



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103415519 A

(43) 申请公布日 2013. 11. 27

(21) 申请号 201280011146. 5

(22) 申请日 2012. 02. 29

(30) 优先权数据

11156463. 9 2011. 03. 01 EP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2013. 08. 30

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2012/053455 2012. 02. 29

(87) PCT申请的公布数据

W02012/117027 EN 2012. 09. 07

(71) 申请人 詹森药业有限公司

地址 比利时比尔斯特恩豪特斯路 30 号

(72) 发明人 A. A. 特拉班科 - 苏亚雷兹

H. J. M. 吉森 M. L. M. 范戈尔

J. A. 维加拉米罗

F. 德加多 - 吉梅内兹

(74) 专利代理机构 中国专利代理 (香港) 有限公司 72001

代理人 徐晶 李进

(51) Int. Cl.

C07D 487/04 (2006. 01)

A61K 31/4985 (2006. 01)

A61P 25/28 (2006. 01)

权利要求书2页 说明书69页

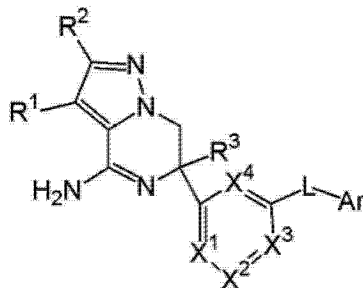
### (54) 发明名称

作为  $\beta$ -分泌酶 (BACE) 抑制剂有用的 6, 7-二氢-吡唑 [1, 5-a] 吡嗪-4-基胺衍生物

### (57) 摘要

本发明涉及作为  $\beta$ -分泌酶抑制剂的新颖的 6, 7-二氢-吡唑 [1, 5-a] 吡嗪-4-基-胺衍生物,  $\beta$ -分泌酶也称作  $\beta$ -位点淀粉样蛋白切割酶、BACE、BACE1、Asp2、或膜天冬氨酸蛋白酶 2。本发明还针对包括此类化合物的药物组合物, 针对制备此类化合物和组合物的方法, 并且针对此类化合物和组合物用于预防及治疗其中涉及  $\beta$ -分泌酶的紊乱的用途, 这些紊乱如阿耳茨海默病 (AD)、轻度认知缺损、老化、痴呆、路易体痴呆、唐氏综合征、与中风相关的痴呆、与帕金森氏病相关的痴呆或与  $\beta$ -淀粉样蛋白相关的痴呆。

## 1. 具有化学式 (I) 的化合物



或其一种互变异构体或立体异构体形式, 其中

$R^1$  和  $R^2$  独立地选自下组, 该组由以下各项构成: 氢、卤素、氰基、 $C_{1-3}$  烷基、单-和多卤代  $-C_{1-3}$  烷基或  $C_{3-6}$  环烷基;

$R^3$  选自下组, 该组由以下各项构成: 氢、 $C_{1-3}$  烷基、 $C_{3-6}$  环烷基、单-和多卤代  $-C_{1-3}$  烷基、同芳基 (homoaryl) 以及杂芳基;

$X^1$ 、 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$  独立地是 C( $R^4$ ) 或 N, 其条件是其中不超过两个表示 N; 每个  $R^4$  选自下组, 该组由以下各项构成: 氢、卤素、 $C_{1-3}$  烷基、单-和多卤代  $-C_{1-3}$  烷基、氰基、 $C_{1-3}$  烷氧基、单-和多卤代  $-C_{1-3}$  烷氧基;

L 是一个键或  $-N(R^5)CO-$ , 其中  $R^5$  是氢或  $C_{1-3}$  烷基;

Ar 是同芳基或杂芳基;

其中同芳基是苯基或经一个、两个或三个取代基取代的苯基, 这个或这些取代基选自下组, 该组由以下各项构成: 卤素、氰基、 $C_{1-3}$  烷基、 $C_{1-3}$  烷氧基、单-和多卤代  $-C_{1-3}$  烷基、单-和多卤代  $-C_{1-3}$  烷氧基;

杂芳基选自下组, 该组由以下各项构成: 吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、三唑基、噻唑基、噻二唑基、噁唑基、以及噁二唑基, 每个任选地经一个、两个或三个取代基取代, 这个或这些取代基选自下组, 该组由以下各项构成: 卤素、氰基、 $C_{1-3}$  烷基、 $C_{1-3}$  烷氧基、单-和多卤代  $-C_{1-3}$  烷基、单-和多卤代  $-C_{1-3}$  烷氧基; 或其一种加成盐或溶剂化物。

## 2. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中,

$R^1$  和  $R^2$  独立地选自氢和  $C_{1-3}$  烷基;

$X^1$ 、 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$  独立地是 C( $R^4$ ), 其中每个  $R^4$  选自氢和卤素;

L 是一个键或  $-N(R^5)CO-$ , 其中  $R^5$  是氢;

Ar 是同芳基或杂芳基;

其中同芳基是苯基或经一个、两个或三个取代基取代的苯基, 这个或这些取代基选自下组, 该组由以下各项构成: 卤素、氰基、 $C_{1-3}$  烷基、 $C_{1-3}$  烷氧基、以及多卤代  $-C_{1-3}$  烷氧基;

杂芳基选自下组, 该组由以下各项构成: 吡啶基、嘧啶基、以及吡嗪基, 每个任选地经一个或两个取代基取代, 这个或这些取代基选自下组, 该组由以下各项构成: 卤素、氰基、 $C_{1-3}$  烷基、 $C_{1-3}$  烷氧基、以及多卤代  $-C_{1-3}$  烷氧基; 或

其一种加成盐或溶剂化物。

## 3. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中,

$R^1$  和  $R^2$  是氢;

$X^1$ 、 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$  是 CH；

L 是一个键或  $-N(R^5)CO-$ ，其中  $R^5$  是氢；

Ar 是同芳基或杂芳基；

其中同芳基是经氯取代的苯基；

杂芳基选自下组，该组由以下各项构成：吡啶基以及嘧啶基，每个任选地经一个或两个取代基取代，这个或这些取代基选自下组，该组由以下各项构成：氯、氟、氰基、甲基、以及甲氧基；或

其一种加成盐或溶剂化物。

4. 如权利要求 1 所述的化合物，经  $R^3$  取代的碳原子具有 R- 构型。

5. 一种药物组合物，该组合物包括一种治疗有效量的化合物以及一种药学上可接受的载体，该化合物是如在权利要求 1 至 4 中任一项所定义的。

6. 一种用于制备如权利要求 5 中定义的药物组合物的方法，其特征在于一种药学上可接受的载体与一种治疗有效量的如在权利要求 1 至 4 中任一项所定义的化合物紧密混合。

7. 如在权利要求 1 至 4 中任一项所定义的一种化合物，对于在阿耳茨海默病 (AD)、轻度认知缺损、老化、痴呆、路易体痴呆、唐氏综合征、与中风相关的痴呆、与帕金森氏病相关的痴呆或与  $\beta$ -淀粉样蛋白相关的痴呆的治疗、防止或预防中使用。

8. 治疗选自下组的紊乱的一种方法，该组由以下各项构成：阿耳茨海默病、轻度认知缺损、老化、痴呆、路易体痴呆、唐氏综合征、与中风相关的痴呆、与帕金森氏病相关的痴呆以及与  $\beta$ -淀粉样蛋白相关的痴呆，该方法包括向需要其的受试者给予一种治疗有效量的如在权利要求 1 至 4 中任一项所定义的化合物或如在权利要求 5 中所定义的药物组合物。

## 作为 $\beta$ -分泌酶 (BACE) 抑制剂有用的 6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-基胺衍生物

### 发明领域

[0001] 本发明涉及作为  $\beta$ -分泌酶抑制剂的新颖的 6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-基-胺衍生物,  $\beta$ -分泌酶也称作  $\beta$ -位点淀粉样蛋白切割酶、BACE、BACE1、Asp2、或膜天冬氨酸蛋白酶 2。本发明还针对包括此类化合物的药物组合物, 针对用于制备此类化合物和组合物的方法, 并且针对此类化合物和组合物用于预防及治疗其中涉及  $\beta$ -分泌酶的紊乱的用途, 这些紊乱例如阿耳茨海默病 (AD)、轻度认知缺损、老化、痴呆、路易体痴呆、唐氏综合征、与中风相关的痴呆、与帕金森氏病相关的痴呆或与  $\beta$ -淀粉样蛋白相关的痴呆。

### [0002] 发明背景

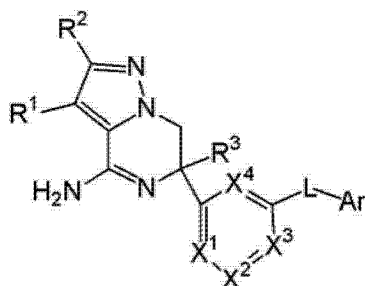
[0003] 阿耳茨海默病 (AD) 是一种与衰老相关的神经退行性疾病。AD 患者遭受认知缺陷和记忆丧失连同行为障碍, 例如焦虑。超过 90% 的受 AD 折磨的那些病例具有散发形式的紊乱, 而只有 10% 的病例是家族性或遗传的。在美国, 在 65 岁年龄段约十分之一的人患有 AD, 而在 85 岁年龄段, 每两人就有 1 个患有 AD。距初次诊断的平均预期寿命是 7-10 年, 并且 AD 患者需要来自非常昂贵的辅助生活机构或来自家庭成员的大量护理。随着群体中老年人数量的不断增加, AD 引起不断增长的医疗关注。当前可用于 AD 的疗法只治疗该疾病的症状, 并且包括用于改善认知特性的乙酰胆碱酯酶抑制剂连同用于控制与这种疾病相关的行为障碍的抗焦虑药和抗精神病药。

[0004] AD 患者脑部标志性病理特征是由 tau 蛋白的高度磷酸化产生的神经原纤维缠结以及由  $\beta$ -淀粉样蛋白 1-42 (Abeta1-42) 肽聚集形成的淀粉样蛋白斑。Abeta1-42 形成低聚物并且然后是微丝, 并且最终是淀粉样蛋白斑。这些低聚物以及微丝被认为是尤其毒害神经的并且可以导致与 AD 相关的大多数神经学损伤。预防 Abeta1-42 形成的试剂具有成为用于 AD 治疗的疾病-改性剂的潜能。Abeta1-42 产生自淀粉样前蛋白 (APP), 由 770 个氨基酸组成。Abeta1-42 的 N-端被  $\beta$ -分泌酶 (BACE) 切割, 并且然后  $\gamma$ -分泌酶切割 C-末端。除了 Abeta1-42 之外,  $\gamma$ -分泌酶还释放为主要切割产物的 Abeta1-40 连同 Abeta1-38 和 Abeta1-43。这些 Abeta 形式也可以聚集以形成低聚物和微丝。因此, 预期 BACE 抑制剂将预防 Abeta1-42 连同 Abeta1-40、Abeta1-38 和 Abeta1-43 的形成, 并且将是 AD 治疗的潜在治疗剂。

### [0005] 发明概述

[0006] 本发明针对具有化学式 (I) 的化合物

[0007]



[0008] 或其互变异构体或立体异构体形式,其中

[0009]  $R^1$  和  $R^2$  独立地选自下组,该组由以下各项构成:氢、卤素、氰基、 $C_{1-3}$  烷基、单-和多卤代- $C_{1-3}$  烷基或  $C_{3-6}$  环烷基;

[0010]  $R^3$  选自下组,该组由以下各项构成:氢、 $C_{1-3}$  烷基、 $C_{3-6}$  环烷基、单-和多卤代- $C_{1-3}$  烷基、同芳基(homoaryl)以及杂芳基;

[0011]  $X^1$ 、 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$  独立地是  $C(R^4)$  或 N,其条件是其中不超过两个表示 N;每个  $R^4$  选自下组,该组由以下各项构成:氢、卤素、 $C_{1-3}$  烷基、单-和多卤代- $C_{1-3}$  烷基、氰基、 $C_{1-3}$  烷氧基、单-和多卤代- $C_{1-3}$  烷氧基;

[0012] L 是一个键或  $-N(R^5)CO-$ ,其中  $R^5$  是氢或  $C_{1-3}$  烷基;

[0013] Ar 是同芳基或杂芳基;

[0014] 其中同芳基是苯基或经一个、两个或三个取代基取代的苯基,这个或这些取代基选自下组,该组由以下各项构成:卤素、氰基、 $C_{1-3}$  烷基、 $C_{1-3}$  烷氧基、单-和多卤代- $C_{1-3}$  烷基、单-和多卤代- $C_{1-3}$  烷氧基;

[0015] 杂芳基选自下组,该组由以下各项构成:吡啶基、嘧啶基、吡嗪基(pyrazyl)、哒嗪基(pyridazyl)、呋喃基、噻吩基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、三唑基、噻唑基、噻二唑基、噁唑基、以及噁二唑基,每个任选地经一个、两个或三个取代基取代,这个或这些取代基选自下组,该组由以下各项构成:卤素、氰基、 $C_{1-3}$  烷基、 $C_{1-3}$  烷氧基、单-和多卤代- $C_{1-3}$  烷基、单-和多卤代- $C_{1-3}$  烷氧基;或其加成盐或溶剂化物。

[0016] 本发明示例了包括药学上可接受的载体以及任意上述化合物的一种药物组合物。本发明的一个示例是通过混合任意上述化合物与药学上可接受的载体制成的一种药物组合物。本发明示例了用于制造一种药物组合物的方法,该方法包括混合任意上述化合物与药学上可接受的载体。

[0017] 本发明列举了治疗  $\beta$ -分泌酶介导的紊乱的方法,包括向需要其的受试者给予治疗有效量的任意上述化合物或药物组合物。

[0018] 本发明进一步列举了抑制  $\beta$ -分泌酶的方法,包括向需要其的受试者给予治疗有效量的任意上述化合物或药物组合物。

[0019] 本发明的一个实例是治疗选自下组的紊乱的方法,该组由以下各项构成:阿耳茨海默病、轻度认知缺损、老化、痴呆、路易体痴呆、唐氏综合征、与中风相关的痴呆、与帕金森氏病相关的痴呆以及与  $\beta$ -淀粉样蛋白相关的痴呆,优选地是阿耳茨海默病,该方法包括向需要其的受试者给予治疗有效量的任意上述化合物或药物组合物。

[0020] 本发明的另一个实例是上述任意化合物对于在治疗需要其的受试者中的以下疾病中使用:(a) 阿耳茨海默病、(b) 轻度认知缺损、(c) 老化、(d) 痴呆、(e) 路易体痴呆、(f) 唐氏综合征、(g) 与中风相关的痴呆、(h) 与帕金森氏病相关的痴呆以及 (i) 与  $\beta$ -淀粉样蛋白相关的痴呆。

[0021] 发明详细说明

[0022] 本发明针对如在上文中定义的具有化学式 (I) 的化合物及其药学上可接受的盐和溶剂化物。具有化学式 (I) 的化合物是  $\beta$ -分泌酶(也称作  $\beta$ -位点切割酶、BACE、BACE1、Asp2 或膜天冬氨酸蛋白酶 2) 的抑制剂,并且在阿耳茨海默病、轻度认知缺损、老化、痴呆、与中风相关的痴呆、路易体痴呆、唐氏综合征、与帕金森氏病相关的痴呆以及与  $\beta$ -淀粉样

蛋白相关的痴呆,优选地是阿耳茨海默病、轻度认知缺损或老化,更优选地是阿耳茨海默病的治疗中是有用的。

[0023] 在本发明的一个实施例中,  $R^1$  和  $R^2$  独立地选自氢和  $C_{1-3}$  烷基;

[0024]  $X^1$ 、 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$  独立地是  $C(R^4)$ , 其中每个  $R^4$  选自氢和卤素;

[0025] L 是一个键或  $-N(R^5)CO-$ , 其中  $R^5$  是氢;

[0026] Ar 是同芳基或杂芳基;

[0027] 其中同芳基是苯基或经一个、两个或三个取代基取代的苯基, 这个或这些取代基选自下组, 该组由以下各项构成: 卤素、氰基、 $C_{1-3}$  烷基、 $C_{1-3}$  烷氧基、以及多卤代  $-C_{1-3}$  烷氧基;

[0028] 杂芳基选自下组, 该组由以下各项构成: 吡啶基、嘧啶基、以及吡嗪基, 每个任选地经一个或两个取代基取代, 这个或这些取代基选自下组, 该组由以下各项构成: 卤素、氰基、 $C_{1-3}$  烷基、 $C_{1-3}$  烷氧基、以及多卤代  $-C_{1-3}$  烷氧基; 或

[0029] 其加成盐或溶剂化物。

[0030] 在本发明的另一个实施例中,  $R^1$  和  $R^2$  是氢;

[0031]  $X^1$ 、 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$  是 CH;

[0032] L 是一个键或  $-N(R^5)CO-$ , 其中  $R^5$  是氢;

[0033] Ar 是同芳基或杂芳基;

[0034] 其中同芳基是经氯取代的苯基;

[0035] 杂芳基选自下组, 该组由以下各项构成: 吡啶基以及嘧啶基, 每个任选地经一个或两个取代基取代, 这个或这些取代基选自下组, 该组由以下各项构成: 氯、氟、氰基、甲基、以及甲氧基; 或

[0036] 其加成盐或溶剂化物。

[0037] 在另一个实施例中, 经  $R^3$  取代的碳原子具有 R- 构型。

[0038] 定义

[0039] “卤素”应指示氟、氯以及溴; “ $C_{1-3}$  烷基”应指示具有 1、2 或 3 个碳原子的直链或支链饱和的烷基, 例如, 甲基、乙基、1- 丙基以及 2- 丙基; “ $C_{1-3}$  烷氧基”应指示一个醚基其中  $C_{1-3}$  烷基如之前定义; “单- 和多卤代  $C_{1-3}$  烷基”应指示如之前定义的、经 1、2、3 个或可能的情况下如之前定义的更多个卤素原子取代的  $C_{1-3}$  烷基; “单- 和多卤代  $C_{1-3}$  烷氧基”应指示一个醚基其中单- 和多卤代  $C_{1-3}$  烷基如之前定义; “ $C_{3-6}$  环烷基”应指示环丙基、环丁基、环戊基以及环己基; “ $C_{3-6}$  环烷二基”应指示一个二价基, 如环丙烷二基、环丁烷二基、环戊烷二基以及环己烷二基。

[0040] 在此使用的术语“受试者”是指动物, 优选地是哺乳动物, 最优选地是人类, 该受试者是或已经成为治疗、观察或实验的对象。

[0041] 在此使用的术语“治疗有效量”意指在研究员、兽医、医师或其他临床医生寻找的组织系统、动物或人中引起生物学或医学响应的活性化合物或药用试剂的量, 该响应包括进行治疗的疾病或紊乱的症状的减轻。

[0042] 在此使用的术语“组合物”意在涵盖包括处于特定量的特定成分的产物, 连同直接或间接源于处于特定量的特定成分的组分的任何产物。

[0043] 在上下文中, 术语“具有化学式 (I) 的化合物”意在包括其加成盐、溶剂化物以及

立体异构体。

[0044] 在上下文中,术语“立体异构体”或“立体化学的同分异构形式”可互换地使用。

[0045] 本发明包括为纯立体异构体或为两种或更多种立体异构体的混合物的、具有化学式 (I) 的化合物的全部立体异构体。

[0046] 对映异构体是彼此非重叠镜像的立体异构体。一对的对映异构体的 1 : 1 混合物是一种消旋体或消旋混合物。

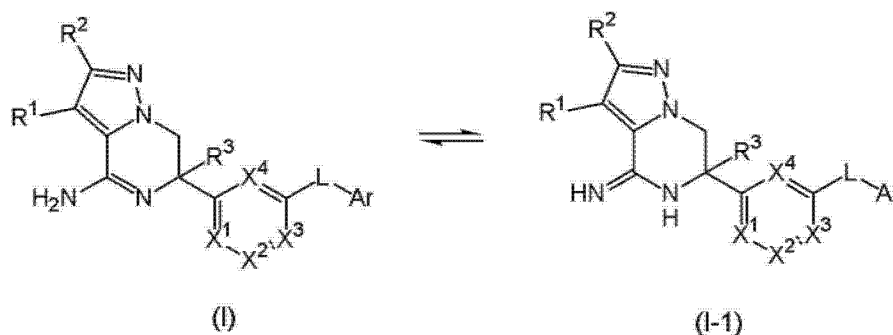
[0047] 非对映体 (或非对映异构体) 是不为对映异构体的立体异构体,即,它们是不相关的镜像。如果化合物包含一个双键,这些取代基可以处于 E 或 Z 构型。如果化合物包含一个双取代的环烷基,这些取代基可以处于顺式或反式构型。因此,本发明包括对映异构体、非对映异构体、消旋体、E 异构体、Z 异构体、顺式异构体、反式异构体及其混合物。

[0048] 根据 Cahn-Ingold-Prelog 系统限定绝对构型。不对称原子处的构型由 R 或 S 限定。绝对构型未知的、已拆分的化合物可以被指定为 (+) 或 (-),取决于它们旋转平面偏振光的方向。

[0049] 当鉴定一种特定立体异构体时,这意味着所述立体异构体基本上上无其他异构体,即,与其他异构体的关联小于 50%,优选地小于 20%,更优选地小于 10%,甚至更优选地小于 5%,特别是小于 2% 并且最优选地小于 1%。因此,例如当具有化学式 (I) 的化合物被限定为 (R) 时,这意味着该化合物基本上上无 (S) 异构体;当具有化学式 (I) 的化合物被限定为 E 时,这意味着该化合物基本上上无 Z 异构体;当具有化学式 (I) 的化合物被限定为顺式时,这意味着该化合物基本上上无反式异构体。

[0050] 具有化学式 (I) 的化合物与具有化学式 (I-1) 的互变异构体以动态平衡的形式共存。

[0051]



[0052] 此外,针对本发明化合物的一些晶型可以作为多晶型存在并且因此意在包括在本发明之内。此外,本发明的一些化合物可以与水 (即,水合物) 或常用有机溶剂形成溶剂化物,并且此类溶剂化物也意在涵盖在本发明的范围之内。

[0053] 为了在医学中使用,本发明化合物的盐是指无毒的“药学上可接受的盐”。然而,其他盐在制备根据本发明的化合物或它们的药学上可接受的盐中是有用的。这些化合物的适合的药学上可接受的盐包括可以通过,例如,混合该化合物溶液与一种药学上可接受的酸溶液形成的酸加成盐,该酸例如是,盐酸、硫酸、富马酸、马来酸、琥珀酸、乙酸、苯甲酸、柠檬酸、酒石酸、碳酸或磷酸。此外,在本发明的化合物携带一个酸性部分的情况下,其适合的药学上可接受的盐可以包括碱金属盐,例如,钠或钾盐;碱土金属盐,例如,钙或镁盐;以及适合的有机配体形成的盐,例如,季铵盐。

[0054] 在药学上可接受的盐的制备中可以使用的代表性的酸包括但不限于以下这些：乙酸、2,2-二氯乙酸、酰化氨基酸、己二酸、海藻酸、抗坏血酸、L-天冬氨酸、苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰氨基苯甲酸、(+)-樟脑酸、樟脑磺酸、癸酸、己酸、辛酸、肉桂酸、柠檬酸、环拉酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、2-羟基-乙磺酸、甲酸、富马酸、半乳糖二酸、龙胆酸、葡庚糖酸、D-葡萄糖酸、D-葡萄糖醛酸、L-谷氨酸、 $\beta$ -氧代-戊二酸、乙醇酸、马尿酸、氢溴酸、盐酸、(+)-L-乳酸、(±)-DL-乳酸、乳糖酸、马来酸、(-)-L-苹果酸、丙二酸、(±)-DL-扁桃酸、甲磺酸、萘-2-磺酸、萘-1,5-二磺酸、1-羟基-2-萘甲酸、烟酸、硝酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、双羟萘酸、磷酸、L-焦谷氨酸、水杨酸、4-氨基-水杨酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、硫酸、单宁酸、(+)-L-酒石酸、硫氰酸、p-甲基苯磺酸、三氟甲磺酸、以及十一碳烯酸。在药学上可接受的盐的制备中可以使用的代表性的碱包括但不限于以下这些：铵、L-精氨酸、苯乙苄胺、苄星青霉素、氢氧化钙、胆碱、二甲基乙醇胺、二乙醇胺、二乙胺、2-(二乙氨基)-乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-甲基-葡糖胺、哈胺(hydrabamine)、1H-咪唑、L-赖氨酸、氢氧化镁、4-(2-羟乙基)-吗啉、哌嗪、氢氧化钾、1-(2-羟乙基)-吡咯烷、仲胺、氢氧化钠、三乙醇胺、氨丁三醇以及氢氧化锌。

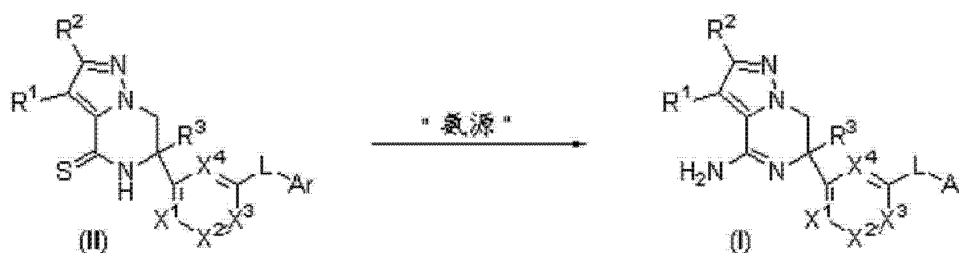
[0055] 本发明化合物的化学名根据化学文摘服务社商定的命名法规产生。一些根据化学式(I)的化合物还能以它们的互变异构形式存在。此类形式,虽然没有在上述化学式中明确指出,但是也旨在包括在本发明的范围之内。

[0056] A. 最终化合物的制备

[0057] 实验程序 1

[0058] 根据反应方案(1),在一种适合的反应-惰性溶剂(例如像,水或甲醇)中,在热条件(例如像,在60°C至90°C加热反应混合物,持续例如4至100小时)进行的一个反应,可以通过将具有化学式(II)的中间化合物与一种适当的氨源(例如像,氯化铵或氨水)进行反应来制备根据化学式(I)的最终化合物。在反应方案(1)中,所有变量如在化学式(I)中定义。

[0059]

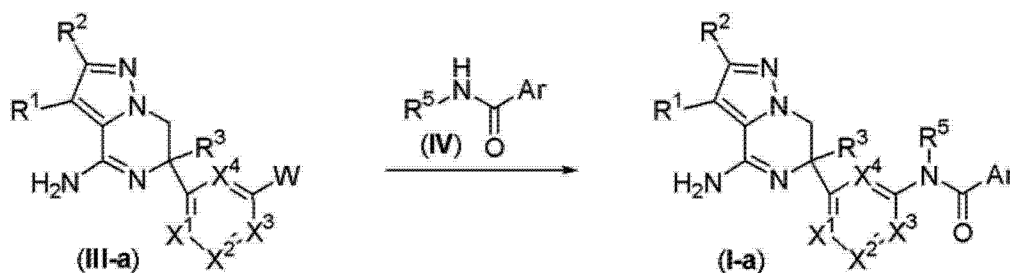


[0060] 反应方案 1

[0061] 实验程序 2

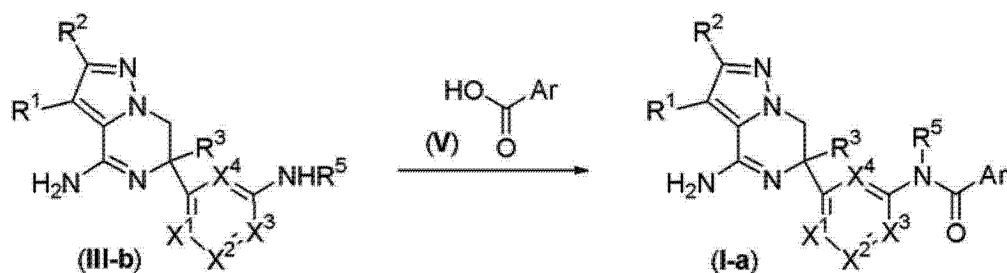
[0062] 根据反应方案(2),在一种适合的反应-惰性溶剂(例如像,N,N-二甲基-甲酰胺)中,在一种适合的碱(例如像, $K_3PO_4$ )、铜催化剂(例如像,CuI)以及二胺(例如像,(1R,2R)-(-)-1,2-二氨基环己烷)的存在下,在热条件(例如像,在微波辐射下,在180°C加热反应混合物,持续例如135分钟)进行的一个反应,可以通过将具有化学式(III-a)的中间化合物与具有化学式(IV)的中间体进行反应来制备根据化学式(I-a)(其中L是-N(R<sup>5</sup>)CO-)的最终化合物。在反应方案(2)中,所有变量如在化学式(I)中定义,并且W是卤素。

[0063]

[0064] 反应方案 2[0065] 实验程序 3

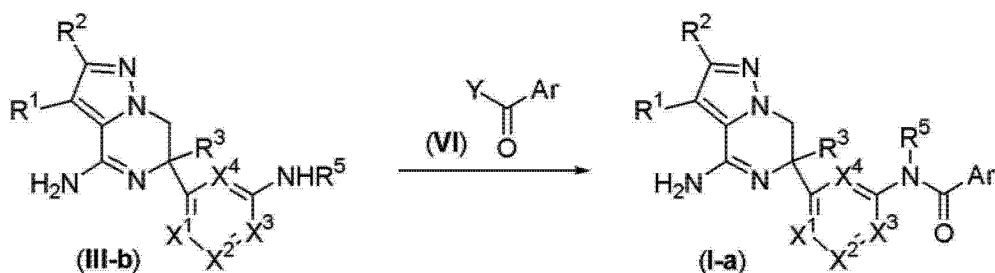
[0066] 额外地,根据反应方案(3),在一种适合的反应-惰性溶剂(例如像,二氯甲烷或甲醇)中,任选地在一种适合的碱(例如像,N,N-二异丙基乙胺)存在下,在一种缩合剂(例如像,0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯或4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物])的存在下,在热条件(例如像,在25℃加热反应混合物,持续例如2小时)进行的一个反应,可以通过将具有化学式(III-b)的中间化合物与具有化学式(V)的中间体进行反应来制备根据化学式(I-a)的最终化合物。在反应方案(3)中,所有变量如在化学式(I)中定义。

[0067]

[0068] 反应方案 3[0069] 实验程序 4

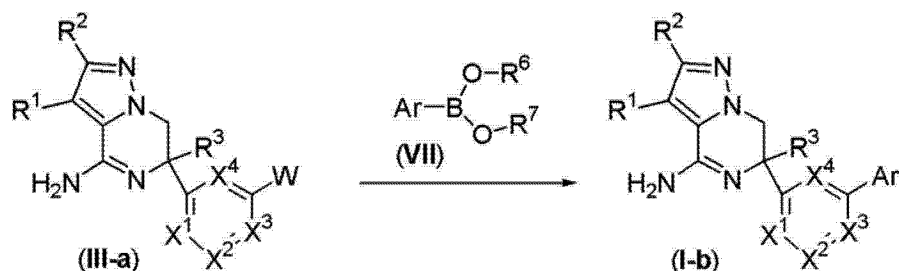
[0070] 额外地,根据反应方案(4),在一种适合的反应-惰性溶剂(例如像,二氯甲烷)中,在一种适合的碱(例如像,吡啶)存在下,在热条件(例如像,在25℃加热反应混合物,持续例如2小时)进行的一个反应,可以通过将具有化学式(III-b)的中间化合物与具有化学式(VI)的中间体进行反应来制备根据化学式(I-a)的最终化合物。在反应方案(4)中,所有变量如在化学式(I)中定义,并且Y是卤素。

[0071]

[0072] 反应方案 4[0073] 实验程序 5

[0074] 根据反应方案 (5), 在一种适合的反应-惰性溶剂 (例如像, 惰性溶剂例如像 1, 4-二噁烷/乙醇的混合物) 中, 在一种适合的碱 (例如像,  $K_2CO_3$ )、Pd-络合催化剂 (例如像, 四(三苯基膦)合钯(0)) 的存在下, 在热条件 (例如像, 在微波辐射下, 在  $80^\circ C$  加热反应混合物, 持续例如 20 小时或例如, 在  $150^\circ C$  加热反应混合物持续 10min 至 30min) 进行的一个反应, 可以通过将具有化学式 (III-a) 的中间化合物与具有化学式 (VII) 的中间体进行反应来制备根据化学式 (I-b) (其中 L 是一个键) 的最终化合物。在反应方案 (5) 中, 所有变量如在化学式 (I) 中定义, 并且 W 是卤素。R<sup>6</sup> 和 R<sup>7</sup> 可以是氢或烷基, 或可以作为整体形成例如具有化学式  $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、或  $-C(CH_3)_2C(CH_3)_2-$  的一个二价基。

[0075]

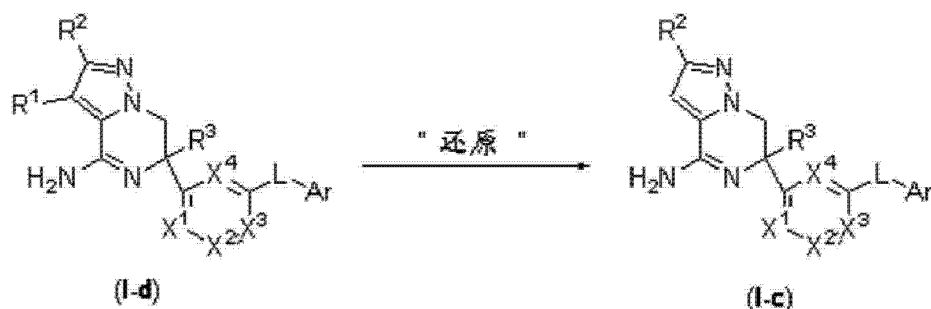


[0076] 反应方案 5

[0077] 实验程序 6

[0078] 根据反应方案 (6), 遵循本领域中已知的程序, 可以从相应的、具有化学式 (I-d) 的最终化合物 (其中 R<sup>1</sup> 选自下组, 该组由以下各项构成: 氯、溴和碘) 来制备根据化学式 (I-c) (其中 R<sup>1</sup> 是氢) 的最终化合物。例如, 可以在氢气氛以及一种适当的催化剂 (例如像, 钯炭、铂炭、拉内镍以及类似催化剂) 存在下, 通过搅拌这些反应物进行所述还原。适合的溶剂是, 例如, 水、链烷醇 (例如, 甲醇、乙醇以及类似物)、酯 (例如, 乙酸乙酯以及类似物)。为了增强所述还原反应的速率, 升高反应混合物的温度和 / 或压力可以是有利的。可以通过向该反应混合物中添加催化剂毒物 (例如像, 噻吩以及类似物) 来阻止这些反应物以及反应产物中所不希望的、某些官能团的进一步氢化。在反应方案 (6) 中, 所有变量如在化学式 (I) 中定义。

[0079]



[0080] 反应方案 6

[0081] 前述制备中的多个中间体以及起始材料是可以根据本领域中已知的、制备所述或类似化合物的方法来制备的已知化合物并且一些中间体是新的。在下文中将更加详细地描述此类制备方法中的多个。

[0082] B. 中间化合物的制备

[0083] 实验程序 7

[0084] 根据反应方案 (7), 在一种反应惰性溶剂 (例如像, 四氢呋喃或甲苯) 中, 在一种适合的碱 (例如像, 吡啶) 存在下, 在热条件 (例如像, 在 100℃ 加热反应混合物, 持续例如 5 小时) 进行的一个反应, 可以通过将具有化学式 (VIII) 的中间化合物与用于合成硫代酰胺的一种适合的硫供体试剂 (donating reagent) (例如像, 五硫化磷或 2, 4- 双-(4- 甲氧苯基)-1, 3- 二硫杂-2, 4- 二磷杂环丁烷 2, 4- 二硫化物 [ 劳森试剂 ]) 进行反应来制备根据化学式 (II) 的中间体。在反应方案 (7) 中, 所有变量如在化学式 (I) 中定义。

[0085]

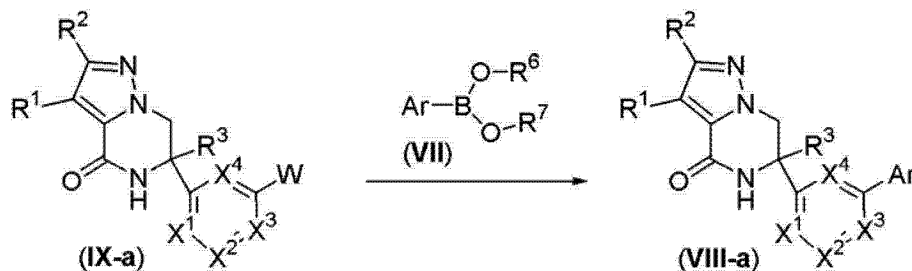


[0086] 反应方案 7

[0087] 实验程序 8

[0088] 根据反应方案 (8), 在一种适合的惰性溶剂混合物 (例如像, 1, 4- 二噁烷 / 水) 中, 在一种适合的碱 (例如像, 水性  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )、Pd- 络合催化剂 (例如像, 四(三苯基膦)合钯 (0)) 的存在下, 在热条件 (例如像, 在微波辐射下, 在 80℃ 加热反应混合物, 持续例如 20 小时或例如, 在 150℃ 加热反应混合物持续例如 10min 至 30min) 进行的一个反应, 可以通过将具有化学式 (IX-a) 的中间化合物与具有化学式 (VII) 的中间体进行反应来制备根据化学式 (VIII-a) (其中 L 是一个键) 的中间体。在反应方案 (8) 中, 所有变量如在化学式 (I) 中定义, 并且 W 是卤素。R<sup>6</sup> 和 R<sup>7</sup> 可以是氢或烷基, 或可以作为整体形成例如具有化学式  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、或  $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{CH}_3)_2-$  的一个二价基。

[0089]



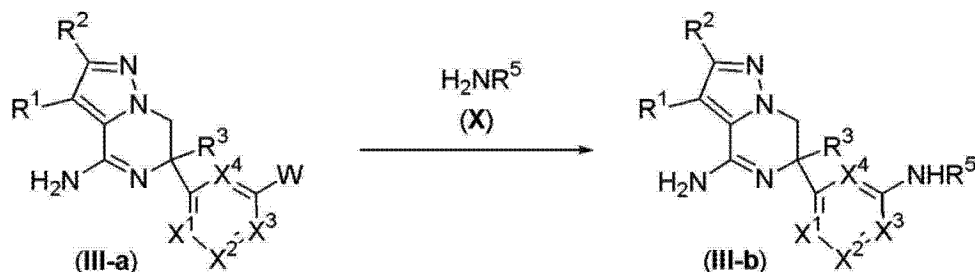
[0090] 反应方案 8

[0091] 实验程序 9

[0092] 根据反应方案 (9), 遵循本领域中已知的布赫瓦尔德-哈特维希型耦合程序, 可以从相应的、具有化学式 (III-a) 的中间化合物来制备根据化学式 (III-b) 的中间体。可以通过将具有化学式 (III-a) 的中间化合物用具有化学式 (X) 的中间体在一种适合的反应-惰性溶剂 (例如像, 乙醇或如 1, 2- 二甲氧基乙烷 / 水 / 乙醇的惰性溶剂混合物) 中, 在一种适合的碱 (例如像, 水性  $\text{K}_3\text{PO}_4$  或  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ )、Pd- 络合催化剂 (例如像, [1, 1'- 双(二苯基膦)二茂铁]-二氯钯 (II) 或反式-双(二环己胺)二乙酸钯 [DAPCy]) 的存在下, 在热条件 (例如像, 在微波辐射下, 在 80℃ 加热反应混合物, 持续例如 20 小时或例如, 在 130℃ 加热反应混合物持续 10min) 进行处理来进行所述偶联。在反应方案 (9) 中, 所有变量如在化学式 (I) 中定义, 并且 W 是卤素。R<sup>5</sup> 是氢或  $\text{C}_{1-3}$  烷基。可替代地, 当 R<sup>5</sup> 是氢时, 具有化学式

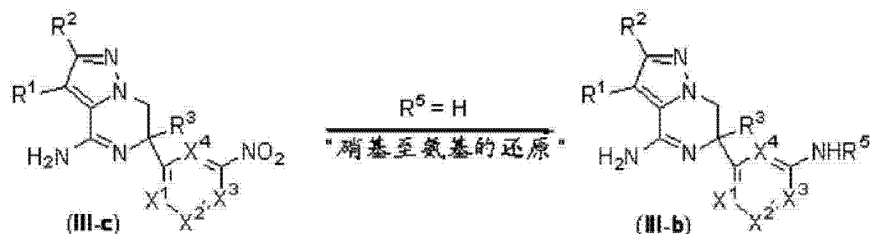
(III-b) 的中间体也可以按照两步合成来获得。首先,可以在本领域的普通技术人员已知的条件下,在中间体 (III-a) 以及一种稳定的亚胺 (例如二苯甲酮亚胺) 之间进行布赫瓦尔德-哈特维希型耦合。在第二个步骤中,可以在热条件 (例如像,在 25℃ 加热反应混合物,持续例如 2 小时),通过将溶解于一种适合的溶剂 (如异丙醇) 中的耦合产物用一种酸 (例如像,盐酸) 进行处理来获得为伯胺的中间体 (III-b)。

[0093]

[0094] 反应方案 9[0095] 实验程序 10

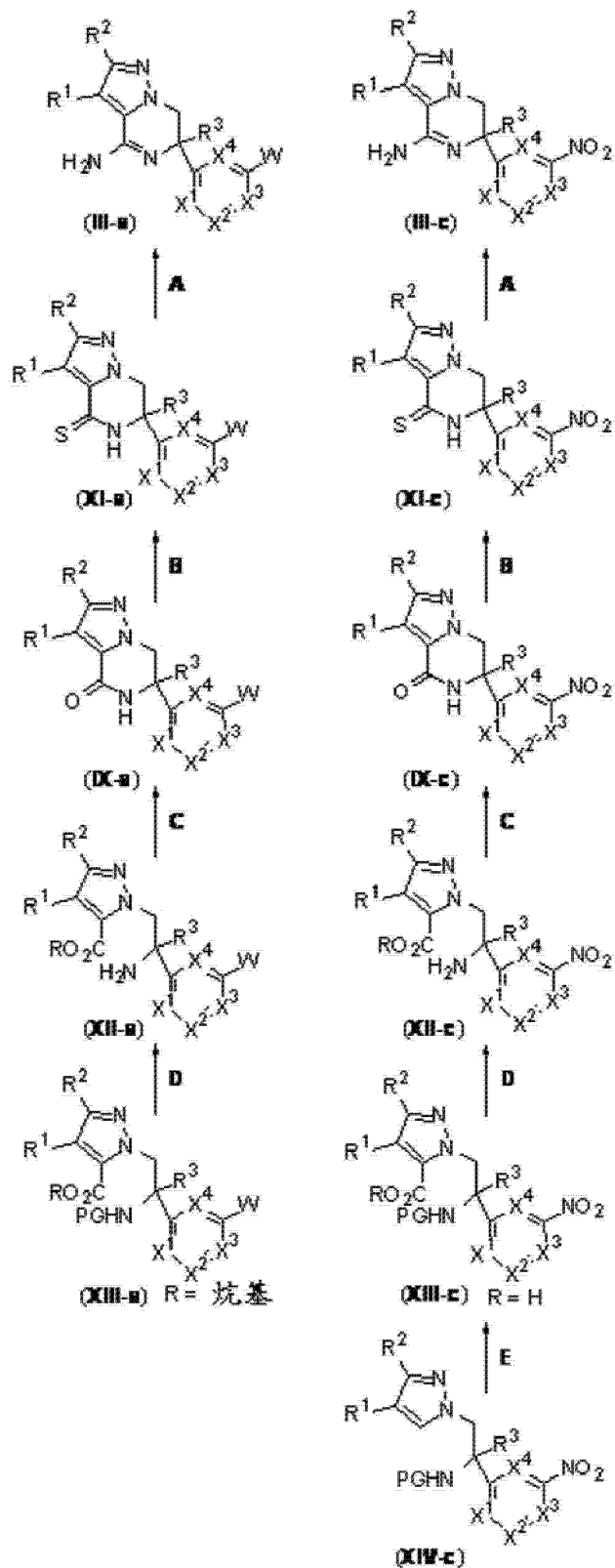
[0096] 额外地,根据反应方案 (10),遵循本领域中已知的硝基-至-氨基还原程序,可以从相应的、具有化学式 (III-c) 的中间体来制备根据化学式 (III-b) 的中间体 (其中  $\text{R}^5$  是氢)。例如,在一种适当的还原剂 (如氯化锡、锌或铁) 存在下,在一种适合的惰性溶剂 (如乙醇或乙醇 / 乙酸或甲醇 / 氯化铵水溶液的混合物) 中,在适合的反应条件 (例如在方便的温度,典型地在 70℃ 与 110℃ 之间的范围内持续确保完成该反应的一段时间) 下,可以方便地进行所述还原。本领域的普通技术人员将理解,在中间体 (III-c) 中的  $\text{R}^1$  和 / 或  $\text{R}^2$  为卤素 (选自由氯、溴和碘构成的组) 并且不希望在最终化合物中存在的情况下,在上述条件下也可以发生氧化加成-质子化过程从而得到中间体 (III-b) (其中  $\text{R}^1$  和 / 或  $\text{R}^2$  是氢)。可替代地,可以在氢气气氛以及一种适当的催化剂 (例如像,钯炭、铂炭、拉内镍以及类似催化剂) 存在下,通过搅拌这些反应物进行所述还原。适合的溶剂是,例如,水、链烷醇 (例如,甲醇、乙醇以及类似物)、酯 (例如,乙酸乙酯以及类似物)。为了增强所述还原反应的速率,升高反应混合物的温度和 / 或压力可以是有利的。可以通过向该反应混合物中添加催化剂毒物 (例如像,噻吩以及类似物) 来阻止这些反应物以及反应产物中所不希望的、某些官能团的进一步氢化。在反应方案 (10) 中,所有变量如在化学式 (I) 中定义。

[0097]

[0098] 反应方案 10[0099] 实验程序 11

[0100] 通常,遵循下文反应方案 (11) 以及 (12) 中示出的反应步骤可以制备具有化学式 (III-a) 与 (III-c) 的化合物。

[0101]



## [0102] 反应方案 11

[0103] A: 硫代酰胺 - 至 - 脒的转化

[0104] B: 酰胺 - 至 - 硫代酰胺的转化 (硫化)

[0105] C: 环化

[0106] D:去除任意 N- 保护基

[0107] E:金属化

[0108] 遵循本领域中已知的硫代酰胺-至-脒的转化程序,可以从相应的硫代酰胺衍生物方便地制备上述反应方案(11)中的脒衍生物(反应步骤A)。可以方便地通过将所述硫代酰胺在一种适合的反应-惰性溶剂(例如像,水或甲醇以及类似溶剂)中,在热条件(例如像,在60℃至90℃加热反应混合物,持续例如6至100小时)用一种氮源(例如像,氯化铵或氨水)处理来进行所述转化。

[0109] 遵循本领域中已知的硫化程序,可以从酰胺衍生物制备上述反应方案(11)中的硫代酰胺衍生物(反应步骤B)。可以方便地通过将所述酰胺在纯净条件下或在一种反应惰性溶剂(例如像,四氢呋喃或1,4-二噁烷以及类似溶剂)中,任选地在一种适合的碱(像吡啶)存在下,在热条件(例如像,在50℃至100℃加热反应混合物,持续例如24小时),用一种硫化剂(例如像,五硫化磷或2,4-双-(4-甲氧基-苯基)-1,3-二硫杂-2,4-二磷杂环丁烷2,4-二硫化物[劳森试剂])处理来进行所述转化。

[0110] 遵循本领域中已知的环化程序,可以从相应的、具有化学式(XII-a)和(XII-c)的中间化合物制备上述反应方案(11)中具有化学式(IX-a)和(IX-c)的酰胺衍生物(反应步骤C)。通过将具有化学式(XII-a)和(XII-c)的中间化合物用一种适合的碱(如乙酸钾),在一种适合的反应溶剂(例如像乙醇以及类似溶剂)中,在70℃至100℃持续确保完成该反应的一段时间,可以方便地进行所述环化。

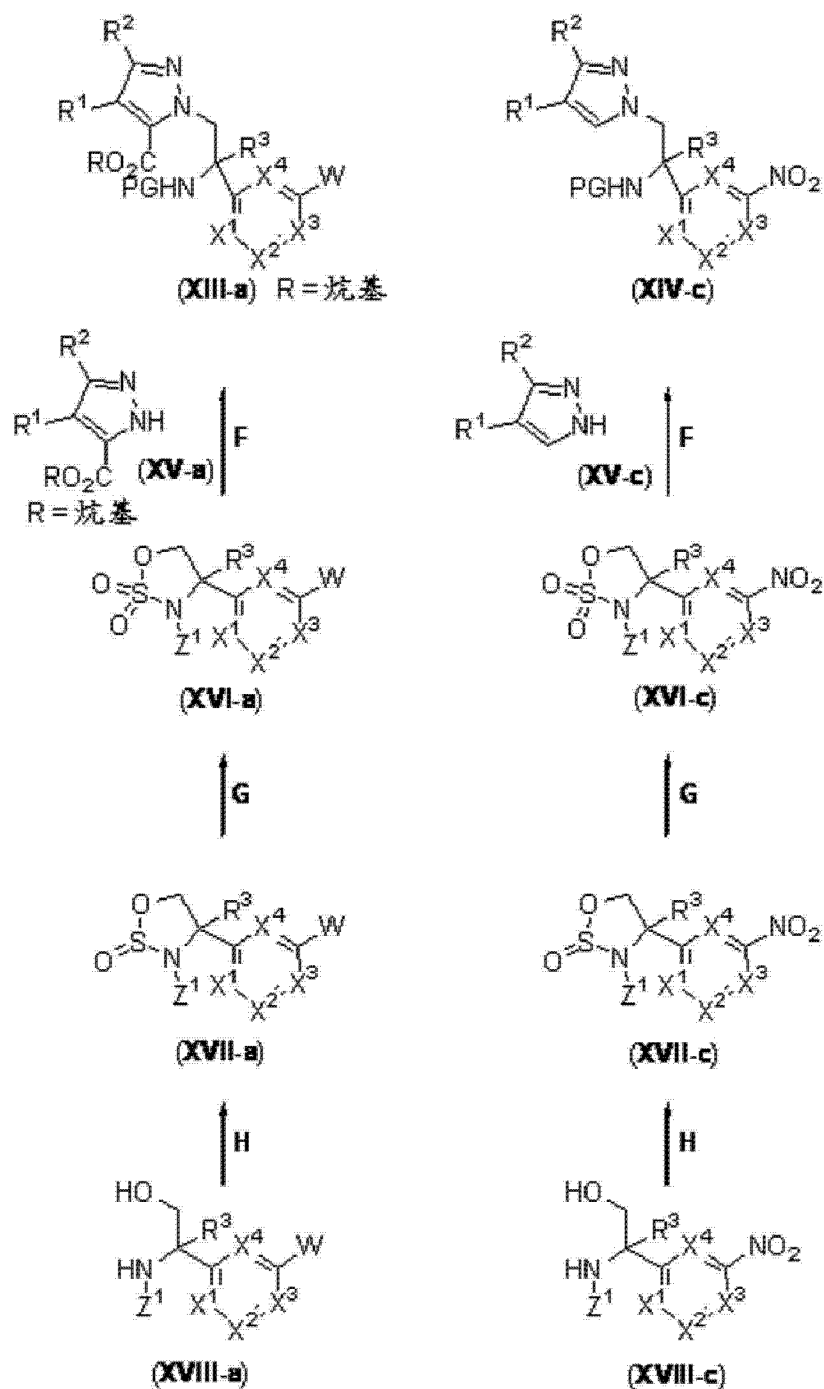
[0111] 可以通过硝基至氨基的还原,随后通过重氮化-脱氨基反应,从具有化学式(IX-a-1)的中间体(其中R<sup>2</sup>是硝基)制备具有化学式(IX-a)的中间体(其中R<sup>2</sup>是氢)。

[0112] 可以通过将酯基通过本领域的普通技术人员已知的若干种方法之一转化为醛,随后通过醛基与DAST的反应,从具有化学式(IX-a-2)的中间体(其中R<sup>2</sup>是烷氧基羰基)制备具有化学式(IX-a)的中间体(其中R<sup>2</sup>是二氟甲基)。

[0113] 可以通过根据本领域的普通技术人员已知的方法,进行保护基的去除,从相应的、具有化学式(XIII-a)和(XIII-c)的中间化合物制备上述反应方案(11)中具有化学式(XII-a)和(XII-c)的中间化合物(反应步骤D)。

[0114] 遵循本领域中已知的金属化程序,可以从相应的、具有化学式(XIV-c)的中间化合物制备上述反应方案(11)中具有化学式(XIII-c)的中间化合物(反应步骤E)。通过将具有化学式(XIV-c)的中间化合物用一种适合的碱(如二异丙氨基锂)以及一种适合的亲电试剂(例如干冰或氯甲酸乙酯),在一种适合的反应溶剂(例如像四氢呋喃)中,在-80℃至0℃持续确保完成该反应的一段时间,可以方便地进行所述金属化。

[0115]



[0116] 反应方案 12

[0117] F : 烷基化

[0118] G : 氧杂噻唑烷氧化

[0119] H : 氧杂噻唑烷形成

[0120] 遵循本领域中已知的烷基化程序, 可以从相应的、具有化学式 (XVI-a) 和 (XVI-c) 的中间化合物 (其中,  $Z^1$  是胺的保护基, 例如像叔 - 丁氧基羰基) 制备上述反应方案 (12) 中根据化学式 (XIII-a) 和 (XVI-c) 的中间体 (反应步骤 F)。可以通过将各自具有对应化学式 (XVI-a) 和 (XVI-c) 的中间化合物的 (XV-a) 和 (XV-c) 用一种适合的碱 (例如像, 碳酸钠或碳酸铯), 在一种适合的惰性溶剂 (例如像, N, N- 二甲基甲酰胺或二甲氧基亚砜)

中,在低温(例如像 0℃)持续 30min,并且然后在适度高温(例如像 100℃)持续 24 小时至 100 小时,或例如,在微波辐射下,在 130℃加热反应混合物,持续例如 30min 至 45min 处理来方便地进行所述烷基化。

[0121] 遵循本领域中已知的氧化程序,可以通过使具有化学式 (XVII-a) 和 (XVII-c) 的中间化合物反应来制备上述反应方案 (12) 中根据化学式 (XVI-a) 和 (XVI-c) 的中间体(反应步骤 G)。通过将对应的、具有化学式 (XVII-a) 和 (XVII-c) 的中间化合物用一种氧化剂(例如像,高碘酸钠),在一种适合的惰性溶剂(例如像,乙腈/水)中,在氯化钨(III)存在下,在适度高温(例如像 25℃)持续例如 2 小时处理来方便地进行所述氧化。

[0122] 遵循本领域中已知的磺酰胺化物形成程序,可以通过使具有化学式 (XVIII-a) 和 (XVIII-c) 的中间化合物反应来制备上述反应方案 (12) 中根据化学式 (XVII-a) 和 (XVII-c) 的中间体(反应步骤 H)。通过将对应的、具有化学式 (XVIII-a) 和 (XVIII-c) 的中间化合物用亚硫酸二氯,在一种碱(例如像吡啶)存在下,在一种适合的反应-惰性溶剂(例如像,乙腈)中,在低温(例如像 -40℃)持续例如 30min,并且然后在适度高温(例如像 25℃)持续例如 24 至 72 小时处理来方便地进行所述转化。

[0123] 通常,遵循本领域已知的、描述于文献中的斯特雷克尔型程序,可以制备具有化学式 (XVIII-a) 和 (XVIII-c) 的中间化合物(其中  $Z^1$  是胺的保护基(例如像叔-丁氧基羰基))。

#### [0124] 药理学

[0125] 本发明的化合物及其药学上可接受的组合物抑制 BACE,并且因此可以在治疗或预防阿尔茨海默病(AD)、轻度认知缺损(MCI)、老化、痴呆、路易体痴呆、大脑淀粉样血管病、多发梗塞性痴呆、唐氏综合征、与帕金森氏病相关的痴呆以及与  $\beta$ -淀粉样蛋白相关的痴呆中有用。

[0126] 本发明涉及一种用作药物的、根据通式 (I) 的化合物、其立体异构形式或其药学上可接受的酸或碱加成盐或溶剂化物。

[0127] 本发明还涉及一种根据通式 (I) 的化合物、其立体异构形式或其药学上可接受的酸或碱加成盐或溶剂化物,对于在治疗或预防以下疾病或病症中使用,这些疾病或病症选自下组,该组由以下各项构成:AD、MCI、老化、痴呆、路易体痴呆、大脑淀粉样血管病、多发梗塞性痴呆、唐氏综合征、与帕金森氏病相关的痴呆以及与  $\beta$ -淀粉样蛋白相关的痴呆。

[0128] 本发明还涉及根据通式 (I) 的化合物、其立体异构形式或其药学上可接受的酸或碱加成盐或溶剂化物,用于制造用于治疗或预防上文中提及的任意一种疾病症状的药物的用途。

[0129] 鉴于具有化学式 (I) 的化合物的应用,提供了治疗患有上文中提及的任意一种疾病的温血动物(包括人类)的方法,或一种预防温血动物(包括人类)免遭上文中提及的任意一种疾病折磨的方法。

[0130] 所述方法包括向温血动物(包括人类)给予,即,全身给予或局部给予,优选口服给予一个有效量的具有化学式 (I) 的化合物、其立体异构形式、其药学上可接受的加成盐或溶剂化物。

[0131] 治疗方法还包括在一个疗程中给予每天一到四次摄入之间的活性成分。在这些治疗方法中,根据本发明的化合物优选地在给予之前配制。如在此在下文所述的,使用熟知且

容易获得的成分通过已知程序制备适合的药用制剂。

[0132] 可以适合治疗或预防阿耳茨海默病或其并发症的、本发明的化合物可以单独给予或与一种或多种额外的治疗剂组合给予。联合治疗包括：包含具有化学式 (I) 的化合物以及一种或多种额外的治疗剂的单个药物剂型的给予，连同具有化学式 (I) 的化合物和以其自身分开的药物剂量制剂存在的每种额外治疗剂的给予。例如，可以向患者给予一起处于单一口服剂量组合物例（如片剂或胶囊）中的具有化学式 (I) 的化合物以及治疗剂，或可以将每种药剂以分开的口服剂量制剂进行给予。

#### [0133] 药物组合物

[0134] 本发明还提供了用于预防及治疗其中  $\beta$ -分泌酶的抑制是有益的疾病，例如阿耳茨海默病 (AD)、轻度认知缺损、老化、痴呆、路易体痴呆、唐氏综合征、与中风相关的痴呆、与帕金森氏病相关的痴呆以及与  $\beta$ -淀粉样蛋白相关的痴呆的组合物。所述组合物包括治疗有效量的、根据化学式 (I) 化合物与药学上可接受的载体或稀释剂。

[0135] 尽管活性成分可以单独给予，但是其优选地是作为药物组合物存在。因此，本发明进一步提供了一种药物组合物，包括根据本发明的化合物，以及药学上可接受的载体或稀释剂。该载体或稀释剂在与该组合物其他成分的相容性的意义上必须是“可接受的”并且对其受体无毒。

[0136] 本发明的药物组合物可以通过制药领域中熟知的任何方法制备。将作为活性成分的一种治疗有效量的具体化合物，处于碱形式或加成盐形式，与一种药学上可接受的载体组合为一个亲密的掺合物，该载体可以采取多种形式，取决于希望给予的制剂的形式。优选地，希望地是这些药物组合物处于适合的全身给予，例如，口服、经皮或肠胃外给予；或局部给予，例如，经由吸入剂、鼻喷雾、滴眼剂或经由乳膏、凝胶、洗涤剂或类似物的单位剂型。例如，在制备处于口服剂型的组合物中，在口服液体制剂（例如悬浮液、糖浆、酏剂和溶液）的情况下，可以采用的任何常用药物介质，例如像水、二醇类、油类、醇类等；或者在粉剂、丸剂、胶囊、以及片剂的情况下，采用固体载体，例如淀粉、糖、高岭土、润滑剂、粘合剂、崩解剂等。由于它们的给药方便，片剂和胶囊代表最有利的口服剂量单位形式，在此情况下显然采用固体药物载体。对于肠胃外组合物，载体通常至少大部分包括无菌水，虽然可以包括例如帮助溶解的其他成分。例如可以制备注射溶液，其中载体包括盐水溶液、葡萄糖溶液或盐水与葡萄糖溶液的混合物。也可以制备注射混悬液，在此情况下可以采用适当的液体载体、悬浮剂等。在适合皮下给药的组合物中，载体任选地包括渗透增强剂和 / 或适合的可润湿剂，任选地与小比例的适合的任何性质的添加剂结合，这些添加剂不会引起任何对皮肤的显著有害作用。所述添加剂可以促进对皮肤的给予和 / 或可以有助于制备希望的组合物。能以不同方式给予这些组合物，例如，作为透皮贴剂、作为 spot-on 或作为软膏剂。

[0137] 为了便于给药和剂量的一致性，尤其有利的将上述药物组合物配制为单位剂型。如在说明书和权利要求中使用的，剂量单位剂型是指适合作为单一剂量的物理上离散的单位，各单位含有经计算以产生所希望的与所需药物载体关的疗效的预定量的活性成分。这样的剂量单位剂型的实例是片剂（包括刻痕片剂或包衣片剂）、胶囊、丸剂、粉包、薄片、注射溶液或悬浮液、一茶匙的量、一大汤匙的量等，及其分开的多种剂型。

[0138] 如本领域的普通技术人员所熟知的，给予的精确剂量以及频率取决于具体使用的具有化学式 (I) 的化合物、进行治疗的具体病症、进行治疗的病症的严重性、具体患者的年

龄、体重、性别、疾病程度以及总体身体健康状况，连同个体可以服用的其他药物。此外，显然有效的所述每日量可以降低或增加，这取决于所治疗的受试者的反应和 / 或取决于对本发明的这些化合物开处方的医师的评估。

[0139] 取决于给予模式，该药物组合物将包括按重量计从 0.05% 至 99%，优选地按重量计从 0.1% 至 70%，更优选地按重量计从 0.1% 至 50% 的活性成分，以及按重量计从 1% 至 99.95%，优选地按重量计从 30% 至 99.9%，更优选地按重量计从 50% 至 99.9% 的一种药学上可接受的载体，所有的百分数都基于该组合物总重量。

[0140] 这些化合物可以用于全身给予，例如，口服、经皮或肠胃外给予；或局部给予，如，经由吸入剂、鼻喷雾、滴眼剂或经由乳膏、凝胶、洗涤剂或类似物。优选地这些化合物经口给予。如本领域的普通技术人员所熟知的，给予的精确剂量以及频率取决于具体使用的根据化学式 (I) 的化合物、进行治疗的具体病症、进行治疗的病症的严重性、具体患者的年龄、体重、性别、疾病程度以及总体身体健康状况，连同个体可以服用的其他药物。此外，显然有效的所述每日量可以降低或增加，这取决于所治疗的受试者的反应和 / 或取决于对本发明的这些化合物开处方的医师的评估。

[0141] 可以与载体物质组合以生产一种单一剂型的具有化学式 (I) 的化合物的量将取决于治疗的疾病、哺乳动物种类、以及具体给予模式而变化。然而，作为一般指导，适合本发明的这些化合物的单位剂量可以，例如，优选地包含 0.1mg 至约 1000mg 之间的活性化合物。优选的单位剂量在 1mg 至约 500mg 之间。更优选的单位剂量在 1mg 至约 300mg 之间。甚至更优选的单位剂量在 1mg 至约 100mg 之间。此类单位剂量可以一天给予超过一次，例如一天 2、3、4、5 或 6 次，但是优选地每天 1 或 2 次，使得对于 70kg 成年人而言，每次给予的总剂量范围在每 kg 受试者体重 0.001 至约 15mg。优选的剂量是每次给予每 kg 受试者体重 0.01 至约 1.5mg，并且此类疗法可以持续多个星期或月份，并且在一些情况中，持续多年。然而，如本领域普通技术人员充分理解的，将理解，针对任何具体患者的特定剂量水平取决于多种因素，包括使采用的特定化合物的活性；进行治疗个体的年龄、体重、总体身体健康状况、性别以及饮食；给予时间及途径；排泄率；先前已经给予的其他药物；以及进行治疗的具体疾病的严重性。

[0142] 如本领域普通技术人员将理解的，在一些情况中可能有必要使用这些范围外的剂量。另外，指出临床医生或治疗医生结合个体患者响应将知道如何以及何时开始、中断、调节、或终止治疗。

[0143] 以下实例旨在说明性但并非限制本发明的范围。

#### [0144] 实验部分

[0145] 在下文中，术语“AcOH”意思是乙酸，“HCl”意思是盐酸，“AcOEt”意思是乙酸乙酯，“DCM”意思是二氯甲烷，“DIPE”意思是二异丙醚，“DMF”意思是 N, N- 二甲基甲酰胺，“CO<sub>2</sub>”意思是二氧化碳，“DMSO”意思是二甲亚砜，“Et<sub>2</sub>O”意思是二乙醚，“Et<sub>3</sub>N”意思是三乙胺，“EtOH”意思是乙醇，“iPrOH”意思是异丙醇，“iPrNH<sub>2</sub>”意思是异丙胺，“MeCN”意思是乙腈，“MeOH”意思是甲醇，“NaOH”意思是氢氧化钠，“NH<sub>4</sub>Cl”意思是氯化铵，“NH<sub>3</sub>”意思是氨，“NaHCO<sub>3</sub>”意思是碳酸氢钠，“NaHSO<sub>4</sub>”意思是硫酸氢钠，“Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>”意思是碳酸钠，“Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>”意思是硫酸钠，“H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>”意思是硫酸，“MgSO<sub>4</sub>”意思是硫酸镁，“CuI”意思是碘化亚铜，“TFA”意思是三氟甲磺酸，“RuO<sub>2</sub>”意思是氧化钌，“DAST”意思是三氟化二乙氨基硫，“DBU”意思是 1，

8-二氮杂二环[5.4.0]十一-7-烯,“N<sub>2</sub>”意思是氮,“CO<sub>2</sub>”意思是二氧化碳,“aq.”意思是水性,“min”意思是分钟,“m. p.”意思是熔点,“rac”意思是消旋的,“R<sub>t</sub>”意思是保留时间,“THF”意思是四氢呋喃,“SFC”意思是超临界流体色谱。

[0146] 在一个单模反应器中进行微波辅助反应:Emrys™ Optimizer 微波反应器(Personal Chemistry A.B., currently Biotage)。

[0147] 在来自 ThalesNano 纳米技术公司(ThalesNano Nanotechnology Inc.)的一个连续流氢化器 H-CUBE® 中进行氢化反应。

[0148] 使用试剂级溶剂,在硅胶 60F254 板(默克公司)上进行薄层色谱分析法(TLC)。在标准技术下,在硅胶上进行开口柱色谱法,粒度 60 Å,网目 = 230-400(默克公司)。使用来自默克公司的随时连接柱,在来自 Armen Instrument 的 SPOT 或 LAFLASH 系统上,在不规则凝胶上进行快速柱色谱法,粒度 15-40 μm(正向层一次性使用的快速柱)。

[0149] 在 Perkin-Elmer 341 旋光计上用钠灯测量旋光度并且报导如下:[α]<sup>°</sup>(λ, cg/100ml, 溶剂, T°C)。

[0150] 在可商购的 Vapourtec R2+R4 模块化装置中进行流动反应。

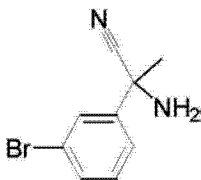
[0151] 对于关键中间体,连同一些最终化合物,手性中心的绝对构型(表示为 R 和 / 或 S)经由与已知构型的样品的比较或使用适合绝对构型测定的分析技术,例如 VCD(振动圆二色)或 X-射线结晶确定。当手性中心的绝对构型未知时,主观地指定为 R\*。

[0152] A. 中间体的制备

[0153] 实例 A1

[0154] 中间体 A1:rac-2-氨基-2-(3-溴-苯基)-丙腈的制备

[0155]

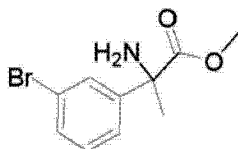


[0156] 将三甲基甲硅烷基氰化物(20g, 200mmol)添加到3-溴-乙酰苯(20g, 100mmol)以及 NH<sub>4</sub>Cl(11g, 200mmol)在 NH<sub>3</sub>/MeOH(400mL)中的搅拌溶液里。将该混合物在室温下搅拌4天。在真空中蒸发溶剂并且将残余物吸收到 AcOEt(100mL)中。过滤掉固体并且将滤液在真空中蒸发以获得中间体 A1(20g, 86%产率),将其不进一步纯化而用于下一步骤中。

[0157] 实例 A2

[0158] 中间体 A2:rac-2-氨基-2-(3-溴-苯基)-丙酸甲酯的制备

[0159]



[0160] 将中间体 A1(20g, 88.9mmol)溶解于 HCl/MeOH(500mL)中。将该混合物回流4天。冷却到室温后,添加 AcOEt(100mL)以及 H<sub>2</sub>O(100mL)并且将该混合物用 AcOEt(2×100mL)进行萃取。将合并的水层用 NH<sub>3</sub>溶液碱化至 pH = 8 并且用 AcOEt(5×100mL)进行萃取。干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)这些合并的有机层,过滤并且在真空中蒸发溶剂,以获得为一种油的中间体

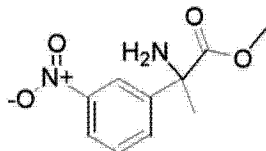
A2(10.6g,46%产率)。LCMS :258[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:3.77min(方法7)。

[0161] 根据实例 A1-A2 中描述的合成程序制备以下中间体：

[0162] 实例 A3

[0163] 中间体 A3 :rac-2-氨基-2-(3-硝基-苯基)-丙酸甲酯的制备

[0164]

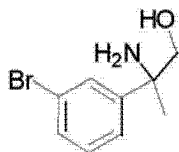


[0165] 来自 rac-2-氨基-2-(3-硝基-苯基)-丙腈。快速柱色谱法(硅胶;AcOEt/石油醚)以获得中间体 3(63%)。LCMS :225[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:0.98min(方法9)。

[0166] 实例 A4

[0167] 中间体 A4 :rac-2-氨基-2-(3-溴-苯基)-丙-1-醇的制备

[0168]

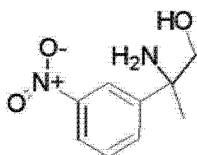


[0169] 在-15℃,将氢化铝锂(1M于THF中;22mL,22mmol)滴加到中间体 A2(7.5g,29.1mmol)在THF(200mL)中的搅拌溶液里。经1小时,将该混合物缓慢加热至0℃。添加更多的THF(150mL)并且滴加Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>的饱和溶液直到不再有氢气形成。添加无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>并且在室温搅拌过夜。将该混合物用硅藻土过滤,用THF洗涤并且在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法(硅胶;NH<sub>3</sub>在MeOH/DCM中的7M溶液)纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂,以获得为一种油的中间体 A4(5.70g,85%产率)。LCMS :230[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:0.69min(方法1)。

[0170] 实例 A5

[0171] 中间体 A5 :rac-2-氨基-2-(3-硝基-苯基)-丙-1-醇的制备

[0172]

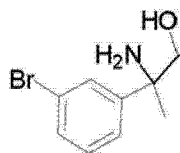


[0173] 将硼氢化钠(16.3g,429.4mmol)分批添加到中间体 A3(48.3g,214.7mmol)在MeOH(500mL)中的搅拌溶液里。将该混合物在室温下搅拌10小时。在真空中蒸发溶剂。将残余物用NaHCO<sub>3</sub>的饱和水溶液碱化至pH=9并且用AcOEt(3×200mL)进行萃取。干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)这些有机层,过滤并且在真空中蒸发溶剂,以获得中间体 A5(30.26g,72%产率)。LCMS :197[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:3.16min(方法8);m.p. 238.7℃-241.6℃(WRS-2A)。

[0174] 实例 A6

[0175] 中间体 A6 : (R)-2-氨基-2-(3-溴-苯基)-丙-1-醇的制备

[0176]

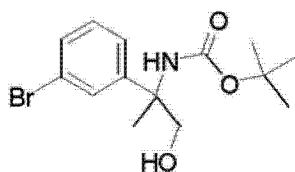


[0177] 通过制备型 SFC(( Chiralpak® Daicel AD x250mm)、流动相 (CO<sub>2</sub>, 具有 0.2 % iPrNH<sub>2</sub> 的 MeOH)), 将中间体 A4 的样品 (15.4g) 分离为相应的对映异构体, 以获得中间体 A6 (7.21g, 40 % 产率)。LCMS : 230 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0.71min (方法 1); α<sub>D</sub>: -14.9° (589nm, c0.2946w/v %, MeOH, 20°C)。

[0178] 实例 A7

[0179] 中间体 A7 : (R)-[1-(3-溴-苯基)-2-羟基-1-甲基-乙基]-氨基甲酸叔丁酯的制备

[0180]

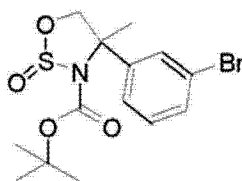


[0181] 在 0°C, 将二-叔-丁基二碳酸酯 (19.8g, 90.7mmol) 分批添加到中间体 A6 (11.6g, 50.4mmol) 在 NaHCO<sub>3</sub> (100mL) 与 THF (100mL) 的饱和溶液的混合物中的搅拌溶液里。将该混合物在 0°C 搅拌 10min 并且在室温下搅拌 15 小时。将该混合物在冰/H<sub>2</sub>O 浴中冷却并且边搅拌边用 NaHSO<sub>4</sub> 酸化至 pH = 1-2。分离有机层并且将水层进一步用 AcOEt 萃取。分离合并的有机层, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过短柱层析法 (硅胶; AcOEt/DCM) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且真空中进行浓缩, 以获得静置时固化的、为一种无色油的中间体 A7 (16.47g, 99% 产率)。LCMS : 330 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 2.58min (方法 1)。

[0182] 实例 A8

[0183] 中间体 A8 : (R)-[3-(叔丁氧羰基)-4-(3-溴-苯基)-4-甲基-[1,1,3]氧杂噻唑烷-2-氧化物的制备

[0184]

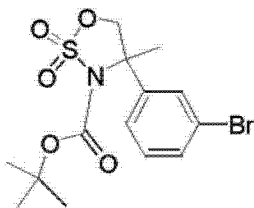


[0185] 将中间体 A7 (14.3g, 43.3mmol) 在干 MeCN (80mL) 中的溶液滴加到冷却至 -40°C 并且在 N<sub>2</sub> 气氛下的亚硫酸二氯 (7.9mL, 108.3mmol) 在干 MeCN (226mL) 中的搅拌溶液里。添加吡啶 (17.4mL, 216.5mmol) 之前, 将该反应混合物在 -40°C 搅拌 30min。允许该反应加热至室温并且搅拌 64 小时。在真空中蒸发溶剂。将残余物用 Et<sub>2</sub>O 处理。过滤固体并且将滤液在真空中浓缩, 以获得为一种红色油的中间体 A8 (15.5g, 95% 产率)。该产物不进一步纯化而用于下一反应中。LCMS : 393 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 3.4min (方法 1)。

[0186] 实例 A9

[0187] 中间体 A9 : (R)-[3-(叔丁氧羰基)-4-(3-溴-苯基)-4-甲基-[1,1,3]氧杂噻唑烷-2,2-二氧化物的制备

[0188]



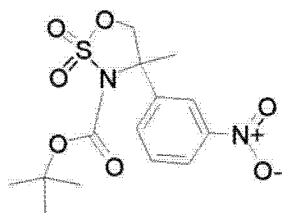
[0189] 在 0℃, 将氯化钨 (III) (85mg, 0.41mmol) 添加到中间体 A8 (15.3g, 40.8mmol) 在 MeCN 与 H<sub>2</sub>O (1:1) (438mL) 的混合物中, 随后添加高碘酸钠 (13.1g, 61.2mmol)。允许该反应加热至室温并且搅拌 2 小时。将混合物用硅藻土过滤并且用 AcOEt (125mL) 洗涤。向滤液中添加 H<sub>2</sub>O (125mL) 和 AcOEt (250mL)。分离有机层, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 (硅胶; DCM) 纯化该产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂, 以获得为白色固体的中间体 A9 (14.4g, 90% 产率)。LCMS: 409 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 3.3min (方法 1); m.p. 133.1℃ (FP90); α<sub>D</sub>: -35.6° (589nm, c0.55w/v%, DMF, 20℃)。

[0190] 根据实例 A7-A9 中描述的合成程序制备以下中间体:

[0191] 实例 A10

[0192] 中间体 A10: rac-[3-(叔丁氧羰基)-4-(3-硝基-苯基)-4-甲基-[1,1,3]氧杂噻唑烷-2,2-二氧化物的制备

[0193]

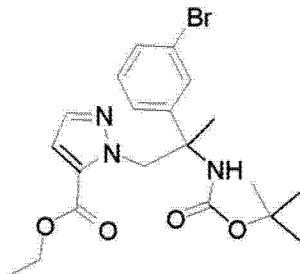


[0194] 制备自 rac-[3-(叔丁氧羰基)-4-(3-硝基-苯基)-4-甲基-[1,1,3]氧杂噻唑烷-2-氧化物。快速柱色谱法 (硅胶; DCM) 以获得为黄色固体的中间体 A10 (95%)。LCMS: 376 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1.35min (方法 2)。

[0195] 实例 A11

[0196] 中间体 A11: 2-[2-(3-溴-苯基)-2R-叔-丁氧基羰基-氨基-丙基]-2H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0197]



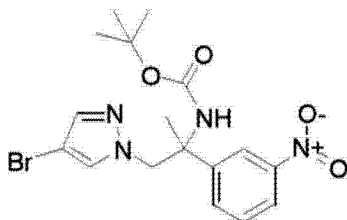
[0198] 在室温下, 将碳酸铯 (824mg, 2.53mmol) 添加到中间体 A9 (0.661g, 1.69mmol) 与 2H-吡唑-3-羧酸乙酯 (260mg, 1.86mmol) 在 DMSO (8mL) 的混合物中。将该混合物在室温搅拌 30min 并且在 110℃ 搅拌 3 小时。将该混合物用柠檬酸与 DCM (20mL) 的饱和溶液进行处理并且搅拌 2 小时。分离有机相并且用 H<sub>2</sub>O (10mL) 进行处理并且用 DCM (2×10mL) 萃

取。分离有机层,干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ),过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法(硅胶;DCM)纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂,以获得为一种无色油的中间体 A11 (186mg, 24% 产率)。LCMS : 452  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$ : 4.23min (方法 3)。

[0199] 实例 A12

[0200] 中间体 A12 : rac-[2-(4-溴-吡唑-1-基)-1-甲基-1-(3-硝基-苯基)-乙基]-氨基甲酸叔丁基酯的制备

[0201]

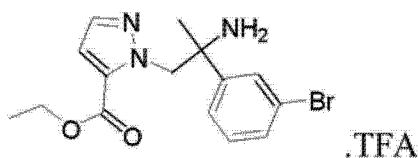


[0202] 将碳酸钠 (59mg, 0.56mmol) 添加到中间体 A10 (100mg, 0.28mmol) 与 4-溴-1H-吡唑 (53mg, 0.36mmol) 在 DMF (3mL) 中的混合物里。将该混合物在 130°C 搅拌 2 小时。在真空中蒸发溶剂。将该残余物用  $\text{H}_2\text{O}$  (2mL) 进行处理并且用 DCM ( $2 \times 10\text{mL}$ ) 萃取。分离有机层,干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ),过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法(硅胶;DCM)纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂,以获得经  $\text{Et}_2\text{O}$  处理之后为白色固体的中间体 A12 (100mg, 84% 产率)。LCMS : 425  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$ : 3.57min (方法 3); m. p. 159.3°C (FP90)。

[0203] 实例 A13

[0204] 中间体 A13 : (R)-2-[2-氨基-2-(3-溴-苯基)-丙基]-2H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0205]

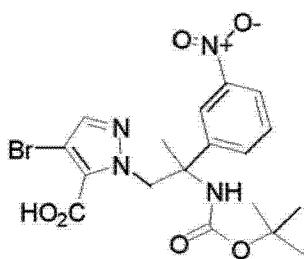


[0206] 在 0°C, 将三氟乙酸 (1mL) 添加到中间体 A11 (186mg, 0.41mmol) 在 DCM (5mL) 中的搅拌溶液里。将该混合物在室温下搅拌 2 小时。在真空中蒸发溶剂以获得不进一步纯化而用于下一步骤中的、为一种无色油的中间体 A13 (180mg, 94% 产率)。LCMS : 352  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$ : 2.69min (方法 3)。

[0207] 实例 A14

[0208] 中间体 A14 : rac-4-溴-2-[2-叔-丁氧基羰基氨基-2-(3-硝基-苯基)-丙基]-2H-吡唑-3-羧酸的制备

[0209]



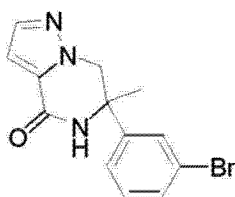
[0210] 在 -78°C, 将二异丙氨基锂在 THF 与庚烷 (0.25mL, 0.49mmol) 中的 2M 溶液添加到

中间体 A12 (100mg, 0.24mmol) 在 THF (3mL) 中的溶液里。将反应混合物在  $-78^{\circ}\text{C}$  搅拌 1 小时。然后添加干冰并且经 2 小时将该混合物加热至室温。将该混合物用  $\text{NH}_4\text{Cl}$  的饱和溶液进行处理并且用 DCM ( $3 \times 10\text{mL}$ ) 进行萃取。分离有机层, 干燥, 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 (硅胶;  $\text{MeOH} / \text{DCM}$ ) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂, 以获得为无色油的中间体 A14 (60mg, 54% 产率)。LCMS :  $469 [\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$  : 1.74min (方法 3)。

[0211] 实例 A15

[0212] 中间体 A15 : (R)-6-(3-溴-苯基)-6-甲基-6,7-二氢-5H-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-酮的制备

[0213]

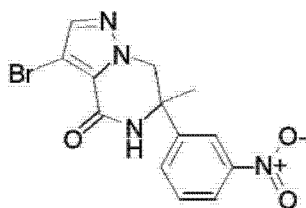


[0214] 在室温下, 将乙酸钾 (83mg, 0.85mmol) 添加到中间体 A13 (180mg, 0.39mmol) 在 EtOH (5mL) 中的溶液里。将该混合物在  $90^{\circ}\text{C}$  搅拌 5 小时。在真空中蒸发溶剂。将该残余物用 0.5M 的 HCl 水溶液进行处理并且用 DCM 萃取。分离有机层, 干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 (硅胶;  $\text{MeOH} / \text{DCM}$ ) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂, 以获得为一种无色油的中间体 A15 (100mg, 84% 产率)。LCMS :  $306 [\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$  : 2.01min (方法 4)。

[0215] 实例 A16

[0216] 中间体 A16 : rac-3-溴-6-甲基-6-(3-硝基-苯基)-6,7-二氢-5H-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-酮的制备

[0217]



[0218] 方法 A

[0219] 将三氟乙酸 (3mL) 添加到中间体 A14 (200mg, 0.4mmol) 在 DCM (20mL) 中的溶液里。将该混合物在室温下搅拌 2 小时。然后添加 EtOH (3mL) 中的乙酸钾 (59mg, 0.06mmol)。将该混合物在  $90^{\circ}\text{C}$  搅拌 3 小时。在真空中蒸发溶剂。将该粗品用 1M 的 HCl (10mL) 水溶液进行处理并且将产物用 AcOEt ( $4 \times 20\text{mL}$ ) 萃取。分离有机层, 干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 (硅胶;  $\text{MeOH} / \text{DCM}$ ) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂, 以获得为白色固体的中间体 A16 (120mg, 19% 产率)。LCMS :  $351 [\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$  : 2.45min (方法 5); m. p.  $285.3^{\circ}\text{C}$  (FP90)。

[0220] 方法 B

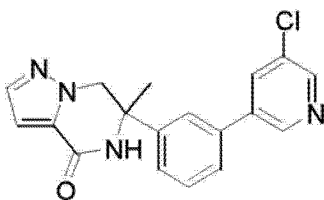
[0221] 在室温下, 将三氟乙酸 (100mL) 添加到中间体 A23 (6.5g, 13.07mmol) 在

DCM(200mL) 中的搅拌溶液里。将该混合物在室温下搅拌 3 小时。在真空中蒸发溶剂, 然后添加乙酸钾 (1.924g, 19.60mmol) 以及 EtOH(100mL), 并且将该反应在回流下搅拌 4 小时。将该粗品在真空中蒸发并且将该残余物用 1M 的 HCl 水溶液处理至 pH=3。将该粗品用 AcOEt (3×50mL) 萃取, 将有机相蒸干并且将粗品用冷 EtOH 以及 Et<sub>2</sub>O 进行处理以获得为米色固体的中间体 A16。将合并的溶剂在真空中蒸发并且通过柱色谱法 (硅胶 ; MeOH / DCM) 进行纯化。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂, 以获得为白色固体的额外一批中间体 A16 (合并的量 4g, 87%)。LCMS : 351 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1.65min (方法 3)。

[0222] 实例 A17

[0223] 中间体 A17 : (R)-6-[3-(5-氯吡啶-3-基)-苯基]-6-甲基-6,7-二氢-5H-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-酮的制备

[0224]

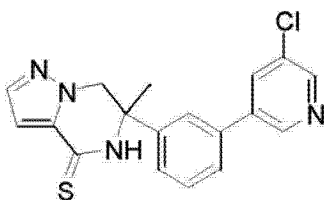


[0225] 在室温、N<sub>2</sub> 下将四 (三苯基膦) 合钯 (0) (34mg, 0.029mmol) 添加到中间体 A15 (90mg, 0.29mmol) 与 5-氯吡啶-3-硼酸 (55mg, 0.35mmol) 在 1,4-二噁烷 (5mL) 与 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3mL) 饱和溶液的混合物中的搅拌悬浮液里。在微波辐射下, 将该混合物在 150℃ 搅拌 15min。冷却至室温之后, 将该混合物用 H<sub>2</sub>O 进行稀释并且用 DCM 萃取。分离有机层, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 (硅胶 ; MeOH / DCM) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂并用冷 EtOH 与 Et<sub>2</sub>O 进行洗涤, 以获得为白色固体的中间体 A17 (81mg, 81% 产率)。LCMS : 339 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0.89min (方法 2)。

[0226] 实例 A18

[0227] 中间体 A18 : (R)-6-[3-(5-氯-吡啶-3-基)-苯基]-6-甲基-6,7-二氢-5H-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-硫酮的制备

[0228]



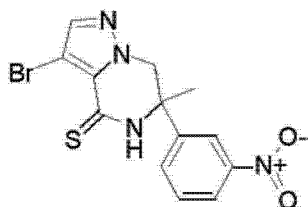
[0229] 将五硫化二磷 (71mg, 0.32mmol) 添加到中间体 A17 (90mg, 0.27mmol) 在吡啶 (4mL) 中的溶液里并且将该混合物在 100℃ 加热 5 小时。在真空中蒸发溶剂并且将粗产物通过短柱层析法 (硅胶 ; MeOH / DCM) 进行纯化。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂, 以获得为一种黄色油的中间体 A18 (60mg, 63% 产率)。LCMS : 355 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 2.4min (方法 3)。

[0230] 根据实例 A18 中描述的合成程序制备以下中间体 :

[0231] 实例 A19

[0232] 中间体 A19 : rac-3-溴-6-甲基-6-(3-硝基-苯基)-6,7-二氢-5H-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-硫酮的制备

[0233]

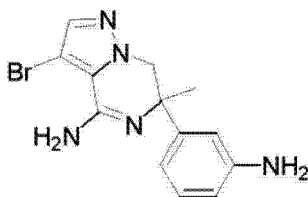


[0234] 制备自中间体 A16。快速柱色谱法（硅胶；MeOH / DCM）以获得为黄色固体的中间体 A19 (87%)。LCMS :366 [M+H]<sup>+</sup> ;R<sub>t</sub>:2.37min (方法 3)。

[0235] 实例 A20

[0236] 中间体 A20 :rac-6-(3-氨基-苯基)-3-溴-6-甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-基胺的制备

[0237]

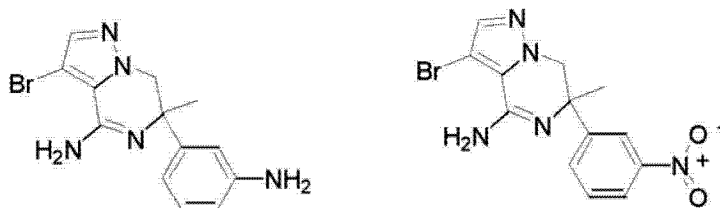


[0238] 在密封管中,将 32% 水性 NH<sub>3</sub> 溶液 (3mL) 添加到中间体 A19 (600mg, 1.63mmol) 在 NH<sub>3</sub> 于 MeOH (5mL) 中的 7M 溶液里的搅拌混合物中。将该混合物在 60℃ 搅拌 4 小时。冷却至室温后,将这些溶剂在真空中蒸发。将该粗产物溶解于 EtOH (20mL) 中并且添加氯化锡 (II) (372mg, 1.96mmol)。将该混合物在 90℃ 搅拌 24 小时。冷却至室温后,将该混合物用硅藻土过滤并且在真空中蒸发溶剂。将残余物用 8% NaOH (10mL) 水溶液进行处理并且用 DCM (30mL) 进行萃取。将该混合物在室温下搅拌 1 小时。分离有机层,干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 (硅胶;NH<sub>3</sub> 在 MeOH / DCM 中的 7M 溶液) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂,以获得为一种黄色油的中间体 A20 (200mg, 38% 产率)。LCMS :320 [M+H]<sup>+</sup> ;R<sub>t</sub>:1.5min (方法 6)。

[0239] 实例 A21

[0240] 中间体 A20 :rac-6-(3-氨基-苯基)-3-溴-6-甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-基胺以及中间体 A21 :rac-3-溴-6-甲基-6-(3-硝基-苯基)-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-基胺的制备

[0241]



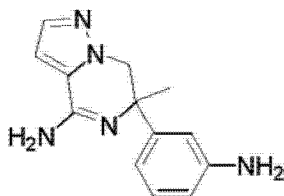
[0242] 在密封管中,将 32% 水性 NH<sub>3</sub> 溶液 (4mL) 添加到中间体 A19 (3.8g, 10.35mmol) 在 NH<sub>3</sub> 于 MeOH (6mL) 中的 7M 溶液里的搅拌混合物中。将该混合物在 100℃ 搅拌 6 小时。冷却至室温后,将这些溶剂在真空中蒸发。通过快速柱色谱法 (硅胶;MeOH / DCM) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂且将粗产物通过快速柱色谱法 (硅胶;NH<sub>3</sub> 在 MeOH / DCM 中的 7M 溶液) 进行纯化。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂以获得中间体 20 (100mg, 3% 产率)、中间体 21 (200mg, 6% 产率) 以及含有中间体 20 与 21 的混合物的

部分 (2.5g)。LCMS :A20 :322[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:0.87min(方法3);A21 :350[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:0.95min(方法2)

[0243] 实例 A22

[0244] 中间体 A22 :rac-6-(3-氨基-苯基)-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-4-基胺的制备

[0245]



[0246] 方法 A

[0247] 将中间体 A20 (200mg, 0.62mmol) 在 MeOH (30mL) 与 Et<sub>3</sub>N (5mL) 中的溶液在 H-Cube 反应器 (1.2mL / min, 30mm 钨碳 10% 连接柱, 满氢模式 (full hydrogen mode), 50°C, 3 循环) 中进行氢化。将溶剂在真空中浓缩。通过快速柱色谱法 (硅胶; NH<sub>3</sub> 在 MeOH / DCM 中的 7M 溶液) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂, 以获得为白色固体的中间体 A22 (100mg, 66% 产率)。LCMS :415[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:1.58min(方法3)。

[0248] 方法 B

[0249] 在 EtOH (100mL) 与 AcOH (20mL) 中, 将锌 (1.33g, 20.40mmol) 添加到实例 A21 中所述的含有中间体 20 与 21 的混合物的部分 (2.5g, 7.46mmol) 中。

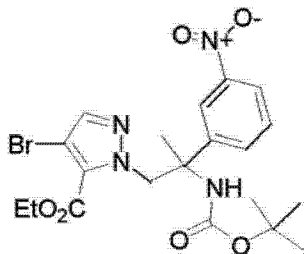
[0250] 将该混合物在回流下搅拌 24 小时。冷却至室温后, 将该混合物用硅藻土过滤并且在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 (硅胶; NH<sub>3</sub> 在 MeOH / DCM 中的 7M 溶液) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂, 以获得静置时沉淀出的、为一种黄色油的中间体 A22 (0.93g, 52% 产率)。

[0251] 使用氯甲酸乙酯代替干冰, 根据实例 A14 中所述的合成程序制备以下中间体:

[0252] 实例 A23

[0253] 中间体 A23 :rac-4-溴-2-[2-叔-丁氧基羰基氨基-2-(3-硝基苯基)-丙基]-2H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0254]

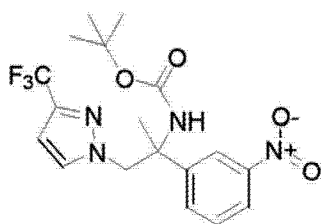


[0255] 制备自中间体 A12。快速柱色谱法 (硅胶; AcOEt / 庚烷) 以获得中间体 A23 (65%)。LCMS :499[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:4.09min(方法3)。

[0256] 实例 A24

[0257] 中间体 A24 :rac-[1-甲基-1-(3-硝基-苯基)-2-(3-三氟-甲基吡唑-1-基)-乙基]-氨基甲酸叔丁酯的制备

[0258]

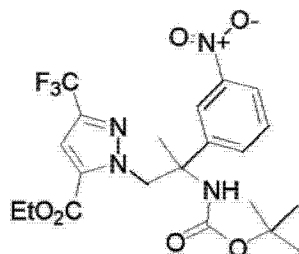


[0259] 在室温下,将中间体A10(2.5g,6.976mmol)添加到3-(三氟-甲基)吡唑(1.234g,9.069mmol)以及碳酸钾(1.928g,13.952mmol)在DMF(175mL)中的搅拌溶液里。将该混合物在110℃加热2小时。将溶剂蒸发并且将残余物用柠檬酸(80mL)与AcOEt(160mL)的饱和溶液进行处理。将该混合物在室温下搅拌1小时。分离有机层,干燥并在真空中蒸发。通过快速柱色谱法(硅胶;DCM)纯化该粗品。收集所希望的部分并且在真空中蒸发,以获得一种透明的油,该油在用冷Et<sub>2</sub>O处理并静置后,沉淀为一种白色固体(2g,69%)。

#### [0260] 实例A25

[0261] 中间体A25:rac-2-[2-叔-丁氧基羰基氨基-2-(3-硝基-苯基)-丙基]-5-三氟甲基-2H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0262]



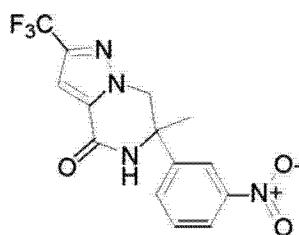
[0263] 制备自中间体A24。快速柱色谱法(硅胶;AcOEt/庚烷)以获得中间体A25(51%)。LCMS:487[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:4.22min(方法3)。

[0264] 根据实例A16-方法B中描述的合成程序制备以下中间体:

#### [0265] 实例A26

[0266] 中间体A26:rac-6-甲基-6-(3-硝基-苯基)-2-三氟甲基-6,7-二氢-5H-吡唑[1,5-a]吡嗪-4-酮的制备

[0267]

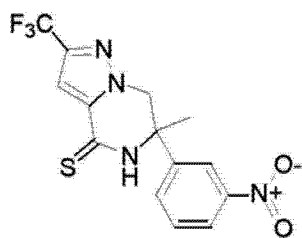


[0268] 制备自中间体A25。快速柱色谱法(硅胶;MeOH / DCM)以获得为白色固体的中间体A26(93%)。LCMS:339[M-H]<sup>-</sup>;R<sub>t</sub>:2.21min(方法3)。根据实例A18-A21中描述的合成程序制备以下中间体:

#### [0269] 实例A27

[0270] 中间体A27:rac-6-甲基-6-(3-硝基-苯基)-2-三氟甲基-6,7-二氢-5H-吡唑[1,5-a]吡嗪-4-硫酮的制备

[0271]

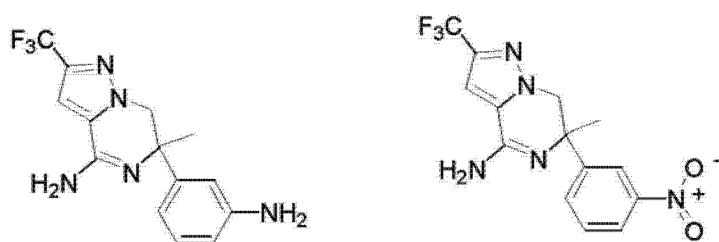


[0272] 制备自中间体 A26。快速柱色谱法（硅胶；MeOH / DCM）以获得为黄色固体的中间体 A27 (95%)。LCMS :355[M-H]<sup>-</sup> ;R<sub>t</sub>:1.29min(方法 2)。

[0273] 实例 A28

[0274] 中间体 A28 :rac-6-(3-氨基-苯基)-6-甲基-2-三氟甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-基胺以及中间体 A29 :6-甲基-6-(3-硝基-苯基)-2-三氟甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-基胺的制备

[0275]

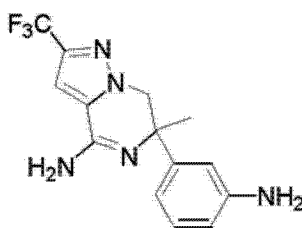


[0276] 制备自中间体 A27。快速柱色谱法（硅胶；MeOH / DCM）以获得中间体 A28 (16%) 以及中间体 A29 (59%)。LCMS :A28 :308[M-H]<sup>-</sup> ;R<sub>t</sub>:0.77min(方法 2) ;A29 :338[M-H]<sup>-</sup> ;R<sub>t</sub>:2.28min(方法 3),

[0277] 实例 A29

[0278] 中间体 A28 :rac-6-(3-氨基-苯基)-6-甲基-2-三氟甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-基胺的制备

[0279]



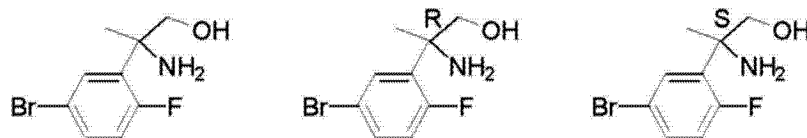
[0280] 将铁 (272mg, 4.87mmol) 添加到中间体 29 (340mg, 1mmol) 以及 NH<sub>4</sub>Cl (100mg) 在 MeOH (20.4mL) 与 H<sub>2</sub>O (6.8mL) 中的混合物里。将该反应在 80℃ 搅拌 5 小时。将粗品冷却并用硅藻土过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法（硅胶；NH<sub>3</sub> 在 MeOH / DCM 中的 7M 溶液）纯化该残余物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂，以获得为一种透明油的中间体 A28 (260mg, 84% 产率)。LCMS :310[M+H]<sup>+</sup> ;R<sub>t</sub>:2.50min(方法 5)。

[0281] 根据实例 A1-A4 中描述的合成程序制备以下中间体 A30：

[0282] 实例 A30

[0283] 中间体 A30 :rac-2-氨基-2-(5-溴-2-氟-苯基)-丙-1-醇、中间体 A31 : (R)-2-氨基-2-(5-溴-2-氟-苯基)-丙-1-醇以及中间体 A32 : (S)-2-氨基-2-(5-溴-2-氟-苯基)-丙-1-醇的制备：

[0284]



[0285] 制备自 1-(5-溴-2-氟-苯基)-乙醇。

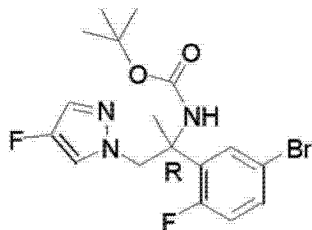
[0286] 然后将该外消旋物质通过制备型 SFC(Chiralpak Diacel AD20  $\mu$ m(2000g)、流动相(70%庚烷,具有 0.1% Et<sub>3</sub>N 的 30% EtOH)) 进一步纯化。针对每一种对映异构体收集所希望的部分并且在真空中浓缩,以获得中间体 A31(44%) 以及中间体 A32(44%)。

[0287] 根据实例 A7-A12 中描述的合成程序制备以下中间体:

[0288] 实例 A31

[0289] 中间体 A33:(R)-[1-(5-溴-2-氟-苯基)-2-(4-氟-吡唑-1-基)-1-甲基-乙基]-氨基甲酸叔丁酯的制备

[0290]



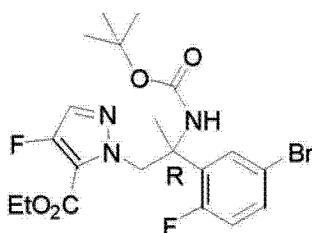
[0291] 制备自中间体 A31。快速柱色谱法(硅胶;AcOEt/庚烷)以获得为一种透明油的中间体 A33(55%)。LCMS:418[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:1.57min(方法 2)。

[0292] 根据实例 A25 中描述的合成程序制备以下中间体:

[0293] 实例 A32

[0294] 中间体 A34:(R)-2-[2-(5-溴-2-氟-苯基)-2-叔丁氧基羰基氨基-丙基]-4-氟-2H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0295]



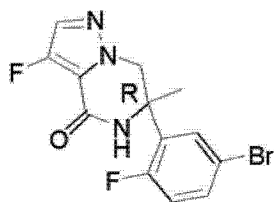
[0296] 制备自中间体 A33。快速柱色谱法(硅胶;AcOEt/庚烷)以获得为一种透明油的中间体 A34(67%)。LCMS:490[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:1.71min(方法 2)。

[0297] 根据实例 A16-方法 B 中描述的合成程序制备以下中间体:

[0298] 实例 A33

[0299] 中间体 A35:(R)-6-(5-溴-2-氟-苯基)-3-氟-6-甲基-6,7-二氢-5H-吡唑[1,5-a]吡嗪-4-酮的制备

[0300]



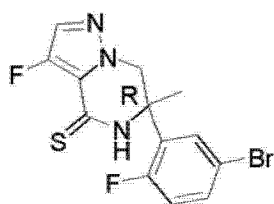
[0301] 制备自中间体 A34。快速柱色谱法（硅胶；MeOH / DCM）以获得为一种油的中间体 A35 (90%)。LCMS :343[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:0.96min(方法 2)。

[0302] 根据实例 A18 中描述的合成程序制备以下中间体：

[0303] 实例 A34

[0304] 中间体 A36 : (R)-6-(5-溴-2-氟-苯基)-3-氟-6-甲基-6,7-二氢-5H-吡唑[1,5-a]吡嗪-4-硫酮的制备

[0305]

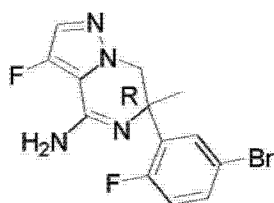


[0306] 制备自中间体 A35。快速柱色谱法（硅胶；MeOH / DCM）以获得为黄色固体的中间体 A36 (85%)。LCMS :360[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:1.19min(方法 2)。

[0307] 实例 A35

[0308] 中间体 A37 : (R)-6-(5-溴-2-氟-苯基)-3-氟-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-4-基胺的制备

[0309]

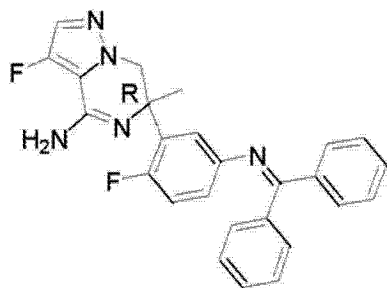


[0310] 在室温下，将 32% NH<sub>3</sub> 水溶液 (1.5mL) 与 NH<sub>3</sub> 在 MeOH (3mL) 中的 7M 溶液添加到中间体 A36 (330mg, 0.921mmol) 中。将该混合物于密封管中在 100℃ 搅拌 6 小时，然后，冷却后，将溶剂在真空中去除。通过快速柱色谱法（硅胶；MeOH / DCM）纯化该粗物料。收集所希望的部分以获得为一种透明油的中间体 A37 (260mg, 83%)。LCMS :343[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:1.03min(方法 2)。

[0311] 实例 A36

[0312] 中间体 A38 : (R)-6-[5-(二苯亚甲基-氨基)-2-氟-苯基]-3-氟-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-4-基胺的制备

[0313]

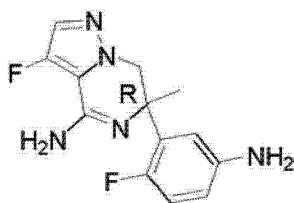


[0314] 在室温下,于密封管中,在  $N_2$  下,将甲苯 (58mL) 添加到中间体 A37 (3g, 8.178mmol)、三(二苯亚甲基丙酮)二钯 (749mg, 0.818mmol)、2,2'-双(二苯基膦基)-1,1'-联萘 (1.528g, 2.453mmol) 以及叔丁醇钠 (1.415g, 14.72mmol) 的混合物中。将该混合物用  $N_2$  冲洗几分钟并且然后添加二苯甲酮亚胺 (2.745mL, 16.356mmol) 并且将该混合物在  $90^\circ\text{C}$  搅拌 18 小时。将该混合物在真空中浓缩冷并且然后将该混合物用  $H_2O$  进行稀释并且用 DCM 萃取。分离有机层,干燥 ( $MgSO_4$ ),过滤并将溶剂在真空中浓缩。通过快速柱色谱法(硅胶;MeOH / DCM)纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中浓缩,以获得为淡黄色固体的中间体 A38 (3g, 83%)。LCMS:  $442[M+H]^+$ ;  $R_t$ : 1.39min (方法 2)。

[0315] 实例 A37

[0316] 中间体 A39: (R)-6-(5-氨基-2-氟-苯基)-3-氟-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-4-基胺的制备

[0317]

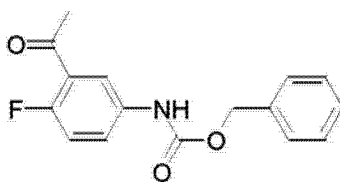


[0318] 将 HCl 37% (1.05mL) 添加到中间体 A38 (3g, 6.795mmol) 在 iPrOH (78mL) 中的溶液里。将该混合物在室温下搅拌 2 小时。浓缩该混合物,并且然后用  $Et_2O$  进行研磨。将固体过滤掉并且吸收在 iPrOH 中。将  $NaHCO_3$  (5.709g) 添加到其中并且将该混合物搅拌 1 小时,然后过滤并将滤液在真空中浓缩。通过快速柱色谱法(硅胶;MeOH / DCM)纯化该产物。收集所希望的部分并且在真空中浓缩,以获得一种淡黄色的油。将该物质用 DIPE /  $Et_2O$  3:1 的混合物进行处理以获得为一种黄色固体的中间体 A39 (1.1g, 58%)。LCMS:  $278[M+H]^+$ ;  $R_t$ : 0.56min (方法 2)。

[0319] 实例 A38

[0320] 中间体 A40: (3-乙酰基-4-氟-苯基)-胺甲酸苄酯的制备

[0321]



[0322] 在室温下,将氯甲酸苄酯 (3mL, 21.5mmol) 添加到 1-(5-氨基-2-氟苯基)乙醇 (3g, 19.6mmol) 与四丁基溴化铵的混合物中。将该反应在室温搅拌 24 小时,将粗品用

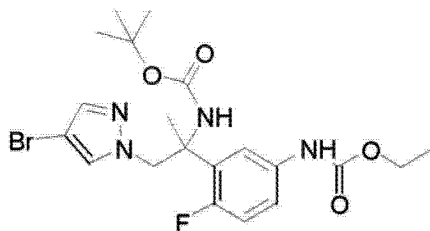
AcOEt (50mL) 以及 H<sub>2</sub>O (50mL) 进行处理,将有机相分离并且在真空中蒸发。通过快速柱色谱法 (硅胶 ;MeOH / DCM) 纯化该粗品。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂,以获得为一种膏状固体的中间体 A40 (4.7g, 84%)。LCMS :286 [M-H]<sup>-</sup>; R<sub>t</sub>:2.81min (方法 3)。

[0323] 根据针对中间体 A11 的合成描述的合成程序制备以下中间体:

[0324] 实例 A39

[0325] 中间体 A41 :rac-[3-[2-(4-溴-吡唑-1-基)-1-叔-丁氧基羰基氨基-1-甲基-乙基]-4-氟-苯基]-氨基甲酸乙酯的制备

[0326]

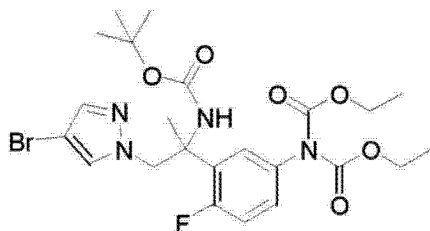


[0327] 制备自中间体 A40。快速柱色谱法 (硅胶 ;AcOEt/ 庚烷),随后用 DIPE 进行洗涤以获得为白色固体的中间体 A41 (72%)。LCMS :487 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>:3.56min (方法 3)。

[0328] 实例 A40

[0329] 中间体 A42 :2-[2-[5-[双(乙氧羰基)氨基]-2-氟-苯基]-2-(叔-丁氧基羰基氨基)丙基]-4-溴-吡唑-3-羧酸 rac-乙酯的制备

[0330]



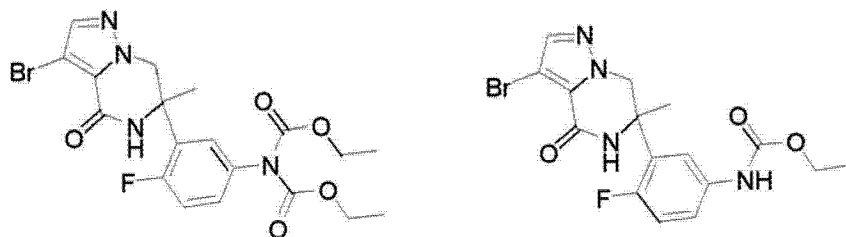
[0331] 在 -70°C, 于 N<sub>2</sub> 气氛下,将二异丙氨基锂 (2M 于环己烷 / 乙苯 / THF 中, 7.36mL, 14.721mmol) 添加到中间体 A41 (2.1g, 4.327mmol) 在干 THF (66mL) 中的搅拌溶液里。将该混合物在 -70°C 搅拌 1 小时,然后在 -70°C 添加氯甲酸乙酯 (0.91mL, 9.519mmol) 并且将该反应在 -30°C 加热 2 小时。将该粗品在 -50°C 用 NH<sub>4</sub>Cl (30mL) 的饱和溶液进行淬灭并且加热至室温,将该粗品用 AcOEt (3×20mL) 进行萃取,将有机相在真空中蒸发,干燥,并将所得粗品通过快速柱色谱法 (硅胶 ;AcOEt/ 庚烷) 进行纯化。收集所希望的部分并且在真空中蒸发,以获得中间体 A42 (1.6g, 59%)。LCMS :631 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>:4.22min (方法 3)。

[0332] 根据实例 A16- 方法 B 中描述的合成程序制备以下中间体:

[0333] 实例 A41

[0334] 中间体 A43 :N-[3-(3-溴-6-甲基-4-氧代-5,7-二氢吡唑 [1,5-a] 吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-N-乙氧羰基-氨基甲酸 rac-乙酯以及中间体 A44 :N-[3-(3-溴-6-甲基-4-氧代-5,7-二氢吡唑 [1,5-a] 吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-氨基甲酸 rac-乙酯的制备

[0335]



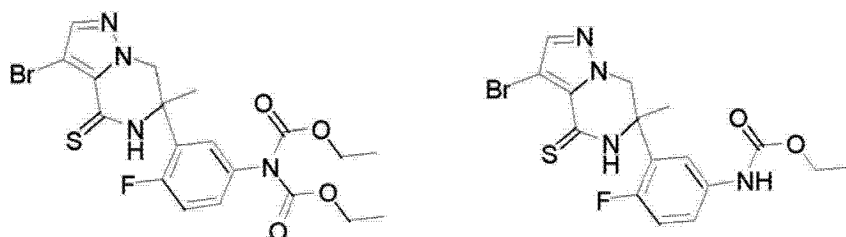
[0336] 制备自中间体 A42。快速柱色谱法（硅胶；AcOEt/庚烷）以获得为白色固体的中间体 A43 (52%) 以及为膏状固体的中间体 A44 (20%)。LCMS : A43 : 485 [M+H]<sup>+</sup> ; R<sub>t</sub> : 2.15min (方法 3) ; A44 : 413 [M+H]<sup>+</sup> ; R<sub>t</sub> : 0.98min (方法 2)

[0337] 根据实例 A18 中描述的合成程序制备以下中间体：

[0338] 实例 A42

[0339] 中间体 A45 : N-[3-(3-溴-6-甲基-4-硫基-5,7-二氢吡唑[1,5-a]吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-N-乙氧羰基-氨基甲酸 rac-乙酯以及中间体 A46 : N-[3-(3-溴-6-甲基-4-硫基-5,7-二氢吡唑[1,5-a]吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-氨基甲酸 rac-乙酯的制备

[0340]

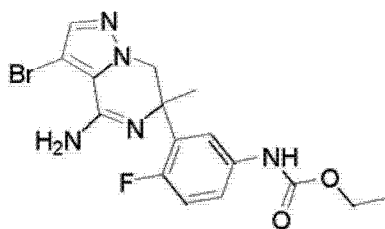


[0341] 制备自中间体 A43 以及 A44。快速柱色谱法（硅胶；MeOH / DCM）以获得为黄色固体的中间体 A45 (65%) 以及为黄色固体的中间体 A46 (28%)。LCMS : A45 : 501 [M+H]<sup>+</sup> ; R<sub>t</sub> : 2.70min (方法 3) ; A46 : 429 [M+H]<sup>+</sup> ; R<sub>t</sub> : 2.53min (方法 3)。根据实例 A35 中描述的合成程序制备以下中间体：

[0342] 实例 A43

[0343] 中间体 A47 : rac-[3-(4-氨基-3-溴-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-氨基甲酸乙酯的制备

[0344]

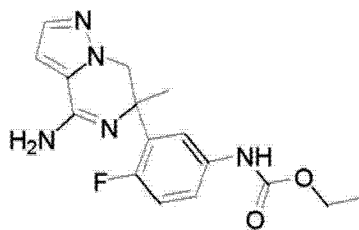


[0345] 制备自中间体 A45 以及 A46。快速柱色谱法（硅胶；MeOH / DCM）以获得就这样用于下一步骤的、为膏状固体的中间体 A47。根据实例 A22-方法 B 中描述的合成程序制备以下中间体：

[0346] 实例 A44

[0347] 中间体 A48 : rac-[3-(4-氨基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-氨基甲酸乙酯的制备

[0348]

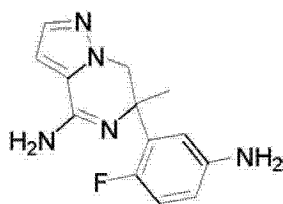


[0349] 制备自中间体 A47。快速柱色谱法（硅胶； $\text{NH}_3$  于 MeOH / DCM 中的 7M 溶液）以获得为一种油的中间体 A48 (71%)。LCMS :322[M+H]<sup>+</sup> ; $R_t$  :0.63min (方法 2)。

[0350] 实例 A45

[0351] 中间体 A49 :6-(5-氨基-2-氟-苯基)-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-4-基胺的制备

[0352]



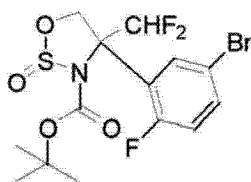
[0353] 在室温下,将中间体 A48 (300mg, 0.905mmol) 添加到 HCl (6M 于  $\text{H}_2\text{O}$  中, 17.1mL) 的溶液中。将该混合物在 110℃ 搅拌 35 小时,然后将溶剂在真空中去除并且用  $\text{NaHCO}_3$  的饱和溶液处理且用 AcOEt (3×10mL) 萃取。分离有机层并在真空中蒸发。通过快速柱色谱法（硅胶；MeOH / DCM）纯化该粗物料。收集所希望的部分以获得为一种透明油的中间体 A49 (160mg, 68%)。LCMS :260[M+H]<sup>+</sup> ; $R_t$  :0.51min (方法 3)。

[0354] 根据实例 A8 中描述的合成程序制备以下中间体：

[0355] 实例 A46

[0356] 中间体 A50 :rac-4-(5-溴-2-氟-苯基)-4-二氟甲基-2-氧代-2λ<sup>4</sup>\*-[1,2,3]氧杂噻唑烷-3-羧酸叔丁酯的制备

[0357]



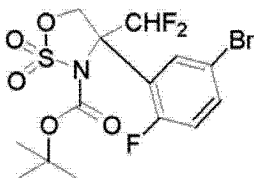
[0358] 制备自氨基甲酸、N-[1-(5-溴-2-氟苯基)-2,2-二氟-1-(羟甲基)乙基]-,1,1-二甲酯。获得为一种黄色油（粗物料,非对映异构体的混合物,100%）的中间体 A50。

[0359] 根据实例 A9 中描述的合成程序制备以下中间体：

[0360] 实例 A47

[0361] 中间体 A51 :rac-4-(5-溴-2-氟-苯基)-4-二氟甲基-2,2-二氧代-2λ<sup>6</sup>\*-[1,2,3]氧杂噻唑烷-3-羧酸叔丁酯的制备

[0362]

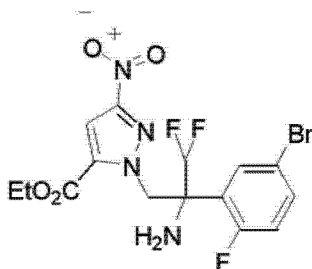


[0363] 制备自中间体 A50。在庚烷中研磨,随后通过柱色谱法(硅胶;DCM)以获得为白色固体的中间体 A51 (78%)。LCMS :465[M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:1.46min(方法 2)。

[0364] 实例 A48

[0365] 中间体 A52 :rac-1-(5-溴-2-氟-苯基)-2,2-二氟-1-(5-甲基-3-硝基-吡唑-1-基甲基)-乙胺的制备:

[0366]

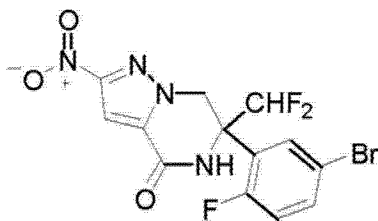


[0367] 在室温下,向 MeCN(150mL) 中的中间体 A51 (6.8g, 15.238mmol) 与 5-硝基-1H-吡唑-3-羧酸乙酯 (3.4g, 18.365mmol) 里添加 DBU (5.1mL, 34.103mmol)。将所得混合物在 60℃ 搅拌 18 小时。然后在真空中蒸发溶剂并且在室温下向残余物中添加 HCl (4M 于二噁烷中, 40mL) 中。将所得溶液在室温下搅拌 2 小时,然后在真空中蒸发溶剂。向残余物中添加 H<sub>2</sub>O 以及饱和的 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 并且将该混合物用 DCM 萃取。将有机层干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法(硅胶;DCM 于庚烷中 50 / 50) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发,以获得为一种粘性泡沫的中间体 A52 (4.6g, 67%)。LCMS : 453[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:1.46min(方法 2)。

[0368] 实例 A49

[0369] 中间体 A53 :rac-6-(5-溴-2-氟-苯基)-6-二氟甲基-2-硝基-6,7-二氢-5H-吡唑[1,5-a]吡嗪-4-酮的制备

[0370]



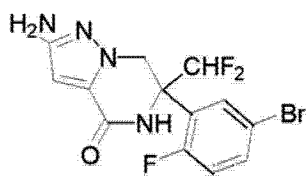
[0371] 在一个密封管中,将 DBU (4.126mL, 27.6mmol) 添加到中间体 A52 (4.15g, 9.198mmol) 在 MeCN (45mL) 中的搅拌混合物里。在微波辐射下,将该混合物在 150℃ 搅拌 30min。将该混合物用 10% NH<sub>4</sub>Cl 稀释并且用 DCM 萃取。将有机层干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法(硅胶;AcOEt) 纯化该残余物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发,以获得中间体 A54 (2.48g, 67%)。LCMS :405[M-H]<sup>-</sup>;R<sub>t</sub>:1.10min(方法 2)。

[0372] 实例 A 5 0

[0373] 中间体 A54 :rac-2-氨基-6-(5-溴-2-氟-苯基)-6-二氟甲基-6,7-二氢-5H-吡

唑 [1,5-a] 吡嗪-4-酮的制备

[0374]

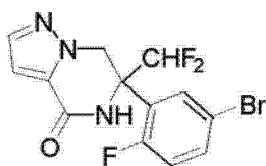


[0375] 将中间体 A53 (2.4g, 5.924mmol) 溶解于 MeOH (150mL) 中。将该溶液用 RuO<sub>2</sub> 连接柱 (50℃, 满氢, 1ml / min) 进行氢化。在真空中蒸发溶剂并且将残余物通过快速柱色谱法 (硅胶; MeOH / DCM) 进行纯化。收集所希望的部分并且在真空中浓缩, 以获得为灰白色固体的中间体 A54 (2.1g, 94%)。LCMS: 377 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0.74min (方法 2)。

[0376] 实例 A51

[0377] 中间体 A55: rac-6-(5-溴-2-氟-苯基)-6-二氟甲基-6,7-二氢-5H-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-酮的制备

[0378]



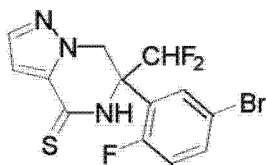
[0379] 将中间体 A54 (1.8g, 4.798mmol)、EtOH (36mL) 以及 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0.767mL) 的混合物加热到 90℃。然后分批添加亚硝酸钠 (828mg, 11.995mmol) 并且将该混合物在 90℃ 搅拌 20min。然后, 将该混合物冷却至室温, 倒入饱和 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 与 H<sub>2</sub>O 中并用 DCM 萃取。分离有机层, 干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 (硅胶; MeOH / DCM) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中浓缩, 以获得为白色固体的中间体 A55 (1.25g, 72%)。LCMS: 403 [M+MeCN+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0.92min (方法 2)。

[0380] 根据实例 A18 中描述的合成程序制备以下中间体:

[0381] 实例 A52

[0382] 中间体 A56: rac-6-(5-溴-2-氟-苯基)-6-二氟甲基-6,7-二氢-5H-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-硫酮的制备

[0383]

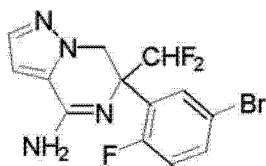


[0384] 制备自中间体 A55。快速柱色谱法 (硅胶; DCM) 以获得为黄色固体的中间体 A56 (1.14g, 88%)。LCMS: 419 [M+MeCN+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1.19min (方法 2)。

[0385] 实例 A53

[0386] 中间体 A57: rac-6-(5-溴-2-氟-苯基)-6-二氟甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-基胺的制备

[0387]



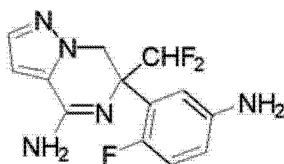
[0388] 将中间体 56 (1.12g, 2.977mmol) 在 7M  $\text{NH}_3$  于 MeOH (30mL) 中的溶液在微波辐射下在 120℃ 搅拌 30 分钟。在真空中蒸发溶剂并且将残余物用 DCM 进行处理并用稀释的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液进行洗涤。分离有机层, 干燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 (硅胶;  $\text{NH}_3$  在 MeOH / DCM 中的 7M 溶液) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中浓缩, 以获得为黄色固体的中间体 A57 (1.03g, 96%)。LCMS : 361  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$ : 0.99min (方法 2)。

[0389] 根据实例 A36-A37 中描述的合成程序制备以下中间体:

[0390] 实例 A54

[0391] 中间体 A58 : rac-6-(5-氨基-2-氟-苯基)-6-二氟甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-基胺的制备

[0392]

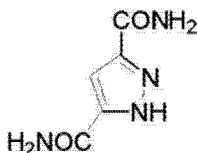


[0393] 制备自中间体 A54。快速柱色谱法 (硅胶; 7M  $\text{NH}_3$  于 MeOH / DCM 中) 以获得为一种灰白色泡沫的中间体 A58 (86%)。LCMS : 296  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$ : 0.61min (方法 2)。

[0394] 实例 A55

[0395] 中间体 A59 : 1H-吡唑-3,5-二羧酸二酰胺的制备

[0396]

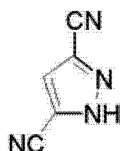


[0397] 将二乙基吡唑-3,5-二羧酸酯 (5.2g, 24.5mmol) 溶解于 7M  $\text{NH}_3$  于 MeOH 中, 并且将该混合物在 70℃ 于密封管中加热 48 小时。然后蒸发溶剂以给出为一种固体的中间体 A59 (3.74g, 99%)。

[0398] 实例 A56

[0399] 中间体 A60 : 1H-吡唑-3,5-二腈的制备

[0400]



[0401] 在 0℃, 将三氯化磷 (11.249mL, 120.679mmol) 添加到中间体 59 (3.72g, 24.136mmol) 在 MeCN (90mL) 中的混合物里。在 120℃, 于密封管中将该混合物搅拌 5 小时 (直到固体消失)。将该反应倾倒入冰 /  $\text{H}_2\text{O}$  的混合物中并且用 DCM 萃取。将有机层分离、

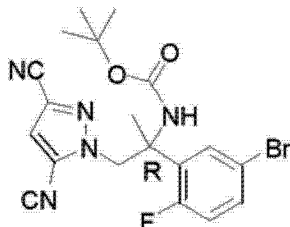
干燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )、过滤并且在真空中蒸发溶剂以给出为一种固体的中间体 A60, 将其不进一步纯化而用于下一步骤中。LCMS : 117  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ;  $R_t$ : 0.61min (方法 2)。

[0402] 根据实例 A7-A12 中描述的合成程序制备以下中间体:

[0403] 实例 A57

[0404] 中间体 A61: (R)-[1-(5-溴-2-氟-苯基)-2-(3,5-二氰基-吡唑-1-基)-1-甲基-乙基]-氨基甲酸叔丁酯的制备

[0405]

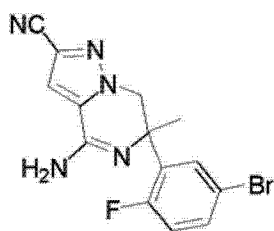


[0406] 制备自中间体 A31。快速柱色谱法 (硅胶; AcOEt/DCM) 以获得为一种泡沫的中间体 A61 (60%)。LCMS : 467  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ ;  $R_t$ : 1.57min (方法 2)。

[0407] 实例 A58

[0408] 中间体 A62: (R)-4-氨基-6-(5-溴-2-氟苯基)-6-甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-2-腈的制备

[0409]

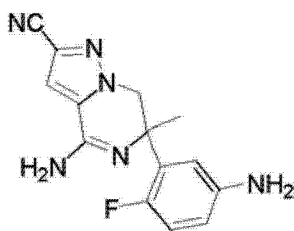


[0410] 在室温, 向中间体 A61 (4.483g, 8.4mmol) 在 DCM (40mL) 中的搅拌混合物里添加三氟乙酸 (4mL)。将该混合物在室温下搅拌 20 小时, 然后用饱和的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液进行碱化并且用 DCM 萃取。分离有机层, 干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ), 过滤并在真空中浓缩。通过快速柱色谱法 (硅胶; 7N  $\text{NH}_3$  于 MeOH / DCM 中) 纯化该残余物。收集所希望的部分并且在真空中浓缩, 以给出中间体 A62 (2.9g, 99%)。LCMS : 349  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$ : 1.13min (方法 2)。

[0411] 实例 A59

[0412] 中间体 A63: (R)-4-氨基-6-(5-氨基-2-氟苯基)-6-甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-2-腈的制备

[0413]



[0414] 该反应分两个相等批次进行。报导了所使用物质的总量。将 CuI (342mg, 1.795mmol) 添加到中间体 A62 (500mg, 1.436mmol)、叠氮化钠 (284mg, 4.308mmol)、N,N'-二甲基乙二胺 (255  $\mu\text{L}$ , 2.369mmol) 以及  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (457mg, 4.308mmol) 在 MeCN (10mL) 中的悬浮

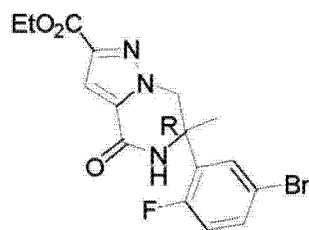
液里并且对该反应进行除气。将该混合物在 110℃ 加热 4 小时,然后在 120℃ 额外加热 2 小时。然后将该混合物用 1M HCl 进行淬灭并且将水层用  $\text{NH}_4\text{OH}$  进行碱化并且用  $\text{AcOEt}$  (3x) 进行萃取。分离这些合并的有机层,干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ),过滤并浓缩。通过快速柱色谱法(硅胶; $\text{NH}_3$  在  $\text{MeOH}$  /  $\text{DCM}$  中的 7N 溶液)纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中浓缩,以获得中间体 A63 (300mg, 65%)。LCMS :285  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$ : 0.74min (方法 2)。

[0415] 根据实例 A7-A9、A11、A13 以及 A15 中描述的合成程序制备以下中间体:

[0416] 实例 A60

[0417] 中间体 A64 : (R)-6-(5-溴-2-氟-苯基)-6-甲基-4-氧代-4,5,6,7-四氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-2-羧酸乙酯的制备

[0418]

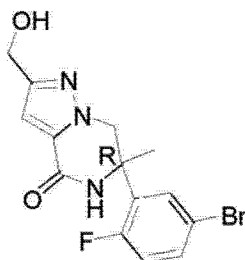


[0419] 制备自二乙基吡唑-3,5-二羧酸酯。在随后的反应中,中间体 A64 用作一种粗品白色固体。

[0420] 实例 A61

[0421] 中间体 A65 : (R)-6-(5-溴-2-氟-苯基)-2-羟甲基-6-甲基-6,7-二氢-5H-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-酮的制备

[0422]

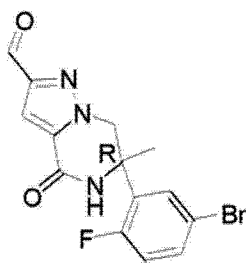


[0423] 在 0℃,将硼氢化钠 (3.094g, 81.774mmol) 添加到中间体 64 (3.6g, 9.086mmol) 在 THF (10mL) 与  $\text{MeOH}$  (5mL) 中的搅拌溶液里。将该混合物在室温下搅拌 18 小时。将该混合物冷却至 0℃,用  $\text{H}_2\text{O}$  进行处理并且用  $\text{DCM}$  萃取。将有机层干燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ),过滤并且在真空中蒸发溶剂,以获得为白色固体的中间体 A65 (3.2g, 99%)。

[0424] 实例 A62

[0425] 中间体 A66 : (R)-6-(5-溴-2-氟-苯基)-6-甲基-4-氧代-4,5,6,7-四氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-2-甲醛的制备

[0426]

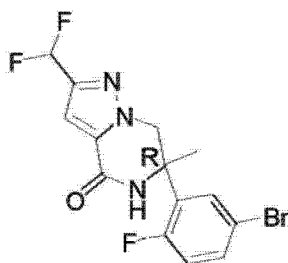


[0427] 将二氧化锰 (7g, 80.5mmol) 添加到中间体 A65 (3.2g, 9.035mmol) 在氯仿 (48mL) 中的溶液里。将反应混合物在 62℃ 搅拌 4 小时。将该混合物用硅藻土过滤并且用 DCM 进行洗涤。浓缩有机层以获得为一种淡橙色蓬松固体的中间体 A66 (2.3g, 72%)。

#### [0428] 实例 A63

[0429] 中间体 A67: (R)-6-(5-溴-2-氟-苯基)-2-二氟甲基-6-甲基-6,7-二氢-5H-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-酮的制备

[0430]

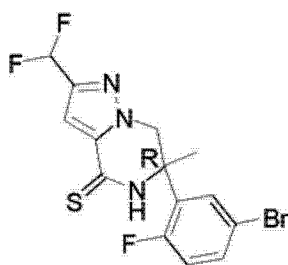


[0431] 将中间体 A66 (2.3g, 6.531mmol) 在 DCM (50mL) 以及 DAST (2.193mL, 16.328mmol) 在 DCM (50mL) 中的溶液泵送通过 flow chemistry Vapourtec R2+R4 模块化装置, 盘管 10mL, 在 80℃ 下, Rt=15min。用 CaCO<sub>3</sub> 收集排出液。将该溶液用硅藻土过滤并且用 DCM 洗涤, 将该有机层用 NaHCO<sub>3</sub> 的饱和溶液洗涤并且用 DCM 萃取。将有机层用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并且在真空中浓缩, 以获得为棕色油的中间体 A67 (2.2g, 90%)。

#### [0432] 实例 A64

[0433] 中间体 A68: (R)-6-(5-溴-2-氟-苯基)-2-二氟甲基-6-甲基-6,7-二氢-5H-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-4-硫酮的制备

[0434]

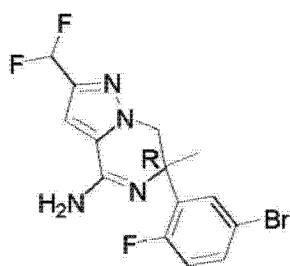


[0435] 将五硫化二磷 (1.871g, 8.419mmol) 添加到中间体 A67 (2.1g, 5.613mmol) 在二噁烷 (1mL) 中的溶液里并且将该混合物在 100℃ 加热 18 小时。将该混合物在真空中浓缩并且通过快速柱色谱法 (硅胶; DCM) 进行纯化。收集所希望的部分并且在真空中浓缩, 以获得为黄色油的中间体 A68 (2g, 91%)。LCMS: 392 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1.29min (方法 2)。

#### [0436] 实例 A65

[0437] 中间体 A69: (R)-6-(5-溴-2-氟-苯基)-2-二氟甲基-6-甲基-6,7-二氢-吡

唑 [1,5-a] 吡嗪 -4- 基胺的制备  
[0438]



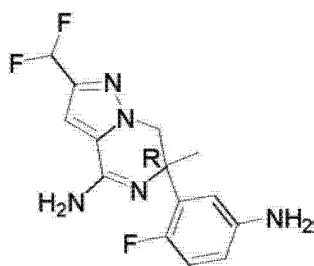
[0439] 该反应分两个相等批次进行。报导了所使用物质的总量。将  $\text{NH}_3$  (2M 于 EtOH 中, 30mL, 60mmol) 添加到中间体 A69 (2g, 5.125mmol) 以及  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (2.173g, 41mmol) 中。将该混合物在微波辐射下于  $170^\circ\text{C}$  加热 45min。将该混合物浓缩, 并且添加另外 30mL 的  $\text{NH}_3$  (2M 于 EtOH 中)。将该混合物在微波辐射下于  $170^\circ\text{C}$  加热 45min。将该程序重复 4 次以持续 180min 的时间总量。过滤该混合物并且将滤液在真空中浓缩。通过柱色谱法 (硅胶; MeOH / DCM) 纯化该粗品。收集所希望的部分并且在真空中浓缩, 以获得为一种油的中间体 A69 (1g, 52%)。LCMS:  $375[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$ : 1.11min (方法 2)。

[0440] 根据类似于实例 A59 中描述的那个的合成程序制备以下中间体:

[0441] 实例 A66

[0442] 中间体 A70: (R)-6-(5-氨基-2-氟-苯基)-2-二氟甲基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪 -4- 基胺的制备

[0443]



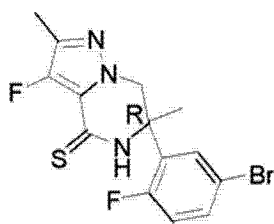
[0444] 制备自中间体 A69。快速柱色谱法 (硅胶; MeOH / DCM) 以获得为一种油的中间体 A70 (51%)。LCMS:  $310[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$ : 0.69min (方法 2)。

[0445] 根据实例类似于 A7-A11、A48、A15 以及 A18 中描述的一个合成程序制备以下中间体:

[0446] 实例 A67

[0447] 中间体 A71: (R)-6-(5-溴-2-氟-苯基)-3-氟-2,6-二甲基-6,7-二氢-5H-吡唑 [1,5-a] 吡嗪 -4- 硫酮的制备

[0448]



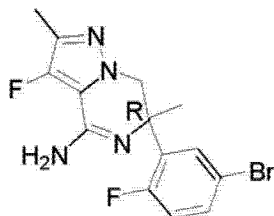
[0449] 制备自 4-氟-5-甲基-1H-吡唑-3-羧酸乙酯。快速柱色谱法 (硅胶; AcOEt/DCM)

以获得为黄色固体的中间体 A71 (92%)。LCMS :374[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:1.27min(方法 2)。

[0450] 实例 A68

[0451] 中间体 A72 : (R)-6-(5-溴-2-氟-苯基)-3-氟-2,6-二甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-4-基胺的制备

[0452]



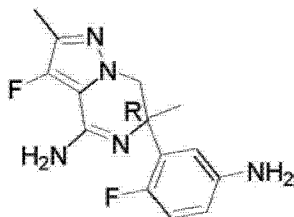
[0453] 将 NH<sub>3</sub> (2M 于 EtOH 中, 10eq) 添加到中间体 A71 (2.4g, 6.448mmol) 与 NH<sub>4</sub>Cl (4eq.) 的溶液里并且将该混合物在 85°C 于密封管中加热 24 小时。在真空中蒸发溶剂并且将残余物悬浮于 DCM 中并用 H<sub>2</sub>O 洗涤。分离有机层, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发溶剂。向该残余物中添加更多的 NH<sub>4</sub>Cl (4eq), 随后添加 NH<sub>3</sub> (2M 于 EtOH 中, 10eq) 并且将该混合物在 85°C 于密封管中加热 24 小时。将该过程再重复四次, 以达到 276mL 的 NH<sub>3</sub> (2M 于 EtOH 中) 以及 8.277g 的 NH<sub>4</sub>Cl 的总量。然后通过快速柱色谱法 (硅胶; MeOH / DCM) 纯化该产物。收集所希望的部分并且在真空中浓缩, 以获得为淡黄色固体的中间体 A72 (960mg, 42%)。LCMS :357[M+H]<sup>+</sup>;R<sub>t</sub>:1.11min(方法 2)。

[0454] 根据类似于实例 A36-A37 中描述的一个合成程序制备以下中间体:

[0455] 实例 A69

[0456] 中间体 A73 : (R)-6-(5-氨基-2-氟-苯基)-3-氟-2,6-二甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-4-基胺的制备

[0457]



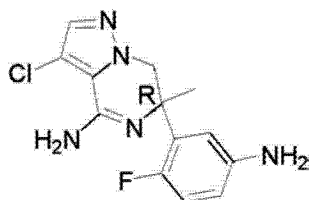
[0458] 制备自中间体 A72。快速柱色谱法 (硅胶; 于 MeOH / DCM 中的 7NNH<sub>3</sub>) 以获得为淡黄色固体的中间体 A73 (42%)。

[0459] 根据实例类似于 A7-A9、A48、A23、A16B、A18、A21、A36、A37 中描述的一个合成程序制备以下中间体:

[0460] 实例 A70

[0461] 中间体 A74 : (R)-6-(5-氨基-2-氟-苯基)-3-氯-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-4-基胺的制备

[0462]



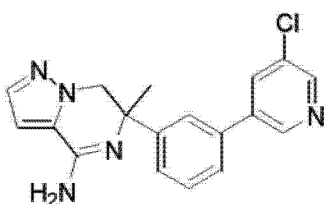
[0463] 制备自中间体 A31。快速柱色谱法 (硅胶 ;MeOH / DCM), 随后通过在 DIPE / Et<sub>2</sub>O 中研磨, 以获得为黄色固体的中间体 A74 (94%)。LCMS :294[M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>:1.13min (方法 3)。

#### [0464] 最终化合物的制备

##### [0465] 实例 B1

[0466] 化合物 1 : (R)-6-[3-(5-氯-吡啶-3-基)-苯基]-6-甲基-6,7-二氢-吡唑 [1, 5-a] 吡嗪-4-基胺三氟乙酸盐的制备

[0467]

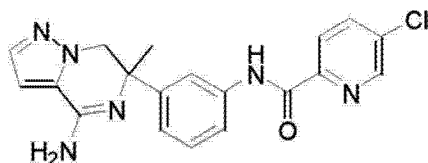


[0468] 在密封管中, 将 32% 水性 NH<sub>3</sub> 溶液 (0.5mL) 添加到中间体 A18 (60mg, 0.17mmol) 在 NH<sub>3</sub> 于 MeOH (1.5mL) 中的 7M 溶液里的搅拌混合物中。将该混合物在 100 °C 搅拌 5 小时。冷却至室温后, 将这些溶剂在真空中蒸发。通过短柱层析法 (硅胶 ;MeOH / DCM) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中浓缩, 以给出通过反相 HPLC (梯度从 H<sub>2</sub>O 中的 80% 0.1% TFA 溶液、20% CH<sub>3</sub>CN 至 H<sub>2</sub>O 中的 0% 0.1% TFA 溶液、100% CH<sub>3</sub>CN) 进一步纯化的部分并用 DIPE 进行研磨以获得为一种白色固体的化合物 1 (36mg, 46% 产率)。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1.79 (s, 3H), 4.69 (d, J=13.6Hz, 1H), 5.25 (d, J=13.9Hz, 1H), 7.23 (d, J=2.3Hz, 1H), 7.45 (br. d, J=8.7Hz, 1H), 7.52 (t, J=7.8Hz, 1H), 7.69 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.75 (br. d, J=7.8Hz, 1H), 7.94-7.96 (m, 1H), 8.28 (t, J=2.2Hz, 1H), 8.66 (d, J=2.3Hz, 1H), 8.88 (d, J=2.0Hz, 1H), 9.28 (br. s, 1H), 9.87 (br. s, 1H), 11.06 (br. s, 1H)。

##### [0469] 实例 B2

[0470] 化合物 2 : rac-5-氯-吡啶-2-羧酸 [3-(4-氨基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑 [1, 5-a] 吡嗪-6-基)-苯基]-酰胺的制备

[0471]



[0472] 将 5-氯-吡啶-2-羧酸 (71.8mg, 0.68mmol) 添加到 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物 (137mg, 0.5mmol) 在 MeOH (4mL) 中的溶液里。

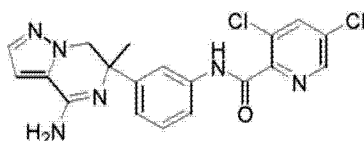
[0473] 将该混合物在室温下搅拌 5min。然后将该混合物冷却至 0 °C 并且添加中间体 A22 (100mg, 0.41mmol) 在 MeOH (3mL) 中的溶液。将该混合物加热至室温并搅拌 3 小时。将该混合物用 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 H<sub>2</sub>O 的饱和溶液进行处理并且用 DCM 萃取。分离有机层, 干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发溶剂。将该粗产物用 Et<sub>2</sub>O 进行研磨并且然后通过快速柱色谱法 (硅

胶 ;MeOH/DCM) 进行纯化。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂且将所得部分通过快速柱色谱法 ( 硅胶 ;MeOH/DCM) 进行进一步纯化。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂,以获得为白色固体的化合物 2 (21mg, 13% 产率)。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 1.67 (s, 3H), 4.38 (d, J = 13.3Hz, 1H), 4.53 (d, J = 13.3Hz, 1H), 4.79 (br. s, 2H), 6.72 (br. s, 1H), 7.24 (br. d, J = 7.8Hz, 1H), 7.34 (t, J = 7.9Hz, 1H), 7.51 (d, J = 2.0Hz, 1H), 7.73 (dd, J = 8.1, 1.2Hz, 1H), 7.85-7.90 (m, 2H), 8.23 (d, J = 8.4Hz, 1H), 8.55 (d, J = 2.0Hz, 1H), 9.86 (br. s, 1H)。

#### [0474] 实例 B3

[0475] 化合物 3 : rac-3,5-二氯-吡啶-2-羧酸 [3-(4-氨基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-6-基)-苯基]-酰胺的制备

[0476]

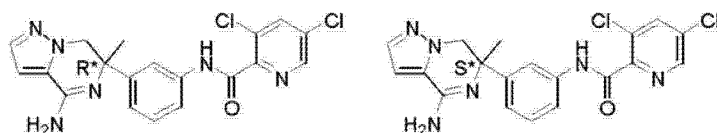


[0477] 将 3,5-二氯-吡啶-2-羧酸 (112mg, 0.58mmol) 添加到 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物 (176.2mg, 0.64mmol) 在 MeOH (5mL) 中的溶液里。将该混合物在室温下搅拌 5min。然后将该混合物冷却至 0°C 并且添加中间体 A22 (128mg, 0.53mmol) 在 MeOH (5mL) 中的溶液。将该混合物加热至室温并搅拌 3 小时。将该混合物用 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 H<sub>2</sub>O 的饱和溶液进行处理并且用 DCM 萃取。分离有机层,干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 ( 硅胶 ;MeOH/DCM) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂。将该粗产物用 Et<sub>2</sub>O 进行研磨并且然后通过快速柱色谱法 ( 硅胶 ;MeOH/DCM) 进行纯化。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂,以获得为白色固体的化合物 3 (180mg, 82% 产率)。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm 1.41 (s, 3H), 4.12-4.45 (m, 2H), 6.54 (br. s., 2H), 6.64 (d, J = 2.0Hz, 1H), 7.25-7.32 (m, 2H), 7.45 (d, J = 2.0Hz, 1H), 7.63 (m, J = 6.3, 2.5, 2.5Hz, 1H), 7.82 (br. s, 1H), 8.43 (d, J = 2.0Hz, 1H), 8.72 (d, J = 2.0Hz, 1H), 10.64 (br. s., 1H)。

#### [0478] 实例 B4

[0479] 化合物 4 : (R\*)-3,5-二氯-吡啶-2-羧酸 [3-(4-氨基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-6-基)-苯基]-酰胺以及化合物 5 : (S\*)-3,5-二氯-吡啶-2-羧酸 [3-(4-氨基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-6-基)-苯基]-酰胺的制备

[0480]



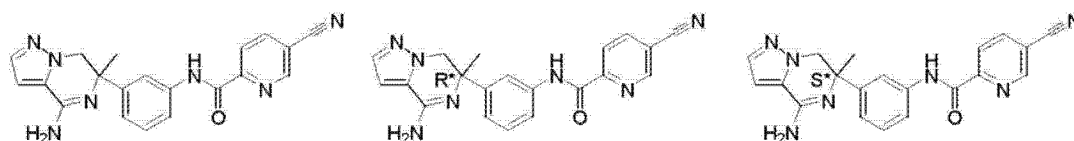
[0481] 将化合物 3 (0.58g) 的样品用冷 DCM 并且然后用 Et<sub>2</sub>O 进行洗涤。然后将该外消旋化合物通过 Chiralpak AD-H 5  $\mu$ m (250x20mm) 上的制备型 SFC、流动相 (0.3% iPrNH<sub>2</sub>, 60% CO<sub>2</sub>, 40% EtOH) 分离为对应的对映异构体。针对每一种对映异构体收集所希望的部分并且在真空中浓缩,以获得两者都为白色固体的化合物 4 (152mg, 26% 产率)。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm 1.41 (s, 3H), 4.28 (br. s, 2H), 6.41 (br. s., 2H), 6.64 (d, J = 1.4Hz, 1H), 7.30 (s, 2H),

7.45(d,  $J = 2.0\text{Hz}$ , 1H), 7.60–7.67(m, 1H), 7.83(s, 1H), 8.44(d,  $J = 2.0\text{Hz}$ , 1H), 8.73(d,  $J = 2.3\text{Hz}$ , 1H), 10.65(br. s., 1H) 以及化合物 5(155mg, 27% 产率)  $^1\text{H}$  NMR(500MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1.41(s, 3H), 4.28(s, 2H), 6.41(br. s., 2H), 6.64(d,  $J = 0.9\text{Hz}$ , 1H), 7.26–7.33(m, 2H), 7.45(d,  $J = 1.4\text{Hz}$ , 1H), 7.59–7.69(m, 1H), 7.84(s, 1H), 8.44(d,  $J = 2.0\text{Hz}$ , 1H), 8.73(d,  $J = 2.0\text{Hz}$ , 1H), 10.65(br. s., 1H)。

#### [0482] 实例 B5

[0483] 化合物 6: rac-5-氰基-吡啶-2-羧酸 [3-(4-氨基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-6-基)-苯基]-酰胺以及化合物 7: (R\*)-5-氰基-吡啶-2-羧酸 [3-(4-氨基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-6-基)-苯基]-酰胺以及化合物 8: (S\*)-5-氰基-吡啶-2-羧酸 [3-(4-氨基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-6-基)-苯基]-酰胺的制备

#### [0484]

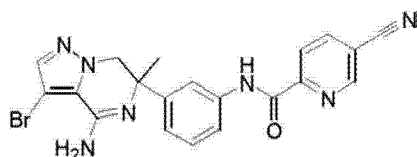


[0485] 将 5-氰基-吡啶-2-羧酸 (187.8mg, 1.27mmol) 添加到 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物 (412.9mg, 1.49mmol) 在 MeOH(20mL) 中的溶液里。将该混合物在室温下搅拌 5min。然后将该混合物冷却至 0℃ 并且添加中间体 A22(300mg, 1.24mmol) 在 MeOH(10mL) 中的溶液。将该混合物加热至室温并搅拌 4 小时。将该混合物用  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  和  $\text{H}_2\text{O}$  的饱和溶液进行处理并且用 DCM 萃取。分离有机层, 干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 (硅胶; MeOH/DCM) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂。将该粗产物用  $\text{Et}_2\text{O}$  研磨并且然后通过快速柱色谱法 (硅胶;  $\text{NH}_3$  在 MeOH/DCM 中的 7M 溶液) 进行纯化。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂。将该粗产物用 EtOH 和  $\text{Et}_2\text{O}$  进行洗涤并且然后通过快速柱色谱法 (硅胶; MeOH/DCM) 进行纯化。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂, 以获得为膏状固体的化合物 6(122mg, 26% 产率)。  $^1\text{H}$  NMR(500MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1.42(s, 3H), 4.31(m,  $J = 3.5\text{Hz}$ , 2H), 6.66(br. s, 2H), 6.66(d,  $J = 1.7\text{Hz}$ , 1H), 7.26–7.33(m, 2H), 7.45(d,  $J = 2.0\text{Hz}$ , 1H), 7.78(dt,  $J = 6.9, 1.9\text{Hz}$ , 1H), 8.01–8.06(m, 1H), 8.29(dd,  $J = 8.1, 0.6\text{Hz}$ , 1H), 8.59(dd,  $J = 8.1, 2.0\text{Hz}$ , 1H), 9.18–9.22(m, 1H), 10.68(s, 1H)。然后将该外消旋化合物通过 Chiralpak AD-H5  $\mu\text{m}$ (250x20mm) 上的制备型 SFC、流动相 (0.3%  $\text{iPrNH}_2$ , 60%  $\text{CO}_2$ , 40% EtOH) 进一步纯化。针对每一种对映异构体收集所希望的部分并且在真空中浓缩, 以获得两者都为白色固体的化合物 7(45.8mg, 10% 产率)  $^1\text{H}$  NMR(500MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1.41(s, 3H), 4.21–4.35(m, 2H), 6.39(br. s., 2H), 6.64(br. s, 1H), 7.26–7.35(m, 2H), 7.45(d,  $J = 1.2\text{Hz}$ , 1H), 7.78(br. d,  $J = 7.2\text{Hz}$ , 1H), 8.05(br. s, 1H), 8.30(d,  $J = 8.1\text{Hz}$ , 1H), 8.60(dd,  $J = 8.1, 2.0\text{Hz}$ , 1H), 9.20–9.22(m, 1H), 10.68(s, 1H) 以及化合物 8(46.5mg, 10% 产率)  $^1\text{H}$  NMR(500MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1.41(s, 3H), 4.29(br. s., 2H), 6.41(br. s., 2H), 6.64(d,  $J = 1.7\text{Hz}$ , 1H), 7.27–7.34(m, 2H), 7.45(d,  $J = 1.7\text{Hz}$ , 1H), 7.77–7.80(m, 1H), 8.05(br. s, 1H), 8.30(dd,  $J = 8.2, 0.7\text{Hz}$ , 1H), 8.60(dd,  $J = 8.1, 2.0\text{Hz}$ , 1H), 9.19–9.24(m, 1H), 10.68(s, 1H)。

## [0486] 实例 B6

[0487] 化合物 9 :rac-5-氰基-吡啶-2-羧酸 [3-(4-氨基-3-溴-6-甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-6-基)-苯基]-酰胺三氟乙酸盐的制备

[0488]

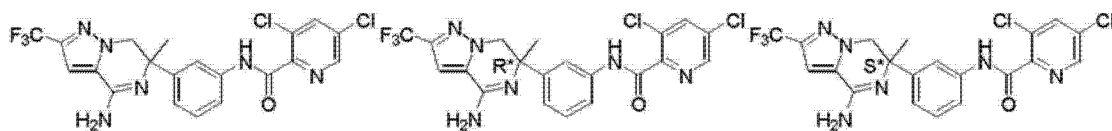


[0489] 将 5-氰基-吡啶-2-羧酸 (23.6mg, 0.16mmol) 添加到 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物 (51.9mg, 0.19mmol) 在 MeOH(5mL) 中的溶液里。将该混合物在室温下搅拌 5min。然后将该混合物冷却至 0℃ 并且添加中间体 A20 (50mg, 0.16mmol) 在 MeOH(5mL) 中的溶液。将该混合物加热至室温并搅拌 4 小时。将该混合物用 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 H<sub>2</sub>O 的饱和溶液进行处理并且用 DCM 萃取。分离有机层, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 (硅胶; MeOH/DCM) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂。将该粗产物用 Et<sub>2</sub>O 进行研磨并且然后通过快速柱色谱法 (硅胶; MeOH/DCM) 进行纯化。收集所希望的部分并且在真空中浓缩, 且将该残余物通过制备型 HPLC(RP C18XSelect19x1005um)、流动相 (梯度从 H<sub>2</sub>O 中的 80% 0.1% TFA 溶液、20% CH<sub>3</sub>CN 至 H<sub>2</sub>O 中的 0% 0.1% TFA 溶液、100% CH<sub>3</sub>CN) 进行纯化以获得为一种白色固体的化合物 9 (9.8mg, 11% 产率)。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1.75 (s, 3H), 4.74 (d, J = 13.9Hz, 1H), 5.09 (d, J = 13.6Hz, 1H), 7.19-7.24 (m, 1H), 7.40 (t, J = 8.1Hz, 1H), 7.87 (dd, J = 8.1, 1.2Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 8.00 (br. s, 1H), 8.29 (dd, J = 8.1, 0.6Hz, 1H), 8.60 (dd, J = 8.4, 2.0Hz, 1H), 8.78 (br. s, 1H), 9.21 (dd, J = 2.0, 0.9Hz, 1H), 9.70 (br. s, 1H), 10.89 (s, 1H), 11.23 (br. s, 1H)。

## [0490] 实例 B7

[0491] 化合物 10 :rac-3,5-二氯-吡啶-2-羧酸 [3-(4-氨基-6-甲基-2-三氟甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-6-基)-苯基]-酰胺以及化合物 11 : (R\*)-3,5-二氯-吡啶-2-羧酸 [3-(4-氨基-6-甲基-2-三氟甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-6-基)-苯基]-酰胺以及化合物 12 : (S\*)-3,5-二氯-吡啶-2-羧酸 [3-(4-氨基-6-甲基-2-三氟甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-6-基)-苯基]-酰胺的制备

[0492]



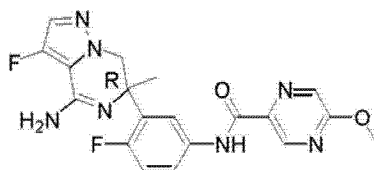
[0493] 将 3,5-二氯-吡啶羧酸 (70mg, 0.366mmol) 添加到 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物 (119mg, 0.431mmol) 在 MeOH(5mL) 中的溶液里。将该混合物在室温下搅拌 5min。然后将该混合物冷却至 0℃ 并且添加中间体 A28 (111mg, 0.359mmol) 在 MeOH(5mL) 中的溶液。将该混合物加热至室温并搅拌 4 小时。将该混合物用 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 H<sub>2</sub>O 的饱和溶液进行处理并且用 DCM 萃取。分离有机层, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 (硅胶; MeOH/DCM) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂。将该粗产物用 Et<sub>2</sub>O 研磨、声处理、过滤并在真空中于

50℃干燥,以获得为白色固体的化合物 10(95mg,55%产率)。然后将该外消旋化合物通过 Chiralpak AD-H5  $\mu$ m(250x20mm) 上的制备型 SFC、流动相 (0.3% iPrNH<sub>2</sub>,70% CO<sub>2</sub>,30% iPrOH) 进一步纯化。针对每一种对映异构体收集所希望的部分并且在真空中浓缩,以获得化合物 11(40mg,23%产率) <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm1.42(s,3H),4.35-4.47(m,2H),6.61(br. s.,2H),7.09(br. s.,1H),7.26-7.35(m,2H),7.59-7.67(m,1H),7.83(br. s.,1H),8.43(d,J=2.1Hz,1H),8.72(d,J=2.1Hz,1H),10.67(s,1H) 以及化合物 12(38mg,22%产率),它的 <sup>1</sup>H NMR 与化合物 11 的一致。

#### [0494] 实例 B8

[0495] 化合物 13:(R)-5-甲氧基-吡嗪-2-羧酸[3-(4-氨基-3-氟-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-酰胺的制备

[0496]

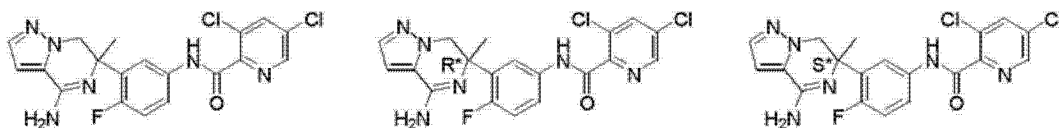


[0497] 将 5-甲氧基吡嗪-2-羧酸(120mg,0.78mmol) 添加到 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(233mg,0.841mmol) 在 MeOH(5mL) 中的溶液里。将该混合物在室温下搅拌 5min。然后将该混合物冷却至 0℃ 并且添加中间体 A39(212mg,0.764mmol) 在 MeOH(5mL) 中的溶液。将该混合物加热至室温并搅拌 4 小时。将该混合物用 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 H<sub>2</sub>O 的饱和溶液进行处理并且用 DCM 萃取。分离有机层,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法(硅胶;MeOH/DCM) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂。将该粗产物用 Et<sub>2</sub>O 进行研磨并且然后通过快速柱色谱法(硅胶;MeOH/DCM) 进行纯化。收集所希望的部分并且在真空中浓缩,以获得一种白色固体。将该固体用 DIPE 进行处理以获得为白色固体的化合物 13(155mg,49%)。 <sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm1.59(s,3H),4.06(s,3H),4.28(br. d,J=13.0Hz,1H),4.51(br. d,J=13.0Hz,1H),5.04(br. s.,2H),7.09(dd,J=11.6,9.0Hz,1H),7.36(d,J=4.0Hz,1H),7.84-7.97(m,2H),8.12(d,J=1.2Hz,1H),8.99(d,J=1.2Hz,1H),9.51(br. s.,1H)。

#### [0498] 实例 B9

[0499] 化合物 14:rac-3,5-二氯-吡啶-2-羧酸[3-(4-氨基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-酰胺以及化合物 15:(R\*)-3,5-二氯-吡啶-2-羧酸[3-(4-氨基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-酰胺以及化合物 16:(S\*)-3,5-二氯-吡啶-2-羧酸[3-(4-氨基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-酰胺的制备

[0500]



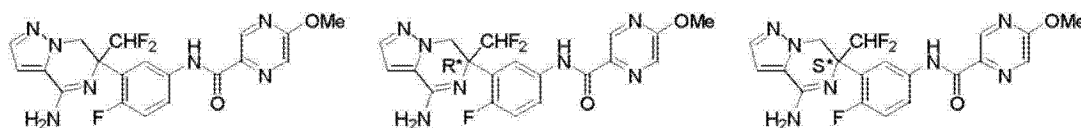
[0501] 将 3,5-二氯-吡啶羧酸(75.5mg,0.393mmol) 添加到 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(128mg,0.463mmol) 在 MeOH(5mL) 中的溶液里。将该混合物在室温下搅拌 5min。然后将该混合物冷却至 0℃ 并且添加中间体 A49(100mg,

0.386mmol) 在 MeOH(5mL) 中的溶液。将该混合物加热至室温并搅拌 4 小时。将该混合物用  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  和  $\text{H}_2\text{O}$  的饱和溶液进行处理并且用 DCM 萃取。分离有机层,干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法(硅胶;MeOH/DCM) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂。将该粗产物用  $\text{Et}_2\text{O}$  研磨、声处理、过滤并在真空中于  $50^\circ\text{C}$  干燥。将所得的化合物通过快速柱色谱法(硅胶;MeOH/DCM) 再进行一次纯化,从而在用 AcOEt 以及 DIPE 处理之后,获得为白色固体的化合物 14(95mg, 57% 产率)。然后将该外消旋化合物通过 Chiralcel OJ-H5  $\mu\text{m}$ (250x20mm) 上的制备型 SFC、流动相 (0.3%  $\text{iPrNH}_2$ , 85%  $\text{CO}_2$ , 15% EtOH) 进一步纯化。针对每一种对映异构体收集所希望的部分并且在真空中浓缩,以获得化合物 15(38mg, 23% 产率)  $^1\text{H NMR}$ (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 1.58(s, 3H), 2.52(br. s., 2H), 4.41(br. d,  $J = 13.2\text{Hz}$ , 1H), 4.62(dd,  $J = 13.2, 0.9\text{Hz}$ , 1H), 6.43(d,  $J = 2.1\text{Hz}$ , 1H), 7.08(dd,  $J = 11.7, 8.9\text{Hz}$ , 1H), 7.52(d,  $J = 2.1\text{Hz}$ , 1H), 7.81(dd,  $J = 6.9, 2.8\text{Hz}$ , 1H), 7.89(d,  $J = 2.1\text{Hz}$ , 1H), 7.94(ddd,  $J = 8.8, 4.1, 3.0\text{Hz}$ , 1H), 8.42(d,  $J = 2.1\text{Hz}$ , 1H), 9.71(br. s., 1H) 以及化合物 16(40mg, 24% 产率), 它的  $^1\text{H NMR}$  与化合物 15 的一致。

#### [0502] 实例 B10

[0503] 化合物 17: rac-5-甲氧基-吡嗪-2-羧酸 [3-(4-氨基-6-二氟甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a] 吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-酰胺以及化合物 18: ( $R^*$ )-5-甲氧基-吡嗪-2-羧酸 [3-(4-氨基-6-二氟甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a] 吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-酰胺以及化合物 19: ( $S^*$ )-5-甲氧基-吡嗪-2-羧酸 [3-(4-氨基-6-二氟甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a] 吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-酰胺的制备

#### [0504]

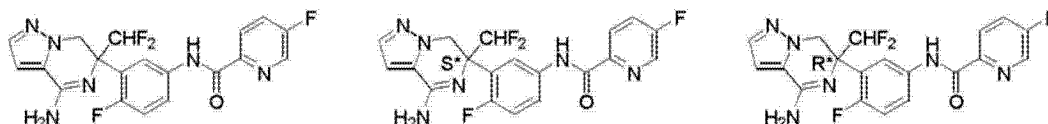


[0505] 将 5-甲氧基吡嗪-2-羧酸(187.9mg, 1.219mmol) 添加到 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(337mg, 1.219mmol) 在 MeOH(6mL) 中的混合物里。将该混合物在室温下搅拌 5min。然后将该混合物冷却至  $0^\circ\text{C}$  并且添加中间体 A58(300mg, 1.016mmol) 在 MeOH(4mL) 中的溶液。将该混合物加热至室温并且搅拌 1 小时,然后用  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  与  $\text{H}_2\text{O}$  的饱和溶液进行处理且用 DCM 萃取。分离有机层,干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ), 过滤并在真空中蒸发溶剂。用 DCM 沉淀部分产物并且将该残余的粗物料通过快速柱色谱法(硅胶;在 MeOH/DCM 中的 7M  $\text{NH}_3$ ) 进行纯化。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂。将所得的产物与获得自沉淀且用庚烷研磨的产物进行合并、声处理并过滤,以获得为一种白色固体的化合物 17(278mg, 62% 产率)。然后将该外消旋化合物通过 Chiralcel OD-H5  $\mu\text{m}$ (250x20mm) 上的制备型 SFC、流动相 (0.3%  $\text{iPrNH}_2$ , 70%  $\text{CO}_2$ , 30% EtOH) 进一步纯化。针对每一种对映异构体收集所希望的部分并且在真空中浓缩,以获得化合物 18(103mg, 23% 产率)  $^1\text{H NMR}$ (500MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 4.03(s, 3H) 4.58(br. d,  $J = 13.6\text{Hz}$ , 1H) 4.75(br. d,  $J = 13.6\text{Hz}$ , 1H) 6.27(t,  $J = 55.5\text{Hz}$ , 1H) 6.68(d,  $J = 2.0\text{Hz}$ , 1H) 6.93(br. s, 2H) 7.20(dd,  $J = 11.8, 9.0\text{Hz}$ , 1H) 7.48(d,  $J = 2.0\text{Hz}$ , 1H) 7.78(dt,  $J = 8.4, 3.6\text{Hz}$ , 1H) 8.17(dd,  $J = 7.1, 2.7\text{Hz}$ , 1H) 8.42(d,  $J = 1.2\text{Hz}$ , 1H) 8.88(d,  $J = 1.2\text{Hz}$ , 1H) 10.51(s, 1H) 以及化合物 19(102mg, 23% 产率), 它的  $^1\text{H NMR}$  与化合物 18 的一致。

## [0506] 实例 B11

[0507] 化合物 20 :rac-5- 氟 - 吡啶 -2- 羧酸 [3-(4- 氨基 -6- 二氟甲基 -6,7- 二氢 - 吡唑 [1,5-a] 吡嗪 -6- 基) -4- 氟 - 苯基] - 酰胺以及化合物 21 : (S\*)-5- 氟 - 吡啶 -2- 羧酸 [3-(4- 氨基 -6- 二氟甲基 -6,7- 二氢 - 吡唑 [1,5-a] 吡嗪 -6- 基) -4- 氟 - 苯基] - 酰胺以及化合物 22 : (R\*)-5- 氟 - 吡啶 -2- 羧酸 [3-(4- 氨基 -6- 二氟甲基 -6,7- 二氢 - 吡唑 [1,5-a] 吡嗪 -6- 基) -4- 氟 - 苯基] - 酰胺的制备

## [0508]

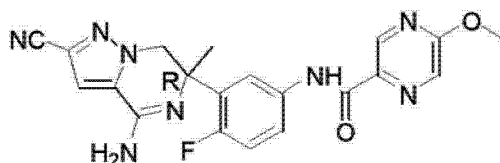


[0509] 将 5- 氟 -2- 吡啶羧酸 (74.5mg, 0.528mmol) 添加到 4-(4,6- 二甲氧基 -1,3,5- 三嗪 -2- 基) -4- 甲基吗啉鎓氯化物 (146mg, 0.528mmol) 在 MeOH(3mL) 中的混合物里。将该混合物在室温下搅拌 5min。然后将该混合物冷却至 0℃ 并且添加中间体 A58(130mg, 0.44mmol) 在 MeOH(2mL) 中的溶液。将该混合物加热至室温并且搅拌 1 小时, 然后用 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 与 H<sub>2</sub>O 的饱和溶液进行处理且用 DCM 萃取。分离有机层, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 (硅胶; 在 MeOH/DCM 中的 7M NH<sub>3</sub>) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂。将所得产物用庚烷进行研磨, 声处理并过滤, 以获得为一种白色固体的化合物 17(112mg, 60% 产率)。然后将该外消旋化合物通过 Chiralpak AD-H 管柱 (5 μm, 250x20mm) 上的制备型 SFC、流动相 (70% CO<sub>2</sub>, 30% EtOH(+0.3% iPrNH<sub>2</sub>)) 进一步纯化。针对每一种对映异构体收集所希望的部分并且在真空中浓缩, 以获得其 <sup>1</sup>H NMR 与化合物 22 的一致、化合物 A21(41mg, 22% 产率) 以及化合物 22(43mg, 23% 产率)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 4.53-4.61(m, 1H), 4.74(br. d, J=13.4Hz, 1H), 6.26(t, J=55.9Hz, 1H), 6.67(d, J = 1.8Hz, 1H), 6.93(br. s, 2H), 7.20(dd, J = 12.0, 9.0Hz, 1H), 7.47(d, J = 1.8Hz, 1H), 7.79(ddd, J = 8.8, 3.9, 2.8Hz, 1H), 7.98(td, J = 8.7, 2.9Hz, 1H), 8.16(dd, J = 7.1, 2.7Hz, 1H), 8.21(dd, J = 8.8, 4.6Hz, 1H), 8.73(d, J = 2.8Hz, 1H), 10.62(br. s, 1H)。

## [0510] 实例 B12

[0511] 化合物 23 : (R)-5- 甲氧基 - 吡嗪 -2- 羧酸 [3-(4- 氨基 -2- 氰基 -6- 甲基 -6,7- 二氢 - 吡唑 [1,5-a] 吡嗪 -6- 基) -4- 氟 - 苯基] - 酰胺的制备

## [0512]



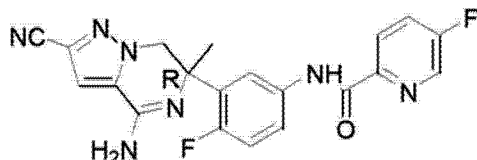
[0513] 将 5- 甲氧基吡嗪 -2- 羧酸 (95.4mg, 0.619mmol) 添加到 4-(4,6- 二甲氧基 -1,3,5- 三嗪 -2- 基) -4- 甲基吗啉鎓氯化物 (171.3mg, 0.619mmol) 在 MeOH(3mL) 中的混合物里。将该混合物在室温下搅拌 30min, 然后将其冷却至 0℃ 并且添加中间体 A63(160mg, 0.563mmol) 在 MeOH(3mL) 中的溶液。将该混合物加热至室温并且搅拌 20 小时, 然后用 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 的饱和溶液进行处理且搅拌几分钟。然后将该混合物用 DCM 进行处理。分离有机层, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 (硅胶; MeOH/DCM) 纯化

该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂,干燥后获得为一种固体的化合物 23(115mg,49%产率)。<sup>1</sup>H NMR(500MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1.58(s,3H),1.66(br. s.,2H),4.07(s,3H),4.47(br. d,J=13.6Hz,1H),4.66(br. d,J = 13.3Hz,1H),6.81(br. s,1H),7.09(dd,J = 11.6,9.0Hz,1H),7.75-7.81(m,1H),7.97(dd,J=7.1,2.7Hz,1H),8.14(s,1H),9.00(s,1H),9.49(br. s.,1H)。

[0514] 实例 B13

[0515] 化合物 24:(R)-5-氟-吡啶-2-羧酸[3-(4-氨基-2-氰基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-酰胺的制备

[0516]

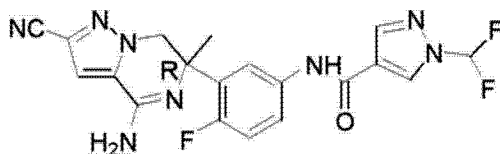


[0517] 将 5-氟-2-吡啶羧酸(87.4mg,0.619mmol)添加到 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(171.3mg,0.619mmol)在 MeOH(3mL)中的混合物里。将该混合物在室温下搅拌 30min,然后将其冷却至 0℃并且添加中间体 A63(160mg,0.563mmol)在 MeOH(3mL)中的溶液。将该混合物加热至室温并且搅拌 20 小时,然后用 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 的饱和溶液进行处理且搅拌几分钟。然后将该混合物用 DCM 进行处理。分离有机层,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法(硅胶;MeOH/DCM)纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂,以获得用 DIPE 研磨的一种油。将所得的固体过滤并干燥以给出为一种固体的化合物 24(95mg,41%产率)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1.58(br. s,3H) 4.46(br. d, J = 13.4Hz,1H) 4.66(d, J = 13.4Hz,1H) 4.90(br. s.,2H) 6.81(s,1H) 7.10(dd, J=11.8,8.8Hz,1H) 7.60(td, J=8.3,2.8Hz,1H) 7.78-7.86(m,1H) 7.96(dd, J=7.1,2.7Hz,1H) 8.32(dd, J=8.7,4.5Hz,1H) 8.45(d, J=2.8Hz,1H) 9.80(br. s.,1H)。

[0518] 实例 B14

[0519] 化合物 25:(R)-1-二氟甲基-1H-吡唑-3-羧酸[3-(4-氨基-2-氰基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑[1,5-a]吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-酰胺的制备

[0520]



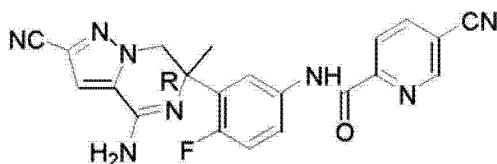
[0521] 将 1-二氟甲基-1H-吡唑-3-羧酸(82.7mg,0.51mmol)添加到 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(155mg,0.561mmol)在 MeOH(3mL)中的混合物里。将该混合物在室温下搅拌 30min,然后将其冷却至 0℃并且添加中间体 A63(145mg,0.51mmol)在 MeOH(3mL)中的溶液。将该混合物加热至室温并且搅拌 3 小时,然后用 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 的饱和溶液进行处理且搅拌几分钟。然后将该混合物用 DCM 进行处理。分离有机层,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法(硅胶;MeOH/DCM)纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂,以获得用庚烷研磨的一种油。将所得的固

体过滤并干燥以给出为一种固体的化合物 25 (100mg, 46% 产率)。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1.58 (s, 3H) 4.47 (br. d, J=13.3Hz, 1H) 4.65 (d, J=13.3Hz, 1H) 4.94 (br. s., 2H) 6.81 (s, 1H) 7.05 (d, J=2.6Hz, 1H) 7.09 (dd, J=11.6, 9.0Hz, 1H) 7.20 (t, J=60.4Hz, 1H) 7.69-7.75 (m, 1H) 7.88 (d, J=2.6Hz, 1H) 7.91 (dd, J=6.8, 2.2Hz, 1H) 8.62 (br. s, 1H)。

[0522] 实例 B15

[0523] 化合物 26 : (R)-5-氰基-吡啶-2-羧酸 [3-(4-氨基-2-氰基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-酰胺的制备

[0524]

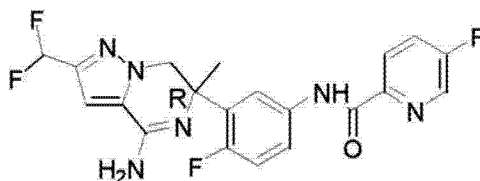


[0525] 将 5-氰基-2-吡啶羧酸 (79.7mg, 0.538mmol) 添加到 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物 (163.8mg, 0.592mmol) 在 MeOH (3mL) 中的混合物里。将该混合物在室温下搅拌 30min, 然后将其冷却至 0℃ 并且添加中间体 A63 (153mg, 0.538mmol) 在 MeOH (3mL) 中的溶液。将该混合物加热至室温并且搅拌 3 小时, 然后用 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 的饱和溶液进行处理且搅拌几分钟。然后将该混合物用 DCM 进行处理。分离有机层, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发溶剂。通过快速柱色谱法 (硅胶; MeOH/DCM) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂, 以获得用庚烷研磨的一种油。将所得的固体过滤并干燥以给出为一种固体的化合物 26 (63mg, 28% 产率)。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1.47 (br. s, 3H) 4.43-4.55 (m, 2H) 6.76 (br. s., 2H) 7.20 (dd, J=11.8, 9.0Hz, 1H) 7.27 (br. s, 1H) 7.71-7.79 (m, 1H) 8.10 (br. d, J = 5.2Hz, 1H) 8.26 (d, J = 8.1Hz, 1H) 8.57 (dd, J=8.2, 1.6Hz, 1H) 9.18 (br. s, 1H) 10.81 (br. s, 1H)。

[0526] 实例 B16

[0527] 化合物 27 : (R)-5-氟-吡啶-2-羧酸 [3-(4-氨基-2-二氟甲基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-酰胺的制备

[0528]



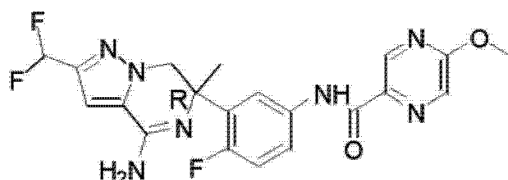
[0529] 将 5-氟-2-吡啶羧酸 (68mg, 0.485mmol) 添加到 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物 (148mg, 0.533mmol) 在 MeOH (3mL) 中的混合物里。将该混合物在室温下搅拌 5min, 然后将其冷却至 0℃ 并且添加中间体 A70 (150mg, 0.485mmol) 在 MeOH (2mL) 中的溶液。将该混合物加热至室温并且搅拌 4 小时, 然后在冷浴中于真空中进行浓缩。通过快速柱色谱法 (干负载, 硅胶; MeOH/DCM) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂, 以获得一种灰白色固体, 将该固体通过 C18Sunfire (30x1005um) 上的 RP HPLC, 流动相: 梯度从 H<sub>2</sub>O 中的 80% 0.1% TFA 溶液、20% CH<sub>3</sub>CN 至 H<sub>2</sub>O 中的 0% 0.1% TFA 溶液、100% CH<sub>3</sub>CN 进一步纯化, 从而获得为一种白色固体的化合物 27 (57mg, 33%)。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1.84 (br. s, 3H), 4.79 (br. d, J = 13.9Hz, 1H), 5.02 (br.

d,  $J = 13.3\text{Hz}$ , 1H), 7.10 (t,  $J = 54.3\text{Hz}$ , 1H), 7.30 (dd,  $J=12.0, 8.8\text{Hz}$ , 1H), 7.46 (br. s., 1H), 7.86-7.91 (m, 1H), 7.93 (dd,  $J=7.5, 2.3\text{Hz}$ , 1H), 7.98 (td,  $J=8.7, 2.9\text{Hz}$ , 1H), 8.20 (dd,  $J=8.7, 4.6\text{Hz}$ , 1H), 8.73 (d,  $J = 2.9\text{Hz}$ , 1H), 9.33 (br. s., 1H), 10.07 (br. s., 1H), 10.80 (br. s., 1H), 11.09 (br. s., 1H)。

[0530] 实例 B17

[0531] 化合物 28: (R)-5-甲氧基-吡嗪-2-羧酸 [3-(4-氨基-2-二氟甲基-6-甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-酰胺的制备

[0532]

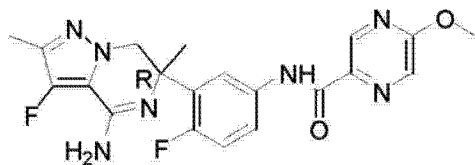


[0533] 将 5-甲氧基吡嗪-2-羧酸 (75mg, 0.485mmol) 添加到 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物 (148mg, 0.533mmol) 在 MeOH (3mL) 中的混合物里。将该混合物在室温下搅拌 5min, 然后将其冷却至 0℃ 并且添加中间体 A70 (150mg, 0.485mmol) 在 MeOH (2mL) 中的溶液。将该混合物加热至室温并且搅拌 4 小时, 然后在冷浴中于真空中进行浓缩。通过快速柱色谱法 (干负载, 硅胶; MeOH/DCM) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂, 以获得一种灰白色固体, 将该固体通过 C18Sunfire (30x1005um) 上的 RP HPLC, 流动相: 梯度从 H<sub>2</sub>O 中的 80% 0.1% TFA 溶液、20% CH<sub>3</sub>CN 至 H<sub>2</sub>O 中的 0% 0.1% TFA 溶液、100% CH<sub>3</sub>CN 进一步纯化, 从而获得为一种白色固体的化合物 27 (32mg, 12%)。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm 1.85 (br. s., 3H) 4.03 (s, 3H) 4.80 (br. d,  $J = 13.9\text{Hz}$ , 1H) 5.03 (br. d,  $J = 12.7\text{Hz}$ , 1H) 7.12 (t,  $J = 54.3\text{Hz}$ , 1H) 7.31 (dd,  $J=11.8, 9.0\text{Hz}$ , 1H) 7.47 (br. s., 1H) 7.84-7.90 (m, 1H) 7.96 (dd,  $J=7.4, 2.2\text{Hz}$ , 1H) 8.42 (d,  $J = 1.4\text{Hz}$ , 1H) 8.88 (d,  $J = 1.4\text{Hz}$ , 1H) 9.32 (br. s., 1H) 10.09 (br. s., 1H) 10.70 (s, 1H) 11.08 (br. s., 1H)。

[0534] 实例 B18

[0535] 化合物 29: (R)-5-甲氧基-吡嗪-2-羧酸 [3-(4-氨基-3-氟-2,6-二甲基-6,7-二氢-吡唑 [1,5-a] 吡嗪-6-基)-4-氟-苯基]-酰胺的制备

[0536]

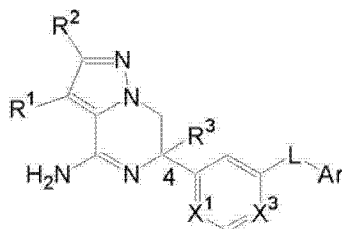


[0537] 将 5-甲氧基吡嗪-2-羧酸 (97mg, 0.631mmol) 添加到 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物 (175mg, 0.631mmol) 在 MeOH (2mL) 中的混合物里。将该混合物在室温下搅拌 5min, 然后将其冷却至 0℃ 并且添加中间体 A73 (175mg, 0.601mmol) 在 MeOH (2mL) 中的溶液。将该混合物加热至室温并搅拌 24 小时。将溶剂在真空中去除并且将残余物悬浮于 DCM 中并用饱和 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 进行处理。分离有机层, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中浓缩。通过快速柱色谱法 (硅胶; 在 MeOH/DCM 中的 7M NH<sub>3</sub>) 纯化该粗产物。收集所希望的部分并且在真空中蒸发溶剂。将残余物悬浮于 Et<sub>2</sub>O 中。将沉淀过滤出并在真空中

于 50℃进行干燥以获得为白色固体的化合物 29 (195mg, 76%)。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1.45 (br. s, 3H), 2.12 (s, 3H), 4.02 (s, 3H), 4.18 (br. d, J = 13.0Hz, 1H), 4.24 (br. d, J = 12.4Hz, 1H), 6.26 (br. s., 2H), 7.17 (dd, J=12.0, 8.8Hz, 1H), 7.68-7.77 (m, 1H), 8.04 (br. d, J = 5.2Hz, 1H), 8.40 (d, J = 1.2Hz, 1H), 8.87 (d, J = 1.2Hz, 1H), 10.46 (br. s, 1H)。

[0538] 表 1

[0539]



[0540]

| 化合物编号 | 实例编号 | R <sup>1</sup> | R <sup>2</sup> | R <sup>3</sup>  | X <sup>1</sup> | X <sup>3</sup> | --L-Ar | C <sub>4</sub> 立体化学/盐  |
|-------|------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|--------|------------------------|
| 1     | B1   | H              | H              | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |        | R/CF <sub>3</sub> COOH |

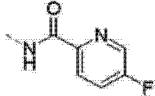
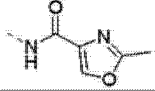
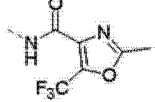
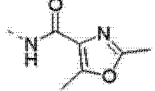
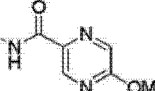
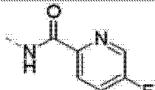
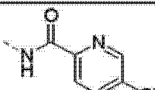
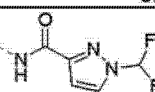
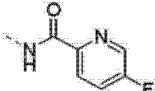
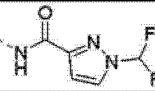
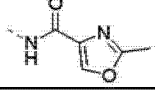
[0541]

| 化合物编号 | 实例编号 | R <sup>1</sup> | R <sup>2</sup>  | R <sup>3</sup>  | X <sup>1</sup> | X <sup>3</sup> | —L-Ar | C <sub>4</sub> 立体化学/盐   |
|-------|------|----------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|-------|-------------------------|
| 2     | B2   | H              | H               | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |       | RS                      |
| 3     | B3   | H              | H               | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |       | RS                      |
| 4     | B4   | H              | H               | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |       | S*                      |
| 5     | B4   | H              | H               | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |       | R*                      |
| 6     | B5   | H              | H               | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |       | RS                      |
| 7     | B5   | H              | H               | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |       | R*                      |
| 8     | B5   | H              | H               | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |       | S*                      |
| 9     | B6   | Br             | H               | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |       | RS/CF <sub>3</sub> COOH |
| 10    | B7   | H              | CF <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |       | RS                      |
| 11    | B7   | H              | CF <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |       | R*                      |
| 12    | B7   | H              | CF <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |       | S*                      |
| 13    | B8   | F              | H               | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |       | R                       |
| 14    | B9   | H              | H               | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |       | RS                      |
| 15    | B9   | H              | H               | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |       | R*                      |
| 16    | B9   | H              | H               | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |       | S*                      |

[0542]

| 化合物编号 | 实例编号 | R <sup>1</sup> | R <sup>2</sup>   | R <sup>3</sup>   | X <sup>1</sup> | X <sup>3</sup> | —L-Ar | C <sub>4</sub> 立体化学/盐  |
|-------|------|----------------|------------------|------------------|----------------|----------------|-------|------------------------|
| 17    | B10  | H              | H                | CHF <sub>2</sub> | CF             | CH             |       | RS                     |
| 18    | B10  | H              | H                | CHF <sub>2</sub> | CF             | CH             |       | R*                     |
| 19    | B10  | H              | H                | CHF <sub>2</sub> | CF             | CH             |       | S*                     |
| 20    | B11  | H              | H                | CHF <sub>2</sub> | CF             | CH             |       | RS                     |
| 21    | B11  | H              | H                | CHF <sub>2</sub> | CF             | CH             |       | R*                     |
| 22    | B11  | H              | H                | CHF <sub>2</sub> | CF             | CH             |       | S*                     |
| 23    | B12  | H              | CN               | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |       | R                      |
| 24    | B13  | H              | CN               | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |       | R                      |
| 25    | B14  | H              | CN               | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |       | R                      |
| 26    | B15  | H              | CN               | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |       | R                      |
| 27    | B16  | H              | CHF <sub>2</sub> | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |       | R/CF <sub>3</sub> COOH |
| 28    | B17  | H              | CHF <sub>2</sub> | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |       | R/CF <sub>3</sub> COOH |
| 29    | B18  | F              | CH <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |       | R                      |
| 30    | B11  | H              | CF <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub>  | CH             | CH             |       | RS                     |
| 31    | B11  | H              | CF <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub>  | CH             | CH             |       | S*                     |
| 32    | B11  | H              | CF <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub>  | CH             | CH             |       | R*                     |

[0543]

| 化合物编号 | 实例编号 | R <sup>1</sup> | R <sup>2</sup>   | R <sup>3</sup>  | X <sup>1</sup> | X <sup>3</sup> | —L-Ar                                                                                | C <sub>4</sub> 立体化学/盐 |
|-------|------|----------------|------------------|-----------------|----------------|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| 33    | B2   | F              | H                | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |    | R                     |
| 34    | B2   | F              | H                | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |    | R                     |
| 35    | B2   | F              | H                | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |    | R                     |
| 36    | B2   | F              | H                | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |    | R                     |
| 37    | B2   | Cl             | H                | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |    | R                     |
| 38    | B2   | Cl             | H                | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |    | R                     |
| 39    | B16  | H              | CHF <sub>2</sub> | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |   | R                     |
| 40    | B16  | H              | CHF <sub>2</sub> | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |  | R                     |
| 41    | B2   | F              | CH <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |  | RS                    |
| 42    | B2   | F              | CH <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |  | R                     |
| 43    | B6   | H              | CN               | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |  | R                     |

## [0544] C. 分析部分

## [0545] 核磁共振 (NMR)

[0546] 将 <sup>1</sup>H NMR 光谱记录在具有标准脉冲序列的 Bruker DPX-400 亦或在 Bruker AV-500 光谱仪上, 各自在 400MHz 和 500MHz 处操作。化学移位 (δ) 报告为来自四甲基硅烷 (TMS) 的低磁场百万分率 (ppm), TMS 用作内标准。

## [0547] LCMS-方法

[0548] 对于本发明化合物的 (LC)MS- 表征, 使用以下方法。

## [0549] 用于 Acquity-SQD 仪的通用程序 A

[0550] 使用 Acquity UPLC (沃特斯公司 (Waters)) 系统进行 UPLC (超高效液相色谱) 测量, 该系统包括一个组织体取样器 (sampler organizer)、一个二元泵 (该泵具有除气器)、一个四柱温箱、一个二极管-阵列检测器 (DAD) 以及一个如在以下对应的方法中详细说明书的管柱。该 MS 检测器被配置为具有一个电喷射离子化作用源。通过使用 0.08 秒的通道间

延迟,在 0.1 秒内从 100 至 1000 进行扫描,在一个单相四极 SQD 检测器上获取质谱。毛细管针电压是 3.0kV。对于阳极离子化模式而言,锥孔电压是 25V 并且对于阴极离子化模式而言,锥孔电压是 30V。将氮气用作雾化气体。源温度维持在 140℃。使用 MassLynx-Openlynx 软件进行数据采集。

[0551] 方法 1:

[0552] 除通用程序 A 之外:在来自沃特斯的的一个 BEH-C18 管柱 (1.7  $\mu$ m, 2.1x50mm) 上,在 50℃不与 MS 检测器分离,使用 1.0ml/min 的流速进行反相 UPLC。所使用的梯度条件是:95% A(0.5g/l 乙酸铵溶液 +5% 乙腈)、5% B(乙腈),3.8 分钟后至 40% A、60% B 中,4.6 分钟后至 5% A、95% B 中,保持至 5 分钟。注射体积 2.0  $\mu$ l。

[0553] 方法 2:

[0554] 除通用程序 A 之外:在来自安捷伦公司 (Agilent) 的一个 RRHD Eclipse Plus-C18(1.8  $\mu$ m, 2.1x50mm) 上,在 50℃不与 MS 检测器分离,使用 1.0ml/min 的流速进行反相 UPLC。所使用的梯度条件是:95% A(0.5g/l 乙酸铵溶液 +5% 乙腈)、5% B(乙腈),1.2 分钟后至 40% A、60% B 中,1.8 分钟后至 5% A、95% B 中,保持至 2.0 分钟。注射体积 2.0  $\mu$ l。

[0555] 方法 3:

[0556] 与方法 1 相同的梯度;使用的管柱:来自安捷伦公司的 RRHD Eclipse Plus-C18(1.8  $\mu$ m, 2.1x50mm)。

[0557] 用于 HP1100-MS 仪 (TOF、SQD 或 MSD) 的通用程序 B

[0558] 使用 HP1100(安捷伦科技有限公司 (Agilent)) 系统进行 HPLC 测量,该系统包括一个泵(二元或四元),该泵具有除气器、一个自动进样器、一个柱温箱、一个二极管-阵列检测器 (DAD) 以及一个如在以下对应的方法中详细说明了的管柱。该 MS 检测器 (SQD、TOF 或 MSD) 被配置为具有一个电喷射离子化作用源亦或一个 ESCI 双离子化作用源(与大气压化学电离组合的电喷射)。将氮气用作雾化气体。源温度维持在 140℃亦或 100℃。使用 MassLynx-Openlynx 软件或 Chemsation-Agilent Data Browser 软件进行数据采集。

[0559] B1:通过在 0.99 秒内从 100 至 1000 进行扫描,步长 0.30 并且峰宽 0.10 分钟,在处于 APCI 模式的一个单相四极 MSD 检测器上获取质谱。毛细管针电压是 3.0Kv,对于阳和阴极离子化模式,破碎电压是 70V 并且电晕强度是 4  $\mu$ A。

[0560] B2:通过使用 0.08 秒的通道间延迟,在 0.1 秒内从 100 至 1000 进行扫描,在一个单相四极 SQD 检测器上获取质谱。毛细管针电压是 3.0kV。对于阳极离子化模式而言,锥孔电压是 20V 并且对于阴极离子化模式而言,锥孔电压是 30V。

[0561] B3:通过使用 0.3 秒的保压时间,在 0.5 秒内从 100 至 750 进行扫描,在一个 Time of Flight(TOF) 检测器上获取质谱。对于阳极离子化模式而言,毛细管针电压是 2.5kV 并且对于阴极离子化模式而言,毛细管针电压是 2.9kV。对于阳极和阴极离子化模式而言,锥孔电压都是 20V。亮氨酸-脑啡肽是用于锁定质量标度的标准物质。

[0562] 方法 4:

[0563] 除通用程序 B1 之外:在 60℃,在来自安捷伦公司的一个 Eclipse Plus-C18 管柱 (3.5  $\mu$ m, 2.1x30mm) 上,使用 1.0ml/min 的流速进行反相 HPLC。所使用的梯度条件是:95% A(于 H<sub>2</sub>O/ACN95/5 中的 6.5mMNH<sub>4</sub>AcO)、5% B(ACN),保持 0.2 分钟,3.0 分钟后至 100% B 中,

保持至 3.15 分钟并且在 3.3 分钟处平衡至初始条件直到 5.0 分钟。注射体积 2  $\mu$ l。

[0564] 方法 5:

[0565] 除通用程序 B2 之外:在 60°C,在来自安捷伦公司的一个 Eclipse Plus-C18 管柱 (3.5  $\mu$ m, 2.1x30mm) 上,使用 1.0ml/min 的流速进行反相 HPLC。所使用的梯度条件是:95% A (于 H<sub>2</sub>O/ACN95/5 中的 6.5mMNH<sub>4</sub>AcO)、5% B (ACN/MeOH1/1),5.0 分钟后至 100% B 中,保持至 5.15 分钟并且在 5.30 分钟处平衡至初始条件直到 7.0 分钟。注射体积 2  $\mu$ l。

[0566] 方法 6:

[0567] 除通用程序 B3 之外:在 60°C,在来自安捷伦公司的一个 Eclipse Plus-C18 管柱 (3.5  $\mu$ m, 2.1x30mm) 上,使用 1.0ml/min 的流速进行反相 HPLC。所使用的梯度条件是:95% A (于 H<sub>2</sub>O/ACN95/5 中的 6.5mMNH<sub>4</sub>AcO)、5% B (ACN),保持 0.2 分钟,3.0 分钟后至 100% B 中,保持至 3.15 分钟并且在 3.3 分钟处平衡至初始条件直到 5.0 分钟。注射体积 2  $\mu$ l。

[0568] 通用程序 C

[0569] 使用 Agilent1100 模块进行 HPLC 测量,该模块包括一个泵、一个二极管-阵列检测器 (DAD) (使用的波长是 220nm)、一个管柱加热器以及一个如在以下对应的方法中详细描述的管柱。来自该管柱的流量被分到 Agilent MSD 系列 G1946C 与 G1956A 中。MS 检测器被配置为具有 API-ES (大气压电喷射离子化作用)。通过从 100 到 1000 进行扫描来获取质谱。对于阳极离子化模式而言,毛细管针电压是 2500V 并且对于阴极离子化模式而言,毛细管针电压是 3000V。破碎电压是 50V。在 10l/min 的流速下,干燥气体温度保持在 350°C。

[0570] 方法 7:

[0571] 除通用程序 C 之外:在一个 YMC-Pack ODS-AQ、50x2.0mm5  $\mu$ m 管柱上,使用 0.8ml/min 的流速进行反相 HPLC。使用两个流动相 (流动相 A:具有 0.1% TFA 的 H<sub>2</sub>O;流动相 B:具有 0.05% TFA 的 ACN)。首先,将 100% A 保持 1 分钟。然后 4 分钟后将梯度应用为 40% A 与 60% B 并且保持 2.5 分钟。典型地,使用 2  $\mu$ l 的一个注射体积。炉温度是 50°C (MS 极性:阳性)。

[0572] 方法 8:

[0573] 除通用程序 C 之外:在一个 Ultimate XB-C18、50x2.1mm5  $\mu$ m 管柱上,使用 0.8ml/min 的流速进行反相 HPLC。使用两个流动相 (流动相 C:10mmol/L NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>;流动相 D:ACN)。首先,将 100% C 保持 1 分钟。然后 4 分钟后将梯度应用为 40% C 与 60% D 并且保持 2.5 分钟。典型地,使用 2  $\mu$ l 的一个注射体积。炉温度是 50°C (MS 极性:阳性)。

[0574] 通用程序 D

[0575] 使用 Shimadzu2010LCMS- 系统进行 UHPLC 测量,该系统包括一个泵、一个光子二极管阵列检测器 (PDA) (使用的波长是 220nm)、一个柱温箱以及一个如在以下对应的方法中详细描述的管柱。来自该管柱的流量被分到 Shimadzu2010MSD 检测器。MS 检测器被配置为具有 API-ES (大气压电喷射离子化作用)。通过从 100 到 1000 进行扫描来获取质谱。用于阳极离子化模式的接口电压是 4500V。雾化气流是 1.5l/min。CDL (具有加热毛细管的曲型脱溶剂线) 温度是 250°C 并且 CDL 电压是 30V。热块 (heat block) 温度是 200°C。检测器电压是 1500V。

[0576] 方法 9

[0577] 除通用程序 D 之外:在一个 Xtimate C18 (30x2.1mm3.0  $\mu$ m) 管柱上,使用 1.2mL/

min 的流速进行反相 UHPLC。使用两个流动相 (A : 具有 0.15% TFA 的 H<sub>2</sub>O ; B : 具有 0.75% TFA 的 ACN)。首先, 将 100% A 保持 1min。然后 0.9min 后将梯度应用为 40% A 与 60% B, 保持到 1.5min 并且在 1.51min 处平衡至初始条件直到 2.0min。典型地, 使用 1.0 μl 的一个注射体积。炉温度是 50°C (MS 极性 : 阳性)。

[0578] 通用程序 E

[0579] 使用 UPLC (超高效液相色谱) Acquity (沃特斯公司) 系统进行 LC 测量, 该系统包括一个二元泵, 该泵具有一个除气器、一个自动进样器、一个二极管 - 阵列检测器 (DAD) 以及一个如在以下对应的方法中详细说明了的管柱, 该管柱保持在 40°C。来自该管柱的流量被引至 MS 检测器。该 MS 检测器被配置为具有一个电喷射离子化作用源。通过使用 0.1 秒的扫描延迟, 在 0.2 秒内从 100 至 1000 进行扫描, 在一个三相四极质谱仪 Quattro 检测器 (沃特斯公司) 上获取质谱。毛细管针电压是 3kV 并且源温度被维持在 130°C。用于阳极离子化模式以及阴极离子化模式的锥孔电压是 20V。将氮气用作雾化气体。使用 MassLynx-Openlynx 软件 (沃特斯公司) 进行数据采集。

[0580] 方法 10 :

[0581] 除通用程序 E 之外 : 在一个 Waters Acquity BEH (桥联的乙基硅氧烷 / 硅石混合体) 苯基 - 己基管柱 (1.7 μm, 2.1x100mm) 上, 使用 0.343ml/min 的流速进行反相 UPLC。采用两个流动相 (流动相 A : 95% 7mM7mNH<sub>4</sub>AcO/5% ACN ; 流动相 B : 100% ACN) 来运行一个梯度状态 : 从 84.2% A 与 15.8% B (持续 0.49 分钟), 2.18 分钟后至 10.5% A 与 89.5% B 中持续 1.94min 并且 0.73min 后回到初始条件持续 0.73 分钟。使用 2ml 的一个注射体积。

[0582] 熔点

[0583] 值是峰值亦或融化范围, 并且获得的值具有与这个分析方法通常相关的实验不确定性。

[0584] Mettler FP81HT/FP90-FP62 设备 (在表 2 中由 FP90 与 FP62 表示)

[0585] 对于多种化合物, 在 Mettler FP62 亦或 Mettler FP81HT/FP90 设备上于毛细开管中确定熔点。使用 1°C / 分钟、3°C / 分钟、5°C / 分钟或 10°C / 分钟的温度梯度对熔点进行测量。最高温度是 300°C。熔点读自数字显示器。

[0586] 表 2 : 分析数据 -R<sub>t</sub> 意思是保留时间 (按 min 计), [M+H]<sup>+</sup> 意思是该化合物的质子化质量, 方法是指用于 (LC)MS 的方法。

[0587]

| 化合物编号 | R <sub>t</sub> | [M+H] <sup>+</sup> | 方法 | 熔点             |
|-------|----------------|--------------------|----|----------------|
| 1     | 1.55           | 338                | 3  | n.d.           |
| 2     | 1.6            | 381                | 3  | n.d.           |
| 3     | 1.58           | 415                | 3  | 94.4°C (FP62)  |
| 4     | 2.25           | 415                | 10 | 212.2°C (FP62) |
| 5     | 2.25           | 415                | 10 | 186.3°C (FP62) |
| 6     | 1.18           | 372                | 3  | 221.6°C (FP62) |
| 7     | 1.98           | 372                | 10 | 281.8°C (FP62) |
| 8     | 1.99           | 372                | 10 | 248.8°C (FP62) |
| 9     | 1.98           | 450                | 3  | 147.4°C (FP62) |
| 10    | 3.60           | 483                | 5  | > 300°C (FP90) |
| 11    | 2.90           | 483                | 10 | 147.8°C (FP62) |
| 12    | 2.90           | 483                | 10 | 221.8°C (FP62) |
| 13    | 0.97           | 414                | 2  | 99.4°C (FP90)  |
| 14    | 1.74           | 433                | 3  | n.d.           |
| 15    | 2.37           | 433                | 10 | > 300°C (FP90) |

[0588]

| 化合物编号 | R <sub>t</sub> | [M+H] <sup>+</sup> | 方法 | 熔点             |
|-------|----------------|--------------------|----|----------------|
| 16    | 2.37           | 433                | 10 | > 300°C (FP90) |
| 17    | 1.90           | 432                | 3  | 263.4°C (FP90) |
| 18    | 2.45           | 432                | 10 | 248°C (FP90)   |
| 19    | 2.45           | 432                | 10 | 279.9°C (FP90) |
| 20    | 1.94           | 419                | 3  | 236.9°C (FP90) |
| 21    | 2.48           | 419                | 10 | n.d.           |
| 22    | 2.49           | 419                | 10 | 220.4°C (FP90) |
| 23    | 2.26           | 421                | 3  | 276.3°C (FP90) |
| 24    | 2.29           | 408                | 3  | 186.4°C (FP90) |
| 25    | 2.23           | 433                | 3  | 180°C (FP90)   |
| 26    | 2.18           | 446                | 3  | n.d.           |
| 27    | 2.14           | 428                | 3  | n.d.           |
| 28    | 2.18           | 429                | 3  | n.d.           |
| 29    | 2.25           | 415                | 3  | > 300°C (FP90) |
| 30    | 3.31           | 446                | 5  | n.d.           |
| 31    | 2.72           | 446                | 10 | 220.9°C (FP62) |
| 32    | 2.72           | 446                | 10 | 220°C (FP62)   |
| 33    | 0.99           | 401                | 2  | 186°C (FP90)   |
| 34    | 1.47           | 387                | 3  | 187°C (FP62)   |
| 35    | 3.24           | 455                | 5  | 87.2°C (FP62)  |
| 36    | 2.75           | 401                | 5  | 109.8°C (FP62) |
| 37    | 2.24           | 430                | 3  | 108.8°C (FP90) |
| 38    | 2.32           | 417                | 3  | > 300°C (FP90) |
| 39    | 2.53           | 449                | 3  | n.d.           |
| 40    | 2.04           | 454                | 3  | n.d.           |
| 41    | 2.18           | 415                | 3  | n.d.           |
| 42    | 1.94           | 436                | 3  | n.d.           |
| 43    | 1.86           | 394                | 3  | n.d.           |

[0589] n. d. 意思是未测定。

[0590] SFCMS- 方法[0591] 用于 SFC-MS 方法的通用程序 A

[0592] 使用来自伯吉尔仪器公司 (Berger Instruments, 美国特拉华州纽华克市) 的分

析型 SFC 系统进行 SFC 测量,该系统包括用于递送二氧化碳 (CO<sub>2</sub>) 和改性剂的一个二元泵控制模块 (FCM-1200),具有温度控制在 1℃ -150℃ 范围内的、用于管柱加热的一个热控制模块 (TCM2100) 以及用于六种不同管柱的管柱选择阀门 (美国,德克萨斯州,休斯顿,VICI,瓦尔科)。光电二极管阵列检测器 (Agilent1100,德国,瓦尔特布隆) 配备有一个高压流单元 (高达 400bar) 并且配置有一个 CTC LC Mini PAL 自动采样器 (Leap 科技公司,美国,北卡莱罗纳州,罗市)。将具有垂直 Z- 电喷射界面的 ZQ 质谱仪 (沃特斯公司,美国,马萨诸塞州,米尔福德) 与 SFC- 系统连接。用 SFC ProNTo 软件与 Masslynx 软件构成的整合平台进行仪器控制、数据收集及处理。

[0593] 方法 1

[0594] 除通用程序 A 之外:在一个 CHIRALPAK AD-H 管柱 (4.6mm x500mm) 上,在 50℃,使用 3.0ml/min 的流速进行 SFC 中的手性分离。流动相是 CO<sub>2</sub>,20% MeOH (含有 0.2% iPrNH<sub>2</sub>) 保持 15.00min,无梯度模式。

[0595] 通用程序 B

[0596] 使用来自伯吉尔仪器公司 (美国,特拉华州,纽华克市) 的分析型 SFC 系统进行 SFC 测量,该系统包括用于递送二氧化碳 (CO<sub>2</sub>) 和改性剂的一个二元泵流体控制模块、一个 CTC 分析自动液体取样器、用于将管柱从室温加热至 80℃ 的一个 TCM-20000 热控制模块。使用配备有持续高达 400bar 高压流单元的一个 Agilent1100UV 光电二极管阵列检测器。来自该管柱的流量被分到 MS 光谱仪。该 MS 检测器配置有大气压离子化作用源。用于 Waters ZQ 质谱分光光度计的以下电离参数是:电晕:9 μa,源温度:140℃,锥孔:30V,探头温度 450℃,萃取器 3V,脱溶剂气体 400L/hr,锥孔气体 70L/hr。将氮气用作雾化气体。使用 Waters-Micromass MassLynx-Openlynx 数据系统进行数据采集。

[0597] 方法 2

[0598] 除通用程序 B 之外:在一个 CHIRALPAK AD DAICEL 管柱 (10 μm, 4.6x250mm) 上,在 35℃,使用 3.0ml/min 的流速进行 SFC 中的手性分离。流动相是 CO<sub>2</sub>,60% 乙醇,40% EtOH (含有 0.3% iPrNH<sub>2</sub>) 保持 7min。

[0599] 表 3:分析的 SFC 数据 -R<sub>t</sub> 意思是保留时间 (按 min 计), [M+H]<sup>+</sup> 意思是该化合物的质子化质量,方法是指用于在对映异构体意义上纯的化合物的 SFC/MS 分析的方法。

[0600]

| 化合物编号      | R <sub>t</sub> | [M+H] <sup>+</sup> | UV 区域% | 方法 | 同分异构体洗脱顺序* | ee (%) |
|------------|----------------|--------------------|--------|----|------------|--------|
| 中间体 A6 (S) | 5.35           | 230                | 100    | 1  | A          | -      |
| 中间体 A6 (R) | 6.88           | 230                | 100    | 1  | B          | -      |
| 4          | 3.17           | 415                | 100    | 2  | A          | -      |
| 5          | 4.17           | 415                | 100    | 2  | B          | -      |
| 7          | 1.92           | 372                | 100    | 2  | A          | -      |
| 8          | 3.05           | 372                | 100    | 2  | B          | -      |
| 11         | 4.95           | 483                | 100    | 3  | B          | -      |
| 12         | 4.01           | 483                | 100    | 3  | A          | -      |
| 15         | 4.14           | 433                | 100    | 4  | A          | -      |
| 16         | 5.17           | 433                | 100    | 4  | B          | -      |
| 18         | 3.07           | 432                | 100    | 5  | A          | -      |
| 19         | 4.15           | 432                | 100    | 5  | B          | -      |
| 21         | 2.81           | 419                | 100    | 3  | A          | -      |
| 22         | 4.17           | 419                | 100    | 3  | B          | -      |
| 27         | 4.37           | 433                | 89.33  | 6  | A          | 79     |

[0601]

| 化合物编号 | R <sub>t</sub> | [M+H] <sup>+</sup> | UV 区域% | 方法 | 同分异构体洗脱顺序* | ee (%) |
|-------|----------------|--------------------|--------|----|------------|--------|
| 28    | 4.97           | 446                | 70.11  | 7  | A          | 40     |
| 31    | 3.33           | 446                | 100    | 3  | A          | -      |
| 32    | 3.90           | 446                | 99.44  | 3  | B          | -      |
| 39    | 5.20           | 449                | 91.51  | 6  | A          | 83     |
| 40    | 3.40           | 454                | 93.61  | 7  | A          | 88     |

[0602] \*A 意思是洗脱的第一个同分异构体。B 意思是洗脱的第二个同分异构体。在对映异构体意义上不纯化合物的情况下对 ee 进行评估。

[0603] 旋光:

[0604] 在 Perkin-Elmer341 旋光计上用钠灯测量旋光度并且报导为以下  $[\alpha]_{\lambda}^{t^{\circ}\text{C}}$  (cg/100ml, 溶剂)。

[0605] 表 4: 分析数据 - 用于在对映异构体意义上纯的化合物的旋光值

[0606]

| 化合物<br>编号 | $\alpha_D$ (°) | 波长<br>(nm) | 浓度 w/v% | 溶剂   | 温度<br>(°C) |
|-----------|----------------|------------|---------|------|------------|
| 4         | +20.3          | 589        | 0.56    | DMF  | 20         |
| 5         | -31.6          | 589        | 0.5     | DMF  | 20         |
| 7         | -70.7          | 589        | 0.45    | DMF  | 20         |
| 8         | +45.6          | 589        | 0.41    | DMF  | 20         |
| 11        | 12.0           | 589        | 0.50    | MeOH | 20         |
| 12        | -18.8          | 589        | 0.50    | MeOH | 20         |
| 13        | 83.7           | 589        | 0.55    | DMF  | 20         |
| 18        | 136.8          | 589        | 0.51    | DMF  | 20         |
| 19        | -140.8         | 589        | 0.50    | DMF  | 20         |
| 21        | -126.7         | 589        | 0.51    | DMF  | 20         |
| 22        | 115.2          | 589        | 0.54    | DMF  | 20         |
| 23        | 144.4          | 589        | 0.50    | DMF  | 20         |
| 24        | 111.4          | 589        | 0.51    | DMF  | 20         |
| 25        | 121.1          | 589        | 0.50    | DMF  | 20         |
| 29        | 111.0          | 589        | 0.51    | DMF  | 20         |

[0607]

| 化合物<br>编号 | $\alpha_D$ (°) | 波长<br>(nm) | 浓度 w/v% | 溶剂   | 温度<br>(°C) |
|-----------|----------------|------------|---------|------|------------|
| 31        | 17.9           | 589        | 0.50    | MeOH | 20         |
| 32        | -26.4          | 589        | 0.50    | MeOH | 20         |
| 33        | 56.6           | 589        | 0.65    | DMF  | 20         |
| 35        | 81.5           | 589        | 0.50    | DMF  | 20         |
| 37        | 29.2           | 589        | 0.52    | DMF  | 20         |
| 38        | 14.8           | 589        | 0.49    | DMF  | 20         |
| 41        | 65.2           | 589        | 0.50    | DMF  | 20         |
| 42        | 77.1           | 589        | 0.50    | DMF  | 20         |

[0608] n. d. 意思是未确定

[0609] 药理学实例

[0610] 本发明中提供的化合物是  $\beta$ -位点 APP-切割酶 1 (BACE1) 的抑制剂。BACE1 的抑制剂, 一种天冬氨酸蛋白酶, 被认为是与阿耳茨海默病 (AD) 的治疗有关。来自  $\beta$ -淀粉样前蛋白 (APP) 的  $\beta$ -淀粉样蛋白肽 ( $A\beta$ ) 的产生与累积被认为在 AD 的开始与进展中起关

键作用。通过在 A $\beta$  结构域的 N- 和 C- 端处各自由  $\beta$ - 分泌酶与  $\gamma$ - 分泌酶进行序列切割从淀粉样前蛋白 (APP) 产生 A $\beta$ 。

[0611] 凭借它们抑制酶活性的能力,具有化学式 (I) 的化合物被预期为基本上在 BACE1 处具有它们的作用。使用下文描述的且适合此类化合物 (并且更具体地,根据化学式 (I) 的化合物) 的鉴定的、基于生物化学荧光共振能量转移 (FRET) 的测定以及 SKNBE2 细胞中的细胞  $\alpha$  lisa 测定对此类抑制剂的行为进行测试,这些行为示于表 3 中。

[0612] 基于生物化学 FRET 的测定

[0613] 该测定是基于荧光共振能量转移测定 (FRET) 的测定。用于该测定的底物是 APP 衍生的、包含淀粉样前蛋白 (APP)  $\beta$ - 分泌酶切割位点的 ‘Swedish’ Lys-Met/Asn-Leu 突变的 13 个氨基酸的肽。该底物还包含两个荧光团:(7- 甲氧基香豆素 -4- 基) 乙酸 (Mca) 是具有在 320nm 处的激发波长和 405nm 处的发射波长的一种荧光供体并且 2,4- 二硝基苯酚 (Dnp) 是一种专有的淬灭体受体。已经对这两个基团之间的距离进行了选择,使得光激发时,供体荧光能量通过共振能量传递由受体显著地淬灭。由 BACE1 切割时,荧光团 Mca 与淬灭基团 Dnp 分离,恢复供体的全荧光效应。荧光的增加与蛋白质水解速率线性相关 (Koike H(小池) 等人, J. Biochem. (《生物化学杂志》) 1999, 126, 235-242)。

[0614] 简言之,在 384- 孔规格中,在化合物不存在或存在下,将处于 1  $\mu$  g/ml 终浓度的重组 BACE1 蛋白在室温下用 10  $\mu$  m 底物于孵化缓冲液 (pH5.0 的 40mM 柠檬酸盐缓冲液、0.04% PEG、4% DMSO) 中孵化 120min。接下来通过在 T = 0 和 T = 120 处 (在 320nm 处激发且在 405nm 处发射) 的荧光测量直接测量蛋白质水解的量。由于 T120 与 T0 之间的差异,结果用 RFU 表示。

[0615] 最佳拟合曲线通过 % Controlmin 对化合物浓度曲线的最小二乘法拟合得到。由此可以获得 IC<sub>50</sub> 值 (引起 50% 活性抑制的抑制性浓度)。

[0616] LC = 低控制值的中位值

[0617] = 低控制 : 不与酶反应

[0618] HC = 高控制值的中位值

[0619] = 高控制 : 与酶反应

[0620] 作用 % =  $100 - [( \text{样品} - \text{LC} ) / ( \text{HC} - \text{LC} ) * 100]$

[0621] 控制 % =  $( \text{样品} / \text{HC} ) * 100$

[0622] Controlmin % =  $( \text{样品} - \text{LC} ) / ( \text{HC} - \text{LC} ) * 100$

[0623] 如上所述对以下示例性化合物进行基本测试并且展示以下活性 :

[0624] 表 5

[0625]

| 化合物<br>编号 | 基于生物化学 <i>FRET</i> 的测定<br><i>pIC</i> <sub>50</sub> |
|-----------|----------------------------------------------------|
| 1         | 6.28                                               |
| 2         | 7.08                                               |
| 3         | 7.33                                               |
| 4         | 4.67                                               |
| 5         | 7.43                                               |
| 6         | 7.25                                               |
| 7         | 7.75                                               |
| 8         | 4.86                                               |
| 9         | 5.1                                                |
| 10        | 7.2                                                |
| 11        | 7.55                                               |
| 12        | 5.06                                               |
| 13        | 7.14                                               |
| 14        | 7.45                                               |
| 15        | 7.73                                               |
| 16        | 5.98                                               |
| 17        | 7.24                                               |
| 18        | 7.65                                               |
| 19        | 5.01                                               |
| 20        | 7.18                                               |
| 21        | <4.52                                              |
| 22        | 7.59                                               |
| 23        | 7.4                                                |
| 24        | 7.49                                               |
| 25        | 7.56                                               |
| 26        | 7.31                                               |
| 27        | 7.22                                               |
| 28        | 7.16                                               |
| 29        | 7.09                                               |
| 30        | 6.77                                               |
| 31        | 4.97                                               |
| 32        | 7.20                                               |

[0626]

| 化合物<br>编号 | 基于生物化学 FRET 的测定<br>$pIC_{50}$ |
|-----------|-------------------------------|
| 33        | 7.19                          |
| 34        | 7.23                          |
| 35        | 6.91                          |
| 36        | 7.04                          |
| 37        | 5.86                          |
| 38        | 6.03                          |
| 39        | 7.39                          |
| 40        | 7.28                          |
| 41        | 6.93                          |
| 42        | 7.12                          |
| 43        | 7.53                          |

[0627] SKNBE2 细胞中的细胞  $\alpha$  lisa 测定

[0628] 在两个  $\alpha$  lisa 测定中,对产生并分泌到人神经母细胞瘤 SKNBE2 细胞培养基中的总 A $\beta$  和 A $\beta$  42 水平进行定量。该测定基于表达野生型淀粉样前蛋白的人神经母细胞瘤 SKNBE2(hAPP695)。稀释这些化合物并且添加到这些细胞中,孵育 18 小时并且然后进行 A $\beta$  42 与总 A $\beta$  的测量。通过夹心  $\alpha$  lisa 进行总 A $\beta$  以及 A $\beta$  42 的测量。 $\alpha$  lisa 是使用各自用于总 A $\beta$  以及 A $\beta$  42 检测的、附接到链亲和素涂覆的珠子上的生物素酰化抗体 AbN/25 以及抗体 Ab4G8 或 cAb42/26 结合的受体珠子的一种夹心测定。在总 A $\beta$  或 A $\beta$  42 存在下,这些珠子变得紧密靠近。供体珠子的激发引起单线态氧分子的释放,触发受体珠子中能量传递的级联,导致光发射。在孵育 1 小时之后测量光发射(在 650nm 处激发且在 615nm 处发射)。

[0629] 最佳拟合曲线通过 % Controlmin 对化合物浓度曲线的最小二乘法拟合得到。由此可以获得 IC<sub>50</sub> 值(引起 50%活性抑制的抑制性浓度)。

[0630] LC = 低控制值的中位值

[0631] = 低控制:对细胞进行无化合物的预孵化,在  $\alpha$  lisa 中无生物素酰化的 Ab

[0632] HC = 高控制值的中位值

[0633] = 高控制:对细胞进行无化合物的预孵化

[0634] 作用% =  $100 - [(样品 - LC) / (HC - LC) * 100]$ [0635] 控制% =  $(样品 / HC) * 100$ [0636] Controlmin% =  $(样品 - LC) / (HC - LC) * 100$ 

[0637] 如上所述对以下示例性化合物进行基本测试并且展示以下活性:

[0638] 表 6

[0639]

| 化合物<br>编号 | SKNBE2 细胞中的细<br>胞 $\alpha$ lisa 测定<br>AB42<br>$pIC_{50}$ | SKNBE2 细胞中的细<br>胞 $\alpha$ lisa 测定<br>总 AB<br>$pIC_{50}$ |
|-----------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| 1         | 7.03                                                     | 7                                                        |
| 2         | 8.49                                                     | 8.61                                                     |
| 3         | 8.49                                                     | 8.47                                                     |
| 4         | 5.84                                                     | 5.84                                                     |
| 5         | 8.59                                                     | 8.55                                                     |
| 6         | 8.24                                                     | 8.29                                                     |
| 7         | 8.66                                                     | 8.69                                                     |
| 8         | 6.13                                                     | 6.13                                                     |
| 9         | 6.00                                                     | 6.06                                                     |
| 10        | 7.78                                                     | 7.81                                                     |
| 11        | 7.94                                                     | 8.01                                                     |
| 12        | 5.64                                                     | 5.75                                                     |
| 13        | 8.17                                                     | 8.26                                                     |
| 14        | 8.87                                                     | 8.93                                                     |
| 15        | 9.33                                                     | 9.37                                                     |
| 16        | 7.66                                                     | 7.74                                                     |
| 17        | 7.40                                                     | 7.48                                                     |
| 18        | 7.52                                                     | 7.54                                                     |
| 19        | 5.28                                                     | 5.13                                                     |

[0640]

| 化合物<br>编号 | SKNBE2 细胞中的细<br>胞 $\alpha$ 1s 测定<br>AB42<br>$pIC_{50}$ | SKNBE2 细胞中的细<br>胞 $\alpha$ 1s 测定<br>总 AB<br>$pIC_{50}$ |
|-----------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 20        | 7.07                                                   | 7.18                                                   |
| 21        | < 5                                                    | < 5                                                    |
| 22        | 7.17                                                   | 7.21                                                   |
| 23        | 8.75                                                   | 8.71                                                   |
| 24        | 8.48                                                   | 8.41                                                   |
| 25        | 8.88                                                   | 8.87                                                   |
| 26        | 8.83                                                   | 8.84                                                   |
| 27        | 8.15                                                   | 8.17                                                   |
| 28        | 8.28                                                   | 8.20                                                   |
| 29        | 7.79                                                   | 7.77                                                   |
| 30        | 7.43                                                   | 7.45                                                   |
| 31        | 5.58                                                   | 5.61                                                   |
| 32        | 7.76                                                   | 7.84                                                   |
| 33        | 8.09                                                   | 8.14                                                   |
| 34        | 7.83                                                   | 7.78                                                   |
| 35        | 7.33                                                   | 7.30                                                   |
| 36        | 7.56                                                   | 7.53                                                   |
| 37        | 6.03                                                   | 6.07                                                   |
| 38        | 6.16                                                   | 6.22                                                   |
| 39        | 8.61                                                   | 8.59                                                   |
| 40        | 8.42                                                   | 8.37                                                   |
| 41        | 7.69                                                   | 7.67                                                   |
| 42        | 8.02                                                   | 7.99                                                   |
| 43        | 8.72                                                   | 8.70                                                   |

[0641] n. t. 意思是未测试

[0642] 体内效力证明

[0643] 本发明的 A $\beta$  肽降低剂可以用于治疗哺乳动物（例如人）中的 AD，或可替代地，在动物模型，例如但不限于，小鼠、大鼠或豚鼠中证明效力。哺乳动物可以不被诊断为患有 AD，或可以不具有针对 AD 的遗传易感性，但是可以是转基因的，使得它以类似于患有 AD 的患者中见到的方式过度产生并最终沉积 A $\beta$ 。

[0644] A $\beta$  肽降低剂可以使用任何标准方法，以任何标准形式进行给予。例如但不限于

于, A $\beta$  肽降低剂可以处于口服或通过注射摄入的液体、片剂或胶囊的形式。A $\beta$  肽降低剂可以按足以显著降低血液、血浆、血清、脑脊髓液 (CSF)、或脑中 A $\beta$  肽水平的任何剂量进行给予。

[0645] 为了确定 A $\beta$  42 肽降低剂的急性给予是否会降低体内 A $\beta$  肽水平, 使用非转基因的啮齿动物, 例如, 小鼠或大鼠。检查经 A $\beta$  肽降低剂处理的动物并与未处理或用载体处理的那些进行比较, 并且通过标准技术, 例如, 使用 ELISA 对可溶性 A $\beta$  42 以及总 A $\beta$  的脑水平进行定量。处理周期从小时 (h) 至天变化, 并且一旦效应起始时程可以建立, 基于 A $\beta$  42 降低的结果调节处理周期。

[0646] 示出了用于测量体内 A $\beta$  42 降低的一个典型实验方案, 但这只是可以用于优化可检出 A $\beta$  水平的多个变化中的一种。例如, A $\beta$  肽降低化合物被配制到 20% 羟丙基  $\beta$  环糊精中。将这些 A $\beta$  肽降低剂作为一次口服量 (p. o.) 或一次皮下注射体积 (s. c) 向禁食过夜的动物进行给予。一定时间后, 通常是 2h 或 4h (如在表 7 中指出的), 处死这些动物并且对 A $\beta$  42 水平进行分析。

[0647] 通过断头术和放血将血液收集于 EDTA- 处理过的收集管中。将血液在 4°C 于 1900g 离心 10 分钟 (min) 并且回收血浆并快速冰冻以用于后续分析。将脑从头盖和后脑上去除。去除小脑并且分离左半球和右半球。将左半球在 -18°C 下储存以用于测试化合物水平的定量分析。将右半球用磷酸盐 - 缓冲盐水 (PBS) 缓冲液进行冲洗并且立即在干冰上进行冰冻并在 -80°C 下储存直到匀浆以用于生化测定。

[0648] 将来自非转基因动物的小鼠脑重悬于包含蛋白酶抑制剂 (Roche-11873580001 或 04693159001) 的、每克组织 8 倍体积的 0.4% DEA (二乙胺)/50mM NaCl 中, 例如, 对于 0.158g 的脑, 添加 1.264ml 的 0.4% DEA。将全部样品在 FastPrep-24 系统 (MP 生物学公司 (MP Biomedicals)) 中使用裂解基质 D (MPBio#6913-100) 在 6m/s 持续 20 秒匀浆。将匀浆在 221.300x g 离心 50min。然后将所得高速上清液转移到新的微量离心管中。将九份上清液用 1 份 0.5M Tris-HCl pH6.8 进行中和并用于总 A $\beta$  以及 A $\beta$  42 的定量。

[0649] 为了对脑匀浆可溶性部分中的总 A $\beta$  以及 A $\beta$  42 进行定量, 使用酶联免疫吸附测定。简言之, 在 Ultraculture 公司的 1.5ml 微量离心管中制备标准品 (合成的 A $\beta$  1-40 以及 A $\beta$  1-42 的稀释液, Bachem 公司), 其中最终浓度范围从 10000 至 0.3pg/ml。将样品和标准品与用于 A $\beta$  42 检测的 HRP0- 标记的 N- 端抗体以及与用于总 A $\beta$  检测的生物素酰化的中间 - 结构域 (mid-domain) 抗体 4G8 进行共孵育。然后将 50  $\mu$ l 的共轭物 / 样品或共轭物 / 标准品混合物添加到抗体涂覆板上 (对于 A $\beta$  42 检测, 捕获抗体选择性地识别 A $\beta$  42 的 C- 末端, 抗体 JRF/cA $\beta$  42/26, 对于总 A $\beta$  检测, 捕获抗体选择性地识别 A $\beta$  的 N- 末端, 抗体 JRF/rA $\beta$  /2)。允许该板在 4°C 孵育过夜以允许抗体 - 淀粉样蛋白复合物的形成。根据制造商的说明书 (皮尔斯公司 (Pierce Corp.), 伊利诺伊州罗克福德市), 在该孵育以及随后的洗涤步骤之后, 通过添加 Quanta Blu 荧光过氧化酶底物来完成用于 A $\beta$  42 定量的 ELISA。在 10min 至 15min 之后进行读数 (在 320nm 处激发 / 在 420nm 处发射)。

[0650] 针对总 A $\beta$  检测, 根据制造商的说明书 (皮尔斯公司, 伊利诺伊州罗克福德市), 添加链亲和素 - 过氧化酶 - 共轭物, 60min 之后进行额外一个洗涤步骤并且添加 Quanta Blu 荧光过氧化酶底物。在 10min 至 15min 之后进行读数 (在 320nm 处激发 / 在 420nm 处发射)。

[0651] 在这个模型中,与未处理的动物相比,至少 20%的 A $\beta$  42 降低将是有利的。

[0652] 如上所述对以下示例性化合物进行基本测试并且展示以下活性:

[0653] 表 7:

[0654]

| 化合物编号 | A $\beta$ 42 (%Ctrl)<br>_平均值 | 总 A $\beta$ (%Ctrl)<br>_平均值 | 剂量        | 给予途径 | 给予后时间 |
|-------|------------------------------|-----------------------------|-----------|------|-------|
| 7     | 88                           | 101                         | 30 mg/kg  | p.o. | 4h.   |
| 11    | 89                           | 84                          | 30 mg/kg  | p.o. | 4h.   |
| 23    | 45                           | 39                          | 10 mg/kg  | p.o. | 4h.   |
| 24    | 16                           | 31                          | 30 mg/kg  | p.o. | 4h.   |
| 24    | 66                           | 59                          | 5 mg/kg   | p.o. | 4h.   |
| 27    | 55                           | 61                          | 10 mg/kg  | p.o. | 4h.   |
| 28    | 39                           | 50                          | 10 mg/kg  | p.o. | 4h.   |
| 29    | 59                           | 58                          | 10 mg/kg  | p.o. | 4h.   |
| 32    | 53                           | 58                          | 30 mg/kg  | p.o. | 2h    |
| 33    | 49                           | 20                          | 100 mg/kg | s.c. | 4h.   |

[0655] n. t. 意思是未测试 ;s. c. 意思是皮下注射 ;p. o. 意思是口服