



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119855821 A

(43) 申请公布日 2025. 04. 18

(21) 申请号 202380037777.2

(22) 申请日 2023.03.29

(30) 优先权数据

63/362302 2022.03.31 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.10.31

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2023/065111 2023.03.29

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/192913 EN 2023.10.05

(71) 申请人 艾伯维公司

地址 美国伊利诺伊州

(72) 发明人 D·T·科恩 J·龚 T·贾恩

P·库马尔 刘大春

A·马斯特拉基奥 M·米尔斯

A·W·菲利普斯 J·K·普拉特

S·彭纳 J·A·斯托克韦尔

王乐 俞一赞

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

专利代理师 郭慧 杨思捷

(51) Int.Cl.

C07D 513/04 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/429 (2006.01)

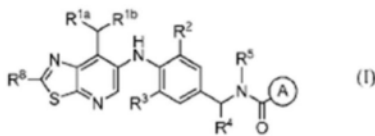
权利要求书5页 说明书53页

(54) 发明名称

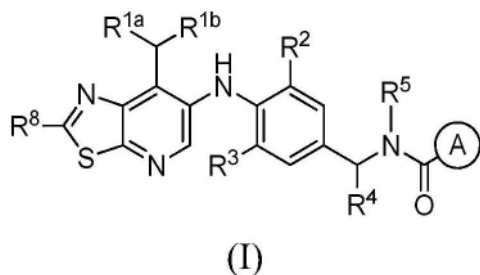
噻唑并[5,4-b]吡啶MALT-1抑制剂

(57) 摘要

本公开提供了通式(I)的化合物及其药学上可接受的盐,其中R^{1a}、R^{1b}、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸和环A具有说明书中所定义的任何值。



1. 一种通式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐,



其中:

R^{1a} 选自 OCH_3 和 CH_3 ;

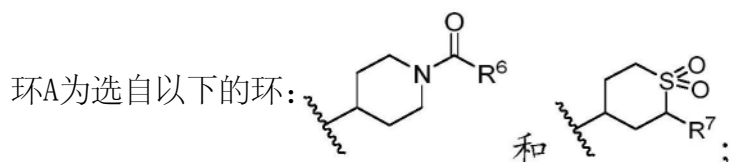
R^{1b} 选自 CH_3 、 CHF_2 和 CF_3 ;

R^2 选自H和F;

R^3 选自H和F;

R^4 选自 CHF_2 和 CF_3 ;

R^5 为 C_1 - C_4 烷基;



R^6 选自 C_1 - C_4 烷基和 C_1 - C_4 羟烷基;

R^7 选自H和 C_1 - C_4 烷基;并且

R^8 选自 CHF_2 和 CH_3 。

2. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中环A为

3. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^2 为H。

4. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^3 为H。

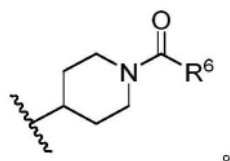
5. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^{1a} 为 OCH_3 。

6. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^{1b} 为 CHF_2 。

7. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^4 为 CF_3 。

8. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^5 为甲基。

9. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中环A为



10. 根据权利要求9所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^{1a} 为 OCH_3 。

11. 根据权利要求9所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^{1b} 为 CHF_2 。

12. 根据权利要求9所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^6 为 C_1 - C_4 烷基。

13. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^8 为 CH_3 。

14. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^2 为H, R^3 为H,并且 R^4 为 CF_3 。

15. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^{1a} 为 OCH_3 , R^{1b} 为 CHF_2 , R^2 为H, R^3 为H, R^4 为 CF_3 ,并且 R^5 为甲基。

16. 根据权利要求2所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^4 为 CF_3 ,并且 R^5 为甲基。

17. 根据权利要求2所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^2 为H, R^3 为H, R^4 为 CF_3 ,并且 R^5 为甲基。

18. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物选自:

N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({2-甲基-7-[(1R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-{(1S)-1-[4-({7-[(1S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2-二氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-乙基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1R)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-{(1S)-1-[3,5-二氟-4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[3-氟-4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({2-甲基-7-[(1S)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({7-[(1R)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-{(1S)-1-[4-({7-[(1S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2-二氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({2-甲基-7-[(1R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-{(1S)-1-[4-({2-(二氟甲基)-7-[(1S)-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-[(1S)-1-(4-{{7-(1,1-二氟丙-2-基)-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基

基}苯基)-2,2,2-三氟乙基]-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)-3-氟苯基]-2,2,2-三氟乙基]-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;

1-乙酰基-N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基]-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

1-乙酰基-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;

1-(羟基乙酰基)-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;

N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

1-(3-羟基丙酰基)-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;

1-(2-羟基-2-甲基丙酰基)-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;

1-(2,3-二羟基丙酰基)-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;

1-[(2R)-2-羟基丙酰基]-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;

1-[(2S)-2-羟基丙酰基]-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;

1-[(2R)-2,3-二羟基丙酰基]-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;

N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

1-乙酰基-N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

1-[(2S)-2,3-二羟基丙酰基]-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;

N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2-二氟乙基}-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

N-{(1S)-1-[4-({7-[(1S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

1-乙酰基-N-{(1S)-1-[4-({7-[(1S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

1-(羟基乙酰基)-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1R)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;

1-乙酰基-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1R)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;

N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({2-甲基-7-[(1R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

1-乙酰基-N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({2-甲基-7-[(1R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({2-甲基-7-[(2R)-1,1,1-三氟丙-2-基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;和

N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({2-甲基-7-[(2S)-1,1,1-三氟丙-2-基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;或其药学上可接受的盐。

19. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;或

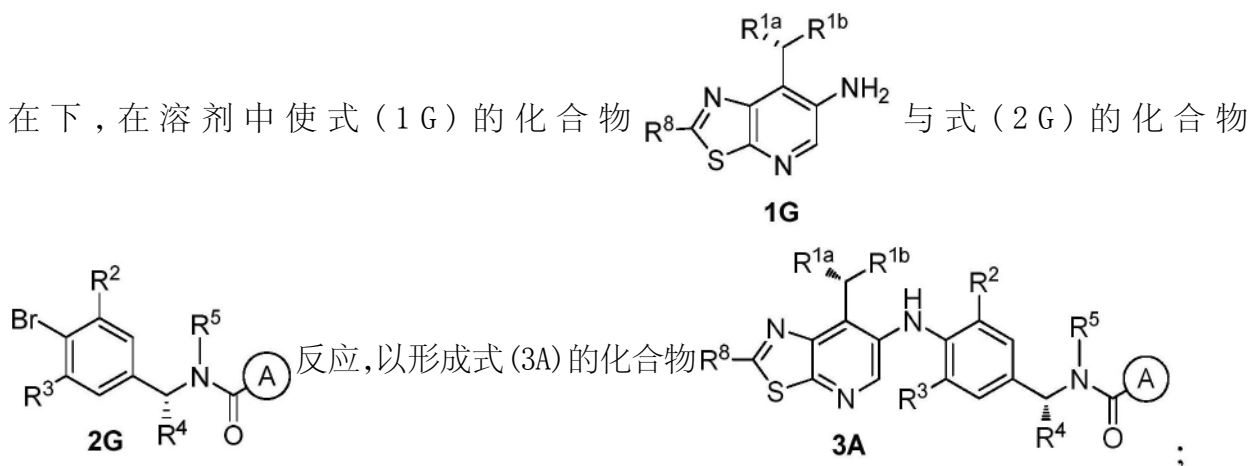
其药学上可接受的盐。

20. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺。

21. 一种药物组合物,所述药物组合物包含与药学上可接受的载体组合的治疗有效量的根据权利要求1所述的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐。

22. 一种用于治疗受试者的激活的B细胞样亚型弥漫性大B细胞淋巴瘤(ABC-DLBCL)的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用治疗有效量的根据权利要求1所述的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐。

23. 一种根据权利要求1合成式(3A)的化合物的方法,所述方法通过在碱和催化剂的存在下,在溶剂中使式(1G)的化合物



其中:

R^{1a}选自OCH₃和CH₃;

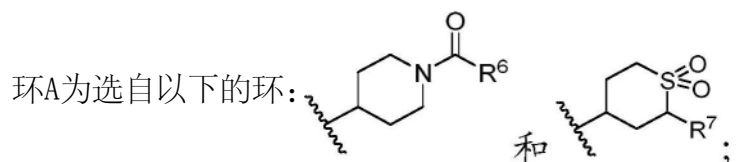
R^{1b}选自CH₃、CHF₂和CF₃;

R²选自H和F;

R³选自H和F;

R⁴选自CHF₂和CF₃;

R⁵为C₁-C₄烷基;



R^6 选自 C_1-C_4 烷基和 C_1-C_4 羟烷基；

R^7 选自H和 C_1-C_4 烷基；并且

R^8 选自 CHF_2 和 CH_3 。

24. 根据权利要求23所述的方法，其中所述溶剂为1,4-二氧戊环。

25. 根据权利要求23所述的方法，其中所述反应在高于约20℃的温度下进行。

26. 根据权利要求23所述的方法，其中所述碱为碳酸铯。

27. 根据权利要求23所述的方法，其中所述温度为约90℃。

噻唑并[5,4-b]吡啶MALT-1抑制剂

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本专利申请为非临时申请,该申请要求于2022年3月31日提交的美国临时申请第63/362,302号的权益和优先权,该临时申请的内容全文以引用方式并入本文。

技术领域

[0003] 本公开涉及抑制粘膜相关淋巴组织淋巴瘤易位蛋白1 (MALT-1) 活性的化合物和包含这些化合物的组合物。

背景技术

[0004] 适应性免疫系统的B细胞和T细胞利用多效性NF- κ B信号传导通路,转导来自同源抗原受体的细胞外信号,以增加存活和增殖。这种信号转导引起NF- κ B的快速核定位和靶基因的激活,这些靶基因包括促炎性细胞因子和细胞凋亡的负调节子。NF- κ B通路的关键下游信号传导枢纽是CARD11-BCL10-MALT1 (CBM) 复合物,该复合物起重要的调节作用。在B细胞受体和T细胞受体刺激后,形成CBM复合物并且募集多种信号传导蛋白,从而启动典型的NF- κ B激活。

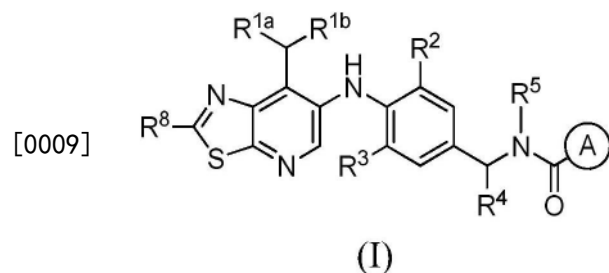
[0005] 类半胱天冬酶MALT1是CBM复合物内的重要调节剂。MALT1不仅充当组装用于NF- κ B激活的蛋白复合物的支架,而且还充当一种蛋白酶,该蛋白酶裂解NF- κ B通路的负调节子以用于增强信号。

[0006] NF- κ B信号传导的异常激活发生在激活的B细胞样亚型弥漫性大B细胞淋巴瘤(ABC-DLBCL)中。ABC-DLBCL肿瘤具有通过其B细胞受体激活的B细胞特征性基因表达标记。就DLBCL而言,经常检测到BCR通路中的功能获得性改变,并且这些突变触发了肿瘤细胞存活所需要的组成型NF- κ B激活。

[0007] 考虑到MALT-1是NF- κ B通路的调节剂,该通路在包括ABC-DLBCL在内的疾病中起重要作用,因此需要抑制MALT-1蛋白酶活性以用于抗ABC-DLBCL治疗的化合物。特别地,需要抑制MALT-1蛋白酶活性并且具有改善的药学性质的MALT-1化合物。

发明内容

[0008] 一方面,本公开提供了式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,



[0010] 其中:

[0011] R^{1a} 选自 OCH_3 和 CH_3 ;

[0012] R^{1b} 选自 CH_3 、 CHF_2 和 CF_3 ;

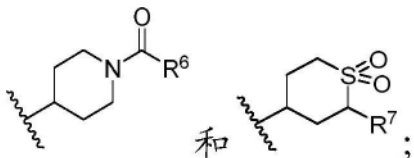
[0013] R^2 选自H和F;

[0014] R^3 选自H和F;

[0015] R^4 选自 CHF_2 和 CF_3 ;

[0016] R^5 为 C_1 - C_4 烷基;

[0017] 环A为选自以下的环:

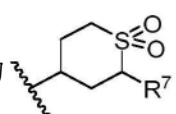


[0018] R^6 选自 C_1 - C_4 烷基和 C_1 - C_4 羟烷基;

[0019] R^7 选自H和 C_1 - C_4 烷基;并且

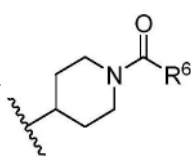
[0020] R^8 选自 CHF_2 和 CH_3 。

[0021] 另一方面,环A为



。另一方面, R^2 为H。另一方面, R^3 为H。另一方面, R^{1a} 为 OCH_3 。另一方面, R^{1b} 为 CHF_2 。另一方面, R^5 为甲基。

[0022] 另一方面,环A为



。另一方面, R^{1a} 为 OCH_3 。另一方面, R^{1b} 为 CHF_2 。另一方面, R^6 为 C_1 - C_4 烷基。另一方面, R^5 为 C_1 - C_4 烷基。

[0023] 另一方面,该化合物选自:

[0024] N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}- $1\lambda^6$ -噻烷-4-羧酰胺;

[0025] N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({2-甲基-7-[(1R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}- $1\lambda^6$ -噻烷-4-羧酰胺;

[0026] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化- $1\lambda^6$ -噻烷-4-羧酰胺;

[0027] N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-N-甲基-1,1-二氧化- $1\lambda^6$ -噻烷-4-羧酰胺;

[0028] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化- $1\lambda^6$ -噻烷-4-羧酰胺;

[0029] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2-二氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化- $1\lambda^6$ -噻烷-4-羧酰胺;

[0030] N-乙基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}- $1\lambda^6$ -噻烷-4-羧酰胺;

[0031] N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1R)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}- $1\lambda^6$ -噻烷-4-羧酰胺;

[0032] N-{(1S)-1-[3,5-二氟-4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-

- b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;
- [0033] N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[3-氟-4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;
- [0034] N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({2-甲基-7-[(1S)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;
- [0035] N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({7-[(1R)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;
- [0036] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2-二氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;
- [0037] N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({2-甲基-7-[(1R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;
- [0038] N-{(1S)-1-[4-({2-(二氟甲基)-7-[(1S)-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;
- [0039] N-[(1S)-1-(4-{{7-(1,1-二氟丙-2-基)-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基]-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;
- [0040] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)-3-氟苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;
- [0041] 1-乙酰基-N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;
- [0042] 1-乙酰基-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;
- [0043] 1-(羟基乙酰基)-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;
- [0044] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;
- [0045] 1-(3-羟基丙酰基)-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;
- [0046] 1-(2-羟基-2-甲基丙酰基)-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;
- [0047] 1-(2,3-二羟基丙酰基)-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;
- [0048] 1-[(2R)-2-羟基丙酰基]-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;
- [0049] 1-[(2S)-2-羟基丙酰基]-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;
- [0050] 1-[(2R)-2,3-二羟基丙酰基]-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;

[0051] N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

[0052] 1-乙酰基-N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

[0053] 1-[(2S)-2,3-二羟基丙酰基]-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;

[0054] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2-二氟乙基}-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

[0055] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

[0056] 1-乙酰基-N-{(1S)-1-[4-({7-[(1S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

[0057] 1-(羟基乙酰基)-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1R)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;

[0058] 1-乙酰基-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1R)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺;

[0059] N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({2-甲基-7-[(1R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

[0060] 1-乙酰基-N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({2-甲基-7-[(1R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-N-甲基哌啶-4-羧酰胺;

[0061] N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({2-甲基-7-[(2R)-1,1,1-三氟丙-2-基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;和

[0062] N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({2-甲基-7-[(2S)-1,1,1-三氟丙-2-基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺;或其药学上可接受的盐。

[0063] 另一方面,该化合物为N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺或其药学上可接受的盐。

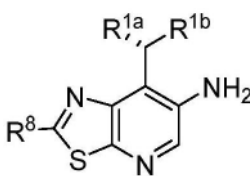
[0064] 另一方面,该化合物为N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺。

[0065] 另一方面,本公开提供了一种药物组合物,该药物组合物包含与药学上可接受的载体组合的治疗有效量的根据前述任一方面的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐。

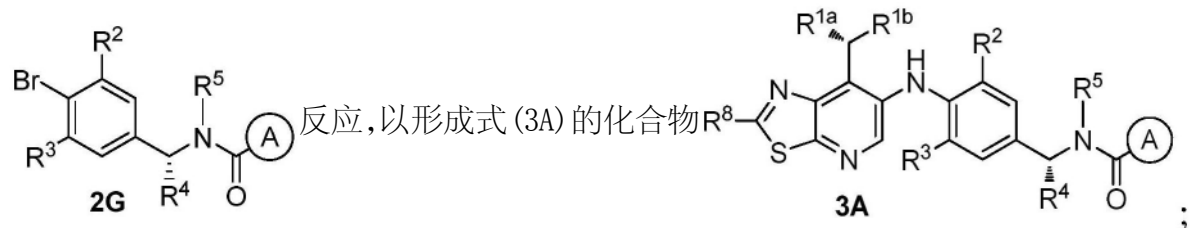
[0066] 另一方面,本公开提供了一种用于治疗受试者的激活的B细胞样亚型弥漫性大B细胞淋巴瘤(ABC-DLBCL)的方法,该方法包括向有此需要的受试者施用治疗有效量的根据前述任一方面的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐。

[0067] 另一方面,本公开提供了一种根据权利要求1合成式(3A)的化合物的方法,在碱和

催化剂的存在下,在溶剂中使式(1G)的化合物



与式(2G)的化合物



[0068] 其中:

[0069] R^{1a} 选自 OCH_3 和 CH_3 ;

[0070] R^{1b} 选自 CH_3 、 CHF_2 和 CF_3 ;

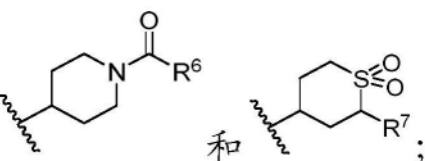
[0071] R^2 选自H和F;

[0072] R^3 选自H和F;

[0073] R^4 选自 CHF_2 和 CF_3 ;

[0074] R^5 为 C_1 - C_4 烷基;

[0075] 环A为选自以下的环:



和

[0076] R^6 选自 C_1 - C_4 烷基和 C_1 - C_4 羟烷基;

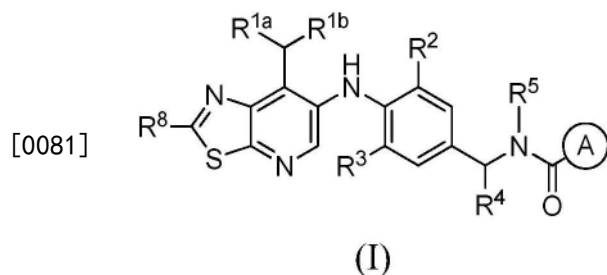
[0077] R^7 选自H和 C_1 - C_4 烷基;并且

[0078] R^8 选自 CHF_2 和 CH_3 。

具体实施方式

[0079] 本公开描述了抑制MALT-1活性的化合物。

[0080] 本文公开了式(I)的化合物



[0082] 其中:

[0083] R^{1a} 选自 OCH_3 和 CH_3 ;

[0084] R^{1b} 选自 CH_3 、 CHF_2 和 CF_3 ;

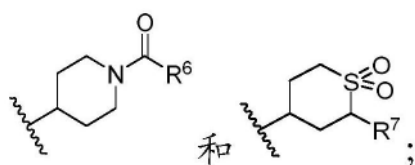
[0085] R^2 选自H和F;

[0086] R^3 选自H和F;

[0087] R^4 选自 CHF_2 和 CF_3 ;

[0088] R^5 为 C_1 - C_4 烷基;

[0089] 环A为选自以下的环:



[0090] R^6 选自 C_1 - C_4 烷基和 C_1 - C_4 羟烷基;

[0091] R^7 选自H和 C_1 - C_4 烷基;并且

[0092] R^8 选自 CHF_2 和 CH_3 。

[0093] 定义

[0094] 本说明书中使用的某些术语旨在指如下详细描述的下定义。

[0095] 注意,如在本说明书和预期的权利要求书中所使用的,单数形式的“一个(种)(a/an)”和“所述”包括复数个指示物,除非上下文另外明确指出。因此,例如,提及“一种化合物”包括单一化合物以及一种或多种相同或不同的化合物。

[0096] 如在说明书和所附权利要求书中使用的,除非有相反的说明,否则下列术语具有所指示的含义:

[0097] 如本文所用,术语“烷基”是指饱和的直链或支链的烃链基团。烷基的代表性示例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基等。

[0098] 如本文所用,术语“羟烷基”是指通过如本文所定义的烷基基团与母体分子部分连接的一个或多个羟基基团(OH)。除非另有说明,否则羟烷基基团可具有一个、两个、三个或四个碳。羟烷基的代表性示例包括但不限于羟甲基、2-羟乙基、3-羟丙基等。

[0099] 在一些情况下,一个部分中的碳原子数由前缀“ C_x - C_y ”表示,其中x是取代基中的最小碳原子数,而y是最大碳原子数。因此,例如,“ C_1 - C_6 烷基”意指含有1至6个碳原子的烷基取代基,并且“ C_1 - C_3 烷基”意指含有1至3个碳原子的烷基取代基。

[0100] 关于本公开(包括权利要求书)中词语“包含(comprise/comprises/comprising)”的使用,除非上下文另有要求,否则基于和明确理解以下内容后使用那些词语:那些词语应被理解为包括性的而非排他性的。

[0101] 短语“药物组合物”是指适用于在医学用途中施用的组合物。

[0102] 短语“药学上可接受的载体”意指单一药学上可接受的载体以及一种或多种药学上可接受的载体等。

[0103] 短语“药学上可接受的盐”是指在合理的医学判断范围内,适于与人和低等动物的组织接触使用而没有过度毒性、刺激性、过敏反应等并且与合理的效益/风险比相称的那些盐。

[0104] 术语“稳定的”是指化合物具有足以允许制造的稳定性并且保持化合物的完整性足够长时间以用于本文详述的目的。

[0105] 如本文所用,术语“受试者”是指人。术语“人”、“患者”和“受试者”在本文可互换使用。

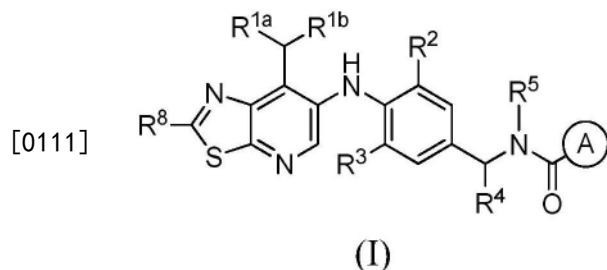
[0106] 短语“治疗有效量”是指化合物或其药学上可接受的盐在特定受试者或受试者群体中施用以进行治疗时足以治疗所治疗的病状或病症的一种或多种症状的量。

[0107] 如本文所用,术语“治疗(treat/treating/treatment)”是指缓解或消除疾病和/或其伴随症状的方法。

[0108] 化合物

[0109] 本公开的化合物具有如本文所述的通式(I)。

[0110] 在实施方案中,本公开提供了式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,



[0112] 其中:

[0113] R^{1a} 选自 OCH_3 和 CH_3 ;

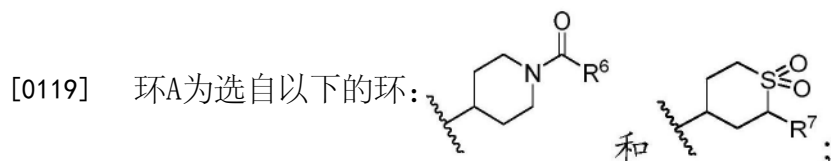
[0114] R^{1b} 选自 CH_3 、 CHF_2 和 CF_3 ;

[0115] R^2 选自H和F;

[0116] R^3 选自H和F;

[0117] R^4 选自 CHF_2 和 CF_3 ;

[0118] R^5 为 C_1 - C_4 烷基;



[0120] R^6 选自 C_1 - C_4 烷基和 C_1 - C_4 羟烷基;

[0121] R^7 选自H和 C_1 - C_4 烷基;并且

[0122] R^8 选自 CHF_2 和 CH_3 。

[0123] 式(I)的化合物中变量基团的特定值如下。此类值可以在适当的情况下与本文中定义的任何其他值、定义、权利要求书或实施方案一起使用。

[0124] 在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1a} 选自 OCH_3 和 CH_3 。在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1a} 为 OCH_3 。在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1a} 为 CH_3 。

[0125] 在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1b} 选自 CH_3 、 CHF_2 和 CF_3 。在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1b} 选自 CH_3 和 CHF_2 。在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1b} 选自 CH_3 和 CF_3 。在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1b} 选自 CHF_2 和 CF_3 。在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1b} 为 CH_3 。在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1b} 为 CHF_2 。在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1b} 为 CF_3 。

[0126] 在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1a} 为 OCH_3 并且 R^{1b} 为 CHF_2 。

[0127] 在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^2 选自H和F。在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^2 为H或其药学上可接受的盐。在式(I)或其药学上可

接受的盐的某些实施方案中, R^2 为 F。

[0128] 在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1a} 为 OCH_3 , R^{1b} 为 CHF_2 , 并且 R^2 为 H。

[0129] 在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^3 选自 H 和 F。在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^3 为 H。在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^3 为 F。

[0130] 在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1a} 为 OCH_3 , R^{1b} 为 CHF_2 , R^2 为 H, 并且 R^3 为 H。

[0131] 在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^4 选自 CHF_2 和 CF_3 。在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^4 为 CHF_2 。在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^4 为 CF_3 。

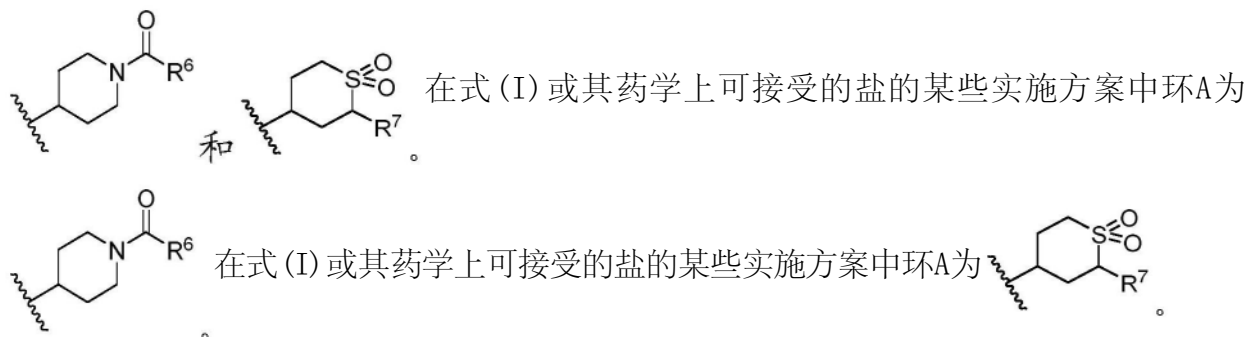
[0132] 在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1a} 为 OCH_3 , R^{1b} 为 CHF_2 , R^2 为 H, R^3 为 H, 并且 R^4 为 CF_3 。

[0133] 在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^5 为 C_1 - C_4 烷基。在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^5 为甲基。在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^5 为乙基。

[0134] 在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1a} 为 OCH_3 , R^{1b} 为 CHF_2 , R^2 为 H, R^3 为 H, R^4 为 CF_3 , 并且 R^5 为甲基。

[0135] 在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1a} 为 OCH_3 , R^{1b} 为 CHF_2 , R^2 为 H, R^3 为 H, R^4 为 CF_3 , 并且 R^5 为 H。

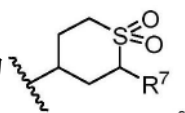
[0136] 在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, 环 A 选自



[0137] 在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^6 选自 C_1 - C_4 烷基和 C_1 - C_4 羟烷基。在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^6 为 C_1 - C_4 烷基。在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^6 为 C_1 - C_4 羟烷基。

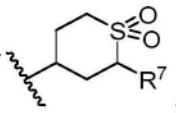
[0138] 在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1a} 为 OCH_3 , R^{1b} 为 CHF_2 , R^2 为 H, R^3

为 H, R^4 为 CF_3 , R^5 为 H, 并且环 A 为

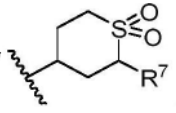


[0139] 在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^7 选自 H 和 C_1 - C_4 烷基。在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^7 为 H。在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^7 为 C_1 - C_4 烷基。在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^7 为甲基。

[0140] 在式 (I) 或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1a} 为 OCH_3 , R^{1b} 为 CHF_2 , R^2 为 H, R^3

为H, R^4 为 CF_3 , R^5 为H, 环A为  并且 R^7 为H。

[0141] 在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^8 选自 CHF_2 和 CH_3 。在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^8 为 CHF_2 。在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^8 为 CH_3 。

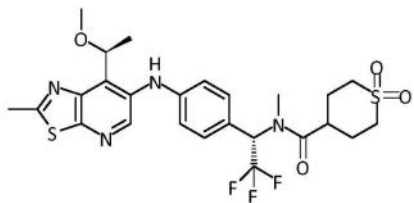
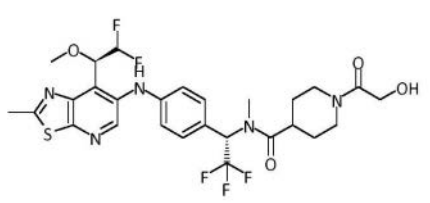
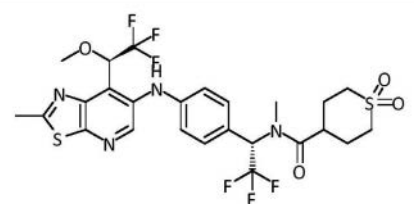
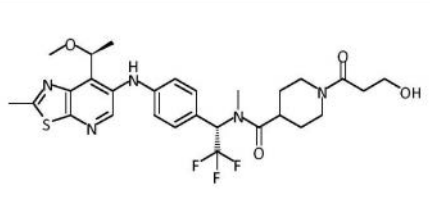
[0142] 在式(I)或其药学上可接受的盐的某些实施方案中, R^{1a} 为 OCH_3 , R^{1b} 为 CHF_2 , R^2 为H, R^3 为H, R^4 为 CF_3 , R^5 为H, 环A为  R^7 为H, 并且 R^8 为 CH_3 。

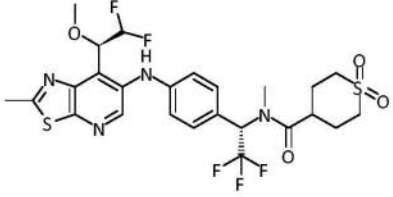
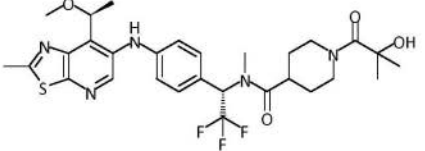
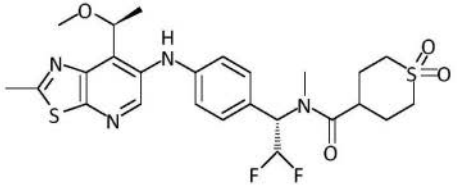
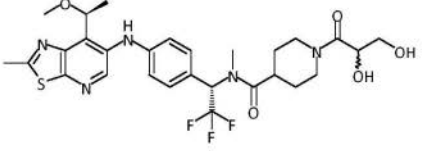
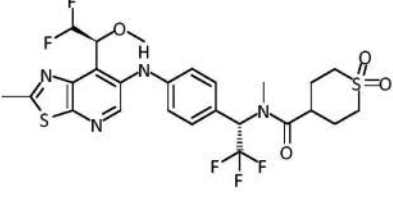
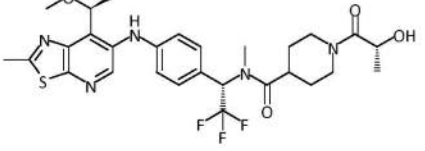
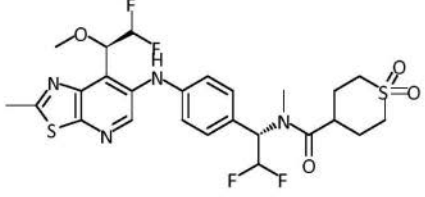
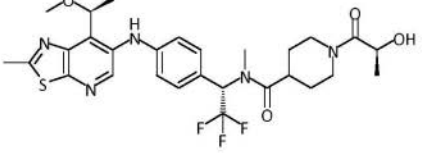
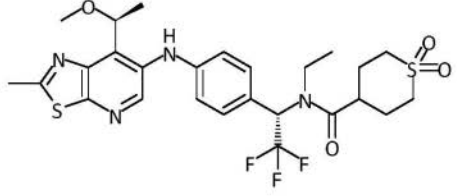
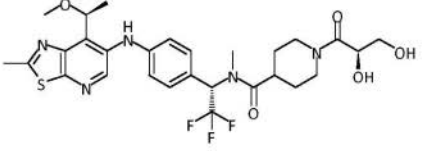
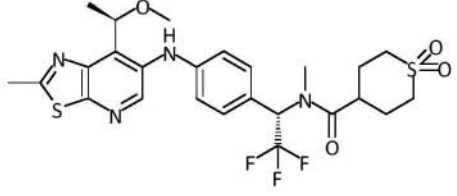
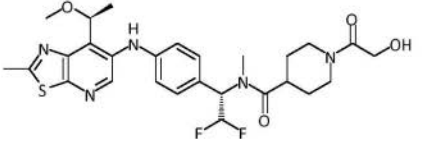
[0143] 本文公开的化合物可含有一个或多个在本文任何取代基或式中出现超过一次的变量。变量每次出现时的定义均与其另一次出现时的定义无关。此外,仅当取代基的组合产生稳定的化合物时才允许这类组合。

[0144] 本公开的化合物和中间体通过使用ACD/Name 2021.1.3 (文件版本N15E41, Build 123232, 2021年7月7日) 软件程序以及/或者通过使用作为CHEMDRAW® Professional v.15.0.0.106的一部分的Struct=Name命名算法来命名。

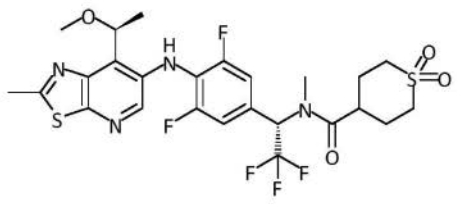
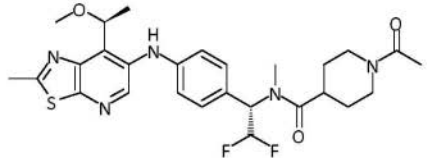
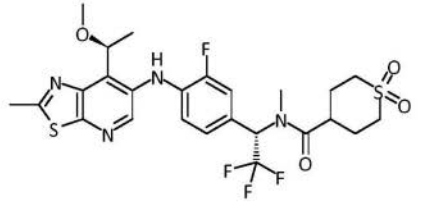
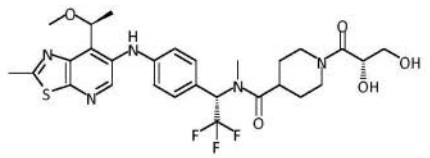
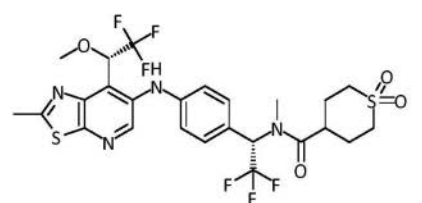
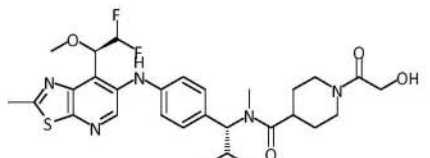
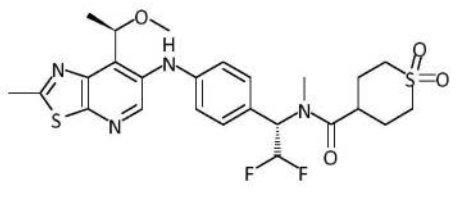
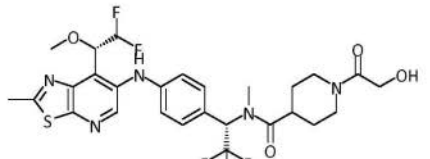
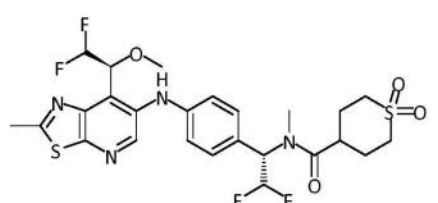
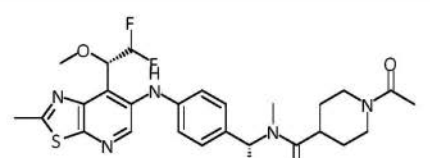
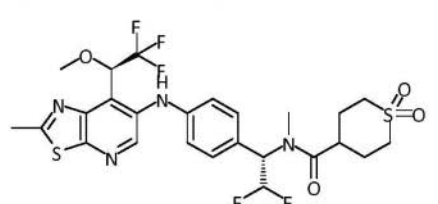
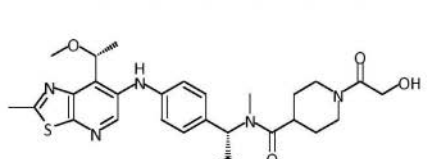
[0145] 式(I)的示例性化合物包括但不限于示于下表1中的化合物及其药学上可接受的盐。应了解,当本文中发现的化合物的名称与在表1中发现的结构之间有差异时,以表1中的结构为准。

[0146] 表1. 示例性化合物

示例	化学结构	示例	化学结构
1		21	
2		22	

3		23	
4		24	
5		25	
6		26	
7		27	
8		28	

[0148]

9		29	
10		30	
11		31	
12		32	
13		33	
14		34	

[0149]

[0150]

15		35	
16		36	
17		37	
18		38	
19		39	
20			

[0151] 式(I)的化合物可以呈药学上可接受的盐的形式使用。

[0152] 式(I)的化合物可以含有碱性或酸性官能团或两者,并且在需要时可以通过使用合适的酸或碱转化成药学上可接受的盐。

[0153] 制备示例性化合物的方法

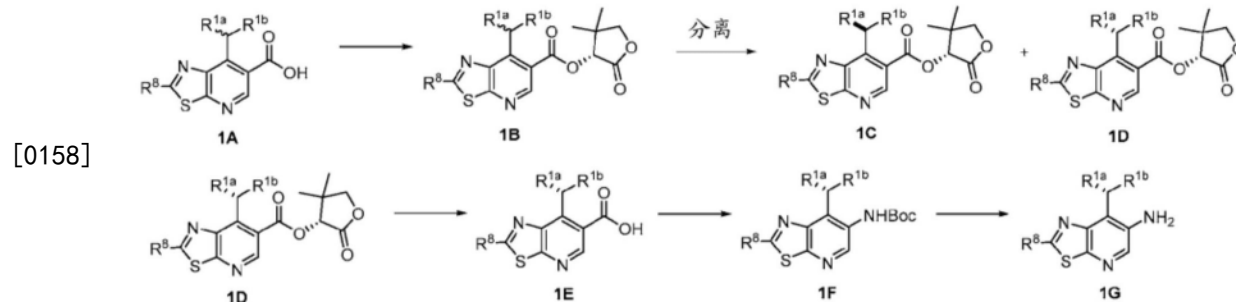
[0154] 本公开的化合物可以结合说明可以制备化合物的方式的以下合成方案和方法来

加以更好的理解。本公开的化合物可通过各种合成方法来制备。代表性合成方法示于但不限于方案1-8中。变量 R^{1a} 、 R^{1b} 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^8 和A如本文所详细定义。

[0155] 在它们的方案和描述中使用的缩写具有以下含义：Boc表示叔丁氧基羰基保护基团。

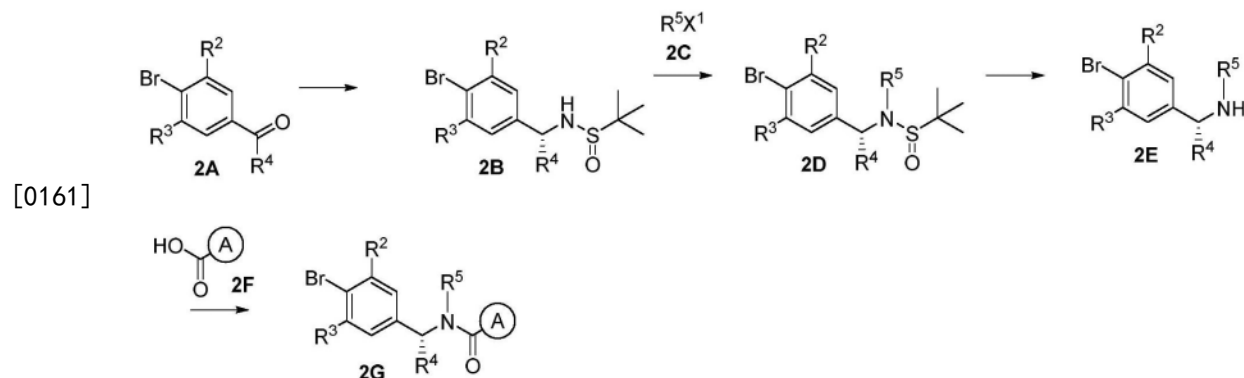
[0156] 用于合成示例性式(I)中间体和化合物的代表性方案：

[0157] 方案1



[0159] 方案1描述了式(1G)中间体的合成。在N,N'-二环己基碳二亚胺和4-二甲基氨基吡啶的存在下,通过使其中 R^{1A} 、 R^{1B} 和 R^8 如本文所述的式(1A)的化合物与(R)-3-羟基-4,4-二甲基二氢呋喃-2(3H)-酮反应,将该式(1A)的化合物转化为式(1B)的化合物。反应通常在环境温度下在诸如但不限于二氯甲烷的溶剂中进行。式(1B)的化合物与式(1C)和式(1D)的化合物的分离可通过如本文所述的沉淀技术进行。式(1D)的化合物可使用碱(诸如氢氧化锂)进行水解,随后加入酸(诸如盐酸),得到式(1E)的化合物。该反应通常在水性环境中进行,并且可在高温下进行,其中该高温是大于环境温度的温度,例如大于20℃。可通过在碱(诸如三乙胺)的存在下使式(1E)的化合物与叠氮磷酸二苯酯在叔丁醇中反应,来制备式(1F)的化合物。反应通常在高温下进行。可通过在溶剂(诸如二氯甲烷)中用酸(诸如2,2,2-三氟乙酸)处理式(1F)的化合物,来制备式(1G)的化合物。反应可在低温下进行。

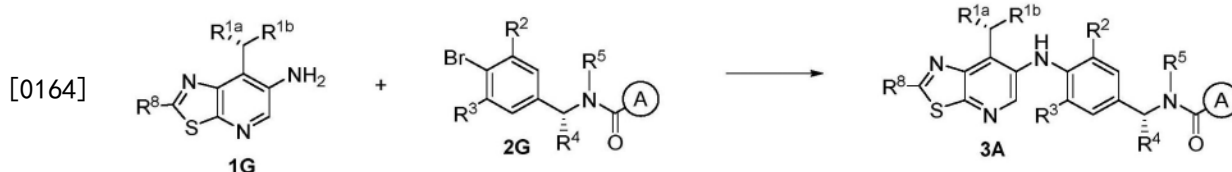
[0160] 方案2



[0162] 如方案2所示,其中 R^2 、 R^3 和 R^4 如本文所述的式(2A)的化合物可与(R)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺和四异丙氧基钛在高温下反应,随后用三仲丁基硼氢化锂在低温下处理,得到式(2B)的化合物。反应通常在诸如四氢呋喃的溶剂中进行。可通过在溶剂(诸如但不限于四氢呋喃)中,在低温下用氢化钠处理式(2B)的化合物,随后加入其中 R^5 和 X^1 如本文所述的式(2C)的化合物,来制备式(2D)的化合物。可在溶剂(诸如1,4-二氧戊环、甲醇或它们的混合物)中用盐酸处理式(2D)的化合物,得到式(2E)的化合物。可在环境温度下用草酰氯处理其中A如本文所述的式(2F)的化合物,得到中间体酰氯,随后与式(2E)的化合物和碱(诸如但

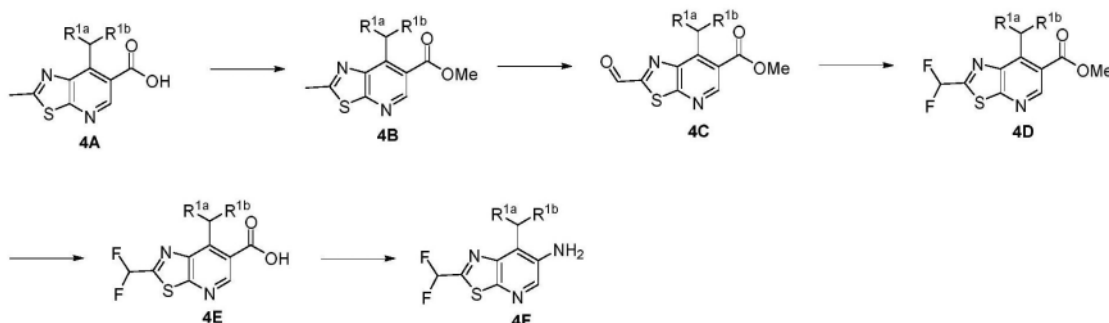
不限于N,N-二异丙基乙胺)反应,得到式(2G)的化合物。反应通常在诸如二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺或它们的混合物的溶剂中进行。

[0163] 方案3



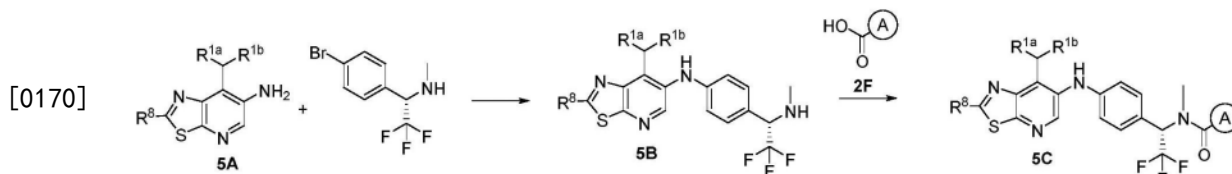
[0165] 方案3描述了作为代表性式(I)的化合物的式(3A)的化合物的合成。其中 R^{1a} 、 R^{1b} 和 R^8 如本文所述的式(1G)的化合物可在Buchwald偶联反应条件下偶联至其中 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和A如本文所述的式(2G)的化合物,这些偶联反应条件可包括使用碱(诸如但不限于碳酸铯)和催化剂(诸如但不限于XantPhos Pd G3),得到式(3A)的化合物。反应通常在高温下在诸如但不限于1,4-二氧戊环的溶剂中进行。

[0166] 方案4



[0168] 如方案4所示,可在碱(诸如但不限于碳酸钾)的存在下,用碘甲烷处理其中 R^{1a} 和 R^{1b} 如本文所述的式(4A)的化合物,得到式(4B)的化合物。反应通常在环境温度下在诸如但不限于N,N-二甲基甲酰胺的溶剂中进行。可用二氧化硒处理式(4B)的化合物,得到式(4C)的化合物。反应通常在高温下在诸如但不限于1,4-二氧戊环的溶剂中进行。可通过在低温下用[双(2-甲氧基乙基)氨基]三氟化硫处理式(4C)的化合物,随后加热,来制备式(4D)的化合物。反应通常在诸如但不限于甲苯的溶剂中进行。在环境温度下,在溶剂(诸如甲醇)中用碱(诸如碳酸钠)处理式(4D)的化合物,得到式(4E)的化合物。可通过在碱(诸如三乙胺)的存在下使式(4E)的化合物与叠氮磷酸二苯酯在叔丁醇中反应,来制备式(4F)的化合物。反应通常在高温下进行。可如方案3所述使用式(4F)的化合物,得到式(I)的化合物。

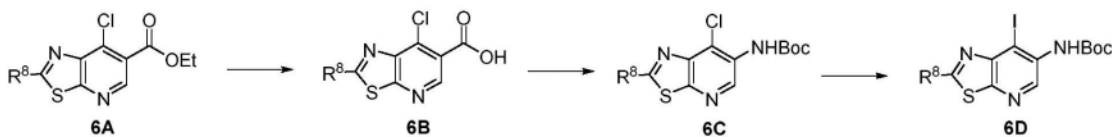
[0169] 方案5



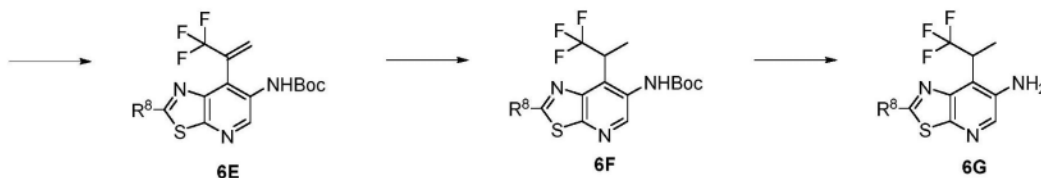
[0171] 方案5描述了作为代表性式(I)的化合物的式(5C)的化合物的合成。其中 R^8 、 R^{1a} 和 R^{1b} 如本文所述的式(5A)的化合物可在Buchwald偶联反应条件下偶联至(S)-1-(4-溴苯基)-2,2,2-三氟-N-甲基乙-1-胺,这些偶联反应条件可包括使用碱(诸如但不限于碳酸铯)和催化剂(诸如但不限于XantPhos Pd G3),得到式(5B)的化合物。反应通常在高温下在诸如但

不限于1,4-二氧戊环的溶剂中进行。可在环境温度下用2,4-二氯-6-甲氧基-1,3,5-三嗪和N-甲基吗啉在二氯甲烷中处理其中A如本文所述的式(2F)的化合物,随后加入式(5B)的化合物,得到作为代表性式(I)的化合物的式(5C)的化合物。

[0172] 方案6

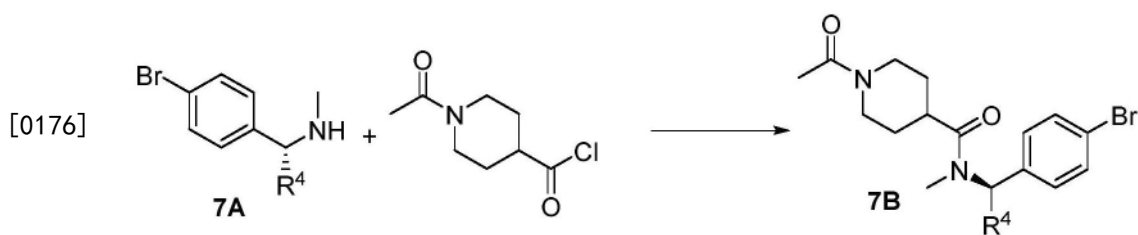


[0173]



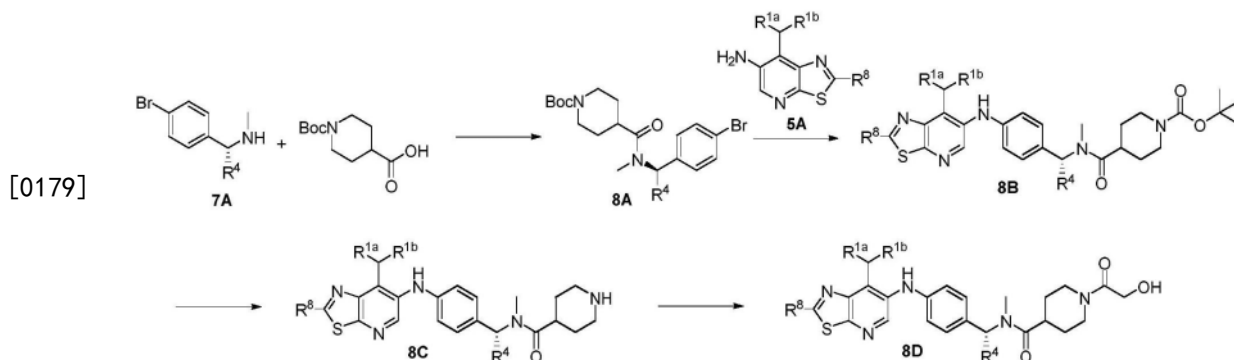
[0174] 如方案6所示,可用碱(诸如但不限于LiOH)处理其中R⁸如本文所述的式(6A)的化合物,得到式(6B)的化合物。反应通常在环境温度下在水性溶剂系统(诸如但不限于水和1,4-二氧戊环的混合物)中进行。可通过在碱(诸如三乙胺)的存在下使式(6B)的化合物与叠氮磷酸二苯酯在叔丁醇中反应,来制备式(6C)的化合物。反应通常在高温下进行。可用碘化钠和乙酰氯处理式(6C)的化合物,得到式(6D)的化合物。反应通常在低温下在诸如但不限于乙腈的溶剂中进行。可通过在碱(诸如但不限于碳酸铯)和催化剂(诸如但不限于[双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯(II)-二氯甲烷)的存在下,使式(6D)的化合物与4,4,6-三甲基-2-(3,3,3-三氟丙-1-烯-2-基)-1,3,2-二氧杂硼烷反应,来制备式(6E)的化合物。反应通常在高温下进行,并且可通过微波辐射加热,并且在诸如1,2-二甲氧基乙烷、水或它们的混合物的溶剂中进行。可用氢气和钯(5重量%在碳上)处理式(6E)的化合物,得到式(6F)的化合物。反应通常在高温下在诸如但不限于乙醇的溶剂中进行。可通过在环境温度下用2,2,2-三氟乙酸在二氯甲烷中处理式(6F)的化合物,来制备式(6G)的化合物。可如方案3所述使用式(6G)的化合物,得到式(I)的化合物。

[0175] 方案7



[0177] 方案7描述了式(7B)的化合物的合成,该化合物可用作式(I)的化合物合成中的中间体。可在吡啶和N,N-二甲基吡啶-4-胺的存在下,使其中R⁴如本文所述的式(7A)的化合物与1-乙酰基哌啶-4-甲酰氯反应,得到式(7B)的化合物。

[0178] 方案8



[0180] 可在环境温度下用草酰氯处理1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-羧酸,得到中间体酰氯,随后与其中R⁴如本文所述的式(7A)的化合物和碱(诸如但不限于N,N-二异丙基乙胺)反应,得到式(8A)的化合物。反应通常在低温下在诸如二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺或它们的混合物的溶剂中进行。式(8A)的化合物与式(5A)的化合物可在Buchwald偶联条件下使反应,这些偶联条件包括存在碱(诸如但不限于碳酸铯)和催化剂(诸如但不限于XPhos Pd G3),得到式(8B)的化合物。反应通常在高温下在诸如但不限于二氧戊环的溶剂中进行。可通过在溶剂(诸如二氯甲烷)中用酸(诸如2,2,2-三氟乙酸)处理式(8B)的化合物,来制备式(8C)的化合物。可通过在偶联剂(诸如但不限于1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓-3-氧化六氟磷酸盐)和碱(诸如但不限于N,N-二异丙基乙胺)的存在下,使式(8C)的化合物与2-羟基乙酸反应,来制备作为代表性式(I)的化合物的式(8D)的化合物。反应通常在环境温度下在诸如但不限于N,N-二甲基甲酰胺的溶剂中进行。

[0181] 应了解,如合成实施例章节所示的合成方案和具体实施例是说明性的,并且不应理解是为对所附权利要求书范围的限制。合成方法和具体示例的所有替代、修改和等同形式都包括在权利要求书的范围内。

[0182] 各个步骤的最佳反应条件和反应时间可以根据所用的具体反应物和所用反应物中存在的取代基而变化。合成实施例部分提供了具体方法。除非另有说明,否则原料和试剂是市售的,或者可由本领域技术人员使用化学文献中所述的方法由市售材料制备。

[0183] 药物组合物

[0184] 当用作药物时,本公开的化合物可以呈药物组合物的形式施用。此类组合物可以是治疗有效量的式(I)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。

[0185] 使用方法

[0186] 可将式(I)的化合物或其药学上可接受的盐以及包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物施用给患有ABC-DLBCL的受试者。术语“施用”是指使化合物与有此需要的受试者接触的方法。

[0187] 在另一个实施方案中,本公开的化合物或包含本公开的化合物的药物组合物可用于医学中。在一个具体实施方案中,本公开的化合物或包含本公开的化合物的药物组合物可用于治疗如上文所述的疾病或病症,包括ABC-DLBCL。

[0188] 本公开还涉及根据式(I)的化合物或其药学上可接受的盐在制造用于治疗ABC-DLBCL的药剂中的用途。

[0189] 实施例

[0190] 以下实施例可以用于说明性目的,并且不应被认为缩小了本公开的范围。

[0191] 除非另有说明,否则所有试剂均为商业级试剂,并且无需进一步纯化即可按原样使用。使用市售无水溶剂在惰性气氛下进行反应。除非另有说明,否则在所有其他情况下都使用试剂级溶剂。¹H NMR光谱的化学位移(δ)相对于作为内标的四甲基硅烷(δ 0.00)或适当的残留溶剂峰,即CHCl₃(δ 7.27)以百万分率(ppm)报道。

[0192] 除非另有说明,否则以下缩写具有指定的含义:NMR表示核磁共振;s表示单峰;br s表示宽单峰;d表示双重峰或双峰;m表示多重峰;t表示三重峰;q表示四重峰;LC/MS或LCMS表示液相色谱质谱;min表示分钟;mL表示毫升; μ L表示微升;L表示升;g表示克;mg表示毫克;mmol表示毫摩尔;HPLC表示高压液相色谱;ppm表示百万分率;DCI表示解吸化学电离;DSI表示液滴喷雾电离;ESI表示电喷雾电离;M表示摩尔浓度(摩尔/升);N表示当量浓度(当量/升);并且APCI表示大气压化学电离。

[0193] 实施例1

[0194] N-甲基-1,1-二氧代-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1 λ ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0195] 实施例1A

[0196] (R)-4,4-二甲基-2-氧代四氢呋喃-3-基-7-(1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸酯

[0197] 将N,N'-二环己基碳二亚胺(175g)和4-二甲基氨基吡啶(9.44g)加入到7-(1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸(195g, W02018020474A1)的二氯甲烷(2L)溶液中,并将反应混合物在20℃下搅拌10分钟。加入(R)-3-羟基-4,4-二甲基二氢呋喃-2(3H)-酮(101g),并将反应混合物在20℃下搅拌3小时。将反应混合物真空浓缩,得到残余物,将该残余物用四氢呋喃(2.5L)在50℃下研磨30分钟。将反应混合物真空浓缩,以将体积减少至约400mL,并在20℃下搅拌30分钟。通过过滤收集沉淀,得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 8.78(s, 0.2H), 8.70(s, 1H), 5.67(s, 1H), 5.63(s, 0.2H), 5.45-5.39(m, 0.2H), 5.36(q, 1H), 4.12(s, 2H), 3.30(s, 3H), 3.30-3.29(m, 0.7H), 2.90(s, 3H), 1.78(d, 0.7H), 1.74(d, 3H), 1.36(s, 3H), 1.35(br s, 0.7H), 1.25(s, 3H), 1.19(s, 0.7H)。

[0198] 实施例1B

[0199] (R)-4,4-二甲基-2-氧代四氢呋喃-3-基-7-((S)-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸酯;和

[0200] 实施例1C

[0201] (R)-4,4-二甲基-2-氧代四氢呋喃-3-基-7-((R)-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸酯

[0202] 将实施例1A(370g)的四氢呋喃(3L)溶液在70℃下搅拌30分钟。将混合物真空浓缩,以将体积减少至约1L,然后在25℃下搅拌30分钟。通过过滤收集所得沉淀,得到粗产物。将该过程重复3次,并通过过滤收集沉淀,以获得实施例1B。将第一次过滤的母液真空浓缩,得到实施例1C。实施例1B:¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 8.70(s, 1H), 5.68(s, 1H), 5.37(q, 1H), 4.12(s, 2H), 3.30(s, 3H), 2.90(s, 3H), 1.75(d, 3H), 1.36(s, 3H), 1.25(s, 3H)。合并的实施例1B的手性纯度:97.66%de。实施例1C的手性纯度:92%de。

[0203] 实施例1D

[0204] (S)-7-(1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸

[0205] 将实施例1B(230g)和氢氧化锂水合物(79g)在水(1.2L)中的混合物在80℃下搅拌1.5小时。将反应混合物过滤,并将滤液用水(2L)稀释。加入6M HCl水溶液,以调节pH至1.57。将混合物在50分钟的时间段内加热至100℃,然后在100℃下搅拌30分钟。将混合物在5小时的时间段内冷却至25℃,并搅拌30分钟。通过过滤收集沉淀,得到粗产物,将该粗产物用水(2L)在25℃下研磨30分钟。通过过滤收集沉淀,在3小时的时间段内风干,然后在50℃下真空干燥6小时,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δppm 9.13(s, 1H), 5.91-5.83(m, 1H), 3.47(s, 3H), 2.89(s, 3H), 1.73(d, 3H)。没有观察到一个可交换的质子。

[0206] 实施例1E

[0207] (S) - (7- (1-甲氧基乙基) -2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基) 氨基甲酸叔丁酯

[0208] 在40℃和氮气气氛下,向实施例1D(20g)的叔丁醇(305mL)溶液中加入三乙胺(14.36mL)。将混合物加热至60℃,并在约6分钟内滴加叠氮磷酸二苯酯(18.79mL)。将反应混合物在60℃下搅拌5小时。冷却至环境温度后,将氢氧化钠(5重量%在水中, 60mL)加入到反应混合物中,然后真空浓缩。加入水(200mL),并将悬浮液搅拌15分钟。通过过滤收集沉淀,用水(2×200mL)洗涤,并风干1小时。向沉淀中加入乙酸乙酯(600mL),并将所得悬浮液升温至约40℃,并搅拌直至形成轻微的浑浊溶液。将溶液冷却至环境温度,搅拌30分钟并过滤。将滤液真空浓缩,得到标题化合物。¹H NMR(600MHz, CDCl₃) δppm 9.30(s, 1H), 8.40(s, 1H), 5.57(q, 1H), 3.38(s, 3H), 2.81(s, 3H), 1.56(d, 9H)。MS(ESI)m/z 324.3(M+H)⁺。

[0209] 实施例1F

[0210] (S) -7- (1-甲氧基乙基) -2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-胺

[0211] 在7分钟的时间段内,在10℃下向实施例1E(22.9g)的无水二氯甲烷(201mL)溶液中加入2,2,2-三氟乙酸(46.4mL)。将反应混合物在环境温度下搅拌过夜,然后真空浓缩。加入二氯甲烷(100mL),并加入磷酸氢二钠(1M在水中)调节至中性pH。将两相分离,并将有机层用盐水洗涤,经硫酸钠干燥并过滤。将滤液真空浓缩。加入乙酸乙酯(150mL),并将所得悬浮液搅拌5分钟并过滤。将滤液用庚烷(150mL)稀释,搅拌5分钟并过滤。将滤液真空浓缩至约80mL。加入庚烷(150mL),并将混合物在70℃下搅拌5分钟。将混合物冷却至环境温度,并通过过滤收集沉淀,得到标题化合物。¹H NMR(600MHz, CDCl₃) δppm 7.99(s, 1H), 5.50(q, 1H), 4.16(s, 2H), 3.35(s, 3H), 2.79(s, 3H), 1.57(d, 3H)。MS(ESI)m/z 224.2(M+H)⁺。

[0212] 实施例1G

[0213] (R) -N- ((S) -1- (4-溴苯基) -2,2,2-三氟乙基) -2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺

[0214] 将1- (4-溴苯基) -2,2,2-三氟乙酮(3.01mL)、(R) -2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(2.99g)和四异丙氧基钛(14.63mL)的混合物溶于四氢呋喃(200mL)中,并在50℃下搅拌过夜。将反应混合物冷却至-78℃,加入三仲丁基硼氢化锂(1M在四氢呋喃中, 59.3mL),并将反应混合物在-78℃下搅拌3小时。将盐水(50mL)加入到反应混合物中,使其升温至环境温度。将反应混合物通过硅藻土过滤,并用乙酸乙酯(200mL)洗涤。分离各相,并用乙酸乙酯(2×100mL)萃取水层。合并的有机层经硫酸镁干燥并过滤。将滤液真空浓缩。将粗料通过硅胶色谱法(0%-100%乙酸乙酯/2-甲基戊烷)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δppm 7.58-7.52(m, 2H), 7.33-7.30(m, 2H), 4.80(p, 1H), 3.59(d, 1H), 1.25(s, 9H)。MS(ESI)m/z 358/360(M+H)⁺。

[0215] 实施例1H

[0216] (R)-N-((S)-1-(4-溴苯基)-2,2,2-三氟乙基)-N-2-二甲基丙烷-2-亚磺酰胺

[0217] 在0℃下,将氢化钠(0.475g)分批加入到实施例1G(3.73g)的四氢呋喃(50mL)溶液中,并将反应混合物在0℃下搅拌2小时。将碘甲烷(3.26mL)加入到反应混合物中,将该反应混合物在0℃下搅拌10分钟,并在环境温度下再搅拌10分钟。加入饱和氯化铵水溶液(50mL)和乙酸乙酯(50mL)。分离各层,并用乙酸乙酯(2×50mL)萃取水层。将合并的有机层用水(50mL)和盐水(50mL)洗涤,经硫酸镁干燥并过滤。将滤液真空浓缩。将粗料通过硅胶色谱法(0%-60%乙酸乙酯/2-甲基戊烷)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δppm 7.56-7.49(m,2H),7.39-7.30(m,2H),5.05(q,1H),2.45(s,3H),1.25(s,9H)。MS(ESI)m/z 372.1/374.2(M+H)⁺。

[0218] 实施例1I

[0219] (S)-1-(4-溴苯基)-2,2,2-三氟-N-甲基乙胺

[0220] 向实施例1H(1.90g)的1,4-二氧戊环(15mL)和甲醇(15mL)溶液中加入4M HCl的1,4-二氧戊环(5.10mL)溶液,并将反应混合物在环境温度下搅拌2小时。将溶液真空浓缩,并加入0.5M HCl水溶液(80mL)。用乙酸乙酯(3×30mL)萃取水层。将氢氧化钠(2M在水中)加入到水层中,调节至pH 14,并用乙酸乙酯(3×40mL)萃取水层。合并的有机层经硫酸镁干燥并过滤。将滤液真空浓缩,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 7.64-7.58(m,2H),7.47-7.38(m,2H),4.30(p,1H),2.87(dq,1H),2.20(d,3H)。MS(ESI)m/z 268.1/270.1(M+H)⁺。

[0221] 实施例1J

[0222] (S)-N-(1-(4-溴苯基)-2,2,2-三氟乙基)-N-甲基四氢-2H-噻喃-4-羧酰胺1,1-二氧化物

[0223] 向四氢-2H-噻喃-4-羧酸1,1-二氧化物(0.83g)的二氯甲烷(20mL)溶液中加入草酰氯(0.41mL)和N,N-二甲基甲酰胺(0.014mL)。将反应混合物在环境温度下搅拌1小时,然后真空浓缩。将残余物溶于二氯甲烷(10mL)中,并加入到实施例1I(0.96g)和N,N-二异丙基乙胺(1.876mL)的二氯甲烷(10mL)溶液中。将反应混合物在环境温度下搅拌90分钟,并加入二氯甲烷(20mL)和盐水(30mL)。分离各相,并用二氯甲烷(2×30mL)萃取水层。将合并的有机层用饱和碳酸氢钠水溶液(2×30mL)洗涤,经硫酸镁干燥并过滤。将滤液真空浓缩。将粗料通过硅胶色谱法(0%-10%甲醇/二氯甲烷)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 7.67(d,2H),7.32(d,2H),6.54(q,1H),3.31-3.00(m,5H),2.88(s,3H),2.18-1.89(m,4H)。MS(ESI)m/z 428/430(M+H)⁺。

[0224] 实施例1K

[0225] N-甲基-1,1-二氧代-N-((1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基)-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0226] 向实施例1F(60mg)、实施例1J(127mg)和碳酸铯(263mg)在1,4-二氧戊环(6mL)中的脱气混合物中加入XantPhosPdG3([(4,5-双(二苯基膦基)-9,9-二甲基氧杂蒽)-2-(2'-氨基-1,1'-联苯)]甲磺酸钯(II)) (25.5mg),并将反应混合物在90℃下搅拌16小时。将反应混合物冷却至环境温度,通过硅藻土过滤,用乙酸乙酯(20mL)洗涤并真空浓缩。将粗料通过硅胶色谱法(0%-80%乙酸乙酯-乙醇(3:1)/2-甲基戊烷)纯化,并将残余物从二氯甲烷/2-甲基戊烷中沉淀出来,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆,90℃) δppm 8.48(s,1H),7.57(s,1H),7.25(d,2H),7.10-7.01(m,2H),6.42(s,1H),5.39(q,1H),3.27(s,3H),3.24-

3.03 (m, 5H), 2.91 (s, 3H), 2.83 (s, 3H), 2.10 (td, 4H), 1.54 (d, 3H)。MS (ESI) m/z 571.2 (M+H)⁺。

[0227] 实施例2

[0228] N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({2-甲基-7-[(1R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0229] 将实施例11G (50mg, 0.180mmol)、实施例1J (85mg, 0.198mmol)、XPhosPdG2 (14.19mg, 0.018mmol) 和碳酸铯 (176mg, 0.541mmol) 混合在1,4-二氧戊环 (0.9mL) 中。将混合物用氮气鼓泡10分钟, 并将反应小瓶密封。将反应在95℃下搅拌16小时。冷却后, 将反应混合物直接装载到40g硅胶柱上。将粗料通过快速色谱法 (0%-100%乙酸乙酯/庚烷) 纯化, 得到标题化合物。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δppm 8.59 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.24 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.14 (d, J=8.6Hz, 2H), 6.46 (q, J=9.3Hz, 1H), 5.93 (q, J=7.6Hz, 1H), 3.52 (s, 3H), 3.30-3.07 (m, 5H), 2.91 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.16-1.97 (m, 4H)。MS (APCI) m/z 625.3 (M+H)⁺。

[0230] 实施例3

[0231] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0232] 实施例3A

[0233] 2-甲基-7-乙烯基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸乙酯

[0234] 向7-氯-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸乙酯 (60g, 234mmol, W02018020474A1, 实施例16, 步骤2) 在1,4-二氧戊环 (600mL) 和水 (100mL) 中的混合物中加入4,4,5,5-四甲基-2-乙烯基-1,3,2-二氧硼戊环 (72.0g, 467mmol)、四(三苯基膦)钯(0) (27.0g, 23.37mmol) 和Na₂CO₃ (61.9g, 584mmol)。将混合物在100℃下搅拌12小时, 之后加入另一批4,4,5,5-四甲基-2-乙烯基-1,3,2-二氧硼戊环 (14.4g, 93.4mmol)、四(三苯基膦)钯(0) (5.4g, 4.67mmol) 和Na₂CO₃ (12.4g, 116.8mmol), 并将混合物在100℃下再搅拌4小时。冷却至25℃后, 将反应用水 (500mL) 猝灭, 并用乙酸乙酯 (3×1500mL) 萃取。将合并的有机相用盐水 (300mL) 洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并浓缩, 得到粗产物。将粗产物通过柱色谱法 (1:4乙酸乙酯/石油醚) 纯化, 得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 1.33 (t, J=7.1Hz, 3H), 2.85 (s, 3H), 4.30-4.42 (m, 2H), 5.89-5.97 (m, 1H), 6.63-6.74 (m, 1H), 7.27-7.39 (m, 1H), 8.82 (s, 1H)。LCMS (ES) m/z (M+H)⁺ 249.2。

[0235] 实施例3B

[0236] 2-甲基-7-乙烯基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸

[0237] 向实施例3A (120g, 483mmol) 的1,4-二氧戊环 (960mL) 和水 (720mL) 溶液中加入氢氧化锂 (17.36g, 725mmol), 并将反应在20℃下搅拌2小时。将混合物真空浓缩, 以去除大部分1,4-二氧戊环。用2M HCl水溶液将pH调节至约3, 并过滤混合物。将滤饼用水 (1000mL) 洗涤, 溶于四氢呋喃 (1000mL) 中, 经MgSO₄干燥, 过滤并浓缩, 得到标题化合物。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 2.87 (s, 3H), 5.95 (dd, J=11.7, 2.1Hz, 1H), 6.74 (dd, J=17.6, 2.1Hz, 1H), 7.45 (dd, J=17.6, 11.7Hz, 1H), 8.87 (s, 1H), 13.62 (s, 1H)。LCMS (ES) m/z 221 (M+H)⁺。

[0238] 实施例3C

[0239] (2-甲基-7-乙烯基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯

[0240] 向实施例3B (73g, 331mmol, 通过烘箱干燥)、三乙胺 (138mL, 994mmol, 经分子筛干

燥)在甲苯(1095mL,经分子筛干燥)中的混合物中加入二苯基磷酰基叠氮化物(137g, 497mmol)。在20℃下搅拌1小时后,加入叔丁醇(91mL,994mmol,经分子筛干燥),并将混合物在90℃下搅拌2小时。冷却后,将混合物浓缩至小体积。将残余物倒入水(1000mL)中,并用乙酸乙酯(3×500mL)萃取。将合并的有机层用盐水(500mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并浓缩,得到粗产物。将粗产物通过柱色谱法(1:3乙酸乙酯/石油醚)纯化,得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 1.46 (s, 9H), 2.86 (s, 3H), 5.89 (d, J=11.5Hz, 1H), 6.86 (d, J=15.2Hz, 1H), 6.93-7.06 (m, 1H), 8.43 (s, 1H), 9.09 (s, 1H)。LCMS (ES) m/z 292.25 (M+H)⁺。

[0241] 实施例3D

[0242] (7-甲酰基-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯

[0243] 将实施例3C (50g, 172mmol)溶于乙腈(750mL)、水(750mL)和四氢呋喃(750mL)中,并在0℃下用钨酸钾(VI)二水合物(6.32g, 17.16mmol)处理,随后用高碘酸钠(110g, 515mmol)处理。将反应升温至20℃并搅拌过夜。将混合物过滤,并将滤饼溶于二氯甲烷(2500mL)和水(2000mL)中。分离各层,并用乙酸乙酯(3×1000mL)萃取水层。将合并的有机层用盐水(800mL)洗涤,经MgSO₄干燥,过滤并浓缩,得到标题化合物。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 1.53 (s, 9H), 2.93 (s, 3H), 9.41 (s, 1H), 10.17 (s, 1H), 10.81 (s, 1H)。LCMS (ES) m/z 294.05 (M+H)⁺。

[0244] 实施例3E

[0245] (7-(2,2-二氟-1-羟基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯

[0246] 向实施例3D (50g, 170mmol)和三苯基膦(71.5g, 273mmol)在N,N-二甲基甲酰胺(350mL)中的悬浮液中加入(溴二氟甲基)三甲基硅烷(42.4mL, 273mmol),并将反应混合物在25℃下搅拌3小时。缓慢加入1.5M氢氧化钾(352mL, 528mmol),并将反应混合物在0℃下再搅拌1小时。将反应用饱和NH₄Cl水溶液(400mL)猝灭,并用乙酸乙酯(4×800mL)萃取混合物。将有机层合并,并用盐水(700mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并将滤液浓缩。将粗产物通过柱色谱法(3:7乙酸乙酯/石油醚)纯化,得到(7-(2,2-二氟-1-羟基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯(50g, 纯度83%, 含有POPh₃)和(7-(2,2-二氟-1-羟基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯(265g, 纯度65%, 含有POPh₃)。在下一步骤中去除POPh₃。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 1.46 (s, 9H), 2.82 (s, 3H), 5.75 (s, 1H), 6.39 (t, J=55.2Hz, 1H), 7.28-7.43 (m, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.98 (s, 1H)。LCMS (ES) m/z 346.25 (M+H)⁺。

[0247] 实施例3F

[0248] 1-(6-氨基-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-7-基)-2,2-二氟乙-1-醇

[0249] 将实施例3E (50g, 145mmol)的4M HCl和1,4-二氧戊环(500mL, 2000mmol)溶液在25℃下搅拌4小时,然后过滤。将滤饼溶于乙酸乙酯中,并用饱和碳酸钠水溶液碱化至约pH 8,并用乙酸乙酯(4×600mL)萃取。将合并的有机萃取物用水(800mL)、饱和碳酸氢钠溶液(800mL)和盐水(800mL)洗涤。有机层经Na₂SO₄干燥并过滤。将滤液真空浓缩。将粗产物通过柱色谱法(2:3乙酸乙酯/石油醚)纯化,得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 2.74 (s, 3H), 5.58 (d, J=26.5Hz, 3H), 6.12-6.49 (m, 1H), 6.74 (s, 1H), 8.05 (s, 1H)。LCMS (ES) m/z 346.01 (M+H)⁺。

[0250] 实施例3G

[0251] (R)-7-(2,2-二氟-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-胺

[0252] 实施例3H

[0253] (S)-7-(2,2-二氟-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-胺

[0254] 在0℃下,向实施例3E (25g, 102mmol) 的N,N-二甲基甲酰胺 (500mL) 溶液中加入氢氧化钠 (4.89g, 122mmol), 并将反应混合物在0℃下搅拌20分钟。加入碘甲烷 (15.92g, 112mmol), 并将该反应混合物在25℃下搅拌2小时。将反应用半饱和盐水溶液 (1000mL) 猝灭, 并用乙酸乙酯 (4×600mL) 萃取混合物。将有机层合并, 并用水 (3×600mL) 和盐水 (3×500mL) 洗涤, 经Na₂SO₄干燥并过滤。将滤液真空浓缩。将粗的外消旋混合物通过柱色谱法 (1:4 乙酸乙酯/石油醚) 纯化, 得到对映异构体混合物形式的所需产物 (49.3g)。使用CHIRAL ART Cellulose-SB (5*25cm, 10μm) 柱, 通过制备型手性SFC分离对映异构体。所使用的条件如下: 流动相A: CO₂, 流动相B: 异丙醇 (0.5% 2M 氨的甲醇溶液); 流速: 200mL/分钟; 梯度: 等浓度的20%B; 柱温: 35℃; 背压: 100巴; 波长: 220nm。实施例3G保留时间: 6.93分钟; 实施例3H保留时间: 8.25分钟。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 2.76 (s, 3H), 3.32 (s, 3H), 5.34-5.45 (m, 1H), 5.59 (s, 2H), 6.36-6.65 (m, 1H), 8.09 (s, 1H)。LCMS (ES) m/z 260 (M+H)⁺。

[0255] 实施例3I

[0256] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0257] 向实施例3G (39mg)、实施例1J (85mg) 和碳酸铯 (147mg) 在1,4-二氧戊环 (2mL) 中的脱气混合物中加入XantPhos Pd G3 (14.26mg), 并将反应混合物在90℃下搅拌16小时。将反应混合物冷却至环境温度, 通过硅藻土过滤, 用乙酸乙酯 (20mL) 洗涤并真空浓缩。将粗料通过硅胶色谱法 (0%-100% 乙酸乙酯/2-甲基戊烷) 纯化, 得到标题化合物。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δppm 8.53 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.20 (d, 2H), 6.97 (d, 2H), 6.89-6.62 (m, 1H), 5.31 (dt, 1H), 6.43 (q, 1H), 3.28 (s, 3H), 3.25-3.04 (m, 5H), 2.90 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.10-1.95 (m, 4H)。MS (ESI) m/z 607.2 (M+H)⁺。

[0258] 实施例4

[0259] N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0260] 实施例4A

[0261] 1-(4-溴苯基)-2,2-二氟乙-1-酮

[0262] 向1-溴-4-碘苯 (50g, 177mmol) 的四氢呋喃 (500mL) 溶液滴加正丁基锂 (78mL, 194mmol)。将反应混合物在-78℃下搅拌30分钟。在-78℃下在1小时内滴加2,2-二氟乙酸乙酯 (24.12g, 194mmol)。将反应混合物在-78℃下再搅拌1小时, 然后在0℃下搅拌1小时。将反应用1N HCl水溶液 (15mL) 猝灭, 并用二氯甲烷 (3×200mL) 萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并将滤液浓缩。将残余物通过快速色谱法用乙酸乙酯/石油醚纯化, 得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO) δppm 7.16 (t, 1H), 7.80-7.89 (m, 2H), 7.94-8.01 (m, 2H)。

[0263] 实施例4B

[0264] (S)-1-(4-溴苯基)-2,2-二氟-N-甲基乙胺

[0265] 向实施例4A (30g, 128mmol)、在乙醇中的甲胺 (39.6g, 383mmol) 和异丙醇钛 (IV)

(72.6g, 255mmol)的二氯甲烷(450mL)溶液中分批加入氰基硼氢化钠(16.04g, 255mmol)。将反应混合物在40℃下搅拌16小时。将反应混合物用氢氧化铵(33%在水中)猝灭,并真空去除溶剂。将残余物通过快速色谱法(1:1石油醚/二氯甲烷)纯化。用正相HPLC分离对映异构体,使用CHIRALPAK®OD-H柱(20mm×250mm, 5微米),用己烷(0.1%二乙胺)/异丙醇洗脱, 20mL/分钟; 10分钟,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 2.16(s, 3H), 2.54(d, J=3.2Hz, 1H), 3.79-3.94(m, 1H), 5.89-6.25(m, 1H), 7.33-7.40(m, 2H), 7.55-7.61(m, 2H)。MS(ESI)m/z 250(M+H)⁺。[α]_D^{22.7}=+50.67(C_{0.01} CH₃OH)。

[0266] 实施例4C

[0267] N-(4-((S)-2,2-二氟-1-(甲基氨基)乙基)苯基)-7-((S)-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-胺

[0268] 将实施例1F(152mg, 0.682mmol)、实施例4B(155mg, 0.620mmol)、XPhos Pd G2(48.8mg, 0.062mmol)和碳酸铯(606mg, 1.859mmol)混合在1,4-二氧戊环(8.9mL)中。将混合物用氮气鼓泡5分钟,并将容器密封。将反应在90℃下搅拌16小时。冷却后,将反应混合物过滤并浓缩。将粗品通过快速色谱法(40g硅胶, 0%-70%乙酸乙酯/庚烷)纯化,得到标题化合物。MS(ESI)m/z 393.0(M+H)⁺。

[0269] 实施例4D

[0270] N-((1S)-2,2-二氟-1-[4-((7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]乙基)-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0271] 将四氢-2H-噻喃-4-羧酸1,1-二氧化物(113mg, 0.633mmol)、2,4-二氯-6-甲氧基-1,3,5-三嗪(142mg, 0.791mmol)和N-甲基吗啉(87μL, 0.791mmol)混合在二氯甲烷(2.7mL)中,并在环境温度下搅拌1小时。加入实施例4C(207mg, 0.527mmol)在二氯甲烷(2.7mL)中的混合物,并将混合物在环境温度下搅拌过夜。浓缩混合物,并且直接通过反相HPLC(C18 Phenomenex® LUNA®, 250mm×50mm, 10%-90%乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液)纯化。将含有产物的级分浓缩,并且再溶于乙腈中。通过lgSiliCycle SiliaPrep碳酸盐柱芯过滤使样品脱盐,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.46(s, 1H), 7.49(s, 1H), 7.26(d, J=8.2Hz, 2H), 7.04(d, J=8.6Hz, 2H), 6.66(t, J=54.9Hz, 1H), 5.70(s, 1H), 5.40(q, J=6.7Hz, 1H), 3.28(s, 3H), 3.25-3.06(m, 5H), 2.93(s, 3H), 2.83(s, 3H), 2.09(q, J=7.1, 5.4Hz, 4H), 1.54(d, J=6.6Hz, 3H)。MS(APCI)m/z 553.2(M+H)⁺。

[0272] 实施例5

[0273] N-((1S)-1-[4-((7-[(1S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基)-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0274] 实施例5A

[0275] 7-((S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基)-2-甲基-N-(4-((S)-2,2,2-三氟-1-(甲基氨基)乙基)苯基)噻唑并[5,4-b]吡啶-6-胺

[0276] 将实施例3H(1.00g, 3.86mmol)、实施例1I(1.29g, 4.24mmol)和碳酸铯(3.77g, 11.6mmol)的1,4-二氧戊环(19mL)溶液用N₂鼓泡2分钟。加入XPhos Pd G4(甲磺酰基(2-二环己基膦基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)(2'-甲基氨基-1,1'-联苯-2-基)钯(ii), 0.33g, 0.39mmol),并将反应混合物在95℃下加热16小时。将反应混合物冷却,通过硅藻土过滤,并将硅藻土用乙酸乙酯洗涤。将滤液浓缩。将材料通过硅胶(0%-70%乙酸乙酯/庚

烷) 纯化, 得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.51 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.29 (d, J=8.3Hz, 3H), 6.95 (d, J=8.6Hz, 2H), 6.75 (ddd, J=57.6, 54.5, 5.9Hz, 1H), 5.34 (dt, J=13.9, 5.7Hz, 1H), 4.10 (q, J=8.1Hz, 1H), 3.29 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.22 (d, J=5.8Hz, 3H)。MS (ESI) m/z 447.7 (M+H)⁺。

[0277] 实施例5B

[0278] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0279] 将四氢-2H-噻喃-4-羧酸1,1-二氧化物(0.60g, 3.36mmol)、2,4-二氯-6-甲氧基-1,3,5-三嗪(0.65g, 3.58mmol)、CH₂Cl₂(50mL)和N-甲基吗啉(0.394mL, 3.58mmol)在环境温度下搅拌1小时。向该溶液中加入实施例5A(1.00g, 2.24mmol), 并将合并的溶液在环境温度下搅拌15小时。通过LCMS测定完成后, 将反应混合物浓缩。将残余物通过硅胶(0%-100%乙酸乙酯/庚烷)纯化, 得到残余物。将残余物通过反相色谱法(C18250mm×50mm C18 Phenomenex® LUNA®HPLC柱, 用20%-100%乙腈水溶液/0.1%三氟乙酸洗脱)进一步纯化, 以分离标题化合物。合并纯的级分并浓缩, 以去除乙腈。将水溶液用乙酸乙酯分配, 并用饱和碳酸氢钠水溶液中和, 得到所需产物的游离碱。将有机层经无水硫酸镁干燥, 过滤并将滤液浓缩。将残余物冻干, 得到标题化合物。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δppm 8.53 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.21 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.016.92 (m, 2H), 6.75 (ddd, J=57.7, 54.3, 5.9Hz, 1H), 6.44 (q, J=9.3Hz, 1H), 5.31 (dt, J=14.1, 5.5Hz, 1H), 3.28 (s, 3H), 3.263.06 (m, 4H), 2.91 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.171.91 (m, 4H)。MS (ESI+) m/z 607.3 (M+H)⁺。

[0280] 实施例6

[0281] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2-二氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0282] 实施例6A

[0283] N-(4-((S)-2,2-二氟-1-(甲基氨基)乙基)苯基)-7-((R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-胺

[0284] 使用实施例4C中所述的条件, 用实施例3G代替实施例1F, 制备标题化合物(235mg, 86%)。MS (APCI) m/z 429.3 (M+H)⁺。

[0285] 实施例6B

[0286] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2-二氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0287] 使用实施例4D中所述的条件, 用实施例6A代替实施例4C, 制备标题化合物(145mg, 45%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.48 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.24 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.07-6.89 (m, 2H), 6.66 (ddd, J=56.8, 54.8, 5.5Hz, 2H), 5.70 (s, 1H), 5.40 (ddd, J=13.0, 7.3, 5.5Hz, 1H), 3.37 (s, 3H), 3.32-3.04 (m, 5H), 2.93 (s, 3H), 2.85 (s, 3H), 2.21-1.95 (m, 4H)。MS (APCI) m/z 589.3 (M+H)⁺。

[0288] 实施例7

[0289] N-乙基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0290] 实施例7A

[0291] (S)-1-(4-溴苯基)-N-乙基-2,2,2-三氟乙胺

[0292] 向实施例1I (0.4g, 1.575mmol) 的甲醇 (5.3mL) 溶液中滴加乙醛 (0.088mL, 1.575mmol)。将混合物在环境温度下搅拌1小时, 随后加入硼氢化钠 (0.119g, 3.15mmol)。继续搅拌18小时。将反应用水猝灭, 并用二氯甲烷萃取。浓缩合并的有机层, 并且通过反相HPLC (250mm×50mm Phenomenex® LUNA® C18, 10%-90%乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液) 纯化, 得到标题化合物 (100mg, 16.03%)。MS (APCI) m/z 282.2 (M+H)⁺。

[0293] 实施例7B

[0294] (S)-N-(1-(4-溴苯基)-2,2,2-三氟乙基)-N-乙基四氢-2H-噻喃-4-羧酰胺-1,1-二氧化物

[0295] 在0℃下, 向四氢-2H-噻喃-4-羧酸1,1-二氧化物 (0.084g, 0.47mmol) 的二氯甲烷 (1.880mL) 溶液中加入草酰氯 (0.470mL, 0.940mmol) 和N,N-二甲基甲酰胺 (3.64μL, 0.047mmol)。将混合物搅拌1小时, 同时升温到环境温度。将反应物浓缩, 得到粗品四氢-2H-噻喃-4-甲酰氯-1,1-二氧化物, 将其混合在二氯甲烷 (0.8mL) 中。将该悬浮液滴加到实施例7A (66.3mg, 0.235mmol) 和三乙胺 (0.07mL, 0.470mmol) 的二氯甲烷 (0.8mL) 溶液中。将反应在环境温度下搅拌20小时。将混合物通过快速色谱法 (12g硅胶, 0%-70%丙酮/庚烷) 直接纯化, 得到标题化合物 (15mg, 14.43%)。MS (APCI) m/z 442.1 (M+H)⁺。

[0296] 实施例7C

[0297] N-乙基-1,1-二氧化代-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0298] 将实施例1F (19.69mg, 0.088mmol)、实施例7B (30mg, 0.068mmol)、XPhos Pd G2 (5.34mg, 6.78μmol) 和碳酸铯 (66.3mg, 0.203mmol) 混合在1,4-二氧戊环 (1.0mL) 中。将混合物用氮气鼓泡5分钟, 并将容器密封。将反应在90℃下搅拌16小时。冷却后, 将反应混合物过滤并浓缩。将残余物通过反相HPLC (250mm×50mm C18 Phenomenex® LUNA®, 10%-90%乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液) 纯化。浓缩收集到的包含产物的级分, 并且通过快速色谱法 (12g硅胶, 0%-100%乙酸乙酯/庚烷) 再纯化, 得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.46 (s, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.29 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.05 (d, J=8.7Hz, 2H), 6.33 (s, 1H), 5.38 (q, J=6.7Hz, 1H), 3.51-3.04 (m, 10H), 2.83 (s, 3H), 2.27-1.95 (m, 4H), 1.53 (d, J=6.6Hz, 3H), 0.88 (m, 3H)。MS (APCI) m/z 585.2 (M+H)⁺。

[0299] 实施例8

[0300] N-甲基-1,1-二氧化代-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1R)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0301] 实施例8A

[0302] (R)-7-(1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸

[0303] 将实施例1C (20g, 54.9mmol)、氢氧化锂-H₂O (11.52g, 274mmol)、四氢呋喃 (80mL) 和水 (40mL) 在环境温度下搅拌24小时。完成后, 减压去除四氢呋喃, 过滤混合物, 用水洗涤滤饼。用浓HCl (37重量%) 将水性滤液酸化至pH 1。将混合物过滤, 用水洗涤滤饼, 并在60℃下真空干燥24小时。将水性滤液减压浓缩并用水研磨。将混合物过滤, 并将滤饼在60℃下真空干燥24小时。干燥后, 合并滤饼, 得到标题化合物。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ ppm 13.36 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 5.31 (q, J=6.7Hz, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.88 (s, 3H), 1.62 (d, J=6.6Hz,

3H)。MS (ESI) m/z 253.4 (M+H)⁺。

[0304] 实施例8B

[0305] (R)-7-(1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-胺

[0306] 将实施例8A (11.6g, 46.2mmol)、叔丁醇 (300mL)、N,N-二异丙基乙胺 (40mL, 231mmol) 和叠氮磷酸二苄酯 (11.9mL, 55.4mmol) 在90℃下加热90分钟。完成后, 将反应混合物浓缩。将残余物溶于乙酸乙酯, 用盐水洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤并浓缩。将残余物通过硅胶 (0%-40%乙酸乙酯/庚烷) 纯化, 得到boc保护的苯胺。将boc保护的苯胺溶于三氟乙酸和CH₂Cl₂的1:1混合物中, 并在环境温度下搅拌1小时。完成后, 将溶液浓缩。将残余物溶于乙酸乙酯, 用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤并浓缩。将残余物通过硅胶 (0%-80%乙酸乙酯/庚烷) 纯化, 得到标题化合物。¹HNMR (600MHz, DMSO-d₆) δppm 8.04 (s, 1H), 5.40 (s, 2H), 5.37 (q, J=6.7Hz, 1H), 3.22 (s, 3H), 2.75 (s, 3H), 1.46 (d, J=6.7Hz, 3H)。MS (ESI) m/z 224.4 (M+H)⁺。

[0307] 实施例8C

[0308] N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1R)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0309] 将实施例8B (5.65g, 3.86mmol)、实施例1I (12.5g, 29.1mmol) 和碳酸铯 (24.8g, 11.6mmol) 的1,4-二氧戊环 (507mL) 溶液用N₂鼓泡5分钟。加入XPhos Pd G4 (3.27g, 3.80mmol), 并将反应混合物在95℃下加热16小时。将溶液冷却至50℃。将吡咯烷-1-二硫代羧酸、铵盐 (2.08g, 12.7mmol) 和水 (5mL) 加入到反应混合物中。将溶液在环境温度下搅拌1小时。将反应混合物通过硅藻土过滤, 并将滤垫用乙酸乙酯洗涤。将滤液浓缩。将残余物通过硅胶 (0%-100%乙酸乙酯/庚烷) 纯化。将残余物通过反相色谱法 (C18 HPLC, 用20%-100%乙腈水溶液/0.1%三氟乙酸洗脱) 进一步纯化, 以分离标题化合物。合并纯的级分并浓缩。将水溶液用乙酸乙酯分配, 并用饱和碳酸氢钠水溶液中和, 得到所需产物的游离碱。为了将非对映异构体的纯度提高到>99%, 将材料使用CHIRALPAK®0J-H柱 (30mm×250mm, 5微米) 进行手性SFC (超临界流体色谱法), 在35℃、150mL/分钟、120巴的条件下, 用20%甲醇在CO₂中洗脱, 得到标题化合物。¹HNMR (500MHz, DMSO-d₆) δppm 8.51 (s, 1H), 7.73 (d, J=15.3Hz, 1H), 7.22 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.107.02 (m, 2H), 6.45 (q, J=9.3Hz, 1H), 5.33 (q, J=6.7Hz, 1H), 3.24 (dd, J=13.3, 3.5Hz, 1H), 3.21 (s, 3H), 3.213.15 (m, 1H), 3.173.07 (m, 2H), 2.92 (s, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.141.95 (m, 5H), 1.52 (d, J=6.7Hz, 3H)。MS (ESI+) m/z 571.7 (M+H)⁺。

[0310] 实施例9

[0311] N-{(1S)-1-[3,5-二氟-4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0312] 实施例9A

[0313] (R,E)-N-(4-溴-3,5-二氟亚苄基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺

[0314] 在20℃、N₂下, 向(R)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (16.4g, 136mmol) 和4-溴-3,5-二氟苯甲醛 (10g, 45.2mmol) 在二氯乙烷 (200mL) 中的混合物中加入硫酸铜(II) (21.7g, 136mmol)。将混合物在85℃下搅拌12小时。将混合物通过硅藻土垫过滤。将滤液通过硅胶柱色谱法 (10:1-约5:1石油醚:乙酸乙酯) 纯化, 得到标题化合物。¹HNMR (400MHz, CDCl₃) δ

ppm 8.49 (s, 1H), 7.45 (d, J=6.5Hz, 2H), 1.28 (s, 9H)。LCMS m/z 324.0 (M+H)⁺。

[0315] 实施例9B

[0316] (R)-N-((S)-1-(4-溴-3,5-二氟苯基)-2,2,2-三氟乙基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺

[0317] 在-55℃和N₂下,向四丁基乙酸铵(4.65g, 15.4mmol)和实施例9A(5g, 15.4mmol)在N,N-二甲基甲酰胺(100mL)中的混合物中加入(三氟甲基)三甲基硅烷(4.93mL, 30.8mmol)。将混合物在-20℃下搅拌0.5小时。将反应用NH₄Cl溶液在-40℃下猝灭,并用乙酸乙酯(3×100mL)萃取。将合并的有机层用盐水(2×50mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥并过滤。将滤液减压浓缩,得到残余物,将该残余物通过硅胶柱色谱法(10:1-3:1石油醚:乙酸乙酯)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δppm 7.09 (d, J=6.8Hz, 2H), 4.81 (t, J=7.2Hz, 1H), 3.65 (br d, J=7.3Hz, 1H), 1.27 (s, 9H)。LCMS m/z 394.0 (M+H)⁺。

[0318] 实施例9C

[0319] (S)-1-(4-溴-3,5-二氟苯基)-2,2,2-三氟乙烷-1-胺

[0320] 向实施例9B(7.5g, 19.0mmol)的乙酸乙酯(10mL)溶液中加入4NHC1的乙酸乙酯(100mL)溶液。将混合物在25℃下搅拌12小时。将混合物减压浓缩,得到残余物,将残余物用甲基叔丁基醚稀释。将混合物在20℃下搅拌2小时,然后过滤,得到(S)-1-(4-溴-3,5-二氟苯基)-2,2,2-三氟乙胺盐酸盐。将盐酸盐溶于水(20mL)中,用NaHCO₃溶液(50mL)中和,并用二氯甲烷萃取(3×100mL)。合并的有机层用盐水(30mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤,将滤液减压浓缩,得到(S)-1-(4-溴-3,5-二氟苯基)-2,2,2-三氟乙胺(5.2g, 92%),其不经进一步纯化直接用于下一步骤。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δppm 7.16-7.05 (m, 2H), 4.41 (q, J=7.0Hz, 1H), 1.78 (br d, J=2.2Hz, 2H)。LCMS m/z 290.0 (M+H)⁺。

[0321] 实施例9D

[0322] (S)-1-(4-溴-3,5-二氟苯基)-2,2,2-三氟-N-甲基乙-1-胺

[0323] 在20℃下,向实施例9C(2.5g, 8.62mmol)在甲醇(50mL)中的混合物中加入甲醛(0.839g, 10.3mmol),并将所得混合物在20℃下搅拌12小时。加入NaBH₄CN(1.63g, 25.9mmol),并将混合物在20℃下搅拌2小时。将合并的混合物倒入冰水(50mL)中,并用二氯甲烷(3×50mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥并过滤。将滤液减压浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法(20:1至5:1石油醚/乙酸乙酯)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δppm 7.08 (d, J=7.1Hz, 2H), 4.03 (q, J=6.9Hz, 1H), 2.40 (s, 3H), 1.69 (br s, 1H)。LCMS m/z 304.0 (M+H)⁺。

[0324] 实施例9E

[0325] (S)-N-(1-(4-溴-3,5-二氟苯基)-2,2,2-三氟乙基)-N-甲基四氢-2H-噻喃-4-羧酰胺-1,1-二氧化物

[0326] 在0℃下向实施例9D(1g, 3.29mmol)和三乙胺(1.38mL, 9.87mmol)的二氯甲烷(10mL)溶液中加入四氢-2H-噻喃-4-甲酰氯-1,1-二氧化物(1.75g, 8.88mmol)。将混合物在25℃下搅拌12小时,倒入冰水(20mL)中,并用二氯甲烷(3×30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(10mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥并过滤。将滤液减压浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法(3:1-约1:1石油醚/乙酸乙酯)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δppm 6.99 (br d, J=7.1Hz, 2H), 6.61 (q, J=8.6Hz, 1H), 3.58-3.39 (m, 1H), 3.39-3.24 (m, 1H), 3.08-2.84 (m,

6H), 2.53-2.18 (m, 4H)。LCMS m/z 464.0 (M+H)⁺。

[0327] 实施例9F

[0328] N-{(1S)-1-[3,5-二氟-4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺

[0329] 在N₂下,向实施例9E (200mg, 0.431mmol)、实施例1F (106mg, 0.474mmol)和Cs₂CO₃ (421mg, 1.29mmol)的1,4-二氧戊环(4mL)溶液中加入甲磺酰氧基(2-二环己基膦基-2,4,6-三异丙基-1,1-联苯)(2-甲基氨基-1,1-联苯-2-基)钼(II) (111mg, 0.129mmol)。将反应在90℃下搅拌3小时并过滤。将滤液减压浓缩,得到残余物,将残余物通过制备型HPLC纯化(仪器:Shimadzu LC-8A制备型HPLC;柱:150mm×40mm×10 μ m, WatersTMXbridge Prep OBD C18, 10分钟, 40%-70%乙腈/10mM NH₄HCO₃水溶液),得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 7.96 (t, J=2.6Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.02 (brd, J=8.6Hz, 2H), 6.63 (q, J=8.6Hz, 1H), 5.62 (q, J=6.7Hz, 1H), 3.56-3.48 (m, 1H), 3.45 (s, 3H), 3.33 (ddd, J=3.5, 7.4, 10.8Hz, 1H), 3.10-2.90 (m, 6H), 2.84 (s, 3H), 2.54-2.25 (m, 4H), 1.66 (d, J=6.8Hz, 3H)。LCMS m/z 607.1 (M+H)⁺。

[0330] 实施例10

[0331] N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[3-氟-4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺

[0332] 实施例10A

[0333] 1-(4-溴-3-氟苯基)-2,2,2-三氟乙醇

[0334] 在0℃下,向4-溴-3-氟苯甲醛(5g)和氟化铯(0.075g)的四氢呋喃(50mL)溶液中加入三甲基(三氟甲基)硅烷(14.59mL)。将反应混合物缓慢升温至环境温度,并在周末期间搅拌。加入1M HCl水溶液(30mL),并将混合物在环境温度下搅拌1小时。加入水(50mL)和乙酸乙酯(50mL),并且分离各层。用乙酸乙酯(3×80mL)萃取水层。合并的有机萃取物经硫酸镁干燥并过滤。将滤液真空浓缩。将粗产物通过硅胶色谱法(0%-40%乙酸乙酯/2-甲基戊烷)纯化,得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7.77 (dd, 1H), 7.47 (dd, 1H), 7.31 (dt, 1H), 7.08 (d, 1H), 5.32-5.19 (m, 1H)。

[0335] 实施例10B

[0336] 1-(4-溴-3-氟苯基)-2,2,2-三氟-N-甲基乙胺

[0337] 在-30℃下,向实施例10A (1.3g)的二氯甲烷(30mL)溶液中加入2,6-二甲基吡啶(1.109mL)和三氟甲磺酸酐(1M在二氯甲烷中, 7.14mL)。将反应混合物搅拌2.5小时,缓慢升温到环境温度。加入甲胺(在乙醇中的33重量%, 15mL),并将反应混合物在45℃下搅拌4小时。将反应混合物在环境温度下静置过夜。加入饱和碳酸氢钠水溶液(20mL),并且分离各层。用二氯甲烷(2×10mL)萃取水层。合并的有机萃取物经硫酸镁干燥并过滤。将滤液真空浓缩。将粗产物通过硅胶色谱法(0%-50%乙酸乙酯/2-甲基戊烷)纯化,得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7.77 (dd, 1H), 7.53 (dd, 1H), 7.30 (dd, 1H), 4.39 (p, 1H), 2.97 (dq, 1H), 2.20 (d, 3H)。MS (ESI) m/z 286.0/288.0 (M+H)⁺。

[0338] 实施例10C

[0339] N-(1-(4-溴-3-氟苯基)-2,2,2-三氟乙基)-N-甲基四氢-2H-噻喃-4-羧酰胺-1,1-二氧化物

[0340] 向四氢-2H-噻喃-4-羧酸1,1-二氧化物(530mg)的二氯甲烷(25mL)溶液中加入4-甲基吗啉(0.359mL)和2,4-二氯-6-甲氧基-1,3,5-三嗪(588mg)。将反应混合物在环境温度下搅拌90分钟。加入实施例10B(850mg)的二氯甲烷(1.5mL)溶液,并将反应混合物在环境温度下搅拌3天。将反应混合物真空浓缩于硅胶上。将粗产物通过硅胶色谱法(0%-70%乙酸乙酯/2-甲基戊烷)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 7.86-7.77(m, 1H), 7.35(dd, 1H), 7.18(dd, 1H), 6.56(q, 1H), 3.17(dddd, 5H), 2.92(s, 3H), 2.14-1.89(m, 4H)。MS(ESI)m/z 447.8(弱电离)(M+H)⁺。

[0341] 实施例10D

[0342] N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[3-氟-4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0343] 在环境温度下,向实施例1F(125mg)、实施例10C(250mg)和碳酸铯(548mg)在1,4-二氧戊环(5mL)中的脱气悬浮液中加入XPhos Pd G4(145mg),并将反应混合物在90℃下搅拌3小时。将反应混合物通过硅藻土过滤,用二氯甲烷(10mL)洗涤。向滤液中加入水(5mL)和饱和氯化铵水溶液(5mL),分层。用二氯甲烷(3×10mL)萃取水层。将合并的有机萃取物用盐水(10mL)洗涤,经硫酸镁干燥并过滤。将滤液真空浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(0%-100%乙酸乙酯-乙醇(3:1)/2-甲基戊烷,然后0%-80%乙酸乙酯-乙醇(3:1)/2-甲基戊烷)纯化,得到非对映异构体混合物形式的产物。使用CHIRALPAK[®]IC柱(10mm×250mm,5微米),用40%甲醇(0.1%氨)在CO₂中洗脱,在40℃、15mL/分钟、120巴条件下,通过手性SFC(超临界流体色谱法)分离非对映异构体混合物,得到单个非对映异构体形式的标题化合物。这些标题化合物的绝对立体化学结构是任意分配的。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 8.50(s, 1H), 7.76(d, 1H), 7.28(t, 1H), 7.23(d, 1H), 7.10(d, 1H), 6.49(q, 1H), 5.39(q, 1H), 3.26(s, 3H), 3.24-3.06(m, 4H), 2.93(s, 3H), 2.84(s, 3H), 2.14-1.88(m, 5H), 1.51(d, 3H)。MS(ESI)m/z 589.3(M+H)⁺。

[0344] 实施例11

[0345] N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({2-甲基-7-[(1S)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0346] 实施例11A

[0347] 2-甲基-7-乙烯基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸乙酯

[0348] 将7-氯-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸乙酯(30g,117mmol,W02018020474A1,实施例16)、4,4,5,5-四甲基-2-乙烯基-1,3,2-二氧硼戊环(27g,175mmol)和Na₂CO₃(24.8g,234mmol)溶于1,4-二氧戊环(300mL)和水(30mL)的混合物中。用氮气吹扫溶液,并加入四(三苯基膦)钯(6.75g,5.84mmol)。将所得溶液在110℃和氮气气氛下加热16小时。冷却至环境温度后,减压去除1,4-二氧戊环。将所得混合物用乙酸乙酯(300mL)稀释,并用水(2×300mL)洗涤。经无水硫酸钠干燥有机层,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶(10%乙酸乙酯/石油醚)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(300MHz,CD₃OD) δppm 1.44(t, J=7.1Hz, 3H), 2.89(s, 3H), 4.44(q, J=7.1Hz, 2H), 5.94(dd, J=11.7, 1.8Hz, 1H), 6.70(dd, J=17.6, 1.8Hz, 1H), 7.47(dd, J=17.6, 11.7Hz, 1H), 8.87(s, 1H)。MS(ESI⁺)m/z 249(M+H)⁺。

[0349] 实施例11B

[0350] 2-甲基-7-乙烯基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸

[0351] 将实施例11A(18.5g,74.5mmol)和氢氧化锂(3.57g,149mmol)溶于1,4-二氧戊环(180mL)和水(100mL)的混合物中。将反应混合物在环境温度下搅拌2小时。完全水解后,减压去除1,4-二氧戊环。所得水溶液用1M HCl水溶液调节至pH 2。将混合物过滤,并将滤饼真空干燥,得到标题化合物(15g,91%)。¹HNMR(300MHz,DMSO-d₆) δppm 2.89(s,3H),5.96(dd,J=11.7,2.1Hz,1H),6.75(dd,J=17.6,2.1Hz,1H),7.46(dd,J=17.6,11.7Hz,1H),8.88(s,1H),13.61(s,1H)。

[0352] 实施例11C

[0353] (2-甲基-7-乙烯基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯

[0354] 将实施例11B(15g,68mmol)和三乙胺(19mL,136mmol)溶于叔丁醇(300mL)中,并用二苯基磷酰基叠氮化物(28.1g,102mmol)处理。将反应混合物在环境温度下搅拌10分钟,然后在95℃下回流过夜。冷却后,将所得溶液减压浓缩。将残余物通过硅胶(10%乙酸乙酯/石油醚)纯化,得到标题化合物。¹HNMR(300MHz,CDCl₃) δppm 2.85(s,3H),5.95(dd,J=11.7,1.6Hz,1H),6.37-6.49(m,1H),6.62(s,1H),7.03(dd,J=17.9,11.7Hz,1H),8.92(s,1H)。MS(ESI+) m/z 292(M+H)⁺。实施例11D

[0355] (7-甲酰基-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯

[0356] 将实施例11C(15g,51.5mmol)、钨酸钾(VI)二水合物(1.90g,5.15mmol)和高碘酸钠(33g,154mmol)溶于乙腈(150mL)、水(150mL)和四氢呋喃(150mL)的混合物中。将所得溶液在环境温度下搅拌16小时。将反应混合物用水(20mL)猝灭,并用乙酸乙酯(3×20mL)萃取。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并将滤液浓缩。将残余物通过硅胶(20%乙酸乙酯/石油醚)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(300MHz,CDCl₃) δppm 1.59(s,9H),2.92(s,3H),9.82(s,1H),10.34(s,1H),11.10(d,J=0.8Hz,1H)。MS(ESI+) m/z 294(M+H)⁺。

[0357] 实施例11E

[0358] (2-甲基-7-(2,2,2-三氟-1-羟基乙基)噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯

[0359] 将实施例11D(26g,89mmol)、4Å分子筛(10g)和二甲基亚砜(250mL)的混合物用(三氟甲基)三甲基硅烷(15.1g,106mmol)处理。将所得混合物在环境温度和氮气气氛下搅拌12小时。加入碳酸钾(12.3g,89mmol)和二氯甲烷(250mL),并在环境温度下搅拌合并的溶液。2小时后,将混合物过滤,并将滤液用水(1.2L)稀释。用二氯甲烷(3×800mL)萃取水层。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并将滤液减压浓缩。将残余物通过硅胶(20%乙酸乙酯/石油醚)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δppm 1.47(s,9H),2.85(s,3H),6.08-6.25(m,1H),8.29(d,J=6.2Hz,1H),8.62(s,1H),9.07(s,1H)。

[0360] 实施例11F

[0361] (2-甲基-7-(2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基)噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯

[0362] 将碳酸钾(12.3g,89mmol)和甲基碘(5.6mL,89mmol)加入到实施例11E(29.4g,81mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(500mL)溶液中。将所得异质混合物在环境温度下搅拌12小时,然后用水(1000mL)稀释。分离各层,并用乙酸乙酯(3×300mL)萃取水层。将合并的有机层用盐水(300mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,并将滤液减压浓缩。将残余物通过硅胶(0%-100%乙酸乙酯/石油醚)纯化,得到标题化合物。¹HNMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 1.47

(s, 9H), 2.87 (s, 3H), 3.54 (s, 3H), 5.98 (q, J=7.6Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.97 (s, 1H)。MS (ESI+) m/z 378 (M+H)⁺。

[0363] 实施例11G

[0364] (R)-2-甲基-7-(2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基)噻唑并[5,4-b]吡啶-6-胺;和

[0365] 实施例11H

[0366] (S)-2-甲基-7-(2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基)噻唑并[5,4-b]吡啶-6-胺

[0367] 将实施例11F (35.2g, 93.3mmol) 溶于4M HCl的乙酸乙酯溶液(200mL, 800mmol) 中, 并在环境温度下搅拌2小时。通过LCMS测定原料完全消耗后, 将反应混合物过滤, 并将滤饼用乙酸乙酯(80mL) 洗涤。将滤饼分散在水(80mL) 中, 并用15%碳酸钠水溶液将所得悬浮液调节至pH 9并过滤。用水(80mL) 洗涤滤饼, 真空干燥, 得到实施例11G和实施例11H的1:1混合物。使用CHIRALPAK®AD-H柱(5cm×25cm, 5微米) 对外消旋物质进行手性SFC(超临界流体色谱法), 在35℃、150mL/分钟条件下, 用15%甲醇(2mM氨) 在CO₂中洗脱, 得到标题化合物(实施例11G: 保留时间5.14分钟, 实施例11H: 保留时间5.95分钟)。实施例11G: ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 2.77 (s, 3H), 3.44 (s, 3H), 5.64 (s, 2H), 5.83 (q, J=7.8Hz, 1H), 8.12 (s, 1H)。MS (ESI+) m/z 278 (M+H)⁺。实施例11H: ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 2.77 (s, 3H), 3.44 (s, 3H), 5.64 (s, 2H), 5.83 (q, J=7.8Hz, 1H), 8.12 (s, 1H)。MS (ESI+) m/z 278 (M+H)⁺。

[0368] 实施例11I

[0369] N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({2-甲基-7-[(1S)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0370] 将实施例11H (0.15g, 0.54mmol)、实施例11I (0.24g, 0.57mmol) 和碳酸铯 (0.53g, 1.6mmol) 的1,4-二氧戊环(10mL) 溶液用N₂鼓泡2分钟。加入XPhosPdG4 (70mg, 0.081mmol), 并将反应混合物在95℃下加热16小时。将溶液冷却至环境温度, 通过硅藻土过滤, 并将硅藻土垫用乙酸乙酯洗涤。浓缩滤液, 并将残余物通过反相色谱法(C18 HPLC, 用20%-100%乙腈水溶液/0.1%三氟乙酸洗脱) 纯化, 以分离标题化合物。合并纯的级分并浓缩, 以去除乙腈。将水溶液用乙酸乙酯分配, 并用饱和碳酸氢钠水溶液中和, 得到所需产物的游离碱。经无水硫酸镁干燥有机层, 过滤并浓缩。将残余物冻干, 得到标题化合物。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δppm 8.60 (s, 1H), 7.62 (d, J=18.2Hz, 1H), 7.25 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.15 (d, J=8.6Hz, 2H), 6.46 (q, J=9.2Hz, 1H), 5.93 (q, J=7.6Hz, 1H), 3.52 (s, 3H), 3.30-3.07 (m, 5H), 2.92 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.19-1.94 (m, 4H)。MS (ESI+) m/z 626.0 (M+H)⁺。

[0371] 实施例12

[0372] N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({7-[(1R)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0373] 实施例12A

[0374] N-(4-((S)-2,2-二氟-1-(甲基氨基)乙基)苯基)-7-((R)-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-胺

[0375] 将实施例8B (0.500g, 2.24mmol)、实施例4B (0.588g, 2.35mmol) 和碳酸铯 (2.19g, 6.72mmol) 的1,4-二氧戊环(25mL) 溶液用N₂鼓泡2分钟。加入XPhos Pd G4 (0.39g, 0.45mmol), 并将反应混合物在95℃下加热16小时。将反应混合物冷却, 通过硅藻土过滤, 并将硅藻土用乙酸乙酯洗涤。浓缩滤液, 并将残余物通过硅胶(0%-100%乙酸乙酯/庚烷) 纯

化,得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.48 (s, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.29-7.22 (m, 2H), 7.07-6.99 (m, 2H), 6.00 (d, J=4.3Hz, 1H), 5.37 (q, J=6.6Hz, 1H), 3.70 (d, J=13.9Hz, 1H), 3.24 (s, 3H), 2.83 (s, 3H), 2.34 (s, 1H), 2.19 (d, J=3.2Hz, 3H), 1.52 (d, J=6.7Hz, 3H)。MS (ESI) m/z 393.2 (M+H)⁺。

[0376] 实施例12B

[0377] N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({7-[(1R)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0378] 实施例12B根据用于制备实施例5B的方法制备,用实施例12A代替实施例5A,得到标题化合物。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δppm 8.49 (d, J=2.6Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.29 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.24-7.20 (m, 2H), 7.08-7.01 (m, 2H), 6.73 (dd, J=12.3, 5.3Hz, 0H), 5.80-5.72 (m, 1H), 5.34 (q, J=6.7Hz, 1H), 3.22 (d, J=2.9Hz, 4H), 3.13-3.06 (m, 3H), 2.93 (s, 3H), 2.83 (d, J=1.5Hz, 3H), 2.67 (s, 1H), 2.09-2.00 (m, 3H), 2.02-1.95 (m, 1H), 1.52 (dd, J=6.6, 1.7Hz, 3H)。MS (ESI) m/z 553.6 (M+H)⁺。

[0379] 实施例13

[0380] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2-二氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0381] 实施例13A

[0382] N-(4-((S)-2,2-二氟-1-(甲基氨基)乙基)苯基)-7-((S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-胺

[0383] 将实施例3H(0.500g, 2.24mmol)、实施例4B(0.506g, 2.03mmol)和碳酸铯(2.19g, 6.72mmol)的1,4-二氧戊环(30mL)溶液用N₂鼓泡2分钟。加入XPhos Pd G4(0.17g, 0.19mmol),并将反应混合物在95℃下加热16小时。将反应混合物冷却,通过硅藻土过滤,并将硅藻土用乙酸乙酯洗涤。浓缩滤液,并将残余物通过硅胶(0%-100%乙酸乙酯/庚烷)纯化,得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.49 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.39-7.11 (m, 2H), 7.10-6.93 (m, 2H), 6.74 (ddd, J=57.5, 54.5, 5.8Hz, 1H), 5.99 (td, J=56.3, 4.3Hz, 1H), 5.36 (dt, J=13.8, 5.9Hz, 1H), 3.71 (t, J=12.8Hz, 1H), 3.31 (s, 3H), 2.85 (s, 3H), 2.32 (s, 1H), 2.19 (s, 3H)。MS (ESI) m/z 429.8 (M+H)⁺。

[0384] 实施例13B

[0385] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2-二氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0386] 实施例13B根据用于制备实施例5B的方法制备,用实施例13A代替实施例5A,得到标题化合物。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δppm 8.51 (d, J=3.3Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.22-7.16 (m, 2H), 7.00-6.91 (m, 2H), 6.87-6.56 (m, 2H), 5.75 (td, J=13.3, 5.3Hz, 1H), 5.33 (dt, J=14.0, 5.5Hz, 1H), 3.29 (d, J=2.3Hz, 3H), 3.27-3.04 (m, 5H), 2.93 (s, 3H), 2.86 (d, J=1.9Hz, 3H), 2.16-1.87 (m, 4H)。MS (ESI) m/z 589.5 (M+H)⁺。

[0387] 实施例14

[0388] N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({2-甲基-7-[(1R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0389] 实施例14A

[0390] N-(4-((S)-2,2-二氟-1-(甲基氨基)乙基)苯基)-2-甲基-7-((R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基)噻唑并[5,4-b]吡啶-6-胺

[0391] 使用实施例4C中所述的条件,用实施例11G代替实施例1F,制备实施例14A (345.2mg, 97%)。MS (APCI) m/z 447.3 (M+H)⁺。

[0392] 实施例14B

[0393] N-((1S)-2,2-二氟-1-[4-((2-甲基-7-[(1R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]乙基)-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0394] 使用实施例4D中所述的条件,用实施例14A代替实施例4C,制备实施例14B (75.4mg, 51%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.53 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.29 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.12 (d, J=8.7Hz, 2H), 6.88-6.46 (m, 1H), 5.94 (q, J=7.7Hz, 1H), 5.72 (s, 1H), 3.56 (s, 3H), 3.28-3.04 (m, 5H), 2.94 (s, 3H), 2.85 (s, 3H), 2.20-1.98 (m, 4H)。MS (APCI) m/z 607.3 (M+H)⁺。

[0395] 实施例15

[0396] N-((1S)-1-[4-((2-(二氟甲基)-7-[(1S)-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基)-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0397] 实施例15A

[0398] (S)-7-(1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸甲酯

[0399] 向实施例1D (1g, 3.96mmol) 的N,N-二甲基甲酰胺 (12mL) 溶液中加入碳酸钾 (1.096g, 7.93mmol) 和碘甲烷 (0.296mL, 4.76mmol)。将所得悬浮液在环境温度下搅拌2小时。反应混合物分配在水 (40mL) 与乙酸乙酯 (30mL) 之间。分离各层,并用乙酸乙酯 (2×30mL) 萃取水层。合并的有机萃取物用水 (30mL) 和饱和氯化钠溶液 (30mL) 洗涤,经无水硫酸镁干燥并过滤。将滤液真空浓缩。将粗产物通过色谱法在Companion (24g柱, 10%-50% 乙酸乙酯/2-甲基戊烷) 上纯化,得到标题化合物 (980mg, 3.68mmol, 93%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.61 (s, 1H), 5.25 (q, J=6.7Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.14 (s, 3H), 2.89 (s, 3H), 1.59 (d, J=6.6Hz, 3H)。MS (ESI) m/z 267.1 (M+H)⁺。

[0400] 实施例15B

[0401] (S)-2-甲酰基-7-(1-甲氧基乙基)噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸甲酯

[0402] 将实施例15A (15g, 56.3mmol) 和二氧化硒 (25.00g, 225mmol) 在1,4-二氧戊环 (210mL) 中的混合物在93℃下搅拌8小时。冷却后,将反应混合物过滤,减压浓缩,并且通过硅胶柱色谱法纯化残余物,用乙酸乙酯/石油 (1:4) 洗脱,得到标题化合物 (2.808g, 9.66mmol, 17.15%)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 10.13 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 5.30-5.43 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.18 (s, 3H), 1.65 (d, J=6.7Hz, 3H)。LCMS (ESI) m/z 281 (M+H)⁺。

[0403] 实施例15C

[0404] (S)-2-(二氟甲基)-7-(1-甲氧基乙基)噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸甲酯

[0405] 在0℃下,向实施例15B (1.2g, 4.28mmol) 的甲苯 (36mL) 溶液中加入[双(2-甲氧基乙基)氨基]三氟化硫 (5.21g, 23.55mmol)。将反应混合物在50℃下搅拌过夜。冷却后,反应混合物分配在饱和碳酸氢钠水溶液 (50mL) 与二氯甲烷 (3×100mL) 之间。将合并的有机层用碳酸氢钠溶液 (50mL) 洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并将滤液浓缩。将残余物通过制备型 TLC用乙酸乙酯/石油醚 (1/1) 纯化,得到标题化合物 (812.4mg, 2.63mmol, 61.5%)。¹H NMR

(400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8.83 (d, $J=1.4$ Hz, 1H), 5.27 (q, $J=6.6$ Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.13 (s, 3H), 1.58 (d, $J=6.7$ Hz, 3H)。MS (ESI) m/z 303 (M+H)⁺。

[0406] 实施例15D

[0407] (S)-2-(二氟甲基)-7-(1-甲氧基乙基)噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸

[0408] 将实施例15C (0.3g, 0.992mmol) 和碳酸钠 (0.526g, 4.96mmol) 在甲醇 (10mL) 中的混合物在环境温度下搅拌过夜。去除溶剂, 并将残余物再溶于乙酸乙酯和0.1N HCl水溶液中。再用乙酸乙酯萃取水层两次。用饱和碳酸氢钠洗涤合并的有机层, 经无水硫酸镁干燥, 过滤并浓缩。将残余物通过反相制备型HPLC在C18柱上纯化, 用20%-100%乙腈在0.1%三氟乙酸水溶液中洗脱, 得到标题化合物 (0.082g, 0.284mmol, 28.7%)。还回收得到0.10g实施例15C。¹H NMR (600MHz, DMSO- d_6) δ ppm 13.60 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 7.63-7.45 (m, 1H), 5.35 (q, $J=6.6$ Hz, 1H), 3.15 (s, 3H), 1.64 (d, $J=6.7$ Hz, 3H)。MS (ESI) m/z 289.0 (M+H)⁺。

[0409] 实施例15E

[0410] 将实施例15D (0.07g, 0.243mmol)、叠氮磷酸二苯酯 (0.080g, 0.291mmol) 和三乙胺 (0.203mL, 1.457mmol) 在叔丁醇 (3mL) 中的混合物在80℃下加热过夜。去除溶剂, 并将残余物通过快速硅胶柱色谱法纯化, 用50%乙酸乙酯在庚烷中洗脱, 得到标题化合物 (0.017g, 0.066mmol, 27.0%)。¹H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8.26 (s, 1H), 7.42 (t, $J=53.9$ Hz, 1H), 5.67 (s, 2H), 5.37 (q, $J=6.7$ Hz, 1H), 3.24 (s, 3H), 1.49 (d, $J=6.7$ Hz, 3H)。MS (ESI) m/z 261.0 (M+H)⁺。

[0411] 实施例15F

[0412] N-[(1S)-1-[4-({2-(二氟甲基)-7-[(1S)-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基]-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺

[0413] 将实施例15E (0.018g, 0.070mmol)、实施例1J (0.03g, 0.070mmol) 和碳酸铯 (0.068g, 0.210mmol) 在1,4-二氧戊环 (1.5mL) 中的混合物脱气并用氮气回填数次。向该反应混合物中加入氯(2-二环己基膦基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)[2-(2'-氨基-1,1'-联苯)]钡(II) (5.51mg, 7.01 μ mol)。将反应容器重新加盖, 然后脱气并用氮气回填数次。将反应混合物在95℃下加热过夜。将反应混合物分配于水与乙酸乙酯之间, 并且再用乙酸乙酯萃取水层。将合并的有机层用饱和氯化钠洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤并将滤液浓缩。将残余物通过反相制备型HPLC在C18柱上纯化, 用20%-100%乙腈在0.1%三氟乙酸水溶液中洗脱, 得到标题化合物 (0.031g, 0.051mmol, 73.0%)。¹H NMR (600MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8.70 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.50 (t, $J=53.8$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.14-7.07 (m, 2H), 6.45 (q, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.32 (q, $J=6.7$ Hz, 1H), 3.21 (s, 3H), 3.29-3.07 (m, 4H), 2.91 (s, 3H), 2.13-2.07 (m, 1H), 2.05 (dq, $J=8.7, 3.3$ Hz, 2H), 2.05-1.96 (m, 1H), 1.56 (d, $J=6.7$ Hz, 3H)。MS (ESI) m/z 608.0 (M+H)⁺。

[0414] 实施例16

[0415] N-[(1S)-1-(4-({7-(1,1-二氟丙-2-基)-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基)-2,2,2-三氟乙基]-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺

[0416] 实施例16A

[0417] (7-(2,2-二氟-1-羟基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯

[0418] 向实施例11D (4g) 的N,N-二甲基甲酰胺 (40mL) 的悬浮液中加入(溴二氟甲基)三甲

基硅烷(4.24mL)和三苯基膦(7.15g),并将反应混合物在环境温度下搅拌16小时。将反应混合物冷却至0℃,并且缓慢加入氢氧化钾(2M在水中,13.64mL)。将反应混合物在此温度下搅拌1小时,然后加入饱和氯化铵水溶液(50mL)。加入水(50mL)和乙酸乙酯(50mL),并且分离各层。用乙酸乙酯(3×70mL)萃取水层,并将合并的有机萃取物用水/盐水(1:1,3×50mL)洗涤,经硫酸镁干燥并过滤。将滤液真空浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(0%-60%乙酸乙酯/2-甲基戊烷)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 9.00(s, 1H), 8.88(s, 1H), 7.35(d, 1H), 6.40(td, 1H), 5.82-5.72(m, 1H), 2.84(s, 3H), 1.48(s, 9H)。MS (ESI) m/z 345.8 (M+H)⁺。

[0419] 实施例16B

[0420] (7-(2,2-二氟乙酰基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯

[0421] 向实施例16A(500mg)的二氯甲烷(15mL)溶液中加入1,1,1-三(乙酰氧基)-1,1-二氢-1,2-苯并二氧杂环戊烯-3-(1H)-酮(Dess-Martin过碘烷)(921mg)和碳酸氢钠(243mg)。将反应混合物在环境温度下搅拌45分钟,过滤,并将滤饼用二氯甲烷(10mL)洗涤。将滤液用饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)洗涤,经硫酸镁干燥并过滤。将滤液真空浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(0%-40%乙酸乙酯/2-甲基戊烷)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 10.18(s, 1H), 8.51(s, 1H), 6.82(t, 1H), 2.85(s, 3H), 1.45(s, 9H)。MS (ESI) m/z 362.4 (M+H₃O)⁺。

[0422] 实施例16C

[0423] (7-(3,3-二氟丙-1-烯-2-基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯

[0424] 在0℃下,向甲基三苯基溴化磷(1270mg)在四氢呋喃(15mL)中的悬浮液中缓慢加入叔丁醇钾(1M在四氢呋喃中,3.23mL)。将反应在此温度下搅拌40分钟。在-10℃下,向实施例16B(370mg)的四氢呋喃(10mL)溶液中加入一部分预先形成的内鎓盐溶液(6mL),并将反应混合物搅拌30分钟。加入另一份内鎓盐溶液(6mL),并将反应混合物搅拌过夜,缓慢升温至环境温度。将反应混合物在50℃下搅拌1小时,然后在70℃下搅拌12小时,并在环境温度下静置3天。加入饱和氯化铵水溶液(20mL),并将混合物用乙酸乙酯(3×20mL)萃取两次。合并的有机萃取物经硫酸镁干燥并过滤。将滤液真空浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(0%-100%乙酸乙酯/2-甲基戊烷)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.75(s, 1H), 8.57(s, 1H), 6.86(t, 1H), 6.16(q, 1H), 5.76(s, 1H), 2.82(s, 3H), 1.43(s, 9H)。MS (ESI) m/z 342.2 (M+H)⁺。

[0425] 实施例16D

[0426] (7-(3,3-二氟丙-1-烯-2-基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯

[0427] 向实施例16C(130mg)的四氢呋喃(3mL)溶液中加入钯(5重量%在碳上,130mg)。将反应混合物在氢气气氛(3巴)和环境温度下搅拌3小时。通过玻璃微纤维垫过滤反应混合物,用甲醇(5mL)洗涤,并且真空浓缩滤液。将残余物通过硅胶色谱法(0%-50%乙酸乙酯/2-甲基戊烷)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 9.17(s, 1H), 8.43(s, 1H), 6.98-6.61(m, 1H), 3.72(dp, 1H), 2.86(s, 3H), 1.48(d, 3H), 1.46(s, 9H)。MS (ESI) m/z 344.2 (M+H)⁺。

[0428] 实施例16E

[0429] 7-(1,1-二氟丙-2-基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-胺

[0430] 向实施例16D (1.1g) 的二氯甲烷 (20mL) 溶液中加入2,2,2-三氟乙酸 (4.90mL)。将反应混合物在环境温度下搅拌3小时。加入甲苯 (10mL), 并将反应混合物真空浓缩。将残余物溶于二氯甲烷 (20mL) 中, 并用饱和碳酸氢钠水溶液 (20mL) 洗涤。分离各层, 并用二氯甲烷 (2×10mL) 萃取水层。合并的有机萃取物经硫酸镁干燥并过滤。将滤液真空浓缩, 得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.05 (s, 1H), 6.85 (ddd, 1H), 5.53 (s, 2H), 3.86-3.67 (m, 1H), 2.76 (s, 3H), 1.39 (d, 3H)。MS (ESI) m/z 244.2 (M+H)⁺。

[0431] 实施例16F

[0432] N-[(1S)-1-(4-{[7-(1,1-二氟丙-2-基)-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基]氨基}苯基)-2,2,2-三氟乙基]-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0433] 向实施例16E (150mg)、实施例1J (396mg) 和磷酸钾 (262mg) 在1,4-二氧戊环 (5mL) 中的脱气悬浮液中加入XPhosPdG4 (106mg), 并将反应混合物在70℃下搅拌18小时。冷却至环境温度后, 将反应混合物通过硅藻土过滤, 用二氯甲烷 (15mL) 洗涤。将滤液真空浓缩, 并将残余物通过硅胶色谱法 (0%-80%乙酸乙酯/2-甲基戊烷) 纯化。将产物溶于四氢呋喃 (5mL) 中, 并加入吡咯烷-1-二硫代羧酸、铵盐 (APDTC)。将所得悬浮液在40℃下搅拌3小时, 然后过滤。将滤液真空浓缩到硅胶上, 并将残余物通过硅胶色谱法 (0%-80%乙酸乙酯/2-甲基戊烷) 纯化, 得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.43 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.16 (d, 2H), 6.84 (td, 1H), 6.78 (d, 2H), 6.41 (q, 1H), 3.88 (dq, 1H), 3.30-3.06 (m, 5H), 2.90 (s, 3H), 2.87 (s, 3H), 2.11-1.94 (m, 4H), 1.45 (d, 3H)。MS (ESI) m/z 591.1 (M+H)⁺。

[0434] 实施例17

[0435] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)-3-氟苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0436] 向实施例3G (116mg)、实施例10C (200mg) 和磷酸钾 (95mg) 在1,4-二氧戊环 (2mL) 中的脱气悬浮液中加入XPhos Pd G4 (77mg), 并将反应混合物在70℃下搅拌16小时。冷却至环境温度后, 将反应混合物通过硅藻土过滤, 用二氯甲烷 (10mL) 洗涤。将滤液真空浓缩, 并将残余物通过硅胶色谱法 (0%-100%乙酸乙酯-乙醇 (3:1)/2-甲基戊烷) 纯化, 得到非对映异构体混合物形式的产物。使用CHIRALPAK[®] IC柱 (10mm×250mm, 5微米), 用35% 甲醇 (0.1% 氨) 在CO₂中洗脱, 在40℃、15mL/分钟、120巴条件下, 通过手性SFC (超临界流体色谱法) 分离非对映异构体混合物, 得到单个非对映异构体形式的标题化合物。这些标题化合物的绝对立体化学结构是任意分配的。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.46 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.15-7.04 (m, 2H), 6.72 (td, 1H), 6.48 (q, 1H), 5.41 (dt, 1H), 3.34 (s, 3H), 3.28-3.05 (m, 5H), 2.93 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.14-1.93 (m, 4H)。MS (ESI) m/z 625.1 (M+H)⁺。

[0437] 实施例18

[0438] 1-乙酰基-N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0439] 实施例18A

[0440] (S)-1-乙酰基-N-(1-(4-溴苯基)-2,2,2-三氟乙基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0441] 向包含在二氯甲烷 (3mL) 中的实施例1I的盐酸盐 (1.0g, 3.28mmol)、吡啶 (1.328mL, 16.42mmol) 和N,N-二甲基吡啶-4-胺 (0.401g, 3.28mmol) 的40mL小瓶中加入1-乙

酰基哌啶-4-甲酰氯(0.747g, 3.94mmol)。将反应在环境温度下搅拌30分钟,并用二氯甲烷(20mL)稀释。将有机层用饱和氯化铵水溶液(20mL)洗涤,经无水硫酸镁干燥并过滤。将滤液浓缩。将残余物通过自动快速色谱法(ISC0、SiO₂、乙酸乙酯/己烷)纯化,得到标题化合物。

[0442] 实施例18B

[0443] 1-乙酰基-N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0444] 将实施例18A(125mg, 0.297mmol)、实施例3G(70mg, 0.270mmol)、Pd-Xphos-G2(21.24mg, 0.027mmol)和Cs₂CO₃(264mg, 0.810mmol)置于小瓶中。将内容物抽空并用氮气回充两次。加入1,4-二氧戊环,并将混合物在90℃下,在氮气下搅拌过夜。将粗混合物经硅藻土过滤并真空浓缩。将粗残余物使用反相色谱法(C18 HPLC,用20%-70%乙腈水溶液/0.1%甲酸洗脱)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(500MHz, CDCl₃) 8.61(s, 1H), 7.26(t, J=8.5Hz, 2H), 7.08-7.02(m, 2H), 6.59(q, J=9.0Hz, 1H), 6.12(td, J=55Hz, 1H), 5.57(m, 1H), 4.61(t, J=12.1Hz, 1H), 3.91(d, J=13.2Hz, 1H), 3.57(s, 3H), 3.14(m, 1H), 2.93(d, J=2.4Hz, 3H), 2.83(s, 3H), 2.82-2.67(m, 3H), 2.11(s, 3H), 1.92-1.70(m, 4H)。MS(ESI) m/z 600.4(M+H)⁺。

[0445] 实施例19

[0446] 1-乙酰基-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺

[0447] 将实施例18A(83mg, 0.197mmol)、实施例1F(40mg, 0.179mmol)、Pd-Xphos-G2(14.09mg, 0.018mmol)和Cs₂CO₃(175mg, 0.537mmol)置于小瓶中。将内容物抽空并用氮气回充两次。加入1,4-二氧戊环,并将混合物在90℃下,在氮气下搅拌过夜。将混合物经硅藻土过滤并真空浓缩。将残余物使用自动快速色谱法(ISC0、SiO₂、乙酸乙酯/己烷)纯化,得到标题化合物。¹H NMR(500MHz, CDCl₃) 8.60(s, 1H), 7.46(s, 1H), 7.26(t, J=7.4Hz, 2H), 7.16-7.05(m, 2H), 6.59(q, J=9.0Hz, 1H), 5.57(q, J=6.7Hz, 1H), 4.61(t, J=12.1Hz, 1H), 3.91(d, J=13.2Hz, 1H), 3.41(s, 3H), 3.14(ddd, J=17.2, 9.8, 4.4Hz, 1H), 2.94(d, J=2.4Hz, 3H), 2.83(s, 3H), 2.82(s, 1H), 2.81-2.68(m, 1H), 2.11(s, 3H), 1.92-1.70(m, 3H), 1.56(d, J=6.7Hz, 3H)。MS(ESI) m/z 564.0(M+H)⁺。

[0448] 实施例20

[0449] 1-(羟基乙酰基)-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺

[0450] 实施例20A

[0451] (S)-叔丁基4-((1-(4-溴苯基)-2,2,2-三氟乙基)(甲基)氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸酯

[0452] 在0℃下,向1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-羧酸(459mg, 2.00mmol)在二氯甲烷(10mL)中的混合物中加入在二氯甲烷(2.00mL, 4.00mmol)中的2.0M草酰氯,随后加入痕量的N,N-二甲基甲酰胺。将反应混合物在5℃下搅拌3小时,浓缩,并且与甲苯共沸两次。将残余物溶于二氯甲烷(5.0mL)中,在0℃下缓慢加入到实施例1I的盐酸盐(305mg, 1.00mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.875mL, 5.01mmol)在二氯甲烷(5.0mL)中的混合物中。将反应混合物在5℃下搅拌1小时,并用二氯甲烷和水分配。有机层用5%碳酸氢钠水溶液和饱和氯化钠水溶液洗

涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过快速色谱法(硅胶,在庚烷中的10%-50%3:1乙酸乙酯/乙醇)纯化,得到标题化合物。MS (ESI+) m/z 479.1, 481.0 (M+H)⁺。

[0453] 实施例20B

[0454] 4-(甲基((S)-2,2,2-三氟-1-(4-((7-((S)-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基)乙基)氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0455] 将实施例1F (179mg, 0.800mmol)、实施例20A (383mg, 0.800mmol)、XPhos Pd G3 (67.7mg, 0.0800mmol) 和碳酸铯 (782mg, 2.40mmol) 在二氧戊环 (5.0mL) 中合并。将反应混合物用氮气吹扫10分钟,在90℃下搅拌2小时,冷却至室温,通过硅藻土过滤,用乙酸乙酯洗涤并浓缩。将残余物通过快速色谱法(硅胶,在庚烷中的20%-60%乙酸乙酯)纯化,得到标题化合物。MS (ESI+) m/z 622.3 (M+H)⁺。

[0456] 实施例20C

[0457] N-甲基-N-((S)-2,2,2-三氟-1-(4-((7-((S)-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基)乙基)哌啶-4-羧酰胺

[0458] 向实施例20B (410mg, 0.659mmol) 在二氯甲烷 (7.5mL) 中的混合物中加入三氟乙酸 (2.50mL, 32.4mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1小时并浓缩。将残余物通过反相HPLC (250mm×50mm C18 Phenomenex® LUNA®, 10%-100%乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液) 纯化,得到标题化合物,为三氟乙酸盐。MS (ESI+) m/z 522.3 (M+H)⁺。

[0459] 实施例20D

[0460] 1-(羟基乙酰基)-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-((7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]乙基)哌啶-4-羧酰胺

[0461] 向实施例20C (51mg, 0.080mmol)、2-羟基乙酸 (6.7mg, 0.088mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (0.042mL, 0.24mmol) 的N,N-二甲基甲酰胺 (1mL) 溶液中分批加入1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化六氟磷酸盐 (34mg, 0.088mmol)。将反应混合物在环境温度下搅拌2小时,并通过反相HPLC (250mm×50mm C18 Phenomenex® LUNA®, 10%-100%乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液) 纯化。合并含有产物的级分,并蒸发去除乙腈。将溶液用饱和碳酸氢钠水溶液中和,并用乙酸乙酯萃取。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并将滤液浓缩。将残余物用乙腈/水冻干,得到标题化合物。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δppm 8.50 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.21 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.05 (d, J=8.7Hz, 2H), 6.46 (q, J=9.4Hz, 1H), 5.33 (q, J=6.6Hz, 1H), 4.50 (s, 1H), 4.35 (d, J=13.1Hz, 1H), 4.16-4.01 (m, 2H), 3.71 (d, J=13.4Hz, 1H), 3.21 (s, 3H), 3.09-2.97 (m, 2H), 2.92 (s, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.76-2.65 (m, 1H), 1.80-1.66 (m, 2H), 1.66-1.37 (m, 5H)。MS (ESI+) m/z 580.2 (M+H)⁺。

[0462] 实施例21

[0463] N-{(1S)-1-[4-((7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0464] 实施例21A

[0465] 4-(((S)-1-(4-((7-((R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基)-2,2,2-三氟乙基)(甲基)氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0466] 实施例21A根据用于制备实施例20B的方法制备,用实施例3G代替实施例1F,得到

标题化合物。MS (ESI+) m/z 658.6 (M+H)⁺。

[0467] 实施例21B

[0468] N-((S)-1-(4-((7-((R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基)-2,2,2-三氟乙基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺,三氟乙酸

[0469] 实施例21B根据用于制备实施例20C的方法制备,用实施例21A代替实施例20B,得到标题化合物。MS (ESI+) m/z 558.4 (M+H)⁺。

[0470] 实施例21C

[0471] N-((1S)-1-[4-((7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基)-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0472] 实施例21C根据用于制备实施例20D的方法制备,用实施例21B代替实施例20C,得到标题化合物。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.53 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.20 (d, J=8.3Hz, 2H), 6.97 (d, J=8.7Hz, 2H), 6.75 (ddd, J=57.6, 54.4, 5.9Hz, 1H), 6.45 (q, J=9.4Hz, 1H), 5.31 (dt, J=14.0, 5.6Hz, 1H), 4.49 (s, 1H), 4.35 (d, J=13.1Hz, 1H), 4.15-4.01 (m, 2H), 3.70 (d, J=13.2Hz, 1H), 3.28 (s, 3H), 3.08-2.97 (m, 2H), 2.91 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.77-2.65 (m, 1H), 1.80-1.59 (m, 2H), 1.59-1.35 (m, 2H)。MS (ESI+) m/z 615.9 (M+H)⁺。

[0473] 实施例22

[0474] 1-(3-羟基丙酰基)-N-甲基-N-((1S)-2,2,2-三氟-1-[4-((7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]乙基)哌啶-4-羧酰胺

[0475] 实施例22根据用于制备实施例20D的方法制备,用30% 3-羟基丙酸水溶液代替2-羟基乙酸,得到标题化合物。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.50 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.21 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.05 (d, J=8.7Hz, 2H), 6.46 (q, J=9.4Hz, 1H), 5.33 (q, J=6.7Hz, 1H), 4.48 (t, J=5.4Hz, 1H), 4.40 (d, J=13.1Hz, 1H), 3.92 (d, J=13.5Hz, 1H), 3.63 (td, J=6.5, 5.3Hz, 2H), 3.21 (s, 3H), 3.12-2.98 (m, 2H), 2.92 (s, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.69-2.57 (m, 2H), 2.50-2.41 (m, 1H), 1.80-1.61 (m, 2H), 1.58-1.45 (m, 4H), 1.43-1.33 (m, 1H)。MS (ESI+) m/z 594.3 (M+H)⁺。

[0476] 实施例23

[0477] 1-(2-羟基-2-甲基丙酰基)-N-甲基-N-((1S)-2,2,2-三氟-1-[4-((7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]乙基)哌啶-4-羧酰胺

[0478] 实施例23根据用于制备实施例20D的方法制备,用2-羟基-2-甲基丙酸代替2-羟基乙酸,得到标题化合物。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.50 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.21 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.05 (d, J=8.7Hz, 2H), 6.46 (q, J=9.4Hz, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.33 (q, J=6.7Hz, 1H), 4.81 (s, br, 1H), 4.43 (s, br, 1H), 3.21 (s, 3H), 3.10-2.96 (m, 2H), 2.92 (s, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.64 (s, 1H), 1.78-1.43 (m, 7H), 1.31 (s, 6H)。MS (ESI+) m/z 608.3 (M+H)⁺。

[0479] 实施例24

[0480] 1-(2,3-二羟基丙酰基)-N-甲基-N-((1S)-2,2,2-三氟-1-[4-((7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]乙基)哌啶-4-羧酰胺

[0481] 实施例24根据用于制备实施例20D的方法制备,用20% 2,3-二羟基丙酸水溶液代替2-羟基乙酸,得到标题化合物。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.50 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.21 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.05 (d, J=8.7Hz, 2H), 6.46 (q, J=9.3Hz, 1H), 5.33 (q, J=6.7Hz,

1H), 4.90-4.81 (m, 1H), 4.74-4.62 (m, 1H), 4.42-4.30 (m, 2H), 4.10-4.03 (m, 1H), 3.55-3.48 (m, 1H), 3.47-3.41 (m, 1H), 3.21 (s, 3H), 3.15-3.00 (m, 2H), 2.92 (s, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.75-2.65 (m, 1H), 1.80-1.66 (m, 2H), 1.59-1.37 (m, 5H)。MS (ESI+) m/z 610.2 (M+H)⁺。

[0482] 实施例25

[0483] 1-[(2R)-2-羟基丙酰基]-N-甲基-N-[(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基]哌啶-4-羧酰胺

[0484] 实施例25根据用于制备实施例20D的方法制备,用(R)-2-羟基丙酸代替2-羟基乙酸,得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.50 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.21 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.05 (d, J=8.6Hz, 2H), 6.46 (q, J=9.4Hz, 1H), 5.33 (q, J=6.7Hz, 1H), 4.87-4.80 (m, 1H), 4.47-4.31 (m, 2H), 4.01 (d, J=12.9Hz, 1H), 3.21 (s, 3H), 3.13-2.99 (m, 2H), 2.92 (s, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.77-2.65 (m, 1H), 1.81-1.66 (m, 2H), 1.60-1.35 (m, 5H), 1.21-1.12 (m, 3H)。MS (ESI+) m/z 594.2 (M+H)⁺。

[0485] 实施例26

[0486] 1-[(2S)-2-羟基丙酰基]-N-甲基-N-[(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基]哌啶-4-羧酰胺

[0487] 实施例26根据用于制备实施例20D的方法制备,用(S)-2-羟基丙酸代替2-羟基乙酸,得到标题化合物。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δppm 8.50 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.21 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.05 (d, J=8.7Hz, 2H), 6.46 (q, J=9.4Hz, 1H), 5.33 (q, J=6.7Hz, 1H), 4.84 (d, J=6.9Hz, 1H), 4.46-4.34 (m, 2H), 4.02 (d, J=13.2Hz, 1H), 3.21 (s, 3H), 3.14-2.99 (m, 2H), 2.92 (s, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.73-2.64 (m, 1H), 1.82-1.66 (m, 2H), 1.63-1.37 (m, 5H), 1.20-1.15 (m, 3H)。MS (ESI+) m/z 594.2 (M+H)⁺。

[0488] 实施例27

[0489] 1-[(2R)-2,3-二羟基丙酰基]-N-甲基-N-[(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基]哌啶-4-羧酰胺

[0490] 实施例27A

[0491] (R)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-羧酸

[0492] 向(R)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-羧酸酯(1.00g, 6.24mmol)的四氢呋喃(10mL)溶液中加入氢氧化锂(0.299g, 12.5mmol)在水(10mL)中的混合物。将反应混合物在环境温度下搅拌2小时,并用乙酸乙酯和水分配。丢弃有机层。将水层通过加入2MHC1水溶液调节至pH3,并用乙酸乙酯萃取三次。将合并的有机层用饱和氯化钠水溶液洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并将滤液浓缩,得到标题化合物。

[0493] 实施例27B

[0494] 1-[(2R)-2,3-二羟基丙酰基]-N-甲基-N-[(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基]哌啶-4-羧酰胺

[0495] 向实施例20C(153mg, 0.240mmol)、实施例27A(35.1mg, 0.240mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.126mL, 0.720mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(2.0mL)溶液中分批加入1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化六氟磷酸盐(100mg, 0.264mmol)。将反应混合物在环境温度下搅拌2小时,并通过反相HPLC(250mm×50mm C18Phenomenex[®] LUNA, 10%-100%乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液)纯化,得到标题化合物和受保护的中间体。

将受保护的中间体的级分浓缩,溶于乙酸(1.0mL)/水(0.50mL)的混合物中,在70℃下搅拌15分钟,冷却至环境温度并浓缩。将残余物通过反相HPLC(250mm×50mm C18 Phenomenex® LUNA®,10%-100%乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液)纯化。将标题化合物的合并级分浓缩以去除乙腈,用饱和碳酸氢钠水溶液中和,并用乙酸乙酯萃取。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并将滤液浓缩。将残余物用乙腈/水冻干,得到标题化合物。¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆) δppm 8.50(s,1H),7.70(s,1H),7.21(d,J=8.4Hz,2H),7.05(d,J=8.7Hz,2H),6.46(q,J=9.4Hz,1H),5.33(q,J=6.7Hz,1H),4.92-4.81(m,1H),4.72-4.62(m,1H),4.43-4.29(m,2H),4.11-4.03(m,1H),3.56-3.48(m,1H),3.47-3.40(m,1H),3.21(s,3H),3.14-3.00(m,2H),2.92(s,3H),2.84(s,3H),2.76-2.65(m,1H),1.80-1.65(m,2H),1.63-1.53(m,1H),1.52(d,J=6.7Hz,3H),1.48-1.37(m,1H)。MS(ESI+)m/z610.3(M+H)⁺。

[0496] 实施例28

[0497] N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-((7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]乙基}-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0498] 实施例28A

[0499] 4-(((S)-2,2-二氟-1-(4-((7-((S)-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基)乙基)(甲基)氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0500] 将1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-羧酸(73.6mg,0.321mmol)、2,4-二氯-6-甲氧基-1,3,5-三嗪(69.3mg,0.385mmol)和N-甲基吗啉(42.4μL,0.385mmol)混合在二氯甲烷(1.6mL)中,在环境温度下搅拌1小时。将所得悬浮液滴加到实施例4C(126mg,0.321mmol)的二氯甲烷(1.6mL)溶液中,并将混合物在环境温度下搅拌过夜。将反应物浓缩,并通过快速色谱法(0%至70%乙酸乙酯/庚烷)直接纯化,得到标题化合物。MS(ESI)m/z 604.4(M+H)⁺。

[0501] 实施例28B

[0502] N-((S)-2,2-二氟-1-(4-((7-((S)-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基)乙基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0503] 向实施例28A(104mg,0.172mmol)在二氯甲烷(3.5mL)中的混合物中加入三氟乙酸(0.67mL,8.61mmol)。将混合物在环境温度下搅拌1小时并浓缩。将残余物通过快速色谱法(12g硅胶,2%-10%甲醇/二氯甲烷与3%NH₄OH)纯化,得到标题化合物。MS(ESI)m/z 504.4(M+H)⁺。

[0504] 实施例28C

[0505] N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-((7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]乙基}-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0506] 向实施例28B(50mg,0.099mmol)、2-羟基乙酸(5.07μL,0.099mmol)和N,N-二异丙基乙胺(34.7μL,0.199mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(1.0mL)溶液中滴加(1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化六氟磷酸盐(41.5mg,0.109mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(1.0mL)溶液。将混合物在环境温度下搅拌2小时,并通过反相HPLC(250mm×50mm C18 Phenomenex® LUNA®,10%-90%乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液)直接纯化。将含有产物的级分浓缩,并且再溶于乙腈中。通过lgSiliCycle SiliaPrep碳酸盐柱芯过滤使样品脱盐,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 8.46(s,1H),7.48(s,1H),7.25(d,J=8.3Hz,2H),7.04(d,J=8.6Hz,2H),6.64(td,J=55.0,5.1Hz,1H),5.70(s,1H),5.40

(q, J=6.6Hz, 1H), 4.40-3.65 (m, 5H), 3.28 (s, 3H), 3.05-2.85 (m, 6H), 2.83 (s, 3H), 1.71 (d, J=10.4Hz, 2H), 1.54 (m, 5H)。MS (APCI) m/z 562.3 (M+H)⁺。

[0507] 实施例29

[0508] 1-乙酰基-N-{(1S)-2,2-二氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0509] 向实施例28B(45mg, 0.089mmol)和三乙胺(31.1μL, 0.223mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(0.9mL)溶液中滴加乙酰氯(7.62μL, 0.107mmol)。将混合物在环境温度下搅拌2小时,并通过反相HPLC(250mm×50mm C18 Phenomenex® LUNA®, 10%-90%乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液)直接纯化。将所需的级分浓缩,并且再溶于乙腈中。通过1g SiliCycle SiliaPrep 碳酸盐柱芯过滤使样品脱盐,得到标题化合物。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.46 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.25 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.04 (d, J=8.6Hz, 2H), 6.64 (td, J=55.2, 5.1Hz, 1H), 5.70 (s, 1H), 5.40 (q, J=6.6Hz, 1H), 4.50-3.60 (m, 2H), 3.28 (s, 3H), 3.12-2.85 (br, 6H), 2.83 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.70 (d, J=11.4Hz, 2H), 1.63-1.41 (m, 5H)。MS (APCI) m/z 546.4 (M+H)⁺。

[0510] 实施例30

[0511] 1-[(2S)-2,3-二羟基丙酰基]-N-甲基-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({7-[(1S)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}哌啶-4-羧酰胺

[0512] 实施例30根据用于制备实施例20D的方法制备,用(S)-2,3-二羟基丙酸代替2-羟基乙酸,得到标题化合物(26mg, 18%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.50 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.21 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.05 (d, J=8.6Hz, 2H), 6.46 (q, J=9.4Hz, 1H), 5.33 (q, J=6.7Hz, 1H), 4.89-4.80 (m, 1H), 4.72-4.59 (m, 1H), 4.42-4.30 (m, 2H), 4.12-4.02 (m, 1H), 3.57-3.47 (m, 1H), 3.47-3.40 (m, 1H), 3.21 (s, 3H), 3.13-2.99 (m, 2H), 2.92 (s, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.75-2.65 (m, 1H), 1.82-1.67 (m, 2H), 1.63-1.36 (m, 5H)。MS (ESI+) m/z 610.3 (M+H)⁺。

[0513] 实施例31

[0514] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2-二氟乙基}-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0515] 实施例31A

[0516] 4-(((S)-1-(4-((7-((R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基)-2,2-二氟乙基)(甲基)氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0517] 使用实施例28A中所述的条件,用实施例6A代替实施例4C,制备标题化合物(100mg, 45%)。MS (APCI) m/z 640.4 (M+H)⁺。

[0518] 实施例31B

[0519] N-((S)-1-(4-((7-((R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基)-2,2-二氟乙基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0520] 使用实施例28B中所述的条件,用实施例31A代替实施例28A,制备标题化合物(70mg, 83%)。MS (APCI) m/z 540.4 (M+H)⁺。

[0521] 实施例31C

[0522] N-{(1S)-1-[4-({7-[(1R)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]-2,2-二氟乙基}-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0523] 使用实施例28C中所述的条件,用实施例31B代替实施例28B,制备标题化合物(33.4mg, 43%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.48 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.24 (d, J=8.4Hz, 2H), 6.97 (d, J=8.6Hz, 2H), 6.85-6.41 (m, 2H), 5.70 (s, 1H), 5.40 (ddd, J=13.1, 7.3, 5.5Hz, 1H), 4.38-3.56 (m, 5H), 3.36 (s, 3H), 3.00-2.96 (m, 3H), 2.92 (s, 3H), 2.85 (s, 3H), 1.71 (d, J=8.3Hz, 2H), 1.54 (d, J=12.9Hz, 2H)。MS (APCI) m/z 598.4 (M+H)⁺。

[0524] 实施例32

[0525] N-((1S)-1-[4-((7-((1S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基)-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基)-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0526] 实施例32A

[0527] (S)-叔丁基4-((1-(4-溴苯基)-2,2,2-三氟乙基)(甲基)氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸酯

[0528] 将1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-羧酸(2.45g, 10.7mmol)、2,4-二氯-6-甲氧基-1,3,5-三嗪(1.77g, 9.85mmol)、CH₂Cl₂(50mL)和N-甲基吗啉(1.08mL, 9.85mmol)在环境温度下搅拌1小时。向该溶液中加入实施例1I(2.50g, 8.21mmol),并将合并的溶液在环境温度下搅拌15小时。通过LCMS测定完成后,将反应混合物浓缩。将残余物通过硅胶(0%-100%乙酸乙酯/庚烷)纯化。将残余物通过反相色谱法(C18 HPLC,用20%-100%乙腈水溶液/0.1%三氟乙酸洗脱)进一步纯化,以分离标题化合物。合并纯的级分并浓缩。将水溶液用乙酸乙酯分配,并用饱和碳酸氢钠水溶液中和,得到所需产物的游离碱。将有机层经无水硫酸镁干燥,过滤并将滤液浓缩,得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 7.80-7.61 (m, 2H), 7.30 (d, J=8.3Hz, 2H), 6.55 (q, J=9.2Hz, 1H), 3.96 (d, J=13.3Hz, 2H), 3.08-2.67 (m, 6H), 1.70 (t, J=16.9Hz, 2H), 1.40 (s, 11H)。MS (ESI+) m/z 479.6 and 481.7 (M+H)⁺。

[0529] 实施例32B

[0530] 4-(((S)-1-(4-((7-((S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基)-2,2,2-三氟乙基)(甲基)氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0531] 将实施例3H(0.500g, 2.24mmol)、实施例32A(0.75g, 1.57mmol)和碳酸铯(1.51g, 4.63mmol)的1,4-二氧戊环(30mL)溶液用N₂鼓泡2分钟。加入XPhos Pd G4(0.20g, 0.23mmol),并将反应混合物在95℃下加热16小时。将反应混合物冷却,通过硅藻土过滤,并将硅藻土用乙酸乙酯洗涤。将滤液浓缩。将材料通过硅胶(0%-70%乙酸乙酯/庚烷)纯化,得到标题化合物。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δppm 8.53 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.20 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.01-6.91 (m, 2H), 6.76 (ddd, J=57.7, 54.3, 6.0Hz, 1H), 6.46 (q, J=9.3Hz, 1H), 5.32 (dt, J=14.2, 5.5Hz, 1H), 3.99 (dd, J=39.7, 10.1Hz, 2H), 3.28 (s, 3H), 2.88 (d, J=20.3Hz, 9H), 1.68 (dd, J=34.8, 12.9Hz, 2H), 1.40 (s, 11H)。MS (ESI) m/z 658.7 (M+H)⁺。

[0532] 实施例32C

[0533] N-(((S)-1-(4-((7-((S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基)-2,2,2-三氟乙基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0534] 将实施例32B(0.95g, 1.45mmol)溶于二氯甲烷(3mL)和三氟乙酸(3mL, 38.9mmol)的1:1混合物中。将溶液在环境温度下搅拌30分钟。在原料完全消耗后,将反应混合物浓缩。将残余物溶于乙酸乙酯中,并用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤。将水层用二氯甲烷(20mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸镁干燥,过滤并将滤液浓缩,得到标题化合物。¹H NMR (600MHz,

DMSO- d_6) δ ppm 8.53 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.20 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.03-6.94 (m, 2H), 6.75 (ddd, J=57.8, 54.3, 5.9Hz, 1H), 6.44 (q, J=9.3Hz, 1H), 5.31 (dt, J=14.1, 5.5Hz, 1H), 3.28 (s, 3H), 3.11-2.83 (m, 11H), 1.94-1.56 (m, 5H)。MS (ESI) m/z 558.3 (M+H)⁺。

[0535] 实施例32D

[0536] N-[(1S)-1-[4-[(7-[(1S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基]氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基]-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0537] 在10分钟内向2-羟基乙酸 (0.033g, 0.43mmol)、实施例32C (0.20g, 0.36mmol)、N,N-二甲基甲酰胺 (3mL) 和N,N-二异丙基乙胺 (0.31mL, 1.79mmol) 的溶液中分三份加入1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化六氟磷酸盐 (0.15g, 0.40mmol)。将合并的溶液在环境温度下搅拌1小时。在原料完全消耗后,将粗料通过反相色谱法 (C18 HPLC, 用20%-100%乙腈水溶液/0.1%三氟乙酸洗脱) 直接纯化,以分离标题化合物。合并纯的级分并浓缩。将水溶液用乙酸乙酯分配,并用饱和碳酸氢钠水溶液中和,得到所需产物的游离碱。将有机层经无水硫酸镁干燥,过滤并将滤液浓缩。将残余物冻干,得到标题化合物。¹H NMR (600MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8.53 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.20 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.02-6.94 (m, 2H), 6.75 (ddd, J=57.8, 54.3, 5.9Hz, 1H), 6.45 (q, J=9.3Hz, 1H), 5.32 (dt, J=14.1, 5.5Hz, 1H), 4.49 (t, J=5.4Hz, 1H), 4.35 (d, J=12.9Hz, 1H), 4.23-4.01 (m, 2H), 3.70 (d, J=13.8Hz, 1H), 3.28 (s, 3H), 3.03 (tq, J=11.1, 3.6Hz, 1H), 2.92 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.71 (dt, J=24.0, 13.0Hz, 1H), 1.84-1.32 (m, 5H)。MS (ESI) m/z 616.0 (M+H)⁺。

[0538] 实施例33

[0539] 1-乙酰基-N-[(1S)-1-[4-[(7-[(1S)-2,2-二氟-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基]氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基]-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0540] 将乙酸 (0.097g, 1.6mmol)、1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化六氟磷酸盐 (0.31g, 0.81mmol)、N,N-二甲基甲酰胺 (2mL) 和N,N-二异丙基乙胺 (0.47mL, 2.7mmol) 的溶液加入到实施例32C (0.30g, 0.54mmol) 的N,N-二甲基甲酰胺 (1.0mL) 溶液中。将合并的混合物在环境温度下搅拌20分钟。LCMS显示完全转化。在原料完全消耗后,将粗料通过反相色谱法 (C18 HPLC, 用20%-80%乙腈水溶液/0.1%三氟乙酸洗脱) 直接纯化,以分离标题化合物。合并纯的级分并浓缩。将水溶液用乙酸乙酯分配,并用饱和碳酸氢钠水溶液中和,得到所需产物的游离碱。将有机层经无水硫酸镁干燥,过滤并将滤液浓缩。将残余物冻干,得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8.53 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.20 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.07-6.94 (m, 2H), 6.92-6.58 (m, 1H), 6.44 (t, J=9.4Hz, 1H), 5.31 (dt, J=13.8, 5.6Hz, 1H), 4.37 (d, J=13.1Hz, 1H), 3.83 (d, J=13.4Hz, 1H), 3.28 (s, 3H), 3.05 (dt, J=41.6, 11.7Hz, 1H), 2.91 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.61 (q, J=19.1, 16.6Hz, 2H), 1.99 (d, J=1.8Hz, 3H), 1.87-1.22 (m, 4H)。MS (ESI) m/z 600.5 (M+H)⁺。

[0541] 实施例34

[0542] 1-(羟基乙酰基)-N-甲基-N-[(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-[(7-[(1R)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基]氨基)苯基]乙基]哌啶-4-羧酰胺

[0543] 实施例34A

[0544] 4-(甲基((S)-2,2,2-三氟-1-(4-((7-((R)-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基)乙基)氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0545] 实施例34A根据用于制备实施例32B的方法制备,用实施例8B代替实施例3H,得到标题化合物。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δppm 8.50 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.21 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.09-6.99 (m, 2H), 6.45 (t, J=9.4Hz, 1H), 5.33 (q, J=6.7Hz, 1H), 3.95 (s, 2H), 3.21 (s, 3H), 2.87 (d, J=43.2Hz, 7H), 1.68 (dd, J=42.3, 13.3Hz, 2H), 1.52 (d, J=6.7Hz, 3H), 1.40 (m, 13H)。MS (ESI) m/z 622.4 (M+H)⁺。

[0546] 实施例34B

[0547] N-甲基-N-((S)-2,2,2-三氟-1-(4-((7-((R)-1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基)乙基)哌啶-4-羧酰胺

[0548] 实施例34B根据用于制备实施例32C的方法制备,用实施例34A代替实施例32B,得到标题化合物。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δppm 8.50 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.22 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.06-6.97 (m, 2H), 6.45 (q, J=9.3Hz, 1H), 5.33 (q, J=6.7Hz, 1H), 3.21 (s, 3H), 3.12-2.87 (m, 8H), 2.84 (s, 3H), 1.95-1.66 (m, 4H), 1.52 (d, J=6.6Hz, 3H)。MS (ESI) m/z 522.4 (M+H)⁺。

[0549] 实施例34C

[0550] 1-(羟基乙酰基)-N-甲基-N-((1S)-2,2,2-三氟-1-[4-((7-[(1R)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]乙基)哌啶-4-羧酰胺

[0551] 实施例34C根据用于制备实施例32D的方法制备,用实施例34B代替实施例32C,得到标题化合物。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δppm 8.50 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.21 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.09-7.03 (m, 2H), 6.46 (q, J=9.4Hz, 1H), 5.32 (q, J=6.7Hz, 1H), 4.49 (t, J=5.4Hz, 1H), 4.35 (d, J=12.9Hz, 1H), 4.17-3.99 (m, 2H), 3.70 (d, J=13.6Hz, 1H), 3.21 (s, 3H), 3.10-2.98 (m, 1H), 2.92 (s, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.71 (dt, J=24.4, 12.5Hz, 1H), 1.82-1.33 (m, 8H)。MS (ESI) m/z 580.4 (M+H)⁺。

[0552] 实施例35

[0553] 1-乙酰基-N-甲基-N-((1S)-2,2,2-三氟-1-[4-((7-[(1R)-1-甲氧基乙基]-2-甲基[1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]乙基)哌啶-4-羧酰胺

[0554] 实施例35根据用于制备实施例33的方法制备,用实施例34B代替实施例32C,得到标题化合物。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δppm 8.51 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.21 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.10-7.02 (m, 2H), 6.46 (q, J=9.4Hz, 1H), 5.33 (q, J=6.7Hz, 1H), 4.40-4.33 (m, 1H), 3.86-3.79 (m, 1H), 3.21 (s, 3H), 3.16-2.96 (m, 2H), 2.92 (s, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.64 (d, J=7.1Hz, 1H), 2.00 (d, J=2.3Hz, 3H), 1.75 (t, J=15.7Hz, 1H), 1.66 (d, J=16.2Hz, 1H), 1.52 (d, J=6.6Hz, 4H), 1.44-1.31 (m, 1H)。MS (ESI) m/z 564.7 (M+H)⁺。

[0555] 实施例36

[0556] N-((1S)-2,2-二氟-1-[4-((2-甲基-7-[(1R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]乙基)-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0557] 实施例36A

[0558] 4-(((S)-2,2-二氟-1-(4-((2-甲基-7-((R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基)噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基)乙基)(甲基)氨基甲酰基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0559] 使用实施例28A中所述的条件,用实施例14A代替实施例4C,制备标题化合物(175.7mg, 51%)。MS (APCI) m/z 640.4 (M+H)⁺。

[0560] 实施例36B

[0561] N-((S)-2,2-二氟-1-(4-((2-甲基-7-((R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基)噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基)乙基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0562] 使用实施例28B中所述的条件,用实施例36A代替实施例28A,制备标题化合物(149.9mg,100%)。MS (APCI)m/z 558.4(M+H)⁺。

[0563] 实施例36C

[0564] N-((1S)-2,2-二氟-1-[4-((2-甲基-7-[(1R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]乙基)-1-(羟基乙酰基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0565] 使用实施例28C中所述的条件,用实施例36B代替实施例28B,制备标题化合物(58.6mg,71%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.53(s,1H), 7.37(s,1H), 7.28(d, J=8.3Hz, 2H), 7.12(d, J=8.6Hz, 2H), 6.66(td, J=55.2, 5.1Hz, 1H), 5.94(q, J=7.7Hz, 1H), 5.72(s, 1H), 4.36-3.70(m, 5H), 3.56(s, 3H), 2.85(s, 3H), 1.72(dd, J=13.0, 6.8Hz, 2H), 1.55(d, J=12.9Hz, 2H)。MS (APCI)m/z 616.0(M+H)⁺。

[0566] 实施例37

[0567] 1-乙酰基-N-((1S)-2,2-二氟-1-[4-((2-甲基-7-[(1R)-2,2,2-三氟-1-甲氧基乙基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]乙基)-N-甲基哌啶-4-羧酰胺

[0568] 使用实施例29中所述的条件,用实施例36B代替实施例28B,制备标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.53(s,1H), 7.37(s,1H), 7.28(d, J=8.4Hz, 2H), 7.12(d, J=8.6Hz, 2H), 6.66(td, J=55.1, 5.1Hz, 1H), 5.94(q, J=7.7Hz, 1H), 5.72(s, 1H), 4.57-3.65(m, 2H), 3.56(s, 3H), 2.99-2.87(m, 6H), 2.85(s, 3H), 1.99(s, 3H), 1.78-1.65(m, 2H), 1.63-1.39(m, 2H)。MS (APCI)m/z 600.3(M+H)⁺。

[0569] 实施例38

[0570] N-甲基-1,1-二氧化-N-((1S)-2,2,2-三氟-1-[4-((2-甲基-7-[(2R)-1,1,1-三氟丙-2-基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基)苯基]乙基)-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0571] 实施例38A

[0572] 向7-氯-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-羧酸乙酯(50g,195mmol)的1,4-二氧戊环(600mL)和水(500mL)溶液中加入LiOH(4.66g,195mmol)。将反应混合物在20℃下搅拌3小时。将所得溶液用1M HCl水溶液酸化至pH2并过滤,得到粗标题化合物。将粗料按原样用于下一步骤。LCMS (ESI)m/z 375(M+H)⁺。

[0573] 实施例38B

[0574] (7-氯-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯

[0575] 向实施例38A(30g,131mmol)、三乙胺(54.9mL,394mmol)在叔丁醇(600mL)中的混合物中加入二苯基磷酰基叠氮化物(43.3g,157mmol),并将该混合物在90℃下搅拌12小时。接着,将反应混合物浓缩以去除叔丁醇,并将所得残余物用水(10mL)稀释,并用乙酸乙酯(3×20mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并将滤液浓缩。将残余物用硅胶快速柱色谱法(0%-100%乙酸乙酯/石油醚)纯化,得到标题化合物。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 1.48(s,9H), 2.87(s,3H), 8.62(s,1H), 9.21(s,1H)。LCMS (ESI)m/z 300(M+H)⁺。

[0576] 实施例38C

[0577] (7-碘-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯

[0578] 将实施例38B (12.5g, 41.7mmol) 溶于乙腈 (180mL) 中, 并用碘化钠 (18.75g, 125mmol) 处理。将混合物冷却至0℃, 然后加入乙酰氯 (3.56mL, 50.0mmol)。将反应物在0℃下搅拌3小时。将反应混合物倒入经搅拌的冷却 (10℃) 饱和碳酸氢钠溶液 (500mL) 中。然后, 加入1M硫代硫酸钠溶液 (100mL), 将悬浮液搅拌5分钟, 然后过滤, 并用水 (100mL) 洗涤。收集滤液, 用乙酸乙酯 (500mL) 研磨并再次过滤。将残余物在干燥器中干燥过夜, 得到标题化合物。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 1.48 (s, 9H), 2.86 (s, 3H), 8.32 (s, 1H), 9.00 (s, 1H)。LCMS (ES) m/z 392 (M+H)⁺。

[0579] 实施例38D

[0580] (2-甲基-7-(3,3,3-三氟丙-1-烯-2-基)噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯

[0581] 向实施例38C (2.4g)、4,4,6-三甲基-2-(3,3,3-三氟丙-1-烯-2-基)-1,3,2-二氧杂硼烷 (2.043g) 和碳酸铯 (6.00g) 在1,2二甲氧基乙烷 (20mL) 和水 (2mL) 中的脱气悬浮液中加入[双(二苯基膦)二茂铁]二氯钯(II)-二氯甲烷加合物 (0.501g)。将反应混合物在微波辐射下于110℃搅拌90分钟。将反应混合物冷却至环境温度并再次脱气, 并加入[双(二苯基膦)二茂铁]二氯钯(II)-二氯甲烷加合物 (0.250g)。将反应混合物在微波辐射下于110℃搅拌90分钟。将反应混合物冷却至环境温度, 并分配在水 (30mL) 与乙酸乙酯 (80mL) 之间。将水层通过加入1M HCl水溶液调节至pH 7, 并用乙酸乙酯 (50mL) 萃取。将合并的有机萃取物经硫酸镁干燥, 过滤, 并将滤液真空浓缩。将粗产物通过硅胶色谱法 (0%-40%乙酸乙酯/2-甲基戊烷) 纯化, 得到标题化合物。MS (ESI) m/z 360.2 (M+H)⁺。

[0582] 实施例38E

[0583] (2-甲基-7-(1,1,1-三氟丙-2-基)噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)氨基甲酸叔丁酯

[0584] 向实施例38D (200mg) 的乙醇 (10mL) 溶液中加入钯 (5重量%在碳上, 59.2mg)。将反应混合物在氢气气氛 (5巴) 和50℃下搅拌过夜。使反应混合物冷却至环境温度, 用乙醇 (10mL) 稀释, 并通过硅藻土过滤。将滤液真空浓缩, 得到标题化合物。MS (ESI) m/z 362.1 (M+H)⁺。

[0585] 实施例38F

[0586] 2-甲基-7-(1,1,1-三氟丙-2-基)噻唑并[5,4-b]吡啶-6-胺

[0587] 向实施例38E (175mg) 的二氯甲烷 (5mL) 溶液中加入2,2,2-三氟乙酸 (1.119mL)。将反应混合物搅拌过夜, 然后真空浓缩。将残余物溶于二氯甲烷 (15mL) 中, 并用饱和碳酸氢钠水溶液 (20mL) 洗涤。用二氯甲烷 (5mL) 进一步萃取水层。将合并的有机萃取物真空浓缩。将粗产物通过硅胶色谱法 (0%-50%乙酸乙酯/2-甲基戊烷) 纯化, 得到标题化合物。MS (ESI) m/z 262.1 (M+H)⁺。

[0588] 实施例38G

[0589] N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({2-甲基-7-[(2R)-1,1,1-三氟丙-2-基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1λ⁶-噻烷-4-羧酰胺

[0590] 和

[0591] 实施例39

[0592] N-甲基-1,1-二氧化-N-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4-({2-甲基-7-[(2S)-1,1,1-三氟

丙-2-基][1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基}氨基)苯基]乙基}-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺

[0593] 向实施例38F (65mg)、实施例1J (107mg)和碳酸铯 (243mg)在1,4-二氧戊环 (2mL)中的脱气混合物中加入XantPhos Pd G3 (23.59mg),并将混合物在90℃下搅拌2小时。将反应混合物冷却至环境温度,通过硅藻土过滤,用二氯甲烷 (12mL)洗涤,并将滤液真空浓缩。将粗产物通过硅胶色谱法 (0%-25%乙腈/二氯甲烷)纯化,得到非对映异构体混合物形式的标题化合物。使用CHIRALPAK® IG柱 (10mm×250mm, 5微米),用40%乙醇 (0.1%氨)在CO₂中洗脱,在40℃、15mL/分钟、120巴条件下,通过手性SFC (超临界流体色谱法)分离非对映异构体混合物,得到单个非对映异构体形式的标题化合物。这些标题化合物的绝对立体化学结构是任意分配的。快速洗脱的非对映异构体对应于实施例38G,并且缓慢洗脱的非对映异构体对应于实施例39。实施例38G: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆, 90℃) δppm 8.43 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.19 (d, 2H), 6.88-6.73 (m, 2H), 6.40 (s, 1H), 4.52 (dd, 1H), 3.26-3.05 (m, 5H), 2.90 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.18-2.00 (m, 4H), 1.77 (d, 3H)。MS (ESI) m/z 609.4 (M+H)⁺。实施例39: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆, 90℃) δppm 8.43 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.19 (d, 2H), 6.85-6.75 (m, 2H), 6.39 (s, 1H), 4.53 (dd, 1H), 3.27-3.04 (m, 5H), 2.90 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.16-2.01 (m, 4H), 1.77 (d, 3H)。MS (ESI) m/z 609.4 (M+H)⁺。

[0594] 比较例A

[0595] N-{(1S)-1-[4-({2-氯-7-[(1S)-1-甲氧基乙基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-基}氨基)苯基]-2,2,2-三氟乙基}-N-甲基-1,1-二氧化-1 λ^6 -噻烷-4-羧酰胺

[0596] 比较例A根据用于制备实施例1K的方法制备,用(S)-2-氯-7-(1-甲氧基乙基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-胺代替实施例1J,得到标题化合物。如W02018226150,中间体I-2b第87页所述,获得(S)-2-氯-7-(1-甲氧基乙基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-胺。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δppm 8.55 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.20 (d, J=8.4Hz, 2H), 6.98-6.90 (m, 3H), 6.44 (q, J=9.3Hz, 1H), 5.29 (q, J=6.7Hz, 1H), 3.30-3.07 (m, 7H), 2.91 (s, 3H), 2.15-1.96 (m, 5H), 1.60 (d, J=6.7Hz, 3H)。MS (ESI) m/z 574.1 (M+H)⁺。

[0597] 比较例B

[0598] (S)-1-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-3-(7-(1-甲氧基乙基)-2-甲基噻唑并[5,4-b]吡啶-6-基)脒

[0599] 如W02018020474,化合物142所述,制备比较例B。

[0600] 生物学测定

[0601] MALT-1生化测定

[0602] 猝灭荧光共振能量转移 (Quench-FRET) 酶测定用于测试示例性MALT-1抑制剂实施例1至实施例39抑制人MALT-1蛋白切割序列[TAMRA-PEG2-Leu-Val-Ser-Arg-Gly-Ala-Ala-Ser-PEG2-K (QSY7)]的MALT1特异性猝灭荧光底物的能力;其中TAMRA为6-羧基四甲基罗丹明,PEG2为2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)酰胺接头,QSY7为非荧光猝灭染料 (Thermo-Fisher 目录号Q10193)。通过将化合物预分配到384孔Proxiplates™ (PE 6008289) 中进行该测定。人MALT-1 (6nM) 使用测定缓冲液 (25mM HEPES pH 7.5、1mM乙二醇四乙酸、0.8M柠檬酸钠、0.005%牛血清白蛋白 (BSA)、2mM二硫苏糖醇 (DTT)) 制备,并加入到化合物板中。将板在室温下孵育40分钟。通过向板中加入底物 (2μM) 并在室温下孵育60分钟来进行该反应。然后使用PEEnVision®读取器 (激发535/发射590) 测量荧光读数。酶测定的结果随后提供于表2

中,并且证明了本公开的化合物抑制MALT-1蛋白酶活性的能力。 EC_{50} 被定义为抑制MALT-1蛋白酶活性的化合物的最大有效浓度的一半。

[0603] 表2.

[0604]	实施例	酶活性 EC_{50} (μM)	实施例	酶活性 EC_{50} (μM)
	1	0.091	21	0.141
	2	0.19	22	0.228
	3	0.11	23	0.139
	4	0.158	24	0.979
	5	0.077	25	0.067
	6	0.146	26	0.393
	7	0.135	27	0.07
	8	0.099	28	0.138
	9	0.102	29	0.232
[0605]	10	0.198	30	0.082
	11	0.155	31	0.082
	12	0.061	32	0.113
	13	0.193	33	0.162
	14	0.097	34	0.112
	15	0.103	35	0.5
	16	0.106	36	0.048
	17	0.092	37	0.06
	18	0.284	38	0.156
	19	0.198	39	0.083
	20	0.12		

[0606] MALT-1细胞IL-6AlphaLISA测定

[0607] 以下MALT-1细胞白介素-6 (IL-6) AlphaLISA测定使用Perkin Elmer® IL-6 AlphaLISA®检测试剂盒 (PE AL223) 进行。IL-6检测测定法是均相免疫测定法,其检测存在于MALT-1依赖性人ABC-DLBCL细胞系OCI-LY3的细胞培养基中的人IL-6。将化合物以30 μM 至1.5nM预分配到Black384w微量滴定板 (Greiner, 781090) 中。然后将存活的OCI-LY3细胞以50,000个细胞/mL的接种密度接种在化合物上。然后将板置于37°C培养箱中48小时。孵育48小时后,将每孔2 μL 的细胞培养基转移到白色ProxiPlates™ (PE 6008289) 中。在AlphaLISA免疫测定缓冲液中制备AlphaLISA受体珠 (10 $\mu g/mL$) 和生物素酰化IL-6抗体 (1nM) 的新鲜混合物,并加入到所有孔 (4 μL) 中。将板在室温下孵育60分钟。使用测定缓冲液制备链霉亲和素供体珠 (40 $\mu g/mL$),并加入到所有孔 (5 μL) 中。将板在室温下孵育30分钟并使用PEEnVision®读取器读数。结果示于表3中。

[0608] 表3.

[0609]	实施例	OCI-LY3 IL6 48 小时抑制 EC ₅₀ (μM)	实施例	OCI-LY3 IL6 48 小时抑制 EC ₅₀ (μM)
	1	0.2	21	0.67
	2	0.11	22	0.38
	3	0.14	23	0.21
	4	1.33	24	12.2
	5	0.34	25	0.25
	6	0.21	26	1.15
	7	0.14	27	0.41
	8	0.07	28	0.42
	9	0.14	29	0.3
[0610]	10	0.23	30	0.71
	11	0.39	31	0.44
	12	0.2	32	0.25
	13	0.42	33	0.18
	14	0.2	34	0.19
	15	0.3	35	7.3
	16	0.47	36	0.27
	17	0.58	37	0.21
	18	1.15	38	0.19
	19	0.95	39	0.04
	20	0.18		

[0611] 心血管测定

[0612] 使用雄性Sprague-Dawley大鼠进行以下心血管测定,这些大鼠用Inactin(仲丁硫巴比妥)麻醉,装有仪器(股动脉和静脉均插入导管;左心室插入导管)并使之稳定。在30分钟基线期后,将每种化合物以低、中和高剂量/30分钟输注。在每次剂量输注结束时采集血浆样品。在任一时间,如果动物体的平均动脉压(MAP)降低至70mmHg以下,则立即停止输注,采集最终血液样品,并从所有随后时间点的组平均值中去除该动物体的血液动力学数据。相对于媒介物,MAP或心率(HR)分别发生15%的变化被认为是生物学相关的。相对于媒介物,dP/dt@50发生20%的变化被认为是生物学相关的。结果示于表4中。

[0613] 表4.

[0614]

实施例	剂量(mg/kg)	药物($\mu\text{g/mL SEM}$)	MAP(%)	HR(%)	dP/dt@50(%)
1	3	2.32 $\pm$ 0.12	-5	-4	5
	10	9.36 $\pm$ 0.41	-8	-8	12
	30	24.00 $\pm$ 1.63	-16	-17	11
3	3	2.18 $\pm$ 0.10	1	-1	0
	10	8.34 $\pm$ 0.55	0	-3	3
	30	22.87 $\pm$ 2.67	-13	-12	-3
19	3	2.51 $\pm$ 0.29	0	-5	-5
	10	8.92 $\pm$ 0.73	-1	-5	-5
	30	25.13 $\pm$ 0.98	-2	-9	-3
33	3	2.52 $\pm$ 0.39	-5	-5	1
	10	11.20 $\pm$ 0.60	-5	-7	1
	30	34.10 $\pm$ 1.95	-9	-8	7
比较例 A	3	1.45 $\pm$ 0.06	-10	-7	-4
	10	5.15 $\pm$ 0.32	-14	-11	-7
	30	12.91 $\pm$ 1.71	-22	-18	-6

[0615] CYP3A4诱导测定

[0616] 通过使用qPCR(定量聚合酶链反应)测定法测定CYP 3A4 mRNA的表达水平,在体外评估实施例化合物的CYP诱导。在第一天,将冷冻保存的人肝细胞在预热的(37°C)解冻培养基中解冻(冷冻保存的肝细胞恢复培养基,Gibco™CM 7000;Thermo Fisher Scientific),离心(1000g,10分钟)并重悬浮于铺板培养基中(Gibco™CM3000——补充有肝细胞普板补充剂含pak-血清的Williams Medium E;Thermo Fisher Scientific)。使用血球计通过台盼蓝排除法对细胞进行计数,并调节至 1.2×10^6 个细胞/ μL 的细胞密度。此后,将0.05 μL 的细胞悬浮液等分到96孔板的每个孔中,导致60,000个细胞/孔。在铺板期间,将板沿南北和东西方向摇动。将铺板的细胞在37°C/5%CO₂下于湿润的细胞培养箱中孵育4小时至6小时。在这段时间期间,将孵育培养基(Gibco™CM4000,细胞维持补充剂包;Thermo Fisher Scientific)与Gibco™Geltrex™(Thermo Fischer Scientific)以适当的Geltrex™蛋白质浓度混合。恢复后,从细胞中去除培养基并用新鲜制备的孵育培养基替换。将细胞在细胞培养箱中孵育过夜(37°C/5%CO₂)。

[0617] 第二天,通过将肝细胞维持补充剂包与Williams Medium E合并来制备孵育培养基。将培养基升温至37°C。将实施例化合物的1000x二甲基亚砷化合物储备液制备成所需浓度。在二甲基亚砷中稀释10mM化合物储备液(1 μL 至1mL CM4000;最终浓度=10 μM)。吸出覆盖培养基,并将0.1 μL 剂量的溶液加入到所需标记的96孔板中。然后向细胞给药化合物(10 μM),并且原型诱导靶浓度为50 μM 的奥美拉唑(Sigma 0104/lotBCBF-2161V)或10 μM 的利福平(Sigma R3501/lot 011M1159V)。阴性对照丙磺舒以10 μM (Sigma P8761/lot 013K0148)给药。

[0618] 在第3天,进行RNA分离。使用RNA酶RNAy清洁所有表面。使用MagMAX Express 96RNA分离系统(Life Technologies,AM1830)分离总RNA。简言之,将肝细胞用1X PBS(磷酸盐缓冲盐水)洗涤一次。将145 μL 的RNA裂解缓冲液加入到每个孔中,并通过移液多次将每个孔混合。然后将裂解物转移到96孔结合板的孔中。然后将样品与来自试剂盒的20 μL 磁珠混合。然后通过磁性尖端歧管捕获与珠结合的RNA,并将珠用洗涤溶液洗涤。将样品用TURBO™DNA酶处理。在TURBO™DNA酶处理之后,RNA被反弹到珠上,并用所提供的洗涤缓冲液

再洗涤两次。然后将珠干燥,并将RNA用50 μ L洗脱缓冲液洗脱。将洗脱的mRNA从孔中转移到无RNA酶的可密封微量滴定板中,并储存在-80 $^{\circ}$ C下直至使用。

[0619] 在mRNA分离之后,使用TaqmanTM逆转录试剂(ThermoFisher Scientific)进行逆转录(RT)反应。通过混合2.5 μ L 10XRT缓冲液、5.5 μ L 25mM MgCl₂、5 μ L deoxyNTP混合物、1.25 μ L 50mM随机六聚体、0.5 μ L 2XRNA酶抑制剂、0.625 μ L多指令RTase (50U/ μ L)和0.625 μ L水来制备RT主混合物。将等分的RT混合物(16 μ L)和等分的mRNA样品(9 μ L)加入96孔板的每个孔中。使用来自Applied Biosystems的SimpliAmpTM热循环仪PCR系统VIIA7在以下条件下进行逆转录:片段1:25 $^{\circ}$ C下10分钟;片段2:45 $^{\circ}$ C下45分钟;片段3:95 $^{\circ}$ C下5分钟;片段4:4 $^{\circ}$ C下保持;其中每个片段有1个循环。

[0620] 此后,使用Applied Biosystems QuantStudio 7Flex系统(Applied Biosystem, Foster City, CA)进行TaqManTM qPCR。TaqManTM快速高级主混合物和基因表达测定引物(CYP3A4的HS00604506_m1 (ThermoFisher)和作为对照的HS02758991_g1 hGAPDH (ThermoFisher),甘油醛-3-磷酸脱氢酶)购自Applied Biosystems。PCR反应混合物包括稀释的cDNA (2 μ L)和18 μ L的TaqManTM qPCR主混合物(10 μ L TaqManTM快速高级主混合物,1 μ L的基因表达引物探针混合物,7 μ L不含核酸酶的水)。qPCR热循环条件:片段1:50 $^{\circ}$ C下保持10分钟;片段2:95 $^{\circ}$ C下保持3分钟;随后进行以下40个循环:片段3:95 $^{\circ}$ C下15秒,片段4:60 $^{\circ}$ C下1分钟。

[0621] 使用比较性定量实时聚合酶链反应(qPCR)测定由化合物处理引起的CYP同种型mRNA中的诱导倍数。该方法计算了相对于媒介物(0.1% DMSO)的CYP倍数诱导,并作为阳性对照利福平的反应百分比。诱导倍数=处理的倍数/媒介物对照的倍数。阳性对照的百分比=(处理的诱导倍数-1)/(利福平的诱导倍数-1)。

[0622] 表5.

[0623]	实施例	阳性对照的 CYP3A4 倍数诱导% (%)	实施例	阳性对照的 CYP3A4 倍数诱导% (%)
	1	1.45 (5.46)	21	1.29 (5.55)
	2	1.13 (2.19)	22	1.09 (1.16)
	3	1.12 (1.75)	23	0.677 (-4.35)

[0624]

4	1.98 (16.1)	24	1.49 (7.62)
5	1.77 (15.3)	25	1.16 (2.45)
6	1.4 (5.46)	26	1.17 (2.57)
7	1.93 (12.7)	27	1.47 (7.55)
8	1.53 (9.23)	28	2.24 (15.1)
9	0.548 (-5.95)	29	3.29 (27.8)
10	8.24 (84.8)	30	1.49 (5)
11	2.59 (20)	31	1.37 (4.87)
12	3.65 (31)	32	1.2 (2.56)
13	3.19 (34.8)	33	2.72 (20.2)
14	2.71 (27.3)	34	2.11 (13)
15	0.413 (-4.74)	35	2.45 (17)
16	未确定	36	1.9 (14.4)
17	未确定	37	2.19 (19)
18	2.8 (16.5)	38	2.72 (19.9)
19	0.985 (-0.162)	39	2.29 (14.9)
20	1.38 (4.08)	比较例 B	2.32 (25.3)

[0625] 应当理解,前述具体实施方式和随附实施例仅仅是说明性的,并且不应被视为对本公开的范围的限制,本公开的范围仅由所附权利要求书及其等同物限定。对所公开的实施方案的各种改变和修改对于本领域的技术人员来说将是显而易见的。在不脱离本发明的实质和范围的情况下,可进行此类改变和修改。本文引用的所有出版物、专利和专利申请出于所有目的全文以引用方式并入本文。