



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119954787 A

(43) 申请公布日 2025. 05. 09

(21) 申请号 202510130368.8

C07D 405/12 (2006.01)

(22) 申请日 2019.04.17

(30) 优先权数据

62/659,408 2018.04.18 US

(62) 分案原申请数据

201980026504.1 2019.04.17

(71) 申请人 星座制药公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 A·科特 V·S·格灵 A·克汉纳

L·莫伊内 J·I·斯塔基

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

专利代理师 吴亦华 黄海波

(51) Int. Cl.

C07D 405/14 (2006.01)

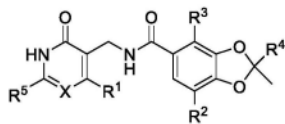
权利要求书2页 说明书50页

(54) 发明名称

甲基修饰酶的调节剂、其组合物和用途

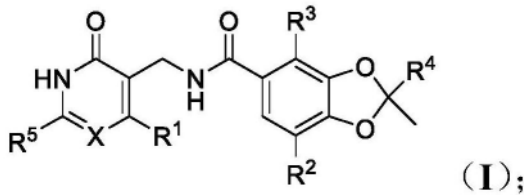
(57) 摘要

提供了式(I)的新型化合物:和其药学上可接受的盐,其可用于治疗与甲基修饰酶相关的各种疾病、病症或病状。还提供了包括所述式(I)的新型化合物、其药学上可接受的盐的药物组合物,以及所述药物组合物用于治疗与甲基修饰酶相关的一种或多种疾病、病症或病状的方法。



(I)

1. 一种式I的化合物:



或其药学上可接受的盐,其中:

R^1 是卤素、 $-S(C_1-C_4)$ 烷基、 $-S(C_3-C_7)$ 环烷基或 $-S$ [卤代 (C_1-C_4) 烷基];

X是CH或N;

R^2 是氢、卤素、 (C_1-C_4) 烷基或卤代 (C_1-C_4) 烷基;

R^3 是卤素、 (C_1-C_4) 烷基或卤代 (C_1-C_4) 烷基;

R^4 是 (C_3-C_7) 环烷基或4到7元杂环基,其中的每一个任选地被1到3个选自卤素、 (C_1-C_4) 烷基、卤代 (C_1-C_4) 烷基、 (C_1-C_4) 烷氧基、卤代 (C_1-C_4) 烷氧基和 $-NR^aR^b$ 的基团取代;

R^a 是氢、 (C_1-C_4) 烷基或卤代 (C_1-C_4) 烷基;

R^b 是 (C_1-C_4) 烷基、卤代 (C_1-C_4) 烷基或4到7元杂环基,其中所述杂环基任选被1到3个选自卤素、 (C_1-C_4) 烷基、卤代 (C_1-C_4) 烷基、 (C_1-C_4) 烷氧基和卤代 (C_1-C_4) 烷氧基的基团取代;或

R^a 和 R^b 与其所附接的氮原子一起形成任选地被1到3个选自卤素、 (C_1-C_4) 烷基、卤代 (C_1-C_4) 烷基和 $-OR^c$ 的基团取代的4到7元杂环基;

R^c 是 (C_1-C_4) 烷基、卤代 (C_1-C_4) 烷基或 (C_3-C_7) 环烷基;并且

R^5 是卤素、 (C_1-C_4) 烷基或卤代 (C_1-C_4) 烷基。

2. 根据权利要求1所述的化合物,其中:

R^1 是卤素或 $-S(C_1-C_4)$ 烷基;

R^2 是卤素;

R^3 是 (C_1-C_4) 烷基;

R^4 是 (C_3-C_7) 环烷基或 (C_4-C_7) 杂环基,其中的每一个任选地被1到2个选自卤代 (C_1-C_4) 烷基和 $-NR^aR^b$ 的基团取代;

R^a 是氢或 (C_1-C_4) 烷基;

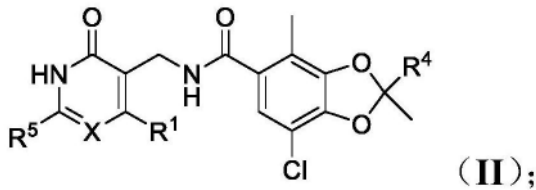
R^b 是 (C_1-C_4) 烷基或 (C_4-C_7) 杂环基,其中所述杂环基任选地被卤代 (C_1-C_4) 烷基取代;或

R^a 和 R^b 与其所附接的氮原子一起形成任选地被1到3个选自卤素和 $-OR^c$ 的基团取代的4到7元含氮杂环基;

R^c 是 (C_1-C_4) 烷基、卤代 (C_1-C_4) 烷基或 (C_3-C_7) 环烷基;并且

R^5 是卤素或 (C_1-C_4) 烷基。

3. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中所述化合物具有式II:



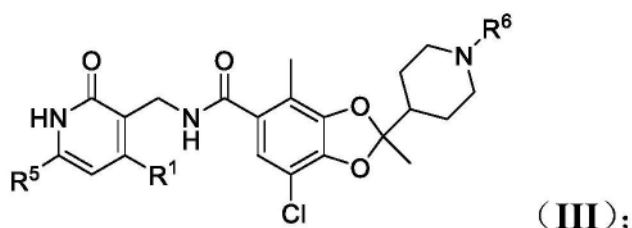
或其药学上可接受的盐。

4. 根据权利要求1到3中任一项所述的化合物,其中 R^1 是氯代。

5. 根据权利要求1到4中任一项所述的化合物,其中 R^1 是 $-SCH_3$ 。

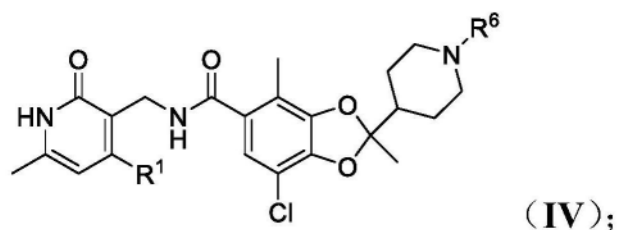
6. 根据权利要求1到5中任一项所述的化合物,其中 R^4 是环己基或哌啶基,其中的每一个任选地被1到2个选自卤代(C_1-C_4)烷基和 $-NR^aR^b$ 的基团取代。

7. 根据权利要求1到6中任一项所述的化合物,其中所述化合物具有式III:



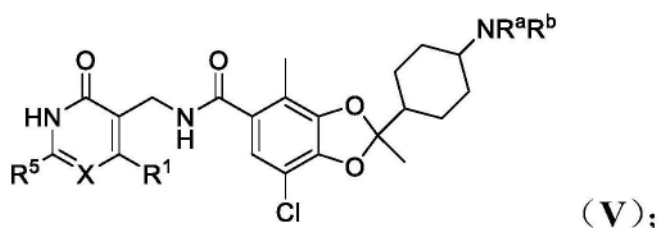
或其药学上可接受的盐,其中 R^6 是卤代(C_1-C_4)烷基。

8. 根据权利要求1到7中任一项所述的化合物,其中所述化合物具有式IV:



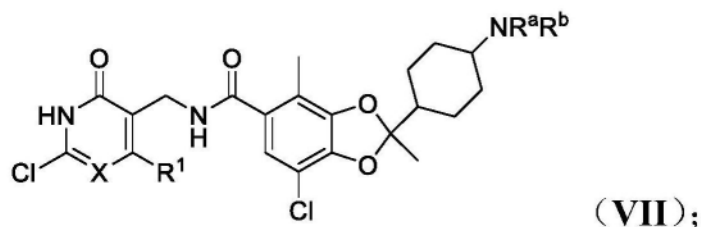
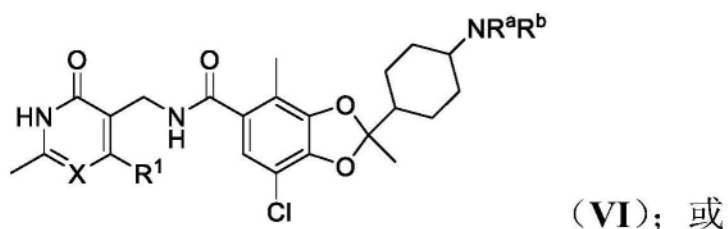
或其药学上可接受的盐。

9. 根据权利要求1到6中任一项所述的化合物,其中所述化合物具有式(V):



或其药学上可接受的盐。

10. 根据权利要求1到6和9中任一项所述的化合物,其中所述化合物具有以下式:



或其药学上可接受的盐。

甲基修饰酶的调节剂、其组合物和用途

[0001] 本申请是申请号为201980026504.1、申请日为2019年4月17日、名称为“甲基修饰酶的调节剂、其组合物和用途”的专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求于2018年4月18日提交的美国临时申请第62/659,408号的优先权的权益,所述美国临时专利申请的内容通过引用并入本文。

背景技术

[0004] 真核染色质是由称为核小体的大分子复合物构成。核小体有147个碱基对的DNA包裹在一个蛋白质八聚体周围,这种蛋白质八聚体具有组蛋白H2A、H2B、H3和H4中的每一个的两个亚基。组蛋白经过转译后修饰,转译后修饰进而影响染色质结构和基因表达。组蛋白上发现的一种转译后修饰是赖氨酸和精氨酸残基的甲基化。组蛋白甲基化在真核生物的基因表达调控中起着关键作用。甲基化影响染色质结构,并与转录的激活和抑制有关(Zhang和Reinberg,《基因进化(Genes Dev)》,15:2343-2360,2001)。催化组蛋白与甲基衔接和从其去除的酶与基因沉默、胚胎发育、细胞增殖和其它过程有关。

[0005] 一类组蛋白甲基化酶的特征是存在包括约130个氨基酸的SET结构域。EZH2是含有甲基化酶的人类SET结构域的实例。EZH2与EED(胚胎外胚层发育)和SUZ12(zeste 12同源物的抑制因子)结合形成称为PRC2(多克隆抑制因子2)的复合物,这种复合物具有在赖氨酸27三-甲基化组蛋白H3的能力(Cao和Zhang,《细胞生物学(Mol.Cell)》,15:57-67,2004)。PRC2复合物也可以包含RBAP46亚基和RBAP48亚基。另一个实例是相关的甲基化酶EZH1。

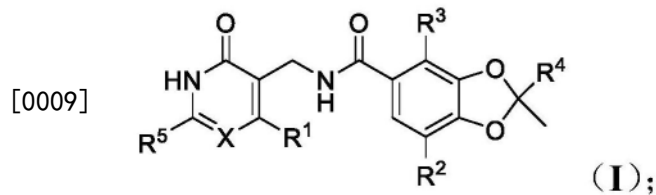
[0006] 许多对各种不同的癌症类型的研究中已经显示了EZH2的致癌活性。约15-20%的GCB-DLBCL在EZH2(Y641残基)中含有功能获得性突变,并且这些细胞在体外和体内对EZH2抑制都是高度敏感的(McCabe等人,2012;Bradley等人,2014)。在细胞系实验中,EZH2的过度表达诱导细胞侵袭、在软琼脂中生长和运动,而EZH2的敲除抑制细胞增殖和细胞侵袭(Kleer等人,2003,《美国国家科学院院刊(Proc.Nat.Acad.Sci.USA)》,100:11606-11611;Varambally等人,(2002)，“多梳基团蛋白EZH2参与前列腺癌的进展(The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer)”,《自然(Nature)》,419,624-629)。已经表明EZH2抑制几种肿瘤抑制因子(包含E-钙粘蛋白、DAB2IP和RUNX3等)的表达。在异种移植模型中,EZH2敲除抑制肿瘤生长和转移。已经表明,在小鼠模型中EZH2的下调阻断前列腺癌的转移(Min等人,“癌基因-抑癌基因级联通过协同激活Ras和核因子 κ B来驱动转移性前列腺癌(An oncogene-tumor suppressor cascade drives metastatic prostate cancer by coordinately activating Ras and nuclear factor- κ B)”,《自然·医学(Nat Med)》,2010年3月;16(3):286-94)。最近,研究表明EZH2在神经内分泌肿瘤中过度表达,并且抑制小鼠肿瘤中的EZH2可恢复雄激素依赖性(Ku等人,《科学(Science)》,355,2017)。EZH2过表达与某些癌症(如乳腺癌)的侵袭性有关(Kleer等人,《美国国家科学院院刊》,100:11606-11611,2003)。最近的研究还表明,前列腺癌特异性致癌融合基因TMPRSS2-ERG通过直接激活EZH2诱导抑制性表观遗传程序(Yu等人,“前列腺癌进展

中雄激素受体基因融合、多梳基因融合和TMPRSS2 ERG基因融合的整合网络 (An Integrated Network of Androgen Receptor, Polycomb, and TMPRSS2-ERG Gene Fusions in Prostate Cancer Progression)”, 《癌细胞 (Cancer Cell.)》, 2010年5月18日; 17 (5): 443-454)。

[0007] 鉴于甲基修饰酶在调节多种生物过程中的作用, 甲基修饰酶 (特别是EZH2及其突变体) 是有吸引力的调节目标。

发明内容

[0008] 现已发现本文所述的化合物及其药学上可接受的组合物能够调节EZH2的活性 (参见例如, 表5)。这些化合物包含结构式I的化合物:



[0010] 或其药学上可接受的盐, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和X各自如本文所定义。

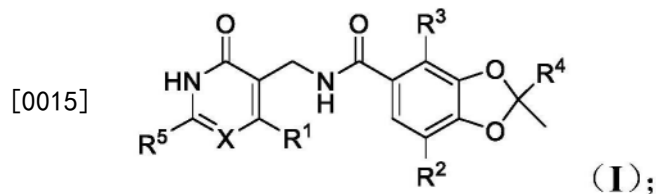
[0011] 在一方面, 还发现本文所述的某些化合物停留时间增加 (例如, >100小时) 并且渗透性增强。已经发现停留时间 (即, 较慢的解离速率) 和/或渗透性的增加与细胞效力的提高相关。

[0012] 所公开的化合物、药学上可接受的盐和药学上可接受的组合物可用于治疗与甲基修饰酶相关的各种病状。这些病状包含例如一种或多种癌症。

具体实施方式

[0013] 1. 化合物综述

[0014] 提供了式I的化合物:



[0016] 或其药学上可接受的盐, 其中:

[0017] R^1 是卤素、 $-S(C_1-C_4)$ 烷基、 $-S(C_3-C_7)$ 环烷基或 $-S$ [卤代 (C_1-C_4) 烷基];

[0018] X是CH或N;

[0019] R^2 是氢、卤素、 (C_1-C_4) 烷基或卤代 (C_1-C_4) 烷基;

[0020] R^3 是卤素、 (C_1-C_4) 烷基或卤代 (C_1-C_4) 烷基;

[0021] R^4 是 (C_3-C_7) 环烷基或4到7元杂环基, 其中的每一个任选地被1到3个选自卤素、 (C_1-C_4) 烷基、卤代 (C_1-C_4) 烷基、 (C_1-C_4) 烷氧基、卤代 (C_1-C_4) 烷氧基和 $-NR^aR^b$ 的基团取代;

[0022] R^a 是氢、 (C_1-C_4) 烷基或卤代 (C_1-C_4) 烷基;

[0023] R^b 是 (C_1-C_4) 烷基、卤代 (C_1-C_4) 烷基或4到7元杂环基, 其中所述杂环基任选被1到3个选自卤素、 (C_1-C_4) 烷基、卤代 (C_1-C_4) 烷基、 (C_1-C_4) 烷氧基和卤代 (C_1-C_4) 烷氧基的基团取

代;或

[0024] R^a 和 R^b 与其所附接的氮原子一起形成任选地被1到3个选自卤素、 (C_1-C_4) 烷基、卤代 (C_1-C_4) 烷基和 $-OR^c$ 的基团取代的4到7元杂环基;

[0025] R^c 是 (C_1-C_4) 烷基、卤代 (C_1-C_4) 烷基或 (C_3-C_7) 环烷基;并且

[0026] R^5 是卤素、 (C_1-C_4) 烷基或卤代 (C_1-C_4) 烷基。

[0027] 2. 定义

[0028] 当用于描述可能有多个附接点的化学基团时,连字符(-)表示这一基团与定义其的变量的附接点。例如, $-S(C_3-C_7)$ 环烷基和 $-S$ [卤代 (C_1-C_4) 烷基]表示这一基团的附接点在硫原子上。

[0029] 如本文所用,术语“卤素(halo/halogen)”指选自氟(氟代,-F)、氯(氯代,-Cl)、溴(溴代,-Br)和碘(碘代,-I)的原子。

[0030] 如本文所用,术语“烷基”是指一价饱和、直链或支链烃自由基,除非另有说明,其具有1-10个碳原子。烷自由基的实例包含但不限于:甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、仲戊基、异戊基、叔丁基、正戊基、新戊基、正己基、仲己基等。

[0031] 术语“卤代烷基”包含单卤代烷基、多卤代烷基和全卤代烷基,其中卤素独立地选自氟、氯、溴和碘。

[0032] “烷氧基”是通过氧接头(-O(烷基))附接到另一个部分的烷基。非限制性实例包含甲氧基、乙氧基、丙氧基和丁氧基。

[0033] “卤代烷氧基”是通过氧原子(如例如但不限于 $-OCHCF_2$ 或 $-OCF_3$)附接到另一部分的卤代烷基。

[0034] 术语“环烷基”是指完全饱和的3到12元(例如,3到7元)单环、双环(例如,桥接或螺环双环)或多环(例如,三环)烃环体系。单环环烷基包含但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。桥接双环环烷基包含但不限于双环[3.2.1]辛烷、双环[2.2.1]庚烷、双环[3.1.0]己烷、双环[1.1.1]戊烷等。螺双环环烷基包含例如螺环[3.6]癸烷、螺环[4.5]癸烷等。稠合环烷基环包含例如十氢萘、八氢环烯等。当指定为任选地被取代或被取代时,环烷基上的取代基(例如,在任选地取代的环烷基的情况下)可以存在于任何可取代的位置,并且包含例如环烷基附接的位置。

[0035] 术语“杂环基”是指含有1到4个独立选自N、O和S的杂原子的3到12元(例如4元、5元、6元和7元)饱和或部分不饱和杂环。其可以是单环的、双环的(例如,桥接、稠合或螺环双环)或三环的。术语“杂环”、“杂环基”、“杂环基环”、“杂环基”、“杂环部分”和“杂环自由基”在本文中可互换使用。杂环基环可以在任何形成稳定的结构的杂原子或碳原子上与其侧基附接。这种饱和杂环自由基或部分不饱和杂环自由基的实例包含但不限于四氢呋喃基、四氢噻吩基、四氢吡喃基、吡咯烷基、吡啶基、吡咯烷基、哌啶基、噁唑烷基、哌嗪基、二氧杂环烷基、二氧戊环基、吗啉基、二氢呋喃基、二氢吡喃基、二氢吡啶基、四氢吡啶基、二氢嘧啶基、氧杂环丁烷基、氮杂环丁烷基和四氢嘧啶基。杂环基可以是单环或双环的。术语“杂环基”还包含例如与另一个不饱和杂环自由基或芳基或杂芳基环稠合的不饱和杂环自由基,如四氢萘啶、吲哚满酮、二氢吡咯并三唑、咪唑并嘧啶、喹啉酮、二氧螺烷。当指定为任选地被取代或被取代时,杂环基上的取代基(例如,在任选地取代的杂环基的情况下)可以存在于任何可取代的位置,并且包含例如杂环基附接的位置。

[0036] 术语“螺环”是指共用一个环原子(例如,碳)的两个环。

[0037] 术语“稠合”是指彼此共享两个相邻环原子的两个环。

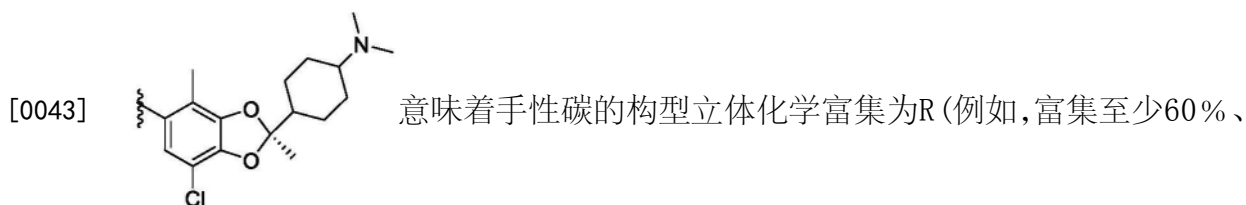
[0038] 术语“桥接”是指彼此共享三个或更多个环原子的两个环。

[0039] 如本文所用,“几何异构体”是指取代基原子相对于环烷基环的定向不同的异构体,即顺式异构体或反式异构体。当所公开的化合物按照结构命名或描述而没有指明特定的顺式或反式几何异构体形式时,应当理解,所述名称或结构包括一种几何异构体,其不含其它几何异构体、几何异构体的混合物或相对于其相应的几何异构体富含一种几何异构体的混合物。

[0040] 除非另有说明,当公开的化合物的立体化学由结构命名或描述时,所命名或描述的立体异构体相对于所有其它立体异构体具有按重量计至少60%、70%、80%、90%、99%或99.9%的纯度。当按照结构命名或描述单一对映体时,所描述或命名的对映体是具有按重量计至少60%、70%、80%、90%、99%或99.9%的光学纯度。按重量计的光学纯度百分比是对映体的重量与对映体的重量加上其光学异构体的重量之比。对映体可以通过本领域技术人员已知的方法来溶解,例如通过以下:形成可以通过例如结晶来分离的非对映体盐;形成可以通过例如结晶、超临界流体或液相色谱法分离的非对映体衍生物或复合物;一种对映体与对映体特异性试剂的选择性反应,例如酶促酯化;或者在手性环境中(例如在手性载体上(例如具有结合的手性配体的二氧化硅上))或者在手性溶剂存在下进行超临界流体或液相色谱法。特定的对映体也可以通过使用光学活性试剂、底物、催化剂或溶剂的不对称合成来合成,或者通过不对称转化将一种对映体转化为另一种对映体来合成。

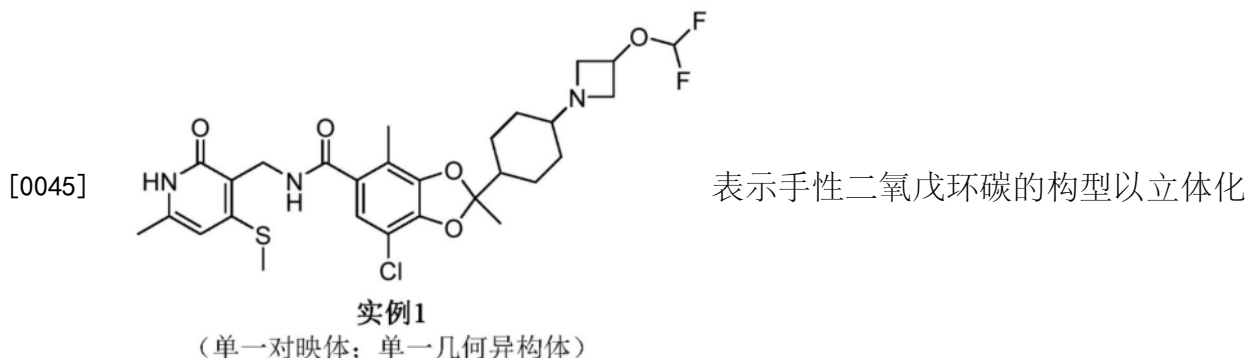
[0041] 除非另有说明,当所公开的化合物通过不指示立体化学的结构命名或描述时,并且该化合物具有至少一个手性中心或至少一个几何异构体或两者时,所述名称或结构涵盖所述化合物的一种不含对应光学异构体或几何异构体的对映体或几何异构体、所述化合物的外消旋混合物和相对于其对应光学异构体或几何异构体一种对映体或几何异构体富集的混合物。

[0042] 除非另有说明,当所公开的化合物中只有一些立体化学中心按照结构来描述或命名时,所描述或命名的构型相对于其余构型富集了例如至少为60%、70%、80%、90%、99%或99.9%的摩尔过量。例如,以下结构:



70%、80%、90%、99%或99.9%的摩尔过量),并且环己基的几何构型可以是顺式或反式,或其混合物。

[0044] 在某些情况下,所公开的化合物是通过不指出立体化学的结构描述的,但是被标识为以立体化学方式富集(例如,在不可能有几何异构体情况下的“单一对映体;单一几何异构体”或“单一对映体”)。例如,除非另有说明



学方式富集为R (例如, 富集至少60%、70%、80%、90%、99%或99.9%的摩尔过量) 或以立体化学方式富集为S (例如, 富集至少60%、70%、80%、90%、99%或99.9%的摩尔过量), 并且环己基环的几何构型富集为顺式 (例如, 富集至少60%、70%、80%、90%、99%或99.9%的摩尔过量) 或富集为反式 (例如, 富集至少60%、70%、80%、90%、99%或99.9%的摩尔过量)。

[0046] 本文使用的术语“患者”是指动物, 如哺乳动物, 以及如人。术语“受试者”和“患者”可以互换使用。

[0047] 术语“药学上可接受的载体”是指不会破坏与其一起配制的化合物的药理活性的无毒的载体、佐剂或赋形剂。可用于本文所述组合物的药学上可接受的载体、佐剂或赋形剂包含但不限于离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白如人血清白蛋白、缓冲物质如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐或电解质, 如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素类物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙二醇-聚氧丙烯嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。

[0048] 术语“治疗 (treatment/treat/treating)”是指逆转、减轻或抑制如本文所述的疾病或病症或其一种或多种症状的进展。症状消失后, 也可以继续治疗例如以延迟复发。

[0049] 疾病、病症和病状在本文中可互换使用。

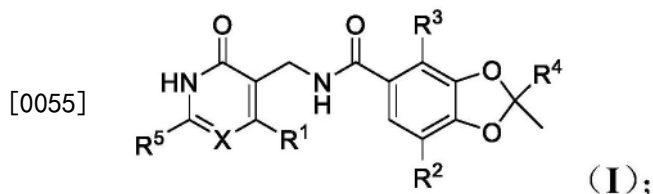
[0050] 术语“有效量”或“治疗有效量”是指本文所述的能够引起受试者生物或医学反应的化合物的量, 例如0.01-100mg/kg体重/天的剂量。术语“受试者”和“患者”可以互换使用, 表示需要治疗的哺乳动物, 例如陪伴动物 (例如狗、猫等)、农场动物 (例如牛、猪、马、绵羊、山羊等) 和实验室动物 (例如大鼠、小鼠、豚鼠等)。通常, 受试者是需要治疗的人。

[0051] 术语“抑制 (inhibit/inhibition/inhibiting)”包含生物活性或过程的基线活性的降低。

[0052] 本文所述的化合物可以以药学上可接受的盐的形式存在。对于医药用途, 本文所述化合物的盐是指无毒的“药学上可接受的盐”。药学上可接受的盐形式包含药学上可接受的酸性/阴离子或碱性/阳离子盐。本文所述化合物的合适的药学上可接受的酸加成盐包含例如无机酸 (如盐酸、氢溴酸、磷酸、硝酸和硫酸) 和有机酸 (如乙酸、苯磺酸、苯甲酸、甲磺酸和对甲苯磺酸) 的盐。

[0053] 3. 对示例性化合物的说明

[0054] 在一些实施例中, 本公开提供了一种式I的化合物:



[0056] 或其药学上可接受的盐,其中变量与以上式I的变量一样。

[0057] 在第二个实施例中,在式I的化合物中,

[0058] R¹是卤素或-S(C₁-C₄)烷基;

[0059] R²是卤素;

[0060] R³是(C₁-C₄)烷基;

[0061] R⁴是(C₃-C₇)环烷基或(C₄-C₇)杂环基,其中的每一个任选地被1到2个选自卤代(C₁-C₄)烷基和-NR^aR^b的基团取代;

[0062] R^a是氢或(C₁-C₄)烷基;

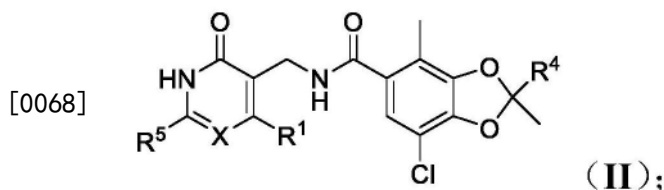
[0063] R^b是(C₁-C₄)烷基或(C₄-C₇)杂环基,其中所述杂环基任选地被卤代(C₁-C₄)烷基取代;或

[0064] R^a和R^b与其所附接的氮原子一起形成任选地被1到3个选自卤素和-OR^c的基团取代的4到7元含氮杂环基;

[0065] R^c是(C₁-C₄)烷基、卤代(C₁-C₄)烷基或(C₃-C₇)环烷基;并且

[0066] R⁵是卤素或(C₁-C₄)烷基。

[0067] 在第三个实施例中,式I化合物具有式II:



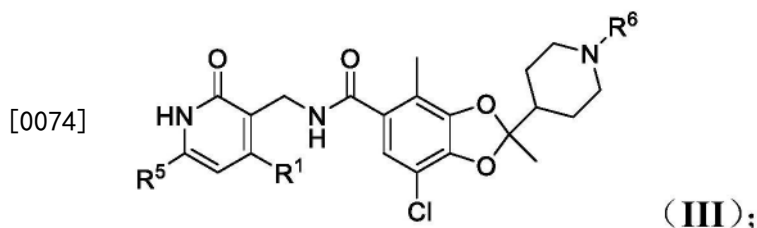
[0069] 或其药学上可接受的盐,其中剩余的变量与上文对式I或第二实施例所描述的一样。

[0070] 在第四个实施例中,式I或式II的化合物中的R¹是氯代,其中剩余的变量与上文对式I或第二实施例所描述的一样。

[0071] 在第五个实施例中,式I或式II的化合物中的R¹是-SCH₃,其中剩余的变量与上文对式I或第二实施例所描述的一样。

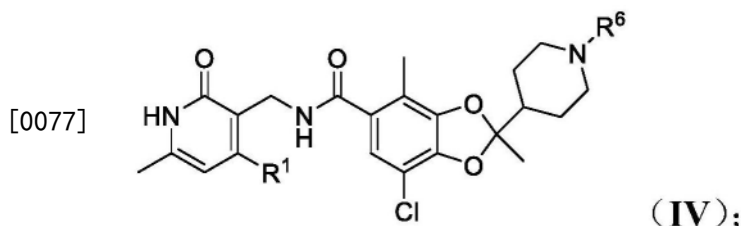
[0072] 在第六个实施例中,式I或式II的化合物中的R⁴是环己基或哌啶基,其中的每一个任选地被1到2个选自卤代(C₁-C₄)烷基和-NR^aR^b的基团取代,其中剩余的变量与上文对式I或第二、第四或第五个实施例所描述的一样。

[0073] 在第七个实施例中,式I或式II的化合物具有式III:



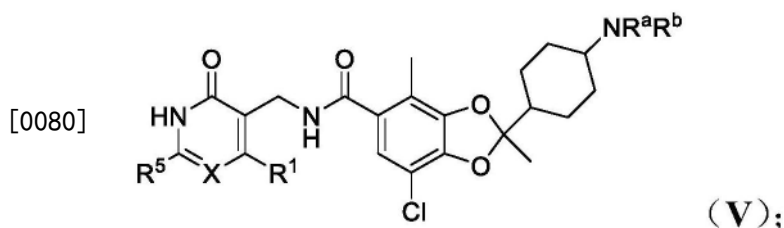
[0075] 或其药学上可接受的盐,其中 R^6 是卤代(C_1-C_4)烷基,并且其中剩余的变量与上文对式I或第二、第四或第五个实施例所描述的一样。

[0076] 在第八个实施例中,式I、式II或式III的化合物具有式IV:



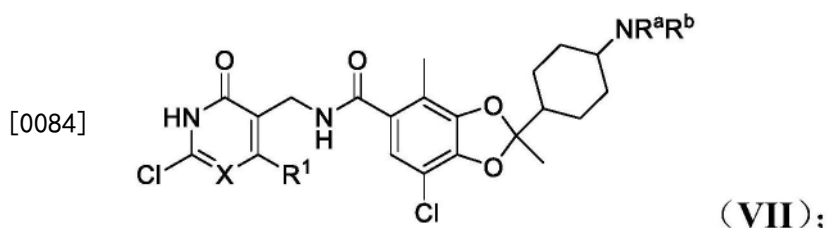
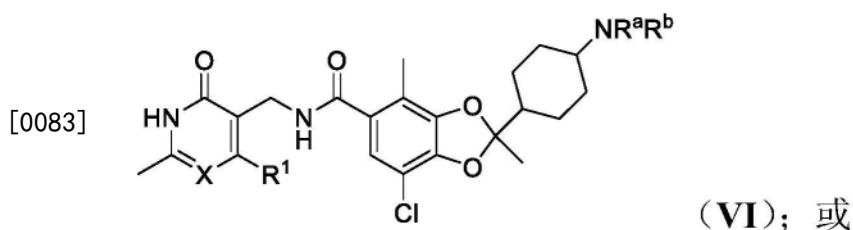
[0078] 或其药学上可接受的盐,其中剩余的变量与上文对式I或第二、第四、第五或第七个实施例所描述的一样。

[0079] 在第九个实施例中,式I或式II的化合物具有式V:



[0081] 或其药学上可接受的盐,其中剩余的变量与上文对式I或第二、第四或第五个实施例所描述的一样。

[0082] 在第十个实施例中,式I、式II或式V的化合物具有式VI或式VII:



[0085] 或其药学上可接受的盐,其中剩余的变量和特征与上文对式I或第二、第四或第五个实施例所描述的一样。

[0086] 在第十一个实施例中,式I、式II、式V、式VI和式VII化合物中的 R^b 是(C_1-C_4)烷基或氧杂环丁烷基,其中所述氧杂环丁烷基任选被卤代(C_1-C_4)烷基取代;或 R^a 和 R^b 与其所附接的氮原子一起形成任选地被卤素或 $-OR^c$ 取代的氮杂环丁烷基,其中剩余的变量和特征与上文对式I或第二、第四或第五个实施例所描述的一样。

[0087] 在第十二个实施例中,式I、式II、式V、式VI和式VII化合物中的 R^a 是氢或甲基;并且 R^b 是甲基或氧杂环丁烷基,其中所述氧杂环丁烷基任选被 $-CH_2F$ 或 $-CF_3$ 取代,其中剩余的变量和特征与上文对式I或第二、第四、第五或第七个实施例所描述的一样。

[0088] 在第十三个实施例中,式I、式II、式V、式VI和式VII化合物中的R^a和R^b与其所附接的氮原子一起形成任选地被1到2个氟代或-OR^c取代的氮杂环丁烷基;并且R^c是-CH₃、-CHF₂或环丙基,其中剩余的变量和特征与上文对式I或第二、第四、第五或第十一个实施例所描述的一样。

[0089] 在第十四个实施例中,式I、式II、式V、式VI和式VII中任一个的1,3-二氧戊环基和NR^aR^b基团的构型是围绕环己基反式定向的,其中剩余的变量和特征与上文对式I或第二、第四、第五、第六、第十一、第十二或第十三个实施例所描述的一样。可替代地,式I、式II、式V、式VI和式VII的1,3-二氧戊环基和NR^aR^b基团的构型是围绕环己基顺式定向的,其中剩余的特征与上文对式I或第二、第四、第五、第六、第十一、第十二或第十三个实施例所描述的一样。

[0090] 在第十五个实施例中,式I、式II、式III、式IV、式V、式VI和式VII中任一个的1,3-二氧戊环基的手性中心的立体化学构型为R,其中剩余的特征与上文对式I或第二、第四、第五、第六、第十一、第十二、第十三或第十四个实施例所描述的一样。可替代地,式I、式II、式III、式IV、式V、式VI和式VII中任一个的1,3-二氧戊环基的手性中心的立体化学构型为S,其中剩余的特征与上文对式I或第二、第四、第五、第六、第十一、第十二、第十三或第十四个实施例所描述的一样。

[0091] 化合物的具体实例在范例部分提供,并作为第十四个实施例的一部分包含在本文中。还包含这些化合物的药学上可接受的盐以及中性形式。在一方面,本公开包含本文所述任何化合物的外消旋形式。

[0092] 4. 用途、调配和施用:

[0093] 在一些实施例中,本公开提供了包括本文所述化合物或其药学上可接受的衍生物和药学上可接受的载体的组合物。所提供的组合物中化合物的量能够有效地可测量地调节生物样品或患者体内的组蛋白甲基修饰酶或其突变体。

[0094] 在某些实施例中,本文所述的组合物被配制用于施用于需要此类组合物的患者。本文所述的组合物可以通过口服方式、肠胃外方式、吸入喷雾方式、局部方式、直肠方式、鼻腔方式、口腔方式、阴道方式或通过植入的贮器施用。本文使用的术语“胃肠外”包含皮下、静脉内、肌内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、病变内和颅内注射或输注技术。在一些实施例中,所述组合物通过口服方式、腹膜内方式或静脉内方式施用。本文所述组合物的无菌注射形式可以是水性或含油悬浮液。这些悬浮液可以使用适当的分散剂或湿润剂以及悬浮剂根据本领域中已知的技术进行调配。

[0095] 在一些实施例中,组合物通过口服方式施用。

[0096] 用于任何特定患者的具体剂量和治疗方案将取决于各种因素,包含所采用的具体化合物的活性、年龄、体重、总体健康状况、性别、饮食、施用时间、排泄率、药物组合和治疗医生的判断以及被治疗的特定疾病的严重程度。组合物中本文所述化合物的量还将取决于所述组合物中的特定化合物。

[0097] 本文所述的化合物和组合物通常可用于调节一种或多种参与表观遗传调节的酶的活性,特别是EZH1和EZH2,更具体地说是EZH2及其突变体。在一些实施例中,本文描述的化合物下调或抑制EZH2的活性。在一些实施例中,本文描述的化合物是EZH2活性的拮抗剂。在一些实施例中,本文描述的化合物下调或抑制EZH1的活性。在一些实施例中,本文描述的

化合物是EZH1活性的拮抗剂。

[0098] 在一些实施例中,本文所述的化合物和组合物可用于治疗与EZH1或EZH2的过表达和/或EZH2的突变形式(如改变EZH2底物活性的突变形式)的表达相关的疾病和/或病症。对EZH2缺失、错义和移码突变的研究表明,EZH2在如骨髓增生异常综合征(MDS)和髓系恶性肿瘤等血液病症中起肿瘤抑制作用(Ernst等人,《自然遗传学(Nat Genet.)》,2010年8月;42(8):722-6;Nikoloski et al.,《自然遗传学》,2010年8月;42(8):665-7)。在一些实施例中,本文所述的化合物和组合物可用于治疗与具有Y641N、Y641C、Y641F、Y641H、Y641S、A677G或A687突变的EZH2的存在相关的疾病和/或病症。在此实施例的一个特定方面,EZH2具有Y641N突变。

[0099] 在一些实施例中,本公开提供了治疗患有与EZH1或EZH2的过表达和/或EZH2的突变形式的表达相关的疾病和/或病症的受试者的方法,所述方法包括施用本文所述化合物或其药学上可接受的盐或组合物的步骤。在一些实施例中,上述方法另外包括确定受试者是否过度表达EZH2或表达EZH2的突变形式的初步步骤。

[0100] 在一些实施例中,与EZH2突变形式的存在相关的疾病或病症是人B细胞淋巴瘤。在一些实施例中,与Y641N EZH2的存在相关的疾病和/或病症是滤泡性淋巴瘤或弥漫性大B细胞淋巴瘤。在一些实施例中,本文所述的化合物或组合物可用于治疗血液病症,如骨髓增生异常综合征、白血病、贫血和血细胞减少症。Sneeringer等人,“野生型加突变型EZH2的协同活性驱动人类B细胞淋巴瘤中组蛋白H3(H3K27)上赖氨酸27的肿瘤相关高甲基化”(Coordinated activities of wild-type plus mutant EZH2 drive tumor-associated hypertrimethylation of lysine 27 on histone H3(H3K27) in human B-cell lymphomas),Sneeringer等人,《美国国家科学院院刊(Proc.Natl Acad.Sci.)》,2010年12月;109(48):20980-20985。

[0101] 在一些实施例中,本文所述的化合物和组合物可用于治疗与细胞增殖相关的疾病和/或病症。在一些实施例中,本文所述的化合物和组合物可用于治疗与细胞周期或DNA修复失调相关的疾病和/或病症。在一些实施例中,本文所述的化合物和组合物可用于治疗癌症。

[0102] 在一方面,可通过本文所述的化合物、组合物和方法治疗的癌症包括但不限于:心脏肉瘤:(血管肉瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、脂肪肉瘤)、粘液瘤、横纹肌瘤、纤维瘤、脂肪瘤和畸胎瘤;肺部:支气管肺癌(鳞状细胞癌、未分化小细胞癌、未分化大细胞癌、腺癌)、肺泡(细支气管)癌、支气管腺瘤、肉瘤、淋巴瘤、软骨错构瘤、间皮瘤;胃肠部:食管(鳞状细胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤)、胃(癌、淋巴瘤、平滑肌肉瘤)、胰(管腺癌、胰岛素瘤、高血糖素瘤、胃泌素瘤、类癌肿瘤、舒血管肠肽瘤)、小肠(腺癌、淋巴瘤、类癌肿瘤、卡波西氏肉瘤、平滑肌瘤、血管瘤、脂肪瘤、神经纤维瘤、纤维瘤)、大肠(腺癌、管状腺瘤、绒毛状腺瘤、错构瘤、平滑肌瘤);泌尿生殖道:肾(腺癌、肾母细胞瘤(Wilm's tumor)(肾母细胞瘤(nephroblastoma))、淋巴瘤、白血病)、膀胱和尿道(鳞状细胞癌、移行细胞癌、腺癌)、前列腺(腺癌、肉瘤)、睾丸(精原细胞瘤、畸胎瘤、胚胎癌性细胞、畸胎癌、绒膜癌、肉瘤、间质细胞癌、纤维瘤、纤维腺瘤、腺瘤样瘤、脂肪瘤);肝脏:肝癌(肝细胞癌)、胆管癌、肝母细胞癌、血管肉瘤、肝细胞腺瘤、血管瘤;骨:骨原发性肉瘤(骨肉瘤)、纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、软骨肉瘤、尤因肉瘤、恶性淋巴瘤(网状细胞肉瘤)、多发骨髓瘤、恶性巨细胞瘤脊索瘤、骨软骨

瘤(骨软骨外生骨疣)、良性软骨瘤、软骨母细胞瘤、软骨粘液样纤维瘤、骨样骨瘤和巨细胞瘤;神经系统:头骨(骨瘤、血管瘤、肉芽肿、黄色瘤、畸形性骨炎)、脑脊膜(脑膜瘤、脑膜肉瘤、神经胶质过多)、脑(星形细胞瘤、髓母细胞瘤、胶质瘤、室管膜瘤、生殖细胞瘤(松果体瘤)、多形性胶质母细胞瘤、少突胶质瘤、神经鞘瘤、视网膜母细胞瘤、先天性肿瘤)、脊髓神经纤维瘤、脑膜瘤、胶质瘤、肉瘤);妇科学的:子宫(子宫内膜瘤)、宫颈(宫颈癌、前肿瘤子宫颈非典型增生)、卵巢(浆液性囊腺瘤、粘液性囊腺瘤、透明细胞瘤、未分类的癌症)、粒膜细胞肿瘤、塞-莱二氏细胞瘤、无性细胞瘤、恶性畸胎瘤)、阴门(鳞状细胞瘤、上皮内癌、腺癌、纤维肉瘤、黑色素瘤)、阴道(透明细胞瘤、鳞状细胞瘤、葡萄状肉瘤(胚胎性横纹肌肉瘤)、输卵管(癌);血液学的:血液(髓细胞性白血病(急性和慢性)、急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、骨髓增生性疾病、多发骨髓瘤、骨髓增生异常综合征)、何杰金氏病、非何杰金氏淋巴瘤(恶性淋巴瘤);皮肤:恶性黑色素瘤、基底细胞癌、鳞状细胞癌、卡波西氏肉瘤、发育不良性痣、脂肪瘤、血管瘤、皮肤纤维瘤、瘢痕瘤、银屑病;以及肾上腺:成神经细胞瘤。

[0103] 在一方面,通过本文所述的化合物、组合物和方法治疗的癌症选自肾上腺癌、腺泡细胞癌、听神经瘤、肢端豆状黑色素瘤、肢端汗腺瘤、急性嗜酸性粒细胞白血病、急性红系白血病、急性淋巴细胞白血病、急性巨核细胞白血病、急性单核细胞白血病、急性早幼粒细胞白血病、腺癌、腺样囊性癌、腺瘤、腺瘤样牙源性肿瘤、腺鳞癌、脂肪组织肿瘤、肾上腺皮质癌、成人T细胞白血病/淋巴瘤、侵袭性NK细胞白血病、AIDS相关性淋巴瘤、肺泡横纹肌肉瘤、肺泡软组织肉瘤、成釉细胞纤维瘤、间变性大细胞淋巴瘤、间变性甲状腺癌、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤、血管平滑肌脂肪瘤、血管肉瘤、星形细胞瘤、非典型畸胎样横纹肌样瘤、B细胞慢性淋巴细胞白血病、B细胞增殖性白血病、B细胞淋巴瘤、基底细胞癌、胆道癌、膀胱癌、胚胎瘤、骨癌、布伦纳瘤(Brenner tumor)、棕色瘤(Brown tumor)、伯基特淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、乳腺癌、脑癌、原位癌、癌肉瘤、软骨瘤、牙骨质瘤、髓样肉瘤、脆骨瘤、脊索瘤、绒毛膜癌、脉络丛乳头状瘤、肾透明细胞肉瘤、颅咽管瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、宫颈癌、结肠直肠癌、Degos病(Degos disease)、促结缔组织增生小圆细胞瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、胚胎发育不良神经上皮瘤、无性细胞瘤、胚胎瘤、内分泌腺肿瘤、内胚层窦瘤、肠病相关T细胞淋巴瘤、食道癌、寄生胎、纤维瘤、纤维肉瘤、滤泡性淋巴瘤、滤泡性甲状腺癌、神经节细胞瘤、胃肠癌、生殖细胞瘤、妊娠绒毛膜癌、巨细胞成纤维细胞瘤、骨巨细胞瘤、神经胶质瘤、多形性胶质母细胞瘤、神经胶质瘤、脑胶质瘤病、胰高血糖素瘤、生殖腺细胞瘤、颗粒细胞瘤、雌、两性母细胞瘤、胆囊癌、胃癌、毛细胞白血病、血管母细胞瘤、头颈癌、血管外皮细胞瘤、血液恶性肿瘤、肝母细胞瘤、肝脾T细胞淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤(hepatosplenic T-cell lymphoma)、非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)、侵袭性小叶癌、肠癌、肾癌、喉癌、恶性雀斑样痣、致死性中线癌、白血病、间质细胞瘤、脂肪肉瘤、肺癌、淋巴管瘤、淋巴管肉瘤、淋巴上皮瘤、淋巴瘤、急性淋巴细胞白血病、急性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、肝癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、MALT淋巴瘤、恶性纤维组织细胞瘤、恶性外周神经鞘瘤、恶性蝶螈瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区B细胞淋巴瘤、肥大细胞白血病、纵隔生殖细胞肿瘤、乳房髓样癌、甲状腺髓样癌、髓母细胞瘤、黑色素瘤、脑膜瘤、默克尔细胞癌、间皮瘤、转移性尿路上皮癌、苗勒氏混合瘤(mixed Mullerian tumor)、粘液瘤、多发性骨髓瘤、肌肉组织肿瘤、蕈样真菌病、粘液样脂肪肉瘤、粘液瘤、粘液肉瘤、鼻咽癌、神经鞘瘤、神经母细胞

瘤、神经纤维瘤、神经瘤、结节性黑色素瘤、眼癌、少突星形细胞瘤、少突胶质细胞瘤、嗜酸细胞瘤、视神经鞘膜瘤、视神经肿瘤、口腔癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、乳头状甲状腺癌、副神经节瘤、松果体母细胞瘤、松果体细胞瘤、垂体腺瘤、垂体肿瘤、浆细胞瘤、多胚细胞瘤、前体淋巴瘤母细胞淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、原发性腹膜癌、前列腺癌、胰腺癌、咽癌、腹膜假粘液瘤、肾细胞癌、肾髓质癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌瘤、横纹肌肉瘤、Richter's征转化(Richter's transformation)、直肠癌、肉瘤、神经鞘瘤病、精原细胞瘤、睾丸支持细胞瘤、性索-性腺间质瘤、印戒细胞癌、皮肤癌、小蓝圆形细胞瘤、小细胞癌、软组织肉瘤、腹膜假粘液瘤、肾细胞癌、肾髓质癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌瘤、横纹肌肉瘤、Richter's征转化(Richter's transformation)、直肠癌、肉瘤、神经鞘瘤病、精原细胞瘤、睾丸支持细胞瘤、性索-性腺间质瘤、印戒细胞癌、皮肤癌、小蓝圆形细胞瘤、小细胞癌、软组织肉瘤、生长抑素瘤、煤烟疣、脊椎肿瘤、脾边缘区淋巴瘤、鳞状细胞癌、滑膜肉瘤、塞扎里氏病(Sezary's disease)、小肠癌、鳞状细胞癌、胃癌、T细胞淋巴瘤、睾丸癌、卵泡膜细胞瘤、甲状腺癌、移行细胞癌、喉癌、脐尿管癌、泌尿生殖系统癌、尿路上皮癌、葡萄膜黑色素瘤、子宫癌、疣状癌、视觉通路胶质瘤、外阴癌、阴道癌、沃尔丹斯特伦巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、沃辛瘤(Warthin's tumor)维尔姆斯瘤(Wilms' tumor)。

[0104] 在一方面,通过本文所述的化合物、组合物和方法治疗的癌症选自以下腺癌、成人T细胞白血病/淋巴瘤、膀胱癌、母细胞瘤、骨癌、乳腺癌、脑癌、恶性上皮肿瘤、髓样肉瘤、宫颈癌、结肠直肠癌、食道癌、胃肠癌、多形性胶质母细胞瘤、神经胶质瘤、胆囊癌、胃癌、头颈癌、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、肠癌、肾癌、喉癌、白血病、肺癌、淋巴瘤、肝癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、间皮瘤、多发性骨髓瘤、急性髓性白血病(AML)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、眼癌、视神经肿瘤、口腔癌、卵巢癌、垂体瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、前列腺癌、胰腺癌、咽癌、肾细胞癌、直肠癌、肉瘤、皮肤癌、脊椎肿瘤、小肠癌、胃癌、T细胞淋巴瘤、睾丸癌、甲状腺癌、喉癌、泌尿生殖系统癌、尿路上皮癌、子宫癌、阴道癌和维尔姆斯瘤(Wilms' tumor)。

[0105] 在一方面,通过本文所述的化合物、组合物和方法治疗的癌症选自乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、肾细胞癌、多形性胶质母细胞瘤、膀胱癌、黑色素瘤、支气管癌、淋巴瘤和肝癌。

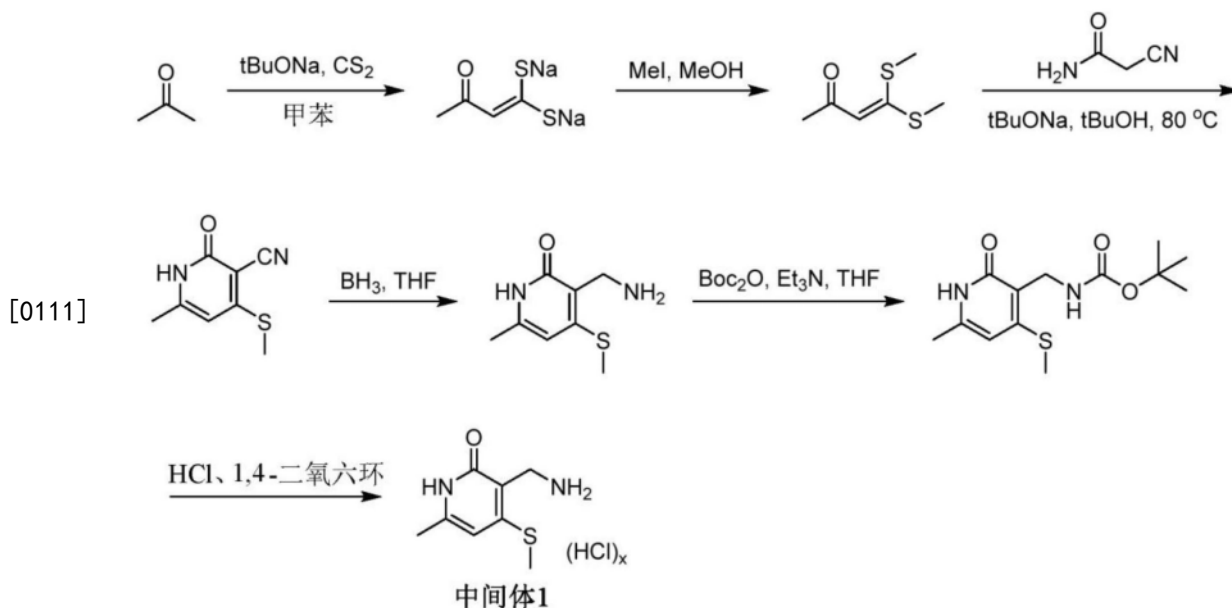
[0106] 还提供了本文所述的化合物或其药学上可接受的盐或包括所公开的化合物或其药学上可接受的盐的组合物用于制备用于治疗本文所述病状的药剂的用途。还提供了用于治疗本文所述病状的本文所述化合物或其药学上可接受的盐或包括所公开化合物或其药学上可接受的盐的组合物。

[0107] 范例

[0108] 下面的代表性实例旨在帮助说明本发明,并且不旨在也不应该被解释为限制本发明的范围。

[0109] 中间体的制备

[0110] 中间体1:3-(氨甲基)-6-甲基-4-(甲硫基)吡啶-2(1H)-酮(盐酸盐)



[0112] 步骤1:3-氧代丁-1-烯-1,1-双(硫代酸)钠的合成

[0113] 将叔丁醇钠(16.6g, 172mmol)在甲苯(30mL)中的混合物在真空下脱气,并用氮气吹扫(3个循环)。然后在0°C下加入丙酮(5.0g, 6.4mL, 86mmol),然后缓慢加入二硫化碳(6.6g, 5.24mL, 86mmol)。将所得混合物在0°C搅拌4小时,然后过滤。将滤饼在真空下干燥,得到为黄色固体的标题化合物(15.4g, 粗品),将其不经进一步纯化用于下一步骤。

[0114] 步骤2:4,4-双(甲硫基)丁-3-烯-2-酮的合成

[0115] 将碘甲烷(24.5g, 10.7mL, 173mmol)缓慢加入到3-氧代丁-1-烯-1,1-双(硫代酸)钠(15.4g, 86.4mmol)的甲醇(90mL)溶液中。将混合物在70°C搅拌1小时,然后浓缩至干。加入水(30mL),用乙酸乙酯(60mL×3)萃取所需产物。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩以得到棕色油状物形式的标题化合物(6.8g, 产率为42%),将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS[M+H]⁺m/z: 计算值:163.0;实际值:163.0。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ6.02(s, 1H), 2.45(s, 3H), 2.43(s, 3H), 2.15(s, 3H)。

[0116] 步骤3:6-甲基-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-腈的合成

[0117] 向4,4-双(甲硫基)丁-3-烯-2-酮(2.9g, 18mmol)和2-氰基乙酰胺(1.5g, 18mmol)的叔丁醇(50mL)的溶液中加入叔丁醇钠(1.9g, 20mmol)。将混合物在80°C下搅拌12小时(在此阶段进行两批反应并合并)。加入水(20mL),并且用10%盐酸将pH调节到5-6。过滤所得混合物,用石油醚(20mL×2)洗涤滤饼,然后在真空下干燥滤饼,得到灰白色固体形式的标题化合物(4.8g, 产率为74%),将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS[M+H]⁺m/z: 计算值:181.0;实际值:181.0。¹H NMR(400MHz, 二甲亚砜-d₆) δ6.27(s, 1H), 2.56(s, 3H), 2.25(s, 3H)。

[0118] 步骤4:3-(氨甲基)-6-甲基-4-(甲硫基)吡啶-2(1H)-酮的合成

[0119] 将6-甲基-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-腈(3.6g, 20mmol)在四氢呋喃(50mL)中的混合物在真空下脱气,并用氮气吹扫(3个循环)。然后在反应混合物升温至70°C之前,在0°C下缓慢加入硼烷二甲基硫化物复合物(10M, 8.0mL, 80mmol),并搅拌2小时。在将混合物在减压下浓缩之前,在0°C下缓慢加入甲醇(15mL)以淬灭反应,得到浅黄色固体形式的标题化合物(3.8g, 粗品),将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS[M+H]⁺m/z: 计算值:

185.1;实际值:185.0。

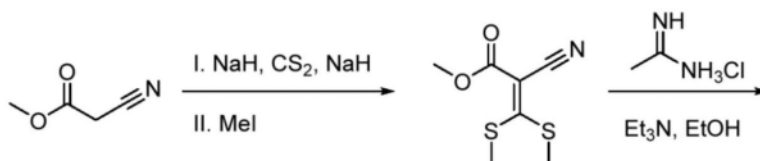
[0120] 步骤5: ((6-甲基-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0121] 向3-(氨甲基)-6-甲基-4-(甲硫基)吡啶-2(1H)-酮(3.6g,20mmol)的四氢呋喃(80mL)溶液中加入三乙胺(5.9g,8.1mL,59mmol)。将混合物搅拌30分钟,然后加入二碳酸二叔丁酯(6.4克,29mmol),并且在25°C下搅拌反应12小时。然后将反应混合物在减压下浓缩至干,然后加入水(35mL),并用乙醚乙酯/乙酸乙酯的5:1混合物(30mL×3)萃取所需产物。将合并的有机层用硫酸钠干燥并浓缩,得到白色固体形式的标题化合物(5.8g,粗品),将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS [M+H]⁺m/z: 计算值:285.12;实际值:284.9。¹H NMR (400MHz,二甲亚砜-d₆) δ6.05 (s,1H),4.03-4.00 (m,2H),2.42 (s,3H),2.15 (s,3H),1.39 (s,9H)。

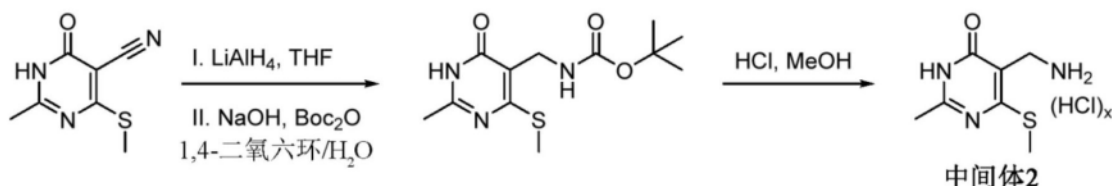
[0122] 步骤6:3-(氨甲基)-6-甲基-4-(甲硫基)吡啶-2(1H)-酮(盐酸盐)的合成

[0123] 向25°C的氯化氢的1,4-二氧六环溶液(4M,100mL,400mmol)中加入((6-甲基-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯(5.0g,17.6mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌2小时,然后在减压下浓缩至干。将残留物用二氯甲烷(30mL×2)和乙酸乙酯(30mL)洗涤,得到黄色固体形式的标题化合物(4.5g,粗品,HCl盐),将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS [M+H]⁺m/z: 计算值:185.1;实际值:185.0。¹H NMR (400MHz,D₂O) δ6.31 (s,1H),4.03 (s,2H),2.41 (s,3H),2.18 (s,3H)。

[0124] 中间体2:5-(氨甲基)-2-甲基-6-(甲硫基)嘧啶-4(3H)-酮(盐酸盐)



[0125]



[0126] 步骤1:2-氰基-3,3-双(甲硫基)丙烯酸甲酯的合成

[0127] 在逐滴加入氰乙酸甲酯(8.90mL,101mmol)之前,将氢化钠(60%的在矿物油中的分散液)(4.23g,106mmol)在四氢呋喃(400mL)中的悬浮液冷却至0°C。将反应混合物剧烈搅拌15分钟,然后逐滴加入二硫化碳(6.1mL,101mmol),同时保持反应温度低于20°C(白色半固体变为黄色)。然后滴加碘甲烷(15.7mL,252mmol),并且将反应混合物在室温下搅拌15分钟。然后在减压下浓缩反应并将残留物倒入冰水中。过滤所得沉淀,真空干燥,得到黄色/棕色固体形式的标题化合物(11.9g,产率为58%),将其不经进一步纯化用于下一步骤。¹H NMR (400MHz,氯仿-d) δ3.83 (s,3H),2.76 (s,3H),2.61 (s,3H)。

[0128] 步骤2:2-甲基-4-(甲硫基)-6-氧代-1,6-二氢嘧啶-5-腈的合成

[0129] 将2-氰基-3,3-双(甲硫基)丙烯酸甲酯(11.9g,58.5mmol)溶于乙醇(1000mL)中。向混合物中加入盐酸乙酰胺(5.53g,58.5mmol)和三乙胺(36.7mL,263mmol),并在回流下搅

拌过夜。然后在减压下浓缩反应物,并将残留物用10%盐酸洗涤。过滤沉淀物,用水和乙醚洗涤滤饼,然后在真空下干燥,得到固体形式的标题化合物(5g,产率为47%),将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS $[M+H]^+ m/z$: 计算值:182.03;实际值:182.10。 1H NMR (400MHz, 二甲亚砜- d_6) δ 2.57 (s, 3H), 2.37 (s, 3H)。

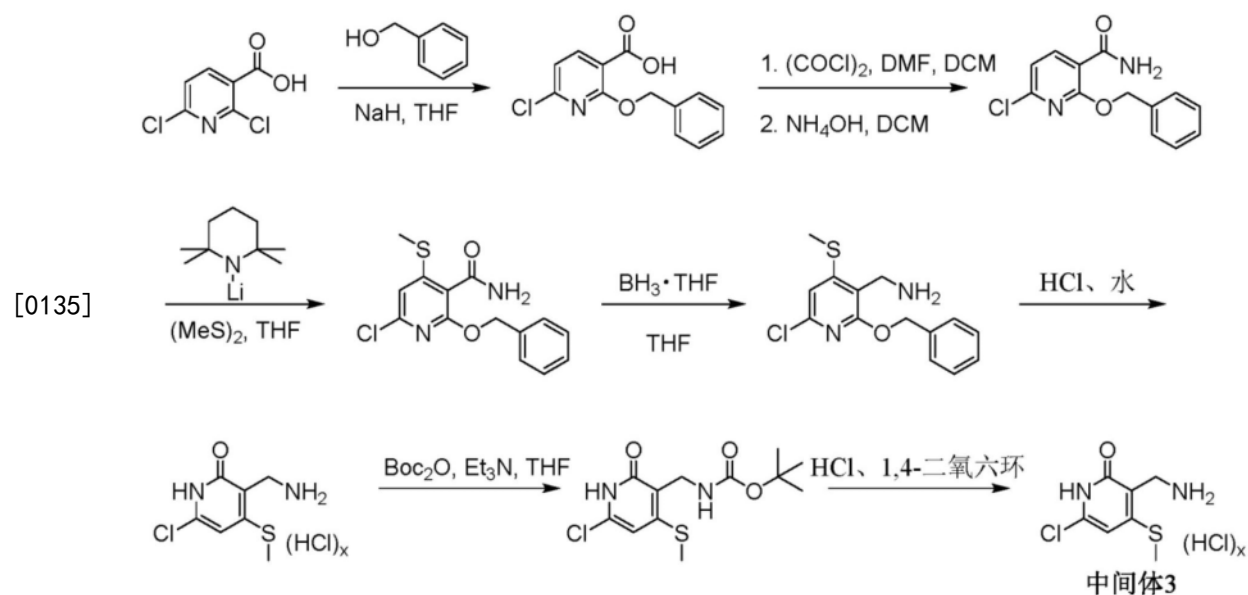
[0130] 步骤3: ((2-甲基-4-(甲硫基)-6-氧代-1,6-二氢嘧啶-5-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0131] 向0°C的2-甲基-4-(甲硫基)-6-氧代-1,6-二氢嘧啶-5-腈(1.5g, 8.27mmol)在四氢呋喃(50mL)中的悬浮液中加入氢化铝锂的四氢呋喃(2M, 6.2mL, 12.4mmol)溶液。将反应缓慢升温至室温,完成后立即用氢氧化钠的水性溶液(1M, 33mL, 33.1mmol)淬灭。向这一混合物中依次加入1,4-二氧六环(50mL)和二碳酸二叔丁酯(3.61g, 16.6mmol)。剧烈搅拌两相混合物,直至氨基完全保护。用乙酸将两相混合物酸化至中性pH,分离,并且将水性层用二氯甲烷萃取。将合并的有机层经硫酸镁干燥,过滤并在减压下浓缩至干。将残留物用二氯甲烷研磨,并在减压下将滤液(含有所需产物)浓缩至干。将所得固体通过反相快速色谱法(C18柱,梯度为5%到95%的乙腈的水溶液,用0.1%三氟乙酸缓冲)纯化,然后通过正相快速色谱法(硅胶,梯度为含30%到90%乙酸乙酯的二氯甲烷)纯化以得到白色固体形式的标题化合物(2.57g,产率为26%,纯度>99%)。LCMS $[M-(C_4H_8)+H]^+ m/z$: 计算值:230.1;实际值:230.0。 1H NMR (400MHz, 氯仿- d) δ 13.20 (s, 1H), 5.37 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.26 (d, $J=5.6$ Hz, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 1.44 (s, 9H)。

[0132] 步骤4.5-(氨甲基)-2-甲基-6-(甲硫基)嘧啶-4(3H)-酮(盐酸盐)的合成

[0133] 向23°C的((2-甲基-4-(甲硫基)-6-氧代-1,6-二氢嘧啶-5-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯(300mg, 1.05mmol)在1,4-二氧六环(7.2mL)中的悬浮液中加入氯化氢在1,4-二氧六环(4M, 2.10mL, 8.40mmol)中的溶液。在23°C下搅拌反应3小时,然后加入更多的氯化氢的1,4-二氧六环(4M, 2.10mL, 8.40mmol)溶液。14小时后,将反应物在减压下浓缩至干,得到白色固体形式的标题化合物(254mg,产率为94%),将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS $[M+Na]^+$ (游离碱) m/z : 计算值:208.1;实际值:208.1。

[0134] 中间体3:3-(氨甲基)-6-氯代-4-(甲硫基)吡啶-2(1H)-酮(盐酸盐)



[0136] 步骤1:2-(苄氧基)-6-氯烟酸的合成

[0137] 在0°C下向氢化钠(60%矿物油分散体)(11.5g,286mmol)在四氢呋喃(500mL)中的悬浮液中加入苯甲醇(14mL,143mmol)。将反应混合物搅拌20分钟,然后加入2,6-二氯吡啶-3-羧酸(25g,130mmol)的四氢呋喃(500mL)溶液,并将反应混合物在23°C下搅拌4小时。然后用10%盐酸(300mL)将反应淬灭,用固体NaHCO₃处理至pH为约8,用乙酸(含50%乙酸的水)酸化,最后用乙酸乙酯(200mL×3)萃取。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,用硫酸镁干燥,过滤,并且浓缩至干。将残留物通过快速色谱法纯化(硅胶,梯度为含5%到50%乙酸乙酯的二氯甲烷)以得到标题化合物(33.68g,产率为98%)。

[0138] 步骤2:2-(苄氧基)-6-氯烟酰胺的合成

[0139] 向0°C的2-(苄氧基)-6-氯烟酸(33.68g,128.2mmol)的二氯甲烷(500mL)溶液中加入N,N-二甲基甲酰胺(1mL),然后加入草酰氯(11.9mL,141mmol)。将反应物在23°C搅拌2小时,然后浓缩至干。将残留物溶解在二氯甲烷(200mL)中,并在0°C下缓慢加入到氢氧化铵(50mL)的浓溶液中。1小时后,收集有机层,并且用二氯甲烷(50mL×3)萃取水相。将合并的有机层经硫酸镁干燥,过滤,并在减压下浓缩至干。将残留物通过快速色谱法纯化(硅胶,梯度为含0%到50%乙酸乙酯的二氯甲烷),得到固体形式的标题化合物(定量产率)。

[0140] 步骤3:2-(苄氧基)-6-氯代-4-(甲硫基)烟酰胺的合成

[0141] 向-78°C的2,2,6,6-四甲基哌啶(29.45mL,175.1mmol)的四氢呋喃(300mL)溶液中加入正丁基锂的己烷溶液(2.5M,70mL,175.1mmol)。将反应混合物升温至0°C并保持30分钟,然后冷却至-78°C。然后加入2-(苄氧基)-6-氯烟酰胺(11.5g,43.8mmol)的四氢呋喃(100mL)溶液,同时保持内部温度低于-60°C。将反应混合物在-78°C搅拌1小时,然后加入二甲基二硫(15.77mL,175.1mmol)。将反应物在-78°C下再搅拌2小时,然后在-78°C下用乙酸的水溶液(50%v/v)淬灭。用乙酸乙酯(100mL×3)萃取所需产物,并将合并的有机层用水(20mL)、饱和碳酸氢钠水性溶液(20mL)、盐水(20mL)洗涤,经硫酸镁干燥,过滤并在减压下浓缩至干。将残留物通过快速色谱法纯化(硅胶,梯度为含0%到20%乙酸乙酯的二氯甲烷)以得到标题化合物(4.86g,产率为36%)。

[0142] 步骤4:(2-(苄氧基)-6-氯代-4-(甲硫基)吡啶-3-基)甲胺的合成

[0143] 向23°C的2-(苄氧基)-6-氯代-4-(甲硫基)烟酰胺(4.86g,15.7mmol)的四氢呋喃(100mL)溶液中加入硼烷的四氢呋喃溶液(1M,63mL,63mmol)。将反应混合物在回流下搅拌15小时,然后在室温下通过缓慢加入甲醇来淬灭。将反应混合物在减压下浓缩至干,并且将残留物通过快速色谱法纯化(硅胶,梯度为含0%到30%甲醇的二氯甲烷)以得到白色固体形式的标题化合物(710mg,产率为15%)。

[0144] 步骤5:3-(氨甲基)-6-氯代-4-(甲硫基)吡啶-2(1H)-酮(盐酸盐)的合成

[0145] 向含有(2-(苄氧基)-6-氯代-4-(甲硫基)吡啶-3-基)甲胺的烧瓶(710mg,2.41mmol)中加入浓盐酸(12M,5.0mL,60mmol)。将反应混合物在23°C下搅拌2小时,然后在减压下浓缩至干。将残留物从甲醇和乙醚的混合物中重结晶,得到白色固体形式的标题化合物(400mg,产率为69%)。

[0146] 步骤6:((6-氯代-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0147] 在室温下向3-(氨甲基)-6-氯代-4-(甲硫基)吡啶-2(1H)-酮盐酸盐(1.575g,

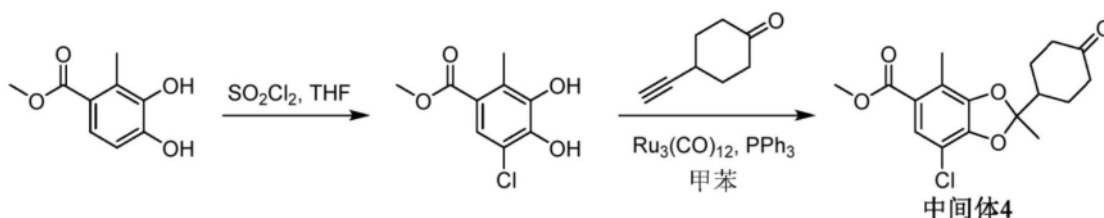
6.53mmol) 在二氯甲烷 (50mL) 中的悬浮液中加入二碳酸二叔丁酯 (2.85g, 13.1mmol), 然后加入N,N-二异丙基乙胺 (3.4mL, 19.6mmol)。将反应物在室温下搅拌3小时 (直到所有物质溶解), 然后用水淬灭。分离有机层, 经硫酸镁干燥, 过滤, 并在减压下浓缩至干。将残留物通过快速色谱法纯化 (硅胶, 梯度为含0%到10%甲醇的二氯甲烷) 以得到白色固体形式的标题化合物 (1.5g, 产率为75%)。LCMS[M+H]⁺m/z: 计算值: 305.1; 实际值: 305.1。

[0148] 步骤7: 3-(氨基)-6-氯代-4-(甲硫基)吡啶-2(1H)-酮 (盐酸盐) 的合成

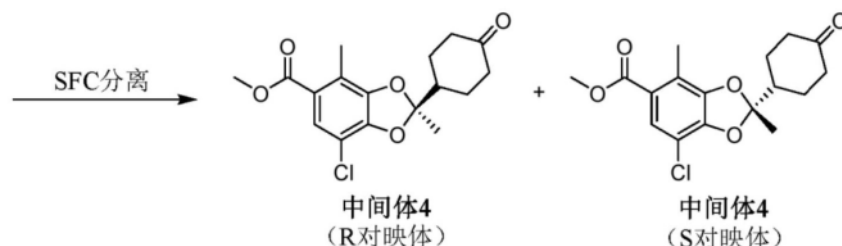
[0149] 在室温下向 ((6-氯代-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯 (300mg, 984 μ mol) 在1,4-二氧六环 (4.9mL) 中的悬浮液中加入氯化氢的1,4-二氧六环 (4M, 1.96mL, 7.87mmol) 溶液。将反应物在室温下搅拌3小时, 然后加入更多的氯化氢的1,4-二氧六环 (4M, 1.96mL, 7.87mmol) 溶液。14小时后, 将反应物在减压下浓缩至干, 得到白色固体形式的标题化合物 (253mg, 定量产率), 将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS[M+Na]⁺(游离碱)m/z: 计算值: 227.0; 实际值: 227.0。

[0150] 中间体4: 7-氯代-2,4-二甲基-2-(4-氧代环己基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-

[0151] 甲酸甲酯



[0152]



[0153] 步骤1: 5-氯代-3,4-二羟基-2-甲基苯甲酸甲酯的合成

[0154] 向-20 $^{\circ}$ C的3,4-二羟基-2-甲基苯甲酸甲酯 (5.11g, 27.9mmol) 的四氢呋喃 (199mL) 溶液逐滴加入磺酰氯 (2.45mL, 30.6mmol)。将反应混合物在-20 $^{\circ}$ C下搅拌3小时, 然后用饱和氯化铵水性溶液 (50mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (25mL \times 3) 萃取所需产物。将合并的有机层用盐水 (25mL) 洗涤, 经硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将残留物通过快速色谱法纯化 (硅胶, 梯度为含0%到60%乙酸乙酯的庚烷) 以得到米色固体形式的标题化合物 (4.117g, 产率为68%)。LCMS[M+H]⁺m/z: 计算值: 217.0; 实际值: 217.1 (C1同位素模式)。

[0155] 步骤2: 7-氯代-2,4-二甲基-2-(4-氧代环己基)-2H-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯的合成

[0156] 将5-氯代-3,4-二羟基-2-甲基苯甲酸甲酯 (1.2g, 5.53mmol)、十二羰基三钌 (176mg, 276 μ mol) 和三苯基膦 (145mg, 553 μ mol) 的混合物在真空下脱气, 并用氮气吹扫 (3个循环)。加入甲苯 (8.1mL), 并将反应混合物加热到回流30分钟。然后逐滴加入4-乙炔基环己烷-1-酮 (1.34g, 11.0mmol) 的甲苯 (17mL) 溶液, 并将反应物在回流下搅拌23小时。最后, 将反应混合物冷却至室温, 并在减压下浓缩至干。将残留物通过快速色谱法纯化 (硅胶, 梯度

为含0%到60%乙酸乙酯的庚烷)以得到黄色油状物形式的标题化合物(1.327g,产率为70%)。LCMS[M+Na]⁺m/z:计算值:361.1;实际值:361.1(C1同位素模式)。

[0157] 步骤3:甲基(R)-7-氯代-2,4-二甲基-2-(4-氧代环己基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯与甲基(S)-7-氯代-2,4-二甲基-2-(4-氧代环己基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯的分离

[0158] 7-氯代-2,4-二甲基-2-(4-氧代环己基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯(4.4g,13mmol)的外消旋混合物通过制备型SFC[柱:大赛璐化学工业公司(DaiceI Chemical Industries)的ChiralPak AY(250mm×50mm I.D.,10μm)。流动相A:CO₂/流动相B:0.1%的含NH₄OH的甲醇。等度(85%流动相A和15%流动相B)。流速:80毫升/分钟。柱温:40°C]溶解。中间体4(峰1)(不需要的对映体/劣映体):保留时间=6.2分钟。回收量=1.4g,4.05mmol,产率为31%,90%ee,98%纯度(黄色固体)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.48(s,1H),3.78(s,3H),2.44-2.36(m,2H),2.35-2.25(m,6H),2.19(tdd,J=2.8,5.6,13.1Hz,2H),1.70-1.57(m,5H)。中间体4(峰2)(所需对映体/优映体):保留时间=7.0分钟。回收量=1.1g,3.08mmol,产率为23.75%,99%ee,95%纯度(黄色固体)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.49(s,1H),3.78(s,3H),2.44-2.36(m,2H),2.36-2.25(m,6H),2.20(tdd,J=2.8,5.6,13.1Hz,2H),1.72-1.59(m,5H)。SFC分析法:[柱:ChiralPak AY-3(150×4.6mm I.D.,3μm)。流动相A:CO₂/流动相B:0.05%的含Et₂NH的iPrOH。梯度:5%到40%的流动相B(超过5.5分钟)。流速:2.5毫升/分钟。柱温:40°C]。中间体4(峰1—不需要的对映体/劣映体):保留时间=2.853分钟。中间体4(峰2—所需对映体/优映体):保留时间=2.979分钟。

[0159] 中间体5:7-氯代-2,4-二甲基-2-(反式-4-((3-(三氟甲基)氧杂环丁烷-3-基)氨基)环己基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯



[0161] 将1-氯代-N-[3-(三氟甲基)氧杂环丁烷-3-基]乙胺(678mg,3.82mmol)和N,N-二异丙基乙胺(698μL,4.01mmol)在二氯乙烷(9.54mL)中的混合物在室温下搅拌30分钟,然后加入乙酸(218μL,3.82mmol),接着加入7-氯代-2,4-二甲基-2-(4-氧代环己基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯(650mg,1.91mmol)。室温下5分钟后,混合物变澄清(黄色/棕色),并且加入三乙酰氧基硼氢化钠(404mg,1.91mmol)。将反应物在室温下搅拌3小时,然后用碳酸氢钠的饱和水性溶液(30mL)淬灭。用二氯甲烷(30mL×3)萃取所需产物,并将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩至干。将残留物通过反相快速色谱法纯化(C18柱,乙腈/水1:1,含0.1%三氟乙酸)以得到两种几何异构体(顺式和反式)。第一个洗脱峰对应于几何异构体1。

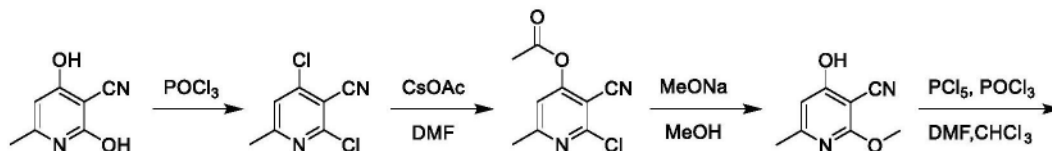
[0162] 分析LCMS方法(用于几何异构体)

[0163] [柱:Zorbax SB-C8(75×4.6mm I.D.,3.5μm)。流动相A:0.1%的含三氟乙酸的乙

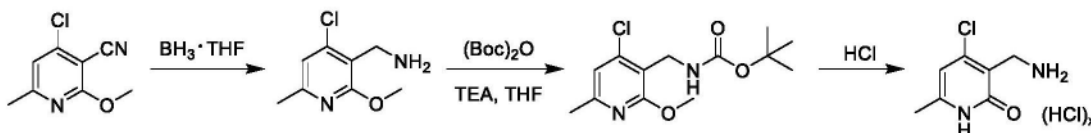
睛/流动相B:含三氟乙酸的水。梯度:5%到100%的流动相B(超过3.0分钟),然后是100%的流动相B(4.5分钟)。流速:1.5毫升/分钟。柱温:20°C]几何异构体1(所需):保留时间=4.073分钟(278mg,31%)。几何异构体2(不需要):保留时间=4.277分钟(253mg,29%)。

[0164] 几何异构体1的对映体(基于LCMS方法所需)通过制备型SFC[柱:Chiralcel OX-H(250×21mm I.D.)。流动相A:CO₂/流动相B:含0.25%异丙胺的1:1异丙醇/己烷混合物。等度(85%流动相A和15%流动相B)。流速:80克/分钟。柱温:25°C]分离。中间体5(峰1):保留时间=1.84分钟。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:464.15;实际值:464。中间体5(峰2):保留时间=2.1分钟。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:464.15;实际值:464.2。

[0165] 中间体6:3-(氨甲基)-4-氯代-6-甲基吡啶-2(1H)-酮



[0166]



[0167] 步骤1:2,4-二氯代-6-甲基烟腈的合成

[0168] 将2,4-二羟基-6-甲基烟腈(80g,533.3mmol)的三氯氧磷(150mL)溶液在120°C下搅拌2小时,然后用饱和碳酸氢钠水性溶液淬灭(直到pH=8)。将其分配在水(2000mL)和乙酸乙酯(1000mL)之间,有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩至干,得到棕色固体形式的标题化合物(85g,产率为86%),将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:186.98;实际值:186.6。

[0169] 步骤2:2-氯代-4-羟基-6-甲基烟腈的合成

[0170] 在室温下向2,4-二氯代-6-甲基烟腈(10g,53mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(50mL)溶液中加入乙酸铯(30.8g,160mmol)。将反应物在80°C下搅拌过夜,然后用水(800mL)淬灭。用乙酸乙酯(800mL)萃取所需产物,并将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩至干。获得棕色固体形式的标题化合物(8.8g,产率为98%),将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:169.01;实际值:168.8。

[0171] 步骤3:4-羟基-2-甲氧基-6-甲基烟腈的合成

[0172] 将2-氯代-4-羟基-6-甲基烟腈(8.8g,52.2mmol)和甲醇钠(14.1g,261mmol)在甲醇(50mL)中的混合物在60°C下搅拌过夜。混合物用1M盐酸溶液淬灭,直到pH为5。将其分配在水(500mL)和乙酸乙酯(500mL)之间,有机层经硫酸钠干燥并浓缩,得到棕色固体形式的标题化合物(8.0g,产率为93%),将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:165.1;实际值:164.8。

[0173] 步骤4:4-氯代-2-甲氧基-6-甲基烟腈

[0174] 将4-羟基-2-甲氧基-6-甲基烟腈(8.0g,48.7mmol)、五氯化磷(20.3g,97.5mmol)、三氯氧磷(14.9g,9.09mL,97.5mmol)和二甲基甲酰胺(5mL)在氯仿(100mL)中的混合物在60

°C下搅拌30分钟。用饱和碳酸氢钠水性溶液将反应淬灭(直到pH为8)。将其分配在水(1000mL)和乙酸乙酯(1000mL)之间,有机层经硫酸钠干燥,并浓缩至干以得到棕色固体形式的标题化合物(8.0g,产率为90%),将其不经进一步纯化直接用于下一步骤。LCMS [M+H]⁺ m/z: 计算值:183.0;实际值:182.8。

[0175] 步骤5:(4-氯代-2-甲氧基-6-甲基吡啶-3-基)甲胺的合成

[0176] 向4-氯代-2-甲氧基-6-甲基烟腈(8.0g,43.8mmol)的四氢呋喃(50mL)溶液中加入硼烷二甲基硫化物复合物(10M,5.3mL,53mmol)。将混合物在60°C搅拌2小时,然后在0°C下用甲醇(10mL)淬灭。在减压下将混合物浓缩至干以得到棕色固体形式的标题(7.0g,产率为93%),将其不经进一步纯化直接用于下一步骤。LCMS [M+H]⁺ m/z: 计算值:187.1;实际值:187.1。

[0177] 步骤6:((4-氯代-2-甲氧基-6-甲基吡啶-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯

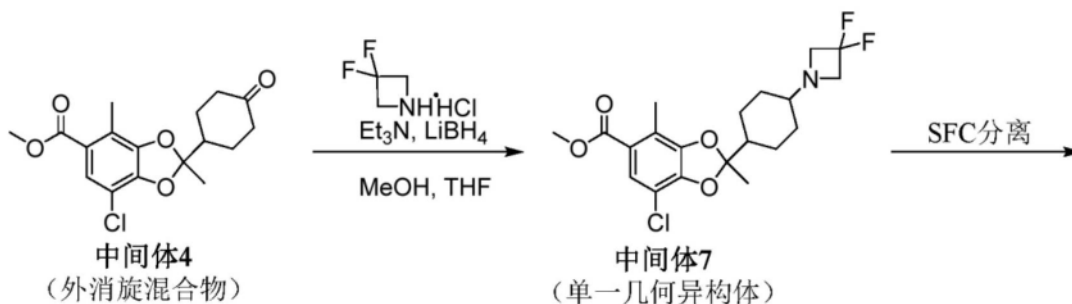
[0178] 将(4-氯代-2-甲氧基-6-甲基吡啶-3-基)甲胺(7.0g,37.5mmol)、二碳酸二叔丁酯(15.2g,75.0mmol)和三乙胺(11.4g,15.7mL,113mmol)在四氢呋喃(50mL)中的混合物在20°C下搅拌16小时,然后用水(500mL)淬灭。用乙酸乙酯(500mL)萃取所需产物,并将有机层用硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩至干。将残留物通过快速柱(硅胶柱,石油醚:乙酸乙酯:40:1)纯化以得到无色油状物形式的标题化合物(3.0g,产率为28%)。LCMS [M+H]⁺ m/z: 计算值:287.1;实际值:286.9。

[0179] 步骤7:3-(氨甲基)-4-氯代-6-甲基吡啶-2(1H)-酮

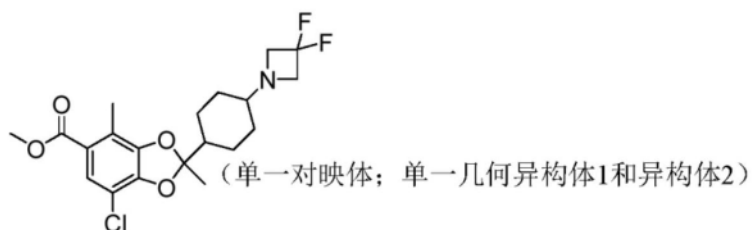
[0180] 在室温下向氯化氢的水溶液(4M,10mL,10mmol)中加入((4-氯代-2-甲氧基-6-甲基吡啶-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯(3.0g,10.5mmol)。将反应物在100°C加热2小时,然后在减压下浓缩至干,得到黄色固体形式的标题化合物(1.7g,产率为94%)。LCMS [M+H]⁺ m/z: 计算值:173.04;实际值:173.1。¹H NMR (400MHz,甲醇-d₄): δ6.38(s,1H),4.15(s,2H),2.32(s,3H)。

[0181] 中间体7:7-氯代-2-(4-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并

[0182] [d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯



[0183]



[0184] 步骤1:7-氯代-2-(4-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯的合成

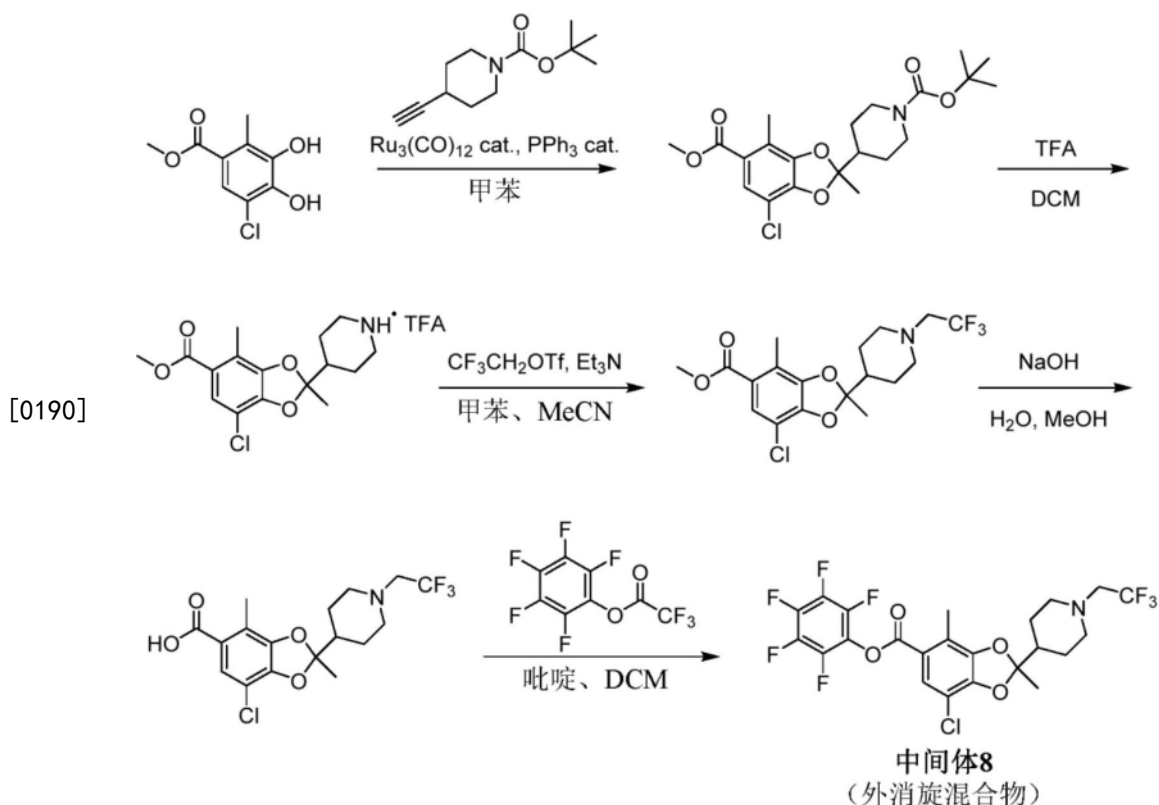
[0185] 将7-氯代-2,4-二甲基-2-(4-氧代环己基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯(中间体4—外消旋混合物)(550mg, 1.62mmol)、3,3-二氟氮杂环丁烷盐酸盐(839mg, 6.48mmol)和含三乙胺(895 μ L, 6.64mmol)的甲醇(5mL)和四氢呋喃(5mL)中的溶液在室温下搅拌过夜。第二天,将反应物冷却至-78 $^{\circ}$ C,逐滴加入硼氢化锂溶液(2M四氢呋喃溶液, 1.21mL, 2.43mmol)。将粘稠的黄色混合物逐渐升温至室温,然后在0 $^{\circ}$ C下用饱和碳酸钠水性溶液淬灭。用二氯甲烷萃取所需产物(三次),将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩至干。将残留物通过快速色谱法纯化两次(硅胶KP-NH柱,梯度为含0%到20%乙酸乙酯的庚烷),以得到单一几何异构体(顺式或反式)的外消旋混合物形式的标题化合物(354mg,产率为53%)。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:416.9;实际值:416.2。

[0186] 步骤2:(2R)-7-氯代-2-(4-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯与(2S)-7-氯代-2-(4-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯的分离

[0187] 将7-氯代-2-(4-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯(560mg)的外消旋混合物通过制备型SFC[柱:大赛璐化学工业公司的Chiralpak AD-H。流动相A:CO₂/流动相B:含0.25%异丙胺的己烷和乙醇(1:1)的混合物。等度(90%流动相A和10%流动

[0188] 相B)。流速:80克/分钟。柱温:25 $^{\circ}$ C]溶解。SFC分析法:柱:大赛璐化学工业公司的Chiralpak AD-H(100mm \times 4.6mm)。流动相A:CO₂/流动相B:含0.1%异丙胺的己烷和乙醇(3:1)的混合物。等度(85%流动相A和15%流动相B)。流速:4毫升/分钟。柱温:40 $^{\circ}$ C。中间体7(峰1):保留时间=1.02分钟(SFC分析法)。回收量=173mg,产率为15%,96% ee。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ 7.48(s, 1H), 3.78(s, 3H), 2.44-2.36(m, 2H), 2.35-2.25(m, 6H), 2.19(tdd, J=2.8, 5.6, 13.1Hz, 2H), 1.70-1.57(m, 5H)。中间体7(峰2):保留时间=1.16分钟(SFC分析法)。回收量=150mg,产率为13%,97% ee。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:416.86;实际值:416.2。

[0189] 中间体8:7-氯代-2,4-二甲基-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸全氟苯酯



[0191] 步骤1:4-(7-氯代-5-(甲氧羰基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧代-2-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯的合成

[0192] 在装有冷凝器的100mL梨形烧瓶中,用氮气循环/真空循环(4次循环)吹扫5-氯代-3,4-二羟基-2-甲基苯甲酸甲酯(1.219g,5.58mmol)、三苯基膦(146mg,0.558mmol)和十二羰基三钨(178mg,0.279mmol)的混合物,然后加入甲苯(12mL),用氮气/真空循环吹扫,然后在120°C下搅拌30分钟。将4-乙炔基哌啶-1-甲酸叔丁酯(2.32g,11.1mmol)在甲苯(10mL)中的混合物加入到深色混合物中。将所得橙色溶液在120°C下再搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩,然后通过快速色谱法纯化(硅胶,梯度为含0%到100%乙酸乙酯的庚烷),得到黄色油状物形式的标题化合物(2.33g,98%)。LCMS $[\text{M}+\text{Na}]^+ m/z$: calcd 448.2; 实际值: 448.2。

[0193] 步骤2:7-氯代-2,4-二甲基-2-(哌啶-4-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯(三氟乙酸盐)的合成

[0194] 向黄色的4-[7-氯代-5-(甲氧羰基)-2,4-二甲基-2H-1,3-苯并二氧代-2-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(2.33g,5.47mmol)的二氯甲烷(2mL)溶液中加入TFA(1mL)。30分钟后,在减压下浓缩反应混合物,得到胶形式的标题化合物(2.40g,定量),将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$: 计算值:326.79; 实际值:326.2。

[0195] 步骤3:7-氯代-2,4-二甲基-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯的合成

[0196] 向7-氯代-2,4-二甲基-2-(哌啶-4-基)-2H-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯、三氟乙酸盐(2.40g,5.45mmol)的甲苯(20mL)和乙腈(10mL)溶液中加入三乙胺(8mL,57.6mmol)和三氟甲磺酸2,2,2-三氟乙酯(3.0g,12.9mmol)。3小时后,在减压下浓缩反应混合物。加入水(50mL),并将混合物用EtOAc(30mL×3)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL×

2) 洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩,然后用快速色谱法(硅胶,梯度为含0%到50%乙酸乙酯的庚烷)纯化以得到黄色油状物形式的标题化合物(2.04g,92%)。LCMS [M+H]⁺m/z: 计算值:408.81;实际值:408.2。

[0197] 步骤4:7-氯代-2,4-二甲基-2-[1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基]苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-羧酸的合成

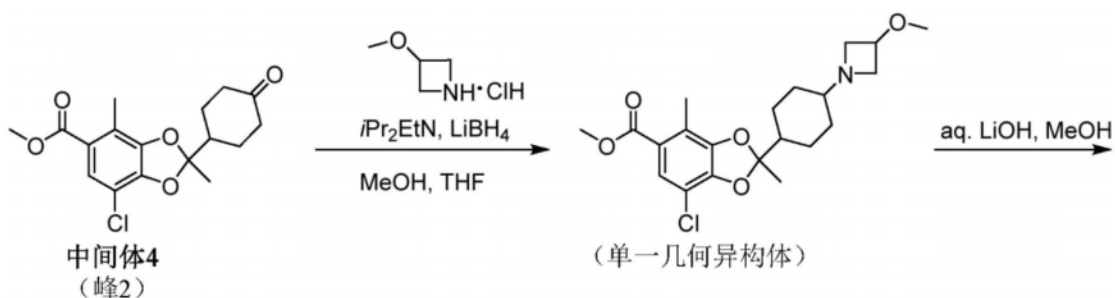
[0198] 向7-氯代-2,4-二甲基-2-[1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基]-2H-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯(691mg,1.69mmol)的甲醇(3mL)溶液中加入6M氢氧化钠的水溶液(1mL,6.00mmol),并在60°C下加热。25分钟后,在减压下浓缩反应混合物以除去大部分甲醇。然后用水稀释混合物,冷却至0°C,然后用1M盐酸中和至pH为7。将混合物用二氯甲烷萃取(3次),并将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤,在减压下浓缩,得到白色固体形式的标题化合物,将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS [M+H]⁺m/z: 计算值:394.79;实际值:394.2。

[0199] 步骤5:7-氯代-2,4-二甲基-2-[1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基]苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸全氟苯酯的合成

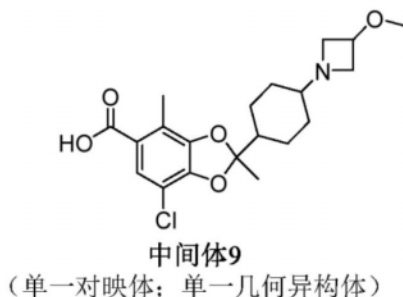
[0200] 向经过搅拌的7-氯代-2,4-二甲基-2-[1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基]-2H-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-羧酸(665mg,1.68mmol)的二氯甲烷(5mL)溶液中加入吡啶(1mL,12.4mmol),然后加入2,2,2-三氟乙酸2,3,4,5,6-五氟苯酯(500μL,2.90mmol)。20分钟后,将反应混合物在减压下浓缩以得到标题化合物,将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS [M+H]⁺m/z: 计算值:560.84;实际值:560.2。

[0201] 中间体9:7-氯代-2-(4-(3-甲氧基氮杂环丁-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并

[0202] [d][1,3]二氧杂环戊烯-5-羧酸



[0203]



[0204] 步骤1:7-氯代-2-(4-(3-甲氧基氮杂环丁-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯的合成

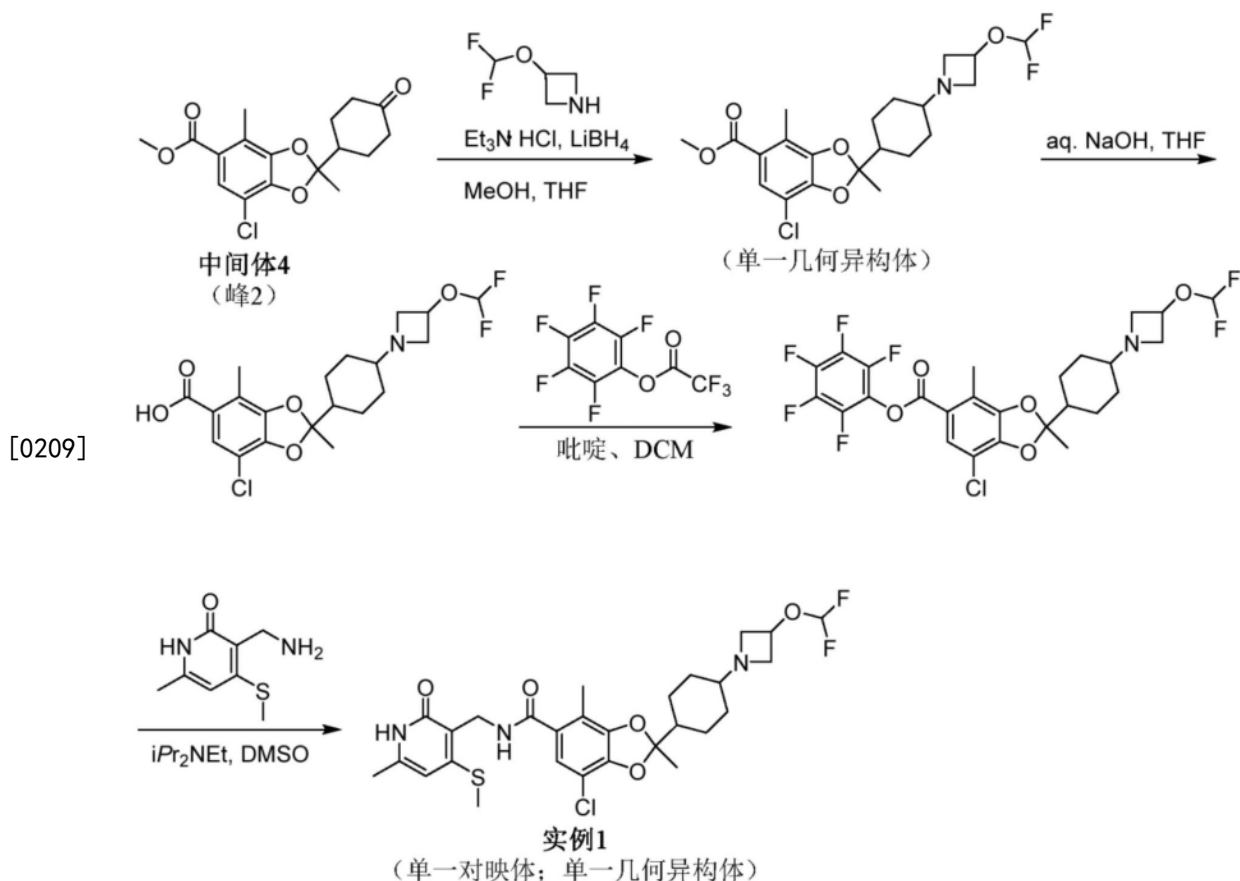
[0205] 将3-甲氧基氮杂环丁烷盐酸盐(8g,64.75mmol)和N,N-二异丙基乙胺(12mL,68.9mmol)的甲醇(30mL)溶液在室温下搅拌30分钟,然后加入另一种7-氯代-2,4-二甲基-2-(4-氧代环己基)-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯(中间体4—峰2)(4.1g,

12.10mmol)的四氢呋喃(30mL)溶液。将反应混合物在室温下搅拌1小时,然后冷却至-70°C。加入硼氢化锂(500mg,22.96mmol),并将反应物在-70°C下搅拌30分钟[或直到通过TLC观察到起始材料完全消耗,乙酸乙酯/甲醇:5:1]。接下来,将两批反应合并,用氯化铵饱和水性溶液(120mL)在0°C淬灭,用二氯甲烷(200mL×3)萃取所需产物。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩至干。将残留物通过快速色谱法纯化(硅胶,梯度为含0%到14%甲醇的二氯甲烷),得到浅黄色油状物形式的标题化合物(8.05g,产率为67%,纯度为83%)。将样品(50mg)通过制备型薄层色谱法(硅胶,乙酸乙酯:甲醇:15:1)进一步纯化。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:410.2;实际值:410.1。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ7.39(s,1H),3.95-3.91(m,1H),3.73(s,3H),3.59-3.51(m,2H),3.16(s,3H),2.97(br dd,J=6.4,8.0Hz,2H),2.26(s,3H),2.11-2.02(m,1H),1.91-1.73(m,5H),1.54(s,3H),1.22-1.12(m,2H),0.98-0.86(m,2H)。

[0206] 步骤2:7-氯代-2-(4-(3-甲氧基氮杂环丁-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-羧酸的合成

[0207] 向7-氯代-2-(4-(3-甲氧基氮杂环丁-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯(4g,9.75mmol)的甲醇(48mL)溶液中加入氢氧化锂水合物(4.03g,96.06mmol)的水(12mL)溶液。将反应物在70°C下搅拌2小时,然后将两批合并,并在减压下浓缩。加入水(50mL),并且用0°C的饱和水性柠檬酸溶液将pH调节到6。用3:1的二氯甲烷与异丙醇(300mL×5)的混合物萃取所需产物。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤,在减压下浓缩至干,得到灰白色固体形式的标题化合物(6.1g,粗品),将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:396.2;实际值:396.1。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ7.07(s,1H),4.05-4.10(m,2H),3.76-3.88(m,1H),3.67(br dd,J=10,3.6Hz,2H),3.22(s,3H),2.71-2.81(m,1H),2.19(s,3H),1.91-1.99(m,4H),1.75-1.85(m,1H),1.52(s,3H),1.18-1.28(m,2H),1.06-1.14(m,2H)。

[0208] 实例#1:7-氯代-2-(4-(3-(二氟甲氧基)氮杂环丁-1-基)环己基)-2,4-二甲基-N-((6-甲基-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺



[0210] 步骤1: 7-氯代-2-(4-(3-(二氟甲氧基)氮杂环丁-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯的合成

[0211] 将含7-氯代-2,4-二甲基-2-(4-氧代环己基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯(中间体4—峰2)(224mg, 0.661mmol)、3-(二氟甲氧基)氮杂环丁烷(336mg, 2.72mmol)和三乙胺盐酸盐(373mg, 2.71mmol)的甲醇(2mL)和四氢呋喃(2mL)混合物的溶液在室温下搅拌1.5小时,并冷却至-78°C。在-78°C下逐滴加入硼氢化锂的四氢呋喃溶液(2M, 500μL, 1mmol),然后将反应升温至室温15分钟。接下来,将混合物冷却至0°C,然后用饱和碳酸氢钠水性溶液淬灭,用二氯甲烷稀释,并升温至室温。用二氯甲烷从水性层中萃取所需产物(三次),并将合并的有机层用疏水过滤器干燥,并在减压下浓缩至干。将残留物通过快速色谱法纯化(硅胶,梯度为含10%到100%乙酸乙酯的庚烷,然后为含0%到100%乙醇的乙酸乙酯)以得到标题化合物的单一几何异构体(顺式或反式)(205mg,产率为70%)。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:445.9;实际值:446.2。

[0212] 步骤2: 7-氯代-2-(4-(3-(二氟甲氧基)氮杂环丁-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-羧酸的合成

[0213] 向7-氯代-2-(4-(3-(二氟甲氧基)氮杂环丁-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯(205mg, 0.460mmol)的甲醇(3mL)溶液中加入氢氧化钠的水溶液(6M, 1mL, 6.00mmol)。将反应物在60°C下加热20分钟,然后用水稀释,冷却至0°C,用1M盐酸酸化至pH=2,然后用1M氢氧化钠水性溶液中和至pH=7。将所需产物用二氯甲烷萃取(三次),用疏水过滤器干燥,并在减压下浓缩至干,得到白色固体形式的标题化合物(176mg,产率为89%),将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:431.9;

实际值:432.2。

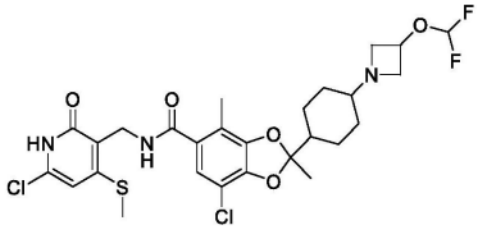
[0214] 步骤3:7-氯代-2-((1r,4R)-4-(3-(二氟甲氧基)氮杂环丁-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸全氟苯酯的合成

[0215] 在室温下向7-氯代-2-(4-(3-(二氟甲氧基)氮杂环丁烷-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-羧酸(176mg,0.408mmol)的二氯甲烷(0.5mL)溶液中加入吡啶(1.0mL,12.4mmol),然后加入2,2,2-三氟乙酸2,3,4,5,6-五氟苯酯(150 μ L,0.871mmol)。20分钟后,在减压下将反应混合物浓缩至干,得到标题化合物(100%理论产率=243mg)和副产物的混合物。将粗混合物不经进一步纯化而用于下一步骤。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:597.91;实际值:598.2。

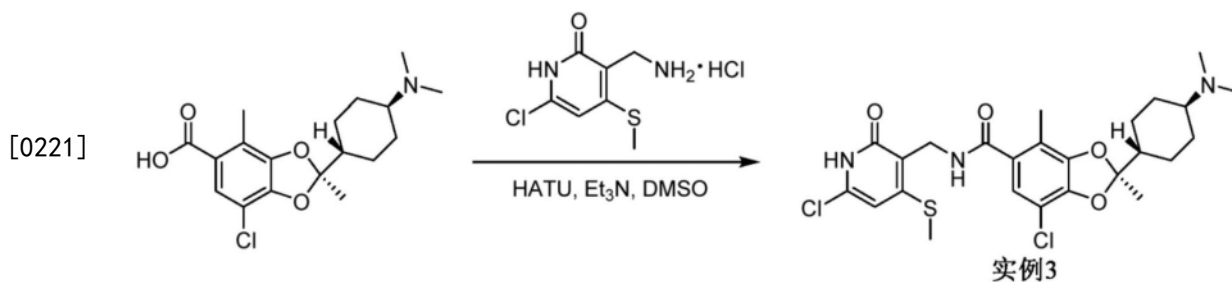
[0216] 步骤4:7-氯代-2-(4-(3-(二氟甲氧基)氮杂环丁-1-基)环己基)-2,4-二甲基-N-((6-甲基-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺的合成

[0217] 向7-氯代-2-(4-(3-(二氟甲氧基)氮杂环丁-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸全氟苯酯(\leq 243mg, \leq 0.406mmol)的二甲亚砷(1 mL)溶液中加入3-(氨甲基)-6-甲基-4-(甲硫基)吡啶-2(1H)-酮(盐酸盐)(中间体1)(222 mg,1.20 mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.30 mL,1.71 mmol)。将反应混合物在60 $^{\circ}$ C下搅拌1小时,然后在强氮气流下浓缩至干过夜。将残留物通过反相快速色谱法纯化两次(C18柱,梯度为含0%到100%乙腈的水,含0.1%三氟乙酸)。残留物用二氯甲烷和饱和碳酸氢钠溶液稀释。将水性层用二氯甲烷洗涤。将合并的有机层经硫酸钠干燥,在减压下浓缩以得到单一几何异构体(顺式或反式)形式的标题化合物(166 mg,两步中的产率为68%)。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:598.1;实际值:598.3。¹H NMR(400 MHz,甲醇-d₄) δ 6.88(s,1 H),6.26(s,1 H),6.38(t,J=74.3 Hz,2 H),4.71(quin,J=6.0Hz,1 H),4.48(s,2 H),3.69-3.60(m,2 H),3.18-3.11(m,2 H),2.52(s,3 H),2.29(s,3 H),2.18(s,3 H),2.10(tt,J=3.5,11.2 Hz,1 H),1.98-1.86(m,4 H),1.85-1.78(m,1 H),1.60(s,3 H),1.32-1.21(m,2 H),1.06-0.92(m,2 H)。

[0218] 表1:下列化合物是使用合适的起始材料以与实例1相似的方式制备的。

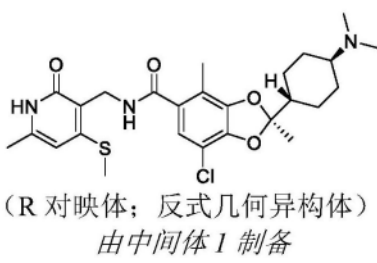
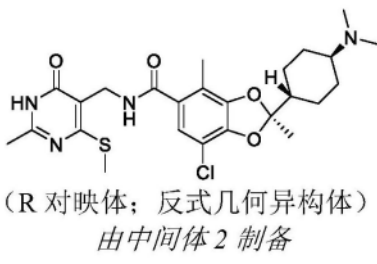
实例	结构	分析数据
[0219] 2	 <p>(单一对映体; 单一几何异构体) 由中间体3和中间体4(峰2)制备</p>	LCMS [M+H] ⁺ m/z: 计算值: 618.1; 实际值: 618.1。 ¹ H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ 6.91 - 6.88 (m, 1H), 6.58 (t, J = 5.4 Hz, 1H), 6.53 (s, 1H), 6.39 - 5.97 (m, 2H), 3.80 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 3.14 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 2.53 - 2.49 (m, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.13 (br. s., 1H), 1.99 - 1.78 (m, 5H), 1.60 (s, 3H), 1.45 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 1.28 - 1.18 (m, 2H), 1.15 - 1.01 (m, 2H)。

[0220] 实例#3: (R)-7-氯代-N-((6-氯代-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2-(反式-4-(二甲氨基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺

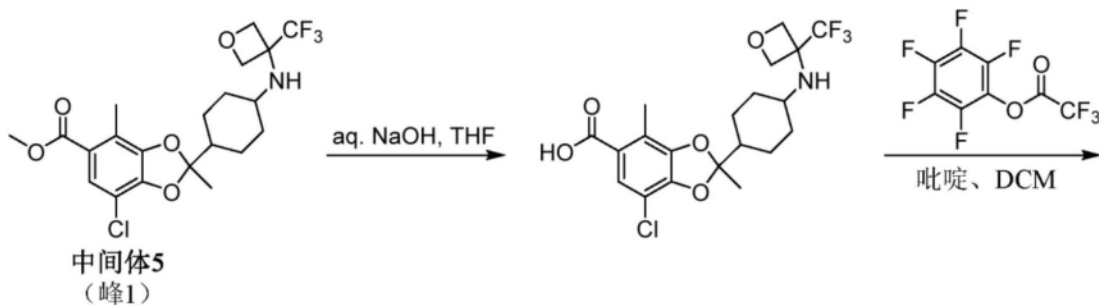


[0222] 在室温下向(R)-7-氯代-2-(反式-4-(二甲氨基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-羧酸(根据专利申请US2017/0073335A1中所述的程序制备)(48mg, 0.1356mmol)的二甲亚砷(0.5mL)溶液中加入三乙胺(56.6 μ L, 0.407mmol)和六氟磷酸O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲酯(41.2mg, 0.108mmol)。由于活化酯的形成在5分钟后通过LCMS([M+H]⁺m/z:368.2)不完全,所以添加另外的含六氟磷酸O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲酯(16mg, 0.042mmol)的二甲亚砷(1mL)两次。酸活化完成后,在室温下加入3-(氨甲基)-6-氯代-4-(甲基磺酰基)-1,2-二氢吡啶-2-酮盐酸盐(65.3mg, 0.271mmol)和三乙胺(56.6 μ L, 0.407mmol)在二甲亚砷(0.5mL)中的悬浮液。将反应混合物在60 $^{\circ}$ C下加热45分钟,然后用二氯甲烷和水稀释。使用疏水过滤器干燥有机层,并在减压下浓缩至干。将残留物通过快速色谱法纯化[硅胶KP-NH柱,梯度为含0%到100%乙酸乙酯的庚烷,然后为含0%到100%乙醇的二氯甲烷,然后为含0%到100%甲醇(含20%氢氧化铵)的乙酸乙酯]以得到白色固体形式的标题化合物(30mg,产率为41%)。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:540.5;实际值:540.2。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ 6.89(s,1H),6.68(s,1H),4.50(s,2H),3.20(tt,J=3.2,11.9Hz,1H),2.83(s,6H),2.53(s,3H),2.18(s,3H),2.16-2.08(m,4H),2.02-1.94(m,1H),1.62(s,3H),1.54(dq,J=3.4,12.4Hz,2H),1.47-1.37(m,2H)。

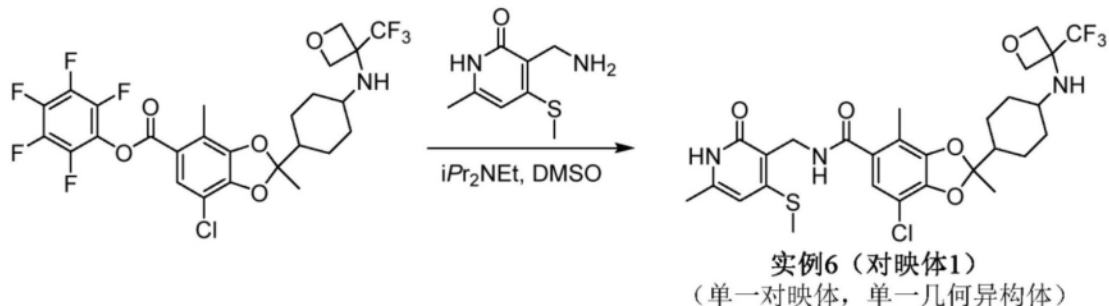
[0223] 表2:下列化合物是使用合适的起始材料以与实例3相似的方式制备的。

实例	结构	分析数据
4	 (R对映体;反式几何异构体) 由中间体1制备	LCMS[M+H] ⁺ m/z:计算值:520.2;实际值:520.3。 ¹ H NMR(400MHz,二甲亚砷-d ₆) δ 11.52(br.s.,1H),8.00(t,J=4.4Hz,1H),6.85(s,1H),6.08(s,1H),4.27(d,J=4.4Hz,2H),3.57(s,1H),2.45(s,3H),2.17(s,3H),2.14(s,9H),1.92-1.77(m,5H),1.60(s,3H),1.15(t,J=9.0Hz,4H)。
5	 (R对映体;反式几何异构体) 由中间体2制备	LCMS[M+H] ⁺ m/z:计算值:521.2;实际值:521.2。NMR(400MHz,二甲亚砷-d ₆) δ 12.60-12.19(m,2H),8.05(t,J=4.4Hz,1H),6.87(s,1H),4.21(d,J=4.4Hz,2H),2.47(s,3H),2.29(s,2H),2.19-2.12(m,9H),2.09(br.s.,1H),1.94-1.76(m,5H),1.60(s,3H),1.15(t,J=9.5Hz,4H)。

[0225] 实例#6(对映体1):7-氯代-N-((6-氯代-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2-(4-(二甲氨基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺



[0226]



[0227] 步骤1: 7-氯代-2,4-二甲基-2-(4-((3-(三氟甲基)氧杂环丁烷-3-基)氨基)环己基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-羧酸的合成

[0228] 向7-氯代-2,4-二甲基-2-[4-{{3-(三氟甲基)氧杂环丁烷-3-基}氨基}环己基]-2H-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯(中间体5—峰1)(81mg, 0.174mmol)的甲醇(1mL)溶液中加入氢氧化钠(72mg, 1.79mmol)。将反应混合物在60°C加热20分钟,冷却至0°C,然后用1M盐酸酸化至pH=2。然后用二氯甲烷萃取所需产物(三次),并用疏水过滤器干燥合并的有机层。将滤液在减压下浓缩至干,得到白色固体形式的标题化合物(70mg, 产率为89%),将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS[M+H]⁺m/z: 计算值: 450.1; 实际值: 450.2。

[0229] 步骤2: 7-氯代-2,4-二甲基-2-(4-((3-(三氟甲基)氧杂环丁烷-3-基)氨基)环己基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸全氟苯酯的合成

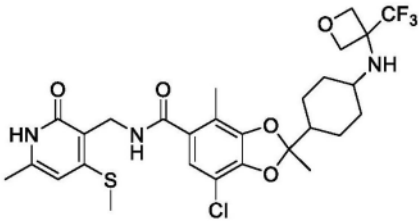
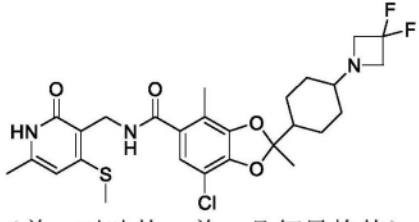
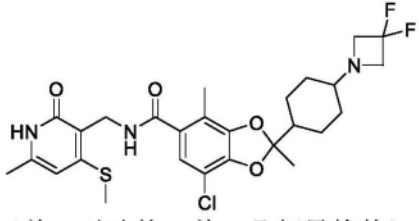
[0230] 在室温下向7-氯代-2,4-二甲基-2-(4-((3-(三氟甲基)氧杂环丁烷-3-基)氨基)环己基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-羧酸(70mg, 155μmol)的二氯甲烷(0.5mL)溶液中加入吡啶(24.9μL, 310μmol)和2,2,2-三氟乙酸2,3,4,5,6-五氟苯酯(39.8μL, 232μmol)。在15分钟后将反应物在减压下浓缩以得到标题化合物和副产物的混合物(68mg, 粗品)。将粗混合物不经进一步纯化而用于下一步骤。LCMS[M+H]⁺m/z: 计算值: 616.1; 实际值: 616.2。

[0231] 步骤3: 7-氯代-2,4-二甲基-N-((6-甲基-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2-(4-((3-(三氟甲基)氧杂环丁烷-3-基)氨基)环己基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺的合成

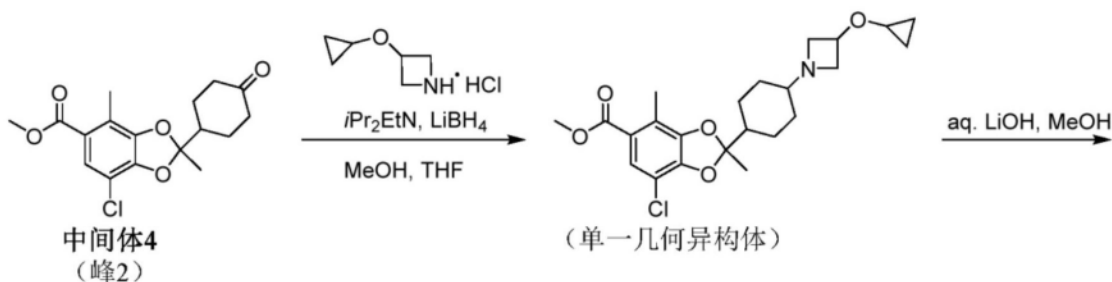
[0232] 在室温下向7-氯代-2,4-二甲基-2-[4-{{3-(三氟甲基)氧杂环丁烷-3-基}氨基}环己基]-2H-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-甲酸2,3,4,5,6-五氟苯酯(≤68mg, ≤110μmol)的N,N-二甲基甲酰胺(1mL)溶液中加入3-(氨基甲基)-6-甲基-4-(甲基磺酰基)-1,2-二氢吡啶-2-酮(游离碱)(30.4mg, 0.165mmol)和N,N-二异丙基胺(0.1mL, 574μmol)。将反应物在50°C下搅拌30分钟,然后直接加入C18柱以通过反相快速色谱法纯化(C18柱,梯度为含5%到50%乙腈的水,含0.1%三氟乙酸),从而得到标题化合物的三氟乙酸盐。将盐溶解在二氯甲烷中,并将有机层用饱和碳酸氢钠水性溶液洗涤。最后,将有机层在减压下浓缩至干以得到

白色固体形式的标题化合物(游离碱)(42mg,产率为62%)。LCMS $[M+H]^+$ m/z : calcd 616.19; 实际值:616.3。 1H NMR(400MHz,氯仿- d) δ 12.62-12.44(m,1H), 7.16(t, $J=5.1$ Hz, 1H), 6.91(s, 1H), 6.04(s, 1H), 4.76(s, 3H), 4.62-4.46(m, 4H), 2.72-2.63(m, 1H), 2.49(s, 3H), 2.32(s, 3H), 2.27(s, 3H), 1.92(d, $J=5.9$ Hz, 4H), 1.80(br. s., 1H), 1.60(s, 3H), 1.36-1.10(m, 6H)。

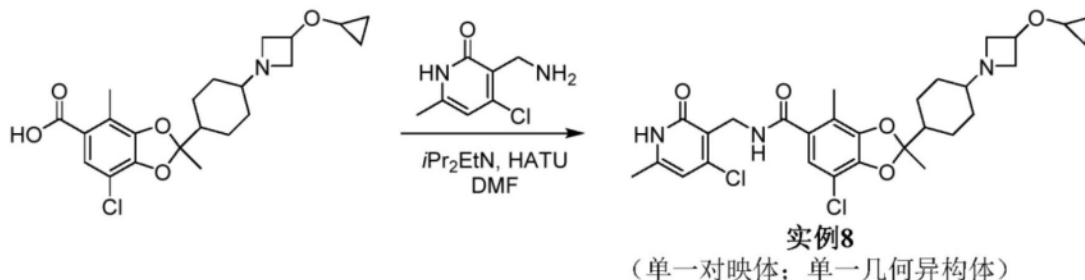
[0233] 表3:下列化合物是使用合适的起始材料以与实例6相似的方式制备的。

实例	结构	分析数据
6 (对映体 2)	 <p>(单一对映体; 单一几何异构体) 由中间体 1 和中间体 5 (峰 2) 制备</p>	LCMS $[M+H]^+$ m/z : 计算值: 616.19; 实际值: 616.3。 1H NMR(400 MHz, 氯仿- d) δ 12.45 - 12.30 (m, 1H), 7.14 (t, $J=5.4$ Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.04 (s, 1H), 4.75 (d, $J=7.3$ Hz, 2H), 4.61 (s, 2H), 4.55 - 4.51 (m, 2H), 2.68 (t, $J=9.5$ Hz, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.92 (d, $J=6.4$ Hz, 4H), 1.83 (t, $J=11.7$ Hz, 1H), 1.61 (s, 3H), 1.35 - 1.12 (m, 6H)。
[0234] 7 (对映体 1)	 <p>(单一对映体; 单一几何异构体) 由中间体 1 和中间体 7 (峰 1) 制备</p>	LCMS $[M+H]^+$ m/z : 计算值: 568.2; 实际值: 568.3。 1H NMR(400 MHz, 甲醇- d_4) δ 6.93 - 6.84 (m, 1H), 6.27 (s, 1H), 4.48 (s, 2H), 3.67 (br t, $J=12.0$ Hz, 4H), 2.52 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.26 - 2.19 (m, 1H), 2.18 (s, 3H), 2.02 - 1.81 (m, 5H), 1.61 (s, 3H), 1.34 - 1.21 (m, 2H), 1.13 - 1.00 (m, 2H)。
7 (对映体 2)	 <p>(单一对映体; 单一几何异构体) 注: 由中间体 1 和中间体 7 (峰 2) 制备</p>	LCMS $[M+H]^+$ m/z : 计算值: 568.2; 实际值: 568.3。 1H NMR(400 MHz, 甲醇- d_4) δ 6.89 (s, 1H), 6.27 (s, 1H), 4.49 (s, 2H), 3.61 (t, $J=12.0$ Hz, 4H), 2.53 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.23 - 2.08 (m, 4H), 2.03 - 1.78 (m, 5H), 1.61 (s, 3H), 1.35 - 1.22 (m, 2H), 1.12 - 0.99 (m, 2H)。

[0235] 实例8:7-氯代-N-((4-氯代-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2-(4-(3-环丙氧基氮杂环丁烷-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺



[0236]



[0237] 步骤1:7-氯代-2-(4-(3-环丙氧基氮杂环丁烷-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯的合成

[0238] 将3-(环丙氧基)氮杂环丁烷盐酸盐(1.9g, 12.7mmol)和N,N-二异丙基乙胺(2.7mL, 15.5mmol)的甲醇(10mL)溶液在室温下搅拌1小时,然后加入另一种7-氯代-2,4-二甲基-2-(4-氧代环己基)-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯(中间体4—峰2)(860mg, 2.54mmol)的四氢呋喃(30mL)溶液。将反应混合物在室温下搅拌1.5小时,然后冷却至-70°C。加入硼氢化锂(120mg, 5.51mmol),并将反应物在-70°C下搅拌30分钟[或直至通过TLC观察到起始材料完全消耗,乙酸乙酯/甲醇:5:1]。然后,用氯化铵饱和水性溶液(100mL)淬灭反应,并用乙酸乙酯(50mL×2)萃取所需产物。将合并的有机层用盐水(30mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩至干。将残留物通过快速色谱法(硅胶,梯度为含50%到100%乙酸乙酯的石油醚)纯化以得到黄色油状物形式的标题化合物(760mg,产率为65%,95%纯度)。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:436.1;实际值:436.0。

[0239] 步骤2:7-氯代-2-(4-(3-环丙氧基氮杂环丁烷-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-羧酸的合成

[0240] 向7-氯代-2-(4-(3-环丙氧基氮杂环丁烷-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酸甲酯(760mg, 1.74mmol)的甲醇(15mL)和水(3mL)溶液中加入氢氧化锂水合物(962mg, 22.93mmol)。将反应物在70°C下搅拌15小时。然后在减压下浓缩。加入水(15mL),用0°C的饱和柠檬酸水性溶液将pH调节至6。用10:1的二氯甲烷与异丙醇(30mL×3)的混合物萃取所需产物。将合并的有机层用盐水(150mL×2)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤,在减压下浓缩至干,得到黄色固体形式的标题化合物(720mg,粗品),将其不经进一步纯化用于下一步骤。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:422.1;实际值:422.0。

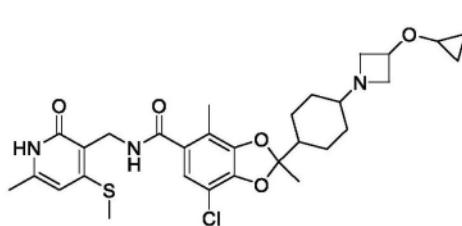
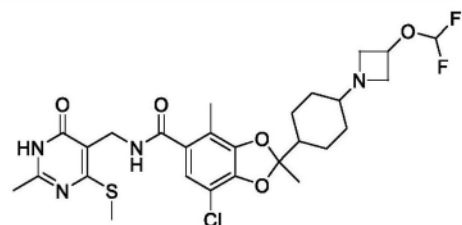
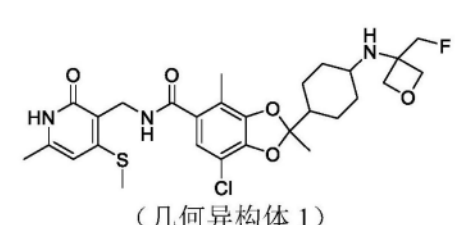
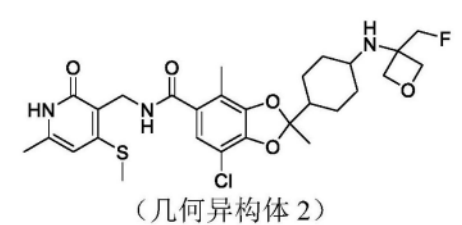
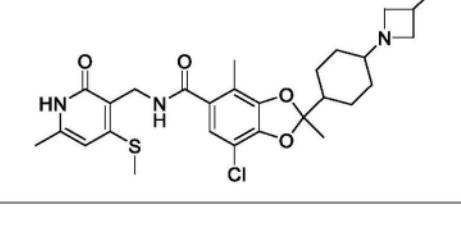
[0241] 步骤3:7-氯代-N-((4-氯代-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2-(4-(3-环丙氧基氮杂环丁烷-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺的合成

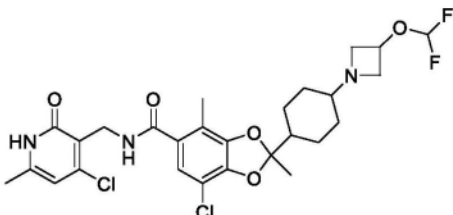
[0242] 向7-氯代-2-[4-[3-(环丙氧基)氮杂环丁烷-1-基]环己基]-2,4-二甲基-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-羧酸(360mg, 0.853mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(4mL)溶液中加入六氟磷

酸O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲酯(500mg,1.31mmol)和N,N-二异丙基乙胺(1mL,5.74mmol)。将混合物在15°C下搅拌30分钟,然后加入3-(氨甲基)-4-氯代-6-甲基-1H-吡啶-2-酮盐酸盐(中间体6)(250mg,1.2mmol)。将反应混合物在15°C下再搅拌4小时,然后过滤。将滤液通过制备型HPLC[柱:Waters Xbridge(150mm×25mm,5μm)。流动相A:水(0.05%氢氧化氨v/v/流动相B:乙腈。梯度(65%到55%的流动相A/35%到65%的流动相B,超过9.5分钟)。柱温:30°C]纯化以得到白色固体形式的标题化合物(209mg,产率为42%)。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:576.2;实际值:576.2。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ6.90(s,1H),6.30(s,1H),4.52(s,2H),4.22(quin,J=6.0Hz,1H),3.61(dd,J=6.4,8.6Hz,2H),3.31-3.25(m,1H),2.99(dd,J=6.3,8.4Hz,2H),2.28(s,3H),2.20(s,3H),2.12-2.04(m,1H),1.99-1.85(m,5H),1.62(s,3H),1.33-1.24(m,2H),1.06-0.95(m,2H),0.56-0.51(m,2H),0.51-0.44(m,2H)。

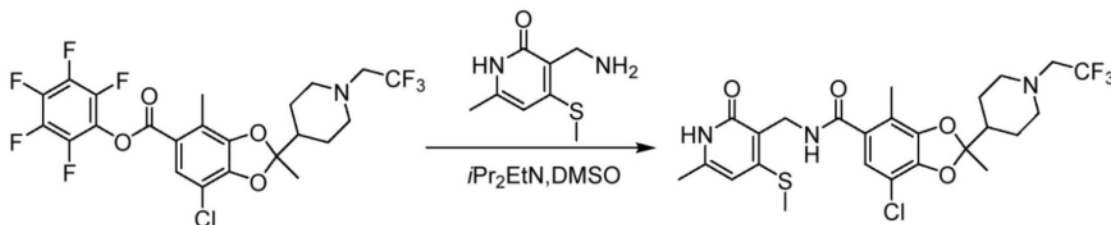
[0243] 表4:下列化合物是使用合适的起始材料以与实例8相似的方式制备的。

[0244]

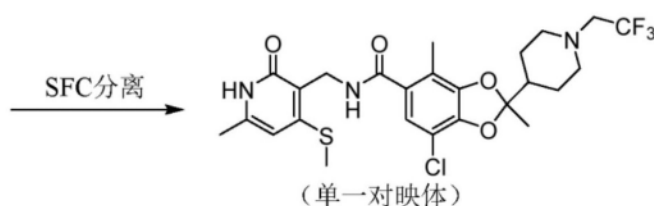
实例	结构	分析数据
9	 <p>(单一对映体; 单一几何异构体) 由中间体1和中间体4(峰2)制备</p>	LCMS [M+H] ⁺ m/z: 计算值: 588.2; 实际值: 588.2。 ¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ 6.91 (s, 1H), 6.29 (s, 1H), 4.53 (s, 2H), 4.26-4.17 (m, 1H), 3.69-3.59 (m, 2H), 3.30-3.24 (m, 1H), 3.06-2.94 (m, 2H), 2.54 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.10-2.02 (m, 1H), 1.99-1.80 (m, 5H), 1.62 (s, 3H), 1.35-1.18 (m, 2H), 1.08-0.93 (m, 2H), 0.58-0.50 (m, 2H), 0.50-0.42 (m, 2H)。
10	 <p>(单一对映体; 单一几何异构体) 由中间体2和中间体4(峰2)制备</p>	LCMS [M+H] ⁺ m/z: 计算值: 599.2; 实际值: 599.1。 ¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ 6.92 (s, 1H), 6.40 (t, J = 76 Hz, 1H), 4.73 (t, J = 8 Hz, 1H), 4.43 (s, 2H), 3.68-3.64 (m, 2H), 3.18-3.14 (m, 2H), 2.57 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.14-2.09 (m, 1H), 1.97-1.83 (m, 5H), 1.62 (s, 3H), 1.32-1.23 (m, 2H), 1.05-0.95 (m, 2H)。
11	 <p>(几何异构体1) 由中间体1和中间体4(峰2)制备</p>	LCMS [M+H] ⁺ m/z: 计算值: 580.2; 实际值: 580.2。 ¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ 6.91 (s, 1H), 6.29 (s, 1H), 4.82-4.79 (m, 1H), 4.68 (s, 1H), 4.55 (dd, J = 4.0, 6.4 Hz, 2H), 4.52-4.46 (m, 4H), 2.63 (br t, J = 10.8 Hz, 1H), 2.55 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 1.94 (br d, J = 13.2 Hz, 2H), 1.89-1.80 (m, 3H), 1.62 (s, 3H), 1.31 (q, J = 12.0 Hz, 2H), 1.25-1.15 (m, 2H)。
11	 <p>(几何异构体2) 由中间体1和中间体4(峰2)制备</p>	LCMS [M+H] ⁺ m/z: 计算值: 580.2; 实际值: 580.1。 ¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ 6.91 (s, 1H), 6.30 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.62-4.59 (m, 2H), 4.52-4.47 (m, 4H), 3.06 (br s, 1H), 2.55 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 1.91 (br d, J = 10.4 Hz, 1H), 1.68 (br d, J = 8.4 Hz, 4H), 1.65 (s, 5H), 1.61 (br s, 1H), 1.57 (br s, 1H)。
12		LCMS [M+H] ⁺ m/z: 计算值: 572.2; 实际值: 571.9。 ¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ 6.89 (s, 1H), 6.27 (s, 1H), 4.96-5.23 (m, 1H), 4.48 (s, 2H), 3.54-3.69 (m, 2H), 3.18-3.30 (m, 2H), 2.52 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.06-2.15 (m, 1H), 1.80-1.98 (m, 5H),

	(单一对映体; 单一几何异构体) 由中间体1和中间体4(峰2)制备	1.61 (s, 3H), 1.19-1.32 (m, 2H), 0.93-1.05 (m, 2H)。
[0245]	<div style="text-align: center;">  </div> <p>(单一对映体; 单一几何异构体) 由中间体6和中间体4(峰2)制备</p>	LCMS [M+H] ⁺ m/z: 计算值: 586.2; 实际值: 586.1。 ¹ H NMR (400MHz, 甲醇-d ₄) δ 6.90 (s, 1H), 6.40 (t, J = 76 Hz, 1H), 6.30 (s, 1H), 4.73 (t, J = 8 Hz, 1H), 4.53 (s, 2H), 3.68-3.64 (m, 2H), 3.18-3.14 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.15-2.08 (m, 1H), 1.97-1.83 (m, 5H), 1.63 (s, 3H), 1.35-1.23 (m, 2H), 1.05-0.90 (m, 2H)。

[0246] 实例14: (R)-7-氯代-2,4-二甲基-N-((6-甲基-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺和(S)-7-氯代-2,4-二甲基-N-((6-甲基-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺



[0247]



[0248] 步骤1: 7-氯代-2,4-二甲基-N-((6-甲基-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺的合成

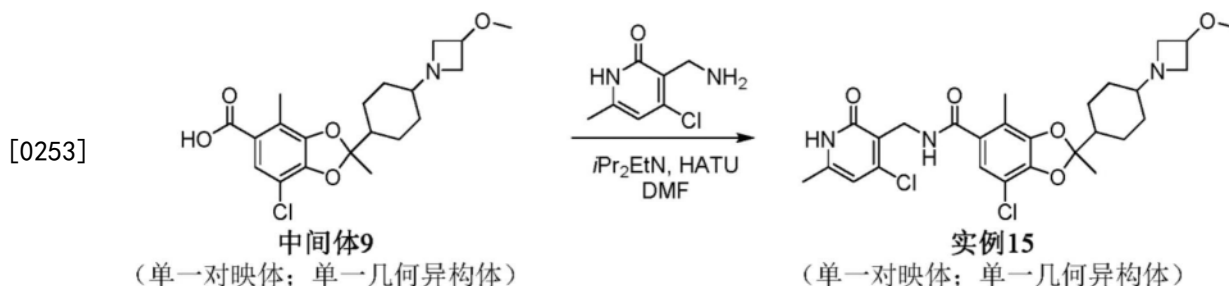
[0249] 向7-氯代-2,4-二甲基-2-[1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基]-2H-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-甲酸2,3,4,5,6-五氟苯酯(中间体8)(752mg, 1.34mmol)的二甲亚砷(4mL)溶液中加入3-(氨基甲基)-6-甲基-4-(甲基磺酰基)-1,2-二氢吡啶-2-酮(中间体1)(740mg, 4.02mmol)和N,N-二异丙基胺(932μL, 5.36mmol)。将反应混合物在60°C下加热,并且在1小时后将其添加在C18柱上以进行纯化。将所需产物通过反相快速色谱法纯化两次(C18柱,梯度为含0%到100%的乙腈的水,含0.1%的三氟乙酸)以得到如胶状物的外消旋混合物形式的标题化合物(289mg,产率为38%)。

[0250] 步骤2: (R)-7-氯代-2,4-二甲基-N-((6-甲基-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺和(S)-7-氯代-2,4-二甲基-N-((6-甲基-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺

[0251] 将7-氯代-2,4-二甲基-N-((6-甲基-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲

基)-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺的外消旋混合物(289mg)通过制备型SFC[柱:ES工业公司(ES Industries)的ChromegaChiral CC4 (250mm×20mm I.D.)。流动相A:CO₂/流动相B:含0.25%异丙胺的甲醇。等度(55%的流动相A和45%的流动相B)。流速:80克/分钟。柱温:25°C]溶解。SFC分析法:柱:Chiral技术公司的Chiralcel OX-H(100mm×4.6mm I.D.)。流动相A:CO₂/流动相B:含0.1%异丙胺的甲醇。等度(75%的流动相A和25%的流动相B)。流速:4毫升/分钟。柱温:40°C。实例16(对映体1)(所需的对映体/优映体):保留时间=3.74分钟(SFC分析法)。回收量=90mg,产率为12%,99% ee(黄色固体)。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:560.2;实际值:560.2。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ 6.89(s,1H),6.27(s,1H),4.49(s,2H),3.08-2.98(m,4H),2.52(s,3H),2.34(br t,J=11.0Hz,2H),2.29(s,3H),2.20(s,3H),1.93-1.84(m,1H),1.83-1.76(m,2H),1.62(s,3H),1.60-1.47(m,2H)。实例16(对映体2)(不需要的对映体/劣映体):保留时间=4.25分钟(SFC分析法)。回收量=101mg,产率为13%,98% ee,(黄色固体)。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:560.2;实际值:560.2。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ 6.89(s,1H),6.27(s,1H),4.49(s,2H),3.08-2.98(m,4H),2.52(s,3H),2.34(br t,J=11.0Hz,2H),2.29(s,3H),2.20(s,3H),1.93-1.84(m,1H),1.83-1.76(m,2H),1.62(s,3H),1.60-1.47(m,2H)。

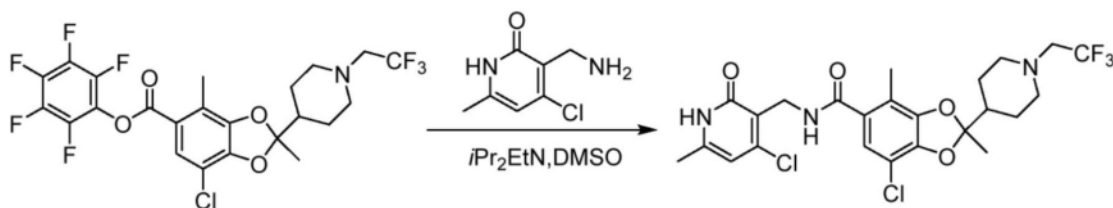
[0252] 实例15:7-氯代-N-((4-氯代-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2-(4-(3-甲氧基氮杂环丁-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺



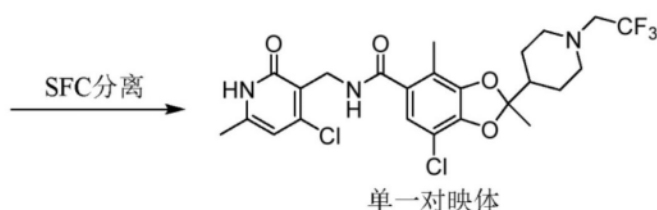
[0254] 向7-氯代-2-(4-(3-甲氧基氮杂环丁-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-羧酸(900mg,2.27mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(5mL)溶液中加入六氟磷酸O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲酯(1.04g,2.73mmol)和N,N-二异丙基乙胺(2.38mL,13.6mmol)。将混合物在25°C下搅拌30分钟,然后加入3-(氨甲基)-4-氯代-6-甲基-1H-吡啶-2-酮盐酸盐(中间体6)(710mg,3.4mmol)。将反应混合物在室温下再搅拌1.5小时,然后过滤。将滤液通过制备型HPLC[柱:YMC-Actus Triart C18(100mm×30mm,5μm)。流动相A:水(0.05%盐酸)/流动相B:乙腈。梯度(85%到55%的流动相A/15%到45%的流动相B,超过10分钟)。柱温:30°C和柱:Xtimate C18(150mm×25mm,5μm)。流动相A:水(0.05%氢氧化氨v/v)/流动相B:乙腈。梯度(69%到39%的流动相A/31%到61%的流动相B,超过7分钟)。柱温:30°C]纯化两次以得到白色固体形式的标题化合物(533mg,产率为43%,纯度>99%)。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:550.2;实际值:550.1。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ 11.97(br,1H),7.06-7.03(m,1H),6.88(s,1H),6.19(s,1H),4.65(d,J=6.0Hz,2H),4.05-4.01(m,1H),3.66-3.62(m,2H),3.25(s,3H),2.93-2.90(m,2H),2.28(s,3H),2.25(s,3H),1.93-1.81(m,6H),1.60(s,3H),1.25-1.02(m,4H)。

[0255] 实例16:(R)-7-氯代-N-((4-氯代-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2,4-二甲基-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺和

(S)-7-氯代-N-((4-氯代-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2,4-二甲基-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺



[0256]



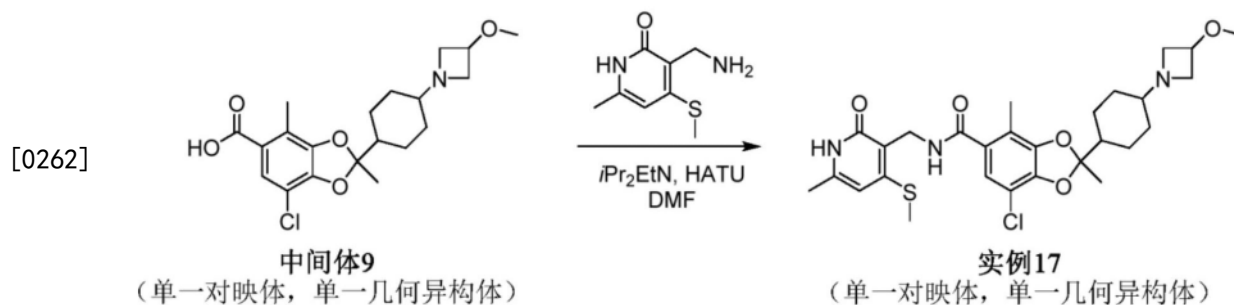
[0257] 步骤1:7-氯代-N-((4-氯代-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2,4-二甲基-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺的合成

[0258] 向7-氯代-2,4-二甲基-2-[1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基]-2H-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-甲酸2,3,4,5,6-五氟苯酯(中间体8)(188mg,0.3358mmol)的二甲亚砜(1mL)溶液中加入3-(氨基甲基)-4-氯代-6-甲基-1,2-二氢吡啶-2-酮盐酸盐(中间体6)(70.2mg,0.336mmol)和N,N-二异丙基胺(233 μ L,1.34mmol)。将反应混合物在60 $^{\circ}$ C下加热,并且在1小时后将将其添加在C18柱上进行纯化。将所需产物通过反相快速色谱法纯化两次(C18柱,梯度为含0%到100%乙腈的水,含0.1%三氟乙酸)以得到如胶状物的外消旋混合物形式的标题化合物(180mg,产率为98%)。

[0259] 步骤2:(R)-7-氯代-N-((4-氯代-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2,4-二甲基-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺与(S)-7-氯代-N-((4-氯代-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2,4-二甲基-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺的分离

[0260] 将7-氯代-N-((4-氯代-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)-2,4-二甲基-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺的外消旋混合物(180mg)通过制备型SFC[柱:ES工业公司的ChromegaChiral CC4(250mm \times 20mm I.D.)。流动相A:CO₂/流动相B:含0.25%异丙胺的甲醇。等度(65%的流动相A和35%的流动相B)。流速:80克/分钟。柱温:25 $^{\circ}$ C]溶解。SFC分析法:柱:Chiral技术公司的Chiralcel OZ-H(100mm \times 4.6mm I.D.,xx μ m)。流动相A:CO₂/流动相B:含0.1%异丙胺的甲醇。等度(65%的流动相A和35%的流动相B)。流速:4毫升/分钟。柱温:40 $^{\circ}$ C。实例17(对映体1)(所需的对映体/优映体):保留时间=0.73分钟(SFC分析法)。回收量=61mg,产率为33%,100% ee(黄色固体)。实例17(对映体2)(不需要的对映体/劣映体):保留时间=0.98分钟(SFC分析法)。回收量=63mg,产率为34%,97% ee(黄色固体)。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:548.1;实际值:548.2。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ 6.89(s,1H),6.29(s,1H),4.52(s,2H),3.04(q,J=9.8Hz,4H),2.35(br t,J=11.0Hz,H),2.27(s,3H),2.19(s,3H),1.95-1.85(m,1H),1.85-1.75(m,2H),1.63(s,3H),1.62-1.50(m,2H)。

[0261] 实例17:7-氯代-2-(4-(3-甲氧基氮杂环丁-1-基)环己基)-2,4-二甲基-N-((6-甲基-4-(甲硫基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-甲酰胺



[0263] 向7-氯代-2-(4-(3-甲氧基氮杂环丁-1-基)环己基)-2,4-二甲基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-羧酸(中间体9-单一对映体和几何异构体)(5g, 12.63mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(50mL)溶液中加入六氟磷酸O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N',N'-四甲基脲酯(5.7g, 14.99mmol)和N,N-二异丙基乙胺(11mL, 63.15mmol)。将混合物在20°C下搅拌30分钟,然后加入3-(氨甲基)-6-甲基-4-(甲硫基)吡啶-2(1H)-酮盐酸盐(中间体1)(4.2g, 19.03mmol)。将反应混合物在室温下再搅拌1.5小时,然后过滤。将滤液通过制备型HPLC[柱:Phenomenex Gemini C18(250mm×50mm, 10μm)。流动相A:水(0.04%氢氧化氨v/v和10mM碳酸氢铵)/流动相B:乙腈。梯度(75%到44%的流动相A/25%到56%的流动相B,超过23分钟)。柱温:30°C]纯化以得到白色固体形式的标题化合物(4.4g, 产率为60%, 纯度96%)。LCMS[M+H]⁺m/z:计算值:562.2;实际值:562.2。¹H NMR(400MHz, 甲醇-d₄) δ6.91(s, 1H), 6.29(s, 1H), 4.50(s, 2H), 4.01(quin, J=6Hz, 1H), 3.58(dd, J=8.8, 6.4Hz, 2H), 3.26(s, 3H), 2.92-3.02(m, 2H), 2.54(s, 3H), 2.31(s, 3H), 2.21(s, 3H), 2.01-2.11(m, 1H), 1.79-2.00(m, 5H), 1.62(s, 3H), 1.19-1.34(m, 2H), 0.91-1.08(m, 2H)。

[0264] EZH2测定

[0265] 使用EZH2测量抑制剂的IC₅₀

[0266] EZH2生化测定(IC₅₀):通过将³H-SAM掺入生物素化的H3肽来评估化合物的效力。具体而言,将含有wt EZH2(内部制备的五聚体复合物)的30pM PRC2与450nM SAM、450nM ³H-SAM、2μM H3K27me3活化肽(H₂N-RKQLATKAAR(Kme3)SAPATGGVKKP-酰胺)和化合物(与DMSO中的10点重复剂量响应滴定一样,最终测定0.8% DMSO(v/v))在总体积为12.5μl的50mM Tris(pH为8.5)、1mM DTT、0.07mM Brij-35、0.1% BSA、0.8% DMSO中预温育3-5小时。用生物素化的H3底物肽(H₂N-RKQLATKAAR(Kme1)SAPATGGVKKP-NTPEGBiot)作为12.5μl缓冲液中的2μM储备液引发反应,并允许在室温下反应18-22小时。通过加入20μl STOP溶液(50mM Tris(pH 8.5), 200mM EDTA, 2mM SAH)完成淬灭。将35μl经过淬灭的溶液转移到链霉亲和素涂覆的FlashPlate(珀金埃尔默公司(PerkinElmer))上,温育1-2小时,洗涤,并在TopCount读板仪(TopCount Reader)(珀金埃尔默公司)中读取。在使用非线性最小二乘四参数拟合的基因数据筛选程序(Genedata Screener)中计算IC₅₀,其中所述四个参数是IC₅₀、希尔斜率、转变前基线(0% INH)和转变后基线(100% INH)。

[0267] HeLa细胞测定中抑制剂的EC₅₀测量

[0268] H3K27me3 Alpha HeLa测定(AlphaLISA)。将十种不同剂量的每种试验化合物(在一系列3倍稀释中)接种在经组织培养物处理的重复384孔的平板(目录号:6007680;马萨诸

塞州沃尔瑟姆的珀金埃尔默公司)中。将培养物中生长的HeLa细胞胰蛋白酶化,并使用Countess®细胞计数器计数(目录号:C10281;;纽约大岛的生命技术公司(Life Technologies,Grand Island,NY))。在10% DMEM(目录号:10569-010,纽约大岛的生命技术公司(Life Technologies,Grand Island,NY))中将细胞稀释至每毫升67,000个细胞,并使用384孔的平板中的伯腾(Biotek)MicroFlo™选择分配器(美国佛蒙特州的伯腾仪器有限公司(BioTek Instruments,Inc.Vermont,USA))将15μL(1,000个细胞)接种到每个孔中。将平板在37°C/5% CO₂下温育72小时。一个重复平板被处理用于HeLa测定,并且另一个重复平板被处理用于活力。将每孔5μL细胞-组蛋白裂解缓冲液(1X)(目录号:AL009F1,马萨诸塞州沃尔瑟姆的珀金埃尔默公司)加入到处理用于AlphaLISA的平板中,并将这一平板在RT下于平板振荡器上以低速温育30分钟(型号:4625-Q,马萨诸塞州沃尔瑟姆的赛默飞世尔科技公司)。然后,每孔加入10μL组蛋白萃取缓冲液(目录号:AL009F2;马萨诸塞州沃尔瑟姆的珀金埃尔默公司),并将平板在RT下于平板振荡器上以低速温育20分钟。接下来,在每个孔中加入10μL抗K27me3受体微珠和生物素化抗组蛋白H3(C-ter)抗体(稀释至3nM终浓度)的5X混合物(目录号:AL118;马萨诸塞州沃尔瑟姆的珀金埃尔默公司)。受体微珠和抗组蛋白H3的稀释是在1X组蛋白检测缓冲液(目录号:AL009F3;马萨诸塞州沃尔瑟姆的珀金埃尔默公司)中完成的,所述缓冲液是通过稀释提供的10X储备液制备的。用铝平板密封剂密封这一平板,并在23°C下温育60分钟。接下来,添加10μL链霉亲和素供体微珠(Streptavidin Donor bead)的5X溶液(目录号:6760002,马萨诸塞州沃尔瑟姆的珀金埃尔默公司)(在1X组蛋白检测缓冲液中最终浓度为20μg/mL)用铝平板密封剂密封这一平板并在23°C下温育30分钟。然后使用EnVision-Alpha读板仪(EnVision-Alpha Reader)(型号:2104,马萨诸塞州沃尔瑟姆的珀金埃尔默公司)读取此平板。

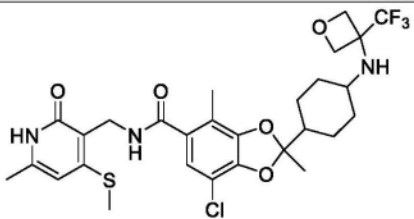
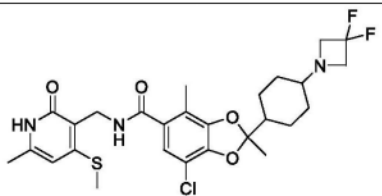
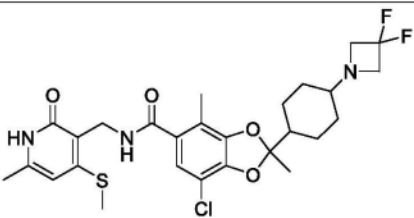
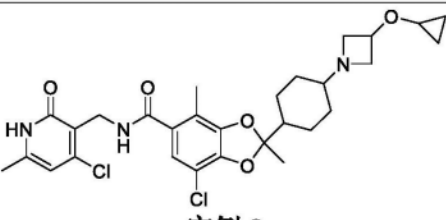
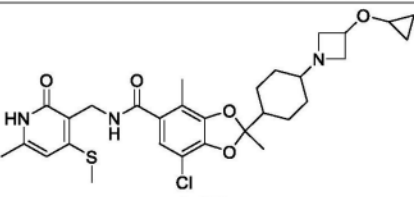
[0269] 通过向装有含有培养基的细胞的每个孔中加入15μL Cell Titer Glo((目录号:G9241,Promega Madison,WI))来测定细胞活力。将平板在RT下在平板振荡器上以低速温育15-20分钟。然后使用EnVision-Alpha读板仪(型号:2104,马萨诸塞州沃尔瑟姆的珀金埃尔默公司)读取平板。

[0270] Karpas-422活力测定中抑制剂的GI₅₀测量

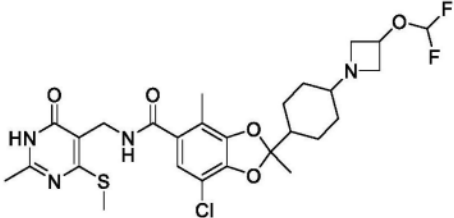
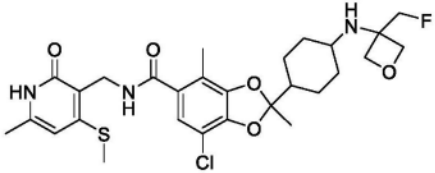
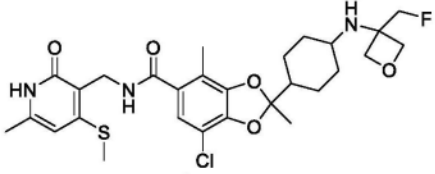
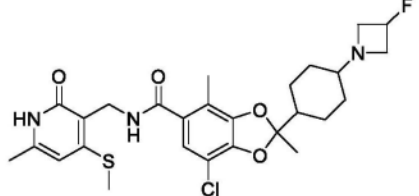
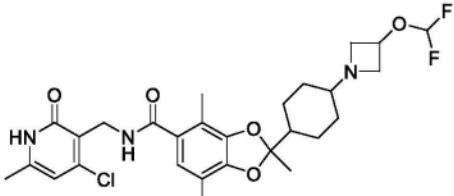
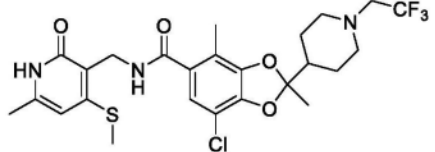
[0271] Karpas-422细胞系从DSMZ(德国布伦瑞克(Braunschweig,Germany))获得,并使其在RPMI-1640培养基中生长。所有培养基均含有10%胎牛血清(FBS)和1%青霉素/链霉素(英杰公司(Invitrogen))。将每孔20K细胞接种到96孔化合物涂覆的板上。每4天将细胞分裂并以原始接种密度(基于DMSO孔计数)接种到含有新鲜EZH2抑制剂的平板中。在第8天,通过Cell Titer-Glo荧光细胞活力测定法(Promega)评估相对细胞数。使用GraphPad Prism 5进行曲线拟合,并报告了GI₅₀值。数据如表5所示。

[0272] 表5:

[0274]

<p>实例 6—对映体 1 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>			
 <p>实例 6—对映体 2 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>	140	4.2	53
 <p>实例 7—对映体 1 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>	8,600		
 <p>实例 7—对映体 2 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>	120		12
 <p>实例 8 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>	39	0.52	5.0
 <p>实例 9 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>	54	0.61	3.7

[0275]

 <p>实例 10 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>	202	1.9	20
 <p>实例 11 (单一对映体; 几何异构体 1)</p>	140	1.3	8.6
 <p>实例 11 (单一对映体; 几何异构体 2)</p>	180	1.7	
 <p>实例 12 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>	92	0.59	4.4
 <p>实例 13 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>	84	0.81	9.7
 <p>实例 14—对映体 1 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>	37	1.4	

$$[0280] \quad y = v_s t + \frac{v_i - v_s}{k_{obs}} (1 - e^{-k_{obs}t}) + \text{背景}$$

[0281] 其中y是形成的产物,t是反应时间, v_i 是初始速度, v_s 是稳态速度,并且 k_{obs} 是从曲线的初始速度相到曲线的稳态速度相转变的速率常数。在拟合稀释反应进度数据时, v_s 被约束为拟合到对照反应进度数据的直线的斜率。然后将拟合值 k_{obs} 转化为停留时间:

$$[0282] \quad \tau = \frac{[EI] - \frac{1}{K_i} [E][I]}{k_{obs}[EI]}$$

[0283] 其中 τ 为停留时间, K_i 为抑制常数,[EI]为酶-抑制剂复合物的计算平衡浓度,[E]为游离酶的计算平衡浓度,[I]为游离抑制剂的计算平衡浓度。

[0284] MDCK测定中抑制剂的细胞渗透率测量

[0285] 细胞培养:将MDCK II细胞(从荷兰癌症研究所(Netherlands Cancer Institute)的Piet Borst获得)以 2.5×10^5 细胞/mL接种到96孔BD插入系统中的聚乙烯膜(PET)上,直至4-7天为止,以形成融合细胞单层。

[0286] 实验程序:用运输缓冲液(HBSS,含10mM HEPES,pH为7.4)将测试化合物和参考化合物(纳多洛尔、美托洛尔和地高辛)从储备溶液稀释至浓度为 $2\mu\text{M}$ ($<1\%$ DMSO),并涂于细胞单层的顶端(A)侧或基底外侧(B)侧。用P-gp抑制剂(GF120918, $10\mu\text{M}$)一式两份测定了试验化合物从A到B方向或从B到A方向的渗透。也在使用/不使用P-gp抑制剂(GF120918, $10\mu\text{M}$)的情况下对 $10\mu\text{M}$ 地高辛从A到B方向或B到A方向进行了测试,而在不使用P-gp抑制剂(GF120918, $10\mu\text{M}$)一式两份的情况下对 $2\mu\text{M}$ 纳多洛尔和美托洛尔从A到B方向进行了测试。在饱和湿度下以 5% CO_2 将平板在 CO_2 培养箱中于 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 下温育2.5小时,不摇动。此外,还测定了每种化合物的流出比。基于分析物/IS的峰面积比,通过LC/MS/MS分析对测试化合物和参考化合物进行了定量。运输测定后,应用荧光黄排斥测定确定细胞单层完整性。从顶端室和基底外侧室中取出缓冲液,然后分别在运输缓冲液中加入 $75\mu\text{L}$ $100\mu\text{M}$ 荧光黄,在顶端室和基底外侧室中加入 $250\mu\text{L}$ 运输缓冲液。以 5% CO_2 和 95% 相对湿度将平板在 37°C 下温育30分钟,不摇动。温育30分钟后,从顶端侧取出 $20\mu\text{L}$ 荧光黄样品,然后加入 $60\mu\text{L}$ 运输缓冲液。然后从基底外侧侧取出 $80\mu\text{L}$ 荧光黄样品。用分子装置M2e读板仪在 $425/528\text{nm}$ (激发/发射)测量荧光黄的相对荧光单位(RFU)。

[0287] 数据分析:表观渗透率系数P表观(cm/s)使用以下公式计算:

$$[0288] \quad P_{\text{表观}} = (C_r/dt) \times V_r / (A \times C_0)$$

[0289] 其中 dC_r/dt 是受体室内化合物随时间的变化的累积浓度($\mu\text{M/s}$); V_r 是受体室中的溶液体积(顶端侧 0.075mL ,基底外侧侧 0.25mL);A是运输的表面积,即单层的面积为 0.0804cm^2 ; C_0 是供体室中的初始浓度(μM)。

[0290] 流出比使用以下等式计算:

$$[0291] \quad \text{流出比} = P_{\text{表观}}(\text{BA}) / P_{\text{表观}}(\text{AB})$$

[0292] 使用以下等式计算回收量百分比:

$$[0293] \quad \text{回收量}\% = 100 \times [(V_r \times C_r) + (V_d \times C_d)] / (V_d \times C_0)$$

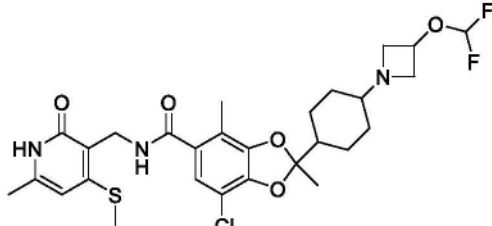
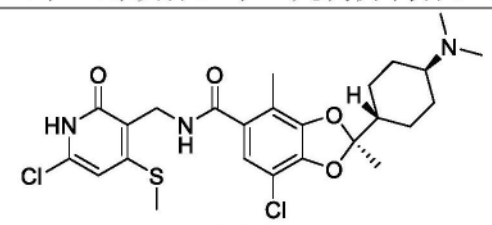
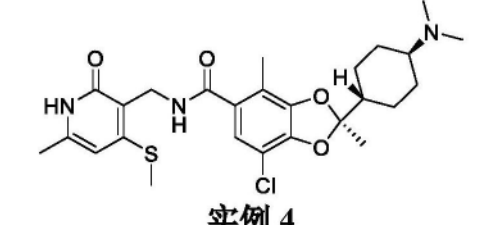
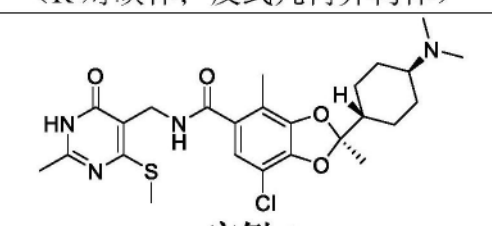
[0294] 其中 V_d 是供体室的体积(顶端侧 0.075mL ,基底外侧侧 0.25mL); C_d 和 C_r 分别是供体室和受体室中运输化合物的最终浓度。

[0295] 基底外侧孔中荧光黄的百分比使用以下等式计算：

$$[0296] \quad \text{荧光黄}\% = \frac{V_{\text{基底外侧}} \times \text{RFU}_{\text{基底外侧}}}{V_{\text{顶端}} \times \text{RFU}_{\text{顶端}} + V_{\text{基底外侧}} \times \text{RFU}_{\text{基底外侧}}} \times 100$$

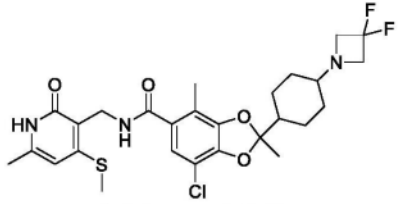
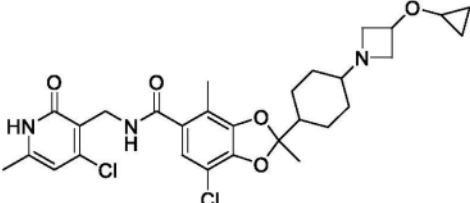
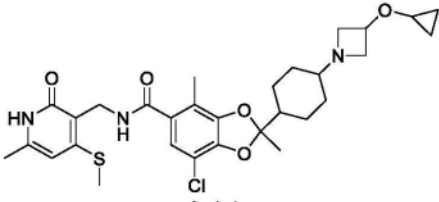
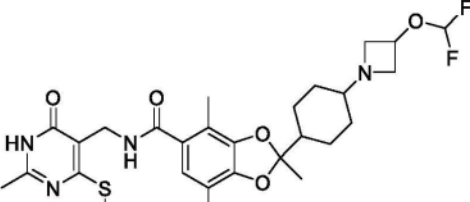
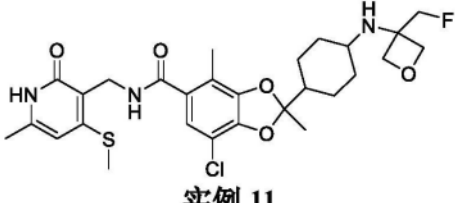
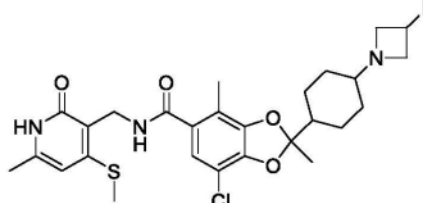
[0297] 其中 $\text{RFU}_{\text{顶端}}$ 和 $\text{RFU}_{\text{基底外侧}}$ 分别是顶端孔和基底外侧孔中荧光黄的相对荧光单位值； $V_{\text{顶端}}$ 和 $V_{\text{基底外侧}}$ 分别是顶端孔和基底外侧孔的体积(0.075mL和0.25mL)。荧光黄百分比应该小于2。数据如表6所示。

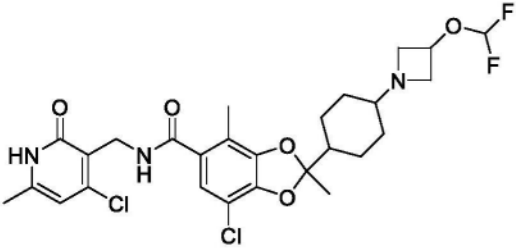
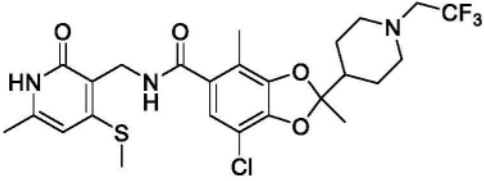
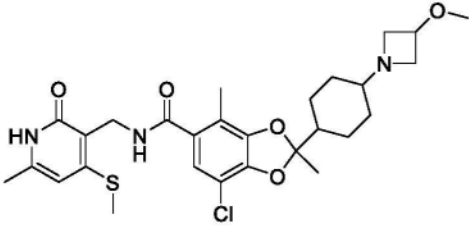
[0298] 表6

实例	EZH2 停留时间 (小时)	细胞渗透率 (10^{-6} cm/s) /流出比
 <p>实例 1 (单一对映体, 单一几何异构体)</p>	> 100	5.6/0.79
 <p>实例 3</p>		3.7/1.2
 <p>实例 4 (R 对映体; 反式几何异构体)</p>		0.62/2.3
 <p>实例 5</p>		1.1/3.6

[0299]

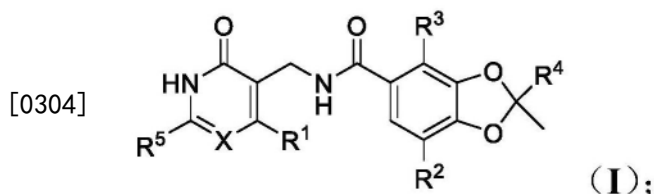
[0300]

<p>(R 对映体; 反式几何异构体)</p>  <p>实例 7—对映体 2 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>	33	12/0.71
 <p>实例 8 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>	> 100	6.1/0.9
 <p>实例 9 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>	> 100	3.8/1.4
 <p>实例 10 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>	37	6.5/0.69
 <p>实例 11 (单一对映体; 几何异构体 1)</p>		5.3/1.3
 <p>实例 12</p>	> 100	6.3/1.2

	(单一对映体; 单一几何异构体)		
	 <p>实例 13 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>	48	8.9/0.64
[0301]	 <p>实例 14—对映体 2 (单一对映体)</p>		13/0.56
	 <p>实例 17 (单一对映体; 单一几何异构体)</p>	> 100	2.5/1.8

[0302] 本申请还涉及以下项目。

[0303] 1. 一种式I的化合物:



[0305] 或其药学上可接受的盐, 其中:

[0306] R^1 是卤素、 $-S(C_1-C_4)$ 烷基、 $-S(C_3-C_7)$ 环烷基或 $-S$ [卤代 (C_1-C_4) 烷基];

[0307] X是CH或N;

[0308] R^2 是氢、卤素、 (C_1-C_4) 烷基或卤代 (C_1-C_4) 烷基;

[0309] R^3 是卤素、 (C_1-C_4) 烷基或卤代 (C_1-C_4) 烷基;

[0310] R^4 是 (C_3-C_7) 环烷基或4到7元杂环基, 其中的每一个任选地被1到3个选自卤素、 (C_1-C_4) 烷基、卤代 (C_1-C_4) 烷基、 (C_1-C_4) 烷氧基、卤代 (C_1-C_4) 烷氧基和 $-NR^aR^b$ 的基团取代;

[0311] R^a 是氢、 (C_1-C_4) 烷基或卤代 (C_1-C_4) 烷基;

[0312] R^b 是 (C_1-C_4) 烷基、卤代 (C_1-C_4) 烷基或4到7元杂环基, 其中所述杂环基任选被1到3个选自卤素、 (C_1-C_4) 烷基、卤代 (C_1-C_4) 烷基、 (C_1-C_4) 烷氧基和卤代 (C_1-C_4) 烷氧基的基团取代; 或

[0313] R^a 和 R^b 与其所附接的氮原子一起形成任选地被1到3个选自卤素、 (C_1-C_4) 烷基、卤

代(C₁-C₄)烷基和-OR^c的基团取代的4到7元杂环基;

[0314] R^c是(C₁-C₄)烷基、卤代(C₁-C₄)烷基或(C₃-C₇)环烷基;并且

[0315] R⁵是卤素、(C₁-C₄)烷基或卤代(C₁-C₄)烷基。

[0316] 2. 根据项目1所述的化合物,其中:

[0317] R¹是卤素或-S(C₁-C₄)烷基;

[0318] R²是卤素;

[0319] R³是(C₁-C₄)烷基;

[0320] R⁴是(C₃-C₇)环烷基或(C₄-C₇)杂环基,其中的每一个任选地被1到2个选自卤代(C₁-C₄)烷基和-NR^aR^b的基团取代;

[0321] R^a是氢或(C₁-C₄)烷基;

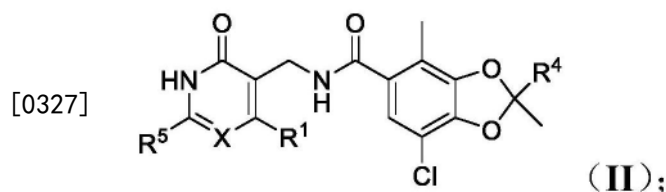
[0322] R^b是(C₁-C₄)烷基或(C₄-C₇)杂环基,其中所述杂环基任选地被卤代(C₁-C₄)烷基取代;或

[0323] R^a和R^b与其所附接的氮原子一起形成任选地被1到3个选自卤素和-OR^c的基团取代的4到7元含氮杂环基;

[0324] R^c是(C₁-C₄)烷基、卤代(C₁-C₄)烷基或(C₃-C₇)环烷基;并且

[0325] R⁵是卤素或(C₁-C₄)烷基。

[0326] 3. 根据项目1或2所述的化合物,其中所述化合物具有式II:



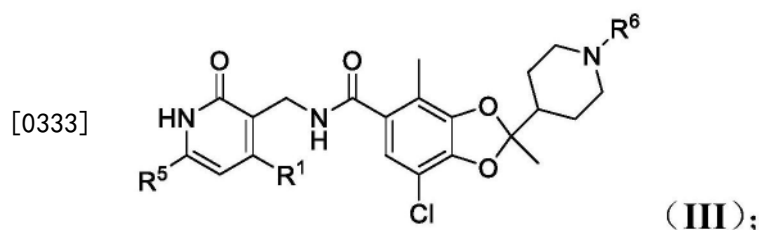
[0328] 或其药学上可接受的盐。

[0329] 4. 根据项目1到3中任一项所述的化合物,其中R¹是氯代。

[0330] 5. 根据项目1到4中任一项所述的化合物,其中R¹是-SCH₃。

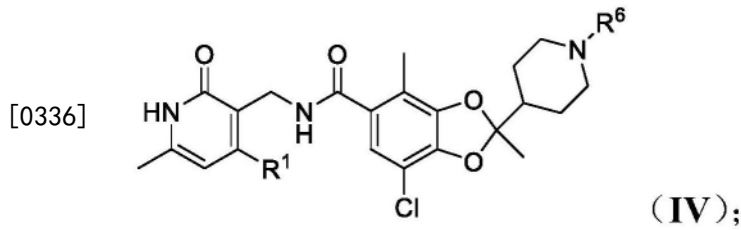
[0331] 6. 根据项目1到5中任一项所述的化合物,其中R⁴是环己基或哌啶基,其中的每一个任选地被1到2个选自卤代(C₁-C₄)烷基和-NR^aR^b的基团取代。

[0332] 7. 根据项目1到6中任一项所述的化合物,其中所述化合物具有式III:



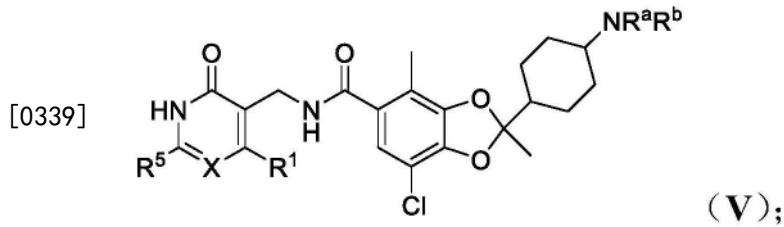
[0334] 或其药学上可接受的盐,其中R⁶是卤代(C₁-C₄)烷基。

[0335] 8. 根据项目1到7中任一项所述的化合物,其中所述化合物具有式IV:



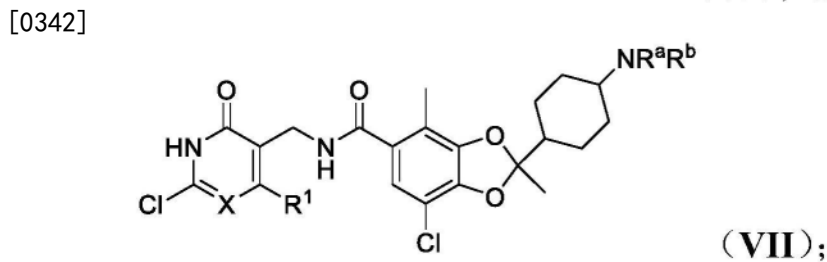
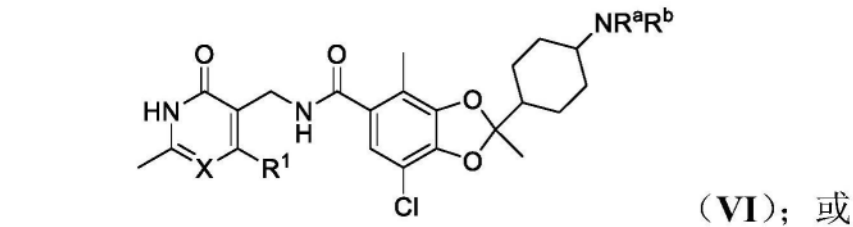
[0337] 或其药学上可接受的盐。

[0338] 9. 根据项目1到6中任一项所述的化合物,其中所述化合物具有式(V):



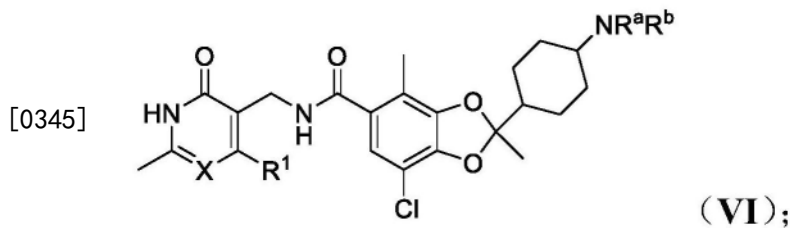
[0340] 或其药学上可接受的盐。

[0341] 10. 根据项目1到6和9中任一项所述的化合物,其中所述化合物具有以下式:



[0343] 或其药学上可接受的盐。

[0344] 11. 根据项目1到6、9和10中任一项所述的化合物,其中所述化合物具有以下式:



[0346] 或其药学上可接受的盐。

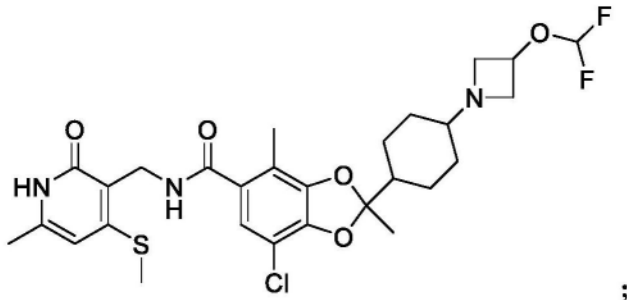
[0347] 12. 根据项目1到6和9到11中任一项所述的化合物,其中R^b是(C₁-C₄)烷基或氧杂环丁烷基,其中所述氧杂环丁烷基任选地被卤代(C₁-C₄)烷基取代;或R^a和R^b与其所附接的氮原子一起形成任选地被卤素或-OR^c取代的氮杂环丁烷基。

[0348] 13. 根据项目1到6和9到12中任一项所述的化合物,其中R^a是氢或甲基;并且R^b是甲基或氧杂环丁烷基,其中所述氧杂环丁烷基任选地被-CH₂F或-CF₃取代。

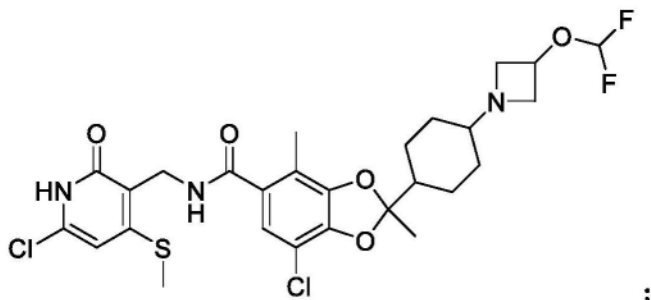
[0349] 14. 根据项目1到6和9到13中任一项所述的化合物,其中R^a和R^b与其所附接的氮原

子一起形成任选地被1到2个氟代或-OR^c取代的氮杂环丁烷基；并且R^c是-CH₃、-CHF₂或环丙基。

[0350] 15. 根据项目1所述的化合物,其中所述化合物具有以下式:

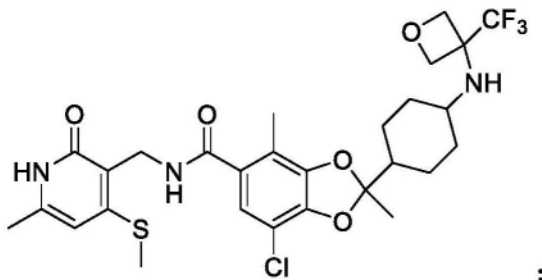


;

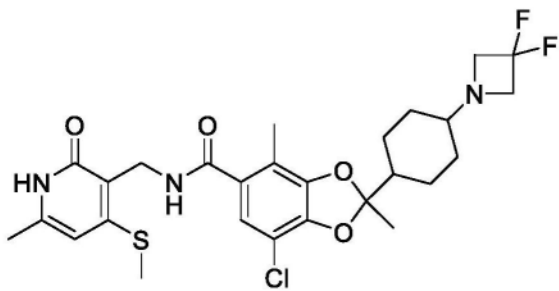


;

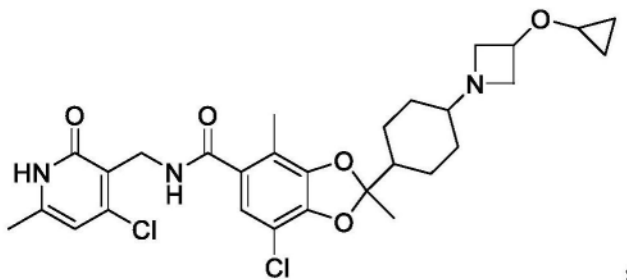
[0351]



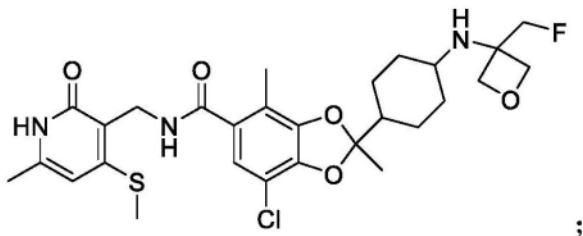
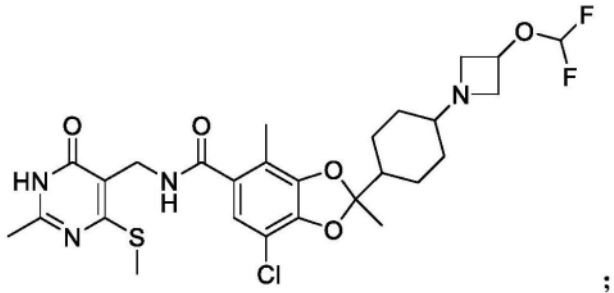
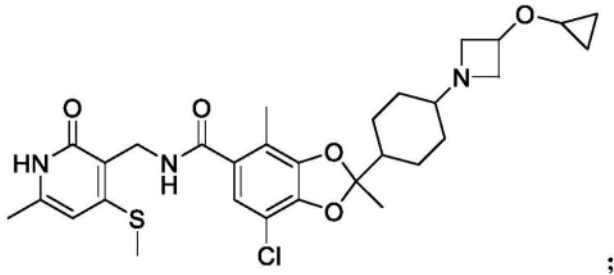
;



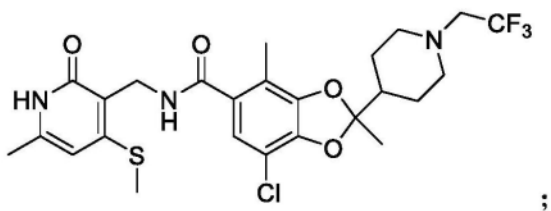
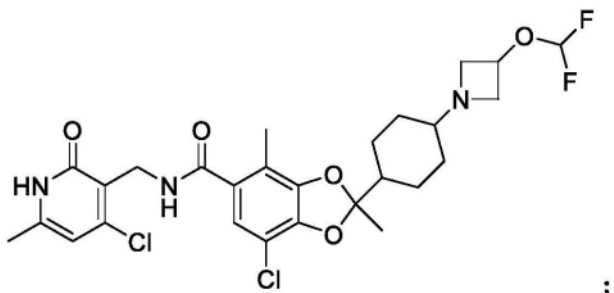
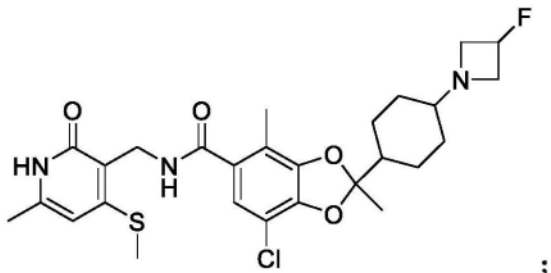
;

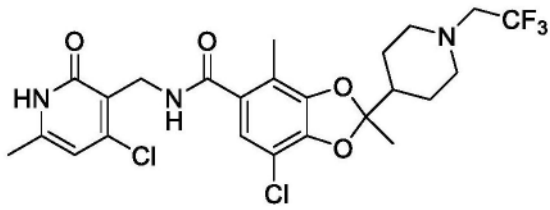


;



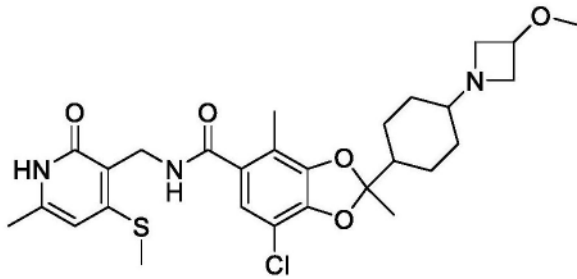
[0352]



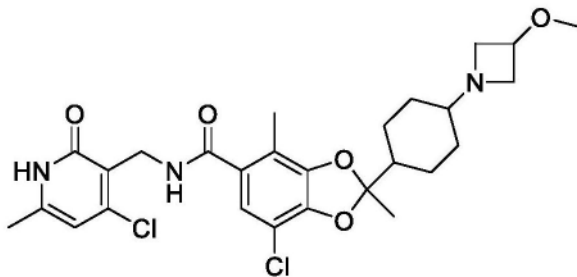


;

[0353]



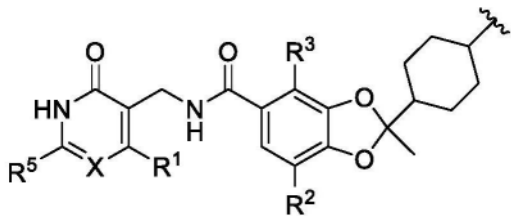
; 或



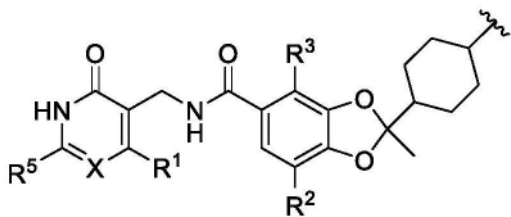
;

[0354] 或其药学上可接受的盐。

[0355] 16. 根据项目1到6和9到15中任一项所述的化合物,其中基团

和NR^aR^b围绕所述环己基反式定向。

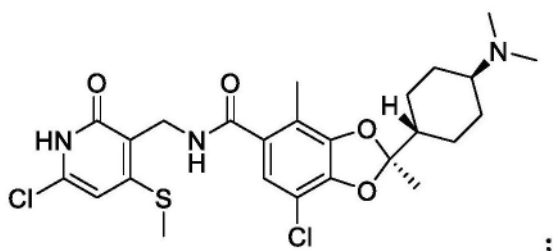
[0356] 17. 根据项目1到6和9到15中任一项所述的化合物,其中基团

和NR^aR^b围绕所述环己基顺式定向。

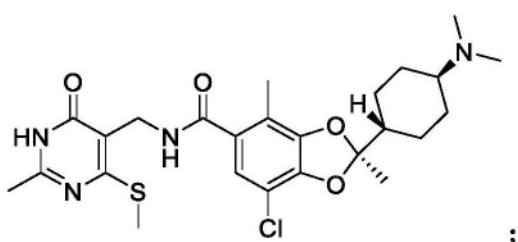
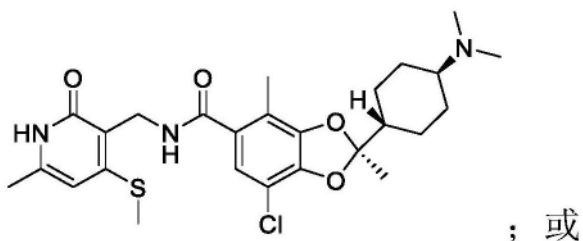
[0357] 18. 根据项目1到17中任一项所述的化合物,其中1,3-二氧戊环基的手性中心的立体化学构型为R。

[0358] 19. 根据项目1到17中任一项所述的化合物,其中1,3-二氧戊环基的手性中心的立体化学构型为S。

[0359] 20. 根据项目1所述的化合物,其中所述化合物具有以下式:



[0360]



[0361] 或其药学上可接受的盐。

[0362] 21. 一种药物组合物,其包括根据项目1到20中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐;以及药学上可接受的载体。

[0363] 22. 一种用于治疗受试者的癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的根据项目1到20中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或根据项目21所述的组合物。

[0364] 23. 根据项目22所述的方法,其中所述癌症选自乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、肾细胞癌、多形性胶质母细胞瘤、膀胱癌、黑色素瘤、支气管癌、淋巴瘤、胆管肉瘤、多发性骨髓瘤、肺癌、卵巢癌和肝癌。