



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108368101 B

(45) 授权公告日 2022.03.15

(21) 申请号 201680073103.8

C07D 413/04 (2006.01)

(22) 申请日 2016.10.13

A61K 31/454 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61K 31/4439 (2006.01)

申请公布号 CN 108368101 A

A61K 31/5355 (2006.01)

(43) 申请公布日 2018.08.03

A61K 31/496 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61P 25/02 (2006.01)

3309/DEL/2015 2015.10.14 IN

A61P 25/16 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61P 25/28 (2006.01)

2018.06.13

A61P 25/24 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

(56) 对比文件

PCT/US2016/056716 2016.10.13

WO 2015/105929 A1, 2015.07.16

(87) PCT国际申请的公布数据

WO 2011/100585 A1, 2011.08.18

W02017/066368 EN 2017.04.20

US 2007/0185168 A1, 2007.08.09

(73) 专利权人 百时美施贵宝公司

WO 2015/105772 A1, 2015.07.16

地址 美国新泽西州

李建其等. 芳甲酰烷基哌嗪类化合物的合成及抗脑缺氧缺血活性.《中国药物化学杂志》.2006,第16卷(第1期),

(72) 发明人 I.伊斯拉姆 S.桑加蒂鲁帕蒂

Paola Zarantonello et al., Novel

J.S.瓦里尔 S.彻鲁库 P.舍蒂

analogues of ketamine and phencyclidine as NMDA receptor antagonists.《Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters》.2011,第21

J.E.马科

卷

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

审查员 林鹏

司 72001

代理人 彭昶 周齐宏

(51) Int.Cl.

C07D 413/14 (2006.01)

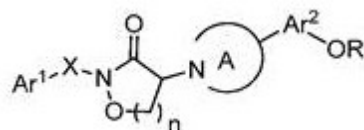
权利要求书4页 说明书39页

(54) 发明名称

选择性NR2B拮抗剂

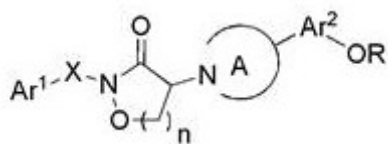
(57) 摘要

本公开提供式(I)的化合物及其药学上可接受的盐。式(I)化合物为用于NR2B N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体的配体,从而使它们用于治疗各种中枢神经系统疾病。



(I)。

1. 一种式I的化合物或其药学上可接受的盐，

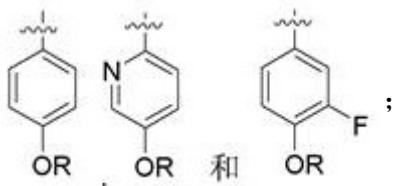


I

其中：

Ar¹为苯基，并用0-3个选自卤素和(C₁-C₆)烷基的取代基取代；

Ar²-OR选自



R为氢；

X为键或(C₁-C₃)亚烷基；

n为1或2；且

环A为哌啶或哌嗪，并用0-1个卤素取代基取代。

2. 权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐，其中Ar¹为苯基，并用0-1个选自卤素和(C₁-C₆)烷基的取代基取代；R为氢；X为键或(C₁-C₃)亚烷基；n为1或2；环A为哌啶、哌嗪，并用0-1个卤素取代基取代。

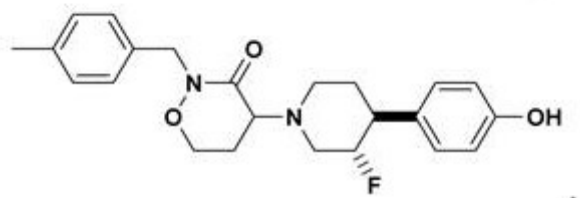
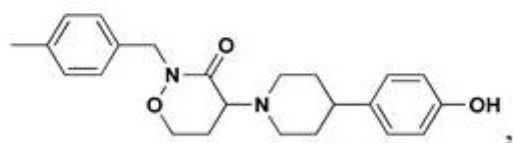
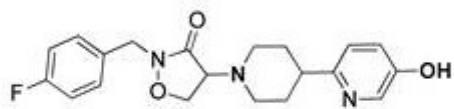
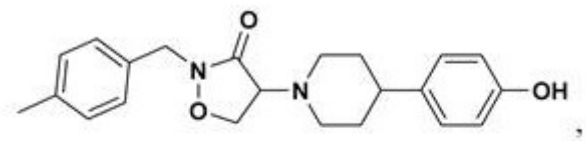
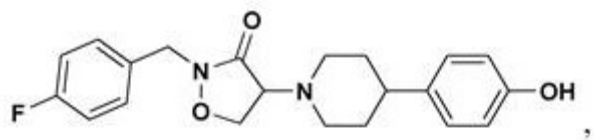
3. 权利要求2的化合物或其药学上可接受的盐，其中Ar¹为苯基，并用0-1个选自卤素和(C₁-C₆)烷基的取代基取代；R为氢；X为亚甲基；n为1或2；环A为哌啶或哌嗪，并用0-1个卤素取代基取代。

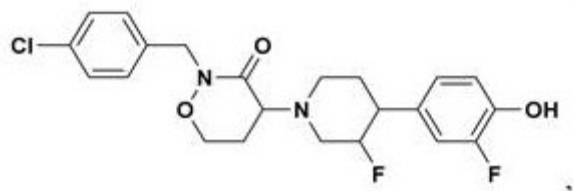
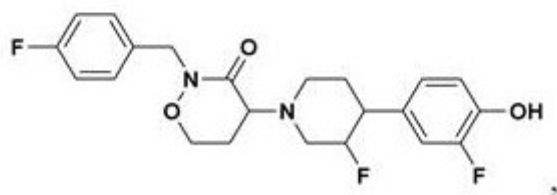
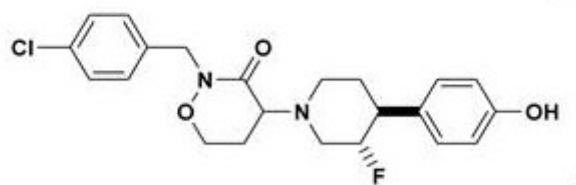
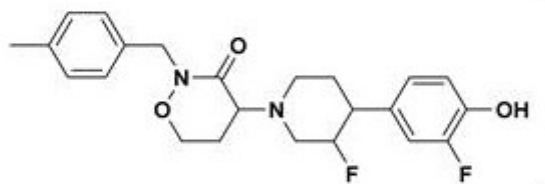
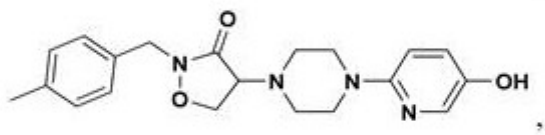
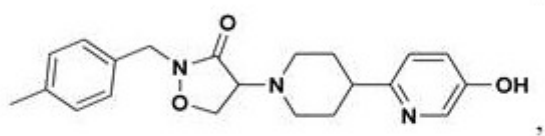
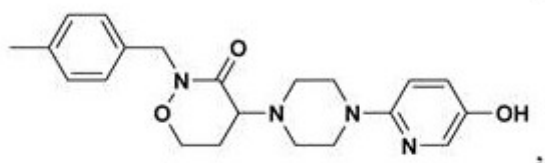
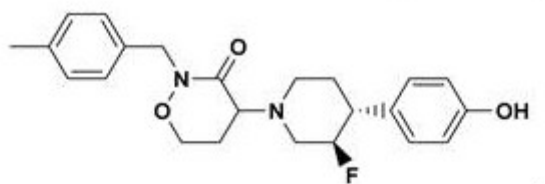
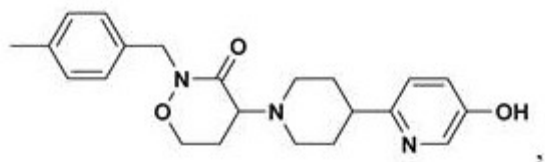
4. 权利要求1的化合物，其中n为1；且环A为哌嗪或哌啶并用0-1个氟取代。

5. 权利要求1的化合物，其中Ar¹为用0-1个选自氯、氟和甲基的取代基取代的苯基。

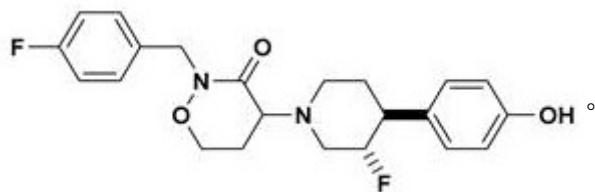
6. 权利要求1的化合物，其中X为亚甲基。

7. 权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐，所述化合物选自

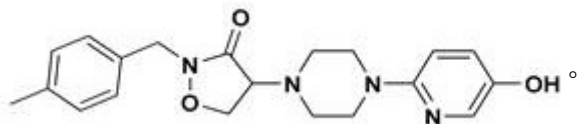




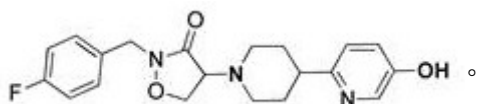
和



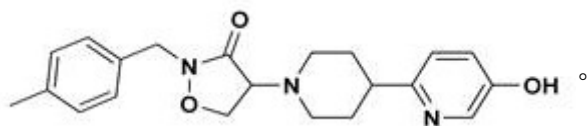
8. 权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物为:



9. 权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物为:



10. 权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物为:



11. 一种药物组合物,所述组合物包含权利要求1-10中任一项的化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体。

12. 权利要求1-10中任一项的化合物在制备用于治疗患者抑郁、阿尔茨海默病、神经痛或帕金森病的药物中的用途。

13. 权利要求12的用途,所述用途涉及治疗抑郁。

14. 权利要求12的用途,所述用途涉及治疗阿尔茨海默病。

15. 权利要求12的用途,所述用途涉及治疗神经痛。

选择性NR2B拮抗剂

[0001] 相关申请交叉引用

[0002] 本申请要求2015年10月14提交的印度临时专利申请顺序编号3309/DEL/2015的权益,所述申请全文通过引用结合到本文中。

技术领域

[0003] 本公开总体涉及式I的化合物,包括其盐和组合物,也涉及使用所述化合物的方法。化合物为针对NR2B NMDA受体的配体,并可用于治疗各种中枢神经系统疾病。

[0004] 发明背景

[0005] N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体是由谷氨酸结合门控的离子通道,中枢神经系统疾病中的一种兴奋性神经递质。据认为,它们在一些神经疾病发展中起关键作用,包括抑郁、神经性疼痛、阿尔茨海默病和帕金森病。功能NMDA受体是主要由两个NR1和两个NR2亚单元组成的四聚结构。NR2亚单元进一步细分成遍布脑差别分布的四个单独亚型:NR2A、NR2B、NR2C和NR2D。NMDA受体(具体地讲,含NR2B亚单元的通道)的拮抗剂或变构调节剂,已研究作为治疗剂治疗重度抑郁症(G.Sanacora,2008,Nature Rev.Drug Disc.7:426-437)。

[0006] 除了用于谷氨酸的外,NR2B受体还包含另外的配体结合位点。非选择性NMDA拮抗剂,如氯胺酮,为阻孔剂,干扰Ca⁺⁺通过通道运输。氯胺酮已显示在人临床试验中作为静脉注射药物的快速持久抗抑郁性质。另外,效力用重复间歇输注氯胺酮保持(Zarate et al.,2006,Arch.Gen.Psychiatry 63:856-864)。然而,这类药物由于其CNS副作用,包括解离效应,治疗价值有限。

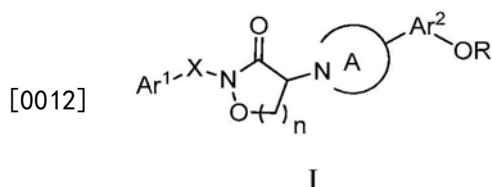
[0007] 已在NR2B的氨基端域确定变构非竞争结合位点。在此位点选择性结合的药物,如曲索罗地,在作为静脉注射药物的人临床试验中显示维持抗抑郁响应和改善副作用分布(Preskorn et al.,2008,J.Clin.Psychopharmacol.,28:631-637,和F.S.Menniti,et al.,1998,CNS Drug Reviews,4,4,307-322)。然而,低生物利用率、不良药物动力学和对包括hERG离子通道的其它药理靶缺乏选择性妨碍从此类药物的研发。阻断hERG离子通道可导致心律失常,包括潜在致命的尖端扭转型,因此,对此通道的选择性至关重要。因此,在重度抑郁症治疗中,对研发具有有利耐受性分布的有效NR2B-选择性负变构调节剂仍有未满足的临床需要。

[0008] NR2B受体拮抗剂已公开于公布W001/32615、W0 03/035641、W02005/035523、W0 2009/006437和EP1988077。

[0009] 本公开提供多个技术优势,例如,化合物新颖,并且是NR2B受体的配体,并可用于治疗各种中枢神经系统疾病。另外,化合物提供例如与一种或多种其作用机制、结合、抑制效力、靶选择性、溶解度、安全分布或生物利用率相关的药物用途的优点。

[0010] 发明概述

[0011] 在第一个实施方案中,本公开提供式I的化合物或其药学上可接受的盐,



[0013] 其中：

[0014] Ar¹为苯基，并用0-3个选自氰基、卤素、烷基、卤代烷基和卤代烷氧基的取代基取代；

[0015] Ar²为苯基、吡啶基或嘧啶基，并用1个OR取代基和0-2个卤素或烷基取代基取代；

[0016] R为氢或选自烷基酯、氨基酸酯、烷氧基酯、膦酸、膦酸烷基酯、烷氧基膦酸、烷氧基膦酸烷基酯、烷基氨基甲酸酯、氨基酸氨基甲酸酯、烷基氨基磷酸酯、芳基氨基磷酸酯和氨基磺酸酯的前药部分；

[0017] X为键或C₁-C₃亚烷基；

[0018] n为1或2；

[0019] 环A为哌啶、哌嗪，并用0-1个卤素取代基取代。

[0020] 发明详述

[0021] 应了解，任何所给示例性实施方案可与一个或多个另外的示例性实施方案组合。

[0022] 除非另外规定，这些术语具有以下含义。“烷基”指由1至6个碳组成的直链或支链烃基。“烯基”指由2至6个碳组成具有至少一个双键的直链或支链烃基。“炔基”指由2至6个碳组成具有至少一个三键的直链或支链烃基。“环烷基”指由3至7个碳组成的单环系统。具有烃部分的术语（例如，烷氧基）包括关于那个烃部分的直链和支链异构体。“卤素”包括氟、氯、溴和碘。“卤烷基”和“卤烷氧基”包括一卤至全卤的所有卤代异构体。“芳基”指具有6至12个碳原子的单环或双环芳族烃基，或其中一个或两个环为苯基的双环稠环系统。双环稠环系统由稠合到4-至6-元芳族或非芳族碳环的苯基组成。芳基的代表性实例包括但不限于茚满基、茚基、萘基、苯基和四氢萘基。“杂芳基”指具有1至5个独立选自氮、氧和硫的杂原子的5至7元单环或8至11元双环芳族环系统。括号和多括号术语旨在给本领域技术人员澄清键合关系。例如，术语例如(R)烷基指烷基取代基进一步用取代基R取代。

[0023] 本发明包括化合物的所有药学上可接受的盐形式。药学上可接受的盐为其中反离子不显著贡献化合物的生理活性或毒性并且本身作为药理等同物的那些盐。这些盐可根据一般有机技术用市售试剂制备。一些阴离子盐形成包括乙酸盐、醋硬脂酸盐、苯磺酸盐、溴化物、氯化物、柠檬酸盐、富马酸盐、葡糖醛酸盐、氢溴酸盐、盐酸盐、氢碘酸盐、碘化物、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、硝酸盐、扑酸盐、磷酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐和昔萘酸盐。一些阳离子盐形式包括铵、铝、苧星、铋、钙、胆碱、二乙胺、二乙醇胺、锂、镁、甲葡胺、4-苯基环己胺、哌嗪、钾、钠、氨丁三醇和锌。

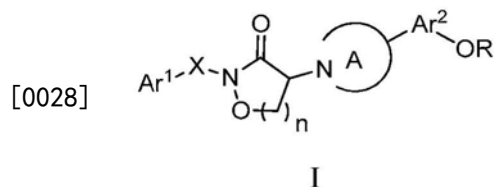
[0024] 一些式I化合物包含至少一个不对称碳原子，以下显示其实例。本发明包括化合物的所有立体异构形式，包括混合物和分离的异构体。可通过在本领域已知的方法使立体异构体的混合物分离成单独异构体。化合物包括所有互变异构形式。

[0025] 本发明旨在包括存在于本发明化合物中的所有原子的同位素。同位素包括具有相同原子序数但不同质量数的那些原子。作为一般实例且没有限制，氢的同位素包括氕和氘。碳的同位素包括¹³C和¹⁴C。通常，用适合同位素标记试剂代替另外所用非标记试剂，通过

本领域的技术人员已知的常规技术或类似于本文所述的方法,可制备本发明的同位素标记化合物。这些化合物可具有多种潜在用途,例如,在测定生物活性中作为标准和试剂。在稳定同位素的情况下,这些化合物可有潜力有利改变生物、药理或药物动力学性质。

[0026] 在本申请中使用的缩略语为本领域的技术人员所熟悉。

[0027] 在第一个方面,本发明提供式I的化合物或其药学上可接受的盐,



[0029] 其中:

[0030] Ar¹为苯基,并用0-3个选自氰基、卤素、烷基、卤代烷基和卤代烷氧基的取代基取代;

[0031] Ar²为苯基、吡啶基或嘧啶基,并用1个OR取代基和用0-2个卤素或烷基取代基取代;

[0032] R为氢或选自烷基酯、氨基酸酯、烷氧基酯、膦酸、膦酸烷基酯、烷氧基膦酸、烷氧基膦酸烷基酯、烷基氨基甲酸酯、氨基酸氨基甲酸酯、烷基氨基磷酸酯、芳基氨基磷酸酯和氨基磺酸酯的前药部分;

[0033] X为键或C₁-C₃亚烷基;

[0034] n为1或2;

[0035] 环A为哌啶、哌嗪,并用0-1个卤素取代基取代。

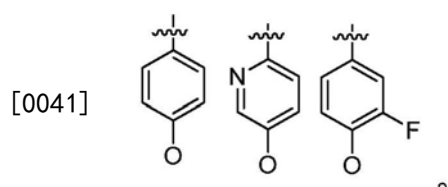
[0036] 在第一个方面的第二实施方案中,本发明提供权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐,其中Ar¹为苯基,并用0-1个选自卤素和烷基的取代基取代;Ar²为苯基、吡啶基或嘧啶基,并用1个OR取代基和用0-2个卤素或烷基取代基取代;R为氢;X为键或C₁-C₃亚烷基;n为1或2;环A为哌啶、哌嗪,并用0-1个卤素取代基取代。

[0037] 在第一个方面的第三实施方案中,本发明提供权利要求2的化合物或其药学上可接受的盐,其中Ar¹为苯基,并用0-1个选自卤素和烷基的取代基取代;Ar²为苯基或吡啶基,并用1个OR取代基和用0-1个卤素取代基取代;R为氢;X为亚甲基;n为1或2;环A为哌啶或哌嗪,并用0-1个卤素取代基取代。

[0038] 在第一个方面的第四实施方案中,本发明提供权利要求1的化合物,其中n为1;环A为用0-1个氟取代的哌嗪或哌啶。

[0039] 在第一个方面的第五实施方案中,本发明提供权利要求1的化合物,其中Ar¹为用0-1个选自氯、氟和甲基的取代基取代的苯基。

[0040] 在第一个方面的第六实施方案中,本发明提供权利要求1的化合物,其中Ar²选自



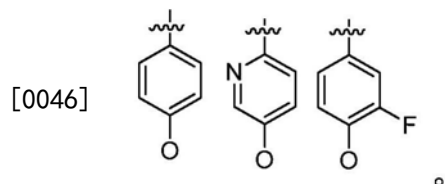
[0042] 在第一个方面的第七实施方案中,本发明提供权利要求1的化合物,其中X为亚甲

基。

[0043] 在第一个方面的第八实施方案中,本发明提供式I的化合物,其中n为1;环A为用0-1个氟取代的哌嗪或哌啶。

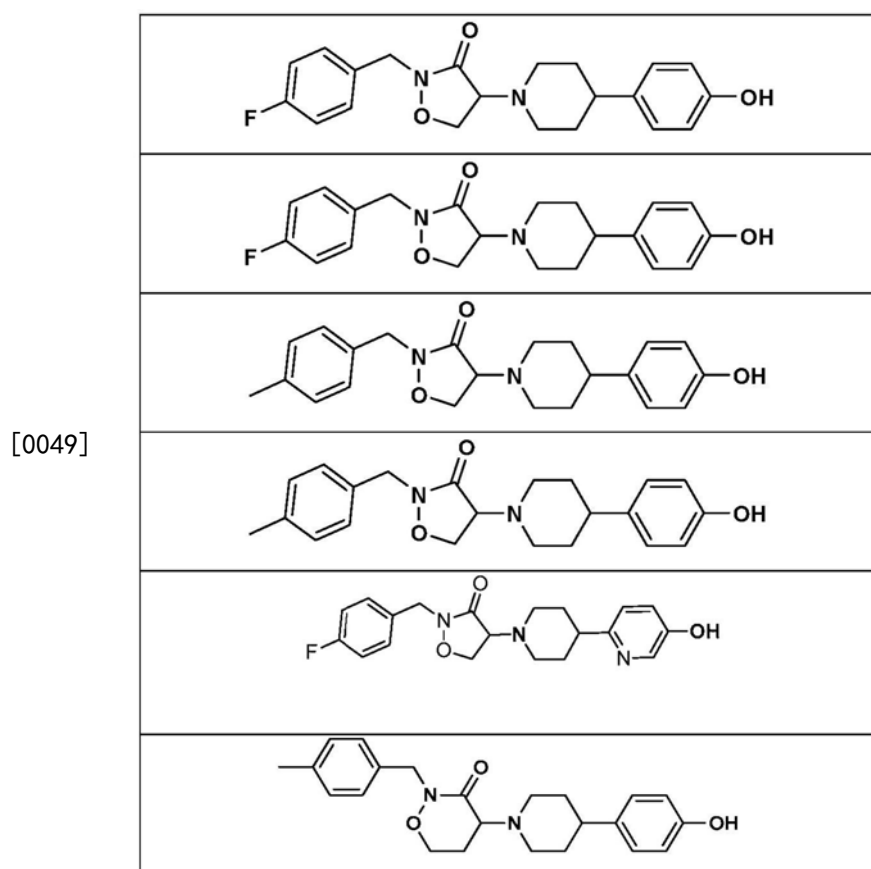
[0044] 在第一个方面的第九实施方案中,本发明提供式I的化合物,其中Ar¹为用0-1个选自氯、氟和甲基的取代基取代的苯基。

[0045] 在第一个方面的第三实施方案中,本发明提供式I的化合物,其中Ar²选自

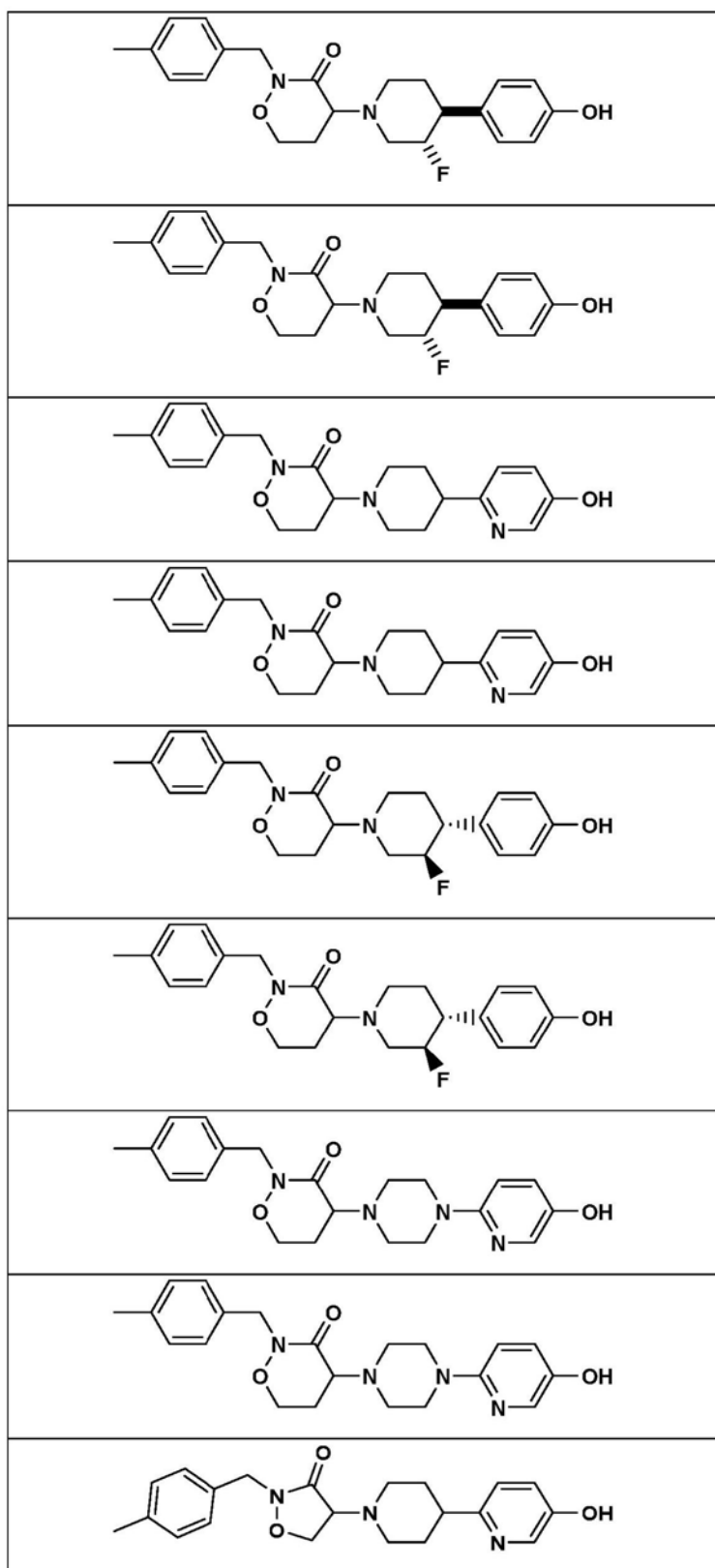


[0047] 在第一个方面的第十实施方案中,本发明提供式I的化合物,其中X为亚甲基。

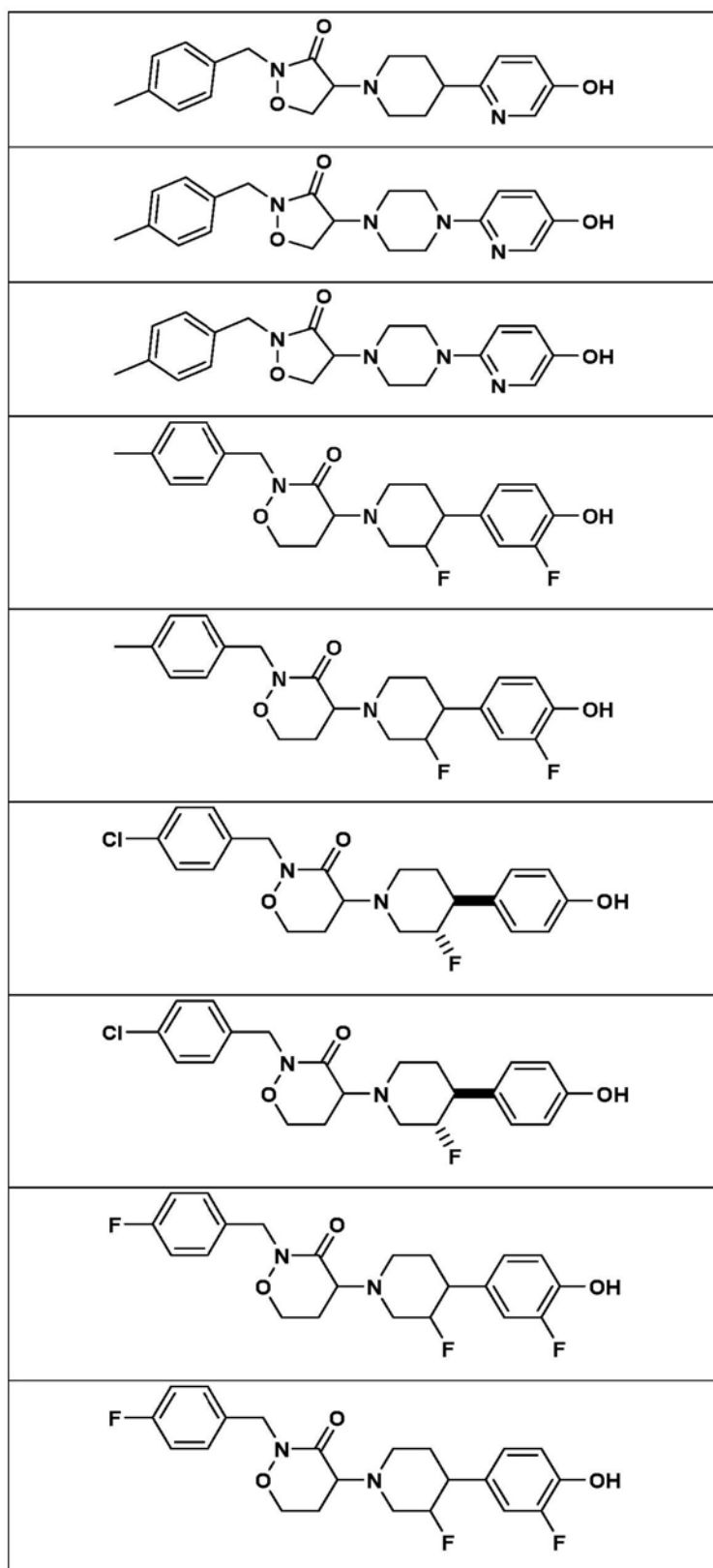
[0048] 在第一个方面的第十一实施方案中,式I的化合物为:



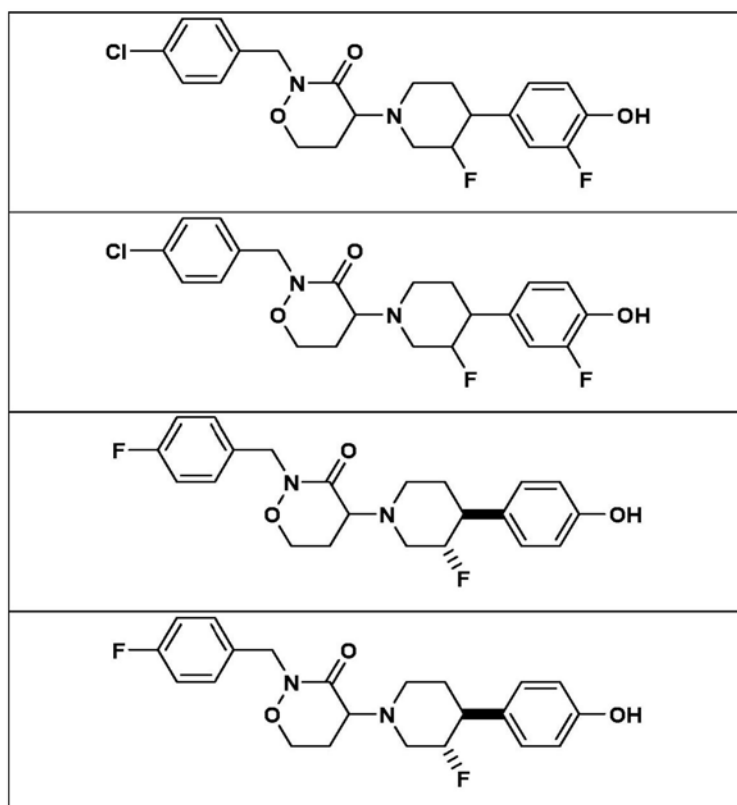
[0050]



[0051]



[0052]



[0053] 或其药学上可接受的盐。

[0054] 在第二个方面,本发明提供一种药物组合物,该组合物包含式I的化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体。

[0055] 在第三个方面,本发明提供一种治疗抑郁、阿尔茨海默病、神经痛或帕金森病的方法,所述方法包括给予患者治疗有效量式I的化合物。

[0056] 在第三个方面的第二实施方案中,式I的化合物涉及治疗抑郁。

[0057] 在第三个方面的第三实施方案中,式I的化合物涉及治疗阿尔茨海默病。

[0058] 在第三个方面的第四实施方案中,式I的化合物涉及治疗神经痛。

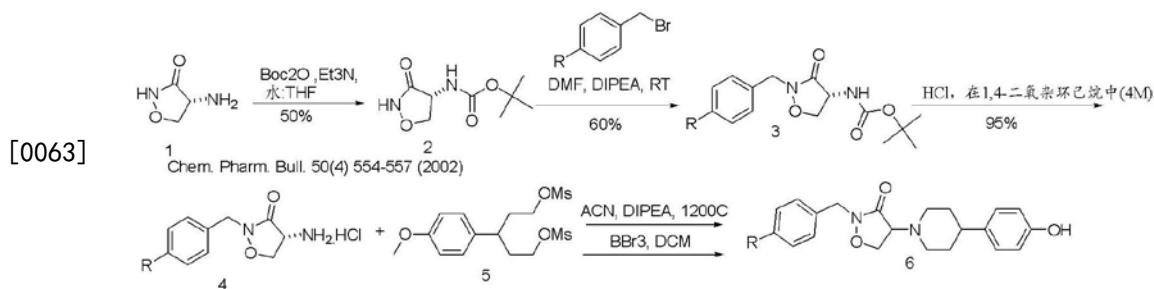
实施例

[0059] 现在结合某些实施方案描述本公开,这些实施方案不是要限制其范围。相反,本公开覆盖可在权利要求范围内包括的所有替代、改进和等同物。因此,以下实施例,包括具体实施方案,说明本公开的一个实践,应了解,这些实施例是为了说明某些实施方案,并且为了提供相信为其步骤和概念方面的最有用和容易理解描述而提出。

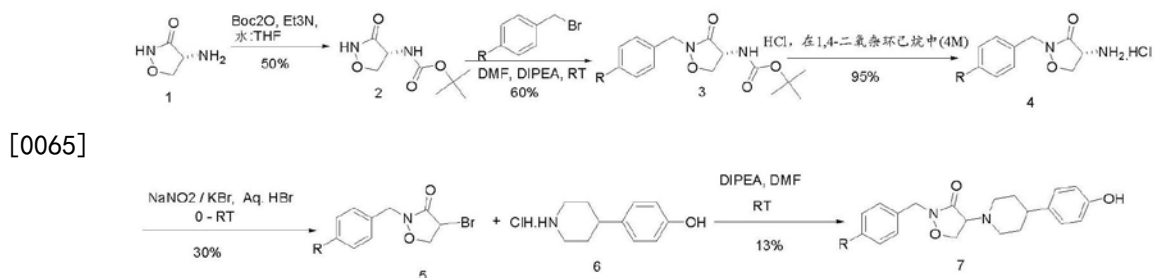
[0060] 本公开的化合物可用本节中所述反应和技术和本领域技术人员已知的其它合成方法制备。反应在适合所用的试剂和材料和适合所影响的转化的溶剂中进行。此外,在以下所述合成方法的描述中,应了解,所有提出的反应条件,包括溶剂选择、反应温度、实验时间和整理步骤,应选择为对反应标准的条件,这应容易被本领域的技术人员所认识。有机合成领域的技术人员应了解,分子不同部分上存在的官能团必须与提出试剂和反应相容。对与反应条件相容的取代基的这些限制对本领域的技术人员显而易见,并且可使用代替方法。

[0061] 在本发明的一个优选实施方案中,合成本公开的化合物可在以下示意表示-方案1至方案3中阐明。

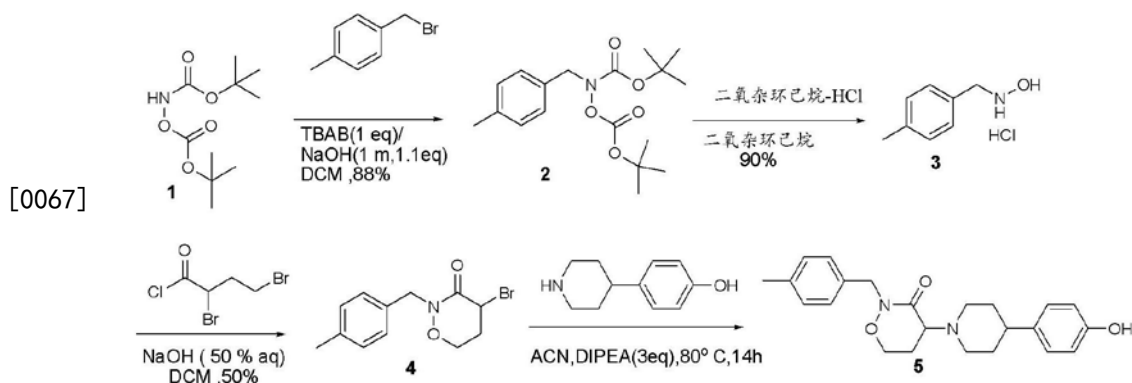
[0062] 方案1



[0064] 方案2



[0066] 方案3



[0068] 对于方案1

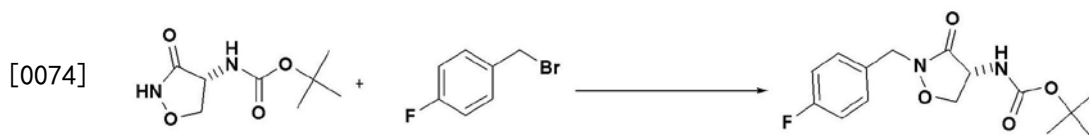
[0069] 步骤1:参考:Chem.Pharm.Bull.50(4) 554—557 (2002)



[0071] 在RT向THF (30mL) 和水 (10mL) 中 (R)-4-氨基异噁唑烷-3-酮 (2.00g, 19.59mmol) 的搅拌溶液加入三乙胺 (3.28mL, 23.51mmol) 和Boc₂O (4.55mL, 19.59mmol)。在RT搅拌反应混合物12h。反应完成由LCMS监测。浓缩反应混合物, 并通过ISCO用12g硅胶柱纯化, 产物在石油醚中的55%乙酸乙酯中洗脱, 得到 (R)- (3-氧代异噁唑烷-4-基) 氨基甲酸叔丁酯 (3g, 14.84mmol, 76%产率), 为灰白色固体。

[0072] LCMS:缓冲剂:10mM乙酸铵pH 5-用HCOOH调节, 流动相A:缓冲剂:ACN (95:5), 流动相B:缓冲剂:ACN (5:95), 方法:%B:0min-5%:1.1min-95%:1.7min-95%柱名:Acquity BEH C18 (2.1x50mm) 1.7u方法:C:\MassLynx, 流速:0.8ml/min, RT-0.54min, M(+1) -147 (叔丁基断裂的质量)。

[0073] 步骤2a: (R)- (2- (4-氟苄基) -3-氧代异噁唑烷-4-基) 氨基甲酸叔丁酯

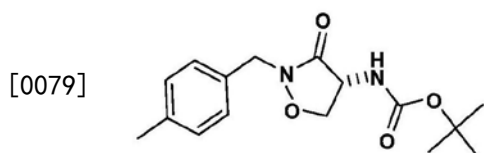


[0075] 在RT向DMF (5mL) 中 (R) - (3-氧代异噁唑烷-4-基) 氨基甲酸叔丁酯 (0.5g, 2.473mmol) 的搅拌溶液加入DIPEA (1.296mL, 7.42mmol) 和1-(溴甲基)-4-氟苯 (0.561g, 2.97mmol)。在RT搅拌反应混合物12h。反应完成由LCMS监测。浓缩反应混合物, 并取用于柱纯化。通过ISCO用12g硅胶柱纯化粗产物, 产物用己烷中的35%乙酸乙酯洗脱, 得到 (R) - (2-(4-氟苄基)-3-氧代异噁唑烷-4-基) 氨基甲酸叔丁酯 (0.35g, 1.128mmol, 45.6%产率), 为灰白色固体。

[0076] LCMS: 缓冲剂: 10mM乙酸铵pH 5-用HCOOH调节, 流动相A: 缓冲剂: ACN (95:5), 流动相B: 缓冲剂: ACN (5:95), 方法: %B: 0min-5%: 1.1min-95%: 1.7min-95%柱名: Acquity BEH C18 (2.1x50mm) 1.7u方法: C:\MassLynx, 流速: 0.8ml/min, RT-0.93min, M(+1)-255 (叔丁基断裂的质量)。

[0077] ^1H NMR: 400MHz, DMSO- d_6 : δ 1.40 (s, 9H), 3.92-4.06 (m, 1H), 4.46-4.51 (m, 2H), 4.60-4.71 (m, 3H), 7.11-7.21 (m, 2H), 7.33-7.36 (m, 2H), 7.51 (d, $J=8.40\text{Hz}$, 1H)。

[0078] 步骤2b: (R) - (2-(4-甲基苄基)-3-氧代异噁唑烷-4-基) 氨基甲酸叔丁酯



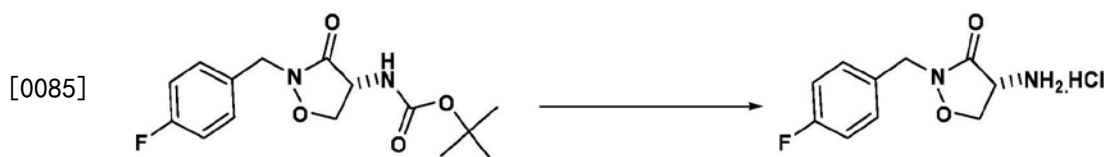
[0080] 在RT向DMF (5mL) 中 (R) - (3-氧代异噁唑烷-4-基) 氨基甲酸叔丁酯 (0.5g, 2.473mmol) 的搅拌溶液加入DIPEA (1.296mL, 7.42mmol) 和1-(溴甲基)-4-甲基苯 (0.549g, 2.97mmol)。在RT搅拌反应混合物12h。反应完成由LCMS监测。浓缩反应混合物去除DMF, 并照原样取粗1.1g用于柱纯化。粗产物通过ISCO用12g硅胶柱纯化, 并用石油醚中的21%乙酸乙酯洗脱, 得到 (R) - (2-(4-甲基苄基)-3-氧代异噁唑烷-4-基) 氨基甲酸叔丁酯 (0.3g, 0.979mmol, 39.6%产率), 为灰白色固体。

[0081] LCMS: 柱-Ascentis Express C18 (50X2.1mm-2.7 μm), 流动相A: 10mM NH_4COOH (在水: ACN (98:02) 中), 流动相B: 10mM NH_4COOH (在水: ACN (02:98) 中), 流速=1ML/MIN, RT-2.156min, M(-1)-305。

[0082] ^1H NMR: 400MHz, DMSO- d_6 : δ 1.40-0.00 (m, 9H), 2.29 (s, 3H), 3.85-3.90 (m, 1H), 4.44-4.49 (m, 1H), 4.55-4.65 (m, 3H), 7.14-7.20 (m, 4H), 7.49 (d, $J=8.80\text{Hz}$, 1H)。

[0083] 手性筛选: 注射体积: 10, 助溶剂: 甲醇中的0.3%DEA, 柱: Chiralpak AD H (250X4.6) mm 5u, 柱温: 23, 总流: 3, CO_2 流速: 1.95, 助溶剂流速: 1.05, 助溶剂%: 35, 背压力: 102, RT-3.58min, 93%纯度。

[0084] 步骤3a: (R) -4-氨基-2-(4-氟苄基) 异噁唑烷-3-酮盐酸盐

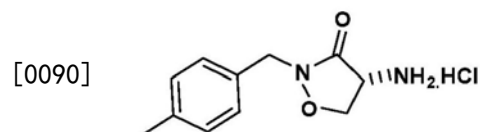


[0086] 在RT向1,4-二氧杂环己烷(10mL)中(R)-(2-(4-氟苄基)-3-氧代异噁唑烷-4-基)氨基甲酸叔丁酯(0.4g,1.289mmol)的搅拌溶液加入1,4-二氧杂环己烷中的4M HCl(2mL,8.00mmol)。在RT搅拌反应混合物2h。通过LCMS大部分为所需产物质量,浓缩反应混合物,得到(R)-4-氨基-2-(4-氟苄基)异噁唑烷-3-酮盐酸盐(0.25g,1.014mmol,79%产率),为灰白色固体。

[0087] LCMS:柱-Ascentis Express C18(50X2.1mm-2.7 μ m),流动相A:10mM NH₄COOH(在水:ACN(98:02)中),流动相B:10mM NH₄COOH(在水:ACN(02:98)中),流速=1ML/MIN,RT-1.681min,M(+1)-211。

[0088] ¹H NMR:400MHz,DMSO-d₆: δ 4.22(t,J=19.60Hz,1H),4.56-4.81(m,4H),7.18-7.24(m,2H),7.36-7.41(m,2H),9.03(s,3H)。

[0089] 步骤3b:(R)-4-氨基-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮盐酸盐

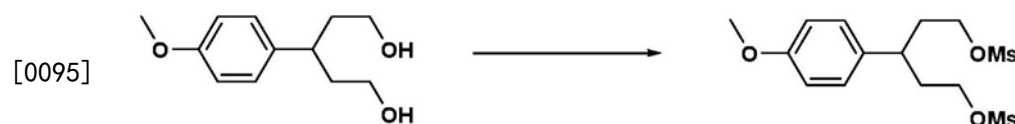


[0091] 在RT向1,4-二氧杂环己烷(5mL)中(R)-(2-(4-甲基苄基)-3-氧代异噁唑烷-4-基)氨基甲酸叔丁酯(0.25g,0.816mmol)的搅拌溶液加入1,4-二氧杂环己烷中的4M HCl(4M)(2mL,8.00mmol)。在RT搅拌反应混合物2h。通过LCMS大部分为所需产物质量。反应完成由LCMS监测。在真空下浓缩反应混合物,得到(R)-4-氨基-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮盐酸盐(0.18g,0.742mmol,91%产率),为灰白色固体。

[0092] LCMS:柱-Ascentis Express C18(50X2.1mm-2.7 μ m),流动相A:10mM NH₄COOH(在水:ACN(98:02)中),流动相B:10mM NH₄COOH(在水:ACN(02:98)中),流速=1ML/MIN,RT-1.755min,M(+1)-207。

[0093] ¹H NMR:400MHz,DMSO-d₆: δ 2.30(s,3H),4.16-4.20(m,1H),4.57-4.65(m,2H),4.69-4.70(m,2H),7.17-7.23(m,5H),8.96(bs,3H)。

[0094] 合成二甲磺酸3-(4-甲氧基苯基)戊烷-1,5-二酯

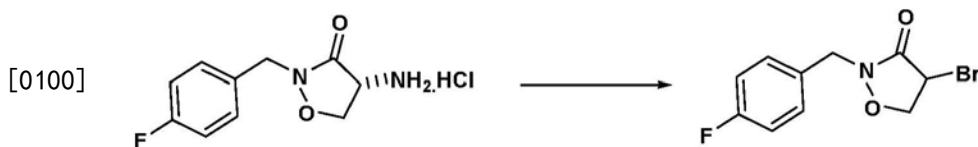


[0096] 在0℃向DCM(10mL)中3-(4-甲氧基苯基)戊烷-1,5-二醇(0.8g,3.80mmol)的搅拌溶液加入吡啶(0.923mL,11.41mmol)。在RT搅拌反应混合物15分钟,并在0℃加入甲磺酰氯(0.652mL,8.37mmol),并在RT搅拌12h。向反应混合物加水100mL,产物用DCM(3*50mL)萃取,合并的有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩,得到棕色粗物质1.5g。通过ISCO用12g硅胶柱纯化粗产物,产物用己烷中的25%乙酸乙酯洗脱,得到二甲磺酸3-(4-甲氧基苯基)戊烷-1,5-二酯(0.1g,0.273mmol,7.17%产率),为无色胶质。

[0097] ¹H NMR:400MHz,DMSO-d₆: δ 1.91-2.10(m,4H),2.78-2.82(m,1H),3.10(s,6H),3.73(s,3H),3.88-3.94(m,2H),4.01-4.06(m,2H),6.90(d,J=8.40Hz,2H),7.18(d,J=8.40Hz,2H)。

[0098] 对于方案2:

[0099] 步骤1a:4-溴-2-(4-氟苄基)异噁唑烷-3-酮

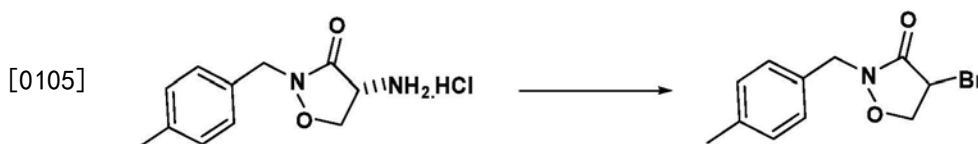


[0101] 向冷却到0℃温度水(7mL)中KBr(1.351g, 11.35mmol)和在水中HBr(3mL, 22.10mmol)的搅拌溶液加入(R)-4-氨基-2-(4-氟苄基)异噁唑烷-3-酮盐酸盐(0.7g, 2.84mmol), 10min后, 在0℃向反应混合物缓慢滴加水(2mL)中的亚硝酸钠(0.431g, 6.24mmol)。在RT搅拌反应混合物1h。向反应混合物加10%碳酸氢钠溶液(10mL), 产物用乙酸乙酯(3*10mL)萃取, 合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩, 得到粗物质0.8g。通过ISCO用12g硅胶柱纯化粗产物, 产物用石油醚中的35%乙酸乙酯洗脱, 得到4-溴-2-(4-氟苄基)异噁唑烷-3-酮(0.3g, 0.876mmol, 30.9%产率), 为无色胶质物质。

[0102] LCMS: 缓冲剂: 10mM乙酸铵pH 5-用HCOOH调节, 流动相A: 缓冲剂: ACN(95:5), 流动相B: 缓冲剂: ACN(5:95), 方法: %B: 0min-5%: 1.1min-95%: 1.7min-95%柱名: Acquity BEH C18(2.1x50mm) 1.7u方法: C:\MassLynx, 流速: 0.8ml/min, RT-0.84min, M(+1)-274。

[0103] ¹H NMR: 400MHz, DMSO-d₆: δ4.44-4.47(m, 1H), 4.63-4.68(m, 1H), 4.73(d, J=4.40Hz, 2H), 5.08-5.10(m, 1H), 7.18-7.23(m, 2H), 7.34-7.38(m, 2H)。

[0104] 步骤1b: 4-溴-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮

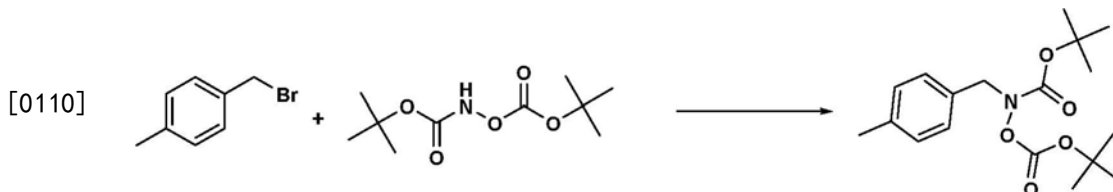


[0106] 向冷却到0℃温度水(10mL)中KBr(1.961g, 16.48mmol)和HBr(4mL, 73.7mmol)的搅拌溶液加入(R)-4-氨基-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮盐酸盐(1g, 4.12mmol), 10min后, 在0℃向反应混合物缓慢滴加水(2mL)中的亚硝酸钠(0.625g, 9.06mmol)。在RT搅拌反应混合物1h。反应完成由LCMS监测。向反应混合物加10%碳酸氢钠溶液(10mL), 产物用乙酸乙酯(3*10mL)萃取, 合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩, 得到粗物质1.1g。通过ISCO用12g硅胶柱纯化粗化合物, 产物用石油醚中的15%乙酸乙酯洗脱, 得到4-溴-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮(0.5g, 1.851mmol, 44.9%产率), 为无色胶质物质。

[0107] ¹H NMR: 400MHz, DMSO-d₆: δ2.04(s, 3H), 4.42-4.46(m, 2H), 4.60-4.68(m, 3H), 5.05-5.10(m, 2H), 7.18(d, J=2.40Hz, 4H)。

[0108] 对于方案3:

[0109] 步骤1a: 合成(叔丁氧基羰基)氧基(4-甲基苄基)氨基甲酸叔丁酯

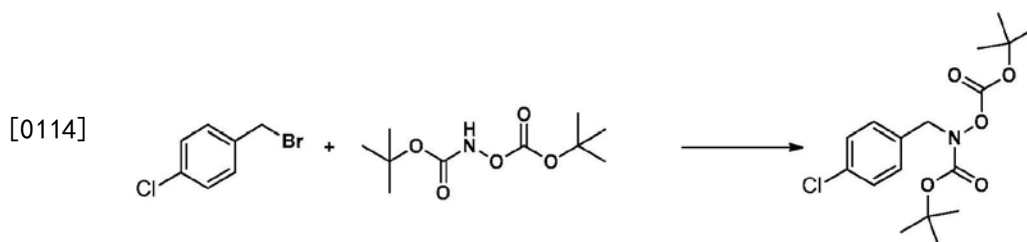


[0111] 向DCM(5mL)中(叔丁氧基羰基)氧基氨基甲酸叔丁酯(0.347g, 1.486mmol)和1-(溴甲基)-4-甲基苯(0.25g, 1.351mmol)的溶液加入NaOH(1.486mL, 1.486mmol), 随后加入溴化四丁铵(0.435g, 1.351mmol), 并在RT搅拌过夜。反应完成由TLC监测。向反应混合物加水(50mL), 用DCM(2x 25mL)萃取, 合并的有机层经硫酸钠干燥, 在减压下浓缩, 得到(叔丁氧基

羰基) 氧基 (4-甲基苄基) 氨基甲酸叔丁酯 (0.4g, 1.162mmol, 86% 产率), 为无色液体。

[0112] ^1H NMR: 400MHz, DMSO- d_6 : δ 1.42 (s, 18H), 2.29 (s, 3H), 4.66 (s, 2H), 7.16 (s, 4H)。

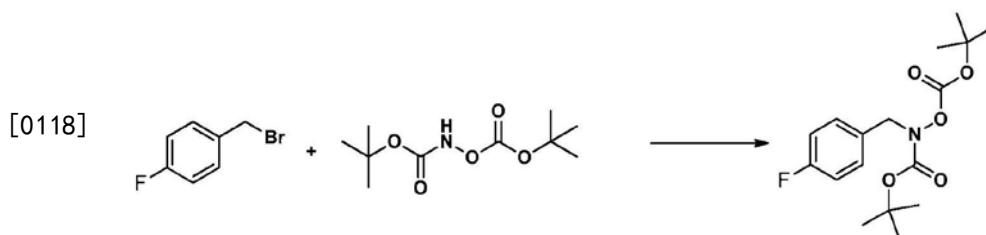
[0113] 步骤1b: 合成 (叔丁氧基羰基) 氧基 (4-氯苄基) 氨基甲酸叔丁酯



[0115] 向DCM (25mL) 中 (叔丁氧基羰基) 氧基氨基甲酸叔丁酯 (2.497g, 10.71mmol) 和1-(溴甲基)-4-氯苯 (2g, 9.73mmol) 的溶液加入NaOH (10.71mL, 10.71mmol), 随后加入溴化四丁铵 (3.14g, 9.73mmol), 并在RT搅拌过夜。向反应混合物加水 (100mL), 产物用乙酸乙酯 (3*100mL) 萃取, 合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩, 得到粗物质5.4g。通过ISCO用40g硅胶柱纯化粗产物, 产物用石油醚中的10%乙酸乙酯洗脱, 得到 (叔丁氧基羰基) 氧基 (4-氯苄基) 氨基甲酸叔丁酯 (3.1g, 8.66mmol, 89% 产率), 为无色胶质物质。

[0116] ^1H NMR: 300MHz, DMSO- d_6 : δ 1.42 (s, 18H), 4.69 (s, 2H), 7.16-7.22 (m, 2H), 7.31-7.34 (m, 2H)。

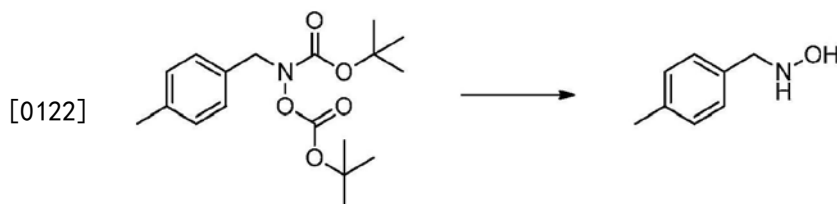
[0117] 步骤1c: 合成 (叔丁氧基羰基) 氧基 (4-氟苄基) 氨基甲酸叔丁酯



[0119] 向DCM (25mL) 中 (叔丁氧基羰基) 氧基氨基甲酸叔丁酯 (2.71g, 11.64mmol) 和1-(溴甲基)-4-氟苯 (2g, 10.58mmol) 的溶液加入NaOH (11.64mL, 11.64mmol), 随后加入溴化四丁铵 (3.41g, 10.58mmol), 并在RT搅拌过夜。向反应混合物加水 (100mL), 产物用乙酸乙酯 (3*100mL) 萃取, 合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩, 得到粗物质5.5g。通过ISCO用40g硅胶柱纯化粗产物, 产物用石油醚中的10%乙酸乙酯洗脱, 得到 (叔丁氧基羰基) 氧基 (4-氟苄基) 氨基甲酸叔丁酯 (3.1g, 8.99mmol, 85% 产率), 为无色胶质物质。

[0120] ^1H NMR: 300MHz, DMSO- d_6 : δ 1.42 (s, 18H), 4.69 (s, 2H), 7.16-7.22 (m, 2H), 7.31-7.34 (m, 2H)。

[0121] 步骤2a: 合成N-(4-甲基苄基) 羟胺盐酸盐

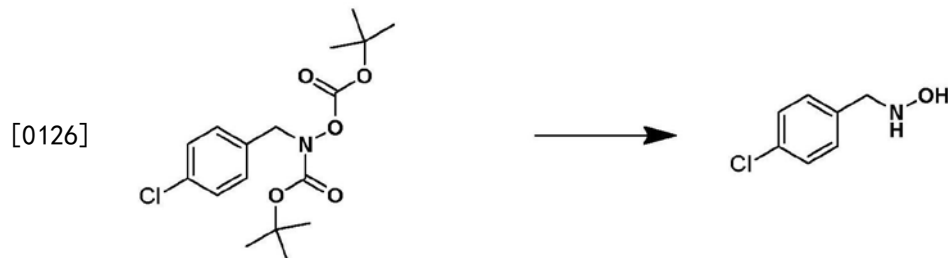


[0123] 向1,4-二氧杂环己烷 (3mL) 中 (叔丁氧基羰基) 氧基 (4-甲基苄基) 氨基甲酸叔丁酯 (0.25g, 0.741mmol) 的溶液加入二氧杂环己烷中的4M HCl (3mL, 12.00mmol), 并在RT搅拌过

夜。反应完成由TLC监测。在减压下浓缩反应混合物。然后用乙酸乙酯洗涤,过滤,并干燥,得到N-(4-甲基苄基)羟胺盐酸盐(0.13g,0.864mmol,97%产率),为灰白色固体。

[0124] ^1H NMR:400MHz,DMSO- d_6 : δ 2.32 (s,3H),4.25 (s,2H),7.22 (d,J=8.00Hz,2H),7.39 (d,J=8.00Hz,2H),10.91 (s,1H),11.62 (s,1H)。

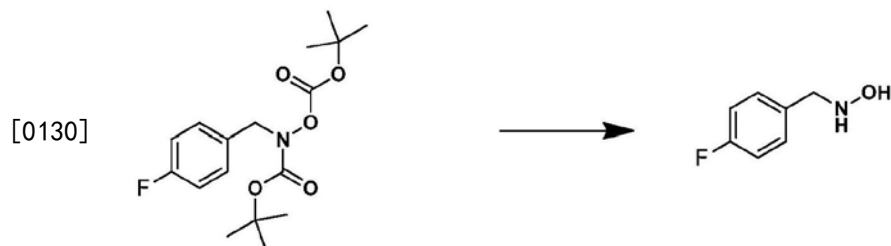
[0125] 步骤2b:合成N-(4-氯苄基)羟胺盐酸盐



[0127] 在RT向1,4-二氧杂环己烷(30mL)中(叔丁氧基羰基)氧基(4-氯苄基)氨基甲酸叔丁酯(4g,11.18mmol)的搅拌溶液加入1,4-二氧杂环己烷中的4M HCl(15mL,11.18mmol)。在RT搅拌反应混合物18h。浓缩反应混合物,得到N-(4-氯苄基)羟胺盐酸盐(1.8g,9.28mmol,83%产率),为灰白色固体。

[0128] ^1H NMR:400MHz,DMSO- d_6 : δ 4.33 (d,J=6.40Hz,2H),7.49-7.52 (m,2H),7.54-7.57 (m,2H),10.97 (s,1H),11.80 (s,2H)。

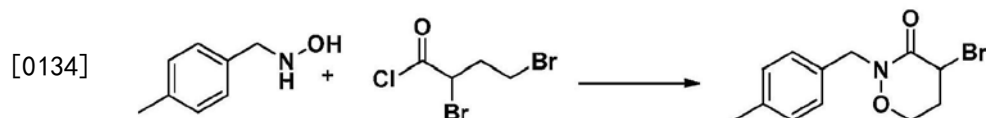
[0129] 步骤2c:合成N-(4-氟苄基)羟胺盐酸盐



[0131] 在RT向1,4-二氧杂环己烷(30mL)中(叔丁氧基羰基)氧基(4-氟苄基)氨基甲酸叔丁酯(4g,11.72mmol)的搅拌溶液加入1,4-二氧杂环己烷中的4M HCl(15mL,11.72mmol)。在RT搅拌反应混合物12h。浓缩反应混合物,得到N-(4-氟苄基)羟胺盐酸盐(1.5g,8.45mmol,72.1%产率),为灰白色固体。

[0132] ^1H NMR:400MHz,DMSO- d_6 : δ 4.31 (s,2H),7.23-7.29 (m,2H),7.54-7.58 (m,2H),10.92 (s,1H),11.67 (s,2H)。

[0133] 步骤3a:合成4-溴-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮



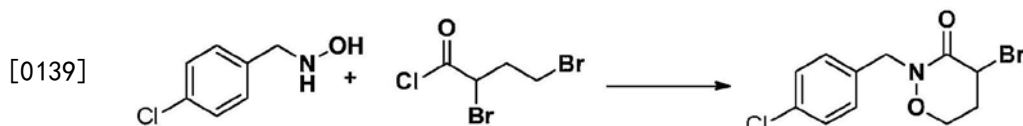
[0135] 向冷却到5℃DCM(5mL)中N-(4-甲基苄基)羟胺盐酸盐(0.15g,0.864mmol)和水(1mL)中NaOH(0.038g,0.950mmol)的溶液滴加2,4-二溴丁酰氯(0.126mL,0.950mmol),并在5℃加入另外50%NaOH(0.038g,0.950mmol)水溶液。将反应混合物在5℃搅拌2小时。然后,在5℃再次加入50%NaOH(0.038g,0.950mmol)水溶液,并在RT搅拌反应混合物16h。反应完成由LCMS监测。反应物质用水(25mL)稀释,产物用DCM(2x 25mL)萃取,合并的有机层经硫酸

钠干燥,过滤,并在减压下浓缩,得到粗物质0.2g。粗物质通过ISCO (15%EA:己烷,12g硅胶柱)纯化,得到4-溴-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(0.07g,0.224mmol,26.0%产率),为无色胶质物质。

[0136] LCMS:柱-Ascentis Express C18 (50X2.1mm-2.7 μ m),流动相A:2%ACN-98%H₂O-10mM NH₄COOH,流动相B:98%ACN-2%H₂O-10mM NH₄COOH,流速=1ML/MIN,时间:%B::0.0:0.0::1.7:100.0::3.4:100.0,RT:1.89min;(M+H):284。

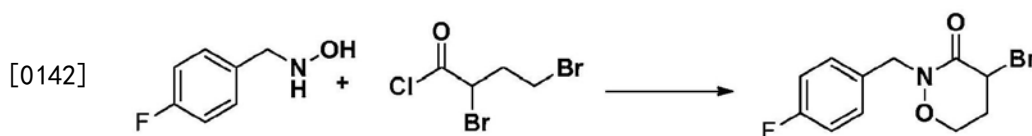
[0137] ¹H NMR:300MHz,DMSO-d₆: δ 2.19-2.26(m,1H),2.29(s,3H),2.65-2.72(m,1H),3.98-4.14(m,1H),4.72(s,2H),4.91-4.95(m,1H),7.14-7.21(m,4H)。

[0138] 步骤3b:合成4-溴-2-(4-氯苄基)吗啉-3-酮



[0140] LCMS:柱-Ascentis Express C18 (50X2.1mm-2.7 μ m),流动相A:10mM NH₄COOH(在水:ACN(98:02)中),流动相B:10mM NH₄COOH(在水:ACN(02:98)中),流速=1ML/MIN,时间:%B::0.0:0.0::1.7:100.0::3.0:100.0::3.2:0.0,RT-2.148min,(M+1)-304。

[0141] 步骤3c:合成4-溴-2-(4-氟苄基)吗啉-3-酮

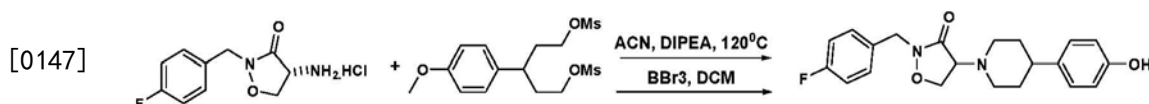


[0143] LCMS:柱-Ascentis Express C18 (50X2.1mm-2.7 μ m),流动相A:10mM NH₄COOH

[0144] 流动相B:CAN,流速=1ML/MIN,时间:%B::0.0:50::1.7:100.0::4.0:100.0,

[0145] RT-2.123min,(M+1)-288。

[0146] 实施例1(P1&P2)



[0148] 在RT向ACN(2mL)中(R)-4-氨基-2-(4-氟苄基)异噁唑烷-3-酮(0.092g,0.437mmol)的搅拌溶液加入DIPEA(0.381mL,2.183mmol)和二甲磺酸3-(4-甲氧基苄基)戊烷-1,5-二酯(0.16g,0.437mmol)。在压力管中在90℃搅拌反应混合物12h。通过LCMS大部分为所需产物质量。浓缩反应混合物,向残余物加水(50ml),并用乙酸乙酯(3*25mL)萃取产物。合并的有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩,得到(R)-2-(4-氟苄基)-4-(4-(4-甲氧基苄基)哌啶-1-基)异噁唑烷-3-酮(0.15g,0.125mmol,28.6%产率),LCMS纯度32%,为棕色胶质物质。取此粗产物用于下一步骤,无需进一步纯化。

[0149] LCMS:缓冲剂:10mM乙酸铵pH 5-用HCOOH调节,流动相A:缓冲剂:ACN(95:5),流动相B:缓冲剂:ACN(5:95),方法:%B:0min-5%:1.1min-95%:1.7min-95%柱名:Acquity BEH C18 (2.1x50mm) 1.7 μ 方法:C:\MassLynx,流速:0.8ml/min,RT-1.09min,M(+1)-385。

[0150] 在-78℃温度向DCM(10mL)中2-(4-氟苄基)-4-(4-(4-甲氧基苄基)哌啶-1-基)异噁唑烷-3-酮(0.15g,0.125mmol)的搅拌溶液加入BBR3(2mL,21.16mmol)。在-78℃搅拌反应混合物30分钟。通过LCMS大部分为所需产物质量。用10%NaHCO₃50ml猝灭反应混合物,产物

用DCM (3*25mL) 萃取。合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩, 得到粗产物0.16g。粗产物通过HPLC纯化, 得到12- (4-氟苄基) -4- (4- (4-羟基苯基) 哌啶-1-基) 异噁唑烷-3-酮 (22mg, 0.059mmol, 47.6% 产率), 为灰白色固体。

[0151] 实施例1的手性HPLC显示两个峰, 通过手性HPLC/SFC分离外消旋混合物, 得到P1和P2。

[0152] 实施例1 (外消旋混合物): LCMS 1: A: 95% 水: 5% 乙腈; 10mM NH₄OAc, B: 5% 水: 95% 乙腈; 10mM NH₄OAc, 流速: 1.1ml/min, 温度: 50℃, 柱: Ascentis Express C18 (50x2.1) mm, 2.7μm, 时间 (min): 0---3, %B: 0---100, rt-1.495min, M(+1) -371。

[0153] 实施例1 (外消旋混合物): LCMS 2: A: 95% 水: 5% 乙腈; 0.1% TFA, B: 5% 水: 95% 乙腈; 0.1% TFA, 流速: 1.1ml/min, 温度: 50℃, 柱: Ascentis Express C18 (50x2.1) mm, 2.7μm, 时间 (min): 0---3, %B: 0---100. RT-0.951min, M(+1) -371。

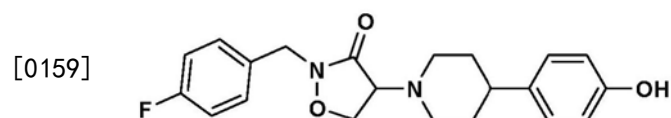
[0154] 实施例1 (外消旋混合物): ¹H NMR: 400MHz, MeOD: δ1.90-1.98 (m, 2H), 2.07-2.11 (m, 2H), 2.76-2.80 (m, 1H), 3.11-3.17 (m, 1H), 3.42-3.51 (m, 2H), 3.90-3.92 (m, 1H), 4.59-4.73 (m, 3H), 4.80-4.86 (m, 2H), 6.76-6.78 (m, 2H), 7.08-7.15 (m, 4H), 7.40-7.44 (m, 2H)。

[0155] 手性HPLC: 注射体积: 10, 助溶剂: 甲醇中的0.3% DEA, 柱: ChiralpakAD H (250X 4.6) mm 5u, 柱温: 22.9, 总流: 3, CO₂流速: 1.65, 助溶剂流速: 1.35, 助溶剂%: 45, 背压力: 101, 分离两个非对映异构体峰在RT1: 3.03min, 36.4%, 和RT2-8.21min, 63.5%。

[0156] 制备SFC条件:

[0157] 柱/尺寸: Chiralpak AD-H (250X 21) mm, 5u, %CO₂: 55%, %助溶剂: 45% (0.3% DEA, 在甲醇中), 总流速: 60.0g/min, 背压力: 100bar, 温度: 25℃, UV: 220nm, 溶解度: 甲醇 600.0ml, 负载能力/注射: 6.0mg/mL, 总注射数: 5, 纯化总时间1.0hrs。

[0158] 对于P-1 (纯手性):

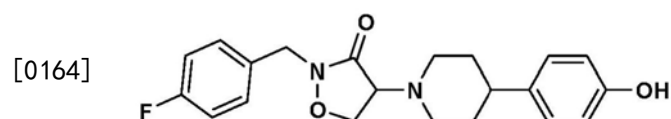


[0160] LCMS: 柱-XBridge BEH C18 (50X4.6mm-5μm), 流动相A: 2% ACN-98% H₂O-10mM NH₄COOH, 流动相B: 98% ACN-2% H₂O-10mM NH₄COOH, 流速=0.8ML/MIN, 时间: %B::0.0:10::7:100.0::15:100.0, RT-1.979min, M(+1) -371。

[0161] ¹H NMR: 400MHz, DMSO-d₆: δ1.49-1.56 (m, 2H), 1.68 (d, J=12.40Hz, 2H), 2.27-2.35 (m, 2H), 2.72-2.81 (m, 2H), 3.08 (d, J=10.80Hz, 1H), 3.81-3.85 (m, 1H), 4.20-4.24 (m, 1H), 4.35 (t, J=17.60Hz, 1H), 4.65 (s, 2H), 6.66 (t, J=8.80Hz, 2H), 7.00 (d, J=8.40Hz, 2H), 7.16-7.20 (m, 2H), 7.32-7.36 (m, 2H), 9.18 (bs, 1H)。

[0162] 手性SFC: 注射体积: 10, 助溶剂: 甲醇中的0.3% DEA, 柱: ChiralpakAD H (250X 4.6) mm 5u, 柱温: 23.9, 总流: 3, CO₂流速: 1.65, 助溶剂流速: 1:35, 助溶剂%: 45, 背压力: 100, RT-2.99min。

[0163] 对于P-2 (纯手性):

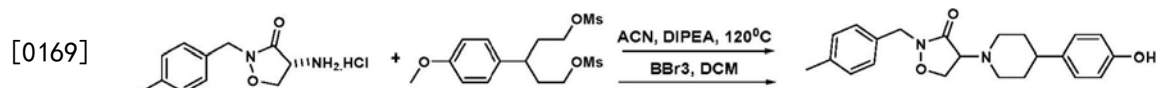


[0165] LCMS:A:95%水:5%乙腈;10mM NH₄OAc,B:5%水:95%乙腈;10mM NH₄OAc,流速:1.1ml/min,温度:50℃,柱:Ascentis Express C18 (50x2.1)mm,2.7μm,时间(min):0---3,%B:0---100RT-1.450min,M(+1)-371。

[0166] ¹H NMR:400MHz,MeOD:δ1.68-1.81 (m,4H),2.43 (d,J=26.40Hz,2H),2.84-2.92 (m,2H),3.20-3.26 (m,1H),3.89-3.92 (m,1H),4.32-4.36 (m,1H),4.42-4.47 (m,1H),4.73 (d,J=5.60Hz,2H),6.71-6.73 (m,2H),7.04-7.12 (m,4H),7.37-7.41 (m,2H),9.18 (s,1H)。

[0167] 手性SFC:注射体积:10,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:ChiralpakAD H (250X4.6)mm 5u,柱温:23.9,总流:3,C02流速:1.65,助溶剂流速:1:35,助溶剂%:45,背压力:100,RT-7.88min。

[0168] 实施例2 (P1&P2)



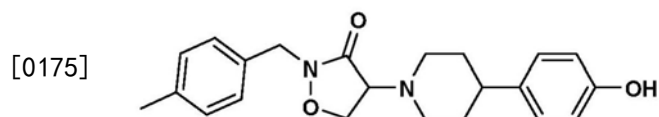
[0170] 在RT向ACN (3mL) 中二甲磺酸3-(4-甲氧基苄基)戊烷-1,5-二酯 (0.25g, 0.682mmol) 的搅拌溶液加入(R)-4-氨基-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮盐酸盐 (0.166g, 0.682mmol) 和DIPEA (0.357mL, 2.047mmol)。在压力管中在120℃搅拌反应混合物18h。通过LCMS 14%为预期产品质量。浓缩反应混合物去除ACN,加水50ml,产物用乙酸乙酯 (3*25mL) 萃取,合并的有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩,得到粗物质0.4g。取此粗产物用于下一步骤,无需进一步纯化。

[0171] LCMS:缓冲剂:10mM乙酸铵pH 5-用HCOOH调节,流动相A:缓冲剂:ACN (95:5),流动相B:缓冲剂:ACN (5:95),方法:%B:0min-5%:1.1min-95%:1.7min-95%柱名:Acquity BEH C18 (2.1x50mm) 1.7u方法:C:\MassLynx,流速:0.8ml/min,RT-1.10min,M(+1)-381。

[0172] 在-78℃温度向DCM (10mL) 中4-(4-(4-甲氧基苄基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮 (0.2g, 0.526mmol) 的搅拌溶液加入BBR3 (2mL, 21.16mmol)。在-78℃搅拌反应混合物30分钟。通过LCMS19%为所需产品质量。反应混合物用10%NaHCO₃50ml猝灭反应,产物用DCM 3*25ml萃取,合并的有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩,得到粗物质0.16g。粗产物通过HPLC纯化,得到24-(4-(4-羟基苄基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮 (42mg, 0.115mmol, 21.8%),为浅黄色固体。实施例2的手性HPLC显示两个峰,通过手性HPLC/SFC分离外消旋混合物,得到P1和P2。

[0173] 实施例2 (外消旋混合物):¹H NMR:400MHz,MeOD:δ1.68-1.80 (m,4H),2.34 (s,3H),2.39-2.48 (m,2H),2.81-2.95 (m,2H),3.74-3.20 (m,1H),3.87-3.91 (m,1H),4.31-4.35 (m,1H),4.40-4.45 (m,1H),4.64-4.74 (m,2H),6.71-6.73 (m,2H),7.17-7.25 (m,4H)。

[0174] 对于P1 (纯手性):



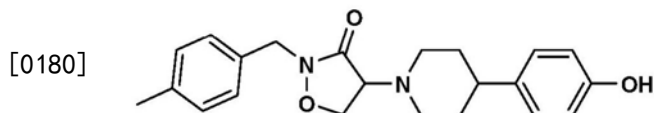
[0176] LCMS:A:95%水:5%乙腈;10mM NH₄OAc,B:5%水:95%乙腈;10mM NH₄OAc,流速:1.1ml/min,温度:50℃,柱:Ascentis Express C18 (50x2.1)mm,2.7μm,时间(min):0---3,%B:0---100,RT-1.563min,M(+1)-367。

[0177] ¹H NMR:400MHz,MeOD:δ1.68-1.80 (m,4H),2.34 (s,3H),2.39-2.45 (m,2H),2.84-

2.92 (m, 2H), 3.17 (t, J=26.00Hz, 1H), 3.87-3.91 (m, 1H), 4.31-4.45 (m, 2H), 4.58-4.74 (m, 2H), 6.71-6.73 (m, 2H), 7.04-7.06 (m, 2H), 7.17-7.25 (m, 4H)。

[0178] 手性SFC:注射体积:10,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:ChiralpakAD H (250X 4.6) mm 5 μ ,柱温:22.9,总流:4,C02流速:2.4,助溶剂流速:1.6,助溶剂%:40,背压力:100, RT-3.11min。

[0179] 对于P2 (纯手性):

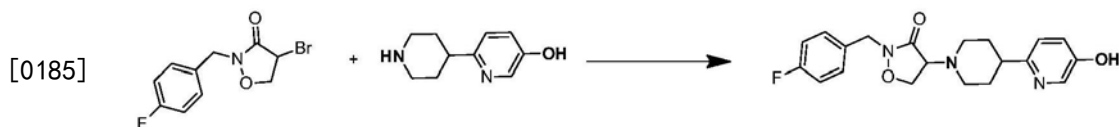


[0181] LCMS:A:95%水:5%乙腈;10mM NH4OAC,B:5%水:95%乙腈;10mM NH4OAC,流速:1.1ml/min,温度:50℃,柱:Ascentis Express C18 (50x2.1) mm,2.7 μ m,时间 (min):0---3,%B:0---100,RT-1.566min,M(+1) -367。

[0182] ¹H NMR:400MHz,MeOD: δ 1.68-1.80 (m, 4H), 2.34 (s, 3H), 2.40-2.45 (m, 2H), 2.84-2.92 (m, 2H), 3.18-3.20 (m, 1H), 3.87-3.91 (m, 1H), 4.31-4.45 (m, 2H), 4.64-4.86 (m, 2H), 6.71-6.73 (m, 2H), 7.04-7.06 (m, 2H), 7.17-7.25 (m, 4H)。

[0183] 手性SFC:注射体积:10,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:ChiralpakAD H (250X 4.6) mm 5 μ ,柱温:22.9,总流:4,C02流速:2.4,助溶剂流速:1.6,助溶剂%:40,背压力:99, RT-6.85min。

[0184] 实施例3 (外消旋混合物):



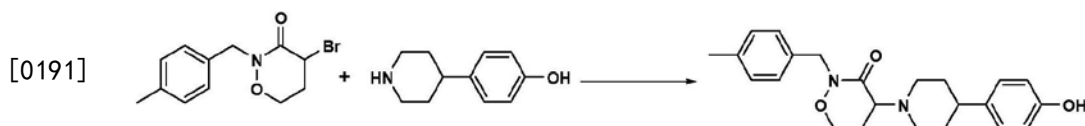
[0186] 在RT向DMF (2mL) 中4-溴-2-(4-氟苄基)异噁唑烷-3-酮 (0.031g, 0.112mmol) 的搅拌溶液加入DIPEA (0.059mL, 0.337mmol) 和6-(哌啶-4-基)吡啶-3-酚 (0.02g, 0.112mmol)。在RT搅拌反应混合物18h。通过LCMS 32%为所需产物质量。通过HPLC纯化反应混合物,得到2-(4-氟苄基)-4-(4-(5-羟基吡啶-2-基)哌啶-1-基)异噁唑烷-3-酮 (2.2mg, 5.86 μ mol, 5.23%产率),为浅黄色固体。

[0187] LCMS (乙酸铵法):A:95%水:5%乙腈;10mMNH4OAC,B:5%水:95%乙腈;10mMNH4OAC,流速:1.1ml/min,温度:50℃,柱:Ascentis Express C18 (50x2.1) mm,2.7 μ m,时间 (min):0---3,%B:0---100,RT-1.159min,M(+1) -372。

[0188] LCMS (TFA法):A:95%水:5%乙腈;0.1%TFA,B:5%水:95%乙腈;0.1%TFA,流速:1.1ml/min,温度:50℃,柱:Ascentis Express C18 (50x2.1) mm,2.7 μ m,时间 (min):0---3,%B:0---100,RT-0.675min,M(+1) -372。

[0189] ¹H NMR:400MHz,DMSO-d₆: δ 1.61-1.65 (m, 2H), 1.74-1.77 (m, 2H), 2.30-2.33 (m, 1H), 2.51-2.55 (m, 1H), 2.73-2.74 (m, 1H), 2.79-2.82 (m, 1H), 3.16-3.18 (m, 1H), 3.81-3.85 (m, 1H), 4.20-4.24 (m, 1H), 4.35-4.37 (m, 1H), 4.65 (s, 2H), 7.07-7.07 (m, 2H), 7.16-7.20 (m, 2H), 7.32-7.36 (m, 2H), 8.03 (d, J=3.60Hz, 1H), 9.64 (s, 1H)。

[0190] 实施例4 (外消旋混合物):

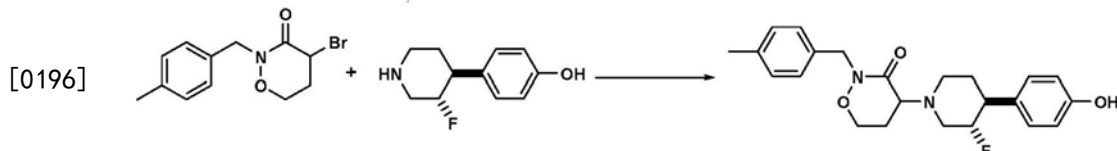


[0192] 向乙腈(3mL)中4-(哌啶-4-基)苯酚盐酸盐(0.026g,0.123mmol)的溶液加入DIPEA(0.065mL,0.370mmol),随后加入4-溴-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(0.035g,0.123mmol)。然后在80℃搅拌混合物16h。使混合物冷却至RT,然后浓缩。通过制备LC/MS用以下条件纯化粗物质:Waters Xbridge C18,19x150mm,5μm;Guard Column:Waters XBridge C18,19x10mm,5μm;流动相A:5:95乙腈:水,具有0.1%TFA;流动相B:95:5乙腈:水,具有0.1%TFA;梯度10-50%B经25分钟,随后在50%B保持10分钟,在100%B保持5分钟;流速:15ml/min。合并包含所需产物的流分,用Genevac离心蒸发器干燥,得到4-(4-(4-羟基苄基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(6mg,0.015mmol,12.55%产率),为浅黄色固体。通过手性HPLC/SFC分离外消旋混合物,得到P1和P2。

[0193] LCMS:A:95%水:5%乙腈;10mMNH4OAc,B:5%水:95%乙腈;10mMNH4OAc,流速:1.1ml/min,温度:50℃,柱:Ascentis Express C18(50x2.1)mm,2.7μm,时间(min):0---3,%B:0---100,RT:1.689min,(M+1)=381。

[0194] ¹H NMR:400MHz,DMSO-d₆:δ1.93-1.99(m,4H),2.21(bs,1H),2.30(s,3H),2.73-2.75(m,1H),3.22-3.25(m,3H),3.49-3.59(m,2H),4.03(bs,1H),4.24(bs,1H),4.60(bs,1H),4.72(d,J=15.20Hz,1H),4.81(d,J=15.60Hz,1H),6.73(d,J=8.00Hz,2H),7.04(d,J=8.40Hz,2H),7.17-7.23(m,4H),9.26(s,1H)。

[0195] 实施例5(P1&P2):



[0197] 向乙腈(3mL)中4-((3S,4S)-3-氟哌啶-4-基)苯酚盐酸盐(0.05g,0.216mmol)和DIPEA(0.113mL,0.647mmol)的溶液加入4-溴-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(0.092g,0.324mmol),并加热到80℃过夜。反应完成由LCMS监测。在减压下浓缩反应混合物。粗物质通过SCP纯化,得到实施例64-((3S,4S)-3-氟-4-(4-羟基苄基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(1.4mg,3.44μmol,1.596%产率),其余化合物通过SFC分离,得到P14-((3S,4S)-3-氟-4-(4-羟基苄基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(5.5mg,0.013mmol,6.08%产率)和P24-((3S,4S)-3-氟-4-(4-羟基苄基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(2.7mg,6.57μmol,3.05%产率)。通过手性HPLC/SFC分离非对映异构体混合物,得到P1和P2。

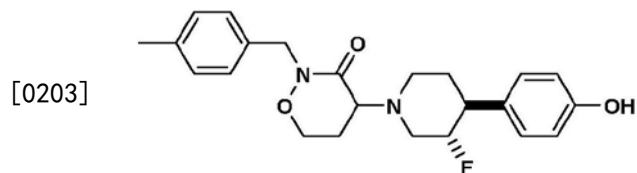
[0198] SFC纯化方法:

[0199] 分析SFC条件:柱/尺寸:Chiralpak OJ-H(250X 4.6)mm,5u,%CO₂:70%,%助溶剂:30%(0.25%DEA,在甲醇中),总流速:3.0g/min,背压力:100bar,温度:25℃,UV:220。

[0200] 制备SFC条件:柱/尺寸:Chiralpak OJ-H(250X 21)mm,5u,%CO₂:70%,%助溶剂:30%(0.25%DEA,在甲醇中),总流速:60.0g/min,背压力:100bar,温度:25℃,UV:220,峰数:保留时间:峰1:6.80::峰2:7.70

[0201] 溶解度:甲醇5ml,负载能力/注射:1.80mg/mL,总注射数:7,纯化总时间0.3hrs,仪器细节:制造/型号:Thar SFC-80.

[0202] 对于P1 (纯手性):

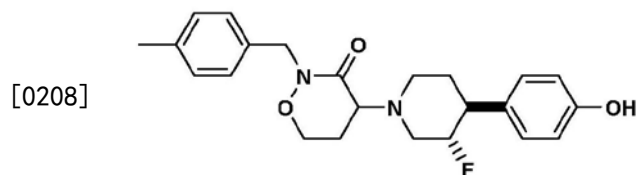


[0204] LCMS:柱-Ascentis Express C18 (50X2.1mm-2.7 μ m),流动相A:10mM NH₄COOH(在水:ACN (98:02) 中),流动相B:10mM NH₄COOH(在水:ACN (02:98) 中),流速=1ML/MIN,时间:%B::0.0:0.0::1.7:100.0::3.0:100.0::3.2:0.0,RT-2.699min, (M+1) -399。

[0205] 手性纯度:注射体积:10,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:Chiralcel OJ-H (4.6X250) mm,5 μ ,柱温:23.5,总流:3,CO₂流速:2.1,助溶剂流速:0.9,助溶剂%:30,背压力:100,RT-6.66min。

[0206] H-NMR:400MHz,MeOD: δ 1.80-1.83 (m, 2H) , 2.08-2.11 (m, 1H) , 2.32 (s, 3H) , 2.33-2.38 (m, 1H) , 2.57-2.70 (m, 3H) , 2.90-2.93 (m, 1H) , 3.35-3.36 (m, 1H) , 3.73 (t, J=10.00Hz, 1H) , 3.97-4.07 (m, 2H) , 4.53-4.70 (m, 2H) , 4.77 (d, J=14.80Hz, 1H) , 6.74 (dd, J=8.80, Hz, 2H) , 7.09 (dd, J=8.80, Hz, 2H) , 7.15 (d, J=8.00Hz, 2H) , 7.23 (d, J=8.00Hz, 2H) 。

[0207] 对于P2 (纯手性):

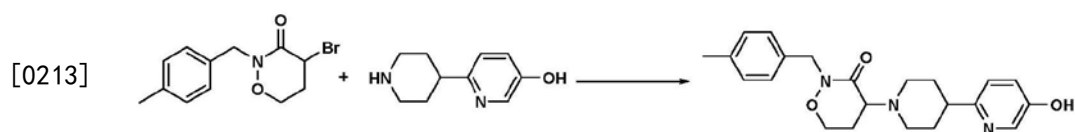


[0209] LCMS:柱-Ascentis Express C18 (50X2.1mm-2.7 μ m),流动相A:10mM NH₄COOH(在水:ACN (98:02) 中),流动相B:10mM NH₄COOH(在水:ACN (02:98) 中),流速=1ML/MIN,时间:%B::0.0:0.0::1.7:100.0::3.0:100.0::3.2:0.0,RT-2.715min, (M+1) -399。

[0210] 手性纯度:注射体积:10,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:Chiralcel OJ-H (4.6X250) mm,5 μ ,柱温:23.5,总流:3,CO₂流速:2.1,助溶剂流速:0.9,助溶剂%:30,背压力:100,RT-7.77min。

[0211] H-NMR:400MHz,MeOD: δ 1.78-1.82 (m, 2H) , 2.08-2.12 (m, 1H) , 2.32 (s, 3H) , 2.33-2.37 (m, 1H) , 2.58-2.71 (m, 3H) , 2.91-2.94 (m, 1H) , 3.33-3.35 (m, 1H) , 3.70-3.75 (m, 1H) , 3.97-4.07 (m, 2H) , 3.52-3.64 (m, 1H) , 4.67 (d, J=14.80Hz, 1H) , 4.76 (d, J=14.80Hz, 1H) , 6.74 (dd, J=8.40, Hz, 2H) , 7.09 (dd, J=8.40, Hz, 2H) , 7.15 (d, J=8.00Hz, 2H) , 7.22 (d, J=8.00Hz, 2H) 。

[0212] 实施例6 (P1和P2)



[0214] 向乙腈 (3mL) 中6-(哌啶-4-基)吡啶-3-酚盐酸盐 (0.05g, 0.233mmol) 的溶液加入DIPEA (0.122mL, 0.699mmol), 随后加入4-溴-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮 (0.132g,

0.466mmol)。然后在80℃搅拌混合物16h。使混合物冷却至RT,然后浓缩,得到粗物质0.2g。通过SCP纯化粗物质。通过制备LC/MS用以下条件纯化粗物质:Waters Xbridge C18, 19x150mm, 5μm; Guard Column: Waters XBridge C18, 19x10mm, 5μm; 流动相A: 5:95乙腈:水, 具有10mM NH₄OAc; 流动相B: 95:5乙腈:水, 具有10mM NH₄OAc; 梯度10-40%B经25分钟, 随后在40%B保持10分钟, 在100%B保持5分钟; 流速: 15ml/min。合并包含所需产物的流分, 用Genevac离心蒸发器干燥, 得到实施例74- (4- (5-羟基吡啶-2-基) 哌啶-1-基) -2- (4-甲基苄基) -1,2-噁嗪烷-3-酮 (1.4mg, 3.67μmol, 1.576%产率)。通过手性HPLC/SFC分离外消旋混合物, 得到P1和P2。

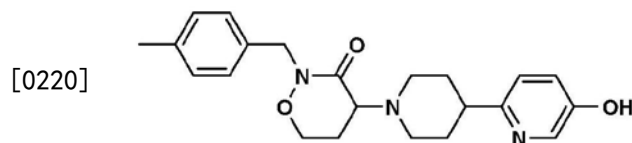
[0215] 通过SFC分离外消旋化合物, 得到P14- (4- (5-羟基吡啶-2-基) 哌啶-1-基) -2- (4-甲基苄基) -1,2-噁嗪烷-3-酮 (8.4mg, 0.022mmol, 9.36%产率), 和P24- (4- (5-羟基吡啶-2-基) 哌啶-1-基) -2- (4-甲基苄基) -1,2-噁嗪烷-3-酮 (8mg, 0.021mmol, 8.91%产率)。

[0216] SFC条件:

[0217] 分析SFC条件: 柱/尺寸: Chiralcel OD-H (250X 4.6) mm, 5u, %CO₂: 75%, %助溶剂: 25% (0.25%DEA, 在甲醇中), 总流速: 3.0g/min, 背压力: 100bar, 温度: 25℃, UV: 219。

[0218] 制备SFC条件: 柱/尺寸: Chiralcel OD-H (250X 21) mm, 5u, %CO₂: 75%, %助溶剂: 25% (0.25%DEA, 在甲醇中), 总流速: 60.0g/min, 背压力: 100bar, 温度: 25℃, UV: 219nm; 峰数: 保留时间: : 峰1: 3.60: : 峰2: 4.50, 溶解度: 甲醇10.0ml, 负载能力/注射: 5.0mg/mL, 总注射数: 10, 纯化总时间1.0hr, 仪器细节: 制造/型号: Thar SFC-80。

[0219] 对于P1 (纯手性):

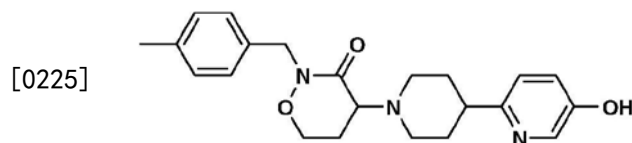


[0221] LCMS: 柱-Ascentis Express C8 (50X2.1mm-2.7μm), 流动相A: 2%ACN-98%H₂O-10mM NH₄COOH, 流动相B: 98%ACN-2%H₂O-10mM NH₄COOH, 流速=1ML/MIN, 时间: %B: : 0.0: 0.0: : 1.5: 100.0: : 3.2: 100.0, RT-1.782min, (M+1) -382。

[0222] 手性SFC: 注射体积: 10, 助溶剂: 甲醇中的0.3%DEA, 柱: Chiralcel OD-H (4.6X250) mm, 5u, 柱温: 23.5, 总流: 3, CO₂流速: 2.25, 助溶剂流速: 0.75, 助溶剂%: 25, 背压力: 104, RT-4.04min。

[0223] ¹H-NMR: 400MHz, MeOD: δ 1.81-1.91 (m, 4H), 2.10-2.14 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 1.36-2.41 (m, 1H), 2.62-2.70 (m, 2H), 2.80 (td, J=22.40, Hz, 1H), 3.09 (s, 2H), 3.65-3.70 (m, 1H), 3.99-4.07 (m, 2H), 4.69 (d, J=14.80Hz, 1H), 4.78 (d, J=14.80Hz, 1H), 7.16-7.18 (m, 4H), 7.25 (d, J=8.00Hz, 2H), 7.98-7.99 (m, 1H)。

[0224] 对于P2 (纯手性):



[0226] LCMS: 柱-Ascentis Express C8 (50X2.1mm-2.7μm), 流动相A: 2%ACN-98%H₂O-10mM NH₄COOH, 流动相B: 98%ACN-2%H₂O-10mM NH₄COOH, 流速=1ML/MIN, 时间: %B: : 0.0:

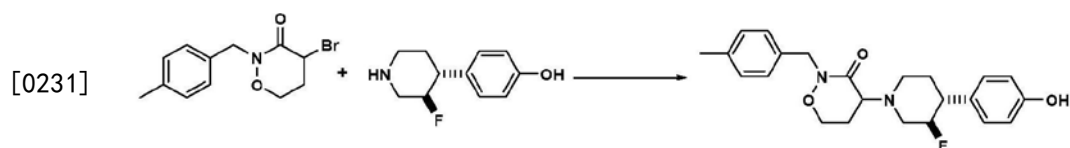
0.0::1.5:100.0::3.2:100.0::RT-1.798min, (M+1) -382。

[0227] 手性SFC:注射体积:10,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:Chiralcel OD-H (4.6X250) mm,5u,柱温:23.5,总流:3,C02流速:2.25,助溶剂流速:0.75,助溶剂%:25,背压力:98,RT-4.43min。

[0228] ¹H-NMR:400MHz,MeOD:δ1.81-1.91 (m, 4H) , 2.10-2.14 (m, 1H) , 2.34 (s, 3H) , 1.36-2.41 (m, 1H) , 2.62-2.70 (m, 2H) , 2.80 (td, J=22.40, Hz, 1H) , 3.09 (s, 2H) , 3.65-3.70 (m, 1H) , 3.99-4.07 (m, 2H) , 4.69 (d, J=14.80Hz, 1H) , 4.78 (d, J=14.80Hz, 1H) , 7.16-7.20 (m, 4H) , 7.25 (d, J=8.00Hz, 2H) , 8.00-8.01 (m, 1H) 。

[0229] 实施例7 (P1&P2) :

[0230] (3R,4R) -3-氟-4-(4-羟基苯基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮



[0232] 向乙腈(3mL)中4-((3R,4R)-3-氟哌啶-4-基)苯酚盐酸盐(0.05g,0.216mmol)的溶液加入DIPEA(0.113mL,0.647mmol),随后加入4-溴-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(0.123g,0.432mmol)。然后在80℃搅拌混合物16h。使混合物冷却至RT,然后浓缩。通过SCP纯化残余物。通过制备LC/MS用以下条件纯化粗物质:Waters Xbridge C18,19x150mm,5μm; Guard Column:Waters XBridge C18,19x10mm,5μm;流动相A:5:95乙腈:水,具有10mM NH4OAc;流动相B:95:5乙腈:水,具有10mM NH4OAc;梯度10-40%B经25分钟,随后在40%B保持10分钟,在100%B保持5分钟;流速:15ml/min。合并包含所需产物的流分,用Genevac离心蒸发器干燥,得到实施例84-((3R,4R)-3-氟-4-(4-羟基苯基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(1.4mg,3.51μmol,1.628%产率)。通过手性HPLC/SFC分离非对映异构体混合物,得到P1和P2。

[0233] 通过SFC分离化合物,得到P14-((3R,4R)-3-氟-4-(4-羟基苯基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(14.1mg,0.035mmol,16.23%产率)和P24-((3R,4R)-3-氟-4-(4-羟基苯基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(12.9mg,0.032mmol,14.85%产率)。

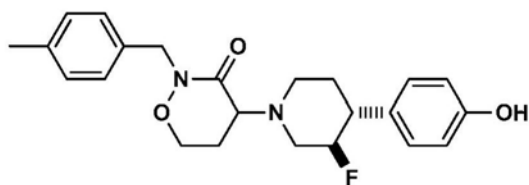
[0234] SFC条件:

[0235] 分析SFC条件:柱/尺寸:Chiralcel OD-H(250X 4.6) mm,5u,%C02:75%,%助溶剂:25%(0.25%DEA,在甲醇中),总流速:3.0g/min,背压力:100bar,温度:25℃,UV:219。

[0236] 制备SFC条件:柱/尺寸:Chiralcel OD-H(250X 21) mm,5u,%C02:75%,%助溶剂:25%(0.25%DEA,在甲醇中),总流速:60.0g/min,背压力:100bar,温度:25℃,UV:219,峰数:保留时间::峰1:6.50::峰2:8.50,溶解度:甲醇10.0ml,负载能力/注射:5.0mg/mL,总注射数:10,纯化总时间1.0hr,仪器细节:制造/型号:Thar SFC-80。

[0237] 对于P1(纯手性):

[0238]



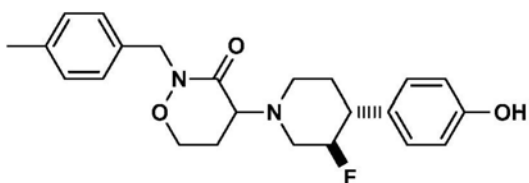
[0239] LCMS: 柱-Ascentis Express C8 (50X2.1mm-2.7 μ m), 流动相A: 2% ACN-98% H₂O-10mM NH₄COOH, 流动相B: 98% ACN-2% H₂O-10mM NH₄COOH, 流速=1ML/MIN, 时间: %B: 0.0: 0.0::1.5:100.0::3.2:100.0, RT-1.96min, (M+1) -399。

[0240] H-NMR: 400MHz, MeOD: δ 1.80-1.85 (m, 2H), 2.09-2.15 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.36-2.41 (m, 1H), 2.55-2.67 (m, 2H), 2.72-2.79 (m, 1H), 2.95-2.98 (m, 1H), 3.35-3.37 (m, 1H), 3.73-3.77 (m, 1H), 3.99-4.02 (m, 1H), 4.05-4.10 (m, 1H), 4.53-4.67 (m, 1H), 4.70 (d, J=14.80Hz, 1H), 4.79 (d, J=14.80Hz, 1H), 6.76 (dt, J=14.40, Hz, 2H), 7.12 (dt, J=14.00, Hz, 2H), 7.17 (d, J=8.00Hz, 2H), 7.25 (d, J=8.00Hz, 2H)。

[0241] 手性SFC: 注射体积: 10, 助溶剂: 甲醇中的0.3% DEA, 柱: Chiralcel OD-H (4.6X250) mm, 5 μ , 柱温: 23.6, 总流: 3, CO₂流速: 2.25, 助溶剂流速: 0.75, 助溶剂%: 25, 背压力: 103, RT-5.88min。

[0242] 对于P2 (纯手性):

[0243]



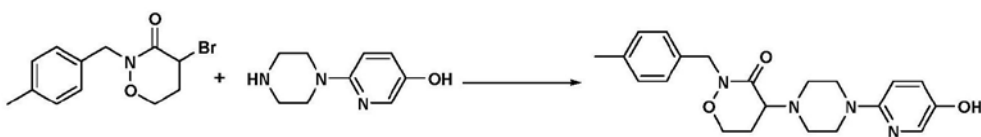
[0244] LCMS: 柱-Ascentis Express C8 (50X2.1mm-2.7 μ m), 流动相A: 2% ACN-98% H₂O-10mM NH₄COOH, 流动相B: 98% ACN-2% H₂O-10mM NH₄COOH, 流速=1ML/MIN, 时间: %B: 0.0: 0.0::1.5:100.0::3.2:100.0, RT-1.965min, (M+1) :399。

[0245] H-NMR: 400MHz, MeOD: δ 1.81-1.86 (m, 2H), 2.07-2.13 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.36-2.41 (m, 1H), 2.54-2.74 (m, 3H), 2.93-2.96 (m, 1H), 3.36-3.37 (m, 1H), 3.74-3.78 (m, 1H), 3.99-4.03 (m, 1H), 4.05-4.10 (m, 1H), 4.54-4.67 (m, 1H), 4.70 (d, J=14.80Hz, 1H), 4.79 (d, J=15.20Hz, 1H), 6.76 (dt, J=11.20, Hz, 2H), 7.11 (dt, J=11.20, Hz, 2H), 7.18 (d, J=8.00Hz, 2H), 7.25 (d, J=8.00Hz, 2H)。

[0246] 手性SFC: 注射体积: 10, 助溶剂: 甲醇中的0.3% DEA, 柱: Chiralcel OD-H (4.6X250) mm, 5 μ , 柱温: 23.6, 总流: 3, CO₂流速: 2.25, 助溶剂流速: 0.75, 助溶剂%: 25, 背压力: 105, RT-6.77min。

[0247] 实施例8 (P1&P2): 4-(4-(5-羟基吡啶-2-基)哌嗪-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮

[0248]



[0249] 向乙腈 (3mL) 中 6-(哌嗪-1-基)吡啶-3-酚盐酸盐 (0.05g, 0.232mmol) 的溶液加入 DIPEA (0.243mL, 1.394mmol), 随后加入 4-溴-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮 (0.132g,

0.465mmol)。然后在80℃搅拌混合物16h。使混合物冷却至RT,然后浓缩。通过SCP纯化残余物。通过制备LC/MS用以下条件纯化粗物质:Waters Xbridge C18,19x150mm,5μm;Guard Column:Waters XBridge C18,19x10mm,5μm;流动相A:5:95乙腈:水,具有10mM NH₄OAc;流动相B:95:5乙腈:水,具有10mM NH₄OAc;梯度10-40%B经25分钟,随后在40%B保持10分钟,在100%B保持5分钟;流速:15ml/min。合并包含所需产物的流分,用Genevac离心蒸发器干燥,得到实施例84-(4-(5-羟基吡啶-2-基)哌嗪-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮。通过手性HPLC/SFC分离外消旋混合物8,得到P1和P2。

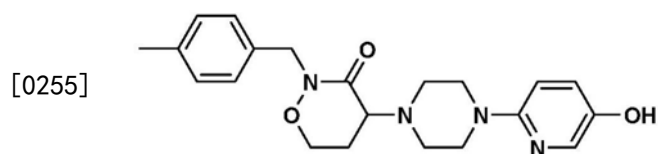
[0250] 分离化合物8,得到P14-(4-(5-羟基吡啶-2-基)哌嗪-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(5.7mg,0.014mmol,3.08%产率),和P24-(4-(5-羟基吡啶-2-基)哌嗪-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(4.9mg,0.012mmol,2.68%产率)。

[0251] SFC纯化条件:

[0252] 分析SFC条件:柱/尺寸:Chiralcel OD-H(250X 4.6)mm,5u,%CO₂:60%,%助溶剂:40%(0.25%DEA,在甲醇中),总流速:4.0g/min,背压力:100bar,温度:25℃,UV:246。

[0253] 制备SFC条件:柱/尺寸:Chiralcel OD-H(250X 21)mm,5u,%CO₂:60%,%助溶剂:40%(0.25%DEA,在甲醇中),总流速:60.0g/min,背压力:100bar,温度:25℃,UV:246,峰数:保留时间::峰1:4.00::峰2:5.00,溶解度:甲醇5.0ml,负载能力/注射:4.0mg/mL,总注射数:5,纯化总时间1.0hr,仪器细节:制造/型号:Thar SFC-80。

[0254] 对于P1(纯手性):

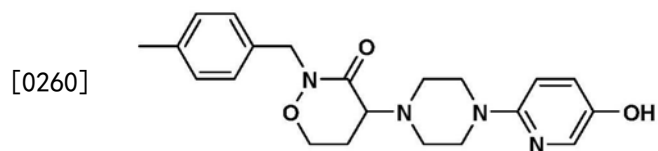


[0256] LCMS:柱-Ascentis Express C18(50X2.1mm-2.7μm),流动相A:10mM乙酸铵(在水中),流动相B:CAN,流速=1ML/MIN,时间:%A:%B::0.0:100.0:0.0::1.7:0.0:100.0::3.2:0.0:100.0,RT-2.007min;(M+1):383。

[0257] ¹H-NMR:400MHz,MeOD:δ2.04-2.10(m,1H),2.32(s,3H),2.34-2.41(m,1H),2.84-2.89(m,2H),2.91-2.96(m,2H),3.37(t,J=10.00Hz,4H),3.64-3.69(m,1H),3.95-3.99(m,1H),4.02-4.06(m,1H),4.66(d,J=15.20Hz,1H),4.77(d,J=15.20Hz,1H),6.76(d,J=9.20Hz,1H),7.12-7.16(m,3H),7.20-7.23(m,2H),7.73(d,J=3.20Hz,1H)。

[0258] 手性SFC:注射体积:10,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:Chiralcel OD-H(4.6X250)mm,5u,柱温:24.5,总流:4,CO₂流速:2.4,助溶剂流速:1.6,助溶剂%:40,背压力:74,RT-2.81min。

[0259] 对于P2(纯手性):

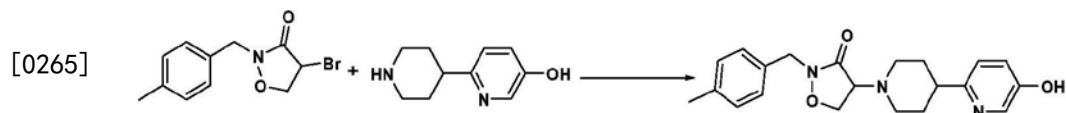


[0261] LCMS:柱-Ascentis Express C18(50X2.1mm-2.7μm),流动相A:10mM乙酸铵(在水中),流动相B:CAN,流速=1ML/MIN,时间:%A:%B::0.0:100.0:0.0::1.7:0.0:100.0::3.2:0.0:100.0,RT-2.005min;(M+1):383。

[0262] $^1\text{H-NMR}$: 400MHz, MeOD: δ 2.04-2.10 (m, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.34-2.41 (m, 1H), 2.84-2.89 (m, 2H), 2.91-2.96 (m, 2H), 3.37 (t, $J=10.00\text{Hz}$, 4H), 3.64-3.69 (m, 1H), 3.95-3.99 (m, 1H), 4.02-4.06 (m, 1H), 4.66 (d, $J=15.20\text{Hz}$, 1H), 4.77 (d, $J=15.20\text{Hz}$, 1H), 6.76 (d, $J=9.20\text{Hz}$, 1H), 7.12-7.16 (m, 3H), 7.20-7.23 (m, 2H), 7.73 (d, $J=3.20\text{Hz}$, 1H)。

[0263] 手性SFC: 注射体积: 10, 助溶剂: 甲醇中的0.3% DEA, 柱: Chiralcel OD-H (4.6X250) mm, 5u, 柱温: 24.5, 总流: 4, CO₂流速: 2.4, 助溶剂流速: 1.6, 助溶剂%: 40, 背压力: 74, RT-3.68min。

[0264] 实施例9 (P1&P2):



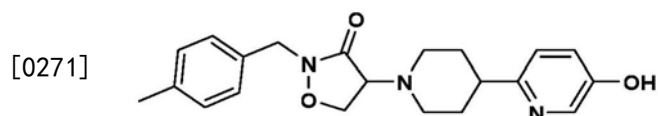
[0266] 在RT向ACN (5mL) 中的4-溴-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮 (0.094g, 0.349mmol) 加入DIPEA (0.122mL, 0.699mmol) 和6-(哌啶-4-基)吡啶-3-酚 (0.05g, 0.233mmol)。在60℃搅拌反应混合物18h。通过LCMS13%为所需产品质量。浓缩反应混合物, 并经过SCP。化合物通过SCP纯化, 得到外消旋混合物104-(4-(5-羟基吡啶-2-基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮 (13mg, 0.035mmol, 14.89%产率), 外消旋混合物通过手性SFC分离, 得到P14-(4-(5-羟基吡啶-2-基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮 (1.6mg, 4.18μmol, 1.795%产率) 和P24-(4-(5-羟基吡啶-2-基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮 (2.7mg, 6.83μmol, 2.93%产率)。

[0267] SFC纯化方法

[0268] 分析SFC条件: 柱/尺寸: Lux Amylose-2 (250X 4.6) mm, 5u, %CO₂: 60%, %助溶剂: 40% (0.25% DEA, 在甲醇中), 总流速: 3.0g/min, 背压力: 100bar, 温度: 25℃, UV: 220。

[0269] 制备SFC条件: 柱/尺寸: Lux Amylose-2 (250X 21.5) mm, 5u, %CO₂: 60%, %助溶剂: 40% (0.25% DEA, 在甲醇中), 总流速: 60.0g/min, 背压力: 100bar, 温度: 25℃, UV: 220, 峰数: 保留时间:: 峰1: 3.50:: 峰2: 5.10, 溶解度: 甲醇10.0ml, 负载能力/注射: 3.0mg/mL, 总注射数: 09, 纯化总时间1.00hr, 仪器细节: 制造/型号: Thar SFC-80。

[0270] 对于P1 (纯手性):



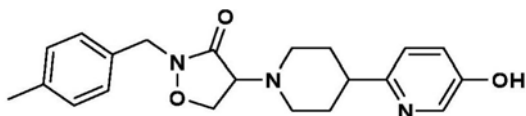
[0272] LCMS: 柱-Ascentis Express C18 (50X2.1mm-2.7μm), 流动相A: 10mM NH₄COOH (在水: ACN (98:02) 中), 流动相B: 10mM NH₄COOH (在水: ACN (02:98) 中), 流速=1ML/MIN, 时间: %B:: 0.0:0.0:: 1.7:100.0:: 3.0:100.0:: 3.2:0.0, RT-2.019min, M(+1)-368。

[0273] 手性纯度: 注射体积: 10, 助溶剂: 甲醇中的0.3% DEA, 柱: Lux amylose-2 (250X4.6) mm 5u, 柱温: 22.1, 总流: 3, CO₂流速: 2.1, 助溶剂流速: 0.9, 助溶剂%: 30, 背压力: 103, RT-4.46min。

[0274] $^1\text{H NMR}$: 400MHz, MeOD: δ 1.74-1.91 (m, 5H), 2.31 (s, 3H), 2.43 (t, $J=11.20\text{Hz}$, 1H), 2.62 (t, $J=16.00\text{Hz}$, 1H), 2.86-2.95 (m, 2H), 3.18-3.22 (m, 1H), 3.88-3.91 (m, 1H), 4.31-4.35 (m, 1H), 4.40-4.45 (m, 1H), 4.64-4.74 (m, 2H), 7.15-7.25 (m, 6H), 7.98-7.99 (m, 1H)。

[0275] 对于P2(纯手性):

[0276]



[0277] LCMS:柱-Ascentis Express C18 (50X2.1mm-2.7 μ m),流动相A:10mM NH₄COOH(在水:ACN(98:02)中),流动相B:10mM NH₄COOH(在水:ACN(02:98)中),流速=1ML/MIN,时间:%B::0.0:0.0::1.7:100.0::3.0:100.0,3.2:0.0,RT-2.021min,M(+1)-368。

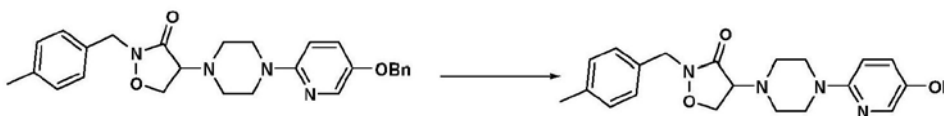
[0278] 手性纯度:注射体积:10,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:Lux amylose-2 (250X4.6)mm 5 μ ,柱温:22.1,总流:3,CO₂流速:2.1,助溶剂流速:0.9,助溶剂%:30,背压力:102,RT-5.67min。

[0279] ¹H NMR:400MHz,MeOD: δ 1.74-1.91 (m, 4H), 2.31 (s, 3H), 2.43 (t, J=11.20Hz, 1H), 2.62 (t, J=16.00Hz, 1H), 2.86-2.95 (m, 2H), 3.18-3.22 (m, 1H), 3.88-3.91 (m, 1H), 4.31-4.35 (m, 1H), 4.40-4.45 (m, 1H), 4.64-4.74 (m, 2H), 7.15-7.25 (m, 6H), 7.98-7.99 (m, 1H)。

[0280] 实施例10(P1和P2)

[0281] 4-(4-(5-羟基吡啶-2-基)哌嗪-1-基)-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮

[0282]



[0283] 向MeOH(10mL)中4-(4-(5-(苄基氧基)吡啶-2-基)哌嗪-1-基)-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮(0.2g, 0.305mmol)的溶液加入Pd/C(0.2g, 0.188mmol),并在RT在氢气球压力下搅拌16h。通过Celite过滤混合物,并浓缩滤液。通过制备LC/MS用以下条件纯化粗物质:Waters Xbridge C18,19x150mm,5 μ m;Guard Column:Waters XBridge C18,19x10mm,5 μ m;流动相A:5:95甲醇:水,具有10mM NH₄OAc;流动相B:95:5甲醇:水,具有10mM NH₄OAc;梯度15-60%B经25分钟,随后在60%B保持10分钟,在100%B保持5分钟;流速:15ml/min。合并包含所需产物的流分,用Genevac离心蒸发器干燥,得到124-(4-(5-羟基吡啶-2-基)哌嗪-1-基)-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮(1.5mg, 4.03 μ mol, 1.320%产率)。通过手性HPLC/SFC分离外消旋混合物,得到P1和P2。

[0284] ¹H-NMR:400MHz,DMSO-d₆: δ 2.30 (s, 3H), 2.56-2.61 (m, 2H), 2.91-2.96 (m, 2H), 3.28 (t, J=10.00Hz, 4H), 3.82-3.85 (m, 1H), 4.23-4.27 (m, 1H), 4.36 (t, J=17.60Hz, 1H), 4.62 (s, 2H), 6.72 (d, J=8.80Hz, 1H), 7.06 (dd, J=12.00, Hz, 1H), 7.15-7.20 (m, 4H), 7.74 (d, J=2.80Hz, 1H), 8.97 (s, 1H)。

[0285] LCMS:A:95%水:5%乙腈;10mM NH₄OAc,B:5%水:95%乙腈;10mM NH₄OAc,流速:1.1ml/min,温度:50 $^{\circ}$ C,柱:Ascentis Express C18 (50x2.1)mm,2.7 μ m,时间(min):0---3,%B:0---100,RT-1.229min,(M+1)-369。

[0286] 通过SFC分离化合物12,得到P14-(4-(5-羟基吡啶-2-基)哌嗪-1-基)-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮(4mg, 10.31 μ mol, 3.38%产率),和P24-(4-(5-羟基吡啶-2-基)哌嗪-1-基)-2-(4-甲基苄基)异噁唑烷-3-酮(6mg, 0.015mmol, 5.07%产率)。

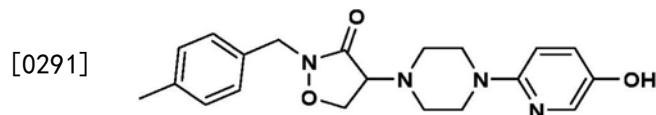
[0287] SFC纯化方法:

[0288] 分析SFC条件:柱/尺寸:Chiralpak OJ-H (250X 4.6)mm,5 μ ,%CO₂:70%,%助溶

剂:30% (0.25%DEA,在甲醇中),总流速:4.0g/min,背压力:100bar,温度:25℃,UV:220。

[0289] 制备SFC条件:柱/尺寸:Chiralpak OJ-H(250X 21)mm,5u,%CO₂:70%,%助溶剂:30% (0.25%DEA,在甲醇中),总流速:70.0g/min,背压力:100bar,温度:25℃,UV:220,峰数:保留时间::峰1:4.20::峰2:5.50,溶解度:甲醇6ml,负载能力/注射:3.5mg/mL,总注射数:15,纯化总时间2hrs,仪器细节:制造/型号:Thar SFC-80。

[0290] 对于P1 (纯手性):

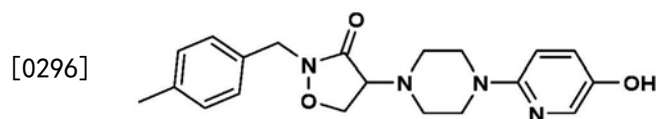


[0292] LCMS:柱-Ascentis Express C18 (50X2.1mm-2.7μm),流动相A:10mM NH₄COOH(在水:ACN (98:02) 中),流动相B:10mM NH₄COOH(在水:ACN (02:98) 中),流速=1ML/MIN,时间:%B::0.0:0.0::1.7:100.0::3.0:100.0::3.2:0.0,RT-2.209min, (M+1) -369。

[0293] ¹H-NMR:400MHz,DMSO-d₆:δ2.29 (s,3H),2.56-2.59 (m,2H),2.91-2.94 (m,2H),3.27 (t,J=10.00Hz,4H),3.81-3.84 (m,1H),4.22-4.26 (m,1H),4.35 (t,J=20.40Hz,1H),4.61 (s,2H),6.71 (d,J=8.80Hz,1H),7.05 (dd,J=12.40,Hz,1H),7.16-7.20 (m,4H),7.73 (d,J=2.80Hz,1H),8.96 (s,1H)。

[0294] 手性SFC:注射体积:9,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:Chiralcel OJ-H(4.6X250)mm,5u,柱温:23.9,总流:4,C0₂流速:2.8,助溶剂流速:1.2,助溶剂%:30,背压力:100,RT-3.67min。

[0295] 对于P2 (纯手性):



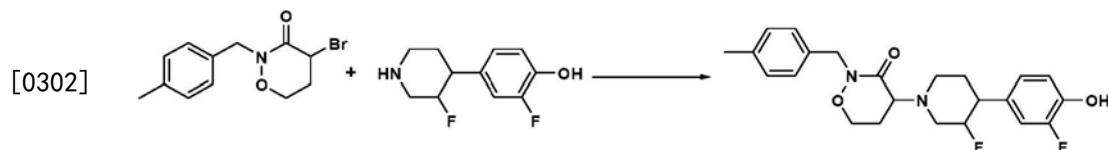
[0297] LCMS:柱-Ascentis Express C18 (50X2.1mm-2.7μm),流动相A:10mM NH₄COOH(在水:ACN (98:02) 中),流动相B:10mM NH₄COOH(在水:ACN (02:98) 中),流速=1ML/MIN,时间:%B::0.0:0.0::1.7:100.0::3.0:100.0::3.2:0.0,RT-2.207min; (M+1):369。

[0298] ¹H-NMR:400MHz,DMSO-d₆:δ2.29 (s,3H),2.56-2.59 (m,2H),2.91-2.94 (m,2H),3.27 (t,J=10.00Hz,4H),3.81-3.84 (m,1H),4.22-4.26 (m,1H),4.35 (t,J=20.40Hz,1H),4.61 (s,2H),6.71 (d,J=8.80Hz,1H),7.05 (dd,J=12.40,Hz,1H),7.16-7.20 (m,4H),7.73 (d,J=2.80Hz,1H),8.96 (s,1H)。

[0299] 手性SFC:注射体积:9,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:Chiralcel OJ-H(4.6X250)mm,5u,柱温:23.9,总流:4,C0₂流速:2.8,助溶剂流速:1.2,助溶剂%:30,背压力:100,RT-4.63min。

[0300] 实施例11 (P1和P2)

[0301] 4-(3-氟-4-(3-氟-4-羟基苯基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮



[0303] 向DMF (3mL) 中2-氟-4-(3-氟哌啶-4-基) 苯酚 (0.1g,0.469mmol) 的溶液加入DIPEA

(0.246mL, 1.407mmol), 随后加入4-溴-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(0.200g, 0.703mmol), 然后在微波中加热到120℃经历90分钟。使混合物冷却至RT, 然后浓缩。通过制备LC/MS用以下条件纯化粗物质: Waters Xbridge C18, 19x150mm, 5μm; Guard Column: Waters XBridge C18, 19x10mm, 5μm; 流动相A: 5:95乙腈:水, 具有10mM NH₄OAc; 流动相B: 95:5乙腈:水, 具有10mM NH₄OAc; 梯度15-50%B经25分钟, 随后在50%B保持10分钟, 在100%B保持5分钟; 流速: 15ml/min。合并包含所需产物的流分, 用Genevac离心蒸发器干燥, 得到实施例114-(3-氟-4-(3-氟-4-羟基苯基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(26mg, 0.062mmol, 13.31%产率)。通过手性HPLC/SFC分离非对映异构体混合物, 得到P1和P2。

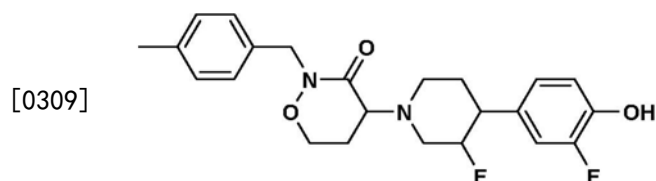
[0304] SFC纯化条件:

[0305] 分析SFC条件: 柱/尺寸: Luxcellulose-2 (250X 4.6) mm, 5u, %CO₂: 60%, %助溶剂: 40% (0.25%DEA, 在甲醇中), 总流速: 4.0g/min, 背压力: 100bar, 温度: 25℃, UV: 220。

[0306] 制备SFC条件: 柱/尺寸: Luxcellulose-2 (250X 21.5) mm, 5u, %CO₂: 60%, %助溶剂: 40% (0.25%DEA, 在甲醇中), 总流速: 75g/min, 背压力: 100bar, 温度: 25℃, UV: 220, 峰数: 保留时间:: 峰1: 3.50:: 峰2: 4.10, 溶解度: 甲醇10ml, 负载能力/注射: 3mg/mL, 总注射数: 08, 纯化总时间30min, 仪器细节: 制造/型号: Thar SFC-80。

[0307] 通过SFC分离化合物11, 得到P14-(3-氟-4-(3-氟-4-羟基苯基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(8mg, 0.019mmol, 4.05%产率), 和P24-(3-氟-4-(3-氟-4-羟基苯基)哌啶-1-基)-2-(4-甲基苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(9mg, 0.021mmol, 4.56%产率)。

[0308] 对于P1 (纯手性):



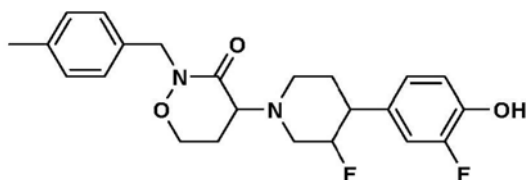
[0310] LCMS: 柱-Ascentis Express C18 (50X2.1mm-2.7μm), 流动相A: 10mM NH₄COOH (在水:ACN (98:02) 中), 流动相B: 10mM NH₄COOH (在水:ACN (02:98) 中), 流速=1ML/MIN, 时间: %B:: 0.0:0.0:: 1.5:100.0:: 3.2:100.0, RT-2.658min; (M+1) -417。

[0311] ¹H-NMR: 400MHz, CDCl₃: δ 1.78-1.87 (m, 2H), 2.04-2.10 (m, 1H), 2.30-2.35 (m, 4H), 2.59-2.64 (m, 1H), 2.73 (td, J=24.80, Hz, 1H), 2.86 (td, J=22.40, Hz, 1H), 2.99-3.01 (m, 1H), 3.31-3.33 (m, 1H), 3.65-3.70 (m, 1H), 3.93-3.97 (m, 1H), 3.99-4.04 (m, 1H), 4.50-4.63 (m, 1H), 4.72 (s, 2H), 6.94-6.96 (m, 2H), 7.01 (dd, J=12.00, Hz, 1H), 7.14 (d, J=7.60Hz, 2H), 7.24 (d, J=8.00Hz, 2H)。

[0312] 手性SFC: 注射体积: 10, 助溶剂: 甲醇中的0.3%DEA, 柱: Lux cellulose-2 (4.6X250) mm, 5u, 柱温: 24.9, 总流: 4, CO₂流速: 2.4, 助溶剂流速: 1.6, 助溶剂%: 40, 背压力: 101, RT-2.83min。

[0313] 对于P2 (纯手性):

[0314]



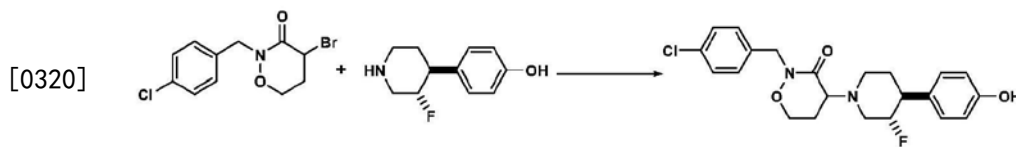
[0315] LCMS:柱-Ascentis Express C18 (50X2.1mm-2.7 μ m),流动相A:10mM NH₄COOH(在水:ACN(98:02)中),流动相B:10mM NH₄COOH(在水:ACN(02:98)中),流速=1ML/MIN,时间:%B::0.0:0.0::1.5:100.0::3.2:100.0,RT-2.64min,(M+1)-417。

[0316] ¹H-NMR:400MHz,CDC13: δ 1.78-1.88(m,2H),2.05-2.08(m,1H),2.31-2.35(m,4H),2.60-2.69(m,2H),2.81(td,J=19.60,Hz,1H),2.91-2.94(m,1H),3.41-3.44(m,1H),3.64-3.71(m,1H),3.93-3.97(m,1H),3.99-4.04(m,1H),4.53-4.67(m,1H),4.72(d,J=5.60Hz,2H),6.92-6.96(m,2H),6.98-7.02(m,1H),7.14(d,J=8.00Hz,2H),7.24(d,J=8.00Hz,2H)。

[0317] 手性SFC:注射体积:10,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:Lux cellulose-2(4.6X250)mm,5 μ ,柱温:24.9,总流:4,C02流速:2.4,助溶剂流速:1.6,助溶剂%:40,背压力:101,RT-3.33min。

[0318] 实施例12(P1&P2)

[0319] 2-(4-氯苄基)-4-((3S,4S)-3-氟-4-(4-羟基苯基)哌啶-1-基)-1,2-噁嗪烷-3-酮



[0321] 向DMF(2mL)中4-((3S,4S)-3-氟哌啶-4-基)苯酚(0.1g,0.512mmol)的溶液加入DIPEA(0.268mL,1.537mmol),随后加入4-溴-2-(4-氯苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(0.234g,0.768mmol),然后在微波中加热到120 $^{\circ}$ C经历90分钟。使混合物冷却至RT,然后浓缩。通过制备LC/MS用以下条件纯化粗物质:Waters Xbridge C18,19x150mm,5 μ m;Guard Column:Waters XBridge C18,19x10mm,5 μ m;流动相A:5:95乙腈:水,具有10mM NH₄OAc;流动相B:95:5乙腈:水,具有10mM NH₄OAc;梯度15-50%B经25分钟,随后在50%B保持10分钟,在100%B保持5分钟;流速:15ml/min。合并包含所需产物的流分,用Genevac离心蒸发器干燥,得到122-(4-氯苄基)-4-((3S,4S)-3-氟-4-(4-羟基苯基)哌啶-1-基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(53mg,0.125mmol,24.45%产率)。通过手性HPLC/SFC分离非对映异构体混合物,得到P1和P2。

[0322] SFC纯化条件:

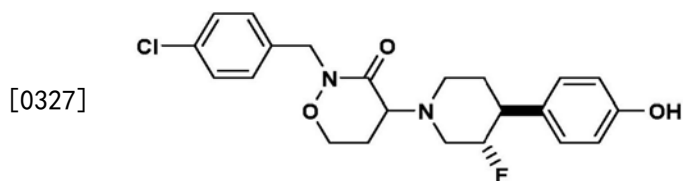
[0323] 分析SFC条件:柱/尺寸:Luxcellulose-2(250X 4.6)mm,5 μ ,%CO₂:60%,%助溶剂:40%(0.25%DEA,在甲醇中),总流速:4.0g/min,背压力:100bar,温度:25 $^{\circ}$ C,UV:222。

[0324] 制备SFC条件:柱/尺寸:Luxcellulose-2(250X 21.5)mm,5 μ ,%CO₂:60%,%助溶剂:45%(0.25%DEA,在甲醇中),总流速:75g/min,背压力:100bar,温度:25 $^{\circ}$ C,UV:222,峰数:保留时间::峰1:3.90::峰2:4.80,溶解度:甲醇10ml,负载能力/注射:5mg/mL,总注射数:10,纯化总时间45min,仪器细节:制造/型号:Thar SFC-80。

[0325] 通过SFC分离化合物14,得到P12-(4-氯苄基)-4-((3S,4S)-3-氟-4-(4-羟基苯基)

哌啶-1-基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(17mg,0.040mmol,7.84%产率),和P22-(4-氯苄基)-4-((3S,4S)-3-氟-4-(4-羟基苯基)哌啶-1-基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(15mg,0.035mmol,6.92%产率),为灰白色固体。

[0326] 对于P1(纯手性):

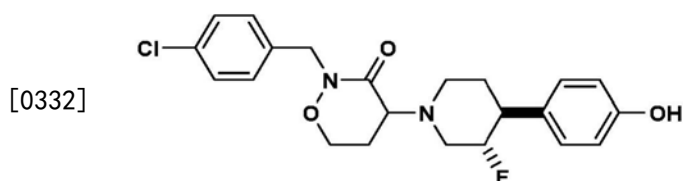


[0328] LCMS:柱-Ascentis Express C18(50X2.1mm-2.7 μ m),流动相A:10mM NH₄COOH(在水:ACN(98:02)中),流动相B:10mM NH₄COOH(在水:ACN(02:98)中),流速=1ML/MIN,时间:%B::0.0:0.0::1.7:100.0::3.0:100.0::3.2:0.0,RT-2.766min,M(+1)-419。

[0329] ¹H-NMR:400MHz,CDC13: δ 1.84-1.87(m,2H),2.06-2.12(m,1H),2.32-2.36(m,1H),2.61-2.74(m,2H),2.84(dt,J=25.60,Hz,1H),2.98-3.00(m,1H),3.30-3.32(m,1H),3.66-3.70(m,1H),3.97-4.05(m,2H),4.53-4.68(m,1H),4.72(s,2H),6.80(d,J=8.40Hz,2H),7.14(d,J=8.80Hz,2H),7.27-7.33(m,4H)。

[0330] 手性SFC:注射体积:10,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:Lux cellulose-2(4.6X250)mm,5 μ ,柱温:24.7,总流:4,CO₂流速:2.4,助溶剂流速:1.6,助溶剂%:40,背压力:101,RT-3.7min。

[0331] 对于P2(纯手性):



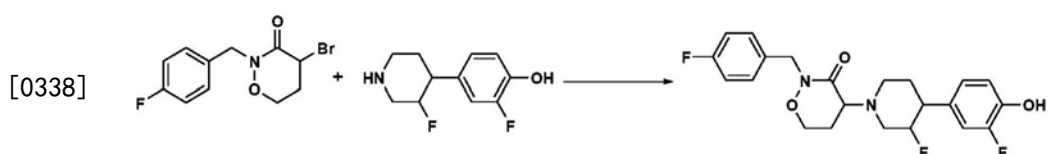
[0333] LCMS:柱-Ascentis Express C18(50X2.1mm-2.7 μ m),流动相A:10mM NH₄COOH(在水:ACN(98:02)中),流动相B:10mM NH₄COOH(在水:ACN(02:98)中),流速=1ML/MIN,时间:%B::0.0:0.0::1.7:100.0::3.0:100.0::3.2:0.0,RT-2.762min,(M+1)-419。

[0334] ¹H-NMR:400MHz,CDC13: δ 1.85-1.88(m,2H),2.04-2.10(m,1H),2.32-2.37(m,1H),2.64(dt,J=26.40,Hz,2H),2.79(dt,J=24.40,Hz,2H),2.92(d,J=10.80Hz,1H),3.40-3.43(m,1H),3.64-3.69(m,1H),3.95-4.06(m,2H),4.56-4.68(m,1H),4.69(s,2H),6.80(d,J=8.40Hz,2H),7.14(d,J=8.80Hz,2H),7.27-7.33(m,4H)。

[0335] 手性SFC:注射体积:10,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:Lux cellulose-2(4.6X250)mm,5 μ ,柱温:24.7,总流:4,CO₂流速:2.4,助溶剂流速:1.6,助溶剂%:40,背压力:101,RT-4.57min。

[0336] 实施例13(P1&P2)

[0337] 4-(3-氟-4-(3-氟-4-羟基苯基)哌啶-1-基)-2-(4-氟苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮



[0339] 向DMF (2mL) 中2-氟-4-(3-氟哌啶-4-基) 苯酚 (0.1g, 0.469mmol) 的溶液加入DIPEA (0.246mL, 1.407mmol), 随后加入4-溴-2-(4-氟苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮 (0.203g, 0.703mmol), 然后在微波中加热到120℃经历90分钟。使混合物冷却至RT, 然后浓缩。通过制备LC/MS用以下条件纯化粗物质: Waters Xbridge C18, 19x150mm, 5μm; Guard Column: Waters XBridge C18, 19x10mm, 5μm; 流动相A: 5:95乙腈:水, 具有10mM NH₄OAc; 流动相B: 95:5乙腈:水, 具有10mM NH₄OAc; 梯度15-50%B经25分钟, 随后在50%B保持10分钟, 在100%B保持5分钟; 流速: 15ml/min。合并包含所需产物的流分, 用Genevac离心蒸发器干燥, 得到134-(3-氟-4-(3-氟-4-羟基苯基) 哌啶-1-基)-2-(4-氟苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮 (23mg, 0.054mmol, 11.43%产率)。通过手性HPLC/SFC分离非对映异构体混合物, 得到P1和P2。

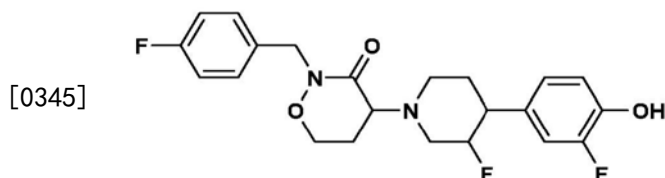
[0340] SFC纯化方法:

[0341] 分析SFC条件: 柱/尺寸: Chiralpak AD-H (250X 4.6) mm, 5u, %CO₂: 60%, %助溶剂: 40% (0.25%DEA, 在甲醇中), 总流速: 4.0g/min, 背压力: 100bar, 温度: 25℃, UV: 220。

[0342] 制备SFC条件: 柱/尺寸: Chiralpak AD-H (250X 21) mm, 5u, %CO₂: 60%, %助溶剂: 45% (0.25%DEA, 在甲醇中), 总流速: 75g/min, 背压力: 100bar, 温度: 25℃, UV: 220, 峰数: 保留时间:: 峰1: 4.60:: 峰2: 6.00, 溶解度: 甲醇10ml, 负载能力/注射: 2mg/mL, 总注射数: 09, 纯化总时间1hrs, 仪器细节: 制造/型号: Thar SFC-80。

[0343] 通过SFC分离化合物15, 得到P14-(3-氟-4-(3-氟-4-羟基苯基) 哌啶-1-基)-2-(4-氟苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮 (6mg, 0.014mmol, 3.01%产率), 和P24-(3-氟-4-(3-氟-4-羟基苯基) 哌啶-1-基)-2-(4-氟苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮 (6mg, 0.014mmol, 3.01%产率), 为灰白色固体。

[0344] 对于P1 (纯手性):



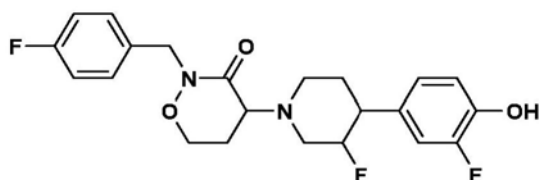
[0346] LCMS: 柱-Ascentis Express C18 (50X2.1mm-2.7μm), 流动相A: 10mM NH₄COOH (在水:ACN (98:02) 中), 流动相B: 10mM NH₄COOH (在水:ACN (02:98) 中), 流速=1ML/MIN, 时间: %B:: 0.0:0.0:: 1.7:100.0:: 3.0:100.0:: 3.2:0.0, RT-2.697min, (M+1)⁻421。

[0347] ¹H-NMR: 400MHz, CDCl₃: δ 1.78-1.88 (m, 2H), 2.03-2.09 (m, 1H), 2.32-2.36 (m, 1H), 2.60-2.68 (m, 2H), 2.81 (dt, J=24.40, Hz, 1H), 2.90-2.94 (m, 1H), 3.40-3.43 (m, 1H), 3.63-3.68 (m, 1H), 3.93-4.05 (m, 2H), 4.51-4.65 (m, 1H), 4.66 (s, 2H), 6.94-7.04 (m, 5H), 7.31-7.34 (m, 2H)。

[0348] 手性SFC: 注射体积: 10, 助溶剂: 甲醇中的0.3%DEA, 柱: ChiralpakAD H (250X 4.6) mm 5u, 柱温: 24.6, 总流: 4, CO₂流速: 2.4, 助溶剂流速: 1.6, 助溶剂%: 40, 背压力: 99, RT-4.37min。

[0349] 对于P2 (纯手性):

[0350]



[0351] LCMS:柱-Ascentis Express C18 (50X2.1mm-2.7 μ m),流动相A:10mM NH₄COOH(在水:ACN(98:02)中),流动相B:10mM NH₄COOH(在水:ACN(02:98)中),流速=1ML/MIN,时间:%B::0.0:0.0::1.7:100.0::3.0:100.0::3.2:0.0,RT-2.702min;(M+1)-421。

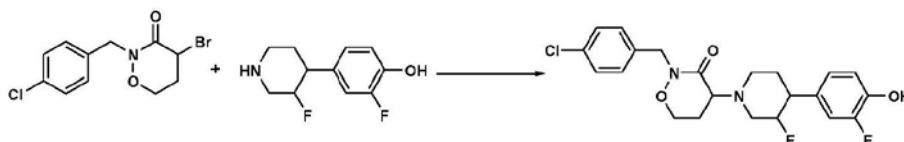
[0352] H-NMR:400MHz,CDCl₃: δ 1.78-1.88(m,2H),2.05-2.11(m,1H),2.31-2.36(m,1H),2.63(dt,J=22.40,Hz,1H),2.72(dt,J=24.80,Hz,1H),2.86(dt,J=25.60,Hz,1H),2.98-3.00(m,1H),3.30-3.32(m,1H),3.65-3.69(m,1H),3.95-4.05(m,2H),4.49-4.62(m,1H),4.71(s,2H),6.94-7.05(m,5H),7.31-7.34(m,2H)。

[0353] 手性SFC:注射体积:10,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:ChiralpakAD H(250X4.6)mm 5u,柱温:24.6,总流:4,C02流速:2.4,助溶剂流速:1.6,助溶剂%:40,背压力:99,RT-5.8min。

[0354] 实施例14 (P1&P2)

[0355] 2-(4-氯苄基)-4-(3-氟-4-(3-氟-4-羟基苯基)哌啶-1-基)-1,2-噁嗪烷-3-酮

[0356]



[0357] 向DMF(2mL)中2-氟-4-(3-氟哌啶-4-基)苯酚(0.1g,0.469mmol)的溶液加入DIPEA(0.246mL,1.407mmol),随后加入4-溴-2-(4-氯苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(0.214g,0.703mmol),然后在微波中加热到120℃经历90分钟。使混合物冷却至RT。然后浓缩。通过制备LC/MS用以下条件纯化粗物质:Waters Xbridge C18,19x150mm,5 μ m;Guard Column:Waters XBridge C18,19x10mm,5 μ m;流动相A:5:95乙腈:水,具有10mM NH₄OAc;流动相B:95:5乙腈:水,具有10mM NH₄OAc;梯度15-50%B经25分钟,随后在50%B保持10分钟,在100%B保持5分钟;流速:15ml/min。合并包含所需产物的流分,用Genevac离心蒸发器干燥,得到142-(4-氯苄基)-4-(3-氟-4-(3-氟-4-羟基苯基)哌啶-1-基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(45mg,0.093mmol,19.77%产率)。通过手性HPLC/SFC分离非对映异构体混合物,得到P1和P2。

[0358] SFC纯化条件:

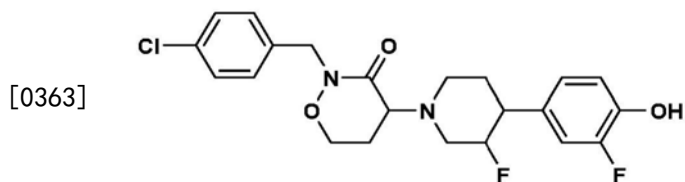
[0359] 分析SFC条件:柱/尺寸:Chiralcel OJ-H(250X 4.6)mm,5u,%C02:70%,%助溶剂:30%(0.25%DEA,在甲醇中),总流速:3.0g/min,背压力:100bar,温度:25℃,UV:220,

[0360] 制备SFC条件:柱/尺寸:Chiralpak OJ-H(250X 21)mm,5u,%C02:70%,%助溶剂:30%(0.25%DEA,在甲醇中),总流速:60g/min,背压力:100bar,温度:25℃,UV:220,峰数:保留时间::峰1:6.00::峰2:7.50,溶解度:甲醇20ml,负载能力/注射:2mg/mL,总注射数:18。纯化总时间2hrs,仪器细节:制造/型号:Thar SFC-80。

[0361] 通过SFC分离化合物16,得到P12-(4-氯苄基)-4-(3-氟-4-(3-氟-4-羟基苯基)哌啶-1-基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(11mg,0.025mmol,5.26%产率),和P22-(4-氯苄基)-4-(3-氟-

4-(3-氟-4-羟基苯基)哌啶-1-基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(13mg,0.029mmol,6.22%产率)。

[0362] 对于P1(纯手性):

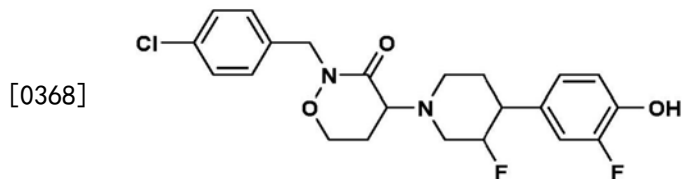


[0364] LCMS:柱-Ascentis Express C8(50X2.1mm-2.7μm),流动相A:2%ACN-98%H₂O-10mM NH₄COOH,流动相B:98%ACN-2%H₂O-10mM NH₄COOH,流速=1ML/MIN,时间:%B::0.0:0.0::1.7:100.0::4.0:100.0,RT-1.981min,M+1)-437。

[0365] H-NMR:400MHz,CDC13:δ1.79-1.88(m,2H),2.04-2.10(m,1H),2.32-2.37(m,1H),2.61-2.68(m,2H),2.81(dt,J=24.40,Hz,1H),2.90-2.94(m,1H),3.40-3.43(m,1H),3.64-3.68(m,1H),3.96-4.06(m,2H),4.52-4.64(m,1H),4.72(s,2H),6.92-7.02(m,3H),7.27-7.33(m,4H)。

[0366] 手性SFC:注射体积:10,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:Chiralcel OJ-H(4.6X250)mm,5u,柱温:24.4,总流:3,C02流速:2.1,助溶剂流速:0.9,助溶剂%:30,背压力:100,RT-6.01min。

[0367] 对于P2(纯手性):



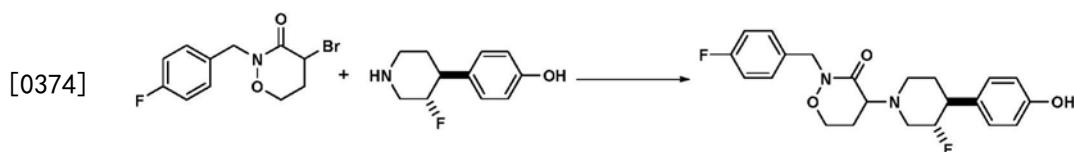
[0369] H-NMR:400MHz,CDC13:δ1.78-1.88(m,2H),2.05-2.11(m,1H),2.32-2.36(m,1H),2.60-2.75(m,2H),2.84-2.89(m,1H),2.98(d,J=2.00Hz,1H),3.30-3.32(m,1H),3.65-3.70(m,1H),3.96-4.05(m,2H),4.51-4.68(m,1H),4.74(s,2H),6.92-7.02(m,3H),7.25-7.31(m,4H)。

[0370] LCMS:柱-Ascentis Express C8(50X2.1mm-2.7μm),流动相A:2%ACN-98%H₂O-10mM NH₄COOH,流动相B:98%ACN-2%H₂O-10mM NH₄COOH,流速=1ML/MIN,时间:%B::0.0:0.0::1.7:100.0::4.0:100.0,RT-1.995min;(M+1)-437。

[0371] 手性SFC:注射体积:10,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:Chiralcel OJ-H(4.6X250)mm,5u,柱温:24.4,总流:3,C02流速:2.1,助溶剂流速:0.9,助溶剂%:30,背压力:100,RT-7.11min。

[0372] 实施例15(P1&P2)

[0373] 4-((3S,4S)-3-氟-4-(4-羟基苯基)哌啶-1-基)-2-(4-氟苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮



[0375] 向DMF(2mL)中4-((3S,4S)-3-氟哌啶-4-基)苯酚(0.1g,0.512mmol)的溶液加入DIPEA(0.268mL,1.537mmol),随后加入4-溴-2-(4-氟苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(0.221g,

0.768mmol),然后在微波中加热到120℃经历90分钟。使混合物冷却至RT,然后浓缩。通过制备LC/MS用以下条件纯化粗物质:Waters Xbridge C18,19x150mm,5μm;Guard Column: Waters XBridge C18,19x10mm,5μm;流动相A:5:95乙腈:水,具有10mM NH₄OAc;流动相B: 95:5乙腈:水,具有10mM NH₄OAc;梯度15-50%B经25分钟,随后在50%B保持10分钟,在100%B保持5分钟;流速:15ml/min。合并包含所需产物的流分,用Genevac离心蒸发器干燥,得到154-((3S,4S)-3-氟-4-(4-羟基苯基)哌啶-1-基)-2-(4-氟苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(51mg,0.115mmol,22.51%产率)。通过手性HPLC/SFC分离非对映异构体混合物,得到P1和P2。

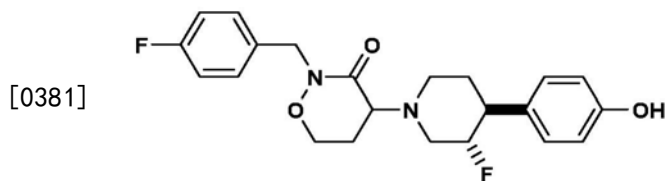
[0376] SFC纯化方法:

[0377] 分析SFC条件:柱/尺寸:Chiralpak OJ-H(250X 4.6)mm,5u,%CO₂:70%,%助溶剂:30%(0.25%DEA,在甲醇中),总流速:3.0g/min,背压力:100bar,温度:25℃,UV:222,

[0378] 制备SFC条件:柱/尺寸:Chiralpak OJ-H(250X 21)mm,5u,%CO₂:70%,%助溶剂:30%(0.25%DEA,在甲醇中),总流速:60g/min,背压力:100bar,温度:25℃,UV:222,峰数:保留时间::峰1:6.00::峰2:7.20,溶解度:甲醇15ml,负载能力/注射:3mg/mL,总注射数:15,纯化总时间45min,仪器细节:制造/型号:Thar SFC-80。

[0379] 通过SFC分离化合物15,得到P14-((3S,4S)-3-氟-4-(4-羟基苯基)哌啶-1-基)-2-(4-氟苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(9mg,0.022mmol,4.32%产率)和P24-((3S,4S)-3-氟-4-(4-羟基苯基)哌啶-1-基)-2-(4-氟苄基)-1,2-噁嗪烷-3-酮(9mg,0.022mmol,4.28%产率)。

[0380] 对于P1(纯手性):

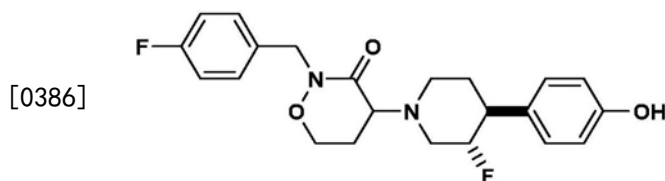


[0382] LCMS:柱-Ascentis Express C8(50X2.1mm-2.7μm),流动相A:2%ACN-98%H₂O-10mM NH₄COOH,流动相B:98%ACN-2%H₂O-10mM NH₄COOH,流速=1ML/MIN,时间:%B::0.0:0.0::1.7:100.0::4.0:100.0,RT-1.925min,(M+1)-403。

[0383] ¹H-NMR:400MHz,CDC1₃:δ1.84-1.88(m,2H),2.04-2.10(m,1H),2.32-2.37(m,1H),2.64(dt,J=26.40,Hz,1H),2.79(dt,J=24.40,Hz,1H),2.92(d,J=10.80Hz,1H),3.41-3.43(m,1H),3.64-3.68(m,1H),3.94-4.06(m,2H),4.56-4.70(m,1H),4.72(s,2H),6.80(td,J=14.40,Hz,2H),7.15(td,J=14.00,Hz,2H),7.31-7.35(m,2H)。

[0384] 手性SFC:注射体积:10,助溶剂:甲醇中的0.3%DEA,柱:Chiralcel OJ-H(4.6X250)mm,5u,柱温:24.3,总流:3,CO₂流速:2.1,助溶剂流速:0.9,助溶剂%:30,背压力:101,RT-5.86min。

[0385] 对于P2(纯手性):



[0387] LCMS:柱-Ascentis Express C8(50X2.1mm-2.7μm),流动相A:2%ACN-98%H₂O-

10mM NH_4COOH , 流动相B:98%ACN-2% H_2O -10mM NH_4COOH , 流速=1ML/MIN, 时间:%B::0.0:0.0::1.7:100.0::4.0:100.0, RT-1.923min, (M+1) -403。

[0388] ^1H -NMR:400MHz, CDCl_3 : δ 1.81-1.87 (m, 2H), 2.06-2.12 (m, 1H), 2.32-2.36 (m, 1H), 2.61-2.66 (m, 1H), 2.71 (dt, $J=24.40$, Hz, 1H), 2.84 (dt, $J=22.40$, Hz, 1H), 2.99 (d, $J=10.40$ Hz, 1H), 3.30-3.33 (m, 1H), 3.65-3.70 (m, 1H), 3.95-4.05 (m, 2H), 4.53-4.66 (m, 1H), 4.72 (s, 2H), 6.80 (d, $J=8.80$ Hz, 2H), 7.00-7.05 (m, 2H), 7.15 (d, $J=8.40$ Hz, 2H), 7.31-7.34 (m, 2H)。

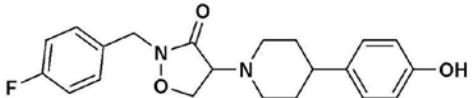
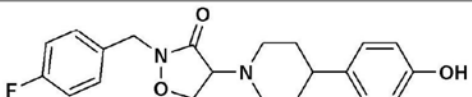
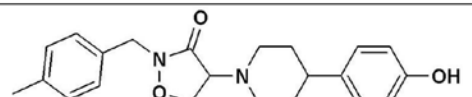
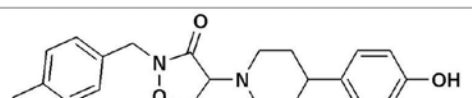
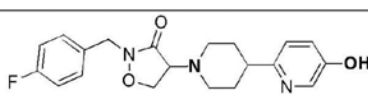
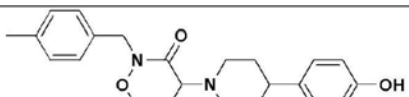
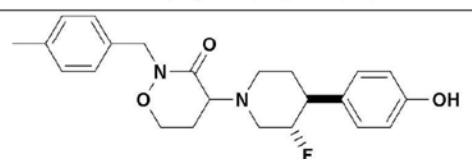
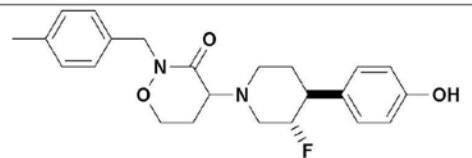
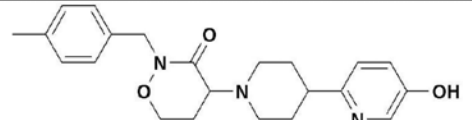
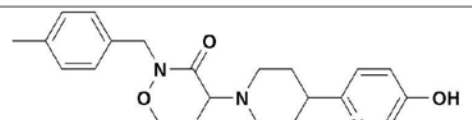
[0389] 手性SFC:注射体积:10, 助溶剂:甲醇中的0.3%DEA, 柱:Chiralcel OJ-H (4.6X250) mm, 5 μ , 柱温:24.3, 总流:3, CO_2 流速:2.1, 助溶剂流速:0.9, 助溶剂%:30, 背压力:101, RT-6.73min。

[0390] 生物方法

[0391] 放射性配体结合测定测定结合到NR2B-亚型NMDA受体的结合实验对8-10周龄Sprague Dawley雄性大鼠 (Harlan, Netherlands) 的前脑进行, 使用 ^3H Ro 25-6981 (Mutel V; Buchy D; Klingelschmidt A; Messer J; Bleuel Z; Kemp JA; Richards JG. Journal of Neurochemistry, 1998, 70 (5):2147-2155)。对于膜制备, 大鼠用Guillotine切截机 (动物伦理委员会批准) 断头而不用麻醉, 将收获的脑速冻, 并在-80℃储存3-6个月。

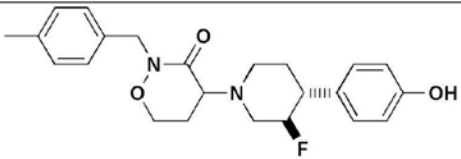
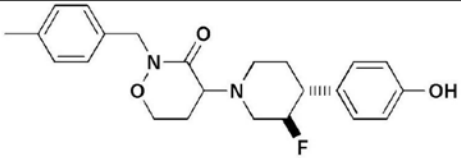
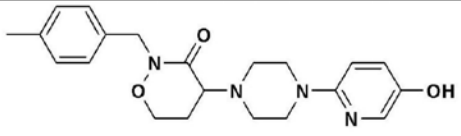
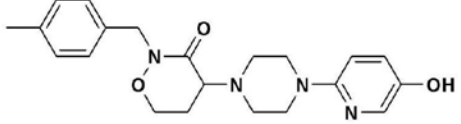
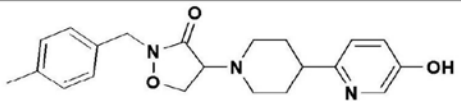
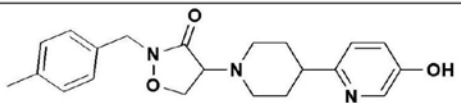
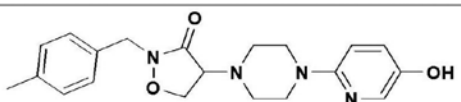
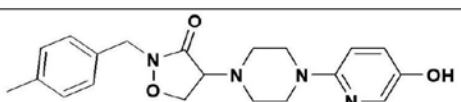
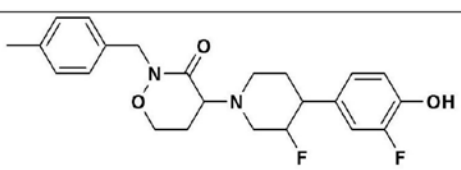
[0392] 对于膜制备, 在由50mM KH_2PO_4 (pH用KOH调节到7.4)、1mM EDTA、0.005%Triton X 100和蛋白酶抑制剂混合液 (SigmaAldrich) 组成的均化缓冲液中, 使鼠前脑在冰上解冻20分钟。解冻的脑用Dounce均化器均化, 并在48000X g离心20min。使团粒重新悬浮于冷缓冲液, 并再次用Dounce均化器均化。随后, 将均浆等分, 速冻, 并在-80℃储存不多于3-4个月。

[0393] 为了进行竞争结合测定, 向96孔板的各孔加入经解冻膜均浆 (20 μg /孔)。试验化合物用100%DMSO系列稀释, 并加到各行测定板, 以达到所需化合物浓度, 使测定板中DMSO浓度保持在最终反应体积的1.33%。下一步, 将 ^3H Ro 25-6981 (4nM) 加到测定板。在室温孵育1小时后, 在GF/B滤板 (已用0.5%PEI在室温处理1小时) 上收获膜结合放射性配体。使滤板在50℃干燥20min, 用microscint 20孵育10分钟, 最后, 在TopCount (Perkin Elmer) 上读出计数。用MK-0657 (这种化合物的制备如WO 2004108705实施例1中所述) (40 μM) 测定非特异性结合。将CPM值换算成抑制%, 并用定制软件绘制浓度响应曲线。重复各试验至少两次, 以得到试验化合物的最终结合 K_i 值。用此测定, 实施例10P-1的化合物显示3.2nM结合 K_i 。

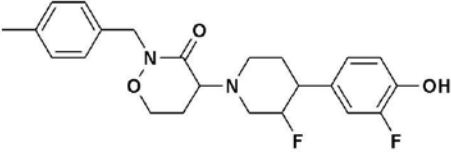
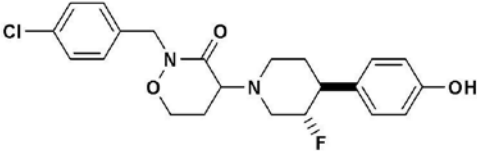
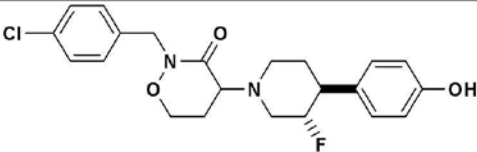
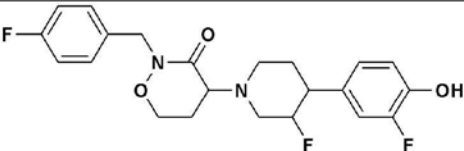
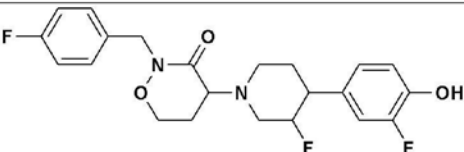
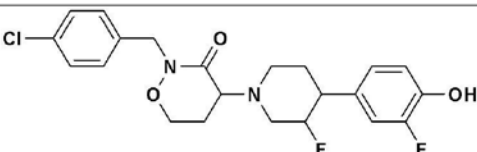
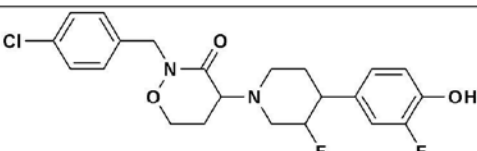
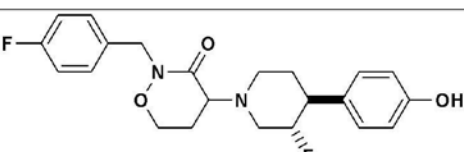
实施例	结构	NR2B 结合 Ki, nM
1, P-1		304.90
1, P-2		4.08
2, P-1		112.30
2, P-2		2.79
3		15.08
4		5.49
5, P-1		143.70
5, P-2		4.37
6, P-1		6.53
6, P-2		8.16

[0394]

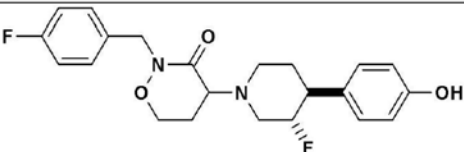
[0395]

实施例	结构	NR2B 结合 Ki, nM
7,P-1		124.80
7,P-2		4.98
8,P-1		57.82
8,P-2		18.75
9,P-1		139.40
9,P-2		12.08
10,P-1		3.20
10,P-2		10.70
11,P-1		3.06

[0396]

实施例	结构	NR2B 结合 Ki, nM
11,P-2		39.34
12,P-1		3.90
12,P-2		149.70
13,P-1		367.20
13,P-2		4.03
14,P-1		98.68
14,P-2		2.80
15,P-1		393.00

[0397]

实施例	结构	NR2B 结合 Ki, nM
15,P-2		12.54

[0398] 离体占据率测定:该测定证明,实施例2P-2的化合物在用药后在动物中占据脑驻留NR2B-亚型受体。静脉给予7-9周龄CD-1雄性小鼠由10%二甲基乙酰胺、40%PEG-400、30%羟丙基β环糊精和30%水组成的溶媒与试验化合物,在用药后15分钟断头收获前脑。将脑样品立即速冻,并在-80℃储存。在第二天,使经用药的脑样品在冰上解冻15-20分钟,随后在由50mM KH_2PO_4 (pH用KOH调节到7.4)、1mM EDTA、0.005%Triton X 100和蛋白酶抑制剂混合液(Sigma Aldrich)组成的冷均化缓冲液中用Polytron均化10秒。用Dounce均化器进一步均化粗均浆,使从所有动物的经均化膜等分试样瞬间冻结,并在-80℃储存,直至进一步使用。整个均化过程在冰上进行。

[0399] 为了测定占据率,首先在冰上解冻膜均浆,然后用25规针进行针均化。将经均化膜(6.4mg/ml)加到96孔板,随后加 ^3H Ro25-6981 (6nM)。在4℃震荡器上孵育反应混合物5分钟,然后收获到GF/B滤板(已用0.5%PEI在室温处理1小时)上。使滤板在50℃干燥20min,用microscint 20孵育10分钟,并在TopCount (Perkin Elmer)上读数。各剂量或化合物组由4-5只动物组成。对照动物组只给予溶媒。将来自各动物的膜一式三份加到测定板。用10μM Ro 25-6981 (加到包含来自给予溶媒的动物的膜均浆的孔)测定非特异性结合。对各动物在各化合物剂量用以下公式使具体计数/分钟换算成%占据率:

%占据率(动物A)

$$[0400] \quad = 100 - \left(\frac{\text{动物A的特异CPM}}{\text{来自对照组的平均CPM}} \times 100 \right)$$

[0401] 用此方法,在3mg/Kg静脉给药后,实施例10,P-1的化合物显示94%NR2B受体占据率。通过质谱以通常方式测定药物水平。在此剂量,血浆中的药物水平为572nM,在均化脑组织中的药物水平为863nM。

[0402] hERG电生理学测定.使用膜片钳技术,对稳定表达hERG通道的HEK 293细胞测定试验化合物的hERG活性。将用hERG表达细胞平板接种的盖片放入试验室,并在室温用由(mM) 140NaCl、4KCl、1.8CaCl₂、1MgCl₂、10葡萄糖、10HEPES (pH 7.4,NaOH)组成的溶液灌注。在用包含130KCl、1MgCl₂、1CaCl₂、10EGTA、10HEPES、5ATP-K₂ (pH 7.2,KOH)的内溶液填充时,硼硅酸盐膜片电极(patch pipettes)具有2-4Mohms尖端电阻。使用由pClamp (Axon instruments)软件控制的Axopatch 200B (Axon instruments,Union City,CA)膜片钳放大器,在-80mV以全细胞配置夹紧细胞。在形成吉咖封口时,重复施加以下电压控制(0.05Hz)记录尾电流:从-80mV至+20mV经2秒去极化步骤,随后至-65mV(3秒)超极化步骤引出尾电流,然后回到保持电位。在尾电流稳定后施加化合物。首先,在只胞外溶液(对照)存在下记录尾电流,随后,在包含增加化合物浓度的胞外溶液存在下记录。各化合物浓度应用2-5分钟。在各浓度的抑制百分数计算为峰尾电流相对于对照溶液存在下记录的峰尾电流减小。用定制软件进行数据分析。绘制在不同浓度的抑制百分数,得到浓度响应曲线,随后用四参数公式拟合计算hERG IC₅₀值。用此方法,实施例10,P-1的化合物为hERG通道的不良抑制剂,IC₅₀=30μM。

[0403] 小鼠强迫游泳试验(mFST).强迫游泳试验(FST)为用于在临床前研究中评价抗抑郁化合物的动物模型。FST利用修改类似于Porsolt et al.的方法进行(Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. (小鼠的行为绝望:抗抑郁剂的初始筛选试验) Arch Int Pharmacodyn

Thér 1977;229:327-36)。在此范例中,强迫小鼠在用水填充不可逃脱的圆筒中游泳。在这些条件下,小鼠最初试图逃脱,最终表现出不动的行为,这种行为解释为被动压力应对策略或抑郁状行为。游泳池位于由塑料制成的箱内。各池由不透明塑料片相互隔开至圆筒高度。使三只小鼠一次经过试验。通过将小鼠放入含水(20cm深,保持在24-25℃)的单独玻璃圆筒(46cm高度X20cm直径),进行游泳阶段6min。在此水位,小鼠尾不接触容器底部。只要小鼠保持被动漂浮而不在水中挣扎,且只做出保持鼻/头高于水并保持漂浮必需的那些活动,就判断小鼠稳定。在总共6min试验期间评估不动的持续时间,表示为不动时间(sec)。各小鼠只试验一次。在各阶段结束,小鼠用干布擦干,并送回到置于热毯上的居住笼,以防止低体温。在各试验后换水。所有试验阶段用视频摄像机(Sony Handicam,Model:DCR-HC38E;PAL)记录,并用Forced Swim Scan,Version 2.0软件进行评分(Clever Systems Inc.,Reston,VA,USA;见Hayashi E,Shimamura M,Kuratani K,Kinoshita M,Hara H.Automated experimental system capturing three behavioral components during murine forced swim test.(在鼠强迫游泳试验期间捕获三种行为组分的自动试验系统)Life Sci.2011Feb 28;88(9-10):411-7和YuanP,Tragon T,Xia M,Leclair CA,Skoumbourdis AP,Zheng W,Thomas CJ,Huang R,Austin CP,Chen G,Guitart X.Phosphodiesterase 4inhibitors enhance sexual pleasure-seeking activity in rodents.(磷酸二酯酶4抑制剂增强啮齿类的寻求性愉悦活性)Pharmacol Biochem Behav.2011;98(3):349-55)。对于NCE试验:在游泳阶段前15min通过静脉途径给予小鼠试验化合物,并经下6min记录不动时间。在FST结束,通过快速断头法使小鼠安乐死,收集血浆和脑样品,并在-80℃储存到进一步分析。在小鼠强迫游泳测定中,实施例1的化合物在30%羟丙基β环糊精/70%柠檬酸盐缓冲剂pH 4的溶媒中以5mL/Kg给药体积静脉给药。实施例10,P-1的化合物证明在这些条件下1mg/Kg不动时间在统计上显著减少。在此剂量,在血浆中药物水平为207nM.NR2B受体占据率如上报告测定,测定为69%。

[0404] 对本领域的技术人员很明显,本公开不限于前述公开,并可在不脱离其基本属性下以其它具体体现。因此,希望本公开在所有方面作为说明性而非限制性考虑,因此,在本文中旨在包括涉及附加权利要求而非前述公开内容,及在权利要求意义和相当范围内的所有变化。