



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104098559 A

(43) 申请公布日 2014. 10. 15

(21) 申请号 201410286911. 5

A61K 31/4545(2006. 01)

(22) 申请日 2009. 03. 03

A61K 31/4439(2006. 01)

(30) 优先权数据

A61P 35/00(2006. 01)

61/033, 359 2008. 03. 03 US

(62) 分案原申请数据

200980115821. 7 2009. 03. 03

(71) 申请人 诺华股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 M·伯格 兰炯 M·林德瓦尔

G·尼希古奇 M·泰特尔曼

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 杨春刚 黄革生

(51) Int. Cl.

C07D 417/14(2006. 01)

C07D 417/12(2006. 01)

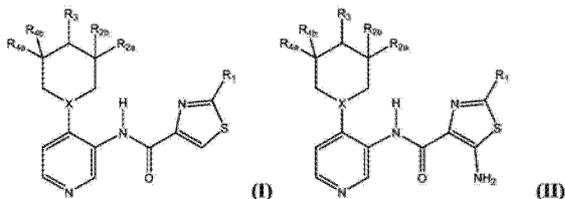
权利要求书3页 说明书102页

(54) 发明名称

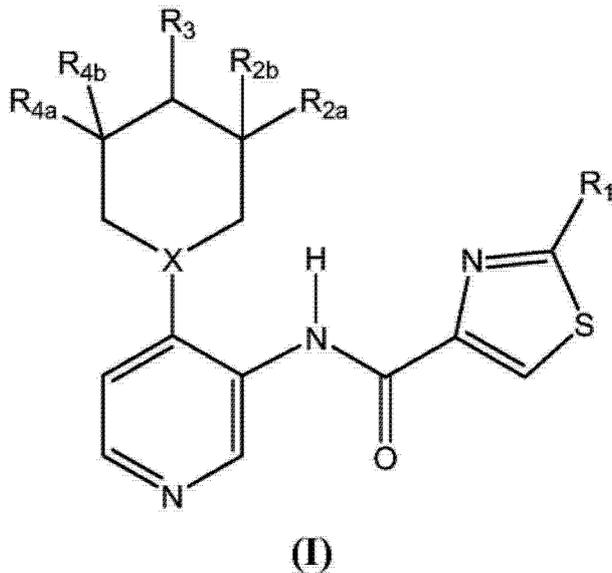
PIM 激酶抑制剂及其应用方法

(57) 摘要

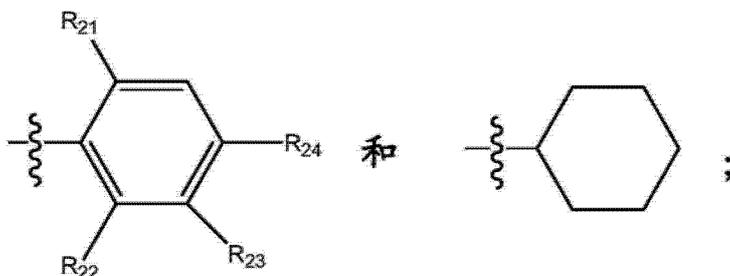
本发明涉及 PIM 激酶抑制剂及其应用方法，尤其涉及式 (I) 和 (II) 的新化合物及其互变异构体、立体异构体和多晶型物、和其药学上可接受的盐、酯、代谢物或前药，涉及所述新化合物与药学上可接受的载体的组合物，还涉及新化合物一单独使用或与至少一种其它治疗剂联合使用—在抑制 Pim 激酶活性和/或预防或治疗癌症中的用途。



1. 式 I 化合物或者其立体异构体、互变异构体或药学上可接受的盐，



其中，  
R<sub>1</sub> 选自



X 代表 CH 或 N；

R<sub>2a</sub> 选自氨基、甲基、CH<sub>2</sub>F、CF<sub>3</sub>、C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> 和 H；

R<sub>2b</sub> 选自 H 和甲基；

R<sub>3</sub> 选自 H、OH、OCH<sub>3</sub>、CH<sub>3</sub>、F 和 Cl；

R<sub>4a</sub> 选自 OH、OCH<sub>3</sub>、OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> 和 F；

R<sub>4b</sub> 选自甲基、H 和 F；

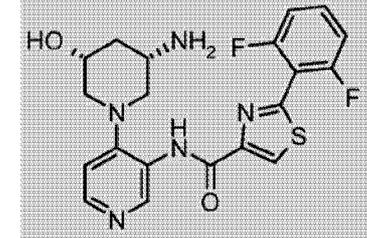
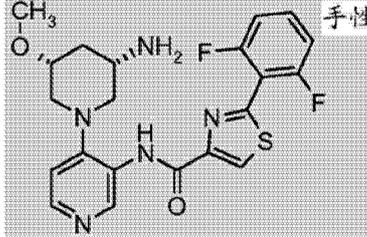
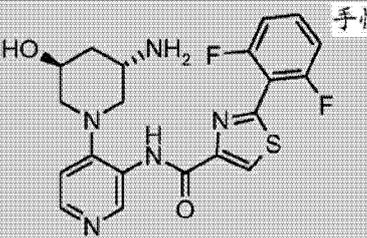
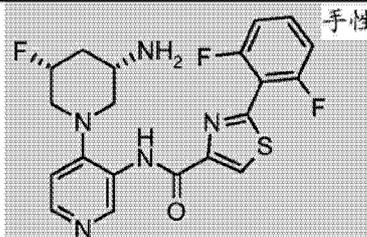
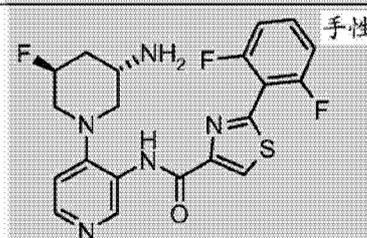
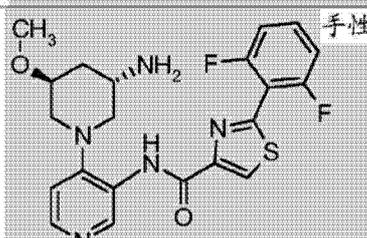
R<sub>21</sub> 代表 H 或 F；

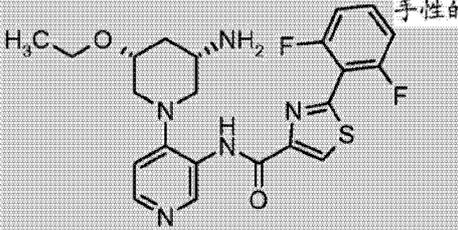
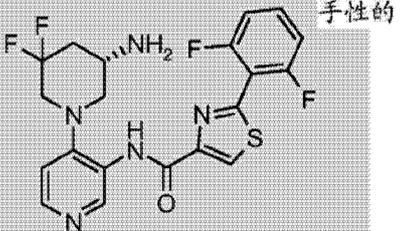
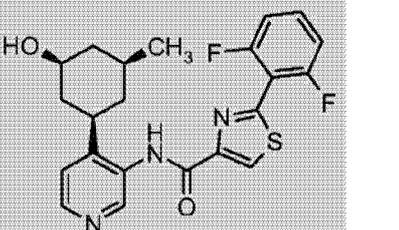
R<sub>22</sub> 代表 H、Cl 或 F；

R<sub>23</sub> 代表 F、OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、OCH<sub>3</sub>、Cl、H、甲基、OH 或 OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>；且

R<sub>24</sub> 代表 H 或 OH。

2. 根据权利要求 1 的式 (I) 化合物，其选自

结构	化合物名称
	<p>N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-羟基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺</p>
	<p>N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-甲氧基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺</p>
	<p>N-(4-((3S,5S)-3-氨基-5-羟基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺</p>
	<p>N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-氟哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺</p>
	<p>N-(4-((3S,5S)-3-氨基-5-氟哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺</p>
	<p>N-(4-((3S,5S)-3-氨基-5-甲氧基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺</p>

结构	化合物名称
	<p><b>N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-乙氧基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺</b></p>
	<p><b>(S)-N-(4-(5-氨基-3,3-二氟哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺</b></p>
	<p><b>2-(2,6-二氟苯基)-N-(4-((1R,3S,5S)-3-羟基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)噻唑-4-甲酰胺</b></p>

3. 权利要求 1 或权利要求 2 的化合物,其用作治疗剂。

4. 权利要求 1 或权利要求 2 的化合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

5. 根据权利要求 4 的用途,其中所述癌症选自肺癌、胰腺癌、甲状腺癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、黑素瘤、髓性白血病、多发性骨髓瘤、红细胞白血病、腺瘤和肉瘤。

6. 组合物,其包含:治疗有效量的权利要求 1 或权利要求 2 的化合物或者其立体异构体、互变异构体或药学上可接受的盐,以及药学上可接受的载体。

7. 权利要求 6 的组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

8. 根据权利要求 7 的用途,其中所述癌症选自肺癌、胰腺癌、甲状腺癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、黑素瘤、髓性白血病、多发性骨髓瘤、红细胞白血病、腺瘤和肉瘤。

9. 权利要求 1 或权利要求 2 的化合物与一种或多种其它物质的组合在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

## PIM 激酶抑制剂及其应用方法

[0001] 本申请为 2009 年 3 月 3 日提交的、发明名称为“PIM 激酶抑制剂及其应用方法”的 PCT 申请 PCT/EP2009/052506 的分案申请,所述 PCT 申请进入中国国家阶段的日期为 2010 年 11 月 2 日,申请号为 200980115821.7。

### 技术领域

[0002] 本发明涉及新化合物及其互变异构体、立体异构体和多晶型物、其药学上可接受的盐、酯、代谢物或前药,涉及新化合物与药学上可接受的载体的组合物,还涉及新化合物(单独使用或与至少一种其它治疗药物联合使用)在癌症预防或治疗中的用途。

### 背景技术

[0003] 宿主细胞基因组中 Maloney 逆转录病毒的感染和基因组整合导致小鼠淋巴瘤的发展。Maloney 原病毒整合激酶(Provirus Integration of Maloney Kinase)(PIM-激酶)被认为是常见的原癌基因之一,它能够通过这种逆转录病毒整合事件而被转录性激活(Cuyper HT 等,“鼠白血病病毒诱导的 T-细胞淋巴瘤生成:在不同染色体域中的原病毒整合”(“Murine leukemia virus-induced T-cell lymphomagenesis:integration of proviruses in a distinct chromosomal region”),Cell37(1):141-50(1984); Selten G 等,“在 MuLV 诱导的 T-细胞淋巴瘤中公认致癌基因 Pim-1 的原病毒激活”(“Proviral activation of the putative oncogene Pim-1 in MuLV induced T-cell lymphomas”),EMBO J4(7):1793-8(1985)),由此确立了该激酶的过度表达与其潜在致癌性之间的关联。序列同源性分析证明存在 3 种高同源性 Pim-激酶(Pim1、2 和 3),Pim1 最初是通过逆转录病毒整合鉴定的原癌基因。另外,过度表达 Pim1 或 Pim2 的转基因鼠显示 T-细胞淋巴瘤的发生率有所增加(Breuer M 等,“在 pim-1 转基因小鼠中通过化学致癌物诱发的高淋巴瘤发生率”(“Very high frequency of lymphoma induction by a chemical carcinogen in pim-1 transgenic mice”),Nature340(6228):61-3(1989)),而 c-myc 的过度表达与 B-细胞淋巴瘤的发生率有关(Verbeek S 等,“携有 E $\mu$ -myc 和 E $\mu$ -pim-1 转基因的小鼠形成了胎儿期前 B-细胞白血病”(“Mice bearing the E $\mu$ -myc and E $\mu$ -pim-1 transgenes develop pre-B-cell leukemia prenatally”),Mol Cell Biol11(2):1176-9(1991))。因此,这些动物模型确立了血液恶性疾病(malignancies)中 Pim 过度表达和瘤形成之间具有显著的相关性。除了这些动物模型外,Pim 过度表达在多种其他人类恶性疾病中也已有报道。Pim1、2 和 3 过度表达常见于多种血液恶性疾病中(Amson R 等,“人类原癌基因产物 p33pim 在胎儿血细胞生成期间以及不同白血病中表达”(“The human protooncogene product p33pim is expressed during fetal hematopoiesis and in diverse leukemias”),PNAS USA86(22):8857-61(1989);Cohen AM 等,“hPim-2 基因在人慢性淋巴细胞白血病和非霍奇金淋巴瘤中的表达增加”(“Increased expression of the hPim-2 gene in human chronic lymphocytic leukemia and non-Hodgkin lymphoma”),Leuk Lymph45(5):951-5(2004),Huttmann A 等,“基因表达的

特征在于由 ZAP-70 和 CD38 表达状态所界定的不同 B- 细胞慢性淋巴细胞白血病预后亚群”(“Gene expression signatures separate B-cell chronic lymphocytic leukaemia prognostic subgroups defined by ZAP-70 and CD38 expression status”), *Leukemia* 20:1774 - 1782 (2006)), 也常见于前列腺癌中 (Dhanasekaran SM 等, “前列腺癌中预后生物标记的描述”(“Delineation of prognostic biomarkers in prostate cancer”), *Nature* 412(6849):822-6 (2001); Cibull TL 等, “前列腺癌发展过程中 Pim-1 的过度表达”(“Overexpression of Pim-1 during progression of prostatic adenocarcinoma”), *J Clin Pathol* 59(3):285-8 (2006)), 而 Pim3 的过度表达常见于肝细胞癌中 (Fujii C 等, “肝细胞癌发展中丝氨酸 / 苏氨酸激酶 Pim-3 的异常表达及其在人肝细胞瘤细胞系增殖中的作用”(“Aberrant expression of serine/threonine kinase Pim-3 in hepatocellular carcinoma development and its role in the proliferation of human hepatoma cell lines”), *Int J Cancer* 114:209 - 218 (2005)), 也常见于胰腺癌中 (Li YY 等, “Pim-3, 一种具有丝氨酸 / 苏氨酸激酶活性的原癌基因, 在人胰腺癌中异常表达以及在人胰腺癌细胞系中磷酸化 bad 从而阻断 bad- 介导的细胞凋亡”(“Pim-3, a proto-oncogene with serine/threonine kinase activity, is aberrantly expressed in human pancreatic cancer and phosphorylates bad to block bad-mediated apoptosis in human pancreatic cancer cell lines”), *Cancer Res* 66(13):6741-7 (2006))。

[0004] Pim1、2 和 3 为丝氨酸 / 苏氨酸激酶, 它们在对生长因子和细胞因子有响应的血液细胞的生存和增殖中发挥正常作用。通过 Jak/Stat 通路的细胞因子信号导致 Pim 基因转录的激活和蛋白质的合成。对于激酶 Pim 活性而言, 不需要其它翻译后的修饰。因此, 下游信号主要在转录 / 翻译水平和蛋白周转水平 (protein turnover level) 上进行控制。Pim 激酶的底物包括: 细胞凋亡调节剂, 例如 Bcl-2 家族成员 BAD (Aho T 等, “Pim-1 激酶通过在 Ser112 门控位点对其磷酸化而促进前细胞凋亡 Bad 蛋白的失活”(“Pim-1 kinase promotes inactivation of the pro-apoptotic Bad protein by phosphorylating it on the Ser112 gatekeeper site,”), *FEBS Letters* 571:43 - 49 (2004)); 细胞周期调节剂, 例如 p21<sup>WAF1/CIP1</sup> (Wang Z 等, “通过 Pim-1 激酶进行的细胞周期抑制剂 p21Cip1/WAF1 的磷酸化”(“Phosphorylation of the cell cycle inhibitor p21Cip1/WAF1 by Pim-1 kinase,”), *Biochim Biophys Acta* 1593:45 - 55 (2002)); CDC25A (1999); C-TAK (Bachmann M 等, “致癌性丝氨酸 / 苏氨酸激酶 Pim-1 磷酸化并抑制 Cdc25C- 相关激酶 1 (C-TAK1) 的活化, Pim-1 在 G2/M 细胞周期限制点处的新作用”(“The Oncogenic Serine/Threonine Kinase Pim-1 Phosphorylates and Inhibits the Activity of Cdc25C-associated Kinase 1 (C-TAK1). A novel role for Pim-1 at the G2/M cell cycle checkpoint,”), *J Biol Chem* 279:48319-48328 (2004)); NuMA (Bhattacharya N 等, “Pim-1 与有丝分裂所必需的蛋白复合物之间的联系”(“Pim-1 associates with protein complexes necessary for mitosis,”), *Chromosome Res* 10(2):80-95 (2002)) 和蛋白合成调节剂 4EBP1 (Hammerman PS 等, “Pim 和 Akt 癌基因是血液细胞生长和存活的独立调节剂”(“Pim and Akt oncogenes are independent regulators of hematopoietic cell growth and survival”), *Blood* 105(11):4477-83 (2005))。Pim 在这些调节剂中的作用与避免细胞凋亡的保护作用以及细胞增殖和生长的促进作用是一致的。因此, Pim 在癌症中的过度表达被认为在促进癌细胞存活

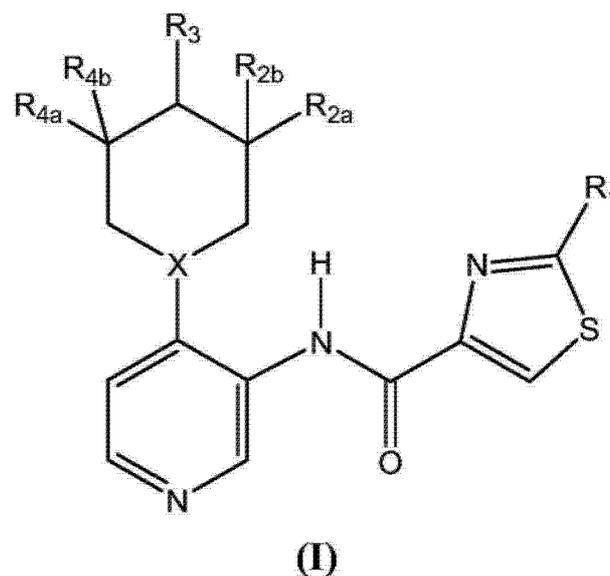
和增殖中起到了作用,所以,对它们的抑制应该是治疗其过度表达的癌症的有效途径。实际上,多个报道显示,用 siRNA 击倒 Pim 的表达导致增殖的抑制和细胞死亡 (Dai JM 等,“靶向丝氨酸 / 苏氨酸激酶 pim-2 的反义寡聚脱氧核苷酸抑制 DU-145 细胞的增殖”(“Antisense oligodeoxynucleotides targeting the serine/threonine kinase Pim-2 inhibited proliferation of DU-145 cell,”), *Acta Pharmacol Sin* 26(3):364-8(2005); Fujii 等 2005; Li 等 2006)。另外,多种已知癌基因在血液恶性疾病中的突变激活被认为至少部分通过 Pim 而发挥其作用。例如, pim 表达的靶向下调使得被 Flt3 和 BCR/ABL 转化的造血细胞的存活受到损害 (Adam 等, 2006)。因此, Pim1、2 和 3 的抑制剂可以用于治疗这些恶性疾病。除了在癌症治疗和骨髓增生性疾病治疗中的可能作用外, 此类抑制剂还可能在其他病理情况 (例如自身免疫性疾病、过敏性反应以及器官移植排斥综合征) 中用于控制免疫细胞的扩张。下列发现支持了这个观点: IL-12 和 IFN- $\alpha$  导致的 Th1T- 辅助细胞分化诱导了 Pim1 和 2 的表达 (Aho T 等, “促进 1 型 T 辅助细胞而非 2 型 T 辅助细胞分化的细胞因子选择性上调人 Pim 家族基因的表达”(“Expression of human Pim family genes is selectively up-regulated by cytokines promoting T helper type1, but not T helper type2, cell differentiation,”), *Immunology* 116:82-88(2005))。另外, 通过免疫抑制 TGF- $\beta$  在两种细胞类型中能够抑制 Pim 的表达 (Aho 等, 2005)。这些结果显示, Pim 激酶与 T- 辅助细胞的早期分化过程有关, 所述 T- 辅助细胞能够在自身免疫性疾病、过敏性反应以及组织移植排斥反应中协调免疫应答。

[0005] 对于能够抑制毛细血管增生、抑制肿瘤生长、治疗癌症、调节细胞周期阻滞和 / 或抑制分子 (例如 Pim1、Pim2 和 Pim3) 的化合物以及含有此类化合物的药物制剂以及药物的需求一直存在。对于施用此类化合物、药物制剂和药物至有其需要的患者或个体的方法的需求也存在。

## 发明内容

[0006] 本发明提供式 I 化合物或者其立体异构体、互变异构体或药学上可接受的盐,

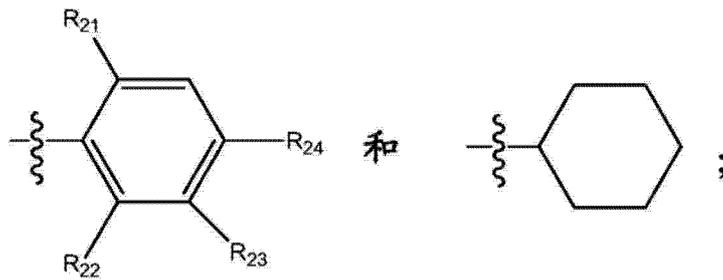
[0007]



[0008] 其中,

[0009]  $R_1$  选自

[0010]



[0011] X 代表 CH 或 N；

[0012]  $R_{2a}$  选自氨基、甲基、 $CH_2F$ 、 $CF_3$ 、 $C_2H_5$  和 H；

[0013]  $R_{2b}$  选自 H 和甲基；

[0014]  $R_3$  选自 H、OH、 $OCH_3$ 、 $CH_3$ 、F 和 Cl；

[0015]  $R_{4a}$  选自氨基、甲基、OH、 $OCH_3$ 、 $OC_2H_5$ 、F、 $CF_3$ 、H 和乙基；

[0016]  $R_{4b}$  选自甲基、H 和 F；

[0017]  $R_{21}$  代表 H 或 F；

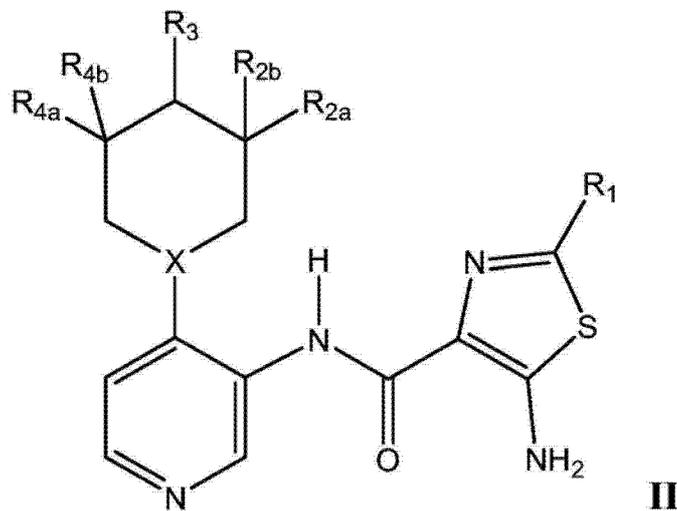
[0018]  $R_{22}$  代表 H、Cl 或 F；

[0019]  $R_{23}$  代表 F、 $OC_2H_5$ 、 $OCH_3$ 、Cl、H、甲基、OH 或  $OCH(CH_3)_2$ ；且

[0020]  $R_{24}$  代表 H 或 OH。

[0021] 在另一方面，本发明提供式 II 化合物或者其立体异构体、互变异构体或药学上可接受的盐，

[0022]



[0023] 其中：

[0024]  $R_1$  选自  $-NH-CO-$  烷基、取代的或未取代的环烷基、取代的或未取代的杂环烷基、取代的或未取代的芳基、和取代的或未取代的杂芳基；

[0025] X 代表 CH 或 N；

[0026]  $R_{2a}$  选自  $-H$ 、 $-OH$ 、烷基、烷氧基、卤代烷基、氨基烷基、羟基烷基、卤素、氨基和苯甲酸酯 (bezoate)；

[0027]  $R_{2b}$  选自  $-H$  和烷基；

[0028]  $R_3$  选自 H、OH、烷基、烷氧基和卤素；

[0029]  $R_{4a}$  选自 -OH、烷基、烷氧基、卤代烷基、氨基烷基、羟基烷基、卤素和氨基；且

[0030]  $R_{4b}$  选自 H、烷基和卤素。

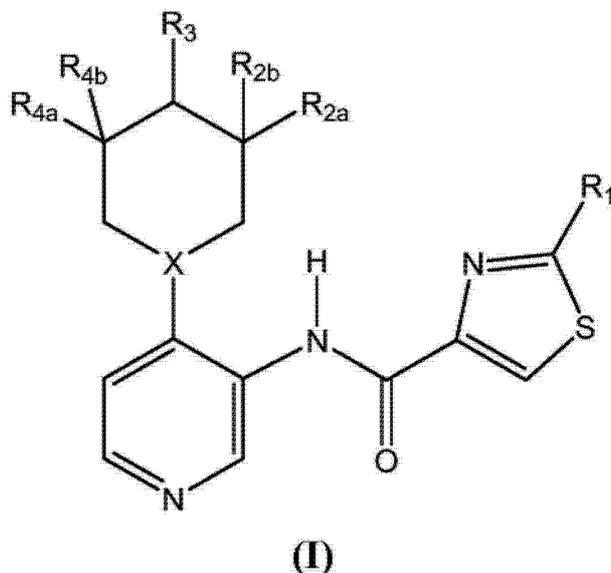
[0031] 本发明的另一方面提供组合物，其包含：治疗有效量的式 I 或式 II 化合物或者其立体异构体、互变异构体或药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体。

[0032] 本发明的另一方面提供了抑制细胞中 PIM 激酶活性的方法，该方法包括使细胞与有效量的式 I 或式 II 化合物接触。本发明的另外一方面提供通过调节 Maloney 原病毒整合激酶 (PIM 激酶) 活性治疗疾患的方法，该方法包括将有效量的式 I 或式 II 化合物施用至有此治疗需要的患者。

[0033] 发明详述

[0034] 一方面，本发明提供式 I 化合物或者其立体异构体、互变异构体或药学上可接受的盐，

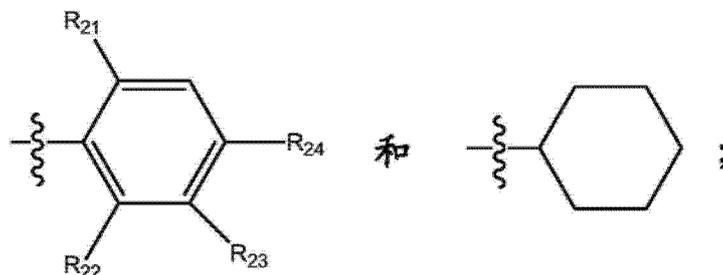
[0035]



[0036] 其中，

[0037]  $R_1$  选自

[0038]



[0039] X 代表 CH 或 N；

[0040]  $R_{2a}$  选自氨基、甲基、 $CH_2F$ 、 $CF_3$ 、 $C_2H_5$  和 H；

[0041]  $R_{2b}$  选自 H 和甲基；

[0042]  $R_3$  选自 H、OH、 $OCH_3$ 、 $CH_3$ 、F 和 Cl；

[0043]  $R_{4a}$  选自氨基、甲基、OH、 $OCH_3$ 、 $OC_2H_5$ 、F、 $CF_3$ 、H 和乙基；

[0044]  $R_{4b}$  选自甲基、H 和 F；

[0045]  $R_{21}$  代表 H 或 F；

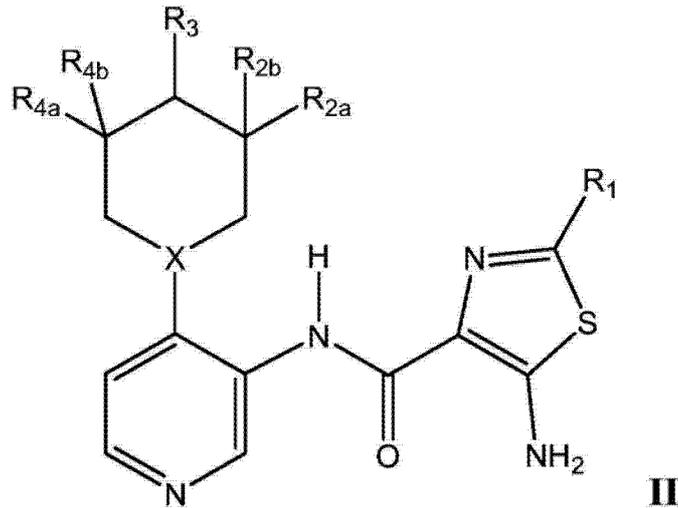
[0046]  $R_{22}$  代表 H、Cl 或 F；

[0047]  $R_{23}$  代表 F、 $OC_2H_5$ 、 $OCH_3$ 、Cl、H、甲基、OH 或  $OCH(CH_3)_2$ ；且

[0048]  $R_{24}$  代表 H 或 OH。

[0049] 在另一方面，本发明提供式 II 化合物或者其立体异构体、互变异构体或药学上可接受的盐，

[0050]



[0051] 其中：

[0052]  $R_1$  选自  $-NH-CO-$  烷基、取代的或未取代的环烷基、取代的或未取代的杂环烷基、取代的或未取代的芳基、和取代的或未取代的杂芳基；

[0053] X 代表 CH 或 N；

[0054]  $R_{2a}$  选自  $-H$ 、 $-OH$ 、烷基、烷氧基、卤代烷基、氨基烷基、羟基烷基、卤素、氨基和苯甲酸酯；

[0055]  $R_{2b}$  选自  $-H$  和烷基；

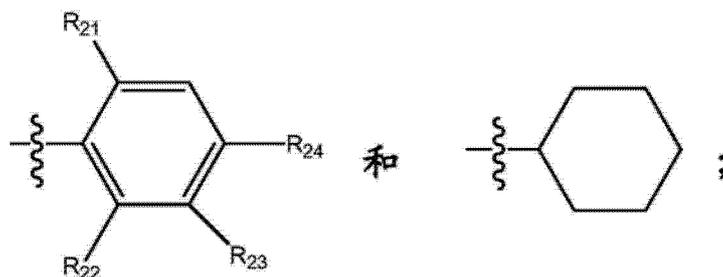
[0056]  $R_3$  选自 H、OH、烷基、烷氧基和卤素；

[0057]  $R_{4a}$  选自  $-OH$ 、烷基、烷氧基、卤代烷基、氨基烷基、羟基烷基、卤素和氨基；且

[0058]  $R_{4b}$  选自 H、烷基和卤素。

[0059] 在一些方面中，本发明提供其中  $R_1$  选自取代的或未取代的苯基、取代的或未取代的环己基、和取代的或未取代的哌啶基的式 II 化合物。在其它方面中，本发明提供如下式 II 化合物，其中  $R_1$  选自

[0060]



[0061] 其中：

[0062]  $R_{21}$  是 H 或卤素；

[0063]  $R_{22}$  是 H 或卤素；

[0064]  $R_{23}$  选自 H、卤素、烷基和烷氧基；且

[0065]  $R_{24}$  是 H 或 OH。

[0066] 在本发明的一些实施方案中， $R_{21}$  和  $R_{22}$  独立地选自 H 或 F。在其它实施方案中， $R_{23}$  选自 H、Cl、F、 $-OC_2H_5$ 、 $-OCH_3$  和  $-OCH(CH_3)_2$ 。

[0067] 在其它实施方案中，本发明提供其中  $R_2$  选自 H、甲基、乙基、甲氧基、乙氧基、氟甲基、三氟甲基、氨基甲基和羟基甲基的式 II 化合物。

[0068] 其它的实施方案提供其中  $R_3$  选自 H、-OH、甲基、甲氧基、F 和 Cl 的式 II 化合物。

[0069] 在一些实施方案中，本发明提供其中  $R_{4a}$  选自 -OH、甲基、乙基、三氟甲基、甲氧基、乙氧基、氨基、F 和 Cl 的式 II 化合物。其它实施方案提供其中  $R_{4b}$  选自甲基和 F 的式 II 化合物。

[0070] 在一些优选的实施方案中，本发明提供选自下列化合物的式 I 或式 II 化合物：(S)-5-氨基-N-(4-(3-氨基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-甲基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-((3R,4R,5S)-3-氨基-4-羟基-5-甲基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、5-氨基-N-(4-((1R,3S)-3-氨基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-(三氟甲基)哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-乙基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-((1R,3S,5S)-3-氨基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟-4-羟基苯基)噻唑-4-甲酰胺、5-氨基-N-(4-(3-氨基-4-羟基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-(3-氨基-5-(氟甲基)哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-((1R,3S,5S)-3-氨基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟-3-甲氧基苯基)噻唑-4-甲酰胺、5-氨基-2-(2,6-二氟苯基)-N-(4-((1R,3S,5S)-3-羟基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-((1R,3S,5S)-3-氨基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-(3-氨基-4-甲基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-((1R,3S,5S)-3-氨基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(3-乙氧基-2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺，或者其立体异构体、互变异构体或药学上可接受的盐。

[0071] 在其它优选的实施方案中，本发明提供选自以下的式 I 或式 II 化合物：(S)-5-氨基-N-(4-(3-氨基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-甲基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-((3R,4R,5S)-3-氨基-4-羟基-5-甲基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、5-氨基-N-(4-((1R,3S)-3-氨基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-(三氟甲基)哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-乙基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-((1R,3S,5S)-3-氨

基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟-4-羟基苯基)噻唑-4-甲酰胺、5-氨基-N-(4-(3-氨基-4-羟基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-(3-氨基-5-(氟甲基)哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-((1R,3S,5S)-3-氨基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟-3-甲氧基苯基)噻唑-4-甲酰胺、5-氨基-2-(2,6-二氟苯基)-N-(4-((1R,3S,5S)-3-羟基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)噻唑-4-甲酰胺、N-(4-((1R,3S,5S)-3-氨基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺,或者其立体异构体、互变异构体或药学上可接受的盐。

[0072] 本发明的另一方面提供组合物,该组合物包含:治疗有效量的式 I 或式 II 化合物或者其立体异构体、互变异构体或药学上可接受的盐,以及药学上可接受的载体。

[0073] 本发明的另一方面提供抑制细胞中 PIM 激酶活性的方法,该方法包括使细胞与有效量的式 I 或式 II 化合物接触。本发明的另外一方面提供通过调节 Maloney 原病毒整合激酶(PIM 激酶)活性治疗疾患的方法,该方法包括将有效量的式 I 或式 II 化合物施用至有此治疗需要的患者。

[0074] 本发明的该方面的优选的实施方案提供治疗患者的癌症的方法,该方法包括将包含有效抑制患者的 PIM 激酶活性的量的权利要求 1 或权利要求 10 的化合物的组合物施用至患者。

[0075] 本发明的另一方面提供用作治疗剂的任何式 I 或式 II 化合物。本发明的另外一方面提供任何一种式 I 或式 II 化合物在制备治疗癌症的药物中的用途。

[0076] 定义

[0077] 在文中所用的“PIM 抑制剂”指就 PIM 激酶活性而言具有不超过约 100  $\mu$ M、更通常不超过约 50  $\mu$ M 的  $IC_{50}$  的化合物,所述值根据后面所述的 PIM 损耗(depletion)实验测定。

[0078] 术语“烷基”意指不含有杂原子的烷基基团。因此,该术语包括直链烷基基团,例如甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基等。

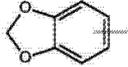
[0079] 如文中所用,术语“卤素”或“卤代”意指氯、溴、氟和碘基团。“卤代烷基”意指被一个或多个卤素原子取代的烷基基团。术语“卤代低级烷基”意指被一个或多个卤素原子取代的低级烷基基团。术语“卤代烷氧基”意指被一个或多个卤素原子取代的烷氧基基团。术语“卤代低级烷氧基”意指被一个或多个卤素原子取代的低级烷氧基基团。

[0080] “氨基”在文中指基团  $-NH_2$ ,其可以被取代从而形成  $-NRR'$ 。术语“烷基氨基”在文中指基团  $-NRR'$ ,其中 R 和 R' 各自独立地选自氢或低级烷基。术语“芳基氨基”在文中指基团  $-NRR'$ ,其中 R 是芳基且 R' 是氢、低级烷基或芳基。术语“芳烷基氨基”在文中指基团  $-NRR'$ ,其中 R 是低级芳烷基且 R' 是氢、低级烷基、芳基或低级芳烷基。

[0081] 术语“烷氧基”意指  $RO-$ ,其中 R 是取代的或未取代的烷基。低级烷氧基基团的代表性实例包括甲氧基、乙氧基、叔丁氧基、三氟甲氧基等。

[0082] “环烷基”意指单-或多环、杂环或碳环烷基取代基。典型的环烷基取代基具有 3—8 个骨架(即环)原子,其中每一个骨架原子是碳原子或者为杂原子。术语“杂环烷基”或“杂环基”在本文中意指环烷基取代基,在其环结构中具有 1—5 个(更通常为 1—4 个)杂原子。本发明化合物中采用的适当的杂原子为氮、氧和硫。具有代表性的杂环烷基基团包括例如吗啉代、哌嗪基、哌啶基等。碳环烷基基团为其中所有环原子均为碳的环烷基基团。

当与环烷基取代基结合使用时,术语“多环”在本文中是指稠合和非稠合的烷基环结构。

[0083] “芳基”是指具有 3-14 个骨架碳原子或杂原子的任选取代的单环和多环芳族基团,且包括碳环芳基基团和杂环芳基基团。碳环芳基基团为芳环中所有的环原子均为碳的芳基基团。术语“杂芳基”在本文中意指在芳环中具有 1-4 个作为环原子的杂原子而其余的环原子为碳原子的芳基基团。当与芳基取代基结合使用时,术语“多环芳基”在本文中意指稠合和非稠合环结构,其中至少一个环结构为芳族的,例如苯并二氧戊环基 (benzodioxolo) (它具有与苯基稠合的杂环结构,即 )、萘基等。本发明化合物

中用作取代基的示例性芳基基团包括苯基、吡啶基、嘧啶基、噻唑基、吡唑基、咪唑基、噁二唑基、四唑基、吡嗪基、三唑基、噻吩基、呋喃基、喹啉基、嘌呤基、萘基、苯并噻唑基、苯并吡啶基和苯并咪唑基等。

[0084] “任选取代的”或“取代的”意指一或多个氢原子被单价或二价基团所代替。适当的取代基包括例如羟基、硝基、氨基、亚氨基、氰基、卤素、硫代 (thio)、磺酰基、硫代酰氨基 (thioamido)、脒基、亚氨基 (imidino)、氧代、氨肟基 (oxamidino)、Methoxamidino、亚氨基 (imidino)、胍基、磺酰氨基、羧基、甲酰基、低级烷基、卤代低级烷基、低级烷基氨基、卤代低级烷基氨基、低级烷氧基、卤代低级烷氧基、低级烷氧基烷基、烷基羰基、氨基羰基、芳基羰基、芳烷基羰基、杂芳基羰基、杂芳烷基羰基、烷硫基、氨基烷基、氰基烷基、芳基等。

[0085] 取代基自身可以被取代。在取代基上取代的基团可以是羧基、卤素、硝基、氨基、氰基、羟基、低级烷基、低级烷氧基、氨基羰基、-SR、硫代酰氨基、-SO<sub>3</sub>H、-SO<sub>2</sub>R 或环烷基,其中 R 通常为氢、羟基或低级烷基。

[0086] 可以理解的是,上述定义应当不包括不被允许的取代模式 (例如,被 5 个氟取代的甲基或被另一个卤素原子取代的卤素原子)。此类不被允许的取代模式对于技术人员而言是熟知的。

[0087] 对于本领域技术人员而言也是显而易见的是,本发明化合物,包括式 (I) 或 (II) 化合物或其立体异构体以及其任何药学上可接受的盐、酯、代谢物和前药,可以进行互变异构化,因此可以存在各种互变异构形式 (其中分子的一个原子的质子转移到另一个原子上,分子的原子之间的化学键随后进行重排)。参见,例如, March, 高等有机化学:反应、机理及结构 (Advanced Organic Chemistry:Reactions, Mechanisms and Structures), 第四版, John Wiley&Sons, 第 69-74 页 (1992)。本文中所使用的术语“互变异构体”是指通过质子转移而产生的化合物,应当理解的是,所有的互变异构形式 (只要在它们可能存在) 均包括在本发明范围内。

[0088] 本发明化合物,包括式 (I) 或 (II) 化合物或其立体异构体以及其任何药学上可接受的盐、酯、代谢物和前药,可以包含不对称取代的碳原子。此类不对称取代的碳原子可以使得本发明化合物以对映异构体、非对映异构体以及其它立体异构形式存在,它们可以根据绝对立体化学而定义为例如 (R)- 或 (S)- 构型。因此,本发明化合物的所有此类可能的异构体、光学纯形式的单一立体异构体、它们的混合物、外消旋混合物 (或“外消旋物”)、非对映异构体混合物、单一非对映异构体均包含在本发明中。本文中所使用的术语“S”和“R”构型根据下面定义: IUPAC 1974 Recommendations for Section E, Fundamental Stereochemistry, Pure Appl. Chem. 45:13-30 (1976)。术语  $\alpha$  和  $\beta$  用于环状化合物的环

位置。参照平面的  $\alpha$ -侧为优选的取代基位于较低编号位置的一侧。位于参照平面相反一侧的那些取代基采用  $\beta$  描述符。需要注意的是,该用法与用于环状立体母核的用法有所区别,在环状母核中“ $\alpha$ ”是指“平面下面”并代表绝对构型。本文中所使用的术语  $\alpha$  和  $\beta$  构型根据 Chemical Abstracts Index Guide-Appendix IV(1987) 第 203 段定义。

[0089] 本文中所使用的术语“药学上可接受的盐”是指式 (I) 或 (II) 化合物的非毒性酸或碱土金属盐。这些盐可以在式 (I) 或 (II) 化合物进行最后分离和纯化过程中原位制备,或者通过使碱或酸官能团分别与适当的有机或无机酸或者碱反应而分别制备。具有代表性的盐包括但不限于下列:乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、柠檬酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、二葡萄糖酸盐、环戊烷丙酸盐、十二烷硫酸盐、乙磺酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、富马酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、烟酸盐、2-萘磺酸盐、草酸盐、扑酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐 (phenylproionate)、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对-甲苯磺酸盐和十一酸盐。此外,碱性含氮基团可以被如下试剂季铵盐化:低级烷基卤化物,例如甲基、乙基、丙基和丁基氯化物、溴化物和碘化物;二烷基硫酸酯,例如二甲基、二乙基、二丁基和二戊基硫酸酯;长链卤化物,例如癸基、十二烷基、十四烷基和十八烷基氯化物、溴化物和碘化物;芳烷基卤化物,例如苄基和苯乙基溴化物等。如此可获得水或油溶性或可分散的产物。

[0090] 可以用于形成药学上可接受的酸加成盐的酸的实例包括如下的酸:无机酸,例如盐酸、硫酸和磷酸;和有机酸,例如草酸、马来酸、甲烷磺酸、琥珀酸和柠檬酸。碱性加成盐可以在式 (I) 化合物的最后分离和纯化过程中原位制备,或者通过使羧酸基团与适当的碱(例如药学上可接受的金属阳离子的氢氧化物、碳酸盐或碳酸氢盐)反应分别制备,或者与氨或有机伯、仲或叔胺反应制备。药学上可接受的盐包括但不限于:基于碱金属和碱土金属的阳离子,例如钠、锂、钾、钙、镁、铝盐等,以及非毒性铵、季铵和胺阳离子,包括但不限于铵、四甲基铵、四乙基铵、甲基胺、二甲基胺、三甲基胺、三乙胺、乙胺等。用于形成碱加成盐的其它具有代表性的有机胺包括二乙胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪等。

[0091] 本文中所使用的术语“药学上可接受的酯”是指能够在体内水解的酯,包括那些在人体内易于分解而释放出母体化合物或其盐的酯。适当的酯包括例如衍生自药学上可接受的脂肪族羧酸的那些,所述脂肪族羧酸特别是烷酸、烯酸、环烷酸和烷二酸,其中每一个烷基或烯基最好含有不多于 6 个碳原子。具体的酯的实例包括甲酸酯、乙酸酯、丙酸酯、丁酸酯、丙烯酸酯和乙基琥珀酸酯。

[0092] 本文中所使用的术语“药学上可接受的前药”是指本发明化合物的前药,在良好的医学判断范围内,它们适用于与人类和低等动物的组织接触而不会产生不当的毒性、刺激性、过敏反应等,具有合理的效益/风险比,产生预期的适用效果,如果可能的话,还指本发明化合物的两性离子。术语“前药”是指例如通过在血液中水解在体内快速转化而获得上式母体化合物的化合物。详尽的讨论可以参见下列文献:T.Higuchi 和 V.Stella, 作为新型传递系统的前药 (Pro-drugs as Novel Delivery Systems), A. C. S. 专题报告丛书 (A. C. S. Symposium Series) 的第 14 卷;Edward B. Roche, ed., 药物设计中的生物可逆载体 (Bioreversible Carriers in Drug Design), American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, 这两篇文献在此引入作为参考。

[0093] 对于本领域技术人员而言显而易见的是,本发明化合物,包括式 (I) 或 (II) 化合物或其互变异构体、前药和立体异构体以及其任何药学上可接受的盐、酯和前药,可以在人类或者动物体内或细胞内通过代谢过程产生代谢物。本文中使用的术语“代谢物”是指给予母体化合物后在个体中产生的任何衍生物。衍生物可以通过在个体中的各种生物化学转化例如氧化、还原、水解或耦合而由母体化合物产生,包括,例如氧化物和去甲基化的衍生物。本发明化合物的代谢物可以通过本领域中已知的常规技术进行鉴定。参见,例如, Bertolini, G. 等, J. Med. Chem. 40:2011-2016(1997); Shan, D. 等, J. Pharm. Sci. 86(7):765-767; Bagshawe K., Drug Dev. Res. 34:220-230(1995); Bodor, N., Advances in Drug Res. 13:224-331(1984); Bundgaard, H., 前药的设计 (Design of Prodrugs) (Elsevier Press 1985); 和 Larsen, I. K., 前药设计和应用, 药物设计和开发 (Design and Application of Prodrugs, Drug Design and Development) (Krogsgaard-Larsen 等编辑., Harwood Academic Publishers, 1991)。应当理解,作为式 (I) 或 (II) 化合物或其互变异构体、前药和立体异构体以及其任何药学上可接受的盐、酯和前药的代谢物的各个化合物均包含在本发明范围内。

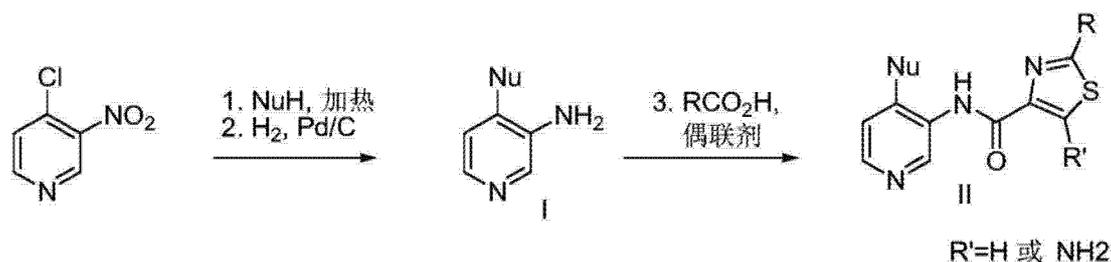
[0094] 术语“癌症”是指通过 Pim 激酶的抑制而能够获得有益治疗的癌症疾病,包括:例如,实体癌症例如癌(例如肺癌、胰腺癌、甲状腺癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、前列腺癌或结肠癌)、黑素瘤、髓性疾病(例如髓性白血病、多发性骨髓瘤和红细胞白血病)、腺瘤(例如结肠绒毛状腺瘤)和肉瘤(例如骨肉瘤)。

#### [0095] 合成方法

[0096] 本发明化合物可以通过本领域技术人员已知的方法获得。例如,如流程 1 中所示,可以使 4-氯-3-硝基吡啶与亲核试剂反应,在硝基还原后得到 4-取代的 3-氨基吡啶 I。取代的氨基吡啶 I 可以在偶联剂的帮助下用噻唑甲酸类化合物进行酰化,或用酰氯或酸酐进行酰化,得到 3,4 二取代的吡啶 II。如果噻唑的 2 位 R 基团是溴、三氟甲磺酸酯或碘,则可以通过金属介导的碳-碳键形成反应实现在该位置的进一步修饰,以引入不同取代基。

#### [0097] 流程 1.

[0098]

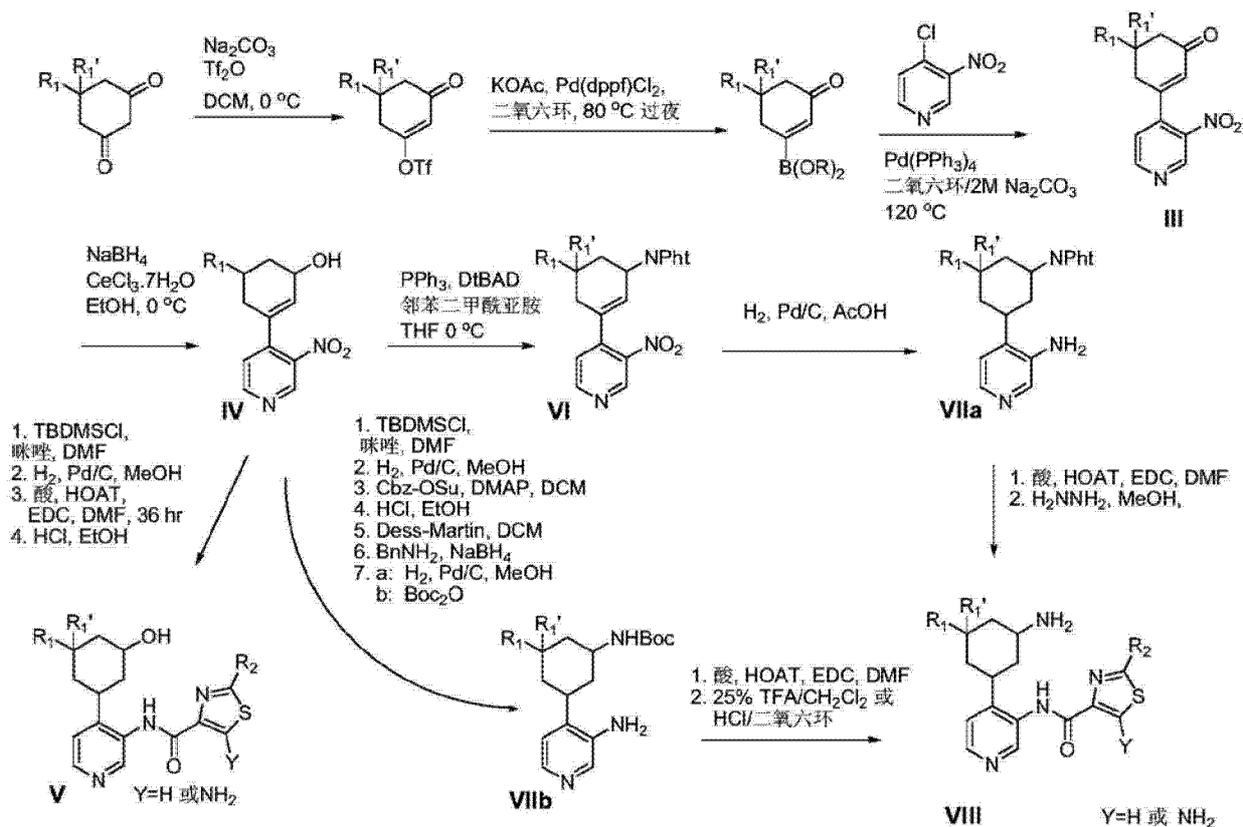


[0099] 如流程 1 中所示的 4-氯-3-硝基吡啶与亲核试剂的反应不限于基于氮的亲核试剂;碳-碳键还可以通过仅加入碳亲核试剂来形成。如流程 2 所示,环己烷二酮类化合物可以经由单三氟甲磺酸酯转化为相应的环己烯酮硼酸酯,该环己烯酮硼酸酯可以与 4-氯-3-硝基吡啶进行钯介导的碳-碳键形成,得到硝基吡啶取代的环己烯酮 III。还原烯酮官能团能得到环己烯醇 IV,环己烯醇 IV 经醇保护、硝基和烯炔还原、酰胺偶联和脱保护可以得到环己醇酰胺 V。环己烯醇 IV 还可以与邻苯二甲酰亚胺进行 Mitsunobu 反应,得到保护的氨基环己烯 V。在硝基和烯炔还原后,邻苯二甲酰亚胺保护的氨基环己基吡啶基苯

胺 VIIa 可以进行酰胺偶联和脱保护, 得到氨基环己烷酰胺 VIII。相应的 Boc 保护的氨基环己烷吡啶基苯胺 VIIb 还可以由环己烯醇 IV 以下面的方法制备: 醇保护、烯烃和硝基还原、吡啶基胺 Cbz 保护、甲硅烷基醚脱保护、Dess-Martin 氧化成环己酮、与苄胺还原胺化、Cbz 和苄基脱保护和脂肪族伯胺 Boc 保护。在酰胺产物 V 和 VIII 中, 如果 R<sub>2</sub> 是卤素或三氟甲磺酸酯, 酰胺 IV 和 VIII 可以通过标准修饰法进一步修饰, 以在 R<sub>2</sub> 处引入取代的芳基、烷基和杂芳基。例如, 如果 R<sub>2</sub> 是 Br, 通过与硼酸类化合物或有机金属试剂反应, 或转化为相应的硼酸酯并与芳基 / 杂芳基卤化物或三氟甲磺酸酯反应, 多种 R<sub>2</sub> 修饰是可行的。

[0100] 流程 2.

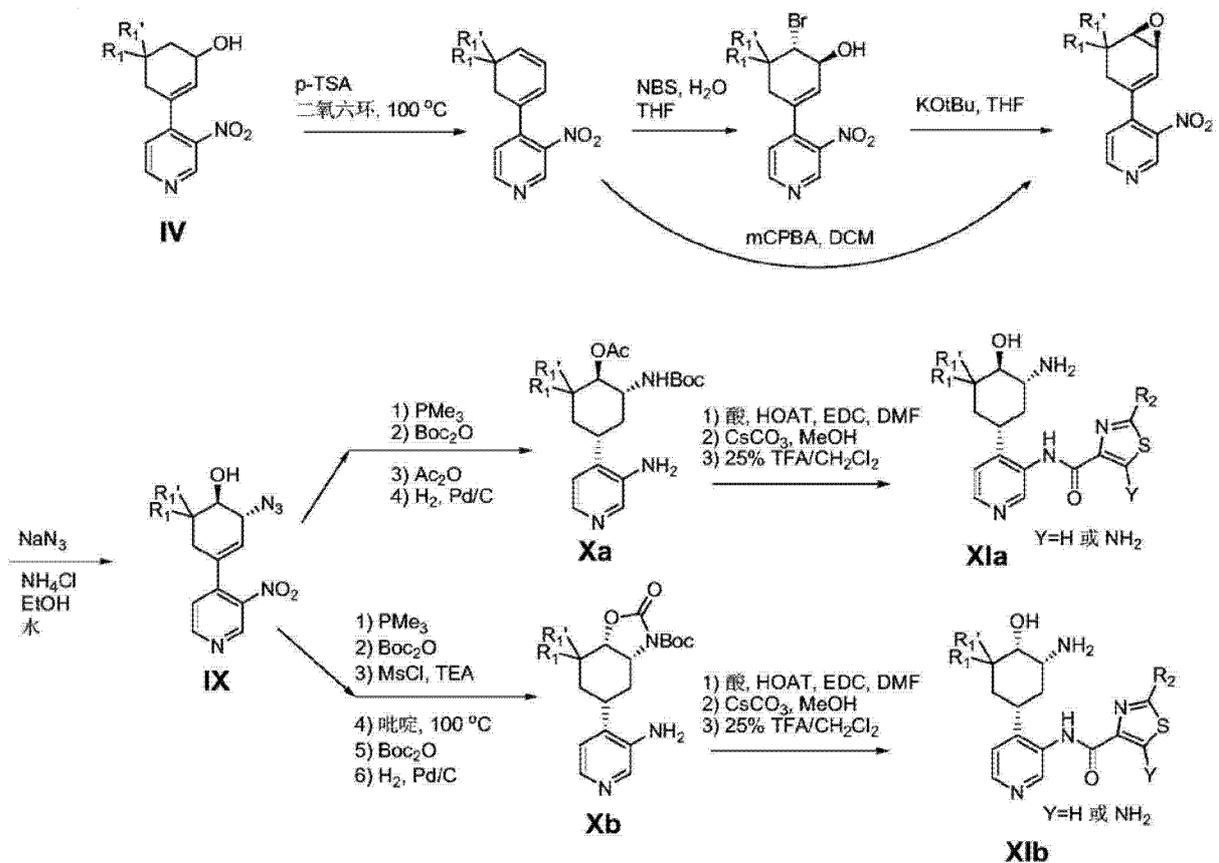
[0101]



[0102] 具有取代的环己基基团的噻唑酰胺类可以通过修饰硝基吡啶基环己烯醇 IV 来获得。如流程 3 中所示, 可以使环己烯醇 IV 脱水得到环己二烯, 该环己二烯通过环氧化 (经溴醇 (bromohydrin) 形成和 HBr 消除进行, 或由 mCPBA 直接进行) 和叠氮化物环氧开环产生环己基叠氮基醇 IX。环己基叠氮基醇 IX 可以通过叠氮化物还原、醇保护及烯烃和硝基还原转化为反式的保护的氨基羟基苯胺 Xa。或者, 通过叠氮化物还原和 Boc 保护、醇甲磺酰化和分子内环化成顺式环状氨基甲酸酯, 随后通过 Boc 保护以及烯烃和硝基还原, 环己基叠氮基醇 IX 可以转化为保护的顺式的氨基羟基苯胺 Xb。通过酰胺偶联、乙酸酯或环状氨基甲酸酯裂解和 Boc 脱保护, 得到的环己基吡啶基苯胺 Xa 和 Xb 可以转化为相应的噻唑酰胺 XIa 和 XIb。如果 R<sub>2</sub> 是卤素或三氟甲磺酸酯, 酰胺 XIa、XIb 和 XII 可以通过标准修饰法进一步修饰, 以在酰胺键形成后和全脱保护前在 R<sub>2</sub> 处引入取代的芳基、烷基和杂芳基。例如, 如果 R<sub>2</sub> 是 Br, 通过与硼酸类化合物或有机金属试剂反应, 或转化为相应的硼酸酯并与芳基 / 杂芳基卤化物或三氟甲磺酸酯反应, 多种 R<sub>2</sub> 修饰是可行的。

[0103] 流程 3.

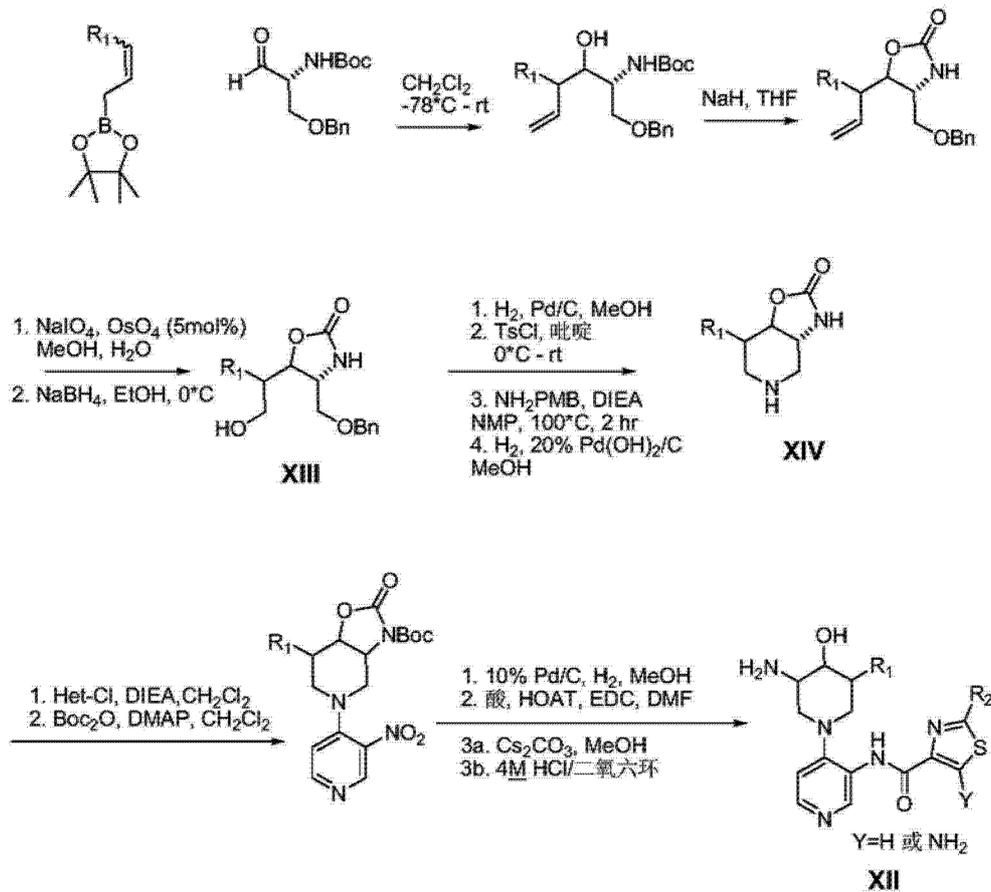
[0104]



[0105] 如流程 4 中所示, 取代的 3-氨基哌啶类可以被制备和修饰, 得到取代的 3-氨基哌啶基噻唑酰胺 XII。硼酸巴豆基酯与 SerOBn 醛反应, 随后进行环状氨基甲酸酯形成、烯烃氧化裂解和还原, 得到羟基化合物 XIII。苄基脱保护, 随后双甲苯磺酰化并与对甲氧基苄胺反应, 以及胺脱保护, 得到哌啶 XIV。通过使用手性硼酸酯和不同的 L 和 D 丝氨酸衍生的醛类, 可以获得生成的三取代的 5-烷基, 4-羟基, 3-氨基哌啶的所有可能的非对映异构体。取代的哌啶 XIV 与 4-氯-3-硝基吡啶反应, 随后进行氨基甲酸酯保护、硝基还原、酰胺偶联、环状氨基甲酸酯开环和脱保护, 得到三取代的 5-甲基, 4-羟基, 3-氨基哌啶基噻唑酰胺 XII。如果 R<sub>2</sub> 是卤素或三氟甲磺酸酯, 酰胺 XII 可以通过标准修饰法进一步修饰, 以在酰胺键形成后和全脱保护前在 R<sub>2</sub> 处引入取代的芳基、烷基和杂芳基。例如, 如果 R<sub>2</sub> 是 Br, 通过与硼酸类化合物或有机金属试剂反应, 或转化为相应的硼酸酯并与芳基 / 杂芳基卤化物或三氟甲磺酸酯反应, 多种 R<sub>2</sub> 修饰是可行的。

[0106] 流程 4.

[0107]



[0108] 本发明化合物可在体外或体内用于抑制癌细胞的生长。化合物可以单独使用，或者在组合物中与药学上可接受的载体或赋形剂一起使用。适当的药学上可接受的载体或赋形剂包括例如处理剂以及药物递送改良剂和增强剂，例如，磷酸钙、硬脂酸镁、滑石粉、单糖类、二糖类、淀粉、明胶、纤维素、甲基纤维素、羧基甲基纤维素钠、葡萄糖、羟丙基- $\beta$ -环糊精、聚乙烯吡咯烷酮、低熔点蜡类、离子交换树脂等以及它们中任何两种或多种的组合。其它适当的药学上可接受的赋形剂描述于“雷明顿制药科学 (Remington's Pharmaceutical Sciences)”，Mack Pub. Co., New Jersey (1991)，在此引入作为参考。

[0109] 本发明化合物的有效量通常包括足以可检测地 (detectably) 抑制 Pim 活性的任何量，所述抑制通过本文中所述的任何分析方法 (assay) 进行检测，通过本领域技术人员已知的其它 Pim 激酶活性分析方法检测，或者通过测定癌症症状的抑制或缓解检测。

[0110] 可以与载体物质组合形成单一剂型的活性成分的量取决于待治疗的宿主和具体的施用 (administration) 模式。然而，应当理解，任何特定患者的具体剂量取决于各种因素，包括采用的具体化合物的活性、年龄、体重、一般健康情况、性别、饮食、施用时间、施用途径、排泄速率、药物组合以及正在治疗的特定疾病的严重程度。对于给定条件而言，治疗有效量可以通过常规实验容易地确定，这在普通临床医师的技能和判断范围内。

[0111] 对于本发明的目的而言，治疗有效剂量通常为以单次或多次剂量施用至宿主的总日剂量，可以是每日每千克体重 0.001 至 1000mg，更优选为每日每千克体重 1.0 至 30mg。单位剂量组合物可以含有用于构成所述日剂量的其约数 (submultiples) 量。

[0112] 本发明化合物可以通过单位剂量制剂通过口服、胃肠外、舌下施用，通过雾化或吸入喷雾施用，通过直肠或局部施用，所述制剂含有常规无毒药学上可接受的载体、辅助剂以

及需要的溶媒。局部施用也包括透皮施用的应用,例如透皮贴剂或离子电泳装置。本文中使用的术语胃肠外包括皮下注射、静脉注射、肌肉注射、胸骨内注射或输注技术。

[0113] 注射制剂(例如,无菌注射用水性混悬剂或油性混悬剂)可以根据已知的工艺采用适当的分散剂或润湿剂和助悬剂进行配制。无菌注射用制剂也可以是在无毒胃肠外可接受稀释剂或溶剂中的无菌注射用溶液剂或混悬剂,例如,在 1,3-丙二醇中的溶液剂。在可接受的溶媒和溶剂中,可以采用水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。另外,无菌、不挥发性油通常用作溶剂或混悬介质。为此,可以采用任何刺激性小的不挥发性油,包括合成的单-或二-甘油酯。另外,脂肪酸(例如油酸)也可以用于注射剂的制备。

[0114] 用于药物直肠施用的栓剂可以通过将药物与适当的无刺激性赋形剂(如可可脂和聚乙二醇)混合而制备,所述赋形剂在常温下是固体,但是在直肠温度下为液体,因而在直肠内熔融并释放药物。

[0115] 用于口服施用的固体剂型可以包括胶囊、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在此类固体剂型中,活性化合物可以与至少一种惰性稀释剂(例如蔗糖、乳糖或淀粉)混合。在常规实践中,除了惰性稀释剂外,此类剂型也可以含有其它物质,例如润滑剂,如硬脂酸镁。对于胶囊、片剂和丸剂而言,该剂型也可以含有缓冲剂。片剂和丸剂可以额外地采用肠包衣制备。

[0116] 用于口服施用的液体剂型可以包括药学上可接受的乳剂、溶液剂、混悬剂、糖浆剂和酏剂,它们含有本领域中常规应用的惰性稀释剂,例如水。此类组合物也可以含有辅助剂,例如润湿剂、乳化剂和助悬剂、环糊精和甜味剂、矫味剂以及芳香剂。

[0117] 本发明化合物也可以以脂质体的形式施用。如本领域所已知,脂质体通常源自磷脂或其它脂质物质。脂质体是由分散在水性介质中的单-或多-层水合的液态晶体形成。可以使用能够形成脂质体的任何无毒、生理学上可接受的并且可代谢的脂质。除了本发明化合物外,脂质体形式的本发明组合物还可以含有稳定剂、防腐剂、赋形剂等。优选的脂质为磷脂和磷脂酰胆碱(卵磷脂),它们可以是天然的和合成的。形成脂质体的方法在本领域中是已知的。参见,例如,Prescott, Ed., 细胞生物学方法(Methods in Cell Biology), 第 XIV 卷, 学术出版社, 纽约, N. W., 第 33 页, et seq. (1976)。

[0118] 本发明化合物可以作为单一活性药物物质施用,它们也可以与一或多种在癌症治疗中应用的其它物质组合使用。本发明化合物也可以与已知的治疗剂以及抗癌物质组合使用,本发明公开的化合物与其它抗癌或化疗物质的组合包含在本发明范围内。此类物质的实例可以参见 Cancer Principles and Practice of Oncology, V. T. Devita 和 S. Hellman(编辑), 第 6 版(2001 年 2 月 15 日), Lippincott Williams&Wilkins Publishers。根据药物以及所涉及癌症的特定性质,本领域技术人员能够识别所述物质的哪一种组合是有用的。此类抗癌物质包括但不限于下列:雌激素受体调节剂、雄激素受体调节剂、维甲酸(retinoid)受体调节剂、细胞毒性剂/细胞生长抑制剂、抗增殖剂、异戊二烯基蛋白转移酶抑制剂、HMG-CoA 还原酶抑制剂和其它血管生成抑制剂、细胞增殖和存活信号抑制剂、细胞凋亡诱导剂以及干扰细胞周期关键点的物质。本发明化合物也可以与放疗联合应用。

[0119] 因此,在本发明的一个实施方案中,本发明化合物还可以与已知的抗癌物质组合使用,所述抗癌物质包括例如雌激素受体调节剂、雄激素受体调节剂、维甲酸受体调节剂、细胞毒性剂、抗增殖剂、异戊二烯基蛋白转移酶抑制剂、HMG-CoA 还原酶抑制剂、HIV 蛋白酶

抑制剂、逆转录酶抑制剂及其它血管生成抑制剂。

[0120] 在本发明的某些优选的实施方案中,可与本发明化合物组合使用治疗癌症的具有代表性的物质包括:例如,伊立替康、拓扑替康、吉西他滨、5-氟尿嘧啶、甲酰四氢叶酸、卡铂、顺铂、紫杉烷类、替扎他滨 (tezacitabine)、环磷酰胺、长春花属 (vinca) 生物碱类、伊马替尼 (Gleevec)、葱环类、利妥昔单抗、曲妥珠单抗以及其它癌症化疗物质。

[0121] 与本发明化合物组合应用的上述化合物可以以 Physicians' Desk Reference (PDR) 第 47 版 (1993) (该文献在此引入作为参考) 所指明的治疗量使用,或者以本领域技术人员所知的治疗有效量使用。

[0122] 本发明化合物和其它抗癌物质可以以推荐的最大临床剂量或较小剂量施用。本发明组合中活化化合物的剂量水平可以根据施用的途径、疾病的严重程度以及患者的响应而变化,以获得预期的治疗响应。所述组合可以以各独立的组合物施用,或者以含有两种药物的单一剂型施用。当以组合形式施用时,治疗剂可以制备为各独立的组合物,所述组合物可以在相同时间或不同时间施用,或者治疗剂可以以单一组合物施用。

### 具体实施方式

[0123] 通过参考下列实施例可以更容易地理解本发明,下列实施例用于说明而非限定本发明。

[0124] 用于下列实施例化合物中的具有代表性的侧链通常根据下列方法制备:

[0125] 实施例

[0126] 对于下列实施例而言,优选实施方案的化合物采用本文中所述方法制备,或者采用其它本领域已知的方法制备。

[0127] 化合物和 / 或中间体采用配备 2695 Separation Module 的 Waters Millennium 色谱系统 (Milford, MA) 通过高效液相色谱法 (HPLC) 鉴定。分析柱为反相 Phenomenex Luna C18-5  $\mu$ , 4.6  $\times$  50mm, Alltech (Deerfield, IL)。采用梯度洗脱 (流速 2.5 mL/min), 通常开始时用 5% 乙腈 / 95% 水并在 10 分钟内逐渐过渡至 100% 乙腈。所有的溶剂均含有 0.1% 三氟乙酸 (TFA)。通过紫外线 (UV) 吸收于 220 或 254nm 检测化合物。HPLC 溶剂获自 Burdick and Jackson (Muskegan, MI) 或 Fisher Scientific (Pittsburgh, PA)。

[0128] 在某些情况下,通过薄层色谱 (TLC) 采用玻璃或塑料硅胶板例如 Baker-Flex Silica Gel 11B2-F 柔性板 (flexible sheet) 测定纯度。TLC 结果可以在紫外光下容易地通过视觉检测,或者通过应用众所周知的碘蒸气技术和其它各种染色技术检测。

[0129] 质谱分析在三种 LCMS 设备之一上进行: Waters System (Alliance HT HPLC 和 Micromass ZQ 质谱仪; 柱: Eclipse XDB - C18, 2.1  $\times$  50mm; 梯度: 在 4 分钟内, 含有 0.05% TFA 的 5 - 95% (或 35 - 95% 或 65 - 95% 或 95 - 95%) 乙腈水溶液; 流速 0.8 mL/min; 分子量范围 200 - 1500; 锥电压 (cone Voltage) 20V; 柱温 40  $^{\circ}$ C); 另一种 Waters System (ACQUITY UPLC 系统和 ZQ2000 系统; 柱: ACQUITY UPLC HSS-C18, 1.8  $\mu$ m, 2.1  $\times$  50mm; 梯度: 在 1.3 分钟内, 含有 0.05% TFA 的 5 - 95% (或 35 - 95% 或 65 - 95% 或 95 - 95%) 乙腈水溶液; 流速 1.2 mL/min; 分子量范围 150 - 850; 锥电压 20V; 柱温 50  $^{\circ}$ C); 或 Hewlett Packard System (Series 1100 HPLC; 柱: Eclipse XDB - C18, 2.1  $\times$  50mm; 梯度: 在 4 分钟内, 含有 0.05% TFA 的 5-95% 乙腈水溶液; 流速 0.8 mL/min; 分子量范围 150 - 850;

锥电压 50V ;柱温 30℃ )。所有的质量均以质子化的母体离子报告。

[0130] GCMS 分析在 Hewlett Packard 设备 (HP6890Series 气相色谱, 配备有 Mass Selective Detector5973 ;注射体积 :1  $\mu$  L ;初始柱温 :50℃ ;最终柱温 :250℃ ;斜坡时间 (ramp time) :20 分钟 ;气体流速 :1mL/min ;柱 :5% 苯基甲基硅氧烷, Model No. HP 190915 - 443, 尺寸 :30.0m  $\times$  25m  $\times$  0.25m) 上进行。

[0131] 核磁共振 (NMR) 分析可以采用 Varian300 或 400MHz NMR (Palo Alto, CA) 进行。波谱参照可以为 TMS 或已知化学位移的溶剂。

[0132] 某些化合物的纯度通过元素分析测定 (Desert Analytics, Tucson, AZ)。

[0133] 熔点在 Laboratory Devices Mel - Temp 仪器 (Holliston, MA) 上测定。

[0134] 制备性分离采用 Flash40 色谱系统和 KP - Sil, 60A (Biotage, Charlottesville, VA) 进行, 或者通过快速柱色谱采用硅胶 (230 - 400mesh) 填料进行, 或者通过 HPLC (采用 Waters2767Sample Manager, C - 18 反相柱, 30  $\times$  50mm, 流速 75mL/min) 进行。Flash40Biotage 系统和快速柱色谱的常用溶剂为二氯甲烷、甲醇、乙酸乙酯、己烷、丙酮、氨水 (或氢氧化铵) 和三乙胺。反相 HPLC 的常用溶剂为含有 0.1% 三氟乙酸的各种不同浓度的乙腈和水。

[0135] 应当理解的是, 优选实施方案的有机化合物可以具有互变异构现象。本说明书范围内的化学结构只是代表可能的互变异构形式之一, 应当理解, 优选的实施方案包括所示结构的任何互变异构形式。

[0136] 应当理解, 本发明不局限于为了说明而在本文中提出的实施方案, 而是包含上述公开内容范围内其所有的此类形式。

[0137] 在下面实施例以及整个本申请中, 以下缩写具有下列意义。如果未定义, 则术语具有其通常被接受的意义。

[0138] 缩写

[0139]

<b>Boc<sub>2</sub>O</b>	二碳酸二叔丁酯
<b>DAST</b>	(二乙基氨基)三氟化硫
<b>DCM</b>	二氯甲烷
<b>DIEA</b>	二异丙基乙胺
<b>DtBAD</b>	偶氮二甲酸二叔丁酯
<b>DMA</b>	二甲基乙酰胺
<b>DMAP</b>	4-二甲基氨基吡啶
<b>DME</b>	1,2-二甲氧基乙烷
<b>DMF</b>	<i>N,N</i> -二甲基甲酰胺
<b>DPPF</b>	1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁
<b>EDC</b>	1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐

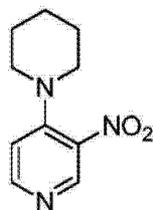
[0140]

<b>EtOAc</b>	乙酸乙酯
<b>EtOH</b>	乙醇
<b>HOAT</b>	羟基氮杂苯并三唑
<b>MeCN</b>	乙腈
<b>MeOH</b>	甲醇
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	碳酸钠
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	碳酸氢钠
<b>NBS</b>	<i>N</i> -溴代琥珀酰亚胺
<b>NMP</b>	<i>N</i> -甲基-2-吡咯烷酮
<b>Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub></b>	三(二亚苺基丙酮)二钯(0)
<b>Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub></b>	四(三苺基磷)钯(0)
<b>Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>-DCM</b>	二氯-(1,2-双(二苺基磷基)ethan)-钯(II) - 二氯甲烷加合物
<b>RT 或 rt</b>	室温
<b>TDMSCl</b>	叔丁基二甲基甲硅烷基氯
<b>TEA</b>	三乙胺
<b>THF</b>	四氢呋喃
<b>Tf<sub>2</sub>O</b>	三氟甲磺酸酐

[0141] 方法 1

[0142] 3-硝基-4-(哌啶-1-基)吡啶的合成

[0143]

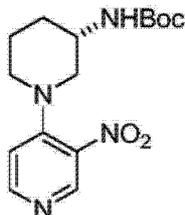


[0144] 将 4-氯-3-硝基吡啶 (1.0 当量) 和哌啶 (2.0 当量) 的乙醇溶液 (浓度 0.5M) 在 rt 搅拌 48 小时, 此时在真空中除去乙醇。将残留物在 EtOAc (300mL) 和 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (饱和的) (75mL) 之间分配, 进一步用 H<sub>2</sub>O (50mL)、NaCl (饱和的) (50mL) 洗涤, 用 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并在真空中除去挥发物, 得到 3-硝基-4-(哌啶-1-基)吡啶 (95%)。LCMS(m/z): 207.7 (MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 1.60min. <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>): δ 8.80 (s, 1H), 8.31 (d, J = 5.7, 1H), 6.84 (d, J = 6.3, 1H), 3.18-

3. 21 (m, 4H), 1. 64-1. 78 (m, 6H).

[0145] (S)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

[0146]

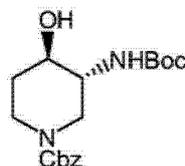


[0147] 根据方法 1, 采用各自 1eq (当量) 的 4-氯-3-硝基吡啶、(S)-3-N-Boc-氨基哌啶和二异丙基乙胺, 得到 (S)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (99%)。

LCMS(m/z): 323. 1 (MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 2. 13min.

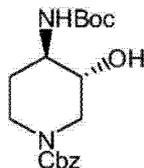
[0148] 反式 (+/-)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-羟基哌啶-1-甲酸苄酯的合成

[0149]



[0150] 反式 (+/-)-4-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基哌啶-1-甲酸苄酯的合成

[0151]

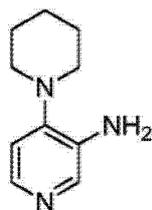


[0152] 将 (+/-)-7-氧杂-3-氮杂二环 [4. 1. 0] 庚烷-3-甲酸苄酯 (1. 0 当量) 在饱和氢氧化铵水溶液和乙醇 (1 : 1, 0. 05M 溶液) 中的溶液在密封的钢瓶中加热至 70°C 反应 5h。通过 N<sub>2</sub> 气流除去所有的挥发性物质后, 加入乙酸乙酯和水用于后处理。使粗制的区域异构体混合物 3-氨基-4-羟基哌啶-1-甲酸苄酯和 4-氨基-3-羟基哌啶-1-甲酸苄酯与 Boc<sub>2</sub>O (1. 0 当量) 和三乙胺 (1. 0 当量) 在二氯甲烷中 (0. 1M 溶液) 反应。在室温搅拌 2h 后, 将反应混合物用二氯甲烷萃取。极性的 (+/-)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-羟基哌啶-1-甲酸苄酯和非极性的 (+/-)-4-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基哌啶-1-甲酸苄酯通过快速柱色谱法得到 (20% -40% EtOAc 的己烷溶液, 各自为 28%、51%)。LCMS(m/z): 351. 1 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> = 0. 81min, LCMS(m/z): 351. 1 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> = 0. 83min。对映体纯的 (3S, 4S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-羟基哌啶-1-甲酸苄酯和 (3R, 4R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-羟基哌啶-1-甲酸苄酯通过手性 HPLC 拆分得到 (对于分析而言, R<sub>t</sub> 分别 = 6. 8min 和 9. 1min; 正庚烷 : 乙醇 = 70 : 30 (v : v), Chiralpak AD-H prep250 × 4. 6mm, 1mL/min。对于制备分离而言, 正庚烷 : 乙醇 = 80 : 20 (v : v), Chiralpak AS 50 × 500mm, 90mL/min)。

[0153] 方法 2

[0154] 4-(哌啶-1-基)吡啶-3-胺的合成

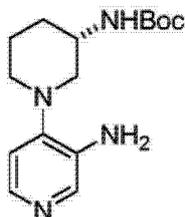
[0155]



[0156] 向 3-硝基-4-(哌啶-1-基)吡啶 (1.0 当量) 的乙醇溶液 (浓度为 0.1M) 中, 加入 10% 钨碳 (0.1eq.)。将得到的非均匀溶液置于氢气气氛下, 并搅拌 15 小时。此时将混合物通过硅藻土垫层过滤, 用甲醇洗脱。在真空中除去挥发物, 得到 4-(哌啶-1-基)吡啶-3-胺 (93%), 为油状物。LCMS(m/z): 178.0 (MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 1.68min. <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>): δ 8.01 (s, 1H), 7.96 (d, J = 5.4, 1H), 6.78 (d, J = 5.1, 1H), 3.64-3.74 (m, 2H), 2.86-2.94 (m, 4H), 1.66-1.78 (m, 4H), 1.58-1.64 (m, 2H)。

[0157] (S)-1-(3-氨基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

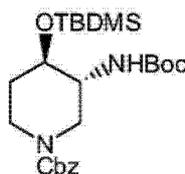
[0158]



[0159] 根据方法 2, 还原 (S)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯, 得到 (S)-1-(3-氨基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (78%)。LCMS(m/z): 293.1 (MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 2.08min.

[0160] (3R, 4R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-1-甲酸苄酯的合成

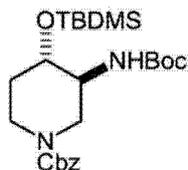
[0161]



[0162] 向 (3R, 4R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-羟基哌啶-1-甲酸苄酯 (1.0 当量) 的二氯甲烷溶液 (0.1M 溶液) 中依次加入咪唑 (1.1 当量)、DMAP (0.1 当量) 和 TBDMSCl (1.1 当量)。将反应混合物在室温搅拌 20h。用二氯甲烷后处理后, 将粗制的物质通过硅胶柱色谱法 (10% 至 20% EtOAc 的己烷溶液) 纯化, 得到 (3R, 4R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-1-甲酸苄酯 (76%)。LCMS(m/z): 365.2 [(M-Boc)H<sup>+</sup>]; LC R<sub>t</sub> = 6.05min.

[0163] (3S, 4S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-1-甲酸苄酯的合成

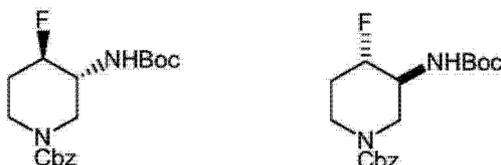
[0164]



[0165] 向 (3S, SR)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-羟基哌啶-1-甲酸苄酯 (1.0 当量) 的二氯甲烷溶液 (0.1M 溶液) 中依次加入咪唑 (1.1 当量)、DMAP (0.1 当量) 和 TBDMSCl (1.1 当量)。将反应混合物在室温搅拌 20h。用二氯甲烷后处理后, 将粗制的物质通过硅胶柱色谱法 (10% -20% EtOAc 的己烷溶液) 纯化, 得到 (3S, 4S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基) 哌啶-1-甲酸苄酯。LCMS (m/z): 365.2 [(M-Boc)H<sup>+</sup>]; LC R<sub>t</sub> = 6.05min.

[0166] (3R, 4R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-氟哌啶-1-甲酸苄酯和 (3S, 4S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-氟哌啶-1-甲酸苄酯的合成

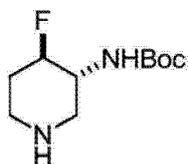
[0167]



[0168] 在 -78°C 向 (+/-)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-羟基哌啶-1-甲酸苄酯 (1.0 当量) 的二氯甲烷溶液 (0.3M 溶液) 中加入 DAST。将反应混合物缓慢升温至室温保持 15h。用饱和的碳酸氢钠水溶液猝灭后, 加入乙酸乙酯和水用于后处理。( +/-)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-氟哌啶-1-甲酸苄酯通过硅胶柱色谱法得到 (30% EtOAc 的己烷溶液, 40%)。LCMS (m/z): 253.1 [(M-Boc)H<sup>+</sup>]; LC R<sub>t</sub> = 4.08min。对映体纯的 (3R, 4R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-氟哌啶-1-甲酸苄酯和 (3S, 4S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-氟哌啶-1-甲酸苄酯通过手性 HPLC 拆分 (对于分析而言: R<sub>t</sub> 各自 = 9.4min 和 12.6min; 正庚烷: 异丙醇 = 90:10 (v:v), Chiralpak AS250x4.6mm, 1mL/min。对于制备分离, 正庚烷: 异丙醇 = 90:10 (v:v), Chiralpak AS50x500mm, 90mL/min)。

[0169] (3R, 4R)-4-氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

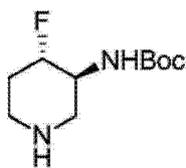
[0170]



[0171] 根据方法 2, 采用 (3R, 4R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-氟哌啶-1-甲酸苄酯 (1.0 当量), 得到粗制的 (3R, 4R)-4-氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (93%)。LCMS (m/z): 219.2 (MH<sup>+</sup>), LC R<sub>t</sub> = 0.45min.

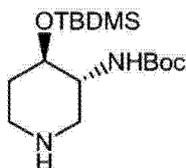
[0172] (3S, 4S)-4-氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

[0173]



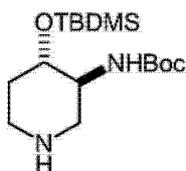
[0174] 根据方法 2, 采用 (3S, 4S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-氟哌啶-1-甲酸苄酯 (1.0 当量), 得到粗制的 (+/-)-4-氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (93%)。LCMS( $m/z$ ): 219.2( $MH^+$ ), LC  $R_t = 0.45$ min.

[0175] (3R, 4R)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成  
[0176]



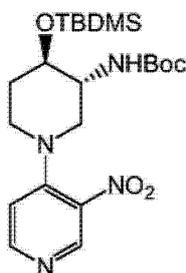
[0177] 根据方法 2, 采用 (3R, 4R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-1-甲酸苄酯 (1.0 当量), 得到粗制的 (3R, 4R)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (>99%)。LCMS( $m/z$ ): 331.3( $MH^+$ )。

[0178] (3R, 4R)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成  
[0179]



[0180] 根据方法 2, 采用 (3S, 4S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-1-甲酸苄酯 (1.0 当量), 得到粗制的 (3S, 4S)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (>99%)。LCMS( $m/z$ ): 331.3( $MH^+$ )。

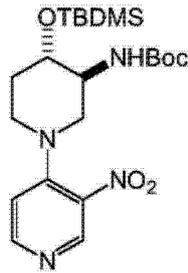
[0181] (3R, 4R)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成  
[0182]



[0183] 根据方法 1, 采用在 DMF 中的各自 1eq 的 4-氯-3-硝基吡啶、(3R, 4R)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯和三乙胺, 得到 (3R, 4R)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (98%)。LCMS( $m/z$ ): 453.3( $MH^+$ ); LC  $R_t = 4.01$ min.

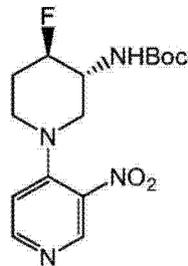
[0184] (3S, 4S)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

[0185]



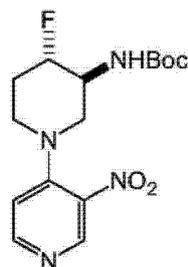
[0186] 根据方法 1, 采用在 DMF 中的各自 1eq 的 4-氯-3-硝基吡啶、(3S, 4S)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯和三乙胺, 得到 (3S, 4S)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (98%)。LCMS(m/z): 453.3(MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 4.01min.

[0187] (3R, 4R)-4-氟-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成  
[0188]



[0189] 根据实施例 1 的方法 1, 采用在乙醇中的各自 1eq 的 4-氯-3-硝基吡啶、(3R, 4R)-4-氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯和三乙胺, 得到 (3R, 4R)-4-氟-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (91%)。LCMS(m/z): 341.0(MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 2.37min.

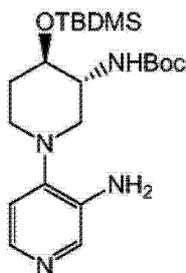
[0190] (3S, 4S)-4-氟-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成  
[0191]



[0192] 根据实施例 1 的方法 1, 采用在乙醇中的各自 1eq 的 4-氯-3-硝基吡啶、(3S, 4S)-4-氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯和三乙胺, 得到 (3S, 4S)-4-氟-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (91%)。LCMS(m/z): 341.0(MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 2.37min.

[0193] (3R, 4R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

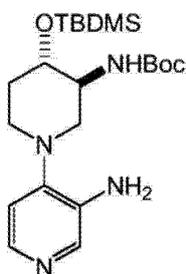
[0194]



[0195] 根据方法 2, 将 (3R, 4R)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的乙醇和乙酸乙酯溶液 (1:1, 0.1M 溶液) 还原, 得到 (3R, 4R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (>99%)。LCMS(m/z):423.2(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 3.78min.

[0196] (3S, 4S)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

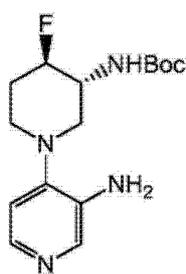
[0197]



[0198] 根据方法 2, 将 (3R, 4R)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的乙醇和乙酸乙酯溶液 (1:1, 0.1M 溶液) 还原, 得到 (3R, 4R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (>99%)。LCMS(m/z):423.2(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 3.78min.

[0199] (3R, 4R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-4-氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

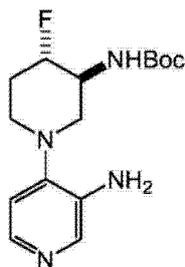
[0200]



[0201] 根据方法 2, 将 (3R, 4R)-4-氟-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的乙醇和乙酸乙酯溶液 (1:1, 0.1M 溶液) 还原, 得到 (3R, 4R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-4-氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (>99%)。LCMS(m/z):311.2(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 2.14min.

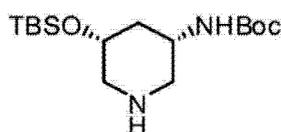
[0202] (3S, 4S)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-4-氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

[0203]



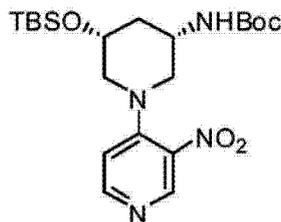
[0204] 根据方法 2, 将 (3S, 4S)-4-氟-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的乙醇和乙酸乙酯溶液 (1:1, 0.1M 溶液) 还原, 得到 (3R, 4R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-4-氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (>99%)。LCMS(m/z):311.2(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 2.14min.

[0205] (3S, 5R)-5-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成  
[0206]



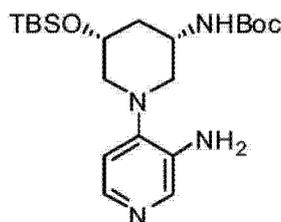
[0207] 根据 Y, Zhou;W02005028467 所述的专利方法制备 (3S, 5R)-5-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。

[0208] (3S, 5R)-5-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成  
[0209]



[0210] 根据方法 1, 采用 (3S, 5R)-5-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯, 得到 (3S, 5R)-5-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LC/MS(m/z):453.2(MH<sup>+</sup>).

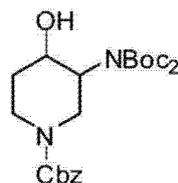
[0211] (3S, 5R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成  
[0212]



[0213] 根据方法 2, 采用 (3S, 5R)-5-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯, 得到 (3S, 5R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LC/MS(m/z):423.2(MH<sup>+</sup>).

[0214] 反式 (+/-)-3-(双(叔丁氧基羰基)氨基)-4-羟基哌啶-1-甲酸苄酯的合成

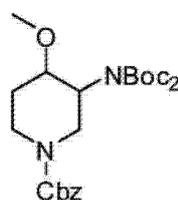
[0215]



[0216] 向反式 (+/-)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-羟基哌啶-1-甲酸苄酯 (1.0 当量) 的 DCM 和 CH<sub>3</sub>CN 溶液 (1:1, 0.14M) 中加入 BOC<sub>2</sub>O (1.0 当量)、三乙胺 (1.5 当量) 和 DMAP (催化量)。将反应物在室温搅拌 15h, 此后将溶液浓缩并经硅胶柱色谱法用 EtOAc 和 己烷 (1:6) 洗脱进行纯化, 得到所需的产物, 为白色泡沫状物。LCMS (m/z): 451.1 (MH<sup>+</sup>)。

[0217] 反式 (+/-)-3-(双(叔丁氧基羰基)氨基)-4-甲氧基哌啶-1-甲酸苄酯的合成

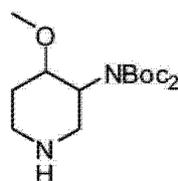
[0218]



[0219] 向 NaH (1.3 当量) 的 THF 溶液 (0.1M) 中加入 3-(双(叔丁氧基羰基)氨基)-4-羟基哌啶-1-甲酸苄酯 (1.0 当量), 并将反应物加热至 50°C 反应 10min。冷却至室温, 加入 MeI (1.5 当量), 并将溶液搅拌 16h。用水猝灭反应, 然后用 EtOAc 萃取, 将有机物用盐水和 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 并浓缩。将粗制的物质经硅胶柱色谱法用 EtOAc 和 己烷 (1:3) 洗脱进行纯化, 得到澄清的油状物, 71% 收率。LCMS (m/z): 365.0 (MH<sup>+</sup>)。

[0220] 反式 (+/-)-3-(双(叔丁氧基羰基)氨基)-4-甲氧基哌啶的合成

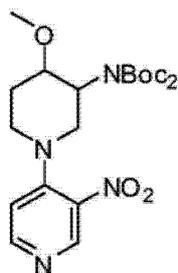
[0221]



[0222] 根据方法 2, 采用反式 (+/-)-3-(双(叔丁氧基羰基)氨基)-4-甲氧基哌啶-1-甲酸苄酯 (1.0 当量), 得到粗制的反式 (+/-)-3-(双(叔丁氧基羰基)氨基)-4-甲氧基哌啶, 其没有进一步纯化即用于下一步骤。LCMS (m/z): 331.2 (MH<sup>+</sup>)

[0223] 反式 (+/-)-N,N'-二-BOC-4-甲氧基-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-胺的合成

[0224]



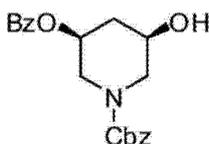
[0225] 根据方法 1, 采用反式 (+/-)-3-(双(叔丁氧基羰基)氨基)-4-甲氧基哌啶 (1.0



烷基氧基)-5-羟基哌啶-1-甲酸苄酯(1.0当量)的11mL THF溶液,并在0℃搅拌20分钟。然后加入苯甲酸(1.2当量),并将反应混合物缓慢升至rt。16小时后,将反应混合物在真空中浓缩,然后用EtOAc稀释,并用水洗涤,然后用盐水洗涤。将有机层用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法(EtOAc:己烷=1:8)纯化,得到(3S,5R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-(叔丁基-二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-1-甲酸苄酯(77%)。LC/MS(m/z):470.2(MH<sup>+</sup>),HPLC R<sub>t</sub> = 6.05min.

[0238] (3S,5R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-羟基哌啶-1-甲酸苄酯的合成

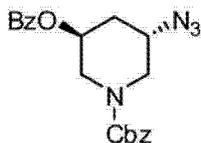
[0239]



[0240] 向(3S,5R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-(叔丁基-二甲基甲硅烷基氧基)-哌啶-1-甲酸苄酯(1eq)的30mL甲醇溶液中加入3.8M HCl的异丙醇溶液(4eq)。将反应混合物在室温置放3小时,然后将其减压浓缩。将得到的残留物用120mL EtOAc稀释,用饱和的碳酸氢钠水溶液、盐水洗涤,然后用无水MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法(EtOAc:己烷=1:1)纯化,得到(3S,5R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-羟基哌啶-1-甲酸苄酯(95%)。LC/MS(m/z):355.9(MH<sup>+</sup>). HPLC:R<sub>t</sub>:3.62min.

[0241] (3S,5S)-3-叠氨基-5-(苯甲酰基氧基)哌啶-1-甲酸苄酯的合成

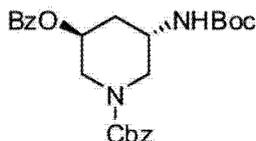
[0242]



[0243] 在0℃,向(3S,5R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-羟基哌啶-1-甲酸苄酯(1eq)的20mL二氯甲烷溶液中加入三乙胺(3eq)和甲磺酰氯(1.5eq)。将反应混合物在室温搅拌2小时。将粗制的混合物用120mL EtOAc稀释,用饱和碳酸氢钠水溶液、盐水洗涤,然后用无水MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物溶解在25mL NMP中。加入叠氮化钠(2.2eq),将得到的混悬液在80℃搅拌过夜。将反应混合物用200mL EtOAc和100mL己烷稀释,用水、盐水洗涤,然后用无水MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法(EtOAc:己烷=1:2)纯化,得到(3S,5S)-3-叠氨基-5-(苯甲酰基氧基)哌啶-1-甲酸苄酯(88%)。LC/MS(m/z):381.0(MH<sup>+</sup>). HPLC:R<sub>t</sub>:4.41min.

[0244] (3S,5S)-3-(苯甲酰基氧基)-5-(叔丁氧基羰基氨基)哌啶-1-甲酸苄酯的合成

[0245]

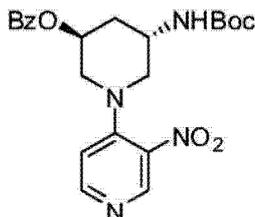


[0246] 在室温向(3S,5S)-3-叠氨基-5-(苯甲酰基氧基)哌啶-1-甲酸苄酯(1eq)在14mL吡啶和2mL氢氧化铵混合物中的溶液中,加入1M三甲基膦(3eq)。将反应混合物在室温搅拌3小时,然后在减压条件下除去溶剂,得到黄色油状物。将该油状物再溶解在100mL

乙醇中,并浓缩以完全除去氢氧化铵。将残留物溶解在 24mL 1,4-二氧六环中,加入 24mL 饱和的  $\text{NaHCO}_3$  水溶液。在  $0^\circ\text{C}$  滴加加入在 12mL THF 中的二碳酸二叔丁酯 (4eq)。将混合物在室温搅拌 2 小时。将粗制的混合物用 200mL EtOAc 稀释,用盐水洗涤,然后用无水  $\text{MgSO}_4$  干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc:己烷 = 1:2) 纯化,得到 (3S,5S)-3-(苯甲酰基氧基)-5-(叔丁氧基羰基氨基)-哌啶-1-甲酸苄酯 (92%)。LC/MS(m/z):455.1 ( $\text{MH}^+$ )。HPLC: $R_t$ :4.38min.

[0247] 苯甲酸 (3S,5S)-5-(叔丁氧基羰基氨基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)-哌啶-3-基酯的合成

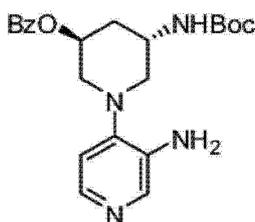
[0248]



[0249] 向 (3S,5S)-3-(苯甲酰基氧基)-5-(叔丁氧基羰基氨基)-哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 的 15 甲醇和 15mL EtOAc 溶液中加入 10% Pd/C (0.1eq)。将得到的混悬液在  $\text{H}_2$  气氛下搅拌 4 小时。将粗制的固体通过内衬在布氏漏斗中的纸上的硅藻土垫层过滤,用 MeOH 洗涤,然后在真空中浓缩。将残留物溶解在 20mL 异丙醇和 DIPEA (1.8eq) 中,加入 4-氯-3-硝基吡啶 (1.2eq)。将反应混合物在  $75^\circ\text{C}$  搅拌 2 小时,此时将反应混合物冷却至室温并在减压下浓缩。将残留物用 150mL EtOAc 稀释,用盐水洗涤,然后用无水  $\text{MgSO}_4$  干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc:己烷 = 1:1) 纯化,得到苯甲酸 (3S,5S)-5-(叔丁氧基羰基氨基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)-哌啶-3-基酯 (90%)。LC/MS(m/z):443.2 ( $\text{MH}^+$ )。HPLC: $R_t$ :2.89min.

[0250] 苯甲酸 (3S,5S)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-(叔丁氧基羰基氨基)哌啶-3-基酯的合成

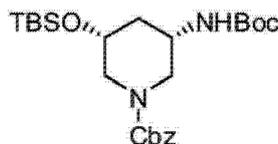
[0251]



[0252] 根据方法 2,将苯甲酸 (3S,5S)-5-(叔丁氧基羰基氨基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)-哌啶-3-基酯还原,得到苯甲酸 (3S,5S)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-(叔丁氧基羰基氨基)哌啶-3-基酯。LC/MS(m/z):413.1 ( $\text{MH}^+$ )。HPLC: $R_t$ :2.75min.

[0253] (3S,5R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-1-甲酸苄酯的合成

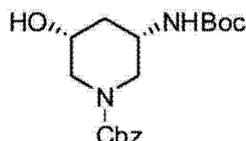
[0254]



[0255] 根据合成 (3S, 5S)-3-(苯甲酰基氧基)-5-(叔丁氧基羰基氨基)-哌啶-1-甲酸苄酯的方法, 以 (3R, 5R)-3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-羟基哌啶-1-甲酸苄酯为原料进行合成。LC/MS(m/z): 365.2 (MH<sup>+</sup>-Boc), Rt: 1.37.

[0256] (3S, 5R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-羟基哌啶-1-甲酸苄酯的合成

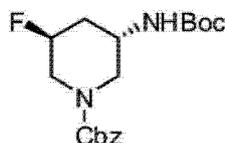
[0257]



[0258] 向 (3S, 5R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 的 30mL THF 溶液中加入 5.2mL TBAF (1.2eq)。将反应混合物在室温搅拌 2 小时。将混合物用乙酸乙酯稀释, 用盐水洗涤, 然后用无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (5% 甲醇的 EtOAc 溶液: 己烷 = 1:1) 纯化, 得到 (3S, 5R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-羟基哌啶-1-甲酸苄酯 (100%)。LC/MS(m/z): 251.2 (MH<sup>+</sup>), Rt: 0.89. HPLC: Rt: 3.26min.

[0259] (3S, 5S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-氟哌啶-1-甲酸苄酯的合成

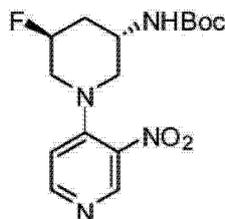
[0260]



[0261] 向 (3S, 5R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-羟基哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 的 5mL 二氯甲烷溶液中加入 DAST (1.35eq)。将反应混合物在室温搅拌 2 小时。将混合物用 120mL 乙酸乙酯稀释, 用盐水洗涤, 然后用无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc: 己烷 = 1:3) 纯化, 得到 (3S, 5S)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (30%)。LC/MS(m/z): 253.1 (MH<sup>+</sup>-100), Rt = 0.96min. HPLC: Rt: 3.79min.

[0262] (3S, 5S)-5-氟-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

[0263]



[0264] 向 (3S, 5S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-氟哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 的 5 甲醇和 5mL EtOAc 溶液中加入 10% Pd/C (0.1eq)。将得到的混悬液在 H<sub>2</sub> 气氛下搅拌 4 小时。将粗制的固体通过内衬在布氏漏斗中的纸上的硅藻土垫层过滤, 用 MeOH 洗涤, 然后在真空中浓

缩。将残留物溶解在 5mL 异丙醇中, 并加入 DIPEA (1.8eq) 和 4-氯-3-硝基吡啶 (1.5eq)。将反应混合物在 65°C 搅拌 3 小时, 此时将反应混合物冷却至室温并在减压下浓缩。将残留物用 120mL EtOAc 稀释, 用盐水洗涤, 然后用无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc : 己烷 = 1 : 1) 纯化, 得到 (3S, 5S)-5-氟-1-(3-硝基吡啶-4-基) 哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (78%)。LC/MS(m/z) : 341.1 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> = 0.57min. HPLC: R<sub>t</sub> : 2.01min.

[0265] (3S, 5S)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

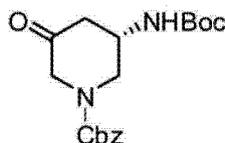
[0266]



[0267] 根据方法 2, 将 (3S, 5S)-5-氟-1-(3-硝基吡啶-4-基) 哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯还原, 得到 (3S, 5S)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LC/MS(m/z) : 311.1 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> = 0.54min. HPLC: R<sub>t</sub> : 1.76min.

[0268] (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-氧代哌啶-1-甲酸苄酯的合成

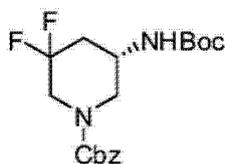
[0269]



[0270] 在室温下向 (3S, 5R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-羟基哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 的 10mL 二氯甲烷溶液中加入 Dess-Martin 高碘化物 (periodinane) (1.2eq)。将反应混合物在该温度搅拌过夜。将混合物用乙酸乙酯稀释, 用盐水洗涤, 然后用无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc : 己烷 = 1 : 2) 纯化, 得到 (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-氧代哌啶-1-甲酸苄酯 (81%)。LC/MS(m/z) : 249.1 (MH<sup>+</sup>-100), R<sub>t</sub> : 0.83min. HPLC: R<sub>t</sub> : 3.26min.

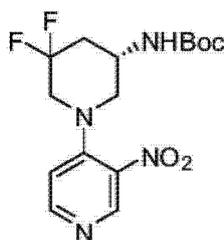
[0271] 5-(叔丁氧基羰基氨基)-3,3-二氟哌啶-1-甲酸酯的合成

[0272]



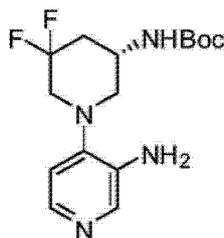
[0273] 向 (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-氧代哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 的 25mL 二氯甲烷溶液中加入 DAST (20eq)。将反应混合物在室温搅拌 3 小时。用碳酸氢钠水溶液猝灭反应。将得到的混合物用乙酸乙酯萃取。分离有机层, 并用盐水洗涤, 然后用无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc : 己烷 = 1 : 2) 纯化, 得到 5-(叔丁氧基羰基氨基)-3,3-二氟哌啶-1-甲酸酯 (52%)。LC/MS(m/z) : 271.1 (-Boc), R<sub>t</sub> : 0.99min.

[0274] (S)-5,5-二氟-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成  
[0275]



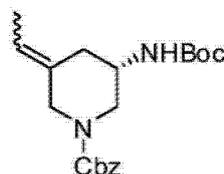
[0276] 向 5-(叔丁氧基羰基氨基)-3,3-二氟哌啶-1-甲酸酯 (1eq) 的 5mL 甲醇和 5mL EtOAc 溶液中加入 10% Pd/C (0.1eq)。将得到的混悬液在 H<sub>2</sub> 气氛下搅拌过夜。将粗制的固体通过内衬在布氏漏斗中的纸上的硅藻土垫层过滤,用 MeOH 洗涤,然后在真空中浓缩。将残留物溶解在 5mL 异丙醇中,并加入 DIPEA (2.0eq) 和 4-氯-3-硝基吡啶 (1.5eq)。将反应混合物在 70℃ 搅拌 3 小时,此时将反应混合物冷却至室温并在减压下浓缩。将残留物用 120mL EtOAc 稀释,用盐水洗涤,然后用无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (5% 甲醇的 EtOAc 溶液:己烷=1:1) 纯化,得到 (S)-5,5-二氟-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (19%)。LC/MS (m/z): 359.0 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub>: 0.65min.

[0277] (S)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5,5-二氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成  
[0278]



[0279] 根据方法 2, 将 (S)-5,5-二氟-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯还原, 得到 (S)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5,5-二氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LC/MS (m/z): 329.0 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub>: 0.62min.

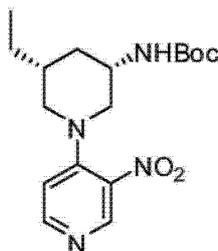
[0280] (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-乙亚基哌啶-1-甲酸苄酯的合成  
[0281]



[0282] 在室温向溴化乙基三苯基~~磷~~ (11eq) 的 14mL THF 混悬液中加入叔丁醇钾 (10eq)。将反应混合物在该温度下搅拌 20 分钟。然后将反应物冷却至 0℃, 并将 (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-氧代哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 的 7mL THF 溶液加至反应混合物中。使反应升至室温。搅拌 40 分钟后, 将反应混合物倒入碳酸氢钠水溶液中, 并用乙酸乙酯萃取。分离有机层, 并用盐水洗涤, 然后用无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc:己烷=2:1) 纯化, 得到 (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-乙亚基哌啶-1-甲酸苄酯。LC/MS (m/z): 261.2 (MH<sup>+</sup>-100), R<sub>t</sub>: 1.12min. HPLC: R<sub>t</sub>: 4.31min.

[0283] (3S,5R)-5-乙基-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

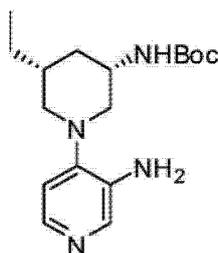
[0284]



[0285] 向 (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-乙基哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 的 5.5mL 乙醇和 5.5mL EtOAc 溶液中加入 10% Pd/C (0.1eq)。将得到的混悬液在 H<sub>2</sub> 气氛下搅拌 45 分钟。将粗制的固体通过内衬在布氏漏斗中的纸上的硅藻土垫层过滤,用 MeOH 洗涤,然后在真空中浓缩。将残留物溶解在 1.4mL 异丙醇中,并加入 DIPEA (2.5eq) 和 4-氯-3-硝基吡啶 (1.5eq)。将反应混合物在 80℃ 搅拌过夜,此时将反应混合物冷却至室温并在减压下浓缩。将残留物用 120mL EtOAc 稀释,用盐水洗涤,然后用无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc : 己烷 = 1 : 1) 纯化,得到 (3S, 5R)-5-乙基-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (91%)。LC/MS (m/z) : 351.2 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> : 0.75min.

[0286] (3S, 5R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-乙基哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

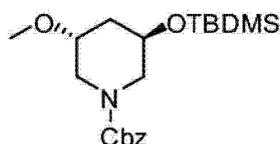
[0287]



[0288] 根据方法 2, 将 (3S, 5R)-5-乙基-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯还原, 得到 (3S, 5R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-乙基哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LC/MS (m/z) : 321.2 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> : 0.73min. HPLC: R<sub>t</sub> : 2.65min.

[0289] (3R, 5R)-3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-甲氧基哌啶-1-甲酸苄酯的合成

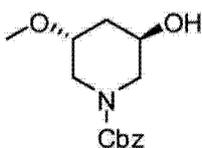
[0290]



[0291] 在 0℃ 向 (3R, 5R)-3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-羟基哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 的 30mL THF 溶液中加入氢化钠 (1.5eq), 随后加入碘甲烷 (5eq)。将反应混合物在室温搅拌 3 小时。将粗制的混合物用 120mL EtOAc 稀释, 用盐水洗涤, 然后用无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc : 己烷 = 1 : 5) 纯化, 得到 (3R, 5R)-3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-甲氧基哌啶-1-甲酸苄酯 (93%)。LC/MS (m/z) : 380.2 (MH<sup>+</sup>) .

[0292] (3R, 5R)-3-羟基-5-甲氧基哌啶-1-甲酸苄酯的合成

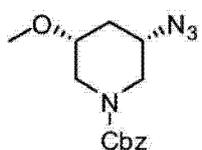
[0293]



[0294] 向 (3R, 5R)-3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-甲氧基哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 的 30mL 甲醇溶液中加入 3.8M HCl 的异丙醇溶液 (4eq)。使反应混合物在室温置放 3 小时, 此时将其在减压下浓缩。将得到的残留物用 100mL EtOAc 稀释, 用饱和碳酸氢钠水溶液、盐水洗涤, 然后用无水  $MgSO_4$  干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc : 己烷 = 2 : 1) 纯化, 得到 (3R, 5R)-3-羟基-5-甲氧基哌啶-1-甲酸苄酯 (92%)。LC/MS (m/z) : 266.2 ( $MH^+$ )。

[0295] (3S, 5R)-3-叠氮基-5-甲氧基哌啶-1-甲酸苄酯的合成

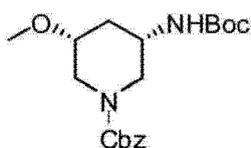
[0296]



[0297] 在 0°C 向 (3R, 5R)-3-羟基-5-甲氧基哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 的 40mL 二氯甲烷溶液中加入三乙胺 (3eq) 和甲磺酰氯 (1.5eq)。将反应混合物在室温搅拌 2 小时。将粗制的混合物用 150mL EtOAc 稀释, 用饱和碳酸氢钠水溶液、盐水洗涤, 然后用无水  $MgSO_4$  干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc : 己烷 = 1 : 1) 纯化, 得到中间体, 将其溶解在 15mL DMF 中。加入叠氮化钠 (3.3eq), 并将得到的混悬液在 80°C 搅拌过夜。将反应混合物用 150mL EtOAc 稀释, 用水、盐水洗涤, 然后用无水  $MgSO_4$  干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc : 己烷 = 1 : 2) 纯化, 得到 (3S, 5R)-3-叠氮基-5-甲氧基哌啶-1-甲酸苄酯 (95%)。LC/MS (m/z) : 263.2 ( $MH^+$ -28)。

[0298] (3S, 5R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-甲氧基哌啶-1-甲酸苄酯的合成

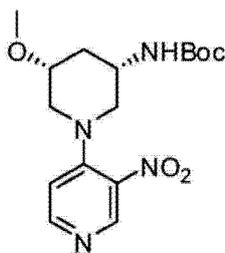
[0299]



[0300] 在室温向 (3S, 5R)-3-叠氮基-5-甲氧基哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 在 14mL 吡啶和 2mL 氢氧化铵混合物中的溶液中加入 1M 三甲基膦 (3eq)。将反应混合物在室温搅拌 4 小时, 此时在减压条件下除去溶剂, 得到黄色油状物。将油状物再溶解在 100mL 乙醇中, 并浓缩以完全除去氢氧化铵。将残留物溶解在 16mL 1,4-二氧六环中, 并加入 16mL 饱和  $NaHCO_3$  水溶液。在 0°C 滴加加入二碳酸二叔丁酯 (4eq) 的 8mL THF 溶液。将混合物在室温搅拌 2 小时。将粗制的混合物用 300mL EtOAc 稀释, 用盐水洗涤, 然后用无水  $MgSO_4$  干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc : 己烷 = 1 : 1) 纯化, 得到 (3S, 5R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-甲氧基哌啶-1-甲酸苄酯 (86%)。LC/MS (m/z) : 365.0 ( $MH^+$ )。

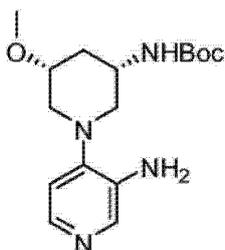
[0301] (3S, 5R)-5-甲氧基-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

[0302]



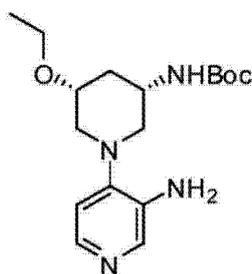
[0303] 向 (3S, 5R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-甲氧基哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 的 25 甲醇溶液中加入 10% Pd/C (0.1eq)。将得到的混悬液在  $H_2$  气氛下搅拌 2 小时。将粗制的固体通过内衬在布氏漏斗中的纸上的硅藻土垫层过滤, 用 MeOH 洗涤, 然后在真空中浓缩。将残留物溶解在 25mL 异丙醇中, 并加入 DIEA (1.8eq) 和 4-氯-3-硝基吡啶 (1.2eq)。将反应混合物在  $80^\circ C$  搅拌 4 小时, 此时将反应混合物冷却至室温并在减压下浓缩。将残留物用 150mL EtOAc 稀释, 用盐水洗涤, 然后用无水  $MgSO_4$  干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (5% 甲醇的 EtOAc 溶液: 己烷 = 1:1) 纯化, 得到 (3S, 5R)-5-甲氧基-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸酯 (88%)。LC/MS (m/z): 353.0 ( $MH^+$ )。HPLC:  $R_t$ : 2.15min.

[0304] (3S, 5R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-甲氧基哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成  
[0305]



[0306] 根据方法 2, 将 (3S, 5R)-5-甲氧基-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯还原, 得到 (3S, 5R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-甲氧基哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LC/MS (m/z): 323.1 ( $MH^+$ )。

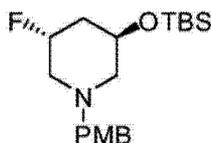
[0307] (3S, 5R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-乙氧基哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成  
[0308]



[0309] 制备该化合物的方法与制备甲氧基化合物的相同。LC/MS (m/z): 337.1 ( $MH^+$ ),  $R_t$ : 0.63min. HPLC:  $R_t$ : 2.47min.

[0310] (3R, 5R)-3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-氟-1-(4-甲氧基苄基)哌啶的合成

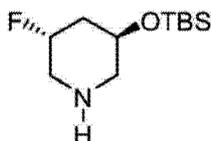
[0311]



[0312] 根据 Cossy, J. Synlett, 2007, 263 所述的文献方法制备 (3R, 5R)-3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-氟-1-(4-甲氧基苄基)哌啶。

[0313] (3R, 5R)-3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-氟哌啶的合成

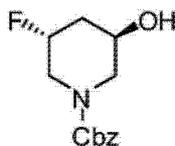
[0314]



[0315] 向 (3R, 5R)-3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-氟-1-(4-甲氧基苄基)哌啶 (1eq) 的 5mL 甲醇溶液中加入 10% Pd/C(0.2eq)。将得到的混悬液在  $H_2$  气氛下搅拌过夜。将粗制的固体通过内衬在布氏漏斗中的纸上的硅藻土垫层过滤, 用 MeOH 洗涤, 然后在真空中浓缩, 得到 (3R, 5R)-3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-氟哌啶, 其没有进一步纯化即用于下一步骤。LC/MS(m/z): 234.1 ( $MH^+$ )。

[0316] (3R, 5R)-3-氟-5-羟基哌啶-1-甲酸苄酯的合成

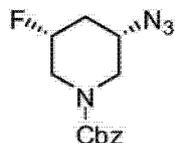
[0317]



[0318] 向 (3R, 5R)-3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-氟哌啶 (1eq) 的 30mL 甲醇溶液中加入 3.8M HCl 的异丙醇溶液 (4eq)。使反应混合物在室温置放 3 小时, 此时将其在减压下浓缩。将得到的残留物用 120mL EtOAc 稀释, 用饱和碳酸氢钠水溶液、盐水洗涤, 然后用无水  $MgSO_4$  干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc: 己烷 = 2:1) 纯化, 得到 (3R, 5R)-3-氟-5-羟基哌啶-1-甲酸苄酯 (94%)。LC/MS(m/z): 254.2 ( $MH^+$ )。

[0319] (3S, 5R)-3-叠氨基-5-氟哌啶-1-甲酸苄酯的合成

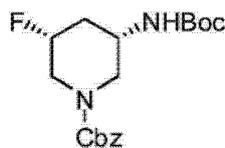
[0320]



[0321] 在  $0^\circ C$  向 (3R, 5R)-3-氟-5-羟基哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 的 14mL 二氯甲烷溶液中加入三乙胺 (3eq) 和甲磺酰氯 (1.5eq)。将反应混合物在室温搅拌 1.5 小时。将粗制的混合物用 120mL 乙醚稀释, 用饱和碳酸氢钠水溶液、盐水洗涤, 然后用无水  $MgSO_4$  干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物溶解在 16mL NMP 中。加入叠氮化钠 (3.0eq), 并将得到的混悬液在  $80^\circ C$  搅拌过夜。将反应混合物用 200mL EtOAc 和 100mL 己烷稀释, 用水、盐水洗涤, 然后用无水  $MgSO_4$  干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc: 己烷 = 1:3) 纯化, 得到 (3S, 5R)-3-叠氨基-5-氟哌啶-1-甲酸苄酯 (90%)。LC/MS(m/z): 251.1 ( $MH^+-28$ )。

## [0322] (3S, 5R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-氟哌啶-1-甲酸苄酯的合成

[0323]



[0324] 在室温向 (3S, 5R)-3-叠氮基-5-氟哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 在 11mL 吡啶和 1.5mL 氢氧化铵的混合物中的溶液中加入 1M 三甲基膦 (3eq)。将反应混合物在室温搅拌 3 小时, 此时在减压条件下除去溶剂, 得到黄色油状物。将该油状物再溶解在 100mL 乙醇中, 并浓缩以完全除去氢氧化铵。将残留物溶解在 12mL 1,4-二氧六环中, 并加入 12mL 饱和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液。在  $0^\circ\text{C}$  滴加加入二碳酸二叔丁酯 (4eq) 的 6mL THF 溶液。将混合物在室温搅拌 1 小时。将粗制的混合物用 150mL EtOAc 稀释, 用盐水洗涤, 然后用无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc : 己烷 = 1 : 1) 纯化, 得到 (3S, 5R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-氟哌啶-1-甲酸苄酯 (95%)。LC/MS (m/z) : 253.1 ( $\text{MH}^+$ -100)。

## [0325] (3S, 5R)-5-氟-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

[0326]



[0327] 向 (3S, 5R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-氟哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq) 的 28 甲醇溶液中加入 10% Pd/C (0.1eq)。将得到的混悬液在  $\text{H}_2$  气氛下搅拌 1 小时。将粗制的固体通过内衬在布氏漏斗中的纸上的硅藻土垫层过滤, 用 MeOH 洗涤, 然后在真空中浓缩。将残留物溶解在 33mL 异丙醇中, 加入 DIPEA (2.5eq) 和 4-氯-3-硝基吡啶 (1.5eq)。将反应混合物在  $80^\circ\text{C}$  搅拌 2 小时, 此时将反应混合物冷却至室温并在减压下浓缩。将残留物用 150mL EtOAc 稀释, 用盐水洗涤, 然后用无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (5% 甲醇的 EtOAc 溶液 : 己烷 = 1 : 1) 纯化, 得到 (3S, 5R)-5-氟-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (90%)。LC/MS (m/z) : 341.1 ( $\text{MH}^+$ )。HPLC:  $R_t$ : 2.12min。

## [0328] (3S, 5R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

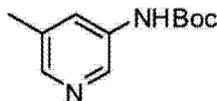
[0329]



[0330] 根据方法 2, 将 (3S, 5R)-5-氟-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯还原, 得到 (3S, 5R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-氟哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LC/MS (m/z) : 311.1 ( $\text{MH}^+$ )。

## [0331] 5-甲基吡啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

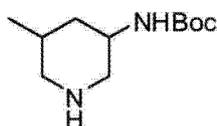
[0332]



[0333] 在 r. t. 向 5-甲基吡啶-3-胺 (5g, 46mmol) 的 THF (80mL) 溶液中加入 1M 双(三甲基甲硅烷基氨基)钠的 THF 溶液 (101mL, 101mmol), 搅拌 15min, 随后加入二碳酸二叔丁酯 (11g, 49mmol) 的 THF (20mL) 溶液。将反应物在 r. t. 搅拌过夜并浓缩。将浓缩物用 0.2M HCl (60mL) 和 EtOAc 处理, 将有机层萃取, 用 NaHCO<sub>3</sub>(饱和的) 和盐水洗涤, 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并浓缩。将浓缩物采用快速硅胶色谱法 (40% EtOAc : 己烷) 纯化, 得到为黄色固体的产物 5-甲基吡啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (8.5g, 88% 收率)。LCMS (m/z) : 209.1 (MH<sup>+</sup>) ; LC R<sub>t</sub> = 1.94min. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.20 (d, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 2.33 (s, 3H), 1.53 (s, 9H).

[0334] 顺式-(+/-)-5-甲基哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

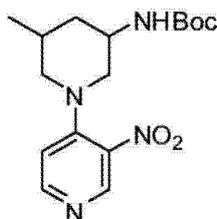
[0335]



[0336] 在氢化用钢瓶中向 5-甲基吡啶-3-基氨基甲酸酯 (3g, 14mmol) 的冰醋酸 (50mL) 溶液中加入 5% 在活性炭上的铑 (0.5g) 和氧化铂 (IV) (0.5g)。将混合物密封, 并在 200psi 和 70°C 下氢化 48 小时。将混合物通过硅藻土过滤并浓缩, 得到顺式-(+/-)-5-甲基哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LCMS (m/z) : 215.1 (MH<sup>+</sup>).

[0337] 顺式-(+/-)-5-甲基-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

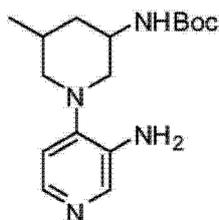
[0338]



[0339] 根据方法 1, 采用粗制的顺式-(+/-)-5-甲基哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯, 得到顺式-(+/-)-5-甲基-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (66% 收率)。LCMS (m/z) : 337.1 (MH<sup>+</sup>) ; LC R<sub>t</sub> = 2.50min. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.84 (s, 1H), 8.36 (d, 1H), 7.04 (m, 1H), 4.44 (m, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.71 (m, 1H), 3.09 (d, 1H), 2.66 (q, 2H), 2.10 (d, 1H), 1.84 (m, 1H), 1.56 (s, 9H), 0.93 (d, 3H).

[0340] 顺式-(+/-)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-甲基哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

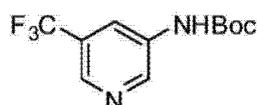
[0341]



[0342] 根据方法 2, 采用顺式-(+/-)-5-甲基-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯, 得到顺式-(+/-)-5-甲基-1-(3-氨基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (98% 收率)。LCMS(m/z): 307.1(MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 2.44min. <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 8.01(s, 1H), 7.95(d, 1H), 6.76(d, 1H), 4.40(m, 1H), 3.70(m, 3H), 3.58(dq, 1H), 3.21(dq, 1H), 2.15(m, 3H), 1.90(m, 1H), 1.58(s, 9H), 0.97(d, 3H).

[0343] 5-(三氟甲基)吡啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

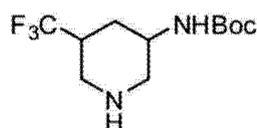
[0344]



[0345] 在室温, 向 5-三氟甲基吡啶-3-胺 (1eq.) 的 THF (80mL) 溶液中加入 1M 双(三甲基硅烷基氨基)钠的 THF 溶液 (2eq.), 搅拌 15min, 随后加入在 THF 中的二碳酸二叔丁酯 (1eq.)。将反应物在室温搅拌过夜并浓缩。将浓缩物用 0.2M HCl 水溶液和 EtOAc 处理, 将有机层萃取, 用 NaHCO<sub>3</sub>(饱和的) 和盐水洗涤, 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并浓缩。将浓缩物采用快速硅胶色谱法 (40% EtOAc:己烷) 纯化, 得到为黄色固体的产物 5-(三氟甲基)吡啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (31% 收率)。LCMS(m/z): 263.0(MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 3.84min. <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 8.56(m, 2H), 8.34(s, 1H), 6.71(s, 1H), 1.55(s, 9H).

[0346] 顺式-(+/-)-5-(三氟甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

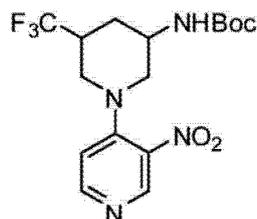
[0347]



[0348] 在氢化用钢瓶中向 5-(三氟甲基)吡啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (3g, 14mmol) 的冰醋酸 (50mL) 溶液中加入 5% 在活性炭上的铑 (0.5g) 和氧化铂 (IV) (0.5g)。将混合物密封, 并在 200psi 和 70°C 下氢化 48h。将混合物通过硅藻土过滤并浓缩, 得到顺式-(+/-)-5-(三氟甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LCMS(m/z): 269.1(MH<sup>+</sup>).

[0349] 顺式-(+/-)-1-(3-硝基吡啶-4-基)-5-(三氟甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

[0350]

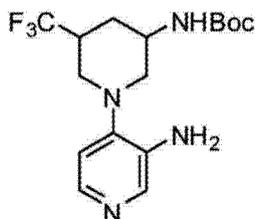


[0351] 根据方法 1, 采用粗制的顺式-(+/-)-5-(三氟甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁

酯,得到顺式-(+/-)-1-(3-硝基吡啶-4-基)-5-(三氟甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯(42%收率,两步)。LCMS(m/z):391.1(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 2.92min. <sup>1</sup>HNMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 8.93(s, 1H), 8.47(d, 1H), 7.01(d, 1H), 4.50(m, 1H), 3.80(m, 2H), 3.45(m, 1H), 3.00(t, 1H), 2.66(m, 1H), 2.63(m, 1H), 2.38(d, 1H), 1.56(s, 9H)。

[0352] 顺式-(+/-)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-(三氟甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

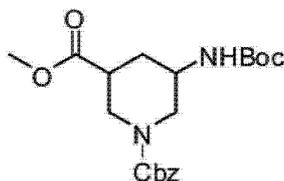
[0353]



[0354] 根据方法2,采用顺式-(+/-)-1-(3-硝基吡啶-4-基)-5-(三氟甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯,得到顺式-(+/-)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-(三氟甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LCMS(m/z):361.0(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 2.72min. <sup>1</sup>HNMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 8.05(s, 1H), 7.98(d, 1H), 6.79(d, 1H), 4.46(m, 1H), 3.83(m, 1H), 3.72(s, 2H), 3.62(m, 1H), 3.49(m, 1H), 2.59(m, 2H), 2.36(m, 1H), 2.23(t, 1H), 1.58(s, 9H)。

[0355] 顺式(+/-)-5-(叔丁氧基羰基氨基)哌啶-1,3-二甲酸1-苄酯3-甲酯的合成

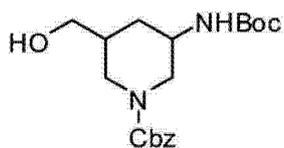
[0356]



[0357] 在0℃向浓度为0.25M的顺式(+/-)-1-(苄基氧基羰基)-5-(叔丁氧基羰基氨基)哌啶-3-甲酸(1.0eq)、甲醇(20eq.)和EDC(1.3eq)的二氯甲烷溶液中加入二甲基氨基吡啶(0.1eq)。搅拌48小时后使反应物升至rt,在真空中除去挥发物。加入乙酸乙酯并用H<sub>2</sub>O(3x)、1N HCl、NaHCO<sub>3</sub>(饱和的)和盐水洗涤后,将溶液用MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,浓缩并通过柱色谱法(25%乙酸乙酯/己烷)纯化,得到顺式(+/-)-5-(叔丁氧基羰基氨基)哌啶-1,3-二甲酸1-苄酯3-甲酯。LCMS(m/z):293.1(MH-Boc<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 4.09min

[0358] 顺式(+/-)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-(羟基甲基)哌啶-1-甲酸苄酯的合成

[0359]

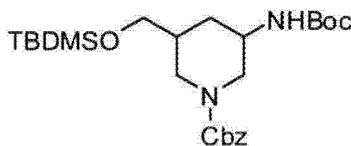


[0360] 将浓度为0.08M的顺式(+/-)-5-(叔丁氧基羰基氨基)哌啶-1,3-二甲酸1-苄酯3-甲酯(1.0eq.)的THF溶液在0℃冷却,然后加入LiCl(2.3eq.)和硼氢化钠(2.3eq.)。搅拌20小时后,使反应升至rt,将pH用1M柠檬酸调到pH4-5。在真空中除去挥发物后,将产物萃取在二氯甲烷中,用H<sub>2</sub>O和盐水洗涤,用MgSO<sub>4</sub>干燥。过滤并在真空中除去挥发物后,获得顺式(+/-)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-(羟基甲基)哌啶-1-甲酸苄酯,为白色泡沫

状固体。LCMS(m/z):265.0(MH-Boc<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 3.37min.

[0361] 顺式(+/-)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)甲基)哌啶-1-甲酸苄酯的合成

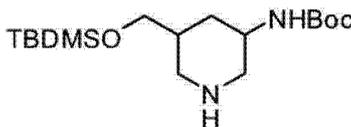
[0362]



[0363] 将浓度为 0.1M 的顺式(+/-)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-(羟基甲基)哌啶-1-甲酸苄酯 (1.0eq.)、咪唑 (1.1eq.)、叔丁基二甲基甲硅烷基氯 (1.1eq.) 和二甲基氨基吡啶 (0.1eq.) 的二氯甲烷溶液搅拌 18 小时,此时在真空中除去挥发物。通过柱色谱法 (20% 乙酸乙酯 / 己烷) 直接纯化粗制的物质,得到顺式(+/-)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)甲基)哌啶-1-甲酸苄酯。LCMS(m/z):379.0(MH-Boc<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 5.95min.

[0364] 顺式(+/-)-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

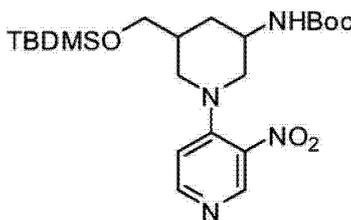
[0365]



[0366] 根据方法 2,将顺式(+/-)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)甲基)哌啶-1-甲酸苄酯脱保护,得到顺式(+/-)-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LCMS(m/z):344.1(MH<sup>+</sup>).

[0367] 顺式(+/-)-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)甲基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

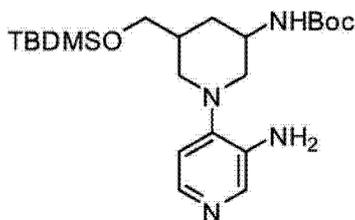
[0368]



[0369] 根据方法 1,采用顺式(+/-)-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯和 4-氯-3-硝基吡啶,得到顺式(+/-)-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)甲基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LCMS(m/z):467.0(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 4.02min.

[0370] 顺式(+/-)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

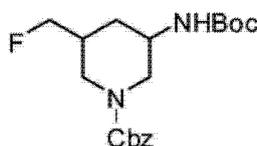
[0371]



[0372] 根据方法 2, 将顺式 (+/-)-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)甲基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯还原, 得到顺式 (+/-)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LCMS(m/z): 437. 2(MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 3. 86min.

[0373] 顺式 (+/-)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-(氟甲基)哌啶-1-甲酸苄酯的合成

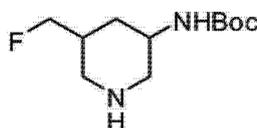
[0374]



[0375] 将顺式 (+/-)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-(羟基甲基)哌啶-1-甲酸苄酯 (1eq.)、全氟丁烷磺酰氟 (2eq.)、三乙胺-HF (4eq.) 和三乙胺 (6eq.) 的四氢呋喃溶液 (浓度为 0. 16M) 搅拌 36 小时。用乙酸乙酯 (50×) 稀释后, 将溶液用 1N HCl、NaHCO<sub>3</sub>(饱和的) 和盐水洗涤, 用 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤, 浓缩并通过柱色谱法 (25-40% 乙酸乙酯 / 己烷) 纯化, 得到顺式 (+/-)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-(氟甲基)哌啶-1-甲酸苄酯 (45% 收率)。LCMS(m/z): 267. 1(MH<sup>+</sup>); LCR<sub>t</sub> = 4. 23min.

[0376] 顺式 (+/-)-5-(氟甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

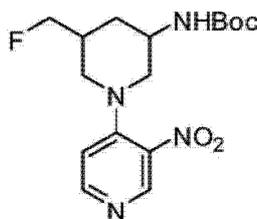
[0377]



[0378] 根据方法 2, 将顺式 (+/-)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-(氟甲基)哌啶-1-甲酸苄酯脱保护, 得到顺式 (+/-)-5-(氟甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LCMS(m/z): 233. 1(MH<sup>+</sup>).

[0379] 顺式 (+/-)-5-(氟甲基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

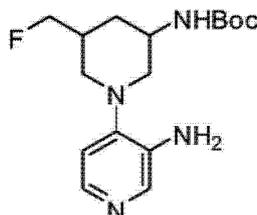
[0380]



[0381] 根据实施例 1 的方法 1, 采用顺式 (+/-)-5-(氟甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯和 4-氯-3-硝基吡啶, 得到顺式 (+/-)-5-(氟甲基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LCMS(m/z): 355. 1(MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 2. 41min.

[0382] 顺式 (+/-)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-(氟甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

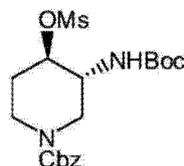
[0383]



[0384] 根据方法 2, 将顺式 (+/-)-5-(氟甲基)-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯还原, 得到顺式 (+/-)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-5-(氟甲基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。LCMS(m/z): 325.1 (MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 2.27min.

[0385] (3R, 4R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-(甲基磺酰基氧基)哌啶-1-甲酸苄酯的合成

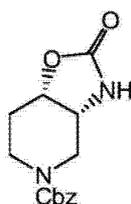
[0386]



[0387] 向 (3R, 4R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-羟基哌啶-1-甲酸苄酯的二氯甲烷 (0.13M) 溶液中加入三乙胺 (1.5 当量), 随后加入甲磺酰氯 (1.3 当量)。将反应物在室温搅拌 15h。然后用饱和的 NaHCO<sub>3</sub> 猝灭溶液, 用二氯甲烷萃取, 用硫酸钠干燥, 并浓缩, 得到粗制的 (3R, 4R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-(甲基磺酰基氧基)哌啶-1-甲酸苄酯, >95% 收率。LCMS(m/z): 428.9/328.9 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> = 3.81min.

[0388] (3aR, 7aS)-2-氧代六氢咪唑并[4,5-c]吡啶-5(6H)-甲酸苄酯的合成

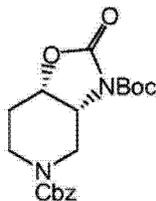
[0389]



[0390] 将 (3R, 4R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-4-(甲基磺酰基氧基)哌啶-1-甲酸苄酯的吡啶溶液 (0.16M) 在微波中加热至 120°C 反应 10 分钟。然后将溶液浓缩至近乎干燥, 过滤形成的固体, 得到所需的产物。将滤液经硅胶柱色谱法采用乙酸乙酯 (100%) 洗脱进一步纯化, 得到 (3aR, 7aS)-2-氧代六氢咪唑并[4,5-c]吡啶-5(6H)-甲酸苄酯, 75% 的总收率。LCMS(m/z): 277.1 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> = 2.327min.

[0391] (3aR, 7aS)-2-氧代四氢咪唑并[4,5-c]吡啶-3,5(2H,6H)-二甲酸 5-苄酯 3-叔丁酯的合成

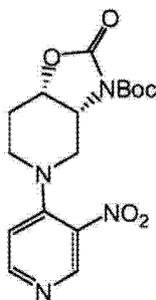
[0392]



[0393] 向 (3aR, 7aS)-2-氧代六氢吲唑并 [4, 5-c] 吡啶 -5(6H)-甲酸苄酯 (1.0 当量) 的二氯甲烷溶液 (0.09M) 中加入  $\text{BOC}_2\text{O}$  (1.1 当量)、三乙胺 (1.1 当量) 和催化量的 DMAP。将反应物在室温搅拌 1 小时, 此时将其在真空中浓缩并通过硅胶塞过滤 (用乙酸乙酯洗脱)。将产物在真空中干燥, 得到 (3aR, 7aS)-2-氧代四氢吲唑并 [4, 5-c] 吡啶 -3, 5(2H, 6H)-二甲酸 5-苄酯 3-叔丁酯, 为白色固体, 75% 收率。LCMS ( $m/z$ ): 277.2 ( $\text{MH}^+$ ),  $R_t = 3.43\text{min}$ .

[0394] (3aR, 7aS)-5-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代六氢吲唑并 [4, 5-c] 吡啶-3(2H)-甲酸叔丁酯的合成

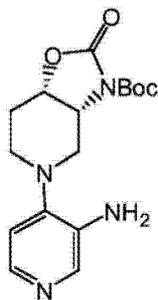
[0395]



[0396] 向 (3aR, 7aS)-2-氧代四氢吲唑并 [4, 5-c] 吡啶 -3, 5(2H, 6H)-二甲酸 5-苄酯 3-叔丁酯在 EtOH 和 EtOAc 混合物 (1 : 1) 中的溶液 (0.07M) 中加入 Pd/C (10% 重量), 并将反应物在氢气球条件下搅拌 15h。然后将溶液通过硅藻土垫层过滤, 并将滤液浓缩至干, 得到澄清油状物。向 (3aR, 7aS)-2-氧代六氢吲唑并 [4, 5-c] 吡啶 -3(2H)-甲酸叔丁酯的 *i*-PrOH 溶液 (0.12M) 中加入 4-氯-3-硝基吡啶 (1.2 当量) 和 DIEA (4.0 当量)。将反应物加热至 75°C 反应 2h, 然后冷却至室温并在真空下浓缩。将粗制的混合物用 EtOAc 稀释, 加入水, 萃取有机层, 用盐水洗涤, 用  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 并浓缩。将粗品经硅胶柱色谱法用 EtOAc (100%) 洗脱进行纯化, 得到 (3aR, 7aS)-5-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代六氢吲唑并 [4, 5-c] 吡啶 -3(2H)-甲酸叔丁酯, 为黄色泡沫状物, 89% 收率)。LCMS ( $m/z$ ): 365.1 ( $\text{MH}^+$ ),  $R_t = 1.79\text{min}$ .

[0397] (3aR, 7aS)-5-(3-氨基吡啶-4-基)-2-氧代六氢吲唑并 [4, 5-c] 吡啶-3(2H)-甲酸叔丁酯的合成

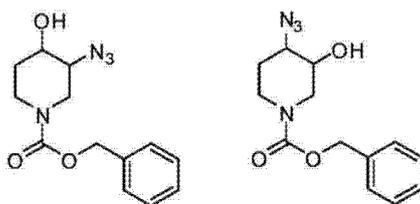
[0398]



[0399] 向 (3aR, 7aS)-5-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代六氢吲唑并[4,5-c]吡啶-3(2H)-甲酸叔丁酯的 EtOH 和 EtOAc 溶液 (1:1, 0.15M) 中加入 Pd/C(10% 重量), 并将反应物在氢气球条件下搅拌 15h。将溶液通过硅藻土垫层过滤, 并浓缩滤液, 得到 (3aR, 7aS)-5-(3-氨基吡啶-4-基)-2-氧代六氢吲唑并[4,5-c]吡啶-3(2H)-甲酸叔丁酯, 为澄清的油状物, >95% 收率。LCMS (m/z): 335.0 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> = 1.68min.

[0400] 3-叠氨基-4-羟基哌啶-1-甲酸苄酯和 4-叠氨基-3-羟基哌啶-1-甲酸苄酯的合成

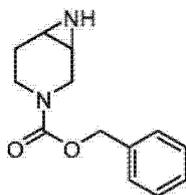
[0401]



[0402] 向 7-氧杂-3-氮杂二环[4.1.0]庚烷-3-甲酸苄酯 (1.0 当量) 的 MeOH 和水溶液 (0.17M) 中加入叠氮化钠 (2.0 当量) 和氯化铵 (1.0 当量)。将反应物在油浴中在 65°C 搅拌 7h, 然后浓缩以除去甲醇。加入乙酸乙酯, 分离有机相, 用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 并在真空下浓缩, 得到 3-叠氨基-4-羟基哌啶-1-甲酸苄酯和 4-叠氨基-3-羟基哌啶-1-甲酸苄酯, 为澄清的油状物, >95% 收率。LCMS (m/z): 276.9 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> = 2.98min.

[0403] 3,7-二氮杂二环[4.1.0]庚烷-3-甲酸苄酯的合成

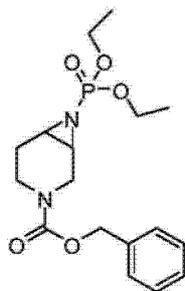
[0404]



[0405] 向 3-叠氨基-4-羟基哌啶-1-甲酸苄酯和 4-叠氨基-3-羟基哌啶-1-甲酸苄酯 (1.0 当量) 的二氧六环溶液 (0.14M) 中加入 PPh<sub>3</sub> (2.0 当量), 并将反应物加热回流 1h。然后将溶液在真空下浓缩, 并通过硅胶柱色谱法用 DCM、10% MeOH 和 1% Et<sub>3</sub>N 洗脱进行纯化, 得到 3,7-二氮杂二环[4.1.0]庚烷-3-甲酸苄酯, 为澄清的油状物, 25% 收率。LCMS (m/z): 233.0 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> = 1.94min.

[0406] 7-(二乙氧基磷酰基)-3,7-二氮杂二环[4.1.0]庚烷-3-甲酸苄酯的合成

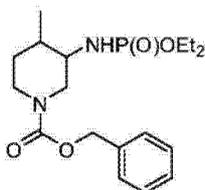
[0407]



[0408] 向 3,7-二氮杂二环 [4.1.0] 庚烷-3-甲酸苄酯 (1.0 当量) 的 DCM 溶液 (0.26M) 中加入氯磷酸二乙酯 (1.3 当量) 和三乙胺 (1.5 当量)。将反应物搅拌 24h, 然后浓缩至干。加入水和乙酸乙酯, 对有机物进行萃取, 用  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 并浓缩。将粗品通过硅胶柱色谱法用乙酸乙酯和己烷 (50% 至 100% 乙酸乙酯) 洗脱进行纯化, 得到 7-(二乙氧基磷酰基)-3,7-二氮杂二环 [4.1.0] 庚烷-3-甲酸苄酯, 为澄清的油状物, 21% 收率。LCMS ( $m/z$ ): 369.0 ( $\text{MH}^+$ ).

[0409] 3-(二乙氧基磷酰基氨基)-4-甲基哌啶-1-甲酸苄酯的合成

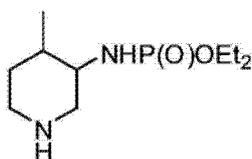
[0410]



[0411] 在  $-40^\circ\text{C}$  向  $\text{CuI}$  (0.3 当量) 的无水 THF 混悬液 (0.1M) 中加入甲基溴化镁 (3M 的  $\text{Et}_2\text{O}$  溶液, 10 当量)。将反应物搅拌 30min, 随后在  $-40^\circ\text{C}$  加入 7-(二乙氧基磷酰基)-3,7-二氮杂二环 [4.1.0] 庚烷-3-甲酸苄酯 (1.0 当量) 的 THF 溶液 (0.1M)。使反应经 5h 升温至  $10^\circ\text{C}$ , 然后用水猝灭, 并用乙酸乙酯萃取。将有机相在真空下浓缩, 并通过硅胶柱色谱法采用乙酸乙酯和己烷 (50% 至 100% 乙酸乙酯) 洗脱进行纯化, 得到 3-(二乙氧基磷酰基氨基)-4-甲基哌啶-1-甲酸苄酯, 35% 收率。LCMS ( $m/z$ ): 385.0 ( $\text{MH}^+$ ),  $R_t = 3.38\text{min}$ .

[0412] 4-甲基哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯的合成

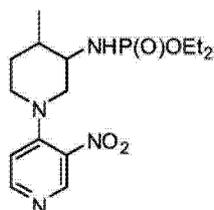
[0413]



[0414] 向 3-(二乙氧基磷酰基氨基)-4-甲基哌啶-1-甲酸苄酯 (1.0 当量) 的脱气的 MeOH 溶液中加入  $\text{Pd/C}$  (10% 重量), 并将反应物在氢气气氛下搅拌 1h。将溶液过滤, 然后浓缩, 得到 4-甲基哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯, 83% 收率。LCMS ( $m/z$ ): 251.1 ( $\text{MH}^+$ ).

[0415] 4-甲基-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯的合成

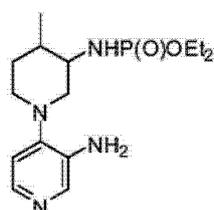
[0416]



[0417] 向 4-甲基哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯 (1.0 当量) 的异丙醇溶液中加入 4-氯-3-硝基吡啶 (2.0 当量) 和 DIEA (1.1 当量)。将反应物加热至 70°C 反应 18h, 然后用水猝灭, 并用乙酸乙酯萃取。将有机物干燥并在真空下浓缩。将粗品通过 ISCO (乙酸乙酯和己烷) 纯化, 得到 4-甲基-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯, 52% 收率。LCMS(m/z): 373.0 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> = 1.93min.

[0418] 1-(3-氨基吡啶-4-基)-4-甲基哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯的合成

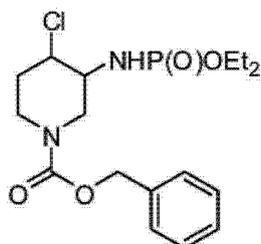
[0419]



[0420] 向 4-甲基-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯 (1.0 当量) 的脱气的 EtOAc 溶液 (0.1M) 中加入 Pd/C (10% 重量), 并将反应物在氢气气氛下搅拌 18h。过滤并浓缩滤液, 得到 1-(3-氨基吡啶-4-基)-4-甲基哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯, 86% 收率。LCMS(m/z): 343.0 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> = 1.85min.

[0421] 4-氯-3-(二乙氧基磷酰基氨基)哌啶-1-甲酸苄酯的合成

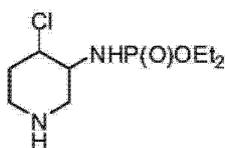
[0422]



[0423] 向 7-(二乙氧基磷酰基)-3,7-二氮杂二环 [4.1.0] 庚烷-3-甲酸苄酯 (1.0 当量) 和三乙胺盐酸盐 (4 当量) 的 DCM 溶液 (0.1M) 中加入 BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (2.0 当量), 并将反应物在室温在氮气气氛下搅拌 2h。然后将溶液用水猝灭, 并用 DCM 萃取。将粗产物通过硅胶柱色谱法 (ISCO, 用 EtOAc 和己烷 50% 至 100% EtOAc 洗脱) 纯化, 得到 4-氯-3-(二乙氧基磷酰基氨基)哌啶-1-甲酸苄酯, 89% 收率。LCMS(m/z): 405.1 (MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> = 2.73min.

[0424] 4-氯哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯的合成

[0425]

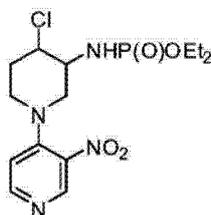


[0426] 向 4-氯-3-(二乙氧基磷酰基氨基)哌啶-1-甲酸苄酯 (1.0 当量) 的脱气的 MeOH

溶液中加入 Pd/C(10%重量),并将反应物在氢气气氛下搅拌 1h。将溶液过滤,然后浓缩,得到 4-氯哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯,92%收率。LCMS(m/z):271.0(MH<sup>+</sup>)。

[0427] 4-氯-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯的合成

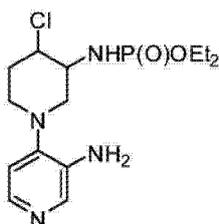
[0428]



[0429] 向 4-氯哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯(1.0当量)的异丙醇溶液(0.1M)中加入 4-氯-3-硝基吡啶(2.0当量)和 DIEA(1.1当量)。将反应物加热至 70°C 反应 18h,然后用水猝灭,并用乙酸乙酯萃取。将有机物干燥并在真空下浓缩。将粗品通过 ISCO(乙酸乙酯和己烷,然后 10%甲醇的 DCM 溶液)纯化,得到 4-氯-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯,69%收率。LCMS(m/z):393.1(MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> = 2.01min.

[0430] 1-(3-氨基吡啶-4-基)-4-氯哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯的合成

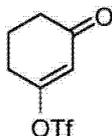
[0431]



[0432] 向 4-氯-1-(3-硝基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯(1.0当量)的脱气的 EtOAc 溶液(0.1M)中加入 Pd/C(10%重量),并将反应物在氢气气氛下搅拌 18h。过滤并浓缩滤液,得到 1-(3-氨基吡啶-4-基)-4-氯哌啶-3-基氨基磷酸二乙酯,83%收率。LCMS(m/z):363.1(MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub> = 1.89min.

[0433] 三氟甲磺酸 3-氧代环己-1-烯基酯的合成

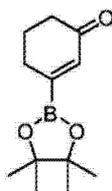
[0434]



[0435] 向环己烷-1,3-二酮(1当量)的 DCM 溶液(0.4M)中加入 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.0当量)并冷却至 0°C。历经 1 小时,在室温、氮气气氛下滴加加入 Tf<sub>2</sub>O(1.0当量)的 DCM 溶液(5M)。加入后,将反应物搅拌 2 小时(暗红色溶液)。将溶液过滤,向滤液中加入饱和的 NaHCO<sub>3</sub>(小心地),然后萃取有机物,用盐水干燥,然后用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,并浓缩。将粗品通过 SiO<sub>2</sub>柱色谱法用 DCM 和己烷(1:1)洗脱进行纯化,或者通过中性氧化铝填料用 DCM 洗脱进行纯化,得到三氟甲磺酸 3-氧代环己-1-烯基酯,各自 30%或 67%收率。一旦贮存,则该三氟甲磺酸酯分解,因此其应当立即用于下一反应。LC/MS = 244.9/286.0(M+H 和 M+CH<sub>3</sub>CN); R<sub>t</sub> = 0.88min.

[0436] 3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊-2-基)环己-2-烯酮的合成

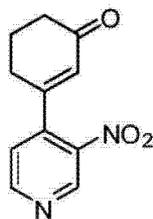
[0437]



[0438] 向三氟甲磺酸 3-氧代环己-1-烯基酯 (1.0 当量) 的脱气的二氧六环溶液 (0.3M) 中加入双(频哪醇基)二硼 (2.0 当量)、KOAc (3.0 当量) 和 Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>-DCM (0.05 当量)。将反应物加热至 80°C 反应 2h, 然后过滤。该二氧六环溶液没有进一步纯化即用于下一步骤。LC/MS = 140.9 (硼酸的 M+H)。

[0439] 3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯酮的合成

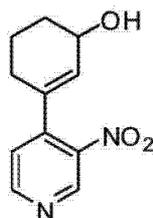
[0440]



[0441] 向 3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊-2-基)环己-2-烯酮 (1.0 当量) 的脱气的二氧六环和 2M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液中加入 4-氯-3-硝基吡啶 (1.2 当量) 和 Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0.05 当量)。将反应物在油浴中加热至 120°C 反应 30min (反应还可以在微波中在 120°C 进行 10min)。冷却至室温, 然后用 EtOAc 稀释, 加入 H<sub>2</sub>O - 深色溶液, 许多乳状液 (lots of emulsions)。过滤除去固体, 然后萃取有机相, 用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 并浓缩。将粗品通过硅胶色谱法纯化, 得到 3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯酮 (64%, 2 步)。LC/MS = 219 (M+H), LC = 2.29min.

[0442] 3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯醇的合成

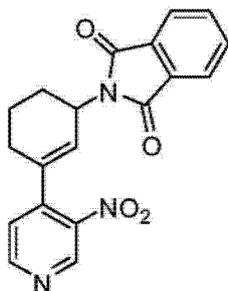
[0443]



[0444] 向 3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯酮 (1.0 当量) 溶液中加入 EtOH (1.1M) 和 CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O (1.3 当量)。将反应物冷却至 0°C, 然后分次加入 NaBH<sub>4</sub> (1.3 当量)。在 0°C 搅拌 2h, 然后加入水猝灭, 浓缩以除去 EtOH, 加入 EtOAc, 萃取有机物, 用盐水、然后用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 并浓缩, 得到 3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯醇 (99%)。LC/MS = 221.1 (M+H), LC = 2.24min.

[0445] 2-(3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯基)异吲哚啉-1,3-二酮的合成

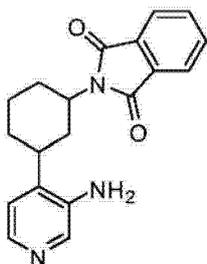
[0446]



[0447] 将 3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯醇 (1.0eq)、三苯基膦 (1.5eq) 和邻苯二甲酰亚胺 (1.5eq) 的 THF 均匀溶液 (0.2M) 冷却至 0°C, 向该溶液加入偶氮二甲酸二叔丁酯 (1.5eq) 的 THF 溶液。将混合物在 0°C 搅拌 2 小时。将反应物在真空中浓缩。将残留物通过柱纯化 (5% 甲醇在 1:1 乙酸乙酯和己烷中的溶液), 得到固体, 将其进一步用 DCM 和己烷研磨, 得到纯产物, 还有滤液。进一步纯化滤液, 得到更多的纯产物。2-(3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯基)异吲哚啉-1,3-二酮的总收率为 58%。LC/MS(m/z):MH<sup>+</sup> = 350.2, Rt = 0.96. HPLC Rt = 3.73.

[0448] 2-(3-(3-氨基吡啶-4-基)环己基)异吲哚啉-1,3-二酮的合成

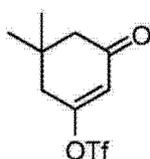
[0449]



[0450] 将 2-(3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯基)异吲哚啉-1,3-二酮 (1eq) 的乙酸溶液 (0.1M) 用氮气冲洗 10min。然后加入 10% Pd/C (0.15eq)。将反应混合物在室温、氢气气氛下搅拌 4 天。通过硅藻土过滤移出固体, 然后用 EtOAc 和 MeOH 淋洗。将滤液浓缩, 用 EtOAc 稀释并用饱和 2M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 水溶液洗涤 2×。将有机层用 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并浓缩。从 EtOAc/己烷中研磨, 得到 2-(3-(3-氨基吡啶-4-基)环己基)异吲哚啉-1,3-二酮, 77% 收率。LC/MS(m/z):MH<sup>+</sup> = 322.2, Rt = 0.64. HPLC Rt = 2.43min.

[0451] 三氟甲磺酸 5,5-二甲基-3-氧代环己-1-烯基酯的合成

[0452]

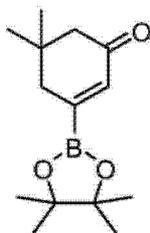


[0453] 在 3-颈圆底烧瓶中, 将 5,5-二甲基环己烷-1,3-二酮 (1.0eq) 溶解在 DCM 中 (0.2M)。加入碳酸钠 (1.1 当量), 并在 N<sub>2</sub> 气氛下、在磁搅拌条件下将混合物在冰/盐/水中冷却至 ~-5°C。历经 90 分钟通过加料漏斗滴加加入稀释在 DCM 中的三氟甲磺酸酐 (1.05 当量)。一旦加完后, 将反应物在 ~0°C 搅拌 1h。由 LCMS 和 <sup>1</sup>H NMR 可知, 仍有起始原料剩余。加入另外的碳酸钠 (0.51 当量) 和三氟甲磺酸酐 (0.50 当量)。2 小时后, 将混合物通过粗烧结玻璃漏斗过滤 (滤饼用 DCM 洗涤), 转移至锥形瓶中, 通过在剧烈搅拌下小心加入

饱和的碳酸氢钠水溶液直到 pH = 7 来猝灭,转移至分液漏斗中,并分离各层。将有机层用盐水洗涤,用  $\text{MgSO}_4$  干燥,过滤,浓缩,得到三氟甲磺酸 5,5-二甲基-3-氧代环己-1-烯基酯,其没有进一步纯化即用于下一步骤。LC/MS(m/z): $\text{MH}^+ = 273.1$ ,  $\text{Rt} = 1.03\text{min}$ 。

[0454] 5,5-二甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊-2-基)环己-2-烯酮的合成

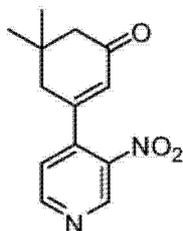
[0455]



[0456] 将试剂三氟甲磺酸 5,5-二甲基-3-氧代环己-1-烯基酯 (1.0eq)、乙酸钾 (3.0eq) 和双(频哪醇基)二硼 (2.0eq) 全部加至圆底烧瓶中的 1,4-二氧六环中 (0.2M),并通过将  $\text{N}_2$  鼓入混合物中 (10min) 进行脱气。加入  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{-DCM}$  加合物 (0.03eq),并在装配有回流冷凝器情况下在油浴中、 $\text{N}_2$  气氛下将反应物加热至  $80^\circ\text{C}$  反应过夜。将混合物冷却至室温,通过粗的烧结玻璃漏斗过滤,用 1,4-二氧六环淋洗滤饼,得到在 1,4-二氧六环中的 5,5-二甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊-2-基)环己-2-烯酮,其没有进一步纯化即用于下一步骤中。LC/MS(m/z): $\text{MH}^+(\text{硼酸}) = 169.1$ ,  $\text{Rt} = 0.50\text{min}$ 。

[0457] 5,5-二甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯酮的合成

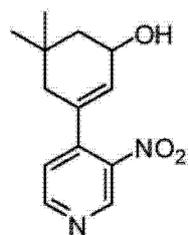
[0458]



[0459] 将硼酸酯即 5,5-二甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊-2-基)环己-2-烯酮 (1.0eq) 溶解在圆底烧瓶中的 1,4-二氧六环中,通过将  $\text{N}_2$  鼓入溶液中 (30 分钟) 进行脱气。加入 4-氯-3-硝基-吡啶 (1.3eq) 和 2M(aq) 碳酸钠 (2.0eq),并通入  $\text{N}_2$  (10 分钟),然后加入  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{-DCM}$  (0.05eq)。将反应混合物在  $110^\circ\text{C}$  搅拌 2h。将混合物加至 EtOAc 和水中。将得到的混合物通过硅藻土过滤,将滤饼用 EtOAc 洗涤。分离有机层。将水层用 EtOAc 萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,用  $\text{MgSO}_4$  干燥,浓缩。将残留物通过硅胶色谱法(用 EtOAc:己烷 = 1:10 至 2:1 洗脱)纯化,得到 5,5-二甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯酮 (46.7%, 三步)。LC/MS(m/z): $\text{MH}^+ = 247.2$ ,  $\text{Rt} = 0.79\text{min}$ 。

[0460] 5,5-二甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯醇的合成

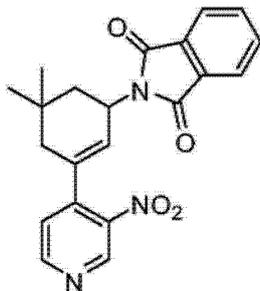
[0461]



[0462] 在 0 °C, 向 5,5-二甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯酮 (1.0eq) 和  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (1.2eq) 的 MeOH 溶液 (0.2M) 中加入  $\text{NaBH}_4$  (1.0eq)。将溶液搅拌 1 小时, 然后用 5mL 水猝灭。在真空中除去挥发物, 并将残留物在 EtOAc 和  $\text{H}_2\text{O}$  之间分配。分离有机层, 并用盐水洗涤。将合并的水层用 EtOAc 返萃, 并将有机物用盐水洗涤。将合并的有机物用  $\text{MgSO}_4$  干燥, 过滤并浓缩。将残留物通过柱子纯化 (在 1:1 乙酸乙酯和己烷中的 5% 甲醇), 得到 5,5-二甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯醇 (74%)。LC/MS (m/z):  $\text{MH}^+ = 249.2$ ,  $\text{Rt} = 0.76\text{min}$ 。

[0463] 2-(5,5-二甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯基)异吲哚啉-1,3-二酮的合成

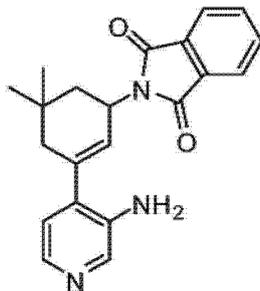
[0464]



[0465] 将 5,5-二甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯醇 (1.0eq)、三苯基膦 (1.5eq) 和邻苯二甲酰亚胺 (1.5eq) 的 THF 均匀溶液 (0.2M) 冷却至 0 °C, 向该溶液中加入偶氮二甲酸二叔丁酯 (1.5eq) 的 THF 溶液。将混合物在 0 °C 搅拌 2 小时。将反应物在真空中浓缩。将残留物通过柱子纯化 (在 1:1 乙酸乙酯和己烷中的 5% 甲醇), 得到 2-(5,5-二甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯基)异吲哚啉-1,3-二酮 (99%)。LC/MS (m/z):  $\text{MH}^+ = 378.2$ ,  $\text{Rt} = 1.10\text{min}$ 。

[0466] 2-(3-(3-氨基吡啶-4-基)-5,5-二甲基环己-2-烯基)异吲哚啉-1,3-二酮的合成

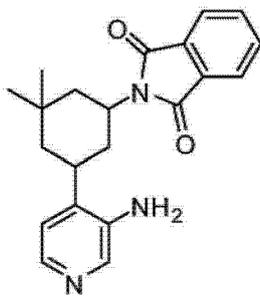
[0467]



[0468] 将 2-(5,5-二甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯基)异吲哚啉-1,3-二酮 (1eq) 的乙酸溶液 (0.1M) 用氮气冲洗 10min。然后加入 10% Pd/C (0.10eq)。将反应混合物

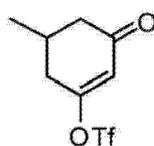
在室温、氢气气氛下搅拌过夜。通过硅藻土过滤移出固体,然后用 EtOAc 和 MeOH 淋洗。将滤液浓缩,用 EtOAc 稀释并用饱和 2M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 水溶液洗涤 2×。将有机层用 MgSO<sub>4</sub> 干燥,过滤并浓缩。将残留物通过柱子纯化(在 1:1 乙酸乙酯和己烷中的 5% 甲醇),得到 2-(3-(3-氨基吡啶-4-基)-5,5-二甲基环己-2-烯基)异吲哚啉-1,3-二酮(89%)。LC/MS(m/z):MH<sup>+</sup> = 348.3, Rt = 0.79min.

[0469] 2-(5-(3-氨基吡啶-4-基)-3,3-二甲基环己基)异吲哚啉-1,3-二酮的合成  
[0470]



[0471] 将 2-(3-(3-氨基吡啶-4-基)-5,5-二甲基环己-2-烯基)异吲哚啉-1,3-二酮(1.0eq)的乙酸溶液(0.1M)用氮气冲洗 10min。然后加入 10% Pd/C(0.1eq)。将反应混合物在 45°C、300psi 氢气气氛下在钢瓶中搅拌过夜,并在 65°C、300psi 搅拌 5 小时。通过硅藻土过滤移出固体,然后用 EtOAc 和 MeOH 淋洗。将滤液浓缩,用 EtOAc 稀释并用饱和 2M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 水溶液洗涤 2×。将有机层用 MgSO<sub>4</sub> 干燥,过滤并浓缩。将残留物通过柱子纯化(在 1:1 乙酸乙酯和己烷中的 5% 甲醇),得到 2-(5-(3-氨基吡啶-4-基)-3,3-二甲基环己基)异吲哚啉-1,3-二酮(53%)。LC/MS(m/z):MH<sup>+</sup> = 350.3, Rt = 0.78min。通过手性 HPLC 拆分对映体纯的 2-((1R,5R)-5-(3-氨基吡啶-4-基)-3,3-二甲基环己基)异吲哚啉-1,3-二酮和 2-((1S,5S)-5-(3-氨基吡啶-4-基)-3,3-二甲基环己基)异吲哚啉-1,3-二酮(对于分析而言,分别地, R<sub>t</sub> = 7.53min 和 13.11min;己烷:乙醇 = 80:20(v:v), Chiralcel OJ-H100x4.6mm, 1mL/min。对于制备分离,己烷:乙醇 = 80:20(v:v), Chiralcel OJ-H250x20mm, 20mL/min)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>): δ 8.04(s, 1H), 8.00(d, 1H), 7.82(m, 2H), 7.71(m, 2H), 7.06(d, 1H), 4.54(m, 1H), 3.71(m, 2H), 2.89(m, 1H), 2.23-2.44(m, 2H), 1.90(m, 1H), 1.20-1.60(m, 3H), 1.18(s, 3H), 1.07(s, 3H)。

[0472] 三氟甲磺酸 5-甲基-3-氧代环己-1-烯基酯的合成  
[0473]

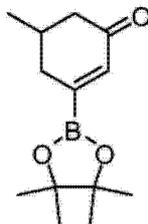


[0474] 向 5-甲基环己烷-1,3-二酮(1 当量)的 DCM 溶液(0.4M)中加入 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.0 当量)并冷却至 0°C。在 0°C、氮气气氛下历经 1 小时,滴加加入 Tf<sub>2</sub>O(1.0 当量)的 DCM 溶液(5M)。加入后,将反应物在室温搅拌 2hr(暗红色溶液)。将溶液过滤,并向滤液中加入饱和的 NaHCO<sub>3</sub>(小心地),然后萃取有机物,用盐水、然后用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥,并浓缩。将粗品通过 SiO<sub>2</sub> 柱色谱法采用 DCM 和己烷(1:1)洗脱进行纯化,或通过中性氧化铝填料采用 DCM 洗脱进行纯化,得到三氟甲磺酸 5-甲基-3-氧代环己-1-烯基酯,分别 30%或 67%收率。一旦

贮存,该三氟甲磺酸酯分解,因此其应当立即用于下一反应。LC/MS = 259.1/300.1 (M+H 和 M+CH<sub>3</sub>CN) ;Rt = 0.94min, LC = 3.84min.

[0475] 5-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊-2-基)环己-2-烯酮的合成

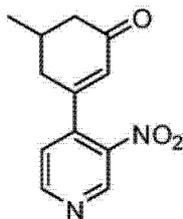
[0476]



[0477] 向三氟甲磺酸 5-甲基-3-氧代环己-1-烯基酯 (1.0 当量) 的脱气的二氧六环溶液 (0.3M) 中加入双(频哪醇基)二硼 (2.0 当量)、KOAc (3.0 当量) 和 Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>-DCM (0.05 当量)。将反应物加热至 80°C 反应 10h, 然后过滤。该二氧六环溶液没有进一步纯化即用于下一步骤。LC/MS = 155.1 (硼酸的 M+H) ;Rt = 0.41min, LC = 1.37min.

[0478] 5-甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯酮的合成

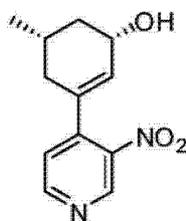
[0479]



[0480] 向 5-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊-2-基)环己-2-烯酮 (1.0 当量) 的脱气的二氧六环和 2M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液中加入 4-氯-3-硝基吡啶 (1.2 当量) 和 Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0.05 当量)。将反应物在油浴中加热至 120°C 反应 2h。(反应还可以在微波中在 120°C 进行 10min)。冷却至室温,然后用 EtOAc 稀释,加入 H<sub>2</sub>O - 深色溶液,许多乳状液。过滤除去固体,然后萃取有机相,用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥,并浓缩。将粗品通过硅胶色谱法纯化,得到 5-甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯酮。LC/MS = 233.2 (M+H) ;Rt = 0.69min, LC = 2.70min.

[0481] 顺式-(+/-)-5-甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯醇的合成

[0482]

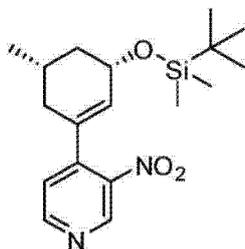


[0483] 向 5-甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯酮 (1.0 当量) 溶液中加入 EtOH (1.1M) 和 CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O (1.3 当量)。将反应物冷却至 0°C, 然后分次加入 NaBH<sub>4</sub> (1.3 当量)。在 0°C 搅拌 2h, 然后通过加水猝灭, 浓缩以除去 EtOH, 加入 EtOAc, 萃取有机物, 用盐水、然后用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 并浓缩, 得到 5-甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯醇 (91%)。

LC/MS = 235.2(M+H), LC = 2.62min.

[0484] 顺式-(+/-)-4-(3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-甲基环己-1-烯基)-3-硝基吡啶的合成

[0485]

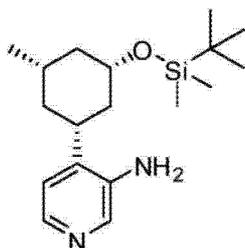


[0486] 向 5-甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯醇 (1.0 当量) 的 DMF 溶液 (0.5M) 中加入咪唑 (4.0 当量) 和 TBDMSCl (2.5 当量)。搅拌 18 小时后,将溶液在 EtOAc 和 H<sub>2</sub>O 之间分配并分离。进一步用 H<sub>2</sub>O (3x) 和 NaCl (饱和的) 洗涤后,用 MgSO<sub>4</sub> 干燥,过滤并除去溶剂,获得 4-(3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-甲基环己-1-烯基)-3-硝基吡啶 (85%)。

LC/MS = 349.2(M+H), LC = 5.99min.

[0487] 顺式-(+/-)-4-(3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-甲基环己基)吡啶-3-胺的合成

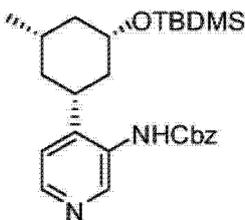
[0488]



[0489] 向顺式--(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-甲基环己-1-烯基)-3-硝基吡啶 (1.0 当量) 的甲醇溶液 (浓度为 0.1M) 中加入 10% 钨碳 (0.1eq.)。将得到的非均匀溶液置于氢气气氛下,并搅拌 15 小时。此时将混合物通过硅藻土过滤,用甲醇洗脱。在真空中除去挥发物,得到全顺式-4-(3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-甲基环己基)吡啶-3-胺 (90%)。LCMS(m/z):321.3(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 3.85min.

[0490] 顺式(+/-)4-3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-甲基环己基)吡啶-3-基氨基甲酸苄酯的合成

[0491]

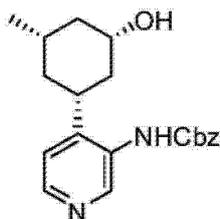


[0492] 向顺式-(+/-)-4-(3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-甲基环己基)吡啶-3-胺的二氯甲烷溶液 (浓度为 0.5M) 中加入碳酸苄基 2,5-二氧代吡咯烷-1-基酯 (1.1 当量) 和 DMAP (0.05 当量)。在 rt 搅拌 16 小时后再加入碳酸苄基 2,5-二氧代吡咯烷-1-基酯

(0.55 当量) 和 DMAP(0.03 当量)。再在 rt 搅拌 24 小时后, 再加入碳酸苄基 2,5- 二氧代吡咯烷-1-基酯(0.1 当量) 和 DMAP(0.03 当量)。再搅拌 18 小时后, 将溶液在 EtOAc 和  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (饱和的) 之间分配并分离。进一步用  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (饱和的)(2x) 和  $\text{NaCl}$ (饱和的) 洗涤后, 用  $\text{MgSO}_4$  干燥, 过滤并除去溶剂, 得到顺式 (+/-)4-3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-甲基环己基) 吡啶-3-基氨基甲酸苄酯。将粗制的物质如此直接使用。LC/MS = 455.3 (M+H), LC = 4.39min.

[0493] 顺式-(+/-)4-(3-羟基-5-甲基环己基)吡啶-3-基氨基甲酸苄酯的合成

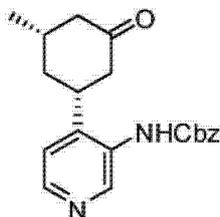
[0494]



[0495] 将顺式 (+/-)4-3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-5-甲基环己基) 吡啶-3-基氨基甲酸苄酯的 1:2:16N HCl/THF/MeOH 溶液 (浓度为 0.1M) 在 rt 搅拌 6 小时。通过加入 6N NaOH 将 pH 调到 pH = 7, 在真空中除去挥发物。将水层用 EtOAc 萃取, 将有机物用  $\text{NaCl}$ (饱和的) 洗涤, 用  $\text{MgSO}_4$  干燥, 过滤并在真空中除去挥发物, 得到顺式-(+/-)4-(3-羟基-5-甲基环己基) 吡啶-3-基氨基甲酸苄酯。将粗制的物质如此直接使用。LC/MS = 341.2 (M+H), LC = 2.38min.

[0496] 顺式(+/-)-4-(3-甲基-5-氧代环己基)吡啶-3-基氨基甲酸苄酯的合成

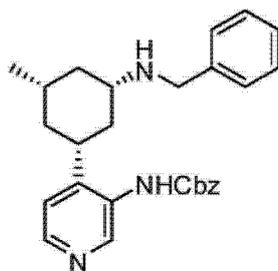
[0497]



[0498] 向 0°C 的顺式-(+/-)-4-(3-羟基-5-甲基环己基) 吡啶-3-基氨基甲酸苄酯的湿  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  溶液 (浓度为 0.16M) 中加入 Dess-Martin 高碘化物 (1.5 当量), 并将溶液搅拌 18 小时, 其升温至 rt。将溶液在 EtOAc 和 1:110%  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3/\text{NaHCO}_3$ (饱和的) 之间分配并分离。进一步用 1:110%  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3/\text{NaHCO}_3$ (饱和的)(2x) 和  $\text{NaCl}$ (饱和的) 洗涤, 用  $\text{MgSO}_4$  干燥, 过滤, 除去溶剂并通过硅胶色谱法 (75-100% EtOAc/己烷) 纯化, 获得顺式-(+/-)-4-(3-甲基-5-氧代环己基) 吡啶-3-基氨基甲酸苄酯, 为白色固体 (53%, 5 步)。LC/MS = 339.2 (M+H).

[0499] 顺式-(+/-)-4-(3-(苄基氨基)-5-甲基环己基)吡啶-3-基氨基甲酸苄酯的合成

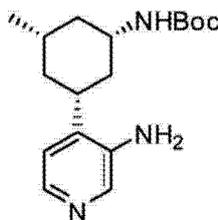
[0500]



[0501] 将顺式-(+/-)-4-(3-甲基-5-氧代环己基)吡啶-3-基氨基甲酸苄酯(1.0当量)和苄胺(3.0当量)的MeOH溶液(浓度为0.25M)在rt搅拌2小时。在-78℃冷浴中冷却后,加入LiBH<sub>4</sub>(1.1当量,2.0M的THF溶液),并历经16小时在搅拌下使溶液升至rt。将溶液在EtOAc和NaHCO<sub>3</sub>(饱和的)之间分配,分离,进一步用NaHCO<sub>3</sub>(饱和的)和NaCl(饱和的)洗涤,用MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,在真空中除去挥发物后,获得顺式-(+/-)-4-(3-(苄基氨基)-5-甲基环己基)吡啶-3-基氨基甲酸苄酯,为4:1的异构体混合物,以全顺式的为主。LC/MS = 430.3(M+H), LC = 0.62min.

[0502] 顺式(+/-)-(-3-(3-氨基吡啶-4-基))-5-甲基环己基氨基甲酸叔丁酯的合成

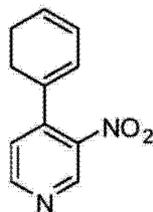
[0503]



[0504] 向顺式-(+/-)-4-(3-(苄基氨基)-5-甲基环己基)吡啶-3-基氨基甲酸苄酯(1.0当量)的甲醇溶液(浓度为0.07M)中加入20%在炭上的氢氧化钾(0.2eq.)。将得到的非均匀溶液置于氢气气氛下,并搅拌14小时。此时将反应物用Ar冲洗,加入Boc<sub>2</sub>O(1.0当量),并将溶液搅拌8小时。再加入Boc<sub>2</sub>O(1.0当量),并将溶液再搅拌16小时。此时将混合物通过硅藻土过滤,用甲醇洗脱。在真空中除去挥发物后,通过硅胶色谱法(2.5-2.5MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,含有0.1% DIEA)纯化,并从10% EtOAc/己烷重结晶,得到顺式(+/-)-(-3-(3-氨基吡啶-4-基))-5-甲基环己基氨基甲酸叔丁酯(49%)。LCMS(m/z):306.3(MH<sup>+</sup>), LC R<sub>t</sub> = 2.59min。通过手性色谱法可以获得纯的对映体。

[0505] 4-(环己-1,3-二烯基)-3-硝基吡啶的合成

[0506]

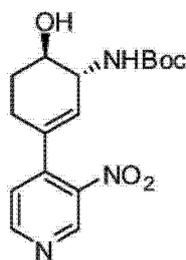


[0507] 向3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯醇(1.0当量)溶液中加入二氧六环(0.18M)和p-TSA(1.1当量)。将溶液加热至100℃反应4h。冷却至室温,用饱和的NaHCO<sub>3</sub>和乙酸乙酯后处理,将有机相用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩。将粗品通过硅胶柱色谱法采用100% DCM洗脱进行纯化,得到4-(环己-1,3-二烯基)-3-硝基吡啶,为黄色油状物(27%收

率)。LCMS(m/z):203.1(MH<sup>+</sup>), LC R<sub>t</sub> = 3.53min, H-NMR(CDCl<sub>3</sub>):9.02(s, 1H), 8.70(d, J = 5.3, 1H), 7.30(d, J = 5.3, 1H), 6.15-6.17(m, 1H), 6.02-6.11(m, 2H), 2.35-2.38(m, 4H).

[0508] 6-羟基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯基氨基甲酸叔丁酯的合成

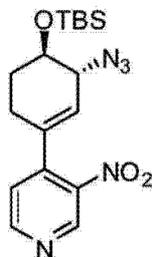
[0509]



[0510] 在室温,向 2-叠氨基-4-(3-硝基吡啶-4-基)环己-3-烯醇(1.0 当量)的吡啶和 NH<sub>4</sub>OH 溶液(8:1, 0.23M)中加入三甲基膦(3.0 当量)。将混合物在室温搅拌 3 小时。除去溶剂。向残留物中加入乙醇。然后在真空中除去乙醇,以确保完全除去氨。将残留物溶解在 1,4-二氧六环和饱和碳酸氢钠水溶液中,然后将在 THF 中的 Boc<sub>2</sub>O(1.0eq) 加至该混合物中。将得到的混合物在室温搅拌 2 小时。将反应混合物用乙酸乙酯稀释,并用饱和 NaCl 洗涤。将有机物用 MgSO<sub>4</sub> 干燥,过滤并浓缩。将残留物通过柱子纯化(在 1:1 乙酸乙酯和己烷中的 5% 甲醇),得到 6-羟基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯基氨基甲酸叔丁酯(82%)。LC/MS(m/z):MH<sup>+</sup> = 336.0, R<sub>t</sub> = 0.71

[0511] (+/-)-4-(3-叠氨基-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)环己-1-烯基)-3-硝基吡啶的合成

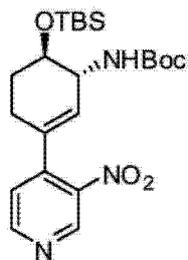
[0512]



[0513] 在室温,向 (+/-)-2-叠氨基-4-(3-硝基吡啶-4-基)环己-3-烯醇(1.0 当量)的 DCM 溶液(0.15M)中加入 TBSCl(2.0 当量)、咪唑(2.0 当量)和 DMAP(0.1 当量)。18h 后,加入水,将有机物用盐水、然后用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥,并浓缩。将粗物质上载到硅胶上并通过 ISCO 纯化(用乙酸乙酯和己烷(20%)洗脱)。获得 (+/-)-4-(3-叠氨基-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)环己-1-烯基)-3-硝基吡啶,为黄色油状物,60% 收率。LCMS(m/z):376.3(MH<sup>+</sup>), LC R<sub>t</sub> = 5.848min.

[0514] (+/-)-6-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯基氨基甲酸叔丁酯的合成

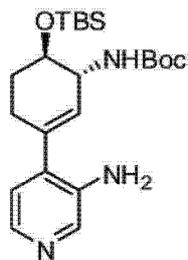
[0515]



[0516] 在圆底烧瓶中,加入 (+/-)-4-(3-叠氮基-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)环己-1-烯基)-3-硝基吡啶 (1.0 当量) 和吡啶 (0.1M), 得到黄色溶液。加入氢氧化铵 (10 : 1 吡啶 : 氢氧化铵), 随后加入  $\text{PMe}_3$  (3.0 当量)。10min 后反应物转为深棕色。在室温搅拌 1.5h。加入 EtOH 猝灭并浓缩。再重复 2 次。向粗品中加入饱和  $\text{NaHCO}_3$  和二氧六环 (1 : 1, 0.1M)。加入  $\text{Boc}_2\text{O}$  (1.0 当量)。在室温搅拌 1 小时。用  $\text{H}_2\text{O}$  和 EtOAc 洗涤后, 将有机相用  $\text{MgSO}_4$  干燥, 过滤并浓缩。将残留物通过 ISCO (5 : 1Hex/EtOAc) 纯化。收集纯的流份并浓缩, 得到 (+/-)-6-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯基氨基甲酸叔丁酯, 为泡沫状物。LCMS ( $m/z$ ): 450.3 ( $\text{MH}^+$ ), LC  $R_t = 5.83\text{min}$ .

[0517] (+/-)-3-(3-氨基吡啶-4-基)-6-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)环己-2-烯基氨基甲酸叔丁酯的合成

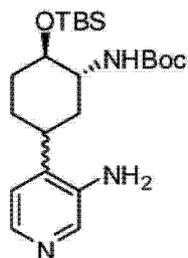
[0518]



[0519] 向 (+/-)-6-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯基氨基甲酸叔丁酯 (1.0 当量) 的 AcOH 溶液 (0.18M) 中加入 Fe (6.0 当量), 并将反应物搅拌 20h。用甲醇稀释反应物进行后处理, 过滤并浓缩滤液。向粗品中加入乙酸乙酯和饱和的  $\text{NaHCO}_3$ , 将有机物用硫酸钠干燥, 并浓缩, 得到 (+/-)-3-(3-氨基吡啶-4-基)-6-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)环己-2-烯基氨基甲酸叔丁酯, 为黄色油状物, 94% 收率。LCMS ( $m/z$ ): 420.3 ( $\text{MH}^+$ ), LC  $R_t = 3.88\text{min}$ .

[0520] (+/-)-5-(3-氨基吡啶-4-基)-2-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)环己基氨基甲酸叔丁酯的合成

[0521]



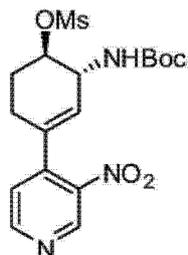
[0522] 向 (+/-)-3-(3-氨基吡啶-4-基)-6-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)环己-2-烯基氨基甲酸叔丁酯 (1.0 当量) 的 MeOH 溶液 (0.1M) 中加入 Pd/C (20% 重量), 并将反应物在

氢气球条件下搅拌 18h。反应物的 LC/MS 显示为非对映异构体的混合物,将反应物过滤,用 EtOAc 洗涤并浓缩滤液。将粗制的物质通过制备 HPLC 纯化(在 DMSO 中),合并纯的流份,用固体 NaHCO<sub>3</sub> 中和,用乙酸乙酯萃取,用盐水洗涤,用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥并浓缩,得到产物 A(8%收率)和产物 B(51%收率)。

[0523] 产物 A :LCMS(m/z):422.4(MH<sup>+</sup>), LC R<sub>t</sub> = 3.75min.

[0524] 产物 B :LCMS(m/z):422.4(MH<sup>+</sup>), LC R<sub>t</sub> = 3.94min.

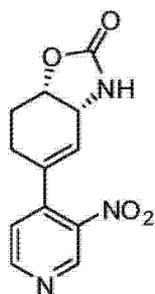
[0525] 甲磺酸 2-(叔丁氧基羰基氨基)-4-(3-硝基吡啶-4-基)环己-3-烯基酯的合成  
[0526]



[0527] 在 0°C,向 6-羟基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯基氨基甲酸叔丁酯(1.0 当量)和三乙胺(1.5 当量)的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 溶液(0.2M)中加入甲磺酰氯(1.2 当量)。将混合物在该温度搅拌 2 小时。将反应混合物用乙酸乙酯稀释,并用饱和 NaCl 洗涤。将有机物用 MgSO<sub>4</sub> 干燥,过滤并浓缩,得到甲磺酸 2-(叔丁氧基羰基氨基)-4-(3-硝基吡啶-4-基)环己-3-烯基酯(85%),其没有进一步纯化即用于下一步骤。LC/MS(m/z):MH<sup>+</sup> = 414.0, R<sub>t</sub> = 0.82

[0528] (+/-)-5-(3-硝基吡啶-4-基)-3,3a,7,7a-四氢苯并[d]咪唑-2(6H)-酮的合成

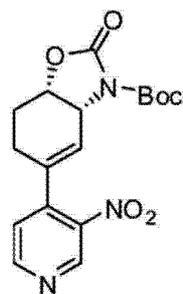
[0529]



[0530] 将甲磺酸 2-(叔丁氧基羰基氨基)-4-(3-硝基吡啶-4-基)环己-3-烯基酯(1.0 当量)的吡啶混合物(0.21M)在微波中、110°C 下搅拌 10min。在减压下除去吡啶。将残留物溶解在乙酸乙酯中,并用饱和 NaCl 洗涤。将有机物用 MgSO<sub>4</sub> 干燥,过滤并浓缩,得到 5-(3-硝基吡啶-4-基)-3,3a,7,7a-四氢苯并[d]咪唑-2(6H)-酮(85%),其没有进一步纯化即用于下一步骤。LC/MS(m/z):MH<sup>+</sup> = 262.1, R<sub>t</sub> = 0.49

[0531] (+/-)-5-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代-3a,6,7,7a-四氢苯并[d]咪唑-3(2H)-甲酸叔丁酯的合成

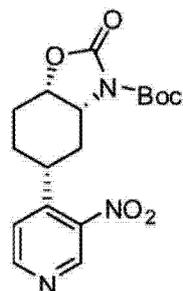
[0532]



[0533] 在室温,向 5-(3-硝基吡啶-4-基)-3,3a,7,7a-四氢苯并[d]咪唑-2(6H)-酮 (1.0 当量)、TEA(1.8 当量)和催化量 DMAP 的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  溶液 (0.19M) 中加入二碳酸二叔丁酯 (1.2 当量)。将反应混合物搅拌 1 小时。将反应混合物用乙酸乙酯 (100mL) 稀释,并用饱和  $\text{NaCl}$  (30mL) 洗涤。将有机物用  $\text{MgSO}_4$  干燥,过滤并浓缩。将残留物通过柱子纯化 (在 1:1 乙酸乙酯和己烷中的 5% 甲醇),得到 5-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代-3a,6,7,7a-四氢苯并[d]咪唑-3(2H)-甲酸叔丁酯 (98%)。LC/MS(m/z): $\text{MH}^+ = 306.0$ ,  $\text{Rt} = 0.75$

[0534] (+/-)-5-(3-氨基吡啶-4-基)-2-氧代六氢苯并[d]咪唑-3(2H)-甲酸叔丁酯的合成

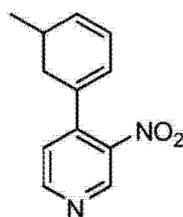
[0535]



[0536] 向 5-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代-3a,6,7,7a-四氢苯并[d]咪唑-3(2H)-甲酸叔丁酯 (1.0 当量) 的甲醇和乙酸乙酯溶液 (1:1, 0.1M) 中加入 Pd/C(10%)。将得到的混合物在  $\text{H}_2$  气氛下搅拌 6 小时。通过过滤除去固体。在减压下浓缩滤液,得到 5-(3-氨基吡啶-4-基)-2-氧代六氢苯并[d]咪唑-3(2H)-甲酸叔丁酯 (87%),其没有进一步纯化即用于下一步骤。LC/MS(m/z): $\text{MH}^+ = 334.1$ ,  $\text{Rt} = 0.51$ .

[0537] (+/-)-4-(5-甲基环己-1,3-二烯基)-3-硝基吡啶的合成

[0538]

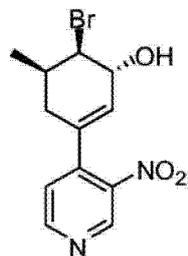


[0539] 向 5-甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯醇 (1.0 当量) 的二氧六环溶液 (0.1M) 中加入 p-TSA(1.0 当量),并将反应物在  $100^\circ\text{C}$  搅拌 3h。将溶液冷却至室温,然后使其通过中性氧化铝垫层 (用 EtOAc 洗脱),得到 (+/-)-4-(5-甲基环己-1,3-二烯基)-3-硝

基吡啶,为黄色油状物,68%收率。LC/MS = 217.1 (M+H), LC = 3.908min.

[0540] (+/-)-6-溴-5-甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯醇的合成

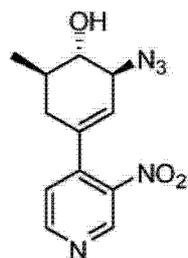
[0541]



[0542] 向 4-(5-甲基环己-1,3-二烯基)-3-硝基吡啶 (1.0 当量) 的 THF 和水溶液 (1 : 1, 0.13M) 中加入 NBS (1.5 当量), 并将反应物在室温搅拌 30min。完成后, 将乙酸乙酯和水加入反应物中, 将有机相用盐水、然后用硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩。将粗物质通过硅胶色谱法采用乙酸乙酯和己烷 (1 : 1) 洗脱进行纯化, 得到 (+/-)-6-溴-5-甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯醇, 为黄色油状物, 80%收率。LC/MS = 315.0/313.0 (M+H), LC = 2.966min.

[0543] (+/-)-2-叠氨基-6-甲基-4-(3-硝基吡啶-4-基)环己-3-烯醇的合成

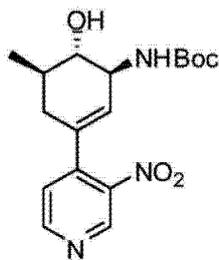
[0544]



[0545] 向 (+/-)-6-溴-5-甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯醇 (1.0 当量) 的 THF 溶液 (0.1M) 中加入叔丁醇钾 (1.5 当量)。反应物几乎立即从橙色变为黑色。借助 TLC 可知, 产物的生成在 30min 内完成。通过加入饱和的氯化铵和乙酸乙酯猝灭。将有机相用盐水、然后用硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩。将粗产物溶解在乙醇和水 (3 : 1, 0.1M) 中, 并加入氯化铵 (2.0 当量) 和叠氮化钠 (2.0 当量)。将深橙色反应物在室温搅拌过夜。通过 LC/MS 显示完全转化为产物。将反应物浓缩以除去乙醇, 加入乙酸乙酯和水, 将有机相用硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩。将粗物质通过硅胶柱色谱法采用乙酸乙酯和己烷 (1 : 1) 洗脱进行纯化, 得到 (+/-)-2-叠氨基-6-甲基-4-(3-硝基吡啶-4-基)环己-3-烯醇, 55%收率。LC/MS = 276.0 (M+H), LC = 2.803min.

[0546] (+/-)-6-羟基-5-甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯基氨基甲酸叔丁酯的合成

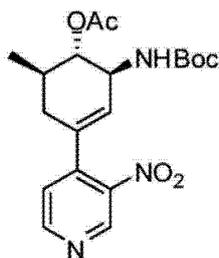
[0547]



[0548] 向 (+/-)-2-叠氨基-6-甲基-4-(3-硝基吡啶-4-基)环己-3-烯醇 (1.0 当量) 的吡啶和氢氧化铵溶液 (8 : 1, 0.08M) 中加入三甲基膦 (3.0 当量), 并将棕色溶液在室温搅拌 2h。一旦完成后, 加入 EtOH, 并将溶液在真空中浓缩。再加入乙醇, 并再次浓缩反应物。将二氧六环和饱和  $\text{NaHCO}_3$  (1 : 1, 0.08M) 加入到粗品中, 随后加入  $\text{Boc}_2\text{O}$  (1.0 当量)。在室温将反应混合物搅拌 2h, 然后加入水和乙酸乙酯。将有机相用  $\text{MgSO}_4$  干燥并浓缩。将粗产物通过硅胶柱色谱法采用乙酸乙酯和己烷 (1 : 1) 洗脱进行纯化, 得到 (+/-)-6-羟基-5-甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯基氨基甲酸叔丁酯 (59%)。LC/MS = 350.1 (M+H),  $R_t$ : 0.76min.

[0549] (+/-)-乙酸 2-(叔丁氧基羰基氨基)-6-甲基-4-(3-硝基吡啶-4-基)环己-3-烯基酯的合成

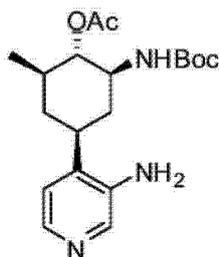
[0550]



[0551] 向 (+/-)-6-羟基-5-甲基-3-(3-硝基吡啶-4-基)环己-2-烯基氨基甲酸叔丁酯 (1.0 当量) 的吡啶溶液 (0.1M) 中加入  $\text{Ac}_2\text{O}$  (2.0 当量), 并将反应物在室温搅拌过夜。一旦完成后, 将反应物浓缩至干, 然后用乙酸乙酯和水后处理。将有机相用盐水、然后用硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩, 得到 (+/-)-乙酸 2-(叔丁氧基羰基氨基)-6-甲基-4-(3-硝基吡啶-4-基)环己-3-烯基酯, 94% 收率。LC/MS = 392.2 (M+H),  $R_t$  = 0.94min.

[0552] (+/-)-乙酸 4-(3-氨基吡啶-4-基)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-6-甲基环己基酯的合成

[0553]

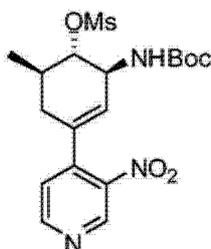


[0554] 向 (+/-)-乙酸 2-(叔丁氧基羰基氨基)-6-甲基-4-(3-硝基吡啶-4-基)环己-3-烯基酯 (1.0 当量) 的 MeOH 和 EtOAc 脱气溶液 (1 : 1, 0.1M) 中加入 Pd/C (0.1 当量), 并将反应物在室温、氢气气球条件下搅拌 3 天。一旦完成后, 将溶液通过硅藻土垫层过滤,

将该垫层用乙酸乙酯洗涤,并浓缩滤液。粗物质含有约 10% 不需要的异构体。将粗物质溶解在乙酸乙酯 (~ 20%) 和己烷中,并加热直至全部溶解。将溶液在室温搅拌 2 天。然后收集沉淀物,得到为纯产物的 (+/-)- 乙酸 4-(3- 氨基吡啶 -4- 基)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-6- 甲基环己基酯,59% 收率。LC/MS = 364.3 (M+H), Rt = 0.63min.

[0555] 甲磺酸 2-(叔丁氧基羰基氨基)-6- 甲基 -4-(3- 硝基吡啶 -4- 基) 环己 -3- 烯基酯的合成

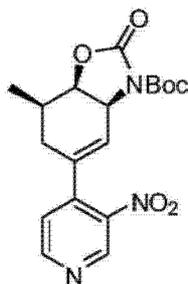
[0556]



[0557] 向 6- 羟基 -5- 甲基 -3-(3- 硝基吡啶 -4- 基) 环己 -2- 烯基氨基甲酸叔丁酯 (1.0 当量) 的 DCM 溶液 (0.09M) 中加入三乙胺 (1.5 当量), 并将反应物冷却至 0°C。将 MsCl (1.2 当量) 加至反应物中, 并搅拌 3h。再将 1.0 当量的 MsCl 加至反应物中, 并再搅拌 2h。加入水对反应物进行后处理, 将有机相用盐水、硫酸钠干燥, 并浓缩。将粗产物通过硅胶柱色谱法采用乙酸乙酯和己烷 (1 : 1) 洗脱进行纯化, 得到甲磺酸 2-(叔丁氧基羰基氨基)-6- 甲基 -4-(3- 硝基吡啶 -4- 基) 环己 -3- 烯基酯, 为白色泡沫状物, 65% 收率。LC/MS = 428.2 (M+H), LC : 3.542min.

[0558] (+/-)-7- 甲基 -5-(3- 硝基吡啶 -4- 基)-2- 氧代 -3a, 6, 7, 7a- 四氢苯并 [d] 噁唑 -3 (2H)- 甲酸叔丁酯的合成

[0559]

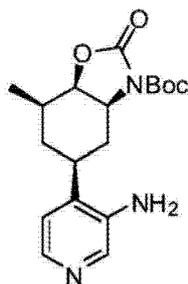


[0560] 将 (+/-)- 甲磺酸 2-(叔丁氧基羰基氨基)-6- 甲基 -4-(3- 硝基吡啶 -4- 基) 环己 -3- 烯基酯 (1.0 当量) 的吡啶溶液 (0.2M) 在微波中在 110°C 加热 10min。然后在真空中浓缩橙色的反应物, 将粗品溶解在乙酸乙酯和水中, 将有机相用硫酸钠干燥并在真空下浓缩。将粗物质溶解在 DCM 中 (0.2M), 加入三乙胺 (1.8 当量), 随后加入 Boc<sub>2</sub>O (1.2 当量)。将反应物搅拌 40min, 然后浓缩至干。将粗物质通过硅胶柱色谱法采用己烷和乙酸乙酯 (1 : 1) 洗脱进行纯化, 得到 (+/-)-7- 甲基 -5-(3- 硝基吡啶 -4- 基)-2- 氧代 -3a, 6, 7, 7a- 四氢苯并 [d] 噁唑 -3 (2H)- 甲酸叔丁酯, 为白色泡沫状物, 66% 收率。LC/MS = 376.0 (M+H), LC : 3.424min.

[0561] (+/-)-5-(3- 氨基吡啶 -4- 基)-7- 甲基 -2- 氧代六氢苯并 [d] 噁唑 -3 (2H)- 甲

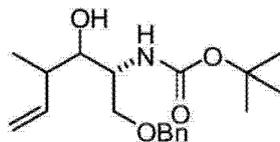
## 酸叔丁酯的合成

[0562]



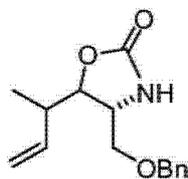
[0563] 向 (+/-)-7-甲基-5-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代-3a,6,7,7a-四氢苯并[d]咪唑-3(2H)-甲酸叔丁酯 (1.0 当量) 的 MeOH 和 EtOAc 脱气溶液 (1:1, 0.1M) 中加入 Pd/C (0.1 当量)。将反应物在氢气气球条件下搅拌过夜。一旦完成后,将溶液通过硅藻土垫层过滤,并将该垫层用乙酸乙酯洗涤。将滤液在真空下浓缩,得到为所需产物的 (+/-)-5-(3-氨基吡啶-4-基)-7-甲基-2-氧代六氢苯并[d]咪唑-3(2H)-甲酸叔丁酯,为黄色泡沫状物,93%收率。LC/MS = 348.1 (M+H), Rt = 055min.

[0564] (2R)-1-(苄基氧基)-3-羟基-4-甲基己-5-烯-2-基氨基甲酸叔丁酯的合成  
[0565]



[0566] 在 -78°C、Ar 气氛下向 N-Boc, O-苄基-D-丝氨酸醛 (1.0 当量) 的 DCM 溶液 (0.1M) 中,加入 (Z)-2-(丁-2-烯基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷 (1.1 当量),并将澄清的溶液搅拌 16 小时,其升至 rt。将溶液加至 EtOAc 中,并用 H<sub>2</sub>O (3x) 和 NaCl<sub>(饱和的)</sub> 洗涤,用 MgSO<sub>4</sub> 干燥,并通过硅胶色谱法 (15% EtOAc/己烷) 纯化,得到 (2R)-1-(苄基氧基)-3-羟基-4-甲基己-5-烯-2-基氨基甲酸叔丁酯 (54%),通过 <sup>1</sup>H NMR 判断为 3:1 的异构体混合物。LCMS (m/z): 236.3 (MH<sup>+</sup>-Boc); LC R<sub>t</sub> = 4.37 和 4.51min.

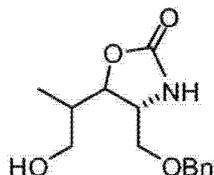
[0567] (4R)-4-(苄基氧基甲基)-5-(丁-3-烯-2-基)咪唑烷-2-酮的合成  
[0568]



[0569] 向 (2R)-1-(苄基氧基)-3-羟基-4-甲基己-5-烯-2-基的 THF 溶液 (0.1M) 中加入 60% 在矿物油中的氢化钠 (1.5 当量)。搅拌 3 天后,通过加入 NH<sub>4</sub>Cl<sub>(饱和的)</sub> 猝灭反应,并将溶液用 EtOAc 稀释,并用 NH<sub>4</sub>Cl<sub>(饱和的)</sub> 和 NaCl<sub>(饱和的)</sub> 洗涤,用 MgSO<sub>4</sub> 干燥,并通过硅胶色谱法 (50% EtOAc/己烷) 纯化,得到 (4R)-4-(苄基氧基甲基)-5-(丁-3-烯-2-基)咪唑烷-2-酮 (89%),为 3:1 混合物。LCMS (m/z): 262.2 (MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 3.47min.

[0570] (4R)-4-(苄基氧基甲基)-5-(1-羟基丙-2-基)噁唑烷-2-酮的合成

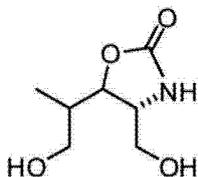
[0571]



[0572] 向 (4R)-4-(苄基氧基甲基)-5-(丁-3-烯-2-基)噁唑烷-2-酮 (1.0 当量) 的 2:1MeOH/H<sub>2</sub>O 溶液 (0.04M) 中加入 4% 的在 H<sub>2</sub>O 中的四氧化钨 (0.07 当量) 和高碘酸钠 (3.0 当量)。搅拌 3 小时后, 将白色沉淀物过滤并用 EtOAc 淋洗。将合并的滤液在真空中浓缩, 并将残留物溶解在 EtOAc 中, 用 NaCl<sub>(饱和的)</sub> 洗涤, 用 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并浓缩。将粗制的醛溶解在 EtOH (0.08M) 中, 并冷却至 0°C, 加入硼氢化钠 (2.0 当量)。搅拌 15 小时后, 升至室温, 通过加入 H<sub>2</sub>O 猝灭反应。搅拌 20 分钟后, 在真空中除去 EtOH, 加入 EtOAc, 并将溶液用 1N HCl、NaHCO<sub>3(饱和的)</sub> 和 NaCl<sub>(饱和的)</sub> 洗涤, 用 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并浓缩, 通过硅胶色谱法纯化后, 得到 (4R)-4-(苄基氧基甲基)-5-(1-羟基丙-2-基)噁唑烷-2-酮, 为 3:1 的异构体混合物 (60%)。LCMS(m/z):266.1(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 2.28min.

[0573] (4R)-4-(羟基甲基)-5-(1-羟基丙-2-基)噁唑烷-2-酮的合成

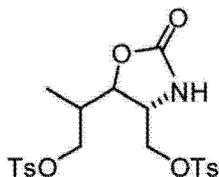
[0574]



[0575] 向 (4R)-4-(苄基氧基甲基)-5-(1-羟基丙-2-基)噁唑烷-2-酮 (1.0 当量) 的甲醇溶液 (浓度为 0.1M) 中加入 10% 钨碳 (0.1eq.)。将得到的非均匀溶液置于氢气气氛下, 并搅拌 15 小时。此时将混合物通过硅藻土过滤, 用甲醇洗脱。在真空中除去挥发物, 得到 (4R)-4-(羟基甲基)-5-(1-羟基丙-2-基)噁唑烷-2-酮 (99%)。LCMS(m/z):176.1(MH<sup>+</sup>).

[0576] 4-甲基苯磺酸 2-((4R)-2-氧代-4-(对甲苯磺酰基氧基甲基)噁唑烷-5-基)丙基酯的合成

[0577]

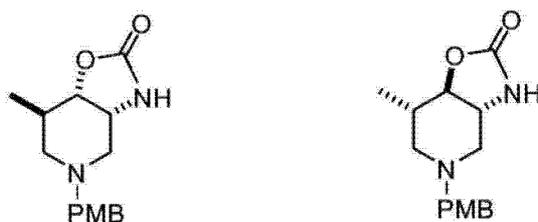


[0578] 在 0°C 向 (4R)-4-(羟基甲基)-5-(1-羟基丙-2-基)噁唑烷-2-酮 (1.0 当量) 的吡啶溶液 (0.15M) 中加入对甲苯磺酰氯 (2.1 当量)。使溶液升至 rt, 将其搅拌 14 小时,

此时加入 EtOAc, 并将溶液用 H<sub>2</sub>O (3x)、CuSO<sub>4</sub> (饱和的) (2x)、H<sub>2</sub>O、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (饱和的) 和 NaCl (饱和的) 洗涤, 用 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤, 浓缩并通过硅胶色谱法 (75% EtOAc/ 己烷洗脱) 纯化, 得到 4-甲基苯磺酸 2-((4R)-2-氧代-4-(对甲苯磺酰基氧基甲基)哌啶-5-基)丙基酯 (68%)。LCMS(m/z): 484.1 (MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 4.06min.

[0579] (3aR, 7R, 7aS)-5-(4-甲氧基苄基)-7-甲基六氢哌啶并[4,5-c]吡啶-2(3H)-酮和 (3aR, 7S, 7aR)-5-(4-甲氧基苄基)-7-甲基六氢哌啶并[4,5-c]吡啶-2(3H)-酮的合成

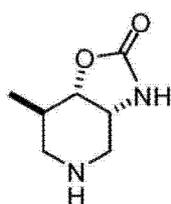
[0580]



[0581] 将 4-甲基苯磺酸 2-((4R)-2-氧代-4-(对甲苯磺酰基氧基甲基)哌啶-5-基)丙基酯 (1.0 当量)、二异丙基乙胺 (3.0 当量) 和对甲氧基苄胺 (1.5 当量) 的 NMP 溶液 (0.05M) 在 100°C 加热 14 小时。将溶液通过 RP HPLC 直接纯化。通过加至 EtOAc 和 Na<sub>2</sub>CO<sub>3(s)</sub> 中将产物流份脱盐, 进一步用 NaCl (饱和的) 洗涤, 用 MgSO<sub>4</sub> 干燥并浓缩, 得到两个分离的异构体 (3aR, 7R, 7aS)-5-(4-甲氧基苄基)-7-甲基六氢哌啶并[4,5-c]吡啶-2(3H)-酮和 (3aR, 7S, 7aR)-5-(4-甲氧基苄基)-7-甲基六氢哌啶并[4,5-c]吡啶-2(3H)-酮 (27% 和 8%)。LCMS(m/z): 277.2 (MH<sup>+</sup>)。

[0582] (3aR, 7R, 7aS)-7-甲基六氢哌啶并[4,5-c]吡啶-2(3H)-酮的合成

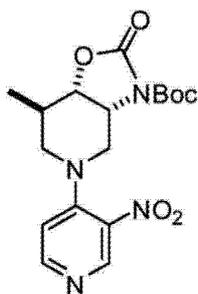
[0583]



[0584] 向 (3aR, 7R, 7aS)-5-(4-甲氧基苄基)-7-甲基六氢哌啶并[4,5-c]吡啶-2(3H)-酮 (1.0 当量) 的甲醇溶液 (浓度为 0.1M) 中加入 20% 在炭上的氢氧化钡 (0.3eq.)。将得到的非均匀溶液置于氢气气氛下, 并搅拌 2 小时。此时将混合物通过硅藻土过滤, 用甲醇洗脱。在真空中除去挥发物, 得到 (3aR, 7R, 7aS)-7-甲基六氢哌啶并[4,5-c]吡啶-2(3H)-酮 (99%)。LCMS(m/z): 157.1 (MH<sup>+</sup>)。

[0585] (3aR, 7R, 7aS)-7-甲基-5-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代六氢哌啶并[4,5-c]吡啶-3(2H)-甲酸叔丁酯的合成

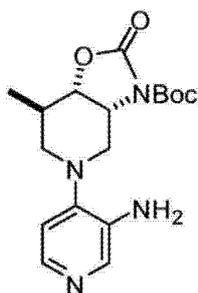
[0586]



[0587] 将 4-氯-3-硝基吡啶 (1.3 当量) 和 (3aR, 7R, 7aS)-7-甲基六氢咪唑并 [4,5-c] 吡啶-2(3H)-酮 (1.5 当量) 的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  溶液 (浓度为 0.1M) 在 rt 搅拌 48 小时, 此时加入哌啶 (0.4 当量), 以消耗过量的 4-氯-3-硝基吡啶。再搅拌 2 小时后, 加入二碳酸二叔丁酯 (2.0 当量) 和二甲基氨基吡啶 (0.1 当量)。搅拌 4 小时后, 将溶液在 EtOAc 和  $\text{NaHCO}_3$  (饱和的) 之间分配, 进一步用  $\text{NaHCO}_3$  (饱和的) 和  $\text{NaCl}$  (饱和的) 洗涤, 用  $\text{MgSO}_4$  干燥, 过滤并通过硅胶色谱法纯化, 得到 (3aR, 7R, 7aS)-7-甲基-5-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代六氢咪唑并 [4,5-c] 吡啶-3(2H)-甲酸叔丁酯 (62%)。LCMS (m/z): 379.0 ( $\text{MH}^+$ )。

[0588] (3aR, 7R, 7aS)-5-(3-氨基吡啶-4-基)-7-甲基-2-氧代六氢咪唑并 [4,5-c] 吡啶-3(2H)-甲酸叔丁酯的合成

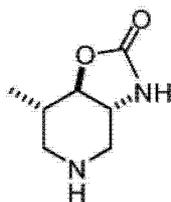
[0589]



[0590] 向 (3aR, 7R, 7aS)-7-甲基-5-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代六氢咪唑并 [4,5-c] 吡啶-3(2H)-甲酸叔丁酯 (1.0 当量) 的甲醇溶液 (浓度为 0.1M) 中加入 10% 钯碳 (0.1eq.)。将得到的非均匀溶液置于氢气气氛下, 并搅拌 14 小时。此时将混合物通过硅藻土垫层过滤, 用甲醇洗脱。在真空中除去挥发物, 得到 (3aR, 7R, 7aS)-5-(3-氨基吡啶-4-基)-7-甲基-2-氧代六氢咪唑并 [4,5-c] 吡啶-3(2H)-甲酸叔丁酯。LCMS (m/z): 349.1 ( $\text{MH}^+$ ); LC  $R_t = 2.06\text{min}$ 。

[0591] (3aR, 7S, 7aR)-7-甲基六氢咪唑并 [4,5-c] 吡啶-2(3H)-酮的合成

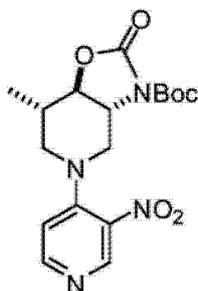
[0592]



[0593] 向 (3aR, 7S, 7aR)-5-(4-甲氧基苄基)-7-甲基六氢吡啶并[4,5-c]吡啶-2(3H)-酮 (1.0 当量) 的甲醇溶液 (浓度为 0.1M) 中加入 20% 在炭上的氢氧化钡 (0.3eq.)。将得到的非均匀溶液置于氢气气氛下, 并搅拌 2 小时。此时将混合物通过硅藻土垫层过滤, 用甲醇洗脱。在真空中除去挥发物, 得到 (3aR, 7S, 7aR)-7-甲基六氢吡啶并[4,5-c]吡啶-2(3H)-酮 (99%)。LCMS(m/z):157.1(MH<sup>+</sup>)。

[0594] (3aR, 7S, 7aR)-7-甲基-5-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代六氢吡啶并[4,5-c]吡啶-3(2H)-甲酸叔丁酯的合成

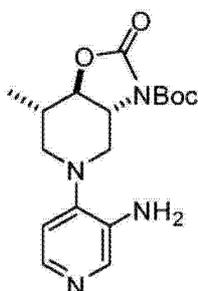
[0595]



[0596] 将 4-氯-3-硝基吡啶 (1.3 当量) 和 (3aR, 7S, 7aR)-7-甲基六氢吡啶并[4,5-c]吡啶-2(3H)-酮 (1.5 当量) 的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 溶液 (浓度为 0.1M) 在 rt 搅拌 48 小时, 此时加入哌啶 (0.4 当量) 以消耗过量的 4-氯-3-硝基吡啶。再搅拌 2 小时后, 加入二碳酸二叔丁酯 (2.0 当量) 和二甲基氨基吡啶 (0.1 当量)。搅拌 4 小时后, 将溶液在 EtOAc 和 NaHCO<sub>3</sub>(饱和的) 之间分配, 进一步用 NaHCO<sub>3</sub>(饱和的) 和 NaCl(饱和的) 洗涤, 用 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并通过硅胶色谱法 (75% EtOAc/ 己烷洗脱剂) 纯化, 得到 (3aR, 7S, 7aR)-7-甲基-5-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代六氢吡啶并[4,5-c]吡啶-3(2H)-甲酸叔丁酯 (35%)。LCMS(m/z):379.0(MH<sup>+</sup>)。LCR<sub>t</sub> = 2.42min.

[0597] (3aR, 7R, 7aS)-5-(3-氨基吡啶-4-基)-7-甲基-2-氧代六氢吡啶并[4,5-c]吡啶-3(2H)-甲酸叔丁酯的合成

[0598]



[0599] 向 (3aR, 7S, 7aR)-7-甲基-5-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代六氢吡啶并[4,5-c]吡啶-3(2H)-甲酸叔丁酯 (1.0 当量) 的甲醇溶液 (浓度为 0.1M) 中加入 10% 钨碳 (0.1eq.)。将得到的非均匀溶液置于氢气气氛下, 并搅拌 14 小时。此时将混合物通过硅藻土垫层过滤, 用甲醇洗脱。在真空中除去挥发物, 得到 (3aR, 7S, 7aR)-5-(3-氨基吡

啶-4-基)-7-甲基-2-氧代六氢噻唑并[4,5-c]吡啶-3(2H)-甲酸叔丁酯。LCMS(m/z):349.1(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 2.18min.

[0600] 方法 3

[0601] 2,6-二氟硫代苯甲酰胺的合成

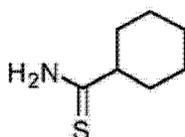
[0602]



[0603] 将 2,6-二氟苯甲酰胺 (1eq) 和 Lawesson's 试剂 (0.5eq.) 的甲苯溶液 (0.2M) 在 90℃ 加热 14 小时。冷却后,在真空中除去挥发物并通过 SiO<sub>2</sub> 色谱法 (25% EtOAc/ 己烷) 纯化,得到 2,6-二氟硫代苯甲酰胺,为浅黄色固体 (99%)。LCMS(m/z):174.1(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 2.19min.

[0604] 环己烷硫代甲酰胺的合成

[0605]

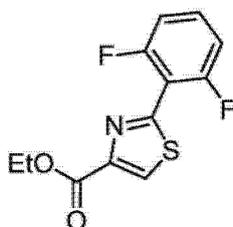


[0606] 根据方法 3,使环己烷甲酰胺和 Lawesson's 试剂反应,得到环己烷硫代甲酰胺。LCMS(m/z):144.1(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 5.10min.

[0607] 方法 4

[0608] 2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酸乙酯的合成

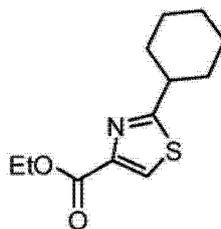
[0609]



[0610] 将 2,6-二氟硫代苯甲酰胺 (1.0eq) 和溴丙酮酸乙酯 (1.0eq.) 的乙醇溶液 (1.0M) 在微波中在 130℃ 加热 30 分钟。在真空中除去挥发物后,加入乙酸乙酯,将溶液用 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(饱和的) 和 NaCl(饱和的) 洗涤,用 MgSO<sub>4</sub> 干燥,过滤并浓缩,得到 2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酸乙酯 (84%)。LCMS(m/z):270.1(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 3.79min.

[0611] 2-环己基噻唑-4-甲酸乙酯的合成

[0612]

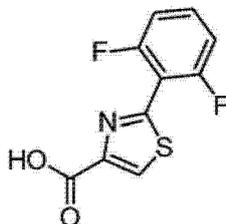


[0613] 根据方法 4, 采用环己烷硫代甲酰胺, 得到 2-环己基噻唑-4-甲酸乙酯。LCMS(m/z): 240.1(MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 3.90min.

[0614] 方法 5

[0615] 2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酸的合成

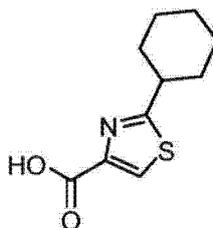
[0616]



[0617] 向 2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酸乙酯 (1.0eq.) 的 2:1THF/MeOH 溶液 (0.17M) 中加入 1.0M LiOH(2.0eq.)。放置 16 小时后, 加入 1.0M HCl(2.0eq.), 在真空中除去 THF/MeOH。将得到的固体过滤, 用 H<sub>2</sub>O 淋洗并干燥, 得到 2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酸 (88%), 为痂状 (crusty) 固体。LCMS(m/z): 251.1(MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 2.68min.

[0618] 2-环己基噻唑-4-甲酸的合成

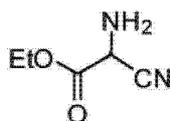
[0619]



[0620] 根据方法 5, 将 2-环己基噻唑-4-甲酸乙酯水解, 得到 2-环己基噻唑-4-甲酸。LCMS(m/z): 212.1(MH<sup>+</sup>); LC R<sub>t</sub> = 2.90min.

[0621] 2-氨基-2-氰基乙酸乙酯的合成

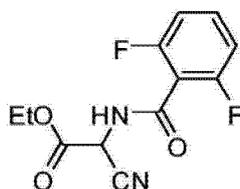
[0622]



[0623] 向 2-氰基-2-(羟基亚氨基)乙酸乙酯 (1eq) 在 70mL 水和 56mL 饱和碳酸氢钠水溶液中的溶液中历经 10 分钟分次加入 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (2.8eq)。将反应混合物在室温搅拌 1 小时。将溶液用氯化钠饱和, 用二氯甲烷 (300mLx3) 萃取, 然后将合并的有机层用无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤, 并在真空中浓缩, 得到标题化合物, 其没有进一步纯化即用于下一步骤 (55%)。LC/MS(m/z): 129.0(MH<sup>+</sup>), R<sub>t</sub>: 0.25min.

[0624] 2-氰基-2-(2,6-二氟苯甲酰氨基)乙酸乙酯的合成

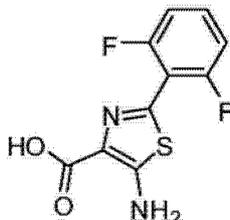
[0625]



[0626] 在 0℃ 向 2-氨基-2-氰基乙酸乙酯 (1eq) 的 6mL 二氯甲烷溶液中加入吡啶 (1.5eq) 和 2,6-二氟苯甲酰氯 (1eq)。将反应混合物在室温搅拌 3 小时。将混合物用乙酸乙酯稀释,用盐水洗涤,然后用无水  $MgSO_4$  干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc : 己烷 = 1 : 1) 纯化,得到标题化合物 (84%)。LC/MS(m/z) : 269.1 ( $MH^+$ ),  $R_t$  : 0.69min.

[0627] 5-氨基-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酸的合成

[0628]

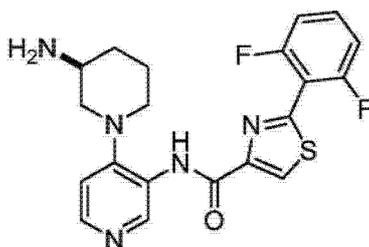


[0629] 向 2-氰基-2-(2,6-二氟苯甲酰氨基)乙酸乙酯 (1eq) 的 10mL 甲苯溶液中加入 Lawesson 试剂。将混合物在 95℃ 搅拌 2 天。在减压下除去溶剂。将粗制的残留物通过快速色谱法 (EtOAc : 己烷 = 1 : 1) 纯化,得到 5-氨基-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酸乙酯,将其溶解在 5mL 甲醇和 5mL THF 中。然后向混合物加入 1M 氢氧化钠 (2eq)。将反应混合物在室温搅拌过夜。将反应物浓缩以除去大部分溶剂。将残留物用乙酸乙酯萃取。用 1N HCl 将水层酸化至 pH = 4-5。将得到的混合物用乙酸乙酯萃取。分离有机层,用盐水洗涤,然后用无水  $MgSO_4$  干燥,过滤并在真空中浓缩,得到纯的标题化合物 (34%)。LC/MS(m/z) : 257.1 ( $MH^+$ ),  $R_t$  : 0.61min.

[0630] 方法 6

[0631] (S)-N-(4-(3-氨基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺的合成

[0632]



[0633] 将各 1eq 的 (S)-1-(3-氨基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯、2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酸、HOAT 和 EDC 的 NMP 均匀溶液 (浓度为 0.38M) 放置 48 小时,此时通过 HPLC 直接纯化混合物。冷冻干燥后,得到 (S)-1-(3-(2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰氨基)吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的 TFA 盐。或者,可以将 HPLC 流份加至 EtOAc 和固体  $Na_2CO_3$ ,分离并用  $NaCl$  (饱和的) 洗涤。用  $MgSO_4$  干燥后,过滤并在真空中除去挥发物,得到 (S)-1-(3-(2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰氨基)吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯。

[0634] 通过用 25% TFA/ $CH_2Cl_2$  处理 2 小时或用过量的 4M HCl 的二氧六环溶液处理 12 小时除去 Boc 基团。在真空中除去挥发物后,将物质通过 RPHPLC 纯化,冻干后,得到为 TFA 盐的 (S)-N-(4-(3-氨基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺。

或者,可以将 HPLC 流份加至 EtOAc 和固体  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 分离并用  $\text{NaCl}$  (饱和的) 洗涤。用  $\text{MgSO}_4$  干燥后, 过滤并在真空中除去挥发物, 得到游离碱。溶解于  $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$  后, 加入 1eq. 的 1N HCl 并冻干, 获得 (S)-N-(4-(3-氨基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺的 HCl 盐 (43%)。LCMS(m/z): 416.1 ( $\text{MH}^+$ ); LC  $R_t = 1.95\text{min}$ .

[0635] 如果存在苯甲酰基保护的羟基, 可以在除去 Boc 之前通过用 0.2M 在 MeOH 中的氢氧化钠 (3eq) 在室温处理 3 小时将它们脱保护, 此后将溶液用乙酸乙酯稀释, 用盐水洗涤, 用无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 过滤, 并在真空中浓缩, 得到 Boc 保护的醇。

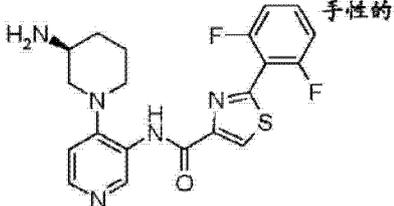
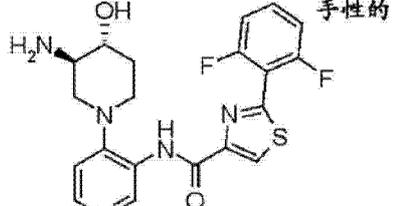
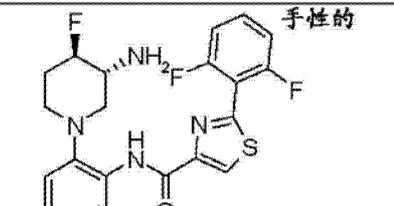
[0636] 如果存在 N-Boc1,2 氨基醇环状氨基甲酸酯, 在 Boc 脱保护前, 可以通过用浓度为 0.1M 的在甲醇中的  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (0.5eq) 处理 3 小时, 将环状氨基甲酸酯裂解。在真空中除去挥发物后, 如上所述那样将 Boc 氨基基团脱保护。

[0637] 如果存在 TBDMS 醚, 在除去 Boc 前, 通过用 6N HCl、THF、甲醇 (1:2:1) 在室温处理 2h 将它们脱保护。在真空中除去挥发物后, 如上所述那样将 Boc 氨基基团脱保护。

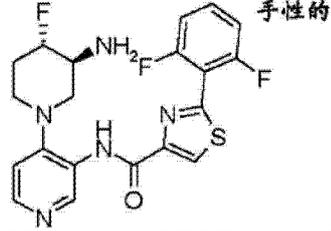
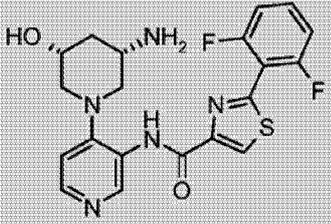
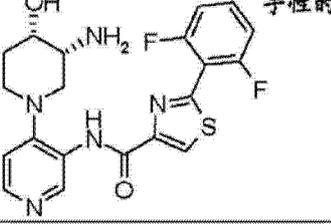
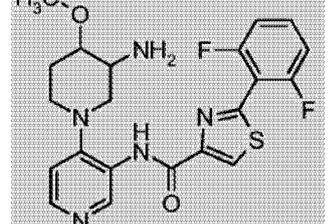
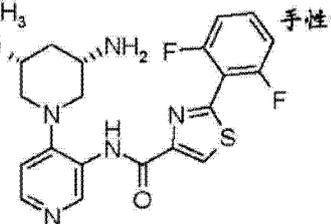
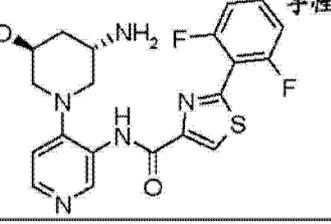
[0638] 如果存在二乙氧基磷酰基氨基基团, 通过在二氧六环/2N HCl (水溶液) 的 1:1 溶液在  $70^\circ\text{C}$  加热过夜将所述胺脱保护。在真空中除去挥发物后, 将物质通过 RP HPLC 纯化。

[0639] 采用方法 6 制备下列化合物:

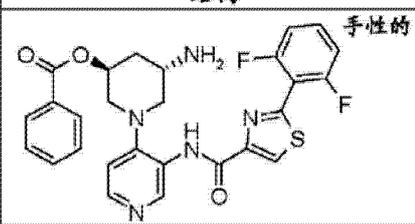
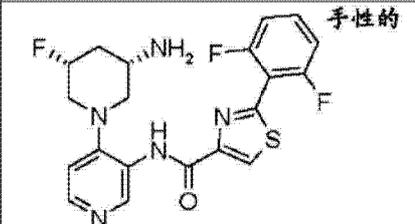
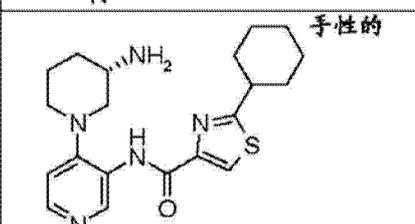
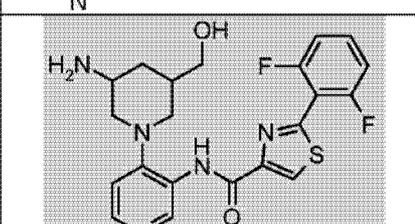
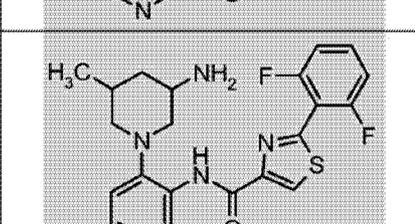
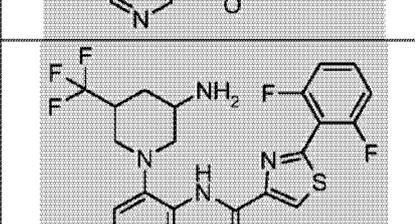
[0640]

实施例编号	结构	化合物名称	LC/MS (M+H 在 UPCL 中)	LC/MS (Rf min 在 UPLC 中)
1		(S)-N-(4-(3-氨基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	416.1	1.95
2		N-(4-((3R,4R)-3-氨基-4-羟基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	432.1	1.84
3		N-(4-((3R,4R)-3-氨基-4-氟哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	434.1	2.23

[0641]

实施例 编号	结构	化合物名称	LC/MS (M+H 在 UPCL 中)	LC/MS (Rf min 在 UPLC 中)
4	 手性的	N-(4-((3S,4S)-3-氨基-4-氟哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	434.1	2.22
5		N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-羟基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	432	1.65
6	 手性的	N-(4-((3R,4S)-3-氨基-4-羟基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	432.1	1.89
7		N-(4-(3-氨基-4-甲氧基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	445.9	1.96
8	 手性的	N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-甲氧基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	446.1	1.83
9	 手性的	N-(4-((3S,5S)-3-氨基-5-羟基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	432.0	1.75

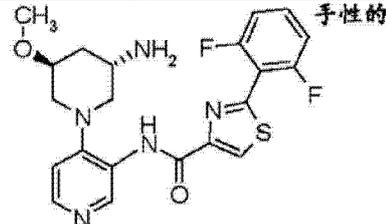
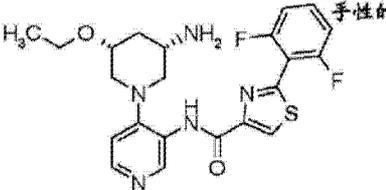
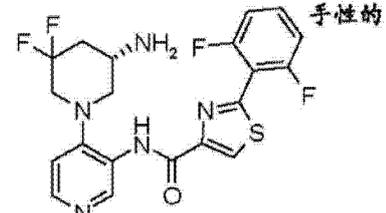
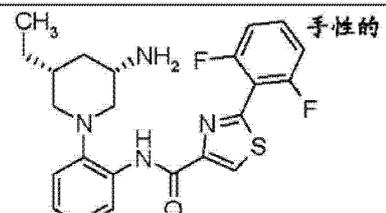
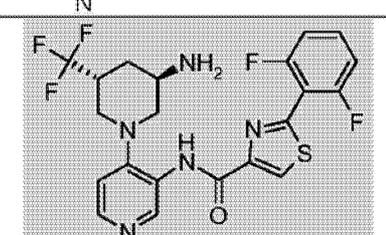
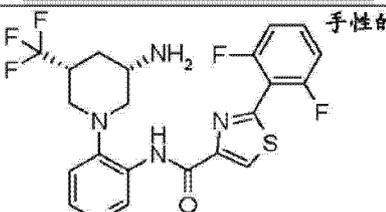
[0642]

实施例 编号	结构	化合物名称	LC/MS (M+H 在 UPCL 中)	LC/MS (Rf min 在 UPLC 中)
10	 手性的	苯甲酸(3 <i>S</i> ,5 <i>S</i> )-5-氨基-1-(3-(2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰氨基)吡啶-4-基)哌啶-3-基酯	536.1	2.44
11	 手性的	N-(4-((3 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )-3-氨基-5-氟哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	433.9	1.80
12	 手性的	( <i>S</i> )-N-(4-(3-氨基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-环己基噻唑-4-甲酰胺	386.1	2.12
13		N-(4-(3-氨基-5-(羟基甲基)哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	446.0	1.78
14		N-(4-(3-氨基-5-甲基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	430.0	2.14
15		N-(4-(3-氨基-5-(三氟甲基)哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	484.1	2.27

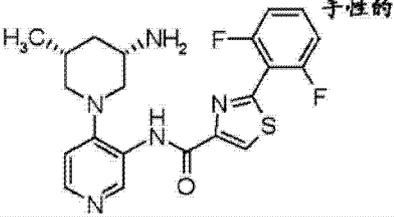
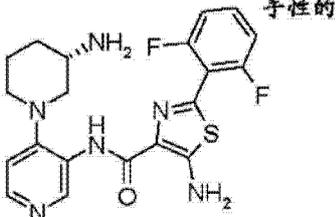
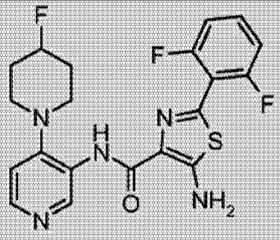
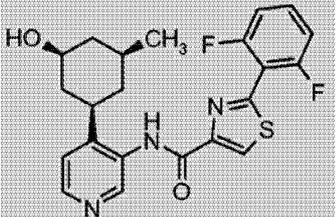
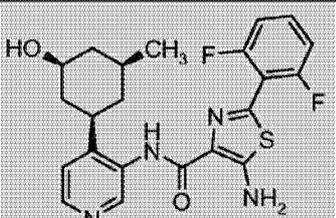
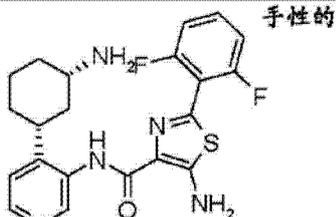
[0643]

实施例 编号	结构	化合物名称	LC/MS (M+H 在 UPCL 中)	LC/MS (Rf min 在 UPLC 中)
16		N-(4-(3-氨基-5-(氟甲基)哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	448.0	2.05
17		N-(4-((3S,5S)-3-氨基-5-氟哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	434.0	0.49
18		N-(4-(3-氨基-4-氯哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	449.8	0.55
19		N-(4-(3-氨基-4-甲基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	430.1	0.57
20		N-(4-(3-氨基-5-甲基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-环己基噻唑-4-甲酰胺	400.1	0.64
21		N-(4-(3-氨基-5-(三氟甲基)哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-环己基噻唑-4-甲酰胺	454.1	0.72

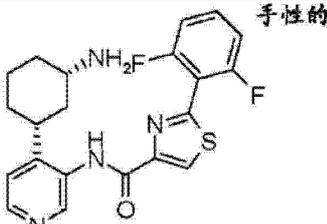
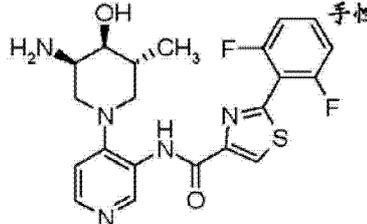
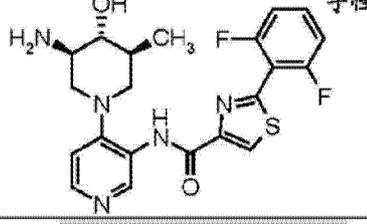
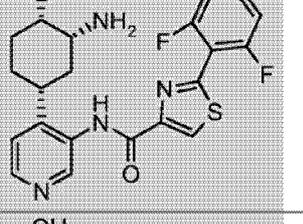
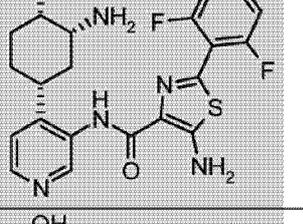
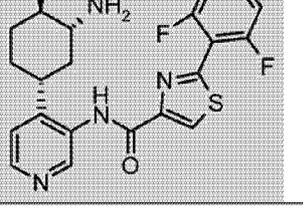
[0644]

实施例编号	结构	化合物名称	LC/MS (M+H 在 UPCL 中)	LC/MS (Rf min 在 UPLC 中)
22	 <p>手性的</p>	N-(4-((3S,5S)-3-氨基-5-甲氧基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	446.1	0.54
23	 <p>手性的</p>	N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-乙氧基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	460.0	0.54
24	 <p>手性的</p>	(S)-N-(4-(5-氨基-3,3-二氟哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	452.0	0.56
25	 <p>手性的</p>	N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-乙基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	444.1	0.57
26		N-(4-((3R,5R)-3-氨基-5-(三氟甲基)哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	484.1	0.57
27	 <p>手性的</p>	N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-(三氟甲基)哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	484.0	0.68

[0645]

实施例 编号	结构	化合物名称	LC/MS (M+H 在 UPCL 中)	LC/MS (Rf min 在 UPLC 中)
28		N-(4-((3S,5R)-3-氨基-5-甲基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	430.2	0.60
29		(S)-5-氨基-N-(4-(3-氨基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	431.0	0.51
30		5-氨基-2-(2,6-二氟苯基)-N-(4-(4-氟哌啶-1-基)吡啶-3-基)噻唑-4-甲酰胺	434.0	0.75
31		2-(2,6-二氟苯基)-N-(4-((1R,3S,5S)-3-羟基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)噻唑-4-甲酰胺	430.1	0.7
32		5-氨基-2-(2,6-二氟苯基)-N-(4-((1R,3S,5S)-3-羟基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)噻唑-4-甲酰胺	445.1	0.7
33		5-氨基-N-(4-((1R,3S)-3-氨基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	430.0	0.54

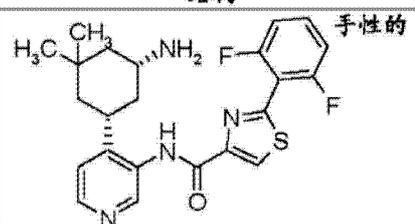
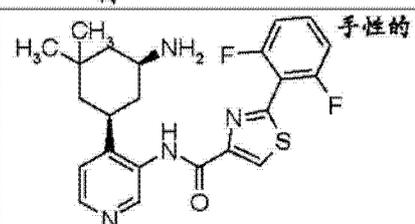
[0646]

实施例 编号	结构	化合物名称	LC/MS (M+H 在 UPCL 中)	LC/MS (Rf min 在 UPLC 中)
34		N-(4-((1R,3S)-3-氨基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	415.0	0.54
35		N-(4-((3R,4S,5R)-3-氨基-4-羟基-5-甲基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	446.2	0.51
36		N-(4-((3R,4R,5S)-3-氨基-4-羟基-5-甲基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	446.0	0.55
37		N-(4-((1R,3R,4S)-3-氨基-4-羟基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	431.0	0.50
38		5-氨基-N-(4-(3-氨基-4-羟基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	446.1	0.51
39		N-(4-((1R,3R,4R)-3-氨基-4-羟基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	431.0	0.54

[0647]

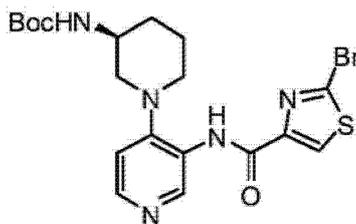
实施例编号	结构	化合物名称	LC/MS (M+H 在 UPCL 中)	LC/MS (Rf min 在 UPLC 中)
40		N-(4-((1R,3S,5S)-3-氨基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-环己基噻唑-4-甲酰胺	399.3	0.63
41		N-(4-((1R,3R,4R,5S)-3-氨基-4-羟基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺(和对映体)	445.1	0.52
42		N-(4-((1R,3R,4R,5S)-3-氨基-4-羟基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-环己基噻唑-4-甲酰胺	415.1	0.60
43		N-(4-((1R,3R,4S,5S)-3-氨基-4-羟基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺(和对映体)	445.2	0.54
44		N-(4-((1S,3R,5R)-3-氨基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	429.2	0.68
45		N-(4-((1R,3S,5S)-3-氨基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	429.2	0.68

[0648]

实施例编号	结构	化合物名称	LC/MS (M+H 在 UPCL 中)	LC/MS (Rf min 在 UPLC 中)
46	 <p>手性的</p>	N-(4-((1R,5R)-5-氨基-3,3-二甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	443.2	0.60
47	 <p>手性的</p>	N-(4-((1R,5R)-5-氨基-3,3-二甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	443.2	0.60

[0649] (S)-1-(3-(2-溴噻唑-4-甲酰氨基)吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

[0650]

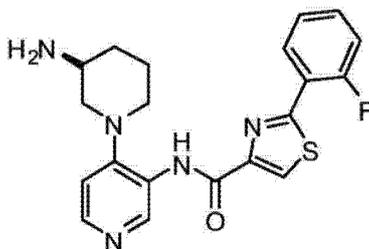


[0651] 将含有各 1eq 的 (S)-1-(3-氨基吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯、2-溴噻唑-4-甲酸、HOAT 和 EDC 的 DMF 溶液 (浓度为 0.5M) 搅拌 60 小时。将溶液用 EtOAc 稀释,并用 H<sub>2</sub>O (4x)、NaCl<sub>(饱和的)</sub> 洗涤,用 MgSO<sub>4</sub> 干燥,过滤并在真空中除去挥发物,得到 (S)-1-(3-(2-溴噻唑-4-甲酰氨基)吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯,LCMS(m/z):416.1(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 1.95min.

[0652] 方法 7

[0653] (S)-N-(4-(3-氨基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2-氟苯基)噻唑-4-甲酰胺的合成

[0654]



[0655] 将 (S)-1-(3-(2-溴噻唑-4-甲酰氨基)吡啶-4-基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯 (1.0eq)、2-氟苯基硼酸 (3.0eq.)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.15eq.) 的 3:1DME/2MNa<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液 (浓度 = 0.1M) 在微波辐射下在 120°C 加热 1200 秒。冷却后,分离有机层,并浓缩,将 N-Boc Suzuki 产物通过反相 HPLC 直接纯化。将产物流份冻干,并将得到的固体用 25% TFA/DCM 处

理（在得到的 0.05M 的浓度下）。搅拌 2 小时后，在真空中除去挥发物，并将残留物通过反相 HPLC 纯化。冻干后，得到为 TFA 盐的 (S)-N-(4-(3-氨基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2-氟苯基)噻唑-4-甲酰胺 (35%)。LCMS(m/z):398.1(MH<sup>+</sup>) ;LC Rt = 2.06min.

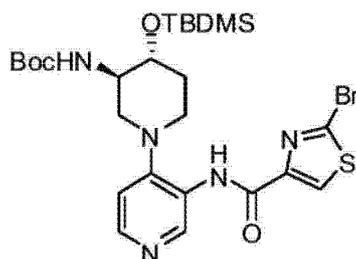
[0656] 采用方法 7 制备下列化合物：

[0657]

实施例编号	结构	化合物名称	LC/MS (M+H 在 UPCL 中)	LC/MS (Rf min 在 UPLC 中)
48		(S)-N-(4-(3-氨基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-苯基噻唑-4-甲酰胺	380.1	1.94
49		(S)-N-(4-(3-氨基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2-氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	398.1	2.06
50		(S)-N-(4-(3-氨基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2-氟-5-(异丙基氨基甲酰基)苯基)噻唑-4-甲酰胺	483.2	2.04
51		N-(4-((3S,4S)-3-氨基-4-羟基哌啶-1-基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺	432.1	1.85

[0658] (3R,4R)-1-(3-(2-溴噻唑-4-甲酰氨基)吡啶-4-基)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯的合成

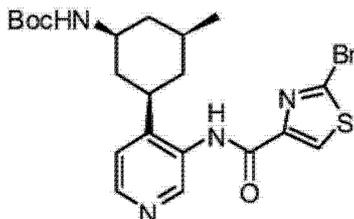
[0659]



[0660] 将含有各 1eq 的 (3R, 4R)-1-(3-氨基吡啶-4-基)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯、2-溴噻唑-4-甲酸、HOAT 和 EDC 的 DMF 溶液 (浓度为 0.5M) 搅拌 60 小时。将溶液用 EtOAc 稀释,并用 H<sub>2</sub>O(4x)、NaCl<sub>(饱和的)</sub> 洗涤,用 MgSO<sub>4</sub> 干燥,过滤并在真空中除去挥发物,得到 (3R, 4R)-1-(3-(2-溴噻唑-4-甲酰氨基)吡啶-4-基)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)哌啶-3-基氨基甲酸叔丁酯,LCMS(m/z):612.2/614.2(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 4.26min.

[0661] (1S, 3R, 5S)-3-(3-(2-溴噻唑-4-甲酰氨基)吡啶-4-基)-5-甲基环己基氨基甲酸叔丁酯的合成

[0662]

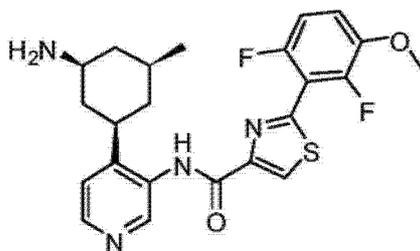


[0663] 将含有各 1eq 的 (1S, 3R, 5S)-3-(3-氨基吡啶-4-基)-5-甲基环己基氨基甲酸叔丁酯、2-溴噻唑-4-甲酸、HOAT 和 EDC 的 DMF 溶液 (浓度为 0.3M) 搅拌 17 小时。将溶液用 EtOAc 稀释,并用 H<sub>2</sub>O(4x)、NaCl<sub>(饱和的)</sub> 洗涤,用 MgSO<sub>4</sub> 干燥,过滤并在真空中除去挥发物,得到 (1S, 3R, 5S)-3-(3-(2-溴噻唑-4-甲酰氨基)吡啶-4-基)-5-甲基环己基氨基甲酸叔丁酯,LCMS(m/z):495.1/497.1(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 3.17min.

[0664] 方法 8

[0665] N-(4-((1R, 3S, 5S)-3-氨基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟-3-甲氧基苯基)噻唑-4-甲酰胺的合成

[0666]



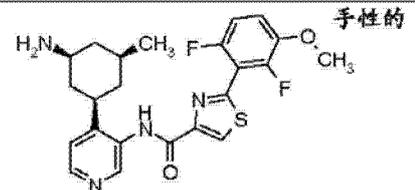
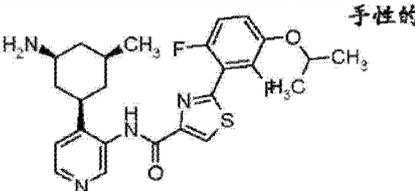
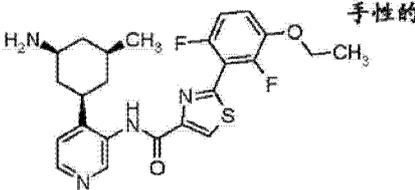
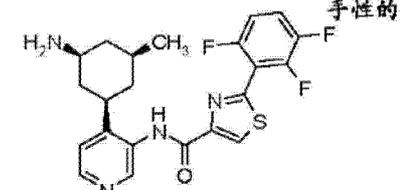
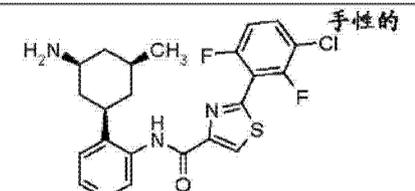
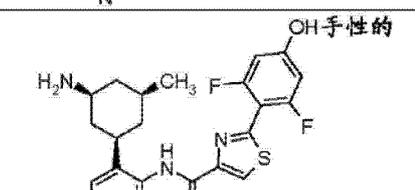
[0667] 将 (1S, 3R, 5S)-3-(3-(2-溴噻唑-4-甲酰氨基)吡啶-4-基)-5-甲基环己基氨基甲酸叔丁酯 (1.0 当量)、2,6-二氟-3-甲氧基苯基硼酸 (4.0 当量)、DIEA(4.0 当量) 和 Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(0.2 当量) 的 1:1 甲苯/乙醇溶液 (浓度为 0.03M) 在微波中在 120℃ 加热 20 分钟。将溶液再在微波中在 130℃ 加热 2×30min。在真空中除去溶剂,将残留物通过 HPLC 纯化。将产物流份直接冻干,得到为 TFA 盐的保护的酰胺产物。通过用 25% TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 处理 2 小时脱除 Boc 基团。在真空中除去挥发物后,将产物通过 HPLC 纯化,得到 N-(4-((1R, 3S, 5S)-3-氨基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟-3-甲氧基苯基)噻唑-4-甲酰胺。LCMS(m/z):459.2(MH<sup>+</sup>);LC R<sub>t</sub> = 2.32min.

[0668] 当应用上面的用于 Suzuki 的方法时,有时必须再置于微波中加热并在每次再加热时再加入硼酸 (4.0 当量)、DIEA(4.0 当量) 和 Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(0.2 当量)。

[0669] 或者,与 2,6 二氟取代的硼酸类化合物和 2-溴-4-甲酰氨基噻唑类化合物的 Suzuki 反应可以如下所述进行:在微波中在 100℃将溴化物(1.0 当量)、硼酸(5 当量)、KF(5.5 当量)、三叔丁基膦(0.4 当量)和 Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(0.2 当量)的 10:1THF/H<sub>2</sub>O 混合物(浓度为 0.03M)加热 30 分钟。采用该方法,有时必须再置于微波中在 100℃加热并在每次再加热时再加入硼酸(5.0 当量)、KF(5.5 当量)、三叔丁基膦(0.4 当量)和 Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(0.2 当量)。

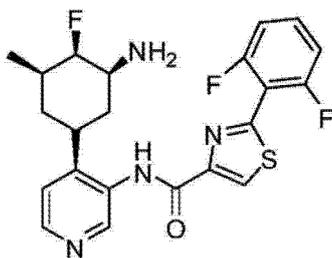
[0670] 采用方法 8 制备下列化合物:

[0671]

实施例编号	结构	化合物名称	LC/MS (M+H 在 UPCL 中)	LC/MS (Rf min 在 UPLC 中)
52	 手性的	2-(2,6-二氟-3-甲氧基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-5-甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺	459.2	0.58
53	 手性的	2-[2-氟-1-(1-氟-乙烯基)-3-异丙氧基-丙烯基]-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-5-甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺	487.3	0.67
54	 手性的	2-(3-乙氧基-2,6-二氟-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-5-甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺	473.3	0.63
55	 手性的	2-(2,3,6-三氟-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-5-甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺	447.2	0.59
56	 手性的	2-(3-氯-2,6-二氟-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-5-甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺	463.1	0.62
57	 手性的	2-(2,6-二氟-4-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-5-甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺	445.2	0.54

[0672] 实施例 58N-(4-((+/-)-3-氨基-4-氟-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺的合成

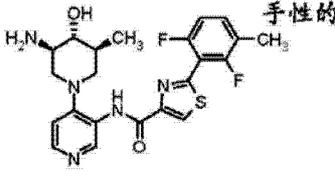
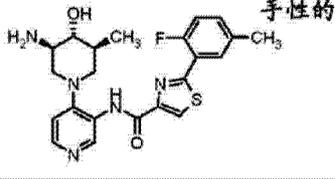
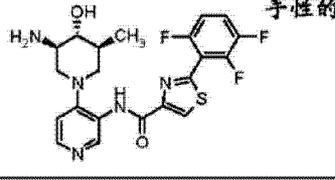
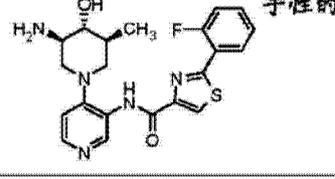
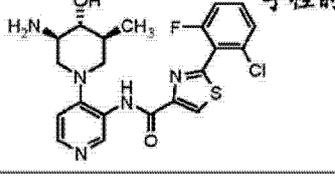
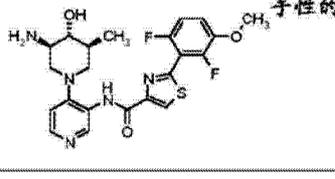
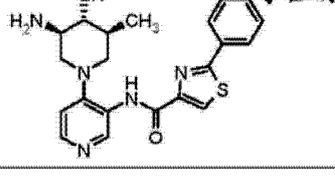
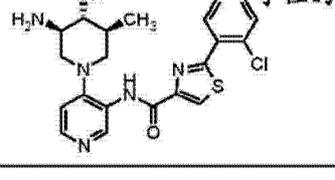
[0673]



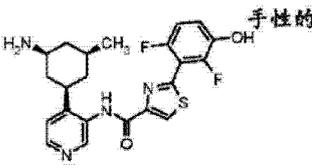
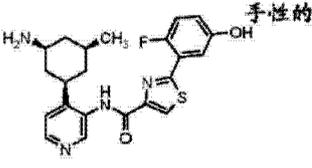
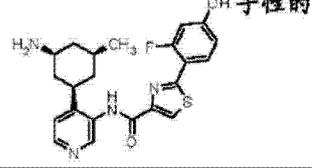
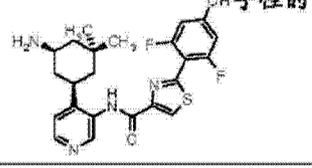
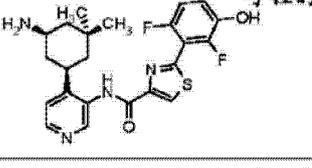
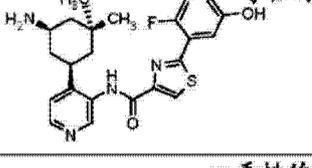
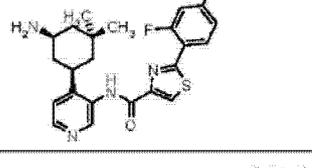
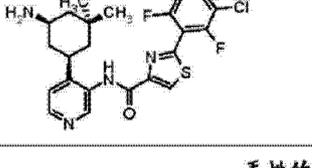
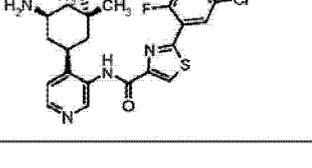
[0674] 向 (+/-)-乙酸 2-(叔丁氧基羰基氨基)-4-(3-(2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰氨基)吡啶-4-基)-6-甲基环己基酯的 MeOH 溶液 (0.03M) 中加入碳酸钾 (3.0 当量), 并将反应物在室温搅拌 3h。一旦完成后, 将反应物在水和乙酸乙酯之间分配。将水相用乙酸乙酯再萃取 3 次。合并有机物, 用盐水和硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。得到分离的 (+/-)-5-(3-(2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰氨基)吡啶-4-基)-2-羟基-3-甲基环己基氨基甲酸叔丁酯, 为灰白色固体, 87% 收率。LC/MS = 545.2 (M+H), Rt = 0.75min。在 0°C、氮气气氛下向 (+/-)-5-(3-(2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰氨基)吡啶-4-基)-2-羟基-3-甲基环己基氨基甲酸叔丁酯 (1.0 当量) 的 DCM 溶液 (0.07M) 中加入 DAST (1.0 当量)。将反应物搅拌 1 小时, 然后再加入 2 当量的 DAST。30 分钟后, 起始原料消耗完全。通过加入水猝灭反应, 将有机相用硫酸钠干燥, 并浓缩。将粗物质通过硅胶柱色谱法采用乙酸乙酯和己烷 (1:1) 洗脱进行纯化, 得到 (+/-)-5-(3-(2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰氨基)吡啶-4-基)-2-氟-3-甲基环己基氨基甲酸叔丁酯, 为澄清的油状物, 60% 收率。LC/MS = 547.3 (M+H), Rt = 0.92min。通过用 25% TFA 的二氯甲烷溶液处理 2 小时除去 Boc 基团。在真空下浓缩后, 将粗品通过半制备 HPLC 纯化。将纯的流份冻干, 得到为 TFA 盐的所需产物 N-(4-((+/-)-3-氨基-4-氟-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-2-(2,6-二氟苯基)噻唑-4-甲酰胺, 74% 收率。LC/MS = 447.0 (M+H), Rt = 0.56min。

[0675] 采用文中所述的技术和方法制备下列化合物。

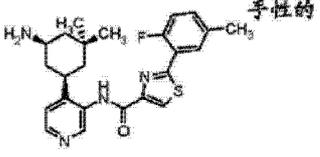
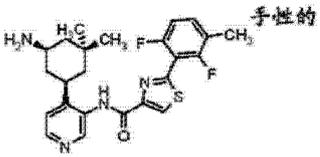
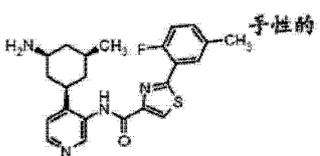
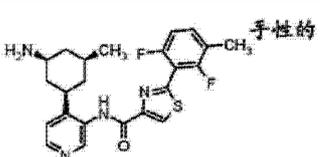
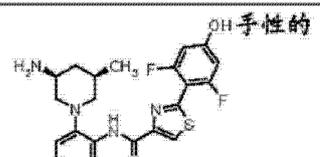
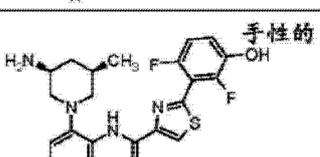
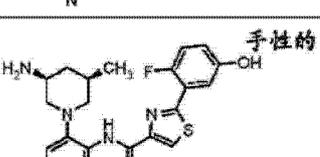
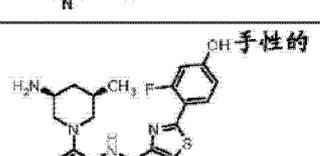
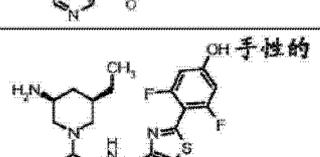
[0676]

实施例	结构	名称
59		2-(2,6-二氟-3-甲基-苯基)-噻唑-4-甲酸(3-氨基-4-羟基-5-甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
60		2-(2-氟-5-甲基-苯基)-噻唑-4-甲酸(3-氨基-4-羟基-5-甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
61		2-(2,3,6-三氟-苯基)-噻唑-4-甲酸(3-氨基-4-羟基-5-甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
62		2-(2-氟-苯基)-噻唑-4-甲酸(3-氨基-4-羟基-5-甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
63		2-(2-氟-6-氯-苯基)-噻唑-4-甲酸(3-氨基-4-羟基-5-甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
64		2-(2,6-二氟-3-甲氧基-苯基)-噻唑-4-甲酸(3-氨基-4-羟基-5-甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
65		2-苯基-噻唑-4-甲酸(3-氨基-4-羟基-5-甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
66		2-(2-氟-苯基)-噻唑-4-甲酸(3-氨基-4-羟基-5-甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺

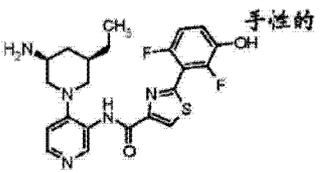
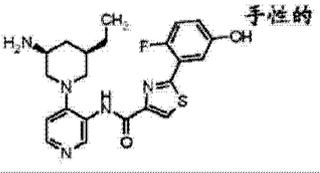
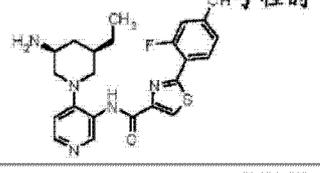
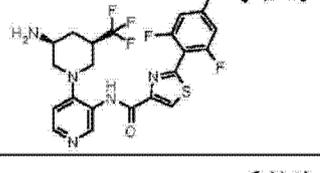
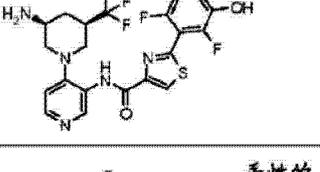
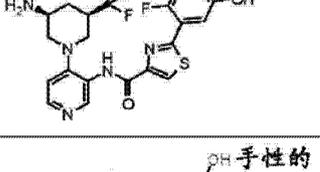
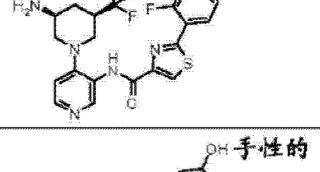
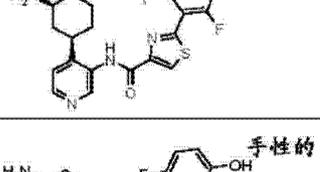
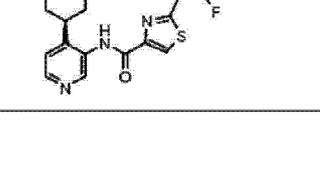
[0677]

实施例	结构	名称
67	 手性的	2-(2,6-二氟-3-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-5-甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
68	 手性的	2-(2-氟-5-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-5-甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
69	 手性的	2-(2-氟-4-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-5-甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
70	 手性的	2-(2,6-二氟-4-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(5-氨基-3,3-二甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
71	 手性的	2-(2,6-二氟-3-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(5-氨基-3,3-二甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
72	 手性的	2-(2-氟-5-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(5-氨基-3,3-二甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
73	 手性的	2-(2-氟-4-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(5-氨基-3,3-二甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
74	 手性的	2-(3-氯-2,6-二氟-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(5-氨基-3,3-二甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
75	 手性的	2-(5-氯-2-氟-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(5-氨基-3,3-二甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺

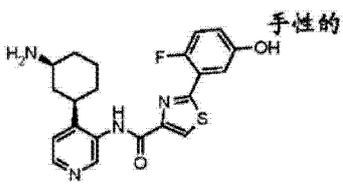
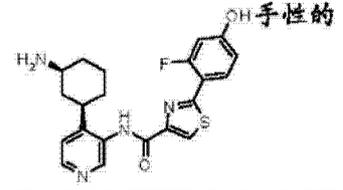
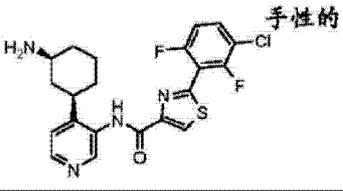
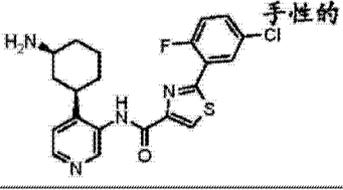
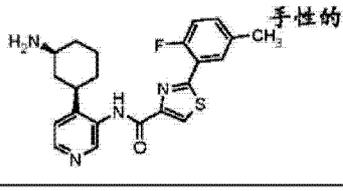
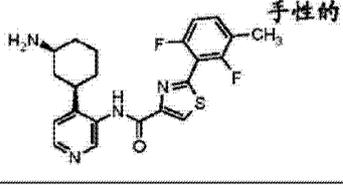
[0678]

实施例	结构	名称
76		2-(2-氟-5-甲基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(5-氨基-3,3-二甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
77		2-(2,6-二氟-3-甲基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(5-氨基-3,3-二甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
78		2-(2-氟-5-甲基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-5-甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
79		2-(2,6-二氟-3-甲基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-5-甲基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
80		2-(2,6-二氟-4-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸(5-氨基-3-甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
81		2-(2,6-二氟-3-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸(5-氨基-3-甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
82		2-(2-氟-5-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸(5-氨基-3-甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
83		2-(2-氟-4-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸(5-氨基-3-甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
84		2-(2,6-二氟-4-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸(5-氨基-3-乙基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺

[0679]

实施例	结构	名称
85		2-(2,6-二氟-3-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸(5-氨基-3-乙基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
86		2-(2-氟-5-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸(5-氨基-3-乙基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
87		2-(2-氟-4-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸(5-氨基-3-乙基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
88		2-(2,6-二氟-4-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸(5-氨基-3-三氟甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
89		2-(2,6-二氟-3-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸(5-氨基-3-三氟甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
90		2-(2-氟-5-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸(5-氨基-3-三氟甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
91		2-(2-氟-4-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸(5-氨基-3-三氟甲基-3,4,5,6-四氢-2H-[1,4']联吡啶-3'-基)-酰胺
92		2-(2,6-二氟-4-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
93		2-(2,6-二氟-3-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺

[0680]

实施例	结构	名称
94		2-(2-氟-5-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
95		2-(2-氟-4-羟基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
96		2-(3-氯-2,6-二氟-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
97		2-(5-氯-2-氟-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
98		2-(2-氟-5-甲基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺
99		2-(2,6-二氟-3-甲基-苯基)-噻唑-4-甲酸[4-(3-氨基-环己基)-吡啶-3-基]-酰胺

[0681] Pim1 ATP 损耗实验 (assay)

[0682] 采用萤火虫荧光素酶 (luciferase-luciferin) ATP 检测试剂定量测定由激酶催化的磷酸基向肽底物转移所导致的 ATP 损耗, 测定 PIM1 的活性。将待测化合物溶于 100% DMSO, 将其直接分布到白色 384 孔板上, 每孔 0.5  $\mu$ l。为了开始反应, 向每个孔中加入 10  $\mu$ l 的 5nM Pim1 激酶和 80  $\mu$ M BAD 肽 (RSRHSSYPAGT-OH) 的分析缓冲液 (50mM HEPES pH7.5, 5mM  $MgCl_2$ , 和 1mM DTT, 0.05% BSA)。15 分钟后, 加入 10  $\mu$ l 的 40  $\mu$ M ATP 的分析缓冲液。最终的分析浓度为 2.5nM PIM1、20  $\mu$ M ATP、40  $\mu$ M BAD 肽和 2.5% DMSO。反应进行直到约 50% 的 ATP 被损耗, 然后通过加入 20  $\mu$ l KinaseGlo Plus (Promega Corporation) 溶液终止反应。将终止的反应物温育 10 分钟, 剩余的 ATP 在 Victor2 (Perkin Elmer) 上通过荧光测定。通过 Pim1 ATP 损耗实验对前述实施例化合物进行实验, 发现其  $IC_{50}$  值如下表所示。 $IC_{50}$  (半数最大抑制浓度) 表示体外抑制其靶点达 50% 时所需要的测试化合物的浓度。

[0683] Pim2 ATP 损耗实验

[0684] 采用萤火虫荧光素酶 ATP 检测试剂定量测定由激酶催化的磷酸基向肽底物转移所导致的 ATP 损耗,测定 PIM2 的活性。将待测化合物溶于 100% DMSO,将其直接分布到白色 384 孔板上,每孔 0.5  $\mu$ l。为了开始反应,向每个孔中加入 10  $\mu$ l 的 10nM Pim2 激酶和 20  $\mu$ M BAD 肽 (RSRHSSYPAGT-OH) 的分析缓冲液 (50mM HEPES pH7.5, 5mM MgCl<sub>2</sub>, 和 1mM DTT, 0.05% BSA)。15 分钟后,加入 10  $\mu$ l 的 8  $\mu$ M ATP 的分析缓冲液。最终分析浓度为 5nM PIM2、4  $\mu$ M ATP、10  $\mu$ M BAD 肽和 2.5% DMSO。反应进行直到约 50% 的 ATP 被损耗,然后通过加入 20  $\mu$ l KinaseGlo Plus (Promega Corporation) 溶液终止反应。将终止的反应物温育 10 分钟,剩余的 ATP 在 Victor2 (Perkin Elmer) 上通过荧光测定。通过 Pim2 ATP 损耗实验对前述实施例化合物进行实验,发现其 IC<sub>50</sub> 值如下表所示。

#### [0685] Pim3 ATP 损耗实验

[0686] 采用萤火虫荧光素酶 ATP 检测试剂定量测定由激酶催化的磷酸基向肽底物转移所导致的 ATP 损耗,测定 PIM3 的活性。将待测化合物溶于 100% DMSO,将其直接分布到白色 384 孔板上,每孔 0.5  $\mu$ l。为了开始反应,向每个孔中加入 10  $\mu$ l 的 10nM Pim3 激酶和 200  $\mu$ M BAD 肽 (RSRHSSYPAGT-OH) 的分析缓冲液 (50mM HEPES pH7.5, 5mM MgCl<sub>2</sub>, 和 1mM DTT, 0.05% BSA)。15 分钟后,加入 10  $\mu$ l 的 80  $\mu$ M ATP 的分析缓冲液。最终分析浓度为 5nM PIM1、40  $\mu$ M ATP、100  $\mu$ M BAD 肽和 2.5% DMSO。反应进行直到约 50% 的 ATP 被损耗,然后通过加入 20  $\mu$ l KinaseGlo Plus (Promega Corporation) 溶液终止反应。将终止的反应物温育 10 分钟,剩余的 ATP 在 Victor2 (Perkin Elmer) 上通过荧光测定。通过 Pim3 ATP 损耗实验对前述实施例化合物进行实验,发现其 IC<sub>50</sub> 值如下表所示。

#### [0687] 细胞增殖实验

[0688] 将 KMS11 (人类骨髓瘤细胞系) 在补充有 10% FBS、丙酮酸钠和抗生素的 IMDM 中培养。在实验的当天,将细胞以每孔 2000 个细胞的密度涂布于 96 孔组织培养板中的相同介质中,使外侧孔空白。MM1.s (人类骨髓瘤细胞系) 在补充有 10% FBS、丙酮酸钠和抗生素的 RPMI1640 中培养。在实验的当天,将细胞以每孔 5000 个细胞的密度涂布于 96 孔组织培养板中的相同介质中,使外侧孔空白。

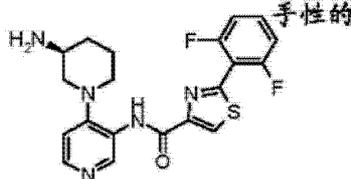
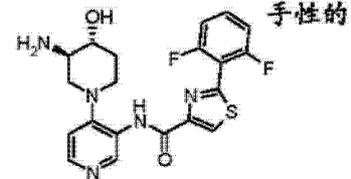
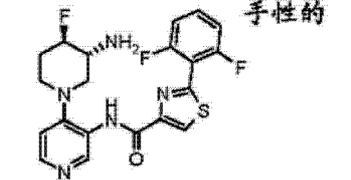
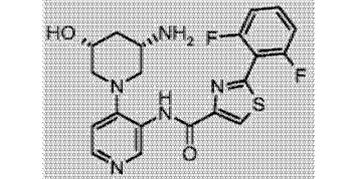
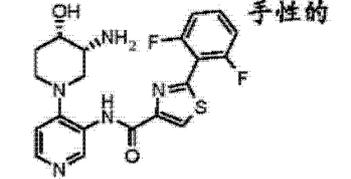
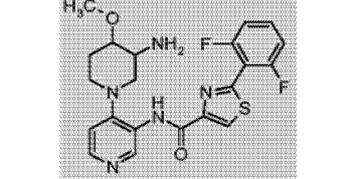
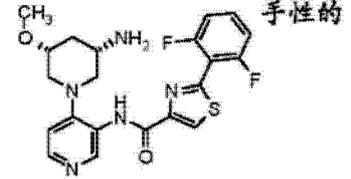
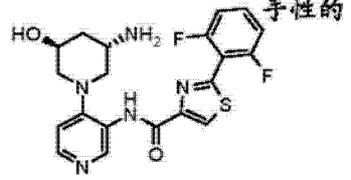
[0689] 将在 DMSO 中提供的测试化合物以需要的终浓度的 500 倍在 DMSO 中稀释,然后以终浓度的 2 倍在培养介质中稀释。将相同体积的 2 $\times$  化合物加至 96 孔板的细胞中,于 37 $^{\circ}$ C 培养 3 天。

[0690] 将板于室温下平衡 3 天后,向培养孔中加入等体积的 CellTiter-Glow 试剂 (Promega)。将板短暂震荡,采用光度计测定发光信号。计算在用 DMSO 单独处理的细胞中所观察到的信号与对照化合物处理的细胞中所观察到的信号的抑制百分比,用于测定测试化合物的 EC<sub>50</sub> 值 (即,在细胞中获得最大效果的 50% 所需要的测试化合物的浓度),如下面的表 6 中所示。

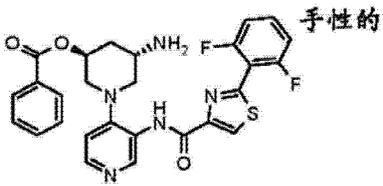
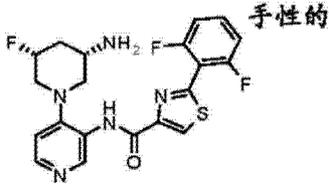
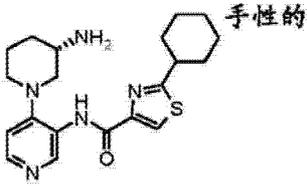
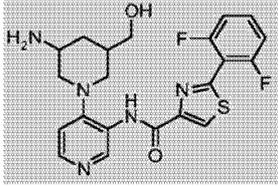
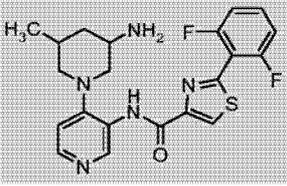
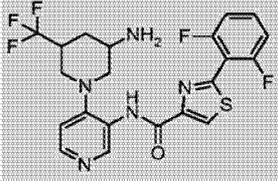
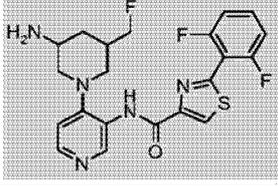
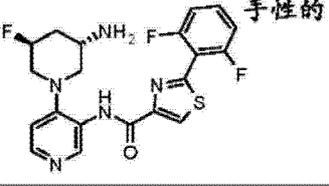
#### [0691] 本发明化合物的 IC50 和 EC50 活性

[0692] 采用上面的所述的 Pim1 ATP 损耗实验 (PIM-1)、Pim2 ATP 损耗实验 (PIM-2) 和 Pim3 ATP 损耗实验 (PIM-3) 的方法,测定前面实施例化合物的 IC<sub>50</sub> 浓度,如下表中所示。

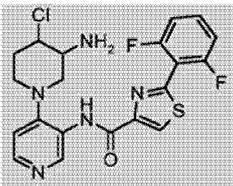
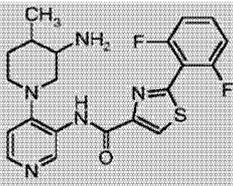
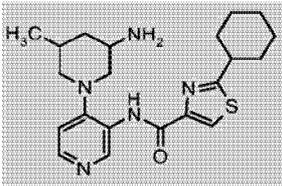
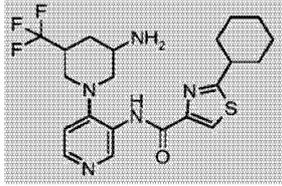
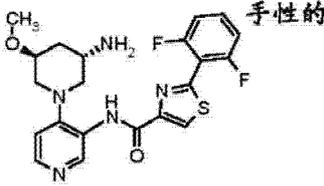
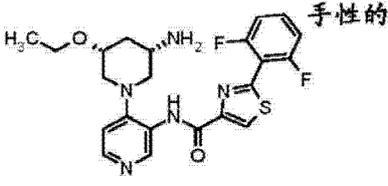
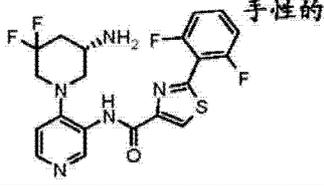
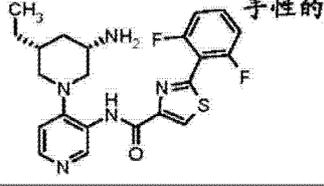
[0693]

实施例编号	结构	Pim1 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Pim2 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Pim3 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
1		0.001	0.008	0.002
2		0.002	0.011	0.004
3		0.002	0.023	0.005
5		0.015	0.077	0.013
6		0.001	0.003	0.001
7		0.005	0.243	0.018
8		0.021	0.046	0.035
9		0.069	1.502	0.091

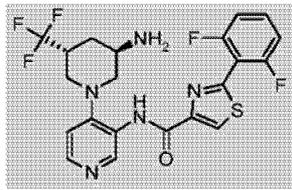
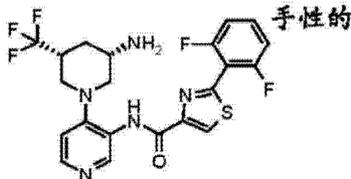
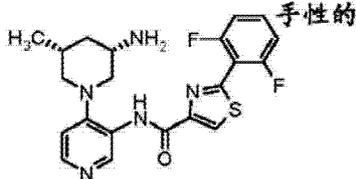
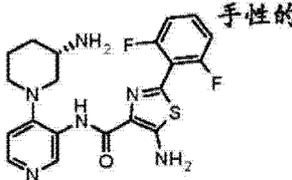
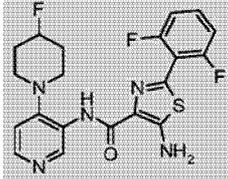
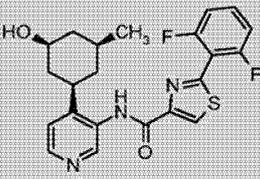
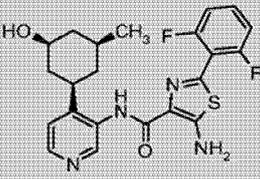
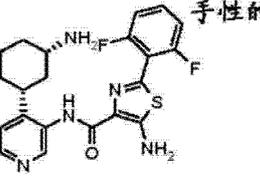
[0694]

实施例编号	结构	Pim1 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Pim2 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Pim3 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
10	 手性的	2.220	0.479	0.322
11	 手性的	0.004	0.055	0.008
12	 手性的	0.057	0.208	0.045
13		0.014	0.058	0.024
14		0.002	0.004	0.005
15		0.001	0.003	0.004
16		0.001	0.003	0.004
17	 手性的	0.004	0.070	0.008

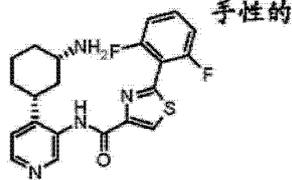
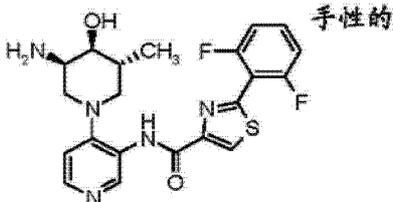
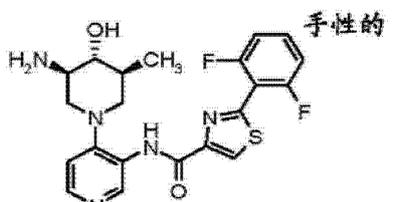
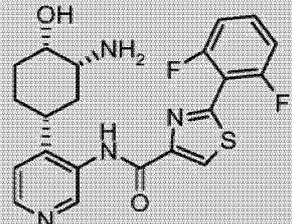
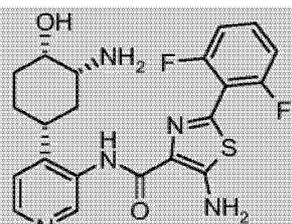
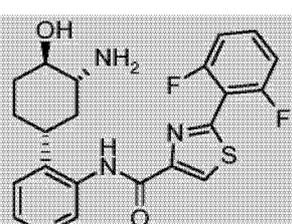
[0695]

实施例编号	结构	Pim1 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Pim2 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Pim3 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
18		0.005	0.054	0.012
19		0.001	0.008	0.005
20		0.012	0.018	0.016
21		0.011	0.021	0.020
22		0.129	0.378	0.060
23		0.056	0.085	0.086
24		0.002	0.038	0.004
25		0.001	0.003	0.003

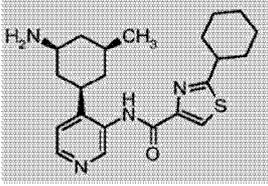
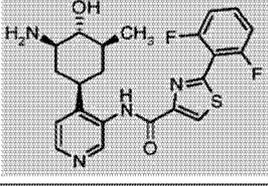
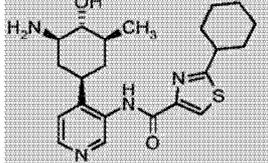
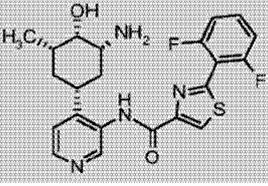
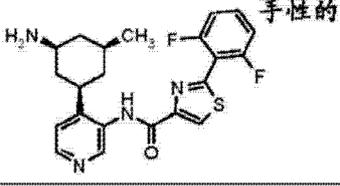
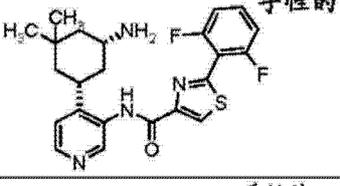
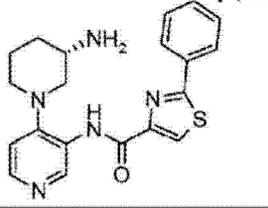
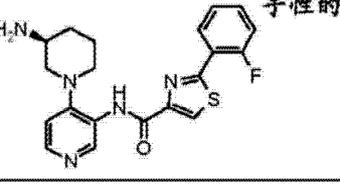
[0696]

实施例编号	结构	Pim1 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Pim2 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Pim3 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
26		0.006	0.072	0.024
27		0.001	0.003	0.003
28		0.001	0.002	0.002
29		0.001	0.002	0.002
30		0.001	0.055	0.003
31		0.002	0.090	0.008
32		0.001	0.005	0.004
33		0.001	0.003	0.003

[0697]

实施例编号	结构	Pim1 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Pim2 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Pim3 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
34		0.002	0.029	0.004
35		0.009	0.125	0.009
36		0.001	0.003	0.003
37		0.006	0.098	0.011
38		0.001	0.004	0.003
39		0.011	0.095	0.012

[0698]

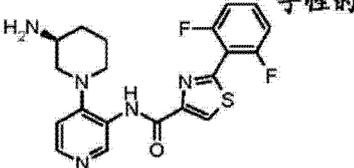
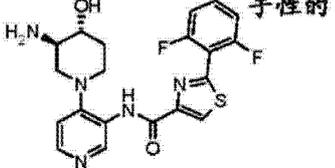
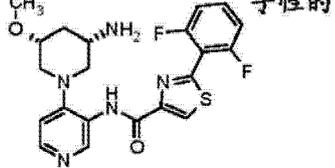
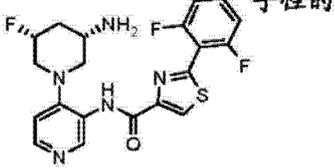
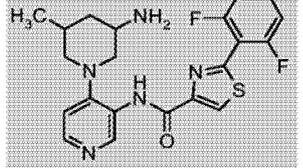
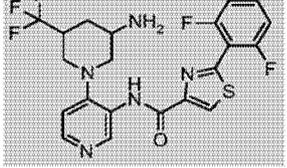
实施例编号	结构	Pim1 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Pim2 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Pim3 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
40		0.041	0.097	0.109
41		0.004	0.027	0.008
42		0.146	0.250	0.215
43		0.005	0.046	0.015
45		0.001	0.007	0.003
46		0.001	0.016	0.003
48		0.0020	0.0177	0.0023
49		0.0019	0.0099	0.0042

[0699]

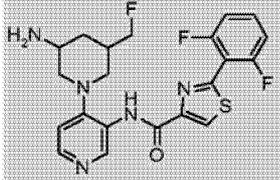
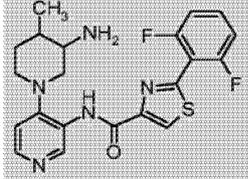
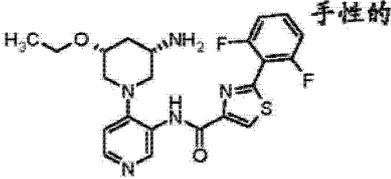
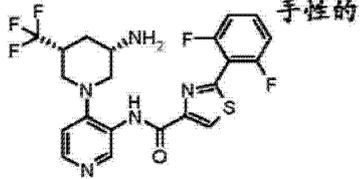
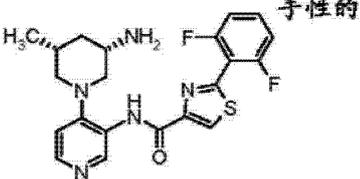
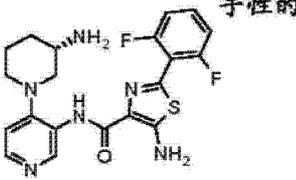
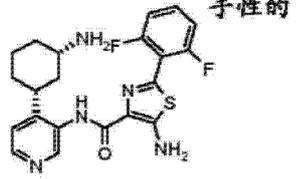
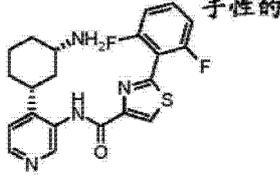
实施例编号	结构	Pim1 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Pim2 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Pim3 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
50	手性的	0.0032	0.0838	0.0083
52	手性的	0.001	0.004	0.002
53	手性的	0.001	0.020	0.003
54	手性的	0.001	0.009	0.003
55	手性的	0.003	0.015	0.005
56	手性的	0.001	0.012	0.003
57	手性的	0.001	0.004	0.002
58	手性的	0.004	0.047	0.018

[0700] 采用上面所述的细胞增殖实验的方法,在 KMS11 细胞中测定前面实施例化合物的 EC<sub>50</sub> 浓度,如下表中所示。

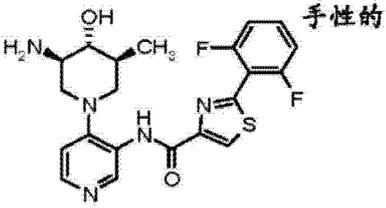
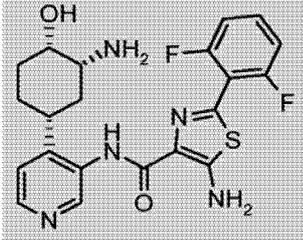
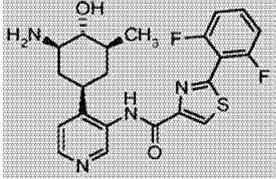
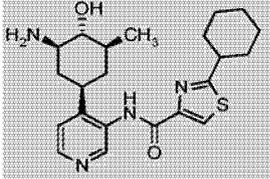
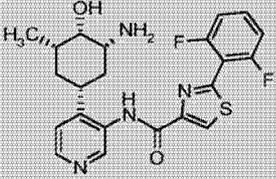
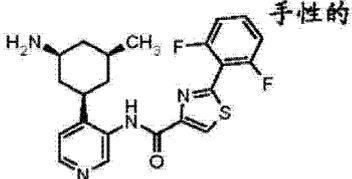
[0701]

实施例编号	结构	KMS11 EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
1	 手性的	1.17
2	 手性的	1.57
6	 手性的	0.41
8	 手性的	4.70
11	 手性的	6.10
14	 手性的	0.83
15	 手性的	0.31

[0702]

实施例编号	结构	KMS11 EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
16		2.38
19		0.93
23		6.54
27		0.46
28		0.40
29		0.04
33		0.43
34		5.02

[0703]

实施例编号	结构	KMS11 EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
36		0.56
38		1.89
41		>10
42		
43		
45		0.92