

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200580036624.8

[51] Int. Cl.

C07D 495/04 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61K 31/4365 (2006.01)

[45] 授权公告日 2010 年 1 月 6 日

[11] 授权公告号 CN 100577666C

[22] 申请日 2005.10.18

[21] 申请号 200580036624.8

[30] 优先权

[32] 2004.10.25 [33] US [31] 60/621,785

[86] 国际申请 PCT/US2005/037271 2005.10.18

[87] 国际公布 WO2006/047124 英 2006.5.4

[85] 进入国家阶段日期 2007.4.25

[73] 专利权人 伊莱利利公司

地址 美国印第安纳州

[72] 发明人 A·鲁比奥埃斯特班

D·W·希利亚德

[56] 参考文献

CN1439002A 2003.8.27

US4870085A 1989.9.26

CN1166169A 1997.11.16

WO02/076950A2 2002.10.3

审查员 夏凤娟

[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

代理人 黄革生 张 朔

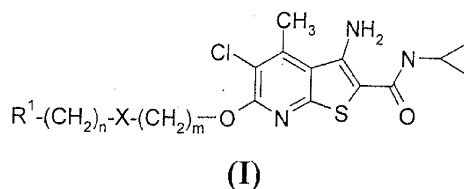
权利要求书 2 页 说明书 36 页

[54] 发明名称

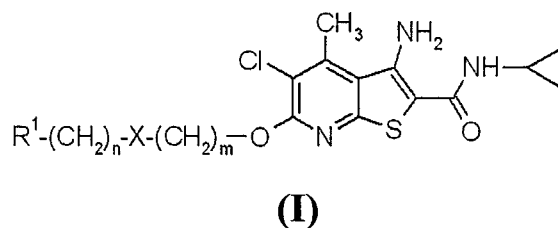
作为 M₄ 毒蕈碱性受体的变构增效剂的噻吩并吡啶类

[57] 摘要

本发明涉及式 I 或其可药用盐的选择性变构增效剂，用于治疗与 M₄ 毒蕈碱性受体有关的紊乱。



1. 式 I 化合物或其可药用盐,



其中:

m 是 1 或 2;

n 是 0、1 或 2;

X 是价键、 $-O-$ 、 $-SO_p-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-NR^2-$ 、 $-C(O)-NR^2-$ 或 $-NR^2-C(O)-$;

p 是 0、1 或 2;

R^1 是氢、羟基、 C_1 - C_4 烷基、苯基、吡啶基、吡咯烷基、哌嗪基、吗啉代基、噻唑基、咪唑基或 1,3-二氧杂环戊烷基;

所述苯基、哌嗪基或噻唑基可以任选被一个选自下组的取代基取代:

卤代基或 C_1 - C_2 烷基;

其中当 p 是 0 时, 或当 X 是 $-O-$ 、 $-NR^2$ 或 $-NR^2-C(O)-$ 时, n 不能是 0;

R^2 是氢或 C_1 - C_2 烷基;

所述 C_1 - C_2 烷基可以任选被一个羟基取代。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中 X 是价键。

3. 权利要求 1 的化合物, 其中 n 是 0。

4. 权利要求 2 的化合物, 其中 n 是 0。

5. 权利要求 1-4 任一项的化合物, 其中 m 是 1。

6. 权利要求 5 的化合物, 其中 R^1 是氢。

7. 权利要求 1-4 任一项的化合物, 其中 m 是 2。

8. 权利要求 7 的化合物, 其中 R^1 是吗啉代基。

9. 权利要求 1 的化合物, 它是 3-氨基-5-氯-6-甲氧基-4-甲基-噻吩并 [2,3-b] 吡啶-2-甲酸环丙基酰胺。

10. 权利要求 1 的化合物, 它是 3-氨基-5-氯-4-甲基-6-(2-吗啉-4-基-乙

氧基)-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺。

11. 化合物,它是 3-氨基-5-氯-6-羟基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺或 3-氨基-5-氯-6-异丙氧基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺。

12. 权利要求 1-10 任一项的化合物在制备药物中的用途,所述药物用于治疗与 M_4 毒蕈碱性受体活性有关的紊乱。

13. 权利要求 12 的用途,其中与 M_4 毒蕈碱性受体活性有关的紊乱选自疼痛、精神病、注意缺陷多动症和记忆丧失。

14. 药物组合物,包含权利要求 1 的化合物或其可药用盐以及可药用载体、赋形剂或稀释剂。

作为 M₄ 毒蕈碱性受体的变构增效剂的噻吩并吡啶类

本发明提供了式 I 化合物、其组合物和 M₄ 亚型毒蕈碱性受体的变构增效方法，该方法包括对患者给予有效量的式 I 化合物。另外，本发明涉及制备式 I 化合物的过程及其中间体。

发明背景

本发明提供了化合物，它们是 M₄ 亚型毒蕈碱性受体的选择性变构调控剂。M₄ 毒蕈碱性受体据信在调控参与调节心境、嗜欲、注意力和认知的关键脑区域的突触功能中起作用。其结果是，这提供了治疗下列疾病的新的治疗靶：精神病；注意力障碍，例如注意缺陷多动症(ADHD)；认知障碍，包括记忆丧失；和药物成瘾。M₂ 和 M₄ 亚型毒蕈碱性受体还参与毒蕈碱激动剂-诱导的止痛效应，但是据信这类治疗的副作用主要与 M₂ 受体活化有关。因而，选择性调控 M₄ 受体的化合物将为神经病性疼痛提供新的治疗策略，而没有有所不希望的副作用。

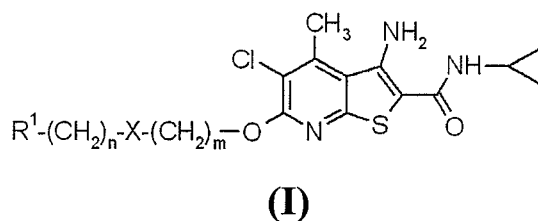
与作用于神经递质结合位点(原构(orthosteric)位点)的化合物不同，变构调控剂作用于受体上的不同位点。变构调控剂的使用在疾病的治疗中提供了若干优点。Christopoulos, *Nature Reviews* (2002) 1: 198-210。例如，在饱和条件下(高浓度变构增效剂)，预计将没有 M₄ 毒蕈碱性受体的过度刺激，因为它依赖于内源性神经递质供活化。其次，变构激动剂仅在内源性激动剂的存在下才发挥它们的生理效应。其结果是，变构增效剂不太可能产生与过度胆碱能刺激有关的受体脱敏或减量调节的情况。最后，变构调控剂有可能显示出更高的受体选择性，尤其是原构结合位点在毒蕈碱性受体亚型之间是完全保守的。

目前，尚未报道过 M₄ 亚型毒蕈碱性受体的选择性变构调控剂。因此，选择性 M₄ 变构增效剂的开发将大大增强治疗诸如精神病和疼痛的紊乱的能力，而没有有所不希望的副作用。因而，本发明提供了 M₄ 毒蕈碱性受体

的一类变构调控剂、包含这些化合物的组合物和使用这些化合物的方法。

发明概述

本发明提供了式 I 化合物或其可药用盐，



其中：

m 是 1 或 2；

n 是 0、1 或 2；

X 是价键、-O-、-SO_p-、-C(O)-、-NR²-、-C(O)-NR²-或-NR²-C(O)-；

p 是 0、1 或 2；

R¹ 是氢、羟基、C₁-C₄ 烷基、苯基、吡啶基、吡咯烷基、哌嗪基、吗啉代基、噻唑基、咪唑基或 1,3-二氧杂环戊烷基(dioxalanyl)；

所述苯基、哌嗪基或噻唑基可以任选被一个选自下组的取代基取代：

卤代基或 C₁-C₂ 烷基；

其中当 p 是 0 时，或当 X 是 -O-、-NR² 或 -NR²-C(O)-时，n 不能是 0；

R² 是氢或 C₁-C₂ 烷基；

所述 C₁-C₂ 烷基可以任选被一个羟基取代。

式 I 化合物是毒蕈碱性受体增效剂。具体而言，式 I 化合物是 M₄ 亚型毒蕈碱性受体的变构增效剂。因为这些化合物增强与 M₄ 受体活化有关的生理效应，所以这些化合物可用于治疗涉及不适当的 M₄ 受体活化的紊乱。这些紊乱包括：精神病(特别是精神分裂症)；认知障碍(例如记忆丧失)；注意力障碍(例如注意缺陷多动症)；和疼痛(特别是神经病性疼痛)。

在一种实施方案中，本发明提供了药物组合物，包含作为活性成分的式 I 化合物或其可药用盐以及或多种可药用载体、稀释剂或赋形剂。

在其它实施方案中，本发明涉及制备式 I 化合物的方法及其中间体。

在另一种实施方案中，本发明提供了通过使受体与式 I 化合物或其可

药用盐接触来选择性增效 M_4 受体的方法。

在另一种实施方案中，本发明提供了治疗与 M_4 亚型毒蕈碱性受体有关的紊乱的方法，该方法包括对有需要的患者给予有效量的式 I 化合物。也就是说，本发明提供了式 I 化合物或其药物组合物在制备药物中的用途，所述药物用于治疗与 M_4 毒蕈碱性受体有关的紊乱。本发明还提供了用在疗法中的式 I 化合物。

在与 M_4 毒蕈碱性受体有关的紊乱中，精神病、疼痛、注意力障碍和认知障碍(例如记忆丧失)是特别重要的。

因而，在优选的实施方案中，本发明提供了治疗疼痛的方法，该方法包括对有需要的患者给予有效量的式 I 化合物或其可药用盐。

在另一种优选的实施方案中，本发明提供了治疗精神病的方法，该方法包括对有需要的患者给予有效量的式 I 化合物或其可药用盐。

在另一种优选的实施方案中，本发明提供了治疗认知障碍的方法，该方法包括对有需要的患者给予有效量的式 I 化合物或其可药用盐。

发明详述

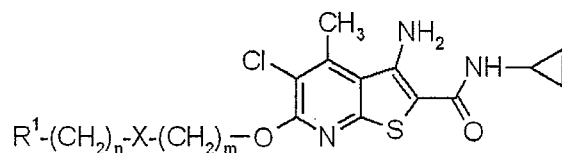
用在制备例和实施例中的术语和缩写具有它们的通常含义，另有指定除外。例如，“°C”表示摄氏度；“N”表示当量浓度；“mol”表示摩尔；“h”表示小时；“eq”表示当量；“g”表示克；“L”表示升；“M”表示摩尔浓度；“盐水”表示饱和氯化钠水溶液；“J”表示赫兹；“ES”表示电雾化；“MS”表示质谱；“NMR”表示核磁共振光谱；“TLC”表示薄层色谱；“ACN”表示乙腈；“DMF”表示 N,N-二甲基甲酰胺；“DMSO”表示二甲基亚砷；“Et₂O”表示乙醚；“EtOAc”表示乙酸乙酯；“MeOH”表示甲醇；“EtOH”表示乙醇；“iPrOH”表示异丙醇；“TEA”表示三乙胺；“TFA”表示三氟乙酸；“THF”表示四氢呋喃。

本文所用的术语“C₁-C₄烷基”表示 1 至 4 个碳原子的直链或支链一价饱和脂族链，包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基。术语“C₁-C₃烷基”和“C₁-C₂烷基”涵盖在“C₁-C₄

烷基”的定义内。

“卤代基”、“卤素”和“卤化物”代表氯、氟、溴或碘原子。优选的卤素包括氯和氟。

本领域技术人员将清楚，当 X 是 $-NR^2-C(O)-$ 时，式 I 化合物如下所绘：



某些本发明化合物可能存在立体异构体。关于相对于甘油醛异构体的立体化学，本文采用(R)-与(S)-的 Cahn-Prelog-Ingold 指定和 L-与 D-的指定来表示具体的异构体。具体的立体异构体可以通过立体有择合成来制备，或者可以通过本领域已知的技术进行拆分和回收，例如手性固定相色谱法，和由用于该目的的试剂所生成的加成盐的分步重结晶。可用于拆分和回收具体立体异构体的方法是本领域已知的，参见 E.L. Eliel 和 S.H. Wilen 的 “*Stereochemistry of Organic Compounds*” (Wiley-Interscience 1994) 以及 J. Jacques, A. Collet 和 S.H. Wilen 的 “*Enantiomers, Racemates, and Resolutions*” (Wiley-Interscience 1981)。应当理解，本发明涵盖所有对映异构体和对映异构体混合物，包括外消旋物。

技术人员将认识到，某些本发明化合物可以存在互变异构体。应当理解，式 I 化合物的互变异构形式也涵盖在本发明内。

本发明包括式 I 化合物的可药用盐。本发明化合物可具有碱性足够的官能团，它们能够与任意一种无机和有机酸反应，生成可药用盐。

本文所用的术语“可药用盐”表示上式 I 化合物的盐。应当被认识到的是，构成本发明任意盐一部分的具体抗衡离子的属性通常不是关键，只要该盐作为整体是药理学上可接受的，并且只要该抗衡离子不对作为整体的盐产生不可取的性质。

本文所述的式 I 化合物和中间体与多种有机和无机酸生成可药用酸加成盐，包括经常用在药物化学中的生理学上可接受的盐。这类盐也是本发明的一部分。可药用酸加成盐由可药用酸生成，这是本领域所熟知

的。这类盐包括 Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2-19 (1977) 中列出的可药用盐, 它们是技术人员已知的。另见 The Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection, and Use. P. H. Stahl 和 C. G. Wermuth 编辑, Verlag, Zurich (瑞士) 2002。

用于生成这类盐的典型的无机酸包括盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硝酸、硫酸、磷酸、连二磷酸(hypophosphoric acid)、偏磷酸、焦磷酸等。也可以使用从有机酸衍生的盐, 所述酸例如是脂族一元与二元羧酸、苯基取代的链烷酸、羟基链烷酸与羟基链烷二酸、芳族酸、脂族与芳族磺酸。这类可药用盐因而包括乙酸盐、苯基乙酸盐、三氟乙酸盐、丙烯酸盐、抗坏血酸盐、苯甲酸盐、氯苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、羟基苯甲酸盐、甲氧基苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、邻-乙酰氧基苯甲酸盐、萘-2-苯甲酸盐、溴化物、异丁酸盐、苯基丁酸盐、 α -羟基丁酸盐、丁炔-1,4-二甲酸盐、己炔-1,4-二甲酸盐、癸酸盐、辛酸盐、肉桂酸盐、柠檬酸盐、甲酸盐、富马酸盐、乙醇酸盐、庚酸盐、马尿酸盐、乳酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、羟基马来酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、烟酸盐、异烟酸盐、硝酸盐、草酸盐、邻苯二甲酸盐、对苯二甲酸盐、丙炔酸盐、丙酸盐、苯基丙酸盐、水杨酸盐、癸二酸盐、琥珀酸盐、辛二酸盐、苯磺酸盐、对溴苯磺酸盐、氯苯磺酸盐、乙磺酸盐、2-羟基乙磺酸盐、甲磺酸盐、萘-1-磺酸盐、萘-2-磺酸盐、萘-1,5-磺酸盐、对甲苯磺酸盐、二甲苯磺酸盐、酒石酸盐等。

本文所用的术语“患者”表示患有一种或多种与 M_4 受体有关的紊乱的哺乳动物。豚鼠、狗、猫、大鼠、小鼠、马、牛、羊和人是该术语含义范围内哺乳动物的实例。将被理解的是, 最优选的患者是人。

也被认识到的是, 本领域技术人员可以通过用有效量的式 I 化合物治目前患有紊乱或者预防性处置患有紊乱的患者来影响这些紊乱。因而, 术语“治疗”旨在表示所有其中可能存在延缓、中断、阻止、控制或终止本文所述紊乱进展的过程, 并且意欲包括这类紊乱的预防性处置, 但是不一定指所有紊乱症状的完全消除。

本文所用的术语式 I 化合物的“有效量”表示有效治疗本文所述紊

乱的量。

关于药物活性化合物的任意基团，有些基团在它们的终应用中是优选的。下文讨论本发明的优选实施方案。

- (a) m 是 1;
- (b) m 是 2;
- (c) n 是 0;
- (d) n 是 1;
- (e) n 是 2;
- (f) X 是价键;
- (g) X 是 $-\text{C}(\text{O})-\text{NR}^2-$;
- (h) X 是 $-\text{O}-$;
- (i) R^1 是氢;
- (j) R^1 是羟基;
- (k) R^1 是 C_1 - C_4 烷基;
- (l) R^1 是吡啶基;
- (m) R^1 是哌嗪基;
- (n) R^1 是吗啉代基;
- (o) R^2 是氢。

本发明的优选化合物包括：3-氨基-5-氯-6-甲氧基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺；3-氨基-5-氯-4-甲基-6-(2-吗啉-4-基-乙氧基)-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺。

技术人员将领会到，通过组合上述的优选实施方案，或者参照本文给出的实施例，可以选择其它优选的实施方案。

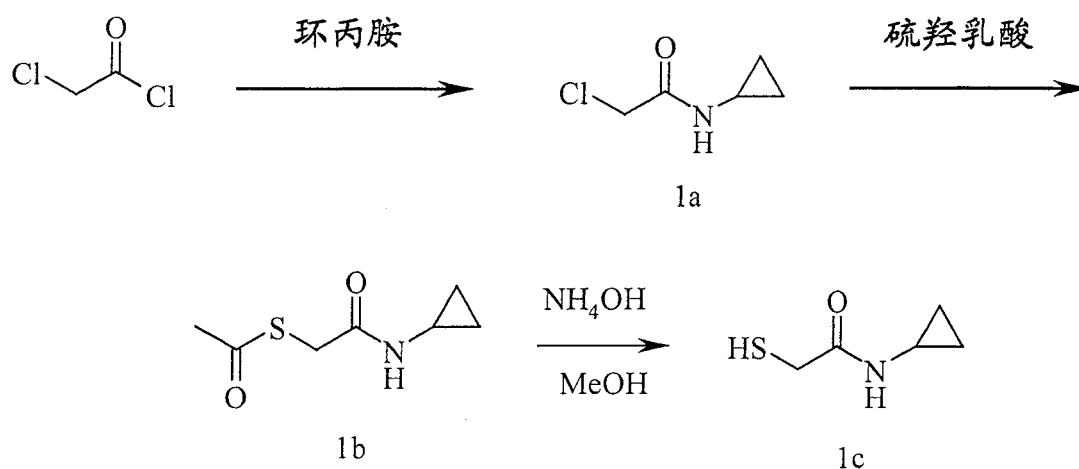
流程

本文公开的化合物可以按照下列流程制备。流程、制备例和实施例决不当被理解为以任意方式限制如何可以制备化合物。

技术人员将领会到，某些取代基的引入将在式 I 化合物中产生不对称性。本发明涵盖所有的立体异构体、对映异构体和对映异构体混合物、包括外消旋物和非对映异构体。优选含有手性中心的本发明化合物是单一的对映异构体。

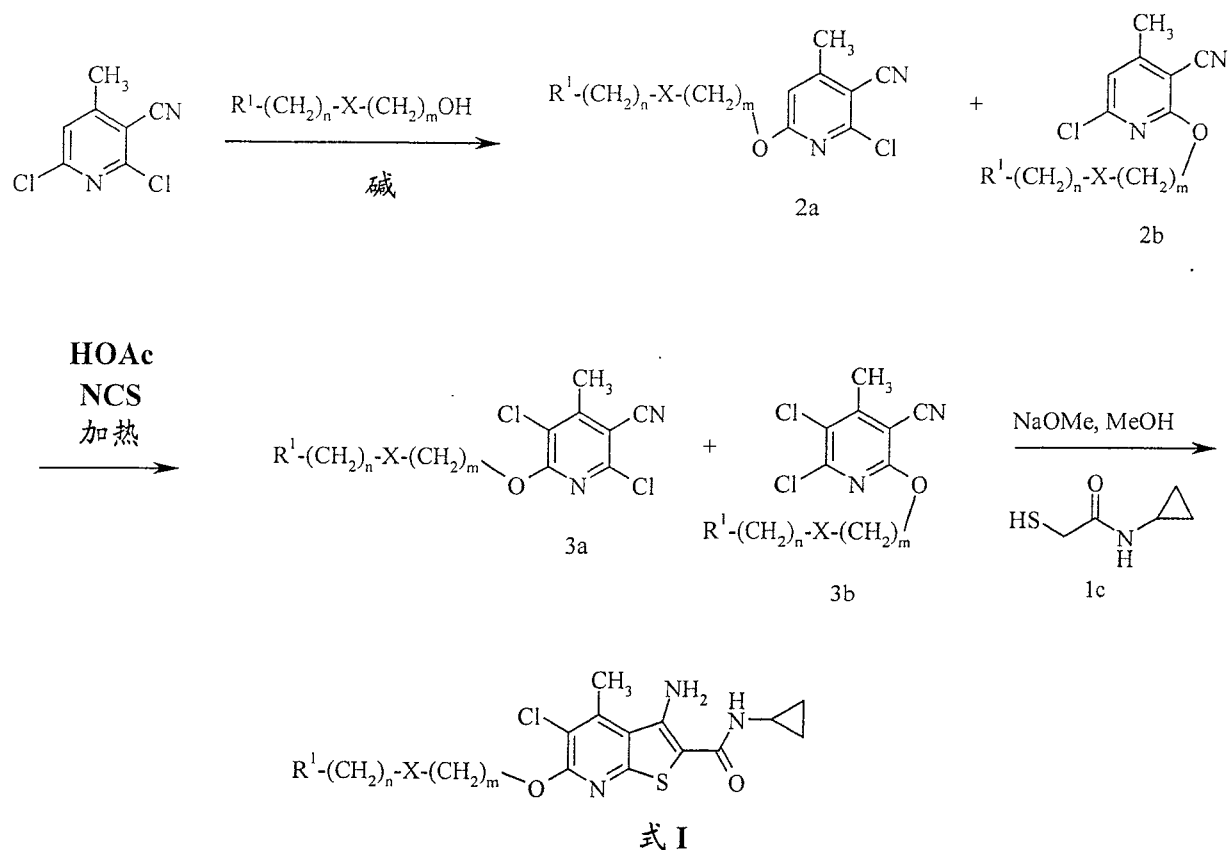
将被本领域技术人员认识到的是，可以改变下列流程中的个体步骤，以提供式 I 化合物。生成式 I 化合物所需的具体步骤顺序依赖于被合成的具体化合物、起始化合物和被取代部分的相对稳定性。为清楚起见在下列流程中未显示一些取代基，这不打算以任意方式限制流程的教导。

流程 I



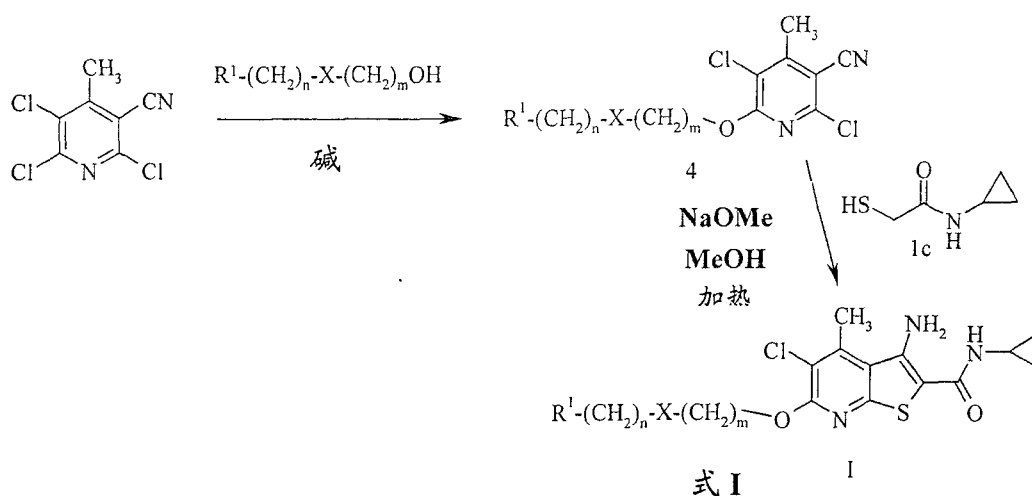
在第一种合成方案(流程 I)中，使氯乙酰氯与环丙胺在碱如 TEA 或吡啶的存在下、在质子惰性溶剂如乙醚或二氯甲烷中、在 0℃ 至室温的温度下反应，得到中间体酰胺化合物 1a。将化合物 1a 在极性质子惰性溶剂如二氯甲烷中用硫羟乳酸和碱如 TEA 处理，得到中间体酰胺化合物 1b。在 0℃ 至室温下，使化合物 1b 在低级(C₁-C₄)链烷醇如 MeOH 和浓氢氧化铵溶液中水解，得到硫醇试剂化合物 1c。产物可以通过本领域熟知的技术进行分离和纯化，所述技术例如有沉淀、过滤、萃取、蒸发、研制、色谱法和重结晶。

流程 II



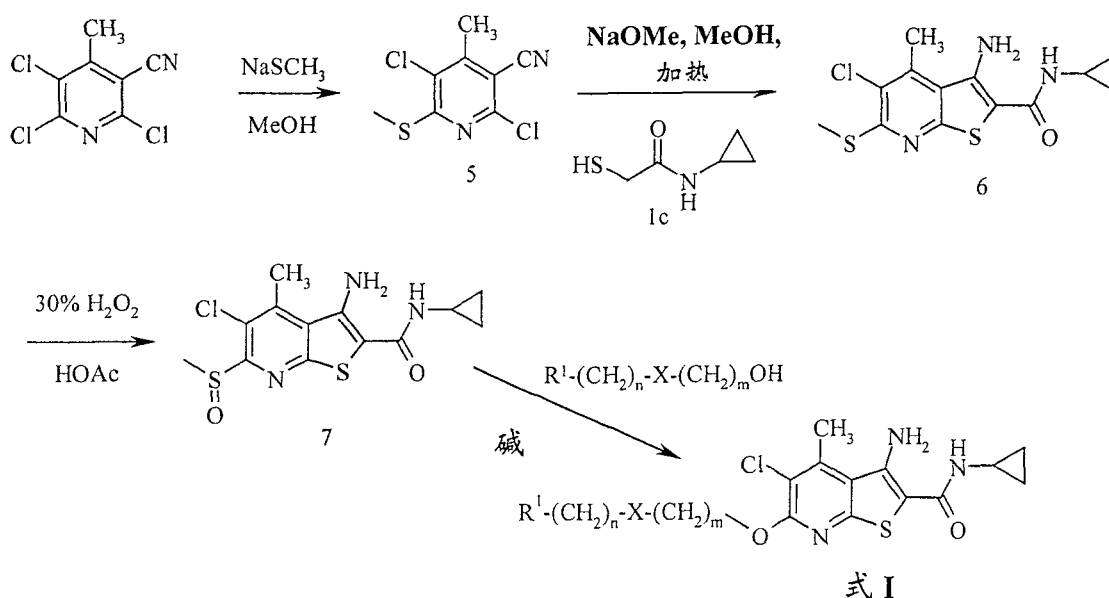
在流程 II 的另一种合成方案中，将 2,5-二氯-4-甲基烟腈用醇化物阴离子(由链烷醇和碱、例如氢化钠或双(三甲基甲硅烷基)氨基锂生成)在链烷醇溶剂中、在 0℃至室温下处理 30 分钟至 24 小时，得到置换产物 2a 和 2b 的混合物。将 2a 和 2b 的混合物用 2 至 4 当量的 N-氯代琥珀酰亚胺在冰乙酸中、在 100 至 140℃下、在密闭反应容器中氯化 24 至 48 小时，得到氯化中间体混合物 3a 和 3b。在适宜碱如钠、钾或锂的醇化物(其中醇化物是低分子量的醇化物)的存在下，将氯化混合物 3a 和 3b 用化合物 1c 处理。碱溶于链烷醇如甲醇中。碱的链烷醇溶液优选是甲醇钠的 MeOH 溶液。反应在 100 至 140℃下、在密闭反应容器中进行 30 分钟至 4 小时，生成式 I 化合物。产物可以通过上述技术进行分离和纯化。

流程 III



在流程 III 中, 将 4-甲基-2,5,6-三氯-烟腈用醇化物阴离子(由链烷醇和碱如氢氧化钠或双(三甲基甲硅烷基)氨基锂生成)在链烷醇溶剂中、在 0℃ 至室温下处理 30 分钟至 24 小时, 得到置换产物 4。将中间体 4 用流程 I 的试剂化合物 1c 处理, 得到式 I。产物可以通过上述技术进行分离和纯化。

流程 IV



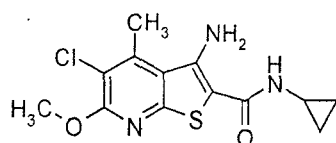
在流程 IV 中, 将 4-甲基-2,5,6-三氯-烟腈用低分子量的锂、钠或钾的硫醇化物(C₁-C₄)如甲硫醇钠在低分子量链烷醇(C₁-C₄)如 MeOH 中处理, 得到置换产物 5。使中间体 5 与流程 I 的化合物 1c 反应, 得到化合物 6。将化合物 6 在低分子量链烷醇(C₁-C₄)中如 MeOH 中、在室温至 40℃ 下用

例如过氧化氢进行氧化,反应时间为12至48小时,得到亚砷7。如流程I或II那样,用醇化物在链烷醇中使亚砷7进行置换,得到式I化合物。产物可以通过上述技术进行分离和纯化。

实施例

实施例1

3-氨基-5-氯-6-甲氧基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



A. 2-氯-N-环丙基-乙酰胺

在0℃下,通过加液漏斗向环丙胺(50.0g, 0.876mol)的二氯甲烷(700ml)溶液中滴加2-氯乙酰氯(49.4g, 0.436mol)。将所得混合物在0℃下搅拌2小时,然后通过Celite®垫过滤。浓缩滤液至橙色固体,在500ml己烷中制成浆状,然后过滤。收集橙色固体,在真空室内干燥30分钟。得到标题化合物,为橙色固体(58.12g, 99%)。质量(m/z): 134.1 ($M^+ + 1$)。

B. 硫羧乙酸 S-环丙基氨甲酰基甲基酯。

在0℃下,向2-氯-N-环丙基-乙酰胺(58.1g, 0.435mol)的二氯甲烷(700ml)溶液中加入硫羧乳酸(49.65g, 0.652mol)。将混合物在0℃下搅拌5分钟,然后非常缓慢地加入TEA(88.0g, 0.870mol)(放热反应)。将混合物在0℃下搅拌2小时,然后倒在700ml水上,同时搅拌。水层用5N HCl酸化至pH2,振荡和分离各层。水层用二氯甲烷萃取(2 × 400ml)。合并有机层,用盐水洗涤,然后干燥(无水硫酸镁),过滤,浓缩,得到标题化合物,为黄橙色固体(74.5g, 99%)。质量(m/z): 174.1 ($M^+ + 1$)。

C. N-环丙基-2-巯基-乙酰胺。

向硫羧乙酸 S-环丙基氨甲酰基甲基酯(17.0g, 98.14mmol)的MeOH(200ml)溶液中加入28%氢氧化铵的水溶液(17ml)。将所得溶液于室温搅拌1小时。将反应溶液倒在水(400ml)上,用5N HCl酸化至pH 2。溶液用

EtOAc 萃取($6 \times 200\text{ml}$), 合并有机层, 干燥(无水硫酸镁), 过滤, 浓缩, 得到标题化合物, 为浅橙色固体(12.87g , 99%)。质量(m/z): $132.1 (M^+ + 1)$ 。

D. 2,5-二氯-6-甲氧基-4-甲基-烟腈。

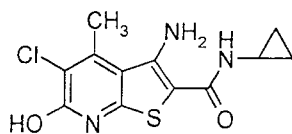
向 2,5,6-三氯-4-甲基-烟腈(11.0g , 49.67mmol , *Tetrahedron*, 1977, 33, 113-117)在 MeOH (125ml)中的浆状物中加入甲醇钠溶液(25% wt. MeOH 溶液) (11.92ml , 52.15mmol)。将反应混合物在 0°C 下搅拌 30 分钟, 然后于室温搅拌 1 小时。加入水(300ml)淬灭反应物, 生成浓厚的白色沉淀。加入另外 200ml 水, 将混合物在 0°C 下搅拌 10 分钟。过滤收集沉淀, 干燥(真空烘箱, 16 小时, 60°C), 得到标题化合物, 为灰白色固体(10.05g , 93%)。质量(m/z): $217.0 (M^+ + 1)$ 。

E. 3-氨基-5-氯-6-甲氧基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺

向 N-环丙基-2-巯基-乙酰胺(6.65g , 50.68mmol)的 MeOH (100ml)溶液中加入甲醇钠溶液(25% wt. MeOH 溶液) (11.59ml , 50.68mmol)。将所得溶液于室温搅拌 10 分钟, 然后用 2,5-二氯-6-甲氧基-4-甲基-烟腈(10.0g , 46.07mmol)处理。将反应容器密封, 在 100°C 下加热 2 小时。将反应混合物冷却至室温, 倒在 500ml 冷水上。生成浓厚的白色沉淀。将混合物在 0°C 下搅拌 10 分钟, 然后过滤收集固体。将松散的白色固体(标题化合物)置于 60°C 真空烘箱中干燥过夜(7.74g , 54%)。质量(m/z): $312.0 (M^+ + 1)$ 。

实施例 2

3-氨基-5-氯-6-羟基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺

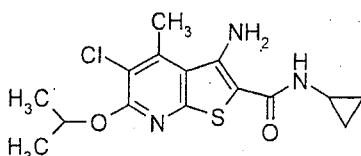


向 3-氨基-5-氯-6-甲氧基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(5.0g , 16.04mmol)的 DMF (45ml)溶液中加入固体 95%甲硫醇钠(1.30g , 17.64mmol)。将反应容器密封, 在 100°C 下加热 5 小时。将反应物冷却至室温, 加入水(75ml)淬灭。向混合物加入 5N HCl 酸化至 pH 2。逐渐生成

浓厚的白色沉淀，在 0℃下搅拌 10 分钟，然后过滤收集。将固体在 60℃真空烘箱中干燥过夜，得到标题化合物，为白色固体(4.13g, 86%)。质量(m/z): 298.0 ($M^+ + 1$).

实施例 3

3-氨基-5-氯-6-异丙氧基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



A. 2-氯-6-异丙氧基-4-甲基-烟腈与 6-氯-2-异丙氧基-4-甲基-烟腈的 1:1 混合物

在 0℃下，向 2,6-二氯-4-甲基烟腈(0.500g, 2.67mmol)在 4ml 2-丙醇中的浆状物中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (2.67ml, 2.67mmol)。将所得混合物在 0℃下搅拌 20 分钟，然后于室温搅拌 5 小时。加入水(10ml)淬灭反应物。使混合物在水与 EtOAc (各 75ml)之间分配，振荡和分离各层。将有机层用盐水洗涤，然后干燥(无水硫酸镁)，过滤，浓缩，得到标题化合物(黄褐色固体，0.510g, 91%收率)，为区域异构体的 1:1 混合物(基于 NMR 数据)。质量(m/z): 211.0 ($M^+ + 1$).

B. 2,5-二氯-6-异丙氧基-4-甲基-烟腈与 5,6-二氯-2-异丙氧基-4-甲基-烟腈的 1:1 混合物

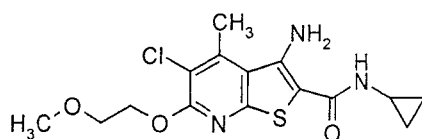
向厚玻璃制带螺帽的反应试管中加入 2-氯-6-异丙氧基-4-甲基-烟腈与 6-氯-2-异丙氧基-4-甲基-烟腈的 1:1 混合物(0.510g, 2.42mmol)、冰乙酸(7ml)和 N-氯代琥珀酰亚胺(1.29g, 9.68mmol)。密封反应试管，将混合物在 125℃下加热 48 小时。将反应混合物冷却至室温，在水与 EtOAc (各 100ml)之间分配。振荡和分离各层。将有机层依次用饱和碳酸氢钠水溶液(100ml)、水(100ml)和盐水(100ml)洗涤。将有机层干燥(无水硫酸镁)，过滤，浓缩，得到褐色的油。进行快速色谱法(5:1 己烷:EtOAc)，得到标题化合物(白色固体，0.400g, 67%收率)，为区域异构体的 1:1 混合物(基于 NMR 数据)。质量(m/z): 243.0 ($M^+ - 1$).

C. 3-氨基-5-氯-6-异丙氧基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺

向 N-环丙基-2-巯基-乙酰胺(0.498g, 3.80mmol)的 MeOH (5ml)溶液中加入甲醇钠溶液(25% wt. MeOH 溶液) (0.652ml, 2.85mmol)。将所得溶液于室温搅拌 30 分钟, 然后用 2,5-二氯-6-异丙氧基-4-甲基-烟腈与 5,6-二氯-2-异丙氧基-4-甲基-烟腈的 1:1 混合物(0.400g, 1.63mmol)处理。将反应试管密封, 在 100℃下加热 2.5 小时, 冷却至室温。将反应混合物倒在水(60ml)上, 然后用 EtOAc 萃取(2 × 40ml)。合并有机层, 用盐水(50ml)洗涤, 干燥(无水硫酸镁), 过滤, 浓缩, 得到黄棕色固体。进行快速色谱法(1.5:1 己烷:EtOAc), 得到标题化合物, 为黄褐色固体(20mg)。质量(m/z): 340.1 ($M^+ + 1$)。

实施例 4

3-氨基-5-氯-6-(2-甲氧基-乙氧基)-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



A. 2-氯-6-(2-甲氧基-乙氧基)-4-甲基-烟腈与 6-氯-2-(2-甲氧基-乙氧基)-4-甲基-烟腈的 1:1 混合物

在 0℃下, 向 2,6-二氯-4-甲基烟腈(0.500g, 2.67mmol)在 6ml 2-甲氧基甲醇中的浆状物中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液)(2.67ml, 2.67mmol)。将所得混合物在 0℃下搅拌 20 分钟, 然后于室温搅拌 5 小时。加入水(10ml)淬灭反应物。使混合物在水与 EtOAc (各 75ml)之间分配, 振荡和分离各层。将有机层用盐水洗涤, 然后干燥(无水硫酸镁), 过滤, 浓缩, 进行快速色谱法(5:1 己烷:EtOAc), 得到标题化合物(白色固体, 0.530g, 88%收率), 为区域异构体的 1:1 混合物(基于 NMR 数据)。质量(m/z): 227.0 ($M^+ + 1$)。

B. 2,5-二氯-6-(2-甲氧基-乙氧基)-4-甲基-烟腈与 5,6-二氯-2-(2-甲氧基-乙氧基)-4-甲基-烟腈的 1:1 混合物

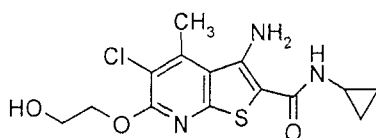
向厚玻璃制带螺帽的反应试管中加入 2-氯-6-(2-甲氧基-乙氧基)-4-甲基-烟腈与 6-氯-2-(2-甲氧基-乙氧基)-4-甲基-烟腈的 1:1 混合物(0.450g, 1.99mmol)、冰乙酸(8ml)和 N-氯代琥珀酰亚胺(1.06g, 7.94mmol)。密封反应试管, 将混合物在 110℃下加热 24 小时。将反应混合物冷却至室温, 在水与 EtOAc (各 100ml)之间分配。振荡和分离各层。将有机层依次用饱和碳酸氢钠水溶液(3 × 50ml)和水(100ml)洗涤。将有机层干燥(无水硫酸镁), 过滤, 浓缩, 得到标题化合物, 为黄橙色的油(0.453g, 87%收率), 为区域异构体的 1:1 混合物(基于 NMR 数据)。质量(m/z): 261.0 ($M^+ - 1$)。

C. 3-氨基-5-氯-6-(2-甲氧基-乙氧基)-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺

向 N-环丙基-2-巯基-乙酰胺(0.452g, 3.45mmol)的 MeOH (5ml)溶液中加入甲醇钠溶液(25% wt. MeOH 溶液) (0.589ml, 2.58mmol)。将所得溶液于室温搅拌 30 分钟, 然后用 2,5-二氯-6-(2-甲氧基-乙氧基)-4-甲基-烟腈与 5,6-二氯-2-(2-甲氧基-乙氧基)-4-甲基-烟腈的 1:1 混合物(0.450g, 1.72mmol)处理。将反应试管密封, 在 100℃下加热 2.5 小时, 冷却至室温。将反应混合物倒在水(60ml)上, 然后用 EtOAc 萃取(2 × 40ml)。合并有机层, 用盐水(50ml)洗涤, 干燥(无水硫酸镁), 过滤, 浓缩, 得到黄棕色固体。进行快速色谱法(1.5:1 己烷:EtOAc), 得到标题化合物, 为奶油色固体(53mg, 10%)。质量(m/z): 356.1 ($M^+ + 1$)。

实施例 5

3-氨基-5-氯-6-(2-羟基-乙氧基)-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



A. 2,5-二氯-4-甲基-6-甲硫基-烟腈

在 0℃下, 向 2,5,6-三氯-4-甲基-烟腈(10.0g, 45.2mmol, *Tetrahedron*, 1977, 33, 113-117)在 MeOH (150ml)中的浆状物中加入固体甲硫醇钠(3.33g,

45.2mmol)。将混合物在 0℃下搅拌 1 小时，然后于室温搅拌 1 小时。加入水(250ml)淬灭反应物。使混合物在水与 EtOAc (各 500ml)之间分配，振荡和分离各层。将有机层干燥(无水硫酸镁)，过滤，浓缩，得到标题化合物，为黄色固体(10.5g, 99%)。质量(m/z): 233.0 ($M^+ + 1$)。

B. 3-氨基-5-氯-4-甲基-6-甲硫基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺

向硫羧乙酸 S-环丙基氨甲酰基甲基酯(8.58g, 49.5mmol)与 MeOH (100ml)的混合物中加入甲醇钠溶液(25% wt. MeOH 溶液) (15.4ml, 67.5mmol)。将所得溶液于室温搅拌 20 分钟，然后用 2,5-二氯-4-甲基-6-甲硫基-烟腈(10.5g, 45.0mmol)处理。将混合物在 100℃下回流 2 小时，冷却至室温，加入水(100ml)淬灭。使混合物在水与 EtOAc (各 300ml)之间分配，振荡和分离各层。水层用 EtOAc 萃取(2 × 150ml)。合并有机层，用盐水(200ml)洗涤，干燥(无水硫酸镁)，过滤，浓缩，得到橙色固体。进行快速色谱法(1:1 己烷:EtOAc)，得到标题化合物，为黄色固体(8.4g, 57%)。质量(m/z): 328.1 ($M^+ + 1$)。

C. 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺

向 3-氨基-5-氯-4-甲基-6-甲硫基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(7.5g, 22.87mmol)在冰乙酸(75ml)中的浆状物中加入 30%过氧化氢的水溶液(2.85ml, 25.16mmol)中。将混合物在 35℃下搅拌 16 小时，冷却至室温，倒在水(300ml)上。生成亮黄色沉淀。将混合物在 0℃下搅拌 1 小时，然后过滤收集固体，在 60℃下真空干燥 3 小时，得到标题化合物，为亮黄色固体(5.58g, 71%)。质量(m/z): 344.1 ($M^+ + 1$)。

D. (3-氨基-5-氯-2-环丙基氨甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸甲酯

于室温，向乙醇酸甲酯(6.55g, 72.71mmol)的 THF (35ml)溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (36.35ml, 36.35mmol)。将

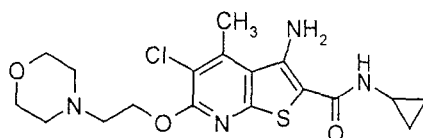
所得混合物搅拌 20 分钟,然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(5.0g, 14.54mmol)处理。将反应容器密封,在 90℃下加热 3 小时。将反应物冷却至室温,加入水(50ml)淬灭。使混合物在水与 EtOAc (各 250ml)之间分配,振荡和分离各层。水层用 2 × 100ml EtOAc 萃取。合并有机层,干燥(无水硫酸镁),过滤,浓缩,进行快速色谱法(1:1 己烷:EtOAc),得到标题化合物,为黄色固体(3.1g, 58%)。质量(m/z): 370.1 ($M^+ + 1$), 368.0 ($M^+ - 1$)。

E. 3-氨基-5-氯-6-(2-羟基-乙氧基)-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺

在-78℃下,向(3-氨基-5-氯-2-环丙基氨基甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸甲酯(0.250g, 0.676mmol)的 THF (3ml)溶液中滴加二异丁基氢化铝溶液(1.5M 甲苯溶液) (1.35ml, 2.03mmol)。将反应溶液在-78℃下搅拌 30 分钟,然后于室温搅拌 1 小时。如果根据 TLC (2:1 EtOAc:己烷)反应是不完全的,可以加入另外 1.0eq 二异丁基氢化铝(1.5M 甲苯溶液) (0.45ml, 0.676mmol)。15 分钟后,加入 3ml MeOH:水的 1:1 混合物淬灭反应物。使反应混合物在水与 EtOAc (各 50ml)之间分配,振荡和分离各层。水层用 2 × 50ml EtOAc 萃取,合并有机层,干燥(无水硫酸镁),过滤,浓缩,得到黄色固体。将该固体溶于 2:1 EtOAc:己烷,一旦溶解,生成黄色沉淀。过滤收集黄色固体,在 60℃真空烘箱中干燥过夜,得到标题化合物,为黄色固体(0.155g, 67%)。质量(m/z): 342.1 ($M^+ + 1$)。

实施例 6

3-氨基-5-氯-4-甲基-6-(2-吗啉-4-基-乙氧基)-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺

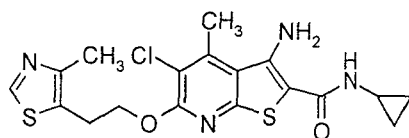


于室温,向 4-(2-羟基乙基)吗啉(5.72g, 43.62mmol)的 THF (25ml)溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (21.80ml,

21.80mmol)。将反应混合物搅拌 15 分钟,然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(3.0g, 8.72mmol)处理。将反应容器密封,在 80℃下加热 3 小时。将反应物冷却至室温,加入水(200ml)淬灭。生成黄色沉淀。将混合物用水稀释至 350ml,冷却至 0℃。过滤收集黄色沉淀。将固体在 100ml 3:1 己烷:EtOAc 中制成浆状物,搅拌 10 分钟。过滤混合物,收集固体,在真空烘箱中干燥过夜,得到标题化合物,为黄色固体(2.11g, 59%)。质量(m/z): 411.1 ($M^+ + 1$), 409.1 ($M^+ - 1$)。

实施例 7

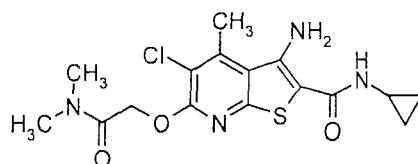
3-氨基-5-氯-4-甲基-6-[2-(4-甲基-噻唑-5-基)-乙氧基]-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



于室温,向 4-甲基-5-噻唑-乙醇(0.375g, 2.62mmol)的 THF (1ml)溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (1.74ml, 1.74mmol)。将反应混合物搅拌 15 分钟,然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.300g, 0.872mmol)处理。将反应混合物于室温搅拌 18 小时,然后加入水(5ml)淬灭。使混合物在水与 EtOAc (各 40ml)之间分配。加入 5ml 1N HCl,振荡和分离各层。水层用 EtOAc (50ml)萃取,合并有机层,干燥(无水硫酸镁),过滤,浓缩,进行快速色谱法(1:2 己烷:EtOAc),得到标题化合物,为淡黄色固体(0.094g, 25%)。质量(m/z): 423.1 ($M^+ + 1$), 421.1 ($M^+ - 1$)。

实施例 8

(3-氨基-5-氯-2-环丙基氨基甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸二甲基酰胺



A. (3-氨基-5-氯-2-环丙基氨甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸

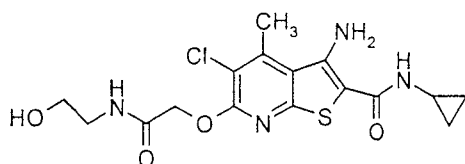
向(3-氨基-5-氯-2-环丙基氨甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸甲酯(0.940g, 2.54mmol)的 THF (20ml)溶液中加入 95%三甲基甲硅烷醇钾(1.63g, 12.71mmol)。将所得混合物于室温搅拌 2 小时, 然后加入水(50ml)淬灭。加入 1N HCl 酸化混合物至 pH 2, 然后用 EtOAc (100ml)萃取。将有机层用盐水(40ml)洗涤, 然后干燥(无水硫酸镁), 过滤, 浓缩, 得到标题化合物, 为黄色固体(0.693g, 77%)。质量(m/z): 355.9 ($M^+ + 1$), 354.0 ($M^+ - 1$)。

B. (3-氨基-5-氯-2-环丙基氨甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸二甲基酰胺

向(3-氨基-5-氯-2-环丙基氨甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸(0.200g, 0.562mmol)在 THF:DMF (各 1.5ml)的 1:1 混合物中的溶液中加入 1-羟基苯并三唑水合物(0.099g, 0.731mmol)、N,N-二异丙基乙胺(0.109g, 0.843mmol)、1-[3-(二甲氨基)-丙基]-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(0.162g, 0.843mmol)和二甲胺(2.0M MeOH 溶液)(0.85ml, 1.69mmol)。将所得溶液于室温搅拌 24 小时, 然后在 50℃下搅拌 24 小时。将反应物冷却至室温, 加入水淬灭。使混合物在水与 EtOAc (各 40ml)之间分配, 振荡和分离各层。将水层用 1N HCl 酸化至 pH 3, 然后用 EtOAc (40ml)萃取。合并有机层, 干燥(无水硫酸镁), 过滤, 浓缩, 进行快速色谱法(100% EtOAc), 得到标题化合物, 为白色固体(0.040g, 19%)。质量(m/z): 383.2 ($M^+ + 1$), 381.2 ($M^+ - 1$)。

实施例 9

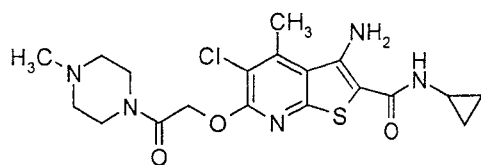
(3-氨基-5-氯-2-环丙基氨甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸
2-羟基乙基酰胺



向(3-氨基-5-氯-2-环丙基氨甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸(0.200g, 0.562mmol)在 THF:DMF (各 1.5ml)的 1:1 混合物中的溶液中加入 1-羟基苯并三唑水合物(0.099g, 0.731mmol)、N,N-二异丙基乙胺(0.109g, 0.843mmol)、1-[3-(二甲氨基)-丙基]-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(0.162g, 0.843mmol)和乙醇胺(0.103g, 1.69mmol)。将所得溶液于室温搅拌 24 小时, 然后在 50℃下搅拌 24 小时。将反应物冷却至室温, 加入水淬灭。使混合物在水与 EtOAc (各 40ml)之间分配, 振荡和分离各层。将水层用 1N HCl 酸化至 pH 3, 然后用 EtOAc (40ml)萃取。合并有机层, 干燥(无水硫酸镁), 过滤, 浓缩, 进行快速色谱法(100% EtOAc), 得到标题化合物, 为奶油色固体(0.075g, 34%)。质量(m/z): 399.2 ($M^+ + 1$), 397.2 ($M^+ - 1$)。

实施例 10

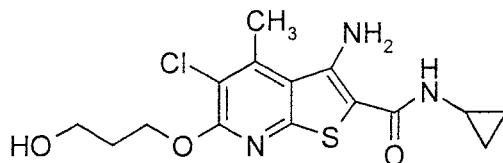
(3-氨基-5-氯-2-环丙基氨甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸
(4-甲基-哌嗪-1-基)-酰胺



向(3-氨基-5-氯-2-环丙基氨甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸(0.200g, 0.562mmol)在 THF:DMF (各 1.5ml)的 1:1 混合物中的溶液中加入 1-羟基苯并三唑水合物(0.099g, 0.731mmol)、N,N-二异丙基乙胺(0.109g, 0.843mmol)、1-[3-(二甲氨基)-丙基]-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(0.162g, 0.843mmol)和 N-甲基哌嗪(0.169g, 1.69mmol)。将所得溶液于室温搅拌 24 小时, 然后在 50℃下搅拌 24 小时。将反应物冷却至室温, 加入水淬灭。使混合物在水与 EtOAc (各 40ml)之间分配, 振荡和分离各层。将水层用 1N HCl 酸化至 pH 3, 然后用 EtOAc (40ml)萃取。合并有机层, 干燥(无水硫酸镁), 过滤, 浓缩, 进行快速色谱法(100% EtOAc), 得到标题化合物, 为黄色固体(0.080g, 33%)。质量(m/z): 438.2 ($M^+ + 1$), 436.2 ($M^+ - 1$)。

实施例 11

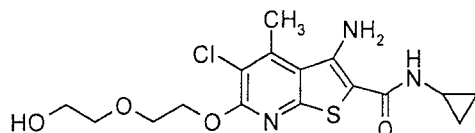
3-氨基-5-氯-6-(3-羟基-丙氧基)-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



于室温，向 1,3-丙二醇(1.053g, 13.84mmol)的 THF (3ml)溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (3.50ml, 3.50mmol)。将反应混合物搅拌 15 分钟，然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.345g, 1.00mmol)处理。将反应混合物在 75°C 下加热 1 小时，冷却至室温，然后加入水(15ml)淬灭。向反应混合物中加入冰，同时搅拌，生成黄色沉淀。过滤收集固体，置于真空烘箱中干燥(60°C 16 小时)。得到标题化合物，为黄色固体(0.240g, 67%)。质量(m/z): 356.2 ($M^+ + 1$), 354.1 ($M^+ - 1$)。

实施例 12

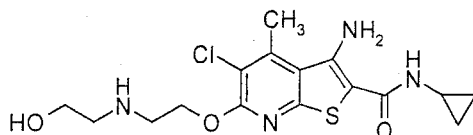
3-氨基-5-氯-6-[2-(2-羟基-乙氧基)-乙氧基]-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



于室温，向二甘醇(1.118g, 10.54mmol)的 THF (3ml)溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (3.50ml, 3.50mmol)。将反应混合物搅拌 15 分钟，然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.345g, 1.00mmol)处理。将反应混合物在 75°C 下加热 1 小时，冷却至室温，然后加入水(15ml)淬灭。向反应混合物中加入冰，同时搅拌，生成黄色沉淀。过滤收集固体，置于真空烘箱中干燥(60°C 16 小时)。得到标题化合物，为黄色固体(0.150g, 39%)。质量(m/z): 386.2 ($M^+ + 1$), 384.1 ($M^+ - 1$)。

实施例 13

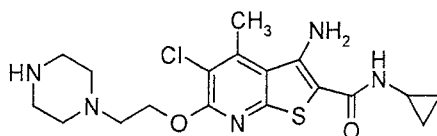
3-氨基-5-氯-6-[2-(2-羟基-乙基氨基)-乙氧基]-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



于室温，向二乙醇胺(1.097g, 10.43mmol)的 THF (3ml)溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (3.50ml, 3.50mmol)。将反应混合物搅拌 15 分钟，然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.345g, 1.00mmol)处理。将反应混合物在 75°C 下加热 1 小时，冷却至室温，然后加入水(15ml)淬灭。向反应混合物中加入冰，同时搅拌，生成黄色沉淀。过滤收集固体，置于真空烘箱中干燥(60°C 16 小时)。得到标题化合物，为黄色固体(0.216g, 56%)。质量(m/z): 385.2 ($M^+ + 1$), 383.1 ($M^+ - 1$)。

实施例 14

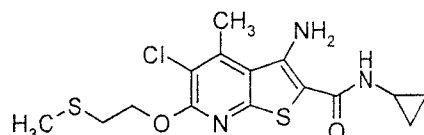
3-氨基-5-氯-4-甲基-6-(2-哌嗪-1-基-乙氧基)-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



于室温，向 1-(2-羟基乙基)哌嗪(1.061g, 8.15mmol)的 THF (3ml)溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (3.50ml, 3.50mmol)。将反应混合物搅拌 15 分钟，然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.345g, 1.00mmol)处理。将反应混合物在 75°C 下加热 1 小时，冷却至室温，然后加入水(15ml)淬灭。向反应混合物中加入冰，同时搅拌，生成黄色沉淀。过滤收集固体，置于真空烘箱中干燥(60°C 16 小时)。得到标题化合物，为黄色固体(0.245g, 71%)。质量(m/z): 410.2 ($M^+ + 1$), 408.2 ($M^+ - 1$)。

实施例 15

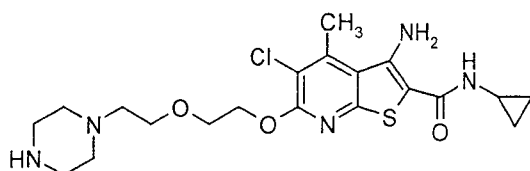
3-氨基-5-氯-4-甲基-6-(2-甲硫基-乙氧基)-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



于室温,向 2-(甲硫基)乙醇(1.060g, 11.50mmol)的 THF (3ml)溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (3.50ml, 3.50mmol)。将反应混合物搅拌 15 分钟,然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.345g, 1.00mmol)处理。将反应混合物在 80°C 密封试管中加热 1.5 小时,冷却至室温,然后加入水(15ml)淬灭。向反应混合物中加入冰,同时搅拌,生成黄色沉淀。过滤收集固体,置于真空烘箱中干燥(60°C 16 小时)。得到标题化合物,为黄色固体(0.203g, 55%)。质量(m/z): 372.1 ($M^+ + 1$), 370.1 ($M^+ - 1$)。

实施例 16

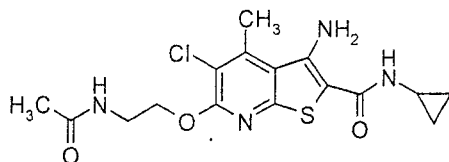
3-氨基-5-氯-4-甲基-6-[2-(2-哌嗪-1-基-乙氧基)-乙氧基]-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



于室温,向 1-[2-(2-羟基乙氧基)乙基]哌嗪(1.061g, 6.09mmol)的 THF (3ml)溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (3.50ml, 3.50mmol)。将反应混合物搅拌 15 分钟,然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.345g, 1.00mmol)处理。将反应混合物在 80°C 密封试管中加热 1.5 小时,冷却至室温,然后加入水(15ml)淬灭。向反应混合物中加入冰,同时搅拌,生成黄色沉淀。过滤收集固体,置于真空烘箱中干燥(60°C 16 小时)。得到标题化合物,为黄色固体(0.078g, 17%)。质量(m/z): 454.2 ($M^+ + 1$), 452.2 ($M^+ - 1$)。

实施例 17

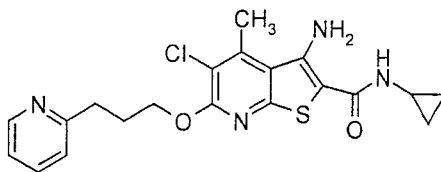
6-(2-乙酰氨基-乙氧基)-3-氨基-5-氯-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



于室温，向 N-乙酰基乙醇胺(1.120g, 10.86mmol)的 THF (3ml)溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (3.50ml, 3.50mmol)。将反应混合物搅拌 15 分钟，然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.345g, 1.00mmol)处理。将反应混合物在 80°C 密封试管中加热 1.5 小时，冷却至室温，然后加入水(15ml)淬灭。向反应混合物中加入冰，同时搅拌，生成黄色沉淀。过滤收集固体，置于真空烘箱中干燥(60°C 16 小时)。得到标题化合物，为黄色固体(0.199g, 52%)。质量(m/z): 383.2 ($M^+ + 1$), 381.1 ($M^+ - 1$)。

实施例 18

3-氨基-5-氯-4-甲基-6-(3-吡啶-2-基-丙氧基)-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺

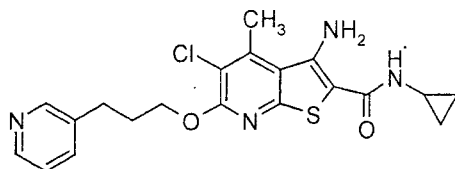


于室温，向 2-吡啶丙醇(0.960g, 7.0mmol)的 THF (3ml)溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (3.50ml, 3.50mmol)。将反应混合物搅拌 15 分钟，然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.345g, 1.00mmol)处理。将反应混合物在 75°C 密封试管中加热 1.5 小时，冷却至室温，然后加入水(10ml)淬灭。将反应混合物转移至锥形瓶中，用水稀释至 75ml。将混合物冷却至 0°C，搅拌。在此期间生成黄色沉淀。过滤收集固体，在 2:1 EtOAc:己烷混合物中制成浆状物。将该浆状物搅拌 10 分钟，过滤收集固体，置于真空烘箱中干

燥(60°C 16 小时)。得到标题化合物,为黄色固体(0.141g, 34%)。质量(m/z): 417.2 ($M^+ + 1$), 415.1 ($M^+ - 1$)。

实施例 19

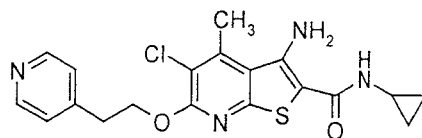
3-氨基-5-氯-4-甲基-6-(3-吡啶-3-基-丙氧基)-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



于室温,向 3-吡啶丙醇(0.960g, 7.0mmol)的 THF (3ml)溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (3.50ml, 3.50mmol)。将反应混合物搅拌 15 分钟,然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.345g, 1.00mmol)处理。将反应混合物在 75°C 密封试管中加热 1.5 小时,冷却至室温,然后加入水(10ml)淬灭。将反应混合物转移至锥形瓶中,用水稀释至 75ml。将混合物冷却至 0°C,搅拌。在此期间生成黄色沉淀。过滤收集固体,在 2:1 EtOAc:己烷混合物中制成浆状物。将该浆状物搅拌 10 分钟,过滤收集固体,置于真空烘箱中干燥(60°C 16 小时)。得到标题化合物,为黄色固体(0.242g, 58%)。质量(m/z): 417.2 ($M^+ + 1$), 415.2 ($M^+ - 1$)。

实施例 20

3-氨基-5-氯-4-甲基-6-(2-吡啶-4-基-乙氧基)-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺

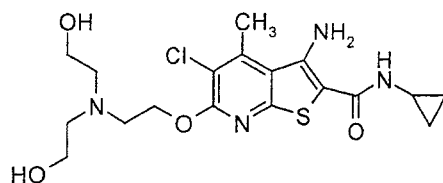


于室温,向 4-吡啶乙醇(0.862g, 7.0mmol)的 THF (3ml)溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (3.50ml, 3.50mmol)。将反应混合物搅拌 15 分钟,然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.345g, 1.00mmol)处理。将反应混合物在

75°C 密封试管中加热 1.5 小时, 冷却至室温, 然后加入水(10ml)淬灭。将反应混合物转移至锥形瓶中, 用水稀释至 75ml。将混合物冷却至 0°C, 搅拌。在此期间生成黄色沉淀。过滤收集固体, 在 2:1 EtOAc:己烷混合物中制成浆状物。将该浆状物搅拌 10 分钟, 过滤收集固体, 置于真空烘箱中干燥(60°C 16 小时)。得到标题化合物, 为黄色固体(0.231g, 57%)。质量(m/z): 403.1 ($M^+ + 1$), 401.1 ($M^+ - 1$)。

实施例 21

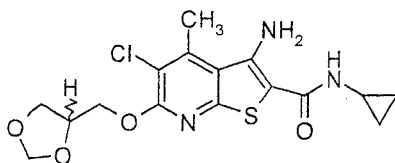
3-氨基-6-{2-[双-(2-羟基乙基)-氨基]-乙氧基}-5-氯-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



于室温, 向三乙醇胺(1.044g, 7.0mmol)的 THF (3ml)溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (3.50ml, 3.50mmol)。将反应混合物搅拌 15 分钟, 然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.345g, 1.00mmol)处理。将反应混合物在 75°C 密封试管中加热 1.5 小时, 冷却至室温, 然后加入水(10ml)淬灭。将反应混合物转移至锥形瓶中, 用水稀释至 75ml。将混合物冷却至 0°C, 搅拌。在此期间生成黄色沉淀。过滤收集固体, 在 2:1 EtOAc:己烷混合物中制成浆状物。将该浆状物搅拌 10 分钟, 过滤收集固体, 置于真空烘箱中干燥(60°C 16 小时)。得到标题化合物, 为黄色固体(0.179g, 41%)。质量(m/z): 429.2 ($M^+ + 1$), 427.2 ($M^+ - 1$)。

实施例 22

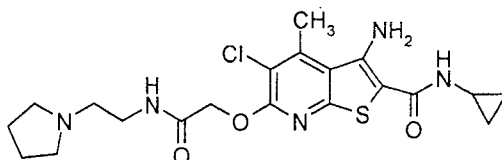
3-氨基-5-氯-6-([1,3]间二氧杂环戊烷-4-基甲氧基)-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



于室温，向甘油甲缩醛(0.729g, 7.0mmol)的 THF (3ml)溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (3.50ml, 3.50mmol)。将反应混合物搅拌 15 分钟，然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.345g, 1.00mmol)处理。将反应混合物在 75°C 密封试管中加热 1.5 小时，冷却至室温，然后加入水(10ml)淬灭。将反应混合物转移至锥形瓶中，用水稀释至 75ml。将混合物冷却至 0°C，搅拌。在此期间生成黄色沉淀。过滤收集固体，在 2:1 EtOAc:己烷混合物中制成浆状物。将该浆状物搅拌 10 分钟，过滤收集固体，置于真空烘箱中干燥(60°C 16 小时)。得到标题化合物，为白色固体(0.195g, 51%)。质量(m/z): 384.1 ($M^{+}+1$), 382.1 ($M^{+}-1$)。

实施例 23

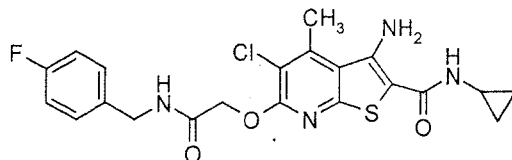
3-氨基-5-氯-4-甲基-6-[(2-吡咯烷-1-基-乙基氨基甲酰基)-甲氧基]-噻吩并
[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



向(3-氨基-5-氯-2-环丙基氨基甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸(0.300g, 0.843mmol)在 THF:DMF 的 1:1 混合物(各 2.0ml)中的溶液中加入 1-羟基苯并三唑水合物(0.148g, 1.096mmol)、N,N-二异丙基乙胺(0.163g, 1.265mmol)、1-[3-(二甲氨基)-丙基]-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(0.242g, 1.265mmol)和 1-(2-氨基乙基)吡咯烷(0.289g, 2.529mmol)。将所得溶液于室温搅拌 16 小时。加入水(25ml)淬灭反应物。生成黄色沉淀。将混合物冷却至 0℃, 搅拌 10 分钟, 然后过滤。收集固体, 在 60℃真空烘箱中干燥 3 小时。得到标题化合物, 为黄色固体(0.069g, 18%)。质量(m/z): 452.2 ($M^+ + 1$), 450.2 ($M^+ - 1$)。

实施例 24

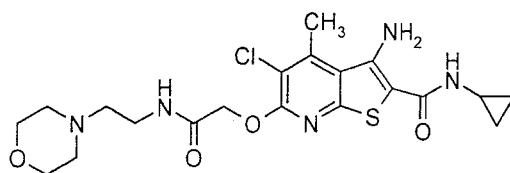
3-氨基-5-氯-6-[(4-氟-苄基氨甲酰基)-甲氧基]-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



向(3-氨基-5-氯-2-环丙基氨甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸(0.300g, 0.843mmol)在 THF:DMF (各 2.0ml)的 1:1 混合物中的溶液中加入 1-羟基苯并三唑水合物(0.148g, 1.096mmol)、N,N-二异丙基乙胺(0.163g, 1.265mmol)、1-[3-(二甲氨基)-丙基]-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(0.242g, 1.265mmol)和 4-氟苄基胺(0.317g, 2.529mmol)。将所得溶液于室温搅拌 16 小时。加入水(25ml)淬灭反应物。生成黄色沉淀。将混合物冷却至 0℃, 搅拌 10 分钟, 然后过滤。收集固体, 在 10:1 己烷:EtOAc 中制成浆状物, 搅拌 10 分钟。过滤收集固体, 在 50℃真空烘箱中干燥 1 小时。得到标题化合物, 为淡黄色固体(0.143g, 37%)。质量(m/z): 463.1 ($M^+ + 1$), 461.1 ($M^+ - 1$)。

实施例 25

3-氨基-5-氯-4-甲基-6-[(2-吗啉-4-基-乙基氨甲酰基)-甲氧基]-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺

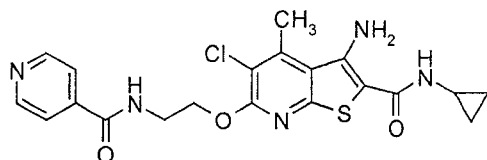


向(3-氨基-5-氯-2-环丙基氨甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸(0.300g, 0.843mmol)在 THF:DMF (各 2.0ml)的 1:1 混合物中的溶液中加入 1-羟基苯并三唑水合物(0.148g, 1.096mmol)、N,N-二异丙基乙胺(0.163g, 1.265mmol)、1-[3-(二甲氨基)-丙基]-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(0.242g, 1.265mmol)和 4-(2-氨基乙基)吗啉(0.329g, 2.529mmol)。将所得溶液于室温搅拌 16 小时。加入水(25ml)淬灭反应物。如果没有生成沉淀, 可以将混合物用 1N HCl 酸化至 pH 2, 用 EtOAc (25ml)萃取。弃去有机层, 水层用 5N

NaOH 调至碱性(pH 12), 用 EtOAc (40ml) 萃取。将有机层干燥(无水硫酸镁), 过滤, 浓缩, 得到黄色固体。将固体在 3:1 己烷:EtOAc (10ml) 中制成浆状物, 然后过滤。收集固体, 在 50℃ 真空烘箱中干燥 72 小时。得到标题化合物, 为黄色固体(0.053g, 13%)。质量(m/z): 468.2 ($M^+ + 1$), 466.2 ($M^+ - 1$)。

实施例 26

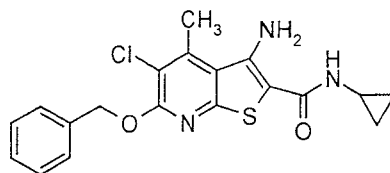
3-氨基-5-氯-4-甲基-6-{2-[(吡啶-4-羰基)-氨基]-乙氧基}-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



于室温, 向 N-(2-羟基乙基)-异烟酰胺(0.831g, 5.00mmol)的 THF (2.5ml) 溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (2.50ml, 2.50mmol)。将反应混合物搅拌 15 分钟, 然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.345g, 1.00mmol)处理。将反应混合物在 80℃ 密封试管中加热 2 小时, 冷却至室温, 然后加入水(15ml)淬灭。将混合物用水稀释至 100ml, 然后冷却至 0℃, 搅拌。生成黄色沉淀。过滤收集固体, 在 EtOAc 中制成浆状物, 再次过滤, 得到黄色固体, 置于真空烘箱中干燥(50℃ 3 小时)。得到标题化合物, 为黄色固体(0.046g, 10%)。质量(m/z): 446.3 ($M^+ + 1$), 444.2 ($M^+ - 1$)。

实施例 27

3-氨基-6-苄氧基-5-氯-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺

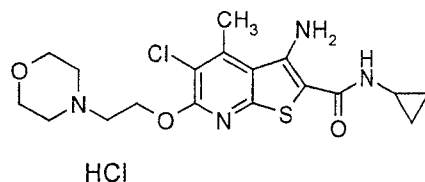


于室温, 向苄醇(0.541g, 5.00mmol)的 THF (2.5ml) 溶液中滴加双(三甲基甲硅烷基)氨基锂溶液(1.0M 己烷溶液) (2.50ml, 2.50mmol)。将反应混合

物搅拌 15 分钟, 然后用 3-氨基-5-氯-6-甲基亚磺酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.345g, 1.00mmol)处理。将反应混合物在 80°C 密封试管中加热 2 小时, 冷却至室温, 然后加入水(15ml)淬灭。将混合物用水稀释至 100ml, 然后冷却至 0°C, 搅拌。生成黄色沉淀。过滤收集固体, 经过快速色谱纯化(1.5:1 己烷:EtOAc), 得到标题化合物, 为淡黄色固体(0.130g, 33%)。质量(m/z): 388.2 ($M^+ + 1$), 386.2 ($M^+ - 1$)。

实施例 28

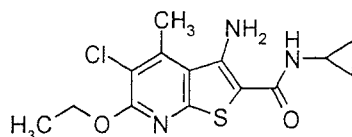
3-氨基-5-氯-4-甲基-6-(2-吗啉-4-基-乙氧基)-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺盐酸盐



将 3-氨基-5-氯-4-甲基-6-(2-吗啉-4-基-乙氧基)-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.800g, 1.95mmol)与 MeOH (50ml)的混合物加热至 50°C。混合物用 THF (5ml)和 DMF (5ml)处理。仍然在 50°C 下, 将混合物用浓 HCl 酸化至 pH 1。生成均匀的溶液。使溶液缓慢冷却至室温。在此期间生成白色沉淀。过滤收集固体, 在 50°C 真空烘箱中干燥 72 小时。得到标题化合物, 为白色固体(0.562g, 65%)。质量(m/z): 411.1 ($M^+ + 1$)-HCl, 445.1 ($M^+ - 1$)。

实施例 29

3-氨基-5-氯-6-乙氧基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺



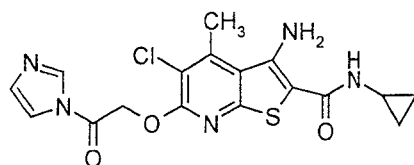
在氮下, 将氢化钠(0.037g, 0.925mmol)混悬在无水 1,2-二甲氧基-乙烷(5.0ml)中。将混悬液冷却至 0°C。经由套管向该冷的混悬液中加入 3-氨基-5-氯-6-羟基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-2-甲酸环丙基酰胺(0.300g, 1.01mmol)的无水 DMF (5.0ml)溶液。除去冰浴, 使反应物升温至室温。将

反应物于室温搅拌 25 分钟后, 加入固体溴化锂(0.175g, 2.02mmol), 将反应物搅拌另外 2 小时。最后加入乙基碘(0.24ml, 0.47g, 3.00mmol), 将反应物于室温搅拌 36 小时。在反应时间结束时, 用水淬灭混合物。过滤收集固体, 然后经过快速色谱纯化(己烷:EtOAc 梯度), 得到标题化合物, 为白色固体(24.3mg, 8%收率)。质量(m/z): 326.0 (M^+), 324.0 (M)。

或者, 可以按照实施例 29 的制备所述的工艺、用 EtOH 代替苄醇制备实施例 33。

实施例 30

(3-氨基-5-氯-2-环丙基氨甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸
(咪唑-1-基)-酰胺



于室温, 向(3-氨基-5-氯-2-环丙基氨甲酰基-4-甲基-噻吩并[2,3-b]吡啶-6-基氧基)-乙酸(0.350g, 0.98mmol)的 DMF (4ml)溶液中加入 1,1'-羰基二咪唑(0.239g, 1.48mmol)。将所得溶液在 40℃下加热搅拌 20 分钟。在此期间生成奶油色沉淀。将混合物冷却至 10℃, 加入净 2-氨基吡啶(0.231g, 2.46mmol)。将混合物于室温搅拌 30 分钟, 然后加入饱和碳酸氢钠溶液(10ml)淬灭。生成浓厚的白色沉淀。将混合物用水(25ml)稀释, 搅拌 10 分钟, 然后过滤。收集固体, 在真空烘箱中干燥 16 小时。得到标题化合物, 为白色固体(0.228g, 58%)。质量(m/z): 404.0 (M^+-1)。

本发明化合物可以被单独给药或者以药物组合物的形式给药, 所谓药物组合物也就是与可药用载体或赋形剂组合, 后者的比例和属性取决于所选择的化合物的溶解性和化学性质、所选择的给药途径和标准的药学实践。本发明化合物尽管本身是有效的, 不过出于稳定性、结晶的方便、增加溶解度等目的, 也可以以它们可药用盐的形式加以配制和给药。

因而, 本发明提供了药物组合物, 包含式 I 化合物和可药用稀释剂。

式 I 化合物可以通过多种途径给药。在进行对患有本文所述紊乱的患者进行治疗时，式 I 化合物可以以使得化合物在有效量下是生物可利用的任意剂型或模式给药，包括口服和胃肠道外途径。例如，式 I 化合物可以经口服、吸入或者经皮下、肌内、静脉内、透皮、鼻内、直肠、眼、局部、舌下、口腔或其它途径给药。口服给药一般是治疗本文所述神经和精神紊乱所优选的。

制剂领域技术人员能够容易选择恰当的给药剂型和方式，这依赖于所选择的化合物的特定特征、所要治疗的紊乱或病症、该紊乱或病症的阶段和其它相关因素 (*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 第 18 版, Mack 出版公司, (1990))。

药物组合物按照药学领域熟知的方式制备。载体或赋形剂可以是固体、半固体或液体材料，它们能够充当活性成分的媒介或介质。适宜的胃肠道外或局部用途，可以以片剂、胶囊剂、气雾剂、吸入剂、栓剂、溶液、混悬剂等剂型对患者给药。

本发明化合物可以经口服给药，例如利用惰性稀释剂或胶囊或者压制成片。对于口服治疗给药的目的，化合物可以与赋形剂结合，以片剂、锭剂、胶囊剂、酏剂、混悬剂、糖浆剂、糯米纸囊剂、咀嚼胶等剂型使用。这些制剂应当含有至少 4% 的本发明化合物作为活性成分，但是可以因特定剂型而异，可以方便地在单位的 4% 至约 70% 重量之间。组合物中的化合物含量是将获得适宜剂量的量。本发明的优选组合物和制剂可以由本领域技术人员来确定。

片剂、丸剂、胶囊剂、锭剂等还可以含有一种或多种下列助剂：粘合剂，例如聚维酮、羟丙基纤维素、微晶纤维素、黄蓍胶或明胶；赋形剂，例如磷酸二钙、淀粉或乳糖；崩解剂，例如藻酸、Primogel、玉米淀粉等；润滑剂，例如滑石粉、硬脂酸镁或 Sterotex；助流剂，例如胶体二氧化硅；和甜味剂，例如蔗糖、阿司帕坦或糖精；或者可以加入矫味剂，例如薄荷、水杨酸甲酯或橙味调料。当剂量单位形式是胶囊时，除了上述类型材料以外，它还可以含有液体载体，例如聚乙二醇或脂肪油。其它剂量单元形式可以含有其它各种调整剂量单元的物理形状的材料。

料,例如包衣。因而,片剂或丸剂可以包有糖、虫胶或其它包衣剂。除了本发明化合物以外,糖浆剂还可以含有蔗糖作为甜味剂,以及含有某些防腐剂、染剂与着色剂和矫味剂。用于制备这些各种组合物的材料应当是药学纯的,并且对其用量而言是无毒的。

出于肠胃外给药治疗的目的,本发明化合物可以被掺入到溶液或混悬液中。这些制剂通常含有至少 0.001% 本发明化合物,但是可以在 0.001 与约 90 重量%之间不等。式 I 化合物在这类组合物中的含量是将获得适宜剂量的量。溶液或混悬液还可以包括一种或多种下列助剂: 无菌稀释剂,例如注射用水、盐水溶液、不挥发性油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂; 抗菌剂,例如苄醇或对羟基苯甲酸甲酯; 抗氧化剂,例如抗坏血酸或亚硫酸氢钠; 螯合剂,例如乙二胺四乙酸; 缓冲剂,例如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐; 和张力调节剂,例如氯化钠或葡萄糖。肠胃外制剂可以被封装在安瓿、一次性注射器或由玻璃或塑料制成的多剂量小瓶中。优选的组合物和制剂能够由本领域技术人员来确定。

本发明化合物也可以被局部给药,此时载体可以适宜地包含溶液、软膏或凝胶基质。基质例如可以包含下列物质中的一种或多种: 凡士林、羊毛脂、聚乙二醇、蜂蜡、矿物油、稀释剂(例如水和醇)、乳化剂和稳定剂。典型的制剂可以含有浓度约 0.1 至约 10% w/v(每单位体积的重量)的式 I 化合物或其药用盐。

式 I 化合物是 M_4 亚型毒蕈碱性受体的变构增效剂。此外,式 I 化合物相对于其它毒蕈碱性受体而言选择性地增效 M_4 受体。本发明化合物的活性可以通过下列方法测定。

稳定表达人毒蕈碱性受体的全细胞中的钙活动

A. 稳定的细胞系

可以利用标准分子克隆技术生成表达人毒蕈碱性 M_1 - M_5 受体的稳定细胞系。 M_1 、 M_3 和 M_5 受体在中国仓鼠卵巢(CHO)细胞系中被表达,而 M_2 和 M_4 在 AV12 $G_{\alpha 15}$ 细胞系中被表达。编码这些毒蕈碱性受体的 cDNA 对应于 NCBI 核苷酸数据库中的已公布序列,对 M_1 - M_5 而言,登记号分别为

AF498915、AF498916、AF498917、AF498918 和 AF498919。

B. 方法

使用钙-敏感性荧光染料, 利用荧光成像平板读数(FLIPR)仪器在单一测定法中可以检测既定化合物的激动剂或增效活性。在进行测定之前 24 小时, 将细胞平板接种在聚-D-赖氨酸涂覆的黑色平板/透明底(Becton Dickinson)中的生长培养基中, 密度为 40,000 细胞/ml (100 μ l/孔)。除去培养基, 然后加入 50 μ l 荧光染料溶液(HBSS, 含有 20mM Hepes、10 μ M Fluo-3-AM、0.05% pluronic acid F127; 就 CHO 细胞测定法而言补充有 2.5mM 丙磺舒)。将细胞与染料一起温育 75 分钟, 然后用测定缓冲液(20mM Hepes 的 Hanks 平衡盐溶液(Gibco); 就 CHO 细胞测定法而言补充有 2.5mM 丙磺舒)替换。将平板转移至 FLIPR 机器(Molecular Devices)供荧光记录。用 488nm 光定期激发细胞, 所发射的荧光穿过 510-570nm 滤光器, 然后用冷 CCD 照相机检测。通过计算机程序安排多次自动加入化合物。使细胞与递增浓度的化合物一起预温育。2 分钟后, 向每种浓度化合物加入一系列浓度的乙酰胆碱。如果化合物是变构增强剂, 将可检测到化合物浓度依赖性的乙酰胆碱响应增效作用。可以通过亲和性和协同性对增效剂化合物的有效性进行分级。

一种替代方法可用于评估本发明化合物的亲和性以及基于这种所评估的亲和性对化合物进行分级。在这种方法中, 向所有小孔加入单一浓度(约为饱和浓度的 10%)的卡巴胆碱, 并且加入递增浓度的供试的本发明化合物。通过计算对 10%卡巴胆碱响应的增效而言的 EC_{50} , 推导所评估的亲和性值。这种方法可用于为本文实施例中所述的化合物进行分级。

如采用实施例 1 的化合物所证实的, 在变构调控剂的存在下, 乙酰胆碱和卡巴胆碱(均为非选择性全毒蕈碱性受体激动剂)以等同方式被增效。

C. 数据分析和结果

利用 Lazareno 等人, *Mol. Pharmacol.* (1995) 48: 362-378 的方程可以评估变构参数。利用 FLIPR 可以测试递增浓度的实施例 1 化合物在重组细胞

系(AV12 G α 15 hM2 或 hM4 和 CHO hM1, hM3 或 hM5)中对细胞 ACh 浓度-响应曲线的效应。从至少三次的独立实验收集数据,一式两份。在稳定表达 hM1、hM3 或 hM5 受体的 CHO 细胞中没有观察到显著的变构效应。实施例 1 的化合物对 hM4 受体的协同因子和亲和性分别评估为 34.5 ± 3.5 和 $200 \pm 42\text{nM}$ 。还观察到对 hM2 受体微弱的变构效应,但是过于微弱以至于无法准确评估。

如上文关于本发明化合物的分级中所述,利用增效 10%卡巴胆碱的 FLIPR 测定法,本文作为实施例描述的化合物对 hM4 受体的评估亲和性 $<500\text{nM}$ 。

神经递质释放测定

A. 方法

通过二氧化碳窒息和颈脱位法处死两只雄性 Lister Hooded 大鼠。迅速除去脑,切出纹状体,在 $150\mu\text{m}$ 横向切三次。将切片混悬在 12ml HEPES 缓冲液(128mM NaCl, 2.4mM KCl, 3.2mM CaCl₂, 1.2mM KH₂PO₄, 1.2mM MgSO₄ 7H₂O, 25mM HEPES, 10mM 葡萄糖, pH 7.5)中。将切片洗涤两次,每次重新混悬在新鲜缓冲液中,然后与 [³H]-氯化胆碱(250nM)一起在 37℃ 下温育 30 分钟。30 分钟后,进行另外四次洗涤,将 100 μl 切片置于 96 孔滤板(Millipore MABCN 96-孔 multiscreen 板)的每孔中。真空过滤(Millipore Univac 歧管系统)除去浴溶液,然后向每孔加入另外 70 μl HEPES 缓冲液(+/-化合物),将平板放回温育器温育 5 分钟。5 分钟温育后,真空过滤移取缓冲液至收集板(Wallac 96 孔韧性样品板)。然后加入刺激溶液(70 μl /孔: 20mM 钾 +/- 化合物),将平板放回温育器另外温育 5 分钟。然后真空过滤移去刺激缓冲液至第二收集板。在实验结束时,如下评估每孔中的组织量:将平板置于冰箱中达一小时,在过滤盘上打孔,加入 Soluene®(以消化切片),放置另外一小时。利用液体闪烁计数法测量被消化组织中的放射性。计算神经递质释放,为小孔中总放射性的比例。

B. 结果

化合物在天然组织中的增效作用通过其增强纹状体切片中乙酰胆碱释

放的自主抑制的能力来测试,如 20mM 钾刺激所诱导的。这被认为是一种经由纹状体中突触前自主调节的由 M_4 介导的过程。Zhang, W.等人, *J. Neurosci.* (2002) 22: 1709-1717。采用上述方法,本发明的代表性化合物(实施例 1)表现出浓度依赖性的自主抑制增效作用, IC_{50} 为 1.5 μ M。

对于一些与毒蕈碱性受体有关的紊乱,已经描述过若干临床前实验室动物模型。例如,通过精神安定药和非典型的抗精神病药的条件性回避反应(CAR)的抑制是研究最多的精神病药理模型之一。迄今,所有临床有效的抗精神病药均已被证明选择性地抑制 CAR (参见 Wadenberg & Hicks, 1999. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 23: 851-8)。

条件性回避反应

A. 方法

在回避范例中训练雄性 Fisher-344 大鼠($N = 5 - 8$),在该范例中大鼠必须作出穿梭反应以回避或逃脱足部电击。装置是 Coulbourn Instruments 穿梭操作室。每期等于总计 50 次试验,试验间隔 30 秒,每次试验开始时同时室内照明和升起闸门。在开始 1mA 足部电击之前大鼠有 10 秒时间到达另一侧(回避反应)。电击持续至大鼠到达另一侧(逃脱反应)或者 10 秒钟结束(逃脱失败)。以这种方式充分训练大鼠,基线回避性能>95%。记录每期的回避反应、逃脱反应和逃脱失败反应的次数,用于分析。

向大鼠给予(1)载体(10%阿拉伯胶加无菌水), (2)亚有效剂量的毒蕈碱激动剂氧化震颤素倍半富马酸盐(简称为 Oxo) (单独的 Oxo), 或者(3)在递增剂量供试化合物(10mg/kg 至 60mg/kg)存在下的 Oxo, 继之以(4)重新测试单独的 Oxo。在测试前 2 小时口服给予每种供试化合物。在测试前 30 分钟皮下给予 Oxo (0.03mg/kg)。通过单向(组内设计)方差分析法(ANOVA)分析数据。在显著的 ANOVA ($p < 0.05$)的情况下,可以进行 post-hoc 比较,其中反向比较化合物剂量和单独的 Oxo 组(成对 t 检验)。

B. 结果

	回避反应百分比 (平均值 ± S.E.M.)					
实施例 编号	载体	单独的 Oxo	Oxo + 供试化合物			单独的 Oxo
			10 mg/kg	30 mg/kg	60 mg/kg	
1	97 ± 1.6	93 ± 1.8	46* ± 7.4	11* ± 1.9	NT	91 ± 0.9
6	96 ± 1.2	93 ± 1.2	90 ± 3.4	54* ± 10.2	NT	90 ± 2.5
10	97 ± 1.2	89 ± 3.8	85 ± 5.3	54* ± 7.6	48* ± 14.1	89 ± 3.2
28	96 ± 1.5	92 ± 1.5	NT	84 ± 6.3	61* ± 16.1	91 ± 2.0

条件性回避测定法是有效测试临床抗精神病功效的指征。代表性毒蕈碱性 M₄ 受体增效剂在条件性回避反应范例中表现出抗精神病样性质。尽管这些 M₄ 增效剂在单独测试时没有活性(数据未显示),但是这些化合物能增强无活性的剂量的毒蕈碱激动剂氧化震颤素的功效。

钙活动和神经递质释放研究的结果证明了本发明化合物充当 M₄ 毒蕈碱性受体增效剂的能力。由此认识到本发明化合物预期能增强 M₄ 受体活化的效应。因而,本发明的化合物预期可用于治疗多种与毒蕈碱性受体有关的紊乱(如本文所述)以及其它可用这类变构增效剂治疗的紊乱(如本领域技术人员所领会的)。

通过给予有效量的式 I 化合物或其药物组合物,可以治疗与 M₄ 毒蕈碱性受体有关的紊乱。通过采用常规技术和通过观察在类似环境下所得的结果,作为本领域技术人员的诊断医师能够容易地确定有效量。在确定式 I 化合物的有效量、即剂量时,诊断医师将考虑众多因素,包括但不限于:所给予的式 I 化合物;哺乳动物的种属——其大小、年龄和一般健康状况;所牵涉的具体紊乱;紊乱的牵涉程度或严重度;个体患者的响应;给药方式;所给予制剂的生物利用度特征;所选择的剂量方案;其它共用药物的使用;和其它相关的情况。

式 I 化合物的有效量预期从约 0.001 毫克/千克体重/天(mg/kg/天)至约 100mg/kg/天不等。优选的量可以由本领域技术人员容易地确定。