



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113677673 B

(45) 授权公告日 2024.03.05

(21) 申请号 202080028064.6

(22) 申请日 2020.04.07

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113677673 A

(43) 申请公布日 2021.11.19

(30) 优先权数据
19168845.6 2019.04.12 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2021.10.11

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2020/059854 2020.04.07

(87) PCT国际申请的公布数据
W02020/208002 EN 2020.10.15

(73) 专利权人 勃林格殷格翰国际有限公司
地址 德国殷格翰

(72) 发明人 D·格特施灵 T·布伊索
N·海涅

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴

(51) Int.Cl.
C07D 401/14 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
A61K 31/501 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 107253952 A, 2017.10.17
CN 1516691 A, 2004.07.28
Sawamura, S.等. Screening of TRPC
Channel Activators Identifies Novel
Neurotrophic Piperazine Compounds.
《Molecular Pharmacology》. 2016, 第89卷 (第3
期), 348-363.

审查员 王博

权利要求书4页 说明书44页

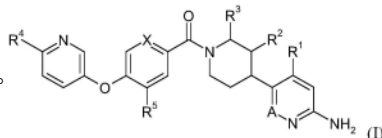
(54) 发明名称

TRPC6的抑制剂

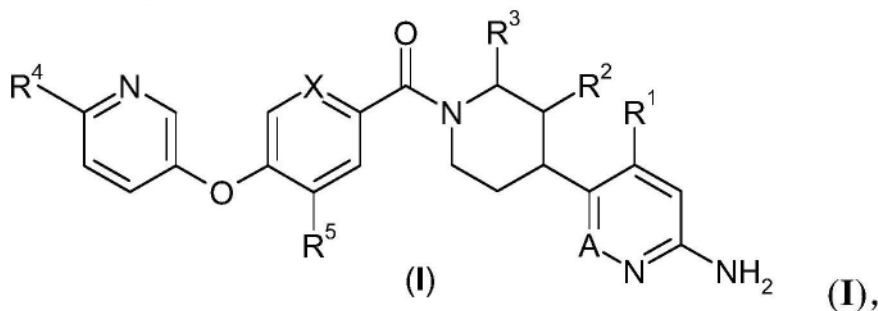
(57) 摘要

本发明涉及式(I)的化合物及其药学上可接受的盐,其中A、X、R¹、R²、R³、R⁴和R⁵是如本文所定义的。本发明还涉及包含这些化合物的药物组合物、使用这些化合物治疗各种疾病和障碍的方法,所述疾病和障碍诸如高血压、先兆子痫、再狭窄、心脏或呼吸系统病症、肾脏疾病、肝脏疾病、肌营养不良、纤维化障碍、疼痛、缺血或缺血再灌

注损伤、和癌症。



1. 一种式 (I) 的化合物



其中

A表示N;

X选自CH或N;

R¹选自H和-CH₃;

R²选自H和-CH₃;

R³选自H和-CH₃;

R⁴选自-CF₃和-OCH₃;

R⁵选自H和-OCH₃;

或其盐。

2. 根据权利要求1所述的化合物,其中

R²表示H并且R³选自H和-CH₃;或

R²表示-CH₃并且R³表示H;

或其盐。

3. 根据权利要求1所述的化合物,其中R⁴表示-OCH₃;

或其盐。

4. 根据权利要求1所述的化合物,其中X表示CH;

R⁴表示-OCH₃;

R⁵表示H;

或其盐。

5. 根据权利要求1所述的化合物,其中

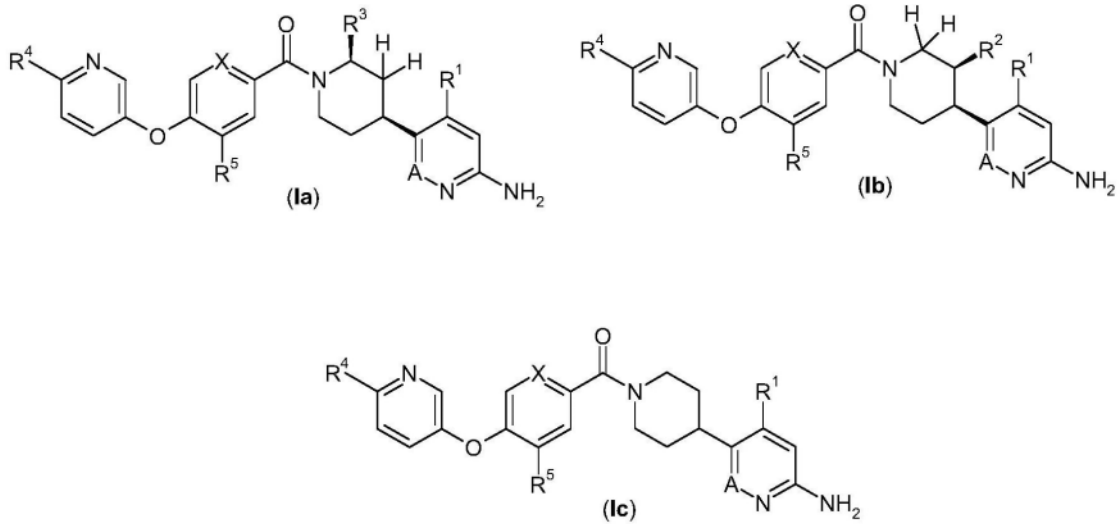
X表示N;

R⁴表示-OCH₃;

R⁵表示H;

或其盐。

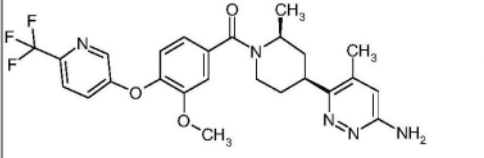
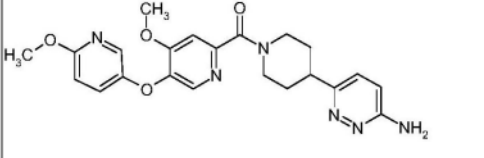
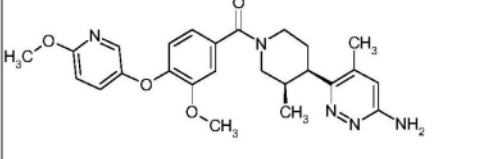
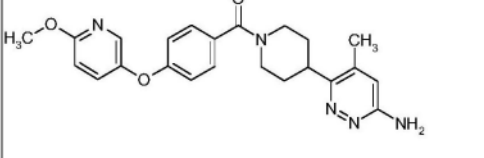
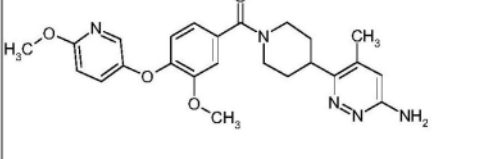
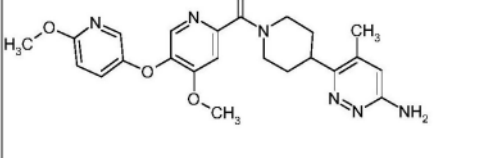
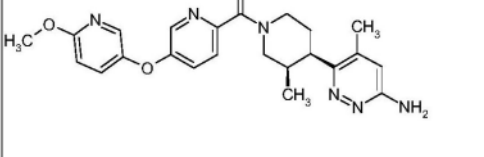
6. 根据权利要求1至5中任一项所述的化合物,其为式 (Ia)、(Ib) 或 (Ic) 的化合物,



或其盐。

7. 根据权利要求1所述的化合物,其选自:

化合物编号	结构	化合物名称
1		6-[(2S,4S)-1-{4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酰基}-2-甲基哌啶-4-基]-5-甲基哒嗪-3-胺
2		6-[(2S,4S)-1-{3-甲氧基-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酰基}-2-甲基哌啶-4-基]-5-甲基哒嗪-3-胺
3		6-[(2S,4S)-1-{4-甲氧基-5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-羰基}-2-甲基哌啶-4-基]-5-甲基哒嗪-3-胺

4		6-[(2S,4S)-1-(3-甲氧基-4-[[6-(三氟甲基)吡啶-3-基]氧基]苯甲酰基)-2-甲基哌啶-4-基]-5-甲基哒嗪-3-胺
5		6-(1-{4-甲氧基-5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-羰基}哌啶-4-基)哒嗪-3-胺
6		6-[(3R,4R)-1-{3-甲氧基-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酰基}-3-甲基哌啶-4-基]-5-甲基哒嗪-3-胺
7		6-(1-{4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酰基}哌啶-4-基)-5-甲基哒嗪-3-胺
8		6-(1-{3-甲氧基-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酰基}哌啶-4-基)-5-甲基哒嗪-3-胺
9		6-(1-{4-甲氧基-5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-羰基}哌啶-4-基)-5-甲基哒嗪-3-胺
10		6-[(3R,4R)-1-{5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-羰基}-3-甲基哌啶-4-基]-5-甲基哒嗪-3-胺

8. 一种根据权利要求7所述的化合物的药学上可接受的盐。

9. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐以及任选地药学上可接受的赋形剂。

10. 根据权利要求9所述的药物组合物,其包含根据权利要求1至7中任一项所述的化合

物和一种或多种另外的治疗剂。

11. 根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗可通过TRPC6调节缓解的疾病或障碍的药物组合物的用途。

12. 根据权利要求11所述的用途,其中所述TRPC6调节为TRPC6抑制。

13. 根据权利要求11或12所述的用途,其中所述药物组合物用于在治疗人体或动物体的方法中使用。

14. 根据权利要求11或12所述的用途,其中所述药物组合物用于在治疗人体或动物体的TRPC6介导的障碍的方法中使用。

TRPC6的抑制剂

技术领域

[0001] 本发明涉及用于治疗心脏和呼吸系统病症、肾脏疾病、肝脏疾病、肌营养不良、纤维化障碍、疼痛、缺血或缺血再灌注损伤和癌症以及抑制瞬时受体电位C6离子通道 (TRPC6) 的药物化合物、组合物和方法。

背景技术

[0002] 存在多种离子通道蛋白以介导跨细胞膜的离子通量。离子通道蛋白的正确表达和功能对于维持细胞功能、细胞内通讯等是必需的。实现细胞稳态的一个重要方面是在发育过程中和响应于众多刺激时,在各种细胞类型中维持适当的离子浓度。大量不同类型的离子通道通过使离子跨过质膜移入和移出细胞来维持细胞稳态,并且通过使离子移动跨过细胞内细胞器(包括例如内质网、肌质网、线粒体和内吞细胞器(包括内体和溶酶体))的膜而在细胞内来维持细胞稳态。许多疾病是膜电位调节异常或钙处理异常的结果。鉴于离子通道在调节细胞中的膜电位和离子通量方面的核心重要性,鉴定可以促进或抑制特定离子通道的药剂作为研究工具以及作为可能的治疗剂引起了极大的兴趣。

[0003] 一种此类通道是瞬时受体电位C6 (TRPC6) 通道。TRPC6属于较大的TRP离子通道家族(参见,Desai等人,2005*Eur J Physiol* 451:11-18;Clapham等人,2001*Nat Rev. Neurosci* 2:387-396;Clapham,2003 *Nature* 426:517-524)。TRPC6是钙可渗透通道,特别是非选择性钙可渗透阳离子通道。除了钙离子,TRPC6通道还可以渗透其他阳离子,例如钠。因此,TRPC6通道不仅调节细胞内钙浓度,而且还通过调节阳离子(包括钙和钠离子)的通量来调节膜电位。尽管非选择性阳离子通道(诸如TRPC6)除了其他离子通量之外尤其调节钙离子通量,但是它们在机制上与电压门控钙通道不同。通常,电压门控钙通道响应于跨膜电位差的去极化,并且可以打开以允许钙从细胞外介质内流和细胞内钙水平或浓度快速增加。相比之下,非选择性阳离子通道(诸如TRPC6)通常是信号转导门控的、持久的,并且产生不太快的离子浓度变化。它们显示出响应于第二信使二酰基甘油的产生而增加的活性(Hofmann等人,1999)。此外,TRPC6可以响应于压力的变化。这些机制差异伴随着电压门控通道和阳离子可渗透通道之间的结构差异。因此,尽管许多不同的通道在多种细胞类型中调节离子通量和膜电位并且响应于众多刺激,但是重要的是要认识到不同类别的离子通道之间显著的结构、功能和机制差异。

[0004] 除其他外,TRPC6功能尤其与肌源性紧张度的调节有关。TRPC6在平滑肌细胞、血管平滑肌细胞、内皮细胞、心肌细胞、肺动脉、主动脉、心脏、肝脏、脑和肾脏中高度表达。TRPC6的表达以及在敲除小鼠和培养的细胞中进行的实验表明,TRPC6可以为治疗高血压和其他心脏和血管病症、先兆子痫提供有用的靶标。

[0005] 人TRPC6通道的突变可能导致局灶节段性肾小球硬化症(FSGS)(Winn等人,2005,Reiser等人,2005)。报道为功能获得的这些突变(Reiser等人,2005)足以诱发疾病。此外,升高的TRPC6表达与肾病综合征、微小病变性疾病和糖尿病性肾病(Moller等人,2007,Thilo等人,2011)或其他肾脏病症相关。

[0006] 基于其表达和其在TGF- β 信号传导中的作用,TRPC6还被认为在呼吸系统疾病、再狭窄、肝脏疾病、肌营养不良、纤维化疾病、疼痛、缺血和缺血再灌注损伤以及某些形式的癌症中很重要。

[0007] Yu等人研究了TRPC6通道在介导可以导致特发性肺动脉高压(IPAH)的肺动脉平滑肌细胞增殖中的作用。由肺动脉平滑肌细胞(PASMC)过度增殖引起的肺血管中层肥厚是患有IPAH的患者的肺血管阻力升高的主要原因。作者发现,TRPC6在来自健康肺组织的PASMC中高度表达,而TRPC3则在其中最低表达。然而,与血压正常的患者相比,在来自IPAH患者的肺组织中的TRPC3和TRPC6的mRNA和蛋白质表达显著升高。此外,在与TRPC6siRNA一起孵育后,源自IPAH患者的PASMC细胞的增殖显著降低。基于这些结果,作者得出以下结论:TRPC6可能在介导适当的PASMC增殖方面很重要,并且TRPC6的失调可能导致在IPAH患者中观察到PASMC增殖增加和肺血管中层肥厚(Yu等人,2004 Proc Natl Acad Sci 101(38):13861-6)。以下观察结果提供了进一步的支持:当与正常的受试者相比时,在IPAH患者中,增加表达的TRPC6启动子中单核苷酸多态性的频率显著更高(Yu,等人,2009Circulation 119:2313-22)。

[0008] 涉及IPAH中TRPC6失调的另外的证据来自波生坦的研究,波生坦是已经在临床上用于治疗IPAH的双内皮素受体阻断剂。这种抑制剂减少PASMC的增殖,但是发生这种情况的机制尚不清楚。有趣的是,波生坦既降低PASMC的增殖,也降低IPAH患者肺组织中TRPC6的表达(Kunichika等人,2004 Am J Respir Crit Care Med 170(10):1101-7)。

[0009] 将大鼠长期暴露于香烟烟雾(CS)导致远端肺动脉中TRPC6 mRNA和蛋白质表达增加,并且在体外使用PASMC观察到相似的作用。对培养的大鼠PASMC的尼古丁处理使TRPC6表达上调并且增加细胞内钙水平,二者都通过TRPC6 siRNA沉默被降低(Wang等人,2014 Am J Physiol Cell Physiol 306:C364-73)。这些结果表明TRPC6在CS诱导的肺损伤中的作用。

[0010] 证据支持TRPC6在另外的肺部障碍中的作用。在患有慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者的肺泡巨噬细胞中,发现当与对照相比时,TRPC6表达升高(Finney-Hayward等人,2010 Am J Respir Cell Mol Biol 43:296-304)。在人囊性纤维化上皮细胞中,TRPC6介导的钙内流异常增加并且可能导致粘液分泌过多。siRNA-TRPC6能够减少这种异常的钙内流(Antigny等人2011 Am J Resp Cell Mol Biol,44:83-90)。在小鼠肺成纤维细胞中,PDGF的促纤维化活性取决于TRPC6的激活,这表明TRPC6抑制能够减少肺纤维化(Lei等人,2014Biomaterials 35:2868-77)。在缺血再灌注诱导的水肿和脂多糖诱导的炎症的小鼠肺模型中证明了TRPC6在肺内皮细胞功能中的作用,其中TRPC6缺乏能够通过保持内皮屏障功能来减少急性肺损伤(Weissmann等人,2011 Nat Comm,3:649-58和Tauseef等人,2012J Exp Med 209:1953-68)。

[0011] 最近的研究还表明TRPC6在其他心脏疾病(包括心脏肥大)中的作用。当与正常心脏相比时,患有扩张型心肌病的患者的心脏具有升高的TRPC6mRNA表达(Kuwahara等人,2006 J Clin Invest 116:3114-26)。在心脏肥大的小鼠模型中,TRPC6心脏mRNA水平因压力超负荷(Kuwahara等人,2006 J Clin Invest 116:3114-26)、慢性异丙肾上腺素治疗(Xie等人,2012 Nat Commun 3:1238)、和由部分肾切除术诱导的尿毒症性心肌病(Xie等人,2015 J Am Soc Nephrol 26:1150-60)而升高。此外,在转基因小鼠的心肌细胞中TRPC6的心脏特异性过表达诱导心脏肥大和过早死亡(Kuwahara等人,2006 J Clin Invest 116:

3114-26)。

[0012] Wu及其同事发现,在神经内分泌激动剂输注或压力超负荷模拟后,以心脏特异性方式表达显性失活TRPC6的转基因小鼠的心脏肥大反应减弱,这表明TRPC6是通道复合物的组成部分,所述通道复合物是肥大的必需介质(Wu等人,2010 Proc Natl Acad Sci.107:7000-05)。靶向TRPC6的小分子药物最近也开始显示出在治疗心脏病症方面的前景。例如,Seo及其合作者证明TRPC6和TRPC3拮抗剂(GSK2332255B和GSK833503A)在新生儿和成人心肌细胞中展现出对细胞肥大信号传导的剂量依赖性抑制(Seo等人,2014 Proc Natl Acad Sci 111:1551-1556)。类似地,缺乏TRPC6的小鼠受到保护免受异丙肾上腺素诱导的心脏肥大(Xie等人,2012 Nat Commun 3:1238)。

[0013] 降低TRPC6活性可能有益于治疗心血管疾病。在体外,当与动脉粥样硬化保护性流动条件相比时,动脉粥样硬化剪切应力诱导人血管内皮细胞(EC)中TRPC6 mRNA水平增加(Thilo,等人,2012 Hypertension 59:1232-40)。EC迁移对于动脉损伤后的愈合很重要,并且在来自TRPC6缺陷小鼠的细胞中在体外阻止了溶血磷脂酰胆碱介导的EC迁移抑制。此外,当与野生型对照相比时,高胆固醇饮食与颈动脉损伤的组合不会损害TRPC6缺陷小鼠的愈合(Rosebaum等人,2015 J Vasc Surg 62:1040-47and Chaudhuri等人,2008Mol Biol Cell 19:3203-11)。类似地,当与未扩张的动脉相比时,球囊扩张诱导的离体人乳动脉损伤导致TRPC6 mRNA水平增加(Bergdahl等人,2005 Am J Physiol Cell Physiol 288:C872-80)。内皮细胞的凋亡参与动脉粥样硬化病变的开始和进展,并且氧化的低密度脂蛋白诱导的人主动脉EC凋亡被证明依赖于TRPC6(Zhang等人,2015 Sci Rep 5:9401-10)。在前脑缺血的大鼠模型中,血管SMC中的TRPC6 mRNA水平增加,并且与脑血流量减少相关(Johannson等人,2015 Acta Physiol 214:376-89)。

[0014] Reiser、Winn和Schlöndorff的研究鉴定出患者的TRPC6突变是FSGS的病因(Reiser等人,2005Nature Genet 37:739-744;Winn等人,2005 Science 308:1801-1804; Schlöndorff 等人,2009 Am J Physiol Cell Physiol 296:C558-69)。随后的研究鉴定出与类固醇抗性肾病综合征相关的另外的TRPC6突变(C.Sadowski等人,2014 J Am Soc Nephrol 26:1279-89)。进一步的研究证明,TRPC6通过控制钙内流和激活的T细胞的核因子激活在正常足状细胞功能中很重要,其中通过通道的电流升高与肾损伤和蛋白尿的诱导相关(Moller等人,2007 J Am Soc Nephrol 18:29-36和Schlöndorff等人,2009 Am J Physiol Cell Physiol 296:C558-69)。除了功能获得性突变之外,已经显示TRPC6的表达在人慢性肾疾病(包括FSGS、微小病变性疾病、膜性肾小球性肾炎和糖尿病性肾病)(Moller等人,2007 J Am Soc Nephrol 18:29-36 and Thilo等人,2011 Nephrol.Dial.Transplant 27:921-9)以及足状细胞损伤的小鼠模型(Moller等人,2007 J Am Soc Nephrol 18:29-36)中升高。已经证明TRPC6缺陷小鼠具有减少的血管紧张素II(Ang II)诱导的白蛋白尿(Eckel等人,2011 J Am Soc Nephrol 22:526-35),而小鼠中人GoF突变的转基因足状细胞特异性表达诱导白蛋白尿和肾小球病变(Kra11等人,2010 PLoS ONE e12859和Canales等人,2015 Brit J Medicine Med Res 5:1198-1212)。因此,TRPC6的抑制可用于治疗慢性肾疾病。这些发现不仅表明TRPC6通常发挥维持适当肾功能的作用,而且还表明TRPC6是至少某些FSGS病例的特定原因。基于TRPC6在肾功能中的可能作用,TRPC6抑制剂化合物可以用于治疗或改善由TRPC6功能异常引起(全部或部分)的慢性肾疾

病或病症。此外,TRPC6抑制剂化合物可以用于治疗或改善肾疾病(例如,高血压、蛋白尿等)的症状,而不管疾病的原因如何。

[0015] 在妊娠期间TRPC6在子宫肌层和胎盘中表达(Ku等人,2006 *J Soc Gynecol Investig* 13:217-225;Clarson等人,2003 *J Physiol* 550:515-528)。因此,TRPC6可能有助于在胎盘中维持适当的肌源性紧张度和/或在妊娠期间维持适当的胎儿和母体血压。

[0016] 最近出现的证据表明TRPC6与某些形式的癌症相关。几个研究组已经确定,从患有多形性胶质母细胞瘤(最常见和无法治愈类型的脑癌)的患者获得的细胞中TRPC6表达升高(Chigurupati,等人,2010 *Cancer Res*,70:418-427;Ding等人,2010 *J Natl Cancer Inst.*102:1052-1068)。类似地,Ding等人发现人神经胶质瘤细胞中升高水平的TRPC6以及在药理学上用显性失活突变体抑制TRPC6会抑制体外细胞生长。在人神经胶质瘤的两种异种移植模型中,当与对照相比时,在皮下或颅内植入之前肿瘤细胞中慢病毒介导的显性失活TRPC6的表达减少了肿瘤体积(Ding等人,*J.Natl.Cancer Inst.*2010,102,1052-1068)。还发现TRPC6水平升高与宫颈癌(Wan等人,2012 *Onco Targets Ther* 5:171-176)、乳腺癌(Dhennin-Duthille等人,2011 *Cell Physiol Biochem* 28:813-822)、肾细胞癌(Song等人,2013 *Mol Biol Rep* 40:5115-5122)、头颈部鳞状细胞癌(de Quiros,等人2013 *BMC Cancer* 13:116-127)、和食管鳞状细胞癌(Zhang等人,2013 *Med Oncol* 30:607)等相关。在肝细胞癌细胞中,证明了多柔比星、低氧症和电离辐射会增加TRPC6 mRNA表达,并且发现在肿瘤组织中TRPC6的水平高于在未涉及的组织中。升高的TRPC6与耐药性相关,所述耐药性在体外通过TRPC6 RNA沉默减弱。在植入小鼠皮下异种移植模型之前,将TRPC6特异性短发夹RNA经慢病毒递送到Huh7肿瘤细胞中使肿瘤生长减少并且使肿瘤对多柔比星敏感(Wen等人,2016 *Sci Rep* 6:23269)。这些发现表明TRPC6可能是对于癌症治疗有希望的治疗靶标。

[0017] 可以通过降低TRPC6活性来治疗肝脏疾病(包括非酒精性脂肪性肝炎)。当与含氧正常的条件相比时,低氧症增加了人肝星形细胞系中TRPC6的表达。使用这些细胞,TRPC6 RNA沉默下调响应于低氧症的 α 平滑肌肌动蛋白和胶原蛋白1A1的转录物,这二者均与纤维化相关(Iyer等人,2015 *Exp Cell Res* 336:66-75)。

[0018] TRPC6的抑制可能有益于患有杜兴氏肌营养不良(DMD)的患者。在使用分离的心肌细胞的DMD的mdx/utrn^{+/-}模型中,当与具有野生型TRPC6基因的小鼠相比时,TRPC6缺乏使应激刺激的收缩力和钙瞬态反应恢复正常,这表明TRPC6抑制将保护DMD患者的心脏功能(Seo等人,2014 *Circ Res* 114:823-32)。

[0019] 纤维化障碍可以用TRPC6抑制剂治疗。TRPC6的过表达诱导成肌纤维细胞激活,而TRPC6的缺失使转化生长因子 β 诱导的成肌纤维细胞转化减少。此外,TRPC6缺陷小鼠表现出减少的皮肤和心脏伤口愈合(Davis等人,2012 *Dev Cell* 23:705-15)。

[0020] TRPC6抑制剂可能有用于降低ARDS、脓毒症、严重脓毒症和脓毒症休克的死亡率,因为在TRPC6缺陷小鼠中系统性脓毒症的小鼠模型(盲肠结扎穿刺,CLP)的存活率显著提高(80%,相对于在媒介物组中的10%)(Tauseef等人,2012 *J Exp Med* 209:1953-1968)。

[0021] TRPC6抑制剂可用于治疗疼痛。在临床前疼痛模型中,TRPC6反义寡核苷酸的脊髓递送减少了由机械、低渗和热刺激诱导的痛觉过敏(Alessandri-Haber等人,2009 *J Neurosci* 29:6217-28)。

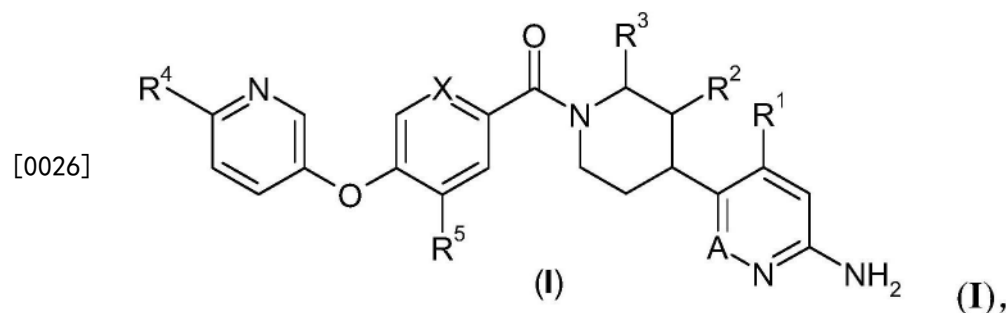
[0022] 调节TRPC6的功能提供了用于调节钙稳态、钠稳态、细胞内钙水平、膜极化(静息膜电位)和/或细胞内阳离子水平的手段。可以调节一种或多种TRPC6功能的化合物可用于许多方面,包括但不限于维持钙稳态;维持钠稳态;调节细胞内钙水平;调节膜极化(膜电位);调节阳离子水平;和/或治疗或预防与钙稳态、钠稳态、钙或钠稳态失衡、或膜极化/超极化(包括低兴奋和过度兴奋)相关的疾病、障碍或病症,和/或治疗或预防与TRPC6表达或功能的调节或失调相关的疾病、障碍或病症。

[0023] 对于用于治疗可以通过调节TRPC6缓解的疾病或障碍的高度选择性TRPC6拮抗剂存在需要

发明内容

[0024] 本发明提供了新型化合物,其调节TRPC6并且因此可用于治疗可以通过调节TRPC6缓解的多种疾病和障碍,所述疾病和障碍包括高血压、先兆子痫、再狭窄、心脏或呼吸系统病症、肾脏疾病、肝脏疾病、肌营养不良、纤维化障碍、疼痛、缺血或缺血再灌注损伤、和癌症。本发明还涉及包含这些化合物的药物组合物、使用这些化合物治疗多种疾病和障碍的方法、用于制备这些化合物的方法和可用于这些方法的中间体。

[0025] 在第一实施方案(实施方案一)中,本发明涉及式(I)的化合物,



[0027] 其中

[0028] A选自CH或N;

[0029] X选自CH或N;

[0030] R¹选自H、-CH₃和-OCH₃;

[0031] R²选自H和-CH₃;

[0032] R³选自H和-CH₃;或

[0033] R²和R³一起表示-(CH₂)_n-桥,其中

[0034] n表示数字2、3、4或5,并且其中任选地一个-CH₂-成员被O、S、-NH-或-N(CH₃)₃-替代,

[0035] 或式(I)中的-CH(R³)-(R²)CH-结构被选自以下的5元杂芳基替代:呋喃、噻吩、吡咯和N-甲基-吡咯,所述杂芳基与式(I)的哌啶环稠合;

[0036] R⁴选自H、-CF₃、和-OCH₃;

[0037] R⁵选自H、-F和-OCH₃;

[0038] 及其盐,优选地其药学上可接受的盐。

[0039] 在第二实施方案(实施方案二)中,本发明涉及式(I)的化合物,

[0040] 其中

[0041] A选自CH或N;

- [0042] X选自CH或N;
- [0043] R¹选自H、-CH₃和-OCH₃;
- [0044] 优选选自H和-CH₃;
- [0045] R²表示H并且R³选自H和-CH₃;或
- [0046] R²表示-CH₃并且R³表示H;
- [0047] 优选地,R²表示H并且R³选自H和-CH₃;
- [0048] R⁴选自H、-CF₃和-OCH₃;
- [0049] 优选地,R⁴选自-CH₃和-OCH₃;
- [0050] R⁵选自H、-F和-OCH₃;
- [0051] 优选地,R⁵选自H和-OCH₃;
- [0052] 及其盐,优选地其药学上可接受的盐。
- [0053] 在第三实施方案(实施方案三)中,本发明涉及式(I)的化合物,
- [0054] 其中
- [0055] A表示N
- [0056] R¹选自H和-CH₃
- [0057] R⁴选自-CH₃和-OCH₃;
- [0058] 并且X、R²、R³和R⁵具有如在实施方案二中所提及的定义;
- [0059] 及其盐,优选地其药学上可接受的盐。
- [0060] 在第四实施方案(实施方案四)中,本发明涉及式(I)的化合物,
- [0061] 其中
- [0062] A表示N;
- [0063] R¹选自H和-CH₃
- [0064] R⁴表示-OCH₃;
- [0065] 并且X、R²、R³和R⁵具有如实施方案二中所提及的定义;
- [0066] 及其盐,优选地其药学上可接受的盐。
- [0067] 在第五实施方案(实施方案五)中,本发明涉及式(I)的化合物,
- [0068] 其中
- [0069] A表示N;
- [0070] R¹选自H和-CH₃
- [0071] X表示CH;
- [0072] R⁴表示-OCH₃;
- [0073] R⁵表示H;
- [0074] 并且R²和R³具有如实施方案二中所提及的定义;
- [0075] 及其盐,优选地其药学上可接受的盐。
- [0076] 在第六实施方案(实施方案六)中,本发明涉及式(I)的化合物,
- [0077] 其中
- [0078] A表示N;
- [0079] R¹选自H和-CH₃
- [0080] X表示N;

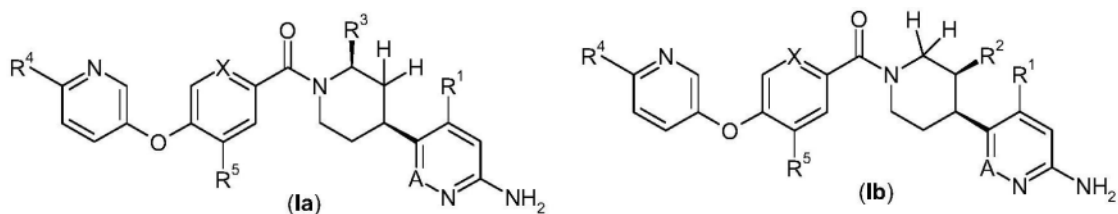
[0081] R^4 表示 $-OCH_3$;

[0082] R^5 表示H;

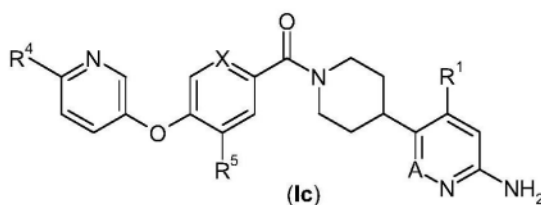
[0083] 并且 R^2 和 R^3 具有如实施方案二中所提及的定义;

[0084] 及其盐,优选地其药学上可接受的盐。

[0085] 式(I)的化合物形成由下式(Ia)、(Ib)和(Ic)指定的立体异构体



[0086]



[0087] 其中A、X、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 和 R^5 具有如实施方案二、三、四、五或六中所提及的定义。本发明涵盖呈基本上纯形式的任何立体异构体及其任何混合物。

具体实施方式

[0088] 表1示出了可以通过合成方案和以下合成实施例部分中所示的实施例制造的本发明化合物。

[0089] 表1:

[0090]

化合物编号	结构	化合物名称
1		6-[(2S,4S)-1-{4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酰基}-2-甲基哌啶-4-基]-5-甲基哒嗪-3-胺
2		6-[(2S,4S)-1-{3-甲氧基-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酰基}-2-甲基哌啶-4-基]-5-甲基哒嗪-3-胺
3		6-[(2S,4S)-1-{4-甲氧基-5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-羰基}-2-甲基哌啶-4-基]-5-甲基哒嗪-3-胺
4		6-[(2S,4S)-1-(3-甲氧基-4-{6-(三氟甲基)吡啶-3-基}氧基)苯甲酰基]-2-甲基哌啶-4-基]-5-甲基哒嗪-3-胺
5		6-(1-{4-甲氧基-5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-羰基}哌啶-4-基)哒嗪-3-胺
6		6-[(3R,4R)-1-{3-甲氧基-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酰基}-3-甲基哌啶-4-基]-5-甲基哒嗪-3-胺

[0091]

7		6-(1-{4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酰基}哌啶-4-基)-5-甲基哒嗪-3-胺
8		6-(1-{3-甲氧基-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酰基}哌啶-4-基)-5-甲基哒嗪-3-胺
9		6-(1-{4-甲氧基-5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-羰基}哌啶-4-基)-5-甲基哒嗪-3-胺
10		6-[(3R,4R)-1-{5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-羰基}-3-甲基哌啶-4-基]-5-甲基哒嗪-3-胺

[0092] 在一个实施方案中,本发明涉及以上表1中描绘的任何化合物及其药学上可接受的盐。

[0093] 本发明进一步涉及一种药物组合物,所述药物组合物包含表1中公开的任一种化合物及其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的赋形剂或载体。

[0094] 通用定义

[0095] 在本文中沒有明确定义的术语应当被给出本领域技术人员根据本公开文本和上下文而给出的含义。然而,如本说明书所用,除非有相反的规定,否则以下术语具有所指示的含义并且遵守以下约定。

[0096] 在本发明的化合物以化学名称的形式和作为式描绘的情况下,如果有任何差异,则应以式为准。

[0097] 除非明确指示,否则贯穿整个说明书和所附权利要求书,给定的化学式或名称应当包括互变异构体和所有立体异构体、光学异构体和几何异构体(例如对映异构体、非对映异构体、E/Z异构体等)及其外消旋体以及处于不同比例的单独的对映异构体的混合物、非对映异构体的混合物、或任何前述形式的混合物,其中存在此类异构体和对映异构体,以及盐,包括其药学上可接受的盐及其溶剂化物,例如像水合物,包括游离化合物的溶剂化物或化合物的盐的溶剂化物。

[0098] 本发明的对映异构体纯的化合物或中间体可以通过不对称合成制备,例如通过制备和随后分离适当的非对映异构体化合物或中间体,其可以通过已知方法(例如,通过色谱分离或结晶)和/或通过使用诸如手性原料、手性催化剂或手性助剂的手性试剂来分离。

[0099] 此外,本领域技术人员已知如何从相应的外消旋混合物制备对映异构体纯的化合

物,例如通过在手性固定相上色谱分离相应的外消旋混合物;或通过使用适当的拆分剂拆分外消旋混合物,例如借助用光学活性的酸或碱进行外消旋化合物的非对映异构体盐形成、随后拆分所述盐并且从所述盐中释放所希望的化合物或通过用光学活性的手性助剂衍生化相应的外消旋化合物、随后进行非对映异构体分离并且除去手性辅助基团;或通过对外消旋体的动力学拆分(例如,通过酶促拆分);通过在合适的条件下从对映形态晶体的聚集物对映选择性结晶或通过光学活性手性助剂的存在下从合适的溶剂中(分级)结晶。

[0100] 短语“药学上可接受的”在本文中用于指代在合理的医学判断范围内适用于与人类和动物组织接触而没有过度的毒性、刺激性、过敏反应、或其他问题或并发症,并且与合理的效益/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。如本文所用,“药学上可接受的盐”是指所公开的化合物的衍生物,其中母体化合物通过制备其酸盐或碱盐而被修饰。药学上可接受的盐的例子包括但不限于碱性残基(诸如胺)的矿物盐或有机酸盐;酸性残基(诸如羧酸)的碱盐或有机盐;等。

[0101] 例如,此类盐包括来自苯磺酸、苯甲酸、柠檬酸、乙磺酸、富马酸、龙胆酸、氢溴酸、盐酸、马来酸、苹果酸、丙二酸、扁桃酸、甲磺酸、4-甲基-苯磺酸、磷酸、水杨酸、琥珀酸、硫酸和酒石酸的盐。

[0102] 可以用来自氨、L-精氨酸、钙、2,2'-亚氨基双乙醇、L-赖氨酸、镁、N-甲基-D-葡萄糖胺、钾、钠和三(羟甲基)-氨基甲烷的阳离子形成其他药学上可接受的盐。

[0103] 本发明的药学上可接受的盐可以通过常规化学方法从含有碱性或酸性部分的母体化合物合成。通常,此类盐可以通过使这些化合物的游离酸或碱形式与足量的适当的碱或酸在水中或在有机稀释剂(如醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈或其混合物)中反应来制备。

[0104] 除上文所提及那些之外的其他酸的盐(其例如可用于纯化或分离本发明的化合物,例如三氟乙酸盐)也构成

[0105] 本申请提供了可以调节TRPC6功能的化合物。还提供了使用这些化合物的方法。某些实施方案提供了一种调节细胞或动物的TRPC6功能的方法,所述方法包括施用有效量的抑制TRPC6功能的化合物,其中所述化合物抑制TRPC6介导的离子流量。某些实施方案提供了一种调节细胞或动物的TRPC6功能的方法,所述方法包括施用有效量的抑制TRPC6功能的化合物,其中所述化合物抑制TRPC6介导的钙内流。某些实施方案提供了一种调节细胞或动物的TRPC6功能的方法,所述方法包括施用有效量的抑制TRPC6功能的化合物,其中所述化合物抑制TRPC6介导的细胞骨架重组或细胞形态改变。某些实施方案提供了一种调节细胞的TRPC6功能的方法,所述方法包括向所述细胞施用有效量的抑制TRPC6功能的化合物,其中所述化合物抑制由TRPC6介导的外向电流。某些实施方案提供了一种调节细胞的TRPC6功能的方法,所述方法包括向所述细胞施用有效量的抑制TRPC6功能的化合物,其中所述化合物抑制由TRPC6介导的内向电流。某些实施方案提供了一种调节细胞的TRPC6功能的方法,所述方法包括向所述细胞施用有效量的抑制TRPC6功能的化合物,其中所述化合物抑制由TRPC6介导的内向和外向电流。某些实施方案提供了一种调节细胞的TRPC6功能的方法,所述方法包括向所述细胞施用有效量的抑制TRPC6功能的化合物,其中所述化合物抑制细胞内钙浓度增加。某些实施方案提供了一种调节细胞的TRPC6功能的方法,所述方法包括向所述细胞施用有效量的抑制TRPC6功能的化合物,其中所述化合物抑制细胞形态

的改变。某些实施方案还提供了一种预防或治疗受试者的与TRPC6功能相关的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的抑制TRPC6功能的化合物,其中所述化合物抑制由TRPC6介导的内向电流。某些实施方案提供了一种预防或治疗受试者的与TRPC6功能相关的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的抑制TRPC6功能的化合物,其中所述化合物抑制由TRPC6介导的外向电流。某些实施方案还提供了一种预防或治疗受试者的与TRPC6功能相关的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的抑制TRPC6功能的化合物,其中所述化合物抑制由TRPC6介导的内向和/或外向电流。某些实施方案提供了一种预防或治疗受试者的与TRPC6功能相关的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的抑制TRPC6功能的化合物,其中所述化合物抑制由TRPC6介导的离子流量。注意对特定电流的抑制是指化合物在体外或体内测定中抑制所述电流(例如,内向和/或外向)的能力。在体内或体外测定中对特定电流的抑制充当特定化合物的特定功能活性的代表。

[0106] 本发明提供了治疗受试者的TRPC6介导的障碍的方法,所述方法包括施用有效量的本发明化合物,其中以上每个变量描述在本文中,例如在以下具体实施方式中。

[0107] 本发明进一步提供了一种用于治疗受试者的TRPC6介导的障碍的方法,其中所述方法包括施用包含本发明化合物和药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体的组合物。

[0108] 本发明进一步提供了一种用于治疗受试者的TRPC6介导的障碍的方法,其中所述方法包括施用包含本发明化合物和药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体的组合物,并且所述TRPC6介导的障碍选自脓毒症、严重脓毒症、脓毒症休克、心脏肥大、缺血、缺血再灌注损伤、高血压、肺动脉高压、特发性肺动脉高压、再狭窄、慢性阻塞性肺疾病、囊性纤维化、阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、创伤诱导的脑障碍、哮喘、疾病、类风湿性关节炎、骨关节炎、炎性肠疾病、多发性硬化症、肌营养不良、杜兴氏肌营养不良、先兆子痫和妊娠诱导的高血压、非酒精性脂肪性肝炎、微小病变性疾病、局灶节段性肾小球硬化症(FSGS)、肾病综合征、糖尿病性肾病或糖尿病性肾疾病(DKD)、慢性肾疾病、肾功能不全、终末期肾脏疾病、缺血或缺血再灌注损伤、癌症、糖尿病、肺纤维化、特发性肺纤维化(IPF)、肺气肿和急性呼吸系统疾病综合症(ARDS)/严重急性呼吸系统综合症(SARS)。

[0109] 除非特别指出,在通篇说明书和所附权利要求书中,给定的化学式或名称应该包含其互变异构体和所有立体、光学和几何异构体(例如对映异构体、非对映异构体、E/Z异构体等)和外消旋体以及不同比例分离对映异构体的混合物、非对映异构体的混合物、或任何上述形式的混合物存在此类异构体和对映异构体,以及盐,包括其药学上可接受的盐及其溶剂化物,例如像水合物,包括游离化合物的溶剂化物或化合物的盐的溶剂化物。

[0110] 表1.1中的一些化合物可以以多于一种互变异构形式存在。本发明包括用于使用所有此类互变异构体的方法。

[0111] 本发明包括本发明化合物的药学上可接受的衍生物。“药学上可接受的衍生物”是指任何药学上可接受的盐或酯,或任何其他化合物,其在向患者施用后能够提供(直接或间接)有用于本发明的化合物,或其药理学活性代谢物或药理学活性残余物。药理学活性代谢物应理解为本发明的任何化合物,所述化合物可通过酶或化学方式进行代谢。这包括,例如,本发明的羟基化或氧化衍生化合物。

[0112] 短语“药学上可接受的”在本文中用于指代在合理的医学判断范围内适用于没有

过度的毒性、刺激性、过敏反应、或其他问题或并发症,并且与合理的效益/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0113] 如本文所用,“药学上可接受的盐”是指所公开的化合物的衍生物,其中母体化合物通过制备其酸盐或碱盐而被修饰。药学上可接受的盐的例子包括但不限于碱性残基(诸如胺)的矿物盐或有机酸盐;酸性残基(诸如羧酸)的碱盐或有机盐;等。

[0114] 例如,此类盐包括来自苯磺酸、苯甲酸、柠檬酸、乙磺酸、富马酸、龙胆酸、氢溴酸、盐酸、马来酸、苹果酸、丙二酸、扁桃酸、甲磺酸、4-甲基-苯磺酸、磷酸、水杨酸、琥珀酸、硫酸和酒石酸的盐。

[0115] 可以用来自氨、L-精氨酸、钙、2,2'-亚氨基双乙醇、L-赖氨酸、镁、N-甲基-D-葡萄糖胺、钾、钠和三(羟甲基)-氨基甲烷的阳离子形成其他药学上可接受的盐。

[0116] 本发明的药学上可接受的盐可以通过常规化学方法从含有碱性或酸性部分的母体化合物合成。通常,此类盐可以通过使这些化合物的游离酸或碱形式与足量的适当的碱或酸在水中或在有机稀释剂(如醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈或其混合物)中反应来制备。

[0117] 除上文所提及那些之外的其他酸的盐(其例如可用于纯化或分离本发明的化合物,例如三氟乙酸盐)也构成本发明的一部分。

[0118] 此外,在本发明范围内还有本发明化合物的前药的用途。前药包括那些经过简单的化学转化而被修饰以产生本发明化合物的化合物。简单的化学转化包括水解、氧化和还原。具体地说,当将向患者施用前药时,前药可以转化为本文以上公开的化合物,从而赋予所希望的药理作用。

[0119] 本发明的化合物还包括其同位素标记的形式。本发明的组合的活性剂的同位素标记的形式与所述活性剂相同,除了以下:所述活性剂的一个或多个原子已经被原子质量或质量数不同于通常在自然界中发现的所述原子的原子质量或质量数的一个或多个原子取代。同位素的例子(其易于商购并且可以根据完善的程序掺入本发明组合的活性剂中)包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素,例如,分别是²H、³H、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸O、¹⁷O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F和³⁶Cl。本发明的组合的活性剂、其前药、或含有上述一种或多种同位素和/或其他原子的其他同位素的药学上可接受的盐被认为属于本发明的范围。

[0120] 本发明的化合物只是那些被认为是“化学稳定”的化合物,如本领域技术人员所理解的。例如,具有“悬挂化合价(dangling valency)”或“负碳离子”的化合物不是本文公开的本发明方法所设想的化合物。

[0121] 缩写列表

[0122]	ACN或MeCN	乙腈
[0123]	aq.	水溶液
[0124]	BEH	亚乙基桥接的杂化
[0125]	Boc	叔丁基氧基羰基
[0126]	°C	摄氏度
[0127]	CDI	二(咪唑-1-基)甲酮
[0128]	CPhos-3G-环钯配	甲烷磺酸基(2-二环己基膦基-2',6'-双(二甲基氨
[0129]	合物甲烷磺酸盐	基)-1,1'-联苯基)(2'-氨基-1,1'-联苯基-2-基)钯(II)

[0130]	DCM	二氯甲烷
[0131]	DIPEA	N,N-二异丙基乙胺
[0132]	DMF	N,N-二甲基甲酰胺
[0133]	DMA	N,N-二甲基乙酰胺
[0134]	DMSO	二甲亚砜
[0135]	DPPF	1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁
[0136]	DTAD	偶氮二甲酸二叔丁酯
[0137]	EDCI.HCl	1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐
[0138]	eq	当量
[0139]	ESI-MS	电喷雾电离质谱法
[0140]	Et ₂ O	乙醚
[0141]	EtOH	乙醇
[0142]	EtOAc或EE	乙酸乙酯
[0143]	第2代Grubbs	(1,3-双-(2,4,6-三甲基苯基-2-咪唑烷亚基)-二氯(苯基亚甲基)(三环己基膦)-钨
[0144]	h	小时
[0145]	H ₂	氢
[0146]	HATU	N,N,N',N'-四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)脲鎓六氟磷酸盐
[0147]	HCl	盐酸
[0148]	HOBT	1-羟基苯并三唑
[0149]	HPLC	高效液相色谱法
[0150]	IPA	丙-2-醇
[0151]	L	升
[0152]	LiAlH ₄	氢化铝锂
[0153]	LiHMDS	双(三甲基甲硅烷基)氨基锂
[0154]	LiOH	氢氧化锂
[0155]	MeI	甲基碘
[0156]	MeOH	甲醇
[0157]	min	分钟
[0158]	mL	毫升
[0159]	MS	质谱
[0160]	MTBE	叔丁基甲基醚
[0161]	m/z	质荷比
[0162]	NaH	氢化钠
[0163]	NaOH	氢氧化钠
[0164]	NH ₃	氨
[0165]	NH ₄ OH	NH ₃ 在水中的溶液
[0166]	NMP	N-甲基-2-吡咯烷酮
[0167]	n-BuOH	1-丁醇

[0168]	Pd ₂ (dba) ₃	三(二亚苄基丙酮)二钯(0)
[0169]	Pd/C	碳载钯
[0170]	PdCl ₂ (dppf)CH ₂ Cl ₂	[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)二氯甲烷
[0171]	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	双(三苯基膦)氯化钯(II)
[0172]	Pd(OH) ₂	氢氧化钯
[0173]	PE	石油醚
[0174]	RP	反相
[0175]	RT或rt	室温(约20℃)
[0176]	R _t	保留时间
[0177]	RuPhos Pd G3	(2-二环己基膦基-2',6'-二异丙氧基-1,1'-联苯基)[2-(2'-氨基-1,1'-联苯基)]钯(II)甲烷磺酸盐
[0178]	scCO ₂	超临界二氧化碳
[0179]	SFC	超临界流体色谱法
[0180]	TBAF	四丁基氟化铵
[0181]	TBTU	苯并三唑基-四甲基脒鎓四氟硼酸盐
[0182]	TEA	三乙胺
[0183]	TetrakisPd	四(三苯基膦)合钯(0)
[0184]	TF或TFA	三氟乙酸
[0185]	THF	四氢呋喃
[0186]	TLC	在SiO ₂ 上的薄层色谱法
[0187]	TPP	三苯基膦
[0188]	XPhos	2-二环己基膦基-2',4',6'-三-异-丙基-1,1'-联苯基
[0189]	XPhos Pd G2或第2	氯(2-二环己基膦基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯基)[2-(2'-氨基-1,1'-联苯基)]钯(II)
[0190]	代Xphos Pd	基)[2-(2'-氨基-1,1'-联苯基)]钯(II)
[0191]	XantPhos	4,5-双(联苯膦基)-9,9-二甲基氧杂蒽

[0192] 合成实施例

[0193] 随后的实施例是说明性的,并且如本领域技术人员所认识到的,特定的试剂或条件可以根据单独化合物的需要进行修饰,而无需过度的实验。

[0194] 取决于所使用的纯化方法和条件,在以下报道的带有碱性或酸性基团的中间体和实施例可以作为相应的盐或中性化合物获得。可以通过本领域技术人员已知的标准程序将盐转化为它们的中性对应物。

[0195] 通用方法:除非另有说明,否则所有反应均在室温(约25℃)下、在惰性气氛(例如,氩气、N₂)下、和在水条件下进行。所有化合物均通过以下方法中的至少一种来表征:¹H NMR、HPLC、HPLC-MS、或熔点。

[0196] 典型地,通过薄层色谱法(TLC)或HPLC-MS监测反应进程。使用以下方法中的至少一种纯化中间体和产物:

[0197] 在硅胶上的快速色谱法、重结晶、使用10x 250mm或20x 250mm柱的超临界流体(SCF)手性HPLC(用MeOH与20mM NH₃、EtOH与20mM NH₃或异丙醇(IPA)与20mM NH₃的等度混合物和在150巴下的超临界二氧化碳洗脱;60至80mL/min)、和/或用以下梯度洗脱的使用C18

半制备型柱的反相HPLC:

- [0198] • ACN和H₂O和0.1% TFA、
- [0199] • ACN和H₂O和0.1% NH₃ (水溶液)、
- [0200] • ACN和H₂O+0.1% TFA、
- [0201] • ACN和H₂O+0.1% NH₃ (水溶液)、
- [0202] • MeCN+0.1% TFA和H₂O+0.1% TFA、
- [0203] • MeCN+0.1% 甲酸和H₂O+0.1% 甲酸
- [0204] • MeCN和含2.5mM NH₄HCO₃的H₂O、
- [0205] • MeCN和H₂O+0.1% NH₃ (水溶液)、
- [0206] • MeOH和H₂O+0.1% TFA、
- [0207] • MeCN+0.08% TFA和H₂O+0.1% TFA

[0208] 分析数据

[0209] 报告的质谱 (MS) 数据用于观察到的质量 (例如, [M+H]⁺)。用于表征本发明化合物的HPLC方法描述于表2.1和表2.2中。

[0210] 表2.1:HPLC方法

[0211] 方法1

	方法名称:	<i>I</i>
[0212]	设备说明:	具有DA和MS检测器的Agilent 1200
	柱:	Sunfire C18_3.0 x 30 mm_2.5 μm
	柱生产商:	Waters

梯度/溶剂 时间 [min]	%溶剂 [水, 0.1% TFA (v/v)]	%溶剂 [乙腈]	流量 [ml/min]	温度 [°C]
0.0	97.0	3.0	2.2	60.0
[0213] 0.2	97.0	3.0	2.2	60.0
1.2	0.0	100.0	2.2	60.0
1.25	0.0	100.0	3.0	60.0
1.4	0.0	100.0	3.0	60.0

[0214] 方法2

[0215]	方法名称:	2			
	设备说明:	具有DA和MS检测器的Agilent 1200			
	柱:	Zorbax StableBond C18_3.0 x 30 mm_1.8 μ m			
	柱生产商:	Agilent			
	梯度/溶剂 时间 [min]	%溶剂 [水, 0.1% TFA (v/v)]	%溶剂 [乙腈]	流量 [ml/min]	温度 [°C]
	0.0	97.0	3.0	2.2	60.0
	0.2	97.0	3.0	2.2	60.0
	1.2	0.0	100.0	2.2	60.0
	1.25	0.0	100.0	3.0	60.0
	1.4	0.0	100.0	3.0	60.0

[0216] 方法3

[0217]	方法名称:	3			
	设备说明:	具有DA和MS检测器的Agilent 1200			
	柱:	XBridge C18_3.0 x 30 mm_2.5 μ m			
	柱生产商:	Waters			
	梯度/溶剂 时间 [min]	%溶剂 [水, 0.1% NH3]	%溶剂 [乙腈]	流 量 [ml/min]	温度 [°C]
	0.0	97.0	3.0	2.2	60.0
	0.2	97.0	3.0	2.2	60.0
[0218]	1.2	0.0	100.0	2.2	60.0
	1.25	0.0	100.0	3.0	60.0
	1.4	0.0	100.0	3.0	60.0

[0219] 方法11

	方法名称:	<i>II</i>			
	设备说明:	Waters Acquity, QDa检测器			
	柱:	Sunfire C18_3.0 x 30 mm_2.5 μ m			
	柱生产商:	Waters			
[0220]	梯度/溶剂 时间 [min]	%溶剂 [水, 0.1% TFA (v/v)]	%溶剂 [乙腈, 0.08% TFA (v/v)]	流量 [ml/min]	温度 [°C]
	0.0	95.0	5.0	1.5	60.0
	1.3	0.0	100.0	1.5	60.0
	1.5	0.0	100.0	1.5	60.0
	1.6	95.0	5.0	1.5	60.0

[0221] 方法E

	方法名称:	<i>E</i>				
	设备说明:	具有DAD和ELSD的Agilent 1260 SFC				
	柱:	Lux® Cellulose-4_4.6 x 250 mm_5 μ m				
	柱生产商:	Phenomenex				
[0222]	梯度/溶剂 时间 [min]	%溶剂 [scCO ₂]	%溶剂 [MEOH 20 mM NH ₃]	流 量 [ml/min]	温度 [°C]	背压 [PSI]
	0.0	75.0	25.0	4.0	40.0	2175.0
	10.0	75.0	25.0	4.0	40.0	2175.0

[0223] 方法T

[0224]	方法名称:	<i>T</i>				
	设备说明:	具有DAD和MS的Agilent 1260 SFC				
	柱:	Chiralpak® IG_4.6 x 250 mm_5 μ m				
	柱生产商:	Daicel				
[0225]	梯度/溶剂 时间 [min]	%溶剂 [scCO ₂]	%溶剂 [MEOH 20 mM NH ₃]	流 量 [ml/min]	温度 [°C]	背压 [PSI]
	0.0	75.0	25.0	4.0	40.0	2175.0
	10.0	75.0	25.0	4.0	40.0	2175.0

[0226] NMR方法:

[0227] 使用Bruker Topspin软件在Bruker Advance 400MHz或Bruker Avance 600MHz上记录NMR波谱。化学位移是以 δ 为单位以相对于内参三甲基硅烷向低场移动的百万分率(ppm)给出的。选择的¹H-NMR数据用以下方式报告:化学位移(多重性、耦合常数(J)、氢的数量)。缩写如下:s(单重峰)、d(双重峰)、t(三重峰)、q(四重峰)、spt(七重峰)、m(多重峰)、br(宽峰)。

[0228] 通用方法

[0229] 本发明的化合物可以通过以下呈现的通用方法和实施例以及本领域普通技术人员已知的方法制备。最佳反应条件和反应时间可以根据所使用的特定反应物而变化。除非另有规定,否则溶剂、温度、压力和其他反应条件可以由本领域普通技术人员容易地选择。合成实施例部分中提供了具体程序。在下面的合成中使用的中间体可以在市场上购买,或者可以用本领域普通技术人员知道的方法容易地制备。反应进程可以通过常规方法(诸如薄层色谱法(TLC)或高压液相色谱-质谱法(HPLC-MS))进行监测。中间体和产物可以通过本领域已知的方法纯化,所述方法包括柱色谱法、HPLC、制备型TLC或重结晶。

[0230] 以下和合成实施例部分中所述的方法可以用于制备本发明的化合物。

[0231] 为简单起见,合成实施例部分中所述的一些中间体可以被绘制为游离碱,但是根据所描述的反应程序,这些化合物实际上可以形成盐。

[0232] 取决于所使用的纯化方法和条件,在以下报道的带有碱性或酸性基团的中间体和实施例可以作为相应的盐或中性化合物获得。可以通过本领域技术人员已知的标准程序将盐转化为它们的中性对应物。

[0233] 制备

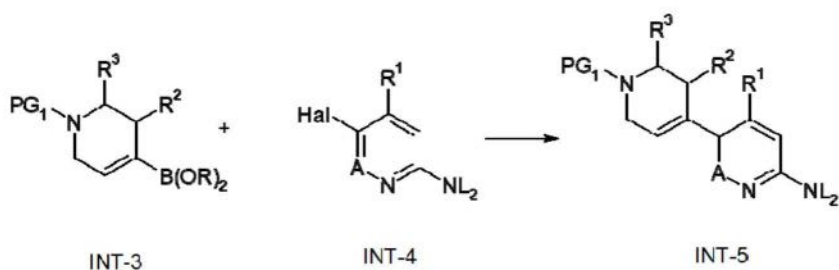
[0234] 根据本发明的化合物和它们的中间体可以使用本领域技术人员已知并且在有机合成文献中描述的合成方法获得。优选地化合物类似地通过在下文中更加详细解释(特别是如在实验部分中所述)的制备方法获得。在一些情况下,进行反应方案所采用的顺序可以变化。也可以使用本领域技术人员已知但是未在这里详细描述的这些反应的变体。通过研究以下的方案,用于制备根据本发明的化合物的通用方法对于本领域技术人员而言将变得显而易见。起始化合物是可商购的,或可以通过文献或本文中描述的方法制备或可以以类似或相似方式制备。在进行反应之前,可以使用常规保护基团保护起始化合物中的任何官能团。这些保护基团可以在反应顺序内的合适阶段使用技术人员熟悉且描述于文献中(例如描述于“Protecting Groups”,第3版,Philip J.Kocienski,Thieme,2005和“Protective Groups in Organic Synthesis”,第4版,Peter G.M.Wuts,Theodora W.Greene,John Wiley&Sons,2006中)的方法再次裂解。

[0235] 如方案1中所描绘的,本发明的通式(I)的化合物可以通过以下方式制备:使式INT-1的合适羧酸(作为游离酸或作为与合适的金属阳离子(诸如Li⁺、Na⁺、K⁺等)的盐)和通式INT-2的合适胺中间体(作为游离胺或作为诸如盐酸盐、氢溴酸盐等的盐)在合适的溶剂(例如,N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、1-甲基-2-吡咯烷酮、二氯甲烷、四氢呋喃、1,4-二噁烷等)中在合适的偶联剂(例如,0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(HATU)、0-(苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基-脲六氟硼酸盐(TBTU)、(苯并三唑-1-基氧基)三吡咯烷-磷六氟磷酸盐(PyBOP)、碳二亚胺试剂等)和碱(例如,三甲胺、N,N-二异丙基-乙胺、吡啶等)的存在下反应以形成酰胺键。方案1中的基团/术语R¹至R⁵、

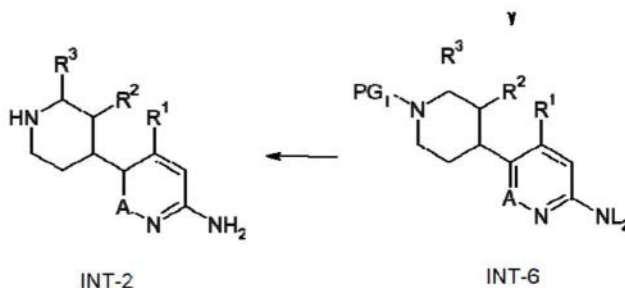
团。优选在溶剂(诸如二氯甲烷、1,4-二噁烷、异丙醇、在1,4-二噁烷中的HCl或乙酸乙酯等)中在酸性条件下用例如三氟乙酸或盐酸裂解叔丁基羰基(诸如Boc保护基团)。可以通过在过渡金属(诸如碳载钯)的存在下使用氢气去除苄基。也可以在酸性条件(例如,用三氟乙酸或盐酸)下去除在芳族环上带有供电子基团(诸如甲氧基)的苄基。可以通过盐酸羟胺和三甲胺在适当的溶剂(如乙醇和水的混合物)中在升高的温度(优选80°C至100°C)下将2,5-二甲基吡咯环裂解以释放氨基官能团。

[0243] 可以用适当的保护基团PG₁(例如,叔丁基-氧基羰基(Boc)、苄基-氧基羰基(Cbz)、苄基(Bn)等)保护中间体INT-3的哌啶环的氮原子。保护基团PG₁可以通过本领域技术人员已知的方法引入。如方案2所示的从INT-6中去除保护基团PG₁产生INT-2可以通过本领域技术人员已知的方法或如上文和下文所述的方法进行。优选地,可以在溶剂(诸如二氯甲烷、1,4-二噁烷、异丙醇、在1,4-二噁烷中的HCl或乙酸乙酯等)中在酸性条件下用例如三氟乙酸或盐酸裂解叔丁基羰基(诸如Boc保护基团)。方案2中的基团/术语R¹至R³和A具有如上文和下文所定义的含义。

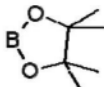
[0244] 方案2:



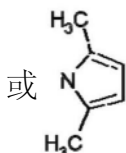
[0245]



[0246] Hal = Cl、Br、I

[0247] B(OR)₂ = B(OH)₂ 或 

[0248] NL₂ = NH₂或经保护或经掩蔽的NH₂, 诸如NH-Bn或NH-DMB (DMB = 2,4-二甲氧基苄基)



[0249] PG₁ = Boc、Cbz或苄基

[0250] 方案2中的中间体INT-3的四氢吡啶部分中双键的位置可以取决于导致INT-3形成的反应条件和/或INT-3的确切取代模式。为了简单起见,INT-3可以在上文和下文如方案

将INT-2的立体异构体的混合物分离为通式立体化学纯的INT-2化合物。可替代地,可以将INT-2的立体异构体的混合物用于下一步骤,如方案1所示。

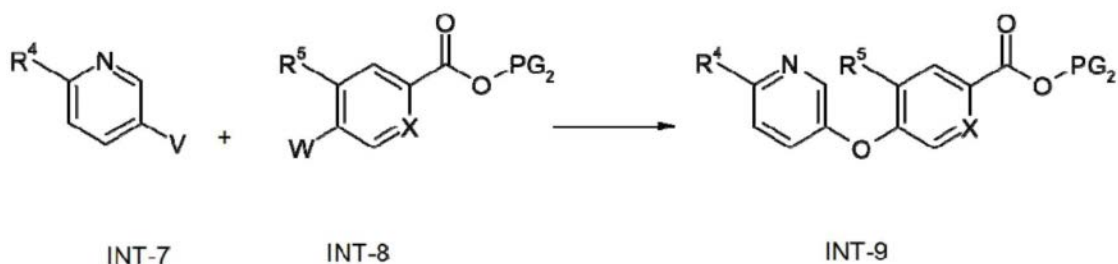
[0262] 根据反应条件和总体脱保护策略(从INT-6中去除保护基团PG1并且将 NL_2 转化为 NH_2),可以在方案2中获得呈游离碱或盐(诸如盐酸盐、三氟乙酸盐、氢溴酸盐等)的中间体INT-2。可以通过本领域技术人员已知的标准程序将中间体INT-2的盐转化为其中性对应物。

[0263] 如方案5中所示,可以从多种前体开始经由氧将中间体INT-7与INT-8附接。可以使用以下方式将两个部分(INT-7、和INT-8的芳族/杂芳族部分)连接:将所述两个部分中一个用羟基修饰(V或W表示OH)并且将另一个用硼酸衍生物修饰(例如,W或V表示 $B(OH)_2$ 、 $B(OCMe_2CMe_2O)$ 等)。相应配备的两个结构单元INT-7和INT-8可以在 $0^\circ C$ 至 $60^\circ C$ 下在溶剂(例如,二氯甲烷)中在碱(例如,吡啶或三甲胺)、分子筛、任选地助氧化剂(例如,氧气)的存在下使用铜(乙酸盐)偶联。方案5中的基团/术语V、W、X、 PG_2 、 R^4 至 R^5 具有如上文和下文所定义的含义。

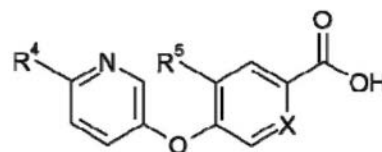
[0264] 可替代地,INT-7与INT-8之间经由氧的连接是在使带有OH基团($V=OH$)的INT-7与带有离去基团($W=$ 例如F、Cl、Br)的INT-8的吡啶部分偶联后进行的。INT-7的OH基团的氧通过亲核取代或过渡金属催化的反应替代离去基团。在 $0^\circ C$ 至 $220^\circ C$ 下优选在溶剂(例如,甲苯、四氢呋喃、1,2-二甲氧基乙烷、1,4-二噁烷、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、N-甲基吡咯烷酮、醇、水或其混合物)中在碱(例如, CS_2CO_3 、 K_2CO_3 、KOH、三甲胺或NaH)的存在下将INT-8与羟基化的INT-7偶联。

[0265] 如方案5所示,优选通过水解或氢解(取决于保护基团PG2的性质)从通式INT-9的相应酯制备式INT-1的羧酸,其中基团/术语X、 R^4 至 R^5 具有如上文和下文中所定义的含义。可以在酸(诸如盐酸或硫酸)或碱金属氢氧化物(诸如氢氧化锂、氢氧化钠或氢氧化钾)的存在下水解INT-9的酯基团,以产生羧酸。水解优选在 $0^\circ C$ 至 $120^\circ C$ 下在水性溶剂(诸如水与四氢呋喃、1,4-二噁烷、醇(例如,甲醇、乙醇和异丙醇)或二甲基亚砜的组合)中进行。如果INT-9的保护基团PG2代表低级烷基酯(诸如乙酯或甲酯),则优选通过在加热(如有必要)的情况下在水和合适的混溶性溶剂(例如,四氢呋喃、甲醇、乙醇、1,4-二噁烷等或这些的混合物)中用氢氧化物碱(诸如NaOH、LiOH或KOH)水解来裂解这些保护基团。优选通过在合适的溶剂(例如,二氯甲烷、1,4-二噁烷、甲醇、乙醇、四氢呋喃、水或这些的混合物)中在酸性条件(例如,盐酸或三氟乙酸)下处理来裂解叔丁酯。优选在氢气气氛(优选1至5巴)下在合适的溶剂(例如,乙醇、甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、乙酸乙酯)中在过渡金属(优选例如碳载钯等)的存在下使用氢气裂解苄酯。苯环上带有供电子基团(诸如甲氧基)的苄酯也可以在氧化条件下去除,例如硝酸铈铵(CAN)或2,3-二氯-5,6-二氰基醌(DDQ)是常用于此方法的试剂。根据反应条件,方案5中的酸INT-1可以作为与金属阳离子的盐或作为游离酸(取决于反应条件)分离。

[0266] 方案5:



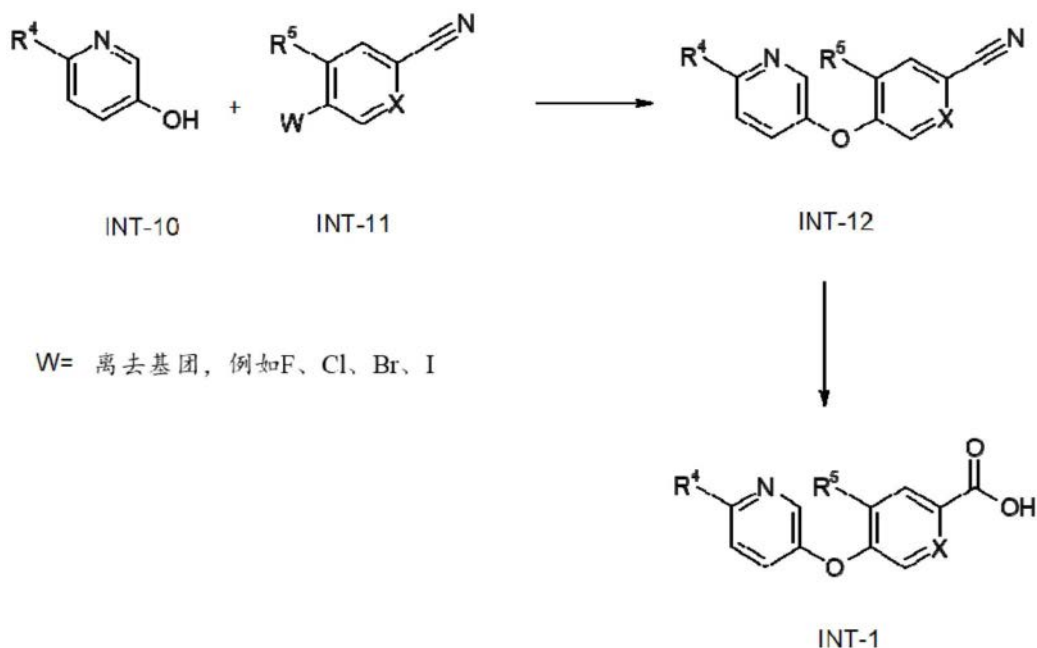
[0267]

V= 例如 OH, B(OH)₂, B(OCMe₂CMe₂O), Cl, Br, IW= 例如 OH, B(OH)₂, B(OCMe₂CMe₂O), F, Cl, Br, IPG₂ = 甲基、乙基、叔丁基、苄基

INT-1

[0268] 可以根据方案6合成式INT-1的羧酸,其中基团/术语X、R⁴至R⁵具有如上文和下文所定义的含义。使带有OH基团的杂芳基部分INT-10与带有离去基团(W=例如F、Cl、Br)的INT-11偶联后,可以合成中间体INT-12。INT-10的OH基团的氧通过亲核取代或过渡金属催化的反应替代离去基团以提供INT-12。在0℃至220℃下优选在溶剂(例如,甲苯、四氢呋喃、1,2-二甲氧基乙烷、1,4-二噁烷、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲亚砜、醇、水或其混合物)中在碱(例如,Cs₂CO₃、K₂CO₃、KOH、三甲胺或NaH)的存在下使INT-10与INT-11偶联。可以根据本领域技术人员已知的方法将INT-12的氰基转化为相应的羧基,得到通式INT-1的酸。优选地,在升高的温度下(在20℃至120℃下)在溶剂(诸如水、甲醇、乙醇或其混合物)中将INT-12的氰基用氢氧化钠处理以得到相应的羧酸INT-1。基团/术语W、X和R⁴至R⁵具有如上文和下文所定义或如方案6中所定义的含义。

[0269] 方案6:



[0271] 所呈现的合成路径可以取决于保护基团的使用。例如, 存在的潜在反应性基团 (诸如羟基、羰基、羧基、氨基、烷基氨基或亚氨基) 可在反应期间经常规保护基团保护, 所述保护基团在反应后会再次裂解。用于相应的官能团和它们的去除的合适保护基团是本领域技术人员熟知的, 并且在有机合成的文献中进行了描述。

[0272] 为了获得通式I的化合物, 可以将立体化学混合物拆分成其对映异构体和/或非对映异构体, 如下文所述。因此, 例如, 可以将顺式/反式混合物拆分成它们的顺式和反式异构体, 并且可以将外消旋化合物分离成它们的对映异构体。

[0273] 可以例如通过色谱法将顺式/反式混合物拆分成其顺式和反式异构体。作为外消旋物出现的通式I的化合物可以通过本身已知的方法分离成其旋光对映异构体并且通式I的化合物的非对映异构混合物可以通过利用其不同的物理-化学特性使用本身已知的方法 (例如, 色谱法和/或分级结晶) 拆分成其非对映异构体; 若其后所获得的化合物是外消旋物, 则可以将其拆分成对映异构体, 如以下所述。

[0274] 外消旋体优选地通过在手性相上的柱色谱法或通过从光学活性溶剂中结晶或通过光学活性物质 (其与外消旋化合物形成盐或衍生物 (诸如酯或酰胺)) 的反应来进行拆分。对于碱性化合物, 可以与对映异构体纯的酸形成盐, 并且对于酸性化合物, 可以与对映异构体纯的碱形成盐。

[0275] 与对映异构体纯的辅助化合物 (例如, 酸及其活化衍生物或醇) 形成非对映异构体衍生物。通过利用它们不同的物理化学特性, 例如溶解度差异, 可以实现对如此获得的盐或衍生物的非对映异构体混合物的分离; 通过合适的试剂的作用, 游离对映异构体可以从纯的非对映异构体盐或衍生物中释放出来。通常用于这样的目的的光学活性酸以及可用作辅助残基的光学活性醇是本领域技术人员已知的。

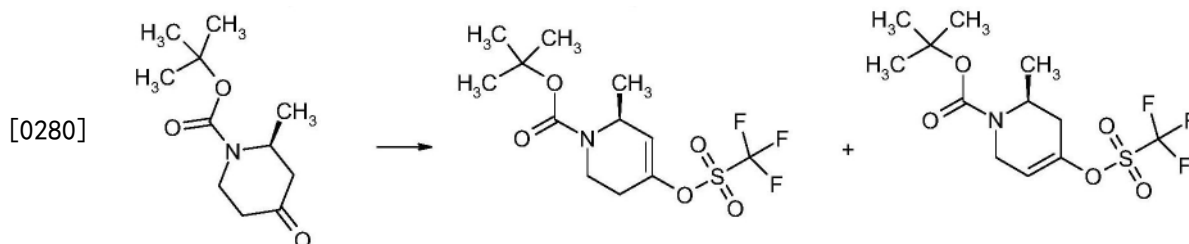
[0276] 合成实施例

[0277] 中间体的合成

[0278] 中间体1.1

[0279] (6S)-6-甲基-4-(三氟甲烷磺酰基氧基)-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯和

(2S)-2-甲基-4-(三氟甲烷磺酰基氧基)-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯

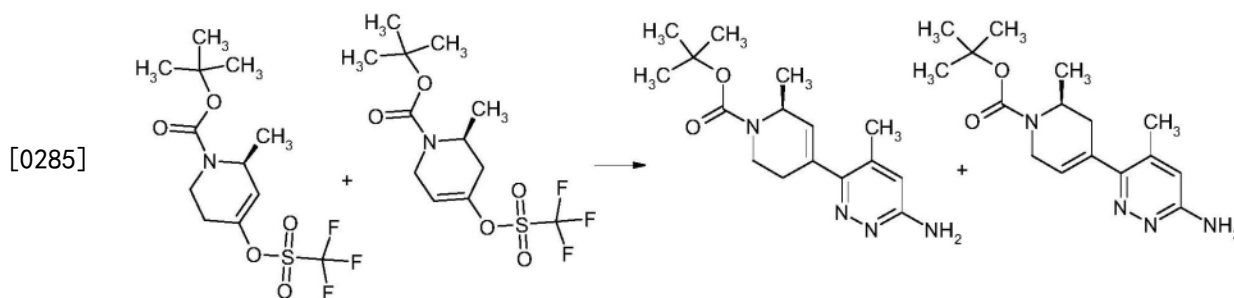


[0281] 在氩气氛下进行反应。将在THF (50mL) 中的 (2S)-2-甲基-4-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯 (3.00g; 14.07mmol) 冷却至 -70℃。逐滴添加LiHMDS (在THF中1mol/L; 19.69mL; 19.69mmol)。在-70℃下搅拌1小时后,添加1,1,1-三氟-N-苯基-N-三氟甲烷磺酰基甲烷磺酰胺 (6.03g; 16.88mmol)。允许将反应混合物在-70℃下搅拌30分钟并且在0℃下搅拌3小时。将反应混合物用DCM稀释并且用NaOH (1mol/L; 水溶液) 洗涤。将有机层经Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物不经进一步纯化使用。

[0282] 产率:5.0g (定量)

[0283] 中间体1.2

[0284] (6S)-4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-6-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯和(2S)-4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-2-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯

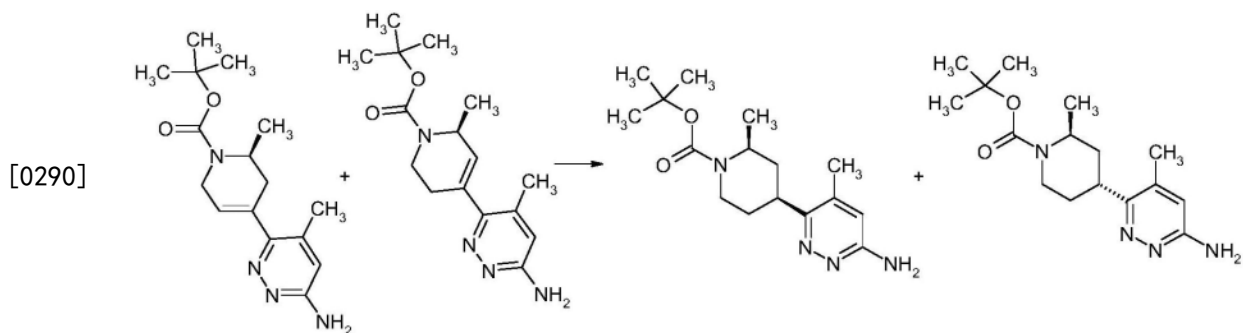


[0286] 将(6S)-6-甲基-4-(三氟甲烷磺酰基氧基)-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯和(2S)-2-甲基-4-(三氟甲烷磺酰基氧基)-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯 (4.00g; 11.58mmol)、4,4,5,5-四甲基-2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-1,3,2-二氧杂环戊硼烷 (3.36g; 13.24mmol)、Xphos (0.55g; 1.16mmol)、第2代Xphos Pd催化剂 (0.46g; 0.58mmol) 和乙酸钾 (3.87g; 39.38mmol) 在EtOH (75mL) 中的混合物用氩气吹扫并且在90℃下搅拌1.5小时。添加6-氯-5-甲基哒嗪-3-胺 (1.66g; 11.58mmol) 和碳酸钠 (2mol/L; 水溶液; 20.85mL; 41.70mmol) 并且将反应混合物在回流下搅拌4小时。将反应混合物在减压下浓缩。将残余物吸收在水中并且用EtOAc萃取几次。将合并的有机层用水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物吸收在MeOH中,过滤并且在减压下浓缩。将剩余的残余物通过硅胶色谱法 (DCM/MeOH) 纯化。

[0287] 产率:1.8g (51%) R_t (HPLC): 0.83min (方法1)

[0288] 中间体1.3和中间体1.4

[0289] (2S,4S)-4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-2-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯和(2S,4R)-4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-2-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯



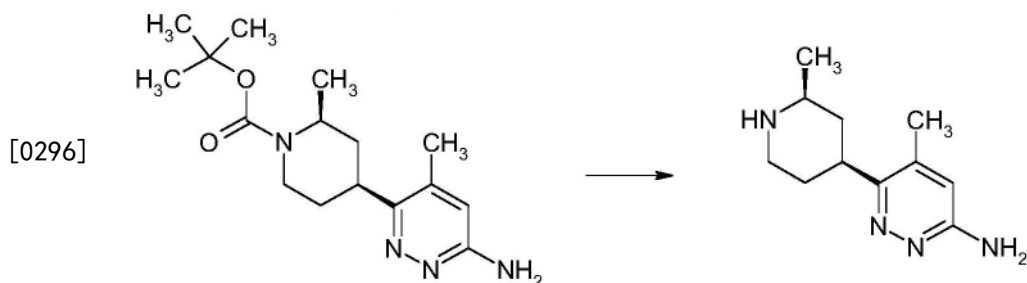
[0291] 在氢气气氛(Parr装置;3巴)下,将(6S)-4-(6-氨基-4-甲基咪唑-3-基)-6-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯和(2S)-4-(6-氨基-4-甲基咪唑-3-基)-2-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯(1.8g,5.91mmol)和Pd/C(10%;0.25g)在MeOH(30mL)中的混合物在室温下搅拌23小时。添加另外的催化剂并且在3巴的氢气气氛下在室温下氢化另外的21h。通过过滤去除催化剂后,将母液在减压下浓缩并且通过硅胶色谱法(DCM/MeOH)纯化以获得非对映异构体的混合物。将非对映异构体通过手性HPLC(Chiralpak® IG 20x 250mm,5 μM;scCO₂/MeOH+20mM NH₃ 75%/25%,150巴,40°C,60mL/min)分离。

[0292] 中间体1.3:(2S,4S)-4-(6-氨基-4-甲基咪唑-3-基)-2-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯:产率:0.46g(25%)ESI-MS:m/z=307[M+H]⁺R_t(HPLC):2.99min(方法T)

[0293] 中间体1.4:(2S,4R)-4-(6-氨基-4-甲基咪唑-3-基)-2-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯:产率:0.66g(36%)ESI-MS:m/z=307[M+H]⁺R_t(HPLC):4.10min(方法T)

[0294] 中间体1.5

[0295] 5-甲基-6-[(2S,4S)-2-甲基哌啶-4-基]咪唑-3-胺

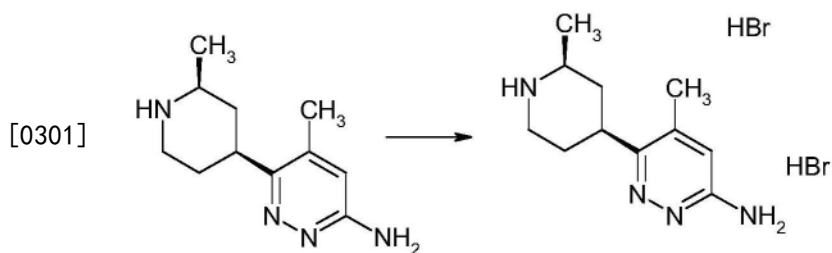


[0297] 将(2S,4S)-4-(6-氨基-4-甲基咪唑-3-基)-2-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯(0.45g;1.47mmol)和TFA(20%;在DCM中的溶液;10.0mL)在室温下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩并且通过RP-HPLC(ACN/水/NH₄OH,柱:xbridge)纯化。将残余物吸收在乙醚中并且在减压下浓缩。

[0298] 产率:0.30g(99%)ESI-MS:m/z=207[M+H]⁺R_t(HPLC):0.68min(方法3)

[0299] 中间体1.6

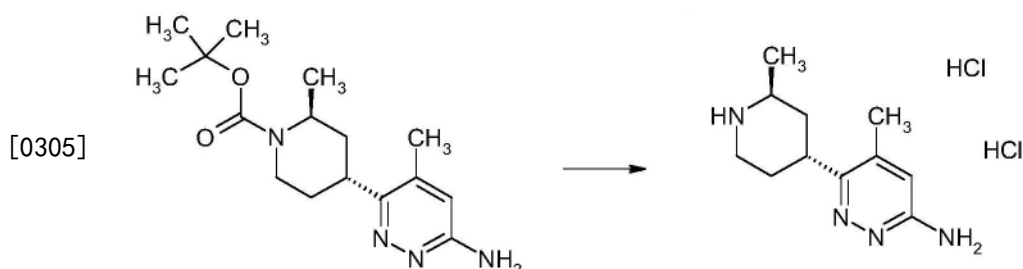
[0300] 5-甲基-6-[(2S,4S)-2-甲基哌啶-4-基]咪唑-3-胺二氢溴酸盐



[0302] 在小瓶中,将5-甲基-6-[(2S,4S)-2-甲基哌啶-4-基]咪唑-3-胺(35mg,0.17mmol)用MeOH(280 μ L)吸收并且添加HBr(在水中的48%,38 μ L,0.34mmol)。将小瓶关闭并且将反应混合物在50 $^{\circ}$ C下搅拌1h。停止搅拌并且将反应混合物用0.4 $^{\circ}$ C/min冷却至室温。将反应混合物在不搅拌的情况下在室温下放置过夜。将反应混合物在不搅拌的情况下用0.4 $^{\circ}$ C/min加热至50 $^{\circ}$ C并且用0.4 $^{\circ}$ C/min冷却至25 $^{\circ}$ C两次并且在不搅拌的情况下在室温下静置5天。通过X射线晶体学分析形成的晶体以确定绝对立体化学。

[0303] 中间体1.7

[0304] 5-甲基-6-[(2S,4R)-2-甲基哌啶-4-基]咪唑-3-胺二盐酸盐

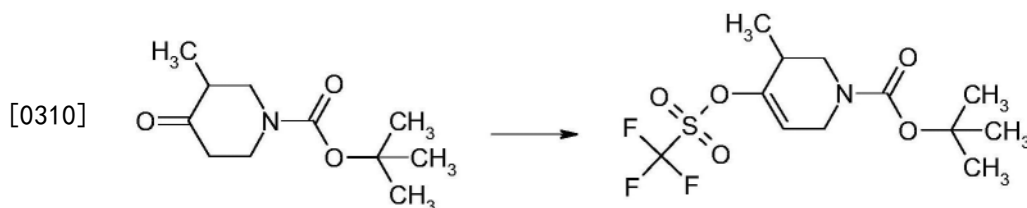


[0306] 将(2S,4R)-4-((6-氨基-4-甲基咪唑-3-基)-2-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯(1.20g; 3.92mmol)和TFA(20%;在DCM中的溶液;20.0mL)在室温下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩并且通过RP-HPLC(ACN/水/ NH_4OH ,柱:xbridge)纯化。将残余物吸收在HCl(1.25mol/L;在MeOH中的溶液)中并且在减压下浓缩。

[0307] 产率:0.80g(73%)ESI-MS: $m/z=207$ [M+H] $^+$ R_t (HPLC):0.69min(方法3)

[0308] 中间体2.1

[0309] 3-甲基-4-(三氟甲烷磺酰基氧基)-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯

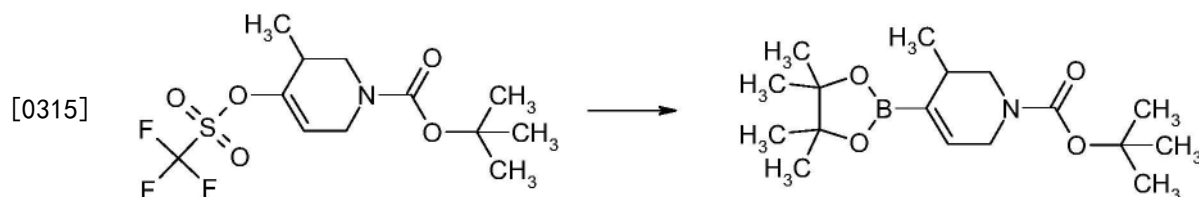


[0311] 将反应在氩气气氛下进行。将在THF(170mL)中的3-甲基-4-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯(10.0g;46.9mmol)冷却至-70 $^{\circ}$ C。逐滴添加LiHMDS(1mol/L;在THF中的溶液;65.6mL;65.6mmol)。在-70 $^{\circ}$ C下搅拌1小时后,逐滴添加在THF(50mL)中的1,1,1-三氟-N-苯基-N-三氟甲烷磺酰基甲烷磺酰胺(20.1g;56.3mmol)。将反应混合物在-70 $^{\circ}$ C下搅拌1小时并且在0 $^{\circ}$ C下搅拌3小时。在室温下搅拌过夜后,将反应混合物用水稀释并且用EtOAc萃取数次。将合并的有机层用 Na_2SO_4 干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物不经进一步纯化使用。

[0312] 产率:16g(99%)ESI-MS: $m/z=290$ [M+H-叔丁基] $^+$ R_t (HPLC):1.21min(方法3)

[0313] 中间体2.2

[0314] 3-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯

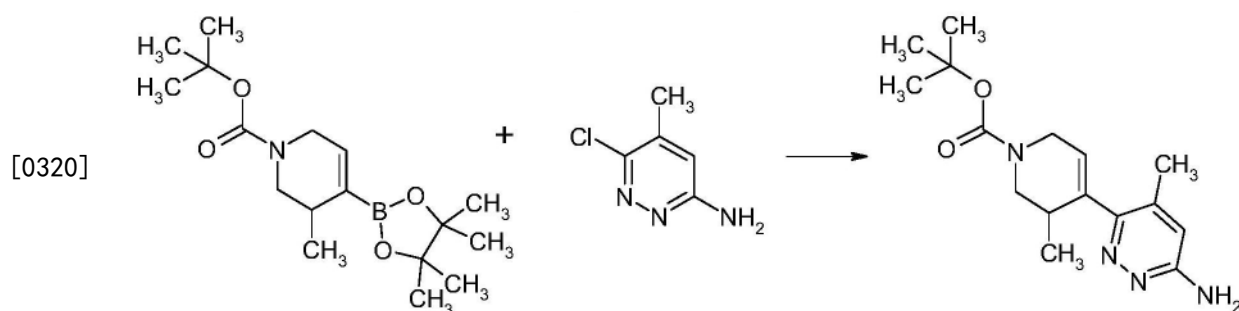


[0316] 在氩气气氛下进行反应。将3-甲基-4-(三氟甲烷磺酰基氧基)-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯(16.0g;46.3mmol)和4,4,5,5-四甲基-2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-1,3,2-二氧杂环戊硼烷(13.5g;52.9mmol)、乙酸钾(15.5g;157.5mmol)和Xphos(2.2g;4.6mmol)在EtOH(300mL)中搅拌。添加第2代Xphos钯催化剂(1.8g;2.3mmol)。在80℃下搅拌过夜后,将反应混合物在减压下浓缩。将残余物吸收在DCM中,过滤并且在减压下蒸发。将残余物不经进一步纯化使用。

[0317] 产率:15.0g(定量)ESI-MS:m/z=268[M+H-叔丁基]⁺R_t(HPLC):1.22min(方法3)

[0318] 中间体2.3

[0319] 4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-3-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯

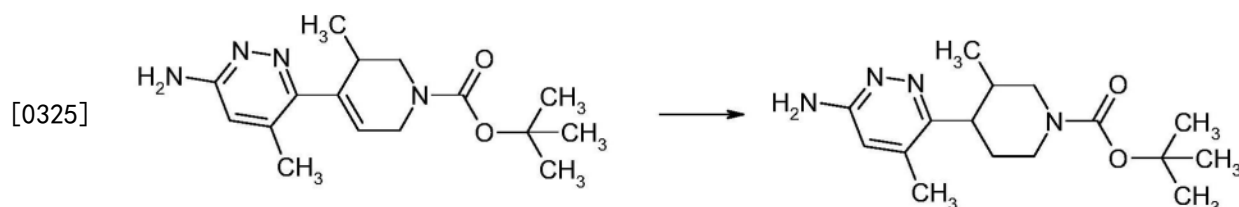


[0321] 在氩气气氛下进行反应。将3-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯(15.00g;46.41mmol)、6-氯-5-甲基哒嗪-3-胺(8.00g;55.69mmol)、磷酸钾(34.48g;162.42mmol)和钯(0)四(三苯基膦)(5.36g;4.64mmol)在1,4-二噁烷/水(300mL/50mL)中搅拌。在100℃下搅拌过夜后,将反应混合物过滤并且在减压下浓缩。将残余物吸收在EtOAc和水中。将水层用EtOAc萃取数次。将合并的有机层经Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(EtOAc/MeOH)纯化。

[0322] 产率:8.30g(59%)ESI-MS:m/z=305[M+H]⁺R_t(HPLC):0.90min(方法3)

[0323] 中间体2.4

[0324] 4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-3-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯



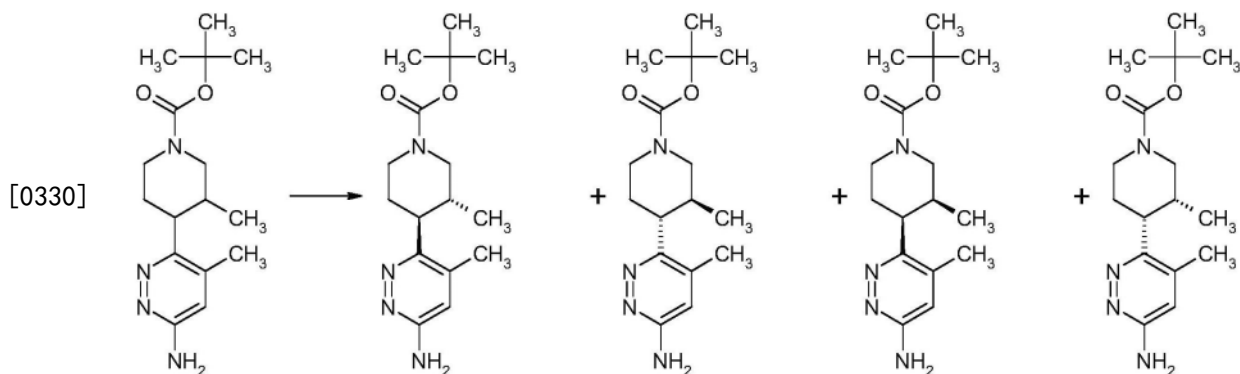
[0326] 在氢气气氛(Parr装置;50psi)下,将在MeOH(250mL)中的4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-3-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯(8.30g;27.27mmol)和Pd/C(10%;0.85g)在40℃下搅拌总共70小时。在19h、42h和67h后添加另外的催化剂并且进一步氢化。通过过

滤去除催化剂后,将母液在减压下浓缩。将残余物不经进一步纯化使用。

[0327] 产率:8.30g (99%) ESI-MS: $m/z=307 [M+H]^+R_t$ (HPLC):0.90min(方法3)

[0328] 中间体2.5至中间体2.8

[0329] (3R,4S)-4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-3-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯和(3S,4R)-4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-3-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯和(3S,4S)-4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-3-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯和(3R,4R)-4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-3-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯



[0331] 将4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-3-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯(8.40g;27.41mmol)通过手性RP-HPLC(Lux®Cellulose-4,21.2x 250mm,5 μ m;scCO₂/MeOH+20mM NH₃ 75%/25%,40°C,背压150巴,流速60mL/min,温度40°C)分离。通过NMR确定分离的异构体的相对立体化学,并且通过X射线确定中间体5.7和中间体5.8的绝对立体化学。

[0332] 中间体2.5:第一洗脱反式非对映异构体(3R,4S)-4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-3-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯:产率:0.52g (6%) ESI-MS: $m/z=307 [M+H]^+R_t$ (HPLC):3.63min(方法E)

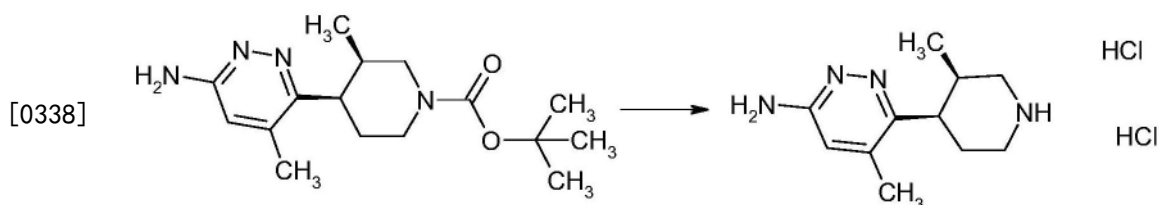
[0333] 中间体2.6:第二洗脱反式非对映异构体(3S,4R)-4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-3-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯:产率:0.55g (7%) ESI-MS: $m/z=307 [M+H]^+R_t$ (HPLC):4.01min(方法E)

[0334] 中间体2.7:第一洗脱顺式对映异构体:(3S,4S)-4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-3-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯:产率:2.35g (28%) ESI-MS: $m/z=307 [M+H]^+R_t$ (HPLC):4.66min(方法E)

[0335] 中间体2.8:第二洗脱顺式对映异构体:(3R,4R)-4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-3-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯:产率:2.38g (28%) ESI-MS: $m/z=307 [M+H]^+R_t$ (HPLC):6.23min(方法E)

[0336] 中间体2.9

[0337] 5-甲基-6-[(3R,4R)-3-甲基哌啶-4-基]哒嗪-3-胺二盐酸盐

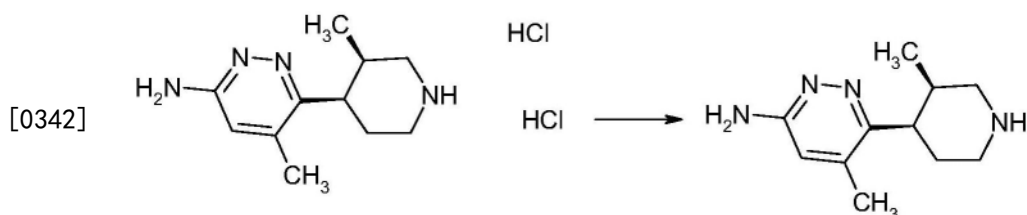


[0339] 将在DCM/MeOH(10mL/1mL)中的(3R,4R)-4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-3-甲基哌

啉-1-甲酸叔丁酯(中间体2.8, 2.10g; 6.85mmol)和HCl(4mol/L; 在1,4-二噁烷中的溶液; 3.00mL; 12.00mmol)在室温下搅拌1小时。将反应混合物在减压下浓缩。

[0340] 产率: 1.81g (95%) ESI-MS: $m/z = 207 [M+H]^+$ R_t (HPLC): 0.62min (方法3)

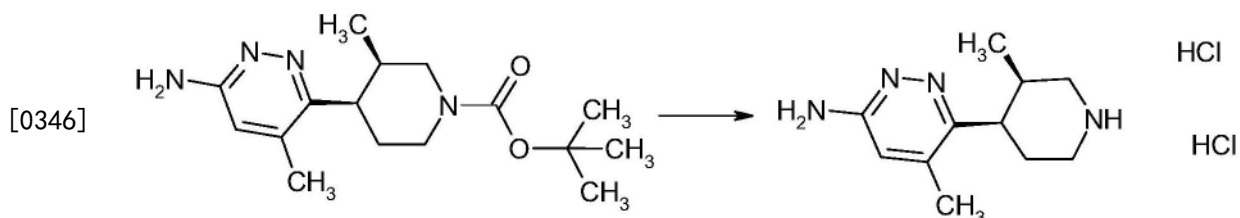
[0341] 5-甲基-6-[(3R,4R)-3-甲基哌啶-4-基]吡嗪-3-胺



[0343] 将5-甲基-6-[(3R,4R)-3-甲基哌啶-4-基]吡嗪-3-胺二盐酸盐(0.26g; 0.93mmol)溶解于MeOH中并且通过RP-HPLC(ACN/水+NH₃, 柱: XBridge)纯化数次。

[0344] 产率: 0.13g (68%) ESI-MS: $m/z = 207 [M+H]^+$

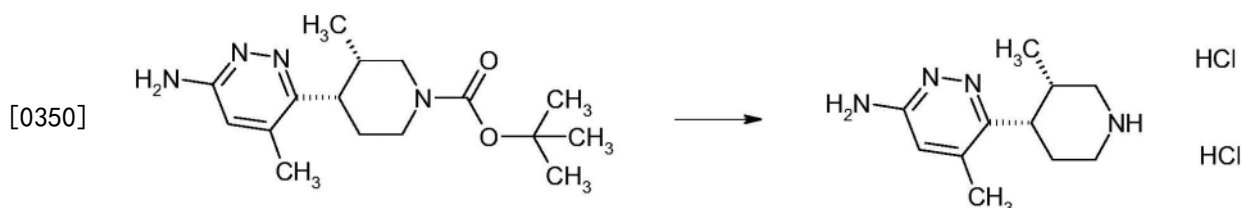
[0345] 5-甲基-6-[(3R,4R)-3-甲基哌啶-4-基]吡嗪-3-胺二盐酸盐



[0347] 在小瓶中, 将5-甲基-6-[(3R,4R)-3-甲基哌啶-4-基]吡嗪-3-胺(30.0mg; 0.15mmol)在MeOH(150μL)中搅拌并且添加HCl(4mol/L; 在1,4-二噁烷中的溶液; 73μL; 0.29mmol)。将小瓶封闭并且以5°C/min加热至50°C。将反应混合物在50°C下静置1h并且随后在不搅拌的情况下以1°C/min冷却至室温。将反应混合物在室温下静置25天。通过X射线晶体学分析形成的晶体以确定绝对立体化学。

[0348] 中间体2.10

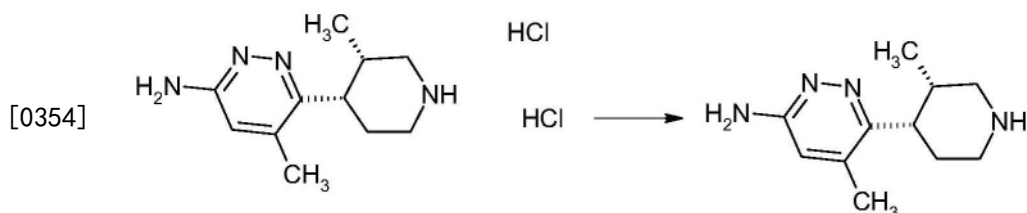
[0349] 5-甲基-6-[(3S,4S)-3-甲基哌啶-4-基]吡嗪-3-胺二盐酸盐



[0351] 将在DCM/MeOH(30mL/10mL)中的(3S,4S)-4-(6-氨基-4-甲基吡嗪-3-基)-3-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯(中间体2.7, 2.07g; 6.76mmol)和HCl(4mol/L; 在1,4-二噁烷中的溶液; 15.00mL; 60.00mmol)在室温下搅拌1小时。将反应混合物在减压下浓缩。

[0352] 产率: 定量 ESI-MS: $m/z = 207 [M+H]^+$ R_t (HPLC): 0.62min (方法3)

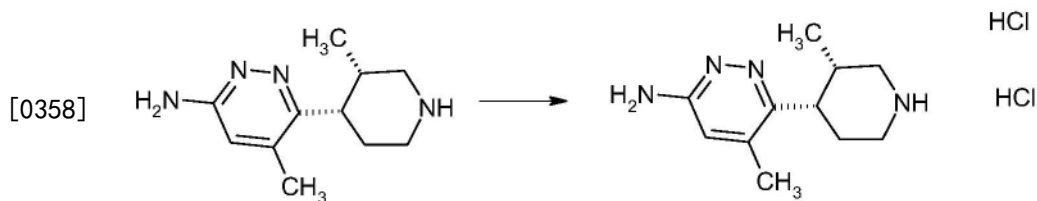
[0353] 5-甲基-6-[(3S,4S)-3-甲基哌啶-4-基]吡嗪-3-胺



[0355] 将5-甲基-6-[(3S,4S)-3-甲基哌啶-4-基]哒嗪-3-胺二盐酸盐(1.90g;6.81mmol)吸收在MeOH中并且使用NaOH(4mol/L;水溶液)设置为碱性pH。将反应混合物通过RP-HPLC(ACN/水+NH₃,柱:XBridge)纯化。

[0356] 产率:1.40g(100%)ESI-MS:m/z=207[M+H]⁺R_t(HPLC):0.62min(方法3)

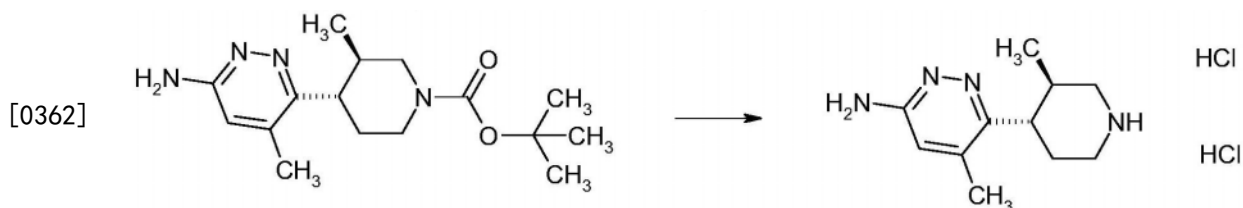
[0357] 5-甲基-6-[(3S,4S)-3-甲基哌啶-4-基]哒嗪-3-胺二盐酸盐



[0359] 在小瓶中,将5-甲基-6-[(3S,4S)-3-甲基哌啶-4-基]哒嗪-3-胺(30.0mg;0.15mmol)在MeOH(150μL)中搅拌并且添加HCl(4mol/L;在1,4-二噁烷中的溶液;73μL;0.29mmol)并且在室温下搅拌。将反应混合物以5°C/min加热至50°C。将反应混合物在50°C下搅拌90min并且随后在不搅拌的情况下以0.5°C/min冷却至室温。将反应混合物在不搅拌的情况下在室温下静置过夜。通过X射线晶体学分析形成的晶体以确定绝对立体化学。

[0360] 中间体2.11

[0361] 5-甲基-6-[(3R,4S)-3-甲基哌啶-4-基]哒嗪-3-胺二盐酸盐

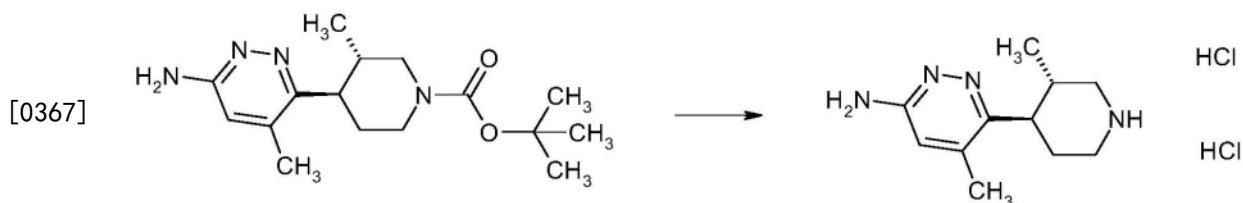


[0363] 来自中间体2.4的手性分离的第一洗脱反式非对映异构体(中间体2.5)。将在DCM/MeOH(5mL/1mL)中的((3R,4S)-4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-3-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯)(0.45g;1.47mmol)和HCl(4mol/L;在1,4-二噁烷中的溶液;1.50mL;6.00mmol)在室温下搅拌1小时。将反应混合物在减压下浓缩。

[0364] 产率:定量ESI-MS:m/z=207[M+H]⁺R_t(HPLC):0.66min(方法3)

[0365] 中间体2.12

[0366] 5-甲基-6-[(3S,4R)-3-甲基哌啶-4-基]哒嗪-3-胺二盐酸盐



[0368] 来自中间体2.4的手性分离的第二洗脱反式非对映异构体(中间体2.6)。将在DCM/MeOH(5mL/2mL)中的((3S,4R)-4-(6-氨基-4-甲基哒嗪-3-基)-3-甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯)(0.48g;1.58mmol)和HCl(4mol/L;在1,4-二噁烷中的溶液;1.50mL;6.00mmol)在室温下搅拌1小时。将反应混合物在减压下浓缩。

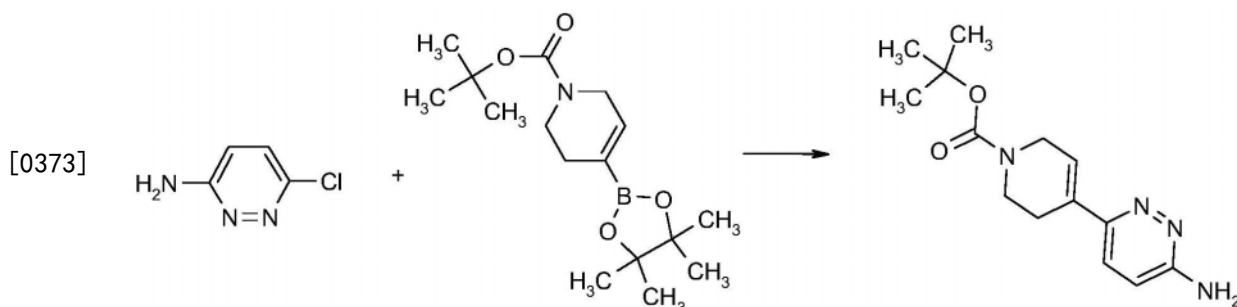
[0369] 产率:定量ESI-MS:m/z=207[M+H]⁺R_t(HPLC):0.66min(方法3)

[0370] 如针对中间体2.9所述的类似方案,将5-甲基-6-[(3S,4R)-3-甲基哌啶-4-基]哒

嗪-3-胺二盐酸盐通过RP-HPLC (ACN/水/ NH_3) 纯化以获得5-甲基-6-[(3S,4R)-3-甲基哌啶-4-基]哒嗪-3-胺。在小瓶中,将5-甲基-6-[(3S,4R)-3-甲基哌啶-4-基]哒嗪-3-胺(30.0mg; 0.15mmol)在MeOH(150 μ L)中搅拌并且添加HCl(4mol/L;在1,4-二噁烷中的溶液;73 μ L; 0.29mmol)。将小瓶密封并且将反应混合物加热至50 $^{\circ}\text{C}$ 。将反应混合物在50 $^{\circ}\text{C}$ 下静置90min。随后将盖打开并且将反应混合物在不搅拌的情况下在室温下静置过夜。通过X射线晶体学分析形成的晶体以确定绝对立体化学。

[0371] 中间体3.1

[0372] 4-(6-氨基哒嗪-3-基)-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯

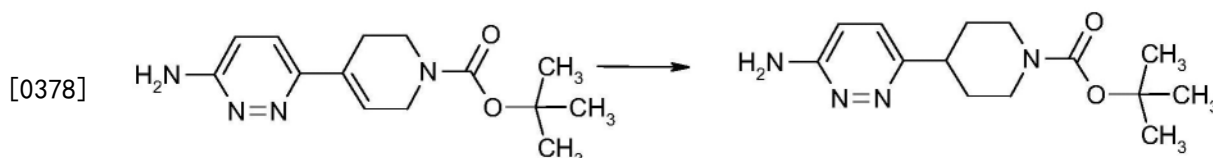


[0374] 使用氩气气氛进行反应。将在1,4-二噁烷(350mL)中的6-氯哒嗪-3-胺(5.20g; 40.14mmol)、4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯(13.65g; 44.15mmol)和碳酸钠(2mol/L;水溶液;80.28mL; 160.56mmol)用氩气吹扫。5分钟后,添加第2代Xphos Pd催化剂(0.95g; 1.20mmol)并且将反应混合物在100 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌过夜。将反应混合物过滤并且在减压下浓缩。将残余物吸收在MeOH中,用水沉淀并且过滤。将沉淀物在50 $^{\circ}\text{C}$ 下在干燥炉中干燥。将产物不经进一步纯化使用。

[0375] 产率:定量ESI-MS: $m/z=277[M+H]^+R_t$ (HPLC):0.78min(方法2)

[0376] 中间体3.2

[0377] 4-(6-氨基哒嗪-3-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯

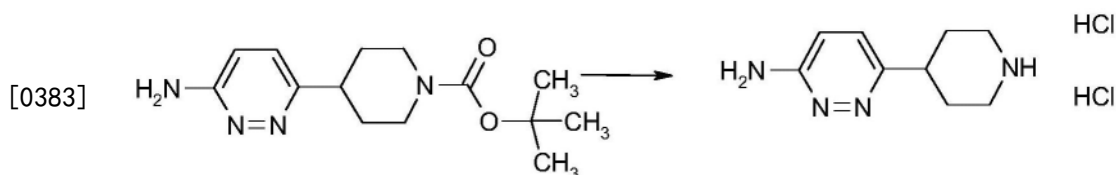


[0379] 在氢气气氛(Parr装置;50psi)下,将在MeOH(250mL)中的4-(6-氨基哒嗪-3-基)-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯(12.0g; 43.43mmol)和Pd/C(10%; 1.0g)在室温下搅拌20小时。通过过滤去除催化剂后,将母液在减压下浓缩。将产物通过硅胶色谱法(DCM/MeOH)纯化。

[0380] 产率:9.1g(75%)ESI-MS: $m/z=279[M+H]^+R_t$ (HPLC):0.86(方法3)

[0381] 中间体3.3

[0382] 6-(哌啶-4-基)哒嗪-3-胺二盐酸盐

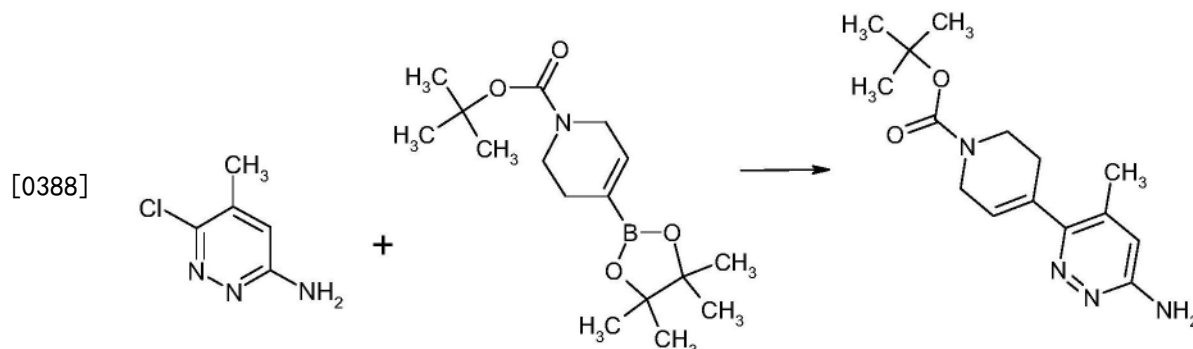


[0384] 将在ACN (6mL) 中的4-(6-氨基吡嗪-3-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(1.00g; 3.59mmol) 和HCl (4mol/L; 在1,4-二噁烷中的溶液; 2.96mL; 11.84mmol) 在40℃下搅拌2小时。将沉淀物过滤并且用乙酸异丙酯洗涤, 将固体材料干燥。

[0385] 产率: 0.35g (39%) ESI-MS: $m/z = 179 [M+H]^+$ (HPLC): 0.28min (方法3)

[0386] 中间体4.1

[0387] 4-(6-氨基-4-甲基吡嗪-3-基)-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯

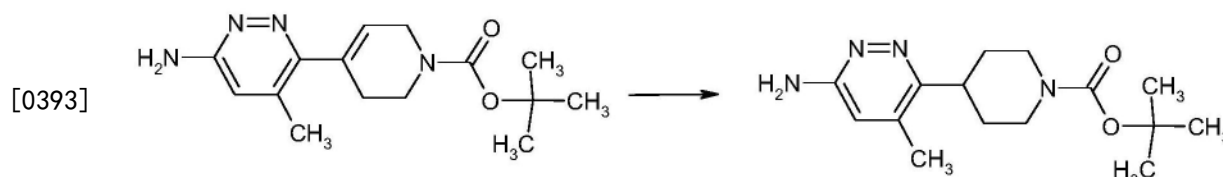


[0389] 使用氩气气氛进行反应。将在1,4-二噁烷 (150mL) 中的6-氯-5-甲基吡嗪-3-胺 (3.00g; 20.90mmol)、4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯 (7.11g; 22.98mmol) 和碳酸钠 (2mol/L; 水溶液; 41.79mL; 83.58mmol) 用氩气吹扫。添加第2代Xphos Pd催化剂 (0.49g; 0.63mmol) 并且将混合物在100℃下搅拌过夜。将有机溶剂蒸发并且添加水和EtOAc。将水层用EtOAc萃取数次。将合并的有机层用盐水洗涤。将有机层分离, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法 (DCM/MeOH) 纯化。

[0390] 产率: 5.20g (86%) ESI-MS: $m/z = 291 [M+H]^+$ (HPLC): 0.79min (方法2)

[0391] 中间体4.2

[0392] 4-(6-氨基-4-甲基吡嗪-3-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯

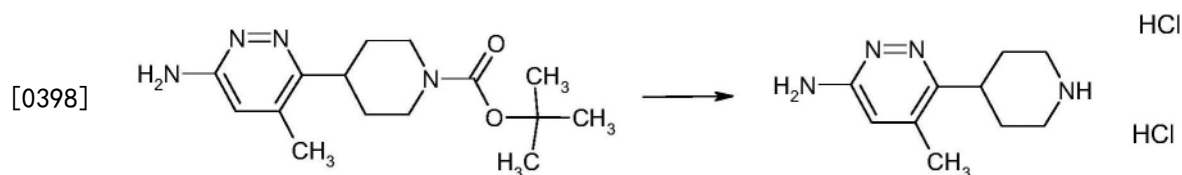


[0394] 在氢气气氛 (Parr装置; 50psi) 下, 将在MeOH (100mL) 中的4-(6-氨基-4-甲基吡嗪-3-基)-1,2,3,6-四氢吡啶-1-甲酸叔丁酯 (5.20g; 17.91mmol) 和Pd/C (10%; 0.75g) 在室温下搅拌17小时。通过过滤去除催化剂后, 将母液在减压下浓缩。将产物不经进一步纯化使用。

[0395] 产率: 5.00g (96%) ESI-MS: $m/z = 293 [M+H]^+$ (HPLC): 0.79 (方法2)

[0396] 中间体4.3

[0397] 5-甲基-6-(哌啶-4-基)吡嗪-3-胺双三氟乙酸盐



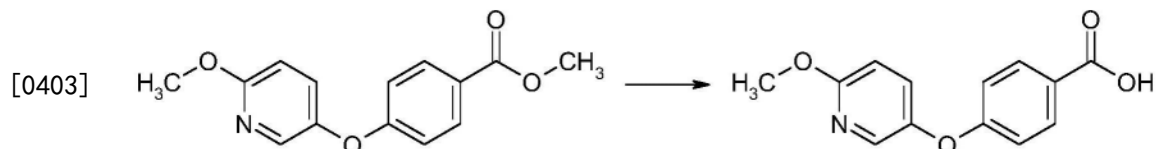
[0399] 将在1,4-二噁烷 (3.5mL) 中的4-(6-氨基-4-甲基吡嗪-3-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯

(0.5g; 1.71mmol) 和HCl (在1,4-二噁烷中的4mol/L溶液, 7.5mL, 30.0mmol) 在室温下搅拌过夜。将反应混合物在减压下浓缩并且与EtOAc一起研磨。将残余物收集并且干燥。

[0400] 产率: 0.46g (定量) ESI-MS: $m/z = 193 [M+H]^+$ R_t (HPLC): 0.61 (方法3)

[0401] 中间体5

[0402] 4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酸

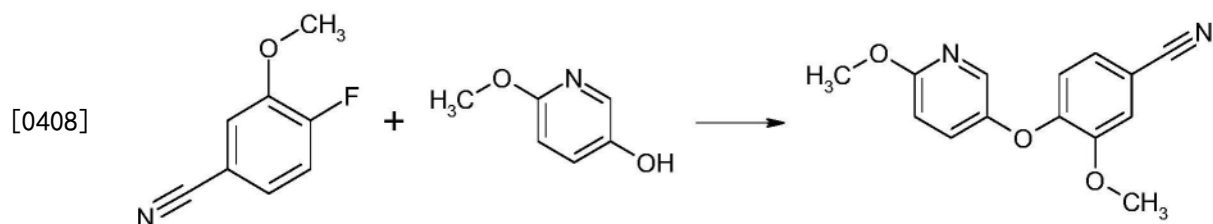


[0404] 将在MeOH (5mL) 中的4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酸甲酯 (0.27g; 1.06mmol) 和NaOH (4mol/L; 水溶液; 0.53mL; 2.11mmol) 在室温下搅拌过夜。反应未完成, 所以添加另外的NaOH (4mol/L; 水溶液; 0.30mL) 并且搅拌3小时。将反应混合物用水稀释并且使用HCl (4mol/L; 水溶液) 中和。将所得的沉淀物滤除并且在45°C下在干燥炉中干燥。

[0405] 产率: 0.26g (100%) ESI-MS: $m/z = 246 [M+H]^+$ R_t (HPLC): 0.59 (方法3)

[0406] 中间体6.1

[0407] 3-甲氧基-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苕腈

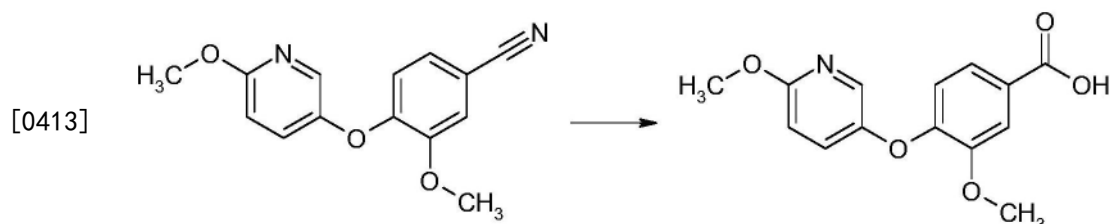


[0409] 将在DMF (10mL) 中的4-氟-3-甲氧基苕腈 (0.50g; 3.31mmol)、6-甲氧基吡啶-3-醇 (0.42g; 3.32mmol) 和碳酸钾 (0.92g; 6.62mmol) 在100°C下搅拌过夜。将反应混合物过滤并且将母液通过RP-HPLC (ACN/水+TFA, 柱: SunFire) 纯化。

[0410] 产率: 0.12g (14%) ESI-MS: $m/z = 257 [M+H]^+$ R_t (HPLC): 1.00 (方法1)

[0411] 中间体6.2

[0412] 3-甲氧基-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酸

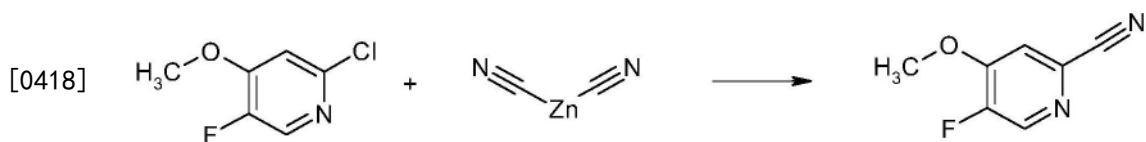


[0414] 将3-甲氧基-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苕腈 (0.12g; 0.47mmol) 和NaOH (1mol/L; 水溶液; 3.00mL; 3.00mmol) 在100°C下搅拌4小时。冷却至室温后, 将反应混合物用水稀释并且使用HCl (1mol/L; 水溶液) 酸化至约pH 2。将水层用EtOAc萃取数次。将合并的有机层用水洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并且在减压下浓缩。

[0415] 产率: 0.12g (93%) ESI-MS: $m/z = 276 [M+H]^+$ R_t (HPLC): 0.90 (方法1)

[0416] 中间体7.1

[0417] 5-氟-4-甲氧基吡啶-2-甲腈

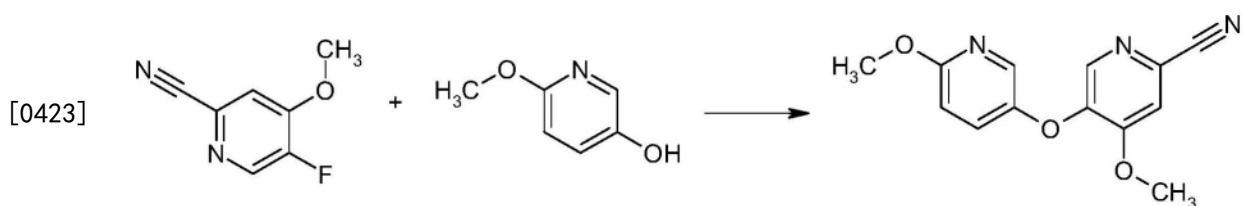


[0419] 在氮气气氛下进行反应。将在DMF (10mL) 中的2-氯-5-氟-4-甲氧基吡啶 (500.0mg; 3.10mmol)、氰化锌 (365.0mg; 3.11mmol) 和dppf (170.0mg; 0.31mmol) 用氮气吹扫。添加Pd₂(dba)₃ (280.0mg; 0.31mmol)。在150℃下搅拌3小时并且在室温下搅拌过夜后,将反应混合物倒在NaHCO₃ (水溶液; 半饱和的) 上并且用EtOAc萃取数次。将合并的有机层用水和NaHCO₃ 水溶液洗涤。将有机层经Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物用RP-HPLC (ACN/水+TFA, 柱:SunFire) 纯化。

[0420] 产率:120.0mg (26%) ESI-MS:m/z=153 [M+H]⁺R_t (HPLC):0.76min (方法1)

[0421] 中间体7.2

[0422] 4-甲氧基-5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-甲腈

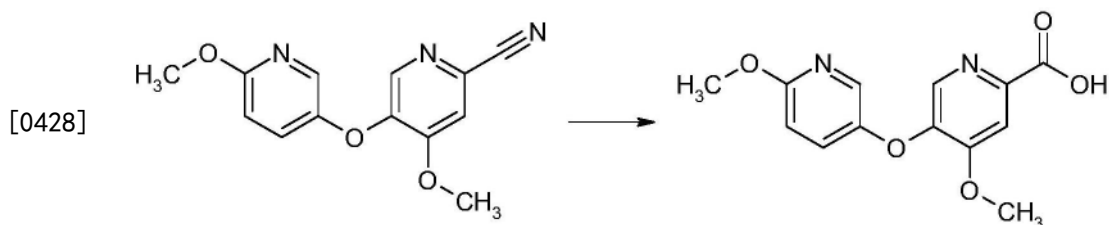


[0424] 将在DMF (10mL) 中的5-氟-4-甲氧基吡啶-2-甲腈 (0.50g; 3.29mmol)、6-甲氧基吡啶-3-醇 (0.42g; 3.32mmol) 和碳酸钾 (0.92g; 6.62mmol) 在100℃下搅拌过夜。将反应混合物过滤并且在减压下浓缩。将残余物不经进一步纯化使用。

[0425] 产率:定量 ESI-MS:m/z=258 [M+H]⁺R_t (HPLC):0.93 (方法1)

[0426] 中间体7.3

[0427] 4-甲氧基-5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-甲酸

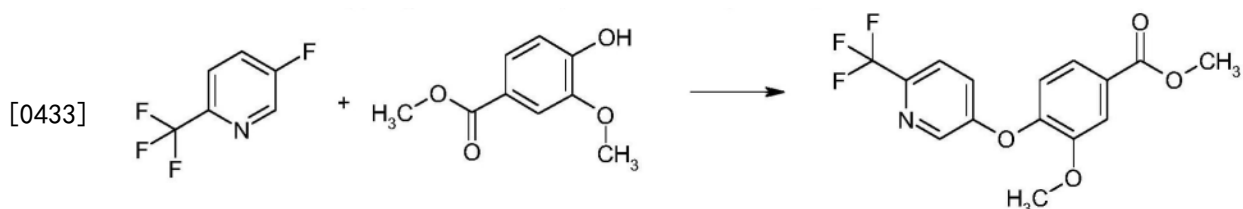


[0429] 将4-甲氧基-5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-甲腈 (0.85g; 3.30mmol) 和NaOH (4mol/L; 水溶液; 5.00mL; 20.00mmol) 在100℃下搅拌2.5小时。冷却至室温后,将反应混合物用水稀释并且使用HCl (1mol/L; 水溶液) 酸化至约pH 2。将水层用EtOAc萃取数次。将合并的有机层经Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩。

[0430] 产率:0.56g (61%) ESI-MS:m/z=277 [M+H]⁺R_t (HPLC):0.69 (方法1)

[0431] 中间体8.1

[0432] 3-甲氧基-4-[[6-(三氟甲基)吡啶-3-基]氧基]苯甲酸甲酯

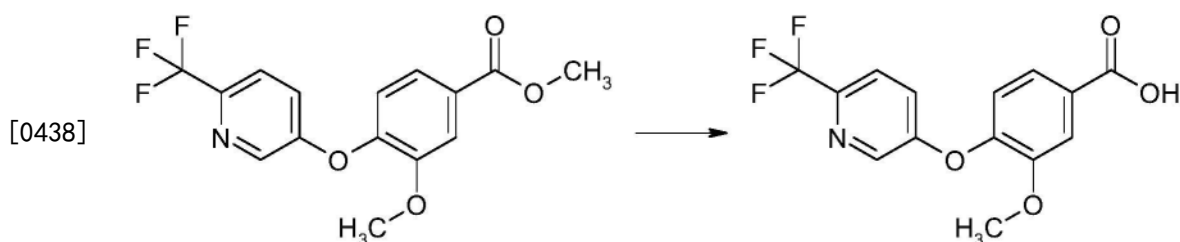


[0434] 将在DMF (5mL) 中的5-氟-2-(三氟甲基)吡啶 (0.15g; 0.91mmol)、4-羟基-3-甲氧基苯甲酸甲酯 (0.18g; 0.99mmol) 和碳酸钾 (0.38g; 2.75mmol) 在120℃下搅拌过夜。将反应混合物过滤并且将母液通过RP-HPLC (ACN/水+TFA, 柱SunFire) 纯化。

[0435] 产率: 0.21g (71%) ESI-MS: $m/z = 328 [M+H]^+$ R_t (HPLC): 1.10 (方法1)

[0436] 中间体8.2

[0437] 3-甲氧基-4-[[6-(三氟甲基)吡啶-3-基]氧基]苯甲酸

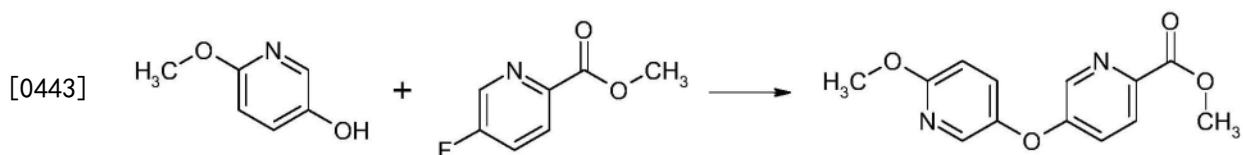


[0439] 将在MeOH (10mL) 中的3-甲氧基-4-[[6-(三氟甲基)吡啶-3-基]氧基]苯甲酸甲酯 (0.21g; 0.64mmol) 和NaOH (4mol/L; 水溶液; 1.00mL; 4.00mmol) 在室温下搅拌过夜。添加HCl (4mol/L; 水溶液; 1.00mL; 4.00mmol) 并且将反应混合物在减压下浓缩。将残余物吸收在MeOH中, 将不可溶材料滤除并且将母液在减压下浓缩。

[0440] 产率: 定量 ESI-MS: $m/z = 314 [M+H]^+$ R_t (HPLC): 0.99 (方法1)

[0441] 中间体9.1

[0442] 5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-甲酸甲酯

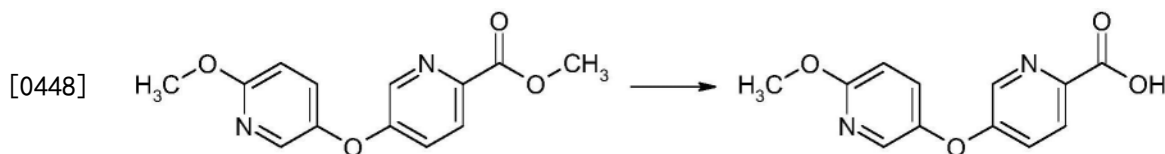


[0444] 将在DMF (5mL) 中的6-甲氧基吡啶-3-醇 (0.20g; 1.59mmol)、5-氟吡啶-2-甲酸甲酯 (0.25g; 1.61mmol) 和碳酸钾 (0.67g; 4.85mmol) 在120℃下搅拌过夜。将反应混合物过滤并且将母液通过RP-HPLC (ACN/水+TFA, 柱: SunFire) 纯化。

[0445] 产率: 0.14g (34%) ESI-MS: $m/z = 261 [M+H]^+$ R_t (HPLC): 0.88 (方法1)

[0446] 中间体9.2

[0447] 5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-甲酸



[0449] 将在MeOH (10mL) 中的5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-甲酸甲酯 (0.14g; 0.52mmol) 和NaOH (4mol/L; 水溶液; 0.70mL; 2.80mmol) 在室温下搅拌过夜。添加HCl (4mol/L;

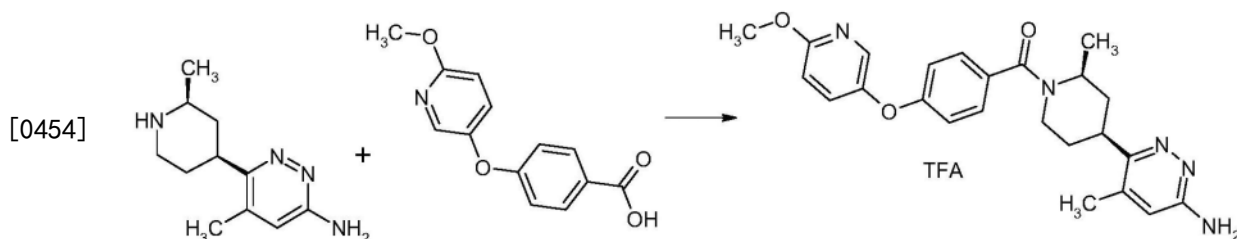
L;水溶液;0.70mL;2.80mmol)并且将反应混合物在减压下浓缩。将残余物吸收在MeOH中,将不可溶材料滤除并且将母液在减压下浓缩。

[0450] 产率:0.12g (94%) ESI-MS:m/z=247 [M+H]⁺R_t (HPLC):0.76 (方法1)

[0451] 化合物的合成

[0452] 实施例1

[0453] 6-[(2S,4S) -1- {4- [(6-甲氧基吡啶-3-基) 氧基] 苯甲酰基} -2-甲基哌啶-4-基]-5-甲基吡嗪-3-胺三氟乙酸盐

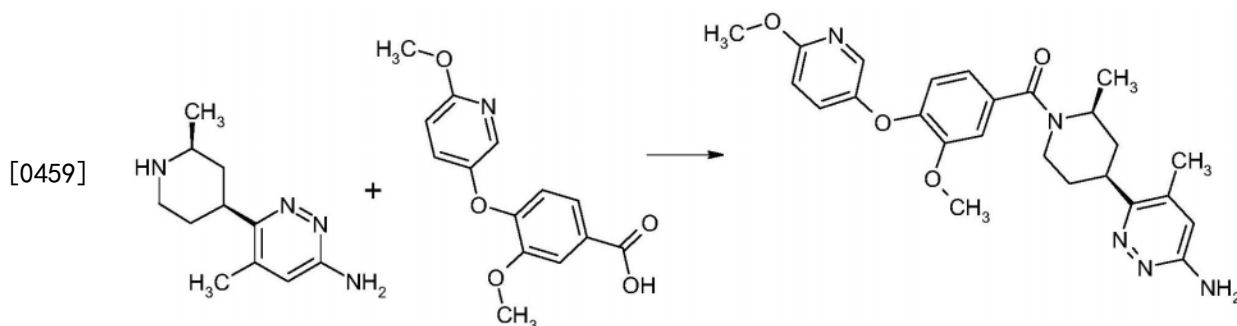


[0455] 将在DMF (2mL) 中的4- [(6-甲氧基吡啶-3-基) 氧基] 苯甲酸 (23.8mg;0.10mmol)、5-甲基-6- [(2S,4S) -2-甲基哌啶-4-基] 吡嗪-3-胺 (20.0mg;0.10mmol) 和DIPEA (68.4μL;0.40mmol) 在室温下搅拌,添加HATU (36.9mg;0.10mmol)。搅拌过夜后,将反应混合物通过RP-HPLC (ACN/水+TFA) 纯化。

[0456] 产率:33.8mg (64%) ESI-MS:m/z=434 [M+H]⁺R_t (HPLC):0.58 (方法11)

[0457] 实施例2

[0458] 6-[(2S,4S) -1- {3-甲氧基-4- [(6-甲氧基吡啶-3-基) 氧基] 苯甲酰基} -2-甲基哌啶-4-基]-5-甲基吡嗪-3-胺

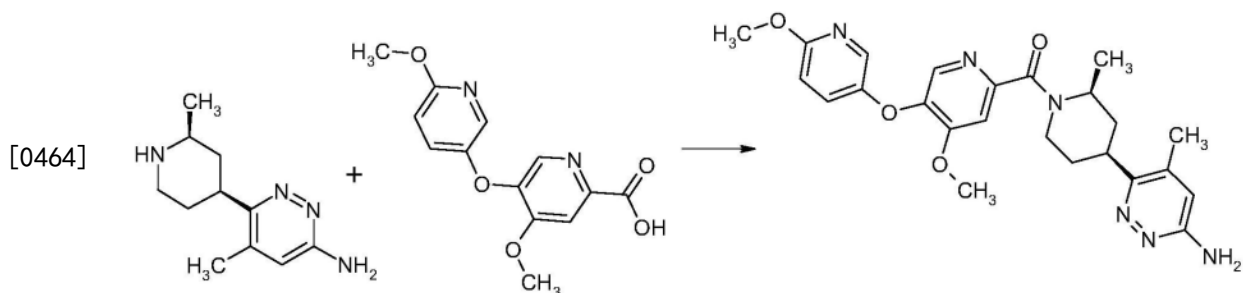


[0460] 将在DMF (2mL) 中的3-甲氧基-4- [(6-甲氧基吡啶-3-基) 氧基] 苯甲酸 (20.0mg;0.07mmol)、HATU (30.0mg;0.08mmol) 和DIPEA (60.0μL;0.35mmol) 在室温下搅拌30分钟。添加5-甲基-6- [(2S,4S) -2-甲基哌啶-4-基] 吡嗪-3-胺 (15.0mg;0.07mmol)。搅拌3小时后,将反应混合物通过RP-HPLC (ACN/水+NH₃) 纯化。

[0461] 产率:6.4mg (19%) ESI-MS:m/z=464 [M+H]⁺R_t (HPLC):0.81 (方法1)

[0462] 实施例3

[0463] 6-[(2S,4S) -1- {4-甲氧基-5- [(6-甲氧基吡啶-3-基) 氧基] 吡啶-2-羰基} -2-甲基哌啶-4-基]-5-甲基吡嗪-3-胺

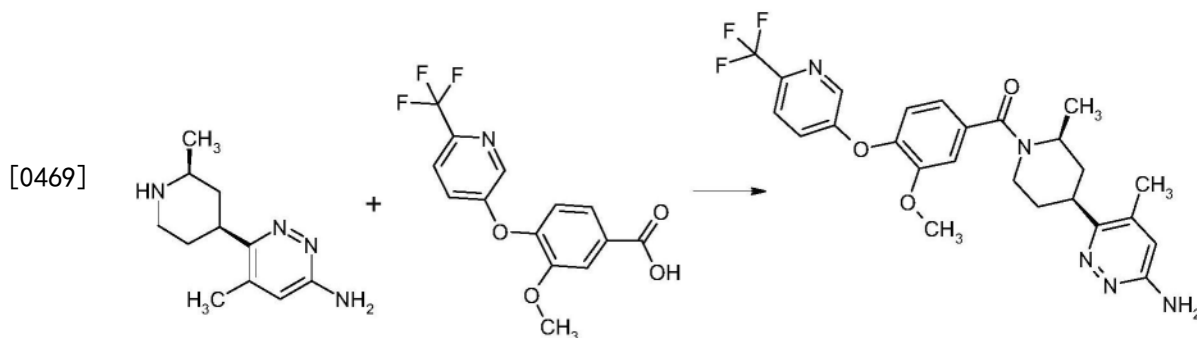


[0465] 将在DMF (2mL) 中的4-甲氧基-5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-甲酸 (20.0mg; 0.07mmol)、HATU (30.0mg; 0.08mmol) 和DIPEA (60.0 μ L; 0.35mmol) 在室温下搅拌30分钟。添加5-甲基-6-[(2S,4S)-2-甲基哌啶-4-基]哒嗪-3-胺 (15.0mg; 0.07mmol)。在室温下搅拌过夜后,将反应混合物通过RP-HPLC (ACN/水+NH₃) 纯化。

[0466] 产率: 2.0mg (6%) ESI-MS: m/z = 465 [M+H]⁺R_t (HPLC): 0.76 (方法1)

[0467] 实施例4

[0468] 6-[(2S,4S)-1-(3-甲氧基-4-[[6-(三氟甲基)吡啶-3-基]氧基]苯甲酰基)-2-甲基哌啶-4-基]-5-甲基哒嗪-3-胺

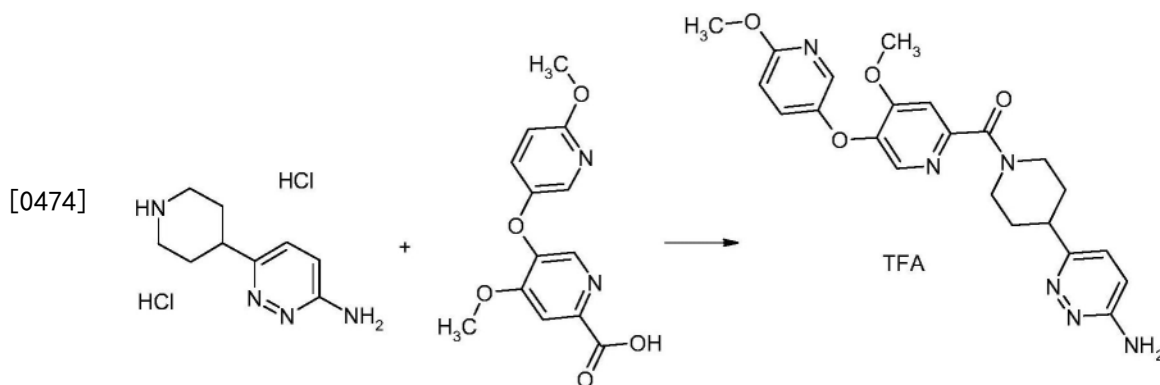


[0470] 将在DMF (2mL) 中的3-甲氧基-4-[[6-(三氟甲基)吡啶-3-基]氧基]苯甲酸 (20.0mg; 0.06mmol)、HATU (25.0mg; 0.07mmol) 和DIPEA (60.0 μ L; 0.35mmol) 在室温下搅拌30分钟。添加5-甲基-6-[(2S,4S)-2-甲基哌啶-4-基]哒嗪-3-胺 (15.0mg; 0.07mmol)。在室温下搅拌2小时后,将反应混合物通过RP-HPLC (ACN/水+NH₃) 纯化。

[0471] 产率: 16.2mg (51%) ESI-MS: m/z = 502 [M+H]⁺R_t (HPLC): 0.86 (方法1)

[0472] 实施例5

[0473] 6-(1-{4-甲氧基-5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-羰基}哌啶-4-基)哒嗪-3-胺三氟乙酸盐

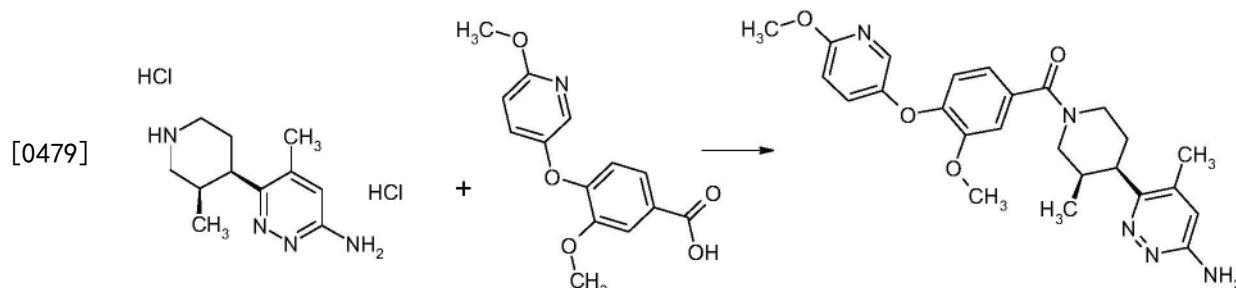


[0475] 将在DMF (3mL) 中的4-甲氧基-5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-甲酸 (60.0mg; 0.22mmol)、HATU (85.0mg; 0.22mmol) 和DIPEA (150.0 μ L; 0.88mmol) 在室温下搅拌30分钟。添加6-(哌啶-4-基)哒嗪-3-胺二盐酸盐 (60.0mg; 0.24mmol)。在室温下搅拌过夜后,将反应混合物通过RP-HPLC (ACN/水+TFA) 纯化。

[0476] 产率:71.4mg (60%) ESI-MS:m/z=437[M+H]⁺R_t (HPLC):0.72 (方法1)

[0477] 实施例6

[0478] 6-[(3R,4R)-1-{3-甲氧基-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酰基}-3-甲基哌啶-4-基]-5-甲基哒嗪-3-胺

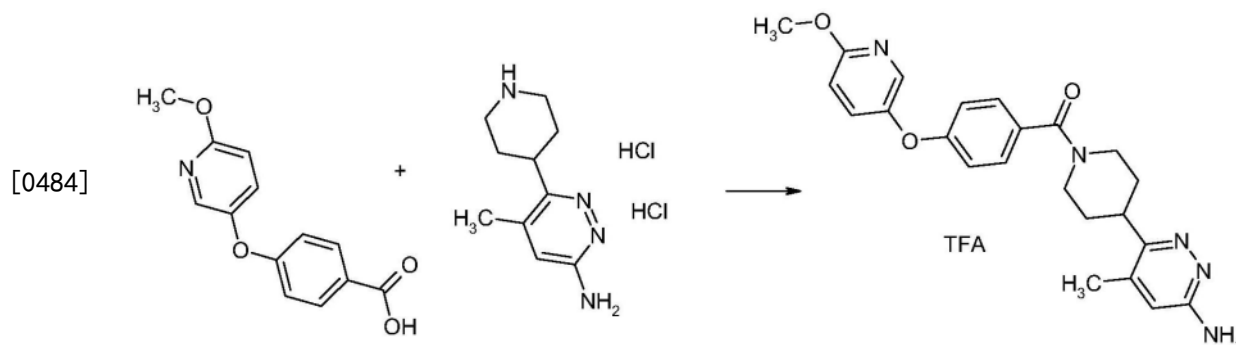


[0480] 将在DMF (2mL) 中的3-甲氧基-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酸 (20.0mg; 0.07mmol)、HATU (30.0mg; 0.08mmol) 和DIPEA (60.0 μ L; 0.35mmol) 在室温下搅拌30分钟。添加5-甲基-6-[(3R,4R)-3-甲基哌啶-4-基]哒嗪-3-胺二盐酸盐 (22.0mg; 0.08mmol)。在室温下搅拌过夜后,将反应混合物通过RP-HPLC (ACN/水+NH₃) 纯化。

[0481] 产率:20.3mg (60%) ESI-MS:m/z=464[M+H]⁺R_t (HPLC):0.79 (方法1)

[0482] 实施例7

[0483] 6-(1-{4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酰基}哌啶-4-基)-5-甲基哒嗪-3-胺三氟乙酸盐

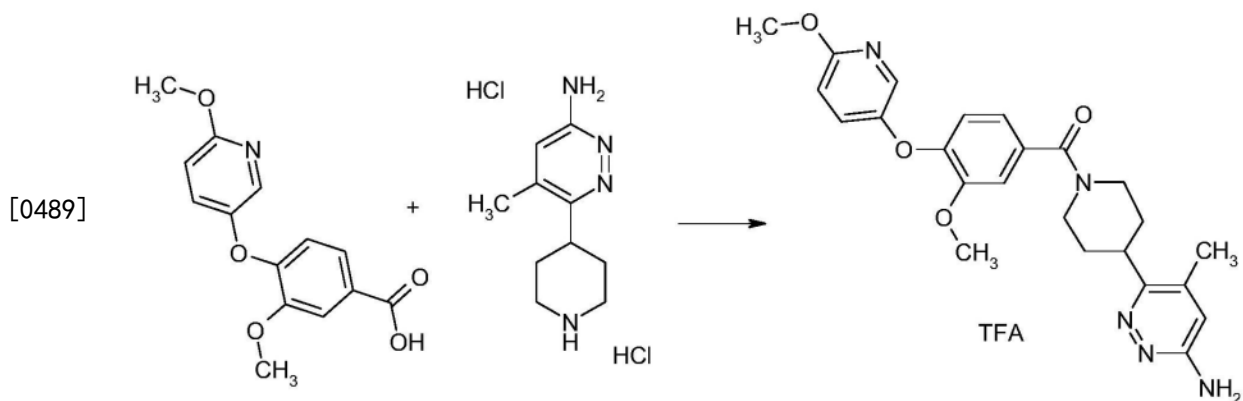


[0485] 将在DMF (2mL) 中的4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酸 (18.5mg; 0.08mmol)、5-甲基-6-(哌啶-4-基)哒嗪-3-胺二盐酸盐 (20.0mg; 0.08mmol) 和DIPEA (53.2 μ L; 0.31mmol) 在室温下搅拌。添加HATU (28.7mg; 0.08mmol)。在室温下搅拌过夜后,将反应混合物通过RP-HPLC (ACN/水+TFA) 纯化。

[0486] 产率:34.2mg (85%) ESI-MS:m/z=420[M+H]⁺R_t (HPLC):0.55 (方法11)

[0487] 实施例8

[0488] 6-(1-{3-甲氧基-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酰基}哌啶-4-基)-5-甲基哒嗪-3-胺三氟乙酸盐

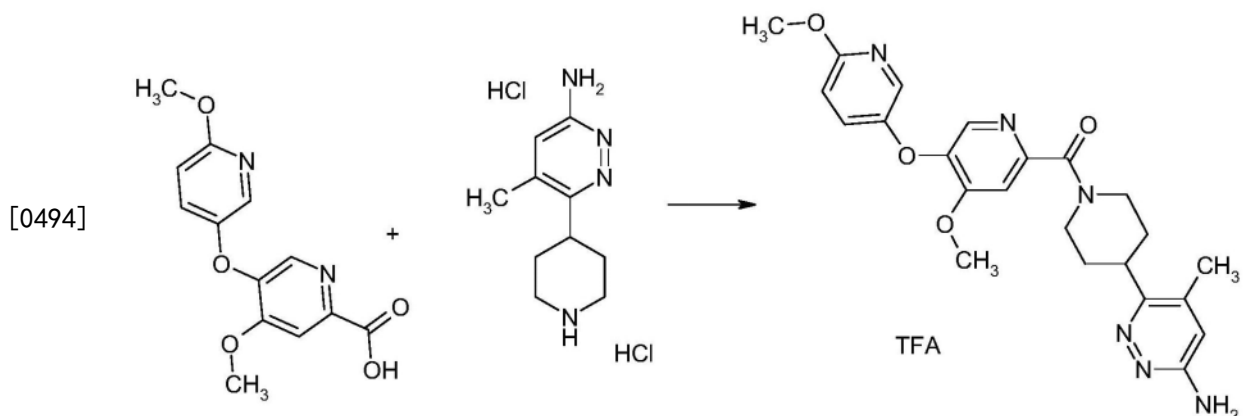


[0490] 将在DMF (2mL) 中的3-甲氧基-4-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]苯甲酸 (20.0mg; 0.07mmol)、HATU (30.0mg; 0.08mmol) 和DIPEA (60.0 μ L; 0.35mmol) 在室温下搅拌30分钟。添加5-甲基-6-(哌啶-4-基)咪唑-3-胺二盐酸盐 (20.0mg; 0.08mmol)。在室温下搅拌3小时后, 将反应混合物通过RP-HPLC (ACN/水+TFA) 纯化。

[0491] 产率: 11.8mg (29%) ESI-MS: $m/z = 450 [M+H]^+$ R_t (HPLC): 0.79 (方法1)

[0492] 实施例9

[0493] 6-(1-{4-甲氧基-5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-羰基}哌啶-4-基)-5-甲基咪唑-3-胺三氟乙酸盐

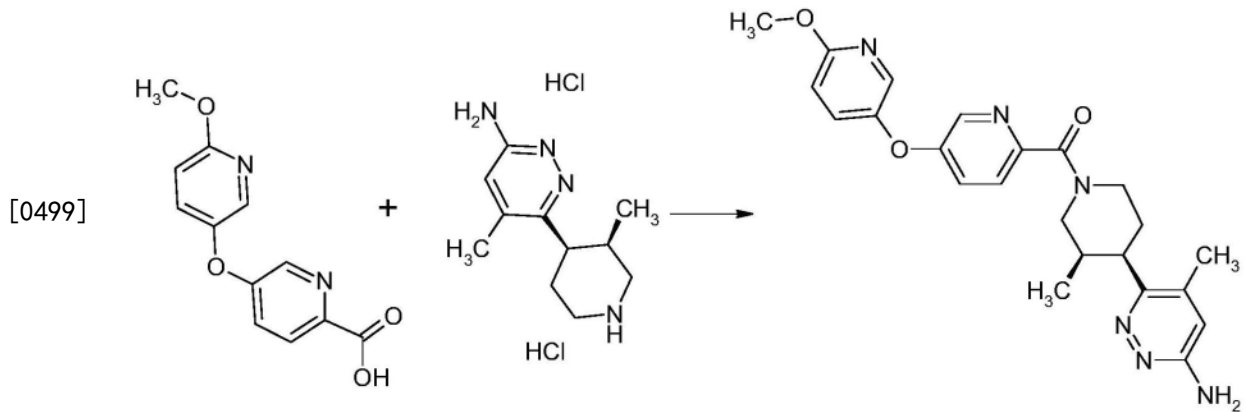


[0495] 将在DMF (2mL) 中的4-甲氧基-5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-甲酸 (20.0mg; 0.07mmol)、HATU (30.0mg; 0.08mmol) 和DIPEA (60.0 μ L; 0.35mmol) 在室温下搅拌30分钟。添加5-甲基-6-(哌啶-4-基)咪唑-3-胺二盐酸盐 (20.0mg; 0.08mmol)。在室温下搅拌过夜后, 将反应混合物通过RP-HPLC (ACN/水+TFA) 纯化。

[0496] 产率: 14.5mg (36%) ESI-MS: $m/z = 451 [M+H]^+$ R_t (HPLC): 0.74 (方法1)

[0497] 实施例10

[0498] 6-[(3R,4R)-1-{5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-羰基}-3-甲基哌啶-4-基]-5-甲基咪唑-3-胺



[0500] 将在DMF (2mL) 中的5-[(6-甲氧基吡啶-3-基)氧基]吡啶-2-甲酸 (20.0mg; 0.08mmol)、HATU (31.0mg; 0.08mmol) 和DIPEA (60.0 μ L; 0.35mmol) 在室温下搅拌30分钟。添加5-甲基-6-[(3R,4R)-3-甲基哌啶-4-基]吡啶-3-胺二盐酸盐 (25.0mg; 0.09mmol)。在室温下搅拌3天后,将反应混合物通过RP-HPLC (ACN/水+NH₃) 纯化。

[0501] 产率:7.9mg (22%) ESI-MS:m/z=435 [M+H]⁺ (HPLC):0.75 (方法1)

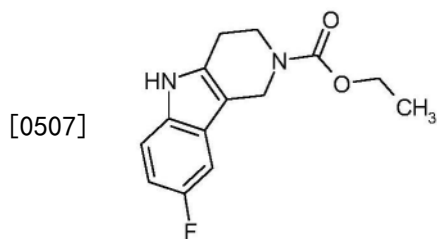
[0502] 生物学活性的评估

[0503] 生物学测定

[0504] 化合物的生物学活性通过以下方法确定:

[0505] 测定A:TRPC6抑制的确定

[0506] 将用表达人TRPC6的质粒转染的HEK293细胞用于膜片钳测定。膜片钳实验允许在如上所述的细胞系统中检测通过TRPC6通道的电流。对于全细胞膜片钳记录,使填充有电解液的玻璃毛细管电极与单个细胞接触,并且与细胞膜建立高电阻(千兆欧姆)封接。然后使膜破裂以实现全细胞模式,从而允许使用连接到电极的放大器控制细胞内电位并且测量跨膜电流。灌注系统允许控制细胞外溶液,包括添加TRPC6通道的抑制剂和激活剂。TRPC6电流可以通过在细胞外溶液中的10 μ M 8-氟-1H,2H,3H,4H,5H-吡啶并[4,3-b]吡啶-2-甲酸乙酯(可商购,MFCD02930345)实现。



[0508] 对于TRPC6抑制剂的表征,诱导TRPC6表达20-48小时,将细胞从生长板中取出,并且以低密度(以获得良好的单细胞物理分离)重新铺板在小培养皿中进行测量。在-40mV的保持电位下在全细胞模式中进行膜片钳记录。每1.5秒,从-80至+80mV施加400ms电压斜坡,两侧分别是在-80和+80mV下的50ms恒定区段。在-80mV和+80mV的那些恒定区段期间量化TRPC6介导的电流。内部(移液管)溶液由140mM天冬氨酸铯、10mM EGTA、1.91mM CaCl₂、2.27mM MgCl₂和10mM HEPES组成,用CsOH得到pH 7.2,计算游离的Ca²⁺为40nM。外部(浴)溶液由145mM NaCl、4.5mM KCl、3mM MgCl₂、10mM HEPES、10mM葡萄糖、1mM EGTA组成,用NaOH得到pH7.4。将表达TRPC6的细胞与30nM或多种浓度(用于浓度-响应曲线)的电位抑制剂或媒介物一起预孵育至少3h,并且在添加8-氟-1H,2H,3H,4H,5H-吡啶并[4,3-b]吡啶-2-甲酸

乙酯后,确定最大内向电流和外向电流二者。从经处理的细胞和媒介物细胞的平均内向电流密度计算电流抑制百分比。将电流密度计算为相对于作为细胞表面积的替代参数的单个细胞膜电容归一化的绝对电流。用以下方式选择对于每组测量的细胞的数量:基于细胞间电流表达的可变性,相对于媒介物组平均50%的电流抑制在90%的案例下将产生统计学显著差异($p < 0.05$)。为了估计半抑制浓度,将Hill方程拟合到在特定化合物的一系列浓度下的平均抑制%值。

[0509] 表3:使用膜片钳测定的本发明化合物对人TRPC6的拮抗作用(在30nM下的抑制%)。

化合物编号	在30 nM下的抑制%
1	81
2	60
4	12
5	27
6	72

化合物编号	在30 nM下的抑制%
7	61
8	37
9	51

[0512] 本发明的化合物在人微粒体中显示出良好的代谢稳定性。

[0513] 治疗性使用的方法

[0514] 对TRPC6的抑制是用于预防和治疗由TRPC6活性加剧的多种疾病或病症的有吸引力的手段。本文公开的化合物有效地抑制TRPC6活性。特别地,本发明的化合物是选择性离子通道抑制剂并且在人微粒体中具有良好的代谢稳定性。更具体地,本发明的化合物与包括TRPC3、TRPC5和TRPC7的其他TRP通道相比对TRPC6通道具有非常良好的效力和选择性。因此,本发明的化合物可用于治疗如背景技术和具体实施方式部分中所述的疾病和病症,包括以下病症和疾病:

[0515] 心脏病症(例如,心脏肥大)、高血压(例如,原发性和继发性)、肺动脉高压(例如,IPAH)、神经退行性疾病或障碍(例如,阿茨海默症(AD)、帕金森症、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化症(ALS)和其他由创伤或其他损害(包括老化)引起的脑障碍)、炎症性疾病(例如,哮喘、肺气肿、慢性阻塞性肺疾病、类风湿性关节炎、骨关节炎、炎性肠病、多发性硬化症、肌营养不良、杜兴氏肌营养不良、和免疫系统的障碍)、先兆子痫和妊娠诱导的高血压、肾疾病(局灶节段性肾小球硬化症、糖尿病性肾病或糖尿病性肾疾病、慢性肾疾病(CKD)、肾功能不全、终末期肾脏疾病、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、微小病变性疾病、缺血或缺血再灌注损伤、癌症、代谢障碍诸如糖尿病、特发性肺纤维化(IPF)、急性呼吸系统疾病综合征(ARDS)/严重急

性呼吸系统综合征 (SARS)、脓毒症、严重脓毒症和脓毒症休克,用于预防或治疗前述或以下疾病和病症中的任一种的方法包括治疗与这些疾病或病症相关的任何症状。例如,用于治疗肾疾病的方法考虑了治疗包括但不限于继发性高血压、蛋白尿、脂尿、高胆固醇血症、高脂血症和凝血异常的症状。

[0516] 由于钙调节在许多细胞过程(包括细胞活化、细胞骨架重排、基因表达、细胞运输和凋亡性细胞死亡)中发挥重要作用,因此钙稳态失衡牵涉在许多疾病和障碍中。这些疾病和障碍包括神经和神经退行性疾病和障碍;炎性疾病和障碍,诸如炎性肠病和克罗恩病;肾疾病,诸如高钙血症、肾结石和多囊性肾疾病;代谢性疾病和障碍,包括肥胖症和糖尿病;肝和肾疾病和障碍;心血管疾病和障碍,包括高血压;呼吸系统疾病,包括COPD、IPAH和哮喘;以及癌症,包括脑癌、乳腺癌、肾癌、子宫颈癌、前列腺癌、胃肠道癌、皮肤癌和上皮癌。

[0517] 这些障碍已经在人中得到很好的表征,但是在其他哺乳动物中也以类似的病因存在,并且可以通过本发明的药物组合物进行治疗。

[0518] 因此,如本文所述的本发明化合物或其药学上可接受的盐可以用于制备用于治疗由TRPC6介导的疾病或障碍的药剂,包括以上和背景技术和具体实施方式部分中提及的那些。

[0519] 对于治疗用途,可以将本发明的化合物以任何常规方式通过任何常规药物剂型的药物组合物施用。常规剂型通常包括适合于所选特定剂型的药学上可接受的载体。施用途途径包括但不限于静脉内、肌内、皮下、滑膜内、通过输注、舌下、透皮、口服、局部或通过吸入。优选的施用方式是口服和静脉内。

[0520] 可以将本发明的化合物单独或与佐剂(包括其他活性成分)组合施用,所述佐剂在某些实施方案中增强抑制剂的稳定性、促进含有它们的药物组合物的施用、提供增加的溶解或分散、增加抑制活性、提供辅助疗法等。在一个实施方案中,例如,可以施用多种本发明化合物。有利地,此类组合疗法使用较低剂量的常规治疗剂,从而避免当这些常规治疗剂用作单一疗法时可能产生的毒性和不良副作用。本发明的化合物可以与常规治疗剂或其他佐剂物理组合成单一药物组合物。有利地,然后将这些化合物以单一剂型一起施用。在一些实施方案中,包含此类化合物组合的药物组合物含有至少约5%、但是更优选至少约20%的本发明化合物(w/w)或其组合。本发明的化合物的最佳百分比(w/w)可以变化,并且在本领域技术人员的权限范围内。可替代地,本发明的化合物和常规治疗剂或其他佐剂可以分开(连续地或平行地)施用。单独给药允许在给药方案中具有更大的灵活性。

[0521] 如上所述,本发明化合物的剂型可以包括本领域普通技术人员已知的并且适合于剂型的药学上可接受的载体和佐剂。这些载体和佐剂包括例如离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白、缓冲物质、水、盐或电解质以及纤维素基物质。优选的剂型包括片剂、胶囊、囊片、液体、溶液、悬浮液、乳剂、锭剂、糖浆、可重构的粉末、颗粒剂、栓剂和透皮贴剂。用于制备此类剂型的方法是已知的(参见例如,H.C. Ansel和N.G. Popovich, *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 第5版, Lea和Febiger (1990))。本领域普通技术人员可从适用于特定患者的可用方法和技术中选择本发明化合物的剂量水平和要求。在一些实施方案中,70kg患者的剂量水平范围为约1-1000mg/剂量。虽然一个剂量/天可能是足够的,但是每天最多可以给5个剂量。对于口服剂量,可能需要高达2000mg/天。如熟练技术人员将理解的,取决于特定因素,可能需要更低或更高的剂量。例

如,具体的剂量和治疗方案将取决于患者的总体健康状况、患者的障碍的严重程度和病程或对该障碍的处置、以及治疗医生的判断等因素。

[0522] 本发明的化合物可以单独使用或与一种或多种另外的治疗剂组合使用。另外的治疗剂的非限制性例子可以包括:

[0523] 血管紧张素II受体拮抗剂(血管紧张素受体阻断剂(ARB)),诸如坎地沙坦、依普罗沙坦、坎地沙坦、厄贝沙坦、氯沙坦、奥美沙坦(olmesartan)、替米沙坦、缬沙坦、阿齐沙坦及奥美沙坦酯(medoxomil);

[0524] 血管紧张素转化酶抑制剂(例如,苯那普利、卡托普利、依那普利、福辛普利、赖诺普利、莫西普利和培哌普利);

[0525] 抗糖尿病药,诸如 α -葡萄糖苷酶抑制剂(例如,米格列醇和阿卡波糖)、胰淀素类似物(例如,普兰林肽)、二肽基肽酶4抑制剂(例如,阿格列汀、西他列汀、沙格列汀和利拉列汀)、肠促胰岛素模拟物(例如,利拉鲁肽、艾塞那肽、利拉鲁肽、艾塞那肽、度拉糖肽、阿必鲁肽和利西拉肽)、胰岛素、美格列脲(例如,瑞格列奈和那格列奈)、双胍类(例如,二甲双胍); SGLT-2抑制剂(例如,坎格列净、恩格列净和达格列净)、磺酰脲类(例如,氯磺丙脲、格列美脲、格列本脲、格列吡嗪、格列本脲、妥拉磺脲和甲苯磺丁脲)和噻唑烷二酮类(例如罗格列酮和吡格列酮);

[0526] 支气管扩张剂,包括短效和长效 β 激动剂(例如,沙丁胺醇、左旋沙丁胺醇、沙美特罗、福莫特罗和阿福莫特罗)以及短效和长效抗胆碱能药(异丙托溴铵、噻托溴铵、茈地溴铵(umeclidinium)、格隆溴铵)和阿地溴铵)。

[0527] 类固醇,诸如氟替卡松和布地奈德;

[0528] 当用作药物组合的组合治疗时,本发明的化合物和一种或多种另外的药剂可以以相同剂型或不同剂型施用。本发明的化合物和一种或多种另外的药剂可以作为方案的一部分同时或分开施用。