



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111484493 A

(43)申请公布日 2020.08.04

(21)申请号 202010405942.3

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2013.01.30

C07D 471/04(2006.01)

(30)优先权数据

1201566.5 2012.01.30 GB

(62)分案原申请数据

201380014717.5 2013.01.30

(71)申请人 沃纳利斯(R&D)有限公司

地址 英国伯克郡

(72)发明人 斯蒂芬·斯托克斯

克里斯多佛·约翰·格雷厄姆

斯图亚特·克里斯多佛·雷

艾玛·杰妮·斯蒂芬尼亞克

(74)专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理

有限责任公司 11204

代理人 王达佐 何可

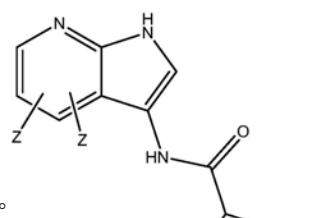
权利要求书2页 说明书103页

(54)发明名称

1H-吡咯并[2,3-b]吡啶衍生物及它们作为
激酶抑制剂的用途

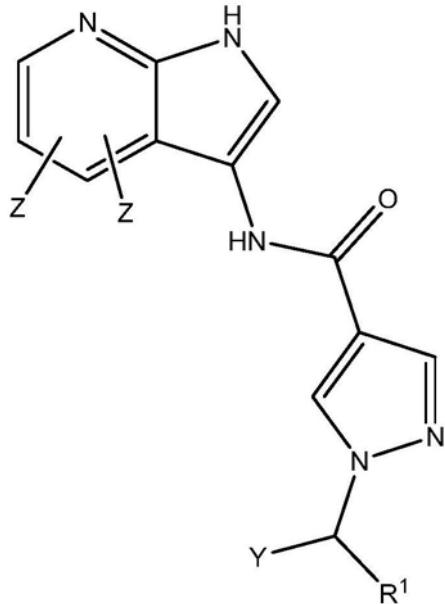
(57)摘要

本发明涉及1H-吡咯并[2,3-b]吡啶衍生物
及它们作为激酶抑制剂的用途,具体涉及(I)的
化合物及其治疗用途,在(I)中的术语Z、Y和R¹如



在权利要求中定义。

1. 式I的化合物或其药物可接受的盐：



(I)

其中：

各个Z独立地为 $(Alk)_n-R_n-(Alk)_n-X$ ，

其中各个Alk独立地为 $(C_1$ 至 C_{12}) 亚烷基或 $(C_2$ 至 C_{12}) 亚烯基，其各自可为任选取代的；

各个n独立地为0或1；

各个R独立地为任选取代的亚芳基或杂亚芳基，或任选取代的环亚烷基或杂环、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-(C=O)-$ 、 $-(C=S)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-C(=O)NR^A-$ 、 $-C(=S)NR^A-$ 、 $-SO_2NR^A-$ 、 $-NR^AC(=O)-$ 、 $-NR^ASO_2-$ 或 $-NR^A-$ ，其中 R^A 为氢、 C_1-C_6 烷基、 $-C_1-C_6$ 烷基(环烷基)、 C_1-C_6 烷基(C_1-C_6 烷氧基)或 C_1-C_6 烷氧基；

各个X独立地为卤素、 $-H$ 、 $-OR^A$ 、 $NR^A R^A$ 任选取代的芳基或杂芳基，或任选取代的环烷基或杂环、 CN 或 $C(CN)_aH_b$ ，其中a为1、2或3，且b为 $(3-a)$ ；

Y为任选取代的芳基或杂芳基，或任选取代的环烷基或杂环；且

R^1 为H或 C_1-C_6 烷基。

2. 如权利要求1所述的化合物，其中 R^A 为氢或 C_1-C_6 烷基。

3. 如前述权利要求中任一权利要求所述的化合物，其中至少一个Z为H、卤素、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的含氮杂环、 C_1 至 C_6 烷基或 OR^A 。

4. 如权利要求3所述的化合物，其中一个Z基团为H、卤素、 OR^A 或 C_1 至 C_6 烷基，并且另一个Z基团为任选取代的芳基或任选取代的含氮杂环。

5. 如权利要求3或4所述的化合物，其中所述含氮杂环被 $NR^A R^A$ 取代。

6. 如权利要求1或2所述的化合物，其中至少一个Z为 $(Alk)_n$ -任选取代的亚芳基- $(Alk)_n$ -任选取代的杂环。

7. 如前述权利要求中任一权利要求所述的化合物，其中 R^1 为H。

8. 如前述权利要求中任一权利要求所述的化合物，其中 C_1 至 C_6 烷基包括环烷基部分。

9. 如前述权利要求中任一权利要求所述的化合物,其中Y为被C₁至C₆烷基、0R^A、卤素或C₁至C₆烷氧基任选取代的苯基或杂芳基。

10. 如权利要求9所述的化合物,其中Y为吡啶基、吡咯基、苯基或被甲基、0-甲基、溴或氯取代的苯基。

1H-吡咯并[2,3-b]吡啶衍生物及它们作为激酶抑制剂的用途

[0001] 相关申请

[0002] 本申请是于2016年10月21日提交的申请日为2013年1月30日、发明名称为“1H-吡咯并[2,3-b]吡啶衍生物及它们作为激酶抑制剂的用途”的第201610920724.7号中国专利申请的分案申请。第201610920724.7号中国专利申请是申请日为2013年1月30日、发明名称为“1H-吡咯并[2,3-b]吡啶衍生物及它们作为激酶抑制剂的用途”的第201380014717.5号中国专利申请的分案申请。

发明领域

[0003] 本发明涉及具有检测点激酶1 (checkpoint kinase,CHK1) 抑制活性的新型1H-吡咯并[2,3-b]吡啶衍生物,涉及这类化合物通过抑制异常细胞增殖在与癌症的治疗有关的医学中的用途,还涉及包含这类化合物的药物组合物。

[0004] 发明背景

[0005] DNA破坏性细胞毒化学治疗剂和电离辐射是目前癌症治疗方案的主要方式。这些疗法是有效的,尤其当以组合形式给药时,对抗许多肿瘤是有效的并且对于可预见未来的癌症治疗可保持护理标准。这些药物由于其作用机理而具有局限性,从而限制它们的整体功效。由于这些试剂以DNA为靶向,因此它们对任何细胞尤其是那些积极复制的细胞有效,因此缺乏肿瘤细胞特异性。通常在最高耐受剂量 (MTD) 下给药,这导致了治疗指数狭窄并且对正常组织有毒,尤其是具有诸如胃肠道、血液系统和其他器官的积极分裂细胞组分的那些组织。获得性耐药性或固有耐药性可能进一步限制这些药物的有效性,使得许多患者的肿瘤对药物有耐药性。许多机理可能促成获得性耐药性,其包括活性药物的细胞水平减少(通过增加代谢、解毒或主动外排)、DNA修复增强、p53损失或凋亡信号衰减。

[0006] 尽管通过多种机制(例如,拓扑异构酶抑制、直接DNA烷基化或脱氧核苷酸还原)可诱导DNA破坏,但诸如顺铂、伊立替康或吉西他滨的DNA破坏性细胞毒化学治疗剂激活了细胞周期检测点。存在细胞周期检测点以保护DNA复制和分化的保真度,并且确保细胞周期事件的正确时机。由于DNA不能被替换,因此这些路径在保护基因组完整性和预防癌症的发病中是关键的。检测点在细胞周期的多个阶段存在并且能在应答DNA损伤的细胞周期的G1-、S-或G2-阶段期间被激活。或者,有丝分裂检测点被与双极纺锤体连接的不正确染色体激活并且存在以确保准确的染色体分离并且免受非整倍性。在哺乳动物细胞中,关键效应蛋白是p53和检测点激酶Chk1和Chk2。很大比例的人癌症对一些形式的p53-路径有缺陷,由此缺乏功能性G1检测点。因此,这些人肿瘤高度依赖Chk激酶以保护它们应答DNA破坏性损伤。

[0007] DNA损伤剂连同电离辐射激活DNA损伤检测点并且诱导G1、S中或位于G2-M转换处的细胞周期阻滞。诸如识别双链断裂的Mre11复合物 (Mre11、Rad50和Nbs1) 或者识别复制压力的Rad17和Rad9-Hus1-Rad1复合物的损伤传感器激活中心转导激酶ATM和ATR。反过来,这些激酶直接激活效应物激酶Chk1和Chk2。Chk1和Chk2负向调节磷酸酶的Cdc25家族,由此阻止细胞周期进程以及直接调节可增加损伤修复的修复蛋白。这允许细胞暂停复制,修复受损DNA,然后重新开始复制。生物化学和遗传研究证实对于S-和G2-M检测点Chk1是必需和不

不可缺少的。

[0008] 因此,Chk1抑制代表在p53通路有缺陷癌症中增加DNA-破坏性化学治疗剂的致死率的新的治疗策略。废止剩余的完整检测点应该导致增加的肿瘤细胞死亡。Chk1抑制剂表明在体外和一系列人癌症的临床前模型二者的一系列细胞毒化学治疗药物(包括吉西他滨、伊立替康和紫杉醇)的加强(potentiation)。该“合成致死率”方法应该增加化学治疗药物的治疗活性而不增加全身毒性,因为正常细胞应该始终由它们的功能p53通路所保护。因此,Chk1抑制剂具有结合广泛的细胞毒化学治疗剂的潜力用于治疗很多人类癌症。已经开始使用目前经历阶段I/II临床评价结合吉西他滨、伊立替康和阿糖胞苷的几种Chk1的小分子抑制剂(GDC0425、GDC0575、LY2603618和LY2606368)的该方法的临床试验。包括AZD7762、PF00477736、SCH900776和XL844的其他药物已经经历阶段I试验但这些药物的开发随后被停止。

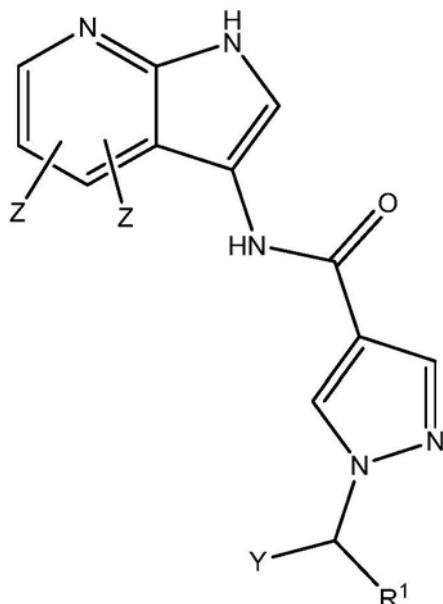
[0009] WO2009140320和WO2009089352公开了吡咯并吡啶作为CHK1和/或CHK2抑制剂。

[0010] 现在已经发现一些1H-吡咯并[2,3-b]吡啶衍生物显示作为CHK1抑制剂的功效。

[0011] 发明概述

[0012] 本发明涉及一类可用作CHK1抑制剂的取代的1H-吡咯并[2,3-b]吡啶化合物,例如用于治疗癌症。母核(core)1H-吡咯并[2,3-b]吡啶,其在4和5位被任选地取代并且在第三位(the three position)具有连接被取代的吡唑基的酰胺基的基团,该母核(template)表现出本发明所涉及的化合物的主要特征。

[0013] 本发明是式I的化合物或其药物可接受的盐:



(I)

[0015] 其中:

[0016] 各个Z独立地为(A1k)_n-R_n-(A1k)_n-X,

[0017] 其中各个A1k独立地为(C₁至C₁₂)亚烷基或(C₂至C₁₂)亚烯基,其各自可为任选取代的;

- [0018] 各个n独立地为0或1；
- [0019] 各个R独立地为任选取代的亚芳基或杂亚芳基，或任选取代的环亚烷基或杂环、-0-、-S-、-(C=O)-、-(C=S)-、-SO₂-、-C(=O)O-、-C(=O)NR^A-、-C(=S)NR^A-、-SO₂NR^A-、-NR^AC(=O)-、-NR^ASO₂-或-NR^A-，其中R^A为氢、C₁-C₆烷基、-C₁-C₆烷基(环烷基)、C₁-C₆烷基(C₁-C₆烷氧基)或C₁-C₆烷氧基；
- [0020] 各个X独立地为卤素、-H、-OR^A、NR^AR^A、任选取代的芳基或杂芳基，或任选取代的环烷基或杂环、CN或C(卤素)_aH_b，其中a为1、2或3，且b为(3-a)；
- [0021] Y为任选取代的芳基或杂芳基，或任选取代的环烷基或杂环；且
- [0022] R¹为H或C₁-C₆烷基。
- [0023] 优选实施方案的描述
- [0024] 术语
- [0025] 如本文使用的，术语“(C_a-C_b) 烷基”，其中a和b是整数，是指具有a至b个碳原子的直链或支链烷基基团。因此，当a为1且b为6时，例如，术语包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基和正己基。
- [0026] 如本文使用的，术语“(C_a-C_b) 亚烷基”，其中a和b是整数，是指具有a至b个碳原子和两个不饱和价电子(unsatisfied valence)的饱和烃链，例如-CH₂-、-CH₂CH₂-、-CH₂CH₂CH₂-、-CH₂CH(CH₃)CH₂-和-CH₂C(CH₃)₂CH₂-。为了避免疑义，应当理解二价支链(C_a-C_b) 亚烷基包括其中烃链的一个碳是环烷基环的环碳(即，是螺环中心)的那些链。
- [0027] 如本文使用的，术语“环烷基”是指具有3-8个碳原子的饱和碳环基团并且包括例如，环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。
- [0028] 如本文使用的，术语“碳环”是指其环原子都是碳的单环基团或双环基团，并且包括单环芳基、环烷基和环烯基，条件是没有具有大于8个环成员的单独的环存在。“碳环”基团包括单桥接或多桥接环烷基。
- [0029] 如本文使用的，术语“芳基”是指单环、二环或三环碳环芳香族基团。这类基团的例示是苯基、联苯基和萘基。
- [0030] 如本文使用的，术语“杂芳基”是指包含一个或多个选自S、N和O的杂原子的单环、二环或三环芳香族基团。这类基团的例示是噻吩基、苯并噻吩基、呋喃基、苯并呋喃基、吡咯基、咪唑基、苯并咪唑基、噻唑基、苯并噻唑基、异噻唑基、苯并异噻唑基、吡唑基、噁唑基、苯并噁唑基、异噁唑基、苯并异噁唑基、异噻唑基、三唑基、苯并三唑基、噻二唑基、噁二唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基、吲哚基和吲唑基。
- [0031] 如本文使用的，无限制术语“杂环基”或“杂环”包括上述定义的“杂芳基”，并且特别地是指包含一个或多个选自S、N和O的杂原子的单环、二环或三环非芳香族基团，是指由与另一这类基团共价连接的包含一个或多个这类杂原子的单环非芳香族基团组成的基团，或者是指单环碳环基团，并且是指单桥接或多桥接的包含一个或多个选自S、N和O的杂原子的单环、二环或三环非芳香族基团。这类基团的例示是吡咯基、呋喃基、噻吩基、哌啶基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、噻二唑基、吡唑基、吡啶基、吡咯烷基、嘧啶基、吗啉基、哌嗪基、吲哚基、吗啉基、苯并呋喃基、吡喃基、异噁唑基、苯并咪唑基、亚甲基二氧基苯基、亚乙基二氧基苯基、马来酰亚胺和琥珀酰亚胺基。
- [0032] 除非上下文对其另外规定，如应用于本文任何部分的术语“取代的”是指被至少一

一个取代基取代,取代基例如选自 (C₁–C₆) 烷基、(C₁–C₆) 烷氧基、羟基、羟基 (C₁–C₆) 烷基、巯基、巯基 (C₁–C₆) 烷基、(C₁–C₆) 烷硫基、卤素 (包括氟和氯)、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、腈 (–CN)、氨基、苯基、–COOH、–COOR^A、–COR^A、–SO₂R^A、–CONH₂、–SO₂NH₂、–CONHR^A、–SO₂NHR^A、–CONR^AR^B、–SO₂NR^AR^B、–NH₂、–NHR^A、–NR^AR^B、–OCONH₂、–OCONHR^A、–OCONR^AR^B、–NHCOR^A、–NH^BCOOR^A、–NR^BCOOR^A、–NHSO₂OR^A、–NR^BSO₂OR^A、–NHCONH₂、–NR^ACONH₂、–NHCONHR^B、–NR^ACONHR^B、–NHCONR^AR^B 或–NR^ACONR^AR^B, 其中R^A和R^B独立地为 (C₁C₆) 烷基, 或者R^A和R^B当与相同氮连接时可形成诸如吗啉基、哌啶基或哌嗪基环的环氨基环。“任选的取代基”或“取代基”可为前述取代基中的一种。

[0033] 如本文使用的,术语“盐”包括碱加成盐、酸加成盐和季铵盐。其为酸性的本发明的化合物可与以下物质形成盐 (包括药学或兽医学上可接受的盐): 诸如碱金属氢氧化物 (例如氢氧化钠和氢氧化钾), 碱土金属氢氧化物 (例如氢氧化钙、钡和镁), 有机碱 (例如N-乙基哌啶、二苄基胺等)。其为碱性的那些化合物 (I) 可与以下物质 (包括药物或兽医可接受的盐) 形成盐: 无机酸 (例如, 诸如盐酸或氢溴酸的氢卤酸、硫酸、硝酸或磷酸等) 以及有机酸 (例如与乙酸、酒石酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、苹果酸、水杨酸、柠檬酸、甲磺酸和对甲苯磺酸等)。

[0034] 对于适合的盐的综述, 参见Stahl与Wermuth编撰的Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use by (药物盐手册: 性质、选择和用途) (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002)。

[0035] 预期以水合物和溶剂化物的形式分离本发明的化合物。术语“溶剂化物”在本文用于描述包含本发明的化合物和化学计量的一种或多种药物可接受的溶剂分子 (例如乙醇) 的分子复合物。当所述溶剂为H₂O时使用术语“水合物”。本文对式 (I) 的化合物的任何引用应被理解为包括这类水合物和溶剂化物。

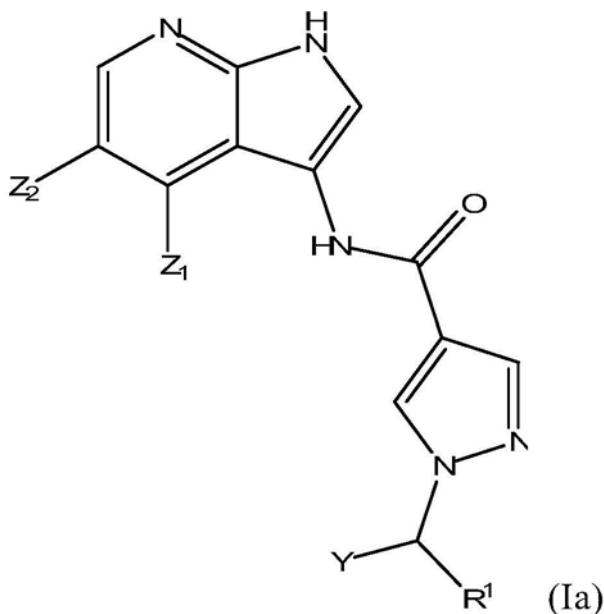
[0036] 由于存在不对称原子或旋转限制, 本发明所涉及的化合物可以一种或多种立体异构体形式而存在, 其能以在各个手性中心处具有R或S立体化学的许多立体异构体形式而存在或者以在各个手性轴处具有R或S立体化学的阻旋异构体 (atropisomere) 的形式存在。本发明包括所有这样的对映异构体和非对映异构体及其混合物。

[0037] 所谓的式 (I) 化合物的“前药”也在本发明的范围内。因此, 式 (I) 化合物的一些衍生物其自身的药理学活性可能很少或没有药理学活性, 当给予至身体内或在身体上时能被转化为具有期望活性的式 (I) 的化合物, 例如通过水解断裂。这类衍生物称为“前药”。关于前药的用途的进一步信息可在以下文献中获悉: Pro-drugs as Novel Delivery Systems (作为新递送系统的前药), 第14卷, ACS Symposium Series (T. Higuchi和W. Stella) 和 Bioreversible Carriers in Drug Design (药物设计中的生物可逆载体), Pergamon Press, 1987 (E. B. Roche编撰, American Pharmaceutical Association)。

[0038] 例如, 可通过使用本领域技术人员已知的一些部分作为“前部分”置换式 (I) 化合物中存在的适合官能团 (functionality) 来制备本发明的前药, 所述“前部分”如例如在 Design of Prodrugs by H. Bundgaard (H. Bundgaard的前药设计) (Elsevier, 1985) 中描述的。

[0039] 还包括在本发明范围内的是式 (I) 化合物的代谢物, 即经药物给药在体内形成的化合物。代谢物的一些实例包括

- [0040] (i) 在式(I)的化合物包含甲基的情况下,其羟基甲基衍生物(-CH₃->-CH₂OH) ;
- [0041] (ii) 在式(I)的化合物包含烷氧基的情况下,其羟基衍生物(-OR->-OH) ,
- [0042] (iii) 在式(I)的化合物包含叔氨基的情况下,其仲氨基衍生物(-NR¹R²->-NHR¹或-NHR²) ,
- [0043] (iv) 在式(I)的化合物包含仲氨基的情况下,其伯衍生物(-NHR¹->-NH₂) ,
- [0044] (v) 在式(I)的化合物包含苯基部分的情况下,其苯酚衍生物(-Ph->-PhOH) ,和
- [0045] (vi) 在式(I)的化合物包含酰胺基团的情况下,其羧酸衍生物(-CONH₂>COOH) 。
- [0046] 优选实施方案
- [0047] 现在进一步描述化合物(I)中存在的可变取代基。在进一步描述中应当理解,任何公开的取代基或取代基种类可以与任何其他公开的取代基种类形式的任何结合而存在。可变取代基的特殊实例包括在本文实施例的化合物中存在的那些。
- [0048] 优选地,基团“alk”为(C₁至C₆)亚烷基或(C₂至C₆)亚烯基。
- [0049] 优选地,至少一个“Z”基团位于吡啶环的4-位或5-位上。更优选地,至少一个Z基团位于环的5-位上。最优选地,Z基团位于环的4-和5-位上。
- [0050] 优选地,X和/或Z为溶解基团(solubilising group)。许多这类溶解基团是药物化学中已知的。溶解基团的实例为吗啉基、哌啶基、哌嗪基、吡咯烷基、乙基氨基、异丙基氨基、二乙基氨基、环己基氨基、环戊基氨基、甲氧基乙基氨基、哌啶-4-基、N-乙酰基哌嗪基、甲基磺酰基氨基、硫代吗啉基、硫代吗啉基二氧化物、4-羟基乙基哌啶基和4-羟基哌啶基。
- [0051] 在优选的实施方案中,Y为任选被C₁至C₆烷基、OR^A、卤素或C₁至C₆烷氧基取代的杂芳基或苯基。更优选地,Y为吡啶基、吡咯基、苯基或被甲基、0-甲基、溴或氯取代的苯基。
- [0052] 在另外优选的实施方案中,Y为任选取代的芳基。优选地,Y为任选取代的苯基。更优选地,Y为未取代的苯基。
- [0053] 优选地,本发明的化合物根据特殊实例中的一个或其药物可接受的盐。
- [0054] R¹优选为H或Me。更优选地,R¹为H。
- [0055] R^A优选为H或C₁-C₆烷基。在一个实施方案中,R^A为诸如-CH₂-环丙基、-CH₂-环戊基或-CH₂-环己基的-C₁-C₆烷基(环烷基)。
- [0056] 在一个实施方案中,至少一个Z为H、卤素、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的含氮杂环、C₁至C₆烷基或OR^A。在一个特别优选的实施方案中,含氮杂环上的任选取代基为NR^{AR^A}。
- [0057] 在优选的实施方案中,一个Z基团为H、卤素、OR^A或C₁至C₆烷基,并且另一个Z基团为任选取代的芳基或任选取代的含氮杂环。在一个特别优选的实施方案中,含氮杂环上的任选取代基为NR^{AR^A}。
- [0058] 在优选的实施方案中,Z为(Alk)_n-任选取代的亚芳基-(Alk)_n-任选取代的杂环。
- [0059] 在替代的优选实施方案中,Z为任选取代的杂芳基或任选取代的含氮杂环。
- [0060] 在优选的实施方案中,本发明的化合物依据式(Ia)或其药物可接受的盐:



[0061]

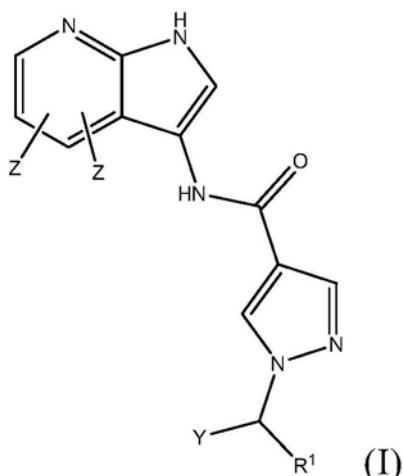
[0062] 其中：

[0063] Z_1 和 Z_2 独立地为 $(Alk)_n-R_n-(Alk)_n-X$ ；且[0064] Alk 、 n 、 R 、 X 、 Y 、 R^A 和 R^1 如在权利要求1中定义的。[0065] 优选地，在式(Ia)的化合物中， Z_1 为卤素、苯基、 OR^A 或 C_1 至 C_6 烷基，且 Z_2 为任选取代的芳基或任选取代的杂环。[0066] 优选地，在式(Ia)的化合物中， Z_2 为卤素、 CF_3 、环丙基、苯基、 OR^A 或 C_1 至 C_6 烷基，且 Z_1 为任选取代的芳基或任选取代的杂环。

[0067] 优选地，当在式(I)或(Ia)的化合物的上下文中使用时，术语“杂环”或“含氮杂环”代表任选取代的哌啶、哌嗪或吗啉环。

[0068] 在一个实施方案中， Z_1 为 $R-X$ 且 Z_2 为 X 。[0069] 在替代的实施方案中， Z_2 为 $R-X$ 且 Z_1 为 X 。[0070] 在另外的实施方案中， Z_1 为 $R-Alk-X$ 且 Z_2 为 X 。[0071] 在另外的实施方案中， Z_2 为 $R-Alk-X$ 且 Z_1 为 X 。

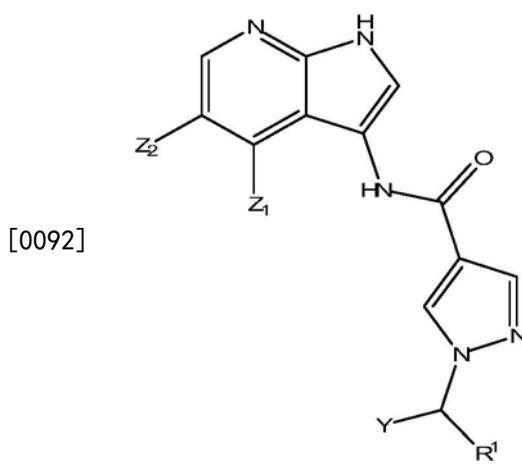
[0072] 在一个实施方案中，本申请提供式I的化合物或其药物可接受的盐：



[0073]

[0074] 其中：

- [0075] 各个Z独立地为 $(\text{Alk})_n-\text{R}_n-(\text{Alk})_n-\text{X}$ ，
- [0076] 其中各个Alk独立地为(C₁至C₁₂) 亚烷基或(C₂至C₁₂) 亚烯基，其各自可为任选取代的；
- [0077] 各个n独立地为0或1；
- [0078] 各个R独立地为任选取代的亚芳基或杂亚芳基，或任选取代的环亚烷基或杂环、-0-、-S-、-(C=O)-、-(C=S)-、-SO₂-、-C(=O)O-、-C(=O)NR^A-、-C(=S)NR^A-、-SO₂NR^A-、-NR^AC(=O)-、-NR^ASO₂-或-NR^A-，其中R^A为氢、C₁-C₆烷基、-C₁-C₆烷基(环烷基)、C₁-C₆烷基(C₁-C₆烷氧基)或C₁-C₆烷氨基；
- [0079] 各个X独立地为卤素、-H、-OR^A、NR^AR^A任选取代的芳基或杂芳基，或任选取代的环烷基或杂环、CN或C(卤素)_aH_b，其中a为1、2或3，且b为(3-a)；
- [0080] Y为任选取代的芳基或杂芳基，或任选取代的环烷基或杂环；且
- [0081] R¹为H或C₁-C₆烷基。
- [0082] 在一个实施方案中，其中R^A为氢或C₁-C₆烷基。
- [0083] 在一个实施方案中，其中至少一个Z为H、卤素、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的含氮杂环、C₁至C₆烷基或OR^A。
- [0084] 在一个实施方案中，其中一个Z基团为H、卤素、OR^A或C₁至C₆烷基，并且另一个Z基团为任选取代的芳基或任选取代的含氮杂环。
- [0085] 在一个实施方案中，其中所述含氮杂环被NR^AR^A取代。
- [0086] 在一个实施方案中，其中至少一个Z为 $(\text{Alk})_n$ -任选取代的亚芳基- $(\text{Alk})_n$ -任选取代的杂环。
- [0087] 在一个实施方案中，其中R¹为H。
- [0088] 在一个实施方案中，其中C₁至C₆烷基包括环烷基部分。
- [0089] 在一个实施方案中，其中Y为被C₁至C₆烷基、OR^A、卤素或C₁至C₆烷氨基任选取代的苯基或杂芳基。
- [0090] 在一个实施方案中，其中Y为吡啶基、吡咯基、苯基或被甲基、0-甲基、溴或氯取代的苯基。
- [0091] 在一个实施方案中，其具有式Ia或其药物可接受的盐：



- [0093] 其中：
- [0094] Z₁和Z₂独立地为 $(\text{Alk})_n-\text{R}_n-(\text{Alk})_n-\text{X}$ ；且

[0095] A1k、n、R、X、Y、R^A和R¹为如在前述实施方案中所定义的。

[0096] 在一个实施方案中,其中Z₁为卤素、苯基、OR^A或C₁至C₆烷基,且Z₂为任选取代的芳基或任选取代的杂环。

[0097] 在一个实施方案中,其中Z₂为卤素、CF₃、环丙基、苯基、OR^A或C₁至C₆烷基,且Z₁为任选取代的芳基或任选取代的杂环。

[0098] 在一个实施方案中,其中所述杂环或含氮杂环为任选取代的哌啶、哌嗪或吗啉。

[0099] 在一个实施方案中,本申请提供下面列举的化合物或其药物可接受的盐之一:

[0100] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺;

[0101] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺;

[0102] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(4-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺;

[0103] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-苯基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺;或

[0104] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-哌啶-1-基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

[0105] N-{4-[(3R)-3-氨基哌啶-1-基]-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-1-苄基-1H-吡唑-4-甲酰胺

[0106] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-吡咯烷-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0107] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-4-((R)-3-甲基氨基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0108] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-4-((R)-3-乙基氨基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0109] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-4-((R)-3-羟基-吡咯烷-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0110] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-4-((R)-3-羟基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0111] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-4-(3-二甲基氨基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0112] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-溴-4-[(R)-3-(环戊基甲基-氨基)-哌啶-1-基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

[0113] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-4-((R)-3-异丁基氨基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0114] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-溴-4-[(R)-3-(2,2-二甲基-丙基氨基)-哌啶-1-基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

[0115] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-溴-4-[(R)-3-(环丙基甲基-氨基)-哌啶-1-基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

[0116] 1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0117] 1-(4-氯-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0118] 1-(4-甲基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯

并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0119] 1-(4-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0120] 1-吡啶-2-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0121] 1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0122] 1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0123] N-{4-[(3R)-3-氨基哌啶-1-基]-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-1-苄基-1H-吡唑-4-甲酰胺

[0124] 1-(4-甲基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0125] 1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0126] 1-(4-氯-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0127] 1-(4-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0128] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-吡咯烷-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0129] N-{4-[(3R)-3-氨基哌啶-1-基]-5-环丙基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-1-苄基-1H-吡唑-4-甲酰胺

[0130] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-羟基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0131] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0132] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0133] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-哌啶-1-基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0134] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-[(2-甲氧基-乙基)-甲基-氨基]-甲基)-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0135] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-吡咯烷-1-基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0136] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-[4-(4-氟-哌啶-1-基甲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0137] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-二甲基氨基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

- [0138] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[4-(3-氟-哌啶-1-基甲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺
- [0139] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-甲基氨基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0140] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-吗啉-4-基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0141] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[4-(3,3-二氟-吡咯烷-1-基甲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺
- [0142] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(3-二甲基氨基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0143] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(3-氟-哌啶-1-基甲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺
- [0144] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(3,3-二氟-哌啶-1-基甲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺
- [0145] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(3-氮杂环丁烷-1-基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0146] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(3,3-二氟-氮杂环丁烷-1-基甲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺
- [0147] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(5-吡咯烷-1-基甲基-噻吩-2-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0148] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(5-吡咯烷-1-基甲基-噻吩-3-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0149] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[5-(3,3-二氟-氮杂环丁烷-1-基甲基)-噻吩-3-基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺
- [0150] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(3-吡咯烷-1-基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0151] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0152] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-苯基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0153] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氰基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0154] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(2-吗啉-4-基-乙氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺
- [0155] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(3-二甲基氨基-2,2-二甲基-丙氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺
- [0156] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(3-吗啉-4-基-丙氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺
- [0157] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(1-甲基-哌啶-3-基甲氧基)-苯基]-1H-吡咯并

[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

[0158] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(氧杂环丁烷-3-基氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

[0159] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

[0160] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((3R,4R)-3-氨基-4-环丙基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0161] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(2-氟-4-吡咯烷-1-基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0162] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(3-吡咯烷-1-基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0163] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0164] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-吡啶-4-基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

[0165] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-吡啶-3-基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

[0166] 1-(3-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

[0167] 1-(2-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

[0168] 1-(2-氰基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

[0169] 1-(1H-吡咯-2-基甲基)-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

[0170] 1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

[0171] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

[0172] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

[0173] 1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

[0174] 1-(3-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

[0175] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-((S)-1-甲基-吡咯烷-2-基甲氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

[0176] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(1-甲基-哌啶-3-基氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

[0177] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[4-(3-二甲基氨基-丙氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

[0178] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[1-(2-二乙基氨基-乙基)-1H-吡唑-4-基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

[0179] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-吡唑-4-基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

[0180] 1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0181] 1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

- [0182] 1-吡啶-2-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0183] 1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0184] 1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0185] 1-吡啶-2-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0186] 1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0187] 1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0188] 1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0189] 1-(3-甲基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0190] 1-(3-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0191] 1-(2-氯-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0192] 1-(2-甲基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0193] 1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0194] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0195] 1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺
- [0196] 1-吡啶-2-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺。
- [0197] 在一个实施方案中,本申请提供药物组合物,其包含前述实施方案中的化合物和一种或多种药物可接受的载体和/或赋形剂。
- [0198] 在一个实施方案中,本申请的化合物或组合物用于治疗。
- [0199] 在一个实施方案中,本申请的化合物或组合物用于治疗应答蛋白激酶活性的抑制的疾病状态。
- [0200] 在一个实施方案中,本申请提供治疗患有应答蛋白激酶活性的抑制的疾病状态的哺乳动物的方法,其包括给予所述哺乳动物有效抑制哺乳动物中的蛋白激酶活性的量的前述实施方案中的化合物。
- [0201] 在本申请的化合物、组合物或方法中,所述蛋白激酶可为CHK1。

[0202] 在本申请的化合物或方法中,应答蛋白激酶或CHK1活性的抑制的疾病状态可选自癌症和自身免疫性疾病。

[0203] 在本申请的化合物或方法中,自身免疫性疾病可为器官移植排斥反应、狼疮、多发性硬化症、类风湿性关节炎和骨关节炎。

[0204] 在前述实施方案中,本申请的化合物或方法可用于治疗癌症。

[0205] 在前述实施方案中,本申请的化合物或方法可用于通过结合放射疗法或化学疗法的给药治疗癌症。

[0206] 效用

[0207] 可针对人或动物个体更优选地哺乳动物,更优选地人个体使用本发明。

[0208] 如本文使用的,本文所使用的术语“治疗”包括预防性治疗。

[0209] 本发明的化合物可单独地用于治疗癌症和诸如器官移植排斥反应、狼疮、多发性硬化症、类风湿性关节炎和骨关节炎的自身免疫疾病。已经证实CHK1的抑制剂在提高目前DNA-损伤诱导性放射疗法或用于癌症治疗的化学治疗方案中表现出效用(utility)。可结合放射疗法或一种或多种细胞毒或细胞生长抑制剂药物或诱导细胞毒性或细胞生长抑制的药物来使用式(I)的化合物用于治疗癌症。本发明的化合物可与其他组分在相同的药物配方中或者可在用于同时或相继给药的单独配方中。

[0210] 化学治疗剂、放射治疗剂和其他活性和辅助剂的非限制性实例在下文阐述。

[0211] (i) 烷基化剂

[0212] (ii) 氮芥类(nitrogen mustards),例如

苯丁酸氮芥
环磷酰胺
异环磷酰胺
甲二氯二乙胺(mechlorethamine)
美法仑

[0213] (iii) 亚硝基脲,例如

卡莫司汀(BCNU)
洛莫司汀(CCNU)
司莫司汀(甲基-CCNU)

[0214] (iv) 乙烯亚胺/甲基-三聚氰胺,例如

六甲基三聚氰胺(HMM/安非他明)
三乙烯三聚氰胺(TEM)
三氯乙烯硫代磷酰胺(噻替哌)

[0215] (v) 烷基磺酸酯,诸如白消安。

[0216] (vi) 三嗪,诸如达卡巴嗪(DTIC)。

[0217] (vii) 抗代谢药,诸如叶酸类似物,例如

甲氨蝶呤
培美曲塞(多靶点抗叶酸剂)
三甲曲沙

[0222]	(viii) 嘧啶类似物,例如
[0223]	2,2"-二氟脱氧-胞昔 5-氮杂胞昔 5-氟尿嘧啶 胞嘧啶阿拉伯糖昔(araC/阿糖孢昔) 氟脱氧尿昔 吉西他滨
[0224]	(ix) 嘌呤类似物,例如
[0225]	2-氯脱氧腺昔(克拉屈滨/2-CdA) 2"-脱氧柯福霉素(喷司他丁) 6-巯基嘌呤 6-硫代鸟嘌呤 硫唑嘌呤 赤式(erthyro)羟基壬基-腺嘌呤(EHNA) 磷酸氟达拉滨
[0226]	(x) 类型I拓扑异构酶抑制剂,例如
[0227]	喜树碱 伊立替康 拓扑替康
[0228]	(xi) 生物反应调节剂,诸如G-CSF和GM-CSF。
[0229]	(xii) 分化试剂,诸如视黄酸衍生物。
[0230]	(xiii) 激素和拮抗剂。
[0231]	(xiv) 肾上腺皮质激素/拮抗剂,例如
[0232]	氨鲁米特 地塞米松 强的松和等同物
[0233]	(xv) 孕激素,例如
[0234]	己酸羟基孕酮 醋酸甲羟孕酮 醋酸甲地孕酮
[0235]	(xvi) 雌激素,例如
[0236]	二乙基己烯雌酚 炔雌醇/等同物
[0237]	(xvii) 抗雌激素,诸如它莫西芬。
[0238]	(xviii) 雄激素,例如
[0239]	丙酸睾酮 氟甲睾酮/等同物

[0240]	(xix) 抗雄激素, 例如
[0241]	氟他胺(Flutimide) 促性腺激素—释放激素类似物 亮丙瑞林
[0242]	(xx) 非甾体抗雄激素。
[0243]	(xxi) 天然产物。
[0244]	(xxii) 抗有丝分裂药物。
[0245]	(xxiii) 紫杉烷类, 例如
[0246]	多西他赛(泰索帝) 雌莫司汀/磷酸雌莫司汀 紫杉醇 长春花碱(VLB) 长春花生物碱 长春新碱 长春瑞滨
[0247]	(xxiv) 表鬼臼脂素类(epipodophylotoxins), 诸如依托泊昔或替尼泊昔。
[0248]	(xxv) 抗生素, 例如
[0249]	放线菌素D 阿非迪霉素 博来霉素 更生霉素 柔红霉素(红比霉素) 阿霉素(阿霉素(adriamycin)) 丝裂霉素C 二轻蒽二醌去甲氧基柔红霉素 螺旋霉素(光神霉素)
[0250]	(xxvi) 酶, 诸如L-天冬酰胺酶和L-精氨酸酶。
[0251]	(xxvii) 辐射增敏剂, 例如
[0252]	5-溴去氧尿啶(5-bromodeoxyuridine) 5-碘脱氧尿苷 溴脱氧胞苷 去甲基米索硝唑 E09 依他硝唑 甲硝唑 米索硝唑 烟酰胺 尼莫拉唑

	哌莫硝唑
	RB 6145
	RSU 1069
	SR4233
[0253]	(xxviii) 铂配位复合物, 例如
[0254]	蒽醌 卡铂 顺铂 米托蒽醌 奥沙利铂
[0255]	(xxix) 取代的脲, 诸如羟基脲。
[0256]	(xxx) 甲基苄肼衍生物, 诸如N-甲基肼 (MIH) 和甲基苄肼。
[0257]	(xxxi) 肾上腺皮质抑制剂米托坦 (o, p"-DDD) 氨鲁米特。
[0258]	(xxxii) 细胞因子, 诸如干扰素 (α , β , γ) 和白介素-2。
[0259]	(xxxiii) 感光剂, 例如
[0260]	细菌叶绿素-a 苯并卟啉衍生物 血卟啉衍生物 萘酞菁 (naphthalocyanines) Npe6 pheboride-a 光敏剂 酞菁 锡初卟啉 (SnET2) 锌酞菁
[0261]	(xxxiv) 辐射, 例如
[0262]	Γ 辐射 红外辐射 微波辐射 紫外光 可见光 X-射线
[0263]	(xxxv) 分子靶向疗法
[0264]	mTOR抑制剂 PI3激酶抑制剂 MEK抑制剂 Wee1抑制剂
[0265]	最近, CHK1抑制剂在多种人类癌症中作为单一药物表现出临床前活性, 所述人癌

症包括但不限于卵巢癌、三阴乳腺癌、神经母细胞瘤、黑素瘤、胰腺癌、血癌和诸如Fanconi贫血的具有DNA修复通路中缺陷的癌症。

[0266] 应当理解,针对任何特殊患者的特异性剂量水平依赖多种因素,包括所使用的特殊化合物的活性、年龄、体重、健康状况、性别、饮食、给药时间、给药途径、排泄速率、药物组合和致病机制以及经历治疗的特殊疾病的严重程度。通常,可口服给药的制剂的适合剂量通常为0.1至3000mg,每天一次、两次或三次,或者通过输注或其他途径给予相等每日量。然而,给药的最佳剂量水平和频率通过本领域常见的临床试验决定。

[0267] 可制备本发明所涉及的化合物用于通过与它们的药代动力学性质一致的任何途径给药。可口服给予的组合物可为片剂、胶囊剂、粉末剂、颗粒剂、锭剂、液体或凝胶制剂形式,例如口服、局部或无菌肠胃外溶液剂或悬浮剂。用于口服给药的片剂和胶囊剂可为单位剂量表现形式并且可包含常规赋形剂,例如诸如糖浆、阿拉伯树胶、明胶、山梨醇、黄芪胶或聚乙烯基-吡咯烷酮的粘结剂,诸如乳糖、糖、玉米淀粉、磷酸钙、山梨醇或甘氨酸的填充剂,诸如硬脂酸镁、滑石、聚乙二醇或二氧化硅的压片润滑剂,例如土豆淀粉的崩解剂或诸如十二烷基硫酸钠的可接受的润湿剂。可根据标准制药实践熟知的方法将片剂包衣。口服液体制剂可为例如,水性或油性悬浮剂、溶液剂、乳液剂、糖浆剂或酏剂形式,或者可以用于在使用前使用H₂O或其他适合介质复原的干燥产品形式而提供。这类液体制剂可包含常规添加剂,例如诸如山梨醇、糖浆、甲基纤维素、葡萄糖浆、明胶氢化可食用脂肪的悬浮剂,诸如卵磷脂、单油酸脱水山梨糖醇酯或阿拉伯树胶的乳化剂,诸如杏仁油、分馏椰子油的非水性介质(其可包括可食用油),诸如甘油、丙二醇或乙醇的油酯,诸如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯或山梨酸的防腐剂,并且如果需要的常规调味剂或着色剂。

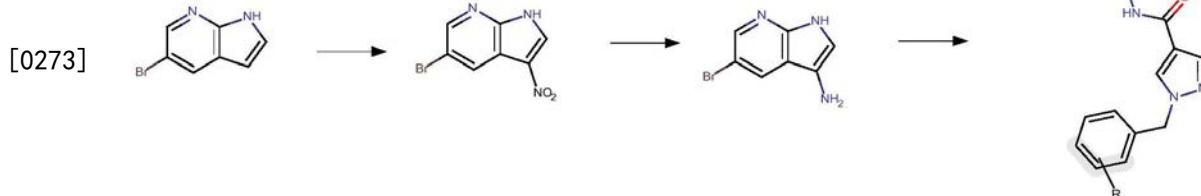
[0268] 为了局部应用于皮肤,可将药物制成乳膏、洗液或软膏。可用于药物的乳霜或软膏制剂是本领域熟知的常规制剂,例如在诸如英国药典(British Pharmacopoeia)的标准药物类参考用书中描述的。

[0269] 还可在无菌媒介中肠胃外给予活性成分。根据所使用的介质和浓度,可将药物悬浮或者溶解在介质中。有利地,能将诸如局部麻醉剂、防腐剂和缓冲剂的佐剂溶解于介质中。

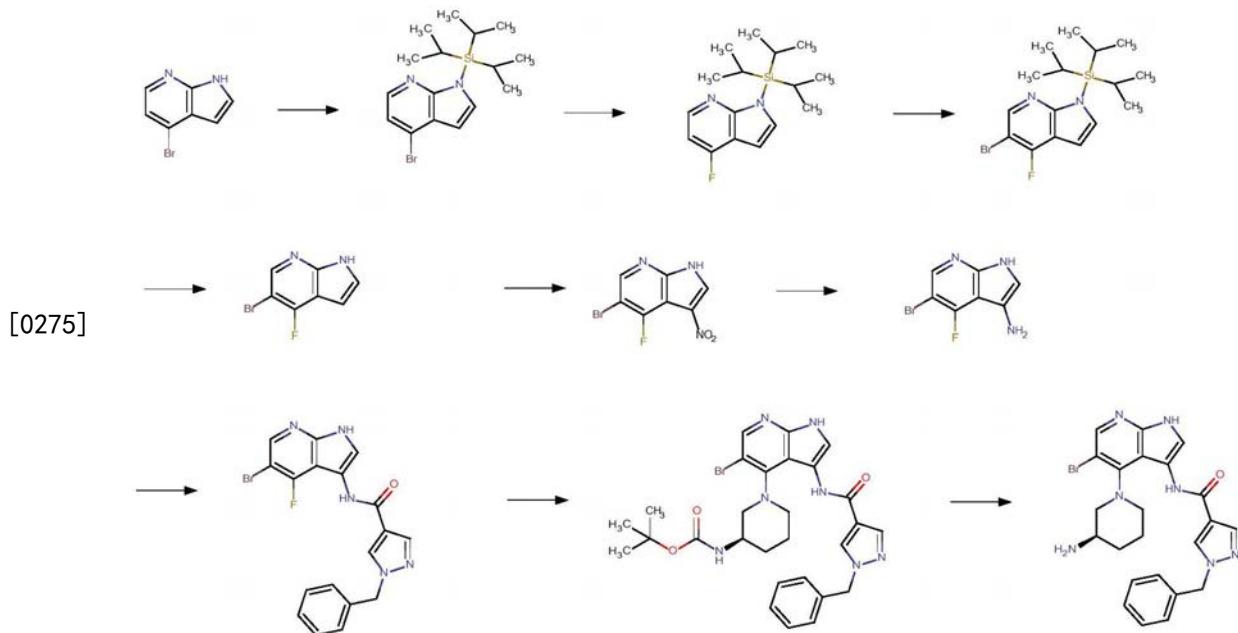
[0270] 有许多用于合成本发明所涉及的化合物(I)的合成策略,但全部根据合成有机化学家已知的已知化学。因此,能根据标准文献中描述的和本领域技术人员熟知的步骤合成式(I)的化合物。典型文献来源为“Advanced organic chemistry(高等有机化学)”,第4版(Wiley),J March;“Comprehensive Organic Transformation(综合有机转化)”,第2版(Wiley),R.C.Larock;“Handbook of Heterocyclic Chemistry(杂环化学手册)”,第2版(Pergamon),A.R.Katritzky;综述文章,诸如在“Synthesis(合成)”、“Acc.Chem.Res.”、“Chem.Rev”中发表的或通过标准文献检索在线确定的主要文献来源或来自诸如“Chemical Abstracts(化学文摘)”或“Beilstein(贝尔斯坦)”的次要来源。这类文献方法包括本文制备实施例的那些方法和与其类似的方法。

[0271] 通常,可在有机化学领域已知的制备本发明化合物的方法的实例包括在下列反应方案和步骤中。

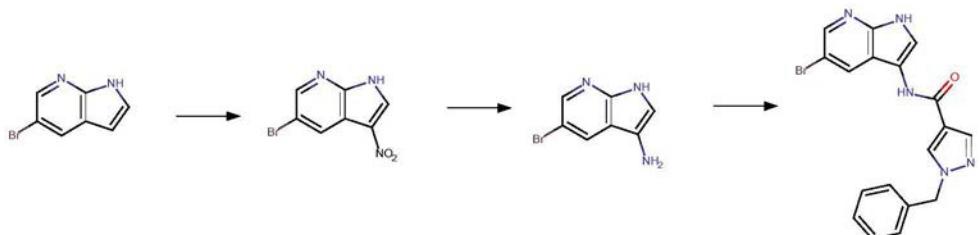
[0272] 方案1



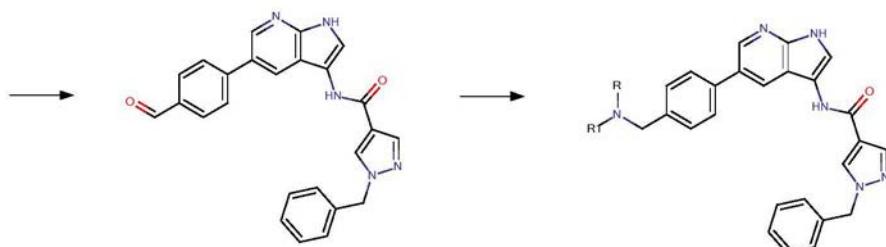
[0274] 方案2



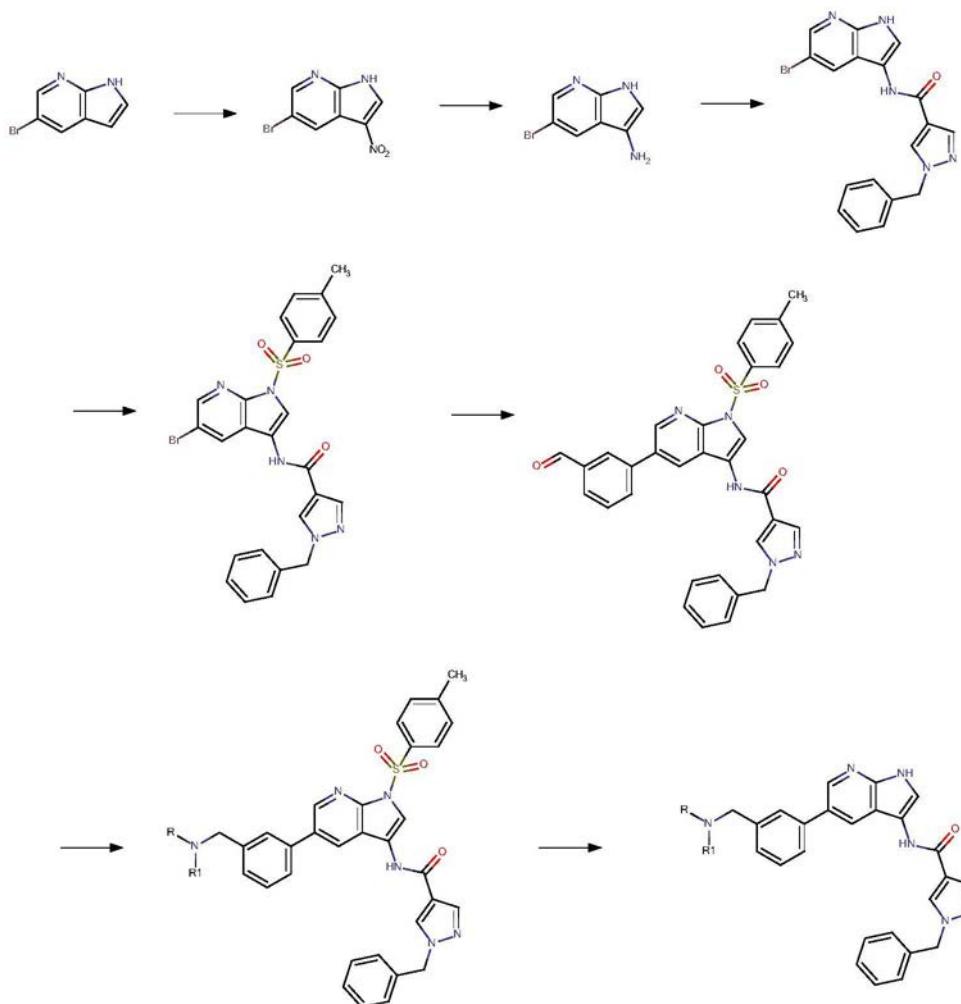
[0276] 方案3

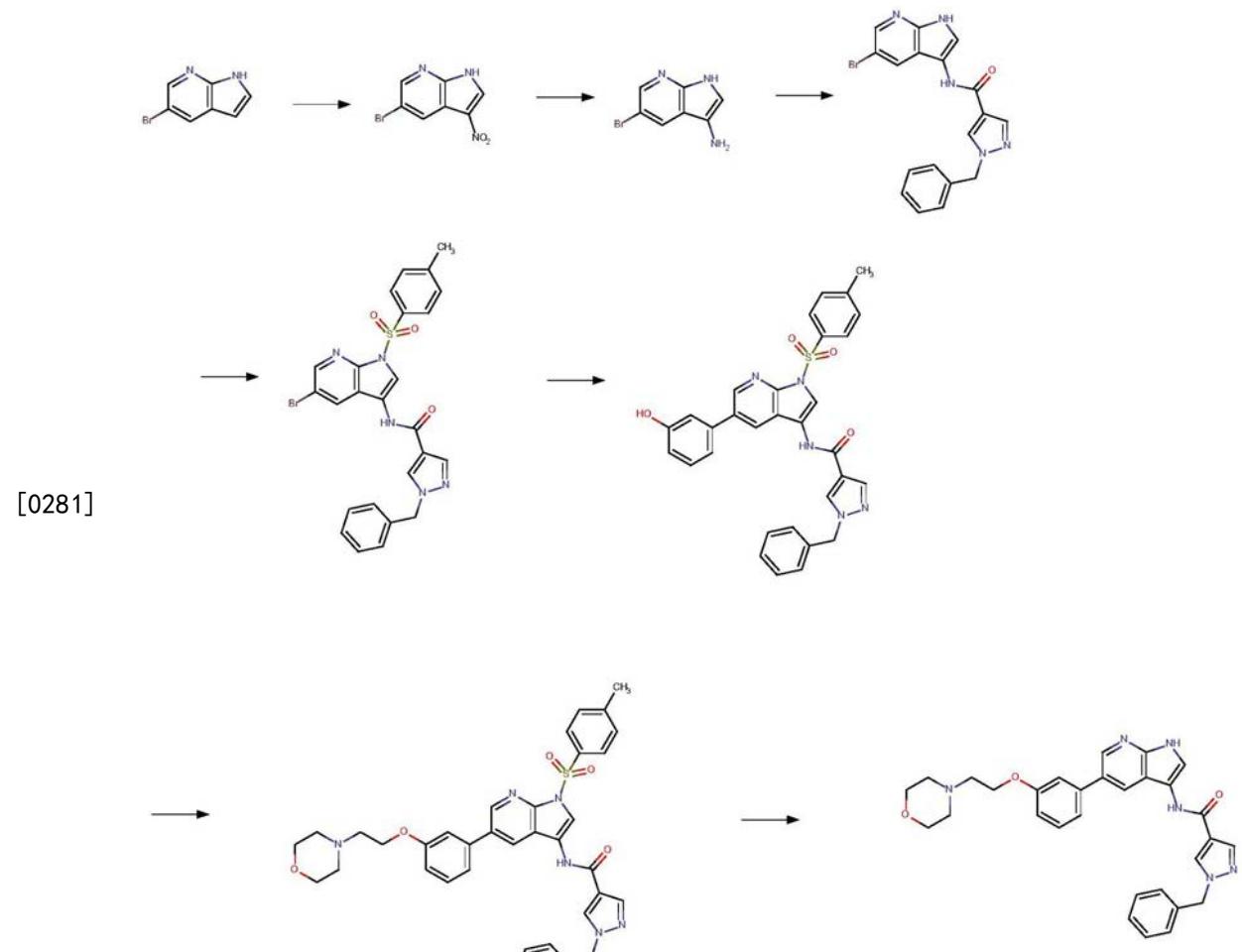


[0277]

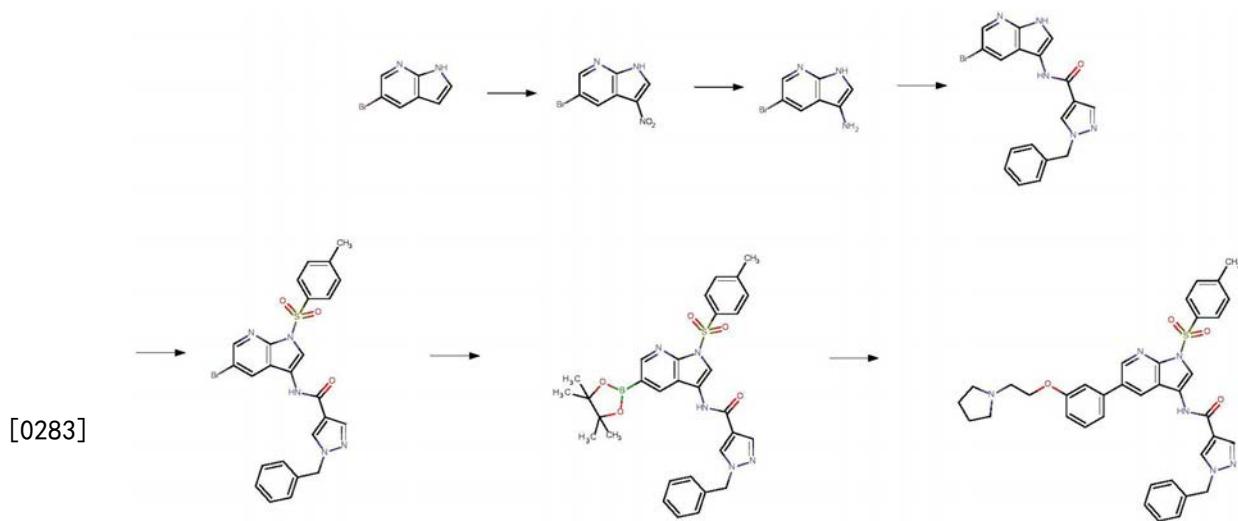


[0278] 方案4

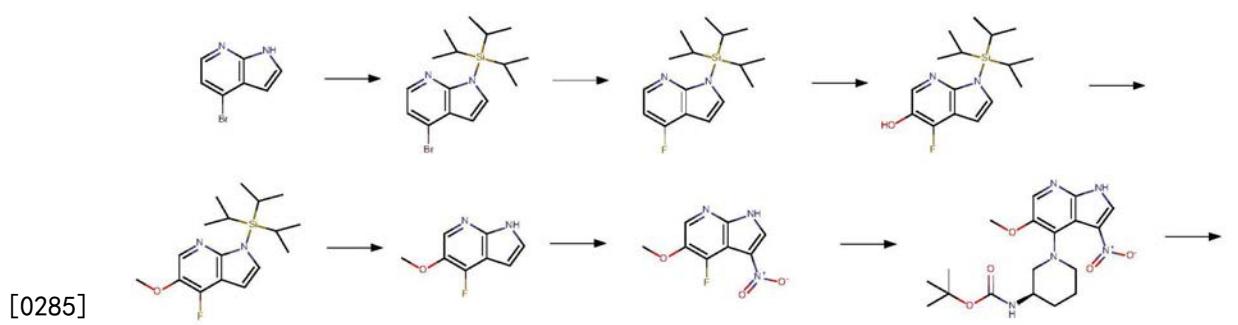




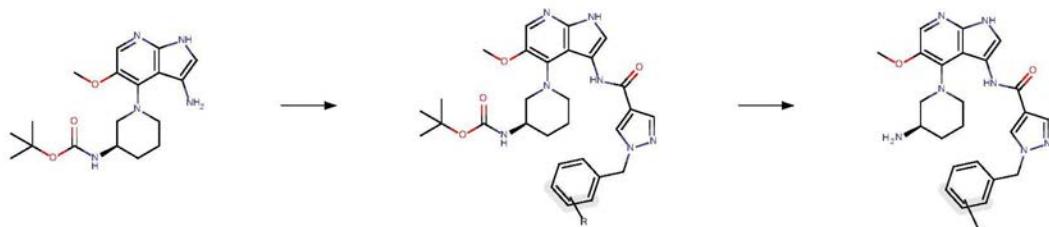
[0282] 方案6

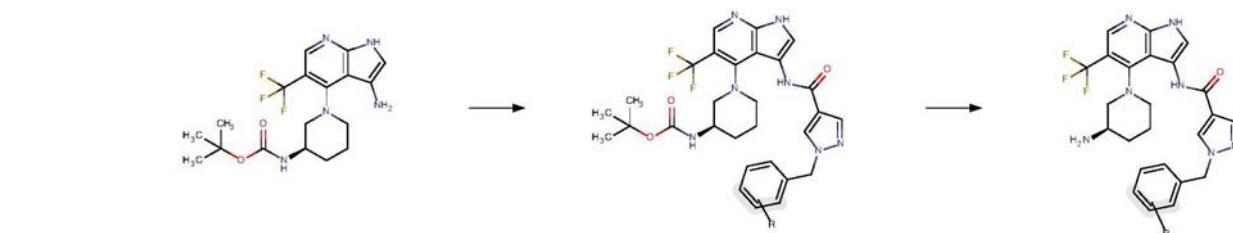
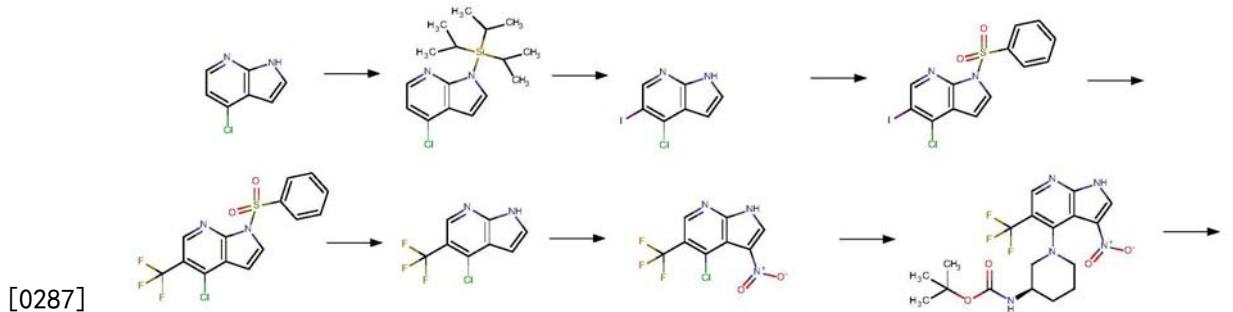


[0284] 方案7

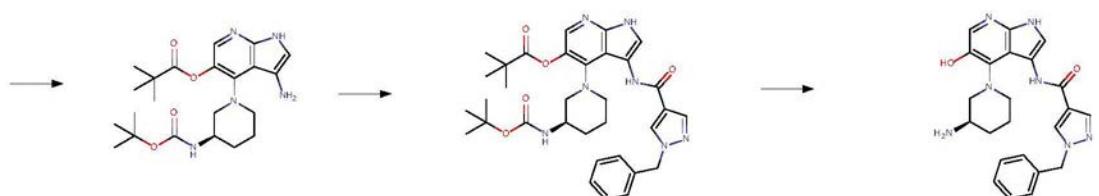
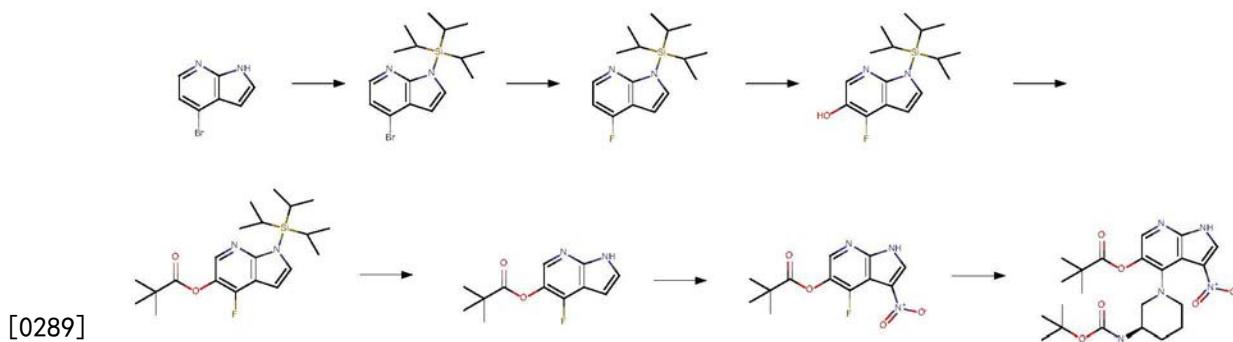


[0286] 方案8





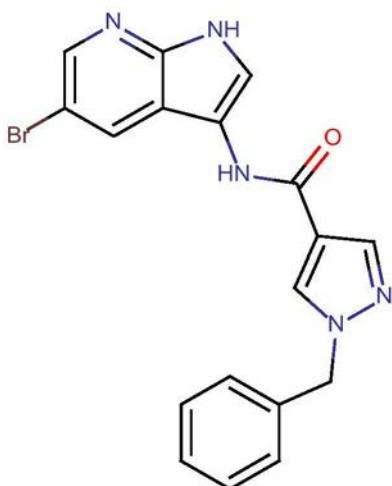
[0288] 方案9



实施例

[0290] 下列实施例例示了本发明具体化合物的制备并且不意图限制本发明的全范围。本领域技术人员应该认识到此处描述的化学合成可能适合制备本发明的其他化合物。确实，认为用于制备本发明化合物的替代方法在本发明的范围内。

[0291] 实施例1:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺



[0293] 根据方案1中概述的路线制备标题化合物。

[0294] 步骤1:5-溴-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0295] 在0℃下将5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(470mg, 2.39mmol)分批加入至搅拌的发烟硝酸(2.5mL)溶液。在加入后,将反应在0℃下搅拌30分钟,然后小心加入至冰/H₂O(25mL)的混合物并搅拌30分钟。通过过滤分离固体并在真空干燥之前使用大量的H₂O,然后异己烷洗涤滤饼以提供期望的标题化合物,484mg,84%。

[0296] 步骤2:5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺的制备

[0297] 在85℃下,在冰醋酸(6mL)中搅拌5-溴-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶并且向其滴加氯化锡(II)二水合物(936mg, 4.15mmol)的浓HCl(1mL)溶液。在加入后,将反应在85℃下加热另外2小时,然后使其冷却至室温。反应混合物倾倒在快速搅拌的冰/H₂O(30mL)混合物上,并通过小心加入50%氢氧化钠水溶液将pH调整至9。使用DCM(3×25mL)萃取该水性混合物并使用H₂O、饱和氯化钠水溶液洗涤合并的萃取物,干燥(MgSO₄)并真空浓缩以产生目标化合物,115mg,66%。

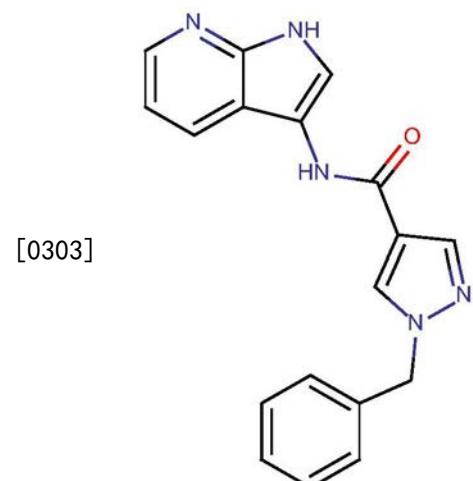
[0298] 步骤3:标题化合物:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺的制备

[0299] 在二甲基甲酰胺(1mL)中搅拌5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺(60mg, 0.28mmol)、1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(62mg, 0.31mmol)和三乙胺(57mg, 80μL, 0.56mmol)。加入0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N”,N”-四甲基脲六氟磷酸盐(HATU)(106mg, 0.28mmol)并将反应在室温下搅拌4小时。将反应混合物在EtOAc和饱和硫酸氢钠溶液之间分层并将有机物分离,使用饱和氯化钠水溶液(×4)洗涤,干燥(MgSO₄)并真空去除溶剂以提供褐色固体。通过首先使用50%EtOAc/DCM,然后5%MeOH/DCM洗脱的SiO₂上的快速层析纯化剩余物。将包含纯产物的馏分合并,真空浓缩以提供浅褐色固体形式的标题化合物,35mg,31%。

[0300] LC/MS:RT=2.22Min(270nm),m/z=396[M+H],394[M-H]。总运行时间3.75min(短正/负),HP1100。

[0301] ¹H NMR(d₆DMSO):δ5.41(s,2H),7.28-7.41(m,5H),7.84(d,1H),8.08(s,1H),8.28(d,1H),8.45(s,1H),8.48(d,1H),9.88(s,1H),11.69(br s,1H)。

[0302] 实施例2:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

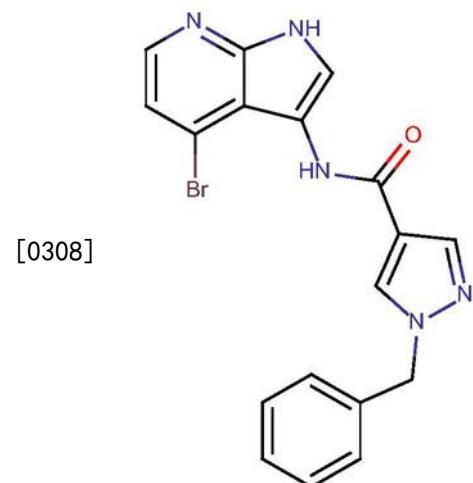


[0304] 根据方案1中概述的路线制备标题化合物,并且使用实施例1,步骤1、2和3描述的方法,在步骤1中用1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(150mg,1.27mmol)代替5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。分离奶油色固体形式的标题化合物,60.3mg,35.8%。

[0305] LC/MS:RT=1.95Min (270nm),m/z=318[M+H],316[M-H]。总运行时间3.75min(短正/负),HP1100。

[0306] ^1H NMR (d_6DMSO) : 85.41 (s, 2H), 7.06 (dd, 1H), 7.28-7.41 (m, 5H), 7.74 (d, 1H), 8.08 (s, 1H), 8.18 (dd, 1H), 8.22 (dd, 1H), 8.44 (s, 1H), 9.87 (s, 1H), 11.41 (br d, 1H)。

[0307] 实施例3:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(4-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺



[0309] 通过与方案1所示的相似路线制备标题化合物。

[0310] 步骤1:4-溴-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0311] 在0℃下将c. HNO_3 (0.93mL)滴加至c. H_2SO_4 (0.64mL)的溶液。缓慢加入4-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(2g,10.15mmol)的c. H_2SO_4 (9mL),保持温度在0℃下。在加入后,在小心倾倒在快速搅拌的冰/ H_2O (100mL)上之前将反应在0℃下搅拌另外1小时。将悬浮液搅拌30mins,然后通过过滤分离固体。在40℃下真空干燥之前,使用大量的 H_2O 洗涤滤饼以提供目标化合物,1.9g,77.3%。

[0312] 步骤2:4-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺的制备

[0313] 在70℃下,在48%氢溴酸水溶液(4mL)中加热4-溴-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(500mg,2.07mmol),然后分批加入氯化锡(II)二水合物(2.26g,10mmol)。在加入后,将反

应在70°C下加热另外1小时,然后在小心加入至搅拌的冰/H₂O(15mL)之前冷却。使用氢氧化钠溶液将该溶液碱化至pH12,并通过过滤分离不溶物质。使用DCM(3×100mL)萃取滤液并使用H₂O和饱和氯化钠水溶液洗涤合并的萃取物,干燥(MgSO₄)并真空浓缩。这产生目标化合物,230mg,52.5%,使用它而不进一步纯化。

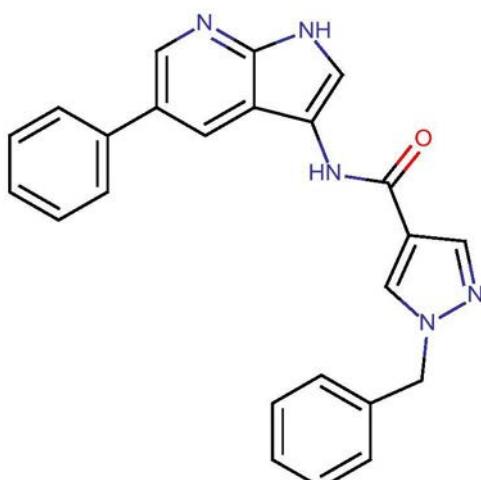
[0314] 步骤3:标题化合物:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(4-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺的制备

[0315] 按照实施例1,步骤3中描述的,制备标题化合物(奶油色固体,145mg,66.5%),用5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺代替4-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺(117mg,0.55mmol)。

[0316] LC/MS:RT=2.12Min(270nm),m/z=396[M+H],394[M-H]。总运行时间3.75min(短正/负),HP1100。

[0317] ¹H NMR(d₆DMSO):δ5.39(s,2H),7.28-7.41(m,6H),7.61(d,1H),8.03(s,1H),8.07(d,1H),8.39(s,1H),9.43(s,1H),11.99(br s,1H)。

[0318] 实施例4:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-苯基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺



[0319]

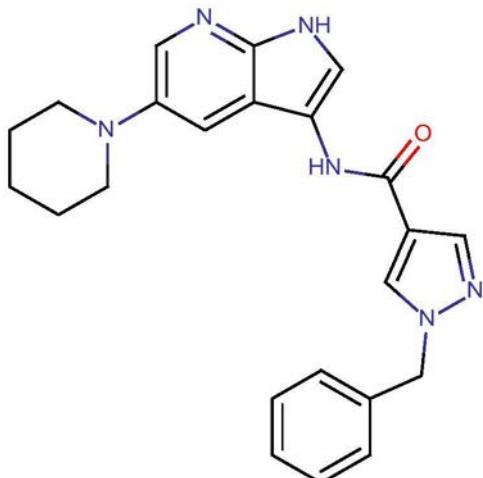
[0320] 从实施例1制备标题化合物。

[0321] 在THF/H₂O(1.1mL:0.12mL)中混合1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺(50mg,0.13mmol)、苯基硼酸(16.9mg,0.14mmol)、K₂CO₃(53.9mg,0.39mmol)和Pd(dppf)Cl₂(9.5mg,0.01mmol)并彻底脱气。在微波照射下将反应混合物在120°C下加热1小时,然后使用EtOAc将其稀释。将有机层分离并使用另一部分的EtOAc萃取水层。使用H₂O,饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机物,干燥(MgSO₄)并真空去除溶剂以提供褐色胶状物。通过使用DCM至5%MeOH/DCM洗脱的自动柱层析纯化该粗物质。将发现包含纯物质的馏分合并的,真空去除溶剂以提供浅褐色固体形式的期望的产物,27mg,54%。

[0322] LC/MS:RT=1.23Min(270nm),m/z=394[M+H]。总运行时间1.9min(超短正),HP1200。

[0323] ¹H NMR(d₆DMSO):δ5.41(s,2H),7.28-7.41(m,6H),7.5(m,2H),7.71(dd,2H),7.83(d,1H),8.10(s,1H),8.47(s,1H),8.51(d,1H),8.54(d,1H),9.92(s,1H),11.51(br d,1H)。

[0324] 实施例5:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-哌啶-1-基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺



[0325]

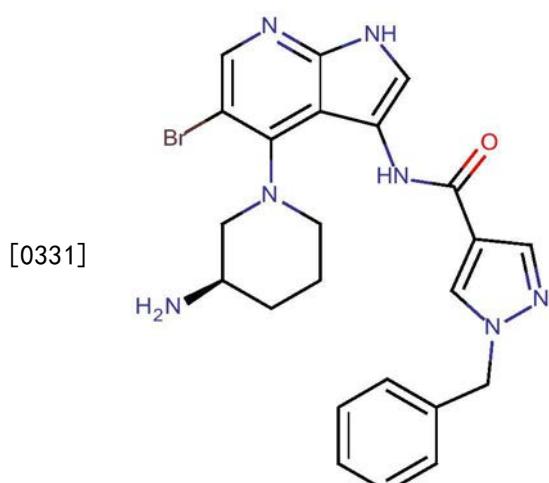
[0326] 从实施例1制备标题化合物。

[0327] 将1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺(75mg, 0.19mmol)、哌啶(0.03mL, 0.28mmol)、2-二环己基膦基-2”,6”-二异丙氧基联苯基(8.83mg, 0.02mmol)、氯-(2-二环己基膦基-2’,6’-二异丙氧基-1,1’-联苯基)[2-(2-氨基乙基)苯基]钯(II)-甲基-叔丁基醚加合物(15.5mg, 0.02mmol)加入至0.5-2.0mL微波瓶中。将瓶密封,排空气并使用氮气回填。加入锂双(三甲基甲硅烷基)酰胺溶液、1.0M的THF(0.45mL, 0.45mmol)并将反应混合物在65℃下加热18小时。使反应冷却并使用1N HCl淬灭混合物,使用DCM稀释,使用H₂O洗涤,干燥(相分离器)并真空去除溶剂以提供褐色固体。通过使用DCM-10%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析纯化该粗物质。将发现包含产物的馏分合并并真空去除溶剂以提供褐色固体,11mg,14%。

[0328] LC/MS: RT = 1.02Min (270nm), m/z = 401 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正), HP1200。

[0329] ¹H NMR (d₆DMSO): δ 1.49-1.51 (m, 2H), 1.65-1.73 (m, 4H), 3.01-3.07 (m, 4H), 5.41 (s, 2H), 7.28-7.41 (m, 5H), 7.69 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 8.05 (d, 1H), 8.07 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 9.75 (s, 1H), 11.11 (br d, 1H)

[0330] 实施例6:N-{4-[(3R)-3-氨基哌啶-1-基]-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-1-苄基-1H-吡唑-4-甲酰胺



[0331]

[0332] 根据方案2中概述的路线制备标题化合物。

[0333] 步骤1:4-溴-1-[三(丙烷-2-基)甲硅烷基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0334] 在0℃下将氢化钠,60%分散体的矿物油(0.49g,12.18mmol)分批加入至4-溴-1H-吡咯并吡啶(2g,10.15mmol)的THF(45mL)并搅拌15分钟。然后,在0℃下将三异丙基氯硅烷(2.31g,2.57mL,12mmol)滴加至反应混合物。在加入后,去除冷却物并使反应混合物达到RT,在那里将其搅拌另外1小时。然后,将悬浮液冷却至约0-5℃并使用饱和氯化铵水溶液(30mL)淬灭。使用EtOAc(3×30mL)萃取水相并使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机相,干燥(MgSO₄)并真空去除溶剂以提供黄色油状物。通过使用异己烷洗脱的快速层析纯化粗物质。将发现包含纯产物的馏分合并,真空去除溶剂以提供油状物形式的目标化合物,3.5g,97.6%。

[0335] 步骤2:4-氟-1-[三(丙烷-2-基)甲硅烷基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0336] 在氮气环境下,在-78℃下将正丁基锂溶液,2.5M的己烷(2.52mL,11.3mmol)滴加至4-溴-1-[三(丙烷-2-基)甲硅烷基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(2.0g,5.66mmol)的Et₂O(60mL)溶液,并将混合物在-78℃下搅拌30分钟,在-5℃下搅拌45mins以产生淡黄色溶液。将生成的溶液冷却至-78℃,滴加N-氟双(苯基磺酰基)胺(2.05g,6.51mmol)的THF(10mL)溶液。将混合物在-78℃下搅拌另外3小时,然后通过加入饱和氯化铵水溶液淬灭。将有机层分离并使用Et₂O(2×50mL)萃取水层,使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的萃取物。在无水MgSO₄上干燥溶液并浓缩为黄色胶状物。通过使用异己烷洗脱的快速层析纯化粗物质。将发现包含纯产物的馏分合并,真空去除溶剂以提供无色油状物形式的目标化合物,1.3g,78.5%。

[0337] 步骤3:5-溴-4-氟-1-[三(丙烷-2-基)甲硅烷基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0338] 在-78℃下,使用仲丁基锂溶液,1.4M的环己烷(4.48mL,6.27mmol)逐滴处理4-氟-1-[三(丙烷-2-基)甲硅烷基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(833.0mg,2.85mmol)的THF(34mL)。将反应在-78℃下搅拌1小时。滴加四溴化碳(2.36g,7.12mmol)的THF(6.3mL)溶液并将反应在-78℃下搅拌另外1小时。通过加入饱和氯化铵水溶液淬灭反应。使用异己烷(×2)萃取混合物并使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的萃取物。在无水MgSO₄上干燥溶液并浓缩为褐色油状物。通过使用异己烷洗脱的自动柱层析纯化粗物质。将发现包含纯产物的馏分合并,真空去除溶剂以提供黄色胶状物形式的目标化合物,其静止凝固,0.97g,91.7%。

[0339] 步骤4:5-溴-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0340] 在RT下,将四丁基氟化铵溶液,1.0M的THF(2.61mL,2.61mmol)加入至5-溴-4-氟-1-[三(丙烷-2-基)甲硅烷基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(970mg,2.61mmol)的THF(16.5mL)溶液。将反应混合物在RT下搅拌20分钟,然后在H₂O和Et₂O之间分层。将有机层分离并使用更多的Et₂O(2×25mL)萃取水层。使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机相,干燥(MgSO₄)并真空浓缩以提供褐色胶状物。

[0341] 通过使用异己烷至40%EtOAc/异己烷(梯度)洗脱的自动层析纯化粗物质。将发现包含纯产物的馏分合并,真空去除溶剂以提供淡白色固体形式的目标化合物,0.323g,57.5%。

[0342] 步骤5:5-溴-4-氟-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0343] 在0℃下将5-溴-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(0.323g,1.50mmol)分批加入至发烟硝酸(1.6mL)。在加入后,将反应混合物在0℃下搅拌30分钟,然后小心加入至快速搅拌的冰/H₂O(25mL)。将悬浮液搅拌另外30分钟,然后通过过滤收集固体并在60℃下在真空干燥

之前使用大量的H₂O,然后异己烷洗涤滤饼。这产生淡白色固体形式的目标化合物,0.335g,85.8%。

[0344] 步骤6:5-溴-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺的制备

[0345] 在0℃下将氯化锡(II)二水合物(2.62g,13.8mmol)分批加入至5-溴-4-氟-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(0.717g,2.76mmol)的6N HCl(21mL),然后去除冷却物并将反应在RT下搅拌1小时。将反应混合物冷却并倾倒在冰/H₂O(50mL)混合物上并通过小心加入50%氢氧化钠溶液碱化至pH 8。使用DCM/异丙醇(3:1;v:v)(3×100mL)萃取它并使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的萃取物,干燥(MgSO₄)并真空浓缩以提供褐色固体。这产生褐色固体形式的目标化合物,0.613g,96.5%。

[0346] 步骤7:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺的制备

[0347] 使用实施例1,步骤3描述的方法制备该化合物,0.85g,77.0%。

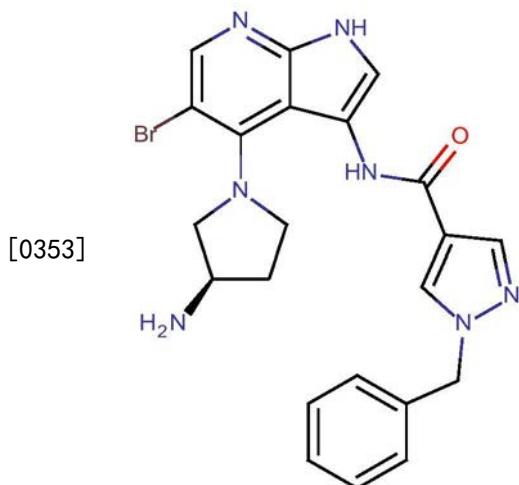
[0348] 步骤8:标题化合物:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0349] 在2-5mL微波瓶中混合1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺(40mg,0.10mmol)、(R)-哌啶-3-基-氨基甲酸叔丁基酯(97mg,0.48mmol)和正丁醇(2mL)。在微波照射下将内容物在160℃下加热8小时,然后真空浓缩反应混合物。在DCM(3mL)中处理剩余物,然后在RT下加入TFA(3mL)并继续搅拌3小时。真空去除溶剂并在EtOAc(20mL)中处理剩余物,洗涤使用饱和碳酸氢钠水溶液(3×20mL)和饱和氯化钠水溶液(50mL)将其洗涤。将有机物干燥(MgSO₄)并真空浓缩以提供深黄色胶状物。通过使用DCM至10%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动层析纯化该粗物质。将发现包含纯产物的馏分合并,真空浓缩以提供淡黄色固体形式的标题化合物,10.2mg,21.4%。

[0350] LC/MS:RT=1.77Min(270nm),m/z=494.4[M+H]。总运行时间3.75min(短正/负),HP1100。

[0351] ¹H NMR(d₆DMSO):δ1.13-1.20(m,1H),1.44-1.53(m,1H),1.62-1.77(m,2H),2.88-2.98(m,2H),3.10-3.19(m,2H),5.42(s,2H),7.26-7.40(m,5H),7.71(s,1H),8.04(s,1H),8.19(s,1H),8.52(s,1H),9.77(br s,1H),11.71(s,1H)3质子未出现。

[0352] 实施例7:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-吡咯烷-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

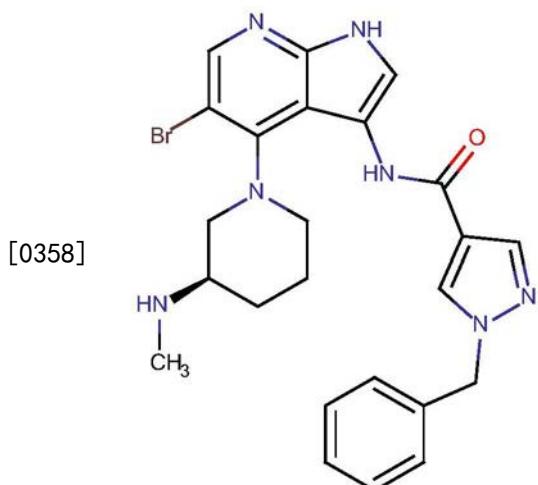


[0354] 如在实施例6中描述的制备标题化合物(奶油色固体,50.6mg,54.5%) ,在步骤8中用(R)-吡咯烷-3-基-氨基甲酸叔丁基酯(180mg,0.97mmol)代替(R)-哌啶-3-基-氨基甲酸叔丁基酯。

[0355] LC/MS:RT=1.73Min (254nm) ,m/z=480.4 [M+H]。总运行时间3.75min(短正/负) , HP1100。

[0356] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.68–1.75 (m, 1H) , 1.78–1.87 (br s, 2H) , 2.12–2.21 (m, 1H) , 3.00–3.03 (m, 1H) , 3.39–3.45 (m, 1H) , 3.52–3.58 (m, 2H) , 3.66–3.70 (m, 1H) , 5.39 (s, 2H) , 7.28–7.40 (m, 5H) , 7.78 (s, 1H) , 8.10 (s, 1H) , 8.25 (s, 1H) , 8.67 (s, 1H) , 9.81 (br s, 1H) , 11.63 (s, 1H)

[0357] 实施例8:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-4-((R)-3-甲基氨基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



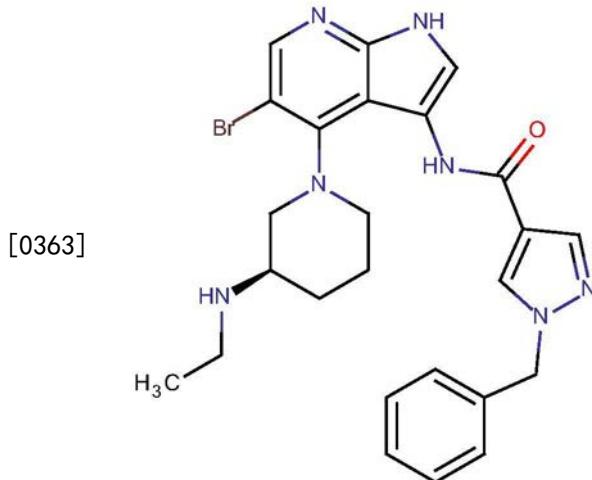
[0359] 如在实施例6中描述的制备标题化合物(奶油色固体,63.4mg,51.7%) ,在步骤8中用氨基甲酸,N-甲基-N-(3R)-3-哌啶基-1-,1,1-二甲基乙酯(259mg,1.21mmol)代替(R)-哌啶-3-基-氨基甲酸叔丁基酯。

[0360] LC/MS:RT=1.78Min (270nm) ,m/z=510.4 [M+H]。总运行时间3.75min(短正/负) , HP1100。

[0361] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.28–1.35 (m, 1H) , 1.47–1.52 (m, 1H) , 1.62–1.68 (m, 1H) , 1.72–1.79 (m, 1H) , 2.10 (s, 3H) , 2.56–2.61 (m, 1H) , 2.95–2.99 (m, 1H) , 3.09–3.18 (m, 1H) , 3.21–

3.27 (m, 1H) , 3.45–3.52 (m, 1H) , 5.42 (s, 2H) , 7.26–7.39 (m, 5H) , 7.79 (s, 1H) , 8.07 (s, 1H) , 8.19 (s, 1H) , 8.47 (s, 1H) , 9.82 (br s, 1H) , 11.70 (s, 1H) 1质子未出现。

[0362] 实施例9:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-4-((R)-3-乙基氨基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

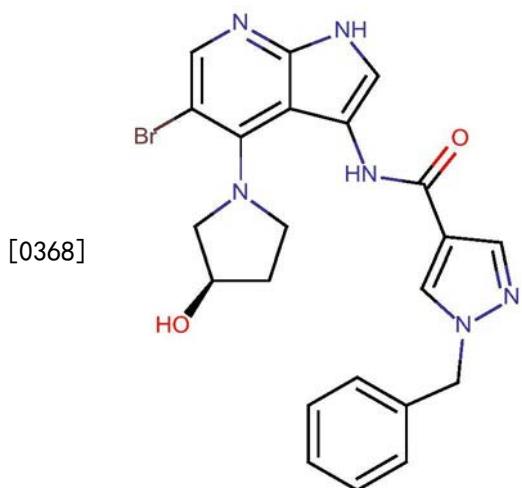


[0364] 如在实施例6中描述的制备标题化合物(奶油色固体,34.8mg,39.4%) ,在步骤8中用氨基甲酸,N-乙基-N-(3R)-3-哌啶基-,1,1-二甲基乙基酯(116mg,0.51mmol)代替(R)-哌啶-3-基-氨基甲酸叔丁基酯。

[0365] LC/MS:RT=1.81Min (270nm) ,m/z=524.5 [M+H]。总运行时间3.75min (短正/负) , HP1100。

[0366] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 0.87 (t, 3H) , 1.23–1.28 (m, 1H) , 1.50–1.56 (m, 1H) , 1.71–1.73 (m, 2H) , 2.45 (q, 2H) , 2.72–2.78 (m, 1H) , 2.99–3.05 (m, 1H) , 3.14–3.21 (m, 2H) , 5.42 (s, 2H) , 7.26–7.39 (m, 5H) , 7.71 (s, 1H) , 8.06 (s, 1H) , 8.20 (s, 1H) , 8.45 (s, 1H) , 9.70 (br s, 1H) , 11.73 (s, 1H) 2质子未出现。

[0367] 实施例10:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-4-((R)-3-羟基-吡咯烷-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



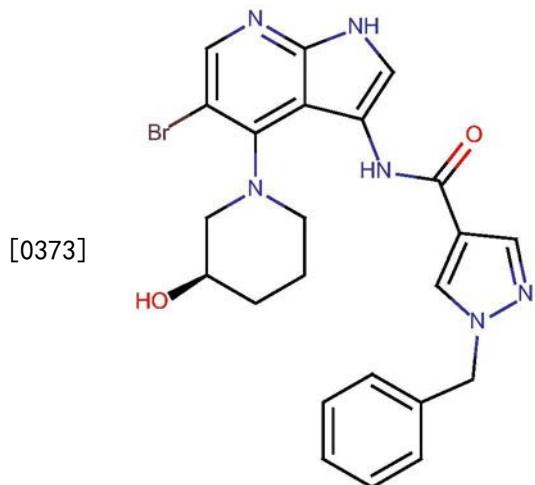
[0369] 根据实施例6中描述的制备标题化合物(淡橘色固体,47mg,51.0%) ,在步骤8中用(R)-吡咯烷-3-醇(84mg,0.97mmol)代替(R)-哌啶-3-基-氨基甲酸叔丁基酯。

[0370] LC/MS:RT=2.30Min (270nm) ,m/z=483.4 [M+H]。总运行时间3.75min (短正/负) ,

HP1100。

[0371] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.94–1.99 (m, 1H), 2.24–2.33 (m, 1H), 3.14–3.17 (m, 1H), 3.43–3.49 (m, 1H), 3.53–3.60 (m, 1H), 3.64–3.68 (m, 1H), 4.54 (br s, 1H), 5.37 (s, 2H), 5.50 (d, 1H), 7.29–7.39 (m, 5H), 7.85 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 9.72 (br s, 1H), 11.63 (s, 1H)

[0372] 实施例11:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-4-((R)-3-羟基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]哌啶-3-基]-酰胺

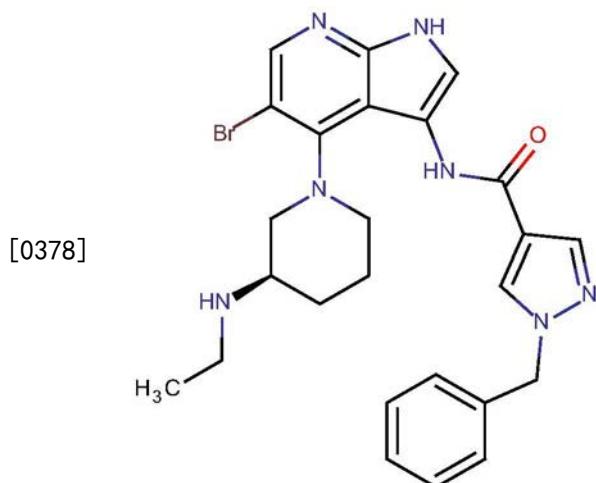


[0374] 如在实施例6中描述的制备标题化合物(淡黄色固体, 3.6mg, 6.0%) ,在步骤8中用(R)-3-羟基哌啶盐酸盐(83mg, 0.6mmol)代替(R)-哌啶-3-基-氨基甲酸叔丁基酯并使用碳酸钾(83mg, 0.6mmol)作为碱。

[0375] LC/MS: RT = 2.35Min (270nm) , m/z = 495.4 [M+H]。总运行时间3.75min(短正/负) , HP1100。

[0376] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.48–1.54 (m, 2H), 1.63–1.68 (m, 1H), 1.78–1.87 (m, 1H), 2.97–3.07 (m, 2H), 3.54–3.63 (m, 1H), 3.84–3.90 (m, 1H), 5.33 (br s, 1H), 5.39 (s, 2H), 7.26–7.39 (m, 5H), 7.88 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 9.91 (br s, 1H), 11.69 (s, 1H) 1质子未出现。

[0377] 实施例12:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-4-(3-二甲基氨基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]哌啶-3-基]-酰胺



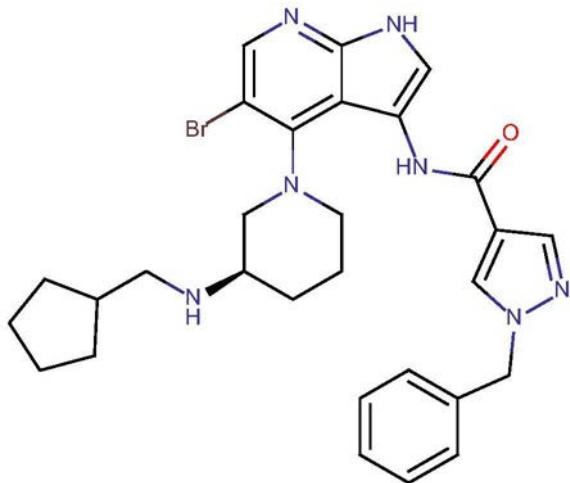
[0379] 如在实施例6中描述的制备标题化合物(淡黄色固体,51.9mg,54.9%),在步骤8中用(R)-哌啶-3-基-氨基甲酸叔丁基酯代替二甲基-哌啶-3-基-胺(116mg,0.91mmol)。

[0380] LC/MS:RT=1.78Min (270nm),m/z=524.5[M+H]。总运行时间3.75min(短正/负),HP1100。

[0381] ^1H NMR (d_6DMSO): δ 1.31–1.37 (m, 1H), 1.54–1.58 (m, 1H), 1.63–1.75 (m, 2H), 1.99 (s, 6H), 2.21–2.25 (m, 1H), 3.10–3.19 (m, 3H), 4.26–4.46 (m, 1H), 5.41 (s, 2H), 7.25–7.27 (m, 2H), 7.30–7.39 (m, 3H), 7.70 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 9.61 (br s, 1H), 11.73 (s, 1H)。

[0382] 实施例13:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-溴-4-[(R)-3-(环戊基甲基-氨基)-哌啶-1-基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

[0383]



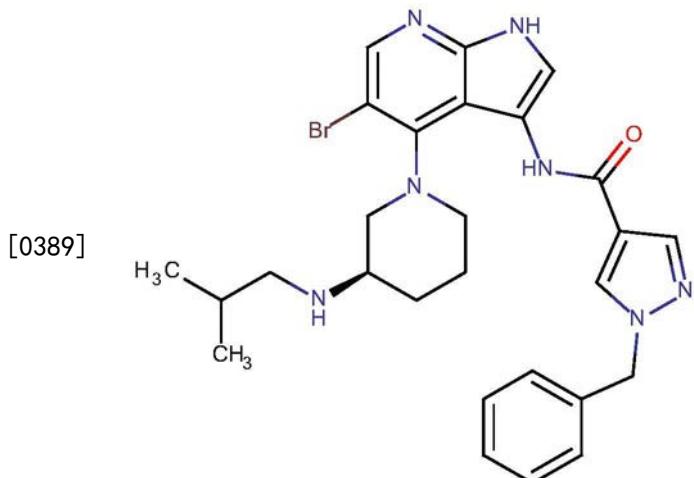
[0384] 从实施例6制备标题化合物

[0385] 在MeOH (0.5mL) 中搅拌1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺(40.0mg,0.08mmol)、乙酸(0.01mL,0.17mmol)和环戊烷甲醛(10.8mg,0.11mmol)。在加入 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (42.4mg,0.2mmol)之前将反应混合物在RT下搅拌10分钟并使反应混合物在RT下搅拌18小时。使用碳酸氢钠溶液碱化反应混合物并使用 EtOAc (3×30mL)萃取。将有机相合并,使用饱和氯化钠水溶液洗涤,干燥(MgSO_4)并真空浓缩。通过使用DCM至5% MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析纯化剩余物。将发现包含纯产物的馏分合并,真空浓缩以提供黄色固体形式的标题化合物,5.6mg,12.1%。

[0386] LC/MS:RT=2.00Min (230nm),m/z=576.6[M+H]。总运行时间3.75min(短正/负),HP1100。

[0387] ^1H NMR (d_6DMSO): δ 0.94–1.80 (m, 14H), 2.24–2.32 (m, 2H), 2.59–2.66 (m, 1H), 2.93–3.68 (m, 3H), 5.41 (s, 2H), 7.25–7.26 (m, 2H), 7.30–7.39 (m, 3H), 7.68 (d, 1H), 8.03 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 9.66 (br s, 1H), 11.72 (d, 1H)。

[0388] 实施例14:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-4-((R)-3-异丁基氨基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

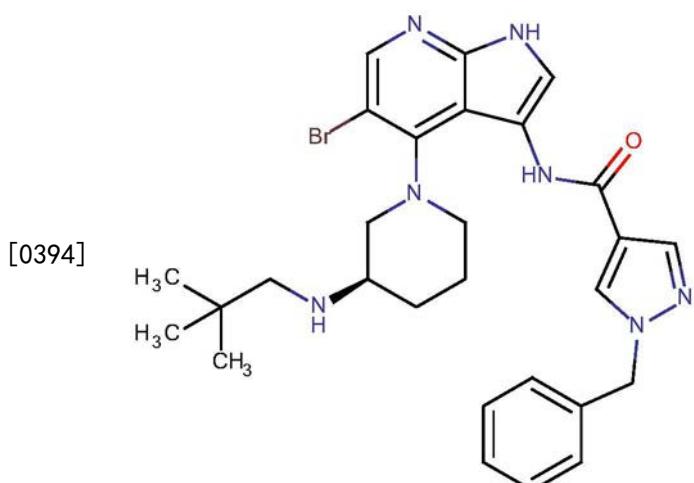


[0390] 根据实施例13中描述的制备标题化合物(奶油色固体,38.1mg,68.4%) ,用异丁基甲醛(9.9mg,0.14mmol)代替环戊烷甲醛。

[0391] LC/MS:RT=1.91Min (254nm) ,m/z=552.5 [M+H]。总运行时间3.75min(短正/负) , HP1100。

[0392] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 0.74 (d, 6H) , 1.14-1.20 (m, 1H) , 1.40-1.50 (m, 1H) , 1.52-1.58 (m, 1H) , 1.69-1.71 (m, 2H) , 2.13-2.22 (m, 2H) , 2.58-2.62 (m, 1H) , 2.95-3.00 (m, 1H) , 3.10-3.15 (m, 1H) , 3.21-3.27 (m, 1H) , 5.42 (s, 2H) , 7.25-7.27 (m, 2H) , 7.30-7.39 (m, 3H) , 7.66 (d, 1H) , 8.02 (s, 1H) , 8.19 (s, 1H) , 8.41 (s, 1H) , 9.62 (br s, 1H) , 11.73 (br s, 1H) 2质子未出现。

[0393] 实施例15:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-溴-4-[(R)-3-(2,2-二甲基-丙基氨基)-哌啶-1-基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

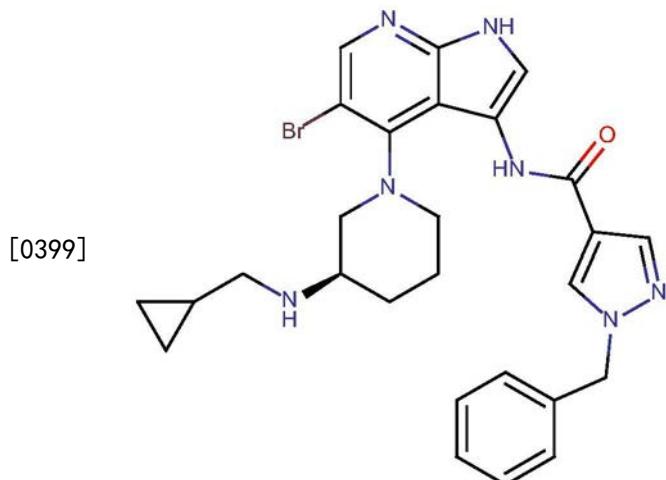


[0395] 根据实施例13中描述的制备标题化合物(奶油色固体,38.1mg,68.4%) ,用异丁基甲醛(9.9mg,0.14mmol)代替环戊烷甲醛。

[0396] LC/MS:RT=1.96Min (270nm) ,m/z=566.5 [M+H]。总运行时间3.75min(短正/负) , HP1100。

[0397] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 0.75 (s, 9H) , 1.08-1.13 (m, 2H) , 1.53-1.58 (m, 1H) , 1.63-1.74 (m, 2H) , 2.10-2.17 (m, 2H) , 2.97-3.08 (m, 2H) , 5.41 (s, 2H) , 7.23-7.26 (m, 2H) , 7.30-7.39 (m, 3H) , 7.58 (s, 1H) , 8.00 (s, 1H) , 8.19 (s, 1H) , 8.39 (s, 1H) , 9.52 (br s, 1H) , 11.74 (s, 1H) 3质子未出现。

[0398] 实施例16:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-溴-4-[(R)-3-(环丙基甲基-氨基)-哌啶-1-基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

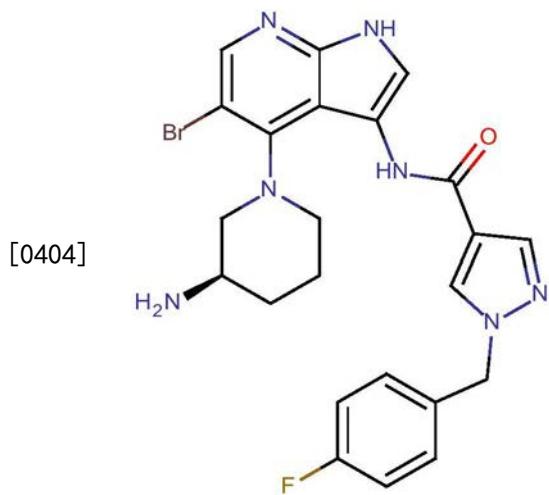


[0400] 如在实施例13中描述的制备标题化合物(奶油色固体,18.4mg,41.9%) ,用环丙基甲醛(7.7mg,0.14mmol)代替环戊烷甲醛。

[0401] LC/MS:RT=1.88Min (254nm) ,m/z=550.5 [M+H]。总运行时间3.75min(短正/负) ,HP1100。

[0402] ^1H NMR (d_6DMSO) : 80.09–0.02 (m, 2H) , 0.23–0.26 (m, 2H) , 0.64–0.71 (m, 1H) , 1.25–1.30 (m, 1H) , 1.51–1.56 (m, 1H) , 1.68–1.77 (m, 2H) , 2.18–2.29 (m, 2H) , 2.71–2.77 (m, 1H) , 2.96–3.03 (m, 1H) , 3.16–3.28 (m, 2H) , 5.42 (s, 2H) , 7.25–7.27 (m, 2H) , 7.30–7.39 (m, 3H) , 7.73 (s, 1H) , 8.05 (s, 1H) , 8.19 (s, 1H) , 8.47 (s, 1H) , 9.74 (br s, 1H) , 11.71 (s, 1H) 2质子未出现。

[0403] 实施例17:1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0405] 如在实施例6中描述的制备标题化合物,在步骤7中用1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(157mg,0.715mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。

[0406] 1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸的制备

[0407] 在丙酮(45mL)中搅拌4-吡唑羧酸乙酯(1.5g,10.7mmol)和 K_2CO_3 (4.44g,32.1mmol)。向其这加入4-氟苄基溴(1.38mL,11.24mmol)并将反应混合物在50°C下加热18

小时。将反应冷却至RT并通过过滤分离固体。通过使用EtOAc洗涤滤饼并将滤液真空浓缩。在MeOH (36mL) 中处理剩余物并加入KOH (1.20g, 21.4mmol) 的水 (7.2mL) 溶液。将反应回流2小时, 冷却并真空去除溶剂。使用少量H₂O稀释剩余物, 冷却至5℃, 并通过小心加入1M HCl溶液酸化以沉淀产物。在搅拌10分钟后, 通过过滤收集固体, 使用水、异己烷充分洗涤并在40℃下真空干燥18小时以提供白色固体形式的1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸, 2.35g, 99.6%。

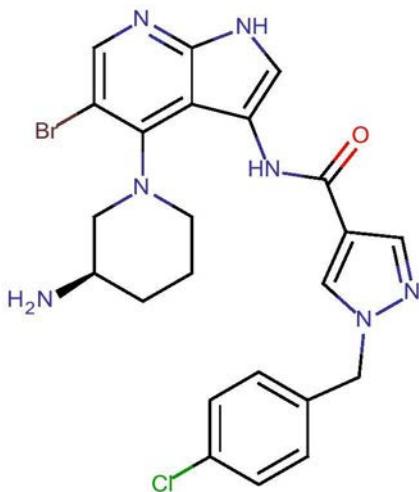
[0408] 分离淡黄色固体形式的标题化合物, 20.5mg, 17.3%。

[0409] LC/MS: RT=1.80Min (254nm) , m/z=514.4 [M+H]。总运行时间3.75min (短正/负) , HP1100。

[0410] ¹H NMR (d₆DMSO) : δ 1.12–1.25 (m, 1H) , 1.43–1.53 (m, 1H) , 1.65–1.75 (m, 2H) , 1.95–2.30 (br s, 2H) , 2.87–3.00 (m, 2H) , 3.01–3.20 (m, 2H) , 5.41 (s, 2H) , 7.21 (dd, 2H) , 7.33 (dd, 2H) , 7.71 (s, 1H) , 8.04 (s, 1H) , 8.19 (s, 1H) , 8.51 (br s, 1H) , 9.75 (br s, 1H) , 11.70 (br s, 1H) 1质子未出现。

[0411] 实施例18: 1-(4-氯-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0412]

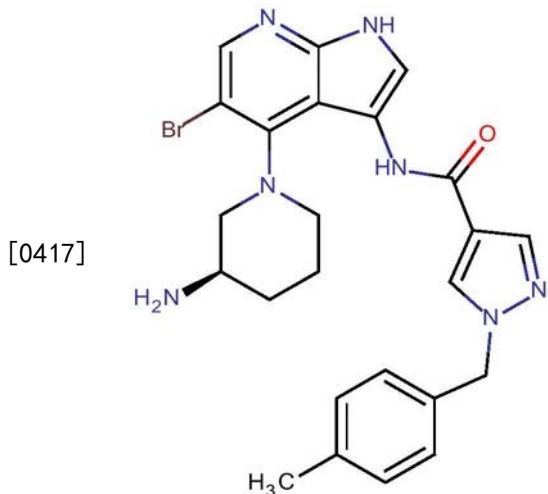


[0413] 如在实施例6中描述的制备标题化合物(淡黄色固体, 19.6mg, 17.3%) , 在步骤7中用以针对1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸描述的相似方式制备的1-(4-氯-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸 (163mg, 0.715mmol) 代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。

[0414] LC/MS: RT=1.87Min (254nm) , m/z=530.4 [M+H]。总运行时间3.75min (短正/负) , HP1100。

[0415] ¹H NMR (d₆DMSO) : δ 1.11–1.20 (m, 1H) , 1.43–1.79 (m, 5H) , 2.86–2.98 (m, 2H) , 3.09–3.20 (m, 2H) , 5.42 (s, 2H) , 7.28 (d, 2H) , 7.44 (d, 2H) , 7.71 (s, 1H) , 8.05 (s, 1H) , 8.19 (s, 1H) , 8.53 (br s, 1H) , 9.77 (br s, 1H) , 11.72 (br s, 1H) 1质子未出现。

[0416] 实施例19: 1-(4-甲基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

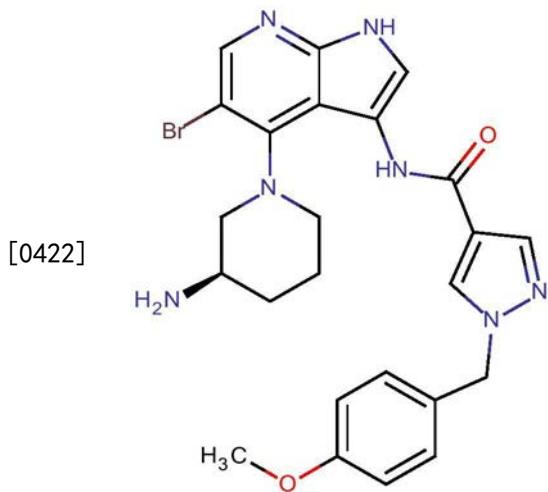


[0418] 如在实施例6中描述的制备标题化合物(浅褐色固体,22mg,18.5%) ,在步骤7中用以针对1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸描述的相似方式制备的1-(4-甲基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(155mg,0.715mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。

[0419] LC/MS:RT=1.85Min (254nm) ,m/z=508.4 [M+H]。总运行时间3.75min(短正/负) , HP1100。

[0420] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.11-1.25 (m, 1H) , 1.43-1.53 (m, 1H) , 1.65-1.77 (m, 2H) , 2.13-2.70 (br s, 2H) , 2.29 (s, 3H) , 2.88-3.01 (m, 2H) , 3.08-3.20 (m, 2H) , 5.36 (s, 2H) , 7.15-7.21 (m, 4H) , 7.70 (s, 1H) , 8.02 (s, 1H) , 8.19 (s, 1H) , 8.47 (br s, 1H) , 9.74 (br s, 1H) , 11.70 (br s, 1H) 1质子未出现。

[0421] 实施例20:1-(4-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



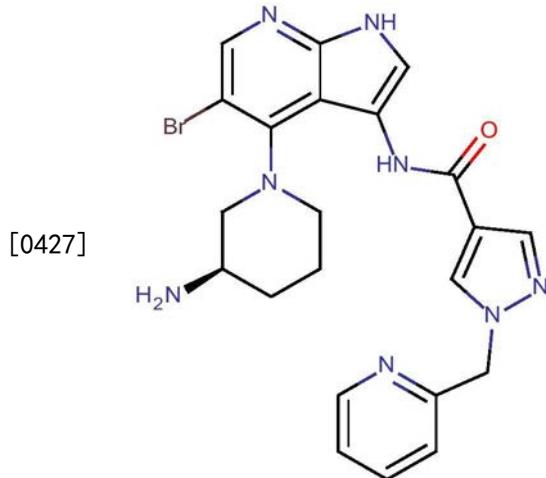
[0423] 如在实施例6中描述的制备标题化合物(浅褐色固体,16.2mg,13.7%) ,在步骤7中用以针对1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸描述的相似方式制备的1-(4-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(166mg,0.715mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。

[0424] LC/MS:RT=1.79Min (254nm) ,m/z=524.4 [M+H]。总运行时间3.75min(短正/负) , HP1100。

[0425] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.10-1.27 (m, 1H) , 1.43-1.53 (m, 1H) , 1.64-1.95 (m, 4H) , 2.87-

2.99 (m, 2H), 3.09–3.21 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 5.32 (s, 2H), 6.92 (d, 2H), 7.25 (d, 2H), 7.72 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.44 (br s, 1H), 9.73 (br s, 1H), 11.69 (br s, 1H) 1质子未出现。

[0426] 实施例21:1-吡啶-2-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

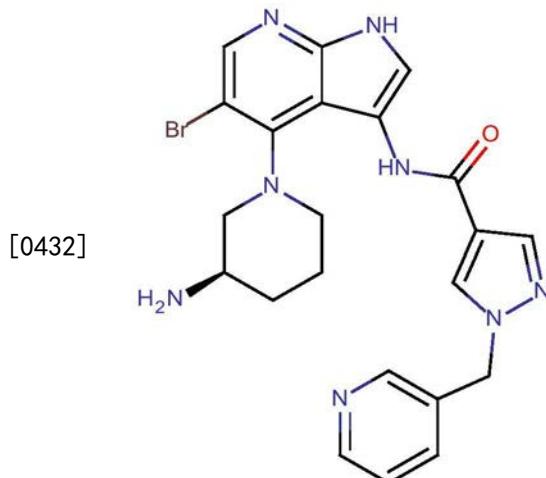


[0428] 如在实施例6中描述的制备标题化合物(黄色固体, 40mg, 68.7%) ,在步骤7中用以针对实施例81, 步骤1中的1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸描述的相似方式制备的1-吡啶-2-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸(150mg, 0.74mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。在pH4下通过制备HPLC纯化后以甲酸盐形式分离它。

[0429] LC/MS: RT = 0.87Min (270nm) , m/z = 497 [M+H] 。总运行时间1.9min (超短正) , HP1200。

[0430] ^1H NMR (d₆DMSO) : δ 1.21–1.34 (br m, 1H), 1.40–1.53 (br m, 1H), 1.59–1.68 (br m, 1H), 1.78–1.86 (br m, 1H), 2.98–3.08 (br m, 1H), 3.13–3.29 (br m, 3H), 3.33–3.44 (br m, 1H), 5.52 (s, 2H), 7.10 (d, 1H), 7.31–7.35 (m, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.78–7.82 (m, 1H), 8.06 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.49–8.56 (m, 2H), 9.77 (br s, 1H) 3质子未出现。

[0431] 实施例22:1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



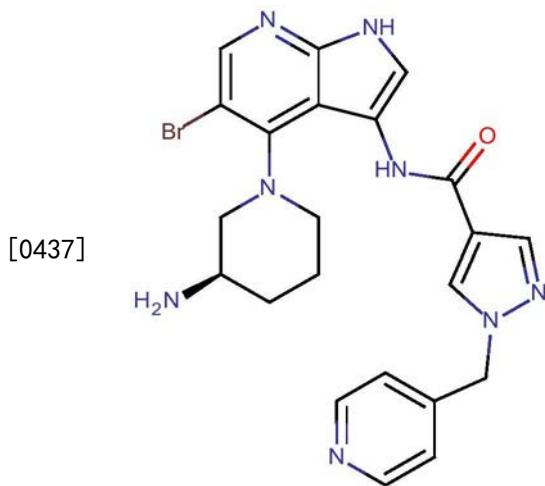
[0433] 如在实施例6中描述的制备标题化合物(浅褐色固体, 9.5mg, 38%) ,在步骤7中用

以针对实施例81,步骤1中的1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸描述的相似方式制备的1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸(150mg,0.74mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。

[0434] LC/MS:RT=0.83Min (270nm),m/z=497 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正),HP1200。

[0435] ^1H NMR (d_6DMSO): δ 1.43–1.55 (br m, 1H), 1.61–1.69 (br m, 1H), 1.72–1.79 (br m, 1H), 3.03–3.22 (br m, 4H), 5.48 (s, 2H), 7.39–7.43 (m, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.66–7.69 (m, 1H), 8.05 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.50–8.55 (m, 3H), 9.61 (br s, 1H), 11.81 (br s, 1H) 4质子未出现。

[0436] 实施例23:1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

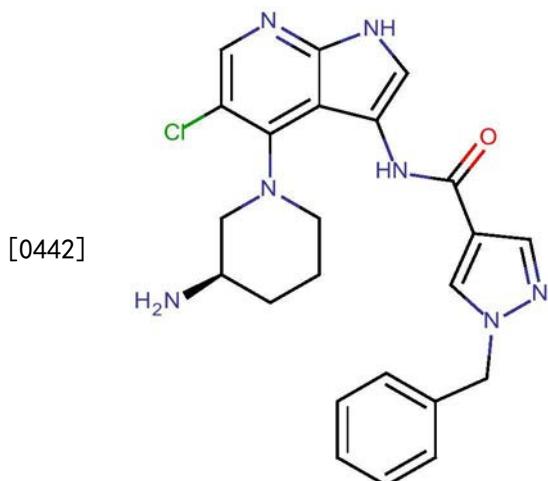


[0438] 如在实施例6中描述的制备标题化合物(浅褐色固体,25mg,24%),在步骤7中用实施例81,步骤1中描述的1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸(225mg,1.1mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。

[0439] LC/MS:RT=0.74Min (254nm),m/z=没有质量 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正),HP1200。

[0440] ^1H NMR (d_6DMSO): δ 1.10–1.20 (br m, 1H), 1.44–1.54 (br m, 1H), 1.61–1.80 (br m, 2H), 2.87–2.99 (br m, 2H), 3.09–3.23 (br m, 2H), 5.51 (s, 2H), 7.15 (d, 2H), 7.72 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.55 (d, 2H), 8.59 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 11.72 (br s, 1H) 4质子未出现。

[0441] 实施例24:N-{4-[(3R)-3-氨基哌啶-1-基]-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-1-苄基-1H-吡唑-4-甲酰胺



- [0443] 根据方案2h中概述的类似路线制备标题化合物。
- [0444] 如实施例6,步骤1和2中描述的制备标题化合物。
- [0445] 步骤3:5-氯-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶
- [0446] 在-78℃下,使用仲丁基锂溶液,1.4M的环己烷(4.48mL,6.27mmol)逐滴处理4-氟-1-[三(丙烷-2-基)甲硅烷基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(2g,6.84mmol)的THF(80mL)。将反应在-78℃下搅拌0.5小时。滴加六氯乙烷(4.05g,17.1mmol)的THF(20mL)溶液并将反应在-78℃下搅拌另外0.5小时。通过加入饱和氯化铵水溶液淬灭反应。使用异己烷(×2)萃取混合物并使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的萃取物。在无水MgSO₄上干燥溶液并浓缩为黄色胶状物。
- [0447] 在THF(50mL)中搅拌粗物质并在RT下滴加四丁基氟化铵溶液,1.0M的THF(6.84mL,6.84mmol)。在加入H₂O和EtOAc之前将反应在RT下搅拌另外1小时。将有机层分离并使用另外部分的EtOAc萃取水相。使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机相,干燥(MgSO₄)并真空浓缩以提供淡橙色固体。通过使用异己烷至40%EtOAc/异己烷洗脱的自动快速层析纯化粗剩余物。将包含纯物质的馏分合并,真空去除溶剂以提供白色固体形式的期望的产物,1.0g,85.7%。
- [0448] 步骤4:5-氯-4-氟-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备
- [0449] 使用实施例6,步骤5描述的方法制备其,用5-氯-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(1g,5.86mmol)代替5-溴-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。分离白色固体形式的标题化合物,1.15g,91.1%。
- [0450] 步骤5:5-氯-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺的制备
- [0451] 使用实施例6,步骤6描述的方法制备其,用5-氯-4-氟-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(202.9mg,0.94mmol)代替5-溴-4-氟-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。分离固体形式的标题化合物,167.4mg,95.8%。
- [0452] 步骤6:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-氯-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺的制备
- [0453] 在包含Et₃N(0.25mL,1.80mmol)的DMF(9.0mL)中搅拌5-氯-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺(167.4mg,0.90mmol)并加入1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(200.6mg,0.99mmol).HATU(342.2mg,0.90mmol),将反应在RT下搅拌2小时。使用H₂O稀释反应混合物,并使用

EtOAc ($3 \times 30\text{mL}$) 萃取。使用饱和碳酸氢钠水溶液、饱和氯化钠水溶液 ($4 \times 60\text{mL}$) 洗涤合并的萃取物, 干燥 (MgSO_4) 并真空去除溶剂以提供褐色胶状物。使用 Et_2O 研磨它, 过滤并在 40°C 下的真空干燥之前使用 Et_2O 洗涤。这提供淡白色固体形式的标题化合物, 240.5mg , 72.1% 。

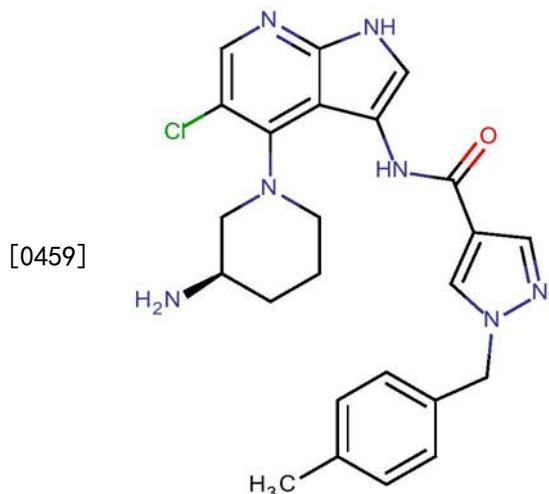
[0454] 步骤7: 标题化合物:N-{4-[(3R)-3-氨基哌啶-1-基]-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-1-苄基-1H-吡唑-4-甲酰胺的制备

[0455] 使用 (R)-哌啶-3-基-氨基甲酸叔丁基酯 (270.8mg , 1.35mmol) 处理1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸 (5-氯-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺 (100.0mg , 0.27mmol) 的 $n\text{-BuOH}$ (5.4mL) 溶液并在 160°C 的微波照射下加热6小时。真空去除溶剂并在 DCM (5mL) 中处理剩余物。加入 TFA (5mL) 并将反应在 RT 下搅拌18小时。将反应混合物真空浓缩, 在 EtOAc (40mL) 中处理剩余物, 使用氨水溶液 ($2 \times 50\text{mL}$), 饱和氯化钠水溶液洗涤, 干燥 (MgSO_4) 并真空浓缩。通过使用 DCM 至 10% MeOH/DCM (梯度) 洗脱的自动柱层析纯化粗物质。将包含纯产物的馏分合并, 真空浓缩以提供奶油色固体形式的标题化合物, 53.6mg , 44.1% 。

[0456] LC/MS: $\text{RT} = 1.77\text{Min}$ (270nm), $\text{m/z} = 450.4 [\text{M}+\text{H}]$ 。总运行时间 3.75min (短正/负), HP1100。

[0457] $^1\text{H NMR}$ (d_6DMSO): $\delta 1.16\text{--}1.21$ (m, 1H), $1.45\text{--}1.49$ (m, 1H), $1.66\text{--}1.74$ (m, 4H), $2.90\text{--}2.94$ (m, 2H), $3.13\text{--}3.16$ (m, 2H), 5.42 (s, 2H), $7.26\text{--}7.39$ (m, 5H), 7.73 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 9.73 (br s, 1H), 11.68 (s, 1H) 1质子未出现。

[0458] 实施例25: 1-(4-甲基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

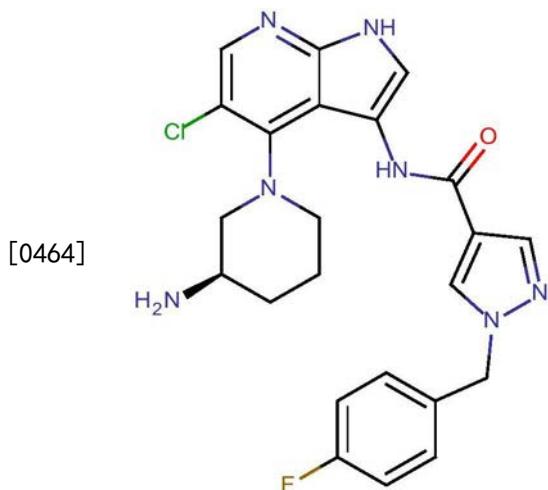


[0460] 如实施例24中描述的制备标题化合物 (奶油色固体, 24mg , 28.4%), 在步骤6中用1-(4-甲基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸 (256.3mg , 1.19mmol) 代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。

[0461] LC/MS: $\text{RT} = 1.82\text{Min}$ (254nm), $\text{m/z} = 464 [\text{M}+\text{H}]$ 。总运行时间 3.75min (短正) HP1100。

[0462] $^1\text{H NMR}$ (d_6DMSO): $\delta 1.18$ (m, 1H), 1.52 (m, 2H), 1.68 (m, 2H), 2.33 (2, 3H), 2.91 (m, 2H), 3.14 (m, 2H), 3.33 (m, 2H), 5.36 (s, 2H), 7.19 (m, 4H), 7.75 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 9.73 (s, 1H), 11.69 (s, 1H)。

[0463] 实施例26: 1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

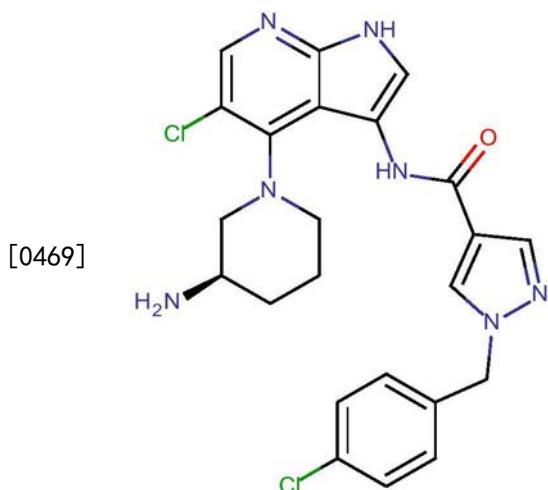


[0465] 如实施例24中描述的制备标题化合物(奶油色固体,24.2mg,20.1%),在步骤6中用1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(261mg,1.19mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。

[0466] LC/MS:RT=1.77Min (270nm), m/z=468.5 [M+H]。总运行时间3.75min(短正/负), HP1100。

[0467] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.18–1.23 (m, 1H), 1.45–1.50 (m, 1H), 1.68–1.70 (m, 2H), 2.94–2.99 (m, 2H), 3.11–3.13 (m, 2H), 5.41 (s, 2H), 7.19–7.23 (m, 2H), 7.32–7.36 (m, 2H), 7.71 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 9.69 (br s, 1H), 11.71 (br s, 1H) 3质子未出现。

[0468] 实施例27:1-(4-氯-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

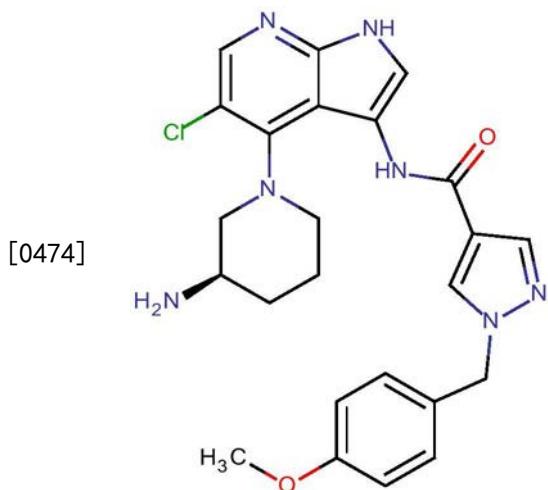


[0470] 如实施例24中描述的制备标题化合物(奶油色固体,22.1mg,18.4%),在步骤6中用1-(4-氯-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(280.5mg,1.19mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。

[0471] LC/MS:RT=1.84Min (270nm), m/z=484.4 [M+H]。总运行时间3.75min(短正/负), HP1100。

[0472] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.15–1.20 (m, 1H), 1.45–1.49 (m, 1H), 1.66–1.72 (m, 2H), 2.92–2.96 (m, 2H), 3.13–3.16 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 7.29 (d, 2H), 7.44 (d, 2H), 7.72 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 9.72 (br s, 1H), 11.70 (br s, 1H) 3质子未出现。

[0473] 实施例28:1-(4-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

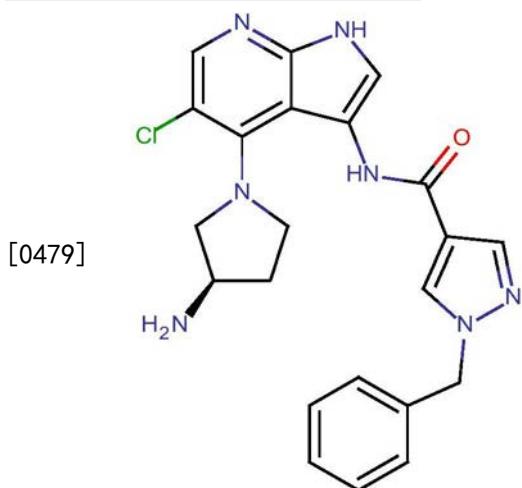


[0475] 如实施例24中描述的制备标题化合物(白色固体,24mg,19.8%) ,在步骤6中用1-(4-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(275.3mg,1.19mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。

[0476] LC/MS:RT=1.77Min (254nm) ,m/z=480[M+H]。总运行时间3.75min(短正/负) ,HP1100。

[0477] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.17 (m, 1H) , 1.49 (m, 2H) , 1.71 (m, 2H) , 2.91 (m, 2H) , 3.14 (m, 2H) , 3.33 (m, 2H) , 3.75 (s, 3H) , 5.33 (s, 2H) , 6.94 (d, J 8.68, 2H) , 7.27 (d, J 8.65, 2H) , 7.75 (s, 1H) , 8.01 (s, 1H) , 8.08 (s, 1H) , 8.46 (s, 1H) , 9.71 (s, 1H) , 11.65 (s, 1H) 。

[0478] 实施例29:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-吡咯烷-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

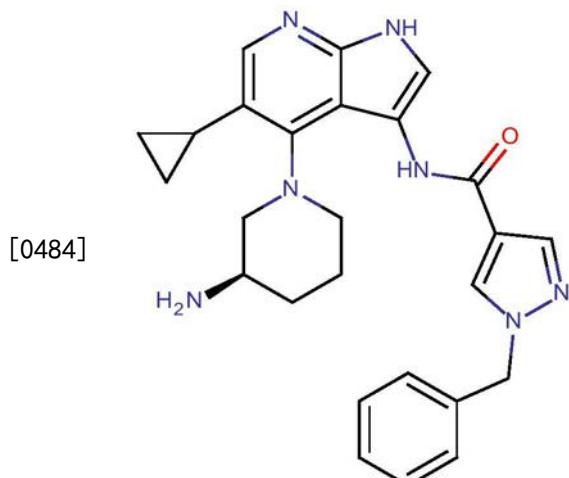


[0480] 如实施例24中描述的制备标题化合物(白色固体,42.5mg,60.1%) ,在步骤7中用(R)-吡咯烷-3-基-氨基甲酸叔丁基酯(151.1mg,0.81mmol)代替(R)-哌啶-3-基-氨基甲酸叔丁基酯。

[0481] LC/MS:RT=1.71Min (254nm) ,m/z=436.4[M+H]。总运行时间3.75min(短正/负) ,HP1100。

[0482] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.66-1.72 (m, 1H) , 2.09-2.17 (m, 1H) , 3.02-3.05 (m, 1H) , 3.37-3.43 (m, 1H) , 3.51-3.58 (m, 2H) , 3.63-3.68 (m, 1H) , 5.39 (s, 2H) , 7.28-7.39 (m, 5H) , 7.76 (s, 1H) , 8.10 (s, 1H) , 8.14 (s, 1H) , 8.66 (s, 1H) , 9.78 (s, 1H) , 11.60 (br s, 1H) 2质子未出现。

[0483] 实施例30:N-{4-[(3R)-3-氨基哌啶-1-基]-5-环丙基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-

基}-1-苄基-1H-吡唑-4-甲酰胺

[0485] 从 ((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羰基)-氨基]-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯, 步骤1, 实施例53的产物制备标题化合物。

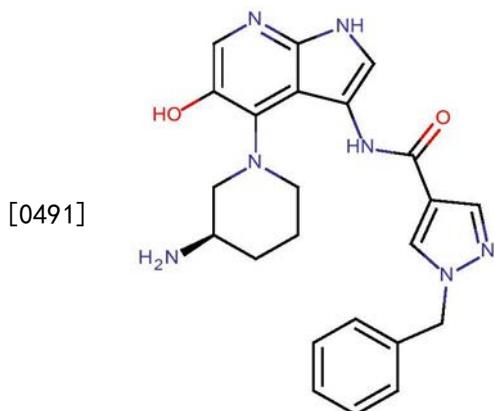
[0486] 将 ((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羰基)-氨基]-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯 (29mg, 0.05mmol)、环丙基硼酸 (8.4mg, 0.1mmol)、Pd (dppf) Cl₂ (5.1mg, 0.01mol) 和 K₂CO₃ (27.6mg, 0.20mmol) 以及 THF (4.5mL) / H₂O (0.5mL) 装入微波瓶并脱气。将内容物在 120 °C 的微波照射下加热 1 小时。将反应混合物在 EtOAc 和 H₂O 之间分层, 然后分离有机层并使用另外部分的 EtOAc 萃取水相。使用饱和碳酸氢钠水溶液、H₂O、饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机物, 干燥 (MgSO₄) 并真空去除溶剂以产生黄色油状物形式的粗 ((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羰基)-氨基]-5-环丙基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯。

[0487] 在盐酸溶液, 1.25M 的 MeOH (5mL) 中处理该物质并在 80 °C 下在微波中辐射 1 小时。真空去除挥发物并在最小体积的 MeOH 中处理剩余物并装载在已经装填 MeOH 的 SCX2 离子交换柱上。使用 DCM、MeOH 洗涤柱并使用氨溶液, 3.5M 的 MeOH 洗脱标题化合物。真空浓缩该溶液并在 pH 4 下, 然后在 pH 9 下通过制备 HPLC 纯化剩余物。在丙酮中处理所述物质并通过碳酸钾垫过滤。真空浓缩滤液以提供固体形式的标题化合物, 1.5mg, 6.8%。

[0488] LC/MS: RT = 1.56Min (270nm), m/z = 456 [M+H]⁺。总运行时间 3.75min (短正/负), HP1100。

[0489] ¹H NMR (d₄MeOH) : δ 0.72–1.07 (m, 4H), 1.20–2.18 (m, 5H), 3.16–3.24 (m, 1H), 3.37–3.52 (m, 3H), 5.41 (s, 2H), 7.28–7.42 (m, 5H), 7.66 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.32 (s, 1H) 5 质子未出现。

[0490] 实施例31:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-羟基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0492] 根据方案9中概述的路线制备标题化合物。

[0493] 如实施例6中描述的制备标题化合物。在步骤3中, (2R,8aS)-(+)-(樟脑基磺酰基)氧杂吖丙啶(2.55g,11.1mmol)代替四溴化碳用作亲电试剂。在常规处理之后,通过使用异己烷然后5%EtOAc/异己烷洗脱的快速柱层析纯化,分离淡黄色油状物形式的期望的中间体,4-氟-1-三异丙基硅烷基-1H-吲哚-5-醇,0.91g,66.5%。

[0494] 步骤4:2,2-二甲基-丙酸4-氟-1-三异丙基硅烷基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯的制备

[0495] 向4-氟-1-三异丙基硅烷基-1H-吲哚-5-醇(1g,3.24mmol)和Et₃N(0.45mL,3.24mmol)的DCM(1mL)溶液加入新戊酰氯(0.8mL,6.5mmol)并在RT下搅拌3小时。使用DCM(30mL)稀释混合物并使用H₂O,饱和氯化钠水溶液洗涤,在无水Na₂SO₄上干燥并真空浓缩。通过快速柱层析纯化粗物质以产生透明油状物形式的标题化合物,0.55g,43.2%。

[0496] 步骤5:2,2-二甲基-丙酸4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯的制备

[0497] 在0℃下将四丁基氟化铵溶液,1.0M的THF(2.8mL,2.8mmol)滴加至2,2-二甲基-丙酸4-氟-1-三异丙基硅烷基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯(550mg,1.4mmol)的THF(10mL)溶液。在加入后,在RT下继续搅拌另外1.5小时。加入EtOAc并使用H₂O和饱和氯化钠水溶液洗涤混合物。在MgSO₄上干燥有机物,真空浓缩并通过使用33%EtOAc/异己烷洗脱的快速层析纯化获得的粗物质。将包含纯产物的馏分合并,真空浓缩以提供白色固体形式的标题化合物,270mg,81.6%。

[0498] 步骤6:2,2-二甲基-丙酸4-氟-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯的制备

[0499] 使用实施例6,步骤5描述的方法制备其,用2,2-二甲基-丙酸4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯(270mg,1.14mmol)代替5-溴-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。分离淡黄色固体形式的标题化合物,321mg,99.9%。

[0500] 步骤7:2,2-二甲基-丙酸4-((R)-3-叔丁氧基羰基氨基-哌啶-1-基)-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯的制备

[0501] 在微波瓶中混合2,2-二甲基-丙酸4-氟-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯(95mg,0.34mmol)、(R)-哌啶-3-基-氨基甲酸叔丁基酯(81mg,0.4mmol)、DIPEA(89μL,0.51mmol)和1-丁醇(2mL),然后在微波照射下在120℃下加热2小时。真空浓缩混合物并通过使用25%EtOAc/异己烷洗脱的快速层析纯化剩余物。将包含产物的馏分合并,真空浓缩以产生黄色固体形式的标题化合物,73mg,46.5%。

[0502] 步骤8:2,2-二甲基-丙酸3-氨基-4-((R)-3-叔丁氧基羰基氨基-哌啶-1-基)-1H-

吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯的制备

[0503] 向2,2-二甲基-丙酸4-((R)-3-叔丁氧基羰基氨基-哌啶-1-基)-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯(73mg, 0.158mmol)和Et₃N(0.2mL)的MeOH(20mL)混合物加入雷尼镍, 50%浆液的H₂O(10mg)。在氢气环境中将反应在RT下搅拌18小时。通过过滤去除催化剂并真空浓缩滤液以提供褐色固体形式的标题化合物, 68mg, 100%。

[0504] 步骤9:2,2-二甲基-丙酸3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羧基)-氨基]-4-((R)-3-叔丁氧基羰基氨基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯的制备

[0505] 在RT下, 在DMF(5mL)中搅拌2,2-二甲基-丙酸3-氨基-4-((R)-3-叔丁氧基羰基氨基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯(68mg, 0.158mmol)和1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(32mg, 0.158mmol)。向其加入三乙胺(0.04mL, 5.74mmol), 随后加入HATU(60mg, 0.158mmol)并将混合物在室温下搅拌5小时。真空浓缩生成的溶液并在EtOAc(100mL)中处理生成的褐色胶状物。使用H₂O(2×60mL)、饱和氯化钠水溶液(20mL)将其洗涤, 干燥(MgSO₄)并真空浓缩。通过快速柱层析纯化粗物质以提供褐色固体形式的标题化合物, 63mg, 64.8%。

[0506] 步骤10:((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羧基)-氨基]-5-羟基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯的制备

[0507] 向2,2-二甲基-丙酸3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羧基)-氨基]-4-((R)-3-叔丁氧基羰基氨基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯(382mg, 0.62mmol)的乙醇(15mL)溶液加入NaOH, 4N水溶液(1.5mL, 6mmol)并将反应在RT下搅拌2小时。真空去除溶剂并使用HCl, 6N将剩余物小心中和至pH7。使用EtOAc(3×40mL)萃取混合物并使用饱和氯化钠水溶液(×3)洗涤合并的萃取物, 在Na₂SO₄上干燥并真空浓缩。通过使用6%MeOH/DCM洗脱的快速柱层析将粗物质纯化两次并将包含纯产物的馏分合并, 真空浓缩以产生浅褐色固体形式的标题化合物, 115mg, 34.9%。

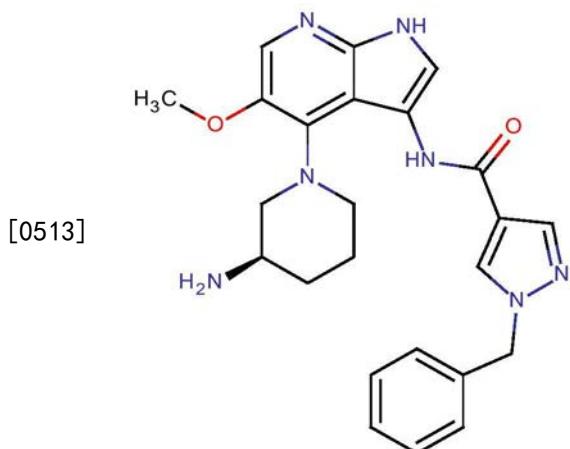
[0508] 步骤11:标题化合物:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-羟基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0509] 在MeOH(4mL)和盐酸溶液中搅拌((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羧基)-氨基]-5-羟基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯(115mg, 0.216mmol), 加入4N的MeOH(1mL)。将混合物在RT下搅拌18小时, 然后通过小心加入氢氧化铵溶液中和(pH 7)。加入DCM(70mL)并使用H₂O(2×20mL), 饱和氯化钠水溶液(2×20mL)洗涤混合物, 在Na₂SO₄上干燥并真空浓缩以提供盐酸盐形式的标题化合物, 75mg, 80.5%。

[0510] LC/MS: RT=2.02Min(270nm), m/z=432[M+H]⁺。总运行时间7.5min(long pos), HP1100。

[0511] ¹H NMR(d₆DMSO): δ 1.35–1.48 (m, 2H), 1.59–1.69 (m, 1H), 1.84–1.91 (m, 1H), 2.99–3.11 (m, 2H), 3.17–3.38 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 7.24–7.28 (m, 2H), 7.30–7.40 (m, 3H), 7.50 (d, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.99 (brs, 3H), 8.02 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 9.31 (br s, 1H), 9.52 (s, 1H), 11.39 (s, 1H) 1质子未出现。

[0512] 实施例32:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0514] 从实施例31中步骤3的产物的4-氟-1-三异丙基硅烷基-1H-吲哚-5-醇制备标题化合物。

[0515] 步骤1:4-氟-5-甲氧基-1-三异丙基硅烷基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0516] 在0℃下,将偶氮二羧酸二异丙酯(688mg,3.4mmol)滴加至4-氟-1-三异丙基硅烷基-1H-吲哚-5-醇(805mg,2.61mmol)和三苯基膦(892mg,3.44mmol)的THF(25mL)溶液并将反应搅拌10mins。加入MeOH(1mL,24.7mmol)并将混合物在0℃下搅拌另外1小时,然后在RT下搅拌1小时。将溶液真空浓缩为深黄色胶状物。通过使用异己烷至3%EtOAc/异己烷洗脱的柱层析纯化粗物质。将包含纯产物的馏分合并,真空浓缩以提供淡黄色油状物形式的标题化合物,680mg,80.8%。

[0517] 步骤2:4-氟-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0518] 使用实施例31,步骤5描述的方法制备其,用4-氟-5-甲氧基-1-三异丙基硅烷基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(630mg,1.95mmol)代替2,2-二甲基-丙酸4-氟-1-三异丙基硅烷基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯。分离淡黄色固体形式的标题化合物,285mg,87.8%。

[0519] 步骤3:4-氟-5-甲氧基-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0520] 使用实施例6,步骤5描述的方法制备其,用4-氟-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(280mg,1.69mmol)代替5-溴-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。分离淡黄色固体形式的标题化合物,325mg,91.3%。

[0521] 步骤4:[(R)-1-(5-甲氧基-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基]-氨基甲酸叔丁基酯的制备

[0522] 使用实施例31,步骤7描述的方法制备其,用4-氟-5-甲氧基-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(270mg,1.28mmol)代替2,2-二甲基-丙酸4-氟-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯。分离黄色固体形式的标题化合物,385mg,76.9%。

[0523] 步骤5:[(R)-1-(3-氨基-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基]-氨基甲酸叔丁基酯的制备

[0524] 使用实施例31,步骤8描述的方法制备其,用[(R)-1-(5-甲氧基-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基]-氨基甲酸叔丁基酯(130mg,0.332mmol)代替2,2-二甲基-丙酸4-((R)-3-叔丁氧基羰基氨基-哌啶-1-基)-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯。分离褐色油状物形式的标题化合物,120mg,100%。

[0525] 步骤6:((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羰基)-氨基]-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,

3-b]吡啶-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯的制备

[0526] 使用实施例31,步骤9描述的方法制备其,用[(R)-1-(3-氨基-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基]-氨基甲酸叔丁基酯(120mg,0.332mmol)代替2,2-二甲基-丙酸3-氨基-4-((R)-3-叔丁氧基羰基氨基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯。分离浅褐色固体形式的标题化合物,68mg,37.5%。

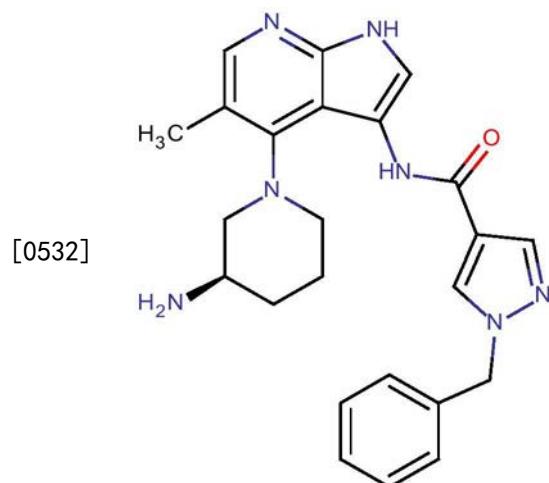
[0527] 步骤7:标题化合物:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0528] 在0℃下,向((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羰基)-氨基]-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯(320mg,0.58mmol)的MeOH(10mL)溶液加入盐酸溶液,3.0M的MeOH(2mL)。在加入后,将反应混合物在50℃下搅拌3小时,然后真空浓缩。将剩余物在饱和碳酸钠水溶液(15mL)和20%MeOH的DCM(100mL)之间分层。将有机物分离,使用H₂O、饱和氯化钠水溶液洗涤并在无水Na₂SO₄上干燥。真空去除溶剂并通过快速柱层析纯化粗物质以产生淡白色固体形式的标题化合物,105mg,73%。

[0529] LC/MS:RT=2.14Min(270nm),m/z=446[M+H]⁺。总运行时间7.5min(long pos),HP1100。

[0530] ¹H NMR(d₆DMSO):δ1.15-1.25(m,1H),1.40-1.51(m,1H),1.67-1.76(m,2H),2.25(br s,2H),2.82-2.94(m,2H),3.00-3.08(m,2H),3.19-3.25(m,1H),3.85(s,3H),5.41(s,2H),7.25-7.40(m,5H),7.71(s,1H),8.01(s,1H),8.07(s,1H),8.54(s,1H),9.71(br s,1H),11.22(br s,1H)。

[0531] 实施例33:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0533] 从实施例53,步骤1的产物的((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羰基)-氨基]-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯制备标题化合物。

[0534] 将((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羰基)-氨基]-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯(48.0mg,0.08mmol)、甲基硼酸(8.70mg,0.15mmol)、Pd(dppf)Cl₂(7.0mg,0.01mmol)和K₂CO₃(22.1mg,0.16mmol)以及THF(4.5mL)/H₂O(0.5mL)装入微波瓶并脱气。在120℃下在微波照射下将内容物加热2小时。将反应混合物在EtOAc和H₂O之间分层,然后将有机层分离并使用另外部分的EtOAc萃取水相。使用H₂O,饱和

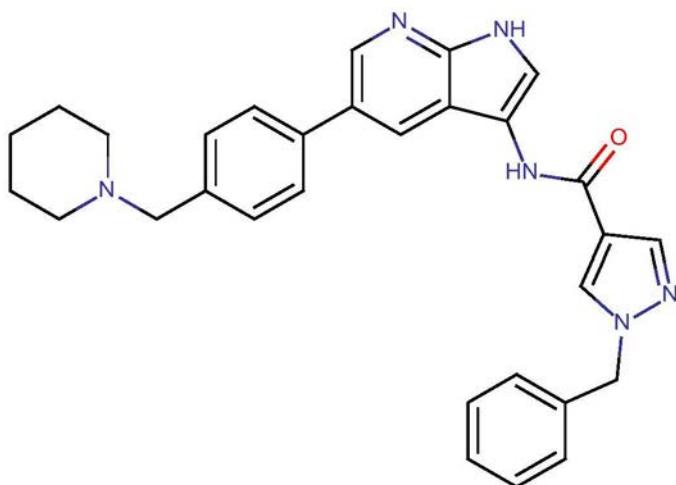
氯化钠水溶液洗涤合并的有机物,干燥($MgSO_4$)并真空去除溶剂。通过使用异己烷至15% $EtOAc$ /异己烷(梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗产物。将发现包含纯物质的馏分合并,真空去除溶剂以提供((R)-1-{3-[1-苄基-1H-吡唑-4-羧基]-氨基}-5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯。

[0535] 在DCM(5mL)中处理其并滴加三氟乙酸(0.05mL, 0.6m mol),并使反应在RT下搅拌2小时。加入三氟乙酸(0.05mL, 0.6m mol)并将反应在RT下搅拌另外1小时。真空去除挥发物并将剩余物在DCM和H₂O之间分层。将有机层分离并使用饱和氯化钠水溶液洗涤,干燥($MgSO_4$)并真空去除挥发物。在pH9下通过制备HPLC纯化剩余物,在丙酮中处理并通过碳酸钾垫过滤。真空浓缩滤液以提供固体形式的标题化合物,4mg,11.5%。

[0536] LC/MS: RT = 1.61Min (270nm), m/z = 430 [M+H]。总运行时间3.75min(短正/负), HP1100。

[0537] ¹H NMR (d_4MeOH) δ 1.11–1.23 (m, 1H), 1.50–1.64 (m, 1H), 1.69–1.76 (m, 1H), 1.78–1.87 (m, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.83–2.97 (m, 2H), 3.08–3.23 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 7.28–7.41 (m, 5H), 7.62 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 8.24 (s, 1H) 5质子未出现。

[0538] 实施例34:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-哌啶-1-基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0539]

[0540] 根据方案3中概述的路线制备标题化合物。从实施例1制备标题化合物。

[0541] 步骤1:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-甲酰基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0542] 在THF/H₂O(2.1mL:0.23mL)中混合1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺(100mg, 0.25mmol)、4-甲酰基苯基硼酸(41.6mg, 0.28mmol)、 K_2CO_3 (103.7mg, 0.75mmol)和Pd(dppf)Cl₂(18.3mg, 0.025mmol)并彻底脱气。在微波照射下,将反应混合物在120℃下加热1小时。使用 $EtOAc$ 稀释反应,使用H₂O洗涤,再次使用 $EtOAc$ 萃取水相并使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机物,干燥($MgSO_4$)并真空去除溶剂以提供褐色胶状物。通过使用DCM至7%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析纯化该粗物质。将发现包含纯物质的馏分合并,真空去除溶剂以提供淡黄色固体形式的期望的产物,76.5mg,71.9%。

[0543] 步骤2:标题化合物:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-哌啶-1-基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

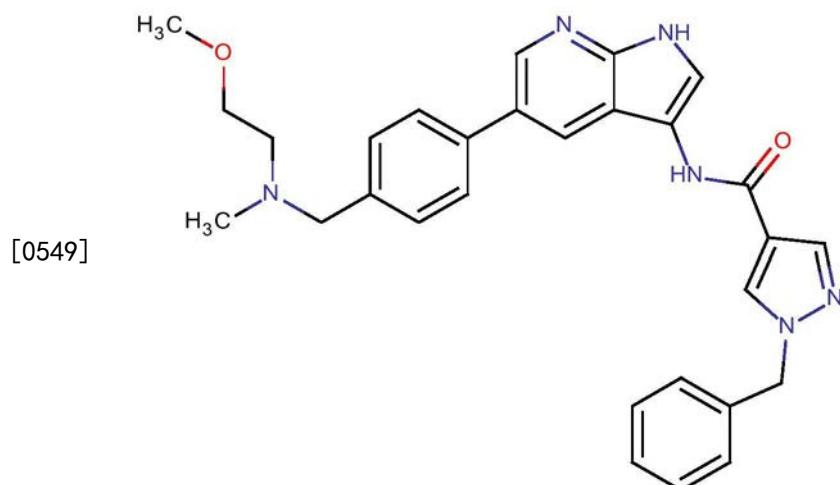
[0544] 在RT下,在THF (6mL) 中将1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-甲酰基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺 (76.5mg, 0.18mmol) 和哌啶 (0.05mL, 0.54mmol) 搅拌10分钟。加入NaBH (OAc)₃ (190.8mg, 0.90mmol) 并将反应在RT下搅拌18小时。通过加入饱和NaHCO₃水溶液淬灭反应混合物并使用EtOAc (2×30mL) 萃取。使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机萃取物, 干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩以提供黄色胶状物。

[0545] 通过使用DCM至16%MeOH/DCM (梯度) 洗脱的自动柱层析纯化粗物质。将发现包含产物的馏分合并, 真空去除溶剂以提供奶油色固体形式的标题化合物, 35.2mg, 39.5%。

[0546] LC/MS: RT=1.90Min (270nm) , m/z=491.5 [M+H]。总运行时间3.75min (短正/负) , HP1100。

[0547] ¹H NMR (d₆DMSO) : δ1.39–1.41 (m, 2H) , 1.48–1.52 (m, 4H) , 2.32–2.35 (m, 4H) , 3.47 (s, 2H) , 5.41 (s, 2H) , 7.29–7.34 (m, 3H) , 7.36–7.41 (m, 4H) , 7.64 (d, 2H) , 7.82 (d, 1H) , 8.10 (s, 1H) , 8.47 (s, 1H) , 8.49 (d, 1H) , 8.53 (d, 1H) , 9.90 (s, 1H) , 11.49 (d, 1H) 。

[0548] 实施例35:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-[(2-甲氧基-乙基)-甲基-氨基]-甲基]-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0550] 如实施例34, 步骤1描述的制备标题化合物并对步骤2描述的方案的下列变化。

[0551] 步骤2:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-[(2-甲氧基-乙基)-甲基-氨基]-甲基]-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0552] 在rtp下, 将1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-甲酰基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺 (50mg, 0.12mmol) 溶于DMF (5mL)。向其加入 (2-甲氧基-乙基)-甲基-胺 (158.6mg, 1.78mmol) 和AcOH (0.050mL)。然后, 将溶液排空气并使用N₂反填充。加入10%钯/炭 (25.3mg), 然后将反应排空气并再次使用N₂反填充, 然后排空气并使用H₂反填充。然后, 在45°C下将反应在H₂下搅拌16小时。向反应混合物加入另外15eq的胺和50μL的AcOH并在45°C下将反应在H₂下加热另外24小时。通过过滤分离催化剂并使用另外部分的DMF (1mL) 洗涤滤饼。真空浓缩滤液并通过首先在pH4下, 然后pH9的制备HPLC纯化剩余物以提供褐色固体形式的标题化合物, 7.9mg, 13.5%。

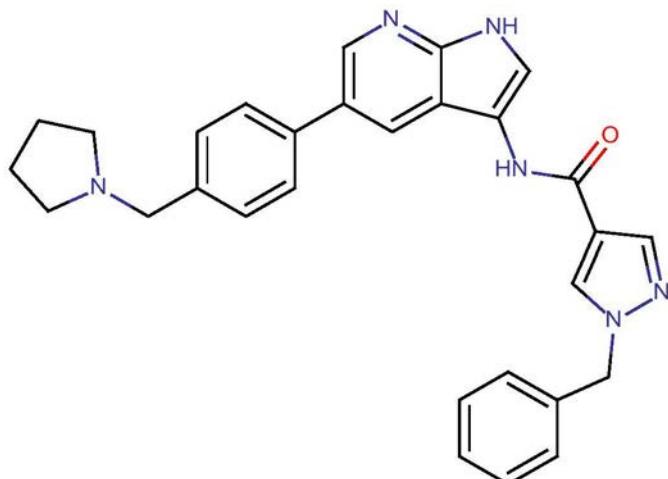
[0553] LC/MS: RT=1.91Min (254nm) , m/z=495 [M+H]。总运行时间3.75min (短正/负) , HP1100。

[0554] ¹H NMR (d₆DMSO) : δ2.19 (s, 3H) , 2.54 (t, 2H) , 3.24 (s, 3H) , 3.47 (t, 2H) , 3.55 (s,

2H), 5.41 (s, 2H), 7.27–7.35 (m, 7H), 7.66 (m, 2H), 7.82 (d, 1H), 8.10 (d, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.50 (d, 1H), 8.53 (d, 1H), 9.91 (s, 1H), 11.49 (br d, 1H)。

[0555] 实施例36:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-吡咯烷-1-基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0556]



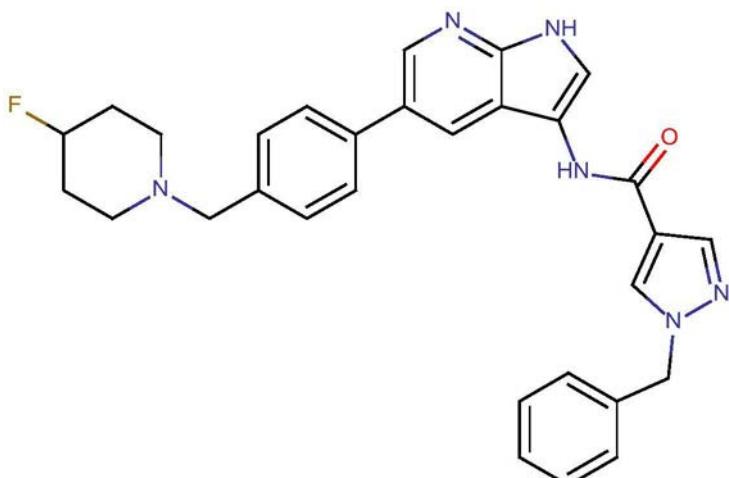
[0557] 如实施例34中描述的制备标题化合物,在步骤2中用吡咯烷(25.6mg, 0.36mmol)代替哌啶。以甲酸盐形式分离它,21mg, 37.1%, 随后在pH 4下通过制备HPLC纯化。

[0558] LC/MS: RT = 1.87Min (270nm), m/z = 477 [M+H]。总运行时间3.75min (短正/负), HP1100。

[0559] ^1H NMR (d_6DMSO): δ 1.69–1.76 (m, 4H), 5.41 (s, 2H), 7.28–7.45 (m, 7H), 7.65–7.68 (m, 2H), 7.82 (d, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.49–8.51 (m, 1H), 8.53–8.55 (m, 1H), 9.92 (s, 1H), 11.49 (br d, 1H) 6质子未出现。

[0560] 实施例37:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[4-(4-氟-哌啶-1-基甲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

[0561]

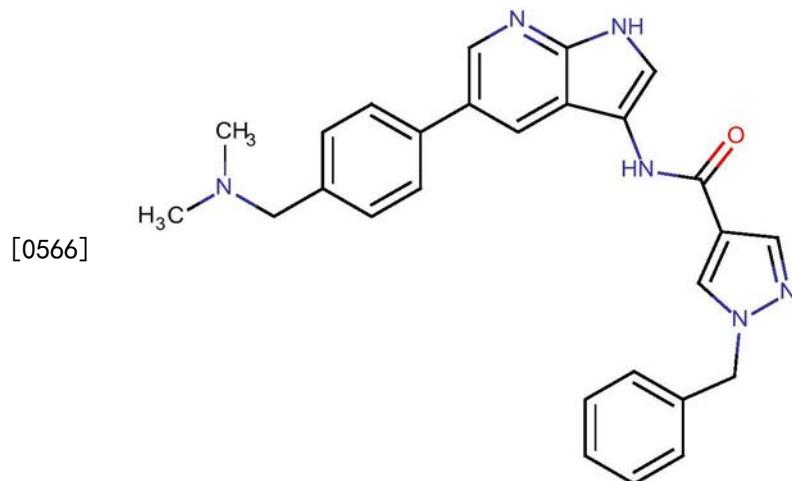


[0562] 如实施例34中描述的制备标题化合物,在步骤2中用4-氟-哌啶盐酸盐(99.4mg, 0.71mmol)代替哌啶。以白色固体形式分离它,21mg, 34%, 随后通过使用DCM至8%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析纯化并使用乙腈研磨。

[0563] LC/MS: RT = 1.93Min (270nm), m/z = 509 [M+H]。总运行时间3.75min (短正), HP1100。

[0564] ^1H NMR (d₆DMSO) : 81.67–1.92 (m, 4H), 2.32 (m, 2H), 2.52 (m, 2H), 3.52 (s, 2H), 4.61–4.76 (m, 1H), 5.41 (s, 2H), 7.29–7.42 (m, 7H), 7.66 (m, 2H), 7.82 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.47–8.53 (m, 3H), 9.90 (s, 1H), 11.49 (br s, 1H)。

[0565] 实施例38:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-二甲氨基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

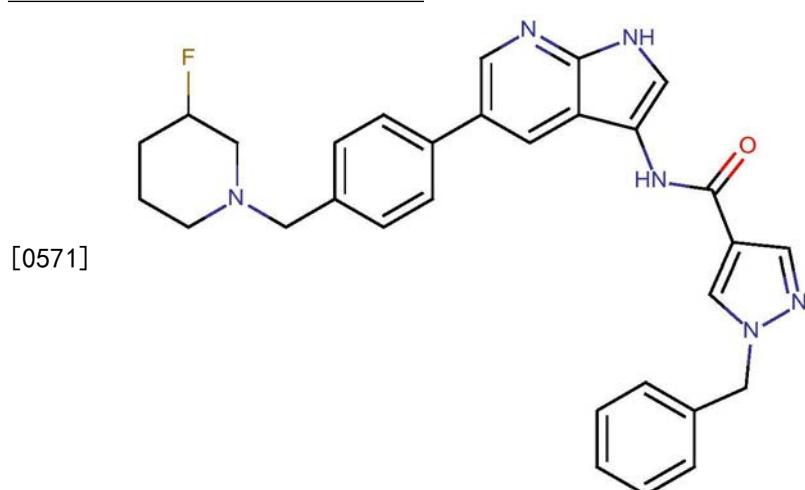


[0567] 如实施例35中描述的制备标题化合物,在步骤2中用二甲基胺溶液,2.0M的THF (1.07mL,2.14mmol)代替(2-甲氧基-乙基)-甲基-胺。以黄色固体形式分离它,包含0.5当量的甲酸盐,4.4mg,13.7%,随后在pH 9下通过制备HPLC纯化。

[0568] LC/MS:RT=1.84Min (254nm) ,m/z=451 [M+H]。总运行时间3.75min(短正/负), HP1100。

[0569] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 2.18 (s, 6H), 3.45 (s, 2H), 5.41 (s, 2H), 7.28–7.42 (m, 7H), 7.67 (m, 2H), 7.82 (d, 1H), 8.10 (d, 1H), 8.22 (s, 0.5H-甲酸盐), 8.47 (s, 1H), 8.50 (d, 1H), 8.54 (d, 1H), 9.91 (s, 1H), 11.49 (br d, 1H)。

[0570] 实施例39:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[4-(3-氟-哌啶-1-基甲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

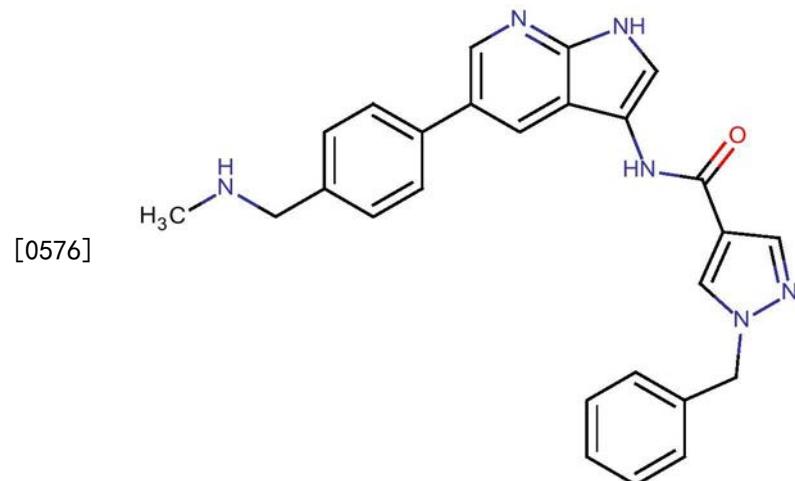


[0572] 如实施例34中描述的制备标题化合物,在步骤2中用3-氟-哌啶盐酸盐(99.4mg,0.71mmol)代替哌啶。以白色固体形式分离它,17mg,28%,随后通过使用DCM至10%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析纯化并使用乙腈研磨。

[0573] LC/MS: RT = 1.91 Min (270nm) , m/z = 509 [M+H] 。总运行时间 3.75min (短正) , HP1100。

[0574] ^1H NMR (d₆DMSO) : δ 1.44–1.56 (m, 2H) , 1.68–1.87 (m, 2H) , 2.24–2.44 (m, 2H) , 2.66–2.75 (m, 2H) , 3.56 (s, 2H) , 4.55–4.71 (m, 1H) , 5.41 (s, 2H) , 7.29–7.42 (m, 7H) , 7.66 (m, 2H) , 7.82 (s, 1H) , 8.10 (s, 1H) , 8.47–8.53 (m, 3H) , 9.90 (s, 1H) , 11.49 (br s, 1H) 。

[0575] 实施例40:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-甲基氨基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

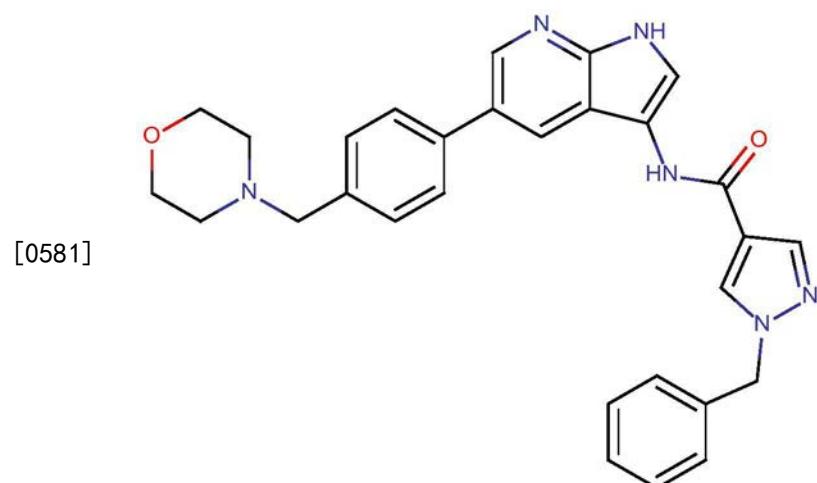


[0577] 如实施例35中描述的制备标题化合物,在步骤2中用甲基胺溶液,2.0M的THF (1.07mL, 2.14mmol) 代替 (2-甲氧基-乙基)-甲基-胺。以粉色固体形式分离它,4mg, 12.9%, 随后在pH 4下通过制备HPLC纯化。

[0578] LC/MS: RT = 1.83 Min (254nm) , m/z = 437 [M+H] 。总运行时间 3.75min (短正/负) , HP1100。

[0579] ^1H NMR (d₆DMSO) : δ 2.37 (s, 3H) , 3.83 (s, 2H) , 5.41 (s, 2H) , 7.28–7.41 (m, 5H) , 7.48 (m, 2H) , 7.69 (m, 2H) , 7.82 (d, 1H) , 8.10 (s, 1H) , 8.36 (s, 1H) , 8.49 (s, 1H) , 8.52 (d, 1H) , 8.55 (d, 1H) , 9.96 (s, 1H) , 11.52 (br d, 1H) 。

[0580] 实施例41:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-吗啉-4-基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



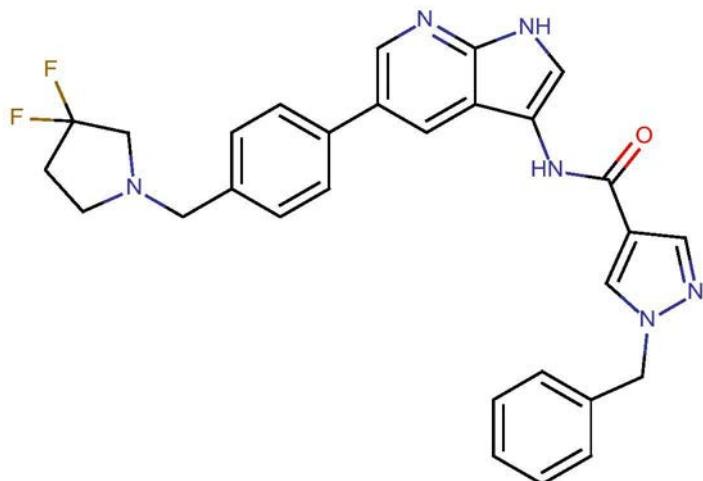
[0582] 如实施例34中描述的制备标题化合物,在步骤2中用吗啉 (51.7mg, 0.59mmol) 代替

哌啶。以淡白色固体形式分离它,28.4mg,48.6%,随后在pH4下通过使用DCM-5%MeOH/DCM(梯度)洗脱的柱层析和制备HPLC纯化。

[0583] LC/MS:RT=1.86Min (254nm) ,m/z=493[M+H]。总运行时间3.75min(短正/负), HP1100。

[0584] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 2.38 (m, 4H) , 3.51 (s, 2H) , 3.59 (m, 4H) , 5.41 (s, 2H) , 7.28-7.45 (m, 7H) , 7.67 (m, 2H) , 7.81 (d, 1H) , 8.09 (s, 1H) , 8.47 (s, 1H) , 8.49 (d, 1H) , 8.53 (d, 1H) , 9.91 (s, 1H) , 11.49 (br d, 1H) 。

[0585] 实施例42:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-[4-(3,3-二氟-吡咯烷-1-基甲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



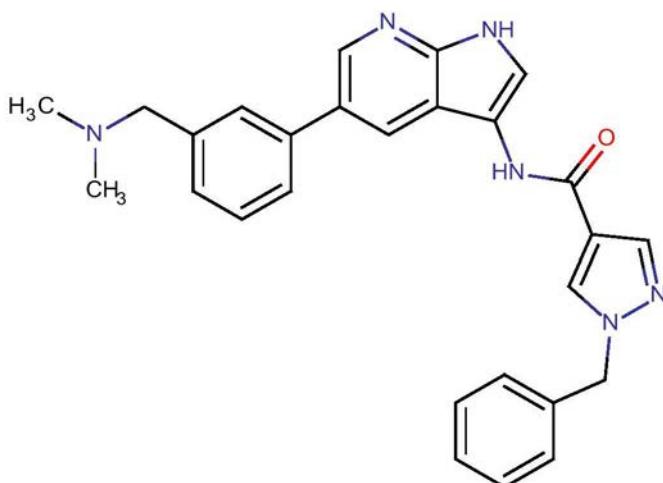
[0586]

[0587] 如实施例34中描述的制备标题化合物,在步骤2中用3,3-二氟吡咯烷盐酸盐(102.2mg,0.71mmol)代替哌啶。以白色固体形式分离该化合物,22mg,36.2%,随后通过使用DCM至10%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析纯化并使用乙腈研磨。

[0588] LC/MS:RT=2.17Min (270nm) ,m/z=513[M+H]。总运行时间3.75min(短正), HP1100。

[0589] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 2.26 (m, 2H) , 2.72 (t, 2H) , 2.88 (t, 2H) , 3.67 (s, 2H) , 5.41 (s, 2H) , 7.29-7.44 (m, 7H) , 7.69 (m, 2H) , 7.82 (s, 1H) , 8.10 (s, 1H) , 8.47-8.53 (m, 3H) , 9.90 (s, 1H) , 11.50 (br s, 1H) 。

[0590] 实施例43:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(3-二甲基氨基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0592] 根据方案4中概述的路线制备标题化合物。从实施例1制备标题化合物。

[0593] 步骤1:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0594] 向1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺93.5g, 8.83mmol)的DCM(75mL)溶液加入四丁基硫酸氢铵(0.45g, 1.32mmol)、氢氧化钠水溶液(50%, w/v, 7mL)和对甲苯磺酰氯(2.02g, 10.6mmol)。将反应混合物在RT下搅拌4小时,然后使用DCM稀释。使用1M HCl水溶液、饱和碳酸氢盐水溶液、饱和氯化钠水溶液将其洗涤、干燥(MgSO₄)并真空浓缩。通过使用异己烷至75%EtOAc/异己烷(梯度)洗脱的自动柱层析纯化剩余物。这提供褐色泡沫形式的目标化合物,3.51g, 61.4%。

[0595] 步骤2:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(3-甲酰基-苯基)-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0596] 在THF/H₂O(10mL/1mL)中混合1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺(595mg, 1.08mmol)、3-甲酰基苯基硼酸(195mg, 1.3mmol)、K₂CO₃(448mg, 3.24mmol)和Pd(dppf)Cl₂(39.6mg, 0.05mmol)并彻底脱气。在微波照射下将反应混合物在120°C下加热1小时。使用EtOAc稀释反应,使用H₂O洗涤,并再次使用EtOAc萃取水相,使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机物,干燥(MgSO₄)并真空去除溶剂以提供褐色胶状物。通过使用异己烷至50%EtOAc/异己烷至EtOAc(梯度)洗脱的自动柱层析纯化该粗物质。将发现包含纯物质的馏分合并,真空去除溶剂以提供黄色固体形式的期望的产物,420mg, 67.5%。

[0597] 步骤3:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(3-二甲基氨基甲基-苯基)-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0598] 向1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(3-甲酰基-苯基)-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺(100mg, 0.17mmol)的MeOH(1mL)溶液加入4A分子筛,随后加入二甲基胺,2.0M的THF溶液(4mL, 8mmol)并将反应在RT下搅拌3小时。加入三乙酰氧基硼氢化钠(72.1mg, 0.34mmol)并将反应在RT下搅拌18小时。通过过滤分离无机物质并使用DCM稀释滤液。使用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤溶液,干燥(MgSO₄)并真空浓缩。使用DCM至10%MeOH/DCM洗脱的自动柱层析纯化剩余物。将包含纯化合物的馏分合并,真空浓缩以产生无色玻璃状的目标化合物,61mg, 58.0%。

[0599] 步骤4:标题化合物:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(3-二甲基氨基甲基-苯基)-1H-

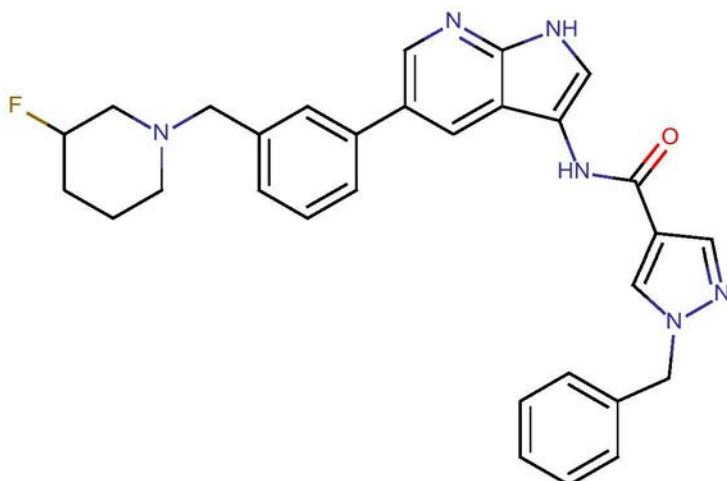
吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0600] 将1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(3-二甲基氨基甲基-苯基)-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺(61mg, 0.10mmol)溶于THF(2mL)和MeOH(1mL)的混合物并加入在最小体积的H₂O中的氢氧化钾(26.6mg, 0.474mmol)。在RT下搅拌18小时后, 使用H₂O稀释反应混合物并继续搅拌。在1小时后, 通过过滤分离固体并在40°C下在真空干燥之前使用H₂O洗涤滤饼。这提供黄色固体形式的标题化合物, 15mg, 33.2%。

[0601] LC/MS: RT = 0.99 min (230 nm), m/z = 451 [M+H]⁺。总运行时间1.9 min (超短正), HP1200。

[0602] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 2.18 (s, 6H), 3.47 (s, 2H), 5.42 (s, 2H), 7.25–7.46 (m, 7H), 7.58–7.63 (m, 2H), 7.84 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.50–8.53 (m, 2H), 9.95 (br s, 1H), 11.50 (br s, 1H)。

[0603] 实施例44:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(3-氟-哌啶-1-基甲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

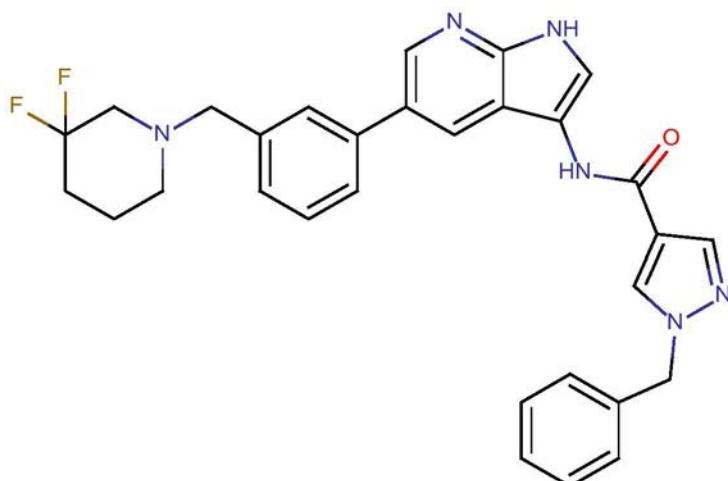


[0605] 如实施例43中描述的制备标题化合物,在步骤3中用3-氟哌啶盐酸盐(47.5mg,0.34mmol)代替哌啶。以黄色粉末形式分离它,11.7mg,18.1%,随后在pH9下通过制备HPLC纯化。

[0606] LC/MS: RT = 1.04 Min (230nm), m/z = 509 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正), HP1200。

[0607] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.40–1.60 (m, 2H), 1.67–1.90 (m, 2H), 2.24–2.32 (m, 1H), 2.36–2.48 (m, 2H), 2.66–2.76 (m, 1H), 3.60 (s, 2H), 4.54–4.74 (m, 1H), 5.42 (s, 2H), 7.28–7.40 (m, 6H), 7.45 (dd, 1H), 7.58–7.62 (m, 2H), 7.84 (d, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.50 (d, 1H), 8.52 (d, 1H), 9.96 (s, 1H), 11.51 (br d, 1H)。

[0608] 实施例45:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(3,3-二氟-哌啶-1-基甲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺



[0609]

[0610] 如实施例43中描述的制备标题化合物,在步骤3中用3,3-二氟哌啶盐酸盐(124mg, 0.79mmol)代替哌啶并用氰基硼氢化钠(13.1mg, 0.21mmol)代替三乙酰氧基硼氢化钠。

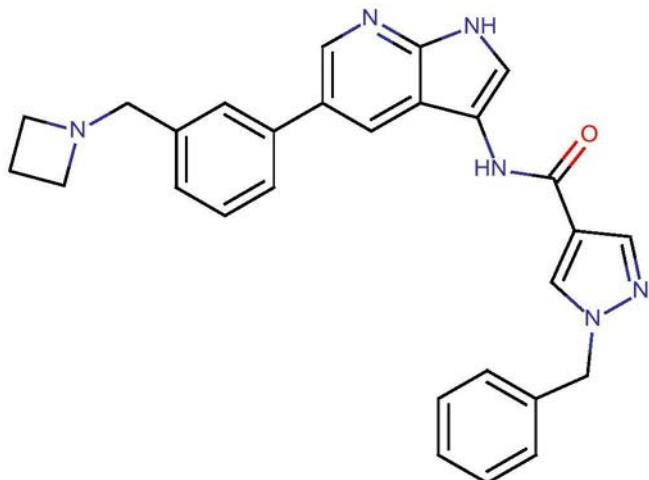
[0611] 步骤4:标题化合物:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(3,3-二氟-哌啶-1-基甲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺的制备

[0612] 在微波瓶中混合1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-[3-(3,3-二氟-哌啶-1-基甲基)-苯基]-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺(100mg, 0.147mmol)、碳酸钾(138mg, 1mmol)和MeOH(4mL)并在100℃下在微波照射下加热30分钟。使用H₂O稀释反应混合物并使用DCM/IPA(3:1)的混合物萃取。使用饱和氯化钠水溶液洗涤有机物, 干燥(MgSO₄)并真空浓缩。在最少量的MeOH中处理剩余物, 然后加入Et₂O直至溶液开始变混浊。使其保持静止1小时, 然后滤除晶体并在40℃下真空干燥以提供黄色晶体形式的标题化合物, 30.3mg, 38.6%。

[0613] LC/MS: RT = 1.17 Min (230nm), m/z = 527 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正), HP1200。

[0614] ¹H NMR (d₆DMSO): δ 1.62–1.71 (m, 2H), 1.80–1.95 (m, 2H), 2.42–2.48 (m, 2H), 2.61–2.70 (m, 2H), 3.67 (s, 2H), 5.41 (s, 2H), 7.28–7.40 (m, 6H), 7.47 (dd, 1H), 7.59–7.63 (m, 2H), 7.83 (d, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.49 (d, 1H), 8.52 (d, 1H), 9.94 (s, 1H), 11.52 (br d, 1H)。

[0615] 实施例46:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(3-氮杂环丁烷-1-基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

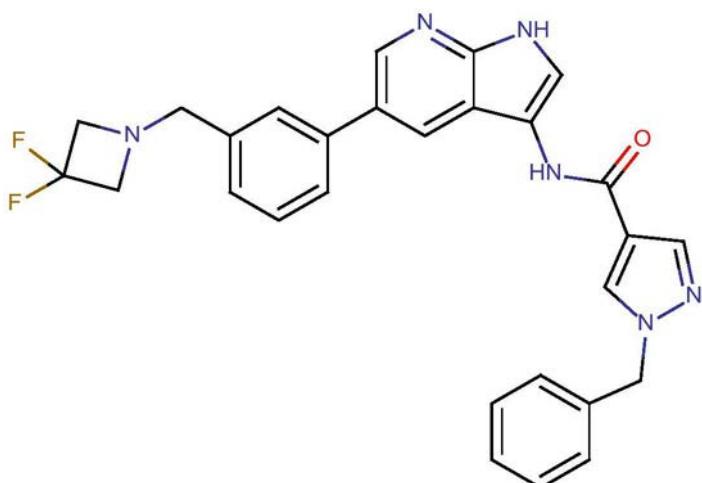


[0617] 如实施例45中描述的制备标题化合物,在步骤3中用氮杂环丁烷(38.7mg,0.68mmol)代替哌啶。在步骤4中,在使用H₂O稀释后产物沉淀并通过过滤收集,使用H₂O、Et₂O洗涤并在40℃下真空干燥以提供淡白色固体形式的标题化合物,26.7mg,25.6%。

[0618] LC/MS:RT=1.00Min (230nm),m/z=463.2 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正),HP1200。

[0619] ¹H NMR (d₆DMSO):δ1.94–2.02 (m, 2H), 3.12–3.18 (m, 4H), 3.60 (s, 2H), 5.42 (s, 2H), 7.22–7.46 (m, 7H), 7.54–7.60 (m, 2H), 7.83 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.46–8.53 (m, 3H), 9.8–10.2 (br s, 1H), 11–12 (br s, 1H)。

[0620] 实施例47:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(3,3-二氟-氮杂环丁烷-1-基甲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺



[0622] 如实施例45中描述的制备标题化合物,在步骤3中用3,3-二氟氮杂环丁烷盐酸盐(114mg,0.88mmol)代替哌啶并用氰基硼氢化钠(13.1mg,0.21mmol)代替三乙酰氧基硼氢化钠。在步骤4中,在使用H₂O稀释后产物沉淀并通过过滤收集,使用H₂O、Et₂O洗涤并在40℃下真空干燥以提供奶油色粉末形式的标题化合物,23.4mg,38.8%。

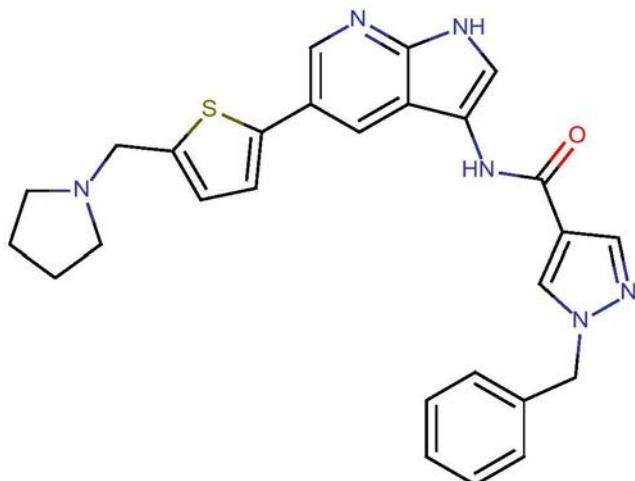
[0623] LC/MS:RT=1.15Min (230nm),m/z=499.2 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正),HP1200。

[0624] ¹H NMR (d₆DMSO):δ3.64 (t, 4H), 3.81 (s, 2H), 5.42 (s, 2H), 7.28–7.41 (m, 6H), 7.45 (dd, 1H), 7.59–7.65 (m, 2H), 7.84 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.50 (d, 1H), 8.53 (d,

1H) , 9.95 (br s, 1H) , 11.51 (br s, 1H) 。

[0625] 实施例48:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(5-吡咯烷-1-基甲基-噻吩-2-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0626]

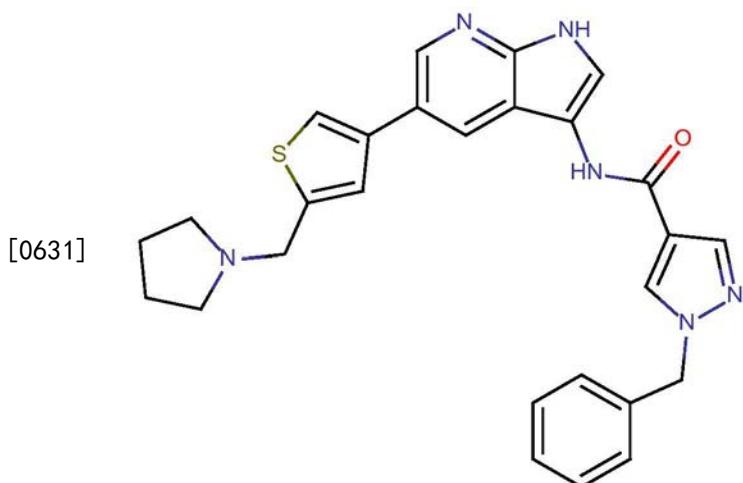


[0627] 如实施例43中描述的制备标题化合物,在步骤2中用5-甲酰基-2-噻吩硼酸(67.1mg, 0.43mmol)代替3-甲酰基苯基硼酸,用2M碳酸钠水溶液(76.3mg, 0.72mmol)代替K₂CO₃,用四(三苯基膦)钯(tetrakis) (19.6mg, 0.017mmol)代替Pd(dppf)Cl₂并用1,4-二氧六环/THF(4mL:2mL)代替THF/H₂O(10:1)。在微波照射下将反应混合物在150℃下加热2小时。使用3:1DCM/IPA稀释反应,使用饱和氯化钠水溶液洗涤,干燥(MgSO₄)并真空浓缩。将剩余物溶于最少量的DCM并加入Et₂O以沉淀期望的、脱保护的Suzuki产物,1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(5-甲酰基-噻吩-2-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺,68mg,43.8%。在步骤3中,用吡咯烷(45.3mg, 0.64mmol)代替哌啶并用氰基硼氢化钠(15mg, 0.24mmol)代替三乙酰氧基硼氢化钠。分离白色固体形式的标题化合物,5mg,6.5%,随后通过使用DCM至20%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析,在pH4下的制备HPLC纯化并最后使用Et₂O研磨。

[0628] LC/MS: RT = 0.94 Min (230nm), m/z = 483 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正), HP1200。

[0629] ¹H NMR (d₆DMSO): δ 1.68–1.76 (m, 4H) , 3.79 (s, 2H) , 5.42 (s, 2H) , 6.95 (d, 1H) , 7.27–7.41 (m, 6H) , 7.82 (s, 1H) , 8.10 (s, 1H) , 8.44 (d, 1H) , 8.48 (s, 1H) , 8.55 (d, 1H) , 9.94 (br s, 1H) , 11.53 (br s, 1H) 4质子未出现。

[0630] 实施例49:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(5-吡咯烷-1-基甲基-噻吩-3-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

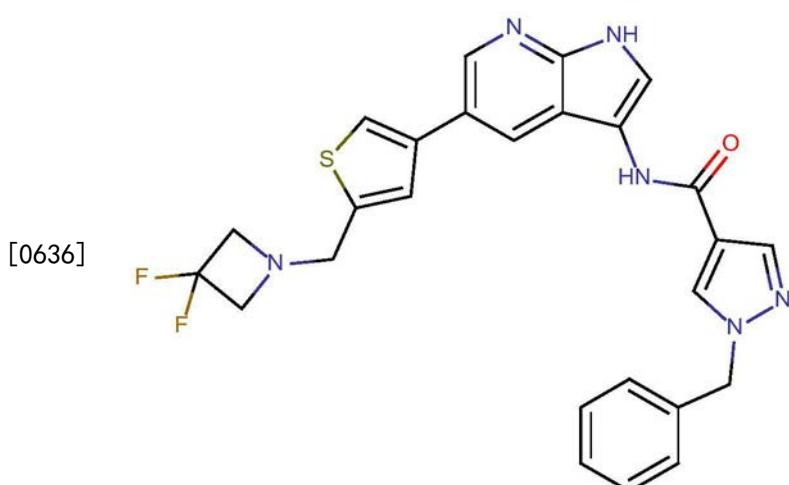


[0632] 如实施例43中描述的制备标题化合物,在步骤2中用5-甲酰基-3-噻吩硼酸(67.1mg,0.43mmol)代替3-甲酰基苯基硼酸,用2M碳酸钠水溶液(76.3mg,0.72mmol)代替K₂CO₃,用tetrakis(19.6mg,0.017mmol)代替Pd(dppf)Cl₂并用1,4-二氧六环(4mL)代替THF/H₂O(10:1)。在微波照射下将反应混合物在150℃下加热20分钟。使用DCM稀释反应,使用饱和氯化钠水溶液洗涤,干燥(MgSO₄)并真空浓缩。将剩余物溶于最少量的DCM并加入Et₂O以沉淀褐色粉末形式的期望的Suzuki产物,142mg s,64.9%。在步骤3中,用吡咯烷(34.2mg,0.48mmol)代替哌啶并用氰基硼氢化钠(11.3mg,0.18mmol)代替三乙酰氧基硼氢化钠。在步骤4中,在微波瓶中混合碳酸钾(83.2mg,0.6mmol)和MeOH(4mL)并在微波照射下在100℃下加热30分钟。使用H₂O稀释反应混合物并通过过滤收集沉淀物,使用H₂O,Et₂O洗涤并在40℃下真空干燥以提供奶油色粉末形式的标题化合物,12.8mg,22%。

[0633] LC/MS:RT=0.94Min (230nm), m/z=483 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正), HP1200。

[0634] ¹H NMR (d₆DMSO): δ 1.68–1.76 (m, 4H), 3.82 (s, 2H), 5.42 (s, 2H), 7.28–7.42 (m, 6H), 7.68 (d, 1H), 7.78 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.46 (d, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.59 (d, 1H), 9.83 (br s, 1H), 11–12 (br s, 1H) 4质子未出现。

[0635] 实施例50:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[5-(3,3-二氟-氮杂环丁烷-1-基甲基)-噻吩-3-基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺



[0637] 如实施例49中描述的制备标题化合物,在步骤3中用3,3-二氟-氮杂环丁烷盐酸盐

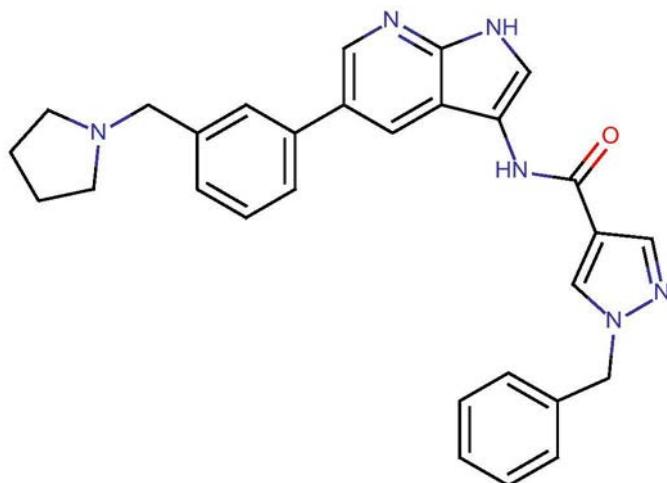
(94.5mg, 0.73mmol) 代替吡咯烷。

[0638] 按照步骤4中描述的相同步骤以奶油色粉末形式分离它, 27.5mg, 53.4%。

[0639] LC/MS: RT = 1.19Min (230nm) , m/z = 505 [M+H]。总运行时间 1.9min (超短正) , HP1200。

[0640] ^1H NMR (d₆DMSO) : δ 3.67 (t, 4H) , 3.96 (s, 2H) , 5.42 (s, 2H) , 7.28–7.41 (m, 5H) , 7.44–7.46 (m, 1H) , 7.72 (d, 1H) , 7.78 (d, 1H) , 8.10 (d, 1H) , 8.45 (d, 1H) , 8.47 (s, 1H) , 8.59 (d, 1H) , 9.88 (br s, 1H) , 11.47 (br d, 1H) 。

[0641] 实施例51:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(3-吡咯烷-1-基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0642]

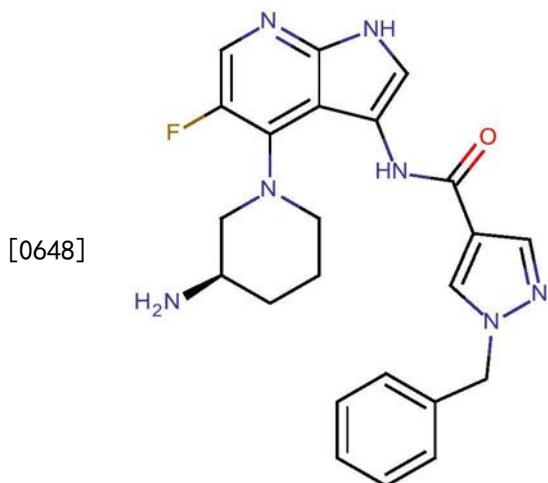
[0643] 如实施例43中描述的制备标题化合物, 在步骤3中用吡咯烷 (30mg, 0.45mmol) 代替二甲基胺, 2.0M的THF溶液。

[0644] 在步骤4中, 在微波瓶中混合碳酸钾 (71.9mg, 0.52mmol) 和MeOH (3mL) 并在微波照射下在100℃下加热30分钟。在真空下将反应混合物浓缩至一半体积。将H₂O加入至剩余物并通过过滤收集沉淀, 使用H₂O, Et₂O洗涤并在40℃下真空干燥以提供奶油色粉末形式的标题化合物, 38mg, 76.8%。

[0645] LC/MS: RT = 1.04Min (230nm) , m/z = 477 [M+H]。总运行时间 1.9min (超短正) , HP1200。

[0646] ^1H NMR (d₆DMSO) : δ 1.66–1.74 (m, 4H) , 2.42–2.50 (m, 4H) , 3.65 (s, 2H) , 5.42 (s, 2H) , 7.28–7.45 (m, 7H) , 7.56–7.64 (m, 2H) , 7.83 (s, 1H) , 8.10 (s, 1H) , 8.47 (s, 1H) , 8.49–8.52 (m, 2H) , 9.8–10.12 (br s, 1H) , 11.12 (br s, 1H) 。

[0647] 实施例52:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



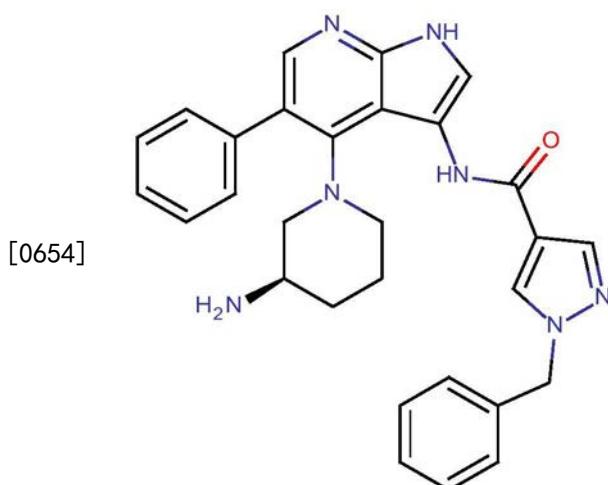
[0649] 根据方案2中概述的类似路线制备标题化合物。

[0650] 如实施例6中描述的制备标题化合物,在步骤3中用N-氟双(苯基磺酰基)胺(1.08g,3.42mmol)代替四溴化碳,并分离白色固体形式的期望的中间体,134mg,63.4%。通过使用DCM-16%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析,然后在pH 4下的制备HPLC纯化来自步骤8的粗物质。分离白色固体形式的标题化合物,34.3mg,46.6%。

[0651] LC/MS:RT=1.70Min (270nm) ,m/z=434.5 [M+H]。总运行时间3.75min(短正/负), HP1100。

[0652] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.33–1.38 (m, 2H), 1.60–1.63 (m, 1H), 1.74–1.76 (m, 1H), 2.98–3.14 (m, 4H), 3.46–3.48 (m, 1H), 5.41 (s, 2H), 7.24–7.26 (m, 2H), 7.31–7.39 (m, 3H), 7.52 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 8.09 (d, 1H), 8.48 (s, 1H), 9.70 (s, 1H), 11.70 (br s, 1H) 2质子未出现。

[0653] 实施例53:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-苯基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0655] 根据方案3中概述的路线制备标题化合物。

[0656] 从实施例6中步骤7的产物的1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺制备标题化合物。

[0657] 步骤1: ((R)-1-{3-[1-苄基-1H-吡唑-4-羧基]-氨基}-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯的制备

[0658] 在微波瓶中混合1-苯基-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡唑-3-

基)-酰胺(0.445g,1.07mmol)、(R)-哌啶-3-基-氨基甲酸叔丁基酯(1.08g,5.37mmol)和正丁醇(15mL)。在微波照射下将内容物在160℃下加热6小时,然后使用EtOAc稀释反应混合物。使用H₂O,饱和氯化钠水溶液洗涤溶液,干燥(MgSO₄)并真空浓缩以提供褐色胶状物。通过使用异己烷-50%EtOAc/异己烷-EtOAc(梯度)洗脱的自动柱层析纯化该粗物质。将发现包含纯产物的馏分合并,真空浓缩以提供黄色粉末形式的目标化合物,443.2mg,69.4%。

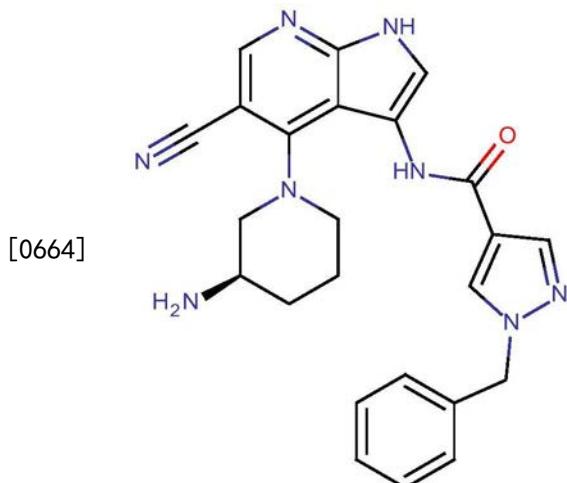
[0659] 步骤2:标题化合物:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-苯基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0660] 在微波瓶中混合苯基硼酸(17.9mg,0.15mmol)、((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羧基)-氨基]-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯(48.4mg,0.08mmol)、K₂CO₃(34.6mg,0.25mmol)、Pd(dppf)Cl₂(8.0mg,0.01mmol)和THF/H₂O(4.5mL:0.5mL)并彻底脱气。在微波照射下,将反应混合物在100℃下加热1小时,然后使用EtOAc将其稀释。将有机层分离并使用另外部分的EtOAc萃取水相。使用H₂O,饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机物,干燥(MgSO₄)并真空去除溶剂以提供褐色胶状物。在DCM(10mL)中处理该物质并在冰浴中冷却,随后滴加TFA(0.03mL,0.4mmol)。在RT下继续搅拌4小时并真空去除溶剂。通过使用DCM-15%MeOH/DCM洗脱的自动柱层析纯化粗物质。将发现包含纯物质的馏分合并,真空去除溶剂以提供固体形式的标题化合物,22mg,55%。

[0661] LC/MS:RT=1.82Min(270nm),m/z=492[M+H]。总运行时间3.75min(短正/负),HP1100。

[0662] ¹H NMR(d₆DMSO):δ1.35-1.45(m,2H),1.56-1.67(m,1H),2.25-2.37(m,1H),2.76-3.04(m,3H),3.13-3.22(m,1H),5.40(s,2H),7.18-7.82(m,11H),7.89(br s,1H),8.05(s,1H),8.42(s,1H),9.53(s,1H),11.74(s,1H)。

[0663] 实施例54:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氰基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0665] 从实施例53,步骤1的产物((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羧基)-氨基]-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯制备标题化合物。

[0666] 在微波瓶中混合((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羧基)-氨基]-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯(21mg,0.04mmol)、二氰基锌(7.5mg,0.06mmol)、Pd(PPh₃)₄(6.1mg,0.01mmol)和DMF(5mL)并脱气。在微波照射下将内容物在120

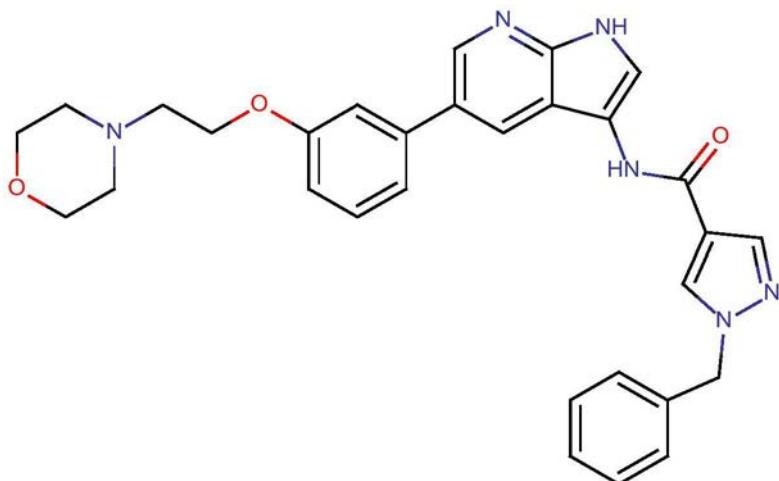
℃下加热1小时。加入另外部分的二氯基锌(2.1mg, 0.018mmol)和Pd(PPh₃)₄(2.0mg)并脱气。在微波照射下将内容物在120℃下加热2小时。将反应混合物在EtOAc和H₂O之间分层,然后将有机层分离并使用另外部分的EtOAc萃取水相。使用H₂O,饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机物,干燥(MgSO₄)并真空去除溶剂以提供褐色胶状物。通过使用异己烷-50%EtOAc/异己烷-EtOAc(梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗产物。将发现包含纯物质的馏分合并,真空去除溶剂以提供((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羧基)-氨基]-5-氰基-1H-吡咯并[2,3-b]吡唑-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯。

[0667] 在盐酸,1.25M的MeOH溶液(5mL)中处理该物质并在80℃下在微波中辐射1小时。真空去除挥发物并在最小体积的MeOH中处理剩余物并装载在已经装填MeOH的SCX2离子交换柱上。使用DCM,MeOH洗涤柱并使用氨溶液,3.5M的MeOH洗脱标题化合物。真空浓缩该溶液以提供白色固体形式的标题化合物,3mg,19.3%。

[0668] LC/MS: RT = 1.67Min (270nm), m/z = 441 [M+H]⁺。总运行时间3.75min(短正/负), HP1100。

[0669] ¹H NMR (d₄MeOH): δ 1.35–1.98 (m, 4H), 3.18–3.26 (m, 1H), 3.47–3.56 (m, 1H), 3.84–3.90 (m, 1H), 5.41 (s, 2H), 7.24–7.40 (m, 5H), 7.43 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.36 (s, 1H) 6质子未出现。

[0670] 实施例55:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(2-吗啉-4-基-乙氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺



[0671]

[0672] 根据方案5中概述的路线制备标题化合物。

[0673] 从实施例43,步骤1的产物1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺制备标题化合物。

[0674] 步骤1:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧硼戊环-2-基)-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0675] 在微波瓶中混合3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)苯酚(408mg,1.85mmol)、1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺(850mg,1.54mmol)、K₂CO₃(640mg,4.63mmol)、Pd(dppf)Cl₂(56.5mg,0.077mmol)和THF/H₂O(12mL:1.2mL)并彻底脱气。在微波照射下将反应混合物在120℃下加热1小时,然后使用EtOAc将其稀释。将有机层分离并使用另外部分的EtOAc萃取水相。使用H₂O,饱和氯

化钠水溶液洗涤合并的有机物,干燥($MgSO_4$)并真空去除溶剂。通过使用异己烷至50% $EtOAc$ /异己烷至 $EtOAc$ (梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗产物。将发现包含纯物质的馏分合并,真空去除溶剂以提供黄色玻璃状的目标化合物,518mg,59.5%。

[0676] 步骤2:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-[3-(2-吗啉-4-基-乙氧基)-苯基]-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0677] 在无水DMF(3mL)中混合1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(3-羟基-苯基)-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺(80mg,0.14mmol)和4-(2-氯乙基)吗啉盐酸盐(37.0mg,0.2mmol)并向其加入 Cs_2CO_3 (138.7mg,0.43mmol)。将反应在60℃下加热3小时,然后使其冷却至RT。使用 H_2O 稀释反应混合物并使用DCM(×2)萃取。使用饱和氯化钠水溶液(×4)洗涤合并的有机相,干燥($MgSO_4$)并真空浓缩。通过使用DCM至10% $MeOH/DCM$ (梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗物质以提供黄色玻璃状目标化合物,50mg,52.1%。

[0678] 步骤3:标题化合物:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(2-吗啉-4-基-乙氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺的制备

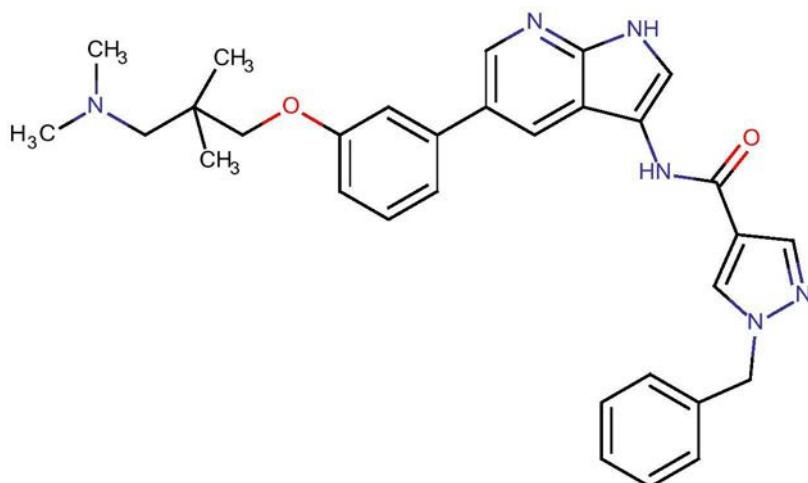
[0679] 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-[3-(2-吗啉-4-基-乙氧基)-苯基]-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺(50mg,0.07mmol)

[0680] 在微波瓶中混合碳酸钾(51.1mg,0.37mmol)和 $MeOH$ (4mL)并在100℃下在微波照射下加热30分钟。将反应混合物真空减少至一半体积并使用 H_2O 稀释。将混合物在RT下搅拌1小时并通过过滤收集沉淀,使用 H_2O , Et_2O 洗涤并在40℃下真空干燥。这提供淡黄色粉末形式的标题化合物,20mg,51.8%。

[0681] LC/MS:RT = 1.02Min (230nm), m/z = 523 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正), HP1200。

[0682] 1H NMR (d_6DMSO): 82.72 (t, 2H), 3.56-3.61 (m, 4H), 4.18 (t, 2H), 5.42 (s, 2H), 6.92-6.96 (m, 1H), 7.24-7.42 (m, 8H), 7.83 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.51 (d, 1H), 8.55 (d, 1H), 9.90 (br s, 1H), 11.3-11.7 (brs, 1H) 4质子未出现。

[0683] 实施例56:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(3-二甲基氨基-2,2-二甲基-丙氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺



[0684]

[0685] (3-氯-2,2-二甲基-丙基)-二甲基-胺盐酸盐的制备

[0686] 向3-二甲基氨基-2,2-二甲基-丙-1-醇(5g,38.1mmol)的甲苯(100mL)溶液加入

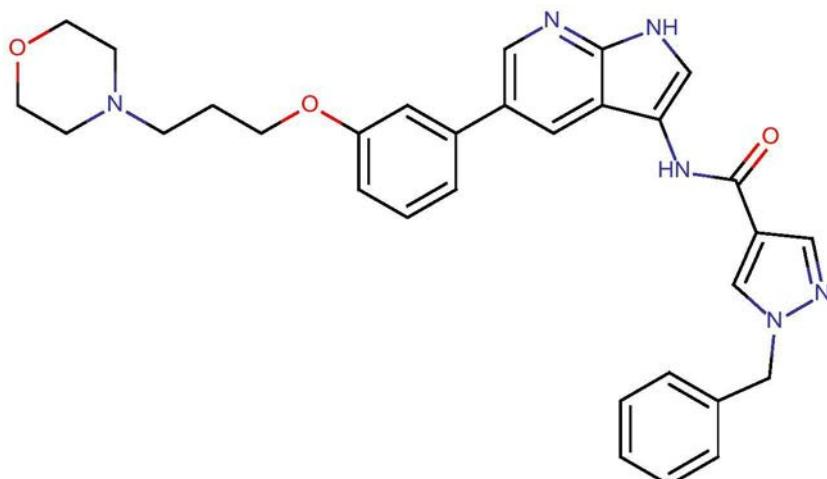
DMF (1滴), 随后在RT下滴加氯化亚砜 (5g, 41.9mmol)。在加入后, 将反应在回流下加热3小时, 然后使其冷却至RT。真空去除溶剂并加入甲苯 (50mL) 并真空去除。将该过程重复三次。加入甲苯 (50mL) 并通过超声处理10分钟破碎固体。通过过滤收集固体, 使用甲苯, 异己烷充分洗涤并真空干燥。这提供淡褐色固体形式的目标化合物, 6.68, 94%。

[0687] 如实施例55中描述的制备标题化合物, 在步骤2中用 (3-氯-2,2-二甲基-丙基)-二甲基-胺盐酸盐 (30.1mg, 0.16mmol) 代替4-(2-氯乙基) 吡啶盐酸盐, 除了在60°C下继续加热18小时之外。按照步骤3中描述的相同步骤以淡黄色粉末形式分离它, 6.5mg, 33.7%。

[0688] LC/MS: RT = 1.10Min (230nm), m/z = 523.2 [M+H]。总运行时间1.9min (超短正), HP1200。

[0689] ^1H NMR (d_6DMSO) : 80.98 (s, 6H), 2.22 (s, 6H), 2.26 (s, 2H), 3.78 (s, 2H), 5.42 (s, 2H), 6.92-6.96 (m, 1H), 7.22-7.42 (m, 8H), 7.85 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.51-8.56 (m, 2H), 9.92 (br s, 1H), 11.50 (br s, 1H)。

[0690] 实施例57: 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸 {5-[3-(3-吗啉-4-基-丙氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺



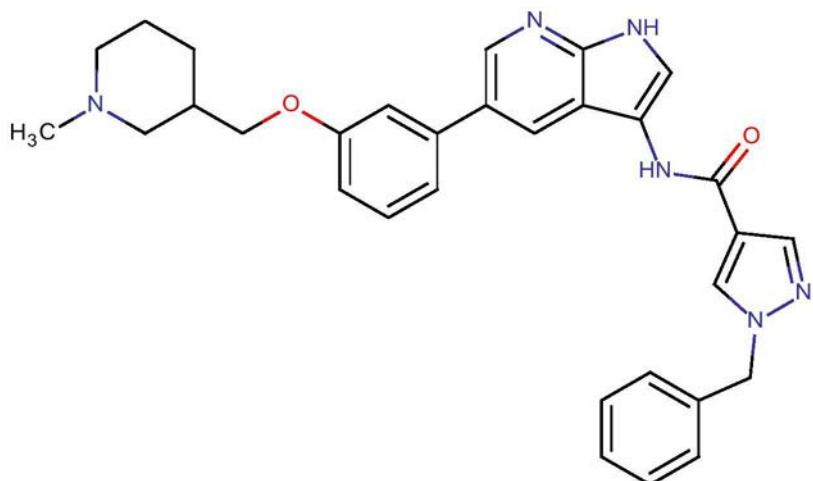
[0691]

[0692] 如实施例55中描述的制备标题化合物, 在步骤2中用4-(3-氯丙基) 吡啶 (31.9mg, 0.195mmol) 代替4-(2-氯乙基) 吡啶, 除了在60°C下继续加热18小时之外。按照步骤3中描述的相同步骤并通过pH4下的制备HPLC另外纯化以粉末形式分离它, 8mg, 20.2%。

[0693] LC/MS: RT = 1.06Min (230nm), m/z = 537.2 [M+H]。总运行时间1.9min (超短正), HP1200。

[0694] ^1H NMR (d_6DMSO) : 81.91 (quintet, 2H), 2.33-2.40 (m, 4H), 2.44 (t, 2H), 3.53-3.60 (m, 4H), 4.10 (t, 2H), 5.42 (s, 2H), 6.90-6.96 (m, 1H), 7.20-7.42 (m, 8H), 7.84 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.51-8.56 (m, 2H), 9.92 (br s, 1H), 11.51 (br s, 1H)。

[0695] 实施例58: 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸 {5-[3-(1-甲基-哌啶-3-基甲氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺

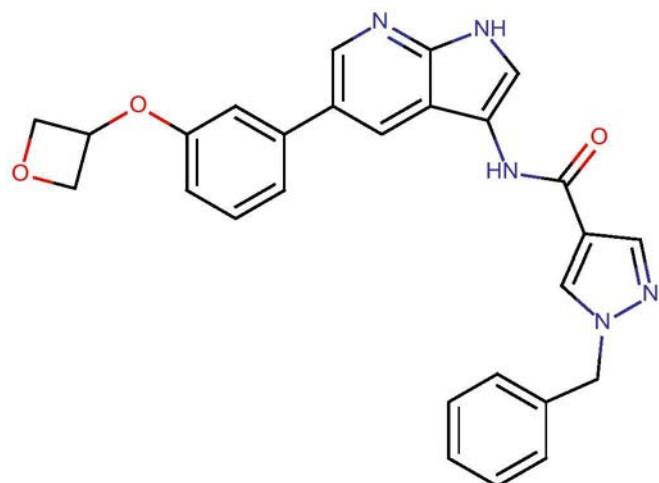


[0697] 如实施例55中描述的制备标题化合物,在步骤2中用3-溴甲基-1-甲基-哌啶(40.7mg,0.21mmol)代替4-(2-氯乙基)吗啉盐酸盐,除了在70℃下继续加热18小时之外。按照步骤3中描述的相同步骤以白色粉末形式分离它,8.8mg,38%。

[0698] LC/MS:RT=1.01Min (230nm),m/z=521 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正),HP1200。

[0699] ^1H NMR (d_6DMSO): δ 1.03–1.14 (m, 1H), 1.44–1.56 (m, 1H), 1.60–1.68 (m, 1H), 1.70–1.84 (m, 2H), 1.84–1.94 (m, 1H), 1.98–2.06 (m, 1H), 2.15 (s, 3H), 2.59–2.66 (m, 1H), 2.80–2.86 (m, 1H), 3.88–3.98 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 6.90–6.96 (m, 1H), 7.22–7.42 (m, 8H), 7.83 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.53 (dd, 2H), 9.91 (br s, 1H), 11.5 (br s, 1H)。

[0700] 实施例59:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(氧杂环丁烷-3-基氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺



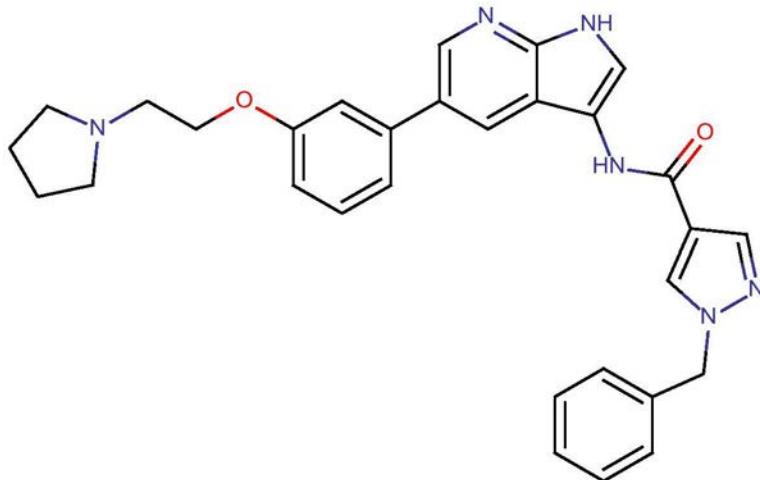
[0702] 如实施例55中描述的制备标题化合物,在步骤2中用3-碘代-氧杂环丁烷(35.9mg,0.195mmol)代替4-(2-氯乙基)吗啉盐酸盐,除了在60℃下继续加热18小时之外。按照步骤3中描述的相同步骤并通过使用DCM至10%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析另外纯化以淡棕色粉末形式分离它,4mg,10.9%。

[0703] LC/MS:RT=1.17Min (230nm),m/z=466.2 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正),HP1200。

[0704] ^1H NMR (d_6DMSO): δ 4.59 (dd, 2H), 4.97 (dd, 2H), 5.37–5.43 (m, 3H) 6.74–6.78 (m,

1H), 7.12–7.14 (m, 1H), 7.28–7.44 (m, 7H), 7.82 (d, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.51 (d, 1H), 8.54 (d, 1H), 9.90 (br s, 1H), 11.52 (br d, 1H)。

[0705] 实施例60:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-[3-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0706]

[0707] 根据方案6中概述的路线制备标题化合物。

[0708] 从实施例43中步骤1的产物1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺制备标题化合物。

[0709] 步骤1:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧硼戊环-2-基)-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0710] 在微波瓶中混合1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺(215mg, 0.39mmol)、联硼酸频哪醇酯(218.2mg, 0.86mmol)、醋酸钠(96.1mg, 1.17mmol)和DMF(2mL)。通过使用N₂吹气将内容物脱气,然后加入Pd(dppf)Cl₂(14.3mg, 0.02mmol)并在微波照射下将混合物在140℃下加热1小时。加入联硼酸频哪醇酯(78.9mg, 0.31mmol)并通过使用N₂吹气将内容物脱气。加入Pd(dppf)Cl₂(7.1mg, 0.01mmol)并在微波照射下将反应在140℃下加热30分钟。使用DCM稀释反应混合物并使用饱和氯化钠水溶液(×4)洗涤,干燥(MgSO₄)并真空去除溶剂。通过使用异己烷至50%EtOAc/异己烷至EtOAc(梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗产物以提供黄色胶状物形式的目标化合物,185mg, 79.3%。

[0711] 步骤2:1-[2-(3-溴-苯氧基)-乙基]-吡咯烷的制备

[0712] 在DMF(100mL)中搅拌3-溴苯酚(5g, 28.9mmol),1-(2-氯乙基)吡咯烷盐酸盐(5.9g, 34.7mmol)。加入碳酸铯(18.83g, 57.8mmol)并将反应在100℃下加热4小时。将反应冷却并真空去除溶剂。在EtOAc中处理剩余物,使用H₂O,饱和氯化钠水溶液(×4)洗涤,干燥(MgSO₄)并真空浓缩。通过使用50%EtOAc/异己烷洗脱的快速层析纯化粗物质,然后67%EtOAc/异己烷以提供褐色油状物形式的目标化合物,1.24g, 15.9%。

[0713] 步骤3:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-[3-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯基]-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0714] 如实施例55中描述的制备标题化合物,在步骤1中用1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧硼戊环-2-基)-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡

啶-3-基]-酰胺(72mg, 0.12mmol)代替3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)苯酚并用1-[2-(3-溴-苯氧基)-乙基]-吡咯烷(65.1mg, 0.24mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺。通过使用DCM至10% MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗产物以提供浅褐色玻璃状的目标化合物, 38mg, 47.9%。

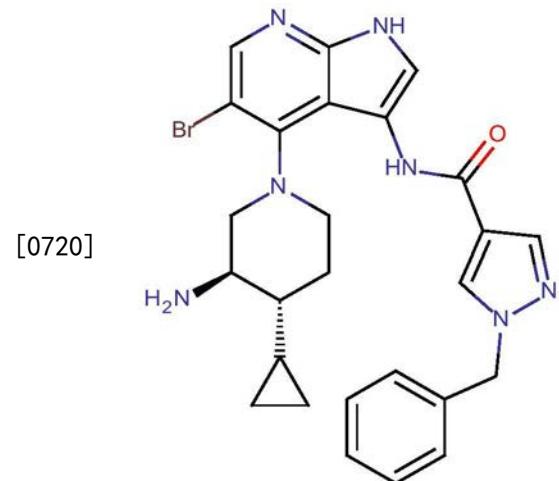
[0715] 步骤4: 标题化合物: 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺的制备

[0716] 如实施例55中描述的制备标题化合物, 在步骤3中用1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-[3-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯基]-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺(38mg, 0.058mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-[3-(2-吗啉-4-基-乙氧基)-苯基]-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺。随后常规处理, 并使用乙腈研磨获得的固体, 分离淡褐色粉末形式的标题化合物, 8.6mg, 29.5%。

[0717] LC/MS: RT = 0.99Min (230nm), m/z = 507 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正), HP1200。

[0718] ^1H NMR (d_6DMSO): δ 1.64-1.73 (m, 4H), 2.82 (t, 2H), 4.15 (t, 2H), 5.42 (s, 2H), 6.92-6.96 (m, 1H), 7.24-7.42 (m, 8H), 7.83 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.51 (d, 1H), 8.55 (d, 1H), 9.91 (br s, 1H), 11.34-11.64 (br s, 1H) 4质子未出现。

[0719] 实施例61: 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((3R,4R)-3-氨基-4-环丙基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0721] 根据方案2中概述的路线制备标题化合物。

[0722] 从实施例6中步骤7的产物, 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺和((3R,4R)-4-环丙基-哌啶-3-基)-氨基磷酸二乙基酯制备标题化合物。

[0723] ((3R,4R)-4-环丙基-哌啶-3-基)-氨基磷酸二乙基酯的制备

[0724] 步骤1: 3,6-二氢-2H-吡啶-1-羧酸苄基酯的制备

[0725] 在DCM(30mL)中搅拌1,2,3,6-四氢吡啶(5.24g, 63mmol)并冷却至0°C。加入Et₃N(9.6g, 95mmol), 随后滴加氯甲酸苄酯(11.3g, 66.2mmol)。在加入后, 将反应在5°C下搅拌30分钟, 然后在RT下搅拌2小时。使用饱和Na₂CO₃水溶液洗涤反应混合物, 干燥(MgSO₄)并真空

浓缩。通过使用异己烷至10%EtOAc/异己烷(梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗物质。将发现包含产物的馏分合并,真空去除溶剂以提供无色油状物形式的标题化合物,9.8g,71.6%。

[0726] 步骤2:7-氧杂-3-氮杂-二环[4.1.0]庚烷-3-羧酸苄基酯的制备

[0727] 在0℃下,向7-氧杂-3-氮杂-二环[4.1.0]庚烷-3-羧酸苄基酯(6.86g,31.6mmol)的DCM(65mL)溶液分批加入m-CPBA(8.28g,48mmol)。在加入后,将反应在5℃下保持20分钟,然后在RT下保持4小时。使用Et₂O(150mL)稀释反应混合物,使用1N NaOH溶液(2×50mL)、饱和硫代硫酸钠溶液(2×50mL)和饱和氯化钠水溶液洗涤。将有机物干燥(MgSO₄)并真空浓缩。通过使用异己烷至10%EtOAc/异己烷(梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗物质。将发现包含产物的馏分合并,真空去除溶剂以提供无色胶状物形式的目标化合物,5.88g,79.8%。

[0728] 步骤3:4-叠氮基-3-羟基-哌啶-1-羧酸苄基酯和3-叠氮基-4-羟基-哌啶-1-羧酸苄基酯的制备

[0729] 将7-氧杂-3-氮杂-二环[4.1.0]庚烷-3-羧酸苄基酯(3.35g,14.3mmol)溶于MeOH/H₂O 5:1(48mL)并加入氯化铵(0.77g,14.3mmol),随后加入叠氮钠(1.87g,28.7mmol)。将反应混合物在65℃下加热18小时。真空去除MeOH并使用H₂O(15mL)稀释剩余物并使用Et₂O(×2)萃取。使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机物,干燥(MgSO₄)并真空浓缩以产生无色油状物形式的期望的区域异构体(regioisomers)的混合物,3.84g,96.9%。混合物包含3:1比例(3:1)的4-叠氮基-3-羟基-哌啶-1-羧酸苄基酯与3-叠氮基-4-羟基-哌啶-1-羧酸苄基酯。

[0730] 步骤4:4-叠氮基-3-(甲苯-4-磺酰氧基)-哌啶-1-羧酸苄基酯和3-叠氮基-4-(甲苯-4-磺酰氧基)-哌啶-1-羧酸苄基酯的制备

[0731] 将4-叠氮基-3-羟基-哌啶-1-羧酸苄基酯和3-叠氮基-4-羟基-哌啶-1-羧酸苄基酯(3.84g,13.9mmol)溶于DCM(18mL)并加入吡啶(2.97g,37.53mmol)。将溶液冷却至0℃并滴加对甲苯磺酰氯(5.56g,29.2mmol)的DCM(7mL)。使反应在RT下搅拌68小时。加入吡啶(1.96g,24.8mmol)和甲苯磺酰氯(1g,5.25mmol)并将反应在RT下搅拌24hrs。将反应混合物真空浓缩以产生白色固体,将其溶于EtOAc并使用饱和氯化钠水溶液洗涤,干燥(MgSO₄)并真空浓缩。通过使用异己烷至50%EtOAc/异己烷(梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗物质以产生无色油状物形式的期望的区域异构体(regioisomers)的混合物,5.62g,94%。混合物包含比例(77:23)的4-叠氮基-3-(甲苯-4-磺酰氧基)-哌啶-1-羧酸苄基酯与3-叠氮基-4-(甲苯-4-磺酰氧基)-哌啶-1-羧酸苄基酯。

[0732] 步骤5:4-氨基-3-(甲苯-4-磺酰氧基)-哌啶-1-羧酸苄基酯和3-氨基-4-(甲苯-4-磺酰氧基)-哌啶-1-羧酸苄基酯的制备

[0733] 在0℃下将硼氢化钠(300mg,7.93mmol)分批加入硫酸铜(II)五水合物(1.04g,4.15mmol) in MeOH(20mL)溶液。在5分钟后,滴加4-叠氮基-3-(甲苯-4-磺酰氧基)-哌啶-1-羧酸苄基酯和3-叠氮基-4-(甲苯-4-磺酰氧基)-哌啶-1-羧酸苄基酯(3.57g,8.29mmol)的MeOH(10mL)溶液,随后分批加入硼氢化钠(600mg,15.86mmol)。在加入后,在0℃下继续搅拌1小时。通过硅藻土垫过滤反应混合物并真空浓缩。在DCM中处理剩余物,然后使用H₂O,饱和氯化铵水溶液,饱和氯化钠水溶液洗涤,干燥(MgSO₄)并真空浓缩。获得无色油状物形式的期望的区域异构体(regioisomers)的混合物,2.77g,83.3%。

[0734] 步骤6:4-(二乙氧基-磷酰基氨基)-3-(甲苯-4-磺酰氧基)-哌啶-1-羧酸苄基酯和

3-(二乙氧基-磷酰基氨基)-4-(甲苯-4-磺酰氧基)-哌啶-1-羧酸苄基酯的制备

[0735] 向4-氨基-3-(甲苯-4-磺酰氧基)-哌啶-1-羧酸苄基酯和3-氨基-4-(甲苯-4-磺酰氧基)-哌啶-1-羧酸苄基酯(2.77g, 6.84mmol)的DCM(22mL)溶液加入三乙胺(1.38g, 13.68mmol)并将溶液冷却至0℃。加入氯磷酸二乙酯(1.3g, 7.52mmol)并使混合物达到RT时间为30分钟。加入氯磷酸二乙酯(0.24g 1.38mmol)并在RT下搅拌30分钟。使用H₂O稀释反应并分离有机物, 使用饱和氯化钠水溶液洗涤, 干燥(MgSO₄)并真空浓缩。将EtOAc加入至剩余物并通过过滤收集形成的晶体并真空干燥以提供目标化合物, 0.604g, 16.4%。将滤液真空浓缩并通过使用EtOAc洗脱的自动柱层析纯化剩余物以提供无色油状物形式的更多的目标化合物, 2.76g, 74.8%。

[0736] 步骤7: 7-(二乙氧基-磷酰基)-3,7-二氮杂-二环[4.1.0]庚烷-3-羧酸苄基酯的制备

[0737] 在0℃下, 向4-(二乙氧基-磷酰基氨基)-3-(甲苯-4-磺酰氧基)-哌啶-1-羧酸苄基酯和3-(二乙氧基-磷酰基氨基)-4-(甲苯-4-磺酰氧基)-哌啶-1-羧酸苄基酯(2.6g, 4.81mmol)的THF(25mL)溶液分批加入氢化钠, 60%分散体的矿物油(288.6mg, 7.21mmol)。将反应搅拌30分钟, 然后使用H₂O稀释。使用EtOAc(×2)萃取混合物并使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机物, 干燥(MgSO₄)并真空浓缩。通过使用EtOAc洗脱的自动柱层析纯化剩余物以产生无色油状物形式的目标化合物, 1.34g, 76.5%。

[0738] 步骤8: (3R, 4R)-4-环丙基-3-(二乙氧基-磷酰基氨基)-哌啶-1-羧酸苄基酯的制备

[0739] 在-30℃下, 向碘化亚铜(I)(38.8mg, 0.2mmol)的THF(10mL)悬浮液滴加环丙基溴化镁, 0.5M的THF(16.3mL, 8.15mmol)。将其搅拌15分钟, 然后在-30℃下滴加7-(二乙氧基-磷酰基)-3,7-二氮杂-二环[4.1.0]庚烷-3-羧酸苄基酯(750mg, 2.04mmol)的THF(5mL)。将反应升温至RT时间为2小时, 并使用EtOAc和H₂O稀释并通过硅藻土过滤生成的乳液。将滤液转移至分液漏斗。将有机物分离并使用EtOAc萃取水相。使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机物, 干燥(MgSO₄)并真空浓缩。通过使用EtOAc洗脱的自动柱层析纯化生成的黄色油状物以提供胶状物形式的目标化合物, 321mg, 38.4%, 其静止凝固。

[0740] 步骤9: ((3R, 4R)-4-环丙基-哌啶-3-基)-氨基磷酸二乙基酯的制备

[0741] 将(3R, 4R)-4-环丙基-3-(二乙氧基-磷酰基氨基)-哌啶-1-羧酸苄基酯(321mg, 0.78mmol)溶于MeOH(5mL)并在N₂流下加入钯/炭, 10% (20mg)。然后, 在最终排气之前将其排空气并使用氮气反填充三次, 并与氢气环境连接。在氢气下将反应混合物摇动5小时。将反应排空气并使用氮气反填充三次。通过硅藻土垫过滤混合物并将滤液真空浓缩以产生无色油状物形式的期望的胺, ((3R, 4R)-4-环丙基-哌啶-3-基)-氨基磷酸二乙基酯, 232mg。

[0742] 标题化合物: 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((3R, 4R)-3-氨基-4-环丙基-哌啶-1-基)-5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

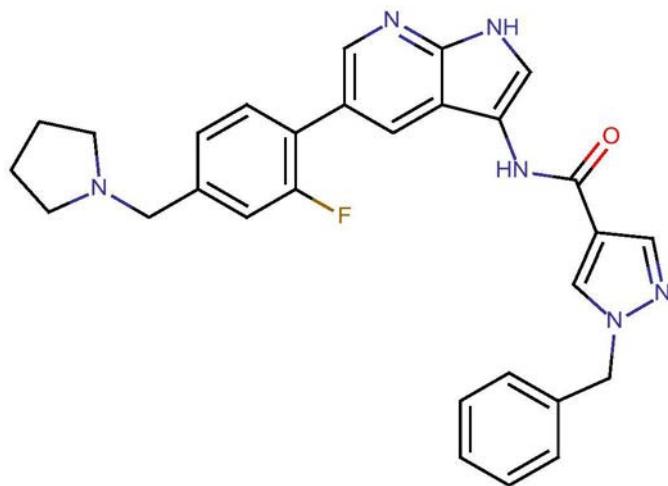
[0743] 在密封管中混合1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺(90mg, 0.22mmol)、((3R, 4R)-4-环丙基-哌啶-3-基)-氨基磷酸二乙基酯(230mg, 0.83mmol)和1-丁醇(5mL)并在160℃下在3140-ES-085下加热60小时。将反应混合物真空浓缩并通过使用DCM至25%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析纯化剩余物。通过在pH4下的制备HPLC另外纯化获得的物质。在DCM/IPA(3:1)中处理获得的物质, 使用饱和碳酸氢钠水溶

液洗涤,干燥(MgS_0_4)并真空浓缩。在40°C o/n下真空干燥剩余物以提供金褐色粉末形式的期望的标题化合物,3.3mg,2.84%。

[0744] LC/MS:RT=1.03Min (230nm) ,m/z=534 [M+H]。总运行时间1.9min (超短正) , HP1200。

[0745] 1H NMR (d_6DMSO) :δ0.16-0.07 (m, 1H) ,0.15-0.25 (m, 2H) ,0.30-0.46 (m, 3H) ,1.31-1.44 (m, 1H) ,1.64-1.76 (m, 1H) ,2.71-2.81 (m, 1H) ,2.92-3.03 (m, 1H) ,5.40 (s, 2H) ,7.20-7.38 (m, 5H) ,7.62 (s, 1H) ,8.04 (s, 1H) ,8.18 (s, 1H) ,8.46 (s, 1H) ,9.63 (br s, 1H) ,11.56-11.94 (br s, 1H) 5质子未出现。

[0746] 实施例62:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(2-氟-4-吡咯烷-1-基甲基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0748] 通过与方案4中概述的类似路线制备标题化合物。

[0749] 如实施例43中描述的制备标题化合物,在步骤2中用2-氟-4-甲酰基硼酸(109mg, 0.65mmol)代替3-甲酰基苯基硼酸,用饱和碳酸氢钠水溶液(2mL)代替 K_2CO_3 并用MeCN(4mL)代替THF/H₂O。在微波照射下将反应在130°C下加热2小时。使用DCM稀释反应,使用H₂O洗涤,使用DCM再次萃取水相并使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机物,干燥(MgS_0_4)并真空去除溶剂以提供褐色胶状物。通过使用异己烷至90%EtOAc/异己烷-EtOAc(梯度)洗脱的自动柱层析纯化该粗物质。将发现包含纯物质的馏分合并,真空去除溶剂以提供黄色玻璃状的期望的铃木(Suzuki)产物,108mg,50%。

[0750] 在步骤3中,用吡咯烷(925.2mg,0.35mmol)代替二甲胺,2.0M的THF溶液并用氰基硼氢化钠(16.7mg,0.27mmol)代替三乙酰氧基硼氢化钠。

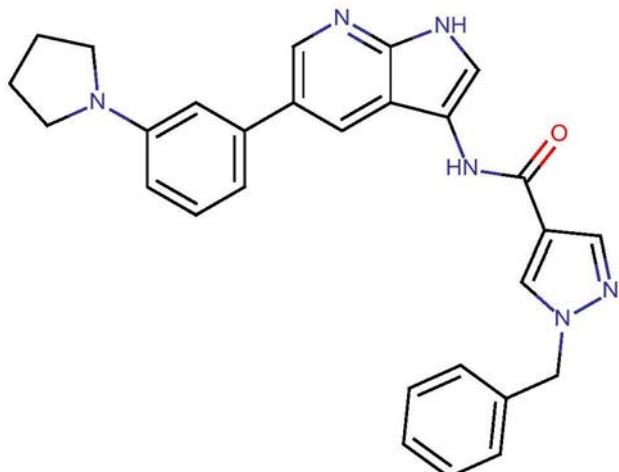
[0751] 按照甲苯磺酰基常用的脱保护方案分离白色粉末形式的标题化合物,16.6mg,68.1%。

[0752] LC/MS:RT=1.00Min (230nm) ,m/z=495 [M+H]。总运行时间1.9min (超短正) , HP1200。

[0753] 1H NMR (d_6DMSO) :δ1.69-1.75 (m, 4H) ,2.45-2.49 (m, 4H) ,3.64 (s, 2H) ,5.45 (s, 2H) ,7.24-7.40 (m, 7H) ,7.59-7.55 (m, 1H) ,7.83 (s, 1H) ,8.08 (s, 1H) ,8.37-8.39 (m, 1H) ,8.40-8.42 (m, 1H) ,8.46 (br s, 1H) ,9.93 (br s, 1H) ,11.56 (br s, 1H) 。

[0754] 实施例63:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(3-吡咯烷-1-基-苯基)-1H-吡咯并[2,3-

b] 吡啶-3-基]-酰胺



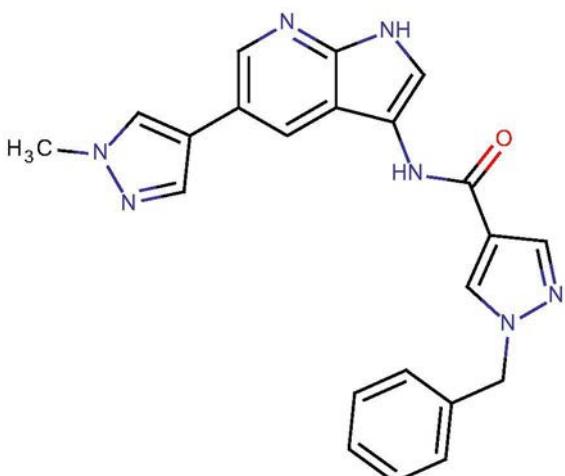
[0756] 根据方案4中概述的路线制备标题化合物。

[0757] 如实施例43中描述的制备标题化合物,在步骤2中用1-[3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)苯基]吡咯烷(59.6mg,0.22mmol)代替3-甲酰基苯基硼酸。随后,如实施例43,步骤4描述的脱保护提供褐色粉末形式的标题化合物,54.2mg,62.4%。

[0758] LC/MS: RT = 1.33 Min (230 nm), m/z = 463 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正), HP1200。

[0759] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.94–2.02 (m, 4H), 5.41 (s, 2H), 6.52–6.57 (dd, 1H), 6.77–6.80 (m, 1H), 6.87–6.91 (d, 1H), 7.24–7.41 (m, 6H), 7.82 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.45–8.48 (m, 2H), 8.50–8.52 (d, 1H), 9.91 (s, 1H), 11.47 (br s, 1H) 4质子未出现。

[0760] 实施例64:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



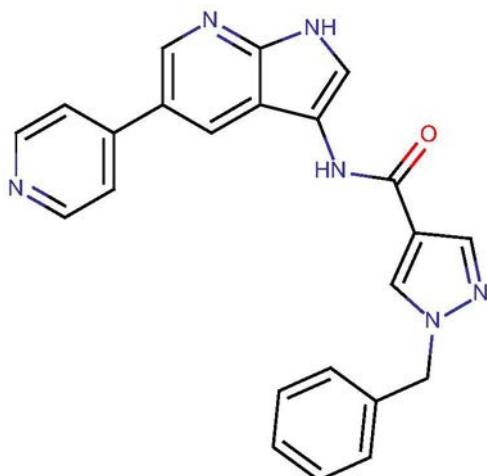
[0762] 根据方案4中概述的路线制备标题化合物。

[0763] 如实施例43中描述的制备标题化合物,在步骤2中,用1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-1H-吡唑(41.6mg,0.2mmol)代替3-甲酰基苯基硼酸,碳酸钠水溶液,2M(0.18mL,0.36mmol),用四(三苯基膦)钯(0)(10.5mg,9.1μmol)代替Pd(dppf)Cl₂,用1,4-二氧六环(2mL)代替THF/H₂O(10:1)并在微波照射下在150℃下加热20分钟。随后,如实施例43,步骤4描述的脱保护提供黄色粉末形式的标题化合物,32.6mg,52.6%。

[0764] LC/MS: RT = 1.01Min (230nm) , m/z = 398 [M+H]。总运行时间1.9min (超短正) , HP1200。

[0765] ^1H NMR (d₆DMSO) : δ 3.88 (s, 3H) , 5.41 (s, 2H) , 7.27–7.41 (m, 5H) , 7.72 (s, 1H) , 7.84 (d, 1H) , 8.09 (s, 1H) , 8.12 (s, 1H) , 8.27–8.30 (d, 1H) , 8.45–8.48 (m, 2H) , 9.85 (s, 1H) , 11.40 (br s, 1H) 。

[0766] 实施例65:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-吡啶-4-基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺



[0767]

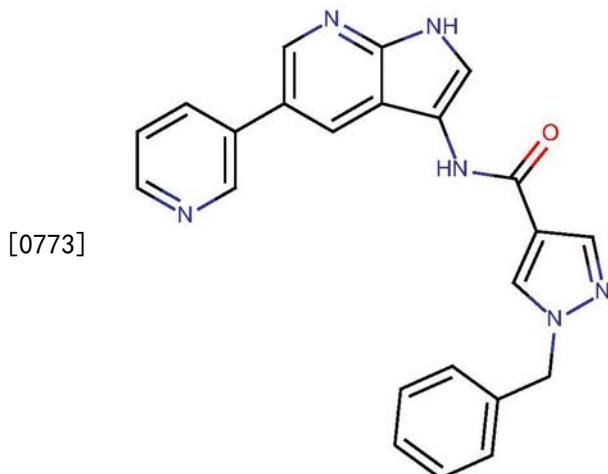
[0768] 从实施例1制备标题化合物。

[0769] 在1,4-二氧六环(2mL)中混合1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺(75mg, 0.19mmol)、吡啶-4-硼酸(34.9mg, 0.28mmol)、K₃PO₄, 2M水溶液(0.19mL, 0.38mmol)和Pd(dppf)Cl₂(13.3mg, 0.02mmol)并彻底脱气。在微波照射下将反应混合物在120°C下加热1小时, 然后将其在饱和碳酸氢钠水溶液和EtOAc之间分层。将有机层分离并使用另外部分的EtOAc萃取水相。使用H₂O, 饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机物, 干燥(MgSO₄)并真空去除溶剂。通过使用DCM然后4%MeOH/DCM然后7%MeOH/DCM洗脱的快速层析纯化该粗物质。将发现包含纯物质的馏分合并, 真空去除溶剂以提供淡棕色固体形式的期望的产物, 30.9mg, 41.4%。

[0770] LC/MS: RT = 1.80Min (254nm) , m/z = 395 [M+H]。总运行时间3.75min (短正/负) , HP1100。

[0771] ^1H NMR (d₆DMSO) : δ 5.42 (s, 2H) , 7.29–7.41 (m, 5H) , 7.78 (m, 2H) , 7.85 (d, 1H) , 8.10 (d, 1H) , 8.48 (s, 1H) , 8.63–8.80 (m, 4H) , 9.96 (s, 1H) , 11.67 (br d, 1H) 。

[0772] 实施例66:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-吡啶-3-基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

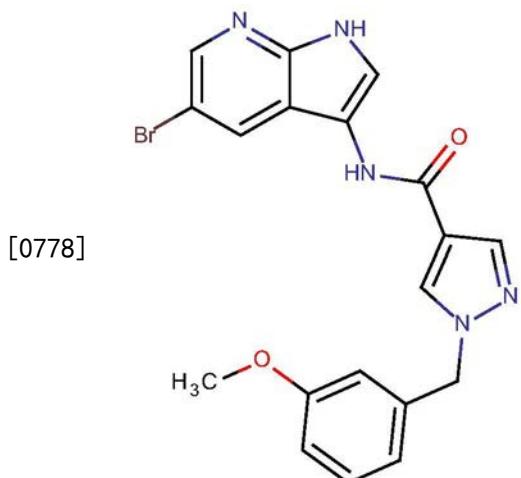


[0774] 使用与实施例65完全相同的方案但用吡啶-3-硼酸(75mg, 0.19mmol)代替吡啶-4-硼酸从实施例1制备标题化合物。分离淡棕色固体形式的标题化合物, 24.8mg, 33.2%。

[0775] LC/MS: RT = 1.93Min (254nm) , m/z = 395 [M+H]。总运行时间3.75min (短正/负) , HP1100。

[0776] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 5.41 (s, 2H) , 7.28–7.41 (m, 5H) , 7.49–7.54 (m, 1H) , 7.85 (d, 1H) , 8.10 (d, 1H) , 8.11–8.15 (m, 1H) , 8.47 (s, 1H) , 8.55–8.60 (m, 3H) , 8.94 (dd, 1H) , 9.91 (s, 1H) , 11.59 (br d, 1H) 。

[0777] 实施例67: 1-(3-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸 (5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

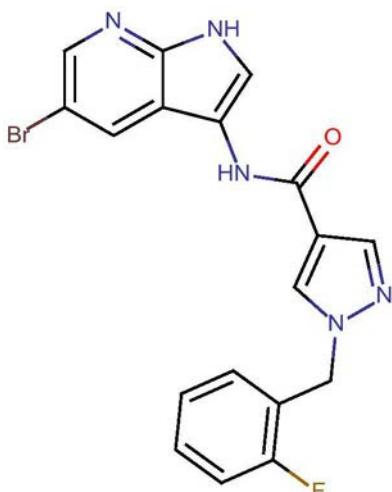


[0779] 根据方案1中概述的路线制备标题化合物, 并且使用实施例1描述的方法, 在步骤1中用1-(3-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(120.8mg, 0.52mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。分离浅褐色固体形式的标题化合物, 73.6mg, 36.6%。

[0780] LC/MS: RT = 2.35Min (254nm) , m/z = 426.3 [M+H]。总运行时间3.75min (短正/负) , HP1100。

[0781] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 3.75 (s, 3H) , 5.37 (s, 2H) , 6.83–6.90 (m, 3H) , 7.29 (t, 1H) , 7.84 (d, 1H) , 8.08 (s, 1H) , 8.28 (d, 1H) , 8.44 (s, 1H) , 8.48 (d, 1H) , 9.88 (s, 1H) , 11.69 (s, 1H) 。

[0782] 实施例68: 1-(2-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸 (5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺



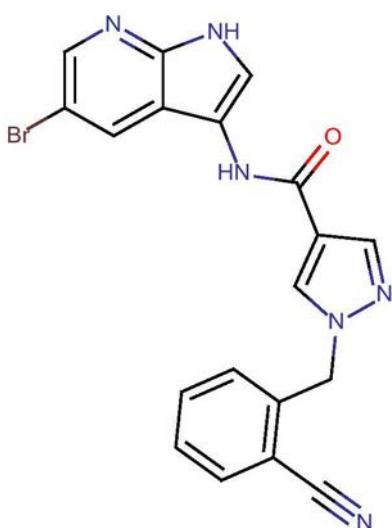
[0783]

[0784] 根据方案1中概述的路线制备标题化合物，并使用实施例1描述的方法，在步骤1中用以与实施例17描述的1-(-氟-苯基)-1H-吡唑-4-羧酸相似的方式制备的1-(2-氟-苯基)-1H-吡唑-4-羧酸(114.5mg, 0.52mmol)代替1-苯基-1H-吡唑-4-羧酸。在步骤3中，在使用H₂O稀释反应混合物后产物沉淀。通过过滤将其分离，使用H₂O和Et₂O充分洗涤，然后在40℃下真空干燥以提供淡橙色固体形式的标题化合物，93.1mg, 47.7%。

[0785] LC/MS: RT = 2.27Min (254nm), m/z = 414.3 [M+H]。总运行时间3.75min (短正/负)，HP1100。

[0786] ¹H NMR (d₆DMSO) : δ 5.47 (s, 2H), 7.20–7.32 (m, 3H), 7.41 (q, 1H), 7.84 (d, 1H), 8.07 (s, 1H), 8.28 (d, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.48 (d, 1H), 9.89 (s, 1H), 11.70 (s, 1H)。

[0787] 实施例69: 1-(2-氟基-苯基)-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺



[0788]

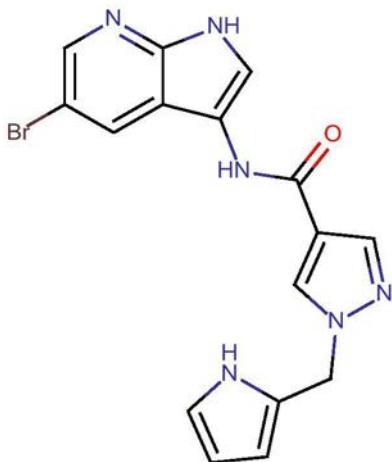
[0789] 根据方案1中概述的路线制备标题化合物，并使用实施例1描述的方法例，在步骤1中用以与实施例17描述的1-(-氟-苯基)-1H-吡唑-4-羧酸相似的方式制备的1-(2-氟基-苯基)-1H-吡唑-4-羧酸(118.2mg, 0.52mmol)代替1-苯基-1H-吡唑-4-羧酸。在步骤3中，在常规水处理后，在Et₂O中研磨粗物质，过滤，使用Et₂O洗涤并在40℃下真空干燥以提供固体形式的标题化合物，54.8mg, 27.7%。

[0790] LC/MS: RT = 2.20Min (254nm), m/z = 423.3 [M+H]。总运行时间3.75min (短正/负)，

(HP1100.)

[0791] ^1H NMR (d_6DMSO) : 85.62 (s, 2H), 7.36 (d, 1H), 7.56 (td, 1H), 7.73 (td, 1H), 7.84 (d, 1H), 7.91 (dd, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.28 (d, 1H), 8.48 (d, 1H), 8.50 (s, 1H), 9.93 (s, 1H), 11.71 (br s, 1H)。

[0792] 实施例70:1-(1H-吡咯-2-基甲基)-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺



[0794] 根据方案1中概述的路线制备标题化合物,并且使用实施例1描述的方法,在步骤1中用1-(1H-吡咯-2-基甲基)-1H-吡唑-4-羧酸钾(61.2mg,0.32mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。在步骤3中,在常规水处理后,通过使用DCM至20%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗物质。将发现包含产物的馏分合并,真空去除溶剂并通过pH 9下的制备HPLC另外纯化剩余物以提供白色固体形式的标题化合物,15.4mg,12.5%。

[0795] 1-(1H-吡咯-2-基甲基)-1H-吡唑-4-羧酸钾的制备。

[0796] 步骤1:1-甲烷磺酰基-1H-吡咯-2-甲醛的制备

[0797] 将吡咯甲醛(1.0g,10.5mmol)的THF(20mL)溶液滴加至氢化钠,60%分散体的矿物油(484mg,12.1mmol)和THF(60mL)悬浮液并将混合物在RT下搅拌15mins。滴加甲烷磺酰氯(1.69g,14.72mmol)并将反应在RT下搅拌另外1小时。使用H₂O稀释反应并在减压下浓缩。使用DCM(×5)萃取剩余的水相,然后相继使用饱和碳酸氢钠水溶液、H₂O并使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的萃取物。在MgSO₄上干燥有机物并在减压下浓缩以提供油状物,通过使用异己烷至30%EtOAc/异己烷(梯度)洗脱的自动快速层析将其纯化。将发现包含纯产物的馏分合并,真空去除溶剂以提供无色油状物形式的标题化合物,1.3g,71.4%。

[0798] 步骤2:(1-甲烷磺酰基-1H-吡咯-2-基)-MeOH的制备

[0799] 在0℃下,在DCM(180mL)和MeOH(63mL)的混合物中搅拌1-甲烷磺酰基-1H-吡咯-2-甲醛(1.3g,7.51mmol)。分批加入硼氢化钠(428mg,11.3mmol)并使反应混合物在0℃下搅拌1.5小时。使用DCM(80mL)稀释反应混合物并滴加草酸,5%水溶液(200mL),并在使反应混合物升温至RT之前,在0℃下继续搅拌另外15分钟。将有机层分离,使用H₂O(2×250mL)洗涤,在MgSO₄上干燥并在减压下浓缩以提供粉色晶体形式的标题化合物,0.865g,65.8%。

[0800] 步骤3:1-(1-甲烷磺酰基-1H-吡咯-2-基甲基)-1H-吡唑-4-羧酸乙基酯的制备

[0801] 将DIPEA(1.29mL,7.41mmol)加入至(1-甲烷磺酰基-1H-吡咯-2-基)-MeOH(865mg,4.94mmol)的DCM(27mL)溶液并冷却至0℃。滴加甲烷磺酰氯(0.57mL,7.41mmol)并将反应在

0°C下搅拌20分钟,在RT下搅拌30分钟。使用DCM稀释反应混合物并相继使用冰冷的H₂O,冷的10%盐酸水溶液,随后饱和碳酸氢钠水溶液洗涤。在MgSO₄上干燥有机物并在减压下浓缩(低温)以提供橙色油状物形式的2-氯甲基-1-甲烷磺酰基-1H-吡咯,立即使用它,因为所述化合物静止能聚合。将2-氯甲基-1-甲烷磺酰基-1H-吡咯(1.02g,5.27mmol)的丙酮(11mL)溶液加入至1H-吡唑-4-羧酸乙基酯(703mg,5.02mmol)和碳酸钾(2.78g,20.1mmol)的丙酮(10mL)悬浮液。在RT下继续搅拌70小时,然后将反应混合物过滤并通过使用EtOAc洗涤滤饼。在减压下浓缩滤液并在EtOAc中处理剩余物,使用H₂O洗涤,干燥(MgSO₄)并在减压下浓缩。通过使用异己烷至EtOAc/异己烷至EtOAc(梯度)洗脱的自动快速层析纯化粗物质。将包含纯产物的馏分合并,真空浓缩以提供经静止凝固的橙色油状物形式的目标化合物,442mg,29.6%。将包含产物和杂质的馏分合并,真空浓缩并通过在SCX-2离子交换柱上另外纯化剩余物产生另外359mg,24.1%的淡白色固体形式的标题化合物。

[0802] 步骤4:1-(1H-吡咯-2-基甲基)-1H-吡唑-4-羧酸钾的制备

[0803] 将1-(1-甲烷磺酰基-1H-吡咯-2-基甲基)-1H-吡唑-4-羧酸乙基酯(801mg,2.69mmol)溶于MeOH:THF(1:1,20mL)的混合物并加入氢氧化钾(301.8mg,5.38mmol)的H₂O(2mL)溶液。然后,将反应混合物回流4小时,冷却并真空浓缩。在60°C下的干燥器中将剩余物干燥18小时以产生固体形式的标题化合物,860mg,93.5%。通过回收使用它,反应化学计量学为占优势的期望的标题化合物与2当量的KOH存在并且使用它而不另外纯化。

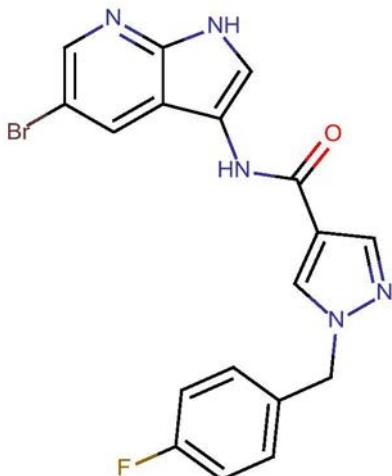
[0804] 步骤5:标题化合物:1-(1H-吡咯-2-基甲基)-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺的制备

[0805] 在DMF(4mL)中搅拌5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺(101.8mg,0.48mmol)和1-(1H-吡咯-2-基甲基)-1H-吡唑-4-羧酸钾(61.2mg,0.179mmol)并加入三乙胺(97mg,0.13mL,0.96mmol)随后加入HATU(183mg,0.48mmol)。使反应混合物在RT下搅拌72小时并使用EtOAc稀释。将有机物分离并使用另外部分的EtOAc萃取水相。使用饱和氯化钠水溶液(×3)洗涤合并的萃取物,干燥(MgSO₄)并真空浓缩。通过使用DCM至20%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动快速层析纯化粗物质。将包含产物的馏分合并,真空浓缩并通过在pH9下的制备HPLC另外纯化剩余物以提供白色固体形式的标题化合物,15.4mg,22.3%。

[0806] LC/MS:RT=1.09Min(254nm),m/z=386.0[M+H]。总运行时间1.9min(超短正),HP1200。

[0807] ¹H NMR(d₆DMSO):δ5.28(s,2H),6.00(m,1H),6.13(s,1H),6.75(m,1H),7.83(d,1H),8.04(s,1H),8.23(s,1H),8.27(d,1H),8.47(d,1H),9.88(s,1H),11.03(s,1H),11.69(s,1H)。

[0808] 实施例71:1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺



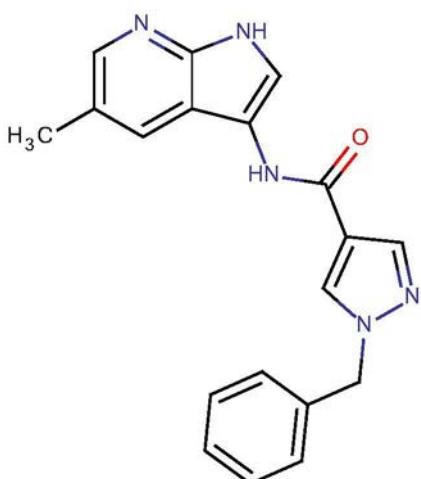
[0809]

[0810] 根据方案1中概述的路线制备标题化合物，并使用实施例1描述的方法，在步骤1中用如实施例17中描述的1-(4-氟-苯基)-1H-吡唑-4-羧酸(45.7mg, 0.21mmol)代替1-苯基-1H-吡唑-4-羧酸。分离褐色固体形式的标题化合物, 26.7mg, 34.2%。

[0811] LC/MS: RT = 2.26Min (270nm), m/z = 416.3 [M+H]。总运行时间3.75min(短正/负), HP1100。

[0812] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 5.40 (s, 2H), 7.19–7.23 (m, 2H), 7.35–7.38 (m, 2H), 7.84 (d, 1H), 8.08 (s, 1H), 8.28 (d, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.48 (d, 1H), 9.88 (s, 1H), 11.69 (br s, 1H)。

[0813] 实施例72: 1-苯基-1H-吡唑-4-羧酸(5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺



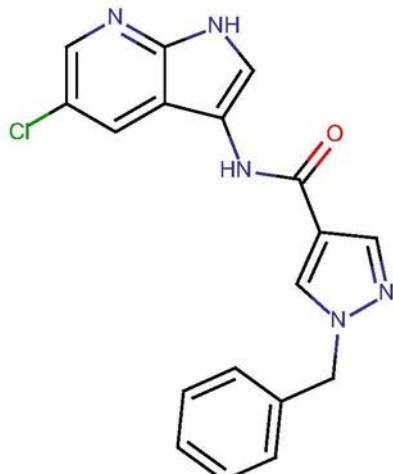
[0814]

[0815] 根据方案1中概述的类似路线并使用实施例1描述的方法制备标题化合物，在步骤1中用5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(1.06g, 8.02mmol)代替5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。在步骤2中, 使用来自实施例6, 步骤6的方法, 用5-甲基-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(1.42g, 8.02mmol)代替5-溴-4-氟-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。分离奶油色固体形式的标题化合物, 22.7mg, 20.2%, 按照实施例1, 步骤3描述的方案, 用5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺(50mg, 0.34mmol)代替5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺。

[0816] LC/MS: RT = 2.04Min (270nm), m/z = 332.4 [M+H]。总运行时间3.75min(短正/负), HP1100。

[0817] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 2.38 (s, 3H), 5.40 (s, 2H), 7.29–7.40 (m, 5H), 7.69 (d, 1H), 7.97–7.98 (m, 1H), 8.06–8.08 (m, 2H), 8.44 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 11.25 (br s, 1H)。

[0818] 实施例73:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺



[0819]

[0820] 根据方案1中概述的类似路线并使用实施例1描述的方法制备标题化合物,在步骤1和2中,在步骤1中用5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(400mg,2.62mmol)代替5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。

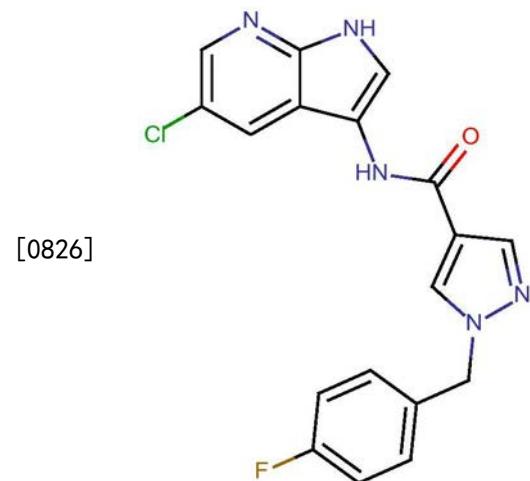
[0821] 步骤3:标题化合物:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺的制备

[0822] 在微波瓶中混合5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺(37.4mg,0.22mmol)、HATU(95.1mg,0.2mmol)和乙腈(5mL)。加入1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸(49.6mg,0.25mmol)和DIPEA(0.09mL,0.50mmol),并将内容物脱气。然后,在微波照射下将反应在80°C下加热1小时。将反应在EtOAc和H₂O之间分层并分离有机物。使用另外部分的EtOAc萃取水相并使用H₂O,饱和氯化钠水溶液洗涤合并的萃取物,干燥(MgSO₄)并真空浓缩。通过使用30%EtOAc/异己烷至100%EtOAc洗脱的自动柱层析纯化粗物质。将包含纯物质的馏分合并,真空浓缩以提供褐色粉末形式的目标化合物,24mg,30.6%。

[0823] LC/MS:RT=2.19Min(270nm),m/z=352[M+H]⁺。总运行时间3.75min(短正/负),HP1100。

[0824] ¹H NMR(d₆DMSO):δ5.42(s,2H),7.29-7.41(m,5H),7.86(s,1H),8.09(s,1H),8.23(s,1H),8.35(s,1H),8.46(s,1H),9.89(s,1H),11.70(s,1H)。

[0825] 实施例74:1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺



[0827] 在步骤1中,根据方案1中概述的类似路线并使用实施例73描述的方法制备标题化合物。

[0828] 步骤2:5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺的制备

[0829] 在5°C下,将氯化锡(II)二水合物(8.57g,38mmol)分批加入至5-氯-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(1.5g,7.59mmol)的6N HCl(60mL)混合物并将反应在RT下搅拌2小时。将反应混合物冷却并使用H₂O(300mL)稀释,然后通过小心加入50%NaOH水溶液碱化至pH8。然后,使用DCM/IPA(3:1,4×150mL)萃取混合物并使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的萃取物,干燥(MgSO₄)并真空去除溶剂以提供绿色固体形式的标题化合物,1.25g,98.2%。

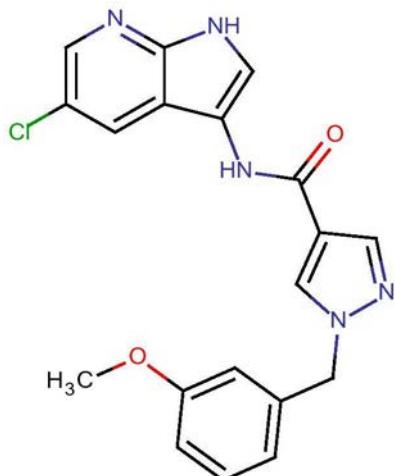
[0830] 步骤3:标题化合物:1-(4-氟-苯基)-1H-吡唑-4-羧酸(5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺的制备

[0831] 在具有Et₃N(0.07mL,0.48mmol)和在实施例17中制备的1-(4-氟-苯基)-1H-吡唑-4-羧酸(57.8mg,0.26mmol)的DMF(3.0mL)中搅拌5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺(40.0mg,0.24mmol)。加入HATU(91.3mg,0.24mmol)并将反应在RT下搅拌2小时。使用H₂O稀释反应混合物,并使用EtOAc(3×30mL)萃取。使用饱和碳酸氢钠水溶液,饱和氯化钠水溶液(4×60mL)洗涤合并的萃取物,干燥(MgSO₄)并真空去除溶剂。通过使用DCM至5%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗物质。将包含纯产物的馏分合并,真空浓缩以提供浅褐色固体形式的标题化合物,58.7mg,66.5%。

[0832] LC/MS:RT=2.23Min(270nm),m/z=370.3[M+H]。总运行时间3.75min(短正/负),HP1100。

[0833] ¹H NMR(d₆DMSO):δ5.40(s,2H),7.19-7.23(m,2H),7.35-7.39(m,2H),7.85(d,1H),8.08(s,1H),8.21(d,1H),8.33(d,1H),8.44(s,1H),9.88(s,1H),11.69(br s,1H)。

[0834] 实施例75:1-(3-甲氧基-苯基)-1H-吡唑-4-羧酸(5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺

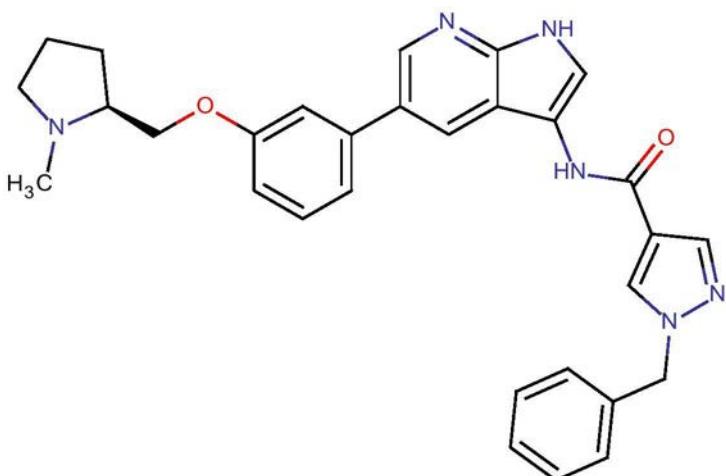


[0836] 根据方案1中概述的类似路线并使用实施例74描述的方法制备标题化合物,在步骤3中用1-(3-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(72.8mg,0.31mmol)代替1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸。在使用EtOAc研磨后分离白色固体形式的标题化合物,24mg,21.1%。

[0837] LC/MS:RT=2.42Min (254nm) ,m/z=382[M+H]。总运行时间3.75min(短正/负), HP1100。

[0838] ^1H NMR (d_6DMSO) : 83.75 (s, 3H), 5.38 (s, 2H), 6.88 (m, 3H), 7.30 (t, 7.83, 1H), 7.87 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 9.88 (s, 1H), 11.71 (s, 1H)。

[0839] 实施例76:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-((S)-1-甲基-吡咯烷-2-基甲氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺



[0841] 根据方案6中概述的类似路线制备标题化合物。

[0842] 从实施例43中步骤1的产物1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺制备标题化合物。

[0843] 步骤1: (S)-1-甲基-2-[3-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧硼戊环-2-基)-苯氧基甲基]-吡咯烷的制备

[0844] 在0℃下,向4-3-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧硼戊环-2-基)-苯酚(150mg,0.68mmol)、(S)-(-)-1-甲基-2-吡咯烷MeOH(117.8mg,1.02mmol)和三苯基膦(268.2mg,1.02mmol)的THF(3mL)溶液滴加DIAD(206.7mg,2mL,1.02mmol)。将生成的溶液在室温下搅拌36小时并将反应混合物真空浓缩。通过异己烷至50%EtOAc/异己烷(梯度)洗脱的自动柱

层析纯化粗物质。分离白色固体形式的标题化合物,220mg,100%。

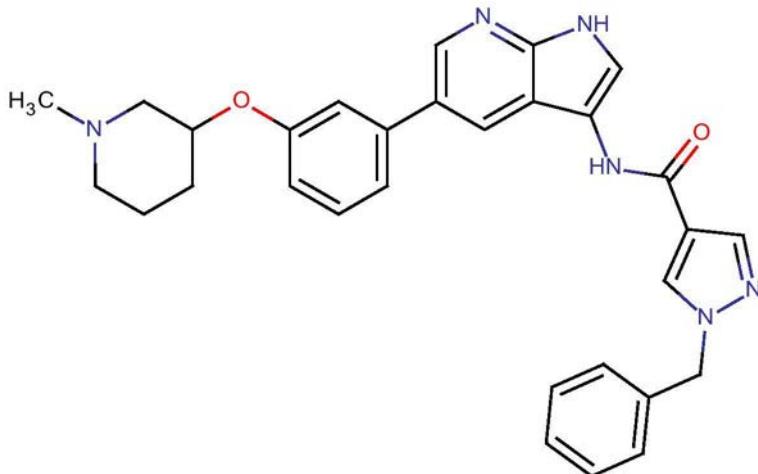
[0845] 步骤2:标题化合物:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-((S)-1-甲基-吡咯烷-2-基甲氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺的制备

[0846] 在微波瓶中混合1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺(115mg,0.21mmol)、(S)-1-甲基-2-[3-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧硼戊环-2-基)-苯氧基甲基]-吡咯烷(99.4mg,0.31mmol)、碳酸钾(86.6mg,0.63mmol)、THF(4mL)和H₂O(0.4mL)。将混合物脱气,加入Pd(dppf)Cl₂(7.64mg,0.01mmol)并在微波照射下将反应在130℃下加热1小时。使用DCM稀释反应混合物并使用饱和氯化钠水溶液洗涤。将有机物分离,干燥(MgSO₄)并真空浓缩。通过使用DCM至10%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗物质。这提供褐色玻璃状两种化合物,1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-[3-((S)-1-甲基-吡咯烷-2-基甲氧基)-苯基]-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺和1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-[3-(1-甲基-哌啶-3-基氧基)-苯基]-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的混合物。在MeOH(5mL)中处理其并转移至微波瓶。加入K₂CO₃(100.9mg,0.73mmol)并在微波照射下将内容物在80℃下加热30分钟。将反应混合物真空浓缩至四分之一体积并使用H₂O稀释。在静止后形成沉淀,将其滤除并使用H₂O,然后Et₂O洗涤。将粉末干燥并通过使用DCM至19%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析纯化以产生白色粉末形式的标题化合物,7mg,6.6%。实施例77(下面),还从相同的柱分离固体形式的1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(1-甲基-哌啶-3-基氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺,8mg,7.6%。

[0847] LC/MS:RT=1.00Min(230nm),m/z=507[M+H]。总运行时间1.9min(超短正),HP1200。

[0848] ¹H NMR(d₆DMSO):δ1.62-1.81(m,3H),1.96-2.08(m,1H),2.96-3.12(m,1H),3.9-4.15(m,2H),5.42(s,2H),6.93-6.98(m,1H),7.22-7.42(m,8H),7.82-7.85(m,1H),8.10(s,1H),8.48(s,1H),8.51-8.57(m,2H),9.92(br s,1H),11.51(br s,1H)5质子未出现。

[0849] 实施例77:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[3-(1-甲基-哌啶-3-基氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺



[0850]

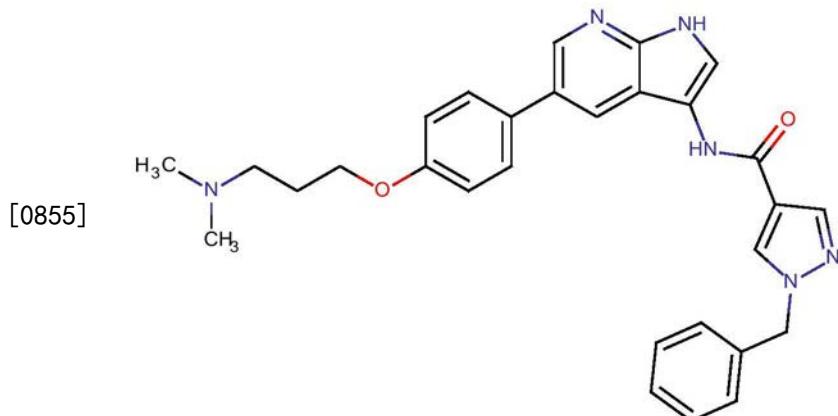
[0851] 从实施例76,步骤2中描述的粗反应混合物分离固体形式的标题化合物,8mg,7.6%。

[0852] LC/MS:RT=1.00Min(230nm),m/z=507[M+H]。总运行时间1.9min(超短正),

HP1200。

[0853] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.31–1.42 (m, 1H), 1.50–1.62 (s, 1H), 1.67–1.76 (m, 1H), 1.95–2.10 (m, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.86–2.92 (m, 1H), 4.46–4.54 (m, 1H), 5.41 (s, 2H), 6.94–6.98 (m, 1H), 7.22–7.41 (m, 8H), 7.82–7.84 (d, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.51–8.55 (m, 2H), 9.91 (br s, 1H), 11.50 (br s, 1H) 1质子未出现。

[0854] 实施例78:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-[4-(3-二甲基氨基-丙氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0856] 从实施例43中步骤1的产物1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺制备标题化合物。

[0857] 步骤1:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4-羟基-苯基)-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0858] 在THF/H₂O (14mL:1.4mL) 中混合1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺 (1.0g, 1.82mmol)、4-羟基苯基硼酸 (0.3g, 2.18mmol) 和K₂CO₃ (0.75g, 5.45mmol) 并彻底脱气。加入Pd (dppf) Cl₂ (0.067mg, 0.09mmol) 并在微波照射下在120℃下加热1小时之前将混合物再次脱气。加入4-羟基苯基硼酸 (0.15g, 1.09mmol) 并在微波照射下在120℃下加热2小时和在140℃下加热1小时之前将混合物再次脱气。使用饱和碳酸氢钠水溶液 (100mL) 稀释反应并使用EtOAc (2×100mL) 萃取。使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机物, 干燥 (MgSO₄) 并真空去除溶剂。通过使用DCM至50% EtOAc/DCM (梯度) 洗脱的快速层析纯化粗物质。将发现包含产物的馏分合并, 真空去除溶剂。使用最少量的乙醇研磨剩余物以提供白色固体形式的目标化合物, 0.33g, 32.6%。

[0859] 步骤2:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸的制备

[0860] [5-[4-(3-二甲基氨基-丙氧基)-苯基]-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0861] 在具有K₂CO₃ (73.6mg, 0.53mmol) 的DMF (4mL) 中搅拌1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-溴-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺 (100mg, 0.18mmol)。向其加入(3-氯-丙基)-二甲基胺盐酸盐 (36.5mg, 0.23mmol), 然后将反应在50℃下加热16小时。然后, 将反应冷却, 真空浓缩, 并将剩余物在饱和碳酸氢钠水溶液 (30mL) 和EtOAc (40mL) 之间分层。将有机物分离并使用另外部分的EtOAc (40mL) 萃取水相。使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机物, 在MgSO₄上干燥并真空浓缩。通过使用DCM, 然后10% MeOH/DCM并且最终6%的氨, 7N的MeOH/EtOAc溶液洗脱的快速层析纯化粗物质。将包含产物的馏分合并, 真空浓缩

以提供黄色固体形式的标题化合物, 67mg, 58.2%。

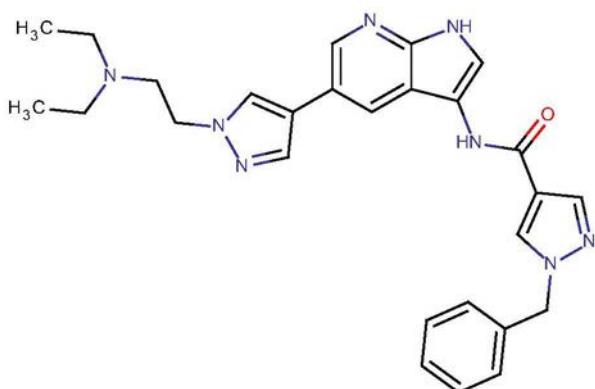
[0862] 步骤3:标题化合物:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[4-(3-二甲基氨基-丙氧基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺的制备

[0863] 在微波瓶中混合1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-[4-(3-二甲基氨基-丙氧基)-苯基]-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺(67mg, 0.10mmol)、K₂CO₃(71.4mg, 0.52mmol) 和MeOH(2mL) 并在100℃下加热30分钟。将混合物真空浓缩并通过在pH 9下然后在pH 4下的制备HPLC纯化粗物质以提供淡橙色固体形式的标题化合物, 0.8mg, 1.6%。

[0864] LC/MS:RT=1.98Min (254nm) ,m/z=495[M+H]。总运行时间3.75min(短正/负), HP1100。

[0865] ^1H NMR (d₆DMSO) : δ 1.87 (m, 2H), 2.16 (s, 6H), 2.37 (t, 2H), 4.04 (t, 2H), 5.41 (s, 2H), 7.04 (m, 2H), 7.27–7.41 (m, 5H), 7.62 (m, 2H), 7.80 (d, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.40 (br s, 1H), 8.43–8.50 (m, 3H), 9.92 (s, 1H), 11.45 (d, 1H)。

[0866] 实施例79:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[1-(2-二乙基氨基-乙基)-1H-吡唑-4-基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺



[0868] 根据方案6中概述的路线制备标题化合物。

[0869] 从实施例60中步骤1的产物1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧硼戊环-2-基)-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺制备标题化合物。

[0870] 步骤1: [2-(4-溴-吡啶-1-基)-乙基]-二乙基-胺的制备

[0871] 将 Cs_2CO_3 (1.66g, 5.1mmol) 加入至4-溴吡唑 (0.25g, 1.7mmol) 的DMF (2mL) 溶液并将混合物搅拌10分钟。加入2-溴-N,N-二乙基乙基胺氢溴酸盐 (0.577g, 2.21mmol) 并将反应在70°C下加热18小时。使用 H_2O 稀释反应并使用DCM/IPA (4:1) ($\times 2$) 萃取。将有机物合并, 使用饱和氯化钠水溶液 ($\times 4$) 洗涤, 干燥 (MgSO_4) 并真空浓缩以提供淡黄色油状物形式的标题化合物, 275mg, 65.7%。

[0872] 步骤2:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-[1-(2-二乙基氨基-乙基)-1H-吡唑-4-基]-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0873] 在微波瓶中合并1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧硼戊环-2-基)-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺(90mg,0.15mmol)、[2-(4-溴-吡唑-1-基)-乙基]-二乙基-胺(74.2mg,0.3mmol)、K₂CO₃(62.5mg,0.45mmol)、THF(4mL)和H₂O(0.4mL)并脱气。加入Pd(dppf)Cl₂(5.5mg,0.01mmol)并在微波照射下在130℃下

加热1小时之前将内容物再次脱气。将混合物脱气并加入另外部分的Pd (dppf) Cl₂ (5.5mg, 0.01mmol) 并在130℃下加热30分钟之前进行脱气。使用DCM稀释反应混合物并分离有机物。使用另外部分的DCM萃取水相并使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机物,在MgSO₄上干燥并真空浓缩。通过使用DCM至15%MeOH/DCM (梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗物质以提供标题化合物,24mg,25.1%。

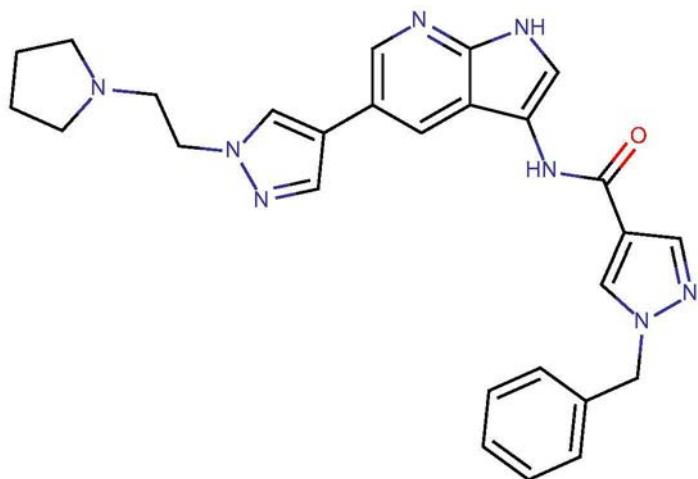
[0874] 步骤3:标题化合物:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[1-(2-二乙基氨基-乙基)-1H-吡唑-4-基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺的制备

[0875] 在微波瓶中混合1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[5-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧硼戊环-2-基)-1-(甲苯-4-磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺(90mg,0.15mmol)、[2-(4-溴-吡唑-1-基)-乙基]-二乙基-胺(24mg,0.038mmol)、K₂CO₃(104.1mg,0.75mmol)和MeOH(3mL)并在80℃下加热30分钟。将反应混合物真空浓缩至四分之一体积并使用H₂O稀释。在静止2hrs后,通过过滤分离固体,使用H₂O,然后使用Et₂O洗涤并真空干燥以提供灰色粉末形式的标题化合物,7mg,38.2%。

[0876] LC/MS:RT=0.92Min (230nm), m/z=483 [M+H]。总运行时间1.9min (超短正), HP1200。

[0877] ¹H NMR (d₆DMSO): δ 0.90–0.95 (t, 6H), 2.79–2.84 (t, 2H), 4.14–4.19 (t, 2H), 5.41 (s, 2H), 7.28–7.41 (m, 5H), 7.72 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.27–8.30 (m, 1H), 8.45–8.49 (m, 2H), 9.86 (br s, 1H), 11.39 (br s, 1H) 4质子未出现。

[0878] 实施例80:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸{5-[1-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-1H-吡唑-4-基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基}-酰胺



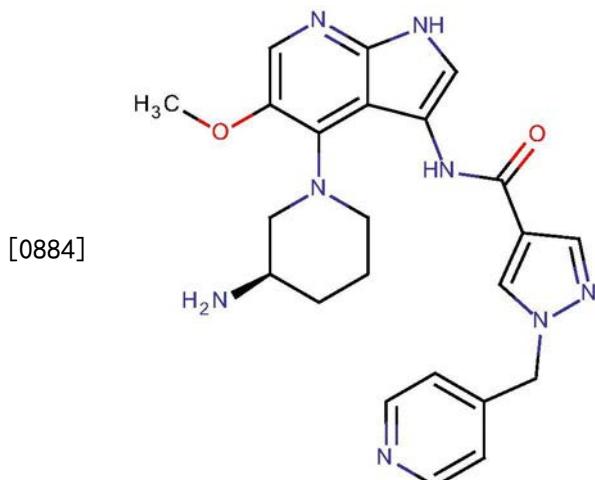
[0879]

[0880] 根据方案6中概述的路线并使用实施例79描述的方法制备标题化合物,在步骤1中用1-(2-氯-乙基)-吡咯烷盐酸盐(376.1mg,2.21mmol)代替2-溴-N,N-二乙基乙基胺氢溴酸盐。分离黑色粉末形式的标题化合物,10mg,13.8%。

[0881] LC/MS:RT=1.15Min (230nm), m/z=481 [M+H]。总运行时间1.9min (超短正), HP1200。

[0882] ¹H NMR (d₆DMSO): δ 1.63–1.69 (m, 4H), 2.83–2.88 (t, 2H), 4.21–4.26 (t, 2H), 5.41 (s, 2H), 7.28–7.41 (m, 5H), 7.72 (s, 1H), 7.84–7.86 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.18 (s, 1H) 8.28–8.31 (m, 1H), 8.45–8.49 (m, 2H), 9.87 (br s, 1H), 11.40 (br s, 1H) 4质子未出现。

[0883] 实施例81:1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲

氨基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0885] 根据方案2中概述的类似路线制备标题化合物。

[0886] 从实施例31中步骤7的产物4-氟-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺制备它。

[0887] 步骤1:1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸的制备

[0888] 在氮气环境下将4-溴甲基吡啶盐酸盐 (3.58g, 14.17mmol) 加入至1H-吡唑-4-羧酸乙酯 (1.89g, 14.17mmol) 和碳酸铯 (10.43g, 32mmol) 的丙酮 (50mL) 悬浮液，并将悬浮液在RT下搅拌18小时。使用H₂O稀释反应，然后使用EtOAc (×2) 萃取。使用H₂O, 饱和氯化钠水溶液溶液洗涤合并的萃取物，干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩。在MeOH (50mL) 中搅拌剩余物并加入氢氧化钠 (0.896g, 22.4mmol) 的H₂O (15mL) 溶液。将反应混合物在回流下加热3小时，然后冷却至RT。真空去除溶剂并使用少量H₂O稀释剩余物。通过小心加入盐酸水溶液，1.0M将混合物的pH调整至4。在搅拌10mins后，通过过滤分离固体，使用H₂O充分洗涤并真空干燥以产生期望的固体形式的标题化合物，0.449g。使用EtOAc (×6) 萃取滤液并使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的萃取物，在MgSO₄上干燥并真空浓缩以提供另外产量的标题化合物，0.736g。这提供总共1.185g, 78%。

[0889] 步骤2:1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸 (5-氯-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺的制备

[0890] 在DMF (5mL) 中搅拌4-氟-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺 (97mg, 0.54mmol)。加入Et₃N (109mg, 150μL, 1.08mmol) 和1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸 (119.7mg, 0.59mmol)，随后加入HATU (224.3mg, 0.54mmol)。将反应在RT下搅拌18hrs，然后使用H₂O (20mL) 稀释。使用EtOAc (2×50mL) 和10% MeOH的DCM (2×50mL) 萃取溶液。在MgSO₄上干燥合并的有机萃取物并真空浓缩。使用EtOAc研磨剩余物以产生浅褐色固体形式的标题化合物，125mg, 63.7%。

[0891] 步骤3:标题化合物:1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0892] 在微波瓶中混合1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸 (5-氯-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺 (125mg, 0.34mmol)、(R)-哌啶-3-基-氨基甲酸叔丁基酯 (341.7mg, 1.71mmol) 和ⁿBuOH (5mL) 并在微波照射下160℃下加热6小时。真空去除溶剂并在DCM (5mL)

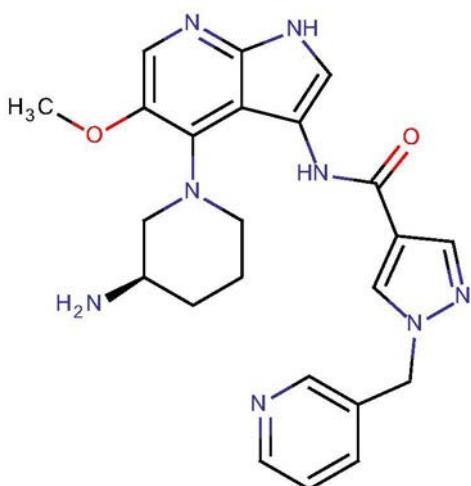
中处理剩余物。加入TFA (3mL) 并将反应混合物在RT下搅拌18hrs。真空浓缩反应并在装载在SCX-2离子交换柱上之前在DCM中处理。使用DCM, MeOH洗涤柱，并使用已经使用DCM稀释至0.5N的氨的7N的MeOH溶液洗脱感兴趣的化合物。将包含产物的馏分合并，真空浓缩。通过使用DCM至5%氨的7N的MeOH/5%MeOH/DCM溶液洗脱的自动柱层析另外纯化所述物质。将包含纯产物的馏分合并，真空浓缩以提供淡橙色固体形式的标题化合物, 22mg, 14%。

[0893] LC/MS: RT = 1.35Min (270nm) , m/z = 447 [M+H] 。总运行时间 3.75min (短正) , HP1100。

[0894] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.18 (m, 1H) , 1.44–1.76 (m, 5H) , 2.85 (m, 2H) , 3.03 (m, 2H) , 3.21 (d, 1H) , 3.86 (s, 3H) , 5.50 (s, 2H) , 7.16 (m, 2H) , 7.71 (s, 1H) , 8.06 (m, 2H) , 8.55 (m, 2H) , 8.63 (s, 1H) , 9.76 (br s, 1H) , 11.22 (br s, 1H) 。

[0895] 实施例82:1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

[0896]

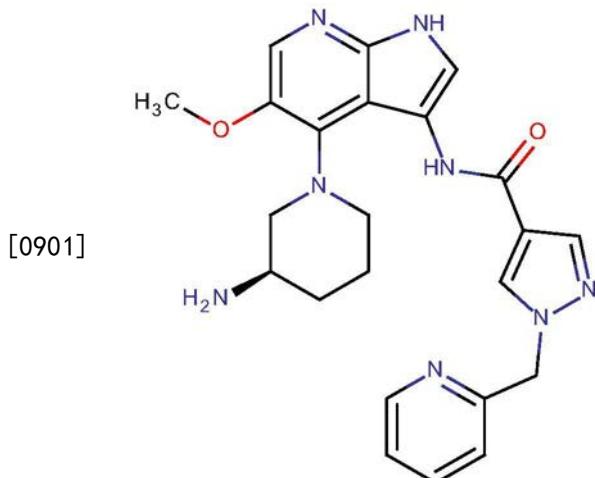


[0897] 根据方案2中概述的类似路线并使用实施例81描述的方法制备标题化合物, 在步骤1中用1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸 (119.7mg, 0.59mmol) 代替1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸。分离淡白色固体形式的标题化合物, 48mg, 26.6%。

[0898] LC/MS: RT = 1.50Min (270nm) , m/z = 447 [M+H] 。总运行时间 3.75min (短正) , HP1100。

[0899] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.2 (m, 1H) , 1.41–1.75 (m, 5H) , 2.85 (m, 2H) , 3.03 (t, 2H) , 3.21 (d, 1H) , 3.86 (s, 3H) , 5.47 (s, 2H) , 7.40 (dd, 1H) , 7.67–7.72 (m, 2H) , 8.04 (m, 2H) , 8.52–8.62 (m, 3H) , 9.74 (br s, 1H) , 11.20 (br s, 1H) 。

[0900] 实施例83:1-吡啶-2-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

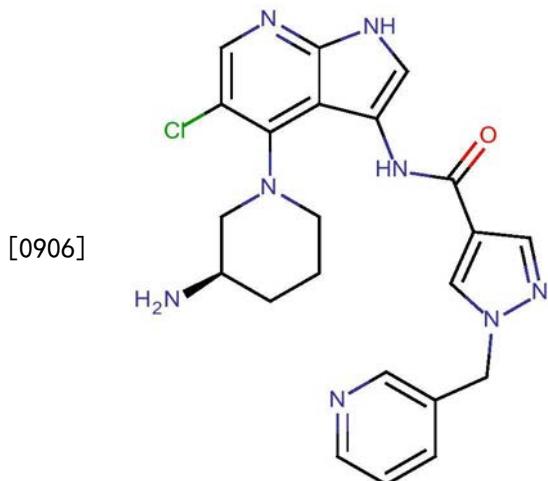


[0902] 根据方案2中概述的类似路线并使用实施例81描述的方法制备标题化合物,在步骤1中用1-吡啶-2-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸(119.7mg,0.59mmol)代替1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸。分离淡白色固体形式的标题化合物,56mg,34%。

[0903] LC/MS:RT=1.60Min(270nm),m/z=447[M+H]。总运行时间3.75min(短正),HP1100。

[0904] ^1H NMR (d_6DMSO): δ 1.2 (m, 1H), 1.48–1.77 (m, 5H), 2.86 (m, 2H), 3.05 (m, 2H), 3.21 (d, 1H), 3.86 (s, 3H), 5.52 (s, 2H), 7.14 (d, 1H), 7.33 (dd, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.81 (t, 1H), 8.02 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 8.56 (m, 2H), 9.78 (br s, 1H), 11.21 (br s, 1H)。

[0905] 实施例84:1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



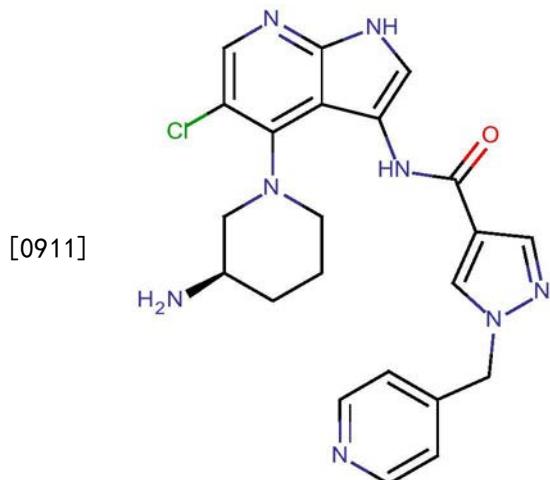
[0907] 根据方案2中概述的类似路线并使用实施例24描述的方法制备标题化合物,在步骤6中用1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸(344.5mg,1.7mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。在按照步骤7中描述的常规处理之后,在DCM中处理粗物质并装载在SCX-2离子交换柱上。使用DCM,MeOH洗涤柱并使用已经使用DCM稀释至0.5N的氨的7N的MeOH溶液洗脱感兴趣的化合物。将包含产物的馏分合并,真空浓缩。通过使用2% Et_3N 的DCM至20% MeOH/2% Et_3N 的DCM(梯度)洗脱的自动柱层析另外纯化剩余物。将包含纯物质的馏分合并,真空浓缩以提供淡黄色固体形式的标题化合物,52mg,21.4%。

[0908] LC/MS:RT=1.59Min(270nm),m/z=451[M+H]。总运行时间3.75min(短正),

HP1100。

[0909] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.19 (m, 2H), 1.46 (m, 1H), 1.69 (m, 2H), 2.92 (m, 2H), 3.12 (m, 2H), 5.48 (s, 2H), 7.40 (dd, 1H), 7.67- (dt, 1H), 7.71 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 8.52-8.58 (m, 3H), 9.73 (br s, 1H), 11.69 (br s, 1H) 2质子未出现。

[0910] 实施例85:1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

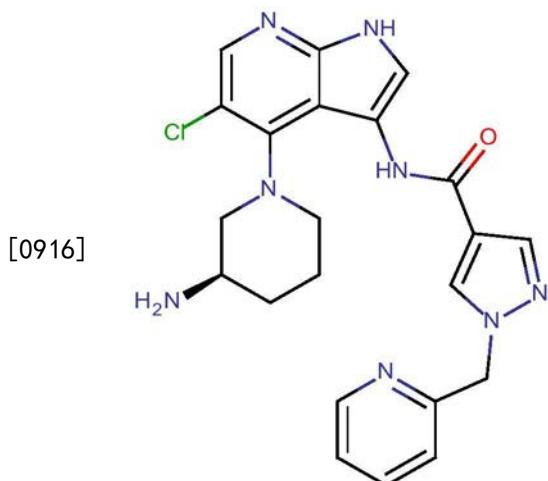


[0912] 根据方案2中概述的类似路线并使用实施例24描述的方法制备标题化合物,在步骤6中用1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸(344.5mg,1.7mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。在按照步骤7中描述的常规处理之后,在DCM中处理粗物质并装载在SCX-2离子交换柱上。使用DCM,MeOH洗涤柱并使用已经使用DCM稀释至0.5N的氨的7N的MeOH溶液洗脱感兴趣的化合物。将包含产物的馏分合并,真空浓缩。通过使用DCM至12%MeOH/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析另外纯化剩余物。将包含物质的馏分合并,真空浓缩。通过在pH4下的制备HPLC另外纯化剩余物。将包含纯物质的馏分合并,真空浓缩以提供目标化合物和1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[5-氯-4-((R)-3-甲酰氨基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的混合物。在最少量的MeOH中搅拌该物质,然后加入盐酸溶液,4M的1,4-二氧六环(2mL)。将反应在RT下搅拌18小时并真空去除溶剂。在DCM中处理剩余物,使用5%氨水溶液洗涤,干燥(MgSO_4)并真空浓缩。通过使用2% Et_3N 的DCM至20%MeOH/2% Et_3N 的DCM(梯度)洗脱的自动柱层析另外纯化剩余物。将包含纯物质的馏分合并,真空浓缩以提供淡黄色固体形式的标题化合物,52mg,13.2%。

[0913] LC/MS: RT = 1.52Min (270nm), m/z = 451 [M+H]。总运行时间3.75min(短正), HP1100。

[0914] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.19 (m, 2H), 1.48 (m, 1H), 1.69 (m, 2H), 2.25 (br s, 2H), 2.92 (m, 2H), 3.13 (m, 2H), 5.50 (s, 2H), 7.15 (m, 2H), 7.72 (s, 1H), 8.09 (m, 2H), 8.57 (m, 3H), 9.74 (br s, 1H), 11.71 (br s, 1H)。

[0915] 实施例86:1-吡啶-2-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

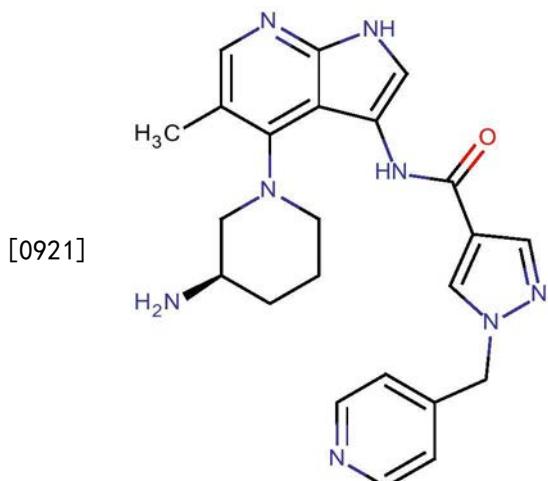


[0917] 根据方案2中概述的类似路线并使用实施例85描述的方法制备标题化合物,在步骤6中用1-吡啶-2-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸(344.5mg,1.7mmol)代替1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸。分离淡黄色固体形式的标题化合物,30mg,12.3%。

[0918] LC/MS: RT = 1.69 Min (270nm), m/z = 451 [M+H]。总运行时间3.75min(短正), HP1100。

[0919] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.20 (m, 2H), 1.50 (m, 1H), 1.72 (m, 2H), 2.08 (br s, 2H), 2.92 (m, 2H), 3.15 (m, 2H), 5.52 (s, 2H), 7.13 (d, 1H), 7.37 (dd, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.81 (m, 1H), 8.04 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.56 (m, 2H), 9.79 (br s, 1H), 11.68 (br s, 1H)。

[0920] 实施例87:1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0922] 根据方案2中概述的类似路线制备标题化合物。

[0923] 从实施例6中步骤2的产物4-氟-1-三异丙基硅烷基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶制备它。

[0924] 步骤1:4-氟-5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0925] 在-78°C下,将仲丁基锂溶液,1.4M的环己烷(8.76mL,12.26mmol)滴加至4-氟-1-三异丙基硅烷基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(2.05g,7.01mmol)的THF(75mL)溶液。将反应在-78°C下搅拌30分钟,然后滴加碘甲烷(2.49g,1.09mL,17.52mmol)并将反应在-78°C下搅拌另外45分钟。通过加入饱和氯化铵水溶液(50mL)淬灭反应并使反应达到RT。使用EtOAc(×

3) 萃取混合物并使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的萃取物, 干燥 ($MgSO_4$) 并真空浓缩。在 THF (50mL) 中处理剩余物并在 RT 下滴加四丁基氟化铵, 1.0M 的 THF 溶液 (7.01mL, 7.01mmol)。将反应混合物在 RT 下搅拌 30 分钟, 然后在 H_2O 和 $EtOAc$ 之间分层。将有机层分离并使用更多的 $EtOAc$ 萃取水相。使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机相, 干燥 ($MgSO_4$) 并真空浓缩。在 DCM/异己烷 (1:1) 中搅拌剩余物, 过滤并在真空干燥之前使用 DCM/异己烷 (1:1) 洗涤。这提供白色粉末形式的标题化合物, 0.561g, 53.3%。

[0926] 步骤2:4-氟-5-甲基-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0927] 使用实施例6描述的方法制备标题化合物, 在步骤5中用4-氟-5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶 (600mg, 4mmol) 代替5-溴-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。分离淡黄色粉末形式的标题化合物, 609mg, 78.1%。

[0928] 步骤3:4-氟-5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺的制备

[0929] 使用实施例6描述的方法制备标题化合物, 在步骤6中用4-氟-5-甲基-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶 (277mg, 1.42mmol) 代替5-溴-4-氟-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。分离褐色粉末形式的标题化合物, 230mg, 98.1%。

[0930] 步骤4:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸 (4-氟-5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺的制备

[0931] 在具有 DIPEA (0.462mL, 2.79mmol) 和 1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸 (270mg, 1.33mmol) 的 DMF (5mL) 中搅拌 4-氟-5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基胺 (230mg, 1.39mmol)。加入 HATU (582mg, 153mmol) 并将反应在 RT 下搅拌 2 小时。使用 H_2O 稀释反应混合物, 并使用 DCM/IPA (4:1) ($\times 2$) 萃取。使用饱和碳酸氢钠水溶液, 饱和氯化钠水溶液洗涤合并的萃取物, 干燥 ($MgSO_4$) 并真空去除溶剂以提供黑色剩余物。使用 $MeOH/H_2O$ (1:1) 将其研磨, 过滤并在 40°C 下在真空干燥之前使用异己烷洗涤。这提供褐色粉末形式的标题化合物, 198mg, 40.6%。

[0932] 步骤5:标题化合物:1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

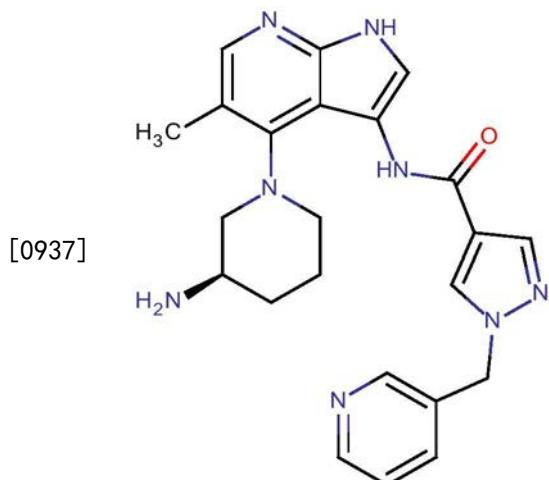
[0933] 在 160°C 下, 在密封管中将 1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸 (4-氟-5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-酰胺 (198mg, 0.57mmol)、对甲苯磺酸一水合物 (430mg, 2.26mmol)、(R)-哌啶-3-基-氨基甲酸叔丁基酯 (565.9mg, 2.83mmol) 和 NMP (6mL) 加热 7 小时。通过使用 DCM 至 45% $MeOH/DCM$ (梯度) 洗脱的自动柱层析纯化混合物。将包含产物的馏分合并, 真空浓缩。仍在最少量的 DCM 中处理该粗物质并加入 Et_3N (217.8mg, 0.3mL, 2.15mmol)。将混合物在 RT 下搅拌并加入二碳酸二叔丁基酯 (150mg, 0.69mmol), 随后加入 DMAP (5mg)。将其搅拌 1 小时, 使用 DCM 稀释并使用 H_2O , 饱和氯化钠水溶液洗涤, 干燥 ($MgSO_4$) 并真空浓缩。通过使用 DCM 至 10% $MeOH/DCM$ (梯度) 洗脱的自动柱层析纯化该粗物质。将包含较高运行的单 Boc 产物的馏分合并, 真空浓缩。在盐酸, 1.25M 的 $MeOH$ 溶液 (2mL) 中处理剩余物并在微波照射下在 80°C 下加热 30 分钟。真空去除溶剂并在最小体积的 $MeOH$ 中处理剩余物并应用于 SCX-2 离子交换盒。使用 $MeOH$ 将其洗涤并使用 4:1 DCM/7N NH_3 的 $MeOH$ 洗脱目标化合物并真空浓缩。将乙腈加入至剩余物并在超声处理 10 分钟后形成细沉淀。在离心机中将其制粒, 并将清液轻轻倒出, 使用 Et_2O 洗涤固体并过滤以产生淡棕色粉末形式的标题化合物, 4.1mgs, 1.7%。

[0934] LC/MS: RT = 0.41Min (230nm), m/z = 431 [M+H]。总运行时间 1.9min (超短正),

HP1200。

[0935] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.11–1.22 (m, 1H), 1.43–1.54 (m, 1H), 1.64–1.77 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.78–2.85 (m, 1H), 2.85–2.93 (m, 1H), 3.00–3.05 (m, 2H), 3.17–3.24 (m, 1H), 5.51 (s, 2H), 7.13–7.16 (m, 2H), 7.68 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 8.54–8.57 (m, 2H), 8.59 (br s, 1H), 9.78 (br s, 1H), 11.28 (br s, 1H) 2质子未出现。

[0936] 实施例88:1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

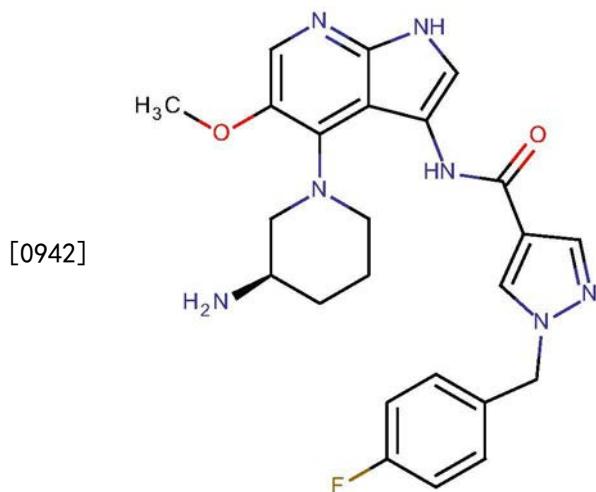


[0938] 使用实施例87描述的方法制备标题化合物,在步骤4中用1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸(406mg,2mmol)代替1-吡啶-4-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸。以淡棕色粉末形式分离它,0.88mg s,0.63%。

[0939] LC/MS: RT = 0.65 Min (230nm), m/z = 431 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正), HP1200。

[0940] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.11–1.23 (m, 1H), 1.40–1.52 (m, 1H), 1.63–1.77 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.77–2.85 (m, 1H), 2.85–2.94 (m, 1H), 2.99–3.06 (m, 2H), 3.16–3.25 (m, 1H), 5.47 (s, 2H), 7.38–7.44 (m, 1H), 7.65–7.70 (m, 2H), 7.93 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 8.51–8.62 (m, 3H), 9.76 (br s, 1H), 11.27 (br s, 1H) 2质子未出现。

[0941] 实施例89:1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0943] 根据方案7中概述的路线制备标题化合物。

[0944] 从实施例32中步骤5的产物[(R)-1-(3-氨基-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基]-氨基甲酸叔丁基酯制备它。

[0945] 步骤1: [(R)-1-(3-{[1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羰基]-氨基}-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基]-氨基甲酸叔丁基酯的制备

[0946] 向 [(R)-1-(3-氨基-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基]-氨基甲酸叔丁基酯 (92mg, 0.25mmol)、1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸 (61.6mg, 0.28mmol) 和 Et₃N (69.6L, 0.5mmol) 的 DMF (5mL) 溶液加入 HATU (95.1mg, 0.25mmol) 并将反应混合物在 RT 下搅拌 18 小时。将反应混合物真空浓缩并在 EtOAc (50mL) 中处理剩余物。使用 H₂O, 饱和氯化钠水溶液洗涤它, 干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩。通过使用 30% EtOAc / 异己烷至 EtOAc (梯度) 洗脱的自动柱层析纯化粗物质。将包含纯产物的馏分合并, 真空浓缩以提供褐色固体形式的标题化合物, 82mg, 57.2%。

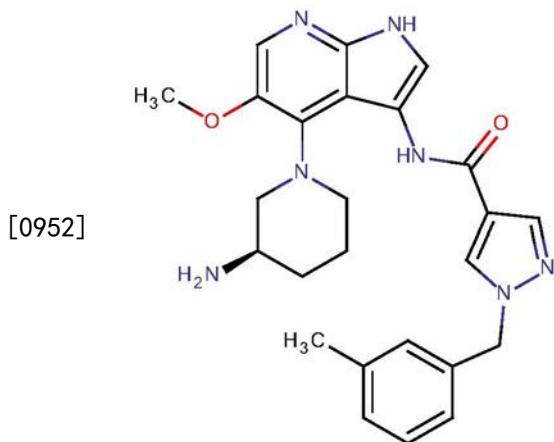
[0947] 步骤2:标题化合物:1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氨基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

[0948] 在RT下,向((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羰基)-氨基]-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯(81mg,0.14mmol)的DCM(5mL)溶液加入TFA(1mL)。将反应混合物在RT下搅拌另外2小时,然后真空浓缩。在DCM中处理剩余物,使用5%氨水溶液,饱和氯化钠水溶液洗涤,干燥($MgSO_4$)并真空浓缩。通过使用DCM至20%MeOH(包含5%7N NH_3 的MeOH)(梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗物质。将包含纯产物的馏分合并,真空浓缩以提供白色固体形式的标题化合物,34mg,51%。

[0949] LC/MS: RT = 1.81 Min (270 nm), m/z = 464 [M+H]⁺。总运行时间3.75min(短正), HP1100。

[0950] ^1H NMR (d₆DMSO) : δ 1.18 (m, 1H), 1.45–1.71 (m, 5H), 2.85 (m, 2H), 3.03 (m, 2H), 3.21 (d, 1H), 3.86 (s, 3H), 5.40 (s, 2H), 7.21 (m, 2H), 7.34 (m, 2H), 7.72 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 9.73 (br s, 1H), 11.21 (br s, 1H)。

[0951] 实施例90:1-(3-甲基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



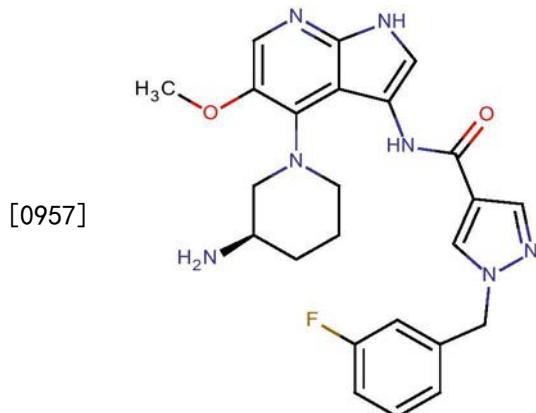
[0953] 根据方案7中概述的路线,使用实施例89描述的方法制备标题化合物,在步骤1中用1-(3-甲基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(79mg,0.365mmol)代替1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-

羧酸。分离白色固体形式的标题化合物,59mg,64.7%。

[0954] LC/MS: RT = 1.86 Min (270 nm), m/z = 460 [M+H]⁺。总运行时间3.75 min(短正), HP1100。

[0955] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.19 (m, 1H), 1.44–1.75 (m, 5H), 2.29 (s, 3H), 2.85 (m, 2H), 3.03 (t, 2H), 3.21 (d, 1H), 3.86 (s, 3H), 5.36 (s, 2H), 7.07–7.14 (m, 3H), 7.26 (t, 1H), 7.73 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 9.74 (br s, 1H), 11.20 (br s, 1H)。

[0956] 实施例91:1-(3-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

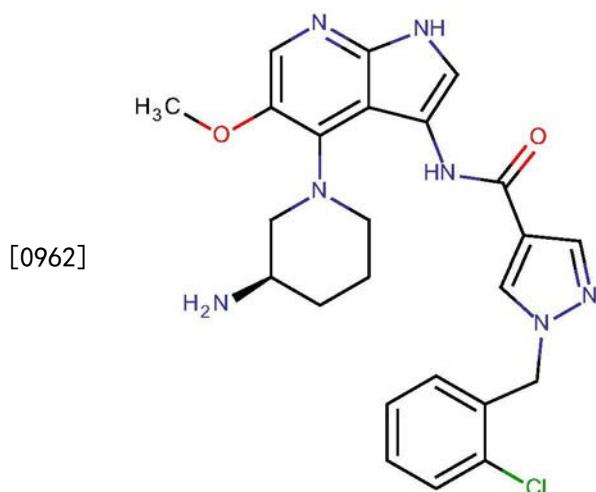


[0958] 根据方案7中概述的路线,使用实施例89描述的方法制备标题化合物,在步骤1中用1-(3-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(80.4mg,0.365mmol)代替1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸。分离白色固体形式的标题化合物,47mg,59.5%。

[0959] LC/MS: RT = 1.81 Min (270 nm), m/z = 464 [M+H]⁺。总运行时间3.75 min(短正), HP1100。

[0960] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 1.21 (m, 1H), 1.46 (m, 1H), 1.66–2.13 (m, 4H), 2.86 (m, 2H), 3.03 (t, 2H), 3.21 (d, 1H), 3.86 (s, 3H), 5.44 (s, 2H), 7.07–7.19 (m, 3H), 7.42 (m, 1H), 7.70 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 9.73 (br s, 1H), 11.22 (br s, 1H).

[0961] 实施例92:1-(2-氯-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



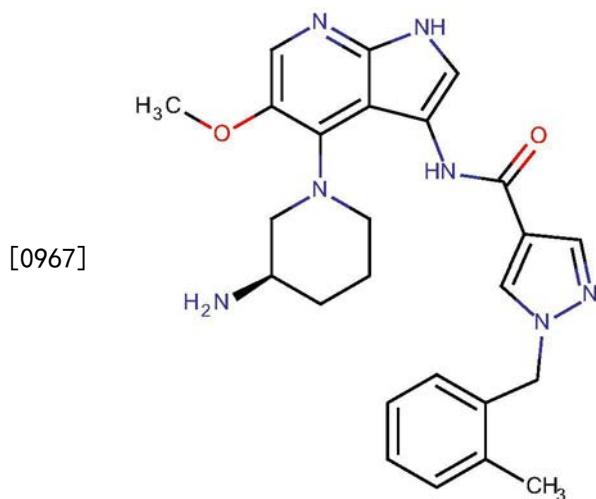
[0963] 根据方案7中概述的路线,使用实施例89描述的方法制备标题化合物,在步骤1中

用1-(2-氯-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(86.5mg,0.365mmol)代替1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸。分离白色固体形式的标题化合物,55mg,53.6%。

[0964] LC/MS:RT=1.86Min(270nm),m/z=480[M+H]。总运行时间3.75min(短正),HP1100。

[0965] ^1H NMR(d_6DMSO): δ 1.17(m,1H),1.44-1.72(m,5H),2.84(m,2H),3.04(t,2H),3.20(d,1H),3.86(s,3H),5.52(s,2H),7.15(m,1H),7.38(m,2H),7.52(m,1H),7.73(s,1H),8.04(s,1H),8.06(s,1H),8.50(s,1H),9.75(br s,1H),11.22(br s,1H)。

[0966] 实施例93:1-(2-甲基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-甲氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

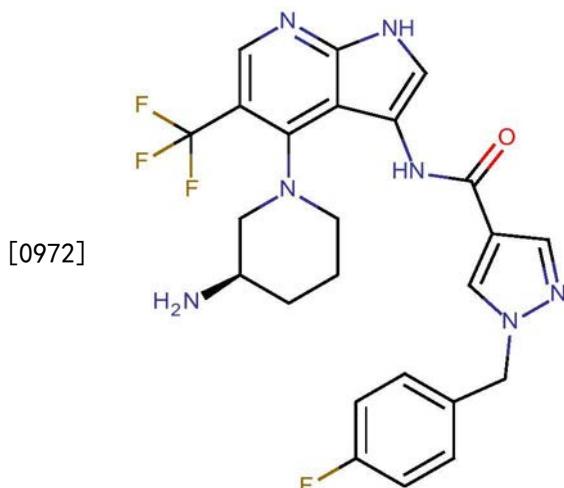


[0968] 根据方案7中概述的路线,使用实施例89描述的方法制备标题化合物,在步骤1中用1-(2-甲基-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(79mg,0.365mmol)代替1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸。分离白色固体形式的标题化合物,52mg,54.1%。

[0969] LC/MS:RT=1.86Min(270nm),m/z=460[M+H]。总运行时间3.75min(短正),HP1100。

[0970] ^1H NMR(d_6DMSO): δ 1.17(m,1H),1.42-1.74(m,5H),2.28(s,3H),2.83(m,2H),3.02(t,2H),3.21(d,1H),3.85(s,3H),5.42(s,2H),7.07(d,1H),7.24(m,3H),7.72(s,1H),8.01(s,1H),8.06(s,1H),8.41(s,1H),9.71(br s,1H),11.21(br s,1H)。

[0971] 实施例94:1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0973] 根据方案8中概述的路线制备标题化合物。

[0974] 步骤1:4-氯-1-三异丙基硅烷基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0975] 如实施例6,步骤1中描述的制备标题化合物,用4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(5g,32.8mmol)代替4-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。以无色油状物形式的分离它,8.27g,81.7%。

[0976] 步骤2:4-氯-5-碘-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0977] 在-78℃下将仲丁基锂溶液,1.4M的环己烷(15.82mL,22.15mmol)滴加至4-氯-1-三异丙基硅烷基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(3.91g,12.77mmol)的THF(50mL)溶液。将反应在-78℃下搅拌30分钟,然后滴加碘(8.03g,31.64mmol)的THF(25mL)溶液并将反应在-78℃下搅拌另外45分钟。通过加入饱和氯化铵水溶液(50mL)淬灭反应并使反应达到RT。使用异己烷(2×75mL)萃取混合物并使用饱和亚硫酸钠水溶液(×2)和饱和氯化钠水溶液洗涤合并的萃取物。在无水MgSO₄上干燥溶液并浓缩为无色油状物。在THF(25mL)中将其处理并在RT下滴加四丁基氟化铵,1.0M的THF溶液(12.7mL,12.7mmol)。将反应混合物在RT下搅拌30分钟,然后在H₂O和EtOAc之间分层。将有机层分离并使用更多的EtOAc萃取水相。使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机相,干燥(MgSO₄)并真空浓缩。在DCM中搅拌剩余物,过滤并在真空干燥之前使用DCM洗涤。这提供白色固体形式的标题化合物,2.72g,77.3%。

[0978] 步骤3:1-苯磺酰基-4-氯-5-碘-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0979] 在0℃下,将氢化钠,60%分散体的矿物油(0.508g,12.7mmol)分批加入至4-氯-5-碘-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(2.72g,10.74mmol)的DMF(20mL)。将反应搅拌另外15分钟,然后加入苯磺酰氯(1.9g,1.37mL,10.74mmol)并将反应在RT下搅拌2小时。使用H₂O稀释反应混合物并在搅拌15分钟后,滤除沉淀,使用H₂O并使用Et₂O洗涤。在真空干燥后,这提供白色粉末形式的标题化合物,3.47g,84.8%。

[0980] 步骤4:1-苯磺酰基-4-氯-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0981] 将碘化亚铜(I)(0.78g,4.1mmol)加入至1-苯磺酰基-4-氯-5-碘-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(1.43g,3.42mmol)的DMF(10mL)溶液。将混合物脱气并加入2,2-二氟-2-(氟磺酰基)乙酸甲酯(2.3g,11.96mmol)并在100℃下加热2.5小时之前将混合物再次脱气。将反应冷却至RT并使用EtOAc(40mL)稀释。通过硅藻土垫过滤分离沉淀。使用H₂O(20mL),饱和氯化钠水溶液(20mL)洗涤滤液,干燥(MgSO₄)并真空浓缩。通过使用异己烷至25%EtOAc/异己烷(梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗物质。将包含纯产物的馏分合并,真空浓缩以提供白色固体形

式的标题化合物,0.46g,37.5%。将包含纯产物和少量杂质的馏分合并,真空浓缩。使用Et₂O研磨剩余物以提供白色粉末形式的标题化合物,0.26g,21.3%。这提供整体产量为0.72g,58.8%。

[0982] 步骤5:4-氯-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0983] 在THF(10mL)中搅拌1-苯磺酰基-4-氯-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(1.5g,4.16mmol)并加入LiOH一水合物(520mgs,12.47mmol)的H₂O(6mL)。将反应混合物在RT下搅拌64小时,然后通过加入饱和硫酸氢钾水溶液将pH调整至7。使用EtOAc(2×30mL)萃取它并使用饱和氯化钠水溶液洗涤合并的有机物,在MgSO₄上干燥并真空浓缩以提供淡黄色粉末形式的标题化合物,0.84g,91.8%。

[0984] 步骤6:4-氯-3-硝基-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的制备

[0985] 根据实施例6,步骤5描述的方法制备标题化合物,用4-氯-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(842mg,3.82mmol)代替5-溴-4-氟-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。以淡黄色粉末形式的分离它,0.78g,76.9%。

[0986] 步骤7:[(R)-1-(3-硝基-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基]-氨基甲酸叔丁基酯的制备

[0987] 根据实施例89,步骤1描述的方法制备标题化合物,用4-氯-3-硝基-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(200mg,0.75mmol)代替4-氟-5-甲氧基-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。以黄色玻璃状分离它,179mg,55.4%。

[0988] 步骤8:[(R)-1-(3-氨基-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基]-氨基甲酸叔丁基酯的制备

[0989] 根据实施例31,步骤8描述的方法制备标题化合物,用[(R)-1-(3-硝基-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基]-氨基甲酸叔丁基酯(179mg,0.42mmol)代替2,2-二甲基-丙酸4-(R)-3-叔丁氧基羰基氨基-哌啶-1-基)-3-硝基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯。以绿色胶状物形式分离它,149mgs,88.9%。

[0990] 步骤9:[(R)-1-(3-{[1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羰基]-氨基}-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基]-氨基甲酸叔丁基酯的制备

[0991] 以DCM(2mL)中的悬浮液形式搅拌1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸(在实施例17中描述的合成)并在RT下滴加草酰氯,2.0M的DCM溶液(0.17mL,0.34mmol),随后加入一滴DMF。将反应搅拌另外15分钟并真空浓缩随后的溶液。在DCM(1mL)中处理剩余物并滴加至包含Et₃N(90mg,0.12mL,0.85mmol)的[(R)-1-(3-氨基-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基]-氨基甲酸叔丁基酯(62.3mg,0.28mmol)的DCM(2mL)溶液。在搅拌另外1小时后,使用DCM稀释反应并使用H₂O洗涤。将有机物分离,干燥(MgSO₄)并真空浓缩。在MeOH(5mL)中处理剩余物并在加入50%w/v NaOH(1mL)之后,将混合物在RT下搅拌18小时。真空去除溶剂并在DCM中处理剩余物。使用H₂O,饱和氯化钠水溶液洗涤它,在MgSO₄上干燥并真空浓缩。通过使用25%EtOAc/异己烷至EtOAc(梯度)洗脱的自动柱层析纯化粗物质。将包含产物的馏分合并,真空浓缩以提供黄色玻璃状标题化合物,52mg,30.6%。

[0992] 步骤10:标题化合物:1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸[4-(R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

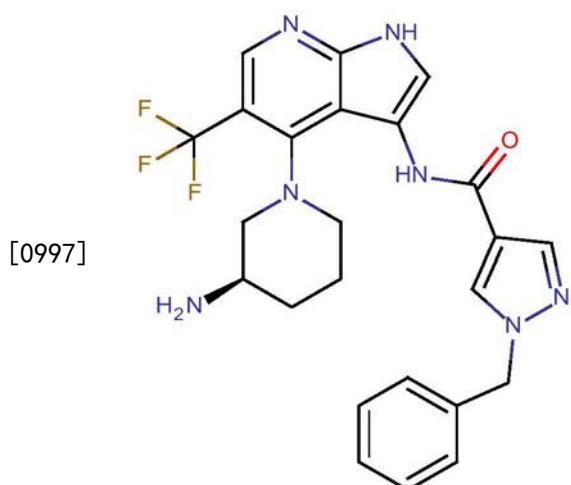
[0993] 在盐酸,1.25M的MeOH溶液(2mL)中处理[(R)-1-(3-{[1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-

羧基]-氨基}-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基]-氨基甲酸叔丁基酯(50mg, 0.08mmol)并在微波照射下在80℃下加热30分钟。真空去除溶剂并在最小体积的MeOH中处理剩余物并应用于SCX-2离子交换盒。使用MeOH将其洗涤并使用4:1DCM/7N NH₃的MeOH洗脱期望的化合物并真空浓缩。通过使用DCM至15%MeOH(包含5%7N NH₃的MeOH)/DCM(梯度)洗脱的自动柱层析另外纯化粗物质。将发现包含产物的馏分合并, 真空浓缩。使用乙醚研磨剩余物以提供奶油色粉末形式的标题化合物, 4.5mgs, 10.8%。

[0994] LC/MS: RT=0.93Min (230nm) , m/z=502.2 [M+H]。总运行时间1.9min (超短正) , HP1200。

[0995] ¹H NMR (d₆DMSO) : δ 0.82–0.93 (m, 1H) , 1.38–1.50 (m, 1H) , 1.54–1.65 (m, 2H) , 2.70–2.81 (m, 2H) , 2.80–3.00 (m, 2H) , 3.1–3.09 (m, 1H) , 5.42 (s, 2H) , 7.16–7.24 (m, 2H) , 7.28–7.36 (m, 2H) , 7.70 (s, 1H) , 8.08 (s, 1H) , 8.45–8.48 (m, 2H) , 9.62 (br s, 1H) , 11.60–12.60 (br s, 1H) 2质子未出现。

[0996] 实施例95:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[0998] 根据实施例94, 步骤1至8中描述的方法制备标题化合物。

[0999] 步骤9: ((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羧基)-氨基]-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯的制备

[1000] 使用实施例31, 步骤9描述的方法制备它, 用[(R)-1-(3-氨基-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基]-氨基甲酸叔丁基酯(60mg, 0.15mmol)代替2,2-二甲基-丙酸3-氨基-4-((R)-3-叔丁氧基羰基氨基-哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基酯并用DIPEA(40mg, 50μL, 0.3mmol)代替Et₃N。分离深黄色玻璃状的标题化合物, 63mg, 71.9%。

[1001] 步骤10:标题化合物:1-苄基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺的制备

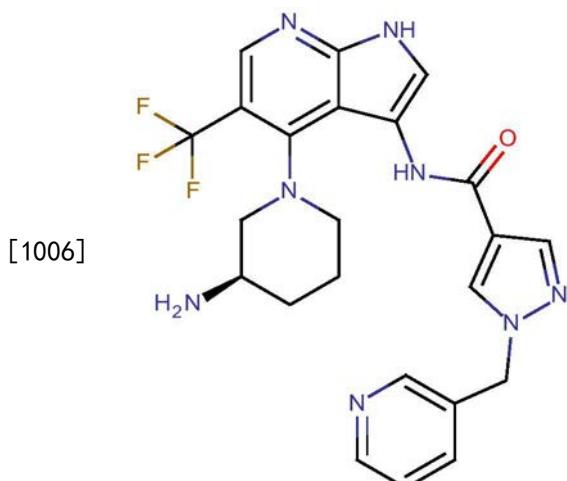
[1002] 使用实施例94, 步骤10描述的方法制备它, 用((R)-1-{3-[(1-苄基-1H-吡唑-4-羧基)-氨基]-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基}-哌啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯(63mg, 0.11mmol)代替[(R)-1-(3-[(1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧基)-氨基]-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)-哌啶-3-基]-氨基甲酸叔丁基酯。在常规处理后, 在最小

体积的MeOH中处理剩余物并应用于SCX-2离子交换盒。使用MeOH洗涤它并使用4:1DCM/7N NH₃的MeOH洗脱目标化合物并真空浓缩。通过使用Et₂O, 然后MeCN研磨另外纯化所述物质。这提供淡棕色粉末形式的标题化合物, 4.3mg, 8.2%。

[1003] LC/MS: RT = 0.91 Min (230nm) , m/z = 484.2 [M+H] 。总运行时间1.9min(超短正), HP1200。

[1004] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 0.90–1.00 (m, 1H), 1.40–1.51 (m, 1H), 1.54–1.68 (m, 2H), 2.80–3.00 (m, 4H), 3.07–3.13 (m, 1H), 5.42 (s, 2H), 7.20–7.40 (m, 5H), 7.70 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.45–8.50 (m, 2H), 9.65 (brs, 1H), 11.00–13.00 (br s, 1H) 2质子未出现。

[1005] 实施例96:1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺

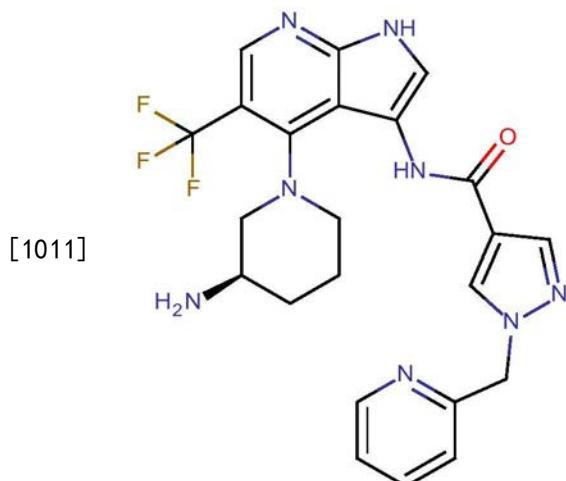


[1007] 根据实施例94描述的方法制备标题化合物,在步骤9中用1-吡啶-3-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸(57.5mg,0.28mmol)代替1-(4-氟-苄基)-1H-吡唑-4-羧酸。分离淡棕色粉末形式的标题化合物,11.7mg,28.2%。

[1008] LC/MS: RT = 0.78 min (230 nm), m/z = 485 [M+H]⁺。总运行时间 1.9 min (超短正), HP1200。

[1009] ^1H NMR (d_6DMSO) : δ 0.83–0.93 (m, 1H), 1.38–1.51 (m, 1H), 1.54–1.64 (m, 2H), 2.71–2.82 (m, 2H), 2.84–3.00 (m, 2H), 3.02–3.10 (m, 1H), 5.48 (s, 2H), 7.38–7.43 (m, 1H), 7.63–7.72 (m, 2H), 8.10, (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.50–8.55 (m, 3H), 9.65 (br s, 1H), 11.60–12.60 (br s, 1H) 2质子未出现。

[1010] 实施例97:1-吡啶-2-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸[4-((R)-3-氨基-哌啶-1-基)-5-三氟甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-酰胺



[1012] 根据实施例94描述的方法制备标题化合物,在步骤9中用1-吡啶-2-基甲基-1H-吡唑-4-羧酸(57.5mg,0.28mmol)代替1-(4-氟-苯基)-1H-吡唑-4-羧酸。分离淡棕色粉末形式的标题化合物,15.1mg,43.4%。

[1013] LC/MS:RT=0.82Min (230nm) ,m/z=485.2 [M+H]。总运行时间1.9min(超短正), HP1200。

[1014] ^1H NMR (d₆DMSO) : 80.88-0.99 (m, 1H) , 1.42-1.54 (m, 1H) , 1.57-1.69 (m, 2H) , 2.73-2.84 (m, 2H) , 2.84-3.00 (m, 2H) , 3.04-3.11 (m, 1H) , 5.53 (s, 2H) , 7.10 (d, 1H) , 7.31-7.37 (m, 1H) , 7.72 (s, 1H) , 7.80 (m, 1H) , 8.07, (s, 1H) , 8.45-8.57 (m, 3H) , 9.68 (br s, 1H) , 11.60-12.60 (br s, 1H) 2质子未出现。

[1015] 一般步骤

[1016] 使用所有从商业来源获得的试剂而不需进一步纯化。从商业来源获得无水溶剂并且不需进一步干燥使用。使用预填硅胶盒(Isoleute Flash Si II, 56 Å, Biotage)进行快速层析。在具有预填硅胶盒的Teledyne Isco CombiFlash® Rf 纯化系统(SilaSep™ Flash, 60 Å, Silicycle)上进行自动快速层析。使用isolute SCX-2、SPE柱、Biotage进行离子交换层析。使用涂覆有二氧化硅60 (Machinery-Nagel) 的5×10cm板进行薄层层析。使用Biotage Initiator Eight™ 2.0仪器、CEM explorer 24或CEM explorer 48进行微波加热。

[1017] 本发明的化合物采用在HP1200快速分离质谱检测器6140复合源M/z范围150至1000amu或者Agilent HP1100质谱检测器1946D ESI源M/z范围150至1000amu上的高效液相色谱-质谱仪(HPLC-MS)进行表征。对于两种仪器下面列举的条件和方法是相同的。

[1018] 对于7.5min运行的柱:GeminiNX, 5μm, C18, 30×2.1mm (Phenomenex) 或Zorbax Eclipse Plus, 3.5μm, C18, 30×2.1mm (Agilent)。

[1019] 温度:35℃。

[1020] 对于3.75min运行的柱:GeminiNX, 5μm, C18, 30×2.1mm (Phenomenex) 或Zorbax Eclipse Plus, 3.5μm, C18, 30×2.1mm (Agilent)。

[1021] 温度:35℃。

[1022] 对于1.9min运行的柱:Kinetex, 2.5μm, C18, 50×2.1mm (Phenomenex) 或Accucore, 2.6μm, C18, 50×2.1mm。

- [1023] 温度:55°C。
- [1024] 流动相:在pH约3.5下A-H₂O+10mmol/甲酸铵+0.08% (v/v) 甲酸。
- [1025] B-95%乙腈+5%A+0.08% (v/v) 甲酸。
- [1026] 注射体积:1μL
- [1027] “短”方法梯度表,或者正(pos)或者正和负(pos/neg)电离

时间 (min)	溶剂 A (%)	溶剂 B (%)	流速 (mL/min)
0	95	5	1
0.25	95	5	1
2.50	5	95	1
2.55	5	95	1.7
3.60	5	95	1.7
3.65	5	95	1
3.70	95	5	1
3.75	95	5	1

- [1029] “超短”方法梯度表,或者正(pos)或者正和负(pos/neg)电离

时间 (min)	溶剂 A (%)	溶剂 B (%)	流速 (mL/min)
0	95	5	1.3
0.12	95	5	1.3
1.30	5	95	1.3
1.35	5	95	1.6
1.85	5	95	1.6
1.90	5	95	1.3
1.95	95	5	1.3

- [1031] “长”方法梯度表,或者正(pos)或者正和负(pos/neg)电离

时间 (min)	溶剂 A (%)	溶剂 B (%)	流速 (mL/min)
0	95	5	1
0.25	95	5	1
5.50	5	95	1
7.25	5	95	1
7.50	95	5	1

- [1033] 检测器:在230、254和270nm下的UV检测器。

- [1034] 本发明的化合物还采用核磁共振(NMR)进行表征。使用BrukerDPX400光谱仪进行分析并在400MHz下检测质子NMR光谱。光谱参照为已知的溶剂化学位移。如下报道质子NMR数据:以ppm计的化学位移(δ),随后是多重性,其中s=单峰,d=双峰,t=三重峰,q=四重峰,m=多重峰,dd=双二重峰,dt=双三重峰,dm=双多重峰,ddd=双重双二重峰,td=三重双峰,qd=四重双峰和br=宽峰以及最后为积分。

[1035] 通过制备HPLC来纯化本发明的一些化合物。使用UV二级阵列检测器(210–400nm)，在20cm³min⁻¹的流速下运行并且进行质量定向性收集，在来自Phenomenex的具有Gemini-NX[®] 5μm, C18, 100mm×21mm i.d. Axia柱的H₂Os FractionLynx MS自动纯化系统上进行这些操作。用于各个化合物的梯度在上述表格中示出。

[1036] 在pH 4下：溶剂A=10mM甲酸铵的HPLC等级H₂O+0.08% v/v甲酸。溶剂B=95% v/v HPLC等级乙腈+5% v/v溶剂A+0.08% v/v甲酸。

[1037] 在pH 9下：溶剂A=10mM甲酸铵的HPLC等级H₂O+0.08% v/v氨水溶液。溶剂B=95% v/v HPLC等级MeOH+5% v/v溶剂A+0.08% v/v氨水溶液。

[1038] 质谱仪为具有150至1000的分子量扫描范围的在正离子和负离子电喷雾离子化模式下运行的H₂Os Micromass ZQ2000光谱仪。

[1039] 使用AutoNom标准生成IUPAC化学名称。

[1040] 检验方案

[1041] CHK1酶检验

[1042] 通过监测具有氨基酸序列KKKVSRSGLYRSPSPMPENLNPRPR的合成肽Chktide的磷酸化进行CHK1激酶活性的检验。在微量滴定板中以50μl的最终体积将包含抑制剂或CHK1酶的检验混合物混合在一起并在30℃下培养40分钟。

[1043] 检验混合物包含0.02mM未标记ATP、0.5μCi ³³P-γ-ATP, 15μM Chktide、0.1mg/mL BSA、50mM Hepes-NaOH pH 7.5和5nM CHK-1 (1-289)-8HIS (Vernalis) 酶。通过添加50μL的50mM磷酸停止反应。将90μL的混合物转移至预先湿润的96-孔多屏幕MAPHNOB滤板 (Millipore) 并在真空歧管上过滤。使用3次连续添加的100μl 50mM磷酸，然后使用50μL MeOH洗涤滤板。将滤板在65℃下干燥10min，闪烁添加并在闪烁记数器 (Trilux, PerkinElmer) 中定量磷酸化肽。

[1044] CHK-1酶检验 (TR-FRET)

[1045] 还通过监测合成荧光素标记的肽基于埃兹蛋白/根蛋白/膜突蛋白 (ERM) (氨基酸序列GAGRLGRDKYKTLRQIRQ) 的磷酸化使用LanthaScreen TR-FRET技术 (Life Technologies) 评价CHK活性。在微量滴定板中以20μl的最终体积将包含抑制剂或CHK1酶的检验混合物混合在一起并在30℃下培养80分钟。

[1046] 检验混合物包含50mM HEPES pH 7.5、10mM MgCl₂、1mM EGTA、0.01% Brij-35, 200 μM ATP、400nM荧光素标记的ERM (Life Technologies) 和1nM全长HIS-标记的CHK-1 (Life Technologies)。通过加入20μL的包含20mM EDTA和1nM铽标记的抗-pERM抗体 (Life Technologies) 的TR-FRET稀释缓冲液 (Life Technologies) 停止反应。伴随摇动将淬灭的反应在室温下培养30分钟以允许抗体结合磷酸化ERM，然后分别在495nm和520nm下使用Synergy2多模酶标仪 (BioTek) 检测来自供体荧光团 (铽) 和受体荧光团 (荧光素) 的荧光性。TR-FRET比例被计算为520nm/495nm。

[1047] CHK-1结合检验 (TR-FRET)

[1048] 使用LanthaScreen TR-FRET技术 (Life Technology) 评价化合物的CHK-1结合。在微量滴定板中将包含抑制剂, 50mM HEPES pH 7.5、10mM MgCl₂、1mM EGTA、0.01% Brij-35、2nM生物素标记的抗-HIS标记抗体 (Life Technologies)、2nM铕-标记的链霉亲和素 (Life Technologies)、100nM AlexaFluor-标记的示踪物236 (Life Technologies) 和10nM或者

30nM CHK-1 (1-289) -8HIS (Vernalis) 酶的检验混合物在23°C下培养120分钟。使用15μL的最终体积。

[1049] 分别在620nm和665nm下使用Synergy2多模酶标仪 (BioTek) 检验来自供体荧光团(铕)和受体荧光团(Alexa Fluor)的荧光性。TR-FRET比例被计算为665nm/620nm。

[1050] 在上述检验中的一个、两个或所有三个实验来测试本专利中例示的所有化合物，并且发现具有小于1μM的IC₅₀值。发现实施例1-97的大多数具有小于0.1μM的IC₅₀值。

[1051] CHK1细胞检验—吉西他滨EC₅₀检验

[1052] HT29细胞购自ATCC (Manassus, VA, US) 并在潮湿的培养器中在在37°C、5%CO₂下，在补充有10%胎牛血清(FCS) 和青霉素/链霉素的Dulbecco氏改良Eagles培养基(DMEM) 中培养。在96孔板的每孔接种5×10³HT29的细胞并使其培养过夜。将在DMEM/10%FCS加15nM 吉西他滨中制备的三倍稀释的化合物加入至细胞并在37°C下培养72小时。然后，使用磺酰罗丹明B(SRB) 染色的10%三氯乙酸(TCA) 固定细胞并在540nm下测定吸光度。使用具有模型205(拟合 = (A + ((B - A) / (1 + ((C / x) ^ D))))) 的XLFit 4 (Excel) 分析曲线。以在给定浓度的吉西他滨下抑制生长50%的化合物的浓度形式来测定EC₅₀值。

[1053] 在15nM下，在吉西他滨的存在下，在上述检验中测试本专利中例示的所有化合物并且发现具有小于1μM的EC₅₀值。发现实施例1-97的大多数具有小于0.1μM的EC₅₀值。