



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102232073 B

(45) 授权公告日 2014. 10. 29

(21) 申请号 200980136970. 1

(22) 申请日 2009. 09. 16

(30) 优先权数据

0801979-6 2008. 09. 16 SE

61/106, 734 2008. 10. 20 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011. 03. 15

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2009/062011 2009. 09. 16

(87) PCT国际申请的公布数据

W02010/031789 EN 2010. 03. 25

(73) 专利权人 普罗克西梅根有限公司

地址 英国伦敦

(72) 发明人 E·萨沃里 M·希金博特姆

K·奥利弗 A·V·A·霍根

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

司 31100

代理人 朱黎明

(51) Int. Cl.

C07D 471/04 (2006. 01)

A61K 31/4355 (2006. 01)

A61K 31/444 (2006. 01)

A61K 31/4995 (2006. 01)

A61P 29/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

WO 02/38163 A1, 2002. 05. 16, 说明书第
1-37 页.

G. Arcari, et al., Anti-ulcer
and Antisecretory Activity of
Selected Imidazopiperidines.

《Arzneimittel-Forschung》. 1984, 第 34 卷 (第
11 期), 1467-1471.

审查员 李亨

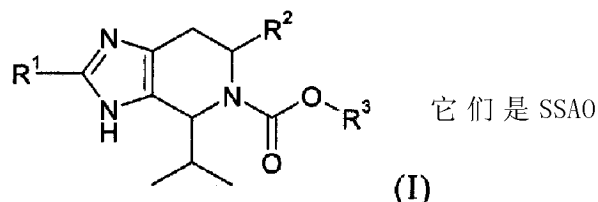
权利要求书3页 说明书31页

(54) 发明名称

SSAO 活性抑制剂

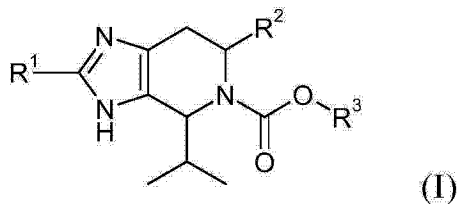
(57) 摘要

本发明涉及一种通式 (I) 化合物, 和其
药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物、几何
异构体、互变体、光学异构体或 N-氧化物:



活性抑制剂。本发明还涉及包含这些化合物的药
物组合物和这些化合物在治疗那些抑制 SSAO 活
性是有益的医学病症, 例如炎症疾病和免疫障碍
中的应用。

1. 通式 (I) 化合物, 或其药学上可接受的盐、几何异构体、互变体或光学异构体,



其中:

R¹ 选自:

(a) 氢,

R² 选自:

(a) 氢,

(b) -C(O)NR⁴ᴳR⁴ᴮ, 和

(c) -C(O)O-C₁₋₆-烷基;

R³ 选自:

(a) 卤代 -C₁₋₆-烷基,

(b) 卤代 -C₁₋₆-烷氧基 -C₁₋₆-烷基,

(c) N(R⁴ᴳR⁴ᴮ) -C₁₋₆-烷基,

(d) C₆₋₁₀-芳基 -C₁₋₄-烷基,

(e) 杂芳基 -C₁₋₄-烷基,

(f) C₆₋₁₀-芳氧基 -C₁₋₄-烷基,

(g) 杂芳氧基 -C₁₋₄-烷基,

(h) 杂环基, 和

(i) 杂环基 -C₁₋₄-烷基,

其中任一芳基或杂芳基残基任选地被一个或多个取代基取代, 所述取代基独立地选自卤素、C₁₋₄-烷基, 并且其中任一杂环基残基任选地被 C₁₋₄-烷基取代;

除非另有说明, 术语“杂环基”表示非芳香族的、完全饱和或部分未饱和的含有 4 至 7 个环原子的单环系统, 所述环原子中至少一个是选自 O、N 或 S 的杂原子且其余环原子是碳原子;

除非另有说明, 所述“杂芳基”表示包含 5 至 10 个环原子的单环或稠合双环的芳香杂环系统, 其中一个或多个环原子是非碳原子, 选自氮、硫或氧;

R⁴ᴳ 和 R⁴ᴮ 分别独立地选自:

(a) 氢,

(b) C₁₋₆-烷基,

前提是通式 (I) 的化合物不是: 4-异丙基-1, 4, 6, 7-四氢-5H-咪唑并[4, 5-c]嘧啶-5-羧酸苄酯。

2. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, 其中 R² 选自氢, -C(O)O-C₁₋₃-烷基和 -C(O)NR⁴ᴳR⁴ᴮ, 且其中 R⁴ᴳ 和 R⁴ᴮ 独立地选自氢和 C₁₋₂-烷基。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于, 其中 R³ 选自卤代 -C₁₋₂-烷基、卤代 -C₁₋₂-烷氧基 -C₁₋₂-烷基、二(C₁₋₂-烷基)氨基 -C₁₋₂-烷基、苯基 -C₁₋₂-烷基、苯氧

基-C₁₋₂-烷基、C₅₋₆-杂芳基-C₁₋₂-烷基、C₅₋₆-杂芳氧基-C₁₋₂-烷基、杂环基和杂环基-C₁₋₂-烷基,且其中任一苯基或杂芳基残基任选地被一个或两个独立地选自卤素和C₁₋₂-烷基的取代基取代,任一杂环基残基任选地被一个或两个选自C₁₋₂-烷基的取代基取代。

4. 一种选自以下的化合物:

- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-2,2,2-三氯乙酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-2-氯-2,2-二氟乙酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-3-氯苄酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-4-氯苄酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸吡啶-2-基甲酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸吡啶-3-基甲酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸吡啶-4-基甲酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-(5-氯吡啶-2-基)甲酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸吡嗪-2-基甲酯;
- (4S,6S)-6-(氨基羰基)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并-[4,5-c]吡啶-5-羧酸苄酯;
- (4S,6S)-4-异丙基-6-[(甲基氨基)羰基]-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸苄酯;
- (4S,6S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5,6-二羧酸-5-苄基-6-甲酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-2-苯氧基乙酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-2-(4-氯苯氧基)乙酯;
- (4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-(3S)-四氢呋喃-3-基酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-四氢呋喃-3-基甲酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-(3-甲基氧杂环丁烷-3-基)甲酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-2-(二甲基氨基)乙酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-(2R)-四氢呋喃-2-基甲酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-1,3-噻唑-2-基甲酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-(5-甲基异噁唑-3-基)甲酯;
- 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并-[4,5-c]吡啶-5-羧酸-[(2S)-1-甲基吡咯

烷-2-基]甲酯;

• 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-(3R)-1-甲基吡咯烷-3-基酯;

• 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-氧杂环丁烷-2-基甲酯;

• 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-2-(吡啶-3-基氧基)乙酯;和

• 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸-2-(2,2,2-三氟乙氧基)乙酯。

5. 一种药物制剂,含有如权利要求1至4中任一项所述的化合物作为活性成分以及药学上可接受的稀释剂或载体。

6. 一种药物制剂,含有4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸苄酯作为活性成分以及药学上可接受的稀释剂或载体。

7. 一种如权利要求1至4中任一项所述的化合物在制造用于治疗或预防炎症、炎性疾病、免疫或自身免疫障碍的药物中的应用。

8. 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸苄酯在制备用于治疗或预防炎症、炎性疾病、免疫或自身免疫障碍的药物中的应用。

9. 如权利要求7或8所述的应用,其特征在于,所述炎症、炎性疾病、免疫或自身免疫障碍是关节炎,选自类风湿关节炎、骨关节炎和牛皮癣关节炎;关节膜炎;血管炎;与肠道炎症有关的病症,选自克罗恩氏病、溃疡性结肠炎、炎性肠道疾病和过敏性肠道综合症;动脉粥样硬化;多发性硬化;阿尔茨海默病;血管性痴呆;肺部炎性疾病,选自哮喘、慢性阻塞性肺部疾病和急性呼吸道窘迫综合症;纤维性疾病,选自自发性肺纤维化、心脏纤维化和全身硬化;皮肤炎性疾病,选自接触性皮炎、特应性皮炎和牛皮癣;全身炎性反应综合症;败血症;肝部炎性和/或自身免疫病症,选自自身免疫肝炎、原发性胆汁性肝硬化、酒精性肝病、硬化性胆管炎和自身免疫胆管炎;I型或II型糖尿病和/或其并发症;慢性心力衰竭;充血性心力衰竭;缺血性疾病,选自中风和缺血-再灌注损伤;或心肌梗死和/或其并发症。

10. 如权利要求7或8所述的应用,其特征在于,所述炎性疾病是血管炎。

11. 如权利要求7或8所述的应用,其特征在于,所述炎性疾病或免疫或自身免疫障碍是青少年类风湿关节炎。

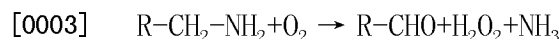
SSAO 活性抑制剂

技术领域

[0001] 本发明涉及新的化学式 (I) 的 4,5,6,7-四氢咪唑并 [4,5-c] 吡啶化合物,所述化合物是 SSAO 活性抑制剂。本发明还涉及包括这些化合物的药物组合物和这些化合物在抑制 SSAO 活性是有益的医学病症,如炎症疾病和免疫障碍,的治疗或预防中的用途。

背景技术

[0002] 氨基脒-敏感的胺氧化酶 (Semicarbazide-sensitive amine oxidase) (SSAO),也叫血管粘附蛋白-1 (VAP-1) 或含铜的胺氧化酶 3 (AOC3),属于酶的含铜的胺氧化酶家族 (EC. 1.4.3.6)。这些酶家族成员对氨基脒的抑制作用敏感,采用铜离子和蛋白-衍生多巴醌 (topa quinone) (TPQ) 辅助因子根据以下反应将伯胺氧化脱氨基为醛,过氧化氢和氨:



[0004] 已知的人类 SSAO 酶底物包括内源性甲胺和氨基丙酮以及一些非生物 (xenobiotic) 胺,如苄胺 [Lyles, Int. J. Biochem. Cell Biol. 1996, 28, 259-274; Klinman, Biochim. Biophys. Acta 2003, 1647 (1-2), 131-137; Mátyus 等, Curr. Med. Chem. 2004, 11 (10), 1285-1298; 0' Sullivan 等, Neurotoxicology 2004, 25 (1-2), 303-315]。在模拟其它的含铜的胺氧化酶时, DNA 序列分析和结构测定显示组织结合的人类 SSAO 是由通过单个 N-端跨膜区 (membrane spanning domain) 将二个 90-100kDa 的亚基固定于胞质膜构成的均二聚糖蛋白 [Morris 等, J. Biol. Chem. 1997, 272, 9388-9392; Smith 等, J. Exp. Med. 1998, 188, 17-27; Airenne 等, Protein Science 2005, 14, 1964-1974; Jakobsson 等, Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr. 2005, 61 (Pt 11), 1550-1562]。

[0005] 在多种组织包括血管与非血管平滑肌组织,内皮和脂肪组织中发现 SSAO 活性 [Lewinsohn, Braz. J. Med. Biol. Res. 1984, 17, 223-256; Nakos & Gossrau, Folia Histochem. Cytobiol. 1994, 32, 3-10; Yu 等, Biochem. Pharmacol. 1994, 47, 1055-1059; Castillo 等, Neurochem. Int. 1998, 33, 415-423; Lyles & Pino, J. Neural. Transm. Suppl. 1998, 52, 239-250; Jaakkola 等, Am. J. Pathol. 1999, 155, 1953-1965; Morin 等, J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001, 297, 563-572; Salmi & Jalkanen, Trends Immunol. 2001, 22, 211-216]。另外,在血浆中发现 SSAO 蛋白,其可溶形式表现出与其组织结合形式相似的性质 [Yu 等, Biochem. Pharmacol. 1994, 47, 1055-1059; Kurkijärvi 等, J. Immunol. 1998, 161, 1549-1557]。最近的研究显示循环的 (circulating) 人类和啮齿动物的 SSAO 源自其组织结合形式 [Göktürk 等, Am. J. Pathol. 2003, 163 (5), 1921-1928; Abella 等, Diabetologia 2004, 47 (3), 429-438; Stolen 等, Circ. Res. 2004, 95 (1), 50-57], 而其它哺乳动物中血浆/血清 SSAO 也是由叫做 AOC4 的单独基因编码 [Schwelberger, J. Neural. Transm. 2007, 114 (6), 757-762]。

[0006] 已能确定这种大量存在的酶准确的生理作用,但似乎 SSAO 及其反应产物在细胞信号和条件方面具有某些功能。例如,最近的研究显示 SSAO 在调节葡萄糖吸收 [Enrique-Tarancon 等, J. Biol. Chem. 1998, 273, 8025-8032; Morin 等, J. Pharmacol.

Exp. Ther. 2001, 297, 563-572] 和脂肪细胞分化 [Fontana 等, Biochem. J. 2001, 356, 769-777; Mercier 等, Biochem. J. 2001, 358, 335-342] 方面起作用。另外, SSAO 作为白细胞的粘连蛋白涉及炎性过程 [Salmi 和 Jalkanen, Trends Immunol. 2001, 22, 211-216; Salmi 和 Jalkanen, “分子粘附: 功能和抑制作用” (“Adhesion Molecules: Functions and Inhibition”) K. Ley (Ed.), 2007, pp. 237-251], 并且可能也在结缔组织基质 (matrix) 的发育和保持中起作用 [Langford 等, Cardiovasc. Toxicol. 2002, 2(2), 141-150; Göktürk 等, Am. J. Pathol. 2003, 163(5), 1921-1928]。此外, 最近还发现了 SSAO 与血管生成之间的关系 [Noda 等, FASEB J. 2008, 22(8), 2928-2935]。

[0007] 几项对人类的研究证明了血浆中 SSAO 活性在例如充血性心力衰竭、糖尿病、阿尔茨海默病和炎症病症下升高 [Lewinsohn, Braz. J. Med. Biol. Res. 1984, 17, 223-256; Boomsma 等, Cardiovasc. Res. 1997, 33, 387-391; Ekblom, Pharmacol. Res. 1998, 37, 87-92; Kurkijärvi 等, J. Immunol. 1998, 161, 1549-1557; Boomsma 等, Diabetologia 1999, 42, 233-237; Meszaros 等, Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet. 1999, 24, 299-302; Yu 等, Biochim. Biophys. Acta 2003, 1647(1-2), 193-199; Mátyus 等, Curr. Med. Chem. 2004, 11(10), 1285-1298; O' Sullivan 等, Neurotoxicology 2004, 25(1-2), 303-315; del Mar Hernandez 等, Neurosci. Lett. 2005, 384(1-2), 183-187]。不清楚这些酶活性改变的机理。有研究显示由内源性胺氧化酶产生的活性的醛和过氧化氢有助于心血管病、糖尿病并发症和阿尔茨海默病 [Callingham 等, Prog. Brain Res. 1995, 106, 305-321; Ekblom, Pharmacol. Res. 1998, 37, 87-92; Yu 等, Biochim. Biophys. Acta 2003, 1647(1-2), 193-199; Jiang 等, Neuropathol Appl Neurobiol. 2008, 34(2), 194-204]。另外, SSAO 的酶活性涉及炎性位置的白细胞外渗过程, 其中 SSAO 在血管内皮上显性表达 [Salmi 等, Immunity 2001, 14(3), 265-276; Salmi & Jalkanen, “分子粘附: 功能和抑制作用”, K. Ley (Ed.), 2007, pp. 237-251]。相应地, SSAO 的抑制作用在糖尿病并发症的预防和炎症疾病中有治疗作用 [Ekblom, Pharmacol. Res. 1998, 37, 87-92; Salmi 等, Immunity 2001, 14(3), 265-276; Salter-Cid 等, J. Pharmacol. Exp. Ther. 2005, 315(2), 553-562]。

[0008] SSAO 袭击动物表型显性正常, 但在不同炎性刺激诱发的炎性反应中表现为明显衰退 [Stolen 等, Immunity 2005, 22(1), 105-115]。另外, 通过抗体和 / 或小分子的使用在人类疾病的多种动物模型 (例如, 角叉菜胶诱发的足爪炎症、唑酮诱发的结肠炎、脂多糖诱发的肺炎、胶原诱发的关节炎、内毒素诱发的葡萄膜炎) 中的野生型动物中显示出其功能对抗作用在减少白细胞渗透方面提供保护, 降低疾病表型的强度以及炎性细胞和化学促活的水平 [Kirton 等, Eur. J. Immunol. 2005, 35(11), 3119-3130; Salter-Cid 等, J. Pharmacol. Exp. Ther. 2005, 315(2), 553-562; McDonald 等, Annual Reports in Medicinal Chemistry 2007, 42, 229-243; Salmi & Jalkanen, “分子粘附: 功能和抑制作用”, K. Ley (Ed.), 2007, pp. 237-251; Noda 等, FASEB J. 2008 22(4), 1094-1103; Noda 等, FASEB J. 2008, 22(8), 2928-2935]。这种抗炎性保护似乎经受得住大量的具有各自独立病因机理的炎症模型, 而非局限于一种特定的疾病或疾病模型。这表示 SSAO 是调节炎性反应的重要节点, 因此 SSAO 抑制剂似乎是对大范围的人类疾病有效的抗炎性药物。

[0009] 本发明涉及新的四氢咪唑并 [4,5-c] 吡啶衍生物, 作为一类新的化学性显著的 SSAO 抑制剂具有生物学、药理学和药代动力学特性, 使其合适用作大范围 的人类炎症疾病

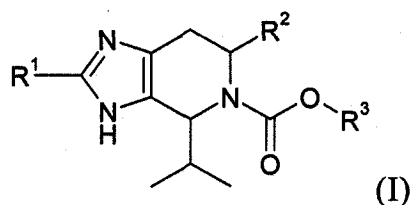
和免疫障碍的预防剂或治疗剂。用这种治疗能力来阻止 SSAO 的酶作用,减少前-炎性酶产物 (pro-inflammatory enzyme products) (醛、过氧化氢和氨) 的水平,同时也降低免疫细胞的粘附能力及其相应的活性作用和最终外渗 (final extra-vasation)。希望这样的活性在医疗上有益的疾病包括所有那些免疫细胞在病理的启动、维持或分解中起重要的作用的疾病,例如多发性硬化、关节炎和血管炎。

[0010] WO 00/63208 公开了对组胺 H3 受体具有激动活性或拮抗活性的四氢咪唑并 [4,5-c] 吡啶衍生物,用于治疗吃食障碍、肥胖、糖尿病和炎症。EP 531874 显示四氢咪唑并 [4,5-c] 吡啶衍生物具有血管紧张素 II 抑制活性,可以用作降血压剂。US 5,091,390 描述了以四氢咪唑并 [4,5-c] 吡啶为基础的血管紧张素 II 受体抑制剂,它在治疗 CNS 障碍上是有用的。GB 2028798 涉及用于制备抗溃疡和抗胆碱化物的四氢咪唑并 [4,5-c] 吡啶衍生物。WO 02/38153 公开了作为 SSAO 抑制剂的某些四氢咪唑并 [4,5-c] 吡啶衍生物,它们用于治疗糖尿病和血管并发症。

发明内容

[0011] 令人惊讶地发现四氢-咪唑并 [4,5-c] 吡啶衍生物的 SSAO 抑制活性在这些化合物的 4- 位上存在异丙基时大幅升高。这种化合物从而可以用于治疗或预防抑制 SSAO 活性有益的疾病。同样地,这种化合物潜在地可用于治疗或预防炎症、炎性疾病、免疫或自身免疫障碍。本发明涉及一种通式 (I) 化合物,或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物、几何异构体、互变体、光学异构体或 N- 氧化物,

[0012]



[0013] 其中:

[0014] R¹ 选自:

[0015] (a) 氢,

[0016] (b) C₁₋₆-烷基,和

[0017] (c) -NR^{4A}R^{4B};

[0018] R² 选自:

[0019] (a) 氢,

[0020] (b) C₁₋₆-烷基,

[0021] (c) 卤代 -C₁₋₆-烷基,

[0022] (d) 羟基 -C₁₋₆-烷基,

[0023] (e) C₁₋₆-烷氧基 -C₁₋₆-烷基,

[0024] (f) 卤代 -C₁₋₆-烷氧基 -C₁₋₆-烷基,

[0025] (g) N(R^{4A}R^{4B})-C₁₋₆-烷基,

[0026] (h) -C(O)NR^{4A}R^{4B},和

[0027] (i) -C(O)O-C₁₋₆-烷基;

[0028] R^3 选自：

[0029] (a) C_{1-6} -烷基，

[0030] (b) 卤代 $-C_{1-6}$ -烷基，

[0031] (c) 羟基 $-C_{1-6}$ -烷基，

[0032] (d) C_{1-6} -烷氧基 $-C_{1-6}$ -烷基，

[0033] (e) 卤代 $-C_{1-6}$ -烷氧基 $-C_{1-6}$ -烷基，

[0034] (f) $N(R^{4A}R^{4B})-C_{1-6}$ -烷基，

[0035] (g) C_{6-10} -芳基 $-C_{1-4}$ -烷基，

[0036] (h) 杂芳基 $-C_{1-4}$ -烷基，

[0037] (i) C_{6-10} -芳氧基 $-C_{1-4}$ -烷基，

[0038] (j) 杂芳氧基 $-C_{1-4}$ -烷基，

[0039] (k) C_{3-8} -环烷基，

[0040] (l) C_{3-8} -环烷基 $-C_{1-4}$ -烷基，

[0041] (m) 杂环基，和

[0042] (n) 杂环基 $-C_{1-4}$ -烷基，

[0043] 其中任一芳基或杂芳基残基任选地被一个或多个取代基取代，所述取代基独立地选自卤素、羟基、氰基、硝基、 CF_3 、 C_{1-4} -烷基、 C_{1-4} -烷氧基和 $-NR^{4A}R^{4B}$ ，和其中任一环烷基或杂环基残基任选地被一个或多个取代基取代，所述取代基独立地选自卤素、羟基、 C_{1-4} -烷基、 C_{1-4} -烷氧基和 $-NR^{4A}R^{4B}$ ；

[0044] R^{4A} 和 R^{4B} 分别独立地选自：

[0045] (a) 氢，

[0046] (b) C_{1-6} -烷基，和

[0047] (c) C_{1-6} -芳基。

[0048] 在本发明一个优选的实施方式中， R^1 是 H。

[0049] R^2 优选选自氢、 $-C(O)O-C_{1-6}$ -烷基和 $-C(O)NR^{4A}R^{4B}$ 。

[0050] 更优选地， R^2 选自氢、 $-C(O)O-C_{1-3}$ -烷基和 $-C(O)NR^{4A'}R^{4B'}$ ，其中 R^{4A} 和 $R^{4B'}$ 独立地选自氢和 C_{1-2} -烷基。

[0051] 在一个最优选的实施方式中， R^2 是氢、 $-C(O)OMe$ 、 $-C(O)NH_2$ 或 $-C(O)NHMe$ 。

[0052] R^3 优选选自卤代 $-C_{1-4}$ -烷基、卤代 $-C_{1-4}$ -烷氧基 $-C_{1-4}$ -烷基、二 (C_{1-4} -烷基) 氨基 $-C_{1-4}$ -烷基、 C_{6-10} -芳基 $-C_{1-4}$ -烷基、 C_{6-10} -芳氧基 $-C_{1-4}$ -烷基、杂芳基 $-C_{1-4}$ -烷基、杂芳氧基 $-C_{1-4}$ -烷基、杂环基和杂环基 $-C_{1-4}$ -烷基，其中任一芳基、杂芳基、或杂环基残基任选地被一个或二个独立地选自卤素和 C_{1-4} -烷基的取代基取代。

[0053] 更优选地， R^3 选自卤代 $-C_{1-2}$ -烷基、卤代 $-C_{1-2}$ -烷氧基 $-C_{1-2}$ -烷基、二 (C_{1-2} -烷基) 氨基 $-C_{1-2}$ -烷基、苯基 $-C_{1-2}$ -烷基、苯氧基 $-C_{1-2}$ -烷基、 C_{5-6} -杂芳基 $-C_{1-2}$ -烷基、 C_{5-6} -杂芳氧基 $-C_{1-2}$ -烷基、杂环基和杂环基 $-C_{1-2}$ -烷基，其中任一苯基、杂芳基或杂环基残基任选地被一个或二个独立地选自卤素和 C_{1-2} -烷基的取代基取代。

[0054] 在一个最优选的实施方式中， R^3 is 2,2,2-三氯乙烯、2-氯-2,2-二氟乙烯、2,2,2-三氟乙氧基乙基、二甲基氨基乙基、苄基、吡啶基甲基、吡嗪基甲基、噻唑基甲基、异噻唑基甲基、苯氧基乙基、吡啶氧基乙基、四氢呋喃基、四氢呋喃基甲基、吡咯烷基、吡咯烷基甲

基或氧杂环丁烷基甲基 (oxetanylmethyl), 其中任一苯基、杂芳基或杂环基残基任选地被卤素或甲基单取代。

[0055] 特定优选的通式 (I) 化合物选自下组化合物:

[0056] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 2,2,2- 三氯乙酯;

[0057] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 2- 氯 -2,2- 二氟乙酯;

[0058] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸苄酯;

[0059] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 3- 氯苄酯;

[0060] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 4- 氯苄酯;

[0061] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸吡啶 -2- 基甲酯;

[0062] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸吡啶 -3- 基甲酯;

[0063] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸吡啶 -4- 基甲酯;

[0064] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 (5- 氯吡啶 -2- 基) 甲酯;

[0065] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸吡嗪 -2- 基甲酯;

[0066] • (4S,6S)-6-(氨基羰基)-4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 -[4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸苄酯;

[0067] • (4S,6S)-4- 异丙基 -6-[(甲基氨基) 羰基]-1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸苄酯;

[0068] • (4S,6S)-4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5,6- 二羧酸 5- 苄基 6- 甲酯;

[0069] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 2- 苯氧基乙酯;

[0070] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 2-(4- 氯苯氧基) 乙酯;

[0071] • (4S)-4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 (3S)- 四氢呋喃 -3- 基酯;

[0072] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸四氢呋喃 -3- 基甲酯;

[0073] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 (3- 甲基氧杂环丁烷 -3- 基) 甲酯;

[0074] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 2-(二甲基氨基) 乙酯;

[0075] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 (2R)- 四氢呋喃 -2- 基甲酯;

[0076] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 1,3- 噻唑 -2- 基甲酯;

[0077] • 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 (5- 甲基异噁唑 -3- 基) 甲酯;

[0078] • 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并-[4,5-c]吡啶-5-羧酸[(2S)-1-甲基吡咯烷-2-基]甲酯；

[0079] • 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并-[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3R)-1-甲基吡咯烷-3-基酯；

[0080] • 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并-[4,5-c]吡啶-5-羧酸氧杂环丁烷-2-基甲酯；

[0081] • 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并-[4,5-c]吡啶-5-羧酸2-(吡啶-3-基氧基)乙酯；和

[0082] • 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并-[4,5-c]吡啶-5-羧酸2-(2,2,2-三氟乙氧基)乙酯。

[0083] 本发明的另一个目的是用于治疗的通式(I)化合物。以上定义的化合物可以用作SSAO活性抑制剂。同样地,所述化合物也可用于治疗或预防抑制SSAO活性有益的病症和疾病。更具体地,所述化合物可用于治疗或预防炎症、炎性疾病、免疫或自身免疫障碍。

[0084] 具体地,相信通式(I)化合物可用于治疗或预防关节炎(如类风湿关节炎、青少年类风湿关节炎、骨关节炎和牛皮癣关节炎)、关节膜炎、血管炎、与肠道的炎症有关的病症(如克洛恩氏病、溃疡性结肠炎、炎性肠道疾病和过敏性肠道综合症)、

[0085] 动脉粥样硬化、多发性硬化、阿尔茨海默病、血管性痴呆、肺部炎性疾病(如哮喘、慢性阻塞性肺部疾病和急性呼吸道窘迫综合症)、纤维性疾病(包括自发性肺纤维化、心脏纤维化和全身硬化(硬皮病))、皮肤炎性疾病(如接触性皮炎、特应性皮炎和牛皮癣)、全身炎性反应综合症、败血症、肝部炎性和/或自身免疫病症(如自身免疫肝炎、原发性胆汁性肝硬化、酒精性肝病、硬化性胆管炎和自身免疫胆管炎)、糖尿病(I型或II型)和/或其并发症、慢性心力衰竭、充血性心力衰竭、缺血性疾病(如中风和缺血-再灌注损伤)、和心肌梗死和/或其并发症。

[0086] 相信本发明的化合物尤其可用于治疗或预防血管炎,包括,但不限于巨细胞性动脉炎、高安氏动脉炎(Takayasu's arteritis)、结节性多动脉炎(Polyarteritis nodosa)、川崎氏病、韦格纳肉芽肿病、变应性肉芽肿血管炎综合症(Churg-Strauss syndrome)、显微镜下多血管炎、过敏性紫癜(**Henoch-Schönlein purpura**)、冷球蛋白血症、皮肤白细胞破碎性血管炎和原发性中枢神经系统血管炎。

[0087] 本发明包括用于治疗或预防上述病症和疾病的药物的制药用途。本发明还包括用于治疗或预防所述病症和疾病的方法,包括在需要上述治疗时,对哺乳动物(包括人类)给予有效量的上述定义的化合物。

[0088] 本文所述的方法包括那些鉴定对象是否需要特定治疗的方法。鉴定对象需要这样的治疗可以是对象或健康护理专业的判断,并且可以是主观的(例如评价)或客观的(例如用测试或诊断方法可测量的)。

[0089] 在本发明的其它方面,所述方法包括那些进一步包括监测对象对治疗给药的反应。这种监测可以包括对对象的组织、体液、样品、细胞、蛋白质、化学标记物、遗传材料等定期取样,作为治疗方案的标记物或指示物。在本发明的其它方法中,通过评估适于这种治疗的相关标记物或指示物来预先筛分或鉴定对象是否需要这样的治疗。

[0090] 在本发明的一个实施方式中,本发明提供了一种监控治疗过程的方法。所述方法

包括确定诊断标记物 (Marker) (例如, 用本发明化合物调节的本文所述的任一靶标或细胞类型) 的水平或对正患有本文所述疾病或其病症的对象或其易感对象诊断测量 (例如筛选、检测) 的步骤, 其中给予所述对象治疗量的所述化合物足以治疗所述疾病或其症状。在所述方法中确定的标记物水平与健康正常对照或其它痛苦病人的已知标记物水平相比来确定所述对象的疾病状态。在优选的实施方式中, 在确定所述标记物第一水平之后的时间点确定所述对象标记物的第二水平, 并将两种水平相比较来监控疾病过程或治疗效果。在一些优选的实施方式中, 在根据本发明开始治疗之前确定所述对象标记物治疗前的水平; 再将标记物治疗前的水平与所述对象治疗开始之后的标记物水平相比来确定所述治疗的效果。

[0091] 在一些方法的实施方式中, 至少一次确定对象的标志物水平或标记物活性。标记物水平的比较, 例如与从同一病人、另一病人或正常对象预先测量得到或后续测量得到的另一标记物水平相比, 可以用来确定根据本发明的治疗是否具有理想的效果, 从而可以调整剂量到合适的水平。可以采用本领域中或本发明所述已知的任一合适的取样 / 表达检测方法来确定标记物水平。优选从对象中第一次取得组织或体液样品。合适样品的例子包括血、尿、组织、口腔或面颊细胞、和带有发根的头发表品。其他合适的样品可以是本领域技术人员已知的。确定样品的蛋白质水平和 / 或 mRNA 水平可以采用本领域已知的任一合适的技术, 包括、但不限于, 酶免疫检测、ELISA、放射标记 / 检测技术、印迹 / 化学荧光法、实时 PCR 等。

[0092] 定义

[0093] 以下定义适用于整个说明书和所附权利要求。

[0094] 除非另有说明, 术语“ C_{1-6} -烷基”表示含有 1 至 6 个碳原子的直链或支链烷基。对于“ C_{1-6} -烷基”要考虑其所有的亚组, 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。所述“ C_{1-6} -烷基”的例子包括甲基、乙基、正-丙基、异丙基、正-丁基、异丁基、仲-丁基、叔-丁基以及直-和支-链戊基和己基。

[0095] 除非另有说明, 术语“卤代- C_{1-6} -烷基”表示被一个或多个卤素原子取代的直链或支链 C_{1-6} -烷基。术语卤代- C_{1-6} -烷基包括氟- C_{1-6} -烷基、氯- C_{1-6} -烷基、溴- C_{1-6} -烷基和碘- C_{1-6} -烷基。所述卤代- C_{1-6} -烷基的例子包括 2-氟乙基、氟甲基、氯甲基、三氟甲基、三氯甲基、2,2,2-三氟乙基、2,2,2-三氯乙基和 2-氯-2,2-二氟乙基。

[0096] 除非另有说明, 术语“羟基- C_{1-6} -烷基”表示其氢原子被 OH 替代的直链或支链 C_{1-6} -烷基。所述羟基- C_{1-6} -烷基的例子包括羟基甲基、2-羟基乙基、2-羟基丙基和 2-羟基-2-甲基丙基。

[0097] 术语“ C_{1-6} -烷氧基”相应地表示氧原子连接到 C_{1-6} -烷基其余的部分。对于“ C_{1-6} -烷氧基”要考虑其所有的亚组, 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。所述“ C_{1-6} -烷氧基”的例子包括甲氧基、乙氧基、正-丙氧基、异丙氧基、正-丁氧基、异丁氧基、仲-丁氧基、叔-丁氧基以及直-和支-链戊氧基和己氧基等。

[0098] 除非另有说明, 术语“ C_{1-6} -烷氧基- C_{1-6} -烷基”表示通过直链或支链 C_{1-6} -烷氧基的氧原子将所述 C_{1-6} -烷氧基与直链或支链 C_{1-6} -烷基相连接。代表所述基团的例子包括甲

氧基甲基和乙氧基乙基。

[0099] 除非另有说明,术语“卤代-C₁₋₆-烷氧基-C₁₋₆-烷基”表示其中所述 C₁₋₆-烷氧基被一个或多个卤原子取代的 C₁₋₆-烷氧基-C₁₋₆-烷基。所述卤代-C₁₋₆-烷氧基-C₁₋₆-烷基的例子包括 2,2,2-三氟乙氧基乙基和三氟甲氧基乙基。

[0100] 除非另有说明,术语“C₁₋₆-酰基”表示通过其碳原子连接至氢原子的羰基(即甲酰基)或连接至直链或支链 C₁₋₅-烷基的羰基,其中烷基如上所述。对于“C₁₋₆-酰基”要考虑其所有的亚组,例如 C₁₋₅-酰基、C₁₋₄-酰基、C₁₋₃-酰基、C₁₋₂-酰基、C₂₋₆-酰基、C₂₋₅-酰基、C₂₋₄-酰基、C₂₋₃-酰基、C₃₋₆-酰基、C₄₋₅-酰基等。示例性的酰基包括甲酰基、乙酰基、丙酰基、丁酰基、戊酰基、己酰基。

[0101] 除非另有说明,所述“C₆₋₁₀-芳基”表示包含 6 至 10 个环原子的单环或稠合双环的烃环系统并且其中至少一个环是芳环。C₆₋₁₀-芳基的例子是苯基、茛基、2,3-二氢茛基(茛满基)、1-萘基、2-萘基或 1,2,3,4-四氢萘基。

[0102] 除非另有说明,所述“C₆₋₁₀-芳基-C₁₋₄-烷基”表示与直链或支链 C₁₋₄-烷基直接相连接的 C₆₋₁₀-芳基。所述基团的例子包括苯基甲基(即苄基)和苯基乙基。

[0103] 除非另有说明,所述“C₆₋₁₀-芳氧基-C₁₋₄-烷基”表示通过桥接氧原子与直链或支链 C₁₋₄-烷基相连接的 C₆₋₁₀-芳基。所述基团的例子包括苯氧基甲基和苯氧基乙基。

[0104] 除非另有说明,所述“杂芳基”表示包含 5 至 10 个环原子的单环或稠合双环的芳香杂环系统,其中一个或多个环原子是非碳原子,例如氮、硫或氧。只有一个环需要是可通通过任一环上的碳或氮原子与分子其余部分相连的芳族和所述杂芳基片断。杂芳基的例子包括呋喃基、吡咯基、噻吩基、噁唑基、异噁唑基、咪唑基、噻唑基、异噻唑基、吡啶基、嘧啶基、四唑基、喹唑啉基、吲哚基、二氢吲哚基、异吲哚基、异二氢吲哚基、吡唑基、哒嗪基、吡嗪基、喹啉基、喹喔啉基、噻二唑基、苯并呋喃基、2,3-二氢苯并呋喃基、1,3-苯并二氧戊环基、1,4-苯并二氧吲哚基、2,3-二氢-1,4-苯并二氧吲哚基、苯并噻唑基、苯并咪唑基、苯并噻二唑基、苯并三唑基和苯并二氢吡喃基。

[0105] 除非另有说明,所述“杂芳基-C₁₋₄-烷基”表示杂芳基通过其环系统上的碳或氮原子与直链或支链 C₁₋₄-烷基直接相连。这种基团的例子包括吡啶基甲基、吡嗪基甲基、噻唑基甲基和异噻唑基甲基。

[0106] 除非另有说明,所述“杂芳氧基-C₁₋₄-烷基”表示通过桥接氧原子与直链或支链 C₁₋₄-烷基相连的杂芳基。这种基团的例子包括吡啶氧基乙基和吡嗪氧基甲基。

[0107] 除非另有说明,所述“C₃₋₈-环烷基”表示含有 3 至 8 个碳原子的单-或双环、饱和或部分未饱和烃环系统。双环系统可以是稠合或桥接的。在桥接的环烷基环系统中,单环上两个不相邻的碳原子通过一至三个额外的碳原子长度的亚烷基桥相连接。所述 C₃₋₈-环烷基的例子包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环己烯基、环庚基、环庚烯基和环辛基,以及二环[2.2.1]庚基、二环[2.2.2]辛基和二环[3.2.1]辛基。对于“C₃₋₈-环烷基”要考虑其所有的亚组,例如 C₃₋₇-环烷基、C₃₋₆-环烷基、C₃₋₅-环烷基、C₃₋₄-环烷基、C₄₋₈-环烷基、C₄₋₇-环烷基、C₄₋₆-环烷基、C₄₋₅-环烷基、C₅₋₈-环烷基、C₅₋₇-环烷基、C₅₋₆-环烷基、C₆₋₈-环烷基和 C₆₋₇-环烷基。

[0108] 除非另有说明,所述“C₃₋₈-环烷基-C₁₋₄-烷基”表示与直链或支链 C₁₋₄-烷基直接相连的 C₃₋₈-环烷基。C₃₋₈-环烷基-C₁₋₄-烷基的例子包括环戊基甲基和环己基乙基。

[0109] 除非另有说明,所述“杂环基”或“杂环”表示非芳香族的、完全饱和或部分未饱和的(优选完全饱和的)含有4至7个环原子的单环系统,所述环原子中至少一个是杂原子如O、N、或S且其余环原子是碳原子。杂环的例子包括哌啶基、四氢吡喃基、四氢呋喃基、氧杂环丁烷基、氮杂基、氮杂环丁烷基、吡咯烷基、吗啉基、咪唑啉基、咪唑烷基、硫代吗啉基、吡喃基、二噁烷基、哌嗪基、高哌嗪基和5,6-二氢-4H-1,3-噁嗪-2-基。当硫原子存在时,所述硫原子可以是氧化形式(即, $S=O$ 或 $O=S=O$)。含有氧化形式的硫的杂环基是1,1-二氧化桥-硫代吗啉基(1,1-dioxido-thiomorpholinyl)和1,1-二氧化桥-异噻唑烷基(1,1-dioxido-isothiazolidinyl)。

[0110] 除非另有说明,所述“杂环基- C_{1-4} -烷基”表示杂环通过所述环系统的碳或氮原子与直链或支链 C_{1-4} -烷基直接相连。杂环基- C_{1-4} -烷基的例子包括氧杂环丁烷基甲基、四氢呋喃基甲基和吡咯烷基甲基。

[0111] “卤素”表示氟、氯、溴或碘。

[0112] “羟基”表示-OH基团。

[0113] “硝基”表示- NO_2 基团。

[0114] “氰基”表示-CN基团。

[0115] “任选”或“任选地”表示所述的随后事项或情况可能但不是一定发生,说明书中包括了发生了所述事项或情况的例子以及未发生的例子。

[0116] “药学上可接受的”是指可用于制备药物组合物,所述药物组合物是基本安全无毒的,既非生物学不利也无其他不利情况,并包括可用于兽医用途以及人类药物用途。

[0117] 本文中“治疗”包括预防上述已命名的病症或症状,一旦确诊改善或减轻所述病症。

[0118] “有效量”表示使治疗对象实现治疗效果的化合物的量。所述治疗效果可以是客观的(即通过测试或标记物可测量的)或主观的(即治疗对象表示出迹象或感觉到效果)。

[0119] “药物前体”表示化合物在生理条件下或通过溶剂分解能转换成本发明的生物活性化合物。当对需要的对象给药时,药物前体是非活性的,但能在体内转成本发明的活性化合物。通常药物前体在体内快速地转化得到本发明的母体化合物,例如在血液中水解。药物前体化合物通常具有对哺乳生物体稳定性、组织适应性或延迟释放的优点。(参见Silverman, R. B., 有机化学药物设计和药物作用(The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action), 第二版, Elsevier Academic Press(2004), pp. 498-549)。本发明化合物的药物前体可以分裂改性的方式(无论常规处理或在体内)通过改性存在于本发明化合物中的官能团(例如羟基、氨基或巯基)来制备成本发明的母体化合物。药物前体的例子包括、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。

[0120] 在本发明说明书和所附权利要求书中,给出的化学式或名称也包括其所有的盐、水合物、溶剂合物、N-氧化物和药物前体形式。另外,给出的化学式或名称也包括其互变异构和立体异构形式。立体异构体包括对映体和非对映体。对映体可以其单一形式存在,或是两种对映体的消旋(均一)或非均一混合物。非对映体可以其单一形式存在,或是非对映体的混合物。非对映体也包括几何异构体,所述几何异构体可以单一的顺式(cis)或反式(trans)形式存在,或是其混合物。

[0121] 所述通式 (I) 化合物可以用于或适用于其药学上可接受的盐 (酸或碱加成盐)。以下所述药学上可接受的加成盐包括所述化合物可以形成的具有药学活性无毒的酸和碱加成盐形式。可以通过用合适的酸处理碱的形式将具有碱性的化合物转化成其药学上可接受的酸加成盐。酸的例子包括无机酸, 例如盐酸、溴化氢、碘化氢、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、乙二醇酸 (glycolic acid)、马来酸、丙二酸、乙二酸、苯磺酸、甲苯磺酸、甲磺酸、三氟乙酸、富马酸、丁二酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、水杨酸、对-氨基水杨酸、双羟萘酸、安息香酸、抗坏血酸等。示例性的碱加成盐形式有钠、钾、钙盐和药学上可接受的胺 (例如氨、烷基胺、苄星 (benzathine)) 盐和氨基酸 (例如精氨酸和赖氨酸) 盐。这里所用的术语加成盐也包括所述化合物及其盐可以形成的溶剂合物, 例如水合物、醇化物及其类似物。

[0122] 组合物

[0123] 将本发明化合物配制成不同给药模式的药物制剂用于临床用途。本发明化合物可与生理上可接受的载体、赋形剂或稀释剂一起施用。本发明的药物组合物可以采用任一合适的给药途径, 优选口、直肠、鼻、局部 (包括颊和舌下)、舌下、皮肤、鞘内、粘膜或肠胃外 (包括皮下、肌肉、静脉和皮内) 给药。

[0124] 其它的制剂可以方便地制成单位剂型, 例如片剂和缓释胶囊, 存在于脂质体, 可以通过药学领域已知的任一方法制备。通常采用将活性物质或其药学上可接受的盐与常规的药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂混合来制备药物制剂。赋形剂可以是水、明胶、阿拉伯胶 (gum arabicum)、乳糖、微晶纤维素、淀粉、羟乙酸淀粉钠、磷酸氢钙、硬脂酸镁、滑石、胶体二氧化硅等。所述制剂也可以包括其它药理学活性剂和常规添加剂, 例如稳定剂、湿润剂、乳化剂、调味剂、缓冲剂等。通常, 活性化合物的量是制备量的 0.1-95wt. %, 优选制备量的 0.2-20wt. % 用于肠胃外用途, 和更优选制备量的 1-50wt. % 用于口服给药。

[0125] 所述制剂可进一步通过已知方法例如制粒、压缩、微囊化、喷涂等方法制备。所述制剂可以用片剂、胶囊、粒剂、粉剂、糖浆、悬浮剂、栓剂或针剂等常规的剂型方法制备。可以通过在水中或其它合适的介质中溶解或悬浮所述活性物质来制备液体制剂。可以用常规方法涂覆片剂和粒剂。本发明化合物可以制成缓释制剂从而较长时间地维持药学上有效的血浆浓度。

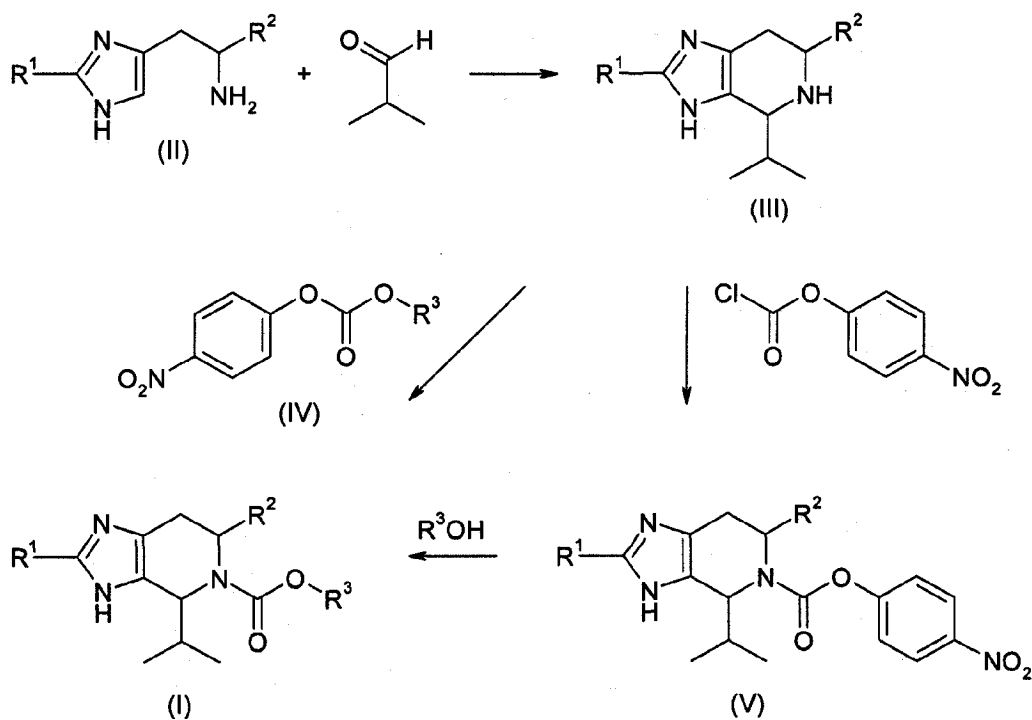
[0126] 特定化合物的剂型用量和使用频率取决于多种因素, 包括所使用的特定化合物的药效、这种化合物的代谢稳定性和作用长度、患者年龄、体重、总体健康情况、性别、饮食、给药方式和时间、排泄率、联合用药、治疗病症的严重程度以及接受治疗的患者。每天的剂量可以是例如每千克体重约 0.001mg 至约 100mg 单独给药或例如每千克体重约 0.01mg 至约 25mg 重复给药。通常此剂量通过口服给药, 也可以选择肠胃外给药。

[0127] 本发明化合物的制备

[0128] 上述通式 (I) 化合物可以通过常规方法或类似方法制备。以下方案 1 描述了根据本发明实施例的中间体及化合物的制备。这里对方案中结构变量的定义与本文中对所述通式相应的位置的变量定义相对应。

[0129] 方案 1. 制备通式 (I) 化合物的总体合成路径

[0130]



[0131] 其中 R^1 、 R^2 和 R^3 如通式 (I) 所定义。

[0132] 本发明化合物合成的关键中间体是通式 (III) 的 4-异丙基-4,5,6,7-四氢-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶衍生物,可以通过合适的组胺衍生物 (II) 与异丁醛缩合反应制备。将含有 R^3 的氨基甲酸酯连接剂连接到中间体 (III) 可以容易地得到通式 (I) 化合物。通常并入通式 (I) 化合物的氨基甲酸酯连接剂是采用 4-硝基苯氯甲酸酯作为活性剂合成的,也能采用其它的活性剂。这种试剂包括、但不限于,例如光气来形成醇氯甲酸酯,或羰基二咪唑 (CDI) 来形成咪唑羧酸酯 (imidazole carbonylates)。

[0133] 在本发明的一个方法中,通过转化成相应的硝基苯碳酸衍生物 (IV) 来激活合适的醇 R^3OH 。然后在碱 (例如 DIPEA、NMM 或三乙胺) 的存在下用这种碳酸酯 (IV) 处理所述中间体 (III) 来得到理想的通式 (I) 化合物。

[0134] 在本发明的另一个方法中,中间体 (III) 首先用 4-硝基苯氯甲酸酯处理转化成其相应的 4-硝基苯氨基甲酸酯。然后再用合适的醇 R^3OH 处理活性的氨基甲酸酯 (V) 来得到理想的通式 (I) 化合物。

[0135] 氨基甲酸酯官能度的形成通常要两个步骤,但也可以通过通过活性中间体在位形成而一次反应得到。在这样的方法中,首先醇 R^3OH 和 4-硝基苯氯甲酸酯在碱 (例如 DIPEA、NMM 或三乙胺) 的存在下反应,随后将中间体 (III) 加入反应混合物。

[0136] 这些所有的变化形式在以下实验部分进行说明。

[0137] 对每个反应步骤合适的反应条件是本领域技术人员已知的。本发明具体反应条件的例子在实验部分也进行了描述。

[0138] 制备通式 (I) 化合物所必需的起始材料都是商业可购得的,或用本领域已知方法制备的。

[0139] 可以实施在以下实验部分描述的方法来得到本发明游离碱形式的化合物或酸加成盐形式的化合物。根据用碱性化合物制备酸加成盐的常规方法,通过将游离碱溶解在合

适的有机溶剂并用酸处理此溶液来得到药学上可接受的酸加成盐。形成酸的加成盐的例子如上所述。

[0140] 所述通式 (I) 化合物可以含有一个或多个手性碳原子, 可以是其光学异构体形式, 例如纯对映体, 或对映体 (外消旋物) 的混合物, 或含有非对映体的混合物。分离光学异构体混合物来得到纯的对映体是本领域已知的, 例如可以通过用光学活性 (手性) 酸分步结晶盐或通过层析分离手性柱来实现。

[0141] 本文所述合成路径中使用的化学制剂包括, 例如溶剂、试剂、催化剂以及保护基团和去保护基团试剂。保护基团的例子是 t-丁氧基羰基 (Boc)、苄基和三苯甲基 (三苯基甲基)。上述方法还可以包括本文特别描述步骤之前或之后的增加或离去合适的保护基团的步骤, 从而最终合成所述化合物。另外, 可以不同的顺序或次序来进行多个合成步骤得到理想的化合物。可用于合成适用的化合物的合成化学转化和保护基团方法 (保护和去保护) 是本领域已知的, 包括例如 R. Larock, 综合有机转变 (Comprehensive Organic Transformations), VCH Publishers (1989); T. W. Greene 和 P. G. M. Wuts, 有机合成中的保护基团 (Protective Groups in Organic Synthesis), 3rd Ed., John Wiley 和 Sons (1999); L. Fieser 和 M. Fieser, 用于有机合成的 Fieser 和 Fieser 试剂 (Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis), John Wiley 和 Sons (1994); 以及 L. Paquette, 等, 有机合成试剂百科全书 (Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis), John Wiley 和 Sons (1995) 及其后续出版物中所描述的方法。

[0142] 采用了以下缩写:

[0143] Ac 乙酸酯

[0144] Aq 含水的

[0145] d 天

[0146] DCM 二氯甲烷

[0147] DIPEA 二异丙基乙胺

[0148] DMAP 二甲基氨基吡啶

[0149] DMF N, N' - 二甲基甲酰胺

[0150] EDC 1-乙基 3-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺

[0151] ee 对映体过量

[0152] ES⁺ 电喷涂

[0153] h 小时 (s)

[0154] HBTU 六氟磷酸 O-苯并三唑-1-基-N, N', N' - 四甲基脒阳离子 (uronium)

[0155] HOBt N-羟基苯并三唑

[0156] HPLC 高效液相色谱

[0157] HRMS 高分辨质谱

[0158] LCMS 液相色谱质谱联用

[0159] M 摩尔

[0160] [MH⁺] 质子化分子离子

[0161] min 分钟

[0162] NMM N-甲基吗啉

[0163] NMR 核磁共振

[0164] RP 反相

[0165] MS 质谱

[0166] R_t 保持时间

[0167] sat 饱和的

[0168] sec 秒

[0169] THF 四氢呋喃

[0170] TFA 三氟乙酸

[0171] TMS 四甲基硅烷

[0172] 本文所述对系列化学基团变量的任一定义包括任一单个基团或所列基团组合的变量的定义。本文所述实施方式包括任一单个实施方式或与任一其它实施方式或其部分的组合。

[0173] 通过以下非限制性的实施例来进一步描述本发明。以下特定的实施例仅仅是描述性的,无论以任何方式都不限制本发明公开的其余部分。除非能进一步证明,相信本领域技术人员基于说明书可以充分利用本发明。本文中所有引用的文献和公开出版物都以整体引用的方式并入本发明公开内容。

[0174] 实施例和中间体化合物

[0175] 实验方法

[0176] 除非另有说明,所有的试剂都是商品级的,未经进一步提纯直接使用。所有的实施例中使用的都是试剂级的溶剂。

[0177] 用 Bruker DPX-400 摄谱仪在 400MHz. 记录 ^1H 核磁共振 (NMR)。所有光谱采用剩余溶剂或四甲基硅烷 (TMS) 作为内标。分析 LCMS 通过将 Waters ZQ 质谱仪与 Agilent 1100 HPLC 系统连接进行。分析 HPLC 采用 Agilent 1100 系统进行。通过连接 Agilent MSD-TOF 和 Agilent 1100 HPLC 系统得到高分辨质谱 (HRMS)。分析过程中检查两份质量 (masses) 来校准并在需要的时候自动调整。以正电喷涂模式得到质谱。得到的质谱范围是 m/z 100-1100。检测质谱峰的分布。动态色谱采用装配有 RediSep 硅柱的 CombiFlash Companion 系统或装配有 Strata SI-1 硅固相萃取管的动态控制个人系统 (Flash Master Personal system) 来进行。反相 HPLC 采用装配有 Phenomenex Synergi Hydro RP 150 $\times$ 10mm, YMC ODS-A 100/150 $\times$ 20mm 或 Chirobiotic T 250 $\times$ 10mm 柱的 Gilson 系统 (用 Gilson 321 平衡泵泵吸的 Gilson322 和 Gilson215 自动取样机) 来进行。

[0178] 反相柱色谱采用装配有 Merck LiChroprep[®] RP-18 (40-63 μm) 硅柱的 Gilson 系统 (Gilson 321 泵和 Gilson FC204 分馏装置) 来进行。采用 Biotage 微波进行微波辐射。所述化合物采用 ACD 6.0 自动命名。所有的化合物在真空炉中干燥过夜。

[0179] 用以下方式得到 HPLC 和 LCMS 分析数据:

[0180] 系统 A: Phenomenex Synergi Hydro RP (C18, 30 $\times$ 4.6mm, 4 μm), 梯度 5-100 % CH_3CN (+0.085 % TFA) 水中 (+0.1 % TFA), 1.5mL/ 分钟, 梯度时间 1.75 分钟, 200nm, 30 $^\circ\text{C}$; 或

[0181] 系统 B: Phenomenex Synergi Hydro RP (C18, 150 $\times$ 4.6mm, 4 μm), 梯度 5-100 % CH_3CN (+0.085 % TFA) 水中 (+0.1 % TFA), 1.5mL/ 分钟, 梯度时间 7 分钟, 200nm, 30 $^\circ\text{C}$ 。

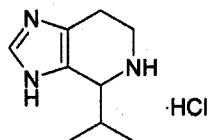
[0182] 用以下方式得到手性 HPLC 数据:

[0183] 系统 C:Chirobiotic V 极性离子模式 ($150 \times 4.6\text{mm}$), 10mM 含水甲酸铵缓冲液中 70% MeOH, 1.0mL/ 分钟, 经过 10 分钟, 200nm, 30℃。

[0184] 中间体 1

[0185] 4- 异丙基 -4,5,6,7- 四氢 -1H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶氯化氢

[0186]



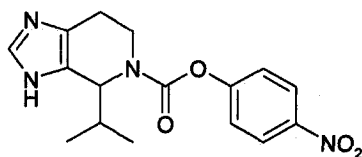
[0187] 组氨酸二氢氯化物 (61.9g, 336mmol) 溶解于 NaOH (33.6g, 841mmol) 在水 (125mL) 和 MeOH (500mL) 中的溶液, 加入异丁醛 (61.4mL, 672mmol)。在 80℃ 回流加热反应混合物 24 小时, 冷却至室温, 用 1M HCl 水溶液 (250mL) 将 pH 调节至 7, 在真空中除去溶剂。剩余物用温的 MeOH (300mL) 溶解, 保持 1 小时, 过滤并在真空中除去溶剂。在 MeOH (50mL) 和丙酮 (400mL) 中搅拌剩余物 2 小时并且冷却 2 小时至 4℃。过滤并用丙酮 (100mL) 清洗得到的沉淀物, 得到白色固体状的 4- 异丙基 -4,5,6,7- 四氢 -1H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶氯化氢 (33.0g, 48.7%)。

[0188] LCMS 分析: 纯度 > 90% (系统 A, $R_t = 0.51$ 分钟), ES^+ : 166.4 [MH] $^+$ 。

[0189] 中间体 2

[0190] 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 4- 硝基苯酯

[0191]



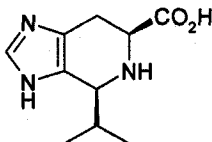
[0192] 中间体 1 (2.78g, 8.28mmol, 纯度 60%) 和 DIPEA (5.27mL, 30.3mmol) 溶解于 DCM (100mL)。将反应混合物冷却至 0℃, 加入氯甲酸 4- 硝基苯酯 (4.07g, 20.2mmol)。在室温搅拌反应混合物 18 小时。反应混合物用饱和的 NaHCO_3 水溶液 ($5 \times 100\text{mL}$) 清洗、干燥 (MgSO_4) 并在真空中除去溶剂, 得到黄色胶状的 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 4- 硝基苯酯。

[0193] HPLC 分析: 纯度 41% (系统 B, $R_t = 4.70$ 分钟); LCMS 分析: 纯度 86% (系统 A, $R_t = 1.70$ 分钟), ES^+ : 331.0 [MH] $^+$ 。

[0194] 中间体 3

[0195] (4S,6S)-4- 异丙基 -4,5,6,7- 四氢 -1H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -6- 羧酸

[0196]



[0197] L- 组氨酸 (10.0g, 43.8mmol) 溶解于 NaOH (7.73g, 193mmol) 在水 (25mL) 和 MeOH (100mL) 中的溶液, 加入异丁醛 (11.8mL, 129mmol)。在 80℃ 回流加热反应混合物 24 小时。用 1M HCl 水溶液将 pH 调节至 7 并在真空中除去溶剂。将剩余物溶解于热的 EtOH 并

冷却至室温。过滤移出沉淀物并在真空中浓缩母液,沉淀物用丙酮(100mL)清洗并干燥,得到淡黄色固体的 4-异丙基-4,5,6,7-四氢-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-6-羧酸(18.6g,粗产物,6:1(4S,6S):(4R,6S)非对映异构体的混合物)。

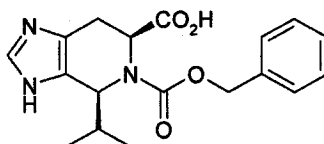
[0198] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) (观察到非对映体 D1 和 D2 的比例 6:1): δ_{H} 3.96(1H, m, D1), 3.93(1H, br d, J 6.5Hz, D2), 3.84(1H, dd, J 8.2 和 5.3Hz, D2), 3.49(1H, dd, J 11.1 和 4.2Hz, D1), 3.05(1H, dd, J 15.8 和 5.3Hz, D2), 3.01(1H, ddd, J 15.4, 4.2 和 1.7Hz, D1), 2.92(1H, ddd, J 15.8, 8.2 和 0.9Hz, D2), 2.72(1H, ddd, J 15.4, 11.1 和 2.5Hz, D1), 2.38(1H, m, D1) 和 2.19(1H, m, D2)。

[0199] 通过 ^1H NMR nOe 实验测得的主要非对映异构体相应的立体化学为顺式(cis)。

[0200] 中间体 4

[0201] (4S,6S)-5-[(苄氧基)羰基]-4-异丙基-4,5,6,7-四氢-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-6-羧酸

[0202]



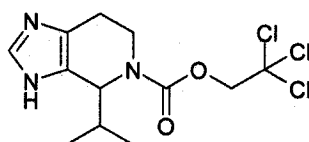
[0203] 中间体 3(8.60g, 47.8mmol) 溶解于 Et_2O (25mL) 和 2M NaOH 水溶液(82mL, 164mmol) 并将反应混合物冷却至 0°C 。加入氯甲酸苄酯(12.9mL, 90.4mmol) 并将反应混合物加热至室温 16 小时。加入 MeOH(50mL) 并搅拌反应混合物 60 小时。用 1M HCl 水溶液将 pH 调至 7 并在真空中除去溶剂。在 MeOH(50mL) 中搅拌剩余物并将得到的白色沉淀物过滤移出。在真空中除去溶剂得到粗的橙色胶状物(17.0g)。将 11.0g 这种剩余物在热的 EtOH/EtOAc 中搅拌、冷却并将得到的沉淀物过滤移出。在真空中除去溶剂并将剩余物从热的 MeOH/ Et_2O 中再结晶纯化,得到白色固体状 (4S,6S)-5-[(苄氧基)羰基]-4-异丙基-4,5,6,7-四氢-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-6-羧酸(2.50g, 13.8%)。

[0204] LCMS 分析:纯度 > 95% (系统 A, R_t = 1.53 分钟), ES^+ :344.6[MH] $^+$ 。

[0205] 实施例 1

[0206] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸 2,2,2-三氯乙酯

[0207]



[0208] 中间体 1(2.33g, 3.50mmol, 纯度 45%) 悬浮于 DCM(20mL) 中, 并加入 DIPEA(1.83mL, 10.5mmol) 和氯甲酸 2,2,2-三氯乙酯(1.06mL, 7.70mmol)。在室温搅拌反应混合物 16h。将反应混合物在 DCM(30mL) 和饱和 NaHCO_3 水溶液(20mL) 之间分配。将有机层用饱和 NaHCO_3 水溶液(2×20mL) 和水(20mL) 清洗并在真空中浓缩。将剩余物溶解于 MeOH(20mL) 并加入 1M NaOH 水溶液(10mL)。将反应混合物搅拌 1 小时并用 1M HCl 水溶液将 pH 调节至 7, 在真空中除去溶剂。剩余物在 DCM(20mL) 和水(20mL) 之间分配, 有机层用水(20mL) 清洗、干燥(MgSO_4) 和在真空中浓缩。用反相 HPLC(YMCODS-A 100×20mm, 5 μm , 25mL/分钟, 梯度 50% 至 70% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/水中)

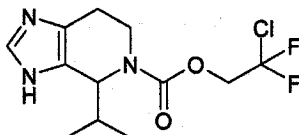
提纯剩余物,得到白色固体状的 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸 2,2,2-三氯乙酯 (97mg,8%)。

[0209] HPLC 分析:纯度 99.6% (系统 B, $R_t = 4.88$ 分钟);LCMS 分析:纯度 99.8% (系统 B, $R_t = 5.23$ 分钟), ES^+ :342.3[MH] $^+$;HRMS $C_{12}H_{16}Cl_3N_3O_2$ 计算得到的值:339.0308,实测值:339.0311。

[0210] 实施例 2

[0211] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸 2-氯-2,2-二氟乙酯

[0212]



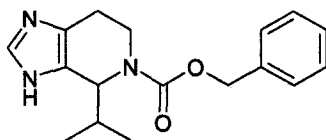
[0213] 2-氯-2,2-二氟乙醇 (1.69g, 14.5mmol) 在 0℃溶解于 DCM(10mL) 和 NMM(1.40mL, 14.5mmol) 并加入氯甲酸 4-硝基苯酯 (2.93g, 14.5mmol)。在室温搅拌反应混合物 5 小时。加入中间体 1 的溶液 (1.87g, 2.97mmol, 纯度 32%) 和 DCM(20mL) 中的 DIPEA (2.52mL, 14.5mmol), 将得到的溶液搅拌 2 天。在真空中除去溶剂,将剩余物溶解于 MeOH(8mL) 和 1M NaOH 水溶液 (6mL), 在室温搅拌反应混合物 18 小时并在真空中浓缩。将剩余物溶解于 EtOAc(100mL) 并将有机层用 1M Na_2CO_3 水溶液 (6×100mL) 清洗,干燥 ($MgSO_4$) 和在真空中浓缩。将剩余物用柱层析法 (正相, 20g, Strata SI-1, 硅固相萃取管, DCM(200mL) 接着 2% 和 4% MeOH DCM 中 (各自为 200mL)) 和反相 HPLC (YMC ODS-A 150×20mm, 5 μ m, 15mL/分钟, 等度操作 (isocratic run) 55% (经过 12 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/水中) 提纯, 得到白色固体状的 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸 2-氯-2,2-二氟乙酯 (13.0mg, 1.4%)。

[0214] HPLC 分析:纯度 99.0% (系统 B, $R_t = 4.47$ 分钟);LCMS 分析:纯度 100% (系统 B, $R_t = 4.95$ 分钟), ES^+ :308.0 [$^{35}ClMH$] $^+$ 和 310.0 [$^{37}ClMH$] $^+$;HRMS $C_{12}H_{16}ClF_2N_3O_2$ 计算得到的值:307.0899,实测值 307.0898。

[0215] 实施例 3

[0216] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸苄酯

[0217]



[0218] 苄醇 (0.88g, 8.10mmol) 溶解于 DCM(10mL) 并将反应混合物冷却至 0℃。加入 NMM(0.89mL, 8.10mmol) 和氯甲酸 4-硝基苯酯 (1.63g, 8.10mmol), 在室温搅拌反应混合物 5 小时。加入中间体 1 的溶液 (1.16g, 3.17mmol, 纯度 55%) 和 DCM(20mL) 中的 DIPEA (2.69mL, 15.4mmol) 并搅拌得到的溶液 18 小时。在真空中除去溶剂,将剩余物溶解于 MeOH(10mL) 和 1M NaOH 水溶液 (10mL) 并搅拌反应混合物 2 小时。在真空中除去溶剂,将剩余物溶解于 EtOAc(120mL), 将有机层用 1M Na_2CO_3 水溶液 (4×100mL) 清洗,干燥 ($MgSO_4$) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用柱层析法 (正相, 20g, Strata SI-1, 硅固相萃取管, 0%至 5% MeOH DCM

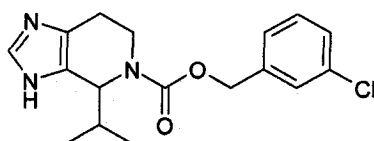
中)和反相 HPLC(YMC ODS-A 100×20mm, 5 μm, 25mL/分钟, 梯度 40%至 100% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/ 水中和 YMC ODS-A 100×20mm, 5 μm, 25mL/分钟, 梯度 0%至 100% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/ 水中) 提纯, 得到白色固体状的 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸苄酯 (65.8mg, 6.9%)。

[0219] HPLC 分析: 纯度 100% (系统 B, $R_t = 4.74$ 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系统 B, $R_t = 4.99$ 分钟), ES^+ : 300.0 $[MH]^+$; HRMS 得到的 $C_{17}H_{21}N_3O_2$ 计算值: 299.1634, 实测值 299.1636。

[0220] 实施例 4

[0221] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸 3-氯苄酯

[0222]



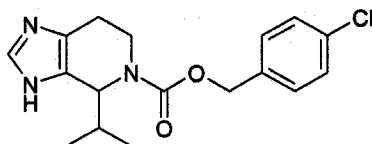
[0223] 碳酸 3-氯-苄基酯 4-硝基-苄基酯 (1.34g, 4.40mmol) 溶解于 DCM (10mL) 并冷却至 0℃。加入中间体 1 的溶液 (1.00g, 1.79mmol, 纯度 36%) 和 DCM (10mL) 中 DIPEA (0.70mL, 6.60mmol) 并在室温搅拌反应混合物 16 小时。在真空中除去溶剂, 将剩余物溶解于 MeOH (8mL) 和 1M NaOH 水溶液 (6mL) 并在室温搅拌 2 小时。在真空中除去溶剂并将剩余物溶解于 EtOAc。将有机层用 1M Na_2CO_3 水溶液 (8×50mL) 清洗, 干燥 ($MgSO_4$) 并在真空中浓缩。将剩余物用反相 HPLC (YMC ODS-A 100×20mm, 5 μm, 25mL/分钟, 梯度 40%至 100% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/ 水中) 提纯, 得到无色胶状的 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸 3-氯苄酯 (116mg, 19.5%)。

[0224] HPLC 分析: 纯度 98.8% (系统 B, $R_t = 5.06$ 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系统 B, $R_t = 5.47$ 分钟), ES^+ : 334.0 $[MH]^+$; HRMS 得到的 $C_{17}H_{20}ClN_3O_2$ 计算值: 333.1244, 实测值 333.1252。

[0225] 实施例 5

[0226] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸 4-氯苄酯

[0227]



[0228] (4-氯-苄基)-甲醇 (0.51g, 3.60mmol) 悬浮于 DCM (10mL) 和 NMM (0.35mL, 3.60mmol) 并在 0℃ 加入氯甲酸 4-硝基苄酯 (0.73g, 3.6mmol)。在室温搅拌反应物 16h。加入中间体 1 的溶液 (500mg, 1.49mmol, 纯度 60%) 和 DCM (10mL) 中 DIPEA (940 μL, 5.40mmol) 并在室温搅拌得到的溶液 15 小时。在真空中除去溶剂。将剩余物溶解于 MeOH (8mL) 和 1M NaOH 水溶液 (6mL), 搅拌反应混合物 2 小时并在真空中浓缩。将剩余物溶解于 EtOAc (100mL) 并将有机层用 1M Na_2CO_3 水溶液 (6×50mL), 盐水 (2×50mL) 清洗, 干燥 ($MgSO_4$) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用反相 HPLC (YMC ODS-A 100×20mm, 5 μm, 25mL/分钟, 梯度 50%至 80% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/ 水中) 提纯,

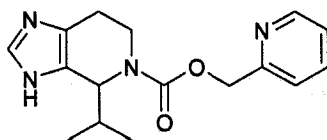
得到无色胶状的 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 4- 氯苄基酯 (29.5mg, 5.9%)。

[0229] HPLC 分析:纯度 98.6% (系统 B, $R_t = 5.14$ 分钟);LCMS 分析:纯度 100% (系统 B, $R_t = 5.49$ 分钟), ES^+ :334.0[MH] $^+$;HRMS 得到的 $C_{17}H_{20}ClN_3O_2$ 计算值:333.1244, 实测值 333.1237。

[0230] 实施例 6

[0231] 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸吡啶 -2- 基甲酯

[0232]



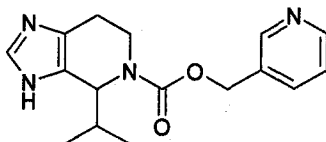
[0233] NaH(0.22g, 5.0mmol, 60%分散在矿物油中) 悬浮于无水 THF(15mL) 中, 将悬浮液冷却至 0°C 并加入 2- 吡啶甲醇 (0.55g, 5.0mmol)。将悬浮液在 0°C 搅拌 1 小时并加入搅拌过的中间体 2(0.66g, 2.00mmol, 70%纯度) 的 THF(10mL) 溶液中, 在室温搅拌反应混合物。分别在 18 和 36 小时后加入这样的两部分额外的 NaH 和 2- 吡啶甲醇的 THF 溶液。54 小时后用水 (10mL) 淬灭 (quenched) 反应混合物, 在真空中除去溶剂并将剩余物溶解于 EtOAc(100mL), 用 1M Na_2CO_3 水溶液 (4×100mL) 清洗, 干燥 ($MgSO_4$) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用柱层析法 (正相, 20g, Strata SI-1, 硅固相萃取管, DCM(200mL) 接着 1%, 2% 和 5% MeOH DCM 中 (每个 200mL)) 和反相 HPLC(Phenomenex Synergi, RP-Hydro 150×10mm, 10 μ m, 15mL/分钟, 梯度 0% 至 70% (经过 12 分钟) 至 100% (经过 3 分钟) MeOH, 在水中 (1% 蚁酸)) 提纯。将剩余物用 K_2CO_3 在 DCM 中脱盐, 得到白色固体状的 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸吡啶 -2- 基甲基酯 (86.4mg, 14.4%)。

[0234] HPLC 分析:纯度 100% (系统 B, $R_t = 3.16$ 分钟);LCMS 分析:纯度 97.9% (系统 B, $R_t = 3.55$ 分钟), ES^+ :301.1[MH] $^+$;HRMS 得到的 $C_{16}H_{20}N_4O_2$ 计算值:300.1586, 实测值 300.1581。

[0235] 实施例 7

[0236] 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸吡啶 -3- 基甲酯

[0237]



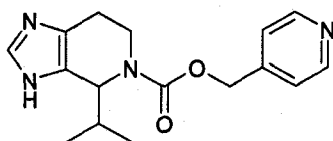
[0238] NaH(0.19g, 4.80mmol, 60%分散在矿物油中) 悬浮于无水 THF(5mL), 将悬浮液冷却至 0°C 并加入 3- 吡啶甲醇 (0.40mL, 4.00mmol)。在 0°C 搅拌悬浮液 30 分钟接着加入中间体 2(1.33g, 4.00mmol, 纯度 70%) 的 THF(10mL) 溶液中并在室温搅拌反应混合物。分别在 7 和 25 小时后加入这样两部分额外的 NaH 和 3- 吡啶甲醇的 THF 溶液。4 天后反应混合物用水 (10mL) 淬灭, 并在真空中除去溶剂。将剩余物溶解于 EtOAc(100mL), 用 1M Na_2CO_3 水溶液 (4×100mL) 清洗, 干燥 ($MgSO_4$) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用柱层析法 (正相, 20g, Strata SI-1, 硅固相萃取管, DCM(200mL) 接着 2%, 4%, 5% 和 10% MeOH 在 DCM 中 (每个为 200mL)) 和反相 HPLC(Phenomenex Synergi, RP-Hydro 150×10mm, 10 μ m, 15mL/分

钟,梯度 0%至 80% (经过 12 分钟)至 100% (经过 3 分钟)MeOH,在水中 (1%蚁酸)和 Phenomenex Synergi, RP-Hydro 150×10mm, 10 μm, 15mL/ 分钟,梯度 0%至 40% (经过 12 分钟)to100% (经过 3 分钟)MeOH,在水中 (1%蚁酸)) 提纯。将剩余物用 K₂CO₃ 在 DCM 中脱盐,得到白色固体状的 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸吡啶 -3- 基甲酯 (46.3mg, 3.8%)。

[0239] HPLC 分析:纯度 100% (系统 B, R_t = 3.07 分钟);LCMS 分析:纯度 99% (系统 B, R_t = 3.07 分钟), ES⁺:301.6;HRMS 得到的 C₁₆H₂₀N₄O₂ 计算值:300.1586, 实测值 300.1579。

[0240] 实施例 8

[0241] 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸吡啶 -4- 基甲酯
[0242]

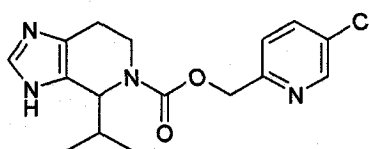


[0243] 中间体 1 (476mg, 1.65mmol, 纯度 70%) 和 DIPEA (1.39mL, 8.00mmol) 溶解于 DMF (20mL) 并加入碳酸 4- 硝基 - 苯基酯吡啶 -4- 基甲基酯 (1.10g, 4.00mmol)。在室温搅拌反应混合物 20 小时并在真空中除去溶剂。将剩余物溶解于 MeOH (10mL) 并加入 1M NaOH 水溶液 (3mL)。在室温搅拌反应混合物 1 小时并在真空中除去溶剂。将剩余物溶解于 DCM (40mL) 并用 1M Na₂CO₃ 水溶液 (5×40mL) 清洗。将有机层干燥 (MgSO₄) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用反相柱层析法 (LiChroprep RP-18, 40-63 μm, 460×26mm (100g), 30mL 每分钟, 梯度 0%至 100% (经过 35 分钟)MeOH 水中和 LiChroprep RP-18, 40-63 μm, 460×26mm (100g), 30mL 每分钟, 梯度 50%至 100% (经过 35 分钟)MeOH 水中) 和反相 HPLC (YMC ODS-A 150×20mm, 5 μm, 15mL/ 分钟, 梯度 0%至 50% (经过 12 分钟)然后 100% (3 分钟)MeOH 10% MeOH/ 水中) 提纯, 得到白色固体状的 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸吡啶 -4- 基甲酯 (82mg, 16.5%)。

[0244] HPLC 分析:纯度 100% (系统 B, R_t = 3.05 分钟);LCMS 分析:纯度 100% (系统 B, R_t = 3.42 分钟), ES⁺:301.1 [MH]⁺;HRMS 得到的 C₁₆H₂₀N₄O₂ 计算值:300.1586, 实测值 300.1568。

[0245] 实施例 9

[0246] 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 (5- 氯吡啶 -2- 基) 甲酯
[0247]



[0248] 5- 氯吡啶 -2- 羧酸 (2.00g, 12.7mmol) 在 0℃溶解于 THF (12mL) 并加入硼烷 -THF 溶液 (19.0mL, 1M THF 中, 19.0mmol) 中。加入 THF (10mL) 并将反应混合物加热至室温, 搅拌 2 小时并在 70℃回流加热 3 小时。反应混合物冷却至 0℃, 用 6M HCl 水溶液 (4mL) 淬灭, 搅拌溶液 2 小时并在真空中浓缩。剩余物在 H₂O (75mL) 和 DCM (75mL) 之间分配。含水层用 DCM (3×75mL) 清洗, 用 4M 含水 NaOH (3mL) 调节至 pH 9 并用 DCM (3×75mL) 萃取。将有机层

合并,干燥 (MgSO_4) 并在真空中浓缩,得到褐色胶状的 5-氯吡啶-2-甲醇 (0.83g, 45%)。

[0249] HPLC 分析:纯度 79.5% (系统 B, $R_t = 3.04$ 分钟);LCMS 分析:纯度 85% (系统 A, $R_t = 1.15$ 分钟), ES^+ :143.97 [$^{35}\text{ClMH}$] $^+$ 和 145.98 [MH^{37}Cl] $^+$ 。

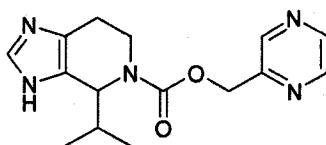
[0250] NaH (80.0mg, 2.00mmol, 60%分散在矿物油中) 悬浮于 THF (10mL) 中, 悬浮液冷却至 0°C 并加入 5-氯吡啶-2-甲醇 (0.29g, 2.00mmol)。将悬浮液在 0°C 搅拌 30 分钟, 再加入中间体 2 (0.65g, 2.00mmol, 70%纯度) 的 THF (10mL) 溶液中并在室温搅拌反应混合物。分别在 2 和 3 天后加入这样两部分额外的 NaH 和 5-氯吡啶-2-甲醇的 THF 溶液。4 天后用水 (10mL) 淬灭反应混合物并在真空中除去溶剂。在真空中除去溶剂并将剩余物溶解于 EtOAc (100mL) 用 1M Na_2CO_3 水溶液 (4×100mL) 清洗, 干燥 (MgSO_4) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用柱层析法 (正相, 20g, Strata SI-1, 硅固相萃取管, DCM (200mL) 接着 2%, 4%, 5% 和 10% MeOH DCM 中 (每个 200mL)) 和反相 HPLC (Phenomenex Synergi, RP-Hydro 150×10mm, 10 μm , 15mL/分钟, 梯度 20% 至 80% (经过 12 分钟) 至 100% (经过 3 分钟) MeOH 水中 (1% 蚁酸)) 提纯。将剩余物用 K_2CO_3 脱盐, 得到白色固体状的 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并 [4,5-c] 吡啶-5-羧酸 (5-氯吡啶-2-基) 甲酯 (7.91mg, 1.2%)。

[0251] HPLC 分析:纯度 99.2% (系统 B, $R_t = 4.40$ 分钟);LCMS 分析:纯度 100% (系统 B, $R_t = 4.25$ 分钟), ES^+ :335.10 [$^{35}\text{ClMH}$] $^+$ 和 337.10 [MH^{37}Cl] $^+$;HRMS 得到的 $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}_2$ 计算值:334.1197, 实测值 334.1189。

[0252] 实施例 10

[0253] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并 [4,5-c] 吡啶-5-羧酸吡啶-2-基甲酯

[0254]



[0255] NaH (0.22g, 5.60mmol, 60%分散在矿物油中) 悬浮于 THF (10mL), 冷却至 0°C 并加入吡啶-2-基甲醇 (0.49mL, 5.00mmol)。将悬浮液在 0°C 搅拌 30 分钟, 接着加入中间体 2 (0.66g, 2.00mmol, 纯度 70%) 的 THF (10mL) 溶液中并在室温搅拌反应混合物。在 18 小时后加入这样一部分额外的 NaH 和吡啶-2-基甲醇的 THF 溶液。2 天后用水 (10mL) 淬灭反应混合物并在真空中除去溶剂。将剩余物溶解于 MeOH (10mL) 和 1M NaOH 水溶液 (10mL) 并将反应混合物在室温搅拌 2 小时, 然后在真空中浓缩。将剩余物溶解于 EtOAc (120mL), 将有机层用 1M Na_2CO_3 水溶液 (6×100mL) 清洗, 干燥 (MgSO_4) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用反相 HPLC (Phenomenex Synergi, RP-Hydro 150×10mm, 10 μm , 15mL/分钟, 梯度 0% 至 100% (经过 12 分钟) 然后 100% (经过 3 分钟) MeOH, 在水中 (1% 蚁酸)) 提纯。将剩余物用 K_2CO_3 在 DCM 中脱盐, 得到白色固体状 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并 [4,5-c] 吡啶-5-羧酸吡啶-2-基甲酯 (62.9mg, 10.4%)。

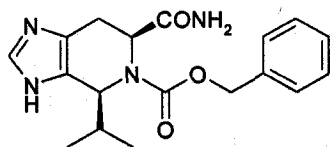
[0256] HPLC 分析:纯度 99.2% (系统 B, $R_t = 3.59$ 分钟);LCMS 分析:纯度 100% (系统 B, $R_t = 3.99$ 分钟), ES^+ :302.1 [MH] $^+$;HRMS 得到的 $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_2$ 计算值:301.1539, 实测值 301.1527。

[0257] 实施例 11

[0258] (4S,6S)-6-(氨基羰基)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并 [4,5-c] 吡

啉-5-羧酸苄酯

[0259]



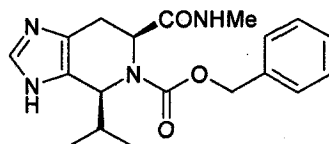
[0260] 中间体 4(572mg, 1.67mmol) 和氯化铵 (178mg, 3.33mmol) 溶解于 DMF (5mL), 并加入 DIPEA (1.16mL, 6.66mmol)、HOBt (338mg, 2.50mmol) 和 HBTU (948mg, 2.50mmol)。在室温下搅拌反应混合物 3 天并在真空中浓缩。将剩余物在 EtOAc (100mL) 和饱和 NaHCO₃ 水溶液 (80mL) 之间分配。将有机层用饱和 NaHCO₃ 水溶液 (80mL) 清洗, 干燥 (MgSO₄) 并在真空中浓缩。将剩余物用柱层析法 (正相, 20g, Strata SI-1, 硅固相萃取管, DCM (200mL) 接着 2%, 4%, 5% 和 10% MeOH, 在 DCM 中 (每个为 200mL) 和反相 HPLC (YMC ODS-A 100×20mm, 5 μm, 25mL/分钟, 梯度 40% 至 70% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/ 水中) 提纯, 得到白色固体状的 (4S,6S)-6-[(氨基羰基)-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并 [4,5-c] 吡啉-5-羧酸苄酯 (163mg, 28.7%)。

[0261] HPLC 分析: 纯度 99.4% (系统 B, R_T = 4.20 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系统 B, R_T = 4.13 分钟), ES⁺: 343.7 [MH]⁺; HRMS 得到的 C₁₈H₂₂N₄O₃ 计算值: 342.1692, 实测值 342.1683。

[0262] 实施例 12

[0263] (4S,6S)-4-异丙基-6-[(甲基氨基)羰基]-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并 [4,5-c] 吡啉-5-羧酸苄酯

[0264]



[0265] 中间体 4 (200mg, 0.58mmol) 溶解于 DMF (3mL) 和 NMM (160 μL, 1.46mmol), 加入 EDC·HCl (246mg, 1.28mmol)、HOBt (197mg, 1.46mmol) 和 甲胺 (0.87mL, 2M in THF, 1.75mmol)。在室温搅拌反应混合物 3 天。在真空中除去溶剂。剩余物在 EtOAc (50mL) 和饱和 NaHCO₃ 水溶液 (50mL) 之间分配。将有机层用饱和 NaHCO₃ 水溶液 (2×50mL) 清洗, 干燥 (MgSO₄) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用反相 HPLC (YMC ODS-A 100×20mm, 5 μm, 25mL/分钟, 梯度 30% 至 90% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/ 水中和反相 HPLC (YMC ODS-A 100×20mm, 5 μm, 25mL/分钟, 梯度 40% 至 80% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/ 水中) 提纯, 得到白色固体状的 (4S,6S)-4-异丙基-6-[(甲基氨基)羰基]-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并 [4,5-c] 吡啉-5-羧酸苄酯。

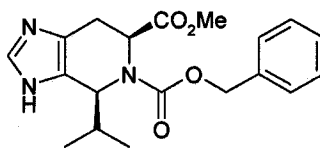
[0266] HPLC 分析: 纯度 98.4% (系统 B, R_T = 4.40 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系统 B, R_T = 4.37 分钟), ES⁺: 357.7 [MH]⁺; HRMS 得到的 C₁₉H₂₄N₄O₃ 计算值: 356.1848, 实测值 356.1843。

[0267] 实施例 13

[0268] (4S,6S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并 [4,5-c] 吡啉-5,6-二羧酸 5-苄

基 6- 甲酯

[0269]



[0270] 中间体 3 (1.00g, 4.80mmol) 溶解于 MeOH (10mL) 并加入浓 HCl (10mL)。在 85℃ 加热反应混合物 4 小时。在真空中除去溶剂得到 (6S)-4- 异丙基 -4,5,6,7- 四氢 -1H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -6- 羧酸甲酯二氢氯化物 (4S 和 4R 非对映体的混合物; 1.42g, 粗产物, 100%)。

[0271] LCMS 分析: 纯度 88% (系统 A, $R_t = 0.51$ 分钟), ES^+ : 224.54 [MH] $^+$ 。

[0272] (6S)-4- 异丙基 -4,5,6,7- 四氢 -1H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -6- 羧酸甲酯二氢氯化物 (4S 和 4R 非对映体的混合物; 1.42g, 4.80mmol) 和 DIPEA (4.18mL, 24.0mmol) 溶解于 THF (20mL), 将反应混合物冷却至 0℃ 并加入氯甲酸苄酯 (1.37mL, 9.60mmol)。将反应混合物加热至室温超过 16 小时。过滤反应混合物并将滤液在真空中浓缩, 得到 2 : 1 的 6- 甲基 (6S)-4- 异丙基 -6,7- 二氢 -3H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -3,5,6(4H)- 三羧酸 3,5- 二苄酯和 (6S)-4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5,6- 二羧酸 5- 苄基 6- 甲酯的混合物 (4S 和 4R 非对映体的混合物; 3.05g, 粗产物)。

[0273] LCMS 分析: 纯度 23% (系统 A, $R_t = 1.65$ 分钟), ES^+ : 358.5 和 66% ($R_t = 2.24$ 分钟), ES^+ : 492.6。

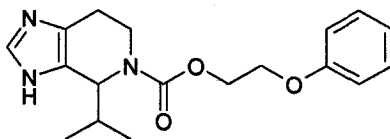
[0274] 2 : 1 的 (6S)-4- 异丙基 -6,7- 二氢 -3H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -3,5,6(4H)- 三羧酸 3,5- 二苄基 6- 甲酯和 (6S)-4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5,6- 二羧酸 5- 苄基 6- 甲酯的混合物 (4S 和 4R 非对映体的混合物; 600mg, ~ 1.20mmol) 溶解于 DMF (6mL) 并加入甲胺 (1.22mL, 2M THF 中, 2.44mmol)。将反应混合物分成三等份。将第一反应混合物在室温下搅拌 18 小时 h。将第二反应混合物在 60℃ 加热 4 小时, 加入甲胺 (0.20mL, 2M THF 中, 0.41mmol) 并将反应混合物在 80℃ 回流加热 18 小时。将第三反应混合物用 Biotage 微波 (100℃, 高吸收 (absorption high), 预-搅拌 20 秒) 加热 20 分钟, 加入甲胺 (0.20mL, 2M THF 中, 0.41mmol) 并将反应混合物用 Biotage 微波 (120℃, 高吸收, 预-搅拌 20 秒) 加热 20 分钟。加入甲胺 (1.00mL, 2M THF 中, 2.00mmol) 并将反应混合物用 Biotage 微波 (160℃, 高吸收, 预-搅拌 20 秒) 加热 20 分钟。将 3 份反应混合物合并, 并在真空中除去溶剂。剩余物在 EtOAc (30mL) 和饱和 $NaHCO_3$ 水溶液 (30mL) 之间分配。将有机层用饱和 $NaHCO_3$ 水溶液 (30mL)、盐水 (30mL) 清洗, 干燥 ($MgSO_4$) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用柱层析法 (正相, 20g, Strata SI-1, 硅固相萃取管, DCM (200mL) 接着 2%, 4% 和 5% MeOH, 在 DCM 中 (每个为 200mL)) 和用反相 HPLC (YMC ODS-A100 $\times$ 20mm, 5 μ m, 25mL/分钟, 梯度 40% 至 90% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/ 水中) 提纯, 得到白色固体状的 (4S,6S)-4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5,6- 二羧酸 5- 苄基 6- 甲酯 (46.2mg, 2.7%)。

[0275] HPLC 分析: 纯度 99.7% (系统 B, $R_t = 4.93$ 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系统 B, $R_t = 4.86$ 分钟), ES^+ : 358.6 [MH] $^+$; HRMS 得到的 $C_{19}H_{23}N_3O_4$ 计算值: 357.1689, 实测值 357.1687。

[0276] 实施例 14

[0277] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸 2-苯氧基乙酯

[0278]



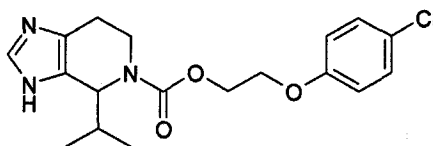
[0279] 2-苯氧基-乙醇 (500mg, 3.60mmol) 和 NMM (0.36g, 0.35mL, 3.60mmol) 悬浮于 DCM (10mL), 冷却至 0℃ 并加入氯甲酸 4-硝基苯酯 (0.72g, 3.60mmol)。在室温搅拌反应混合物 2 小时。加入中间体 1 (900mg, 1.47mol, 纯度 33%) 和 DIPEA (940 μL, 5.40mmol) 的 DCM (20mL) 溶液并将得到的溶液在室温搅拌 15 小时, 用 1M Na₂CO₃ 水溶液 (6×100mL) 清洗, 干燥 (MgSO₄) 并在真空中除去溶剂。将剩余物溶解于 MeOH (8mL) 和 1M NaOH 水溶液 (6mL) 并将反应混合物在室温下搅拌 2 小时, 接着在真空中浓缩。剩余物溶解于 EtOAc (100mL) 并将有机层用 1M Na₂CO₃ 水溶液 (2×100mL)、盐水 (2×100mL) 清洗, 干燥 (MgSO₄) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用反相 HPLC (YMC ODS-A 100×20mm, 5 μm, 25mL/分钟, 梯度 30% 至 50% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/水中) 和反相 HPLC (YMC ODS-A 100×20mm, 5 μm, 25mL/分钟, 梯度 50% 至 70% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/水中) 提纯, 得到白色胶状的 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸 2-苯氧基乙酯 (27.2mg, 5.6%)。

[0280] HPLC 分析: 纯度 100% (系统 B, R_T = 4.79 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系统 B, R_T = 5.17 分钟), ES⁺: 330.1 [MH]⁺; HRMS 得到的 C₁₈H₂₃N₃O₃ 计算值: 329.1739, 实测值 329.1729。

[0281] 实施例 15

[0282] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸 2-(4-氯苯氧基)乙酯

[0283]



[0284] 2-(对-氯苯氧基)乙醇 (0.73g, 4.20mmol) 和 NMM (0.55mL, 5.70mmol) 溶解于 DCM (10mL), 冷却至 0℃ 并加入氯甲酸 4-硝基苯酯 (1.15g, 5.70mmol)。在室温搅拌反应混合物 5 小时。加入中间体 1 (0.70g, 1.74mmol, 纯度 50%) 和 DIPEA (1.48mL, 8.50mmol) 的 DCM (20mL) 溶液并在室温搅拌得到的溶液 2 天。在真空中除去溶剂, 剩余物溶解于 MeOH (8mL) 和 1M NaOH 水溶液 (6mL) 并将反应混合物在室温搅拌 3 小时, 接着在真空中浓缩。将剩余物溶解于 EtOAc (100mL), 用 1M Na₂CO₃ 水溶液 (6×100mL) 清洗, 干燥 (MgSO₄) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用反相 HPLC (YMC ODS-A 100×20mm, 5 μm, 25mL/分钟, 梯度 70 至 100% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/水中) 提纯, 得到白色固体状 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸 2-(4-氯苯氧基)乙酯 (40.0mg, 6.3%)。

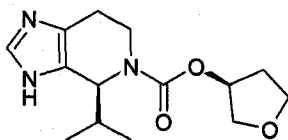
[0285] HPLC 分析: 纯度 99.7% (系统 B, R_T = 5.21 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系统

B, $R_t = 5.54$ 分钟), ES^+ : $364.0[MH^{35}Cl]^+$ 和 $366.0[MH^{37}Cl]^+$; HRMS 得到的 $C_{18}H_{22}ClN_3O_3$ 计算值: 363.1350, 实测值 363.1350。

[0286] 实施例 16

[0287] (4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯

[0288]



[0289] NaH(0.40g, 10.0mmol, 60%分散在矿物油中)悬浮于无水 THF(20mL), 冷却至 $0^{\circ}C$ 并加入 (S)-3-羟基四氢呋喃(0.88g, 0.68mL, 10.0mmol)。在 $0^{\circ}C$ 搅拌悬浮液 30 分钟, 再加入中间体 2(3.30g, 10.0mmol, 纯度 70%) 的 THF(60mL) 溶液中并在室温搅拌反应混合物。5 和 29 小时之后分别加入这样两部分额外的 NaH 和 (S)-3-羟基四氢呋喃的 THF 溶液。2 天后将反应混合物用水(10mL)淬灭并在真空中除去溶剂。将剩余物溶解于 EtOAc(100mL), 用 1M Na_2CO_3 水溶液(4×100mL)清洗, 干燥($MgSO_4$)并在真空中除去溶剂。将剩余物用柱层析法(正相, 20g, Strata SI-1, 硅固相萃取管, DCM(200mL)接着 2%, 4%和 5% MeOH DCM 中(每个 200mL))和反相 HPLC(YMC ODS-A 100×20mm, 5 μm , 25mL/分钟, 梯度 30%至 60%(经过 7 分钟)然后 100%(3 分钟)MeOH 10% MeOH/水中)提纯, 得到白色固体状的 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯(34.8mg, 1.1%)。

[0290] HPLC 分析: 纯度 100% (系统 B, $R_t = 3.63$ 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系统 B, $R_t = 4.01$ 分钟), ES^+ : $280.1[MH]^+$ 。

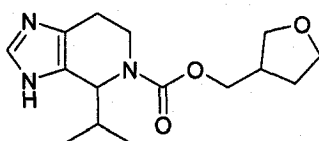
[0291] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯(39.91mg)溶解于 10mM 甲酸铵缓冲液和 MeOH(2mL, 1:1)并用反相手性 HPLC(Chirobiotic T 250×10mm, 3mL/分钟, 等度操作 70% MeOH 10mM 甲酸铵缓冲液中(40 分钟), pH7.4)提纯两次, 得到单一的非对映异构体(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯(6.90mg, 99% ee)。

[0292] HPLC 分析: 纯度 100% (系统 B, $R_t = 3.63$ 分钟); 手性 HPLC: 纯度 99.5% (系统 C, $R_t = 2.22$ 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系统 B, $R_t = 3.90$ 分钟), ES^+ : $280.1[MH]^+$; HRMS 得到的 $C_{14}H_{21}N_3O_3$ 计算值: 279.1583, 实测值 279.1571。

[0293] 实施例 17

[0294] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸四氢呋喃-3-基甲酯

[0295]



[0296] 四氢-3-呋喃-甲醇(0.61mL, 6.40mmol)和 NMM(0.64g, 0.70mL, 6.40mmol)在 $0^{\circ}C$

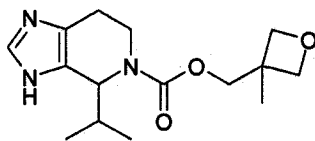
溶解于 DCM(10mL) 并加入氯甲酸 4- 硝基苯酯 (1.28g, 6.40mmol)。在室温搅拌反应混合物 5 小时。将中间体 1(0.50g, 2.48mmol) 的 DCM(20mL) 溶液和 DIPEA(2.11mL, 12.1mmol) 加入反应混合物中并在室温搅拌得到的溶液 18 小时。在真空中除去溶剂, 剩余物溶解于 MeOH(10mL) 和 1MNaOH 水溶液 (10mL), 在室温搅拌反应混合物 2 小时并在真空中浓缩。剩余物溶解于 EtOAc(120mL), 将有机层用 1M Na_2CO_3 水溶液 (4×100mL) 清洗, 干燥 (MgSO_4) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用柱层析法 (正相, 20g, Strata SI-1, 硅固相萃取管, DCM(200mL)) 接着 2%, 4%, 5% 和 10% MeOH 在 DCM 中 (每个为 200mL)) 和反相 HPLC(YMC ODS-A 100×20mm, 5 μm , 25mL/ 分钟, 梯度 20% 至 100% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/ 水中和 YMC ODS-A 100×20mm, 5 μm , 25mL/ 分钟, 梯度 20% 至 80% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/ 水中) 提纯, 得到白色固体状 4- 异丙基 -1, 4, 6, 7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4, 5-c] 吡啶 -5- 羧酸四氢呋喃 -3- 基甲酯 (37.8mg, 5.2%)。

[0297] HPLC 分析: 纯度 100% (系统 B, $R_t = 3.83$ 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系统 B, $R_t = 3.89$ 分钟), ES^+ : 294.7 $[\text{MH}]^+$; HRMS 得到的计算值 $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3$: 293.1739, 实测值 293.1744。

[0298] 实施例 18

[0299] 4- 异丙基 -1, 4, 6, 7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4, 5-c] 吡啶 -5- 羧酸 (3- 甲基氧杂环丁烷 -3- 基) 甲酯

[0300]



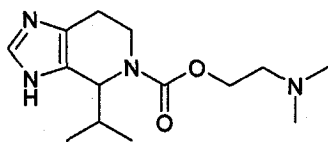
[0301] NaH(0.19g, 4.80mmol, 60% 分散在矿物油中) 悬浮于无水 THF(10mL), 冷却至 0°C 并加入 3- 甲基 -3- 氧杂环丁烷甲醇 (3-methyl-3-oxetane methanol) (0.41g, 4.00mmol)。将悬浮液在 0°C 搅拌 30 分钟, 再加入中间体 2(1.33g, 4.00mmol, 纯度 70%) 的 THF(10mL) 溶液中并在室温搅拌反应混合物。8 和 32 小时后分别加入这样两部分额外的 NaH 和 3- 甲基 -3- 氧杂环丁烷甲醇的 THF 溶液。50 小时后, 将反应混合物用水 (10mL) 淬灭并在真空中除去溶剂。将剩余物溶解于 EtOAc(100mL), 用 1M Na_2CO_3 水溶液 (4×100mL) 清洗, 干燥 (MgSO_4) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用柱层析法 (正相, 20g, Strata SI-1, 硅固相萃取管, DCM(200mL) 接着 2%, 4%, 5%, 10% 和 20% MeOH DCM 中 (每个 200mL)) 和用反相 HPLC(YMC ODS-A 100×20mm, 5 μm , 25mL/ 分钟, 梯度 20% 至 100% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/ 水中) 提纯, 得到白色固体状的 4- 异丙基 -1, 4, 6, 7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4, 5-c] 吡啶 -5- 羧酸 (3- 甲基氧杂环丁烷 -3- 基) 甲酯 (68.2mg, 5.8%)。

[0302] HPLC 分析: 纯度 100% (系统 B, $R_t = 3.80$ 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系统 B, $R_t = 4.08$ 分钟), ES^+ : 294.1 $[\text{MH}]^+$; HRMS 得到的 $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3$ 计算值: 293.1739, 实测值 293.1740。

[0303] 实施例 19

[0304] 4- 异丙基 -1, 4, 6, 7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4, 5-c] 吡啶 -5- 羧酸 2-(二甲基氨基) 乙酯

[0305]



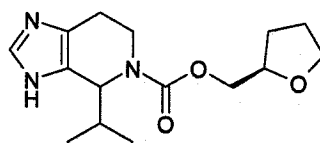
[0306] N, N-二甲基乙醇胺 (1.46mL, 14.5mmol) 在 0℃ 溶解于 DCM(10mL) 并加入 NMM(1.40mL, 14.5mmol) 和氯甲酸 4-硝基苯酯 (2.93g, 13.5mmol)。在室温搅拌反应混合物 5 小时。加入中间体 1 (2.36g, 3.6mmol) 和 DIPEA (2.53mL, 14.5mmol) 的 DCM(20mL) 溶液并将得到的溶液搅拌 2 天。在真空中除去溶剂, 剩余物溶解于 MeOH(8mL) 和 1M NaOH 水溶液 (6mL), 将反应混合物搅拌 18h 并在真空中浓缩。剩余物溶解于 EtOAc(100mL), 将有机层用 1MNa₂CO₃ 水溶液 (6×100mL) 清洗, 干燥 (MgSO₄) 并在真空中浓缩。将剩余物用柱层析法 (正相, 20g, Strata SI-1, 硅固相萃取管, DCM(200mL) 接着 2% 和 4% MeOH DCM 中 (每个 200mL)) 和反相 HPLC (YMC ODS-A 100×20mm, 5m, 25mL 每分钟, 梯度 40% 至 80% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/ 水中) 提纯, 得到无水胶状的 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并 [4,5-c] 吡啶-5-羧酸 2-(二甲基氨基) 乙酯 (7mg, 0.7%)。

[0307] HPLC 分析: 纯度 98.6% (系统 B, R_T = 2.90 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系统 B, R_T = 2.81 分钟), ES⁺: 281.8 [MH]⁺; HRMS 得到的 C₁₄H₂₄N₄O₂ 计算值: 280.1899, 实测值 280.1905。

[0308] 实施例 20

[0309] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并 [4,5-c] 吡啶-5-羧酸 (2R)-四氢呋喃-2-基甲酯

[0310]



[0311] (R)-四氢糠醇 (1.00g, 9.80mmol) 在 0℃ 溶解于 DCM(10mL) 并加入 NMM(0.99g, 0.94mL, 9.80mmol) 和氯甲酸 4-硝基苯酯 (1.97g, 9.80mmol)。在室温搅拌反应混合物 5 小时。加入中间体 1 (1.87g, 3.6mmol) 和 DIPEA (2.53mL, 14.5mmol) 的 DCM(20mL) 溶液并将得到的溶液搅拌 2 天。在真空中除去溶剂, 剩余物溶解于 MeOH(8mL) 和 1M NaOH 水溶液 (6mL), 将反应混合物搅拌 18 小时并在真空中浓缩。剩余物溶解于 EtOAc(100mL), 将有机层用 1MNa₂CO₃ 水溶液 (6×100mL) 清洗, 干燥 (MgSO₄) 并在真空中浓缩。将剩余物用反相柱层析法 (LiChroprep RP-18, 40-63 μm, 460×26mm(100g), 30mL 每分钟, 梯度 0% 至 20% (经过 5 分钟) 至 90% (经过 40 分钟) MeOH 水中) 和反相 HPLC (YMC ODS-A 150×20mm, 5m, 15mL 每分钟, 梯度 50% 至 65% (经过 12 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/ 水中) 提纯, 得到无水胶状的 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并 [4,5-c] 吡啶-5-羧酸 (2R)-四氢呋喃-2-基甲酯 (46.7mg, 4.4%)。

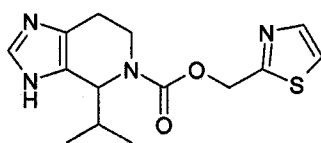
[0312] HPLC 分析: 纯度 99.4% (系统 B, R_T = 3.75 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系统 B, R_T = 4.29 分钟), ES⁺: 294.1 [MH]⁺; HRMS 得到的 C₁₅H₂₃N₃O₃ 计算值: 293.1739, 实测值 293.1738。

[0313] 实施例 21

[0314] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并 [4,5-c] 吡啶-5-羧酸 1,3-噻唑-2-基甲

酯

[0315]



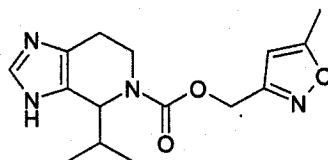
[0316] 2-羟基甲基噻唑 (0.97g, 8.40mmol) 在 0℃ 溶解于 DCM(10mL) 并加入 NMM(0.85g, 0.81mL, 8.40mmol) 和氯甲酸 4-硝基苯酯 (1.70g, 8.40mmol)。在室温搅拌反应混合物 5 小时。加入中间体 1 (2.18g, 4.20mmol) 和 DIPEA (1.64g, 2.21mL, 12.7mmol) 的 DCM(20mL) 溶液并将得到的溶液搅拌 19 小时。在真空中除去溶剂, 剩余物溶解于 MeOH(8mL) 和 1M NaOH 水溶液 (6mL), 将反应混合物在室温搅拌 3 天并在真空中浓缩。剩余物溶解于 EtOAc(100mL), 将有机层用 1M Na₂CO₃ 水溶液 (6×100mL) 清洗, 干燥 (MgSO₄) 并在真空中浓缩。将剩余物用柱层析法 (正相, 20g, Strata SI-1, 硅固相萃取管, DCM(200mL) 接着 2% 和 4% MeOH DCM 中 (每个 200mL)) 和反相 HPLC (YMC ODS-A 150×20mm, 5m, 25mL 每分钟, 梯度 20% 至 80% (经过 12 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/ 水中) 提纯, 得到白色固体状的 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并 [4,5-c] 吡啶-5-羧酸 1,3-噻唑-2-基甲酯 (51.8mg, 4.0%)。

[0317] HPLC 分析: 纯度 99.5% (系统 B, R_t = 3.81 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系统 B, R_t = 4.27 分钟), ES⁺: 307.1 [MH]⁺; HRMS 得到的 C₁₄H₁₈N₄O₂S 计算值: 306.1150, 实测值 306.1153。

[0318] 实施例 22

[0319] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并 [4,5-c] 吡啶-5-羧酸 (5-甲基异噁唑-3-基) 甲酯

[0320]



[0321] 5-甲基异噁唑-3-基甲醇 (1.64g, 14.5mmol) 在 0℃ 溶解于 DCM(10mL) 并加入 NMM(1.47g, 1.40mL, 14.5mmol) 和 4-硝基苯氯甲酸酯 (2.93g, 14.5 mmol)。在室温搅拌反应混合物 18 小时。加入中间体 1 (1.87g, 3.60mmol) 的 DCM(20mL) 溶液和 DIPEA (1.87g, 2.52mL, 14.5mmol), 将得到的溶液搅拌 3d 并在真空中浓缩。将剩余物溶解于 MeOH(8mL) 和 1M NaOH 水溶液 (6mL), 反应混合物搅拌 18 小时并在真空中浓缩。将剩余物溶解于 EtOAc(100mL), 将有机层用 1M Na₂CO₃ 水溶液 (6×100mL) 清洗, 干燥 (MgSO₄) 和在真空中浓缩。将剩余物用反相柱层析法 (LiChroprep RP-18, 40-63 μm, 460×26mm(100g), 30mL 每分钟, 梯度 0% 至 20% (经过 5 分钟) 至 90% (经过 40 分钟) MeOH 水中) 和反相 HPLC (YMC ODS-A 150×20mm, 5m, 25mL 每分钟, 梯度 40% 至 80% (经过 7 分钟) 然后 100% (3 分钟) MeOH 10% MeOH/ 水中) 提纯, 得到无水胶状的 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并 [4,5-c] 吡啶-5-羧酸 (5-甲基异噁唑-3-基) 甲酯 (107mg, 9.7%)。

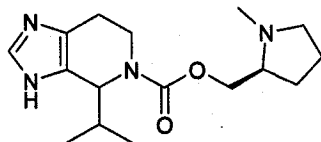
[0322] HPLC 分析: 纯度 99.5% (系统 B, R_t = 4.09 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系

统 B, $R_t = 4.51$ 分钟), $ES^+ : 305.2 [MH]^+$; HRMS 得到的 $C_{15}H_{20}N_4O_3$ 计算值: 304.1535, 实测值 304.1538。

[0323] 实施例 23

[0324] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸[(2S)-1-甲基吡咯烷-2-基]甲酯

[0325]



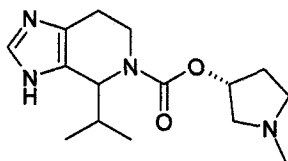
[0326] NaH(0.19g, 5.00mmol, 60% 分散在矿物油中) 在 0℃ 悬浮于 THF(10mL) 并加入 (S)-N-甲基吡咯烷-2-甲醇(0.47mL, 4.80mmol)。在 0℃ 搅拌悬浮液 30 分钟并加入中间体 2(1.33g, 4.00mmol) 的 THF(10mL) 溶液, 在室温搅拌反应混合物。8 小时后加入这样一部分额外的 NaH 和 N-甲基吡咯烷甲醇的 THF 溶液。18 小时后将反应混合物用水(10mL) 淬灭并在真空中除去溶剂。剩余物溶解于 EtOAc(100mL), 用 1M Na_2CO_3 水溶液(4×100mL) 清洗, 干燥($MgSO_4$) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用柱层析法(正相, 20g, Strata SI-1, 硅固相萃取管, DCM(200mL) 接着 2%, 4%, 5%, 10%, 和 20% MeOH DCM 中(200mL)) 和反相 HPLC(Phenomenex Synergi, RP-Hydro 150×10mm, 10m, 15mL 每分钟, 梯度 0% 至 60% (经过 12 分钟) 至 100% (经过 3 分钟) MeOH 水中[1% 蚁酸]) 提纯。将剩余物用 K_2CO_3 在 DCM 中脱盐, 得到无色胶状的 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸[(2S)-1-甲基吡咯烷-2-基]甲酯(52.1mg, 4.2%)。

[0327] HPLC 分析: 纯度 100% (系统 B, $R_t = 3.09$ 分钟); LCMS 分析: 纯度 100% (系统 B, $R_t = 3.44$ 分钟), $ES^+ : 307.1 [MH]^+$; HRMS 得到的 $C_{16}H_{26}N_4O_2$ 计算值: 306.2056, 实测值 306.2068。

[0328] 实施例 24

[0329] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3R)-1-甲基吡咯烷-3-基酯

[0330]



[0331] NaH(0.19g, 5.00mmol, 60% 分散在矿物油中) 在 0℃ 悬浮于 THF(10mL) 并加入 (R)-1-甲基吡咯烷-3-醇(0.47mL, 4.00mmol)。在 0℃ 搅拌悬浮液 30 分钟并加入中间体 2(1.33g, 4.00mmol) 的 THF(10mL) 溶液中, 在室温搅拌反应混合物。18 和 26 小时后分别加入这样两部分额外的 NaH 和 (R)-1-甲基吡咯烷-3-醇 THF 溶液。44 小时后将反应混合物用水(10mL) 淬灭并在真空中除去溶剂。剩余物溶解于 EtOAc(100mL), 用 1M Na_2CO_3 水溶液(4×100mL) 清洗, 干燥($MgSO_4$) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用柱层析法(正相, 20g, Strata SI-1, 硅固相萃取管, DCM(200mL) 接着 2%, 4%, 5%, 10% 和 20% MeOH DCM 中(200mL)) 和反相 HPLC(Phenomenex Synergi, RP-Hydro 150×10mm, 10m, 15mL 每分钟, 梯度

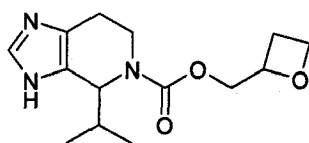
0%至30%(经过12分钟)至100%(经过3分钟)MeOH水中[1%蚁酸]提纯。将剩余物用 K_2CO_3 在DCM中脱盐,得到无色胶状的4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并-[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3R)-1-甲基吡咯烷-3-基酯。

[0332] HPLC分析:纯度100%(系统B, $R_t = 2.99$ 分钟);LCMS分析:纯度100%(系统B, $R_t = 3.36$ 分钟), ES^+ :293.1[MH] $^+$;HRMS得到的 $C_{15}H_{24}N_4O_2$ 计算值:292.1899,实测值292.1910。

[0333] 实施例25

[0334] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸氧杂环丁烷-2-基甲酯

[0335]



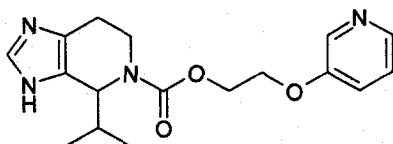
[0336] 2-羟基甲基氧杂环丁烷(0.71g, 8.10mmol)在0℃溶解于DCM(10mL)并加入NMM(0.89mL, 8.10mmol)和氯甲酸4-硝基苯酯(1.63g, 8.10mmol)。在室温搅拌反应混合物5h。加入中间体1(1.16g, 3.90mmol)和DIPEA(2.69mL, 15.4mmol)的DCM(20mL)溶液并搅拌得到的溶液18小时。在真空中除去溶剂,剩余物溶解于MeOH(10mL)和1M NaOH水溶液(10mL),搅拌反应混合物2小时并在真空中浓缩。剩余物溶解于EtOAc(120mL),将有机层用1M Na_2CO_3 水溶液(4×100mL)清洗,干燥($MgSO_4$)并在真空中除去溶剂。将剩余物用柱层析法(正相,20g, Strata SI-1, 硅固相萃取管, DCM(200mL)接着2%, 4%和5% MeOH DCM中(200mL))和反相HPLC(YMC ODS-A 100×20mm, 5m, 25mL每分钟, 梯度20%至100%(经过7分钟)然后100%(3分钟)MeOH 10% MeOH/水中)提纯,得到白色固体状的4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸氧杂环丁烷-2-基甲酯(93.4mg, 8.7%)。

[0337] HPLC分析:纯度100%(系统B, $R_t = 3.58$ 分钟);LCMS分析:纯度100%(系统B, $R_t = 3.84$ 分钟), ES^+ :280.1[MH] $^+$;HRMS得到的 $C_{14}H_{21}N_3O_3$ 计算值:279.1583,实测值279.1594。

[0338] 实施例26

[0339] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸2-(吡啶-3-基氧基)乙酯

[0340]



[0341] 2-(3-吡啶氧基)乙醇(0.62g, 4.40mmol)在0℃溶解于DCM(10.0mL)并加入NMM(0.50mL, 4.40mmol)和氯甲酸4-硝基苯酯(0.90g, 4.40mmol)。在室温搅拌反应混合物5小时。加入中间体1(0.35g, 2.10mmol)和DIPEA(1.10g, 1.50mL, 8.50mmol)的DCM(20mL)溶液并搅拌得到的溶液3天。在真空中除去溶剂,剩余物溶解于MeOH(4mL)和1M NaOH水溶液(4mL),将反应混合物搅拌2小时并在真空中浓缩。剩余物溶解于EtOAc(60mL),将有机层用1M Na_2CO_3 水溶液(5×40mL)清洗,干燥($MgSO_4$)并在真空中除去溶剂。将剩余物用柱层

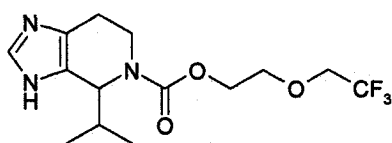
析法（正相，20g，Strata SI-1，硅固相萃取管，DCM(200mL) 接着 2%，4%，5%和 10% MeOH DCM 中 (200mL)）和反相 HPLC (YMC ODS-A 100×20mm, 5m, 25mL 每分钟，梯度 0%至 40%（经过 7 分钟）然后 100%（3 分钟）MeOH 10% MeOH/ 水中）提纯，得到白色固体状的 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 2-(吡啶 -3- 基氧基) 乙酯 (7.4mg, 1%)。

[0342] HPLC 分析 : 纯度 99.4%（系统 B, $R_t = 3.21$ 分钟）; LCMS 分析 : 纯度 100%（系统 B, $R_t = 3.20$ 分钟）， ES^+ : 331.5 [MH] $^+$; HRMS 得到的 $C_{17}H_{22}N_4O_3$ 计算值 : 330.1692, 实测值 330.1701。

[0343] 实施例 27

[0344] 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 2-(2,2,2- 三氟乙氧基) 乙酯

[0345]



[0346] 2-(2,2,2- 三氟乙氧基) 乙醇 (0.57mL, 3.60mmol) 溶解于 THF (5mL)，加入 NaH (146mg, 60% 分散在矿物油中, 3.60mmol) 并搅拌反应混合物 10 分钟。加入氯甲酸 4- 硝基苯酯 (726mg, 3.60mmol) 并搅拌反应混合物 16 小时。将中间体 1 (297mg, 1.80mmol) 溶解于 THF (5mL) 并加入在室温搅拌的反应混合物中。8、24 和 32 小时后分别加入这样三部分额外的 NaH、2-(2,2,2- 三氟乙氧基) 乙醇和氯甲酸 4- 硝基苯酯的 THF 溶液。104 小时后，将反应混合物用水 (10mL) 淬灭并在真空中除去溶剂。剩余物溶解于 MeOH (10mL) 和 1M NaOH 水溶液 (6mL) 并搅拌 1.5h。在真空中除去溶剂并将剩余物溶解于 EtOAc (100mL)。将有机层用 1M Na_2CO_3 水溶液 (6×50mL)、盐水 (2×50mL) 清洗，干燥 ($MgSO_4$) 并在真空中除去溶剂。将剩余物用反相 HPLC (Phenomenex Synergi, RP-Hydro 150×10mm, 10m, 15mL 每分钟，梯度 0%至 50%（经过 12 分钟）至 100%（经过 3 分钟）MeOH 水中）提纯，得到淡黄色胶状的 4- 异丙基 -1,4,6,7- 四氢 -5H- 咪唑并 [4,5-c] 吡啶 -5- 羧酸 2-(2,2,2- 三氟乙氧基) 乙酯 (3mg, 0.5%)。

[0347] HPLC 分析 : 纯度 99.3%（系统 B, $R_t = 4.49$ 分钟）; LCMS 分析 : 纯度 97.1%（系统 B, $R_t = 4.50$ 分钟）， ES^+ : 336.5 [MH] $^+$; HRMS 得到的 $C_{14}H_{20}F_3N_3O_3$ 计算值 : 335.1457, 实测值 335.1467。

[0348] 生物试验

[0349] SSAO 酶抑制剂的生物学检测

[0350] 所有的检测都是在室温下用纯化的重组表达人类 SSAO 进行。酶基本上采用如 **Öhman** 等（蛋白表达和纯化 (Protein Expression and Purification) 2006, 46, 321-331）中所述方法制备。酶活性用苜蓿作为底物、并利用过氧化氢的产生来检测。在辣根过氧化物酶 (HRP) 偶合反应中，10- 乙酰基 -3,7- 二羟基吩噻嗪与过氧化氢氧化反应产生的试卤灵 (resorufin)，是一种高荧光化合物 (Zhou 和 Panchuk-Voloshina. Analytical Biochemistry 1997, 253, 169-174; Amplex® 红色过氧化氢 / 过氧化物酶检测试剂盒 (Red Hydrogen Peroxide/peroxidase Assay kit), Invitrogen A22188)。

[0351] 将测试化合物溶解于二甲亚砜 (DMSO) 至浓度为 10mM。这样进行剂量应答测试：通过 DMSO 中 1 : 10 连续稀释而产生 7 点曲线 (point curve)，或通过 DMSO 中 1 : 3 连续稀释而产生 11 点曲线。根据化合物的效应来调节峰值浓度，接着用反应缓冲液 (50mM 磷酸钠，pH 7.4) 稀释得到最终的 DMSO 浓度 $\leq 2\%$ 。在通过加入 HRP、苜胺和 Amplex 试剂的混合物来引发反应之前，将酶和化合物在平底微滴定板上预培养 (pre-incubate) 约 60 分钟。然后取几个时间点 (15 分钟、20 分钟和 30 分钟) 检测荧光强度 (544nm 激发并读取 590nm 的发射强度)。检测井 (assay wells) 中最终的试剂浓度为：SSAO 酶 $2 \mu\text{g/ml}$ 、苜胺 $100 \mu\text{M}$ 、Amplex 试剂 $20 \mu\text{M}$ 、HRP 0.1U/mL 以及各种不同的测试化合物浓度。通过与不使用抑制剂的对照 (仅仅是稀释的 DMSO) 相比较，其信号减弱的 % 来测试抑制作用。从所有数据点中减去不含 SSAO 酶的背景信号。将数据输入四参数逻辑拟合模型 (four parameter logistic model)，并用 GraphPad Prism 4 或 XLfit 4 程序计算 IC_{50} 值。

[0352] 通常本发明化合物的 IC_{50} 值为 1-1000nM。有代表性的化合物测得的 IC_{50} 值如下表所示：

[0353]

化合物	IC_{50} (nM)
实施例 7	34
实施例 14	48
实施例 17	91