



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102666550 B

(45) 授权公告日 2015. 07. 15

(21) 申请号 201080051845. 3

(22) 申请日 2010. 11. 12

(30) 优先权数据

09382245. 0 2009. 11. 16 EP

61/298, 628 2010. 01. 27 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2012. 05. 16

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2010/056449 2010. 11. 12

(87) PCT国际申请的公布数据

W02011/060217 EN 2011. 05. 19

(73) 专利权人 伊莱利公司

地址 美国印第安纳州

(72) 发明人 A·B·贝尼托 克拉多

N·迪亚兹 比佐

A·M·吉梅尼兹 - 阿瓜多

C·拉富恩特 布兰科

M·A·马蒂内兹 - 格劳

C·佩德雷加尔 - 特塞罗

M·A·托莱多 埃斯克里巴诺

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 黄革生 林柏楠

(51) Int. Cl.

C07D 495/20(2006. 01)

A61K 31/438(2006. 01)

A61P 25/00(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101227903 A, 2008. 07. 23, 全文.

CN 1922189 A, 2007. 02. 28, 全文.

W0 2005066183 A1, 2005. 07. 21, 全文.

W0 2005016913 A1, 2005. 02. 24, 全文.

Takashi Yoshizumi, 等. Design, synthesis, and structure-activity relationship study of a novel class of ORL1 receptor antagonists based on N-biarylmethyl spiropiperidine. 《Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters》. 2008, 第 18 卷 (第 13 期), 第 3778-3782 页, 参见全文.

审查员 黄凯

权利要求书2页 说明书59页

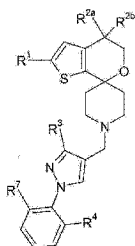
(54) 发明名称

作为 ORL-1 受体拮抗剂的螺环哌啶化合物

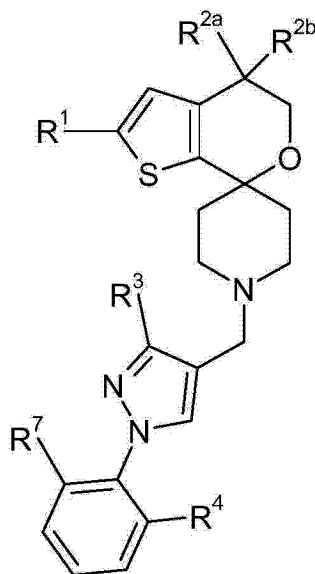
(57) 摘要

本申请描述了下式 ORL-1 受体拮抗剂、其用途和其制备方法。据认为 ORL-1 拮抗剂可用于治疗抑郁和 / 或治疗超重、肥胖和 / 或超重或肥胖治疗后的体重维持。还通过动物模型证实了某些化合物, 证实本发明的化合物可用于治疗偏头疼。

CN 102666550 B



1. 下式化合物或其可药用盐：



其中

R¹为氟或氯；

R²ᵃ和 R²ᵇ各自是氢或各自是氟；

R³为氢、甲基、羟基甲基或 C₁-₃烷氧基甲基；

R⁴选自氟、氯、氰基、氰基甲基、C₁-₃烷基、环丙基、羟基甲基、甲氧基、甲氧基甲基、氨基羰基氧基甲基、甲基氨基羰基氧基甲基、二甲基氨基羰基氧基甲基、甲基羰基、氨基羰基、甲基氨基羰基、二甲基氨基羰基、-NR⁵R⁶、-CH₂-NR⁵R⁶、吗啉-4-基、吗啉-4-基甲基、Ar¹、-CH₂Ar¹、3,3-二氟氮杂环丁-1-基甲基、吡咯烷-1-基甲基、1-氨基环丙基、1-甲基氨基环丙基以及1-二甲基氨基环丙基；

R⁵为氢、C₁-C₄烷基、环丙基、羟基乙基、甲氧基乙基、-C(O)CH₃或 -C(O)OC₁-₃烷基；

R⁶为氢或甲基；

R⁷为氢、氟、氯、甲基、羟基甲基或甲氧基；且

Ar¹为选自咪唑-1-基、咪唑-2-基、2-甲基咪唑-1-基、1-甲基咪唑-2-基以及1,2,4-三唑-3-基的基团。

2. 权利要求1的化合物或其可药用盐，其中 R¹是氯。

3. 权利要求1或2的化合物或其可药用盐，其中 R²ᵃ和 R²ᵇ各自是氟。

4. 权利要求1的化合物或其可药用盐，其中 R¹是氟且 R²ᵃ和 R²ᵇ各自是氢。

5. 权利要求1、2和4中任一项的化合物或其可药用盐，其中 R³是甲基。

6. 权利要求1、2和4中任一项的化合物或其可药用盐，其中 R⁴是氟、羟基甲基、甲氧基甲基、甲基羰基或2-甲基咪唑-1-基。

7. 权利要求1、2和4中任一项的化合物或其可药用盐，其中 R⁷是氟。

8. 权利要求1的化合物或其可药用盐，所述化合物选自：

2-氯-1'-[[1-(2,6-二氟苯基)-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]、

1-(2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃

喃]-1-基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)乙酮、

2-氯-4,4-二氟-1'-[[1-[2-氟-6-(2-甲基咪唑-1-基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]和

[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-1-(2,6-二氟苯基)吡唑-3-基]甲醇。

9. 药物组合物,其包含根据权利要求1-8中任一项的化合物或其可药用盐,以及可药用载体或赋形剂。

10. 权利要求9的药物组合物,其还包含至少一种其它治疗成分。

11. 权利要求10的药物组合物,其中所述其它治疗成分是SSRI抗抑郁药。

12. 根据权利要求1-8中任一项的化合物或其可药用盐在制备治疗人类肥胖或超重的药物中的用途。

13. 根据权利要求1-8中任一项的化合物或其可药用盐在制备治疗偏头痛的药物中的用途。

14. 根据权利要求1-8中任一项的化合物或其可药用盐在制备治疗抑郁的药物中的用途。

作为 ORL-1 受体拮抗剂的螺环哌啶化合物

[0001] 孤啡肽 FQ (OFQ) / 痛敏肽是对 ORL1G- 蛋白偶联受体 (GPCR) 具有高亲和性的 17 氨基酸肽。该 ORL1 受体是 A 类 GPCR, 主要在中枢神经系统和外周神经系统、以及胃肠道、平滑肌和免疫系统中表达。尽管在结构上与阿片样肽 / 受体相关, 但 OFQ / 痛敏肽系统没有显示出与经典阿片样肽 / 受体的明显交叉反应性, 并且显示体内抗 - 阿片样物质活性 (例如已报道 ORQ / 痛敏肽显示镇痛性质)。

[0002] 在采用关于抑郁和喂食行为的动物模型的多个研究当中, 已证实了痛敏肽 / 孤啡肽 FQ 受体 (NOC/OFQ) 拮抗剂、尤其是 ORL-1 受体拮抗剂的抗抑郁活性和食欲抑制活性。因此, 认为 ORL-1 拮抗剂可用于治疗抑郁和 / 或治疗超重、肥胖和 / 或超重或肥胖治疗后的体重维持。

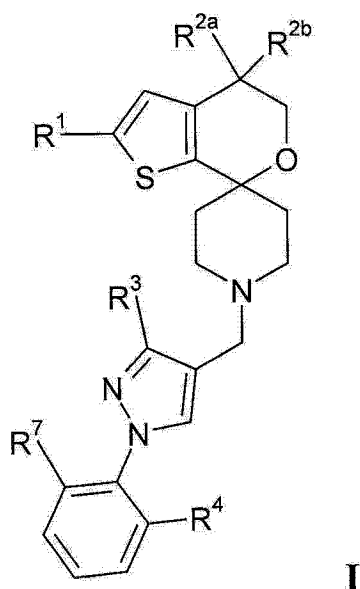
[0003] WO 2003/095427 描述了某些螺环哌啶基化合物, 其作为 ORL-1 拮抗剂用作止痛剂。

[0004] Yoshizumi、Takashi 等 (2008), 基于 N- 联芳基甲基螺环哌啶的一类新 ORL-1 受体拮抗剂的设计、合成和构效关系研究 (Design, synthesis, and structure-activity relationship study of a novel class of ORL-1 receptor antagonists based on N-biarylmethyl spiropiperidine), 生物有机 & 药物化学快报 (Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters) vol. 18, pg. 3778-3782, 描述了某些作为选择性 ORL-1 拮抗剂的 N- 联芳基甲基 - 螺环哌啶化合物。

[0005] 本发明提供了一类 4', 5' - 二氢螺 [哌啶 -4, 7' - 噻吩并 [2, 3-c] 吡喃] 化合物, 其对 ORL-1 受体具有高拮抗效力, 以及在体内高度占据 CNS 中的 ORL-1 受体。此外, 某些所述化合物具有有利的心脏毒理学性质, 如相对于 hERG 通道活性的选择性以及相对于其它生理上重要的受体 (例如, μ 、 κ 和 δ 阿片样物质、5- 羟色胺和多巴胺受体) 的高选择性所确定的那样。此外, 某些本发明的化合物具有有利的生物药理学和药物代谢动力学特性 (例如, 溶解性、口服暴露以及 CNS 渗透性)。某些本发明的化合物展示出降低的氧化代谢, 导致有利的口服生物利用度。还通过动物模型证实了某些化合物, 证实本发明的化合物可用于治疗偏头疼。

[0006] 本发明提供式 I 化合物或其可药用盐:

[0007]



[0008] 其中

[0009] R^1 为氟或氯；

[0010] R^{2a} 和 R^{2b} 各自是氢或各自是氟；

[0011] R^3 为氢、甲基、羟基甲基、或 (C_1-C_3) 烷氧基甲基；

[0012] R^4 选自氟、氯、氰基、氰基甲基、 (C_1-C_3) 烷基、环丙基、羟基甲基、甲氧基、甲氧基甲基、氨基羰基氧基甲基、甲基氨基羰基氧基甲基、二甲基氨基羰基氧基甲基、甲基羰基、氨基羰基、甲基氨基羰基、二甲基氨基羰基、 $-NR^5R^6$ 、 $-CH_2-NR^5R^6$ 、吗啉-4-基、吗啉-4-基甲基、 Ar^1 、 $-CH_2Ar^1$ 、3,3-二氟氮杂环丁-1-基甲基、吡咯烷-1-基甲基、1-氨基环丙基、1-甲基氨基环丙基以及1-二甲基氨基环丙基；

[0013] R^5 为氢、 C_1-C_4 烷基、环丙基、羟基乙基、甲氧基乙基、 $-C(O)CH_3$ 、或 $-C(O)O(C_1-C_3)$ 烷基；

[0014] R^6 为氢或甲基；

[0015] R^7 为氢、氟、氯、甲基、羟基甲基或甲氧基；且

[0016] Ar^1 为选自咪唑-1-基、咪唑-2-基、2-甲基咪唑-1-基、1-甲基咪唑-2-基以及1,2,4-三唑-3-基的基团。

[0017] 本发明另一方面提供了药物组合物，其包含式 I 化合物或其可药用盐，以及可药用载体、稀释剂或赋形剂。在本发明该方面的一个实施方案中，所述药物组合物还包含至少一种另外的治疗成分，例如 SSRI 抗抑郁药，例如氟西汀。此外，本发明的该方面提供了适于治疗抑郁的药物组合物，其包含式 I 化合物或其可药用盐，以及一种或多种其可药用赋形剂、载体或稀释剂。在本发明的该方面的另一实施方案中，提供了适于治疗超重、肥胖和/或体重维持的药物组合物，其包含式 I 化合物或其可药用盐，以及一种或多种其可药用赋形剂、载体或稀释剂。另一实施方案提供了适于治疗偏头痛的药物组合物，其包含式 I 化合物或其可药用盐以及一种或多种其可药用赋形剂、载体或稀释剂。

[0018] 本发明还提供了治疗哺乳动物的抑郁的方法，其包括给需要此治疗的哺乳动物施用有效量的式 I 化合物或其可药用盐。另一实施方案提供了治疗哺乳动物的抑郁的方法，其包括给需要此治疗的哺乳动物施用有效量的式 I 化合物或其可药用盐，以及有效量的 SSRI 抗抑郁药或其可药用盐，例如氟西汀。本发明的其它实施方案提供了治疗超重和/或

肥胖的方法、和 / 或用于体重维持的方法,包括给需要此治疗的哺乳动物施用有效量的式 I 化合物或其可药用盐。在本发明这些方面的一个特别的实施方案中,所述哺乳动物是人。

[0019] 本发明还提供了用于治疗式 I 化合物或其可药用盐。在该方面,本发明提供了式 I 化合物或其可药用盐,其用于治疗哺乳动物尤其是人的抑郁。本发明还提供了与 SSRI 抗抑郁药或其可药用盐(例如氟西汀)联合的式 I 化合物或其可药用盐,其用于治疗哺乳动物尤其是人的抑郁。此外,本发明的该方面包括以下任一项:用于治疗超重的式 I 化合物或其可药用盐;用于治疗肥胖的式 I 化合物或其可药用盐;式 I 化合物或其可药用盐,其用于维持体重(用于体重维持),尤其是在治疗超重或肥胖之后;用于治疗偏头痛的式 I 化合物或其可药用盐。

[0020] 本发明的另一方面提供了式 I 化合物或其可药用盐在制备治疗抑郁的药物中的用途。本发明的另一实施方案提供了式 I 化合物或其可药用盐在制备治疗超重、肥胖和 / 或维持体重的药物中的用途。本发明的另一实施方案提供了式 I 化合物或其可药用盐在制备治疗偏头痛的药物中的用途。

[0021] 本发明的化合物是碱,因此与许多有机或无机酸反应形成可药用盐。每一个本发明化合物的可药用盐在包括在本申请的范围之内。本文所使用的术语“可药用盐”是指对活生物基本上无毒的式 I 化合物的任何盐。此类盐包括在 Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2-19 (1977) 中列出的那些,其是本领域技术人员公知的。

[0022] 本文使用的缩写定义如下:

[0023] “BSA”意指牛血清白蛋白。

[0024] “mCPP”意指间氯苯基哌嗪,其为非选择性 5-羟色胺受体激动剂。

[0025] “EDTA”意指乙二胺四乙酸。

[0026] “EGTA”意指乙二醇四乙酸。

[0027] “GTP”意指鸟苷三磷酸。

[0028] “HEPES”意指 4-(2-羟基乙基)-1-哌嗪乙磺酸。

[0029] “HPLC”意指高压液相色谱。

[0030] “IC₅₀”意指达到 50% 最大抑制的浓度。

[0031] “LC/MS”意指液相色谱,随后跟有质谱。

[0032] “LC/MS/MS”意指液相色谱,随后跟有质谱,随后为第二个离子化质谱。

[0033] “mFST”意指小鼠强迫游泳测试;用于抗抑郁活性的动物模型。

[0034] “MS”意指质谱。

[0035] “MS (ES+)”意指应用电喷雾离子化的质谱。

[0036] “NMR”意指核磁共振。

[0037] “R0 示踪剂”意指 2-[(2-氟苯基)甲基]-3-(2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)-N,N-二甲基-丙酰胺。

[0038] “R0”意指受体占据。

[0039] “SCX 柱”意指强阳离子交换柱。

[0040] “SNAr”意指亲核芳香取代。

[0041] “tBu”意指叔丁基基团。

[0042] “TLC”意指薄层色谱。

[0043] “XRD”意指 X-射线衍射。

[0044] 本发明优选的化合物是如下的化合物，其中：

[0045] 1) R^1 是氯；

[0046] 2) R^{2a} 和 R^{2b} 各自是氟；

[0047] 3) R^1 是氯且 R^{2a} 和 R^{2b} 各自是氟；

[0048] 4) R^1 是氟且 R^{2a} 和 R^{2b} 各自是氢；

[0049] 5) R^3 是氢、甲基、羟基甲基或甲氧基甲基；

[0050] 6) R^3 是甲基；

[0051] 7) R^3 是羟基甲基；

[0052] 8) R^1 是氯， R^{2a} 和 R^{2b} 各自是氟，以及 R^3 是甲基；

[0053] 9) R^1 是氯， R^{2a} 和 R^{2b} 各自是氟，且 R^3 是羟基甲基；

[0054] 10) R^7 是氢、氟或氯；

[0055] 11) R^7 是氟；

[0056] 12) R^1 是氯， R^{2a} 和 R^{2b} 各自是氟，且 R^7 是氟；

[0057] 13) R^1 是氯， R^{2a} 和 R^{2b} 各自是氟， R^3 是甲基，且 R^7 是氟；

[0058] 14) R^1 是氯， R^{2a} 和 R^{2b} 各自是氟， R^3 是羟基甲基，且 R^7 是氟；

[0059] 15) R^4 是氟、羟基甲基、甲氧基甲基、甲基羰基或 2-甲基咪唑-1-基；

[0060] 16) R^4 是氟；

[0061] 17) R^4 是羟基甲基；

[0062] 18) R^4 是甲氧基甲基；

[0063] 19) R^4 是甲基羰基；

[0064] 20) R^4 是 2-甲基咪唑-1-基；

[0065] 21) 优选实施方案 1) 至 14) 中任何一个，其中 R^4 是氟；

[0066] 22) 优选实施方案 1) 至 14) 中任何一个，其中 R^4 是羟基甲基；

[0067] 23) 优选实施方案 1) 至 14) 中任何一个，其中 R^4 是甲氧基甲基；

[0068] 24) 优选实施方案 1) 至 14) 中任何一个，其中 R^4 是甲基羰基；

[0069] 25) 优选实施方案 1) 至 14) 中任何一个，其中 R^4 是 2-甲基咪唑-1-基。

[0070] 本发明某些优选的化合物是以下任一个：

[0071] 2-氯-1'-[[1-(2,6-二氟苯基)-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]，

[0072] 1-(2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)乙酮，

[0073] 2-氯-4,4-二氟-1'-[[1-[2-氟-6-(2-甲基咪唑-1-基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]，以及

[0074] [4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-1-(2,6-二氟苯基)吡唑-3-基]甲醇，

[0075] 或其可药用盐，如在实施例 2、40、47 和 50 中所例示。

[0076] 在另一优选的实施方案中，发现其中 R^{2a} 和 R^{2b} 各自是氟的化合物具有更有利的药物代谢动力学性质，对氧化代谢更稳定。这具有改善所述化合物口服生物利用率的一般性

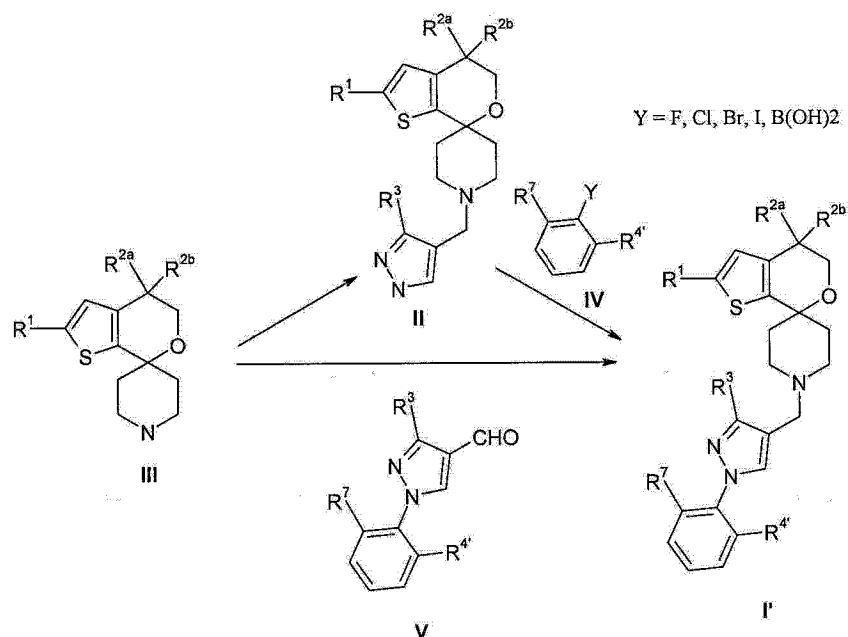
作用。

[0077] 一般化学

[0078] 本发明化合物可根据以下合成流程通过本领域公知且能理解的方法进行制备。这些流程的各步骤的合适反应条件是本领域公知的，并且溶剂和共试剂的适当替换也在本领域技术知识之内。同样地，本领域技术人员应理解，合成中间体可按需要或期望通过各种公知的技术分离或纯化，并且经常可能在稍微纯化或不纯化的情况下将各种中间体直接用于随后的合成步骤。此外，本领域技术人员将理解，在某些情况下，各部分 (moiety) 的引入顺序不是关键的。产生式 I 化合物所需的步骤的具体顺序取决于待合成的具体化合物、起始化合物、取代部分的相对不稳定性，这是化学领域技术人员很好理解的。除非另外指出，所有取代基如前面所定义，并且所有试剂是本领域公知和能理解的。

[0079] 流程 1

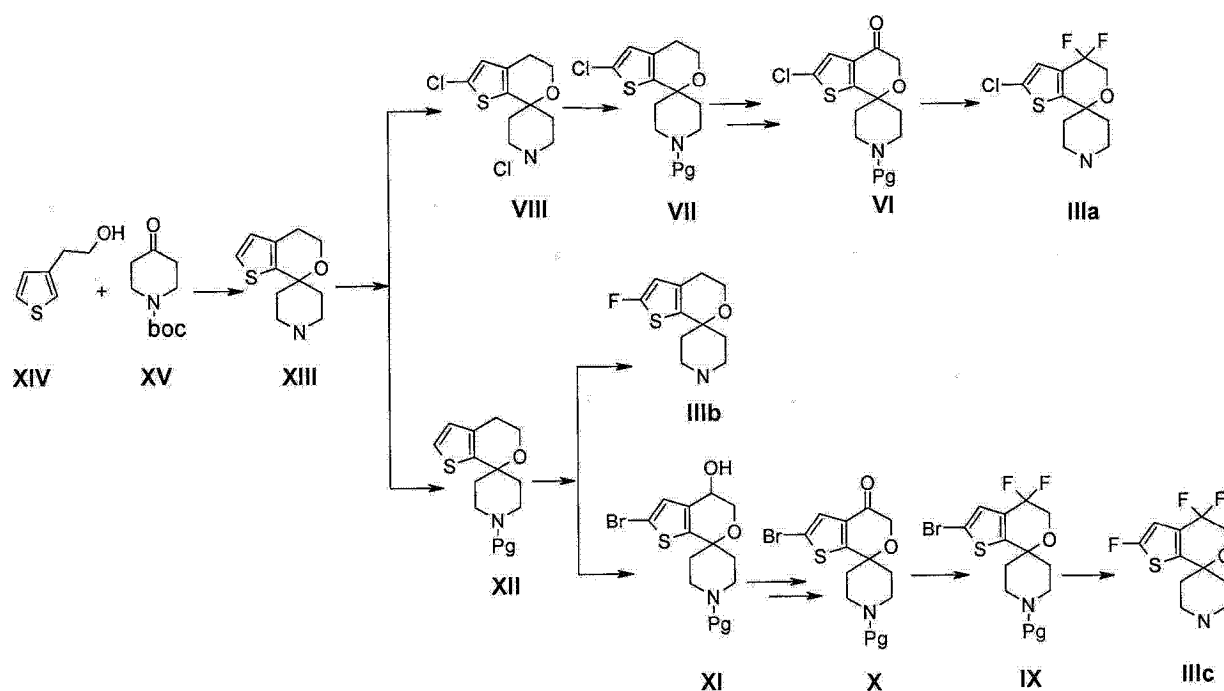
[0080]



[0081] 通过应用还原胺化反应条件，在合适的溶剂诸如四氢呋喃中，在环境温度下，使化合物 III 与适当取代的吡唑甲醛以及还原剂诸如三乙酰氧基硼氢化钠反应，以提供化合物 II。在合适的偶联条件下，应用适当的催化剂诸如碘化亚铜、适当的碱诸如碳酸钾，在合适的溶剂诸如甲苯中，在升高的温度下，使化合物 II 与化合物 IV (其中取代基 Y 是氯、溴、碘或硼酸) 偶联，从而得到化合物 I'，其中 R^{4'} 等于 R⁴ 或 R⁴ 的前体。式 III 化合物还可在如上描述的还原胺化条件下与适当取代的醛化合物 V 反应，以得到所期望的式 I' 化合物。当 R^{4'} 是 R⁴ 的前体时，则通过已知的方法将其转化为 R⁴。

[0082] 流程 2

[0083]



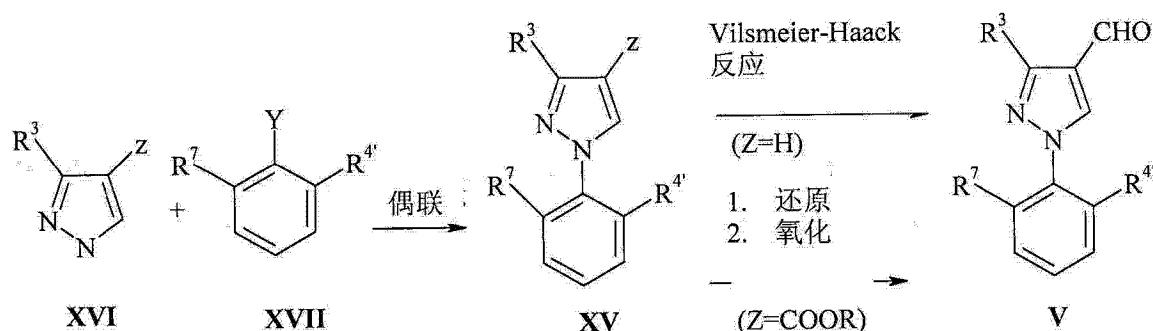
[0084] 可如流程 2 描述的那样制备化合物 IIIa、IIIb 和 IIIc。化合物 XIV 和 XV 在合适的溶剂（诸如二氯甲烷）中，在适当的酸诸如三氟乙酸的存在下反应。用氢氧化钠水溶液碱化得到的三氟乙酸盐，得到作为游离碱的化合物 XIII。在环境温度下用硫酰氯的乙酸溶液处理在适当溶剂（诸如甲基叔丁基醚）中的化合物 XIII，得到作为盐酸盐的化合物 VIII。然后在本领域技术人员公知的条件下用氮保护基团保护化合物 VIII，得到化合物 VII。（例如，参见 Greene 和 Wuts, 有机合成中的保护基团 (Protective Groups in Organic Synthesis), 第 3 版, 第 2 和 7 章, John Wiley and Sons Inc., (1999)）。典型地, 所述保护基团是 Boc (叔丁氧基羰基) 基团。在合适的溶剂诸如氯苯中, 使用光源辐射, 使化合物 VII 与 N- 溴代琥珀酰亚胺反应, 得到溴化物化合物, 然后使其与碱溶液诸如碳酸氢钠水溶液反应, 得到羟基化合物。在分离或无需分离的情况下, 可在合适的氧化条件下, 诸如在溴化钾、四甲基哌啶-N-氧化物和次氯酸钠 (sodium hypochloride) 水溶液中进一步氧化所述羟基化合物, 以提供期望的酮化合物 VI。然后在合适的溶剂（诸如四氢呋喃）中、在升高的温度下使化合物 VI 与（双（2-甲基乙基）氨基）三氟化硫反应, 将得到的产物脱保护, 以提供化合物 IIIa。

[0085] 应用与制备化合物 VII 类似的方法保护式 XIII 化合物以得到化合物 XII。用合适的碱诸如四甲基胡椒脂锂 (lithium tetramethylpiperidide) 处理降低温度下的在合适溶剂（诸如四氢呋喃）中的化合物 XII, 随后添加 N- 氟苯磺酰亚胺 (N-fluorobenzenesulfonimide), 得到氟化物化合物, 用 HCl 水溶液对其进行脱保护, 并用 NaOH 水溶液碱化, 提供化合物 IIIb。

[0086] 通过与上述制备化合物 VI 相同的方法, 可通过三步合成, 诸如溴化、羟基化和氧化, 从化合物 XII 获得化合物 IX。可将每一中间体分离为纯的化合物用于进一步反应, 或可如化合物 VI 的合成中描述的那样在不经分离情况下反应。然后用合适的卤素-金属交换试剂（诸如丁基锂）在合适的溶剂（诸如四氢呋喃）中在降低的温度下处理化合物 IX, 随后用氟化试剂诸如 N- 氟苯磺酰亚胺处理, 得到期望的氟化的产物, 然后对其适当地脱保护, 得到期望的化合物 IIIc。

[0087] 流程 3

[0088]

[0089] $Z = \text{H}, \text{CHO}, \text{COOR}$ [0090] $Y = \text{F}, \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}, \text{B}(\text{OH})_2$ [0091] $R = \text{烷基}$

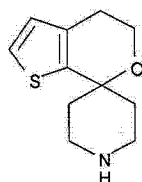
[0092] 可如流程 3 描述的那样制备式 V 化合物。在上述用于将化合物 II 转化为化合物 I' 的偶联条件下使化合物 XVI 与化合物 XVII 反应, 得到式 XV 化合物。当 Y 是 F 或 Cl 时, 亲核芳香取代 ($\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$) 是制备式 XV 化合物的备选方法。更尤其是, 化合物 XVI 可在具有适当碱 (诸如碳酸钾) 的适当溶剂 (诸如二甲基甲酰胺) 中、在升高的温度下与化合物 XVII 反应, 以提供化合物 XV。当 Z 是氢时, 可应用 Vilsmeier-Haack 反应将其转化为醛。当 Z 是酯基团时, 可首先用适当的还原剂 (诸如氢化铝锂) 在适当的溶剂 (诸如四氢呋喃) 中将其还原为醇。然后用适当的氧化剂 (诸如氧化锰 (IV)) 在适当的溶剂 (诸如二氯甲烷) 中将所述醇氧化为醛。

[0093] 当 $R^{4'}$ 是 R^4 的前体时, $R^{4'}$ 至 R^4 的转化将包括但不限于诸如以下的反应: 还原胺化以提供期望的新胺; 还原酯、酮或醛至醇, 所述醇可进一步转化为烷氧基化合物或氨基甲酸酯; 还原腈至酰胺或胺; 在适当的条件下将酯转化为杂环, 诸如噁二唑。(更多实例参见: Richard C. Larock, 综合有机转化 (Comprehensive Organic Transformations), 第二版, 第 2 和 7 章, John Wiley and Sons Inc., (1999))。

[0094] 以下制备例和实施例用于阐述可用于合成本发明化合物的方法。在制备例和实施例中阐述的许多化合物的名称用 "Symyx Draw 3.1" 或 "Autonom 2000Name" 由绘制的结构提供。

[0095] 制备例 1: 4', 5' - 二氢螺 [哌啶 -4, 7' - 噻吩并 [2,3-c] 吡喃]

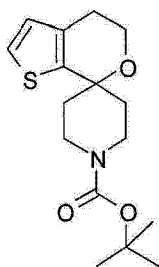
[0096]



[0097] 将 3-噻吩乙醇 (123.03mL, 1.11mol) 添加至 N-叔丁氧基羰基 -4-哌啶酮 (185g, 928.48mmol) 的二氯甲烷 (1300mL) 溶液中, 并在室温下搅拌。然后逐滴加入 (5 分钟) 三氟乙酸 (280.82mL, 3.71 摩尔), 同时用冰 / 水浴冷却 (内部温度 = 14°C - 30°C , 小心: 放出 CO_2)。逐渐使反应混合物升温至环境温度, 并在所述温度下搅拌。20 小时后, 蒸发溶剂并在真空下冷却后结晶为浅褐色固体。使固体在甲基叔丁基醚 (200mL) 中浆化, 过滤, 用甲基叔

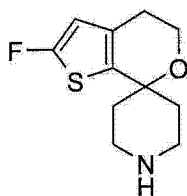
丁基醚 (2 x 1000mL) 洗涤,并在真空下干燥,得到 4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-~~翁~~三氟乙酸盐,为白色固体,产率为 95%。MS = (m/z):210(M+1)。
将 10M 氢氧化钠 (220.36mL, 2.20mol) 在冷却(冰/水浴)下加入至搅拌的 4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-~~翁~~三氟乙酸盐 (285g, 881.44mmol) 的二氯甲烷 (1L) 混悬液中,然后搅拌得到的混合物直到获得两相混合物。分离相,并用二氯甲烷 (2x200mL) 萃取水层。在真空下浓缩合并的有机物,得到稠密的油状物,用水将其研磨,得到浅黄色沉淀。将其过滤,用水 (300mL) 和己烷 (200mL) 洗涤,在 35℃ 在真空下干燥 20 小时,得到标题化合物,其为浅黄色固体,产率为 86%。MS(m/z):210(M+1)。

[0098] 制备例 2:螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-甲酸叔丁酯
[0099]



[0100] 在 22℃ 将在 2-甲基四氢呋喃 (600mL) 中的螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (60g, 286.6mmol) 搅拌 10 分钟。然后,逐滴加入在 2-甲基四氢呋喃 (300mL) 中的叔丁氧基羰基叔丁基碳酸酯 (65.6g, 301mmol)。12 小时后,加入氯化钠水溶液 (250mL),并分离有机层。然后用 2-甲基四氢呋喃 (2 x 50mL) 洗涤水层两次,合并有机层,并用盐水洗涤,通过硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩得到标题化合物,99% 产率。MS(m/z):310(M+1)。

[0101] 制备例 3:2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,2-c]吡喃-7,4'-哌啶]
[0102]



[0103] 1. 2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-甲酸叔丁酯

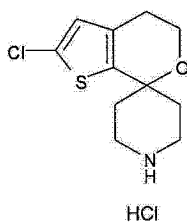
[0104] 将 2,2,6,6-四甲基哌啶 (18.7mL, 110.5mmol) 添加到四氢呋喃 (200mL) 中,并且在 -78℃ 在氮气下冷却溶液。添加 2.5M 丁基锂的己烷溶液 (37.2mL, 93mmol),并在 -78℃ 搅拌所述混合物 30 分钟。向新鲜的 2,2,6,6-四甲基哌啶锂溶液中加入螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-甲酸叔丁酯 (20g, 58.2mmol) 的四氢呋喃 (90mL) 溶液,保持温度低于 -70℃。20 分钟后,通过插管在 -20℃、氮气下添加预先冷却的 N-氟苯磺酰亚胺 (30.26g, 93.07mmol) 的四氢呋喃 (200mL) 溶液。搅拌 1 小时后,添加水 (20mL) 和氯化铵水溶液 (50mL)。然后,分离有机层,用甲基叔丁基醚 (2 x 25mL) 洗涤水相两次。合并有机物,并在减压下蒸发溶剂。通过正相 HPLC,应用己烷/甲基叔丁基醚作为溶剂,纯化粗产物,得到 2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-甲酸叔丁酯,产率为 50%。MS(m/z):328(M+1)。

[0105] 2- 氟螺 [4,5- 二氢噻吩并 [2,2-c] 吡喃 -7,4' - 哌啶]

[0106] 45℃下将 37% 盐酸 (11.75mL, 125.22mmol) 添加到 2' - 氟 -4',5' - 二氢 -1H- 螺 [哌啶 -4,7' - 噻吩并 [2,3-c] 吡喃] -1- 甲酸叔丁酯 (8.2g, 25.04mmol) 的异丙醇 (57.4mL) 溶液中。在 45℃ 搅拌得到的溶液 6.5 小时。将溶剂浓缩, 得到黄色混悬液。加入水 (50mL), 并用 5N 氢氧化钠水溶液碱化所述混合物。用乙酸乙酯 (3 x 100mL) 萃取水相, 并用盐水 (50mL) 洗涤合并的有机萃取物, 通过硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩, 得到标题化合物, 产率 96%。MS(m/z): 228 (M+1)。

[0107] 制备例 4: 2' - 氯 -4',5' - 二氢螺 [哌啶 -4,7' - 噻吩并 [2,3-c] 吡喃] 盐酸盐

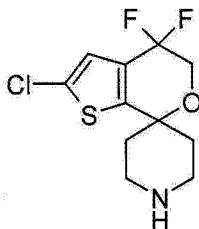
[0108]



[0109] 将 4',5' - 二氢螺 [哌啶 -4,7' - 噻吩并 [2,3-c] 吡喃] (50g, 238.88mmol) 在乙酸 (400mL) 和甲基叔丁基醚 (40mL) 的混合物中的溶液冷却至 15℃。然后, 在 40 分钟内, 在所述温度下 (内部温度 = 15℃ - 22℃) 逐滴添加硫酰氯 (21.20mL, 262.77mmol) 的乙酸 (100mL) 溶液, 并在室温下搅拌所述混合物 20 小时。然后, 在 rt 下逐滴添加硫酰氯 (11.56mL, 143.33mmol) 的乙酸 (50mL) 溶液。在室温下搅拌反应混合物 30 分钟, 然后搅拌、冰 / 水浴冷却下将其逐滴 (30 分钟) 添加至甲基叔丁基醚 (1L) 中。形成白色混悬液, 并过滤固体。为获得第二批材料, 浓缩滤液 (通过 rotavap 再填充甲基叔丁基醚)。将得到的固体悬浮于甲基叔丁基醚 (300mL) 中, 在回流下 (浴: 100℃) 搅拌混悬液, 并加入甲醇 (30mL), 直到形成浑浊的混悬液。然后, 冷却混悬液至室温过夜。在冰 / 水浴中进一步冷却所述混悬液, 并过滤。用甲基叔丁基醚 (50mL) 洗涤固体并与第一批收获的材料合并, 得到标题化合物, 60% 产率。MS(m/z): 244 (M+1)。

[0110] 制备例 5: 2' - 氯 -4',4' - 二氟 -4',5' - 二氢螺 [哌啶 -4,7' - 噻吩并 [2,3-c] 吡喃]

[0111]



[0112] 1. 2- 氯螺 [4,5- 二氢噻吩并 [2,3-c] 吡喃 -7,4' - 哌啶] -1' - 甲酸叔丁酯

[0113] 向 2- 氯螺 [4,5- 二氢噻吩并 [2,2-c] 吡喃 -7,4' - 哌啶] 盐酸盐 (140g, 0.49 摩尔) 在二氯甲烷 (1.12L) 的混悬液中分次添加三乙胺 (67.25mL, 1.05 摩尔)、4- 吡啶胺、N, N- 二甲基 - (3.05g, 0.025 摩尔) 和二碳酸二叔丁酯 (111.22g, 0.509 摩尔), 并在室温下搅拌得到的混合物过夜。用 1N HCl (2x) 和水洗涤反应物。用硫酸镁干燥有机相, 过滤, 并在减压下浓缩, 得到 2- 氯螺 [4,5- 二氢噻吩并 [2,3-c] 吡喃 -7,4' - 哌啶] -1' - 甲酸叔丁酯,

53%产率。MS(m/z):244(M+1-Boc)。

[0114] 2. 4'-氧代-2'-氯-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-甲酸叔丁酯

[0115] 在5L有外壳的反应器中, rt下将N-溴代琥珀酰亚胺(115.02g, 639.77mmol)添加至2-氯螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-甲酸叔丁酯(200g, 581.61mmol)的氯苯(1.60L)溶液中。用几乎与反应器外壁接触的3X 100w灯泡辐射得到的混悬液,并且所述反应器温度设置为45℃。4小时后,添加N-溴代琥珀酰亚胺(26.14g, 145.40mmol),将温度维持在40℃反应15小时。将反应混合物冷却至0℃,并添加甲基叔丁基醚(500mL)。过滤固体,并将溶液浓缩为约1000mL的氯苯溶液。然后,添加甲基叔丁基醚(1000mL),过滤固体,并浓缩滤液,得到600mL氯苯溶液。添加二甲基亚砜(806.47mL, 11.35mol),并在室温下加入碳酸氢钠(95.38g, 1.14mol)。室温下搅拌24小时后,加入水/冰(1000mL),并分离相。有机相用水(2 x 1L)洗涤,并浓缩,得到氯苯溶液。然后,加入二氯甲烷(1.2L),并将所述混合物冷却至5℃(冰/水浴)。加入溴化钾(20.27g, 170.31mmol)和2,2,6,6-四甲基哌啶-N-氧化物(4.43g, 28.38mmol)。然后在5℃将用碳酸氢钠调节至pH=9的6%次氯酸钠水溶液(644.40mL, 567.68mmol)添加至反应混合物中,并在5℃搅拌得到的混合物1小时。加入室温水(1L),并分离相。用水(2 x 0.5L)洗涤有机相,并用冰/水浴冷却。然后,在5℃将溴化钾(2.03g, 17.03mmol)、2,2,6,6-四甲基哌啶-N-氧化物(0.05g, 0.32mmol)和用固体碳酸氢钠调节至pH=9的6%次氯酸钠水溶液(128.88mL, 113.54mmol)添加至反应混合物中,并从5℃至室温下搅拌得到的混合物1小时。然后,添加水(1L),并分离相。用水(2x 1L)洗涤有机相,干燥,并浓缩,以得到深褐色固体。

[0116] 用己烷(500mL)、甲基叔丁基醚/己烷5%(250mL)和甲基叔丁基醚/己烷10%(250mL)研磨固体,得到4'-氧代-2'-氯-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-甲酸叔丁酯,其为浅棕色固体,66%产率。MS(m/z):258(M+1-Boc)。

[0117] 3. 2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-甲酸叔丁酯

[0118] 在装有四氢呋喃(81mL)的500mL PFA烧瓶中加入(双(2-甲氧基乙基)氨基)三氟化硫(183.62g, 829.94mmol)和4'-氧代-2'-氯-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-甲酸叔丁酯(135g, 377.24mmol)。在70℃搅拌得到的混悬液24小时。然后,将其冷却至室温,并在搅拌下缓慢地将其倒至冰和饱和碳酸氢钠水溶液的混合物(4L)中(产生气体)。使用甲基叔丁基醚将剩余的物质从烧瓶中移出。气体产生停止后,在搅拌下加入固体碳酸氢钠,直到达到pH 8。用甲基叔丁基醚(3 x 500mL)萃取得到的混合物,直到在水相中通过TLC不能检测到产物。用水(3 x 500mL)和盐水(500mL)洗涤合并的有机物,通过硫酸钠干燥,并浓缩,得到黑色稠的油状物(250g)。将粗产物溶解于二氯甲烷中,并通过硅胶塞过滤,用甲基叔丁基醚/己烷10%(6L)和甲基叔丁基醚/己烷(4L)洗脱。收集级分,直到通过TLC(20%甲基叔丁基醚/己烷,UV, R_f = 0.5)检测不到产物。浓缩滤液,得到浅棕色固体,在40℃真空下干燥所述固体,直到恒重,得到70%产率的2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-甲酸叔丁酯。MS(m/z):324(M+1-tBu)。

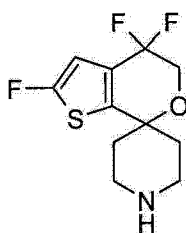
[0119] 4. 2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-甲酸叔丁酯

喃]

[0120] 在 45℃ 将 37% 盐酸 (74.12mL, 789.78mmol) 添加至 2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-甲酸叔丁酯 (60g, 157.96mmol) 的异丙醇 (420mL) 溶液中。在 45℃ 搅拌得到的溶液 15 小时。然后, 浓缩所述混合物至 1/4 体积, 得到白色混悬液。加入水 (100mL), 并用 6N 氢氧化钠水溶液碱化所述混悬液, 得到两层混合物, 用甲基叔丁基醚 (3 x 100mL) 萃取。用盐水 (50mL) 洗涤合并的有机物, 通过硫酸钠干燥, 浓缩, 得到浅棕色固体, 在真空下干燥所述固体, 直到恒重, 得到产率为 97% 的标题化合物。MS(m/z): 280 (M+1)。

[0121] 制备例 6: 2,4,4-三氟螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]

[0122]



[0123] 1. 2-溴-4-羟基-螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-甲酸叔丁酯

[0124] 将 N-溴代琥珀酰亚胺 (2.2 当量) 添加至螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-甲酸叔丁酯 (13.5g) 的氯苯 (108mL) 溶液中。用 260w 灯泡辐射得到的混悬液过夜。

[0125] 加入更多的 N-溴代琥珀酰亚胺 (1.7g) 至混合物中, 并用 260w 灯泡辐射所述混合物 3 小时。在减压下去除溶剂, 得到残留物, 将所述残留物溶解于丙酮 (650mL) 中, 并加入硝酸银 (8.8g) 的水 (650mL) 溶液。在黑暗中、室温下搅拌所述混合物过夜。过滤所述混合物, 并蒸发丙酮。加入乙酸乙酯, 并用碳酸氢钠饱和水溶液和盐水洗涤有机层。通过硫酸钠干燥有机层, 过滤, 并在减压下蒸发溶剂。通过正相 Isco 色谱 (洗脱液: 己烷 / 乙酸乙酯 15-60%) 纯化残留物, 得到 2-溴-4-羟基-螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-甲酸叔丁酯, 38% 产率。MS(m/z): 426/428 (M+23/M+2+23)。

[0126] 2. 2'-溴-4'-氧代-螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-甲酸叔丁酯

[0127] 0℃ 下将溴化钾 (535.67mg, 4.50mmol) 添加至 2-溴-4-羟基-螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-环己烷]-1'-甲酸叔丁酯 (7.28g) 和 2,2,6,6-四甲基哌啶-N-氧化物 (281.33mg, 1.80mmol) 的二氯甲烷 (70mL) 溶液中。在另一容器中, 添加碳酸氢钠至 10% 次氯酸钠水溶液 (22.34mL, 36.01mmol) 中, 直到 pH 9。在 0℃ 逐滴添加这一次氯酸钠-碳酸氢钠溶液, 并在 0℃ 搅拌得到的黑色混悬液 15 分钟。加入二氯甲烷 (20mL) 和水 (20mL), 并分离相。用水 (20mL) 洗涤有机相, 并通过硫酸钠干燥。在减压下去除溶剂, 得到 2'-溴-4'-氧代-螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-甲酸叔丁酯, 产率 99%。MS(m/z): 346/348 (M-t-Bu)。

[0128] 3. 2-溴-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-甲酸叔丁酯

[0129] 在 100mL 全氟烷氧基-烧瓶中,将 (双 (2-甲氧基乙基) 氨基) 三氟化硫 (5.16mL, 27.96mmol) 加入至干燥四氢呋喃 (3.5mL) 中。然后加入 2'-溴-4'-氧代-螺[哌啶-4, 7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-甲酸叔丁酯 (4.5g, 11.19mmol)。在 70℃ 搅拌溶液过夜。此后,加入甲基叔丁基醚 (30mL), 小心地将所述反应混合物倒入在冰浴中冷却的碳酸氢钠 (饱和水溶液) 中。观察到 CO₂ 放出, 并加入碳酸氢钠 (饱和水溶液) 直到 pH 8。用甲基叔丁基醚萃取混合物。倒出有机相, 用盐水 (2x) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 并在减压下蒸发溶剂。通过正相 Isco 色谱用甲基叔丁基醚/己烷洗脱来纯化粗产物, 得到 3.2g 2-溴-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-甲酸叔丁酯。MS(m/z): 368(M-55)。

[0130] 4,2,4,4-二氟螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-甲酸叔丁酯

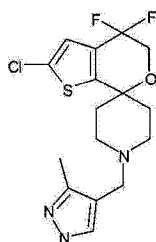
[0131] 在氮气气氛及 -78℃ 下将 2.5M 在己烷中的丁基锂 (47mL) 加入到 2-溴-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-甲酸叔丁酯 (1.99g, 4.69mmol) 的四氢呋喃 (50mL) 溶液中。在 -78℃ 搅拌所述混合物 1 小时, 并加入固体 N-氟-苯磺酰亚胺 (3.69g, 11.73mmol)。使混合物升温至室温, 并在室温下搅拌过夜。加入饱和氯化铵水溶液, 并用乙酸乙酯萃取有机相, 通过硫酸钠干燥, 并在减压下除去溶剂。通过正相 Isco 色谱 (己烷/乙酸乙酯 3-12%) 纯化粗产物, 得到 1.3g 2,4,4-三氟螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-甲酸叔丁酯, 通过 HPLC 对其进一步纯化, 得到 0.818g 所述化合物。MS(m/z): 308(M-t-Bu)。

[0132] 5,2,4,4-三氟螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]

[0133] 将 2,4,4-三氟螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-甲酸叔丁酯 (2.00g, 5.50mmol) 溶解于盐酸 (4N 在二噁烷中) (10mL, 40mmol) 中。在室温下搅拌所述混合物 1 小时, 然后使其通过 50g SCX 柱, 在蒸发了 2N 氨的甲醇溶液级分后, 得到 1.3g 标题化合物。MS(m/z): 264(M+1)。

[0134] 制备例 7: 2-氯-4,4-二氟-1'-[(3-甲基-1H-吡唑-4-基) 甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]

[0135]



[0136] 向 2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (105g, 375mmol) 的四氢呋喃 (1.58L) 溶液中加入 3-甲基-1H-吡唑-4-甲醛 (43.40g, 394.12mmol), 并在室温下搅拌所述混合物 1 小时。然后, 分 3 份加入粉状三乙酰氧基硼氢化钠 (95.46g, 450.42mmol)。室温下搅拌所述混合物 15 小时。然后, 将所述反应混合物倒至冰-碳酸氢钠饱和水溶液 (400mL) 中。分离相。用乙酸乙酯 (100mL) 萃取水相。用 50% 盐水洗涤合并的有机层, 固体在有机相中沉淀。浓缩有机相, 得到 170g 标题化合物。MS(m/z): 374(M+1)。

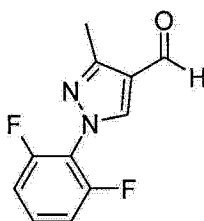
[0137] 应用 1,2-二氯乙烷作为溶剂, 基本上如制备例 7 那样产生制备例 8-11 中的化合物。

[0138]

制备例编号	化学名	结构	产率(%)	物理数据: MS (m/z)
8	2-氟-1'-[(3-甲基-1H-吡唑-4-基)甲基]螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]		93	322 (M+1)
9	2-氯-1'-[(3-甲基-1H-吡唑-4-基)甲基]螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]		99	338 (M+1)
10	2,4,4-三氟-1'-[(3-甲基-1H-吡唑-4-基)甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]		99	358 (M+1)
11	2-氯-1'-(1H-吡唑-4-基甲基)螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]		99	324 (M+1)

[0139] 制备例 12: 1-(2,6-二氟苯基)-3-甲基-吡唑-4-甲醛

[0140]



[0141] 1. 1-(2,6-二氟-苯基)-3-甲基-1H-吡唑

[0142] 向螺旋盖的试管中加入碘化亚铜(I) (1.86g, 9.74mmol)、3-甲基-1H-吡唑 (3.92mL, 48.72mmol) 和碳酸钾 (14.28g, 102.31mmol)。然后, 加入 2-溴-1,3-二氟-苯 (13.75mL, 121.80mmol) 和反式-N,N'-二甲基环己烷-1,2-二胺 (3.07mL, 19.49mmol), 并在 115℃ 搅拌所述混合物 24 小时。冷却反应, 加入水 (50mL), 并用二氯甲烷 (3 x 20mL) 萃取混合物。有机物通过硫酸钠干燥, 并浓缩以得到深色油状物。通过硅胶色谱应用洗脱液二氯甲烷/己烷 (50 至 100% 二氯甲烷) 纯化残留物, 得到 2.5g 1-(2,6-二氟-苯基)-3-甲基-1H-吡唑。MS (m/z): 195 (M+1)。

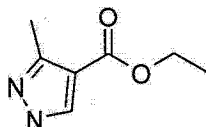
[0143] 2. 1-(2,6-二氟苯基)-3-甲基-吡唑-4-甲醛

[0144] 在 0℃ 逐滴添加磷酰氯 (9.19mL, 98.88mmol) 至二甲基甲酰胺 (7.65mL, 98.88mmol) 中, 并在所述温度下搅拌所述混合物 10 分钟。然后, 添加 1-(2,6-二氟-苯

基)-3-甲基-1H-吡唑 (4.80g, 24.72mmol) 至得到的混悬液中,并在 85℃ 搅拌所述反应混合物 20 小时。使反应混合物冷却至室温,并添加冰和水 (20mL),无放热发生。将所述混合物倒至饱和碳酸氢钠水溶液 (30mL) 中,并用 2N 氢氧化钠碱化。用甲基叔丁基醚 (2x 30mL) 萃取混合物,用盐水 (2 x 30mL) 洗涤有机层,通过硫酸钠干燥,并在减压下蒸发溶剂,得到 5.3g 标题化合物。MS(m/z):223(M+1)。

[0145] 制备例 13:3-甲基-1H-吡唑-4-甲酸乙酯

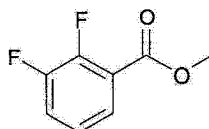
[0146]



[0147] 将硫酸 (18mL, 337.69mmol) 添加至 1H-吡唑-4-甲酸、3-甲基-(10g, 79.29mmol) 的乙醇 (90mL) 混悬液中,并在 85℃ 搅拌所述混合物 20 小时。此后,部分地移除溶剂。用 1M 氢氧化钠溶液碱化残留物至 pH 6-7,并用二氯甲烷萃取。倒出有机层,用硫酸镁干燥,并在减压下蒸发溶剂,得到 10.3g 标题化合物,其没有进一步纯化即使用。MS(m/z):155(M+1)。

[0148] 制备例 14:2,3-二氟苯甲酸甲酯

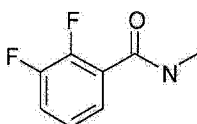
[0149]



[0150] 通过应用 2,3-二氟苯甲酸和甲醇基本上如制备例 13 描述的那样制备制备例 14 的化合物,产率为 96%。¹H-NMR(CDC1₃):7.70(m, 1H), 7.35(m, 1H), 7.14(m, 1H), 3.95(s, 3H)。

[0151] 制备例 15:2,3-二氟-N-甲基-苯甲酰胺

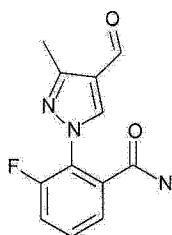
[0152]



[0153] 搅拌 2,3-二氟苯甲酸 (1g, 6.32mmol) 和亚硫酰氯 (9mL, 123.53mmol) 的混合物,并加热至回流 2h。真空下蒸发溶剂,并用甲苯共蒸发残留物。干燥后,将残留物溶解于 5mL 四氢呋喃中,在 0℃ 冷却,并添加单甲胺 (6.32mL, 12.65mmol)。20 分钟后,用水淬灭所述反应,并用乙酸乙酯萃取。分离有机层,用硫酸镁干燥,并在真空下蒸发溶剂,得到 790mg 标题化合物。MS(m/z):172(M+1)。

[0154] 制备例 16:3-氟-2-(4-甲酰基-3-甲基-吡唑-1-基)苯甲酰胺

[0155]

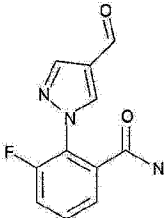
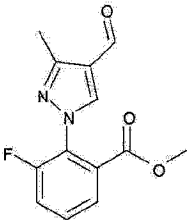


[0156] 用冰/水浴冷却 3-甲基-1H-吡唑-4-甲醛 (15.25g, 138.49mmol) 和 2,3-二氟苯

甲酰胺 (26.11g, 166.19mmol) 在二甲基甲酰胺 (228.75mL) 中的混合物, 然后添加叔丁醇钾 (17.09g, 152.34mmol)。在 50℃ 搅拌得到的混合物 20 小时。使反应混合物冷却至室温。然后, 添加冰 / 水 (300mL), 并用乙酸乙酯 (3 x 200mL) 萃取混合物。合并有机物, 并通过硫酸钠干燥, 浓缩, 得到浅棕色油状物, 其含有 20% 的其它吡唑区域异构体。然后通过硅胶色谱使用乙酸乙酯 / 己烷作为洗脱液纯化残留物, 得到 17.4g 标题化合物。MS(m/z): 248(M+1)。

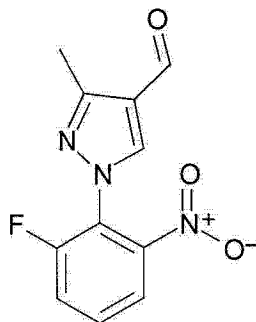
[0157] 制备例 17-18 的化合物基本上如制备例 16 中所描述的那样从相应的 2,3-二氟苯基衍生物制得。

[0158]

制备例编号	化学名	结构	产率(%)	物理数据: MS (m/z)
17	3-氟-2-(4-甲酰基-吡唑-1-基)苯甲酰胺		85	234 (M+1)
18	3-氟-2-(4-甲酰基-3-甲基-吡唑-1-基)苯甲酸甲酯		56	263 (M+1)

[0159] 制备例 19: 1-(2-氟-6-硝基-苯基)-3-甲基-1H-吡唑-4-甲醛

[0160]

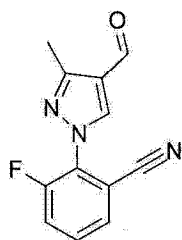


[0161] 向 3-甲基-1H-吡唑-4-甲醛 (1g, 9.08mmol) 在乙腈 (10mL) 中的溶液中添加碳酸钾 (1.76g, 12.71mmol) 和 2,3-二氟硝基苯 (1.73g, 10.90mmol), 并在室温下搅拌所述混合物过夜。加入水, 并用乙酸乙酯萃取有机相。通过硫酸钠干燥有机层, 并在减压下蒸发溶剂。通过正相 Isco 色谱应用乙酸乙酯 / 己烷 (20-80%) 作为洗脱液纯化残留物, 得到 62% 产率的区域异构体混合物, 其含有作为主要产物的标题产物, 其在未进一步纯化的情况下使用。

[0162] $^1\text{H-NMR}$ 与期望的结构相符, 尽管检测到区域异构体的混合物。 $^1\text{H-NMR}$ (MeOD): 9.98 (s, 1H), 8.65 (d, 1H, $J = 1.6\text{Hz}$), 7.99-7.26 (m, 3H), 2.49 (s, 3H)。

[0163] 制备例 20:3- 氟 -2-(4- 甲酰基 -3- 甲基 - 吡唑 -1- 基) 苯甲腈

[0164]



[0165] 在 100 °C 下将 3- 甲基 -1H- 吡唑 -4- 甲醛 (5g, 45.41mmol)、碳酸钾 (9.41g, 68.11mmol)、2,3- 二氟苯甲腈 (6.06mL, 54.5mmol) 和二甲基甲酰胺 (50mL) 的混合物搅拌 5 小时,然后在室温下搅拌过夜。添加水,形成沉淀。过滤沉淀。用乙酸乙酯萃取经过滤的水溶液。用盐水洗涤有机层,用硫酸镁干燥,并蒸发溶剂。合并沉淀的固体以及蒸发后从有机层中回收的固体,得到 10.4g 标题化合物,其在未进一步纯化的情况下使用(所述标题化合物以 90 : 10 的比例污染有其它吡唑区域异构体)。MS(m/z) :230 (M+1)。

[0166] 制备例 21-27 的化合物基本上如制备例 20 所描述的那样从相应的氟苯基衍生物制得。

[0167]

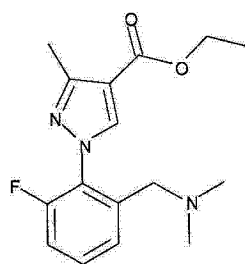
制备例 编号	化学名	结构	产率 (%)	物理数据: MS (m/z)
21	3-氯-2-(4-甲酰基-3-甲基-吡唑-1-基)苯甲酰胺		64	264 (M+1)
22	3-氟-2-(4-甲酰基-3-甲基-吡唑-1-基)-N-甲基-苯甲酰胺		48	262 (M+1)

[0168]

制备例 编号	化学名	结构	产率 (%)	物理数据: MS (m/z)
23	3-溴-2-(4-甲酰基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯甲酸甲酯		86	323, 325 (M+1, M+3)
24	3-氟-2-(4-甲酰基吡唑-1-基)苯甲腈		98	216 (M+1)
25	1-(2-乙酰基-6-氟-苯基)-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯		71	291 (M+1)
26	1-(2-氯-6-甲酰基-苯基)-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯		80	291 (M+1)
27	1-(2-氟-6-甲酰基-苯基)-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯		44	277 (M+1)

[0169] 制备例 28:1-[2-(二甲基氨基甲基)-6-氟-苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯

[0170]

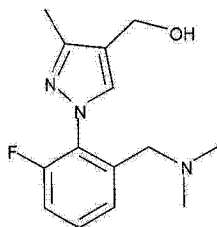


[0171] 化合物基本上如制备例 7 描述的那样通过应用 1-(2-氟-6-甲酰基-苯基)-3-甲

基-吡唑-4-甲酸乙酯和二甲胺制备。通过正相 Isco 色谱(洗脱液:二氯甲烷/甲醇)纯化残留物,得到 1-[2-(二甲基氨基甲基)-6-氟-苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯,90% 产率。MS(m/z):306(M+1)。

[0172] 制备例 29:1-[2-(二甲基氨基甲基)-6-氟-苯基]-3-甲基-吡唑-4-基] 甲醇

[0173]

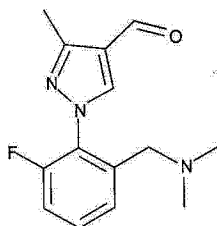


[0174] 向冷却至 0℃并在氮气下的乙基 1-(2-二甲基氨基甲基-6-氟-苯基)-3-甲基-1H-吡唑-4-甲酸乙酯(1.95g,6.39mmol)的四氢呋喃(42.6mL)溶液中加入在四氢呋喃中的 1M 氢化铝锂(9.6mL,9.6mmol),并在所述温度下搅拌所述混合物 1 小时。

[0175] 在 0℃用 0.36mL 水、0.36mL 15%氢氧化钠溶液以及最后用 1.08mL 水处理反应混合物,并在室温下搅拌 15 分钟。滤除固体,并在真空下蒸发溶剂,产生 1.68g 标题化合物,其未进一步纯化即使用。MS(m/z):264(M+1)。

[0176] 制备例 30:1-[2-(二甲基氨基甲基)-6-氟-苯基]-3-甲基-吡唑-4-基] 甲醇

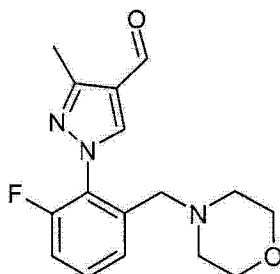
[0177]



[0178] 在室温下在二氯甲烷(50mL)中搅拌[1-(2-二甲基氨基甲基-6-氟-苯基)-3-甲基-1H-吡唑-4-基]-甲醇(4.89mmol;1.43g)和氧化锰(IV)(4.25g,48.88mmol)的混合物过夜。在硅藻土上过滤反应混合物,并在减压下蒸发溶剂,得到 1.4g 标题化合物,其未进一步纯化即使用。MS(m/z):262(M+1)。

[0179] 制备例 31:1-[2-氟-6-(吗啉代甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基] 甲醇

[0180]



[0181] 1. 1-[2-氟-6-(吗啉代甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基] 甲醇

[0182] 基本上如制备例 7 所描述的那样,通过应用 1-(2-氟-6-甲酰基-苯基)-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯和吗啉制备这一化合物。MS(m/z):348(M+1)。

[0183] 2. 1-[2-氟-6-(吗啉代甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基] 甲醇

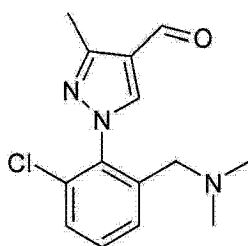
[0184] 基本上如制备例 29 所描述的那样,通过应用 1-[2-氟-6-(吗啉代甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯制备这一化合物。MS(m/z):306(M+1)。

[0185] 3. 1-[2-氟-6-(吗啉代甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲醛

[0186] 室温下将 3,3,3-三乙酰氧基-3-碘苯并[c]呋喃酮(0.42g,0.96mmol)加入到 1-(2-氟-6-吗啉-4-基甲基-苯基)-3-甲基-1H-吡唑-4-基-甲醇(0.24g,0.8mmol)在二氯甲烷(3mL)中的溶液中。一小时后,通过添加 2N 碳酸钠溶液淬灭所述反应,并用二氯甲烷萃取所述化合物。分离有机层,用硫酸镁干燥,在真空下蒸发溶剂,得到标题化合物,产率 99%,其未经进一步纯化即使用。MS(m/z):304(M+1)。

[0187] 制备例 32:1-[2-氯-6-(二甲基氨基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲醛

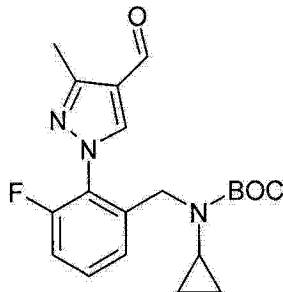
[0188]



[0189] 基本上如制备例 31 所描述的那样,应用二甲胺和 1-(2-氯-6-甲酰基-苯基)-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯制备标题化合物(68%产率)。MS(m/z):278(M+1)。

[0190] 制备例 33:N-环丙基-N-[[3-氟-2-(4-甲酰基-3-甲基-吡唑-1-基)苯基]甲基]氨基甲酸叔丁酯

[0191]



[0192] 1. 1-[2-[(环丙基氨基)甲基]-6-氟-苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯

[0193] 基本上如制备例 7 所描述的那样,通过应用 1-(2-氟-6-甲酰基-苯基)-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯和环丙胺制备以下化合物。MS(m/z):318(M+1)。

[0194] 2. 1-[2-[(叔丁氧基羰基(环丙基)氨基)甲基]-6-氟-苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯

[0195] 室温下向 1-(2-环丙基氨基甲基-6-氟-苯基)-3-甲基-1H-吡唑-4-甲酸乙酯(330.00mg,1.04mmol)的二氯甲烷(3mL)溶液中加入叔丁氧基羰基叔丁基碳酸酯(226.94mg,1.04mmol)和三乙胺(115.52mg,1.14mmol)。1 小时后,加入水,并用 DCM 萃取化合物。分离有机层,用硫酸镁干燥,并在减压下蒸发溶剂。用短硅胶塞以及己烷/乙酸乙酯 5:1 作为洗脱液纯化粗产物,得到 349mg 1-[2-[(叔丁氧基羰基(环丙基)氨基)甲基]-6-氟-苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯。MS(m/z):418(M+1)。

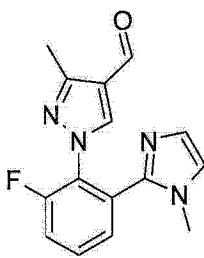
[0196] 3. N-环丙基-N-[[3-氟-2-[4-(羟基甲基)-3-甲基-吡唑-1-基]苯基]甲基]氨基甲酸叔丁酯

[0197] 所述化合物基本上如制备例 29 所描述的那样,在 0℃通过应用 1-[2-[(叔丁氧基羰基(环丙基)氨基)甲基]-6-氟-苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯制备,产率 92%。
MS(m/z):376(M+1)。

[0198] 4. N-环丙基-N-[[3-氟-2-(4-甲酰基-3-甲基-吡唑-1-基)苯基]甲基]氨基甲酸叔丁酯

[0199] 所述化合物基本上如制备例 31 步骤 3(最后的氧化步骤)所描述的那样,通过应用 N-环丙基-N-[[3-氟-2-[4-(羟基甲基)-3-甲基-吡唑-1-基]苯基]甲基]氨基甲酸叔丁酯制备。MS(m/z):374(M+1)。

[0200] 制备例 34:1-[2-氟-6-(1-甲基咪唑-2-基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲醛
[0201]



[0202] 1. 1-(2-氰基-6-氟-苯基)-3-甲基-1H-吡唑-4-甲酸乙酯

[0203] 在磁力搅拌的帮助下,在 100℃加热 3-甲基-1H-吡唑-4-甲酸乙酯(1.25g, 8.11mmol)、碳酸钾(1.68g, 12.16mmol)、2,3-二氟苯甲腈(1.08mL, 9.73mmol)在二甲基甲酰胺(12mL)中的混合物。2.5 小时后,用水处理反应混合物,并用乙酸乙酯萃取。倒出有机层,用盐水洗涤,用硫酸镁干燥,在减压下蒸发溶剂,得到 2.3g 1-(2-氰基-6-氟-苯基)-3-甲基-1H-吡唑-4-甲酸乙酯(所述化合物以 75:25 的比例污染有其它吡唑区域异构体)。MS(m/z):274(M+1)。

[0204] 2. 1-[2-氟-6-(1-甲基-4,5-二氢咪唑-2-基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯

[0205] 将 1-(2-氰基-6-氟-苯基)-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯(1.97g, 7.21mmol)(以 75:25 的比例污染有其它吡唑区域异构体)、1,2-乙二胺、N-甲基-(6mL, 68.02mmol)和五硫化二磷(229mg, 1.01mmol)装在带盖的小瓶中,并在 110℃搅拌所述混合物 30 分钟,然后使其达到室温。在真空下蒸发溶剂,通过正相 Isco 色谱应用二氯甲烷/2M 氨的甲醇溶液(从 95/5 至 85/15)作为洗脱液纯化残留物,产生 2.11g 的 1-[2-氟-6-(1-甲基-4,5-二氢咪唑-2-基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯(以 75:25 的比例污染有其它吡唑区域异构体)。MS(m/z):331(M+1)。

[0206] 3. 1-[2-氟-6-(1-甲基咪唑-2-基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯

[0207] 在研钵中一起研磨高锰酸钾(1.58g, 10mmol)和蒙脱石(montmorillonite) K-10(3.16g),直到获得精细均匀的粉末。

[0208] 将 KMnO₄-蒙脱石 K-10(3.2g, 6.78mmol)逐份加入到 1-[2-氟-6-(1-甲基-4,5-二氢咪唑-2-基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯(1.12g, 3.39mmol)(以 75:25 的比例污染有其它吡唑区域异构体)的乙腈(84.76mL, 1.62 摩尔)溶液中。室温下搅拌所述混合物 6.5 小时,并分份加入更多的 KMnO₄-蒙脱石 K-10(0.8g, 1.69mmol),并在室温下搅拌所述混合物过夜。加入乙醇,并再搅拌 20 分钟。然后使反应混合物过滤通过硅藻土短垫,

用乙腈洗涤固体物质。减压下蒸发溶剂,并通过正相 Isco 色谱应用乙酸乙酯作为洗脱液纯化粗混合物,产生 518mg 1-[2- 氟 -6-(1- 甲基咪唑 -2- 基) 苯基]-3- 甲基 - 吡唑 -4- 甲酸酯(以 75 : 25 的比例污染有其它吡唑区域异构体)。MS(m/z) :329(M+1)。

[0209] 4. 1-[2- 氟 -6-(1- 甲基咪唑 -2- 基) 苯基]-3- 甲基 - 吡唑 -4- 基] 甲醇

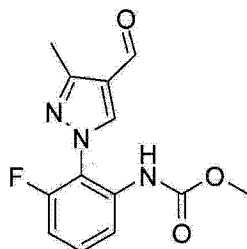
[0210] 基本上如制备例 29 所描述的那样,应用 1-[2- 氟 -6-(1- 甲基咪唑 -2- 基) 苯基]-3- 甲基 - 吡唑 -4- 甲酸乙酯(以 75 : 25 的比例污染有其它吡唑区域异构体)制备这一化合物,产率 99%。MS(m/z) :287(M+1)。

[0211] 5. 1[2- 氟 -6-(1- 甲基咪唑 -2- 基) 苯基]-3- 甲基 - 吡唑 -4- 甲醛

[0212] 基本上如制备例 30 所描述的那样,通过应用 [1-[2- 氟 -6-(1- 甲基咪唑 -2- 基) 苯基]-3- 甲基 - 吡唑 -4- 基] 甲醇(以 75 : 25 的比例污染有其它吡唑区域异构体)制备所述化合物。通过正相 Isco 色谱应用乙酸乙酯作为洗脱液纯化残留物,得到 64% 产率的标题化合物(以 75 : 25 的比例污染有其它吡唑区域异构体)。MS(m/z) :285(M+1)。

[0213] 制备例 35:N-[3- 氟 -2-(4- 甲酰基 -3- 甲基 - 吡唑 -1- 基) 苯基] 氨基甲酸甲酯

[0214]



[0215] 1. 1-(2- 氨基 -6- 氟 - 苯基)-3- 甲基 - 吡唑 -4- 甲醛

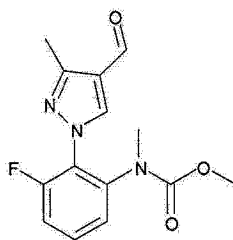
[0216] 在 90℃ 将在含数滴乙酸的乙醇 (5.1mL) 和水 (5.1mL) 中的 1-(2- 氟 -6- 硝基 - 苯基)-3- 甲基 -1H- 吡唑 -4- 甲醛 (620mg ;2.49mmol) (作为吡唑区域异构体混合物中的主要化合物) 和铁 (1.40g) 的混合物加热 2 小时。此后,通过硅藻土过滤,并用更多的乙醇洗脱。真空中浓缩混合物,用碳酸氢钠(饱和水溶液)碱化,并用二氯甲烷萃取。倒出有机层,用硫酸镁干燥,并在减压下蒸发溶剂,得到 500mg 标题化合物,其为吡唑区域异构体混合物中的主要产物,未经进一步纯化即使用。MS(m/z) :220(M+1)。

[0217] 2. N-[3- 氟 -2-(4- 甲酰基 -3- 甲基 - 吡唑 -1- 基) 苯基] 氨基甲酸甲酯

[0218] 向 1-(2- 氨基 -6- 氟 - 苯基)-3- 甲基 -1H- 吡唑 -4- 甲醛 (500mg, 2.28mmol) (作为在吡唑区域异构体混合物中的主要化合物) 的二氯甲烷 (15.21mL) 溶液中加入吡啶 (553.31 μL)。然后,在 0℃ 逐滴加入氯甲酸甲酯 (194.17 μL),并在室温下搅拌所述混合物 30 分钟。加入水,并用二氯甲烷萃取混合物。倒出有机层,用硫酸镁干燥,并在减压下蒸发溶剂。通过正相 Isco 色谱应用乙酸乙酯和己烷作为洗脱液纯化残留物,得到 418mg 标题化合物。MS(m/z) :278(M+1)。

[0219] 制备例 36:N-[3- 氟 -2-(4- 甲酰基 -3- 甲基 - 吡唑 -1- 基) 苯基]-N- 甲基 - 氨基甲酸甲酯

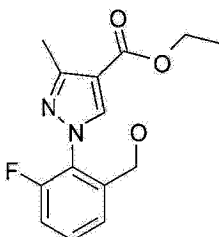
[0220]



[0221] 向氮气气氛下的并冷却至0℃的N-[3-氟-2-(4-甲酰基-3-甲基-吡唑-1-基)苯基]氨基甲酸甲酯(335mg, 1.2mmol)(作为吡唑区域异构体混合物中的主要化合物)的四氢呋喃(6mL)溶液中,加入氢化钠(60%在矿物油中)(58.3mg)。然后加入碘甲烷(0.4mL),并在0℃搅拌所述反应混合物1小时。此后,加入水并用乙酸乙酯萃取混合物。倒出有机层,通过硫酸钠干燥,并蒸发溶剂。通过正相 Isco 色谱应用乙酸乙酯和己烷作为洗脱液纯化残留物,得到287mg 标题化合物,其为吡唑区域异构体混合物中的主要产物,其未进一步纯化即使用。MS(m/z):292(M+1)。

[0222] 制备例 37:1-[2-氟-6-(羟基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯

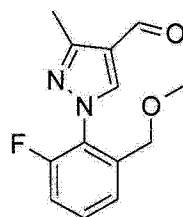
[0223]



[0224] rt 下向 1-(2-氟-6-甲酰基-苯基)-3-甲基-1H-吡唑-4-甲酸乙酯(1.5g, 5.43mmol)的甲醇(10mL)溶液中加入硼氢化钠(246.50mg, 6.52mmol)。搅拌溶液30分钟,然后在减压下蒸发溶剂,并将残留物溶于乙酸乙酯中,用饱和碳酸氢钠水溶液、水和盐水洗涤。用硫酸镁干燥有机相,过滤,并浓缩,得到标题化合物,产率99%,其未经进一步纯化即使用。MS(m/z):279(M+1)。

[0225] 制备例 38:1-[2-氟-6-(甲氧基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲醛

[0226]



[0227] 1. 1-[2-氟-6-(甲氧基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯

[0228] 在0℃、氮气气氛下向1-[2-氟-6-(羟基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯(1.2g, 4.34mmol)的10mL四氢呋喃溶液中加入60%氢化钠(0.21g, 5.21mmol)。在0℃搅拌溶液1小时。向所述溶液中加入碘甲烷(0.81mL, 13.02mmol)。室温下搅拌所述混合物过夜。通过添加水淬灭所述混合物,用乙酸乙酯萃取粗产物。分离有机层,用硫酸镁干燥,并在真空下蒸发溶剂。通过正相 Isco 色谱用10%二氯甲烷/甲醇洗脱从而纯化残留物,得到1-[2-氟-6-(甲氧基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯。由于化合物不是完全纯的,因此通过HPLC进一步纯化,得到标题化合物,产率18%。MS(m/z):293.1(M+1)。

[0229] 2. 1-[2-氟-6-(甲氧基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基] 甲醇

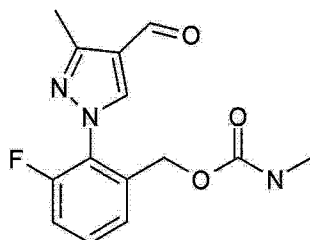
[0230] 基本上如制备例 29 所描述的那样,通过应用 1-[2-氟-6-(甲氧基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯制备这一化合物,产率 92%。MS(m/z):251(M+1)

[0231] 3. 1-[2-氟-6-(甲氧基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲醛

[0232] 基本上如制备例 30 所描述的那样,通过应用 [1-[2-氟-6-(甲氧基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基] 甲醇制备所述化合物,产率 99%。MS(m/z):249(M+1)。

[0233] 制备例 39:[3-氟-2-(4-甲酰基-3-甲基-吡唑-1-基)苯基] 甲基 N-甲基氨基甲酸酯

[0234]



[0235] 1. 1-[2-氟-6-(甲基氨基甲酰基氧基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯

[0236] 室温下向 1-(2-氟-6-羟基甲基-苯基)-3-甲基-1H-吡唑-4-甲酸乙酯 (300mg, 1.08mmol) 的二氯甲烷 (3mL) 溶液中加入异氰酸甲酯 (71.55 μ L, 1.19mmol)。1 小时后,加入更多的异氰酸甲酯 (1eq) 和三乙胺 (1eq)。1 小时后,用饱和碳酸氢钠水溶液淬灭反应,并用二氯甲烷萃取。分离有机层,用硫酸镁干燥,并在真空下蒸发溶剂,得到 360mg 1-[2-氟-6-(甲基氨基甲酰基氧基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯,其未经进一步纯化即使用。MS(m/z):336(M+1)。

[0237] 2. [3-氟-2-[4-(羟基甲基)-3-甲基-吡唑-1-基]苯基] 甲基 N-甲基氨基甲酸酯

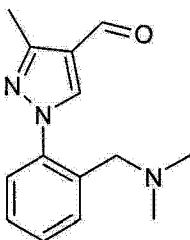
[0238] 基本上如制备例 29 所描述的那样,通过应用 1-[2-氟-6-(甲基氨基甲酰基氧基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲酸乙酯制备这一化合物,产率 82%。MS(m/z):294(M+1)。

[0239] 3. [3-氟-2-(4-甲酰基-3-甲基-吡唑-1-基)苯基] 甲基 N-甲基氨基甲酸酯

[0240] 基本上如制备例 31 步骤 3(最后的氧化步骤)所描述的那样,通过应用 [3-氟-2-[4-(羟基甲基)-3-甲基-吡唑-1-基]苯基] 甲基 N-甲基氨基甲酸酯制备这一化合物。通过正相 Isco 色谱应用己烷和乙酸乙酯 (0-70%在乙酸乙酯中) 作为洗脱液从而纯化残留物,得到 169mg 标题化合物。MS(m/z):292(M+1)。

[0241] 制备例 40:1-[2-(二甲基氨基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲醛

[0242]



[0243] 1. 1-[2-(二甲基氨基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基] 甲醇

[0244] 应用氢气球在含 Pd(C) 10% (77mg) 的乙酸乙酯 (15mL) 中氢化 [1-(2-氯-6-二甲

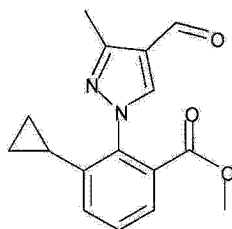
基氨基甲基-苯基)-3-甲基-1H-吡唑-4-基]-甲醇(777.00mg, 2.78mmol)。1.5小时后,应用甲醇作为洗脱液使所述混合物过滤通过硅藻土塞。蒸发溶剂,用饱和碳酸氢钠水溶液碱化残留物,并用二氯甲烷萃取。分离有机层,用硫酸镁干燥,并在真空下蒸发溶剂。通过正相 Isco 色谱应用 2N 氨的甲醇溶液和二氯甲烷(5-7%在甲醇中)作为洗脱液纯化残留物,得到 531mg [1-[2-(二甲基氨基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基]甲醇。MS(m/z): 246(M+1)。

[0245] 2. 1-[2-(二甲基氨基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲醛

[0246] 基本上如制备例 31 步骤 3(最终的氧化步骤)描述的那样,通过应用 [1-[2-(二甲基氨基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基]甲醇制备这一化合物。MS(m/z): 244(M+1)。

[0247] 制备例 41: 3-环丙基-2-(4-甲酰基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯甲酸甲酯

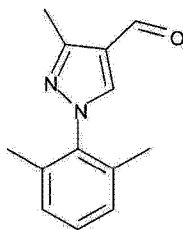
[0248]



[0249] 在氮气下向含有在甲苯(5.7mL)和水(0.28mL)混合物中的 3-溴-2-(4-甲酰基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯甲酸甲酯(412mg, 1.3mmol)、环丙基硼酸(142mg, 1.7mmol)、磷酸钾(947mg, 4.5mmol)和三环己基膦(36mg, 0.13mmol)的混合物的螺纹盖试管中加入乙酸巴(14mg, 0.06mmol)。迅速密封所述反应试管(注意:可能积累压力,使用防护罩),并在 100℃的预热油浴中在磁力搅拌器的帮助下搅拌 18 小时。用水稀释所述混合物,并用乙酸乙酯萃取。分离有机层,用硫酸镁干燥,过滤,并在真空下蒸发溶剂。通过正相 Isco 色谱,用己烷:乙醇(2-15%在乙醇中的梯度)洗脱,从而纯化得到的残留物,得到 96mg 标题化合物。MS(m/z): 285(M+1)。

[0250] 制备例 42: 1-(2,6-二甲基苯基)-3-甲基-1H-吡唑-4-甲醛

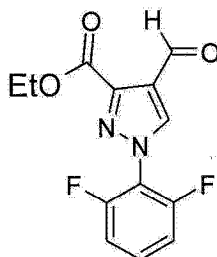
[0251]



[0252] 在室温下将含有分子筛(4A)和 3-甲基-1H-吡唑-4-甲醛(100mg, 0.91mmol)、2,6-二甲基苯基硼酸(150mg, 1mmol)、乙酸铜(II)(247mg, 1.36mmol)及吡啶(147 μl, 1.8mmol)的干燥二氯甲烷(4.5mL)溶液的螺纹盖试管振摇 48 小时。通过硅藻土过滤所述混合物,用甲醇洗涤,并在真空中蒸发溶剂。通过硅胶应用正相 Isco 色谱、用己烷:丙酮(5-30%在丙酮中的梯度)洗脱,从而纯化得到的产物,得到 67mg 标题化合物。MS(m/z): 215(M+1)。

[0253] 制备例 43: 1-(2,6-二氟苯基)-4-甲酰基-吡唑-3-甲酸乙酯

[0254]



[0255] 1. 2-[(2,6-二氟苯基)亚联氨基]丙酸乙酯

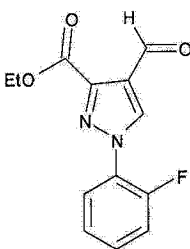
[0256] 室温下向 (2,6-二氟苯基)肼盐酸盐 (3.0g, 16.6mmol) 的水 (50mL) 溶液中加入丙酮酸甲酯 (2.32g, 19.9mmol) 和乙酸钠 (6.8g, 50.0mmol)。搅拌所述混合物 2 小时。完成后, 过滤沉淀的固体, 并用水洗涤, 产生 3.0g (74%) 2-[(2,6-二氟苯基)亚联氨基]丙酸乙酯。MS(m/z): 243 (M+1)。

[0257] 2. 1-(2,6-二氟苯基)-4-甲酰基-吡唑-3-甲酸乙酯

[0258] 0°C 下向 2-[(2,6-二氟苯基)亚联氨基]丙酸乙酯 (3.0g, 12.3mmol) 的二甲基甲酰胺 (20mL) 溶液中缓慢地加入三氯氧磷 (V) (9.6mL, 99.1mmol)。加热所述混合物至 60°C 反应 5 小时。完成后, 冷却反应混合物至 0°C, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (75mL) 中和, 并用乙酸乙酯 (3x 30mL) 萃取。用硫酸钠干燥合并的有机萃取物, 并在真空中浓缩。通过柱色谱在硅胶上用己烷/乙酸乙酯 (30 : 70) 洗脱纯化粗混合物, 产生 2.5g (73%) 标题化合物。MS(m/z): 281 (M+1)。

[0259] 制备例 44: 1-(2-氟苯基)-4-甲酰基-吡唑-3-甲酸乙酯

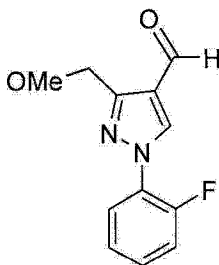
[0260]



[0261] 应用基本上如制备例 43 所描述的方法, 通过应用 2-氟苯基肼盐酸盐制备所述标题化合物 (56% 产率)。MS(m/z): 263 (M+1)。

[0262] 制备例 45: 1-(2-氟苯基)-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲醛

[0263]



[0264] 1. 3-[(2-氟苯基)亚联氨基]丁酸叔丁酯

[0265] 室温下向乙醇 (15mL) 和吡啶 (65mL) 的溶液中加入 3-氧代丁酸叔丁酯 (5.0g, 31.6mmol) 和 (2-氟苯基)肼 (4.4g, 34.9mmol), 并搅拌 16 小时。完成后, 在乙醚 (100mL) 和 1N 盐酸 (50mL) 之间分配反应混合物。用水、盐水洗涤有机层, 用硫酸钠干燥, 并在真空

下浓缩。通过柱色谱在硅胶上用己烷 / 乙酸乙酯 (90 : 10) 洗脱,从而纯化粗产物,产生 8g (95%) 3-[(2- 氟苯基) 亚联氨基] 丁酸叔丁酯。MS(m/z) :267 (M+1)。

[0266] 2. 1-(2- 氟苯基)-3- 甲基 - 吡唑 -4- 甲酸叔丁酯

[0267] 向 3-[(2- 氟苯基) 亚联氨基] 丁酸叔丁酯 (8.0g, 30mmol) 的甲苯 (100mL) 溶液中加入 N, N- 二甲基甲酰胺二甲基缩醛 (3.9mL, 30mmol), 然后加热至 110℃ 反应 14 小时。完成后, 真空下浓缩反应混合物, 并通过柱色谱在硅胶上用己烷 / 乙酸乙酯 (95 : 5) 洗脱纯化, 产生 1-(2- 氟苯基)-3- 甲基 - 吡唑 -4- 甲酸叔丁酯。MS(m/z) :277 (M+1)。

[0268] 3. 3-(溴甲基)-1-(2- 氟苯基) 吡唑 -4- 甲酸叔丁酯

[0269] 应用 100W 灯泡辐射 1-(2- 氟苯基)-3- 甲基 - 吡唑 -4- 甲酸叔丁酯 (1.0g, 3.6mmol) 和过氧化苯甲酰 (0.08g, 0.36mmol) 的四氯化碳 (30mL) 溶液, 并在回流下对其加热。然后历经 7 小时, 以四等分间隔加入 N- 溴代琥珀酰亚胺 (0.58g, 3.2mmol)。然后使所述反应混合物进一步回流 2 小时。完成后, 使反应混合物冷却至室温, 并在水 (25mL) 和二氯甲烷 (25mL) 之间分配。用二氯甲烷 (3 x 20mL) 萃取水相, 用硫酸钠干燥合并的有机萃取物, 并在真空下浓缩, 得到 3-(溴甲基)-1-(2- 氟苯基) 吡唑 -4- 甲酸叔丁酯, 其就这样用于下一步骤。MS(m/z) :355, 357 (M+1, M+3)。

[0270] 4. 1-(2- 氟苯基)-3-(甲氧基甲基) 吡唑 -4- 甲酸

[0271] 向 3-(溴甲基)-1-(2- 氟苯基) 吡唑 -4- 甲酸叔丁酯 (1.5g, 4.2mmol) 的甲醇 (30mL) 溶液中加入甲醇钠 (6.86g, 27.5mL, 25wt% 在甲醇中, 127mmol), 并在室温下搅拌所述混合物 5 小时。完成后, 真空下浓缩反应混合物, 得到粗产物混合物, 其就这样使用。向这一粗产物混合物 (1.5g, 4.9mmol) 的甲醇 (10mL) 溶液中加入 10% 氢氧化钠水溶液 (10mL), 并在室温下搅拌 24 小时。完成后, 真空下浓缩反应混合物。向残留物中加入水, 用 1N 盐酸调节 pH 至 5, 并用乙酸乙酯 (2x 50mL) 萃取。用硫酸钠干燥合并的有机萃取物, 并在真空下浓缩以产生 0.8g (66%) 1-(2- 氟苯基)-3-(甲氧基甲基) 吡唑 -4- 甲酸。MS(m/z) : 251 (M+1)。

[0272] 5. [1-(2- 氟苯基)-3-(甲氧基甲基) 吡唑 -4- 基] 甲醇

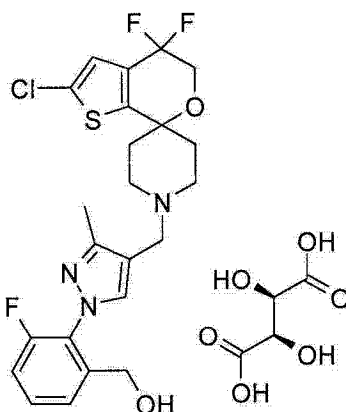
[0273] 0℃ 下向 1-(2- 氟苯基)-3-(甲氧基甲基) 吡唑 -4- 甲酸 (0.8g, 3.2mmol) 的四氢呋喃 (8mL) 和甲苯 (8mL) 溶液中加入 5.0M 硼烷二甲硫醚络合物的乙醚溶液 (3.80mL, 19.2mmol), 并在室温下搅拌 16 小时。完成后, 用氯化铵水溶液 (25mL) 淬灭反应混合物, 并用乙酸乙酯 (3x 25mL) 萃取。用硫酸钠干燥合并的有机萃取物, 并在真空下浓缩。通过柱色谱在硅胶上用二氯甲烷 / 甲醇 (99 : 1) 洗脱从而纯化粗混合物, 得到 0.3g (40%) [1-(2- 氟苯基)-3-(甲氧基甲基) 吡唑 -4- 基] 甲醇。MS(m/z) :237 (M+1)。

[0274] 6. 1-(2- 氟苯基)-3-(甲氧基甲基) 吡唑 -4- 甲醛

[0275] 0℃ 下向 [1-(2- 氟苯基)-3-(甲氧基甲基) 吡唑 -4- 基] 甲醇 (0.30g, 1.2mmol) 的二氯甲烷 (10mL) 溶液中加入戴斯 - 马丁氧化剂 (Dess-Martin periodinane) (0.65g, 1.5mmol), 并在 0℃ 持续搅拌 4 小时。完成后, 用碳酸氢钠水溶液 (15mL) 淬灭所述反应混合物, 并用二氯甲烷 (2 x 25mL) 萃取。用硫酸钠干燥合并的有机萃取物, 并在真空下浓缩。通过柱色谱在硅胶上用二氯甲烷 / 甲醇 (99.5 : 0.5) 洗脱, 从而纯化粗产物混合物, 产生 0.28g (96%) 标题化合物。MS(m/z) :235 (M+1)。

[0276] 实施例 1: [2-[4-[(2- 氯 -4,4- 二氟 - 螺 [5H- 噻吩并 [2,3-c] 吡喃 -7,4'- 哌

啉]-1'-基)-甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基] 甲醇 (L)-酒石酸盐
[0277]



[0278] 1. 2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-吡啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡啶-1-基]-3-氟-苯甲酸甲酯

[0279] 室温下将 3- 氟 -2-(4- 甲酰基 -3- 甲基 - 吡啶 -1- 基) 苯甲酸甲酯 (17g, 64.83mmol) 和 2- 氯 -4,4- 二氟 - 螺 [5H- 噻吩并 [2,3-c] 吡喃 -7,4' - 吡啶] (19.95g, 71.31mmol) 的四氢呋喃 (170mL) 溶液搅拌 1 小时。然后加入三乙酰氧基硼氢化钠 (16.49g, 77.79mmol), 并在室温下搅拌所述混合物过夜。用饱和碳酸氢钠水溶液 (200mL) 淬灭所述反应, 并分离得到的相。用乙酸乙酯 (2 x 50mL) 萃取水层。用盐水 (100mL) 洗涤有机物, 用硫酸钠干燥, 并在真空下蒸发。将粗产物溶解于甲基叔丁醚中, 形成浅褐色固体沉淀。过滤沉淀, 并弃去。浓缩溶液, 并通过应用己烷 / 乙酸乙酯混合物的硅胶色谱纯化, 得到 25g 2-[4-[(2- 氯 -4,4- 二氟 - 螺 [5H- 噻吩并 [2,3-c] 吡喃 -7,4' - 吡啶]-1' - 基) 甲基]-3- 甲基 - 吡啶 -1- 基]-3- 氟 - 苯甲酸甲酯, 产率 73%。MS(m/z): 526(M+1)。

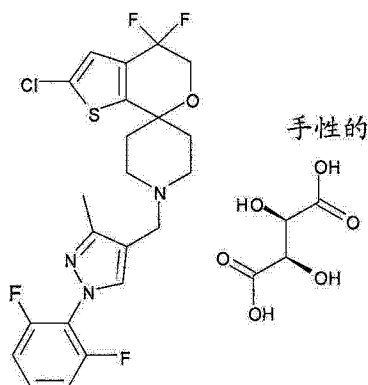
[0280] 2. [2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-吡啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡啶-1-基]-3-氟-苯基]甲醇(L)-酒石酸盐

[0281] 在氮气气氛下、-20℃向2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-吡啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡啶-1-基]-3-氟-苯甲酸甲酯(30g, 57.04mmol)的四氢呋喃(240mL)溶液中,加入在四氢呋喃中的1M氢化铝锂(45.63mL, 45.63mmol)。移除冷浴,使得反应混合物达到0℃(30min)。小心地逐滴加入水(2mL)(气体产生!),随后加入2N氢氧化钠(2mL)和水(6mL)。室温下搅拌得到的混悬液30分钟。过滤混悬液,并用乙酸乙酯(20mL)洗涤固体。用硫酸钠干燥滤液,并浓缩,得到28g[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-吡啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡啶-1-基]-3-氟-苯基]甲醇。MS(m/z):498(M+1)。

[0282] 将 [2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-吡啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡啶-1-基]-3-氟-苯基]甲醇 (384mg, 0.77mmol) 的 4mL 甲醇溶液加入到 (L)-酒石酸 (115.7mg, 0.77mmol) 的 4mL 甲醇溶液中。搅拌数分钟后, 蒸发溶剂, 并在真空下干燥残留物过夜, 以定量产率得到 [2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-吡啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡啶-1-基]-3-氟-苯基]甲醇 (L)-酒石酸盐。MS (m/z): 498 (M+1)。

[0283] 实施例 2:2-氯-1'-[[1-(2,6-二氟苯基)-3-甲基-吡啶-4-基]甲基]-4,

4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶](L)-酒石酸盐
[0284]



[0285] 向 2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶](7.14g, 25.52mmol) 的 1,2-二氯乙烷(54mL) 溶液中加入 1-(2,6-二氟-苯基)-3-甲基-1H-吡唑-4-基-甲醛(5.40g, 24.30mmol), 并在室温下搅拌所述混合物 30 分钟。然后加入粉末状三乙酰氧基硼氢化钠(9.27g, 43.75mmol) (内部温度 25-35°), 并在室温下搅拌得到的混悬液 2 小时。搅拌下分份加入水/冰混合物(30mL)。分离相。用叔丁基甲醚(50mL) 萃取水相。用 50% 饱和碳酸氢钠水溶液(50mL)、水(50mL) 和 50% 盐水(50mL) 洗涤合并的有机层, 用硫酸镁干燥, 并浓缩得到稠油状物, 通过硅胶色谱应用二氯甲烷/甲醇(97 : 3) 作为洗脱液纯化, 得到 7.1g 2-氯-1'-[[1-(2,6-二氟苯基)-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]。MS(m/z): 486(M+1)。

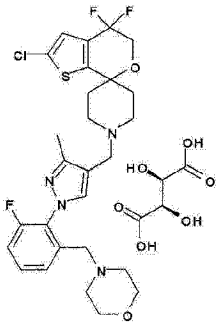
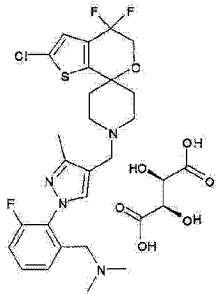
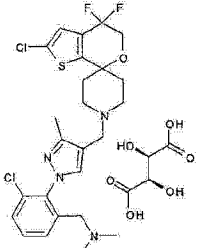
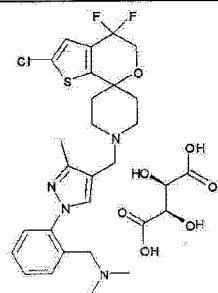
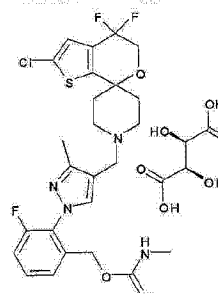
[0286] 基本上如实施例 1 描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z): 486(M+1)。

[0287] 实施例 3-21 的化合物基本上如实施例 2 所描述的那样从相应的醛制得。

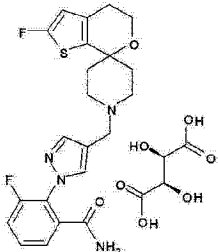
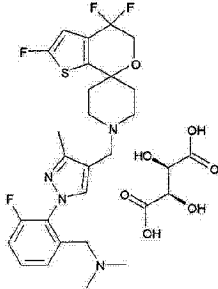
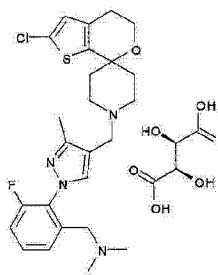
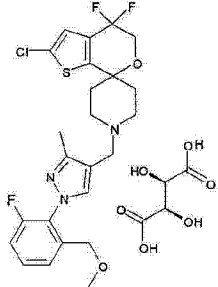
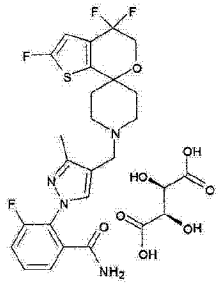
[0288]

实施例编号	化学名	结构	产率 (%)	物理数据: MS (m/z)
3	<i>N</i> -[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]氨基甲酸甲酯 (L)-酒石酸盐		55 ^a	541 (M+1)

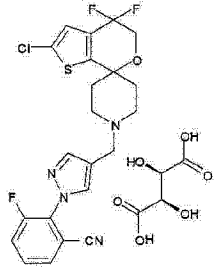
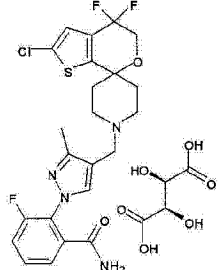
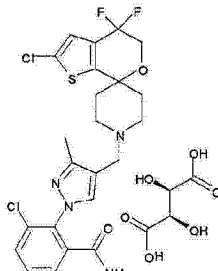
[0289]

实施例 编号	化学名	结构	产率 (%)	物理数 据: MS (m/z)
4	2-氯-4,4-二氟-1'-[[1-[2-氟-6-(吗啉代甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶](L)-酒石酸盐		42	567 (M+1)
5	1-[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]-N,N-二甲基-甲胺(L)-酒石酸盐		16	525 (M+1)
6	1-[3-氯-2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]苯基]-N,N-二甲基-甲胺(L)-酒石酸盐		62	541 (M+1)
7	1-[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]苯基]-N,N-二甲基-甲胺(L)-酒石酸盐		40	508 (M+1)
8	[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]甲基 N-甲基氨基甲酸酯(L)-酒石酸盐		49	555 (M+1)

[0290]

实施例编号	化学名	结构	产率 (%)	物理数据: MS (m/z)
14	3-氟-2-[4-[(2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]吡唑-1-基]苯甲酰胺 (L)-酒石酸盐		89	445 (M+1)
15	1-[3-氟-2-[3-甲基-4-[(2,4,4-三氟螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]吡唑-1-基]苯基]-N,N-二甲基-甲胺 (L)-酒石酸盐		57	509 (M+1)
16	1-[2-[4-[(2-氯螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]-N,N-二甲基-甲胺 (L)-酒石酸盐		51	489 (M+1)
17	2-氯-4,4-二氟-1'-[[1-[2-氟-6-(甲氧基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (L)-酒石酸盐		55	512 (M+1)
18	3-氟-2-[3-甲基-4-[(2,4,4-三氟螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]吡唑-1-基]苯甲酰胺 (L)-酒石酸盐		75	495 (M+1)

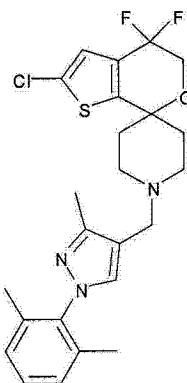
[0292]

实施例编号	化学名	结构	产率 (%)	物理数据: MS (m/z)
19	2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-吡啶]-1'-基)甲基]吡唑-1-基]-3-氟-苯甲腈 (L)-酒石酸盐		59	479 (M+1)
20	2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-吡啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯甲酰胺 (L)-酒石酸盐		84	511 (M+1)
21	3-氯-2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-吡啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]苯甲酰胺 (L)-酒石酸盐		27	527 (M+1)

[0293] ^a应用四氢呋喃作为溶剂进行反应

[0294] 实施例 22: 2'-氯-1-((1-(2,6-二甲基苯基)-3-甲基-1H-吡唑-4-基)甲基)-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[吡啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]

[0295]

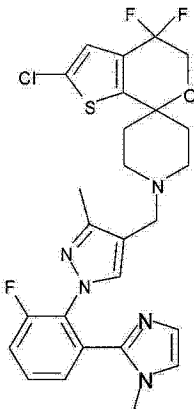


[0296] 向含有在 1,2-二氯乙烷 (1.1mL) 中的 1-(2,6-二甲基苯基)-3-甲基-1H-吡唑-4-甲醛 (0.067g, 0.31mmol)、2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-吡啶] (0.088mg, 0.31mmol) 和乙酸 (18μL, 0.31mmol) 的混合物的螺纹盖试管中加入三乙酰氧基硼氢化钠 (0.2g, 0.94mmol)。密封所述反应试管, 并借助磁性搅拌器在室温下搅拌 18 小时。用甲醇稀释所述混合物, 并应用 2g SCX 柱纯化。真空下蒸发溶剂, 并通过正相 Isco

色谱、用己烷：乙醇（2-20%在乙醇中）洗脱纯化得到的残留物，得到 0.099g 标题化合物。
MS(m/z) :478(M+1)。

[0297] 实施例 23:2-氯-4,4-二氟-1'-[[[1-[2-氟-6-(1-甲基咪唑-2-基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]

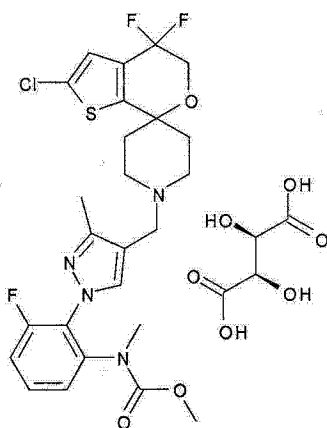
[0298]



[0299] 室温下将螺纹盖试管含有的在 1,2-二氯乙烷 (3mL) 中的 1-[2-氟-6-(1-甲基咪唑-2-基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-甲醛 (288mg, 1.01mmol) (以 75 : 25 比例污染有其它吡唑区域异构体) 和 2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (311.72mg, 1.11mmol) 的混合物搅拌 1 小时, 然后加入三乙酰氧基硼氢化钠 (429.41mg, 2.03mmol)。密封所述反应管, 并借助磁性搅拌器在室温下搅拌 18 小时。然后, 通过添加碳酸氢钠饱和溶液淬灭反应, 并用乙酸乙酯萃取所述化合物。分离有机层, 用硫酸镁干燥, 并在加压下移除溶剂。通过超临界流体色谱应用 AD-H 作为固定相纯化所述化合物, 从而提供 230mg (41%) 标题化合物, 其为白色固体。MS(m/z) :548(M+1)。

[0300] 实施例 24:N-[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]-N-甲基-氨基甲酸甲酯(L)-酒石酸盐

[0301]



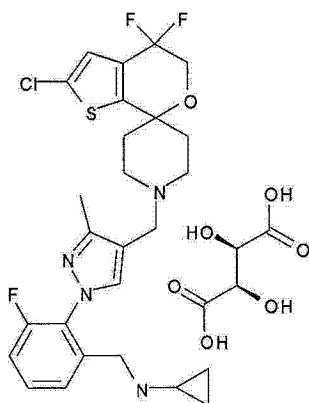
[0302] 向 2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (210mg, 0.75mmol) 的二氯甲烷 (3.00mL) 溶液中加入 N-[3-氟-2-(4-甲酰基-3-甲基-吡唑-1-基)苯基]-N-甲基-氨基甲酸甲酯 (284.27mg) (作为吡唑区域异构体混合物中的主要化合物)。室温下搅拌所述混合物 10 分钟。然后, 加入三乙酰氧基硼氢化钠 (331.5mg),

并在室温下搅拌反应过夜。用二氯甲烷稀释混合物,并用碳酸氢钠(饱和溶液)缓慢地淬灭。然后用更多的二氯甲烷萃取有机相,倒出,用硫酸镁干燥,并在减压下蒸发溶剂。通过正相 Isco 色谱应用二氯甲烷和甲醇作为洗脱液纯化残留物,得到 160mg N-[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]-N-甲基-氨基甲酸甲酯。MS(m/z):555(M+1)。

[0303] 基本上如实施例 1 所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z):555(M+1)。

[0304] 实施例 25:N-[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]甲基]环丙胺(L)-酒石酸盐

[0305]

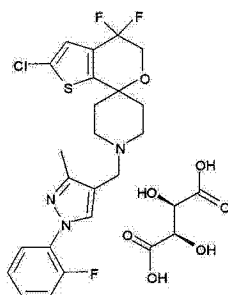


[0306] 室温下将 2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶](0.220g,0.788mmol)和环丙基-[3-氟-2-(4-甲酰基-3-甲基-吡唑-1-基)-苄基]-氨基甲酸叔丁酯(0.327g,0.876mmol)的四氢呋喃(0.3mL)溶液搅拌 1 小时,然后加入三乙酰氧基硼氢化钠(0.371g,1.75mmol)。搅拌所述混合物过夜。真空下蒸发溶剂,并将残留物溶解于 4N 氢氯酸的异丙醇溶液中,室温下搅拌 2 小时。蒸发溶剂,将残留物稀释于甲醇中,装载至 SCX 柱上。收集 2N 氨的甲醇溶液级分,并蒸发。通过反相 HPLC 纯化残留物,得到 0.142gN-[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]甲基]环丙胺。MS(m/z):537(M+1)。

[0307] 基本上如实施例 1 所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z):537(M+1)。

[0308] 实施例 26:2-氯-4,4-二氟-1'-[[1-(2-氟苄基)-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶](L)-酒石酸盐

[0309]



[0310] 向螺纹盖试管中添加碘化亚铜(I)(6.1mg,0.32mmol)、2-氯-4,4-二

氟-1'-[(3-甲基-1H-吡唑-4-基)甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (120mg, 0.32mmol)、碳酸钾 (94mg, 0.67mmol)、1mL 甲苯 (之前鼓泡通入氮气 20 分钟) 和搅拌棒。再向反应混合物鼓泡通入氮气 10 分钟, 然后加入 1-氟-2-碘苯 (106mg, 0.48mmol) 和反式-N, N'-二甲基环己烷-1,2-二胺 (0.01mL, 0.64mmol)。迅速密封反应管 (注意: 可能积累压力; 使用防护罩), 并浸入 115℃ 的预热油浴中 16 小时。使样品冷却至室温, 用乙酸乙酯稀释, 并通过硅藻土过滤。真空下蒸发溶剂。通过应用己烷/乙酸乙酯 (在乙酸乙酯中 10-40%) 的正相 Isco 色谱纯化残留物, 产生 103.9mg 标题化合物。MS(m/z): 468 (M+1)。

[0311] 基本上如实施例 1 所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z): 468 (M+1)。

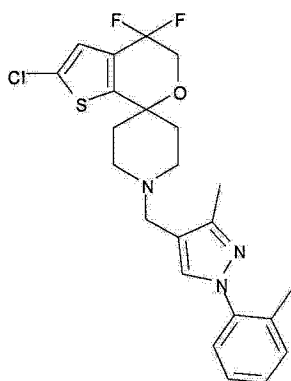
[0312] 实施例 27-29 的化合物基本上如实施例 26 所描述的那样从相应的苯基卤化物制得。

[0313]

实施例编号	化学名	结构	产率 (%)	物理数据: MS (m/z)
27	2-氯-4,4-二氟-1'-[[1-[2-(甲氧基甲基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (L)-酒石酸盐		28	480 (M+1)
28	2-氯-4,4-二氟-1'-[[1-(2-异丙基苯基)-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (L)-酒石酸盐		10	493 (M+1)
29	2-氯-1'-[[1-(2,6-二氟苯基)-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (L)-酒石酸盐		22	436 (M+1)

[0314] 实施例 30: 2'-氯-4',4'-二氟-1-((1-(2-甲基)-3-甲基-1H-吡唑-4-基)甲基)-4',5'-二氢螺[哌啶-47'-噻吩并[2,3-c]吡喃]

[0315]

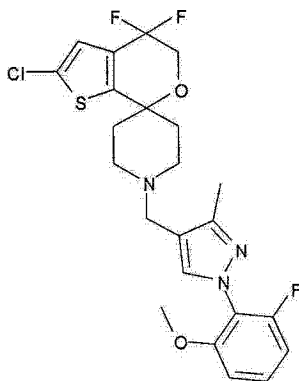


[0316] 向螺纹盖试管中添加碘化亚铜(I) (23.74mg, 0.125mmol)、2-氯-4,4-二氟-1'-[(3-甲基-1H-吡唑-4-基)甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (233mg, 0.623mmol)、碳酸钾 (182.71mg, 1.31mmol)、甲苯 (2mL) (之前鼓泡通入氮气 20 分钟) 和搅拌棒。再用氮气使所述反应混合物起泡 20 分钟, 然后加入 2-碘-甲苯 (272mg, 1.25mmol) 和反式-N,N'-二甲基环己烷-1,2-二胺 (39.31 μ L, 0.25mmol)。迅速密封反应管(注意:可能积累压力;使用防护罩), 并浸入 110°C 的预热油浴中 24 小时, 并借助于磁力搅拌器。然后, 将混合物倒在 SCX 柱 (25g) 上, 并用甲醇、然后用 2N 氨的甲醇溶液洗脱。浓缩碱性级分, 并通过正相 Isco 色谱、用二氯甲烷:乙醇 (5-20% 在乙醇中的梯度) 洗脱, 从而纯化得到的残留物, 得到标题化合物, 产率 16%。MS(m/z): 464(M+1)。

[0317] 基本上如实施例 1 所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z): 464(M+1)。

[0318] 实施例 31: 2'-氯-1-((1-(2-氟-6-甲氧基苯基)-3-甲基-1H-吡唑-4-基)甲基)-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]

[0319]

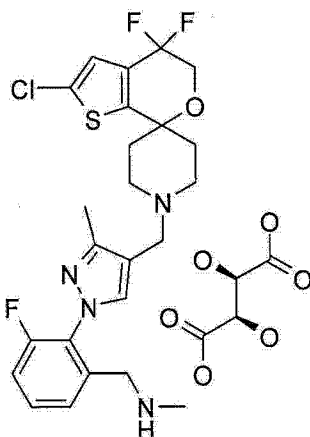


[0320] 在氮气下向含有在干燥二甲基甲酰胺 (3.2mL) 中的 1-氟-2-碘-3-甲氧基苯 (607mg, 2.41mmol) 的螺纹盖试管中加入 4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑 (600mg, 1.6mmol)、氧化亚铜(I) (23mg, 160 μ mol)、(R,R)-(-)-N,N'-二甲基-1,2-环己烷二胺 (68mg, 480 μ mol) 和碳酸铯 (1040mg, 3.2mmol)。迅速密封反应管(注意:可能积累压力;使用防护罩), 并借助于磁力搅拌器并在 110°C 的预热油浴中搅拌 16 小时。用水稀释混合物, 并用乙酸乙酯萃取。分离有机层, 用硫酸镁干燥, 过滤, 并在真空下蒸发溶剂。通过硅胶应用正相 Isco 色谱、用己烷:乙醇 (2-15% 在乙醇中的梯度) 洗脱, 从而纯化得到的残留物, 得到 17% 产率的标题化合物。MS(m/z): 498(M+1)。

[0321] 实施例 32: 1-[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌

啉]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]-N-甲基-甲胺(L)-酒石酸盐

[0322]



[0323] 1. 2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啉]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯甲醛

[0324] 室温下将氧化锰(IV)(13.89g, 140.57mmol)加入到[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啉]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]甲醇(28.00g, 56.23mmol)的二氯甲烷(224mL)溶液中,并在回流下搅拌得到的混悬液2.5小时。加入另外的氧化锰(IV)(33.33g, 337.37mmol),并将混合物在回流下搅拌4小时,在室温下搅拌15小时。再加入氧化锰(IV)(8.33g, 84.34mmol),并在室温下继续搅拌7小时。不搅拌,静置反应混合物1小时。倒出上清液,并过滤通过硅藻土垫,用二氯甲烷洗脱。浓缩滤液,得到27g 2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啉]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯甲醛。MS(m/z):496(M+1)。

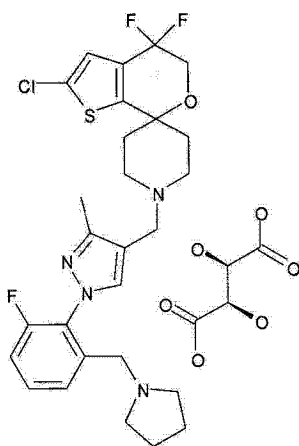
[0325] 2. 1-[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啉]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]-N-甲基-甲胺(L)-酒石酸盐

[0326] 0℃(冰/水浴)下将40%的单甲胺的水溶液(3.25mL, 37.71mmol)加入到2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啉]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯甲醛(17.00g, 34.28mmol)的乙醇(170mL)溶液中。室温下搅拌得到的混合物15小时。用冰/水浴冷却,加入硼氢化钠(0.778g, 20.57mmol),并将混合物在室温下搅拌3小时。0℃下逐滴加入5%盐酸,直到观察到没有气体产生(pH=6, 约20mL),并将混合物浓缩至1/4体积。加入饱和碳酸氢钠水溶液(100mL),并用乙酸乙酯(3x 100mL)萃取得到的混悬液。用硫酸钠干燥合并的有机层,并浓缩,得到粗产物,通过硅胶色谱、用氢氧化铵在甲醇/二氯甲烷混合物中的溶液洗脱纯化所述粗产物,得到14g标题化合物的游离碱。MS(m/z):511(M+1)。

[0327] 基本上如实施例1所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z):511(M+1)。

[0328] 实施例33:2-氯-4,4-二氟-1'-[[[1-[2-氟-6-(吡咯烷-1-基)甲基]苯基]-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啉](L)-酒石酸盐

[0329]

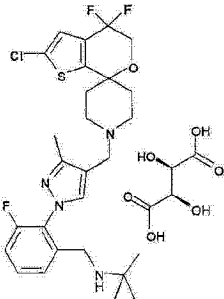
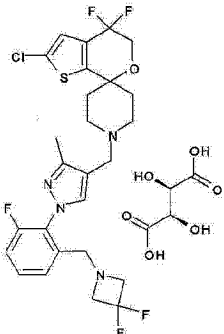


[0330] 基本上如制备例 7 所描述的那样,应用 2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯甲醛和吡咯烷制备标题化合物的游离碱,32%产率。MS(m/z):551(M+1)。

[0331] 基本上如实施例 1 所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z):551(M+1)。

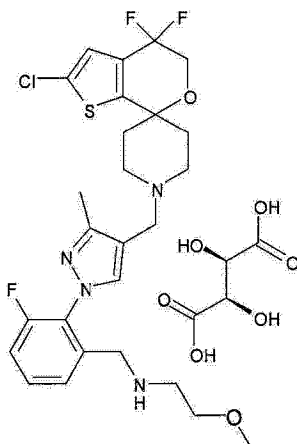
[0332] 实施例 34-35 的化合物基本上如实施例 33 所描述的那样应用相应的胺制得。

[0333]

实施例编号	化学名	结构	产率 (%)	物理数据: MS (m/z)
34	N-[[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]甲基]-2-甲基-丙-2-胺(L)-酒石酸盐		17	517 (M+1)
35	2-氯-1'-[[1-[2-[(3,3-二氟氮杂环丁-1-基)甲基]-6-氟-苯基]-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (L)-酒石酸盐		36	573 (M+1)

[0334] 实施例 36: N-(2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯亚甲基)-2-甲氧基乙胺

[0335]



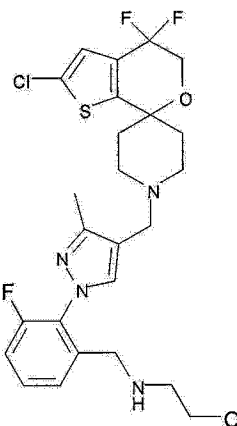
[0336] 将 2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[呋啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯甲醛 (0.220g, 0.44mmol) 和 2-甲氧基乙胺 (0.058mL, 0.67mmol) 的 2.2mL 无水二氯甲烷溶液与 4A 分子筛一起搅拌过夜。过滤混合物, 并在真空下蒸发溶剂, 以定量的产率得到相应的亚胺。MS(m/z): 553 (M+1)。

[0337] 向 N-(2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯亚甲基)-2-甲氧基乙胺 (0.237g, 0.44mmol) 的 2.2mL 1,2-二氯乙烷溶液中加入硼氢化钠 (0.050g, 1.32mmol) 和 2 滴甲醇, 将混合物搅拌 24 小时。将 1N 氢氧化钠加入到所述溶液中从而淬灭反应, 并用乙酸乙酯萃取, 用水和盐水洗涤, 并用硫酸镁干燥。应用 2g SCX 柱纯化经过滤和蒸发溶剂后获得的残留物。通过正相 Isco 色谱、用乙醇和 15% 的氢氧化铵 (7N 在甲醇中) 的乙醇溶液 (碱性洗脱液的 50-90% 梯度) 纯化得到的产物, 产生 0.075g 标题化合物的游离碱。MS(m/z): 555 (M+1)。

[0338] 基本上如实施例 1 所描述的那样制备酒石酸盐。MS (m/z) :555 (M+1)。

[0339] 实施例 37:2-(2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苄基氨基)乙醇

[0340]

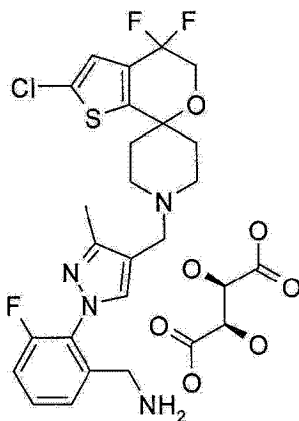


[0341] 将三乙酰氧基硼氢化钠 (0.280g, 1.32mmol) 加入到 2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-5'-二氢螺[呓啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯甲醛 (0.163g, 0.33mmol) 和 2-氨基乙醇 (0.022mL, 0.36mmol) 的 1.8mL

1,2-二氯乙烷溶液中。搅拌混合物过夜。加入饱和碳酸氢钠水溶液,并用乙酸乙酯萃取混合物,用水和盐水洗涤,并用硫酸镁干燥。应用 2g SCX 柱纯化经过滤和蒸发后的残留物。通过正相 Isco 色谱,应用己烷:乙醇(50-90%在乙醇中)洗脱,进一步纯化得到的产物,产生 0.070g 标题化合物。MS(m/z):541(M+1)。

[0342] 实施例 38: (2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苄基)甲胺(L)-酒石酸盐

[0343]



[0344] 1. 2-(2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苄基)-异吲哚-1,3-二酮

[0345] 0℃下将偶氮二甲酸二异丙酯(0.105mL,0.54mmol)加入到(2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苄基)甲醇(0.180g,0.36mmol)、酞酰亚胺(0.079mg,0.54mmol)和三苯基膦(0.142g,0.54mmol)的3mL甲苯溶液中。室温下搅拌所述混合物过夜。移除溶剂,并首先应用2g SCX柱纯化残留物,并在蒸发了在甲醇中的2N氨级分后,通过正相 Isco 色谱用己烷/乙醇(3%-30%)洗脱纯化,得到0.204g 2-(2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苄基)-异吲哚-1,3-二酮。MS(m/z):627(M+1)。

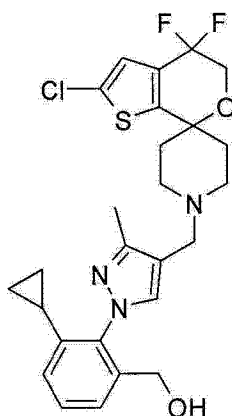
[0346] 2. (2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苄基)甲胺(L)-酒石酸盐

[0347] 向含有在乙醇(2.5mL)中的2-(2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苄基)-异吲哚-1,3-二酮(0.204g,0.33mmol)和24μL水的烧瓶中加入一水合肼(0.04g,0.79mmol)。使反应混合物回流2.5小时,然后用甲醇稀释,应用2g SCX柱纯化。蒸发了在甲醇中的2N氨级分后,通过正相 Isco 色谱用乙醇和15%氢氧化铵(7N在甲醇中)的乙醇溶液(25-90%梯度的碱性洗脱液)洗脱纯化得到的产物,产生75mg(2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苄基)甲胺。MS(m/z):497(M+1)。

[0348] 基本上如实施例1所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z):497(M+1)。

[0349] 实施例 39: (2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苄基)甲胺(L)-酒石酸盐

吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)-3-甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-环丙基苯基)甲醇
[0350]



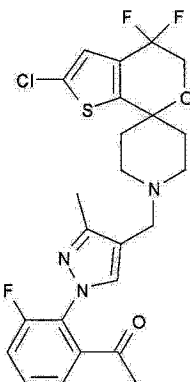
[0351] 1. 2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-环丙基苯甲酸甲酯

[0352] 向含有在1,2-二氯乙烷(0.73mL)中的3-环丙基-2-(4-甲酰基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯甲酸甲酯(0.059g,0.21mmol)、2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃](0.058g,0.13mmol)和乙酸(12μL,0.21mmol)的混合物的螺纹盖试管中加入三乙酰氧基硼氢化钠(0.066g,0.31mmol)。密封反应管,并借助于磁力搅拌器室温下搅拌18小时。用甲醇稀释所述混合物,应用2g SCX柱纯化,真空下蒸发溶剂,得到0.113g 2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-环丙基苯甲酸甲酯。MS(m/z):548(M+1)。

[0353] 2. (2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-环丙基苯基)甲醇

[0354] 在氮气下、0℃下向含有氢化铝锂(9mg,0.23mmol)的四氢呋喃(0.8mL)混悬液的螺纹盖试管中加入2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-环丙基苯甲酸甲酯(0.113g,0.21mmol)的无水四氢呋喃(0.4mL)溶液。密封反应管,并在0℃下借助于磁力搅拌器搅拌30分钟。用水(0.4mL)稀释混合物,搅拌30分钟,并用甲醇稀释。应用2g SCX柱纯化产物,蒸发碱性级分后,通过正相Isco色谱用己烷:乙醇(2-15%的乙醇溶液)纯化得到的残留物,得到0.070mg 标题化合物。MS(m/z):520(M+1)。

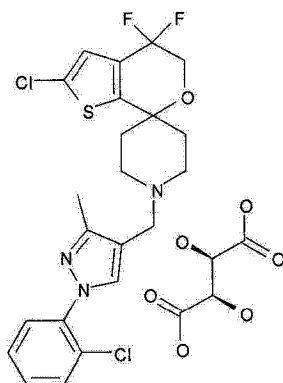
[0355] 实施例40:1-(2-(4-((2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)乙酮
[0356]



[0357] 向含有在二甲基甲酰胺 (2.2mL) 中的 4-((2'-氯-4',4'-二氟-5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]-1-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑 (0.271g, 0.72mmol) 的螺纹盖试管中加入 1-(2,3-二氟苯基)乙酮 (0.124g, 0.8mmol) 和碳酸钾 (0.150g, 1.1mmol)。迅速密封所述反应管 (注意:可能积累压力,使用防护罩),并在 110℃ 的预热油浴中借助于磁力搅拌器搅拌 18 小时。用甲醇稀释所述混合物,应用 2g SCX 柱纯化,并在真空下蒸发溶剂。通过正相 Isco 色谱用二氯甲烷/甲醇 (2-20% 甲醇溶液) 洗脱纯化得到的残留物,得到 0.075g 标题化合物。MS(m/z):510 (M+1)。

[0358] 实施例 41:2-氯-1'--[1-(2-氯苯基)-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶](L)-酒石酸盐

[0359]

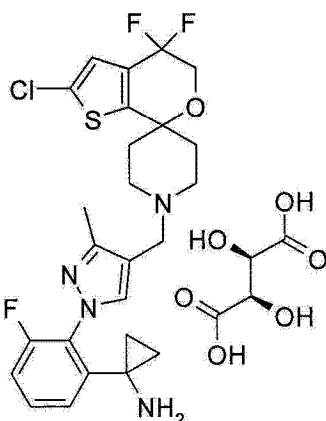


[0360] 将含有分子筛 (4A) 和 2-氯-4,4-二氟-1'--[1-(3-甲基-1H-吡唑-4-基)甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (0.250g, 0.675mmol)、2-氯苯硼酸 (0.212g, 1.35mmol)、醋酸铜 (II) (0.185g, 1.01mmol)、吡啶 (0.083mL, 1.35mmol) 的无水二氯甲烷 (1.3mL) 溶液的螺纹试管振摇 48 小时。用甲醇稀释反应粗产物,并首先用 5g SCX 柱纯化。通过正相 Isco 色谱应用二氯甲烷/乙醇 (5-30%, 在乙醇中) 洗脱进一步纯化得到的产物,得到 0.067g 标题化合物。MS(m/z):535 (M+1)。

[0361] 基本上如实施例 1 所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z):535 (M+1)。

[0362] 实施例 42:1-[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]环丙胺(L)-酒石酸盐

[0363]



[0364] 1. 2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯甲腈

[0365] 向 2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]盐酸盐 (1.3g, 4.11mmol) 的 1,2-二氯乙烷 (20.5mL) 混悬液中加入三乙胺 (0.75mL, 5.3mmol) 和 3-氟-2-(4-甲酰基-3-甲基-吡唑-1-基)-苯甲腈 (作为区域异构体混合物中的主要化合物) (1.13g, 4.93mmol)。室温下搅拌所述混合物 30 分钟。然后, 加入三乙酰氧基硼氢化钠 (1.82g, 8.22mmol)。室温下搅拌所述混合物过夜。此后, 蒸发溶剂, 并用甲醇稀释残留物, 应用 50g SCX 柱纯化, 然后通过正相 Isco 色谱用二氯甲烷和甲醇洗脱纯化, 得到 1.6g 粗物质, 其含有区域异构体的混合物 (约 80 : 20)。通过反相 HPLC 进一步纯化这一残留物, 得到 927mg 作为主要区域异构体的 2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯甲腈。MS(m/z) : 493(M+1)。

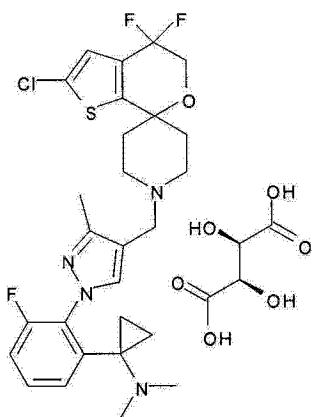
[0366] 2. 1-[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]环丙胺(L)-酒石酸盐

[0367] 向氮气下、冷却至 -70℃ 的 2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯甲腈 (0.530g, 1.08mmol) 和四(异丙氧基)钛 (0.350mL, 1.19mol) 的乙醚 (10.75mL) 混悬液中加入 3.0M 乙基溴化镁的乙醚溶液 (0.789mL, 2.42mmol)。移除冷浴, 并在室温下搅拌所述混合物 1 小时 (移除冷浴后, 出现沉淀, 并且所述混合物随时间变为黑色溶液)。加入三氟化硼乙醚配合物 (0.272mL, 2.16mmol), 并在室温下搅拌 1 小时 (再次出现沉淀, 并且其逐渐变为淡红色)。此后, 加入 1M 盐酸 (3.5mL), 然后加入叔丁基甲醚 (18mL)。向所述混合物中加入 10% 氢氧化钠 (15mL), 并用叔丁基甲醚萃取。倒出有机层, 并蒸发溶剂。通过正相 Isco 色谱用二氯甲烷/甲醇混合物洗脱纯化粗产物, 得到 160mg 1-[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]环丙胺。MS(m/z) : 523(M+1)。

[0368] 基本上如实施例 1 所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z) : 523(M+1)。

[0369] 实施例 43: 1-[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]-N,N-二甲基-环丙胺(L)-酒石酸盐

[0370]

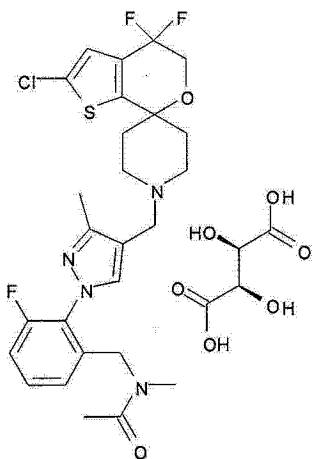


[0371] 向 1-[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]环丙胺(100mg, 0.19mmol) 的四氢呋喃(1.91mL) 溶液中加入甲醛(37%水溶液)(17.24 μ L), 室温下搅拌所述混合物 10 分钟。然后加入三乙酰氧基硼氢化钠(81.05mg), 将反应混合物在室温下搅拌过夜。反应不完全, 再加入甲醛(2eq) 和三乙酰氧基硼氢化钠(2eq), 在室温下继续搅拌 2 小时。然后, 蒸发溶剂, 并应用 5g SCX 柱纯化残留物。蒸发了 2N 氨的甲醇溶液级分后, 通过正相 Isco 色谱应用二氯甲烷/ 甲醇作为洗脱剂进一步纯化残留物, 得到 1-[2-[4-[(2-氯-4, 4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]-N,N-二甲基-环丙胺, 产率 68%。MS(m/z): 551 (M+1)。

[0372] 基本上如实施例 1 所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z): 551 (M+1)。

[0373] **实施例 44:** N-[[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7, 4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]甲基]-N-甲基-乙酰胺 (L)-酒石酸盐

[0374]

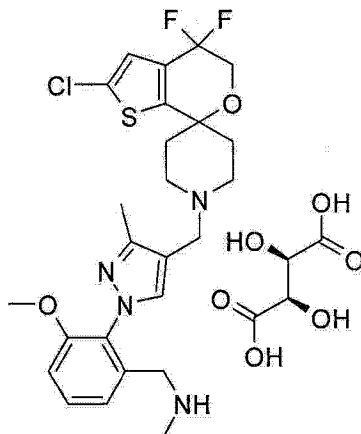


[0375] 0℃下将乙酸酐(0.043mL, 0.452mmol) 加入到 1-[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]-N-甲基-甲胺(0.210g, 0.411mmol) 的二氯甲烷(4mL) 溶液中。1 小时后, 加入饱和碳酸氢钠溶液至反应中, 并用二氯甲烷萃取粗产物。分离有机层, 用硫酸镁干燥, 并在真空下蒸发溶剂, 得到 0.21g N-[[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7, 4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯基]甲基]-N-甲基-乙酰胺。MS(m/z): 533 (M+1)。

[0376] 基本上如实施例 1 所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z):533(M+1)。

[0377] 实施例 45:1-[2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-甲氧基-苯基]-N-甲基-甲胺(L)-酒石酸盐

[0378]



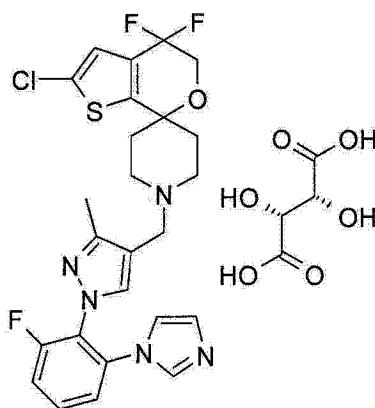
[0379] 向 2-氯-4,4-二氟-1'-[(3-甲基-1H-吡唑-4-基)甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶](0.125g, 0.334mmol)的二甲基甲酰胺(1mL)溶液中加入 2-氟-3-甲氧基苯甲醛(0.501mmol, 0.080mg)和碳酸铯(0.142g, 0.435mmol)。在 110℃加热所述混合物 24 小时。加入水,并用乙酸乙酯萃取有机层,用盐水洗涤,用硫酸镁干燥,并过滤。减压下蒸发溶剂。应用 5g 二氧化硅柱纯化残留物,用己烷/乙酸乙酯 1:1 作为洗脱液直到出现主要杂质,然后用乙酸乙酯洗脱,得到 0.065g 不纯的醛。将这一材料溶于四氢呋喃(4mL)中,并加入单甲胺(0.640mL, 1.28mmol)。室温下搅拌所述混合物 1 小时,然后加入三乙酰氧基硼氢化钠(0.1g)和数滴乙酸。室温下搅拌反应混合物 10 小时。加入水和饱和碳酸氢钠水溶液。用乙酸乙酯萃取所述反应混合物。用硫酸镁干燥有机层,过滤,并在减压下除去溶剂。应用碱性反相色谱 HPLC 不成功地纯化这一化合物,并且之后应用手性色谱纯化,得到 18.5mg 作为游离碱的标题化合物。MS(m/z):523(M+1)。

[0380] (手性纯化条件:固定相:Chiralcel OD;流动相:正己烷-0.2%二甲基乙胺/乙醇;柱尺寸:10 μm, 20 * 250;洗脱模式:等度洗脱 85/15;流速:12(mL/min);UV 检测:254.16(nm);载量:27mg)。

[0381] 基本上如实施例 1 所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z):523(M+1)。

[0382] 实施例 46:2-氯-4,4-二氟-1'-[[1-(2-氟-6-咪唑-1-基-苯基)-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶](L)-酒石酸盐

[0383]



[0384] 1. 2-氯-4,4-二氟-1'-[[1-(2-氟-6-硝基-苯基)-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]

[0385] 室温下搅拌 2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (2.1g, 7.5mmol) 和 1-(2-氟-6-硝基-苯基)-3-甲基-吡唑-4-甲醛 (3g) (作为吡唑区域异构体混合物中的主要化合物) 的二氯甲烷 (47mL) 溶液 30 分钟。然后, 加入三乙酰氧基硼氢化物 (3.94g), 并在所述温度下搅拌混合物过夜。用碳酸氢钠 (饱和溶液) 小心地淬灭所述反应混合物, 并用二氯甲烷萃取。用盐水洗涤有机层, 倒出, 并用硫酸钠干燥。蒸发溶剂并通过正相 Isco 色谱应用二氯甲烷和异丙醇作为洗脱液纯化残留物, 得到 2.28g 2-氯-4,4-二氟-1'-[[1-(2-氟-6-硝基-苯基)-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (所述化合物以 80 : 20 的比例污染有其它吡唑区域异构体)。MS(m/z) : 513(M+1)。

[0386] 2. 2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯胺

[0387] 向 2-氯-4,4-二氟-1'-[[1-(2-氟-6-硝基-苯基)-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (2.28g, 4.46mmol) 和铁 (2.5g) 的乙醇 (11mL) 和水 (11mL) 溶液中加入数滴乙酸。90℃下搅拌所述反应混合物 70 分钟。通过硅藻土过滤所述混合物, 并在真空中浓缩。用碳酸氢钠 (饱和溶液) 碱化剩余的溶液, 并用二氯甲烷萃取。倒出有机层, 用硫酸钠干燥并蒸发溶剂, 得到 1.8g 2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯胺, 其未经进一步纯化即用于下一步骤 (所述化合物以 80 : 20 的比例污染有其它吡唑区域异构体)。MS(m/z) : 483(M+1)。

[0388] 3. 2-氯-4,4-二氟-1'-[[1-(2-氟-6-咪唑-1-基-苯基)-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶](L)-酒石酸盐

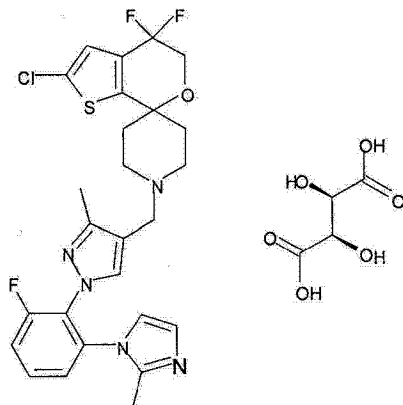
[0389] 在 70℃加热 0.5mL 乙酸、甲醛 (37.81 μL) 和乙二醛 (59.61 μL) 的混合物。历经 15 分钟向烧瓶中逐滴添加 0.5mL 乙酸、醋酸铵 (29.74mg) 和 2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯胺 (250mg, 0.52mmol) 的溶液。在 70℃持续搅拌所述溶液过夜。冷却反应混合物至室温, 并将缓慢地且小心地将其倒入 15mL 碳酸氢钠溶液 (90mg/mL) 中。然后用乙酸乙酯萃取期望的化合物。倒出有机层, 用硫酸镁干燥, 并蒸发溶剂。通过正相 Isco 色谱应用 98/2 至 90/10 二氯甲烷 / 甲醇混合物作为洗脱液纯化粗产物。需要通过 RP HPLC 进一步纯化, 产生

89.7mg 作为游离碱的标题化合物。MS(m/z) :534(M+1)。

[0390] 基本上如实施例 1 所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z) :534(M+1)。

[0391] 实施例 47:2-氯-4,4-二氟-1'-[[[1-[2-氟-6-(2-甲基咪唑-1-基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]](L)-酒石酸盐

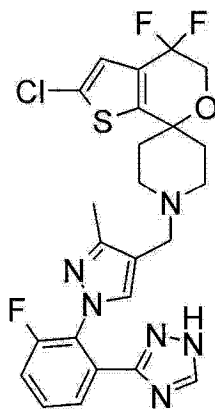
[0392]



[0393] 基本上如实施例 46 的制备的步骤 3 所描述的那样,应用 2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯胺 (350.0mg, 0.73mmol) 和乙醛 (0.163mL, 2.90mmol) 制备标题化合物。通过反相 HPLC 纯化残留物得到 95.4mg 期望的化合物,但需要通过正相 HPLC 进一步纯化,得到 32mg 期望的纯游离碱,8% 产率。基本上如实施例 1 所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z) :548(M+1)。

[0394] 实施例 48:2-氯-4,4-二氟-1'-[[[1-[2-氟-6-(1H-1,2,4-三唑-3-基)苯基]-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]]

[0395]

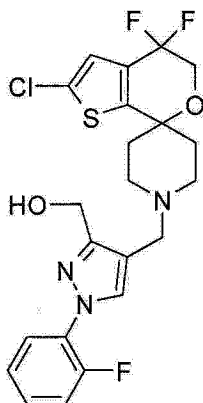


[0396] 将 2-[4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]-3-氟-苯甲酰胺 (455mg) 和甲胺、1,1-二甲氧基-N,N-二甲基-(3.12mL, 23.40mmol) 的混合物加热至 120℃ 反应 2 小时。冷却所述反应至室温,并在减压下蒸发溶剂。将残留物溶解于乙酸 (2.68mL) 中,并加入一水合肼 (43.49 μl)。加热得到的溶液至 90℃ 反应 2 小时。冷却反应至室温。然后在减压下移除乙酸,将残留物稀释于乙酸乙酯中,并用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤。真空下蒸发有机相。通过在硅胶快速色谱、应用二氯甲烷/2N 氨的甲醇混合物纯化粗产物混合物,得到 163mg 作为白

色固体的标题化合物。MS(m/z):465(M+1)。

[0397] 实施例 49: [4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-1-(2-氟苯基)吡唑-3-基] 甲醇

[0398]



[0399] 1. 4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-1-(2-氟苯基)吡唑-3-甲酸乙酯

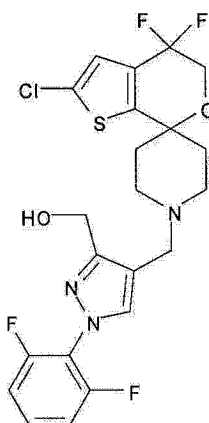
[0400] 向 2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃] 盐酸盐 (0.8g, 2.53mmol) 和 1-(2-氟苯基)-4-甲酰基-吡唑-3-甲酸乙酯 (0.79g, 3.04mmol) 的 1,2-二氯乙烷 (25mL) 溶液中加入 N-甲基吗啉 (0.83mL, 7.59mmol) 和分子筛 (0.20g)。室温下搅拌反应混合物 15 分钟。加入三乙酰氧基硼氢化钠 (1.61g, 7.59mmol)，并在室温下搅拌 16 小时。完成后，使所述反应混合物通过硅藻土过滤，并在二氯甲烷 (50mL) 和水 (25mL) 之间分配。用二氯甲烷 (2x 25mL) 萃取水相，并用硫酸钠干燥合并的有机萃取物，并在真空下浓缩。通过硅胶柱色谱用己烷/乙酸乙酯 (80 : 20) 洗脱纯化粗混合物，得到 1.1g (84%) 4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-1-(2-氟苯基)吡唑-3-甲酸乙酯。MS(m/z):526(M+1)。

[0401] 2. [4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-1-(2-氟苯基)吡唑-3-基] 甲醇

[0402] 0℃下向 4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-1-(2-氟苯基)吡唑-3-甲酸乙酯 (0.9g, 1.71mmol) 的四氢呋喃 (10mL) 和乙醇 (10mL) 溶液中加入硼氢化锂 (3.40mL, 在四氢呋喃中的 2.0M 溶液, 6.85mmol)，并在室温下搅拌 16 小时。完成后，用水 (10mL) 淬灭反应混合物，并用乙酸乙酯 (2x 25mL) 萃取。用硫酸钠干燥合并的有机萃取物，并在真空下浓缩。通过硅胶柱色谱用己烷/乙酸乙酯 (70 : 30) 洗脱纯化粗混合物，得到 0.75g (91%) 标题化合物。MS(m/z): 484(M+1)。

[0403] 实施例 50: [4-[(2-氯-4,4-二氟-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-1-(2,6-二氟苯基)吡唑-3-基] 甲醇

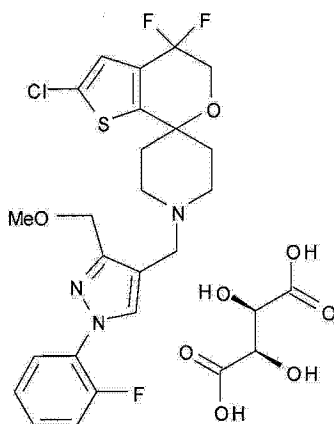
[0404]



[0405] 基本上如实施例 49 所描述的那样,应用 2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]盐酸盐和 1-(2,6-二氟苯基)-4-甲酰基-吡唑-3-甲酸乙酯制备标题化合物。以 26% 的产率得到标题化合物。MS(m/z):502(M+1)。

[0406] 实施例 51:2-氯-4,4-二氟-1'-[[1-(2-氟苯基)-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶](L)-酒石酸盐

[0407]

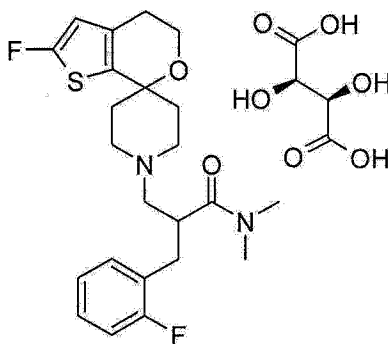


[0408] 向 2'-氯-4',4'-二氟-4',5'-二氢螺[哌啶-4,7'-噻吩并[2,3-c]吡喃]盐酸盐 (0.32g,1.0mmol) 和 1-(2-氟苯基)-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲醛 (0.28g,1.2mmol) 的 1,2-二氯乙烷 (10mL) 溶液中加入 N-甲基吗啉 (3.0 当量,3.0mmol)。室温下搅拌所述反应混合物 10 分钟,然后加入三乙酰氧基硼氢化钠 (0.53g,2.5mmol),并在室温下搅拌 24 小时。完成后,在二氯甲烷 (15mL) 和水 (15mL) 之间分配反应混合物。用二氯甲烷 (3x 15mL) 萃取水相,用硫酸钠干燥合并的有机萃取物,并在真空下浓缩。通过硅胶柱色谱应用二氯甲烷/甲醇 (99:1) 洗脱纯化粗混合物,得到 0.27g(54%)2-氯-4,4-二氟-1'-[[1-(2-氟苯基)-3-(甲氧基甲基)-吡唑-4-基]甲基]-螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]。MS(m/z):498(M+1)。

[0409] 基本上如实施例 1 所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z):498(M+1)。

[0410] 受体占据示踪化合物:2-[(2-氟苯基)甲基]-3-(2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)-N,N-二甲基-丙酰胺 (L)-酒石酸盐

[0411]



[0412] 1. 3-(2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)丙酸叔丁酯

[0413] 将 2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,2-c]吡喃-7,4'-哌啶](2.7g, 11.9mmol) 溶解于 MeOH(60mL) 中。然后, 加入三乙胺(2.65mL) 和丙烯酸叔丁酯(3.55mL, 23.76mmol), 并加热混合物至 65℃ 反应 5 小时。移除加热, 并在室温下搅拌反应混合物过夜。蒸发溶剂, 并通过正相 Isco 色谱应用乙酸乙酯/己烷 1/1 作为洗脱液纯化粗产物, 得到 4.2g 作为无色油状物的期望化合物。MS(m/z): 356 (M+1)。

[0414] 2. 2-[(2-氟苯基)甲基]-3-(2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)丙酸叔丁酯

[0415] 向 N₂ 下的并冷却至 -78℃ 的搅拌的 3-(2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)丙酸叔丁酯(4.9g, 13.78mmol) 的四氢呋喃(41mL) 溶液中逐滴加入双(三甲基硅烷基)氨基锂 1M(41, 35mL, 41.45mmol)。在所述温度下搅拌得到的混合物 3 小时。然后, 加入 1,3-二甲基-3,4,5,6-四氢-2(1H)-嘧啶酮(1.33mL, 11.03mmol), 然后在相同的温度下搅拌得到的溶液 30 分钟。向得到的混合物中, 加入在干燥四氢呋喃(1mL) 中的 2-氟苄基溴(2.33mL, 19.3mmol), 并继续搅拌。使温度从 -78℃ 升温至室温过夜。用氯化铵饱和和水溶液淬灭粗反应混合物, 并用乙酸乙酯萃取。倒出有机层, 用硫酸镁干燥, 蒸发溶剂, 并通过正相 Isco 色谱应用 5/95 至 20/80 的乙酸乙酯/己烷洗脱纯化得到的粗产物, 产生 5.06g 标题化合物, 其为无色油状物。MS(m/z): 464 (M+1)。

[0416] 3. 2-[(2-氟苯基)甲基]-3-(2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)丙酸三氟乙酸盐

[0417] 室温下搅拌 2-[(2-氟苯基)甲基]-3-(2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)丙酸叔丁酯(5.06g, 10.91mmol) 和三氟乙酸(26.20mL, 218mmol) 的混合物过夜。蒸发溶剂至干, 粗产物不经进一步纯化即使用。

[0418] 4. 2-[(2-氟苯基)甲基]-3-(2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)-N,N-二甲基-丙酰胺

[0419] 将 2-[(2-氟苯基)甲基]-3-(2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)丙酸三氟乙酸盐(5.68g, 10.89mmol) 溶解于二氯甲烷(218mL) 中, 然后在 0℃ 向所述溶液顺次加入三乙胺(12.14mL, 87.13mmol)、二甲胺盐酸盐(1.80g, 21.78mmol)、1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(4.18g, 21.78mmol) 和 1-羟基苯并三唑水合物(3.34g, 21.78mmol)。室温下搅拌所述混合物 5 小时。用饱和碳酸氢钠水溶液处理反应混合物, 并用二氯甲烷(3x 20mL) 萃取。用硫酸镁干燥合并的有机层, 并在减压下蒸发溶剂。通过正相 Isco 色谱应用 100/0 至 90/10 的二氯甲烷/甲醇中的 2N 铵作为洗脱液纯

化粗产物,得到 4.0g(84.5%) 标题化合物。MS(m/z):435(M+1)。

[0420] 5.2-[(2-氟苯基)甲基]-3-(2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)-N,N-二甲基-丙酰胺(L)-酒石酸盐

[0421] 应用 Chiralpak AD 柱,用己烷/0.2%二甲乙胺的乙醇溶液 9/1 进行外消旋 2-[(2-氟苯基)甲基]-3-(2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)-N,N-二甲基-丙酰胺(2.3g,5.29mmol)的对映体拆分。以 36%的产率获得作为第一洗脱对映体的期望的产物。

[0422] 基本上如实施例 1 所描述的那样制备酒石酸盐。MS(m/z):435(M+1)。

[0423] 文献数据(Przydzial 和 Heisler,2008,同上;Reinscheid,2006,同上)和在非临床动物研究中产生的数据支持痛敏肽拮抗剂在治疗抑郁、肥胖和进食障碍以及偏头痛。具体地,发现痛敏肽受体拮抗剂在以下模型中有效:抑郁的啮齿类模型,单独使用以及与三环类或选择性血清素能再摄取抑制剂(SSRI)抗抑郁药联合使用均如此;抑制饮食过量、抑制在之前体重减轻后的体重恢复的啮齿类模型;以及偏头痛模型。此外,在痛敏肽受体敲除小鼠中进行的研究证实了痛敏肽拮抗剂在强迫游泳测试(测量抗抑郁活性)和在禁食诱导的进食(抗肥胖活性)中的作用均是基因型依赖的,支持了痛敏肽拮抗剂在这些动物模型中作用的特殊机制。由于之前描述的疾病代表了通常的共病态临床情况,因此痛敏肽受体拮抗剂可能在这些特定的患者群体中是特别有效的,所述患者群体诸如是患有严重抑郁障碍、贪吃症、超重、肥胖以及伴随共病临床心理障碍的肥胖的患者。

[0424] 为进一步证实本发明化合物的特征,在以下体外和体内测试中测试了代表性化合物。

[0425] 体外受体结合

[0426] 放射性配体结合测试法通常用于测定化合物与特定受体或靶蛋白结合的亲和性(K_i)或能力。基于之前的测试模式(Ardati A,Henningsen RA,Higelin J,Reinscheid RK,Civelli O,Monsma FJ Jr.Mol Pharmacol.19975月;51(5):816-24.)进行很小的修改,开发了基于过滤的[3H]-OFQ/痛敏肽受体结合测试法。在深孔 96 孔板中进行[3H]-OFQ/痛敏肽结合测试法。应用 5-10 μ g 膜蛋白(从表达克隆人 ORL1 受体的中国仓鼠卵巢细胞(CHO 细胞)中分离)在含有 20mM HEPES, pH 7.4、5mM $MgCl_2$ 、1mM EGTA、100mM NaCl、0.1%牛血清白蛋白的 0.5mL 缓冲液的终测试体积中进行[3H]OFQ(终测试浓度 0.2nM)竞争研究。室温下温育样品 60 分钟,发现这对于竞争测试是最佳的。通过在 Tomtec 细胞收集器上的玻璃纤维滤器(Wallac filtermat A)[用 0.3%聚乙烯亚胺(Sigma)预处理 1 小时]进行过滤终止测试,用 5mL 冰冷的 50mM Tris.HCl, pH 7.4 洗涤滤器三次。然后干燥 Filtermats,并用 Meltilex scintillant A 包埋,并在 Wallac Microbeta 闪烁计数器上进行放射性计数。通过用 100nM 未标记的痛敏肽置换从而确定特异性结合。作为特异性结合百分比做曲线图,并应用具有可变斜率的 S 形剂量反应曲线确定 IC_{50} 值。通过 Cheng 和 Prusoff(Cheng, Y. C., 和 Prusoff, W. H., Biochem. Pharmacol. 22, 3099-3108(1973)) 方程从 IC_{50} 计算 K_i 值,其中 $K_i = IC_{50} \times (1 + D \times K_d^{-1})^{-1}$ 。

[0427] 类似地,可应用表达期望受体的膜和合适的相应放射性配体竞争分子来确定针对 μ 、 κ 和 δ 阿片样物质(opioid)受体、血清素(5-羟色胺)受体、肾上腺能受体和毒蕈碱受体的 K_i 。

[0428] 基本上如上述描述的那样测试了示例化合物,并且发现对 ORL-1 受体具有最高的亲和力。发现示例化合物对 ORL-1 受体的 K_i 小于 0.9nM,而发现对 μ 、 κ 和 δ 阿片样物质、血清素和多巴胺受体的 K_i 显著地更大。

[0429] 基本上如上述那样测试了实施例 2、40、47 和 50 的化合物,并发现具有以下表 1 所示的亲和力。

[0430] 表 1. 结合选择性

[0431]

K_i (nM)	实施例 2	实施例 40	实施例 47	实施例 50
ORL-1	0.17	0.25	0.26	0.89
μ 阿片样物质	> 467	> 451	ND	ND
κ 阿片样物质	> 458	> 430	ND	ND
δ 阿片样物质	> 481	> 479	ND	ND
5-HT _{1A}	> 3180	ND	ND	ND
5-HT _{1B}	> 3580	ND	ND	> 3580
5-HT _{1D}	> 7890	ND	ND	> 8550
5-HT _{1E}	> 5370	ND	ND	> 5370
5-HT _{1F}	ND	ND	ND	> 8520
5-HT _{2A}	> 7180	ND	ND	> 5000
5-HT _{2B}	1160	ND	ND	42.9
5-HT _{2C}	> 8360	ND	ND	4750
5-HT ₄	> 1970	ND	ND	> 4120
5-HT ₅	> 9020	ND	ND	> 9090
5-HT ₆	> 5830	ND	ND	> 5830
5-HT ₇	> 3980	ND	ND	> 3980
腺苷 A3	2300	ND	ND	ND
毒蕈碱 M1	1380	ND	ND	ND
毒蕈碱 M2	> 8000	ND	ND	ND

毒蕈碱 M3	> 24200	ND	ND	ND
毒蕈碱 M4	6360	ND	ND	ND
毒蕈碱 M5	2800	ND	ND	ND

[0432] ND = 未检测

[0433] 因此,预期生理相关剂量的本发明化合物在体内基本上不与这些位点相互作用,因此预期避免了与此类活性相关的不期望的作用。

[0434] 激动剂介导的 G- 蛋白活化 -GTP γ -[³⁵S] 结合的体外功能阻滞

[0435] 激动剂介导的 G- 蛋白偶联受体的刺激导致膜相关 G α β γ - 蛋白异三聚体复合物的活化,并且代表细胞外信号转导以改变细胞内通路的第一步。受体介导的 G α β γ - 蛋白异三聚体活化的第一步是结合鸟苷二磷酸 (GDP) 的 G α 亚基交换为鸟苷三磷酸 (GTP)。GTP 与 G α 亚基的结合引起异三聚体亚基 G β 和 G γ 的解离,导致若干细胞内信号级联的调节。受体介导的 G- 蛋白活化的测量可应用 GTP 的不可水解放射性标记的类似物 GTP- γ -[³⁵S] 进行。应用这一方法,在表达克隆的人 ORL1/ 痛敏肽受体的膜中应用根据之前描述的方案进行很小的改进 (DeLapp 等, J Pharmacol Exp Ther. 1999May ;289(2) : 946-55 ;Ozaki 等, Eur J Pharmacol. 2000 Aug 18 ;402(1-2) :45-53) 的 GTP- γ -[³⁵S] 结合测试法,测量拮抗剂亲和力 (K_b)。在含有以下缓冲液组分的 200- μ l 体积中进行测试: 100mM NaCl、20mMHEPES、5mM MgCl₂、1mM EDTA、0.1% BSA、3 μ M GDP、0.5nM [³⁵S]GTP γ S。以每孔 20 μ g 蛋白的浓度添加 ORL1 受体膜混悬液,并应用 300nM 痛敏肽 /OFQ 实现受体刺激。以每孔 1mg 添加麦胚凝集素包被的 SPA 珠 (Amersham, Arlington Hts., IL),以检测膜结合的 [³⁵S]GTP γ S。密封板,并在室温下温育 2 小时。然后将板置于 4℃ 过夜,以允许 PSA 珠沉降,并之后在 Wallac Microbeta 中计数。作为在不存在和存在 10 μ M 未标记的 GTP γ S 时观察到的 CPM 的差异测定特异性 [³⁵S]GTP γ S 结合。作为特异性 [³⁵S]GTP γ S 结合百分比对数据进行作图。作为特异性结合百分比作曲线图,并应用具有可变斜率的 S 形剂量反应曲线确定 IC₅₀。根据 DeLapp 等,1999,应用修饰的 Cheng 和 Prusoff (1973) 方程式,其中 K_b = IC₅₀ × (1 + D × EC₅₀⁻¹)⁻¹,估计拮抗剂亲和力 (K_b)。

[0436] 基本上如上述那样对示例化合物进行测试,并且发现所述示例化合物是 ORL-1 受体的有效拮抗剂。发现对 ORL-1 受体的 K_b 小于 1.3nM。基本上如上述那样测试了实施例 2、40、47 和 50 的化合物,发现它们分别具有 0.43、0.30、0.15 和 0.54nM 的对 ORL-1 受体的 K_b。

[0437] 体内受体占据

[0438] 应用 LC/MS/MS 的受体占据 (RO) 已被建立为体内测量假定的 ORL-1 拮抗剂的中枢靶接合 (central target engagement) 的方法。应用新的专利药痛敏肽 /ORL1 拮抗剂 RO 示踪剂即 2-[(2- 氟苯基) 甲基]-3-(2- 氟螺 [4,5- 二氢噻吩并 [2,3-c] 吡喃 -7,4' - 哌啶]-1' - 基)-N,N- 二甲基 - 丙酰胺 (RO 示踪剂) 在下丘脑中测量痛敏肽 /ORL1 受体占据 (RO),下丘脑是含有高密度的痛敏肽 /ORL1 结合位点的结构,其位于血脑屏障内侧。这些测量在不需要放射性标记的示踪剂的情况下进行,如改进了的之前针对其它受体所公开的那样 (Chernet E, Martin LJ, Li D, Need AB, Barth VN, Rash KS, Phebus LA. Use of LC/MS to assess brain tracer distribution in preclinical, in vivo receptor occupancy

studies :dopamine D2,serotonin 2A and NK-1receptors as examples.Life Sci.78(4) : 340-6,2005.)。

[0439] 已经在中枢痛敏肽 /ORL1 R0 和啮齿类动物中饮食行为调节及强迫游泳测试中的效力之间建立了正相关。在将测试化合物口服施用至大鼠后 6 或 24 小时测量中枢痛敏肽 /ORL1R0。应用测试化合物或溶媒 (20% Captisol、25mM 磷酸盐缓冲液,pH 2.0) 口服处理雄性 Sprague-Dawley 大鼠 (Harlan Sprague-Dawley, Indianapolis, IN)。施用测试化合物 / 溶媒后 6 或 24 小时,给所有动物静脉内施用 3 μ g/kg 剂量的 R0 示踪剂。在施用 R0 示踪剂之时即考虑测量 R0。施用 R0 示踪剂后 40 分钟,通过颈脱位法处死大鼠,并移除下丘脑。在每一组织样品中测量 R0 示踪剂的水平。

[0440] 应用有效的痛敏肽 /ORL1 受体选择性拮抗剂即文献来源的中枢活性参照标准 (-)-顺式-1-甲基-7-[[4-(2,6-二氯苯基)哌啶-1-基]甲基]-6,7,8,9-四氢-5H-苯并环庚-5-醇 (SB612111,参见 Magdalena 和 Heisler,同上) 作为阳性对照,以建立与 100% 痛敏肽 /ORL1 R0 相关的 R0 示踪剂水平。在 R0 示踪剂之前 1 小时以 30mg/kg 的剂量静脉内施用 SB612111 (导致下丘脑痛敏肽 /ORL1 受体约 100% R0 的剂量)。

[0441] 在 4 体积 (w/v) 含有 0.1% 甲酸的乙腈中匀化下丘脑样品,并在 14,000RPM 离心 16 分钟。收集上清液,并用无菌水稀释至 0.3mL 的终体积。应用 Agilent 1200 型 HPLC (Agilent Technologies, Palo Alto, CA) 和 API 4000 质谱仪进行 R0 示踪剂的测量。色谱分离使用 2.1X 50mm C18 柱 (Agilent 部件号 971700-907) 以及由总共含 0.1% 甲酸含量的 38% 乙腈水溶液组成的流动相。通过监测产生质荷比 (m/z) 435 至 239 的离子转变的前体完成 R0 示踪剂的检测,与脑组织匀浆中制备的标准品相比较对水平进行定量。作为在溶媒预处理的动物的下丘脑中 R0 示踪剂的水平计算 0% R0,其表示非特异性和特异性结合的总和 (所有受体均是示踪剂可利用的)。在用非常高静脉内剂量的 SB612111 预处理的动物 (即阳性对照组) 中较低的 R0 示踪剂水平表示非特异性结合,并将其指定为 100% 占据的值 (没有受体是示踪剂可利用的)。在这两个点之间线性地插入从测试化合物处理组的下丘脑中发现的 R0 示踪剂水平,来计算测试化合物的 R0。

[0442] 基本上如上述那样测试了示例化合物,并且发现它们具有在 ORL-1 受体上的高受体占据。对于 3mg/kg 剂量施用 6 小时后,发现示例化合物的受体占据为约 50% 至约 115%; 而对于 3mg/kg 剂量施用 24 小时后则为约 5 至约 108% R0。基本上如上述那样对 3mg/kg 剂量 6 小时后的实施例 2、40、47 和 50 的化合物测试了受体占据,并发现分别具有 76、70、84 和 81% R0。如此,预期本发明的化合物具有有利的生物利用度以及渗透进入 CNS 到达靶 ORL-1 受体。

[0443] hERG 通道活性

[0444] 心脏中 K^+ 通道电导率的阻断与 QT- 波延长形式的心脏毒性相关。在表达克隆的 hERG 的 HEK293 细胞中应用 hERG 通道拮抗剂放射性配体 [3H] 阿司咪唑 (2nM 终测试浓度) 根据已知的方法 (例如参见 Finlayson K, 等 (Eur J Pharmacol. 412(3) :203-12,2001)) 测定了示例痛敏肽受体拮抗剂对人 ERG (hERG) K^+ 通道的亲和力 (K_i)。[3H] 阿司咪唑结合测试在合同研究公司 Cerep (Paris France) 中根据标准方法进行。

[0445] 基本上如上述那样测试了实施例 2、40 和 50,并且发现它们具有低活性, K_i 分别为 2.89、1.08 和 7.0 μ M。如此,在产生对痛敏肽 /ORL1 受体的拮抗剂活性所需的浓度 (体外

K_i & K_o) 和 hERG K^{+} 通道活性所需浓度之间存在大的分隔。因此,预期生理相关剂量的本发明化合物不会实质性地体内与 hERG 位点相互作用,并因此预期其对 QT 延长没有实质性影响。

[0446] 小鼠中的强迫游泳测试 (mFST)

[0447] mFST 是已建立的用于抗抑郁活性的体内测试法。(Li 等. J Pharmacol Exp Ther. 319(1):254-9, 2006)。用已知临床上有效的抗抑郁药(选择性 5-羟色胺重摄取抑制剂和/或三环类抗抑郁药)治疗的小鼠在置于水槽后表现出减少了保持不动的时间的行为,所述行为与绝望相关。应用所述 mFST 根据之前公开的方法(Li 等, J Pharmacol Exp Ther. 319(1):254-9, 2006.) 评估新痛敏肽 /ORL1 拮抗剂可能的抗抑郁药样活性。简而言之,使用了 25-30g 重的雄性 NIH-Swiss 小鼠 (Harlan Sprague-Dawley, Indianapolis, IN)。从动物饲养所将成群圈养动物移至它们自身笼子中的测试场所,并在测试前使它们适应新环境至少 1 小时。备选地,应用雄性 129S6 野生型和痛敏肽 /ORL1 受体敲除小鼠确认对化合物反应的依赖性是否痛敏肽 /ORL1 受体依赖的。所有化合物均在使用当天在 20% Captisol、25mM 磷酸盐缓冲液, pH 2.0 中制备。将小鼠置于装有 6cm 水 (22-25°C) 的圆筒 (直径:10cm; 高 25cm) 中 6 分钟。记录 6 分钟测试期间最后 4 分钟不动的持续时间。当浮着不动或仅进行保持其头部高于水面所需的那些运动时,记录小鼠为不动的。

[0448] 基本上如上述那样测试了代表性的化合物,并且发现它们显著地减少了不动的时间。基本上如上述那样测试了实施例 2 和 40 的化合物,并且发现它们分别具有 23 和 23nM 的 ED_{50} , 分别具有减少 56% 和 50% 不动时间的最大效果。因此,预期本发明化合物在体内具有抗抑郁活性。

[0449] 而且,本发明的化合物可与其它已知的抗抑郁药联合使用以产生增强的效果。

[0450] 此外,当使用 ORL-1 敲除小鼠 (改造以缺乏 ORL-1 受体的小鼠株) 时,没有观察到减少不动时间的这些效果,显示所述效果确实是由 ORL-1 受体介导的。可在本研究的一方面应用野生型小鼠,并在研究的另一方面应用 ORL-1 敲除小鼠,基本上如上述那样测试本发明的化合物,并发现其显著地减少野生型小鼠的不动时间,但对敲除小鼠没有显示出效果。将去甲肾上腺素重摄取抑制剂抗抑郁药 imipramine 用作阳性对照,并且发现其在野生型和敲除小鼠中均减少了不动时间,显示出由去甲肾上腺素重摄取机制介导的行为效果在敲除小鼠株中得以保持。

[0451] 小鼠中禁食诱导的饮食过量的阻滞

[0452] 大鼠中禁食诱导的饮食过量的阻滞是摄食过量进食障碍的公认模型。(Hollopeter G, Erickson JC, Seeley RJ, Marsh DJ, Palmiter RD. Response of neuropeptide Y-deficient mice to feeding effectors. Regul Pept. 1998 Sep 25; 75-76:383-9)。所有实验均在首次进行实验的(**naïve**) 12 周龄雄性野生型及在 129S6 同系繁殖背景上保持 ORL 敲除的小鼠上进行。在开始进行测试之前将小鼠单独地圈养至少 3 天,以消除由于从群居改变为单个圈养的应激的任何影响。在测试当天将三只小鼠 / 基因型随机地分配至每一治疗组。进行禁食前体重测量,然后从笼中移除食物过夜。使小鼠禁食约 15 小时。第二天早上,在获得接近食物 30 分钟之前通过口服管饲法给予小鼠 3 剂量之一的药物或溶媒。药物溶解于 20% 的溶解于 25mM 磷酸盐缓冲液 (pH 2.0) 的 Captisol 中。在即将药物治疗之前或可获得食物后 24 小时记录体重测量。值得注意的是所有小鼠

在禁食过夜后基因型非依赖地减失了~5-10%体重。可获得食物1小时后记录食物摄取的测量,如通过在1小时时剩余食物重量所示。应当注意,测量的食物摄取是在光亮期间,在此期间小鼠通常是休息的并且通过不进食。最初测试后,使小鼠休息一周,使其可获得不限量的食物。在一周休息后,根据表1显示的拉丁方设计再测试小鼠。

[0453] 表2. 应用拉丁方设计以确定新 ORL 拮抗剂在野生型和 ORL 敲除小鼠中食欲抑制作用的剂量反应曲线

[0454]

治疗期间				
治疗组	A	B	C	D
1	溶媒	A	B	C
2	A	B	溶媒	C
3	B	C	A	溶媒
4	C	溶媒	B	A

[0455] 基本上如上述那样测试了代表性的化合物,并且发现它们显著地减少了小鼠中禁食诱导的饮食过量。基本上如上述那样测试了实施例1、2、40、47和50的化合物,并且发现它们显著地阻断了禁食诱导的饮食过量。在 ORL-1 敲除小鼠品系中没有观察到所述效果,证实了效果由 ORL-1 受体介导。将 5-HT_{2C} 激动剂 mCPP 用作阳性对照,并发现其在野生型和 ORL-1 敲除小鼠品系中平等地显著降低了禁食诱导的饮食过量。因此,预期本发明的化合物在治疗超重和/或肥胖和/或体重维持中是有用的,例如治疗贪吃症。

[0456] 大鼠硬膜血浆蛋白外渗 (PPE) 模型 - 口服给药方案

[0457] 所有测试化合物均在含有 25mM 磷酸盐缓冲液 (pH 2.0) 中的 20% Captisol 的溶媒溶液中配制。将阳性对照化合物舒马曲坦溶解于盐水中。通过口服管饲法 (2mL/kg) 给禁食过夜的来自 Harlan Laboratories 的雄性 Sprague-Dawley 大鼠 (250 至 350g) 给予测试化合物、舒马曲坦或溶媒。给药 50 分钟后,用戊巴比妥钠 60mg/kg, ip) 麻醉大鼠,并将其置于具有 -2.5mm 处的门牙杆装置的立体定位架上。在中线径向切头皮开后,在颅骨上钻两对双侧的孔 (后部 3.2mm, 侧面 1.8 和 3.8mm, 所有坐标均参照前囟点)。将一对除了顶端外均绝缘的不锈钢刺激电极 (Rhodes Medical Systems Inc) 向下穿过两个半球的孔,至硬膜以下 9.2mm 深。

[0458] 在电刺激三叉神经节之前 2 分钟将异硫氰酸荧光素 (FITC) 染料标记的牛血清白蛋白 (BSA) (FITC-BSA) 溶液 (20mg/kg, iv) 注射至股静脉中,作为蛋白质外渗的标记。施用测试化合物或溶媒 6 分钟后,以 1.0mA (5Hz, 5 分钟持续) 的电流强度电刺激左三叉神经节 5 分钟。

[0459] 刺激 5 分钟后,用 40mL 盐水通过驱血法处死大鼠,所述盐水还将残余的 FITC/BSA 清洗出血管。移除颅骨顶部以收集硬膜。从两个半球中移除膜样品,用水清洗,并平铺在显微镜载玻片上。在载玻片加热器上干燥载玻片 15 分钟后,用 70% 甘油 / 水溶液盖上盖玻片。

[0460] 用装备有光栅单色器和分光光度计的荧光显微镜定量每一硬膜样品中 FITC-BSA 染料的量。所述显微镜装备有与个人电脑连接的自动镜台。这有助于计算机控制镜台的移动,其中在每一硬膜样品上在 25 个点 (500 μm 步长) 进行荧光测量。通过电刺激三叉神经节诱导的外渗是同侧效果 (这仅在刺激了三叉神经节一侧的硬膜上发生)。这使得硬膜的另一半 (未刺激的) 可用作对照。计算外渗率 (其为来自刺激侧的硬膜中外渗量与未刺激侧相比的比例)。单独用溶媒或无效剂量测试化合物给药的动物具有约 2 的外渗率,而完全有效的治疗产生约 1 的比率。

[0461] 结果表示为具有平均值标准差 ($\pm\text{SEM}$) 的平均值。所有统计估计均应用 ANOVA 进行,然后通过 Dunnett 法与对照组相比较。当 $p < 0.05$ 时,认为是统计学显著的。应用 JMP 统计分析软件 (SAS Research Institute, 版本 6.0.2) 进行统计分析。

[0462] 基本上如上述那样测试了本发明的代表性化合物,并发现它们以剂量依赖的方式有效地阻断了外渗。因此,预期本发明的化合物可用于治疗偏头痛。

[0463] 对反应活性代谢物形成的稳定性

[0464] 之前的文献提示了反应活性代谢物形成和称为特应性药物反应 (IDRs) 的临床毒性之间的关系,尽管没有建立直接的因果效果。假定反应活性代谢物在临床 IDR 中起着作用,最小化氧化生物活化的可能性被认为是改善含有此类反应性相关结构特征的化合物的总体安全性质的方法。(参见 Baillie, Thomas A., Approaches to the Assessment of Stable and Chemically Reactive Drug Metabolites in Early Clinical Trials, Chemical Research in Toxicology, vol 22(2)2009)。为这一目的,应用大鼠肝微粒体捕获测试、应用谷胱甘肽作为内源性亲核试剂来筛选本发明的代表性化合物和相关化合物,以理解噻吩基部分的氧化生物活化的可能性。在测试的化合物中,发现其中 R^{2a} 和 R^{2b} 是氢的那些显示出谷胱甘肽缀合物形成的证据,提示在噻吩基部分氧化。在测试的化合物中,发现其中 R^{2a} 和 R^{2b} 是氟的那些未显示出谷胱甘肽缀合物形成。(参见下表 3)。含有偕-二氟的分子不形成谷胱甘肽缀合物提示偕-二氟取代基降低了生物氧化的固有化学倾向性,如在测试法中所测试的那样。

[0465] 表 3. 在肝微粒体匀浆中谷胱甘肽缀合物形成

	化合物	谷胱甘肽 缀合物形 成
	3-氟-2-[4-[(2-氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]苯甲酰胺 (L)酒石酸盐	是
	3-氟-2-[4-[(2,3-二氟螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]-3-甲基-吡唑-1-基]苯甲酰胺 (L)酒石酸盐	是
[0466]	(实施例 14) 2-氯-1'-[[1-[3-(甲氧基甲基)-2-吡啶基]-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[4,5-二氢噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (L)酒石酸盐	是
	(实施例 10) 2,4,4-三氟-1'-[[1-[3-(甲氧基甲基)-2-吡啶基]-3-甲基-吡唑-4-基]甲基]螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶] (L)酒石酸盐	否
	(实施例 18) 3-氟-2-[3-甲基-4-[(2,4,4-三氟螺[5H-噻吩并[2,3-c]吡喃-7,4'-哌啶]-1'-基)甲基]吡唑-1-基]苯甲酰胺 (L)酒石酸盐	否

[0467] 尽管可能不需要任何制剂直接施用在本发明方法中所应用的化合物,但所述化合物通常以包含作为活性成分的至少一种式 I 化合物或其可药用盐以及至少一种可药用载体、稀释剂和 / 或赋形剂的药物组合物的形式施用。这些组合物可通过各种途径施用,包括口服、鼻内、经皮、皮下、静脉内、肌肉内和肺内途径。此类药物组合物和制备它们的方法是本领域公知的。例如参见:雷明登:药物科学和实践 (Remington: The Science and Practice of Pharmacy) (University of the Sciences in Philadelphia, 编辑, 第 21 版, Lippincott Williams & Wilkins Co., 2005)。

[0468] 组合物优选配制在单位剂型中,每一剂量含有约 0.1 至约 500mg,更通常约 1.0 至约 200mg,例如约 5 至 50mg 活性成分。术语“单位剂型”是指适于作为用于人受试者和其它哺乳动物的单位剂量的物理上分离的单位,每一单位含有预定量的、经计算以产生预期治疗效果的活性物质,以及至少一种适合的可药用载体、稀释剂和 / 或赋形剂。

[0469] 式 I 化合物在很大的剂量范围内广泛有效。例如,每天的剂量通常落入约 0.01 至约 50mg/kg 的范围,更通常为约 0.05 至 5.0mg/kg,例如 0.1 至 1.0mg/kg 体重。在某些情况下,低于前述范围低限的剂量水平可能高于足量,而在其它情况下,可使用更大的剂量而不会引起任何有害副作用,并且因此上述剂量范围不旨在以任何方式限制本发明的范围。应当理解,实际施用的化合物的量将由医生根据相关情况而确定,包括待治疗的病症,选择的

施用途径,施用的实际化合物,个体患者的年龄、体重和反应,以及患者症状的严重程度。