



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102026974 B

(45) 授权公告日 2013. 08. 28

(21) 申请号 200980117076. X

(22) 申请日 2009. 05. 14

(30) 优先权数据

61/053, 722 2008. 05. 16 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 11. 12

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/043875 2009. 05. 14

(87) PCT申请的公布数据

W02009/140448 EN 2009. 11. 19

(73) 专利权人 伊莱利利公司

地址 美国印第安纳州

(72) 发明人 P·K·贾达夫 V·克里什南

E·J·金

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

代理人 周铁 郭文洁

(51) Int. Cl.

C07D 209/94 (2006. 01)

C07D 401/06 (2006. 01)

C07D 403/06 (2006. 01)

A61K 31/403 (2006. 01)

A61K 31/4439 (2006. 01)

A61P 5/26 (2006. 01)

A61P 19/10 (2006. 01)

A61P 21/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

W0 2006/089053 A2, 2006. 08. 24, 实施例
1-2.

W0 2007/002181 A2, 2007. 01. 04, 实施例 1.

W0 2008/063867 A2, 2008. 05. 29, 实施例
56B.

审查员 王超

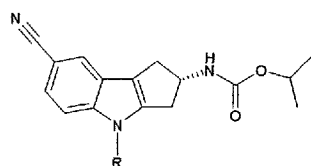
权利要求书3页 说明书36页
序列表2页

(54) 发明名称

四氢环戊二烯并 [b] 吲哚雄激素受体调节剂

(57) 摘要

本发明提供了如式 (I) 所示的化合物:

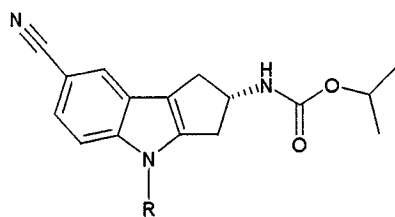


或其可药用盐; 包含式

式(I)

(I) 化合物与合适载体、稀释剂或赋形剂的组合
的药物组合物; 治疗或预防生理失调的方法, 尤
其是治疗或预防骨质降低、骨质疏松、骨质减少、
肌肉质量或强度降低或勃起功能障碍, 该方法包
括给予式 (I) 的化合物或其可药用盐。

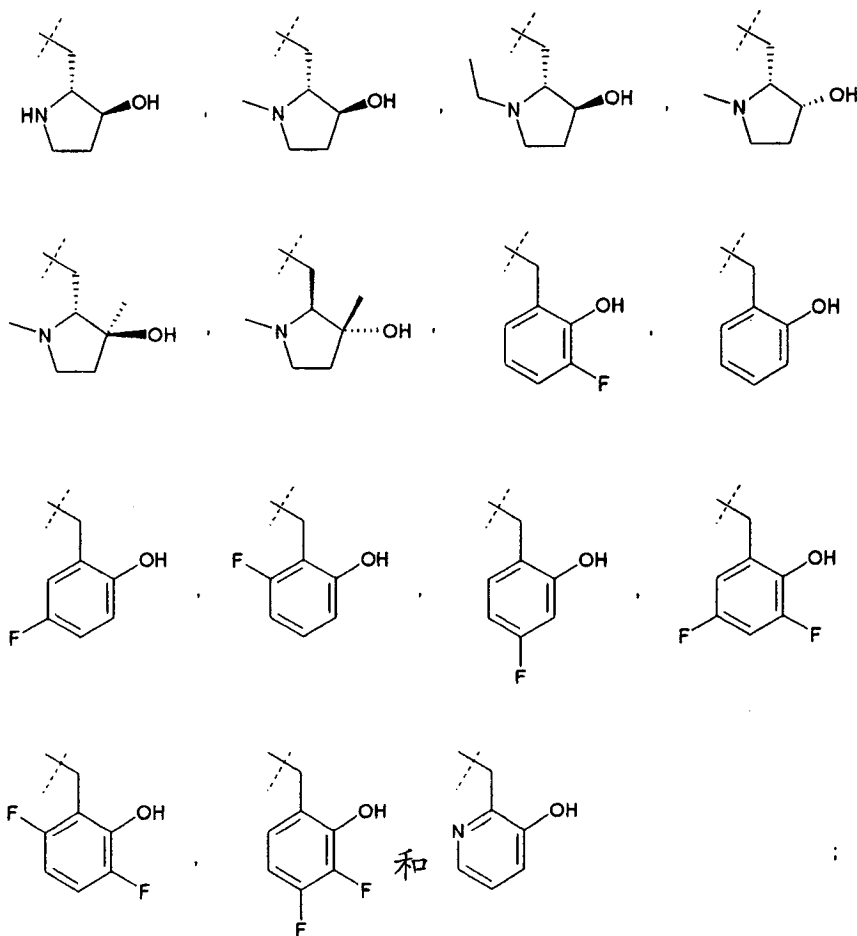
1. 式 (I) 的化合物：



式(I)

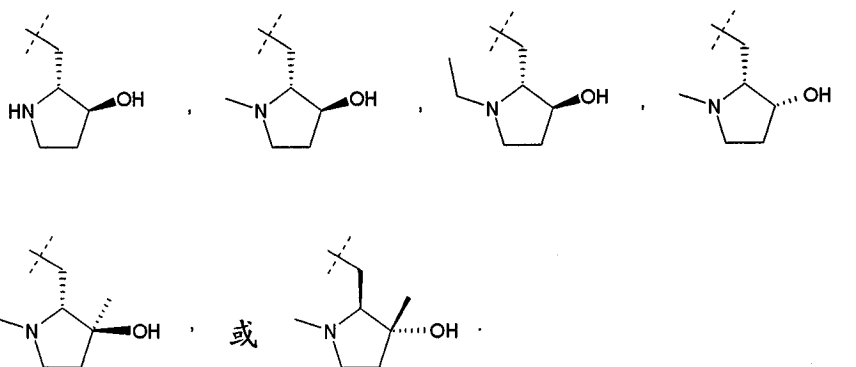
其中，

R 代表选自下列的取代基：

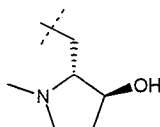


或其可药用盐。

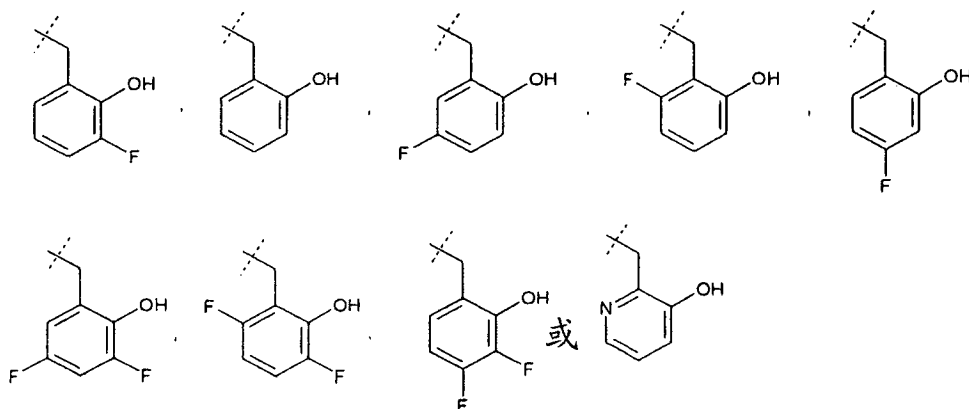
2. 按照权利要求 1 的化合物或盐, 其中 R 代表



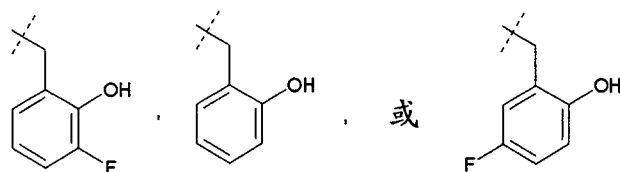
3. 按照权利要求 2 的化合物或盐, 其中 R 代表



4. 按照权利要求 1 的化合物或盐, 其中 R 代表



5. 按照权利要求 4 的化合物或盐, 其中 R 代表



6. 按照权利要求 1 的化合物, 选自 [(S)-7-氰基-4-((2R,3S)-3-羟基-1-甲基-吡咯烷-2-基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯, [(S)-7-氰基-4-(3-氟-2-羟基苄基)-1,2,3,4-四氢环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯, [(S)-7-氰基-4-(2-羟基-苄基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯和 [(S)-7-氰基-4-(5-氟-2-羟基-苄基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯, 或其可药用盐。

7. 按照权利要求 1-6 的任一项的化合物或盐用于制备药物的用途, 该药物用于治疗或预防骨质疏松、肌肉质量或强度降低, 或勃起功能障碍。

8. 按照权利要求 7 的用途, 其中所述药物用于治疗或预防勃起功能障碍。

9. 按照权利要求 1-6 的任一项的化合物或盐用于制备药物的用途,该药物用于治疗或预防骨质或密度降低或骨质减少。

10. 药物组合物,其包含按照权利要求 1-6 的任一项的化合物或盐,其与一或多种可药用载体、稀释剂或赋形剂组合。

11. 按照权利要求 10 的组合物,进一步包含选自他达拉非、西地那非柠檬酸盐和伐地那非盐酸盐的化合物。

四氢环戊二烯并 [b] 吡啶雄激素受体调节剂

[0001] 内原性的甾体雄激素（例如睾酮和 5α -二氢睾酮（DHT）对许多生理功能产生明显的影响。临床上，雄激素治疗已经用于治疗男性的性腺机能减退。在性腺功能减低的男性中，还显著地显示雄激素代替治疗可降低骨吸收和增加骨质。临床上已经使用雄激素的其它适应症包括骨质疏松和肌肉损耗疾病。另外，在衰老男性中，最近已经使用雄激素代替治疗，并且用于调节男性生育力。在女性中，临床上已经使用雄激素治疗，用于治疗性功能障碍或性欲减弱。

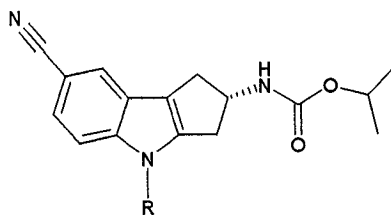
[0002] 然而，雄激素治疗具有局限性。例如，甾体雄激素治疗的不希望有的副作用包括：前列腺和精囊的生长刺激。另外，前列腺肿瘤的刺激作用和前列腺特异性抗原（PSA）的升高（前列腺癌症危险增加的信号）与雄激素使用有关。此外，已经发现，肠胃外给药之后，甾体雄激素的制剂在肝中快速降解，导致较差的口服生物利用率和短的活性时效，血浆水平发生改变、肝脏毒性或与其它甾体激素受体（例如糖皮质激素受体（GR），盐皮质激素受体（MR）和孕酮受体（PR））的交叉反应性。此外，在女性中，使用甾体雄激素可以导致多毛症或男性化。

[0003] 由此，本领域还需要甾体雄激素治疗的替换物。优选，这种替换物具有甾体雄激素的有利的药理学性能，但与甾体雄激素治疗有关的典型局限性的可能性或发生率降低。因此，本发明的目标是提供具有雄激素激动剂活性的非甾体 AR 配体。更尤其是，目标是提供非甾体雄激素激动剂，相对于其它甾体激素受体，其与 AR 结合具有更大的亲合性。甚至更尤其是，目的是提供可在肌肉或骨中显示雄激素激动剂的组织选择性雄激素受体调节剂（SARMs），但其在雄激素性组织例如前列腺或精囊中只是部分激动剂、部分拮抗剂或拮抗剂活性。

[0004] 下面提供了本领域的目前状态的例子：Cadilla 等人，Curr. Top. Med. Chem(2006) ;6(3) :245-270，提供了雄激素受体调节剂的综述；Segal 等人，Expert Opin. Investig. Drugs(2006) ;15(4) ;377-387，提供了雄激素受体调节剂的综述；共同未决国际专利申请 PCT/US07/83745 公开了四氢环戊二烯并 [b] 吡啶化合物作为雄激素受体调节剂；公开的国际专利申请 WO 2007/83745 公开了四氢吡唑作为雄激素受体调节剂。

[0005] 本发明涉及在体外和体内试验中具有特定活性特性的某些四氢环戊二烯并 (penta) [b] 吡啶化合物（如下面式 (I) 所定义），这显示它们可有效用于治疗对甾体雄激素治疗敏感的病症。相应地，本发明提供了式 (I) 的化合物：

[0006]

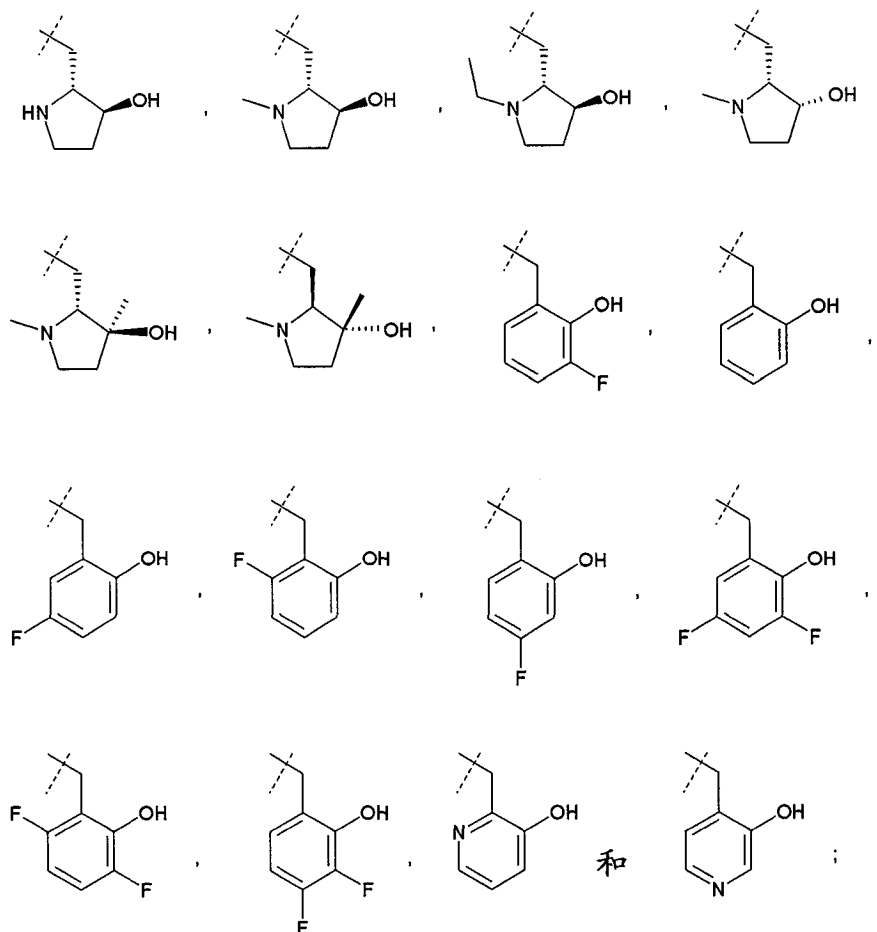


式(I)

[0007] 其中，

[0008] R 代表选自下列的取代基：

[0009]



[0010] 或其可药用盐。

[0011] 在另一个实施方案中，本发明提供了治疗或预防性腺机能减退、骨质或密度降低、骨质疏松、骨质减少、肌肉质量或强度降低、男性或女性的性功能障碍、勃起功能障碍或性欲降低的方法，包括给予需要其的患者有效量的式 (I) 的化合物或其可药用盐。作为具体方面，本发明提供了治疗或预防骨质或密度降低、骨质疏松、骨质减少、肌肉质量或强度降低或勃起功能障碍的方法。作为更具体的方面，本发明提供了治疗或预防骨质或密度降低、骨质疏松、骨质减少、由固定术、废用或创伤引发的肌肉质量或强度降低，或勃起功能障碍的方法。

[0012] 进一步的，本发明提供了式 (I) 的化合物或其可药用盐，用于治疗或预防性腺机能减退、骨质或密度降低、骨质疏松、骨质减少、肌肉质量或强度降低、男性或女性的性功能障碍、勃起功能障碍或性欲降低。更尤其是，本发明提供了式 (I) 的化合物或其可药用盐，用于治疗或预防骨质或密度降低、骨质疏松、骨质减少、肌肉质量或强度降低，或勃起功能障碍。甚至更尤其是，本发明提供了式 (I) 的化合物或其可药用盐，用于治疗或预防骨质或密度降低、骨质疏松、骨质减少、由固定术、废用或创伤引发的肌肉质量或强度降低，或勃起功能障碍。另外，本发明提供了式 (I) 的化合物或其可药用盐，用于治疗。

[0013] 在另一个实施方案中，本发明提供了式 (I) 的化合物或其可药用盐用于制备药物的用途，该药物用于治疗或预防性腺机能减退、骨质或密度降低、骨质疏松、骨质减少、肌肉

质量或强度降低、男性或女性的性功能障碍、勃起功能障碍或性欲降低。更尤其是,本发明提供了式(I)的化合物用于制备药物的用途,该药物用于治疗或预防骨质或密度降低、骨质疏松、骨质减少、肌肉质量或强度降低或勃起功能障碍。更尤其是,本发明提供了式(I)的化合物用于制备药物的用途,该药物用于治疗或预防骨质或密度降低、骨质疏松、骨质减少、由固定术、废用或创伤引发的肌肉质量或强度降低或勃起功能障碍。

[0014] 另外,本发明提供了药物组合物,其包含式(I)的化合物或其可药用盐与多种可药用载体、稀释剂或赋形剂中的一种的组合。更尤其是,本发明提供了药物组合物,用于治疗骨质或密度降低、骨质疏松、骨质减少、肌肉质量或强度降低或勃起功能障碍,其包含式(I)的化合物或其可药用盐与多种可药用载体、稀释剂或赋形剂中的一种的组合。更尤其是,本发明提供了药物组合物,用于治疗骨质或密度降低、骨质疏松、骨质减少、由固定术、废用或创伤引发的肌肉质量或强度降低或勃起功能障碍。

[0015] 本发明还包括用于式(I)化合物合成的新的中间体和方案。

[0016] 本发明还涉及式(I)化合物的可药用盐。本领域技术人员很了解可药用盐和制备它们的方法的例子。另外,本发明还涉及式(I)化合物的溶剂化物或式(I)化合物的可药用盐。因此,当本文使用术语“式(I)”或任何具体的式(I)化合物时,在其含义范围之内还包括化合物的任何溶剂化物。

[0017] 式(I)的化合物可以具有一个或多个手性中心,并因此可以存在具体立体异构的构型。本文使用的术语“R”和“S”(如通常在有机化学中使用的)表示手性中心的具体构型。术语“(±)”或“RS”指的是包含外消旋体的手性中心的构型。立体化学的优先次序的部分列表和讨论包含在下列中:“Nomenclature of Organic Compounds: Principles and Practice”, (J. H. Fletcher, 等人, eds., 1974)。X 射线分析和与手性 HPLC 保留时间的相关性。

[0018] 式 I 化合物的具体立体异构体和对映体可由本领域普通技术人员使用熟知的技术和方案制备,例如公开在下列中的那些技术和方案: Elieil and Wilen, “Stereochemistry of Organic Compounds”, John Wiley & Sons, Inc., 1994, Chapter 7; Separation of Stereoisomers, Resolution, Racemization; and by Collet and Wilen, “Enantiomers, Racemates, and Resolutions”, John Wiley & Sons, Inc., 1981。例如,具体立体异构体和对映体可以使用对映体纯和几何纯的或对映体富集或几何富集的起始原料、通过立体有择合成来制备。另外,可以利用技术例如加成盐的手性固定相层析、酶催拆分、分级重结晶以及提供于本文反应路线和实施例中的那些技术,将具体立体异构体和对映体进行拆分和回收。

[0019] 符号 “” 是指从页的平面当中向前突出的键。

[0020] 符号 “” 是指从页的平面当中向后突出的键。

[0021] 符号 “” 是指以键的混合形态存在的键,键的混合形态是从页的平面当中向前和向后两个方向突出的键。

[0022] 本文使用的术语“患者”是指人或非人哺乳动物,例如狗,猫,牛,猴子,马或羊。更尤其是,术语“患者”是指人。本文使用的术语“治疗”(或“医治”或“诊治”)包括阻止、抑制、减缓、终止、或逆转所存在症状或病症的发展或严重程度。本文使用的术语“预防”(或“防止”或“阻止”)是指阻止、制止或抑制症状或病症的发生或存在。正如本领域技术人员

所理解的那样,生理失调可以以“慢性”病症或以“急性”发作形式出现。由此,病症的治疗意在包括急性状况和慢性病症两者。在急性状况中,在症状发作的时候给予化合物,当症状消失时停止给药,而慢性病症是在疾病的整个期间进行治疗的。

[0023] 可以将本发明的化合物配制为药物组合物的一部分。因此,包含与可药用载体、稀释剂或赋形剂相组合的式 (I) 化合物或其可药用盐的药物组合物是本发明的重要的实施方案。药物组合物和其制备方法的例子在本领域为大家所熟知。式 (I) 化合物或包含式 (I) 化合物的组合物可以通过使该化合物可生物利用的任何途径给予,包括口服和肠胃外途径。

[0024] 本文使用的术语“有效量”是指式 (I) 化合物的数量或剂量,当将其以单独或复合剂量形式给予患者时,该量可以给诊断或治疗状态下的患者提供预期效果。通过考虑许多因素,例如哺乳动物的种类,其大小,年龄和常规健康情况,所涉及的具体疾病,疾病的程度或严重性,个体患者的响应,所给予的具体化合物,给药模式,所给予制剂的生物利用特性,所选择的剂量方案和所使用的任何伴随药物治疗,作为本领域技术人员的诊断医师可以容易地确定有效量。

[0025] 可以给予本发明的化合物和组合物,或在药物中使用,可以单独给予或与具体病症所使用的常规治疗剂组合给予。如果本发明的化合物或组合物用作组合的一部分,那么化合物或包含式 (I) 的组合物可以分别给予,或作为制剂的一部分给予,其中制剂包含与其组合的治疗剂。

[0026] 尤其是,治疗勃起功能障碍的常规治疗剂可以优选与式 (I) 的化合物或包含式 (I) 化合物的组合物进行组合。治疗勃起功能障碍的常规药剂包括:磷酸二酯酶类型 5 (PDE5) 抑制剂他达拉非 (Cialis[™]),西地那非柠檬酸盐 (Viagra[™]) 和伐地那非盐酸盐 (Levitra[™])。因此,本发明还提供了治疗或预防勃起功能障碍的方法,包括给予需要其的患者有效量的式 (I) 化合物或其可药用盐,其与选自他达拉非、西地那非柠檬酸盐和伐地那非盐酸盐的药剂组合使用。更尤其是,本发明还提供了治疗或预防勃起功能障碍的方法,包括给予需要其的患者有效量的式 (I) 化合物或其可药用盐,其与选自 Cialis[™]、Viagra[™] 和 Levitra[™] 的药剂组合使用。

[0027] 本发明进一步提供了组合治疗制剂,其包含:(a) 式 (I) 的化合物;(b) 一或多种用于治疗勃起功能障碍的常规辅助药剂 (co-agent),选自他达拉非,西地那非柠檬酸盐和伐地那非盐酸盐;和任选 (c) 可药用载体、稀释剂或赋形剂。更尤其是,本发明提供了组合治疗制剂,其包含:(a) 式 (I) 的化合物;(b) 一或多种用于治疗勃起功能障碍的常规辅助药剂,选自 Cialis[™]、Viagra[™] 和 Levitra[™];和任选 (c) 可药用载体、稀释剂或赋形剂。

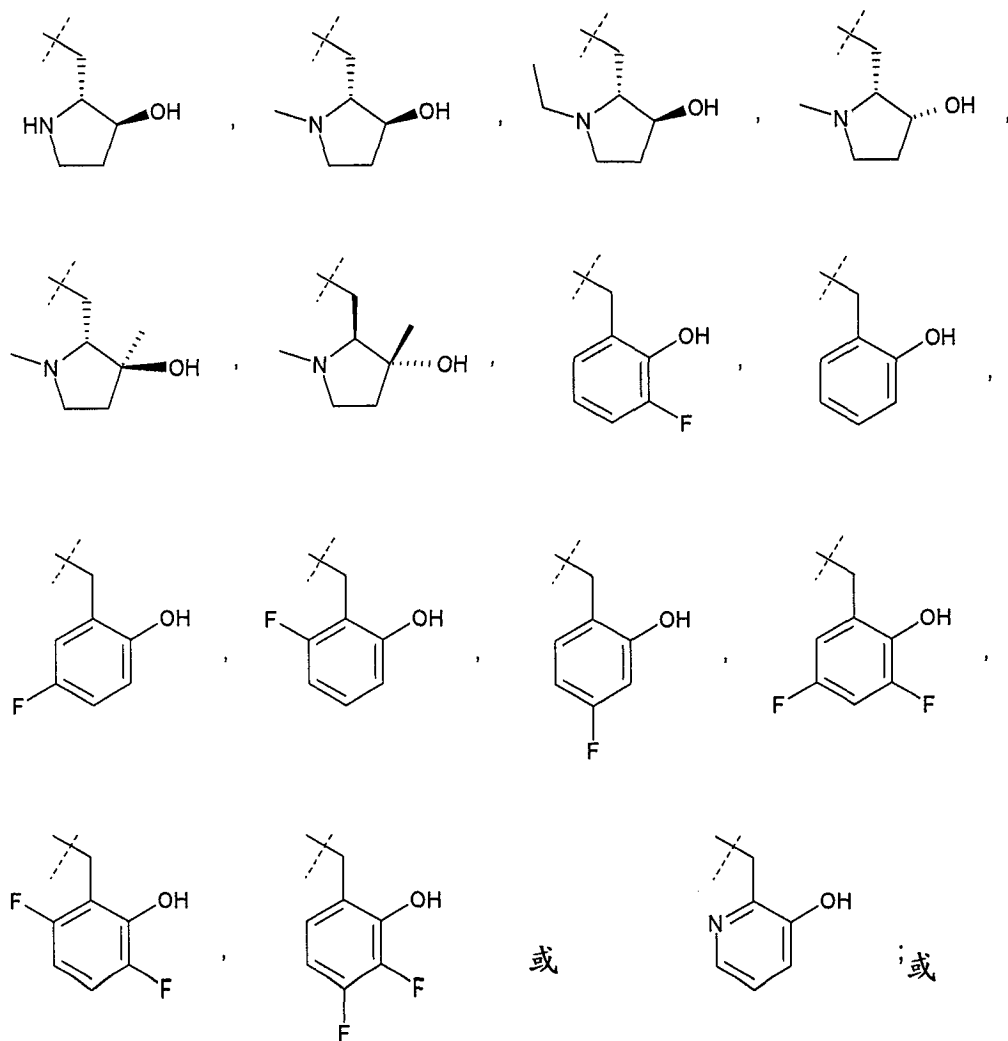
[0028] 本发明的具体方面

[0029] 下面的列表列出了式 (I) 化合物的具体取代基和具体变量的一些组合。可以理解,具有这种具体取代基或变量的式 (I) 化合物、以及使用这种化合物的方法和用途代表了本发明的具体方面。

[0030] 由此,本发明的具体方面是式 (I) 的化合物,其中:

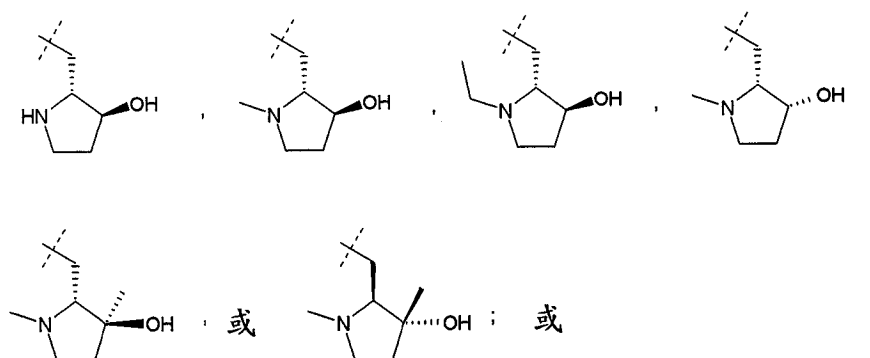
[0031] (a) R 代表

[0032]



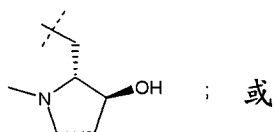
[0033] (b) R 代表

[0034]



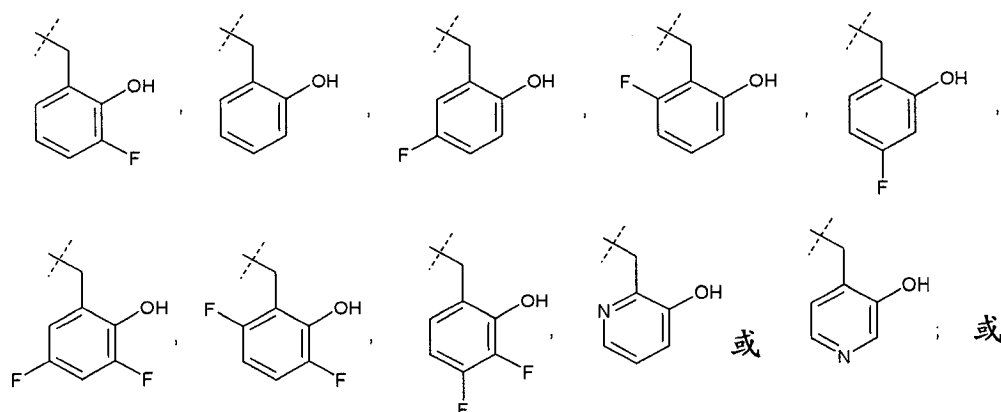
[0035] (c) R 代表

[0036]



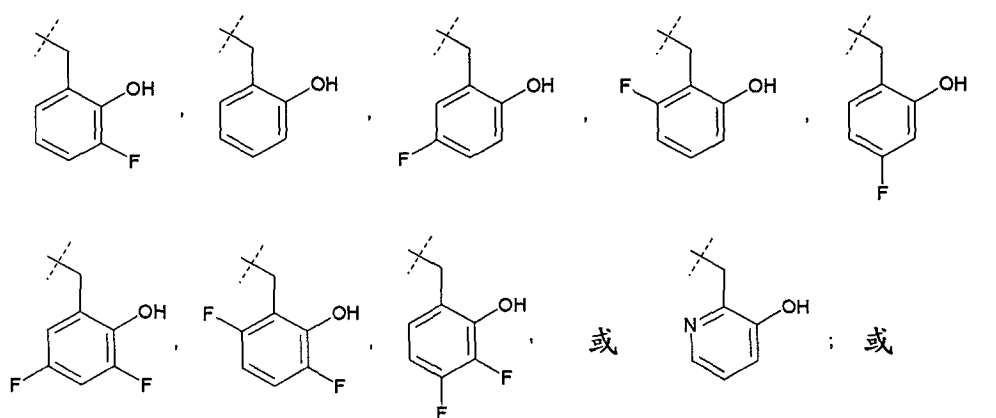
[0037] (d) R 代表

[0038]



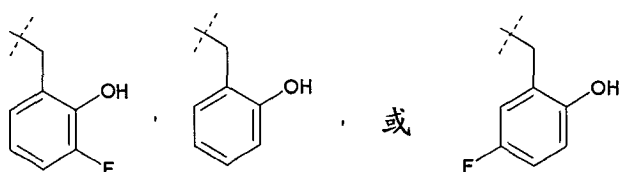
[0039] (e)R 代表

[0040]



[0041] (f)R 代表

[0042]



[0043] 另外,通过本文举例说明的式(I)化合物提供了本发明的大部分具体实施方案,更尤其是化合物[(S)-7-氰基-4-((2R,3S)-3-羟基-1-甲基-吡咯烷-2-基甲基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯,[(S)-7-氰基-4-(3-氟-2-羟基苄基)-1,2,3,4-四氢环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯,[(S)-7-氰基-4-(2-羟基-苄基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯和[(S)-7-氰基-4-(5-氟-2-羟基-苄基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯。

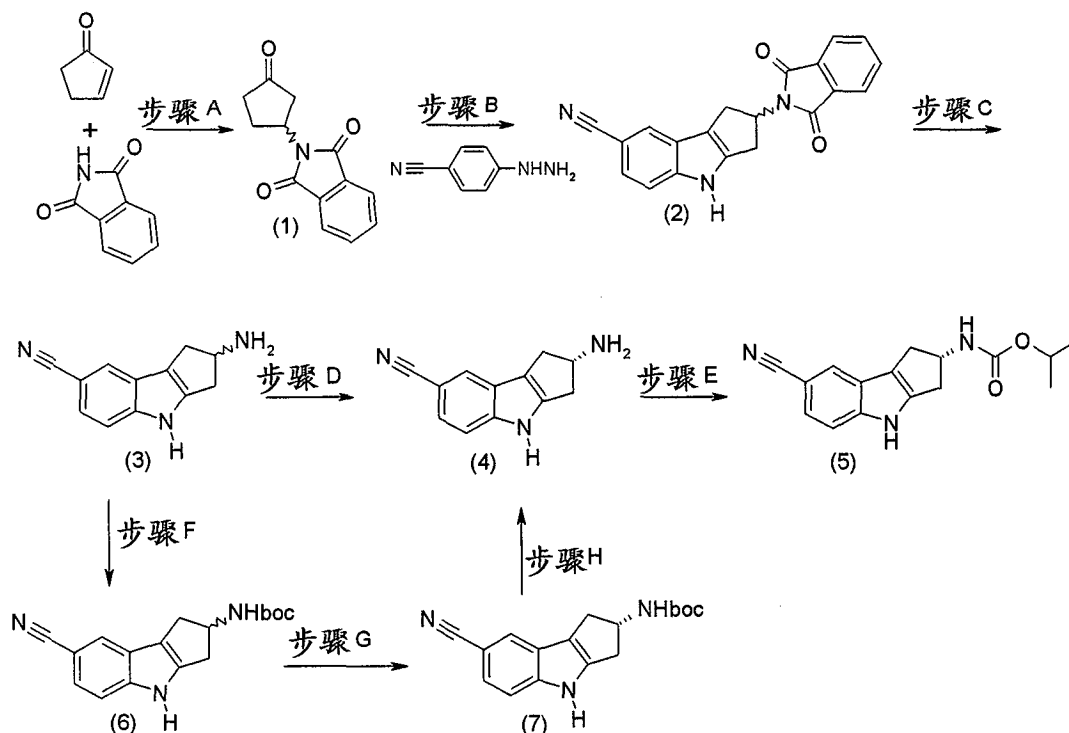
[0044] 式(I)的化合物可以利用本领域已知的各种方法以及下面的反应路线、制备和实施例中所描述的那些方法来制备。然而,下面的讨论不是想要以任何方式来限制本发明的范围。例如,所描述的每个途径的具体合成步骤可以以不同的方式组合,或与不同反应路线的步骤结合,从而制备其它的式(I)的化合物。

[0045] 取代基如先前所定义,除非另有陈述。本领域普通技术人员可以容易地获得试剂

和起始原料,或可以用选自下列的方法来制备:有机和杂环化学的标准技术、类似于已知结构上类似化合物的合成技术和下面实施例所描述的方法,包括任何新方法。本文使用的下列术语具有指明的含义:“MeOH”是指甲醇;“EtOH”是指乙醇;“i-PrOH”是指异丙醇;“EtOAc”是指乙酸乙酯;“DMF”是指二甲基甲酰胺;“DMSO”是指甲基亚砜;“NMP”是指1-甲基-2-吡咯烷酮;“TFA”是指三氟乙酸;“THF”是指四氢呋喃;“DEAD”是指偶氮二羧酸二乙基酯;“DIAD”是指重氮二羧酸二异丙基酯;“NBS”是指N-溴代琥珀酰亚胺;“t-boc”或“boc”是指叔丁氧羰基;“TBDMS”是指叔丁基二甲基甲硅烷基;“P_{tg}”指的是保护基。

[0046] 反应路线 1

[0047]



[0048] 式 (5) 中间体的形成可以按照反应路线 1 描述的反应来进行。

[0049] 在反应路线 1 的步骤 A 中,使环戊烯酮与邻苯二酐亚胺进行迈克尔加成反应,得到 (R,S)-2-(3-氧代-环戊基)-异吲哚-1,3-二酮 (1)。反应在甲醇/2N Na₂CO₃ (体积比例 10/1) 中进行,优选在环境温度下,使用与 O. Nowitzki 等人在 Tetrahedron 1996, 52, 11799-11810 中所描述条件相似的条件。通过加入水将产物分离,获得 (1) 为白色固体。

[0050] 在步骤 B 中,用典型的费希尔吲哚合成,使 (R,S)-2-(3-氧代-环戊基)-异吲哚-1,3-二酮 (1) 与 4-氰基-苯肼反应,得到式 (2) 的四氢环戊二烯并 [b] 吲哚。熟练的技术人员可以认识到,为了实现费希尔吲哚合成,存在各种酸性条件,包括质子和路易斯酸二者。优选条件是:使用冰醋酸与 4NHCl 在二噁烷中的混合物,在大约 50℃ 至溶剂的回流温度下,进行大约 4 至 24 小时。通过加入水将产物分离,而后将得到的固体过滤。将固体在甲醇中进行超声处理,得到足够纯的物质。或者,使用路易斯酸进行该反应,例如氯化锌,大约 2 至 4 当量的数量。步骤 B 的其它优选条件是:在回流温度下使用乙醇,进行大约 4 至 24 小时。将产物分离,并可以通过过滤反应混合物来对其进行纯化,而后对滤液进行硅胶层析。

[0051] 在反应路线 1 的步骤 C 中,使用 M. Alajarín 等人 (Eur. J. Org. Chem. 2002,

4222-4227) 所描述的条件,用肼或水合肼将式 (2) 的四氢环戊二烯并 [b] 吡啶的邻苯二甲酰亚胺基团裂解,提供式 (3) 的氨基四氢环戊二烯并 [b] 吡啶。反应在四氢呋喃 / 乙醇的溶剂混合物 (体积比例大约为 5.5/1) 中、在 0 至 50°C 的温度下进行,优选在大约室温下,进行 4 至 72 小时。过滤除去得到的邻苯二甲酰肼,通过浓缩滤液来分离产物。可以使用本领域已知的技术来进行色谱纯化。

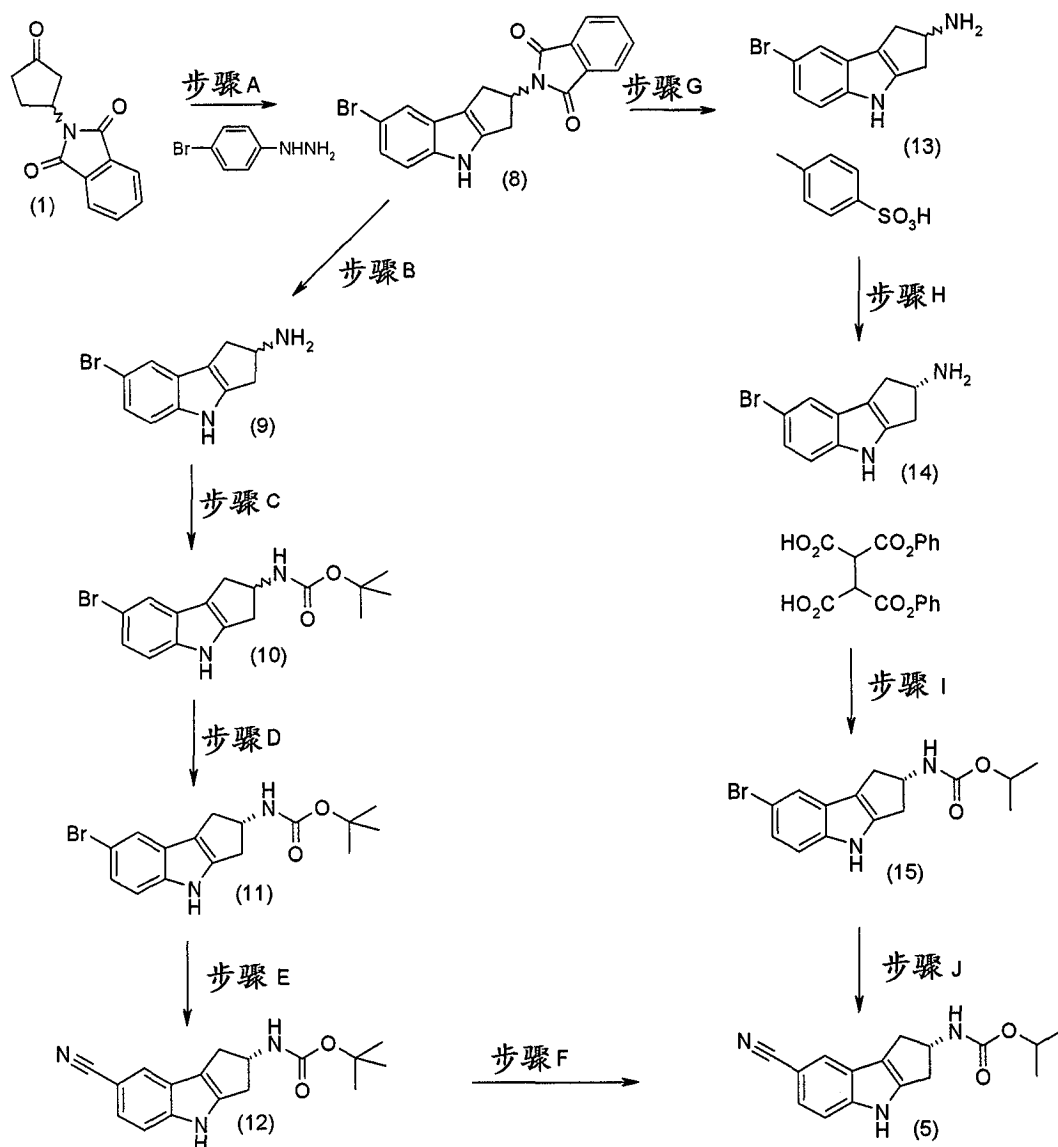
[0052] 在反应路线 1 的步骤 D 中,将式 (3) 的外消旋氨基四氢环戊二烯并 [b] 吡啶拆分为式 (4) 的手性 (S)-氨基四氢环戊二烯并 [b] 吡啶。将胺溶于合适的溶剂中,例如乙醇,并且重结晶为 D- 焦谷氨酸的盐。将盐分离之后,通过溶解在水中,并使用浓氨水将 pH 值调节至 9,获得式 (4) 的游离碱。将得到的固体过滤,提供 (S)-2-氨基-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并 [b] 吡啶-7-腈 (4),比旋光率: $[\alpha]_D^{25} -68.3^\circ$ (MeOH)。

[0053] 在步骤 E 中,使用本领域技术人员熟知的条件,用氯甲酸异丙基酯将式 (4) 的胺酰化,得到式 (5) 的氨基甲酸酯。在惰性溶剂中,例如四氢呋喃,甲苯,二氯乙烷或二氯甲烷, N- 甲基吡咯烷酮,或 N, N- 二甲基甲酰胺,或其混合物,将胺与过量的有机胺碱例如三乙胺或二异丙基乙胺结合。优选的条件是:使用二异丙基乙胺 (在二氯甲烷中),在氯甲酸异丙基酯的存在下,在大约 0 至 40°C 的温度下,进行 1 至 72 小时。通过加入水和二乙醚将产物分离,而后搅拌,并收集得到的固体。如果产物充分溶解在合适的有机溶剂中,可以用萃取技术进行分离。

[0054] 或者,如步骤 F 所示,使用本领域常见的条件,将式 (3) 的外消旋胺保护成为式 (6) 的叔丁氧羰基 (boc) 保护的胺。在步骤 G 中,然后使用手性色谱将外消旋混合物拆分,获得式 (7) 的 (S) 对映体。然后使用典型的酸性条件,用 HCl 或 TFA 除去 boc 基团,获得式 (4) 的手性胺。

[0055] 反应路线 2

[0056]



[0057] 在反应路线 2 中,描述了式 (5) 的中间体的替代合成方法。在反应路线 2 的步骤 A 中,用典型的费希尔吡啶合成方法,使 (R, S)-2-(3-氧代-环戊基)-异吡啶-1,3-二酮 (1) 与 4-溴苯基盐酸肼反应。优选的条件是:使用冰醋酸,在大约 50 至 80℃,进行 2 至 24 小时。

[0058] 在步骤 B 中,用肼或水合肼将式 (8) 的四氢环戊二烯并 [b] 吡啶的邻苯二甲酰亚胺基团裂解,提供式 (9) 的氨基四氢环戊二烯并 [b] 吡啶。优选条件是:使用四氢呋喃/乙醇的混合物(体积比例大约 20/1),温度大约 40 至 70℃,进行 1 至 12 小时。过滤除去得到的邻苯二甲酰肼,通过浓缩滤液来分离产物。

[0059] 在反应路线 2 的步骤 C 中,用 t-boc 基团保护式 (9) 的胺,得到式 (10) 的被保护的胺。优选条件是:使用二碳酸二叔丁基酯,在惰性溶剂例如 THF 或二噁烷中,在无机碱例如 NaHCO_3 的存在下。在步骤 D 中,使用手性 HPLC 将式 (10) 的外消旋 t-boc 物质拆分,获得式 (11) 的 (S) 对映体。

[0060] 在步骤 E 中,将式 (11) 的 (S) 溴氨基甲酸酯转变为式 (5) 的腈。反应是在惰性溶剂例如 N,N'-二甲基乙酰胺中、在乙酸锌或甲酸锌、氰化锌和锌粉的混合物的存在下进行的。使用钯催化剂,例如 1,1'-二(二苯基膦基)二茂铁)氯化钯 (II)。在大约 80 至

120℃加热反应大约 2 至 24 小时。

[0061] 在步骤 F 中,使用典型的酸性条件例如 HCl/二噁烷或 TFA 除去 boc 基团,获得式 (4) 的手性胺(参见反应路线 1),然后用氯甲酸异丙基酯将其酰化,如反应路线 1 步骤 E 所述,得到式 (5) 的氨基甲酸酯。

[0062] 或者,在反应路线 2 的步骤 G 中,用肼或水合肼将式 (8) 的四氢环戊二烯并 [b] 吡啶的邻苯二酰亚胺基团裂解,提供式 (9) 的氨基四氢环戊二烯并 [b] 吡啶(如先前步骤 B 中所描述)。随后,在乙醇中,将得到的游离胺转变为对甲苯磺酸盐。

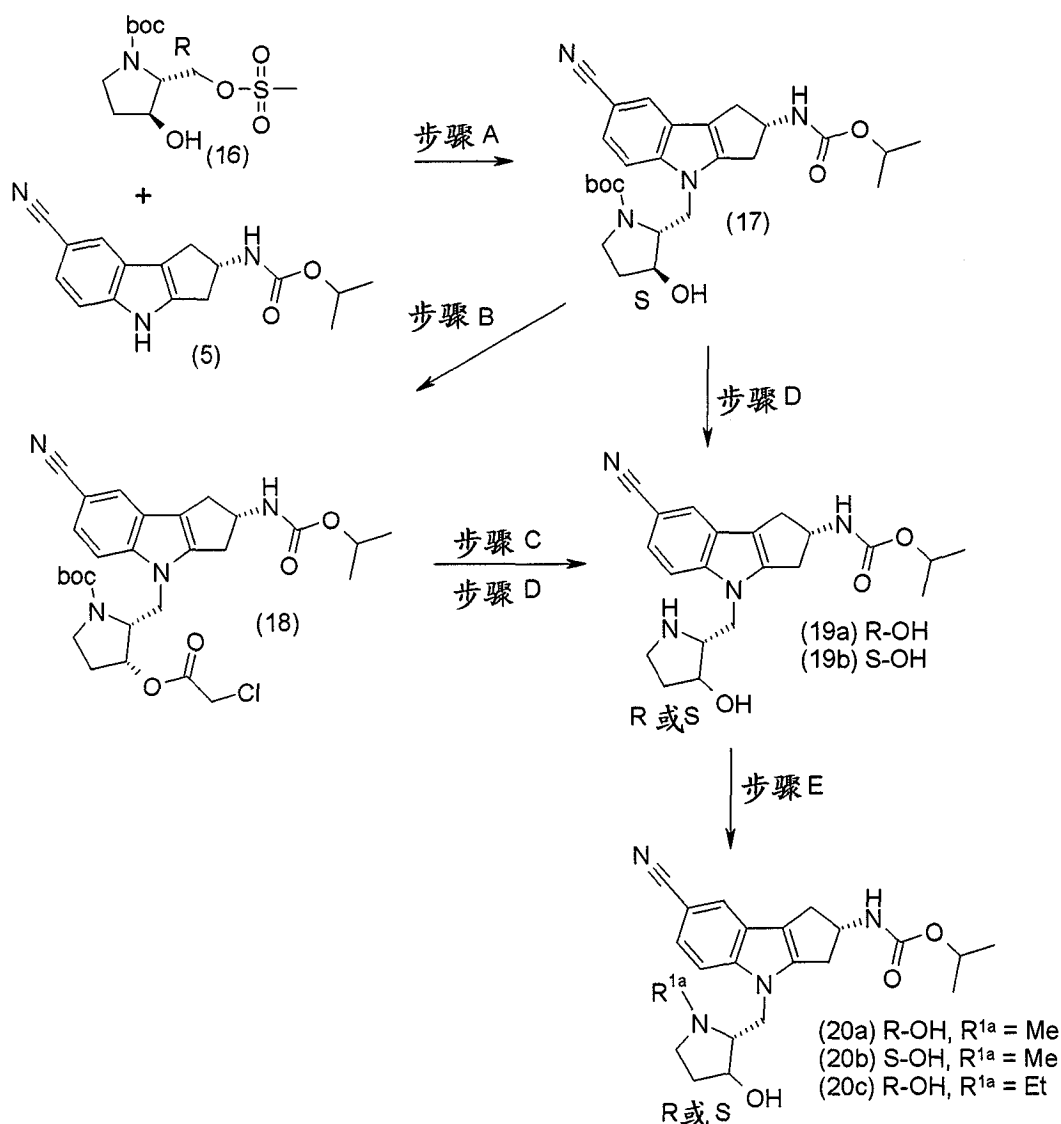
[0063] 在步骤 H 中,使式 (13) 的外消旋氨基四氢环戊二烯并 [b] 吡啶甲苯磺酸盐游离,使用二苄基-D-酒石酸将得到的游离胺拆分,获得式 (14) 的 (S)-氨基四氢环戊二烯并 [b] 吡啶的酒石酸盐。盐的形成优选在乙醇和水的溶剂混合物中进行,回流大约 1 至 6 小时,而后冷却,获得目标对映体。

[0064] 在步骤 I 中,将式 (14) 的盐中和为游离碱,而后酰化,获得式 (15) 的氨基甲酸酯。用无机碱例如氢氧化钠溶液将盐中和。通过萃取法获得游离碱,而后在有机胺例如二异丙基乙基胺的存在下、在惰性溶剂或四氢呋喃和甲基叔丁基醚的溶剂混合物中,用氯甲酸异丙基酯酰化。

[0065] 在反应路线 2 的步骤 J 中,将式 (15) 的溴氨基甲酸酯转变为式 (5) 的脒,如先前的步骤 E 所描述。

[0066] 反应路线 3

[0067]



[0068] 式 (20a、b 或 c) 的本发明化合物的形成, 可以按照反应路线 3 描述的反应来进行。

[0069] 在反应路线 3 的步骤 A 中, 用式 (16) 的甲磺酸烷基酯将式 (5) 的氰基四氢环戊二烯并 [b] 吡啶烷基化, 提供式 (17) 的烷基化的四氢环戊二烯并 [b] 吡啶。反应在惰性溶剂例如 DMF 中、在无机碱例如碳酸铯 (加入碘化钾) 的存在下进行。反应在大约 50 至 100°C 的温度下进行大约 8 至 72 小时。

[0070] 在反应路线 3 步骤 B 中, 将式 (17) 的吡咯烷的羟基的手性从 (3S) 转变为 (3R)。使用 Mitsunobu 反应实现该手性转化, 得到式 (18) 的氯乙酰氧基吡咯烷。熟练的技术人员可以了解, 本领域使用各种 Mitsunobu 条件。例如, 将式 (17) 的醇溶于合适无水溶剂中, 例如 THF、CH₂Cl₂ 或甲苯, 并用三烷基 - 或三芳基膦例如 Me₃P、Bu₃P 或 Ph₃P 和偶氮基 - 二羧酸二烷基酯例如 DEAD 或 DIAD 处理。

[0071] 在步骤 C 中, 将式 (18) 的 3R- 氯乙酰氧基吡咯烷水解为式 (19a) 的 3R- 羟基吡咯烷。水解反应是如下实现的: 使用无机碱, 例如氢氧化锂, 在溶剂例如甲醇中, 在 0 至 50°C, 进行 4 至 24 小时。在步骤 D 中, 使用酸性条件例如 TFA 或优选 4N HCl/ 二噁烷, 除去 boc 保护基, 提供式 (19b) 的 3S- 羟基吡咯烷。

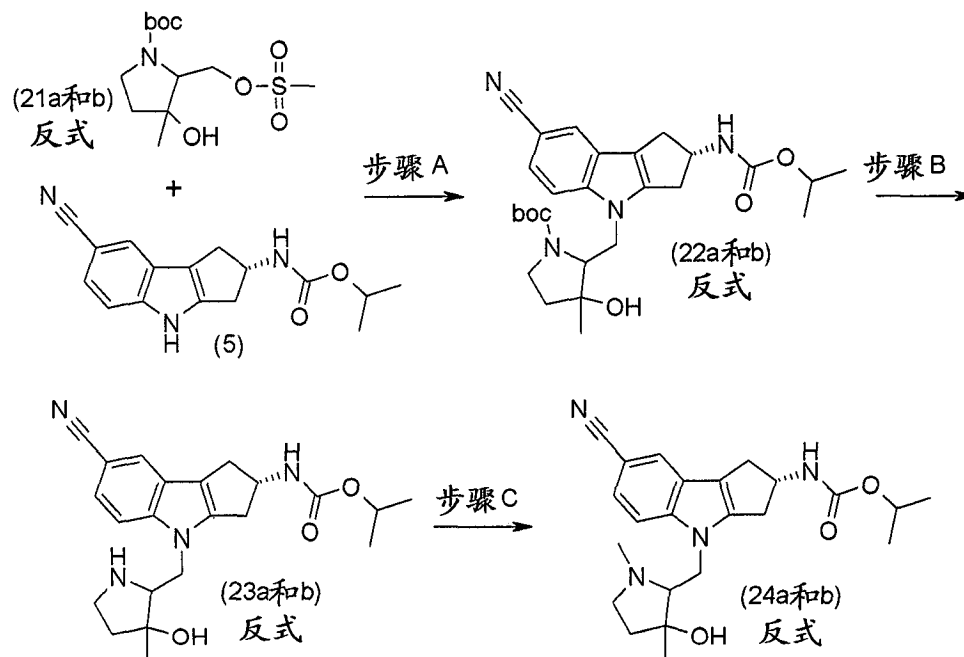
[0072] 在反应路线 3 的步骤 E 中, 使用还原胺化条件, 将式 (19a 或 b) 的羟基吡咯烷进行

烷基化,得到式 (20a、b 或 c) 的 N- 烷基吡咯烷。反应在惰性溶剂中进行,例如 THF、二氯甲烷,或优选氯仿,使用还原剂,例如三乙酰氧基硼氢化钠,在大约 0 至 50℃,进行 8 至 24 小时。所使用的醛可以是甲醛或乙醛,提供式 (20a、b 或 c) 的化合物。

[0073] (2R,3S)-3- 羟基 -2- 甲磺酰氧基甲基 - 吡咯烷 -1- 羧酸叔丁基酯 (16) 可以容易地利用与本文所描述方法相似的方法、或使用本领域确定的方法来制备。例如,可以用 boc 保护 3- 羟基 -L- 脯氨酸,得到 (2S,3S)-1-(叔丁氧羰基)-3- 羟基吡咯烷 -2- 羧酸。将该羧酸还原成醇,并随后转变为式 (16) 的甲磺酸酯。

[0074] 反应路线 4

[0075]



[0076] 式 (24a 和 b) 的本发明化合物的形成,可以按照反应路线 4 描述的反应来进行。

[0077] 在反应路线 4 的步骤 A 中,用式 (21a 和 b) 的甲磺酸烷基酯将式 (5) 的氰基四氢环戊二烯并 [b] 吡咯烷基化,提供式 (22a 和 b) 的烷基化的四氢环戊二烯并 [b] 吡咯。式 (21a 和 b) 的甲磺酸烷基酯以两个反式对映体的混合物形式使用。按照与上面反应路线 3 步骤 A 所描述条件相似的条件,进行烷基化。

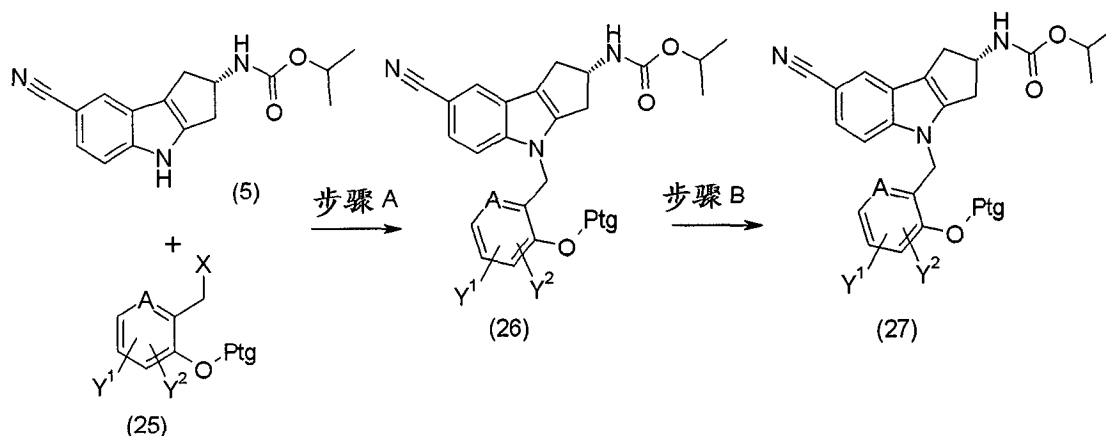
[0078] 在步骤 B 中,使用酸性条件例如 TFA 或优选 4N HCl/ 二噁烷,除去 boc 保护基。

[0079] 在反应路线 4 的步骤 C 中,使用先前反应路线 3 步骤 E 所描述的还原胺化条件,将式 (23a 和 b) 的羟基脯氨酸烷基化,提供式 (24a 和 b) 的反式对映体的混合物。可以使用手性色谱分离对映体。

[0080] 反式 -3- 羟基 -2- 甲磺酰氧基甲基 -3- 甲基 - 吡咯烷 -1- 羧酸叔丁基酯 (21a 和 b) 可以容易地利用与本文所描述的那些方法相似的方法、或使用本领域确定的方法来制备。例如,可以用合适的 2,3- 氮丙啶 -1- 醇的一锅转化法,获得反式 -2- 苄氧基甲基 -3- 甲基 - 吡咯烷 -3- 醇 (J. Schomaker and S. Bhattacharjee, J. Am. Chem. Soc., 2007, 129, 1996-2003)。然后用 t-boc 保护吡咯烷醇的氮,并通过氢化除去苄基。将得到的醇甲磺酸化,得到式 (21a 和 b) 的反式对映体。

[0081] 反应路线 5

[0082]

如果 $A = C$ 则 $Y^1 = F, Y^2 = H$ 或 F 如果 $A = N$, 则 $Y^1 = Y^2 = H$ $X = Cl$ 或 Br , $Ptg = Me$ 或 $TBDMS$

[0083] 式 (27) 的本发明化合物的形成, 可以按照反应路线 5 描述的反应来进行。

[0084] 在反应路线 5 的步骤 A 中, 用式 (25) 的苄基或吡啶基甲基卤将式 (5) 的氰基四氢环戊二烯并 [b] 吡啶烷基化, 提供式 (26) 的烷基化的四氢环戊二烯并 [b] 吡啶。苯基或吡啶基环被羟基官能团取代, 将其用本领域已知的保护基 (Ptg) 进行保护, 例如保护为甲基醚或甲硅烷基醚的形式。按照与上面反应路线 3 步骤 A 所描述条件相似的条件, 进行烷基化。

[0085] 在步骤 B 中, 除去保护基, 得到式 (27) 的苯酚或羟基吡啶。例如, 在惰性溶剂例如二氯甲烷中, 在大约 -20 至 $25^\circ C$ 的温度下, 通过与三溴化硼的反应, 该甲基醚转变为游离羟基。或者, 使用试剂例如氟化铯或优选四丁基氟化铵, 可以用氟阴离子除去甲硅烷基保护基。

[0086] 式 (25) 的苄基卤可以容易地利用与本文所描述方法相似的方法、或使用本领域确定的方法来制备。例如, 可以用碘甲烷将氟或二氟 2-羟基苯甲醛烷基化, 提供 2-甲氧基苯甲醛。可以将苯甲醛还原成相应的苯甲醇, 而后转变为式 (25) 的 (氯甲基)-2-甲氧基苯, 其中 $X = Cl$, 和 $Ptg = Me$ 。或者, 可以用叔丁基二甲基氯硅烷将氟或二氟 2-甲酚进行甲硅烷基化, 而后与 N-溴代琥珀酰亚胺反应, 获得式 (25) 的苄基溴, 其中 $X = Br, Ptg = TBDMS$ 。可以通过用 $POCl_3$ 进行氯化, 由 3-甲氧基-2-甲基吡啶获得 2-(氯甲基)-3-甲氧基吡啶。

[0087] 生物活性的测定:

[0088] 正如体外和体内试验所证明的那样, 举例说明的式 (I) 化合物具有活性特性, 这些活性特性表明该化合物在对甾体雄激素治疗敏感的病症的治疗方面具有应用性。尤其是, 举例说明的式 (I) 的实施例 1-10 和 12 的化合物是激动雄激素受体的有效的 AR 配体。另外, 相对于 MR、GR 和 PR 中的每一个, 举例说明的式 (I) 的实施例 1-10 和 12 的化合物选择性地与 AR 结合

[0089] 本文使用的“ K_d ”是指配体-受体复合物的平衡离解常数; “ K_i ”是指药物-受体复合物的平衡离解常数, 并且是在平衡状态时与一半结合位点结合的药物浓度的标志; “ K_b ”是指拮抗剂-受体复合物的平衡离解常数; “ IC_{50} ”是指该药剂产生可以达到的最大抑制响应的 50% 时的浓度, 或者是指引起与受体结合的配体产生 50% 置换时的药剂浓度; “ EC_{50} ”

是指该药剂产生可以达到的最大响应的 50% 时的浓度；“ED50”是指给予治疗剂的剂量，该剂量产生该药剂可以达到的最大响应的 50%。

[0090] 甾体激素核受体结合试验：

[0091] 将人胚肾 HEK293 细胞（过表达人 MR（盐皮质激素受体）、GR（糖皮质激素受体）、AR（雄激素受体）或 PR（孕酮受体））的细胞溶解物用于受体-配体竞争结合试验，以便测定 K_i 值。下面提供典型的方法。

[0092] 简要地说，甾体受体竞争结合试验在缓冲液中进行，该缓冲液含有 20mM HEPES 缓冲液（pH = 7.6）、0.2mM EDTA、75mM NaCl、1.5mM $MgCl_2$ 、20% 甘油、20mM 钼酸钠、0.2mM DTT（二硫苏糖醇）、20 μ g/mL 抑肽酶和 20 μ g/mL 亮肽素（试验缓冲液）。典型地，甾体受体结合试验每个孔中包括放射性标记的配体（例如用于 MR 结合的 0.25nM [3 H]-醛甾酮、用于 GR 结合的 0.3nM [3 H]-地塞米松、用于 AR 结合的 0.36nM [3 H]-甲雌三烯醇酮和用于 PR 结合的 0.29nM [3 H]-甲雌三烯醇酮）和 20 μ g 293-MR 溶解物、20 μ g 293-GR 溶解物、22 μ g 293-AR 溶解物或 40 μ g 293-PR 溶解物。试验典型地在 96 孔结构中进行。加入竞争试验化合物，不同浓度的范围在大约 0.01nM 至 10 μ M。在用于 MR 结合的 500nM 醛甾酮、用于 GR 结合的 500nM 地塞米松或用于 AR 和 PR 结合的 500nM 甲雌三烯醇酮的存在下，测定非特异性的结合。在 4℃ 将结合反应物（140 μ L）培养过夜，然后将 70 μ L 冷却的炭-葡聚糖缓冲液（每 50mL 试验缓冲液含有 0.75g 炭和 0.25g 葡聚糖）加入到每个反应中。在 4℃，将平皿在定轨振荡器上混合 8 分钟。然后在 4℃、在 3,000rpm 下将平皿离心 10 分钟。然后将 120 μ L 结合反应混合物的等分样品转入另一个 96 孔平皿中，并将 175 μ L Wallac Optiphase Hisafe 3™ 闪烁液体加入到每个孔中。将平皿密封，并在定轨振荡器上用力摇动。培养 2 小时之后，用 Wallac Microbeta 计数器将平皿读数。

[0093] 数据用于计算估计的 IC50 值和 10 μ M 时的抑制百分数。通过饱和结合来测定 [3 H]-醛甾酮（用于 MR 结合）、[3 H]-地塞米松（用于 GR 结合）、[3 H]-甲雌三烯醇酮（用于 AR 结合）或 [3 H]-甲雌三烯醇酮（用于 PR 结合）的 K_d 。使用 Cheng-Prusoff 方程式，将化合物的 IC50 值转变为 K_i 。

[0094] 按照基本上如上述的方案，在 AR 结合试验中，实施例 1-10 和 12 的化合物显示了 ≤ 500 nM 的 K_i 。具体地说，在 AR 结合试验中，实施例 1、2、6 和 9 的化合物分别显示了大约 51nM、11nM、13nM 和 0.8nM 的 K_i ，因此表明在本发明范围内的化合物是人 AR 的有效配体。

[0095] 甾体核激素受体调节的功能化试验：

[0096] 雄激素通过与雄激素受体相互作用来进行其生理效应。在雄激素与 AR 进行胞质结合之后，配体受体复合物转移至细胞核，在细胞核中，它与 DNA 上的激素反应元件结合，引发靶基因的表达。雄激素的效果在性质上可以称为组成代谢或雄激素性效果。雄激素的组成代谢（即组织构造）效果包括肌肉质量和强度和骨质提高，而雄激素性（即雄性化）效果包括形成男性副性征，例如内生殖组织（即前列腺和精囊），外生殖器（阴茎和阴囊），性欲和毛发生长模式。

[0097] 为了表明本发明化合物调节甾体激素受体的能力（即，激动、部分激动、部分拮抗或拮抗），进行生物测试，检测靶基因表达在用核受体蛋白短暂转染的细胞中的功能化调节，和激素反应元件-指示（reporter）基因构成。用于功能化试验的溶剂、试剂和配体可以容易地得自于商业渠道，或可以由本领域普通技术人员制备。下面提供了核激素受体功

能化试验的典型方法。

[0098] A. 核激素受体板筛选

[0099] 使用合适的转染试剂例如 Fugene™, 用甾体激素受体和指示 (reporter) 基因质粒将人胚肾 HEK293 细胞转染。简要地说, 使用病毒 CMV (巨细胞病毒) 启动子, 用结构性表达人雄激素受体 (AR) 的质粒, 将含有 probasin ARE 和 TK (胸苷激酶) 启动子 (荧光素酶指示 (reporter) cDNA 的上游) 的两个复制品的指示质粒转染到 HEK293 细胞中。使用病毒 CMV 启动子, 用结构性表达人糖皮质激素受体 (GR)、人盐皮质激素受体 (MR) 或人孕酮受体 (PR) 的质粒, 将含有 GRE 和 TK 启动子 (荧光素酶指示 (reporter) cDNA 的上游) 的两个复制品的指示质粒转染。在 T150cm 烧瓶中, 在含有 5% 炭 - 清除过的胎儿牛血清 (FBS) 的 DMEM 介质中, 将细胞转染。培养过夜之后, 将转染的细胞胰蛋白酶化, 涂覆在 96 孔盘中 (在含有 5% 炭清除过的 FBS 的 DMEM 介质中), 培养 4 小时, 而后接触各个浓度的试验化合物, 范围从大约 0.01nM 至 10 μM。在该试验的拮抗模式中, 将针对每个相应受体的低浓度激动剂加入到介质 (用于 MR 的 0.08nM 醛甾酮, 用于 GR 的 0.25nM 地塞米松, 用于 AR 的 0.66nM 甲雌三烯醇酮和用于 PR 的 0.08nM 普美孕酮) 中。用试验化合物培养 24 小时之后, 将细胞溶解, 并使用标准技术测定荧光素酶活性。

[0100] 将数据与四参数 - 拟合逻辑曲线进行拟合, 测定 EC50 值。相对于用下面参考激动剂获得的最大刺激, 测定百分比效果 (化合物具有饱和最大反应) 或百分比最大刺激 (化合物具有不饱和的最大反应): 用于 MR 试验的 30nM 醛甾酮, 用于 AR 试验的 100nM 甲雌三烯醇酮, 用于 PR 试验的 30nM 普美孕酮和用于 GR 试验的 100nM 地塞米松。使用拮抗模式试验数据, 相似地测定 IC50 值。在拮抗模式中, 通过将在低浓度激动剂 (用于 MR 的 0.08nM 醛甾酮, 用于 GR 的 0.25nM 地塞米松, 用于 AR 的 0.66nM 甲雌三烯醇酮和用于 PR 的 0.08nM 普美孕酮) 存在下的试验化合物活性与在没有试验化合物情况下由相同低浓度激动剂所引起的反应进行比较, 测定百分比抑制。

[0101] B. C2C12 AR/ARE 指示试验:

[0102] 作为肌肉组织中的激动剂活性的指标, 进行 C2C12 AR/ARE 指示试验。简要地说, 使用 Fugene™ 试剂, 将小鼠成肌细胞 C2C12 细胞共同转染。使用病毒 CMV 启动子, 用结构性表达人雄激素受体 (AR) 的质粒, 将含有 GRE/ARE (糖皮质激素反应元件 / 雄激素反应元件) 和 TK 启动子 (荧光素酶指示 cDNA 的上游) 的指示质粒转染。在 T150cm² 烧瓶中, 在含有 4% 炭 - 清除过的胎儿牛血清 (FBS) 的 DMEM 介质中, 将细胞转染。培养 5 小时之后, 将转染的细胞胰蛋白酶化, 涂覆在 96 孔盘中 (在含有 4% 炭清除过的 FBS 的 DMEM 介质中), 培养 2 小时, 而后接触各个浓度的试验化合物, 浓度范围从大约 0.01nM 至 10 μM。用试验化合物培养 48 小时之后, 将细胞溶解, 并通过标准技术测定荧光素酶活性。将数据与四参数 - 拟合逻辑曲线进行拟合, 测定 EC50 值。相对于用 10nM 甲雌三烯醇酮获得的最大刺激, 测定 % 效果。

[0103] 普通熟练的技术人员可以容易地设计与上述那些相似的甾体激素核激素受体调节的功能化试验。基本上按照上述方案, 在 C2C12 AR/ARE 指示试验中, 实施例 1-10 和 12 的化合物显示了 ≤ 2000nM 的 EC50 值。具体地说, 在 C2C12 AR/ARE 指示试验中, 实施例 1、2、6 和 9 的化合物分别显示了大约 20、1.0、0.3 和 0.3 的 EC50 值, 因此表明在本发明范围内的化合物是人 AR 的激动剂。

[0104] 效果和选择性的模型：

[0105] 按照批准的方法，将雄性 Sprague Dawley 大鼠（24 周大）阉割（性腺切除或“GDX”），并使其损耗（waste）八周。还准备好年龄相当的假（sham）手术的小鼠。将动物放在温度控制的房间（24℃）中，采用翻转的 12 小时照明 / 黑暗循环，并且水和食品可以不限

量。
[0106] 基于体重将动物随机化，而后归于试验槽中。每天通过口服填喂法将本发明的化合物给予被阉割的 32 周大的大鼠（体重大约 450–500g），使用常规赋形剂，例如 1% 羧甲基纤维素钠（CMC）+0.25% Tween 80+0.05% **AntiFoam®**（在无菌水中）。将单独用赋形剂治疗的假手术的大鼠用作治疗阳性对照，而只用赋形剂治疗的阉割的大鼠用作治疗阴性对照。

[0107] 使试验用动物每天服用例如 0.3、1、2、3 或 6mg/kg/ 天的本发明的化合物，服用两或八周时间。治疗期间之后，杀死动物，可以测定每个试验组的肛提肌（LA）肌肉和球海绵体肌的湿重，并且与阉割的只用赋形剂的对照组的肛提肌和球海绵体肌的湿重进行比较（称重之后，可以将球海绵体肌在液氮中快速冷冻，用于后面的测定氧化氮合酶 mRNA 中，如下所述）。作为组织选择性活性的指标，可以将试验动物前列腺的湿重与阉割的只用赋形剂组的前列腺的湿重进行类似的比较。

[0108] 基本上按照上述方案，使用八周治疗时间，用实施例 2 的化合物进行研究，产生下面的结果：假手术动物（只有赋形剂）显示了大约 0.255g 的平均 LA 湿重，大约 824.5mg 的平均前列腺湿重，和大约 0.93g 的平均球海绵体肌湿重；阉割 / 只有赋形剂的动物显示了大约 0.094g 的平均 LA 湿重，大约 103.8mg 的平均前列腺湿重，和大约 0.362g 的平均球海绵体肌湿重；0.3mg/kg 研究组显示了大约 0.137g 的平均 LA 湿重，大约 72.4mg 的平均前列腺湿重，和大约 0.476g 的平均球海绵体肌湿重；1.0mg/kg 研究组显示了大约 0.182g 的平均 LA 湿重，大约 102.8mg 的平均前列腺湿重，和大约 0.582g 的平均球海绵体肌湿重；3.0mg/kg 研究组显示了大约 0.205g 的平均 LA 湿重，大约 147.4mg 的平均前列腺湿重，和大约 0.698g 的平均球海绵体肌湿重；以及 6.0mg/kg 研究组显示了大约 0.264g 的平均 LA 湿重，大约 271.8mg 的平均前列腺湿重，和大约 0.955g 的平均球海绵体肌湿重。

[0109] 因此，与被阉割对照组相比，用实施例 2 化合物治疗使肛提肌和球海绵体肌重量产生了剂量依赖性增加。

[0110] 勃起活性的体外试验

[0111] 氧化氮合酶 / 环鸟苷酸单磷酸（NOS/cGMP）途径是勃起活性的关键。NOS 表达导致一氧化氮（NO）产生，其接着可以通过鸟苷酸环化酶的活化来促进 cGMP 产生。cGMP 促进蛋白激酶 G（PKG）活性，其介导身体平滑肌的松弛作用，从而促进阴茎的勃起。有证据证明，在实验动物模型的身体海绵体中，雄激素具有调节 NOS 异构型（isoforms）的表达和活性的作用。Traish 等人，European Urology, 52 ;54–70 (2007)。因此，可以认为，能够提高 NOS 异构型（isoforms）的表达的雄激素受体调节剂具有调节阴茎勃起行为的作用。

[0112] 为了测定本发明化合物向上调节 NOS 异构型（isoforms）的表达的能力，可以使用下面的体外方法。

[0113] 从冷冻的球状和海绵体组织（从基本上如上述准备好的和服药的阉割 Sprague Dawley 大鼠的尸体解剖过程中获得）中分离 RNA，用于效果和选择性的模型。使用高容量

cDNA 试剂盒,按照制造商的说明书,用 2 μ g RNA 合成 cDNA。

[0114] 然后按照荧光 **TaqMan®**方法 (Applied Biosystems),对 PCR 进行实时定量。Assays-on-Demand™ (Applied Biosystems) 探针用于大鼠上皮细胞的氧化氮合酶转录产物 (eNOS),同时使用探针设计软件 (Applied Biosystems),将探针设计成大鼠阴茎的神经元氧化氮合酶 (pnNOS) 的特定异构型 (isoform)。设计探针,以便覆盖大鼠神经元的氧化氮合酶基因 (pnNOS) 的 102bp 区域,其对 pnNOS 具有特异性 (位置 2865-2967)。MGB™ (引物序列是 5' CCGGAACCCTTGCGTTT 3' (SEQ ID NO:1) (正向) 和 5' CAGACTGTGGGCTTCAGAGTCA 3' (SEQ ID NO:2) (反向),探针序列是 5' CCCGTAAAGGGCCT 3' (SEQ ID NO:3) (FAM NFQ)。用于 PPIB 转录产物的 Assays-on-Demand™ 探针组用作内部对照组。在下面的热循环条件下,在 ABI Prism 7700 Sequence Detection System 上进行 PCR:在 50°C 2 分钟,在 95°C 10 分钟,和 40 个循环,在 95°C 30 秒,在 60°C 1 分钟。所有的反应进行一式三份。

[0115] 基本上使用本文所描述的方法,在从阉割的 Sprague Dawley 大鼠 (治疗八周时间) 获得的球海绵体肌组织中,实施例 2 的化合物显示了在阴茎氧化氮合酶 (pnNOS) mRNA 方面的剂量依赖性增加。具体地说,0.3mg/kg 研究组显示了对照组的大约 97% 的 pnNOS 表达;1.0mg/kg 研究组显示了对照组的大约 93% 的 pnNOS 表达;3.0mg/kg 研究组显示了对照组的大约 153% 的 pnNOS 表达;和 6.0mg/kg 研究组显示了对照组的大约 248% 的 pnNOS 表达。

[0116] 另外,在单独的组中,在从阉割的 Sprague Dawley 大鼠 (治疗两星期,2mg/kg/天) 获得的海绵体组织中,实施例 2 的化合物显示了上皮细胞氧化氮合酶 (eNOS) mRNA 的增加。具体地说,在该研究组中,eNOS 表达是对照组的大约 159%。

[0117] 作为固定术或废用 (例如骨折或臀部或膝盖复位) 之后的结果,可以出现肌肉质量或强度的降低。为了测定本发明化合物治疗或预防由固定术、废用或创伤引起的肌肉质量或强度损失的能力,可以使用下面的动物模型。

[0118] 固定术引起的肌肉损失的模型

[0119] 通过在该肢上放置管状物 (casts),以足屈的形式固定雄性 12 周 ICR 小鼠的后肢。固定术七天之后,在各个时间周期,每天给予本发明的化合物,对小鼠进行治疗。在各个时间周期,用赋形剂类似地治疗对照动物 (有和没有管状物 (casts))。在治疗方案的最后,杀死小鼠,测定放置管状物的小腿三头肌的湿重,并将各别治疗组与赋形剂对照组进行比较。通常参见 Am. J. Endocrinol. Metab. 289:969-980 (2005)。

[0120] 肌肉损伤和创伤的模型

[0121] 将雄性鼠 ICR 在 8 周大时阉割,并使其另外损耗 (waste) 8 周。将小鼠单独地放在笼中,在 22°C 保持 12 小时照明 / 黑暗循环,可以没有限制地接触食品和水。用异氟烷 (1-5%) 使小鼠麻醉,给右侧小腿三头肌两侧注射 100 μ L 的 10 μ M 心脏毒素 (naja naja atra; Sigma Aldrich),以便引起肌肉损伤。使动物从麻醉中恢复知觉,并在 5 分钟之内恢复正常活动。在注射后的第 5 天,用各个剂量的本发明的化合物治疗动物。注射 14 天之后,使治疗的小鼠安乐死,称重,从未注射 (对侧对照组) 和注射心脏毒素的腿上采集小腿三头肌肌肉组织。将肌肉重量与未注射和未经治疗的对照组进行对比,以便确定创伤恢复的百分数。

[0122] 为了表明本发明的化合物具有治疗与骨损失有关的病症,例如骨质疏松症或骨

质减少,可以使用本领域熟知的其它动物模型。这种模型的例子提供于下列中:Y. L. Ma 等人, Japanese Journal of Bone and Mineral Metabolism 23(Suppl.):62-68(2005); Y. L. Ma 等人, Endocrinology 144:2008-2015(2003); 和 K. Hanada 等人, Biol. Pharm. Bull. 26(11):1563-1569(2003)。具体提及的是卵巢切除引起的雌激素缺乏性骨质减少的雌性大鼠模型,和睾丸摘除引起的雄激素缺乏性骨质减少的雄性大鼠模型。

[0123] 卵巢切除引起的雌激素缺乏性骨质减少的模型:

[0124] 将重约 220g 的六个月大的原生的 Sprague Dawley 雌性大鼠放置舍内,并不限量地接触食品和水。对动物进行双侧卵巢切除 (Ovx) (假手术的对照组除外),而后随机分到治疗组中,每个组 7-8 只大鼠。每个试验典型地包括至少 2 组对照组,包括用赋形剂治疗的假卵巢切除 (Sham) 和切除卵巢的对照组 (Ovx)。使 Ovx 大鼠损失骨 1 个月,以便确定骨质减少,而后用试验化合物治疗。通过填喂法口服给予 Ovx 动物试验化合物,给予 8 周。作为阳性对照,可以将重组体人 PTH(1-38) (大约 $10 \mu\text{g/kg/d}$, 皮下) 给予 Ovx 动物的亚组。试验方案完毕后,定量计算机层析成像 (QCT) 用于分析腰椎 L-5 和股骨的体积骨矿物密度 (BMD, mg/cc)。使用材料力学试验机械,使用 TestWorks 4® 软件进行分析,对大腿骨中间层的三点弯曲和近端股骨的极限载荷进行生物力学分析。

[0125] 睾丸摘除引起的雄激素缺乏性骨质减少的模型:

[0126] 将重约 485g 的六个月大的 Sprague Dawley 雄性大鼠放置舍内,并不限量地接触食品和水。对动物进行双侧睾丸摘除 (Orx) (假手术的对照组除外),而后随机分到治疗组中,每个组 7-8 只大鼠。每个试验典型地包括至少 2 组对照组,包括用赋形剂治疗的假睾丸摘除组 (Sham) 和睾丸摘除的对照组 (Orx)。使 Orx 大鼠损失骨 2 个月,以便确定骨质减少,而后用试验化合物开始治疗。通过填喂法口服给予 Orx 动物试验化合物,给予 8 周。作为阳性对照,可以将重组体人 PTH(1-38) (大约 $10 \mu\text{g/kg/d}$, 皮下) 给予 Orx 动物的亚组。试验方案完毕后,可以按照上述方法对切除卵巢的雌性大鼠模型进行椎骨和股骨的 BMD 以及股骨的生物力学分析。

[0127] (通常参见 Ma 等人, JBMR 17:2256-2264(2002), 和 Turner 等人, Bone [Review] 14:595-608(1993))。

[0128] 本领域普通技术人员可以理解,上述动物模型方案可以容易地与本发明的化合物和方法结合使用。

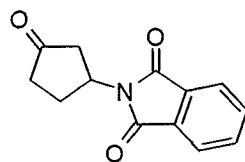
[0129] 下面的制备例和实施例进一步说明了本发明,并且代表了式 (I) 化合物的典型合成方法,包括上面一般描述的任何新的化合物。试剂和起始原料可以容易地得到,或可以容易地由本领域普通技术人员合成。应该理解,列出制备例和实施例是为了举例说明,不具有限制性,本领域普通技术人员可以进行各种改进。

[0130] 可以用标准技术例如 X 射线分析和与手性 HPLC 保留时间的相关性,确定本发明化合物的 R 或 S 构型。本发明化合物的名称一般由 Autonom 2000 for ISIS Draw add-in 提供。

[0131] 制备例 1

[0132] (R, S)-2-(3-氧代-环戊基)-异吲哚-1,3-二酮

[0133]

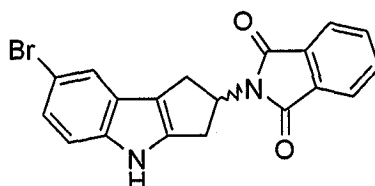


[0134] 在用机械搅拌器大力搅拌下,将 2M Na_2CO_3 水溶液 (79mL, 0.158mol) 加入到环戊烯酮 (100g, 1.22mol) 和邻苯二酰亚胺 (180g, 1.22mol) 的 MeOH (886mL) 浆液中。大约 2 小时之后,形成粘稠白色沉淀。在室温下将混合物搅拌 24 小时。通过真空抽滤来收集白色固体,并用甲醇 (1L) 冲洗。将固体悬浮在水 (1L) 中,并搅拌 3 小时。收集固体,并在在真空烘箱中、在 40℃ 干燥过夜,得到 198g (71%) 标题化合物白色固体。 ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 7.85–7.77 (m, 4H), 4.90 (m, 1H), 2.67 (ddd, 1H, $J = 18.5, 6.2, 1.3\text{Hz}$), 2.54 (dd, 1H, $J = 18.5, 9.2\text{Hz}$), 2.45 (m, 1H), 2.32–2.21 (m, 3H); ES/MS m/z 230 ($M+1$, 弱)。注意:用碱水溶液处理时,产物容易进行逆迈克尔加成反应。

[0135] 制备例 2

[0136] (R, S)-2-(7-溴-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并 [b] 吲哚-2-基)-异吲哚-1,3-二酮

[0137]

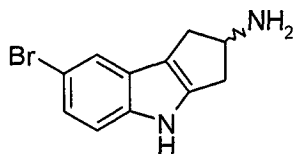


[0138] 在 5L 烧瓶中,将 (R, S)-2-(3-氧代-环戊基)-异吲哚-1,3-二酮 (295.3g, 1.29mol)、4-溴苯肼-HCl (287.9g, 1.29mol) 和冰醋酸 (3L) 混合,同时进行机械搅拌。将反应回流 5 小时,而后冷却至室温。将反应物倒入水 (4L) 中,同时快速搅拌。通过真空抽滤收集固体,用水 (4L) 洗涤,空气干燥 30 分钟。用 MeOH (700mL) 使固体形成浆液,通过真空抽滤收集,并用 MeOH (100mL) 冲洗。将灰色固体空气干燥 2 小时,然后在 50℃ 真空烘箱中干燥过夜,获得 414.67g (84%) 标题化合物黑色 (dark) 固体。ES/MS m/z ($^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$) 381/383 [$M+H$] $^+$ 。

[0139] 制备例 3

[0140] (R, S)-7-溴-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并 [b] 吲哚-2-基胺

[0141]

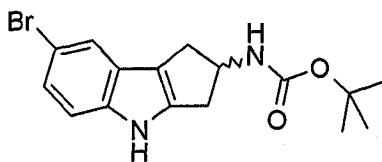


[0142] 向 (R, S)-2-(7-溴-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并 [b] 吲哚-2-基)-异吲哚-1,3-二酮 (150g, 393mmol) 的 THF (1000mL) 和 EtOH (150mL) 溶液中加入肼一水合物 (35.0g, 34.0mL, 699mmol)。在室温下将反应混合物机械搅拌 18 小时,而后在 55℃ 搅拌 2 小时,由此反应物变得非常粘稠,加入 THF (425mL) 和 EtOH (75mL)。在 55℃ 另外继续加热 2 小时。将反应冷却至室温,通过硅藻土过滤,用 THF 冲洗,并浓缩至干。将残余物与甲苯和 EtOH 混合,再次浓缩至干。将产物在高真空条件下放置 3 小时,得到 94g (95%) 标题化合物固体。LC-ES/MS m/z ($^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$) 251/253 [$M+H$] $^+$, $T_R = 1.14\text{min}$ 。

[0143] 制备例 4

[0144] ((R, S)-7-溴-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吲哚-2-基)-氨基甲酸叔丁基酯

[0145]

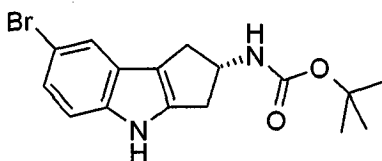


[0146] 将 (R, S)-7-溴-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吲哚-2-基胺 (81.5g, 325mmol) (在 THF (800mL) 和饱和 NaHCO_3 水溶液 (200mL) 中) 的混合物用二碳酸二叔丁基酯 (80.3g, 357mmol) 分批处理, 并在室温下搅拌一小时。将反应用 EtOAc (300mL) 和盐水 (100mL) 稀释。分离各层, 用 MgSO_4 干燥有机层, 过滤, 浓缩, 得到黑色油状固体。将固体与 CH_2Cl_2 (400mL) 混合, 在冰浴中冷却, 过滤。用 CH_2Cl_2 和己烷冲洗固体, 回收 28.1g (34%) 标题化合物固体。通过浓缩滤液, 并用色谱纯化 (1L 硅胶, 作浓 CH_2Cl_2 溶液装填, 用 30% 己烷/ CH_2Cl_2 、100% CH_2Cl_2 洗脱, 然后用 3% EtOAc/ CH_2Cl_2 洗脱) 另外获得 78.8g (60%) 标题化合物。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.98-7.91 (m, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.25 (s, 2H), 7.20-7.15 (m, 2H), 5.05-5.02 (m, 2H), 3.37-3.29 (m, 2H), 2.77-2.70 (m, 1H), 2.62-2.57 (m, 1H), 1.46 (s, 9H)。

[0147] 制备例 5

[0148] ((S)-7-溴-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吲哚-2-基)-氨基甲酸叔丁基酯

[0149]

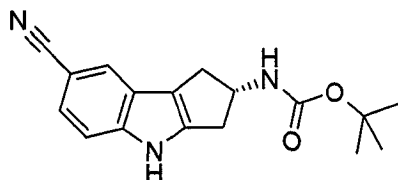


[0150] 将 ((R, S)-7-溴-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吲哚-2-基)-氨基甲酸叔丁基酯 (635g, 1810mmol) 首先用冷的 Et_2O 研磨, 而后用手性 HPLC 纯化 (柱: Chiralcel OJ 8 $\times$ 32cm; 洗脱液: 100% MeOH), 得到 310g 标题化合物 (第二个洗脱的异构体) 褐色固体。Chiral HPLC OJ-H, 100% MeOH, UV 检测 @250nm $T_R = 7.6\text{min}$, 97.8% ee。

[0151] 制备例 6

[0152] ((S)-7-氰基-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吲哚-2-基)-氨基甲酸叔丁基酯

[0153]



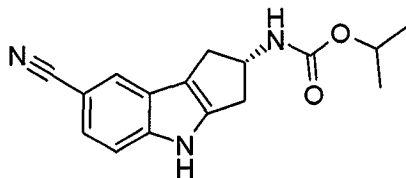
[0154] 将下面的试剂在 DMF (250mL) 中、在 100 $^\circ\text{C}$ 一起搅拌 18 小时: ((S)-7-溴-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吲哚-2-基)-氨基甲酸叔丁基酯 (50.0g, 142mmol), 氰化锌 (11.9g, 99.7mmol), 乙酸锌 (5.22g, 28.5mmol), 1,1'-二(二苯基膦基)二茂铁)氯化钯 (II) ($\text{Pd}(\text{dppf})_2\text{Cl}_2$) (1.74g, 2.14mmol) 和锌 (3.72g, 56.9mmol)。将反应物浓缩至干, 并在水和乙酸乙酯之间分配。将有机物用水和盐水洗涤, 然后浓缩, 得到固体。如下将固体

在硅胶 (1600mL) 上分为两个相等的部分进行色谱分离:作 CH_2Cl_2 溶液装填,用 2% EtOAc/ CH_2Cl_2 (3L) 洗脱,然后用 5% EtOAc/ CH_2Cl_2 洗脱。从两个柱中回收产物,得到 29g (69%) 标题化合物白色固体。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.39 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.34 (d, $J = 1.8\text{Hz}$, 2H), 5.05-4.96 (m, 2H), 3.37-3.25 (m, 2H), 2.80-2.63 (m, 2H), 1.46 (s, 9H)...

[0155] 制备例 7

[0156] ((S)-7-氰基-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基)-氨基甲酸异丙酯

[0157]



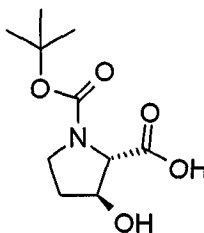
[0158] 将 ((S)-7-氰基-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基)-氨基甲酸叔丁酯 (10g, 33.63mmol) 溶于 1,4-二噁烷 (102mL) 中,并在室温下用 4MHC1/二噁烷 (102mL) 处理。18 小时之后,滤出固体,并用 Et_2O (50mL) 洗涤,而后真空干燥。

[0159] 使固体在二氯甲烷 (168mL) 中形成浆液,并在室温下用二异丙基乙胺 (9.13g, 12.3mL, 70.1mmol) 和氯甲酸异丙基酯 (1.0M, 在甲苯中, 34.0 mL, 34.0mmol) 处理。4 小时之后,用水 (50mL) 处理反应,浓缩,得到产物的含水浆液。将反应进一步用水 (500mL) 稀释,并在超声波槽中超声处理 15 分钟。滤出褐色固体,在 40°C 真空干燥。使固体在 Et_2O (100mL) 中形成浆液,在超声波槽中超声处理 10 分钟,过滤,用 Et_2O (50mL) 洗涤,而后真空干燥,得到 8.20g (86% 产率) 标题化合物褐色固体。LC-ES/MS m/z 284 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 282 $[\text{M}-\text{H}]^-$, $T_R = 2.20\text{min}$; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.44 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.39 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.28 (dd, $J = 1.8, 8.4\text{Hz}$, 1H), 4.77-4.63 (m, 2H), 3.18-3.04 (m, 2H), 2.70 (dd, $J = 6.2, 15.8\text{Hz}$, 1H), 2.58 (dd, $J = 6.2, 14.5\text{Hz}$, 1H), 1.13 (d, $J = 6.2\text{Hz}$, 6H)。

[0160] 制备例 8

[0161] (2S,3S)-1-(叔丁氧羰基)-3-羟基吡咯烷-2-羧酸

[0162]

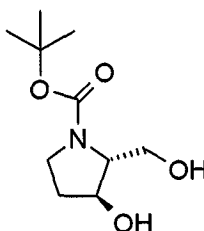


[0163] 在室温下,将反式-3-羟基-L-脯氨酸 (5g, 37.56mmol) 的甲醇 (100mL) 悬浮液用二异丙基乙胺 (6.55mL, 37.56mmol) 处理,随后用二碳酸二叔丁基酯 (8.87g, 39.44mmol) 处理。将得到的悬浮液在室温下搅拌 2 小时,同时变成均相溶液。真空除去溶剂,并将残余物溶于乙酸乙酯 (120mL) 中。用 1N 盐酸水溶液洗涤有机溶液。除去水层,用盐水洗涤有机层,用硫酸钠干燥,浓缩,真空干燥,得到 8.0g (90%) 标题化合物。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ 12.60 (s, br, 1H), 5.40 (s, br, 1H), 4.20-4.12 (m, 1H), 3.87 (d, $J = 6.4\text{Hz}$, 1H), 3.25-3.42 (m, 2H), 1.90-1.75 (s, br, 1H), 1.74-1.65 (s, br, 1H), 1.30 (d, $J = 7.1\text{Hz}$, 9H)。

[0164] 制备例 9

[0165] (2R,3S)-叔丁基-3-羟基-2-(羟甲基)吡咯烷-1-羧酸酯

[0166]

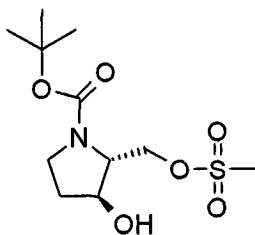


[0167] 将 3-羟基-吡咯烷-1,2-二羧酸 1-叔丁基酯 (13.29g, 57.47mmol) 的四氢呋喃 (130mL) 溶液用硼烷-甲硫醚复合物 (16.06mL, 172.41mmol) 逐滴处理,并在室温下搅拌过夜。将混合物在冰水浴中冷却至 5℃,并用 3N 盐酸水溶液 (5mL) 逐滴处理,直到停止放出气体为止。将得到的悬浮液进一步搅拌 30 分钟,并用 5N 氢氧化钠水溶液稀释,直到白色固体溶解为止。用乙酸乙酯 (3×100mL) 提取。将有机层用水 (2×100mL) 和盐水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤,浓缩至干。将得到的油真空干燥,得到 10.03g (80%) 标题化合物。LC-ES/MS m/z 457.2 $[2M+Na]^+$, T_R = 1.59min

[0168] 制备例 10

[0169] (2R,3S)-3-羟基-2-甲磺酰氧基甲基-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯

[0170]

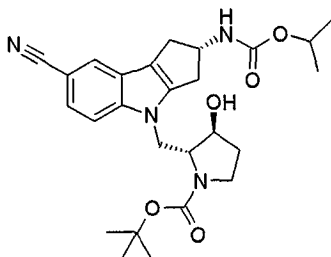


[0171] 将 (2R,3S)-叔丁基-3-羟基-2-(羟甲基)吡咯烷-1-羧酸酯 (5.04g, 23.20mmol) 和二丁基氧代锡烷 (7.07g, 27.84mmol) 的甲苯 (50mL) 悬浮液在 130℃ 油浴中回流 2 小时。将混合物在冰浴中冷却至 0℃,保持 30 分钟,并立即用甲磺酰氯 (2.15mL, 27.84mmol) 处理。在 0℃ 搅拌反应 30 分钟,然后使混合物逐渐地升温至环境温度过夜。浓缩溶液,并将得到的残余物用中压液相色谱纯化,用乙酸乙酯:己烷 (8:2) 洗脱。将包含纯产物的馏份合并,浓缩,得到 6.14g (96%) 标题化合物稠油。LC-ES/MS m/z 318.2 $[M+Na]^+$, T_R = 2.34min.

[0172] 制备例 11

[0173] (2R,3S)-2-((S)-7-氰基-2-异丙氧羰基氨基-2,3-二氢-1H-环戊二烯并[b]吡啶-4-基甲基)-3-羟基-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯

[0174]

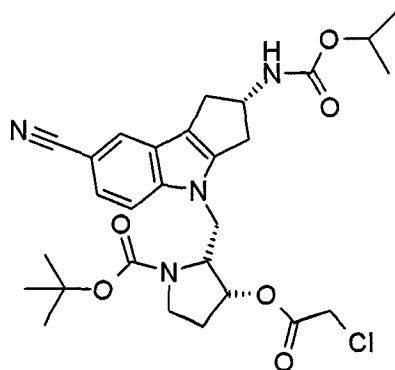


[0175] 在60℃油浴中,将((S)-7-氰基-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基)-氨基甲酸异丙酯(1.50g, 5.29mmol)、(2R,3S)-3-羟基-2-甲磺酰氧基甲基-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯(3.13g, 10.59mmol)、碳酸铯(3.45g, 10.59mmol)和碘化钾(88mg, 529 μmol)的混合物在二甲基甲酰胺(50mL)中加热两天。冷却至环境温度后,用乙酸乙酯(120mL)稀释反应,并用水(3x100mL)和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机部分,过滤,浓缩至干。将得到的残余物用中压液相色谱纯化,用乙酸乙酯:氯仿(2:8)洗脱。将包含纯产物的馏份合并,浓缩,得到1.59g(62%)标题化合物。LC-ES/MS m/z 505.2 $[M+Na]^+$, $T_R = 3.97$ min.

[0176] 制备例 12

[0177] (2R,3R)-3-(2-氯-乙酰氧基)-2-((S)-7-氰基-2-异丙氧羰基氨基-2,3-二氢-1H-环戊二烯并[b]吡啶-4-基甲基)-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯

[0178]

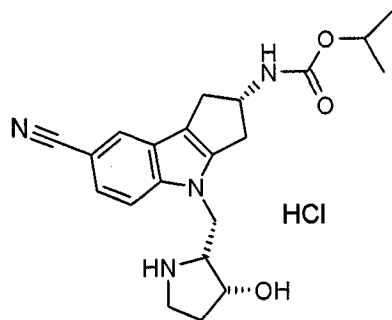


[0179] 在室温下,将(2R,3S)-2-((S)-7-氰基-2-异丙氧羰基氨基-2,3-二氢-1H-环戊二烯并[b]吡啶-4-基甲基)-3-羟基-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯(950mg, 1.97mmol)、氯乙酸(227mg, 2.36mmol)和三苯基膦(626mg, 2.36mmol)在四氢呋喃(20mL)中的混合物用偶氮二羧酸二乙基酯(374 μL, 2.36mmol)逐滴处理。搅拌反应混合物过夜。将反应用乙酸乙酯(50mL)稀释,用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机部分,并浓缩。将得到的残余物用中压液相色谱纯化,用乙酸乙酯:己烷(1:1)洗脱。将包含纯产物的馏份合并,浓缩,得到0.59g(54%)标题化合物。LC-ES/MS m/z 581.0 $[M+Na]^+$, $T_R = 4.46$ min.

[0180] 制备例 13

[0181] [(S)-7-氰基-4-((2R,3R)-3-羟基-吡咯烷-2-基甲基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯盐酸盐

[0182]



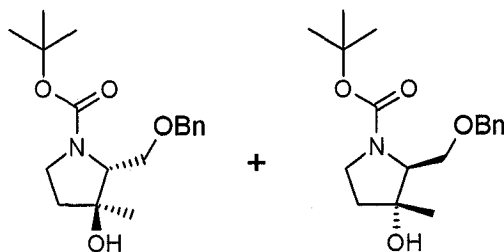
[0183] 将(2R,3R)-3-(2-氯-乙酰氧基)-2-((S)-7-氰基-2-异丙氧羰基氨基-2,3-二氢-1H-环戊二烯并[b]吡啶-4-基甲基)-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯(500mg, 894.4 μmol)的MeOH(2mL)溶液用2N LiOH溶液(2mL)处理,并在室温下搅拌悬浮液4小时。将悬浮液

用乙酸乙酯 (60mL) 稀释,用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机部分,过滤,浓缩。将残余物 (0.39g) 溶于 10mL MeOH (10mL) 中,并用 4N HCl/1,4-二噁烷溶液 (10mL) 处理。搅拌溶液 2 小时,真空浓缩,得到 0.37g (92%) 标题化合物。LC-ES/MS m/z 383.2 $[M+H]^+$, $T_R = 1.86\text{min}$.

[0184] 制备例 14

[0185] 反式-2-苄氧基甲基-3-羟基-3-甲基-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯

[0186]

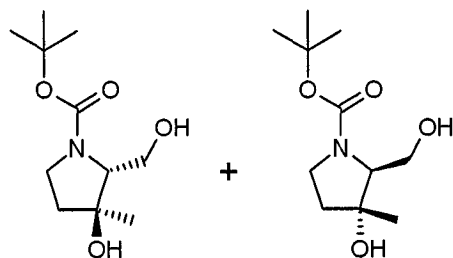


[0187] 将反式-1-苯磺酰基-2-苄氧基甲基-3-甲基-吡咯烷-3-醇 (13.42g, 35.74mmol) (J. Schomaker and S. Bhattacharjee, J. Am. Chem. Soc., 2007, 129, 1996-2003) 的无水甲醇 (100mL) 溶液用镁屑 (5.26g, 214.4mmol) 处理,并在水浴中超声处理 45 分钟。将得到的浑浊悬浮液在 40℃ 油浴中搅拌 20 小时。将硅胶 (30mL) 加入到反应混合物中,用甲醇 (50mL) 稀释,直到悬浮液可混溶为止。搅拌悬浮液 30 分钟,浓缩。将残余物真空干燥过夜。将二氧化硅残余物装填到 DASI® 65 柱中,用氯仿:甲醇:氨水 (90 : 9 : 1) 洗脱。获得起始的反式-1-苯磺酰基-2-苄氧基甲基-3-甲基-吡咯烷-3-醇 (4.0g) 以及目标脱保护的物质 (5.47g)。将脱保护的物质溶解在四氢呋喃 (20mL) 中,并用二碳酸二叔丁基酯 (5.7g, 26.1mmol) 处理。搅拌溶液一小时,浓缩。将残余物用乙酸乙酯 (100mL) 稀释,并用 0.5N 氢氧化钠水溶液 (50mL) 和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机部分,过滤,浓缩。将得到的残余物用中压液相色谱纯化,用乙酸乙酯:己烷 (1 : 1) 洗脱。将包含纯产物的馏份合并,浓缩,得到 8.15g (71%) 标题化合物。LC-ES/MS m/z 344.2 $[M+Na]^+$, $T_R = 3.71\text{min}$.

[0188] 制备例 15

[0189] 反式-3-羟基-2-羟甲基-3-甲基-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯

[0190]

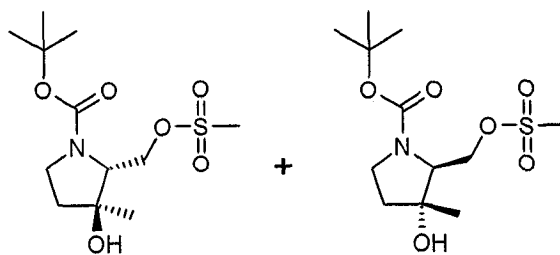


[0191] 将反式-3-羟基-2-羟甲基-3-甲基-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯 (8.12g, 25.26mmol) 的甲醇 (100mL) 溶液用 5% 钨/炭 (50%, 湿式, 3g, 28.19mmol) 处理,并在 350kPa 下氢化过夜。过滤除去催化剂,浓缩滤液。将得到的油真空干燥,得到 5.8g (99%) 标题化合物。GC-MS m/z 231 $[M]^+$.

[0192] 制备例 16

[0193] 反式-3-羟基-2-甲磺酰氧基甲基-3-甲基-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯

[0194]

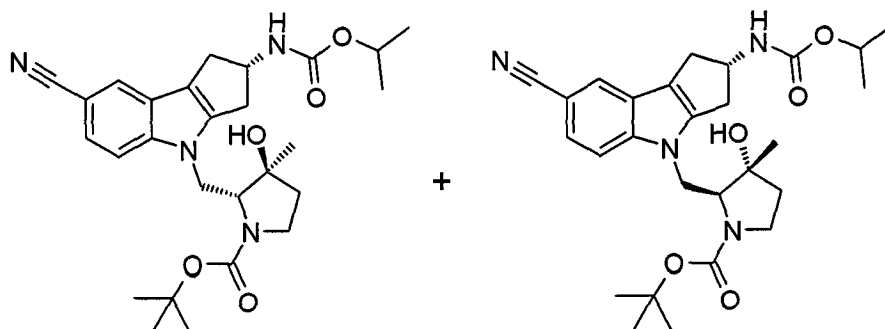


[0195] 在乙腈 / 干冰浴 (-40°C) 中, 将反式-3-羟基-2-甲磺酰氧基甲基-3-甲基-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯 (2.69g, 11.63mmol) 和三乙胺 (1.78mL, 12.79mmol) 在二氯甲烷 (100mL) 中的混合物冷却 30 分钟, 并立即用甲磺酰氯 (945.21 μL , 12.21mmol) 处理。将溶液在 -40°C 搅拌一小时, 并倒入包含二氯甲烷 (50mL) 和水 (100mL) 的分液漏斗中。用水和盐水洗涤有机溶液, 用硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。将残余物用中压液相色谱纯化, 用乙酸乙酯: 己烷 (8 : 2) 洗脱。将包含纯产物的馏份合并, 浓缩, 得到 3.30g (91%) 标题化合物。LC-ES/MS m/z 640.6 $[2M+Na]^+$, $T_R = 2.27\text{min}$.

[0196] 制备例 17

[0197] 反式-2-((S)-7-氰基-2-异丙氧羰基氨基-2,3-二氢-1H-环戊二烯并[b]吡啶-4-基)-3-羟基-3-甲基-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯

[0198]

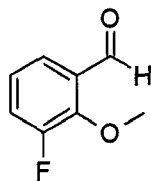


[0199] 在 60°C 油浴中, 在氩气氛下, 将 ((S)-7-氰基-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基)-氨基甲酸异丙酯 (2.00g, 7.06mmol)、反式-3-羟基-2-甲磺酰氧基甲基-3-甲基-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯 (3.28g, 10.59mmol)、碳酸铯 (5.11g, 15.53mmol) 和碘化钾 (118mg, 705.9 μmol) 在二甲基甲酰胺 (40mL) 中的混合物搅拌 48 小时。将得到的悬浮液冷却至室温, 用乙酸乙酯 (120mL) 稀释, 然后用水 ($3 \times 100\text{mL}$) 和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机部分, 过滤, 浓缩至干。将得到的残余物用中压液相色谱纯化, 用乙酸乙酯: 己烷 (1 : 1) 洗脱。将包含纯产物的馏份合并, 浓缩, 得到 2.5g (71%) 标题化合物。LC-ES/MS m/z 519.2 $[M+Na]^+$, $T_R = 3.77, 3.81\text{min}$.

[0200] 制备例 18

[0201] 3-氟-2-甲氧基-苯甲醛

[0202]



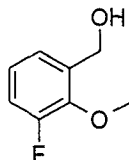
[0203] 将 3-氟水杨醛 (3.52g, 25.12mmol) 和碳酸铯 (20.46g, 62.81mmol) 在 N,N-二甲基

甲酰胺 (30mL) 中的混合物用碘甲烷 (3.13mL, 50.2mmol) 处理, 并在室温下、在氮气氛围中搅拌 2 小时。将反应混合物用二乙醚 (150mL) 稀释, 并用 0.5M 盐酸 (2×150mL) 洗涤。用无水硫酸钠干燥有机部分, 过滤, 浓缩, 得到 3.42g (88%) 标题化合物澄清油。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.59 (d, 1H), 7.32 (dd, 1H), 7.04 (m, 1H), 4.04 (s, 3H)。

[0204] 制备例 19

[0205] (3-氟-2-甲氧基苯基) 甲醇

[0206]

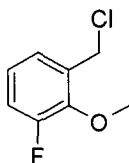


[0207] 向 3-氟-2-甲氧基-苯甲醛 (3.41g, 22.1mmol) 的甲醇 (20mL) 溶液中慢慢地分批加入硼氢化钠 (1.00g, 26.6mmol)。在室温下、在氮气氛围中搅拌反应过夜。用二乙醚稀释反应, 用水洗涤两次, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 得到 3.02g (87%) 标题化合物澄清的无色油。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.09–6.92 (m, 3H), 4.65 (d, 2H), 3.97 (s, 3H), 2.14 (t, 1H, OH)。

[0208] 制备例 20

[0209] 1-(氯甲基)-3-氟-2-甲氧基苯

[0210]

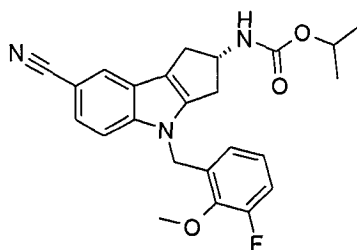


[0211] 在室温下, 将 (3-氟-2-甲氧基苯基) 甲醇 (3.02g, 19.3mmol) 和三乙胺 (6.74mL, 48.4mmol) 的二氯甲烷 (20mL) 溶液用甲磺酰氯 (2.99mL, 38.7mmol) 慢慢地处理, 并在氮气氛围中搅拌 3 小时。用二乙醚稀释反应, 用 0.5M 盐酸洗涤两次, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 得到标题化合物黄色油 (2.71g, 80%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.15–6.93 (m, 3H), 4.61 (s, 2H), 4.00 (s, 3H)。

[0212] 制备例 21

[0213] (S)-7-氰基-4-(3-氟-2-甲氧基苯基)-1,2,3,4-四氢环戊二烯并 [b] 吡啶-2-基氨基甲酸异丙酯

[0214]



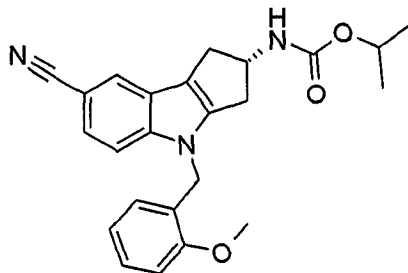
[0215] 在室温下, 将 (S)-7-氰基-1,2,3,4-四氢环戊二烯并 [b] 吡啶-2-基氨基甲酸异丙酯 (1.50g, 5.29mmol) 和 1-(氯甲基)-3-氟-2-甲氧基苯 (1.11g, 6.35mmol) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (10mL) 溶液用碳酸铯 (2.59g, 7.94mmol) 处理, 并在氮气氛围中搅拌过夜。将

反应混合物用水和醚/己烷稀释。将从溶液当中析出 (crash) 的白色固体过滤,用水、醚、己烷冲洗,在 50℃真空干燥 48 小时,获得标题化合物白色固体 (2.18g, 98%)。LC-ES/MS m/z 422.2 $[M+H]^+$, $T_R = 4.57\text{min}$ 。

[0216] 制备例 22

[0217] [(S)-7-氰基-4-(2-甲氧基-苄基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯

[0218]

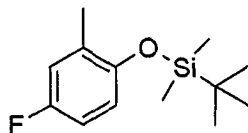


[0219] 将 ((S)-7-氰基-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基)-氨基甲酸异丙酯 (2.0g, 7.06mmol) 和碳酸铯 (3.22g, 9.88mmol) 在 DMF (40mL) 中的混合物用 2-甲氧基氯化苄 (1.16g, 7.41mmol) 处理。将反应在 50℃加热 18 小时。将反应冷却至室温,并用水 (300mL) 稀释。收集白色固体,用水洗涤。将固体在 40℃真空烘箱中干燥。干燥之后,获得 2.80g (98%) 产物白色固体。LC-ES/MS m/z 404 $[M+H]^+$, $T_R = 2.83\text{min}$ 。

[0220] 制备例 23

[0221] 叔丁基-(4-氟-2-甲基-苯氧基)-二甲基-硅烷

[0222]

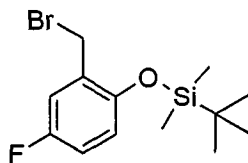


[0223] 在二甲基甲酰胺 (100mL) 中,将叔丁基二甲基氯硅烷 (14.34g, 93.24mmol) 与 4-氟-2-甲酚 (10.00g, 77.70mmol) 和 1H-咪唑 (13.32g, 194.24mmol) 混合,并在室温下搅拌过夜。将反应用醚 (200mL) 稀释,并用水 (2×100mL) 和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机部分,过滤,浓缩,得到 18.9g (100%) 标题化合物。GC-ES m/z 240 $[M]^+$, $T_R = 4.06\text{min}$ 。

[0224] 制备例 24

[0225] (2-溴甲基-4-氟-苯氧基)-叔丁基-二甲基-硅烷

[0226]



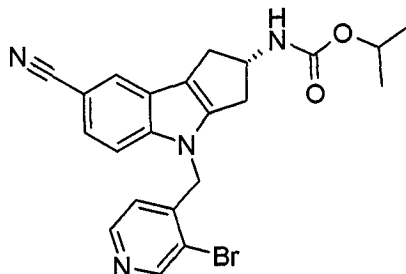
[0227] 在 90℃油浴中,将叔丁基-(4-氟-2-甲基-苄基)-二甲基-硅烷 (6.20g, 25.79mmol) 和 N-溴代琥珀酰亚胺 (4.75g, 26.31mmol) 在四氯化碳 (50mL) 中的混合物回流 10 分钟,并用过氧苯甲酰 (64mg, 258 μmol) 处理。将得到的悬浮液再回流 2 小时,和冷却至室温。过滤除去固体,真空浓缩滤液。将得到的残余物装填在 ReadySep®柱 (25g) 上,用己烷 (300mL) 洗脱,得到 6.4g (78%) 标题化合物澄清的油。GC-ES m/z (^{79}Br) 318 $[M]^+$, T_R

= 5.06min.

[0228] 制备例 25

[0229] (S)-4-((3-溴代吡啶-4-基)甲基)-7-氰基-1,2,3,4-四氢环戊二烯并[b]吡啶-2-基氨基甲酸异丙酯

[0230]

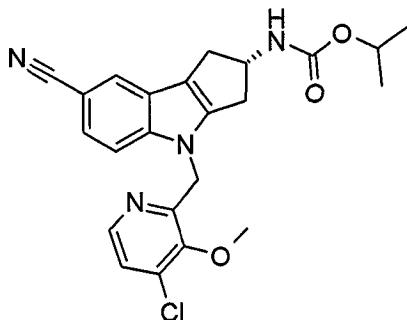


[0231] 在室温下,在氮气氛围中,将 3-溴-4-(氯甲基)吡啶 (3.16g,11.5mmol),((S)-7-氰基-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基)-氨基甲酸异丙酯 (2.50g,8.82mmol) 和碳酸铯 (4.31g,13.2mmol) 在二甲基甲酰胺 (20mL) 中的混合物搅拌过夜。然后将反应混合物用乙酸乙酯、二氯甲烷和水稀释。分离有机相,用水洗涤两次,用无水硫酸钠干燥,过滤,真空浓缩,获得棕色油 (~4.75g)。将油用己烷研磨两次,然后用醚研磨两次。然后用快速色谱将其纯化,用 30 至 60% 乙酸乙酯/己烷洗脱,获得类白色固体 (3.23g,81%)。LC-ES/MS m/z ($^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$) 453.0/455.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0232] 制备例 26

[0233] (S)-4-((4-氯-3-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-7-氰基-1,2,3,4-四氢环戊二烯并[b]吡啶-2-基氨基甲酸异丙酯

[0234]

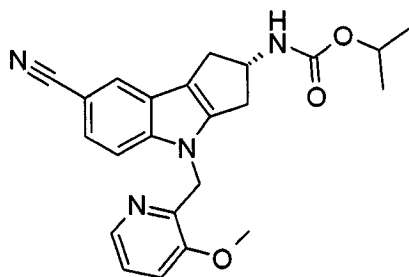


[0235] 向 (S)-异丙基 7-氰基-1,2,3,4-四氢环戊二烯并[b]吡啶-2-基氨基甲酸酯 (680mg,2.40mmol) 和 4-氯-2-(氯甲基)-3-甲氧基吡啶 (553mg,2.88mmol) 的二甲基甲酰胺 (5mL) 溶液中加入碳酸铯 (1.17g,3.60mmol),并在室温下搅拌混合物过夜。将反应混合物用水稀释,并将米色固体过滤。将其用水冲洗,而后在真空烘箱中、在 50℃ 干燥 48 小时,获得灰色固体 (970mg,92%)。LC-ES/MS m/z 439.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0236] 制备例 27

[0237] (S)-4-((3-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-7-氰基-1,2,3,4-四氢环戊二烯并[b]吡啶-2-基氨基甲酸异丙酯

[0238]

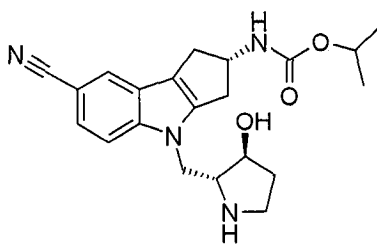


[0239] 将 (S)-异丙基 4-((4-氯-3-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-7-氰基-1,2,3,4-四氢环戊二烯并[b]吡啶-2-基氨基甲酸酯 (12.53g, 28.55mmol) 和 10% 钯/碳 (1.00g) 在甲醇 (150mL) 中的混合物在室温下、在 50psi 下氢化过夜。使新的一批 10% 钯/碳 (1.2g) 在水 (~2mL) 中形成浆液, 并加入到反应混合物中, 在室温下将其氢化 (50psi) 过夜。将催化剂滤出, 减压浓缩溶液, 获得浅黄色固体。用醚研磨固体两次, 在高真空下干燥, 得到黄色固体 (10.80g, 94%)。LC-ES/MS m/z 405.2 $[M+H]^+$

[0240] 实施例 1

[0241] [(S)-7-氰基-4-((2R,3S)-3-羟基-吡咯烷-2-基甲基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯

[0242]

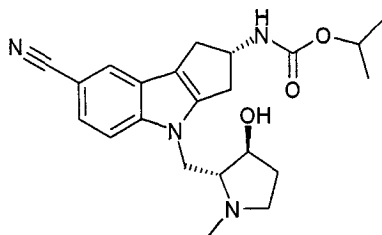


[0243] 将 (2R,3S)-2-((S)-7-氰基-2-异丙氧羰基氨基-2,3-二氢-1H-环戊二烯并[b]吡啶-4-基甲基)-3-羟基-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯 (0.50g, 1.04mmol) 的甲醇 (20mL) 溶液用 4N 盐酸/1,4-二噁烷 (20mL) 处理, 并在室温下搅拌 3 小时, 浓缩。将残余物悬浮在乙酸乙酯 (200mL) 中, 并用 2N 氢氧化钠水溶液 (20mL) 处理。用盐水洗涤有机层, 用硫酸钠干燥, 浓缩。将得到的残余物用中压液相色谱纯化, 用甲醇: 氯仿 (5:95) 洗脱。将包含纯产物的馏份合并, 浓缩, 得到 0.38g (96%) 标题化合物。LC-ES/MS/MS m/z 383.2 $[M+H]^+$, $T_R = 1.86\text{min}$.

[0244] 实施例 2

[0245] [(S)-7-氰基-4-((2R,3S)-3-羟基-1-甲基-吡咯烷-2-基甲基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯,

[0246]



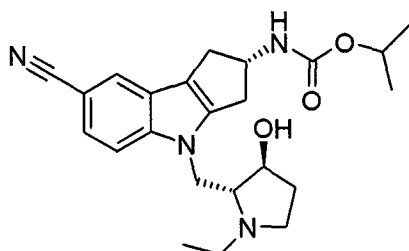
[0247] 将 (2R,3S)-2-((S)-7-氰基-2-异丙氧羰基氨基-2,3-二氢-1H-环戊二烯并[b]吡啶-4-基甲基)-3-羟基-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯 (3.10g, 6.42mmol) 的乙醇 (20mL)

溶液用 4N 盐酸 /1,4-二噁烷 (20mL) 处理,并在室温下搅拌 3 小时。将得到的溶液真空浓缩,并悬浮在乙酸乙酯 (200mL) 中,用 2N 氢氧化钠水溶液 (70mL) 处理。用盐水洗涤有机层,用硫酸钠干燥,浓缩。将得到的残余物溶于氯仿 (100mL) 中,并用甲醛 (1.45mL, 19.27mmol) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (4.25g, 19.27mmol) 处理。将得到的悬浮液在室温下搅拌过夜。用饱和碳酸氢钠溶液 (40mL) 处理悬浮液,搅拌 30 分钟。将得到的悬浮液用二氯甲烷 (100mL) 稀释,并用水 (3×100mL) 和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机部分,过滤,浓缩至干。将得到的残余物用中压液相色谱纯化,用甲醇:氯仿 (5 : 95) 洗脱。将包含纯产物的馏份合并,浓缩,得到 1.6g (63%) 标题化合物。LC-ES/MS m/z 397.2 $[M+H]^+$, $T_R = 1.78\text{min}$ 。

[0248] 实施例 3

[0249] [(S)-7-氰基-4-((2R,3S)-3-羟基-1-乙基-吡咯烷-2-基甲基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯

[0250]

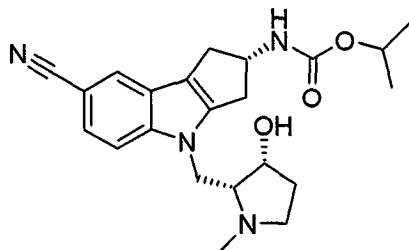


[0251] 将 [(S)-7-氰基-4-((2R,3S)-3-羟基-吡咯烷-2-基甲基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯 (300mg, 784.4 μmol) 的乙腈 (20mL) 溶液用乙醛 (1.0mL, 17.80mmol) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (520mg, 2.35mmol) 处理,并在室温下搅拌过夜。用饱和碳酸氢钠溶液 (40mL) 处理悬浮液,搅拌 30 分钟。将得到的悬浮液用二氯甲烷 (100mL) 稀释,并用水 (3×100mL) 和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机部分,过滤,浓缩至干。将得到的残余物用中压液相色谱纯化,用甲醇:氯仿 (5 : 95) 洗脱。将包含纯产物的馏份合并,浓缩,得到 0.1g (31%) 标题化合物。LC-ES/MS m/z 144.2 $[M+H]^+$, $T_R = 1.94\text{min}$ 。

[0252] 实施例 4

[0253] [(S)-7-氰基-4-((2R,3R)-3-羟基-1-甲基-吡咯烷-2-基甲基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯

[0254]



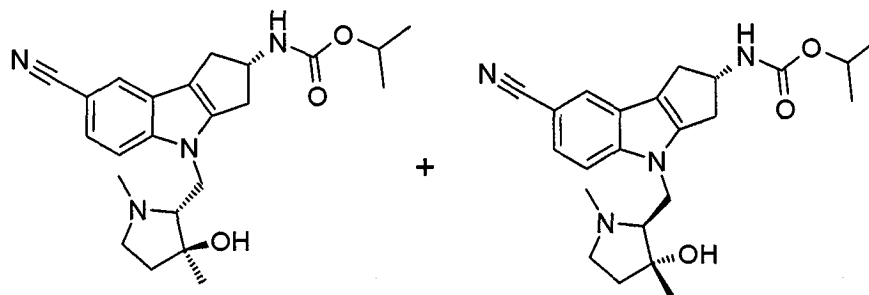
[0255] 将 [(S)-7-氰基-4-((2R,3R)-3-羟基-吡咯烷-2-基甲基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯盐酸盐 (380mg, 907.1 μmol) 的乙腈 (50mL) 溶液用甲醇 (5mL) 处理,直到大部分该固体溶解为止,而后用甲醛 (136.3 μL , 1.81mmol) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (400.5mg, 1.81mmol) 处理。在室温下搅拌反应过夜。加入饱和碳酸氢钠水溶液 (50mL),搅拌 30 分钟。将混合物用乙酸乙酯 (120mL) 稀释,并将得到的悬浮液用水

(3×100mL) 和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机部分,过滤,浓缩至干。将残余物用中压液相色谱纯化,用甲醇:氯仿(5:95)洗脱。将包含纯产物的馏份合并,浓缩,得到 0.2g(61%) 标题化合物。LC-ES/MS m/z 397.2 $[M+H]^+$, $T_R = 1.87\text{min}$.

[0256] 实施例 5

[0257] [(S)-7-氰基-4-(反式-3-羟基-1-甲基-3-甲基-吡咯烷-2-基甲基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯(外消旋)

[0258]



[0259] 将反式-2-((S)-7-氰基-2-异丙氧羰基氨基-2,3-二氢-1H-环戊二烯并[b]吡啶-4-基甲基)-3-羟基-3-甲基-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯(2.50g, 5.03 mmol)在1,4-二噁烷(15mL)和甲醇(2mL)中的混合物用4N盐酸/1,4-二噁烷(15mL)处理,并在室温下搅拌3小时。反应变成白色固体与微红溶液的悬浮液。浓缩悬浮液,并将残余物悬浮在乙腈(30mL)中,用30%甲醛水溶液(1.13mL, 15.10mmol)和三乙酰氧基硼氢化钠(3.33g, 15.10mmol)处理。将得到的悬浮液搅拌过夜。用饱和碳酸氢钠水溶液处理悬浮液,搅拌30分钟。用乙酸乙酯(120mL)稀释悬浮液,将其用水(3×100mL)和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机部分,过滤,浓缩至干。将残余物用中压液相色谱纯化,用乙酸乙酯:己烷(1:1)洗脱。将包含纯产物的馏份合并,浓缩,得到 1.75g(84%) 标题化合物。LC-ES/MS m/z 411.2 $[M+H]^+$, $T_R = 1.96\text{min}$.

[0260] 实施例 6 和 7

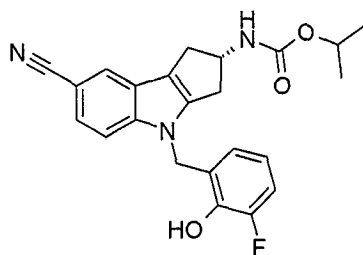
[0261] [(S)-7-氰基-4-(反式-3-羟基-1-甲基-3-甲基-吡咯烷-2-基甲基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯的异构体 1 和异构体 2

[0262] 将[(S)-7-氰基-4-(反式-3-羟基-1-甲基-3-甲基-吡咯烷-2-基甲基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯(外消旋)(2.15g, 5.24mmol)用 **chiralpak®** AD-H 4.6×150mm 柱分离,用乙腈:甲醇:二甲基乙胺(30:70:0.2)洗脱(1mL/min),在225nm处检测。收集#1峰(从2.0分钟至2.5分钟)和#2峰(从4.0分钟至7.0分钟)。将包含纯产物的馏份合并,浓缩,得到 0.926g(43%) 异构体 1 和 0.822g(38%) 异构体 2。

[0263] 实施例 8

[0264] [(S)-7-氰基-4-(3-氟-2-羟基苄基)-1,2,3,4-四氢环戊二烯并[b]吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯

[0265]

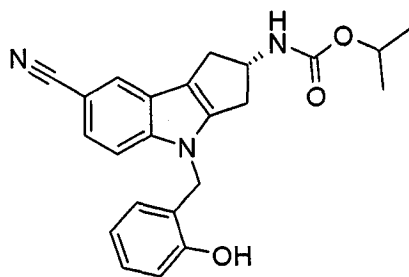


[0266] 在 0℃, 向 (S)-异丙基 7-氰基-4-(3-氟-2-甲氧苯甲基)-1,2,3,4-四氢环戊二烯并 [b] 吲哚-2-基氨基甲酸酯 (1.88g, 4.46mmol) 的二氯甲烷 (50mL) 溶液中加入 1M 三溴化硼 / 二氯甲烷 (13.4mL, 13.4mmol), 并搅拌过夜。将反应用略微湿的乙腈淬灭。减压除去挥发物, 并将残余物高真空干燥。然后将其用柱色谱纯化, 用 5% 乙酸乙酯 / 氯仿洗脱, 获得黄色固体。将固体悬浮在最低量的二氯甲烷中, 在室温下静置。快速析出白色固体。将它们过滤, 并简单地用二氯甲烷冲洗。将母液浓缩, 对残余物重复该过程三次。将白色固体合并, 得到标题化合物 (1.17g, 64%)。LC-ESm/z 408.2[M+H]⁺, T_R = 4.08min

[0267] 实施例 9

[0268] [(S)-7-氰基-4-(2-羟基-苄基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并 [b] 吲哚-2-基]-氨基甲酸异丙酯

[0269]



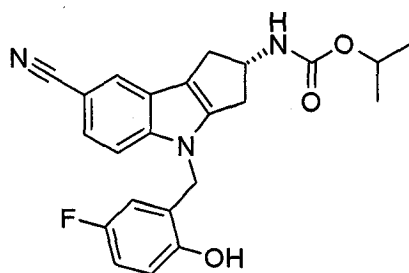
[0270] 向 [(S)-7-氰基-4-(2-甲氧基-苄基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并 [b] 吲哚-2-基]-氨基甲酸异丙酯 (1.50g, 3.72mmol) 的二氯甲烷 (37mL) 0℃ 溶液中加入 BBr₃ (1.0M, 在二氯甲烷中, 11.2mL, 11.2mmol)。将反应加热至室温, 搅拌 18 小时。用饱和 NH₄Cl 水溶液淬灭反应。加入水 (70mL), 将粗品用二氯甲烷 (75mL) 和 EtOAc (2×75mL) 提取。将合并的有机物用 Na₂SO₄ 干燥, 过滤, 浓缩。在硅胶 (40g, 30% EtOAc/ 己烷) 上纯化粗品, 而后在硅胶上 (40g, 5% 乙腈 / 二氯甲烷) 再纯化, 得到 1.00g 产物, 纯度大约 90%。

[0271] 对 1.77g (4.38mmol) 重复该反应, 并以相同方式进行后处理。将粗品与先前得到的 90% 纯度产物合并, 并在硅胶 (240g, 2 : 33 : 65 MeOH/ 二氯甲烷 / 己烷) 上将合并的产物纯化, 得到 991mg (两个反应的合并产率为 37%) 标题化合物白色固体。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.70 (s, 1H), 7.33 (d, J = 8.8Hz, 1H), 7.27-7.23 (m, 1H), 7.12-7.08 (m, 1H), 6.79-6.71 (m, 3H), 6.14-6.11 (m, 1H), 5.19 (s, 2H), 5.05-4.97 (m, 1H), 4.93-4.80 (m, 2H), 3.30-3.23 (m, 2H), 2.69-2.62 (m, 2H), 1.21 (t, J = 5.9Hz, 6H)。

[0272] 实施例 10

[0273] [(S)-7-氰基-4-(5-氟-2-羟基-苄基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并 [b] 吲哚-2-基]-氨基甲酸异丙酯

[0274]

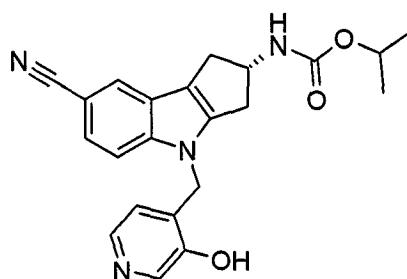


[0275] 在 -40°C (干冰浴), 将 ((S)-7-氰基-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并 [b] 吡啶-2-基)-氨基甲酸异丙酯 (1.15g, 4.06mmol) 和碳酸铯 (1.60g, 4.87mmol) 在二甲基甲酰胺 (15mL) 中的混合物搅拌 30 分钟, 并用 (2-溴甲基-4-氟-苯氧基)-叔丁基-二甲基-硅烷 (1.56g, 4.87mmol) 处理。在 -40°C (干冰浴) 搅拌反应 5 小时, 升温至室温, 保持 6 小时。将得到的悬浮液用乙酸乙酯 (120mL) 稀释, 用水 ($3 \times 100\text{mL}$) 和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机部分, 过滤, 浓缩至干。将得到的残余物用中压液相色谱纯化, 用乙酸乙酯: 己烷 (1 : 1) 洗脱。将包含纯产物的馏份合并, 浓缩, 得到 0.6g 甲硅烷基保护的物质。将其溶解在四氢呋喃 (10mL) 中, 并在室温下加入四丁基氟化铵溶液 (1M, 5mL)。搅拌混合物一小时, 浓缩。将残余物用乙酸乙酯 (100mL) 稀释, 用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机部分, 并浓缩。将得到的残余物用中压液相色谱纯化, 用乙腈: 二氯甲烷 (8 : 92) 洗脱。将包含纯产物的馏份合并, 浓缩。获得白色固体, 用乙腈重结晶, 得到 0.35g (21%) 标题化合物。LC-ES m/z 408.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $T_{\text{R}} = 4.09\text{min}$

[0276] 实施例 11

[0277] (S)-7-氰基-4-((3-羟基吡啶-4-基)甲基)-1,2,3,4-四氢环戊二烯并 [b] 吡啶-2-基氨基甲酸异丙酯

[0278]



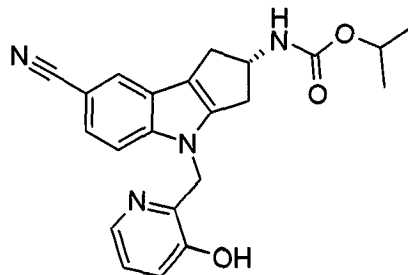
[0279] 在 100°C , 将 (S)-4-((3-溴代吡啶-4-基)甲基)-7-氰基-1,2,3,4-四氢环戊二烯并 [b] 吡啶-2-基氨基甲酸异丙酯 (3.81g, 7.05mmol)、氢氧化钾 (1.34g, 23.9mmol)、2-二-叔丁基膦基-3,4,5,6-四甲基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯 (230mg, 479 μmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯 (110mg, 120 μmol) 在水 (50mL) 和 1,4-二噁烷 (50mL) 中的混合物加热一小时。加入三(二亚苄基丙酮)二钯 (110mg, 120 μmol) 和 2-二-叔丁基膦基-3,4,5,6-四甲基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯 (230mg, 479 μmol), 并将混合物加热 3 小时。用水和二氯甲烷稀释反应。然后分离各层, 并用二氯甲烷洗涤水层两次。用几滴 5M HCl 将水溶液部分酸化至 pH1-2, 而后用碳酸钾中和至 pH7。加入乙酸乙酯, 将该两层过滤。分离有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩, 获得褐色残余物。将残余物用醚研磨两次, 并真空干燥。然后用快速色谱将其纯化, 用 1% 至 6% 甲醇/氯仿洗脱, 获得不纯的产物 ($\sim 2.8\text{g}$)。将其用制备超临界液相 (fluid) 色谱 (柱: 乙基

吡啶 20×150mm(Princeton 色谱, Inc.) ;流速 :70mL/min@35℃和 100psi ;洗脱液 :5-50% MeOH(含有 0.1%异丙胺 : 二氧化碳)), 获得标题化合物白色固体 (548mg, 20%)。LC-ES/MS m/z 391.2 $[M+H]^+$, $T_R = 2.63\text{min}$ 。

[0280] 实施例 12

[0281] (S)-7-氰基-4-((3-羟基吡啶-2-基)甲基)-1,2,3,4-四氢环戊二烯并[b]吡啶-2-基氨基甲酸异丙酯

[0282]



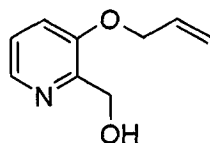
[0283] 在 75mL 密封容器 (浸于预热油浴 (170℃) 中) 中, 将 (S)-4-((3-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-7-氰基-1,2,3,4-四氢环戊二烯并[b]吡啶-2-基氨基甲酸异丙酯 (4.59g, 11.4mmol) 和盐酸吡啶 (21.0g, 182mmol) 用磁力搅拌器混合。将固体在大约 30 秒之内熔化, 搅拌 60 分钟。将混合物冷却至室温, 转入另外的烧瓶中, 并溶于四氢呋喃 (100mL) 和水 (100mL) 中。分批慢慢地加入碳酸钾 (40g), 搅拌 5 分钟之后, 在室温下加入氯甲酸异丙基酯的 1M 甲苯溶液 (34.0mL, 34.0mmol)。减压除去一部分溶剂, 用二氯甲烷和乙酸乙酯稀释残余物。滤出褐色不溶性残余物, 并分离各相。用 10% 碳酸钾洗涤有机相一次, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩, 获得褐色泡沫体。将泡沫体溶于甲醇 (20mL) 中, 加入 2M 氢氧化钠 (10mL), 并在室温下搅拌反应 1 小时。减压除去溶剂。将残余物溶于 0.5M HCl/EtOAc/CHCl₃ 中, 并将该双层过滤。然后将其用 5% 碳酸钾酸化至 pH7-8。分离各相, 用 5% 碳酸钾洗涤有机相一次, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩, 获得橙色泡沫体。用二氧化硅快速色谱纯化泡沫体, 用 10 至 40% 乙酸乙酯 / 氯仿洗脱, 获得红色固体 (3.33g)。将固体溶于 0.5M 氢氧化钠 (30mL) 中。用二氯甲烷洗涤水层两次, 除去有机层。用 5M 盐酸将水层调节至 pH4-5。从溶液中快速析出 (crash) 类白色 / 黄色固体。用碳酸钾将 pH 值调节至 8-9, 过滤收集黄色固体, 并空气干燥一小时。然后将其悬浮在最低量的乙腈中, 过滤, 并用最低量的乙腈冲洗。浓缩母液, 重复两次该过程, 得到白色粉末, 将其高真空干燥过夜, 获得标题化合物白色固体 (1.45g, 33%)。LC-ES/MS m/z 391.2 $[M+H]^+$, $T_R = 3.32\text{min}$ 。

[0284] 实施例 12 的替代合成法:

[0285] 制备例 27

[0286] (3-烯丙氧基-吡啶-2-基)-甲醇

[0287]



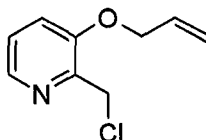
[0288] 在氮气氛围中, 将羟基-2-((羟甲基)盐酸吡啶) (50g, 339.6mmol) 和甲醇 (250mL) 合并, 并冷却至 22℃。向大力搅拌的混合物中加入 4.5M 甲醇钠 / MeOH (170.8mL,

747.2mmol)。在室温下搅拌混合物 2 小时,而后蒸发溶剂。将得到的物质溶于 DMSO (250mL) 中,加入烯丙基溴 (41g, 339.6mmol),并在室温下搅拌混合物 18 小时。将反应混合物加入到水 (800mL) 中,用二氯甲烷 (3×80mL) 提取。将有机部分合并,用硫酸钠干燥,过滤,蒸发溶剂,得到标题化合物 (34.4g, 62%)。LC-ES/MS m/z 166.1 $[M+H]^+$ 。

[0289] 制备例 28

[0290] 3-烯丙氧基-2-氯甲基-吡啶

[0291]

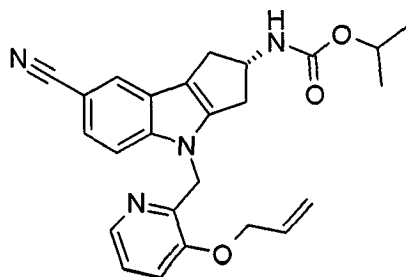


[0292] 在氮气氛围中,将 (3-烯丙氧基-吡啶-2-基)-甲醇 (34g, 205.8mmol) 溶于二氯甲烷 (340mL) 中,并在 22℃ 加入三乙胺 (34.4mL, 247mmol)。将混合物在水浴中加热至室温,加入甲磺酰氯 (16.7mL, 216mmol),同时保持温度低于 30℃。在室温下搅拌反应过夜。加入水 (500mL),搅拌混合物 10 分钟。分离有机部分,用饱和 NaHCO_3 溶液 (100mL) 洗涤。用硫酸钠干燥有机部分,过滤,蒸发溶剂。将得到的残余物真空干燥至恒重,得到标题化合物 (29g, 79%)。LC-ES/MS m/z :184.6 $[M+H]^+$ 。

[0293] 制备例 29

[0294] [(S)-4-(3-烯丙氧基-吡啶-2-基甲基)-7-氰基-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并 [b] 吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯

[0295]

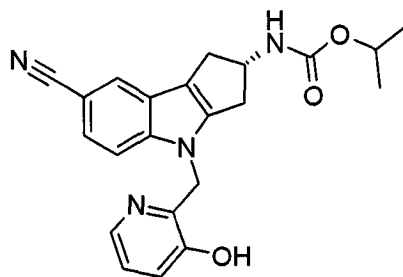


[0296] 在氮气氛围中,将 ((S)-7-氰基-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并 [b] 吡啶-2-基)-氨基甲酸异丙酯 (25g, 88.2mmol) 溶于二甲基甲酰胺 (150mL) 中。顺序加入碳酸铯 (57.5g, 176.5mmol) 和 3-烯丙氧基-2-氯甲基-吡啶 (16.2g, 88.2mmol)。将反应混合物在 40℃ 搅拌 16 小时。将反应冷却至室温,并加入到水 (1250mL) 中。搅拌一小时之后,将淡乳色固体过滤。通过用 *i*-PrOH 重结晶将粗品纯化,而后真空干燥至恒重,得到标题化合物 (32g; 84%)。LC-ES/MS m/z :431.2 $[M+H]^+$ 。

[0297] 实施例 12a

[0298] [(S)-7-氰基-4-(3-羟基-吡啶-2-基甲基)-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并 [b] 吡啶-2-基]-氨基甲酸异丙酯

[0299]



[0300] 将 [(S)-4-(3-烯丙氧基-吡啶-2-基甲基)-7-氰基-1,2,3,4-四氢-环戊二烯并[b]吲哚-2-基]-氨基甲酸异丙酯 (40g, 87.3mmol) 和 1,4-二噁烷 (400mL) 合并, 并通过鼓入氮气一小时来将混合物脱气。然后加入三乙胺 (24.4mL, 174.7mmol) 和甲酸 (6.60mL, 174.7), 并在氮气氛围中、在 80℃ 加热混合物。加入四(三苯基膦)钯 (1.02g, 0.87mmol), 同时保持氮气氛。将反应在 80℃ 加热 3 小时, 而后冷却至室温。将反应物通过硅藻土垫过滤。蒸发滤液, 真空干燥粗品, 得到褐色固体。将固体溶于 NMP (100mL) 中, 而后加入到水 (1.2L) 中。过滤收集淡乳色固体, 真空干燥过夜, 得到 41g 粗品。通过用乙腈中重结晶将物质纯化, 而后真空干燥至恒重, 得到标题化合物 (29.5g, 86%)。LC-ES/MS m/z : 391.1 $[M+H]^+$ 。

[0001]

序列表

<110> 伊莱利利公司

<120> 四氢环戊烯并[b]吲哚雄激素受体调节剂

<130> X-17700

<160> 3

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构造

<400> 1

ccggaaccct tgcgttt

17

<210> 2

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构造

<400> 2

cagactgtgg gcttcagagt ca

22

<210> 3

<211> 14

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构造

[0002]

<400> 3

cccgtaaagg gcct

14