



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102026975 A

(43) 申请公布日 2011. 04. 20

(21) 申请号 200880126630. 6

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2008. 12. 05

C07D 211/22 (2006. 01)

(30) 优先权数据

C07D 265/30 (2006. 01)

0702696-6 2007. 12. 05 SE

C07D 241/04 (2006. 01)

61/022983 2008. 01. 23 US

A61P 29/00 (2006. 01)*A61P 3/04* (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

A61K 31/495 (2006. 01)

2010. 08. 05

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2008/066877 2008. 12. 05

(87) PCT申请的公布数据

W02009/071658 EN 2009. 06. 11

(71) 申请人 阿斯利康 (瑞典) 有限公司

地址 瑞典南泰利耶

(72) 发明人 J·W·博伊德 G·A·布朗

M·希金博顿

(74) 专利代理机构 中国专利代理 (香港) 有限公

司 72001

代理人 孔青 林森

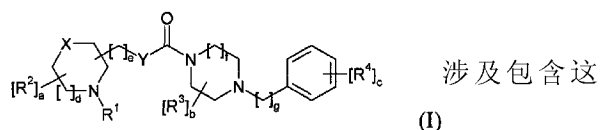
权利要求书 5 页 说明书 44 页 附图 3 页

(54) 发明名称

作为抗肥胖药的哌嗪衍生物

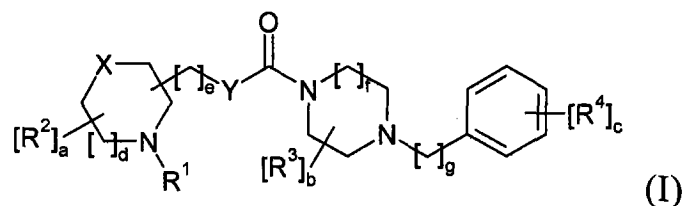
(57) 摘要

本 发 明 涉 及 新 的 式 (I) 化 合 物,



些化合物的药物组合物,涉及它们的制备方法,并涉及使用这些化合物作为瘦素蛋白受体调节剂模拟物在制备针对与体重增加、2型糖尿病和高脂血症相关的疾病的药物中的用途。

1. 式 (I) 化合物



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、几何异构体、互变异构体、光学异构体或 N-氧化物，其中：

X 选自 O、S、N(R¹) 和 CH(R²)，条件是：包含 X 的环不是 3-吡咯烷；

Y 为 CH₂、O 或 N(R⁵)；

R¹ 独立地选自氢、C₁₋₆-烷基（未被取代，或任选被独立选自卤素、羟基、氰基和 C₁₋₆-烷氧基的一个或多个取代基取代）和 C₁₋₆-酰基（未被取代，或任选被独立地选自卤素、羟基和 C₁₋₆-烷氧基的一个或多个取代基取代）；

R² 和 R³ 独立地选自氢、卤素、羟基、C₁₋₆-烷基（未被取代，或任选被独立地选自卤素、羟基和 C₁₋₆-烷氧基的一个或多个取代基取代）和 C₁₋₆-烷氧基（未被取代，或任选被独立地选自卤素、羟基和 C₁₋₆-烷氧基的一个或多个取代基取代）；

R⁴ 独立地选自氢、卤素、羟基、氰基、硝基、CF₃、C₁₋₆-烷基和 C₁₋₆-烷氧基；

R⁵ 为氢或 C₁₋₄-烷基；

a、b 和 c 各自独立地为 1、2 或 3；

d 为 0、1 或 2；

e 为 1、2 或 3；且

f 和 g 各自独立地为 0、1 或 2。

2. 按照权利要求 1 的化合物，其中 Y 为 O。

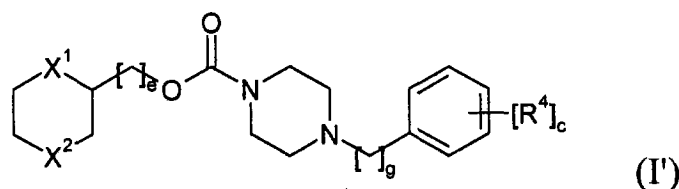
3. 按照权利要求 1 或 2 的化合物，其中 X 为 O、N(R¹) 或 CH(R²)。

4. 按照权利要求 1 至 3 中任何一项的化合物，其中 R¹ 为氢、甲基、乙基或乙酰基。

5. 按照权利要求 1 至 4 中任何一项的化合物，其中 R² 和 R³ 独立地选自氢、甲基和乙基。

6. 按照权利要求 1 至 5 中任何一项的化合物，其中 R⁴ 独立地选自氢、氟、氯、甲基和乙基。

7. 按照权利要求 1 至 6 中任何一项的化合物，其中所述化合物为式 (I') 的化合物



其中：

X¹ 和 X² 各自独立地选自 O、N(R¹) 和 CH(R²)，条件是：X¹ 和 X² 中至少一个为 N(R¹)；

R¹、R² 和 R⁴ 如权利要求 1 中所定义；

c 为 1、2 或 3；

e 为 1 或 2；且

g 为 0 或 1。

8. 按照权利要求 1 的化合物，其选自：

- 1) 4-(4-甲基苯基)哌嗪-1-羧酸[(3R)-1-甲基哌嗪-3-基]甲酯；
- 2) 4-(4-甲基苯基)哌嗪-1-羧酸[(3S)-1-甲基哌嗪-3-基]甲酯；
- 3) 4-苯基哌嗪-1-羧酸[(2S)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯；
- 4) 4-苯基哌嗪-1-羧酸[(2R)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯；
- 5) 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2S)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯；
- 6) 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2R)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯；
- 7) 4-苯基哌嗪-1-羧酸 2-(1, 4-二甲基哌嗪-2-基)乙酯；
- 8) 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2S)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯；
- 9) 4-苯基哌嗪-1-羧酸[(2S)-4-甲基哌嗪-2-基]甲酯；
- 10) 4-苯基哌嗪-1-羧酸(1, 4-二甲基哌嗪-2-基)甲酯；
- 11) 4-苯基哌嗪-1-羧酸吗啉-2-基甲酯；
- 12) 4-苯基哌嗪-1-羧酸(2S)-吗啉-2-基甲酯；
- 13) 4-苯基哌嗪-1-羧酸(2R)-吗啉-2-基甲酯；
- 14) 4-苯基哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-2-基)甲酯；
- 15) 4-苯基哌嗪-1-羧酸[(2S)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯；
- 16) 4-苯基哌嗪-1-羧酸[(2R)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯；
- 17) 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2S)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯；
- 18) 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2R)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯；
- 19) 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2S)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯；
- 20) 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2R)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯；
- 21) 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸吗啉-2-基甲酯；
- 22) 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(2S)-吗啉-2-基甲酯；
- 23) 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(2R)-吗啉-2-基甲酯；
- 24) 4-(4-氯苯基)哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-2-基)甲酯；
- 25) 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-2-基)甲酯；
- 26) 4-苯基哌嗪-1-羧酸(4-乙酰基吗啉-2-基)甲酯；
- 27) 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸吗啉-3-基甲酯；
- 28) 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(3S)-吗啉-3-基甲酯；
- 29) 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(3R)-吗啉-3-基甲酯；
- 30) 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-3-基)甲酯；
- 31) 4-苯基哌嗪-1-羧酸吗啉-3-基甲酯；
- 32) 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸吗啉-3-基甲酯；
- 33) 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-3-基)甲酯；
- 34) 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸(2S)-吗啉-2-基甲酯；和
- 35) 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸(2R)-吗啉-2-基甲酯。

9. 一种药物制剂，其包含作为活性成分的按照权利要求 1 至 8 中任何一项的化合物以

及药学上可接受的稀释剂或载体。

10. 按照权利要求 1 至 8 中任何一项的化合物，其用于治疗。

11. 按照权利要求 1 至 8 中任何一项的化合物，其用于治疗或预防与体重增加相关的病症或疾病。

12. 按照权利要求 11 中的化合物，其中所述病症或疾病为肥胖症、2 型糖尿病、脂肪营养不良、胰岛素抵抗、代谢综合征、高血糖症、高胰岛素血症、脂肪代谢障碍、肝脂肪变性、饮食过量、高血压、高甘油三酯血症、不育症、与体重增加相关的皮肤病、或黄斑变性。

13. 按照权利要求 1 至 8 中任何一项的化合物，其用于治疗或预防严重体重减轻、痛经、闭经、女性不育症或免疫缺陷，或用于治疗伤口愈合。

14. 按照权利要求 1 至 8 中任何一项的化合物，其用于治疗或预防炎性病症或疾病、与肥胖和过量血浆瘦蛋白相关的低水平炎症、动脉粥样硬化、1 型或 2 型糖尿病的大血管或小血管并发症、视网膜病、肾病、自主神经病、或由局部缺血或动脉粥样硬化导致的血管损伤。

15. 按照权利要求 1 至 8 中任何一项的化合物，其用于抑制血管生成。

16. 按照权利要求 1 至 8 中任何一项的化合物在制备用于治疗或预防与体重增加相关的病症或疾病的药物中的用途。

17. 按照权利要求 16 的用途，其中所述病症或疾病为肥胖、2 型糖尿病、脂肪营养不良、胰岛素抵抗、代谢综合征、高血糖症、高胰岛素血症、脂肪代谢障碍、肝脂肪变性、饮食过量、高血压、高甘油三酯血症、不育症、与体重增加相关的皮肤病、或黄斑变性。

18. 按照权利要求 1 至 8 中任何一项的化合物在制备用于治疗或预防严重体重减轻、痛经、闭经、女性不育症或免疫缺陷、或用于治疗伤口愈合的药物中的用途。

19. 按照权利要求 1 至 8 中的任何一项的化合物在制备用于治疗或预防炎性病症或疾病、与肥胖和过量血浆瘦蛋白有关的低水平炎症、动脉粥样硬化、1 型或 2 型糖尿病的大血管或小血管并发症、视网膜病、肾病、自主神经病、或由局部缺血或动脉粥样硬化导致的血管损伤的药物中的用途。

20. 按照权利要求 1 至 8 中任何一项的化合物在制备用于抑制血管生成的药物中的用途。

21. 治疗或预防与体重增加相关的病症或疾病的方法，其包括向需要这种治疗的哺乳动物给予有效量的按照权利要求 1 至 8 中任何一项的化合物，其中所述哺乳动物包括人类。

22. 按照权利要求 21 中的方法，其中所述疾病或病症为肥胖症、2 型糖尿病、脂肪营养不良、胰岛素抵抗、代谢综合征、高血糖症、高胰岛素血症、脂肪代谢障碍、肝脂肪变性、饮食过量、高血压、高甘油三酯血症、不育症、与体重增加相关的皮肤病、或黄斑变性。

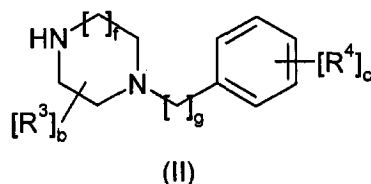
23. 治疗或预防严重体重减轻、痛经、闭经、女性不育症或免疫缺陷、或治疗伤口愈合的方法，其包括向需要这种治疗的哺乳动物给予有效量的按照权利要求 1 至 8 中任何一项的化合物，其中所述哺乳动物包括人类。

24. 治疗或预防炎症病症或疾病、与肥胖和过量血浆瘦蛋白相关的低水平炎症、动脉粥样硬化、1 型或 2 型糖尿病的大血管或小血管并发症、视网膜病、肾病、自主神经病、或由局部缺血或动脉粥样硬化引起的血管损伤的方法，其包括向需要这种治疗的哺乳动物给予有效量的按照权利要求 1 至 8 中任何一项的化合物，其中所述哺乳动物包括人类。

25. 抑制血管生成的方法，其包括向需要这种治疗的哺乳动物给予有效量的按照权利要求 1 至 8 中任何一项的化合物，其中所述哺乳动物包括人类。

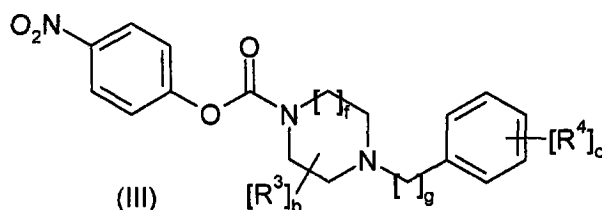
26. 权利要求 1 的化合物的制备方法，包括：

(a) 将式 (II) 化合物：

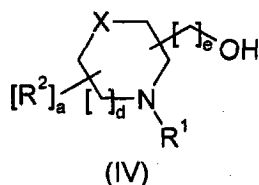


其中 R^3 、 R^4 、 b 、 c 、 f 和 g 如权利要求 1 中所定义，

与氯甲酸 4-硝基苯酯或碳酸二(4-硝基苯基)酯在适当碱(例如 DIPEA 或 NEt_3)的存在下于适当溶剂(例如 DCM 或 THF)中、于 $-10^\circ C$ 至 $40^\circ C$ 反应，形成下式 (III) 化合物：



(b) 将式 (III) 化合物与式 (IV) 化合物：



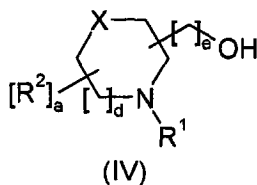
其中 X 、 R^1 、 R^2 、 a 、 d 和 e 如权利要求 1 中所定义，

在适当碱(例如 NaH 或 NMM)的存在下于适当溶剂(例如 THF 或 DCM)中、于 $-10^\circ C$ 至 $40^\circ C$ 反应，得到式 (I) 化合物；且

(c) 任选用一个或几个步骤将式 (I) 化合物转变成另一种式 (I) 化合物。

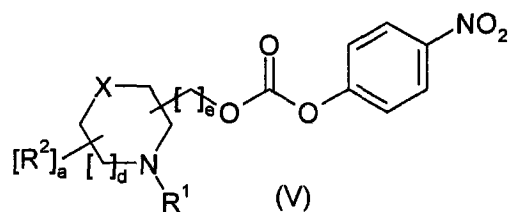
27. 权利要求 1 中化合物的制备方法，包括：

(a) 将式 (IV) 化合物：

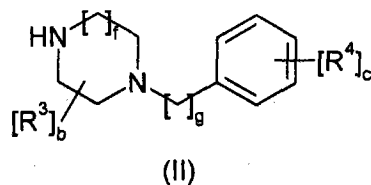


其中 X 、 R^1 、 R^2 、 a 、 d 和 e 如权利要求 1 中所定义，

与氯甲酸 4-硝基苯酯或碳酸二(4-硝基苯基)酯在适当碱(例如 DIPEA 或 NMM)的存在下于合适溶剂(例如 DCM)中、于 $-10^\circ C$ 至 $40^\circ C$ 反应，形成式 (V) 化合物：



(b) 将式 (V) 化合物与式 (II) 化合物：



其中 R^3 、 R^4 、 b 、 c 、 f 和 g 如权利要求 1 中所定义，

在适当碱（例如 DIPEA）的存在下，于适当溶剂（例如 DCM 或 DMF）中、于 -10°C 至 40°C 反应，得到式 (I) 化合物；且

(c) 任选用一个或几个步骤将式 (I) 化合物转变成另一种式 (I) 化合物。

作为抗肥胖药的哌嗪衍生物

发明领域

[0001] 本发明涉及新的哌嗪衍生物，涉及包含这些化合物的药物组合物，涉及它们的制备方法，还涉及这些化合物作为瘦蛋白 (leptin) 受体调节剂模拟物在制备针对与体重增加、2 型糖尿病和血脂障碍有关病症的药物中的用途。

背景技术

[0002] 肥胖症在工业化世界中日益流行。通常，一线治疗是向患者提供饮食和生活方式的建议，例如减少其饮食的脂肪含量并增加其身体活动。然而，一些患者可能还需要进行药物治疗以维持从上述饮食和生活方式改变中得到的有益结果。

[0003] 瘦蛋白是一种于脂肪细胞中合成的激素，其被认为在下丘脑起作用以减少食物摄入量并减轻体重（参见例如 Bryson, J.M.(2000) *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2 : 83-89）。

[0004] 据显示，肥胖人群的脑脊液中循环瘦蛋白比例降低 (Koistinen 等人, (1998) *Eur. J.Clin.Invest.* 28 : 894-897)。这表明瘦蛋白转运到大脑的能力在肥胖状态是不足的。的确，在肥胖的动物模型中 (NZO 小鼠和 Koletsky 大鼠)，瘦蛋白转运方面的缺陷已显示导致脑瘦蛋白含量减少 (Kastin, A.J.(1999) *Peptides* 20 : 1449-1453 ; Banks, W.A. 等人, (2002) *Brain Res.* 950 : 130-136)。在涉及饮食引起的肥胖啮齿类动物（被认为是更接近于人类肥胖的啮齿类动物模型，参见例如 VanHeek 等人 (1997) *J.Clin.Invest.* 99 : 385-390) 的研究中，表明外周给予过量瘦蛋白在减少食物摄入量和减轻体重方面无效，而将瘦蛋白直接注射到大脑则对减少食物摄入量和减轻体重有效。还表明在具有过量循环瘦蛋白的肥胖人群中，信号转导系统变得对瘦蛋白受体的连续刺激脱敏 (Mantzoros, C.S.(1999) *Ann.Intern.Med.* 130 : 671-680)。

[0005] Amgen 已经进行了重组甲硫氨酰基人瘦蛋白的临床试验。这些试验的结果混杂，这是因为即使在高血浆浓度的瘦蛋白存在下体重减轻也是变化的，所测试的患者群的平均体重减轻相对较少 (*Obesity Strategic Perspective, Datamonitor, 2001*)。

[0006] 自从发现瘦蛋白基因编码序列以来，已经有一些寻找活性片段的尝试在文献中报导。一个实例是 Samson 等人 (1996) *Endocrinol.* 137 : 5182-5185，其描述了在 N- 末端 (22 至 56) 的一个活性片段。当注射 ICV 时，该序列显示出减少食物摄入量，而取自 C- 末端的序列没有显示出任何效果。瘦蛋白片段还在国际专利申请 WO 97/46585 中公开。

[0007] 关注该序列 C- 末端部分的其他报告报道 : 116-130 片段可能刺激黄体生成素的产生 (Gonzalez 等人, (1999) *神经内分泌学* 70 : 213-220)，还报道了在 GHRH 给药 (片段 126-140) 后对 GH 产生的影响 (Hanew (2003) *Eur.J.Endocrin.* 149 : 407-412)。

[0008] 最近瘦蛋白被认为与炎症有关。据报导，在细菌感染和炎症期间，循环瘦蛋白水平上升（参见 Otero, M 等人 (2005) *FEBS Lett.* 579 : 295-301 及其中的参考文献）。瘦蛋白还能通过提高来自炎症细胞的促炎细胞因子 TNF 和 IL-6 的释放量起作用来增加炎

性 (Zarkesh-Esfahani, H. 等人 (2001) J.Immunol.167 : 4593-4599)。这些因子进而通过降低胰岛素受体信号的效能造成肥胖患者中常见的胰岛素抵抗 (Lyon, C.J. 等人 (2003) Endocrinol.44 : 2195-2200)。连续的低度炎症被认为与肥胖有关 (在存在和不存在胰岛素抵抗和二型糖尿病的情况下) (Browning 等人 (2004) Metabolism 53 : 899-903, Inflammatory markers elevated in blood of obese women (在肥胖女性的血液中炎性标记提升); Mangge 等人 (2004) Exp.Clin.Endocrinol.Diabetes 112 : 378-382, Juvenile obesity correlates with serum inflammatory marker C-reactive protein (青少年肥胖与血清炎性标记 C-反应性蛋白有关); Maachi 等人 (2004) Int.J.Obes.Relat.Metab.Disord.28 : 993-997, Systemic low grade inflammation in obese people (肥胖人群中全身性低度炎症))。瘦蛋白还通过促进脂质摄取进入巨噬细胞和促进内皮机能障碍而促使动脉粥样硬化斑块的形成, 涉及动脉粥样硬化形成的过程 (参见 Lyon, C.J. 等人 (2003) Endocrinol.144 : 2195-2200)。

[0009] 瘦蛋白还显示出促进新血管的形成 (血管生成), 该过程涉及脂肪组织的生长 (Bouloumie A, 等人 (1998) Circ.Res.83 : 1059-1066)。血管生成还涉及糖尿病性视网膜病 (Suganami, E. 等人 (2004) Diabetes.53 : 2443-2448)。

[0010] 血管生成也被认为是与供应异常肿瘤细胞的新血管的生长有关。升高的瘦蛋白水平与许多的癌症有关, 特别是人类的乳腺癌、前列腺癌和胃肠癌 (Somasundar P. 等人 (2004) J.Surg.Res.116 : 337-349)。

[0011] 瘦蛋白受体激动剂还可用于生产促进伤口愈合的药物 (Gorden, P. 和 Gavrilova, O. (2003) Current Opinion in Pharmacology 3 : 655-659)。

[0012] 此外, 已经表明, 脑中瘦蛋白信号升高可能代表治疗抑郁症的方法 (Lu, Xin-Yun 等人 (2006) PNAS 103 : 1593-1598)。

[0013] 发明公开内容

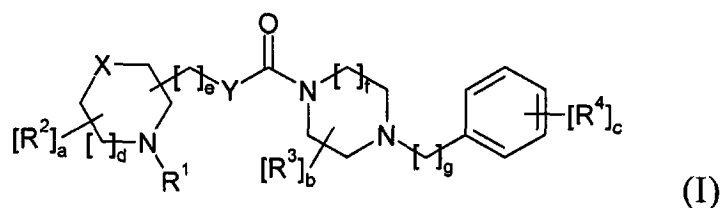
[0014] 出人意料地发现, 式 (I) 化合物在减轻啮齿类动物体重和食物摄入量方面有效。虽然不希望受理论的约束, 但是我们提出式 I 化合物调节瘦蛋白受体信号通路。

[0015] 在一些实施方案中, 具有瘦蛋白受体激动样特性的化合物可用于治疗涉及瘦蛋白信号转导的疾病, 以及与体重增加 (例如肥胖) 有关的病症。发明人假定小分子 CNS 渗透剂瘦蛋白模拟物将能够绕过限制性摄取系统而进入大脑。此外, 发明人假设该情况反映了人类肥胖病症, 认为具有相对较长作用时间的有 CNS 活性的类瘦蛋白 (leptinoid) 将成为对肥胖状态及其伴随的并发症 (特别是 (但不限于) 糖尿病)) 的有效治疗。

[0016] 在其他实施方案中, 具有瘦蛋白受体拮抗样特性的化合物可用于治疗炎症、动脉粥样硬化、糖尿病性视网膜病和肾病。

[0017] 第一方面, 本发明涉及下式 (I) 化合物,

[0018]



[0019] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、几何异构体、互变异构体、光学异构体或 N-氧化物，其中：

[0020] X 选自 O、S、N(R¹) 和 CH(R²)，条件是包含 X 的环不是 3-吡咯烷；

[0021] Y 为 CH₂、O 或 N(R⁵)；

[0022] R¹ 独立地选自氢、C₁₋₆-烷基（未被取代或任选被独立地选自卤素、羟基、氰基和 C₁₋₆-烷氧基的一个或多个取代基取代）和 C₁₋₆-酰基（未被取代或任选被独立地选自卤素、羟基和 C₁₋₆-烷氧基的一个或多个取代基取代）；

[0023] R² 和 R³ 独立地选自氢、卤素、羟基、C₁₋₆-烷基（未被取代或任选被独立地选自卤素、羟基和 C₁₋₆-烷氧基的一个或多个取代基取代）和 C₁₋₆-烷氧基（未被取代或任选被独立地选自卤素、羟基和 C₁₋₆-烷氧基的一个或多个取代基取代）；

[0024] R⁴ 独立地选自氢、卤素、羟基、氰基、硝基、CF₃、C₁₋₆-烷基和 C₁₋₆-烷氧基；

[0025] R⁵ 为氢或 C₁₋₄-烷基；

[0026] a、b 和 c 各自独立地为 1、2 或 3；

[0027] d 为 0、1 或 2；

[0028] e 为 1、2 或 3；且

[0029] f 和 g 各自独立地为 0、1 或 2。

[0030] 在本发明的优选实施方案中，Y 为 O。

[0031] 在另一实施方案中，X 优选选自 O、N(R¹) 和 CH(R²)。

[0032] R¹ 优选选自氢、C₁₋₄-烷基和 C₁₋₄-酰基。

[0033] 在最优选实施方案中，R¹ 为氢、甲基或乙酰基。

[0034] R² 和 R³ 优选独立地选自氢和 C₁₋₄-烷基。

[0035] 在最优选实施方案中，R² 和 R³ 为氢。

[0036] R⁴ 优选独立地选自氢、卤素、CF₃ 和 C₁₋₄-烷基。

[0037] 在最优选实施方案中，R⁴ 独立地选自氢、氟、氯或甲基。

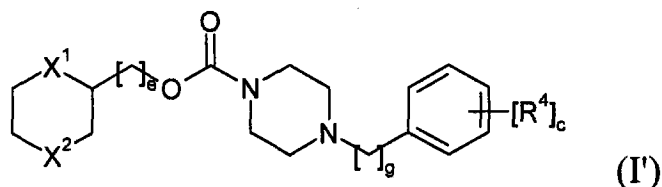
[0038] d 和 f 各自优选为 1。

[0039] E 优选为 1 或 2。

[0040] g 优选为 0 或 1，更优选为 0。

[0041] 特别优选的式 (I) 化合物为下式 (I') 化合物：

[0042]



[0043] 其中：

[0044] X¹ 和 X² 各自独立地选自 O、N(R¹) 或 CH(R²)，条件是 X¹ 和 X² 中至少一个为 N(R¹)；

[0045] R¹ 如式 (I) 中所定义，且优选为氢、甲基或乙酰基；

- [0046] R^2 如式 (I) 中所定义, 且优选为氢;
- [0047] R^4 为氢、氟、氯或甲基;
- [0048] c 为 1、2 或 3;
- [0049] e 为 1 或 2; 且
- [0050] g 为 0 或 1。
- [0051] 具体优选的式 (I) 化合物为选自以下的化合物:
- [0052] • 4-(4-甲基苯基)哌嗪-1-羧酸[(3R)-1-甲基哌啶-3-基]甲酯;
 - [0053] • 4-(4-甲基苯基)哌嗪-1-羧酸[(3S)-1-甲基哌啶-3-基]甲酯;
 - [0054] • 4-苯基哌嗪-1-羧酸[(2S)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯;
 - [0055] • 4-苯基哌嗪-1-羧酸[(2R)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯;
 - [0056] • 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2S)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯;
 - [0057] • 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2R)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯;
 - [0058] • 4-苯基哌嗪-1-羧酸 2-(1, 4-二甲基哌嗪-2-基)乙酯;
 - [0059] • 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2S)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯;
 - [0060] • 4-苯基哌嗪-1-羧酸[(2S)-4-甲基哌嗪-2-基]甲酯;
 - [0061] • 4-苯基哌嗪-1-羧酸(1, 4-二甲基哌嗪-2-基)甲酯;
 - [0062] • 4-苯基哌嗪-1-羧酸吗啉-2-基甲酯;
 - [0063] • 4-苯基哌嗪-1-羧酸(2S)-吗啉-2-基甲酯;
 - [0064] • 4-苯基哌嗪-1-羧酸(2R)-吗啉-2-基甲酯;
 - [0065] • 4-苯基哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-2-基)甲酯;
 - [0066] • 4-苯基哌嗪-1-羧酸[(2S)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯;
 - [0067] • 4-苯基哌嗪-1-羧酸[(2R)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯;
 - [0068] • 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2S)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯;
 - [0069] • 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2R)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯;
 - [0070] • 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2S)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯;
 - [0071] • 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2R)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯;
 - [0072] • 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸吗啉-2-基甲酯;
 - [0073] • 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(2S)-吗啉-2-基甲酯;
 - [0074] • 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(2R)-吗啉-2-基甲酯;
 - [0075] • 4-(4-氯苯基)哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-2-基)甲酯;
 - [0076] • 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-2-基)甲酯;
 - [0077] • 4-苯基哌嗪-1-羧酸(4-乙酰基吗啉-2-基)甲酯;
 - [0078] • 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸吗啉-3-基甲酯;
 - [0079] • 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(3S)-吗啉-3-基甲酯;
 - [0080] • 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(3R)-吗啉-3-基甲酯;
 - [0081] • 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-3-基)甲酯;
 - [0082] • 4-苯基哌嗪-1-羧酸吗啉-3-基甲酯;
 - [0083] • 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸吗啉-3-基甲酯;
 - [0084] • 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-3-基)甲酯;

[0085] • 4-(2, 4- 二氟苯基) 哌嗪 -1- 羧酸 (2S)- 吗啉 -2- 基甲酯；和

[0086] • 4-(2, 4- 二氟苯基) 哌嗪 -1- 羧酸 (2R)- 吗啉 -2- 基甲酯。

[0087] 本发明的另一方面是用于治疗或预防的式 (I) 化合物。

[0088] 在再一个方面，本发明涉及用于治疗或预防本文所述任何疾病或病症的式 (I) 化合物。

[0089] 在又一个方面，本发明涉及式 (I) 化合物在制备用于治疗或预防本文所述任何疾病或病症的药物中的用途。

[0090] 在一些实施方案中，所述化合物可用于制备预防、治疗或改善通过选择性作用于瘦蛋白受体可治疗或预防的病症。

[0091] 在一些实施方案中，所述化合物可用于制备用于治疗或预防与体重增加有关的病症（特别是代谢性病症）。所述与体重增加有关的病症包括：肥胖或超重受治疗者中发病率增加的疾病、障碍、或其他病症。实例包括：脂肪营养不良、HIV 脂肪营养不良、糖尿病（2 型）、胰岛素抵抗、代谢综合征、高血糖症、高胰岛素血症、脂肪代谢障碍、肝脂肪变性、饮食过量、高血压、高甘油三酯血症、不育症、与体重增加有关的皮肤病、黄斑变性。在一些实施方案中，所述化合物也可用于制备用于维持受治疗者体重减轻的药物。

[0092] 在一些实施方案中，作为瘦蛋白受体激动剂模拟物的式 (I) 化合物也可用于制备促进伤口愈合的药物。

[0093] 在一些实施方案中，作为瘦蛋白受体激动剂模拟物的式 (I) 化合物也可用于制备用于治疗或预防可引起循环瘦蛋白浓度降低的病症、和免疫和生殖系统随之而来的机能障碍的药物。这些病症和机能障碍的实例包括：严重体重减轻、痛经、闭经、女性不育症、免疫缺陷和与睾酮水平低相关的病症。

[0094] 在一些实施方案中，作为瘦蛋白受体激动剂模拟物的式 (I) 化合物也可用于制备用于治疗或预防由瘦蛋白缺乏、或瘦蛋白或瘦蛋白受体突变引起的病症的药物。

[0095] 在另一些实施方案中，作为瘦蛋白受体拮抗剂模拟物的式 (I) 化合物可用于治疗或预防炎症性病症或疾病、与肥胖和过量血浆瘦蛋白相关的低水平炎症，用于减轻其他与肥胖有关的并发症，例如动脉粥样硬化，和用于校正代谢综合征和糖尿病中常见的胰岛素抵抗。

[0096] 在一些实施方案中，作为瘦蛋白受体拮抗剂模拟物的式 (I) 化合物可用于治疗或预防由以下疾病引起或与以下疾病相关的炎症：癌症（例如白血病、淋巴瘤、癌、结肠癌、乳腺癌、肺癌、胰腺癌、肝细胞癌、肾癌、黑色素瘤，肝脏、肺、乳房和前列腺转移等等）；自身免疫病（例如器官移植排斥、红斑狼疮、移植物抗宿主排斥、同种移植物排斥、多发性硬化、风湿性关节炎、I 型糖尿病（包括胰岛破坏引起的糖尿病和糖尿病的炎症后果））；自身免疫缺损（包括多发性硬化、姬兰巴利综合征（Guillam Barre Syndrome）、重症肌无力）；与组织灌注差有关的心血管疾病和炎症（例如粥样斑、动脉粥样硬化、中风、缺血再灌注损伤、跛行、脊髓损伤、充血性心力衰竭、脉管炎、出血性休克、蛛网膜下腔出血后的血管痉挛、脑血管意外后的血管痉挛、胸膜炎、心包炎、糖尿病的心血管并发症）；缺血再灌注损伤、缺血和相关的炎症、血管成形术和炎性动脉瘤后的再狭窄；癫痫、神经变性（包括阿尔茨海默氏病（Alzheimer' s Disease））、关节

炎（例如类风湿性关节炎、骨关节炎、类风湿性脊椎炎、痛风性关节炎）、纤维化（例如肺纤维化、皮肤纤维化和肝纤维化）、多发性硬化、脓毒病、败血症性休克、脑炎、传染性关节炎、雅里施-赫克斯海默氏反应（Jarisch-Herxheimer reaction）、带状疱疹、中毒性休克、脑型疟、莱姆病（Lyme's disease）、内毒素性休克、革兰氏阴性休克、出血性休克、肝炎（起因于组织损伤或病毒感染的肝炎）、深静脉血栓形成、痛风；与呼吸困难有关的病症（例如慢性阻塞性肺病、气道障碍和阻塞、支气管狭窄、肺血管收缩、呼吸障碍、慢性肺部炎性疾病、硅沉着病、肺肉瘤病、囊性纤维化、肺部高血压、肺部血管收缩、肺气肿、支气管变态反应和/或炎症、哮喘、花粉热、鼻炎、春季结膜炎和成人型呼吸窘迫综合征）；与皮肤炎症有关的病症（包括牛皮癣、湿疹、溃疡、接触性皮炎）；与肠炎症相关的病症（包括克罗恩病（Crohn's disease）、溃疡性结肠炎和发热、肠易激综合征、炎性肠病）；HIV（特别是HIV感染）、脑型疟、细菌性脑膜炎、骨质疏松症和其他骨吸收疾病、骨关节炎、源于子宫内膜异位的不育症、由于感染导致的发热和肌痛，和由过度抗炎细胞（包括嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、巨噬细胞和T细胞）活性介导的其他病症。

[0097] 在一些实施方案中，作为瘦蛋白受体拮抗剂模拟物的式(I)化合物可用于治疗或预防1型或2型糖尿病的大或小血管并发症、视网膜病变、肾病、自主神经病变、或由局部缺血或动脉粥样硬化引起的血管损伤。

[0098] 在一些实施方案中，作为瘦蛋白受体拮抗剂模拟物的式(I)化合物可用于抑制血管生成。抑制血管生成的本发明化合物可用于治疗或预防肥胖或与肥胖有关的并发症。抑制血管生成的本发明化合物可用于治疗或预防与炎性糖尿病性视网膜病相关的并发症、或肿瘤生长，特别是乳腺癌、前列腺癌或胃肠癌中的肿瘤生长。

[0099] 在另一方面，本发明涉及治疗或预防本文在此描述的任何疾病或病症的方法，其包括给予受治疗者（例如需要治疗的受治疗者，例如哺乳动物）有效量的式I化合物。

[0100] 在此描述的方法包括其中将受治疗者鉴定为需要具体所述治疗的受治疗者的方法。鉴定需要该治疗的受治疗者可经过受治疗者或卫生保健专家判断，可以是主观的（例如意见）或客观的（例如通过试验或诊断方法测定）。

[0101] 在其他方面，在此的方法包括进一步包括监测受治疗者对治疗给药的反应的方法。这些监测可包括对作为治疗方案的标记或指标的受治疗者的组织、流体、样本、细胞、蛋白质、化学标记、遗传物质等等进行定期取样。在其他方法中，通过对该治疗适合性的有关标记或指标进行评估来，将受治疗者预筛选或鉴定为需要该治疗。

[0102] 在一种实施方案中，本发明提供监测治疗进展的方法。该方法包括在患有或易患在此描述的疾病或症状的患者中测定诊断标记（标记）水平（例如，在此描述的任何靶点或细胞类型被在此的化合物调节）或确定诊断测定（例如筛选，分析）的步骤，其中向所述受治疗者已经给予了足够治疗疾病或症状的治疗量的本文化合物。可以将该方法中所测定的标记水平与健康正常对照中或在其他受折磨患者中的已知的标记水平进行比较，来确立受治疗者的疾病状态。在优选的实施方案中，在比第一水平确定的时间点晚的时间点测定受治疗者中标记的第二水平，并且将两个水平进行比较来监测疾病的过程或治疗的功效。在某些优选实施方案中，在开始按照本发明治疗之前，测定受治疗者中标记的治疗前水平；然后将标记的治疗前水平与治疗开始后受治疗者中的标记水平比

较, 来确定治疗功效。

[0103] 在某些方法实施方案中, 受治疗者中标记的水平或标记活性至少测定一次。 将标记水平与例如之前或之后从同一患者、另一患者或正常受治疗者得到的标记水平进行比较, 可以用于确定依照本发明的治疗是否具有所需的效应, 并因而允许适当调整剂量水平。 标记水平可通过使用本领域已知的或本文描述的任何适当的取样 / 表达测定方法来进行测定。 优选首先从受治疗者中取出组织或流体样本。 合适样品的实例包括血液、尿液、组织、口或颊细胞、和包含发根的头发表品。 其他合适的样品将会被本领域技术人员所熟悉。 样品中蛋白质水平和 / 或 mRNA 水平 (例如标记水平) 的测定可使用本领域已知的任何合适的技术来进行, 所述技术包括 (但不限于) 酶免疫测定、ELISA、放射性标记 / 测定技术、印迹分析 / 化学发光法、实时 PCR 等等。

[0104] 在一些实施方案中, 如果式 (I) 化合物能够透过中枢神经系统则可能是有利的。 在其他实施方案中, 如果式 (I) 化合物不能够透过 CNS 则可能是有利的。 一般而言, 我们预计, 作为瘦蛋白受体激动剂模拟物的化合物如果能透过 CNS, 则尤其可用于治疗或预防肥胖、胰岛素抵抗或糖尿病 (特别是葡萄糖不耐受)。 本领域普通技术人员能很容易确定所述化合物是否能透过 CNS。 可使用的适当方法在生物学方法部分中描述。

[0105] 瘦蛋白受体的反应可以任何适当的方式测定。 在体外, 这可通过测定瘦蛋白受体信号转导来完成。 例如, 可以测定: Akt、STAT3、STAT5、MAPK、shp2 或瘦蛋白受体响应瘦蛋白的结合、或响应本发明化合物与瘦蛋白受体结合而发生的磷酸化。 Akt、STAT3、STAT5、MAPK、shp2 或瘦蛋白受体磷酸化的程度可例如通过蛋白质印迹法或 ELISA 来测定。 或者, 可以使用 STAT 报告分子测定, 例如 STAT 驱动的荧光素酶表达。 表达瘦蛋白受体的细胞系可用于这些测定。 在体内, 瘦蛋白受体的反应可通过给予瘦蛋白或本发明化合物之后, 测定食物摄取量的减少和体重的减轻来测定。

[0106] 下面的生物学方法描述了可用于确定本发明的化合物是瘦蛋白受体激动剂模拟物还是瘦蛋白受体拮抗剂模拟物的测定和方法。

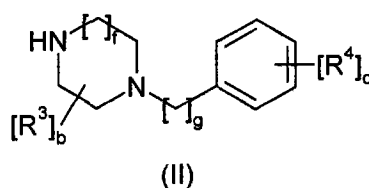
[0107] 式 (I) 化合物可与其他治疗剂一起或不与其他治疗剂一起给药。 例如, 如果需要减轻炎症, 则所述化合物可与抗炎剂 (例如病情改善抗风湿药, 例如甲氨蝶呤、柳氮磺吡啶和细胞因子钝化剂、甾体、NSAID、大麻素、速激肽调节剂、或缓激肽调节剂) 一起给药。 如果需要提供抗肿瘤效应, 则式 (I) 化合物可与细胞毒性剂 (例如甲氨蝶呤、环磷酰胺) 或其他抗肿瘤药一起给药。

[0108] 式 (I) 化合物可用放射性同位素 (例如用氘或放射性碘) 标记, 以供体外或体内应用, 例如受体取代研究或受体成像。

[0109] 本发明的再一方面涉及如上所描述的式 (I) 化合物的制备方法。 在一种实施方案中, 该方法包括:

[0110] (a) 将式 (II) 化合物:

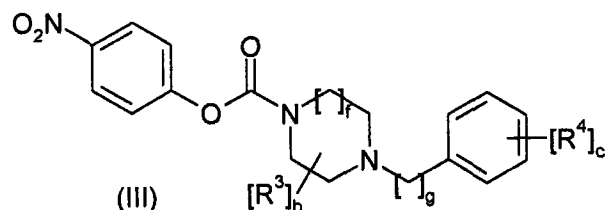
[0111]



[0112] 其中 R^3 、 R^4 、 b 、 c 、 f 和 g 如式 (I) 中所定义，

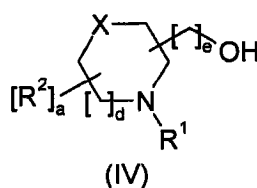
[0113] 与氯甲酸 4-硝基苯酯或碳酸二(4-硝基苯基)酯在合适碱(例如 DIPEA 或 NEt_3)的存在下，于适当溶剂(例如 DCM 或 THF)中、在 -10 到 40°C 反应，形成式 (III) 化合物：

[0114]



[0115] (b) 将式 (III) 化合物与式 (IV) 化合物：

[0116]



[0117] 其中 X 、 R^1 、 R^2 、 a 、 d 和 e 如式 (I) 中所定义，

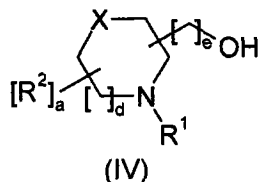
[0118] 在适当碱(例如 NaH 或 NMM)的存在下，于合适溶剂(例如 THF 或 DCM)中、在 -10 到 40°C 反应，得到式 (I) 化合物；和

[0119] (c) 任选以一步或几步将式 (I) 化合物转变为另一式 (I) 化合物。

[0120] 在另一种实施方案中，所述方法包括：

[0121] (a) 将式 (IV) 化合物：

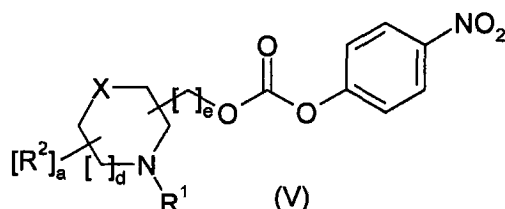
[0122]



[0123] 其中 X 、 R^1 、 R^2 、 a 、 d 和 e 如式 (I) 中所定义，

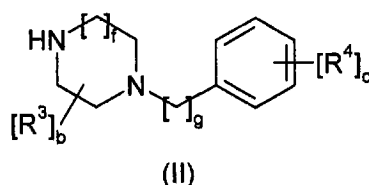
[0124] 与氯甲酸 4-硝基苯酯或碳酸二(4-硝基苯基)酯在合适碱(例如 DIPEA 或 NMM)的存在下，于适当溶剂(例如 DCM)中、在 -10 到 40°C 反应，形成式 (V) 化合物：

[0125]



[0126] (b) 将式 (V) 化合物与式 (II) 化合物：

[0127]



[0128] 其中 R^3 、 R^4 、 b 、 c 、 f 和 g 如式 (I) 中所定义，

[0129] 在合适碱（例如 DIPEA）的存在下，于适当溶剂（例如 DCM 或 DMF）中、在 -10 到 40°C 反应，得到式 (I) 化合物；和

[0130] (c) 任选以一步或几步将式 (I) 化合物转变为另一种式 (I) 化合物。

[0131] 定义

[0132] 下列定义将应用于说明书和所附权利要求书全文。

[0133] 除非另作说明或表示，术语“ C_{1-6} -烷基”指具有 1-6 个碳原子的直链或支链烷基。所述 C_{1-6} -烷基的实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、和直链与支链的戊基和己基。“ C_{1-6} -烷基”范围的多个部分涵盖了其所有的亚组，例如 C_{1-5} -烷基、 C_{1-4} -烷基、 C_{1-3} -烷基、 C_{1-2} -烷基、 C_{2-6} -烷基、 C_{2-5} -烷基、 C_{2-4} -烷基、 C_{2-3} -烷基、 C_{3-6} -烷基、 C_{4-5} -烷基等等。

[0134] 除非另作说明或表示，术语“ C_{1-6} -酰基”指通过其碳原子连接到氢原子（即甲酰基）上或连接到直链或支链的 C_{1-5} -烷基上的羰基，其中该烷基如上文所定义。所述 C_{1-6} -酰基的实例包括甲酰基、乙酰基、丙酰基、正丁酰基、2-甲基丙酰基和正戊酰基。

“ C_{1-6} -酰基”范围的多个部分涵盖了其所有的亚组，例如 C_{1-5} -酰基、 C_{1-4} -酰基、 C_{1-3} -酰基、 C_{1-2} -酰基、 C_{2-6} -酰基、 C_{2-5} -酰基、 C_{2-4} -酰基、 C_{2-3} -酰基、 C_{3-6} -酰基、 C_{4-5} -酰基等等。如果 C_{1-6} -酰基任选被独立地选自卤素、羟基和 C_{1-6} -烷氧基的一个或更多个取代基取代，则所述取代基不能连接到羰基碳原子上。

[0135] 除非另作说明或表示，术语“ C_{1-6} -烷氧基”指具有 1-6 个碳原子的直链或支链的烷氧基。所述 C_{1-6} -烷氧基的实例包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、和直链与支链的戊氧基和己氧基。“ C_{1-6} -烷氧基”范围的多个部分涵盖了其所有的亚组，例如 C_{1-5} -烷氧基、 C_{1-4} -烷氧基、 C_{1-3} -烷氧基、 C_{1-2} -烷氧基、 C_{2-6} -烷氧基、 C_{2-5} -烷氧基、 C_{2-4} -烷氧基、 C_{2-3} -烷氧基、 C_{3-6} -烷氧基、 C_{4-5} -烷氧基等等。

[0136] “卤素”是指氟、氯、溴或碘。

[0137] “羟基”是指 -OH 基。

[0138] “硝基”是指 -NO₂ 基。

[0139] “氰基”是指 -CN 基。

[0140] “任选的”或“任选”意味着后来描述的事件或情形可能不必出现，并且该描述包括了出现其事件或情形的情况和所述事件或情形不出现的情况。

[0141] 术语“哺乳动物”包括生物体，其包括小鼠、大鼠、母牛、绵羊、猪、兔、山羊和马、猴、狗、猫，且优选人类。受治疗者可以是人类受治疗者或非人类动物，特别是被驯养的动物，例如狗。

[0142] “药学上可接受”表示可用于在制备药物组合物，该药物组合物通常是安全的、无毒的，且既不是生物学上不合要求，也不是其他方面不合要求的，且包括可用于

兽医应用以及人类药物使用。

[0143] 本文使用的“治疗”包括所述疾病或病症的预防，或疾病确立后疾病的改善或消除。

[0144] “有效量”是指对受治疗者产生治疗效果（例如治疗、控制、改善、预防、延缓发病，或降低疾病、障碍或病症或其症状产生的风险）的化合物的量。治疗效果可以是客观的（即，可经某些试验或标记来测定）或主观的（即，受治疗者给出了效果的指征或感觉）。

[0145] “前药”是指可在生理学条件下或经溶剂分解作用转化为生物学活性的式 (I) 化合物的化合物。当向需要治疗的受治疗者给药时，该前药是无活性的，但在体内转化为活性的式 (I) 化合物。通常前药在体内迅速转化，得到母体化合物，例如，经血液中水解而转化。前药化合物通常在哺乳动物生物体中提供以下优势：溶解度、组织相容性或延迟释放（参见 Silverman, R.B., *The organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*, 2nd Ed., Elsevier Academic Press (2004), pp.498-549）。可如下制备前药：修饰式 (I) 化合物中存在的官能团，例如羟基、氨基或巯基，其改变方式使得所述修饰或按常规操作，或在体内被裂解，得到母体化合物。前药的实例包括（但不限于）羟基官能团的乙酸酯、甲酸酯和琥珀酸酯衍生物、或氨基官能团的苯基氨基甲酸酯衍生物。

[0146] 在整个说明书和附加的权利要求书中，指定的化学式或化学名称也将包括其所有的盐、水合物、溶剂化物、N-氧化物及前药形式。此外，指定的化学式或化学名称将包括其所有的互变异构体形式及立体异构体形式。立体异构体包括对映异构体和非对映异构体。对映异构体可以其纯的形式存在，或作为两种对映异构体的外消旋混合物（等量的）或非等量混合物存在。非对映异构体可以其纯的形式存在，或以非对映异构体的混合物存在。非对映异构体还包括几何异构体，其可以其纯的顺式或反式存在，或作为它们的混合物存在。

[0147] 式 (I) 化合物可以原样使用，或者如果合适，可作为其药理学上可接受的盐（酸或碱的加成盐）使用。下述药理学上可接受的加成盐意欲包含所述化合物能够形成的治疗活性的无毒酸和碱的加成盐形式。具有碱性质的化合物通过用适当的酸处理碱型，可被转化成其药理学上可接受的酸加成盐。示例性的酸包括无机酸，例如盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、磷酸；和有机酸，例如甲酸、乙酸、丙酸、羟基乙酸、乳酸、丙酮酸、乙醇酸、马来酸、丙二酸、草酸、苯磺酸、甲苯磺酸、甲磺酸、三氟乙酸、富马酸、琥珀酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、水杨酸、对氨基水杨酸、双羟萘酸、苯甲酸、抗坏血酸及其类似酸。示例性的碱加成盐形式为钠盐、钾盐、钙盐、和与药理学上可接受胺形成的盐，所述胺诸如，例如氨水、烷基胺、苄基胺和氨基酸，诸如，例如精氨酸和赖氨酸。本文使用的术语加成盐还包括溶剂化物，它是所述化合物及其盐所能够形成的溶剂化物，诸如，例如水合物、醇化物等等。

[0148] 组合物

[0149] 对于临床应用，本发明的化合物可被制成用于各种给药方式的药物制剂。人们会认识到，本发明化合物可与生理学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂一起给药。本发明的药物组合物可经任何适当的途径给药，优选经口服、直肠、鼻腔、局部（包括含化和舌下）、舌下、经皮、鞘内、经粘膜或胃肠外（包括皮下、肌肉、静脉内和皮内）给

药。

[0150] 其他制剂可合宜地以单位剂型（例如片剂和缓释胶囊）存在，和以脂质体形式存在，可用药领域内众所周知的方法制备。药物制剂通常通过将活性物质或其药学上可接受的盐与常规药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂一起混合而制备。赋形剂的实例为水、明胶、阿拉伯树胶、乳糖、微晶纤维素、淀粉、羟基乙酸淀粉钠、磷酸氢钙、硬脂酸镁、滑石粉、胶体二氧化硅等等。这些制剂还可包含其他药理学活性剂和常规添加剂，例如稳定剂、润湿剂、乳化剂、调味剂、缓冲剂等等。通常，活性化合物的量在制剂重量的 0.1-95% 之间，对于胃肠外应用的制剂优选 0.2-20%（重量）之间，对于口服给药的制剂更优选 1-50%（重量）之间。

[0151] 所述制剂还可经已知的方法，例如制粒、压片、微囊化、喷雾包衣等等制备。所述制剂可以片剂、胶囊、颗粒剂、散剂、糖浆剂、混悬剂、栓剂或注射剂剂型通过常规方法制备。液体制剂可通过将活性物质溶解或悬浮在水或其他适当的溶媒中制备。片剂和颗粒剂可以常规方式包衣。为了更长时间维持治疗有效的血浆浓度，本发明的化合物可被加入缓释制剂中。

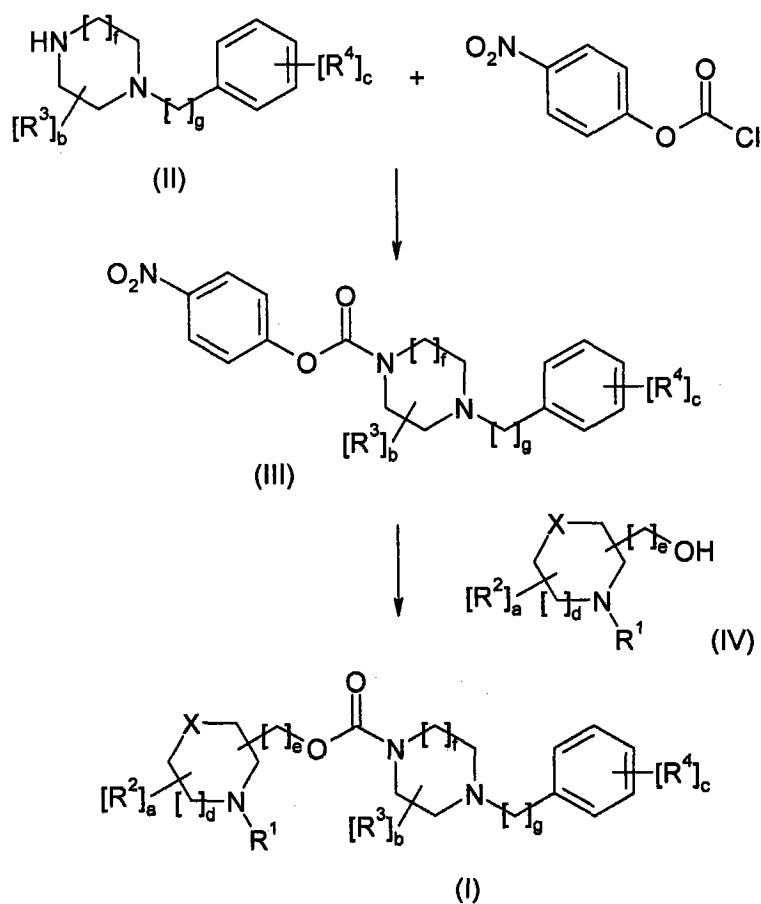
[0152] 具体化合物的剂量水平和给药次数将随多种因素而变化，这些因素包括所采用的具体化合物的功效、该化合物的代谢稳定性和作用时间、患者年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、给药方式和时间、排泄速度、联合用药、需要治疗的疾病的严重性、和患者经历的治疗。例如，每日剂量可从每千克体重约 0.001 毫克至约 100 毫克变化，给予单剂或多剂，剂量例如为每剂约 0.01 毫克至约 25 毫克。通常，这样的剂量可口服给药，但也可选择胃肠外给药。

[0153] 本发明化合物的制备方法

[0154] 上述式 (I) 化合物可通过常规方法或与常规方法类似的方法制备。中心的脲烷或脲连接基团的形成是制备式 (I) 化合物中的关键合成步骤。大量的活化试剂可用于形成脲烷或脲连接基团，例如用光气来形成醇类的氯甲酸酯，或用羰基二咪唑 (CDI) 来形成咪唑羧酸酯。通常，加入式 (I) 化合物的脲烷连接基团已经利用氯甲酸 4-硝基苯酯或碳酸二(4-硝基苯基)酯作为活化剂合成。中间产物和根据本发明实例的化合物的制备可通过下述流程 1 和流程 2 详细地阐明。在本文流程中结构内变量的定义与在此描述的结构式中相应的位置的变量相称。

[0155] 流程 1. 通过活化哌嗪部分制备

[0156]

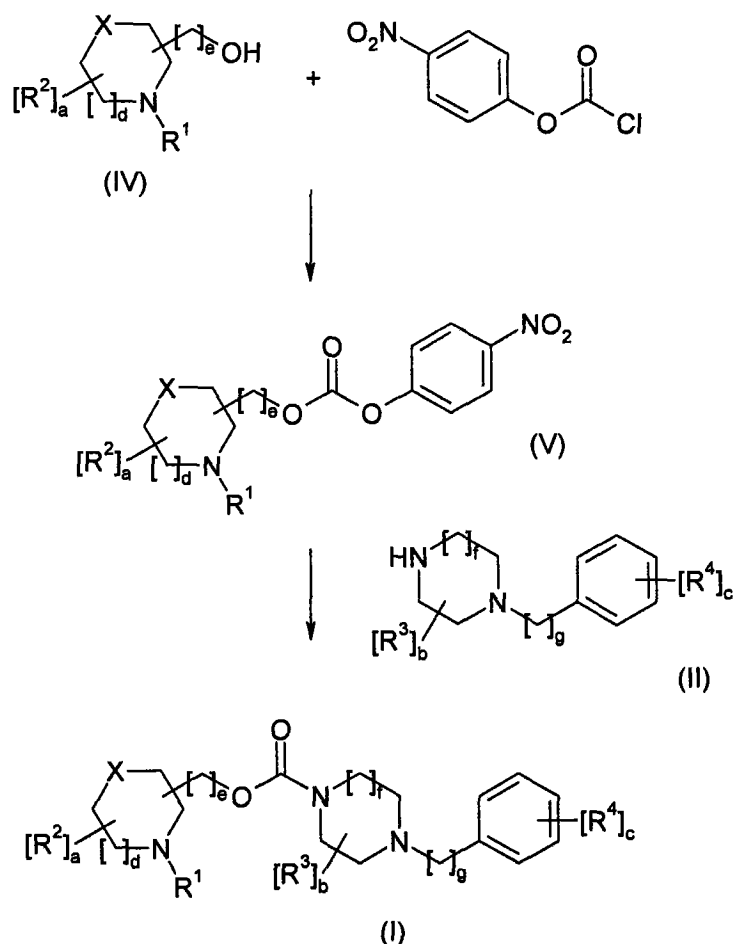


[0157] 其中 X、 R^1 - R^4 和 a-g 如式 1 中所定义。

[0158] 在通常如流程 1 中所示的一个方法中，哌嗪部分通过用氯甲酸 4-硝基苯酯或碳酸二(4-硝基苯基)酯在碱(例如 DIPEA)的存在下处理哌嗪衍生物 (II) 而活化，以形成相应的氨基甲酸酯衍生物 (III)。用适当的醇基部分 (IV) 在碱(例如 NaH) 的存在下处理这种活化的中间体，导致所需式 (I) 化合物的形成。

[0159] 流程 2. 通过活化醇部分制备

[0160]



[0161] 其中 X、R¹-R⁴ 和 a-g 如式 1 中所定义。

[0162] 在可供选择的方法中，醇部分通过用氯甲酸 4-硝基苯酯或碳酸二(4-硝基苯基)酯在碱(例如 DIPEA)的存在下处理醇(IV)而活化，形成相应的碳酸 4-硝基苯酯衍生物(V)。在下一步骤中，活化的碳酸盐(V)用合适的哌嗪部分(II)在碱(例如 DIPEA)存在下处理，导致所需式(I)化合物的形成。这通常以流程 2 显示。

[0163] 脲烷的形成通常是两步法，但这也可通过原位形成有活性的中间体，以单罐反应进行。以下的实验部分给出了所有这些可供选择的合成方案的实例。

[0164] 制备式(I)化合物所必需的有效量可市购，或可通过本领域已知的方法制备。

[0165] 可进行以下实验部分中所述的方法，得到以游离碱或作为酸加成盐形式的化合物。药学上可接受的酸加成盐可通过按照用于从碱化合物制备酸加成盐的常规方法，在适当的有机溶剂中溶解游离碱并用酸处理溶液而获得。形成加成盐的酸实例如下所述。

[0166] 式(I)化合物可具有一个或更多个手性碳原子，他们因而可以光学异构体的形式获得，例如作为纯的对映异构体、或作为对映异构体的混合物(外消旋体)或作为包含非对映异构体的混合物而获得。分离光学异构体的混合物以获得纯的对映异构体在本领域内众所周知，可以例如通过对与旋光(手性)酸形成的盐分级结晶而获得，或通过在手性柱上进行色谱法分离而获得。

[0167] 本文描述的合成路线中所使用的化学药品可包括例如溶剂、试剂、催化剂、保护基试剂和脱保护基试剂。保护基的实例为叔丁氧基羰基(Boc)、苯甲基和三苯甲基(三苯基甲基)。上述方法还可另外在本文具体描述的步骤之前或之后包括用以加入或脱除

合适的保护基的步骤，以最终允许合成所述化合物。另外，各种各样的合成步骤可以交替的顺序或次序进行，以得到所需的化合物。在合成适当的化合物中可使用的合成化学转化和保护基方法学（保护和脱保护）为本领域所已知，包括例如描述于以下的方法：R.Larock, *Comprehensiveorganic Transfor mations*, VCH Publishers(1989)；T.W.Greene 和 P.G.M.Wuts, *Protective Groups in or ganic Synthesis*, 3rd Ed., JohnWiley and Sons(1999)；L.Fieser 和 M.Fieser, *Fieser and Fieser ' sReagents for organic Synthesis*, John Wiley and Sons(1994)；和 L.Paquette 编辑, *Encyclopedia of Reagents for organic Synthesis*, JohnWiley and Sons(1995) 及其随后的版本。

[0168] 使用下列缩写：

[0169] t-AmOH 叔戊醇

[0170] Boc 叔丁氧羰基

[0171] t-Bu 叔丁基

[0172] DCM 二氯甲烷

[0173] DIPEA N, N- 二异丙基乙胺

[0174] DMF N, N- 二甲基甲酰胺

[0175] ES⁺ 电喷雾

[0176] Et₂O 二乙醚

[0177] EtOAc 乙酸乙酯

[0178] HIV 人类免疫缺陷病毒

[0179] HPLC 高效液相色谱法

[0180] ICV 脑室内

[0181] LCMS 液相色谱质谱法

[0182] M 摩尔浓度

[0183] [MH]⁺ 质子化的分子离子

[0184] NEt₃ 三乙胺

[0185] NMM N- 甲基吗啉

[0186] RP 反相

[0187] tert 叔

[0188] TFA 三氟乙酸

[0189] THF 四氢呋喃

[0190] 在下列实施例中参考附图描述了本发明的实施方案，在附图中：

[0191] 图 1 显示了用高碳水化合物饮食喂养的动物之间体重分离的实例。误差条代表平均值 $\pm$ SEM。

[0192] 图 2 显示实施例 7 的在 DIO 大鼠的 4 天研究中观察到的累计体重变化 (%)。

[0193] 图 3 显示对于实施例 20 而言在 DIO 大鼠的 4 天研究中观察到的累计体重变化 (%)。

[0194] 图 4 显示对于实施例 30 而言在 DIO 大鼠的 4 天研究中观察到的累计体重变化 (%)。

[0195] 图 5 显示 JEG-3 细胞掺入 [³H]- 胸苷方面对瘦蛋白的浓度依赖性增加。

[0196] 在此处任何变量的定义中化学基团列表的记载包括该变量定义中作为任何单个基团或作为所列基团组合的定义。 本文实施方案的记载包括该实施方案作为任何单一实施方案或与任何其他实施方案或其组成部分结合的实施方案。

[0197] 现在将通过下列非限制性实施例来进一步阐明本发明。 下面的具体实施例应解释为是说明性的，不会以任何方式限制本申请公开内容的其余部分。 相信即使在没有进一步阐述的情况下，本领域技术人员也能在本文描述的基础上最大程度地利用本发明。 所有本文引用的参考文献和出版物将在此以其整体引入作为参考。

[0198] 实施例和中间体化合物

[0199] 实验方法

[0200] 所有试剂都是商业等级，且所接受的试剂没有进一步纯化就被使用，除非另有说明。 商购的无水溶剂用于在惰性环境下进行的反应。 试剂等级溶剂用于所有其他情况，除非另有说明。 异氰酸甲酯树脂由 NovaBiochem (Cat.No.01-64-0169) 提供。 分析型 LCMS 在与 Agilent 1100HPLC 系统连接的 Waters ZQ 质谱仪上进行。 分析型 HPLC 在 Agilent 1100 系统上进行。 高分辨率质谱 (HRMS) 在与 Agilent 1100HPLC 系统连接的 Agilent MSD-TOF 上获得。 在分析期间，校准通过两种质量检查，且当需要时自动校正。 光谱用正极电喷雾模式获得。 获得的质量范围为 m/z 100-1100。 使用质量峰的概况 (profile) 检测。 快速色谱法在配备有 Strata SI-1 二氧化硅 gigatubes 的 Flash Master Personal 系统上进行。 反相色谱法在 Gilson 系统上进行，该系统配备有 Merck LiChoprep[®] RP-18 (40-63 μ m) 460x 26mm 柱，30mL/min，甲醇水溶液梯度。 制备型 HPLC 在 Gilson 系统上进行，该系统配备有 Phenomenex Hydro RP 150x 20mm，20mL/min，乙腈水溶液梯度。 化合物使用 ACD 6.0 或 8.0 自动命名。

[0201] 分析型 HPLC 和 LCMS 数据通过以下获得：

[0202] 系统 A：Phenomenex Synergi Hydro RP，(150x 4.6mm，4 μ m)，梯度含 5-100% CH₃CN(+0.085 % TFA) 的 H₂O(+0.1 % TFA) 溶液，1.5mL/min，梯度时间为 7min，200-300nm，30℃；或

[0203] 系统 B：Phenomenex Synergi Hydro RP，(150x 4.6mm，4 μ m)，梯度：含 5-95 % CH₃CN(+0.085 % TFA) 的 H₂O(+0.1 % TFA) 溶液，1mL/min，梯度时间为 15.5min，200-300nm，40℃。

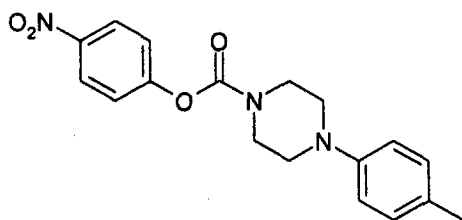
[0204] 分析 LCMS 数据也可通过以下获得：

[0205] 系统 C：Phenomenex Synergi Hydro RP (30x 4.6mm，4 μ m)，梯度：含 5-100% CH₃CN(+0.085 % TFA) 的 H₂O(+0.1 % TFA) 溶液，1.5mL/min，梯度时间为 1.75min，30℃。

[0206] 中间体 1

[0207] 4-(4- 甲基) 苯基哌嗪 -1- 羧酸 4- 硝基苯酯

[0208]



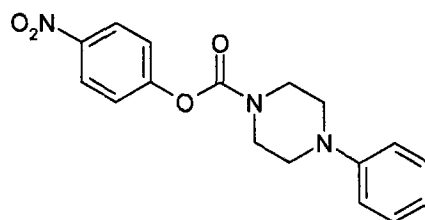
[0209] 在 0℃ 向 1-(4-甲基苯基)哌嗪二盐酸盐 (10.65g, 42.7mmol) 和 DIPEA (22mL, 133mmol) 溶于 DCM (100mL) 的溶液中加入氯甲酸 4-硝基苯酯 (9.5g, 47.1mmol)。将反应混合物在 0℃ 搅拌 30 分钟, 然后用饱和的碳酸氢钠溶液 (3x 200mL) 洗涤, 干燥 (MgSO_4) 并真空浓缩, 得到 4-硝基苯基 4-(4-甲基)苯基哌嗪-1-羧酸盐 (17.84g, 量化的), 为黄色固体, 其使用不用进一步纯化。

[0210] 分析型 LCMS: 纯度 ~ 90% (系统 C, $R_T = 2.20\text{min}$), ES^+ : 342.1[MH] $^+$ 。

[0211] 中间体 2

[0212] 4-苯基哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯

[0213]



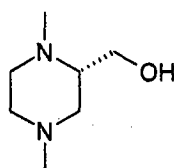
[0214] 在 0℃ 向苯基哌嗪 (12.0g, 74.0mmol) 和 DIPEA (13.5mL, 81.6mmol) 溶于 DCM (70mL) 的溶液中加入氯甲酸 4-硝基苯酯 (16.5g, 81.71mmol)。将反应混合物在 0℃ 搅拌 30 分钟, 然后用饱和的碳酸氢钠溶液 (3x 200mL) 洗涤, 干燥 (MgSO_4) 并真空浓缩, 得到 4-苯基哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯 (24.8g, 102%), 为黄色固体, 其使用不用进一步纯化。

[0215] 分析 LCMS: 纯度 ~ 90% (系统 C, $R_T = 2.40\text{min}$), ES^+ : 328.1[MH] $^+$ 。

[0216] 中间体 3

[0217] 1, 4-二甲基-(S)-2-羟基甲基哌嗪

[0218]



[0219] 将 (S)-2-哌嗪羧酸二盐酸盐 (5.10g, 25.1mmol) 溶解在水 (10mL) 和二噁烷 (40mL) 中并冷却至 0℃。加入氢氧化钠 (3.10g, 77.5mmol) 的水 (6mL) 溶液和二碳酸二叔丁酯 (11.5g, 52.7mmol)。将反应混合物在室温搅拌 16 小时, 然后真空浓缩。将残留物悬浮在 DCM (400mL) 中, 在室温搅拌 30 分钟然后过滤。将滤液真空浓缩, 得到 (S)-2-哌嗪-1, 2, 4-三羧酸 1, 4-二-叔丁酯 (9.90g, 119%), 为白色固体, 其使用不用进一步纯化。

[0220] 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 C, $R_T = 2.28\text{min}$), ES^+ : 331.1[MH] $^+$ 。

[0221] 将 (S)-2-哌嗪-1, 2, 4-三羧酸 1, 4-二叔丁酯 (9.90g, 30.0mmol) 溶解在

THF (14mL) 中。在室温加入 1M 硼烷的 THF (90mL, 90.0mmol) 溶液。将反应混合物回流下搅拌 4 小时, 然后冷却至 0℃ 并逐滴加入甲醇 (100mL) 进行淬灭, 然后真空浓缩, 得到 (S)-2-羟基甲基-哌嗪-1, 4-二羧酸二-叔丁酯 (12.07g, 127%), 为白色固体, 其使用不用进一步纯化。

[0222] 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 C, $R_T = 2.08\text{min}$), ES^+ : 339.4[MH]⁺。

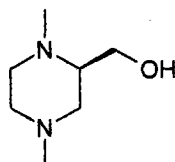
[0223] (S)-2-羟基甲基-哌嗪-1, 4-二羧酸二-叔丁酯 (5.66g, 17.9mmol) 溶解在 THF (10mL) 中并冷却至 0℃。加入 2M LiAlH₄ 的 THF (28.5mL, 57.0mmol) 溶液。将反应混合物回流下搅拌 4 小时, 然后冷却至 0℃, 并逐滴加入 1M 氢氧化钠溶液 (20mL) 进行淬灭。将反应混合物用 THF (50mL) 稀释、过滤, 并将滤液真空浓缩, 得到 1, 4-二甲基-(S)-2-羟基甲基哌嗪 (1.44g, 56%), 为无色油状物, 其使用不用进一步纯化。

[0224] 分析型 LCMS: 纯度 ~ 90% (系统 C, $R_T = 0.38\text{min}$), ES^+ : 145.2[MH]⁺。

[0225] 中间体 4

[0226] 1, 4-二甲基-(R)-2-羟基甲基哌嗪

[0227]



[0228] 将 (R)-哌嗪-1, 3-二羧酸 1-叔丁酯 (4.94g, 21.5mmol) 溶解在水 (10mL) 和二噁烷 (20mL) 中并冷却至 0℃。加入氢氧化钠 (1.72g, 43.0mmol) 的水 (4mL) 溶液和二碳酸二叔丁酯 (5.20g, 23.8mmol)。将反应混合物在室温搅拌 16 小时, 然后真空浓缩。将残留物悬浮在 DCM (400mL) 中并在室温搅拌 30 分钟, 过滤并将滤液真空浓缩, 得到 (R)-2-哌嗪-1, 2, 4-三羧酸 1, 4-二-叔丁酯 (9.78g, 138%), 为浅黄色油状物, 其使用不用进一步纯化。

[0229] 分析型 LCMS: 纯度 ~ 90% (系统 C, $R_T = 1.56\text{min}$), ES^+ : 131.7[M+H-2Boc]⁺。

[0230] 将 (R)-2-哌嗪-1, 2, 4-三羧酸 1, 4-二-叔丁酯 (2.16g, 6.55mmol) 溶解在 THF (10mL) 中。在室温加入 1M 硼烷的 THF (20mL, 20.0mmol) 溶液。将反应混合物回流下搅拌 4 小时, 然后冷却至 0℃, 并逐滴加入甲醇 (60mL) 进行淬灭, 然后真空浓缩, 得到 (R)-2-羟基甲基-哌嗪-1, 4-二羧酸二-叔丁酯 (2.60g, 125%), 为灰白色固体, 其使用不需进一步纯化。

[0231] 分析型 LCMS: 纯度 ~ 90% (系统 C, $R_T = 2.06\text{min}$), ES^+ : 116.9[M+H-2Boc]⁺。

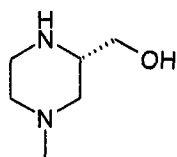
[0232] 将 (R)-2-羟基甲基-哌嗪-1, 4-二羧酸二-叔丁酯 (6.24g, 19.7mmol) 溶解在 THF (10mL) 中并冷却至 0℃。向其加入 2M LiAlH₄ 溶于 THF (30.0mL, 60.0mmol) 的溶液。将反应混合物回流下搅拌 4 小时, 然后冷却至 0℃, 并逐滴加入 1M 氢氧化钠溶液 (20mL) 进行淬灭。将反应混合物用 THF (50mL) 稀释, 过滤并将滤液真空浓缩, 得到 1, 4-二甲基-(R)-2-羟基甲基哌嗪 (1.77g, 62%), 为无色油状物, 其使用不用进一步纯化。

[0233] 分析型 LCMS：纯度 100%（系统 C， $R_T = 0.44\text{min}$ ）， ES^+ ：145.2[MH]⁺。

[0234] 中间体 5

[0235] (S)-(4-甲基-哌嗪-2-基)-甲醇

[0236]

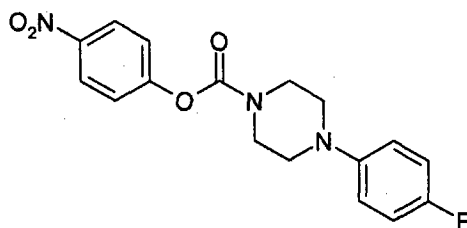


[0237] 向 (S)-哌嗪-1,3-二羧酸 1-叔丁酯 (5.00g, 21.7mmol) 于 THF (40mL) 中搅拌的混悬液中缓慢加入 1.0M 硼烷·THF 混合溶液 (32.6mL, 32.6mmol)。将反应物加热至 90℃ 并回流下搅拌 2 小时。在进一步加入 1.5 当量的 1.0M 硼烷·THF 混合溶液 (32.6mL, 32.6mmol) 之前，将反应混合物从热源移开。将反应重新加热至 90℃ 并再在回流下搅拌 2 小时。将反应物冷却至 0℃ 并通过缓慢加入 MeOH 淬灭。接着将反应混合物真空浓缩。将得到的白色固体溶解在 THF (30mL) 中，冷却至 0℃ 并缓慢加入 2.0M LiAlH₄ 溶于 THF (27mL, 54.0mmol) 中的溶液。将反应物加热至 90℃ 并在回流下搅拌 2 小时。再加入一份 2.0M LiAlH₄ 溶于 THF (27mL, 54.0mmol) 中的溶液并将反应物在回流下搅拌 4 小时，然后室温过夜搅拌。将反应混合物冷却至 0℃ 并通过缓慢加入 1.0M NaOH 水溶液进行淬灭，直至放热反应停止。将所得胶状物用 THF 稀释并将过滤除去固体。接着将滤液真空浓缩，得到 (S)-(4-甲基-哌嗪-2-基)-甲醇 (2.84g, 101% 粗产物)，为无色油状物。

[0238] 中间体 6

[0239] 4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯基酯

[0240]

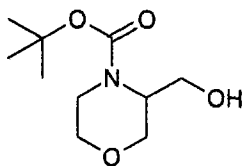


[0241] 将 1-(4-氟-苯基)-哌嗪 (12.2g, 67.7mmol) 和三乙胺 (4.63mL, 67.7mmol) 在氮气下溶解在无水 THF (150mL) 中，并将反应混合物冷却至 0℃。在 0℃ 加入溶解在无水 THF (150mL) 中的氯甲酸 4-硝基苯酯 (13.4g, 67.7mmol)，并将反应混合物在室温搅拌过夜。将溶剂在真空中除去并将残留物悬浮在水和 EtOAc 之间。水层用另外二份 EtOAc 萃取，将有机层合并，干燥 (MgSO₄)，真空干燥，然后从甲苯 (50mL)/正己烷 (60mL) 中重结晶，得到 4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯基酯 (15.8g, 67%)，为细黄色针状物。

[0242] 中间体 7

[0243] 3-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯

[0244]

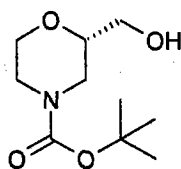


[0245] 将吗啉-3,4-二羧酸 4-叔丁酯 (9.50g, 41mmol) 在氮气中溶解于无水 THF (50mL), 并冷却至 -10°C 。逐滴加入 1M 硼烷溶液 (82mL, 82mmol), 同时保持温度低于 0°C 。使反应混合物温热至室温并搅拌过夜。将反应混合物冷却至 -5°C 并小心加入水 (10mL), 接着加入 Na_2CO_3 (9.5g) 的水 (20mL) 溶液。室温搅拌 30 分钟后, 将 THF 在真空中除去, 加入水, 反应混合物用二乙醚 (x3) 萃取。将合并的有机提取物干燥 (MgSO_4) 并将溶剂真空蒸发, 得到 3-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (8.9g, 100%), 为无色油状物。

[0246] 中间体 8

[0247] (S)-2-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯

[0248]



[0249] 将 (S)-3-氨基-1,2-丙二醇 (16.8g, 184mmol) 于室温溶解在 MeOH (90mL) 中, 并将溶液用 MeCN (550mL) 稀释。加入 NEt_3 (30.5mL, 219mmol) 并将反应混合物冷却至 -10°C 。在 1.5 小时内于氮气中在 -10°C 逐滴加入氯乙酰基氯 (22.2g, 15.6mL, 197mmol)。再将温度保持在 -10°C 达 1 小时, 然后使反应混合物达到室温并搅拌过夜 (16h)。将溶剂在真空中除去。将残留物用柱色谱法 (普通相, ApolloScientific 二氧化硅, $40\text{--}60\mu$, $60\text{\AA}$, 梯度: 含 1% 至 10% MeOH 的 EtOAc 溶液) 纯化。将合并的部分蒸发, 得到 2-氯-N-[(S)-2,3-二羟基丙基]乙酰胺 (28.5g, 92%), 为无色油状物, 其静置时产生白色固体。

[0250] 于室温在 2 小时内向 t-BuOK (13.7g, 122mmol) 溶于 t-AmOH (175mL) 的溶液中加入 2-氯-N-[(S)-2,3-二羟基丙基]乙酰胺 (8.1g, 48.3mmol) 溶于 t-AmOH (325mL) 的溶液。将产生的悬浮液室温搅拌 1 小时。在通过加入浓 HCl 调整 pH 至 5 之前, 加入甲醇 (50mL) 和水 (5mL) 并将在室温所得溶液搅拌 0.5 小时。将悬浮液过滤并用甲醇洗涤固体。将滤液在真空中蒸发, 所得固体在甲醇 (50mL) 中制成浆液并过滤, 得到 (S)-6-(羟基甲基)吗啉-3-酮 (1.3g), 为白色固体。通过向滤液中加入 EtOAc (200mL) 并通过二氧化硅短柱 (1x 10cm) 过滤所得溶液, 得到第二份产品。将溶剂在真空中蒸发, 得到 (S)-6-(羟基甲基)吗啉-3-酮 (3.9g, 总产量 5.2g, 82%), 为白色固体。

[0251] 在 0°C 向 (S)-6-(羟基甲基)吗啉-3-酮 (7.50g, 57.2mmol) 溶于无水 THF (100mL) 的溶液中加入溶于 THF (110mL, 85.8mmol) 中的 BH_3 。使反应混合物达到室温, 然后回流下加热过夜。将反应物冷却至室温, 然后用水 (5mL) 于 THF (16mL) 中的混合物, 接着用 7M 氨的甲醇溶液 (30mL) 进行淬灭。将反应混合物加热回流 30 分钟, 冷却并将溶剂在真空中除去。将残留物溶解在甲醇 (15mL) 中, 加载至 soluteSCX-220g

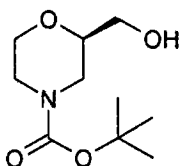
柱，用 MeOH(100mL) 洗涤并用氨的甲醇溶液洗脱。将溶剂在真空中除去，得到 (S)-吗啉-2-基-甲醇 (1.67g, 24%)，为棕色液体。

[0252] 向 (S)-吗啉-2-基-甲醇 (1.63g, 13.9mmol) 溶于 DCM(75mL) 的溶液中加入 NaOH(0.61g, 15.3mmol) 溶于水 (2mL) 的溶液。加入二碳酸二叔丁酯 (3.04g, 13.9mmol) 并将反应混合物在室温搅拌过夜。将水相分离并进一步用 DCM(2x 15mL) 萃取。将合并的有机相干燥 (Na_2SO_4)，并将溶剂在真空中除去。将残留物用柱色谱法 (普通相二氧化硅, 20g Isolute-Si 柱, 梯度: 含 1% 至 10% MeOH 的 DCM 溶液) 纯化并在真空中干燥, 得到 (S)-2-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (2.3g, 71%)，为白色固体。

[0253] 中间体 9

[0254] (R)-2-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯

[0255]

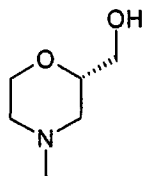


[0256] 按照与中间体 8 中描述的方法相似的方法，制备 (R)-2-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯，只是使用 (R)-3-氨基-1, 2-丙二醇，而不用 (S)-3-氨基-1, 2-丙二醇。得到目标化合物，为白色固体 (10% 总产量, 4 步)。

[0257] 中间体 10

[0258] (S)-(4-甲基吗啉-2-基)-甲醇

[0259]

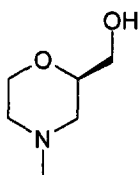


[0260] 在 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 将 (S)-2-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (中间体 8; 1.20g, 5.52mmol) 溶于 THF (5mL) 的溶液加入到 LiAlH_4 (1.30g, 34.3mmol) 溶于无水 THF (15mL) 的混悬液，并在氮气中搅拌 15 分钟。将冷却浴移除并将反应混合物温和加热至回流，历时 4 小时。通过小心加入水 (4mL) 于 THF (25mL) 的混合物并用冰浴冷却，将反应混合物淬灭。向反应混合物中加入 THF (50mL)，搅拌 15 分钟，过滤并用 THF (50mL) 洗涤固体。将合并的滤液在真空中蒸发。将残留物溶解在 DCM (50mL) 中，干燥 (MgSO_4) 并将溶剂在真空中除去，得到 (S)-(4-甲基吗啉-2-基)-甲醇 (490mg, 67%)，为无色油状物。

[0261] 中间体 11

[0262] (R)-(4-甲基吗啉-2-基)-甲醇

[0263]

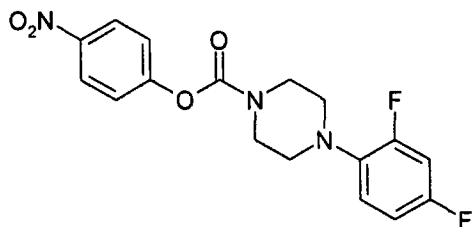


[0264] 与中间体 10 中描述的方法类似的方法，制备 (R)-(4-甲基哌啶-2-基)-甲醇，但使用 (R)-2-羟基甲基-哌啶-4-羧酸叔丁酯（中间体 9），而不用 (S)-2-羟基甲基-哌啶-4-羧酸叔丁酯（中间体 8）。得到目标化合物，为无色油状物 (560mg, 77%)。

[0265] 中间体 12

[0266] 4-(2, 4-二氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯基酯

[0267]

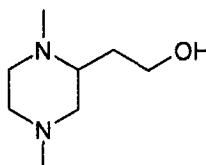


[0268] 将 1-(2, 4-二氟-苯基)-哌嗪 (3.70g, 18.9mmol) 和三乙胺 (2.8mL, 19.8mmol) 在氮气中溶解在无水的 THF (30mL) 里，并将反应混合物冷却至 0℃。将溶解在无水 THF (25mL) 中的氯甲酸 4-硝基苯酯 (3.8g, 18.9mmol) 逐滴加入，并将反应混合物在室温搅拌过夜。将溶剂在真空中除去且将残留物用水研磨，然后过滤。使用木炭将黄色固体从己烷和甲苯 (3 : 7) 的混合物中重结晶，得到 4-(2, 4-二氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯基酯 (4.3g, 63%)，为黄色结晶固体。

[0269] 中间体 13

[0270] 2-(1, 4-二甲基哌嗪-2-基)乙醇

[0271]



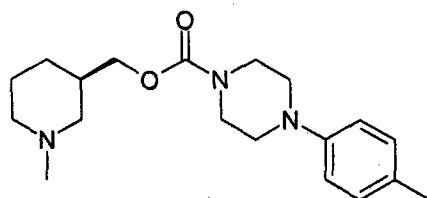
[0272] 在 0℃ 向甲基-2-哌嗪乙酸酯二盐酸盐 (500mg, 2.16mmol) 溶于二噁烷 (12mL) 和水 (6.0mL) 的溶液中缓慢加入 NaOH (182g, 4.55mmol) 溶于水 (0.4mL) 的溶液，接着加入二碳酸二叔丁酯 (992mg, 4.55mmol)。将反应混合物在室温搅拌 4 小时，然后真空浓缩。向所得盐中加入 DCM (75mL) 并剧烈搅拌悬浮液 30 分钟。将盐过滤并用 DCM (50mL) 洗涤。将滤液真空浓缩，得到 2-甲氧羰基甲基哌嗪-1, 4-二羧酸二-叔丁酯 (662mg, 85%)，为浅黄色油状物。

[0273] 在 0℃ 向搅拌的 2-甲氧羰基甲基哌嗪-1, 4-二羧酸二-叔丁酯 (662mg, 1.85mmol) 溶于无水 THF (10mL) 的溶液中缓慢加入 1M LiAlH₄ 溶于 THF (5.7mL, 5.70mmol) 的溶液。在回流 2 小时之前，使搅拌的反应混合物在 15 分钟内温热至室温。这段时间后，将反应混合物冷却至 0℃ 并逐滴加入 1.0M NaOH 水溶液小心淬灭，直到泡腾停止为止。将所得凝胶用 THF (50mL) 稀释并将固体过滤。将滤液真空浓缩，得到 2-(1, 4-二甲基哌嗪-2-基)乙醇 (191mg, 65%)，为无色油状物。

[0274] 实施例 1

[0275] 4-(4-甲基苯基)哌嗪-1-羧酸 [(3R)-1-甲基哌啶-3-基] 甲酯

[0276]



[0277] 在 0℃ 在氩气中向 3-(羟基甲基)哌啶-1-羧酸 (R)-叔丁酯 (5.00g, 23.2mmol) 溶于 THF (30mL) 的溶液中逐滴加入 2M LiAlH₄ 溶于 THF 的溶液 (14.0mL, 28.0mmol)。使反应混合物温热至室温, 历时 2 小时, 并在室温搅拌 17 小时。将反应混合物冷却至 0℃ 并逐滴加入 1M NaOH 水溶液 (4.0mL)。加入水 (2mL) 并将所得混合物在室温搅拌 2 小时。经过滤除去白色固体。将滤液真空浓缩, 得到 (R)-(1-甲基哌啶-3-基) 甲醇 (3.19g, 106%), 为无色油状物, 其使用不需进一步纯化。

[0278] 分析型 LCMS: 纯度 ~ 90% (系统 C, R_T = 0.46min), ES⁺: 130.1[MH]⁺。

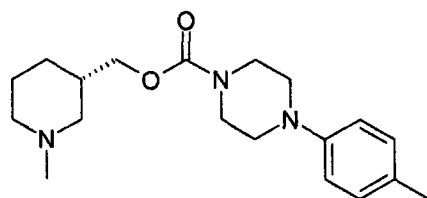
[0279] 将氢化钠 (0.70g, 60% 分散在矿物油中, 17.5mmol) 在氩气环境下悬浮于庚烷 (10mL) 中。将庚烷倒出, 并向烧瓶加入 THF (20mL) 并冷却至 0℃。逐滴加入 (R)-(1-甲基哌啶-3-基) 甲醇 (0.75g, 5.83mmol) 溶于 THF (20mL) 的溶液, 接着加入 4-(4-甲基苯基) 哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯 (中间体 1; 2.19g, 6.42mmol) 溶于 THF (20mL) 的溶液。使反应混合物温热至室温并搅拌 18 小时。接着将反应混合物冷却至 0℃, 逐滴加入 NaHCO₃ 饱和水溶液进行淬灭并真空浓缩。将残留物溶解在乙酸乙酯 (200mL) 中, 用 NaHCO₃ 饱和水溶液 (4x 50mL) 洗涤、干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩。将残留物用反相色谱法 (用甲醇的水溶液进行梯度洗脱, 各溶剂含 1% 甲酸, 0-25%) 纯化。将所得残留物溶解在 DCM (50mL) 中并与固体 K₂CO₃ 一起搅拌 20 分钟、过滤并真空浓缩。残留物进一步用普通相柱色谱法 (用 DCM 洗脱, 接着用 90:10 DCM: MeOH 的混合物洗脱) 纯化, 得到 4-(4-甲基苯基) 哌嗪-1-羧酸 [(3R)-1-甲基哌啶-3-基] 甲酯 (619mg, 32%), 为灰褐色固体。

[0280] 分析型 HPLC: 纯度 99.9% (系统 A, R_T = 4.07min); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 A, R_T = 4.46min), ES⁺: 332.5[MH]⁺; C₁₉H₂₉N₃O₂ 的 HRMS 计算值: 331.2260, 实测值: 331.2275。

[0281] 实施例 2

[0282] 4-(4-甲基苯基) 哌嗪-1-羧酸 [(3S)-1-甲基哌啶-3-基] 甲酯

[0283]



[0284] 将 (S)-(1-甲基哌啶-3-基) 甲醇 (1.50g, 11.6mmol; 按照实施例 1, 但从 3-(羟基甲基)哌啶-1-羧酸 (S)-叔丁酯开始制备) 溶解在 DCM (20mL) 并冷却至 0℃。加入 NMM (1.30mL, 12.2mmol) 和氯甲酸硝基苯酯 (2.46g, 12.2mmol)。将反应混合物在 0℃ 搅拌 2 小时, 然后加入 4-(4-甲基苯基) 哌嗪二盐酸盐 (1.88g, 7.5mmol) 和 DIPEA (3.70mL, 22.1mmol) 溶于 DMF (40mL) 中的溶液。将反应混合物

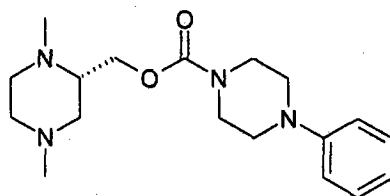
在室温搅拌 2 小时，然后真空浓缩。将残留物溶解在 EtOAc (300mL)，然后继而用 1M Na_2CO_3 水溶液 (5x 200mL) 洗涤、干燥 (MgSO_4) 并真空浓缩。残留物用普通相柱色谱法纯化 (用 DCM 洗脱，接着用 85 : 15DCM : MeOH 的混合物洗脱)，接着用反相 HPLC (Advanced Chromatography Technologies ACE-122-1030RP 二氧化硅 100x30mm 柱，充填 Ace 5C8 (5 μm)，孔径 100Å, 30mL/min, CH_3CN 溶于水中的梯度，各溶剂含 0.1% TFA, 8-38%) 纯化。将残留物溶解在 DCM (70mL) 中并用固体 K_2CO_3 搅拌 20 分钟，过滤并真空浓缩，得到黄色油状物，将油状物从庚烷 /EtOAc 重结晶，得到 4-(4-甲基苯基)哌嗪-1-羧酸 [(3S)-1-甲基哌嗪-3-基]甲酯 (521mg, 13.5%)，为白色固体。

[0285] 分析型 HPLC：纯度 100% (系统 A, $R_T = 3.88\text{min}$)；分析型 LCMS：纯度 100% (系统 A, $R_T = 4.39\text{min}$)， ES^+ ：332.2[MH] $^+$ ； $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_2$ 的 HRMS 计算值：331.2260，实测值 331.2270。

[0286] 实施例 3

[0287] 4-苯基哌嗪-1-羧酸 [(2S)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯

[0288]



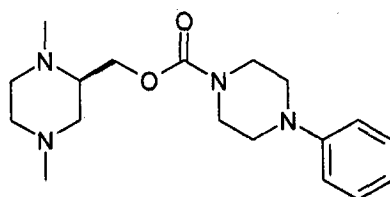
[0289] 在 0°C 向 1, 4-二甲基-(S)-2-羟基甲基哌嗪 (中间体 3；1.49g, 10.3mmol) 溶于 THF (20mL) 的溶液中加入氢化钠 (1.24g, 60% 分散在矿物油中, 31.0mmol)。将反应混合物在 0°C 搅拌几分钟，然后加入 4-苯基哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯 (中间体 2；3.72g, 11.4mmol) 溶于 THF (20mL) 的溶液。使反应混合物温热至室温并搅拌 7 小时。接着将反应混合物冷却至 0°C 并逐滴加入 NaHCO_3 饱和水溶液进行淬灭。将 THF 在真空中除去，水相用 EtOAc (x3) 萃取，合并的有机相用 NaHCO_3 饱和水溶液 (x6) 洗涤，干燥 (MgSO_4) 并真空浓缩。将残留物悬浮在水：甲酸溶液 [1 : 1] (20mL) 中，过滤并将滤液用反相柱色谱法纯化 (用甲醇的水溶液进行梯度洗脱，各溶剂含 1% 甲酸, 0-15%)。将所得残留物溶解在 DCM (50mL) 中并用固体 K_2CO_3 搅拌 20 分钟，过滤并真空浓缩，得到 4-苯基哌嗪-1-羧酸 [(2S)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯 (1.25g, 36%)，为淡黄色固体。

[0290] 分析型 HPLC：纯度 99.8% (系统 A, $R_T = 3.50\text{min}$)；分析型 LCMS：纯度 100% (系统 A, $R_T = 3.86\text{min}$)， ES^+ ：333.6[MH] $^+$ ； $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_2$ 的 HRMS 计算值：332.2212，实测值 332.2227。

[0291] 实施例 4

[0292] 4-苯基哌嗪-1-羧酸 [(2R)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯

[0293]



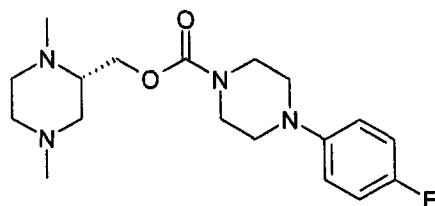
[0294] 在氩气环境下将氢化钠 (1.14g, 60% 分散在矿物油中, 28.6mmol) 悬浮在庚烷 (10mL) 中。将庚烷倒出, 并向烧瓶中加入 THF (20mL), 冷却至 0℃。逐滴加入 1, 4-二甲基-(R)-2-羟基甲基哌嗪 (中间体 4; 1.38g, 9.5mmol) 溶于 THF (20mL) 的溶液, 接着加入 4-苯基哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯 (中间体 2; 4.06g, 12.4mmol) 溶于 THF (20mL) 的溶液。使反应混合物温热至室温, 搅拌 16 小时, 将反应混合物冷却至 0℃, 接着逐滴加入 NaHCO₃ 饱和水溶液进行淬灭, 并真空浓缩。将残留物溶解在 EtOAc (200mL) 中, 用 NaHCO₃ 饱和水溶液 (4x 50mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩。将残留物悬浮在水: 甲酸溶液 [1 : 1] (20mL) 中, 过滤并将滤液用反相柱色谱法纯化 (用甲醇的水溶液进行梯度洗脱, 各溶剂含 1% 甲酸, 0-15%)。将所得残留物溶解在 DCM (50mL) 中并用固体 K₂CO₃ 搅拌 20 分钟, 过滤并真空浓缩, 得到 4-苯基哌嗪-1-羧酸 [(2R)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基] 甲酯 (1.93g, 61%), 为淡黄色固体。

[0295] 分析型 HPLC: 纯度 100% (系统 A, R_T = 3.55min); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 A, R_T = 3.90min), ES⁺: 333.5[MH]⁺; C₁₈H₂₈N₄O₂ 的 HRMS 计算值: 332.2212, 实测值 332.2225。

[0296] 实施例 5

[0297] 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸 [(2S)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基] 甲酯

[0298]



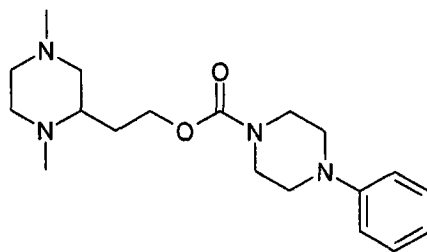
[0299] 将氯甲酸 4-硝基苯酯 (5.17g, 25.7mmol) 在室温溶解在 DCM (200mL) 中并将反应混合物冷却至 0℃, 再加入 DIPEA (6.94g, 9.38mL, 53.9mmol) 和 1, 4-二甲基-(S)-2-羟基甲基哌嗪 (中间体 3; 3.70g, 25.7mmol)。将反应混合物在室温搅拌 2 小时, 然后分成三等份。向其中一份加入 1-(4-氟-苯基)-哌嗪 (1.53g, 8.5mmol), 并将混合物搅拌 48 小时。将溶剂在真空中除去并将残留物在 EtOAc (500mL) 和 1.0M NaOH 溶液 (200mL) 之间分配。将有机层用 1.0M NaOH 水溶液 (5x 125mL) 洗涤, 用盐水 (100mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄) 并将溶剂在真空中除去。将残留物溶解在 DCM (100mL) 中并加入异氰酸树脂 (3g), 将反应混合物震荡 14 小时, 过滤并将溶剂在真空中除去。将残留物用反相柱色谱法 (LiChroprep RP-18, 40-63 μm, 460x 26mm (100g), 30mL/min, 梯度: 含 0% 至 30% (在 75min 内) 至 100% (在 13min 内) MeOH 的水溶液, 含 1% 甲酸) 纯化。使用 K₂CO₃ 的 DCM 溶液将残留物除去盐分, 得到 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸 [(2S)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基] 甲酯 (1.78g, 60.0%), 为淡黄色凝胶。

[0300] 分析型 HPLC: 纯度 99.1% (系统 A, R_T = 3.69min); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 A, R_T = 4.10min), ES⁺: 351.1[MH]⁺。

[0301] 实施例 6

[0302] 4-苯基哌嗪-1-羧酸 2-(1, 4-二甲基哌嗪-2-基) 乙酯

[0303]



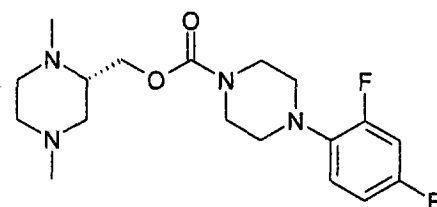
[0304] 将 2-(1,4-二甲基哌嗪-2-基)乙醇(703mg, 4.44mmol) 溶解在无水 THF(20mL) 中并将搅拌的溶液冷却至 0℃, 然后加入 NaH(60% 分散在矿物油中; 550mg, 13.8mmol)。将悬浮液搅拌 10 分钟。向反应混合物中加入 4-苯基哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯(中间体 2; 1.89g, 5.77mmol), 将其在室温搅拌 3 小时。这段时间后, 通过冷却混合物至 0℃ 和小心用饱和的 NaHCO_3 水溶液(50mL) 淬灭而终止反应。将 THF 在真空中除去, 并转移到分离漏斗中, 在分离漏斗中有机产物用 EtOAc(3x 75mL) 萃取。将合并的有机提取物收集到一起并用饱和的 NaHCO_3 水溶液(3x 75mL) 洗涤。将有机层干燥(MgSO_4), 过滤并真空浓缩, 得到粗制黄色浆液。将粗品残留物用反相色谱法(LiChroprep RP-18, 40-63 μm , 460x 26mm(100g), 30mL/min, 梯度: 含 0% 至 15% (在 70min 内) 至 100% (在 5min 内) MeOH 的水溶液, 含 1% 甲酸) 纯化。脱盐(使用 K_2CO_3 的 DCM 溶液), 过滤并真空浓缩, 得到 4-苯基哌嗪-1-羧酸 2-(1,4-二甲基哌嗪-2-基)乙酯(236mg, 13%), 为暗黄色油状物。

[0305] 分析型 HPLC: 纯度 100% (系统 A, $R_T = 3.50\text{min}$); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 A, $R_T = 3.92\text{min}$), ES^+ : 347.6[MH] $^+$; $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_2$ 的 HRMS 计算值: 346.2369, 实测值 346.2378。

[0306] 实施例 7

[0307] 4-(2,4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2S)-1,4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯

[0308]



[0309] 在室温将氯甲酸 4-硝基苯酯(5.17g, 25.7mmol) 溶解在 DCM(200mL) 中并将反应混合物冷却至 0℃, 再加入 DIPEA(6.94g, 9.38mL, 53.9mmol) 和 1,4-二甲基-(S)-2-羟基甲基哌嗪(中间体 3; 3.70g, 25.7mmol)。将反应混合物在室温搅拌 2 小时, 然后分成三等份。向其中一份中加入 1-(2,4-二氟-苯基)-哌嗪(1.68g, 8.5mmol) 并搅拌 48 小时。真空下去除溶剂, 并将残留物在 EtOAc(500mL) 和 1.0M NaOH 水溶液(200mL) 之间分配。将有机层用 1.0M NaOH 水溶液(5x 125mL) 洗涤, 用盐水(100mL) 洗涤, 干燥(MgSO_4) 并真空下去除溶剂。将残留物溶解在 DCM(100mL) 中并加入异氰酸树脂(3g), 将反应混合物震荡 14 小时, 过滤并真空下去除溶剂。残留物用反相色谱法(LiChroprep RP-18, 40-63 μm , 460x 26mm(100g), 30mL/min, 梯度: 含 0% 至 30% (在 75min 内) 至 100% (在 13min 内) MeOH 的水溶液, 含 1% 甲酸) 纯化。通过使用 K_2CO_3 的 DCM 溶液将残留物进行脱盐, 得到 4-(2,4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2S)-1,

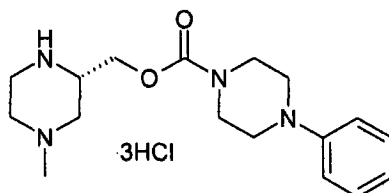
4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯 (1.23g, 39.4%), 为淡黄色胶状物。

[0310] 分析型 HPLC: 纯度 100% (系统 A, $R_T = 4.12\text{min}$); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 A, $R_T = 4.53\text{min}$), ES^+ : $369.1[MH]^+$; $C_{18}H_{26}F_2N_4O_2$ 的 HRMS 计算值: 368.2024, 实测值 368.2038。

[0311] 实施例 8

[0312] 4-苯基哌嗪-1-羧酸 [(2S)-4-甲基哌嗪-2-基]甲酯三盐酸盐

[0313]



[0314] 在 0°C 向 (S)-(4-甲基-哌嗪-2-基)-甲醇 (中间体 5; 2.84g, 21.7mmol) 于 H_2O (20mL) 和二噁烷 (40mL) 混合物中的混悬液加入 50% w/w NaOH 水溶液 (0.96g, 24.0mmol)。加入二碳酸二叔丁酯 (5.01g, 22.9mmol) 并将反应混合物在室温搅拌过夜。真空下去除溶剂。将残留物溶解在无水 THF (25mL) 中并将溶液冷却至 0°C 。加入 NaH (60% wt 分散在油中; 4.05g, 101mmol) 并在加入 4-苯基-哌嗪-1-羧酸 4-硝基-苯酯 (中间体 2; 11.2g, 34.1mmol) 之前将灰色悬浮液搅拌 10 分钟。将反应物在室温搅拌过周末。使反应混合物冷却至 0°C 并用 $NaHCO_3$ 饱和水溶液 (20mL) 进行淬灭, 然后将 THF 在真空中除去。有机产物用 EtOAc (3x 50mL) 萃取并将有机层合并, 再用 $NaHCO_3$ 饱和水溶液 (3x 50mL) 洗涤, 干燥 ($MgSO_4$), 并真空下去除溶剂。向粗制浆液中加入 MeOH 并将固体过滤, 再用 MeOH 洗涤。将滤液浓缩并分两批经反相柱色谱法 (LiChroprep RP-18, $40-63\mu\text{m}$, $460 \times 26\text{mm}$ (100g), 30mL/min, 梯度: 含 0% 至 50% (在 75min 内) MeOH 的水溶液, 含 1% 甲酸) 纯化。使用 K_2CO_3 的 DCM 溶液将产物脱盐, 得到 (S)-4-甲基-2-((4-苯基-哌嗪-1-羧基氧基甲基)-哌嗪-1-羧酸叔丁酯 (1.65g, 18%), 为褐色油状物。

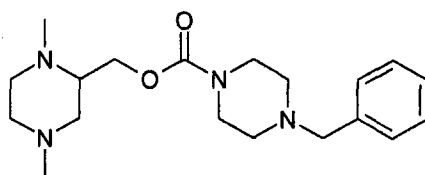
[0315] 向 (S)-4-甲基-2-((4-苯基-哌嗪-1-羧基氧基甲基)-哌嗪-1-羧酸叔丁酯 (1.65g, 3.9mmol) 溶于 MeOH (10mL) 的溶液中加入 2M HCl 溶于 Et_2O 的溶液 (11.8mL, 23.6mmol)。将反应物在室温搅拌 3 天。将反应混合物真空浓缩。残留物用反相柱色谱法 (LiChroprep RP-18, $40-63\mu\text{m}$, $460 \times 26\text{mm}$ (100g), 30mL/min, 梯度: 含 0% 至 15% (在 75min 内) MeOH 的水溶液, 含 0.1% TFA) 纯化。接着将批料通过反相 HPLC (YMC ODS-A $100 \times 20\text{mm}$, $5\mu\text{m}$, 25mL/min, 梯度: 50% 至 100% (在 7min 内)、接着 100% (3min) MeOH 于 10% MeOH/ 水中的溶液) 进一步纯化。真空浓缩之前, 将纯的产物在 4M HCl 水溶液 (10mL) 中搅拌 4 小时。将所得油状物用庚烷洗涤, 真空浓缩, 然后在真空炉中干燥过夜, 得到 4-苯基哌嗪-1-羧酸 [(2S)-4-甲基哌嗪-2-基]甲酯三盐酸盐 (1.63g, 96%), 为灰棕色固体。

[0316] 分析型 HPLC: 纯度 100% (系统 A, $R_T = 3.27\text{min}$); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 A, $R_T = 3.71\text{min}$), ES^+ : $319.2[MH]^+$; $C_{17}H_{26}N_4O_2$ 的 HRMS 计算值: 318.2056, 实测值 318.2071。

[0317] 实施例 9

[0318] 4-苯基哌嗪-1-羧酸(1,4-二甲基哌嗪-2-基)甲酯

[0319]



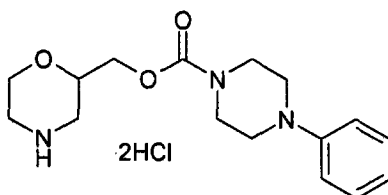
[0320] 将1,4-二甲基-2-羟基甲基哌嗪(1.00g, 6.94mmol)于室温溶解在DCM(50mL)中并加入MM(0.74g, 7.29mmol)。将反应混合物冷却至0℃并加入氯甲酸4-硝基苯酯(1.4g, 6.94mmol)。将反应混合物在室温搅拌4小时,然后分成两等份。向其中一份中加入DIPEA(1.35g, 10.4mmol)、1-苯基哌嗪(0.61g, 3.47mmol)并将反应混合物搅拌4小时。真空下去除溶剂并将残留物在EtOAc(300mL)和1.0M NaOH水溶液(100mL)之间分配。将有机层用1.0M NaOH水溶液(5x 100mL)洗涤,用盐水(100mL)洗涤,干燥(MgSO₄)并真空下去除溶剂。将残留物溶解在DCM(100mL)中,加入异氰酸树脂,将反应混合物震荡16小时,过滤并真空下去除溶剂。将残留物经反相柱色谱法(LiChroprep RP-18, 40-63 μm, 460x 26mm(100g), 30mL/min, 梯度:含0%至30%(在88min内)MeOH的水溶液,含1%甲酸)纯化。使用K₂CO₃的DCM溶液将残留物脱盐,得到4-苯基哌嗪-1-羧酸(1,4-二甲基哌嗪-2-基)甲酯(0.32g, 26.3%),为浅黄色油状物。

[0321] 分析型HPLC:纯度100%(系统A, R_T = 2.94min);分析型LCMS:纯度100%(系统A, R_T = 3.40min), ES⁺: 347.2[MH]⁺; C₁₉H₃₀N₄O₂的HRMS计算值: 346.2369, 实测值 346.2382。

[0322] 实施例10

[0323] 4-苯基哌嗪-1-羧酸吗啉-2-基甲酯二盐酸盐

[0324]



[0325] 将2-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯(4.13g, 19.0mmol)溶解在无水THF(20mL)中并将溶液冷却至0℃。加入NaH(60% wt分散在油中; 2.28g, 57.0mmol),将灰色悬浮液搅拌10分钟,然后加入4-苯基哌嗪-1-羧酸4-硝基苯酯(中间体2; 7.46g, 22.8mmol)。将反应物在室温搅拌过周末。再加入1.5当量NaH(60% wt分散在油中)(1.14g, 28.5mmol)并将反应物在室温搅拌过夜。将反应混合物冷却至0℃,用NaHCO₃饱和水溶液(50mL)淬灭,然后在真空中除去THF。有机产物用EtOAc(3x 50mL)萃取并将有机层合并,用NaHCO₃饱和水溶液(3x 50mL)洗涤,干燥(MgSO₄)并真空下去除溶剂。残留物经反相柱色谱法(LiChroprep RP-18, 40-63 μm, 460x 36mm(200g), 30mL/min, 梯度:含0%至80%(在120min内)MeOH的水溶液,含1%甲酸)纯化,得到2-(4-苯基哌嗪-1-羧基氧基甲基)-吗啉-4-羧酸叔丁酯(6.67g, 87%产率),为深褐色油状物。

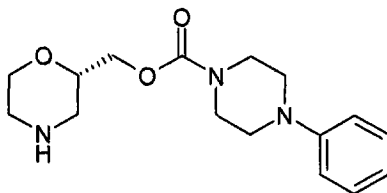
[0326] 向 2-(4-苯基哌嗪-1-羰基氧基甲基)-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (6.67g, 16.5mmol) 溶于 MeOH (10mL) 的溶液中加入 2M HCl 溶于 Et₂O 的溶液 (16.5mL, 32.9mmol)。将褐色溶液在室温搅拌过夜。将反应混合物真空浓缩。残留物经反相色谱法 (LiChroprep RP-18, 40-63 μ m, 460x26mm (100g), 30mL/min, 梯度: 含 0% 至 15% (在 75min 内) MeOH 的水溶液, 含 0.1% TFA) 纯化。将纯的样品在 4M HCl 水溶液 (20mL) 中搅拌过夜, 然后真空浓缩。将所得黄色油状物用庚烷洗涤, 真空浓缩并在真空炉中干燥过夜, 得到 4-苯基哌嗪-1-羧酸吗啉-2-基甲酯二盐酸盐 (4.72g, 76%), 为灰黄色固体。

[0327] 分析型 HPLC: 纯度 99.6% (系统 A, $R_T = 3.57$ min); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 A, $R_T = 3.90$ min), ES^+ : 306.5[MH]⁺; C₁₆H₂₃N₃O₃ 的 HRMS 计算值: 305.1739, 实测值 305.1749。

[0328] 实施例 11

[0329] 4-苯基哌嗪-1-羧酸 (2S)-吗啉-2-基甲酯

[0330]



[0331] 向 NaH (60% 分散在油中; 55.0mg, 1.38mmol) 于无水 THF (5mL) 中的混悬液中加入 (S)-2-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (中间体 8; 100mg, 0.46mmol), 并在氮气下搅拌 30 分钟。加入 4-苯基哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯 (中间体 2, 180mg, 0.55mmol) 和 THF (2mL), 并将反应混合物在室温搅拌 48 小时。将反应混合物通过 C 盐 (celite) 过滤并将固体用 THF (10mL) 洗涤。将滤液合并并真空下去除溶剂。将残留物用柱色谱法 (普通相二氧化硅, 5g Isolute-Si 柱, 梯度: 含 10% 至 30% EtOAc 的己烷溶液) 纯化, 得到 (2S)-(4-苯基哌嗪-1-羰基氧基甲基)-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (180mg, 96%), 为无色油状物。

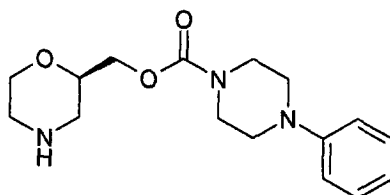
[0332] 将 (2S)-(4-苯基哌嗪-1-羰基氧基甲基)-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (180mg, 0.44mmol) 溶解在 DCM (2mL) 中并加入 TFA (3mL, 10%, 于 DCM 中)。将反应混合物在室温搅拌过夜。真空下去除溶剂。加入庚烷并真空下去除溶剂。向残留物溶于 DCM (2mL) 的溶液中加入 K₂CO₃ (500mg, 3.6mmol), 搅拌 1 小时, 然后加入水 (0.3mL) 并搅拌 30 分钟。将混合物过滤, 将滤液干燥 (Na₂SO₄) 并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法 (普通相, 5g Isolute-Si 柱, EtOAc 溶于己烷 (1:1) 的溶液, 接着用含 1-10% MeOH 的 EtOAc 溶液) 纯化。将残留物在真空中干燥, 得到 4-苯基哌嗪-1-羧酸 (2S)-吗啉-2-基甲酯 (101mg, 75%), 为白色固体。

[0333] 分析型 HPLC: 纯度 98.9% (系统 B, $R_T = 6.63$ min); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 B, $R_T = 6.57$ min), ES^+ : 306.7[MH]⁺; C₁₆H₂₃N₃O₃ 的 HRMS 计算值: 305.1739, 实测值 305.1753。

[0334] 实施例 12

[0335] 4-苯基哌嗪-1-羧酸 (2R)-吗啉-2-基甲酯

[0336]



[0337] 向 NaH(60%，分散在油中；55.0mg，1.38mmol) 于无水 THF(5mL) 的混悬液中加入 (R)-2-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯(中间体 9；100mg，0.46mmol)，并在氮气下搅拌 30 分钟。加入 4-苯基哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯(中间体 2；180mg，0.55mmol) 并将反应混合物在室温搅拌 48 小时。使反应混合物通过 C 盐过滤并将固体用 THF(10mL) 洗涤。将滤液合并并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相，二氧化硅，5g Isolute-Si 柱，梯度：含 10% 至 50% EtOAc 的己烷溶液)纯化，得到 (2R)-(4-苯基哌嗪-1-羧基氧基甲基)-吗啉-4-羧酸叔丁酯(170mg，91%)，为浅黄色油状物。

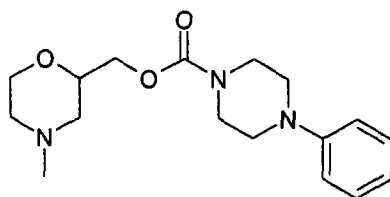
[0338] 将 (2R)-(4-苯基哌嗪-1-羧基氧基甲基)-吗啉-4-羧酸叔丁酯(130mg，0.32mmol) 溶解在 DCM(2mL) 中并加入 TFA(3mL，10%，于 DCM 中)。将反应混合物在室温搅拌过夜。真空下去除溶剂。加入庚烷并真空下去除溶剂。向残留物溶于 DCM(2mL) 的溶液中加入 K_2CO_3 (500mg，3.6mmol)，搅拌 30 分钟，之后加入水(0.3mL)，搅拌 1 小时。将混合物过滤并将滤液干燥(Na_2SO_4)并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相，5g Isolute-Si 柱，EtOAc 溶于己烷(1:1)的溶液，接着用 1-10% MeOH 溶于 EtOAc 溶液)纯化。将残留物在真空中干燥，得到 4-苯基哌嗪-1-羧酸(2R)-吗啉-2-基甲酯(57mg，58%)，为白色固体。

[0339] 分析型 HPLC：纯度 99.8% (系统 B， $R_T = 6.63min$)；分析型 LCMS：纯度 100% (系统 B， $R_T = 6.54min$)， ES^+ ：306.7[MH] $^+$ ； $C_{16}H_{23}N_3O_3$ 的 HRMS 计算值：305.1739，实测值 305.1753。

[0340] 实施例 13

[0341] 4-苯基哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-2-基)甲酯

[0342]



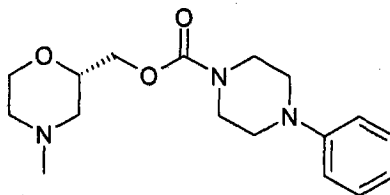
[0343] 于室温将 4-苯基哌嗪-1-羧酸吗啉-2-基甲酯(实施例 10 的非 HCl 盐；1.00g，3.27mmol) 和 37% 甲醛溶于水的溶液(1.97g，1.82mL，65.5mmol) 溶解在 MeOH(20mL)，接着在 5 分钟内分批加入三乙酰氧基硼氢化钠(2.78g，13.1mmol)。将反应混合物搅拌 2 小时。反应混合物通过加入饱和的 Na_2CO_3 水溶液淬灭。真空下去除溶剂并将残留的水相加载到 Isolute HM-N 20mL 柱中。所需产物用 DCM(200mL) 洗脱并真空下去除溶剂，得到 4-苯基哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-2-基)甲酯(0.93g，88.9%)，为无色胶状物。

[0344] 分析型 HPLC：纯度 99.5% (系统 A， $R_T = 3.64min$)；分析型 LCMS：纯度 100% (系统 A， $R_T = 4.01min$)， ES^+ ：320.1[MH] $^+$ ； $C_{17}H_{25}N_3O_3$ 的 HRMS 计算值：319.1896，实测值 319.1899。

[0345] 实施例 14

[0346] 4-苯基哌嗪-1-羧酸[(2S)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯

[0347]



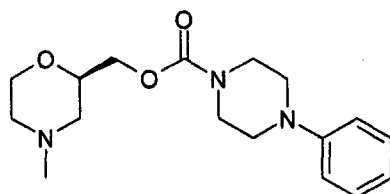
[0348] 向 NaH(60%，分散在油中；90.0mg，2.28mmol) 于无水 THF(7mL) 中的悬浮液中加入 (S)-(4-甲基-吗啉-2-基)-甲醇(中间体 10；100mg，0.76mmol)，并在氮气下搅拌 30 分钟。加入 4-苯基哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯(中间体 2；300mg，0.92mmol) 并将反应混合物在室温搅拌 48 小时。将反应混合物通过 C 盐过滤并将固体用 THF(10mL) 洗涤。将滤液合并并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相二氧化硅，5g Isolute-Si 柱，梯度：含 1-5% MeOH 的 DCM 溶液)纯化，接着用反相 HPLC 纯化(YMC ODS-A 100x 20mm，5 μ m，25mL/min，梯度：20% 至 100% (在 7min 内) 然后 100% (3min) MeOH 溶于 10% MeOH/ 水中的溶液)。将纯的产物溶于 DCM(5mL)，过滤并在真空中干燥，得到 4-苯基哌嗪-1-羧酸[(2S)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯(50mg，20%)，为无色胶状物。

[0349] 分析型 HPLC：纯度 99.4% (系统 A， $R_T = 3.65\text{min}$)；分析型 LCMS：纯度 100% (系统 A， $R_T = 3.66\text{min}$)， ES^+ ：320.3[MH] $^+$ ； $C_{17}H_{25}N_3O_3$ 的 HRMS 计算值：319.1896，实测值 319.1909。

[0350] 实施例 15

[0351] 4-苯基哌嗪-1-羧酸[(2R)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯

[0352]



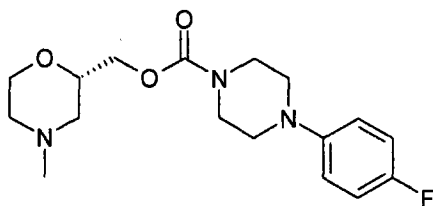
[0353] 向 NaH(60%，分散在油中；90.0mg，2.28mmol) 于无水 THF(7mL) 的悬浮液中加入 (R)-(4-甲基-吗啉-2-基)-甲醇(中间体 11；100mg，0.76mmol) 并在氮气下搅拌 30 分钟。加入 4-苯基哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯(中间体 2；300mg，0.92mmol)，并将反应混合物在室温搅拌 48 小时。将反应混合物通过 C 盐过滤并将固体用 THF(10mL) 洗涤。将滤液合并并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相二氧化硅，5g Isolute-Si 柱，梯度：含 1-5% MeOH 的 DCM 溶液)纯化。真空下去除溶剂，得到 4-苯基哌嗪-1-羧酸[(2R)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯(175mg，72%)，为浅黄色胶状物。

[0354] 分析型 HPLC：纯度 99.8% (系统 B， $R_T = 6.84\text{min}$)；分析型 LCMS：纯度 100% (系统 A， $R_T = 3.67\text{min}$)， ES^+ ：320.5[MH] $^+$ ； $C_{17}H_{25}N_3O_3$ 的 HRMS 计算值：319.1896，实测值 319.1895。

[0355] 实施例 16

[0356] 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2S)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯

[0357]



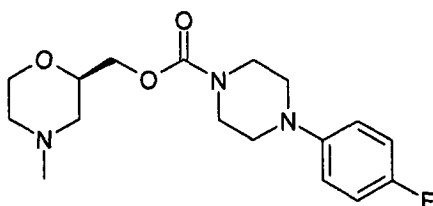
[0358] 向 NaH(60%，分散在油中；90.0mg，2.28mmol) 于无水 THF(7mL) 的悬浮液中加入 (S)-(4-甲基-吗啉-2-基)-甲醇(中间体 10；100mg，0.76mmol) 并在氮气下搅拌 30 分钟。加入 4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯(中间体 6；314mg，0.91mmol) 并将反应混合物在室温下搅拌 48 小时。将反应混合物通过 C 盐过滤并将固体用 THF(10mL) 洗涤。将滤液合并并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相二氧化硅，5g Isolute-Si 柱，梯度：含 1-5% MeOH 的 DCM 溶液)纯化并真空下去除溶剂，得到 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2S)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯(130mg，51%)，为浅褐色固体。

[0359] 分析型 HPLC：纯度 96.0% (系统 B， $R_T = 7.46\text{min}$)；分析型 LCMS：纯度 100% (系统 A， $R_T = 3.97\text{min}$)， ES^+ ：338.6[MH] $^+$ ； $C_{17}H_{24}FN_3O_3$ 的 HRMS 计算值：337.1802，实测值 337.1814。

[0360] 实施例 17

[0361] 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2R)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯

[0362]



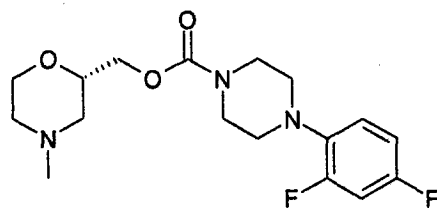
[0363] 向 NaH(60%，分散在油中；90.0mg，2.28mmol) 于无水 THF(7mL) 的悬浮液中加入 (R)-(4-甲基-吗啉-2-基)-甲醇(中间体 11；100mg，0.76mmol) 并在氮气下搅拌 30 分钟。加入 4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯(中间体 6；314mg，0.91mmol) 并将反应混合物在室温搅拌 48 小时。将反应混合物通过 C 盐过滤并将固体用 THF(10mL) 洗涤。将滤液合并并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相二氧化硅，5g Isolute-Si 柱，梯度：含 1-5% MeOH 的 DCM 溶液)纯化，然后用反相 HPLC(YMC ODS-A 100x 20mm，5 μm ，25mL/min，梯度：20% 至 100% (在 7min 内) 接着 100% (3min) MeOH 溶于 10% MeOH/ 水中的溶液)纯化。将纯的产物溶于 DCM(5mL) 中，过滤并在真空中干燥，得到 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2R)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯(100mg，28%)，为无色胶状物。

[0364] 分析型 HPLC：纯度 99.7% (系统 A， $R_T = 3.97\text{min}$)；分析型 LCMS：纯度 100% (系统 A， $R_T = 3.94\text{min}$)， ES^+ ：338.3[MH] $^+$ ； $C_{17}H_{24}FN_3O_3$ 的 HRMS 计算值：337.1802，实测值 337.1815。

[0365] 实施例 18

[0366] 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2S)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯

[0367]



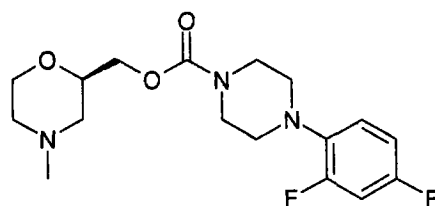
[0368] 向 NaH(60%，分散在油中；90.0mg，2.28mmol) 于无水 THF(7mL) 的混悬液中加入 (S)-(4-甲基吗啉-2-基)-甲醇(中间体 10；100mg，0.76mmol) 并在氮气下搅拌 30 分钟。加入 4-(2, 4-二氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯(中间体 12，330mg，0.91mmol) 并将反应混合物在室温搅拌 48 小时。将反应混合物通过 C 盐过滤并将固体用 THF(10mL) 洗涤。将滤液合并并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相二氧化硅，5g Isolute-Si 柱，梯度：含 1-5% MeOH 的 DCM 溶液)纯化并真空下去除溶剂，得到 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2S)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯(104mg，38%)，为无色胶状物。

[0369] 分析型 HPLC：纯度 99.3% (系统 B， $R_T = 8.55\text{min}$)；分析型 LCMS：纯度 100% (系统 B， $R_T = 8.32\text{min}$)， ES^+ ：356.7[MH] $^+$ ； $C_{17}H_{23}F_2N_3O_3$ 的 HRMS 计算值：355.1707，实测值 355.1724。

[0370] 实施例 19

[0371] 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2R)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯

[0372]



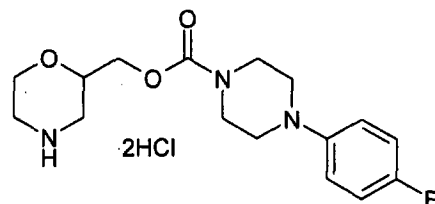
[0373] 向 NaH(60%，分散在油中；90.0mg，2.28mmol) 于无水 THF(7mL) 的混悬液中加入 (R)-(4-甲基吗啉-2-基)-甲醇(中间体 11；100mg，0.76mmol) 并在氮气下搅拌 30 分钟。加入 4-(2, 4-二氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯(中间体 12；330mg，0.91mmol) 并将反应混合物在室温搅拌 48 小时。将反应混合物通过 C 盐过滤并将固体用 THF(10mL) 洗涤。将滤液合并并且真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相二氧化硅，5g Isolute-Si 柱，梯度：含 1-5% MeOH 的 DCM 溶液)纯化并真空下去除溶剂，得到 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2R)-4-甲基吗啉-2-基]甲酯(87mg，32%)，为无色胶状物。

[0374] 分析型 HPLC：纯度 100% (系统 B， $R_T = 8.57\text{min}$)；分析型 LCMS：纯度 100% (系统 A， $R_T = 4.62\text{min}$)， ES^+ ：356.4[MH] $^+$ ； $C_{17}H_{23}F_2N_3O_3$ 的 HRMS 计算值：355.1707，实测值 355.1722。

[0375] 实施例 20

[0376] 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸吗啉-2-基甲酯二盐酸盐

[0377]



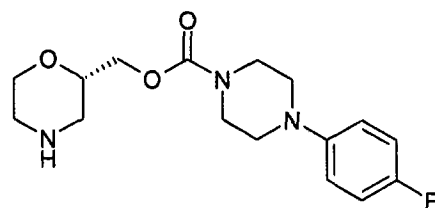
[0378] 将 2-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (2.17g, 10mmol) 溶解在无水 THF (50mL) 中并将反应混合物冷却至 0℃。加入 NaH (60%, 分散在油中; 0.40g, 10mmol), 搅拌 10 分钟, 然后加入 4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯 (中间体 6; 3.45g, 10mmol)。将反应混合物在室温搅拌过夜, 逐滴加入水 (1mL)/THF (10mL) 的混合物小心地淬灭, 然后将 THF 真空中除去。将残留物悬浮在饱和 Na₂CO₃ 水溶液 (50mL) 和 EtOAc (200mL) 之间。将有机层用 Na₂CO₃ 水溶液 (5x 50mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄) 并在真空中干燥。残留物用反相色谱法 (LiChroprep RP-18, 40-63 μm, 460x 26mm (100g), 30mL/min, 梯度: 含 0% 至 60% (在 60min 内) MeOH 的水溶液) 纯化, 经 HPLC 纯化得到 ~80% 纯的材料。将粗品中间体溶解在 DCM (100mL) 和 TFA (10mL, 过量) 中并在室温搅拌过夜。真空下去除溶剂, 残留物用反相色谱法再次纯化 (LiChroprep RP-18, 40-63 μm, 460x 26mm (100g), 30mL/min, 梯度: 含 0% 至 20% (在 70min 内) MeOH 的水溶液, 含 1% 甲酸; 接着保持 20% (在 120min 内) MeOH 的水溶液, 含 1% 甲酸)。真空下去除溶剂并使用 K₂CO₃ 溶于 DCM 的溶液对残留物进行脱盐。将残留物溶解在 DCM 和 HCl (2M, 于 Et₂O 中, 3.2mL, 6.4mmol) 中, 在真空炉中干燥过夜, 得到 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸吗啉-2-基甲酯二盐酸盐 (2.30g, 58%), 为无色胶状物。

[0379] 分析型 HPLC: 纯度 97.5% (系统 A, R_T = 3.90min); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 A, R_T = 4.27min), ES⁺: 324.1[MH]⁺; C₁₆H₂₂FN₃O₃ 的 HRMS 计算值: 323.1645, 实测值 323.1660。

[0380] 实施例 21

[0381] 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸 (2S)-吗啉-2-基甲酯

[0382]



[0383] 向 NaH (60%, 分散在油中; 55.0mg, 1.38mmol) 于无水 THF (2mL) 的混悬液中加入 (S)-2-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (中间体 8; 100mg, 0.46mmol) 并在氮气下搅拌 30 分钟。加入 4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯 (中间体 6; 191mg, 0.55mmol) 并将反应混合物在室温搅拌 48 小时。将反应混合物通过 C 盐过滤并将固体用 THF (10mL) 洗涤。将滤液合并并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法 (普通相二氧化硅, 5g Isolute-Si 柱, 梯度: 含 10% 至 50% EtOAc 的己烷溶液) 纯化, 得到 (2S)-[4-(4-氟-苯基)-哌嗪-1-羧基氧基甲基]-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (200mg, 定量), 为浅黄色油状物。

[0384] 将 (2S)-[4-(4-氟-苯基)-哌嗪-1-羧基氧基甲基]-吗啉-4-羧酸叔丁酯

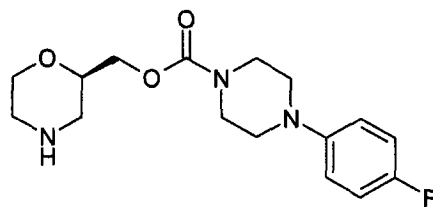
(200mg, 0.46mmol) 溶解在 DCM(2mL) 中并加入 TFA(3mL, 10% 的 DCM 溶液)。将反应混合物在室温搅拌过夜。真空下去除溶剂。加入庚烷, 然后真空下去除溶剂。向溶于 DCM(2mL) 的残留物溶液中加入 K_2CO_3 (500mg, 3.6mmol) 并搅拌 30 分钟, 然后加入水(0.3mL), 搅拌 1 小时。将混合物过滤, 将滤液干燥(Na_2SO_4) 并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相, 5g Isolute-Si 柱, EtOAc 的己烷溶液(1 : 1), 接着用含 1-10% MeOH 的 EtOAc 溶液)纯化。将残留物在真空中干燥, 得到 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(2S)-吗啉-2-基甲酯(135mg, 89%), 为白色固体。

[0385] 分析型 HPLC: 纯度 98.2% (系统 B, $R_T = 7.23\text{min}$); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 B, $R_T = 7.12\text{min}$), $ES^+ 324.7[MH]^+$; $C_{16}H_{22}FN_3O_3$ 的 HRMS 计算值: 323.1645, 实测值 323.1659。

[0386] 实施例 22

[0387] 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(2R)-吗啉-2-基甲酯

[0388]



[0389] 向 NaH(60%, 分散在油中; 55.0mg, 1.38mmol) 于无水 THF(2mL) 的混悬液中加入 (R)-2-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯(中间体 9; 100mg, 0.46mmol) 并在氮气下搅拌 30 分钟。加入 4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯(中间体 6; 191mg, 0.55mmol) 并将反应混合物在室温搅拌 48 小时。将反应混合物通过 C 盐过滤并将固体用 THF(10mL) 洗涤。将滤液合并, 真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相二氧化硅, 5g Isolute-Si 柱, 梯度: 含 10% 至 50% EtOAc 的己烷溶液)纯化, 得到 (2R)-[4-(4-氟-苯基)-哌嗪-1-羧基氧基甲基]-吗啉-4-羧酸叔丁酯(130mg, 67%) 为无色油状物。

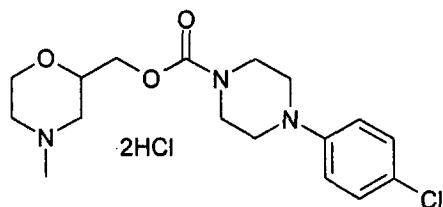
[0390] 将 (2R)-[4-(4-氟-苯基)-哌嗪-1-羧基氧基甲基]-吗啉-4-羧酸叔丁酯(120mg, 0.40mmol) 溶解在 DCM(2mL) 中, 并加入 TFA(3mL, 10% 的 DCM 溶液)。将反应混合物在室温搅拌过夜。真空下去除溶剂。加入庚烷, 然后真空下去除溶剂。向残留物溶于 DCM(2mL) 的溶液中加入 K_2CO_3 (500mg, 3.6mmol), 搅拌 30 分钟, 之后加入水(0.3mL), 搅拌 1 小时。将混合物过滤, 将滤液干燥(Na_2SO_4) 并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相, 5g Isolute-Si 柱, EtOAc 的己烷溶液(1 : 1), 接着用含 1-10% MeOH 的 EtOAc 溶液)纯化。将残留物在真空中干燥, 得到 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(2R)-吗啉-2-基甲酯(117mg, 91%), 为白色固体。

[0391] 分析型 HPLC: 纯度 99.3% (系统 B, $R_T = 7.25\text{min}$); 分析型 LCMS: 纯度 97.9% (系统 B, $R_T = 7.13\text{min}$), $ES^+ 324.6[MH]^+$; $C_{16}H_{22}FN_3O_3$ 的 HRMS 计算值: 323.1645, 实测值 323.1659。

[0392] 实施例 23

[0393] 4-(4-氯苯基)哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-2-基)甲酯二盐酸盐

[0394]



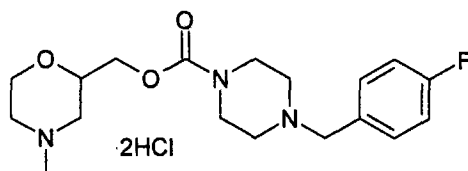
[0395] 将(4-甲基-吗啉-2-基)-甲醇(1.05g, 8.0mmol)和DIPEA(2.79ml, 16.0mmol)溶解在DCM(80mL)中并将反应混合物冷却至0℃, 再加入氯甲酸对硝基苯酯(3.23g, 16.0mmol)。使反应混合物温热至室温并搅拌2小时。将反应混合物分成4批并真空浓缩。将其中一份溶解在DMF(20mL)中并加入1-(4-氯苯基)-哌嗪二盐酸盐(539mg, 2mmol), 并将所得反应混合物在室温搅拌24小时。真空下去除溶剂并将残留物溶解在DCM(30mL)中。将有机层用1.0M Na₂CO₃溶液(3x30mL)洗涤, 干燥(MgSO₄)并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相, 20g, Strata SI-1, 二氧化硅 gigatube, 20mL/min, 梯度: 含0%至5% MeOH的DCM溶液, 残留物干燥装柱)纯化。真空下去除溶剂并将残留物溶解在DCM(50mL)中, 过滤并加入2M溶于Et₂O的HCl(2mL, 4mmol)。真空下去除溶剂并将所得固体在真空炉中干燥过夜, 得到4-(4-氯苯基)哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-2-基)甲酯二盐酸盐(0.510g, 60%), 为白色固体。

[0396] 分析型 HPLC: 纯度 100% (系统 A, R_T = 4.69min); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 A, R_T = 5.12min), ES⁺: 354.4[MH]⁺; C₁₇H₂₄ClN₃O₃ 的 HRMS 计算值 353.1506, 实测值 353.1516。

[0397] 实施例 24

[0398] 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-2-基)甲酯二盐酸盐

[0399]



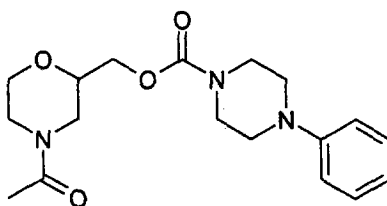
[0400] 将(4-甲基-吗啉-2-基)-甲醇(1.05g, 8.0mmol)和DIPEA(2.79ml, 16.0mmol)溶解在DCM(80mL)中, 将反应混合物冷却至0℃并加入氯甲酸对硝基苯酯(3.23g, 16.0mmol)。使反应混合物温热至室温并搅拌2小时。将反应混合物分成4组并真空浓缩。将其中一份溶解在DMF(20mL)中并加入1-(4-氟-苯基)-哌嗪(0.39g, 2mmol), 将所得反应混合物在室温搅拌24小时。真空下去除溶剂并将残留物溶解在DCM(30mL)中。有机层用1.0M Na₂CO₃溶液(3x 30mL)洗涤, 干燥(MgSO₄)并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相, 20g, StrataSI-1, 二氧化硅 gigatube, 20mL/min, 梯度: 含0%至5% MeOH的DCM溶液, 残留物干燥装柱)纯化。真空下去除溶剂并将残留物溶解在DCM(50mL)中, 过滤并加入2M溶于Et₂O的HCl(2mL, 4mmol)。真空下去除溶剂并将残留物在真空炉中干燥过夜, 得到4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-2-基)甲酯二盐酸盐(0.375g, 44%), 为白色固体。

[0401] 分析型 HPLC: 纯度 99.2% (系统 A, R_T = 3.13min); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 A, R_T = 3.60min), ES⁺: 352.5[MH]⁺。

[0402] 实施例 25

[0403] 4- 苯基哌嗪 -1- 羧酸 (4- 乙酰基吗啉 -2- 基) 甲酯

[0404]



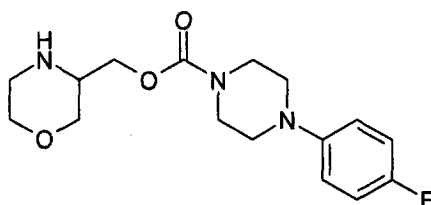
[0405] 向搅拌的 4- 苯基哌嗪 -1- 羧酸吗啉 -2- 基甲酯二盐酸盐 (实施例 10 ; 0.52g, 1.40mmol) 溶于吡啶 (2.25mL, 27.7mmol) 的溶液中缓慢加入乙酰基氯 (0.15mL, 2.10mmol)。将反应混合物在室温搅拌 1 小时, 然后在真空中除去吡啶, 所得残留物用 NaHCO_3 饱和水溶液 (50mL) 稀释。有机产物用 EtOAc (3x 50mL) 萃取。将合并的有机层用 NaHCO_3 饱和水溶液 (3x 50mL) 洗涤, 干燥 (MgSO_4) 并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法 (普通相, 20g, Strata SI-1, 二氧化硅 gigatube, 20mL/min, 梯度: 含 0% 至 5% MeOH 的 EtOAc 溶液) 纯化。真空下去除溶剂并在真空炉中干燥过夜, 得到 4- 苯基哌嗪 -1- 羧酸 (4- 乙酰基吗啉 -2- 基) 甲酯 (0.38g, 78%), 为浅褐色油状物。

[0406] 分析型 HPLC: 纯度 99.0% (系统 A, $R_T = 4.34\text{min}$); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 A, $R_T = 4.60\text{min}$), ES^+ : $348.5[\text{MH}]^+$; $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4$ 的 HRMS 计算值: 347.1845, 实测值 347.1859。

[0407] 实施例 26

[0408] 4-(4- 氟苯基) 哌嗪 -1- 羧酸吗啉 -3- 基甲酯

[0409]



[0410] 将 NaH (60%, 于油中, 用己烷预洗; 1.30g, 31.7mmol) 在氮气下悬浮于无水 THF (50mL) 中并在搅拌下使反应混合物冷却至 -10°C 。逐滴加入 3- 羟基甲基 - 吗啉 -4- 羧酸叔丁酯 (中间体 7; 2.30g, 10.6mmol) 溶于 THF (50mL) 的溶液。将反应混合物在 0°C 搅拌 20 分钟。加入 4-(4- 氟苯基) - 哌嗪 -1- 羧酸 4- 硝基苯酯 (中间体 6; 4.38g, 12.7mmol) 并将反应混合物在室温搅拌过夜。加入 NaHCO_3 饱和水溶液 (10mL) 并真空下去除溶剂。将残留物在水和 EtOAc 之间分配并将水相用 EtOAc 萃取。将合并的有机提取物用 NaHCO_3 饱和水溶液 (3x 100mL) 洗涤, 干燥 (MgSO_4) 并真空下去除溶剂。残留物通过快速普通柱色谱法 (Apollo 二氧化硅, $40-63\mu\text{m}$, 60A) 纯化, 用 EtOAc/ 己烷洗脱。使用含 1% MeOH 的 DCM 溶液, 将不纯的材料用快速普通相色法进一步纯化, 得到 3-[4-(4- 氟苯基) - 哌嗪 -1- 羧基氧基甲基] - 吗啉 -4- 羧酸叔丁酯 (3.05g, 68%)。

[0411] 将 3-[4-(4- 氟苯基) - 哌嗪 -1- 羧基氧基甲基] - 吗啉 -4- 羧酸叔丁酯 (2.98g, 7.04mmol) 于 0°C 在 DCM (30mL) 中搅拌。逐滴加入溶解在 DCM (24mL) 中的 TFA (6mL)。将反应混合物在室温搅拌过夜。真空下去除溶剂并将残留物在 DCM (30mL) 和含水的 NaHCO_3 (5g in 30mL) 之间分配。将水层用 DCM (3x 30mL) 萃取, 干燥 (MgSO_4)

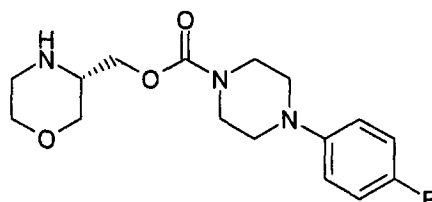
并真空下去除溶剂，得到 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸吗啉-3-基甲酯 (2.18g, 96%)，为白色固体。

[0412] 分析型 HPLC：纯度 98.3% (系统 A, $R_T = 3.88\text{min}$)；分析型 LCMS：纯度 100% (系统 A, $R_T = 4.27\text{min}$)， ES^+ ：324.0 $[MH]^+$ ； $C_{16}H_{22}FN_3O_3$ 的 HRMS 计算值 323.1645，实测值 323.1661。

[0413] 实施例 27

[0414] 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸 (3S)-吗啉-3-基甲酯

[0415]



[0416] 将 NaH (60% 于油中，用己烷预洗；2.76g, 69.0mmol) 在氮气下悬浮于无水 THF (100mL) 中并在搅拌下将反应混合物冷却至 0℃。逐滴加入 (S)-3-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (5.00g, 23.0mmol) 溶于 THF (100mL) 的溶液。在 0℃ 搅拌反应混合物 30 分钟。加入 4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯 (中间体 6；10.0g, 29.0mmol) 并将反应混合物在室温搅拌过夜，然后静置 24 小时。将反应混合物冷却至 5-10℃。加入 10% 的 $NaHCO_3$ 水溶液 (22mL) 并真空下去除溶剂。将残留物在 EtOAc (700mL) 和 10% $NaHCO_3$ (200mL)/水 (400mL) 水溶液之间分配。将 EtOAc 层干燥 ($MgSO_4$) 并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法 (普通相二氧化硅, 100g Isolute-Si 柱, EtOAc 于己烷中的梯度) 纯化。将残留物溶解在 DCM 中并在真空中蒸发并在真空中干燥之前重复以上步骤，得到 (3S)-3-[4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧基氧基甲基]-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (8.19g, 84%)，为橙色胶状物。

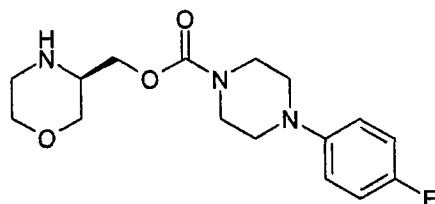
[0417] 将 (3S)-3-[4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧基氧基甲基]-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (8.19g, 19.3mmol) 于 -5 至 0℃ 在 DCM (96mL) 中搅拌。逐滴加入溶解于 DCM (67mL) 中的 TFA (28.9mL) 并持续冷却 30 分钟。将反应混合物在室温搅拌 20 小时。将反应混合物用庚烷 (200mL) 稀释并分离出红棕色胶状物。将胶状物在真空中干燥，然后用庚烷 (200mL) 洗涤。将残留物在 DCM (450mL) 和 1.2M 含水的 $NaHCO_3$ (135mL) 之间分配。将水层用 DCM (2x 225mL) 萃取。将合并的 DCM 提取物干燥 (Na_2SO_4) 并真空下去除溶剂，得到 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸 (3S)-吗啉-3-基甲酯 (5.83g, 93%)，为米色固体。

[0418] 分析型 HPLC：纯度 99.5% (系统 A, $R_T = 3.86\text{min}$)；分析型 LCMS：纯度 100% (系统 A, $R_T = 3.82\text{min}$)， ES^+ ：324.7 $[MH]^+$ ； $C_{16}H_{22}FN_3O_3$ 的 HRMS 计算值：323.1645，实测值 323.1652。

[0419] 实施例 28

[0420] 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸 (3R)-吗啉-3-基甲酯

[0421]



[0422] 将 NaH (60 % 于油中, 用己烷预洗; 1.38g, 34.5mmol) 在氮气下悬浮于无水 THF (50mL) 中, 在搅拌下将反应混合物冷却至 -5°C , 逐滴加入 (R)-3-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (2.50g, 11.5mmol) 溶于 THF (50mL) 的溶液。在 0 至 3°C 将反应混合物搅拌 30 分钟。加入 4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯 (中间体 6; 5.01g, 14.5mmol) 并将反应混合物在室温搅拌过夜。使反应混合物用冰浴冷却并加入 10 % NaHCO_3 水溶液 (11mL)。真空下去除溶剂并将残留物在 EtOAc (350mL) 和 10 % NaHCO_3 水溶液 (100mL) / 水 (200mL) 之间分配。将 EtOAc 层干燥 (MgSO_4) 并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法 (普通相二氧化硅, 70g Isolute-Si 柱, EtOAc 溶于己烷的梯度) 纯化。将残留物溶解在 DCM 中并在真空中蒸发, 于真空中干燥前重复一次以上步骤, 得到 (3R)-3-[4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧基氧基甲基]-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (2.80g), 为浅黄色胶状物。

[0423] 对另一批 (R)-3-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (2.50g, 11.5mmol) 上重复该方法。对两批的不纯组分进行再纯化后, 得到 8.17g (83.9 %) (3R)-3-[4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧基氧基甲基]-吗啉-4-羧酸叔丁酯。

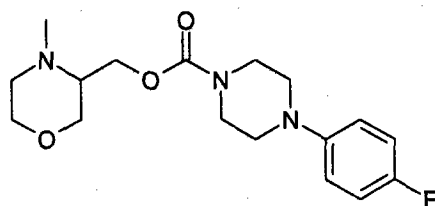
[0424] 将 (3R)-3-[4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧基氧基甲基]-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (5.07g, 12.0mmol) 在干燥二噁烷 (35mL) 中于室温搅拌, 并逐滴加入溶于二噁烷中的 HCl (4M; 15mL, 60mmol)。将反应混合物在室温搅拌 24 小时。加入另一份溶于二噁烷中的 HCl (4M; 10mL, 40mmol) 并搅拌过夜。将二噁烷倒出并将残留的胶状物用二噁烷 (x 3) 和 Et_2O (x2) 洗涤。将残留物在 DCM (300mL) 和 1.2M 含水的 NaHCO_3 之间分配。将水层用 DCM (2x 200mL) 萃取。将合并的 DCM 提取物干燥 (Na_2SO_4) 并真空下去除溶剂。将残留物溶解在 DCM 中并在真空中干燥, 得到 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸 (3R)-吗啉-3-基甲酯 (3.87g, 定量), 为灰白色固体。

[0425] 分析型 HPLC: 纯度 100 % (系统 A, $R_t = 3.87\text{min}$); 分析型 LCMS: 纯度 100 % (系统 A, $R_t = 3.82\text{min}$), ES^+ : $324.7[\text{MH}]^+$; $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{FN}_3\text{O}_3$ 的 HRMS 实测值: 323.1645, 实测值 323.1657。

[0426] 实施例 29

[0427] 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸 (4-甲基吗啉-3-基) 甲酯

[0428]



[0429] 将 LiAlH_4 (4.2g, 110mmol) 在氮气下悬浮于无水 THF (60mL) 中, 在搅拌下冷却至 -10°C , 逐滴加入 3-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (中间体 7; 4.1g, 18.4mmol) 溶

于 THF (50mL) 的溶液。将反应混合物在 0℃ 搅拌 20 分钟，加热至回流 3 小时，然后在室温搅拌过夜。将反应混合物冷却至 -10℃ 并通过逐滴加入含 10% 水的 THF 淬灭。将反应混合物用 THF (50mL) 稀释，在室温搅拌 1 小时，过滤并将滤液真空浓缩。将残留物溶解在 DCM 中，干燥 (MgSO_4) 并真空下去除溶剂，得到 (4-甲基-吗啉-3-基)-甲醇 (2.05g, 85%)，为无色液体。

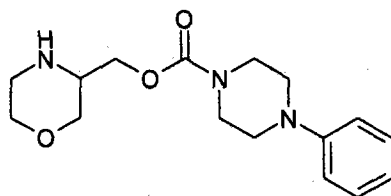
[0430] 将 NaH (60% 于油中，用己烷预洗；0.91g, 22.9mmol) 在氮气下悬浮于无水 THF (25mL) 中并在搅拌下冷却至 0℃。逐滴加入 (4-甲基-吗啉-3-基)-甲醇 (1.00g, 2.62mmol) 于 THF (25mL) 中的溶液。加入 4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯 (中间体 6；3.16g, 9.15mmol) 并将反应混合物在室温搅拌过夜。加入饱和的 NaHCO_3 水溶液 (10mL) 并真空下去除溶剂。将残留物在水和 EtOAc 之间分配并将水层用 EtOAc 萃取。合并的有机提取物用 NaHCO_3 饱和水溶液 (3x 100mL) 洗涤，干燥 (MgSO_4) 并真空下去除溶剂。使用含 1% MeOH 的 DCM 溶液稀释，将残留物用快速普通柱色谱法 (Apollo 二氧化硅, 40-63 μm , 60A) 纯化，得到 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸 (4-甲基吗啉-3-基) 甲酯 (2.15g, 83%)，为白色固体。

[0431] 分析型 HPLC：纯度 100% (系统 A, $R_T = 3.99\text{min}$)；分析型 LCMS：纯度 100% (系统 A, $R_T = 4.38\text{min}$)， ES^+ ：338.0 $[\text{MH}]^+$ ； $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{FN}_3\text{O}_3$ 的 HRMS 计算值：337.1802，实测值 337.1811。

[0432] 实施例 30

[0433] 4-苯基哌嗪-1-羧酸吗啉-3-基甲酯

[0434]



[0435] 将 NaH (60% 在油中，用己烷预洗；1.23g, 30.1mmol) 在氮气下悬浮于无水 THF (50mL) 中并在搅拌下冷却至 0℃。逐滴加入 3-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (中间体 7；2.23g, 10.3mmol) 溶于 THF (50mL) 的溶液。将反应混合物在 0℃ 搅拌 20 分钟。加入 4-苯基哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯 (中间体 2；4.03g, 12.3mmol) 并将反应混合物在室温搅拌 48 小时。加入 NaHCO_3 饱和水溶液 (10mL) 并真空下去除溶剂。将残留物在水和 EtOAc 之间分配，水相用 EtOAc (2x 100mL) 萃取。将合并的有机提取物用 NaHCO_3 饱和水溶液 (3x 100mL) 洗涤，干燥 (MgSO_4) 并真空下去除溶剂。用含 1% MeOH 的 DCM 溶液洗脱，将残留物用快速普通柱色谱法 (Apollo 二氧化硅, 40-63 μm , 60A) 纯化，得到 3-(4-苯基-哌嗪-1-羧基氧基甲基)-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (3.35g, 80%)。

[0436] 将 3-(4-苯基-哌嗪-1-羧基氧基甲基)-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (3.31g, 8.16mmol) 于 0℃ 在 DCM (30mL) 中搅拌。逐滴加入溶解在 DCM (24mL) 中的 TFA (6mL)。将反应混合物在室温搅拌过夜。真空下去除溶剂并将残留物在 DCM (30mL) 和 NaHCO_3 水溶液 (5g, 于 30mL 中) 之间分配。水层用 DCM (3x 30mL) 萃取，干燥 (MgSO_4) 并真空下去除溶剂，得到 4-苯基哌嗪-1-羧酸吗啉-3-基甲酯 (2.55g, 定量)，为白色固体。

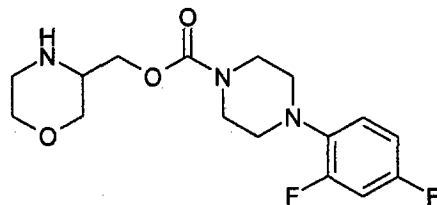
[0437] 分析型 HPLC：纯度 100% (系统 A, $R_T = 3.60\text{min}$)；分析型 LCMS：纯度

100 % (系统 A, $R_T = 3.97\text{min}$), ES^+ : $306.0[MH]^+$; $C_{16}H_{23}N_3O_3$ 的 HRMS 计算值: 305.1739, 实测值 305.1741。

[0438] 实施例 31

[0439] 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸吗啉-3-基甲酯

[0440]



[0441] 在 0°C 向 NaH (60%, 分散在油中, 用己烷预洗; 138mg, 3.45mmol) 于无水 THF (5mL) 的混悬液中逐滴加入溶于 THF (5mL) 的 3-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (中间体 7; 250mg, 0.76mmol), 并在氮气下搅拌 35 分钟。加入 4-(2, 4-二氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯 (中间体 12; 501mg, 1.38mmol) 并将反应混合物在室温搅拌过夜。将反应混合物在 0°C 通过加入含水 NaHCO_3 (0.5mL) 进行淬灭并真空下去除溶剂。将残留物悬浮于 Na_2CO_3 水溶液 (20mL) 和 EtOAc (20mL) 之间。水相用 EtOAc (2x 20mL) 萃取。将合并的有机层用 Na_2CO_3 水溶液 (20mL) 洗涤, 干燥 (MgSO_4) 并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法 (普通相, Apollo 二氧化硅, 含 1% MeOH 的 DCM 溶液) 纯化并真空下去除溶剂, 得到 3-[4-(2, 4-二氟-苯基)-哌嗪-1-羧基氧基甲基]-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (170mg, 34%)。

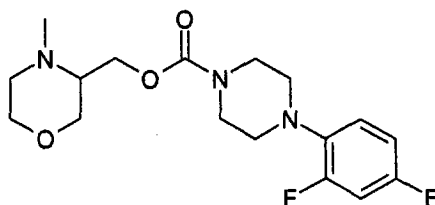
[0442] 在 0°C 向溶于 DCM (5mL) 的 3-[4-(2, 4-二氟-苯基)-哌嗪-1-羧基氧基甲基]-吗啉-4-羧酸叔丁酯 (170mg, 0.39mmol) 中加入 TFA (1mL 于 5mL DCM)。使反应混合物温热至室温并搅拌过夜。真空下去除溶剂并将残留物悬浮在 NaHCO_3 饱和水溶液 (10mL) 和 DCM (10mL) 之间。水相用 DCM (2x 10mL) 萃取。将合并的有机层干燥 (MgSO_4) 并真空下去除溶剂, 得到 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸吗啉-3-基甲酯 (104mg, 79%), 为无色油状物。

[0443] 分析型 HPLC: 纯度 98.7 % (系统 B, $R_T = 8.29\text{min}$); 分析型 LCMS: 纯度 100 % (系统 B, $R_T = 8.09\text{min}$), ES^+ : $342.6[MH]^+$; $C_{16}H_{21}F_2N_3O_3$ 的 HRMS 计算值: 341.1551, 实测值 341.1561。

[0444] 实施例 32

[0445] 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸 (4-甲基吗啉-3-基) 甲酯

[0446]



[0447] 在 0°C 向 NaH (60%, 分散在油中, 用己烷预洗; 354mg, 8.85mmol) 于无水 THF (7.5mL) 的混悬液中逐滴加入溶于 THF (7.5mL) 的 (4-甲基-吗啉-3-基)-甲醇 (387mg, 2.95mmol) 并在氮气下搅拌 40 分钟。加入 4-(2, 4-二氟苯基)-哌嗪-1-羧酸

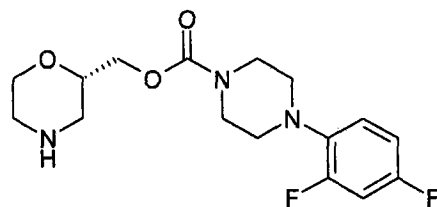
4-硝基苯酯(中间体 12; 1.28g, 3.54mmol) 并将反应混合物在室温搅拌过夜。在 0℃将反应混合物通过加入含水 NaHCO_3 (0.5mL) 进行淬灭。将反应混合物搅拌 1 小时, 然后真空下去除溶剂。将残留物悬浮在水和 EtOAc 之间。水相用 EtOAc(x3) 萃取。将合并的有机层用含水的 Na_2CO_3 洗涤, 干燥 (MgSO_4) 并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相, Apollo 二氧化硅, 含 1% MeOH 的 DCM 溶液) 纯化并真空下去除溶剂, 得到 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸(4-甲基吗啉-3-基)甲酯(197mg, 19%), 为无色油状物。

[0448] 分析型 HPLC: 纯度 99.3% (系统 B, $R_T = 8.45\text{min}$); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 A, $R_T = 4.61\text{min}$), ES^+ : $356.5[\text{MH}]^+$; $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3$ 的 HRMS 计算值: 355.1707, 实测值 355.1724。

[0449] 实施例 33

[0450] 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸(2S)-吗啉-2-基甲酯

[0451]



[0452] 向 NaH (60%, 分散在油中; 55.0mg, 1.38mmol) 于无水 THF (2mL) 的混悬液中加入 (S)-2-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯(中间体 8; 100mg, 0.46mmol) 并在氮气下搅拌 30 分钟。加入 4-(2, 4-二氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯(中间体 12; 191mg, 0.55mmol) 并将反应混合物在室温搅拌 24 小时。将反应混合物通过 C 盐过滤并将固体用 THF (10mL) 洗涤。将滤液合并, 且真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相二氧化硅, 5g Isolute-Si 柱, 梯度: 含 10% 至 50% EtOAc 的己烷溶液) 纯化, 得到 (2S)-[4-(2, 4-二氟-苯基)-哌嗪-1-羧基氧基甲基]-吗啉-4-羧酸叔丁酯(210mg, 定量的), 为油状物。

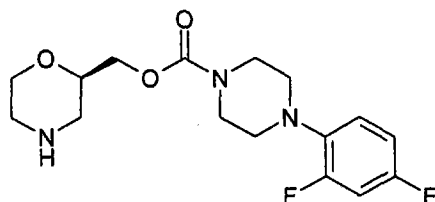
[0453] 将 (2S)-[4-(2, 4-二氟-苯基)-哌嗪-1-羧基氧基甲基]-吗啉-4-羧酸叔丁酯(205mg, 0.46mmol) 溶解在 DCM (2mL) 中并加入 TFA (3mL, 10% 的 DCM 溶液)。将反应混合物在室温搅拌过夜。真空下去除溶剂。加入庚烷并接着真空下去除溶剂。向残留物溶于 DCM (2mL) 的溶液中加入 K_2CO_3 (500mg, 3.6mmol) 并搅拌 1 小时。将混合物过滤, 将滤液干燥 (Na_2SO_4) 并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相, 5g, Isolute-Si, EtOAc 的己烷溶液 (1 : 1), 接着用含 1-10% MeOH 的 EtOAc 溶液) 纯化。将残留物在真空中干燥, 得到 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸(2S)-吗啉-2-基甲酯(104mg, 69%), 为白色固体。

[0454] 分析型 HPLC: 纯度 99.8% (系统 B, $R_T = 8.40\text{min}$); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 B, $R_T = 8.15\text{min}$), ES^+ : $342.6[\text{MH}]^+$; $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3$ 的 HRMS 计算值: 341.1551, 实测值 341.1559。

[0455] 实施例 34

[0456] 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸(2R)-吗啉-2-基甲酯

[0457]



[0458] 向 NaH(60%，分散在油中；55.0mg，1.38mmol) 于无水 THF(2mL) 的混悬液中加入 (R)-2-羟基甲基-吗啉-4-羧酸叔丁酯(中间体 9；100mg，0.46mmol) 并在氮气下搅拌 30 分钟。加入 4-(2, 4-二氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯(中间体 12；191mg，0.55mmol) 并将反应混合物在室温搅拌 24 小时。将反应混合物通过 C 盐过滤并将固体用 THF(10mL) 洗涤。将滤液合并，并真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相二氧化硅，5g Isolute-Si 柱，梯度：含 10% 至 50% EtOAc 的己烷溶液)纯化，得到 (2R)-[4-(2, 4-二氟-苯基)-哌嗪-1-羧基氧基甲基]-吗啉-4-羧酸叔丁酯(176mg，86%)。

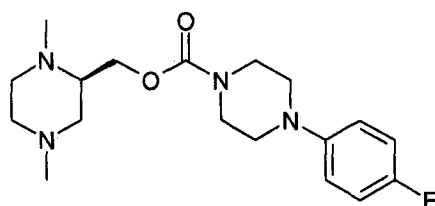
[0459] 将 (2R)-[4-(2, 4-二氟-苯基)-哌嗪-1-羧基氧基甲基]-吗啉-4-羧酸叔丁酯(176mg，0.40mmol) 溶解在 DCM(2mL) 中并加入 TFA(3mL，10% 的 DCM 溶液)。将反应混合物在室温搅拌过夜。真空下去除溶剂。加入庚烷，然后真空下去除溶剂。向残留物溶于 DCM(2mL) 的溶液中加入 K_2CO_3 (500mg，3.6mmol)，搅拌 30 分钟，之后加入水(0.3mL)，搅拌 1 小时。将混合物过滤并将滤液干燥(Na_2SO_4)，真空下去除溶剂。残留物用柱色谱法(普通相，5g Isolute-Si 柱，EtOAc 的己烷溶液(1:1)，接着用含 1-10% MeOH 的 EtOAc 溶液)纯化。将残留物在真空中干燥，得到 4-(2, 4-二氟苯基)哌嗪-1-羧酸(2R)-吗啉-2-基甲酯(89mg，65%)，为白色固体。

[0460] 分析型 HPLC：纯度 99.8% (系统 B， $R_T = 8.38min$)；分析型 LCMS：纯度 100% (系统 B， $R_T = 8.23min$)， ES^+ ：342.6[MH] $^+$ ； $C_{16}H_{21}F_2N_3O_3$ 的 HRMS 计算值：341.1551，实测值 341.1561。

[0461] 实施例 35

[0462] 4-(4-氟苯基)哌嗪-1-羧酸[(2R)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基]甲酯

[0463]



[0464] 将 NaH(60% 分散在矿物油中；0.45g，11.3mmol) 在氮气下悬浮于无水 THF(20mL) 中并将反应混合物在搅拌下冷却至 0℃。逐滴加入 1, 4-二甲基-(R)-2-羟基甲基哌嗪(中间体 4；0.50g，3.47mmol) 溶于 THF(20mL) 的溶液。将反应混合物在 0℃ 搅拌 10 分钟。加入 4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-羧酸 4-硝基苯酯(中间体 6；1.50g，4.34mmol) 并将反应混合物在室温搅拌过夜。将反应混合物用 $NaHCO_3$ 饱和水溶液(40mL) 进行淬灭并将 THF 在真空中除去。水相用 EtOAc(100mL) 萃取。将有机层用 $NaHCO_3$ 饱和水溶液(5x100mL) 洗涤，干燥($MgSO_4$) 并真空下去除溶剂。残留物用反相柱色谱法(LiChroprep RP-18，40-63 μm ，460x26mm(100g)，30mL/min，梯度：含 0% 至 30% (在 75min 内))

至 100% (在 13 分钟内) MeOH 的水溶液, 含 1% 甲酸) 纯化。使用 K_2CO_3 的 DCM 溶液, 将残留物脱盐, 得到 4-(4-氟苯基) 哌嗪-1-羧酸 [(2R)-1, 4-二甲基哌嗪-2-基] 甲酯 (0.42g, 35%), 为无色胶状物。

[0465] 分析型 HPLC: 纯度 100% (系统 A, $R_T = 3.88\text{min}$); 分析型 LCMS: 纯度 100% (系统 A, $R_T = 3.58\text{min}$), ES^+ : $351.2[MH]^+$; $C_{18}H_{27}FN_4O_2$ 的 HRMS 计算值: 350.2118, 实测值 350.2125。

[0466] 生物学方法

[0467] 人类肥胖的动物模型 (饮食诱发性肥胖大鼠)

[0468] 对于研究影响人类中肥胖状态开始与保持的潜在因素而言, 肥胖的啮齿类动物模型是有价值的工具。由于 DIO 大鼠与人类肥胖共有一些特征, 啮齿类动物饮食诱发性肥胖 (DIO) 模型尤其适合这项工作。

[0469] 这些包括多基因遗传、胰岛素抵抗、高瘦蛋白血症、生长激素分泌降低、优先氧化碳水化合物而非脂肪的倾向性、和当卡路里受限制时降低代谢速率、在卡路里受限制后导致体重增加的能力。以高能量饮食喂养的远系繁殖大鼠中, 大约二分之一发展成 DIO, 而其余的大鼠对肥胖有抵抗力, 与食物 (chow) 喂养的对照 (饮食抵抗的, DR) 的大鼠相比体重没有增加。饮食诱发性肥胖 (DIO) 模型在关于能量动态平衡调节方面具有特殊的重要性。当以适度高的脂肪、蔗糖和含能量 (HE 饮食) 喂养时, 大约一半大鼠将比其他大鼠实质上增加更多体重 (DIO 对 DR)。

[0470] 倾向于形成 DIO 的大鼠会与以低能量 (食物) 饮食喂养的大鼠类似的速度增加体重, 如果不以 HE 饮食喂养, 则不会变得肥胖。然而, 一旦用 HE 饮食建立 DIO 和 DR 表型, 所产生的体重增加和身体组成的改变就持续存在, 甚至当动物转回普通食物饮食也是如此。在 DIO 和 DR 表型的发展和持续期间发生的体重和组成的变化, 与脑功能中可引起这些调整的几种改变有关。

[0471] DIO 方案

[0472] 按照 Widdowson, P.S. 等人 (Diabetes (1997) 46: 1782-1785) 描述的饮食诱发性肥胖方案, 选择有肥胖倾向的动物。

[0473] 将 Wistar 雄性大鼠 (在修饰的饮食介入开始时 ~ 200-250g) 以高碳水化合物 (HE) 饮食喂养 8-10 周。饮食的组成为 33% (w/v) 粉状食物 (RM1)、33% (w/v) 浓缩乳 (Nestle)、7% (w/v) 细白砂糖 (Tate&Lyle) 和 27% (w/v) 水。记录体重并在 8- 周时间后, 将动物按照其体重分成为 2 组。在任何远系繁殖动物 (啮齿类、灵长类) 品系中, 将动物群自然地分成两组: 倾向于肥胖的个体 (体重增加较多) 或抗肥胖的个体 (体重增加较少)。在 6 周后肥胖的动物重达超过 60g。具有肥胖倾向的动物用于进行式 (I) 化合物对体重和食物摄取量的作用的研究。图 1 显示以非常可口的饮食 (高碳水化合物) 喂养的动物之间体重分离的实例。

[0474] 关于所述化合物对体重的影响的体内实验

[0475] 肥胖倾向的动物用式 (I) 化合物来治疗并测定对其体重的影响。所述化合物以 10mg/kg PO, 用 1mL/kg 剂量或用等量的溶媒剂量 (盐水) 作对照, 每日给予两次。上午 (09:00) 和下午 (16:00) 给予所述剂量, 且在早晨给药前测定体重。通常每组有 8 只动物。图 2 至 4 分别显示了分别对于实施例 7、20 和 30 而言在 DIO 大鼠 4 天研究中观察到

的累积体重变化(%)。

[0476] 非重组系统中的瘦蛋白测定

[0477] 虽然在重组体系统(例如 ObRb 转染的 HEK293 细胞)中已有很好的表征, 其中瘦蛋白引发了非常显著的 STAT3 磷酸化增加, 但是这些系统通常不能为试验化合物对瘦蛋白受体的活性提供准确的测定。似乎所述受体的过表达(以及不同药物作用于瘦蛋白与其受体结合所引发的信号通路的不同部分的可能性)在大多数情况下导致试验药物缺乏活性。

[0478] 在非重组体系统中瘦蛋白受体的表达经常波动, 必须注意鉴定在实验中保持信号稳定性的系统。使用这种系统, 瘦蛋白受体拮抗剂模拟物可通过评估其对瘦蛋白的作用(参见如下)来鉴定。

[0479] 瘦蛋白主要在脂肪细胞中产生, 但在人体中, 编码瘦蛋白的 mRNA 也存在于胎盘中。在此, 瘦蛋白可能在微脉管系统中起重要的增殖作用。评估了在天然细胞系中应用这种假说的可能性。

[0480] JEG-3 方案

[0481] 在 JEG-3 细胞(绒毛膜上皮癌细胞系)中, 瘦蛋白能够刺激增殖多达 3 倍(Biol. Reprod.(2007) 76 : 203-10)。瘦蛋白还引起 JEG-3 细胞中 [³H]- 胸苷掺入的浓度依赖性增加(图 5, 100nM 下有最大效应($EC_{50} = 2.1nM$))。细胞掺入的放射性是其增殖活性的指标, 用液体闪烁 β 计数器以每分钟计数(CPM)来测定。

[0482] 该发现可应用于测试化合物是否能够再现瘦蛋白对细胞增殖的作用(瘦蛋白受体激动剂模拟物)(即指定化合物将引起细胞掺入的 [³H]- 胸苷增加)、或通过防止瘦蛋白介导的 [³H]- 胸苷掺入增加而抑制瘦蛋白的作用(拮抗作用)。

[0483] 该方法具有使用非重组体系统的优点并且具有合理的再现性和稳健性。

[0484] 脑穿透的测定

[0485] 给予试验物种(啮齿类动物)大剂量(a bolus dose)的所研究的底物(substrate), 通常通过静脉内(IV)或口服(PO)途径给药。在适当时间点, 采集血液样品, 提取所得血浆并分析基质浓度, 且在适当的时候, 分析代谢物浓度。在类似时间点, 处死另一组动物, 将脑分离并清洁脑表面。将脑样品匀浆, 提取并分析基质浓度, 且在适当的时候, 分析代谢物浓度。或者, 将微量透析探针植入试验物种的一个或更多个脑区, 在适当的时间点收集样品以供随后分析。这种方法的优势在于仅仅测定细胞外基质浓度。接着比较血浆和脑浓度, 并通过比较在单个时间点的平均浓度, 或通过计算浓度-时间图的曲线下面积(AUC)来计算比例。

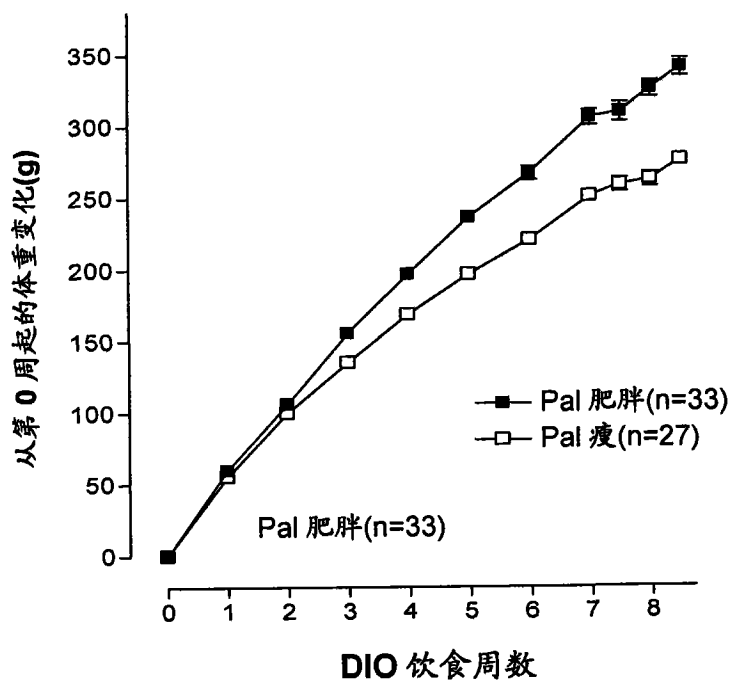


图 1

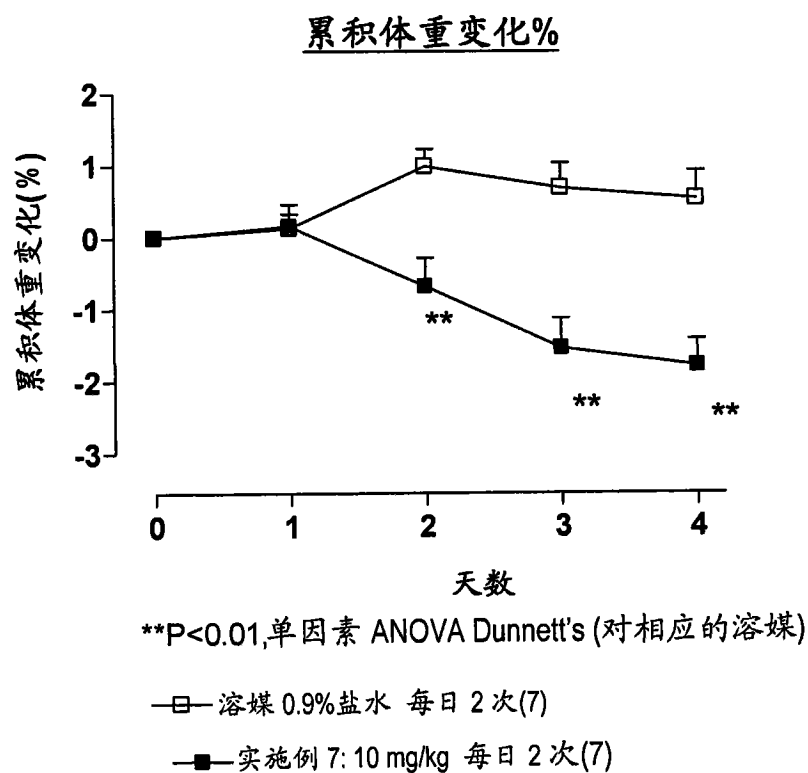
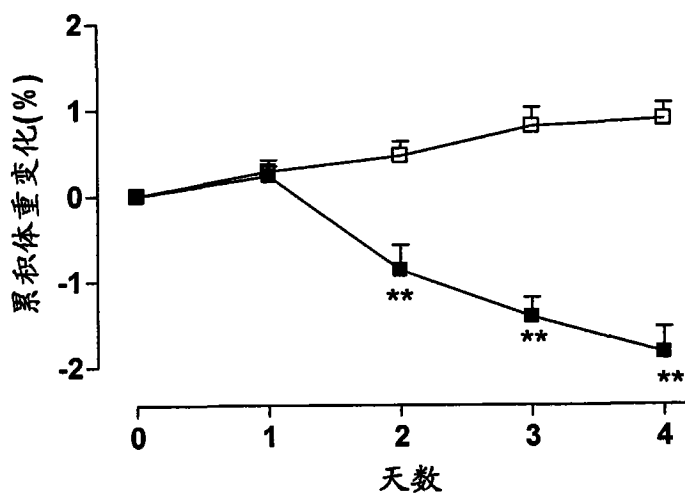


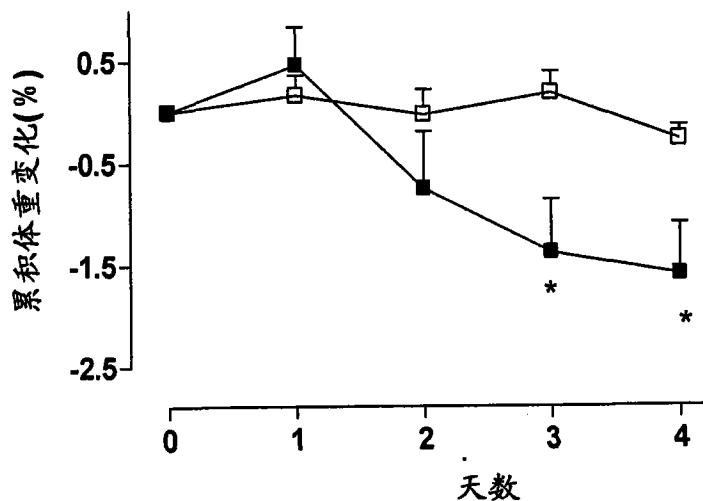
图 2

累积体重变化%

* $P < 0.05$, ** $p < 0.01$, 单因素 ANOVA Dunnett's (对相应的溶媒)

—□— 溶媒 0.9%盐水 每日 2 次(8)
—■— 实施例 20: 10 mg/kg PO 每日 2 次(8)

图 3

累积体重变化%

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 单因素 ANOVA Dunnett's (对相应的溶媒)

—□— 溶媒 0.9%盐水 PO 每日 2 次(7)
—■— 实施例 30: 10 mg/kg PO 每日 2 次(7)

图 4

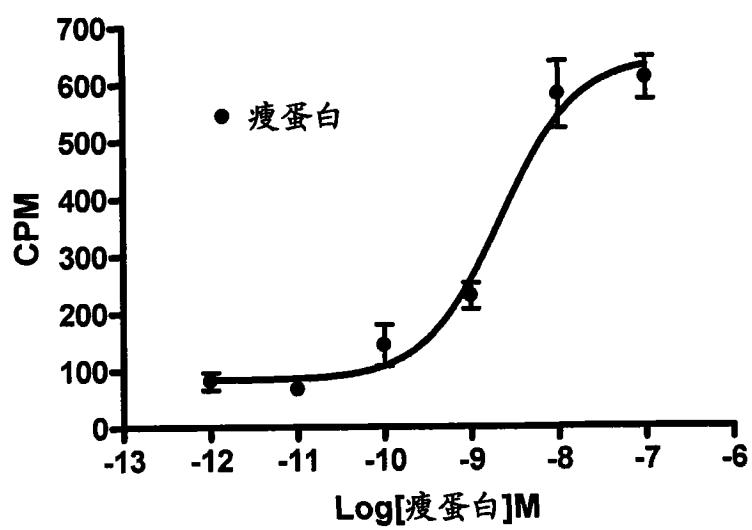


图 5