



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112313231 B

(45) 授权公告日 2023. 05. 09

(21) 申请号 201980041370.0

(22) 申请日 2019.06.20

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 112313231 A

(43) 申请公布日 2021.02.02

(30) 优先权数据  
18382455.6 2018.06.21 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2020.12.18

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/EP2019/066392 2019.06.20

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02019/243533 EN 2019.12.26

(73) 专利权人 詹森药业有限公司  
地址 比利时·比尔斯·特恩豪特斯路30号

(72) 发明人 J·M·巴托洛梅-内布雷达

A·A·特拉班科-苏亚雷斯  
J·E·利纳茨 D·欧赫里希  
P·J·J·A·伯恩斯特斯  
C·马丁尼兹拉门卡  
A·I·韦尔特  
Y·E·M·范罗斯布鲁克

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
72001

专利代理师 初明明 黄希贵

(51) Int. Cl.  
C07D 471/04 (2006.01)  
A61K 31/437 (2006.01)  
A61K 31/444 (2006.01)  
A61K 31/501 (2006.01)  
A61P 25/28 (2006.01)

审查员 侯锡爱

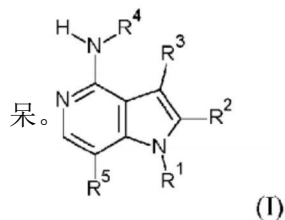
权利要求书11页 说明书83页

(54) 发明名称

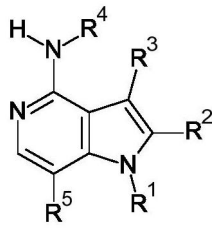
OGA抑制剂化合物

(57) 摘要

本发明涉及O-GlcNAc水解酶 (OGA) 抑制剂。本发明还涉及包含此类化合物的药物组合物、用于制备此类化合物和组合物的方法、以及此类化合物和组合物用于预防和治疗其中OGA的抑制是有益的障碍的用途,这些障碍是例如tau病变,特别是阿尔茨海默氏病或进行性核上性麻痹;和伴有tau病理学的神经退行性疾病,特别是由C90RF72突变引起的肌萎缩侧索硬化或额颞叶痴



1. 一种具有式(I)的化合物



(I),

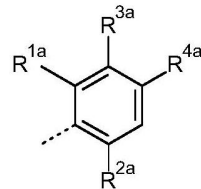
或其互变异构体或立体异构形式,其中

$R^1$ 是 $-C_{1-6}$ 烷基- $C(O)-NR^xR^y$ ,其中

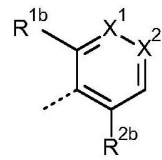
$R^x$ 和 $R^y$ 各自独立地选自由氢和 $C_{1-3}$ 烷基组成的组;或 $R^x$ 和 $R^y$ 连同它们所附接的氮原子一起形成选自下组的杂环基环,该组由以下组成:氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、和吗啉基;

$R^2$ 、 $R^3$ 和 $R^5$ 各自独立地选自由以下组成的组:氢、卤代和 $C_{1-3}$ 烷基;

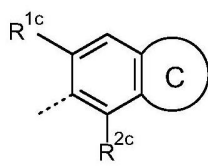
$R^4$ 是选自下组的一价基团,该组由以下组成:(a)、(b)、(c)、(d)、(e)和(f):



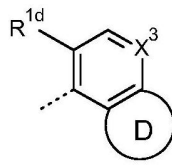
(a)



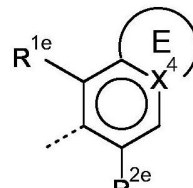
(b)



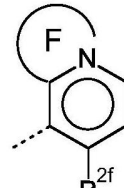
(c)



(d)



(e)



(f)

其中

$R^{1a}$ 、 $R^{2a}$ 、 $R^{1b}$ 和 $R^{2b}$ 各自独立地选自由以下组成的组:卤代、 $C_{1-3}$ 烷基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 烷氧基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基、和 $C_{3-6}$ 环烷基;

$R^{3a}$ 选自由以下组成的组:氢、卤代、 $-C(O)-OC_{1-3}$ 烷基、 $-C(O)-NR'R''$ 、 $-N(R'')-C(O)-C_{1-3}$ 烷基;

$R^{4a}$ 选自由以下组成的组:氢、卤代、 $-CN$ 、 $C_{1-3}$ 烷基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 烷氧基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基、

$-C(O)-OC_{1-3}$ 烷基、 $-C(O)-NR'R''$ 、 $-N(R'')-C(O)-C_{1-3}$ 烷基、和Het;

条件是 $R^{3a}$ 和 $R^{4a}$ 不同时为 $-C(O)-OC_{1-3}$ 烷基、 $-C(O)-NR'R''$ 、或 $-N(R'')-C(O)-C_{1-3}$ 烷基;

$R'$ 和 $R''$ 各自独立地选自由以下组成的组:氢和 $C_{1-3}$ 烷基;或 $R'$ 和 $R''$ 连同它们所附接的氮原子一起形成选自下组的杂环基环,该组由以下组成:氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、和吗啉基;

$R''$ 选自由以下组成的组:氢和 $C_{1-3}$ 烷基;

Het是任选地被一个或多个独立选择的 $C_{1-3}$ 烷基取代基取代的吡唑基或咪唑基;

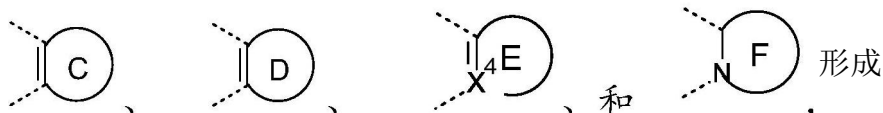
$X^1$ 和 $X^2$ 各自独立地选自N和CH,条件是 $X^1$ 或 $X^2$ 中的至少一个是N;

$R^{1c}$ 、 $R^{2c}$ 、 $R^{1d}$ 、 $R^{1e}$ 、 $R^{2e}$ 和 $R^{2f}$ 各自独立地选自由以下组成的组：卤代、 $C_{1-3}$ 烷基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 烷氧基、和 $C_{3-6}$ 环烷基；

$X^3$ 表示CH或N；

$X^4$ 表示C或N；

并且由如下表示的环中的每一个：



(i) 5元或6元不饱和杂环，该5元或6元不饱和杂环具有各自独立地选自氮和氧的一个、两个或三个杂原子，并且任选地被各自独立地选自卤代、 $C_{1-3}$ 烷基和氧代的一个或多个取代基取代；或

(ii) 5元或6元芳香族杂环，该5元或6元芳香族杂环具有各自独立地选自氮、氧和硫的一个、两个或三个杂原子，并且任选地被各自独立地选自卤代、-CN、 $C_{1-3}$ 烷基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷基、和多卤代 $C_{1-3}$ 烷基的一个或多个取代基取代；

或其药学上可接受的加成盐。

2. 如权利要求1所述的化合物，其中

$R^1$ 是 $-C_{1-3}$ 烷基- $C(O)-NR^xR^y$ ，其中

$R^x$ 和 $R^y$ 各自独立地选自由氢和 $C_{1-3}$ 烷基组成的组；或 $R^x$ 和 $R^y$ 连同它们所附接的氮原子一起形成选自下组的杂环基环，该组由以下组成：氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、和吗啉基；

$R^2$ 、 $R^3$ 和 $R^5$ 各自独立地选自由以下组成的组：氢、卤代和 $C_{1-3}$ 烷基；

$R^4$ 是选自下组的一价基团，该组由以下组成：(a)、(b)、(d)和(f)，其中

$R^{1a}$ 、 $R^{2a}$ 、 $R^{1b}$ 和 $R^{2b}$ 各自独立地选自由以下组成的组：卤代、 $C_{1-3}$ 烷基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 烷氧基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基、和 $C_{3-6}$ 环烷基；

$R^{3a}$ 是氢；

$R^{4a}$ 选自由以下组成的组：氢、卤代、-CN、 $C_{1-3}$ 烷基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 烷氧基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基、和多卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基；

$X^1$ 和 $X^2$ 各自独立地选自N和CH，条件是 $X^1$ 或 $X^2$ 中的至少一个是N；

$R^{1d}$ 和 $R^{2f}$ 各自独立地选自 $C_{1-3}$ 烷基；

$X^3$ 表示CH；

并且由如下表示的环中的每一个：



(i) 5元或6元不饱和杂环，该5元或6元不饱和杂环具有各自独立地选自氮和氧的一个或两个杂原子，并且任选地被各自独立地选自卤代和 $C_{1-3}$ 烷基的一个或多个取代基取代；或

(ii) 5元或6元芳香族杂环，该5元或6元芳香族杂环具有各自独立地选自氮和氧的一个、两个或三个杂原子，并且任选地被各自独立地选自 $C_{1-3}$ 烷基的一个或多个取代基取代。

3. 如权利要求1或2所述的化合物，其中

$R^1$ 是 $-C_{1-3}$ 烷基- $C(O)-NR^xR^y$ ，其中

$R^x$ 和 $R^y$ 各自独立地选自由氢和 $C_{1-3}$ 烷基组成的组;或 $R^x$ 和 $R^y$ 连同它们所附接的氮原子一起形成选自下组的杂环基环,该组由以下组成:氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、和吗啉基;

$R^2$ 、 $R^3$ 和 $R^5$ 各自独立地选自由以下组成的组:氢、卤代和 $C_{1-3}$ 烷基;

$R^4$ 是选自下组的一价基团,该组由以下组成:(a)、(b)、(d)和(f),其中

$R^{1a}$ 、 $R^{2a}$ 、 $R^{1b}$ 和 $R^{2b}$ 各自独立地选自由以下组成的组:卤代、 $C_{1-3}$ 烷基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 烷氧基、和多卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基;

$R^{3a}$ 是氢;

$R^{4a}$ 选自由以下组成的组:氢、卤代、-CN、 $C_{1-3}$ 烷基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 烷氧基、和多卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基;

$X^1$ 和 $X^2$ 各自独立地选自N和CH,条件是 $X^1$ 或 $X^2$ 中的至少一个是N;

$R^{1d}$ 和 $R^{2f}$ 各自独立地选自 $C_{1-3}$ 烷基;

$X^3$ 表示CH;

并且由如下表示的环中的每一个:



(i) 5元或6元不饱和杂环,该5元或6元不饱和杂环具有一个或两个氮原子,并且任选地被各自独立地选自卤代和 $C_{1-3}$ 烷基的一个或多个取代基取代;或

(ii) 5元或6元芳香族杂环,该5元或6元芳香族杂环具有一个或两个氮原子,并且任选地被各自独立地选自 $C_{1-3}$ 烷基的一个或多个取代基取代。

4. 如权利要求1或2所述的化合物,其中

$R^1$ 是 $-C_{1-3}$ 烷基-C(O)- $NR^xR^y$ ,其中 $-NR^xR^y$ 选自由以下组成的组: $-NH_2$ 、 $-NHCH_3$ 、 $-NH(CH_3)_2$ 、 $-N(CH_3)(CH_2CH_3)$ 、氮杂环丁烷-1-基、和吡咯烷-1-基。

5. 如权利要求1或2所述的化合物,其中

$R^2$ 、 $R^3$ 和 $R^5$ 各自独立地选自氢和甲基。

6. 如权利要求1或2所述的化合物,其中

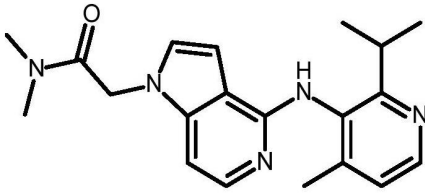
$R^{1a}$ 、 $R^{2a}$ 、 $R^{1b}$ 和 $R^{2b}$ 各自独立地选自由以下组成的组:氟、氯、甲基、异丙基、 $CF_3$ 、 $-OCH_3$ 、和 $-OCF_3$ 。

7. 如权利要求1或2所述的化合物,其中

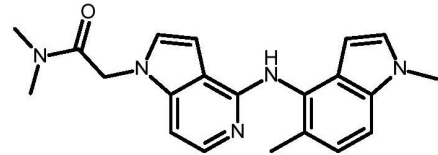
$X^1$ 是N并且 $X^2$ 是CH,或 $X^1$ 是CH并且 $X^2$ 是N,或 $X^1$ 和 $X^2$ 均是N。

8. 如权利要求1或2所述的化合物,其中 $R^{1d}$ 和 $R^{2f}$ 各自独立地是甲基或异丙基。

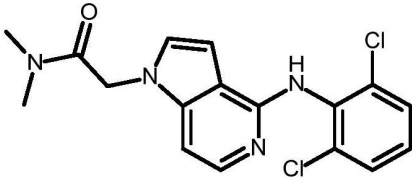
9. 选自以下的化合物:



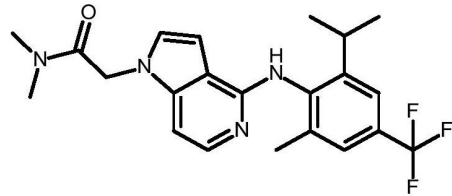
化合物编号1、



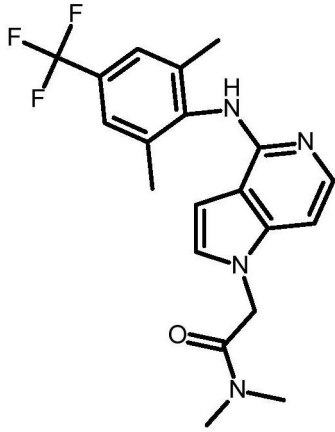
化合物编号2、



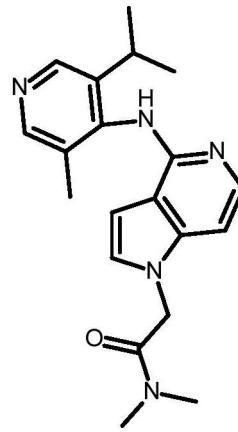
化合物编号5、



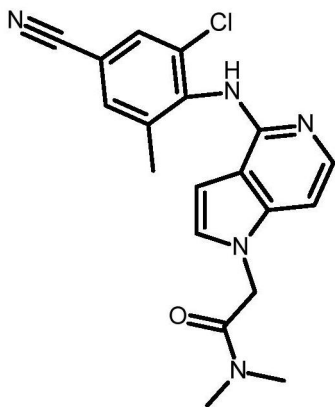
化合物编号6、



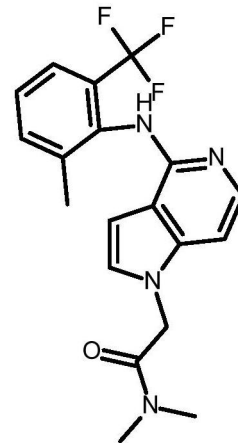
化合物编号18、



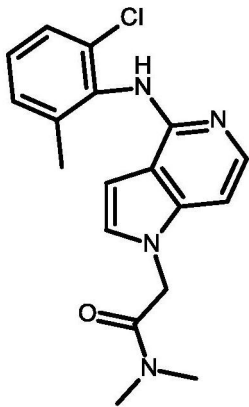
化合物编号20、



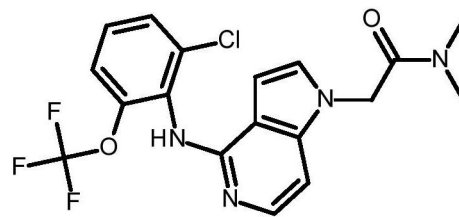
化合物编号19、



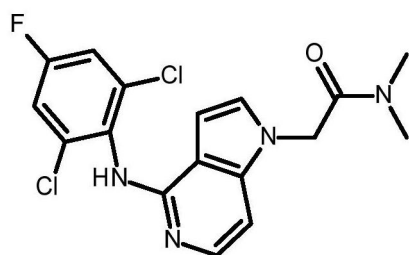
化合物编号21、



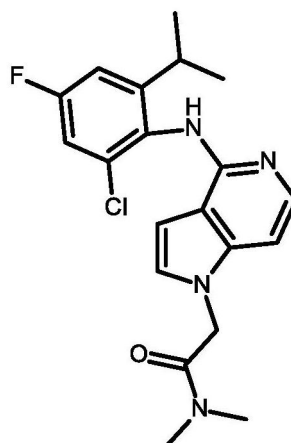
化合物编号22、



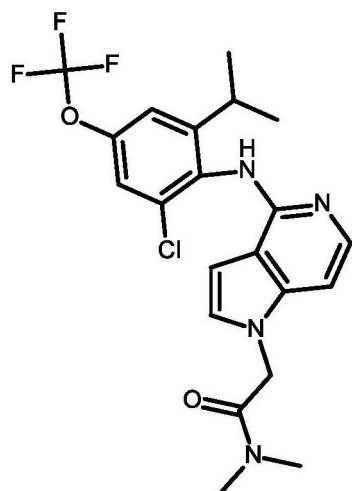
化合物编号24、



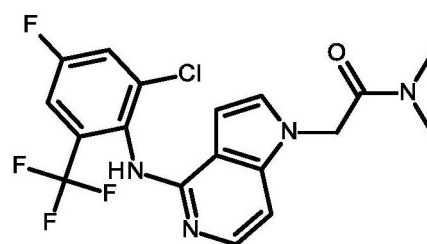
化合物编号25、



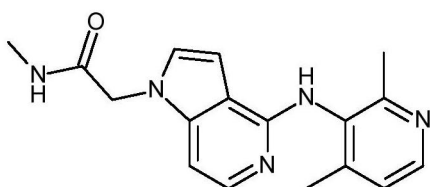
化合物编号26、



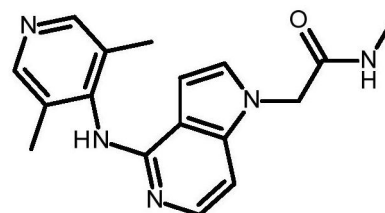
化合物编号27、



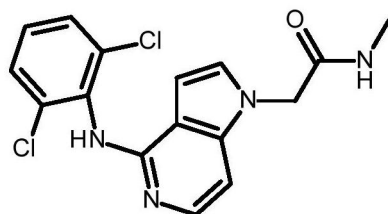
化合物编号29、



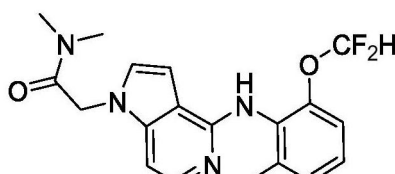
化合物编号32、



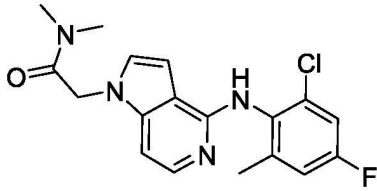
化合物编号36、



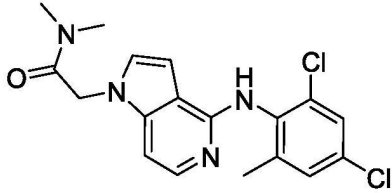
化合物编号37、



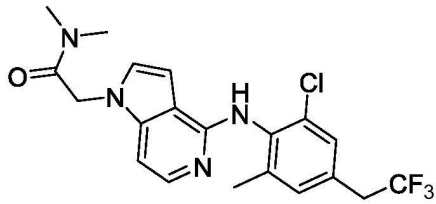
化合物编号39、



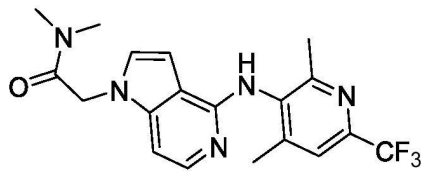
化合物编号40、



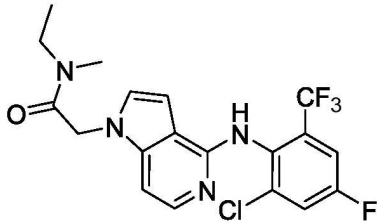
化合物编号43、



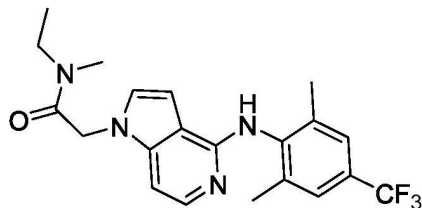
化合物编号53、



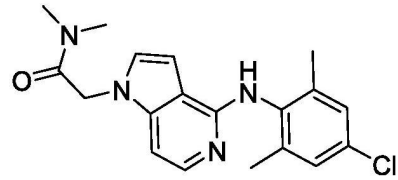
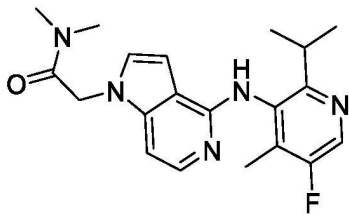
化合物编号58、



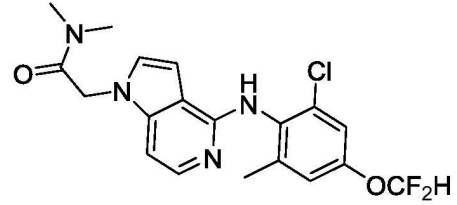
化合物编号60、



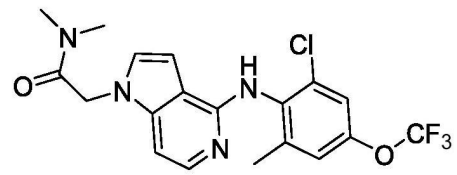
化合物编号62、



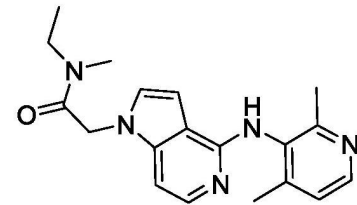
化合物编号42、



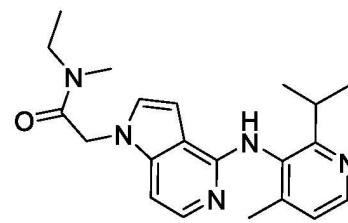
化合物编号52、



化合物编号54、



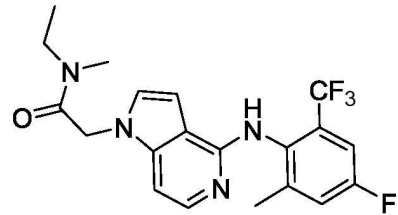
化合物编号59、



化合物编号61、



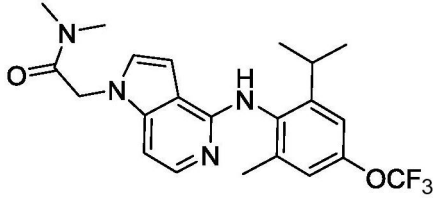
化合物编号63、



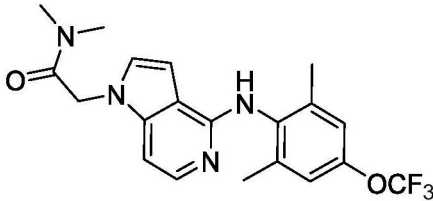
化合物编号64、



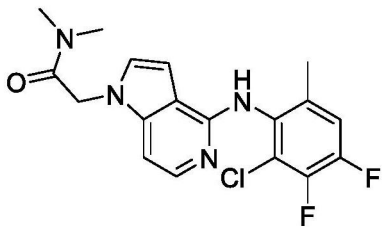
化合物编号66、



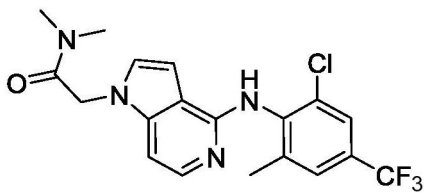
化合物编号69、



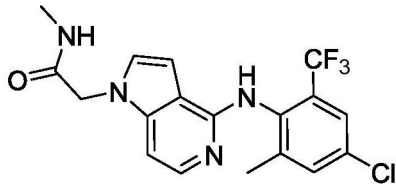
化合物编号71、



化合物编号75、

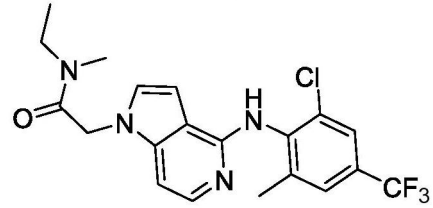


化合物编号77、



化合物编号79、

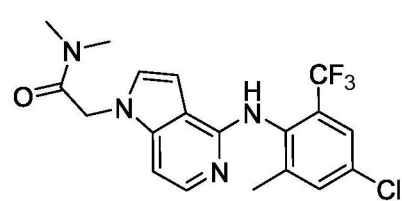
化合物编号65、



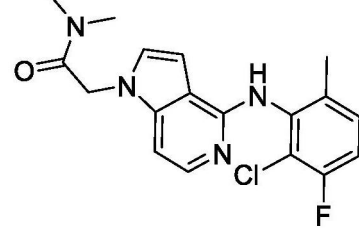
化合物编号67、



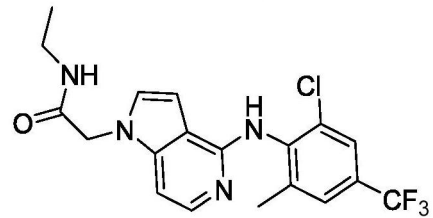
化合物编号70、



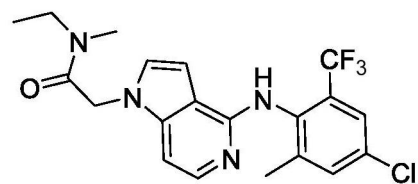
化合物编号72、



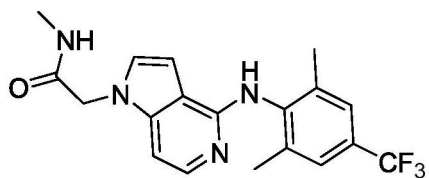
化合物编号76、



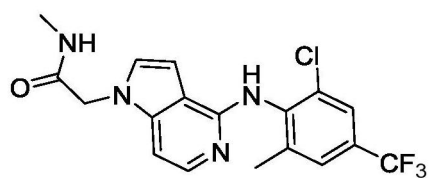
化合物编号78、



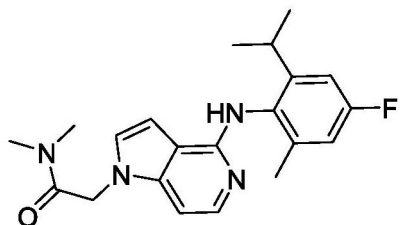
化合物编号80、



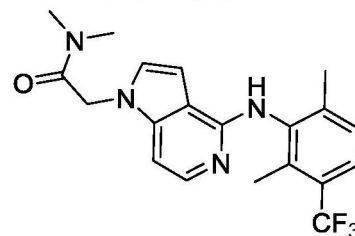
化合物编号81、



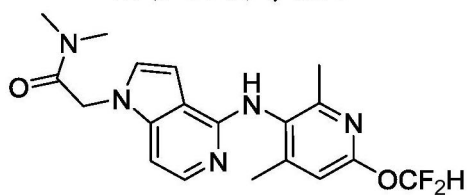
化合物编号82、



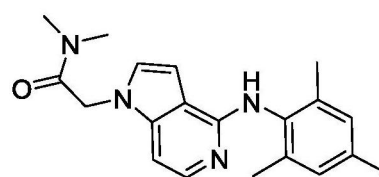
化合物编号83、



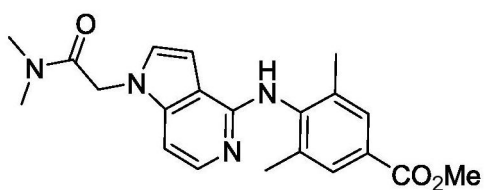
化合物编号84、



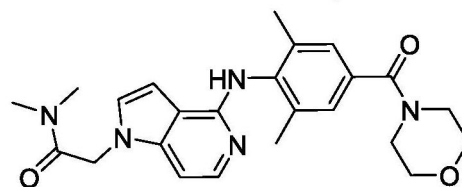
化合物编号89、



化合物编号95、

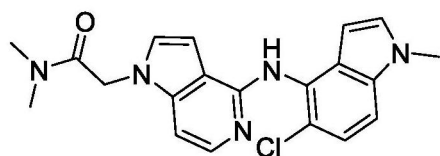


化合物编号96、

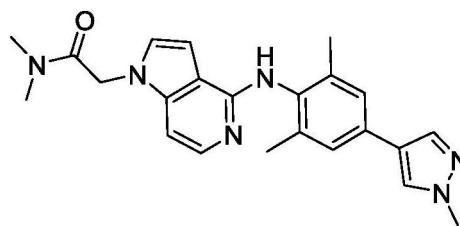


HCl盐

化合物编号103、

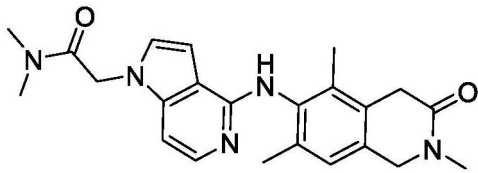


化合物编号104、

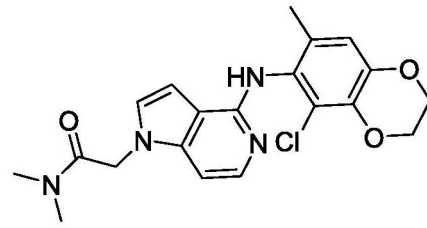


HCl盐

化合物编号105

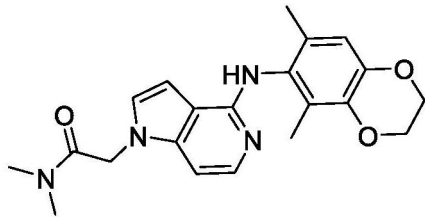


化合物编号106、



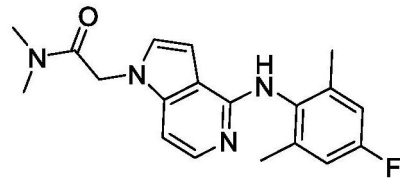
HCl盐

化合物编号107、



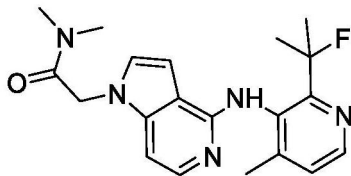
HCl盐

化合物编号112、



113

或



114

或其药学上可接受的盐。

10. 如权利要求9所述的化合物,其中所述化合物是

|                              |                             |
|------------------------------|-----------------------------|
| <p>HCl盐</p> <p>化合物编号103、</p> | <p>HCl盐</p> <p>化合物编号105</p> |
|                              |                             |

|                   |                   |
|-------------------|-------------------|
| HCl盐<br>化合物编号107或 | HCl盐<br>化合物编号112。 |
|-------------------|-------------------|

11. 一种药物组合物,该药物组合物包含预防或治疗有效量的如权利要求1至10中任一项所述的化合物和药学上可接受的载体。

12. 一种用于制备药物组合物的方法,该方法包括:将药学上可接受的载体与预防或治疗有效量的如权利要求1至10中任一项所述的化合物混合。

13. 如权利要求1至10中任一项所述的化合物或如权利要求11所述的药物组合物在制备用于预防或治疗选自tau病变的障碍的药剂中的用途,其中向有需要的受试者施用预防或治疗有效量的所述药剂。

14. 如权利要求13所述的用途,其中所述tau病变选自阿尔茨海默氏病、进行性核上性麻痹、唐氏综合征、额颞叶痴呆、伴有帕金森综合征-17的额颞痴呆、皮克氏病、皮质基底节变性、和嗜银颗粒疾病;或伴有tau病理学的神经退行性疾病。

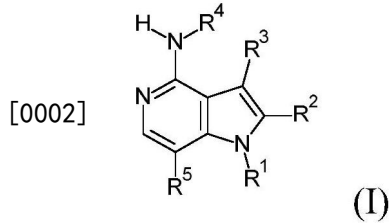
15. 如权利要求13所述的用途,其中所述tau病变是选自由C90RF72突变引起的肌萎缩侧索硬化或额颞叶痴呆的神经退行性疾病。

16. 如权利要求1至10中任一项所述的化合物或如权利要求11所述的药物组合物在制备用于抑制O-GlcNAc水解酶的药剂中的用途,其中向有需要的受试者施用预防或治疗有效量的所述药剂。

## OGA抑制剂化合物

## 技术领域

[0001] 本发明涉及具有式(I)所示结构的O-GlcNAc水解酶(OGA)抑制剂



[0003] 其中这些基团是如在说明书中所定义的。本发明还涉及包含此类化合物的药物组合物、用于制备此类化合物和组合物的方法、以及此类化合物和组合物用于预防和治疗其中OGA的抑制是有益的障碍的用途,这些障碍是例如tau病变,特别是阿尔茨海默氏病或进行性核上性麻痹;和伴有tau病理学的神经退行性疾病,特别是由C9ORF72突变引起的肌萎缩侧索硬化或额颞叶痴呆。

## 背景技术

[0004] O-GlcNAc酰化是蛋白质的可逆修饰,其中N-乙酰基-D-葡萄糖胺残基被转移至丝氨酸残基和苏氨酸残基的羟基基团,产生O-GlcNAc酰化蛋白。已经在真核生物的胞质溶胶和细胞核中鉴定了超过1000种这样的靶蛋白。该修饰被认为调节大范围的细胞过程,包括转录、细胞骨架过程、细胞周期、蛋白酶体降解和受体信号传导。

[0005] O-GlcNAc转移酶(OGT)和O-GlcNAc水解酶(OGA)是描述的向靶蛋白添加(OGT)或从靶蛋白去除(OGA)O-GlcNAc的仅有的两种蛋白质。OGA最初于1994年从脾脏制剂中纯化,1998年鉴定为由脑膜瘤表达的抗原,并且称为MGEA5,由作为细胞胞质区室中的单体的916个氨基酸(102915道尔顿)组成。它与ER相关的和高尔基体相关的糖基化过程(其对于蛋白质的运输和分泌是重要的)不同,并且不同于OGA具有酸性pH最佳值,而OGA在中性pH下显示出最高活性。

[0006] 具有双天冬氨酸催化中心的OGA催化结构域位于该酶的n-末端部分,该酶的侧翼是两个柔性结构域。C-末端部分由其前面是茎结构域的推定的HAT(组蛋白乙酰转移酶结构域)组成。尚未证明HAT结构域具有催化活性。

[0007] O-GlcNAc酰化蛋白以及OGT和OGA本身在脑和神经元中特别丰富,表明这种修饰在中枢神经系统中起重要作用。实际上,研究证实O-GlcNAc酰化代表了促进神经元通讯、记忆形成和神经退行性疾病的关键调节机制。此外,已经显示OGT对于几种动物模型中的胚胎发生是必需的,并且ogt无效小鼠是胚胎致死的。OGA对于哺乳动物的发育也是必不可少的。两项独立研究表明,OGA纯合无效小鼠在出生后存活不过24-48小时。Oga缺失导致幼崽中糖原动员的缺陷,并且它在源自纯合敲除胚胎的MEF中导致基因组不稳定性相关的细胞周期停滞。杂合动物存活至成年期,但它们在转录和代谢方面均表现出改变。

[0008] 已知O-GlcNAc循环中的扰动影响慢性代谢疾病,例如糖尿病以及癌症。Oga杂合性抑制了Apc-/+小鼠癌症模型中的肠道肿瘤发生,并且Oga基因(MGEA5)是一种有记录的人糖

尿病易感基因位点。

[0009] 此外,0-GlcNAc修饰已经在几种参与神经退行性疾病的发展和进展的蛋白质上被鉴定,并且已表明0-GlcNAc水平的变化与Tau在阿尔茨海默氏病中形成神经原纤维缠结(NFT)蛋白的相关性。此外,

[0010] 已经描述了帕金森病中 $\alpha$ -突触核蛋白的0-GlcNAc酰化。

[0011] 在中枢神经系统中已经描述了六种tau剪接变体。Tau在17号染色体上编码,并且其中在中枢神经系统中表达的最长剪接变体由441个氨基酸组成。这些同种型的不同之处在于两个N-末端插入物(外显子2和3)和位于微管结合结构域内的外显子10。在tau病变中外显子10是值得考虑的目标,因为它具有多个突变,使得tau易于聚集,如下所述。Tau蛋白结合并稳定神经元微管细胞骨架,这对于调节细胞器沿轴突区室的细胞内运输是重要的。因此,tau在轴突的形成和维持其完整性中起重要作用。此外,还提出了树突棘生理学中的作用。

[0012] Tau聚集是多种所谓的tau病变的潜在原因之一,例如PSP(进行性核上性麻痹)、唐氏综合征(DS)、FTLD(额颞叶痴呆)、FTDP-17(伴有帕金森综合征-17的额颞痴呆)、皮克氏病(Pick's disease,PD)、CBD(皮质基底节变性)、嗜银颗粒疾病(agryophilic grain disease,AGD)和AD(阿尔茨海默氏病)。此外,tau病理学伴随着其他神经退行性疾病,例如由C90RF72突变引起的肌萎缩侧索硬化(ALS)或FTLD。在这些疾病中,tau通过过度磷酸化进行翻译后修饰,这被认为是使tau从微管分离并使其易于聚集。tau的0-GlcNAc酰化调节磷酸化的程度,因为携带0-GlcNAc残基的丝氨酸或苏氨酸残基不适于磷酸化。这有效地使得tau不易于从微管分离并且减少聚集成神经毒性缠结,这最终导致神经毒性和神经元细胞死亡。这种机制还可以减少神经元通过脑中相互连接的回路释放的tau聚集体的细胞间扩散,最近已经讨论这会加速tau相关性痴呆的病理学。实际上,从AD患者的脑中分离的过度磷酸化的tau显示出显著降低的0-GlcNAc酰化水平。

[0013] 施用于JNPL3 tau转基因小鼠的OGA抑制剂成功地减少了NFT形成和神经元损失而没有明显的副作用。该观察结果已在另一种tau病变啮齿动物模型中得到证实,其中可诱导FTD中发现的突变tau的表达(tg4510)。OGA的小分子抑制剂的给药在减少tau聚集的形成方面是有效的,并且减弱了皮质萎缩和脑室扩大。

[0014] 此外,淀粉样蛋白前体蛋白(APP)的0-GlcNAc酰化有利于通过非淀粉样蛋白生成途径加工以产生可溶性APP片段并避免导致AD相关淀粉样蛋白- $\beta$ (A $\beta$ )形成的切割。

[0015] 通过抑制OGA维持tau的0-GlcNAc酰化代表了减少上述神经退行性疾病中的tau-磷酸化和tau-聚集从而减弱或阻止神经退行性tau病变-疾病的进展的潜在方法。

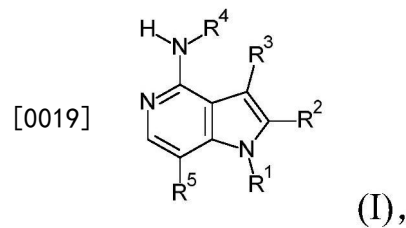
[0016] 一些化合物在本领域是已知的并且已被披露为具有OGA抑制活性:WO 2012/117219(英国顶峰公司(Summit Corp.plc.),2012年9月7日公开)描述了N-[[5-(羟甲基)吡咯烷-2-基]甲基]烷基酰胺和N-烷基-2-[5-(羟甲基)吡咯烷-2-基]乙酰胺衍生物;WO 2014/159234(默克专利有限公司(Merck Patent GMBH),2014年10月2日公开)主要披露了4-苯基或苄基-哌啶和哌嗪化合物(其在1-位被乙酰胺基-噻唑基甲基或乙酰胺基噻唑基甲基取代基取代);WO 2016/0300443(神经内科公司(Asceneuron S.A.),2016年3月3日公开)、WO 2017/144633和WO 2017/0114639(神经内科公司,2017年8月31日公开)披露了1,4-双取代的哌啶或哌嗪;WO 2017/144637(神经内科公司,2017年8月31日公开)披露了,更特

别地,4-取代的1-[1-(1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-基)乙基]-哌嗪;1-[1-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)乙基]-;1-[1-(2,3-二氢苯并呋喃-6-基)乙基]-;和1-[1-(2,3-二氢-1,4-苯并二噁英-6-基)乙基]-哌嗪衍生物;并且WO 2017/106254(默沙东公司(Merck Sharp&Dohme Corp.))描述了取代的N-[5-[4-亚甲基-1-哌啶基]甲基]噻唑-2-基]乙酰胺化合物。

[0017] 仍然需要具有有利的特性平衡的OGA抑制剂化合物,例如具有改善的效力、良好的生物利用度、药代动力学、和脑渗透和/或更好的毒性谱。因此,本发明的目的是提供克服这些问题中的至少一些问题的化合物。

## 发明内容

[0018] 本发明涉及具有式(I)的化合物



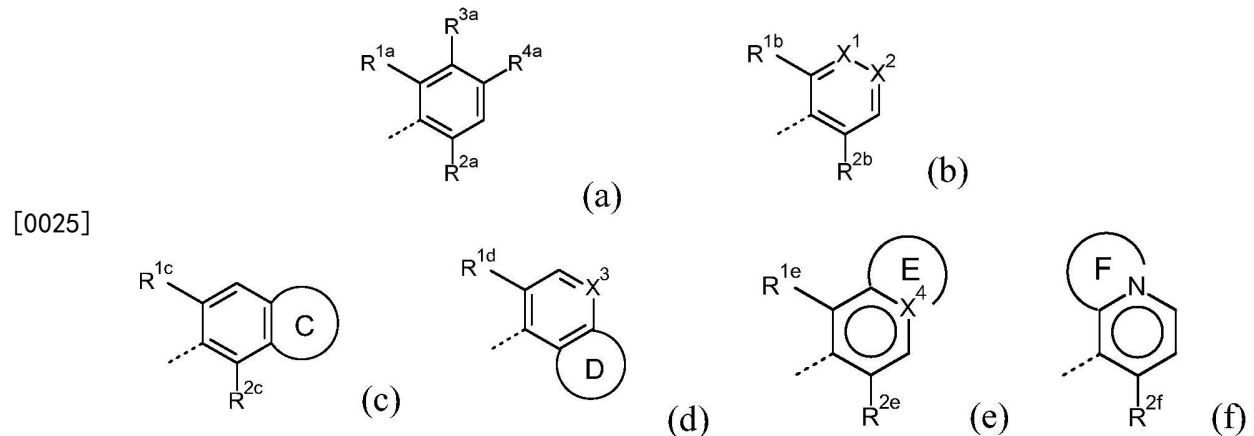
[0020] 及其互变异构体和立体异构形式,其中

[0021]  $R^1$ 是 $-C_{1-6}$ 烷基 $-C(O)-NR^xR^y$ ,其中

[0022]  $R^x$ 和 $R^y$ 各自独立地选自自由氢和 $C_{1-3}$ 烷基组成的组;或 $R^x$ 和 $R^y$ 连同它们所附接的氮原子一起形成选自下组的杂环基环,该组由以下组成:氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、和吗啉基;

[0023]  $R^2$ 、 $R^3$ 和 $R^5$ 各自独立地选自自由以下组成的组:氢、卤代和 $C_{1-3}$ 烷基;

[0024]  $R^4$ 是选自下组的一价基团,该组由以下组成:(a)、(b)、(c)、(d)、(e)和(f):



[0026] 其中

[0027]  $R^{1a}$ 、 $R^{2a}$ 、 $R^{1b}$ 和 $R^{2b}$ 各自独立地选自自由以下组成的组:卤代、 $C_{1-3}$ 烷基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 烷氧基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基、和 $C_{3-6}$ 环烷基;

[0028]  $R^{3a}$ 选自自由以下组成的组:氢、卤代、 $-C(O)-OC_{1-3}$ 烷基、 $-C(O)-NR'R''$ 、 $-N(R''')-C(O)-C_{1-3}$ 烷基;

[0029]  $R^{4a}$ 选自自由以下组成的组:氢、卤代、 $-CN$ 、 $C_{1-3}$ 烷基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 烷氧基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基、

[0030]  $-C(O)-OC_{1-3}$ 烷基、 $-C(O)-NR'R''$ 、 $-N(R'')-C(O)-C_{1-3}$ 烷基、和Het；条件是 $R^{3a}$ 和 $R^{4a}$ 不同时为 $-C(O)-OC_{1-3}$ 烷基、 $-C(O)-NR'R''$ 、或

[0031]  $-N(R'')-C(O)-C_{1-3}$ 烷基；

[0032]  $R'$ 和 $R''$ 各自独立地选自由以下组成的组：氢和 $C_{1-3}$ 烷基；或 $R'$ 和 $R''$ 连同它们所附接的氮原子一起形成选自下组的杂环基环，该组由以下组成：氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、和吗啉基；

[0033]  $R''$ 选自由以下组成的组：氢和 $C_{1-3}$ 烷基；

[0034] Het是任选地被一个或多个独立选择的 $C_{1-3}$ 烷基取代基取代的吡唑基或咪唑基；

[0035]  $X^1$ 和 $X^2$ 各自独立地选自N和CH，条件是 $X^1$ 或 $X^2$ 中的至少一个是N；

[0036]  $R^{1c}$ 、 $R^{2c}$ 、 $R^{1d}$ 、 $R^{1e}$ 、 $R^{2e}$ 和 $R^{2f}$ 各自独立地选自由以下组成的组：卤代、 $C_{1-3}$ 烷基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 烷氧基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷基、和 $C_{3-6}$ 环烷基；

[0037]  $X^3$ 表示CH或N；

[0038]  $X^4$ 表示C或N；

[0039] 并且由如下表示的环中的每一个：



[0041] (i) 5元或6元不饱和杂环，该5元或6元不饱和杂环具有各自独立地选自氮和氧的一个、两个或三个杂原子，并且任选地被各自独立地选自卤代、 $C_{1-3}$ 烷基和氧代的一个或多个取代基取代；或

[0042] (ii) 5元或6元芳香族杂环，该5元或6元芳香族杂环具有各自独立地选自氮、氧和硫的一个、两个或三个杂原子，并且任选地被各自独立地选自卤代、 $-CN$ 、 $C_{1-3}$ 烷基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷基、和多卤代 $C_{1-3}$ 烷基的一个或多个取代基取代；

[0043] 及其药学上可接受的盐和溶剂化物。

[0044] 本发明例证了包含药学上可接受的载体以及上述化合物中的任一种的药物组合物。本发明例证了通过混合上述化合物中的任一种与药学上可接受的载体而制备的药物组合物。本发明例证了用于制备药物组合物的方法，该方法包括将上述化合物中的任一种与药学上可接受的载体混合。

[0045] 本发明例示了预防或治疗由O-GlcNAc水解酶(OGA)的抑制介导的障碍的方法，该方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的上述化合物或药物组合物中的任一种。

[0046] 本发明进一步例示了抑制OGA的方法，该方法包括向有需要的受试者施用预防或治疗有效量的上述化合物或药物组合物中的任一种。

[0047] 本发明的一个实例是预防或治疗选自tau病变的障碍的方法，特别是选自下组的tau病变，该组由以下组成：阿尔茨海默氏病、进行性核上性麻痹、唐氏综合征、额颞叶痴呆、伴有帕金森综合征-17的额颞叶痴呆、皮克氏病、皮质基底节变性、和嗜银颗粒疾病；或伴有tau病理学的神经退行性疾病，特别是选自自由C90RF72突变引起的肌萎缩侧索硬化或额颞叶痴呆的神经退行性疾病，该方法包括向有需要的受试者施用预防或治疗有效量的上述化合物或药物组合物中的任一种。

[0048] 本发明的另一个实例是上述化合物中的任一种用于在有需要的受试者中预防或

治疗tau病变,特别是选自下组的tau病变,该组由以下组成:阿尔茨海默氏病、进行性核上性麻痹、唐氏综合征、额颞叶痴呆、伴有帕金森综合征-17的额颞叶痴呆、皮克氏病、皮质基底节变性、和嗜银颗粒疾病;或伴有tau病理学的神经退行性疾病,特别是选自由C90RF72突变引起的肌萎缩侧索硬化或额颞叶痴呆的神经退行性疾病。

### 具体实施方式

[0049] 本发明涉及如上文所定义的具有式(I)的化合物及其药学上可接受的加成盐和溶剂化物。具有式(I)的化合物是O-GlcNAc水解酶(OGA)的抑制剂,并且可用于预防或治疗tau病变,特别是选自下组的tau病变,该组由以下组成:阿尔茨海默氏病、进行性核上性麻痹、唐氏综合征、额颞叶痴呆、伴有帕金森综合征-17的额颞叶痴呆、皮克氏病、皮质基底节变性、和嗜银颗粒疾病;或者可用于预防或治疗伴有tau病理学的神经退行性疾病,特别是选自由C90RF72突变引起的肌萎缩侧索硬化或额颞叶痴呆的神经退行性疾病。

[0050] 在一个特定的实施例中,本发明涉及如上文所定义的具有式(I)的化合物及其互变异构体和立体异构形式,其中

[0051]  $R^1$ 是 $-C_{1-3}$ 烷基- $C(O)-NR^xR^y$ ,其中

[0052]  $R^x$ 和 $R^y$ 各自独立地选自由氢和 $C_{1-3}$ 烷基组成的组;或 $R^x$ 和 $R^y$ 连同它们所附接的氮原子一起形成选自下组的杂环基环,该组由以下组成:氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、和吗啉基;

[0053]  $R^2$ 、 $R^3$ 和 $R^5$ 各自独立地选自由以下组成的组:氢、卤代和 $C_{1-3}$ 烷基;

[0054]  $R^4$ 是选自下组的一价基团,该组由以下组成:(a)、(b)、(d)和(f),其中

[0055]  $R^{1a}$ 、 $R^{2a}$ 、 $R^{1b}$ 和 $R^{2b}$ 各自独立地选自由以下组成的组:卤代、 $C_{1-3}$ 烷基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 烷氧基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基、和 $C_{3-6}$ 环烷基;

[0056]  $R^{3a}$ 是氢;

[0057]  $R^{4a}$ 选自由以下组成的组:氢、卤代、-CN、 $C_{1-3}$ 烷基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 烷氧基、单卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基、和多卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基;

[0058]  $X^1$ 和 $X^2$ 各自独立地选自N和CH,条件是 $X^1$ 或 $X^2$ 中的至少一个是N;

[0059]  $R^{1d}$ 和 $R^{2f}$ 各自独立地选自 $C_{1-3}$ 烷基;

[0060]  $X^3$ 表示CH;

[0061] 并且由如下表示的环中的每一个:



[0063] (i) 5元或6元不饱和杂环,该5元或6元不饱和杂环具有各自独立地选自氮和氧的一个或两个杂原子,并且任选地被各自独立地选自卤代和 $C_{1-3}$ 烷基的一个或多个取代基取代;或

[0064] (ii) 5元或6元芳香族杂环,该5元或6元芳香族杂环具有各自独立地选自氮和氧的一个、两个或三个杂原子,并且任选地被各自独立地选自 $C_{1-3}$ 烷基的一个或多个取代基取代;

[0065] 及其药学上可接受的盐和溶剂化物。

[0066] 在一个特定的实施例中,本发明涉及如在本文中提及的具有式(I)的化合物及其互变异构体和立体异构形式,其中

[0067]  $R^1$ 是 $-C_{1-3}$ 烷基- $C(O)-NR^xR^y$ ,其中

[0068]  $R^x$ 和 $R^y$ 各自独立地选自氢和 $C_{1-3}$ 烷基组成的组;或 $R^x$ 和 $R^y$ 连同它们所附接的氮原子一起形成选自下组的杂环基环,该组由以下组成:氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、和吗啉基;

[0069]  $R^2$ 、 $R^3$ 和 $R^5$ 各自独立地选自以下组成的组:氢、卤代和 $C_{1-3}$ 烷基;

[0070]  $R^4$ 是选自下组的一价基团,该组由以下组成:(a)、(b)、(d)和(f),其中

[0071]  $R^{1a}$ 、 $R^{2a}$ 、 $R^{1b}$ 和 $R^{2b}$ 各自独立地选自以下组成的组:卤代、 $C_{1-3}$ 烷基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 烷氧基、和多卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基;

[0072]  $R^{3a}$ 是氢;

[0073]  $R^{4a}$ 选自以下组成的组:氢、卤代、 $-CN$ 、 $C_{1-3}$ 烷基、多卤代 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 烷氧基、和多卤代 $C_{1-3}$ 烷氧基;

[0074]  $X^1$ 和 $X^2$ 各自独立地选自N和CH,条件是 $X^1$ 或 $X^2$ 中的至少一个是N;

[0075]  $R^{1d}$ 和 $R^{2f}$ 各自独立地选自 $C_{1-3}$ 烷基;

[0076]  $X^3$ 表示CH;

[0077] 并且由如下表示的环中的每一个:

[0078]  和 形成

[0079] (i) 5元或6元不饱和杂环,该5元或6元不饱和杂环具有一个或两个氮原子,并且任选地被各自独立地选自卤代和 $C_{1-3}$ 烷基的一个或多个取代基取代;或

[0080] (ii) 5元或6元芳香族杂环,该5元或6元芳香族杂环具有一个或两个氮原子,并且任选地被各自独立地选自 $C_{1-3}$ 烷基的一个或多个取代基取代;

[0081] 及其药学上可接受的盐和溶剂化物。

[0082] 在一个特定的实施例中,本发明涉及如在本文中提及的具有式(I)的化合物,其中 $R^1$ 是 $-C_{1-3}$ 烷基- $C(O)-NR^xR^y$ ,其中 $-NR^xR^y$ 选自以下组成的组: $-NH_2$ 、 $-NHCH_3$ 、 $-NH(CH_3)_2$ 、 $-N(CH_3)(CH_2CH_3)$ 、氮杂环丁烷-1-基、和吡咯烷-1-基。

[0083] 在另一个实施例中,本发明涉及如在本文中提及的具有式(I)的化合物,其中 $R^2$ 、 $R^3$ 和 $R^5$ 各自独立地选自氢和甲基。

[0084] 在另一个实施例中,本发明涉及如在本文中提及的具有式(I)的化合物,其中 $R^{1a}$ 、 $R^{2a}$ 、 $R^{1b}$ 和 $R^{2b}$ 各自独立地选自以下组成的组:氟、氯、甲基、异丙基、 $CF_3$ 、 $-OCH_3$ 、和 $-OCF_3$ 。

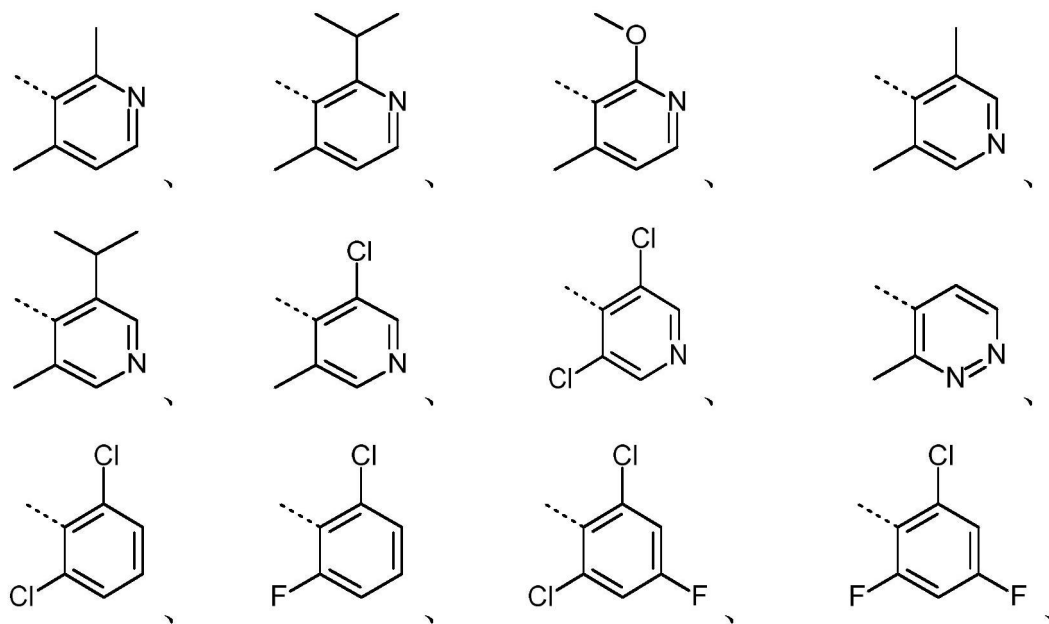
[0085] 在另一个实施例中,本发明涉及如在本文中提及的具有式(I)的化合物,其中 $R^{4a}$ 选自以下组成的组:氢、氟、 $-CN$ 、 $CF_3$ 、和 $-OCF_3$ 。

[0086] 在另一个实施例中,本发明涉及如在本文中提及的具有式(I)的化合物,其中 $X^1$ 是N并且 $X^2$ 是CH,或 $X^1$ 是CH并且 $X^2$ 是N,或 $X^1$ 和 $X^2$ 均是N。

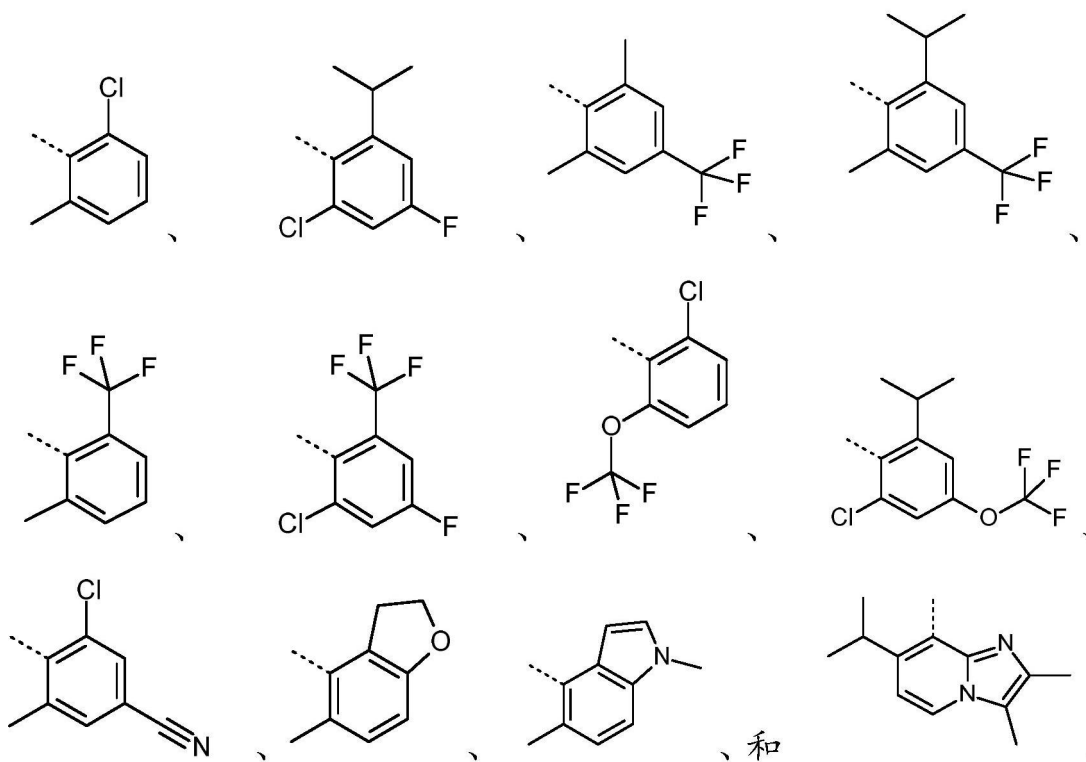
[0087] 在另一个实施例中,本发明涉及如在本文中提及的具有式(I)的化合物,其中 $R^{1d}$ 和 $R^{2f}$ 各自独立地是甲基或异丙基。

[0088] 在另一个实施例中,本发明涉及如在本文中提及的具有式(I)的化合物,其中 $R^4$ 选

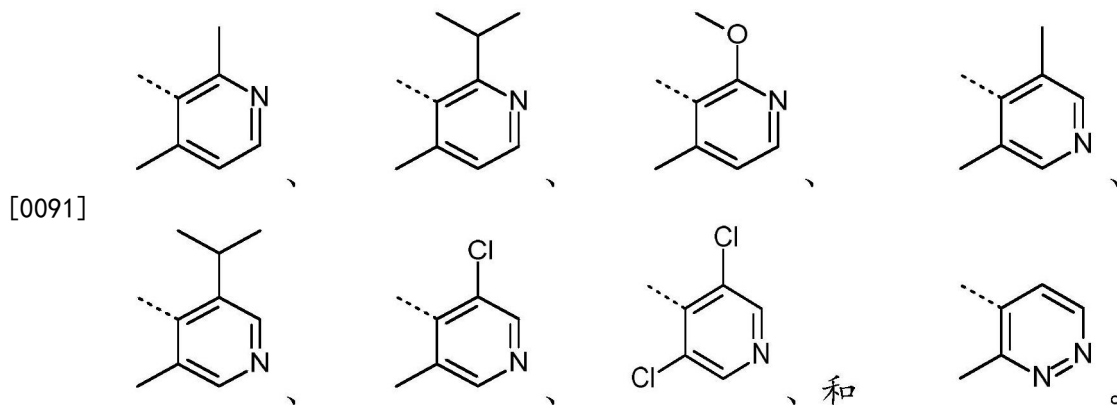
自由以下组成的组：



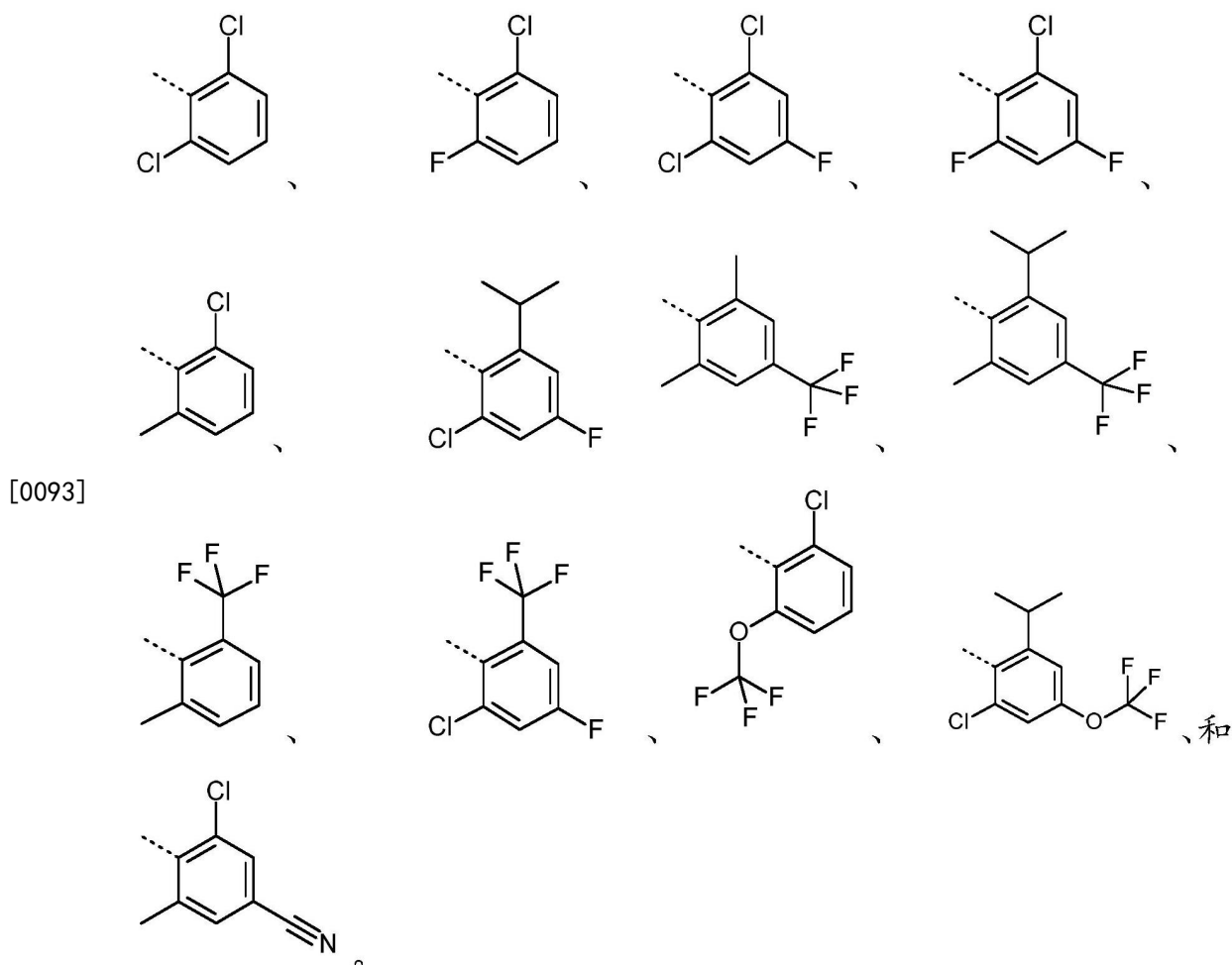
[0089]



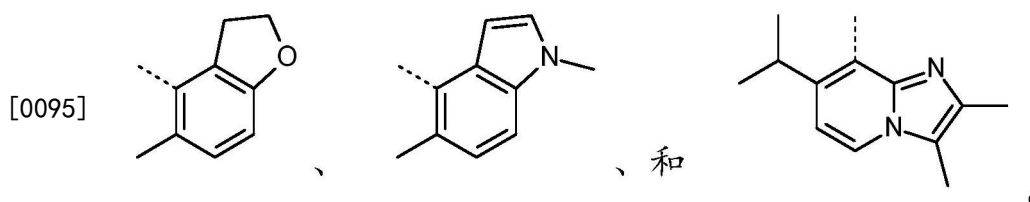
[0090] 在另一个实施例中，本发明涉及如在本文中提及的具有式(I)的化合物，其中R<sup>4</sup>选自由以下组成的组：



[0092] 在另一个实施例中,本发明涉及如在本文中提及的具有式(I)的化合物,其中R<sup>4</sup>选自由以下组成的组:



[0094] 在另一个实施例中,本发明涉及如在本文中提及的具有式(I)的化合物,其中R<sup>4</sup>选自由以下组成的组:



[0096] 定义

[0097] “卤代”应当表示氟、氯以及溴；“氧代”应当表示=O，即双键键合至碳原子的氧原子；“C<sub>1-3</sub>烷基”应当表示分别具有1个、2个或3个碳原子的直链或支链饱和烷基基团，例如甲基、乙基、1-丙基、2-丙基；“C<sub>1-6</sub>烷基”应当表示分别具有1个、2个、3个或4个碳原子的直链或支链饱和烷基基团，例如甲基、乙基、1-丙基、2-丙基、丁基、1-甲基-丙基、2-甲基-1-丙基、1,1-二甲基乙基等；“C<sub>1-3</sub>烷氧基”应当表示醚基团，其中C<sub>1-3</sub>烷基如前所定义；如本文单独所用或用作另一个基团的一部分的“单-和多卤代C<sub>1-3</sub>烷基”是指被1个、2个、3个或在有可能的情况下被如前所定义的更多个卤代原子取代的如前所定义的C<sub>1-3</sub>烷基；如本文单独所用或用作另一个基团的一部分的“单-和多卤代C<sub>1-3</sub>烷氧基”是指被1个、2个、3个或在有可能的情况下被如前所定义的更多个卤代原子取代的如前所定义的C<sub>1-3</sub>烷氧基；“C<sub>3-6</sub>环烷基”表示环丙基、环丁基、环戊基、和环己基；“具有各自独立地选自氮和氧的一个、两个或三个杂原子的5元或6元不饱和杂环”包括但不限于氮杂环丁烷、吡咯烷、哌啶、哌啶、哌嗪、吗啉、氧杂环丁烷、四氢呋喃、四氢吡喃、二氧戊环等，当被氧代取代时，该术语包括，例如内酰胺（例如，吡咯烷酮、哌啶酮）；“具有各自独立地选自氮、氧和硫的一个、两个或三个杂原子的5元或6元芳香族杂环”包括但不限于吡咯、呋喃、吡唑、咪唑、吡啶、嘧啶、哒嗪、吡嗪等。

[0098] 一般而言，每当术语“取代”用于本发明时，除非另外指示或上下文中是明确的，否则意在指示在使用“取代”的表述中指示的原子或基团上的一个或多个氢（特别是1至3个氢、优选地1个或2个氢、更优选地1个氢）被来自所指示基团的取代基的选择项替换，条件是未超过正常的化合价，并且该取代导致了化学稳定的化合物（即，足够稳健以承受从反应混合物分离至有用程度的纯度并且配制成治疗剂的化合物）。

[0099] 如本文所用的术语“受试者”是指动物，优选地是哺乳动物，最优选地是人类，该受试者是或已经成为治疗、观察或实验的对象。因此，如本文所用，术语“受试者”涵盖患者、以及具有发展如本文所定义的疾病或病症风险的无症状或症前个体。

[0100] 如本文所用的术语“治疗有效量”意指由研究员、兽医、医师或其他临床医生寻找的，在组织系统、动物或人类中引起生物学或医学应答的活性化合物或药物试剂的量，该应答包括正在被治疗的疾病或障碍的症状的减轻。如本文所用的术语“预防有效量”意指显著降低要预防的疾病或障碍发作可能性的活性化合物或药物试剂的量。

[0101] 如本文所用，术语“组合物”旨在涵盖包含处于特定量的特定成分的产品，以及直接或间接地源于处于特定量的特定成分的组合的任何产品。

[0102] 在上下文中，术语“具有式(I)的化合物”意指包括其加成盐、溶剂化物以及立体异构体。

[0103] 在上下文中，术语“立体异构体”或“立体化学异构形式”可互换地使用。

[0104] 本发明包括呈纯立体异构体形式或呈两种或更多种立体异构体的混合物的具有式(I)的化合物的所有立体异构体。

[0105] 对映异构体为彼此不可重叠的镜像的立体异构体。对映异构体对的1:1混合物是外消旋体或外消旋混合物。非对映体（或非对映异构体）为不是对映异构体的立体异构体，即它们并非为镜像关系。如果化合物含有双键，则这些取代基可以呈E或Z构型。如果化合物含有双取代的环烷基基团，则这些取代基可以呈顺式或反式构型。因此，本发明包括对映异构体、非对映体、外消旋体、E异构体、Z异构体、顺式异构体、反式异构体及其混合物。

[0106] 绝对构型是根据卡恩-英戈尔德-普雷洛格(Cahn-Ingold-Prelog)系统指定的。不

对称原子处的构型由R或S指定。绝对构型未知的已拆分的化合物可以根据它们旋转平面偏振光的方向而由(+)或(-)指定。

[0107] 当鉴定特定的立体异构体时,这意指所述立体异构体基本上不含其他异构体,即与小于50%、优选地小于20%、更优选地小于10%、甚至更优选地小于5%,特别是小于2%并且最优选地小于1%的其他立体异构体相关联。因此,当具有式(I)的化合物例如被指定为(R)时,这意指该化合物基本上不含(S)异构体;当具有式(I)的化合物例如被指定为E时,这意指该化合物基本上不含Z异构体;当具有式(I)的化合物例如被指定为顺式时,这意指该化合物基本上不含反式异构体。

[0108] 用于在医学中使用,本发明的化合物的加成盐是指无毒性“药学上可接受的加成盐”。然而,其他盐可以适用于制备根据本发明的化合物或其药学上可接受的加成盐。化合物的合适的药学上可接受的加成盐包括可以例如通过将化合物的溶液与药学上可接受的酸的溶液混合而形成的酸加成盐,该药学上可接受的酸如盐酸、硫酸、富马酸、马来酸、琥珀酸、乙酸、苯甲酸、柠檬酸、酒石酸、碳酸或磷酸。此外,在本发明的化合物携带酸性部分时,其合适的药学上可接受的加成盐可以包括碱金属盐,例如钠盐或钾盐;碱土金属盐,例如钙盐或镁盐;以及与合适的有机配体形成的盐,例如季铵盐。

[0109] 可以在药学上可接受的加成盐的制备中使用的代表性酸包括但不限于以下:乙酸、2,2-二氯乙酸、酰化氨基酸、己二酸、海藻酸、抗坏血酸、L-天冬氨酸、苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰氨基苯甲酸、(+)-樟脑酸、樟脑磺酸、癸酸、己酸、辛酸、肉桂酸、柠檬酸、环拉酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、2-羟基-乙磺酸、甲酸、富马酸、半乳糖二酸、龙胆酸、葡庚糖酸、D-葡萄糖酸、D-葡萄糖醛酸、L-谷氨酸、β-氧代-戊二酸、乙醇酸、马尿酸、氢溴酸、盐酸、(+)-L-乳酸、(±)-DL-乳酸、乳糖酸、马来酸、(-)-L-苹果酸、丙二酸、(±)-DL-扁桃酸、甲磺酸、萘-2-磺酸、萘-1,5-二磺酸、1-羟基-2-萘甲酸、烟酸、硝酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、双羟萘酸、磷酸、L-焦谷氨酸、水杨酸、4-氨基-水杨酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、硫酸、单宁酸、(+)-L-酒石酸、硫氰酸、对甲苯磺酸、三氟甲基磺酸以及十一碳烯酸。可以用于制备药学上可接受的加成盐的代表性碱包括但不限于以下:氨、L-精氨酸、苯乙胺、苯乙胺、苯乙胺、苯乙胺、氢氧化钙、胆碱、二甲基乙醇胺、二乙醇胺、二乙胺、2-(二乙氨基)-乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-甲基-葡糖胺、海巴明、1H-咪唑、L-赖氨酸、氢氧化镁、4-(2-羟乙基)-吗啉、哌嗪、氢氧化钾、1-(2-羟乙基)吡咯烷、仲胺、氢氧化钠、三乙醇胺、缓血酸胺以及氢氧化锌。

[0110] 化合物的名称根据由化学文摘社(Cheical Abstracts Service)(CAS)商定的命名规则或者根据由国际纯粹与应用化学联合会(International Union of Pure and Applied Chemistry)(IUPAC)商定的命名规则来产生。

[0111] 最终化合物的制备

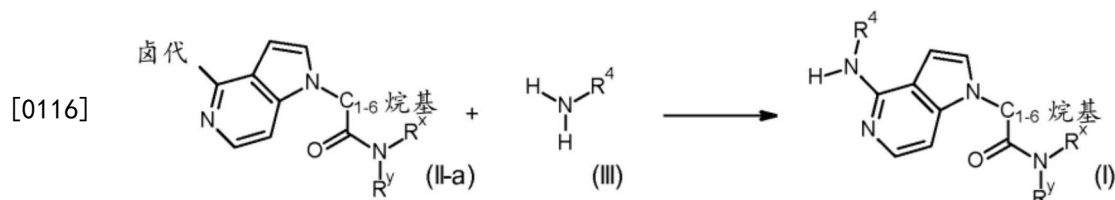
[0112] 根据本发明的这些化合物通常可以通过一系列步骤进行制备,其中的每个步骤是本领域技术人员所已知的。特别地,这些化合物可以根据以下合成方法进行制备。

[0113] 具有式(I)的化合物能以对映异构体的可以遵循领域已知的拆分程序与彼此分离的外消旋混合物形式合成。具有式(I)的外消旋化合物可以通过与合适的手性酸反应而转化为相应的非对映盐形式。所述非对映盐形式随后例如通过选择性或分步结晶而分离,并且对映异构体通过碱由其释放。分离具有式(I)的化合物的对映异构形式的替代性方式涉及使用手性固定相的液相色谱法。所述纯立体化学异构形式还可以来源于适当起始材料的

相应的纯立体化学异构形式,条件是反应立体定向地发生。

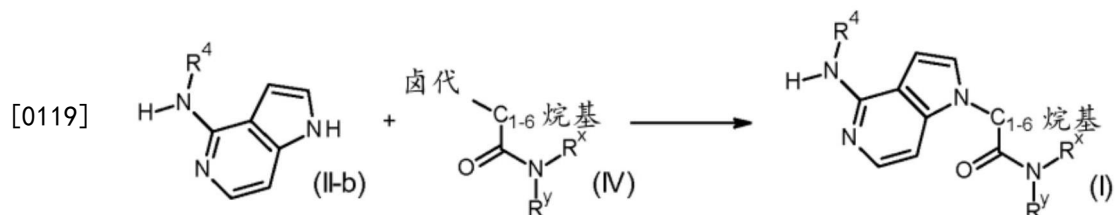
#### [0114] 实验程序1

[0115] 根据反应方案1,可以通过使具有式 (II-a) 的中间体化合物与具有式 (III) 的化合物进行反应来制备其中 $R^1$ 是 $-C_{1-6}$ 烷基- $C(O)-NR^xR^y$ 的具有式 (I) 的最终化合物。反应在合适的反应惰性溶剂(例如像, $t$ BuOH)中,在碱(如 $Cs_2CO_3$ )的存在下,在催化剂(如 $Pd(OAc)_2$ )和合适的磷配体(如XantPhos)的存在下,在热条件(例如像, $130^\circ C$ )下进行合适的时间段,以驱使反应完成。在反应方案1中,所有变量都如在式 (I) 中所定义的,并且卤代表示卤素,特别是溴或氯。



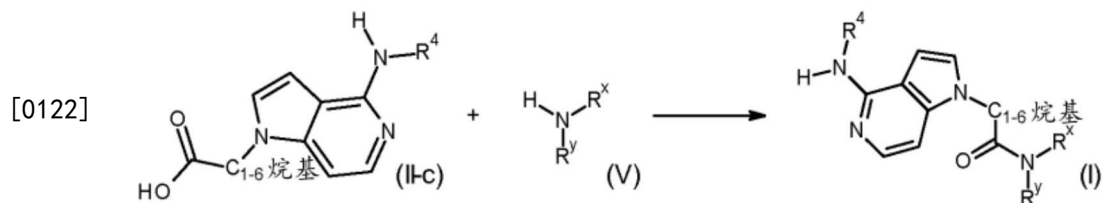
#### [0117] 实验程序2

[0118] 可替代地,根据反应方案2,可以通过使具有式 (II-b) 的中间体化合物与具有式 (IV) 的化合物进行反应来制备具有式 (I) 的最终化合物。反应在合适的反应惰性溶剂(例如像,DMF)中,在碱(如NaH)的存在下,在合适的温度(例如像, $0^\circ C$ 至室温)下进行合适的时间段,以驱使反应完成。在反应方案2中,所有变量都如在式 (I) 中所定义的,并且卤代表示卤素,特别是溴或氯。



#### [0120] 实验程序3

[0121] 可替代地,根据反应方案3,可以通过使具有式 (II-c) 的中间体化合物与具有式 (V) 的合适的胺进行反应来制备具有式 (I) 的最终化合物。可以利用几种条件来形成酰胺:(a) 偶联剂如HOBt和碳二亚胺(例如EDCI),在合适的碱(如DIPEA)的存在下,在反应惰性溶剂(如DCM和/或DMF)中,在热条件下(例如,通过在室温下进行反应);(b) 偶联试剂如T3P®,在合适的碱(如三乙胺)的存在下,在反应惰性溶剂(如THF)中,在合适的条件(例如像,热条件,如从室温至 $50^\circ C$ )下;(c) 偶联试剂如HBTU,在碱(如DIPEA)的存在下,在反应惰性溶剂(如DMF)中,在合适的温度(例如,在室温)下。在反应方案3中,所有变量都如在式 (I) 中所定义的。

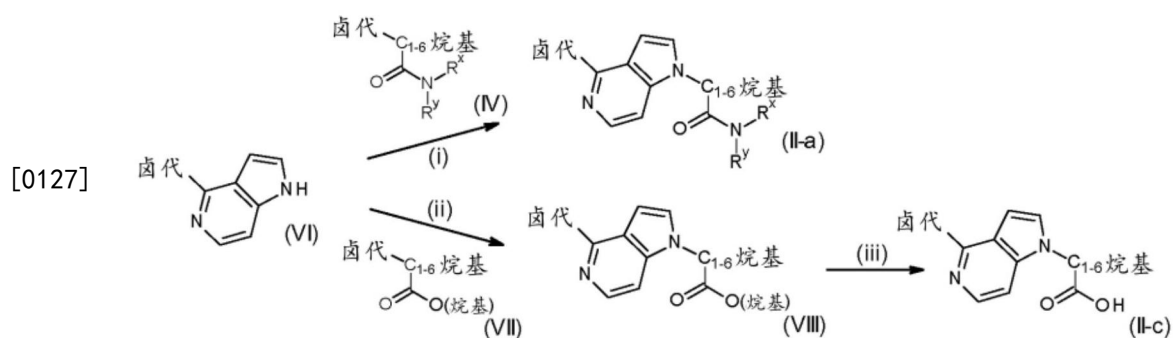


#### [0123] 实验程序4

[0124] 可以根据反应方案4,步骤(i)来制备具有式(II-a)的中间体化合物。具有式(VI)的中间体化合物可以与具有式(IV)的化合物在合适的碱(例如像,NaH)的存在下,在反应惰性溶剂(例如像,DMF)中,在合适的温度(如0℃至室温)下进行反应。

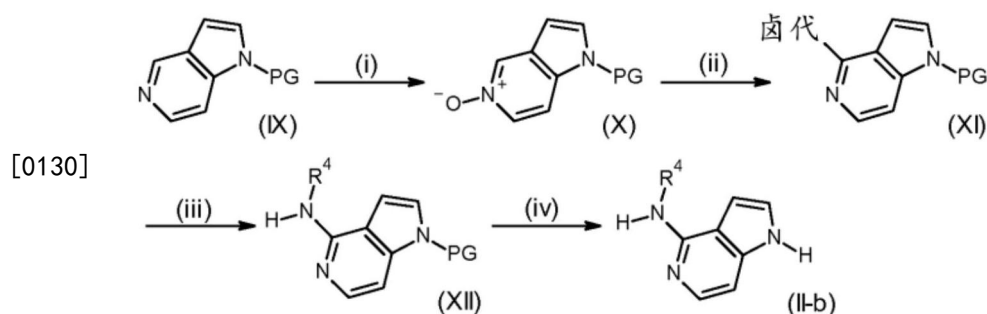
[0125] 可以根据反应方案4,步骤(ii)-(iii)来制备具有式(II-c)的中间体化合物。因此,具有式(VI)的化合物可以与具有式(VII)的化合物在合适的碱(例如像,NaH)的存在下,在反应惰性溶剂(例如像,DMF)中,在合适的温度(如0℃至室温)下进行反应。随后可以将所得的具有式(VIII)的化合物在合适的酸性(例如,TFA在DCM中)或碱性条件(例如,LiOH在THF和/或水中)下进行水解。

[0126] 在反应方案4中,所有变量都如在式(I)中所定义的,并且卤代表示卤素,特别是溴或氯。



[0128] 实验程序5

[0129] 可以根据反应方案5来制备具有式(II-b)的中间体化合物。因此,具有式(IX)的化合物(其中PG表示保护基团(例如,苯磺酰基))可以在合适的条件下,例如,通过在DCM中的mCPBA进行氧化,以产生具有式(X)的中间体。与合适的卤化剂(例如,POBr<sub>3</sub>在ACN和二噁烷中,在合适的温度(例如,70℃))下进行反应提供了具有式(XI)的中间体,然后该具有式(XI)的中间体可以与具有式(III)的中间体在实验程序1中描述的条件下进行反应,以产生具有式(XII)的中间体。可以在合适的条件(例如,当PG是苯磺酰基时,通过用在MeOH中的NaOH进行处理)下切割(XII)中的保护基团。



[0131] 在反应方案5中,所有变量都如在式(I)中所定义的,并且卤代表示卤素,特别是溴或氯。

[0132] 具有式(VI)和(IX)的中间体化合物是可商购的或可以通过技术人员已知的反应程序来合成。

[0133] 药理学

[0134] 本发明的化合物及其药学上可接受的组合物抑制O-GlcNAc水解酶(OGA)并且因此可以用于治疗或预防涉及tau病理学(也称为tau病变)的疾病,以及具有tau包涵体的疾病。

此类疾病包括但不限于：阿尔茨海默氏病、肌萎缩侧索硬化和帕金森综合征-痴呆复合征、嗜银颗粒疾病、慢性创伤性脑病、皮质基底节变性、弥散性神经原纤维缠结伴钙化、唐氏综合征、家族性英国型痴呆、家族性丹麦型痴呆、连锁于17号染色体的伴帕金森综合征的额颞痴呆（由MAPT突变引起）、额颞叶变性（某些病例由C9ORF72突变引起）、吉斯特曼-斯召斯列疾病（Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease）、瓜德罗普岛帕金森综合征（Guadeloupean parkinsonism）、强直性肌营养不良、神经退行性病伴有脑铁沉积、C型尼曼-皮克病（Niemann-Pick disease, type C）、具有神经原纤维缠结的非关岛运动神经元疾病、皮克氏病、脑炎后帕金森综合征、朊病毒蛋白脑淀粉样血管病、进行性皮层下神经胶质增生、进行性核上性麻痹、SLC9A6相关的精神发育迟滞、亚急性硬化性全脑炎、仅缠结痴呆、以及具有球状胶质包涵体的白质tau病变。

[0135] 如本文所用，术语“治疗”旨在是指其中可能存在一种疾病的进展的减慢、中断、遏制或阻止或者症状的减轻的所有过程，但未必指示所有症状的全部消除。如本文所用，术语“预防”旨在是指其中可能存在一种疾病的发作的减慢、中断、遏制或阻止的所有过程。

[0136] 本发明还涉及根据通式(I)的化合物、其立体异构形式或其药学上可接受的酸或碱加成盐，用于治疗或预防选自下组的疾病或病症，该组由以下组成：阿尔茨海默氏病、肌萎缩侧索硬化和帕金森综合征-痴呆复合征、嗜银颗粒疾病、慢性创伤性脑病、皮质基底节变性、弥散性神经原纤维缠结伴钙化、唐氏综合征、家族性英国型痴呆、家族性丹麦型痴呆、连锁于17号染色体的伴帕金森综合征的额颞痴呆（由MAPT突变引起）、额颞叶变性（某些病例由C9ORF72突变引起）、吉斯特曼-斯召斯列疾病、瓜德罗普岛帕金森综合征、强直性肌营养不良、神经退行性病伴有脑铁沉积、C型尼曼-皮克病、具有神经原纤维缠结的非关岛运动神经元疾病、皮克氏病、脑炎后帕金森综合征、朊病毒蛋白脑淀粉样血管病、进行性皮层下神经胶质增生、进行性核上性麻痹、SLC9A6相关的精神发育迟滞、亚急性硬化性全脑炎、仅缠结痴呆、以及具有球状胶质包涵体的白质tau病变。

[0137] 本发明还涉及根据通式(I)的化合物、其立体异构形式或其药学上可接受的酸或碱加成盐，用于治疗、预防、改善、控制选自下组的疾病或病症或者降低其风险，该组由以下组成：阿尔茨海默氏病、肌萎缩侧索硬化和帕金森综合征-痴呆复合征、嗜银颗粒疾病、慢性创伤性脑病、皮质基底节变性、弥散性神经原纤维缠结伴钙化、唐氏综合征、家族性英国型痴呆、家族性丹麦型痴呆、连锁于17号染色体的伴帕金森综合征的额颞痴呆（由MAPT突变引起）、额颞叶变性（某些病例由C9ORF72突变引起）、吉斯特曼-斯召斯列疾病、瓜德罗普岛帕金森综合征、强直性肌营养不良、神经退行性病伴有脑铁沉积、C型尼曼-皮克病、具有神经原纤维缠结的非关岛运动神经元疾病、皮克氏病、脑炎后帕金森综合征、朊病毒蛋白脑淀粉样血管病、进行性皮层下神经胶质增生、进行性核上性麻痹、SLC9A6相关的精神发育迟滞、亚急性硬化性全脑炎、仅缠结痴呆、以及具有球状胶质包涵体的白质tau病变。

[0138] 特别地，这些疾病或病症可特别选自tau病变，更特别是选自下组的tau病变，该组由以下组成：阿尔茨海默氏病、进行性核上性麻痹、唐氏综合征、额颞叶痴呆、伴有帕金森综合征-17的额颞痴呆、皮克氏病、皮质基底节变性、和嗜银颗粒疾病；或者这些疾病或病症可特别是伴有tau病理学的神经退行性疾病，更特别是选自由C9ORF72突变引起的肌萎缩侧索硬化或额颞叶痴呆的神经退行性疾病。

[0139] 阿尔茨海默氏病和tau病变疾病的临床前状态：

[0140] 近年来,美国(US)国家老龄化研究所和国际工作组已经提出了更好地定义AD的临床前(无症状)阶段的指南(Dubois B等人,Lancet Neurol.[柳叶刀神经病学],2014;13:614-629;Sperling,RA等人,Alzheimers Dement.[阿尔茨海默氏病与痴呆],2011;7:280-292)。假设模型假定A $\beta$ 累积和tau聚集在明显的临床损害发作前许多年开始。升高的淀粉样蛋白累积、tau聚集和AD发展的关键风险因素是年龄(即65岁或以上)、APOE基因型和家族史。大约三分之一的75岁以上的临床正常老年人表现出PET淀粉样蛋白和tau成像研究(后者目前不太先进)中A $\beta$ 或tau累积的证据。此外,观察到CSF测量中降低的A $\beta$ 水平,而CSF中未修饰的和磷酸化的tau的水平升高。在大型尸检研究中可以看到类似的发现,并且已经表明早在20岁及更年轻时就在脑中检测到tau聚集体。淀粉样蛋白阳性(A $\beta$ +)临床上正常的个体一致地展示出在其他生物标志物上的“AD样内表型”的证据,包括功能性磁共振成像(MRI)和静息态连接两者中扰乱的功能性网络活性、氟脱氧葡萄糖<sup>18</sup>F(FDG)代谢减退、皮质变薄以及加速萎缩。累积的纵向数据也强烈地表明A $\beta$ +/临床上正常的个体认知减退和进展为轻度认知损害(MCI)和AD痴呆的风险增加。阿尔茨海默氏病的科学界达成共识,即这些A $\beta$ +/临床上正常的个体代表AD病理学连续体中的早期阶段。因此,有人认为,如果在广泛的神经退行性病变已发生之前的疾病阶段开始,用降低A $\beta$ 产生或tau聚集的治疗剂进行干预可能更有效。许多医药公司目前正在测试在前驱AD中的BACE抑制作用。

[0141] 由于不断发展的生物标志物研究,现在可以在第一症状发生之前的临床前阶段识别出阿尔茨海默氏病。所有与临床前阿尔茨海默氏病相关的不同问题,如定义和词汇、限制、自然史、进展标志物和无症状阶段检测疾病的伦理后果,都在Alzheimer's & Dementia [阿尔茨海默氏病与痴呆] 12(2016) 292-323中进行了综述。

[0142] 在临床前阿尔茨海默氏病或tau病变中可以识别两类个体。在PET扫描中明显具有淀粉样蛋白 $\beta$ 或tau聚集,或者在CSF A $\beta$ 、tau和磷酸化tau方面发生改变的认知上正常的个体被定义为处于“阿尔茨海默氏病的无症状风险状态(AR-AD)”或处于“tau病变的无症状状态”。据说患有家族性阿尔茨海默氏病的完全渗透性显性常染色体突变的个体患有“症前阿尔茨海默氏病”。已经针对多种形式的tau病变描述了tau蛋白内的显性常染色体突变。

[0143] 因此,在一个实施例中,本发明还涉及根据通式(I)的化合物,其立体异构形式或其药学上可接受的酸或碱加成盐,用于控制或降低临床前阿尔茨海默氏病、前驱性阿尔茨海默氏病、或在不同形式的tau病变中观察到的与tau相关的神经退行性病变的风险。

[0144] 如在上文已经提及的,术语“治疗”未必指示所有症状的全部消除,而是还可以指在上面提及的任何障碍中的对症治疗。鉴于具有式(I)的化合物的效用,提供治疗罹患任一种上文中提及的疾病的受试者如温血动物(包括人类)的方法,或防止受试者如温血动物(包括人类)罹患任一种上文中提及的疾病的方法。

[0145] 所述方法包括向受试者如温血动物(包括人类)施用,即,全身施用或局部施用,优选口服施用预防或治疗有效量的具有式(I)的化合物、其立体异构形式、其药学上可接受的加成盐或溶剂化物。

[0146] 因此,本发明还涉及用于预防和/或治疗任何上文中提及的疾病的方法,该方法包括向有需要的受试者施用预防或治疗有效量的根据本发明的化合物。

[0147] 本发明还涉及用于调节O-GlcNAc水解酶(OGA)活性的方法,该方法包括向有需要的受试者施用预防或治疗有效量的根据本发明的和如权利要求书中所定义的化合物或根

据本发明的和如权利要求书中所定义的药物组合物。

[0148] 治疗方法还可包括以每天一到四次摄入之间的方案施用活性成分。在这些治疗方法中,根据本发明的化合物优选地在施用之前进行配制。如在下文中所述的,合适的药物配制品通过已知程序使用熟知并且容易可得的成分来制备。

[0149] 可适合于治疗或预防上面提及的任何障碍或其症状的本发明的化合物可以单独施用或与一种或多种另外的治疗剂组合施用。联合疗法包括:含有具有式(I)的化合物以及一种或多种另外的治疗剂的单个药物剂量配制品的施用,以及具有式(I)的化合物和以其自身分开的药物剂量配制品存在的每种另外的治疗剂的施用。例如,可以向患者施用一起处于单个口服剂量组合物(如片剂或胶囊)中的具有式(I)的化合物和治疗剂,或可以将每种药剂以分开的口服剂量配制品施用。

[0150] 技术人员将熟悉本文提及的疾病或病症的替代性命名、疾病分类学以及分类系统。例如,美国精神病学协会(American Psychiatric Association)精神障碍诊断和统计手册(Diagnostic&Statistical Manual of Mental Disorders,DSM-5™)第五版采用神经认知障碍(NCD)(重度和轻度),特别是由于阿尔茨海默氏病的神经认知障碍等术语。技术人员可以使用此类术语作为用于一些本文提及的疾病或病症的替代性命名。

[0151] 药物组合物

[0152] 本发明还提供了用于预防或治疗其中O-GlcNAc水解酶(OGA)的抑制是有益的疾病的组合物,这些疾病如阿尔茨海默氏病、进行性核上性麻痹、唐氏综合征、额颞叶痴呆、伴有帕金森综合征-17的额颞叶痴呆、皮克氏病、皮质基底节变性、嗜银颗粒疾病、由C9ORF72突变引起的肌萎缩侧索硬化或额颞叶痴呆,所述组合物包含治疗有效量的根据式(I)的化合物以及药学上可接受的载体或稀释剂。

[0153] 虽然活性成分可以单独施用,但优选地其作为药物组合物呈现。因此,本发明进一步提供了药物组合物,该药物组合物包含根据本发明的化合物以及药学上可接受的载体或稀释剂。载体或稀释剂必须与组合物的其他成分相容的意义上是“可接受的”并且对其接受者是无害的。

[0154] 可以通过制药领域所熟知的任何方法来制备本发明的药物组合物。治疗有效量的呈碱形式或加成盐形式的作为活性成分的特定化合物与药学上可接受的载体组合成紧密混合物,该载体可以取决于施用所希望的制剂形式而采用多种多样的形式。令人希望的是这些药物组合物处于适合于,优选适合于全身施用,如口服、经皮或肠胃外施用;或局部施用,如经由吸入、鼻喷雾、滴眼剂或经由霜剂、凝胶剂、洗发剂等施用的单位剂型。例如,在制备呈口服剂型的组合物时,可使用任何常见的药物介质,在口服液体制剂(如悬浮液、糖浆、酞剂和溶液)的情况下是例如水、二醇、油、醇等;或在粉末、丸剂、胶囊和片剂的情况下是固体载体例如淀粉、糖、高岭土、润滑剂、粘合剂、崩解剂等。片剂和胶囊由于其施用简易性而代表了最有利的口服单位剂型,在这种情况下显然使用固体药物载体。对于肠胃外组合物而言,载体通常将至少在很大程度上包含无菌水,但也可以包括其他成分例如以辅助溶解性。例如可制备可注射溶液,其中载体包含盐溶液、葡萄糖溶液或盐水和葡萄糖溶液的混合物。也可以制备可注射悬浮液,在这种情况下可以使用适当的液体载体、悬浮剂等。在适合于经皮施用的组合物中,载体任选地包含渗透增强剂和/或合适的可湿润剂,任选地与小比例的具有任何性质的合适的添加剂组合,这些添加剂不会对皮肤造成任何显著有害作用。

所述添加剂可促进向皮肤施用和/或可有助于制备期望的组合物。这些组合物能够以不同方式,例如作为透皮贴剂、作为滴剂或作为软膏剂施用。

[0155] 尤其有利的是,将上述药物组合物以单位剂型配制,以实现施用的简易性和剂量的均匀性。如本说明书和权利要求书中所用的单位剂型在本文中是指适合作为单位剂量的物理离散单位,每一单位含有经计算以与所需的药物载体结合而产生所希望的治疗作用的预定量的活性成分。此类单位剂型的实例是片剂(包括刻痕或包衣片剂)、胶囊、丸剂、粉末包、糯米纸囊剂、可注射溶液或悬浮液、茶匙剂(teaspoonful)、汤匙剂(tablespoonful)等,以及分离的多个这些单位剂型。

[0156] 如本领域的技术人员所熟知的,施用的确切剂量和频率取决于所使用的具有式(I)的特定化合物,所治疗的特定病症,所治疗的病症的严重程度,特定患者的年龄、体重、性别、障碍程度以及总体身体健康状况,以及个体可以服用的其他药物。此外,显而易见的是,所述有效日用量可以降低或提高,这取决于所治疗的受试者的应答和/或取决于给出本发明的化合物处方的医师的评估。

[0157] 取决于施用模式,该药物组合物将包含按重量计从0.05%至99%,优选地按重量计从0.1%至70%,更优选地按重量计从0.1%至50%的活性成分,以及按重量计从1%至99.95%,优选地按重量计从30%至99.9%,更优选地按重量计从50%至99.9%的药学上可接受的载体,所有的百分数都基于该组合物的总重量。

[0158] 本发明的化合物可以用于全身性施用,如口服、经皮或肠胃外施用;或局部施用,如经由吸入、鼻喷雾、滴眼剂或经由霜剂、凝胶剂、洗发剂等施用。化合物优选地口服施用。如本领域的技术人员所熟知的,施用的确切剂量和频率取决于所使用的根据式(I)的特定化合物,所治疗的特定病症,所治疗的病症的严重程度,特定患者的年龄、体重、性别、障碍程度以及总体身体健康状况,以及个体可以服用的其他药物。此外,显而易见的是,所述有效日用量可以降低或提高,这取决于所治疗的受试者的应答和/或取决于给出本发明的化合物处方的医师的评估。

[0159] 可以与载体材料组合以产生单一剂型的具有式(I)的化合物的量将取决于治疗的疾病、哺乳动物种类以及特定施用模式而变化。然而,作为一般指导,本发明的化合物的合适单位剂量可以例如优选地含有0.1mg至约1000mg之间的活性化合物。优选的单位剂量是在1mg至约500mg之间。更优选的单位剂量是在1mg至约300mg之间。甚至更优选的单位剂量是在1mg至约100mg之间。此类单位剂量可以每天超过一次地被施用,例如一天2次、3次、4次、5次或6次,但是优选每天1次或2次,这样使得对于一个70kg的成人每次施用的总剂量是每kg受试者体重在0.001至约15mg的范围内。优选的剂量是每次施用每kg受试者体重0.01至约1.5mg,并且此类疗法可以持续多个星期或月,并且在一些情况中,持续多年。然而,应当理解,任何特定患者的具体剂量水平取决于各种因素,包括采用的特定化合物的活性;所治疗的个体的年龄、体重、总体健康状况、性别和饮食;施用时间和途径;排泄速率;先前施用的其他药物;及进行医疗的特定疾病的严重性,如本领域技术人员所理解的。

[0160] 典型剂量可以是一天服用一次或一天多次的一片1mg至约100mg片剂或1mg至约300mg,或者一天服用一次的、并且含有在比例上含量较高的活性成分的一粒延时释放(time-release)的胶囊或片剂。延时释放效应可以通过在不同的pH值下溶解的胶囊材料、通过经渗透压造成的缓慢释放的胶囊、或者通过控制释放的任何其他已知手段来获得。

[0161] 如本领域技术人员将理解的,在一些情况下有必要使用这些范围外的剂量。此外,应当注意临床医生或治疗医师结合个体患者应答将知道如何以及何时开始、中断、调节或终止治疗。

[0162] 本发明还提供了试剂盒,其包含根据本发明的化合物、处方信息(也称为“说明书”)、泡罩包装或瓶、以及容器。此外,本发明提供了试剂盒,其包含根据本发明的药物组合物、处方信息(也称为“说明书”)、泡罩包装或瓶、以及容器。处方信息优选包括关于施用根据本发明的化合物或药物组合物而给患者的建议或指导。特别地,处方信息包括如下给患者的建议或指导:关于根据本发明的所述化合物或药物组合物的施用,关于如何使用根据本发明的化合物或药物组合物,以预防和/或治疗有需要的受试者的tau病变。因此,在一个实施例中,本发明提供了套装试剂盒,其包含具有式(I)的化合物或其立体异构体,或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或包含所述化合物的药物组合物,以及用于预防或治疗tau病变的说明书。本文提及的试剂盒特别地可以是适于商业销售的药物包装。

[0163] 对于以上提供的组合物、方法以及试剂盒,本领域技术人员将理解,用于各个的优选化合物是根据以上优选提到的那些化合物。用于组合物、方法和试剂盒的其他优选化合物是在以下非限制性实例中提供的那些化合物。

[0164] 实验部分

[0165] 在下文中,术语“m.p.”意指熔点,“min”意指分钟,“AcOH”意指乙酸,“aq.”意指水性,“DIBAL”意指氢化二异丁基铝,“r.m.”意指反应混合物,“r.t.”或“RT”意指室温,“rac”或“RS”意指外消旋,“sat.”意指饱和,“SFC”意指超临界流体色谱法,“SFC-MS”意指超临界流体色谱法/质谱法,“LC-MS”意指液相色谱法/质谱法,“HOBt”意指1-羟基苯并三唑,“HPLC”意指高效液相色谱法,“NP”意指正相,“RP”意指反相,“Rt”意指保留时间(以分钟计),“[M+H]<sup>+</sup>”意指化合物的游离碱的质子化质量,“wt”意指重量,“THF”意指四氢呋喃,“EtOAc”意指乙酸乙酯,“DCE”意指二氯乙烷,“DCM”意指二氯甲烷,“DME”意指1,2-二甲氧基乙烷,“DMF”意指二甲基甲酰胺,“DIPEA”意指N,N-二异丙基乙胺,“EDC”意指乙基碳二亚胺,“Et<sub>2</sub>O”意指二乙醚,“MeOH”意指甲醇,“MeCN”意指乙腈,“MW”意指微波,“org.”意指有机,“sol.”意指溶液,“Boc”意指叔丁氧基羰基,“TLC”意指薄层色谱法,“Pd/C”意指钯碳,“EtOH”意指乙醇,“DIPE”意指二异丙醚,“T3P”意指丙基膦酸酐溶液,“Pd(OAc)<sub>2</sub>”意指乙酸钯(II),“Pd<sub>2</sub>dba<sub>3</sub>”意指三(二亚苺基丙酮)二钯(0),“PdCl<sub>2</sub>(dppf)”意指1,1'-[双(二苺基膦)二茂铁]二氯钯(II),“Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>”意指四(三苺基膦)钯(0),“XantPhos”意指4,5-双(二苺基膦)-9,9-二甲基咕吨,“HBTU”意指N,N,N',N'-四甲基-0-(1H-苺并三唑-1-基)脲鎓六氟磷酸盐,“i-PrOH”意指异丙醇。

[0166] 微波辅助的反应是在单模式反应器中进行的:在Initiator™ Sixty EXP微波反应器(拜泰齐公司(Biotage AB))或在多模式反应器中进行:MicroSYNTH Labstation(迈尔斯特通公司(Milestone, Inc.))。

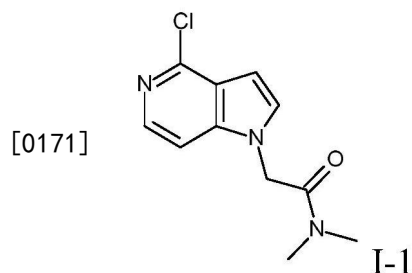
[0167] 使用试剂级溶剂,在硅胶60F254板(默克公司(Merck))上进行薄层色谱法(TLC)。使用标准技术,在硅胶上进行开口柱色谱法,粒度 60 Å,网目=230-400(默克公司)。

[0168] 使用易连接柱,在不规则硅胶上,粒度15-40µm(正相一次性快速柱),在以下不同的快速系统上进行自动快速柱色谱法:来自阿尔钦仪器公司(Armen Instrument)的SPOT或LAFLASH系统、或来自因特奇美拉公司(Interchim)的PuriFlash® 430evo系统、或来自安捷

伦公司 (Agilent) 的 971-FP 系统、或来自拜泰齐公司的 Isolera 1SV 系统。

[0169] 中间体的制备

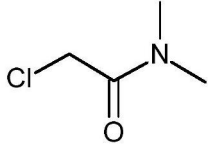
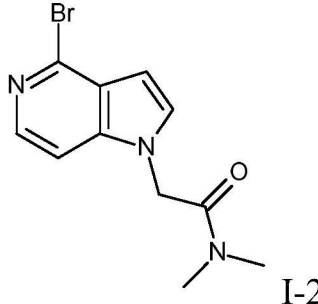
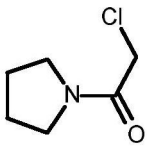
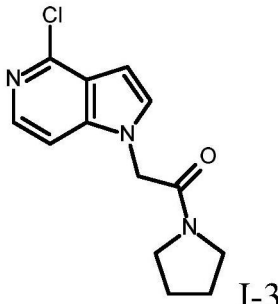
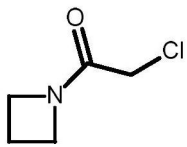
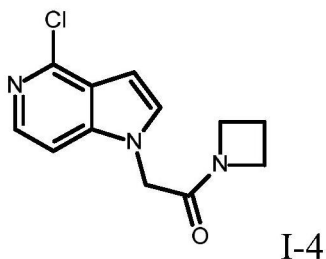
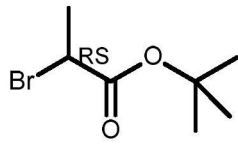
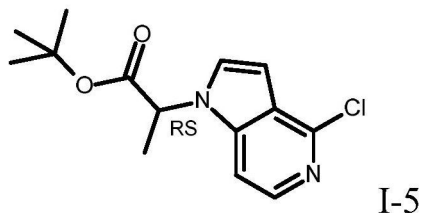
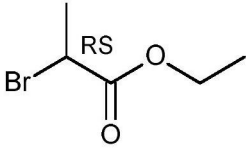
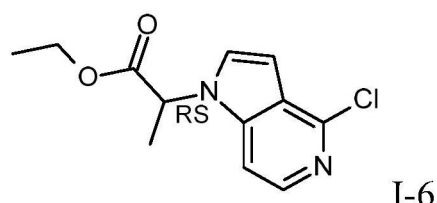
[0170] 中间体1的制备

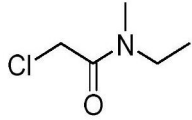
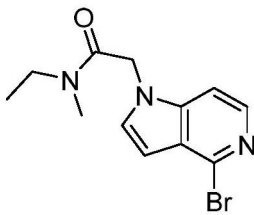
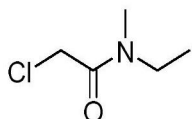
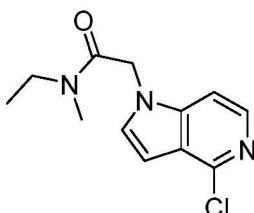
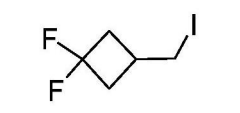
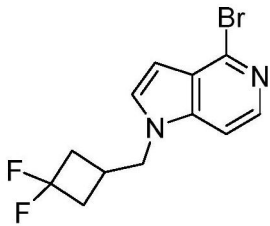
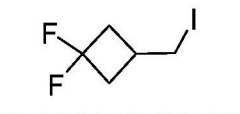
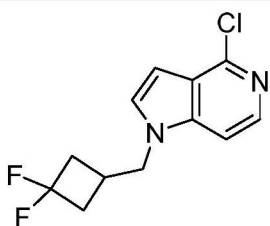


[0172] 在0℃下,向4-氯-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶([60290-21-3],4.74g,31.07mmol)在DMF(72.16mL)中的溶液中添加NaH(60%分散体在矿物油中,1.74g,43.49mmol),并且将反应混合物温热至rt并搅拌30min。然后将反应混合物冷却至0℃,并且添加2-氯-N,N-二甲基乙酰胺([2675-89-0],3.83mL,37.28mmol),并且将反应混合物温热至rt持续2h。添加NaHCO<sub>3</sub>饱和溶液,并且将有机层用EtOAc萃取,然后用水和盐水洗涤,然后经MgSO<sub>4</sub>干燥,并且将溶剂去除。将残余物通过快速柱色谱法(庚烷/EtOAc,从80/20至0/100)纯化,以获得呈白色固体的I-1(6.34g,产率68%)。

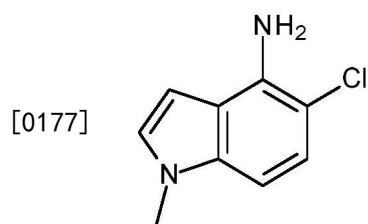
[0173] 从4-溴-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶([1000342-68-6])或4-氯-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶([60290-21-3])和所指示的试剂,以类似的方式制备以下中间体。

[0174]

| 试剂   | 中间体   |
|--|---|
| <br>[2675-89-0]   | <br>I-2   |
| <br>[20266-00-6]  | <br>I-3   |
| <br>[63177-41-3] | <br>I-4  |
| <br>[5292-43-3] | <br>I-5 |
| <br>[535-11-5]  | <br>I-6 |

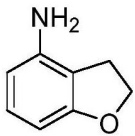
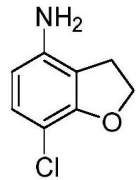
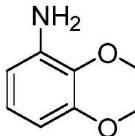
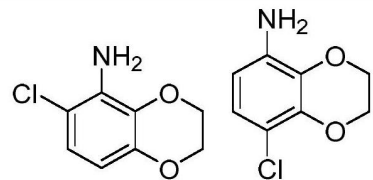
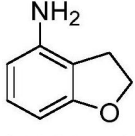
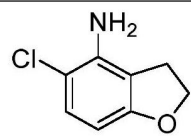
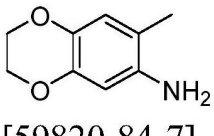
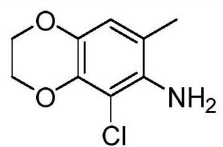
| 试剂  | 中间体   |
|---|---|
| <br>[2746-07-8]      | <br><b>I-45</b>   |
| <br>[0175]           | <br><b>I-46</b>   |
| <br>[1434142-22-9]   | <br><b>I-47</b>  |
| <br>[1434142-22-9] | <br><b>I-48</b> |

[0176] 中间体7的制备

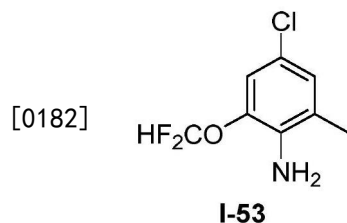


[0178] 在0℃下,向1-甲基-1H-吡啶-4-胺([85696-95-3],481mg,3.29mmol)在干DCM(9.62mL)中的混合物中分批添加N-氯代琥珀酰亚胺(461.32mg,3.45mmol),并且将反应混合物在0℃下搅拌30min,然后在rt下搅拌30min。然后将溶剂蒸发,并且将化合物通过快速柱色谱法(硅胶;洗脱液:DCM/庚烷(从30/70至80/20))纯化。将所希望的级分浓缩,产生I-7(240mg,40%)。

[0179] 从所指示的起始材料以与针对I-7所述类似的方式制备以下中间体。

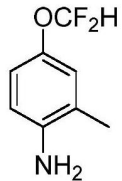

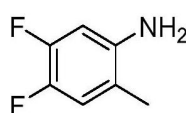
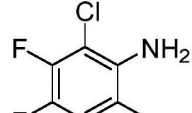
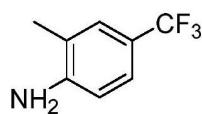
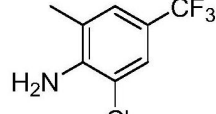
|        | 起始材料   | 中间体   |
|--------|--|---|
|        | <br>[61090-37-7]  | <br><b>I-49</b>               |
| [0180] | <br>[16081-45-1]  | <br><b>I-50a</b> <b>I-50b</b> |
|        | <br>[61090-37-7]  | <br><b>I-51</b>               |
|        | <br>[59820-84-7] | <br><b>I-52</b>              |

[0181] 中间体I-53的制备

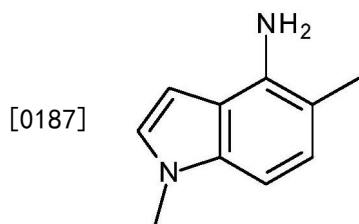


[0183] 将N-氯代琥珀酰亚胺(400mg, 3.00mmol)添加至2-(二氟甲氧基)-6-甲基苯胺[139909-66-3](520mg, 2.85mmol)在DMF(9.5mL)中的溶液中。将反应混合物在66℃下搅拌1h,并倾倒入水中。将水相用EtOAc萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并在减压下蒸发。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅,庚烷/EtOAc,梯度从0至35%)纯化,以得到I-53(476mg, 80%)。

[0184] 从所指示的起始材料以与针对I-53所述类似的方式制备以下中间体。

|        | 起始材料   | 中间体   |
|--------|--|---|
|        | <br>[37211-57-9]  | <br><b>I-54</b> |
| [0185] | <br>[875664-57-6] | <br><b>I-55</b> |
|        | <br>[67169-22-6]  | <br><b>I-56</b> |

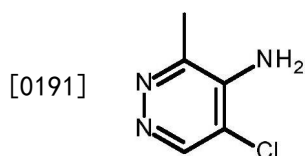
[0186] 中间体8的制备



[0188] N.B. 使用干燥的玻璃器皿并在氮气气氛下进行反应。

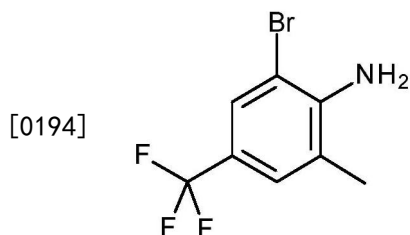
[0189] 将I-7 (221mg, 1.22mmol)、甲基氯化锌 ([5158-46-3], 1.22mL, 2M, 2.45mmol) 和双(三-叔丁基膦)钯(0) ([53199-31-8], 93.79mg, 0.18mmol) 在干THF (10mL) 中的混合物在rt下搅拌2h, 然后在60°C下搅拌48h。然后将反应用NH<sub>4</sub>Cl饱和溶液淬灭, 并蒸发至水层, 将该水层用DCM萃取, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 并浓缩。将所得的残余物通过快速柱色谱法(硅胶; 洗脱液: DCM/MeOH, 从100/0至90/10)纯化。将所希望的级分浓缩, 产生呈白色固体的I-8 (42mg, 21%)。

[0190] 中间体9的制备



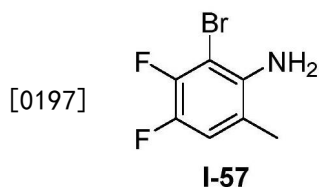
[0192] 将3,5-二氯吡嗪-4-胺 ([53180-76-0], 100mg, 0.61mmol)、三甲基环硼氧烷 ([823-96-1], 30.62mg, 0.24mmol) 和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>饱和溶液 (12.5mL) 在DME (2.5mL) 中的混合物用氮气脱气。添加Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (42.28mg, 0.037mmol), 并且将rm再次脱气。然后将反应混合物搅拌, 并在压力管中在氮气气氛下在160°C加热4h。将溶剂蒸发, 将残余物吸收进水/DCM中, 并且将有机相分离, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 并再次蒸发。将残余物通过快速柱色谱法(硅胶; 洗脱液: DCM/MeOH (100/0至92/8)纯化。将所希望的级分蒸发, 产生呈白色固体的I-9 (33mg, 产率37.69%)。

## [0193] 中间体10的制备



[0195] 在rt下(在Easymax™中),向2-甲基-4-(三氟甲基)苯胺([67169-22-6],5g,28.55mmol)、KBr(1.02g,8.55mmol)和七钨酸铵([12027-67-7],83.06mg,0.071mmol)在HOAc(25.72mL,449.66mmol)中的悬浮液中添加四水合过硼酸钠([7632-04-4],1.21g,7.84mmol)。每10min分批添加另外的KBr(1.02g,8.55mmol)、七钨酸铵(83.06mg,0.071mmol)和四水合过硼酸钠(1.21g,7.84mmol)(3x),并且1h后,将反应用最后部分的KBr(1.02g,8.55mmol)、七钨酸铵(83.06mg,0.071mmol)和四水合过硼酸钠(1.21g,7.84mmol)处理。1h后,将混合物倾倒入水中,用固体碳酸氢钠中和,用二乙醚萃取,用水然后是盐水洗涤,经硫酸镁干燥,并浓缩,以给出呈棕色油状物的I-10(7.1g,98%)。

## [0196] 中间体I-57的制备

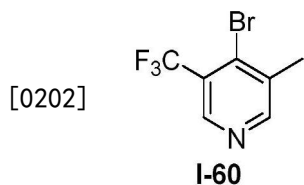


[0198] 在0℃下,将N-溴代琥珀酰亚胺(3.26g,18.3mmol)溶于DMF(10mL)中,并逐滴添加至4,5-二氟-2-甲基苯胺[875664-57-6](2.50g,17.5mmol)在无水DMF(21.3mL)中的溶液中。将反应混合物缓慢温热至室温并搅拌15min。将反应混合物倾倒入水中,用Et<sub>2</sub>O萃取,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并在减压下浓缩。将残余物通过快速柱色谱法(二氧化硅,庚烷/EtOAc,梯度从100:0至70:30)纯化,以得到呈棕色固体的I-57(1.8g,46%)。

[0199] 从所指示的起始材料以与针对I-57所述类似的方式制备以下中间体。

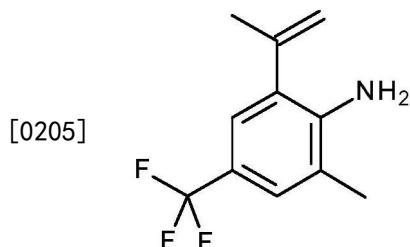
| 起始材料                 | 中间体                |
|----------------------|--------------------|
| <p>[106876-54-4]</p> | <p><b>I-58</b></p> |
| <p>[86256-59-9]</p>  | <p><b>I-59</b></p> |

## [0201] 中间体I-60的制备



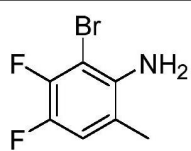
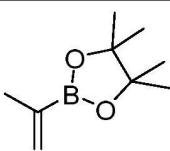
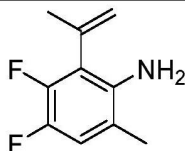
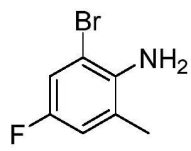
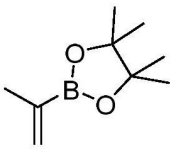
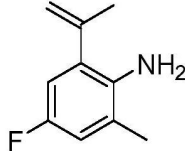
[0203] 在0℃下,将亚磺酸锌(1.0g,3.00mmol)添加至3-溴-4-甲基吡啶(300mg,1.74mmol)在CHCl<sub>3</sub>(9.8mL)和H<sub>2</sub>O(3mL)的混合物中的溶液中,并且将反应混合物剧烈搅拌。逐滴添加叔丁基过氧化氢(70%纯度,0.72mL,5.23mmol),并且将反应混合物在50℃下搅拌48h。添加另外的量的亚磺酸锌(1.00g,3.00mmol),并且将反应混合物在50℃下再搅拌24h。将混合物冷却至室温,并且添加NaHCO<sub>3</sub>/EDTA的饱和溶液直至pH=7。将溶液用DCM稀释,并用EDTA二钠盐/NaHCO<sub>3</sub>溶液洗涤。将水层用DCM萃取,并且将合并的有机层用盐水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并在减压下浓缩。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅,DCM)纯化,以得到呈白色固体的I-60(165mg,34%,88%纯度)。

[0204] 中间体11的制备



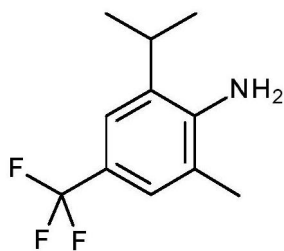
[0206] 将I-10(4g,15.74mmol)、异戊二烯硼酸频哪醇酯([126726-62-3],2910.43mg,17.32mmol)和Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(1091.67mg,0.94mmol)在K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>饱和溶液(0.5mL)和DME(64.55mL)中的混合物搅拌,并在压力管中在氮气气氛下在120℃加热90min。然后将溶剂蒸发,将残余物吸收进水/DCM中,并且将有机相分离,经MgSO<sub>4</sub>干燥,并再次蒸发。将残余物通过柱色谱法(硅胶;洗脱液:庚烷/EtOAc,梯度从100/0至50/50)纯化。将纯级分蒸发,产生呈棕色油状物的I-11(2.19g,65%)。

[0207] 从所指示的起始材料和试剂以与针对I-11所述类似的方式制备以下中间体。

|        | 起始材料   | 试剂   | 中间体  |
|--------|--|--|--|
| [0208] | <br><b>I-57</b>   | <br>[126726-62-3] | <br><b>I-61</b> |
|        | <br>[202865-77-8] | <br>[126726-62-3] | <br><b>I-62</b> |

[0209] 中间体12的制备

[0210]



[0211] 在rt下,将I-11 (2.19g, 10.18mmol)、Pd/C (10%, 1082.9mg, 1.02mmol) 在MeOH (266.37mL) 中的混合物用氢气氢化2h。将催化剂过滤,并且将滤液蒸发,产生呈棕色油状物的I-12 (2.2g, 产率99.52%)。

[0212] 从所指示的起始材料和试剂以与针对I-12所述类似的方式制备以下中间体。

[0213]

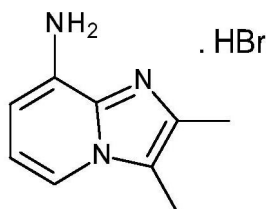
| 起始材料               | 中间体                |
|--------------------|--------------------|
| <p><b>I-61</b></p> | <p><b>I-63</b></p> |

[0214]

|                    |                    |
|--------------------|--------------------|
| <p><b>I-62</b></p> | <p><b>I-64</b></p> |
|--------------------|--------------------|

[0215] 中间体13的制备

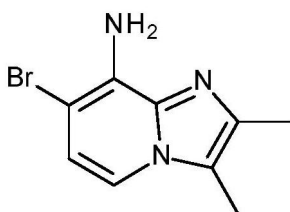
[0216]



[0217] 在N<sub>2</sub>下,将2,3-吡啶二胺 (112g, 1.03mmol) 和3-溴-2-丁酮 (190g, 1.26mmol) 在EtOH (1.85L) 中的溶液回流22h。然后将反应混合物冷却至rt,将固体过滤并用EtOH (约200mL) 洗涤,从Et<sub>2</sub>O重结晶,并在真空中干燥,以产生I-13 (92.3g, 37%)。

[0218] 中间体14的制备

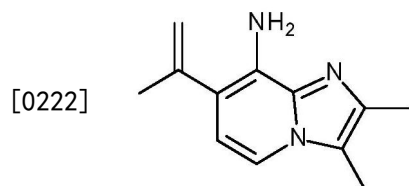
[0219]



[0220] 在50℃下,经1.5h,向I-13 (36.3g, 0.15mmol) 和无水NaOAc (5.56g, 0.07mmol) 在AcOH (100mL) 中的溶液中添加在AcOH (120mL) 中的Br<sub>2</sub> (24.21g, 0.15mmol), 并且将混合物在50℃下搅拌过夜。然后将混合物冷却至rt,并且添加Et<sub>2</sub>O (1.5L), 将所得的固体滤出并用Et<sub>2</sub>O洗涤。将固体添加至NaOH (3N, 1.3L) 中,并在rt下搅拌20min,然后将水层用DCM (3x

500mL) 萃取。将合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥, 浓缩, 并通过柱色谱法(二氧化硅; 洗脱液: DCM/MeOH(NH<sub>3</sub>), 100至98/2) 纯化。将所得的固体用DCM研磨, 以产生I-14 (20g, 56%)。

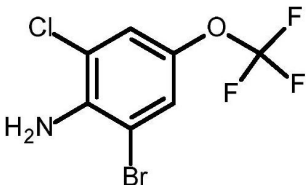
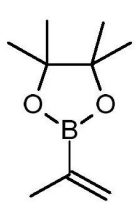
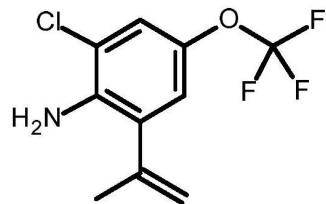
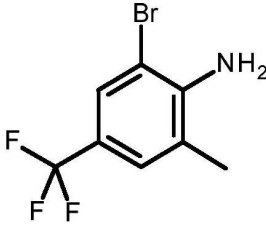
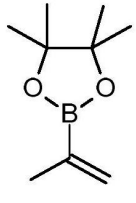
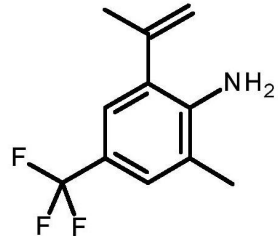
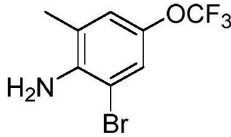
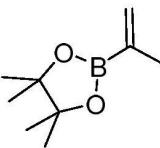
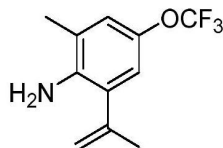
[0221] 中间体15的制备



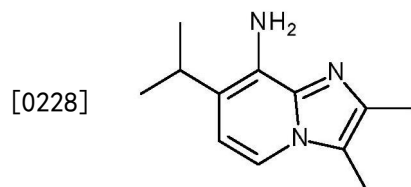
[0223] 向I-14 (1000mg, 4.165mmol) 在二噁烷 (10mL) 和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (10mL) 中的溶液中添加4,4,5,5-四甲基-2-(1-甲基乙烯基)-1,3,2-二氧杂环戊硼烷 ([126726-62-3], 839.86mg, 4.998mmol) 和Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (481.288mg, 0.416mmol), 然后将反应在150°C下使用MW加热10min。将反应混合物用EtOAc稀释, 并用盐水洗涤, 将有机级分经MgSO<sub>4</sub>干燥, 并在真空中浓缩。将残余物通过快速柱色谱法(二氧化硅, DCM/(NH<sub>3</sub>在MeOH中), 梯度从100/0至97/3) 纯化, 以得到I-15 (750mg, 产率89.47%)。

[0224] 从所指示的起始材料和试剂以与针对I-15所述类似的方式制备以下中间体。

| 起始材料  | 试剂                   | 中间体                         |
|---|----------------------|-----------------------------|
| <p>[97944-43-9]<br/>(1000 mg, 5.346 mmol)</p> | <p>[126726-62-3]</p> | <p>I-16 (650 mg, 82%)</p>   |
| <p>[201849-14-1]<br/>(350 mg, 1.559 mmol)</p> | <p>[126726-62-3]</p> | <p>I-17 (135.7 mg, 47%)</p> |

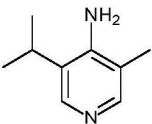
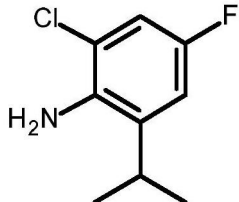
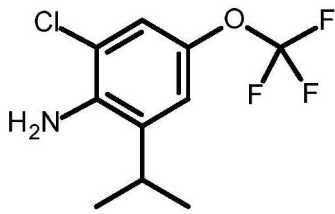
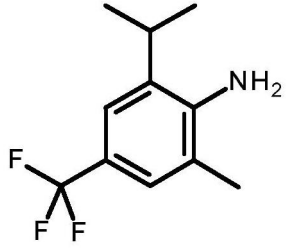
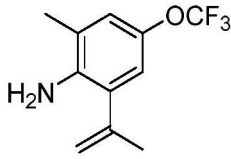
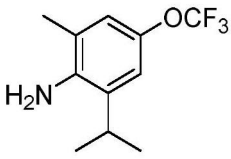
| 起始材料  | 试剂  | 中间体  |
|---|---|--|
| <br>[1228108-74-4]<br>(485 mg, 167 mmol) | <br>[126726-62-3]  | <br>I-18 (62.7 mg, 14.9%) |
| [0226]<br><br>[1100212-65-4]             | <br>[126726-62-3]  | <br>I-19 (2.19 g, 64%)    |
| <br><b>I-59</b>                         | <br>[126726-62-3] | <br><b>I-65</b>          |

[0227] 中间体20的制备

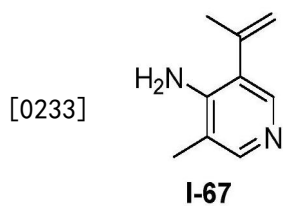


[0229] 向I-15 (750mg, 3.726mmol) 在EtOH (20mL) 中的溶液中添加Pd/C (10%, 3965.545mg, 3.73mmol), 将反应混合物在氢气气氛下搅拌2h。将反应混合物通过硅藻土过滤, 并在真空中浓缩。将粗混合物通过柱色谱法 (二氧化硅, DCM/(NH<sub>3</sub>在MeOH中), 梯度从100/0至97/3) 纯化, 以得到I-20 (680mg, 90%)。

[0230] 从所指示的起始材料和试剂以与针对I-20所述类似的方式制备以下中间体。

| 起始材料  | 中间体  |
|---|--|
| I-16  | <br>I-21 (900 mg, 89%)    |
| I-17  | <br>I-22 (77.2 mg, 56%)   |
| [0231] I-18   | <br>I-23 (52.5 mg, 83%) |
| I-19  | <br>I-24 (2.2 g, 99%)   |
| <br>I-65 | <br>I-66                |

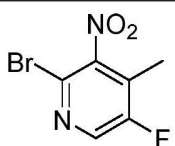
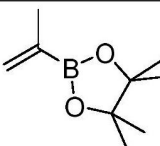
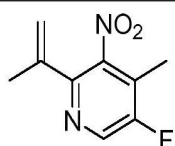
[0232] 中间体I-67的制备



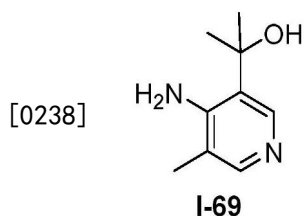
[0234] 将3-溴-5-甲基吡啶-4-胺(5.00g, 27mmol)、异丙烯基硼酸频哪醇酯(6.70g, 40mmol)、Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(3.20g, 2.70mmol)、1,4-二噁烷(50mL)和NaHCO<sub>3</sub>(饱和水溶液, 50mL)的

混合物在回流下搅拌16h。然后将悬浮液冷却,并用水和DCM稀释,直至清晰的相分离。将水相用DCM萃取。将合并的有机萃取物干燥( $MgSO_4$ ),过滤并在减压下浓缩。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅,流动相梯度:0-3%7 $NNH_3$ /MeOH在DCM中)纯化。将残余物与另一级分(1.5g)合并,并溶于i-PrOH(20mL)中。将混合物用HCl(6M在i-PrOH中,9mL,54mmol)处理,并搅拌整个周末。将混合物冰冷却,并且将产物通过过滤收集,以得到呈白色固体的I-67(4.5g,76%)。

[0235] 从所指示的起始材料和试剂以与针对I-67所述类似的方式制备以下中间体。

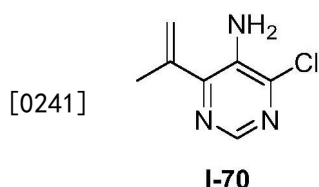
|        | 起始材料  | 试剂   | 中间体  |
|--------|---|--|--|
| [0236] | <br>[97944-43-9] | <br>[126726-62-3] | <br><b>I-68</b> |

[0237] 中间体I-69的制备



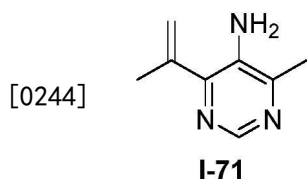
[0239] 将I-67(1.5g,8.12mmol)冷却至10℃,并且在搅拌下经10min逐滴添加 $H_2SO_4$ (3.42mL,50%在水中)。将反应混合物在0℃下搅拌整个周末。将反应混合物添加至冰冷的NaOH溶液(100mL)中,并添加 $K_2CO_3$ 。将水相用 $CHCl_3$ 萃取。将溶剂在减压下蒸发,并且将残余物与 $Et_2O$ 搅拌。将所得的固体滤出,并在...℃下干燥,以得到I-69(449mg,33%)。

[0240] 中间体I-70的制备



[0242] 向密封管中装入5-氨基-4,6-二氯嘧啶[5413-85-4](1.50g,9.15mmol)、异丙烯基硼酸频哪醇酯(1.72mL,9.15mmol)、 $Pd(PPh_3)_4$ (1.09g,9.24mmol)、1,4-二噁烷(22mL)和 $NaHCO_3$ (饱和水溶液,22mL)。将反应混合物在回流下搅拌16h,冷却至室温,并用水和DCM稀释,直至清晰的相分离。将水相用DCM萃取。将合并的有机萃取物干燥( $MgSO_4$ ),过滤并在减压下浓缩,以得到I-70,将其原样用于下一步骤。

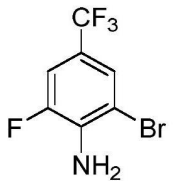
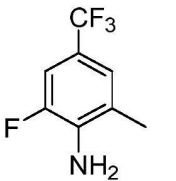
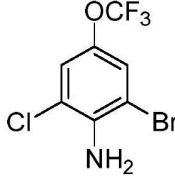
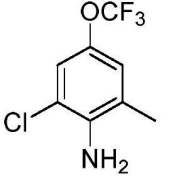
[0243] 中间体I-71的制备



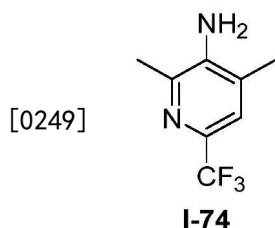
[0245] 向I-70在1,4-二噁烷(16.3mL)中的悬浮液中添加三甲基环硼氧烷(3.7mL,

26.5mmol)。添加Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>(324mg, 442μmol)和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(3.67g, 26.5mmol),并且将反应混合物用N<sub>2</sub>吹扫。将反应混合物在90℃下搅拌过夜。将反应混合物用EtOAc稀释,过滤并在减压下蒸发。将粗混合物经由制备型HPLC(固定相:RP Vydac Denali C18-10μm, 200g, 5cm I.D., 流动相:0.25%NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>水溶液, MeOH)纯化,以得到I-71(612mg, 49%, 经2步)。

[0246] 从所指示的起始材料以与针对I-71所述类似的方式制备以下中间体。

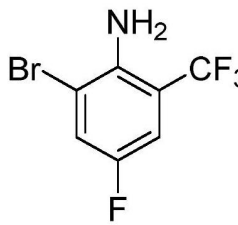
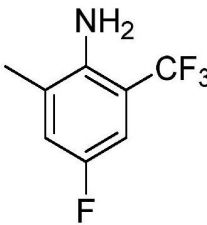
| 起始材料  | 中间体   |
|---|---|
|  <p>[1034325-63-7]</p> |  <p><b>I-72</b></p> |
|  <p>[1228108-74-4]</p> |  <p><b>I-73</b></p> |

[0248] 中间体I-74的制备

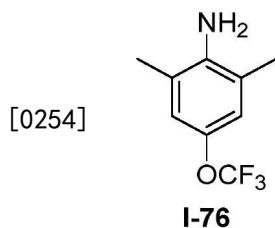


[0250] 将2,4-二溴-6-(三氟甲基)吡啶-3-胺[1214365-67-9](900mg, 2.81mmol)溶于1,4-二噁烷(7.2mL)和水(0.9mL)的混合物中。添加三甲基环硼氧烷(1.13mL, 8.07mmol)、Pd(ddpf)Cl<sub>2</sub>·DCM(206mg, 0.25mmol)和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.17g, 8.47mmol),并且将反应混合物在140℃下在微波中加热1h。将混合物与另一级分(0.31mmol)合并,并用水和EtOAc稀释。将水层萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并在减压下蒸发。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅, DCM)纯化,以得到I-74(424mg, 72%)。

[0251] 从所指示的起始材料以与针对I-74所述类似的方式制备以下中间体。

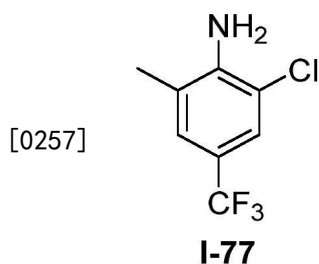
| 起始材料   | 中间体   |
|--|---|
|  <p>[875664-27-0]</p> |  <p><b>I-75</b></p> |

[0253] 中间体I-76的制备



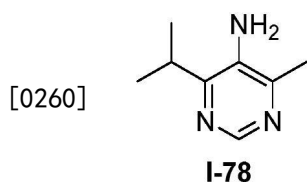
[0255] 将2,6-二溴-4-(三氟甲氧基)苯胺[88149-49-9] (1.00g, 2.99mmol)、三甲基环硼氧烷(0.93mL, 6.55mmol)、Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (207mg, 0.18mmol) 和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.24g, 8.96mmol) 在1,4-二噁烷(1.56mL)中的混合物在130℃下搅拌2h。将反应混合物用水和DCM稀释。分离各层,并且将有机相干燥(MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在减压下蒸发。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅, 庚烷/EtOAc, 梯度从100:0至70:30)纯化, 以得到I-76 (220mg, 36%)。

[0256] 中间体I-77的制备



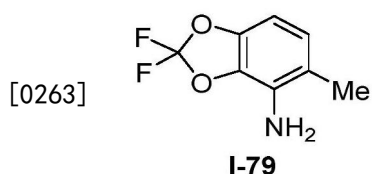
[0258] 向密封管中装入2-溴-6-氯-4-(三氟甲基)苯胺[109919-26-8] (1.00g, 3.64mmol)、三甲基硼氧环烷(0.61mL, 4.37mmol)、Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0.43g, 368μmol)、1,4-二噁烷(8.6mL)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.00g, 7.29mmol) 和水(1.32mL)。将反应混合物在90℃下搅拌过夜, 并在120℃下再搅拌2h。将混合物冷却至室温, 并用水和DCM稀释, 直至清晰的相分离。将水相用DCM萃取。将合并的有机萃取物干燥(MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在减压下浓缩。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅, 庚烷/EtOAc, 梯度从100:0至90:10)纯化, 以得到I-77 (376mg, 49%)。

[0259] 中间体I-78的制备



[0261] 向I-71 (612mg, 4.10mmol) 在MeOH (25mL) 中的溶液中添加Pd/C (5%, 175mg, 0.08mmol), 并且将反应混合物在H<sub>2</sub>气氛下在室温下搅拌1h。将反应混合物过滤, 并且将滤液在减压下蒸发, 以得到I-78 (634mg, 85%)。

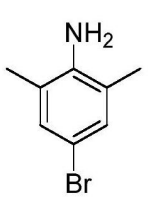
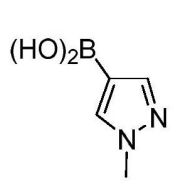
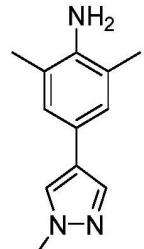
[0262] 中间体I-79的制备



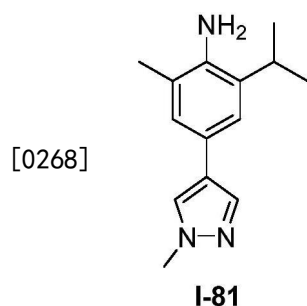
[0264] 在密封管中并且在N<sub>2</sub>气氛下, 将Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (85.7mg, 0.11mmol) 添加至甲基硼酸[13061-96-6] (151mg, 2.52mmol)、I-58 (529mg, 2.10mmol) 和Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (667mg, 6.30mmol) 在1,4-二噁烷(12mL) 和水(3mL) 中的搅拌混合物中。将反应混合物在90℃下搅拌

16h,并用水稀释。将混合物用EtOAc萃取。将有机层干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并在减压下蒸发。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅,庚烷/EtOAc,梯度从100:0至90:10)纯化,以得到呈无色油状物的I-79。

[0265] 从所指示的起始材料和试剂以与针对I-79所述类似的方式制备以下中间体。

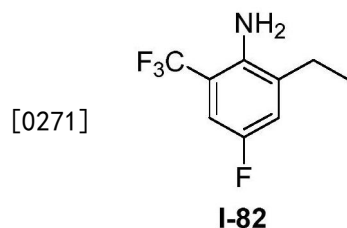
|        | 起始材料  | 试剂   | 中间体  |
|--------|---|--|--|
| [0266] | <br>[24596-19-8] | <br>[847818-55-7] | <br><b>I-80</b> |

[0267] 中间体I-81的制备



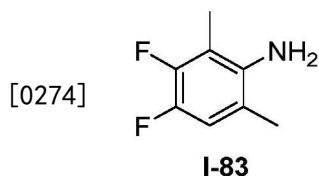
[0269] 将4-溴-2-异丙基-6-甲基苯胺[773887-07-3](871mg,3.82mmol)、1-甲基-1H-吡唑-4-硼酸[847818-55-7](744mg,4.58mmol)和Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.21g,11.4mmol)在1,4-二噁烷(16.3mL)和水(68.9μL)中的混合物用N<sub>2</sub>吹扫5min。添加PdCl<sub>2</sub>(dppf)(156mg,0.19mmol),并且将反应混合物在100℃下搅拌6h。将混合物用水和EtOAc稀释。将水相萃取。将合并的有机萃取物干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并在减压下浓缩。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅,庚烷/EtOAc,梯度从100:0至50:50)纯化,以得到I-81(855mg,97%)。

[0270] 中间体I-82的制备



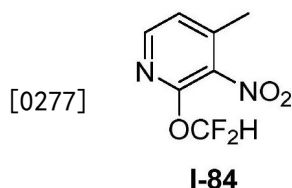
[0272] 向2-溴-4-氟-6-(三氟甲基)苯胺[875664-27-0](1.00g,3.88mmol)在1,4-二噁烷(10mL)中的悬浮液中添加乙基硼酸[4433-63-0](573mg,7.75mmol)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>(142mg,0.19mmol)和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.61g,11.6mmol)。将反应混合物在密封管中在N<sub>2</sub>气氛下在120℃搅拌3h。将反应混合物用EtOAc稀释,过滤并在减压下蒸发。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅,庚烷/EtOAc,梯度从100:0至70:30)纯化,以得到I-82(0.51g,63%)。

[0273] 中间体I-83的制备



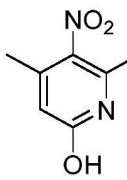
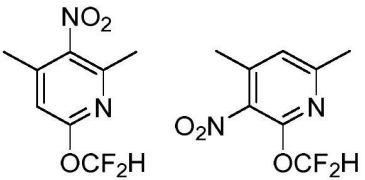
[0275] 将I-57 (650mg, 2.93mmol) 在无水THF (14.6mL) 中的混合物用N<sub>2</sub>脱气10min。添加Pd (t-Bu<sub>3</sub>P)<sub>2</sub> (43.9mg, 85.9μmol), 随后用注射器添加甲基氯化锌 (2M在THF中, 2.20mL, 4.40mmol), 同时将反应混合物的温度维持在室温。将反应混合物搅拌1h, 并用水稀释。将混合物通过硅藻土过滤, 并且将滤液在减压下蒸发 (剩余水)。添加水 (20mL), 并且将残余物用DCM萃取。将有机相干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤, 并且将挥发物在减压下蒸发。将粗混合物通过快速柱色谱法 (二氧化硅, 庚烷/EtOAc, 梯度从100:0至70:30) 纯化, 以得到I-83 (430mg, 93%)。

[0276] 中间体I-84的合成

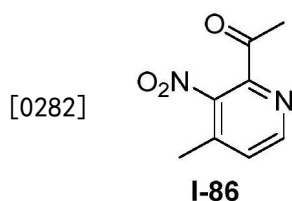


[0278] 在0℃并且在N<sub>2</sub>气氛下, 将NaH (60%分散体在矿物油中, 649mg, 16.2mmol) 添加至2-羟基-4-甲基-3-硝基吡啶 [21901-18-8] (1.00g, 6.49mmol) 在MeCN (70mL) 中的浆料中。将反应混合物在室温下搅拌45min, 并且逐滴添加2,2-二氟-(氟磺酰基)乙酸 [1717-59-5] (0.89mL, 8.37mmol)。将反应混合物在20℃下搅拌过夜。添加NH<sub>4</sub>Cl (饱和水溶液), 并且将混合物用EtOAc萃取 (两次)。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并浓缩至干燥。将粗混合物通过快速柱色谱法 (二氧化硅, 庚烷/EtOAc, 梯度从100:0至50:50) 纯化, 以得到I-84 (670mg, 51%)。

[0279] 从所指示的起始材料以与针对I-84所述类似的方式制备以下中间体。

|        | 起始材料  | 中间体   |
|--------|---|---|
| [0280] | <br>[22934-24-3] | <br><b>I-85a</b> <b>I-85b</b> |

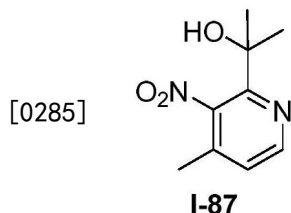
[0281] 中间体I-86的制备



[0283] 向2-溴-4-甲基-3-硝基吡啶 [23056-45-3] (4.00g, 18.4mmol) 在甲苯 (200mL) 中的溶液中添加三丁基 (1-乙氧基乙烯基) 锡 (10.2mL, 30.2mmol) 和Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (2.34g, 2.03mmol)。将反应混合物在100℃下搅拌16h。添加另外的量的三丁基 (1-乙氧基乙烯基) 锡

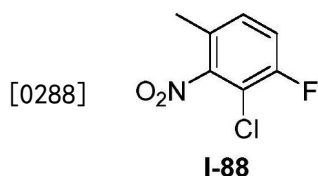
(3.5mL), 并且将反应混合物再搅拌4h。在0℃下添加HCl (37%在H<sub>2</sub>O中, 38.5mL, 461mmol), 并且将混合物在室温下搅拌1h。将反应混合物用KF (水溶液, 100mL) 淬灭。将混合物用EtOAc (3x 50mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 过滤并在减压下蒸发。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅, 庚烷/EtOAc, 梯度从100:0至70:30) 纯化, 以得到I-86 (2.64g, 72%)。

[0284] 中间体I-87的制备



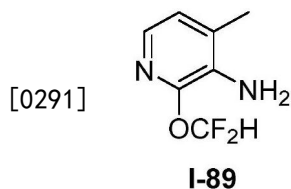
[0286] 在0℃下, 向I-86 (1.45g, 8.05mmol) 在THF (19.2mL) 中的溶液中逐滴添加甲基溴化镁 (1.4M溶液, 7.67mL, 10.7mmol)。将反应混合物在室温下搅拌3h。添加另外的量的甲基溴化镁 (0.5当量), 并且将反应混合物再搅拌一小时。将反应用NH<sub>4</sub>Cl (饱和水溶液) 淬灭, 并用EtOAc萃取 (3次)。将合并的有机萃取物干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 过滤并在减压下浓缩。将粗混合物通过快速柱色谱法 (二氧化硅, DCM/MeOH, 梯度从100:0至99:1) 纯化, 以得到I-87 (977mg, 41%)。

[0287] 中间体I-88的制备



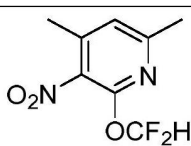
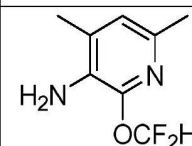
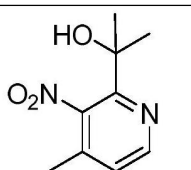
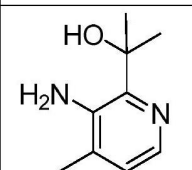
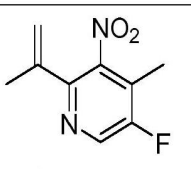
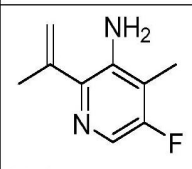
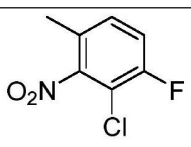
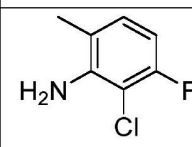
[0289] 在-78℃下, 向4-氟-2-硝基甲苯 [446-10-6] (1.00g, 6.45mmol) 在THF (10mL) 中的溶液中添加N-氯代琥珀酰亚胺 (2.58g, 19.3mmol) 和双(三甲基甲硅烷基) 酰胺钠 (1M溶液, 12.9mL, 12.9mmol), 同时维持反应混合物的内部温度低于-75℃。将反应混合物在-78℃下搅拌30min, 并在HCl (5%) 与EtOAc之间分配。分离各层, 并且将有机相干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤, 并且将溶剂在减压下蒸发。将粗混合物通过快速柱色谱法 (二氧化硅, 庚烷/EtOAc) 纯化, 以得到I-88 (3.62g, 59%)。

[0290] 中间体I-89的制备

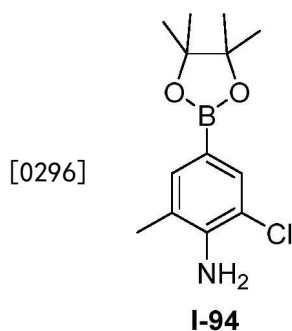


[0292] 将I-84 (0.81g, 3.97mmol) 溶于EtOH (22mL)、THF (7.4mL) 和水 (7.4mL) 中。添加铁 (1.77g, 31.7mmol) 和NH<sub>4</sub>Cl (2.55g, 47.6mmol)。将反应混合物在密封管中在60℃下搅拌2h。将反应混合物在EtOH中稀释, 并通过Celite® 过滤。将Celite® 垫用EtOH洗涤, 并且将滤液在减压下浓缩至约2mL。将溶液用DCM稀释, 用NaHCO<sub>3</sub> (饱和水溶液) 洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在减压下蒸发, 以得到I-89 (685mg, 79% 产率, 80% 纯度)。

[0293] 从所指示的起始材料与针对I-89所述类似的方式制备以下中间体。

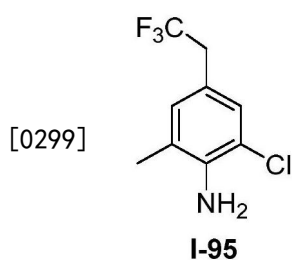
|        | 起始材料  | 中间体   |
|--------|---|---|
|        | <br><b>I-85b</b> | <br><b>I-90</b> |
| [0294] | <br><b>I-87</b>  | <br><b>I-91</b> |
|        | <br><b>I-68</b>  | <br><b>I-92</b> |
|        | <br><b>I-88</b>  | <br><b>I-93</b> |

[0295] 中间体I-94的制备



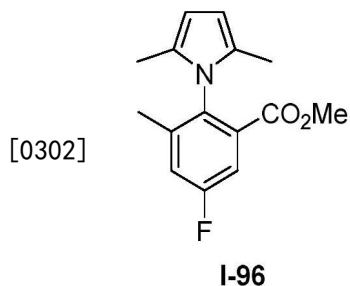
[0297] 向4-溴-2-氯-6-甲基苯胺[30273-42-8] (650mg, 2.95mmol) 在DMF (20mL) 中的溶液中添加双(频哪醇基)二硼 (1.05g, 4.13mmol)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.87g, 8.84mmol) 和PdCl<sub>2</sub>(dppf) (216mg, 0.295mmol)。将反应混合物在100℃下搅拌1h。将反应混合物倾倒入水中, 并且将水相用EtOAc萃取(两次)。使合并的有机层通过 **Celite®** 塞。将滤液用盐水洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在减压下浓缩, 以得到I-94 (780mg), 将其原样用于下一步骤。

[0298] 中间体I-95的制备



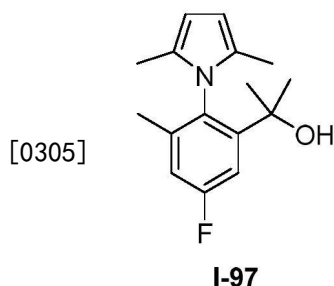
[0300] 在 $N_2$ 气氛下,将XantPhos (123mg,0.21mmol)和 $Pd_2dba_3$  (66.7mg,72.9 $\mu$ mol)添加至I-94和 $CF_3CH_2I$  (0.58mL,5.83mmol)在1,4-二噁烷(32.8mL)中的混合物中。依次添加水(1.45mL)和 $Cs_2CO_3$  (3.80g,11.7mmol),并且将反应混合物在80 $^{\circ}C$ 下搅拌过夜。将反应混合物冷却至室温,用1,4-二噁烷稀释,并通过Celite<sup>®</sup>垫过滤。将滤液用水和盐水洗涤,干燥( $MgSO_4$ ),过滤并在减压下蒸发。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅,庚烷/EtOAc,梯度从100:0至0:100)纯化,以得到I-95(147mg,15%,经2步)。

[0301] 中间体I-96的制备



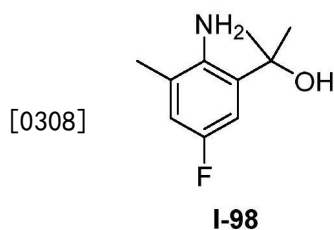
[0303] 将甲基2-氨基-5-氟-3-甲基苯甲酸酯[952479-98-0] (3.21g,17.5mmol)和2,5-己二酮[110-13-4] (4.11mL,35.0mmol)在丙酮(30mL)中的混合物在回流下搅拌2h。将反应混合物冷却至室温,并倾倒入冷水中。将混合物用DCM稀释。分离各层,并且将水相用DCM萃取。将合并的有机层干燥( $MgSO_4$ ),过滤并在减压下浓缩。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅,庚烷/EtOAc,梯度从100:0至90:10)纯化,以得到I-96(1.77g,39%)。

[0304] 中间体I-97的制备



[0306] 在0 $^{\circ}C$ 下,向I-96(1.77g,6.77mmol)在THF(24.4mL)中的溶液中逐滴添加甲基溴化镁(1.4M溶液,29.0mL,40.6mmol)。将反应混合物在室温下搅拌4h。将反应用 $NH_4Cl$ (饱和水溶液)淬灭,并用EtOAc萃取(3次)。将合并的有机层干燥( $Na_2SO_4$ ),过滤并在减压下浓缩。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅,庚烷/EtOAc,梯度从100:0至90:10)纯化,以得到I-97。

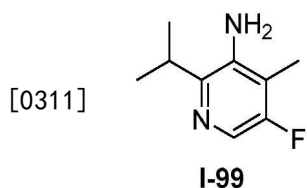
[0307] 中间体I-98的制备



[0309] 将I-97在EtOH(61.7mL)和水(33mL)中的溶液用羟胺盐酸盐(15.6g,225mmol)和KOH(7.104g,126.6mmol)处理,并在100 $^{\circ}C$ 下加热过夜。将混合物冷却至室温,并且将残余物

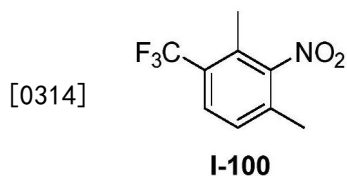
用EtOAc萃取(两次)。将合并的有机相用盐水洗涤,干燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ),过滤并在减压下浓缩。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅,庚烷/EtOAc,梯度从100:0至50:50)纯化,以得到I-98(220mg,17%,经2步)。

[0310] 中间体I-99的制备



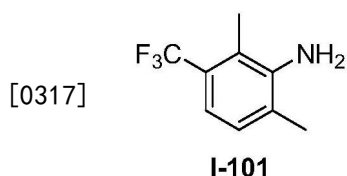
[0312] 向I-92(233mg,1.40mmol)在THF(17mL)中的溶液中添加铂(5.46mg,0.03mmol),并且将反应混合物在 $\text{H}_2$ 气氛下在室温下搅拌1h。将反应混合物过滤,并且将滤液在减压下浓缩。将残余物与另一级分(1.40mmol)合并,并通过快速柱色谱法(二氧化硅,DCM/MeOH,梯度从100:0至90:10)纯化,以得到I-99(224mg,48%)。

[0313] 中间体I-100的制备



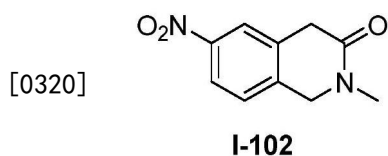
[0315] 将1-碘-2,4-二甲基-3-硝基苯[56404-21-8](1.50g,5.41mmol)、甲基2,2-二氟-2-(氟磺酰基)乙酸酯[680-15-9](6.24g,32.5mmol)、CuI(1.24g,6.50mmol)和DIPEA(0.70g,5.41mmol)在无水DMF(13.9mL)中的混合物在 $80^\circ\text{C}$ 下搅拌2h。将混合物倾倒入水中,并且将水相用 $\text{Et}_2\text{O}$ 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,干燥( $\text{MgSO}_4$ ),过滤并在减压下浓缩。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅,戊烷/ $\text{Et}_2\text{O}$ ,梯度从100:0至90:10)纯化,以得到呈黄色油状物的I-100(840mg,71%)。

[0316] 中间体I-101的制备



[0318] 向I-100(1.12g,5.11mmol)在MeOH(49.1mL)中的溶液中添加Pd/C(10%,5.44mg,5.1 $\mu\text{mol}$ )。将反应混合物在 $\text{H}_2$ 气氛下在室温下搅拌18h。将催化剂滤出,并且将滤液在减压下蒸发。将残余物通过快速柱色谱法(二氧化硅,庚烷/EtOAc,梯度从100:0至80:20)纯化,以得到呈无色油状物的I-101(810mg,84%)。

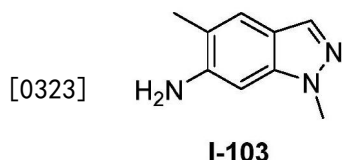
[0319] 中间体I-102的制备



[0321] 在 $\text{N}_2$ 气氛下,将五氧化二磷(2.35g,16.5mmol)添加至甲磺酸(19.5mL,301mmol)中,并且将混合物在室温下搅拌5h。添加N-甲基-2-(3-硝基苯基)乙酰胺[19281-10-8]

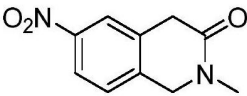
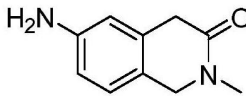
(2.60g, 13.4mmol) 和多聚甲醛 (508mg, 16.1mmol), 并且将反应混合物在 80°C 下搅拌 48h。将反应混合物冷却至 0°C, 并用水稀释。将残余物溶于 EtOAc 中, 并且将 pH 用 NaOH (5M, 水溶液) 调节至 8。将水相用 EtOAc 萃取。将合并的有机萃取物干燥 ( $MgSO_4$ ), 过滤并在减压下浓缩。将粗混合物通过快速柱色谱法 (二氧化硅, 庚烷/EtOAc, 梯度从 100:0 至 0:100) 纯化, 以得到呈白色固体的 I-102 (302mg, 11%)。

[0322] 中间体 I-103 的制备

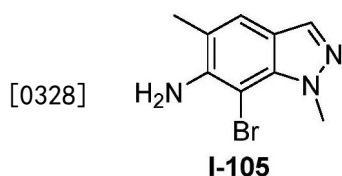


[0324] 将 Pd/C (10% 纯度, 71.7mg, 67.3 $\mu$ mol) 添加至 1,5-二甲基-6-硝基-1H-吡唑 [78416-45-2] (515mg, 2.69mmol) 在 EtOH (10mL) 中的溶液中。将混合物用  $H_2$  吹扫, 并且将反应混合物在  $H_2$  气氛下在 50°C 搅拌 16h。将混合物经 Celite® 过滤并用 EtOAc 洗涤。将滤液在减压下浓缩。将粗混合物通过快速柱色谱法 (二氧化硅, 庚烷/EtOAc, 梯度从 100:0 至 50:50) 纯化, 以得到呈橙色固体的 I-103 (315mg, 72%)。

[0325] 从所指示的起始材料以与针对 I-103 所述类似的方式制备以下中间体。

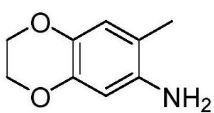
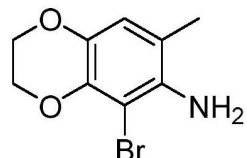
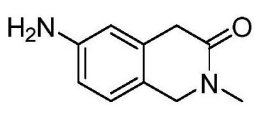
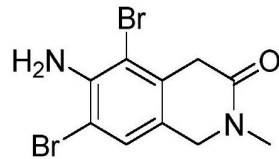
|        | 起始材料   | 中间体   |
|--------|--|---|
| [0326] | <br><b>I-102</b> | <br><b>I-104</b> |

[0327] 中间体 I-105 的制备

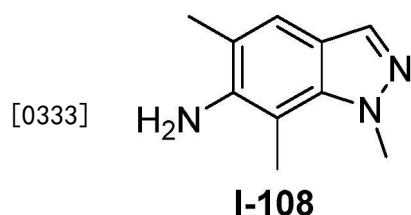


[0329] 将 I-103 (310mg, 1.92mmol) 溶于 DCM (15mL) 中。逐滴添加溴 (0.10mL, 2.02mmol) 在 DCM (4mL) 中的溶液。将反应混合物在室温下搅拌 3h, 并用 DCM 稀释。将混合物用水洗涤, 干燥 ( $MgSO_4$ ), 过滤, 并且将挥发物在减压下去除。将粗混合物通过快速柱色谱法 (二氧化硅, 庚烷/EtOAc, 梯度从 100:0 至 80:20) 纯化, 以得到呈浅橙色固体的 I-105 (362mg, 78%)。

[0330] 从所指示的起始材料以与针对 I-105 所述类似的方式制备以下中间体。


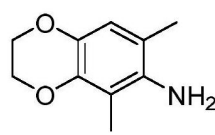
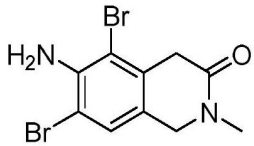
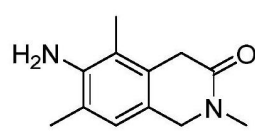
|        | 起始材料  | 中间体  |
|--------|---|--|
| [0331] | <br>[59820-84-7] | <br><b>I-106</b> |
|        | <br><b>I-104</b> | <br><b>I-107</b> |

[0332] 中间体I-108的制备

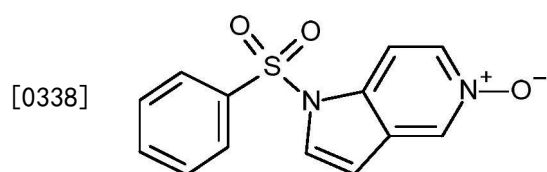


[0334] 将I-105 (362mg, 1.51mmol) 和甲基硼酸 [13061-96-6] (230mg, 3.77mmol) 添加至  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (479mg, 4.52mmol) 在1,4-二噁烷 (4mL) 和  $\text{H}_2\text{O}$  (1mL) 中的搅拌溶液中。添加  $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2 \cdot \text{DCM}$  (61.6mg, 75.4 $\mu\text{mol}$ ), 并且将反应混合物在  $105^\circ\text{C}$  下搅拌16h。将反应混合物用水和 EtOAc 稀释。将有机层分离, 干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ), 过滤并在减压下浓缩。将粗混合物通过快速柱色谱法 (二氧化硅, 庚烷/EtOAc, 梯度从100:0至80:20) 纯化, 以得到呈浅黄色固体的I-108 (162mg, 61%)。

[0335] 从所指示的起始材料以与针对中间体I-108所述类似的方式制备以下中间体。

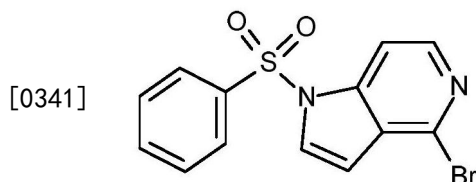
|        | 起始材料  | 中间体  |
|--------|---|--|
| [0336] | <br><b>I-106</b> | <br><b>I-109</b> |
|        | <br><b>I-107</b> | <br><b>I-110</b> |

[0337] 中间体25的制备



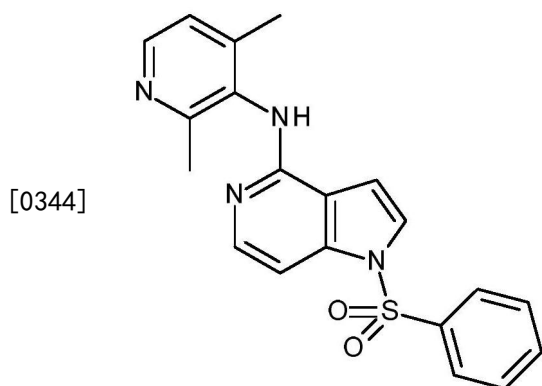
[0339] 向EasyMax 400mL反应器中装入1-(苯磺酰基)-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶([109113-39-5], 12g, 46.458mmol)在DCM(315mL)中的溶液。向溶液中添加mCPBA(12.026g, 69.686mmol)。将反应混合物在rt下搅拌60min,并用亚硫酸钠水溶液淬灭。将水层分离,并且将有机层用碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤。将有机层分离,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并在真空中浓缩,以给出膏状固体。将此固体在ACN中结晶,以得到I-25(8.3g, 65%)。将滤液浓缩,以得到第二批的I-25(3.5g),将其通过柱色谱法(硅胶;洗脱液:DCM/7NNH<sub>3</sub>在MeOH中,100/0至95/5)纯化,以得到1.8g的化合物,将该化合物在ACN中结晶,以得到另一批的I-25(1.39g, 11%)。

[0340] 中间体26的制备



[0342] 在EasyMax反应器中,在N<sub>2</sub>气氛下,将I-25(9.7g, 35.363mmol)溶于干ACN(138mL)和干二噁烷(138mL)中。向此溶液中分批添加氧溴化磷(32.394g, 112.995mmol)。将所得的混合物在70℃下搅拌过夜。将反应混合物浓缩,并且将DCM和水添加至混合物中。将有机层用盐水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并在真空中浓缩,以得到粗品(36g),将该粗品通过柱色谱法(硅胶;洗脱液:庚烷/EtOAc,100/0至0/100)纯化,以得到呈白色固体的I-26(8.6g, 72%)。

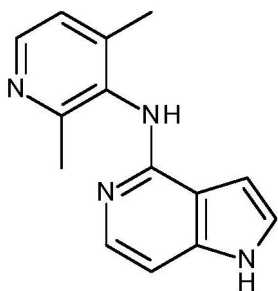
[0343] 中间体27的制备



[0345] 将I-26(1g, 2.966mmol)、3-氨基-2,4-二甲基吡啶(398.5mg, 3.262mmol)和Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(2.126g, 6.524mmol)在tBuOH(12mL)中的混合物用氮气脱气。添加Pd(OAc)<sub>2</sub>(66.6mg, 0.297mmol)和Xantphos(171.6mg, 0.297mmol),并且将混合物在120℃下加热1h。将溶剂在真空中去除,并且将粗品用水稀释并用DCM萃取。将有机层干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并浓缩,以得到粗品(1.3g),将该粗品通过柱色谱法(硅胶;洗脱液:DCM/7NNH<sub>3</sub>在MeOH中,100/0至95/5)纯化。将残余物(1g)通过制备型HPLC(固定相:XBridge Prep C183.5μm, 4.6x 100mm;流动相:0.2%NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>水溶液,MeOH)进一步纯化,以得到I-27(560mg, 产率50%)。

[0346] 中间体28的制备

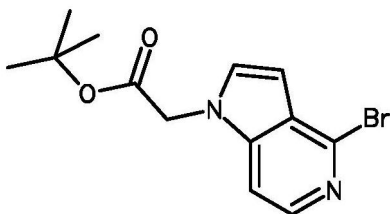
[0347]



[0348] 将I-27(1.2g, 3.171mmol)和NaOH(1M在H<sub>2</sub>O中, 9.5mL, 9.512mmol)在MeOH(19mL)中搅拌。将反应混合物在40℃下搅拌。1h后, 将反应通过添加几滴1M HCl淬灭。将反应混合物在真空中蒸发, 并且将水添加至残余物中。收集悬浮的固体, 添加EtOAc, 并且将水层用EtOAc萃取(3x)。将有机层干燥(MgSO<sub>4</sub>), 过滤并浓缩, 以得到粗品(1.2g), 将该粗品通过柱色谱法(硅胶; 洗脱液: DCM/7NH<sub>3</sub>在MeOH中, 100/0至95/5)纯化, 以得到I-28(245mg, 32)。

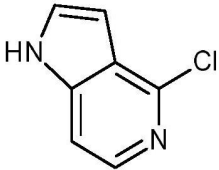
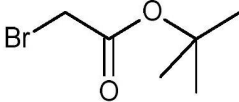
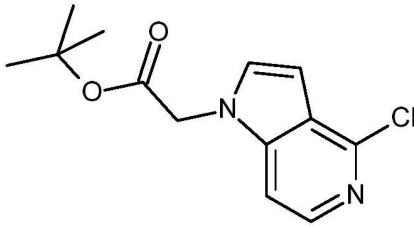
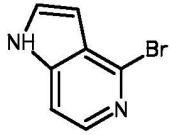
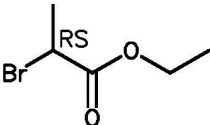
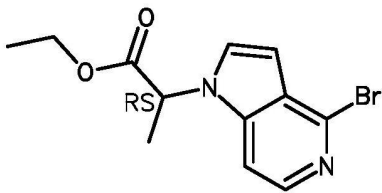
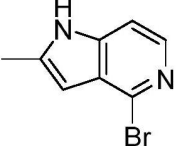
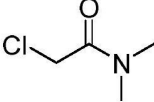
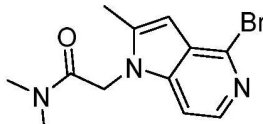
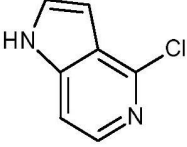
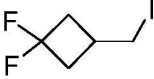
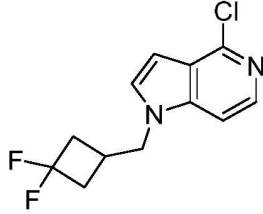
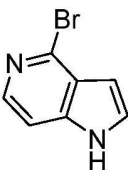
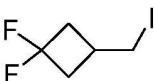
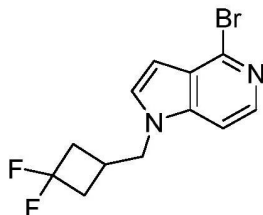
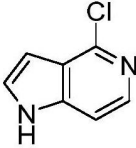
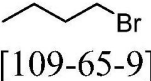
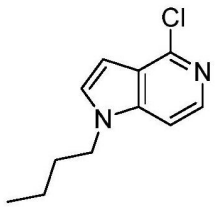
[0349] 中间体29的制备

[0350]



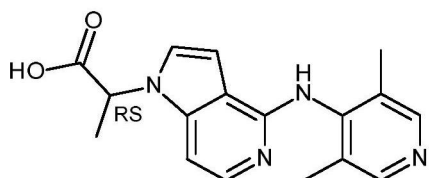
[0351] 经1min, 将氢氧化钠(0.071g, 1.78mmol)添加至4-溴-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶([1000342-68-6], 350mg, 1.776mmol)在DMF(11mL)中的搅拌溶液中。将混合物在氮气下在rt下搅拌1h。逐滴添加溴乙酸叔丁酯(0.262mL, 1.776mmol), 并且将混合物在rt下搅拌12h。将混合物在水和EtOAc中稀释。将有机层用水(x2)和盐水洗涤, 然后分离, 干燥(MgSO<sub>4</sub>), 过滤, 并且将溶剂在真空中蒸发。将粗产物通过快速柱色谱法(二氧化硅; EtOAc在庚烷中, 0/100至30/70)纯化。收集所希望的级分并将其在真空中浓缩, 以产生呈白色固体的I-29(415mg, 75%)。

[0352] 从所指示的起始材料和试剂以与针对I-29所述类似的方式制备以下中间体。

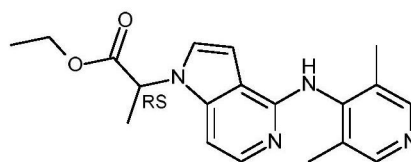
| 起始材料  | 试剂  | 中间体  |
|---|---|--|
| <br>[60290-21-3]                           | <br>[5292-43-3]      | <br>I-30               |
| <br>[1000342-68-6]<br>(250 mg, 1.269 mmol) | <br>[535-11-5]       | <br>I-31 (305 mg, 81%) |
| [0353]<br><br>[1190313-58-6]              | <br>[2675-89-0]      | <br><b>I-111</b>       |
| <br>[60290-21-3]                         | <br>[1434142-22-9] | <br><b>I-112</b>     |
| <br>[1000342-68-6]                       | <br>[1434142-22-9] | <br><b>I-121</b>     |
| 起始材料  | 试剂  | 中间体  |
| [0354]<br><br>[60290-21-3]               | <br>[109-65-9]     | <br><b>I-113</b>     |

[0355] 中间体32a和32b的制备

[0356]



I-32a

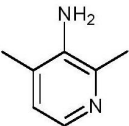
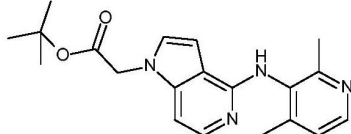


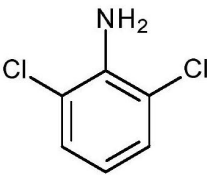
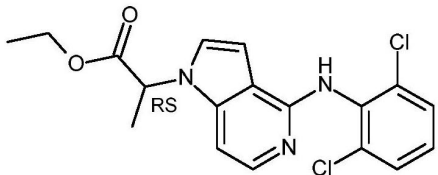

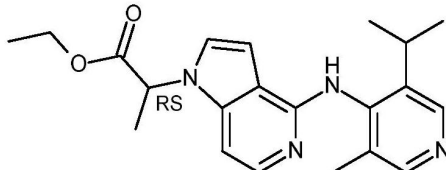
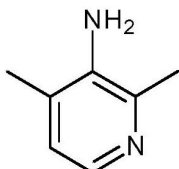
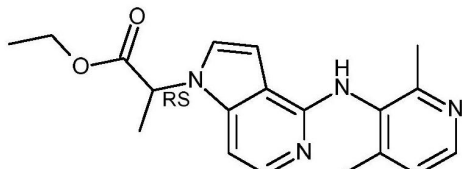
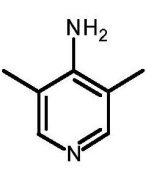
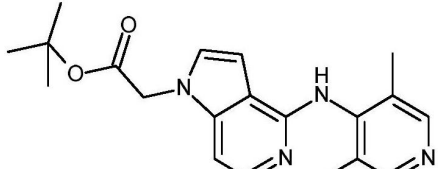
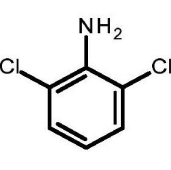
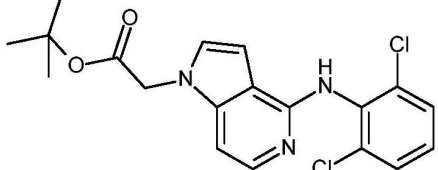
I-32b

[0357] 将Pd<sub>2</sub>dba<sub>3</sub> (25.64mg, 0.028mmol)、XantPhos (40.50mg, 0.07mmol) 和Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (456.15mg, 1.4mmol) 添加至3,5-二甲基吡啶-4-胺(111.17mg, 0.91mmol) 和I-31 (208.00mg, 0.7mmol) 在DMF (7.5mL) 中的搅拌溶液中。将反应混合物在105℃下搅拌24h, 然后将其冷却至rt, 通过硅藻土过滤, 并用EtOAc洗涤。将滤液在NaHCO<sub>3</sub>和EtOAc之间分配。将水相用EtOAc萃取两次。将合并的有机相用盐水洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤, 并且将溶剂在真空中蒸发。将粗产物通过反相(从95% [25mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>] -5% [MeCN:MeOH 1:1] 至0% [25mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>] -100% [MeCN:MeOH 1:1]) 纯化。收集所希望的级分并将其在真空中浓缩, 以产生呈浅黄色固体的I-32a (41mg, 19%) 和I-32b (17mg, 7%)。

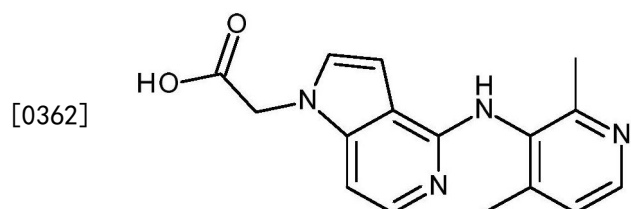
[0358] 从所指示的起始材料和试剂以与针对I-32a/b所述类似的方式制备以下中间体。

[0359]

| 起始材料 | 试剂  | 中间体   |
|------|---|---|
| I-29 | <br>[1073-21-8] |  |

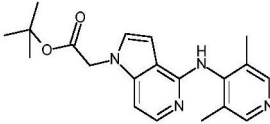
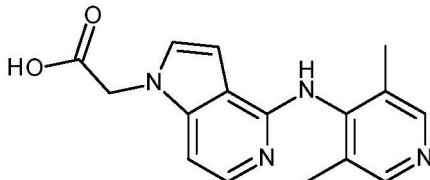
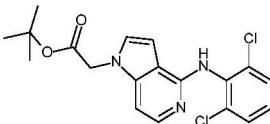
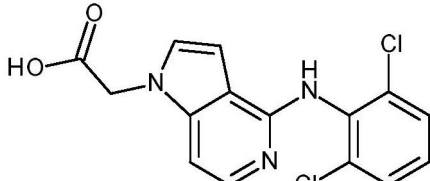
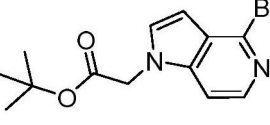
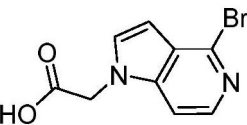
| 起始材料        | 试剂   | 中间体  |
|-------------|--|--|
|             |  | I-33   |
| I-6         | <br>[608-31-1]          | <br>I-34   |
| I-31        | <br>VILL_acastello_77_1 | <br>I-35   |
| [0360] I-31 | <br>[1073-21-8]         | <br>I-36   |
| I-29        | <br>[43078-60-0]      | <br>I-37 |
| I-30        | <br>[608-31-1]        | <br>I-38 |

[0361] 中间体39

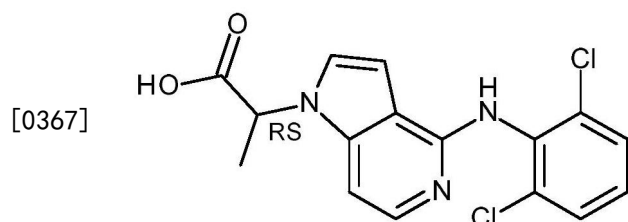


[0363] 将TFA(0.408mL, 5.334mmol)添加至I-33(47mg, 0.133mmol)在DCM(1.533mL)中的搅拌溶液中。将混合物在rt下搅拌16h。将混合物在真空中浓缩,并在高真空下干燥,以产生呈棕色油状物的I-39(38.52mg),将其不经进一步纯化而用于随后的步骤。

[0364] 从所指示的起始材料以与针对I-39所述类似的方式制备以下中间体。

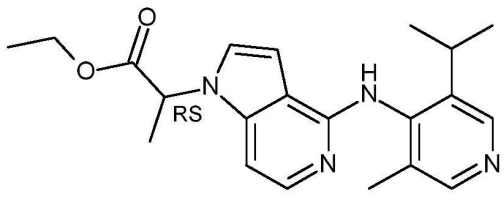
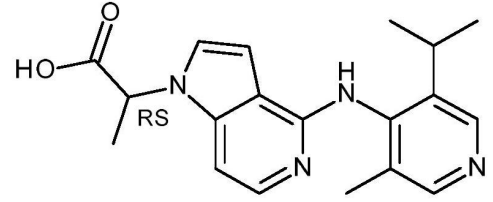
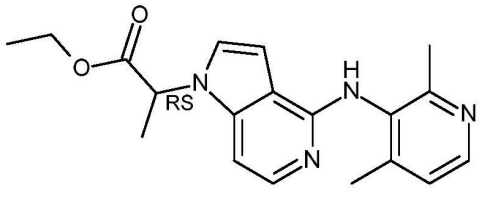
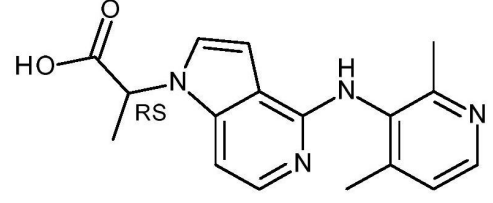
| 起始材料  | 中间体  |
|---|--|
|  <p>I-37</p>               |  <p>I-40</p> |
| <p>[0365]</p>  <p>I-38</p> |  <p>I-41</p> |
|  <p>I-29</p>               |  <p>I-114</p> |

[0366] 中间体42的制备

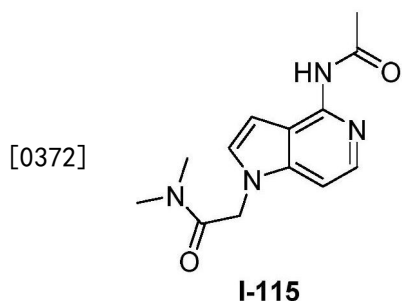


[0368] 将LiOH·H<sub>2</sub>O(23.43mg,0.558mmol)添加至I-34(200mg,0.465mmol)在THF(3.80mL)和H<sub>2</sub>O(0.95mL)中的溶液中。将反应混合物在rt下搅拌1h。将混合物在真空中浓缩,并在高真空下干燥,以产生呈白色固体的I-42(159.2mg,98%),将其不经进一步纯化而用于随后的反应步骤。

[0369] 从所指示的起始材料以与针对I-42所述类似的方式制备以下中间体。

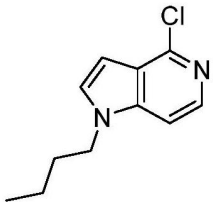
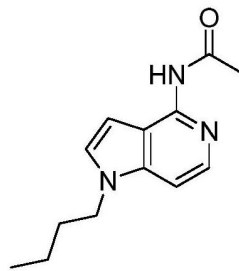
|        | 起始材料  | 中间体  |
|--------|---|--|
| [0370] | <br>I-35 | <br>I-43 |
|        | <br>I-36 | <br>I-44 |

[0371] 中间体I-115的制备



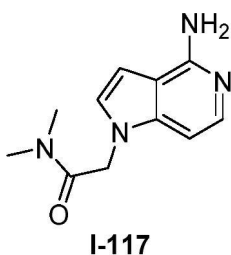
[0373] 在 $N_2$ 气氛下,将乙酰胺(120mg,2.03mmol)和中间体I-1(438mg,1.84mmol)添加至 $Pd(OAc)_2$ (16.5mg,73.7 $\mu$ mol)、XantPhos(95.9mg,0.17mmol)和 $Cs_2CO_3$ (1.20g,3.69mmol)在无水1,4-二噁烷(10mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物在90℃下搅拌18h。将残余物溶于EtOAc和水中。将有机层用水洗涤,干燥( $MgSO_4$ ),过滤并在减压下浓缩。将粗混合物通过快速柱色谱法(二氧化硅,庚烷/EtOAc,梯度从100:0至0:100)纯化,以得到呈黄色固体的I-115(166mg,35%)。

[0374] 从所指示的起始材料以与针对I-115所述类似的方式制备以下中间体。

|        | 起始材料   | 中间体   |
|--------|--|---|
| [0375] | <br>I-113 | <br>I-116 |

[0376] 中间体I-117的制备

[0377]



[0378] 将HCl (1.25M在MeOH中, 2.55mL) 添加至I-115 (166mg, 0.64mmol) 在MeOH (2mL) 中的溶液中, 并且将反应混合物在80°C下搅拌72h。将溶剂在减压下蒸发。添加NaHCO<sub>3</sub>, 并且将水相用EtOAc萃取。将合并的有机层干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在减压下蒸发, 以得到I-117。

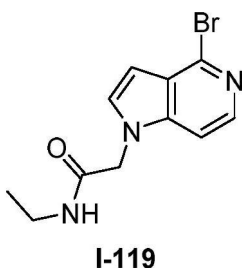
[0379] 从所指示的起始材料以与针对I-117所述类似的方式制备以下中间体。

[0380]

| 起始材料  | 中间体   |
|---|---|
| <p style="text-align: center;"><b>I-116</b></p> | <p style="text-align: center;"><b>I-118</b></p> |

[0381] 中间体I-119的制备

[0382]



[0383] 将呈TFA盐的I-114 (2.00g, 5.42mmol)、乙胺盐酸盐 (442mg, 5.42mmol)、HBTU (2.06g, 5.42mmol) 和DIPEA (5.60mL, 32.5mmol) 在DCM (80mL) 中的混合物在室温下搅拌2h。添加NaOH (1N水溶液, 5mL), 并且将混合物搅拌5min。将有机层分离, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在减压下蒸发。将粗混合物通过快速柱色谱法 (二氧化硅, DCM/MeOH, 梯度从100:0至98:2) 纯化, 以得到I-119 (0.74g, 48%)。

[0384] 从所指示的起始材料和试剂以与针对I-119所述类似的方式制备以下中间体。

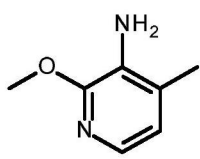
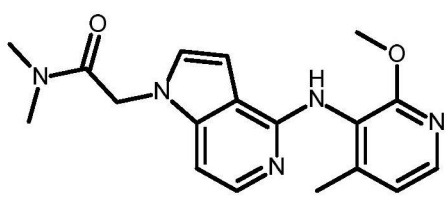
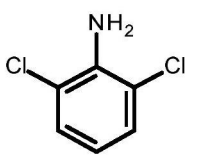
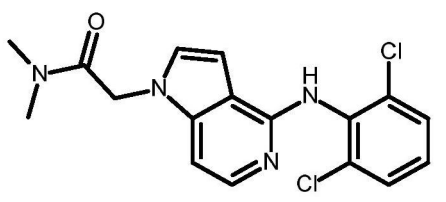
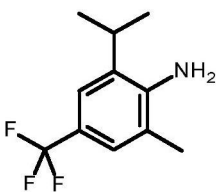
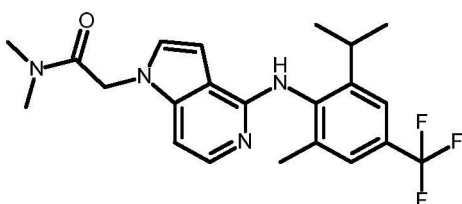
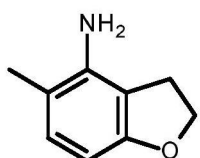
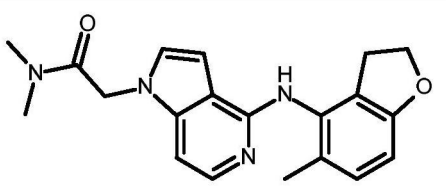

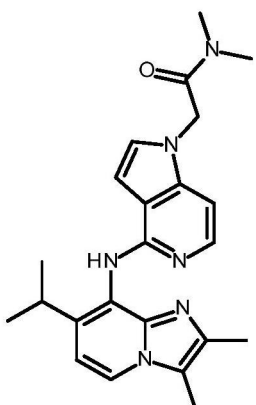
[0385]

| 起始材料  | 试剂                     | 中间体   |
|---|------------------------|---|
| <p style="text-align: center;"><b>I-114</b></p> | MeNH <sub>2</sub> ·HCl | <p style="text-align: center;"><b>I-120</b></p> |

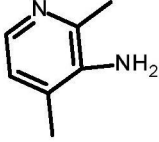
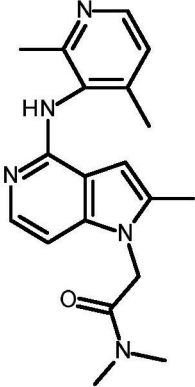
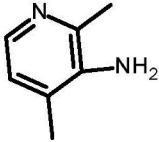
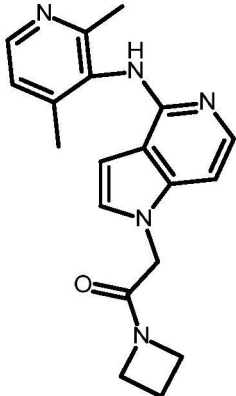
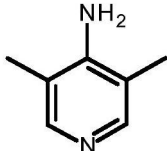
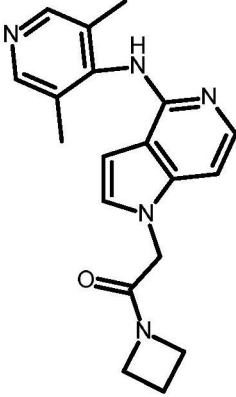
[0386] 最终化合物的制备

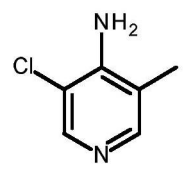
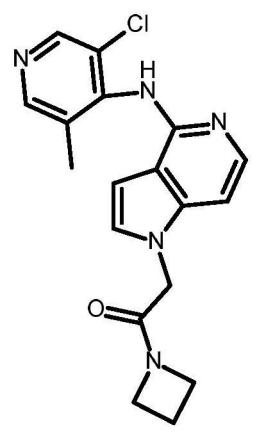
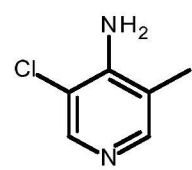
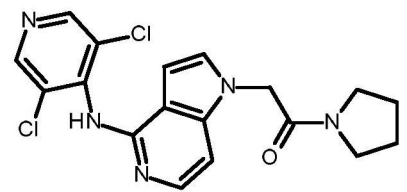
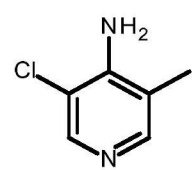
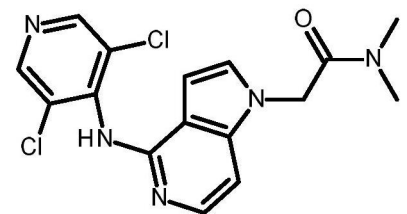
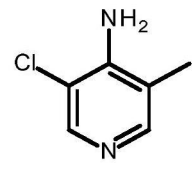
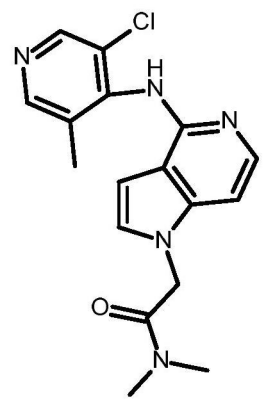
[0387] 化合物编号1的制备



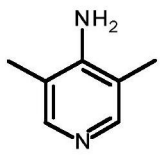
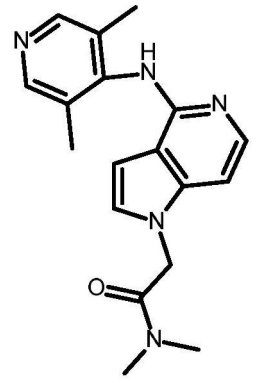
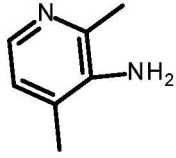
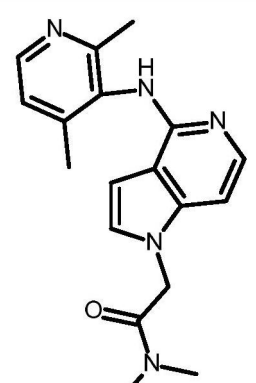
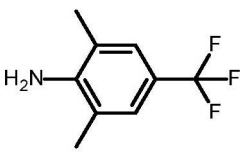
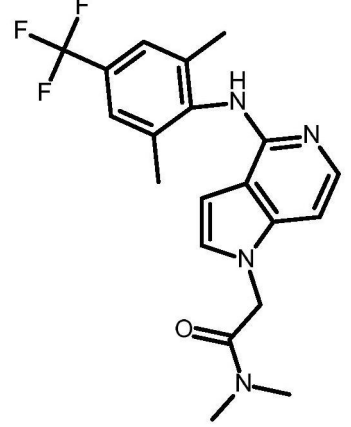
| 中间体 | 苯胺  | 化合物  |
|-----|---|--|
| I-2 | <br>[76005-99-7]     | <br>化合物编号4   |
| I-1 | <br>[608-31-1]       | <br>化合物编号5   |
| I-1 | <br>I-12             | <br>化合物编号6   |
| I-1 | <br>[1369347-10-3] | <br>化合物编号7 |
| I-2 | <br>I-20           | <br>化合物编号8 |

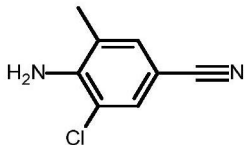
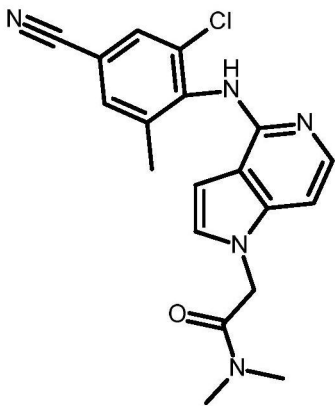
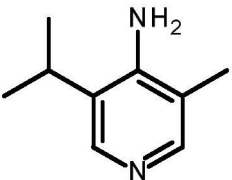
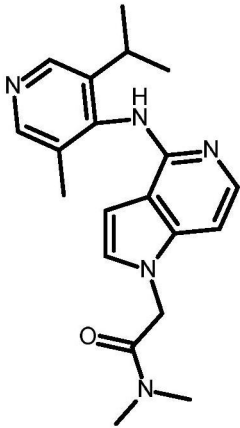
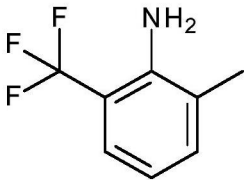
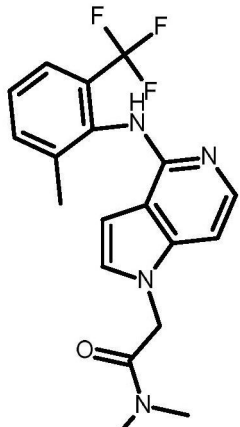
[0393]

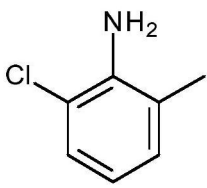
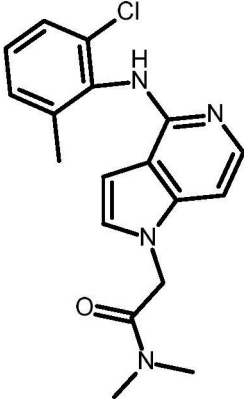
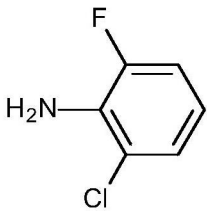
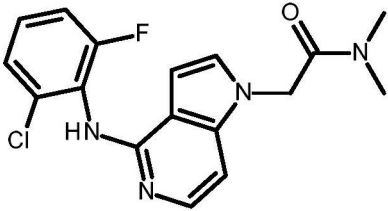
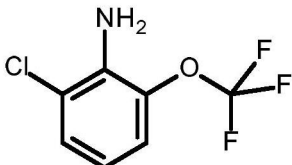
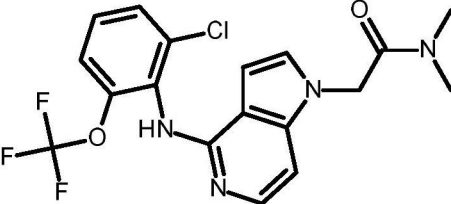
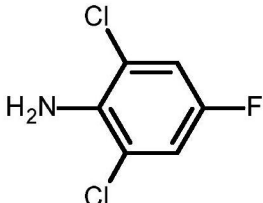
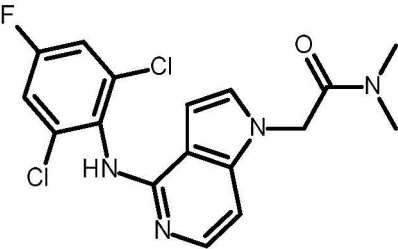
| 中间体           | 苯胺  | 化合物   |
|---------------|---|---|
| I-2           |  <p>[1073-21-8]</p>    |  <p>化合物编号9</p>    |
| [0394]<br>I-4 |  <p>[1073-21-8]</p>    |  <p>化合物编号10</p>  |
| I-4           |  <p>[43078-60-0]</p> |  <p>化合物编号11</p> |

| 中间体 | 苯胺  | 化合物   |
|-----|---|---|
| I-4 | <br>[97944-42-8]   | <br>化合物编号12   |
| I-3 | <br>[97944-42-8]   | <br>化合物编号13   |
| I-1 | <br>[97944-42-8] | <br>化合物编号14 |
| I-1 | <br>[97944-42-8] | <br>化合物编号15 |

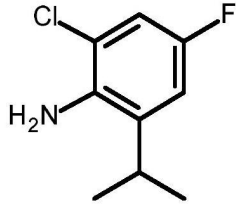
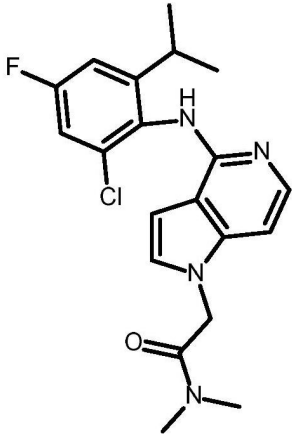
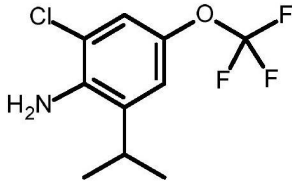
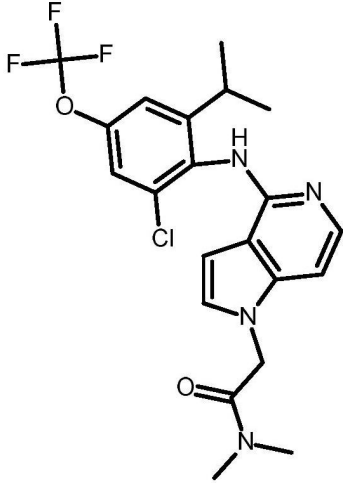
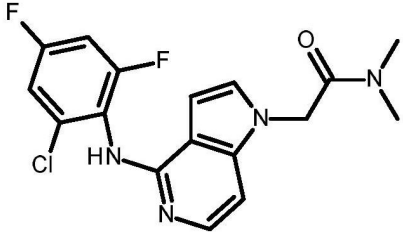
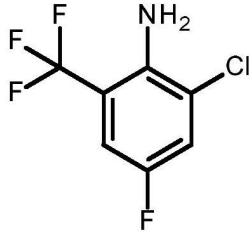
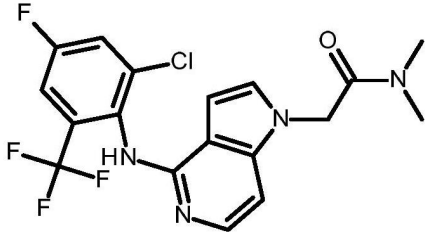
[0395]

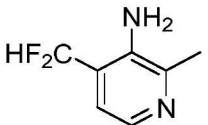
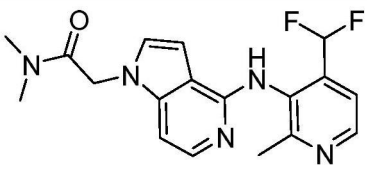

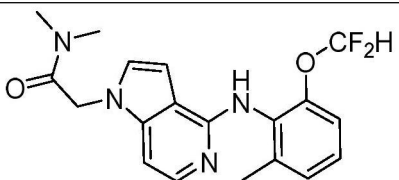
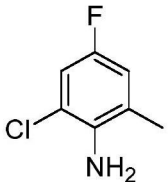
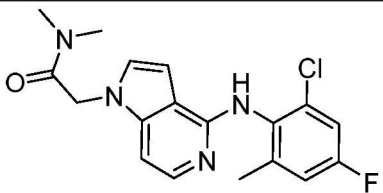
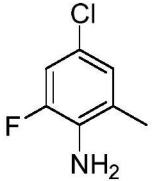
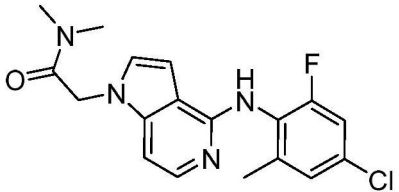
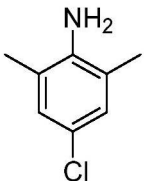
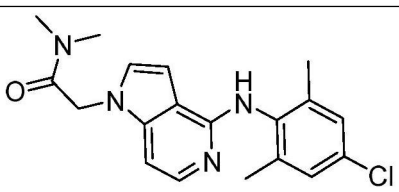
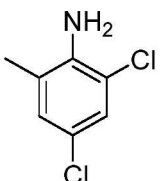
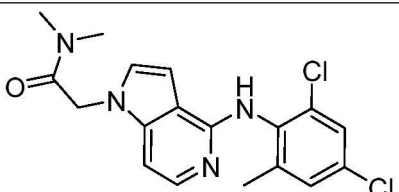
| 中间体        | 苯胺   | 化合物   |
|------------|--|---|
| I-1        | <br>[43078-60-0]    | <br>化合物编号16   |
| [0396] I-1 | <br>[1073-21-8]     | <br>化合物编号17  |
| I-1        | <br>[144991-53-7] | <br>化合物编号18 |

| 中间体        | 苯胺  | 化合物   |
|------------|---|---|
| I-1        |  <p>[158296-69-6]</p>  |  <p>化合物编号19</p>   |
| [0397] I-2 |  <p>I-21</p>          |  <p>化合物编号20</p>  |
| I-1        |  <p>[88301-98-8]</p> |  <p>化合物编号21</p> |

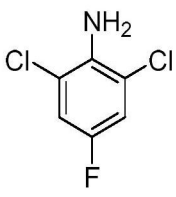
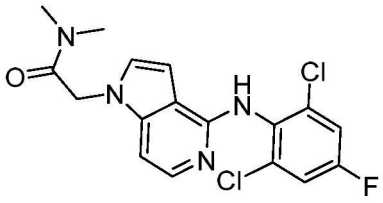

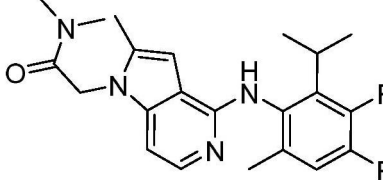
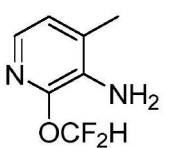
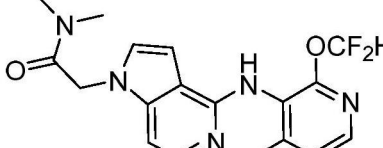
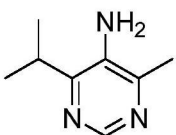
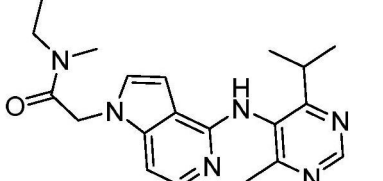
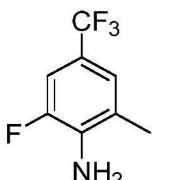
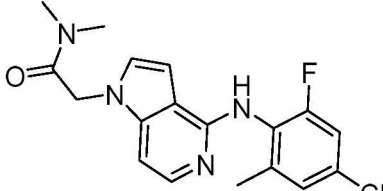

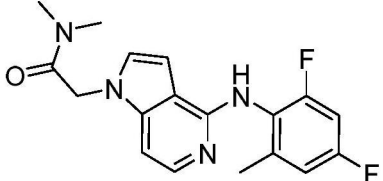
| 中间体 | 苯胺  | 化合物   |
|-----|---|---|
| I-1 |  <p>[87-63-8]</p>        |  <p>化合物编号22</p>   |
| I-1 |  <p>[363-51-9]</p>       |  <p>化合物编号23</p>   |
| I-1 |  <p>[1261673-70-4]</p> |  <p>化合物编号24</p> |
| I-1 |  <p>[344-19-4]</p>     |  <p>化合物编号25</p> |

[0398]

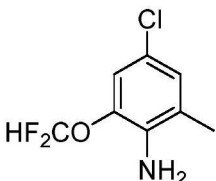
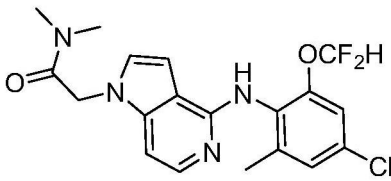
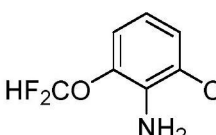
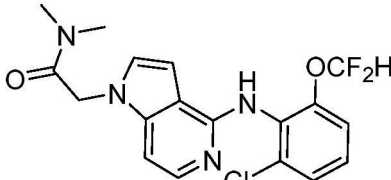
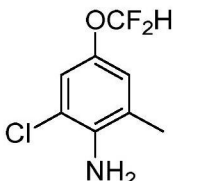
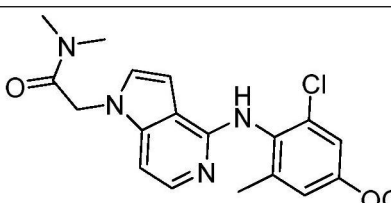
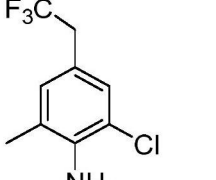
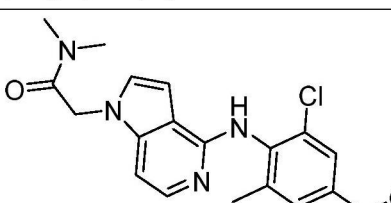
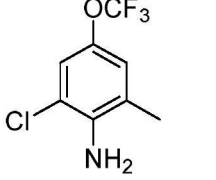
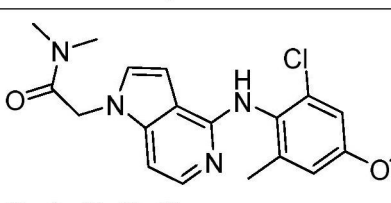
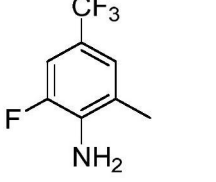
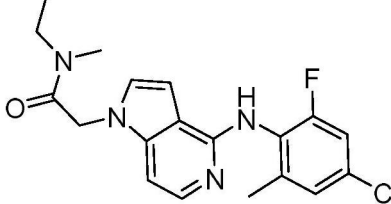
| 中间体        | 苯胺   | 化合物   |
|------------|--|---|
| I-1        |  <p>I-22</p>  |  <p>化合物编号26</p>   |
| [0399] I-1 |  <p>I-23</p> |  <p>化合物编号27</p>  |
| I-1        | [36556-56-6]   |  <p>化合物编号28</p> |
| I-1        |             |                 |

| 中间体 | 苯胺   | 化合物   |
|-----|--|---|
|     | [1235439-54-9]   | 化合物编号29   |
| I-2 | <br>[1804438-91-2]  | <br>化合物编号38   |
| I-1 | <br>[139909-66-3]   | <br>化合物编号39   |
| I-1 | <br>[332903-47-6]   | <br>化合物编号40   |
| I-1 | <br>[939989-99-8] | <br>化合物编号41 |
| I-1 | <br>[24596-18-7]  | <br>化合物编号42 |
| I-1 | <br>[30273-00-8]  | <br>化合物编号43 |

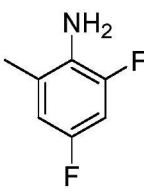
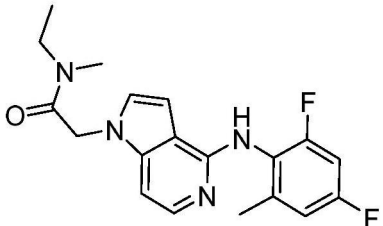
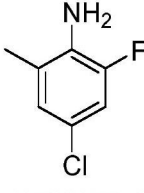
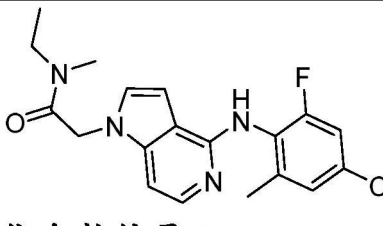
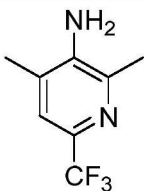
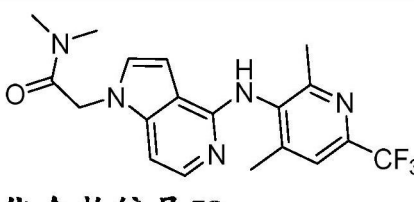
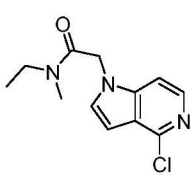
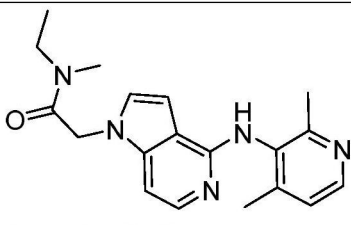
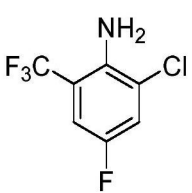
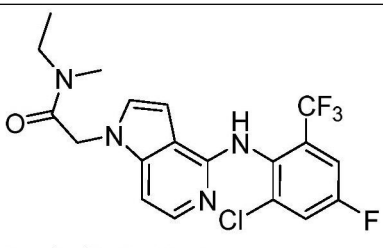

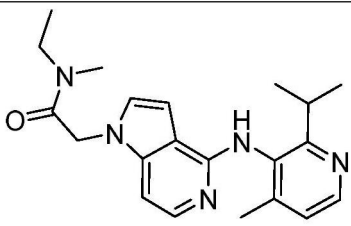
[0400]

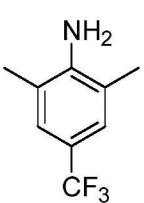
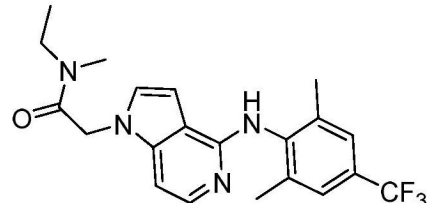
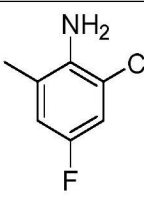
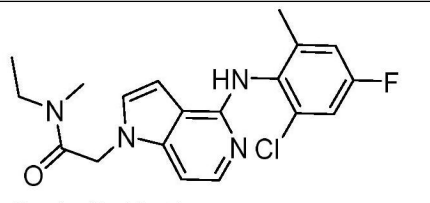
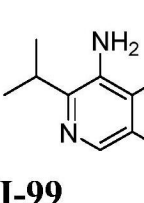
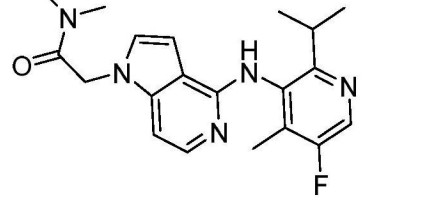
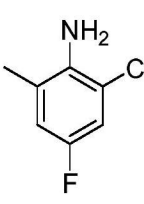
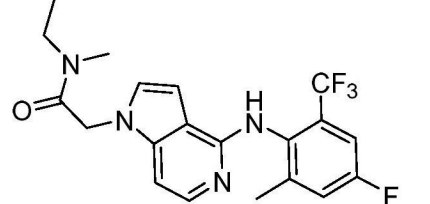
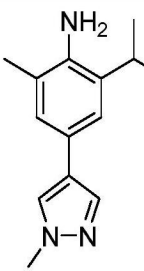
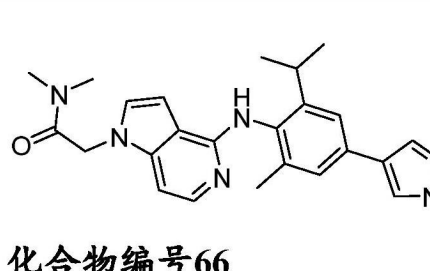
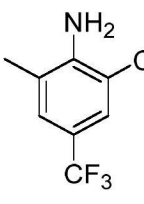
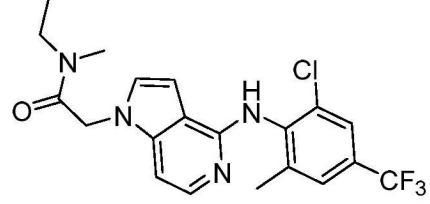
| 中间体   | 苯胺  | 化合物   |
|-------|---|---|
| I-2   | <br>[344-19-4]       | <br>化合物编号44   |
| I-111 | <br>I-63             | <br>化合物编号45   |
| I-1   | <br>I-89             | <br>化合物编号46   |
| I-45  | <br>I-78           | <br>化合物编号47  |
| I-1   | <br>I-72           | <br>化合物编号48 |
| I-1   | <br>[1464825-76-0] | <br>化合物编号49 |

[0401]


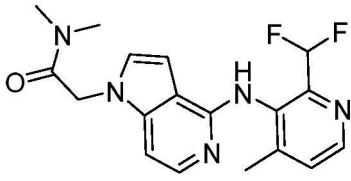
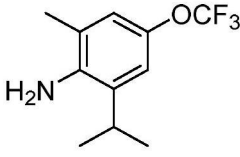

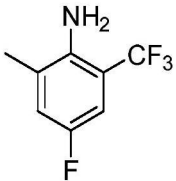
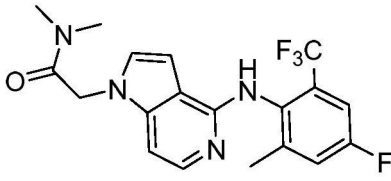
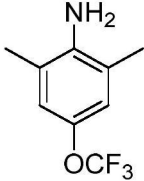
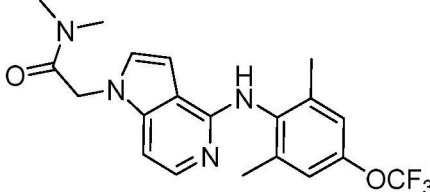
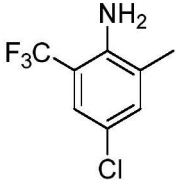
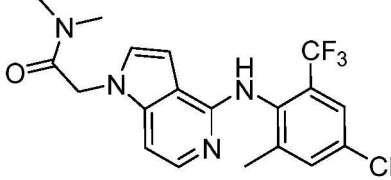
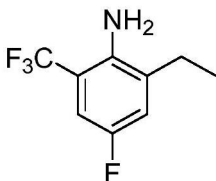
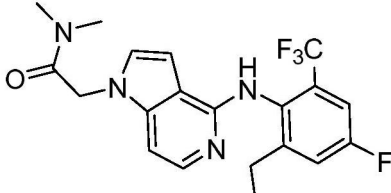
| 中间体  | 苯胺   | 化合物   |
|------|--|---|
| I-1  |  <p>I-53</p>          |  <p>化合物编号50</p>   |
| I-1  |  <p>[139909-66-3]</p> |  <p>化合物编号51</p>   |
| I-1  |  <p>I-54</p>          |  <p>化合物编号52</p>   |
| I-1  |  <p>I-95</p>        |  <p>化合物编号53</p>  |
| I-1  |  <p>I-73</p>        |  <p>化合物编号54</p> |
| I-45 |  <p>I-72</p>        |  <p>化合物编号55</p> |

[0402]


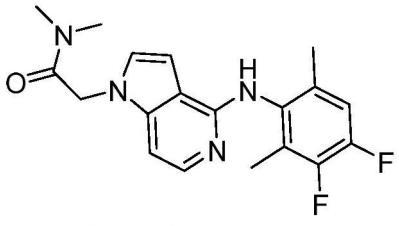
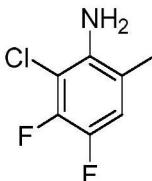
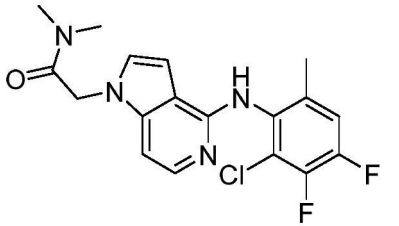
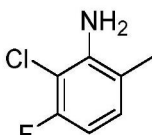
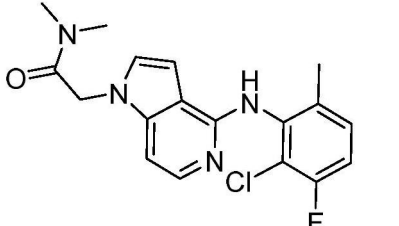
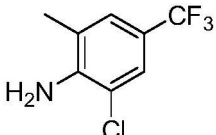
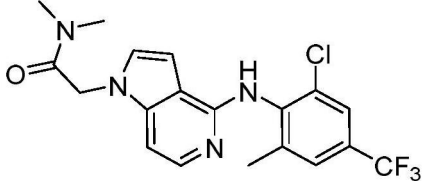
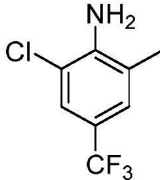
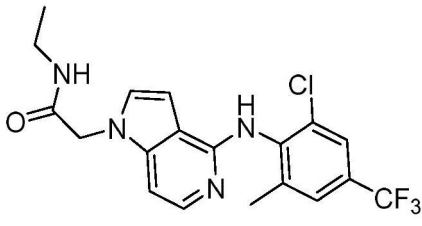
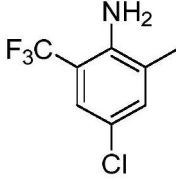
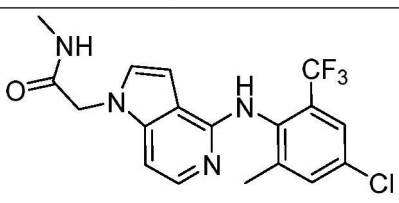
| 中间体    | 苯胺  | 化合物   |
|--------|---|---|
| I-45   | <br>[1464825-76-0]   | <br>化合物编号56   |
| I-45   | <br>[939989-99-8]    | <br>化合物编号57   |
| I-2    | <br>I-74             | <br>化合物编号58   |
| [0403] | <br>[1073-21-8]    | <br>化合物编号59 |
| I-45   | <br>[1235439-54-9] | <br>化合物编号60 |
| I-45   | <br>[1698293-93-4] | <br>化合物编号61 |

| 中间体  | 苯胺   | 化合物   |
|------|--|---|
| I-45 | <br>[144991-53-7] | <br>化合物编号62   |
| I-45 | <br>[332903-47-6] | <br>化合物编号63   |
| I-2  | <br>I-99          | <br>化合物编号64   |
| I-45 | <br>I-75        | <br>化合物编号65 |
| I-2  | <br>I-81        | <br>化合物编号66 |
| I-45 | <br>I-77        | <br>化合物编号67 |

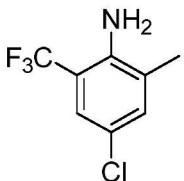

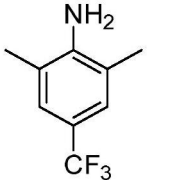
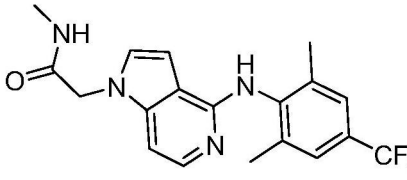
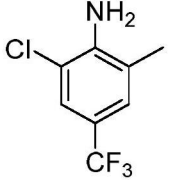
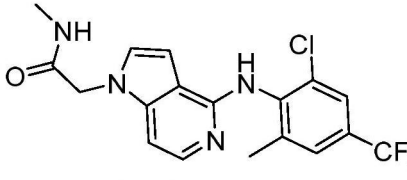
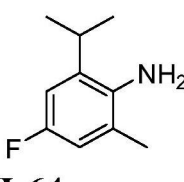
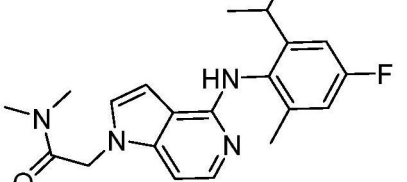
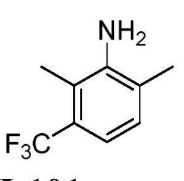
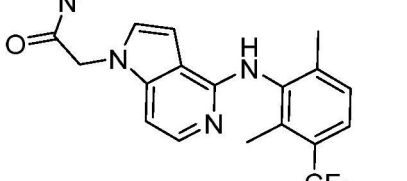
[0404]

| 中间体 | 苯胺  | 化合物   |
|-----|---|---|
| I-2 | <br>I-66             | <br>化合物编号68   |
| I-1 | <br>I-66             | <br>化合物编号69   |
| I-2 | <br>I-75             | <br>化合物编号70   |
| I-2 | <br>I-76            | <br>化合物编号71  |
| I-2 | <br>[1240528-24-8] | <br>化合物编号72 |
| I-2 | <br>I-82           | <br>化合物编号73 |

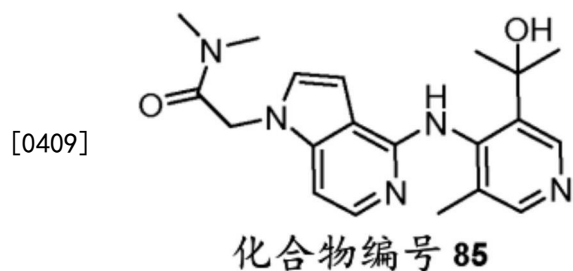
[0405]

| 中间体   | 苯胺  | 化合物   |
|-------|---|---|
| I-2   |  <p>I-83</p>             |  <p>化合物编号74</p>   |
| I-1   |  <p>I-55</p>             |  <p>化合物编号75</p>   |
| I-1   |  <p>I-93</p>             |  <p>化合物编号76</p>  |
| I-1   |  <p>I-56</p>           |  <p>化合物编号77</p> |
| I-119 |  <p>I-56</p>           |  <p>化合物编号78</p> |
| I-120 |  <p>[1240528-24-8]</p> |  <p>化合物编号79</p> |

[0406]

| 中间体                 | 苯胺  | 化合物  |
|---------------------|---|--|
| <b>I-45</b>         | <br>[1240528-24-8] | <br><b>化合物编号80</b>   |
| <b>I-120</b>        | <br>[14491-53-7]   | <br><b>化合物编号81</b>   |
| [0407] <b>I-120</b> | <br><b>I-56</b>    | <br><b>化合物编号82</b>   |
| <b>I-2</b>          | <br><b>I-64</b>   | <br><b>化合物编号83</b>  |
| <b>I-1</b>          | <br><b>I-101</b> | <br><b>化合物编号84</b> |

[0408] 化合物编号85的制备

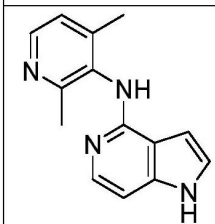
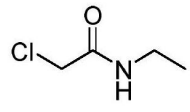
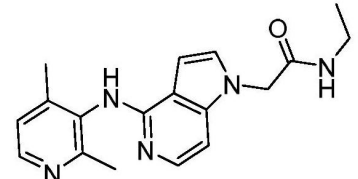


[0410] 将I-2(200mg,0.71mmol)、I-69(100mg,0.60mmol)和 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (396mg,1.21mmol)在无水DMF(1.43mL)中的混合物用 $\text{N}_2$ 脱气。添加Xantphos(46.6mg,80.6 $\mu\text{mol}$ )和 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$

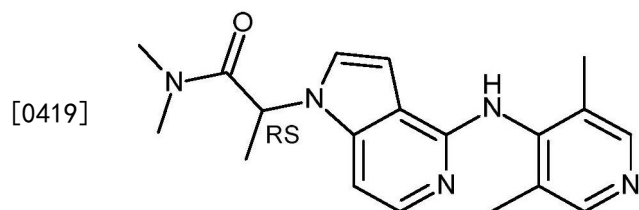


(35mg, 0.252mmol)。然后将反应混合物在rt下搅拌16h,并用水淬灭,并且添加EtOAc。将水层用EtOAc萃取三次。将合并的有机层用盐水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并浓缩,以得到粗品(65mg),将该粗品通过柱色谱法(硅胶;洗脱液:DCM/7NNH<sub>3</sub> MeOH, 100/0至95/5)纯化,以得到化合物编号30(6.4mg, 10%)。

[0416] 从所指示的起始材料和试剂以与针对化合物30所述类似的方式制备以下化合物。

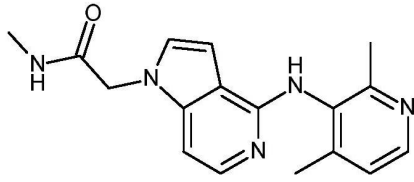
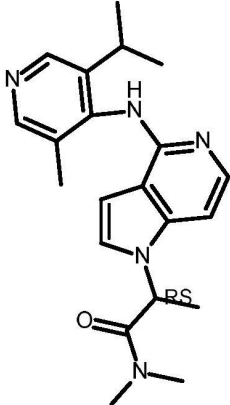
| 中间体  | 试剂  | 化合物  |
|--|---|--|
| <p>[0417]</p>  <p><b>I-28</b></p> |  <p>[105-35-1]</p> |  <p><b>化合物编号 90</b></p> |

[0418] 化合物31的制备

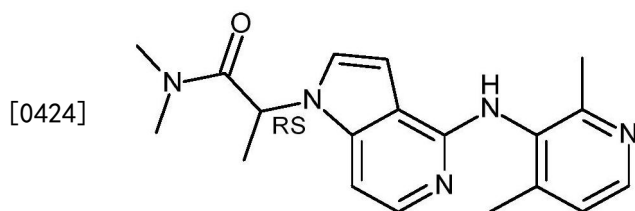


[0420] 在rt下,将二甲胺盐酸盐(12.93mg, 0.16mmol)添加至I-32a(41mg, 0.13mmol)、HOBt水合物(21.42mg, 0.16mmol)、DIPEA(0.069mL, 0.40mmol)和EDC.HCl(30.39mg, 0.16mmol)在DCM(2.04mL)和DMF(0.5mL)中的搅拌溶液中,并且将反应混合物在rt下搅拌16h。添加饱和NaHCO<sub>3</sub>溶液和EtOAc,并且将水相用EtOAc萃取两次。将合并的有机层用盐水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤,并且将溶剂在真空中蒸发。将粗产物通过快速柱色谱法(二氧化硅;MeOH在DCM中, 0/100至10/90)纯化。收集所希望的级分并将其浓缩,以产生呈白色固体的化合物编号31(13mg, 29%)。

[0421] 通过相应的中间体与所指示的试剂的反应以与化合物编号31的合成类似的方式制备以下化合物。

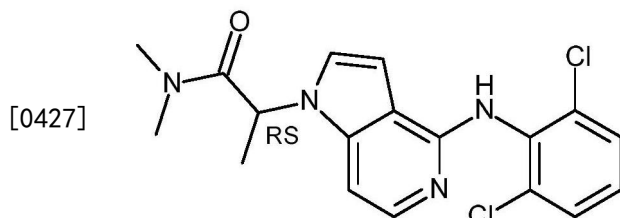
| 起始材料           | 试剂                 | 化合物   |
|----------------|--------------------|---|
| I-39           | NH <sub>2</sub> Me | <br>化合物编号32 |
| [0422]<br>I-43 | NHMe <sub>2</sub>  | <br>化合物编号33 |

[0423] 化合物34的制备



[0425] 在rt下,将二甲胺溶液(2M在THF中,0.15mL,0.3mmol)添加至I-44(31.04mg,0.1mmol)、**T3P**<sup>®</sup> ([68957-94-8],0.149mL,0.25mmol)和Et<sub>3</sub>N(0.035mL,0.25mmol)在THF(1mL)中的搅拌溶液中。将反应混合物在50℃下搅拌3h。将混合物用饱和NH<sub>4</sub>Cl稀释,并用EtOAc萃取。将水层用EtOAc(x2)萃取。将合并的有机层干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤,并且将溶剂在真空中蒸发。将粗产物通过快速柱色谱法(二氧化硅;MeOH在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中,0/100至10/90)纯化。收集所希望的级分并将其在真空中浓缩,以产生呈白色固体的化合物编号34(10mg,30%)。

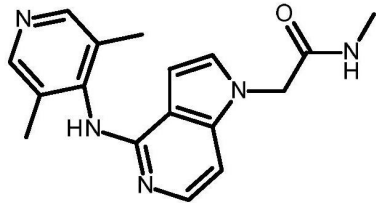
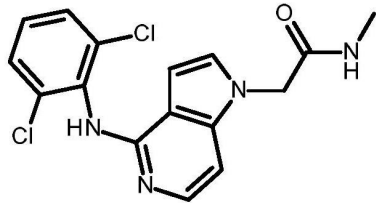
[0426] 化合物35的制备



[0428] 在rt下,将HBTU(88.74mg,0.23mmol)添加至I-42(63.04mg,0.18mmol)和DIPEA(0.094mL,0.54mmol)在DMF(5.57mL)中的搅拌溶液中。将反应混合物在rt下搅拌30min。然后,添加二甲胺溶液(2M在THF中,0.099mL,0.198mmol),并且将混合物在rt下搅拌16h。将溶

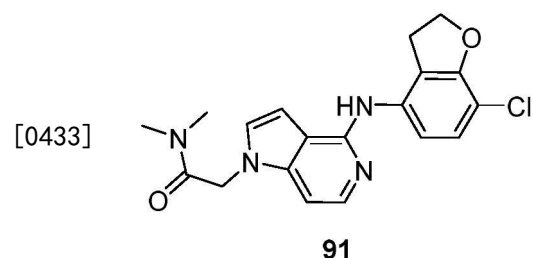
剂在真空中蒸发,并且将粗产物通过反相(从72% [25mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ]-28% [MeCN:MeOH 1:1]至36% [25mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ]-64% [MeCN:MeOH 1:1])纯化。收集所希望的级分并将其在真空中浓缩,并通过快速柱色谱法(二氧化硅;MeOH在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中,0/20至1/20)再纯化。收集所希望的级分并将其在真空中浓缩,以产生呈白色固体的化合物编号35(13mg,19%)。

[0429] 通过相应的中间体与所指示的试剂的反应以与化合物编号35的合成类似的方式制备以下化合物。

| 中间体  | 试剂              | 化合物  |
|------|-----------------|--|
| I-40 | $\text{MeNH}_2$ | <br>化合物编号36  |
| I-41 | $\text{MeNH}_2$ | <br>化合物编号37 |

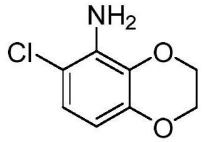
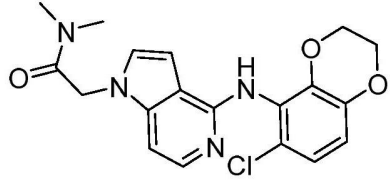

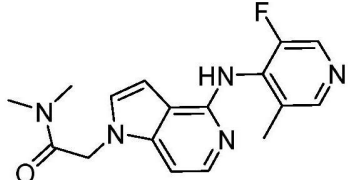
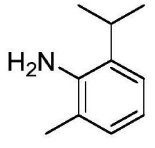
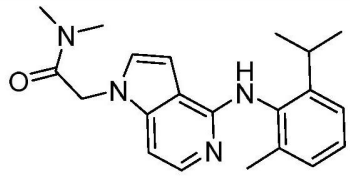
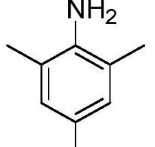
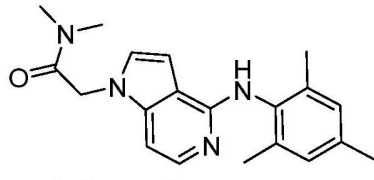
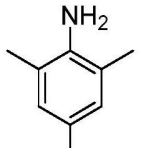
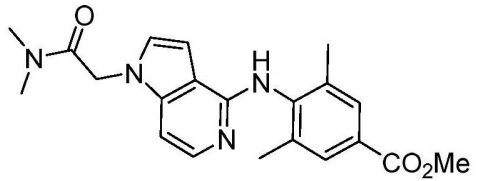
[0431] 还根据此程序,从I-39和 $\text{NH}_2\text{Me}$ ( )开始制备化合物32。

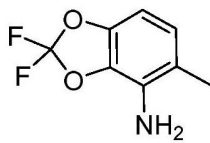
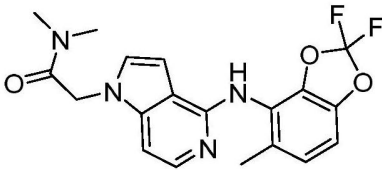
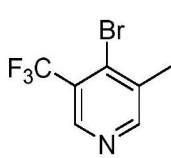
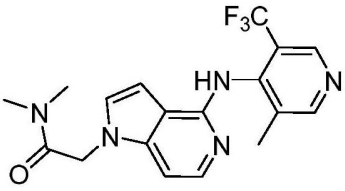
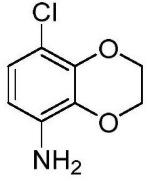
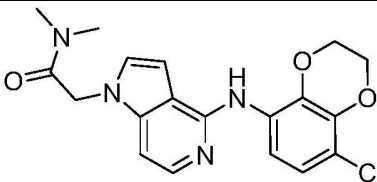
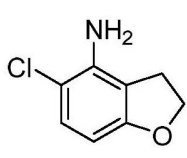
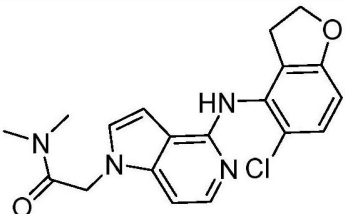
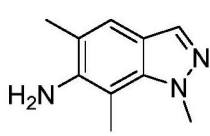
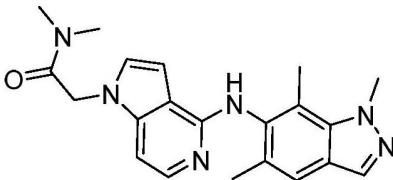
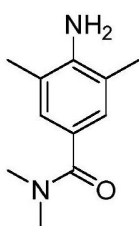
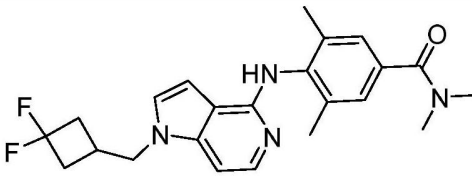
[0432] 化合物91的制备



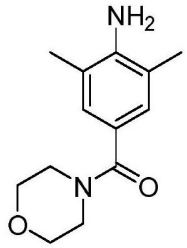
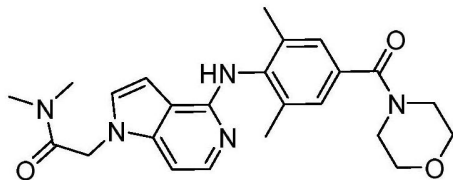
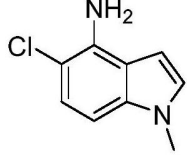
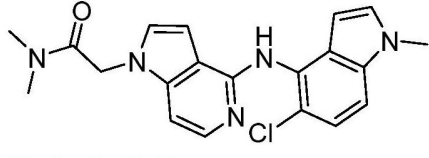
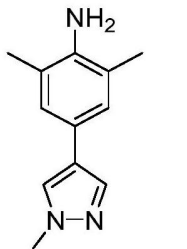
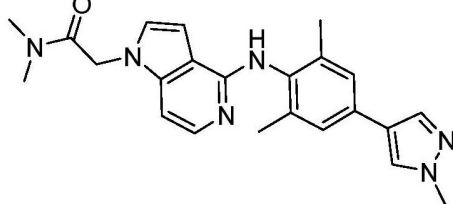
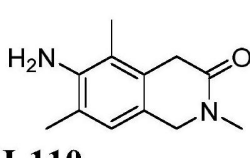
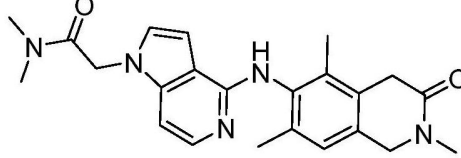
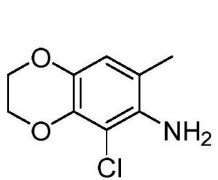
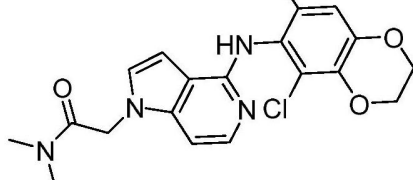
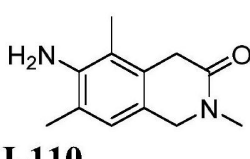
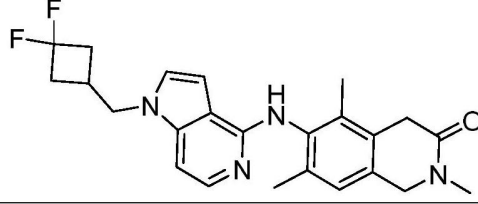
[0434] 在密封管中,将 $\text{Pd}_2\text{dba}_3$  (8.25mg,9.01 $\mu\text{mol}$ )、XantPhos (13.0mg,22.5 $\mu\text{mol}$ )和 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (110mg,0.34mmol)溶于DMF (2.25mL)中,同时将 $\text{N}_2$ 鼓泡。添加I-49 (42.0mg,0.25mmol)和I-1 (53.5mg,0.23mmol),并且将反应混合物在室温下搅拌10min。然后,将反应混合物在110 $^\circ\text{C}$ 下加热20h。将反应混合物冷却至室温,通过Celite<sup>®</sup>过滤,并用EtOAc洗涤。将溶剂在减压下去除,并且将粗混合物通过反相柱色谱法(流动相: $\text{HCOOH}$  (0.1%) / (MeCN:MeOH,1:1),梯度从95:5至63:37)纯化,以得到呈白色固体的化合物91 (42mg,50%)。

[0435] 从所指示的中间体和试剂以与针对化合物编号91所述类似的方式制备以下化合物。

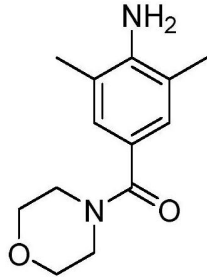
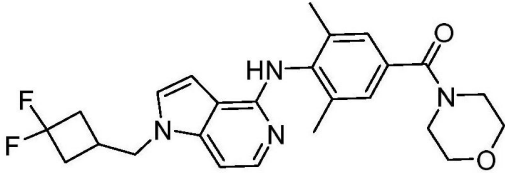
| 中间体           | 试剂   | 化合物   |
|---------------|--|---|
| I-1           | <br>I-50a         | <br>化合物编号92   |
| I-2           | <br>[13958-85-5]  | <br>化合物编号93   |
| [0436]<br>I-1 | <br>[5266-85-3]   | <br>化合物编号94   |
| I-1           | <br>[88-05-1]    | <br>化合物编号95  |
| I-1           | <br>[3095-48-5] | <br>化合物编号96 |

| 中间体   | 试剂  | 化合物  |
|-------|---|--|
| I-2   | <br>I-79             | <br>化合物编号97            |
| I-117 | <br>I-60             | <br>化合物编号98            |
| I-1   | <br>I-50b            | <br>化合物编号99            |
| I-1   | <br>I-51            | <br>化合物编号100          |
| I-1   | <br>I-108          | <br>化合物编号101         |
| I-112 | <br>[1234661-58-5] | <br>HCl盐<br>化合物编号102 |

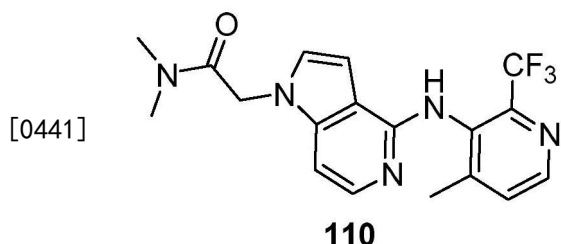
[0437]

| 中间体   | 试剂  | 化合物  |
|-------|---|--|
| I-1   | <br>[1458654-04-0] | <br>HCl盐<br>化合物编号103   |
| I-1   | <br><b>I-7</b>     | <br>化合物编号104           |
| I-1   | <br><b>I-80</b>   | <br>HCl盐<br>化合物编号105   |
| I-2   | <br><b>I-110</b> | <br>化合物编号106         |
| I-1   | <br><b>I-52</b>  | <br>HCl盐<br>化合物编号107 |
| I-121 | <br><b>I-110</b> | <br>化合物编号108         |

[0438]


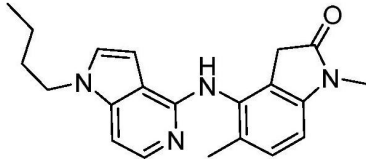
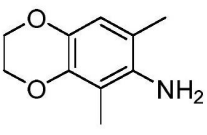
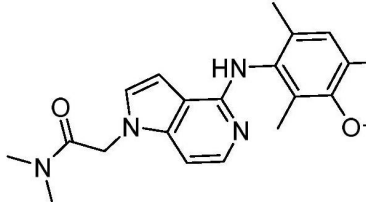
| 中间体                    | 试剂  | 化合物   |
|------------------------|---|---|
|                        |   | <b>化合物编号108</b>   |
| [0439]<br><b>I-112</b> | <br>[1458654-04-0] | <br><b>化合物编号109</b> |

[0440] 化合物110的制备

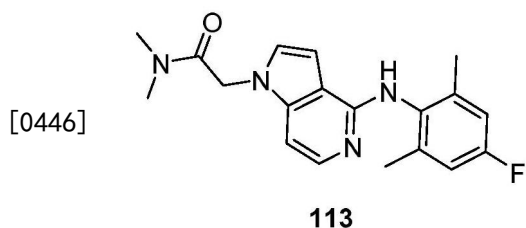


[0442] 将Pd<sub>2</sub>dba<sub>3</sub> (27.7mg, 30.2μmol) 添加至XantPhos (35.0mg, 60.5μmol) 和Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (296mg, 0.91mmol) 在DMF (10mL) 和1,4-二噁烷(10mL) 中的混合物中,同时将N<sub>2</sub>鼓泡。将混合物在40℃下搅拌5min,并添加3-溴-4-甲基-2-(三氟甲基)吡啶[1448776-80-4] (165mg, 0.61mmol)。将混合物搅拌10min,并添加I-117 (132mg, 0.61mmol)。将反应混合物在95℃下搅拌16h。将反应混合物用水稀释,并且将水相用EtOAc萃取(3次)。将合并的有机萃取物干燥(MgSO<sub>4</sub>),经Celite®过滤,并且将滤液在减压下蒸发。将粗混合物通过反相色谱法(流动相:NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub> (25mM在H<sub>2</sub>O中) / (MeCN/MeOH, 1:1), 梯度从90:10至54:46)纯化。将残余物用Et<sub>2</sub>O研磨,以得到呈白色固体的化合物110 (23.3mg, 10%)。

[0443] 从所指示的起始材料和试剂以与针对化合物110所述类似的方式制备以下化合物。

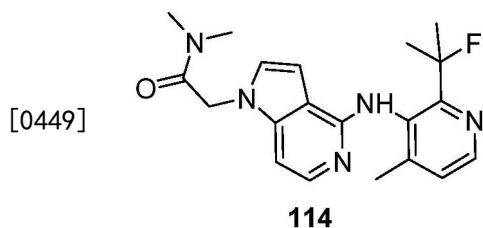
| 起始材料         | 试剂  | 化合物   |
|--------------|---|---|
| <b>I-118</b> | <br>[1571136-59-8] | <br><b>化合物编号111</b>         |
| <b>I-1</b>   | <br><b>I-109</b>   | <br>HCl盐<br><b>化合物编号112</b> |

[0445] 化合物113的制备



[0447] 将Pd(OAc)<sub>2</sub> (3.78mg, 16.8μmol)、XantPhos (21.9mg, 37.9μmol) 和Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (274mg, 0.84mmol) 添加至4-氟-2,6-二甲基苯胺 [392-70-1] (64.4mg, 0.46mmol) 和I-1 (100mg, 0.42mmol) 在1,4-二噁烷 (1.5mL) 中的搅拌溶液中。将反应混合物在密封管中在90℃下搅拌12h, 冷却至室温, 并通过Celite®过滤。将残余物用EtOAc洗涤。将滤液在减压下蒸发。将粗混合物通过反相色谱法 (流动相: [NH<sub>4</sub>OAc (65mM在H<sub>2</sub>O中)/MeCN (90:10)]/[MeCN/MeOH (1:1)], 梯度从90:10至54:46) 纯化, 以得到呈白色固体的化合物113 (56mg, 39%)。

[0448] 化合物114的制备



[0450] 在0℃下, 向化合物85 (203mg, 0.46mmol) 在DCM (2mL) 中的混合物中添加DAST (0.18mL, 1.38mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1.5h。将混合物用NaHCO<sub>3</sub>稀释并用DCM萃取。将合并的有机萃取物用水洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在减压下浓缩。将粗混合物通过快速柱色谱法 (二氧化硅, 流动相: DCM/(MeOH/NH<sub>3</sub>), 梯度从100:0至98:2) 纯化。经由制备型SFC (固定相: Chiralpak Daicel IC 20x 250mm, 流动相: CO<sub>2</sub>, EtOH+0.4% i-PrNH<sub>2</sub>) 进行第二次纯化, 以得到化合物114 (18mg, 11%)。

[0451] 分析部分

[0452] 熔点

[0453] 值是峰值或熔融范围,并且所获得的值具有通常与这种分析方法相关的实验不确定性。

[0454] DSC823e或DSC1 STAR(表示为DSC)和梅特勒-托利多公司(Mettler-Toledo)MP50:

[0455] 对于多种化合物,熔点是用DSC823e或DSC1 STAR(梅特勒-托利多公司)来测定的。使用10°C/分钟的温度梯度来测量熔点。最高温度是300°C。

[0456] 对于多种化合物,用MP50(梅特勒-托利多公司)来确定熔点。使用10°C/分钟的温度梯度来测量熔点。

[0457] LCMS

[0458] 通用程序

[0459] 使用LC泵、二极管阵列(DAD)或UV检测器以及如在对应的方法中所指定的柱进行高效液相色谱法(HPLC)测量。如果必要的话,包括其他检测器(参见下文的方法表格)。

[0460] 将来自柱的流带至配置有大气压离子源的质谱仪(MS)。设置调谐参数(例如扫描范围、停留时间等)以便获得允许鉴定化合物的标称单一同位素分子量(MW)的离子在技术人员知识内。利用适当的软件进行数据采集。

[0461] 通过其实验保留时间( $R_t$ )和离子描述化合物。如果未在数据表中不同地指定,那么报道的分子离子对应于 $[M+H]^+$ (质子化的分子)和/或 $[M-H]^-$ (去质子的分子)。在化合物不是直接可电离的情况下,指定加合物的类型(即 $[M+NH_4]^+$ 、 $[M+HCOO]^-$ 等)。对于具有多种同位素模式的分子(Br、Cl)来说,报道的值是针对最低同位素质量获得的值。获得的所有结果具有通常与所使用的方法相关的实验不确定性。

[0462] 在下文中,“SQD”意指单四极检测器,“MSD”意指质量选择检测器,“RT”意指室温,“BEH”意指桥接的乙基硅氧烷/二氧化硅杂合物,“DAD”意指二极管阵列检测器,“HSS”意指高强度二氧化硅。

[0463] LCMS方法代码(以mL/min表示流速;以°C表示柱温(T);以分钟表示运行时间)

[0464] 表1.LC-MS方法(以mL/min表示流速;以°C表示柱温(T);以min表示运行时间)。

| 方法代码        | 仪器  | 柱  | 流动相  | 梯度   | 流速<br>-----<br>柱温  | 运行时间<br>(min) |
|-------------|---|--|--|--|--------------------|---------------|
| [0465]<br>1 | Waters:<br>Acquity <sup>®</sup><br>UPLC <sup>®</sup><br>-DAD 和<br>SQD | Waters:<br>BEH (1.8<br>μm,<br>2.1*100<br>mm) | A: 10 mM<br>CH <sub>3</sub> COON<br>H <sub>4</sub> 于 95%<br>H <sub>2</sub> O + 5%<br>CH <sub>3</sub> CN 中<br>B: CH <sub>3</sub> CN | 在 2.10 min<br>内从 100%<br>A 至 5% A,<br>在 0.90 min<br>内至 0% A,<br>在 0.5 min<br>内至 5% A | 0.6<br>-----<br>55 | 3.5           |

| 方法<br>代码    | 仪器   | 柱   | 流动相  | 梯度  | 流速<br>-----<br>柱温  | 运行时间<br>(min) |
|-------------|--|---|--|---|--------------------|---------------|
| 2           | Waters:<br>Acquity®<br>UPLC®<br>-DAD、SQD<br>和 ELSD | Waters:<br>HSS T3<br>(1.8<br>µm,<br>2.1*100<br>mm)  | A: 10 mM<br>CH <sub>3</sub> COON<br>H <sub>4</sub> 于 95%<br>H <sub>2</sub> O + 5%<br>CH <sub>3</sub> CN 中<br>B: CH <sub>3</sub> CN | 在 2.10 min<br>内从 100%<br>A 至 5% A,<br>在 0.90 min<br>内至 0% A,<br>在 0.5 min<br>内至 5% A    | 0.6<br>-----<br>55 | 3.5           |
| 3           | Waters:<br>Acquity®<br>UPLC®<br>-DAD 和<br>SQD      | Waters:<br>HSS T3<br>(1.8<br>µm,<br>2.1*100<br>mm)  | A: 10 mM<br>CH <sub>3</sub> COON<br>H <sub>4</sub> 于 95%<br>H <sub>2</sub> O + 5%<br>CH <sub>3</sub> CN 中<br>B: CH <sub>3</sub> CN | 在 2.10 min<br>内从 100%<br>A 至 5% A,<br>在 0.90 min<br>内至 0% A,<br>在 0.5 min<br>内至 5% A    | 0.7<br>-----<br>55 | 3.5           |
| [0466]<br>4 | Waters:<br>Acquity®<br>UPLC®-DA<br>D 和 SQD         | Waters:<br>BEH C18<br>(1.7<br>µm,<br>2.1*50<br>mm)  | A: 10 mM<br>CH <sub>3</sub> COON<br>H <sub>4</sub> 于 95%<br>H <sub>2</sub> O + 5%<br>CH <sub>3</sub> CN 中<br>B: CH <sub>3</sub> CN | 在 1.3 min<br>内从 95% A<br>至 5% A, 保<br>持 0.7 min   | 0.8<br>-----<br>55 | 2             |
| 5           | Agilent:<br>1100-DAD<br>和 MSD                      | YMC:<br>Pack<br>ODS-AQ<br>(3 µm,<br>4.6 x 50<br>mm) | A: 在水中的<br>HCOOH<br>0.1%, B<br>CH <sub>3</sub> CN  | 在 4.8 min<br>内 95% A 至<br>5% A, 保持<br>1 min, 在 0.2<br>min 内返回<br>至 95% A。               | 2.6                | 6             |
| 6           | Waters:<br>Acquity®<br>UPLC®-DA<br>D 和 SQD         | Waters:<br>BEH C18<br>(1.7<br>µm,<br>2.1*50<br>mm)  | A: 10 mM<br>CH <sub>3</sub> COON<br>H <sub>4</sub> 于 95%<br>H <sub>2</sub> O + 5%<br>CH <sub>3</sub> CN 中<br>B: CH <sub>3</sub> CN | 在 1.3 min<br>内从 95% A<br>至 5% A, 保<br>持 0.2 min,<br>在 0.2 min<br>内至 95% A<br>保持 0.1 min | 0.7<br>-----<br>70 | 1.8           |

| 方法<br>代码 | 仪器   | 柱  | 流动相   | 梯度   | 流速<br>-----<br>柱温  | 运行时间<br>(min) |
|----------|--|--|---|--|--------------------|---------------|
| [0467]   | Waters:<br>Acquity <sup>®</sup><br>UPLC <sup>®</sup><br>-DAD、SQD | Waters:<br>BEH (1.8<br>μm,<br>2.1*100<br>mm) | A: 在 H <sub>2</sub> O<br>中的 0.1%<br>NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub><br>B: CH <sub>3</sub> CN | 在 2.10 min<br>内从 100%<br>A 至 5% A,<br>在 0.90 min<br>内至 0% A,<br>在 0.5 min<br>内至 5% A | 0.6<br>-----<br>55 | 3.5           |

[0468] 表2.分析数据-熔点(M.p.)和LCMS:[M+H]<sup>+</sup>意指该化合物的游离碱的质子化质量,[M-H]<sup>-</sup>意指该化合物的游离碱的去质子质量或指定的加合物的类型([M+CH<sub>3</sub>COO]<sup>-</sup>)。R<sub>t</sub>意指保留时间(以min计)。

[0469] 对于一些化合物,确定准确质量。

| 化合物<br>编号 | Mp<br>(°C) | Rt(min) | UV 面积% | [M+H] <sup>+</sup> | [M-H] <sup>-</sup> | LCMS<br>方法 |
|-----------|------------|---------|--------|--------------------|--------------------|------------|
| 1         | 232.30     | 1.48    | 100.00 | 352                | 350                | 1          |
| 2         | 251.73     | 1.25    | 100.00 | 362                |                    | 3          |
| 3         |            | 1.04    | 100    | 345                | 343                | 1          |
| 4         | 221.78     | 1.13    | 100.00 | 340                | 338                | 1          |
| 5         | 215.70     | 0.74    | 100.00 | 363                | 361                | 4          |
| 6         | 228.29     | 1.82    | 98.10  | 419                | 417                | 1          |
| 7         |            | 1.55    | 100.00 | 351                | 349                | 1          |
| [0470]    |            | 1.34    | 100.00 | 405                |                    | 1          |
| 9         |            | 1.11    | 100.00 | 338                | 336                | 1          |
| 10        |            | 1.09    | 100.00 | 336                | 334                | 1          |
| 11        |            |         |        |                    |                    |            |
| 12        | 211.88     | 1.27    | 100.00 | 356                | 354                | 1          |
| 13        |            | 1.46    | 100.00 | 390                | 388                |            |
| 14        |            | 0.64    | 100.00 | 364                | 362                | 4          |
| 15        |            | 1.28    | 100.00 | 344                | 342                | 2          |
| 16        |            | 1.18    | 100.00 | 324                | 322                | 1          |
| 17        |            | 1.09    | 100.00 | 324                |                    | 2          |

[0471]

| 化合物<br>编号 | Mp<br>(°C)           | Rt(min) | UV 面积% | [M+H] <sup>+</sup> | [M-H] <sup>-</sup> | LCMS<br>方法 |
|-----------|----------------------|---------|--------|--------------------|--------------------|------------|
| 18        | 214.46               | 1.87    | 100.00 | 391                | 389                | 1          |
| 19        |                      | 0.92    | 90.81  | 368                | 366                | 4          |
| 20        |                      | 1.26    | 100.00 | 352                | 350                | 1          |
| 21        | 187.16               | 0.92    | 100.00 | 377                | 375                | 4          |
| 22        | 211.10               | 0.85    | 100.00 | 343                | 341                | 4          |
| 23        | 202.75               | 0.87    | 100.00 | 347                |                    | 4          |
| 24        | 200.76               | 0.98    | 100.00 | 413                | 411                | 4          |
| 25        |                      | 0.94    | 100.00 | 381                | 379                | 4          |
| 26        |                      | 0.88    | 100.00 | 389                | 387                | 4          |
| 27        | 69.34                | 1.06    | 100.00 | 455                | 453                | 4          |
| 28        |                      | 1.45    | 100.00 | 365                | 363                | 1          |
| 29        |                      | 0.95    | 86.29  | 415                | 413                | 4          |
| 30        |                      | 1.01    | 0.59   | 296                | 294                | 1          |
| 31        | 239.9 <sup>(b)</sup> | 0.73    | 100.00 | 338                | 336                | 6          |
| 32        |                      | 0.35    | 99.00  | 310                |                    | 5          |
| 33        | 196.4 <sup>(b)</sup> | 1.27    | 98.00  | 366                |                    | 5          |
| 34        | 188.2 <sup>(b)</sup> | 0.71    | 99.00  | 338                |                    | 5          |
| 35        | 208.2 <sup>(b)</sup> | 1.78    | 99.00  | 377                |                    | 5          |
| 36        | 178.1 <sup>(b)</sup> | 0.47    | 99.00  | 311                |                    | 5          |
| 37        |                      | 1.64    | 0.99   | 350                |                    | 5          |
| 38        |                      | 1.31    | 99.22  | 360                | 358                | 1          |
| 39        |                      | 1.61    | 100    | 375                | 373                | 1          |
| 40        | 191.6 <sup>(b)</sup> | 1.57    | 100    | 361                |                    | 1          |
| 41        |                      | 1.61    | 100    | 361                |                    | 1          |
| 42        | 209.9 <sup>(b)</sup> | 0.78    | 98.54  | 357                | 355                | 4          |
| 43        | 210.4 <sup>(b)</sup> | 0.85    | 100    | 377                | 375                | 4          |
| 44        |                      | 1.75    | 100    | 395                | 393                | 1          |
| 45        |                      | 1.91    | 96.95  | 401                |                    | 1          |
| 46        |                      | 1.48    | 100    | 376                |                    | 1          |
| 47        |                      | 0.65    | 100    | 367                | 365                | 4          |
| 48        | 209.8 <sup>(b)</sup> | 1.8     | 100    | 395                |                    | 1          |
| 49        |                      | 1.47    | 100    | 345                |                    | 1          |
| 50        |                      | 1.74    | 100    | 409                | 407                | 1          |

[0472]

| 化合物<br>编号 | Mp<br>(°C)           | Rt(min) | UV 面积% | [M+H] <sup>+</sup> | [M-H] <sup>-</sup> | LCMS<br>方法 |
|-----------|----------------------|---------|--------|--------------------|--------------------|------------|
| 51        |                      | 1.67    | 100    | 395                | 393                | 1          |
| 52        |                      | 1.67    | 100    | 409                |                    | 1          |
| 53        |                      | 1.73    | 96.51  | 425                | 423                | 1          |
| 54        | 182.9 <sup>(b)</sup> | 1.83    | 100    | 427                |                    | 1          |
| 55        |                      | 0.98    | 100    | 409                | 407                | 4          |
| 56        |                      | 1.61    | 99.66  | 359                | 357                | 1          |
| 57        |                      | 1.68    | 100    | 375                | 373                | 1          |
| 58        |                      | 1.63    | 98.84  | 392                | 390                | 1          |
| 59        |                      | 1.18    | 100    | 338                | 336                | 1          |
| 60        |                      | 1.75    | 100    | 429                | 427                | 1          |
| 61        |                      | 1.43    | 99.03  | 366                | 364                | 1          |
| 62        |                      | 2       | 98.71  | 405                | 403                | 7          |
| 63        |                      | 0.81    | 96.44  | 375                |                    | 4          |
| 64        |                      | 0.75    | 100    | 370                | 368                | 4          |
| 65        |                      | 1.78    | 100    | 409                | 407                | 1          |
| 66        |                      | 1.52    | 100    | 431                | 429                | 1          |
| 67        |                      | 1.94    | 98.81  | 425                | 423                | 1          |
| 68        |                      | 1.28    | 100    | 360                |                    | 1          |
| 69        | 161.1 <sup>(b)</sup> | 1       | 100    | 435                | 433                | 4          |
| 70        |                      | 0.8     | 100    | 395                | 393                | 4          |
| 71        | 185.4 <sup>(b)</sup> | 0.88    | 100    | 407                | 405                | 4          |
| 72        | 188.2 <sup>(b)</sup> | 0.91    | 100    | 411                | 409                | 4          |
| 73        |                      | 1.67    | 98.24  | 409                | 407                | 1          |
| 74        | 192.1 <sup>(b)</sup> | 1.49    | 100    | 359                | 359                | 1          |
| 75        | 196.9 <sup>(b)</sup> | 1.64    | 98.18  | 379                | 377                | 1          |
| 76        | 220.5 <sup>(b)</sup> | 0.76    | 100    | 361                | 359                | 4          |
| 77        |                      | 0.95    | 100    | 411                | 409                | 4          |
| 78        |                      | 0.96    | 100    | 411                | 409                | 4          |
| 79        |                      | 0.88    | 96.93  | 397                | 395                | 4          |
| 80        | 195.7 <sup>(b)</sup> | 1.9     | 100    | 425                | 423                | 1          |
| 81        |                      | 0.85    | 96.28  | 377                | 375                | 4          |
| 82        |                      | 0.92    | 94.52  | 397                | 395                | 4          |
| 83        | 221.8 <sup>(b)</sup> | 1.85    | 97.73  | 369                | 367                | 7          |

| 化合物<br>编号 | Mp<br>(°C) | Rt(min) | UV 面积% | [M+H] <sup>+</sup> | [M-H] <sup>-</sup> | LCMS<br>方法 |
|-----------|------------|---------|--------|--------------------|--------------------|------------|
| 83        |            | 1.85    | 97.73  | 369                | 367                | 7          |
| 84        |            |         |        |                    |                    | 7          |
| 85        |            | 1.29    | 95.32  | 368                |                    | 1          |
| 86        |            | 1.75    | 95.91  | 390                | 388                | 7          |
| 86        |            | 1.75    | 95.91  | 390                | 388                | 7          |
| 87        |            | 1.18    | 100    | 368                | 366                | 1          |
| 88        |            | 0.64    | 98.4   | 385                |                    | 4          |
| 89        |            | 1.58    | 98.87  | 390                | 388                | 1          |
| 90        |            | 1.22    | 100    | 324                | 322                | 1          |
| 114       |            | 1.44    | 96.8   | 370                | 368                | 1          |

## [0474] 药理学实例

## [0475] 1) OGA-生化测定

[0476] 该测定基于重组人脑膜瘤表达的抗原5 (MGEA5) (也称为O-GlcNAc酶(OGA))对荧光素单-β-D-N-乙酰基-葡糖胺(FM-GlcNAc) (Mariappa等人, 2015, Biochem J[生物化学杂志] 470:255)的水解的抑制。水解FM-GlcNAc (马克基因技术公司 (Marker Gene technologies), 目录号M1485) 导致β-D-N-葡糖胺乙酸盐和荧光素的形成。后者的荧光可以在485nm的激发波长和538nm的发射波长下测量。酶活性的增加导致荧光信号的增加。在定向基因公司 (OriGene) (目录号TP322411) 购买全长OGA酶。将酶在-20℃下储存在25mM Tris.HCl, pH 7.3, 100mM甘氨酸, 10%甘油中。作为参考化合物测试Thiamet G和GlcNAcStatin (Yuzwa等人, 2008 Nature Chemical Biology[自然化学生物学]4:483; Yuzwa等人. 2012 Nature Chemical Biology[自然化学生物学]8:393)。该测定在补充有0.005%吐温-20的200mM柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液中进行。将35.6g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2 H<sub>2</sub>O (西格玛公司 (Sigma), #C0759) 溶于1L水中, 以得到200mM溶液。将19.2g柠檬酸 (默克公司, #1.06580) 溶于1L水中, 以得到100mM溶液。将磷酸钠溶液的pH用柠檬酸溶液调节至7.2。用于终止反应的缓冲液由500mM碳酸盐缓冲液 (pH 11.0) 组成。将734mg FM-GlcNAc溶于5.48mL DMSO中, 以得到250mM溶液, 并储存在-20℃。OGA以2nM浓度使用, 并且FM-GlcNAc以100uM最终浓度使用。在测定缓冲液中制备稀释液。

[0477] 将50nl溶于DMSO中的化合物分配到黑色Proxiplate™ 384Plus测定板 (珀金埃尔默公司 (Perkin Elmer), #6008269) 上, 随后添加3μl f1-OGA酶混合物。将板在室温下预孵育60min, 然后添加2μl FM-GlcNAc底物混合物。最终的DMSO浓度不超过1%。将板以1000rpm短暂离心1min, 并在室温下孵育6h。为了终止反应, 添加5μl STOP缓冲液并以1000rpm再次离心1min。在赛默科技公司 (Thermo Scientific) Fluoroskan Ascent或珀金埃尔默公司EnVision中定量荧光, 激发波长为485nm, 发射波长为538nm。

[0478] 对于分析, 通过最小平方和方法拟合最佳拟合曲线。由此获得IC<sub>50</sub>值和希尔系数。高对照 (无抑制剂) 和低对照 (标准抑制剂的饱和浓度) 用于定义最小值和最大值。

## [0479] 2) OGA-细胞测定

[0480] 在杨森公司 (Janssen) 建立了可诱导P301L突变型人Tau (同种型2N4R) 的HEK293细胞。Thiamet-G用于板验证 (高对照) 和作为参考化合物 (参考 $EC_{50}$ 测定验证)。通过如前所述使用检测O-GlcN酰化残基的单克隆抗体 (CTD110.6; 细胞信号传导公司 (Cell Signaling), #9875) 对O-GlcN酰化蛋白进行免疫细胞化学 (ICC) 检测来评估OGA抑制 (Dorfmueller等人, 2010 *Chemistry & biology* [化学与生物学], 17: 1250)。OGA的抑制将导致O-GlcN酰化蛋白水平的增加, 导致实验中的信号增加。细胞核用Hoechst染色以提供细胞培养物质量对照和粗略估计的即时化合物毒性 (如果有的话)。ICC图片用珀金埃尔默公司Opera Phenix平板显微镜成像, 并用提供的软件珀金埃尔默公司Harmony 4.1进行定量。按照标准程序, 将细胞在DMEM高葡萄糖 (西格玛公司, #D5796) 中繁殖。细胞测定前2天将细胞分开, 计数并接种于聚-D-赖氨酸 (PDL) 包被的96孔 (葛莱娜公司 (Greiner), #655946) 平板 (细胞密度为12,000个细胞/ $cm^2$  (4,000个细胞/孔)) 的100 $\mu$ l测定培养基中 (低葡萄糖培养基用于降低GlcN酰化的基础水平) (Park等人, 2014 *The Journal of biological chemistry* [生物化学杂志] 289: 13519)。在化合物测试当天, 从测定板中取出培养基并用90 $\mu$ l新鲜测定培养基补充。将10 $\mu$ l的10倍终浓度的化合物添加至孔中。在细胞孵育箱中孵育6小时之前不久将板离心。DMSO浓度设定为0.2%。通过施加真空丢弃培养基。为了细胞染色, 除去培养基, 并且用100 $\mu$ l D-PBS (西格玛公司, #D8537) 洗涤细胞一次。从下一步开始, 除非另有说明, 否则测定体积总是50 $\mu$ l, 并且在没有搅拌和室温下进行孵育。将细胞在50 $\mu$ l 4%多聚甲醛 (PFA, 阿法埃莎公司 (Alpha aesar), #043368) PBS溶液中在室温下固定15分钟。然后弃去PFA PBS溶液并在10mM Tris缓冲液 (生命技术公司 (LifeTechnologies), #15567-027)、150mM NaCl (生命技术公司 (LifeTechnologies), #24740-0110), 0.1% Triton X (阿法埃莎公司, #A16046) (pH 7.5 (ICC缓冲液)) 中洗涤细胞一次, 之后在相同缓冲液中透化10分钟。随后将样品在含有5%山羊血清 (西格玛公司, #G9023) 的ICC中在室温下封闭45-60分钟。然后将样品与第一抗体 (来自商业提供者的1/1000, 参见上文) 在4 $^{\circ}$ C下孵育过夜, 并且随后在ICC缓冲液中洗涤3次, 持续5分钟。将样品与第二荧光抗体 (1/500稀释, 生命技术公司, #A-21042) 一起孵育, 并用在ICC (生命技术公司, #H3570) 中终浓度为1 $\mu$ g/ml的Hoechst 33342进行细胞核染色1小时。在分析之前, 将样品在ICC碱缓冲液中手动洗涤2次, 持续5分钟。

[0481] 使用珀金埃尔默公司Phenix Opera使用水20x物镜并每孔记录9个视野进行成像。在488nm处的强度读数用作孔中总蛋白质的O-GlcN酰化水平的量度。为了评估化合物的潜在毒性, 使用Hoechst染色计数细胞核。使用参数非线性回归模型拟合计算 $IC_{50}$ 值。作为最大抑制, 在每个平板上存在200 $\mu$ M浓度的Thiamet G。另外, 在每个板上计算Thiamet G的浓度应答。

[0482] 表3. 生化测定和细胞测定中的结果。

[0483]

| 化合物<br>编号 | 酶法 hOGA;<br>pIC <sub>50</sub> | 酶法<br>E <sub>max</sub> (%) | 细胞 hOGA;<br>pEC <sub>50</sub> | 细胞 E <sub>max</sub><br>(%) |
|-----------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| 1         | 8.31                          | 103                        | 7.51                          | 109                        |
| 2         | 8.24                          | 103                        | 7.5                           | 79                         |
| 3         | 6.16                          | 93                         |                               |                            |
| 4         | 7.24                          | 101                        | 6.44                          | 68                         |
| 5         | 8.56                          | 103                        | 7.55                          | 89                         |
| 6         | 8.53                          | 102                        | 8.29                          | 96                         |
| 7         | 7.65                          | 102                        | 7.19                          | 88                         |
| 8         | 5.96                          | 98                         |                               |                            |
| 9         | 6.41                          | 95                         |                               |                            |
| 10        | 6.71                          | 97                         |                               |                            |
| 11        | 6.41                          | 99                         |                               |                            |
| 12        | 6.28                          | 95                         |                               |                            |
| 13        | 6.31                          | 95                         | < 6                           | 15                         |
| 14        | 7.26                          | 99                         | 6.23                          | 55                         |
| 15        | 7.51                          | 102                        | 约 6.2                         | 68                         |
| 16        | 7.69                          | 104                        | 6.85                          | 86                         |
| 17        | 7.85                          | 101                        | 6.83                          | 79                         |
| 18        | 8.53                          | 104                        | 7.91                          | 86                         |
| 19        | 8.2                           | 102                        | 7.22                          | 80                         |
| 20        | 8.11                          | 100                        | 7.49                          | 91                         |
| 21        | 8.29                          | 101                        | 7.82                          | 77                         |
| 22        | 8.39                          | 103                        | 7.8                           | 86                         |
| 23        | 7.85                          | 103                        | 7.09                          | 98                         |
| 24        | 8.06                          | 101                        | 7.26                          | 87                         |
| 25        | 8.28                          | 101                        | 7.47                          | 87                         |
| 26        | 8.38                          | 103                        | 7.93                          | 81                         |
| 27        | 8.44                          | 104                        | 8                             | 87                         |
| 28        | 7.63                          | 100                        | 6.48                          | 76                         |
| 29        | 8.15                          | 102                        | 7.24                          | 85                         |
| 30        | 6.93                          | 100                        |                               |                            |

[0484]

| 化合物<br>编号 | 酶法 hOGA;<br>pIC <sub>50</sub> | 酶法<br>E <sub>max</sub> (%) | 细胞 hOGA;<br>pEC <sub>50</sub> | 细胞 E <sub>max</sub><br>(%) |
|-----------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| 31        | 6.32                          | 97                         |                               |                            |
| 32        | 8.33                          | 104                        | 7.54                          | 98                         |
| 33        | 6.54                          | 98                         |                               |                            |
| 34        | 6.44                          | 97                         |                               |                            |
| 35        | 7.09                          | 100                        | < 6                           | 39                         |
| 36        | 8.3                           | 103                        | 7.69                          | 78                         |
| 37        | 8.88                          | 103                        | 7.44                          | 85                         |
| 38        | 7.18                          | 100.385                    | 6.06                          | 50.1581                    |
| 39        | 8                             | 103.935                    | 7.29                          | 89.7319                    |
| 40        | 8.25                          | 99.01                      | 约 7.58                        | 81.23045                   |
| 41        | 7.71                          | 98.05                      | 7.34                          | 69.456                     |
| 42        | 8.09                          | 101.475                    | 7.71                          | 93.5478                    |
| 43        | 8.18                          | 101.11                     | 7.57                          | 80.4125                    |
| 44        | 7.86                          | 103.07                     | 7.17                          | 82.3391                    |
| 45        | 7.14                          | 102.53                     | 6.81                          | 74.4194                    |
| 46        | 7.44                          | 102.665                    | 6.86                          | 75.29775                   |
| 47        | 7.56                          | 98.735                     | 6.32                          | 65.072                     |
| 48        | 7.57                          | 99.24                      | 7.22                          | 73.5737                    |
| 49        | 7.58                          | 99.39                      | 6.87                          | 84.96725                   |
| 50        | 7.93                          | 100.07                     | 7.42                          | 76.7245                    |
| 51        | 7.98                          | 104.22                     | 7.18                          | 93.48935                   |
| 52        | 8.45                          | 101.845                    | 7.8                           | 94.5654                    |
| 53        | 8.48                          | 94.735                     | 约 8.12                        | 106.011                    |
| 54        | 8.52                          | 100.945                    | 7.83                          | 85.60435                   |
| 55        | 7.81                          | 98.76                      | 7.47                          | 98.55725                   |
| 56        | 7.84                          | 101.04                     | 7.3                           | 72.76705                   |
| 57        | 7.93                          | 99.23                      | 7.53                          | 76.22965                   |
| 58        | 8                             | 100.8                      | 7.14                          | 87.22285                   |
| 59        | 8.12                          | 101.56                     | 7.21                          | 87.3268                    |
| 60        | 8.27                          | 100.365                    | 7.58                          | 83.3741                    |
| 61        | 8.29                          | 99.75                      | 7.76                          | 94.6773                    |
| 62        | 8.66                          | 100.75                     | 8.03                          | 102.6281                   |
| 63        | 8.14                          | 99.395                     | 8.04                          | 81.1544                    |
| 64        | 8.32                          | 101.945                    | 7.31                          | 78.643                     |
| 65        | 8.5                           | 99.195                     | 约 8.22                        | 89.13485                   |

[0485]

| 化合物<br>编号 | 酶法 hOGA;<br>pIC <sub>50</sub> | 酶法<br>E <sub>max</sub> (%) | 细胞 hOGA;<br>pEC <sub>50</sub> | 细胞 E <sub>max</sub><br>(%) |
|-----------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| 66        | 8.34                          | 100.67                     | 7.82                          | 84.383                     |
| 67        | 8.56                          | 101.305                    | 7.8                           | 85.87875                   |
| 68        | 7.78                          | 101.375                    | 6.85                          | 79.9009                    |
| 69        | 8.55                          | 101.48                     | 8.32                          | 97.6203                    |
| 70        | 8.07                          | 98.98                      | 7.54                          | 94.8158                    |
| 71        | 8.38                          | 101.05                     | 约 8                           | 85.80715                   |
| 72        | 8.42                          | 99.97                      | 7.72                          | 77.6232                    |
| 73        | 7.69                          | 101.67                     | 6.74                          | 85.3271                    |
| 74        | 7.89                          | 99.335                     | 7.4                           | 81.3139                    |
| 75        | 8.22                          | 99.96                      | 7.41                          | 93.926                     |
| 76        | 8.26                          | 101.72                     | 7.43                          | 79.8092                    |
| 77        | 8.49                          | 99.685                     | 7.82                          | 80.2154                    |
| 78        | 8.43                          | 96.635                     | 7.43                          | 106.0394                   |
| 79        | 8.51                          | 97.04                      | 7.77                          | 92.4264                    |
| 80        | 8.51                          | 98.81                      | 8.18                          | 89.9233                    |
| 81        | 8.67                          | 100.41                     | 8.28                          | 103.9332                   |
| 82        | 8.81                          | 95.03                      | 约 8.17                        | 106.7803                   |
| 83        | 8.41                          | 103.835                    | 7.97                          | 102.6916                   |
| 84        | 8.61                          | 100.96                     | 7.76                          | 83.0277                    |
| 85        | 7.37                          | 101.165                    |                               |                            |
| 86        | 7.66                          | 100.445                    | 7.15                          | 65.18655                   |
| 87        | 7.81                          | 99.935                     | 7.09                          | 88.6943                    |
| 88        | 7.84                          | 101.495                    | 7.62                          | 93.07625                   |
| 89        | 8.22                          | 100.56                     | 7.49                          | 89.52315                   |
| 90        | 7.81                          | 100.86                     | 6.31                          | 58.03765                   |
| 91        | 6.32                          | 94.315                     | < 6                           | 41.8697                    |
| 92        | 6.37                          | 94.605                     | < 6                           | 22.40395                   |
| 93        | 6.84                          | 97.715                     | < 6                           | 41.49375                   |
| 94        | 7.75                          | 99.365                     | 7.2                           | 70.7898                    |
| 95        | 8.16                          | 99.185                     | 7.79                          | 79.90805                   |
| 96        | 8.11                          | 101.42                     | 7.95                          | 91.97595                   |
| 97        | 7.38                          | 101.275                    | 6.81                          | 73.01495                   |
| 98        | 7.41                          | 99.82                      | 6.18                          | 50.6643                    |
| 99        | 7.48                          | 98.395                     | 6.96                          | 80.02295                   |
| 100       | 7.67                          | 100.785                    | 约 7.11                        | 81.38875                   |

[0486]

| 化合物<br>编号 | 酶法 hOGA;<br>pIC <sub>50</sub> | 酶法<br>E <sub>max</sub> (%) | 细胞 hOGA;<br>pEC <sub>50</sub> | 细胞 E <sub>max</sub><br>(%) |
|-----------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| 101       | 7.83                          | 101.14                     | 7.79                          | 80.4162                    |
| 102       | 7.73                          | 99.945                     | 7.69                          | 73.4892                    |
| 103       | 8.27                          | 100.845                    | 约 6.99                        | 81.90755                   |
| 104       | 8.32                          | 100.005                    | 7.33                          | 80.6562                    |
| 105       | 8.3                           | 102.84                     |                               |                            |
| 106       | 8.28                          | 100.88                     | 约 7.26                        | 89.78595                   |
| 107       | 8.29                          | 100.085                    | 7.86                          | 90.239                     |
| 108       | 7.98                          | 101.425                    | 约 7.74                        | 81.7214                    |
| 109       | 7.93                          | 98.84                      | 7.67                          | 79.5067                    |
| 110       | 7.81                          | 98.82                      | 6.56                          | 78.788                     |
| 111       | 7.96                          | 102.71                     | 7.16                          | 85.0824                    |
| 112       | 8.47                          | 99.935                     | 7.89                          | 82.8988                    |
| 113       | 8.09                          | 102.695                    | 7.57                          | 83.01505                   |
| 114       | 8.37                          | 102.02                     | 7.11                          | 85.24545                   |