



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114008036 B

(45) 授权公告日 2025.01.17

(21) 申请号 202080044683.4

J·L·托特

(22) 申请日 2020.06.16

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

(65) 同一申请的已公布的文献号

专利代理师 胡晨曦 黄革生

申请公布号 CN 114008036 A

(43) 申请公布日 2022.02.01

(51) Int.Cl.

(30) 优先权数据

C07D 401/14 (2006.01)

62/862,382 2019.06.17 US

C07D 403/14 (2006.01)

62/975,887 2020.02.13 US

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 9/04 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61P 13/12 (2006.01)

2021.12.17

A61P 1/16 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61P 3/00 (2006.01)

PCT/US2020/037894 2020.06.16

A61P 3/04 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

A61P 9/00 (2006.01)

W02020/257171 EN 2020.12.24

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

(续)

(73) 专利权人 伊莱利公司

(56) 对比文件

地址 美国印第安纳州

CN 108473469 A, 2018.08.31

(续)

(72) 发明人 D·A·科茨 T·B·达勒姆

审查员 张英姝

R·D·约翰斯顿 S·M·麦西

P·G·斯皮纳泽 D·R·斯塔克

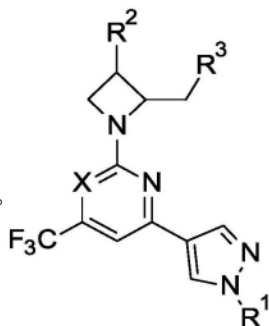
权利要求书2页 说明书57页

(54) 发明名称

作为己酮糖激酶抑制剂的二取代的吡唑化合物

(57) 摘要

本发明提供了式I化合物或其可药用盐,以及式I化合物用于治疗代谢性病症例如2型糖尿病、心力衰竭、糖尿病性肾病和非酒精性脂肪性



(I)

肝炎的用途。

CN 114008036 B

[接上页]

(51) Int.Cl.

*A61P 27/02* (2006.01)

*A61K 31/506* (2006.01)

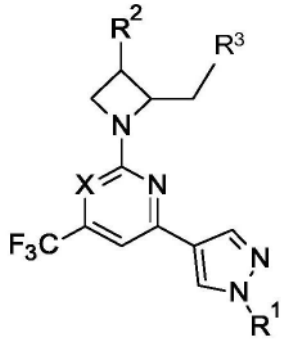
*A61K 31/4439* (2006.01)

*A61K 31/4545* (2006.01)

(56) 对比文件

US 2011/015395 A1, 2011.01.20

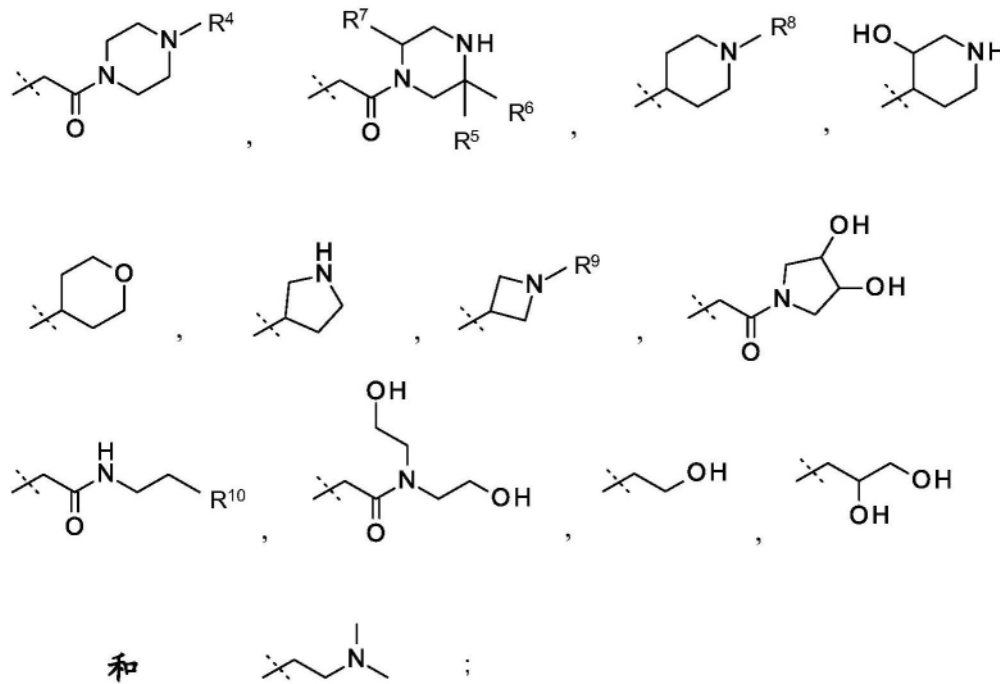
1. 下式化合物:



其中

X是N或被CN取代的C;

R<sup>1</sup>选自:H、



R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>都是H,或者一个是H而另一个是OH;

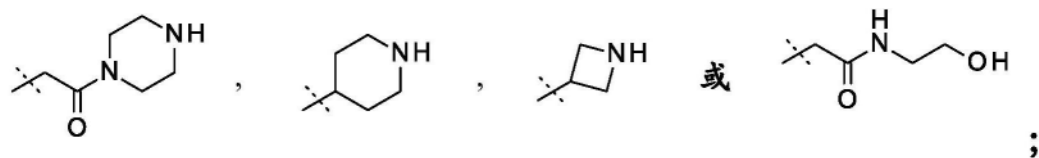
R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>和R<sup>9</sup>独立地是H或CH<sub>3</sub>;

R<sup>8</sup>是H、CH<sub>3</sub>、CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、C(=O)CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>或C(=O)CH<sub>3</sub>;且

R<sup>10</sup>是OH或NH<sub>2</sub>;

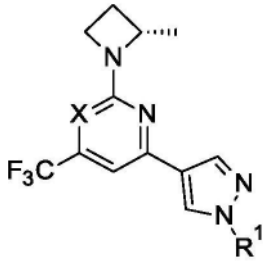
或其可药用盐。

2. 如权利要求1所述的化合物,其中R<sup>1</sup>选自:



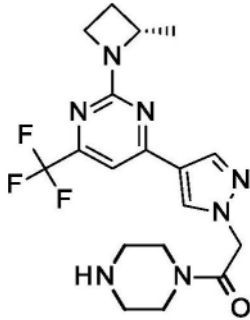
或其可药用盐。

3. 如权利要求1或权利要求2所述的化合物,其中所述化合物是:



或其可药用盐。

4. 如权利要求3所述的化合物,其中X是N,或其可药用盐。
5. 如权利要求3所述的化合物,其中X是被CN取代的C,或其可药用盐。
6. 如权利要求1所述的化合物,其中该化合物是:



或其可药用盐。

7. 如权利要求6所述的化合物或其可药用盐,其是琥珀酸盐。
8. 权利要求1-7中任一项所述的化合物或其可药用盐在制备用于治疗2型糖尿病的药物中的用途。
9. 权利要求1-7中任一项所述的化合物或其可药用盐在制备用于治疗心力衰竭的药物中的用途。
10. 权利要求1-7中任一项所述的化合物或其可药用盐在制备用于治疗糖尿病性肾病的药物中的用途。
11. 权利要求1-7中任一项所述的化合物或其可药用盐在制备用于治疗非酒精性脂肪性肝炎的药物中的用途。
12. 权利要求1-7中任一项所述的化合物或其可药用盐在制备用于治疗慢性肾病的药物中的用途。
13. 药物组合物,包含权利要求1-7中任一项所述的化合物或其可药用盐以及一种或多种可药用载体、稀释剂或赋形剂。
14. 制备药物组合物的方法,包括将权利要求1-7中任一项所述的化合物或其可药用盐与一种或多种可药用载体、稀释剂或赋形剂混合。

## 作为己酮糖激酶抑制剂的二取代的吡唑化合物

[0001] 本发明涉及新的己酮糖激酶 (KHK) 抑制剂化合物、包含所述化合物的药物组合物以及所述化合物用于治疗某些病症的用途,所述病症如2型糖尿病 (T2DM)、心力衰竭、糖尿病性肾病和非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)。

[0002] KHK,也称为果糖激酶,是参与果糖代谢的限速酶。它催化果糖磷酸化为果糖-1-磷酸 (F1P),导致细胞ATP水平的伴随消耗。与葡萄糖相反,果糖代谢缺乏反馈抑制,并且它触发参与例如脂肪生成、糖原异生和氧化磷酸化的下游中间产物的累积 (Hannou, S.A., 等人; J.Clin.Invest., 128 (2), 544-555, 2018)。这具有与许多严重代谢紊乱有关的负面代谢后果。

[0003] KHK以两种交替拼接的亚型存在,包括区别在于外显子3的KHK-C和KHK-A。KHK-C主要在肝、肾和肠中表达,而KHK-A更普遍地存在。两种亚型都缺乏的小鼠完全避免了果糖诱导的代谢综合征。然而,在仅缺乏KHK-A的小鼠中加剧了这种不利的代谢效应 (Ishimoto T, 等人; Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 109 (11), 4320-4325, 2012)。

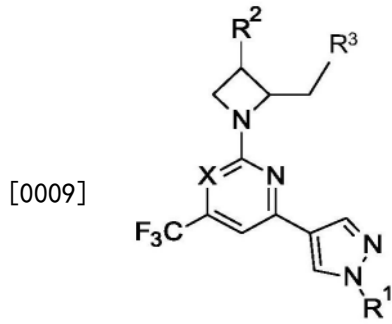
[0004] 几项流行病学和实验研究已经报告,果糖消耗的增加、更准确地说是果糖代谢的增加,可能在一些疾病,包括代谢综合征、特别是在T2DM (Softic等人; J.Clin.Invest., 127 (11), 4059-4074, 2017)、心力衰竭 (Mirtschink, P., 等人; Eur.Heart J., 39, 2497-2505, 2018)、糖尿病性肾病 (Cirillo, P., 等人; J.Am.Soc.Nephrol., 20, 545-553, 2009) 以及 NAFLD/NASH (Vos, M.B., 等人; Hepatology, 57, 2525-2531, 2013) 的发展中起重要作用。预期KHK的靶向抑制将限制果糖代谢,并为许多代谢紊乱提供有效的治疗选项。

[0005] US 2017/0183328 A1公开了取代的3-氮杂双环[3.1.0]己烷类作为KHK抑制剂。最近公布的数据显示,己酮糖激酶抑制剂PF-06835919在非酒精性脂肪性肝病个体中施用6周后,通过磁共振成像质子密度脂肪分数测量,可降低全肝脂肪 (J.Hepatology.EASL International Liver Congress Abstracts, Supplement N°1S Vol.70, 2019年4月)。

[0006] 含有羧基官能团的化合物具有与形成酰基葡萄糖醛酸代谢物有关的风险 (VleetVan等人, Toxicology Letters, 272 (2017) 1-7)。酰基葡萄糖醛酸代谢物通常不稳定,且可能发生化学反应,导致与大分子共价键合,并具有毒性。

[0007] 需要用于代谢综合征和相关适应症 (包括T2DM、心力衰竭、糖尿病性肾病和NASH) 的替代疗法。特别地,需要有效的KHK抑制剂的化合物。需要具有有利性质的KHK抑制剂化合物,例如,良好的口服生物利用度以支持每天一次的给药。此外,还需要KHK抑制剂化合物,其没有羧酸部分且缺乏形成酰基葡萄糖醛酸苷的能力。

[0008] 因此,在一个实施方案中,本发明提供了式I化合物:

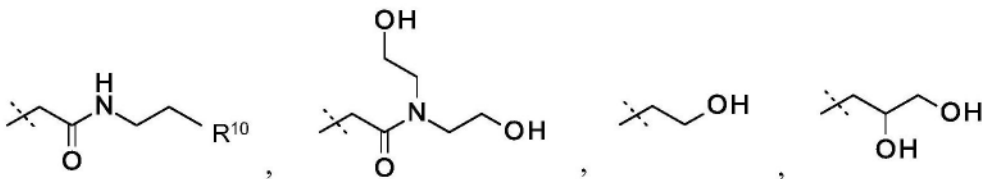
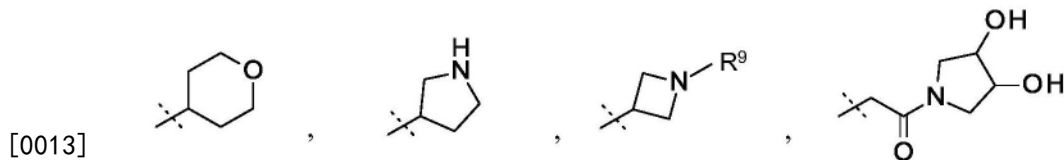
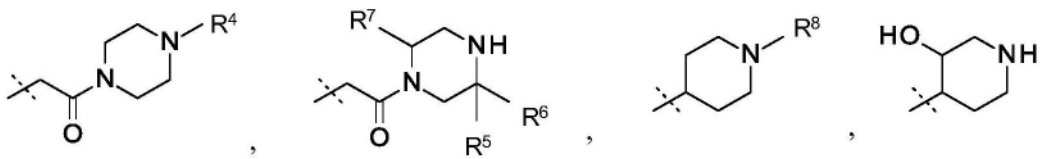


式 I

[0010] 其中

[0011] X是N或被CN取代的C;

[0012] R<sup>1</sup>选自:H、



和 ;

[0014] R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>都是H,或者一个是H而另一个是OH;

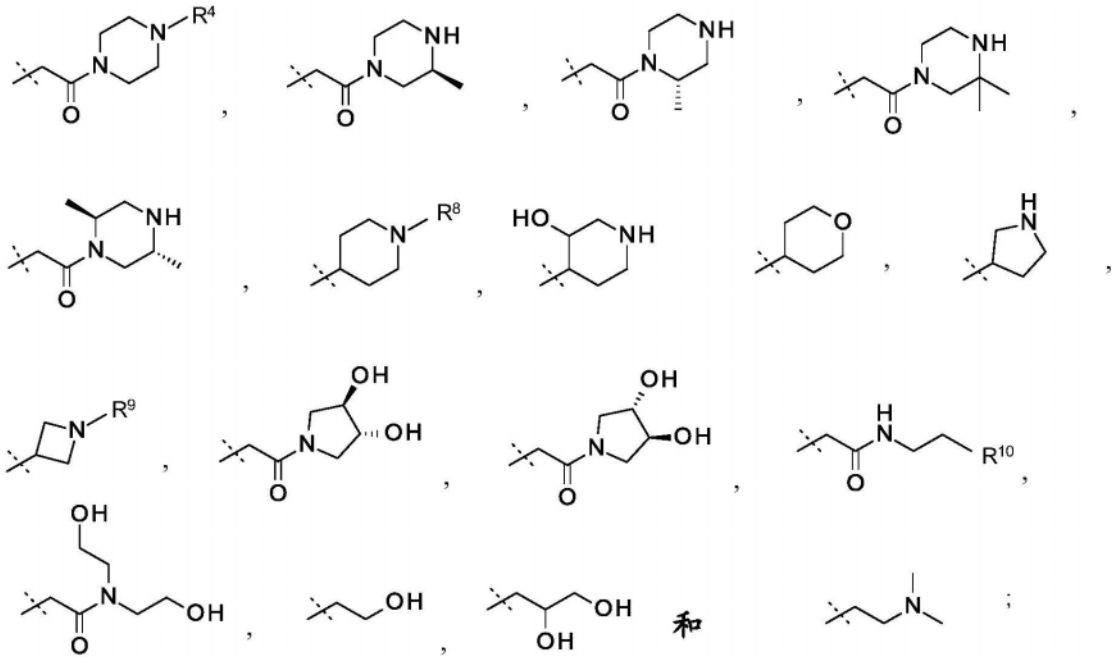
[0015] R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>和R<sup>9</sup>独立地是H或CH<sub>3</sub>;

[0016] R<sup>8</sup>是H、CH<sub>3</sub>、CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、C(=O)CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>或C(=O)CH<sub>3</sub>;且

[0017] R<sup>10</sup>是OH或NH<sub>2</sub>;

[0018] 或其可药用盐。

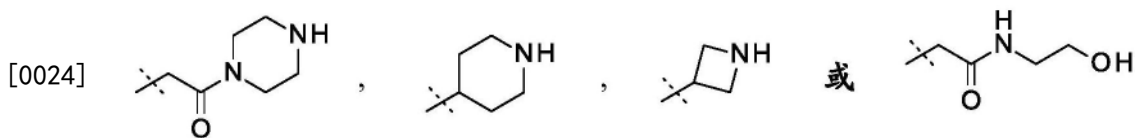
[0019] 在项特定的实施方案中,R<sup>1</sup>选自:H、



[0021] 或其可药用盐。

[0022] 在一项特定的实施方案中,提供了式I化合物,其中X是N或被CN取代的C;

[0023] R<sup>1</sup>是选自:



[0025] 且其中

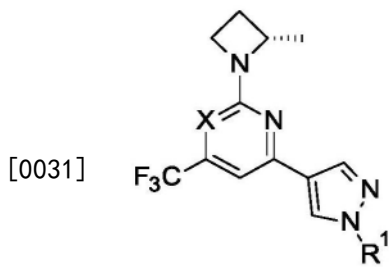
[0026] R<sup>2</sup>是H且R<sup>3</sup>是OH,

[0027] 或R<sup>2</sup>是OH且R<sup>3</sup>是H,

[0028] 或R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>都是H;

[0029] 或其可药用盐。

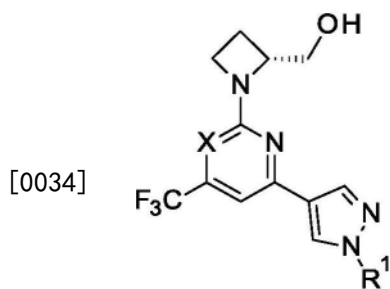
[0030] 在一项特定的实施方案中,所述化合物是式Ia:



**式 Ia;**

[0032] 或其可药用盐。

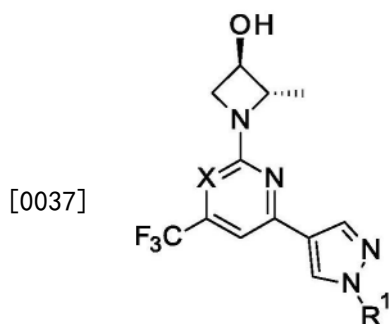
[0033] 在一项特定的实施方案中,所述化合物是式Ic:



式 Ic;

[0035] 或其可药用盐。

[0036] 在一项特定的实施方案中,所述化合物是式Ie:

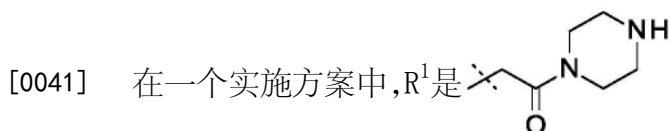


式 Ie;

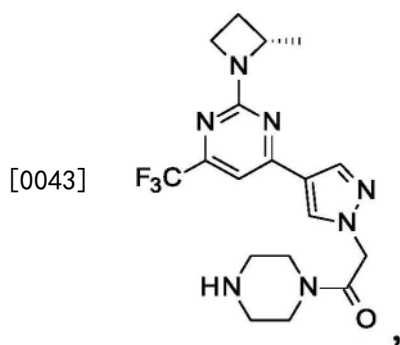
[0038] 或其可药用盐。

[0039] 在一个实施方案中,X是N。

[0040] 在一个实施方案中,X是被CN取代的C。

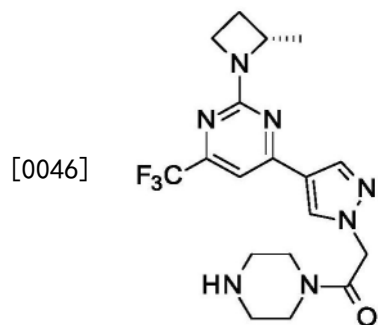


[0042] 在一个实施方案中,式I化合物是:



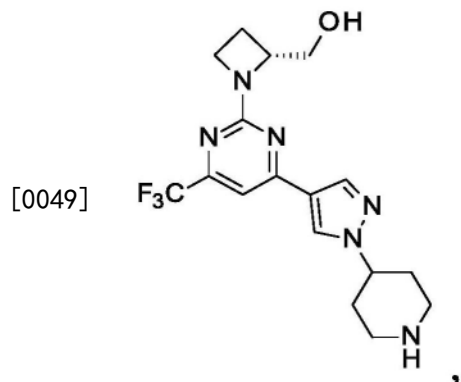
[0044] 或其可药用盐。

[0045] 在一项特定的实施方案中,其提供了下式的琥珀酸盐。



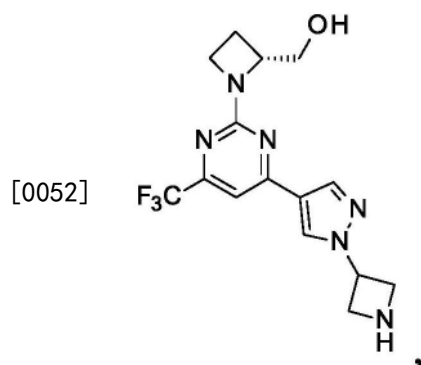
[0047] 在一个优选的实施方案中,该琥珀酸盐是倍半琥珀酸盐。

[0048] 在一个实施方案中,式I化合物是:



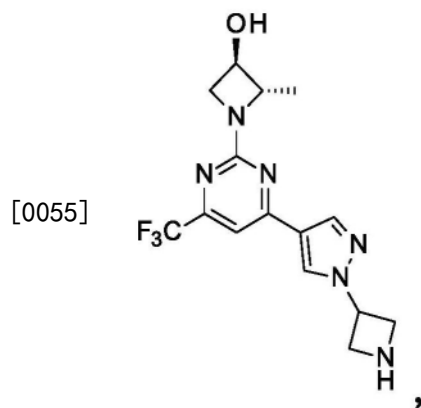
[0050] 或其可药用盐。

[0051] 在一个实施方案中,式I化合物是:



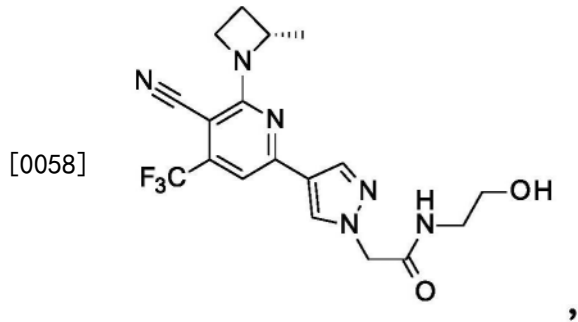
[0053] 或其可药用盐。

[0054] 在一个实施方案中,式I化合物是:



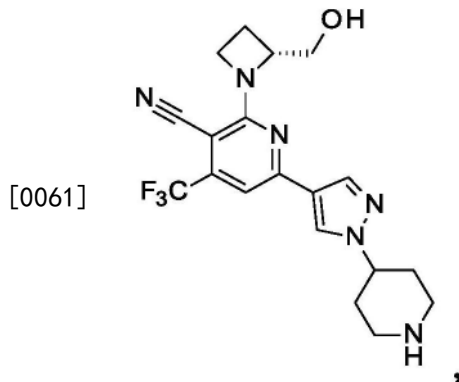
[0056] 或其可药用盐。

[0057] 在一个实施方案中,式I化合物是:



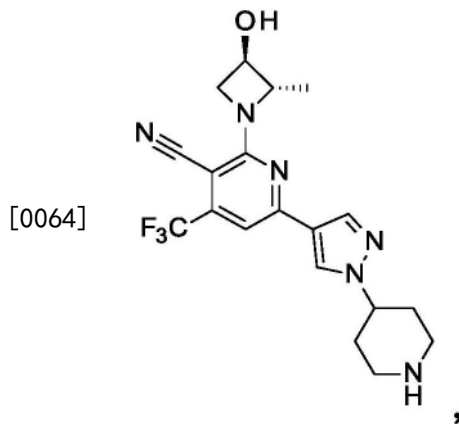
[0059] 或其可药用盐。

[0060] 在一个实施方案中,式I化合物是:



[0062] 或其可药用盐。

[0063] 在一个实施方案中,式I化合物是:



[0065] 或其可药用盐。

[0066] 在具体的实施方案中,所述化合物选自:

[0067] 2-[4-[2-[ (2S) -2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]-1-哌嗪-1-基-乙酮;

[0068] [(2R)-1-[4-[1-(4-哌啶基)吡唑-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]氮杂环丁烷-2-基]甲醇;

[0069] [(2R)-1-[4-[1-(氮杂环丁烷-3-基)吡唑-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]氮杂环丁烷-2-基]甲醇;

- [0070] (2S,3R)-1-[4-[1-(氮杂环丁烷-3-基)吡唑-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]-2-甲基-氮杂环丁烷-3-醇;
- [0071] 2-[4-[5-氰基-6-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]-N-(2-羟基乙基)乙酰胺;
- [0072] 2-[(2R)-2-(羟基甲基)氮杂环丁烷-1-基]-6-[1-(4-哌啶基)吡唑-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;
- [0073] 2-[(2S,3R)-3-羟基-2-甲基-氮杂环丁烷-1-基]-6-[1-(4-哌啶基)吡唑-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;
- [0074] 2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-[1-(1-甲基-4-哌啶基)吡唑-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;
- [0075] 6-[1-[1-(2-羟基乙基)-4-哌啶基]吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;
- [0076] 6-[1-[2-(二甲氨基)乙基]吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;
- [0077] 6-[1-(2-羟基乙基)吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;
- [0078] 2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-[1-(4-哌啶基)吡唑-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;
- [0079] 2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-[1-(4-哌啶基)吡唑-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶;
- [0080] (2S,3R)-2-甲基-1-[4-[1-[(3R)-吡咯烷-3-基]吡唑-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]氮杂环丁烷-3-醇;
- [0081] (2S,3R)-2-甲基-1-[4-[1-[(3S)-吡咯烷-3-基]吡唑-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]氮杂环丁烷-3-醇;
- [0082] [(2R)-1-[4-[1-[(3R)-吡咯烷-3-基]吡唑-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]氮杂环丁烷-2-基]甲醇;
- [0083] 6-[1-(氮杂环丁烷-3-基)吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;
- [0084] 6-[1-[1-(2-氨基乙酰基)-4-哌啶基]吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;
- [0085] 6-[1-(1-乙酰基-4-哌啶基)吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;
- [0086] 2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-[1-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]吡唑-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;
- [0087] 2-[4-[5-氰基-6-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]-N,N-二(2-羟基乙基)乙酰胺;
- [0088] 6-[1-[2-[(3R,4R)-3,4-二羟基吡咯烷-1-基]-2-氧代-乙基]吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;
- [0089] 6-[1-[2-[(3S,4S)-3,4-二羟基吡咯烷-1-基]-2-氧代-乙基]吡唑-4-基]-2-

[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;

[0090] 6-[1-(2,3-二羟基丙基)吡啶-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;

[0091] 2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(1H-吡啶-4-基)-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;

[0092] 2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(1-四氢吡喃-4-基吡啶-4-基)-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;

[0093] 6-[1-(3-羟基-4-哌啶基)吡啶-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈;

[0094] N-(2-氨基乙基)-2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡啶-1-基]乙酰胺;

[0095] 2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡啶-1-基]-1-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]乙酮;

[0096] 2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡啶-1-基]-1-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基]乙酮;

[0097] 1-(3,3-二甲基哌嗪-1-基)-2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡啶-1-基]乙酮;

[0098] 1-[(2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡啶-1-基]乙酮;

[0099] 4-[1-(氮杂环丁烷-3-基)吡啶-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶;

[0100] 2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-[1-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)吡啶-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶;

[0101] (2S,3R)-2-甲基-1-[4-[1-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)吡啶-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]氮杂环丁烷-3-醇;或

[0102] [(2R)-1-[4-[1-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)吡啶-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]氮杂环丁烷-2-基]甲醇;

[0103] 或其可药用盐。

[0104] 在—项特定的实施方案中,所述化合物是2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡啶-1-基]-1-哌嗪-1-基-乙酮倍半琥珀酸盐,其还称为乙酮,2-[4-[2-[(2S)-2-甲基-1-氮杂环丁烷基]-6-(三氟甲基)-4-嘧啶基]-1H-吡啶-1-基]-1-(1-哌嗪基)-,丁二酸盐(1:1.5),或丁二酸-2-(4-{2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基}-1H-吡啶-1-基)-1-(哌嗪-1-基)乙烷-1-酮(1.5/1)。

[0105] 式I包括式Ia、Ib、Ic、Id、Ie、If、Ig和Ih,且下文涉及式I时,例如在治疗方法和治疗用途中,也可将其理解为涉及这些亚式的各自和全部。

[0106] 在一个实施方案中,提供了在需要此类治疗的患者中治疗T2DM的方法,包括向患者施用有效量的式I化合物或其可药用盐。

[0107] 在一个实施方案中,提供了在需要此类治疗的患者中治疗心力衰竭的方法,包括向患者施用有效量的式I化合物,或其可药用盐。

[0108] 在一个实施方案中,提供了在需要此类治疗的患者中治疗糖尿病性肾病的方法,包括向患者施用有效量的式I化合物,或其可药用盐。

[0109] 在一个实施方案中,提供了在需要此类治疗的患者中治疗NASH的方法,包括向患者施用有效量的式I化合物,或其可药用盐。

[0110] 在一个实施方案中,提供了在需要此类治疗的患者中治疗选自代谢综合征、NAFLD、肥胖症、心血管疾病、冠状动脉疾病、慢性肾病、血脂异常和糖尿病并发症(例如糖尿病视网膜病)的疾病的方法,包括向患者施用有效量的式I,或其可药用盐。

[0111] 此外,在一个实施方案中,提供了用于治疗的式I化合物或其可药用盐。在一个实施方案中,提供了用于治疗T2DM的式I化合物或其可药用盐。在一个实施方案中,提供了用于治疗心力衰竭的式I化合物或其可药用盐。在一个实施方案中,提供了用于治疗糖尿病性肾病的式I化合物或其可药用盐。在一个实施方案中,提供了用于治疗NASH的式I化合物或其可药用盐。在一个实施方案中,提供了用于治疗代谢综合征、NAFLD、肥胖症、心血管疾病、冠状动脉疾病、慢性肾病、血脂异常或糖尿病并发症(例如糖尿病视网膜病)的式I化合物或其可药用盐。

[0112] 此外,在一个实施方案中,提供了式I化合物或其可药用盐用于制备治疗T2DM的药物的用途。在一个实施方案中,提供了式I化合物或其可药用盐用于制备治疗心力衰竭的药物的用途。在一个实施方案中,提供了式I化合物或其可药用盐用于制备治疗糖尿病性肾病的药物的用途。在一个实施方案中,提供了式I化合物或其可药用盐用于制备治疗NASH的药物的用途。在一个实施方案中,提供了式I化合物或其可药用盐用于制备治疗代谢综合征、NAFLD、肥胖症、心血管疾病、冠状动脉疾病、慢性肾病、血脂异常或糖尿病并发症(例如糖尿病视网膜病)的药物的用途。

[0113] 在一个实施方案中,提供了药物组合物,其包含式I化合物或其可药用盐,以及一种或多种可药用载体、稀释剂或赋形剂。在一个实施方案中,提供了制备药物组合物的方法,包括将式I化合物或其可药用盐与一种或多种可药用载体、稀释剂或赋形剂混合。

[0114] 如本文所用,术语“治疗”包括抑制、减慢、停止或逆转现有症状或紊乱的进展或严重程度。

[0115] 如本文所用,术语“患者”是指哺乳动物。优选地,患者是人。

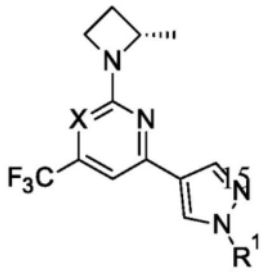
[0116] 如本文所用,术语“有效量”是指式I化合物或其可药用盐的量或剂量,其在向患者单次或多次剂量施用后,在被诊断或治疗的患者中提供所需的作用。

[0117] 有效量可以由本领域技术人员通过使用已知技术并通过观察在类似情况下获得的结果来确定。在确定用于患者的有效量时,要考虑许多因素,包括但不限于:患者的物种;其身体尺寸、年龄和总体健康状况;所涉及的具体疾病或紊乱;疾病或紊乱的程度或涉及程度或严重程度;个体患者的响应;施用的具体化合物;施用方式;所施用制剂的生物利用度特征;所选择的给药方案;合并用药的使用;和其他相关情况。式I的化合物以约0.1至约15mg/kg体重的范围内的每日剂量是有效的。

[0118] 式I化合物被配制成药物组合物,其通过使所述化合物生物可利用的任何途径施用。优选地,此类组合物用于口服施用。此类药物组合物及其制备方法是本领域公知的(参见例如Remington, J.P., “Remington: The Science and Practice of Pharmacy”, L.V.Allen, 编辑, 第22版, Pharmaceutical Press, 2012)。

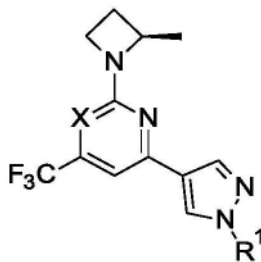
[0119] 式I化合物及其可药用盐可以用于本发明的治疗方法和治疗用途,其中某些构型是优选的。应当理解,以下优选适用于本发明的治疗方法、治疗用途和化合物。

[0120] 本发明的化合物包括:

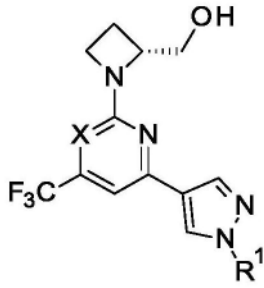


式 Ia;

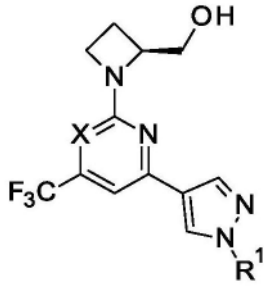
[0121]



式 Ib;

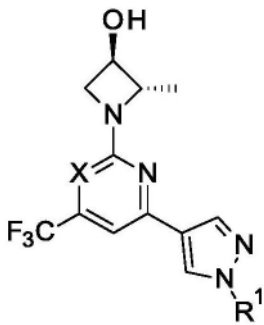


式 Ic;

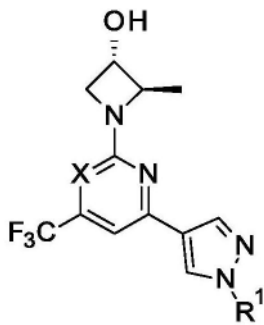


式 Id;

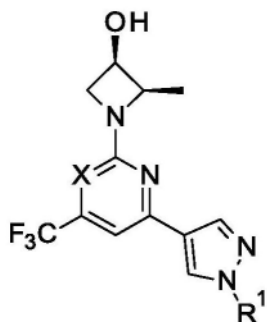
[0122]



式 Ie;

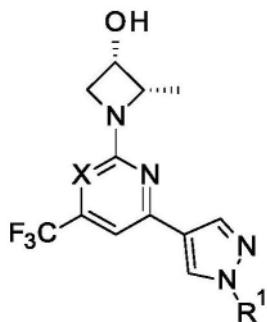


式 If;



式 Ig; 或

[0123]



式 Ih;

[0124] 及其可药用盐。

[0125] 尽管本发明考虑到所有单独的对映异构体和非对映异构体以及所述化合物的混合物,包括外消旋物,但是式Ia、式Ic和式Ie的化合物及其可药用盐是特别优选的。

[0126] 单独的对映异构体可以由本领域普通技术人员在式I化合物的合成中的任何方便点,通过如选择性结晶技术、手性色谱(参见例如,J.Jacques,等人,“Enantiomers, Racemates, and Resolutions”, John Wiley and Sons, Inc., 1981,和E.L.Eliel and S.H.Wilen, “Stereochemistry of Organic Compounds”, Wiley-Interscience, 1994),或超临界流体色谱(SFC)(参见例如T.A.Berger; “Supercritical Fluid Chromatography Primer”, Agilent Technologies, July 2015)的方法进行分离或拆分。

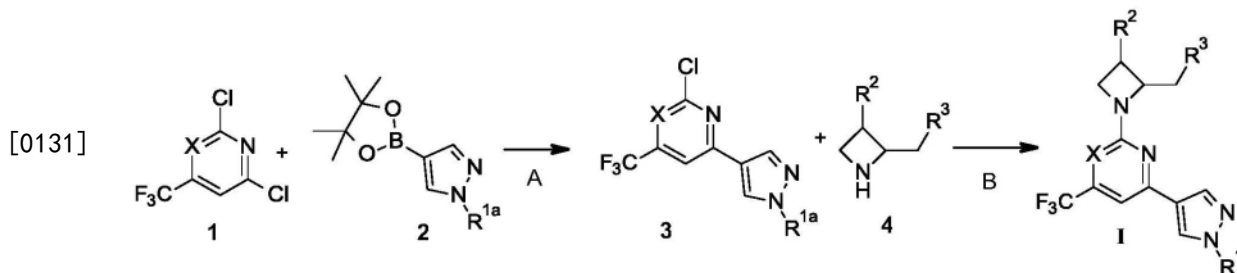
[0127] 式I化合物的可药用盐可以例如通过在本领域公知的标准条件下在合适的溶剂中将式I化合物的合适的游离碱与合适的可药用酸反应而形成(参见,例如,Bastin, R.J., 等人; Org. Process. Res. Dev., 4, 427-435, 2000以及Berge, S.M., et al.; J. Pharm. Sci., 66, 1-19, 1977)。优选的盐是琥珀酸盐。一种特别优选的盐是倍半琥珀酸盐。在倍半琥珀酸盐中,游离碱与琥珀酸的比例为1:1.5。该琥珀酸盐也称为丁二酸盐。

[0128] 式I化合物或其盐可以通过本领域普通技术人员已知的多种方法制备,其中一些在以下流程、制备和实施例中说。以下流程中每个步骤的产物可以通过本领域公知的常规方法进行回收,包括萃取、蒸发、沉淀、色谱、过滤、研磨和结晶。在以下流程中,除非另有说明,否则所有取代基均如先前所定义。试剂和起始原料对于本领域普通技术人员来说是容易获得的。在不限制本发明范围的情况下,提供以下流程、制备和实施例以进一步说明本发明。另外,本领域普通技术人员理解,可以通过使用可由本领域技术人员制备的具有相应的所需立体化学构型的起始原料或中间体来制备式I的化合物。

[0129] 某些缩写定义如下:“ACN”是指乙腈;“BOC”是指叔丁氧基羰基;“DCM”是指二氯甲

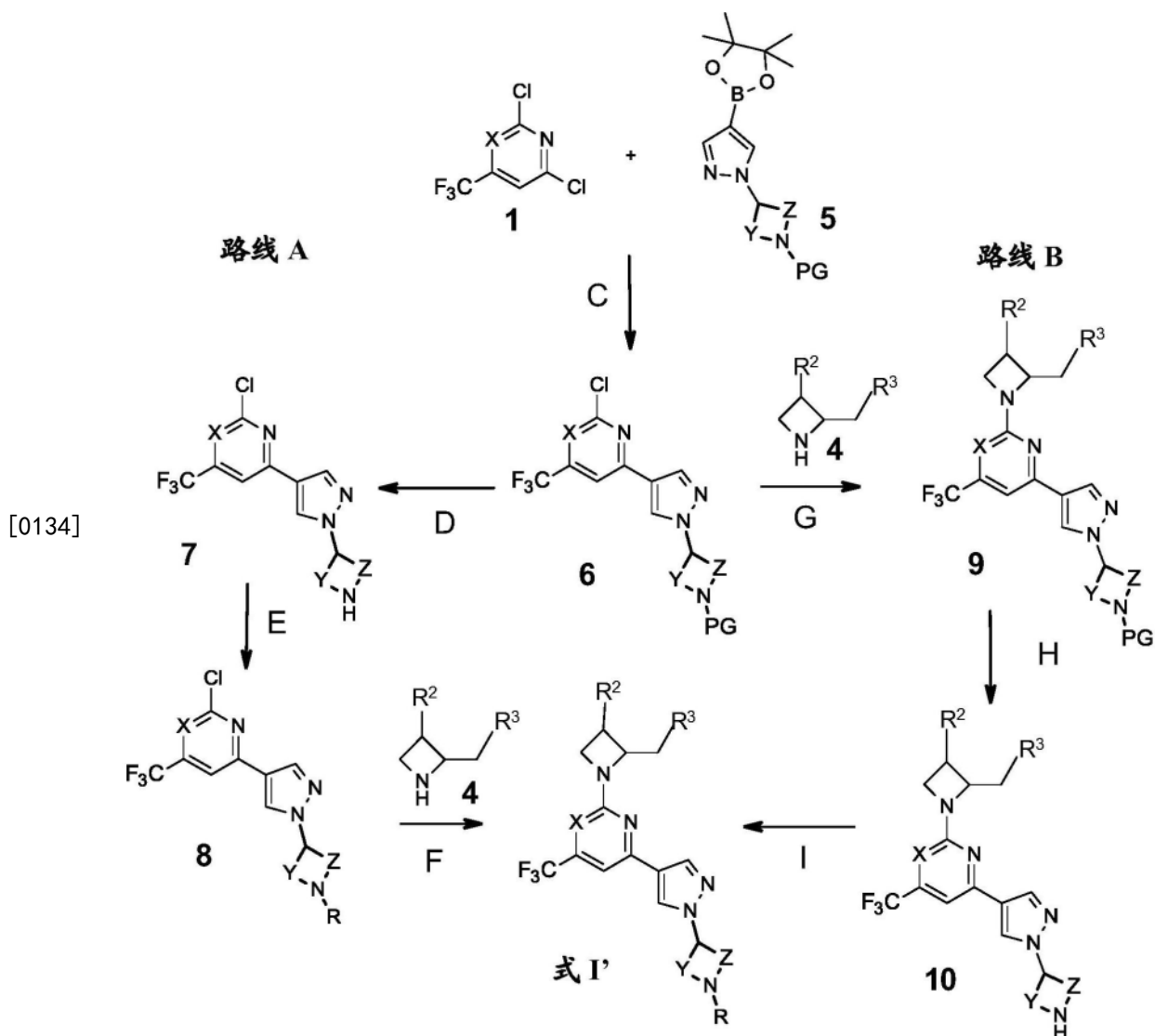
烷；“DIPEA”是指N,N-二异丙基乙胺；“DMF”是指N,N-二甲基甲酰胺；“DMSO”是指二甲基亚砜；“ELSD”是指蒸发光散射检测器；“ES/MS”是指电喷雾质谱；“EtOAc”是指乙酸乙酯；“EtOH”是指乙醇；“h”是指小时；“HATU”是指1-[[双(二甲氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐；“HPLC”是指高效液相色谱；“IPA”是指异丙基醇；“Me”是指甲基；“MeOH”是指甲醇；“MTBE”是指甲基叔丁基醚；“min”是指分钟；“m/z”是指质荷比；“Ph”是指苯基；“RBF”是指圆底烧瓶；“RT”是指室温；“SCX”是指选择性阳离子交换；“SEM”是指平均值的标准误差；“SFC”是指超临界流体色谱；“TFA”是指三氟乙酸；“THF”是指四氢呋喃。

[0130] 流程1



[0132] 流程1描述了式I化合物的通用制备方法。 $R^{1a}$ 可能与最终式I化合物中的 $R^1$ 相同,或者可能是需要转化以达到式I的 $R^1$ 的基团。 $R^{1a}$ 的常规合成转化(例如BOC脱保护、酯水解和酰胺偶联反应)可在步骤B之前或之后进行。在步骤A中,杂芳基二氯化物1和吡唑硼酸酯2之间的Suzuki交叉偶联反应生成取代的吡唑化合物3。该反应在有机溶剂(例如1,4-二噁烷)中使用碱(例如2M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 水溶液),在钯催化剂(例如四(三苯基膦)钯(0)或二(三苯基膦)二氯化钯(II))存在下在升高温度下进行。在步骤B中,化合物3用取代的氮杂环丁烷4进行亲核芳香取代反应,得到式I化合物。该反应在升高温度下在有机溶剂(例如1,4-二噁烷)中在有机碱(例如DIPEA)的存在下进行。

[0133] 流程2



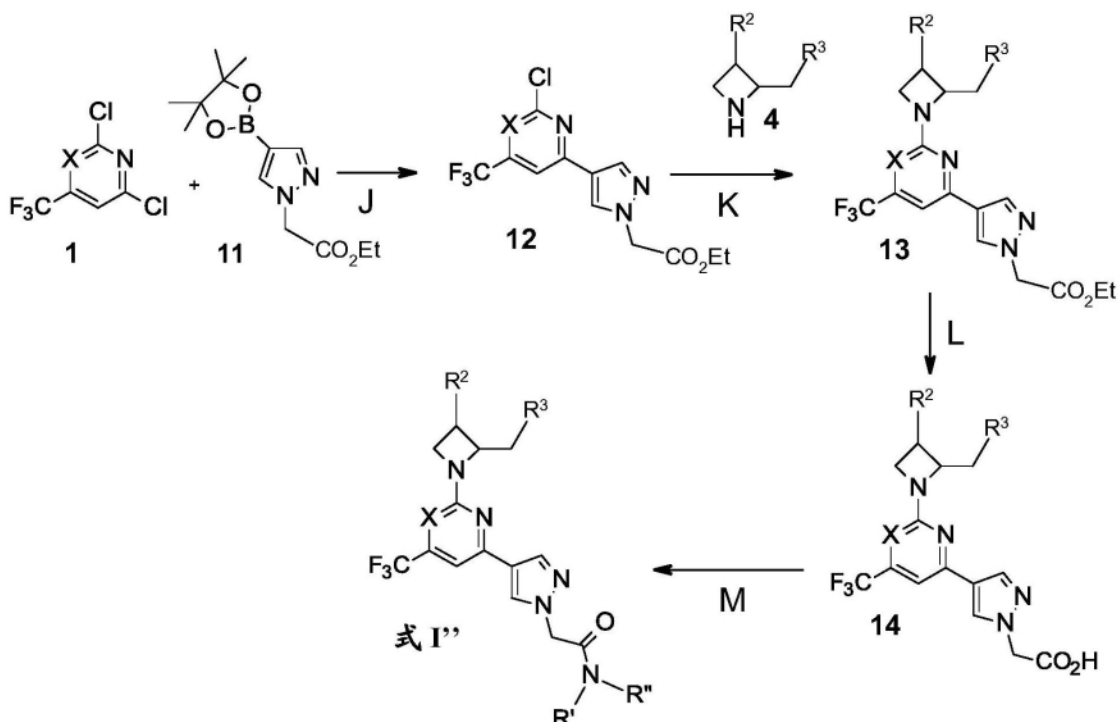
[0135] 流程2描述了一组式I化合物的制备方法,其中吡唑被含氮杂环取代(式I')。吡唑硼酸酯5被如流程2中所述的含氮杂环取代,其中“Y”和“Z”可各自独立地为 $-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ,且“PG”为氮保护基团,例如BOC。在步骤C中,杂芳基二氯化物1和吡唑硼酸酯5之间的Suzuki交叉偶联反应生成取代的吡唑化合物6。如流程1的步骤A中所述,该反应在有机溶剂(例如1,4-二噁烷)中使用碱(例如2M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 水溶液)在钯催化剂(例如四(三苯基膦)钯(0)或二(三苯基膦)氯化钯(II))存在下在升高温度下进行。如流程2中所述,可采用两条不同的路线,路线A和路线B。

[0136] 在路线A中,取代的吡唑化合物6在步骤D中经历脱保护以得到化合物7。例如,如果“PG”是BOC,则可使用TFA完成脱保护。在步骤E中,化合物7的杂环氮可经历取代反应,例如还原胺化、酰化或酰胺偶联以得到化合物8。在该流程中,此类取代被描述为“R”。在步骤F中,将化合物8用取代的氮杂环丁烷4进行亲核芳香取代反应,得到式I'化合物。如流程1的步骤B中所述,该反应在有机溶剂(例如1,4-二噁烷)中在有机碱(例如DIPEA)的存在下在升高温度下进行。这可能是最后一步,或者,R基团可以经历其它常规合成转化,例如去除保护基团。

[0137] 在路线B中,取代的吡唑化合物6在步骤G中与取代氮杂环丁烷4进行亲核芳香取代

反应,得到化合物9。这可以通过在升高温度下在有机溶剂(例如1,4-二噁烷)中,在有机碱(例如DIPEA)存在下与取代的氮杂环丁烷4进行亲核芳香取代反应来实现。或者,步骤C和G可以在一锅法中完成,其中首先完成步骤C的Suzuki交叉偶联反应,然后将氮杂环丁烷4与有机碱(例如DIPEA)一起添加到反应物中,然后在升高温度下进行步骤G。在步骤H中去除保护基团“PG”(例如,如果PG为BOC,则使用TFA)以得到化合物10。在步骤I中,化合物10的氨基团可经历取代反应,例如还原胺化、酰化或酰胺偶联,以得到式I'化合物。这可能是最后一步,或者,R基团可能会经历其它常规合成转化,例如去除保护基团。

### [0138] 流程3



[0139]

[0140] 流程3描述了一组式I化合物的制备方法,其中吡啶被乙酰胺基团取代(式I'')。在步骤J中,杂芳基二氯化物1和吡啶硼酸酯11之间的Suzuki交叉偶联反应生成取代的吡啶化合物12。如流程1和2中所述,该反应在有机溶剂(例如1,4-二噁烷)中使用碱(例如2M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液)在钯催化剂(例如四(三苯基膦)钯(0)或二(三苯基膦)二氯化钯(II))存在下在升高温度下进行。在步骤K中,杂芳基氯化物12在有机溶剂(例如1,4-二噁烷)中,在有机碱(例如DIPEA)存在下,在升高温度下与氮杂环丁烷4进行亲核芳香取代,得到化合物13。在步骤L中,使用碱(例如氢氧化钠)进行酯水解得到酸14。在步骤M中,酸14与式HNR'R''的胺进行酰胺偶联反应,得到式I'的酰胺化合物。胺HNR'R''可以是环状的(例如,任选取代的哌嗪)。步骤M可能是最后一步,也可能还有其它常规合成转化,例如去除保护基团。

### [0141] 制备方法及实施例

[0142] 下列制备方法和实施例进一步说明了本发明的多种实施方案,并代表了本发明化合物的典型合成。试剂和起始原料是容易获得的或可以由本领域普通技术人员容易地合成。应当理解,制备方法和实施例是通过举例说明而非限制的方式阐明的,并且本领域的普通技术人员可以进行各种修改。

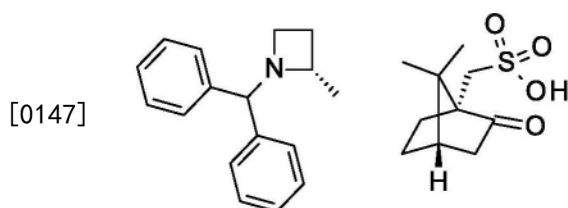
[0143] LC-ES/MS在 **AGILENT**<sup>®</sup> HP1200液相色谱系统上进行。电喷雾质谱测量(以阳离子

子模式和/或阴离子模式获取)在与HPLC接口的质量选择性检测器四极杆质谱仪上进行,所述HPLC可以具有ELSD或可以不具有ELSD。LC-MS条件(低pH):柱:**PHENOMENEX® GEMINI® NX C18** 2.0×50mm 3.0μm, **110 Å**;梯度:在1.5min内5-95%B,然后95%B持续0.5min柱温:50°C+/-10°C;流速:1.2mL/min;1μL进样量;溶剂A:含0.1%HC00H的去离子水;溶剂B:含0.1%甲酸的ACN;波长200-400nm和212-216nm。如果HPLC配备有ELSD,则设置为45°C蒸发器温度、40°C雾化器温度和1.6SLM气体流速。替代的LC-MS条件(高pH):柱:Waters **xBridge® C18**柱2.1×50mm,3.5μm;梯度:在1.5min内5-95%B,然后95%B持续0.50min;柱温:50°C+/-10°C;流速:1.2mL/min;1μL进样量;溶剂A:10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> pH 9;溶剂B:ACN;波长:200-400nm和212-216nm;如果有ELSD,则45°C蒸发器温度、40°C雾化器温度和1.6SLM气体流速。

[0144] 晶体固体的XRPD图形是在配备CuKα源和Vantec探测器的Bruker D4Endeavor X射线粉末衍射仪上获得,在35kV和50mA下操作。样品在4-40 2θ°之间扫描,步长为0.008 2θ°,扫描速率为0.5秒/步,使用1.0mm散度、6.6mm固定防散射和11.3mm探测器狭缝。将干燥粉末包装在石英样品架上,并使用玻片获得光滑表面。在环境温度和相对湿度下收集晶体形式的衍射图案。基于内部NIST 675标准,MDI Jade中的晶体峰位置在整个图案移动后确定,峰值为8.853和26.774 2θ°。在结晶学领域中众所周知,对于任何给定的晶体形式,衍射峰的相对强度可能由于例如晶体形态和习性等因素导致的优选取向而变化。当存在择优取向效应时,峰值强度改变,但多晶型的特征峰位置不变。参见例如The United States Pharmacopeia#23,National Formulary#18,第1843-1844页,1995。此外,在结晶学领域中也众所周知,对于任何给定的晶体形式,角度峰位置可能略有变化。例如,由于分析样品时的温度变化、样品置换或存在或不存在内标物,峰位置可能会移动。在本案中,假定±0.2 2θ°的峰位置变化以考虑这些潜在变化,而不妨碍明确鉴定所示晶体形式。可根据任何独特的区分峰的组合确认晶体形式。

[0145] 制备1

[0146] (2S)-1-二苯甲基-2-甲基-氮杂环丁烷[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸盐

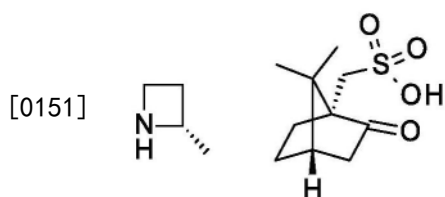


[0148] 组装一个2000mL三颈RBF,其装有加液漏斗、氮气入口和温度计适配器。用氮气吹扫容器,并添加(3R)-丁烷-1,3-二醇(25g,277mmol)、DIPEA(127mL,731mmol)和ACN(556mL)。将该混合物冷却至-30°C。在3小时内逐滴加入三氟甲磺酸酐(101mL,601mmol),使内部温度保持在-35和-30°C之间。加完后,在-35至-30°C下搅拌10分钟。在5分钟内逐滴添加三氟甲磺酸酐(1.9mL,11mmol),使内部温度保持在-35至-30°C之间。加完后,在-35至-30°C下搅拌10分钟。在15分钟内逐滴添加DIPEA(127mL,731mmol),使内部温度保持在-35至-30°C之间。加完后,在-35至-30°C下搅拌10分钟。在氮气下,在单独的烧瓶中将氨基二苯基

甲烷(48.0mL, 270mmol)溶解在ACN(49mL)中,并将所得溶液转移到加液漏斗中。历经40分钟将该胺溶液滴加至冷却的三氟甲磺酸盐中,使内部温度保持在-20至-35℃之间。加完后,在-35至-30℃的温度下搅拌30分钟。将反应物转移到水浴中,并让其缓慢加热30分钟。移除水浴,并让反应物在30分钟内加热至RT。将容器转移到加热罩上,将反应加热至45℃ 30分钟,然后冷却至RT。将所得混合物倒入1200mL水中,并用甲苯(400mL×3)萃取。合并提取物,用水和饱和NaCl水溶液洗涤。用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥有机物,过滤并在真空中浓缩。在真空下干燥残留物过夜,然后将其溶解在DCM(400mL)中。在烧结漏斗上制备硅胶垫,并用1:1庚烷/EtOAc平衡。将产物溶液加载到硅胶垫上,并用1600mL 1:1庚烷/EtOAc洗涤。浓缩滤液,得到红色油状物。将该油状物溶解在MeOH(250mL)中,并将烧瓶置于水浴中(~10℃)。分批加入L(-)-樟脑磺酸(61.6g, 265mmol),保持内部温度低于20℃。搅拌所得混合物15分钟,然后真空浓缩,得到棕色泡沫。在真空泵上干燥该泡沫2小时。将该泡沫溶解在DCM(130mL)中,然后通过加液漏斗将EtOAc(1100mL)缓慢添加到该搅拌中的溶液中。将所得混合物转移到4000mL烧杯中,并在大气中搅拌过夜。在冰浴中冷却烧杯10分钟。经真空过滤在烧结漏斗中收集沉淀,用最少量的冰冷却的EtOAc洗涤。在烧结漏斗上干燥该固体2小时。将所得白色固体溶解在少量DCM中,转移到2000mL烧杯中,然后用EtOAc缓慢稀释,直到澄清溶液开始变得浑浊。在大气中搅拌该混悬液4小时。使用烧结漏斗通过真空过滤收集固体,在烧结漏斗上干燥过夜,得到标题化合物(111.8g, 238.06mmol, 86%产率),为白色固体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.54-10.47(m, 1H), 7.61(d, J=7.3Hz, 5H), 7.47-7.37(m, 7H), 5.85(d, J=10.3Hz, 1H), 4.68-4.61(m, 1H), 3.91-3.83(m, 2H), 3.37(s, 8H), 2.99(d, J=14.6Hz, 1H), 2.77-2.68(m, 1H), 2.51-2.44(m, 4H), 2.30-2.16(m, 2H), 1.91-1.81(m, 2H), 1.42-1.28(m, 3H), 1.08(s, 3H), 1.01(d, J=6.6Hz, 3H), 0.77(s, 4H); >98% ee [HPLC: **Chiralcel**<sup>®</sup> OJ(10cm × 4.6mm, 5μm), 5mL/min, 40℃等度10%EtOH(0.2% <sup>i</sup>PrNH<sub>2</sub>)/CO<sub>2</sub>]。

[0149] 制备2

[0150] [(1R, 4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-鎓盐

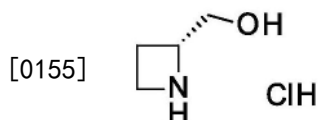


[0152] 向2250mL Parr瓶中加入20重量%的Pd(OH)<sub>2</sub>/碳(6.62g)。用氮气吹扫瓶子,加入MeOH(250mL)。向所得混悬液中缓慢加入溶解于MeOH(250mL)中的(2S)-1-二苯甲基-2-甲基-氮杂环丁烷[(1R, 4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸盐(111g, 236mmol)。密封该容器。先用氮气,然后用氢气吹扫,并加压至60PSI。在RT下,在Parr振动装置中剧烈震荡反应容器15h。用氮气吹扫容器,然后通过**Celite**<sup>®</sup>垫过滤反应混合物,用MeOH洗涤。浓缩滤液,得到白色固体,并在真空下干燥。将固体悬浮在780mL 1:1MTBE/EtOAc中,并将该混合物加热至65℃20小时,然后冷却至RT并搅拌过夜。通过过滤收集固体。将固体悬浮在380mL MTBE中,在RT下搅拌24小时。通过过滤收集白色固体,得到标题化合物(41.5g, 137mmol, 58%产率)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.68-8.55(m, 1H), 4.51-4.42(m, 1H), 3.91-3.75(m,

1H), 3.36 (s, 3H), 2.91 (d, J=14.6Hz, 1H), 2.69-2.61 (m, 1H), 2.52-2.46 (m, 2H), 2.28-2.22 (m, 1H), 2.17-2.10 (m, 1H), 1.96 (t, J=4.5Hz, 1H), 1.89-1.79 (m, 1H), 1.43 (d, J=6.7Hz, 2H), 1.36-1.26 (m, 1H), 1.05 (s, 2H), 0.75 (s, 2H)。

[0153] 制备3

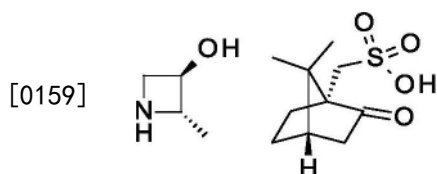
[0154] (R)-2-氮杂环丁烷甲醇盐酸化物



[0156] 对于装有氮气入口的2颈RBF中加入: (R)-1-(叔丁氧基羰基)氮杂环丁烷-2-甲酸(30g, 146mmol)、THF(300ml)和4-甲基吗啉(17.7mL, 161mmol)。将混合物冷却至-10℃,并逐滴加入氯甲酸异丁酯(21mL, 161mmol)。搅拌该混合物30分钟,然后加热至RT。通过过滤去除所得固体。将滤液冷却至0℃,并逐滴加入硼氢化钠(11.1g, 292mmol)水溶液(90mL)(注意:产生气体)。加完后,将混合物加热至RT并搅拌30分钟。用MTBE(300mL)和水(100mL)稀释该混合物。用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(200mL),随后用饱和NaCl水溶液(200mL)洗涤该混合物。在MgSO<sub>4</sub>上干燥有机相,过滤,并浓缩至干燥,得到油状物(27g)。将HCl(4.0M)小心加入到1,4-二噁烷(110mL)[注意:产生气体]中,并在RT下搅拌所得混合物3h。在真空中蒸发溶剂,得到为油状物的标题化合物(16g, 89%)。直接在制备9、11、16和36中使用该物质。

[0157] 制备4

[0158] (2S, 3R)-2-甲基氮杂环丁烷-3-醇[(1R, 4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸



[0160] 步骤1

[0161] 装配一个3颈500mL RBF, 装有加液漏斗和温度探头。向烧瓶中加入丁-2-烯-1-醇(顺式/反式混合物)(23.7mL, 267mmol)和氯仿(200mL)。在冰浴中冷却该溶液,直到内部温度达到1.2℃。通过加液漏斗历经2h以~1滴/6秒的速率逐滴加入溴(13.7mL, 267mmol)。加完后,将反应物加热至RT并搅拌30分钟。关闭搅拌,让反应物静置3天。用饱和Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>溶液猝灭并剧烈搅拌10分钟。将该混合物静置3天。去除有机层,并用DCM(x3)萃取水性部分。合并有机物并在Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>上干燥,过滤并真空浓缩,得到2,3-二溴丁-1-醇(62.3g, 269mmol)。

[0162] 步骤2

[0163] 方法A

[0164] 装配一个3颈1L RBF, 装有加液漏斗和温度探头。向该烧瓶中加入2,3-二溴丁-1-醇(62.3g, 269mmol)和THF(180mL)。将该烧瓶放入RT下的水浴中。通过加液漏斗历经10分钟逐滴加入KOH(15.1g, 269mmol)在水(135mL)中的溶液。在RT下搅拌2小时。分离有机相。用3x150 mL EtOAc萃取该水部分。合并有机物,用~200mL盐水洗涤一次,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并过滤。小心浓缩有机物(100毫巴, 30℃直至体积最小,然后10毫巴, 30℃下10分钟),得到37g的2-(1-溴乙基)环氧乙烷(60%质量)、2,3-二溴丁-1-醇(36%质量)和EtOAc(4%质量)混合

物,如<sup>1</sup>H NMR所检测。向该混合物中,加入EtOH(100mL)、氨基二苯基甲烷(36mL,208.6mmol)和NaHCO<sub>3</sub>(26g,309mmol)。将该反应混合物加热至65℃过夜。冷却至RT。

[0165] 方法B

[0166] 在第一个烧瓶中,加入2,3-二溴丁-1-醇(72.6g,313mmol)和THF(200mL)。将该烧瓶放入RT下的水浴中。加入KOH(17.6g,314mmol)在水(150mL)中的溶液。在RT下搅拌过夜。分离有机相。用EtOAc萃取水部分(3×150mL)。合并有机物,用~200mL饱和NaCl水溶液洗涤一次,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并过滤。真空浓缩有机层(100毫巴,30℃直至体积最小,然后10毫巴,30℃下10分钟),得到41.1g的2-(1-溴乙基)环氧乙烷(75%质量)、2,3-二溴丁-1-醇(22%质量)和EtOAc(3%质量)的混合物,如<sup>1</sup>H NMR所检测。

[0167] 在第二个烧瓶中,加入2,3-二溴丁-1-醇(10g,43mmol)和THF(30mL)。将该烧瓶放入RT下的水浴中。加入KOH(2.42g,43.1mmol)在水(20mL)中的溶液。RT下搅拌过夜。分离有机相。用3x50 mL EtOAc萃取水部分。合并有机物,用~200mL饱和NaCl水溶液洗涤一次,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并过滤。真空浓缩有机层(100毫巴,30℃直至体积最小,然后10毫巴,30℃下10分钟),得到5.4g的2-(1-溴乙基)环氧乙烷(66%质量)、2,3-二溴丁-1-醇(32%质量)和EtOAc(2%质量)的混合物,如<sup>1</sup>H NMR所检测。

[0168] 在第三个烧瓶中,加入2,3-二溴丁-1-醇(10g,43mmol)和THF(30mL)。将该烧瓶放入RT下的水浴中。加入KOH(2.42g,43.1mmol)在水(20mL)中的溶液。将该混合物加热至50℃持续2小时。冷却至RT。分离有机相。用3x50 mL EtOAc萃取水部分。合并有机物,用~200mL盐水洗涤一次,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并过滤。真空浓缩有机层(100毫巴,30℃直至体积最小,然后10毫巴,30℃下10分钟),得到5.4g的2-(1-溴乙基)环氧乙烷(70%质量)、2,3-二溴丁-1-醇(28%质量)和EtOAc(2%质量)的混合物,如<sup>1</sup>H NMR所检测。

[0169] 将来自三次反应的混合物在RBF中合并,得到51.9g的2-(1-溴乙基)环氧乙烷(73%质量)。加入EtOH(100mL)、氨基二苯基甲烷(44mL,255.0mmol)和NaHCO<sub>3</sub>(32g,380.926mmol)。将所得混合物在RT下搅拌2小时,然后加热至65℃,并继续搅拌过夜。冷却至RT。将来自方法A和B的粗的反应混合物一起混合用于纯化。经过滤除去固体,用EtOH洗涤。浓缩该滤液至干。将所得油状物溶于DCM中。将所得溶液用NH<sub>4</sub>Cl溶液洗涤两次,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩至~150mL体积。将该混合物放置过夜。经过滤除去固体。经正相硅胶色谱(70%MTBE:己烷)纯化滤液,得到粗的1-二苯甲基-2-甲基-氮杂环丁烷-3-醇(66.8g)。ES/MS(m/z):254(M+H)。

[0170] 步骤3

[0171] 将1-二苯甲基-2-甲基-氮杂环丁烷-3-醇(66.8g)溶于MeOH(608mL)。使用5×25cm Lux i-Cellulose 5柱用溶剂系统85/15CO<sub>2</sub>/EtOH(含0.5%二甲基乙胺)以流速300mL/min洗脱纯化所得溶液,得到(2S,3R)-1-二苯甲基-2-甲基-氮杂环丁烷-3-醇(19.2g)。

[0172] 步骤4

[0173] 在RBF中装入(2S,3R)-1-二苯甲基-2-甲基-氮杂环丁烷-3-醇(19.2g,75.8mmol)、L(-)-樟脑磺酸(19g,80.2mmol)、EtOH(100mL)和Et<sub>2</sub>O(50mL)。将该混合物加热至将近全部固体溶解,然后短暂超声处理。将该混合物加热至回流,然后冷却至RT,并在冰箱中储存过夜。经过滤收集固体,用大体积的Et<sub>2</sub>O洗涤,并减压干燥,得到(2S,3R)-1-二苯甲基-2-甲基-氮杂环丁烷-3-醇;[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(31.9g,

65.7mmol)。

[0174] 步骤5

[0175] 在RBF中装入20%氢氧化钡/碳(50重量%水)(2g)。用少量EtOH将该催化剂润湿。向该混悬液中加入(2S,3R)-1-二苯甲基-2-甲基-氮杂环丁烷-3-醇;[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(20g,41.2mmol)在EtOH(400mL)中的部分溶液。用氮气向该混悬液喷射5分钟,并随后用氢气短暂喷射。在氢气球下搅拌该反应混合物,直至经LC-MS分析全部起始物质消耗。经**Celite®**垫过滤该反应混合物。

[0176] 在第二个烧瓶中,使用相同的方法,将(2S,3R)-1-二苯甲基-2-甲基-氮杂环丁烷-3-醇;[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(10g,20.6mmol)用20%氢氧化钡/碳(50重量%水)(1g)在EtOH(200mL)中的溶液氢化。

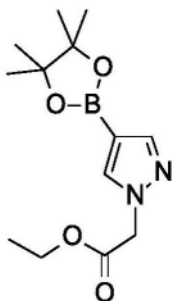
[0177] 在第三个烧瓶中,使用相同的方法,将(2S,3R)-1-二苯甲基-2-甲基-氮杂环丁烷-3-醇;[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(2g,4.12mmol)用20%氢氧化钡/碳(50重量%水)(0.2g)在EtOH(40mL)中的溶液氢化。

[0178] 将三个滤液一起混合并真空浓缩。将该物质悬浮于正庚烷中,并超声10分钟,然后经过滤收集固体。再重复该超声-过滤次序四次。真空干燥该固体过夜,得到标题化合物(20.11g;5个步骤的产率53%)。<sup>1</sup>H NMR(399.85MHz,MeOD):4.35-4.25(m,2H),4.07(dd,J=6.9,10.6Hz,1H),3.78(dd,J=7.0,10.6Hz,1H),3.30(m,1H),2.79(d,J=14.9Hz,1H),2.70-2.63(m,1H),2.40-2.33(m,1H),2.08-2.03(m,2H),1.92(d,J=18.4Hz,1H),1.69-1.62(m,1H),1.54(d,J=6.6Hz,3H),1.47-1.41(m,1H),1.14(s,3H),0.88(s,3H)。

[0179] 制备5

[0180] 2-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡唑-1-基)乙酸乙酯

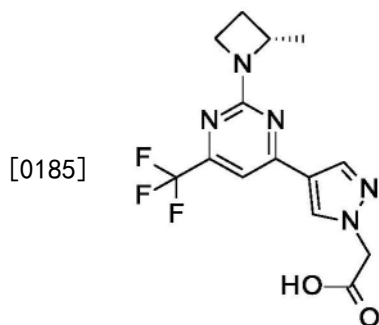
[0181]



[0182] 在500mL RBF中装入4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑(15g,77.32mmol)、ACN(150mL)、碳酸钾(32.06g,232.0mmol)和溴乙酸乙酯(9.09mL,81.2mmol)。RT下搅拌该浆体过夜。在EtOAc(300mL)和水(250mL)之间分配该反应混合物。分离各层,并用EtOAc萃取水层。合并有机物,并用饱和氯化钠水溶液(500mL)洗涤,用硫酸钠干燥,过滤并真空浓缩,得到浅黄色油状物。经硅胶色谱用0-5%MeOH在DCM的溶液梯度洗脱纯化,得到标题化合物(16.8g,76%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 7.94(s,1H),7.60(s,1H),5.08(s,2H),4.14(q,J=7.1Hz,2H),1.26(m,12H),1.2(t,J=7.2Hz,3H)。

[0183] 制备6

[0184] 2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]乙酸



[0186] 向2000mL RBF中装入2-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡啶-1-基)乙酸乙酯(39.15g,132.8mmol)、2,4-二氯-6-(三氟甲基)嘧啶(27.9g,126mmol)、1,4-二噁烷(800mL)、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液(2M,200mL,400mmol)和二(三苯基膦)二氯化钯(II)(2.8g,4.0mmol)。将该混合物加热至85℃。2小时后,将该混合物冷却至RT。将反应混合物分成两份,并按以下方法进行:

[0187] 方法A:

[0188] 向第一部分反应混合物中加入[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-鎓盐(18.69g,59.75mmol),并加热至70℃持续2.5小时。冷却至RT。加入NaOH水溶液(2M,166mL,332mmol)并在RT下搅拌过夜。加入EtOAc(500mL)并搅拌该混合物30分钟。用HCl(5M)水溶液酸化该混合物至pH=7,并用EtOAc萃取(4×250mL)。合并有机物,用饱和NaCl水溶液洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。将残余物溶于DCM(125mL),并逐滴加入庚烷(125mL)。搅拌该混合物30分钟。经过滤收集固体,并用1:1DCM/庚烷(50mL)洗涤。空气干燥该固体。

[0189] 方法B:

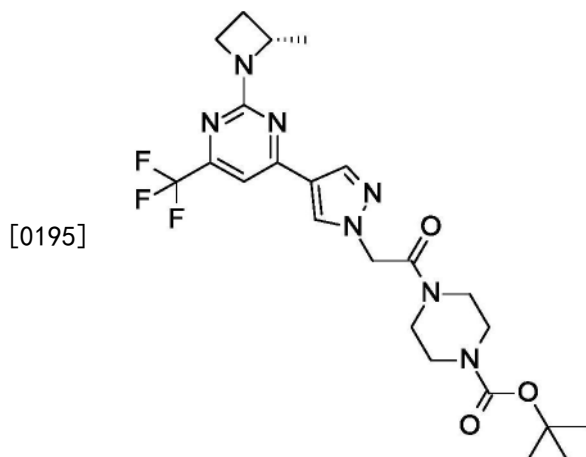
[0190] 真空浓缩反应混合物的第二部分以除去1,4-二噁烷。将该混合物在EtOAc和水之间分配,分离水层并浓缩有机层至干。向装有残余物的烧瓶中加入1,4-二噁烷(420mL)、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液(2M,75mL,150mmol)和[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-鎓盐(18.69g,59.75mmol)。将该混合物加热至70℃并搅拌1.5小时。冷却该混合物至RT。加入NaOH水溶液(2M,125mL,250mmol)并搅拌过夜。加入EtOAc(500mL)并搅拌30分钟。分离水相,并将其放置过夜。用HCl水溶液(5M)酸化该水性混合物至pH=7,并用EtOAc萃取(2×250mL)。合并有机物,用饱和NaCl水溶液洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩,得到固体。

[0191] 纯化方法:

[0192] 将来自方法A和B的产物合并,并溶于THF(485mL)。加入SiliaMetS Thiol树脂(32g)。搅拌该混合物1小时,然后过滤。真空浓缩滤液,得到标题化合物,为白色粉末(31.7g,72%)。ES/MS(m/z):342(M+H);340(M-H)。

[0193] 制备7

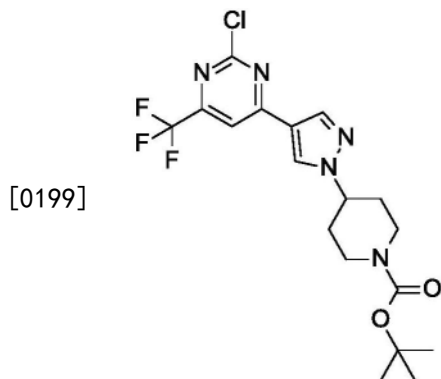
[0194] 4-[2-[4-[2-[2-(2-(2-甲基氮杂环丁烷-1-基)-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡啶-1-基]乙酰基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯



[0196] 在1L RBF中装入2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]乙酸(31.7g, 91.0mmol)、哌啶-1-甲酸叔丁酯(20.5g, 109mmol)和DCM(320mL)。向所得溶液中加入Et<sub>3</sub>N(25.6mL, 182mmol), 并随后逐滴加入2,4,6-三丙基-1,3,5,2,4,6-三氧杂三磷杂环己烷-2,4,6-三氧化物酸酐溶液(50重量%在EtOAc中的溶液, 68mL, 114.2mmol)。RT下搅拌1小时。用水(500mL)洗涤反应物, 然后用饱和NaCl水溶液洗涤。用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥该有机物, 过滤, 并高真空浓缩, 得到标题化合物(52.5g, 根据产品的理论定量产率估计纯度为88重量%)。ES/MS(m/z): 510(M+H); 508(M-H)。

[0197] 制备8

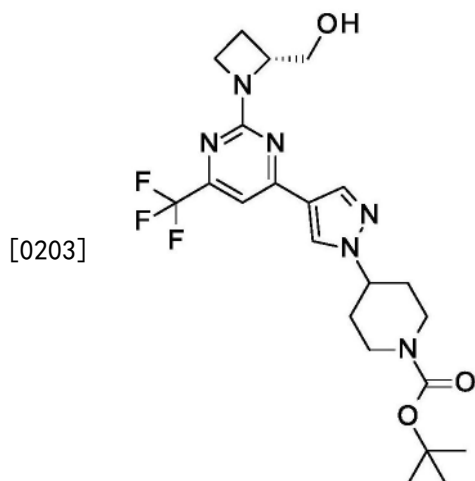
[0198] 4-[4-[2-氯-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯



[0200] 向微波瓶中加入2,4-二氯-6-(三氟甲基)嘧啶(0.7g, 3.05mmol)和1,4-二噁烷(15mL)。向该溶液中加入4-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(1.55g, 4.0mmol)、四(三苯基膦)钯(0)(0.195g, 0.17mmol)和Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液(2M, 5.5mL, 11mmol)。密封该瓶, 并在微波反应器中在85℃加热1小时。在第二个瓶中, 以相同规模进行同样的反应。将反应混合物在分液漏斗中混合。将反应混合物用饱和碳酸氢钠水溶液稀释, 并用EtOAc萃取两次。合并萃取物, 并用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并浓缩。经硅胶色谱用0-50%EtOAc/己烷梯度洗脱纯化该残余物, 得到标题化合物, 为白色固体(2.33g, 88%)。ES/MS(m/z): 432, 434(M+H); 430, 432(M-H)。

[0201] 制备9

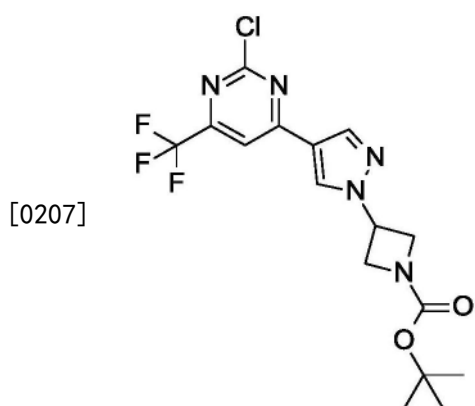
[0202] 4-[4-[2-[(2R)-2-(羟基甲基)氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯



[0204] 在三个独立的微波反应瓶中,将4-[4-[2-氯-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(1g,2.3mmol)和1,4-二噁烷(16mL)混合。加入(R)-2-氮杂环丁烷甲醇盐酸化物(0.52g,4.3mmol)和DIPEA(1.6mL,9.3mmol)。密封这些瓶子,并在微波反应器中在130℃下加热2.5小时。合并所得反应混合物,然后用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液稀释该混合物,并用EtOAc萃取两次。合并萃取物,并用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并浓缩。经硅胶色谱用10-80% EtOAc/己烷梯度洗脱纯化该残余物,得到标题化合物,为白色泡沫(3.2g,95%)。ES/MS(m/z):483(M+H)。

[0205] 制备10

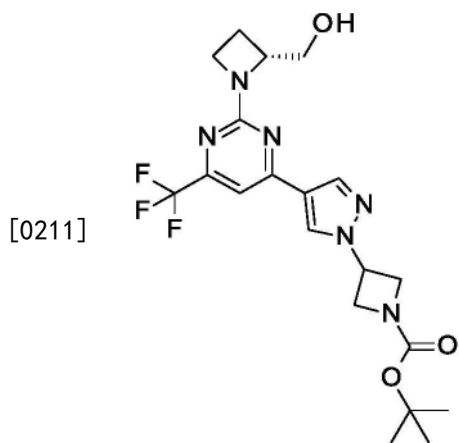
[0206] 3-[4-[2-氯-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯



[0208] 向微波瓶中加入2,4-二氯-6-(三氟甲基)嘧啶(0.50g,2.30mmol)和1,4-二噁烷(22mL)和水(2mL)。向该溶液中加入3-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(0.630g,1.71mmol)、[1,1'-二(二苯基膦)二茂铁]二氯化钡(II)(0.20g,0.26mmol)和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(500mg,3.67mmol)。密封该瓶,并在RT下搅拌过夜。将粗的反应物装载到硅胶柱上,在真空炉中干燥,并经快速色谱(0-45% EtOAc/己烷洗脱)纯化该残余物,得到标题化合物,为浅褐色油状物(0.375g,49%)。ES/MS(m/z):348(M+H-<sup>t</sup>Bu);402(M-H)。

[0209] 制备11

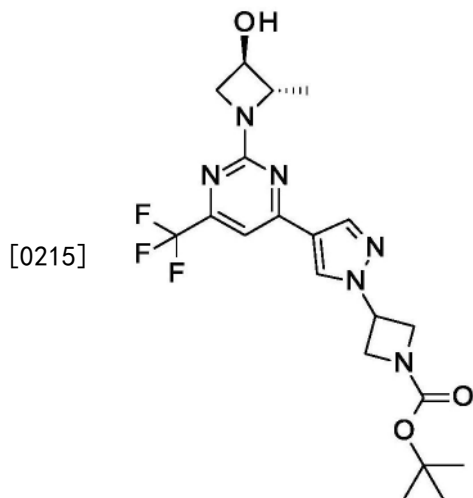
[0210] 3-[4-[2-[(2R)-2-(羟基甲基)氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯



[0212] 在瓶中混合3-[4-[2-氯-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(190mg, 0.47mmol)和THF(18mL)。加入(R)-2-氮杂环丁烷甲醇盐酸化物(150mg, 1.23mmol)和DIPEA(1.0mL, 5.7mmol)。密封该瓶,并在微波反应器中加热至100℃持续1小时40分钟。冷却至RT后,将粗的反应物装载到硅胶柱上,在真空炉中干燥,并经硅胶色谱用0-80%的(5%MeOH/EtOAc)/己烷梯度洗脱纯化该残余物,得到标题化合物,为无色油状物(153mg, 72%)。ES/MS(m/z): 455(M+H)。

[0213] 制备12

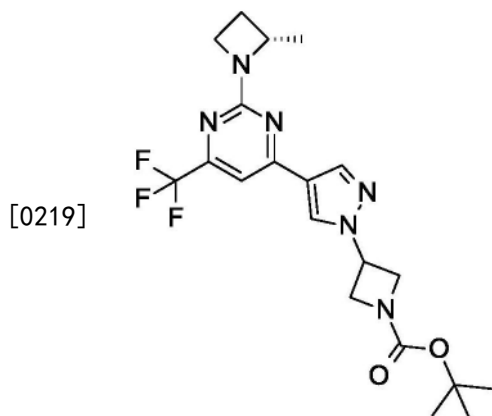
[0214] 3-[4-[2-[(2S,3R)-3-羟基-2-甲基-氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯



[0216] 基本上如制备11中所述方法制备标题化合物,使用(2S,3R)-2-甲基氮杂环丁烷-3-醇[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸。ES/MS(m/z): 455(M+H)。

[0217] 制备13

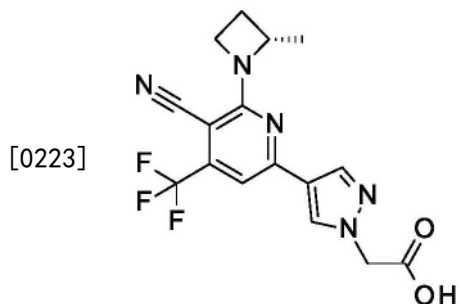
[0218] 3-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯



[0220] 基本上如制备11中所述方法制备标题化合物,使用[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-鎓盐。经硅胶色谱使用45%EtOAc/己烷纯化反应物。ES/MS(m/z):439(M+H)。

[0221] 制备14

[0222] 2-[4-[5-氰基-6-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]乙酸

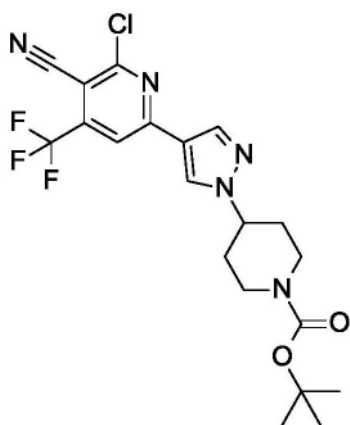


[0224] 在一个RBF中装入2-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡唑-1-基)乙酸乙酯(2.95g,10.5mmol)、2,6-二氯-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈(2g,8.3mmol)、1,4-二噁烷(52.4mL)和Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液(2M,13.3mL,26.6mmol)。用氮气向该混合物喷射10分钟。加入二(三苯基膦)二氯化钯(II)(191mg,0.27mmol)。RT下搅拌该混合物16.5小时。在该烧瓶上装配回流冷凝器,并加入[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-鎓盐(2.73g,9.10mmol)。将该混合物加热至70℃持续搅拌3小时,然后冷却至RT。加入NaOH水溶液(2M,21mL,42mmol),并在RT下搅拌该混合物15分钟。真空蒸发有机溶剂。用水(50mL)稀释该残余物,并把水从固体中倒出。用水(50mL)重复该操作两次。经真空过滤收集该固体,并空气干燥过夜。加入2-甲基四氢呋喃(30.4mL)和柠檬酸水溶液(6.5重量%,30.4mL)。搅拌5分钟,并随后分离各层。用柠檬酸水溶液(6.5重量%,30.4mL)洗涤有机层。用MgSO<sub>4</sub>干燥有机溶液,过滤,并浓缩,得到标题化合物(3.14g,基于产物的理论定量产率,估计纯度为97重量%)。ES/MS(m/z):366(M+H);364(M-H)。

[0225] 制备15

[0226] 4-[4-[6-氯-5-氰基-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯

[0227]



[0228] 方法A:

[0229] 向微波反应瓶中加入2,6-二氯-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈(497mg, 2.063mmol)、4-[4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡唑-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(867.2mg, 2.3mmol)、1,1'-二(二苯基膦基)二茂铁-二氯化钨(II) DCM复合物(91.2mg, 0.109mmol)、碳酸钾水溶液(3M溶液, 2.1mL, 6.3mmol)和1,4-二噁烷(10.5mL)。用氮气喷射该混合物5分钟,密封,并加热至80℃。1小时后,冷却至RT。经**Celite**<sup>®</sup>柱过滤该混合物,用EtOAc冲洗。浓缩并经硅胶色谱用15-40%的EtOAc在己烷中的溶液梯度洗脱纯化,然后在35℃下真空快速干燥,得到标题化合物(705mg, 64%)。ES/MS (m/z): 454, 456 (M-H)。

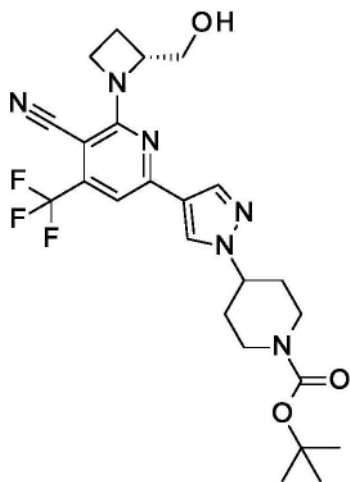
[0230] 方法B:

[0231] 向一个RBF中加入2,6-二氯-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈(1.07g, 4.44mmol)和1,4-二噁烷(25mL)。加入4-[4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡唑-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(2.08g, 5.51mmol)、四(三苯基膦)钨(0)(200mg, 0.17mmol)和Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液(2M, 8.5mL, 17mmol)。用氮气将反应物脱气,并在85℃下加热该反应物1.5小时。从反应物中倒出有机相,并将粗的反应物分成两个等量,用于制备16和17。ES/MS (m/z): 454 (M-H)。

[0232] 制备16

[0233] 4-[4-[5-氰基-6-[(2R)-2-(羟基甲基)氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯

[0234]

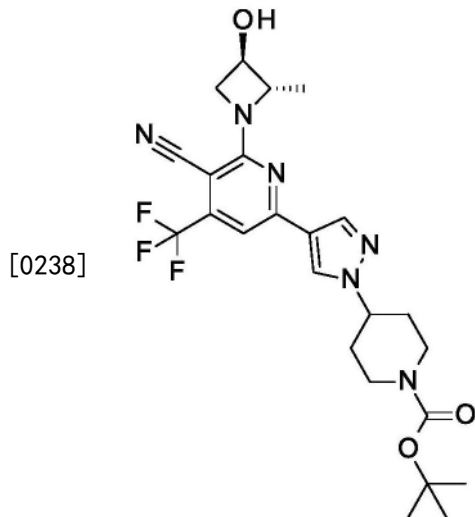


[0235] 在微波瓶中加入1/2来自制备15的方法B的粗的反应产物、(R)-2-氮杂环丁烷甲醇盐酸化物(0.5g, 4mmol)、DIPEA(1.6mL, 9.2mmol)和额外量的1,4-二噁烷(16mL)。在120℃加

热该反应物2小时。冷却并浓缩该反应物至粗产物。将该残余物经硅胶色谱用50-80% EtOAc/己烷梯度洗脱纯化,并经硅胶色谱用2-5% IPA/DCM梯度洗脱再次纯化,得到标题化合物,为棕褐色固体(264mg,26%)。ES/MS(m/z):507(M+H)。

[0236] 制备17

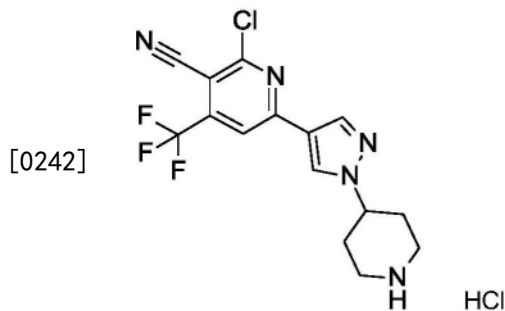
[0237] 4-[4-[5-氰基-6-[(2S,3R)-3-羟基-2-甲基-氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯



[0239] 基本上如制备16中所述方法制备标题化合物,使用第二份1/2来自制备15的粗的反应产物和(2S,3R)-2-甲基氮杂环丁烷-3-醇[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸。ES/MS(m/z):507(M+H)。

[0240] 制备18

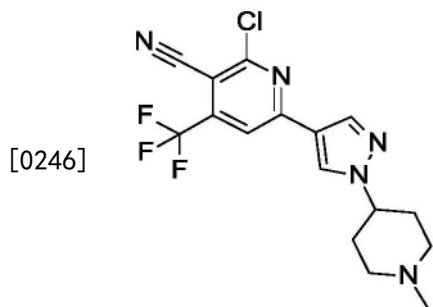
[0241] 2-氯-6-[1-(4-哌啶基)吡唑-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈盐酸化物



[0243] 向瓶中加入4-[4-[6-氯-5-氰基-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(705mg,1.5mmol)、4M HCl在1,4-二噁烷中的溶液(1.5mL,6.0mmol)和DCM(1.5mL)。RT下搅拌该混合物。1小时后,真空浓缩该混合物,并真空干燥该残余物过夜,得到标题化合物(608mg),其不经进一步纯化直接用于制备19和20。ES/MS(m/z):356,358(游离碱M+H)。

[0244] 制备19

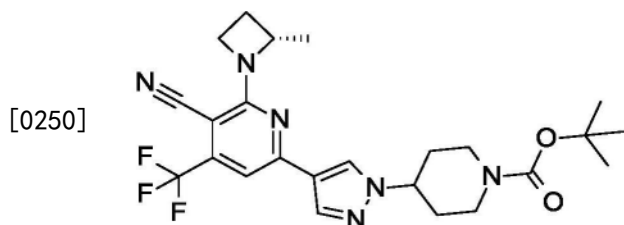
[0245] 2-氯-6-[1-(1-甲基-4-哌啶基)吡唑-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈



[0247] 向瓶中加入2-氯-6-[1-(4-哌啶基)吡唑-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈盐酸化物(303.3mg, 0.74mmol)、13.3M甲醛水溶液(0.2mL, 3mmol)、三乙酰氧基硼氢化钠(378mg, 1.73mmol)和1,2-二氯乙烷(6.0mL)。RT下搅拌该混合物30分钟。加入饱和碳酸氢钠水溶液,并用DCM萃取两次。合并萃取物并真空浓缩,得到标题化合物(285mg, 99%产率)。ES/MS(m/z): 370, 372(M+H)。

[0248] 制备20

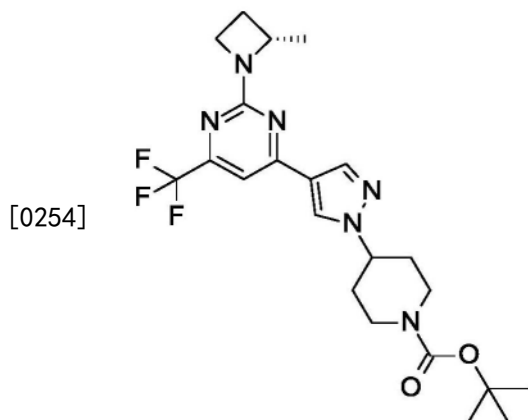
[0249] 4-[4-[5-氰基-6-[ (2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯



[0251] 基本上使用如下文实施例10中所述相同的方法,从2,6-二氯-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈和4-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯制备标题化合物。ES/MS(m/z): 491(M+H)

[0252] 制备21

[0253] 4-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯



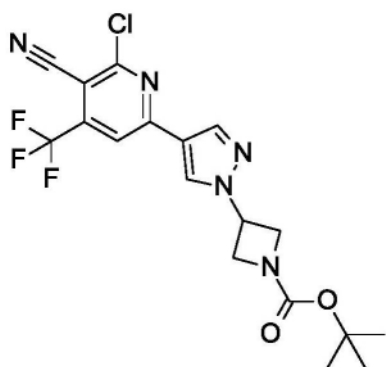
[0255] 将2,4-二氯-6-(三氟甲基)嘧啶(0.258g, 1.1mmol)溶于1,4-二噁烷(6mL)中,并加入4-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(0.591g, 1.52mmol)、四(三苯基膦)钯(0)(68mg, 0.059mmol)和2M碳酸钠水溶液(2.2mL, 4.4mmol)。在微波反应器中将该混合物加热至85℃持续1小时。冷却至RT,并加入

[(1R, 4S) -7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-鎓盐(0.414g, 1.36mmol)和DIPEA(0.6mL, 3.4mmol)。将该混合物在110℃加热2小时。用饱和碳酸氢钠水溶液稀释该混合物,并用EtOAc萃取两次。合并萃取物,用硫酸钠干燥,然后过滤并蒸发。将残余物经硅胶色谱用0-50%EtOAc/己烷梯度洗脱纯化,得到标题化合物(215mg, 41%),为白色固体。ES/MS(m/z):467(M+H)。

[0256] 制备22

[0257] 3-[4-[6-氯-5-氰基-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯

[0258]

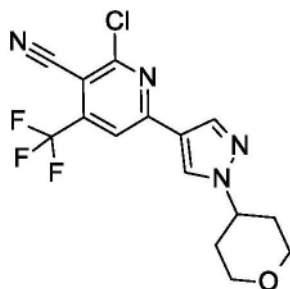


[0259] 向瓶中加入3-氰基-2,6-二氯-4-(三氟甲基)吡啶(0.360g, 1.49mmol)、1,4-二噁烷(7.5ml)、3-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(0.727g, 1.98mmol)、四(三苯基膦)钯(0)(95mg, 0.08mmol)和2M碳酸钠水溶液(2.8mL, 5.6mmol, 2mol/L)。密封该瓶,并在微波反应瓶中在85℃下加热1小时。用饱和碳酸氢钠溶液稀释,并用EtOAc萃取两次。合并萃取物,用硫酸钠干燥,过滤并蒸发。将残余物经硅胶色谱用0-90%EtOAc/己烷梯度洗脱纯化,得到标题化合物(0.609g, 95%)。ES/MS(m/z):426, 428(M-H)。

[0260] 制备23

[0261] 2-氯-6-(1-四氢吡喃-4-基吡唑-4-基)-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈

[0262]

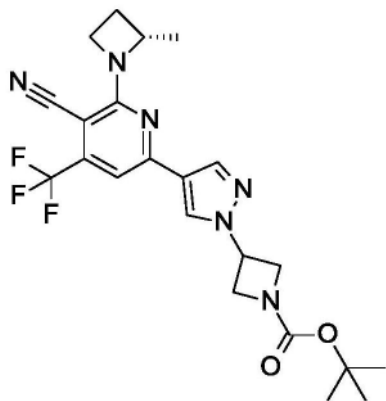


[0263] 基本上使用如制备22所述相同的方法,从1-四氢吡喃-4-基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡唑制备标题化合物。ES/MS(m/z):357, 359(M+H)。

[0264] 制备24

[0265] 3-[4-[5-氰基-6-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯

[0266]

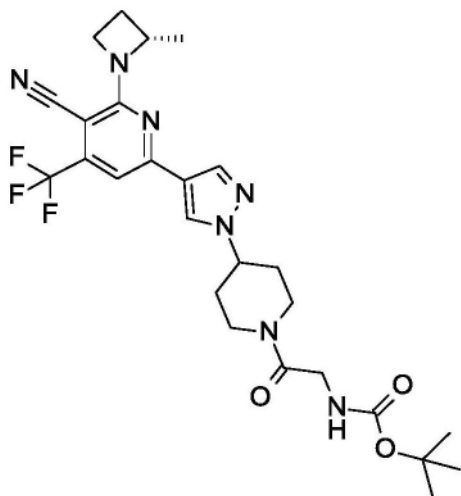


[0267] 将3-[4-[6-氯-5-氰基-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(603mg, 1.410mmol)溶于THF(18mL)中。加入[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-鎓盐(519mg, 1.711mmol)和DIPEA(0.75mL, 4.3mmol),然后将该混合物加热至130℃持续2.5小时。蒸发该溶剂,并将残余物经硅胶色谱用0-50%EtOAc/己烷梯度洗脱纯化,得到标题化合物(498mg, 76%),为无色油状物。ES/MS(m/z): 463(M+H), 461(M-H)。

[0268] 制备25

[0269] N-[2-[4-[4-[5-氰基-6-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]-1-哌啶基]-2-氧代-乙基]氨基甲酸叔丁酯

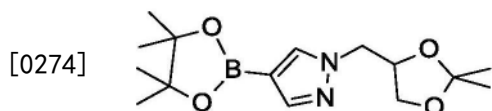
[0270]



[0271] 将2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-[1-(4-哌啶基)吡唑-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈(0.129g, 0.330mmol)溶于DCM(1mL)。加入2-(叔丁氧基羰基氨基)乙酸(69mg, 0.39mmol)、HATU(0.175g, 0.460mmol)和DIPEA(0.18mL, 1.0mmol)。RT下搅拌该混合物3小时,然后用饱和碳酸氢钠水溶液稀释,并用DCM萃取两次。合并有机物,经硫酸钠干燥,然后过滤并蒸发。将该残余物经反相色谱在C18结合的硅胶柱(溶剂A=10mM碳酸氢铵水溶液,溶剂B=ACN;梯度10-91%B)上纯化,得到标题化合物(129mg, 71%)。ES/MS(m/z): 548(M+H)。

[0272] 制备26

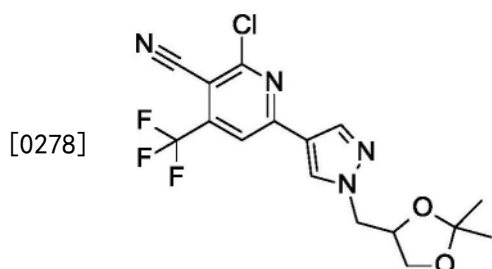
[0273] 1-(2,2-二甲基-[1,3]二氧杂环戊烷-4-基甲基)-4-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑



[0275] 将4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑(0.500g, 2.50mmol)悬浮于DMF(10mL),然后加入4-(氯甲基)-2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷(0.73mL,5.0mmol)和碳酸铯(1.64g,5.03mmol)。将该混合物加热至75°C过夜。用饱和碳酸氢钠水溶液稀释该反应物,并用EtOAc萃取。合并有机物,并用饱和NaCl水溶液洗涤四次,然后用硫酸钠干燥,过滤并蒸发,得到标题化合物(780mg),其不经进一步纯化继续使用。ES/MS(m/z):309(M+H)。

[0276] 制备27

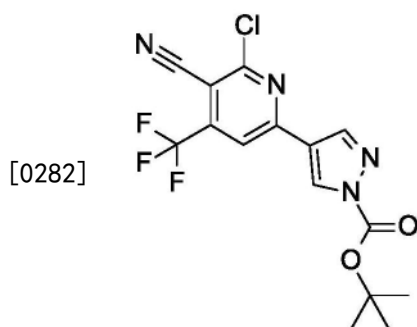
[0277] 2-氯-6-[1-[(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基]吡唑-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈



[0279] 将3-氰基-2,6-二氯-4-(三氟甲基)吡啶(0.352g,1.46mmol)溶于1,4-二噁烷(7.3mL)。加入1-(2,2-二甲基-[1,3]二氧杂环戊烷-4-基甲基)-4-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑(0.602g,1.89mmol)、四(三苯基膦)钯(0)(0.715g,0.619mmol)和2M碳酸钠水溶液(2.8mL,5.6mmol)。用氮气喷射该混合物15分钟,然后将该混合物加热至85°C持续1.5小时。用饱和碳酸氢钠水溶液稀释该反应物,并用EtOAc萃取两次。合并有机物,并用硫酸钠干燥,然后过滤并蒸发。将残余物经硅胶色谱用0-40%EtOAc/己烷梯度洗脱纯化,得到标题化合物(207mg,36%),为无色油状物。ES/MS(m/z):387,389(M+H)。

[0280] 制备28

[0281] 4-[6-氯-5-氰基-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-甲酸叔丁酯

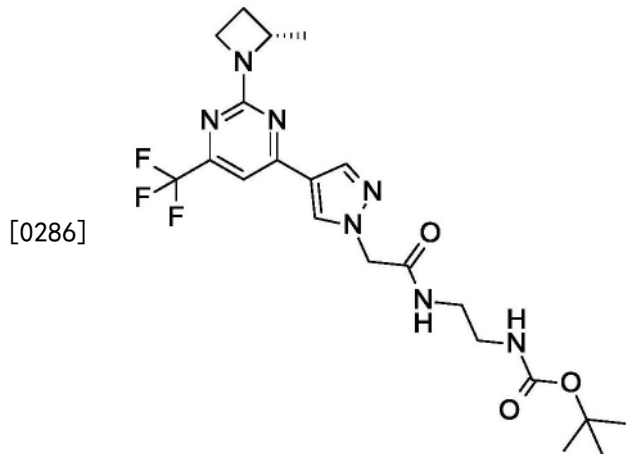


[0283] 在瓶中混合3-氰基-2,6-二氯-4-(三氟甲基)吡啶(195mg,0.785mmol)、4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡唑-1-甲酸叔丁酯(250mg,0.85mmol)、2M碳酸钠水溶液(2.5mL,5.0mmol)和1,4-二噁烷(4mL)。通过将氮气鼓入反应物在RT下将该反应物脱气,同时搅拌5分钟。加入[1,1'-二(二苯基膦)二茂铁]氯化钯(II)(185mg,0.240mmol),并将反应物加热至100°C持续2小时。加入水并用EtOAc萃取。合并萃取物,并真

空浓缩。将残余物经硅胶色谱用25-50%EtOAc/己烷梯度洗脱纯化,得到标题化合物(40mg, 14%),为橙色固体。ES/MS(m/z):271,273(M-H-BOC)。

[0284] 制备29

[0285] N-[2-[[2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡啶-1-基]乙酰基]氨基]乙基]氨基甲酸叔丁酯



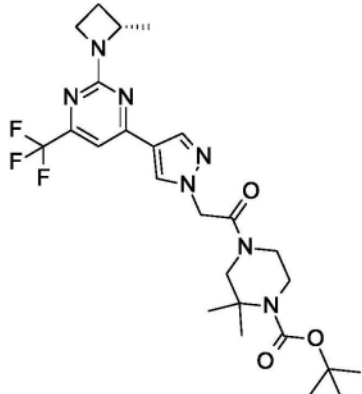
[0287] 向瓶中加入2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡啶-1-基]乙酸(200mg,0.586mmol)、DMF(2mL)、DIPEA(0.31mL,1.76mmol)、HATU(0.267g,0.703mmol)和N-BOC-乙二胺(0.102mL,0.644mmol)。RT下搅拌8小时,然后经制备型HPLC纯化[参数:溶剂-10mM碳酸氢铵水溶液pH10/5%MeOH(溶剂A)和ACN(溶剂B);预柱-Waters BEH HILIC 100×30mm5μm, 110Å 带有15×30mm BEH HILIC保护柱;柱:Phenomenex® Kinetex® EVO C18,100×30mm,5μm,100Å 带有15×30mm EVO保护柱(使用50°C的在线加热器);33-67%B梯度],得到标题化合物(179mg,63%)。ES/MS(m/z):484(M+H)。

[0288] 基本上使用如制备29所述相同的方法和适合的市售的胺制备表1中所示的化合物。

[0289] 表1

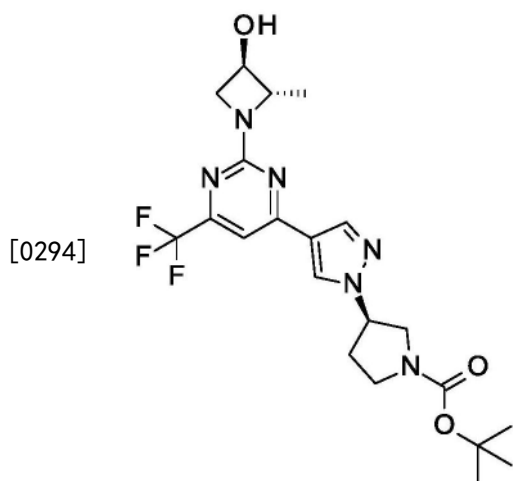
制备编号	命名	结构	ES/MS (m/z): (M+H)
30	(2 <i>S</i> )-2-甲基 -4-[2-[4-[2-[(2 <i>S</i> )-2-甲基氮杂 环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基) 嘧啶-4-基]吡唑-1-基]乙酰 基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯		524
31	(3 <i>S</i> )-3-甲基 -4-[2-[4-[2-[(2 <i>S</i> )-2-甲基氮杂 环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基) 嘧啶-4-基]吡唑-1-基]乙酰 基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯		524
32	(2 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-2,5-二甲基 -4-[2-[4-[2-[(2 <i>S</i> )-2-甲基氮杂 环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基) 嘧啶-4-基]吡唑-1-基]乙酰 基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯		538

[0290]

[0291]	<p>33</p> <p>2,2-二甲基</p> <p>-4-[2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]乙酰基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯</p>		538
--------	---	--	-----

[0292] 制备34

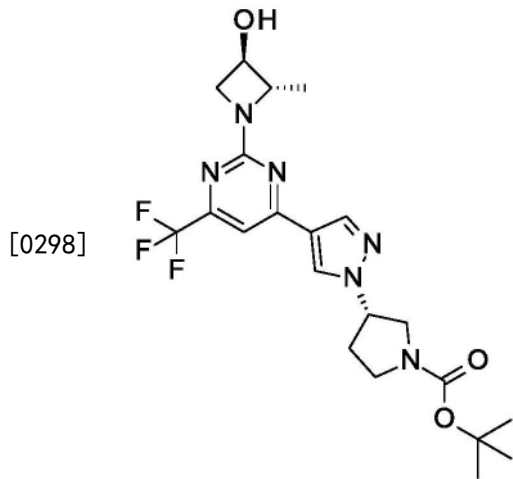
[0293] (3R)-3-[4-[2-[(2S,3R)-3-羟基-2-甲基-氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[0295] 在反应容器中,将2,4-二氯-6-(三氟甲基)嘧啶(600mg,2.71mmol)与(R)-3-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1g,2.67mmol)、2M碳酸钠水溶液(3mL,6mmol)和二(三苯基膦)二氯化钯(II)(50mg,0.068mmol)在1,4-二噁烷(6mL)中混合。用氮气脱气,并将该混合物加热至80℃持续2小时。用EtOAc(75mL)稀释,用水和饱和NaCl水溶液洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤并浓缩。在小瓶中将残余物与(2S,3R)-2-甲基氮杂环丁烷-3-醇[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(420mg,1.32mmol)在1,4-二噁烷(4mL)中的溶液和DIPEA(0.7mL,4mmol)混合。密封该瓶,在微波反应器中加热至120℃持续1小时。将反应混合物直接加载到硅胶上,并经硅胶色谱用0-80%EtOAc/己烷梯度洗脱纯化,得到标题化合物(570mg,92%),为灰白色泡沫。ES/MS(m/z):469[M+H]。

[0296] 制备35

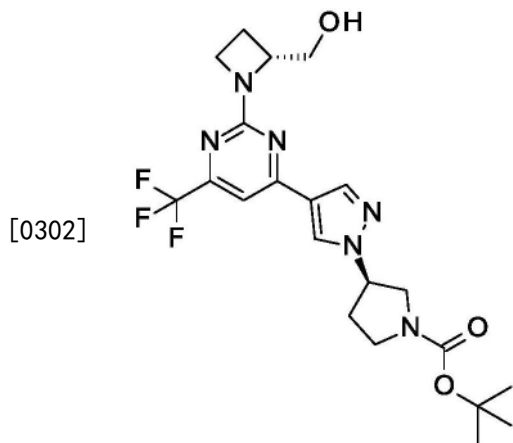
[0297] (3S)-3-[4-[2-[(2S,3R)-3-羟基-2-甲基-氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[0299] 基本上如制备34中所述方法制备标题化合物,使用(S)-3-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯。ES/MS(m/z):469 [M+H]。

[0300] 制备36

[0301] 3-[ (1R)-4-[2-[ (2R)-2-(羟基甲基)氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

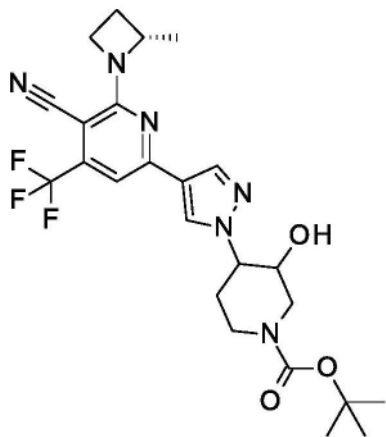


[0303] 基本上如制备34中所述方法制备标题化合物,使用(R)-2-氮杂环丁烷甲醇盐酸化物。ES/MS(m/z):469 [M+H]。

[0304] 制备37

[0305] 4-[4-[5-氰基-6-[ (2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]-3-羟基-哌啶-1-甲酸叔丁酯

[0306]

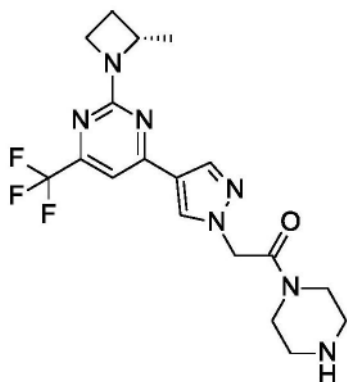


[0307] 向瓶中加入4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑(560mg, 2.9mmol)、7-氧杂-4-氮杂二环[4.1.0]庚烷-4-甲酸叔丁酯(580mg, 2.9mmol)、DMF(10mL)和碳酸铯(1.7g, 5.2mmol)。加热该混合物至80℃持续6小时。用水稀释该反应物,并用EtOAc萃取。合并该萃取物,并用硫酸钠干燥,过滤并浓缩,得到粗的3-羟基-4-[4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡唑-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(650mg)。将该物质放入RBF中,加入2,6-二氯-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈(300mg, 1.2mmol)、1,4-二噁烷(5mL)和2M碳酸钠水溶液(1.3mL, 2.6mmol)。通过将氮气鼓入反应物在RT下将反应物脱气,同时搅拌5分钟。加入四(三苯基膦)钯(0)(80mg, 0.06mmol),并再脱气3分钟。将反应物加热至80℃持续4小时,然后冷却至RT。加入DIPEA(0.6mL, 3mmol)和[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-鎓盐(410mg, 1.4mmol)。RT下搅拌30分钟,然后加热至80℃持续1小时。用水稀释该混合物,用EtOAc萃取。合并萃取物,并用硫酸钠干燥,过滤并浓缩。经反相色谱纯化该残余物(C18, 梯度10-100%ACN/10mM碳酸铵水溶液+5%甲醇),得到标题化合物(95mg, 15%)。ES/MS(m/z): 507(M+H)。

[0308] 实施例1

[0309] 2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]-1-哌嗪-1-基-乙酮

[0310]

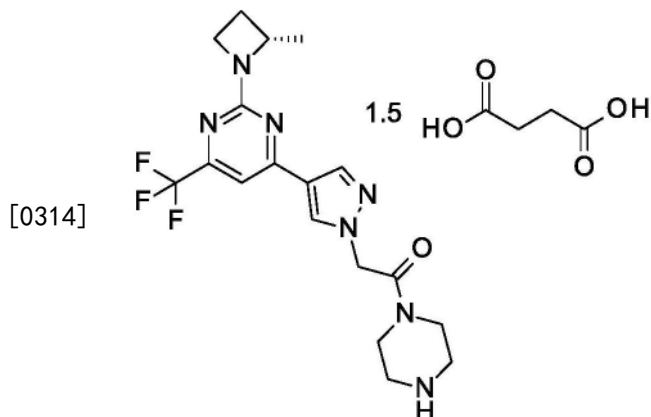


[0311] 在一个2L RBF中装入4-[2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]乙酰基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(47.0g, 89.5mmol), 并加入DCM(470mL)。将TFA(60mL, 778mmol)逐滴加入该反应混合物中,并在RT下搅拌19小时。加入更多TFA(8mL, 110mmol), 并继续搅拌18小时。将反应混合物缓慢加入装有冷却的NH<sub>4</sub>OH水溶液(35重量%, 150mL, 1300mmol)的烧瓶中。分离各层。用饱和NaCl水溶液洗涤有机层, 用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

干燥,过滤,并浓缩。将残余物溶于EtOAc(400mL),并真空浓缩。将残余物溶于IPA(400mL),并真空浓缩,得到标题化合物,为灰白色泡沫(32g,84%)。ES/MS(m/z):410(M+H)。

[0312] 实施例1a

[0313] 2-[4-[2-[ (2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]-1-哌嗪-1-基-乙酮倍半琥珀酸盐



[0315] 向反应器中加入2-[4-[2-[ (2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]-1-哌嗪-1-基-乙酮(959g,2.34mol),并然后加入IPA(11.5L)。加入琥珀酸(550g,4.69mol),并将该混合物加热至70-80℃,得到溶液。在70-80℃之间搅拌该混合物2小时,然后冷却至25℃持续6小时。过滤该混合物,并用IPA(1L)冲洗。在40-50℃干燥所得固体持续6小时,得到标题化合物(1070g,78%),为白色固体。<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.41(s,1H),8.18(s,1H),7.33(s,1H),5.24(s,2H),4.53-4.43(m,1H),4.06-3.93(m,2H),3.58-3.47(m,4H),2.95-2.82(m,4H),2.47-2.40(m,1H),2.37(s,6H-琥珀酸亚甲基,1.5当量),2.02-1.92(m,1H),1.50(d,J=4Hz,3H)。高分辨ES-MS(m/z):理论值410.1911(游离碱M+H),实测值410.1916。

[0316] 实施例1a的XRPD峰如表2中所列。

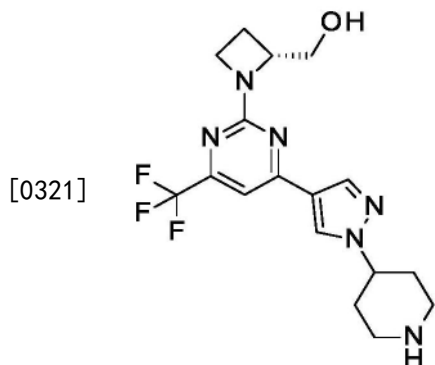
[0317] 表2:实施例1a的X-射线粉末衍射峰

[0318]

峰	角度(°2θ)	相对强度(%最强峰值)
1	12.1	27.5%
2	14.1	22.7%
3	16.3	33.3%
4	17.7	30.5%
5	18.9	100.0%
6	20.0	22.1%
7	20.5	53.8%
8	21.3	44.9%
9	22.0	36.6%
10	24.3	23.2%

[0319] 实施例2

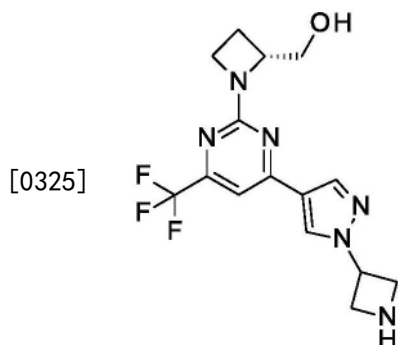
[0320] [(2R)-1-[4-[1-(4-哌啶基)吡唑-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]氮杂环丁烷-2-基]甲醇



[0322] 将4-[4-[2-[(2R)-2-(羟基甲基)氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡啶-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(2.55g, 5.28mmol)溶于DCM(50mL), 并加入TFA(10mL, 132mmol)。RT下搅拌该混合物30分钟, 然后将其直接施加于SCX树脂。用MeOH洗涤该树脂, 然后用氨在MeOH中的溶液(7M)洗涤。合并包含所需产物的流份, 并真空浓缩。将残余物经硅胶色谱用0-9%(7M氨/MeOH)/DCM梯度洗脱纯化, 得到标题化合物, 为白色粉末(2.02g, 94%)。ES/MS(m/z): 383(M+H); 381(M-H)。

[0323] 实施例3

[0324] [(2R)-1-[4-[1-(氮杂环丁烷-3-基)吡啶-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]氮杂环丁烷-2-基]甲醇

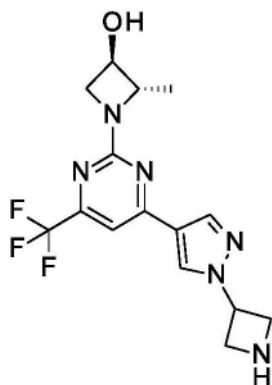


[0326] 将3-[4-[2-[(2R)-2-(羟基甲基)氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡啶-1-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(153mg, 0.336mmol)溶于DCM(15mL), 并加入TFA(5mL, 66mmol)。RT下搅拌该混合物1小时, 然后RT下减压浓缩。将残余物与DCM共蒸发, 并真空干燥。残余物经制备型HPLC纯化(参数: 溶剂A=10mM碳酸氢铵水溶液pH 10/5%MeOH, 溶剂B=ACN; 柱: Phenomenex® Kinetex® EVO C18, 100×30mm, 5μm, 110Å, 带有15×30mm BEH HILIC保护柱; 柱: Phenomenex® Kinetex® EVO C18, 100×30mm, 5μm, 100Å, 带有15×30mm EVO保护柱), 得到标题化合物(67mg, 40%), 为白色粉末。ES/MS(m/z): 355(M+H); 353(M-H)。

[0327] 实施例4

[0328] (2S, 3R)-1-[4-[1-(氮杂环丁烷-3-基)吡啶-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]-2-甲基-氮杂环丁烷-3-醇

[0329]

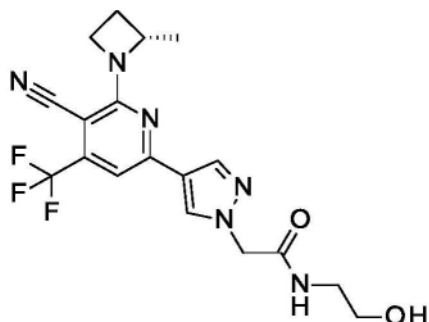


[0330] 将3-[4-[2-[(2S,3R)-3-羟基-2-甲基-氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡啶-1-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(153mg, 0.336mmol)溶于DCM(15mL), 并加入TFA(5mL, 66mmol)。RT下搅拌该混合物1小时, 然后RT下减压浓缩。将残余物与DCM共蒸发, 并真空干燥。残余物经制备型HPLC纯化(参数: 溶剂A=10mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ 水溶液, 含5% MeOH, pH 10, 溶剂B=ACN; 柱- **Phenomenex<sup>®</sup> Kinetex<sup>®</sup> EVO C18**, 100×30mm, 5 $\mu\text{m}$ , **110Å**, 带有15×30mm EVO保护柱), 得到标题化合物(79mg, 57%), 为白色粉末。ES/MS (m/z): 355 (M+H); 353 (M-H)。

[0331] 实施例5

[0332] 2-[4-[5-氰基-6-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡啶-1-基]-N-(2-羟基乙基)乙酰胺

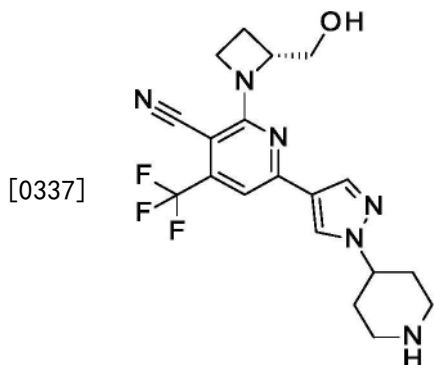
[0333]



[0334] 将2-[4-[5-氰基-6-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡啶-1-基]乙酸(351mg, 0.96mmol)溶于DMF(2mL), 并加入HATU(482mg, 1.24mmol)、乙醇胺(0.1mL, 2mmol)和DIPEA(0.5mL, 3mmol)。RT下搅拌该混合物2天。反应混合物直接经反相色谱(C18-结合硅胶)用5-95% MeCN/ $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 水溶液(10mM)梯度洗脱纯化, 得到标题化合物(110mg, 28%)。ES/MS (m/z): 409 (M+H); 407 (M-H)。

[0335] 实施例6

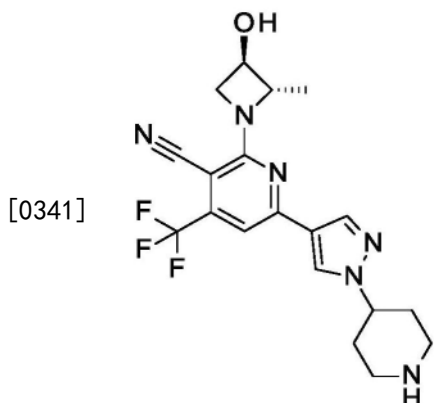
[0336] 2-[(2R)-2-(羟基甲基)氮杂环丁烷-1-基]-6-[1-(4-哌啶基)吡啶-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈



[0338] 将4-[4-[5-氰基-6-[(2R)-2-(羟基甲基)氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡啶-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(264mg, 0.52mmol)溶于DCM(2mL)。一次性将TFA(2mL)加入反应物中,并搅拌1小时。浓缩该反应物,用DCM稀释,并浓缩反应混合物。用MeOH(1mL)稀释该反应物质,并加入饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液,使其pH~8。将反应混合物用反相色谱纯化(40g, C18, 梯度为20-100% ACN/10mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液,含5% MeOH),得到标题化合物(135.5mg, 64%)。ES/MS(m/z): 407(M+H)。

[0339] 实施例7

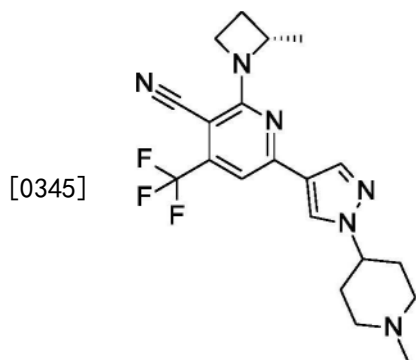
[0340] 2-[(2S, 3R)-3-羟基-2-甲基-氮杂环丁烷-1-基]-6-[1-(4-哌啶基)吡啶-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈



[0342] 将4-[4-[5-氰基-6-[(2S, 3R)-3-羟基-2-甲基-氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡啶-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(220mg, 0.43mmol)溶于DCM(2mL)。将TFA(2mL)一次性加入反应物中,并搅拌1小时。浓缩反应物,用DCM稀释,并浓缩反应混合物。用MeOH(1mL)稀释反应物质,并加入饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液,使其pH~2。反应混合物用反相色谱纯化(40g, C18, 梯度为20-100% ACN/10mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液,含5% MeOH),得到标题化合物(127mg, 72%)。ES/MS(m/z): 407(M+H)。

[0343] 实施例8

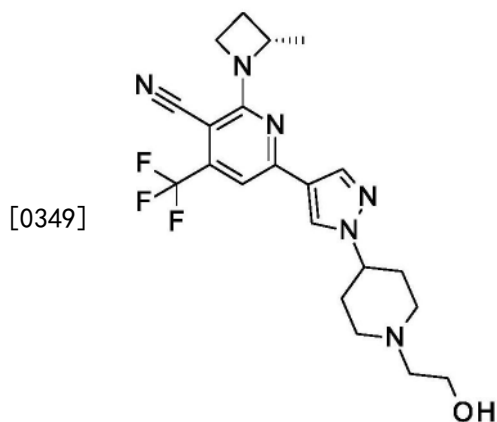
[0344] 2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-[1-(1-甲基-4-哌啶基)吡啶-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈



[0346] 向瓶中加入2-氯-6-[1-(1-甲基-4-哌啶基)吡啶-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈(261mg, 0.68mmol)、[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莪烷-1-基]甲磺酸(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-鎓盐(338mg, 1.1mmol)、DIPEA(0.4mL, 2mmol)和THF(3.7mL)。密封该瓶,并加热至130℃持续2小时。将反应混合物在DCM和1N HCl水溶液之间分配。用1N NaOH中和水相,然后用DCM萃取三次。合并有机萃取物。用硫酸钠干燥,过滤,并真空浓缩。在50℃下在真空炉中干燥该物质1小时。将残余物经硅胶色谱用5-10% MeOH/DCM梯度洗脱纯化,合并包含标题化合物的流份,浓缩并在真空炉中在50℃干燥过夜。将残余物经制备型HPLC纯化(参数:溶剂A=10mM碳酸氢铵水溶液,含5% MeOH,溶剂B=ACN;柱-Xbridge™ 30mm×75mm 5μm, 45mL/min;梯度5-100%B),得到标题化合物(73mg, 26%)。ES/MS(m/z): 405(M+H)。

[0347] 实施例9

[0348] 6-[1-[1-(2-羟基乙基)-4-哌啶基]吡啶-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈



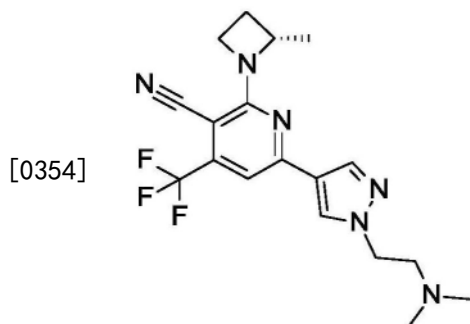
[0350] 向20mL瓶中加入2-氯-6-[1-(4-哌啶基)吡啶-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈盐酸化物(304.3mg, 0.63mmol)、2-[叔丁基(二甲基)硅烷基]氧基乙醛(219mg, 1.19mmol)、DIPEA(0.52mL, 3.1mmol)、三乙酰氧基硼氢化钠(277.2mg, 1.3mmol)和DCM(2.0mL)。RT下搅拌反应混合物2小时。加入2-[叔丁基(二甲基)硅烷基]氧基乙醛(219mg, 1.2mmol),并在RT下搅拌过夜。加入碳酸氢钠饱和水溶液,并用DCM萃取两次。合并有机相,用饱和NaCl水溶液洗涤,经硫酸钠干燥,过滤,并真空浓缩。将残余物经硅胶色谱用40-70% EtOAc在己烷中的溶液梯度洗脱纯化,得到6-[1-[1-[2-[叔丁基(二甲基)硅烷基]氧基乙基]-4-哌啶基]吡啶-4-基]-2-氯-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈(220mg, 58%)。

[0351] 向小瓶中加入6-[1-[1-[2-[叔丁基(二甲基)硅烷基]氧基乙基]-4-哌啶基]吡啶-4-基]-2-氯-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈(175mg, 0.289mmol)、[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧

代-降莰烷-1-基]甲磺酸(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-鎓盐(136mg, 0.45mmol)、DIPEA(0.15mL, 0.85mmol)和THF(1.5mL, 18mmol)。密封该瓶, 并加热至130°C持续60分钟。将反应混合物在EtOAc和1N HCl之间分配, 除去有机层, 并用EtOAc萃取水层三次。合并有机物, 用饱和NaCl水溶液洗涤, 用硫酸钠干燥, 过滤, 并真空浓缩。将残余物溶于THF(1.3mL), 并将该混合物冷却至0°C, 然后逐滴加入1M四丁基氟化铵在THF中的溶液(0.37mL, 0.37mmol)。将反应物加热至RT, 并搅拌过夜。真空浓缩反应混合物。将残余物经硅胶色谱用100%己烷, 然后用1-10%(0.7N氨在MeOH中的溶液)/DCM梯度洗脱纯化, 得到标题化合物(93mg, 73%)。ES/MS(m/z): 435(M+H)。

[0352] 实施例10

[0353] 6-[1-[2-(二甲氨基)乙基]吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈

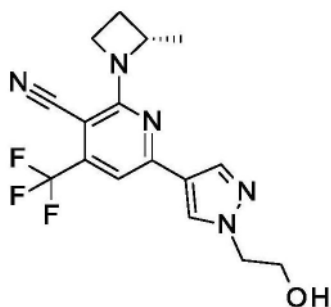


[0355] 向反应瓶中加入2,6-二氯-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈(250mg, 1.04mmol)、N,N-二甲基-2-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑-1-基)乙胺(271mg, 1.07mmol)、1,4-二噁烷(10mL)、碳酸钾水溶液(3M, 1.04mL, 3.12mmol)和[1,1'-二(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钡(II)(40mg, 0.052mmol)。密封该瓶, 并加热至80°C持续2小时, 然后将该混合物冷却至RT。经3g **Celite**<sup>®</sup>柱过滤用EtOAc洗脱。经蒸发浓缩滤液。向残余物中加入[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-鎓盐(378mg, 1.24mmol)、DIPEA(0.9mL, 5.2mmol)和DMSO(10mL)。将该混合物加热至120°C持续6小时。用水稀释反应混合物, 并加样至**Strata-XL**<sup>®</sup>柱上(8g; 预先用MeOH洗涤, 干燥, 然后用水洗涤)。用水洗涤该柱, 然后用1:1MeOH/水洗涤, 并弃去洗脱物。用MeOH洗涤产物, 然后用DCM洗涤, 最后用DCM/MeOH 1:1混合物洗涤, 合并洗脱的流份。浓缩包含标题化合物的合并流份。将残余物经制备型HPLC纯化(参数: 溶剂A=10mM碳酸氢铵水溶液, 含5%MeOH, pH 10, 溶剂B=ACN; 预柱-Waters BEH HILIC 100×30mm 5μm, **110Å**, 带有15×30mm BEH HILIC保护柱; 柱:**Phenomenex**<sup>®</sup> **Kinetex**<sup>®</sup> EVO C18, 100×30mm, 5μm, **100Å**, 带有15×30mm EVO保护柱(使用50°C的在线加热器); 33-100%B梯度), 得到标题化合物(53mg, 13%)。ES/MS(m/z): 379(M+H)。

[0356] 实施例11

[0357] 6-[1-(2-羟基乙基)吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈

[0358]

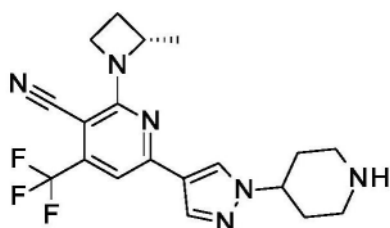


[0359] 基本上使用如实施例10所述方法制备标题化合物,使用2-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑-1-基)乙醇。ES/MS (m/z): 352 (M+H)。

[0360] 实施例12

[0361] 2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-[1-(4-哌啶基)吡唑-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈

[0362]

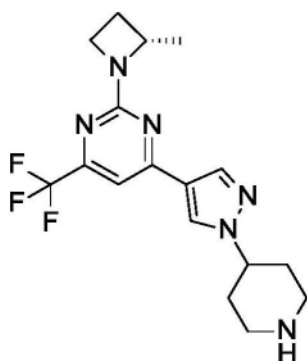


[0363] 将4-[4-[5-氰基-6-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(1.99g, 4.06mmol)溶于DCM(50mL),并缓慢加入TFA(10mL, 132.3mmol)。RT下搅拌30分钟,然后将反应混合物加样至四个10g SCX柱上。用MeOH洗涤柱,然后用7N的氨的MeOH溶液洗涤。真空浓缩该碱性洗涤物。将残余物经反相色谱在C18结合的硅胶上纯化(溶剂A:10mM碳酸氢铵,含5%MeOH;溶剂B:ACN;梯度:10-71%溶剂B),得到标题化合物(709mg, 45%),为白色固体。ES/MS (m/z): 391 (M+H)。

[0364] 实施例13

[0365] 2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-[1-(4-哌啶基)吡唑-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶

[0366]



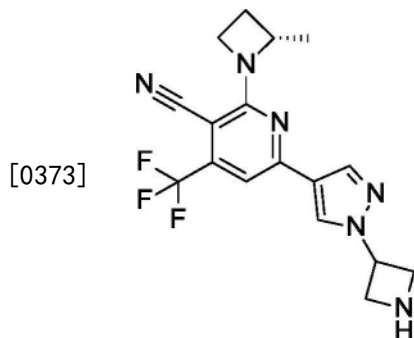
[0367] 将4-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(0.213g, 0.457mmol)溶于DCM(5mL),并加入TFA(1mL)。搅拌该混合物25分钟,然后将反应混合物直接加样至10g SCX柱上。用MeOH洗涤该柱,并随后用7N氨的MeOH溶液洗脱。浓缩该碱性洗涤物,得到标题化合物(129mg, 77%)。ES/MS (m/z): 367 (M+H)。

[0368] 基本上使用如实施例13中所述方法以及适合的被保护的胺制备表3中的实施例。

[0369] 表3

实施例编号	命名	结构	ES/MS (m/z): (M+H)
14	(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )-2-甲基-1-[4-[1-[(3 <i>R</i> )-吡咯烷-3-基]吡唑-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]氮杂环丁烷-3-醇		369
15	(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )-2-甲基-1-[4-[1-[(3 <i>S</i> )-吡咯烷-3-基]吡唑-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]氮杂环丁烷-3-醇		369
16	[(2 <i>R</i> )-1-[4-[1-[(3 <i>R</i> )-吡咯烷-3-基]吡唑-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]氮杂环丁烷-2-基]甲醇		369

[0371] 实施例17

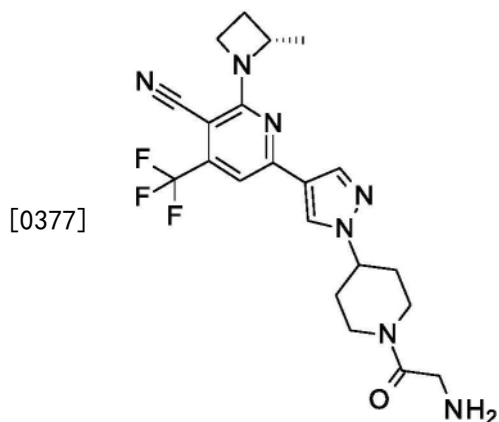
[0372] 6-[1-(氮杂环丁烷-3-基)吡唑-4-基]-2-[(2*S*)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈

[0374] 基本上使用如实施例12所述相同的方法制备标题化合物,从3-[4-[5-氰基-6-[(2*S*)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯开始。经制备型HPLC纯化(参数:溶剂A-10mM碳酸氢铵水溶液,含5%MeOH;溶剂B-ACN;梯度35-59%B;柱: **Phenomenex® Kinetex® EVO C18**, 100×30mm, 5μm),得到标题化

合物。ES/MS (m/z) : 363 (M+H)。

[0375] 实施例18

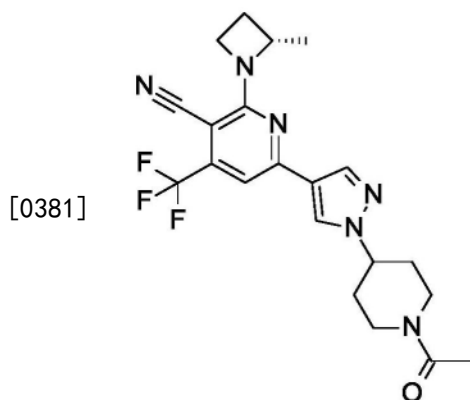
[0376] 6-[1-[1-(2-氨基乙酰基)-4-哌啶基]吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈



[0378] 基本上使用如实施例12所述相同的方法制备标题化合物,从N-[2-[4-[4-[5-氰基-6-[ (2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]-1-哌啶基]-2-氧代-乙基]氨基甲酸叔丁酯开始。经制备型HPLC纯化(参数:溶剂A-10mM碳酸氢铵水溶液,含5%MeOH;溶剂B-MeOH;梯度20-50%B,55mL/min;柱-Phenomenex® Kinetex® EVO C18,30mm×250mm,5μm)。ES/MS (m/z) : 448 (M+H)。

[0379] 实施例19

[0380] 6-[1-(1-乙酰基-4-哌啶基)吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈



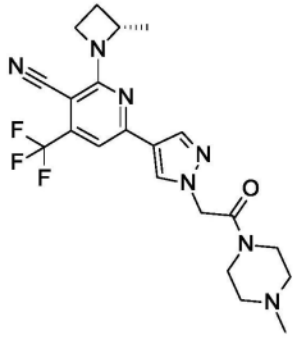
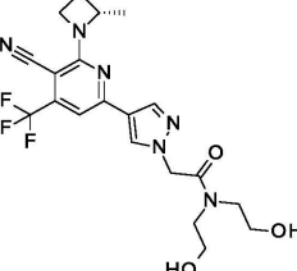
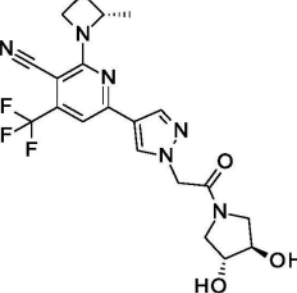
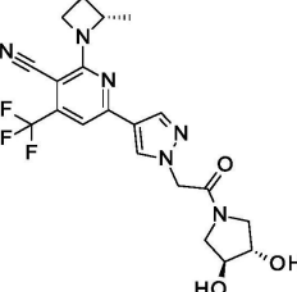
[0382] 将2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-[1-(4-哌啶基)吡唑-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈(实施例12)(0.111g,0.284mmol)溶于DCM(1mL),并加入吡啶(0.026mL,0.32mmol)。将该混合物冷却至0℃,并加入乙酰氯(0.024mL,0.34mmol)。将该混合物加温至RT,并搅拌30分钟。冷却该混合物至0℃,并加入吡啶(0.026mL,0.32mmol)和乙酰氯(0.024mL,0.34mmol)。加温至RT,并再搅拌30分钟。用饱和碳酸氢钠水溶液稀释反应物,并用DCM萃取两次。合并有机物,用硫酸钠干燥,过滤并蒸发。将残余物经制备型HPLC纯化(参数:溶剂A-10mM碳酸氢铵水溶液,含5%MeOH;溶剂B-MeOH;梯度25-55%B,55mL/min;柱-Phenomenex® Kinetex® EVO C18,30mm×250mm,5μm),得到标题化合物(67mg,55%)。

ES/MS (m/z) : 433 (M+H)。

[0383] 实施例20-23

[0384] 基本上使用实施例5的方法和适合的羧酸以及市售的胺制备表4中的实施例。

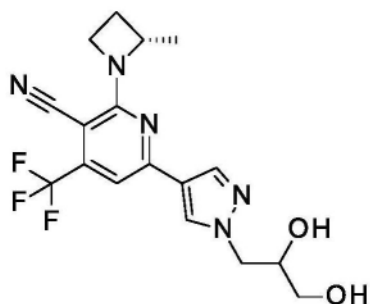
[0385] 表4

[0386] 实施例 编号	命名	结构	ES/MS (m/z): (M+H)
	20 2-[(2 <i>S</i> )-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-[1-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]吡唑-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈		448
[0387]	21 2-[4-[5-氟基-6-[(2 <i>S</i> )-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]- <i>N,N</i> -二(2-羟基乙基)乙酰胺		453
	22 6-[1-[2-[(3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> )-3,4-二羟基吡咯烷-1-基]-2-氧代-乙基]吡唑-4-基]-2-[(2 <i>S</i> )-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈		451
	23 6-[1-[2-[(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> )-3,4-二羟基吡咯烷-1-基]-2-氧代-乙基]吡唑-4-基]-2-[(2 <i>S</i> )-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈		451

[0388] 实施例24

[0389] 6-[1-(2,3-二羟基丙基)吡唑-4-基]-2-[(2*S*)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈

[0390]



[0391] 将2-氯-6-[1-[(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基]吡唑-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈(0.204g, 0.527mmol)溶于THF(6mL)。向该混合物中加入盐酸水溶液(2M, 3mL, 6mmol),并在RT下搅拌1.5小时。用饱和碳酸氢钠水溶液稀释该混合物,并用EtOAc萃取两次。合并有机物,并用硫酸钠干燥,然后过滤,并蒸发,得到粗的2-氯-6-[1-(2,3-二羟基丙基)吡唑-4-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈(183mg)。将该粗物质整体溶于DMF(2mL),然后加入[(1R,4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-鎓盐(222mg, 0.73mmol)和DIPEA(0.37mL, 2.1mmol)。将该混合物在微波反应器中于130℃下加热2.5小时。将反应混合物经制备型HPLC纯化(参数:溶剂A-10mM碳酸氢铵水溶液,含5%MeOH;溶剂B-ACN;梯度20-50%B, 60mL/min;柱-Phenomenex® Kinetex® EVO C18, 30mm×250mm, 5μm),得到标题化合物(102mg, 51%)。ES/MS(m/z):382(M+H)。

[0392] 实施例24a和24b

[0393] 实施例24a:6-[1-(2,3-二羟基丙基)吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈-异构体1

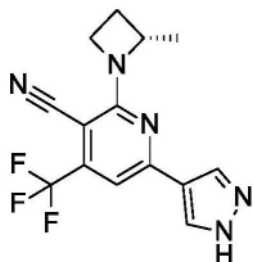
[0394] 实施例24b:6-[1-(2,3-二羟基丙基)吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈-异构体2

[0395] 使用手性SFC分离6-[1-(2,3-二羟基丙基)吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈(86mg)的异构体(参数:柱-Phenomenex® Lux® Cellulose-2, 21×250mm;柱温-40℃;溶剂-15%EtOH/CO<sub>2</sub>, 80mL/min),获得标题化合物[异构体1,首个洗脱异构体:35mg, ES/MS(m/z):382(M+H);异构体2,第二个洗脱异构体:39mg, ES/MS(m/z):382(M+H)]。分析型手性SFC(参数:柱-Phenomenex® Lux® Cellulose-2, 4.6×150mm;溶剂-15%EtOH/CO<sub>2</sub>, 5mL/min):异构体1-保留时间3.10min, 95.6% ee;异构体2-保留时间3.52min, 94.4% ee。

[0396] 实施例25

[0397] 2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(1H-吡唑-4-基)-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈

[0398]

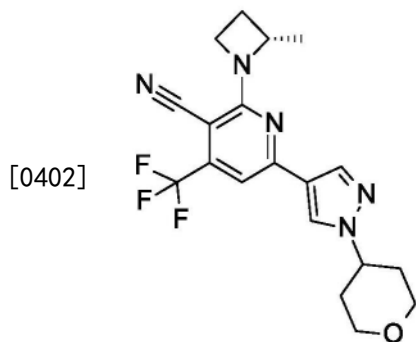


[0399] 在一个瓶中混合4-[6-氯-5-氰基-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-甲酸叔丁酯

(75mg, 0.20mmol)、1,4-二噁烷(1.5mL)和EtOH(1mL)。加入DIPEA(130mg, 1.0mmol)和[(1R, 4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-鎓盐(117mg, 0.39mmol)。将反应物在微波反应器中于200℃加热2小时。真空浓缩反应物。将残余物经反相色谱在C18结合的硅胶上使用10-100%ACN/水(含0.1%甲酸)梯度洗脱纯化,得到标题化合物(35mg, 41%),为浅黄色固体。ES/MS(m/z): 308(M+H), 306(M-H)。

[0400] 实施例26

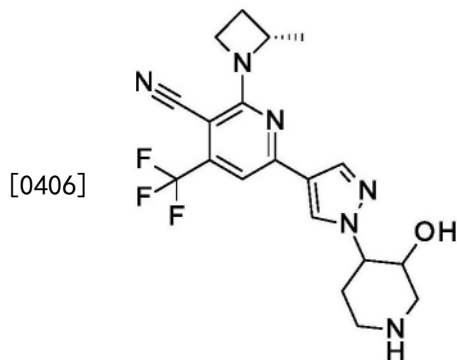
[0401] 2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(1-四氢吡喃-4-基吡唑-4-基)-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈



[0403] 在一个瓶中混合2-氯-6-(1-四氢吡喃-4-基吡唑-4-基)-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈(105mg, 0.29mmol)、1,4-二噁烷(1mL)、EtOH(0.5mL)、DIPEA(0.2mL, 1mmol)和[(1R, 4S)-7,7-二甲基-2-氧代-降莰烷-1-基]甲磺酸(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-鎓盐(100mg, 0.33mmol)。将反应物在微波反应器中于150℃加热2小时。真空浓缩反应物。将残余物经硅胶色谱使用40-50%EtOAc/己烷梯度洗脱纯化,得到标题化合物(88mg, 76%),为淡黄色固体。ES/MS(m/z): 392(M+H)。

[0404] 实施例27

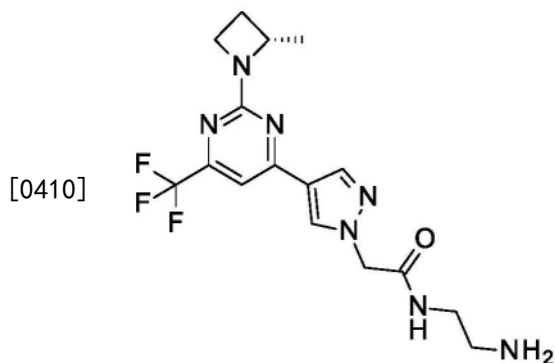
[0405] 6-[1-(3-羟基-4-哌啶基)吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)吡啶-3-甲腈



[0407] 将4-[4-[5-氰基-6-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶基]吡唑-1-基]-3-羟基-哌啶-1-甲酸叔丁酯(85mg, 0.17mmol)溶于DCM(1mL),然后加入TFA(0.5mL),并搅拌5分钟。真空浓缩反应物。将残余物经反相色谱纯化(C18, 梯度20-100%ACN/10mM碳酸铵水溶液+5%甲醇梯度),得到标题化合物(27mg, 40%),为白色固体。ES/MS(m/z): 407(M+H)。

[0408] 实施例28

[0409] N-(2-氨基乙基)-2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]乙酰胺

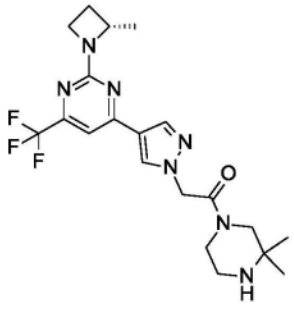
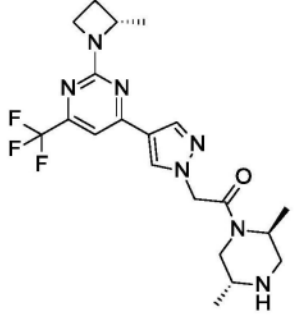


[0411] 将N-[2-[[2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]乙酰基]氨基]乙基]氨基甲酸叔丁酯(340mg)溶于纯TFA(5mL)中,并在环境温度下搅拌。2分钟后,用NaOH水溶液猝灭直至碱性。用DCM和EtOAc萃取。合并萃取物,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。残余物经制备型HPLC纯化[参数:溶剂-10mM碳酸氢铵水溶液pH 10/5% MeOH(溶剂A)和ACN(溶剂B);预柱-Waters BEH HILIC 100×30mm 5μm, 110Å带有15×30mm BEHHILIC保护柱;柱:Phenomenex® Kinetex® EVO C18, 100×30mm, 5μm, 100Å带有15×30mm EVO保护柱(使用50℃的在线加热器);14-48%B梯度],得到标题化合物(45mg, 17%)。ES/MS(m/z):384(M+H)。

[0412] 基本上使用如实施例28所述相同的方法和合适的被保护的胺制备如表5中所示的化合物。

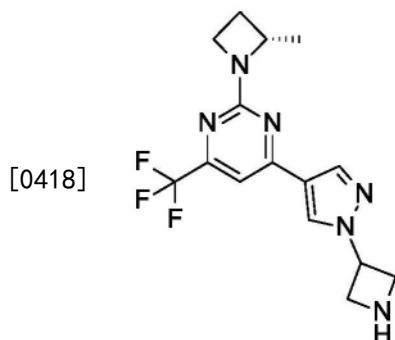
[0413] 表5

实施例编号	命名	结构	ES/MS (m/z): (M+H)
29	2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]-1-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]乙酰胺		424
30	2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]-1-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基]乙酰胺		424

31	1-(3,3-二甲基哌嗪-1-基)-2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]乙酮		438
[0415] 32	1-[(2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-2-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]乙酮		438

[0416] 实施例33

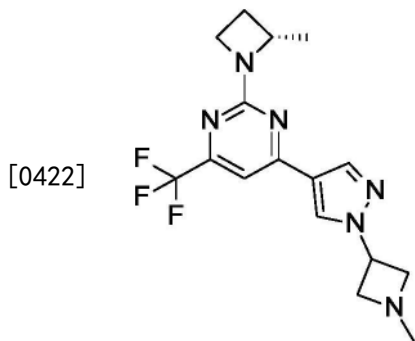
[0417] 4-[1-(氮杂环丁烷-3-基)吡唑-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶



[0419] 将3-[4-[2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基]吡唑-1-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(530mg, 1.21mmol)溶于DCM(50mL)。加入TFA(6mL),并在RT下搅拌该混合物1小时。真空浓缩该混合物,得到粗的标题化合物。将该物质的一半经制备型HPLC纯化[参数:溶剂-10mM碳酸氢铵水溶液pH 10/5%MeOH(溶剂A)和ACN(溶剂B);预柱-Waters BEH HILIC 100×30mm 5μm, 110Å带有15×30mm BEH HILIC保护柱;柱:Phenomenex® Kinetex® EVO C18, 100×30mm, 5μm, 100Å带有15×30mm EVO保护柱(使用50℃的在线加热器);23-58%B梯度],得到标题化合物(162mg, 80%,来自一半起始物质的产率),为白色固体。ES/MS(m/z):339(M+H)。

[0420] 实施例34

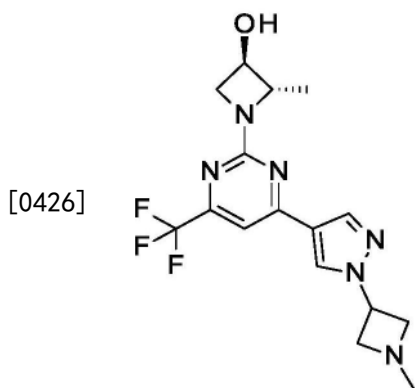
[0421] 2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-4-[1-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)吡唑-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶



[0423] 将一半粗的实施例33中制备的4-[1-(氮杂环丁烷-3-基)吡啶-4-基]-2-[(2S)-2-甲基氮杂环丁烷-1-基]-6-(三氟甲基)嘧啶(0.6mmol)溶于MeOH(6mL)。加入乙酸(0.1mL)和3.45M甲醛水溶液(1mL),并在RT下搅拌该混合物30分钟。加入三乙酰氧基硼氢化钠(300mg, 1.4mmol),并搅拌该混合物2小时。真空浓缩该混合物,并将残余物经制备型HPLC纯化[参数:溶剂-10mM碳酸氢铵水溶液pH 10/5%MeOH(溶剂A)和ACN(溶剂B);预柱-Waters BEH HILIC 100×30mm 5 $\mu$ m, 110Å带有15×30mm BEH HILIC保护柱;柱:Phenomenex® Kinetex® EVO C18, 100×30mm, 5 $\mu$ m, 100Å带有15×30mm EVO保护柱(使用50°C的在线加热器);33-67%B梯度],得到标题化合物(128mg, 61%,来自一半实施例33中的起始物质的产率),为白色固体。ES/MS(m/z):353(M+H)。

[0424] 实施例35

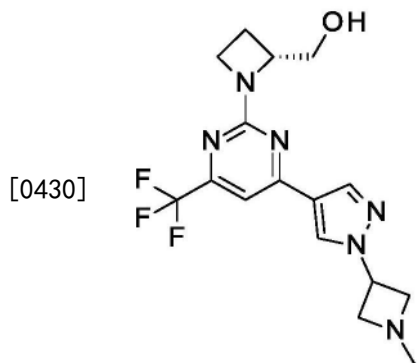
[0425] (2S, 3R)-2-甲基-1-[4-[1-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)吡啶-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]氮杂环丁烷-3-醇



[0427] 基本上使用如实施例34所述相同的方法制备标题化合物,从(2S, 3R)-1-[4-[1-(氮杂环丁烷-3-基)吡啶-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]-2-甲基-氮杂环丁烷-3-醇(实施例4)开始。ES/MS(m/z):369(M+H), 367(M-H)。

[0428] 实施例36

[0429] [(2R)-1-[4-[1-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)吡啶-4-基]-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基]氮杂环丁烷-2-基]甲醇



[0431] 基本上使用如实施例34所述相同的方法制备标题化合物,从[(2R)-1-[4-[1-(氮杂环丁烷-3-基)吡唑-4-基]-6-(三氟甲基)咪唑-2-基]氮杂环丁烷-2-基]甲醇(实施例3)开始。ES/MS(m/z):369(M+H),367(M-H)。

[0432] 测定

[0433] 测定对于人KHK-C和人KHK-A的KHK酶活性

[0434] 对KHK C或A活性抑制的固有效力可以使用测量F1P产生的酶测定进行测量。在DMSO中准备化合物,并以10点浓度曲线进行测试,以在96孔板中产生范围为20 $\mu$ M至1.02nM的化合物的3倍系列稀释液。在测定缓冲液[50mM 4-(2-羟基乙基)哌嗪-1-乙磺酸(HEPES),10mM氯化钾,100mM氯化镁,2mM三(2-羧基乙基)膦(TCEP),0.01%正辛基葡糖苷]中准备酶,并在RT下与化合物孵育15min。反应以100 $\mu$ L的体积进行,其中包含底物浓度为果糖(对于KHK-C测定为250 $\mu$ M,对于KHK-A测定为1.25mM)以及ATP(对于两种亚型均为150 $\mu$ M);将其在RT进一步孵育20min。然后通过添加终止缓冲液停止反应,终止缓冲液包含0.2%甲酸和1 $\mu$ g/ml的 $^{13}\text{C}_6$ -果糖-6-磷酸( $^{13}\text{C}_6$ -F6P)内标。将板保存在-20 $^{\circ}\text{C}$ ,直到进行RapidFire MS分析为止。

[0435] 用于F1P定量的RapidFire MS分析

[0436] 将具有三个HPLC四元泵的Agilent 300RapidFire自动提取系统(Agilent,Santa Clara,CA)偶联至配备有电喷雾电离(ESI)接口源的Agilent 6495三重四极杆质谱仪(Agilent Technologies,Santa Clara,CA)。该RapidFire Mass Spec系统配备有可重复使用的RapidFire C18(C型)固相萃取(SPE)短柱(cartridge)(G9205A)。

[0437] 用于样品加载和洗涤的溶剂A是6mM辛酸(Acros Organics 129495000),其使用乙酸调至pH 5.0。用于样品洗脱的溶剂B是20%的在ACN中的水,其含有0.1%的甲酸。通过在真空下直接从多孔板中抽吸10 $\mu$ L到收集环上来依次分析样品。将10 $\mu$ L样品加载到C18短柱上,并使用溶剂A以1.25mL/min的流速洗涤5000ms。然后将保留的分析物使用溶剂B以1.25mL/min的流速洗脱5000ms到质谱仪。将系统使用溶剂A以1.25mL/min的流速重新平衡2000ms。

[0438] 三重四极杆质谱仪配备有ESI源,以阴离子模式[M-H]<sup>-</sup>使用选择的反应监测(SRM)监测分析物。在m/z 259.02/96.9处监测F1P,在m/z 264.99/97处监测 $^{13}\text{C}_6$ -果糖-6-磷酸。使用 $^{13}\text{C}_6$ -果糖-6-磷酸作为内标计算对F1P的面积比的值。

[0439] 基本上如上所述测试实施例1-36的化合物:

[0440] 表6

实施例编号	hKHK-C IC <sub>50</sub> (nM)	hKHK-A IC <sub>50</sub> (nM)	
[0441]	1	20.7 ± 3.88 (n=4)	24.2 ± 2.9 (n=4)
	2	134 ± 43.1 (n=7)	98.2 ± 25.0 (n=7)
	3	41.9 ± 6.77 (n=3)	45.4 ± 29.5 (n=4)
	4	14.4 ± 1.12 (n=3)	11.4 ± 4.34 (n=4)
	5	57.0 ± 32.6 (n=5)	37.7 ± 19.9 (n=5)
	6	25.7 ± 5.14 (n=2)	15.4 ± 5.05 (n=3)
	7	18.1 ± 4.85 (n=2)	6.02 ± 2.27 (n=3)
	8	56.1 ± 62.5 (n=3)	25.2 ± 15.7 (n=3)
	9	6.26 (n=1)	3.58 (n=1)
	10	418 ± 503 (n=3)	246 ± 248 (n=3)
	11	8.03 (n=1)	5.23 (n=1)
	12	3.87 ± 0.391 (n=4)	3.65 ± 0.817 (n=4)
	13	15.5 ± 20.4 (n=3)	7.69 ± 7.97 (n=3)
	14	15.9 ± 4.37 (n=2)	19.1 ± 2.98 (n=3)
	15	27.2 ± 8.60 (n=2)	26.7 ± 3.66 (n=3)
	16	28.0 ± 17.3 (n=2)	30.0 ± 5.09 (n=3)
[0442]	17	16.1 ± 7.96 (n=4)	13.2 ± 12.7 (n=4)
	18	59.2 ± 67.8 (n=3)	35.6 ± 32.4 (n=3)
	19	54.3 (n=1)	29.2 (n=1)
	20	150 ± 243 (n=3)	81.8 ± 92.6 (n=3)
	21	55.2 ± 28.1 (n=3)	39.2 ± 13.6 (n=3)
	22	61.3 ± 57.5 (n=3)	33.7 ± 17.8 (n=3)
	23	41.6 ± 47.1 (n=3)	24.9 ± 15.3 (n=3)
	24	7.91 (n=1)	7.29 (n=1)
	24a	6.06 (n=1)	9.99 (n=1)
	24b	4.89 (n=1)	6.75 (n=1)
	25	13.6 ± 7.2 (n=4)	16.9 ± 9.7 (n=4)
	26	28.4 (n=1)	22.2 (n=1)
	27	9.21 (n=1)	4.63 (n=1)
	28	68.0 (n=1)	51.0 (n=1)

[0443]	<b>29</b>	<b>38.6 (n=1)</b>	<b>103 (n=1)</b>
	<b>30</b>	<b>46.3 (n=1)</b>	<b>57.8 (n=1)</b>
	<b>31</b>	<b>34.7 (n=1)</b>	<b>70.5 (n=1)</b>
	<b>32</b>	<b>13.3 (n=1)</b>	<b>41.5 (n=1)</b>
	<b>33</b>	<b>4.90 ± 1.31 (n=2)</b>	<b>3.63 ± 1.13 (n=3)</b>
	<b>34</b>	<b>3.71 ± 0.178 (n=2)</b>	<b>5.41 ± 6.13 (n=3)</b>
	<b>35</b>	<b>2.63 (n=1)</b>	<b>1.59 (n=1)</b>
	<b>36</b>	<b>10.0 (n=1)</b>	<b>3.98 (n=1)</b>

[0444] 数据以平均值±SEM(n)表示

[0445] 上表6中所示的结果表明,实施例1-36的化合物抑制KHK-C和KHK-A两者的酶活性。

[0446] KHK细胞活性测定

[0447] 使用细胞测定测量细胞的KHK对果糖向F1P转化的抑制作用的效力。将HepG2肝细胞铺板到96孔细胞培养板上的生长培养基[高葡萄糖达尔贝克改良伊格尔培养基(Dulbecco's Modified Eagle's medium, DMEM), 10%热灭活的胎牛血清(HI FBS), 1x青霉素/链霉素]中,使其在37°C孵育箱中贴壁过夜。洗涤生长培养基并替换为测定培养基,所述测定培养基包含Gibco OptiMEM 1还原血清培养基(Reduced Serum Medium)、0.1%酪蛋白、8.33mM D-果糖-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>和浓度范围为100μM至0.0051μM的化合物(10点浓度曲线)。将板在37°C孵育3h,然后从细胞孔中抽吸测定培养基。然后将终止溶液添加到细胞,所述终止溶液包含80%甲醇、2mM乙酸铵和50ng/mL果糖-6-磷酸-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>。将板保存在-20°C,直到RapidFire MS分析(如上所述)为止。

[0448] 基本上如上所述测试实施例1-36的化合物:

[0449] 表7

实施例编号	HepG2 IC <sub>50</sub>
<b>1</b>	<b>41.1 ± 8.13 (n=3)</b>
<b>2</b>	<b>98.4 ± 8.69 (n=3)</b>

[0450]

[0451]

3	40.2 ± 10.9 (n=4)
4	16.8 ± 4.97 (n=4)
5	83.6 ± 8.16 (n=3)
6	22.9 ± 5.15 (n=3)
7	8.06 ± 1.41 (n=3)
8	20.4 ± 8.09 (n=3)
9	15.0 (n=1)
10	118 ± 24.2 (n=3)
11	48.4 (n=1)
12	5.36 ± 0.0912 (n=3)
13	26.2 ± 4.30 (n=3)
14	34.9 ± 8.26 (n=3)
15	52.7 ± 3.08 (n=3)
16	73.2 ± 14.9 (n=3)
17	1.66 ± 0.435 (n=3)
18	16.3 ± 1.84 (n=3)
19	95.9 (n=1)
20	35.7 ± 3.47 (n=3)
21	102 ± 5.47 (n=3)
22	109 ± 9.69 (n=3)
23	76.2 ± 7.07 (n=3)
24	27.0 (n=1)
24a	18.2 (n=1)
24b	27.2 (n=1)
25	33.5 ± 9.07 (n=3)
26	81.6 (n=1)
27	6.93 (n=1)

	<b>28</b>	<b>144 (n=1)</b>
	<b>29</b>	<b>145 (n=1)</b>
	<b>30</b>	<b>143 (n=1)</b>
	<b>31</b>	<b>119 (n=1)</b>
[0452]	<b>32</b>	<b>62.9 (n=1)</b>
	<b>33</b>	<b>6.13 ± 0.528 (n=3)</b>
	<b>34</b>	<b>2.93 ± 0.156 (n=3)</b>
	<b>35</b>	<b>6.41 (n=1)</b>
	<b>36</b>	<b>13.4 (n=1)</b>

[0453] 数据以平均值±SEM(n)表示

[0454] 上表7中所示结果表明,实施例1-36的化合物抑制HepG2细胞中果糖向F1P的代谢。

[0455] 用于药代动力学测定的液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法:通过将含有内标的180 μL MeOH:ACN(1:1, v/v)加至50 μL血浆,使用蛋白质沉淀来提取样品。然后将样品用MeOH:水(1:1, v/v)稀释,使其浓度在标准曲线范围内。使用配备有TurboIonSpray接口的Sciex API 4000三重四极杆质谱仪(Applied Biosystems/MDS; Foster City, CA)并在阳离子模式下运行,从而通过LC-MS/MS分析稀释的样品。分析物使用ECHIELON C18 4 μm 20X2.1 mm柱进行色谱分离。LC条件是水/1M碳酸氢铵(2000:10, v/v)(流动相A)和MeOH/1M碳酸氢铵(2000:10, v/v)(流动相B)。

[0456] Sprague Dawley大鼠中的药代动力学

[0457] 实施例1和实施例2的体内药代动力学特性使用Sprague-Dawley大鼠(禁食;每个给药途径n=3)来证明。通过在媒介物中的单次口服(P0; 2或3mg/kg; 体积为10mL/kg)或静脉内(IV; 1mg/kg; 体积为1mL/kg)给药。在给药后0至48小时之间的多个时间点从每只动物采集血液。通过如上所述的LC-MS/MS方法测定实施例1和实施例2的血浆浓度。

[0458] 通过P0给药测定,实施例1的平均半衰期为12.9小时,生物利用度为83%,而IV给药发现,实施例1的平均半衰期为12.8小时,平均清除率为5.86mL/min/kg。通过P0给药测定,实施例2的平均半衰期为5.12小时,生物利用度为95%,而IV给药发现,实施例2的平均半衰期为4.29小时,平均清除率为56.4mL/min/kg。该数据显示,实施例1和2具有不同水平的清除率,但这两者都具有较高的口服生物利用度和较长的消除时间,这由足够的平均半衰期所证明。

[0459] 狗中的药代动力学

[0460] 使用比格犬(进食的, n=3)证明实施例1和实施例2的体内药代动力学性质。通过在媒介物中的单次口服(P0; 2或3mg/kg; 体积2mL/kg)或静脉内(IV; 1mg/kg; 体积1mL/kg)剂量施用所述化合物。在给药后0-72小时之间的多个时间点从每只动物收集血液。通过上述的LC-MS/MS方法测定实施例1和实施例2的血浆浓度。

[0461] 通过P0给药测定,实施例1的平均半衰期为36.6小时,生物利用度为87%,而IV给

药发现,实施例1的平均半衰期为28小时,平均清除率为3.41mL/min/kg。通过PO给药测定,实施例2的平均半衰期为9.79小时,生物利用度为~100%,而IV给药发现,实施例2的平均半衰期为10.3小时,平均清除率为19.6mL/min/kg。该数据显示,实施例1和2具有不同水平的清除率,但这两者都具有较高的口服生物利用度和较长的消除时间,这由足够的平均半衰期所证明。