

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2014 年 3 月 27 日 (27.03.2014)



(10) 国际公布号
WO 2014/044113 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07D 471/04 (2006.01) *A61P 7/02* (2006.01)
A61K 31/542 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2013/082535
- (22) 国际申请日: 2013 年 8 月 29 日 (29.08.2013)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201210349492.6 2012 年 9 月 18 日 (18.09.2012) CN
- (71) 申请人: 上海恒瑞医药有限公司 (SHANGHAI HENGRUI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [CN/CN]; 中国上海市闵行区文井路 279 号, Shanghai 200245 (CN)。 江苏恒瑞医药股份有限公司 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省连云港市经济技术开发区昆仑山路 7 号, Jiangsu 222047 (CN)。
- (72) 发明人: 许建烟 (XU, Jianyan); 中国上海市闵行区文井路 279 号, Shanghai 200245 (CN)。 吕贺军 (LU, Hejun); 中国上海市闵行区文井路 279 号, Shanghai 200245 (CN)。 屈博磊 (QU, Bolei); 中国上海市闵行区文井路 279 号, Shanghai 200245 (CN)。 董庆 (DONG, Qing); 中国上海市闵行区文井路 279 号, Shanghai 200245 (CN)。

(74) 代理人: 北京戈程知识产权代理有限公司 (GE CHENG & CO., LTD.); 中国北京市东城区东长安街 1 号东方广场东三办公楼 19 层, Beijing 100738 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: PYRAZOL[3,4-C] PYRIDINE DERIVATIVE, PREPARATION METHOD AND USE IN MEDICINE THEREOF

(54) 发明名称: 吡唑并[3,4-c]吡啶类衍生物、其制备方法及其在医药上的应用

(57) Abstract: Disclosed is a pyrazol[3,4-c] pyridine derivative, preparation method thereof and a pharmaceutical composition comprising the derivative and use thereof as a therapeutic agent, especially as Xa factor inhibitors in the preparation of drugs for treating diseases like thromboembolism.

(57) 摘要: 一种吡唑[3,4-c]吡啶类衍生物、其制备方法及其含有该衍生物的药物组合物以及其作为治疗剂, 特别是作为 Xa 因子抑制剂在制备治疗血栓栓塞等疾病的药物中的用途。



WO 2014/044113 A1

吡唑并[3,4-c]吡啶类衍生物、其制备方法及其在医药上的应用

技术领域

- 5 本发明涉及一类新的吡唑并[3,4-c]吡啶类衍生物、其制备方法以及含有该衍生物的药物组合物以及其作为治疗剂特别是作为 Xa 因子抑制剂和在制备治疗和预防血栓栓塞等疾病的药物中的用途。

背景技术

- 10 血栓病是由血栓形成和栓塞引起的。在一定的病理条件下，血液成分在血管内形成血栓。血栓由形成部位脱落，随血液流动过程中会部分或者全部堵塞静脉或者供血动脉，引起血管或者系统缺血，缺氧及坏死等一系列病理过程。常见的血栓病包括心肌梗塞，脑血栓，深静脉血栓形成，肺栓塞以及外周动脉血栓栓塞，严重危害人民生命以及生活质量。冠心病是血栓类及疾病中重要的一类，包括心
15 梗和心绞痛。中国每年约有 80-150 万人新得冠心病。冠心病病死率和死亡占第四位，而脑血管疾病病死率占第二位，现有 700 多万患者，每年新发 150 万例，严重影响我国人民的生活幸福和质量。另外，虽然没有系统的关于深静脉血栓发病率的统计，但是按照初步估计，我国深静脉血栓患者达到百万。而且随着人民生活水平的提高，全国平均寿命的显著提高，老年人在人口比例的逐步增大，深静脉
20 血栓形成的发病率会逐渐增多，成为常见疾病。

- 血栓形成是由凝血因子和血小板两个系统的激活引起的。凝血因子是参与血液凝结的一系列蛋白质组分。这些蛋白在血管出血时或者病理条件下被激活，和血小板粘连在一起形成血栓。体内有内源性及外源性两种凝血系统存在。前者是指血液与异常表面接触而激活凝血因子 XII。后者则由于组织损伤释放凝血因子
25 III，从而激活凝血因子 VII。两者都能启动一系列连锁反应，并在凝血因子 X 处汇合，最后都导致凝血酶原的激活及纤维蛋白的形成。

- 近年来，肝素、阿司匹林、华法令抗栓治疗在临床上得到了广泛的应用。其中，华法令抑制了凝血因子 VII, IX, X 和凝血酶原的翻译后修饰成熟，从而有效阻止动脉和静脉中的血栓形成。但是华法令的使用有相当大的限制。使用华法令
30 的病人需要监测和剂量调整。而且华法令起效慢，和其他药物以及日常饮食会有相互作用，影响药效。肝素也是抗血栓治疗中的主要药物。但是普通肝素口服不吸收，注射使用不方便。因此，更有效的口服的抗血栓的药物在中国会有很大的市场需求。

- 凝血因子 X 是个抗血栓治疗比较好的靶点。第一，凝血因子 X 是处于凝血级
35 联放大反应中凝血酶的上游，一个凝血因子 X 的分子能够激活上百个凝血酶分子。因为从理论上来讲，抑制凝血因子 X 比直接抑制凝血酶会更有效。第二抑制凝血

因子 X 不会影响已经被激活的凝血酶。可逆的凝血因子 X 抑制剂也有可能不会完全抑制凝血酶的产生。而小量的凝血酶就可以激活血小板支持止血过程。因为抑制凝血因子 X 有可能比直接的凝血酶抑制剂会有相对小的出血不止的副作用。这点在动物模型中也得到了证实。第三，非直接的凝血因子 X fondaparinux 已经在临床上获得了成功了，证明抑制凝血因子确实是抗血栓的有效手段。

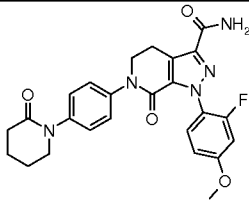
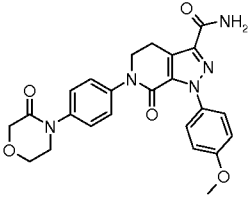
目前公开了一系列的 Factor Xa 抑制剂的专利申请，其中包括 WO2001047919、WO2008006479、WO2007137801 或 WO2006047528 等。另外国外市场上有已有数种凝血因子 X 抑制剂，包括拜耳公司的 Rivaroxaban，百时美施贵宝公司的 Apixaban 等。其中 Apixaban 是由 BMS 和 Pfizer 共同合作开发，是继 Rivaroxaban 后另一个口服直接 Xa 因子抑制剂，用于预防成人择期全髋或全膝关节置换术后静脉血栓，在欧盟已于 2011 年 7 月上市。

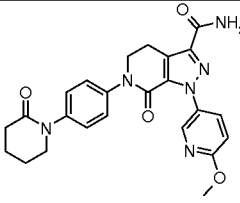
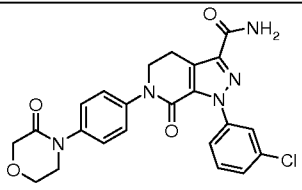
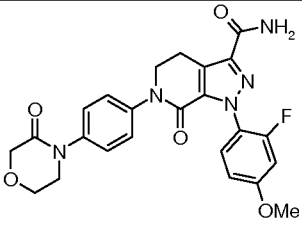
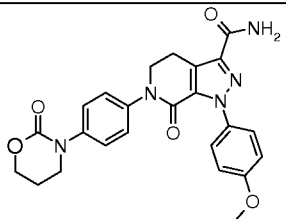
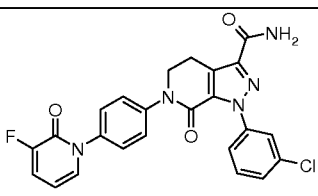
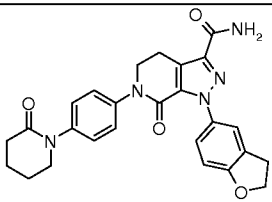
尽管目前已公开了一系列的抗血栓作用的 Factor Xa 抑制剂，但仍需要开发新的具有更好的药效的化合物，经过不断努力，本发明设计了一系列新的化合物，并发现这些化合物表现出优异的效果和作用。尤其是本发明提供了对体外人血小板凝集的抑制作用更强，活性更好，潜在毒性更小的化合物。

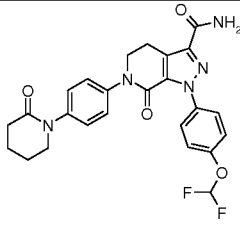
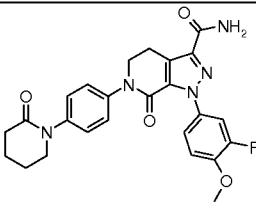
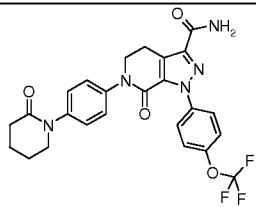
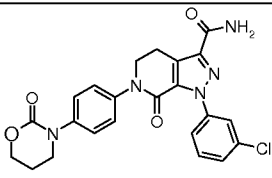
发明内容

本发明的目的在于提供如表 1 所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体及其混合物形式、及其可药用的盐：

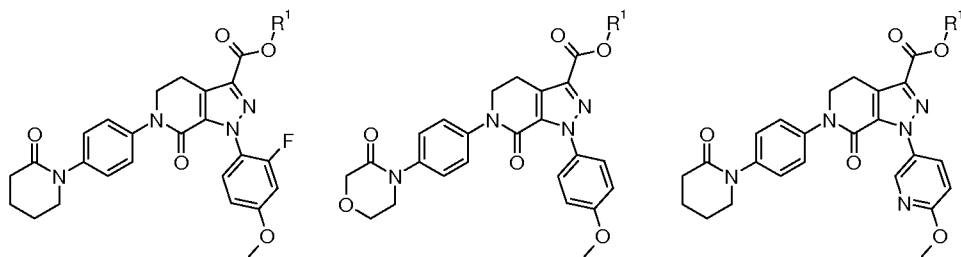
表 1

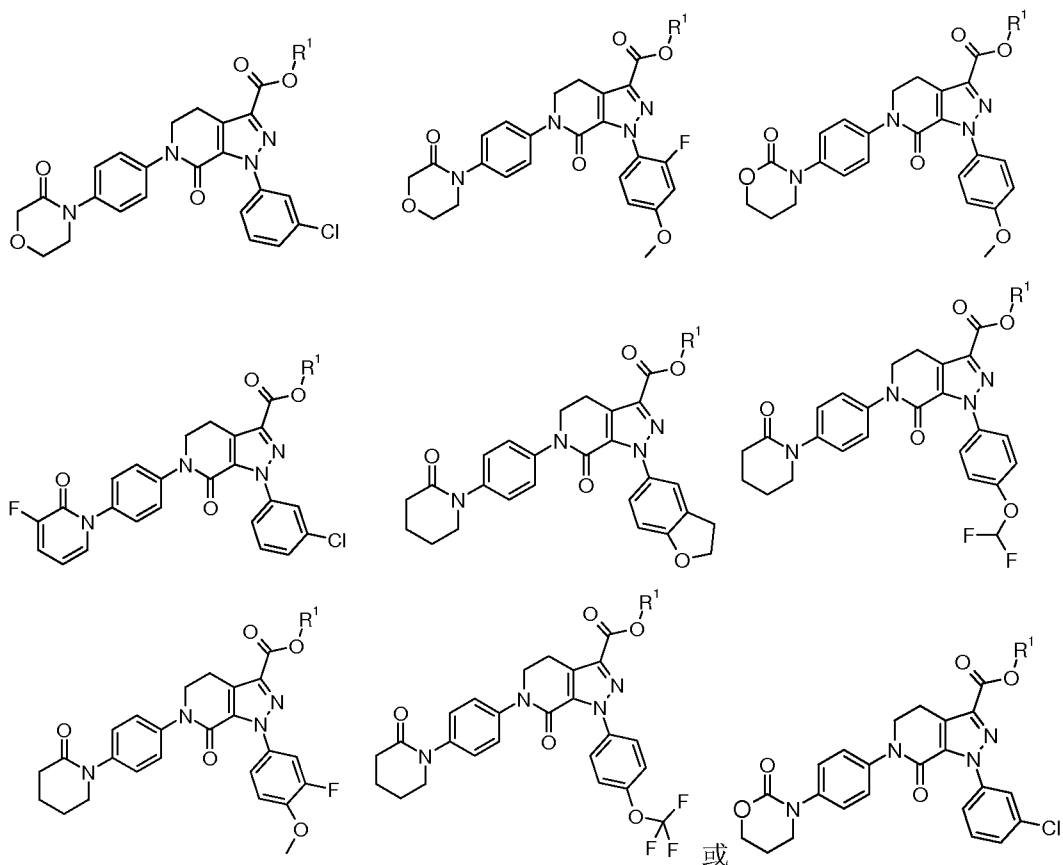
实施例编号	化合物结构与命名
1	 1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羧基-6-(4-(2-羧基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺
2	 1-(4-甲氧基苯基)-7-羧基-6-(4-(3-羧基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺

3	 1-(6-甲氧基吡啶-3-基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺
4	 1-(3-氯苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺
5	 1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺
6	 1-(4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺
7	 1-(3-氯苯基)-6-(4-(3-氟-2-羰基吡啶-1(2H)-基)苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺
8	 1-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺

9	 1-(4-(二氟甲氧基)苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基吡啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡啶并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺
10	 1-(3-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基吡啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡啶并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺
11	 7-羰基-6-(4-(2-羰基吡啶-1-基)苯基)-1-(4-(三氟甲氧基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡啶并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺
12	 1-(3-氯苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基-1,3-噁唑-3-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡啶并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺

本发明还涉及如下所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其混合物形式、及其可药用的盐：





5 这些化合物可作为合成表 1 中对应化合物的中间体，其中： R^1 为烷基；优选 C_{1-6} 烷基，更优选 C_{1-4} 烷基，最优选为乙基。

进一步，本发明的另一方面涉及一种药物组合物，其含有治疗有效剂量的表 1 所示化合物或其互变异构体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、混合物形式、及其可药用的盐和其可药用的载体、稀释剂或赋形剂。

10 本发明的另一方面涉及表 1 所示的化合物或其互变异构体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、混合物形式、及其可药用的盐，或包含其的药物组合物在制备预防和/或治疗血栓栓塞性疾病的用途。其中所述的疾病选自心梗、心绞痛、血管成型术或主动脉冠状动脉分流术后的再阻塞和再狭窄、中风、短暂的局部缺血发作、周围动脉闭塞性疾病、肺栓塞或深部静脉血栓形成。

15 本发明的另一方面涉及表 1 所示的化合物或其互变异构体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、混合物形式、及其可药用的盐，或包含其的药物组合物在制备预防和/或治疗通过抑制因子 Xa 正性影响的疾病的药物中的用途。

本发明的另一方面涉及表 1 所示的化合物或其互变异构体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、混合物形式、及其可药用的盐，或包含其的药物组合物在制备治疗弥散性血管内凝血的药物中的用途。

20 本发明的另一方面涉及表 1 所示的化合物或其互变异构体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、混合物形式、及其可药用的盐，或包含其的药物组合物在制备抑制因子 Xa 的药物中的用途。

本发明的另一方面涉及一种调控抑制因子 Xa 活性，优选抑制抑制因子 Xa 活性的方法，该方法包括给予所需患者治疗有效量的表 1 所示的化合物或其互变异构体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、混合物形式、及其可药用盐，或包含其的药物组合物。

- 5 本发明的另一方面涉及一种治疗或预防制备预防和/或治疗血栓栓塞性疾病的方法，该方法包括给予需要治疗的患者有效治疗量的表 1 所示的化合物或其互变异构体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、混合物形式、及其可药用的盐，或包含其的药物组合物。其中所述的疾病选自心急梗塞、心绞痛、血管成型术或
10 主动脉冠状动脉分流术后的再阻塞和再狭窄、中风、短暂的局部缺血发作、周围动脉闭塞性疾病、肺栓塞或深部静脉血栓形成。

本发明的另一方面涉及一种在制备预防和/或治疗通过抑制因子 Xa 正性影响的疾病的方法，该方法包括给予需要治疗的患者有效治疗量的表 1 所示的化合物或其互变异构体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、混合物形式、及其可药用的盐，或包含其的药物组合物。

- 15 本发明的另一方面涉及一种制备治疗弥散性血管内凝血疾病的方法，该方法包括给予需要治疗的患者有效治疗量的表 1 所示的化合物或其互变异构体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、混合物形式、及其可药用的盐，或包含其的药物组合物。

20 发明的详细说明

除非有相反陈述，否则下列用在说明书和权利要求书中的术语具有下述含义。

- “烷基”指饱和的脂族烃基团，包括 1 至 20 个碳原子的直链和支链基团。优选含有 1 至 10 个碳原子的烷基，更优选含有 1 至 6 个碳原子的烷基。非限制性实施例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊
25 基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基
30 戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2,3-二甲基己基、2,4-二甲基己基、2,5-二甲基己基、2,2-二甲基己基、3,3-二甲基己基、4,4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基、正壬基、2-甲基-2-乙基己基、2-甲基-3-乙基己基、2,2-二乙基戊基、正癸基、3,3-二乙基己基、2,2-二乙基己基，及其各种支链异构体等。更优选的是含有 1 至 6 个碳原子的低级烷基，非限制性实施例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁
35 基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基

丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基等。烷基可以是取代的或未取代的，当被取代时，取代基可以在任何可使用的连接点上被取代，优选为一个或多个以下基团，独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、硫醇、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氧代。

“任选”或“任选地”意味着随后所描述地事件或环境可以但不必发生，该说明包括该事件或环境发生或不发生地场合。例如，“任选被烷基取代的杂环基团”意味着烷基可以但不必须存在，该说明包括杂环基团被烷基取代的情形和杂环基团不被烷基取代的情形。

“取代的”指基团中的一个或多个氢原子，优选为最多 5 个，更优选为 1~3 个氢原子彼此独立地被相应数目的取代基取代。不言而喻，取代基仅处在它们的可能的化学位置，本领域技术人员能够在不付出过多努力的情况下确定(通过实验或理论)可能或不可能的取代。例如，具有游离氢的氨基或羟基与具有不饱和(如烯属)键的碳原子结合时可能是不稳定的。

“药物组合物”表示含有一种或多种本文所述化合物或其生理学上/可药用的盐或前体药物与其他化学组分的混合物，以及其他组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

附图说明

图 1 表示本发明实施例 1 化合物与 APIXABAN 的 APTT 参数对比。

图 2 表示本发明实施例 1 化合物与 APIXABAN 的 PT 参数对比。

具体实施方式

实施例

化合物的结构是通过核磁共振(^1H NMR)和/或质谱(MS)来确定的。 ^1H NMR 位移(δ)以百万分之一(ppm)的单位给出。 ^1H NMR 的测定是用 Bruker AVANCE-400 核磁仪，测定溶剂为氘代甲醇(CD_3OD)、氘代氯仿(CDCl_3)，六氘代二甲基亚砷($\text{DMSO}-d_6$)，内标为四甲基硅烷(TMS)。

MS 的测定用 FINNIGAN LCQAd (ESI)质谱仪(生产商: Thermo, 型号: Finnigan LCQ advantage MAX)。

HPLC 的测定使用安捷伦 1200DAD 高压液相色谱仪(Sunfire C18 150×4.6mm 色谱柱)和 Waters 2695-2996 高压液相色谱仪(Gimini C18 150×4.6mm 色谱柱)。

IC_{50} 值的测定用 NovoStar 酶标仪(德国 BMG 公司)。

薄层层析硅胶板使用烟台黄海 HSGF254 或青岛 GF254 硅胶板, 薄层色谱法 (TLC) 使用的硅胶板采用的规格是 0.15 mm~0.2 mm, 薄层层析分离纯化产品采用的规格是 0.4 mm~0.5 mm。

硅胶柱一般使用烟台黄海硅胶 200~300 目硅胶为载体。

5 碱性氧化铝柱一般使用国药层析用 FCP200~300 目碱性氧化铝为载体。

本发明的已知的起始原料可以采用或按照本领域已知的方法来合成, 或可以于 ABCR GmbH & Co. KG, Acros Organics, Aldrich Chemical Company, 韶远化学科技 (Accela ChemBio Inc) 和达瑞化学品等公司处购买。

实施例 1 中无特殊说明, 反应均在氮气或氩气氛下进行。

10 氩气氛或氮气气氛是指反应瓶连接一个约 1 L 容积的氩气或氮气气球。

氢气气氛是指反应瓶连接一个约 1 L 容积的氢气气球。

加压氢化反应使用 Parr 3916EKX 型氢化仪和清蓝 QL-500 型氢气发生器或 HC2-SS 型氢化仪。

氢化反应通常抽真空, 充入氢气, 反复操作 3 次。

15 实施例 1 中无特殊说明, 溶液是指水溶液。

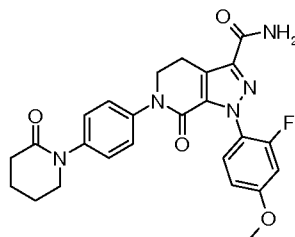
实施例 1 中无特殊说明, 反应的温度为室温, 为 20°C~30°C。

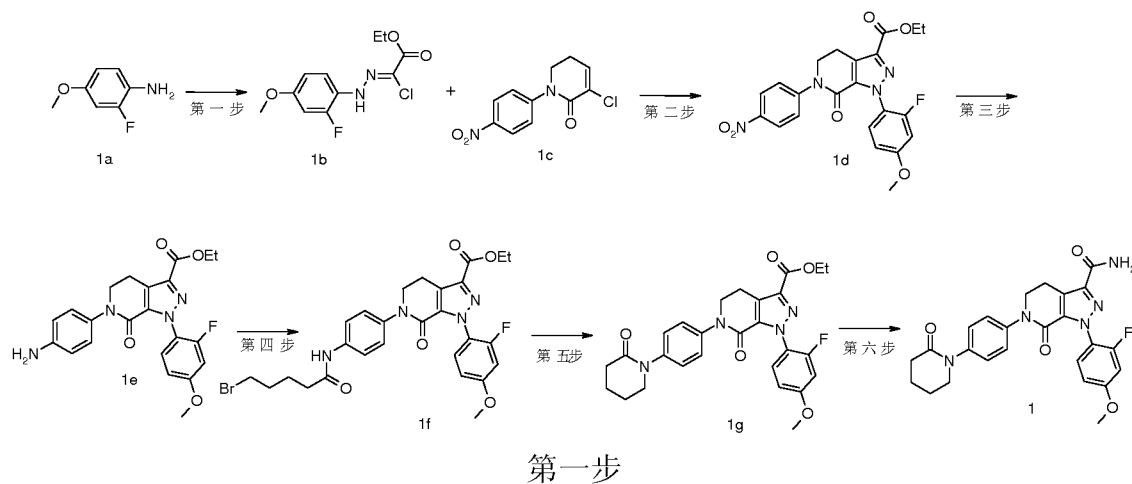
实施例 1 中的反应进程的监测采用薄层色谱法 (TLC), 反应所使用的展开剂的体系有: 二氯甲烷和甲醇体系, 正己烷和乙酸乙酯体系, 石油醚和乙酸乙酯体系, 丙酮, 溶剂的体积比根据化合物的极性不同而进行调节。

20 纯化化合物采用的柱层析的洗脱剂的体系和薄层色谱法的展开剂的体系包括: A: 二氯甲烷和甲醇体系, B: 正己烷和乙酸乙酯体系, C: 二氯甲烷和丙酮体系, D: 甲醇, E: 石油醚和乙酸乙酯, F: 乙酸乙酯和甲醇, 溶剂的体积比根据化合物的极性不同而进行调节, 也可以加入少量的三乙胺等碱性或醋酸等酸性试剂进行调节。

25 实施例 1

1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并 [3,4-c] 吡啶-3-甲酰胺





第一步

2-氯-2-(2-(2-氟-4-甲氧基苯基)亚肼基)乙酸乙酯

将 2-氟-4-甲氧基苯胺 1a (10.20 g, 72.30 mmol) 加入 30 mL 水中, 0℃ 下, 缓慢滴加 18 mL 浓盐酸和 12.7 mL 40% 的亚硝酸钠水溶液, 0℃ 搅拌反应 1.5 小时, 0℃ 保存为备用液 1。将 2-氯乙酰乙酸乙酯 (12.90 g, 78.80 mmol) 和醋酸钠 (11.80 g, 144.60 mmol) 加入 50 mL 丙酮和水 (V/V=2: 3) 的混合溶液中, 0℃ 滴加备用液 1, 滴毕, 0℃ 搅拌反应 1 小时, 0℃ 静置 12 小时。向反应液中加入 200 mL 二氯甲烷和 20 mL 甲醇, 冰水浴下, 搅拌反应 3 小时, 升至室温, 搅拌反应 20 小时, 分液, 水相用 200 mL 二氯甲烷萃取, 合并有机相, 依次用水 (150 mL) 和饱和氯化钠溶液 (150 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到标题产物 2-氯-2-(2-(2-氟-4-甲氧基苯基)亚肼基)乙酸乙酯 1b (20.10 g, 黄色固体), 产率: 100%。

第二步

1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-6-(4-硝基苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

将 3-氯-1-(4-硝基苯基)-5,6-二氢吡啶-2(1H)-酮 1c (9 g, 36 mmol, 采用公知的方法 “*Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, 2011, 54(8), 418-425” 制备而得) 和 2-氯-2-(2-(2-氟-4-甲氧基苯基)亚肼基)乙酸乙酯 1b (9.75 g, 36 mmol) 溶解于 150 mL 甲苯中, 加入三乙胺 (11 g, 107 mmol), 90℃ 搅拌反应 12 小时。向反应液中加入 200 mL 二氯甲烷和 200 mL 水, 分液, 水相用二氯甲烷 (200 mL × 3) 萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液 (200 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到标题产物 1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-6-(4-硝基苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 1d (8.40 g, 淡黄色固体), 产率: 51%。

第三步

6-(4-氨基苯基)-1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

将 1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-6-(4-硝基苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 1d (6 g, 13.20 mmol) 溶解于 120 mL 甲醇中, 加入 10% 钯碳 (1.20 g, 20%), 氢气置换三次, 搅拌反应 1 小时。过滤, 滤液减压浓缩, 得到标题产物 6-(4-

氨基苯基)-1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 1e (5.30 g, 黄色固体), 产率: 94.6%。

第四步

5 6-(4-(5-溴戊酰胺)苯基)-1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯

将 6-(4-氨基苯基)-1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 1e (5.30 g, 12.50 mmol)和三乙胺(3.80 g, 37.50 mmol)溶解于 100 mL 二氯甲烷中, 0℃滴加 10 mL 5-溴戊酰氯(3.20 g, 16.20 mmol)的二氯甲烷溶液, 滴毕, 升至室温, 搅拌反应 3 小时。向反应液中加入 50 mL 水, 用二氯甲烷(50 mL
10 ×3)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(50 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩用过滤, 得到标题产物 6-(4-(5-溴戊酰胺)苯基)-1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 1f (7.35 g, 油状物), 产率: 100%。

第五步

15 1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯

将 6-(4-(5-溴戊酰胺)苯基)-1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 1f (7.35 g, 12.50 mmol)溶解于 100 mL 四氢呋喃中, 0℃下加入叔丁醇钾(1.70 g, 15 mmol), 升至室温, 搅拌反应 1 小时。向反应液中加入 50 mL 饱和氯化铵溶液, 用乙酸乙酯(50 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(50 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 B 纯化所得残余物, 得到标题产物 1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 1g (3.90 g, 黄色固体), 产率: 61.9%。

第六步

25 1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺

将 1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 1g (2.50 g, 5 mmol)溶解于 60 mL 甲酰胺和 *N,N*-二甲基甲酰胺(V/V=1:5)中, 50℃下加入 5 mL 原甲酸三甲酯和三氟乙酸(0.10 g, 1 mmol), 50℃搅拌反应 30 分钟, 加入 5 mL 甲醇钠(2.70 g, 25 mmol)的甲醇溶液, 50℃搅拌反应 1.5 小时。向反应液中加入 150 mL 水, 用二氯甲烷(200 mL×2)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(100 mL×3)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题产物 1-(2-
30 氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺 1 (1.70 g, 黄色固体), 产率 70.8%。

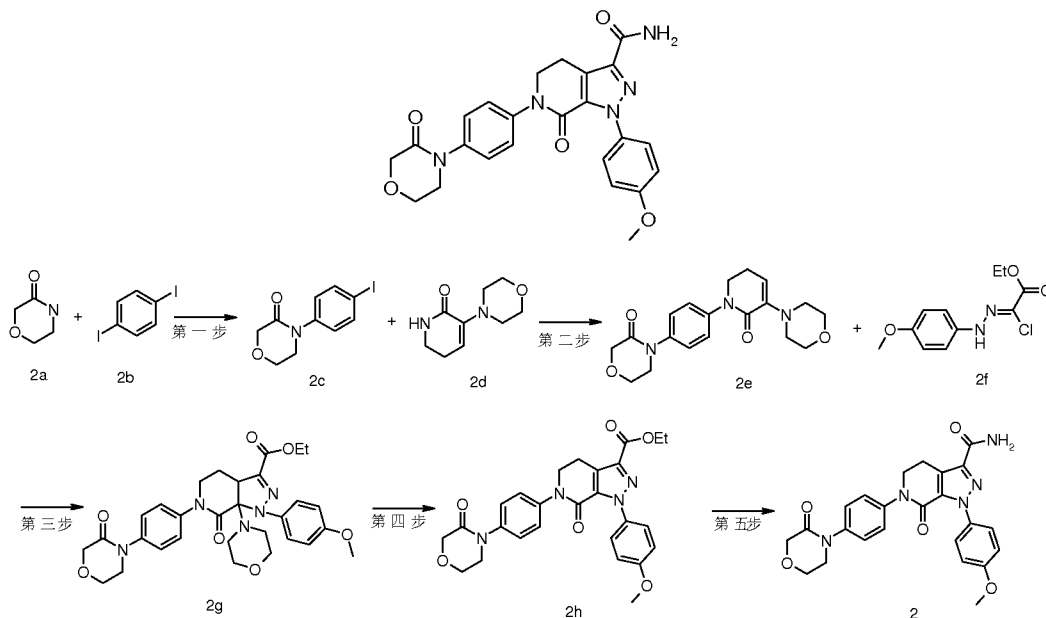
MS m/z (ESI): 478.4 $[M+1]$

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.39 (t, 1H), 7.34 (d, 2H), 7.24-7.26 (m, 2H), 6.82 (s, 1H), 6.71-6.78 (m, 2H), 5.43 (s, 1H), 4.13 (t, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.57-3.62 (m, 2H), 3.38 (t, 2H), 2.55-2.60 (m, 2H), 1.91-1.96 (m, 4H).

5

实施例 2

1-(4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡啶并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺



10

第一步

4-(4-碘苯)吗啉-3-酮

将吗啉-3-酮2a (0.46 g, 4.99 mmol, 采用公知的方法文献 “*Chemical Communications (Cambridge, United Kingdom), 2012, 48(1), 145-147*” 制备而得)

15 和1,4-二碘苯2b (3 g, 9.09 mmol)溶解于5 mL二氧六环中, 依次加入碘化亚酮(0.04 g, 0.23 mmol)、碳酸铯(4.44 g, 13.60 mmol)和 N,N' -二甲基乙二胺(0.08 g, 0.91 mmol), 90℃搅拌反应12小时。过滤, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系B纯化所得残余物, 得到标题产物4-(4-碘苯)吗啉-3-酮2c (0.80 g, 淡黄色固体), 产率: 30%。

第二步

4-(4-(3-吗啉-2-羰基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-基)苯基)吗啉-3-酮

20 将 3-吗啉-5,6-二氢吡啶-2(1H)-酮 2d (419 mg, 2.31 mmol, 采用 “专利申请 WO2004083177” 公开的方法制备而得)和 4-(4-碘苯)吗啉-3-酮 2c (700 mg, 2.31 mmol)溶解于 10 mL 二氧六环中, 依次加入碘化亚酮(21.90 mg, 0.12 mmol)、碳酸铯(2.20 g, 6.90 mmol)和 N,N' -二甲基乙二胺(40 mg, 0.46 mmol), 回流反应 40 小时。

25 过滤, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题产物 4-(4-(3-吗啉-2-羰基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-基)苯基)吗啉-3-酮 2e (370 mg, 黄色固体), 产率: 36.5%。

第三步

1-(4-甲氧基苯基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

将4-(4-(3-吗啉-2-羰基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-基)苯基)吗啉-3-酮2e (357 mg, 1 mmol)和(Z)-2-氯-2-(2-(4-甲氧基苯基)亚肼基)乙酸乙酯2f (256 mg, 1 mmol, 采用公知的方法“*Synthesis*, 2011(2d), (11), 1799-1803”制备而得)溶解于20 mL乙酸乙酯中, 加入三乙胺(505 mg, 5 mmol), 回流反应4小时, 60℃搅拌反应12小时。向反应液加入20 mL水, 用乙酸乙酯(30 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(30 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系B纯化所得残余物, 得到标题产物1-(4-甲氧基苯基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯2g (370 mg, 黄色固体), 产率: 64.1%。

第四步

1-(4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

将1-(4-甲氧基苯基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯2g (200 mg, 0.35 mmol)溶解于5 mL四氢呋喃中, 加入0.9 mL 4 M 盐酸, 0℃搅拌反应4小时。滴加饱和碳酸氢钠溶液至反应液pH为8~9, 用二氯甲烷(30 mL×2)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(30 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到标题产物1-(4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯2h (200 mg, 黄色固体), 产率: 100%。

第五步

1-(4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺

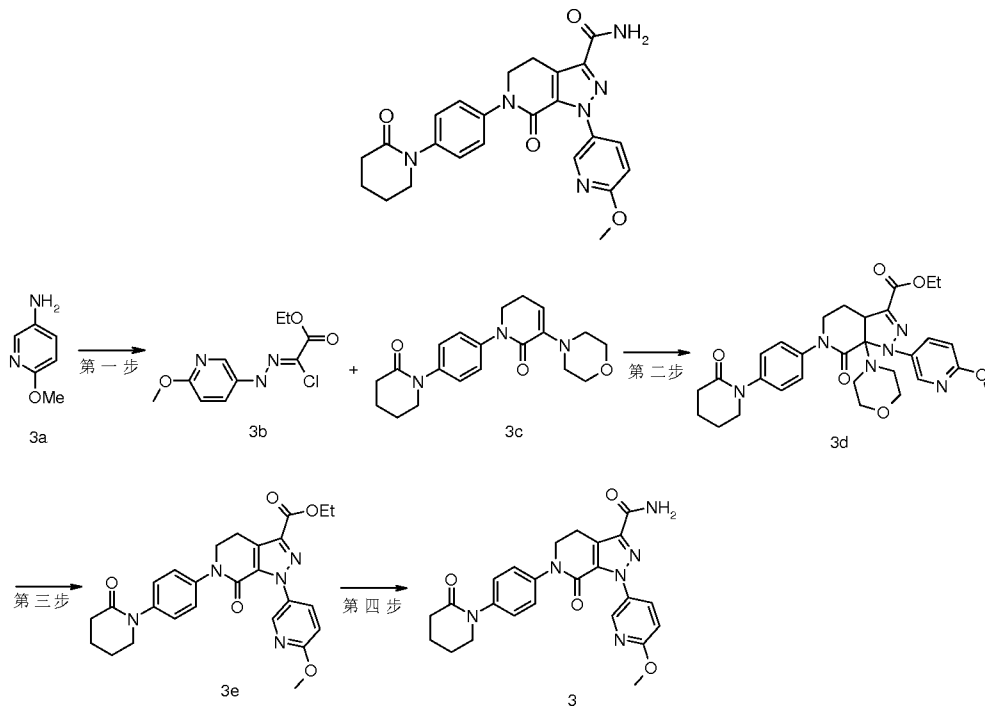
将1-(4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯2h (200 mg, 0.35 mmol)溶解于10 mL N,N-二甲基甲酰胺中, 依次加入2 mL 甲酰胺, 2 mL 原甲酸三甲酯和6 μL 三氟乙酸, 50℃搅拌反应30分钟。加入6 mL 甲醇钠(189 mg, 3.50 mmol)的甲醇溶液, 50℃搅拌反应5小时。将反应液倒入10 mL水中, 用二氯甲烷(20 mL×2)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用薄层色谱法以展开剂体系A纯化所得残余物, 得到标题产物1-(4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺2 (40 mg, 黄色固体), 产率: 25%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.48 (d, 2H), 7.33-7.39 (m, 4H), 6.94 (d, 2H), 6.84 (s, 1H), 5.45 (s, 1H), 4.34 (s, 2H), 4.12 (t, 2H), 4.03 (t, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.73 (t, 2H), 3.39

(t, 2H).

实施例 3

1-(6-甲氧基吡啶-3-基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并
[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺



第一步

(*Z*)-2-氯-2-(2-(6-甲氧基吡啶-3-基)亚肼基)乙酸乙酯

3-吗啉-1-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-5,6-二氢吡啶-2(1*H*)-酮

将 6-甲氧基吡啶-3-胺 3a (2 g, 16 mmol) 加入 8 mL 水中, 0℃ 下, 缓慢滴加 3.9 mL 浓盐酸和 10 mL 亚硝酸钠(1.33 g, 19 mmol)的水溶液, 0℃ 搅拌反应 2 小时, 保存为备用液 1。将醋酸钠(3.03 g, 37 mmol)溶解于 20 mL 水中, 加入 16 mL 丙酮和 2-氯乙酰乙酸乙酯(2.65 g, 16 mmol), 0℃ 滴加备用液 1, 滴毕, 0℃ 搅拌反应 3 小时, 加入 100 mL 二氯甲烷静置 12 小时。分液, 水相用二氯甲烷(200 mL×3)萃取, 合并有机相, 依次用水(150 mL)和饱和氯化钠溶液(150 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 B 纯化所得残余物, 得到标题产物(*Z*)-2-氯-2-(2-(6-甲氧基吡啶-3-基)亚肼基)乙酸乙酯 3b (3.40 g, 黄色固体), 产率: 72.3%。

第二步

1-(6-甲氧基吗啉-3-基)-7*a*-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-3*a*,4,5,6,7,7*a*-六氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯

将(*Z*)-2-氯-2-(2-(6-甲氧基吡啶-3-基)亚肼基)乙酸乙酯 3b (86.90 mg, 0.34 mmol) 和 3-吗啉-1-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-5,6-二氢吡啶-2(1*H*)-酮 3c (120 mg, 0.34 mmol), 采用“专利申请 WO2003049681”公开的方法制备而得)溶解于 10 mL 乙酸乙

酯中, 加入三乙胺(102.20 mg, 1.01 mmol), 回流反应22小时。反应液依次用水(10 mL)和饱和氯化钠溶液(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系A纯化所得残余物, 得到标题产物1-(6-甲氧基吗啉-3-基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯3d (100 mg, 无色油状物), 产率: 51%。

MS m/z (ESI): 577.3 [M+1]

第三步

1-(6-甲氧基吡啶-3-基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

10 将 1-(6-甲氧基吗啉-3-基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 3d (100 mg, 0.17 mmol)溶解于 5 mL 四氢呋喃中, 0℃下滴加 210 μ L 4M 盐酸, 搅拌反应 2 天。滴加饱和碳酸氢钠溶液至反应液 pH 为 7~8, 加入水(10 mL), 用二氯甲烷(15 mL $\times$ 3)萃取, 合并有机相, 依次用水(10 mL)和饱和氯化钠溶液(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到标题产物 1-(6-甲氧基吡啶-3-基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 3e (100 mg, 无色油状物), 产率: 100%。

MS m/z (ESI): 490.2 [M+1]

第四步

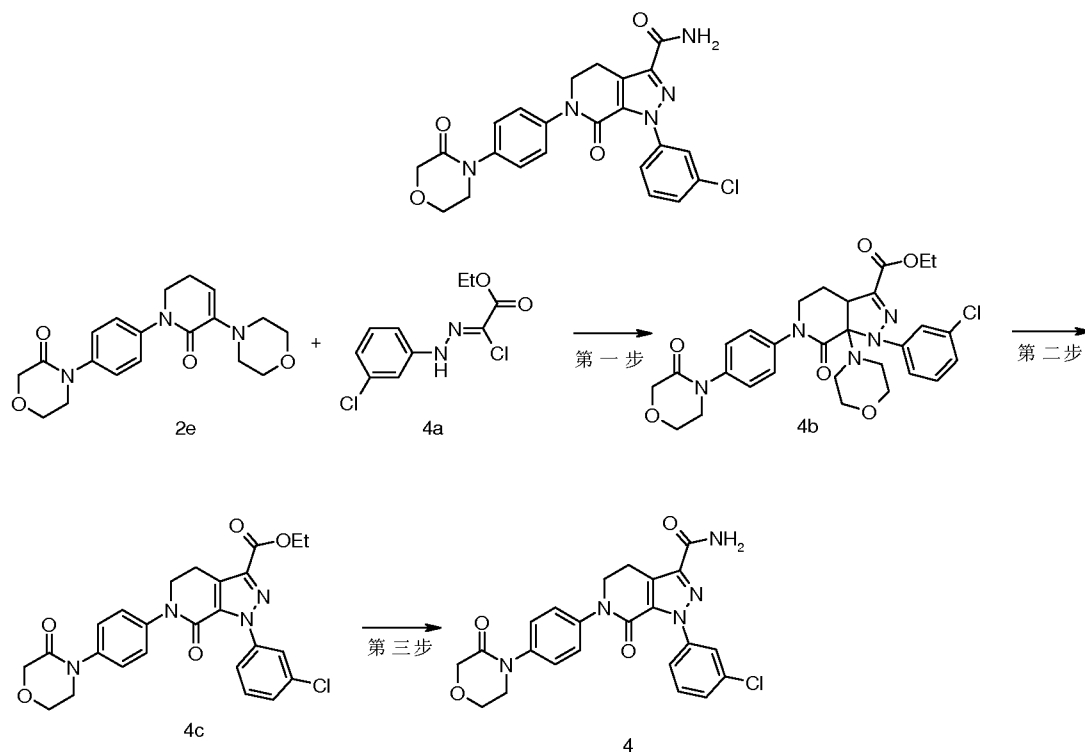
20 1-(6-甲氧基吡啶-3-基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺

将 1-(6-甲氧基吡啶-3-基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 3e (100 mg, 0.20 mmol)溶解于 3 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 依次加入 1 mL 甲酰胺, 1 mL 原甲酸三甲酯和 3 μ L 三氟乙酸, 50℃搅拌反应 30 分钟。加入 1.5 mL 甲醇钠(32 mg, 0.59 mmol)的甲醇溶液, 50℃搅拌反应 5 小时。将反应液倒入 10 mL 水中, 用二氯甲烷(15 mL $\times$ 3)萃取, 合并有机相, 依次用水(15 mL)和饱和氯化钠溶液(15 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用薄层色谱法以展开剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题产物 1-(6-甲氧基吡啶-3-基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺 3 (30 mg, 白色固体), 产率: 31.8%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.40 (d, 1H), 7.94 (dd, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.38 (d, 2H), 7.27 (d, 2H), 6.91 (d, 1H), 4.05 (t, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.58 (t, 2H), 3.21 (t, 2H), 2.38 (t, 2H), 1.78-1.90 (m, 4H).

35 实施例 4

1-(3-氯苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺



第一步

1-(3-氯苯基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

5

将 4-(4-(3-吗啉-2-羰基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-基)苯基)吗啉-3-酮 2e (300 mg, 0.84 mmol)和(Z)-2-氯-2-(2-(3-氯苯基)亚肼基)乙酸乙酯 4a (172 mg, 0.84 mmol, 采用公知的方法“*Synthesis*, 2011, (11), 1799-1803”制备而得)溶解于 20 mL 乙酸乙酯中, 加入三乙胺(424 mg, 4.20 mmol), 75℃搅拌反应 12 小时。向反应液加入 30 mL 水, 用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到标题产物 1-(3-氯苯基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 4b (489 mg, 淡黄色固体), 产率: 100%。

10

第二步

15 1-(3-氯苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

将 1-(3-氯苯基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 4b (489 mg, 0.84 mmol)溶解于 20 mL 四氢呋喃中, 加入 2.2 mL 4 M 盐酸, 0℃搅拌反应 2 小时, 0℃静置 48 小时。滴加饱和碳酸氢钠溶液至反应液 pH 为 8, 加入水(30 mL)和二氯甲烷(30 mL), 分液, 水相用二氯甲烷(30 mL×2)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(50 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题产物 1-(3-氯苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并

20

[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 4c (200 mg, 黄色固体), 产率: 100%。

第三步

1-(3-氯苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺

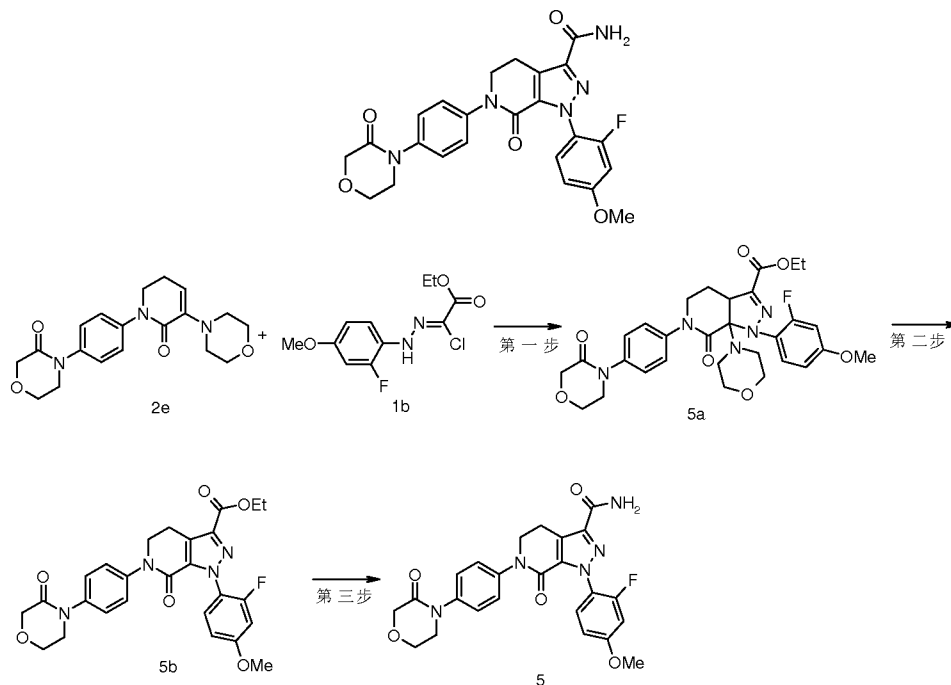
5 将 1-(3-氯苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 4c (150 mg, 0.30 mmol) 溶解于 10 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 依次加入 2.8 mL 甲酰胺, 1 mL 原甲酸三甲酯和 4.6 μ L 三氟乙酸, 50°C 搅拌反应 30 分钟。加入 1.2 mL 甲醇钠(160 mg, 2.96 mmol)的甲醇溶液, 50°C 搅拌反应 5 小时。将反应液倒入 20 mL 水中, 用二氯甲烷(20 mL $\times$ 2)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题产物 1-(3-氯苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺 4 (50 mg, 淡黄色固体), 产率: 35%。

15 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.61(dd, 1H), 7.49 (ddd, 1H), 7.34-7.41 (m, 6H), 6.84 (s, 1H), 5.51 (s, 1H), 4.34 (s, 2H), 4.14 (t, 2H), 4.03 (t, 2H), 3.74 (t, 2H), 3.40 (t, 2H).

实施例 5

1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺

20



第一步

1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7*a*-吗啉-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-3*a*,4,5,6,7,7*a*-六氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯

25 将 4-(4-(3-吗啉-2-羰基-5,6-二氢吡啶-1(2*H*)-基)苯基)吗啉-3-酮 2e (300 mg, 0.84

mmol)和 2-氯-2-(2-(2-氟-4-甲氧基苯基)亚肼基)乙酸乙酯 1b (231 mg, 0.84 mmol) 溶解于 20 mL 乙酸乙酯中, 加入三乙胺(424 mg, 4.20 mmol), 75℃搅拌反应 12 小时。向反应液加入 50 mL 水, 用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到标题产物

5 1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 5a (484 mg, 淡黄色固体), 产率: 97%

第二步

1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

10 将 1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 5a (500 mg, 0.86 mmol)溶解于 20 mL 四氢呋喃中, 0℃下加入 2.2 mL 4 M 盐酸, 0℃搅拌反应 2 小时, 0℃静置 48 小时。滴加饱和碳酸氢钠溶液至反应液 pH 为 8, 加入水(30 mL)和二氯甲烷(30 mL), 分液, 水相用二氯甲烷(30 mL×2)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液

15 液(50 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题产物 1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 5b(150 mg, 棕黄色固体), 产率: 34.4%。

第三步

20 1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺

将 1-(2-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 5b (140 mg, 0.28 mmol)溶解于 10 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 依次加入 2.8 mL 甲酰胺, 1 mL 原甲酸三甲酯和 4.2 μL 三氟乙酸, 50℃搅拌反应

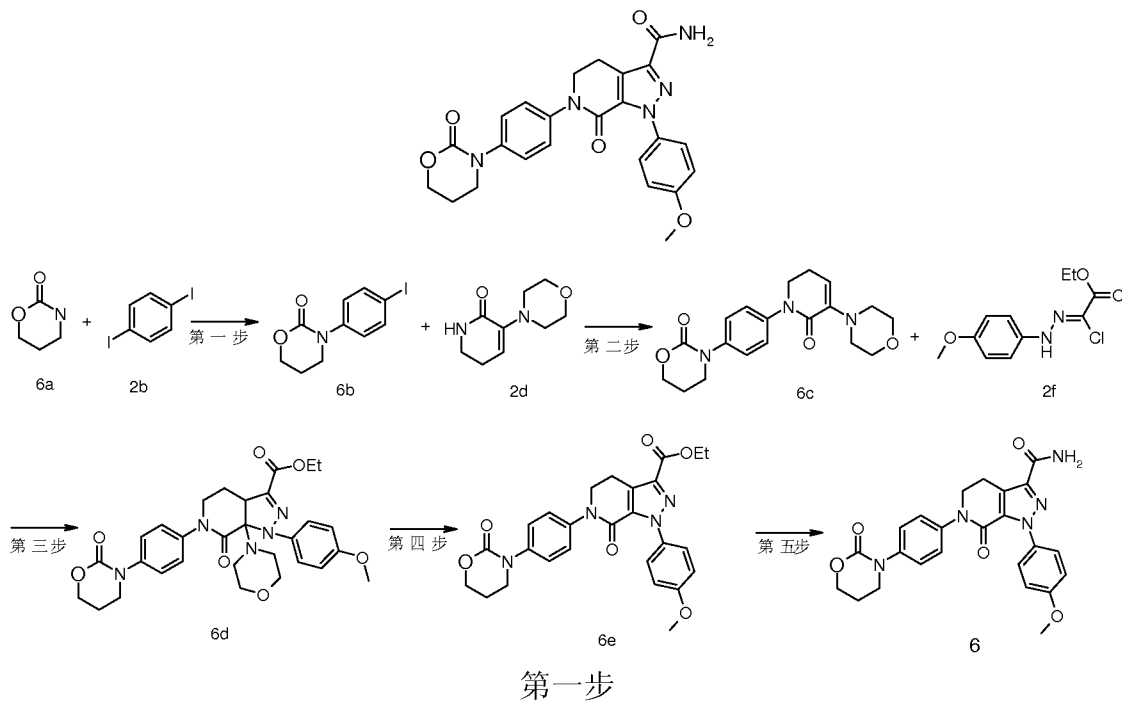
25 30 分钟。加入 1.2 mL 甲醇钠(160 mg, 2.76 mmol)的甲醇溶液, 50℃搅拌反应 5 小时。将反应液倒入 20 mL 水中, 用二氯甲烷(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题产物 1-(3-氯苯基)-7-羰基-6-(4-(3-羰基吗啉)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺 5 (80 mg, 棕黄色固体), 产率: 60%。

30

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.32-7.41(m, 5H), 6.78 (s, 1H), 6.71-6.76 (m, 2H), 5.47 (s, 1H), 4.33 (s, 2H), 4.13 (t, 2H), 4.02 (dd, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.72 (dd, 2H), 3.39 (t, 2H).

35 实施例 6

1-(4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺



第一步

3-(4-碘苯)-1,3-噁嗪-2-酮

5 将 1,3-噁嗪-2-酮 6a (300 mg, 2.97 mmol) 和 1,4-二碘苯 2b (1.47 g, 4.45 mmol) 溶解于 5 mL 二氧六环中, 依次加入碳酸钾(1.23 g, 8.91 mmol)、碘化亚酮(113 mg, 0.59 mmol)和 *N,N'*-二甲基乙二胺(0.12 g, 1.19 mmol), 102℃回流反应 16 小时。过滤, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 B 纯化所得残余物, 得到标题产物 3-(4-碘苯)-1,3-噁嗪-2-酮 6b (527 mg, 白色固体), 产率: 58.6%。

10 第二步

3-(4-(3-吗啉-2-羰基-5,6-二氢吡啶-1(2*H*)-基)苯基)-1,3-噁嗪-2-酮

将 3-(4-碘苯)-1,3-噁嗪-2-酮 6b (340 mg, 1.12 mmol) 和 3-吗啉-5,6-二氢吡啶-2(1*H*)-酮 2d (204 mg, 1.12 mmol) 溶解于 6 mL 甲苯中, 依次加入磷酸钾三水合物(600 mg, 2.24 mmol)、碘化亚酮(21.40 mg, 0.11 mmol)和反式-*N,N'*-二甲基-1,2-环己二胺(32 mg, 0.22 mmol), 110℃搅拌反应 5 小时。过滤, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题产物 3-(4-(3-吗啉-2-羰基-5,6-二氢吡啶-1(2*H*)-基)苯基)-1,3-噁嗪-2-酮 6c (350 mg, 墨绿色固体), 产率: 67.3%。

第三步

1-(4-甲氧基苯基)-7*a*-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-3*a*,4,5,6,7,7*a*-六氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯

20 将 3-(4-(3-吗啉-2-羰基-5,6-二氢吡啶-1(2*H*)-基)苯基)-1,3-噁嗪-2-酮 6c (300 mg, 0.84 mmol) 和 (*Z*)-2-氯-2-(2-(4-甲氧基苯基)亚肼基)乙酸乙酯 2f (216 mg, 0.84 mmol) 溶解于 8 mL 乙酸乙酯中, 加入三乙胺(254 mg, 2.52 mmol), 70℃搅拌反应 60 小时。向反应液加入 20 mL 水, 用乙酸乙酯(10 mL×3)萃取, 合并有机相, 依次用水(30 mL×2)和饱和氯化钠溶液(30 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压

25

浓缩，得到标题产物 1-(4-甲氧基苯基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 6d (400 mg, 黄色油状物)，产率：82.5%。

MS m/z (ESI): 578.4 [M+1]

5

第四步

1-(4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-((2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

将 1-(4-甲氧基苯基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 6d (400 mg, 0.69 mmol) 溶解于 5 mL 四氢呋喃中，0℃下加入 1.7 mL 4 M 盐酸，0℃搅拌反应 2 小时。滴加饱和碳酸氢钠溶液至反应液 pH 为 7~8，用二氯甲烷(10 mL×3)萃取，合并有机相，依次用水(20 mL)和饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩，用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物，得到标题产物 1-(4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-((2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 6e (240 mg, 黄色油状物)，产率：70.6%。

15

MS m/z (ESI): 491.4 [M+1]

第五步

1-(4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-((2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺

将 1-(4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-((2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 6e (227 mg, 0.46 mmol) 溶解于 4 mL N,N-二甲基甲酰胺中，依次加入 4.5 mL 甲酰胺，1 mL 原甲酸三甲酯和 6.8 μL 三氟乙酸，50℃搅拌反应 30 分钟。加入 1 mL 甲醇钠(250 mg, 2.30 mmol)的甲醇溶液，50℃搅拌反应 5 小时。将反应液倒入 30 mL 水中，用二氯甲烷(15 mL×3)萃取，合并有机相，依次用水(50 mL×2)和饱和氯化钠溶液(50 mL)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩，用 HPLC 制备柱纯化所得残余物，得到标题产物 1-(4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-((2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺 6 (90 mg, 浅黄色固体)，产率：42%。

20

25

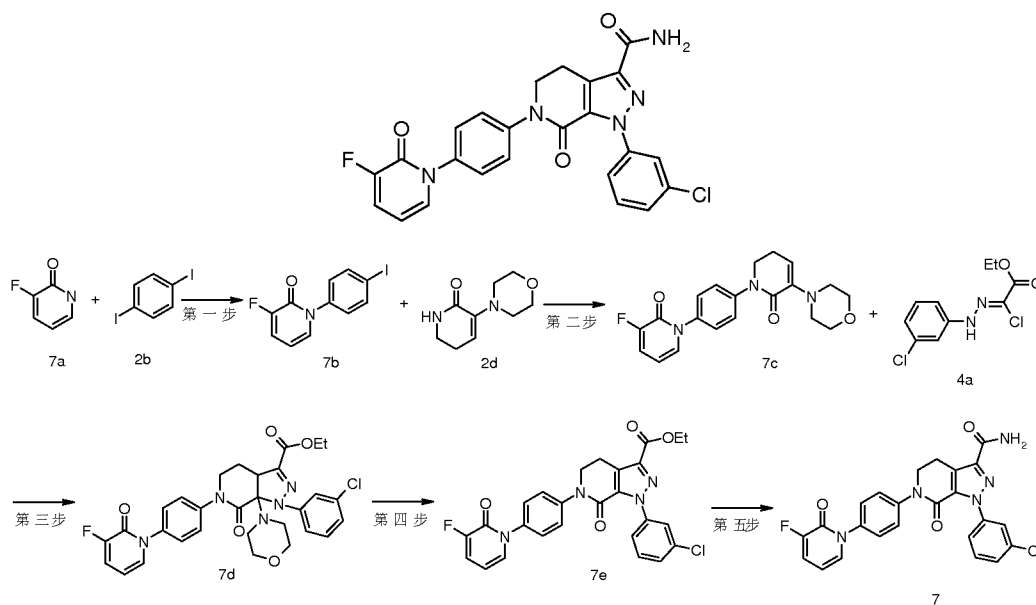
30

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.48 (dd, 2H), 7.34 (s, 4H), 6.94 (d, 2H), 6.85 (s, 1H), 5.45 (s, 1H), 4.42 (dd, 2H), 4.11 (t, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.69 (dd, 2H), 3.39 (t, 2H), 2.20 (t, 2H).

实施例 7

35

1-(3-氯苯基)-6-(4-(3-氟-2-羰基吡啶-1(2H)-基)苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺



第一步

3-氟-1-(4-碘苯)吡啶-2(1H)-酮

- 5 将3-氟吡啶-2(1H)-酮7a (710 mg, 6.28 mmol, 采用公知的方法文献
 “Heterocycles, 28(1), 249-58; 1989” 制备而得)和1,4-二碘苯2b (2.50 g, 7.50 mmol)
 溶解于30 mL二甲基亚砜中, 依次加入碳酸钾(4.29 g, 31.40 mmol)、碘化亚酮(0.24
 g, 1.26 mmol), 120℃搅拌反应12小时。向反应液中加入30 mL水和30 mL二氯甲
 烷, 分液, 水相用二氯甲烷(30 mL×5)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(80 mL)
 10 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系B纯
 化所得残余物, 得到标题产物3-氟-1-(4-碘苯)吡啶-2(1H)-酮7b (700 mg, 淡黄色固
 体), 产率: 35%。

第二步

3-氟-1-(4-(3-吗啉-2-羰基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-基)苯基)吡啶-2(1H)-酮

- 15 将 3-氟-1-(4-碘苯)吡啶-2(1H)-酮 7b (200 mg, 0.64 mmol)和 3-吗啉-5,6-二氢吡
 啶-2(1H)-酮 2d (116 mg, 0.64 mmol)溶解于 8 mL 二氧六环中, 依次加入 *N,N'*-二甲
 基乙二胺(13 mg, 0.13 mmol)、碳酸铯(620 mg, 1.91 mmol)和碘化亚酮(6 mg, 0.03
 mmol), 105℃搅拌反应 24 小时。将反应液降至室温, 过滤, 滤液减压浓缩, 用硅
 胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题产物 3-氟-1-(4-(3-吗啉-2-
 20 羰基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-基)苯基)吡啶-2(1H)-酮 7c (80 mg, 淡黄色油状物), 产率:
 34.1%。

第三步

1-(3-氯苯)-6-(4-(3-氟-2-羰基吡啶-1(2H)-基)苯基)-7a-吗啉-7-羰基-3a,4,5,6,7,7a-六 氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

- 25 将 3-氟-1-(4-(3-吗啉-2-羰基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-基)苯基)吡啶-2(1H)-酮 7c (80
 mg, 0.22 mmol)和(*Z*)-2-氯-2-(2-(3-氯苯基)亚肼基)乙酸乙酯 4a (115 mg, 0.44 mmol)

溶解于 15 mL 乙酸乙酯中, 加入三乙胺(222 mg, 2.20 mmol), 70℃搅拌反应 3 天。向反应液加入 10 mL 水, 用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到标题产 1-(3-氯苯)-6-(4-(3-氟-2-羰基吡啶-1(2H)-基)苯基)-7a-吗啉-7-羰基-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 7d (135 mg, 黄色固体), 产率: 100%。

第四步

1-(3-氯苯)-6-(4-(3-氟-2-羰基吡啶-1(2H)-基)苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

将 1-(3-氯苯)-6-(4-(3-氟-2-羰基吡啶-1(2H)-基)苯基)-7a-吗啉-7-羰基-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 7d (135 mg, 0.23 mmol)溶解于 10 mL 四氢呋喃中, 0℃加入 0.3 mL 4 M 盐酸, 0℃搅拌反应 4 小时, 0℃静置 12 小时, 升至室温搅拌反应 2 小时。滴加饱和碳酸氢钠溶液至反应液 pH 为 8, 用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(30 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到标题产物 1-(3-氯苯)-6-(4-(3-氟-2-羰基吡啶-1(2H)-基)苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 7e (89 mg, 黄色固体), 产率: 77%。

第五步

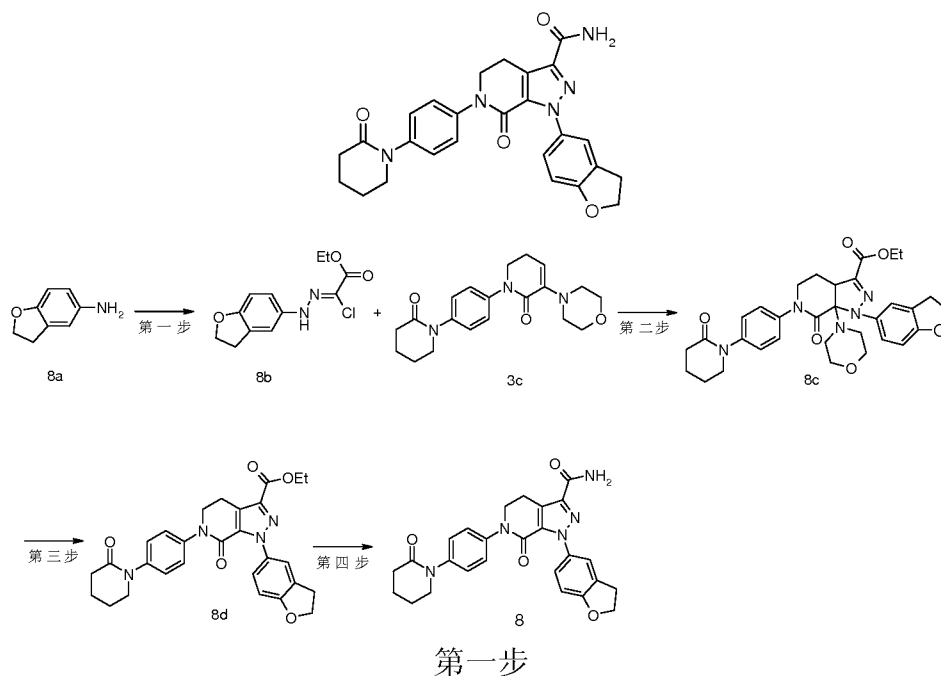
1-(3-氯苯)-6-(4-(3-氟-2-羰基吡啶-1(2H)-基)苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺

将 1-(3-氯苯)-6-(4-(3-氟-2-羰基吡啶-1(2H)-基)苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 7e (89 mg, 0.18 mmol)溶解于 8 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 依次加入 1 mL 甲酰胺, 1 mL 原甲酸三甲酯和 3 μL 三氟乙酸, 50℃搅拌反应 30 分钟。加入 5 mL 甲醇钠(48 mg, 0.88 mmol)的甲醇溶液, 50℃搅拌反应 2 小时。将反应液倒入 10 mL 水中, 用二氯甲烷(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用 HPLC 制备柱纯化所得残余物, 得到标题产物 1-(3-氯苯)-6-(4-(3-氟-2-羰基吡啶-1(2H)-基)苯基)-7-羰基-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺 7 (12 mg, 白色固体), 产率: 14.4%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.61 (s, 1H), 7.36-7.52 (m, 7H), 7.14-7.20 (m, 2H), 6.84 (s, 1H), 6.16-6.21 (m, 1H), 5.48 (s, 1H), 4.19 (t, 2H), 3.43 (t, 2H)。

实施例 8

1-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺



(Z)-2-氯-2-(2-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)亚肼基)乙酸乙酯

- 5 将 2,3-二氢苯并呋喃-5-胺 8a (2.20 g, 16.30 mmol, 采用专利申请“WO2003049702”公开的方法制备而得)加入 7 mL 水中, 0℃下, 缓慢滴加 4 mL 浓盐酸和 2.8 mL 40%的亚硝酸钠水溶液, 0℃搅拌反应 1 小时, 保存为备用液 1。将 2-氯乙酰乙酸乙酯(2.90 g, 17.80 mmol)和醋酸钠(2.70 g, 32.60 mmol)加入 13 mL 丙酮和水(V/V=6: 7)的混合溶液中, 0℃滴加备用液 1, 滴毕, 0℃搅拌反应 1 小时,
- 10 0℃静置 30 分钟。分液, 向有机相中加入 4 mL 甲醇, 0℃搅拌反应 5 小时, 过滤, 滤饼烘干, 得到标题产物(Z)-2-氯-2-(2-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)亚肼基)乙酸乙酯 8b (1.20 g, 黄色固体), 产率: 28%。

第二步

1-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯

- 15 基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

- 将(Z)-2-氯-2-(2-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)亚肼基)乙酸乙酯 8b (402 mg, 1.50 mmol)和 3-吗啉-1-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-5,6-二氢吡啶-2(1H)-酮 3c (355 mg, 1 mmol)溶解于 20 mL 乙酸乙酯中, 加入三乙胺(505 mg, 5 mmol), 68℃搅拌反应 3 天。将反应液降至室温, 加入 20 mL 水, 用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到标题产物 1-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 8c (630 mg, 黑色固体), 产率: 100%。

第三步

- 25 1-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

将 1-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 8c (630 mg, 1 mmol) 溶解于 20 mL 四氢呋喃中, 0°C 下滴加 1.25 mL 4*M* 盐酸, 0°C 搅拌反应 2 小时。滴加饱和碳酸氢钠溶液至反应液 pH 为 8, 用二氯甲烷(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(20 mL×2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 用硅胶柱色谱纯化以展开剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题产物 1-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 8d (330 mg, 无色油状物), 产率: 66%。

第四步

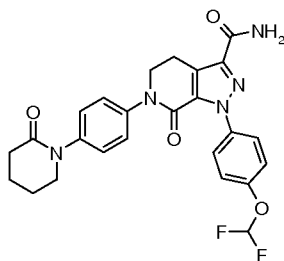
1-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺

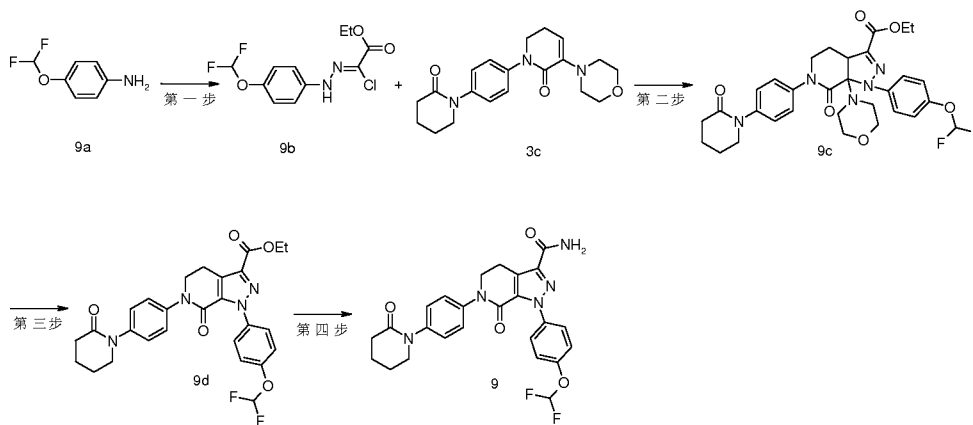
将 1-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 8d (330 mg, 0.66 mmol) 溶解于 20 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 依次加入 2 mL 甲酰胺, 2 mL 原甲酸三甲酯和 9 μL 三氟乙酸, 50°C 搅拌反应 30 分钟。加入 10 mL 甲醇钠(178 mg, 3.30 mmol)的甲醇溶液, 50°C 搅拌反应 2 小时。将反应液倒入 20 mL 水中, 用二氯甲烷(30 mL×3)萃取, 合并有机相, 依次用水(20 mL×2)和饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用 HPLC 制备柱纯化所得残余物, 得到标题产物 1-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺 8 (120 mg, 黄棕色固体), 产率: 38.6%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36 (s, 3H), 7.25-7.28 (m, 2H), 6.82-6.90 (m, 3H), 5.44 (s, 1H), 4.62 (t, 2H), 4.12 (t, 2H), 3.59-3.65 (m, 2H), 3.39 (t, 2H), 3.25 (t, 2H), 2.55-2.65 (m, 2H), 1.91-2.00 (m, 4H).

实施例 9

1-(4-(二氟甲氧基)苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺





第一步

(Z)-2-氯-2-(2-(4-(二氟甲氧基)苯基)亚肼基)乙酸乙酯

将 2,3-二氢苯并呋喃-5-胺 9a (4 g, 25.10 mmol, 购买于“上海瀚鸿化工科技有限公司”)加入 16 mL 水中, 0℃下, 缓慢滴加 6.1 mL 浓盐酸和 20 mL 亚硝酸钠(2.10 g, 30.10 mmol)的水溶液, 0℃搅拌反应 1.5 小时, 保存为备用液 1。将 2-氯乙酰乙酸乙酯(4.10 g, 25.10 mmol)和醋酸钠(4.74 g, 57.80 mmol)加入 72 mL 丙酮和水 (V/V=4: 5)的混合溶液中, 0℃滴加备用液 1, 滴毕, 0℃搅拌反应 3 小时。向反应液中加入 150 mL 二氯甲烷, 分液, 水相用二氯甲烷(150 mL×2)萃取, 合并有机相, 依次用水(150 mL)和饱和氯化钠溶液(150 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到标题产物(Z)-2-氯-2-(2-(4-(二氟甲氧基)苯基)亚肼基)乙酸乙酯 9b (5.70 g, 黄色固体), 产率: 78%。

MS m/z (ESI): 291.1 [M-1]

第二步

15 1-(4-(二氟甲氧基)苯基)-7*a*-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-3*a*,4,5,6,7,7*a*-
六氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯

将(Z)-2-氯-2-(2-(4-(二氟甲氧基)苯基)亚胍基)乙酸乙酯 9b (256 mg, 0.87 mmol) 和 3-吗啉-1-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-5,6-二氢吡啶-2(1*H*)-酮 3c (310 mg, 0.87 mmol)溶解于 5 mL 乙酸乙酯中, 加入三乙胺(264 mg, 2.61 mmol), 80℃搅拌反应 18 小时。将反应液降至室温, 加入 15 mL 水, 分液, 水相用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到标题产物 1-(4-(二氟甲氧基)苯基)-7*a*-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-3*a*,4,5,6,7,7*a*-六氢-1*H*-吡啶并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 9c (370 mg, 棕色油状物), 产率: 69%。

25 MS m/z (ESI): 612.3 [M+1]

第三步

1-(4-(二氟甲氧基)苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯

将 1-(4-(二氟甲氧基)苯基)-7*a*-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯

基)-3*a*,4,5,6,7,7*a*-六氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 9c (370 mg, 0.60 mmol)溶解于 15 mL 四氢呋喃中, 0℃下滴加 0.5 mL 4*M* 盐酸, 0℃搅拌反应 8 小时, 0℃静置三天。滴加饱和碳酸氢钠溶液至反应液 pH 为 8, 用二氯甲烷(15 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(15 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到标题产物 1-(4-(二氟甲氧基)苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 9d (360 mg, 棕黄色固体), 产率: 100%。

第四步

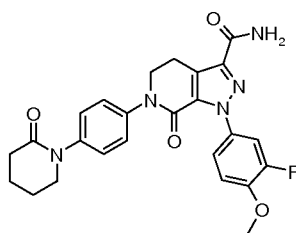
1-(4-(二氟甲氧基)苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺

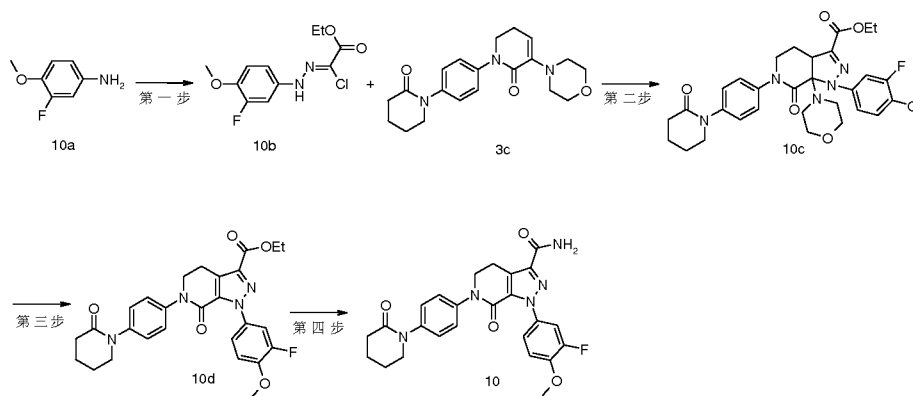
将 1-(4-(二氟甲氧基)苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 9d (317 mg, 0.60 mmol)溶解于 9 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 依次加入 2 mL 甲酰胺, 1 mL 原甲酸三甲酯和 3 μL 三氟乙酸, 50℃搅拌反应 30 分钟。加入 10 mL 甲醇钠(163 mg, 3.02 mmol)的甲醇溶液, 50℃搅拌反应 1.5 小时。将反应液倒入 20 mL 水中, 用二氯甲烷(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 依次用水(20 mL)和饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用 HPLC 制备柱纯化所得残余物, 得到标题产物 1-(4-(二氟甲氧基)苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺 9 (120 mg, 淡黄色固体), 产率: 40.1%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.75 (s, 1H), 7.66 (d, 2H), 7.48 (s, 1H), 7.35 (d, 2H), 7.31 (s, 1H), 7.25-7.30 (m, 4H), 4.06 (t, 2H), 3.59 (t, 2H), 3.20 (t, 2H), 2.38 (t, 2H), 1.81-1.89 (m, 4H).

实施例 10

1-(3-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺





第一步

(Z)-2-氯-2-(2-(3-氟-4-甲氧基苯基)亚肼基)乙酸乙酯

将 3-氟-4-甲氧基苯胺 10a (1.40 g, 10 mmol) 加入 10 mL 水中, 0℃ 下, 缓慢滴加 2.5 mL 浓盐酸和 1.8 mL 40% 的亚硝酸钠水溶液, 0℃ 搅拌反应 1.5 小时, 保存为备用液 1。将 2-氯乙酰乙酸乙酯 (1.89 g, 10.90 mmol) 和醋酸钠 (1.60 g, 20 mmol) 加入 10 mL 丙酮和水 (V/V=2: 3) 的混合溶液中, 0℃ 滴加备用液 1, 滴毕, 0℃ 搅拌反应 1.5 小时, 0℃ 静置 12 小时。向反应液中加入 50 mL 二氯甲烷, 分液, 水相用二氯甲烷 (50 mL × 2) 萃取, 合并有机相, 依次用水 (50 mL) 和饱和氯化钠溶液 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到标题产物 (Z)-2-氯-2-(2-(3-氟-4-甲氧基苯基)亚肼基)乙酸乙酯 10b (2.20 g, 黑色固体), 产率: 80.3%。

第二步

1-(3-氟-4-甲氧基苯基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

将 (Z)-2-氯-2-(2-(3-氟-4-甲氧基苯基)亚肼基)乙酸乙酯 10b (178 mg, 0.50 mmol) 和 3-吗啉-1-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-5,6-二氢吡啶-2(1H)-酮 3c (274 mg, 1 mmol) 溶解于 20 mL 乙酸乙酯中, 加入三乙胺 (1.01 g, 10 mmol), 80℃ 搅拌反应 3 小时, 70℃ 搅拌反应 12 小时。将反应液降至室温, 加入 20 mL 水, 分液, 水相用乙酸乙酯 (30 mL × 3) 萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液 (20 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到标题产物 1-(3-氟-4-甲氧基苯基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 10c (281 mg, 黑色固体), 产率: 94.6%。

第三步

1-(3-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

将 1-(3-氟-4-甲氧基苯基)-7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 10c (281 mg, 0.47 mmol) 溶解于 20 mL 四氢呋喃中, 0℃ 下滴加 1.2 mL 4M 盐酸, 0℃ 搅拌反应 3 小时, 0℃ 静置三天。滴加饱和碳酸氢钠溶液至反应液 pH 为 8, 用乙酸乙酯 (40 mL × 3) 萃取,

合并有机相,用饱和氯化钠溶液(40 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,得到标题产物 1-(3-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 10d (240 mg, 无色油状物), 产率: 100%。

第四步

5

1-(3-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺

将 1-(3-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 10d (230 mg, 0.45 mmol) 溶解于 6 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 依次加入 2 mL 甲酰胺, 1 mL 原甲酸三甲酯和 3 μ L 三氟乙酸, 50 $^{\circ}$ C 搅拌反应 30 分钟。加入 10 mL 甲醇钠(122 mg, 2.27 mmol)的甲醇溶液, 50 $^{\circ}$ C 搅拌反应 1.5 小时。将反应液倒入 20 mL 水中, 用二氯甲烷(15 mL $\times$ 4)萃取, 合并有机相, 依次用水(20 mL)和饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用 HPLC 制备柱纯化所得残余物, 得到标题产物 1-(3-氟-4-甲氧基苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺 10 (80 mg, 黄色固体), 产率: 37%。

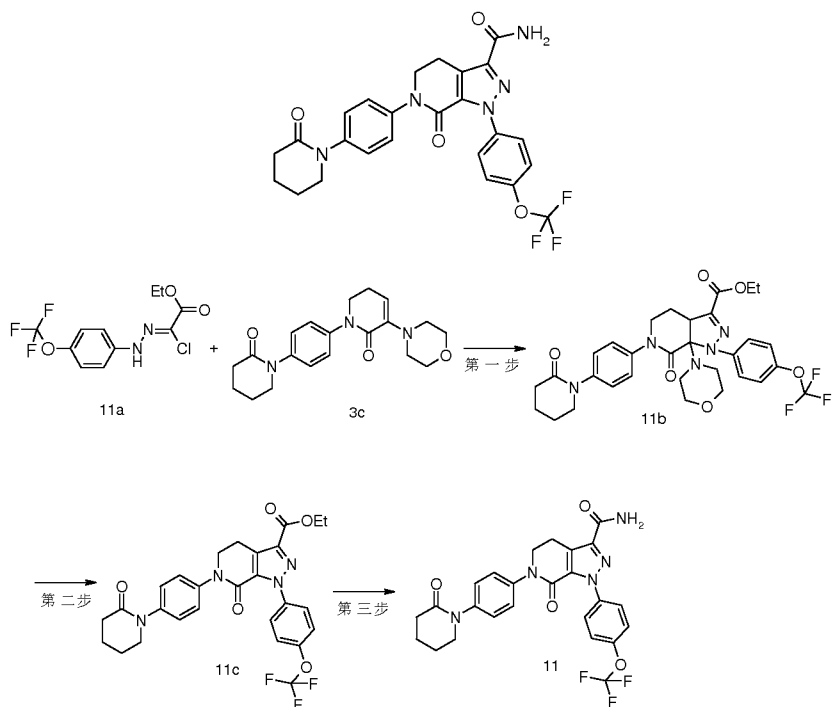
15

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.75 (s, 1H), 7.57 (d, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.42 (dd, 1H), 7.35 (d, 2H), 7.27 (d, 2H), 7.26 (t, 1H), 4.04 (t, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.59 (t, 2H), 3.19 (t, 2H), 2.38 (t, 2H), 1.79-1.90 (m, 4H)。

20

实施例 11

7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-1-(4-(三氟甲氧基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺



25

第一步

7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-1-(4-(三氟甲氧基)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

将(Z)-2-氯-2-(2-(4-(三氟甲氧基)苯基)亚胍基)乙酸乙酯 11a (279 mg, 0.90 mmol, 采用公知的方法“*Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*,2010,20(15), 4683-4688”制备而得)和 3-吗啉-1-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-5,6-二氢吡啶-2(1H)-酮 3c (160 mg, 0.45 mmol)溶解于 5 mL 乙酸乙酯中, 加入三乙胺(136 mg, 1.35 mmol), 80℃搅拌反应 65 小时。将反应液降至室温, 用水(5 mL)和饱和氯化钠溶液(5 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到标题产物 7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-1-(4-(三氟甲氧基)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 11b (210 mg, 褐色油状物), 产率: 74.2%。

第二步

7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-1-(4-(三氟甲氧基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯

将 7a-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-1-(4-(三氟甲氧基)苯基)-3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 11b (210 mg, 0.33 mmol)溶解于 15 mL 四氢呋喃中, 0℃下滴加 0.3 mL 4M 盐酸, 0℃搅拌反应 3 天。滴加饱和碳酸氢钠溶液至反应液 pH 为 8, 用乙酸乙酯(15 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(15 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到标题产物 7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-1-(4-(三氟甲氧基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 11c (240 mg, 无色油状物), 产率: 100%。

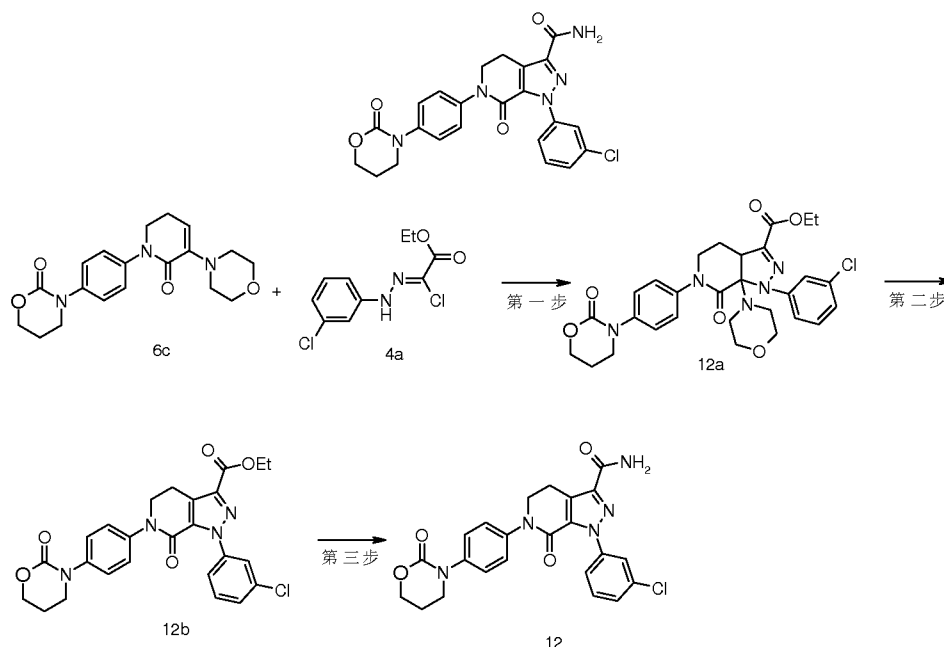
第三步

7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-1-(4-(三氟甲氧基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺

将 7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-1-(4-(三氟甲氧基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酸乙酯 11c (181 mg, 0.33 mmol)溶解于 3 mL N,N-二甲基甲酰胺中, 依次加入 2 mL 甲酰胺, 1 mL 原甲酸三甲酯和 3 μL 三氟乙酸, 50℃搅拌反应 30 分钟。加入 10 mL 甲醇钠(90 mg, 1.67 mmol)的甲醇溶液, 50℃搅拌反应 1.5 小时。将反应液倒入 20 mL 水中, 用二氯甲烷(15 mL×3)萃取, 合并有机相, 依次用水(20 mL)和饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用 HPLC 制备柱纯化所得残余物, 得到标题产物 7-羰基-6-(4-(2-羰基哌啶-1-基)苯基)-1-(4-(三氟甲氧基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡唑并[3,4-c]吡啶-3-甲酰胺 11 (200 mg, 黄色固体), 产率: 100%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.75-7.78 (m, 3H), 7.47-7.51 (m, 3H), 7.36 (d, 2H), 7.28 (d, 2H), 4.06 (t, 2H), 3.59 (t, 2H), 3.21 (t, 2H), 2.38 (t, 2H), 1.78-1.90 (m, 4H).

1-(3-氯苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并
[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺



5

第一步

1-(3-氯苯基)-7*a*-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-3*a*,4,5,6,7,7*a*-六氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯

将 3-(4-(3-吗啉-2-羰基-5,6-二氢吡啶-1(2*H*)-基)苯基)-1,3-噁嗪-2-酮 6c (346 mg, 0.97 mmol) 和 (*Z*)-2-氯-2-(2-(3-氯苯基)亚肼基)乙酸乙酯 4a (505 mg, 1.94 mmol) 溶解于 20 mL 乙酸乙酯中, 加入三乙胺 (0.7 mL, 4.85 mmol), 70°C 搅拌反应 3 天。向反应液加入 40 mL 水, 用乙酸乙酯 (10 mL × 3) 萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到标题产物 1-(3-氯苯基)-7*a*-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-3*a*,4,5,6,7,7*a*-六氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 12a (770 mg, 黄色油状物), 产率: 100%。

MS *m/z* (ESI): 582.2 [*M*+1]

第二步

1-(3-氯苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并
[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯

将 1-(3-氯苯基)-7*a*-吗啉-7-羰基-6-(4-(2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-3*a*,4,5,6,7,7*a*-六氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 12a (563 mg, 0.97 mmol) 溶解于 6 mL 四氢呋喃中, 加入 2.4 mL 4 *M* 盐酸, 0°C 搅拌反应 2.5 小时, 升至室温搅拌反应 3 小时。滴加饱和碳酸氢钠溶液至反应液 pH 为 7, 用二氯甲烷 (10 mL × 2) 萃取, 合并有机相, 依次用水 (15 mL) 和饱和氯化钠溶液 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题产物 1-(3-氯苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 12b (366 mg, 黄色固体), 产率: 76.4%。

MS m/z (ESI): 512.2 [M+18]

第三步

1-(3-氯苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺

- 5 将 1-(3-氯苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酸乙酯 12b (227 mg, 0.46 mmol) 溶解于 3 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 依次加入 4.5 mL 甲酰胺, 1 mL 原甲酸三甲酯和 6.8 μ L 三氟乙酸, 50°C 搅拌反应 30 分钟。加入 0.5 mL 甲醇钠(248 mg, 2.29 mmol)的甲醇溶液, 50°C 搅拌反应 1 小时。加入 30 mL 水, 用二氯甲烷(15 mL $\times$ 3)萃取, 合并有机相, 依次用水(50 mL)和饱和氯化钠溶液(50 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 用 HPLC 制备柱纯化所得残余物, 得到标题产物 1-(3-氯苯基)-7-羰基-6-(4-(2-羰基-1,3-噁嗪-3-基)苯基)-4,5,6,7-四氢-1*H*-吡唑并[3,4-*c*]吡啶-3-甲酰胺 12 (100 mg, 白色固体), 产率: 46.8%。

MS m/z (ESI): 483.3 [M+18]

- 15 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.60 (s, 1H), 7.46-7.53 (m, 1H), 7.33-7.44 (m, 6H), 6.91 (s, 1H), 5.92 (s, 1H), 4.40-4.48 (m, 2H), 4.13 (t, 2H), 3.71 (t, 2H), 3.40 (t, 2H), 2.18-2.26 (m, 2H).

测试例:

20

生物学评价

以下结合测试例进一步描述解释本发明, 但这些实施例并非意味着限制本发明的范围。

本发明测试例中未注明具体条件的实验方法, 通常按照常规条件, 或按照商品制造厂商所建议的条件。未注明具体来源的试剂, 为市场购买的常规试剂。

25

测试例 1 荧光法检测 Factor Xa 抑制剂的生物活性

1. 实验材料

酶: Factor Xa 蛋白酶(Thermo 32521),

底物: Factor Xa 特异性底物(Chromogenix, S-2222TM),

- 30 缓冲液: 50mM Tris PH8.3, 200mM NaCl, 5mM CaCl_2 。

2. 实验步骤

将溶于 100% DMSO 的 20mM 受试化合物用缓冲液稀释至 100nM、33.3nM, 11.1 nM, 3.7 nM, 1.23 nM, 0.41 nM, 0.14nM, 0.05nM。同时将 2mM 底物用缓冲液稀释至 1.1mM, 将 25 μ M 酶储存液用缓冲液稀释至 25nM。

35

试验中, 将 84 μ L 配好的底物溶液加入 96 培养板中。同时每孔加入 10 μ L 梯度化合物 (空白对照孔中加入 10 μ L 2.5% DMSO); 6 μ L 25nM 的酶溶液。震荡后室温孵育 1 小时后在 405nm 处测其吸光值。吸光值用 Prism 进行曲线拟合并获得 IC50。

化合物编号	IC ₅₀ (Factor Xa)/(nM)
实施例 1	0.48
实施例 2	0.75
实施例 3	1.35
实施例 4	1.53
实施例 5	0.30
实施例 6	1.22
实施例 7	0.52
实施例 8	0.76
实施例 9	1.65
实施例 10	0.54

结论： 本发明化合物对 Factor Xa 具有明显的抑制活性。

测试例 2 人血液体外抗凝血作用的测定

取血： 静脉取血,采用一次性的塑料注射器,内含 3.8 %枸橼酸钠（1:9 容积，一份枸橼酸和九份血液抗凝）。将静脉血液用 2000 g 转速离心 10 分钟后（4℃），取出上层的贫血小板血浆，用于后续检测。

血液中 Factor Xa 活性的检测:在 37℃ 条件下，20 ul 贫血小板人血浆中，加入 0.4 ul 化合物/DMSO，加入 20 ul 发光底物(1.75 mM)，20 ul RVV (0.7 mU/ml，与 100 mM CaCl₂ 1:1 混合)。用酶标仪进行连续检测(OD405 nm)10 min，以评价药物对血液凝集的抑制作用。

化合物编号	IC ₅₀ (抑制人血小板凝集)(nM)
APIXABAN（阳性对照）	159
实施例 1	45
实施例 2	124
实施例 4	165
实施例 5	143
实施例 8	269
实施例 10	126

结论： 本发明化合物对人血液凝集具有明显的抑制活性。

药代动力学评价

测试例 3、本发明化合物的药代动力学测试

1、摘要

以大鼠为受试动物，应用LC/MS/MS法测定了大鼠灌胃给予APIXABAN（阳性对照化合物）、实施例1、9和10化合物后不同时刻血浆中的药物浓度。研究本发明的化合物在大鼠体内的药代动力学行为，评价其药动学特征。

2、试验方案

2.1 试验药品

APIXABAN、实施例1化合物、实施例9化合物和实施例10化合物。

2.2 试验动物

5 健康成年SD大鼠16只，雌雄各半，平均分成4组，每组4只，购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司，动物生产许可证号：SCXK(沪)2008-0016。

2.3 药物配制

称取适量样品，加入25 μ l 吐温80，后加入Labrasol至终体积，超声制成0.6 mg/ml溶液。

10 2.4 给药

SD大鼠16只，雌雄各半，平均分成4组，禁食一夜后分别灌胃给药，剂量为3.0 mg/kg，给药体积5ml/kg。

3、操作

15 于给药前及给药后 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 11, 24 小时采血 0.1 ml，置于 EDTA 抗凝试管中，3500 rpm 离心 5 min，分离血浆，于-20°C 保存。给药后 2 小时进食。

用 LC/MS/MS 法测定不同化合物灌胃给药后大鼠血浆中的待测化合物含量。分析方法的线性范围分别为 5.00-2000 ng/ml 和 1.00-500 ng/ml，定量下限分别为 5.00 ng/ml 和 1.00 ng/ml；血浆样品经沉淀蛋白预处理后进行分析。

4、药代动力学参数结果

20 本发明化合物的药代动力学参数如下：

编号	药代实验(3 mg/kg)					
	血药浓度	曲线面积	半衰期	滞留时间	清除率	表观分布容积
	C _{max} (ng /mL)	AUC (ng /mL*h)	T _{1/2} (h)	MRT (h)	CL/F (ml/min/kg)	V _z /F (ml/kg)
apixaban	191±40	1583±646	4.04±1.46	6.50±0.35	35.8±14.8	13416±8873
1	678±377	5124±2687	3.07±1.29	6.72±1.91	13.9±11.2	3736.3±2929.6
9	232±43	2110±625	3.83±0.91	8.05±1.12	23.6±6.1	7899±3395
10	159±56	1196±274	3.23±0.38	6.35±0.66	43.1±9.7	12004±2880

结论：本发明化合物的药代吸收良好，具有明显的药代吸收效果。

人体药代动力学及凝血参数检测（PK/PD）试验

25 测试例 4、本发明实施例 1 化合物与 APIXABAN 的人体药代动力学及凝血参数检测（PK/PD）试验

剂量： 5mg /人/天

人数： 4 人，男性健康志愿者，既往无心脏病病史

方式： 口服，单次给药

取血时间点：给药前（0h）和给药后 0.5,1.5, 3, 6, 10, 24, 48h

取血量：药代：3.0 ml，用真空肝素抗凝试管在规定的采样点采集全血后，3000rpm 4 度离心 10min，吸取血浆-20 度保存，待测血药浓度。

5 药效：2.7 ml，采用柠檬酸抗凝管采血 3ml，3000rpm 4 度离心 10min，吸取血浆进行凝血参数检测。

药代详细方案：

4 名健康志愿者，过夜禁食 8 小时以上，免早餐，空腹口服给与受试片剂（实施例 1 化合物与本领域常规辅料混合干法直压制片，具体处方如下表所示，

APIXABAN 使用市售片剂），受试者在给药 4h 后给与中餐，给药 10h 后给与晚餐。

10 给药前（0h）和给药后 0.5,1.5, 3, 6, 10, 24, 48h 取静脉血 3 ml，用真空肝素抗凝管在规定的采样点采集全血后，4 度离心（3000rpm）10 分钟获得血浆，取得的血浆分装两管，放-20℃保存，寄往上海恒瑞进行检测。

物料名称	1 片重量（mg）
实施例 1 化合物	5.0
Starch1500	7.0
MCC302	10.5
乳糖 T80	43.3
CCNa	3.5
M.S	0.7
片重	70

15 药效参数检测方案：4 名健康志愿者，过夜禁食 8 小时以上，免早餐，空腹口服给与受试片剂，受试者在给药 4h 后给与中餐，给药 10h 后给与晚餐。给药前（0h）和给药后 0.5,1.5, 3, 6, 10, 24, 48h 取静脉血 2.7ml，用真空肝素抗凝管在规定的采样点采集全血后，4 度离心（3000rpm）10 分钟获得血浆，进行凝血参数检测（本发明测试了活化部分凝血酶原时间和凝血酶原时间，即 aPTT 和 PT）。

注：两周交叉给药，两药物给药间隔时间为 96h；

20

试验所得 PK/PD 数据如下：

PK 参数：

参数	实施例 1	APIXABAN
$t_{max}(h)$	1.5	2.25
$C_{max}(ng/ml)$	87.175	250.75
$AUC_{0-t}(ng/ml \cdot h)$	850.2225	2655.562

AUC _{0-∞} (ng/ml*h)	914.9553	2681.848
t _{1/2} (h)	7.830894	7.147677
MRT _{0-∞} (h)	10.68394	9.67734

PD 参数(APTT):

单位(h)	0	0.5	1.5	3	6	10	24	48	MAX %
apixaban	33.075	38.525	40.1975	39.25	39.725	38.275	36.05	34.675	21.5
实施例 1	28.925	42.425	44.325	47	44.8	43.65	39.825	35.9	62.5

5 PD 参数(PT):

单位(h)	0	0.5	1.5	3	6	10	24	48	MAX %
apixaban	11.825	12.45	12.725	13.225	12.975	12.7	12.075	11.975	11.8
实施例 1	11.325	13.35	13.15	13.35	13.2	13.25	12.55	12.2	17.9

综合 PK、PD 数据可知，本发明实施例 1 化合物在血药浓度小于 apixaban，以及体内暴露量小于 apixaban 的情况下，所得到的药效仍然大大优于 apixaban，可见，本发明化合物在取得相同药效的同时，所需要的血药浓度以及暴露量都大大降低，因此可能大大减小毒性和不良反应。

测试例 5

SD 大鼠毒性试验

本试验设 5 个组，分别为溶媒对照组（95%Labrafil@1944+0.5%吐温 80）和实施例 1 化合物 200、600、1000mg/kg，apixaban600 mg/kg，每组 18 只大鼠，雌雄各半（其中卫星组 6 只）。试验大鼠灌胃给药后连续 7 天观察各组大鼠一般状况；试验第 1、3、7（解剖前）天测定体重；试验第 1、3、7 天测定摄食量；7 天观察结束后对所有存活大鼠腹主动脉采血进行血液学、血液生化学检测；试验第 1、7 天对卫星组采血进行毒代检测；最后施以安乐死进行大体解剖观察。

试验结果显示：除血凝与溶媒对照组相比，给药后实施例 1 化合物 600, 1000 mg/kg 组以及 apixaban 组雌雄大鼠可见活化的部分凝血活酶时间（APTT）轻微延长，实施例 1 化合物 200 mg/kg 组雌性 APTT 轻微延长外,其余未见明显改变。600mg/kg 组雌雄大鼠平均 AUC₀₋₂₄，实施例 1 化合物为 53.1(μg/ml*h)，apixaban 为 35(μg/ml*h)。

结论：在本实验条件下，SD 大鼠连续 7 天经口灌胃实施例 1 化合物 200、600

和 1000 mg/kg, 无毒性反应剂量为 1000 mg/kg。

测试例 6

Beagle 犬毒性试验

5 本试验设 5 个组, 分别为溶媒对照组和实施例 1 化合物 30、100、300mg/kg, apixaban100mg/kg, 每组 4 只动物, 雌雄各半。犬灌胃给药后连续 7 天观察各组犬一般状况; 试验第 1、7 (解剖前) 天测定体重; 连续 7 天测定摄食量; 7 天观察结束后对所有存活大鼠腹主动脉采血进行血液学、血液生化学检测; 采集尿液进行尿液分析; 试验第 1、7 天, 在各时间点采血进行毒代检测; 最后施以安乐死进行大体解剖观察。

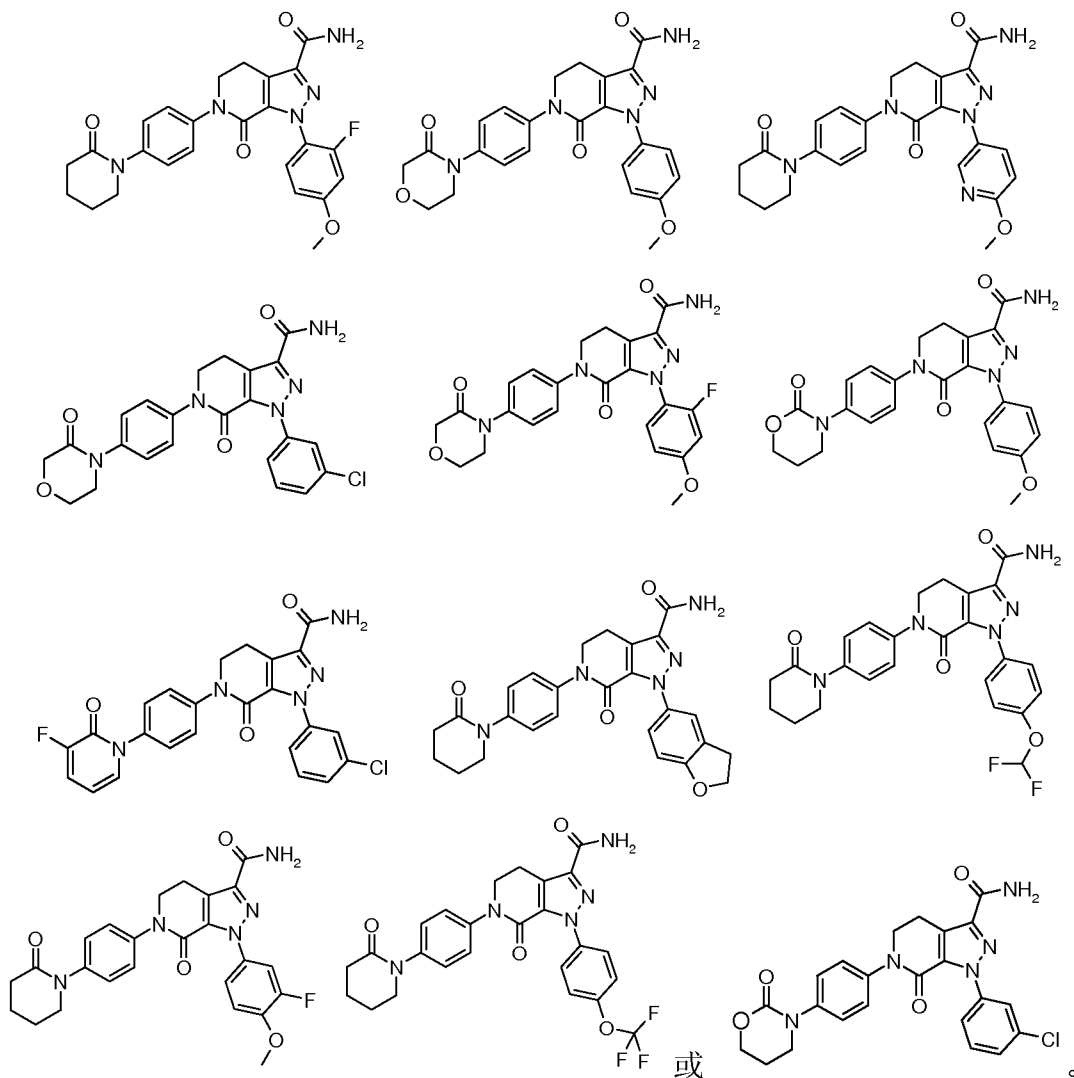
 实验结果: 除血凝参数外 (实施例 1 各剂量组以及 Apixaban 组均可见凝血酶原时间 (PT) 和活化部分凝血活酶时间 (APTT) 在 D1 和 D7 给药后 2 小时延长, 给药后 24 小时有所恢复但不完全), 其余均未见明显异常。100mg/kg 组雌雄 Beagle 犬平均 AUC_{0-24} 实施例 1 化合物为 322.6($\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$), apixaban 为 118($\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$)。

15 结论: 在本实验条件下, Beagle 犬连续 7 天经口灌胃实施例 1 化合物 30、100 和 300 mg/kg, 无毒性反应剂量为 300 mg/kg。

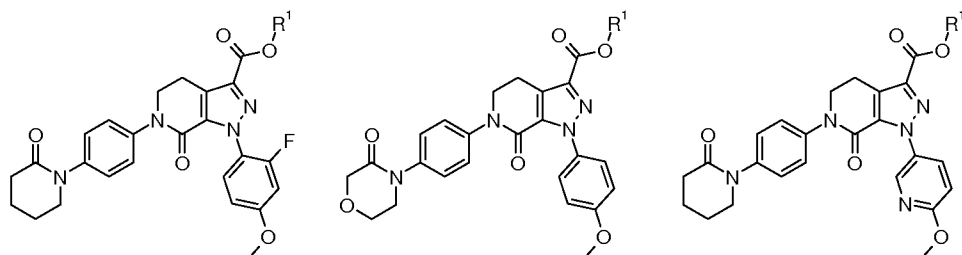
 综合测试例 4、5、6, 本发明实施例 1 化合物与 apixaban 相比, 其在达到同样药效时所需的暴露量大大降低, 且在动物试验中达到相同暴露量或更高的暴露量时, 毒性与 apixaban 相当, 可见当需要达到相同的药效时, 实施例 1 化合物与 apixaban 相比, 毒性可大幅度降低。

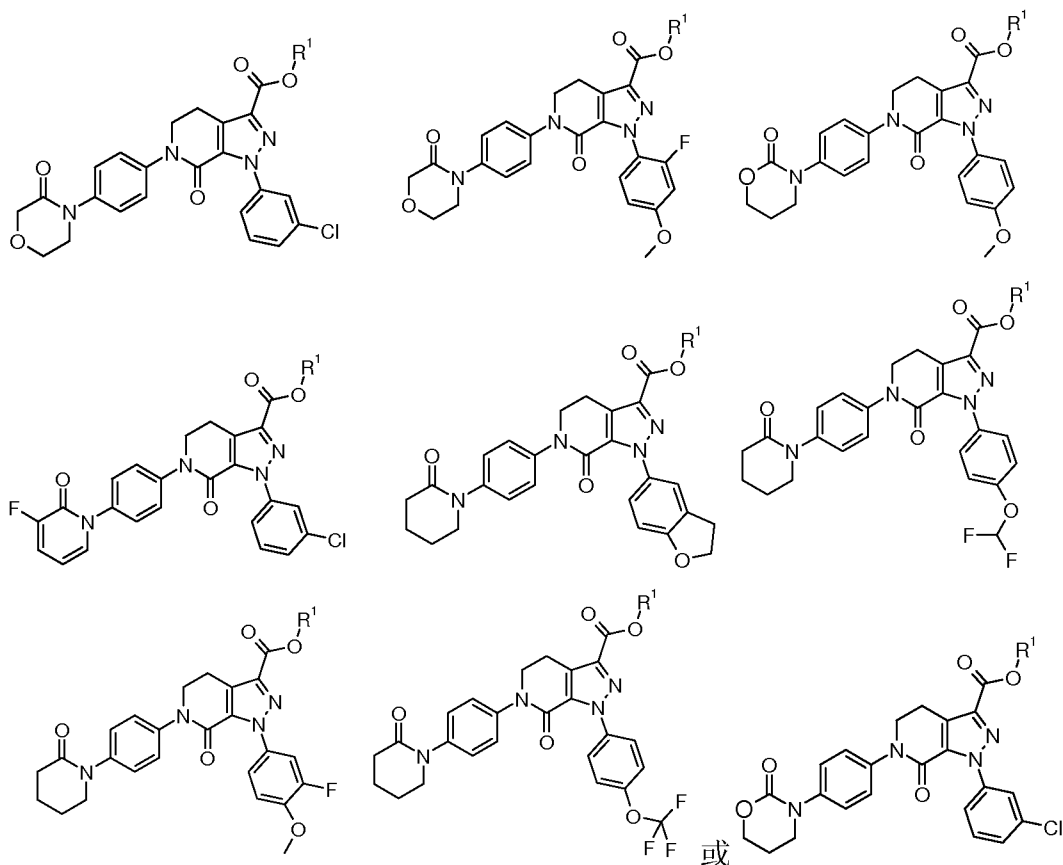
权利要求书:

1、如下所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其混合物形式、及其可药用的盐:



2、如下所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其混合物形式、及其可药用的盐:





其中：R¹为烷基。

3、根据权利要求2所述的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其混合物形式、及其可药用的盐，其中R¹为乙基。

4、一种药物组合物，所述药物组合物含有治疗有效量的根据权利要求1所述的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其混合物形式、及其可药用的盐和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

5、根据权利要求1所述的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其混合物形式、及其可药用的盐，或根据权利要求4所述的药物组合物在制备预防和/或治疗血栓栓塞性疾病的用途。

6、根据权利要求5所述的用途，其中所述的疾病选自心急梗塞、心绞痛、血管成型术或主动脉冠状动脉分流术后的再阻塞和再狭窄、中风、短暂的局部缺血发作、周围动脉闭塞性疾病、肺栓塞或深部静脉血栓形成。

7、根据权利要求1所述的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其混合物形式、及其可药用的盐，或根据权利要求4所述的药物组合物在制备预防和/或治疗通过抑制因子Xa正性影响的疾病的药物

中的用途。

8、根据权利要求 1 所述的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其混合物形式、及其可药用的盐，或根据权利要求 4 所述的药物组合物在制备治疗弥散性血管内凝血的药物中的用途。

9、根据权利要求 1 所述的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其混合物形式、及其可药用的盐，或根据权利要求 4 所述的药物组合物在制备抑制因子 Xa 的药物中的用途。

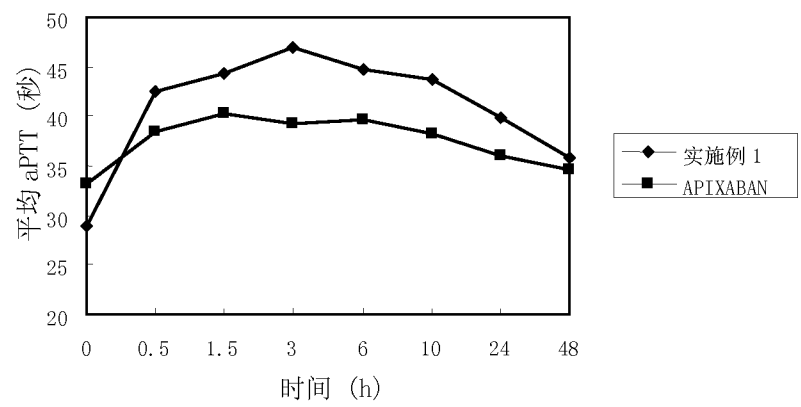


图 1

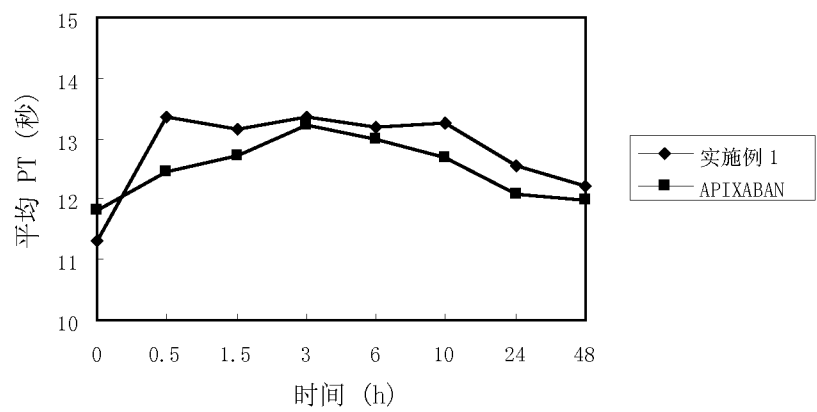


图 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2013/082535

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See the extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07D 471/-; A61K 31/-; A61P 7/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, CNKI, CNPAT, CA: SHANGHAI HENGRUI MEDICINE CO., LTD.; JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.; XU, Jianyan; LV, Hejun; QU, Bolei; DONG, Qing; BAYER, BRISTOL-MYERS SQUIBB, apixaban, rivaroxaban, actor Xa, pyrazolo w pyridine, thromboembolic

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2003/0191115 A1 (PINTO, D.J.P. et al.), 09 October 2003 (09.10.2003), claims 1-30, description, paragraphs [0036]-[0042], and embodiment 18	1-9
X	CN 101340933 A (BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY), 07 January 2009 (07.01.2009), description, paragraphs [0016]-[0026]	1-9
PX	CN 103242310 A (METABOMICS, INC.), 14 August 2013 (14.08.2013), claim 7	1
A	WO 03/099276 A1 (BRIS-TOL-MYERS SQUIBB COMPANY), 04 December 2003 (04.12.2003), claims 1-18	1-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
05 November 2013 (05.11.2013)

Date of mailing of the international search report
05 December 2013 (05.12.2013)

Name and mailing address of the ISA/CN:
State Intellectual Property Office of the P. R. China
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao
Haidian District, Beijing 100088, China
Facsimile No.: (86-10) 62019451

Authorized officer

WANG, Xian

Telephone No.: (86-10) **61648347**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2013/082535

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
US 2003/0191115 A1	09.10.2003	WO 03026652 A1	03.04.2003
		EP 1427415 A1	16.06.2004
		BR 0212726 A	03.08.2004
		AU 2002341693 A1	07.04.2003
		KR 20040041167 A	14.05.2004
		MXPA 04002526 A	01.06.2004
		NO 20041163 A	03.05.2004
		JP 2005507889 A	24.03.2005
		CN 1578660 A	09.02.2005
		HU 0402463 A2	28.04.2005
		INDELNP 200400590 E	01.04.2005
		ZA 200402184 A	27.07.2005
		US 6967208 B2	22.11.2005
		NZ 531616 A	22.12.2006
		MX 245415 B	26.04.2007
		AU 2002341693 B2	29.05.2008
		NO 20083684 A	03.05.2004
		INDELNP 200806904 E	26.09.2008
		KR 20080075927 A	19.08.2008
		RU 2345993 C2	10.02.2009
		AU 2008207537 A1	18.09.2008
		JP 2009079059 A	16.04.2009
		JP 4249621 B2	02.04.2009
		EP 1427415 B1	12.08.2009
		KR 100908176 B1	16.07.2009
		KR 100909141 B1	23.07.2009
		DE 60233335 E	24.09.2009
		ES 2329881 T3	02.12.2009
		NO 328558 B1	22.03.2010
		AU 2008207537 B2	04.11.2010
		INDELNP 201002092 E	20.08.2010
		CN 1578660 B	24.11.2010
		IN 247381 B	08.04.2011
		IL 160693 A	30.06.2011
		JP 4889705 B2	07.03.2012
		AU 2008207537 B8	08.12.2011
		IL 203533 A	29.12.2011

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2013/082535

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 101340933 A	07.01.2009	HU 228195 B1	28.01.2013
		WO 2007022165 A2	22.02.2007
		US 2007191306 A1	16.08.2007
		WO 2007022165 B1	18.10.2007
		EP 1924291 A2	28.05.2008
		INDELNP 200801204 E	27.06.2008
		TW 200800270 A	01.01.2008
		JP 2009504746 A	05.02.2009
		CA 2619214 A1	22.02.2007
		MXPA 08002057 A	30.04.2008
		ZA 200800925 A	24.06.2009
		US 2009291913 A1	26.11.2009
		BRPI 0614827 A2	19.04.2011
		AU 2003273179 A1	12.12.2003
CN 103242310 A	14.08.2013	US 2004254158 A1	16.12.2004
WO 03/099276 A1	04.12.2003	EP 1505966 A1	16.02.2005
		US 7312214 B2	25.12.2007
		AU 2003273179 A1	12.12.2003
		US 2004254158 A1	16.12.2004
		EP 1505966 A1	16.02.2005
		US 7312214 B2	25.12.2007

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2013/082535

CONTINUATION: CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 471/04 (2006.01) i

A61K 31/542 (2006.01) i

A61P 7/02 (2006.01) i

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2013/082535

A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: C07D 471/-; A61K 31/-; A61P 7/-

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

WPI, EPODOC, CNKI, CNPAT, CA: 上海恒瑞医药有限公司, 江苏恒瑞医药股份有限公司, 许建烟, 吕贺军, 渠博磊, 董庆, 拜尔, 百时美施宝贵, 吡唑 w 吡啶, apixaban, rivaroxaban, factor Xa, pyrazolo w pyridine, thromboembolic

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	US 2003/0191115 A1(PINTO, Donald. J. P. 等) 09.10 月 2003 (09.10.2003) 权利要求 1-30, 说明书第[0036]-[0042]段, 实施例 18	1-9
X	CN 101340933 A (百时美施宝贵公司) 07. 1 月 2009 (07.01.2009) 说明书 第I00161-I00261段	1-9
PX	CN 103242310 A (苏州迈泰生物技术有限公司) 14. 8 月 2013 (14.08.2013) 权利要求 7	1
A	WO 03/099276 A1 (BRIS-TOL-MYERS SQUIBB COMPANY) 04.12 月 2003 (04.12.2003) 权利要求 1-18	1-9

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期
05 . 11 月 2013 (05.11.2013)

国际检索报告邮寄日期
05.12 月 2013 (05.12.2013)

ISA/CN 的名称和邮寄地址:
中华人民共和国国家知识产权局
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088
传真号: (86-10)62019451

受权官员

王险

电话号码: (86-10) **61648347**

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2013/082535

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
US 2003/0191115 A1	09.10.2003	WO 03026652 A1	03.04.2003
		EP 1427415 A1	16.06.2004
		BR 0212726 A	03.08.2004
		AU 2002341693 A1	07.04.2003
		KR 20040041167 A	14.05.2004
		MXPA 04002526 A	01.06.2004
		NO 20041163 A	03.05.2004
		JP 2005507889 A	24.03.2005
		CN 1578660 A	09.02.2005
		HU 0402463 A2	28.04.2005
		INDELNP 200400590 E	01.04.2005
		ZA 200402184 A	27.07.2005
		US 6967208 B2	22.11.2005
		NZ 531616 A	22.12.2006
		MX 245415 B	26.04.2007
		AU 2002341693 B2	29.05.2008
		NO 20083684 A	03.05.2004
		INDELNP 200806904 E	26.09.2008
		KR 20080075927 A	19.08.2008
		RU 2345993 C2	10.02.2009
		AU 2008207537 A1	18.09.2008
		JP 2009079059 A	16.04.2009
		JP 4249621 B2	02.04.2009
		EP 1427415 B1	12.08.2009
		KR 100908176 B1	16.07.2009
		KR 100909141 B1	23.07.2009
		DE 60233335 E	24.09.2009
		ES 2329881 T3	02.12.2009
		NO 328558 B1	22.03.2010
		AU 2008207537 B2	04.11.2010
		INDELNP 201002092 E	20.08.2010
		CN 1578660 B	24.11.2010
		IN 247381 B	08.04.2011
		IL 160693 A	30.06.2011
		JP 4889705 B2	07.03.2012
		AU 2008207537 B8	08.12.2011
		IL 203533 A	29.12.2011

国际检索报告

关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2013/082535

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN 101340933 A	07.01.2009	HU 228195 B1	28.01.2013
		WO 2007022165 A2	22.02.2007
		US 2007191306 A1	16.08.2007
		WO 2007022165 B1	18.10.2007
		EP 1924291 A2	28.05.2008
		INDELNP 200801204 E	27.06.2008
		TW 200800270 A	01.01.2008
		JP 2009504746 A	05.02.2009
		CA 2619214 A1	22.02.2007
		MXPA 08002057 A	30.04.2008
		ZA 200800925 A	24.06.2009
		US 2009291913 A1	26.11.2009
		BRPI 0614827 A2	19.04.2011
CN 103242310 A	14.08.2013	AU 2003273179 A1	12.12.2003
		US 2004254158 A1	16.12.2004
		EP 1505966 A1	16.02.2005
		US 7312214 B2	25.12.2007
WO 03/099276 A1	04.12.2003	AU 2003273179 A1	12.12.2003
		US 2004254158 A1	16.12.2004
		EP 1505966 A1	16.02.2005
		US 7312214 B2	25.12.2007

续：主题的分类

C07D 471/04 (2006.01) i

A61K 31/542 (2006.01) i

A61P 7/02 (2006.01) i