



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103153970 A

(43) 申请公布日 2013.06.12

(21) 申请号 201180029282.2

(22) 申请日 2011.04.13

(30) 优先权数据

61/324,678 2010.04.15 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012.12.13

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2011/055855 2011.04.13

(87) PCT申请的公布数据

W02011/128388 EN 2011.10.20

(71) 申请人 诺瓦提斯公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 P·A·巴尔桑蒂 Y·丁 W·韩

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 贾士聪 黄革生

(51) Int. Cl.

C07D 263/32 (2006.01)

C07D 277/28 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 417/12 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

A61K 31/421 (2006.01)

A61K 31/422 (2006.01)

A61K 31/426 (2006.01)

A61K 31/427 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

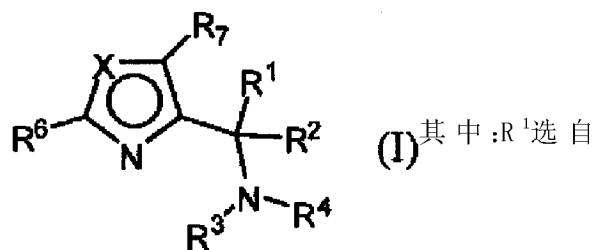
权利要求书4页 说明书49页

(54) 发明名称

作为 KSP 抑制剂的噁唑和噻唑化合物

(57) 摘要

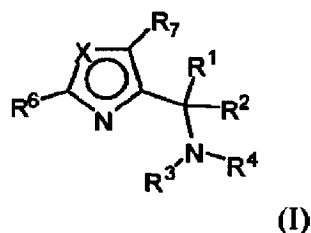
本申请公开了式 (I) 的被取代的噁唑和噻唑化合物或其药学上可接受的盐,



烷基、支链烷基和被取代的烷基; R²选自氢、烷基和被取代的烷基; R³选自 -L¹-A¹, 其中 L¹选自 -C(O)-、-C(S)-、-S(O)- 和 -S(O)₂- 且 A¹选自烷基、被取代的烷基、烷氧基、被取代的烷氧基、芳基、被取代的芳基、杂芳基、被取代的杂芳基、环烷基、被取代的环烷基、杂环烷基、被取代的杂环烷基和 NR⁸R⁹; R⁴选自氢、烷基、被取代的烷基、链烯基、被取代的链烯基、炔基和被取代的炔基, 以及任选被取代的吡咯烷基; 或者 R³和 R⁴与它们所键合的氮原子一起形成其中任选地一个碳环原子选自 O、S 或 NR¹¹的 5 至 7 元的杂环烷基或被取代的杂环烷基; X 是 O 或 S; R⁶选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基, 它们都可以任选被 -(R¹⁰)_m取代,

其中 R¹⁰如本文所定义, m 是 1、2、3 或 4, 并且当 m 是 2、3 或 4 时, 各 R¹⁰可以相同或不同; R⁷是 -L²-A², 其中 L²是 C₁-C₅亚烷基且 A²选自芳基、被取代的芳基、杂芳基、被取代的杂芳基、环烷基、被取代的环烷基、杂环烷基和被取代的杂环烷基。式 (I) 的化合物可用于治疗 KSP 介导的疾病, 包括癌症。

1. 式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐：



其中：

R^1 选自烷基、支链烷基和被取代的烷基；

R^2 选自氢、烷基和被取代的烷基；

R^3 选自 $-L^1-A^1$ ，其中 L^1 选自 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-S(O)-$ 和 $-S(O)_2-$ 且 A^1 选自烷基、被取代的烷基、烷氧基、被取代的烷氧基、芳基、被取代的芳基、杂芳基、被取代的杂芳基、环烷基、被取代的环烷基、杂环烷基、被取代的杂环烷基和 NR^8R^9 ；

R^4 选自氢、烷基、被取代的烷基、链烯基、被取代的链烯基、炔基和被取代的炔基，以及任选被取代的吡咯烷基；

或者 R^3 和 R^4 与它们所键合的氮原子一起形成其中任选地一个碳环原子选自 O、S 或 NR^{11} 的 5 至 7 元的杂环烷基或被取代的杂环烷基；

X 是 O 或 S；

R^6 选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基，它们都可以任选被 $-(R^{10})_m$ 取代，其中 R^{10} 如本文所定义，m 是 1、2、3 或 4，并且当 m 是 2、3 或 4 时，各 R^{10} 可以相同或不同；

R^7 是 $-L^2-A^2$ ，其中 L^2 是 C_1-C_5 亚烷基且 A^2 选自芳基、被取代的芳基、杂芳基、被取代的杂芳基、环烷基、被取代的环烷基、杂环烷基和被取代的杂环烷基，条件是 R^7 不与 X 相连；

R^8 选自氢和烷基；

R^9 选自氢、羟基、烷基、被取代的烷基、芳基、被取代的芳基、杂芳基、被取代的杂芳基、环烷基、被取代的环烷基、杂环烷基和被取代的杂环烷基；

或者 R^8 和 R^9 与它们所连接的氮原子一起形成杂环烷基或被取代的杂环烷基；

R^{10} 选自氰基、烷基、被取代的烷基、链烯基、被取代的链烯基、炔基、被取代的炔基、 $-CF_3$ 、烷氧基、被取代的烷氧基、卤素和羟基；且

R^{11} 选自氢、烷基、被取代的烷基、 $-SO_2$ 烷基和 $-SO_2$ 被取代的烷基。

2. 权利要求 1 的化合物，其中 R^1 是烷基。

3. 权利要求 2 的化合物，其中 R^2 是 C_{1-4} 烷基或 H。

4. 权利要求 3 的化合物，其中 R^2 是 H。

5. 权利要求 4 的化合物，其中 R^1 是异 - 丙基或叔 - 丁基。

6. 权利要求 5 的化合物，其中 R^3 选自 $-L^1-A^1$ ，其中 L^1 选自 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-S(O)-$ 和 $-S(O)_2-$ 且 A^1 选自烷基、被取代的烷基。

7. 权利要求 6 的化合物，其中 R^3 选自 $-L^1-A^1$ ，其中 L^1 是 $-C(O)-$ 且 A^1 是被取代的烷基。

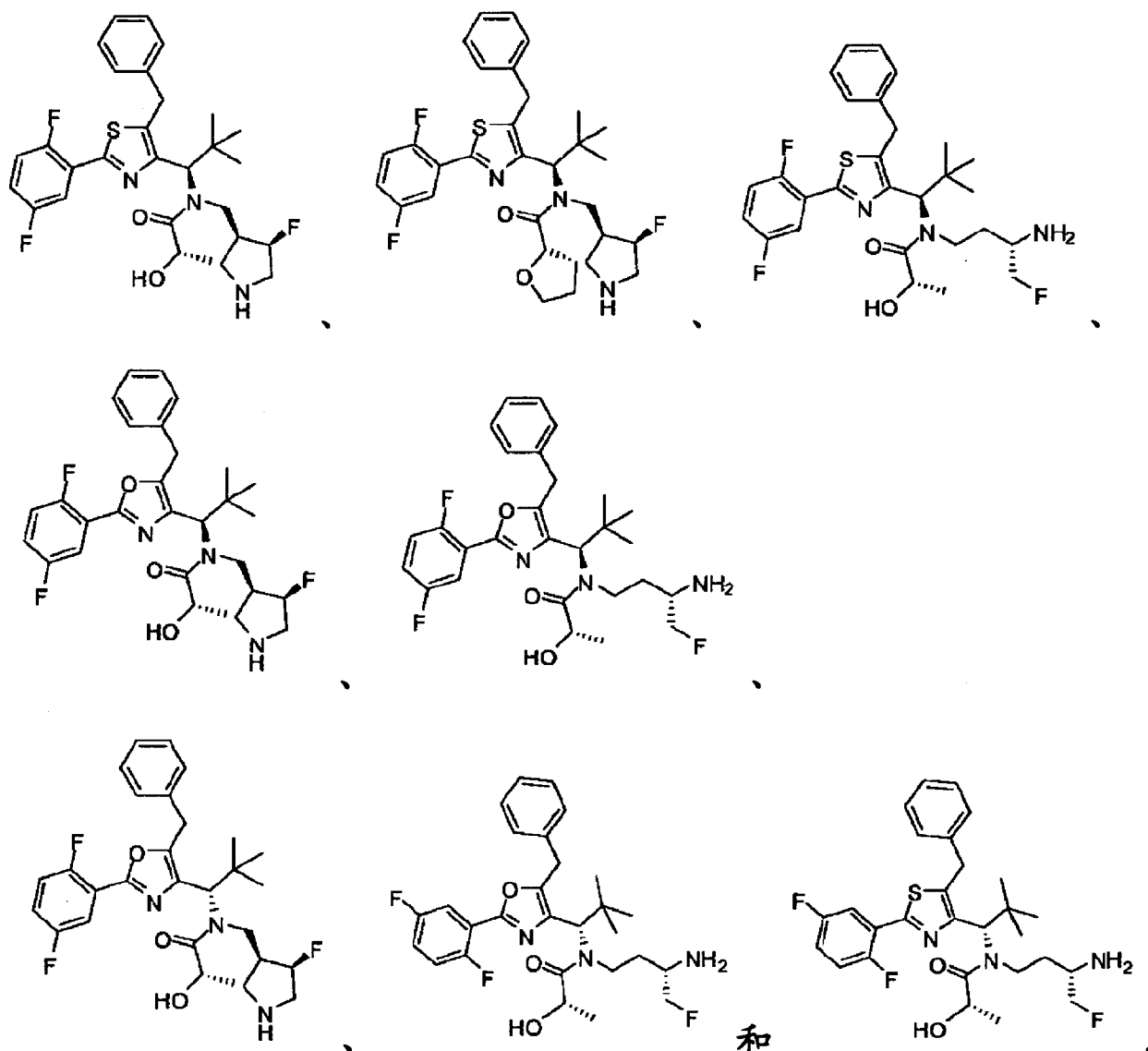
8. 权利要求 7 的化合物，其中 R^4 选自氢、烷基和被取代的烷基。

9. 权利要求 8 的化合物，其中 R^4 是被取代的烷基 $-CH_2-$ 氟吡咯烷基。

10. 权利要求 9 的化合物，其中 R^3 选自 $-L^1-A^1$ ，其中 L^1 是 $-C(O)-$ 且 A^1 是 $-CH(CH_3)OH$ 。

11. 权利要求 10 的化合物，其中 R^4 是 $-(CH_2)_2-CH(CH_2F)NH_2$ 或 $-CH_2-3-$ 氟吡咯烷基。

12. 权利要求 11 的化合物, 其中 R^6 选自芳基和杂芳基, 它们都任选被 $-(R^{10})_m$ 取代, 其中 R^{10} 如上文所定义, m 是 1、2、3 或 4, 并且当 m 是 2、3 或 4 时, 各 R^{10} 可以相同或不同; 且 R^7 是 $-L^2-A^2$, 其中 L^2 是 C_1-C_2 亚烷基且 A^2 选自芳基和杂芳基。
13. 权利要求 12 的化合物, 其中 R^6 表示被两个 R^{10} 基团取代的芳基。
14. 权利要求 12 的化合物, 其中 R^6 表示被两个氟原子取代的苯基。
15. 权利要求 13 的化合物, 其中 R^7 表示 $-\text{CH}_2-$ 芳基。
16. 权利要求 14 的化合物, 其中 R^7 表示 $-\text{CH}_2-$ 苯基且 R^6 表示 1,4-二氟-苯基。
17. 式 I 的化合物, 其选自



18. 药物组合物, 其包含治疗有效量的权利要求 1 的化合物和药学上可接受的载体。
19. 权利要求 18 的组合物, 其进一步包含至少一种另外的用于治疗癌症的药物。
20. 权利要求 19 的组合物, 其中所述的另外的用于治疗癌症的药物选自伊立替康、拓扑替康、吉西他滨、伊马替尼、曲妥珠单抗、5-氟尿嘧啶、亚叶酸、卡铂、顺铂、多西他赛、紫杉醇、替扎他滨、环磷酰胺、长春花生物碱、蒽环化合物、利妥昔单抗和曲妥珠单抗。
21. 治疗哺乳动物患者的至少部分由 KSP 介导的障碍的方法, 其包括给需要该类治疗的哺乳动物患者施用治疗有效量的权利要求 1 的化合物或权利要求 18 的组合物。

22. 权利要求 21 的方法,其中所述障碍是细胞增殖性疾病。

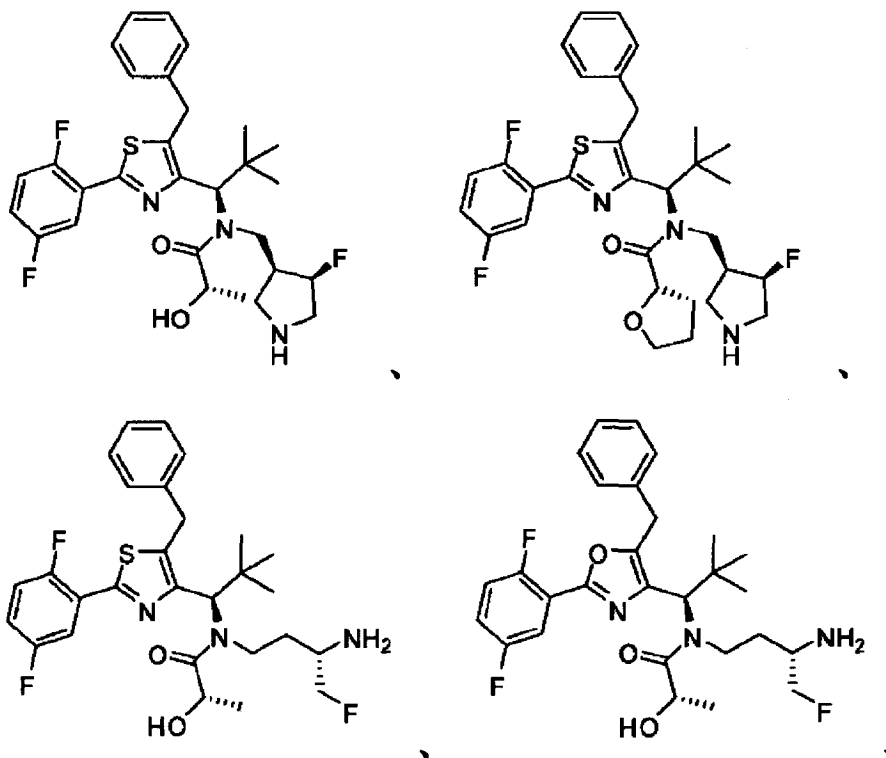
23. 权利要求 22 的方法,其中所述细胞增殖性疾病是癌症。

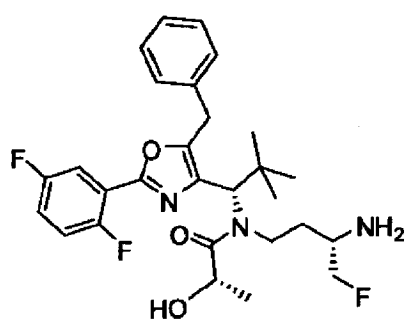
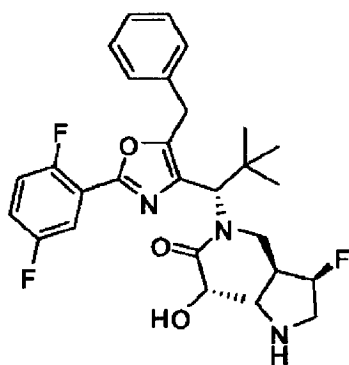
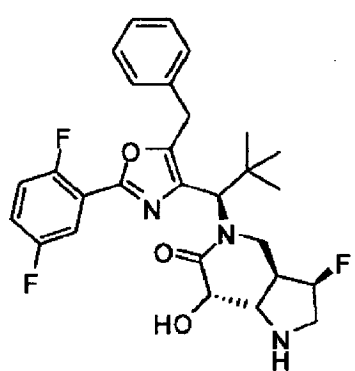
24. 权利要求 23 的方法,其中所述癌症选自肺和支气管癌;前列腺癌;乳癌;胰腺癌;结肠和直肠癌;甲状腺癌;胃癌;肝和肝内胆管癌;肾和肾盂癌;膀胱癌;子宫体癌;宫颈癌;卵巢癌;多发性骨髓瘤;食道癌;急性骨髓性粒细胞白血病;慢性骨髓性粒细胞白血病;淋巴细胞白血病;髓性白血病;脑癌;口腔和咽癌;喉癌;小肠癌;非霍奇金淋巴瘤;黑色素瘤;和绒毛状结肠腺瘤。

25. 权利要求 19 的方法,其中所述的另外的用于治疗癌症的药物选自伊立替康、拓扑替康、吉西他滨、伊马替尼、曲妥珠单抗、5-氟尿嘧啶、亚叶酸、卡铂、顺铂、多西他赛、紫杉醇、替扎他滨、环磷酰胺、长春花生物碱、蒽环化合物、利妥昔单抗和曲妥珠单抗。

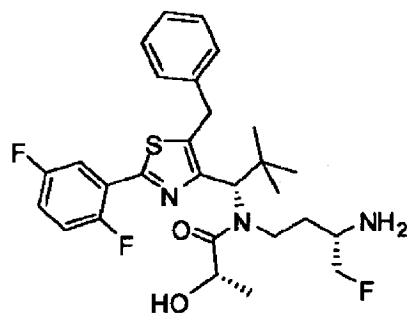
26. 抑制哺乳动物患者的 KSP 驱动蛋白的方法,其中所述方法包括给患者施用抑制 KSP 有效量的权利要求 1 的化合物。

27. 权利要求 1 的化合物,其选自:





和



。

作为 KSP 抑制剂的噁唑和噻唑化合物

技术领域

[0001] 概括而言,本发明涉及噁唑和噻唑化合物以及其药学上可接受的盐、酯或前药。本发明还涉及所述化合物与药学上可接受的载体的组合物、所述化合物的用途、它们的制备以及相关的中间体。

[0002] 本领域现状

[0003] 驱动蛋白是用腺苷三磷酸来结合微管并产生机械力的动力蛋白。驱动蛋白的特征在于具有约 350 个氨基酸残基的动力结构域。已经对多种驱动蛋白动力结构域的晶体结构进行了解析。

[0004] 目前,已经鉴定了约一百种与驱动蛋白有关的蛋白(KRP)。驱动蛋白参与许多细胞生物学过程,包括细胞器和囊泡的运输以及内质网的维持。多种 KRP 与有丝分裂纺锤体的微管或直接与染色体相互作用,似乎在细胞周期的有丝分裂阶段过程中起关键作用。这些有丝分裂的 KRP 是癌症治疗剂的开发中特别感兴趣的。

[0005] 驱动蛋白纺锤体蛋白(KSP)(也被称为 Eg5、HsEg5、KNSL1 或 KIF11)是局限于有丝分裂纺锤体上的若干种驱动蛋白样动力蛋白中的一种,已知是双极有丝分裂纺锤体的形成和/或功能所需的。

[0006] 在 1995 年,表明使用定向对抗 KSP 的 C-末端的抗体消耗 KSP 抑制具有单星微管排列的处于有丝分裂中的 HeLa 细胞(Blangy 等人,Cell 83:1159-1169,1995)。bimC 和 cut7 基因(其被认为是 KSP 的同系物)中的突变造成了在构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)(Enos, A. P. 和 N. R. Morris, Cell 60:1019-1027,1990)和粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)(Hagan, I. 和 M. Yanagida, Nature 347:563-566,1990)中的中心体分离失败。用 ATRA(全反式-视黄酸)(其降低蛋白水平上的 KSP 表达)或使用反义寡核苷酸进行的 KSP 消耗处理细胞显示了对 DAN-G 胰腺癌细胞显著的生长抑制,这表明 KSP 可能参与全反式-视黄酸的抗增殖作用(Kaiser, A. 等人, J. Biol. Chem. 274, 18925-18931,1999)。有趣的是,表明非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)Aurora-相关蛋白激酶 pEg2 结合并磷酸化 XlEg5(Giet, R. 等人, J. Biol. Chem. 274:15005-15013,1999)。Aurora-相关激酶的潜在底物是癌症药物开发中特别感兴趣的。例如,在结肠癌患者中,Aurora 1 和 2 激酶在蛋白和 RNA 水平上被过表达并且基因被扩增。

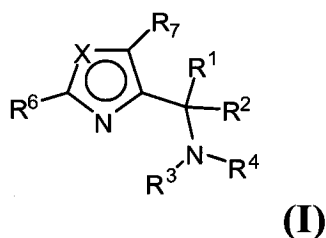
[0007] 已经表明第一个细胞渗透性的小分子 KSP 抑制剂“莫那匹尔(monastrol)”与常规化疗剂如紫杉烷类和长春花生物碱一样,在不影响微管聚合的情况下抑制具有单极纺锤体的细胞(Mayer, T. U. 等人, Science 286:971-974,1999)。莫那匹尔在以表型为基础的筛选中被鉴定为抑制剂并且表明这种化合物可用作抗癌药物开发的先导。已经确定这种抑制作用在腺苷三磷酸方面不是竞争性的并且是迅速可逆的(DeBonis, S. 等人, Biochemistry, 42:338-349,2003; Kapoor, T. M. 等人, J. Cell Biol., 150:975-988,2000)。

[0008] 由于改善的化疗剂的重要性,需要为 KSP 和 KSP-相关蛋白的有效的体内抑制剂的 KSP 抑制剂。

[0009] 发明概述

[0010] 在一个实施方案中,本发明涉及被取代的噁唑和噻唑化合物以及其药学上可接受的盐、酯或前药、它们的制备、药物组合物和用于治疗 KSP 介导的疾病的用途,其中所述化合物如式 (I) 所示:

[0011]



[0012] 其中:

[0013] R^1 选自烷基、支链烷基和被取代的烷基;

[0014] R^2 选自氢、烷基和被取代的烷基;

[0015] R^3 选自 $-L^1-A^1$, 其中 L^1 选自 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-S(O)-$ 和 $-S(O)_2-$ 且 A^1 选自烷基、被取代的烷基、烷氧基、被取代的烷氧基、芳基、被取代的芳基、杂芳基、被取代的杂芳基、环烷基、被取代的环烷基、杂环烷基、被取代的杂环烷基和 NR^8R^9 ;

[0016] R^4 选自氢、烷基、被取代的烷基、链烯基、被取代的链烯基、炔基和被取代的炔基, 以及任选被取代的吡咯烷基;

[0017] 或者 R^3 和 R^4 与它们所键合的氮原子一起形成其中任选地一个碳环原子选自 O、S 或 NR^{11} 的 5 至 7 元的杂环烷基或被取代的杂环烷基;

[0018] X 是 O 或 S;

[0019] R^6 选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基, 它们都可以任选被 $-(R^{10})_m$ 取代, 其中 R^{10} 如本文所定义, m 是 1、2、3 或 4, 并且当 m 是 2、3 或 4 时, 各 R^{10} 可以相同或不同;

[0020] R^7 是 $-L^2-A^2$, 其中 L^2 是 C_1-C_5 亚烷基且 A^2 选自芳基、被取代的芳基、杂芳基、被取代的杂芳基、环烷基、被取代的环烷基、杂环烷基和被取代的杂环烷基, 条件是 R^7 不与 X 相连;

[0021] R^8 选自氢和烷基;

[0022] R^9 选自氢、羟基、烷基、被取代的烷基、芳基、被取代的芳基、杂芳基、被取代的杂芳基、环烷基、被取代的环烷基、杂环烷基和被取代的杂环烷基;

[0023] 或者 R^8 和 R^9 与它们所连接的氮原子一起形成杂环烷基或被取代的杂环烷基;

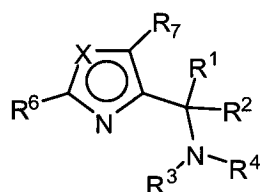
[0024] R^{10} 选自氰基、烷基、被取代的烷基、链烯基、被取代的链烯基、炔基、被取代的炔基、 $-CF_3$ 、烷氧基、被取代的烷氧基、卤素和羟基; 且

[0025] R^{11} 选自氢、烷基、被取代的烷基、 $-SO_2$ 烷基和 $-SO_2$ 被取代的烷基。

[0026] 发明详述

[0027] 本发明的化合物包括式 (I) 的那些化合物或其药学上可接受的盐、酯或前药;

[0028]



(式 I)

[0029] 其中：

[0030] R^1 选自烷基、支链烷基和被取代的烷基；

[0031] R^2 选自氢、烷基和被取代的烷基；

[0032] R^3 选自 $-L^1-A^1$ ，其中 L^1 选自 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-S(O)-$ 和 $-S(O)_2-$ 且 A^1 选自烷基、被取代的烷基、烷氧基、被取代的烷氧基、芳基、被取代的芳基、杂芳基、被取代的杂芳基、环烷基、被取代的环烷基、杂环烷基、被取代的杂环烷基和 NR^8R^9 ；

[0033] R^4 选自氢、烷基、被取代的烷基、链烯基、被取代的链烯基、炔基和被取代的炔基，以及任选被取代的吡咯烷基；

[0034] 或者 R^3 和 R^4 与它们所键合的氮原子一起形成其中任选地一个碳环原子选自 O、S 或 NR^{11} 的 5 至 7 元的杂环烷基或被取代的杂环烷基；

[0035] X 是 O 或 S；

[0036] R^6 选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基，它们都可任选被 $-(R^{10})_m$ 取代，其中 R^{10} 如本文所定义，m 是 1、2、3 或 4，并且当 m 是 2、3 或 4 时，各 R^{10} 可以相同或不同；

[0037] R^7 是 $-L^2-A^2$ ，其中 L^2 是 C_1-C_5 亚烷基且 A^2 选自芳基、被取代的芳基、杂芳基、被取代的杂芳基、环烷基、被取代的环烷基、杂环烷基和被取代的杂环烷基，条件是 R^7 不与 X 相连；

[0038] R^8 选自氢和烷基；

[0039] R^9 选自氢、羟基、烷基、被取代的烷基、芳基、被取代的芳基、杂芳基、被取代的杂芳基、环烷基、被取代的环烷基、杂环烷基和被取代的杂环烷基；

[0040] 或者 R^8 和 R^9 与它们所连接的氮原子一起形成杂环烷基或被取代的杂环烷基；

[0041] R^{10} 选自氰基、烷基、被取代的烷基、链烯基、被取代的链烯基、炔基、被取代的炔基、 $-CF_3$ 、烷氧基、被取代的烷氧基、卤素和羟基；且

[0042] R^{11} 选自氢、烷基、被取代的烷基、 $-SO_2$ 烷基和 $-SO_2$ 被取代的烷基。

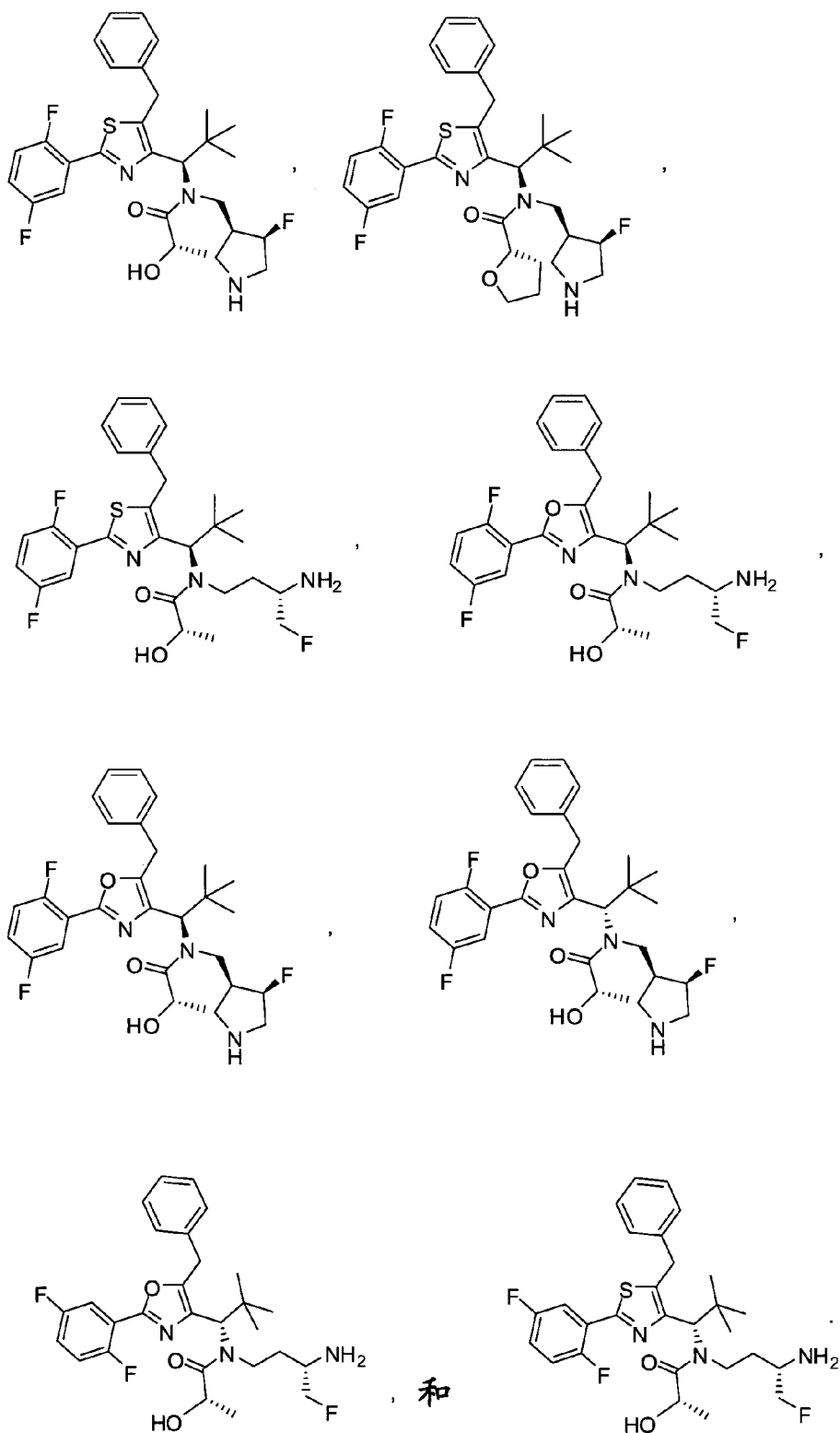
[0043] 一个优选的实施方案提供了其中 R^1 是烷基的式 I 的化合物。另一个优选的实施方案提供了其中 R^2 是 C_{1-4} 烷基或 H、进一步优选是 H 的式 I 的化合物。另一个实施方案提供了其中 R^1 是异-丙基或叔-丁基的式 I 的化合物。在另一个实施方案中提供了其中 R^3 选自 $-L^1-A^1$ 的式 I 的化合物，其中 L^1 选自 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-S(O)-$ 和 $-S(O)_2-$ 且 A^1 选自烷基、被取代的烷基。另一个优选的实施方案提供了其中 R^3 选自 $-L^1-A^1$ 的式 I 的化合物，其中 L^1 是 $-C(O)-$ 且 A^1 是被取代的烷基。

[0044] 本发明的另一个实施方案提供了式 I 的化合物，其中 R^4 选自氢、烷基和被取代的烷基， R^4 优选地是被取代的烷基 $-CH_2-$ 氟吡咯烷基。在另一个实施方案中提供了式 I 的化合物，其中 R^3 选自 $-L^1-A^1$ ，其中 L^1 是 $-C(O)-$ 且 A^1 是 $-CH(CH_3)OH$ 。另一个实施方案提供了式 I 的化合物，其中 R^4 是一 $(CH_2)_2-CH(CH_2F)NH_2$ 或 $-CH_2-3-$ 氟吡咯烷基。另一个优选的实施方案提供了式 I 的化合物，其中 R^6 选自芳基和杂芳基，它们都可任选被 $-(R^{10})_m$ 取代，其

中 R^{10} 如上文所定义, m 是 1、2、3 或 4, 并且当 m 是 2、3 或 4 时, 各 R^{10} 可以相同或不同; 且 R^7 是 $-L^2-A^2$, 其中 L^2 是 C_1-C_2 亚烷基, A^2 选自芳基和杂芳基。该实施方案优选地提供了式 I 的化合物, 其中 R^6 表示被两个 R^{10} 基团取代的芳基, 并且进一步优选的是 R^6 表示被两个氟原子取代的苯基。

[0045] 本发明的另一个实施方案提供了式 I 的化合物, 其中 R^7 表示 $-CH_2-$ 芳基, R^7 优选地表示 $-CH_2-$ 苯基, 且 R^6 表示 1,4-二氟-苯基。特别优选的式 I 化合物选自:

[0046]



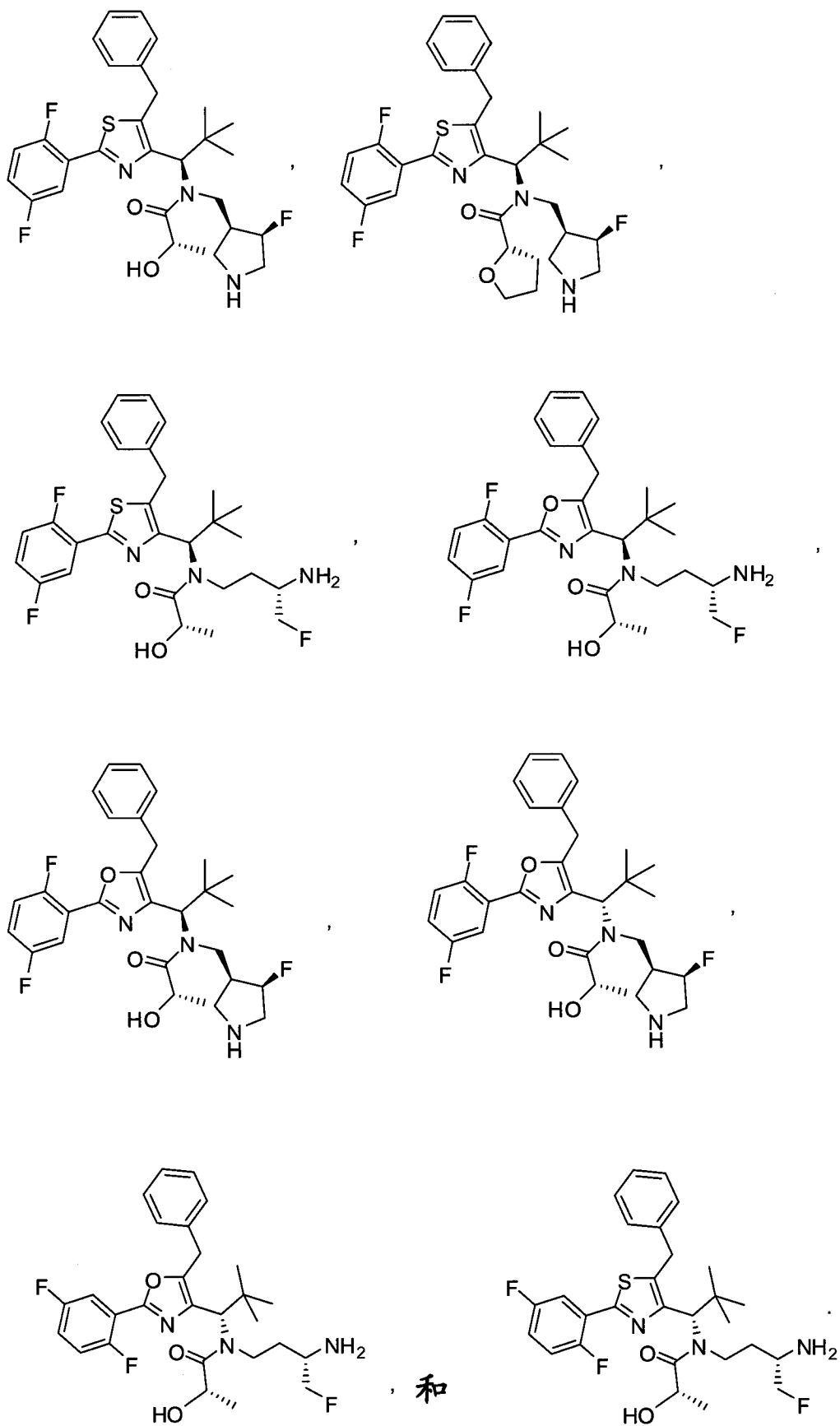
[0047] 本发明的另一个方面提供了一种药物组合物,其包含治疗有效量的式 I 的化合物和药学上可接受的载体。该实施方案的一个优选的方面提供了一种组合物,其进一步包含至少一种另外的用于治疗癌症的药物。优选的是所述另外的用于治疗癌症的药物选自伊立替康、拓扑替康、吉西他滨、伊马替尼、曲妥珠单抗、5- 氟尿嘧啶、亚叶酸、卡铂、顺铂、多西他赛、紫杉醇、替扎他滨 (tezacitabine)、环磷酰胺、长春花生物碱、蒽环化合物、利妥昔单抗和曲妥珠单抗。

[0048] 本发明的另一个方面提供了一种治疗哺乳动物患者的至少部分由 KSP 介导的障碍的方法,其包括给需要该类治疗的哺乳动物患者施用治疗有效量的包含治疗有效量的式 I 化合物的组合物。在本发明的该方面的一个优选的实施方案中,其中所治疗的障碍是细胞增殖性疾病,特别是其中所述的细胞增殖性疾病是癌症。本发明的该方面的另一个优选的实施方案提供了一种方法,其中所述的癌症选自肺和支气管癌;前列腺癌;乳腺癌;胰腺癌;结肠和直肠癌;甲状腺癌;胃癌;肝和肝内胆管癌;肾和肾盂癌;膀胱癌;子宫体 (uterine corpus) 癌;宫颈癌;卵巢癌;多发性骨髓瘤;食道癌;急性骨髓性粒细胞白血病;慢性骨髓性粒细胞白血病;淋巴细胞白血病;髓性白血病;脑癌;口腔和咽癌;喉癌;小肠癌;非霍奇金淋巴瘤;黑素瘤;和绒毛状结肠腺瘤 (villous colon adenoma)。

[0049] 本发明的另一个方面提供了一种治疗哺乳动物患者的至少部分由 KSP 介导的障碍的方法,其包括给需要该类治疗的哺乳动物患者施用治疗有效量的包含治疗有效量的式 I 化合物和另外的药物的组合物。该方面的一个优选的实施方案提供了一种方法,其中所述的另外的用于治疗癌症的药物选自伊立替康、拓扑替康、吉西他滨、伊马替尼、曲妥珠单抗、5-氟尿嘧啶、亚叶酸、卡铂、顺铂、多西他赛、紫杉醇、替扎他滨、环磷酰胺、长春花生物碱、蒽环化合物、利妥昔单抗和曲妥珠单抗。

[0050] 本发明的另一个方面还提供了一种抑制哺乳动物患的 KSP 驱动蛋白的方法,其中所述方法包括给患者施用抑制 KSP 有效量的式 I 化合物。该方面的一个优选的实施方案所提供的式 I 化合物选自:

[0051]



[0052] 本发明的代表性化合物

[0053] 在实验部分的表 1 和 2 中对本发明范围内的具体化合物进行了举例说明。

[0054] B. 定义和概述

[0055] 如上面所讨论的那样,本发明部分涉及新的被取代的噁唑和噻唑化合物。

[0056] 应当理解的是,本文所用的术语仅仅是为了对特定的实施方案进行描述,并不是要对本发明的范围进行限制。必需注意的是,如在本文和权利要求书中所用的那样,除非上下文清楚地另外说明,否则单数形式也包括复数含义。在本说明书和后面的权利要求书中,将涉及到许多术语,其应被定义为具有下面的含义:

[0057] 本文所用的“烷基”是指具有 1 至 6 个碳原子、更优选 1 至 3 个碳原子的单价的饱和脂族烃基。该术语的实例有例如甲基、乙基、正-丙基、异-丙基、正-丁基、叔-丁基、正-戊基等基团。

[0058] “被取代的烷基”是指具有 1 至 3 个、优选 1 至 2 个取代基的烷基,所述取代基选自烷氧基、被取代的烷氧基、酰基、酰基氨基、酰基氧基、氨基、被取代的氨基、氨基酰基、芳基、被取代的芳基、芳基氧基、被取代的芳基氧基、氰基、卤素、羟基、硝基、羧基、羧基酯、环烷基、被取代的环烷基、螺环烷基、杂芳基、被取代的杂芳基、杂环基、被取代的杂环基、 $-\text{SO}_2-$ 烷基和 $-\text{SO}_2-$ 被取代的烷基。

[0059] “亚烷基”是指具有 1 至 5 个、更优选 1 至 3 个碳原子的二价的直链或支链的饱和脂族烃基。该术语的实例有例如亚甲基 ($-\text{CH}_2-$)、亚乙基 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、亚正丙基 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、亚异丙基 ($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$) 或 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$) 等基团。

[0060] “烷氧基”是指基团“烷基-O-”,其包括例如甲氧基、乙氧基、正-丙氧基、异-丙氧基、正-丁氧基、叔-丁氧基、仲-丁氧基、正-戊氧基等。

[0061] “被取代的烷氧基”是指基团“被取代的烷基-O-”。

[0062] “链烯基”是指具有 2 至 6 个碳原子、优选 2 至 4 个碳原子且具有至少一个、优选 1 至 2 个链烯基不饱和部位的链烯基。该类基团的实例有乙烯基、烯丙基、丁-3-烯-1-基等。

[0063] “被取代的链烯基”是指具有 1 至 3 个、优选 1 至 2 个取代基的链烯基,所述取代基选自烷氧基、被取代的烷氧基、酰基、酰基氨基、酰基氧基、氨基、被取代的氨基、氨基酰基、芳基、被取代的芳基、芳基氧基、被取代的芳基氧基、氰基、卤素、羟基、硝基、羧基、羧基酯、环烷基、被取代的环烷基、杂芳基、被取代的杂芳基、杂环基和被取代的杂环基,条件是任何羟基取代均不与乙烯基(不饱和的)碳原子相连。

[0064] “氨基”是指基团 $-\text{NH}_2$ 。

[0065] “氰基”是指基团 $-\text{CN}$ 。

[0066] “被取代的氨基”是指基团 $-\text{NR}'\text{R}''$,其中 R' 和 R'' 独立地选自氢、烷基、被取代的烷基、链烯基、被取代的链烯基、炔基、被取代的炔基、芳基、被取代的芳基、环烷基、被取代的环烷基、杂芳基、被取代的杂芳基、杂环基、被取代的杂环基、 $-\text{SO}_2-$ 烷基、 $-\text{SO}_2-$ 被取代的烷基,以及其中 R' 和 R'' 与它们所键合的氮一起形成杂环基或被取代的杂环基,条件是 R' 和 R'' 不都是氢。当 R' 是氢且 R'' 是烷基时,被取代的氨基在本文中有时被称为烷基氨基。当 R' 和 R'' 是烷基时,被取代的氨基在本文中有时被称为二烷基氨基。当提及单取代的氨基时,意指 R' 或 R'' 是氢,但不都是氢。当提及二取代的氨基时,意指 R' 或 R'' 都不是氢。

[0067] “硝基”是指基团 $-\text{NO}_2$ 。

[0068] “芳基”或“Ar”是指具有一个单环(例如苯基)或多个稠合的环(例如萘基或蒽基)的 6 至 14 个碳原子的单价的芳族碳环基团,其中所述的稠合的环可以是芳族的或不是

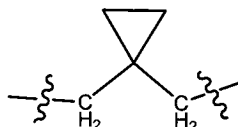
芳族的（例如，2- 苯并噁唑啉酮、2H-1,4- 苯并噁嗪-3(4H)- 酮-7- 基等），条件是连接点是芳族碳原子。优选的芳基包括苯基和萘基。

[0069] “被取代的芳基”是指被 1 至 3 个取代基、优选 1 至 2 个取代基取代的芳基，所述取代基选自羟基、酰基、酰基氨基、酰基氧基、烷基、被取代的烷基、烷氧基、被取代的烷氧基、链烯基、被取代的链烯基、炔基、被取代的炔基、氨基、被取代的氨基、氨基酰基、芳基、被取代的芳基、芳基氧基、被取代的芳基氧基、羧基、羧基酯、氰基、硫羟基 (thiol)、烷基硫基、被取代的烷基硫基、芳基硫基、被取代的芳基硫基、杂芳基硫基、被取代的杂芳基硫基、环烷基硫基、被取代的环烷基硫基、杂环基硫基、被取代的杂环基硫基、环烷基、被取代的环烷基、卤素、硝基、杂芳基、被取代的杂芳基、杂环基、被取代的杂环基、杂芳基氧基、被取代的杂芳基氧基、杂环基氧基、被取代的杂环基氧基、氨基磺酰基 ($\text{NH}_2\text{-SO}_2\text{-}$) 和被取代的氨基磺酰基。

[0070] “羧基”是指 -COOH 或其盐。

[0071] “环烷基”是指具有一个或多个环的 3 至 10 个碳原子的环状烷基，包括例如金刚烷基、环丙基、环丁基、环戊基、环辛基等。

[0072]



[0073] “被取代的环烷基”是指具有 1 至 5 个取代基的环烷基，所述取代基选自烷基、被取代的烷基、氧代基 ($=\text{O}$)、硫代基 ($=\text{S}$)、烷氧基、被取代的烷氧基、酰基、酰基氨基、酰基氧基、氨基、被取代的氨基、氨基酰基、芳基、被取代的芳基、芳基氧基、被取代的芳基氧基、氰基、卤素、羟基、硝基、羧基、羧基酯、环烷基、被取代的环烷基、杂芳基、被取代的杂芳基、杂环基、被取代的杂环基、 $\text{-SO}_2\text{-}$ 烷基和 $\text{-SO}_2\text{-}$ 环烷基。

[0074] “卤代”或“卤素”是指氟、氯、溴和碘，优选是氟或氯。

[0075] “羟基”是指基团 -OH 。

[0076] “杂芳基”是指在环内有 1 至 10 个碳原子和 1 至 4 个选自氧、氮和硫的杂原子的芳族基团。所述杂芳基可具有一个单环（例如，吡啶基或呋喃基）或多个稠合的环（例如，吲哚基或苯并噻吩基），其中稠合的环可以是或不是芳族的和 / 或可以含有或不含有杂原子，条件是连接点是芳族杂芳基的原子。在一个实施方案中，所述杂芳基的氮和 / 或硫环原子任选被氧化，从而提供 N- 氧化物 ($\text{N} \rightarrow \text{O}$)、亚磺酰基或磺酰基部分。优选的杂芳基包括吡啶基、吡咯基、吲哚基、噻吩基和呋喃基。

[0077] “被取代的杂芳基”是指被 1 至 3 个取代基取代的杂芳基，所述取代基选自与针对被取代的芳基所定义的取代基相同的取代基。

[0078] “含氮的杂芳基”和“含氮的被取代的杂芳基”是指包含至少一个氮环原子并任选包含其它非氮杂环原子如硫、氧等的杂芳基和被取代的杂芳基。

[0079] “杂环”或“杂环的”或“杂环烷基”或“杂环基”是指在环中具有 1 至 10 个碳原子和 1 至 4 个选自氮、硫或氧的杂原子的具有一个单环或多个稠合环的饱和的或不饱和的（但不是芳族的）基团，包括稠合的桥连和螺环环系，其中，在稠合环系中，一个或多个环可以是环烷基、芳基或杂芳基，条件是连接点是杂环。在一个实施方案中，杂环基的氮和 / 或

硫原子任选被氧化,从而提供 N-氧化物、亚磺酰基和磺酰基部分。

[0080] “被取代的杂环”或“被取代的杂环烷基”或“被取代的杂环基”是指被 1 至 3 个取代基取代的杂环基,所述取代基是与针对被取代的环烷基所定义的取代基相同的取代基。

[0081] 杂环基和杂芳基的实例包括但不限于氮杂环丁烷、吡咯、咪唑、吡唑、**噁唑**、**异噁唑**、吡啶、吡嗪、嘧啶、哒嗪、吡嗪、异吡嗪、吡嗪、二氢吡嗪、吡嗪、嘌呤、喹啉、异喹啉、喹啉、酞嗪、萘基吡啶、喹啉、喹啉、喹啉、蝶啶、呋唑、呋啉、菲啶、吡啶、菲啉、异噁唑、吩嗪、**异噁唑**、吩**噁**嗪、吩噁嗪、咪唑烷、咪唑啉、哌啶、哌嗪、二氢吡嗪、苯邻二甲酰亚胺、1,2,3,4-四氢异喹啉、4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩、噻唑、噻唑烷、噻吩、苯并[b]噻吩、吗啉基、硫代吗啉基(thiomorpholinyl)(也称为硫杂吗啉基(thiamorpholinyl))、1,1-二氧化硫代吗啉基、哌啶基、吡咯烷、四氢呋喃基等。

[0082] “含氮的杂环基”和“含氮的被取代的杂环基”是指包含至少一个氮环原子并且任选包含其它非氮杂环原子如硫、氧等的杂环基和被取代的杂环基。

[0083] 本文所用的“生物学活性”是指当在实施例 9-11 中任意一个所述的测定法的至少一个中进行测试时和如其至少一个实例所定义的抑制浓度。

[0084] 本文所用的术语“药学上可接受的盐”是指式(I)化合物的无毒的酸或碱土金属盐。这些盐可以在式(I)化合物的最终分离和纯化过程中原位制备,或者可以通过分别使碱或酸官能团与合适的有机或无机酸或碱反应来独立地制备。代表性的盐包括但不限于下面的盐:乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、柠檬酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、二葡萄糖酸盐(digluconate)、环戊烷丙酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、半-硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、富马酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、烟酸盐、2-萘磺酸盐、草酸盐、扑酸盐、果胶酯酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对-甲苯磺酸盐和十一烷酸盐。也可以用诸如烷基卤化物如甲基、乙基、丙基和丁基氯、溴和碘;二烷基硫酸酯如二甲基、二乙基、二丁基和二戊基硫酸酯、长链卤化物如癸基、月桂基、肉豆蔻基和硬脂基氯、溴和碘、芳烷基卤化物如苄基和苯乙基溴等来将碱性含氮的基团季铵化。由此获得水或油可溶或可分散的产物。

[0085] 可用于形成药学上可接受的酸加成盐的酸的实例包括无机酸如盐酸、硫酸和磷酸以及有机酸如草酸、马来酸、甲磺酸、琥珀酸和柠檬酸。碱加成盐可以在式(I)化合物的最终分离和纯化过程中原位制备,或者可以通过使羧酸部分与合适的碱如药学上可接受的金属阳离子的氢氧化物、碳酸盐或碳酸氢盐或者与氨或有机伯、仲或叔胺反应来独立地制备。药学上可接受的盐包括但不限于以下列物质为基础的盐:碱金属和碱土金属的阳离子如钠、锂、钾、钙、镁、铝等,以及铵、季铵和胺阳离子,包括但不限于铵、四甲基铵、四乙基铵、甲基胺、二甲基胺、三甲基胺、三乙基胺、乙基胺等。可用于形成碱加成盐的其它代表性的有机胺包括二乙基胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪等。

[0086] 本文所用的术语“药学上可接受的酯”是指在体内水解的酯,包括在人体内分解释放出母体化合物、其盐或药学活性代谢物的那些。合适的酯基团包括例如衍生自药学上可接受的脂族羧酸、特别是链烷酸、链烯酸、环烷酸和链烷二酸的那些,其中各烷基或链烯基部分有利地具有不超过 6 个碳原子。具体酯的代表性实例包括但不限于甲酸酯、乙酸酯、丙酸酯、丁酸酯、丙烯酸酯和乙基琥珀酸酯。

[0087] 本文所用的术语“药学上可接受的前药”是指在合理医学判断范围内适于与人和更低级的动物的组织接触并且没有过度的毒性、刺激性、变态反应等、具有合理的益处/风险比并且对其预期用途而言有效的本发明的化合物的那些前药,以及在可能的情况下本发明的化合物的两性离子形式。术语“前药”是指在体内迅速转化、例如通过在血液中水解而进行转化、从而生成上式的母体化合物或药学活性代谢物的化合物。在 T. Higuchi 和 V. Stella, 作为新型递送系统的前药 (Pro-drugs as Novel Delivery Systems), A. C. S. Symposium Series 的第 14 卷中和在 Edward B. Roche 编辑, 药物设计中的生物可逆性载体 (Bioreversible Carriers in Drug Design), American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987 中提供了讨论, 将二者均通过引用合并入本文。

[0088] 本文所用的“抗癌药”或“用于治疗癌症的药物”是指活性剂, 其包括例如诱导细胞凋亡的活性剂; 多核苷酸 (例如, 核酶); 多肽 (例如, 酶); 药物; 生物学拟似物 (biological mimetics); 生物碱; 烷化剂; 抗肿瘤抗生素; 抗代谢物; 激素; 铂化合物; 与抗癌药联合的单克隆抗体、毒素和 / 或放射性核素; 生物反应调节物 (例如干扰素和白介素等); 过继免疫治疗剂; 造血系统生长因子; 诱导肿瘤细胞分化的活性剂 (例如全 - 反式 - 视黄酸等); 基因治疗试剂; 反义治疗试剂和核苷酸; 肿瘤疫苗; 血管生成的抑制剂等。许多其它活性剂也在本领域技术人员技能范围内。

[0089] 应当理解的是, 在上文所定义的所有被取代的基团中, 本文不包括通过用进一步的取代基来定义取代基本身所获得的聚合物。在该类情况中, 该类取代基的最大数目是三。例如, 具有两个被另外取代的芳基的被取代的芳基的系列取代限于 - 被取代的芳基 - (被取代的芳基) - 被取代的芳基。

[0090] 类似地, 应当理解的是, 上面的定义不包括不可行的取代方式 (例如, 被 5 个氟基团取代的甲基或位于烯或炔不饱和度的 α 位的羟基)。该类不可行的取代方式是本领域技术人员众所周知的。

[0091] 由于在化合物中存在一个或多个不对称中心或手性中心, 本发明的化合物可表现出立体异构现象。本发明包括各种立体异构体及其混合物。除非另外指明了特定立体中心的立体化学, 否则对式 (I)、(Ia)-(Ie)、(II) 和 (IIa)-(IIb) 的化合物的描绘包括其立体异构体。本发明的某些化合物包含被不对称取代的碳原子。该类被不对称取代的碳原子可导致本发明的化合物包括在不对称取代的特定碳原子上的立体异构体的混合物或单一的立体异构体。因此, 本发明包括本发明的化合物的外消旋混合物、非对映体混合物、单个对映体以及单个非对映体。本文所用的术语“S”和“R”构型如 IUPAC 1974 “Recommendations for Section E, Fundamental Stereochemistry,” Pure Appl. Chem. 45:13-30, 1976 中所定义。所需的对映体可用本领域技术人员众所周知的方法通过手性合成由可商业获得的手性起始材料获得, 或者可以通过用已知技术分离所需的对映体由对映体的混合物获得。

[0092] 本发明的化合物还可表现出几何异构现象。几何异构体包括具有链烯基或亚链烯基 (alkenylenyl) 部分的本发明化合物的顺式和反式形式。本发明包括各几何异构体和立体异构体及其混合物。

[0093] C. 化合物的制备

[0094] 本发明的化合物可以用下面的通用方法和操作由容易获得的起始材料来制备。除非另有说明, 否则起始材料是可商购获得的并且是本领域众所周知的。应当理解的是, 在给

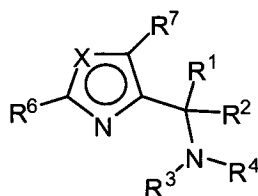
出典型或优选方法条件（即，反应温度、时间、反应物的摩尔比、溶剂、压力）的情况下，除非另有说明，否则也可使用其它方法条件。最佳反应条件可随所用的具体反应物或溶剂而改变，但是，本领域技术人员可以用常规优化操作确定该类条件。

[0095] 另外，如对本领域技术人员来说显而易见的那样，可能需要用常规的保护基来阻止某些官能团发生不希望的反应。用于各种官能团的合适的保护基以及用于对特定官能团进行保护和去保护的合适的条件是本领域众所周知的。例如，在 T. W. Greene 和 P. G. M. Wuts, Protecting Groups in Organic Synthesis, 第二版, Wiley, 纽约, 1991 以及其中引用的参考文献中描述了许多保护基。

[0096] 此外，本发明的化合物可含有一个或多个手性中心。因此，如果需要，该类化合物可以以纯立体异构体形式的形式、即以各对映体或非对映体的形式或者以立体异构体富集的混合物形式被制备或分离。除非另有说明，否则所有该类立体异构体（和富集的混合物）都包括在本发明的范围内。纯的立体异构体（或富集的混合物）可以使用例如本领域众所周知的旋光活性的起始材料或立体有择性试剂来制备。或者，可以使用例如手性柱色谱、手性拆分剂等对该类化合物的外消旋混合物进行分离。

[0097] 在一个实施方案中，提供了一种制备其中 X 是 O 的式 (I) 化合物的方法：

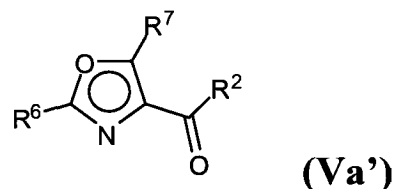
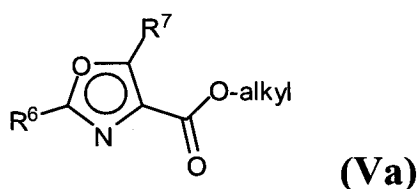
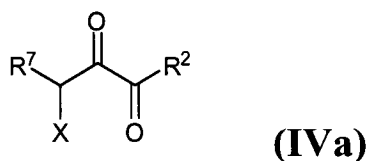
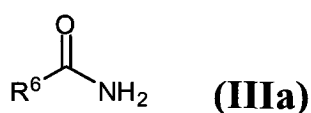
[0098]



[0099] 该方法包括：

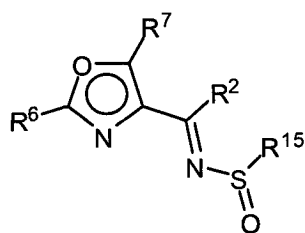
[0100] a) 将式 (IIIa) 的化合物与式 (IVa) 的化合物一起加热，从而形成式 (Va) 的化合物，其中 R⁶ 和 R⁷ 如前面所定义且 X 是卤素。

[0101]



[0102] b) 使式 (Va) 的化合物在还原条件下反应，然后在氧化条件下反应，从而得到式 (Va') 的化合物，其中 R² 如前面所定义。

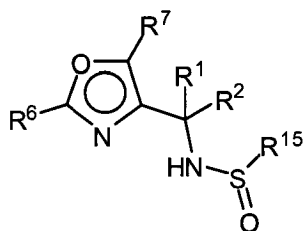
[0103]



(VIa)

[0104] c) 使式 (Va') 的化合物与亚磺酰胺 (手性或外消旋的) 反应, 从而形成式 (VIa) 的化合物, 其中 R^{15} 是烷基 (被取代的) 或芳基 (被取代的)。

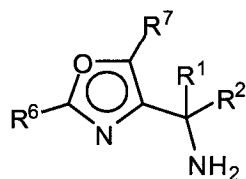
[0105]



(VIIa)

[0106] d) 使式 (VIa) 的化合物与金属化的 R^1 反应, 从而形成式 (VIIa) 的化合物, 其中 R^1 如前面所定义。

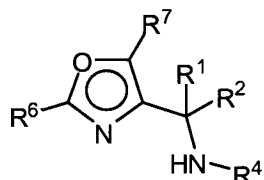
[0107]



(VIIIa)

[0108] e) 在酸性条件下处理式 (VIIa) 的化合物, 从而形成式 (VIIIa) 的化合物。

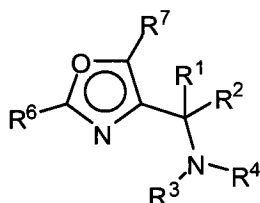
[0109]



(IXa)

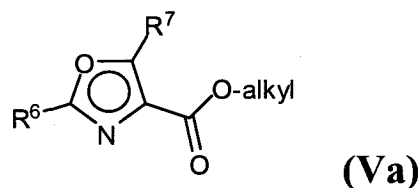
[0110] f) 使式 (VIIIa) 的化合物与 R^4-X^4 在偶联条件下反应或者与 $R^{4a}CHO$ 在还原性胺化条件下反应, 其中 R^4 如前面所定义, $R^{4a}CH_2-$ 是 R^4 且 X^4 是离去基团, 从而形成式 (IXa) 的化合物。

[0111]



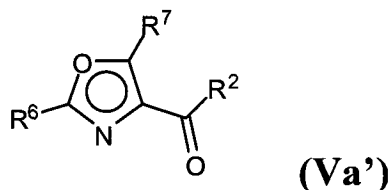
[0112] g) 使式 (IXa) 的化合物与 R^3-X^3 在偶联条件下反应, 其中 R^3 如前面所定义且 X^3 是离去基团, 从而形成其中 X 是 O 的式 (I) 的化合物。

[0113]



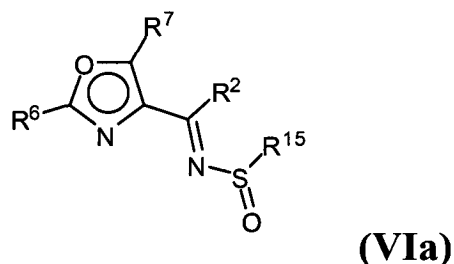
[0114] 在一个实施方案中,提供了一种通过使 (IIIa) 与 (IVa) 在高温 (100°C) 下反应来制备式 (Va) 化合物的方法。在实施例 4 的步骤 A 中给出了用于形成其中 R⁶ 是 2,5-二氟苄基且 R⁷ 是苄基的 (IVa) 的该方法的一个实例。

[0115]



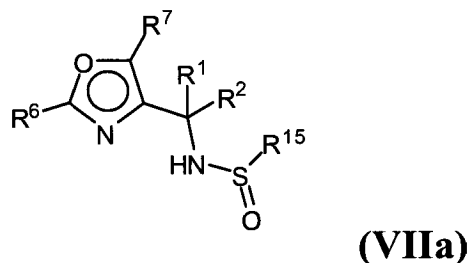
[0116] 在另一个实施方案中,提供了一种由式 (Va) 的化合物制备式 (Va') 的化合物的方法。在实施例 4 的步骤 B 和步骤 C 中给出了用于形成其中 R⁶ 是 2,5-二氟苄基、R⁷ 是苄基且 R² 是氢的 (Va') 的该方法的一个实例。

[0117]



[0118] 在一个实施方案中,提供了一种通过使 (Va') 与烷基或芳基亚磺酰胺反应来制备式 (VIa) 的化合物的方法。用外消旋的叔-丁基亚磺酰胺来获得 (VIa) 的外消旋混合物。可以用 Ellman 手性叔-丁基亚磺酰胺来进行手性诱导,得到手性的 (VIa)。在实施例 4 的步骤 D 中给出了形成其中 R⁶ 是 2,5-二氟苄基、R⁷ 是苄基、R¹⁵ 是叔-丁基且 R² 是氢的 (VIa) 的该方法的一个实例。

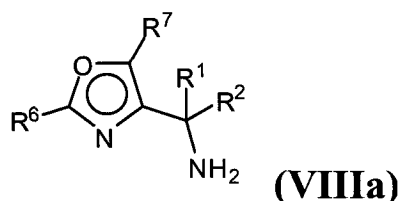
[0119]



[0120] 在一个实施方案中,提供了一种通过使 (VIa) 与金属化的烷基反应来制备式 (VIIa) 的化合物的方法。用烷基锂由外消旋的 (VIa) 获得 (VIIa) 的外消旋混合物。可以使手性的 (VIa) 与烷基锂反应,产生手性的 (VIIa)。该类条件包括使用极性溶剂如四氢呋喃。该反应是在低温 (-78°C) 下在无水条件下进行的。在实施例 4 的步骤 E 中给出了形成其中 R⁶ 是 2,5-二氟苄基、R⁷ 是苄基、R⁴ 和 R¹⁵ 是叔-丁基且 R² 是氢的 (VIIa) 的该方法的

一个实例。

[0121]

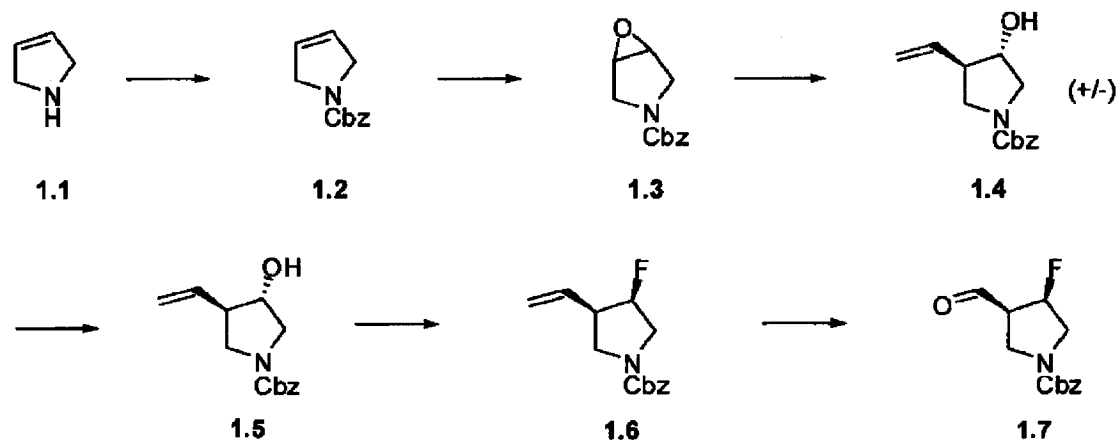


[0122] 在另一个实施方案中,提供了一种通过用去保护条件处理式 (VIIa) 的化合物来制备式 (VIIIa) 的中间体化合物的方法。在一个方面,当 R^{15} 是叔-丁基亚磺酰基时,通过用酸性条件处理如用盐酸处理来除去保护基。在实施例 4 的步骤 F 中给出了该去保护的一个实例。

[0123] 在一个实施方案中,提供了一种制备醛中间体 $R^{4a}CHO$ 的方法,其中 R^4 和 R^{4a} 如前面所定义。

[0124] 流程图 1

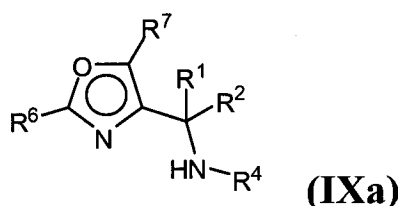
[0125]



[0126] 流程图 1 阐释了醛 1.7 的制备,其可用在还原性胺化步骤中以制备式 I 的化合物,特别是其中 $X = O, S$ 的式 I 的化合物。用 Cbz 基团对环状胺 1.1 进行保护,从而得到化合物 1.2。由化合物 1.2 的 MCPBA 环氧化作用得到环氧化物 1.3。通过使环氧化物与乙烯基溴化镁在存在溴化铜的情况下反应,得到醇 1.4 的外消旋混合物。通过手性柱色谱得到单一对映体形式的醇 1.5。使醇 1.5 经受氟化条件,得到乙烯基氟吡咯烷 1.6。随后,使乙烯基氟吡咯烷 1.6 经历二羟基化 (dihydroxylation)/氧化裂解,从而得到醛 1.7。在实施例 1 的步骤 H 至 L 中给出了该方法的一个实例。

[0127] 在另一个实施方案中,提供了一种制备式 (IXa) 的中间体化合物的方法:

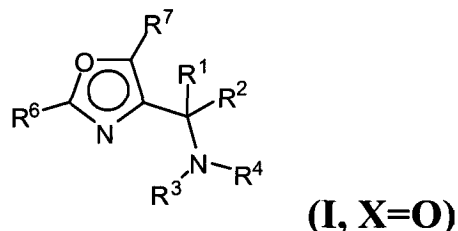
[0128]



[0129] 使式 (VIIIa) 的化合物与其中 R^4 和 R^{4a} 如前面所定义的 $R^{4a}CHO$ 在还原性胺化条件

下反应,从而形成式 (IXa) 的化合物。合适的还原性胺化条件包括将 (VIIIa) 与还原剂预混合,然后加入醛 $R^{4a}CHO$,或者使 (VIIIa) 与醛 $R^{4a}CHO$ 反应,然后加入还原剂。在一些方面,溶剂是氯化化合物如二氯甲烷,还原剂是硼氢化物如三乙酰氧基硼氢化物。在实施例 4 的步骤 G 中给出了该类修饰的一个实例。

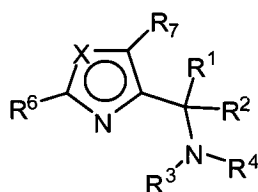
[0130]



[0131] 在另一个实施方案中,提供了一种通过使式 (IXa) 的化合物在合适的偶联条件下与其中 R^3 如前面所定义且 X^3 是离去基团如卤素原子的 R^3-X^3 反应来制备其中 X 是 O 的式 (I) 化合物的方法。在一些方面, R^3-X^3 是酰基卤化物,该反应在存在有机碱如三乙胺的情况下进行。在实施例 4 的步骤 H 中给出了该类修饰的一个实例。

[0132] 另一个实施方案提供了一种制备其中 X 是 S 的式 (I) 化合物的方法:

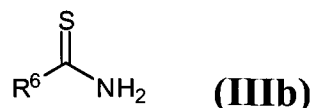
[0133]



[0134] 该方法包括:

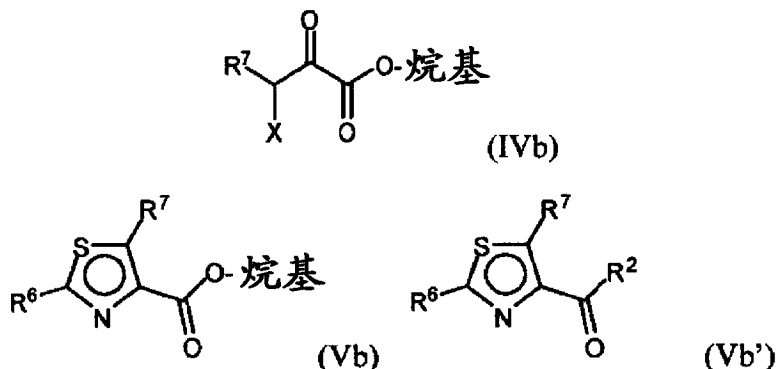
[0135] a) 通过与其中 R^6 如前面所定义的 Lawesson 试剂反应将式 (IIIa) 的化合物转化成式 (IIIb) 的化合物。

[0136]



[0137] b) 将式 (IIIb) 的化合物与式 (IVb) 的化合物一起加热,从而形成式 (Vb) 的化合物,其中 R^7 如前面所定义且 X 是卤素。

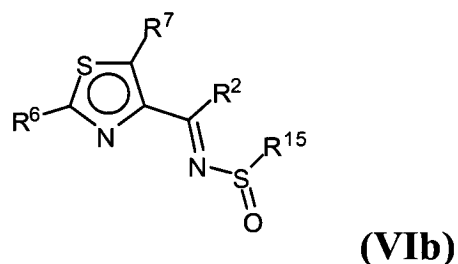
[0138]



[0139] c) 使式 (Vb) 的化合物在还原条件下反应,然后在氧化条件下反应,从而得到式

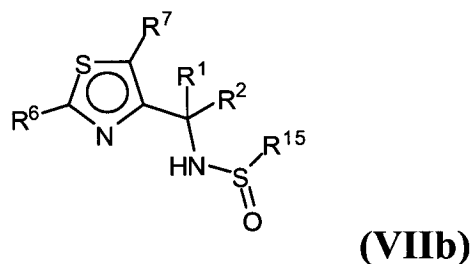
(Vb') 的化合物, 其中 R^2 如前面所定义。

[0140]



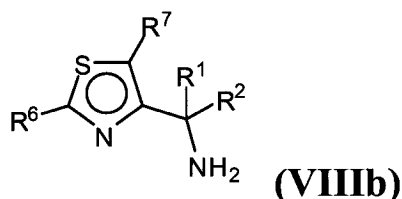
[0141] d) 使式 (Vb') 的化合物与亚磺酰胺 (手性或外消旋的) 反应, 从而形成式 (VIb) 的化合物, 其中 R^{15} 是烷基 (被取代的) 或芳基 (被取代的)。

[0142]



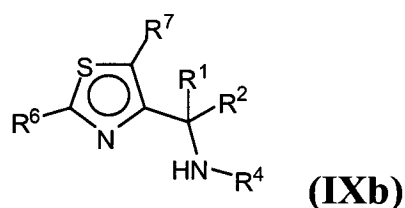
[0143] e) 使式 (VIb) 的化合物与金属化的 R^1 反应, 从而形成式 (VIIb) 的化合物, 其中 R^1 如前面所定义。

[0144]



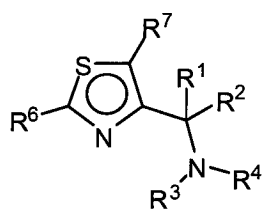
[0145] f) 在酸性条件下处理式 (VIIIb) 的化合物, 从而形成式 (VIIIb) 的化合物。

[0146]



[0147] g) 使式 (VIIIb) 的化合物与 R^4-X^4 在偶联条件下反应或者与 $R^{4a}CHO$ 在还原性胺化条件下反应, 从而形成式 (IXb) 的化合物, 其中 R^4 如前面所定义, $R^{4a}CH_2-$ 是 R^4 且 X^4 是离去基团。

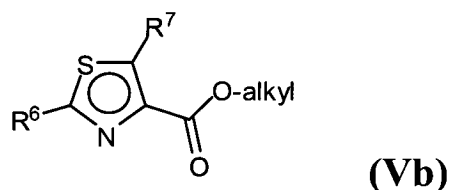
[0148]



[0149] h) 使式 (IXb) 的化合物与其中 R^3 如前面所定义且 X^3 是离去基团的 R^3-X^3 在偶联

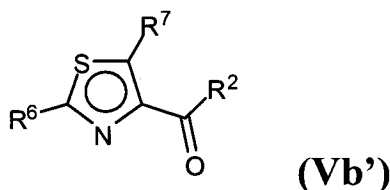
条件下反应,从而形成其中 X 是 S 的式 (I) 的化合物。

[0150]



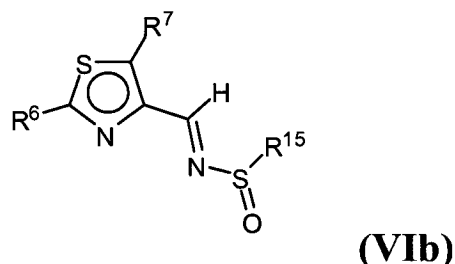
[0151] 在一个实施方案中,提供了一种通过使 (IIIb) 与 (IVb) 反应来制备式 (Vb) 的化合物的方法。在实施例 1 的步骤 B 中给出了形成其中 R⁶ 是 2,5-二氟苄基且 R⁷ 是苄基的 (IVb) 的该方法的一个实例。

[0152]



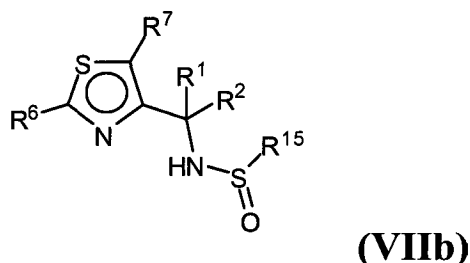
[0153] 在另一个实施方案中,提供了一种由 (Vb) 的化合物制备式 (Vb') 的化合物的方法。在实施例 1 的步骤 C 和步骤 D 中给出了形成其中 R⁶ 是 2,5-二氟苄基、R⁷ 是苄基且 R² 是氢的 (Vb') 的该方法的一个实例。

[0154]



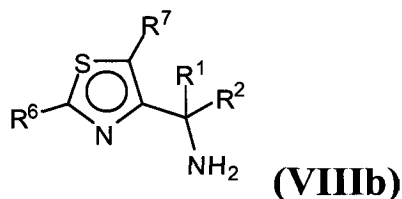
[0155] 在一个实施方案中,提供了一种通过使 (Vb') 与烷基或芳基亚磺酰胺反应来制备式 (VIb) 的化合物的方法。可以用外消旋的叔-丁基亚磺酰胺来获得 (VIb) 的外消旋混合物。用 Ellman 手性叔-丁基亚磺酰胺进行手性诱导,从而得到手性的 (VIb)。在实施例 1 的步骤 E 中给出了形成其中 R⁶ 是 2,5-二氟苄基、R⁷ 是苄基、R¹⁵ 是叔-丁基且 R² 是氢的 (VIb) 的该方法的一个实例。

[0156]



[0157] 在一个实施方案中,提供了一种通过使 (VIb) 与金属化的烷基反应来制备式 (VIIb) 的化合物的方法。用烷基锂由外消旋的 (VIb) 得到 (VIIb) 的外消旋混合物。可以使手性的 (VIb) 与烷基锂反应,从而得到手性的 (VIIb)。该类条件包括使用极性溶剂如四氢呋喃。该反应在低温 (-78°C) 下在无水条件下进行。在实施例 1 的步骤 F 中给出了形成

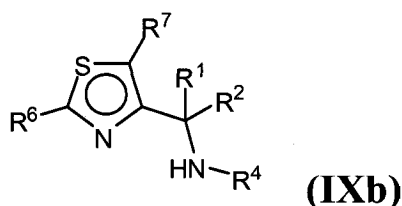
其中 R^6 是 2,5-二氟苄基、 R^7 是苄基、 R^4 和 R^{15} 是叔-丁基且 R^2 是氢的该方法的一个实例。
[0158]



[0159] 在另一个实施方案中,提供了一种通过用去保护条件处理式 (VIIb) 的化合物来制备式 (VIIIb) 的中间体化合物的方法。在一个方面,当 R^{15} 是叔-丁基亚磺酰基时,通过用酸性条件处理如用盐酸处理来除去保护基。在实施例 1 的步骤 G 中给出了该去保护的一个实例。

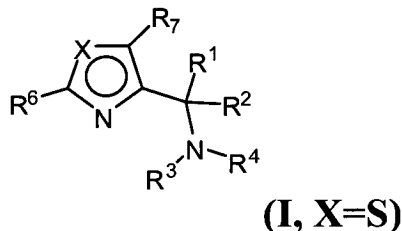
[0160] 在另一个实施方案中,提供了一种制备式 (IXb) 的中间体化合物的方法:

[0161]



[0162] 使式 (VIIIb) 的化合物与 $R^{4a}CHO$ 在还原性胺化条件下反应,其中 R^4 和 R^{4a} 如前面所定义,从而形成式 (IXb) 的化合物。合适的还原性胺化条件包括将 (VIIIb) 与还原剂预混,然后加入醛 $R^{4a}CHO$,或者使 (VIIIb) 与醛 $R^{4a}CHO$ 反应,然后加入还原剂。在一些方面,溶剂是氯化化合物如二氯甲烷,还原剂是硼氢化物如三乙酰氧基硼氢化物。在实施例 1 的步骤 N 中给出了该类修饰的一个实例。

[0163]



[0164] 在另一个实施方案中,提供了一种通过使式 (IXa) 的化合物在合适的偶联条件下与 R^3-X^3 反应来制备其中 X 是 S 的式 (I) 化合物的方法,其中 R^3 如前面所定义且 X^3 是离去基团如卤素原子。在一些方面, R^3-X^3 是酰基卤化物,该反应在存在有机碱如三乙胺的情况下进行。在实施例 1 的步骤 Q 中给出了该类修饰的一个实例。

[0165] D. 药物制剂

[0166] 当用作药物时,本发明的化合物通常以药物组合物的形式施用。这些组合物可通过各种途径施用,包括口服、胃肠外、透皮、局部、直肠和鼻内施用。这些化合物例如以可注射组合物和口服组合物的形式施用都是有效的。该类组合物是以药学领域众所周知的方式制备的并且包含至少一种活性化合物。

[0167] 本发明还包括含有作为活性成分的一种或多种上述本发明的化合物和药学上可接受的载体的药物组合物。在制备本发明的组合物时,通常将活性成分与赋形剂混合、用赋形剂稀释或用一些载体包封,所述载体可以为胶囊、小药囊、纸或其它容器的形式。所用的

赋形剂典型地是适于施用于人类个体或其它哺乳动物的赋形剂。当赋形剂用作稀释剂时，其可以是固体、半固体或液体物质，其可作为活性成分的基质、载体或介质。因此，该组合物可以为片剂、丸剂、散剂、锭剂、小药囊、扁囊剂、酏剂、混悬剂、乳剂、溶液、糖浆、气雾剂（固体形式或在液体介质中）、含有例如高达 10% 活性化合物的软膏、软和硬明胶胶囊、栓剂、可注射的无菌溶液、和无菌的包装粉末形式。

[0168] 在制备制剂中，可能需要在与其它成分混合前对活性化合物进行研磨以提供适宜的粒度。如果活性化合物基本不溶，则通常将其研磨至小于 200 目的粒度。如果活性化合物基本是水溶性的，则通常通过研磨调整粒度至例如约 40 目以使活性化合物在制剂中基本均匀分布。

[0169] 一些合适的赋形剂的实例包括乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、淀粉类物质、阿拉伯胶、磷酸钙、藻酸盐、西黄蓍胶、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、无菌水、糖浆和甲基纤维素。制剂还可包括：润滑剂如滑石粉、硬脂酸镁和矿物油；润湿剂；乳化剂和助悬剂；防腐剂如羟基苯甲酸甲酯和丙酯；甜味剂；和矫味剂。可以用本领域已知的操作对本发明的组合物进行配制从而使得在施用于患者后提供活性成分的迅速、持续或延迟释放。

[0170] 可以根据特定的应用、具体化合物的效力和所需的浓度来宽泛地改变或调整活性组分（即，本发明的化合物）在药物组合物及其单位剂型中的量。

[0171] 组合物优选被配制为单位剂型，每个剂量含有约 1 至约 500mg、通常约 5 至约 100mg、有时约 10 至约 30mg 的活性成分。术语“单位剂型”是指适合作为用于人类个体和其它哺乳动物的单元剂量的物理离散单位，每个单位含有经计算产生所需的治疗作用的预定量的活性物质以及合适的药物赋形剂。上文的本发明的化合物的用量优选不超过药物组合物的约 20% 重量，更优选不超过药物组合物的约 15% 重量，余量是药学上惰性的载体。

[0172] 活性化合物在宽的剂量范围内有效并且通常以药学有效量或治疗有效量施用。然而，应当理解的是，实际施用的化合物量将由医生根据相关情况决定，所述相关情况包括所治疗的病症、所治疗的病症的严重程度、所选择的施用途径、所施用的实际化合物、各患者的年龄、体重和响应、患者症状的严重程度等。

[0173] 在用于治疗或对抗哺乳动物的癌症的治疗应用中，所述化合物或其药物组合物将通过任何适宜的途径（如口服、局部、透皮和 / 或胃肠外）以在进行治疗的哺乳动物中获得和维持治疗有效的活性组分浓度（即量或血药水平）的剂量进行施用。一般而言，活性组分的剂量的该类治疗有效量（即，有效剂量）为约 0.1 至约 100、更优选约 1.0 至约 50mg/kg 体重 / 天。

[0174] 为了制备固体组合物如片剂，将主要的活性成分与药物赋形剂混合，从而形成一种含有本发明的化合物的均匀混合物的固体预配制组合物。当将这些预配制组合物称为均匀的时，意指活性成分在组合物中均匀分散，从而使得该组合物可被容易地再分成同样有效的单位剂型如片剂、丸剂和胶囊。然后，将该固体预配制物再分成含有例如 0.1 至约 500mg 本发明的活性成分的上述类型的单位剂型。

[0175] 可以对本发明的片剂或丸剂进行包衣或者其它复合操作，以提供一种具有延长的作用优点的剂型。例如，片剂或丸剂可包含内部剂量和外部剂量组分，后者是位于前者之上的包封物的形式。可以用肠溶层将两种组分分隔开，所述肠溶层用于抵抗在胃中的崩解和

允许内部组分完整地通过胃进入十二指肠或被延迟释放。该类肠溶层或包衣可使用许多材料,该类材料包括许多聚合物酸以及聚合物酸与诸如虫胶、鲸蜡醇和醋酸纤维素等材料的混合物。

[0176] 其中可掺入本发明的新化合物的用于口服施用或通过注射施用的液体形式包括水溶液、适当矫味的糖浆、水性或油性混悬剂和使用可食用的油如玉米油、棉子油、芝麻油、椰子油或花生油的进行了矫味的乳剂,以及酞剂和类似的药学介质。

[0177] 用于吸入或吹入的组合物包括位于药学上可接受的水性或有机溶剂或其混合物中的溶液和混悬剂以及散剂。液体或固体组合物可含有上文所述的合适的药学上可接受的赋形剂。所述组合物优选通过口或鼻呼吸途径施用以发挥局部或全身作用。可以用惰性气体雾化位于优选药学上可接受的溶剂中的组合物。雾化的溶液可以由雾化装置中被直接吸入,或者可以将雾化装置连接至面罩或间歇性正压呼吸机上。溶液、混悬剂或散剂组合物可由以适宜方式递送制剂的装置进行施用,优选口或鼻施用。

[0178] 下面的制剂实施例阐述了本发明的代表性药物组合物。

[0179] 制剂实施例 1

[0180] 制备含有下列成分的硬明胶胶囊:

[0181]

成分	量 (mg/胶囊)
活性成分	30.0
淀粉	305.0
硬脂酸镁	5.0

[0182] 将上面的成分混合并以 340mg 的量填充到硬明胶胶囊中。

[0183] 制剂实施例 2

[0184] 用下面的成分制备片剂:

[0185]

成分	量 (mg/片)
活性成分	25.0
微晶纤维素	200.0
胶态二氧化硅	10.0
硬脂酸	5.0

[0186] 将各组分混合并压成片剂,每片重 240mg。

[0187] 制剂实施例 3

[0188] 制备含有下列组分的干粉吸入制剂;

[0189] 成分 重量%

[0190] 活性 成分 5

[0191] 乳糖 95

[0192] 将活性成分与乳糖混合并将该混合物加入到干粉吸入器具中。

[0193] 制剂实施例 4

[0194] 如下制备片剂, 每片含有 30mg 活性成分:

[0195]

成分	量 (mg/片)
活性成分	30.0 mg
淀粉	45.0 mg
微晶纤维素	35.0 mg
聚乙烯吡咯烷酮 (10%无菌水溶液形式)	4.0 mg
羧甲基淀粉钠	4.5 mg
硬脂酸镁	0.5 mg
滑石粉	1.0 mg
总计	120 mg

[0196] 使活性成分、淀粉和纤维素过 20 目 U. S. 筛并充分混合。将聚乙烯吡咯烷酮溶液与所得的粉末混合, 然后, 使其通过 16 目 U. S. 筛。将由此制得的颗粒于 50C 至 60C 干燥并通过 16 目 U. S. 筛。然后, 向颗粒中加入预先用 30 目 U. S. 筛过筛的羧甲基淀粉钠、硬脂酸镁和滑石粉, 在混合后, 在压片机上压成片剂, 得到每片重 120mg 的片剂。

[0197] 制剂实施例 5

[0198] 如下制备胶囊, 每粒胶囊含有 40mg 药物:

[0199]

成分	量 (mg/胶囊)
活性成分	40.0 mg
淀粉	109.0 mg
硬脂酸镁	1.0 mg
总计	150.0 mg

[0200] 将活性成分、淀粉和硬脂酸镁混合, 通过 20 目 U. S. 筛, 以 150mg 的量填充到硬明胶胶囊中。

[0201] 制剂实施例 6

[0202] 如下制备栓剂, 每枚栓剂含有 25mg 活性成分:

[0203] 成分 量

- [0204] 活性成分 25mg
- [0205] 饱和脂肪酸甘油酯至 2,000mg
- [0206] 将活性成分过 60 目 U. S. 筛并混悬于预先用最小必需热量熔化的饱和脂肪酸甘油酯中。然后,将混合物倒入标示量为 2.0g 容量的栓剂模具中并使其冷却。
- [0207] 制剂实施例 7
- [0208] 如下制备混悬剂,所述混悬剂每 5.0mL 剂量含有 50mg 药物:
- [0209]

成分	量
活性成分	50.0 mg
黄原胶	4.0 mg
羧甲基纤维素钠(11%)/ 微晶纤维素(89%)	50.0 mg
蔗糖	1.75 g
苯甲酸钠	10.0 mg
矫味剂和色素	适量
纯化水至	5.0 mL

[0210] 将活性成分、蔗糖和黄原胶混合,过 10 目 U. S. 筛,然后与预先制备的微晶纤维素和羧甲基纤维素钠在水中的溶液混合。将苯甲酸钠、矫味剂和色素用一些水稀释并在搅拌下加入。然后加入足量的水至产生所需的体积。

[0211] 制剂实施例 8

[0212]

成分	量 (mg/胶囊)
活性成分	15.0 mg
淀粉	407.0 mg
硬脂酸镁	3.0 mg
总计	425.0 mg

[0213] 将活性成分、淀粉和硬脂酸镁混合,过 20 目 U. S. 筛,以 425.0mg 的量填充到硬明胶胶囊中。

[0214] 制剂实施例 9

[0215] 可如下制备皮下制剂:

- [0216] 成分 量
- [0217] 活性成分 5.0mg
- [0218] 玉米油 1.0mL

[0219] 制剂实施例 10

[0220] 可如下制备局部制剂：

[0221]

成分	量
活性成分	1-10 g
乳化蜡	30 g
液体石蜡	20 g
白软石蜡	至 100 g

[0222] 将白软石蜡加热至熔化。掺入液体石蜡和乳化蜡并搅拌至溶解。加入活性成分并继续搅拌至分散。然后将混合物冷却直至固化。

[0223] 制剂实施例 11

[0224] 静脉内制剂的一个说明性实例可如下制备：

[0225] 成分 量

[0226] 活性成分 250mg

[0227] 等张盐水 1000mL

[0228] 本发明的方法中使用的另一种优选的制剂使用透皮递送装置（“贴剂”）。该类透皮贴剂可用于以控制的量提供本发明的化合物的连续或不连续输入。用于递送药学活性剂的透皮贴剂的构建和应用在本领域中是众所周知的。参见例如于 1991 年 6 月 11 日授权的美国专利 5,023,252,通过引用将其合并入本文。该类贴剂可被构建用于药学活性剂的连续递送、脉冲递送或立即响应式 (on demand) 递送。

[0229] 常常希望或必需直接或间接将药物组合物引入到脑中。直接引入技术通常涉及向宿主的脑室系统中放置药物递送导管以避免血脑屏障。在美国专利 5,011,472 中描述了一种用于将生物因子运输到机体的特定解剖学区域的该类可植入递送系统,通过引用将其合并入本文。

[0230] 间接引入技术（其通常是优选的）通常涉及配制组合物以通过将亲水性药物转化成脂溶性药物而提供药物的潜伏化作用。潜伏化作用通常是通过掩蔽药物上存在的羟基、羰基、硫酸酯和伯胺基团以使药物脂溶性更大和更易通过血脑屏障转运来实现的。或者,可通过动脉内输入可短暂打开血脑屏障的高张溶液来增强亲水性药物的递送。

[0231] 在 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, PA, 第 17 版 (1985) 中可以找到用于本发明的其它合适的制剂。

[0232] E. 剂量和施用

[0233] 如上面所注意到的那样,本文所述的化合物适合用在上述各种药物递送系统中。此外,为了增加所施用的化合物的体内血清半衰期,可以将化合物包封、引入到脂质体腔中、制备成胶体,或者可以使用延长化合物血清半衰期的其它常规技术。可获得用于制备脂质体的各种方法,如例如 Szoka 等人,美国专利 4,235,871、4,501,728 和 4,837,028 中所述,通过引用将其各自合并入本文。

[0234] 本发明的化合物可用于抑制或治疗至少部分由 KSP 活性介导的障碍。在一个方面,所述的至少部分由 KSP 介导的障碍是细胞增殖性障碍。术语“细胞的增殖性障碍”或“细胞增殖性障碍”是指包括例如癌症、肿瘤、增生、再狭窄、心脏肥大、免疫障碍和炎症在内

的疾病。本发明提供了治疗需要该类治疗的人或哺乳动物个体的方法，其包括给所述个体单独施用或与其它抗癌药组合施用治疗有效量的式 I 或 II 的化合物。

[0235] 本发明的化合物可用于体外或体内抑制癌细胞的生长。术语“癌”或“癌症”是指包括例如肺和支气管癌；前列腺癌；乳癌；胰腺癌；结肠和直肠癌；甲状腺癌；胃癌；肝和肝内胆管癌；肾和肾盂癌；膀胱癌；子宫体癌；宫颈癌；卵巢癌；多发性骨髓瘤；食道癌；急性骨髓性粒细胞白血病；慢性骨髓性粒细胞白血病；淋巴细胞白血病；髓性白血病；脑癌；口腔和咽癌；喉癌；小肠癌；非霍奇金淋巴瘤；黑素瘤；和绒毛状结肠腺瘤在内的癌症疾病。

[0236] 癌症还包括选自癌、腺癌、肉瘤和血液系统恶性病 (haematological malignancies) 的肿瘤或赘生物。

[0237] 此外，癌症的种类还可选自以下疾病的生长：实体瘤 / 恶性病、粘液样 (myxoid) 和圆形细胞癌、局部晚期的肿瘤、人软组织癌、癌症转移、鳞状细胞癌、食道鳞状细胞癌、口腔癌、皮肤 T 细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、肾上腺皮质癌、产生 ACTH 的肿瘤、非小细胞癌、乳癌、胃肠癌、泌尿系癌症、女性生殖道的恶性病、男性生殖道的恶性病、肾癌、脑癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、视网膜母细胞瘤、神经母细胞瘤、腹膜积液、恶性胸腔积液、间皮瘤、维尔姆斯瘤、胆囊癌、滋养细胞赘生物 (trophoblastic neoplasms)、血管外皮细胞瘤和卡波西肉瘤。

[0238] 可通过合适的途径如口服、静脉内、胃肠外、透皮、局部、直肠或鼻内途径将本发明的化合物或组合物施用给哺乳动物。

[0239] 哺乳动物包括例如人和其它灵长类动物、宠物或伴侣动物如狗和猫、实验室动物如大鼠、小鼠和兔以及农场动物如马、猪、绵羊和牛。

[0240] 肿瘤或赘生物包括其中细胞的倍增是失控的且进行性的组织细胞生长。一些该类生长是良性的，而另一些被称为“恶性的”并且可导致生物体死亡。恶性的赘生物或“癌症”与良性生长的区别在于，除了表现出攻击性的细胞增殖外，它们还可侵入周围的组织并转移。此外，恶性赘生物的特征还在于相对于彼此或周围组织，它们表现出更大的分化丧失（更大的“去分化”）和组织化。这种性质被称为“退行发育”。

[0241] 可根据需要对具有所需生物学活性的化合物进行修饰以提供所需的性质如改善的药理学性质（例如体内稳定性、生物利用度）或在诊断应用中被检测的能力。可以用各种方法来测定稳定性，例如可通过测量与肽酶或人血浆或血清一起孵育期间化合物的半衰期来测定稳定性。

[0242] 对于诊断目的而言，可以将许多可直接或间接提供可检测信号的标记物连接到化合物上。因此，对于各种最终目的而言，在仍然保留其生物学活性的同时，可以以各种方法对本发明的化合物和 / 或组合物进行修饰。此外，也可以引入许多用于与颗粒、固体底物、大分子等进行连接的反应性部位。

[0243] 标记的化合物可用在许多体内或体外应用中。可以使用十分广泛的标记物如放射性核素（例如发射 γ 射线的放射性核素如镓 -99 或铟 -111）、荧光剂（例如荧光素）、酶、酶底物、酶辅因子、酶抑制剂、化学发光的化合物、生物发光的化合物等。本领域技术人员知道用于与所述复合物结合的其它合适的标记物或者能用常规实验确定该类标记物。用对本领域技术人员而言标准的技术来完成这些标记物的结合。

[0244] 本发明的药物组合物适合用在许多药物递送系统中。用于本发明的合适制剂见于

Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Company, Philadelphia, Pa., 第 17 版 (1985)。

[0245] 施用给患者的量将根据所施用的是什么、施用目的（如预防或治疗）、患者状态、施用方式等而变化。在治疗应用中，以足以治愈或至少部分阻止疾病及其并发症的进展或症状的量给已经患有疾病的患者施用组合物。足以实现这一目的的量被定义为“治疗有效剂量”。对于该应用而言有效的量将取决于所治疗的疾病情况以及主治医生根据诸如疾病、障碍或病症的严重程度、患者的年龄、体重和一般情况等作出的判断。

[0246] 施用给患者的化合物典型地是上述药物组合物的形式。可以用常规灭菌技术对这些组合物进行灭菌，或者可以对其进行无菌过滤。可将所得的水性溶液包装就这样应用，或者可以将其冷冻干燥，在施用前将冷冻干燥了的制剂与无菌的水性载体混合。化合物制剂的 pH 典型地为约 3 至 11，更优选为约 5 至 9，最优选为约 7 至 8。应当理解的是，使用某些上述赋形剂、载体或稳定剂将导致药用盐的形成。

[0247] 本发明的化合物和 / 或组合物的治疗剂量将根据例如进行治疗的具体应用、化合物的施用方式、患者的健康和情况以及开处方医生的判断而变化。例如，对于口服施用而言，该剂量典型地为约 5 μ g 至约 50mg/kg 体重 / 天，优选为约 1mg 至约 10mg/kg 体重 / 天。在另一种替代选择中，对于静脉内施用而言，该剂量典型地为约 5 μ g 至约 50mg/kg 体重 / 天，优选为约 500 μ g 至约 5000 μ g/kg 体重 / 天。考虑的供选择的施用途径包括但不限于鼻内、透皮、吸入、皮下和肌内施用。可以由得自体外或动物模型试验系统的剂量 - 响应曲线推知有效剂量。

[0248] 一般而言，本发明的化合物和 / 或组合物将通过类似效用的活性剂的可接受的施用方式中的任意一种以治疗有效量进行施用。可以在细胞培养物或实验动物中用标准药理学操作测定该类化合物的毒性和治疗功效，例如用于测定 LD₅₀（导致群体的 50% 死亡的剂量）和 ED₅₀（在 50% 群体中治疗有效的剂量）。毒性和治疗作用之间的剂量比是治疗指数，其可以被表示为 LD₅₀/ED₅₀ 比的形式。表现出大的治疗指数的化合物是优选的。

[0249] 在制定用于人的剂量范围时，可以使用得自细胞培养物测定法和动物研究的数据。所述化合物的剂量优选位于包括 ED₅₀ 的循环浓度范围内并且几乎没有或没有毒性。剂量可根据所用的剂型和所用的施用途径在该范围内变化。对于用在本发明的方法中的任何化合物和 / 或组合物，可由细胞培养物测定法初步估算治疗有效剂量。可以用动物模型制定剂量以获得包括在细胞培养物中测得的 IC₅₀（达到半数最大抑制活性的测试化合物的浓度）的循环血浆浓度范围。可以用该类信息来更准确地确定人的有用剂量。可以例如用高效液相色谱来测量在血浆中的水平。

[0250] 给出下面的合成实施例和生物学实施例来阐释本发明，不应将其理解为以任何方式限制本发明的范围。

实施例

[0251] 在涉及下面的实施例时，本发明的化合物是用本文所述的方法或本领域众所周知的其它方法合成的。应当理解的是，未制备或未进行分析的化合物可以用本文所述的方法或本领域众所周知的其它方法制备或分析。

[0252] 用高效液相色谱 (HPLC) 来对化合物和 / 或中间体进行表征，所述高效液相色谱

使用具有 2690 分离组件的 Waters Millenium 色谱系统 (Milford, MA)。分析柱是来自 Alltech (Deerfield, IL) 的 Alltima C-18 反相柱, 4.6×250mm。使用梯度洗脱, 典型地用 5% 乙腈 /95% 水开始, 历经 40 分钟进行至 100% 乙腈。所有溶剂都含有 0.1% 三氟乙酸 (TFA)。用紫外线 (UV) 吸收在 220 或 254nm 对化合物进行探测。HPLC 溶剂得自 Burdick and Jackson (Muskegan, MI) 或 Fisher Scientific (Pittsburgh, PA)。在一些情况中, 通过使用玻璃或塑料支撑的硅胶板例如 Baker-Flex Silica Gel 1B2-F 柔性板的薄层色谱 (TLC) 来对纯度进行评估。TLC 结果可容易地在紫外线下目测或使用众所周知的碘蒸汽和其它各种染色技术检测。

[0253] 在两种 LC/MS 仪器之一上进行质谱分析: Waters 系统 (Alliance HTHPLC 和 Micromass ZQ 质谱仪; 柱: Eclipse XDB-C18, 2.1×50mm; 溶剂系统: 具有 0.05% TFA 的 5-95% (或 35-95%, 或 65-95% 或 95-95%) 的乙腈水溶液; 流速为 0.8mL/min; 分子量范围为 500-1500; 锥孔电压 (cone voltage) 为 20V; 柱温为 40℃) 或 Hewlett Packard 系统 (Series 1100 HPLC; 柱: Eclipse XDB-C18, 2.1×50mm; 溶剂系统: 具有 0.05% TFA 的 1-95% 的乙腈水溶液; 流速为 0.4mL/min; 分子量范围为 150-850; 锥孔电压为 50V; 柱温为 30℃)。所有质量都是以质子化的母离子形式进行报告的。

[0254] GC/MS 分析是在 Hewlett Packard 仪器 (具有质量选择性探测器 5973 的 HP6890 Series 气相色谱; 进样体积: 1mL; 初始柱温: 50℃; 最终柱温: 250℃; 坡升时间 (ramp time): 20 分钟; 气体流速: 1mL/min; 柱: 5% 苯基甲基硅氧烷, Model No. HP 190915-443, 尺寸: 30.0m×25m×0.25m) 上进行的。

[0255] 用 Varian 300 MHz NMR (Palo Alto, CA) 对一些化合物进行核磁共振 (NMR) 分析。光谱参比物是 TMS 或已知的溶剂化学位移。一些化合物样品于升高的温度 (例如 75℃) 进行以促进增加的样品溶解度。

[0256] 用元素分析 (Desert Analytics, Tucson, AZ) 评估了一些本发明的化合物的纯度。

[0257] 熔点是在 Laboratory Devices Mel-Temp 装置 (Holliston, MA) 上测定的。

[0258] 制备分离是用 Flash 40 色谱系统和 KP-Sil, 60A (Biotage, Charlottesville, VA) 进行的, 或者是用使用硅胶 (230-400 目) 填充材料的闪柱色谱或使用 C-18 反相柱的 HPLC 进行的。用于 Flash 40 Biotage 系统和闪柱色谱的典型溶剂是二氯甲烷、甲醇、EtOAc、己烷、丙酮、羟胺水溶液和三乙胺。用于反相 HPLC 的典型溶剂是具有 0.1% 三氟乙酸的各种浓度的乙腈和水。除非另有说明, 否则所有的温度都是以摄氏度为单位的。此外, 在这些实施例以及其它部分中, 缩写具有下面的含义:

[0259] AcOH = 乙酸

[0260] aq. = 含水的

[0261] ATP = 腺苷三磷酸

[0262] Boc = 叔-丁氧基羰基

[0263] BSA = 牛血清白蛋白

[0264] CAM = 钼酸铈铵 (ceric ammonium molybdate)

[0265] DCM = 二氯甲烷

[0266] DIAD = 偶氮二甲酸二异丙酯

[0267] DIBAL = 氢化二异丁基铝

- [0268] DIEA = 二异丙基乙基胺
[0269] DIPEA = 二异丙基乙基胺
[0270] DMAP = 二甲基氨基吡啶
[0271] DMF = 二甲基甲酰胺
[0272] DMSO = 二甲基亚砷
[0273] DTT = 二硫苏糖醇
[0274] eq. = 当量
[0275] Et₂O = 乙醚
[0276] Et₃N = 三乙胺
[0277] EtOAc = 乙酸乙酯
[0278] EtOH = 乙醇
[0279] g = 克
[0280] h = 小时
[0281] HPLC = 高效液相色谱
[0282] L = 升
[0283] LC/MS = 液相色谱 / 质谱
[0284] M = 摩尔的
[0285] m = 米
[0286] m/z = 质量 / 电荷比
[0287] MeNH₂ = 甲胺
[0288] mg = 毫克
[0289] min = 分钟
[0290] mL = 毫升
[0291] mm = 毫米
[0292] mM = 毫摩尔的
[0293] mmol = 毫摩尔
[0294] mol = 摩尔
[0295] N = 当量的
[0296] nm = 纳米
[0297] nM = 纳摩尔的
[0298] NMR = 核磁共振
[0299] PPh₃ = 三苯膦
[0300] PhCF₃ = 三氟甲基苯
[0301] psi = 磅 / 英寸
[0302] RT = 室温
[0303] sat. = 饱和的
[0304] TEA = 三乙胺
[0305] THF = 四氢呋喃
[0306] TFA = 三氟乙酸

[0307] TLC = 薄层色谱

[0308] TMS = 三甲基硅烷基

[0309] TMSCl = 氯化三甲基硅烷

[0310] μg = 微克

[0311] μL = 微升

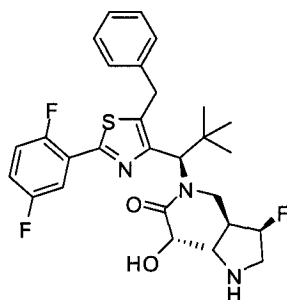
[0312] μM = 微摩尔的

[0313] uplc = 超高效液相色谱 (Ultra performance liquid chromatography)

[0314] 实施例 1

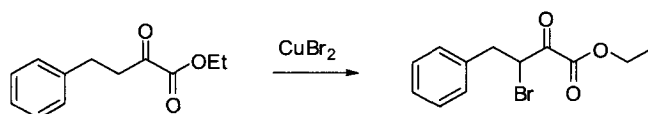
[0315] (S)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3S,4R)-4-氟吡咯烷-3-基)甲基)-2-羟基丙酰胺

[0316]



[0317] 步骤 A: 2-氧代-4-苯基丁酸乙酯的 α -溴化

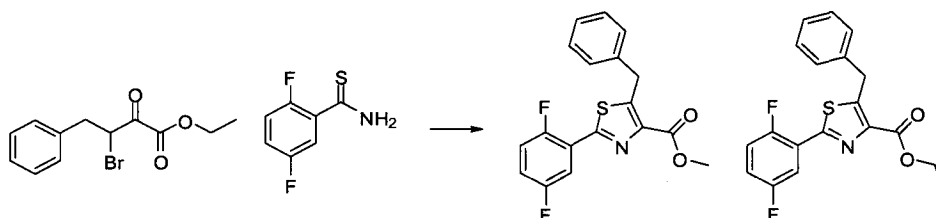
[0318]



[0319] 向 2-氧代-4-苯基丁酸乙酯 (10g, 48.5mmol) 在 EtOAc (323mL) 和 CHCl_3 (162mL) 中的溶液中加入溴化铜 (II) (32.5g, 145mmol)。将反应混合物回流 6h。在冷却后, 将反应混合物用硅胶过滤, 用 EtOAc 洗涤, 浓缩。将粗产物用柱色谱纯化, 得到 3-溴-2-氧代-4-苯基丁酸乙酯 (15.0g, >99%), 为黄色油状物。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 7.42-7.28 (2H, m), 7.28-7.19 (3H, m), 5.27 (1H, m), 4.35 (2H, m), 3.54 (1H, m), 3.25 (1H, m), 1.37 (3H, m)。LC/MS (uplc): MH^+ 269.1 (-18), 0.79min。

[0320] 步骤 B: 噻唑核的合成

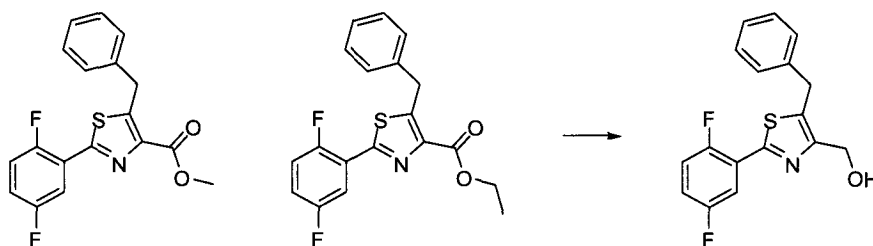
[0321]



[0322] 在室温下, 向 3-溴-2-氧代-4-苯基丁酸乙酯 (13.8g, 48.4mmol) 在 MeOH (161mL) 中的溶液中缓慢加入 2,5-二氟硫代苯甲酰胺 (8.38g, 48.4mmol)。然后将反应混合物回流过夜。在冷却后, 滤出白色沉淀, 用冷乙醇洗涤并干燥。得到 5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-甲酸甲酯和 5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-甲酸乙酯的混合物 (10.5g, 61%), 为白色固体。LC/MS (uplc): MH^+ 346.1, 1.21min (甲酯); 360.1, 1.27min (乙酯)。

[0323] 步骤 C : 噻唑酯的还原

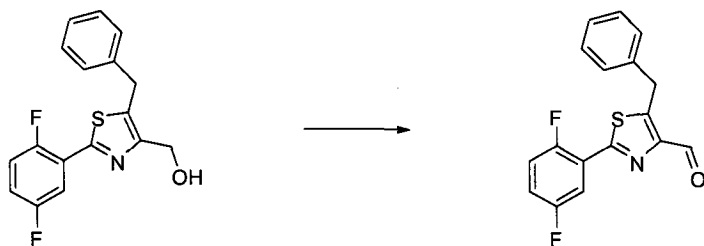
[0324]



[0325] 在室温下,向 5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-甲酸甲酯和 5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-甲酸乙酯的混合物 (7.8g, 21.70mmol) 在 THF (72.3mL) 中的溶液中缓慢加入 LiBH_4 (0.946g, 43.4mmol)。将反应混合物搅拌过夜。在用水淬灭后,将反应混合物用 EtOAc 萃取。将有机层用饱和 NaHCO_3 溶液和盐水洗涤,用无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,浓缩。将粗产物用柱色谱纯化,得到 (5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)甲醇 (6.66g, 97%), 为白色固体。LC/MS(uplc): MH^+ 318.2, 1.03min。

[0326] 步骤 D : 噻唑醇的氧化

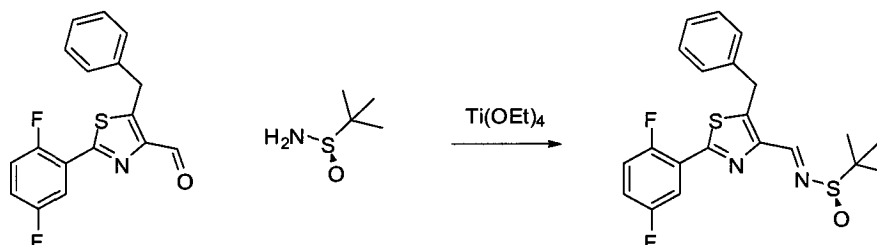
[0327]



[0328] 向 (5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)甲醇 (6.66g, 20.99mmol) 在二氯甲烷 (70.0mL) 中的溶液中加入戴斯-马丁过碘烷 (Dess-Martin periodinane) (13.35g, 31.5mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜。加入 200mL 饱和 NaHCO_3 溶液和饱和 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液 (8 : 1) 以淬灭反应。在搅拌 1h 后,将反应混合物用 EtOAc 萃取。将有机层用水和盐水洗涤,用无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,浓缩。将粗产物用柱色谱纯化,得到 5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-甲醛 (5.3g, 80%), 为白色固体。 ^1H NMR(CDCl_3 , 400MHz): δ 10.3 (1H, s), 8.01 (1H, m), 7.36-7.17 (5H, m), 7.16-7.07 (2H, m), 4.64 (2H, s)。LC/MS(uplc): MH^+ 316.2, 1.21min。

[0329] 步骤 E : 叔-丁基亚磺酰亚胺的合成

[0330]

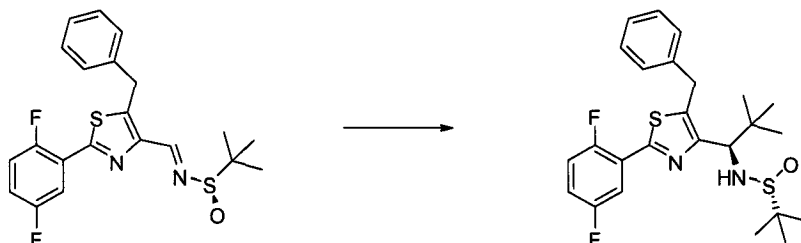


[0331] 向 5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-甲醛 (5.2g, 16.49mmol) 在 THF (55.0mL) 中的溶液中加入 (R)-(+)-叔-丁基亚磺酰胺 (2.2g, 18.14mmol) 和 $\text{Ti}(\text{OEt})_4$ (7.52mL, 36.3mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 4h。将反应混合物用盐水 (50mL) 和 EtOAc (70mL) 稀释,然后加入 **Celite**®。然后,将混合物剧烈搅拌 1h,过滤。用 EtOAc 萃取滤液。将有

机层用水和盐水洗涤,用无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,浓缩。将粗产物用自动柱色谱纯化,得到 (R)-N-((5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)亚甲基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (6.5g, 94%), 为浅黄色固体。 ^1H NMR(CDCl_3 , 400MHz): δ 8.91 (1H, s), 8.04 (1H, m), 7.38-7.22 (5H, m), 7.16-7.05 (2H, m), 4.62 (2H, s), 1.25 (9H, s)。LC/MS(uplc): MH^+ 419.1, 1.31min。

[0332] 步骤 F:叔-丁基锂对叔-丁基亚磺酰亚胺的非对映立体选择性加成反应

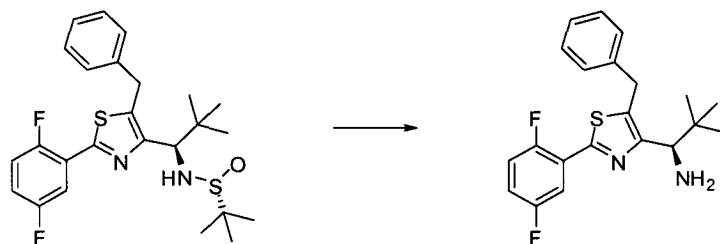
[0333]



[0334] 在 -78°C 下,向 (R)-N-((5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)亚甲基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (6.5g, 15.53mmol) 在无水 THF (78mL) 中的溶液中缓慢加入 $t\text{BuLi}$ (1.7M 在戊烷中的溶液, 27.4mL, 46.6mmol)。将反应混合物在 -78°C 下搅拌 3h 后,将反应用 MeOH (10mL) 淬灭,然后加入饱和 NH_4Cl 溶液 (30mL)。在加温至室温时,将反应混合物搅拌 30min,然后用 EtOAc (250mL) 萃取。将有机层用水和盐水洗涤,用无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,浓缩。将粗产物用自动柱色谱纯化,得到对映体富集的 (R)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (3.93g, 53.1%), 为浅黄色固体。仅形成并分离得到了单一的非对映体。 ^1H NMR(CDCl_3 , 400MHz): δ 7.87 (1H, m), 7.37-7.29 (3H, m), 7.27-7.21 (2H, m), 7.11-6.96 (2H, m), 4.43-4.28 (2H, m), 4.24-4.09 (2H, m), 1.28 (9H, s), 1.00 (9H, s)。LC/MS(uplc): MH^+ 477.2, 1.44min。

[0335] 步骤 G:叔-丁基亚磺酰基的去保护

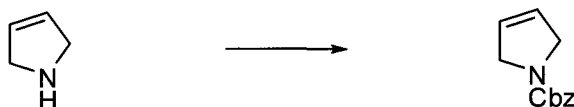
[0336]



[0337] 向 (R)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (53mg, 0.111mmol) 在 THF (200 μL) 中的溶液中加入 MeOH (55.6 μL) 和 4M HCl 在二噁烷中的溶液 (55.6 μL , 0.222mmol)。将该反应混合物在室温下搅拌 1h。在用饱和 Na_2CO_3 溶液淬灭并用 EtOAc 稀释后,将反应混合物搅拌 15min 并用 EtOAc 萃取。将有机层用水和盐水洗涤,用无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,浓缩。以 99% 的收率得到 (R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基-1-胺粗品 (41mg), 将其不经进一步纯化即用于下一步 (主要的副产物 2-甲基丙烷-2-亚磺酸甲酯在高真空下被完全除去)。 ^1H NMR(CDCl_3 , 400MHz): δ 7.96 (1H, m), 7.35-7.29 (2H, m), 7.28-7.22 (3H, m), 7.08 (1H, m), 7.0 (1H, m), 4.18 (2H, m), 3.8 (1H, s), 1.73 (2H, bs), 1.02 (9H, s)。LC/MS(uplc): MH^+ 356.2, 1.08min。

[0338] 步骤 H:二氢吡咯的 Cbz 保护

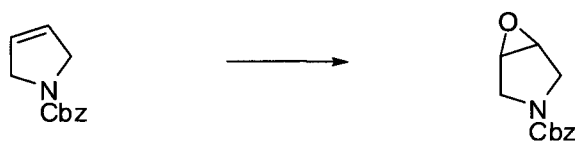
[0339]



[0340] 向 2,5-二氢-1H-吡咯 (30g, 434mmol) 在二噁烷中的溶液 (0.43M 的溶液) 中加入 CbzOSu (130g, 521mmol)。在室温下搅拌 18h 后, 将反应混合物浓缩至约 300mL, 用 1000mL EtOAc 稀释。将有机层用水和盐水洗涤, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 真空浓缩。通过闪柱色谱以 91% 的收率得到所需的 2,5-二氢-1H-吡咯-1-甲酸苄基酯 (80.0g), 为无色油状物。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 7.32 (5H, m), 5.80 (2H, m), 5.77 (2H, s), 4.22 (4H, m)。LC/MS (uplc): MH^+ 204.2, 160.1 (-44), 0.86min。

[0341] 步骤 I:链烯烃的环氧化

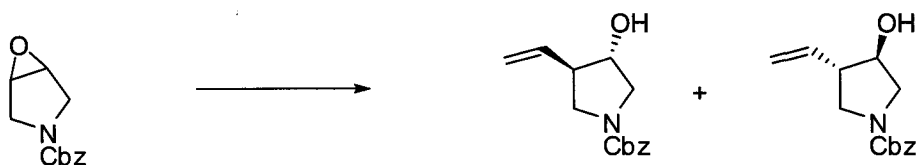
[0342]



[0343] 向 2,5-二氢-1H-吡咯-1-甲酸苄基酯 (33g, 163mmol) 在二氯甲烷中的溶液 (0.3M 的溶液) 中加入 MCPBA (44g, 340mmol, 77%, 得自 Aldrich)。将反应混合物在室温下搅拌 18h 后, 加入 500mL 饱和 Na_2CO_3 水溶液并将所得的混合物在室温下搅拌 1h。将有机层分离出来, 用水和盐水洗涤, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 真空浓缩。通过闪柱色谱以 83% 的收率得到所需产物 (29.5g), 为黄色油状物。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 3.38 (2H, m), 3.68 (2H, m), 3.87 (2H, m), 5.11 (2H, s), 7.33 (5H, m)。LC/MS (uplc): MH^+ 220.0, 0.69min。

[0344] 步骤 J:环氧化物的开环

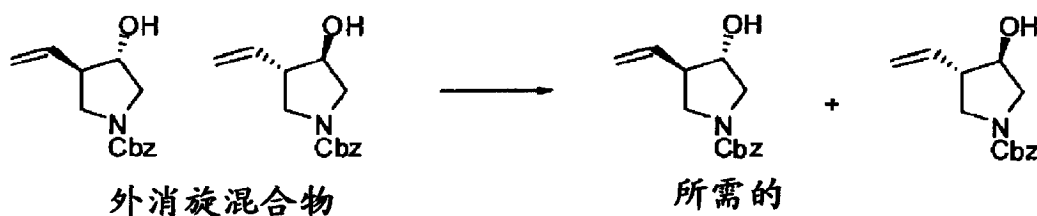
[0345]



[0346] 在 -40°C 下, 向 6-氧杂-3-氮杂二环 [3.1.0] 己烷-3-甲酸苄基酯 (28.5g, 130mmol) 和 $\text{CuBr} \cdot \text{SMe}_2$ (26.7g, 130mmol) 在无水 THF 中的溶液 (260mL, 0.5M 溶液) 中缓慢加入乙烯基溴化镁 (520mL, 1.0M 在 THF 中的溶液)。然后将反应混合物加温至 -20°C 达 2h。在用饱和 NH_4Cl 水溶液 (200mL) 淬灭后, 将反应混合物用 EtOAc (500mL) 萃取。将有机层用水和盐水洗涤, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并真空浓缩。通过闪柱色谱以 48% 的收率得到所需的反式-(±)-3-羟基-4-乙烯基吡咯烷-1-甲酸苄基酯的外消旋混合物 (15.5g), 为黄色油状物。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 2.71 (1H, m), 3.28 (2H, m), 3.72 (2H, m), 4.11 (1H, m), 5.14 (2H, s), 5.16-5.23 (2H, m), 5.69 (1H, m), 7.33 (5H, m)。LC/MS (uplc): MH^+ 248.0, 0.78min。

[0347] 步骤 K:反式-(±)-羟基乙烯基吡咯烷的拆分

[0348]



[0349] 将反式-(±)-3-羟基-4-乙烯基吡咯烷-1-甲酸苄基酯的外消旋混合物 (14g) 用手性 HPLC 进行拆分。得到所需的对映体富集的 (3S,4R)-3-羟基-4-乙烯基吡咯烷-1-甲酸苄基酯 (6.7min ; 6.3g, > 99.5% ee) 和不需要的 (3R,4S)-3-羟基-4-乙烯基吡咯烷-1-甲酸苄基酯 (9.3min ; 6.7g, 99.5% ee)。

[0350] 步骤 L: 羟基乙烯基吡咯烷的氟化

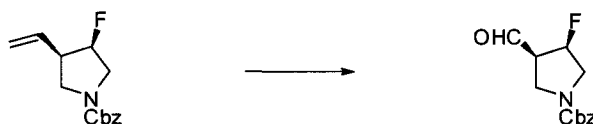
[0351]



[0352] 向 (3S,4R)-3-羟基-4-乙烯基吡咯烷-1-甲酸苄基酯 (5.0g, 20.2mmol) 在 PhCF_3 中的溶液 (81mL, 0.25M 溶液) 中加入 N,N-二异丙基乙基胺 (53mL, 303mmol)、三乙胺三氢氟酸盐 (19.8mL, 121mmol) 和全氟代-1-丁烷磺酰氟 (PBSF, 3.6mL, 20.2mmol)。将所得的混合物在室温下搅拌。在 60 和 120 分钟后, 加入另外的全氟代-1-丁烷磺酰氟 (3.6mL, 20.2mmol)。18 小时后, 将反应混合物转移到一个分液漏斗中并用 50mL 1.0N HCl 洗涤两次 (注意! 大量产热), 用饱和 NaHCO_3 水溶液洗涤两次, 用 H_2O 和盐水洗涤一次。将有机相用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并浓缩, 得到棕色油状物粗品。通过闪柱色谱以 81% 的收率得到 (3R,4R)-3-氟-4-乙烯基吡咯烷-1-甲酸苄基酯纯品 (4.1g), 为黄色油状物。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) : δ 7.37-7.25 (5H, m), 5.9 (1H, m), 5.24 (2H, m), 5.14 (2H, m), 5.03 (1H, m), 3.9-3.5 (3H, m), 3.53 (1H, m), 2.83 (1H, m)。LC/MS (uplc) : MH^+ 250.0, 0.93min。

[0353] 步骤 M: 乙烯基氟吡咯烷的氧化裂解

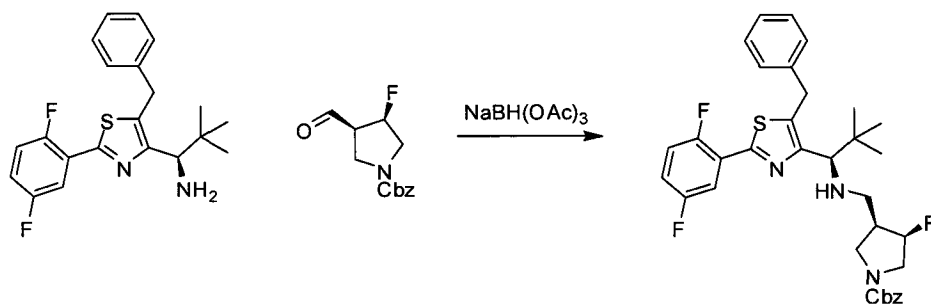
[0354]



[0355] 向 (3R,4R)-3-氟-4-乙烯基吡咯烷-1-甲酸苄基酯 (1.78g, 7.15mmol) 在 CH_3OH 和 H_2O (2 : 1, 178mL, 0.04M 溶液) 中的溶液中加入 OsO_4 在 H_2O 中的溶液 (3mL 4% w/v 溶液, 0.5mmol)。然后, 一次性加入 NaIO_4 (4.6g, 21.5mmol), 将所得的混合物在室温下搅拌。2 小时后, 将混合物过滤以除去沉淀出来的白色固体并用 EtOAc 洗涤滤饼。将滤液真空浓缩以除去大部分有机溶剂。将残余物用三份 EtOAc 萃取并将合并的有机层用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并浓缩。将 (3R,4S)-3-氟-4-甲酰基吡咯烷-1-甲酸苄基酯粗品不经进一步纯化即用于下一步。LC/MS (uplc) : MH^+ 208.2 (-44), 252.0, 0.69min。

[0356] 步骤 N: 还原性胺化

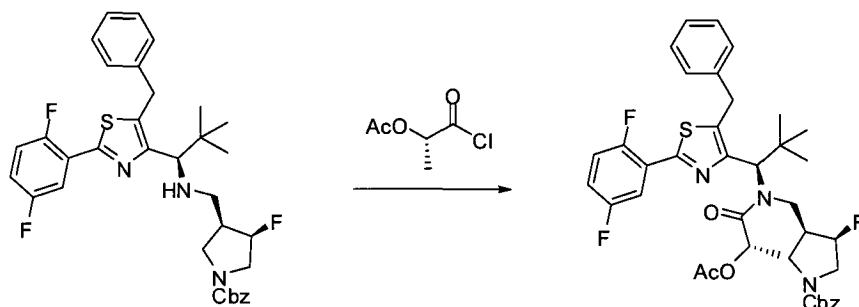
[0357]



[0358] 向 (R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙烷-1-胺 (140mg, 0.378mmol) 在 CH_2Cl_2 (7.0mL) 中的溶液中加入 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (400mg, 1.89mmol)。在室温下, 历经 3 分钟向该溶液中加入在 CH_2Cl_2 (1.0mL) 中的 (3R,4S)-3-氟-4-甲酰基吡咯烷-1-甲酸苄基酯粗品 (得自 2.0equiv. (3R,4R)-3-氟-4-乙烯基吡咯烷-1-甲酸苄基酯)。搅拌 20min 后, 将反应混合物用饱和 NaHCO_3 溶液淬灭并用 EtOAc 萃取。将有机层用水和盐水洗涤, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并浓缩。将粗产物用制备型反相 HPLC 纯化。将合并的产物级分用饱和 NaHCO_3 溶液中和, 然后用 EtOAc 萃取。将有机层用无水硫酸钠干燥, 过滤并真空浓缩, 得到 (3R,4R)-3-(((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯 (138mg, 60%)。LC/MS(uplc) MH^+ 608.3, 1.14min。

[0359] 步骤0: 酰胺键形成

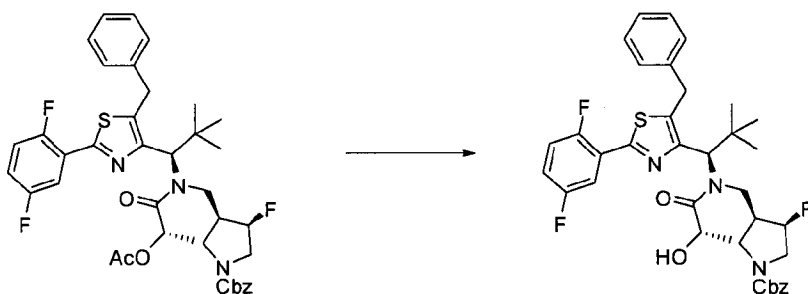
[0360]



[0361] 在室温下,向(3R,4R)-3-(((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯(130mg,0.214mmol)在二氯甲烷中的溶液(2.1mL,0.1M溶液)中加入N,N-二异丙基乙基胺(112μL,0.64mmol)。然后历经2min滴加(S)-乙酸1-氯-1-氧代丙烷-2-基酯(54.2μL,0.428mmol)。将所得的溶液在室温下搅拌2h。将反应混合物用饱和NaHCO₃溶液淬灭并用EtOAc萃取。将有机层用水和盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤。在真空下除去挥发性有机物质后,将粗产物用闪柱色谱纯化,得到(3R,4R)-3-(((S)-2-乙酰氧基-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)丙酰氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯(115mg,75%)。¹H NMR(CDCl₃,400MHz): δ 7.85(1H,m),7.37-7.24(7H,m),7.21(1H,m),7.09(2H,m),7.05(1H,m),6.96(1H,m),6.1(1H,m),5.4(2H,m),5.28(1H,m),4.82(2H,m),4.19-3.97(3H,m),3.70-3.49(2H,m),3.13(1H,m),2.76(1H,m),2.52(1H,m),2.18(3H,s),1.61(3H,m),0.99(9H,s)。LC/MS(uplc):MH⁺722.3,1.40min。

[0362] 步骤P:去乙酰化

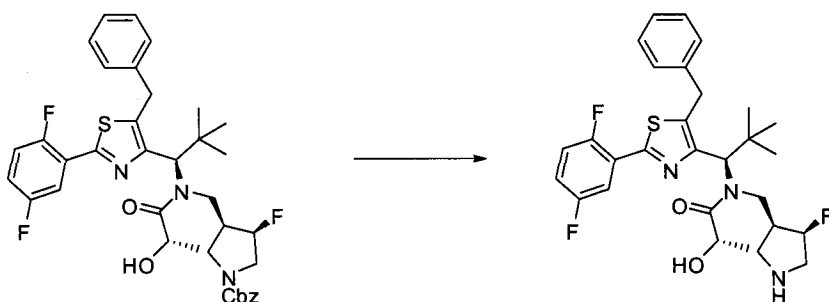
[0363]



[0364] 在室温下,向 (3R,4R)-3-(((S)-2-乙酰氧基-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)丙酰氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯 (40mg, 0.055mmol) 在甲醇中的溶液 (3.5mL, 0.11M 溶液) 中加入 1M LiOH 溶液 (0.083mL, 0.083mmol)。在搅拌 30min 后,将反应混合物用 1N HCl 溶液 (0.083mL, 0.083mmol) 中和,然后用 EtOAc 萃取。将有机层用水和盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤,真空浓缩。将 (3R,4R)-3-(((S)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-2-羟基丙酰氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯 (108mg, > 99%) 不经进一步纯化即用于下一步。LC/MS(uplc): MH^+ 680.4, 1.36min。

[0365] 步骤 Q: Cbz 去保护

[0366]

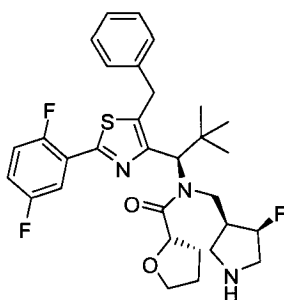


[0367] 在无水 N_2 气氛下,向 (3R,4R)-3-(((S)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-2-羟基丙酰氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯 (108mg, 0.159mmol) 在脱气的乙醇中的溶液 (3mL, 0.05M 溶液) 中加入 Pd/C (17.2mg)。在用氢气清洗后,将配有氢气囊的反应混合物在室温下搅拌 30min。将反应混合物用 **Celite**[®] 垫过滤,用甲醇和 EtOAc 洗涤。在真空下除去挥发性的有机滤液,得到粗品胺,用制备型反相 HPLC 对其进行纯化。将合并的产物级分用饱和 $NaHCO_3$ 溶液中和,然后用 EtOAc 萃取。将有机层用无水硫酸钠干燥,过滤并真空浓缩。然后将所得的产物溶解于乙腈和水 (比例为 1 : 1) 中并冷冻干燥 48h。以 75% 的收率 (66mg, 2 步的收率) 得到白色粉末状的 (S)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3S,4R)-4-氟吡咯烷-3-基)甲基)-2-羟基丙酰胺,为游离胺。¹H NMR(CD_3Cl , 400MHz): δ 7.87 (1H, m), 7.33-7.27 (4H, m), 7.22-7.14 (2H, m), 7.08 (1H, m), 6.08 (1H, s), 4.71-4.62 (1H, m), 4.60-4.40 (1H, m), 4.23 (2H, s), 3.95 (1H, m), 3.63 (2H, m), 3.01-2.86 (1H, m), 2.70-2.46 (2H, m), 2.14-2.06 (2H, m), 1.45 (3H, m), 1.03 (9H, s)。LC/MS(uplc): MH^+ 546.4, 1.00min。

[0368] 实施例 2

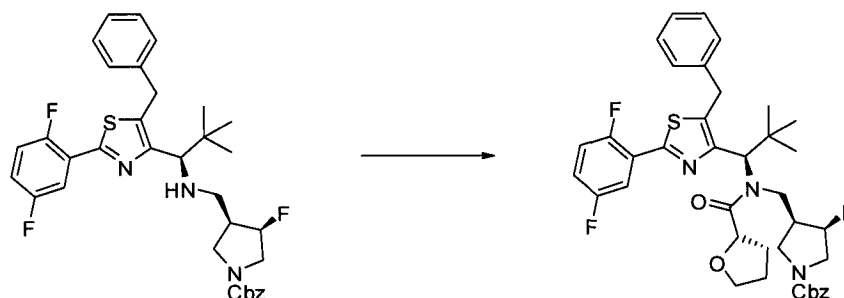
[0369] (3R,4R)-3-(((S)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二

甲基丙基)四氢呋喃-2-甲酰氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯
[0370]



[0371] 步骤A:酰胺键形成

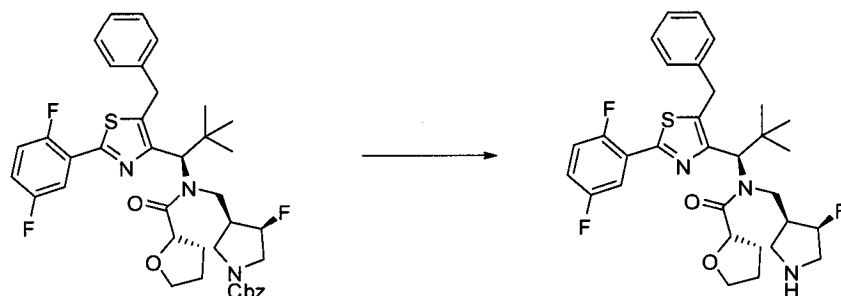
[0372]



[0373] 将(S)-(-)-2-四氢糠酸(50mg,0.43mmol)在亚硫酸氯(0.5mL)中的溶液回流30min,在真空下将挥发性物质完全浓缩。然后将粗产物溶解于二氯甲烷(0.3mL)中,然后将其加入到(3R,4R)-3-(((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯(40mg,0.066mmol)和N,N-二异丙基乙胺(34μL,0.197mmol)的溶液中。在将反应混合物在室温下搅拌过夜后,将反应混合物用饱和NaHCO₃溶液淬灭并用EtOAc萃取。将有机层用无水硫酸钠干燥,过滤,真空浓缩。将粗产物用制备型反相HPLC纯化。将合并的产物级分用饱和NaHCO₃溶液中和,然后用EtOAc萃取。将有机层用无水硫酸钠干燥,过滤,真空浓缩,得到所需的(3R,4R)-3-(((S)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)四氢呋喃-2-甲酰氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯(30mg,64.6%)。LC/MS(uplc):MH⁺706.0,1.40min。

[0374] 步骤B:Cbz去保护

[0375]



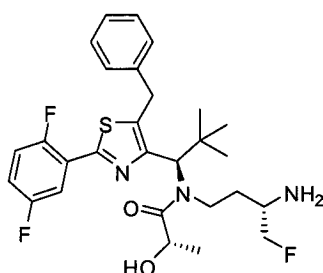
[0376] 在无水N₂气氛下,向((3R,4R)-3-(((S)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)四氢呋喃-2-甲酰氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯(30mg,0.043mmol)在脱气的乙醇中的溶液(0.5mL,0.1M溶液)中加入Pd/C(3mg,10wt%)。在用氢气清洗后,将配有氢气囊的反应混合物在室温下搅拌2h。将反应混合物用

Celite® 垫过滤, 用 EtOAc 洗涤。在真空下除去挥发性的有机滤液, 得到粗品胺。将粗产物用制备型反相 HPLC 纯化。将合并的产物级分用饱和 NaHCO_3 溶液中和, 然后用 EtOAc (200mL) 萃取。将有机层用无水硫酸钠干燥, 过滤并真空浓缩。然后将干燥的产物溶解于乙腈和水 (比例为 1 : 1) 中并冷冻干燥 48h。以 14% 的收率得到白色粉末状的 (S)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3S,4R)-4-氟吡咯烷-3-基)甲基)四氢呋喃-2-甲酰胺 (5.4mg), 为游离胺。LC/MS(uplc): MH^+ 572.0, 1.04min。

[0377] 实施例 3

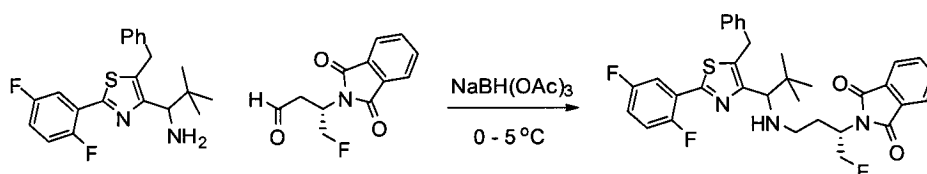
[0378] 乙酸 2-(((R)-1-(2-苄基-5-(2,5-二氟苯基)噻吩-3-基)-2,2-二甲基丙基)-((S)-3-(1,3-二氧代二氢异吲哚-2-基)-4-氟丁基)氨基)-2-氧代乙基酯

[0379]



[0380] 步骤 A : 还原性胺化

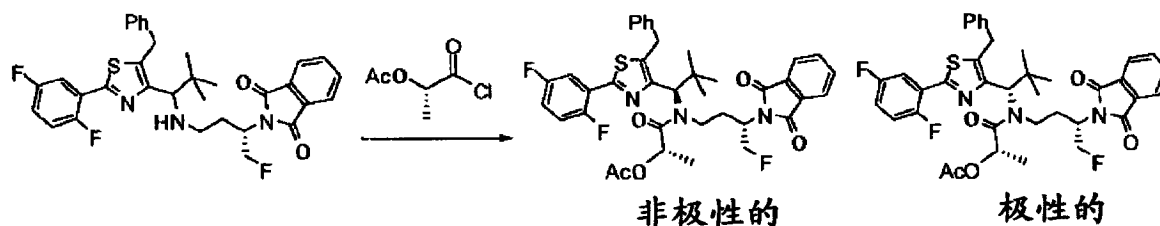
[0381]



[0382] 在 0°C 下, 向 1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙烷-1-胺 (95mg, 0.267mmol) 在二氯甲烷 (2mL) 中的溶液中加入 (S)-3-(1,3-二氧代二氢异吲哚-2-基)-4-氟丁醛 (62.8mg, 0.267mmol), 然后加入 $\text{Na(OAc)}_3\text{BH}$ (169.8mg, 0.801mmol)。将反应混合物在该温度下在氮气下搅拌 1h, 用饱和 NaHCO_3 溶液淬灭, 然后用 EtOAc 萃取。将有机层用水和盐水洗涤, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 浓缩。将粗产物用闪柱色谱 (30% EtOAc 的己烷溶液) 纯化, 得到 2-((2S)-4-(1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基氨基)-1-氟丁烷-2-基)二氢异吲哚-1,3-二酮的非对映体混合物, 为白色泡沫 (65mg, 41%)。LC/MS(uplc): MH^+ 592.1, 1.05min 和 1.07min。

[0383] 步骤 B : 酰胺键形成

[0384]

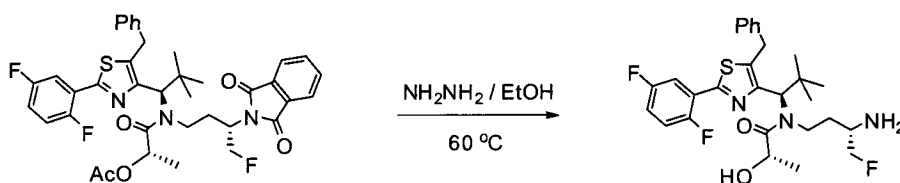


[0385] 在室温下, 向 2-((2S)-4-(1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基氨基)-1-氟丁烷-2-基)二氢异吲哚-1,3-二酮 (65mg, 0.125mmol) 在二氯甲烷中的溶液 (1mL, 0.1M 溶液) 中加入 DIEA (65.3 μL , 0.375mmol)。然后, 历经 2min 滴加乙酸

(S)-1-氯-1-氧代烷-2-基酯 (35 μ L, 0.276mmol)。将所得溶液在室温下搅拌 1.5h。将反应混合物用饱和 NaHCO_3 溶液淬灭并用 EtOAc 萃取。将有机层用无水硫酸钠干燥, 过滤。在真空下除去挥发性有机物质后, 将非对映体粗品用制备型反相 HPLC 纯化。将合并的各非对映体级分用饱和 NaHCO_3 溶液中和, 然后用 EtOAc 萃取。将有机层用无水硫酸钠干燥, 过滤并真空浓缩。以 23% 的收率得到非极性对映体乙酸 (R)-1-(((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)((S)-3-(1,3-二氧化二氢异吡啶-2-基)-4-氟丁基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基酯 (10mg)。LC/MS(uplc) MH^+ 706.2, 1.37min。以 12% 的收率得到极性异构体乙酸 (R)-1-(((S)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)((S)-3-(1,3-二氧化二氢异吡啶-2-基)-4-氟丁基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基酯 (5mg)。LC/MS(uplc) MH^+ 706.2, 1.36min。

[0386] 步骤 C: 去保护

[0387]

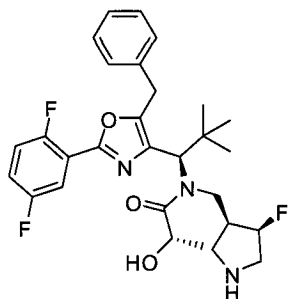


[0388] 向乙酸 (R)-1-(((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)((S)-3-(1,3-二氧化二氢异吡啶-2-基)-4-氟丁基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基酯 (10mg, 0.014mmol) 在 EtOH (1mL) 中的溶液中加入无水肼 (45 μ L)。将反应在 60 $^{\circ}\text{C}$ 下加热 14h。将反应混合物冷却后, 用 **Celite**[®] 垫滤出白色沉淀, 用 EtOH 洗涤。将滤液浓缩, 用制备型反相 HPLC 纯化。将纯品级分合并并冷冻干燥, 得到 TFA 盐形式的 (S)-N-((S)-3-氨基-4-氟丁基)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-2-羟基丙酰胺 (2.3mg, 25%)。LC/MS(uplc) MH^+ 543.2, 1.05min。

[0389] 实施例 4

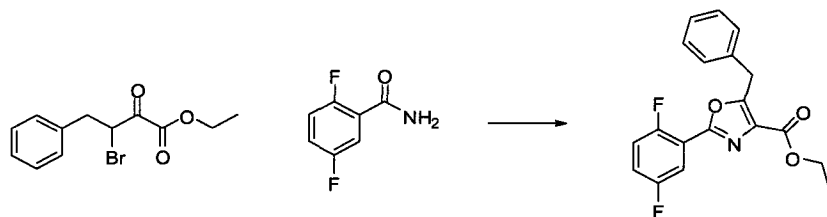
[0390] ((S)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3S,4R)-4-氟吡咯烷-3-基)甲基)-2-羟基丙酰胺

[0391]



[0392] 步骤 A: 噻唑核的合成

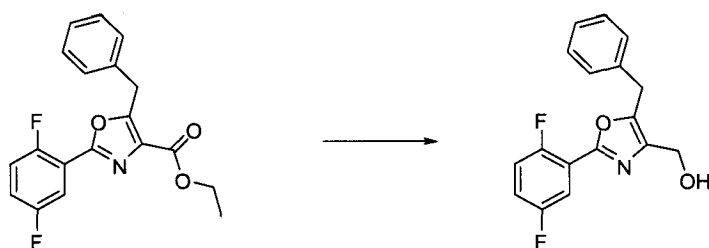
[0393]



[0394] 将 3-溴-2-氧代-4-苯基丁酸乙酯 (3.0g, 10.5mmol) 和 2,5-二氟苯甲酰胺 (4.0g, 25.5mmol) 在密封管中于 100℃ 加热 15h。在冷却后, 将沉淀滤出, 用甲醇洗涤, 真空除去滤液后, 将粗产物用自动柱色谱 (10% 至 60% EtOAc 的己烷溶液) 纯化。得到被不可分离的副产物污染的 5-苄基-2-(2,5-二氟苯基) 咪唑-4-甲酸乙酯 (735mg, 20.4%), 将其不经任何进一步纯化即用于下一步。LC/MS(uplc): MH^+ 344.1, 1.15min。

[0395] 步骤 B: 咪唑酯的还原

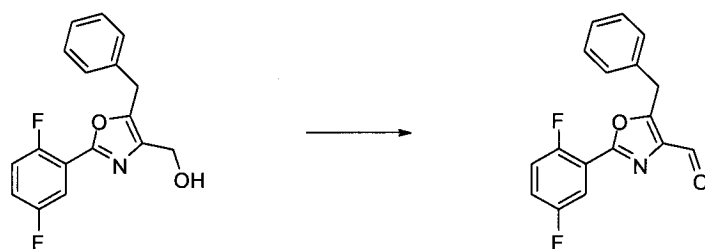
[0396]



[0397] 在室温下, 向 5-苄基-2-(2,5-二氟苯基) 咪唑-4-甲酸乙酯 (590mg, 1.72mmol) 在 THF (8.6mL) 中的溶液中缓慢加入 $LiBH_4$ (56.2mg, 2.58mmol)。将反应混合物搅拌过夜。用水淬灭后, 将反应混合物用 EtOAc 萃取。将有机层用饱和 $NaHCO_3$ 溶液和盐水洗涤, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 浓缩。将粗产物用自动柱色谱 (0 至 100% EtOAc 的己烷溶液) 纯化, 得到 (5-苄基-2-(2,5-二氟苯基) 咪唑-4-基) 甲醇 (460mg, 88%), 为白色固体。LC/MS(uplc): MH^+ 302.2, 0.92min。

[0398] 步骤 C: 咪唑醇的氧化

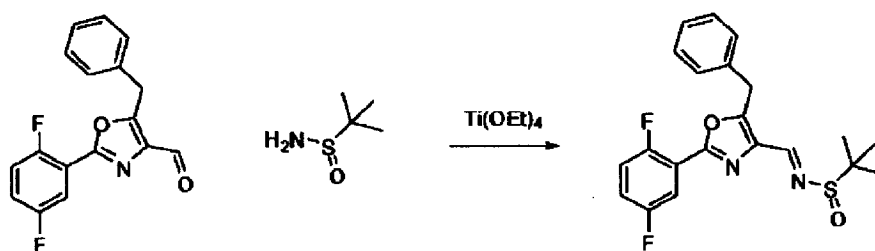
[0399]



[0400] 向 (5-苄基-2-(2,5-二氟苯基) 咪唑-4-基) 甲醇 (966mg, 3.21mmol) 在二氯甲烷 (16mL) 中的溶液中加入戴斯-马丁过碘烷 (2.04mg, 4.81mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜。加入 20mL 饱和 $NaHCO_3$ 溶液和饱和 $Na_2S_2O_3$ 溶液 (8:1) 将反应淬灭。在搅拌 1h 后, 将反应混合物用 EtOAc 萃取。将有机层用水和盐水洗涤, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 浓缩。将粗产物用自动柱色谱纯化, 得到 5-苄基-2-(2,5-二氟苯基) 咪唑-4-甲醛 (898mg, 94%), 为白色固体。 1H NMR(CD_3Cl , 400MHz): δ 10.0 (1H, s), 7.70 (1H, m), 7.37-7.31 (3H, m), 7.29-7.25 (2H, m), 7.19-7.14 (2H, m), 4.44 (2H, s)。LC/MS(uplc): MH^+ 300.0, 1.06min。

[0401] 步骤 D: 叔-丁基亚磺酰亚胺的合成

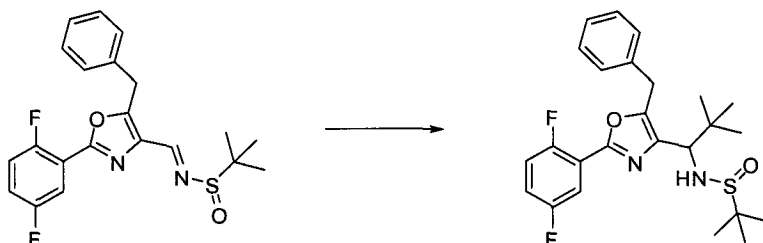
[0402]



[0403] 向 5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-甲醛 (898mg, 3.0mmol) 在 THF (30.0mL) 中的溶液中加入 (±)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (364mg, 3.0mmol) 和 $\text{Ti}(\text{OEt})_4$ (1.37mL, 6.6mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 4h。将反应混合物用盐水 (30mL) 和 EtOAc (60mL) 稀释, 然后加入 **Celite**[®]。然后将混合物剧烈搅拌 1h, 过滤。用 EtOAc 萃取滤液。将有机层用水和盐水洗涤, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 浓缩。将粗产物 (770mg, 64%) 用自动柱色谱纯化, 得到 (±)-N-((5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)亚甲基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺, 为浅黄色固体。LC/MS(uplc): MH^+ 403.0, 1.21min。

[0404] 步骤 E: 叔-丁基锂加成反应

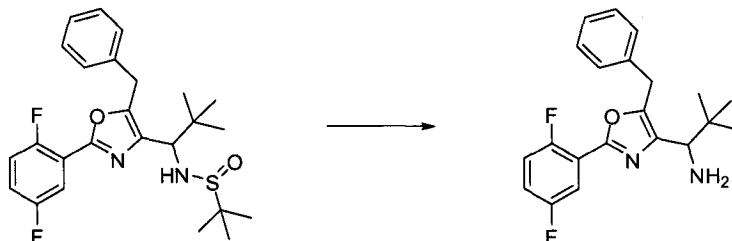
[0405]



[0406] 在 -78°C 下, 向 (±)-N-((5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)亚甲基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (770mg, 1.91mmol) 在无水 THF (7.6mL) 中的溶液中缓慢加入 $^t\text{BuLi}$ (1.7M 戊烷溶液, 3.34mL, 5.74mmol)。将反应混合物在 -78°C 下搅拌 3h 后, 用 MeOH (2mL) 淬灭反应, 然后加入饱和 NH_4Cl 溶液 (10mL)。在加温至室温后, 将反应混合物搅拌 30min, 然后用 EtOAc (50mL) 萃取。将有机层用水和盐水洗涤, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 浓缩。将粗产物用自动柱色谱纯化, 得到 (±)-N-(1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (340mg, 38.6%), 为浅黄色固体。 ^1H NMR(CDCl_3 , 400MHz): δ 7.64 (1H, m), 7.38-7.27 (4H, m), 7.27-7.21 (1H, m), 7.12-6.99 (2H, m), 4.24 (1H, m), 4.12 (2H, m), 3.92 (1H, m), 1.27 (9H, s), 0.95 (9H, s)。LC/MS(uplc): MH^+ 461.2, 1.34min。

[0407] 步骤 F: 叔-丁基亚磺酰基的去保护

[0408]

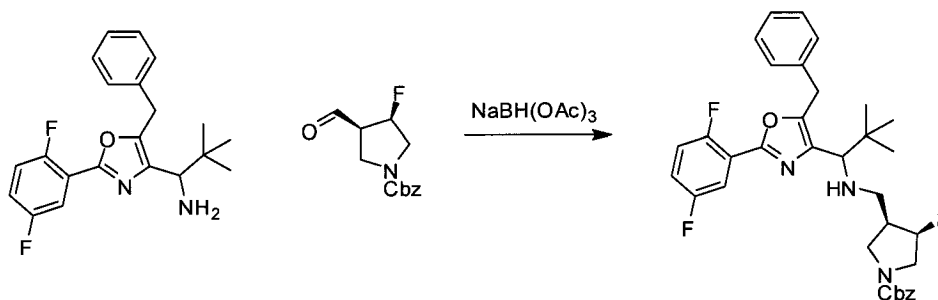


[0409] 向 (±)-N-(1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (340mg, 0.738mmol) 在 MeOH (10mL) 中的溶液中加入 4M HCl

在二噁烷中的溶液 (369 μ L, 1.476mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 1h。在用饱和 NaHCO_3 溶液淬灭和用 EtOAc 稀释后,将反应混合物搅拌 15min 并用 EtOAc 萃取。将有机层用水和盐水洗涤,用无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,浓缩。以 91% 的收率得到 (±)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙烷-1-胺粗品 (240mg),将其不经进一步纯化即用于下一步(主要副产物 2-甲基丙烷-2-亚磺酸甲酯在高真空下被完全除去)。LC/MS(uplc): $\text{MH}^+ 340.2 (-\text{NH}_2)$, 0.91min。

[0410] 步骤 G:还原性胺化

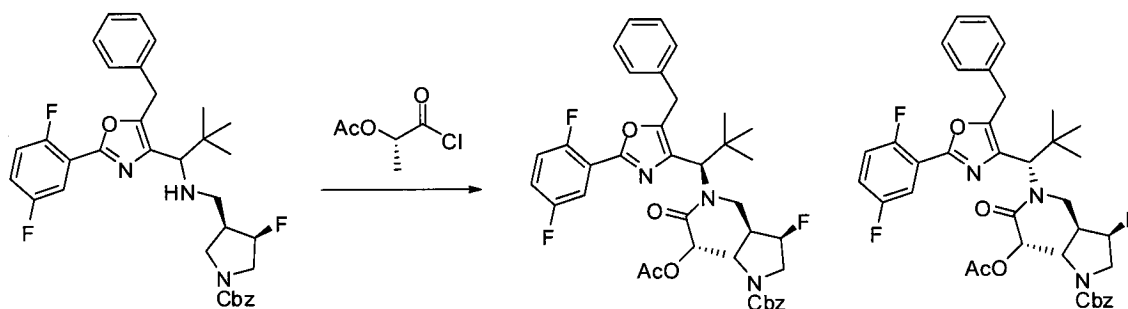
[0411]



[0412] 向 (±)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙烷-1-胺 (240mg, 0.673mmol) 在 CH_2Cl_2 (5.0mL) 中的溶液中加入 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (2.86g, 13.5mmol)。在室温下,向该溶液中迅速加入位于 CH_2Cl_2 (1.0mL) 中的 (3R,4S)-3-氟-4-甲酰基吡咯烷-1-甲酸苄基酯粗品(得自 2.0equiv. (3R,4R)-3-氟-4-乙烯基吡咯烷-1-甲酸苄基酯)。在搅拌 20min 后,将反应混合物用饱和 NaHCO_3 溶液淬灭并用 EtOAc 萃取。将有机层用水和盐水洗涤,用无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并浓缩。将粗产物用制备型反相 HPLC 纯化。将合并的产物级分用饱和 NaHCO_3 溶液中和,然后用 EtOAc 萃取。将有机层用无水硫酸钠干燥,过滤并真空浓缩,得到 (±)-(3R,4R)-3-((1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯 (37mg, 9.2%)。LC/MS(uplc) $\text{MH}^+ 592.4$, 0.91min。

[0413] 步骤 H:酰胺键形成

[0414]

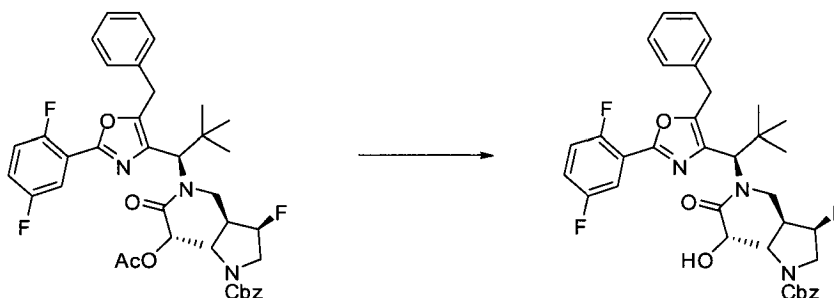


[0415] 在室温下,向 (±)-(3R,4R)-3-((1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯 (37mg, 0.063mmol) 在二氯甲烷中的溶液 (0.63mL, 0.1M 溶液) 中加入 N,N'-二异丙基乙胺 (55 μ L, 0.313mmol)。然后,历经 2min 滴加乙酸 (S)-1-氯-1-氧代丙烷-2-基酯 (15.8 μ L, 0.125mmol)。将所得的溶液在室温下搅拌 2h。将反应混合物用饱和 NaHCO_3 溶液淬灭并用 EtOAc 萃取。将有机层用水和盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤,真空浓缩。在制备型 TLC (2% MeOH 的二氯甲烷

溶液)上分离出两种非对映体。以17%的收率得到极性非对映体(3R,4R)-3-(((S)-2-乙酰氧基-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)丙酰氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯(7.5mg)。LC/MS(uplc): MH^+ 706.4,1.34min。以16%的收率得到非极性非对映体(3R,4R)-3-(((S)-2-乙酰氧基-N-((S)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)丙酰氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯(7.0mg)。LC/MS(uplc): MH^+ 706.4,1.35min。

[0416] 步骤I:去乙酰化

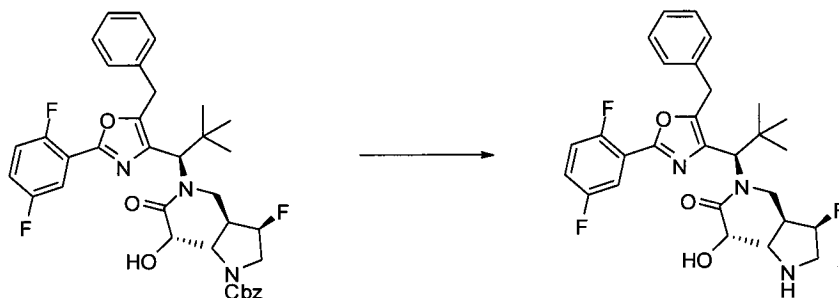
[0417]



[0418] 在室温下,向(3R,4R)-3-(((S)-2-乙酰氧基-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)丙酰氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯(7.5mg,0.011mmol)在甲醇中的溶液(213 μ L,0.05M溶液)中加入 K_2CO_3 (14.69mg,0.106mmol)。在搅拌30min后,将反应混合物用水淬灭,然后用EtOAc萃取。将有机层用水和盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤,真空浓缩。将(3R,4R)-3-(((S)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-2-羟基丙酰氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯粗品(6.5mg,92%)不经进一步纯化即用于下一步。LC/MS(uplc): MH^+ 664.3,1.30min。

[0419] 步骤J:Cbz去保护

[0420]



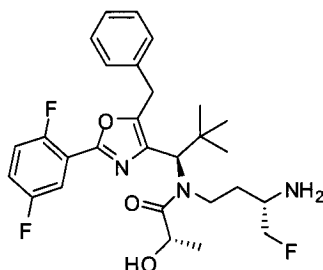
[0421] 在无水 N_2 气氛下,向(3R,4R)-3-(((S)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-2-羟基丙酰氨基)甲基)-4-氟吡咯烷-1-甲酸苄基酯(6.5mg,0.8 μ mol)在脱气的乙醇中的溶液(980 μ L,0.01M溶液)中加入Pd/C(5.0mg)。在用氢气清洗后,将配有氢气囊的反应混合物在室温下搅拌30min。将反应混合物用Celite®垫过滤,用甲醇和EtOAc洗涤。在真空下除去挥发性的有机滤液,得到粗品胺,将其用制备型反相HPLC纯化。将合并的产物级分用饱和 $NaHCO_3$ 溶液中和,然后用EtOAc萃取。将有机层用无水硫酸钠干燥,过滤并真空浓缩。将粗产物用制备型TLC纯化,得到游离胺形式的(S)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基

丙基)-N-(((3S,4R)-4-氟吡咯烷-3-基)甲基)-2-羟基丙酰胺 (2.5mg, 48.2%)。LC/MS(uplc): MH^+ 530.3, 0.94min。

[0422] 实施例 5

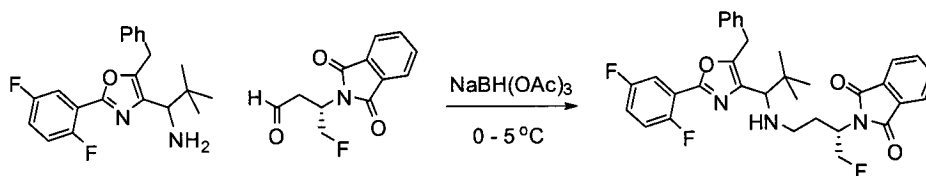
[0423] (S)-N-((S)-3-氨基-4-氟丁基)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-2-羟基丙酰胺

[0424]



[0425] 步骤 A: 还原性胺化

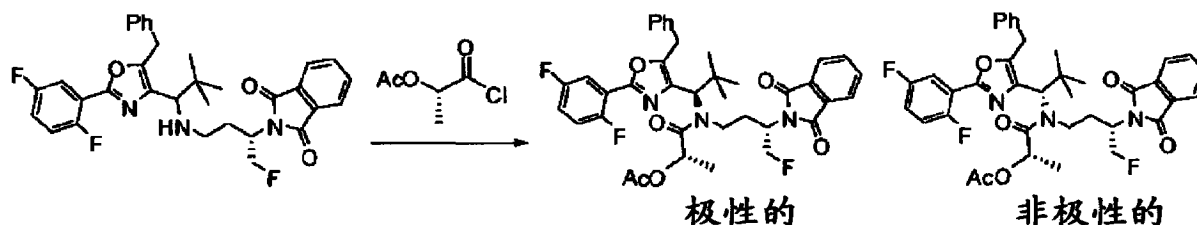
[0426]



[0427] 在 0℃ 下, 向 (±)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙烷-1-胺 (25mg, 0.07mmol) 在二氯甲烷 (0.5mL) 中的溶液中加入 (S)-3-(1,3-二氧代二氢异吲哚-2-基)-4-氟丁醛 (16.5mg, 0.07mmol), 然后加入 $Na(OAc)_3BH$ (22mg, 0.11mmol)。将反应混合物在该温度下在氮气下搅拌 1h, 用饱和 $NaHCO_3$ 溶液淬灭, 然后用 EtOAc 萃取。将有机层用水和盐水洗涤, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 浓缩。得到 (±)-2-((2S)-4-(1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基氨基)-1-氟丁烷-2-基)二氢异吲哚-1,3-二酮的非对映体混合物形式的 (±)-2-((2S)-4-(1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基氨基)-1-氟丁烷-2-基)二氢异吲哚-1,3-二酮粗产物 (39mg, 97%)。LC/MS(uplc): MH^+ 576.4, 1.03min 和 1.05min。

[0428] 步骤 B: 酰胺键形成

[0429]

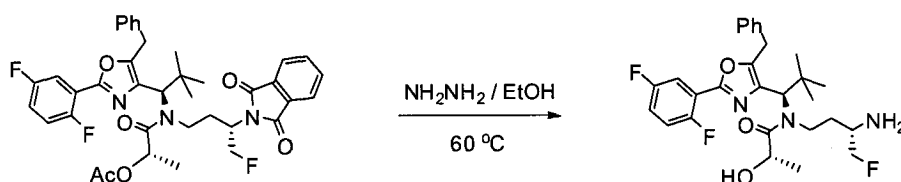


[0430] 在室温下, 向 (±)-2-((2S)-4-(1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基氨基)-1-氟丁烷-2-基)二氢异吲哚-1,3-二酮粗品 (39mg, 0.068mmol) 在二氯甲烷 (0.5mL) 中的溶液中加入 DIEA (52 μ L, 0.29mmol)。然后历经 2min 滴加乙酸 (S)-1-氯-1-氧代丙烷-2-基酯 (28 μ L, 0.22mmol)。将所得的溶液在室温下搅拌 1.5h。将反应混合物用饱和 $NaHCO_3$ 溶液淬灭, 用 EtOAc 萃取。将有机层用无水硫酸钠干燥, 过滤。在真空下除去挥发性有机物质后, 将非对映体粗品用制备型 TLC 纯化。以 17% 的收率得到

TLC 上的极性化合物乙酸 (S)-1-(((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基))((S)-3-(1,3-二氧代二氢异吲哚-2-基)-4-氟丁基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基酯 (8mg)。LC/MS(uplc) MH⁺690.3, 1.27min。以 17% 的收率得到非极性化合物乙酸 (S)-1-(((S)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基))((S)-3-(1,3-二氧代二氢异吲哚-2-基)-4-氟丁基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基酯 (8mg)。LC/MS(uplc) MH⁺690.3, 1.28min。

[0431] 步骤 C: 去保护

[0432]



[0433] 向乙酸 (R)-1-(((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基))((S)-3-(1,3-二氧代二氢异吲哚-2-基)-4-氟丁基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基酯 (8mg, 0.012mmol) 在 EtOH(1mL) 中的溶液中加入无水肼 (40 μL)。将反应在 50°C 下加热 24h。在将反应混合物冷却后,用 **Celite**[®] 垫过滤白色沉淀,用 EtOH 洗涤。将滤液浓缩并用制备型反相 HPLC 纯化。将纯品级分合并并冷冻干燥,得到 TFA 盐形式的 (S)-N-((S)-3-氨基-4-氟丁基)-N-((R)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-2-羟基丙酰胺 (3.2mg)。LC/MS(uplc) MH⁺518.2, 0.96min。

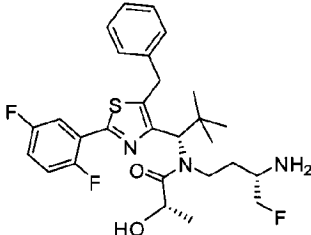
[0434] 分别用实施例 4、5 和 3 所述的操作制备了实施例 6、7 和 8。

[0435] 表 1

[0436]

化合物	结构	MH ⁺	名称	合成方法
6		530.4	(S)-N-((S)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3S,4R)-4-氟吡咯烷-3-基)甲基)-2-羟基丙酰胺	实施例 4
7		518.2	(S)-N-((S)-3-氨基-4-氟丁基)-N-((S)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噁唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-2-羟基丙酰胺	实施例 5

[0437]

8		543.2	(S)-N-((S)-3-氨基-4-氟丁基)-N-((S)-1-(5-苄基-2-(2,5-二氟苯基)噻唑-4-基)-2,2-二甲基丙基)-2-羟基丙酰胺	实施例 3
---	---	-------	--	-------

[0438] 实施例 9

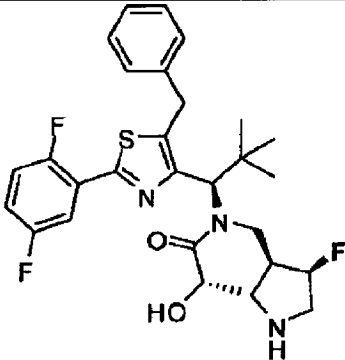
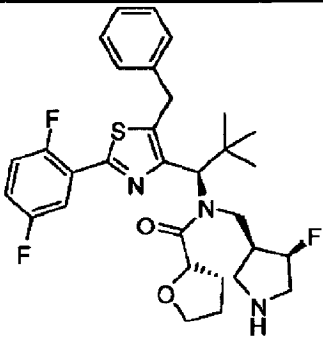
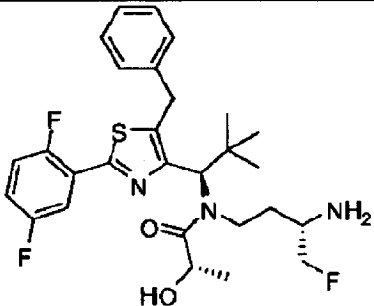
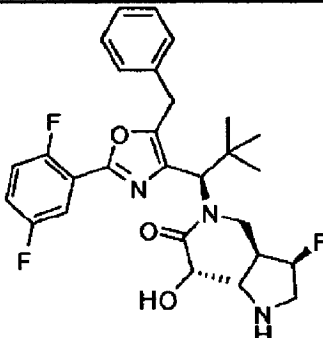
[0439] 用于测定 KSP 活性的测定法

[0440] 本实施例提供了一种用于体外测定 KSP 活性的代表性体外测定法。得自牛脑的精制的微管购自 Cytoskeleton Inc. (Denver, Colorado, USA)。人 KSP 的动力结构域 (Eg 5, KNSL1) 被克隆、被表达并被纯化至大于 95% 同质性。Biomol Green 购自 Affinity Research Products Ltd. (Matford Court, Exeter, Devon, 英国)。将微管和 KSP 动力蛋白 (即, KSP 动力结构域) 用测定缓冲液 (20mM Tris-HCl (pH 7.5), 1mM MgCl₂, 10mM DTT 和 0.25mg/mL BSA) 稀释至微管终浓度为 35 μg/mL 且 KSP 终浓度为 45nM。然后将微管 /KSP 混合物在 37°C 下预孵育 10min 以促进 KSP 与微管的结合。

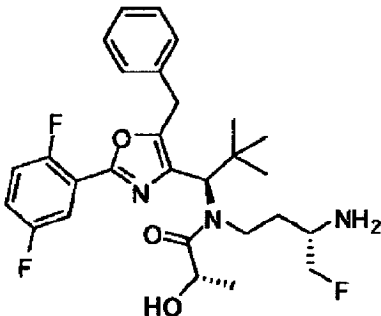
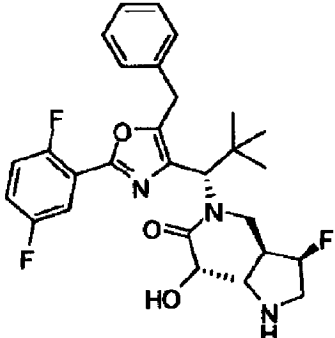
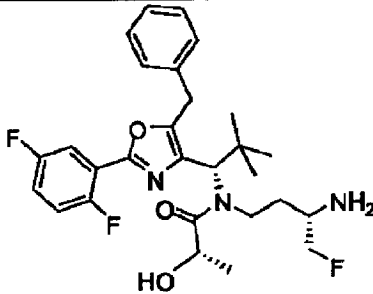
[0441] 向含有 1.25 μL 在 DMSO 中的抑制剂或测试化合物 (或者在对照的情况下仅含有 DMSO) 的试验板的各孔中加入 25 μL ATP 溶液 (将 ATP 在测定缓冲液中稀释至浓度为 300 μM) 和 25 μL 上述微管 /KSP 溶液。将板在 RT 下孵育 1 小时。孵育后, 向各孔中加入 65 μL Biomol Green (检测无机磷酸根的释放的以孔雀绿为基础的染料)。将板再孵育 5-10 分钟, 然后用 VictorII 板读数器测定 630nm 下的吸光度。630nm 下的吸光度的量对应于样品中 KSP 活性的量。然后通过使用 XLFit (用于 Excel) 或 GraphPad Software Inc 的 Prism 数据分析软件的非线性回归根据各浓度下 630nm 下的吸光度的降低测定了各抑制剂或测试化合物的 IC₅₀。

[0442] 表 2 中描述了本发明的代表性化合物的 IC₅₀ 值。

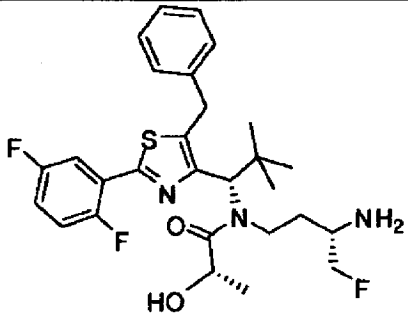
[0443] 表 2

实施例 #	结构	生物学活性 (IC ₅₀ /GI ₅₀)
1		0.84 nM/0.18 nM
2		10.0 nM/1.4 nM
3		2.6 nM/2.2 nM
4		7.18 nM/3.5 nM

[0444]

实施例 #	结构	生物学活性 (IC ₅₀ /GI ₅₀)
5		2.54 nM/4.82 nM
6		1000 nM/ N/A
7		631 nM/ N/A

[0445]

实施例 #	结构	生物学活性 (IC ₅₀ /GI ₅₀)
[0446] 8		216 nM/944 nM

[0447] 实施例 10

[0448] 用 KSP 抑制剂处理的肿瘤细胞系的细胞增殖的抑制

[0449] 将细胞以每个 96 孔板的孔约 500 个细胞的密度接种在 96 孔板中,使其生长 24 小时。然后将细胞用各种浓度的化合物处理 72 小时。然后,加入 100 μ l **CellTiter-Glo®** 溶液。**CellTiter-Glo®**测定法测量细胞裂解后孔中存在的 ATP 的量;在包括荧光素酶及其底物荧光素的酶反应中使用释放的 ATP。所发射的光的量与 ATP 的量成比例,ATP 的量又与孔中活细胞的数目成比例。(参见 Promega 产品目录 #G7573, **CellTiter-Glo®** Luminescent Cell Viability Assay)。然后将细胞在黑暗中孵育 30 分钟。用 Wallac Trilux 板读数器测定各孔的发光量,其与每孔的细胞数目相关。仅接受 DMSO(0.5%) 的孔中的活细胞数目用作 0% 抑制的指征,没有细胞的孔用作细胞生长的 100% 抑制。由被转化为对数的剂量值 - 连续接触化合物 72 小时的细胞计数 (对照的百分比) 的 S 形剂量 - 响应曲线来用图确定导致 50% 生长抑制的化合物浓度 (GI₅₀)。

[0450] 在下面列出了所用的细胞系。

[0451] 如上所述进行细胞增殖测定。

[0452] 癌细胞系

[0453] Colo 205- 结肠癌

[0454] RPMI 1640+10% FBS+1% L- 谷氨酰胺 +1% P/S

[0455] +1% NaPyr. +Hepes

[0456] +4.5g/L 葡萄糖 +1% NaBicarb.

[0457] MDA 435- 乳癌 -high met

[0458] EMEM+10% FBS+1% P/S+1% L- 谷氨酰胺

[0459] +1% NEAA+1% NaPyr+1% 维生素

[0460] HCT-15 和 HCT116- 结肠癌

[0461] RPMI 1640+10% FBS+1% L- 谷氨酰胺 +1%

[0462] P/S

[0463] 耐药细胞系

[0464] KB3.1- 结肠表皮癌 ;亲本细胞系

[0465] Iscove' s+10% FBS+1% L- 谷氨酰胺 +1% P/S

[0466] KBV1- 与 p- 糖蛋白有关的多药耐药细胞系

[0467] RPMI 1640+10% FBS+1% L- 谷氨酰胺 +1% P/S

[0468] +0.2ug/mL 长春碱

[0469] KB85- 与 p- 糖蛋白有关的多药耐药细胞系

[0470] DMEM+10% FBS+1% L- 谷氨酰胺 +1% P/S+

[0471] 10ng/mL 秋水仙碱

[0472] 本发明的优选化合物均具有生物学活性,如在所述的测定法试验方案中所测量的,其 GI50 小于约 1mM,其中一些实施方案具有小于约 25 μ M 的生物学活性,另一些实施方案具有小于约 1000nM 的生物学活性,还有一些实施方案具有小于约 100nM 的 GI50。

[0473] 实施例 11

[0474] 集落形成 (Clonogenic) 软琼脂测定法试验方案

[0475] 将人癌细胞系以 3×10^5 个细胞 / 孔的密度接种在 6- 孔板中。第二天,向各孔中加入一定浓度的感兴趣的化合物。在孵育 24 和 48 小时后,收获细胞,洗涤并对其进行计数。用 Multimek 96 robot 进行后面的步骤。然后,将 500 个活细胞 / 孔接种到用 PolyHema 涂敷的 96- 孔板中,涂敷 PolyHema 是为了阻止细胞粘附到孔的底部。将琼脂糖 (3% 原料) 融化,用温热的培养基稀释,加入细胞中至终浓度为 0.5%。在软琼脂固化后,将板在 37°C 下孵育 6 天。向细胞中加入 Alamar 蓝染料,将板再孵育 6 小时。在 Tecan 板读数器上测量光密度的变化,认为其与软琼脂中形成的集落的数目相关。癌细胞能在琼脂上生长,因此将表现出光密度增加。降低的光密度读数意味着癌细胞被抑制。本发明的化合物表现出光密度降低。