂诸如双(三苯基膦)氯化钯(II)存在下在溶剂诸如甲苯、DMF或THF中,在约80℃至约110℃之间的温度,前体22与三丁基(1-烷氧基乙烯基)锡试剂的Stille偶联来获得。

[0139] 步骤B:乙酰基中间体24可以通过使用例如1N HCl水溶液在室温在合适的溶剂诸如例如THF中酸性水解中间体23来获得。

[0140] 方案13

[0141] 在下面的方案中,R^2如上所定义。

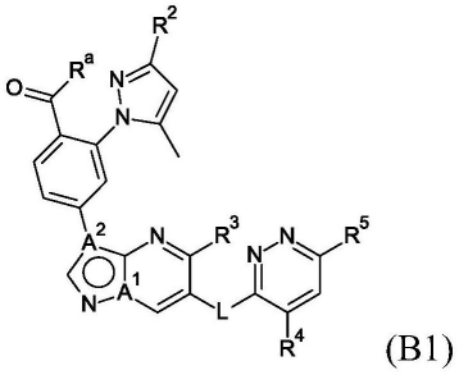
[0142] 

[0143] 步骤A:中间体26可以通过使相应的氰基前体25与DIBAL-H在溶剂诸如甲苯、THF、二氯甲烷、己烷、正庚烷或其混合物中在约-70℃至约0℃之间的温度反应来获得。

[0144] 步骤B:硼酸酯中间体18可以通过在催化剂诸如Pd(dppf)Cl_2和碱诸如K_2CO_3或KOAc存在下,在溶剂诸如DMSO、1,4-二噁烷中,在约90℃的温度,溴代中间体26与双(频哪醇合)二硼的反应来获得。

[0145] 因此,本发明还涉及用于制备根据本发明的化合物的方法,该方法包括以下步骤中的一个步骤:

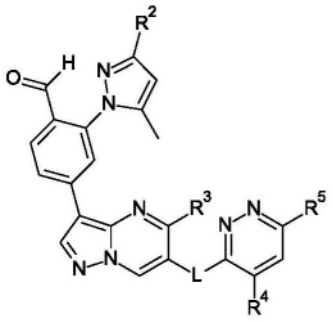
[0146] (a)使式(B1)化合物

[0147] 

(B1)

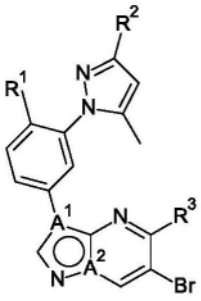
[0148] 与合适的还原剂在合适的溶剂的存在下反应,

[0149] (b)使式(B2)化合物

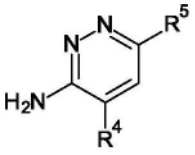
[0150]  (B2)

[0151] 与合适的格氏试剂在合适的溶剂的存在下反应，

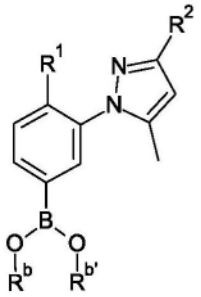
[0152] (c)使式(B3)化合物

[0153]  (B3)

[0154] 与式(B4)化合物

[0155]  (B4)

[0156] 在合适的碱、合适的催化剂和合适的溶剂的存在下反应，或者(d)使式(B5)或(B5')化合物

[0157]  (B5) 或  (B5')

[0158] 与式(B6)化合物

[0159]  (B6)

[0160] 在合适的溶剂存在下反应。

[0161] 在上述方法中，R^a为烷基，R^b和$R^{b'}$独立地选自氢和烷基，或者R^b和$R^{b'}$与它们所连接的氧原子一起形成五元至六元环，其余环成员为任选地经一个或两个烷基取代基取代的碳

原子。X为卤素,特别是溴;L、A^1、A^2、R^1、R^2、R^3、R^4和R^5如本文所述。

[0162] 在步骤(a)的反应中,还原剂可以为例如$LiBH_4$或$NaBH_4$,任选地在LiCl的存在下。

[0163] 在步骤(a)的反应中,溶剂可以为例如MeOH,任选地带有合适的共溶剂。共溶剂可以为例如THF、1,4-二噁烷、EtOH或二氯甲烷或其混合物。

[0164] 用于步骤(a)的适宜条件可以在约-60℃至约室温之间,特别是在约-40℃至室温之间。

[0165] 适宜地,用于步骤(a)的条件是NaH_4作为还原剂、MeOH作为溶剂带有合适的共溶剂以及约-40℃至室温之间的反应温度。

[0166] 在步骤(b)的反应中,格氏试剂可以为例如甲基溴化镁、甲基氯化镁、乙基溴化镁或乙基氯化镁。

[0167] 在步骤(b)的反应中,溶剂可以为例如THF或二乙醚,任选地带有甲苯作为共溶剂。

[0168] 用于步骤(b)的适宜条件可以在约-90℃至-50℃之间,特别是在约-80℃至约-60℃之间,更特别是在约-70℃。

[0169] 适宜地,步骤(b)的条件是溴化甲基镁作为还原剂、THF作为溶剂以及约-70℃的反应温度。

[0170] 在步骤(c)的反应中,碱可以为例如Cs_2CO_3、K_2CO_3或K_3PO_4。

[0171] 在步骤(c)的反应中,催化剂可以为例如合适的Pd催化剂,特别是t-BuXPhos-Pd-G3或[t-BuBrettPhos Pd(烯丙基)]OTf。

[0172] 在步骤(c)的反应中,溶剂可以为例如1,4-二噁烷、THF、DMA、DMF、NMP、甲苯、二甲苯、水或其混合物。

[0173] 用于步骤(c)的适宜条件可以在约50℃至120℃之间,特别是在约70℃至约100℃,更特别是在约80℃至约90℃之间。

[0174] 适宜地,用于步骤(c)的条件是Cs_2CO_3或K_2CO_3作为碱,t-BuXPhos-Pd-G3或[t-BuBrettPhos Pd(烯丙基)]OTf作为催化剂,以及1,4-二噁烷作为溶剂,在约80℃至约90℃之间的反应温度。

[0175] 在步骤(d)的反应中,碱可以为例如Cs_2CO_3或K_2CO_3。

[0176] 在步骤(d)的反应中,钯催化剂可以为例如Pd(dppf)Cl_2·CH_2Cl_2。

[0177] 在步骤(d)的反应中,溶剂可以为例如1,4-二噁烷、THF、DMF、DMA、NMP、甲苯、H_2O或其混合物。

[0178] 用于步骤(d)的适宜条件可以在约30℃至100℃之间,特别是在约40℃至约90℃,更特别是在约50℃至约80℃之间。

[0179] 适宜地,用于步骤(d)的条件是Cs_2CO_3或K_2CO_3作为碱,t-BuXPhos-Pd-G3或[t-BuBrettPhos Pd(烯丙基)]OTf作为催化剂,以及1,4-二噁烷作为溶剂,在约80℃至约90℃之间的反应温度。

[0180] 本发明还涉及根据本发明的方法制造的根据本发明的化合物。

[0181] 本发明还具体地涉及:

[0182] 如本文所述的式(I)化合物或其药用盐,其用于作为治疗活性物质使用;

[0183] 一种药物组合物,其包含如本文所述的式(I)化合物或其药用盐,以及治疗惰性载体;

[0184] 如本文所述的式(I)化合物或其药用盐用于治疗或预防类风湿性关节炎、幼年型类风湿性关节炎、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性硬化性胆管炎、巨细胞血管炎、炎症性肠病(IBD)、动脉粥样硬化、2型糖尿病或肾小球性肾炎、特别是炎症性肠病(IBD)的用途;

[0185] 如本文所述的式(I)化合物或其药用盐用于制备药物的用途,所述药物用于治疗或预防类风湿性关节炎、幼年型类风湿性关节炎、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性硬化性胆管炎、巨细胞血管炎、炎症性肠病(IBD)、动脉粥样硬化、2型糖尿病或肾小球性肾炎,特别是炎症性肠病(IBD);

[0186] 如本文所述的式(I)化合物或其药用盐,其用于在类风湿性关节炎、幼年型类风湿性关节炎、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性硬化性胆管炎、巨细胞血管炎、炎症性肠病(IBD)、动脉粥样硬化、2型糖尿病或肾小球性肾炎、特别是炎症性肠病(IBD)的治疗或预防中使用;以及

[0187] 一种用于治疗或预防类风湿性关节炎、幼年型类风湿性关节炎、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性硬化性胆管炎、巨细胞血管炎、炎症性肠病(IBD)、动脉粥样硬化、2型糖尿病或肾小球性肾炎的方法,所述方法包括向有此需要的患者施用有效量的如本文所述的式(I)化合物或其药用盐。

[0188] 药物组合物

[0189] 本发明的另一实施例提供一种含有本发明化合物和治疗惰性载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物或药物,以及使用本发明化合物来制备此类组合物和药物的方法。在一个实例中,式(I)化合物可通过在环境温度在适当的pH和期望的纯度下与生理学上可接受的载体(即在所用剂量和浓度下对接受者无毒的载体)混合而配制为盖伦(galenical)施用形式。配制物的pH主要取决于化合物的具体用途和浓度,但优选地在约3至约8的范围内。在一个实例中,将式(I)化合物在pH 5的乙酸盐缓冲液中配制。在另一实施例中,式(I)化合物是无菌的。化合物可以例如作为固体或无定形组合物、作为冻干配制物或作为水溶液储存。

[0190] 以与良好医学实践一致的方式配制、计量和施用组合物。在这种情况下需要考虑的因素包括所治疗的特定疾患、所治疗的特定哺乳动物、个体患者的临床病症、疾患的原因、药剂的递送部位、施用方法、施用的时间安排,以及执业医师已知的其他因素。

[0191] 本发明的化合物可通过任何合适的方式施用,包括口服、局部(包括含服和舌下)、直肠、阴道、透皮、肠胃外、皮下、腹膜内、肺内、皮内、鞘内、硬膜外和鼻内,并且如果需要局部治疗,则为病变内施用。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下施用。

[0192] 本发明化合物可以任何方便的施用形式施用,例如,片剂、粉剂、胶囊剂、溶液剂、分散剂、混悬剂、糖浆剂、喷雾剂、栓剂、凝胶剂、乳剂、贴剂等。此类组合物可以包含药物制剂中常规的组分,例如,稀释剂、载体、pH调节剂、甜味剂、填充剂和其他活性剂。

[0193] 通过混合本发明的化合物和载体或赋形剂来制备通常的配制物。适合的载体和赋形剂为本领域技术人员熟知的,并且在例如Ansel,Howard C.等人,Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems.Philadelphia:Lippincott,Williams和Wilkins,2004;Gennaro,Alfonso R.等人Remington:The Science and Practice of Pharmacy.Philadelphia:Lippincott,Williams和Wilkins,2000;以及Rowe,Raymond C.Handbook of Pharmaceutical Excipients.Chicago,Pharmaceutical Press,2005中有详细描述。配制物还可以包含一种或多种缓冲剂、稳定剂、表面活性剂、润

湿剂、润滑剂、乳化剂、悬浮剂、防腐剂、抗氧化剂、不透明剂、助流剂、加工助剂、着色剂、甜味剂、加香剂、调味剂、稀释剂和其他已知的添加剂,以提供美观的药物(例如,本发明的化合物或其药物组合物)展示或有助于药物产品(例如,药物)的制备。

[0194] 现在将通过以下实例说明本发明,所述实例不具有限制性。

[0195] 实例

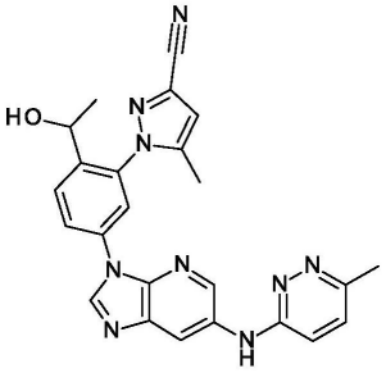
[0196] 缩写

[0197]	[t-BuBrettPhos Pd(烯丙基)]OTf	烯丙基(2-二叔丁基膦基-3,6-二甲氧基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)三氟甲磺酸钯(II)(CAS号1798782-15-6)
[0198]	ATP	三磷酸腺苷
[0199]	aq.	水性
[0200]	Boc	叔丁氧羰基
[0201]	CAS	化学文摘社
[0202]	DBU	1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯
	DCM	二氯甲烷
[0203]	DIBAL-H	氢化二异丁基铝
[0204]	DIPEA	N,N-二异丙基乙胺
[0205]	DMF	N,N-二甲基甲酰胺
[0206]	DMSO	二甲基亚砜
[0207]	dppf	1,1'-二茂铁二基-双(二苯基膦)
[0208]	equiv.	当量
[0209]	ESI	电喷射离子化
[0210]	Et	乙基
[0211]	EtOAc	乙酸乙酯
[0212]	EtOH	乙醇
[0213]	FA	甲酸
[0214]	HATU	(1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐
[0215]	HPLC	高压液相色谱法
[0216]	LC-MS	高效液相色谱法-质谱联用
[0217]	Me	甲基
[0218]	MeOH	甲醇
[0219]	NIS	N-碘代琥珀酰亚胺
[0220]	NMP	N-甲基-2-吡咯烷酮
[0221]	NMR	核磁共振
[0222]	PE	石油醚
[0223]	psi	每平方英寸磅
[0224]	QToF	四极杆飞行时间
[0225]	RT	室温

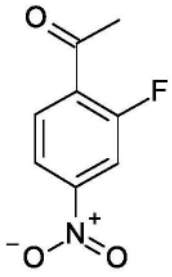
[0226]	sat.	饱和
[0227]	t-BuXPhos-Pd-G3	[(2-二叔丁基膦基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)-2-(2'-氨基-1,1'-联苯)]甲磺酸钯(II)(CAS#1447963-75-8)
[0228]	TEA	三乙胺
[0229]	Tf	三氟甲磺酰基
[0230]	TFA	三氟乙酸
[0231]	THF	四氢呋喃
[0232]	TLC	薄层色谱法
[0233]	TsOH	甲苯磺酸

[0234] 实例1

[0235] 1-[2-(1-羟基乙基)-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0236] 

[0237] 步骤1:1-(2-氟-4-硝基-苯基)乙酮

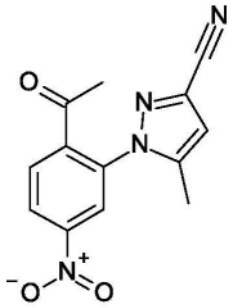
[0238] 

[0239] 向4-溴-3-氟硝基苯(CAS185331-69-5;10.0g,45.45mmol,1.0当量)在甲苯(200mL)中的棕色浑浊溶液中添加三丁基(1-乙氧基乙烯基)锡(CAS 20420-43-3;24.6g,68.2mmol,1.5当量),双(三苯基膦)氯化钯(II)(CAS13965-03-2;2.39g,3.41mmol,0.08当量)将反应混合物在氮气气氛下在110℃搅拌16小时,混合物变成黑色溶液。将混合物冷却至室温,用饱和氟化钾水溶液(300ml)淬灭并在室温搅拌16小时。将水相用EtOAc萃取。过滤两相混合物,分离有机相滤液,用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并且浓缩。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以得到标题化合物和1-(1-乙氧基乙烯基)-2-氟-4-硝基-苯的混合物,其为浅棕色油状物,将其溶解在THF(90mL)和1N HCl水溶液(90mL)中。将混合物在室温搅拌6小时,然后倒入饱和$NaHCO_3$水溶液中,以使pH值达到8左右。将水溶液用EtOAc萃取。将合并的有机物用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并且浓缩。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以提供标题化合物

(6.4g,34.95mmol,77%产率),其为黄色固体。

[0240] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=8.12-8.08(m,1H),8.07-8.02(m,2H),2.71(d,J=4.6Hz,3H)。

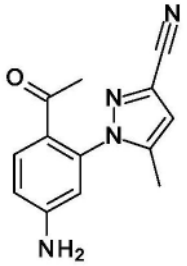
[0241] 步骤2:1-(2-乙酰基-5-硝基-苯基)-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0242] 

[0243] 向5-甲基-1H-吡唑-3-甲腈(CAS 38693-82-2;4.12g,38.4mmol,1.1当量)在DMSO(20mL)中的浅棕色透明溶液中添加1-(2-氟-4-硝基-苯基)乙酮(6.4g,34.95mmol,1.0当量)和$NaHCO_3$(5.87g,69.9mmol,2.0当量)。将棕色悬浮液在N_2下在60℃搅拌16小时。然后将反应倒入水中。将水相用EtOAc萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经$NaSO_4$干燥,过滤,在真空下浓缩。将粗产物使用庚烷/0.1% NH_3在EtOH中的溶液作为洗脱剂,通过制备型HPLC纯化,以提供标题化合物(4.0g,14.8mmol,42%产率)(其为棕色固体)以及异构体2-(2-乙酰基-5-硝基-苯基)-5-甲基-吡唑-3-甲腈(800mg,2.96mmol,8%产率)(其为棕色固体)。LC-MS:m/z=271.0$[M+H]^+$,ESI pos。

[0244] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=8.47(dd,J=2.1,8.5Hz,1H),8.26(d,J=2.1Hz,1H),7.90(d,J=8.6Hz,1H),6.67(s,1H),2.31(s,3H),2.27(s,3H)。

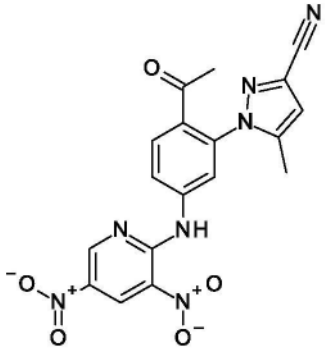
[0245] 步骤3:1-(2-乙酰基-5-氨基-苯基)-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0246] 

[0247] 向1-(2-乙酰基-5-硝基-苯基)-5-甲基-吡唑-3-甲腈(4.0g,14.8mmol,1.0当量)在EtOH(30mL)中的溶液中添加Fe(4.13g,74.0mmol,5.0当量)、NH_4Cl(8.0g,149.6mmol,10.1当量)和水(10mL)。将反应混合物在氮气气氛下在50℃搅拌16小时。混合物的颜色从黄色变为棕色。将悬浮液通过硅胶垫过滤,并且将滤饼用EtOH洗涤。将合并的滤液浓缩。将粗产物通过硅胶色谱法纯化,以得到标题化合物(3.5g,14.7mmol,98%产率),其为黄色固体。LC-MS:m/z=241.2$[M+H]^+$,ESI pos。

[0248] ^{1}H NMR(400MHz,MeOH-d_4)δ=7.82(d,J=8.7Hz,1H),6.81(dd,J=2.3,8.7Hz,1H),6.71(d,J=0.6Hz,1H),6.52(d,J=2.3Hz,1H),2.19(s,3H),2.14(s,3H)。

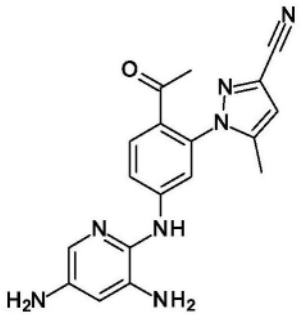
[0249] 步骤4:1-[2-乙酰基-5[(3,5-二硝基-2-吡啶基)氨基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0250] 

[0251] 将2-氯-3,5-二硝基吡啶(CAS2578-45-2;2.91g,14.3mmol,0.98当量)和1-(2-乙酰基-5-氨基-苯基)-5-甲基-吡唑-3-甲腈(3.5g,14.57mmol,1.0当量)在MeOH(60mL)中的溶液在50℃搅拌16小时。将所得黄色悬浮液浓缩。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以得到标题化合物,其为黄色固体。将其与MeOH(20mL)在25℃研磨30分钟。将悬浮液过滤。将固体用EtOAc洗涤。将合并的滤液浓缩至干,以得到标题化合物(4.2g,10.3mmol,70%产率),其为黄色固体。LC-MS:m/z=408.1[M+H]$^+$ESI pos

[0252] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=10.79(s,1H),9.39(s,2H),7.99(d,J=2.0Hz,1H),7.94-7.91(m,1H),7.89-7.86(m,1H),6.66(s,1H),2.27(s,3H),2.20(s,3H)。

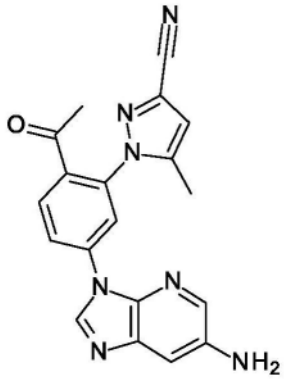
[0253] 步骤5:1-[2-乙酰基-5[(3,5-二氨基-2-吡啶基)氨基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0254] 

[0255] 向1-[2-乙酰基-5-[(3,5-二硝基-2-吡啶基)氨基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈(4.2g,10.31mmol,1.0当量)在EtOH(30mL)中的溶液中添加Fe(2.88g,51.6mmol,5.0当量)、NH_4Cl(5.52g,103.1mmol,10.0当量)和水(10mL)。将反应混合物在氮气气氛下在50℃搅拌16小时。将所得悬浮液通过硅胶垫过滤,并将残余物用EtOH洗涤。将合并的滤液浓缩。将剩余的固体用水洗涤并用EtOAc萃取,随后用DCM/MeOH(10:1)萃取。将合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并且浓缩,以得到标题化合物(3.5g,10.1mmol,98%产率),其为深绿色固体。LC-MS:m/z=348.1[M+H]$^+$ESI pos

[0256] ^{1}H NMR(400MHz,MeOH-d_4)δ=7.88(d,J=8.8Hz,1H),7.24(d,J=2.5Hz,1H),7.01(dd,J=2.4,8.8Hz,1H),6.71-6.70(m,2H),6.60(d,J=2.5Hz,1H),2.20(s,3H),2.16(s,3H)。

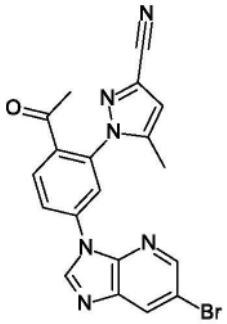
[0257] 步骤6:1-[2-乙酰基-5-(6-氨基咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0258] 

[0259] 将1-[2-乙酰基-5-[(3,5-二氨基-2-吡啶基)氨基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈(3.5g,10.1mmol,1.0当量)在EtOH(100mL)中的混合物用三甲氧基甲烷(11.0mL,100.4mmol,10.0当量)以及用TsOH(155.0mg,1.01mmol,0.1当量)处理,并且在120℃加热4小时。将反应混合物浓缩。将残余物溶解在THF(60mL)和1N HCl(60mL)中并在室温搅拌4小时。将反应混合物用$NaHCO_3$溶液稀释并用EtOAc萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并且浓缩。将残余物与MeOH和EtOAc在室温研磨30分钟。对混合物进行过滤。将固体用石油醚洗涤并干燥,以得到标题化合物(2.8g,7.84mmol,81%产率),其为棕色固体。LC-MS:m/z=358.1$[M+H]^+$ESI pos。

[0260] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=8.92(s,1H),8.52(dd,J=2.2,8.6Hz,1H),8.34(d,J=2.1Hz,1H),8.15(d,J=8.5Hz,1H),7.91(d,J=2.4Hz,1H),7.30(d,J=2.4Hz,1H),7.03(d,J=0.8Hz,1H),5.27(s,2H),2.29(s,3H),2.23(s,3H)。

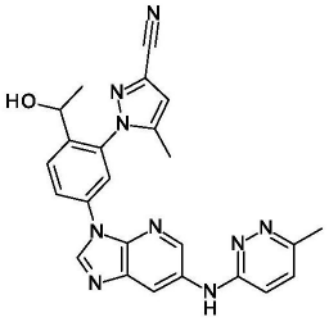
[0261] 步骤7:1-[2-乙酰基-5-(6-溴咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0262] 

[0263] 向二溴化铜(I)(2.43g,10.9mmol,1.6当量)在乙腈(30mL)中的悬浮液中添加亚硝酸异戊酯(1.63g,13.9mmol,2.0当量)。将绿棕色悬浮液在氮气气氛下加热至65℃。将1-[2-乙酰基-5-(6-氨基咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈在乙腈(30mL)中的悬浮液(2.7g,6.8mmol,1.0当量)添加到反应混合物中,混合物变成黑色。将反应搅拌10分钟,然后用水淬灭,并且用EtOAc萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并且浓缩。将残余物与MeOH(10mL)、石油醚(30mL)和DCM(5mL)在25℃研磨30分钟。对混合物进行过滤。将固体干燥,以得到第一批标题化合物(853.8mg,2.03mmol,28%产率),其为棕色固体。将滤液浓缩并使用己烷/EtOH+0.1%甲酸梯度通过硅胶色谱法纯化,以获得第二批标题化合物(596mg,1.4mmol,19%产率),其为浅棕色固体。LC-MS:m/z=421.0$[M+H]^+$,ESI pos。

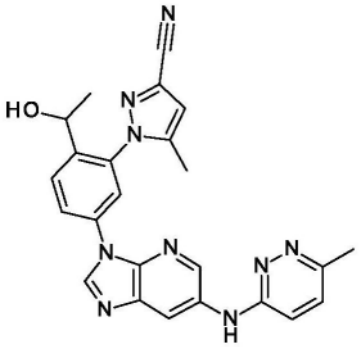
[0264] 步骤8:1-[2-乙酰基-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]

苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0265] 

[0266] 将1-[2-乙酰基-5-(6-溴咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈(50mg,0.12mmol,1.0当量)、(6-甲基哒嗪-3-基)胺(CAS18591-82-7;25.9mg,0.237mmol,2.0当量)和Cs_2CO_3(116.0mg,0.356mmol,3.0当量)在室温在1,4-二噁烷中的悬浮液(超干(1.67mL))用氩气冲洗5分钟。然后添加[t-BuBrettPhos Pd(烯丙基)]OTf(9.27mg,0.012mmol,0.1当量),将小瓶锁紧,然后将混合物加热至80℃并继续搅拌2小时。将反应混合物冷却至室温。将粗产物使用二氯甲烷/MeOH梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以提供标题化合物(55mg,82%产率),其为灰白色固体。LC-MS:m/z=449.2$[M+H]^+$,ESI pos。

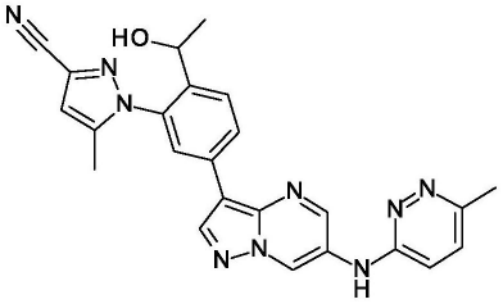
[0267] 步骤9:1-[2-(1-羟基乙基)-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0268] 

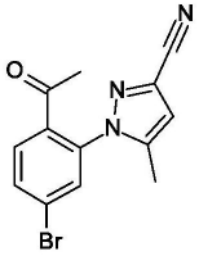
[0269] 向1-[2-乙酰基-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈(54.7mg,0.122mmol,1.0当量)在甲醇(1.0mL)和无水四氢呋喃(1.0mL)中的混合物在0℃添加$NaBH_4$(6.91mg,0.18mmol,1.5当量)。将混合物在0℃搅拌15分钟,然后温热至室温并搅拌2小时。将混合物用干燥DMF(0.52mL)稀释,冷却至0℃并用$NaBH_4$(6.91mg,0.183mmol,1.5当量)处理。将混合物在0℃搅拌30分钟,然后用饱和NH_4Cl溶液淬灭,并且用DCM萃取。将有机层用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并且浓缩。将粗产物使用DCM/MeOH梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以提供标题化合物(29mg,51%产率),其为浅黄色固体。LC-MS:m/z=452.4$[M+H]^+$,ESI pos。

[0270] 实例2

[0271] 1-[2-(1-羟基乙基)-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

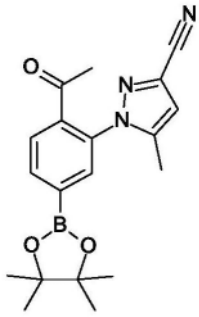
[0272] 

[0273] 步骤1:1-(2-乙酰基-5-溴-苯基)-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0274] 

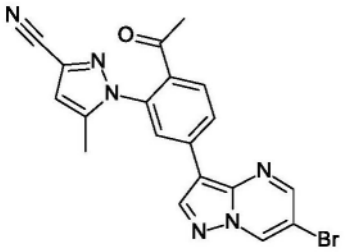
[0275] 将1-(4-溴-2-氟-苯基)乙酮(CAS 625446-22-2;1g,4.61mmol,1.0当量)在DMF(15.9mL)中的溶液用K_2CO_3(955mg,6.9mmol,1.5当量)和5-甲基-1H-吡唑-3-甲腈(592mg,5.53mmol,1.2当量)处理。将反应混合物在100℃搅拌过夜。将反应混合物倒入水中并用乙酸乙酯萃取。将有机层用盐水洗涤、合并,经$MgSO_4$干燥,过滤并且浓缩。将粗产物通过硅胶色谱法纯化,以提供标题化合物(812mg,57%产率),其为浅棕色固体。LC-MS:m/z=304.4[M+H]$^+$,ESI pos。

[0276] 步骤2:1-[2-乙酰基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0277] 

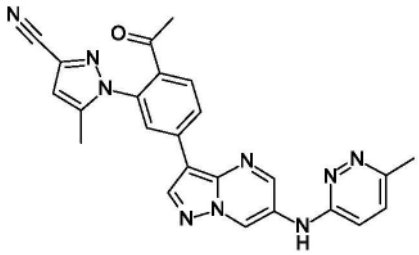
[0278] 向1-(2-乙酰基-5-溴-苯基)-5-甲基-吡唑-3-甲腈(785mg,2.58mmol,1当量)在DMSO(10mL)中的浅黄色溶液中添加双(频哪醇合)二硼(CAS 73183-34-3;786mg,3.1mmol,1.2当量)和乙酸钾(760mg,7.7mmol,3当量),随后添加Pd(dppf)Cl_2(189mg,0.26mmol,0.1当量)。将反应混合物在90℃下搅拌2小时。将反应混合物倒入水中并用乙酸乙酯萃取两次。将有机层用饱和NaCl反萃取,经$MgSO_4$干燥并且浓缩。将粗物质通过硅胶色谱法纯化,以得到标题化合物(908mg,当量),其为浅棕色固体。LC-MS:m/z=270.1[M-频哪醇+H]$^+$,ESI pos。

[0279] 步骤3:1-[2-乙酰基-5-(6-溴吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0280] 

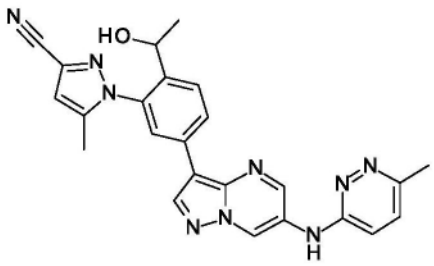
[0281] 将1-[2-乙酰基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈溶液(900mg,2.6mmol,1.0当量)在1,4-二噁烷(12mL)中的溶液用6-溴-3-碘-吡唑并[1,5-a]嘧啶(CAS1109284-33-4;996mg,3.1mmol,1.2当量)、K_2CO_3(885mg,6.4mmol,2.5当量)溶于水(3mL)的溶液和Pd(dppf)Cl_2·CH_2Cl_2络合物(424mg,0.51mmol,0.2当量)处理。将反应混合物在50℃搅拌90分钟,然后倒入水中并用乙酸乙酯萃取两次。合并的有机层经$MgSO_4$干燥,过滤并且浓缩。将粗产物使用庚烷/乙酸乙酯梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以提供标题化合物(711mg,60%纯度,39%产率),其为黄色固体。LC-MS:m/z=423.1$[M+H]^+$,ESI pos。

[0282] 步骤4:1-[2-乙酰基-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0283] 

[0284] 将1-[2-乙酰基-5-(6-溴吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈(100mg,0.24mmol,1.0当量)在1,4-二噁烷(2mL)中的溶液用(6-甲基哒嗪-3-基)胺(51.8mg,0.48mmol,2.0当量)和Cs_2 CO_3(232mg,0.71mmol,3.0当量)在室温处理。将反应混合物脱气并用氩气冲洗,然后添加[t-BuBrettPhos Pd(烯丙基)]OTf(18.6mg,0.024mmol,0.1当量)。将混合物在80℃搅拌2小时,然后用水稀释并用EtOAc萃取两次。将有机层经$MgSO_4$干燥,并且浓缩。将粗产物使用DCM/甲醇梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以提供标题化合物(28.7mg,24%产率),其为黄色固体。LC-MS:m/z=450.3$[M+H]^+$,ESI pos。

[0285] 步骤5:1-[2-(1-羟基乙基)-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

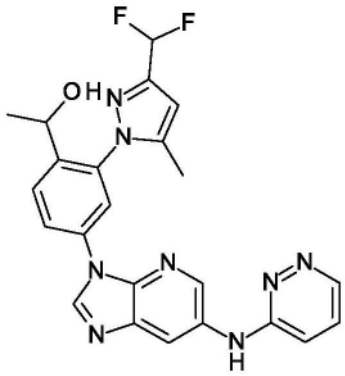
[0286] 

[0287] 将1-[2-乙酰基-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈(28.7mg,0.06mmol,1.0当量)在异丙醇(1.5mL)和THF(1.5mL)中的溶液用$NaBH_4$(4.8mg,0.13mmol,2.0当量)处理,并且然后在室温搅拌1小时。用水稀释反

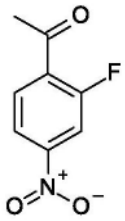
应混合物,并且用乙酸乙酯进行萃取。将有机层经$MgSO_4$干燥,并且浓缩。将粗产物使用DCM/MeOH梯度通过硅胶色谱法纯化,以得到标题化合物(10.5mg,36%产率),其为黄色固体。LC-MS:m/z=452.3$[M+H]^+$,ESI pos。

[0288] 实例3

[0289] 1-[2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-[6-(哒嗪-3-基氨基)咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]乙醇

[0290] 

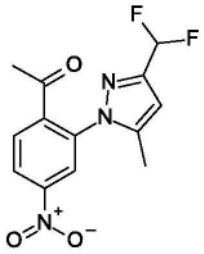
[0291] 步骤1:1-(2-氟-4-硝基-苯基)乙酮

[0292] 

[0293] 向4-溴-3-氟硝基苯(10.0g,45.5mmol,1.0当量)在甲苯(200mL)中的棕色浑浊溶液中添加三丁基(1-乙氧基乙烯基)锡(24.62g,68.2mmol,1.5当量)和双(三苯基膦)氯化钯(II)(2.39g,3.4mmol,0.08当量)。将反应在氮气气氛下在110℃搅拌16小时,反应变成黑色溶液。将混合物反应冷却至室温,用饱和氟化钾水溶液(300ml)淬灭,在室温搅拌16小时并用乙酸乙酯萃取。对混合物进行过滤。将滤液的有机相进行分离,用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并且浓缩。将残余物使用石油醚/乙酸乙酯梯度通过硅胶色谱法纯化,以得到1-(1-乙氧基乙烯基)-2-氟-4-硝基-苯和所需产物1-(2-氟-4-硝基-苯基)乙酮的混合物(10g),其为浅棕色油状物。将混合物溶解在90mL THF和90mL 1N HCl水溶液中并在30℃(室温)搅拌2小时。将混合物倒入饱和$NaHCO_3$水溶液(300mL,水相pH值约8)中。将水溶液用EtOAc萃取。将合并的有机物用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并且浓缩。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以得到标题化合物(5.0g,27.3mmol,60%产率),其为黄色油状物。

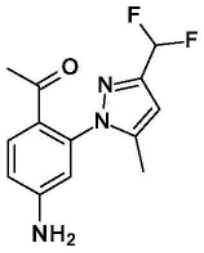
[0294] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=8.13-8.10(m,1H),8.09-8.04(m,2H),2.73(d,J=4.8Hz,3H)。

[0295] 步骤2:1-(2-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)-4-硝基苯基)乙-1-酮

[0296] 

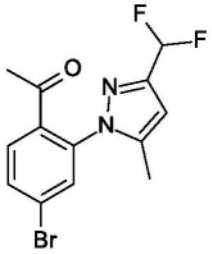
[0297] 向1-(2-氟-4-硝基-苯基)乙酮(CAS 866579-96-6;2.0g,10.9mmol,1当量)在DMSO(30mL)中的溶液中添加3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑(CAS 934759-09-8;1.44g,10.9mmol,1当量),随后添加$NaHCO_3$(1.83g,21.8mmol,2当量)。将反应混合物在80℃搅拌12小时,然后用H_2O稀释并用乙酸乙酯萃取。有机相用盐水洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩。将粗产物使用乙酸乙酯/石油醚梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱纯化,并且第二次使用0.225%甲酸水溶液/乙腈梯度作为洗脱剂通过制备型HPLC纯化,以得到标题化合物(以与其异构体的混合物)(400mg,12%产率;与异构体1-(2-(5-(二氟甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-4-硝基苯基)乙-1-酮的混合物),其为红色固体。LC-MS:m/z=296.1$[M+H]^+$ESI pos。

[0298] 步骤3:1-(4-氨基-2-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)乙-1-酮

[0299] 

[0300] 向1-[2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-硝基-苯基]乙酮溶液(650mg,2.2mmol,1当量;与异构体1-(2-(5-(二氟甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-4-硝基苯基)乙-1-酮的混合物在乙醇(9mL)和水(3mL)的溶液中添加Fe(616mg,11.0mmol,5当量)和NH_4Cl(1.17g,22.0mmol,10当量)。将反应混合物在50℃下搅拌3小时。将反应过滤,并将滤液浓缩,以得到标题化合物(与异构体1-(4-氨基-2-(5-(二氟甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)乙-1-酮)的混合物)作为粗产物,其不经进一步纯化即用于下一步骤。

[0301] 步骤4:1-(4-溴-2-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)乙-1-酮

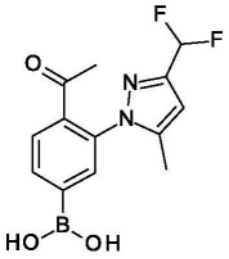
[0302] 

[0303] 将溴化铜(I)(240.6mg,1.7mmol,1当量)和亚硝酸异戊酯(397.5mg,3.39mmol,2当量)在乙腈(10mL)中的混合物在65℃搅拌30分钟,直到混合物变成黑色。然后,添加1-[4-氨基-2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯基]乙酮(450mg,1.7mmol,1当量;两种异构体的混合物)。将反应混合物在65℃搅拌30分钟。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯3:1作为洗脱剂通过制备型TLC纯化,以得到标题化合物(250mg,0.76mmol,45%产率;与异构体1-[4-溴-2-[5-(二氟甲基)-3-甲基-吡唑-1-基]苯基]乙酮的混合物),其为白色固体。LC-MS:m/z=

328.9[M+H]$^+$ESI pos。

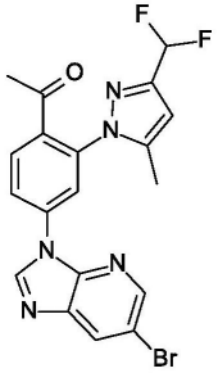
[0304] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ＝7.67-7.61(m,1H),7.59-7.53(m,1H),7.48(d,J＝1.7Hz,1H),6.73-6.43(m,1H),6.40(s,1H),2.16(s,3H),1.88(s,3H)。

[0305] 步骤5:(4-乙酰基-3-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)硼酸

[0306] 

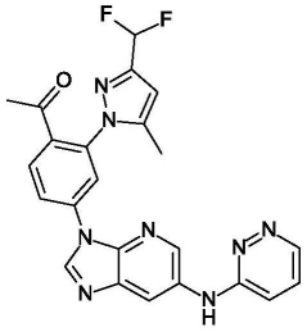
[0307] 向1-[4-溴-2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯基]乙酮溶液(250mg,0.76mmol,1当量;与异构体1-[4-溴-2-[5-(二氟甲基)-3-甲基-吡唑-1-基]苯基]乙酮)在1,4-二噁烷(5mL)中的溶液中添加双(频哪醇合)二硼(289mg,1.14mmol,1.5当量)、Pd(dppf)Cl_2•CH_2Cl_2(53.5mg,0.08mmol,0.1当量)和KOAc(223.3mg,2.28mmol,3当量)。将混合物在氮气气氛下在90℃搅拌3小时,然后浓缩。将粗产物使用0.225%甲酸水溶液/乙腈梯度作为洗脱剂通过制备型HPLC纯化,以得到标题化合物(80mg,0.27mmol,36%产率),其为白色固体。LC-MS:m/z＝295.0[M+H]$^+$,ESI pos。

[0308] 步骤6:1-(4-(6-溴-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-2-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)乙-1-酮

[0309] 

[0310] 向6-溴-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶(CAS28279-49-4;45mg,0.23mmol,1当量)在MeOH(2mL)中的溶液中添加[4-乙酰基-3-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯基]硼酸(73.5mg,0.25mmol,1.1当量)和$Cu(OAc)_2$(8.22mg,0.05mmol,0.2当量)。将反应混合物在O_2气氛下在50℃搅拌12小时。将粗产物纯化,以得到标题化合物(40mg,0.09mmol,36%产率),其为白色固体。LC-MS:m/z＝448.0[M+H]$^+$ESI pos.;446.0[M+H]$^+$ESI pos。

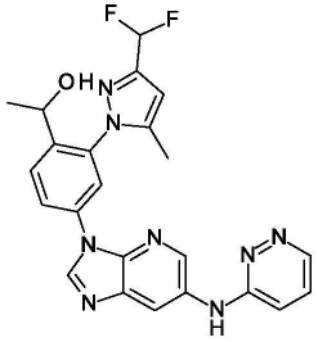
[0311] 步骤7:1-(2-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)-4-(6-(哒嗪-3-基氨基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)苯基)乙-1-酮

[0312] 

[0313] 向1-[4-(6-溴咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯基]乙酮溶液(30.0mg,0.07mmol,1当量)在1,4-二噁烷(2mL)中的溶液中添加3-氨基哒嗪(12.8mg,0.130mmol,2当量),随后添加[t-BuBrettPhos Pd(烯丙基)]OTf(5.25mg,0.01mmol,0.1当量)Cs_2CO_3(65.7mg,0.2mmol,3当量)。将反应混合物在氮气气氛下在90℃搅拌4小时,然后用乙酸乙酯稀释并过滤。浓缩滤液。将粗产物使用二氯甲烷/MeOH(10:1)作为洗脱剂通过TLC纯化,以得到标题化合物(20mg,0.04mmol,65%产率),其为黄色固体。LC-MS:m/z=461.2$[M+H]^+$,ESI pos。

[0314] ^1H NMR(400MHz,MeOH-d_4)δ=8.91(s,1H),8.77(d,J=2.3Hz,1H),8.68(d,J=2.3Hz,1H),8.63(d,J=3.9Hz,1H),8.36-8.29(m,2H),8.04(d,J=8.4Hz,1H),7.49(dd,J=4.6,9.1Hz,1H),7.20(dd,J=1.1,9.0Hz,1H),6.88-6.60(t,1H),6.58(s,1H),2.40(s,3H),2.08(s,3H)。

[0315] 步骤8:1-(2-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)-4-(6-(哒嗪-3-基氨基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)苯基)乙-1-醇

[0316] 

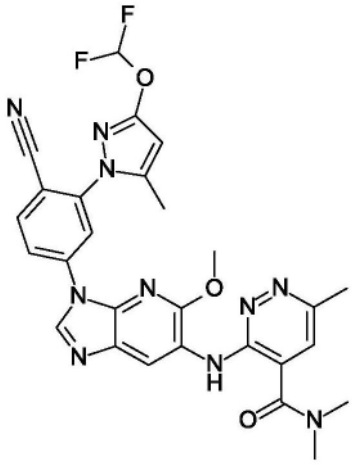
[0317] 将1-[2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-[6-(哒嗪-3-基氨基)-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]乙酮(20.0mg,0.04mmol,1当量)在甲醇(1mL)和DCM(1mL)中的溶液冷却至-10℃。沉淀形成,因此添加DMF(1mL)。反应混合物变成无色溶液,并且然后在-10℃用$NaBH_4$(4.93mg,0.130mmol,3当量)处理。将反应混合物在-10℃搅拌30分钟,然后用饱和NH_4Cl淬灭,并且用DCM萃取。有机相用盐水洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,过滤并且浓缩。将粗产物使用0.225%甲酸水溶液/乙腈梯度作为洗脱剂通过制备型HPLC纯化。将含产物级分浓缩并冷冻干燥,以得到标题化合物(8.9mg,0.020mmol,43%产率),其为白色固体。LC-MS:m/z=463.1$[M+H]^+$ESI pos。

[0318] ^1H NMR(400MHz,MeOH-d_4)δ=8.82(s,1H),8.77(d,J=2.2Hz,1H),8.70-8.63(m,2H),8.21(dd,J=1.9,8.5Hz,1H),8.06-8.01(m,2H),7.51(dd,J=4.6,8.9Hz,1H),7.22(dd,J=1.2,9.2Hz,1H),6.95-6.62(m,1H),6.56(s,1H),4.65-4.51(m,1H),2.33(s,3H),

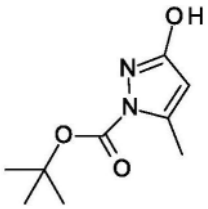
1.37(d,J＝6.4Hz,3H)。

[0319] 实例4

[0320] 3-[[3-[4-氰基-3-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯基]-5-甲氧基-咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基]氨基]-N,N,6-三甲基-哒嗪-4-甲酰胺

[0321] 

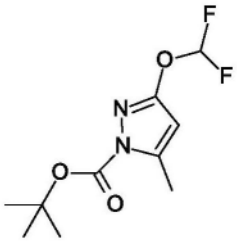
[0322] 步骤1:3-羟基-5-甲基-吡唑-1-甲酸叔丁酯

[0323] 

[0324] 向5-甲基-1H-吡唑-3-醇(10.0g,101.9mmol,1.0当量)在二氯甲烷(100mL)中的溶液中添加二碳酸二叔丁酯(23.44mL,101.9mmol,1.0当量)和三乙胺(15.6mL,112.1mmol,1.1当量)。将反应混合物在25℃搅拌18小时,然后倒入水中并用二氯甲烷萃取。将有机层用盐水洗涤,并且经Na_2SO_4干燥,然后浓缩。将粗产物与石油醚(50mL)一起研磨、过滤并且干燥,以得到标题化合物(10.0g,50.5mmol,49%产率),其为白色固体。LC-MS:m/z＝143.0[M+H-C4H8]$^+$ESI pos。

[0325] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ＝12.35-12.01(m,1H),5.68(d,J＝0.7Hz,1H),2.48(d,J＝0.6Hz,3H),1.64(s,9H)。

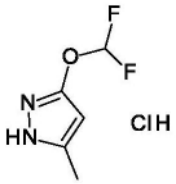
[0326] 步骤2:3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-甲酸叔丁酯

[0327] 

[0328] 向二氟氯乙酸钠(12.7g,83.2mmol,1.1当量)和3-羟基-5-甲基-吡唑-1-甲酸叔丁酯(15.0g,75.67mmol,1.0当量)在乙腈(250mL)中的白色悬浮液添加Cs_2CO_3(49.3g,151.35mmol,2.0当量)。将反应混合物在80℃搅拌12小时,然后冷却至室温并过滤。浓缩滤液。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯梯度通过硅胶色谱法纯化,以得到标题化合物(10.0g,40.3mmol,53%产率),其为无色油状物。LC-MS:m/z＝193.1[M+H-C4H8]$^+$ESI pos。

[0329] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=7.06(t,J=72.6Hz,1H),5.85(s,1H),2.51(s,3H),1.65(s,10H)。

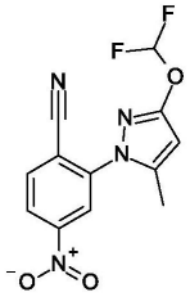
[0330] 步骤3:3-(二氟甲氧基)-5-甲基-1H-吡唑盐酸盐

[0331] 

[0332] 向3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-甲酸叔丁酯(10.0g,40.3mmol,1.0当量)在DCM(30mL)中的溶液添加HCl的二噁烷(30.0mL,120.0mmol,3.0当量)溶液。将反应混合物在25℃下搅拌4小时。将溶液浓缩,并且将粗产物不经纯化直接用于下一步骤。LC-MS:m/z=149.0$[M+H]^+$ESI pos。

[0333] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=12.92(br s,2H),6.71(t,J=71.2Hz,1H),5.94(s,1H),2.47(s,3H)。

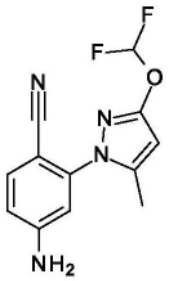
[0334] 步骤4:2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-硝基-苯甲腈

[0335] 

[0336] 向2-氟-4-硝基苯甲腈(3.1g,18.6mmol,1.2当量)和3-(二氟甲氧基)-5-甲基-1H-吡唑(2.3g,15.5mmol,1.0当量)在DMSO(100mL)中的浅无色透明溶液添加K_2CO_3(4.3g,31.1mmol,2.0当量)。然后将黄色悬浮液在50℃搅拌16小时。在混合物已经冷却至室温后,将其倒入水中并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机物用盐水洗涤,经$NaSO_4$干燥,过滤并且浓缩。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯梯度通过硅胶色谱法纯化,以得到标题化合物(3.3g,11.2mmol,72%产率),其为白色固体。LC-MS:m/z=295.1$[M+H]^+$,ESI pos。

[0337] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=8.44-8.31(m,2H),8.04(d,J=8.4Hz,1H),6.98(t,J=72.7Hz,1H),6.03(s,1H),2.39(s,3H)。

[0338] 步骤5:4-氨基-2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈

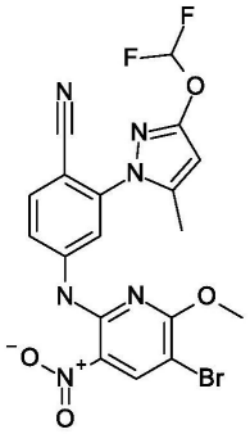
[0339] 

[0340] 向2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-硝基-苯甲腈(3.3g,11.2mmol,1.0当量)在EtOH(100mL)中的溶液添加Fe(3.13g,56.1mmol,5.0当量)、NH_4Cl(6.0g,112.2mmol,10.0当量)和水(50mL)。将反应混合物在氮气气氛下在50℃搅拌16小时。然后,

趁热将混合物通过硅藻土垫过滤。浓缩滤液。将水(50mL)添加至粗产物中。将水用乙酸乙酯萃取。将合并的有机物用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并且浓缩。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯梯度通过硅胶色谱法纯化,以得到标题化合物(2.05g,69%产率),其为白色固体。LC-MS:m/z=265.0$[M+H]^+$,ESI pos。

[0341] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=7.55(d,J=8.6Hz,1H),7.29(t,J=73.2Hz,1H),6.71(dd,J=2.2,8.6Hz,1H),6.62(d,J=2.2Hz,1H),6.53(s,2H),6.10(s,1H),2.20(s,3H)。

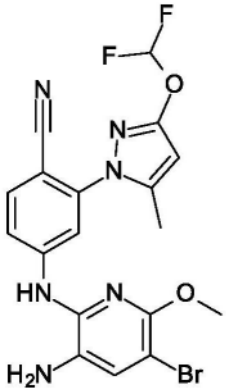
[0342] 步骤6:4-[(5-溴-6-甲氧基-3-硝基-2-吡啶基)氨基]-2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈

[0343] 

[0344] 向4-氨基-2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈(1.0g,3.78mmol,1当量)和5-溴-2-氟-6-甲氧基-3-硝基-吡啶(1.04g,4.16mmol,1.1当量)在THF(30mL)中的橙色溶液在氮气气氛下在0℃逐滴添加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂(11.35mL,11.35mmol,3当量)。在0℃,将该混合物搅拌1小时。将红色反应混合物倒入水中。将水溶液用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并且浓缩。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯3:1通过制备型TLC纯化,以得到标题化合物(1.8g,3.63mmol,96%产率),其为棕色固体。LC-MS:m/z=494.8/496.8$[M+H]^+$,ESI pos。

[0345] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=10.71(s,1H),8.63(s,1H),8.13(d,J=2.0Hz,1H),7.69(d,J=8.6Hz,1H),7.58(dd,J=1.8,8.6Hz,1H),6.81(t,J=73.0Hz,1H),5.86(s,1H),4.02(s,3H),2.25(s,3H)。

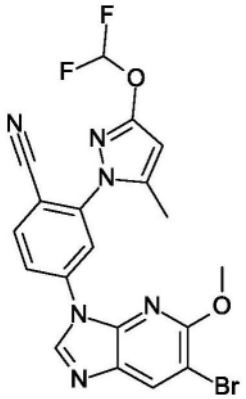
[0346] 步骤7:4-[(3-氨基-5-溴-6-甲氧基-2-吡啶基)氨基]-2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈

[0347] 

[0348] 向4-[(5-溴-6-甲氧基-3-硝基-2-吡啶基)氨基]-2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈(1.5g,3.03mmol,1当量)在乙醇(25mL)中的黄色溶液添加铁(845.7mg,15.1mmol,5当量)、NH_4Cl(1.62g,30.3mmol,10当量)和水(12.5mL)。将黄色悬浮液在氮气气氛下在50℃搅拌16小时。然后,将MeOH(50mL)添加至混合物中并在50℃持续搅拌2小时。趁热将混合物过滤。浓缩滤液。将粗产物溶解在乙酸乙酯中并用H_2O洗涤。将合并的有机物用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并且浓缩。将粗产物使用乙酸乙酯/石油醚梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以得到标题化合物(0.917g,2.36mmol,65%产率),其为棕色固体。LC-MS:m/z=465.0/467.0$[M+H]^+$,ESI pos。

[0349] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=7.89(s,1H),7.68-7.62(m,1H),7.61-7.55(m,1H),7.46-7.37(m,2H),6.93(t,J=73.2Hz,1H),5.92(s,1H),3.94(s,3H),2.32(s,3H)。

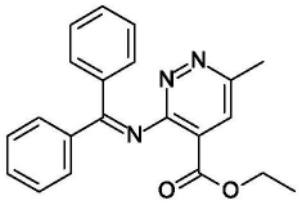
[0350] 步骤8:4-(6-溴-5-甲氧基-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈

[0351] 

[0352] 向4-[(3-氨基-5-溴-6-甲氧基-2-吡啶基)氨基]-2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈(1.1g,2.36mmol,1当量)和原甲酸三甲酯(2.51g,23.64mmol,10当量)在乙醇(40mL)中的黄色溶液中添加TsOH(40.7mg,0.240mmol,0.1当量)。将所得悬浮液在80℃搅拌2小时。在此过程中固体缓慢溶解。将反应混合物倒入水中并用乙酸乙酯萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并且浓缩。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以提供标题化合物(850mg,1.79mmol,76%产率),其为棕色固体。LC-MS:m/z=475.0/477.0$[M+H]^+$,ESI pos。

[0353] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=8.35(s,1H),8.32(s,1H),8.22(d,J=2.0Hz,1H),8.12-8.07(m,1H),8.03-7.98(m,1H),6.96(t,J=72.9Hz,1H),6.01(s,1H),4.09(s,3H),2.41(s,3H)。

[0354] 步骤9:3-(二苯亚甲基氨基)-6-甲基-哒嗪-4-甲酸乙酯

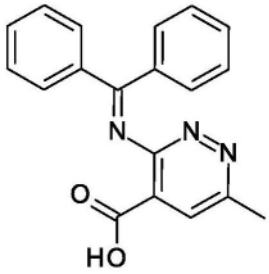
[0355] 

[0356] 向3-氯-6-甲基-哒嗪-4-甲酸乙酯(2.0g,9.97mmol,1当量)和α-苯基苯甲胺(2.5mL,14.9mmol,1.5当量)在1,4-向二噁烷(25mL)中的溶液添加Cs_2CO_3(9.74g,29.9mmol,3当量)和Xantphos Pd G4(0.96g,1mmol,0.1当量)。将混合物在氮气气氛下在100℃搅拌16

小时。将反应混合物倒入水中,并且用EtOAc萃取。将有机物经硫酸钠干燥,过滤并且浓缩。将粗产物通过硅胶色谱法纯化,以得到标题化合物(1.4g,4.1mmol,41%产率),其为黄色固体。将水相冻干。将残余物用乙酸乙酯/甲醇10:1处理并搅拌30分钟。将混合物过滤并且将母液浓缩,以得到另一批标题化合物(800mg,2.52mmol,25%产率),其为黄色固体。LC-MS:346.1[M+H]$^+$,ESI pos。

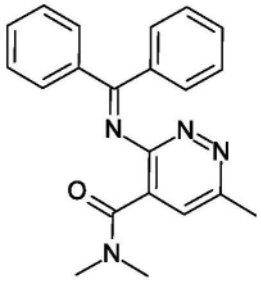
[0357] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=7.92-7.19(m,11H),4.31(q,J=7.1Hz,2H),2.68(s,3H),1.27(t,J=7.2Hz,3H)。

[0358] 步骤10:3-(二苯亚甲基氨基)-6-甲基-哒嗪-4-甲酸

[0359] 

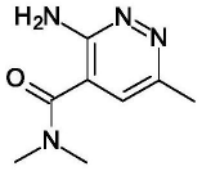
[0360] 向3-(二苯亚甲基氨基)-6-甲基-哒嗪-4-甲酸乙酯(1.4g,4.05mmol,1当量)在THF(5mL)、MeOH(5mL)、水(2.5mL)中的混合物中添加LiOH(242.7mg,10.Mmol,2.5当量)。将混合物在25℃搅拌1h,然后在减压下浓缩,以得到标题化合物(1.2g,3.8mmol,93%产率),其为黄色固体。将粗产物直接用于下一步而不经进一步纯化。LC-MS:318.0[M+H]$^+$,ESI pos。

[0361] 步骤11:3-(二苯亚甲基氨基)-N,N,6-三甲基-哒嗪-4-甲酰胺

[0362] 

[0363] 向3-(二苯亚甲基氨基)-6-甲基-哒嗪-4-甲酸(800.0mg,2.52mmol,1当量)在DMF(12mL)中的搅拌溶液中添加二甲胺盐酸盐(411.1mg,5.04mmol,2当量)、DIPEA(1.3mL,7.56mmol,3当量)和HATU(1.78g,7.56mmol,3当量)。将反应混合物在30℃下搅拌16小时。将混合物直接用于下一步骤。LC-MS:345.1[M+H]$^+$,ESI pos。

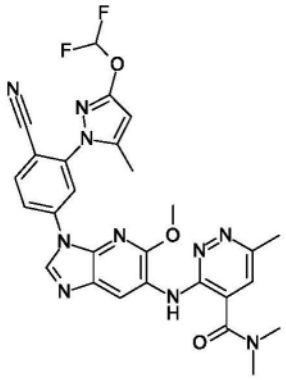
[0364] 步骤12:3-氨基-N,N,6-三甲基-哒嗪-4-甲酰胺

[0365] 

[0366] 在0℃将HCl的1,4-二噁烷溶液(10.0mL,40mmol,6.9当量)添加至3-(二苯亚甲基氨基)-N,N,6-三甲基-哒嗪-4-甲酰胺(2.0g,5.81mmol,1当量),并在30℃搅拌1小时。将混合物使用0.05%氢氧化氨水溶液/乙腈梯度作为洗脱剂通过制备型HPLC纯化,然后使用10mmol碳酸铵/乙腈梯度作为洗脱剂通过第二制备型HPLC纯化,以得到标题化合物(500mg,2.77mmol,45%产率),其冻干后为白色固体。LC-MS:181.0[M+H]$^+$,ESI pos。

[0367] ^{1}H NMR(400MHz,MeOH-d_4)δ＝7.28(s,1H),3.12(s,3H),2.99(s,3H),2.52(s,3H)。

[0368] 步骤13:3-[[3-[4-氰基-3-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯基]-5-甲氧基-咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基]氨基]-N,N,6-三甲基-哒嗪-4-甲酰胺

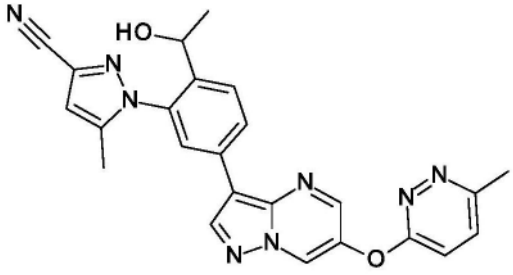
[0369] 

[0370] 向4-(6-溴-5-甲氧基-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈(30.0mg,0.06mmol,1当量)和3-氨基-N,N,6-三甲基-哒嗪-4-甲酰胺(3mg,0.13mmol,2当量)的1,4-二噁烷(2mL)的无色溶液中添加[t-BuBrettPhos Pd(烯丙基)]OTf(10mg,0.01mmol,0.2当量)和Cs_2CO_3(61.7mg,0.19mmol,3当量)。将反应混合物用氮气冲洗,在80℃搅拌2小时,然后冷却至室温,倒入水中并用乙酸乙酯萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并且浓缩。将粗产物使用0.1%甲酸/乙腈梯度作为洗脱剂通过制备型HPLC纯化,随后使用DCM/MeOH作为洗脱剂通过制备型TLC纯化,以得到标题化合物(5.1mg,0.01mmol,14%产率),其通过冻干为白色固体。LC-MS:m/z＝575.2[M+H]$^+$,ESI pos。

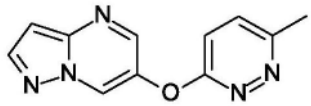
[0371] ^{1}H NMR(400MHz,MeOH-d_4)δ＝9.08(s,1H),8.76(s,1H),8.53(s,1H),8.46(br d,J＝9.5Hz,1H),8.16(d,J＝8.4Hz,1H),7.49(s,1H),7.30-6.89(m,1H),6.12(s,1H),4.13(s,3H),3.19(br s,3H),3.11(br s,3H),2.63(s,3H),2.41(s,3H)。

[0372] 实例5

[0373] 1-[2-(1-羟基乙基)-5-[6-(6-甲基哒嗪-3-基)氧基吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]-5-甲基吡唑-3-甲腈

[0374] 

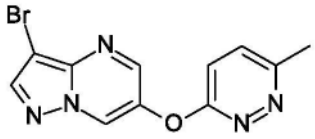
[0375] 步骤1:6-(6-甲基哒嗪-3-基)氧基吡唑并[1,5-a]嘧啶

[0376] 

[0377] 将吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-醇溶液(CAS1580489-59-3;1g,7.4mmol,1.0当量)溶解在DMF(50mL)中并用3-氯-6-甲基-哒嗪(1.14g,8.88mmol,1.2当量)和Cs_2CO_3(4.82g,14.8mmol,2.0当量)在室温处理。将混合物在100℃搅拌16小时,然后冷却至室温,用水稀释并用乙酸乙酯萃取。将有机层用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并且浓缩。纯化粗产物使用DCM/

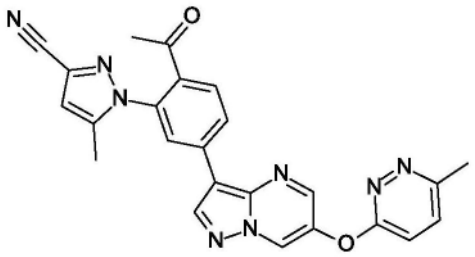
MeOH梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以获得标题化合物(259mg,12%产率),其为浅黄色固体。LC-MS:m/z=228.6[M+H]$^+$,ESI pos。

[0378] 步骤2:3-溴-6-(6-甲基哒嗪-3-基)氧基-吡唑并[1,5-a]嘧啶

[0379] 

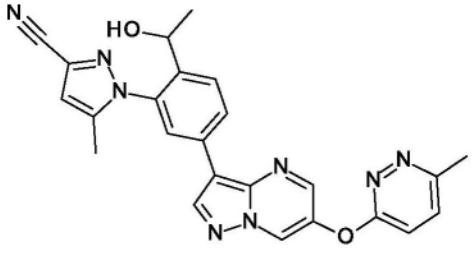
[0380] 向6-(6-甲基哒嗪-3-基)氧基吡唑并[1,5-a]嘧啶(250mg,1.1mmol,1.0当量)的乙酸(10mL)溶液中逐滴添加Br_2(246mg,79uL,1.54mmol,1.4当量)。将该混合物在室温搅拌1小时。添加更多的Br_2(246mg,79uL,1.54mmol,1.4当量),然后在室温搅拌1小时。将混合物倒在水上,并且用DCM萃取。将有机层经Na_2SO_4干燥、过滤并浓缩。将粗产物使用DCM/MeOH梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以得到标题化合物(121mg,34%产率),其为浅棕色液体。LC-MS:m/z=307.9[M+H]$^+$,ESI pos。

[0381] 步骤3:1-[2-乙酰基-5-[6-(6-甲基哒嗪-3-基)氧基吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0382] 

[0383] 将1-[2-乙酰基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈(实施例2,步骤2;60mg,0.17mmol,1.0当量)在1,4-二噁烷(2mL)中的溶液用3-溴-6-(6-甲基哒嗪-3-基)氧基-吡唑并[1,5-a]嘧啶(52.3mg,0.17mmol,1.0当量)、K_2CO_3(59mg,0.43mmol,2.5当量)溶于水(0.5mL)的溶液处理,并且然后用Pd(dppf)Cl_2·CH_2Cl_2络合物(28mg,0.034mmol,0.2当量)处理。将反应混合物在50℃搅拌90分钟,然后倒入水中并用乙酸乙酯萃取。合并的有机层经$MgSO_4$干燥,过滤并且浓缩。将粗产物使用庚烷/乙酸乙酯梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以获得标题化合物(35mg,43%产率),其为黄色固体。LC-MS:m/z=451.2[M+H]$^+$,ESI pos。

[0384] 步骤4:1-[2-(1-羟基乙基)-5-[6-(6-甲基哒嗪-3-基)氧基吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]-5-甲基吡唑-3-甲腈

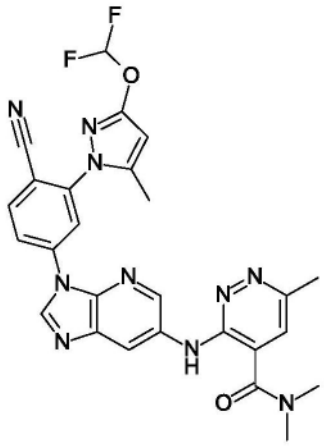
[0385] 

[0386] 将1-[2-乙酰基-5-[6-(6-甲基哒嗪-3-基)氧基吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈(35mg,0.08mmol,1.0当量)在异丙醇(2.3mL)和THF(2.3mL)中的悬浮液用$NaBH_4$(5.9mg,0.16mmol,2.0当量)处理。将混合物在室温搅拌2小时,然后用水稀释并

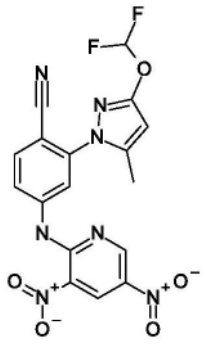
用乙酸乙酯萃取。将有机层经$MgSO_4$干燥,并且浓缩。将粗产物使用庚烷/乙酸乙酯梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以获得标题化合物(14mg,40%产率),其为黄色粉末。LC-MS:m/z=457.2$[M+H]^+$,ESI+

[0387] 实例6

[0388] 3-[[3-[4-氰基-3-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯基]咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基]氨基]-N,N,6-三甲基-哒嗪-4-甲酰胺

[0389] 

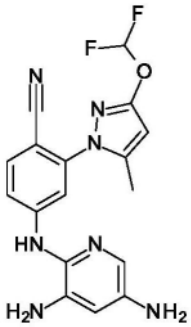
[0390] 步骤1:2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-[(3,5-二硝基-2-吡啶基)氨基]苯甲腈

[0391] 

[0392] 向4-氨基-2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈(实施例4,步骤5;400mg,1.51mmol,1.0当量)在甲醇(30mL)中的黄色溶液添加2-氯-3,5-二硝基吡啶(CAS2578-45-2;308mg,1.51mmol,1.0当量)并在70℃搅拌2小时。将更多的2-氯-3,5-二硝基吡啶(154mg,0.76mmol,0.5当量)添加至混合物中并在70℃继续搅拌16小时。浓缩混合物。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以得到标题化合物(530.0mg,1.23mmol,81%产率),其为黄色固体。LC-MS:m/z=432.1$[M+H]^+$,ESI pos。

[0393] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=10.82(s,1H),9.42(s,2H),8.12(d,J=1.1Hz,1H),7.92-7.79(m,2H),6.97(t,J=72.9Hz,1H),6.00(s,1H),2.39(s,3H)。

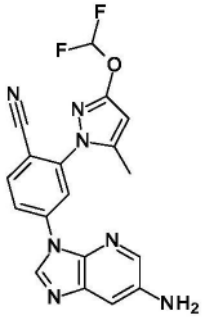
[0394] 步骤2:4-[(3,5-二氨基-2-吡啶基)氨基]-2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈

[0395] 

[0396] 向2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-[(3,5-二硝基-2-吡啶基)氨基]苯甲腈(530.0mg,1.23mmol,1.0当量)在EtOH(20mL)中的黄色溶液添加Fe(686mg,12.3mmol,10.0当量)、NH_4Cl(1.3g,24.6mmol,20.0当量)和水(10mL)。将黄色悬浮液在氮气气氛下在50℃搅拌2小时。然后,将MeOH(50mL)添加至混合物中并在50℃持续搅拌30分钟。趁热将混合物过滤。浓缩滤液。将残余物溶解在乙酸乙酯中并用饱和$NaHCO_3$溶液洗涤。将合并的有机层用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并且浓缩。将粗产物使用乙酸乙酯/MeOH梯度作为洗脱剂通过硅胶柱法纯化,以提供标题化合物(330.0mg,0.89mmol,72%产率),其为深绿色固体。LC-MS:m/z=372.0$[M+H]^+$,ESI pos。

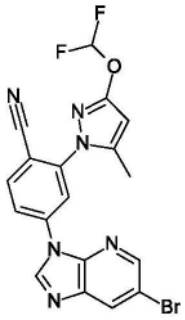
[0397] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=7.54(d,J=9.2Hz,1H),7.41(d,J=2.4Hz,1H),7.11(s,1H),6.93-6.88(m,2H),6.74(s,1H),6.48(d,J=2.6Hz,1H),6.20(s,1H),5.89(s,1H),3.51(s,4H),2.28(s,3H)。

[0398] 步骤3:4-(6-氨基咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈

[0399] 

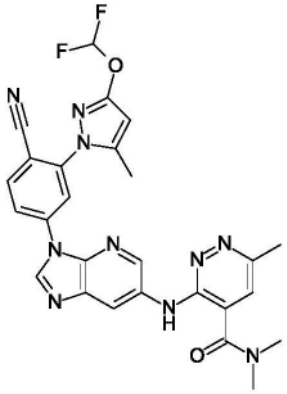
[0400] 向4-[(3,5-二氨基-2-吡啶基)氨基]-2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈(250.0mg,0.67mmol,1.0当量)在甲醇(250mL)中的深绿色溶液中添加原甲酸三甲酯(714mg,6.7mmol,10.0当量)和TsOH(11.6mg,0.07mmol,0.1当量)。将绿色悬浮液在80℃搅拌60小时。将混合物浓缩,以去除大部分甲醇。然后,将混合物倒入$NaHCO_3$中,并用乙酸乙酯萃取。合并的有机物经Na_2SO_4干燥,过滤并且浓缩。将粗产物使用0.1%甲酸/乙腈梯度作为洗脱剂通过制备型HPLC纯化,以得到标题化合物(35.0mg,0.09mmol,14%产率),其为白色固体。LC-MS:m/z=382.1$[M+H]^+$,ESI pos。

[0401] 步骤4:4-(6-溴咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈

[0402] 

[0403] 向溴化铜(I)(11.3mg,0.08mmol,1.0当量)在乙腈(6mL)中的深绿色悬浮液中添加亚硝酸异戊酯(18.4mg,0.16mmol,2.0当量)并在氩气氛下在65℃搅拌15分钟。将反应混合物冷却至室温。更多4-(6-氨基咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈(30.0mg,0.08mmol,1.0当量)的乙腈(1mL)溶液添加到反应混合物中,将其在65℃搅拌30分钟,然后倒入水中。将水溶液用乙酸乙酯萃取。将合并的有机物用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,并且浓缩。将粗产物使用乙酸乙酯作为洗脱剂通过制备型TLC纯化,以得到标题化合物(30.0mg,0.07mmol,86%产率),其为白色固体。LC-MS:m/z=445.0/447.0[M+H]$^+$,ESI pos。

[0404] 步骤5:3-[[3-[4-氰基-3-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯基]咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基]氨基]-N,N,6-三甲基-哒嗪-4-甲酰胺

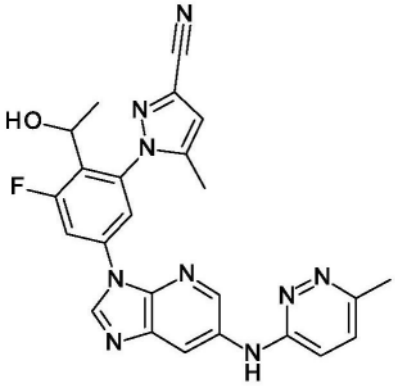
[0405] 

[0406] 向3-氨基-N,N,6-三甲基-哒嗪-4-甲酰胺(实施例4,步骤12;24.3mg,0.13mmol,2.0当量)在1,4-二噁烷(5mL)中的黄色溶液中添加4-(6-溴咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-2-[3-(二氟甲氧基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈(30.0mg,0.07mmol,1.0当量)、[t-BuBrettPhos Pd(烯丙基)]OTf(10.53mg,0.01mmol,0.2当量)和Cs_2CO_3(65.9mg,0.2mmol,3.0当量)。将反应混合物用氮气冲洗。将黄色悬浮液在80℃搅拌1小时,然后将其倒入水中并用EtOAc萃取。将合并的有机物用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并且浓缩。将粗产物使用二氯甲烷/甲醇10:1通过制备型TLC纯化,然后使用0.1%甲酸/乙腈梯度作为洗脱剂通过制备型HPLC纯化,以得到标题化合物(4.7mg,0.01mmol,13%产率),其为白色冷冻干产物。LC-MS:m/z=545.3[M+H]$^+$,ESI pos。

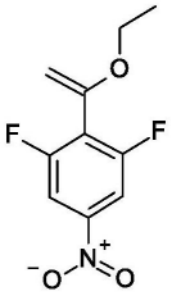
[0407] ^{1}H NMR(400MHz,MeOH-d_4)δ=8.97(s,1H),8.70(d,J=2.3Hz,1H),8.57(dd,J=2.2,3.7Hz,2H),8.44(dd,J=2.2,8.6Hz,1H),8.17(d,J=8.6Hz,1H),7.43(s,1H),7.10(t,J=73.2Hz,1H),6.13(s,1H),3.16(s,3H),3.08(s,3H),2.61(s,3H),2.43(s,3H)。

[0408] 实例7

[0409] 1-[3-氟-2-(1-羟基乙基)-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0410] 

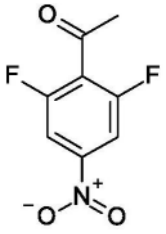
[0411] 步骤1:2-(1-乙氧基乙烯基)-1,3-二氟-5-硝基-苯

[0412] 

[0413] 向4-溴-3,5-二氟硝基苯(CAS167415-27-2;5.0g,21.01mmol,1.0当量)的甲苯(100mL)溶液中添加双(三苯基膦)氯化钯(II)(1.47g,2.1mmol,0.1当量)和三丁基(1-乙氧基乙烯基)锡(11.38g,31.51mmol,1.5当量)。将混合物用氮气冲洗并在110℃搅拌14小时。将反应混合物冷却至室温,用饱和氟化钾淬灭并在室温搅拌12小时。将水相用乙酸乙酯萃取。将有机物用盐水洗涤,并且经硫酸钠干燥,过滤并且浓缩。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯梯度作为洗脱剂通过快速色谱法纯化,以提供标题化合物(5.0g,21.8mmol,83%产率),其为橙色液体。

[0414] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=7.86-7.78(m,2H),4.68(d,J=3.1Hz,1H),4.45(d,J=2.9Hz,1H),3.97(q,J=7.0Hz,2H),1.43-1.39(m,3H)。

[0415] 步骤2:1-(2,6-二氟-4-硝基-苯基)乙酮

[0416] 

[0417] 向2-(1-乙氧基乙烯基)-1,3-二氟-5-硝基-苯(5.0g,21.8mmol,1.0当量)在THF(10mL)中的橙色溶液中添加HCl(10.0mL,10.0mmol,0.46当量)。将混合物加热至30℃并搅拌2天,然后用饱和$NaHCO_3$水溶液碱化至pH 8。将所得混合物用乙酸乙酯萃取。用无水硫酸钠使有机层干燥,并且进行浓缩。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯梯度作为洗脱剂利用硅胶色谱法纯化,以提供标题化合物(2.8g,13.9mmol,61%产率),其为橙色液体。

[0418] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=7.91-7.85(m,2H),2.67(t,J=1.3Hz,3H)。

[0419] 步骤3:1-(2-乙酰基-3-氟-5-硝基-苯基)-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0420] 

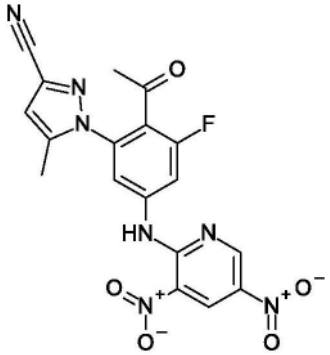
[0421] 向1-(2,6-二氟-4-硝基-苯基)乙酮(2.8g,13.92mmol,1.0当量)、5-甲基-1H-吡唑-3-甲腈(1.19g,11.14mmol,0.8当量)在DMSO(20mL)中的黄色溶液添加DIPEA(5.4g,41.8mmol,3.0当量)。将混合物在100℃搅拌12小时,以得到棕色溶液,然后用水淬灭并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,并且浓缩。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以得到标题化合物(1.3g,4.51mmol,29%产率;含有30%的区域异构体2-(2-乙酰基-3-氟-5-硝基-苯基)-5-甲基-吡唑-3-甲腈),其为白色固体。LC-MS:m/z=289.1[M+H]$^+$,ESI pos。

[0422] 步骤4:1-(2-乙酰基-5-氨基-3-氟-苯基)-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0423] 

[0424] 向1-(2-乙酰基-3-氟-5-硝基-苯基)-5-甲基-吡唑-3-甲腈(1.3g,4.51mmol,1.0当量;含有30%区域异构体)在EtOH(14mL)中的无色溶液添加NH_4Cl(2.41g,45.1mmol,10.0当量)、水(7mL)和Fe(1.26mg,22.6mmol,5.0当量)。然后将混合物加热至50℃并在50℃搅拌2小时,以得到黑色悬浮液。将反应混合物在50℃通过硅藻土垫过滤,将滤饼用甲醇(30mL×5)洗涤,将滤液在真空下浓缩。向所得混合物添加水(50mL),并且将产物用乙酸乙酯(20mL×3)萃取。将有机相用盐水(20mL×3)洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,在减压下浓缩,以得到标题化合物850.0mg,3.29mmol,66%产率;含有30%的区域异构体2-(2-乙酰基-5-氨基-3-氟-苯基)-5-甲基-吡唑-3-甲腈),其为灰色固体。LC-MS:259.1[M+H]$^+$,ESI pos。

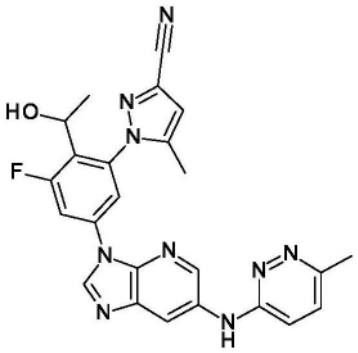
[0425] 步骤5:1-[2-乙酰基-5[(3,5-二硝基-2-吡啶基)氨基]-3-氟-苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0426] 

[0427] 将2-氯-3,5-二硝基吡啶(CAS2578-45-2;693.57mg,3.41mmol,1.0当量)、1-(2-乙

酰基-5-氨基-3-氟-苯基)-5-甲基-吡唑-3-甲腈(880.0mg,3.41mmol,1.0当量;含有30%区域异构体)在MeOH(10mL)中的棕色溶液加热至70℃并在70℃搅拌过夜,以得到棕色悬浮液,然后浓缩。将残余物吸收于水中并用乙酸乙酯萃取。有机相经无水硫酸钠干燥,过滤并且浓缩。将粗产物使用石油/乙酸乙酯梯度作为洗脱剂通过快速色谱法纯化,以得到标题化合物(1.3g,3.1mmol,83%产率;含有30%的区域异构体2-[2-乙酰基-5-[(3,5-二硝基-2-吡啶基)氨基]-3-氟-苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈),其为橙色固体。LC-MS:426.1[M+H]$^+$,ESI pos。

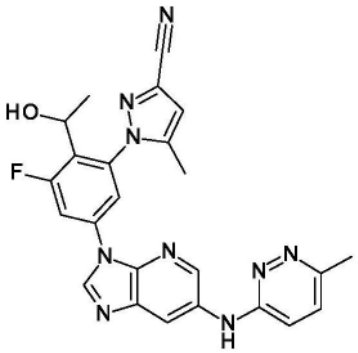
[0428] 步骤6:1-[2-乙酰基-3-氟-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0429] 

[0430] 类似于实施例6(步骤7-10),并且从1-[2-乙酰基-5-[(3,5-二硝基-2-吡啶基)氨基]-3-氟-苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈(含30%区域异构体)开始,得到标题化合物,其为棕色固体。在最后一步之后,通过在反应混合物的后处理过程中从乙酸乙酯/水中结晶,将所需的位置异构体与不需要的化合物分离。LC-MS:468.2[M+H]$^+$,ESI pos。

[0431] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=9.53(br s,1H),9.10(s,1H),8.89(d,J=1.9Hz,1H),8.65(d,J=1.5Hz,1H),8.55(br d,J=11.4Hz,1H),8.37(s,1H),7.40(d,J=9.1Hz,1H),7.14(br d,J=9.0Hz,1H),7.07(s,1H),3.58(s,3H),2.41(s,3H),2.32(s,3H)。

[0432] 步骤7:1-[3-氟-2-(1-羟基乙基)-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈

[0433] 

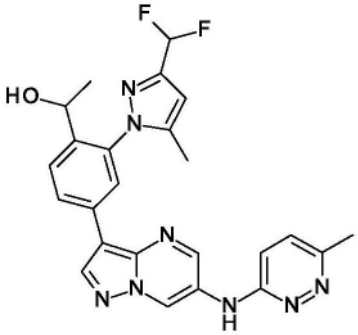
[0434] 在20℃向1-[2-乙酰基-3-氟-5-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基]苯基]-5-甲基-吡唑-3-甲腈(80.0mg,0.17mmol,1.0当量)的DMSO(0.5mL)和甲醇(1mL)的棕色悬浮液中添加$NaBH_4$(32.37mg,0.86mmol,5.0当量)。将反应混合物加热至30℃并搅拌1小时。将其再次用$NaBH_4$(32.4mg,0.86mmol,5.0当量)处理并在30℃搅拌1小时。将反应混合物用饱和NH_4Cl水溶液(1mL)处理,用乙酸乙酯萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,

过滤并且浓缩。将粗残余物使用0.225％甲酸水溶液/乙腈梯度作为洗脱剂通过制备型HPLC纯化,以得到标题化合物(6.4mg,0.01mmol,7.9％产率),其为白色固体。LC-MS:470.2[M+H]$^+$,ESI pos

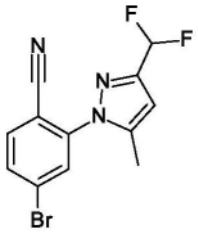
[0435] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ＝9.46(s,1H),9.01(s,1H),8.89-8.86(m,1H),8.60(t,J＝1.8Hz,1H),8.36(dd,J＝2.1,12.2Hz,1H),8.05(s,1H),7.39(d,J＝9.2Hz,1H),7.12(d,J＝9.0Hz,1H),7.04(s,1H),5.37(br s,1H),4.61-4.00(m,1H),2.53(d,J＝2.0Hz,3H),2.27(s,3H),1.43(br d,J＝6.5Hz,3H)。

[0436] 实例8

[0437] 1-[2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]乙醇

[0438] 

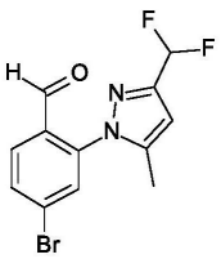
[0439] 步骤1:4-溴-2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈

[0440] 

[0441] 向4-溴-2-氟苯甲腈(CAS105942-08-3;3.0g,15.0mmol,1.0当量)在DMF(60mL)中的无色溶液中添加3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑(1.98g,15.0mmol,1.0当量)和碳酸钾(6.22g,45.0mmol,3.0当量)。将白色悬浮液在20℃搅拌16小时。将混合物倒入水中并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机物用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并且浓缩。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯梯度通过硅胶色谱法纯化,(4.0g,12.8mmol,85％产率),其为白色固体。LC-MS:312.0/314.0[M+H]$^+$,ESI pos。

[0442] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ＝7.80-7.68(m,3H),6.72(t,J＝54.9Hz,1H),6.52(s,1H),2.37(s,3H)。

[0443] 步骤2:4-溴-2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲醛

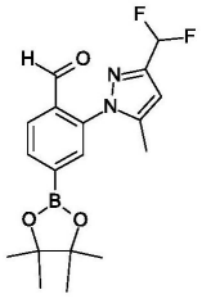
[0444] 

[0445] 向4-溴-2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲腈(3)(3.0g,9.6mmol,1.0当

量)在THF(45mL)中的无色溶液中在氮气气下氛在0℃逐滴添加1M DIBAL-H的甲苯溶液(24.0mL,24.0mmol,2.5当量)。将黄色溶液在0℃搅拌2小时。将反应混合物用1N HCl淬灭,并且用乙酸乙酯萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并且浓缩。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化(1.2g,3.8mmol,40%产率),其为无色油状物。LC-MS:314.8/316.8$[M+H]^+$,ESI pos。

[0446] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=9.58(d,J=0.6Hz,1H),7.96(d,J=8.3Hz,1H),7.86-7.73(m,1H),7.64(d,J=1.8Hz,1H),6.70(t,J=54.8Hz,1H),6.54(s,1H),2.31(s,3H)

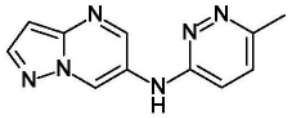
[0447] 步骤3:2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯甲醛

[0448] 

[0449] 向4-溴-2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]苯甲醛(1.60g,5.1mmol,1.0当量)在1,4-二噁烷(40mL)中的无色溶液添加双(频哪醇合)二硼(2.58g,10.2mmol,2.0当量)、1,1'-双(二苯基膦)二茂铁二氯化钯(II)、甲苯络合物(417mg,0.51mmol,0.1当量)和乙酸钾(0.95mL,15.23mmol,3.0当量)。将反应混合物用氮气冲洗,并且在100℃搅拌2小时,然后将其倒入水中并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并且浓缩。将粗产物使用石油醚/乙酸乙酯梯度作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化,以提供标题化合物(2.4g,6.63mmol,91%产率),其为黄色油状物。LC-MS:281.1$[M+H]^+$,ESI pos。

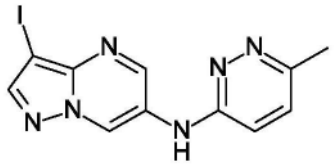
[0450] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$-d)δ=9.69-9.60(m,1H),8.06(s,2H),7.85(s,1H),6.85-6.55(m,1H),6.51(s,1H),2.26(s,3H),1.40-1.35(m,12H)

[0451] 步骤4:N-(6-甲基哒嗪-3-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-胺

[0452] 

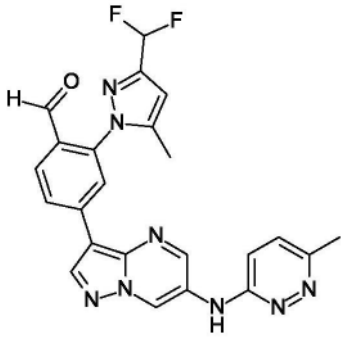
[0453] 向3-氨基-6-甲基哒嗪(1.32g,12.1mmol,1.2当量)在1,4-二噁烷(20mL)中的黄色溶液中添加6-溴吡唑并[1,5-a]嘧啶(2.0g,10.1mmol,1.0当量)和碳酸铯(9.9g,30.3mmol,3.0当量)。将烧瓶中的空气用氮气置换3次。然后,将[t-BuBrettPhos Pd(烯丙基)]OTf(1.58g,2.02mmol,0.2当量)添加到混合物中,然后将其在80℃搅拌2小时。将混合物倒入水中,用EtOAc萃取并过滤,以获得不溶性粗产物,其为棕色固体。将该固体与乙酸乙酯/甲醇20/1(30mL)在25℃研磨30分钟,以得到标题化合物(1.3g,5.75mmol,57%产率),其为棕色固体。LC-MS=277.0$[M+H]^+$,ESI pos。

[0454] 步骤5:3-碘-N-(6-甲基哒嗪-3-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-胺

[0455] 

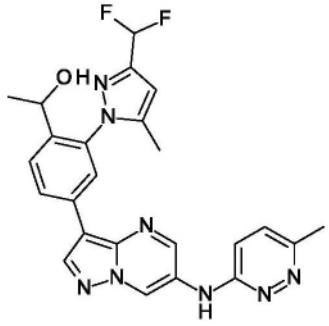
[0456] 向N-(6-甲基哒嗪-3-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-胺(1.3g,5.75mmol,1.0当量)在DMF(15mL)中的黄色溶液中添加NIS(1.29g,11.49mmol,2.0当量)。将反应在30℃搅拌16小时。将反应混合物再次用NIS(325mg,2.9mmol,0.5当量)处理并在30℃继续搅拌另外4小时。将反应混合物浓缩。将粗产物与10mL乙酸乙酯在室温研磨30分钟。将混合物过滤并且将滤饼浓缩,以得到标题化合物(1.3g,3.7mmol,64%产率),其为棕色固体。LC-MS=353.0$[M+H]^+$,ESI pos。

[0457] 步骤6:2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯甲醛

[0458] 

[0459] 向2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯甲醛(308.56mg,0.85mmol,1.2当量)在1,4-二噁烷(12mL)中的无色溶液添加3-碘-N-(6-甲基哒嗪-3-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-胺(6)250.0mg,0.71mmol,1.0当量)、$Pd(dppf)_2Cl_2$·DCM(116mg,0.14mmol,0.2当量),Na_2CO_3(225.7mg,2.1mmol,3.0当量)和水(2.5mL)。将棕色悬浮液在80℃搅拌2小时,然后将其倒入水中并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机物用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并且浓缩。将粗产物使用10mmol NH_4Cl溶液/乙腈梯度作为洗脱剂通过制备型HPLC纯化,以提供标题化合物(20.0mg,0.04mmol,6%产率)(其为黄色固体)(30.0mg,0.07mmol,4%产率)(其为黄色固体)。LC-MS:461.2$[M+H]^+$,ESI pos。

[0460] 步骤7:1-[2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯基]乙醇

[0461] 

[0462] 向2-[3-(二氟甲基)-5-甲基-吡唑-1-基]-4-[6-[(6-甲基哒嗪-3-基)氨基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基]苯甲醛(20.0mg,0.04mmol,1.0当量)在THF(2mL)中的黄色溶液中在

氮气氛下在-70℃添加甲基溴化镁(0.14mL,0.43mmol,10.0当量)。将混合物在-70℃搅拌2小时,然后用饱和NH_4Cl溶液淬灭,并用乙酸乙酯萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到粗产物。将粗品使用0.1%甲酸水溶液/乙腈梯度作为洗脱剂通过制备型HPLC纯化,以得到标题化合物(3.59mg,0.01mmol,17.36%产率),其冻干后为黄色固体。LC-MS:459.2$[M+H-18]^+$,ESI pos。

[0463] ^1H NMR(400MHz,MeOH-d_4)δ=9.97(d,J=2.3Hz,1H),8.63(d,J=2.4Hz,1H),8.50(s,1H),8.26(dd,J=1.4,8.3Hz,1H),8.10(d,J=1.6Hz,1H),7.81(d,J=8.2Hz,1H),7.40(d,J=9.2Hz,1H),7.15(d,J=9.0Hz,1H),6.79(t,J=55.0Hz,1H),6.55(s,1H),4.53-4.42(m,1H),2.55(s,3H),2.28(s,3H),1.35(d,J=6.5Hz,3H)。

[0464] 实施例9-磷酸化测定SIK1-3:

[0465] 在SIK2(或者为SIK1或SIK3)和ATP存在下,CHK肽(具有C-末端精氨酸酰胺修饰的KKKVSRSGLYRSPSMPENLNRPR)在四个可行的丝氨酸之一处被磷酸化。在测定条件下仅观察到一种磷酸化。将60nl的DMSO中的每种化合物稀释系列(12点;稀释倍数3,通常为30μM至170pM)通过声学分配转移至测定板,并添加在测定缓冲液(12.5mM HEPES(pH 7.0)、10mM醋酸镁、0.005% BSA)中的5μl SIK1(5nM)或者5μlSIK2(0.5nM)或7μl SIK3(1.5nM)后预孵育30分钟(环境温度)。在测定缓冲液中分别为SIK1和SIK2添加10μM CHK-肽溶液和5μl的100μMATP,为SIK3添加3μl,并在环境中孵育45分钟。添加40μl的0.125%甲酸水溶液以淬灭反应。如下所述利用RapidFire(RF)质谱法生成数据。将通过MRM(多重反应监测;API5000或6500+)或EIC(提取离子电流;QToF)测量的磷酸化和非磷酸化形式的多个带电物种(3-5个电荷)相加并计算比率(磷酸化物种总和/所有物种总和)以进行数据评估。基于非抑制对照DMSO和1μM YKL-05-099的市售SIK抑制剂(CAS号1936529-65-5),通过Genedata软件进行归一化。测定结果以半数最大抑制浓度(IC50)表示,并总结于下表1中。

[0466] RapidFire 设置:

[0467] 样品通过真空抽吸最长600ms并装入C4盒(安捷伦;号G9203A)以1.5ml/min用0.1%甲酸水溶液处理3000ms。然后将样品转移至API5000(API6500+)或QToF质谱仪,以1.25ml/min与90%乙腈;10%水;0.007% TFA;0.093甲酸持续4000ms。用0.1%甲酸水溶液将盒再处理500ms。

[0468] MS设置Sciex API5000/API6500+:

[0469] 在MRM模式下使用以下MS设置进行所有MS分析:电喷雾正离子;离子喷雾电压:4000V;温度:550℃;碰撞气体:5;气帘气体:15;气体1:40;气体2:42;EP:10.DP=去簇潜力;CE=碰撞能量;CXP=细胞退出电位。

[0470]

名称	Q1(m/z)	Q3(m/z)	时间(ms)	DP(V)	CE(V)	CXP(V)
CHK(4+)	676.0	84.2	50	46	99	18
CHK(5+)	541.0	84.2	50	51	71	36
pCHK(4+)	696.0	84.2	50	66	105	18
pCHK(5+)	557.0	84.2	50	51	53	4

[0471] MS设置Agilent QToF 6545

[0472] 在MS模式下使用以下MS设置进行所有MS分析:双AJS电喷雾正离子;VCap:3000V;干燥和鞘气:340℃,8l/min;喷雾器:60psig;喷嘴电压:2000V;碎裂器:130V;撇渣器:35V;

Oct1 RF Vpp:700V;5光谱/s时的参考质量

[0473]

名称	EIC(m/z)	宽度
CHK(3+)	900.8345	50ppm
CHK(4+)	675.8789	50ppm
CHK(5+)	540.9048	50ppm
pCHK(3+)	927.4961	50ppm
pCHK(4+)	695.8747	50ppm

[0474] 表1:抑制SIK1、SIK2和SIK3的IC50值:

[0475]

实例	SIK1 RF IC50 (μM)	SIK2 RF IC50 (μM)	SIK3 RF IC50 (μM)
1	2.800	0.016	0.002
2	0.616	0.001	0.0003
3	16.641	0.207	0.027
4	18.556	0.007	0.207
5	14.630	0.106	0.012
6	≥30.000	0.152	0.366
7	6.012	0.021	0.006

[0476]

8	≥30.000	0.052	0.004

[0477] 实例A

[0478] 含有以下成分的膜包衣片剂可以以常规方式制造:

[0479]

成分	每个片剂	
内核:		
式(I)化合物或其药用盐	10.0 mg	200.0 mg
微晶纤维素	23.5 mg	43.5 mg
含水乳糖	60.0 mg	70.0 mg
聚维酮K30	12.5 mg	15.0 mg
淀粉羟乙酸钠	12.5 mg	17.0 mg
硬脂酸镁	1.5 mg	4.5 mg
(内核重量)	120.0 mg	350.0 mg
膜包衣:		
羟丙基甲基纤维素	3.5 mg	7.0 mg
聚乙二醇6000	0.8 mg	1.6 mg
滑石	1.3 mg	2.6 mg
氧化铁(黄)	0.8 mg	1.6 mg
二氧化钛	0.8 mg	1.6 mg

[0480] 将活性成分过筛并与微晶纤维素混合,并将混合物与聚乙烯吡咯烷酮在水中的溶液一起制粒。然后将颗粒与淀粉羟乙酸钠和硬脂酸镁混合并压制,得到分别为120或350 mg的内核。内核用上述膜包衣的水溶液/悬浮液上漆。

[0481] 实例B

[0482] 含有以下成分的胶囊可以以常规方式制造:

[0483]

成分	每个胶囊
式(I)化合物或其药用盐	25.0 mg
乳糖	150.0 mg
玉米淀粉	20.0 mg
滑石	5.0 mg

[0484] 将组分过筛并混合,并填充到尺寸为2的胶囊中。

[0485] 实例C

[0486] 注射溶液可以具有以下组合物:

[0487]

式(I)化合物或其药用盐	3.0mg
聚乙二醇400	150.0mg
乙酸	适量,将pH调节至5.0
注射溶液用水	加至1.0ml

[0488] 将活性成分溶解在聚乙二醇400和注射用水(部分)的混合物中。通过添加乙酸将pH调节至5.0。通过加入余量的水将体积调节至1.0ml。过滤溶液,使用适宜的超量填充到小瓶中并灭菌。