



(10) 授权公告号 CN 115175907 B

(45) 授权公告日 2024. 08. 02

(21) 申请号 202080097016.2

(22) 申请日 2020.12.22

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 115175907 A

(43) 申请公布日 2022.10.11

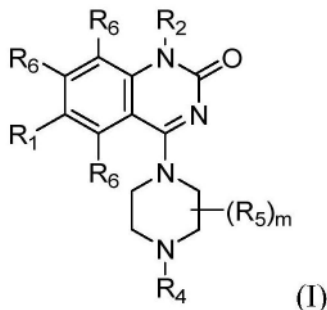
(30) 优先权数据  
201911053559 2019.12.23 IN(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2022.08.18(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2020/066504 2020.12.22(87) PCT国际申请的公布数据  
W02021/133749 EN 2021.07.01(73) 专利权人 百时美施贵宝公司  
地址 美国新泽西州(72) 发明人 U·维拉帕蒂 C·P·达恩  
R.E.奥尔森 J·S·瓦瑞尔(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494  
专利代理师 封新琴(51) Int.Cl.  
C07D 471/04 (2006.01)  
C07D 487/04 (2006.01)  
A61K 31/519 (2006.01)  
A61K 31/4375 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)(56) 对比文件  
W0 2020006016 A1, 2020.01.02  
W0 2020006018 A1, 2020.01.02  
审查员 杨冰清权利要求书5页 说明书125页  
序列表(电子公布)

## (54) 发明名称

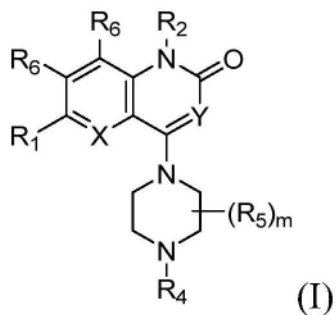
可用作T细胞激活剂的经取代的哌嗪衍生物

## (57) 摘要

公开了式(I)的化合物或其盐,其中: $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 和m是本文定义的。还公开了使用此类化合物抑制二酰基甘油激酶 $\alpha$  (DGK $\alpha$ )和二酰基甘油激酶 $\zeta$  (DGK $\zeta$ )中之一或两者的活性的方法以及包含此类化合物的药物组合物。这些化合物可用于治疗病毒感染和增殖性障碍,诸如癌症。



1. 一种式 (I) 的化合物:



或其盐, 其中:

X 是 N;

Y 是 CR<sub>3</sub> 或 N;

R<sub>1</sub> 是 -CN;

R<sub>2</sub> 是 -CH<sub>3</sub>;

R<sub>3</sub> 是 H;

R<sub>4</sub> 是 -CR<sub>4a</sub>R<sub>4c</sub>-L-R<sub>4b</sub>;

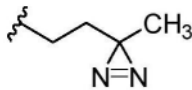
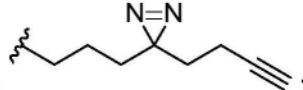
L 是 -C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NH-、-C(O)N(CH<sub>3</sub>)-、-CH<sub>2</sub>C(O)O-、-CH<sub>2</sub>C(O)NH-、-CH<sub>2</sub>C(O)N(CH<sub>3</sub>)- 或 -P(O)(CH<sub>3</sub>)-;

R<sub>4a</sub> 是:

(i) -CH<sub>3</sub>; 或

(ii) 苯基或吡啶基, 各自被零至 2 个独立选自 F、CH<sub>3</sub>、CF<sub>3</sub> 和 -OCH<sub>3</sub> 的取代基取代;

R<sub>4b</sub> 是:

(i) H、C<sub>1-4</sub> 烷基、-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>H<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>、 或 ;

或

(ii) 环丙基、环戊基、吗啉基、吡咯基、甲基吡唑基、异噁唑基、哌啶基或甲基哌嗪基;

R<sub>4c</sub> 是 H;

每个 R<sub>5</sub> 独立地是 H、-CH<sub>3</sub> 或 -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>;

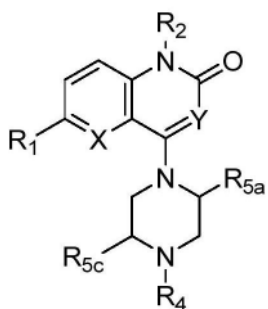
每个 R<sub>6</sub> 为 H、F、Cl、-CN、-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>F、-CHF<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub> 或 -OCH<sub>3</sub>;

m 是零、1 或 2。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物或其盐, 其中:

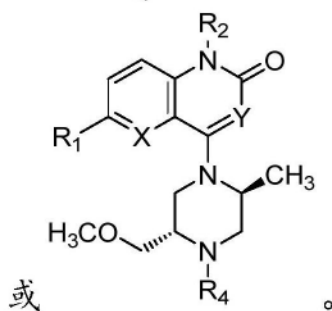
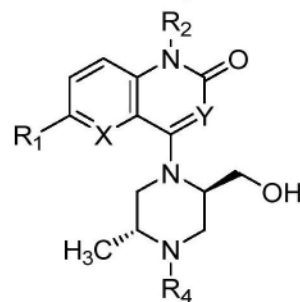
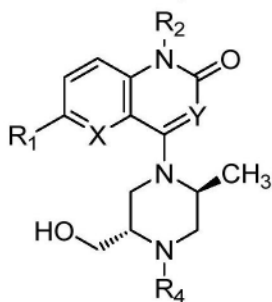
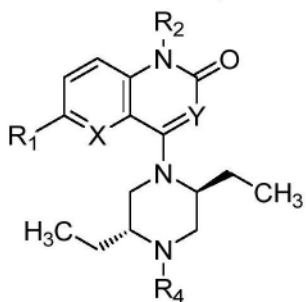
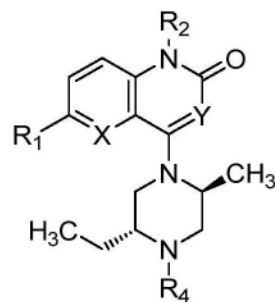
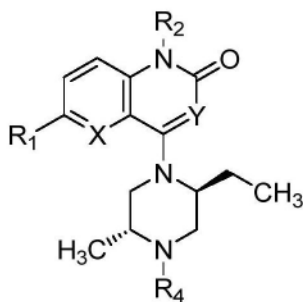
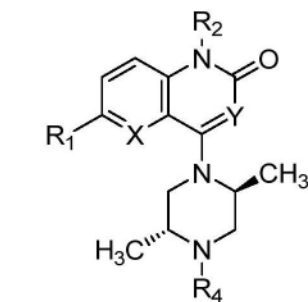
R<sub>4b</sub> 是: 环丙基、环戊基、吗啉基、吡咯基、甲基吡唑基、异噁唑基、哌啶基或甲基哌嗪基。

3. 根据权利要求 1 所述的化合物或其盐, 所述化合物或其盐具有结构:



其中 $R_{5a}$ 和 $R_{5c}$ 独立地选自 $R_5$ 。

4. 根据权利要求1所述的化合物或其盐,所述化合物或其盐具有结构:



5. 根据权利要求1所述的化合物或其盐,其中L是-C(O)-或-C(O)O-。

6. 根据权利要求1所述的化合物或其盐,其中L是-C(O)NH-或-C(O)N(CH<sub>3</sub>)-。

7. 根据权利要求1所述的化合物或其盐,其中所述化合物是:

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸异丙酯(1-2);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(5-氟吡啶-2-基)乙酸甲酯(3-4);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-(2,2-二氟乙基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺(5-6);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌

嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸甲酯(7-8);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸(9-10);

(8-((2S,5R)-4-(1-(4-氟苯基)-2-氧代-2-(哌啶-1-基)乙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈(11-12);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺(13-14);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)-N-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)乙酰胺(15-16);

8-((2S,5R)-4-(1-(4-氟苯基)-2-吗啉代-2-氧代乙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈(17-18);

8-((2S,5R)-4-(1-(4-氟苯基)-2-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈(19-20);

8-((2S,5R)-4-(1-(4-氟苯基)-2-氧代-2-(吡咯烷-1-基)乙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈(21-22);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)-N,N-二甲基乙酰胺(23-24);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)-N-甲基乙酰胺(25-26);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)-N-(2-羟基乙基)乙酰胺(27-28);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)-N-(异噁唑-3-基)乙酰胺(29-30);

3-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-3-(4-氟苯基)丙酸甲酯(31-32);

N-(叔丁基)-3-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-3-(4-氟苯基)丙酰胺(33-34);

3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)-N-(丙-2-基)丙酰胺(35);

3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)-N-(丙-2-基)丙酰胺(36);

3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)丙酰胺(37);

3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)丙酰胺(38);

3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)-N-甲基丙酰胺(39);

3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)-N-甲基丙酰胺(40);

3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)-N-甲基-N-(丙-2-基)丙酰胺(41);

3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)-N-甲基-N-(丙-2-基)丙酰胺(42);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-环戊基丙酰胺(43-44);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)丙酰胺(45);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)丙酰胺(46);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-环丙基丙酰胺(47);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-环丙基丙酰胺(48);

8-((2S,5R)-4-((二甲基磷酰基)(4-氟苯基)甲基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈(49-50);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯(51);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸(52);

4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-吗啉代-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(53-54);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-(2-甲氧基乙基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(55-56);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸3-(3-(丁-3-炔-1-基)-3H-二吡丙因-3-基)丙酯(57);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-甲氧基苯基)乙酸甲酯(58);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-甲氧基苯基)乙酸(59);

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-甲氧基苯基)乙酸3-(3-(丁-3-炔-1-基)-3H-二吡丙因-3-基)丙酯(60-61);或

2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸2-(3-甲基-3H-二吡丙因-3-基)乙酯(62)。

8. 一种药物组合物,所述药物组合物包含根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体。

9. 根据权利要求1-7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备药物中的用途,所述药物用于治疗与DGK $\alpha$ 、DGK $\zeta$ 或DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 两者相关的癌症或病毒感染,其中所述癌

症选自结肠癌、胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌、肺癌、卵巢癌、宫颈癌、肾癌、头颈癌、淋巴瘤、白血病和黑素瘤。

10. 根据权利要求1-7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备药物中的用途,所述药物用于抑制选自二酰基甘油激酶 $\alpha$  (DGK $\alpha$ ) 和二酰基甘油激酶 $\zeta$  (DGK $\zeta$ ) 的至少一种二酰基甘油激酶的活性。

11. 一种化合物或其盐,其中所述化合物是:

(2- (2- (2- (2- ((2R,5S) -4- (6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基) -2,5-二甲基哌嗪-1-基) -2- (4-氟苯基) 乙酰胺基) 乙氧基) 乙氧基) 乙基) 氨基甲酸叔丁酯 (63);

N- (2- (2- (2-氨基乙氧基) 乙氧基) 乙基) -2- ((2R,5S) -4- (6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基) -2,5-二甲基哌嗪-1-基) -2- (4-氟苯基) 乙酰胺, TFA (64);

N- (2- (2- (2- (2- ((2R,5S) -4- (6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基) -2,5-二甲基哌嗪-1-基) -2- (4-氟苯基) 乙酰胺基) 乙氧基) 乙氧基) 乙基) -3',6'-二羟基-3-氧代-3H-螺[异苯并呋喃-1,9'-咕吨]-5-甲酰胺 (65);

2- ((2R,5S) -4- (6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基) -2,5-二甲基哌嗪-1-基) -2- (4-氟苯基) 乙酸2,2-二甲基-4-氧代-3,8,11-三氧杂-5-氮杂十三烷-13-基酯 (66);

2- ((2R,5S) -4- (6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基) -2,5-二甲基哌嗪-1-基) -2- (4-氟苯基) 乙酸2- (2- (2-氨基乙氧基) 乙氧基) 乙酯, TFA (67); 或

2- ((2R,5S) -4- (6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基) -2,5-二甲基哌嗪-1-基) -2- (4-氟苯基) 乙酸2- (2- (2- (3',6'-二羟基-3-氧代-3H-螺[异苯并呋喃-1,9'-咕吨]-5-甲酰胺基) 乙氧基) 乙氧基) 乙酯 (68)。

## 可用作T细胞激活剂的经取代的哌嗪衍生物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2019年12月23日提交的印度临时申请号201911053559的权益,将所述临时申请以其整体并入本文。

[0003] 说明书

[0004] 本发明总体上涉及激活T细胞、促进T细胞增殖和/或展现出抗肿瘤活性的经取代的化合物。本文提供了经取代的化合物、包含此类化合物的组合物、以及它们的使用方法。本发明进一步涉及包含根据本发明的至少一种化合物的药物组合物,其可用于治疗增殖性障碍(诸如癌症)和病毒感染。

### 背景技术

[0005] 人类癌症具有许多遗传和表观遗传改变,产生了潜在地可被免疫系统识别的新抗原(Sjoberg等人,(2006)Science 314:268-74)。由T淋巴细胞和B淋巴细胞构成的适应性免疫系统具有强大的抗癌潜力,具有广泛的能力和精确的特异性以响应多样的肿瘤抗原。此外,免疫系统展现了相当大的可塑性和记忆组分。成功地利用适应性免疫系统的所有这些属性将使得免疫疗法在所有癌症治疗方式中是独特的。然而,尽管在临床前模型和患者中观察到对癌症的内源性免疫反应,但是这种反应是无效的,并且已确证的癌症被认为是“自身”的并且被免疫系统所耐受。促成这种耐受状态的肿瘤可能利用若干种不同的机制来主动破坏抗肿瘤免疫力。这些机制包括功能异常的T细胞信号传导(Mizoguchi等人,(1992)Science 258:1795-98)、抑制型调节细胞(Facciabene等人,(2012)Cancer Res.72:2162-71)、和内源性“免疫检查点”的选择,所述选择用于下调适应性免疫反应的强度并且保护正常组织免受肿瘤的附带损害,以逃避免疫破坏(Topalian等人,(2012)Curr.Opin.Immunol.24:1-6;Mellman等人(2011)Nature 480:480-489)。

[0006] 二酰基甘油激酶(DGK)是介导二酰基甘油向磷脂酸转化从而终止通过TCR信号传导通路传播的T细胞功能的脂质激酶。因此,DGK用作细胞内检查点,并且对DGK的抑制预期增强T细胞信号传导通路和T细胞激活。支持性证据包括显示出高反应性T细胞表型和改善的抗肿瘤免疫活性的DGK $\alpha$ 或DGK $\zeta$ 的敲除小鼠模型(Riese M.J.等人,Journal of Biological Chemistry,(2011)7:5254-5265;Zha Y等人,Nature Immunology,(2006)12:1343;Olenchok B.A.等人,(2006)11:1174-81)。此外,观察到从人肾细胞癌患者分离的肿瘤浸润淋巴细胞过表达DGK $\alpha$ ,所述DGK $\alpha$ 导致受抑制的T细胞功能(Prinz,P.U.等人,J Immunology (2012) 12:5990-6000)。因此,DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 被视为癌症免疫疗法的靶标(Riese M.J.等人,Front Cell Dev Biol.(2016)4:108;Chen,S.S.等人,Front Cell Dev Biol.(2016)4:130;Avila-Flores,A.等人,Immunology and Cell Biology(2017)95:549-563;Noessner,E.,Front Cell Dev Biol.(2017)5:16;Krishna,S.,等人,Front Immunology (2013)4:178;Jing,W.等人,Cancer Research(2017)77:5676-5686)。

[0007] 仍然需要可用作DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 中之一或两者的抑制剂的化合物。另外,仍然需要可用作DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 中之一或两者的抑制剂的化合物,所述化合物具有相对于其他二酰基甘油

激酶、蛋白激酶和/或其他脂质激酶的选择性。

[0008] 因此,在恢复T细胞激活、降低抗原阈值、增强抗肿瘤功能和/或克服一种或多种内源性免疫检查点(诸如PD-1、LAG-3和TGFβ)的抑制作用方面安全且有效的药剂对于治疗患有增殖性障碍(诸如癌症)以及病毒感染的患者而言将是重要的补充。

## 发明内容

[0009] 申请人已经发现了具有作为DGKα和DGKζ中之一或两者的抑制剂的活性的化合物。此外,申请人已经发现了具有作为DGKα和DGKζ中之一或两者的抑制剂的活性并且具有相对于其他二酰基甘油激酶、蛋白激酶和/或其他脂质激酶的选择性的化合物。提供的这些化合物可用作药物,所述药物具有希望的稳定性、生物利用度、治疗指数和对其可药用性重要的毒性值。

[0010] 本发明提供了可用作DGKα、DGKζ、或DGKα和DGKζ两者的抑制剂的经取代的式(I)的化合物,包括其盐和前药。

[0011] 本发明还提供了药物组合物,所述药物组合物包含式(I)的化合物和/或其药学上可接受的盐;以及药学上可接受的载体。

[0012] 本发明还提供了一种治疗与DGKα、DGKζ、或DGKα和DGKζ两者的活性相关的疾病或障碍的方法,所述方法包括向哺乳动物患者施用式(I)的化合物和/或其药学上可接受的盐。

[0013] 本发明还提供了用于制备所述式(I)的化合物和/或其盐的方法和中间体。

[0014] 本发明还提供了一种式(I)的化合物和/或其药学上可接受的盐,其用于疗法。

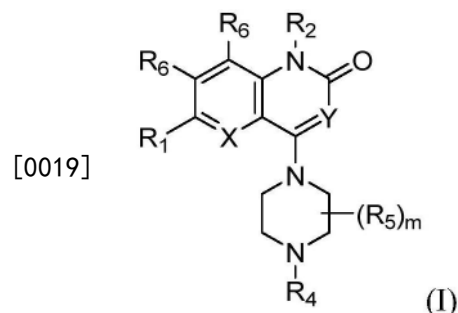
[0015] 本发明还提供了式(I)的化合物和/或其药学上可接受的盐用于制造治疗增殖性障碍(诸如癌症和病毒感染)的药剂的用途。

[0016] 式(I)的化合物和包含式(I)的化合物的组合物可以用于治疗、预防或治愈病毒感染和各种增殖性障碍,诸如癌症。包含这些化合物的药物组合物可用于治疗、预防或减缓多种治疗领域中的疾病或障碍(诸如病毒感染和癌症)的进展。

[0017] 随着本公开文本的继续,本发明的这些和其他特征将以扩展的形式阐述。

## 具体实施方式

[0018] 本发明的第一方面提供了至少一种式(I)的化合物:



[0020] 或其盐,其中:

[0021] X是CR<sub>6</sub>或N;

[0022] Y是CR<sub>3</sub>或N;

[0023]  $R_1$ 是H、F、Cl、Br、-CN、被零至4个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{1-3}$ 烷基、被零至4个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{3-4}$ 环烷基、被零至4个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{1-3}$ 烷氧基、-C(O)NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、-NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、-S(O)<sub>n</sub>R<sub>f</sub>、或-P(O)R<sub>f</sub>R<sub>f</sub>;

[0024] 每个 $R_{1a}$ 独立地是F、Cl、-CN、-OH、-OCH<sub>3</sub>、或-NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>;

[0025] 每个 $R_a$ 独立地是H或 $C_{1-3}$ 烷基;

[0026]  $R_2$ 是H、被零至4个 $R_{2a}$ 取代的 $C_{1-3}$ 烷基、被零至4个 $R_{2a}$ 取代的 $C_{2-3}$ 烯基、或被零至4个 $R_{2a}$ 取代的 $C_{3-4}$ 环烷基;

[0027] 每个 $R_{2a}$ 独立地是F、Cl、-CN、-OH、-O( $C_{1-2}$ 烷基)、 $C_{3-4}$ 环烷基、 $C_{3-4}$ 烯基、或 $C_{3-4}$ 炔基;

[0028]  $R_3$ 是H、F、Cl、Br、-CN、 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-2}$ 氟烷基、 $C_{3-4}$ 环烷基、 $C_{3-4}$ 氟环烷基、-NO<sub>2</sub>、或被零至2个 $R_{3a}$ 取代的吡啶基;

[0029] 每个 $R_{3a}$ 是卤基、-CN、 $C_{1-3}$ 烷基、或 $C_{1-3}$ 烷氧基;

[0030]  $R_4$ 是-CR<sub>4a</sub>R<sub>4c</sub>-L-R<sub>4b</sub>;

[0031] L是L<sub>1</sub>或-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>L<sub>1</sub>;

[0032] L<sub>1</sub>是-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NR<sub>d</sub>-、-C(O)NR<sub>d</sub>O-、-C(O)NR<sub>d</sub>S(O)<sub>2</sub>-、-NR<sub>d</sub>-、-NR<sub>d</sub>C(O)-、-NR<sub>d</sub>C(O)O-、-NR<sub>d</sub>C(O)NR<sub>d</sub>-、-S(O)<sub>2</sub>-、-S(O)<sub>2</sub>NR<sub>d</sub>-、-NR<sub>d</sub>S(O)<sub>2</sub>-、或-P(O)R<sub>e</sub>-;

[0033]  $R_{4a}$ 是:

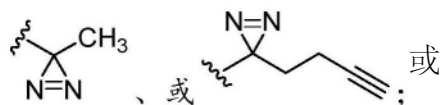
[0034] (i) H或被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-6}$ 烷基: F、Cl、-CN、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-SCH<sub>3</sub>、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、-NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、-S(O)<sub>2</sub>R<sub>f</sub>、或-NR<sub>a</sub>S(O)<sub>2</sub>R<sub>f</sub>;

[0035] (ii)  $C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{5-14}$ 杂环基、 $C_{6-10}$ 芳基、或 $C_{5-14}$ 杂芳基,各自被零至4个 $R_b$ 取代;

[0036] 每个 $R_b$ 独立地是F、Cl、Br、-CN、-OH、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 氟烷基、 $C_{1-4}$ 羟基烷基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>O( $C_{1-3}$ 烷基)、 $C_{1-4}$ 烷氧基、-O( $C_{1-4}$ 羟基烷基)、-O(CH)<sub>1-3</sub>O( $C_{1-3}$ 烷基)、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、-O(CH)<sub>1-3</sub>NR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>、-OCH<sub>2</sub>C≡CH、-C(O)( $C_{1-4}$ 烷基)、-C(O)OH、-C(O)O( $C_{1-4}$ 烷基)、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)NH( $C_{1-4}$ 烷基)、-C(O)N( $C_{1-4}$ 烷基)<sub>2</sub>、-NR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>、-NR<sub>a</sub>S(O)<sub>2</sub>( $C_{1-3}$ 烷基)、-NR<sub>a</sub>C(O)( $C_{1-3}$ 烷基)、-NR<sub>a</sub>C(O)O( $C_{1-4}$ 烷基)、-P(O)( $C_{1-3}$ 烷基)<sub>2</sub>、-S(O)<sub>2</sub>( $C_{1-3}$ 烷基)、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>( $C_{3-6}$ 环烷基)、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>(吗啉基)、 $C_{3-6}$ 环烷基、氰基环丙基、甲基氮杂环丁烷基、乙酰基氮杂环丁烷基、三唑基、四氢吡喃基、吗啉基、噻吩基、甲基哌啶基、或-CR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>(苯基);

[0037]  $R_{4b}$ 是:

[0038] (i) H、-CN、被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-6}$ 烷基: F、Cl、-CN、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-SCH<sub>3</sub>、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、-NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、-S(O)<sub>2</sub>R<sub>f</sub>、 $C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{3-6}$ 羟基环烷基、-NR<sub>a</sub>S(O)<sub>2</sub>R<sub>f</sub>、



[0039] (ii)  $C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{5-14}$ 杂环基、 $C_{6-10}$ 芳基、或 $C_{5-14}$ 杂芳基,各自被零至4个 $R_b$ 取代;

[0040] 条件是 $R_{4a}$ 和 $R_{4b}$ 中的至少一个是 $C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{5-14}$ 杂环基、 $C_{6-10}$ 芳基、或 $C_{5-14}$ 杂芳基,各自被零至4个 $R_b$ 取代;并且

[0041] 条件是当L时-CH<sub>2</sub>NR<sub>d</sub>-时,则 $R_{4b}$ 不是H或未经取代的 $C_{1-6}$ 烷基;

[0042]  $R_{4c}$ 是H或 $C_{1-6}$ 烷基;

[0043] 每个 $R_c$ 独立地是H或 $C_{1-2}$ 烷基;

[0044] 每个 $R_d$ 独立地是H或 $C_{1-6}$ 烷基;

[0045]  $R_e$ 是 $C_{1-6}$ 烷基;

[0046] 每个 $R_f$ 独立地是 $C_{3-4}$ 环烷基或被零至4个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{1-3}$ 烷基;

[0047] 每个 $R_5$ 独立地是F、Cl、-CN、-OH、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{1-6}$ 烷基、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{1-3}$ 烷氧基、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{2-4}$ 烯基、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{2-4}$ 炔基、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{3-4}$ 环烷基、被零至4个 $R_g$ 取代的苯基、被零至3个 $R_g$ 取代的噁二唑基、被零至4个 $R_g$ 取代的吡啶基、 $-(CH_2)_{1-2}$ (被零至4个 $R_g$ 取代的杂环基)、 $-(CH_2)_{1-2}NR_cC(O)(C_{1-4}烷基)$ 、 $-(CH_2)_{1-2}NR_cC(O)O(C_{1-4}烷基)$ 、 $-(CH_2)_{1-2}NR_cS(O)_2(C_{1-4}烷基)$ 、 $-C(O)(C_{1-4}烷基)$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)O(C_{1-4}烷基)$ 、 $-C(O)O(C_{3-4}环烷基)$ 、 $-C(O)NR_aR_a$ 、或 $-C(O)NR_a(C_{3-4}环烷基)$ ,或两个 $R_5$ 与相同碳原子附接形成 $=O$ ;

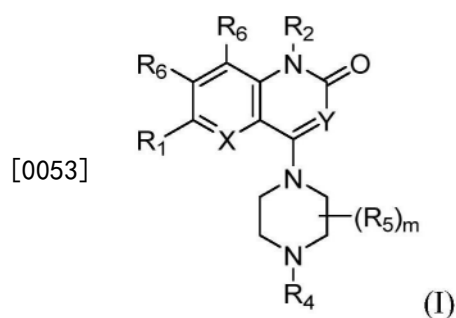
[0048] 每个 $R_g$ 独立地是F、Cl、-CN、-OH、 $C_{1-3}$ 烷氧基、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、 $-O(CH_2)_{1-2}O(C_{1-2}烷基)$ 、 $C_{3-5}$ 环烷基、或 $-NR_cR_c$ ;

[0049] 每个 $R_6$ 是H、F、Cl、-CN、-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>F、-CHF<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、或- $OCH_3$ ;

[0050] m是零、1、2或3;并且

[0051] n是零、1或2。

[0052] 本发明的第二方面提供了至少一种式(I)的化合物:



[0054] 或其盐,其中:

[0055] X是 $CR_6$ 或N;

[0056] Y是 $CR_3$ 或N;

[0057]  $R_1$ 是H、F、Cl、Br、-CN、被零至4个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{1-3}$ 烷基、被零至4个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{3-4}$ 环烷基、被零至4个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{1-3}$ 烷氧基、 $-C(O)NR_aR_a$ 、 $-NR_aR_a$ 、 $-S(O)_nR_f$ 、或 $-P(O)R_fR_f$ ;

[0058] 每个 $R_{1a}$ 独立地是F、Cl、-CN、-OH、- $OCH_3$ 、或 $-NR_aR_a$ ;

[0059] 每个 $R_a$ 独立地是H或 $C_{1-3}$ 烷基;

[0060]  $R_2$ 是H、被零至4个 $R_{2a}$ 取代的 $C_{1-3}$ 烷基、被零至4个 $R_{2a}$ 取代的 $C_{2-3}$ 烯基、或被零至4个 $R_{2a}$ 取代的 $C_{3-4}$ 环烷基;

[0061] 每个 $R_{2a}$ 独立地是F、Cl、-CN、-OH、 $-O(C_{1-2}烷基)$ 、 $C_{3-4}$ 环烷基、 $C_{3-4}$ 烯基、或 $C_{3-4}$ 炔基;

[0062]  $R_3$ 是H、F、Cl、Br、-CN、 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-2}$ 氟烷基、 $C_{3-4}$ 环烷基、 $C_{3-4}$ 氟环烷基、 $-NO_2$ 、或被零至2个 $R_{3a}$ 取代的吡啶基;

[0063] 每个 $R_{3a}$ 是卤基、-CN、 $C_{1-3}$ 烷基、或 $C_{1-3}$ 烷氧基;

[0064]  $R_4$ 是 $-CR_{4a}R_{4c}-L-R_{4b}$ ;

[0065] L是 $L_1$ 或 $-CH_2L_1-$ ;

[0066]  $L_1$ 是 $-C(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)NR_d-$ 、 $-NR_dC(O)-$ 、 $-NR_dC(O)NR_d-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR_d-$ 、 $-NR_dS(O)_2-$ 、或 $-P(O)R_e-$ ;

[0067]  $R_{4a}$ 是:

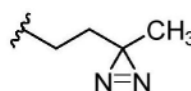
[0068] (i) H或被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-6}$ 烷基: F、Cl、-CN、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-SCH<sub>3</sub>、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、-NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、-S(O)<sub>2</sub>R<sub>f</sub>、或-NR<sub>a</sub>S(O)<sub>2</sub>R<sub>f</sub>; 或

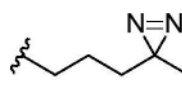
[0069] (ii)  $C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{5-14}$ 杂环基、 $C_{6-10}$ 芳基、或 $C_{5-14}$ 杂芳基, 各自被零至4个R<sub>b</sub>取代;

[0070] 每个R<sub>b</sub>独立地是F、Cl、Br、-CN、-OH、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 氟烷基、 $C_{1-4}$ 羟基烷基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>O( $C_{1-3}$ 烷基)、 $C_{1-4}$ 烷氧基、-O( $C_{1-4}$ 羟基烷基)、-O(CH)<sub>1-3</sub>O( $C_{1-3}$ 烷基)、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、-O(CH)<sub>1-3</sub>NR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>、-OCH<sub>2</sub>C≡CH、-C(O)( $C_{1-4}$ 烷基)、-C(O)OH、-C(O)O( $C_{1-4}$ 烷基)、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)NH( $C_{1-4}$ 烷基)、-C(O)N( $C_{1-4}$ 烷基)<sub>2</sub>、-NR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>、-NR<sub>a</sub>S(O)<sub>2</sub>( $C_{1-3}$ 烷基)、-NR<sub>a</sub>C(O)( $C_{1-3}$ 烷基)、-NR<sub>a</sub>C(O)O( $C_{1-4}$ 烷基)、-P(O)( $C_{1-3}$ 烷基)<sub>2</sub>、-S(O)<sub>2</sub>( $C_{1-3}$ 烷基)、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>( $C_{3-6}$ 环烷基)、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>(吗啉基)、 $C_{3-6}$ 环烷基、氰基环丙基、甲基氮杂环丁烷基、乙酰基氮杂环丁烷基、三唑基、四氢吡喃基、吗啉基、噻吩基、甲基哌啶基、或-CR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>(苯基);

[0071] R<sub>4b</sub>是:

[0072] (i) H、被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-6}$ 烷基: F、Cl、-CN、-OH、-

OCH<sub>3</sub>、-SCH<sub>3</sub>、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、-NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、-S(O)<sub>2</sub>R<sub>f</sub>、-NR<sub>a</sub>S(O)<sub>2</sub>R<sub>f</sub>、、或

; 或

[0073] (ii)  $C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{5-14}$ 杂环基、 $C_{6-10}$ 芳基、或 $C_{5-14}$ 杂芳基, 各自被零至4个R<sub>b</sub>取代;

[0074] 条件是R<sub>4a</sub>和R<sub>4b</sub>中的至少一个是 $C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{5-14}$ 杂环基、 $C_{6-10}$ 芳基、或 $C_{5-14}$ 杂芳基, 各自被零至4个R<sub>b</sub>取代;

[0075] R<sub>4c</sub>是H或 $C_{1-6}$ 烷基;

[0076] 每个R<sub>c</sub>独立地是H或 $C_{1-2}$ 烷基;

[0077] 每个R<sub>d</sub>独立地是H或 $C_{1-6}$ 烷基;

[0078] R<sub>e</sub>是 $C_{1-6}$ 烷基;

[0079] 每个R<sub>f</sub>独立地是 $C_{3-4}$ 环烷基或被零至4个R<sub>1a</sub>取代的 $C_{1-3}$ 烷基;

[0080] 每个R<sub>5</sub>独立地是F、Cl、-CN、-OH、被零至4个R<sub>g</sub>取代的 $C_{1-6}$ 烷基、被零至4个R<sub>g</sub>取代的 $C_{1-3}$ 烷氧基、被零至4个R<sub>g</sub>取代的 $C_{2-4}$ 烯基、被零至4个R<sub>g</sub>取代的 $C_{2-4}$ 炔基、被零至4个R<sub>g</sub>取代的 $C_{3-4}$ 环烷基、被零至4个R<sub>g</sub>取代的苯基、被零至3个R<sub>g</sub>取代的噁二唑基、被零至4个R<sub>g</sub>取代的吡啶基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>(被零至4个R<sub>g</sub>取代的杂环基)、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>NR<sub>c</sub>C(O)( $C_{1-4}$ 烷基)、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>NR<sub>c</sub>C(O)O( $C_{1-4}$ 烷基)、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>NR<sub>c</sub>S(O)<sub>2</sub>( $C_{1-4}$ 烷基)、-C(O)( $C_{1-4}$ 烷基)、-C(O)OH、-C(O)O( $C_{1-4}$ 烷基)、-C(O)O( $C_{3-4}$ 环烷基)、-C(O)NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、或-C(O)NR<sub>a</sub>( $C_{3-4}$ 环烷基), 或两个R<sub>5</sub>与相同碳原子附接形成=O;

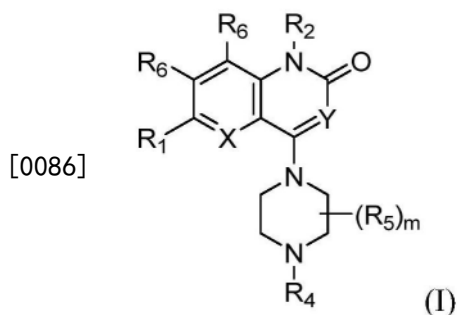
[0081] 每个R<sub>g</sub>独立地是F、Cl、-CN、-OH、 $C_{1-3}$ 烷氧基、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>O( $C_{1-2}$ 烷基)、 $C_{3-5}$ 环烷基、或-NR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>;

[0082] 每个R<sub>6</sub>是H、F、Cl、-CN、-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>F、-CHF<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、或-OCH<sub>3</sub>;

[0083] m是零、1、2或3; 并且

[0084] n是零、1或2。

[0085] 本发明的第三方面提供了至少一种式(I)的化合物:



[0087] 或其盐,其中:

[0088] X是CR<sub>6</sub>或N;

[0089] Y是CR<sub>3</sub>或N;

[0090] R<sub>1</sub>是H、F、Cl、Br、-CN、被零至4个R<sub>1a</sub>取代的C<sub>1-3</sub>烷基、被零至4个R<sub>1a</sub>取代的C<sub>3-4</sub>环烷基、被零至4个R<sub>1a</sub>取代的C<sub>1-3</sub>烷氧基、-C(O)NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、-NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、-S(O)<sub>n</sub>R<sub>f</sub>、或-P(O)R<sub>f</sub>R<sub>f</sub>;

[0091] 每个R<sub>1a</sub>独立地是F、Cl、-CN、-OH、-OCH<sub>3</sub>、或-NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>;

[0092] 每个R<sub>a</sub>独立地是H或C<sub>1-3</sub>烷基;

[0093] R<sub>2</sub>是H、被零至4个R<sub>2a</sub>取代的C<sub>1-3</sub>烷基、被零至4个R<sub>2a</sub>取代的C<sub>2-3</sub>烯基、或被零至4个R<sub>2a</sub>取代的C<sub>3-4</sub>环烷基;

[0094] 每个R<sub>2a</sub>独立地是F、Cl、-CN、-OH、-O(C<sub>1-2</sub>烷基)、C<sub>3-4</sub>环烷基、C<sub>3-4</sub>烯基、或C<sub>3-4</sub>炔基;

[0095] R<sub>3</sub>是H、F、Cl、Br、-CN、C<sub>1-3</sub>烷基、C<sub>1-2</sub>氟烷基、C<sub>3-4</sub>环烷基、C<sub>3-4</sub>氟环烷基、-NO<sub>2</sub>、或被零至2个R<sub>3a</sub>取代的吡啶基;

[0096] 每个R<sub>3a</sub>是卤基、-CN、C<sub>1-3</sub>烷基、或C<sub>1-3</sub>烷氧基;

[0097] R<sub>4</sub>是-CR<sub>4a</sub>R<sub>4c</sub>-L-R<sub>4b</sub>;

[0098] L是L<sub>1</sub>或-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>L<sub>1</sub>-;

[0099] L<sub>1</sub>是-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NR<sub>d</sub>-、-C(O)NR<sub>d</sub>O-、-C(O)NR<sub>d</sub>S(O)<sub>2</sub>-、-NR<sub>d</sub>-、-NR<sub>d</sub>C(O)-、-NR<sub>d</sub>C(O)O-、-NR<sub>d</sub>C(O)NR<sub>d</sub>-、O-、-S(O)<sub>2</sub>-、-S(O)<sub>2</sub>NR<sub>d</sub>-、-NR<sub>d</sub>S(O)<sub>2</sub>-、或-P(O)R<sub>e</sub>-;

[0100] R<sub>4a</sub>是:

[0101] (i) H或被零至4个独立地选自以下的取代基取代的C<sub>1-6</sub>烷基:F、Cl、-CN、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-SCH<sub>3</sub>、C<sub>1-3</sub>氟烷氧基、-NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、-S(O)<sub>2</sub>R<sub>f</sub>、或-NR<sub>a</sub>S(O)<sub>2</sub>R<sub>f</sub>;

[0102] (ii) C<sub>3-6</sub>环烷基、C<sub>5-14</sub>杂环基、C<sub>6-10</sub>芳基、或C<sub>5-14</sub>杂芳基,各自被零至4个R<sub>b</sub>取代;

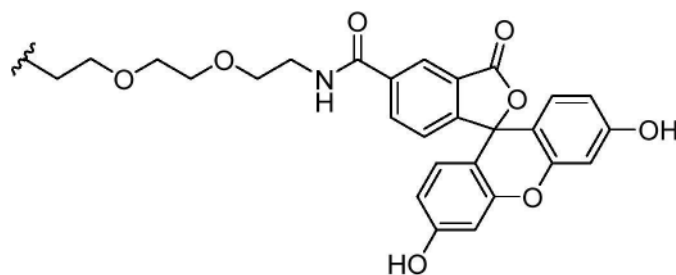
[0103] 每个R<sub>b</sub>独立地是F、Cl、Br、-CN、-OH、C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>1-3</sub>氟烷基、C<sub>1-4</sub>羟基烷基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>O(C<sub>1-3</sub>烷基)、C<sub>1-4</sub>烷氧基、-O(C<sub>1-4</sub>羟基烷基)、-O(CH)<sub>1-3</sub>O(C<sub>1-3</sub>烷基)、C<sub>1-3</sub>氟烷氧基、-O(CH)<sub>1-3</sub>NR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>、-OCH<sub>2</sub>C≡CH、-C(O)(C<sub>1-4</sub>烷基)、-C(O)OH、-C(O)O(C<sub>1-4</sub>烷基)、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)NH(C<sub>1-4</sub>烷基)、-C(O)N(C<sub>1-4</sub>烷基)<sub>2</sub>、-NR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>、-NR<sub>a</sub>S(O)<sub>2</sub>(C<sub>1-3</sub>烷基)、-NR<sub>a</sub>C(O)(C<sub>1-3</sub>烷基)、-NR<sub>a</sub>C(O)O(C<sub>1-4</sub>烷基)、-P(O)(C<sub>1-3</sub>烷基)<sub>2</sub>、-S(O)<sub>2</sub>(C<sub>1-3</sub>烷基)、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>(C<sub>3-6</sub>环烷基)、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>(吗啉基)、C<sub>3-6</sub>环烷基、氰基环丙基、甲基氮杂环丁烷基、乙酰基氮杂环丁烷基、三唑基、四氢吡喃基、吗啉基、噻吩基、甲基哌啶基、或-CR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>(苯基);

[0104] R<sub>4b</sub>是:

[0105] (i) -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>;

[0106] (ii) -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>C(O)OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>;或

[0107] (iii)

[0108]  $R_{4c}$  是H或 $C_{1-6}$ 烷基;[0109] 每个 $R_c$ 独立地是H或 $C_{1-2}$ 烷基;[0110] 每个 $R_d$ 独立地是H或 $C_{1-6}$ 烷基;[0111]  $R_e$ 是 $C_{1-6}$ 烷基;[0112] 每个 $R_f$ 独立地是 $C_{3-4}$ 环烷基或被零至4个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{1-3}$ 烷基;

[0113] 每个 $R_5$ 独立地是F、Cl、-CN、-OH、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{1-6}$ 烷基、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{1-3}$ 烷氧基、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{2-4}$ 烯基、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{2-4}$ 炔基、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{3-4}$ 环烷基、被零至4个 $R_g$ 取代的苯基、被零至3个 $R_g$ 取代的噁二唑基、被零至4个 $R_g$ 取代的吡啶基、-( $CH_2$ )<sub>1-2</sub> (被零至4个 $R_g$ 取代的杂环基)、-( $CH_2$ )<sub>1-2</sub>NR<sub>c</sub>C(O) ( $C_{1-4}$ 烷基)、-( $CH_2$ )<sub>1-2</sub>NR<sub>c</sub>C(O)O ( $C_{1-4}$ 烷基)、-( $CH_2$ )<sub>1-2</sub>NR<sub>c</sub>S(O)<sub>2</sub> ( $C_{1-4}$ 烷基)、-C(O) ( $C_{1-4}$ 烷基)、-C(O)OH、-C(O)O ( $C_{1-4}$ 烷基)、-C(O)O ( $C_{3-4}$ 环烷基)、-C(O)NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、或-C(O)NR<sub>a</sub> ( $C_{3-4}$ 环烷基), 或两个 $R_5$ 与相同碳原子附接形成=O;

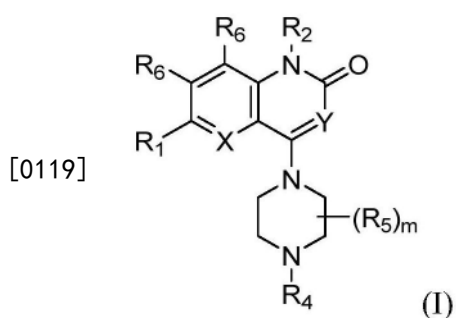
[0114] 每个 $R_g$ 独立地是F、Cl、-CN、-OH、 $C_{1-3}$ 烷氧基、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、-O( $CH_2$ )<sub>1-2</sub>O ( $C_{1-2}$ 烷基)、 $C_{3-5}$ 环烷基、或-NR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>;

[0115] 每个 $R_6$ 是H、F、Cl、-CN、-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>F、-CHF<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、或-OCH<sub>3</sub>;

[0116] m是零、1、2或3;并且

[0117] n是零、1或2。第三方面的化合物可用作测定(诸如用于测量DGK抑制剂的活性的DGK测定)中的荧光探针。

[0118] 本发明的第四方面提供了至少一种式(I)的化合物:



[0120] 或其盐,其中:

[0121] X是CR<sub>6</sub>或N;[0122] Y是CR<sub>3</sub>或N;

[0123]  $R_1$ 是H、F、Cl、Br、-CN、被零至4个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{1-3}$ 烷基、被零至4个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{3-4}$ 环烷基、被零至4个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{1-3}$ 烷氧基、-C(O)NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、-NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、-S(O)<sub>n</sub>R<sub>f</sub>、或-P(O)R<sub>f</sub>R<sub>f</sub>;

[0124] 每个 $R_{1a}$ 独立地是F、Cl、-CN、-OH、-OCH<sub>3</sub>、或-NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>;[0125] 每个 $R_a$ 独立地是H或 $C_{1-3}$ 烷基;

[0126]  $R_2$ 是H、被零至4个 $R_{2a}$ 取代的 $C_{1-3}$ 烷基、被零至4个 $R_{2a}$ 取代的 $C_{2-3}$ 烯基、或被零至4个 $R_{2a}$ 取代的 $C_{3-4}$ 环烷基；

[0127] 每个 $R_{2a}$ 独立地是F、Cl、-CN、-OH、-O( $C_{1-2}$ 烷基)、 $C_{3-4}$ 环烷基、 $C_{3-4}$ 烯基、或 $C_{3-4}$ 炔基；

[0128]  $R_3$ 是H、F、Cl、Br、-CN、 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-2}$ 氟烷基、 $C_{3-4}$ 环烷基、 $C_{3-4}$ 氟环烷基、-NO<sub>2</sub>、或被零至2个 $R_{3a}$ 取代的吡啶基；

[0129] 每个 $R_{3a}$ 是卤基、-CN、 $C_{1-3}$ 烷基、或 $C_{1-3}$ 烷氧基；

[0130]  $R_4$ 是- $CR_{4a}R_{4c}$ -L- $R_{4b}$ ；

[0131] L是 $L_1$ 或- $CH_2L_1$ -；

[0132]  $L_1$ 是-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NR<sub>d</sub>-、-NR<sub>d</sub>C(O)-、-NR<sub>d</sub>C(O)NR<sub>d</sub>-、-S(O)<sub>2</sub>-、-S(O)<sub>2</sub>NR<sub>d</sub>-、-NR<sub>d</sub>S(O)<sub>2</sub>-、或-P(O)R<sub>e</sub>-；

[0133]  $R_{4a}$ 是：

[0134] (i) H或被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-6}$ 烷基：F、Cl、-CN、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-SCH<sub>3</sub>、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、-NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、-S(O)<sub>2</sub>R<sub>f</sub>、或-NR<sub>a</sub>S(O)<sub>2</sub>R<sub>f</sub>；或

[0135] (ii)  $C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{5-14}$ 杂环基、 $C_{6-10}$ 芳基、或 $C_{5-14}$ 杂芳基，各自被零至4个 $R_b$ 取代；

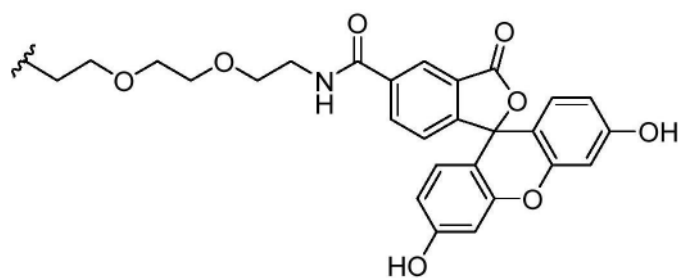
[0136] 每个 $R_b$ 独立地是F、Cl、Br、-CN、-OH、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 氟烷基、 $C_{1-4}$ 羟基烷基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>O( $C_{1-3}$ 烷基)、 $C_{1-4}$ 烷氧基、-O( $C_{1-4}$ 羟基烷基)、-O(CH)<sub>1-3</sub>O( $C_{1-3}$ 烷基)、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、-O(CH)<sub>1-3</sub>NR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>、-OCH<sub>2</sub>C≡CH、-C(O)( $C_{1-4}$ 烷基)、-C(O)OH、-C(O)O( $C_{1-4}$ 烷基)、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)NH( $C_{1-4}$ 烷基)、-C(O)N( $C_{1-4}$ 烷基)<sub>2</sub>、-NR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>、-NR<sub>a</sub>S(O)<sub>2</sub>( $C_{1-3}$ 烷基)、-NR<sub>a</sub>C(O)( $C_{1-3}$ 烷基)、-NR<sub>a</sub>C(O)O( $C_{1-4}$ 烷基)、-P(O)( $C_{1-3}$ 烷基)<sub>2</sub>、-S(O)<sub>2</sub>( $C_{1-3}$ 烷基)、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>( $C_{3-6}$ 环烷基)、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>(吗啉基)、 $C_{3-6}$ 环烷基、氰基环丙基、甲基氮杂环丁烷基、乙酰基氮杂环丁烷基、三唑基、四氢吡喃基、吗啉基、噻吩基、甲基哌啶基、或- $CR_cR_c$ (苯基)；

[0137]  $R_{4b}$ 是：

[0138] (i) -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>；

[0139] (ii) -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>C(O)OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>；或

[0140] (iii)



[0141]  $R_{4c}$ 是H或 $C_{1-6}$ 烷基；

[0142] 每个 $R_c$ 独立地是H或 $C_{1-2}$ 烷基；

[0143] 每个 $R_d$ 独立地是H或 $C_{1-6}$ 烷基；

[0144]  $R_e$ 是 $C_{1-6}$ 烷基；

[0145] 每个 $R_f$ 独立地是 $C_{3-4}$ 环烷基或被零至4个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{1-3}$ 烷基；

[0146] 每个 $R_5$ 独立地是F、Cl、-CN、-OH、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{1-6}$ 烷基、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{1-3}$ 烷氧基、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{2-4}$ 烯基、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{2-4}$ 炔基、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{3-4}$ 环烷基、被零至4个 $R_g$ 取代的苯基、被零至3个 $R_g$ 取代的噁二唑基、被零至4个 $R_g$ 取代的吡啶基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>(被零至4个 $R_g$ 取代的杂环基)、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>NR<sub>c</sub>C(O)( $C_{1-4}$ 烷基)、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>NR<sub>c</sub>C(O)

$O(C_{1-4}\text{烷基})$ 、 $-(CH_2)_{1-2}NR_cS(O)_2(C_{1-4}\text{烷基})$ 、 $-C(O)(C_{1-4}\text{烷基})$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)O(C_{1-4}\text{烷基})$ 、 $-C(O)O(C_{3-4}\text{环烷基})$ 、 $-C(O)NR_aR_a$ 、或 $-C(O)NR_a(C_{3-4}\text{环烷基})$ ，或两个 $R_5$ 与相同碳原子附接形成 $=O$ ；

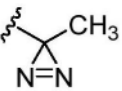
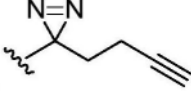
[0147] 每个 $R_g$ 独立地是 $F$ 、 $Cl$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $C_{1-3}\text{烷氧基}$ 、 $C_{1-3}\text{氟烷氧基}$ 、 $-O(CH_2)_{1-2}O(C_{1-2}\text{烷基})$ 、 $C_{3-5}\text{环烷基}$ 、或 $-NR_cR_c$ ；

[0148] 每个 $R_6$ 是 $H$ 、 $F$ 、 $Cl$ 、 $-CN$ 、 $-CH_3$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CF_3$ 、或 $-OCH_3$ ；

[0149]  $m$ 是零、1、2或3；并且

[0150]  $n$ 是零、1或2。第四方面的化合物可用作测定(诸如用于测量DGK抑制剂的活性的DGK测定)中的荧光探针。

[0151] 在一个实施方案中，提供了一种式(I)的化合物或其盐，其中： $R_1$ 是 $H$ 、 $F$ 、 $Cl$ 、 $Br$ 、 $-CN$ 、被零至4个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{1-3}\text{烷基}$ 、被零至3个 $R_{1a}$ 取代的环丙基、被零至3个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{1-3}\text{烷氧基}$ 、 $-C(O)NR_aR_a$ 、 $-NR_aR_a$ 、 $-S(O)_nCH_3$ 、或 $-P(O)(CH_3)_2$ ；每个 $R_{1a}$ 独立地是 $F$ 、 $Cl$ 、或 $-CN$ ； $R_2$ 是 $H$ 、被零至2个 $R_{2a}$ 取代的 $C_{1-2}\text{烷基}$ 、或被零至2个 $R_{2a}$ 取代的 $C_{2-3}\text{烯基}$ ；每个 $R_{2a}$ 独立地是 $F$ 、 $Cl$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-O(C_{1-2}\text{烷基})$ 、环丙基、 $C_{3-4}\text{烯基}$ 、或 $C_{3-4}\text{炔基}$ ； $R_3$ 是 $H$ 、 $F$ 、 $Cl$ 、 $Br$ 、 $-CN$ 、 $C_{1-2}\text{烷基}$ 、 $C_{1-2}\text{氟烷基}$ 、 $C_{3-4}\text{环烷基}$ 、 $-NO_2$ 、或被零至2个 $R_{3a}$ 取代的吡啶基；每个 $R_{3a}$ 是 $F$ 、 $Cl$ 、 $Br$ 、 $-CN$ 、 $C_{1-3}\text{烷基}$ 、或 $C_{1-2}\text{烷氧基}$ ； $R_{4a}$ 是：(i) $H$ 或被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-4}\text{烷基}$ ： $F$ 、 $Cl$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-SCH_3$ 、 $C_{1-2}\text{氟烷氧基}$ 、或 $-NR_aR_a$ ；或(ii) $C_{3-6}\text{环烷基}$ 、 $C_{5-10}\text{杂环基}$ 、苯基、或 $C_{5-10}\text{杂芳基}$ ，各自被零至4个 $R_b$ 取代；每个 $R_b$ 独立地是 $F$ 、 $Cl$ 、 $Br$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $C_{1-4}\text{烷基}$ 、 $C_{1-2}\text{氟烷基}$ 、 $C_{1-3}\text{羟基烷基}$ 、 $-(CH_2)_{1-2}O(C_{1-3}\text{烷基})$ 、 $C_{1-3}\text{烷氧基}$ 、 $-O(C_{1-3}\text{羟基烷基})$ 、 $-O(CH)_{1-3}O(C_{1-3}\text{烷基})$ 、 $C_{1-2}\text{氟烷氧基}$ 、 $-O(CH)_{1-2}NR_cR_c$ 、 $-OCH_2CH=CH_2$ 、 $-OCH_2C\equiv CH$ 、 $-C(O)(C_{1-3}\text{烷基})$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)O(C_{1-3}\text{烷基})$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NH(C_{1-3}\text{烷基})$ 、 $-C(O)N(C_{1-3}\text{烷基})_2$ 、 $-NR_cR_c$ 、 $-NR_aS(O)_2(C_{1-2}\text{烷基})$ 、 $-NR_aC(O)(C_{1-2}\text{烷基})$ 、 $-NR_aC(O)O(C_{1-3}\text{烷基})$ 、 $-P(O)(C_{1-2}\text{烷基})_2$ 、 $-S(O)_2(C_{1-2}\text{烷基})$ 、 $-O(CH_2)_{1-2}(C_{3-6}\text{环烷基})$ 、 $-O(CH_2)_{1-2}(\text{吗啉基})$ 、 $C_{3-6}\text{环烷基}$ 、或 $-CR_cR_c(\text{苯基})$ ； $R_{4b}$ 是：(i) $H$ 、 $-CN$ 、或被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-4}\text{烷基}$ ： $F$ 、 $Cl$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-SCH_3$ 、 $C_{1-3}\text{氟烷氧基}$ 、 $-NR_aR_a$ 、 $-S$

$(O)_2(C_{1-3}\text{烷基})$ 、环丙基、羟基环丙基、、或；或(ii) $C_{3-6}\text{环烷基}$ 、 $C_{5-10}$

杂环基、苯基、萘基、或 $C_{5-10}\text{杂芳基}$ ，各自被零至3个 $R_b$ 取代； $R_{4c}$ 是 $H$ 或 $C_{1-3}\text{烷基}$ ；每个 $R_d$ 独立地是 $H$ 或 $C_{1-4}\text{烷基}$ ； $R_e$ 是 $C_{1-4}\text{烷基}$ ；每个 $R_5$ 独立地是 $F$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{1-5}\text{烷基}$ 、被零至3个 $R_g$ 取代的 $C_{1-2}\text{烷氧基}$ 、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{2-3}\text{烯基}$ 、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{2-3}\text{炔基}$ 、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{3-4}\text{环烷基}$ 、被零至3个 $R_g$ 取代的苯基、被零至3个 $R_g$ 取代的噁二唑基、被零至3个 $R_g$ 取代的吡啶基、 $-(CH_2)_{1-2}$ (被零至4个 $R_g$ 取代的杂环基)、 $-(CH_2)_{1-2}NR_cC(O)(C_{1-4}\text{烷基})$ 、 $-(CH_2)_{1-2}NR_cC(O)O(C_{1-4}\text{烷基})$ 、 $-(CH_2)_{1-2}NR_cS(O)_2(C_{1-4}\text{烷基})$ 、 $-C(O)(C_{1-4}\text{烷基})$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)O(C_{1-4}\text{烷基})$ 、 $-C(O)O(C_{3-4}\text{环烷基})$ 、 $-C(O)NR_aR_a$ 、或 $-C(O)NR_a(C_{3-4}\text{环烷基})$ ，或两个 $R_5$ 与相同碳原子附接形成 $=O$ ；每个 $R_6$ 是 $H$ 、 $F$ 、 $Cl$ 、 $-CN$ 、或 $-CH_3$ ；并且 $m$ 是零、1、2或3。

[0152] 在一个实施方案中，提供了一种式(I)的化合物或其盐，其中： $R_1$ 是 $H$ 、 $F$ 、 $Cl$ 、 $Br$ 、 $-CN$ 、被零至4个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{1-3}\text{烷基}$ 、被零至3个 $R_{1a}$ 取代的环丙基、被零至3个 $R_{1a}$ 取代的 $C_{1-3}\text{烷氧基}$ 、 $-C(O)NR_aR_a$ 、 $-NR_aR_a$ 、 $-S(O)_nCH_3$ 、或 $-P(O)(CH_3)_2$ ；每个 $R_{1a}$ 独立地是 $F$ 、 $Cl$ 、或 $-CN$ ； $R_2$ 是 $H$ 、被零至2个 $R_{2a}$ 取代的 $C_{1-2}\text{烷基}$ 、或被零至2个 $R_{2a}$ 取代的 $C_{2-3}\text{烯基}$ ；每个 $R_{2a}$ 独立地是 $F$ 、 $Cl$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、

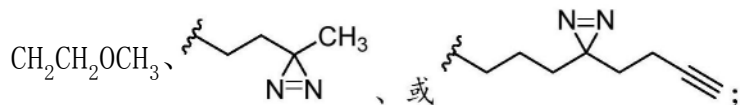
0(C<sub>1-2</sub>烷基)、环丙基、C<sub>3-4</sub>烯基、或C<sub>3-4</sub>炔基;R<sub>3</sub>是H、F、Cl、Br、-CN、C<sub>1-2</sub>烷基、C<sub>1-2</sub>氟烷基、C<sub>3-4</sub>环烷基、-NO<sub>2</sub>、或被零至2个R<sub>3a</sub>取代的吡啶基;每个R<sub>3a</sub>是F、Cl、Br、-CN、C<sub>1-3</sub>烷基、或C<sub>1-2</sub>烷氧基;L<sub>1</sub>是-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NR<sub>d</sub>-、-NR<sub>d</sub>C(O)-、-S(O)<sub>2</sub>NR<sub>d</sub>-、-NR<sub>d</sub>S(O)<sub>2</sub>-、或-P(O)R<sub>e</sub>-;R<sub>4a</sub>是:  
(i)H或被零至4个独立地选自以下的取代基取代的C<sub>1-4</sub>烷基:F、Cl、-CN、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-SCH<sub>3</sub>、C<sub>1-2</sub>氟烷氧基、或-NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>;或(ii)C<sub>3-6</sub>环烷基、C<sub>5-10</sub>杂环基、苯基、或C<sub>5-10</sub>杂芳基,各自被零至4个R<sub>b</sub>取代;每个R<sub>b</sub>独立地是F、Cl、Br、-CN、-OH、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-2</sub>氟烷基、C<sub>1-3</sub>羟基烷基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>O(C<sub>1-3</sub>烷基)、C<sub>1-3</sub>烷氧基、-O(C<sub>1-3</sub>羟基烷基)、-O(CH)<sub>1-3</sub>O(C<sub>1-3</sub>烷基)、C<sub>1-2</sub>氟烷氧基、-O(CH)<sub>1-2</sub>NR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>、-OCH<sub>2</sub>C≡CH、-C(O)(C<sub>1-3</sub>烷基)、-C(O)OH、-C(O)O(C<sub>1-3</sub>烷基)、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)NH(C<sub>1-3</sub>烷基)、-C(O)N(C<sub>1-3</sub>烷基)<sub>2</sub>、-NR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>、-NR<sub>a</sub>S(O)<sub>2</sub>(C<sub>1-2</sub>烷基)、-NR<sub>a</sub>C(O)(C<sub>1-2</sub>烷基)、-NR<sub>a</sub>C(O)O(C<sub>1-3</sub>烷基)、-P(O)(C<sub>1-2</sub>烷基)<sub>2</sub>、-S(O)<sub>2</sub>(C<sub>1-2</sub>烷基)、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>(C<sub>3-6</sub>环烷基)、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>(吗啉基)、C<sub>3-6</sub>环烷基、或-CR<sub>c</sub>R<sub>c</sub>(苯基);R<sub>4b</sub>是:(i)H、被零至4个独立地选自以下的取代基取代的C<sub>1-4</sub>烷基:F、Cl、-CN、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-SCH<sub>3</sub>、C<sub>1-3</sub>氟烷氧基、和-NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>;



或(ii)C<sub>3-6</sub>环烷基、C<sub>5-10</sub>杂环基、苯基、萘基、或

C<sub>5-10</sub>杂芳基,各自被零至3个R<sub>b</sub>取代;R<sub>4c</sub>是H或C<sub>1-3</sub>烷基;每个R<sub>d</sub>独立地是H或C<sub>1-4</sub>烷基;R<sub>e</sub>是C<sub>1-4</sub>烷基;每个R<sub>5</sub>独立地是F、-CN、-OH、被零至4个R<sub>g</sub>取代的C<sub>1-5</sub>烷基、被零至3个R<sub>g</sub>取代的C<sub>1-2</sub>烷氧基、被零至4个R<sub>g</sub>取代的C<sub>2-3</sub>烯基、被零至4个R<sub>g</sub>取代的C<sub>2-3</sub>炔基、被零至4个R<sub>g</sub>取代的C<sub>3-4</sub>环烷基、被零至3个R<sub>g</sub>取代的苯基、被零至3个R<sub>g</sub>取代的噁二唑基、被零至3个R<sub>g</sub>取代的吡啶基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>(被零至4个R<sub>g</sub>取代的杂环基)、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>NR<sub>c</sub>C(O)(C<sub>1-4</sub>烷基)、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>NR<sub>c</sub>C(O)O(C<sub>1-4</sub>烷基)、-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>NR<sub>c</sub>S(O)<sub>2</sub>(C<sub>1-4</sub>烷基)、-C(O)(C<sub>1-4</sub>烷基)、-C(O)OH、-C(O)O(C<sub>1-4</sub>烷基)、-C(O)O(C<sub>3-4</sub>环烷基)、-C(O)NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、或-C(O)NR<sub>a</sub>(C<sub>3-4</sub>环烷基),或两个R<sub>5</sub>与相同碳原子附接形成=O;每个R<sub>6</sub>是H、F、Cl、-CN、或-CH<sub>3</sub>;并且m是零、1、2或3。

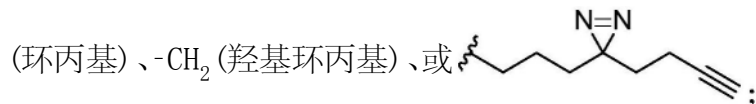
[0153] 在一个实施方案中,提供了式(I)的化合物或其盐,其中:X是N;R<sub>1</sub>是-CN;R<sub>2</sub>是-CH<sub>3</sub>;R<sub>3</sub>是H;L是-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NH-、-C(O)N(CH<sub>3</sub>)-、-CH<sub>2</sub>C(O)O-、-CH<sub>2</sub>C(O)NH-、-CH<sub>2</sub>C(O)N(CH<sub>3</sub>)-、或-P(O)(CH<sub>3</sub>)-;R<sub>4a</sub>是:(i)-CH<sub>3</sub>;或(ii)苯基或吡啶基,各自被零至2个独立地选自以下的取代基取代:F、-CH<sub>3</sub>、-CF<sub>3</sub>、和-OCH<sub>3</sub>;R<sub>4b</sub>是:(i)H、C<sub>1-4</sub>烷基-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>H<sub>2</sub>OH、-



或(ii)环丙基、环戊基、吗啉基、吡咯

基、甲基吡唑基、异噁唑基、哌啶基、或甲基哌嗪基;R<sub>4c</sub>是H;每个R<sub>5</sub>独立地是H、-CH<sub>3</sub>、或-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>;并且m是零、1或2。

[0154] 在一个实施方案中,提供了式(I)的化合物或其盐,其中:X是N;Y是N;R<sub>1</sub>是-CN;R<sub>2</sub>是-CH<sub>3</sub>;R<sub>3</sub>是H;L是-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NR<sub>d</sub>-、-C(O)NH-、-C(O)NHS(O)<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>C(O)-、-CH<sub>2</sub>NR<sub>d</sub>-、-CH<sub>2</sub>NHC(O)-、-CH<sub>2</sub>NHC(O)O-、-CH<sub>2</sub>NHS(O)<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>C(O)O-、-CH<sub>2</sub>C(O)NR<sub>d</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHC(O)O-、或-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHS(O)<sub>2</sub>-;R<sub>4a</sub>是:被-CF<sub>3</sub>或-OCH<sub>3</sub>取代的苯基;R<sub>4b</sub>是:(i)H、-CN、C<sub>1-4</sub>烷基、-CH<sub>2</sub>CN、-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>



或(ii)氮杂环丁烷基、环丙基、吗啉

基、哌啶基、吡咯烷基、二氧化硫代吗啉基、或氮杂螺[2.5]辛基,各自被零至2个 $R_b$ 取代;每个 $R_b$ 独立地是F、-OH、-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>OH、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>、-OCH<sub>3</sub>、或-S(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>;  $R_{4c}$ 是H;每个 $R_5$ 独立地是H、-CH<sub>3</sub>或-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>;并且m是零、1或2。

[0155] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $R_1$ 是H、F、Cl、Br、-CN、被零至4个 $R_{1a}$ 取代的C<sub>1-3</sub>烷基、被零至3个 $R_{1a}$ 取代的环丙基、被零至3个 $R_{1a}$ 取代的C<sub>1-3</sub>烷氧基、-C(O)NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、-NR<sub>a</sub>R<sub>a</sub>、-S(O)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>、或-P(O)(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。此实施方案中包括这样的化合物,其中 $R_1$ 是H、F、Cl、Br、-CN、-CH<sub>3</sub>、-CHF<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、环丙基、或-OCH<sub>3</sub>。此实施方案还包括这样的化合物,其中 $R_1$ 是-CN。

[0156] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $R_2$ 是H、被零至2个 $R_{2a}$ 取代的C<sub>1-2</sub>烷基、或被零至2个 $R_{2a}$ 取代的C<sub>2-3</sub>烯基。此实施方案包括这样的化合物,其中 $R_2$ 是H、-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CN、或-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>F。此实施方案还包括这样的化合物,其中 $R_2$ 是-CH<sub>3</sub>。

[0157] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $R_3$ 是H、F、Cl、Br、-CN、C<sub>1-2</sub>烷基、C<sub>1-2</sub>氟烷基、C<sub>3-4</sub>环烷基、-NO<sub>2</sub>、或被零至2个 $R_{3a}$ 取代的吡啶基。此实施方案包括这样的化合物,其中 $R_3$ 是H、F、Cl、-CN、-CH<sub>3</sub>、-CHF<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、环丙基、或-NO<sub>2</sub>。此实施方案还包括这样的化合物,其中 $R_3$ 是H。

[0158] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $R_1$ 是H、F、Cl、Br、-CN、-CH<sub>3</sub>、-CHF<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、环丙基、或-OCH<sub>3</sub>;  $R_2$ 是H、-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CN、或-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>F;并且 $R_3$ 是H、F、Cl、-CN、-CH<sub>3</sub>、-CHF<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、环丙基、或-NO<sub>2</sub>。此实施方案包括这样的化合物,其中 $R_1$ 是-CN;  $R_2$ 是-CH<sub>3</sub>;并且 $R_3$ 是H。

[0159] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中L是L<sub>1</sub>。

[0160] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中L是-CH<sub>2</sub>L<sub>1</sub>-。此实施方案包括这样的化合物,其中L是-CD<sub>2</sub>L<sub>1</sub>-。

[0161] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中L<sub>1</sub>是-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NR<sub>d</sub>-、-C(O)NR<sub>d</sub>O-、-C(O)NR<sub>d</sub>S(O)<sub>2</sub>-、-NR<sub>d</sub>-、-NR<sub>d</sub>C(O)-、-NR<sub>d</sub>C(O)O-、-NR<sub>d</sub>C(O)NR<sub>d</sub>-、-C(O)NR<sub>d</sub>O-、-S(O)<sub>2</sub>-、-S(O)<sub>2</sub>NR<sub>d</sub>-、-NR<sub>d</sub>S(O)<sub>2</sub>-、或-P(O)R<sub>e</sub>-。此实施方案包括这样的化合物,其中L<sub>1</sub>是-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NR<sub>d</sub>-、-C(O)NHO-、-C(O)NHS(O)<sub>2</sub>-、-NR<sub>d</sub>-、-NHC(O)-、-NHC(O)O-、-NHS(O)<sub>2</sub>-、或-P(O)(CH<sub>3</sub>)-;条件是当L是-CH<sub>2</sub>NR<sub>d</sub>-时,则 $R_{4b}$ 不是H或未经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。此实施方案还包括这样的化合物,其中L<sub>1</sub>是-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)ND-、-C(O)NDO-、-C(O)NDS(O)<sub>2</sub>-、-ND-、-NDC(O)-、-NDC(O)O-、-NDS(O)<sub>2</sub>-、或-P(O)(CH<sub>3</sub>)-。

[0162] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中L<sub>1</sub>是-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NR<sub>d</sub>-、-NR<sub>d</sub>C(O)-、-S(O)<sub>2</sub>NR<sub>d</sub>-、-NR<sub>d</sub>S(O)<sub>2</sub>-、或-P(O)R<sub>e</sub>-。此实施方案包括这样的化合物,其中L<sub>1</sub>是-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NH-、-C(O)N(CH<sub>3</sub>)-、-CH<sub>2</sub>C(O)O-、-CH<sub>2</sub>C(O)NH-、-CH<sub>2</sub>C(O)N(CH<sub>3</sub>)-、或-P(O)(CH<sub>3</sub>)-。此实施方案还包括这样的化合物,其中L是-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)ND-、-C(O)N(CD<sub>3</sub>)-、-CD<sub>2</sub>C(O)O-、-CH<sub>2</sub>C(O)ND-、-CH<sub>2</sub>C(O)N(CD<sub>3</sub>)-、或-P(O)(CD<sub>3</sub>)-。

[0163] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中L<sub>1</sub>是-C(O)-或-C(O)O-。

[0164] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中L<sub>1</sub>是-C(O)NR<sub>4d</sub>-、-NR<sub>4d</sub>C(O)-、或-NR<sub>4d</sub>C(O)NR<sub>4d</sub>-。此实施方案包括这样的化合物,其中每个 $R_{4d}$ 独立地是H、D、-CH<sub>3</sub>、或-CD<sub>3</sub>。

[0165] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $L_1$ 是 $-C(O)NR_dO-$ 或 $-C(O)NR_dS(O)_2-$ 。此实施方案包括这样的化合物,其中每个 $R_{4d}$ 独立地是H、D、 $-CH_3$ 、或 $-CD_3$ 。

[0166] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $L_1$ 是 $-NR_d-$ 、 $-NR_dC(O)-$ 、 $-NR_dC(O)O-$ 、或 $-NR_dC(O)NR_d-$ ;条件是当L是 $-CH_2NR_d-$ 时,则 $R_{4b}$ 不是H或未经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。

[0167] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $L_1$ 是 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR_{4d}-$ 、或 $-NR_{4d}S(O)_2-$ 。此实施方案包括这样的化合物,其中每个 $R_{4d}$ 独立地是H、D、 $-CH_3$ 、或 $-CD_3$ 。

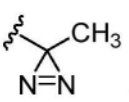
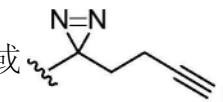
[0168] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $L_1$ 是 $-P(O)R_{4e}-$ 。此实施方案包括这样的化合物,其中每个 $R_{4d}$ 独立地是H、D、 $-CH_3$ 、或 $-CD_3$ 。

[0169] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $R_{4a}$ 是:(i)H或被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-4}$ 烷基:F、Cl、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-SCH_3$ 、 $C_{1-2}$ 氟烷氧基、或 $-NR_aR_a$ ;或(ii) $C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{5-10}$ 杂环基、苯基、或 $C_{5-10}$ 杂芳基,各自被零至4个 $R_b$ 取代。此实施方案包括这样的化合物,其中 $R_{4a}$ 是:(i) $-CH_3$ ;或(ii)苯基或吡啶基,各自被零至2个独立地选自以下的取代基取代:F、 $-CH_3$ 、 $-CF_3$ 、和 $-OCH_3$ 。此外,此实施方案包括这样的化合物,其中(i) $-CH_3$ ;或(ii)苯基或吡啶基,各自被零至2个独立地选自以下的取代基取代:F、 $-CH_3$ 、 $-CF_3$ 、和 $-OCH_3$ 。

[0170] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $R_{4a}$ 是H或被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-6}$ 烷基:F、Cl、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-SCH_3$ 、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、 $-NR_aR_a$ 、 $-S(O)_2R_f$ 、或 $-NR_aS(O)_2R_f$ 。此实施方案包括这样的化合物,其中 $R_{4a}$ 是H或被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-4}$ 烷基:F、Cl、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-SCH_3$ 、 $C_{1-2}$ 氟烷氧基、或 $-NR_aR_a$ 。此实施方案还包括这样的化合物,其中 $R_{4a}$ 是 $-CH_3$ 。

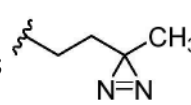
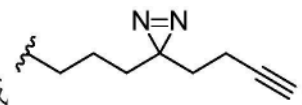
[0171] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $R_{4a}$ 是 $C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{5-14}$ 杂环基、 $C_{6-10}$ 芳基、或 $C_{5-14}$ 杂芳基,各自被零至4个 $R_b$ 取代。此实施方案包括这样的化合物,其中 $R_{4a}$ 是 $C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{5-10}$ 杂环基、苯基、萘基、或 $C_{5-10}$ 杂芳基,各自被零至3个 $R_b$ 取代。此实施方案还包括这样的化合物,其中 $R_{4a}$ 是苯基或吡啶基,各自被零至2个独立地选自以下的取代基取代:F、 $-CH_3$ 、 $-CF_3$ 、和 $-OCH_3$ 。

[0172] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $R_{4b}$ 是:(i)H、 $-CN$ 、或被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-4}$ 烷基:F、Cl、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-SCH_3$ 、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、 $-NR_aR_a$ 、 $-S(O)_2(C_{1-3}$ 烷基)、环丙基、或羟基环丙基、

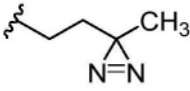
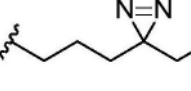
或  或  或(ii)

$C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{5-10}$ 杂环基、苯基、萘基、或 $C_{5-10}$ 杂芳基,各自被零至3个 $R_b$ 取代。

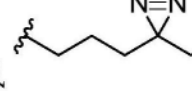
[0173] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $R_{4b}$ 是:(i)H、被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-4}$ 烷基:F、Cl、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-SCH_3$ 、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、和

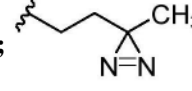
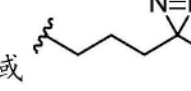
$-NR_aR_a$ ;  或  或(ii) $C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{5-10}$ 杂环基、苯基、萘基、

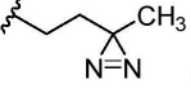
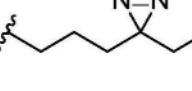
或 $C_{5-10}$ 杂芳基,各自被零至3个 $R_b$ 取代。此实施方案包括这样的化合物,其中 $R_{4b}$ 是:(i)H、 $C_{1-4}$

烷基- $\text{CH}_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{H}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 、、或 ；或(ii)环丙

基、环戊基、吗啉基、吡咯基、甲基吡唑基、异噁唑基、哌啶基、或甲基哌嗪基。

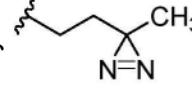
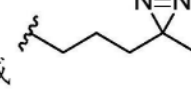
[0174] 在一个实施方案中，提供了一种式(I)的化合物或其盐，其中 $R_{4b}$ 是H、被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-6}$ 烷基： $\text{F}$ 、 $\text{Cl}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{SCH}_3$ 、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、 $-\text{NR}_a\text{R}_a$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}_f$ 、 $-\text{NR}_a\text{S}(\text{O})_2\text{R}_f$ 、、或 。此实施方案包括这

样的化合物，其中 $R_{4b}$ 是H、被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-4}$ 烷基： $\text{F}$ 、 $\text{Cl}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{SCH}_3$ 、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、和 $-\text{NR}_a\text{R}_a$ ；、或 。此外，

此实施方案包括这样的化合物，其中 $R_{4b}$ 是：(i) H、 $C_{1-4}$ 烷基- $\text{CH}_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{H}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 、、或 ；或(ii)环丙基、环戊基、吗啉基、吡咯基、甲基吡唑

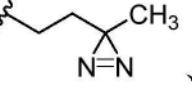
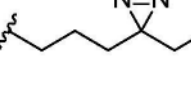
基、异噁唑基、哌啶基、或甲基哌嗪基。

[0175] 在一个实施方案中，提供了一种式(I)的化合物或其盐，其中 $R_{4b}$ 是(i) H、 $-\text{CN}$ 、 $C_{1-4}$ 烷基、 $-\text{CH}_2\text{CN}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}$

$(\text{CH}_3)_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2$ (环丙基)、 $-\text{CH}_2$ (羟基环丙基)、、或 ；或

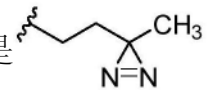
(ii) 氮杂环丁烷基、环丙基、环戊基、吗啉基、吡唑基、异噁唑基、哌啶基、哌嗪基、吡唑基、吡咯烷基、二氧化硫代吗啉基、或氮杂螺[2.5]辛基，各自被零至2个 $R_b$ 取代。此实施方案包括这样的化合物，其中每个 $R_b$ 独立地是 $\text{F}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、或 $-\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$ 。

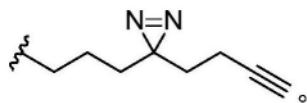
[0176] 在一个实施方案中，提供了一种式(I)的化合物或其盐，其中 $R_{4b}$ 是(i) H、 $-\text{CN}$ 、 $C_{1-4}$ 烷基、 $-\text{CH}_2\text{CN}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}$

$(\text{CH}_3)_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2$ (环丙基)、 $-\text{CH}_2$ (羟基环丙基)、、或 。

[0177] 在一个实施方案中，提供了一种式(I)的化合物或其盐，其中 $R_{4b}$ 是氮杂环丁烷基、环丙基、环戊基、吗啉基、吡唑基、异噁唑基、哌啶基、哌嗪基、吡唑基、吡咯烷基、二氧化硫代吗啉基、或氮杂螺[2.5]辛基，各自被零至2个 $R_b$ 取代。此实施方案包括这样的化合物，其中每个 $R_b$ 独立地是 $\text{F}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、或 $-\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$ 。

[0178] 在一个实施方案中，提供了一种式(I)的化合物或其盐，其中 $R_{4b}$ 是H、被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-6}$ 烷基： $\text{F}$ 、 $\text{Cl}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{SCH}_3$ 、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、 $-\text{NR}_a\text{R}_a$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}_f$ 、或 $-\text{NR}_a\text{S}(\text{O})_2\text{R}_f$ 。此实施方案包括这样的化合物，其中 $R_{4b}$ 是H、被零至4个独立地选自以下的取代基取代的 $C_{1-4}$ 烷基： $\text{F}$ 、 $\text{Cl}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{SCH}_3$ 、 $C_{1-3}$ 氟烷氧基、和 $-\text{NR}_a\text{R}_a$ 。此外，此实施方案包括这样的化合物，其中 $R_{4b}$ 是H、 $C_{1-4}$ 烷基- $\text{CH}_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{H}_2\text{OH}$ 、或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 。

[0179] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $R_{4b}$ 是 、或

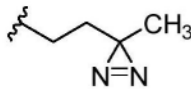


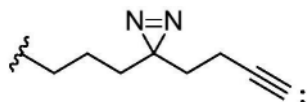
[0180] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $R_{4b}$ 是 $C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{5-14}$ 杂环基、 $C_{6-10}$ 芳基、或 $C_{5-14}$ 杂芳基,各自被零至4个 $R_b$ 取代。此实施方案包括这样的化合物,其中 $R_{4b}$ 是 $C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{5-10}$ 杂环基、苯基、萘基、或 $C_{5-10}$ 杂芳基,各自被零至3个 $R_b$ 取代。此外,此实施方案包括这样的化合物,其中 $R_{4b}$ 是环丙基、环戊基、吗啉基、吡咯基、甲基吡唑基、异噁唑基、哌啶基、或甲基哌嗪基。

[0181] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $R_{4c}$ 是H或 $C_{1-3}$ 烷基。此实施方案包括这样的化合物,其中

[0182]  $R_{4c}$ 是H。此实施方案还包括这样的化合物,其中 $R_{4c}$ 是D。

[0183] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $R_{4a}$ 是:(i)  $-CH_3$ ;或(ii) 苯基或吡啶基,各自被零至2个独立地选自以下的取代基取代: $F$ 、 $-CH_3$ 、 $-CF_3$ 、

和 $-OCH_3$ ;  $R_{4b}$ 是:(i) H、 $C_{1-4}$ 烷基、 $-CH_2CF_3$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-CH_2CH_2OCH_3$ 、、或



或(ii) 环丙基、环戊基、吗啉基、吡咯基、甲基吡唑基、异噁唑基、哌啶

基、或甲基哌嗪基;并且 $R_{4c}$ 是H。

[0184] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $m$ 是1、2、或3;并且每个 $R_5$ 独立地是 $F$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{1-5}$ 烷基、被零至3个 $R_g$ 取代的 $C_{1-2}$ 烷氧基、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{2-3}$ 烯基、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{2-3}$ 炔基、被零至4个 $R_g$ 取代的 $C_{3-4}$ 环烷基、被零至3个 $R_g$ 取代的苯基、被零至3个 $R_g$ 取代的噁二唑基、被零至3个 $R_g$ 取代的吡啶基、 $-(CH_2)_{1-2}$ (被零至4个 $R_g$ 取代的杂环基)、 $-(CH_2)_{1-2}NR_cC(O)(C_{1-4}烷基)$ 、 $-(CH_2)_{1-2}NR_cC(O)O(C_{1-4}烷基)$ 、 $-(CH_2)_{1-2}NR_cS(O)_2(C_{1-4}烷基)$ 、 $-C(O)(C_{1-4}烷基)$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)O(C_{1-4}烷基)$ 、 $-C(O)O(C_{3-4}环烷基)$ 、 $-C(O)NR_aR_a$ 、或 $-C(O)NR_a(C_{3-4}环烷基)$ ,或两个 $R_5$ 与相同碳原子附接形成 $=O$ 。此实施方案中包括这样的化合物,其中每个 $R_5$ 独立地是 $F$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、被零至3个 $R_g$ 取代的 $C_{1-2}$ 烷基、被零至3个 $R_g$ 取代的 $C_{1-2}$ 烷氧基、被零至2个 $R_g$ 取代的 $C_{3-4}$ 环烷基、 $-C(O)(C_{1-4}烷基)$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)O(C_{1-2}烷基)$ 、或 $-C(O)NR_aR_a$ ,或两个 $R_5$ 与相同碳原子附接形成 $=O$ 。此实施方案中还包括这样的化合物,其中每个 $R_5$ 是 $-CH_3$ ,或两个 $R_5$ 与相同碳原子附接形成 $=O$ 。

[0185] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $m$ 是2并且两个 $R_5$ 与相同碳附接以形成 $=O$ 。

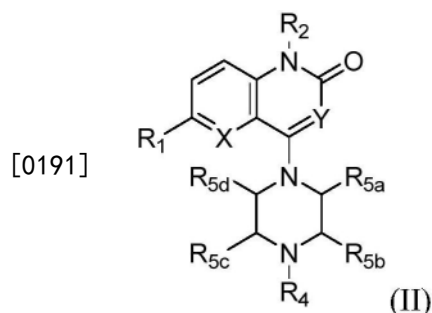
[0186] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $m$ 是零。

[0187] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $m$ 是1、2、或3。此实施方案中包括这样的化合物,其中 $m$ 是1或2。此实施方案中还包括其中 $m$ 是1的化合物。

[0188] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中 $m$ 是2或3。此实施方案中包括这样的化合物,其中 $m$ 是2。

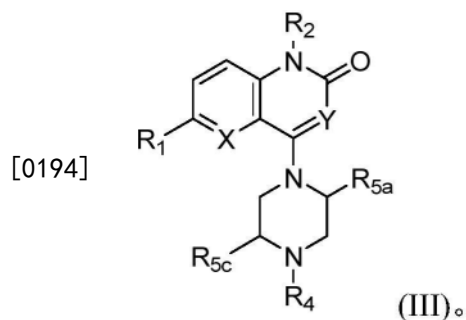
[0189] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中m是3。

[0190] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其具有式(II)的结构:



[0192] 其中 $R_{5a}$ 、 $R_{5b}$ 、 $R_{5c}$ 和 $R_{5d}$ 中的一个、两个、或三个各自是 $R_5$ 并且 $R_{5a}$ 、 $R_{5b}$ 、 $R_{5c}$ 和 $R_{5d}$ 中的剩余部分各自是氢。此实施方案中包括这样的化合物,其中每个 $R_5$ 独立地是 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CHC}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{F}$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{F}$ 、 $-\text{CF}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OH}$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{OH})\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{环丙基})$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{环丙基})$ 、环丙基、苯基、甲基噁二唑基、或甲基吡啶基。

[0193] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其具有式(III)的结构:



[0195] 在一个实施方案中,提供了一种式(III)的化合物或其盐,其中 $R_{5a}$ 是 $-\text{CH}_3$ 并且 $R_{5c}$ 是 $-\text{CH}_3$ 。

[0196] 在一个实施方案中,提供了一种式(III)的化合物或其盐,其中 $R_{5a}$ 是 $-\text{CH}_3$ 并且 $R_{5c}$ 是 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 。

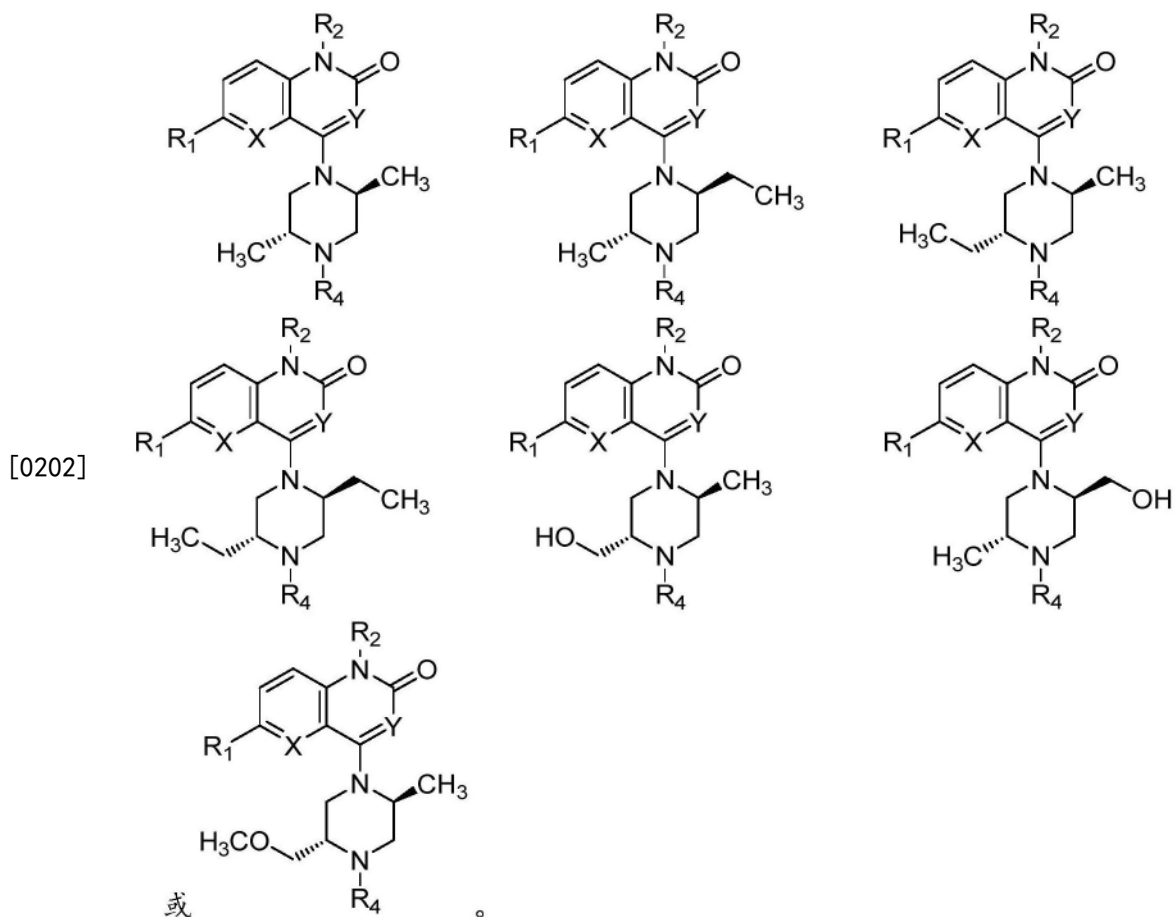
[0197] 在一个实施方案中,提供了一种式(III)的化合物或其盐,其中 $R_{5a}$ 是 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 并且 $R_{5c}$ 是 $-\text{CH}_3$ 。

[0198] 在一个实施方案中,提供了一种式(III)的化合物或其盐,其中 $R_{5a}$ 是 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 并且 $R_{5c}$ 是 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 。

[0199] 在一个实施方案中,提供了一种式(III)的化合物或其盐,其中 $R_{5a}$ 是 $-\text{CH}_3$ 并且 $R_{5c}$ 是 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 。

[0200] 在一个实施方案中,提供了一种式(III)的化合物或其盐,其中 $R_{5a}$ 是 $-\text{CH}_3$ 并且 $R_{5c}$ 是 $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 。

[0201] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其具有结构:



[0203] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中所述化合物是:2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸异丙酯(1-2);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(5-氟吡啶-2-基)乙酸甲酯(3-4);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-(2,2-二氟乙基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺(5-6);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸甲酯(7-8);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸(9-10);8-((2S,5R)-4-(1-(4-氟苯基)-2-氧代-2-(哌啶-1-基)乙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈(11-12);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺(13-14);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)-N-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)乙酰胺(15-16);8-((2S,5R)-4-(1-(4-氟苯基)-2-吗啉代-2-氧代乙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈(17-18);8-((2S,5R)-4-(1-(4-氟苯基)-2-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈(19-20);8-((2S,5R)-4-(1-(4-氟苯基)-2-氧代-2-(吡咯烷-1-基)乙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈(21-22);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)-N-

N-二甲基乙酰胺(23-24);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)-N-甲基乙酰胺(25-26);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)-N-(2-羟基乙基)乙酰胺(27-28);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)-N-(异噁唑-3-基)乙酰胺(29-30);3-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-3-(4-氟苯基)丙酸甲酯(31-32);N-(叔丁基)-3-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-3-(4-氟苯基)丙酰胺(33-34);3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)-N-(丙-2-基)丙酰胺(35);3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)-N-(丙-2-基)丙酰胺(36);3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)丙酰胺(37);3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)丙酰胺(38);3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)-N-甲基丙酰胺(39);3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)-N-甲基丙酰胺(40);3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)-N-甲基-N-(丙-2-基)丙酰胺(41);3-[(2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基]-3-(4-氟苯基)-N-甲基-N-(丙-2-基)丙酰胺(42);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-环戊基丙酰胺(43-44);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)丙酰胺(45);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)丙酰胺(46);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-环丙基丙酰胺(47);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-环丙基丙酰胺(48);8-((2S,5R)-4-((二甲基磷酰基)(4-氟苯基)甲基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈(49-50);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸3-(3-(丁-3-炔-1-基)-3H-二吡丙因-3-基)丙酯(57);或2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸2-(3-甲基-3H-二吡丙因-3-基)乙酯(62)。

[0204] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中所述化合物是:2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯(51);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸(52);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-吗啉代-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(53-54);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-(2-

甲氧基乙基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(55-56);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-甲氧基苯基)乙酸甲酯(58);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-甲氧基苯基)乙酸(59);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-甲氧基苯基)乙酸3-(3-(丁-3-炔-1-基)-3H-二吡丙因-3-基)丙酯(60-61);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯(69-70);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸(71-72);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-((1-羟基环丙基)甲基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(73-74);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-吗啉代-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-6-(12-甲基)-1-甲基吡啶并[3,2-d]嘧啶-2(1H)-酮(75-76);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-(2-甲氧基乙基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(77-78);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-(2-羟基-2-甲基丙基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(79-80);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-(3-羟基-3-甲基氮杂环丁烷-1-基)-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(81-82);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-氧代-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(83-84);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-(环丙基甲基)-N-甲基-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(85-86);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-(3-(羟基甲基)氮杂环丁烷-1-基)-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(87-88);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-(3-(2-羟基丙-2-基)氮杂环丁烷-1-基)-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(89-90);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-(3-(甲基磺酰基)氮杂环丁烷-1-基)-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(91-92);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-(4-(甲基磺酰基)哌啶-1-基)-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(93-94);4-((2S,5R)-4-(2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(95-96);4-((2S,5R)-4-(2-(1,1-二氧化硫代吗啉代)-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(97-98);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-(3-甲氧基-3-甲基氮杂环丁烷-1-基)-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(99-100);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-((S)-3-羟基吡咯烷-1-基)-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(101-102);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-((S)-2-(羟基甲基)吡咯烷-1-基)-

2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(103-104);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-((R)-2-(羟基甲基)吡咯烷-1-基)-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(105-106);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-((R)-3-羟基吡咯烷-1-基)-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(107-108);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-((S)-2-(甲氧基甲基)吡咯烷-1-基)-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(109-110);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-异丙基-N-甲基-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(111-112);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-异丙基-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(113-114);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(115-116);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-甲氧基-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(117-118);N-氰基-2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(119-120);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-(氰基甲基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(121-122);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-(2,2,2-三氟乙基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(123-124);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-(2-氰基乙基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(125-126);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)-N-(3,3,3-三氟丙基)乙酰胺(127-128);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-(2-(甲基磺酰基)乙基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(129-130);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-甲氧基-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(131-132);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯(133);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸(134);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-N-甲氧基-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(135-136);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-N-(氰基甲基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(137-138);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-N-(2,2,2-三氟乙基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(139-140);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-N-(2-氰基乙基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(141-142);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙

基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)-N-(3,3,3-三氟丙基)乙酰胺(143-144);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-N-(2-(甲基磺酰基)乙基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(145-146);N-氰基-2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(147-148);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-N-(甲基磺酰基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(149-150);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-N-(环丙基磺酰基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺(151-152);3-((2R,5S)-4-(6-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸甲酯(153);3-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸甲酯(154-155);3-((2R,5S)-4-(6-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸(156);3-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸(157-158);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(3-氧代-3-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(159-160);3-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-甲基-N-(1-甲基哌啶-4-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酰胺(161-162);3-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酰胺(163-164);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(3-((R)-2-(甲氧基甲基)吡咯烷-1-基)-3-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(165-166);3-((2R,5S)-4-(6-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)氨基甲酸甲酯(167);3-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)甲烷磺酰胺(170-171);4-((2S,5R)-4-(2-((氰基甲基)(甲基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-5-乙基-2-甲基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(172-173);4-((2S,5R)-4-(2-((氰基甲基)(甲基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-5-乙基-2-甲基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(174-175);4-((2S,5R)-5-乙基-2-甲基-4-(2-((2,2,2-三氟乙基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(176-177);4-((2S,5R)-4-(2-((2-氰基乙基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-5-乙基-2-甲基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(178-179);4-((2S,5R)-5-乙基-2-甲基-4-(1-(4-(三氟甲基)苯基)-2-((3,3,3-三氟丙基)氨基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(180-181);4-((2S,5R)-4-(2-((氰基甲基)(甲基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(182-183);

4-((2S,5R)-4-(2-((氰基甲基)(甲基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(184-185);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-((2,2,2-三氟乙基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(186-187);4-((2S,5R)-4-(2-((2-氰基乙基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(188-189);4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(1-(4-(三氟甲基)苯基)-2-((3,3,3-三氟丙基)氨基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(190-191);N-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)乙酰胺(192-193);N-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)异丁酰胺(194-195);(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)氨基甲酸甲酯(196-197);(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)氨基甲酸异丙酯(198-199);N-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)甲磺酰胺(200-201);N-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)乙酰胺(202-203);N-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)异丁酰胺(204-205);(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)氨基甲酸乙酯(206-207);(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)氨基甲酸异丙酯(208-209);或N-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)甲磺酰胺(210-211)。

[0205] 在一个实施方案中,提供了一种式(I)的化合物或其盐,其中所述化合物是:(2-(2-(2-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基))-2,5-二甲基哌嗪-1-基))-2-(4-氟苯基)乙酰胺基)乙氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(63);N-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)-2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基))-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺,TFA(64);N-(2-(2-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基))-2,5-二甲基哌嗪-1-基))-2-(4-氟苯基)乙酰胺基)乙氧基)乙氧基)乙基)-3',6'-二羟基-3-氧代-3H-螺[异茚并吡喃-1,9'-咕吨]-5-甲酰胺(65);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基))-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸2,2-二甲基-4-氧代-3,8,11-三氧杂-5-氮杂十三烷-13-基酯(66);2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基))-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙酯,TFA(67);或2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基))-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸2-(2-(2-(3',6'-二羟基-3-氧代-3H-螺[异茚并吡喃-1,9'-咕吨]

喃-1,9'-咕吨]-5-甲酰胺基)乙氧基)乙氧基)乙酯(68)。

[0206] 本发明可以在不背离其精神或基本属性的情况下以其他特定形式实施。本发明涵盖本文所述的本发明的方面和/或实施方案的所有组合。应理解,本发明的任何和所有实施方案可以与任何一个或多个其他实施方案结合来描述另外的实施方案。还应理解,实施方案的每个单独要素意在与来自任何实施方案的任何和所有其他要素组合来描述另外的实施方案。

[0207] 定义

[0208] 在阅读以下详细描述后,本领域普通技术人员可以更容易地理解本发明的特征和优点。应理解的是,出于清楚原因而在前后单独实施方案的情境下描述的本发明某些特征也可组合成单个实施方案。相反,出于简洁的原因而在单个实施方案的情境下描述的本发明的各种特征也可组合成其子组合。在本文中标识为示例性或优选的实施方案旨在是说明性的而非限制性的。

[0209] 除非本文另有明确说明,否则以单数形式提及的提及项也可以包括复数形式。例如,“一个/一种(a)”和“一个/一种(an)”可以指代一个/一种或者一个/一种或多个/多种。

[0210] 如本文所用,短语“化合物和/或其盐”是指至少一种化合物、所述化合物的至少一种盐或其组合。例如,式(I)的化合物和/或其盐包括式(I)的化合物;两种式(I)的化合物;式(I)的化合物的盐;式(I)的化合物和式(I)的化合物的一种或多种盐;以及式(I)的化合物的两种或更多种盐。

[0211] 除非另有指明,否则具有不饱和化合价的任何原子被假定为具有足以满足所述化合价的氢原子。

[0212] 本文阐述的定义优先于通过引用并入本文的任何专利、专利申请和/或专利申请出版物中阐述的定义。

[0213] 下文列出了用于描述本发明的各种术语的定义。这些定义适用于如它们在整个说明书中单独地或作为更大基团的一部分使用的术语(除非它们在特定情况下另有限制)。

[0214] 在整个说明书中,本领域技术人员可以选择其基团和取代基以提供稳定的部分和化合物。

[0215] 根据本领域使用的惯例,在本文的结构式中使用

[0216] 

[0217] 来描绘作为部分或取代基与核心或骨架结构的附接点的键。

[0218] 如本文所用,术语“卤基”和“卤素”是指F、Cl、Br和I。

[0219] 术语“氰基”是指基团-CN。

[0220] 术语“氨基”是指基团-NH<sub>2</sub>。

[0221] 术语“氧代基”是指基团=O。

[0222] 如本文所用,术语“烷基”是指含有例如从1至12个碳原子、从1至6个碳原子和从1至4个碳原子的支链和直链饱和脂族烃基两者。烷基的例子包括但不限于甲基(Me)、乙基(Et)、丙基(例如,正丙基和异丙基)、丁基(例如,正丁基、异丁基、仲丁基、和叔丁基)、和戊基(例如,正戊基、异戊基、新戊基)、正己基、2-甲基戊基、2-乙基丁基、3-甲基戊基、和4-甲基戊基。当数字出现在符号“C”之后的下标中时,所述下标更具体地定义了特定基团可能含

有的碳原子的数目。例如,“C<sub>1-4</sub>烷基”表示具有一至四个碳原子的直链和支链烷基。

[0223] 如本文所用的术语“氟烷基”旨在包括被一个或多个氟原子取代的支链和直链饱和脂族烃基两者。例如,“C<sub>1-4</sub>氟烷基”旨在包括被一个或多个氟原子取代的C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、C<sub>3</sub>和C<sub>4</sub>烷基。氟烷基的代表性例子包括但不限于-CF<sub>3</sub>和-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>。

[0224] 术语“羟烷基”包括被一个或多个羟基取代的支链和直链饱和烷基两者。例如,“羟烷基”包括-CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH和C<sub>1-4</sub>羟烷基。

[0225] 术语“烯基”是指含有从2至12个碳原子和至少一个碳-碳双键的直链或支链烃自由基。示例性的此类基团包括乙烯基或烯丙基。例如,“C<sub>2-6</sub>烯基”表示具有二至六个碳原子的直链和支链烯基。

[0226] 术语“炔基”是指含有从2至12个碳原子和至少一个碳至碳三键的直链或支链烃自由基。示例性的此类基团包括乙炔基。例如,“C<sub>2-6</sub>炔基”表示具有二至六个碳原子的直链和支链炔基。

[0227] 如本文所用,术语“环烷基”是指通过从饱和环碳原子上去除一个氢原子而由非芳族单环或多环烃分子衍生的基团。环烷基的代表性例子包括但不限于环丙基、环戊基和环己基。当数字出现在符号“C”之后的下标中时,下标更具体地定义了特定环烷基可能含有的碳原子的数目。例如,“C<sub>3-6</sub>环烷基”表示具有三至六个碳原子的环烷基。

[0228] 如本文所用的术语“氟环烷基”旨在包括被一个或多个氟原子取代的环烷基。

[0229] 如本文所用,术语“烷氧基”是指通过氧原子与母体分子部分附接的烷基,例如甲氧基(-OCH<sub>3</sub>)。例如,“C<sub>1-3</sub>烷氧基”表示具有一至三个碳原子的烷氧基。

[0230] 术语“氟烷氧基”和“-O(氟烷基)”表示通过氧键联(-O-)附接的如上定义的氟烷基。例如,“C<sub>1-4</sub>氟烷氧基”旨在包括C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、C<sub>3</sub>和C<sub>4</sub>氟烷氧基。

[0231] 术语“碳环”、“碳环的”或“碳环基”可互换使用,并且是指具有至少一个饱和或部分饱和的非芳族环的环状基团,其中所有环的所有原子都是碳。碳环基环可以是未经取代的或者在化合价允许的情况下可以含有一个或多个取代基。因此,所述术语包括非芳族环,诸如环烷基、环烯基和环炔基环。示例性二环碳环基包括茛满基、茛基、二氢萘基、四氢萘基、六氢萘基、八氢萘基、十氢萘基、二环庚基、二环辛基和二环壬基。

[0232] 如本文所用的术语“芳基”是指通过除去与一个或多个芳族环键合的一个氢而由含所述一个或多个芳族环的分子衍生的一组原子。芳基的代表性例子包括但不限于苯基和萘基。芳基环可以是未取代的或者在化合价允许的情况下可以含有一个或多个取代基。

[0233] 如本文所用的“苄基”是指其中一个氢原子被苯基替代的甲基。苯环可以是未经取代的,或者可以含有如化合价所允许的一个或多个取代基。

[0234] 术语“杂原子”是指氧(O)、硫(S)和氮(N)。

[0235] 术语“杂环基(heterocyclo)”、“杂环状”或“杂环基(heterocyclyl)”可以互换使用,并且是指具有至少一个饱和或部分饱和的非芳族环的环状基团,并且其中一个或多个环具有至少一个杂原子(O、S或N),所述含有杂原子的环优选地具有1至3个独立地选自O、S和/或N的杂原子。这样的含有杂原子的基团的环可以含有一个或两个氧或硫原子和/或一个至四个氮原子,条件是每个环中的杂原子总数是四或更小,并且另一个条件是所述环含有至少一个碳原子。氮和硫原子可任选地被氧化,并且氮原子可任选被季铵化。杂环基团可以被附接在任何可用的氮或碳原子上。杂环可以是未经取代的或者在化合价允许的情况下

可以含有一个或多个取代基。

[0236] 示例性的单环杂环基包括吡咯烷基、咪唑啉基、噁唑烷基、异噁唑啉基、噻唑烷基、异噻唑烷基、四氢呋喃基、哌啶基、哌嗪基、2-氧代哌嗪基、2-氧代哌啶基、2-氧代吡咯烷基、2-氧代氮杂卓基、氮杂卓基、4-哌啶酮基、四氢吡喃基、吗啉基、硫杂吗啉基、硫杂吗啉基亚砷、硫杂吗啉基砷、1,3-二氧戊环、四氢-1,1-二氧代噻吩基、二氢异吲哚基和四氢喹啉基。

[0237] 术语“杂芳基”是指经取代和未经取代的芳族5或6元单环基团和9或10元双环基团,其在至少一个环中具有至少一个杂原子(O、S或N),所述含有杂原子的环优选具有1、2或3个独立地选自O、S和/或N的杂原子。含有杂原子的杂芳基的每个环可以含有一个或两个氧或硫原子和/或从一至四个氮原子,条件是每个环中的杂原子总数是四或更少,并且每个环具有至少一个碳原子。构成双环基团的稠合环是芳族的并且可以仅含有碳原子。氮和硫原子可任选地被氧化,并且氮原子可任选被季铵化。双环杂芳基必须仅包含芳族环。杂芳基可以被附接在任何环的任何可用氮或碳原子上。杂芳基环系统可以是未取代的或者可以含有一个或多个取代基。

[0238] 示例性单环杂芳基包括吡咯基、吡唑基、吡唑啉基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、噻二唑基、异噻唑基、呋喃基、硫代苯基、噁二唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、和三嗪基。

[0239] 示例性的二环杂芳基包括吲哚基、苯并噻唑基、苯并二氧杂环戊烯基、苯并噁唑基、苯并噻吩基、喹啉基、四氢异喹啉基、异喹啉基、苯并咪唑基、苯并吡喃基、吲哚基、苯并呋喃基、色酮基、香豆素基、苯并吡喃基、噌啉基、喹喔啉基、吲唑基和吡咯并吡啶基。

[0240] 短语“药学上可接受的”在本文中用于指在合理的医学判断的范围内,适用于与人类和动物的组织接触而没有过度的毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症,与合理的效益/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0241] 式(I)的化合物可以形成盐,其也在本发明的范围内。除非另有说明,否则提及本发明化合物应理解为包括提及其一种或多种盐。术语“盐”表示与无机和/或有机酸和碱形成的酸式和/或碱式盐。此外,术语“盐”可以包括两性离子(内盐),例如,当式(I)的化合物含有碱性部分诸如胺或吡啶或咪唑环,以及酸性部分诸如羧酸时。药学上可接受的(即,无毒的生理学上可接受的)盐是优选的,例如像其中的阳离子对盐的毒性或生物活性没有显著贡献的可接受的金属盐和胺盐。然而,其他盐可以例如用于可在制备期间采用的分离或纯化步骤中,并且因此涵盖在本发明的范围内。式(I)化合物的盐可以例如通过以下方式形成:使式I化合物与一定量(诸如等当量)的酸或碱在介质(诸如其中盐沉淀的介质)中或在水性介质中反应,之后冻干。

[0242] 示例性酸加成盐包括乙酸盐(诸如与乙酸或三卤乙酸(例如三氟乙酸)形成的那些)、己二酸盐、海藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐(与盐酸形成)、氢溴酸盐(与溴化氢形成)、氢碘化物、马来酸盐(与马来酸形成)、2-羟基乙磺酸盐、乳酸盐、甲磺酸盐(与甲磺酸形成)、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、草酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、水杨酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐(诸如与硫酸形成的那些)、磺酸盐(诸如本文中提到的那些)、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺

酸盐(toluenesulfonate)(诸如甲苯磺酸盐(tosylate))、十一烷酸盐等。

[0243] 示例性的碱式盐包括铵盐;碱金属盐,诸如钠盐、锂盐和钾盐;碱土金属盐,诸如钙盐和镁盐;钡盐、锌盐和铝盐;与有机碱(例如,有机胺)的盐,所述有机碱诸如三烷基胺(诸如三乙胺)、普鲁卡因、二苄胺、N-苄基-β-苯乙胺、1-二苯羟甲胺(ephenamine)、N,N'-二苄乙烯-二胺、脱氢枞胺、N-乙基哌啶、苄胺、二环己胺或类似的药学上可接受的胺;以及与氨基酸的盐,所述氨基酸诸如精氨酸、赖氨酸等。碱性含氮基团可以用以下试剂季铵化:诸如低级烷基卤化物(例如,甲基、乙基、丙基和丁基的氯化物、溴化物和碘化物)、二烷基硫酸盐(例如,二甲基、二乙基、二丁基和二戊基的硫酸盐)、长链卤化物(例如,癸基、月桂基、肉豆蔻基和硬脂酰基的氯化物、溴化物和碘化物)、芳烷基卤化物(例如,苄基和苯乙基的溴化物)以及其他试剂。优选的盐包括单盐酸盐、硫酸氢盐、甲磺酸盐、磷酸盐或硝酸盐。

[0244] 式(I)的化合物可以作为无定形固体或结晶固体来提供。可以采用冻干来提供呈固体的式(I)的化合物。

[0245] 还应当理解,式(I)的化合物的溶剂化物(例如,水合物)也在本发明的范围内。术语“溶剂化物”意指式(I)的化合物与一个或多个溶剂分子(无论是有机还是无机的)的物理缔合。此物理缔合包括氢键合。在某些情况下,溶剂化物将是能够分离的,例如当一个或多个溶剂分子被掺入结晶固体的晶格中时。“溶剂化物”涵盖溶液相和可分离溶剂化物两者。示例性溶剂化物包括水合物、乙醇化物、甲醇化物、异丙醇化物、乙腈溶剂化物和乙酸乙酯溶剂化物。溶剂化方法是本领域已知的。

[0246] 各种形式的前药是本领域已知的,并且描述在Rautio,J.等人,Nature Review Drug Discovery,17,559-587(2018)中。

[0247] 另外,可以在式(I)的化合物制备之后将其分离并且纯化以获得含有按重量计等于或大于99%的量的式(I)的化合物(“基本上纯的”)的组合物,然后如本文所描述的使用或配制所述组合物。此类“基本上纯的”式(I)的化合物在本文中也考虑作为本发明的一部分。

[0248] “稳定的化合物”和“稳定的结构”意在指示化合物足够稳健以经受住从反应混合物中分离至有用程度的纯度并且配制成有效的治疗剂。本发明旨在包括稳定的化合物。

[0249] “治疗有效量”旨在包括单独的本发明化合物的量或所要求保护的多种化合物的组合的量或本发明化合物与有效充当DGKα和/或DGKζ抑制剂、或有效治疗或预防病毒感染和增殖性障碍(诸如癌症)的其他活性成分的组合的量。

[0250] 如本文所用,“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”涵盖对哺乳动物、特别是人的疾病状态的治疗,并且包括:(a)防止所述疾病状态在哺乳动物中发生,特别是当这样的哺乳动物易患所述疾病状态,但尚未被诊断为患有所述疾病状态时;(b)抑制所述疾病状态,即阻止其发展;和/或(c)缓解所述疾病状态,即引起所述疾病状态的消退。

[0251] 本发明的化合物旨在包括本发明的化合物中存在的原子的所有同位素。同位素包括原子数相同但质量数不同的那些原子。通过一般举例而非限制的方式,氢的同位素包括氘(D)和氚(T)。碳的同位素包括<sup>13</sup>C和<sup>14</sup>C。本发明的同位素标记的化合物通常可以通过本领域技术人员已知的常规技术或通过本文所述那些类似的方法,使用适当的同位素标记的试剂代替原本采用的未经标记的试剂来制备。

[0252] 根据式(I)的化合物和/或其药学上可接受的盐可以通过适合于待治疗病症的任

何方式施用,这可以取决于对部位特异性治疗的需要或待递送的式(I)化合物的量。

[0253] 本发明还包括一类药物组合物,所述药物组合物包含式(I)的化合物和/或其药学上可接受的盐;以及一种或多种无毒的药学上可接受的载体和/或稀释剂和/或佐剂(在本文中统称为“载体”材料)和(如果需要的话)其他活性成分。式(I)的化合物可以通过任何合适的途径,优选地以适于这样的途径的药物组合物的形式,并且以对于预期治疗有效的剂量来施用。例如,本发明化合物和组合物可按含有常规药学上可接受的载体、辅料和媒介物的剂量单位制剂形式来口服、粘膜或肠胃外(包括血管内、静脉内、腹膜内、皮下、肌内和胸骨内)施用。例如,药物载体可以含有甘露醇或乳糖和微晶纤维素的混合物。所述混合物可以含有另外的组分,诸如润滑剂(例如,硬脂酸镁)和崩解剂(诸如交聚维酮)。可以将载体混合物填充到明胶胶囊中或压缩成片剂。例如,药物组合物可以作为口服剂型或输注剂施用。

[0254] 对于口服施用,药物组合物可以是例如片剂、胶囊、液体胶囊、混悬剂或液体的形式。所述药物组合物优选地以含有特定量活性成分的剂量单位的形式制造。例如,所述药物组合物可以以片剂或胶囊提供,所述片剂或胶囊包含在从约0.1至1000mg、优选从约0.25至250mg、更优选从约0.5至100mg范围内的量的活性成分。根据患者的状况和其他因素,对于人或哺乳动物的合适的日剂量可能有很大差异,但是可以使用常规方法确定。

[0255] 本文中考虑的任何药物组合物可以例如经由任何可接受且合适的口服制剂口服递送。示例性的口服制剂包括但不限于例如片剂、锭剂、糖锭剂、水性和油性混悬剂、可分散散剂或颗粒剂、乳剂、硬和软胶囊、液体胶囊、糖浆和酏剂。旨在用于口服施用的药物组合物可以根据本领域已知的用于制造旨在用于口服施用的药物组合物的任何方法来制备。为了提供药学上可口的制剂,根据本发明的药物组合物可以含有至少一种选自甜味剂、调味剂、着色剂、缓和剂、抗氧化剂和防腐剂的试剂。

[0256] 片剂可以例如通过将至少一种式(I)的化合物和/或其至少一种药学上可接受的盐与适合于制造片剂的至少一种无毒的药学上可接受的赋形剂混合来制备。示例性的赋形剂包括但不限于例如惰性稀释剂,例如像碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙和磷酸钠;制粒剂和崩解剂,例如像微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠、玉米淀粉和海藻酸;粘合剂,例如像淀粉、明胶、聚乙烯吡咯烷酮和阿拉伯胶;以及润滑剂,例如像硬脂酸镁、硬脂酸和滑石粉。另外,片剂可以是未包衣的,或通过已知技术包衣,以掩蔽尝起来令人不快的药物的不良味道,或延迟胃肠道中活性成分的崩解和吸收,从而维持活性成分的作用持续更长时间。示例性的水溶性味道掩蔽材料包括但不限于羟丙基甲基纤维素和羟丙基纤维素。示例性的延时材料包括但不限于乙基纤维素和乙酸丁酸纤维素。

[0257] 硬明胶胶囊可以例如通过将至少一种式(I)的化合物和/或其至少一种盐与至少一种惰性固体稀释剂(例如像碳酸钙、磷酸钙和高岭土)混合来制备。

[0258] 软明胶胶囊可以例如通过将至少一种式(I)的化合物和/或其至少一种药学上可接受的盐与至少一种水溶性载体(例如像聚乙二醇)和至少一种油介质(例如像花生油、液体石蜡和橄榄油)混合来制备。

[0259] 水性混悬剂可以例如通过将至少一种式(I)的化合物和/或其至少一种药学上可接受的盐与适合于生产水性混悬剂的至少一种赋形剂混合来制备。适合于制造水性混悬剂的示例性赋形剂包括但不限于例如助悬剂,例如像羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、海藻酸钠、海藻酸、聚乙烯吡咯烷酮、黄芪胶和阿拉伯树胶;分散剂或润湿剂,例

如像天然存在的磷脂,例如卵磷脂;环氧烷与脂肪酸的缩合产物,例如像聚氧乙烯硬脂酸酯;环氧乙烷与长链脂族醇的缩合产物,例如像十七烷乙烯-氧基鲸蜡醇;环氧乙烷与衍生自脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物,例如像聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯;以及环氧乙烷与衍生自脂肪酸和己糖醇酐的偏酯的缩合产物,例如像聚乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯。水性混悬剂还可以含有至少一种防腐剂,例如像对羟基苯甲酸乙酯和对羟基苯甲酸正丙酯;至少一种着色剂;至少一种调味剂;和/或至少一种甜味剂,包括但不限于例如蔗糖、糖精和阿斯巴甜。

[0260] 油性悬浮液可以例如通过将至少一种式(I)的化合物和/或其至少一种药学上可接受的盐悬浮在植物油(例如像花生油、橄榄油、芝麻油和椰子油)或者悬浮在矿物油(例如像液体石蜡)中来制备。油性混悬剂还可以含有至少一种增稠剂,例如像蜂蜡、硬石蜡和鲸蜡醇。为了提供可口的油性混悬剂,可以将以上已经描述的至少一种甜味剂和/或至少一种调味剂添加到油性混悬剂中。油性混悬剂可以进一步含有至少一种防腐剂,包括但不限于例如抗氧化剂,例如像丁基化羟基茴香醚和 $\alpha$ -生育酚。

[0261] 可分散粉末和颗粒可以例如通过将至少一种式(I)的化合物和/或其至少一种药学上可接受的盐与至少一种分散剂和/或润湿剂、至少一种助悬剂和/或至少一种防腐剂混合来制备。合适的分散剂、润湿剂和助悬剂已如上文所述。示例性的防腐剂包括但不限于例如抗氧化剂,例如抗坏血酸。此外,可分散剂剂和颗粒剂还可以含有至少一种赋形剂,包括但不限于例如甜味剂、调味剂和着色剂。

[0262] 至少一种式(I)的化合物和/或其至少一种药学上可接受的盐的乳剂可以例如制备为水包油乳剂。包含式(I)的化合物的乳剂的油相可以以已知方式由已知成分构成。油相可以通过但不限于例如植物油(例如像橄榄油和花生油)、矿物油(例如像液体石蜡)及其混合物来提供。虽然所述相可以仅包含乳化剂,但是它可以包含至少一种乳化剂与脂肪或油或与脂肪和油两者的混合物。合适的乳化剂包括但不限于例如天然存在的磷脂,例如大豆卵磷脂;衍生自脂肪酸和己糖醇酐的酯或偏酯,例如像脱水山梨糖醇单油酸酯;以及偏酯与环氧乙烷的缩合产物,例如像聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯。优选地,亲脂性乳化剂与用作稳定剂的亲水性乳化剂一起使用。还优选的是包含油和脂肪两者。一种或多种乳化剂与或不与一种或多种稳定剂一起构成所谓的乳化蜡,并且蜡与油和脂肪一起构成所谓的乳化软膏基质,其形成乳膏配制品的油性分散相。乳剂还可以含有甜味剂、调味剂、防腐剂和/或抗氧化剂。适合于在本发明的配制品中使用的乳化剂和乳液稳定剂包括Tween 60、Span 80、鲸蜡硬脂醇、肉豆蔻醇、单硬脂酸甘油酯、十二烷基硫酸钠、单独或与蜡一起的二硬脂酸甘油酯或本领域熟知的其他材料。

[0263] 式(I)的化合物和/或其至少一种药学上可接受的盐还可以例如通过任何药学上可接受的且合适的可注射形式静脉内、皮下和/或肌内递送。示例性的可注射形式包括但不限于例如无菌水溶液,其包含可接受的媒介物和溶剂,例如像水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液;无菌水包油微乳剂;以及水性或油性混悬剂。

[0264] 用于肠胃外施用的配制品可以呈水性或非水性等渗无菌注射溶液或混悬剂的形式。这些溶液和混悬剂可以使用提及用于在供口服施用的配制品中使用的一种或多种载体或稀释剂或者通过使用其他合适的分散剂或润湿剂和助悬剂由无菌散剂或颗粒剂制备。可以将化合物溶解在水、聚乙二醇、丙二醇、乙醇、玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、苯甲醇、氯

化钠、黄芪胶和/或各种缓冲液中。其他佐剂和施用方式是制药领域中熟知且众所周知的。活性成分也可以通过作为与合适的载体(包括盐水、右旋糖或水)或与环糊精(即Captisol)、共溶剂增溶(即丙二醇)或胶束增溶(即Tween 80)的组合物注射来施用。

[0265] 无菌可注射制剂还可以是在无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或混悬剂,例如作为在1,3-丁二醇中的溶液。所述可接受的可使用的媒介物和溶剂为水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。另外,常规地将无菌的非挥发性油用作溶剂或助悬介质。为此目的,可以采用任何温和的非挥发性油,包括合成的单甘油酯或二甘油酯。另外,脂肪酸诸如油酸可用于制备可注射剂。

[0266] 无菌可注射水包油微乳剂可以例如通过以下方式来制备:1)将至少一种式(I)的化合物溶解在油相(例如像大豆油和卵磷脂的混合物)中;2)将含式(I)的油相与水和甘油混合物合并;并且3)加工所述组合以形成微乳剂。

[0267] 可以根据本领域已知的方法制备无菌水性或油性混悬剂。例如,可以用无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂(例如像1,3-丁二醇)制备无菌水溶液或混悬剂;并且可以用无菌无毒可接受溶剂或助悬介质(例如像无菌非挥发性油,例如合成的甘油单酯或甘油二酯;和脂肪酸,例如像油酸)制备无菌油性混悬剂。

[0268] 可以在本发明的药物组合物中使用的药学上可接受的载体、佐剂和媒介物包括但不限于离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、自乳化药物递送系统(SEDSS)(诸如d- $\alpha$ -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯)、在药物剂型中使用的表面活性剂(诸如Tween、聚乙氧基化蓖麻油诸如CREMOPHOR表面活性剂(BASF)或其他类似的聚合物递送基质)、血清蛋白(诸如人血清白蛋白)、缓冲物质(诸如磷酸盐、甘氨酸)、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐或电解质(诸如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐)、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。诸如 $\alpha$ -、 $\beta$ -和 $\gamma$ -环糊精等环糊精或诸如羟烷基环糊精(包括2-和3-羟丙基-环糊精)等化学改性的衍生物或其他溶解的衍生物也可以有利地用于增强本文所述的式的化合物的递送。

[0269] 可以根据常规药学方法加工本发明的药物活性化合物,以产生用于施用至患者(包括人和其他哺乳动物)的医学药剂。所述药物组合物可以经受诸如灭菌等常规制药操作和/或可以含有常规佐剂,诸如防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂、缓冲液等。此类组合物还可以包含佐剂,诸如润湿剂、甜味剂、调味剂和芳香剂。

[0270] 所施用的化合物的量和用于用本发明的化合物和/或组合物治疗病状的给药方案取决于多种因素,包括受试者的年龄、体重、性别、医学状况、疾病类型、疾病的严重程度、施用途和频率以及所采用的具体化合物。因此,给药方案可以广泛变化,但是可以使用标准方法常规确定。约0.001至100mg/kg体重、优选约0.0025与约50mg/kg体重之间、并且最优选约0.005至10mg/kg体重之间的日剂量可能是适当的。日剂量可以以一至四剂/天施用。其他给药方案包括一剂/周和一剂/两天周期。

[0271] 出于治疗目的,本发明的活性化合物通常与一种或多种适合于所指示的施用途的佐剂组合。如果口服施用,可以将化合物与乳糖、蔗糖、淀粉、烷酸的纤维素酯、纤维素烷基酯、滑石粉、硬脂酸、硬脂酸镁、氧化镁、磷酸和硫酸的钠盐和钙盐、明胶、阿拉伯胶、海藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮和/或聚乙烯醇混合,并且然后压片或胶囊化以方便施用。此类胶囊

或片剂可以含有控释配制品,其可以在活性化合物在羟丙基甲基纤维素中的分散体中提供。

[0272] 本发明的药物组合物包含至少一种式(I)的化合物和/或其至少一种药学上可接受的盐和任选地选自任何药学上可接受的载体、佐剂和媒介物的另外药剂。本发明的替代组合物包含本文所描述的式(I)的化合物或其前药和药学上可接受的载体、佐剂或媒介物。

[0273] 效用

[0274] 式(I)的化合物可用于治疗癌症。

[0275] 在另一个实施方案中,本发明提供了式(I)的化合物和/或其药学上可接受的盐、其立体异构体或其互变异构体以及一种或多种另外的治疗剂的组合制剂,其用于在与T细胞中的DGK靶标抑制相关的多种疾病或障碍的治疗和/或预防中同时、分开或顺序地使用。

[0276] 在另一方面,本发明提供了一种治疗患有或易患与T细胞中的DGK靶标抑制相关的医学病症的患者。可以治疗多种医学病症。所述方法包括向患者施用治疗有效量的包含式(I)的化合物和/或其药学上可接受的盐、其立体异构体或其互变异构体的组合物。例如,本文所述的化合物可以用于治疗或预防病毒感染和增殖性疾病,诸如癌症。

[0277] 式(I)的化合物和包含至少一种式(I)的化合物的药物组合物可用于治疗或预防与T细胞中的DGK靶标抑制相关的任何疾病或病症。它们包括病毒感染和其他感染(例如皮肤感染、GI感染、尿路感染、生殖泌尿系统感染、全身感染)和增殖性疾病(例如癌症)。式(I)的化合物和包含至少一种式(I)的化合物的药物组合物可以施用于动物、优选哺乳动物(例如家养动物、猫、狗、小鼠、大鼠)、并且更优选人类。可以使用任何施用方法将化合物或药物组合物递送至患者。在某些实施方案中,口服施用式(I)的化合物或至少包含式(I)的化合物的药物组合物。在其他实施方案中,肠胃外施用式(I)或至少包含式(I)的化合物的药物组合物。

[0278] 式(I)的化合物可以抑制二酰基甘油激酶 $\alpha$ 和 $\zeta$ (DGK $\alpha/\zeta$ )的活性。例如,式(I)的化合物可以用于通过施用抑制量的式(I)的化合物或其盐来抑制细胞中或需要调节DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 的个体中的DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 的活性。

[0279] 本发明进一步提供了通过向需要这种治疗的个体施用治疗有效量或剂量的式(I)的化合物或其药物组合物来治疗与个体(例如患者)中的DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 的活性或表达(括异常活性和/或过表达)相关的疾病的方法。疾病的例子可以包括与DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 酶的表达或活性直接或间接关联的(诸如过表达或异常活性)的任何疾病、障碍或病症。DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 相关疾病还可以包括可以通过调节DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 酶活性来预防、改善或治愈的任何疾病、障碍或病症。DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 相关疾病的例子包括癌症和病毒感染,诸如HIV感染、乙型肝炎和丙型肝炎。

[0280] 在一方面,在施用免疫肿瘤学药剂之前顺序地施用一种或多种式(I)的化合物。在另一方面,与免疫肿瘤学药剂同时施用一种或多种式(I)的化合物。在又另一方面,在施用免疫肿瘤学药剂之后顺序地施用一种或多种式(I)的化合物。

[0281] 在另一方面,可以将式(I)的化合物与免疫肿瘤学药剂共配制。

[0282] 免疫肿瘤学药剂包括例如小分子药物、抗体、或其他生物学或小分子。生物学免疫肿瘤学药剂的例子包括但不限于癌症疫苗、抗体、和细胞因子。在一方面,抗体是单克隆抗体。在另一方面,单克隆抗体是人源化的或人的。

[0283] 在一方面,免疫肿瘤学药剂是(i)刺激(包括共刺激)受体的激动剂,或(ii)T细胞

上的抑制(包括共抑制)信号的拮抗剂,两者均导致抗原特异性T细胞反应(通常称为免疫检查点调节剂)的扩增。

[0284] 某些刺激分子和抑制分子是免疫球蛋白超家族(IgSF)的成员。与共刺激受体或共抑制受体结合的膜结合配体的一个重要家族是B7家族,其包括B7-1、B7-2、B7-H1(PD-L1)、B7-DC(PD-L2)、B7-H2(ICOS-L)、B7-H3、B7-H4、B7-H5(VISTA)、和B7-H6。与共刺激受体或共抑制受体结合的膜结合配体的另一个家族是与同源TNF受体家族成员结合的分子的TNF家族,其包括CD40和CD40L、OX-40、OX-40L、CD70、CD27L、CD30、CD30L、4-1BBL、CD137(4-1BB)、TRAIL/Apo2-L、TRAILR1/DR4、TRAILR2/DR5、TRAILR3、TRAILR4、OPG、RANK、RANKL、TWEAKR/Fn14、TWEAK、BAFFR、EDAR、XEDAR、TACI、APRIL、BCMA、LT $\beta$ R、LIGHT、DcR3、HVEM、VEGI/TL1A、TRAMP/DR3、EDAR、EDA1、XEDAR、EDA2、TNFR1、淋巴毒素 $\alpha$ /TNF $\beta$ 、TNFR2、TNF $\alpha$ 、LT $\beta$ R、淋巴毒素 $\alpha$ 1 $\beta$ 2、FAS、FASL、RELT、DR6、TROY、NGFR。

[0285] 在一方面,可以通过式(I)的化合物和以下中的一种或多种的组合刺激T细胞反应:(i)抑制T细胞激活的蛋白质(诸如CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG-3、TIM-3、半乳凝素9、CEACAM-1、BTLA、CD69、半乳凝素-1、TIGIT、CD113、GPR56、VISTA、2B4、CD48、GARP、PD1H、LAIR1、TIM-1和TIM-4)的拮抗剂(例如免疫检查点抑制剂),和(ii)刺激T细胞激活的蛋白质(诸如B7-1、B7-2、CD28、4-1BB(CD137)、4-1BBL、ICOS、ICOS-L、OX40、OX40L、GITR、GITRL、CD70、CD27、CD40、DR3和CD28H)的激动剂。

[0286] 可以与式(I)的化合物组合用于治疗癌症的其他药剂包括NK细胞上抑制受体的拮抗剂或NK细胞上激活受体的激动剂。例如,可以将式(I)的化合物与KIR的拮抗剂(诸如利瑞鲁单抗(lirilumab))组合。

[0287] 用于组合疗法的又其他药剂包括抑制或耗尽巨噬细胞或单核细胞的药剂,其包括但不限于CSF-1R拮抗剂,诸如CSF-1R拮抗剂抗体,包括RG7155(WO 11/70024、WO 11/107553、WO 11/131407、WO 13/87699、WO 13/119716、WO 13/132044)或FPA-008(WO 11/140249;WO 13169264;WO 14/036357)。

[0288] 在另一方面,式(I)的化合物可以与以下中的一种或多种一起使用:连接阳性共刺激受体的激动剂,通过抑制性受体减弱信号传导的阻断剂,拮抗剂,以及一种或多种全身性地增加抗肿瘤T细胞的频率的药剂,克服肿瘤微环境中的不同免疫抑制通路(例如,阻断抑制性受体接合(例如,PD-L1/PD-1相互作用)、耗尽或抑制Treg(例如,使用抗CD25单克隆抗体(例如达克珠单抗(daclizumab))或通过离体抗CD25珠粒耗尽)、抑制代谢酶(诸如IDO)、或逆转/预防T细胞无能或衰竭)的药剂以及在肿瘤部位触发先天性免疫激活和/或炎症的药剂。

[0289] 在一方面,免疫肿瘤学药剂是CTLA-4拮抗剂,诸如拮抗性CTLA-4抗体。合适的CTLA-4抗体包括例如YERVOY(伊匹单抗)或曲美木单抗(tremelimumab)。

[0290] 在另一方面,免疫肿瘤学药剂是PD-1拮抗剂,诸如拮抗性PD-1抗体。合适的PD-1抗体包括例如OPDIVO(纳武单抗)、KEYTRUDA(派姆单抗)、或MEDI-0680(AMP-514;WO 2012/145493)。免疫肿瘤学药剂也可以包括匹地利珠单抗(CT-011),尽管其对PD-1结合的特异性存有疑问。靶向PD-1受体的另一种方法是由与IgG1的Fc部分融合的PD-L2(B7-DC)的细胞外结构域构成的重组蛋白,称为AMP-224

[0291] 在另一方面,免疫肿瘤学药剂是PD-L1拮抗剂,诸如拮抗性PD-L1抗体。合适的PD-

L1抗体包括例如MPDL3280A (RG7446; WO 2010/077634)、度伐单抗 (MEDI4736)、BMS-936559 (WO 2007/005874)、和MSB0010718C (WO 2013/79174)。

[0292] 在另一方面,免疫肿瘤学药剂是LAG-3拮抗剂,诸如拮抗性LAG-3抗体。合适的LAG3抗体包括例如BMS-986016 (WO 10/19570、WO 14/08218)、或IMP-731或IMP-321 (WO08/132601、WO 09/44273)。

[0293] 在另一方面,免疫肿瘤学药剂是CD137 (4-1BB) 激动剂,诸如激动性CD137抗体。合适的CD137抗体包括例如乌瑞鲁单抗 (urelumab) 和PF-05082566 (WO 12/32433)。

[0294] 在另一方面,免疫肿瘤学药剂是GITR激动剂,诸如激动性GITR抗体。合适的GITR抗体包括例如BMS-986153、BMS-986156、TRX-518 (WO 06/105021、WO 09/009116) 和MK-4166 (WO 11/028683)。

[0295] 在另一方面,免疫肿瘤学药剂是IDO拮抗剂。合适的IDO拮抗剂包括例如INCB-024360 (WO 2006/122150、WO 07/75598、WO 08/36653、WO 08/36642)、吲哚莫德 (indoximod)、BMS-986205、或NLG-919 (WO 09/73620、WO 09/1156652、WO 11/56652、WO 12/142237)。

[0296] 在另一方面,免疫肿瘤学药剂是OX40激动剂,诸如激动性OX40抗体。合适的OX40抗体包括例如MEDI-6383或MEDI-6469。

[0297] 在另一方面,免疫肿瘤学药剂是OX40L拮抗剂,诸如拮抗性OX40抗体。合适的OX40L拮抗剂s包括例如RG-7888 (WO 06/029879)。

[0298] 在另一方面,免疫肿瘤学药剂是CD40激动剂,诸如激动性CD40抗体。在又一个实施方案中,免疫肿瘤学药剂是CD40拮抗剂,诸如拮抗性CD40抗体。合适的CD40抗体包括例如鲁图莫单抗 (lucatumumab) 或达西珠单抗 (dacetuzumab)。

[0299] 在另一方面,免疫肿瘤学药剂是CD27激动剂,诸如激动性CD27抗体。合适的CD27抗体包括例如瓦立鲁单抗 (varlilumab)。

[0300] 在另一方面,免疫肿瘤学药剂是MGA271 (针对B7H3) (WO 11/109400)。

[0301] 组合疗法旨在包括以顺序方式施用这些治疗剂 (即,其中在不同时间施用每种治疗剂) 以及以基本上同时的方式施用这些治疗剂或这些治疗剂中的至少两种。基本上同时施用可以例如通过向受试者施用具有固定比率的每种治疗剂的单一剂型或以各治疗剂的多个单一剂型来完成。顺序或基本上同时施用各治疗剂可以通过任何适当途径来实现,所述适当途径包括但不限于口服途径、静脉内途径、肌内途径、以及通过粘膜组织直接吸收。治疗剂可以通过相同途径或通过不同途径施用。例如,所选组合的第一治疗剂可以通过静脉内注射施用,而所述组合的其他治疗剂可以口服施用。可替代地,例如,可以口服施用所有治疗剂或者可以通过静脉内注射施用所有治疗剂。组合疗法还可以包括将如上所述的治疗剂进一步与其他生物活性成分和非药物治疗 (例如,外科手术或放射治疗) 组合施用。在组合疗法进一步包括非药物治疗的情况下,所述非药物治疗可以在任何合适的时间进行,只要从治疗剂与非药物治疗的组合的共同作用实现有益效果即可。例如,在适当的情况下,当非药物治疗暂时从治疗剂的施用中移除时 (也许是数天或甚至数周), 仍然实现所述有益效果。

[0302] 如本文所用,术语“细胞”意在是指体外、离体或体内的细胞。在一些实施方案中,离体细胞可以是生物体 (诸如哺乳动物) 切离的组织样品的一部分。在一些实施方案中,

体外细胞可以是在细胞培养物中的细胞。在一些实施方案中,体内细胞是生活在生物体(诸如哺乳动物)中的细胞。

[0303] 如本文所用,术语“接触”是指使体外系统或体内系统中的指示部分在一起。例如,使DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 酶与式(I)的化合物“接触”包括向具有DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 的个体或患者(诸如人)施用本发明的化合物,以及例如将式(I)的化合物引入含有细胞或纯化制剂的样品中,所述细胞或纯化制剂含有DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 酶。

[0304] 术语“DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 抑制剂”是指能够抑制T细胞中的二酰基甘油激酶 $\alpha$ 和/或二酰基甘油激酶 $\zeta$ (DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ )的活性从而导致T细胞刺激的药剂。DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 抑制剂可以是可逆或不可逆DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 抑制剂。“可逆DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 抑制剂”是在催化部位或非催化部位可逆地抑制DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 酶活性的化合物,并且“不可逆DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 抑制剂”是通过与酶形成共价键而不可逆地破坏DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 酶活性的化合物。

[0305] 可以用式(I)的化合物治疗的癌症的类型包括但不限于脑癌、皮肤癌、膀胱癌、卵巢癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、前列腺癌、结肠癌、血液癌、肺癌和骨癌。此类癌症类型的例子包括神经母细胞瘤、肠癌(诸如直肠癌、结肠癌、熟悉的腺瘤性息肉癌和遗传性非息肉病性结直肠癌)、食道癌、唇癌、喉癌、下咽癌、舌癌、唾液腺癌、胃癌、腺癌、甲状腺髓样癌、乳头状甲状腺癌、肾癌、肾实质癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫体癌、子宫内膜癌、绒毛膜癌、胰腺癌、前列腺癌、睾丸癌、乳腺癌、泌尿系癌、黑素瘤、脑肿瘤(诸如成胶质细胞瘤、星形细胞瘤、脑膜瘤、成神经管细胞瘤和周围神经外胚层肿瘤)、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、伯基利淋巴瘤、急性淋巴白血病(ALL)、慢性淋巴白血病(CLL)、急性髓样白血病(AML)、慢性髓样白血病(CML)、成人T细胞白血病淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、肝细胞癌、胆囊癌、支气管癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、多发性骨髓瘤、基底细胞癌、畸胎瘤、视网膜母细胞瘤、脉络膜黑素瘤、精原细胞瘤、横纹肌肉瘤、颅咽管瘤、骨肉瘤、软骨肉瘤、肌肉瘤、脂肪肉瘤、纤维肉瘤、尤因肉瘤和浆细胞瘤。

[0306] 一种或多种另外的药剂或治疗方法(例如像抗病毒剂、化疗剂或其他抗癌剂、免疫增强剂、免疫抑制剂、放射、抗肿瘤和抗病毒疫苗、细胞因子疗法(例如IL2和GM-CSF)、和/或酪氨酸激酶抑制剂)可以任选地与式(I)的化合物组合用于治疗DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 相关的疾病、障碍或病症。可以将药剂与本发明化合物组合在单一剂型中,或可以将药剂作为单独的剂型同时或顺序地施用。

[0307] 合适的化疗剂或其他抗癌剂包括例如烷基化剂(包括但不限于氮芥(nitrogen mustard)、亚乙基亚胺衍生物、磺酸烷基酯、亚硝基脲和三氮烯),诸如乌拉莫司汀(uracil mustard)、氮芥(chlormethine)、环磷酰胺(CYTOXAN®)、异环磷酰胺、美法仑、苯丁酸氮芥、哌泊溴烷、三亚乙基-三聚氰胺、三亚乙基硫代磷酰胺、白消安、卡莫司汀、洛莫司汀、链脲霉素、达卡巴嗪和替莫唑胺。

[0308] 在黑素瘤的治疗中,与式(I)的化合物组合物使用的合适的药剂包括:达卡巴嗪(DTIC),任选地,连同其他化疗药物诸如卡莫司汀(BCNU)和顺铂;“达特茅斯方案(Dartmouth regimen)”,由DTIC、BCNU、顺铂和他莫昔芬组成;顺铂、长春碱和DTIC、替莫唑胺或YERVOY™的组合。在黑素瘤的治疗中,也可以将式(I)的化合物与免疫疗法药物组合,所述免疫疗法药物包括细胞因子,诸如干扰素 $\alpha$ 、白介素2和肿瘤坏死因子(TNF)。

[0309] 也可以将式(I)的化合物与疫苗疗法组合用于治疗黑素瘤。抗黑素瘤疫苗在某些

方面类似于用于预防由病毒引起的疾病(脊髓灰质炎、麻疹和腮腺炎)的抗病毒疫苗。可以将减弱的黑素瘤细胞或黑素瘤细胞的一部分(称为抗原)注射到患者体内,以刺激身体的免疫系统以破坏黑素瘤细胞。

[0310] 也可以使用高温隔离肢体灌注技术用包括一种或多种式(I)的化合物的药剂的组合治疗限于手臂或腿的黑素瘤。这种治疗方案暂时将受累肢体的循环与身体的其余部分分开,并且将高剂量的化学疗法注射到向肢体供血的动脉中,从而向肿瘤区域提供高剂量,而不使内脏暴露于在其他方面引起严重副作用的这些剂量。通常,将流体温热至38.9℃至40℃。美法仑是这种化学疗法中最常用的药物。这可以与称为肿瘤坏死因子(TNF)的另一种药剂一起施用。

[0311] 合适的化疗剂或其他抗癌剂包括例如抗代谢物(包括但不限于叶酸拮抗剂、嘧啶类似物、嘌呤类似物和腺苷脱氨酶抑制剂),诸如甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、氟尿苷、阿糖胞苷、6-巯基嘌呤、6-硫鸟嘌呤、磷酸氟达拉滨、喷司他丁(pentostatine)以及吉西他滨。

[0312] 合适的化疗剂或其他抗癌剂进一步包括例如某些天然产物及其衍生物(例如,长春花生物碱、抗肿瘤抗生素、酶、淋巴因子和表鬼臼毒素),诸如长春碱、长春新碱、长春地辛、博莱霉素、更生霉素、柔红霉素、多柔比星、表柔比星、伊达比星、ara-C、紫杉醇(Taxol)、光辉霉素、脱氧柯福霉素(deoxyco-formycin)、丝裂霉素-C、L-天冬酰胺酶、干扰素(尤其是IFN- $\alpha$ )、依托泊苷以及替尼泊苷。

[0313] 其他细胞毒性剂包括长春瑞滨(navelbene)、CPT-11、阿那曲唑(anastrozole)、来曲唑、卡培他滨和德洛昔芬(droloxafine)。

[0314] 同样合适的是细胞毒性剂,诸如鬼臼毒素;抗肿瘤酶;拓扑异构酶抑制剂;丙卡巴肼;米托蒽醌;铂配位复合物,诸如顺铂和卡铂;生物反应调节剂;生长抑制剂;抗激素治疗剂;亚叶酸;替加氟;和造血生长因子。

[0315] 一种或多种其他抗癌剂包括抗体治疗剂,诸如曲妥珠单抗(HERCEPTIN®)、针对共刺激分子(诸如CTLA-4、4-1BB和PD-1)的抗体、或针对细胞因子(IL-10或TGF- $\beta$ )的抗体。

[0316] 其他抗癌剂还包括阻断免疫细胞迁移的那些,诸如趋化因子受体(包括CCR2和CCR4)的拮抗剂。

[0317] 其他抗癌剂还包括增强免疫系统(诸如辅助性或过继性T细胞转移)的那些。

[0318] 抗癌疫苗包括树突细胞、合成肽、DNA疫苗和重组病毒。

[0319] 本发明的药物组合物可以任选地包含至少一种信号转导抑制剂(STI)。“信号转导抑制剂”是这样的药剂,所述药剂选择性地抑制(在癌细胞的正常功能中)信号传导通路中的一个或多个重要步骤,从而导致细胞凋亡。合适的STI包括但不限于:(i) bcr/abl激酶抑制剂,例如像STI 571(GLEEVEC®);(ii)表皮生长因子(EGF)受体抑制剂,例如像激酶抑制剂(IRESSA®, SSI-774)和抗体(Imclone:C225[Goldstein等人,Clin.Cancer Res.,1:1311-1318(1995)]、和Abgenix:ABX-EGF);(iii)her-2/neu受体抑制剂,诸如法尼基转移酶抑制剂(FTI),例如像L-744,832(Kohl等人,Nat.Med.,1(8):792-797(1995));(iv)Akt家族激酶或Akt通路的抑制剂,例如像雷帕霉素(参见例如,Sekulic等人,Cancer Res.,60:3504-3513(2000));(v)细胞周期激酶抑制剂,例如像,夫拉平度(flavopiridol)和UCN-01(参见例如,Sausville,Curr.Med.Chem.Anti-Canc.Agents,3:47-56(2003));以及(vi)磷

脂酰肌醇激酶抑制剂,例如像LY294002(参见例如,Vlahos等人,J.Biol.Chem.,269:5241-5248(1994))。可替代地,至少一种STI和至少一种式(I)的化合物可以在单独的药物组合物中。在本发明的具体实施方案中,可以将至少一种式(I)的化合物和至少一种STI同时或顺序地施用于患者。换句话说,可以首先施用至少一种式(I)的化合物,可以首先施用至少一种STI,或者可以同时施用至少一种式(I)的化合物和至少一种STI。另外,当使用多于一种式(I)的化合物和/或STI时,所述化合物可以以任何顺序施用。

[0320] 本发明进一步提供了一种用于治疗患者的慢性病毒感染的药物组合物,其包含在药学上可接受的载体中的至少一种式(I)的化合物、任选地至少一种化疗药物、和任选地至少一种抗病毒剂。

[0321] 还提供了一种通过施用有效量的以上药物组合物来治疗患者的慢性病毒感染的方法。

[0322] 在本发明的具体实施方案中,可以将至少一种式(I)的化合物和至少一种化疗剂同时或顺序地施用于患者。换句话说,可以首先施用至少一种式(I)的化合物,可以首先施用至少一种化疗剂,或者可以同时施用至少一种式(I)的化合物和至少一种STI。另外,当使用多于一种式(I)的化合物和/或化疗剂时,所述化合物可以以任何顺序施用。类似地,也可以与式(I)的化合物的施用相比在任何点施用任何抗病毒剂或STI。

[0323] 可以使用本发明组合治疗来治疗的慢性病毒感染包括但不限于由以下原因引起的疾病:丙型肝炎病毒(HCV)、人乳头瘤病毒(HPV)、巨细胞病毒(CMV)、单纯疱疹病毒(HSV)、爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV)、水痘带状疱疹病毒、柯萨奇病毒、人类免疫缺陷病毒(HIV)。值得注意地,寄生生物感染(例如疟疾)也可以通过以上方法来治疗,其中任选地添加已知治疗寄生生物病症的化合物代替抗病毒剂。

[0324] 被考虑用于与式(I)的化合物组合使用的合适的抗病毒剂可以包括核苷和核苷酸逆转录酶抑制剂(NRTI)、非核苷逆转录酶抑制剂(NNRTI)、蛋白酶抑制剂和其他抗病毒药物。

[0325] 合适的NRTI的例子包括齐多夫定(AZT);地达诺新(ddI);扎西他滨(ddC);司他夫定(d4T);拉米夫定(3TC);阿巴卡韦(1592U89);阿德福韦酯[双(POM)-PMEA];洛布卡韦;BCH-I0652;恩曲他滨(emitricitabine)[(-)-FTC]; $\beta$ -L-FD4(也称为 $\beta$ -L-D4C并且命名为 $\beta$ -L-2',3'-二去氧-5-氟-胞苷(cytidine));DAPD((-)- $\beta$ -D-2,6,-二氨基-嘌呤二氧戊环);和洛德腺苷(lodenosine)(FddA)。典型的合适的NNRTI包括奈韦拉平(BI-RG-587);地拉韦定(BHAP,U-90152);依法韦仑(DMP-266);PNU-142721;AG-1549;MKC-442(1-(乙氧基-甲基)-5-(1-甲基乙基)-6-(苯基甲基)-(2,4(1H,3H)-嘧啶二酮);和(+)-胡桐内酯A(NSC-675451))和B。典型的合适的蛋白酶抑制剂包括沙奎那韦(Ro 31-8959);利托那韦(ABT-538);茚地那韦(MK-639);奈非那韦(AG-1343);安普那韦(141W94);拉西那韦;DMP-450;BMS-2322623;ABT-378;和AG-1549。其他抗病毒剂包括羟基脲、利巴韦林、IL-2、IL-12、喷他夫西(pentafuside)和Yissum项目编号11607。

[0326] 本发明还包括可用于例如治疗或预防DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 相关疾病或障碍以及本文提及的其他疾病的药物试剂盒,其包括一个或多个含有药物组合物的容器,所述药物组合物包含治疗有效量的式(I)的化合物。如果希望,此类试剂盒可以进一步包括以下中的一种或多种:各种常规药物试剂盒部件,例如像具有一种或多种药学上可接受的载体的容器、另外的

容器,这对于本领域技术人员而言将容易地显而易见的。试剂盒中还可以包括作为插页或作为标签的说明书,指示待施用的组分的量、施用指导、和/或混合组分的指导。

[0327] 组合疗法旨在包括以顺序方式施用这些治疗剂(即,其中在不同时间施用每种治疗剂)以及以基本上同时的方式施用这些治疗剂或这些治疗剂中的至少两种。基本上同时施用可以例如通过向受试者施用具有固定比率的每种治疗剂的单一剂型或以各治疗剂的多个单一剂型来完成。顺序或基本上同时施用各治疗剂可以通过任何适当途径来实现,所述适当途径包括但不限于口服途径、静脉内途径、肌内途径、以及通过粘膜组织直接吸收。治疗剂可以通过相同途径或通过不同途径施用。例如,所选组合的第一治疗剂可以通过静脉内注射施用,而所述组合的其他治疗剂可以口服施用。可替代地,例如,可以口服施用所有治疗剂或者可以通过静脉内注射施用所有治疗剂。组合疗法还可以包括将如上所述的治疗剂进一步与其他生物活性成分和非药物治疗(例如,手术或放射治疗)组合施用。在组合疗法还包括非药物治疗的情况下,所述非药物治疗可以在任何合适的时间进行,只要从治疗剂与非药物治疗的组合的共同作用实现有益效果即可。例如,在适当的情况下,当非药物治疗暂时从治疗剂的施用中移除时(也许是数天或甚至数周),仍然实现所述有益效果。

[0328] 本发明还提供了药学上可接受的组合物,其包含与一种或多种药学上可接受的载体(添加剂)和/或稀释剂一起配制的治疗有效量的一种或多种式(I)的化合物,以及任选地如上所述的一种或多种另外治疗剂。

[0329] 可以通过以下任何合适的方式施用本发明的化合物用于任何本文所述的用途:例如口服,诸如片剂、胶囊(其中的每一种包括持续释放或定时释放配制品)、丸剂、散剂、颗粒剂、酏剂、酹剂、混悬剂(包括纳米混悬剂、微混悬剂、喷雾干燥分散体)、糖浆剂和乳剂;舌下地;经颊地;肠胃外地,诸如通过皮下、静脉内、肌内或胸骨内注射或输注技术(例如,作为无菌可注射水性或非水性溶液或混悬剂);经鼻地,包括施用至鼻膜,诸如通过吸入喷雾;局部地,诸如以乳膏或软膏的形式;或经直肠地,诸如以栓剂的形式。它们可以单独施用,但是通常将与基于所选择的施用途径和标准药学实践而选择的药物载体一起施用。

[0330] 如本文所用的短语“药学上可接受的载体”意指药学上可接受的材料、组合物或媒介物,诸如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、制造助剂(例如润滑剂、滑石镁、硬脂酸钙或硬脂酸锌、或硬脂酸)、或溶剂包封材料,其参与将主题化合物从身体的一个器官或部分携带或运输到身体的另一个器官或部分。每种载体都必须是在与配制品的其他成分相容并且对患者无害的意义上“可接受的”,所述其他成分包括:即,佐剂、赋形剂或媒介物,诸如稀释剂、防腐剂、填充剂、流动调节剂、崩解剂、润湿剂、乳化剂、助悬剂、甜味剂、调味剂、加香剂、抗菌剂、抗真菌剂、润滑剂和分配剂,取决于施用方式和剂型。

[0331] 术语“药物组合物”意指包含本发明的化合物与至少一种另外的药学上可接受的载体的组合的组合物。

[0332] 根据完全在本领域普通技术人员的范围内的许多因素来配制药学上可接受的载体。这些包括但不限于:正在配制的活性剂的类型和性质;含有药剂的组合物待施用的受试者;组合物施用的预期途径;和正在靶向的治疗适应症。药学上可接受的载体包括水性和非水性液体介质两者、以及多种固体和半固体剂型。此类载体还可以包括除活性剂之外的许多不同的成分和添加剂,此类另外的成分出于本领域普通技术人员熟知的多种原因(例如,活性剂、粘合剂等)的稳定化)被包括在配制品中。合适的药学上可接受的载体的描述及其选

择涉及的因素发现于各种可容易获得的来源,例如像Allen, L.V. Jr. 等人Remington: The Science and Practice of Pharmacy (2卷), 第22版 (2012), Pharmaceutical Press。

[0333] 当然,本发明的化合物的给药方案将根据已知因素(诸如特定药剂的药效学特征及其施用方式和途径;接受者的物种、年龄、性别、健康、医疗状况和体重;症状的性质和程度;同时治疗的种类;治疗频率;施用途径、患者的肾和肝功能和所希望的效果)而变化。

[0334] 作为通用指导,当用于所指示的效果时,每种活性成分的每日口服剂量范围将为在约0.001至约5000mg/天之间、优选在约0.01至约1000mg/天之间、并且最优选在0.1至约250mg/天之间。经静脉内,在恒定速率输注期间,最优选的剂量的范围将是约0.01至约10mg/kg/分钟。可以将本发明的化合物以单一日剂量施用,或者可以将每日总剂量以每日两次、三次或四次的分剂量施用。

[0335] 所述化合物典型地与合适的药物稀释剂、赋形剂或载体(在本文中统称为药物载体)混合施用,所述药物稀释剂、赋形剂或载体关于施用的预期形式(例如,口服片剂、胶囊、酞剂和糖浆)适当选择,并且与常规制药实践一致。

[0336] 适用于施用的剂型(药物组合物)可以含有从约1毫克至约2000毫克活性成分/剂量单位。在这些药物组合物中,所述活性成分通常将以基于组合物总重量按重量计约0.1%-95%的量存在。

[0337] 用于口服施用的典型胶囊含有至少一种本发明化合物(250mg)、乳糖(75mg)和硬脂酸镁(15mg)。将混合物通过60目筛并且包装到L号明胶胶囊中。

[0338] 通过将至少一种本发明的化合物(250mg)无菌放入小瓶中、无菌冷冻-干燥和密封来产生典型的可注射制剂。为了使用,将小瓶的内容物与2mL生理盐水混合以产生可注射制剂。

[0339] 本发明在其范围内包括包含治疗有效量的至少一种本发明的化合物(单独的或与药物载体组合)作为活性成分的药物组合物。任选地,本发明化合物可以单独使用,与本发明的其他化合物组合使用,或者与一种或多种其他治疗剂(例如抗癌剂或其他药物活性材料)组合使用。

[0340] 无论选择何种施用途径,可以通过本领域技术人员已知的常规方法将本发明的化合物(其可以以合适的水合形式使用)和/或本发明的药物组合物配制成药学上可接受的剂型。

[0341] 可以改变本发明的药物组合物中的活性成分的实际剂量水平,以便获得有效实现对于特定患者、组合物和施用方式的治疗反应而不会对患者造成毒性的量的活性成分。

[0342] 所选剂量水平将取决于多种因素,包括所采用的本发明的特定化合物或其酯、盐或酰胺的活性,施用途径,施用时间,所采用的特定化合物的排泄或代谢速率,吸收速率和程度,治疗的持续时间,与所采用的特定化合物组合使用的其他药物、化合物和/或材料,所治疗的患者的年龄、性别、体重、状况、总体健康状况和先前病史,以及医学领域中熟知的类似因素。

[0343] 具有本领域普通技术的医师或兽医可以容易地确定和开出所需药物组合物的有效量。例如,医师或兽医可以以比实现治疗效果所需的水平更低的水平来开始在药物组合物中使用的本发明化合物的剂量,并且逐渐增加剂量直到达到效果。

[0344] 通常,本发明化合物的合适日剂量将是有效产生治疗效果的最低剂量的化合物

量。通常此类有效剂量将取决于以上所述的因素。通常,对于患者而言本发明化合物的口服、静脉内、脑室内和皮下剂量的范围将是约0.01mg至约50mg/千克体重/天。

[0345] 如果希望,活性化合物的有效日剂量可以作为两个、三个、四个、五个、六个或更多个亚剂量施用,所述亚剂量在一天中以适当的间隔分开(任选地在单位剂型中)施用。在本发明的某些方面,给药是每天施用一次。

[0346] 虽然有可能单独施用本发明的化合物,但优选的是将所述化合物作为药物配制品(组合物)来施用。

[0347] 当与本发明的化合物组合使用时,以上其他治疗剂可以例如以在Physicians' Desk Reference (PDR) 中指示的量使用或如由本领域普通技术人员以其他方式确定的量使用。在本发明的方法中,此类一种或多种其他治疗剂可以在施用本发明的化合物之前、同时或之后施用。

[0348] 制备方法

[0349] 本发明的化合物可以通过有机化学领域的技术人员可用的多种方法合成。用于制备本发明的化合物的通用合成方案描述于下文中。这些方案是说明性的,并且不意在限制本领域技术人员可以用于制备本文所公开化合物的可能技术。制备本发明的化合物的不同方法对于本领域技术人员而言是清楚的。通过通用方案中所述的方法制备的本发明化合物的实施例在下文列出的实施例部分中给出。同手性实施例的制备可以通过本领域技术人员已知的技术进行。例如,可以通过经由手性相制备型HPLC分离外消旋产物或非对映异构体来制备同手性化合物。可替代地,可以通过已知的方法制备实施例化合物,以得到对映异构体或非对映异构体富集的产物。

[0350] 本章节所述的反应和技术在适合于所用试剂和材料的溶剂中进行,并且适用于所进行的转化。此外,在下文给出的合成方法的描述中,应理解,所有提出的反应条件(包括选择溶剂、反应气氛、反应温度、实验的持续时间和后处理程序)被选择为对于所述反应为标准的条件,本领域技术人员应当容易地认识到这一点。有机合成领域技术人员应当理解的是,存在于分子中各个部分上的官能团必须与所提出的试剂和反应相容。对与反应条件相容的取代基的此类限制对于本领域技术人员而言应是容易地清楚的,其中当存在不相容的取代基时需要替代方案。这有时将需要判断以修改合成步骤的顺序或选择一种特定的方法方案而不是另一种,以便获得本发明的化合物。还应认识到,在此领域中任何合成途径的规划中的另一个主要考虑因素是明智地选择用于保护本发明所述的化合物中存在的反应性官能团的保护基团。为受过培训的从业者描述许多替代方案的权威解释是Wuts和Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 第四版, Wiley and Sons (2007)。

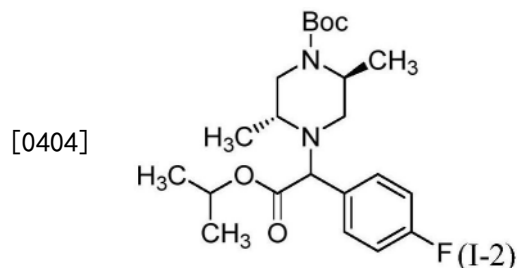
[0351] 实施例

[0352] 以下实施例阐明了本发明的特定和优选的实施方案,并且不限制本发明的范围。除非另有说明,否则化学缩写和符号以及科学缩写和符号具有其通常和惯常的含义。以上定义了实施例和本申请中其他地方使用的其他缩写。常见的中间体通常可用于制备多于一个的实施例,并且按顺序标识(例如中间体1、中间体2等)并且缩写为Int.1或I1、Int.2或I2等。实施例的化合物由制备它们的实施例和步骤(例如,“1-A”表示实施例1,步骤A)或仅在化合物为实施例的标题化合物的情况下的实施例(例如,“1”表示实施例1的标题化合物)来标识。在一些情况下,描述了中间体或实施例的替代制备。通常,合成领域的熟练化学家可

以设计基于一种或多种考虑因素可能合意的替代性制备,所述一种或多种考虑因素诸如较短的反应时间、较低廉的起始材料、易于操作或分离、提高的产率、适合于催化、避免毒性试剂、专用仪器的可得性以及减少的线性步骤的数量等。描述替代性制备的目的是进一步使得能够制备本发明的实施例。在一些情况下,在所概述的实施例和权利要求中的一些官能团可以被本领域已知的熟知的生物电子等排替代物替代,例如用四唑或磷酸酯部分替代羧酸基团。在氘代二甲基亚砜中收集的 $^1\text{H}$  NMR数据在数据处理时使用水抑制。所报告的光谱未针对水抑制作用进行校正。与3.35ppm的水抑制频率相邻的质子展现出降低的信号强度。

|        |                         |                            |
|--------|-------------------------|----------------------------|
| [0353] | 缩写                      |                            |
| [0354] | Ac                      | 乙酰基                        |
| [0355] | anhyd.                  | 无水的                        |
| [0356] | aq.                     | 水性                         |
| [0357] | BOP                     | 苯并三唑-1-基氧基三-(二甲基氨基)-磷六氟磷酸盐 |
| [0358] | Bu                      | 丁基                         |
| [0359] | DCM                     | 二氯甲烷                       |
| [0360] | DEA                     | 二乙胺                        |
| [0361] | DIEA或DIPEA              | 二异丙基乙胺                     |
| [0362] | DMF                     | 二甲基甲酰胺                     |
| [0363] | DMSO                    | 二甲基亚砜                      |
| [0364] | dppf                    | 1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁           |
| [0365] | Et                      | 乙基                         |
| [0366] | EtOAc                   | 乙酸乙酯                       |
| [0367] | EtOH                    | 乙醇                         |
| [0368] | h、hour或hr               | 小时                         |
| [0369] | HCl                     | 盐酸                         |
| [0370] | HPLC                    | 高压液相色谱法                    |
| [0371] | LC                      | 液相色谱法                      |
| [0372] | LCMS                    | 液相色谱-质谱法                   |
| [0373] | M                       | 摩尔                         |
| [0374] | mM                      | 毫摩尔                        |
| [0375] | Me                      | 甲基                         |
| [0376] | MeOH                    | 甲醇                         |
| [0377] | Mesyl-Cl                | 甲磺酰氯                       |
| [0378] | MHz                     | 兆赫                         |
| [0379] | mins                    | 分钟                         |
| [0380] | $\text{M}^{+1}$         | $(\text{M}+\text{H})^+$    |
| [0381] | MS                      | 质谱法                        |
| [0382] | n或N                     | 正                          |
| [0383] | $\text{NH}_4\text{OAc}$ | 乙酸铵                        |
| [0384] | nM                      | 纳摩尔                        |

- [0385] NMP N-甲基吡咯烷酮
- [0386]  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  三(二亚苄基丙酮)二钯
- [0387] pet ether 石油醚
- [0388] Ph 苯基
- [0389]  $\text{POCl}_3$  三氯氧磷
- [0390] rt或Ret time 保留时间
- [0391] sat. 饱和的
- [0392] TEA 三乙胺
- [0393] TFA 三氟乙酸
- [0394] THF 四氢呋喃
- [0395] 针对每个实施例和中间体报告的分析型LC-MS/HPLC保留时间使用以下通用分析型LC-MS/HPLC条件之一:
- [0396] 方法A:柱:XBridge BEH XP C18 (2.1x50mm), 2.5 $\mu\text{m}$ ;流动相A:10mM乙酸铵:乙腈(95:5),流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(5:95),梯度=经3分钟0-100%B;温度:50℃;流速:1.1mL/min;检测:在220nm下的UV。
- [0397] 方法B:柱:Waters Acquity UPLC BEH C18, 2.1x50mm, 1.7 $\mu\text{m}$ 颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ );流动相B:95:5乙腈:水(含10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ );温度:50℃;梯度:经3分钟0-100%B,然后在100%B下保持0.75分钟;流量:1.0mL/min;检测:在220nm下的UV。
- [0398] 方法C:柱:Waters Acquity UPLC BEH C18, 2.1x50mm, 1.7 $\mu\text{m}$ 颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含0.1%TFA);流动相B:95:5乙腈:水(含0.1%TFA);温度:50℃;梯度:经3分钟0-100%B然后在100%B下保持0.75分钟;流量:1.0mL/min;检测:在220nm下的UV。
- [0399] 方法D:柱:Waters XBridge C18, 2.1mm x 50mm, 1.7 $\mu\text{m}$ 颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ );流动相B:95:5乙腈:水(含10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ );温度:50℃;梯度:经3min 0%B至100%B,然后在100%B下保持0.50min;流量:1mL/min;检测:在220nm下的UV。
- [0400] 方法E:柱:Waters XBridge C18, 2.1mm x 50mm, 1.7 $\mu\text{m}$ 颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含0.1%TFA);流动相B:95:5乙腈:水(含0.1%TFA);温度:50℃;梯度:经3min 0%B至100%B,然后在100%B下保持0.50min;流量:1mL/min;检测:
- [0401] 在220nm下的UV。
- [0402] 中间体2
- [0403] (2S, 5R) -4- (1- (4-氟苯基) -2-异丙氧基-2-氧代乙基) -2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯

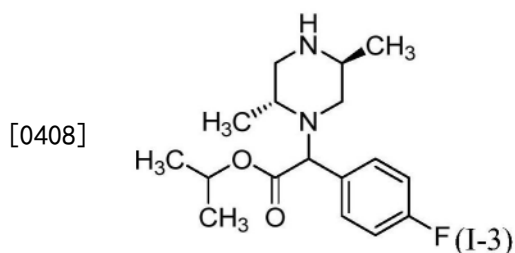


- [0405] 向2-((2R, 5S) -4- (叔丁氧羰基) -2,5-二甲基哌嗪-1-基) -2- (4-氟苯基) 乙酸(500mg, 1.36mmol) 在DMF (10mL) 中的搅拌溶液中添加 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (566mg, 4.09mmol) 和2-碘丙烷

(0.82mL, 8.19mmol)。将反应混合物在室温下搅拌16h。将反应用水(50mL)淬灭。将反应混合物用乙酸乙酯(3x100mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下蒸发以获得粗产物(320mg, 64%)。LCMS: $m/z=409.0$  (M+H);保留时间1.48, 1.65min (LCMS方法:柱:Waters Acquity UPLC BEH C18 (2.1x50mm), 1.7 $\mu$ m;流动相A:在水中的0.1% TFA;流动相B:在乙腈中的0.1% TFA;梯度=经1.1分钟20%-90%B,然后在90%B下保持0.6分钟;温度:50 $^{\circ}$ C;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV。

[0406] 中间体3

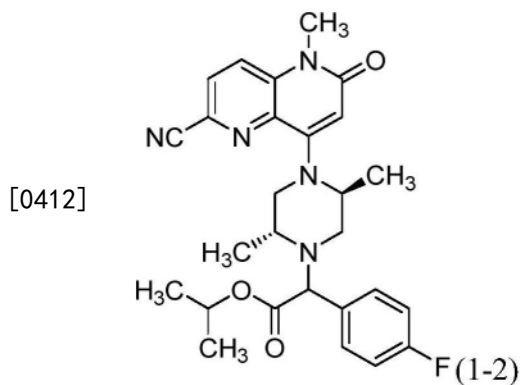
[0407] 2-((2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸异丙酯



[0409] 向(2S,5R)-4-(1-(4-氟苯基)-2-异丙氧基-2-氧代乙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(300mg, 0.73mmol)在DCM(5mL)中的搅拌溶液中添加在二噁烷中的HCl(2mL, 65.8mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1h。将反应混合物在减压下浓缩以获得粗产物。将粗化合物与DCM和己烷(1:4)一起研磨并且过滤以获得2-((2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸异丙酯(180mg, 71%)。LCMS: $m/z=309.5$  (M+H);保留时间0.73min (LCMS方法:柱:Waters Acquity UPLC BEH C18 (2.1x50mm) 1.7 $\mu$ m,流动相A:10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ :乙腈(95:5);流动相B:10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ :乙腈(5:95),梯度=经1.1分钟20%-90%B,然后在90%B下保持0.6分钟;温度:50 $^{\circ}$ C;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV。

[0410] 实施例1和2

[0411] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸异丙酯



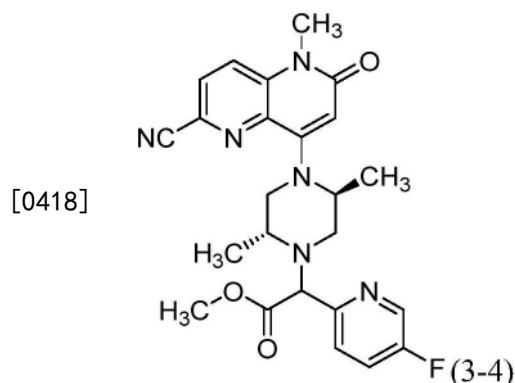
[0413] 向6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基三氟甲磺酸酯, HCl(200mg, 0.54mmol)在乙腈(8mL)中的搅拌溶液中添加DIPEA(0.283mL, 1.62mmol)。将反应混合物搅拌5min并且添加2-((2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸异丙酯(167mg, 0.54mmol)。将反应混合物在85 $^{\circ}$ C下加热3h。将反应混合物冷却至室温,在减压下蒸发以获得粗产物,将其经由制备型HPLC(方法:柱:Sunfire C18 (150x19)mm-5 $\mu$ m;流动相A:在水中的10mM乙酸铵, pH:4.5;流动相B:乙腈;流量:20mL/min)纯化以得到实施例1和2。

[0414] 实施例1:13.0mg, 4.9%产率。LCMS:  $m/z=492.2$  (M+H); 保留时间2.25min (LCMS方法: 柱: Ascentis Express C18 (2.1x50mm), 2.7 $\mu$ m; 流动相A: 10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ : 乙腈 (95:5), 流动相B: 10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ : 乙腈 (5:95), 梯度=经3分钟0-100%B; 温度: 50 $^{\circ}\text{C}$ ; 流速: 1.1mL/min; 检测: 在220nm下的UV)。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ ppm 8.12-8.18 (m, 1H), 8.04-8.10 (m, 1H), 7.53-7.62 (m, 2H), 7.22 (t,  $J=8.80\text{Hz}$ , 2H), 6.04 (s, 1H), 4.92 (五重峰,  $J=6.17\text{Hz}$ , 1H), 4.35-4.45 (m, 1H), 4.32 (s, 1H), 3.61-3.71 (m, 1H), 3.49-3.61 (m, 4H), 3.37 (br s, 1H), 2.76 (dd,  $J=11.37, 3.30\text{Hz}$ , 1H), 2.06-2.14 (m, 1H), 1.17-1.23 (m, 6H), 1.11 (t,  $J=6.60\text{Hz}$ , 6H)。

[0415] 实施例2:22.0mg, 8.1%产率。LCMS:  $m/z=492.2$  (M+H); 保留时间2.23min (LCMS方法: 柱: Ascentis Express C18 (2.1x50mm), 2.7 $\mu$ m; 流动相A: 10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ : 乙腈 (95:5), 流动相B: 10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ : 乙腈 (5:95), 梯度=经3分钟0-100%B; 温度: 50 $^{\circ}\text{C}$ ; 流速: 1.1mL/min; 检测: 在220nm下的UV)。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ ppm 8.13-8.18 (m, 1H), 8.03-8.11 (m, 1H), 7.60 (dd,  $J=8.56, 5.62\text{Hz}$ , 2H), 7.24 (t,  $J=8.80\text{Hz}$ , 2H), 5.99 (s, 1H), 4.90 (五重峰,  $J=6.24\text{Hz}$ , 1H), 4.52-4.65 (m, 1H), 4.29 (s, 1H), 3.55-3.63 (m, 1H), 3.52 (s, 3H), 3.42 (dd,  $J=2.59, 3.30\text{Hz}$ , 1H), 3.13 (dd,  $J=11.25, 3.42\text{Hz}$ , 1H), 2.77-2.88 (m, 1H), 2.44 (br d,  $J=10.52\text{Hz}$ , 1H), 1.28 (d,  $J=6.36\text{Hz}$ , 3H), 1.16 (d,  $J=6.11\text{Hz}$ , 3H), 1.11 (d,  $J=6.36\text{Hz}$ , 3H), 1.00 (d,  $J=6.36\text{Hz}$ , 3H)。

[0416] 实施例3和4

[0417] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(5-氟吡啶-2-基)乙酸甲酯



[0419] 向8-((2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈HCl (300mg, 0.9mmol) 在乙腈 (8mL) 中的搅拌溶液中添加DIPEA (0.471mL, 2.70mmol), 然后添加2-溴-2-(5-氟吡啶-2-基)乙酸甲酯 (268mg, 1.08mmol)。将反应混合物在85 $^{\circ}\text{C}$ 下加热16h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤并且在减压下浓缩以获得粗产物。将粗产物经由制备型SFC (方法: 柱/尺寸: Lux Amylose-2 (250X4.6) mm, 5 $\mu$ m; %  $\text{CO}_2$ : 65%; % 共溶剂: 35% ACN: MeOH (50:50); 总流量: 4.0g/min; 背压: 100巴; 温度: 30 $^{\circ}\text{C}$ ; UV: 225nm) 纯化以得到实施例3和4。

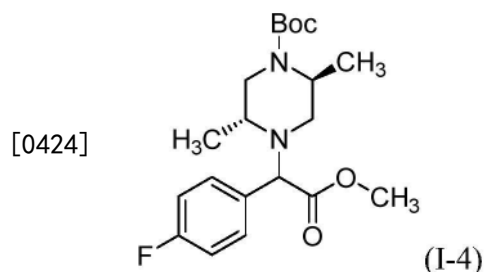
[0420] 实施例3:20.3mg, 39.4%产率。LCMS:  $m/z=465.2$  (M+H); 保留时间1.67min (LCMS方法: 柱: Ascentis Express C8 (50x2.1mm) 2.7 $\mu$ m; 流动相A: 10mM甲酸铵: 乙腈 (98:2), 流动相B: 10mM甲酸铵: 乙腈 (2:98), 梯度=经1.5分钟0-100%B, 然后在100%B下保持0.6min; 温度: 27 $^{\circ}\text{C}$ ; 流速: 1.0mL/min; 检测: 在220nm下的UV)。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ ppm 8.53 (d,  $J=2.9\text{Hz}$ , 1H), 8.21-8.13 (m, 1H), 8.10-8.03 (m, 1H), 7.87-7.79 (m, 1H), 7.78-7.71 (m, 1H),

6.08 (s, 1H), 4.68 (s, 1H), 4.28-4.15 (m, 1H), 3.71-3.58 (m, 4H), 3.53 (s, 4H), 3.32-3.23 (m, 1H), 2.82 (dd,  $J=3.5, 11.9\text{Hz}$ , 1H), 2.31 (dd,  $J=4.4, 12.0\text{Hz}$ , 1H), 1.14 (dd,  $J=6.4, 16.6\text{Hz}$ , 6H)。

[0421] 实施例4: 21.7mg, 41.2% 产率。LCMS:  $m/z=465.2$  (M+H); 保留时间 1.67min (LCMS 方法: 柱: Ascentis Express C8 (50x2.1mm) 2.7 $\mu\text{m}$ ; 流动相 A: 10mM 甲酸铵: 乙腈 (98:2), 流动相 B: 10mM 甲酸铵: 乙腈 (2:98), 梯度=经 1.5 分钟 0-100% B, 然后在 100% B 下保持 0.6min; 温度: 27 $^{\circ}\text{C}$ ; 流速: 1.0mL/min; 检测: 在 220nm 下的 UV)。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ ppm 8.53 (d,  $J=2.7\text{Hz}$ , 1H), 8.19-8.13 (m, 1H), 8.09-8.03 (m, 1H), 7.86-7.79 (m, 1H), 7.78-7.73 (m, 1H), 6.03 (s, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.53-4.39 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.59-3.49 (m, 5H), 3.32 (br d,  $J=3.2\text{Hz}$ , 1H), 3.11-3.02 (m, 1H), 2.40 (dd,  $J=2.6, 11.9\text{Hz}$ , 1H), 1.17 (d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 3H), 1.06 (d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 3H)。

[0422] 中间体4

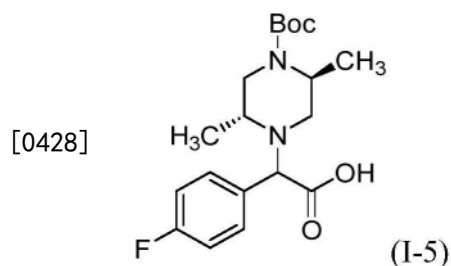
[0423] (2S, 5R) -4- (1- (4-氟苯基) -2-甲氧基-2-氧代乙基) -2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯



[0425] 向 2-溴-2- (4-氟苯基) 乙酸甲酯 (1.0g, 4.05mmol) 在乙腈 (10mL) 中的溶液中添加 DIPEA (2.12mL, 12.14mmol), 然后添加 (2S, 5R) -2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (1.04g, 4.86mmol)。将反应混合物在 85 $^{\circ}\text{C}$  下搅拌过夜。将反应混合物在减压下浓缩以去除挥发物, 并且将粗残余物溶解于乙酸乙酯 (150mL) 中并且用水洗涤。将水层用乙酸乙酯 (100mL x2) 反萃取。将合并的有机层用盐水冲洗, 经无水硫酸钠干燥, 在减压下浓缩以得到粗产物。将粗残余物经由硅胶色谱法 (10%-20% 乙酸乙酯/石油醚; 40g 柱) 纯化以得到 (2S, 5R) -4- (1- (4-氟苯基) -2-甲氧基-2-氧代乙基) -2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (1.201g, 3.16mmol, 78% 产率)。LCMS:  $m/z=381.4$  (M+H); rt 2.18min (LCMS 方法: 柱: Waters Acquity UPLC BEH C18 (2.1x50mm) 1.7 $\mu\text{m}$ , 流动相 A: 10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ : 乙腈 (95:5); 流动相 B: 10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ : 乙腈 (5:95), 梯度=经 1.1 分钟 20%-90% B, 然后在 90% B 下保持 0.6 分钟; 温度: 50 $^{\circ}\text{C}$ ; 流速: 0.7mL/min; 检测: 在 220nm 下的 UV)。

[0426] 中间体5

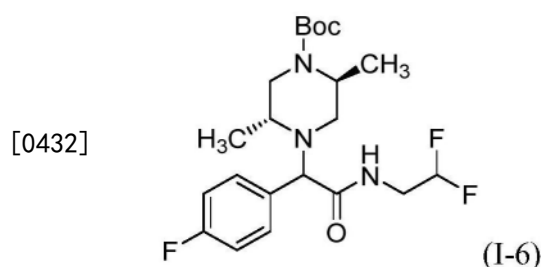
[0427] 2- ((2R, 5S) -4- (叔丁氧羰基) -2,5-二甲基哌嗪-1-基) -2- (4-氟苯基) 乙酸



[0429] 向(2S,5R)-4-(1-(4-氟苯基)-2-甲氧基-2-氧代乙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(500mg,1.31mmol)在THF(12mL)/水(4mL)中的溶液中添加LiOH(315mg,13.14mmol)。将反应混合物在60℃下搅拌过夜。将反应混合物在减压下部分浓缩以去除挥发物并且用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,在减压下浓缩以得到2-((2R,5S)-4-(叔丁氧羰基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸(451mg,94%产率)。LCMS:m/z=367.2(M+H);rt 0.97和1.01min(LCMS方法:柱:Waters Acquity UPLC BEH C18 (2.1x50mm) 1.7μm,流动相A:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(95:5);流动相B:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(5:95),梯度=经1.1分钟20%-90%B,然后在90%B下保持0.6分钟;温度:50℃;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV)。

[0430] 中间体6

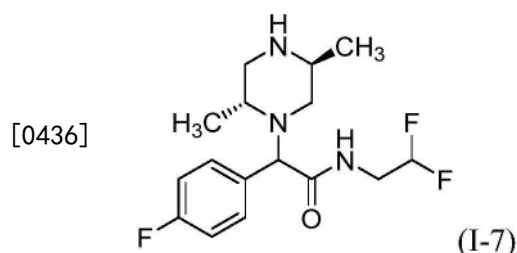
[0431] (2S,5R)-4-(2-((2,2-二氟乙基)氨基)-1-(4-氟苯基)-2-氧代乙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯



[0433] 向2-((2R,5S)-4-(叔丁氧羰基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸(100mg,0.27mmol)在DMF(5mL)中的溶液中添加1-丙烷膦酸酐(0.55mL,0.55mmol),然后添加DIPEA(0.05mL,0.27mmol)。将反应混合物在室温下搅拌30min。接下来,添加2,2-二氟乙-1-胺(22.12mg,0.27mmol)并且将反应混合物在室温下搅拌过夜。将反应混合物在减压下浓缩以去除挥发物并且将粗残余物溶解于乙酸乙酯(20mL)中,并且用水洗涤。将水层用乙酸乙酯(15mL x 2)反萃取。将合并的有机层用盐水冲洗,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,在减压下浓缩以得到粗产物。将粗残余物经由硅胶色谱法(10%-20%甲醇/氯仿;12g柱)纯化以得到(2S,5R)-4-(2-((2,2-二氟乙基)氨基)-1-(4-氟苯基)-2-氧代乙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(65mg,55.5%产率)。LCMS:m/z=430.4(M+H);rt 1.86min(LCMS方法:柱:Waters Acquity UPLC BEH C18 (2.1x50mm) 1.7μm,流动相A:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(95:5);流动相B:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(5:95),梯度=经1.1分钟20%-90%B,然后在90%B下保持0.6分钟;温度:50℃;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV)。

[0434] 中间体7

[0435] N-(2,2-二氟乙基)-2-((2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺

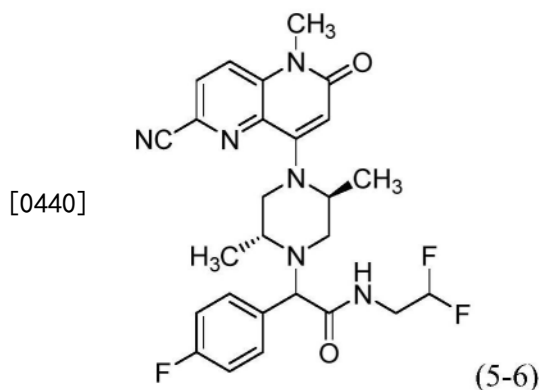


[0437] 向(2S,5R)-4-(2-((2,2-二氟乙基)氨基)-1-(4-氟苯基)-2-氧代乙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(60mg,0.14mmol)在DCM(10mL)中的溶液中添加在二噁烷中的HCl

(0.04mL, 1.39mmol)。将反应混合物搅拌3h。将反应混合物在减压下蒸发并且将粗残余物与己烷一起研磨。将固体通过烧结漏斗过滤,在减压下干燥以得到N-(2,2-二氟乙基)-2-((2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺(42mg, 91%产率)。LCMS:m/z=330.3(M+H);rt 0.81和0.91min(LCMS方法:柱:Waters Acquity UPLC BEH C18(2.1x50mm) 1.7 $\mu$ m,流动相A:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(95:5);流动相B:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(5:95),梯度=经1.1分钟20%-90%B,然后在90%B下保持0.6分钟;温度:50℃;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV)。

[0438] 实施例5和6

[0439] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-(2,2-二氟乙基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺



[0441] 向6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基三氟甲磺酸酯(47.4mg, 0.14mmol)在乙腈(3mL)中的溶液中添加DIPEA(0.06mL, 0.33mmol),然后添加N-(2,2-二氟乙基)-2-((2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺,HCl(40mg, 0.11mmol)。将反应混合物在85℃下搅拌过夜。将反应混合物在减压下浓缩以去除挥发物并且将粗残余物溶解于乙酸乙酯中并且用水洗涤。将水层用乙酸乙酯(15mL x 2)反萃取。将合并的有机层用盐水冲洗,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,在减压下浓缩以得到粗产物。将粗残余物经由制备型HPLC(方法:柱:DAD-1-Cellulose-2(250X4.6mm), 5微米;DAD-2-Cellulose-4(250X4.6mm), 5微米;流动相:在乙腈中的0.1%DEA;流量:2.0mL/min)纯化以得到实施例5和6。

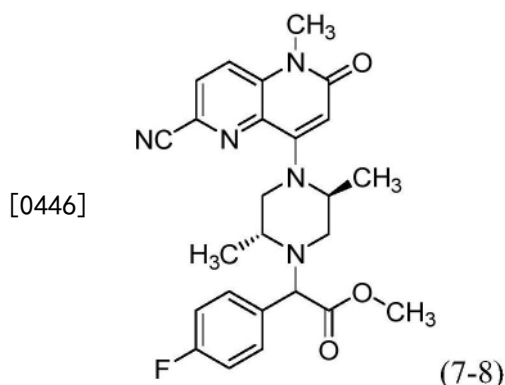
[0442] 实施例5:1.2mg, 2.1%产率。LCMS:m/z=513.2(M+H);rt 1.731min(LCMS方法:柱:XBridge BEH XP C18(2.1x50mm), 2.5 $\mu$ m;流动相A:10mM乙酸铵:乙腈(95:5),流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(5:95),梯度=经3分钟0-100%B;温度:50℃;流速:1.1mL/min;检测:在220nm下的UV。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): $\delta$ 8.30-8.44(m, 1H) 8.12-8.20(m, 1H) 8.01-8.10(m, 1H) 7.55-7.69(m, 2H) 7.15-7.29(m, 2H) 5.84-6.19(m, 1H) 4.58-4.69(m, 1H) 4.12(s, 1H) 3.42-3.59(m, 6H) 3.03-3.08(m, 1H) 2.81-2.93(m, 3H) 2.59(br d, J=0.73Hz, 1H) 1.20-1.34(m, 3H) 0.94(d, J=6.60Hz, 3H) ppm。

[0443] 实施例6:0.5mg, 0.9%产率。LCMS:m/z=513.2(M+H);rt 1.734min(LCMS方法:柱:XBridge BEH XP C18(2.1x50mm), 2.5 $\mu$ m;流动相A:10mM乙酸铵:乙腈(95:5),流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(5:95),梯度=经3分钟0-100%B;温度:50℃;流速:1.1mL/min;检测:在220nm下的UV)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): $\delta$ 8.55-8.74(m, 1H) 8.12-8.22(m, 1H) 7.98-8.09(m, 1H) 7.45-7.64(m, 2H) 7.06-7.25(m, 2H) 5.83-6.18(m, 2H) 4.39-4.49(m, 1H) 4.18-4.28(m, 1H) 3.66-3.77(m, 1H) 3.48-3.63(m, 4H) 3.36(br s, 1H) 2.85-2.94(m, 1H) 2.67-2.75(m, 2H) 2.07

(br d,  $J=11.74\text{Hz}$ , 1H) 0.97-1.33 (m, 6H)。

[0444] 实施例7和8

[0445] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸甲酯



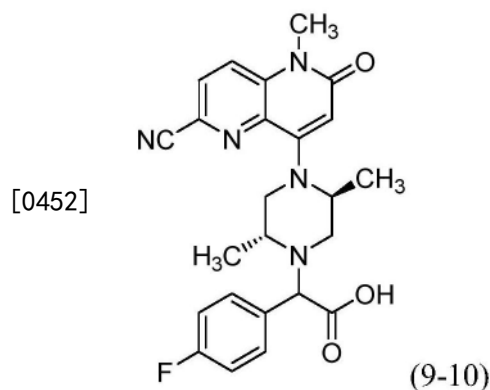
[0447] 向8-((2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈, HCl (200mg, 0.59mmol) 在乙腈 (8mL) 中的溶液中添加DIPEA (0.31mL, 1.8mmol)。将反应混合物搅拌5min并且添加2-溴-2-(4-氟苯基)乙酸甲酯 (148mg, 0.6mmol)。将反应混合物在85℃下加热16h。将反应混合物通过柱筒过滤并且在减压下浓缩以得到固体残余物。将粗化合物通过硅胶柱 (12g硅胶柱; 使用60%-67%乙酸乙酯/石油醚) 纯化以得到呈棕色固体的2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸甲酯 (250mg, 90%产率)。将纯化的化合物 (30mg) 通过制备型HPLC (方法: 柱: Inersil ODS (250mm x 19mm ID, 5 $\mu$ m); 流动相A=在水中的0.1% TFA; 流动相B=乙腈; 梯度: 经20分钟40%-100%B; 流量17mL/min) 进一步纯化以得到实施例7和8。

[0448] 实施例7: 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸甲酯TFA (12.2mg, 32.4%产率)。LCMS:  $m/z=464.2$  (M+H); rt 2.07min (LCMS方法: 柱: Ascentis Express C8 (50x2.1mm) 2.7 $\mu$ m; 流动相A: 10mM甲酸铵: 乙腈 (98:2), 流动相B: 10mM甲酸铵: 乙腈 (2:98), 梯度=经1.5分钟0-100%B, 然后在100%B下保持0.6分钟; 温度: 27℃; 流速: 1.0mL/min; 检测: 在220nm下的UV)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.20-8.15 (m, 1H), 8.10-8.03 (m, 1H), 7.62 (dd,  $J=5.6, 8.3\text{Hz}$ , 2H), 7.27 (t,  $J=8.9\text{Hz}$ , 2H), 7.24-6.95 (m, 1H), 6.03 (s, 1H), 4.71-4.51 (m, 2H), 3.65 (s, 4H), 3.53 (s, 4H), 3.23-3.13 (m, 1H), 2.92 (br d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 1H), 2.55 (s, 1H), 1.32-1.19 (m, 3H), 1.11-0.95 (m, 3H)。

[0449] 实施例8: 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸甲酯TFA (17.5mg, 46.8%产率)。LCMS:  $m/z=464.2$  (M+H); rt 2.08min (LCMS方法: 柱: Ascentis Express C8 (50x2.1mm) 2.7 $\mu$ m; 流动相A: 10mM甲酸铵: 乙腈 (98:2), 流动相B: 10mM甲酸铵: 乙腈 (2:98), 梯度=经1.5分钟0-100%B, 然后在100%B下保持0.6分钟; 温度: 27℃; 流速: 1.0mL/min; 检测: 在220nm下的UV)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.19-8.13 (m, 1H), 8.11-8.05 (m, 1H), 7.62-7.53 (m, 2H), 7.28-7.18 (m, 2H), 6.05 (s, 1H), 4.52-4.37 (m, 2H), 3.66 (s, 3H), 3.53 (s, 3H), 3.39-3.32 (m, 1H), 2.85-2.76 (m, 1H), 2.55 (s, 2H), 2.20-2.08 (m, 1H), 1.19 (d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 3H), 1.12 (d,  $J=6.4\text{Hz}$ , 3H)。

[0450] 实施例9和10

[0451] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸



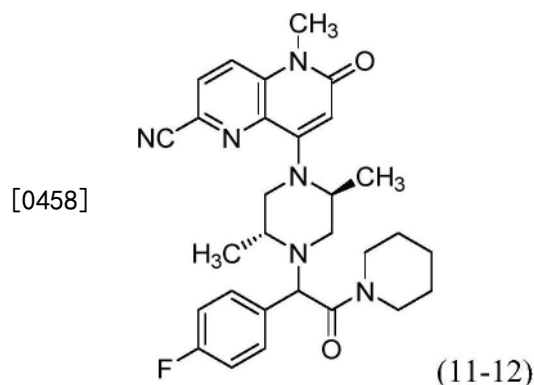
[0453] 向2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸甲酯(0.9g,1.94mmol)在1,4-二噁烷(15mL)中的溶液中添加三甲基氢氧化锡(1.76g,9.71mmol)。将反应混合物在100℃下加热28h。将反应混合物在冰浴下冷却并且用50mL乙酸乙酯稀释。将沉淀物通过布氏漏斗滤出。将滤液在减压下浓缩以得到粗2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸(粗品=1.11g)。LCMS: $m/z=450.4$ 和 $450.3$  (M+H)<sup>+</sup>;rt 0.88和0.93min(LCMS方法:柱:Waters Acquity UPLC BEH C18(2.1x50mm)1.7 $\mu$ m,流动相A:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(95:5);流动相B:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(5:95),梯度=经1.1分钟20%-90%B,然后在90%B下保持0.6分钟;温度:50℃;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV)。将粗化合物(0.08g)经由制备型HPLC(方法柱:SUN FIRE C18(150mm x 19mm ID,5 $\mu$ m);流动相A=在水中的10MM AA;流动相B=乙腈;梯度:经25分钟10%-55%B;流量19mL/min)纯化以得到非对映异构体1和2。

[0454] 实施例9:2.0mg,2.5%产率。LCMS: $m/z=450.1$  (M+H)<sup>+</sup>;rt 1.07min(LCMS方法:柱:Ascentis Express C8(50x2.1mm)2.7 $\mu$ m;流动相A:10mM甲酸铵:乙腈(98:2),流动相B:10mM甲酸铵:乙腈(2:98),梯度=经1.5分钟0-100%B,然后在100%B下保持0.6min;温度:27℃;流速:1.0mL/min;检测:在220nm下的UV)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 8.13-8.19(m,1H),8.02-8.09(m,1H),7.60(dd,J=8.56,5.62Hz,2H),7.23(t,J=8.80Hz,2H),6.00(s,1H),4.51-4.64(m,1H),4.22(s,1H)3.57-3.66(m,1H),3.52(s,4H),3.42-3.46(m,1H),3.11(dd,J=11.25,4.16Hz,1H),2.78-2.86(m,1H),1.28(d,J=6.36Hz,3H),1.00(d,J=6.60Hz,3H)。

[0455] 实施例10:4.5mg,5.6%产率。LCMS: $m/z=450.1$  (M+H)<sup>+</sup>;rt 1.15min(LCMS方法:柱:Ascentis Express C8(50x2.1mm)2.7 $\mu$ m;流动相A:10mM甲酸铵:乙腈(98:2),流动相B:10mM甲酸铵:乙腈(2:98),梯度=经1.5分钟0-100%B,然后在100%B下保持0.6min;温度:27℃;流速:1.0mL/min;检测:在220nm下的UV)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 8.11-8.18(m,1H),8.02-8.09(m,1H),7.57(dd,J=8.68,5.50Hz,2H),7.21(t,J=8.93Hz,2H),6.04(s,1H),4.38-4.48(m,1H),4.25(s,1H),3.65(br s,1H),3.55-3.61(m,1H),3.53(s,4H),3.43-3.49(m,1H),2.75(dd,J=11.49,3.42Hz,1H),1.20(d,J=6.60Hz,3H),1.12(d,J=6.60Hz,3H)。

[0456] 实施例11和12

[0457] (8-((2S,5R)-4-(1-(4-氟苯基)-2-氧代-2-(哌啶-1-基)乙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈



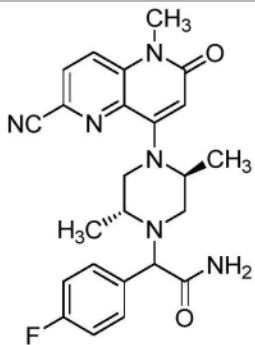
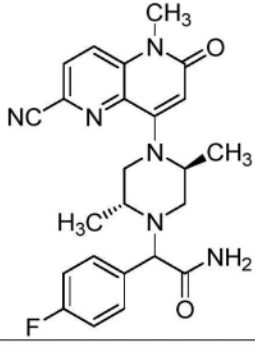
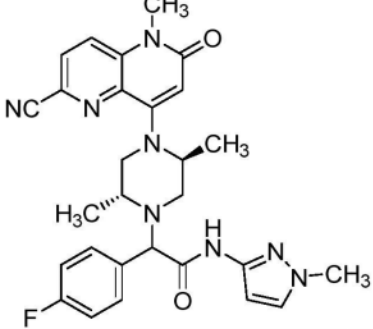
[0459] 在室温下向2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸(70mg,0.16mmol)在DCM(5mL)中的搅拌溶液中添加EDC(35.8mg,0.19mmol)、HOBt(28.6mg,0.19mmol)和DIPEA(0.05mL,0.31mmol),然后添加哌啶(0.02mL,0.19mmol)。将反应混合物搅拌12h。将反应混合物用DCM(2X30mL)萃取,用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并且在减压下去除溶剂以得到粗残余物,将其通过制备型HPLC[方法:柱:Waters XBridge C18,150mm x 19mm,5- $\mu$ m颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含10-mM乙酸铵);流动相B:95:5乙腈:水(含10-mM乙酸铵);梯度:在15%B下保持2分钟,经25分钟15%-52%B,然后在100%B下保持5分钟;流速:15mL/min;柱温:25℃]纯化。将含有产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥以得到实施例11和12。

[0460] 实施例11:1mg,1%产率。LCMS:m/z=517.2(M+H);rt 1.98min(LCMS方法:柱:XBridge BEH XP C18(2.1x50mm),2.5 $\mu$ m;流动相A:10mM乙酸铵:乙腈(95:5),流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(5:95),梯度=经3分钟0-100%B;温度:50℃;流速:1.1mL/min;检测:在220nm下的UV)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ ppm 8.09-8.17(m,1H),7.99-8.07(m,1H),7.59(dd,J=8.44,5.75Hz,2H),7.20(t,J=8.80Hz,2H),5.99(s,1H),4.81(s,1H),4.47(br dd,J=7.70,4.28Hz,1H),3.61-3.71(m,1H),3.47-3.58(m,6H),3.38-3.47(m,4H),3.07-3.18(m,1H),2.83-2.92(m,1H),1.46-1.61(m,2H),1.26-1.44(m,4H),1.20(d,J=6.36Hz,4H),1.02(d,J=6.36Hz,3H)。

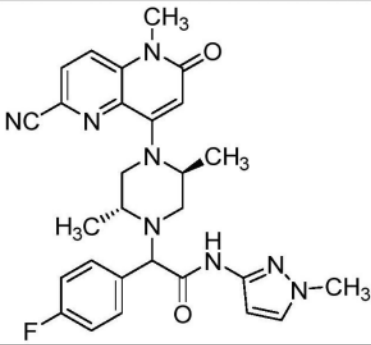
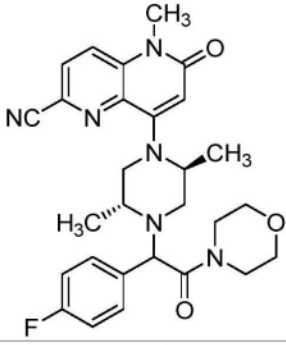
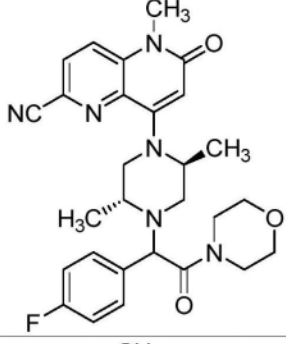
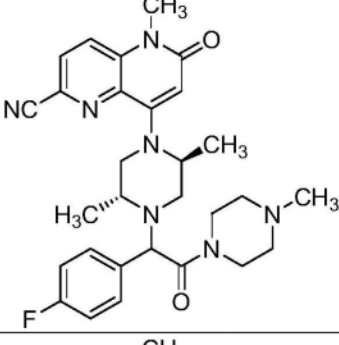
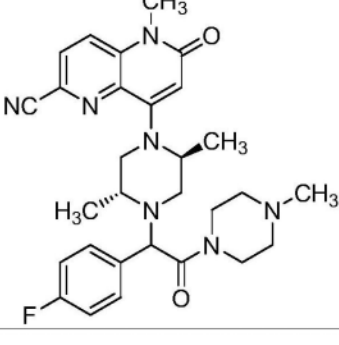
[0461] 实施例12:1mg,1%产率。LCMS:m/z=517.2(M+H);rt 1.98min(LCMS方法:柱:XBridge BEH XP C18(2.1x50mm),2.5 $\mu$ m;流动相A:10mM乙酸铵:乙腈(95:5),流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(5:95),梯度=经3分钟0-100%B;温度:50℃;流速:1.1mL/min;检测:在220nm下的UV)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ ppm 8.11-8.16(m,1H),8.01-8.10(m,1H),7.58(dd,J=8.44,5.50Hz,2H),7.11-7.23(m,2H),6.02(s,1H),4.81(s,1H),4.29-4.41(m,1H),3.69-3.83(m,1H),3.50-3.63(m,6H),2.73-2.82(m,1H),2.19-2.26(m,2H),1.48-1.61(m,3H),1.24-1.41(m,4H),1.13(d,J=6.60Hz,3H),1.09(d,J=6.36Hz,3H)。

[0462] 表1

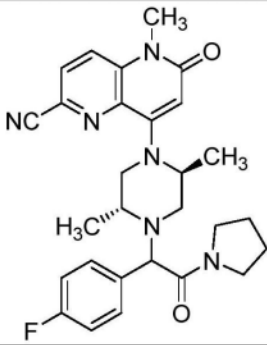
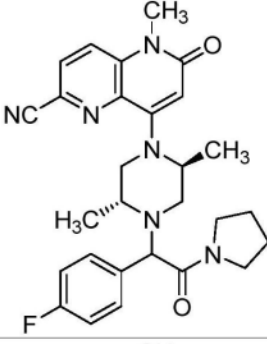
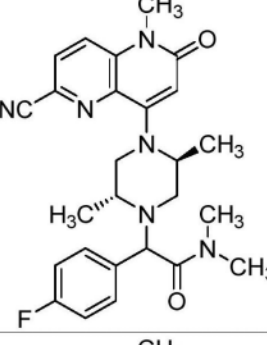
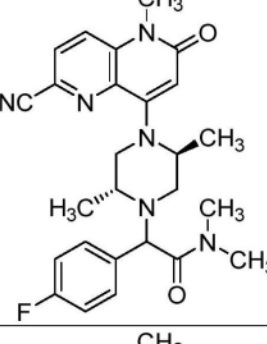
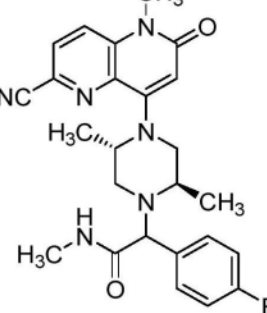
[0463]

| 实施例<br>编号 | 结构                                                                                 | LCMS<br>方法 | LCMS<br>RT | M+H   | 立体<br>化学 |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|-------|----------|
| 13        |   | A          | 1.478      | 449.1 | H        |
| 14        |   | A          | 1.489      | 449.2 | H        |
| 15        |  | A          | 1.618      | 529.3 | H        |

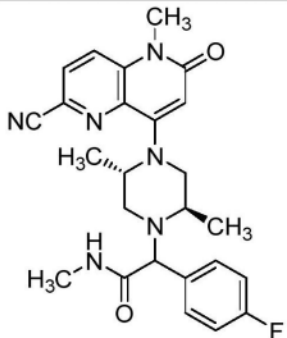
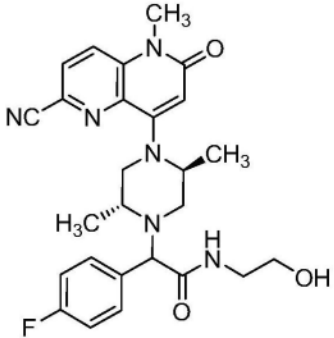
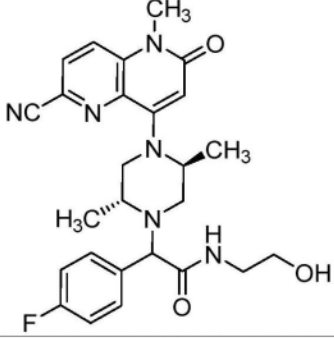
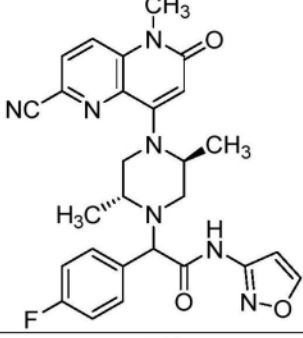
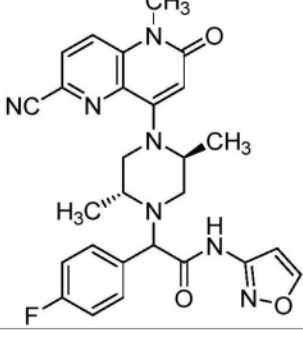
[0464]

|    |                                                                                     |   |       |       |   |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|---|-------|-------|---|
| 16 |    | A | 1.610 | 529.2 | H |
| 17 |    | A | 1.66  | 519.2 | H |
| 18 |   | A | 1.66  | 519.2 | H |
| 19 |  | A | 1.59  | 532.2 | H |
| 20 |  | A | 1.6   | 532.2 | H |

[0465]

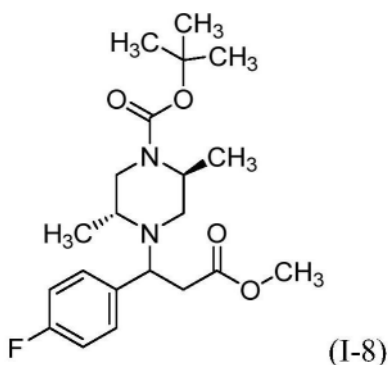
|    |                                                                                     |   |       |       |   |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|---|-------|-------|---|
| 21 |    | A | 1.822 | 503.3 | H |
| 22 |    | A | 1.82  | 503.3 | H |
| 23 |   | A | 1.71  | 477.2 | H |
| 24 |  | A | 1.71  | 477.2 | H |
| 25 |  | A | 1.56  | 463.2 | H |

[0466]

|    |                                                                                     |   |       |       |   |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|---|-------|-------|---|
| 26 |    | A | 1.56  | 463.2 | H |
| 27 |    | A | 1.49  | 493.2 | H |
| 28 |   | A | 1.49  | 493.2 | H |
| 29 |  | A | 1.777 | 516.2 | H |
| 30 |  | A | 1.791 | 516.2 | H |

[0467] 中间体8: (2S,5R)-4-(1-(4-氟苯基)-3-甲氧基-3-氧代丙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯

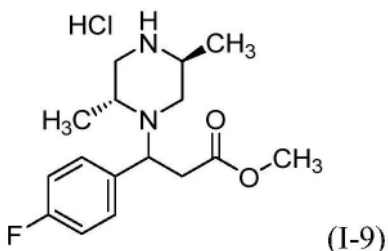
[0468]



[0469] 向(2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1g,4.67mmol)在DMSO(10mL)中的搅拌溶液中添加4-氟苯甲醛(0.87g,7.00mmol)和硼酸三甲酯(0.52mL,4.67mmol)。将反应混合物在室温下搅拌15min。将所得溶液用1-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-1-甲氧基乙烯(1.5mL,7.00mmol)逐滴处理并且在室温下搅拌16h。将反应混合物用EtOAc(2X100mL)萃取,用水、盐水洗涤并且经硫酸钠干燥。在减压下去除溶剂以得到粗残余物,将其通过硅胶快速柱色谱法(在正己烷中的30%EtOAc;24g柱)纯化以得到呈非对映异构体混合物的(2S,5R)-4-(1-(4-氟苯基)-3-甲氧基-3-氧代丙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.2g,65%产率)。LCMS:m/z,453.2(M+59);rt 2.17min。(LCMS方法:柱:Waters Acquity UPLC BEH C18(2.1x50mm)1.7 $\mu$ m,流动相A:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(95:5);流动相B:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(5:95),梯度=经2分钟20%-100%B,然后在100%B下保持0.3分钟;温度:50℃;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV)。

[0470] 中间体9:3-((2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-3-(4-氟苯基)丙酸甲酯盐酸盐

[0471]

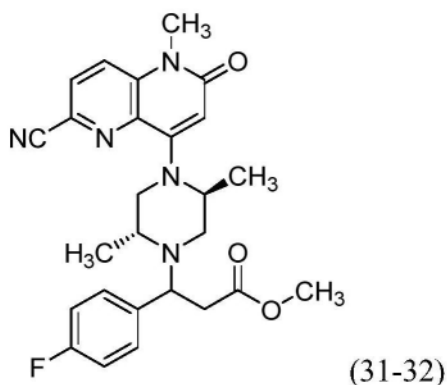


[0472] 在室温下向(2S,5R)-4-(1-(4-氟苯基)-3-甲氧基-3-氧代丙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(125mg,0.32mmol)在DCM(5mL)中的搅拌溶液中添加在1,4-二噁烷中的4N HCl(0.8mL,3.17mmol)。将反应混合物搅拌2h。将反应混合物在减压下浓缩以得到3-((2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-3-(4-氟苯基)丙酸甲酯的非对映异构体混合物(120mg,64%产率)。LCMS:m/z,295.4(M+H);rt 1.08和1.11min。(LCMS方法:柱:Acquity UPLC BEH C18(3.0x50mm)1.7 $\mu$ m;流动相A:10mM乙酸铵:乙腈(95:5),流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(5:95),方法:%B:0min-20:2min-100:2.3min-100,温度:27℃;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV)。

[0473] 实施例31和32

[0474] 3-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-3-(4-氟苯基)丙酸甲酯

[0475]



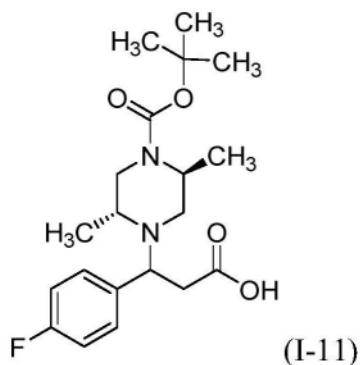
[0476] 在室温下向3-((2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-3-(4-氟苯基)丙酸甲酯(100mg, 0.34mmol)在乙腈(5mL)中的搅拌溶液中添加DIPEA(0.3mL, 1.70mmol)和三氟甲磺酸6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基酯(113mg, 0.34mmol)。将反应混合物在80℃下加热3h。将反应混合物冷却至室温并且在减压下去除溶剂以获得非对映异构体混合物产物,并且将粗混合物通过制备型HPLC(手性分离方法:柱:Lux cellulose C2(250\*21)mm, 5微米,流动相:在MeOH中的0.1%DEA,流速:17mL/min)纯化以获得峰1和峰2。

[0477] 实施例31:10mg, 6%产率;LCMS:m/z, 478.1 (M+H); rt 1.99min; 柱:XBridge BEH XP C18(2.1x50mm), 2.5μm; 流动相A:10mM乙酸铵:乙腈(95:5), 流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(5:95), 梯度=经3分钟0-100%B; 温度:50℃; 流速:1.1mL/min; 检测:在220nm下的UV。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 8.13-8.17(m, 1H), 8.05-8.08(m, 1H), 7.39-7.46(m, 2H), 7.15-7.22(m, 2H), 6.05(s, 1H), 4.24-4.34(m, 1H), 4.13-4.18(m, 1H), 3.53(s, 3H), 3.50(s, 3H), 3.39-3.44(m, 1H), 3.19-3.25(m, 1H), 3.04-3.12(m, 2H), 2.68-2.77(m, 1H), 2.54-2.63(m, 1H), 2.36-2.44(m, 1H), 1.14(d, J=6.4Hz, 3H), 1.01(d, J=6.4Hz, 3H)。

[0478] 实施例32:15mg, 9%产率。LCMS:m/z, 478.2 (M+H); rt 2.0min; 柱:XBridge BEH XP C18(2.1x50mm), 2.5μm; 流动相A:10mM乙酸铵:乙腈(95:5), 流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(5:95), 梯度=经3分钟0-100%B; 温度:50℃; 流速:1.1mL/min; 检测:在220nm下的UV。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 8.13-8.17(m, 1H), 8.05-8.09(m, 1H), 7.40(dd, J=8.4, 5.7Hz, 2H), 7.15(t, J=8.8Hz, 2H), 6.01(s, 1H), 4.28-4.36(m, 1H), 3.97(dd, J=9.4, 5.3Hz, 1H), 3.62-3.69(m, 1H), 3.48-3.55(m, 5H), 3.45(s, 3H), 3.40-3.44(m, 1H), 3.04-3.13(m, 1H), 2.70-2.76(m, 1H), 2.13-2.20(m, 1H), 1.12(d, J=6.4Hz, 3H), 1.05(d, J=6.6Hz, 3H)。

[0479] 中间体11:3-((2R,5S)-4-(叔丁氧羰基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-3-(4-氟苯基)丙酸

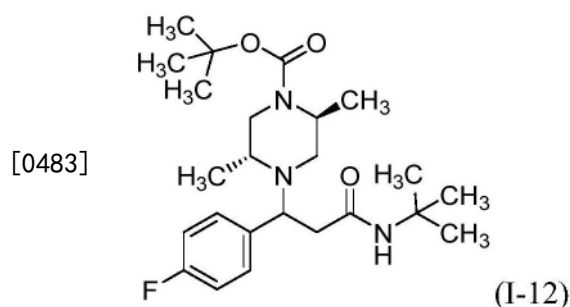
[0480]



[0481] 在室温下向(2S,5R)-4-(1-(4-氟苯基)-3-甲氧基-3-氧代丙基)-2,5-二甲基哌

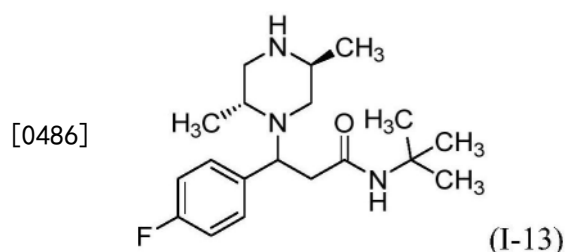
嗪-1-甲酸叔丁酯(1.0g, 2.53mmol)在THF(20mL)和水(10mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂一水合物(0.53g, 12.67mmol)。将反应混合物搅拌16h。将反应混合物用1.5N HCl水溶液中和并且用EtOAc(2X100mL)萃取。将合并的有机萃取物用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并且浓缩以得到呈非对映异构体混合物的3-((2R,5S)-4-(叔丁氧羰基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-3-(4-氟苯基)丙酸(0.85g, 88%产率)。LCMS:m/z, 381.3(M+H); rt 1.11min. (LCMS方法:柱:Aquity UPLC BEH C18(3.0x50mm) 1.7 $\mu$ m;流动相A:10mM乙酸铵:乙腈(95:5),流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(5:95),方法:%B:0min-20:2min-100:2.3min-100,温度:27 $^{\circ}$ C;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV)。

[0482] 中间体12:(2S,5R)-4-(3-(叔丁基氨基)-1-(4-氟苯基)-3-氧代丙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯



[0484] 在室温下向3-((2R,5S)-4-(叔丁氧羰基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-3-(4-氟苯基)丙酸(350mg, 0.92mmol)在DMF(5mL)中的搅拌溶液中添加DIPEA(0.32mL, 1.84mmol)、BOP(450mg, 1.01mmol)和2-甲基丙-2-胺(135mg, 1.84mmol)。将反应混合物搅拌3h。将反应混合物用EtOAc(2x50mL)萃取并且用水洗涤。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经硫酸钠干燥并且在减压下浓缩。将粗残余物通过快速柱色谱法(柱:12g二氧化硅;溶剂运行:在正己烷中的40%-50%EtOAc)纯化以得到(2S,5R)-4-(3-(叔丁基氨基)-1-(4-氟苯基)-3-氧代丙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯的非对映异构体混合物(250mg, 62%产率)。LCMS:m/z, 436.2(M+H); rt 3.61min. (LC-MS方法信息:柱-Kinetex-XB-C18(75x3mm-2.6 $\mu$ m);流动相A:在水中的10mM甲酸铵:乙腈(98:2);流动相B:在水中的10mM甲酸铵:乙腈(2:98);梯度:经4分钟20%-100%B,流速1.0mL/min,然后在100%B下保持0.6分钟,流速1.5mL/min;然后是梯度:经0.1分钟100%-20%,流速1.5mL/min)。

[0485] 中间体13:N-(叔丁基)-3-((2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-3-(4-氟苯基)丙酰胺

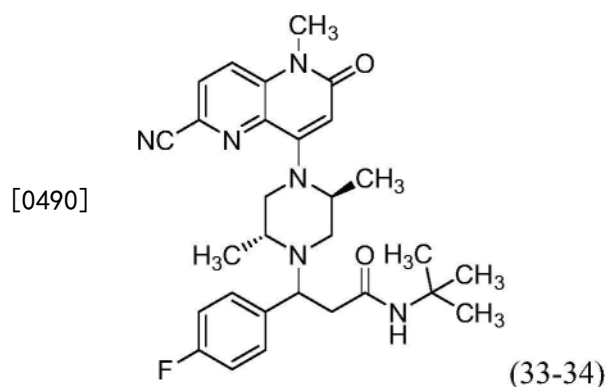


[0487] 在0 $^{\circ}$ C下向(2S,5R)-4-(3-(叔丁基氨基)-1-(4-氟苯基)-3-氧代丙基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.2g, 0.46mmol)在DCM(5mL)中的搅拌溶液中添加2,6-二甲基吡啶(0.32mL, 2.75mmol)和TMS-OTf(0.58mL, 3.21mmol)。允许反应混合物达到室温并且搅拌2h。将反应混合物在减压下浓缩并且与乙腈(2x10mL)共蒸馏以得到呈棕色固体的N-(叔丁基)-

3-((2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-3-(4-氟苯基)丙酰胺的非对映异构体混合物(150mg, 97%)。LCMS:m/z, 336.2(M+H); rt 0.95和1.05min. (LCMS方法:柱:Waters Acquity UPLC BEH C18(2.1x50mm) 1.7 $\mu$ m, 流动相A:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(95:5); 流动相B:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(5:95), 梯度=经2分钟20%-100%B, 然后在100%B下保持0.3分钟; 温度:50℃; 流速:0.7mL/min; 检测:在220nm下的UV)。

[0488] 实施例33和34

[0489] N-(叔丁基)-3-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-3-(4-氟苯基)丙酰胺



[0491] 在室温下向N-(叔丁基)-3-((2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-3-(4-氟苯基)丙酰胺(0.10g, 0.30mmol)在乙腈(2mL)中的搅拌溶液中添加碳酸氢钠(0.13g, 1.50mmol)和6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基三氟甲磺酸酯(0.1g, 0.30mmol)。将反应混合物在80℃下加热12h。将反应混合物冷却至室温并且在减压下去除溶剂以获得非对映异构体混合物产物。将粗混合物通过制备型HPLC(手性分离方法:柱:Cellulose-4(250x4.6)mm, 5微米, 流动相A:在ACN中的0.1%DEA, 流动相B:在MeOH中的0.1%DEA, 梯度:经12分钟0-100%B)纯化以获得峰1和峰2。

[0492] 实施例33:LCMS:m/z, 519.3(M+H); rt 1.92min; 柱:XBridge BEH XP C18(2.1x50mm), 2.5 $\mu$ m; 流动相A:10mM乙酸铵:乙腈(95:5), 流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(5:95), 梯度=经3分钟0-100%B; 温度:50℃; 流速:1.1mL/min; 检测:在220nm下的UV。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 8.15(d, J=8.8Hz, 1H), 8.05-8.09(m, 1H), 7.36(dd, J=8.6, 5.9Hz, 2H), 7.22(s, 1H), 7.12(t, J=8.8Hz, 2H), 6.03(s, 1H), 4.23-4.34(m, 1H), 3.87-3.95(m, 1H), 3.62-3.70(m, 1H), 3.48-3.55(m, 4H), 3.38-3.45(m, 1H), 2.62-2.75(m, 2H), 2.27-2.35(m, 1H), 2.08-2.17(m, 1H), 1.15(d, J=6.4Hz, 3H), 1.02-1.08(m, 12H)。

[0493] 实施例34:LCMS:m/z, 519.2(M+H); rt 1.89min; 柱:XBridge BEH XP C18(2.1x50mm), 2.5 $\mu$ m; 流动相A:10mM乙酸铵:乙腈(95:5), 流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(5:95), 梯度=经3分钟0-100%B; 温度:50℃; 流速:1.1mL/min; 检测:在220nm下的UV。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 8.14(d, J=8.8Hz, 1H), 8.04-8.08(m, 1H), 7.33-7.40(m, 3H), 7.16(t, J=8.8Hz, 2H), 6.03(s, 1H), 4.31-4.53(m, 1H), 4.04-4.15(m, 1H), 3.52(s, 3H), 3.38-3.43(m, 2H), 2.98-3.11(m, 1H), 2.68-2.81(m, 2H), 2.42-2.47(m, 1H), 2.13-2.27(m, 1H), 1.17(d, J=6.4Hz, 3H), 1.09(s, 9H), 1.03(d, J=6.1Hz, 3H)。

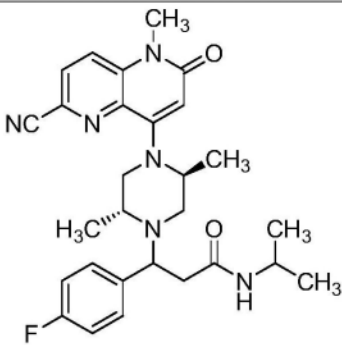
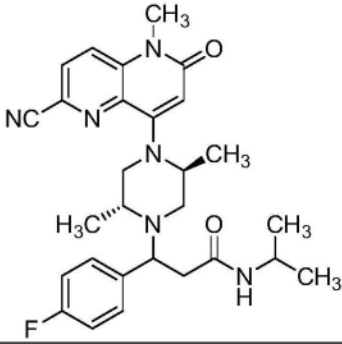
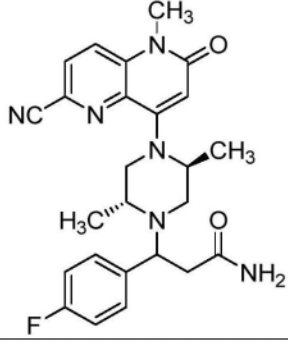
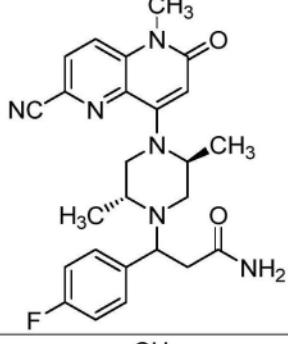
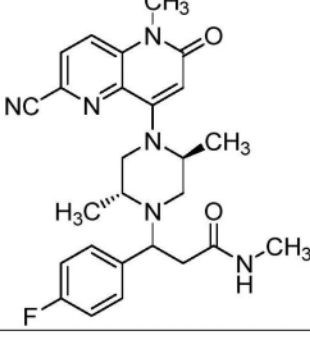
[0494] 根据实施例33和34中的通用程序制备表35中的实施例, 在合成顺序中将2-甲基丙-2-胺用适当的胺替代。当反应提供非对映异构体混合物时, 将混合物使用制备型色谱法

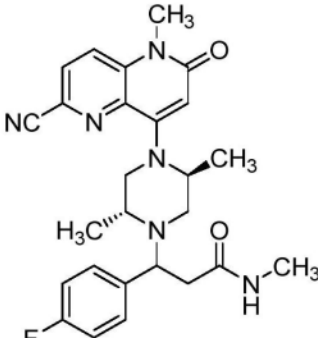
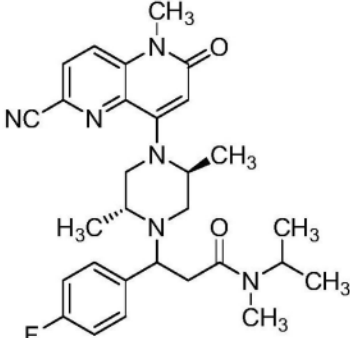
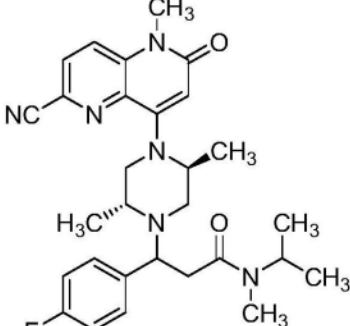
或制备型手性色谱法在最终阶段分离。在新形成的碳-氮键处没有指定绝对立体化学。

[0495] 表2

|        |           |    |            |            |     |          |
|--------|-----------|----|------------|------------|-----|----------|
| [0496] | 实施例<br>编号 | 结构 | LCMS<br>方法 | LCMS<br>RT | M+H | 立体<br>化学 |
|--------|-----------|----|------------|------------|-----|----------|

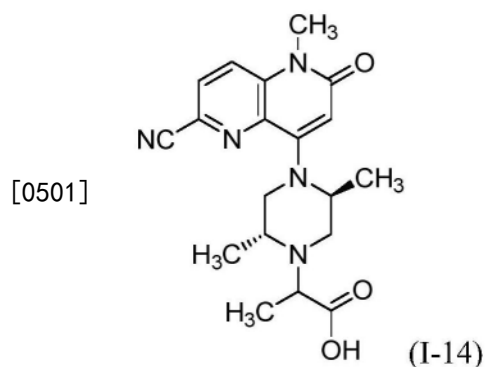
[0497]

|    |                                                                                     |   |      |       |   |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|---|------|-------|---|
| 35 |    | A | 1.73 | 505.2 | H |
| 36 |    | A | 1.73 | 505.2 | H |
| 37 |   | A | 1.47 | 463.2 | H |
| 38 |  | A | 1.45 | 463.2 | H |
| 39 |  | A | 1.53 | 477.2 | H |

|           |                                                                                    |   |      |       |   |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------|---|------|-------|---|
| 40        |   | A | 1.53 | 477.2 | H |
| [0498] 41 |   | A | 1.91 | 519.3 | H |
| 42        |  | A | 1.94 | 519.3 | H |

[0499] 中间体14

[0500] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)丙酸

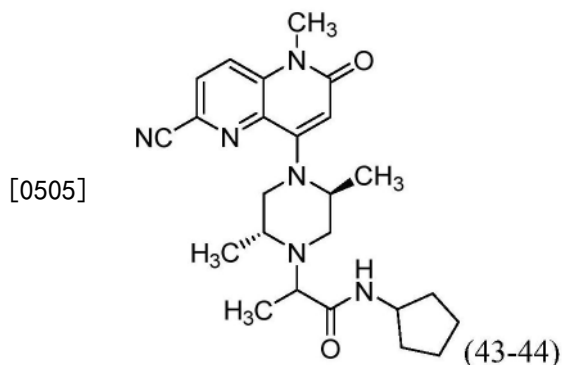


[0502] 在室温下向2-溴丙酸(0.77g,5.04mmol)在干乙腈(3.0mL)中的溶液中添加8-((2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈(1.0g,3.36mmol)和DIPEA(0.59mL,3.36mmol)。将反应混合物在室温下搅拌10分钟并且然后加热至85℃并且搅拌16h。将反应混合物冷却至室温并且在减压下浓缩以得到呈棕色胶状液体的2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-

1-基)丙酸(1.20g,58%产率)。LCMS:m/z,370.3(M+H);rt 0.60min。LCMS方法:柱:Waters Acquity UPLC BEH C18(2.1x50mm)1.7 $\mu$ m,流动相A:10mM乙酸铵:乙腈(95:5);流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(5:95),梯度=经2分钟20%-100%B,然后在100%B下保持0.2分钟;温度:50 $^{\circ}$ C;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV。

[0503] 实施例43和44

[0504] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-环戊基丙酰胺



[0506] 在室温下向2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)丙酸(0.05g,0.14mmol)在DMF(2mL)中的溶液中添加HATU(0.15g,0.41mmol)和DIPEA(0.07mL,0.41mmol)。将反应混合物搅拌5分钟,然后添加环戊胺(0.023g,0.27mmol)。将混合物在室温下搅拌3h。将反应用饱和NaHCO<sub>3</sub>溶液(5mL)淬灭。将反应混合物溶解于DCM(100mL)中。将有机层用水(20mL)、盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下蒸发。将粗产物经由制备型HPLC纯化,然后经由手性HPLC(手性分离方法:柱:Cellulose-2(250x4.6mm),5 $\mu$ m;流动相:在MeOH中的10mM乙酸铵,流量:2.0mL/min)纯化以得到实施例43和44。

[0507] 实施例43(9.3mg,16%产率);LCMS:m/z 437.2(M+H);rt 1.61min;(LCMS方法:柱:XBridge BEH XP C18(50x2.1mm)2.5 $\mu$ m;流动相A:5:95乙腈:水(含10mM NH<sub>4</sub>OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含10mM NH<sub>4</sub>OAc);梯度:经3分钟0-100%B;流量:1.1mL/min;温度:50 $^{\circ}$ C;<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ ppm 8.17-8.15(m,1H),8.08-8.06(m,1H),7.42(d,J=7.8Hz,1H),6.06(s,1H),4.43(br d,J=1.7Hz,1H),4.03-4.00(m,1H),3.58-3.56(m,1H),3.50(s,3H),3.48-3.40(m,1H),3.35-3.20(m,1H),3.10-3.04(m,2H),1.94-1.73(m,3H),1.70-1.50(m,4H),1.49-1.35(m,2H),1.18(t,J=6.1Hz,6H),1.05(d,J=6.6Hz,3H)。

[0508] 实施例44(7.1mg,12%产率);LCMS:m/z,437.2(M+H);rt 1.6min;(LCMS方法:柱:XBridge BEH XP C18(2.1x50mm),2.5 $\mu$ m;流动相A:10mM乙酸铵:乙腈(95:5),流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(5:95),梯度=经3分钟0-100%B;温度:50 $^{\circ}$ C;流速:1.1mL/min;检测:在220nm下的UV;<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ ppm8.17-8.15(m,1H),8.09-8.06(m,1H),7.67(d,J=7.8Hz,1H),6.06(s,1H),4.43(br d,J=1.7Hz,1H),4.03-4.00(m,1H),3.58-3.56(m,1H),3.50(s,3H),3.48-3.40(m,1H),3.35-3.20(m,1H),3.10-3.04(m,2H),1.94-1.73(m,3H),1.70-1.50(m,4H),1.49-1.35(m,2H),1.18(t,J=6.1Hz,6H),1.05(d,J=6.6Hz,3H)。

[0509] 如实施例42和43所述,使用相应的胺由酸中间体制备表2中的化合物。当反应提供非对映异构体混合物时,将混合物使用制备型色谱法或制备型手性色谱法在最终阶段分

离。在新形成的碳-氮键处没有指定绝对立体化学。

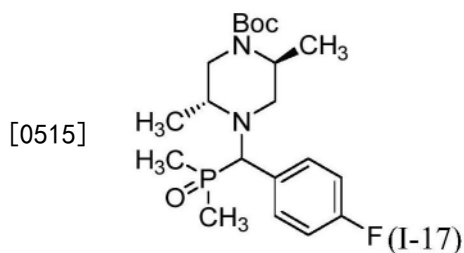
[0510] 表3

[0511]

| 实施例<br>编号 | 结构 | LCMS<br>方法 | LCMS<br>RT | M+H   | 立体<br>化学 |
|-----------|----|------------|------------|-------|----------|
| 45        |    | A          | 1.28       | 449.2 | H        |
| 46        |    | A          | 1.28       | 449.2 | H        |
| 47        |    | A          | 1.34       | 409.2 | H        |
| 48        |    | A          | 1.34       | 409.2 | H        |

[0513] 中间体17

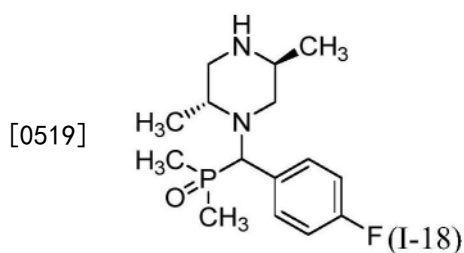
[0514] (2S,5R)-4-((二甲基磷酰基)(4-氟苯基)甲基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯



[0516] 在室温下向 (2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (700mg, 3.27mmol) 在干甲苯 (15mL) 中的溶液中添加 4-氟苯甲醛 (486mg, 3.92mmol)。将反应混合物在相同温度下搅拌 1h, 然后添加二甲基氧化膦 (306mg, 3.92mmol)。为反应混合物配备迪安斯塔克装置 (Dean Stark apparatus) 并且加热至回流持续 16h。将反应混合物冷却至室温并且在减压下浓缩。将粗品与乙醚 (2x20mL) 一起研磨以得到粗化合物。将粗化合物通过使用 0-10% MeOH/CHCl<sub>3</sub> 作为洗脱剂通过 12g 硅胶色谱法纯化以获得 (2S,5R)-4-((二甲基磷酰基)(4-氟苯基)甲基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (1.1g, 85% 产率)。LCMS: m/z, 399.5 (M+H); rt 1.52 和 1.57min; LCMS 方法: 柱: Waters Acquity UPLC BEH C18 (2.1x50mm) 1.7μm, 流动相 A: 10mM 乙酸铵: 乙腈 (95:5); 流动相 B: 10mM 乙酸铵: 乙腈 (5:95), 梯度 = 经 2 分钟 20% - 100% B, 然后在 100% B 下保持 0.3 分钟; 流速: 0.7mL/min; 检测: 在 220nm 下的 UV。

[0517] 中间体 18

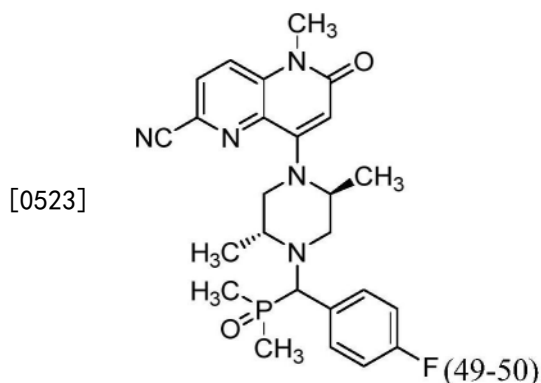
[0518] (((2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)(4-氟苯基)甲基)二甲基氧化膦, TFA



[0520] 向 (2S,5R)-4-((二甲基磷酰基)(4-氟苯基)甲基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (200mg, 0.5mmol) 在 DCM (3mL) 中的搅拌溶液中添加 TFA (0.387mL, 5.02mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 2h。在减压下去除溶剂以产出呈棕色半固体的 (((2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)(4-氟苯基)甲基)二甲基氧化膦的 TFA 盐。LCMS: m/z, 299.0 (M+H); rt 0.51 和 0.53min; LCMS 方法: 柱: Waters Acquity UPLC BEH C18 (2.1x50mm) 1.7μm, 流动相 A: 10mM 乙酸铵: 乙腈 (95:5); 流动相 B: 10mM 乙酸铵: 乙腈 (5:95), 梯度 = 经 2 分钟 20% - 100% B, 然后在 100% B 下保持 0.3 分钟; 流速: 0.7mL/min; 检测: 在 220nm 下的 UV。

[0521] 实施例 49 和 50

[0522] 8-(((2S,5R)-4-((二甲基磷酰基)(4-氟苯基)甲基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈



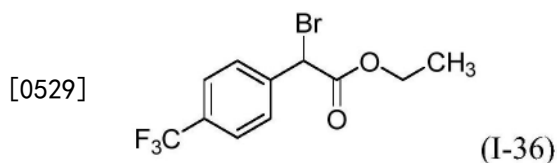
[0524] 在氩气气氛下在室温下向(((2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)(4-氟苯基)甲基)二甲基氧化膦(59.1mg,0.2mmol)在干乙腈(3mL)中的溶液中添加6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基三氟甲磺酸酯(60mg,0.18mmol)、碳酸氢钠(45.4mg,0.54mmol)并且在相同温度下搅拌10分钟。将反应混合物加热至85℃并且在相同温度下维持16h。将反应混合物冷却至室温并且在减压下浓缩。将粗品在12g硅胶柱色谱法上通过用在DCM中的10% MeOH洗脱纯化。将级分在减压下浓缩以产出8-((2S,5R)-4-((二甲基磷酰基)(4-氟苯基)甲基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈。将粗材料经由制备型HPLC纯化,然后经由手性HPLC(手性HPLC方法:柱:Cellulose 4(250mm x 21.2mm)5μm,流动相A:在乙腈中的0.1%DEA,流动相B:在MeOH中的0.1%DEA;梯度=经12分钟0-100% B,然后经2分钟100-0%B并且在0%B下保持6分钟)纯化以得到实施例51和52。

[0525] 实施例49(7mg,8%产率);LCMS:m/z,482.1(M+H);rt 1.48min;(LCMS方法:柱:XBridge BEH XP C18(50x2.1mm)2.5μm;流动相A:95%水:5%乙腈;10mM乙酸铵;流动相B:5%水:95%乙腈;10mM乙酸铵;流量:1.1mL/min;温度:50℃;时间(min):0-3;%B:0-100%);<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δppm 8.18-8.11(m,1H),8.10-8.03(m,1H),7.61(dd,J=6.0,7.9Hz,2H),7.28(t,J=8.8Hz,2H),6.18(s,1H),4.14(d,J=12.2Hz,1H),4.08-3.95(m,1H),3.69-3.57(m,2H),3.54(s,3H),3.15-3.02(m,1H),2.78-2.69(m,1H),2.55(s,1H),1.46(d,J=12.7Hz,3H),1.23(d,J=12.7Hz,3H),1.07(dd,J=6.1,14.2Hz,6H)。

[0526] 实施例50(15mg,16%产率);LCMS:m/z,482.1(M+H);rt 1.47min;(LCMS方法:柱:XBridge BEH XP C18(50x2.1mm)2.5μm;流动相A:95%水:5%乙腈;10mM乙酸铵;流动相B:5%水:95%乙腈;10mM乙酸铵;流量:1.1mL/min;温度:50℃;时间(min):0-3;%B:0-100%);<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δppm 8.17-8.11(m,1H),8.08-8.02(m,1H),7.63-7.50(m,2H),7.23(t,J=8.8Hz,2H),6.01(s,1H),4.67-4.50(m,1H),4.13(d,J=10.8Hz,1H),3.67-3.47(m,4H),3.26(br s,1H),3.09-3.02(m,1H),3.00-2.91(m,1H),2.58-2.54(m,1H),1.52(d,J=12.5Hz,3H),1.26(d,J=6.4Hz,3H),1.13-0.96(m,6H)。

[0527] 中间体36

[0528] 2-溴-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯

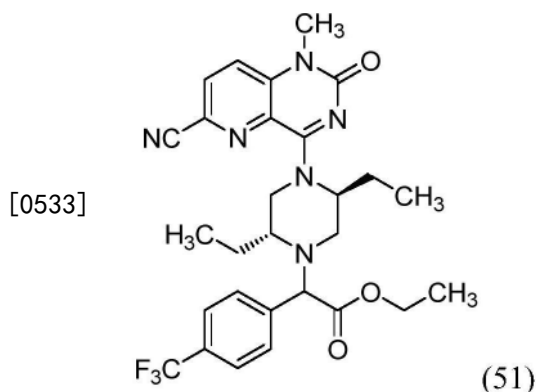


[0530] 向2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯(2g,8.61mmol)在CCl<sub>4</sub>(50mL)中的搅拌溶液中

添加NBS (1.84g, 10.34mmol) 和HBr (0.1mL, 0.86mmol)。将反应混合物在回流下加热16h。将反应混合物冷却至室温并且将获得的固体过滤并且将滤液用水洗涤, 将有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下蒸发以得到呈液态的2-溴-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯 (2.3g, 7.32mmol, 85%产率)。LCMS:m/z=309 (M-H); rt 3.19min. (LCMS方法: 柱: Kinetex XB-C18 (75X3mm-2.6μm) 流动相A: 10mM甲酸铵: 乙腈 (98:2); 流动相B: 10mM乙酸铵: 乙腈 (2:98), 梯度=经4分钟20%B, 然后在100%B下保持0.6分钟; 流速: 1.0mL/min; 检测: 在220nm下的UV)。

[0531] 实施例51

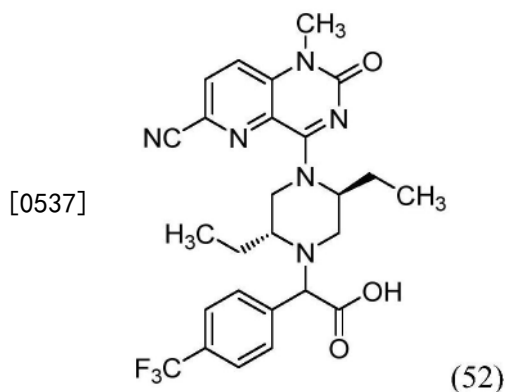
[0532] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯



[0534] 向4-((2S,5R)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈, HCl (0.5g, 1.38mmol) 在乙腈 (15mL) 中的搅拌溶液中添加DIPEA (0.722mL, 4.13mmol), 然后添加2-溴-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯 (0.857g, 2.76mmol)。将反应混合物在85℃下加热16h。将反应混合物在减压下浓缩以去除挥发物并且以得到粗化合物。将粗残余物经由在ISCO<sup>®</sup>上的硅胶色谱法 (50%-70%EtOAc/石油醚; 40g柱) 纯化以得到呈浅棕色固体的2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯 (0.5g, 0.862mmol, 62.6%产率)。LCMS:m/z=557.2 (M+H); rt 3.411min. (LCMS方法: 柱: Kinetex XB-C18 (75X3mm-2.6μm) 流动相A: 10mM甲酸铵: 乙腈 (98:2); 流动相B: 10mM乙酸铵: 乙腈 (2:98), 梯度=经2分钟20%B, 然后在100%B下保持0.6分钟; 流速: 1.0mL/min; 检测: 在220nm下的UV)。

[0535] 实施例52

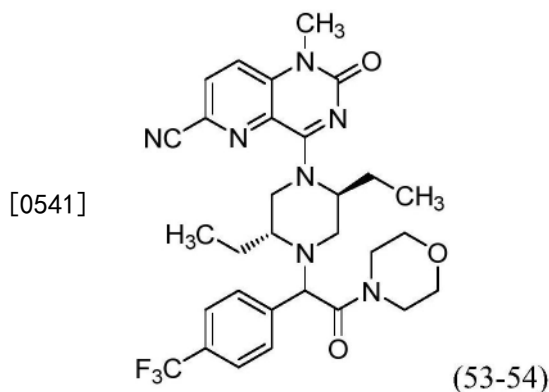
[0536] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸



[0538] 向2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯(500mg,0.898mmol)在1,4-二噁烷(10mL)中的搅拌溶液中添加三甲基锡醇(trimethylstannanol)(1624mg,8.98mmol)。将反应混合物在100℃下加热16h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤,用乙酸乙酯洗涤并且将滤液在减压下去除以产出粗产物,将其通过制备型HPLC(HPLC方法:柱:ACE C18 PFP(250mm x 21.2mm ID,5μm),流动相A:A=在水中的10mM乙酸铵pH 4.5;流动相B:乙腈:MeOH(1:1)乙腈;梯度:经2分钟80%B,然后在100%B下保持16分钟;流量:19mL/min)纯化。将级分在减压下浓缩并且将残余物用(EtOH/H<sub>2</sub>O,1:5)稀释并且冻干以产出2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸(150mg,31.6%产率)。LCMS:m/z=529.2(M+H);rt 1.602min。(LCMS方法:柱:Kinetex XB-C18(75X3mm-2.6μm)流动相A:10mM甲酸铵:乙腈(98:2);流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(2:98),梯度=经2分钟20%B,然后在100%B下保持0.6分钟;流速:1.0mL/min;检测:在220nm下的UV)。

[0539] 实施例53和54

[0540] 4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(2-吗啉代-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈



[0542] 向2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸(50mg,0.095mmol)在DMF(2mL)中的搅拌溶液中添加TEA(0.04mL,0.28mmol)和HATU(71.9mg,0.189mmol)。将反应混合物在室温下搅拌5min,然后添加吗啉(8.24mg,0.095mmol)。将反应混合物在相同温度下搅拌16h。将反应混合物在减压下浓缩以去除挥发物并且以产出粗化合物。将粗化合物通过制备型HPLC(HPLC方法:柱:ACE C18 PFP(250mm x 21.2mm ID,5μm),流动相A:A=在水中的10mM乙酸铵

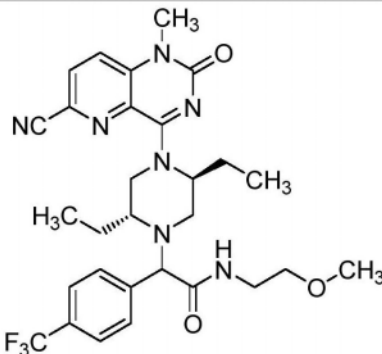
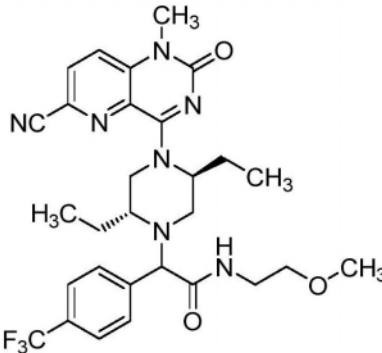
pH 4.5;流动相B:乙腈:MeOH(1:1)乙腈;梯度:经2分钟80%B,然后在100%B下保持16分钟;流量:19mL/min)纯化以产出实施例53和54。

[0543] 将实施例53经由离心蒸发干燥(4.7mg,8.2%产率)。LCMS: $m/z=598.3$  (M+H);rt 1.847min;((LCMS方法:柱:XBridge BEH XP C18(50x2.1)mm,2.5 $\mu$ m;流动相A:95%水:5%乙腈;10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ ;流动相B:5%水:95%乙腈;10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ ;流量:1.1mL/min;温度:50 $^\circ\text{C}$ ;时间(min))。 $^1\text{H}$  NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 8.30-8.13(m,1H),8.06-7.91(m,1H),7.86-7.66(m,4H),6.07-5.58(m,1H),5.58-5.17(m,1H),5.07-4.64(m,1H),4.02-3.86(m,1H),3.70-3.55(m,3H),3.54-3.45(m,4H),3.43(s,3H),3.09-2.89(m,1H),2.65-2.55(m,1H),2.10-1.67(m,2H),1.56-1.34(m,2H),1.00-0.80(m,3H),0.68(t, $J=7.3\text{Hz}$ ,3H)(2个质子与DMSO峰合并)。

[0544] 将实施例54经由离心蒸发干燥(7.4mg,13%产率)。LCMS: $m/z=598.3$  (M+H);rt 1.885min;((LCMS方法:柱:XBridge BEH XP C18(50x2.1)mm,2.5 $\mu$ m;流动相A:95%水:5%乙腈;10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ ;流动相B:5%水:95%乙腈;10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ ;流量:1.1mL/min;温度:50 $^\circ\text{C}$ ;时间(min))。 $^1\text{H}$  NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 8.23(d, $J=8.8\text{Hz}$ ,1H),7.98(d, $J=8.6\text{Hz}$ ,1H),7.76(s,4H),5.89-5.31(m,1H),5.01(s,1H),4.95-4.81(m,1H),3.81-3.71(m,1H),3.57-3.35(m,9H),3.30-3.14(m,2H),3.01-2.87(m,1H),2.73-2.61(m,1H),2.45-2.35(m,1H),2.21-1.89(m,1H),1.85-1.71(m,1H),1.55-1.33(m,2H),0.89-0.77(m,3H),0.76-0.55(m,3H)。

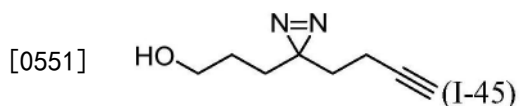
[0545] 在合成顺序中使用适当的胺,根据实施例54和55的制备中所述的通用程序制备表6中的实施例。当反应提供非对映异构体混合物时,将混合物使用制备型色谱法或制备型手性色谱法在最终阶段分离。在新形成的碳-氮键处没有指定绝对立体化学。

[0546] 表6

| 实施例<br>编号    | 结构                                                                                  | LCMS<br>方法 | LCMS<br>RT | M+H   | 立体<br>化学 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|-------|----------|
| [0547]<br>55 |  | A          | 1.81       | 586.3 | H        |
| [0548]<br>56 |  | A          | 1.82       | 586.3 | H        |

[0549] 中间体45

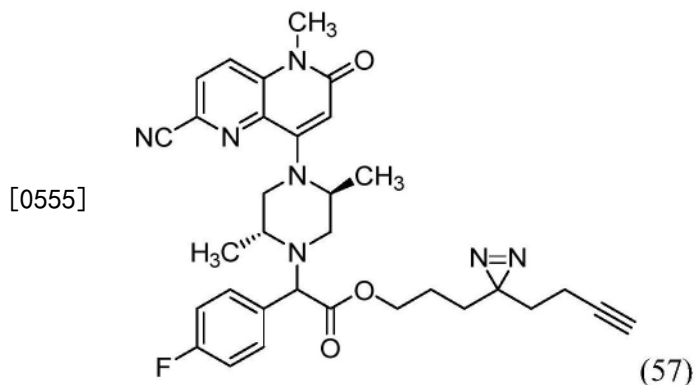
[0550] 3-(3-(丁-3-炔-1-基)-3H-二吡丙因-3-基)丙-1-醇



[0552] 向3-(3-(丁-3-炔-1-基)-3H-二吡丙因-3-基)丙酸(0.53g, 3.17mmol) (根据以下文献程序由4-氧代辛-7-炔酸制备:Parker, C.G.等人, Cell, 168(3), 527-541, 2017)在THF(10mL)中的-10℃溶液中添加N-甲基吗啉(0.53mL, 4.75mmol), 然后添加氯甲酸异丁酯(0.55mL, 4.11mmol)。将反应混合物在-5℃下搅拌约10min, 然后添加NaBH<sub>4</sub>(0.305g, 7.91mmol)。将所得混合物在室温下搅拌16h。将反应用水淬灭。将反应混合物用EtOAc(2x25mL)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且将滤液蒸发以得到浅黄色油状物, 将其通过硅胶柱色谱法(24g RediSep®柱, 用在EtOAc中的0至50%己烷的梯度洗脱)纯化。将含有产物的级分合并并且蒸发以得到呈浅黄色油状物的3-(3-(丁-3-炔-1-基)-3H-二吡丙因-3-基)丙-1-醇(0.37g, 77%产率)。<sup>1</sup>H NMR(500MHz, 氯仿-d) δ3.65-3.57(m, 2H), 2.07-1.97(m, 3H), 1.69-1.62(m, 2H), 1.58-1.47(m, 3H), 1.44-1.34(m, 2H)。

[0553] 实施例57

[0554] 2-((2R, 5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸3-(3-(丁-3-炔-1-基)-3H-二吡丙因-3-基)丙酯

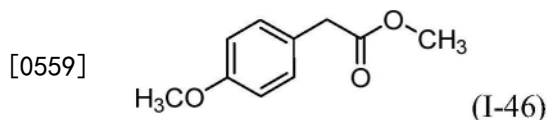


[0556] 向2-((2R, 5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸(0.045g, 0.1mmol)在DCM(2mL)中的溶液中添加DCC(0.041g, 0.2mmol)和DMAP(3mg, 0.02mmol)。将反应混合物在室温下搅拌10min, 然后添加3-(3-(丁-3-炔-1-基)-3H-二吡丙因-3-基)丙-1-醇(0.030g, 0.2mmol)在DCM(约0.5mL)中的溶液。将所得混合物在室温下继续搅拌1h并且然后将挥发物在减压下蒸发以得到残余物, 将其溶解于DMF中并且用以下条件通过制备型HPLC纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5 μm颗粒; 流动相A: 5:95乙腈:水(含10mM乙酸铵); 流动相B: 95:5乙腈:水(含10mM乙酸铵); 梯度: 在43%B下保持0分钟, 经20分钟43%-83%B, 然后在100%B下保持6分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: 25℃。将含有产物的级分合并并且在真空下干燥以得到2-((2R, 5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸3-(3-(丁-3-炔-1-基)-3H-二吡丙因-3-基)丙酯。MS(ES), m/z = 584.4[M+H]<sup>+</sup>; HPLC保留时间2.37min和2.09min(分别为HPLC方法B和C); <sup>1</sup>H NMR(500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 8.18-8.11(m, 1H), 8.10-8.02(m, 1H), 7.63-7.52(m, 2H), 7.29-7.17(m, 2H), 6.04(s, 1H), 4.46-4.34(m,

2H), 4.11-3.95 (m, 2H), 3.75-3.63 (m, 1H), 3.61-3.49 (m, 2H), 2.83-2.72 (m, 2H), 2.54 (s, 3H), 2.14-2.05 (m, 1H), 2.00-1.92 (m, 2H), 1.57-1.47 (m, 2H), 1.42-1.31 (m, 4H), 1.23-1.10 (m, 6H)。

[0557] 中间体46

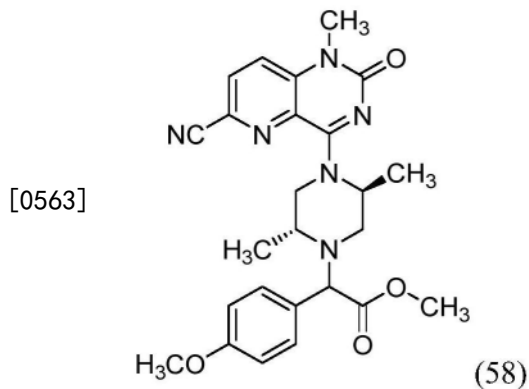
[0558] 2-(4-甲氧基苯基)乙酸甲酯



[0560] 向NaH(0.590g, 14.74mmol) (在矿物油中的60%) 在THF(15mL) 中的0℃悬浮液中逐滴添加2-(4-羟基苯基)乙酸甲酯(2.5g, 14.74mmol) 在THF(5mL) 中的溶液。将反应混合物在0℃下搅拌90min, 然后添加MeI(2.95mL, 47.2mmol) 在THF(5mL) 中的溶液。将所得混合物在室温下搅拌16h。将反应用饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液和盐水淬灭。将溶液用EtOAc稀释并且将两层分离。将水层用EtOAc(2x25mL) 反萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且将滤液在减压下蒸发以得到油状物。将粗油状物通过硅胶柱色谱法(80g RediSep<sup>®</sup>柱, 用在EtOAc中的35%己烷洗脱) 纯化。将含有产物的级分蒸发以得到呈无色油状物的2-(4-甲氧基苯基)乙酸甲酯(2.39g, 90%产率)。MS(ES), m/z = 181.0 [M+H]<sup>+</sup>; HPLC保留时间0.84min(HPLC方法C)。

[0561] 实施例58

[0562] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-甲氧基苯基)乙酸甲酯



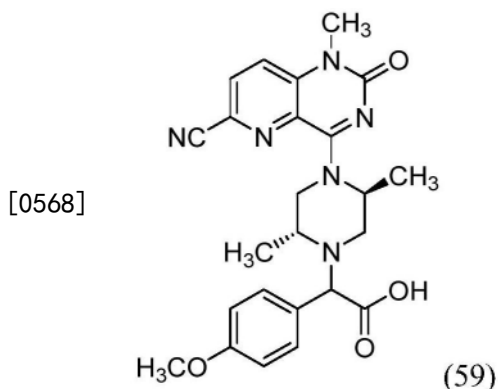
[0564] 使用2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸甲酯的合成所述的通用实验条件, 通过使2-溴-2-(4-甲氧基苯基)乙酸甲酯(中间体48, 根据以下文献程序合成: Okano, K. 等人, Angewandte Chemie, International Ed., 49(34), 5925-5929, 2010) 与4-((2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(中间体49) 反应获得呈非对映体混合物的2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-甲氧基苯基)乙酸甲酯。MS(ES), m/z = 477.4 [M+H]<sup>+</sup>; HPLC保留时间0.73min(非对映异构体1) 和0.76min(非对映异构体2) (HPLC方法C)。

[0565] 实施例59

[0566] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,

5-二甲基哌嗪-1-

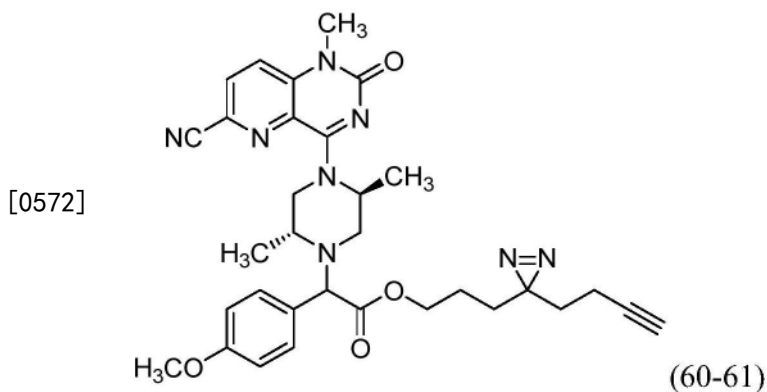
[0567] 基)-2-(4-甲氧基苯基)乙酸



[0569] 使用与2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸类似的实验条件,通过使2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-甲氧基苯基)乙酸甲酯与三甲基锡醇反应获得呈非对映异构体混合物的2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-甲氧基苯基)乙酸。MS (ES),  $m/z = 463.2 [M+H]^+$ ; HPLC保留时间0.62min (非对映异构体1和2) (HPLC方法C)。

[0570] 实施例60和61

[0571] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-甲氧基苯基)乙酸3-(3-(丁-3-炔-1-基)-3H-二吡丙因-3-基)丙酯



[0573] 根据实施例57中所述的通用程序,通过将2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-甲氧基苯基)乙酸的非对映体混合物与3-(3-(丁-3-炔-1-基)-3H-二吡丙因-3-基)丙-1-醇偶联合成2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-甲氧基苯基)乙酸3-(3-(丁-3-炔-1-基)-3H-二吡丙因-3-基)丙酯。MS (ES),  $m/z = 597.4 [M+H]^+$ ; HPLC保留时间0.87min (非对映异构体1) 和0.91min (非对映异构体2) (HPLC方法C)。将粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18, 200mm x 19mm, 5 $\mu$ m 颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含0.05%三氟乙酸);流动相B:95:5乙腈:水(含0.05%三氟乙酸);梯度:在20%B下保持0分钟,经25分钟20%-70%B,然后在100%B下保持0分钟;流速:

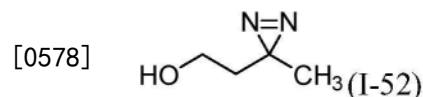
20mL/min;柱温:25℃。将含有产物的级分合并并且蒸发以得到实施例60和61。

[0574] 实施例60:(6.4mg,8.1%产率)。MS (ES),  $m/z = 597.2 [M+H]^+$ ; HPLC保留时间2.21min和1.91min(分别为HPLC方法D和E);  $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.32-8.17 (m, 1H), 8.05-7.96 (m, 1H), 7.49-7.35 (m, 2H), 7.03-6.91 (m, 2H), 5.73-5.46 (m, 1H), 5.02-4.77 (m, 1H), 4.28-4.18 (m, 1H), 4.12-3.92 (m, 2H), 3.84-3.74 (m, 3H), 2.88-2.78 (m, 1H), 2.65-2.46 (m, 6H), 2.32-2.14 (m, 1H), 2.02-1.91 (m, 2H), 1.58-1.48 (m, 2H), 1.44-1.20 (m, 7H), 1.16-0.98 (m, 3H)。

[0575] 实施例61:(5.5mg,6.9%产率)。MS (ES),  $m/z = 597.2 [M+H]^+$ ; HPLC保留时间2.29min和1.85min(分别为HPLC方法D和E);  $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 8.29-8.15 (m, 1H), 8.04-7.91 (m, 1H), 7.54-7.37 (m, 2H), 7.04-6.91 (m, 2H), 5.75-5.37 (m, 1H), 5.14-4.58 (m, 1H), 4.23-4.13 (m, 1H), 4.09-3.90 (m, 2H), 3.84-3.72 (m, 3H), 3.84-3.72 (m, 2H), 3.53-3.40 (m, 1H), 3.00-2.86 (m, 2H), 2.85-2.77 (m, 1H), 2.60-2.54 (m, 2H), 2.50-2.41 (m, 1H), 2.02-1.89 (m, 2H), 1.64-1.38 (m, 5H), 1.37-1.27 (m, 3H), 0.96-0.78 (m, 3H)。

[0576] 中间体52

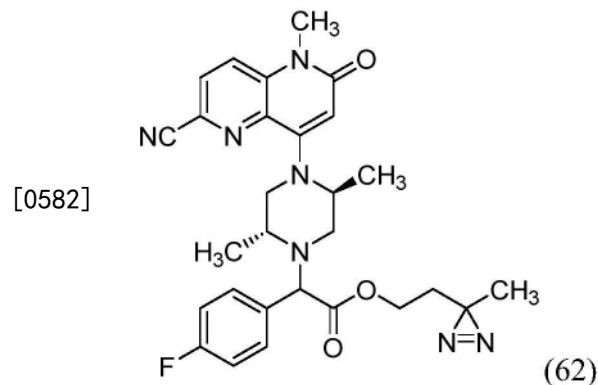
[0577] 2-(3-甲基-3H-二吡丙因-3-基)乙-1-醇



[0579] 根据Wang等人, Angewandte Chemie, International Edition, 56 (3), 870-873, 2017合成2-(3-甲基-3H-二吡丙因-3-基)乙-1-醇。

[0580] 实施例62

[0581] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸2-(3-甲基-3H-二吡丙因-3-基)乙酯



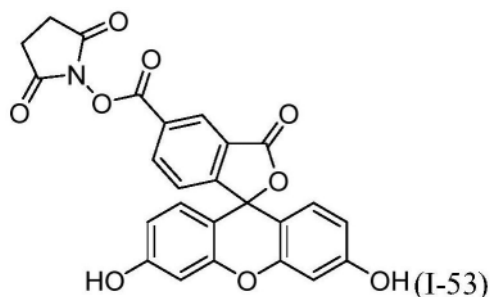
[0583] 根据3-(3-(丁-3-炔-1-基)-3H-二吡丙因-3-基)丙基2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸酯)的制备中所述的通用程序,通过使2-(3-甲基-3H-二吡丙因-3-基)乙-1-醇与2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸偶联合成2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸2-(3-甲基-3H-二吡丙因-3-基)乙酯。MS (ES),  $m/z = 532.4 [M+H]^+$ ; HPLC保留时间2.28min和1.96min(分别为HPLC方法B和C);  $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.19-8.11 (m, 1H), 8.08-8.02 (m, 1H), 7.67-7.55 (m, 2H), 7.29-7.16 (m,

2H), 6.08-6.01 (m, 1H), 4.46-4.35 (m, 2H), 4.09-3.92 (m, 2H), 3.73-3.36 (m, 6H), 2.81-2.71 (m, 1H), 2.58-2.53 (m, 3H), 2.14-2.05 (m, 1H), 1.68-1.56 (m, 2H), 1.26-1.19 (m, 3H), 1.17-1.10 (m, 3H)。

[0584] 中间体53

[0585] 3',6'-二羟基-3-氧代-3H-螺[异苯并呋喃-1,9'-咕吨]-5-甲酸2,5-二氧化吡咯烷-1-基酯

[0586]

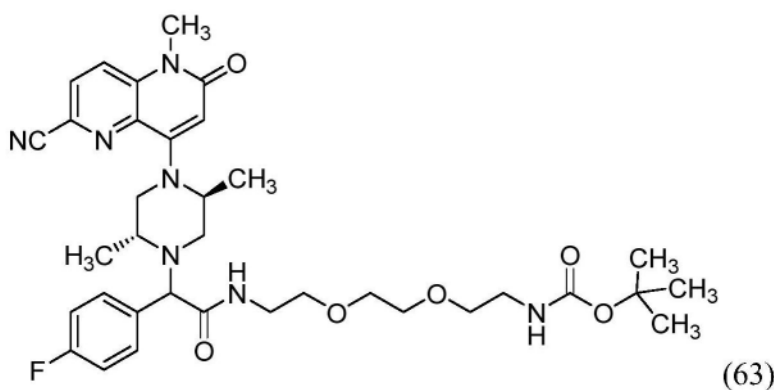


[0587] 向3',6'-二羟基-3-氧代-3H-螺[异苯并呋喃-1,9'-咕吨]-5-甲酸(0.05g, 0.133mmol)在DMF(1mL)中的溶液中添加EDC(0.032g, 0.166mmol),然后添加1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(0.02g, 0.173mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1h。将反应混合物用EtOAc稀释并且将有机层用磷酸盐缓冲液(pH=7.4)洗涤。分离有机层并且将水溶液用EtOAc(2x5mL)反萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经无水MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并且将滤液在减压下蒸发以得到呈橙色油状物(随后固化)的粗3',6'-二羟基-3-氧代-3H-螺[异苯并呋喃-1,9'-咕吨]-5-甲酸2,5-二氧化吡咯烷-1-基酯(0.056g, 89%产率)。MS(ES), m/z = 474.0 [M+H]<sup>+</sup>; HPLC保留时间1.48min(HPLC方法C)。

[0588] 实施例63

[0589] (2-(2-(2-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯

[0590]

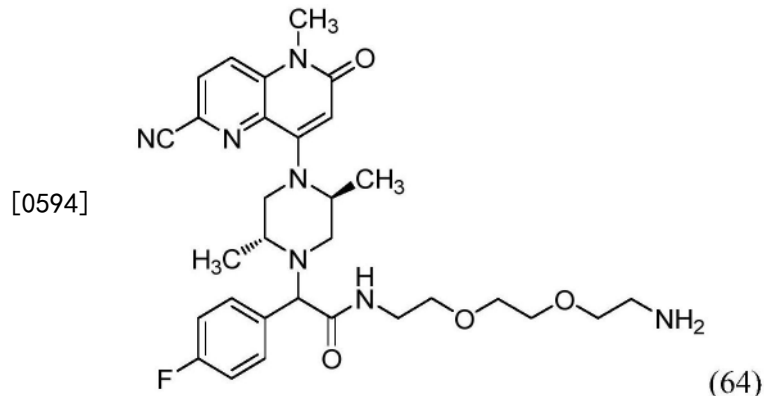


[0591] 将2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸(0.065g, 0.145mmol)、(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(0.044g, 0.174mmol)、HATU(0.066g, 0.174mmol)和DIPEA(0.05mL, 0.289mmol)在DMF(1.5mL)中的溶液在室温下搅拌45min。将反应混合物用水稀释并且用5% MeOH在DCM中的溶液(3x5mL)萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经无水MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并且将滤液在减压下蒸发以得到黄色油状物。将粗产物通过硅胶色谱法(12g RediSep<sup>®</sup>柱, 用在DCM中的0-5% MeOH的梯度洗脱)纯化。将含有产物的级分合并并且蒸发以得到呈棕色

油状物的(2-(2-(2-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺基)乙氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(0.067g,68%产率)。MS(ES), $m/z=680.3[M+H]^+$ ;HPLC保留时间0.81min(HPLC方法C)。

[0592] 实施例64

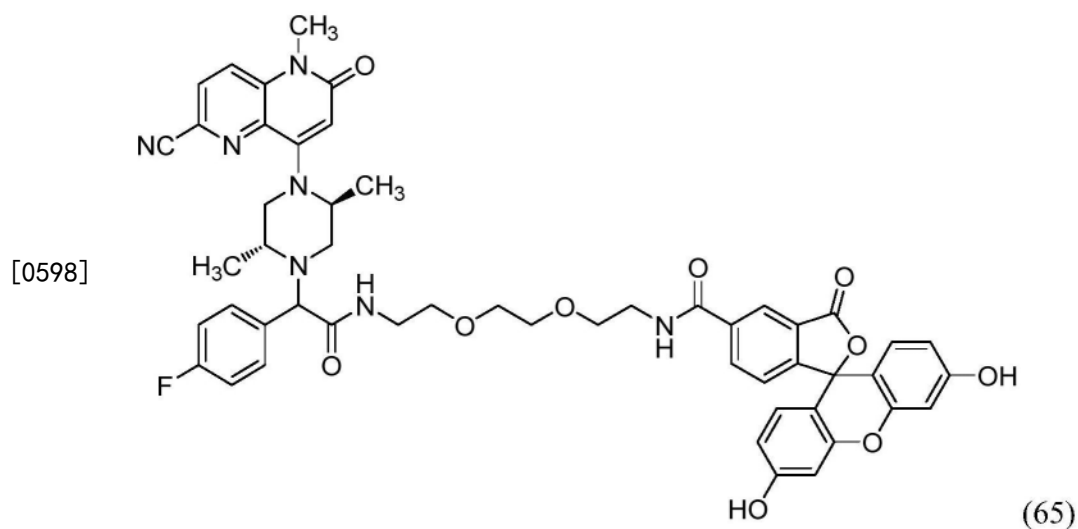
[0593] N-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)-2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺,TFA



[0595] 向(2-(2-(2-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺基)乙氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(0.067g,0.099mmol)在DCM(1mL)中的溶液中添加TFA(0.09mL,1.183mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1h。将挥发物在减压下蒸发以得到呈TFA盐的N-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)-2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺(0.067g,>99%产率)。MS(ES), $m/z=580.3[M+H]^+$ ;HPLC保留时间0.63min(HPLC方法C)。

[0596] 实施例65

[0597] N-(2-(2-(2-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺基)乙氧基)乙氧基)乙基)-3',6'-二羟基-3-氧代-3H-螺[异苯并呋喃-1,9'-咕吨]-5-甲酰胺



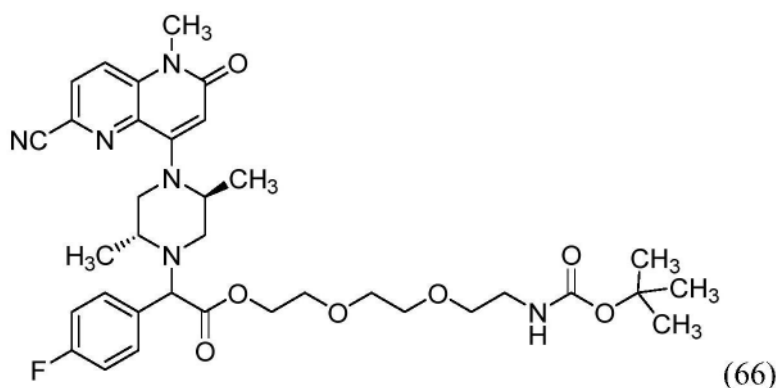
[0599] 向N-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)-2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺,TFA

(0.068g, 0.098mmol) 在 DMF (1mL) 中的溶液中添加 DIPEA (0.09mL, 0.490mmol), 然后添加 3', 6'-二羟基-3-氧代-3H-螺[异苯并呋喃-1,9'-咕吨]-5-甲酸 2,5-二氧化吡咯烷-1-基酯 (0.056g, 0.118mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 1h。将混合物用 DMF 稀释并且用以下条件通过制备型 HPLC 纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5 $\mu$ m 颗粒; 流动相 A: 5:95 乙腈: 水 (含乙酸铵); 流动相 B: 95:5 乙腈: 水 (含乙酸铵); 梯度: 在 12%B 下保持 0 分钟, 经 30 分钟 12%-52%B, 然后在 100%B 下保持 0 分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: 25°C。将含有产物的级分合并并且在真空下干燥以得到 N-(2-(2-(2-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺基)乙氧基)乙氧基)乙基)-3',6'-二羟基-3-氧代-3H-螺[异苯并呋喃-1,9'-咕吨]-5-甲酰胺)。MS (ES),  $m/z$  = 938.1 [M+H]<sup>+</sup>; HPLC 保留时间 1.42min 和 1.41min (分别为 HPLC 方法 B 和 C)。

#### [0600] 实施例 66

[0601] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸 2,2-二甲基-4-氧代-3,8,11-三氧杂-5-氮杂十三烷-13-基酯

[0602]

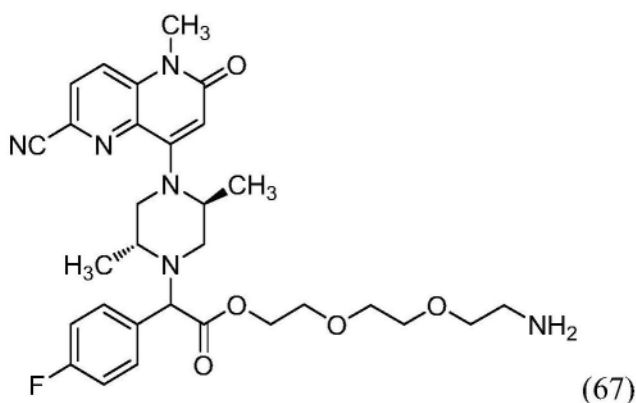


[0603] 向 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸 (0.07g, 0.156mmol) 在 DCM (1mL) 中的溶液中添加 DCC (0.039g, 0.187mmol) 和 DMAP (1.9mg, 0.016mmol)。将反应混合物在室温下搅拌约 15min, 然后添加 (2-(2-(2-羟基乙氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯 (0.049g, 0.187mmol)。将混合物在室温下搅拌 1h。并且然后用水和 DCM 稀释。将两层分离并且将水层用 DCM (2x5mL) 反萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并且将滤液在减压下蒸发以得到呈浅黄色固体的 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸 2,2-二甲基-4-氧代-3,8,11-三氧杂-5-氮杂十三烷-13-基酯 (0.1g, 94% 产率)。MS (ES),  $m/z$  = 681.3 [M+H]<sup>+</sup>; HPLC 保留时间 0.88min (HPLC 方法 C)。

#### [0604] 实施例 67

[0605] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸 2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙酯, TFA

[0606]

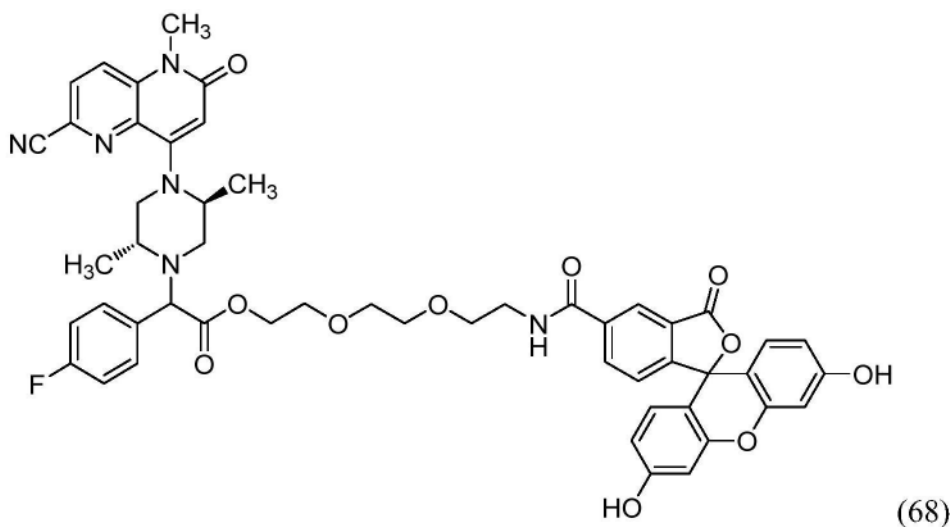


[0607] 向2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸2,2-二甲基-4-氧代-3,8,11-三氧杂-5-氮杂十三烷-13-基酯(0.1g,0.147mmol)在DCM(1.5mL)中的溶液中添加TFA(0.12mL,1.47mmol)。将反应混合物在室温下继续搅拌1h。将挥发物在减压下蒸发以得到呈TFA盐的粗2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙酯(0.099g,>99%产率)。MS(ES), $m/z=581.3[M+H]^+$ ; HPLC保留时间0.69min(HPLC方法C)。

[0608] 实施例68

[0609] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸2-(2-(2-(3',6'-二羟基-3-氧代-3H-螺[异苯并呋喃-1,9'-咕吨]-5-甲酰胺基)乙氧基)乙氧基)乙酯

[0610]



[0611] 根据N-(2-(2-(2-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酰胺基)乙氧基)乙氧基)乙基)-3',6'-二羟基-3-氧代-3H-螺[异苯并呋喃-1,9'-咕吨]-5-甲酰胺的制备中所述的通用合成程序,通过使2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙酯,TFA与3',6'-二羟基-3-氧代-3H-螺[异苯并呋喃-1,9'-咕吨]-5-甲酸2,5-二氧化吡咯烷-1-基酯反应合成2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-1,5-萘啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-2-(4-氟苯基)乙酸2-(2-(2-(3',6'-二羟基-3-氧代-3H-螺[异苯并呋喃-1,9'-咕吨]-5-甲酰

胺基)乙氧基)乙氧基)乙酯。MS (ES),  $m/z = 939.2 [M+H]^+$ ; HPLC保留时间1.722min和1.675min(分别为HPLC方法B和C)。

[0612] 另外的LCMS条件:

[0613] 方法FA:柱:Kinetex XB-C18(75x3.0)mm, 2.6 $\mu$ m, 流动相A:5mm, 甲酸铵pH 3.3:ACN(98:2), 流动相B:ACN:缓冲液(98:2), 流速:1.0mL/min。检测:在220nm处的UV。

[0614] 方法FB:柱:Kinetex Biphenyl(100x4.6)mm, 2.6 $\mu$ m, 流动相A:在水中的0.05%TFA:ACN(95:5), 流动相B:ACN:在水中的0.05%TFA(95:5), 流量:1.0mL/min。检测:在220nm处的UV。

[0615] 方法FC:柱:Kinetex EVO C18(100x4.6)mm, 2.6 $\mu$ m, 流动相A:在水中的0.05%TFA:ACN(95:5), 流动相B:ACN:在水中的0.05%TFA(95:5), 流量:1.0mL/min。检测:在220nm处的UV。

[0616] 方法FD:柱:XBridge C8(50x4.6mm) 5 $\mu$ m, 流动相A:在H<sub>2</sub>O中的0.1%TFA, 流动相B:在ACN中的0.1%TFA, 流速:1.5mL/min。检测:在220nm处的UV。

[0617] 方法FE:柱:XBridge C8(50x4.6)mm, 3.5 $\mu$ m, 流动相:A:在H<sub>2</sub>O中的10mm NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>, 流动相:B:ACN, 流速:1.5mL/min。检测:在220nm处的UV。

[0618] 方法FF:柱:XBridge C8(50x4.6mm) 5 $\mu$ m, 流动相:A:在H<sub>2</sub>O中的10mm乙酸铵, 流动相:B:ACN, 流速:1.5mL/min。检测:在220nm处的UV。

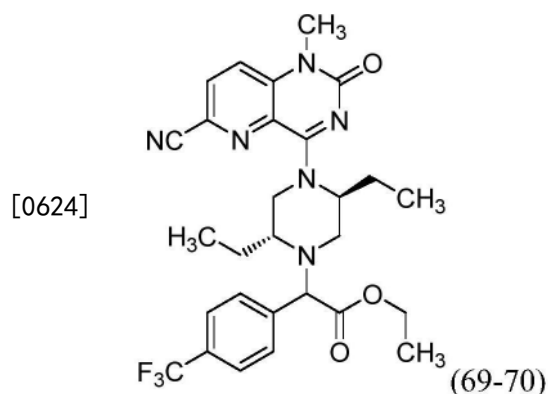
[0619] 方法FG:柱:X-Bridge C8(50x4.6)mm, 3.5 $\mu$ m, 流动相B:在水中的10mM碳酸氢铵, 流动相A:乙腈, 流量:1.0mL/min。

[0620] 方法FH:柱:Kinetex Biphenyl(100x4.6)mm, 2.6 $\mu$ m, 流动相A:在水中的10mM乙酸铵, 流动相B:乙腈, 流量:1.0mL/min。

[0621] 方法FI:柱:Kinetex EVO C18(100x4.6)mm, 2.6 $\mu$ m, 流动相:A:10mM乙酸铵, 流动相B:ACN, 流量:1.0mL/min。

[0622] 实施例69和70

[0623] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯



[0625] 向4-((2S,5R)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈, HCl (0.3g, 0.83mmol) 在乙腈(10mL)中的搅拌溶液中添加DIPEA (0.4mL, 2.48mmol), 然后添加2-溴-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯(0.514g, 1.65mmol)和碘化钠(0.124g, 0.83mmol)并且将反应混合物在85℃下加热16h。将反应混合物冷却至室温并且通

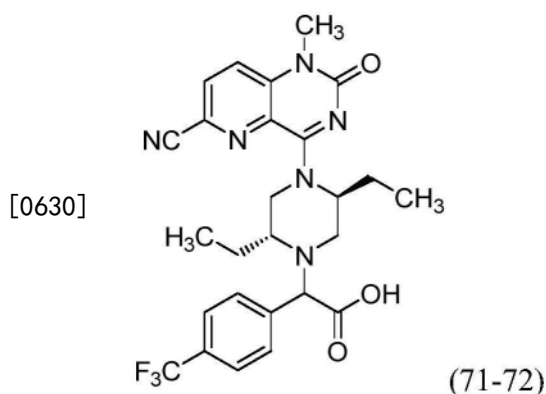
过硅藻土垫过滤,用乙酸乙酯洗涤并且将滤液在减压下蒸发以获得粗化合物,将其通过硅胶柱色谱法(80g硅胶,用60%-70%乙酸乙酯/石油醚洗脱)纯化以获得2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯(130mg,28%产率)。将产物通过制备型HPLC(HPLC方法:柱:Sunfire C18(150x19mm ID,5 $\mu$ m);流动相A=在水中的0.1%TFA;流动相B=乙腈;流量19mL/min;梯度:时间:0.01-22.0;B浓度%:10-75)进一步纯化以提供实施例69和实施例70。

[0626] 实施例69:LCMS:m/z=557.2(M+H);保留时间:2.34min;(LCMS方法:柱:XBridge BEH XP C18(50x2.1)mm,2.5 $\mu$ m;流动相A:95%水:5%乙腈;10mM NH<sub>4</sub>OAc;流动相B:5%水:95%乙腈;10mM NH<sub>4</sub>OAc;流量:1.1mL/min;温度:50℃;时间(min))。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 8.22(s,1H),7.99(d,J=9.0Hz,1H),7.85-7.67(m,4H),5.91-5.37(m,1H),4.90-4.92(m,1H),4.54(s,1H),4.19-3.97(m,2H),3.44(s,3H),3.24-2.80(m,2H),2.32-2.38(m,2H),2.11-1.72(m,2H),1.55-1.29(m,2H),1.18-1.11(m,3H),0.97-0.80(m,3H),0.72-0.45(m,3H)。

[0627] 实施例70:LCMS:m/z=557.2(M+H);保留时间:2.34min;(LCMS方法:柱:XBridge BEH XP C18(50x2.1)mm,2.5 $\mu$ m;流动相A:95%水:5%乙腈;10mM NH<sub>4</sub>OAc;流动相B:5%水:95%乙腈;10mM NH<sub>4</sub>OAc;流量:1.1mL/min;温度:50℃)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 8.32-8.14(m,1H),7.98-8.02(m,1H),7.77-7.75(m,4H),6.06-5.33(m,1H),5.05-4.78(m,1H),4.60-4.48(m,1H),4.24-4.13(m,1H),4.13-4.00(m,1H),3.41-3.46(m,4H),3.04-2.87(m,1H),2.64-2.54(m,1H),2.30-1.71(m,3H),1.66-1.43(m,2H),1.16(t,J=7.0Hz,3H),0.99-0.79(m,3H),0.68(t,J=7.5Hz,3H)。

[0628] 实施例71和72

[0629] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸



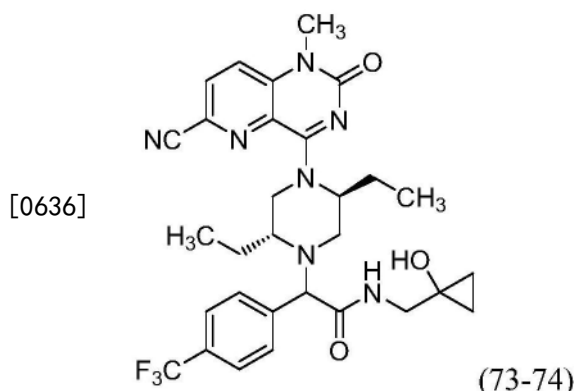
[0631] 向2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯(60mg,0.11mmol)在1,4-二噁烷(10mL)中的搅拌溶液中添加三甲基锡醇(100mg,0.55mmol)并且将反应混合物在100℃下加热16h。将反应混合物冷却至室温并且通过硅藻土垫过滤,用乙酸乙酯洗涤并且将滤液在减压下蒸发以获得粗化合物,将其通过制备型HPLC(HPLC方法:制备型柱:C-5;流动相A:在MeOH中的10mM乙酸铵;流动相B,流量:20mL/min)纯化以获得实施例71和实施例72。

[0632] 实施例71: (8.3mg, 15%产率)。LCMS:  $m/z=529.3$  (M+H); 保留时间: 1.41min; (LCMS方法: 柱: XBridge BEH XP C18 (50x2.1) mm, 2.5 $\mu$ m; 流动相A: 95%水: 5%乙腈; 10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ ; 流动相B: 5%水: 95%乙腈; 10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ ; 流量: 1.1mL/min; 温度: 50 $^\circ\text{C}$ )。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  12.85-12.57 (m, 1H), 8.22 (td,  $J=1.6, 8.8\text{Hz}$ , 1H), 7.97 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 7.74-7.70 (m, 4H), 5.86-5.23 (m, 1H), 5.01-4.75 (m, 1H), 4.46-4.17 (m, 1H), 3.43 (s, 3H), 3.19-3.12 (m, 1H), 2.89-2.70 (m, 2H), 2.38-1.78 (m, 3H), 1.48-1.28 (m, 2H), 1.00-0.81 (m, 3H), 0.73-0.47 (m, 3H)。

[0633] 实施例72: (6mg, 10%产率), LCMS:  $m/z=529.3$  (M+H); 保留时间: 1.42min; (LCMS方法: 柱: XBridge BEH XP C18 (50x2.1) mm, 2.5 $\mu$ m; 流动相A: 95%水: 5%乙腈; 10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ ; 流动相B: 5%水: 95%乙腈; 10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ ; 流量: 1.1mL/min; 温度: 50 $^\circ\text{C}$ )。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.31-8.12 (m, 1H), 8.06-7.89 (m, 1H), 7.81-7.59 (m, 4H), 6.06-5.28 (m, 1H), 5.09-4.73 (m, 1H), 4.41-4.20 (m, 1H), 3.68-3.59 (m, 1H), 3.43 (s, 3H), 3.19-3.11 (m, 1H), 2.51-2.56 (m, 1H), 2.30-1.75 (m, 3H), 1.63-1.40 (m, 2H), 0.99-0.80 (m, 3H), 0.66-0.68 (m, 3H), 0.43-0.17 (m, 1H)。

[0634] 实施例73和74

[0635] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺



[0637] 向2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸 (50mg, 0.1mmol) 在DMF (3mL) 中的搅拌溶液中添加HATU (71.9mg, 0.19mmol)、DIPEA (0.05mL, 0.28mmol) 和1-(氨基甲基)环丙-1-醇 (12.4mg, 0.14mmol) 并且将反应混合物在室温下搅拌16h。将反应用水 (20mL) 淬灭。将反应混合物用乙酸乙酯 (3x20mL) 萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤并且在减压下蒸发以获得粗产物, 将其通过制备型SFC (SFC方法: 柱/尺寸: Chiralpak IC (250X30) mm, 5 $\mu$ m  $\text{CO}_2$ : 75%; 共溶剂: 25%的甲醇; 总流量: 100.0mL/min; 背压: 100巴; 温度: 35 $^\circ\text{C}$ ; UV: 220nm) 纯化以获得实施例73和实施例74。

[0638] 实施例73: LCMS:  $m/z=598.3$  (M+H); 保留时间: 1.71min; (LCMS方法: 柱: XBridge BEH XP C18 (50x2.1) mm, 2.5 $\mu$ m; 流动相A: 95%水: 5%乙腈; 10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ ; 流动相B: 5%水: 95%乙腈; 10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ ; 流量: 1.1mL min; 温度: 50 $^\circ\text{C}$ )。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.45 (br d,  $J=4.0\text{Hz}$ , 1H), 8.31-8.15 (m, 1H), 7.96-8.01 (m, 1H), 7.71-7.77 (m, 4H), 6.06-4.77 (m, 3H), 4.39 (br d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 1H), 3.44-3.32 (m, 3H), 3.28-3.13 (m, 2H), 3.10-2.95 (m, 1H),

2.61-2.54 (m, 1H) , 2.30-1.80 (m, 3H) , 1.67-1.42 (m, 2H) , 1.04-0.80 (m, 3H) , 0.71 (t, J=7.4Hz, 3H) , 0.55-0.33 (m, 4H) 。

[0639] 实施例74:LCMS:m/z=598.2 (M+H) ;保留时间:1.72min; (LCMS方法:柱:XBridge BEH XP C18 (50x2.1)mm, 2.5 $\mu$ m;流动相A:95%水:5%乙腈;10mM NH<sub>4</sub>OAc;流动相B:5%水:95%乙腈;10mM NH<sub>4</sub>OAc;流量:1.1mL/min;温度:50℃)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8.30-8.12 (m, 2H) , 7.97-7.80 (m, 1H) , 7.77-7.71 (m, 4H) , 5.93-4.83 (m, 3H) , 4.35 (br s, 1H) , 3.56 (br s, 1H) , 3.43-3.32 (m, 3H) , 3.23-3.17 (m, 3H) , 2.87-2.71 (m, 2H) , 2.45-2.36 (m, 2H) , 2.11-1.91 (m, 2H) , 1.80 (s, 3H) , 1.48-1.28 (m, 2H) , 1.23-1.25 (m, 1H) , 0.99-0.32 (m, 4H) 。

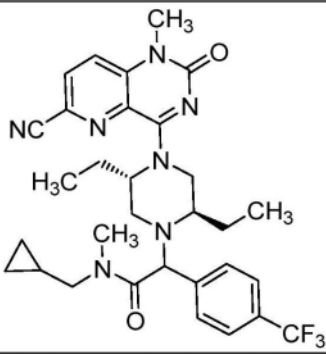
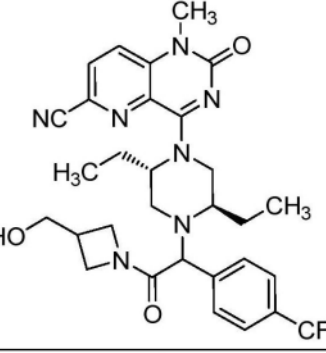
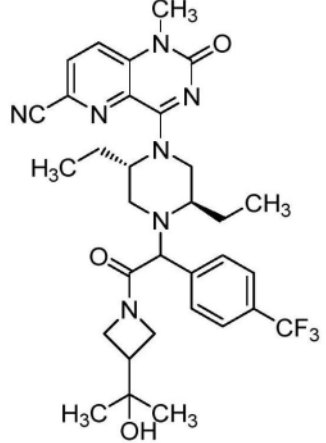
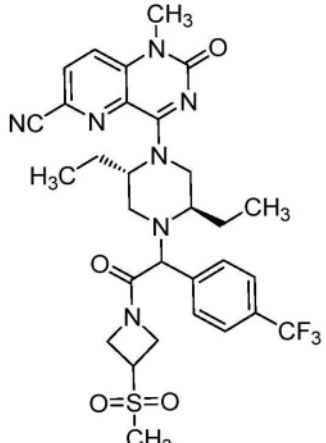
[0640] 在合成顺序中使用适当的胺,根据实施例73和74的制备中所述的通用程序制备表1中的实施例。当反应提供非对映异构体混合物时,将混合物通过制备型HPLC在最终阶段分离。在新形成的碳-氮键处没有指定绝对立体化学。

[0641] 表1

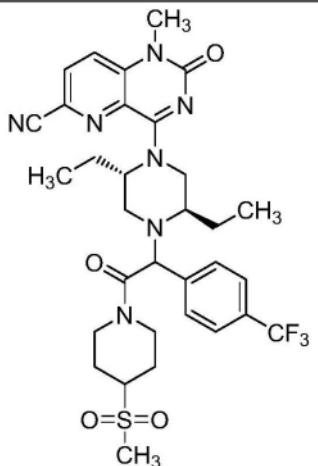
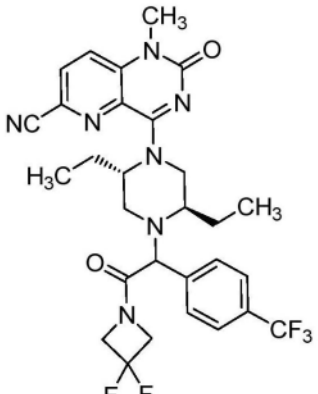
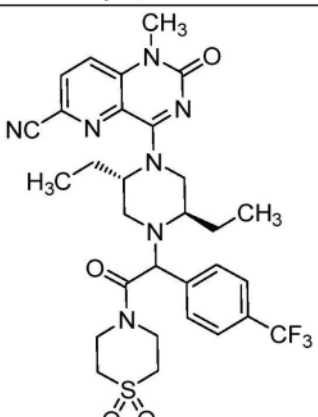
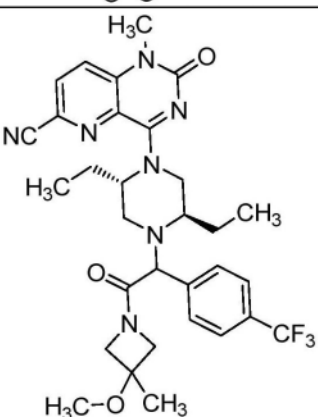
| [0642] 实施例<br>编号 | 结构 | LCMS<br>方法 | LCMS<br>RT | M+H | 立体化<br>学 |
|------------------|----|------------|------------|-----|----------|
|------------------|----|------------|------------|-----|----------|



[0644]

|    |                                                                                     |   |      |       |   |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|---|------|-------|---|
| 85 |    | A | 2.12 | 596.4 | H |
| 86 |                                                                                     | A | 2.16 | 596.4 | H |
| 87 |    | A | 1.68 | 598.4 | H |
| 88 |                                                                                     | A | 1.64 | 598.4 | H |
| 89 |   | A | 1.79 | 626.3 | H |
| 90 |                                                                                     | A | 1.77 | 626.3 | H |
| 91 |  | A | 1.70 | 646.3 | H |
| 92 |                                                                                     | A | 1.74 | 646.3 | H |

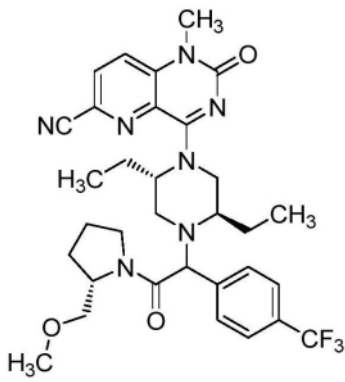
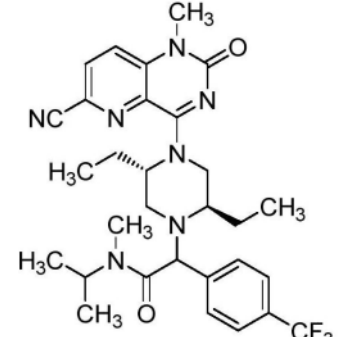
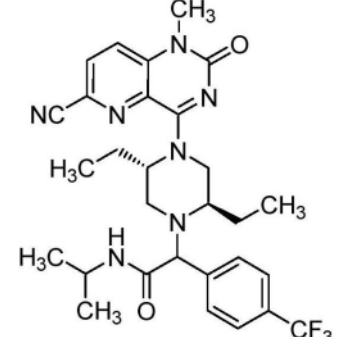
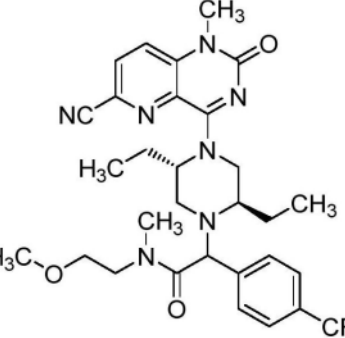
[0645]

|     |                                                                                     |   |      |       |   |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|---|------|-------|---|
| 93  |    | A | 1.73 | 674.3 | H |
| 94  |                                                                                     | A | 1.77 | 674.3 | H |
| 95  |   | A | 1.98 | 604.3 | H |
| 96  |                                                                                     | A | 2.01 | 604.3 | H |
| 97  |  | A | 1.77 | 646.3 | H |
| 98  |                                                                                     | A | 1.79 | 646.2 | H |
| 99  |  | A | 1.91 | 612.2 | H |
| 100 |                                                                                     | A | 1.88 | 612.3 | H |

[0646]

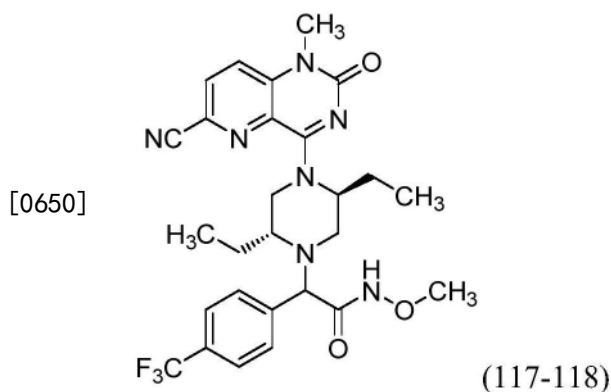
|     |  |   |      |       |   |
|-----|--|---|------|-------|---|
| 101 |  | A | 1.66 | 598.2 | H |
| 102 |  | A | 1.64 | 598.2 | H |
| 103 |  | A | 1.80 | 612.2 | H |
| 104 |  | A | 1.80 | 612.2 | H |
| 105 |  | A | 1.80 | 612.2 | H |
| 106 |  | A | 1.80 | 612.2 | H |
| 107 |  | A | 1.67 | 598.2 | H |
| 108 |  | A | 1.62 | 598.2 | H |

[0647]

|     |                                                                                     |   |      |       |   |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|---|------|-------|---|
| 109 |    | A | 2.04 | 626.2 | H |
| 110 |                                                                                     | A | 2.06 | 626.3 | H |
| 111 |   | A | 2.05 | 584.2 | H |
| 112 |                                                                                     | A | 2.08 | 584.2 | H |
| 113 |  | A | 1.85 | 570.2 | H |
| 114 |                                                                                     | A | 1.87 | 570.2 | H |
| 115 |  | A | 1.91 | 600.2 | H |
| 116 |                                                                                     | A | 1.94 | 600.2 | H |

[0648] 实施例117和118

[0649] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-甲氧基-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺



[0651] 向2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸(200mg,0.378mmol)在无水DMF中的搅拌溶液中添加0-甲基羟基胺盐酸盐(37.9mg,0.454mmol)(3mL)、DIPEA(0.13mL,0.76mmol)和HATU(216mg,0.568mmol)。将反应混合物在环境温度下搅拌。16h后,将反应混合物用乙酸乙酯(10mL)稀释,用水(2x10mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并且在减压下浓缩以获得粗产物,将其通过制备型HPLC(HPLC方法:柱:Luna C18(250x21)mm,10微米;流动相A:在水中的0.1%TFA;流动相B:乙腈;稀释剂:乙腈:水(50:50);梯度:从0至15分钟30%至70%B;流量:15mL/min)纯化以产出实施例117和118。

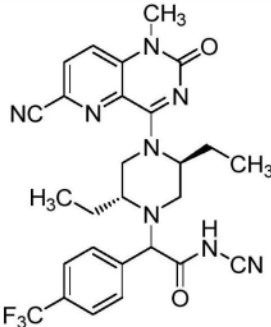
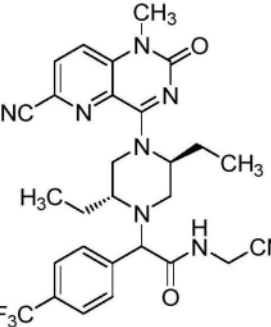
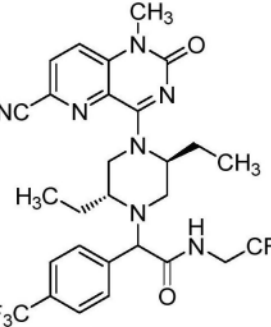
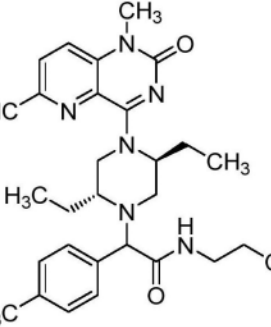
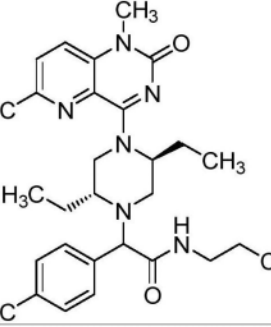
[0652] 将实施例117的级分在减压下浓缩,用ACN/H<sub>2</sub>O(1:1)稀释并且冻干以产出呈灰白色固体的2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-甲氧基-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺.TFA(35mg,14%产率)。LCMS:m/z=558.2(M+H)<sup>+</sup>;保留时间:2.56min(LCMS方法:柱:Kinetex XB-C18(75x3.0)mm,2.6μm;流动相:A:5mm甲酸铵pH 3.3:ACN(98:2);流动相:B:ACN:缓冲液(98:2);流速:1.0mL/min。HPLC保留时间8.75和8.22min(分别为HPLC方法FB和FC)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ11.56(s,1H),8.24(m,1H),8.00(m,1H),7.78(s,4H),5.87-5.40(m,1H),4.96-4.89(m,1H),4.16(s,1H),3.57(s,3H),3.43(s,3H),3.24-3.21(m,1H),2.82(m,1H),2.70(m,2H),2.45-2.30(m,2H),2.15-1.88(m,2H),1.42-1.30(m,2H),0.96-0.87(m,3H),0.68-0.52(m,3H)。

[0653] 将实施例118的级分在减压下浓缩,用ACN/H<sub>2</sub>O(1:1)稀释并且冻干以产出2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-N-甲氧基-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺.TFA(30mg,11%产率)。LCMS:m/z=558.0(M+H)<sup>+</sup>;HPLC保留时间:2.48min(LCMS方法:柱:Kinetex XB-C18(75x3.0)mm,2.6μm;流动相:A:5mm甲酸铵pH 3.3:ACN(98:2);流动相:B:ACN:缓冲液(98:2);流速:1.0mL/min)。HPLC保留时间9.38和8.97min(分别为HPLC方法FB和FC)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ11.76(s,1H),8.29-8.21(m,1H),8.03-7.97(m,1H),7.78-7.72(m,4H),6.04-5.35(m,1H),5.07-4.82(m,1H),4.10(s,1H),3.60(s,3H),3.44(s,3H),3.06-2.98(m,1H),2.6-2.85(m,1H),2.27-2.08(m,2H),1.92-1.83(m,2H),1.53-1.51(m,2H),0.98-0.91(m,3H),0.71-0.69(m,3H)。

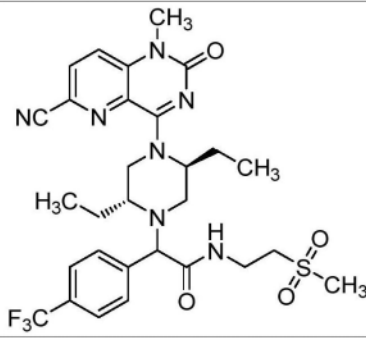
[0654] 在合成顺序中使用适当的胺,根据实施例117和118的制备中所述的通用程序制备表2中的实施例。当反应提供非对映异构体混合物时,将混合物通过制备型HPLC在最终阶段分离。在新形成的碳-氮键处没有指定绝对立体化学。

[0655] 表2

[0656]

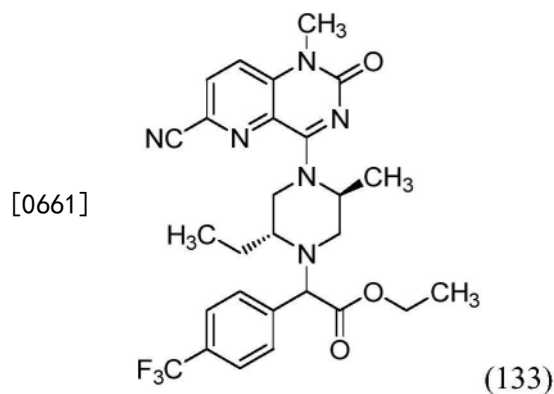
| 实施例<br>编号 | 结构                                                                                  | LCMS<br>方法 | LCMS<br>RT | M+H   | 立体<br>化学 |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|-------|----------|
| 119       |    | FA         | 1.81       | 553.1 | H        |
| 120       |                                                                                     | FA         | 2.02       | 553.4 | H        |
| 121       |    | FA         | 2.67       | 567.0 | H        |
| 122       |                                                                                     | FA         | 2.656      | 567.0 | H        |
| 123       |   | FA         | 2.87       | 610.2 | H        |
| 124       |                                                                                     | FA         | 2.98       | 610.0 | H        |
| 125       |  | FA         | 2.44       | 581.3 | H        |
| 126       |                                                                                     | FA         | 2.43       | 581.4 | H        |
| 127       |  | FA         | 2.30       | 624.2 | H        |

[0657]

|        |     |                                                                                   |    |      |       |   |
|--------|-----|-----------------------------------------------------------------------------------|----|------|-------|---|
| [0658] | 128 |                                                                                   | FA | 3.03 | 624.2 | H |
|        | 129 |  | FA | 2.49 | 634.0 | H |
|        | 130 |                                                                                   | FA | 2.52 | 634.0 | H |
|        | 131 |                                                                                   | FA | 2.56 | 558.2 | H |
|        | 132 |                                                                                   | FA | 2.48 | 558.0 | H |

[0659] 实施例133

[0660] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯

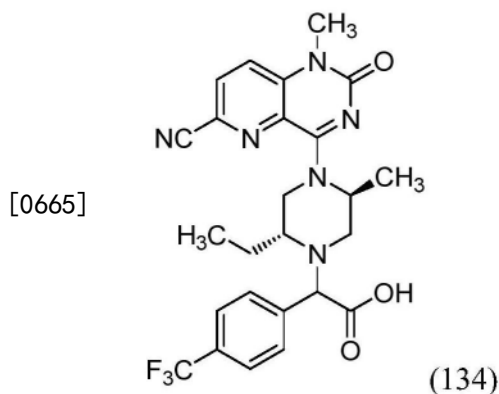


[0662] 向4-((2S,5R)-5-乙基-2-甲基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈TFA (2.00g, 4.69mmol) 在无水乙腈 (20mL) 中的搅拌溶液中加入 DIPEA (1.638mL, 9.38mmol), 然后添加2-溴-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯 (1.837g, 5.63mmol)。然后将反应混合物在75℃下加热并且通过TLC分析监测反应进程。3h后, 将挥发物在减压下去除并且将由此获得的残余物用DCM (50mL) 稀释, 用水 (2x20mL)、饱和盐水溶液 (20mL) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。将由此获得的粗材料通过在硅胶 (230:400目) 上的快速柱色谱法 (用在石油醚中的0-100% EtOAc洗脱) 纯化以产出呈棕色固体的2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯 (1.8g, 67.9%产率)。LCMS: m/z = 543.2

(M+H)<sup>+</sup>;保留时间3.31min(LCMS方法:柱:Kinetex XB-C18(75x30)mm,2.6 $\mu$ m流动相:A:5mm甲酸铵pH 3.3:ACN(98:2)流动相:B:ACN:缓冲液(98:2)流速:1.0mL/min)。

[0663] 实施例134

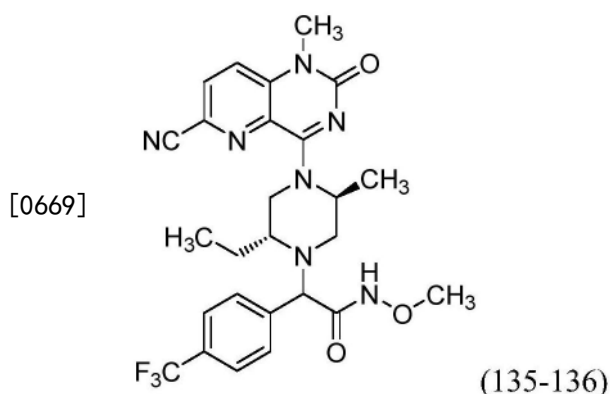
[0664] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸



[0666] 向2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯(500mg,0.885mmol)在无水甲苯(20mL)中的搅拌溶液中添加三甲基锡醇(1440mg,7.96mmol)。然后将反应混合物在100℃下加热并且通过TLC分析监测反应进程。36h后,将反应混合物冷却至室温并且将挥发物在减压下去除。然后将所得残余物溶解于DCM(30mL)中并且通过硅藻土床过滤。将滤液用水(3x20mL)洗涤并且将有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,在减压下浓缩以产出呈棕色固体的2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸(400mg,71%产率)。LCMS:m/z=515.2(M+H)<sup>+</sup>;保留时间:1.49和1.78,(LCMS方法柱:Kinetex XB-C18(75x3.0)mm,2.6 $\mu$ m,流动相:A:5mm甲酸铵pH 3.3:ACN(98:2),流动相:B:ACN:缓冲液(98:2),流速:1.0mL/min)。

[0667] 实施例135和136

[0668] 2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-N-甲氧基-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺



[0670] 向2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸(240mg,0.378mmol)和O-甲基羟胺盐酸盐(47.3mg,0.567mmol)在无水DMF(2mL)中的搅拌溶液中添加HATU(172mg,0.453mmol)和DIPEA(0.13mL,0.756mmol)。然后允许将反应混合物在环境温度下搅拌16h。

反应完成后,将反应混合物用乙酸乙酯(15mL)稀释,用碳酸氢钠水溶液(10mL)、水(10mL)和饱和盐水溶液(10mL)洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩以获得粗产物,将其通过制备型HPLC(HPLC方法:柱:XSelect C18(150x19)mm,5微米;流动相A:在水中的0.1%TFA;流动相B:乙腈;稀释剂:乙腈:水(50:50);梯度:从0至12分钟20%至80%B;流量:15mL/min)纯化以产出实施例135和136。

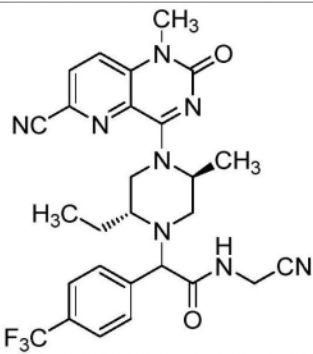
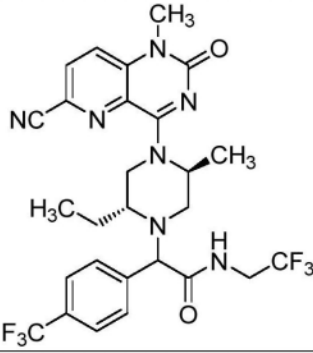
[0671] 将实施例135的级分在减压下浓缩,用ACN/H<sub>2</sub>O(1:1)稀释并且冻干以产出2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-N-甲氧基-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺,TFA(45mg,17%产率)。LCMS:m/z=544.2(M+H);保留时间:2.24;(LCMS方法:柱:Kinetex XB-C18(75x3.0)mm,2.6μm;流动相:A:5mm甲酸铵pH 3.3:ACN(98:2);流动相:B:ACN:缓冲液(98:2);流速:1.0mL/min。HPLC保留时间8.31和7.63min(分别为HPLC方法B和C)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ11.55(s,1H),8.25-8.23(m,1H),8.01-7.99(m,1H),7.79(s,4H),5.84(m,1H),4.93(m,1H),4.22(s,1H),3.62(s,3H),3.42(s,3H),2.94(m,1H),1.60(m,1H),1.42(m,4H),0.64(m,3H)(-3H)。

[0672] 将实施例136的级分在减压下浓缩,用ACN/H<sub>2</sub>O(1:1)稀释并且冻干以产出呈灰白色固体的2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-N-甲氧基-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺.TFA(29mg,12%产率)。LCMS:m/z=544.2(M+H);保留时间:2.18;(LCMS方法:柱:Kinetex XB-C18(75x3.0)mm,2.6μm;流动相:A:5mm甲酸铵pH 3.3:ACN(98:2);流动相:B:ACN:缓冲液(98:2);流速:1.0mL/min。HPLC保留时间8.75和8.16min(分别为HPLC方法FB和FC)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ11.76(s,1H),8.26(m,1H),8.01(m,1H),7.78-7.72(m,4H),5.99(m,1H),4.94(m,2H),4.13(s,1H),3.61(m,4H),3.45(s,3H),3.1-2.99(m,1H),2.23-2.21(m,1H),1.58-1.46(m,3H),1.30(m,2H),0.99(s,3H)。

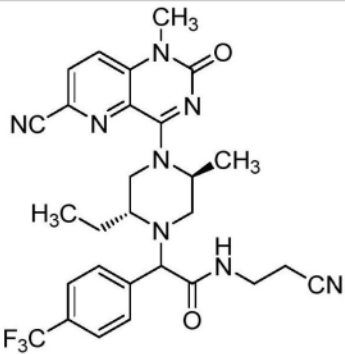
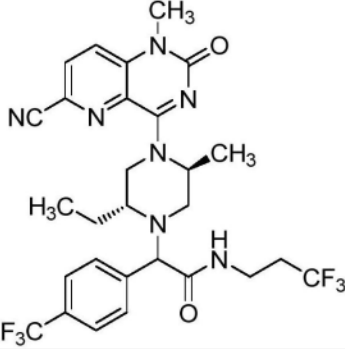
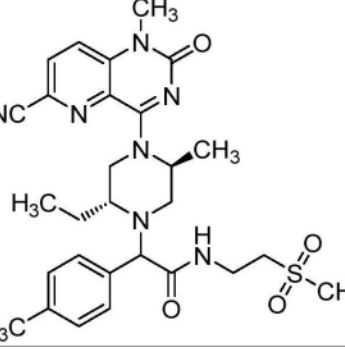
[0673] 在合成顺序中使用适当的胺,根据实施例135和136的制备中所述的通用程序制备表3中的实施例。当反应提供非对映异构体混合物时,将混合物通过制备型HPLC在最终阶段分离。在新形成的碳-氮键处没有指定绝对立体化学。

[0674] 表3

[0675]

| 实施例<br>编号 | 结构                                                                                | LCMS<br>方法 | LCMS<br>RT | M+H   | 立体<br>化学 |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|-------|----------|
| 137       |  | FA         | 2.40       | 553.3 | H        |
| 138       |                                                                                   | FA         | 2.38       | 553.2 | H        |
| 139       |  | FA         | 2.79       | 596.2 | H        |
| 140       |                                                                                   | FA         | 2.76       | 596.2 | H        |

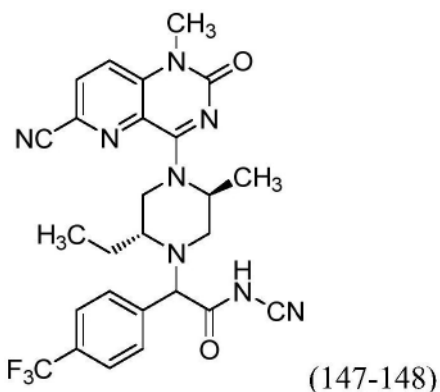
[0676]

|     |                                                                                    |    |      |       |   |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------|----|------|-------|---|
| 141 |   | FA | 2.38 | 567.2 | H |
| 142 |                                                                                    | FA | 2.36 | 567.3 | H |
| 143 |   | FA | 2.76 | 610.2 | H |
| 144 |                                                                                    | FA | 2.73 | 610.2 | H |
| 145 |  | FA | 2.21 | 620.3 | H |
| 146 |                                                                                    | FA | 2.35 | 620.0 | H |

[0677] 实施例147和148

[0678] N-氟基-2-((2R,5S)-4-(6-氟基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺

[0679]



[0680] 向2-((2R,5S)-4-(6-氟基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸(250mg,0.394mmol)在无水DCM(2mL)中的搅拌溶液中添加氰胺(24.8mg,0.59mmol)、EDC.HCl(113mg,0.59mmol)和DMAP(96mg,0.787mmol)。允许将反应混合物在环境温度下搅拌16h。反应完成后,将反应混合物

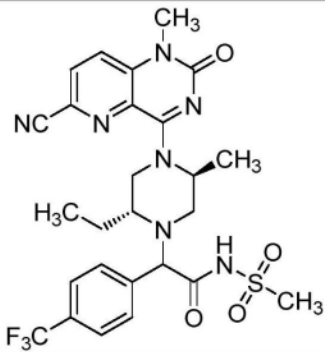
用DCM(15mL)稀释,用碳酸氢钠水溶液(10mL)、水(10mL)、饱和盐水溶液(10mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩以获得粗产物,将其通过制备型HPLC(HPLC方法:柱:Luna C18 (250x21.2) mm,10微米;流动相A:在水中的0.1% TFA;流动相B:乙腈;稀释剂:乙腈:水(50:50);梯度:从0至15分钟40%至80%B;流量:15mL/min)纯化以产出实施例147和148。

[0681] 将实施例147的级分在减压下浓缩,用ACN/H<sub>2</sub>O (1:1) 稀释并且冻干以产出呈灰白色固体的N-氰基-2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺TFA (16mg,6%产率)。LCMS:m/z=539.2 (M+H)<sup>+</sup>;保留时间:1.617min (LCMS方法:柱:Kinetex XB-C18 (75x3.0) mm, 2.6μm;流动相A:5mm甲酸铵pH 3.3:ACN (98:2);流动相B:ACN:缓冲液 (98:2);流速:1.0mL/min。HPLC保留时间7.58和7.16min (分别为HPLC方法FB和FC)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.94 (bs, 1H), 8.28-8.26 (m, 1H), 8.05-8.03 (m, 1H), 7.92-7.87 (m, 4H), 5.94-5.74 (m, 1H), 5.19-4.94 (m, 2H), 4.00 (m, 1H), 3.39-3.46 (m, 3H), 3.23 (m, 1H), 2.83-2.82 (m, 1H), 1.65-1.47 (m, 5H), 0.57 (s, 3H)。

[0682] 将实施例148的级分在减压下浓缩并且用ACN/H<sub>2</sub>O (1:1) 稀释并且冻干以产出呈灰白色固体的N-氰基-2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺.TFA (38mg,15%产率)。LCMS:m/z=539.2 (M+H)<sup>+</sup>;保留时间:1.794min (LCMS方法:柱:Kinetex XB-C18 (75x3.0) mm, 2.6μm;流动相A:5mm甲酸铵pH 3.3:ACN (98:2);流动相B:ACN:缓冲液 (98:2);流速:1.0mL/min。HPLC保留时间7.80和7.22min (分别为HPLC方法B和C)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8.29-8.26 (m, 1H), 8.04-8.02 (m, 1H), 7.87-7.81 (m, 4H), 6.03-5.74 (m, 1H), 5.08-4.97 (m, 1H), 4.81 (s, 1H), 3.88 (m, 1H), 3.46 (s, 3H), 3.21 (m, 1H), 3.06 (m, 1H) 2.61-2.51 (m, 1H), 1.58-1.35 (m, 5H), 0.82 (s, 3H)

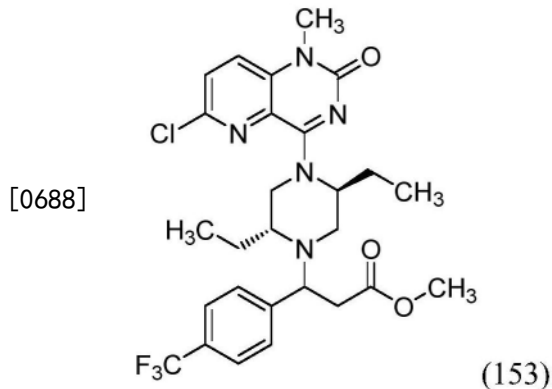
[0683] 在合成顺序中使用适当的胺,根据实施例147和148的制备中所述的通用程序制备表4中的实施例。当反应提供非对映异构体混合物时,将混合物通过制备型HPLC在最终阶段分离。在新形成的碳-氮键处没有指定绝对立体化学。

[0684] 表4

| 实施例<br>编号 | 结构                                                                                | LCMS<br>方法 | LCMS<br>RT | M+H            | 立体<br>化学 |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|----------------|----------|
| 149       |  | FA         | 2.03       | 590.0<br>(M-H) | H        |
| 150       |                                                                                   | FA         | 2.16       | 592.2          | H        |
| 151       |                                                                                   | FA         | 2.44       | 618.2          | H        |
| 152       |                                                                                   | FA         | 2.48       | 618.2          | H        |

[0686] 实施例153

[0687] 3-((2R,5S)-4-(6-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸甲酯

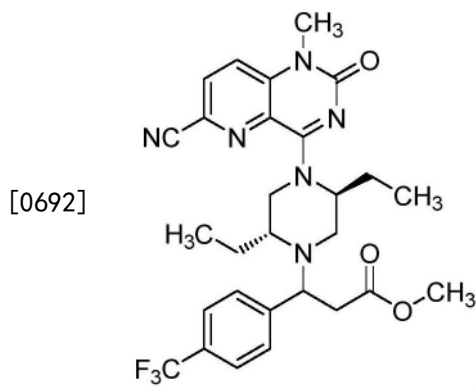


[0689] 向6-氯-4-((2S,5R)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基吡啶并[3,2-d]嘧啶-2(1H)-酮(500mg, 1.49mmol)在DMSO(5mL)中的搅拌溶液中添加4-(三氟甲基)苯甲醛(0.31mL, 2.23mmol)和硼酸三甲酯(0.17mL, 1.49mmol)。将反应混合物在室温下搅拌15min。将所得溶液用1-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-1-甲氧基乙烯(0.5mL, 2.23mmol)逐滴处理并且在室温下搅拌16h。将反应混合物用EtOAc(2X100mL)萃取,用水、盐水洗涤并且经硫酸钠干燥。在减压下去除溶剂以获得粗残余物,将其通过硅胶快速柱色谱法(在DCM中的10%MeOH; 24g柱)纯化以得到呈非对映异构体混合物的3-((2R,5S)-4-(6-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸甲酯(700mg, 83%产率)。LCMS: m/z, 566.2 (M+1); 保留时间: 1.23min. (LCMS方法: 柱: Waters Acquity UPLC BEH C18 (2.1x50mm) 1.7μm, 流动相A: 10mM NH<sub>4</sub>OAc: 乙腈 (95:5); 流动相B:

10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ :乙腈(5:95),梯度=经2分钟20%-100%B,然后在100%B下保持0.3分钟;温度:50℃;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV)。

[0690] 实施例154和155

[0691] 3-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸甲酯



[0693] 向3-((2R,5S)-4-(6-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸甲酯(150mg,0.26mmol)在DMF(3.0mL)中的搅拌溶液中添加锌(26.0mg,0.40mmol)和TEA(0.15mL,1.06mmol)。将反应混合物用氩气脱气5min,然后添加氰化锌(93mg,0.79mmol)和二氯[9,9-二甲基-4,5-双(二苯基膦基)咕吨]钯(II)(80mg,0.11mmol)。将反应混合物在90℃下加热16h。将反应混合物冷却至室温并且在减压下浓缩以得到残余物,将残余物经由制备型HPLC(柱:Cellulose-5(250x21.2mm),5μm;流动相:在MeOH中的10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ ;流速:20mL/min)纯化。

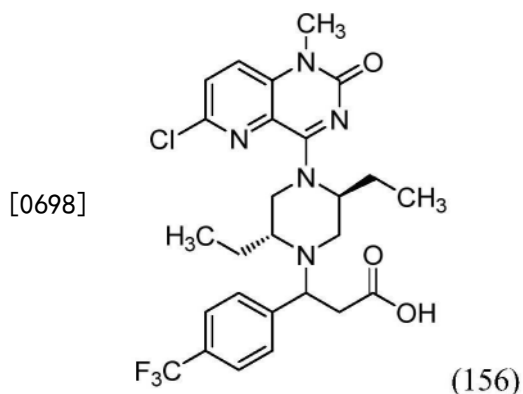
[0694] 实施例154:(7mg,5%产率):LCMS: $m/z=557.2$ (M+H);保留时间:2.14min;(LCMS方法:柱:XBridge BEH XP C18(50x2.1mm),2.5μm;流动相A:95%水:5%乙腈;10mM乙酸铵;流动相B:5%水:95%乙腈;10mM乙酸铵;流量:1.1mL/min;温度:50℃;时间(min):0-3;%B:0-100。 $^1\text{H}$  NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ ppm 8.24(d,J=8.8Hz,1H),7.98(d,J=8.8Hz,1H),7.74(d,J=8.1Hz,2H),7.58-7.63(m,2H),5.84-5.91(m,0.5H),5.39-5.46(m,0.5H),4.84-4.93(m,1H),4.21(br t,J=6.2Hz,1H),3.45-3.50(m,3H),3.44(s,3H),3.09-3.19(m,2H),2.93-3.03(m,1H),2.56-2.63(m,1H),2.35-2.47(m,1H),1.86-2.04(m,1H),1.68-1.86(m,2H),1.28-1.49(m,2H),0.87-0.99(m,3H),0.60-0.79(m,3H)。

[0695] 实施例155:(15mg,10%产率)LCMS: $m/z=557.2$ (M+H);保留时间:2.12min;(LCMS方法:柱:XBridge BEH XP C18(50x2.1mm),2.5μm;流动相A:95%水:5%乙腈;10mM乙酸铵;流动相B:5%水:95%乙腈;10mM乙酸铵;流量:1.1mL/min;温度:50℃;时间(min):0-3;%B:0-100。 $^1\text{H}$  NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ ppm 8.17-8.27(m,1H),7.93-8.01(m,1H),7.69(d,J=8.3Hz,2H),7.59(d,J=8.3Hz,2H),5.96-6.07(m,0.5H),5.25-5.35(m,0.5H),5.00-5.09(m,0.5H),4.69-4.79(m,0.5H),4.04(dd,J=9.2,5.5Hz,1H),3.56-3.68(m,1H),3.45(s,3H),3.42(s,3H),2.98-3.13(m,2H),2.53-2.64(m,2H),2.24-2.38(m,1H),1.67-2.01(m,2H),1.30-1.52(m,2H),0.82-0.99(m,3H),0.63(br t,J=7.2Hz,3H)。

[0696] 实施例156

[0697] 3-((2R,5S)-4-(6-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-

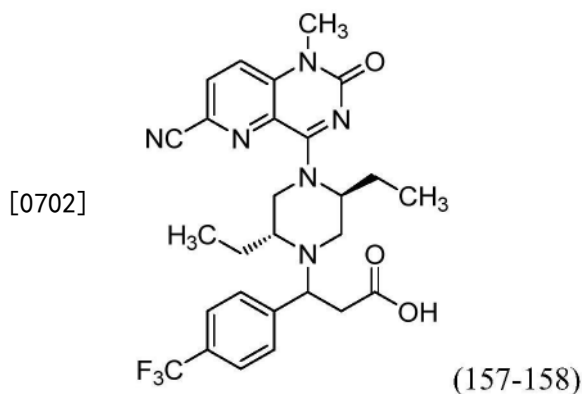
二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸



[0699] 在室温下向3-((2R,5S)-4-(6-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸甲酯(550mg,0.97mmol)在THF(12mL)和水(6mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂一水合物(408mg,9.72mmol)。将反应混合物搅拌16h。将反应混合物用1.5N HCl水溶液中和并且用EtOAc(2X100mL)萃取。将合并的有机萃取物用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并且浓缩以得到呈非对映异构体混合物的3-((2R,5S)-4-(6-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸(500mg,93%产率)。LCMS:m/z,552.2(M+H);保留时间:1.29和1.39min。(LCMS方法:柱:Aquity UPLC BEH C18(3.0x50mm)1.7 $\mu$ m;流动相A:10mM乙酸铵:乙腈(95:5),流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(5:95),方法:%B:0min-20:2min-100:2.3min-100,温度:27 $^{\circ}$ C;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV)。

[0700] 实施例157和158

[0701] 3-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸



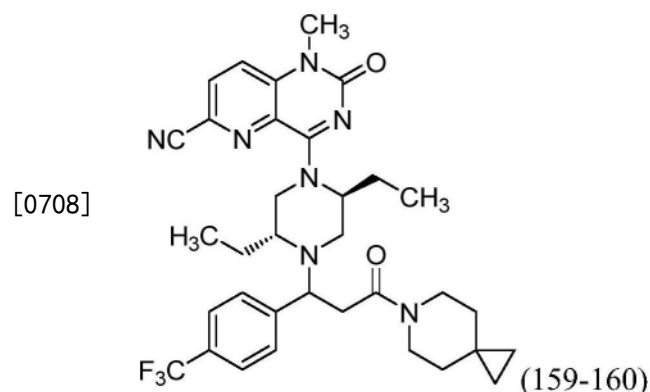
[0703] 向甲基3-((2R,5S)-4-(6-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸(100mg,0.18mmol)在DMF(3.0mL)中的搅拌溶液中添加锌(18mg,0.27mmol)和TEA(0.1mL,0.72mmol)。将反应混合物用氩气脱气5min,然后添加氰化锌(64mg,0.54mmol)和二氯[9,9-二甲基-4,5-双(二苯基膦基)咕吨]钯(II)(55mg,0.07mmol)。将反应混合物在90 $^{\circ}$ C下加热16h。将反应混合物冷却至室温并且在减压下浓缩以得到残余物,将其经由制备型HPLC(柱:Waters XBridge C18,19x150mm,5 $\mu$ m;流动相A:10-mM乙酸铵;流动相B:乙腈;梯度:经20分钟15%-55%B,然后在100%B下保持5分钟;流量:15mL/min)纯化。

[0704] 实施例157: (22mg, 22% 产率); LCMS:  $m/z = 543.2$  (M+H); 保留时间: 1.36min; (LCMS方法: 柱: XBridge BEH XP C18 (50x2.1mm), 2.5 $\mu$ m; 流动相A: 95% 水: 5% 乙腈; 10mM 乙酸铵; 流动相B: 5% 水: 95% 乙腈; 10mM 乙酸铵; 流量: 1.1mL/min; 温度: 50°C; 时间 (min): 0-3; %B: 0-100。

[0705] 实施例158: (7mg, 7% 产率); LCMS:  $m/z = 543.2$  (M+H); 保留时间: 1.47min; (LCMS方法: 柱: XBridge BEH XP C18 (50x2.1mm), 2.5 $\mu$ m; 流动相A: 95% 水: 5% 乙腈; 10mM 乙酸铵; 流动相B: 5% 水: 95% 乙腈; 10mM 乙酸铵; 流量: 1.1mL/min; 温度: 50°C; 时间 (min): 0-3; %B: 0-100。

[0706] 实施例159和160

[0707] 4-((2S, 5R)-2,5-二乙基-4-(3-氧代-3-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈



[0709] 在0°C下向3-((2R, 5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸(100mg, 0.18mmol)在EtOAc (2mL)中的搅拌溶液中添加6-氮杂螺[2.5]辛烷, HCl (43.5mg, 0.29mmol)、TEA (0.05mL, 0.37mmol), 然后添加1-丙烷膦酸酐(在EtOAc中的50%) (0.18mL, 0.29mmol)。允许将反应混合物温热至室温并且搅拌16h。将反应混合物用EtOAc (2x30mL) 萃取, 用水、盐水洗涤, 经硫酸钠干燥并且在减压下浓缩以得到粗残余物, 将其通过制备型HPLC[柱: Lux Cellulose-4 (250mm x 21mm); 流动相: 在MeOH中的10mM NH<sub>4</sub>OAc; 流速: 19mL/min]纯化。

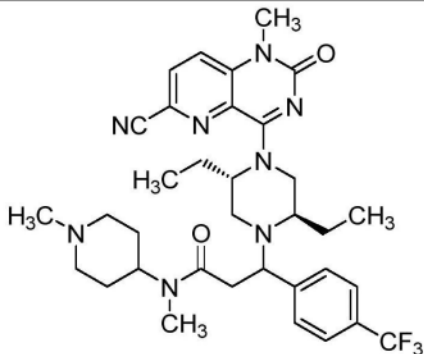
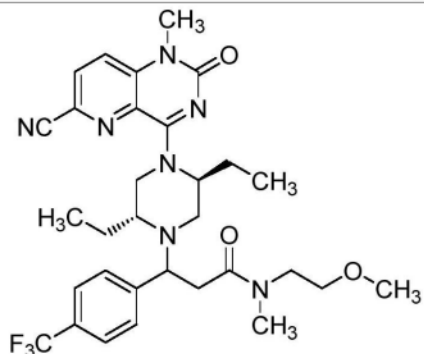
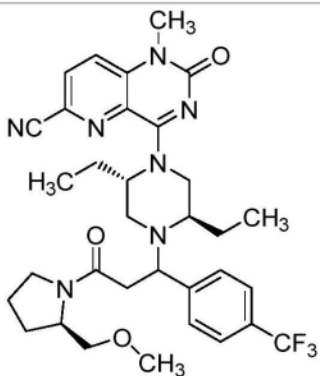
[0710] 实施例159: (3.9mg, 3% 产率); LCMS:  $m/z = 636.3$  (M+H); 保留时间: 2.25min; (LCMS方法: 柱: XBridge BEH XP C18 (50x2.1mm), 2.5 $\mu$ m; 流动相A: 95% 水: 5% 乙腈; 10mM 乙酸铵; 流动相B: 5% 水: 95% 乙腈; 10mM 乙酸铵; 流量: 1.1mL/min; 温度: 50°C; 时间 (min): 0-3; %B: 0-100。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 8.24 (br d, J=8.8Hz, 1H), 7.98 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.71 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.60 (br d, J=8.3Hz, 2H), 6.51 (s, 1H), 5.42 (br s, 1H), 4.97-4.81 (m, 1H), 4.36-4.21 (m, 1H), 3.49-3.38 (m, 6H), 3.11-2.91 (m, 2H), 2.77-2.68 (m, 1H), 2.61-2.55 (m, 1H), 2.45-2.37 (m, 1H), 2.05-1.68 (m, 2H), 1.54-1.42 (m, 1H), 1.40-1.19 (m, 2H), 1.15-1.02 (m, 3H), 0.99-0.85 (m, 3H), 0.81-0.60 (m, 3H), 0.15-0.30 (m, 4H)。

[0711] 实施例160: (2mg, 2% 产率); LCMS:  $m/z = 636.3$  (M+H); 保留时间: 2.24min; (LCMS方法: 柱: XBridge BEH XP C18 (50x2.1mm), 2.5 $\mu$ m; 流动相A: 95% 水: 5% 乙腈; 10mM 乙酸铵; 流动相B: 5% 水: 95% 乙腈; 10mM 乙酸铵; 流量: 1.1mL/min; 温度: 50°C; 时间 (min): 0-3; %B: 0-100。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 8.17-8.30 (m, 1H), 7.92-8.04 (m, 1H), 7.65-7.71 (m,

2H), 7.57-7.63 (m, 2H), 6.00-6.13 (m, 1H), 5.25-5.34 (m, 1H), 5.03-5.13 (m, 1H), 4.69-4.79 (m, 1H), 4.03-4.13 (m, 1H), 3.58-3.73 (m, 1H), 3.48-3.56 (m, 1H), 3.43 (s, 3H), 3.11-3.20 (m, 2H), 2.73-2.87 (m, 2H), 1.68-2.04 (m, 3H), 1.41-1.55 (m, 2H), 1.20-1.27 (m, 1H), 0.74-1.10 (m, 7H), 0.64 (t, J=7.5Hz, 3H), 0.14-0.30 (m, 4H)。

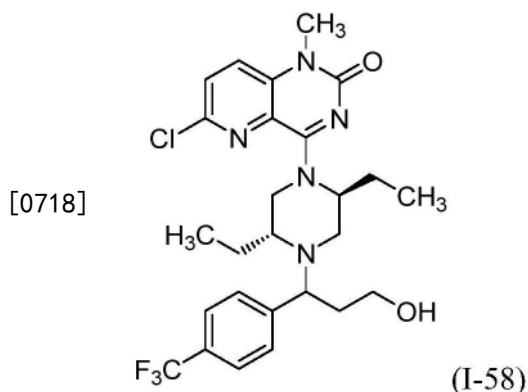
[0712] 在合成顺序中使用适当的胺,根据实施例159和160的制备中所述的通用程序制备表5中的实施例。当反应提供非对映异构体混合物时,将混合物通过制备型HPLC在最终阶段分离。在新形成的碳-氮键处没有指定绝对立体化学。

[0713] 表5

| 实施例<br>编号 | 结构                                                                                  | LCMS<br>方法 | LCMS<br>RT | M+H   | 立体<br>化学 |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|-------|----------|
| 161       |    | A          | 1.66       | 653.3 | H        |
| 162       |                                                                                     | A          | 1.57       | 653.3 | H        |
| 163       |   | B          | 1.50       | 614.3 | H        |
| 164       |                                                                                     | A          | 1.92       | 614.2 | H        |
| 165       |  | A          | 2.07       | 640.3 | H        |
| 166       |                                                                                     | A          | 2.06       | 640.3 | H        |

[0716] 中间体54

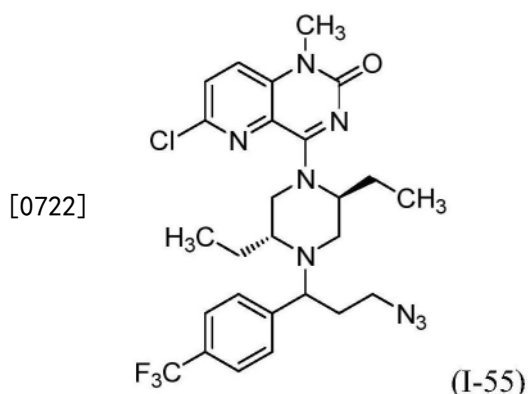
[0717] 6-氯-4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(3-羟基-1-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)哌嗪-1-基)-1-甲基吡啶并[3,2-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0719] 在0℃下向3-((2R,5S)-4-(6-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸(1.5g,2.72mmol)和4-甲基吗啉(0.6mL,5.43mmol)在THF(15mL)中的搅拌溶液中添加氯甲酸异丁酯(0.5mL,3.26mmol)。允许将反应混合物温热至室温并且搅拌2h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤并且将残余物用过量THF(10mL)洗涤。将滤液冷却至0℃并且添加硼氢化钠(0.31g,8.15mmol)。允许将反应混合物温热至室温并且搅拌过夜。将反应混合物冷却至0℃。将反应用饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液淬灭。将反应混合物用EtOAc(3x100mL)萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并且浓缩以得到粗残余物,将其使用40g硅胶柱并且用在DCM中的8%-10%MeOH洗脱经由快速色谱法纯化以得到6-氯-4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(3-羟基-1-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)哌嗪-1-基)-1-甲基吡啶并[3,2-d]嘧啶-2(1H)-酮(1.1g,2.045mmol,75%产率)。LCMS:m/z,538.2(M+H);保留时间:2.27min。(LCMS方法:柱:Kinetex XB-C18(3x75mm)2.6μm;流动相A:10mM甲酸铵:乙腈(98:2),流动相B:10mM甲酸铵:乙腈(2:98),梯度=经4分钟20%-100%B,然后在100%B下保持0.6分钟;温度:27℃;流速:1.0mL/min;检测:在220nm下的UV)。

[0720] 中间体55

[0721] 4-((2S,5R)-4-(3-叠氮基-1-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-6-氯-1-甲基吡啶并[3,2-d]嘧啶-2(1H)-酮

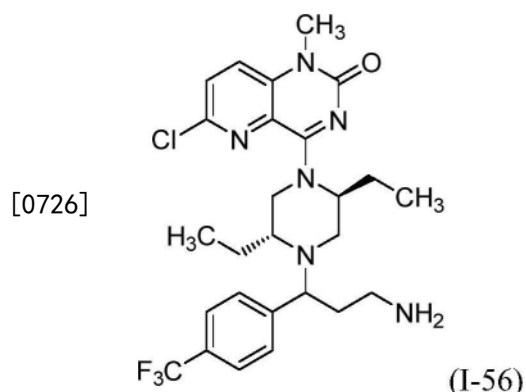


[0723] 在0℃下向6-氯-4-((2S,5R)-2,5-二乙基-4-(3-羟基-1-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)哌嗪-1-基)-1-甲基吡啶并[3,2-d]嘧啶-2(1H)-酮(1.1g,2.04mmol)在DCM(12mL)中的搅拌溶液中添加TEA(0.8mL,6.13mmol)和甲磺酰基-Cl(0.32mL,4.09mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2h。将反应混合物用DCM(3x50mL)萃取,用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并且在减压下浓缩以得到粗甲磺酸酯衍生物。在室温下将粗甲磺酸酯溶解于DMF(10mL)中并且添

加叠氮化钠(0.580g, 8.93mmol)。将反应混合物在50℃下加热14h。将反应混合物冷却至室温,用水稀释并且用EtOAc (3x50mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并且浓缩以得到粗残余物,将其使用40g硅胶柱并且用在DCM中的5%-7%MeOH洗脱经由快速色谱法纯化以得到4-((2S,5R)-4-(3-叠氮基-1-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-6-氯-1-甲基吡啶并[3,2-d]嘧啶-2(1H)-酮(900mg, 90%产率)。LCMS:m/z, 563.2 (M+1);保留时间:1.16和1.25min. (LCMS方法:柱:Kinetex XB-C18 (3x75mm) 2.6μm;流动相A:10mM甲酸铵:乙腈(98:2),流动相B:10mM甲酸铵:乙腈(2:98),梯度=经4分钟20%-100%B,然后在100%B下保持0.6分钟;温度:27℃;流速:1.0mL/min;检测:在220nm下的UV)。

[0724] 中间体56

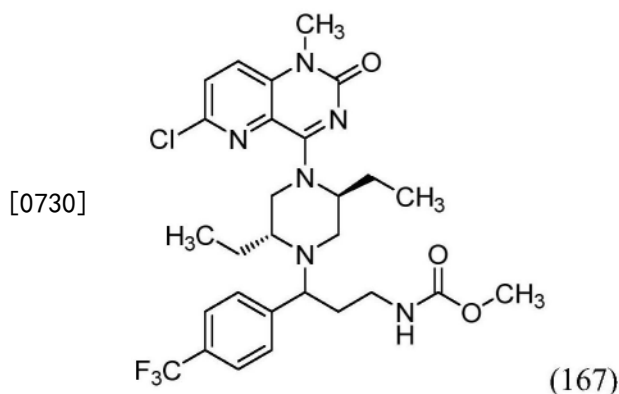
[0725] 4-((2S,5R)-4-(3-氨基-1-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-6-氯-1-甲基吡啶并[3,2-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0727] 在室温下向4-((2S,5R)-4-(3-叠氮基-1-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-6-氯-1-甲基吡啶并[3,2-d]嘧啶-2(1H)-酮(400mg, 0.71mmol)在MeOH(5mL)中的搅拌溶液中添加锌(464mg, 7.10mmol)和在水(1mL)中的氯化铵(380mg, 7.10mmol)。将反应混合物搅拌1h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤并且用过量的MeOH(10mL)洗涤。将滤液在减压下浓缩以得到粗残余物,将其用EtOAc (3x50mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并且浓缩以得到4-((2S,5R)-4-(3-氨基-1-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-6-氯-1-甲基吡啶并[3,2-d]嘧啶-2(1H)-酮(320mg, 84%产率)。LCMS:m/z, 537.2 (M+1);保留时间:2.09和2.31min. (LCMS方法:柱:Kinetex XB-C18 (3x75mm) 2.6μm;流动相A:10mM甲酸铵:乙腈(98:2),流动相B:10mM甲酸铵:乙腈(2:98),梯度=经4分钟20%-100%B,然后在100%B下保持0.6分钟;温度:27℃;流速:1.0mL/min;检测:在220nm下的UV)。

[0728] 实施例167

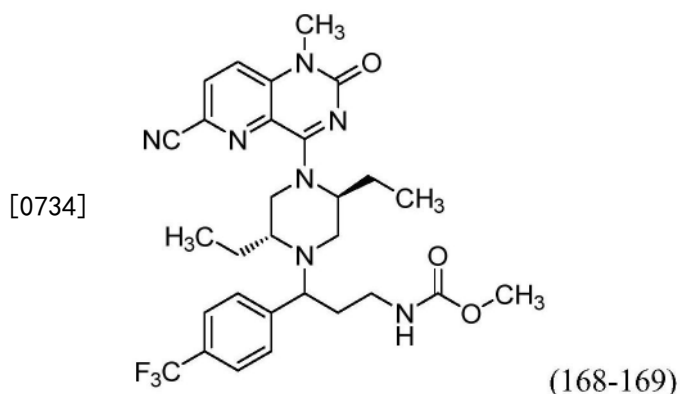
[0729] (3-((2R,5S)-4-(6-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)氨基甲酸甲酯



[0731] 在0℃下向4-((2S,5R)-4-(3-氨基-1-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-6-氯-1-甲基吡啶并[3,2-d]嘧啶-2(1H)-酮(120mg,0.22mmol)在DCM(2mL)中的搅拌溶液中添加TEA(0.1mL,0.67mmol)和氯甲酸甲酯(0.04mL,0.45mmol)。允许将反应混合物达到室温并且搅拌2h。将反应混合物用DCM(3x30mL)萃取,用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并且在减压下浓缩以得到(3-((2R,5S)-4-(6-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)氨基甲酸甲酯(110mg,0.185mmol,83%产率)。LCMS:m/z,595.2(M+H);保留时间:2.01和2.02min。(LCMS方法:柱:Aquity UPLC BEH C18(3.0x50mm)1.7μm;流动相A:10mM乙酸铵:乙腈(95:5),流动相B:10mM乙酸铵:乙腈(5:95),方法:%B:0min-20:2min-100:2.3min-100,温度:27℃;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV)。

[0732] 实施例168和169

[0733] 3-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸



[0735] 向(3-((2R,5S)-4-(6-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙基)氨基甲酸甲酯(80mg,0.13mmol)在NMP(2mL)中的搅拌溶液中添加dppf(5mg,8.07μmol)、锌(2mg,0.027mmol)和氰化锌(48mg,0.403mmol)。将反应混合物脱气5min并且添加Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(12mg,0.013mmol)。将反应混合物在90℃下加热过夜。将反应混合物冷却至室温,用乙酸乙酯稀释并且通过硅藻土垫过滤。将滤液用水、盐水洗涤并且将有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下蒸发以获得粗残余物,将其通过制备型SFC[柱/尺寸:Chiralpak IC(250X21)mm,5μm%CO<sub>2</sub>:60%;%共溶剂:40%ACN:MeOH(50:50);总流量:80.0g/min;背压:100巴;温度:30℃;UV:270nm]纯化。

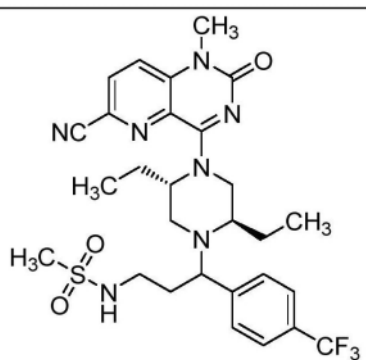
[0736] 实施例168:(5.3mg,7%产率):LCMS:m/z=586.2(M+H);保留时间:2.10min;(LCMS

方法:柱:XBridge BEH XP C18(50x2.1mm), 2.5 $\mu$ m;流动相A:95%水:5%乙腈;10mM乙酸铵;流动相B:5%水:95%乙腈;10mM乙酸铵;流量:1.1mL/min;温度:50℃;时间(min):0-3;%B:0-100。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 8.22-8.27 (m, 1H), 7.99 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.75 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.54-7.63 (m, 2H), 7.02-7.12 (m, 1H), 5.82-5.92 (m, 0.5H), 5.46-5.55 (m, 0.5H), 4.83-5.00 (m, 1H), 3.78-3.85 (m, 1H), 3.48 (s, 3H), 3.44 (s, 3H), 3.18 (d, J=3.4Hz, 1H), 2.85-2.91 (m, 1H), 2.76-2.84 (m, 2H), 2.30-2.44 (m, 2H), 1.97-2.16 (m, 2H), 1.70-1.93 (m, 3H), 1.40-1.52 (m, 1H), 1.27-1.37 (m, 1H), 0.88-1.04 (m, 3H), 0.57-0.76 (m, 3H)。

[0737] 实施例169: (7.7mg, 9%产率): LCMS: m/z=586.2 (M+H); 保留时间: 2.09min; (LCMS方法: 柱: XBridge BEH XP C18(50x2.1mm), 2.5 $\mu$ m; 流动相A: 95%水: 5%乙腈; 10mM乙酸铵; 流动相B: 5%水: 95%乙腈; 10mM乙酸铵; 流量: 1.1mL/min; 温度: 50℃; 时间 (min): 0-3; %B: 0-100。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 8.15-8.31 (m, 1H), 7.92-8.08 (m, 1H), 7.69-7.75 (m, 2H), 7.58-7.64 (m, 2H), 7.09-7.15 (m, 1H), 6.01-6.08 (m, 0.5H), 5.24-5.35 (m, 0.5H), 5.06-5.15 (m, 0.5H), 4.71-4.82 (m, 0.5H), 3.60-3.68 (m, 1H), 3.49 (s, 3H), 3.44 (s, 3H), 3.26-3.31 (m, 1H), 3.09-3.23 (m, 1H), 2.62-2.82 (m, 2H), 2.15-2.29 (m, 1H), 1.96-2.08 (m, 1H), 1.62-1.88 (m, 3H), 1.35-1.56 (m, 2H), 0.89-1.02 (m, 3H), 0.62 (t, J=7.3Hz, 3H)。

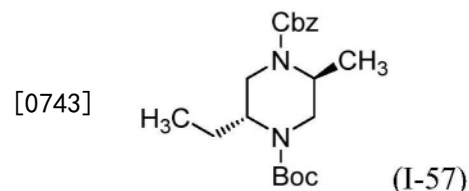
[0738] 在合成顺序中使用适当的胺, 根据实施例168和169的制备中所述的通用程序制备表6中的实施例。当反应提供非对映异构体混合物时, 将混合物通过制备型HPLC在最终阶段分离。在新形成的碳-氮键处没有指定绝对立体化学。

[0739] 表6

| 实施例<br>编号  | 结构                                                                                  | 立体<br>化学 | LCMS<br>方法 | LCMS<br>RT | M+H   |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------|------------|------------|-------|
| [0740] 170 |  | H        | A          | 2.0        | 606.3 |
| 171        |                                                                                     | H        | A          | 1.99       | 606.3 |

[0741] 中间体57

[0742] 1-苄基4-(叔丁基) (2S, 5R) -5-乙基-2-甲基哌嗪-1, 4-二甲酸酯

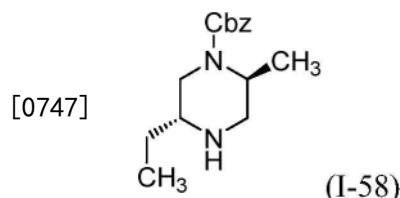


[0744] 向 (2R, 5S) -2-乙基-5-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (1.0g, 4.38mmol) 在二噁烷 (10mL) 中的搅拌溶液中添加 DIPEA (2.3mL, 13.14mmol) 和 Cbz-Cl (0.94mL, 6.57mmol)。将反应混合物在 95℃ 下加热 16h。将反应混合物用水 (100mL) 淬灭并且用乙酸乙酯 (3x100mL) 萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤并且在减压下蒸发以获得粗产物, 将其通过硅胶色谱

法(24g硅胶柱;使用10%-15%乙酸乙酯/石油醚)纯化以获得1-苄基4-(叔丁基) (2S,5R) -5-乙基-2-甲基哌嗪-1,4-二甲酸酯(1.5g,94%产率)。LCMS: $m/z=363.2$  (M+H);保留时间2.05min[LCMS方法:柱:Waters Acquity UPLC BEH C18(2.1x50mm)1.7 $\mu$ m,流动相A:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(95:5);流动相B:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(5:95),梯度=经1.1分钟20%-90%B,然后在90%B下保持0.6分钟;温度:50℃;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV]。

[0745] 中间体58

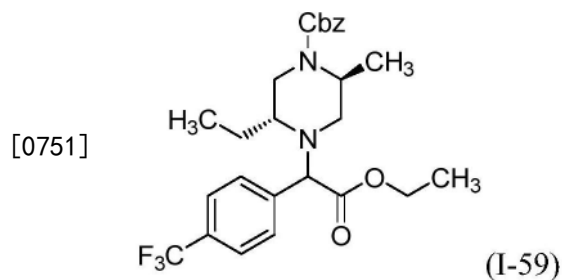
[0746] (2S,5R) -5-乙基-2-甲基哌嗪-1-甲酸苄酯



[0748] 向1-苄基4-(叔丁基) (2S,5R) -5-乙基-2-甲基哌嗪-1,4-二甲酸酯(1.0g,2.76mmol)在DCM(10mL)中的搅拌溶液中添加在二噁烷中的4N HCl(4.2mL,16.55mmol)。将反应混合物在室温下搅拌16h。将反应混合物在减压下浓缩以获得粗产物,将其与DCM/己烷(1:4)一起研磨以获得固体,过滤,在减压下干燥以获得(2S,5R) -5-乙基-2-甲基哌嗪-1-甲酸苄酯,HCl(0.8g,97%产率)。LCMS: $m/z=263.2$  (M+H);保留时间1.02min[LCMS方法:柱:Waters Acquity UPLC BEH C18(2.1x50mm)1.7 $\mu$ m,流动相A:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(95:5);流动相B:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(5:95),梯度=经1.1分钟20%-90%B,然后在90%B下保持0.6分钟;温度:50℃;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV]。

[0749] 中间体59

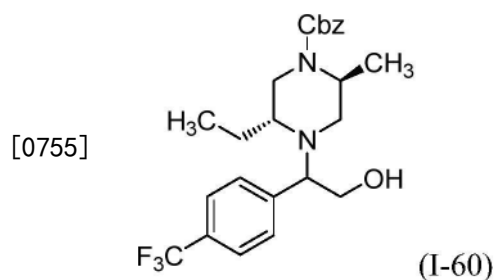
[0750] (2S,5R) -4-(2-乙氧基-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基) -5-乙基-2-甲基哌嗪-1-甲酸苄酯



[0752] 向(2S,5R) -5-乙基-2-甲基哌嗪-1-甲酸苄酯,HCl(0.85g,2.84mmol)在乙腈(10mL)中的搅拌溶液中添加DIPEA(1.5mL,8.53mmol)。将反应混合物搅拌5min并且添加2-溴-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酸乙酯(1.770g,5.69mmol)和碘化钠(0.213g,1.42mmol)。将反应混合物在85℃下加热16h。将反应混合物通过硅藻土床过滤并且在减压下浓缩以获得粗产物,将其通过硅胶色谱法(使用24g硅胶柱;使用10%-20%乙酸乙酯/石油醚)纯化以获得(2S,5R) -4-(2-乙氧基-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基) -5-乙基-2-甲基哌嗪-1-甲酸苄酯(0.8g,57.1%产率)。LCMS: $m/z=493.0$  (M+H);保留时间1.50min[LCMS方法:柱:Waters Acquity UPLC BEH C18(2.1x50mm)1.7 $\mu$ ,流动相A:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(95:5);流动相B:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(5:95),梯度=经1.1分钟20%-90%B,然后在90%B下保持0.6分钟;温度:50℃;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV]。

[0753] 中间体60

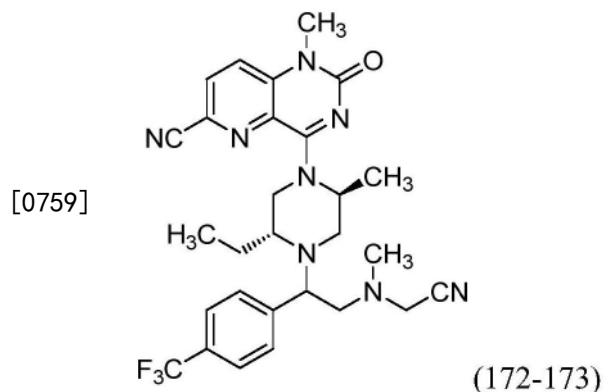
[0754] (2S,5R)-5-乙基-4-(2-羟基-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸苄酯



[0756] 向(2S,5R)-4-(2-乙氧基-2-氧代-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-5-乙基-2-甲基哌嗪-1-甲酸苄酯(0.3g,0.61mmol)在四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中添加在THF中的LiBH<sub>4</sub>(2M,1.5mL,3.05mmol),然后添加MeOH(0.3mL)。将反应混合物在60℃下加热2h。将反应用饱和氯化铵水溶液(50mL)淬灭并且将反应混合物用乙酸乙酯(3x100mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下蒸发以获得(2S,5R)-5-乙基-4-(2-羟基-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸苄酯(180mg,66%)。LCMS:m/z=451.0(M+H);保留时间2.09min[LCMS方法:柱:Waters Acquity UPLC BEH C18(2.1x50mm)1.7μ,流动相A:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(95:5);流动相B:10mM NH<sub>4</sub>OAc:乙腈(5:95),梯度=经1.1分钟20%-90%B,然后在90%B下保持0.6分钟;温度:50℃;流速:0.7mL/min;检测:在220nm下的UV]。

[0757] 实施例172和173

[0758] 4-((2S,5R)-4-(2-((氰基甲基)(甲基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-5-乙基-2-甲基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈



[0760] 向2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基甲磺酸酯(500mg,0.864mmol)在无水乙腈(5mL)中的搅拌溶液中添加DIPEA(0.3mL,1.728mmol),然后添加2-(甲基氨基)乙腈(182mg,2.59mmol)。将所得反应混合物在85℃下加热6h。反应完成后,将反应混合物用水(100mL)稀释并且用EtOAc(100mL x 2)萃取。将合并的有机层用饱和盐水溶液(150mL)洗涤并且经硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩。将由此获得的残余物通过在硅胶(230-400目)上的快速柱色谱法(使用在己烷中的70%-80%EtOAc)纯化。将由此获得的材料通过制备型HPLC(HPLC方法:Kinetex EV0 C18(250x21.2)mm,5微米;流动相A:在水中的0.1%TFA;流动相B:乙腈;稀释剂:乙腈:水(50:50);梯度:从0至12分钟20%至60%B;流量:15mL/min)纯化。

以产出呈非对映异构体混合物的实施例1和2。将获得的非对映异构体混合物使用手性SFC纯化(方法:柱:Chiralpak AS-H,共溶剂:30%IPA,流速:4mL/分钟)分离以得到呈单独的非对映异构体的实施例172和173。

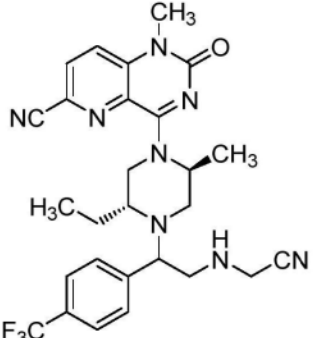
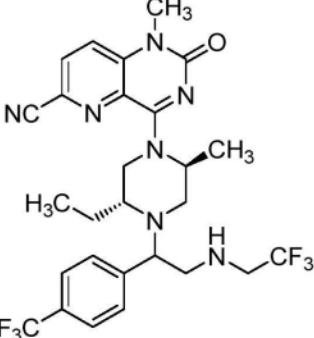
[0761] 将实施例172的级分在减压下浓缩并且用ACN/H<sub>2</sub>O (1:1) 稀释并且冻干以产出呈灰白色固体的4-((2S,5R)-4-(2-((氰基甲基)(甲基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-5-乙基-2-甲基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(47mg,9%产率)。LCMS:m/z=553.1 (M+H)<sup>+</sup>;RT-1.889; (LCMS方法:柱:XBridge C8(50x4.6 mm)5μm;流动相:A:在H<sub>2</sub>O中的0.1%TFA;流动相:B:在ACN中的0.1%TFA;流速:1.5mL/min。HPLC保留时间8.448和7.126min(分别为HPLC方法FB和FC)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ8.24(d,J=8.80Hz,1H),7.98(d,J=9.20Hz,1H),7.71(d,J=8.00Hz,2H),7.59(d,J=8.00Hz,2H),6.20-5.35(m,1H),5.10-4.70(m,1H),3.94(d,J=17.20Hz,1H),3.70-3.67(m,1H),3.42(s,3H),3.07(dd,J=6.40,13.40Hz,1H),2.81-2.77(m,2H),2.40-2.30(m,1H),2.28(s,3H),1.34-1.12(m,6H),0.89(t,J=6.80Hz,3H)。(−2H)

[0762] 将实施例173的级分在减压下浓缩并且用ACN/H<sub>2</sub>O (1:1) 稀释并且冻干以产出呈灰白色固体的4-((2S,5R)-4-(2-((氰基甲基)(甲基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-5-乙基-2-甲基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(53.96mg,11.09%产率)。LCMS:m/z=553.2 (M+H)<sup>+</sup>;保留时间:1.881; (LCMS方法:柱:XBridge C8(50x4.6mm)5μm;流动相:A:在H<sub>2</sub>O中的0.1%TFA;流动相:B:在ACN中的0.1%TFA;流速:1.5mL/min。HPLC保留时间8.453和7.171min(分别为HPLC方法B和C)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ8.23(d,J=8.80Hz,1H),7.98(d,J=9.20Hz,1H),7.73(d,J=8.40Hz,2H),7.59(d,J=8.00Hz,2H),6.95-5.45(m,1H),5.15-4.70(m,1H),3.97(d,J=17.20Hz,1H),3.74-3.64(m,2H),3.48(s,3H),2.89(dd,J=6.00,13.40Hz,1H),2.80-2.76(m,2H),2.70-2.60(m,1H),2.28(s,3H),1.40-1.15(m,6H),0.91(t,J=7.60Hz,3H)。

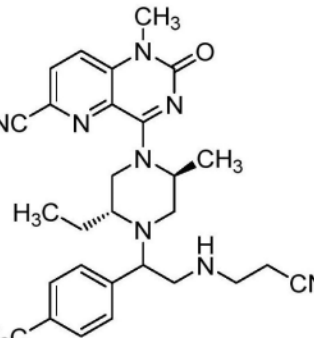
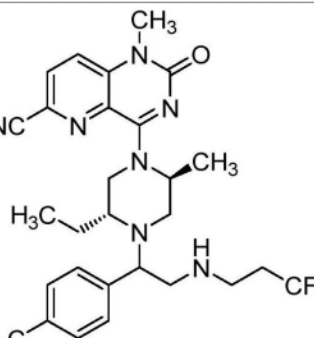
[0763] 在合成顺序中使用适当的胺,根据实施例172和173的制备中所述的通用程序制备表9中的实施例。当反应提供非对映异构体的混合物时,将混合物通过制备型手性SFC纯化方法在最终阶段分离。在新形成的碳-氮键处没有指定绝对立体化学。

[0764] 表9

[0765]

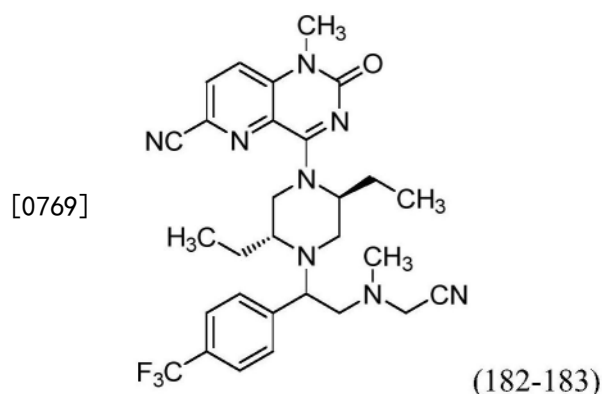
| 实施例<br>编号 | 结构                                                                                | LCMS<br>方法 | LCMS<br>RT | M+H   | 立体<br>化学 |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|-------|----------|
| 174       |  | FA         | 3.01       | 539.0 | H        |
| 175       |                                                                                   | FA         | 2.95       | 539.0 | H        |
| 176       |  | FA         | 3.40       | 582.0 | H        |
| 177       |                                                                                   | FA         | 3.38       | 582.0 | H        |

[0766]

|     |                                                                                     |    |      |       |   |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|----|------|-------|---|
| 178 |  | FA | 2.22 | 553.2 | H |
| 179 |                                                                                     | FA | 2.24 | 553.2 | H |
| 180 |  | FA | 2.72 | 596.1 | H |
| 181 |                                                                                     | FA | 2.65 | 596.2 | H |

[0767] 实施例182和183

[0768] 4-((2S,5R)-4-(2-((氰基甲基)(甲基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈



[0770] 在20mL密封管中,向2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基甲磺酸酯(600mg, 1.012mmol)在无水乙腈(10mL)中的溶液中添加DIPEA(0.5mL, 3.04mmol),然后添加2-(甲基氨基)乙腈(213mg, 3.04mmol)。将所得反应混合物加热至85℃持续6h。反应完成后,将反应混合物用水(100mL)稀释并且用EtOAc(100mL x 2)萃取。将合并的有机层用饱和盐水溶液(150mL)洗涤并且经硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩。将由此获得的残余物通过在硅胶(230-400目)上的快速柱色谱法(使用在己烷中的70%-80%EtOAc)纯化。将所得材料通过制备型HPLC(HPLC方法:LUNA C18(250x21.2)mm 5微米;流动相:在水中的10mm乙酸铵/ACN)进一步纯化以产出非对映异构体混合物。将非对映异构体混合物使用手性SFC(方法:柱:Chiralpak AS-H,共溶剂:30%IPA,流速:4mL/分钟)分离以得到呈单独的非对映异构体的实施例182和183。

[0771] 将实施例182的级分在减压下浓缩并且用ACN/H<sub>2</sub>O(1:1)稀释并且冻干以产出呈灰白色固体的4-((2S,5R)-4-(2-((氰基甲基)(甲基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(17.5mg, 2.75%产率)。LCMS:m/z=567.0(M+H);rt 2.532; (LCMS方法:柱:XBridge C8(50x4.6)mm, 3.5μm;流动相:A:在H<sub>2</sub>O中的10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>;流动相B:ACN;流速:1.5mL/min。HPLC保留时间8.955和8.453min(分别为HPLC方法FB和FC)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):δ8.22(d, J=9.20Hz, 1H), 7.96(d, J=8.80Hz, 1H), 7.71(d, J=8.00Hz, 2H), 7.60(d, J=8.00Hz, 2H), 6.00-5.10(m, 1H), 5.00-4.70(m, 1H), 3.92(d, J=17.20Hz, 1H), 3.66-3.63(m, 2H), 3.42(s, 3H), 3.13-3.02(m, 2H), 2.80-2.68(m, 2H), 2.27(s, 3H), 1.90-1.70(m, 1H), 1.70-1.20(m, 4H), 0.93-0.83(m, 3H), 0.71-0.67(m, 3H)。

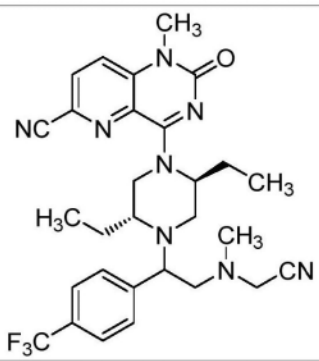
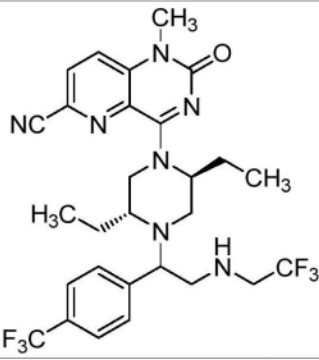
[0772] 将实施例183的级分在减压下浓缩并且用ACN/H<sub>2</sub>O(1:1)稀释并且冻干以产出呈灰白色固体的4-((2S,5R)-4-(2-((氰基甲基)(甲基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(87.22mg, 15.07%产率)。LCMS:m/z=567.2(M+H);rt 2.979; (LCMS方法:柱:Kinetex XB-C18(75x3.0)mm, 2.6μm;流动相:A:5mm甲酸铵pH 3.3:ACN(98:2);流动相B:ACN:缓冲液(98:2);流速:1.0mL/min。HPLC保留时间6.193和5.753min(分别为HPLC方法B和C)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):δ8.24(d, J=8.80Hz, 1H), 7.98(d, J=8.80Hz, 1H), 7.73(d, J=8.00Hz, 2H), 7.57(d, J=8.00Hz, 2H), 6.00-5.30(m, 1H), 4.88-4.84(m, 1H), 3.95(d, J=17.20Hz, 1H), 3.74-3.65(m, 2H), 3.43(s, 3H), 2.98-2.87(m, 2H), 2.79(dd, J=8.00, 13.20Hz, 1H),

2.70-2.63 (m, 2H) , 2.23 (s, 3H) , 1.85-1.50 (m, 2H) , 1.45-1.25 (m, 2H) , 1.00-0.70 (m, 6H) 。

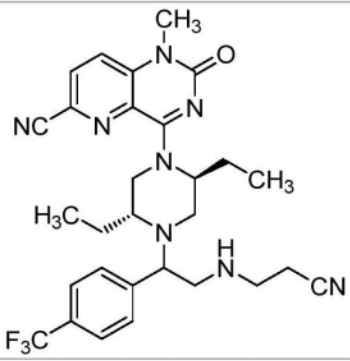
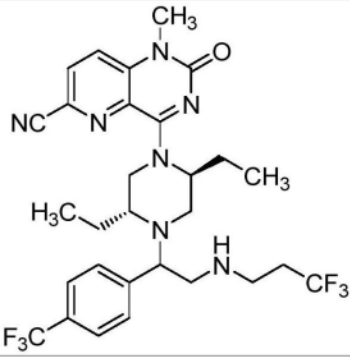
[0773] 在合成顺序中使用适当的胺,根据实施例182和183的制备中所述的通用程序制备表10中的实施例。当反应提供非对映异构体混合物时,将混合物通过手性SFC纯化在最终阶段分离。在新形成的碳-氮键处没有指定绝对立体化学。

[0774] 表10

[0775]

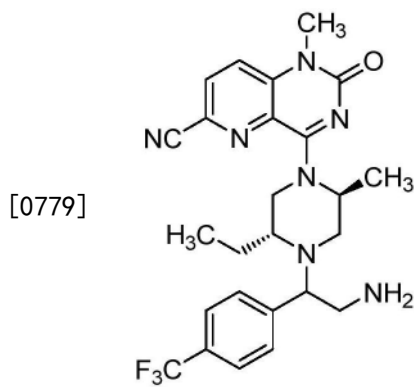
| 实施例<br>编号 | 结构                                                                                 | LCMS<br>方法 | LCMS<br>RT | M+H   | 立体<br>化学 |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|-------|----------|
| 184       |   | FA         | 2.53       | 567.0 | H        |
| 185       |                                                                                    | FA         | 2.98       | 567.2 | H        |
| 186       |  | FE         | 2.92       | 597.0 | H        |
| 187       |                                                                                    | FA         | 2.96       | 597.2 | H        |

[0776]

|     |                                                                                     |    |      |       |   |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|----|------|-------|---|
| 188 |  | FA | 2.35 | 567.2 | H |
| 189 |                                                                                     | FA | 2.39 | 567.1 | H |
| 190 |  | FA | 2.86 | 610.0 | H |
| 191 |                                                                                     | FA | 2.75 | 610.2 | H |

[0777] 中间体61和62

[0778] 4-((2S,5R)-4-(2-氨基-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-5-乙基-2-甲基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈



[0780] 在150mL微型反应釜中,向甲磺酸2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酯(1.3g, 2.247mmol)在无水THF(10mL)中的搅拌溶液中添加在THF中的0.5M氨(44.9mL, 22.47mmol)。将所得反应混合物加热至70℃持续16h。反应完成后,将挥发物在减压下去除并且将所得粗反应混合物通过在硅胶(230-400目)上的快速柱色谱法(用5%-10%MeOH/DCM洗脱)纯化以得到呈棕色固体的4-((2S,5R)-4-(2-氨基-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-5-乙基-2-甲基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(750mg, 45.4%产率)。将300mg所获得的产物使用制备型HPLC(HPLC方法:柱:XBridge C18(19x250), 5微米;流动相A:在水中的0.1%FA;流动相B:在乙腈中的0.1%FA)再次纯化以产出呈非对映异构体混合物的实施例86和87(150mg, 95%LCMS纯度)。将所得非对映异构体混合物使用手性SFC(SFC方法:柱:Chiralpak AD-H, 共溶剂:在MeOH中的0.5%IPA, 流速:4mL/分钟)纯化以得到呈单独的非对映异构体的中间体61和中间体62。

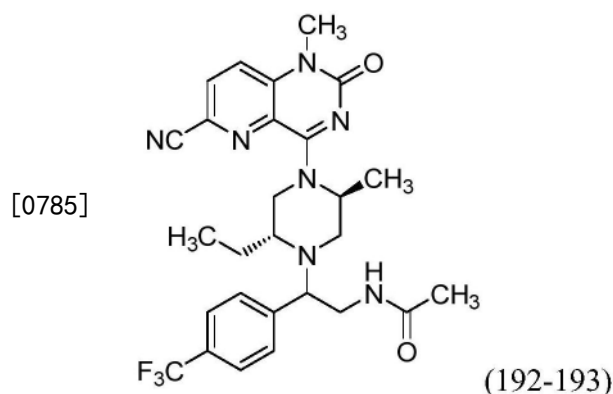
[0781] 将中间体61的级分浓缩一次,通过制备型HPLC(HPLC方法:柱:XBridge C18(19x250), 5微米;流动相A:在水中的0.1%甲酸;流动相B:在乙腈中的0.1%甲酸)再次纯化。将级分在减压下蒸发并且用ACN/H<sub>2</sub>O(1:1)稀释并且冻干以产出呈灰白色固体的4-((2S,5R)-4-(2-氨基-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-5-乙基-2-甲基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈, HCOOH(30mg, 2.036%产率)。LCMS: m/z=500.0(M+H); 保留时间:1.837; (LCMS方法:柱:Kinetex XB-C18(75x3.0)mm, 2.6μm; 流动相: A: 5mm甲酸铵pH 3.3:ACN(98:2); 流动相: B: ACN:缓冲液(98:2); 流速:1.0mL/min。HPLC保留时间6.076和7.178min(分别为HPLC方法FG和FC)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ8.56(s, 1H, 甲酸盐峰), 8.10(d, J=8.80Hz, 1H), 8.02(d, J=8.80Hz, 1H), 7.74(d, J=8.40Hz, 2H), 7.66(d, J=8.40Hz, 2H), 6.50-5.60(m, 1H), 5.50-5.00(m, 1H), 4.39(dd, J=5.20, 8.60Hz, 1H), 3.60(s, 3H), 3.09(dd, J=4.80, 12.00Hz, 1H), 2.92(dd, J=5.60, 13.40Hz, 1H), 2.79-2.70(m, 2H), 2.54(dd, J=3.60, 12.20Hz, 1H), 1.80-1.30(m, 5H), 1.05(t, J=7.60Hz, 3H)。

[0782] 将中间体62的级分在减压下浓缩并且用ACN/H<sub>2</sub>O(1:1)稀释并且冻干以产出呈灰白色固体的4-((2S,5R)-4-(2-氨基-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-5-乙基-2-甲基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(15.22mg, 1.311%产率)。LCMS: m/z=500.3(M+H); 保留时间:2.088; (LCMS方法:柱:XBridge C8(50x4.6mm) 5μm; 流动相:A:

在H<sub>2</sub>O中的10mm乙酸铵;流动相:B:ACN;流速:1.5mL/min。HPLC保留时间5.902和8.113min (分别为HPLC方法FH和FC)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ8.10 (d, J=8.80Hz, 1H), 8.02 (d, J=8.80Hz, 1H), 7.72 (d, J=8.00Hz, 2H), 7.65 (d, J=8.00Hz, 2H), 5.50-5.00 (m, 1H), 6.50-5.60 (m, 1H), 4.28-4.24 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.01 (dd, J=4.00, 12.20Hz, 1H), 2.81-2.70 (m, 3H), 2.67 (d, J=1.60Hz, 1H), 1.60-1.42 (m, 5H), 1.02 (t, J=7.20Hz, 3H)。

[0783] 实施例192和193

[0784] N-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)乙酰胺



[0786] 在0℃下向4-((2S,5R)-4-(2-氨基-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-5-乙基-2-甲基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(350mg, 0.7mmol)在无二氯甲烷(10mL)中的搅拌溶液中添加DIPEA(0.61mL, 0.35mmol),然后添加乙酰氯(0.1mL, 1.4mmol)。将所得反应混合物温热至室温并且搅拌2h。反应完成后,将反应混合物用水(100mL)稀释并且用EtOAc(100mL x 2)萃取。将合并的有机层用饱和盐水溶液(150mL)洗涤并且经硫酸钠干燥。将有机层过滤并且在减压下浓缩。将粗产物通过在硅胶(230-400目)上的快速柱色谱法(用5%-10%MeOH/DCM洗脱)纯化,然后用制备型HPLC(方法:柱:ZORBAX C18(50x21.5)mm, 5微米,流动相A:在水中的10mM乙酸铵,流动相B:乙腈,梯度:90%-40%A和10%-60%B,流速:15mL/分钟)纯化以得到N-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)乙酰胺。将获得的非对映异构体混合物通过手性SFC(方法:柱:Chiralpak Lux C4,共溶剂:在IPA中的0.5%异丙胺,流速:3mL/分钟)纯化以得到呈单独的非对映异构体的实施例192和实施例193。

[0787] 将实施例192的级分在减压下浓缩并且用ACN/H<sub>2</sub>O(1:1)稀释并且冻干以产出呈灰白色固体的N-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)乙酰胺(32.27mg, 8.39%产率)。LCMS:m/z=542.0(M+H);保留时间:1.731;(方法D)。HPLC保留时间7.336和6.213min (分别为HPLC方法FB和FC)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ8.34 (d, J=8.40Hz, 1H), 8.24 (d, J=9.20Hz, 1H), 7.99 (d, J=8.80Hz, 1H), 7.71 (d, J=8.00Hz, 2H), 7.59 (d, J=8.00Hz, 2H), 6.00-5.50 (m, 1H), 5.05-5.00 (m, 2H), 3.44 (s, 3H), 2.85 (dd, J=4.40, 12.00Hz, 1H), 2.76 (dd, J=7.20, 12.80Hz, 1H), 2.69-2.64 (m, 1H), 2.70-2.60 (m, 1H), 2.50-2.45 (m, 1H), 1.87 (s, 3H), 1.50-1.20 (m, 5H), 0.91 (t, J=7.60Hz, 3H)。

[0788] 将实施例193的级分在减压下浓缩并且用ACN/H<sub>2</sub>O (1:1) 稀释并且冻干以产出呈灰白色固体的N-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)乙酰胺 (27.02mg, 7.02%产率)。LCMS:m/z=544.2 (M+H)<sup>+</sup>; 保留时间:1.746; (LCMS方法D)。HPLC保留时间7.444 (HPLC方法B)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ8.32 (d, J=8.00Hz, 1H), 8.25 (d, J=8.80Hz, 1H), 7.99 (d, J=9.20Hz, 1H), 7.69 (d, J=8.00Hz, 2H), 7.57 (d, J=8.00Hz, 2H), 6.00-5.45 (m, 1H), 5.03-4.97 (m, 2H), 3.44 (s, 3H), 2.84 (dd, J=4.00, 12.00Hz, 1H), 2.73-2.63 (m, 3H), 1.90 (s, 3H), 1.42-1.08 (m, 6H), 0.88 (t, J=7.20Hz, 3H)。

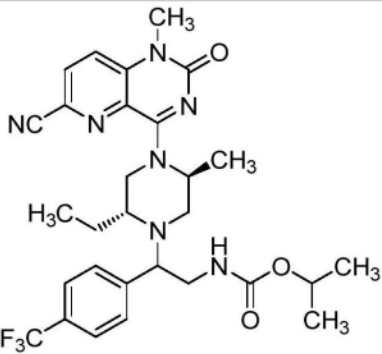
[0789] 在合成顺序中使用适当的胺, 根据实施例192和193的制备中所述的通用程序制备表12中的实施例。当反应提供非对映异构体混合物时, 将混合物通过手性SFC纯化在最终阶段分离。在新形成的碳-氮键处没有指定绝对立体化学。

[0790] 表12

[0791]

| 实施例<br>编号 | 结构 | LCMS<br>方法 | LCMS<br>RT | M+H   | 立体<br>化学 |
|-----------|----|------------|------------|-------|----------|
| 194       |    | FF         | 2.326      | 570.2 | H        |
| 195       |    | FF         | 2.321      | 570.2 | H        |
| 196       |    | FF         | 2.317      | 558.1 | H        |
| 197       |    | FF         | 2.330      | 558.1 | H        |

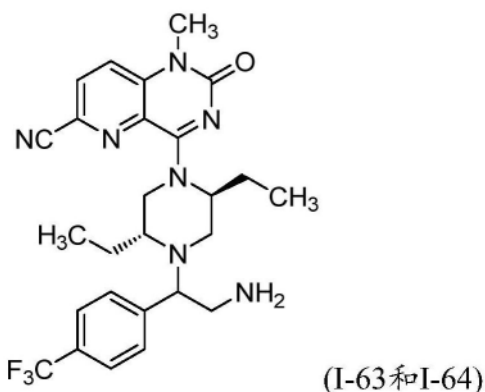
[0792]

|     |                                                                                   |    |       |       |   |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------|----|-------|-------|---|
| 198 |  | FF | 2.485 | 586.2 | H |
| 199 |                                                                                   | FF | 2.466 | 586.2 | H |
| 200 |                                                                                   | FD | 2.084 | 578.2 | H |
| 201 |                                                                                   | FA | 2.649 | 578.0 | H |

[0793] 中间体63和64

[0794] 4-((2S,5R)-4-(2-氨基-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈

[0795]



[0796] 在150mL微型反应釜中,向甲磺酸2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酯(3.5g, 5.91mmol)在无水THF(50mL)中的搅拌溶液中添加在THF中的0.5M氨(118mL, 59.1mmol)。将所得反应混合物加热至70℃持续16h。反应完成后,将挥发物在减压下去除以得到粗4-((2S,5R)-4-(2-氨基-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(3.0g, 75%产率)。将300mg获得的产物使用制备型HPLC(HPLC方法:柱:X-Select C18(150x19)5.0微米;流动相A:在水中的10mM乙酸铵;流动相B:乙腈)再次纯化以产出非对映异构体混合物。将所得非对映异构体混合物通过手性SFC(方法:柱:Chiralpak-(R,R)Whelk-01,共溶剂:在MeOH中的0.5%IPA,流速:3mL/分钟)纯化以得到呈单独的非对映异构体的中间体63和中间体64。

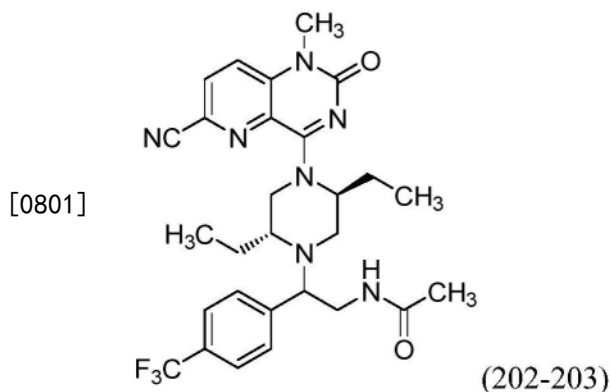
[0797] 将中间体63的级分浓缩并且用ACN/H<sub>2</sub>O(1:1)稀释并且冻干以产出呈浅棕色固体的-((2S,5R)-4-(2-氨基-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基-

2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(26.09mg, 8.6%产率)。LCMS: $m/z=514.0$  ( $M+H$ );保留时间:1.830; (方法:柱:Kinetex XB-C18(75x3.0)mm, 2.6 $\mu$ m;流动相:A:5mm甲酸铵 pH 3.3:ACN(98:2);流动相:B:ACN:缓冲液(98:2);流速:1.0mL/min)。HPLC保留时间7.801和6.305min(分别为HPLC方法FH和FI)。 $^1H$  NMR(400MHz, DMSO- $d_6$ ): $\delta$ 8.25(d,  $J=8.80$ Hz, 1H), 7.99(d,  $J=8.80$ Hz, 1H), 7.72-7.58(m, 4H), 6.00-5.30(m, 1H), 5.05-4.80(m, 1H), 4.08(t,  $J=6.40$ Hz, 1H), 3.44(s, 3H), 2.83(dd,  $J=4.00, 12.00$ Hz, 1H), 2.70-2.60(m, 3H), 2.20-1.90(m, 2H), 1.88-1.70(m, 2H), 1.50-1.30(m, 2H), 1.00-0.70(m, 6H)。

[0798] 将中间体64的级分浓缩并且用ACN/H<sub>2</sub>O(1:1)稀释并且冻干以产出呈浅棕色固体的-((2S,5R)-4-(2-氨基-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(13.6mg, 4.53%产率)。LCMS: $m/z=514.0$  ( $M+H$ );保留时间:1.850; (LCMS方法:柱:Kinetex XB-C18(75x3.0)mm, 2.6 $\mu$ m;流动相:A:5mm甲酸铵 pH 3.3:ACN(98:2);流动相:B:ACN:缓冲液(98:2);流速:1.0mL/min)。HPLC保留时间5.480和4.588min(分别为HPLC方法FB和FC)。 $^1H$  NMR(400MHz, DMSO- $d_6$ ): $\delta$ 8.25(d,  $J=8.80$ Hz, 1H), 8.00(d,  $J=8.00$ Hz, 1H), 7.68-7.59(m, 4H), 6.00-5.30(m, 1H), 5.00-4.90(m, 1H), 4.09(dd,  $J=4.80, 9.00$ Hz, 1H), 3.44(s, 3H), 2.80-2.60(m, 3H), 2.45.00-2.35(m, 2H), 2.30-2.00(m, 3H), 1.90-1.70(m, 2H), 1.00-0.70(m, 6H)。

[0799] 实施例202和203

[0800] N-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)乙酰胺



[0802] 在0℃下向4-((2S,5R)-4-(2-氨基-1-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-6-甲腈(400mg, 0.78mmol)在无水二氯甲烷(5mL)中的搅拌溶液中添加DIPEA(0.41mL, 2.34mmol),然后添加乙酰氯(0.09mL, 1.17mmol)。将所得反应混合物温热至室温并且搅拌2h。反应完成后,将反应混合物用DCM(50mL)稀释,用饱和碳酸氢钠(50mL)洗涤,然后用盐水溶液(50mL)洗涤并且经硫酸钠干燥。然后将有机层过滤并且在减压下浓缩。将粗产物通过制备型HPLC(方法:Kinetex EV0 C18(250x21.2)mm, 5微米,流动相A:在水中的10mM乙酸铵,流动相B:乙腈,梯度:60%-10%A和40%-90%B,流速:15mL/分钟)纯化以获得呈非对映异构体混合物的N-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2-乙基-5-甲基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)乙酰胺。将获得的非对映异构体混合物通过手性SFC(方法:柱:Chiralpak Lux A1,共溶剂:IPA,流速:3mL/分钟)纯化以得到呈单独的非对映异构体的实施例202和实施例203。

[0803] 将实施例202的级分在减压下浓缩并且用ACN/H<sub>2</sub>O (1:1) 稀释并且冻干以产出呈灰白色固体的N-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)乙酰胺(52.21mg,11.97%产率)。LCMS:m/z=556.0 (M+H);保留时间:2.115;(LCMS方法A)。HPLC保留时间7.190和6.840min(分别为HPLC方法FH和FI)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ8.30(d,J=8.40Hz,1H),8.23(d,J=9.20Hz,1H),7.98(d,J=8.80Hz,1H),7.71(d,J=8.40Hz,2H),7.58(d,J=8.00Hz,2H),6.00-5.20(m,1H),5.04-4.99(m,1H),4.95-4.80(m,1H),3.44(s,3H),3.15-3.00(m,1H),2.80-2.71(m,2H),2.69-2.61(m,2H),2.20-1.90(m,1H),1.88(s,3H),1.80-1.65(m,1H),1.41-1.37(m,2H),1.00-0.70(m,6H)。

[0804] 将实施例203的级分在减压下浓缩并且用ACN/H<sub>2</sub>O (1:1) 稀释并且冻干以产出呈灰白色固体的N-(2-((2R,5S)-4-(6-氰基-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-2,5-二乙基哌嗪-1-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙基)乙酰胺(34.77mg,7.91%产率)。LCMS:m/z=556.2 (M+H);保留时间:2.131;(LCMS方法A)。HPLC保留时间7.218和6.846(分别为HPLC方法FH和FI)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ8.28(d,J=7.20Hz,1H),8.24(d,J=8.80Hz,1H),7.99(d,J=8.80Hz,1H),7.69(d,J=8.00Hz,2H),7.57(d,J=8.00Hz,2H),6.00-5.30(m,1H),5.10-4.30(m,2H),3.44(s,3H),2.90-2.60(m,4H),1.90(s,3H),1.80-1.60(m,1H),1.45-1.25(m,3H),1.00-0.70(m,6H)。

[0805] 在合成顺序中使用适当的胺,根据实施例202和203的制备中所述的通用程序制备表13中的实施例。当反应提供非对映异构体混合物时,将混合物通过手性SFC纯化在最终阶段分离。在新形成的碳-氮键处没有指定绝对立体化学。

[0806] 表13

[0807]

| 实施例<br>编号 | 结构 | LCMS<br>方法 | LCMS<br>RT | M+H   | 立体<br>化学 |
|-----------|----|------------|------------|-------|----------|
| 204       |    | FA         | 2.603      | 584.0 | H        |
| 205       |    | FA         | 2.617      | 584.2 | H        |
| 206       |    | FF         | 2.369      | 572.1 | H        |
| 207       |    | FF         | 2.380      | 572.2 | H        |
| 208       |    | FA         | 2.402      | 600.0 | H        |
| 209       |    | FF         | 2.533      | 600.2 | H        |
| 210       |    | FF         | 2.306      | 592.1 | H        |
| 211       |    | FF         | 2.321      | 592.2 | H        |

[0808]

[0809] 生物学测定

[0810] 本发明的化合物的药理学特性可以通过许多生物学测定证实。已经用本发明的化合物进行以下例示的生物学测定。

[0811] 测定1: 体外DGK抑制测定-方法A

[0812] 使用挤出脂质体 (DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$  LIPGLO测定) 或洗涤剂/脂质胶束底物 (DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$  测定) 进行DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 反应。在50mM MOPS pH 7.5、100mM NaCl、10mM MgCl<sub>2</sub>、1 $\mu$ M CaCl<sub>2</sub>, 和

1mM DTT (测定缓冲液) 中进行反应。使用洗涤剂/脂质胶束底物的反应还含有50mM辛基B-D-吡喃葡萄糖苷。对于洗涤剂/脂质胶束反应,脂质底物浓度为11mM PS和1mM DAG。对于挤出脂质体反应,脂质底物浓度为2mM PS、0.25mM DAG和2.75mM PC。所述反应在150 $\mu$ M ATP中进行。对于DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 的酶浓度为5nM。

[0813] 如下进行化合物抑制研究:将溶解于DMSO中的每种测试化合物的50nL液滴(对于每种化合物,最高浓度10mM,11个点连续3倍稀释倍数)转移至白色1536孔板(Corning 3725)的孔中。通过将2.5mL 4x酶溶液(在测定缓冲液中的20nM DGK $\alpha$ 或DGK $\zeta$ (如下所述制备))和2.5mL 4x脂质体或4x洗涤剂/脂质胶束溶液(组成在以下所述)合并来制备5mL酶/底物溶液(2x最终反应浓度)并且将其在室温下孵育10分钟。接下来,将1 $\mu$ L 2x酶/底物溶液添加到含有测试化合物的孔中并且通过添加1 $\mu$ L 300 $\mu$ M ATP开始反应。允许反应进行1h,此后添加2 $\mu$ L Glo试剂(Promega V9101)并且孵育40分钟。接下来,添加4 $\mu$ L激酶检测试剂并且孵育30分钟。使用EnVision酶标仪记录发光。从由无酶对照反应产生的ATP转化(100%抑制)和由仅媒介物反应产生的ATP转化(0%抑制)计算出抑制百分比。以11种浓度评估化合物以确定IC<sub>50</sub>。

[0814] 4x洗涤剂/脂质胶束的制备

[0815] 通过以下方式制备洗涤剂/脂质胶束:将15g磷脂酰丝氨酸(Avanti 840035P)和1g二酰基甘油(8008110)合并,并且溶解在2L圆底烧瓶中的150mL氯仿中。通过旋转蒸发在高真空下除去氯仿。通过剧烈混合将所得的无色粘性油状物重新悬浮在400mL 50mM MOPS pH 7.5、100mM NaCl、20mM NaF、10mM MgCl<sub>2</sub>、1 $\mu$ M CaCl<sub>2</sub>、1mM DTT和200mM辛基葡萄糖苷中。将脂质/洗涤剂溶液分成5mL等分试样并且储存在-80 $^{\circ}$ C。

[0816] 4x脂质体制备

[0817] 脂质组成是5mol% DAG (Avanti 8008110)、40mol% PS (Avanti 840035P) 和55mol% PC (Avanti 850457),对于4x脂质体溶液的总脂质浓度为15.2mg/mL。将PC、DAG和PS溶解在氯仿中,合并,并且在真空中干燥成薄膜。将脂质水合至在50mM MOPS pH 7.5、100mM NaCl、5mM MgCl<sub>2</sub>中20mM,并且冻融五次。将脂质悬浮液通过100nm聚碳酸酯过滤器挤出十一次。进行动态光散射以确认脂质体的尺寸(半径为50-60nm)。将脂质体制剂储存在4 $^{\circ}$ C下长达四周。

[0818] 人DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 的杆状病毒表达

[0819] 根据制造商的方案使用Bac-至-Bac杆状病毒表达系统(Invitrogen)产生人DGK- $\alpha$ -TVMV-His-pFBgate和人DGK- $\zeta$ -转录变体-2-TVMV-His-pFBgate杆状病毒样品。用于表达DGK- $\alpha$ 和DGK- $\zeta$ 的DNA分别具有SEQ ID NO:1和3。以1:1500的病毒/细胞比使用受感染的Sf9细胞实现杆状病毒扩增,并且在转染后在27 $^{\circ}$ C下生长65小时。

[0820] 在来自GE Healthcare Bioscience的Cellbag 50L WAVE-Bioreactor系统20/50中进行每种蛋白质的表达放大。将12L 2 $\times$ 10<sup>6</sup>个细胞/mL的在ESF921昆虫媒介(Expression System)中生长的Sf9细胞(Expression System,戴维斯(Davis),加利福尼亚州)用病毒储备物以1:200的病毒/细胞比感染,并且在感染后在27 $^{\circ}$ C下生长66-68小时。通过在SORVALL® RC12BP离心机中在4 $^{\circ}$ C下以2000rpm离心20min来收获受感染的细胞培养物。将细胞沉淀储存在-70 $^{\circ}$ C直到纯化。

[0821] 人DGK- $\alpha$ 和DGK- $\zeta$ 的纯化

[0822] 从受Sf9杆状病毒感染的昆虫细胞糊纯化全长人DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$  (各自是含有TVMV-可切割的C末端Hexa-His标签序列 (分别为SEQ ID NO:2和4) 表达的并且如上所述产生)。通过氮气空化方法用氮气弹 (Parr Instruments) 裂解细胞, 并且通过离心使裂解物澄清。在ÄKTA Purifier Plus系统上使用三个连续的柱色谱步骤将澄清的裂解物纯化至约90%均匀度。这三步柱色谱法包括镍亲和树脂捕获 (即HisTrap FF粗品, GE Healthcare), 然后是尺寸排阻色谱法 (即对于DGK- $\alpha$ 为HiLoad 26/600Superdex 200制备级, GE Healthcare, 并且对于DGK- $\zeta$ 为HiPrep 26/600Sephacryl S 300\_HR, GE Healthcare)。第三步是离子交换色谱法, 并且对于两种同种型有所不同。使用Q-Sepharose阴离子交换色谱法 (GE Healthcare) 精制DGK $\alpha$ 。使用SP Sepharose阳离子交换色谱法 (GE Healthcare) 精制DGK $\zeta$ 。蛋白质以 $\geq 2\text{mg/mL}$ 的浓度递送。两种蛋白质的配制品缓冲液相同: 50mM Hepes, pH 7.2, 500mM NaCl、10% v/v甘油, 1mM TCEP, 和0.5mM EDTA。

[0823] 测定2: 体外DGK抑制测定-方法B

[0824] 使用挤出脂质体 (DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$  LIPGLO测定) 或洗涤剂/脂质胶束底物 (DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$  测定) 进行DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 反应。在50mM MOPS pH 7.5、100mM NaCl、10mM MgCl<sub>2</sub>、1 $\mu\text{M}$  CaCl<sub>2</sub>, 和1mM DTT (测定缓冲液) 中进行反应。使用洗涤剂/脂质胶束底物的反应还含有50mM辛基B-D-吡喃葡萄糖苷。对于洗涤剂/脂质胶束反应, 脂质底物浓度为11mM PS和1mM DAG。对于挤出脂质体反应 (5mM总脂质), 脂质底物浓度为2mM PS、0.25mM DAG和2.75mM PC。所述反应在150 $\mu\text{M}$  ATP中进行。对于DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 的酶浓度为5nM。

[0825] 如下进行化合物抑制研究: 将溶解于DMSO中的每种测试化合物的25nL液滴 (对于每种化合物, 最高浓度10mM, 11个点连续3倍稀释倍数) 转移至白色1536孔板 (Corning 3725) 的孔中。通过将2.5mL 4x酶溶液 (在测定缓冲液中的20nM DGK $\alpha$ 或DGK $\zeta$  (如下所述制备)) 和2.5mL的4x脂质体或4x洗涤剂/脂质胶束溶液 (组成在以下所述) 合并来制备5mL酶/脂质底物溶液 (2x最终反应浓度) 并且将其在室温下孵育10分钟。接下来, 将1 $\mu\text{L}$  2x酶/脂质底物溶液添加到含有测试化合物的孔中并且通过添加1 $\mu\text{L}$  300 $\mu\text{M}$  ATP开始反应。允许反应进行2h, 此后添加2 $\mu\text{L}$  Glo试剂 (Promega V9101) 并且孵育40分钟。接下来, 添加4 $\mu\text{L}$  激酶检测试剂并且孵育30分钟。使用EnVision酶标仪记录发光。从由无酶对照反应产生的ATP转化 (100%抑制) 和由仅媒介物反应产生的ATP转化 (0%抑制) 计算出抑制百分比。以11种浓度评估化合物以确定IC<sub>50</sub>。

[0826] 4x洗涤剂/脂质胶束的制备

[0827] 通过以下方式制备洗涤剂/脂质胶束: 将15g磷脂酰丝氨酸 (Avanti 840035P) 和1g二酰基甘油 (8008110) 合并, 并且溶解在2L圆底烧瓶中的150mL氯仿中。通过旋转蒸发在高真空下除去氯仿。通过剧烈混合将所得的无色胶粘性油状物重新悬浮在400mL 50mM MOPS pH 7.5、100mM NaCl、20mM NaF、10mM MgCl<sub>2</sub>、1 $\mu\text{M}$  CaCl<sub>2</sub>、1mM DTT和200mM辛基葡萄糖苷中。将脂质/洗涤剂溶液分成5mL等分试样并且储存在-80 $^{\circ}\text{C}$ 。

[0828] 2x脂质体制备

[0829] 脂质组成是5mol% DAG (Avanti 8008110)、40mol% PS (Avanti 840035P) 和55mol% PC (Avanti 850457), 对于脂质体溶液的总脂质浓度为7-8mg/mL。将PC、DAG和PS溶解在氯仿中, 合并, 并且在真空中干燥成薄膜。将脂质水合至在50mM MOPS pH 7.5、100mM NaCl、5mM MgCl<sub>2</sub>中20mM, 并且冻融五次。将脂质悬浮液通过100nm聚碳酸酯过滤器挤出10-

12次。进行动态光散射以确认脂质体的尺寸(半径为50-60nm)。将脂质体制剂储存在4℃下长达四周。

[0830] 近全长人DGK $\alpha$ 和全长DGK $\zeta$ 的杆状病毒表达

[0831] 根据制造商的方案,使用Bac-to-Bac杆状病毒表达系统(Invitrogen)产生人MA-hDGK $\alpha$ -(S9-S727)-Ct-TVMV-His-pFBgate和全长人DGK- $\zeta$ -转录物变体-2-TVMV-His-pFBgate杆状病毒样品(注意:DGK $\alpha$ 试剂名称中的MA-指示在Ser-9之前添加了两个另外的氨基酸)。用于表达DGK- $\alpha$ (9-727)和DGK- $\zeta$ 的DNA分别具有SEQ ID NO:5和3。以1:1500的病毒/细胞比使用受感染的Sf9细胞实现杆状病毒扩增,并且在转染后在27℃下生长65小时。

[0832] 使用来自GE Healthcare Bioscience的Cellbag 50L WAVE-生物反应器系统20/50,在2L烧瓶中进行近全长DGK- $\alpha$ (9-727)蛋白的表达放大,并且完成全长DGK $\zeta$ 蛋白的表达放大。将蛋白质使用相似的条件以不同体积表达。对于DGK $\alpha$ (9-727)的表达,使用2x2L烧瓶(每个含有0.8L最终体积的培养基),并且使DGK $\zeta$ 在50L Cellbag中以12L的规模生长。对于每一个,将初始密度为 $2 \times 10^6$ 个细胞/mL的Sf9细胞(Expression System,戴维斯,加利福尼亚州)接种在ESF921昆虫培养基(Expression System)中,用病毒储液以1:200的病毒/细胞比率感染,并且在感染后在27℃下生长66-68小时。通过在SORVALL®RC12BP离心机中在4℃下以2000rpm离心20min来收获感染的细胞培养物。将细胞沉淀储存在-80℃直到纯化。

[0833] 人DGK- $\alpha$ 和DGK- $\zeta$ 的纯化

[0834] 从受Sf9杆状病毒感染的昆虫细胞糊纯化人DGK $\alpha$ (9-727)和全长DGK $\zeta$ (各自是含有TVMV-可切割的C末端Hexa-His标签序列(分别为SEQ ID NO:2和4)表达的并且如上所述产生)。将细胞糊解冻并且悬浮在缓冲液(50mM HEPES,pH 7.2,300mM NaCl,10%v/v甘油,1mM含核酸酶(benzonase)和蛋白酶抑制剂的TCEP)中,达到1:10v/v的原始培养体积。使用氮气空化方法用氮气弹(Parr Instruments)实现裂解,并且通过高速离心使裂解物澄清。在ÄKTA Purifier Plus系统上分别使用两个或三个连续的柱色谱步骤将澄清的裂解物纯化至约90%均匀度。将两种同种型均通过镍亲和纯化和咪唑梯度洗脱(即HisTrap FF,GE Healthcare),然后进行尺寸排阻色谱法(即对于DGK $\alpha$ (9-727),HiLoad26/600Superdex 200prep grade,GE Healthcare;以及对于DGK $\zeta$ ,HiPrep 26/600Sephacryl S 300HR,GE Healthcare)进行纯化。这两个步骤产出>90%纯度的DGK $\alpha$ (9-727)。对于全长DGK $\zeta$ 而言实现类似纯度需要第三步,采用阳离子交换色谱法(SP Sepharose FF,GE Healthcare),并且用NaCl梯度洗脱。对于两种蛋白质的最终配制品缓冲液相似,其中DGK $\alpha$ (9-727)在50mM Hepes、pH 7.3、300mM NaCl、10%v/v甘油和1mM TCEP中制备,并且全长DGK $\zeta$ 在50mM Hepes、pH 7.3、500mM NaCl、5%v/v甘油和1mM TCEP中制备。将蛋白质浓缩至1-2mg/mL,快速冷冻,并且保持在-80℃下用于长期储存。

[0835] 测定3:Raji CD4 T细胞IL2测定

[0836] 使用预激活的CD4 T细胞和Raji细胞在4 $\mu$ L体积中进行1536孔IL-2测定。在测定之前,通过用分别1.5 $\mu$ g/mL、1 $\mu$ g/mL和10 $\mu$ g/mL的 $\alpha$ -CD3、 $\alpha$ -CD28和PHA的处理将CD4 T细胞预激活。将Raji细胞用10,000ng/mL的葡萄球菌肠毒素B(SEB)处理。首先将连续稀释的化合物转移至1536孔测定板(Corning,#3727),然后添加2 $\mu$ L预激活的CD4 T细胞(最终密度为6000个细胞/孔)和2 $\mu$ L经SEB处理的Raji细胞(2000个细胞/孔)。在37℃/5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养24小时后,将4 $\mu$ L IL-2检测试剂添加到测定板(Cisbio,#64IL2PEC)中。在Envision阅读器上读

取测定板。为了评价化合物的细胞毒性,将Raji或CD4 T细胞与连续稀释的化合物一起孵育。孵育24小时后,添加4 $\mu$ L的Cell Titer Glo (Promega, #G7572),并且在Envision阅读器上读取板。使用四参数逻辑斯谛公式 $y = A + (B - A) / (1 + ((C/x)^D))$ 计算50%有效浓度(IC<sub>50</sub>),其中A和B分别表示最小和最大激活或抑制%,C是IC<sub>50</sub>,D是山坡并且x代表化合物浓度。

[0837] 测定4:CellTiter-Glo CD8 T细胞增殖测定

[0838] 将冷冻的幼稚人CD8 T细胞在RPMI+10%FBS中解冻,在37℃下孵育2h,并且计数。将384孔组织培养板在4℃下用20 $\mu$ L在普通RPMI中0.1 $\mu$ g/mL的抗人CD3包被过夜,将其从板上移除,然后将20k/40 $\mu$ L CD8 T细胞(具有0.5 $\mu$ g/mL可溶性抗人CD28)添加到每个孔中。在细胞铺板后立即将化合物用echo仪器添加(echoed)到细胞板。在37℃的培养箱中培养72h后,将10 $\mu$ L CellTiter-glo试剂(Promega目录号G7570)添加到每个孔中。将板剧烈摇动5min,在室温下再孵育15min,并且在Envision上读取CD8 T细胞增殖。在分析中,0.1 $\mu$ g/mL抗CD3和0.5 $\mu$ g/mL抗CD28刺激的CD8 T细胞信号为背景。将3 $\mu$ M参考化合物8-(4-(双(4-氟苯基)甲基)哌嗪-1-基)-5-甲基-7-硝基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈用于设置100%范围,并且将EC<sub>50</sub>设置为绝对50%以归一化数据。

[0839] 测定5:DGK AP1-报告物测定

[0840] 使用来自SABiosciences的Cignal Lenti AP1 Reporter报告物(luc)试剂盒(CLS-011L)产生Jurkat AP1-荧光素酶报告物。

[0841] 使用Echo550仪器将化合物从Echo LDV板转移至384孔板(白色,实心底部,不透明的PE CulturPlate 6007768)的单独的孔。样品量为30nL/孔;以及每个源板一个目标板。通过将40mL细胞(2x20mL)转移至干净的50mL锥形管中来制备细胞悬液。通过离心(1200rpm; 5min;环境温度)浓缩细胞。除去上清液,并且将所有细胞悬浮在RPMI (Gibco 11875)+10%FBS中,以使浓度为 $1.35 \times 10^6$ 个细胞/mL。使用多通道移液器手动将细胞(30 $\mu$ L细胞悬液/孔)添加到含有化合物的384孔TC板中, $4.0 \times 10^4$ 个细胞/孔。将细胞板在37℃和5%CO<sub>2</sub>下孵育20分钟。

[0842] 在孵育过程中,通过将3 $\mu$ L  $\alpha$ CD3 (1.3mg/mL) 与10mL培养基混合[最终浓度=0.4 $\mu$ g/mL]来制备抗CD3抗体( $\alpha$ CD3)溶液。接下来,将1.5 $\mu$ L  $\alpha$ CD3 (1.3mg/mL) 与0.5mL培养基混合[最终浓度=4 $\mu$ g/mL]。20分钟后,将10 $\mu$ L培养基添加到第1列的所有孔(孔A至M)中,并且向第1列(行N至P)中添加每孔10 $\mu$ L  $\alpha$ CD3 (4 $\mu$ g/mL) 用于参考。然后使用多通道移液器每孔添加10 $\mu$ L  $\alpha$ CD3 (0.4 $\mu$ g/mL)。将 $\alpha$ CD3刺激的+/-化合物处理的细胞在37℃5%CO<sub>2</sub>下孵育6小时。

[0843] 在此孵育期间,将Steady-Glo (Promega E2520) 试剂缓慢解冻至环境温度。接下来,使用多滴Combi-分配器添加20 $\mu$ L Steady-Glo试剂/孔。通过离心(2000rpm,环境温度,10秒)除去气泡。将细胞在室温下孵育5分钟。通过使用Envision读板仪根据发光方案测量相对光单位(RLU)来表征样品。将数据使用参考化合物8-(4-(双(4-氟苯基)甲基)哌嗪-1-基)-5-甲基-7-硝基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈分析,相对于100%抑制归一化。

[0844] 测定6:鼠细胞毒性T淋巴细胞测定

[0845] 开发了抗原特异性细胞溶解T细胞(CTL)测定,以功能评估DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 抑制剂增强效应T细胞介导的肿瘤细胞杀伤活性的能力。从OT-1转基因小鼠分离的CD8+T细胞识别抗原呈递细胞MC38,其呈递卵清蛋白来源的肽SIINFEKL。同源抗原的识别启动了OT-1抗原特异

性CD8+T细胞的细胞溶解活性。

[0846] 如下产生功能化CTL细胞:将OT-1脾细胞从8-12周龄小鼠分离,并且在1 $\mu$ g/mL的SIINFEKL肽和10U/mL的mIL2的存在下扩增。三天后,添加具有mIL2 U/mL的新鲜培养基。在扩增的第5天,分离出CD8+T细胞并且准备使用。激活的CTL细胞可以冷冻储存6个月。单独地,将一百万个MC38肿瘤细胞用1 $\mu$ g/mL的SIINFEKL-OVA肽在37 $^{\circ}$ C下脉冲3小时。将细胞用新鲜培养基洗涤(3X)以去除过量肽。最后,将在96孔U形底板中用DGK抑制剂预处理1小时的CTL细胞与负载抗原的MC38肿瘤细胞以1:10的比率合并。然后将细胞在700rpm下旋转5min,并且放置在37 $^{\circ}$ C的孵化器中过夜。24小时后,收集上清液以通过购自Perkin Elmer的AlphaLisa分析IFN- $\gamma$ 细胞因子水平。

[0847] 测定7:PHA增殖测定

[0848] 将来自冷冻储备物的植物血凝素(PHA)刺激的胚细胞在补充有10%胎牛血清(Sigma Aldrich,圣路易斯,密苏里州)的RPMI培养基(Gibco,ThermoFisher Scientific,沃尔瑟姆,马萨诸塞州)中孵育一小时,然后添加到384孔板的单独孔(10,000个细胞/孔)中。将化合物转移至384孔板的单独孔中,并且将经处理的细胞在含有人IL2(20ng/mL)的培养基中在37 $^{\circ}$ C 5%CO<sub>2</sub>下保持72h,然后根据制造商的说明(Promega,麦迪逊,威斯康星州)使用MTS试剂[3-(4,5-二甲基-2-基)-5-(3-羧甲氧基苯基)-2-(4-磺苯基)-2H-四唑鎓]测量生长。在IL2刺激(0%抑制)与未刺激对照(100%抑制)之间比较值来计算抑制百分比。基于对IL2刺激与未刺激处理之间的倍数诱导的50%抑制来计算抑制浓度(IC<sub>50</sub>)的确定。

[0849] 测定8:人CD8 T细胞IFN- $\gamma$ 测定

[0850] 将冷冻的幼稚人CD8 T细胞在AIM-V培养基中解冻,在37 $^{\circ}$ C下孵育2h,并且计数。将384孔组织培养板在4 $^{\circ}$ C下用20 $\mu$ L在PBS中0.05 $\mu$ g/mL的抗人CD3包被过夜,将其从板上移除,然后将40,000个细胞/40微升CD8 T细胞(具有0.1 $\mu$ g/mL可溶性抗人CD28)添加到每个孔中。细胞铺板后,立即使用Echo液体处理器将化合物转移到细胞板上。在37 $^{\circ}$ C培养箱中孵育20h后,将3微升/孔的上清液转移到新的384孔白色测定板中,以进行细胞因子测量。

[0851] 使用AlphaLISA试剂盒(目录号AL217)如制造商手册(Perkin Elmer)所述定量干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )。将来自每个孔的计数转换为IFN- $\gamma$ 浓度(pg/mL)。通过将0.05 $\mu$ g/mL抗CD3加0.1 $\mu$ g/mL抗CD28设置为基线并且将3 $\mu$ M的参考化合物8-(4-(双(4-氟苯基)甲基)哌嗪-1-基)-5-甲基-7-硝基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈与抗CD3加抗CD28的共刺激设置为100%激活来确定化合物EC<sub>50</sub>值。

[0852] 测定9:人CD8 T细胞pERK测定

[0853] 将冷冻的幼稚人CD8 T细胞在AIM-V培养基中解冻,在37 $^{\circ}$ C下孵育2h,并且计数。将CD8阳性T细胞以在AIM-V培养基中20,000个细胞/孔添加到384孔组织培养板中。将一种化合物添加到每个孔中,然后以0.3 $\mu$ g/mL的最终浓度添加珠结合的抗人CD3和抗CD28mAb。将细胞在37 $^{\circ}$ C下孵育10分钟。通过添加来自AlphaLISA Surefire试剂盒的裂解缓冲液终止反应。(Perkin Elmer,目录号ALSU-PERK-A)。将裂解物(5 $\mu$ L/孔)转移到新的384孔白色测定板中进行pERK激活测量。

[0854] 通过将抗CD3加抗CD28设置为基线并且将3 $\mu$ M的8-(4-(双(4-氟苯基)甲基)哌嗪-1-基)-5-甲基-7-硝基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈与抗CD3加抗CD28的共刺激设置为100%激活来确定化合物EC<sub>50</sub>值。

[0855] 测定10:人全血IFN- $\gamma$ 测定

[0856] 将从健康供体获得的人静脉全血 (22.5 $\mu$ L/孔) 在加湿95%的空气/5%CO<sub>2</sub>培养箱中在37℃下用化合物预处理一小时。将血液用2.5 $\mu$ L抗人CD3和抗CD28 mAb各自以1 $\mu$ g/mL的最终浓度在37℃下刺激24小时。使用Alphalisa试剂盒 (目录号AL217) 测量上清液中的IFN- $\gamma$ 。

[0857] 通过将抗CD3加抗CD28设置为基线并且将3 $\mu$ M的参考化合物8-(4-(双(4-氟苯基)甲基)哌嗪-1-基)-5-甲基-7-硝基-6-氧代-5,6-二氢-1,5-萘啶-2-甲腈与抗CD3加抗CD28的共刺激设置为100%激活来确定化合物EC<sub>50</sub>值。

[0858] 测定11:DGK人全血pERK测定

[0859] 用获自健康供体的人静脉全血 (用肝素作为抗凝剂抽取) 进行人全血ERK磷酸化测定。使用ECHO 550声学分配器 (Labcyte) 将在DMSO中连续稀释的化合物 (11点, 3倍) 以20nL/孔添加到384孔板中, 以在测定中达到20 $\mu$ M的最终起始浓度。将肝素化的人全血以9 $\mu$ L/孔添加到化合物板中, 并且在加湿95%空气的/5%CO<sub>2</sub>培养箱中在37℃下孵育一小时。化合物孵育一小时后, 将存在交联抗体山羊抗小鼠IgG (4 $\mu$ g/mL) 的1 $\mu$ L人抗CD3抗体 (内部) 以1 $\mu$ g/mL最终浓度添加到孔中用于刺激通路, 并且在37℃下另外孵育15分钟。通过添加90 $\mu$ L固定/裂解缓冲液 (BD 558049) 停止刺激。将细胞洗涤并且在室温下用抗CD8 PE (BD 555635) 抗体染色60分钟, 再次洗涤, 并且使用Perm III缓冲液 (BD558050) 在冰上透化30分钟。然后将细胞用Alexa Fluor® 647抗ERK1/2Phospho (Thr202/Tyr204) 抗体 (Biolegend 675504) 以1:50的稀释度染色60分钟。将样品洗涤并且重新悬浮在含有1% BSA的dPBS (dPBS, Gibco 14190136; BSA, Sigma-Aldrich A9205) 中。使用Intellicyt® iQue Screener PLUS分析样品。通过CD8阳性群体中pERK阳性群体的百分比来定量pERK激活。化合物效力的计算基于20 $\mu$ M浓度的内部化合物作为100%激活, 以及抗CD3对照作为0%激活。

[0860] 表A

[0861]

| 实施例<br>编号 | 测定1<br>DGK $\alpha$<br>LIPGLO<br>IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) | 测定2<br>DGK $\alpha$<br>ADPGLO<br>IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) | 测定1或2<br>DGK $\zeta$<br>LIPGLO<br>IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) | 测定10<br>INFg全<br>血归一化的激动剂<br>EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) | 测定11<br>DGK HWB<br>pERK<br>IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) |
|-----------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 1         | 0.11                                                         | -                                                            | 0.82                                                          | 0.61                                                     | -                                                      |
| 2         | 0.03                                                         | -                                                            | 0.12                                                          | 0.06                                                     | 0.08                                                   |
| 3         | 0.19                                                         | -                                                            | 4.66                                                          | -                                                        | -                                                      |
| 4         | 0.04                                                         | -                                                            | 1.47                                                          | -                                                        | -                                                      |
| 5         | 2.04                                                         | -                                                            | 3.27                                                          | -                                                        | -                                                      |
| 7         | 0.02                                                         | -                                                            | 0.70                                                          | 0.10                                                     | -                                                      |
| 8         | 0.38                                                         | -                                                            | 3.33                                                          | -                                                        | -                                                      |
| 9         | 7.63                                                         | -                                                            | 79.8                                                          | -                                                        | -                                                      |
| 10        | 81.0                                                         | -                                                            | 250                                                           | 20.0                                                     | -                                                      |
| 11        | 0.51                                                         | -                                                            | 1.22                                                          | -                                                        | -                                                      |
| 12        | 5.12                                                         | -                                                            | 6.68                                                          | -                                                        | -                                                      |
| 13        | 48.4                                                         | -                                                            | 124                                                           | 20.0                                                     | -                                                      |
| 14        | 250                                                          | -                                                            | 85.6                                                          | 20.0                                                     | -                                                      |
| 15        | 279                                                          | -                                                            | 9.84                                                          | 20.0                                                     | 20.0                                                   |
| 16        | 0.50                                                         | -                                                            | 1.34                                                          | 14.4                                                     | 5.93                                                   |
| 17        | 2.56                                                         | -                                                            | 7.75                                                          | 1.49                                                     | -                                                      |
| 18        | 24.8                                                         | -                                                            | 42.9                                                          | 20.0                                                     | -                                                      |
| 19        | 37.1                                                         | -                                                            | 172                                                           | 3.44                                                     | -                                                      |
| 20        | 253                                                          | -                                                            | 83.3                                                          | -                                                        | -                                                      |
| 21        | 6.23                                                         | -                                                            | 6.57                                                          | 2.56                                                     | -                                                      |
| 22        | 12.5                                                         | -                                                            | 33.8                                                          | 9.03                                                     | -                                                      |
| 23        | 17.3                                                         | -                                                            | 73.9                                                          | 20.0                                                     | -                                                      |
| 24        | 2.39                                                         | -                                                            | 16.2                                                          | 20.0                                                     | -                                                      |
| 25        | 0.71                                                         | -                                                            | 4.74                                                          | 5.12                                                     | -                                                      |
| 26        | 41.9                                                         | -                                                            | 23.0                                                          | 20.0                                                     | 13.1                                                   |
| 27        | 1.43                                                         | -                                                            | 2.88                                                          | 1.54                                                     | -                                                      |
| 28        | 1.19                                                         | -                                                            | 7.64                                                          | 3.00                                                     | -                                                      |
| 29        | 5.57                                                         | -                                                            | 2.44                                                          | 3.75                                                     | -                                                      |
| 30        | 0.02                                                         | -                                                            | 0.14                                                          | -                                                        | -                                                      |
| 31        | 0.05                                                         | -                                                            | 0.56                                                          | 0.15                                                     | -                                                      |

[0862]

|    |      |      |      |      |      |
|----|------|------|------|------|------|
| 32 | 1.40 | -    | 4.69 | 1.81 | -    |
| 33 | 6.36 | -    | 11.1 | -    | -    |
| 34 | 4.04 | -    | 6.84 | -    | -    |
| 35 | 30.5 | -    | 42.1 | -    | -    |
| 36 | 8.11 | -    | 40.5 | -    | -    |
| 37 | 48.9 | -    | 86.1 | -    | -    |
| 38 | 133  | -    | 48.3 | -    | -    |
| 39 | 13.5 | -    | 47.3 | -    | -    |
| 40 | 13.7 | -    | 41.3 | -    | -    |
| 41 | 1.14 | -    | 0.39 | 1.59 | 0.41 |
| 42 | 0.83 | -    | 4.12 | 1.37 | -    |
| 43 | 20.0 | -    | 8.21 | 20.0 | -    |
| 44 | 54.3 | -    | 36.2 | 20.0 | 20.0 |
| 45 | 125  | -    | 120  | 20.0 | -    |
| 46 | 125  | -    | 125  | 20.0 | -    |
| 47 | 91.2 | -    | 97.7 | 20.0 | -    |
| 48 | 125  | -    | 125  | 20.0 | -    |
| 49 | 143  | -    | 9.81 | 20.0 | -    |
| 50 | 254  | -    | 92.0 | 20.0 | -    |
| 53 | -    | 1.97 | 3.29 | -    | 5.53 |
| 54 | -    | 0.26 | 0.58 | -    | 3.51 |
| 55 | -    | 0.01 | -    | -    | -    |
| 56 | -    | 7.50 | 0.10 | -    | 0.30 |
| 57 | 0.07 | -    | 0.19 | 0.12 | -    |
| 60 | -    | 0.18 | -    | -    | -    |
| 61 | -    | -    | -    | -    | -    |
| 62 | 0.08 | -    | 0.19 | 0.57 | -    |
| 65 | 96.5 | -    | 56.6 | -    | -    |
| 68 | 0.16 | -    | 0.41 | -    | -    |

[0863] 表A列出了在DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 测定中测量的体外DGK抑制IC<sub>50</sub>活性值。

[0864] 本发明的化合物具有作为DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 酶中之一或两者的一种或多种抑制剂的活性,并且因此可以用于治疗与抑制DGK $\alpha$ 和DGK $\zeta$ 活性相关的疾病。

[0865] 编码hDGK $\alpha$ -(M1-S735)-Ct-TVMV-His的核苷酸序列:

[0866]

```

1      ATGGCCAAGG AGAGGGGCGCT AATAAGCCCC AGTGATTTTG CCCAGCTGCA
51     AAAATACATG GAATACTCCA CCAAAAAGGT CAGTGATGTC CTAAAGCTCT
101    TCGAGGATGG CGAGATGGCT AAATATGTCC AAGGAGATGC CATTGGGTAC
151    GAGGGATTCC AGCAATTCCT GAAAATCTAT CTCGAAGTGG ATAATGTTCC
201    CAGACACCTA AGCCTGGCAC TGTTTCAATC CTTTGAGACT GGTCAGTGCT
251    TAAATGAGAC AAATGTGACA AAAGATGTGG TGTGTCTCAA TGATGTTTCC
301    TGCTACTTTT CCCTTCTGGA GGGTGGTCGG CCAGAAGACA AGTTAGAATT
351    CACCTTCAAG CTGTACGACA CGGACAGAAA TGGGATCCTG GACAGCTCAG
401    AAGTGGACAA AATTATCCTA CAGATGATGC GAGTGGCTGA ATACCTGGAT
451    TGGGATGTGT CTGAGCTGAG GCCGATTCTT CAGGAGATGA TGAAAGAGAT
501    TGACTATGAT GGCAGTGGCT CTGTCTCTCA AGCTGAGTGG GTCCGGGCTG
551    GGGCCACCAC CGTGCCACTG CTAGTGCTGC TGGGTCTGGA GATGACTCTG
601    AAGGACGACG GACAGCACAT GTGGAGGCCC AAGAGGTTCC CCAGACCAGT
651    CTACTGCAAT CTGTGCGAGT CAAGCATTGG TCTTGGCAAA CAGGGACTGA
701    GCTGTAACCT CTGTAAGTAC ACTGTTTCACG ACCAGTGTGC CATGAAAGCC

```

751 CTGCCTTGTG AAGTCAGCAC CTATGCCAAG TCTCGGAAGG ACATTGGTGT  
 801 CCAATCACAT GTGTGGGTGC GAGGAGGCTG TGAGTCCGGG CGCTGCGACC  
 851 GCTGTCAGAA AAAGATCCGG ATCTACCACA GTCTGACCGG GCTGCATTGT  
 901 GTATGGTGCC ACCTAGAGAT CCACGATGAC TGCCTGCAAG CGGTGGGCCA  
 951 TGAGTGTGAC TGTGGGCTGC TCCGGGATCA CATCCTGCCT CCATCTTCCA  
 1001 TCTATCCCAG TGTCTGGGCC TCTGGACCGG ATCGTAAAAA TAGCAAAAACA  
 1051 AGCCAGAAGA CCATGGATGA TTAAATTTG AGCACCTCTG AGGCTCTGCG  
 1101 GATTGACCCT GTTCTAACA CCCACCCACT TCTCGTCTTT GTCAATCCTA  
 1151 AGAGTGGCGG GAAGCAGGGG CAGAGGGTGC TCTGGAAGTT CCAGTATATA  
 1201 TTAAACCCTC GACAGGTGTT CAACCTCCTA AAGGATGGTC CTGAGATAGG  
 1251 GCTCCGATTA TTCAAGGATG TTCCTGATAG CCGGATTTTG GTGTGTGGTG  
 1301 GAGACGGCAC AGTAGGCTGG ATTCTAGAGA CCATTGACAA AGCTAACTTG  
 1351 CCAGTTTTGC CTCCTGTTGC TGTGTTGCCC CTGGGTACTG GAAATGATCT  
 1401 GGCTCGATGC CTAAGATGGG GAGGAGGTTA TGAAGGACAG AATCTGGCAA  
 1451 AGATCCCTCA GGATTTAGAG ATGAGTAAAG TGGTACATAT GGATCGATGG  
 [0867] 1501 TCTGTGGAGG TGATACCTCA ACAAAGTAA GAAAAAAGTG ACCCAGTCCC  
 1551 CTTTCAAATC ATCAATAACT ACTTCTCTAT TGGCGTGGAT GCCTCTATTG  
 1601 CTCATCGATT CCACATCATG CGAGAGAAAT ATCCGGAGAA GTTCAACAGC  
 1651 AGAATGAAGA ACAAGCTATG GTAATTCGAA TTTGCCACAT CTGAATCCAT  
 1701 CTTCTCAACA TGCAAAAAGC TGGAGGAGTC TTTGACAGTT GAGATCTGTG  
 1751 GGAAACCGCT GGATCTGAGC AACCTGTCCC TAGAAGGCAT CGCAGTGCTA  
 1801 AACATCCCTA GCATGCATGG TGGCTCCAAC CTCTGGGGTG ATACCAGGAG  
 1851 ACCCCATGGG GATATCTATG GGATCAACCA GGCCTTAGGT GCTACAGCTA  
 1901 AAGTCATCAC CGACCCTGAT ATCCTGAAAA CCTGTGTACC AGACCTAAGT  
 1951 GACAAGAGAC TGGAAGTGGT TGGGCTGGAG GGTGCAATTG AGATGGGCCA  
 2001 AATCTATACC AAGCTCAAGA ATGCTGGACG TCGGCTGGCC AAGTGCTCTG  
 2051 AGATCACCTT CCACACCACA AAAACCCTTC CCATGCAAAT TGACGGAGAA  
 2101 CCCTGGATGC AGACGCCCTG TACAATCAAG ATCACCCACA AGAACCAGAT  
 2151 GCCCATGCTC ATGGGCCCAC CCCCCGCTC CACCAATTTT TTTGGCTTCT  
 2201 TGAGCGGATC CTCGGAGACA GTGCGGTTTC AGGGACACCA CCACCATCAC  
 2251 CACTGA

(SEQ ID NO: 1)

[0868] hDGK $\alpha$ - (M1-S735) -Ct-TVMV-His的氨基酸序列:

0001 MAKERGLISP SDFALQKYM EYSTKKVSDV LKLFEDGEMA KYVQGDAGY EGFQQFLKIY 0060  
 0061 LEVDNVPRHL SLALFQSFET GHCLNETNVT KDVVCLNDVS CYFSLLEGGR PEDKLEFTFK 0120  
 0121 LYDTRNGIL DSSEVDKIIL QMMRVAEYLD WDVSELRPIL QEMMKEIDYD GSGSVSQAWE 0180  
 0181 VRAGATTVPL LVLLGLEMTL KDDGQHMWRP KRFRPVYCN LCESSIGLGK QGLSCNLCKY 0240  
 0241 TVHDQCAMKA LPCEVSTYAK SRKDIGVQSH VVVRGGCESG RCDRCQKKIR IYHSLTGLHC 0300  
 0301 VWCHLEIHDD CLQAVGHECD CGLLRDHILP PSSIYPSVLA SGPDRKNSKT SQKTMDDLNL 0360  
 0361 STSEALRIDP VPNTPLLVF VNPKSGGKQG QRVLWKFQYI LNPRQVFNLL KDGPEIGLRL 0420  
 [0869] 0421 FKDVPSRIL VCGGDGTVGW ILETIDKANL PVLPPVAVLP LGTGNLARC LRWGGGYEQ 0480  
 0481 NLAKILKDL MSKVVMMDRW SVEVIPQQTE EKSDPVFFQI INNYFSIGVD ASIAHRFHIM 0540  
 0541 REKYPEKFNS RMKNKLWYFE FATSESIFST CKKLEESLTV EICGKPLDLS NLSLEGIAVL 0600  
 0601 NIPSMHGGSN LWGDTRRPHG DIYGINQALG ATAKVITDPD ILKTCVPDLS DKRLEVVGLE 0660  
 0661 GAITEMQIYT KLKNAGRRLA KCSEITFHTT KTLPMQIDGE PWMQTPCTIK ITHKNQMPML 0720  
 0721 MGPPPRSTNF FGFLSGSSET VRFQGHHHH H 0751

(SEQ ID NO: 2)

[0870] 编码hDGK $\zeta$ - (M1-A928) -转录变体-2Ct-TVMV-His的核苷酸序列:

[0871]

|     |            |            |            |            |            |
|-----|------------|------------|------------|------------|------------|
| 1   | ATGGAGCCGC | GGGACGGTAG | CCCCGAGGCC | CGGAGCAGCG | ACTCCGAGTC |
| 51  | GGCTTCCGCC | TCGTCCAGCG | GCTCCGAGCG | CGACGCCGGT | CCCGAGCCGG |
| 101 | ACAAGGCGCC | GCGGCGACTC | AACAAGCGGC | GCTTCCCGGG | GCTGCGGCTC |
| 151 | TTCGGGCACA | GGAAAGCCAT | CACGAAGTCG | GGCCTCCAGC | ACCTGGCCCC |
| 201 | CCCTCCGCCC | ACCCCTGGGG | CCCCGTGCAG | CGAGTCAGAG | CGGCAGATCC |
| 251 | GGAGTACAGT | GGACTGGAGC | GAGTCAGCGA | CATATGGGGA | GCACATCTGG |
| 301 | TTCGAGACCA | ACGTGTCCGG | GGACTTCTGC | TACGTTGGGG | AGCAGTACTG |
| 351 | TGTAGCCAGG | ATGCTGCAGA | AGTCAGTGTC | TCGAAGAAAG | TGCGCAGCCT |
| 401 | GCAAGATTGT | GGTGCACACG | CCCTGCATCG | AGCAGCTGGA | GAAGATAAAT |
| 451 | TTCCGCTGTA | AGCCGTCCTT | CCGTGAATCA | GGCTCCAGGA | ATGTCCGCGA |

501 GCCAACCTTT GTACGGCACC ACTGGGTACA CAGACGACGC CAGGACGGCA  
551 AGTGTGCGCA CTGTGGGAAG GGATTCCAGC AGAAGTTCAC CTTCCACAGC  
601 AAGGAGATTG TGGCCATCAG CTGCTCGTGG TGCAAGCAGG CATAACCACAG  
651 CAAGGTGTCC TGCTTCATGC TGCAGCAGAT CGAGGAGCCG TGCTCGCTGG  
701 GGGTCCACGC AGCCGTGGTC ATCCCGCCCA CCTGGATCCT CCGCGCCCGG  
751 AGGCCCCAGA ATACTCTGAA AGCAAGCAAG AAGAAGAAGA GGGCATCCTT  
801 CAAGAGGAAG TCCAGCAAGA AAGGGCCTGA GGAGGGCCGC TGGAGACCCT  
851 TCATCATCAG GCCCACCCTT TCCCGCTCA TGAAGCCCCT GCTGGTGTCT  
901 GTGAACCCCA AGAGTGGGGG CAACCAGGGT GCAAAGATCA TCCAGTCTTT  
951 CCTCTGGTAT CTCAATCCCC GACAAGTCTT CGACCTGAGC CAGGGAGGGC  
1001 CCAAGGAGGC GCTGGAGATG TACCGCAAAG TGCACAACTT GCGGATCCTG  
1051 GCGTGCAGGG GCGACGGCAC GGTGGGCTGG ATCCTCTCCA CCCTGGACCA  
1101 GCTACGCCTG AAGCCGCCAC CCCCTGTTGC CATCCTGCCC CTGGGTACTG  
1151 GCAACGACTT GGCCCGAACC CTCAACTGGG GTGGGGGCTA CACAGATGAG  
1201 CCTGTGTCCA AGATCCTCTC CCACGTGGAG GAGGGGAACG TGGTACAGCT  
1251 GGACCGCTGG GACCTCCACG CTGAGCCCAA CCCCAGGGCA GGGCCTGAGG  
1301 ACCGAGATGA AGGCGCCACC GACCGGTTGC CCCTGGATGT CTTCAACAAC  
1351 TACTTCAGCC TGGGCTTTGA CGCCACGTC ACCCTGGAGT TCCACGAGTC  
1401 TCGAGAGGCC AACCAGAGA AATTCAACAG CCGCTTTCGG AATAAGATGT  
1451 TCTACGCCGG GACAGCTTTC TCTGACTTCC TGATGGGCAG CTCCAAGGAC  
1501 CTGGCCAAGC ACATCCGAGT GGTGTGTGAT GGAATGGACT TGACTCCCAA  
1551 GATCCAGGAC CTGAAACCCC AGTGTGTTGT TTTCTGAAC ATCCCCAGGT  
1601 ACTGTGCGGG CACCATGCCC TGGGGCCACC CTGGGGAGCA CCACGACTTT  
[0872] 1651 GAGCCCCAGC GGCATGACGA CGGCTACCTC GAGGTCATTG GCTTCACCAT  
1701 GACGTCGTTG GCCGCGCTGC AGGTGGGCGG ACACGGCGAG CGGCTGACGC  
1751 AGTGTGCGGA GGTGGTGCTC ACCACATCCA AGGCCATCCC GGTGCAGGTG  
1801 GATGGCGAGC CCTGCAAGCT TGCAGCCTCA CGCATCCGCA TCGCCCTGCG  
1851 CAACCAGGCC ACCATGGTGC AGAAGGCCAA GCGGCGGAGC GCCGCCCCC  
1901 TGCACAGCGA CCAGCAGCCG GTGCCAGAGC AGTTGCGCAT CCAGGTGAGT  
1951 CGCGTCAGCA TGCACGACTA TGAGGCCCTG CACTACGACA AGGAGCAGCT  
2001 CAAGGAGGCC TCTGTGCCGC TGGGCACTGT GGTGGTCCCA GGAGACAGTG  
2051 ACCTAGAGCT CTGCCGTGCC CACATTGAGA GACTCCAGCA GGAGCCCAGT  
2101 GGTGCTGGAG CCAAGTCCCC GACATGCCAG AAAGTGTCCC CCAAGTGGTG  
2151 CTTCTGGAC GCCACCACTG CCAGCCGCTT CTACAGGATC GACCGAGCCC  
2201 AGGAGCACCT CAACTATGTG ACTGAGATCG CACAGGATGA GATTTATATC  
2251 CTGGACCCTG AGCTGCTGGG GGCATCGGCC CGGCCTGACC TCCCAACCCC  
2301 CACTTCCCCT CTCCCCACCT CACCCTGCTC ACCCACGCCC CGGTCACTGC  
2351 AAGGGGATGC TGCACCCCTT CAAGGTGAAG AGCTGATTGA GGCTGCCAAG  
2401 AGGAACGACT TCTGTAAGCT CCAGGAGCTG CACCGAGCTG GGGGCGACCT  
2451 CATGCACCGA GACGAGCAGA GTCGCACGCT CCTGCACCAC GCAGTCAGCA  
2501 CTGGCAGCAA GGATGTGGTC CGTACCTGC TGGACCACGC CCCCCAGAG  
2551 ATCCTTGATG CGGTGGAGGA AAACGGGGAG ACCTGTTTGC ACCAAGCAGC  
2601 GGCCCTGGGC CAGCGCACCA TCTGCCACTA CATCGTGGAG GCCGGGGCCT  
2651 CGCTCATGAA GACAGACCAG CAGGGCGACA CTCCCCGGCA GCGGGCTGAG  
2701 AAGGCTCAGG ACACCGAGCT GGCCGCCTAC CTGGAGAACC GGCAGCACTA  
2751 CCAGATGATC CAGCGGGAGG ACCAGGAGAC GGCTGTGGGA TCCTCGGAGA  
2801 CAGTGCGGTT TCAGGGACAC CACCACCATC ACCACTGA

(SEQ ID NO: 3)

[0873] hDGKζ-(M1-A928)-转录变体-2Ct-TVMV-His的氨基酸序列:

|        |      |                |            |            |            |            |            |      |
|--------|------|----------------|------------|------------|------------|------------|------------|------|
| [0874] | 0001 | MEPRDGSPEA     | RSSDSESASA | SSSGSERDAG | PEPDKAPRRL | NKRRFPGLRL | FGHRKAITKS | 0060 |
|        | 0061 | GLQHLAPPPP     | TPGAPCSESE | RQIRSTVDWS | ESATYGEHIW | FETNVSGDFC | YVGEQYCVAR | 0120 |
|        | 0121 | mLQKSVSRRK     | CAACKIVVHT | PCIEQLEKIN | FRCKPSFRES | GSRNVREPTF | VRHHWVHRRR | 0180 |
|        | 0181 | QDGKCRHCGK     | GFQQKFTFHS | KEIVAISCSW | CKQAYHSKVS | CFMLQQIEEP | CSLGVHAAV  | 0240 |
|        | 0241 | IPPTWILRAR     | RPQNTLKASK | KKKRASFRRK | SSKKGPEEGR | WRPFIIRPTP | SPLMKPLLVF | 0300 |
|        | 0301 | VNPKSGGNQG     | AKIIQSFLWY | LNPRQVFDLS | QGGPKAELEM | YRKVHNLRL  | ACGGDGTGVW | 0360 |
|        | 0361 | ILSTLDQLRL     | KPPFPVAILP | LGTGNDLART | LNWGGGYTDE | PVSKILSHVE | EGNVVQLDRW | 0420 |
|        | 0421 | DLHAEPNPEA     | GPEDRDEGAT | DRLPLDVFN  | YFSLGFDAHV | TLEFHESREA | NPEKFNSRFR | 0480 |
|        | 0481 | NKMFYAGTAF     | SDFLMGSSKD | LAKHIRVVCD | GMDLTPKIQD | LKPQCVVFLN | IPRYCAGTMP | 0540 |
|        | 0541 | WGHPGEHHDF     | EPQRHDDGYL | EVIGFTMTSL | AALQVGGHGE | RLTQCREVVL | TTSKAIPVQV | 0600 |
|        | 0601 | DGEPCCLAAS     | RIRIALRNQA | TMVQKAKRRS | AAPLHSDQQP | VPEQLRIQVS | RVSMHDYEAL | 0660 |
| [0875] | 0661 | HYDKEQLKEA     | SVPLGTVVVP | GDSLELCRA  | HIERLQQEPD | GAGAKSPTCQ | KLSPKWCFLD | 0720 |
|        | 0721 | ATTASRFYRI     | DRAQEHLNYV | TEIAQDEIYI | LDFELLGASA | RPDLPTPTSP | LPTSPCSPTP | 0780 |
|        | 0781 | RLQGGDAAPP     | QGEELIEAAK | RNDFCKLQEL | HRAGGDLMHR | DEQSRTLLHH | AVSTGSKDVS | 0840 |
|        | 0841 | RYLLDHAPPE     | ILDAVEENGE | TCLHQAAALG | QRTICHYIVE | AGASLMKTDQ | QGDTPQRRAE | 0900 |
|        | 0901 | KAQDTELAAY     | LENRQHYQMI | QREDQETAVG | SSETVRFQGH | HHHHH      | 0945       |      |
|        |      | (SEQ ID NO: 4) |            |            |            |            |            |      |

[0876] 编码MA-hDGK $\alpha$ -(S9-S727)-Ct-TVMV-His的核苷酸序列:

|        |      |                |            |             |            |            |             |      |
|--------|------|----------------|------------|-------------|------------|------------|-------------|------|
| [0877] | 0001 | ATGGCTTCCC     | CAAGCGACTT | CGCCCAGCTG  | CAGAAGTACA | TGGAATACAG | CACCAAGAAG  | 0060 |
|        | 0061 | GTGTCTGACG     | TCCTGAAGCT | GTCGAGGAC   | GGTGAAATGG | CTAAGTACGT | CCAGGGCGAC  | 0120 |
|        | 0121 | GCTATCGGAT     | ACGAGGGATT | CCAGCAGTTC  | CTGAAGATCT | ACCTGGAAGT | GGACAACGTC  | 0180 |
|        | 0181 | CCCAGGCACC     | TGTCAGTGGC | TCTGTTCCAG  | TCTTTCGAGA | CTGGCCACTG | CCTGAACGAA  | 0240 |
|        | 0241 | ACCAACGTCA     | CTAAGGACGT | GGTCTGCCTG  | AACGACGTGA | GCTGCTACTT | CTCTCTGCTG  | 0300 |
|        | 0301 | GAGGGTGGCA     | GACCAGAGGA | CAAGCTGGAA  | TTCACCTTCA | AGCTGTACGA | CACTGACCGC  | 0360 |
|        | 0361 | AACGGAATCC     | TGGACTCCAG | CGAAGTGGAC  | AAGATCATCC | TGCAGATGAT | GCGTGTGCTG  | 0420 |
|        | 0421 | GAGTACCTGG     | ACTGGGACGT | GAGCGAACTG  | AGGCCTATCC | TGCAGGAGAT | GATGAAGGAA  | 0480 |
|        | 0481 | ATCGACTACG     | ACGGCTCTGG | ATCAGTGTCC  | CAGGCTGAGT | GGGTCCGCGC | TGGTGCTACC  | 0540 |
|        | 0541 | ACTGTGCCAC     | TGCTGGTCTT | GCTGGGACTG  | GAAATGACCC | TGAAGGACGA | CGGTGCTCAC  | 0600 |
| [0877] | 0601 | ATGTGGCGCC     | CAAAGCGTTT | CCCCAGGCCA  | GTCTACTGCA | ACCTGTGCGA | GTCTTCAATC  | 0660 |
|        | 0661 | GGTCTGGGCA     | AGCAGGGCCT | GTCATGCAAC  | CTGTGCAAGT | ACACCGTGCA | CGACCACTGC  | 0720 |
|        | 0721 | GCTATGAAGG     | CCCTGCCCTG | CGAGGTCTCA  | ACTTACGCTA | AGTCCCGTAA | GGACATCGGA  | 0780 |
|        | 0781 | GTGCAGTCAC     | ACGTGTGGGT | CAGGGGAGGT  | TGCGAATCCG | GTAGATGCGA | CCGCTGCCAG  | 0840 |
|        | 0841 | AAGAAGATCC     | GTATCTACCA | CTCCCTGACC  | GGACTGCACT | GCGTCTGGTG | CCACCTGGAG  | 0900 |
|        | 0901 | ATCCACGACG     | ACTGCCTGCA | GGCCGTGGGA  | CACGAATGCG | ACTGCGGTCT | GCTGCGTGAC  | 0960 |
|        | 0961 | CACATCCTGC     | CTCCCTCCAG | CATCTACCCT  | TCAGTCTGGG | CTTCCGGTCC | CGACAGGAAG  | 1020 |
|        | 1021 | AACAGCAAGA     | CCTCTCAGAA | GACTATGGAC  | GACCTGAACC | TGAGCACCTC | TGAGGCCCTG  | 1080 |
|        | 1081 | CGCATCGACC     | CTGTGCCCAA | CACTCACCCA  | CTGCTGGTGT | TCGTCAACCC | TAAGAGCGGC  | 1140 |
|        | 1141 | GGAAGCAGG      | GTGAGAGAGT | CCTGTGGAAG  | TTCCAGTACA | TCCTGAACCC | ACGCCAGGTG  | 1200 |
| [0877] | 1201 | TTCAACCTGC     | TGAAGGACGG | CCCTGAGATC  | GGACTGAGAC | TGTTCAAGGA | CGTGCCCCGAC | 1260 |
|        | 1261 | TCTCGCATCC     | TCGTCTGCGG | TGGCGACGGT  | ACTGTGGGAT | GGATCCTGGA | AACTATCGAC  | 1320 |
|        | 1321 | AAGGCTAACC     | TGCCAGTGCT | GCCACCTGTG  | GCTGTCTCTG | CACTGGGAAC | CGGTAACGAC  | 1380 |
|        | 1381 | CTGGCTCGTT     | GCCTGCGTTG | GGGAGGTGGC  | TACGAGGGAC | AGAACCTGGC | CAAGATCCTG  | 1440 |
|        | 1441 | AAGGACCTGG     | AAATGAGCAA | GGTGGTCCAC  | ATGGACAGAT | GGTCTGTGGA | GGTCATCCCA  | 1500 |
|        | 1501 | CAGCAGACTG     | AGGAAAAGTC | AGACCCAGTC  | CCTTTCCAGA | TCATCAACAA | CTACTTCAGC  | 1560 |
|        | 1561 | ATCGGTGTGG     | ACGCTTCTAT | CGCCACACAGA | TTCCACATCA | TGCGCGAGAA | GTACCCTGAA  | 1620 |
|        | 1621 | AAGTTCAACT     | CCCGCATGAA | GAACAAGCTG  | TGGTACTTCG | AGTTCGCTAC | CTCAGAATCC  | 1680 |
|        | 1681 | ATCTTCTCAA     | CTTGCAAGAA | GCTGGAGGAA  | TCCCTGACCG | TCGAGATCTG | CGGCAAGCCT  | 1740 |
|        | 1741 | CTGGACCTGT     | CAAACCTGTC | CCTGGAAGGC  | ATCGCTGTGC | TGAACATCCC | AAGCATGCAC  | 1800 |
| [0877] | 1801 | GGAGGTTCTA     | ACCTCTGGGG | CGACACTAGG  | AGGCCTCACG | GTGACATCTA | CGGCATCAAC  | 1860 |
|        | 1861 | CAGGCCCTGG     | GAGCTACCGC | CAAGGTCATC  | ACTGACCCCG | ACATCCTGAA | GACCTGCGTG  | 1920 |
|        | 1921 | CCAGACCTGA     | GCGACAAGCG | TCTGGAGGTG  | GTCGGACTGG | AGGGTGCCAT | CGAAATGGGC  | 1980 |
|        | 1981 | CAGATCTACA     | CTAAGCTGAA | GAACGCTGGA  | AGGAGACTGG | CCAAGTGCTC | TGAGATCACC  | 2040 |
|        | 2041 | TTCCACACCA     | CTAAGACTCT | GCCTATGCAG  | ATCGACGGTG | AACCCTGGAT | GCAGACCCCA  | 2100 |
|        | 2101 | TGCACTATCA     | AGATCACCCA | CAAGAACCAG  | ATGCCCATGC | TGATGGGTCC | TCCTCCTCGC  | 2160 |
|        | 2161 | TCTGGATCTT     | CAGAACTGT  | GAGGTTCCAG  | GGCCACCACC | ACCACCACCA | CTGA        | 2214 |
|        |      | (SEQ ID NO: 5) |            |             |            |            |             |      |

[0878] MA-hDGK $\alpha$ -(S9-S727)-Ct-TVMV-His的氨基酸序列:

[0879]

0001 MASPSDFAQL QKYMEYSTKK VSDVLKLFED GEMAKYVQGD AIGYEGFQQF LKIYLEVDNV 0060  
0061 PRHLSLALFQ SFETGHCLNE TNVTKDVVCL NDVSCYFSLLEGGRPEDKLE FTFKLYDTDR 0120  
0121 NGILDSSEVD KIILQMMRVA EYLDWDVSEL RPILQEMMKE IDYDGSQSVS QAEWVRAGAT 0180  
0181 TVPLLVLGL EMTLKDDGQH MWRPKRFPRP VYCNLCESI GLGKQGLSCN LCKYTVHDQC 0240  
0241 AMKALPCEVS TYAKSRKDIG VQSHVWVRGG CESGRCDRCQ KKIRIYHSLT GLHCVWCHLE 0300  
0301 IHDDCLQAVG HECDCGLLRD HILPPSSIYP SVLASGPDRK NSKTSQKTMD DLNLSTSEAL 0360  
0361 RIDPVPNTHP LLVFVNPKSG GKQGQVRVLWK FQYILNPRQV FNLLKDGPEI GLRLFKDVDPD 0420  
0421 SRILVCGGDG TVGWILETID KANLPVLPPV AVLPLGTGND LARCLRWGGG YEQNLAKIL 0480  
0481 KDLEMSKVH MDRWSVEVIP QQTEEKSDPV PFQIINNYFS IGVDASIAHR FHIMREKYPE 0540  
0541 KFNSRMKNKL WYFEFATSES IFSTCKKLEE SLTVEICGKP LDLSNLSLEG IAVLNIPSMH 0600  
0601 GGSNLWGDTR RPHGDIYGIN QALGATAKVI TDPDILKTCV PDLSDKRLEV VGLEGAIEMG 0660  
0661 QIYTKLKNAG RRLAKCSEIT FHTTKTLPQ IDGEPWMQTP CTIKITHKNQ MPMLMGPPPR 0720  
0721 SGSSETVRFQ GHHHHH 0737

(SEQ ID NO: 6)