



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104364258 B

(45)授权公告日 2017.05.24

(21)申请号 201380028207.3

(22)申请日 2013.05.10

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 104364258 A

(43)申请公布日 2015.02.18

(30)优先权数据
12170227.8 2012.05.31 EP
61/655,078 2012.06.04 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2014.11.28

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2013/001389 2013.05.10

(87)PCT国际申请的公布数据
W02013/178322 EN 2013.12.05

(73)专利权人 阿瑞斯贸易股份有限公司
地址 瑞士欧博讷

(72)发明人 A·卡特勒帕尼 D·斯温南

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专
利商标事务所 11038

代理人 殷骏

(51)Int.Cl.
C07D 495/10(2006.01)
C07D 498/10(2006.01)
C07D 513/10(2006.01)
A61K 31/381(2006.01)
A61K 31/4184(2006.01)
A61K 31/4245(2006.01)
A61K 31/547(2006.01)
A61P 25/28(2006.01)

(56)对比文件
CN 102105475 A,2011.06.22,
WO 2011/106414 A1,2011.09.01,
CN 101489984 A,2009.07.22,

审查员 张英姝

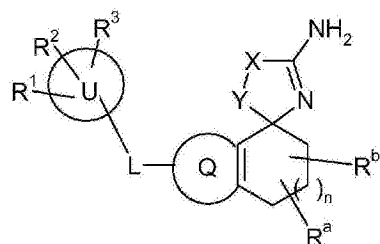
权利要求书10页 说明书64页

(54)发明名称

用于治疗神经变性疾病的螺四氢-苯并噻吩
衍生物

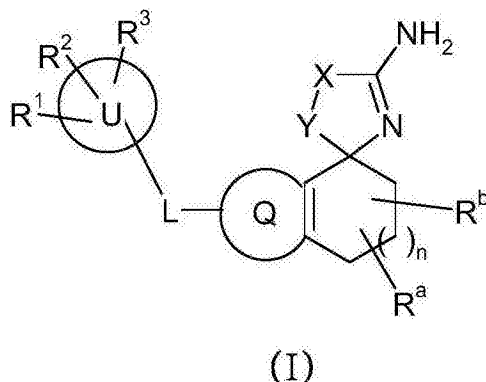
(57)摘要

本发明提供作为BACE抑制剂使用用于治疗
神经变性疾病的式(I)化合物。



(I)

1. 式 (I) 化合物



其中

X表示选自 $-S-CH_2-$ 、 $-SO-CH_2-$ 的基团,而Y表示 $-CH_2-$ 基团,或者

X-Y一起形成基团 $-NR^5-O-$ 、 $-NR^5-CO-$,

Q表示噻吩环,

L表示单键或基团 $-NR^5-CO-$,

U表示苯基、吡啶、或嘧啶基团,

R^1 、 R^2 、 R^3 彼此独立地选自H、CN、卤素、Ar、Het、A、OA、 SO_2A 、 CO_2A 、 $O(CH_2)Ar$,或 R^1 、 R^2 和 R^3 中的2个连接在一起形成与环U稠合的5至8元环且任选地含有1至3个独立地选自O、N或S的杂原子,

R^a 、 R^b 彼此独立地为H、A、Ar、 $(CH_2)Ar$ 、 $(CH_2)Het$,

R^5 选自H、A、 $(CH_2)Ar$,

A为含1至6个碳原子的直链或分支的烷基,其中1至6个氢原子可独立地被选自卤素、 $-OC_1-C_6-$ 烷基、CN的基团置换,

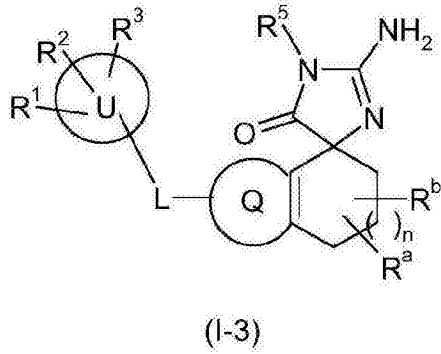
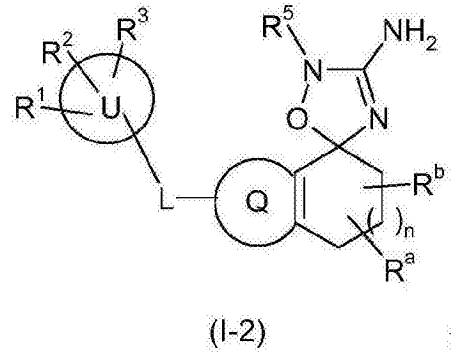
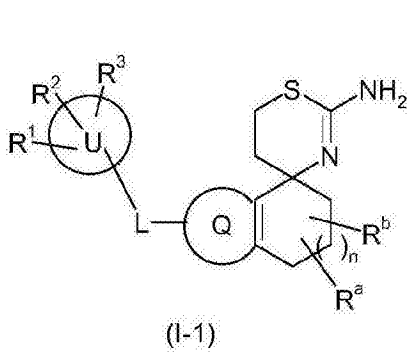
Ar为6元芳香环,其可被1至3个选自A、OA、苯基、吡啶、CN、OH、 CO_2A 的基团取代,

Het为4至8元杂环环,其含有1至3个独立地选自O、S、N或CO的杂原子,且任选地被1至3个选自A、OA、苯基、吡啶、CN、OH、 CO_2A 的基团取代,

n为0、1或2,

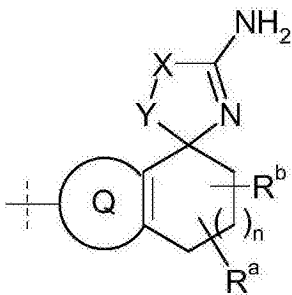
以及以所有比例的其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、及其盐。

2. 根据权利要求1的式 (I) 化合物,其中化合物是式 (I-1)、(I-2) 或 (I-3) :

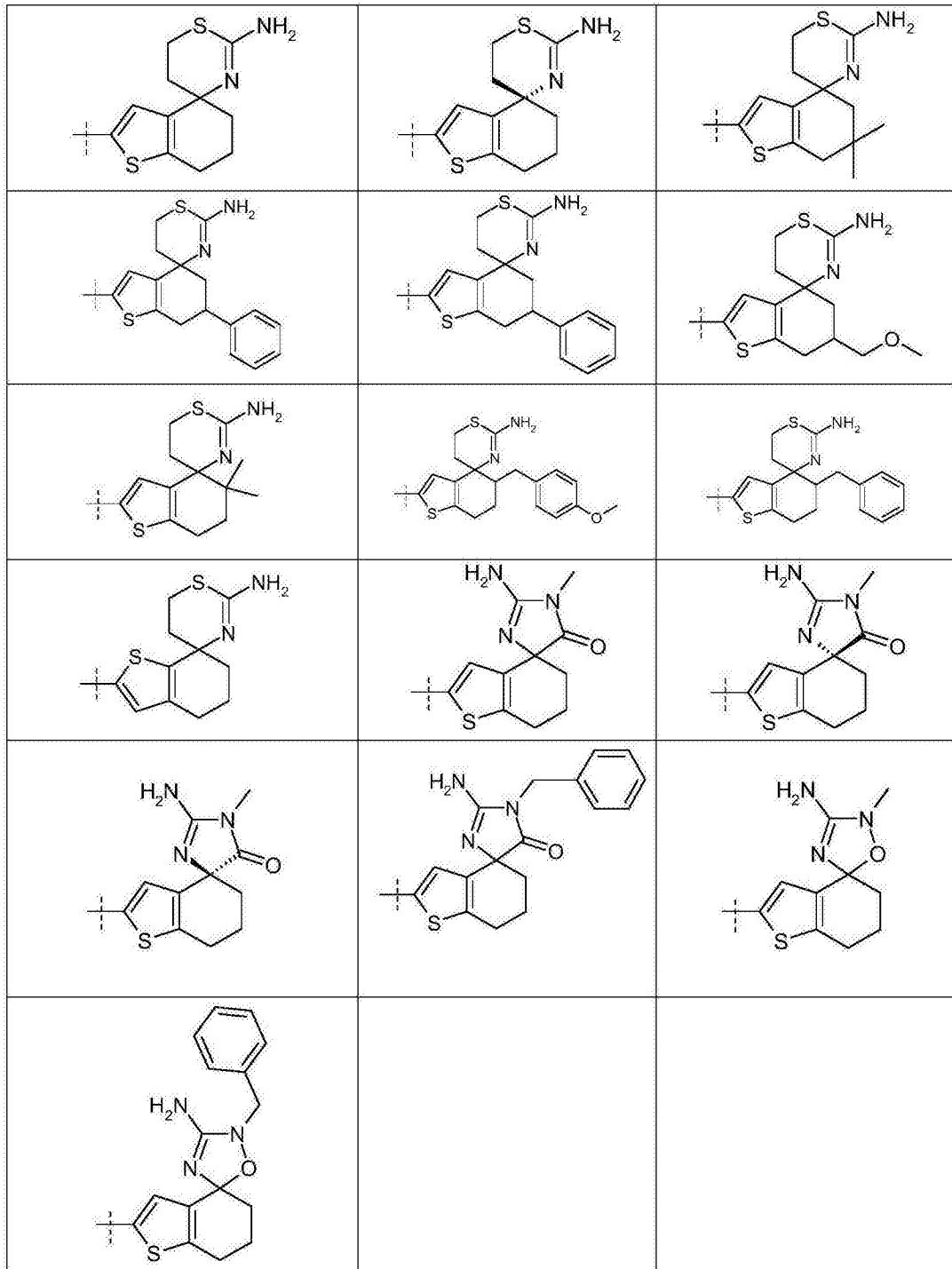


其中R¹、R²、R³、R^a、R^b、R⁵、Q、L、n和U如权利要求1中定义。

3. 根据权利要求1或2的式(I)化合物,其中基团

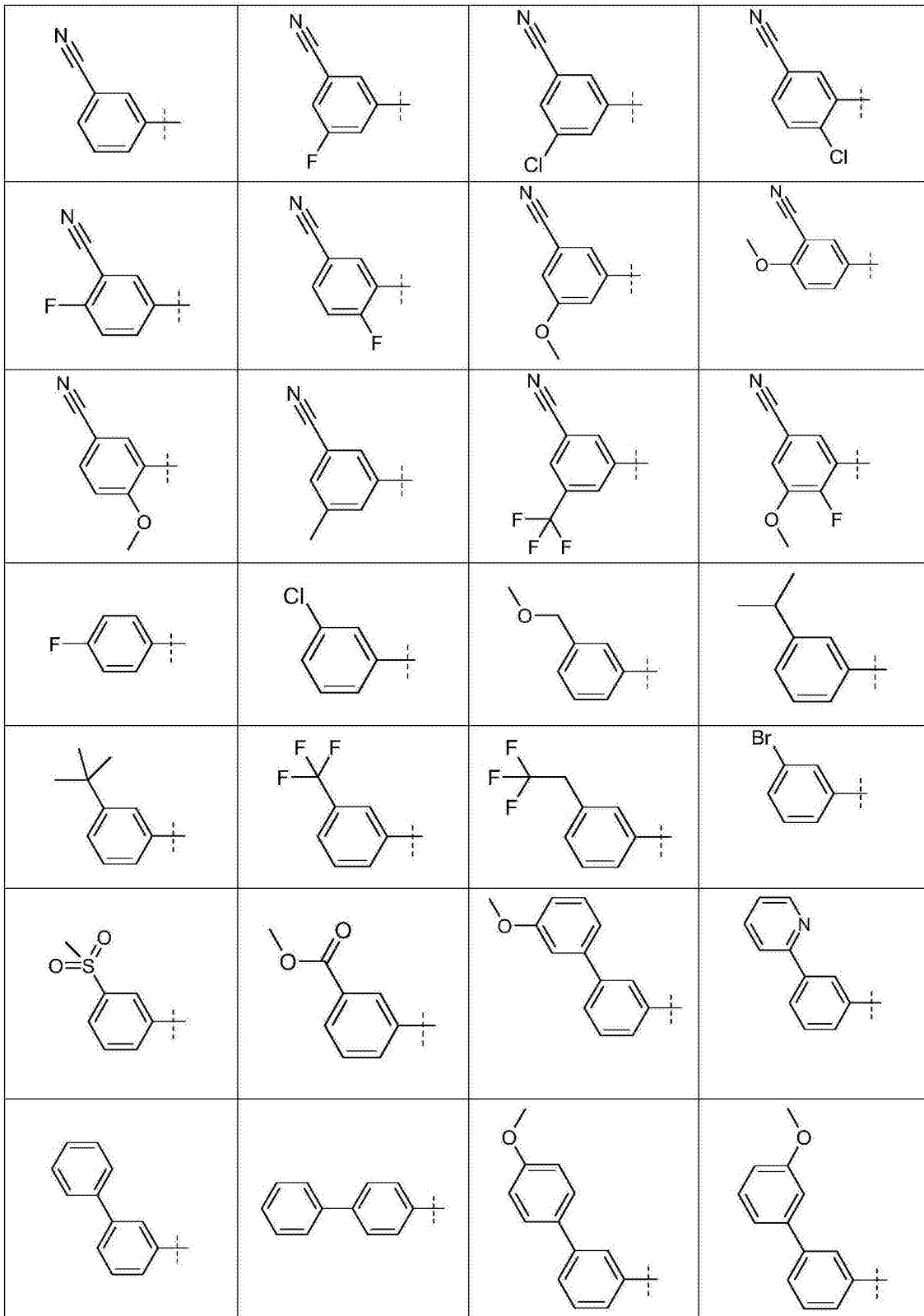


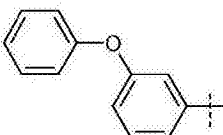
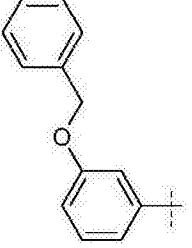
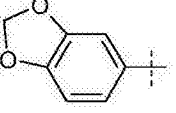
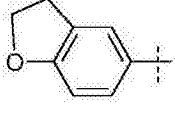
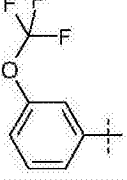
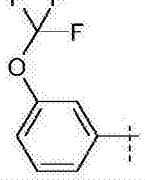
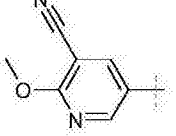
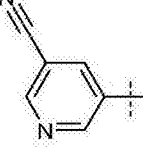
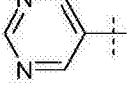
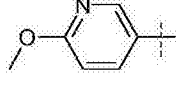
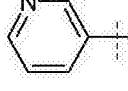
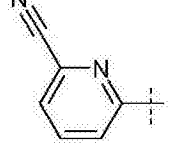
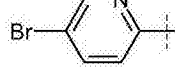
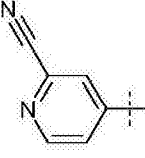
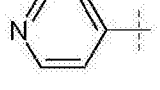
表示以下基团之一:



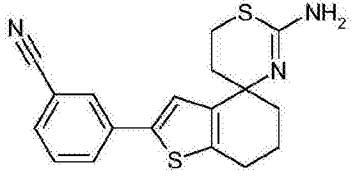
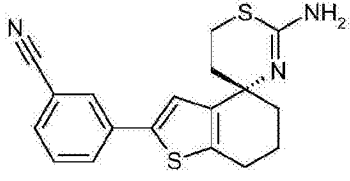
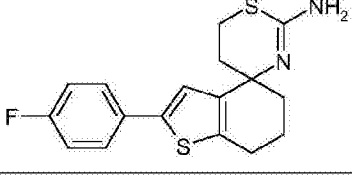
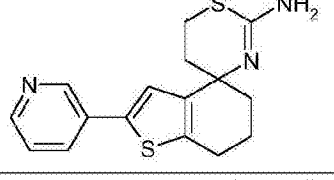
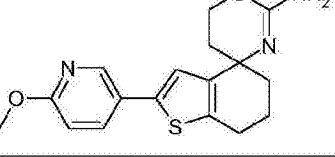
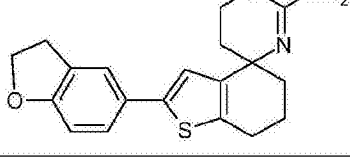
4. 根据权利要求1的式(I)化合物,其中基团

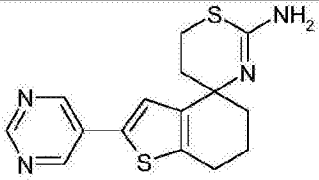
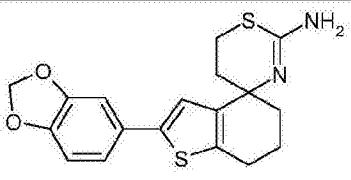
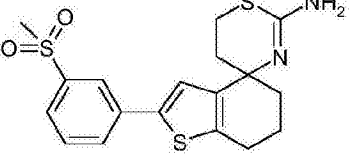
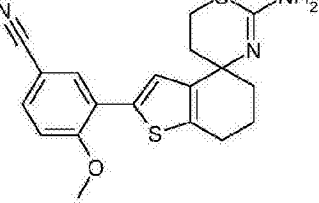
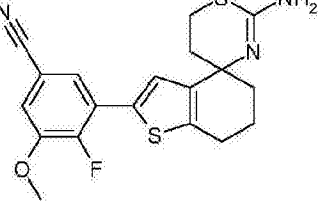
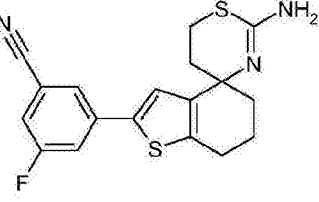
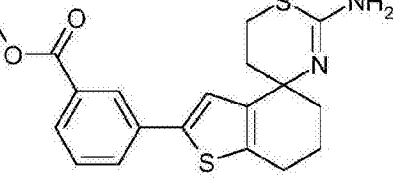
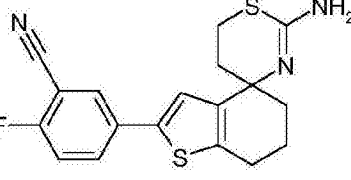
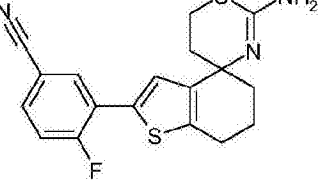
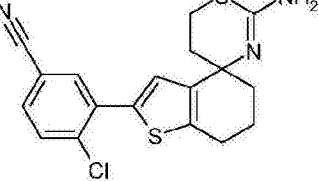
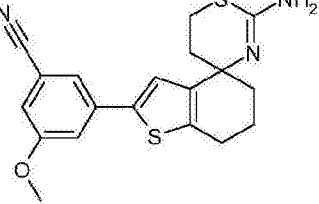
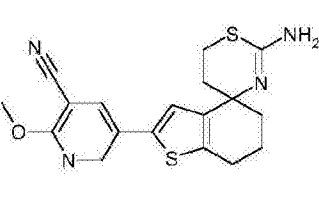
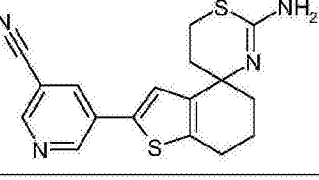
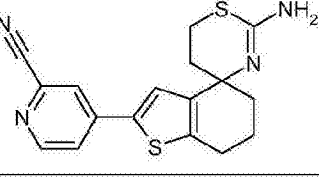
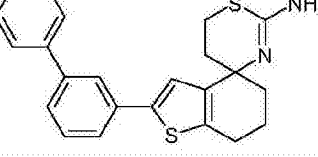
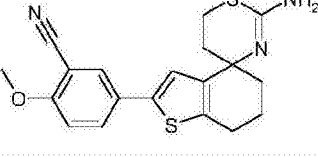


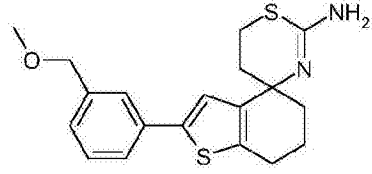
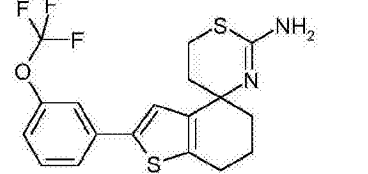
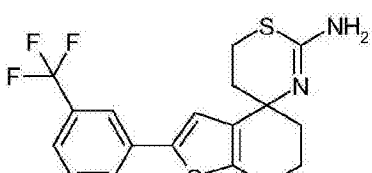
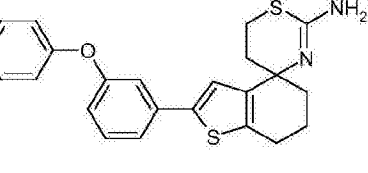
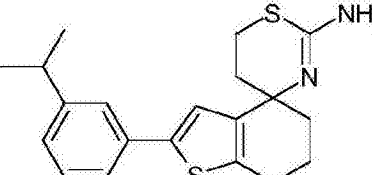
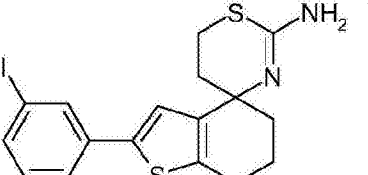
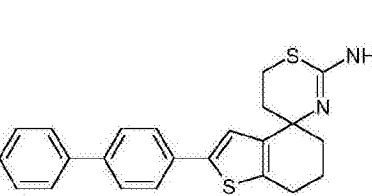
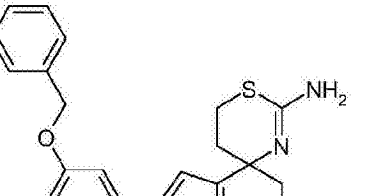
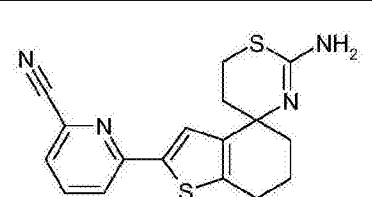
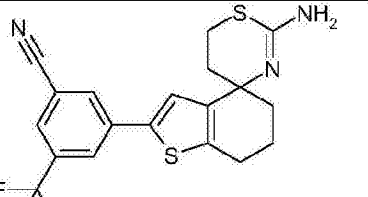
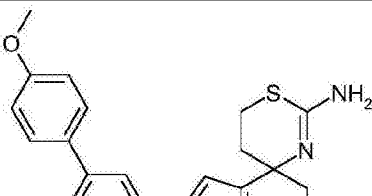
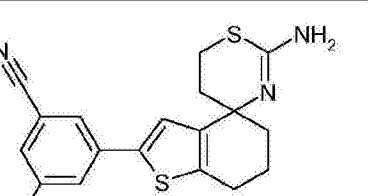
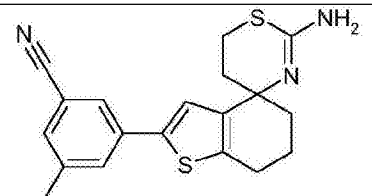
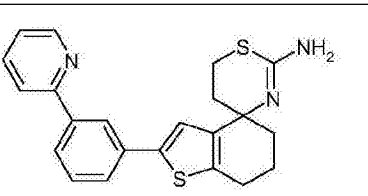
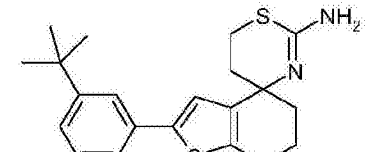
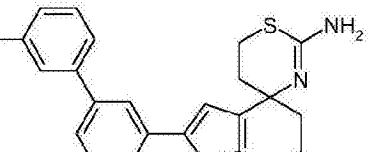


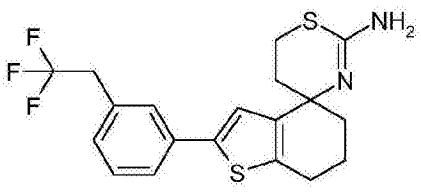
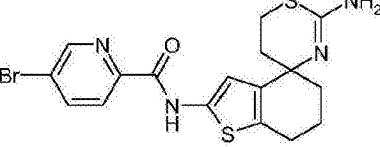
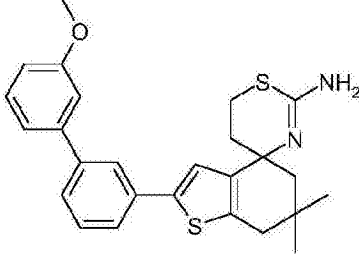
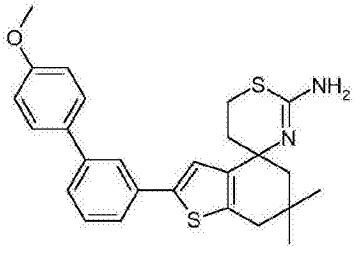
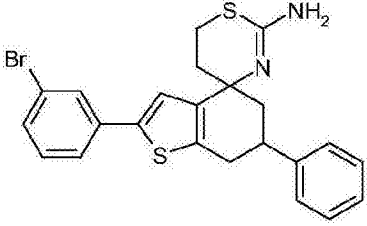
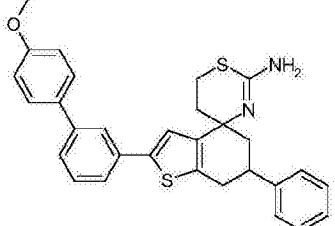
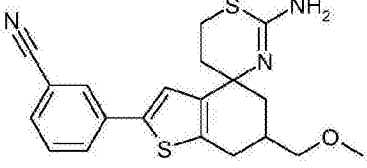
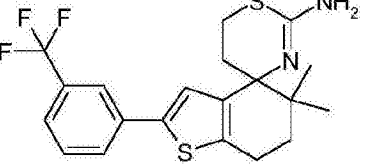
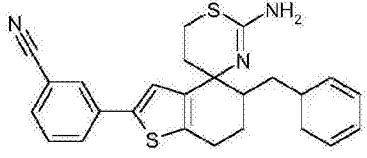
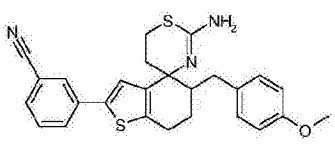
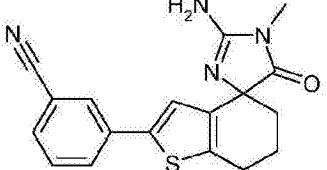
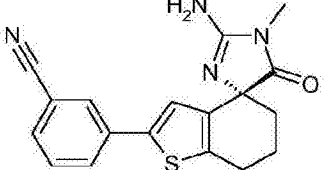
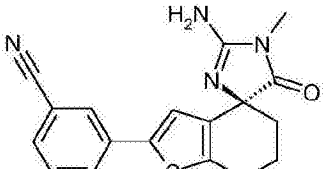
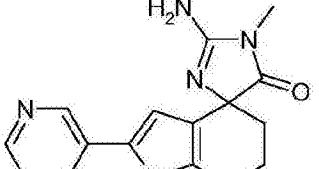
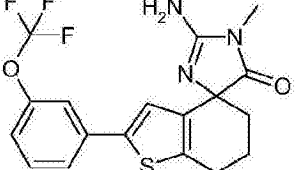
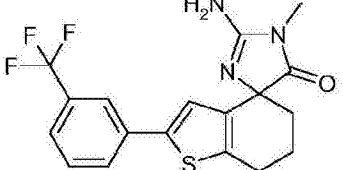
			
			
			
			

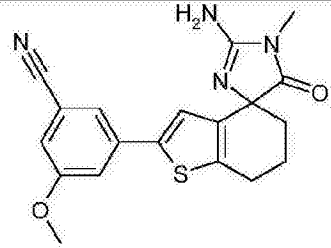
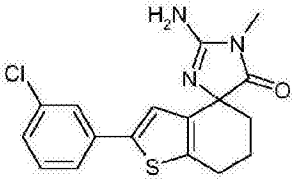
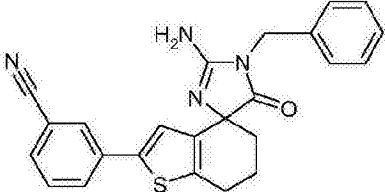
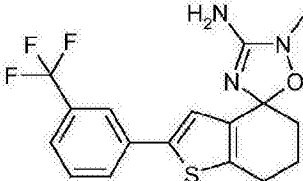
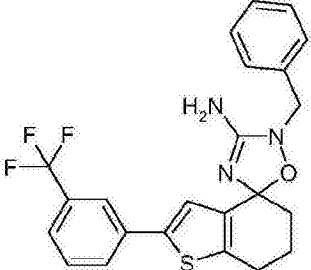
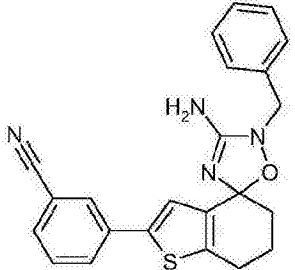
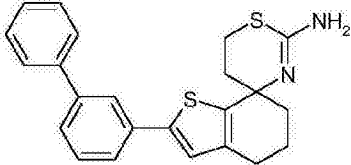
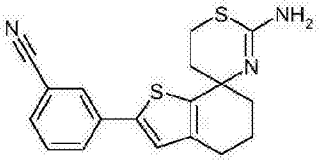
5. 根据权利要求1或2的式(I)化合物,其中化合物选自下组:

实施例	化合物	实施例	化合物
1		2	
3		4	
5		6	

7		8	
9		10	
11		12	
13		14	
15		16	
17		18	
19		20	
21		22	

23		24	
25		26	
27		28	
29		30	
31		32	
33		34	
35		36	
37		38	

39		40	
41		42	
43		44	
45		46	
47		48	
49		50	
51		52	
53		54	

55		56	
57		58	
59		60	
61		62	

6. 权利要求1至5任一项的式(I)化合物在制备药物中的用途,所述药物用于治疗神经变性疾病或中枢神经系统障碍。

7. 根据权利要求6的用途,其中所述神经变性疾病选自阿尔茨海默病、痴呆、唐氏综合征、记忆障碍、慢性和神经性疼痛。

8. 根据权利要求6的用途,其中所述中枢神经系统障碍为阿尔茨海默病、帕金森病、精神分裂症、运动障碍和记忆障碍、慢性和神经性疼痛、睡眠障碍、癫痫。

9. 一种药物组合物,其包含至少一种根据权利要求1至5中任一项的式(I)化合物和/或其互变异构体、盐和立体异构体,包括它们以所有比例的混合物,并任选地包含赋形剂和/或助剂。

10. 一种药物组合物,其包含至少一种根据权利要求1至5中任一项的式(I)化合物和/或其互变异构体、盐、和立体异构体,包括它们以所有比例的混合物,和至少一种其它活性成分。

11. 试剂盒,由以下分开的包装构成

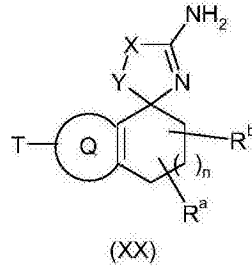
(a) 有效量的根据权利要求1至5中任一项的式(I)化合物和/或其互变异构体、盐和立体异构体,包括它们以所有比例的混合物,

和

(b) 有效量的其它药物活性成分。

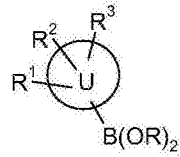
12. 一种制备其中L为单键的权利要求1至5任一项的式(I)化合物的方法,其包括使式

(XX) 化合物



其中Q、X、Y、R^a、R^b、和n如权利要求1至5任一项中定义，且其中T选自卤素、硝基、羧基、硼酸或硼酸酯，

与以下的硼酸酯衍生物



其中U、R¹、R²和R³如权利要求1至5任一项中定义，且其中R为烷基基团或氢，反应。

用于治疗神经变性疾病的螺四氢-苯并噻吩衍生物

[0001] 本发明涉及螺四氢-苯并噻吩衍生物及其药物用途。更具体地,本发明涉及化合物和作为活性成分包含这种化合物的药物组合物,其通过抑制 β -位点淀粉样前体蛋白裂解酶1(下文称为BACE-1)降低淀粉样蛋白- β (下文称为A β)肽产生并对治疗由A β 蛋白引起的神经变性疾病特别是阿尔茨海默病、唐氏综合征等有效。

[0002] 阿尔茨海默氏病(AD)为以丧失记忆、认知、和行为稳定性为标志的渐进性神经变性障碍。AD困扰6-10%的65岁以上和直至50%的85岁以上人群。它是痴呆的主要病因并且是心血管病和癌症之后的第三主要死亡原因。目前,还没有对AD的有效治疗且治疗限于使用针对症状的试剂诸如胆碱酯酶抑制剂,多奈哌齐(Aricept®,Pfizer)。在美国与AD相关的总净成本超过1000亿\$每年。

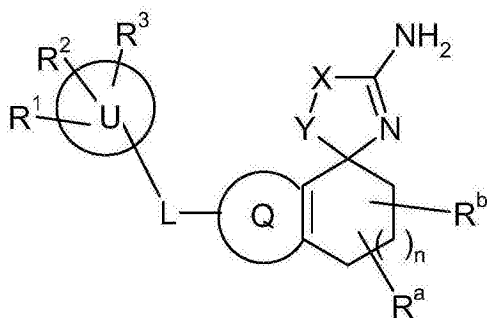
[0003] AD的病理特征为在脑的边缘和皮层区域存在特定损伤。这些包括由高度磷酸化tau蛋白构成的细胞内神经原纤维缠结和以淀粉样蛋白斑块形式的淀粉样 β 肽的纤维状聚集物的细胞外沉积(老年斑)。淀粉样蛋白斑块的主要组分为各种长度的淀粉样蛋白- β (A-beta、Abeta或A β)肽(39-42个氨基酸)。其变异体,为A β 1-42(Abeta1-42、A β 42)肽,被认为是AD脑中主要的致病物质并可充当淀粉样蛋白斑块形成的种子。另一个变异体为A β 1-40(Abeta1-40、A β 40)肽。

[0004] β -淀粉样前体蛋白(β -APP, β -APP或APP)中的变异、增加A β 产生和导致AD的早发性家族形成的早老素-1(PS-1)和早老素-2(PS-2)基因的鉴定,对AD的“淀粉样蛋白级联假说”(Hardy,2006Curr Alzheimer Res.3(1):71-73;Tanzi and Bertram,2005Cell 120,545)和靶向A β 产生的治疗方法给予强烈支持。出现了关于A β 肽在其它疾病中的数据,其中其它疾病包括但不限于唐氏综合征(DS)、轻微认知损伤(MCI)、脑淀粉样血管病变(CAA),包涵体肌炎(IBM)和年龄相关性黄斑变性。因此,A β 降低试剂可能对于治疗其中涉及A β 的不同病理是有益的。

[0005] A β 肽在APP的蛋白水解处理之后产生。A β 肽的产生由至少两种蛋白水解活性称为BACE-1和 γ -分泌酶调节。最初,APP在A β 结构域的N-端(Met-Asp键)被BACE-1裂解导致可溶性APP β (sAPP β)的分泌和12kDa膜-结合的羧基端片段保留(CTF β)。后者随后被 γ -分泌酶裂解产生不同长度的A β 肽和APP细胞内结构域(AICD)。

[0006] BACE-1为I型跨膜天冬氨酸蛋白酶,其包含含有催化活性位点的大胞外域、单一跨膜区和短胞质尾区(Hussain等1999,Mol Cell Neurosci.14(6):419-427)。由于在A β 产生中的关键作用,BACE-1为用于AD的吸引人的治疗靶标。已知的 β -分泌酶抑制剂在W02010/013794中报道。

[0007] 在一实施方案中,本发明提供式(I)化合物



(I)

[0009] 其中

[0010] X表示选自-S-CH₂-、-SO-CH₂的基团,而Y表示-CH₂-基团,或者

[0011] X-Y一起-NR⁵-O-、-NR⁵-CO-,

[0012] Q表示噻吩环,

[0013] L表示简单的键或基团-NR⁵-CO-,

[0014] U表示苯基、吡啶、或嘧啶基团,

[0015] R¹、R²、R³彼此独立地选自H、CN、卤素、Ar、Het、A、OA、SO₂A、CO₂A、O(CH₂) Ar,或R¹、R²和R³中的2个连接在一起形成与环U耦合的5至8元环且任选地含有1至3个独立地选自O、N或S的杂原子,

[0016] R^a、R^b彼此独立地为H、A、Ar、(CH₂) Ar、(CH₂) Het,

[0017] R⁵选自H、A、(CH₂) -Ar,

[0018] A为含1至6个碳原子的直链或分支的烷基,其中1至6个氢原子可独立地被选自卤素、-OC₁-C₆-烷基、CN的基团置换,

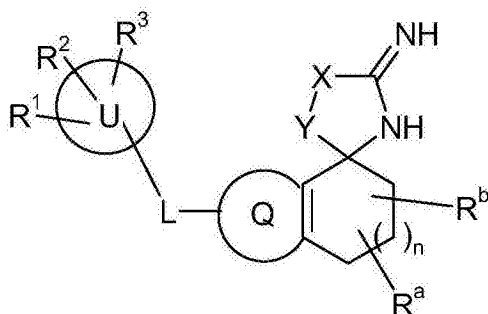
[0019] Ar为6元芳香环,优选苯基,其可被1至3个选自A、OA、苯基、吡啶、CN、OH、CO₂A的基团取代,

[0020] Het为4至8元杂环环,其含有1至3个独立地选自O、S、N或CO的杂原子,且任选地被1至3个选自A、OA、苯基、吡啶、CN、OH、CO₂A的基团取代,

[0021] n为0、1、2,优选1,

[0022] 以及以所有比例的其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、及其盐。

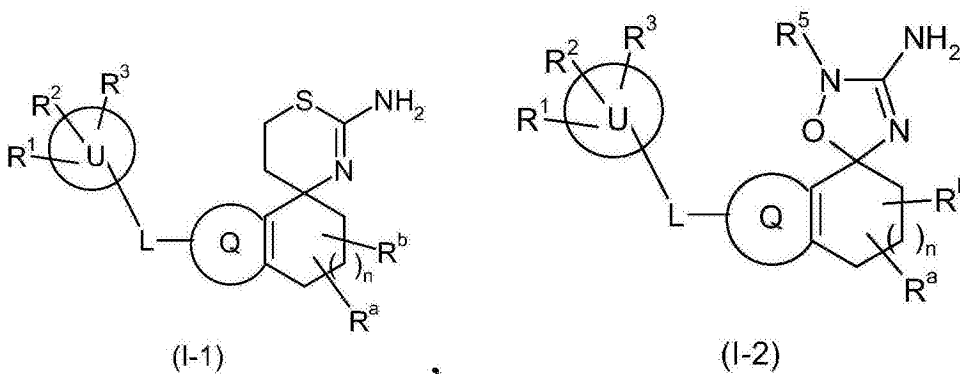
[0023] 在另一实施方案中,本发明还包括式(I')化合物,其为式(I)化合物的互变异构体



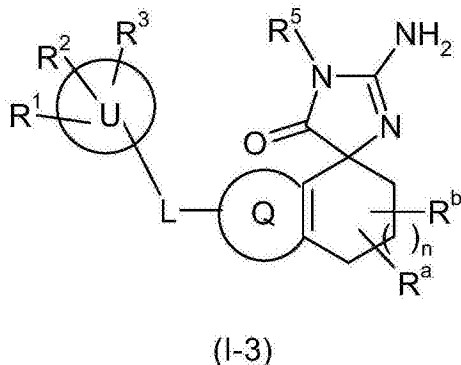
(I')

[0025] 其中R¹、R²、R³、R^a、R^b、U、Q、L、X、n和Y如上定义。

[0026] 在另一实施方案中本发明提供式(Ia)、(Ib)和(Ic)化合物:

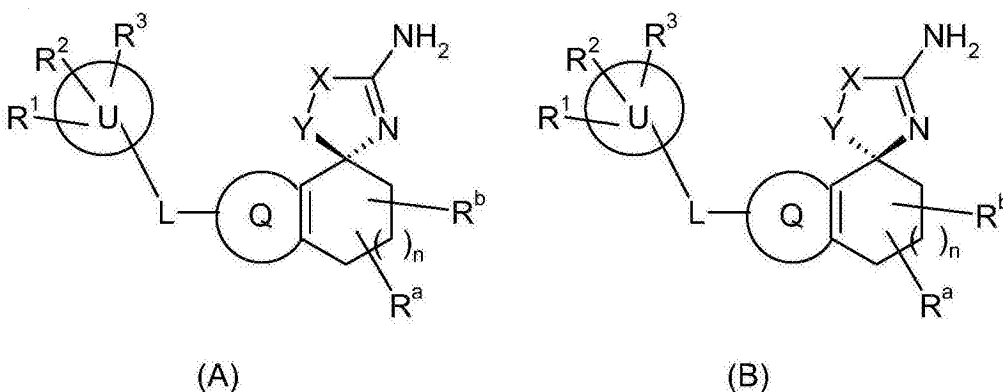


[0027]



[0028] 其中R¹、R²、R³、R^a、R^b、U、Q、L、X、n和Y如上定义。

[0029] 式(I)及相关式化合物还包括对映异构体A和B和对映异构体A和B以所有比例的混合物。



[0030]

[0031] 其中R¹、R²、R³、R^a、R^b、U、Q、L、X、n和Y如上定义。

[0032] 另一方面,本发明提供式(I)化合物作为药物的用途。具体地,式(I)化合物用于治疗 and 预防神经变性疾病。神经变性疾病的实例为阿尔茨海默病、唐氏综合征。其它神经变性症状为记忆障碍、神经性疼痛。

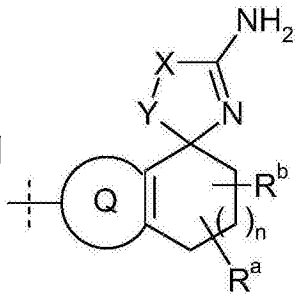
[0033] 另一方面,本发明提供由以下独立包装构成的试剂盒或成套装置

[0034] (a) 有效量的根据权利要求1至5中一项或多项的式(I)化合物和/或其可药用衍生物、互变异构体、盐、溶剂合物和立体异构体,包括它们以所有比例的混合物,

[0035] 和

[0036] (b) 有效量的另外的药物活性成分。

[0037] 在一具体的实施方案中, 基团

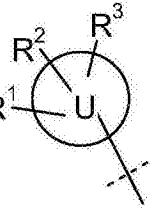


表示以下基团之一:

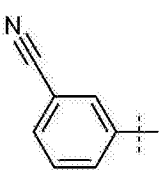
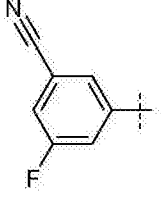
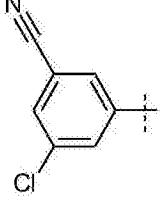
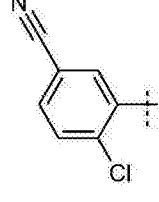
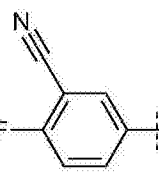
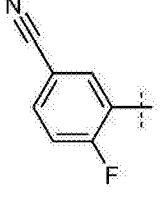
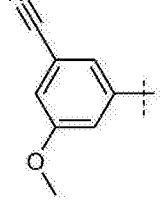
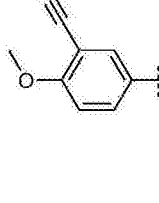
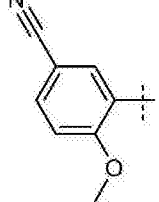
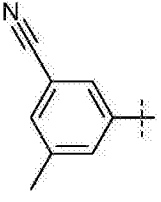
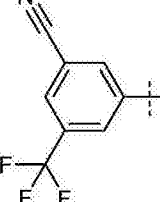
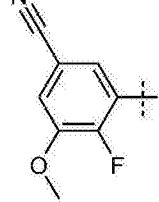
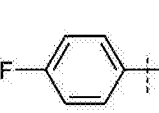
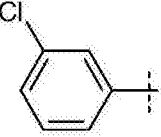
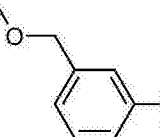
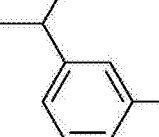
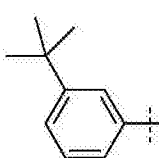
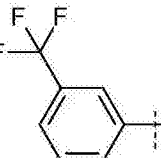
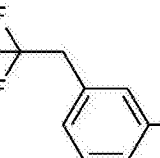
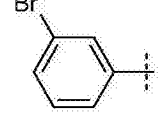
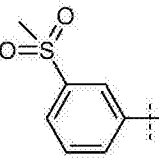
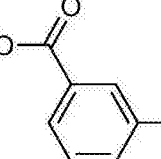
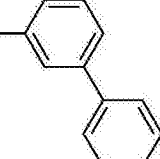
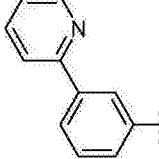
[0038]

[0039]

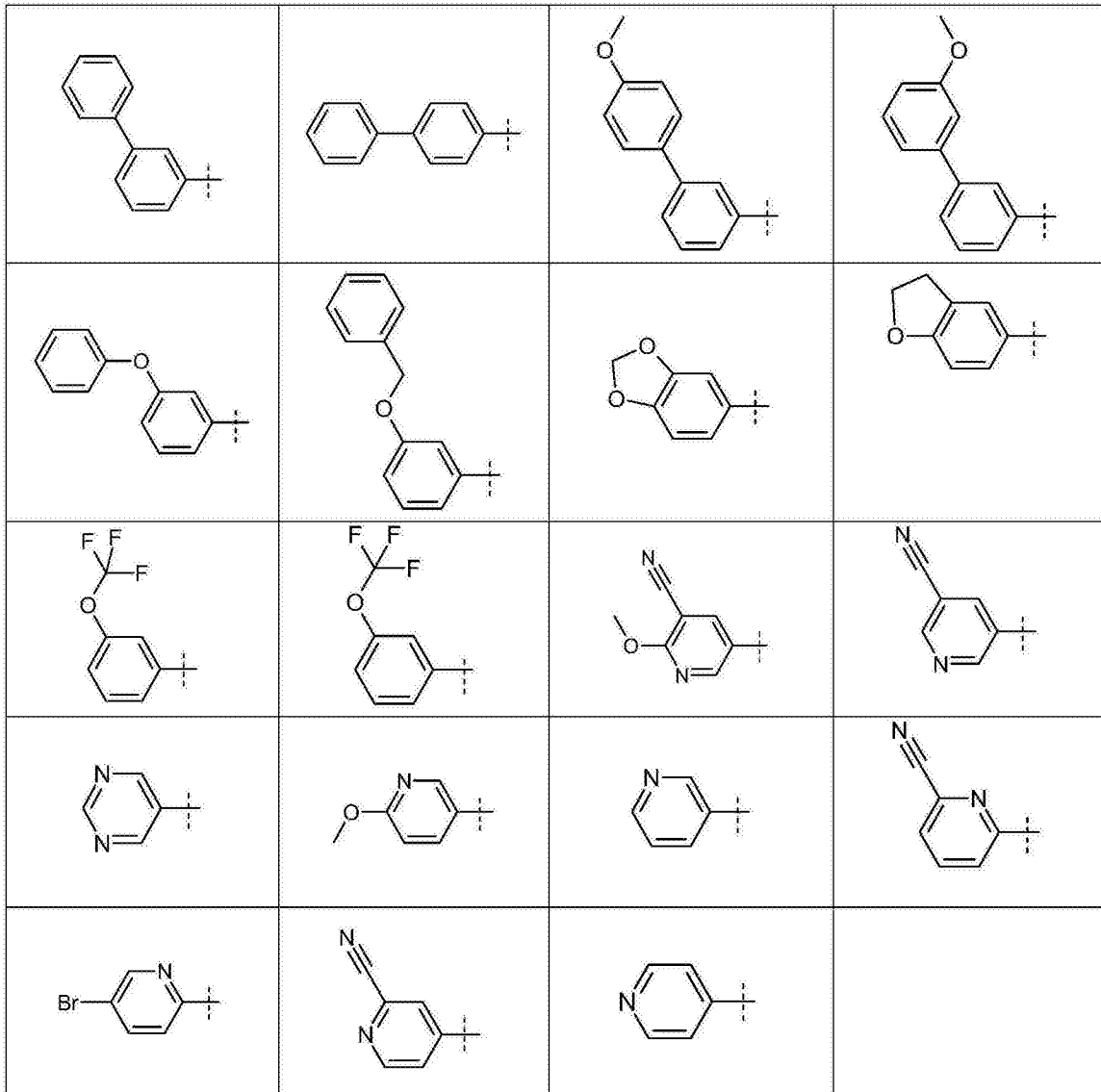
--	--	--

[0040] 在另一具体的实施方案中,基团 R^1  表示以下基团之一:

[0041]

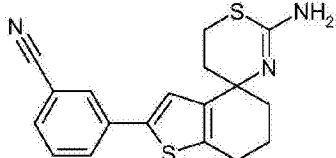
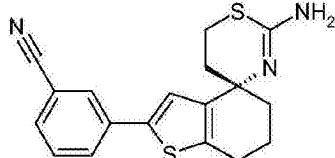
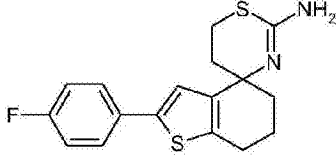
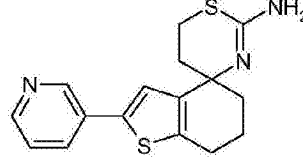
			
			
			
			
			
			

[0042]

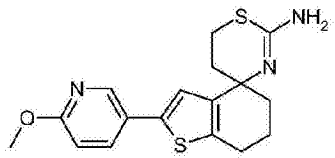
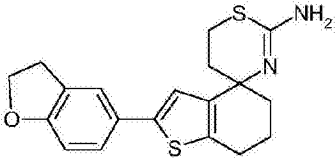
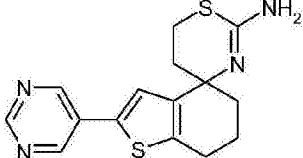
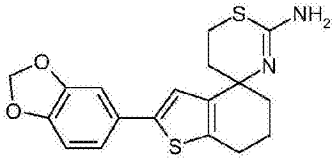
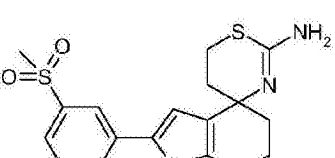
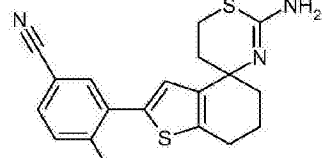
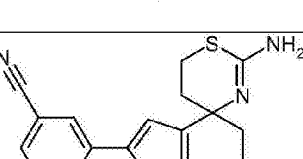
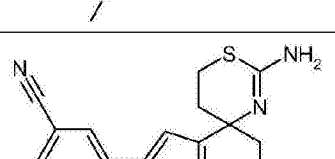
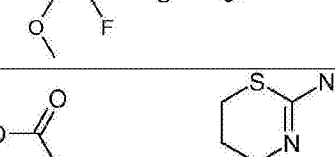
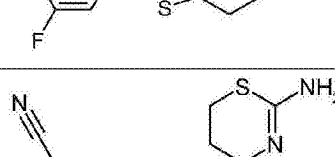
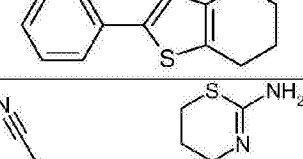
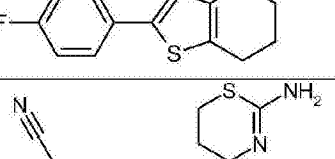
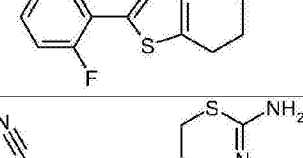
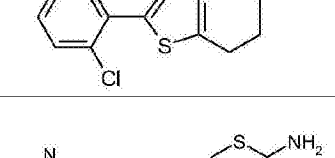
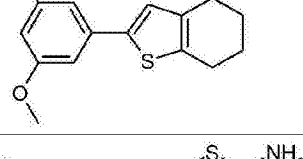
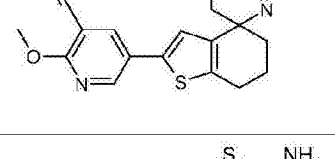


[0043] 本发明优选的化合物为下列：

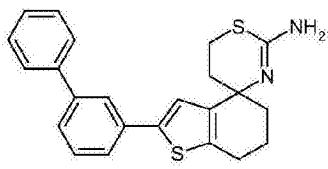
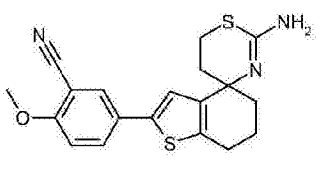
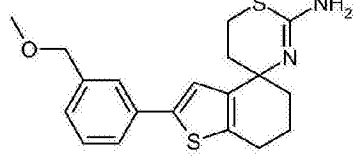
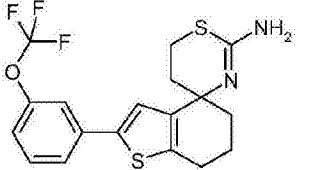
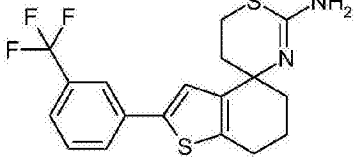
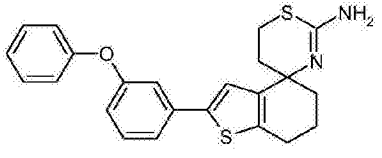
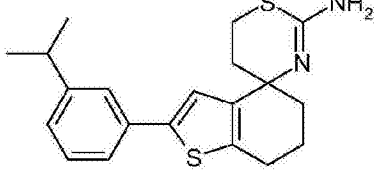
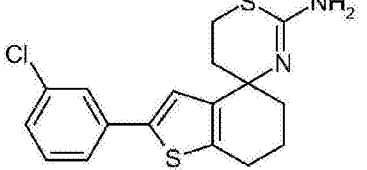
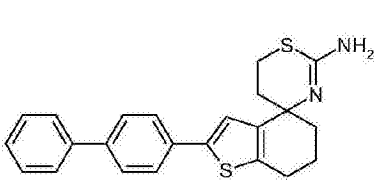
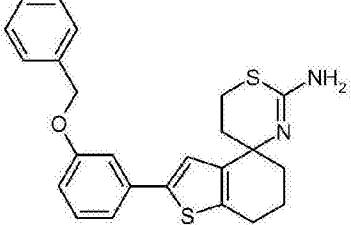
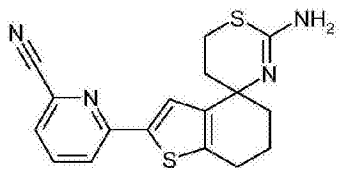
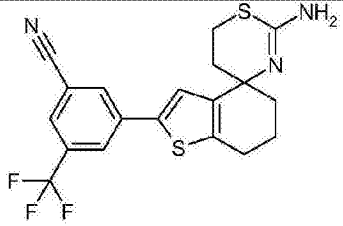
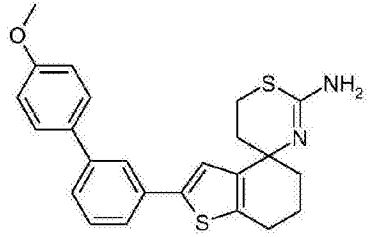
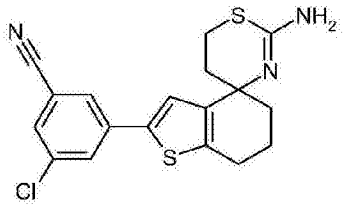
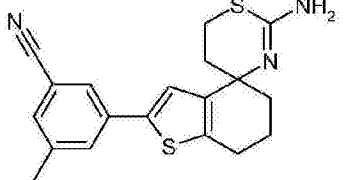
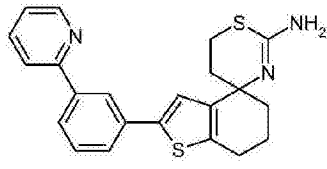
[0044]

实施例	化合物	实施例	化合物
1		2	
3		4	

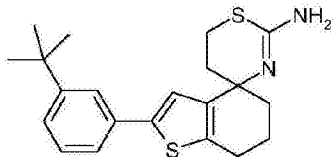
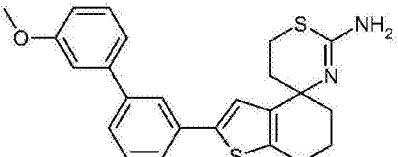
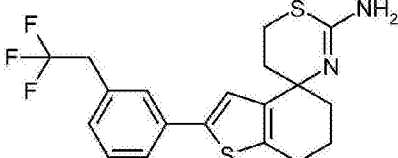
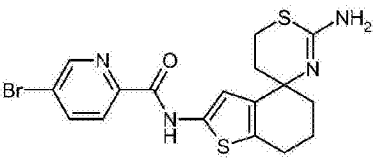
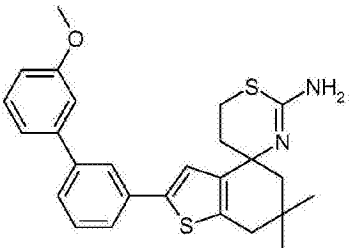
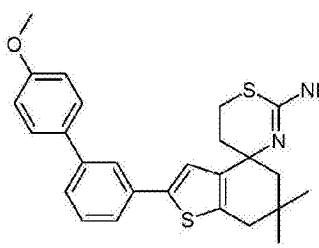
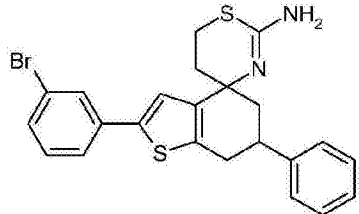
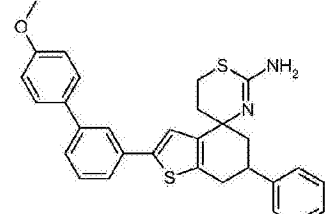
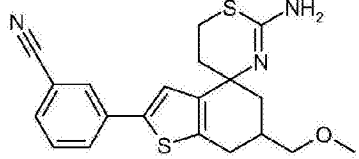
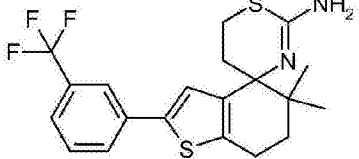
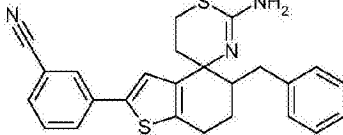
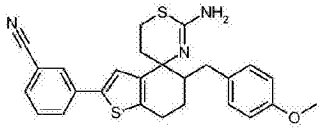
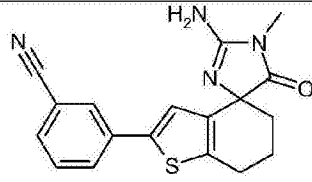
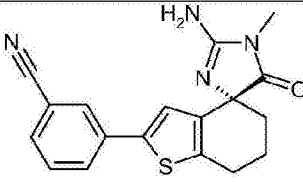
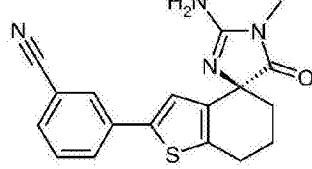
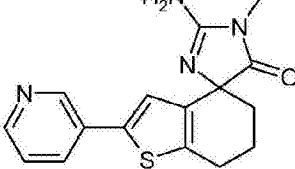
[0045]

5		6	
7		8	
9		10	
11		12	
13		14	
15		16	
17		18	
19		20	

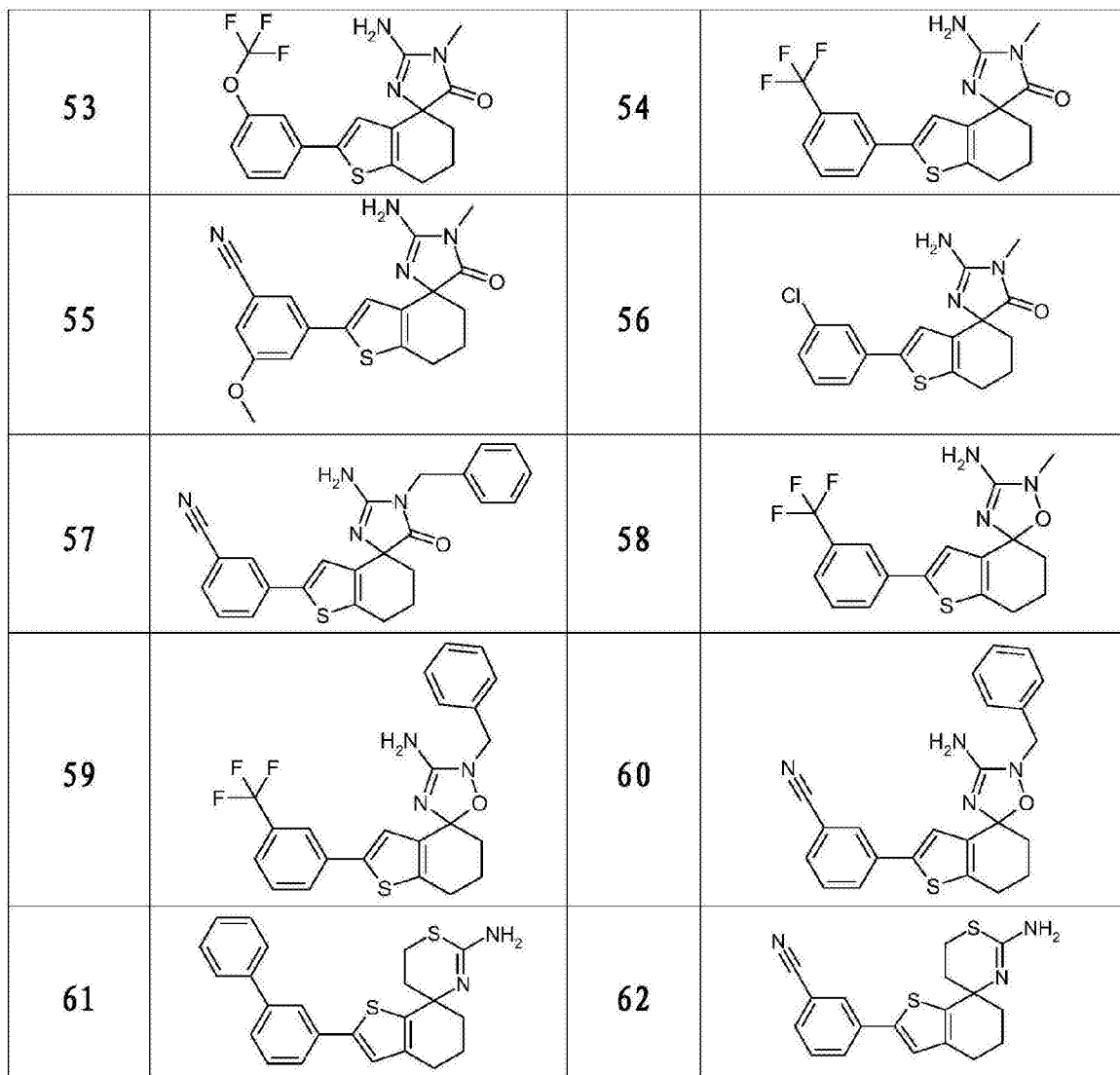
[0046]

21		22	
23		24	
25		26	
27		28	
29		30	
31		32	
33		34	
35		36	

[0047]

37		38	
39		40	
41		42	
43		44	
45		46	
47		48	
49		50	
51		52	

[0048]



[0049] 方法概述

[0050] 以下缩写分别指下面的定义：

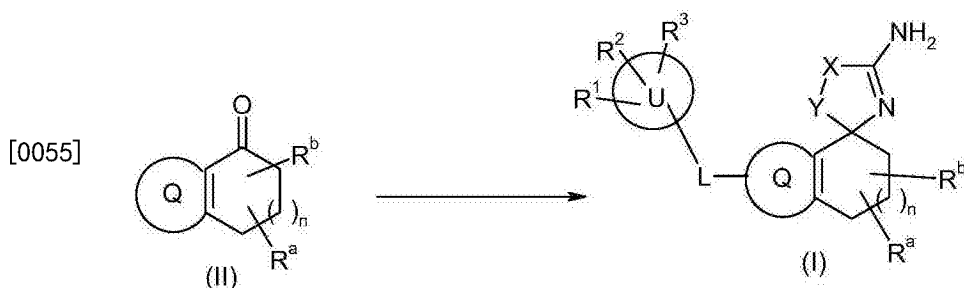
[0051] aq (含水的), h (小时), g (克), L (升), mg (毫克), MHz (兆赫), μM (微克分子), min. (分钟), mm (毫米), mmol (毫摩尔), mM (毫克分子的), m.p. (熔点), eq (当量), mL (毫升), μL (微升), ACN (乙腈), BINAP (2,2'-双(二苯基膦基)-1,1'-联二萘), BOC (叔丁氧基羰基), CBZ (苄氧羰基), CDCl_3 (氘化的氯仿), CD_3OD (氘化的甲醇), CH_3CN (乙腈), c-hex (环己烷), DCC (二环己基碳二亚胺), DCM (二氯甲烷), dppe (1,1'-双(联苯膦基)二茂铁), DIC (二异丙基碳二亚胺), DIEA (二异丙基乙基-胺), DMF (二甲基甲酰胺), DMSO (二甲基亚砜), DMSO-d_6 (氘化的二甲基亚砜), EDC (1-(3-二甲基-氨基-丙基)-3-乙基碳二亚胺), ESI (电喷雾电离), EtOAc (乙酸乙酯), Et₂O (乙醚), EtOH (乙醇), Fmoc (苄氧羰基), HATU (二甲基氨基-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基氧)-亚甲基]-二甲基铵-六氟磷酸盐), HPLC (高效液相色谱), i-PrOH (2-丙醇), K_2CO_3 (碳酸钾), LC (液相色谱), MD Autoprep (质量定向的Autoprep), MeOH (甲醇), MgSO_4 (硫酸镁), NMI (N-甲基咪唑), MS (质谱), MTBE (甲基叔丁基醚), Mtr. (4-甲氧基-2,3,6-三甲基苯磺酰基), MW (微波), NBS (N-溴代琥珀酰亚胺), NaHCO_3 (碳酸氢钠), NaBH_4

(硼氢化钠), NMM (N-甲基吗啉), NMR (核磁共振), POA (苯氧乙酸酯), Py (吡啶), **PyBOP®** (苯并三唑-1-基-氧基-三-吡咯烷基磷-六氟磷酸盐), RT (室温), Rt (保留时间), SFC (超临界流体色谱法), SPE (固相萃取), T3P (丙基膦酸酐), TBAF (四-正丁基氟化铵), TBTU (2-(1-H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脒鎓四氟硼酸盐), TEA (三乙胺), TFA (三氟乙酸), THF (四氢呋喃), TLC (薄层色谱), UV (紫外线)。

[0052] 通常, 根据式 (I) 和本发明相关式的化合物可由容易获得的起始原料制备。如果这种起始原料不可商购获得, 则它们可通过标准的合成技术来制备。通常, 任何单独的式 (I) 及相关式的化合物的合成途径将依赖于各分子的具体取代基, 本领域的普通技术人员理解这些因素。在下文实施例中描述的以下的一般方法和工序可用于制备式 (I) 及相关式的化合物。在下面的流程图中描述的反应条件, 诸如温度、溶剂、或辅助试剂, 仅作为实例给出而不是限制性的。应当理解在给出典型的或优选的实验条件 (反应温度、时间、试剂的摩尔数、溶剂等) 的情况下, 也可采用其它实验条件, 除非另有说明。最佳反应条件可根据所用的特定反应物或溶剂而变化, 但这些条件可由本领域技术人员采用常规的最优化程序来确定。对于所有的保护和脱保护方法, 参见 Philip J. Kocienski, “Protecting Groups” 中, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1994 和 Theodora W. Greene 和 Peter G.M. Wuts “Protective Groups in Organic Synthesis” 中, Wiley Interscience, 3rd 版, 1999。

[0053] 合成式 (I) 及相关式的化合物的一般方法描述于流程图 A 中, 从式 (II) 衍生物开始, 按照在下文中描述的方法或本领域的技术人员熟知的工序。

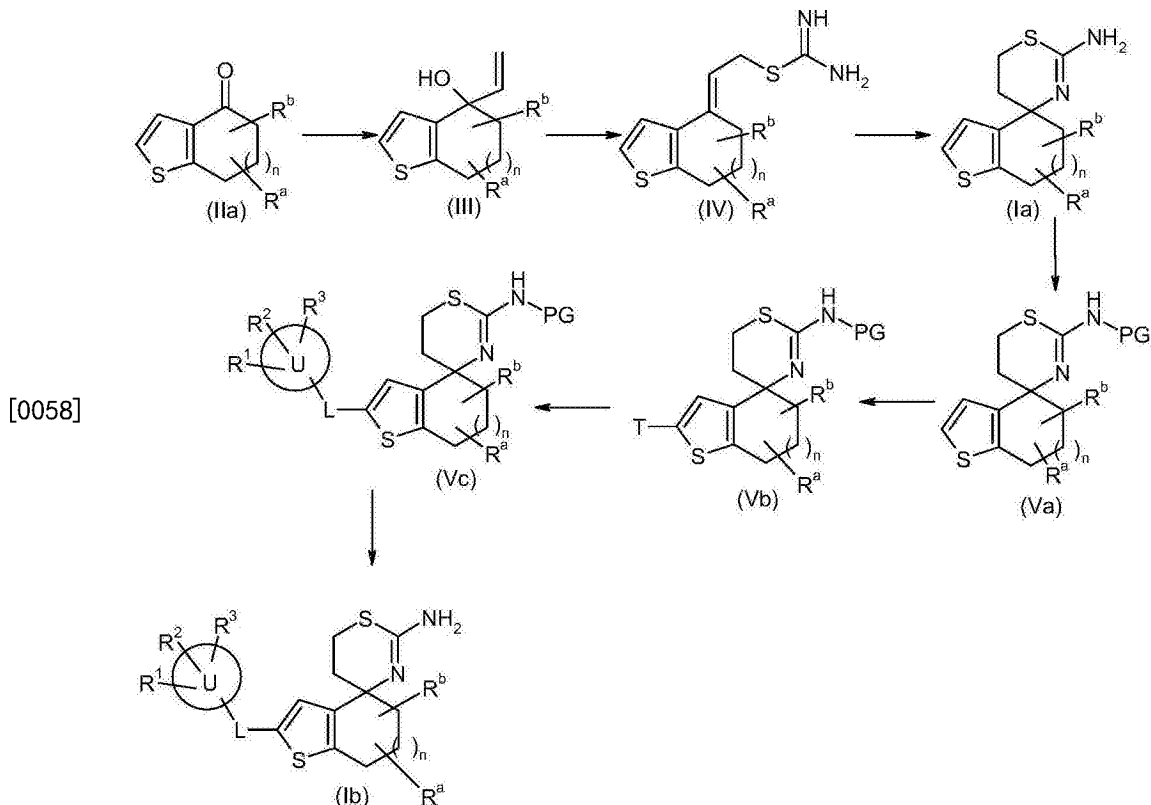
[0054] 流程图 A



[0056] 可选择不同的合成策略用于式 (I) 化合物的合成。起始原料可以是适当取代的噻吩酮 (I Ia), 其中与噻吩环连接的环-稠合的碳环可为不同的环尺寸。碳环可在酮的 α 或 β 位被适宜的烷基或芳基基团取代。酮可与乙烯基格利雅试剂反应, 典型地在 THF 中在约 -78°C 至约 0°C 之间的温度下反应, 产生丙烯醇产物 (III)。乙烯醇可与硫脲在乙酸中在约 25°C 至约 40°C 之间的温度下反应产生异硫脲鎓盐衍生物 (IV), 它们可进一步环化为螺环氨基噻吩 (Ia), 其中 R^a 至 R^b 如上定义。这种环化可例如在浓 HCl 中在约 25°C 下进行。在某些情况下, 螺环氨基噻吩 (Ia) 可由乙烯醇 (III) 通过在浓 HCl 中与硫脲反应直接制备。噻吩的取代可通常在用保护基团 (PG) 保护氨基噻吩 (Ia) 之后实现, 得到式 (Va) 化合物。保护基团 (PG) 可以是例如叔丁氧羰基基团或苄氧羰基基团。将化合物 (Va) 转化为化合物 (Vb), 其中 T 选自但不限于卤素、硝基、羧基、硼酸或硼酸酯。溴化 (T=Br), 例如, 可在约 0°C 至约 25°C 之间的温度下在适宜的溶剂诸如乙酸或氯仿中用在二氯甲烷中的 N-溴代琥珀酰亚胺、或溴来实现, 产生式 (Vb) 化合物。然后基团 T 可被芳族或杂芳基基团取代。这种取代可例如在约 80°C 至约 100°C 之间的温度下通过采用适宜的芳族硼酸或硼酸酯与在二甲基甲酰胺中的钯催化

剂进行,产生式 (Vc) 化合物,其中L是单键且其中U、R¹、R²和R³如上定义。然后采用本领域的技术人员熟知的条件,通过脱除PG获得式 (Ib) 化合物(流程图1)。

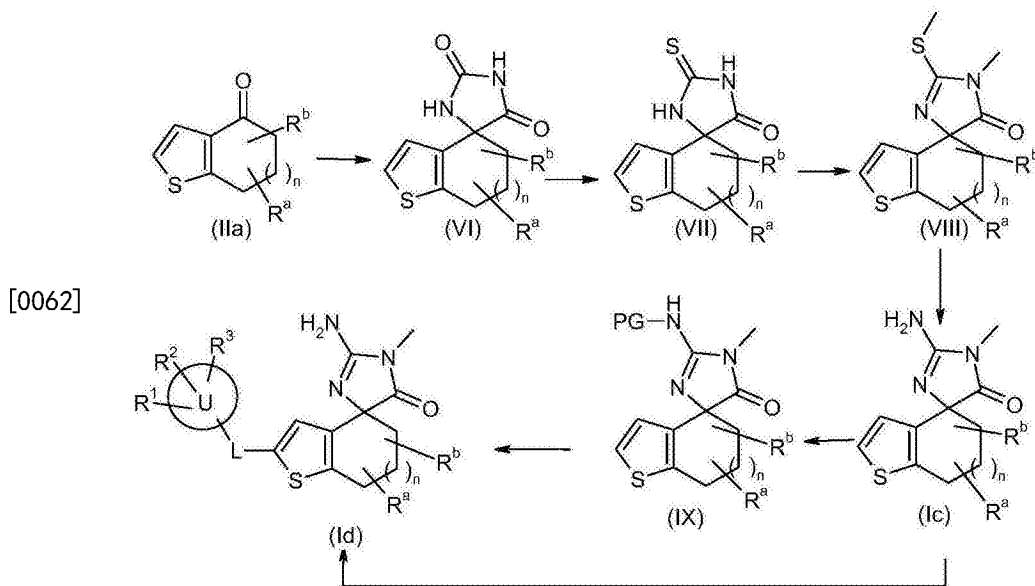
[0057] 流程图1



[0059] 作为替代,卤素衍生物 (Vb) 可与硼酸酯诸如双(频那醇合)二硼反应,形成噻吩取代的硼酸酯。此反应可在约80°C至约100°C之间的温度下在溶剂诸如DMF中用适宜的钯催化剂来实现。噻吩取代的硼酸酯可在约80°C至约100°C之间的温度下在溶剂诸如DMF中采用适宜的钯催化剂与芳基或杂芳基溴化物反应,得到式 (Vc) 化合物。

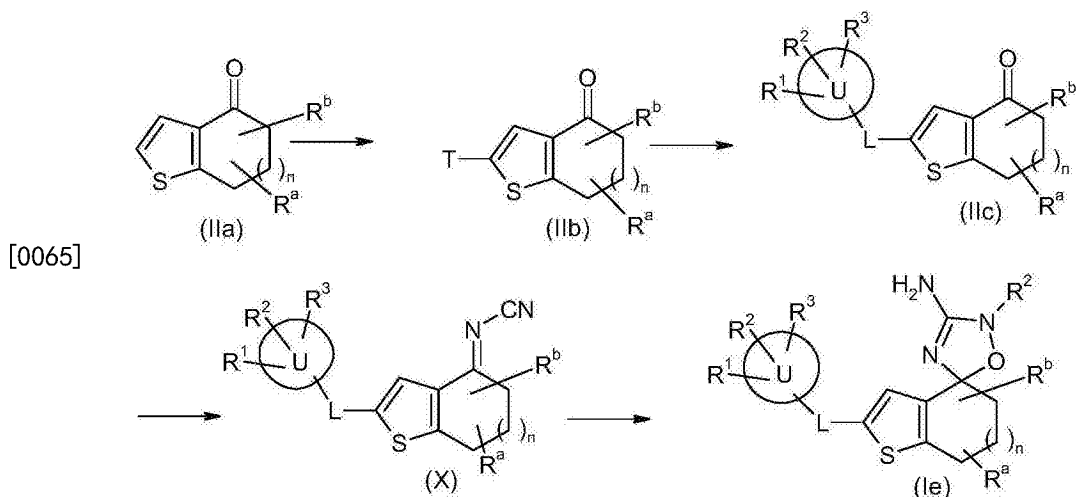
[0060] 各种非氨基噻嗪的其它螺环可由本申请中描述的式 (I Ia) 的酮制备。例如,氨基咪唑酮衍生物可在大约80°C下在溶剂诸如含水的乙醇中在碳酸铵的存在下通过使适宜的噻吩酮 (I Ia) 与氰化钾或氰化钠反应来制备(流程图2)。所得到的乙内酰脲衍生物 (VI), 其中R^a至R^b如上定义,可转变为硫乙内酰脲衍生物 (VII)。这种反应可例如在加热下在甲苯、二噁烷或THF中通过用Lawesson氏试剂处理 (VI) 进行。在硫上的烷化可在溶剂如甲醇或乙醇中用烷基或芳基卤和碱诸如氢氧化钠实现,产生衍生物 (VI I I)。式 (Ic) 的氨基咪唑酮可通过在90°C下在密封管中在甲醇中在碘化铵的存在下以氨置换硫甲基基团形成。噻吩的取代可在上文中关于氨基噻嗪化合物描述的保护氨基咪唑酮基团或者没有保护的情况下实现,得到式 (Id) 化合物,其中L、U、R¹、R²和R³如流程图1的定义。

[0061] 流程图2



[0063] 式 (Ie) 的氨基噁嗪螺环可由相应的噁吩碳环的酮 (I Ia) 制备 (流程图3)。将式 (I Ia) 化合物转化为式 (I Ib) 化合物, 其中 R^a 和 R^b 如上定义且其中T选自但不限于卤素、硝基、羧基、硼酸或硼酸酯。溴化(T=Br), 例如, 可在约 0°C 下在乙酸或氯仿中用溴实现。然后基团T可被芳族或杂芳基基团取代, 在约 80°C 至约 100°C 之间的温度下在二甲基甲酰胺或二噁烷中采用适宜的芳族硼酸或硼酸酯与钯催化剂进行, 产生式 (I Ic) 化合物, 其中U、L、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^a 和 R^b 如流程图1的定义。式 (X) 的N-氰基亚胺可在无水二氯甲烷中在四氯化钛的存在下通过用双-三甲基硅烷基碳二亚胺处理式 (I Ic) 化合物来制备。式 (X) 化合物与各种羟胺试剂在约 25°C 下在甲醇或乙醇中反应得到式 (Ie) 的螺环氨基噁嗪衍生物。

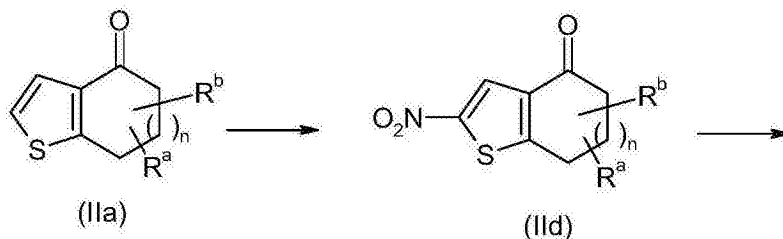
[0064] 流程图3



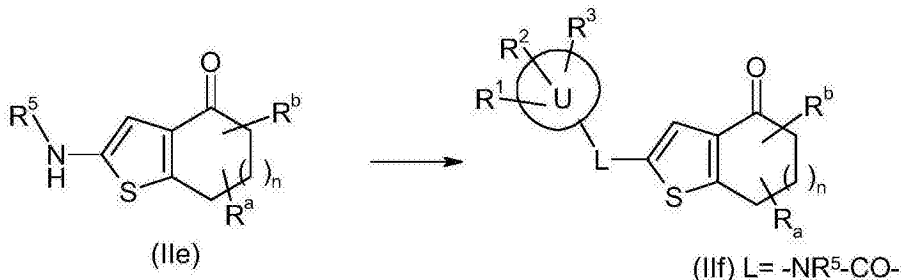
[0066] 螺环环的形成可在噁吩环官能化之后进行。例如, 可在约 0°C 至约 5°C 之间的温度下在硫酸中采用浓硝酸将硝基引入适宜的酮 (IIa) 中 (流程图4)。然后可在溶剂诸如乙醇或DMF中, 采用适宜的催化剂诸如钯或铂, 在1至20bar之间的压力下采用气态氢将式 (IIc) 化合物的硝基基团还原为氨基。式 (IIe) 化合物的氨基基团可用适宜的碱诸如三乙胺在约 25°C 下在溶剂诸如二氯甲烷中与酰氯反应。作为替代, 氨基基团可与羧酸反应, 采用适宜的肽偶联剂诸如(2-(7-氮杂-1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐)在溶剂诸

如DMF中在约25℃下进行,产生式(IIf)化合物,其中L表示-NR⁵-CO-且其中U、R¹、R²至R³如上定义。

[0067] 流程图4



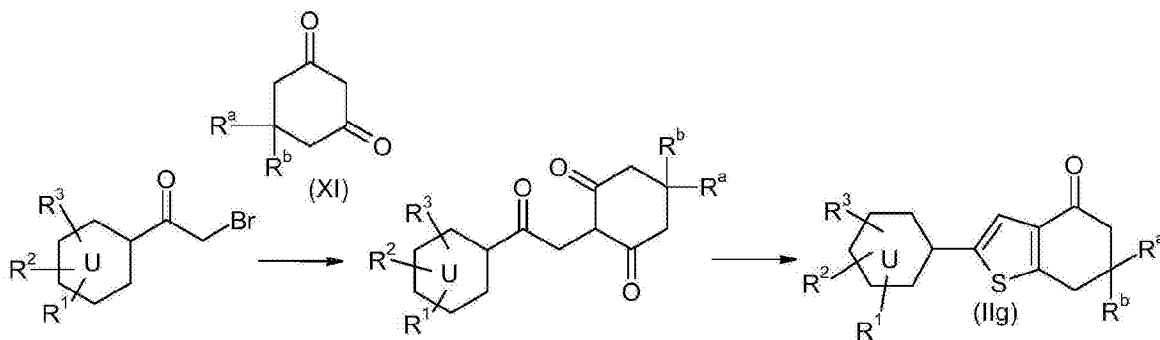
[0068]



[0069] 式(IIg)化合物可在约25℃下在含碱诸如碳酸钾的溶剂诸如氯仿中通过使式(XI)的1,3-二酮(其中R^a和R^b如上定义)与适当芳基取代的溴代苯乙酮反应来制备(流程图5)。式(XI)的1,3-二酮可以是例如但不限于双甲酮。三酮闭环成噻吩衍生物可在约80℃至约100℃下在甲苯或THF中采用Lawesson氏试剂实现,产生式(IIg)化合物,其中U、R¹、R²、R³、R^a和R^b如上定义。

[0070] 流程图5

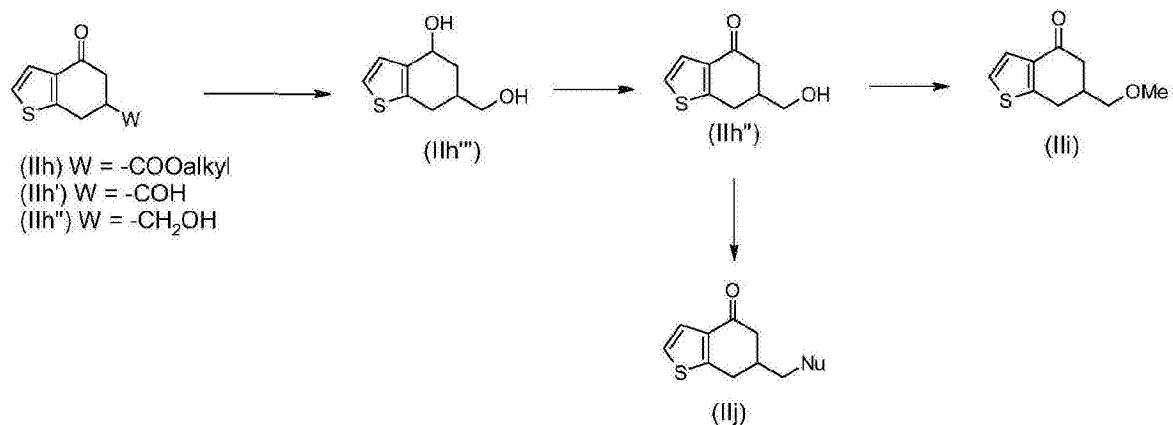
[0071]



[0072] 作为替代,在酮β位的取代可通过使适宜的式(IIh)、(IIh')或(IIh'')的噻吩酮(其中基团W为酯、醛或醇)反应实现。这种起始原料或者可商购获得或者按照本领域的技术人员熟知的条件合成。可操作这种化合物以提供在β位的适当取代。例如,可在溶剂诸如THF或乙醚中采用氢化铝锂或二硼烷将4-氧代-4,5,6,7-四氢-苯并[b]噻吩-6-甲酸乙酯(IIh),其中所述烷基为乙基,还原为相应的式(IIh'')二醇(流程图6)。苄基醇氧化为酮(IIh'')可在约25℃下在二氯甲烷或二噁烷中采用二氧化锰完成。醇基的官能化,例如醚化,可在约0℃下在溶剂诸如THF或DMF中采用烷基卤和适宜的碱诸如氢氧化钠实现,得到式(IIi)的酮。在含适宜的碱诸如三乙基胺的DCM中采用甲磺酸酐将醇甲磺酰化允许用一定范围的亲核试剂Nu诸如胺、醇盐和有机金属化合物置换,产生式(IIj)化合物。

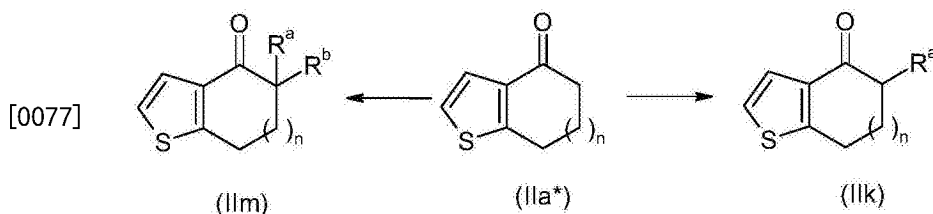
[0073] 流程图6

[0074]



[0075] 在酮(IIa*)的 α 位取代可通过在THF中使适宜的噻吩酮与在DMF或LDA中的碱诸如氢化钠反应和用烷基卤使所得烯醇化物淬灭来实现(流程图7)。式(IIk)和(IIm)的单和二取代的酮可分别用适量的碱和亲电体实现。

[0076] 流程图7



[0078] 本发明化合物可通过由蒸发适宜的溶剂结晶与溶剂分子缔合进行分离。式(I)化合物的药学上可接受的酸加成盐,含有碱性中心,可以常规的方式制备。例如,该游离碱的溶液可用适宜的酸(纯净的或以适宜的溶液形式)处理,将所得到的盐通过过滤或通过真空下蒸发反应溶剂分离。药学上可接受的碱加成盐可通过用适宜的碱处理式(I)化合物的溶液以类似的方式获得,其中式(I)化合物含有酸性中心。两种类型的盐可采用离子交换树脂技术形成或相互转化。

[0079] 依赖于使用的条件,反应时间通常在几分钟至14天之间,反应温度在约-30℃至140℃之间,一般在-10℃至90℃之间,特别是在0℃至70℃之间。

[0080] 此外式(I)化合物可通过用溶剂分解或氢解试剂处理由它们的官能衍生物之一释放式(I)化合物获得。

[0081] 优选的用于溶剂分解或氢解的起始原料为符合式(I)、但含有相应的被保护的氨基和/或羟基基团而不是一个或多个自由氨基和/或羟基基团的那些,优选为载有氨基保护基团而不是与N原子结合H原子的那些,特别是载有R'-N基团,其中R'表示氨基保护基团,而不是HN基团的那些,和/或载有羟基-保护基而不是羟基基团的H原子的那些,例如符合式(I)、但载有-COOR''基团的那些,其中R''表示羟基保护基团而不是-COOH基团。

[0082] 多个相同或不同的被保护的氨基和/或羟基基团存在于起始原料的分子中也是可能的。如果存在的保护基相互不同,则它们可在许多情况下选择性地裂解。

[0083] 术语“氨基保护基团”通常是已知的,指适于保护(阻断)氨基不至发生化学反应、但在期望的化学反应已经在分子的其它地方进行之后容易脱除的基团。这些基团的代表尤

其为未取代或取代的酰基、芳基、芳烷氧基甲基或芳烷基基团。由于氨基保护基团在期望的反应(或反应结果)之后被脱除,它们的类型和大小不再关键;然而,优选具有1-20、特别是1-8个碳原子的那些。术语“酰基”应以与本发明的方法有关的最宽泛的含义理解。它包括衍生自脂肪族、芳脂族、芳香或杂环羧酸或磺酸的酰基基团,特别是,烷氧基-羰基、芳氧基羰基,尤其是芳烷氧羰基基团。这些酰基基团的实例为烷酰基,诸如乙酰基、丙酰基和丁酰基;芳烷酰基,诸如苯基乙酰基;芳酰基,诸如苯甲酰基和甲苯基;芳氧基烷酰基,诸如POA;烷氧羰基,诸如甲氧基-羰基、乙氧羰基、2,2,2-三氯乙氧羰基,BOC(叔丁氧基-羰基)和2-碘乙氧羰基;芳烷氧羰基,诸如CBZ(“羰-苯-氧”)、4-甲氧基苄氧羰基和FMOC;和芳基-磺酰基,诸如Mtr。优选的氨基保护基团为BOC和Mtr,此外为CBZ、Fmoc、苄基和乙酰基。

[0084] 术语“羟基保护基团”通常同样是已知的,指适于保护羟基基团不至发生化学反应、但在期望化学反应已经在分子的其它地方进行化学反应之后容易脱除的基团。此类基团的代表是上述未取代或取代的芳基、芳烷基或酰基基团,此外还有烷基基团。羟基-保护基团的特性和大小不关键,因为它们期望的化学反应或反应结果之后再被脱除;优选具有1-20、特别是1-10个碳原子的基团。羟基-保护基团的实例,尤其是,苄基、4-甲氧苄基、对硝基-苯甲酰基、对甲苯磺酰基、叔丁基和乙酰基,其中特别优选苄基和叔丁基。

[0085] 术语“化合物的溶剂合物”指惰性溶剂分子加合到化合物上,由于它们之间的相互吸引力形成。溶剂合物为,例如,一水或二水合物或醇化物。

[0086] 式(I)化合物从它们的官能团衍生物释放-依赖于所用的保护基团-例如使用强酸,有利地使用TFA或高氯酸,但也可使用其它无机强酸,诸如盐酸或硫酸,强有机羧酸,诸如三氯乙酸、或磺酸诸如苯-或对甲苯磺酸。其它惰性溶剂的存在是可能的,但并不总是必要的。适宜的惰性溶剂优选为有机惰性溶剂,例如羧酸诸如乙酸,醚诸如THF或二噁烷,酰胺诸如DMF,卤代烃诸如DCM,此外还有醇诸如甲醇、乙醇或异丙醇,和水。此外上述溶剂的混合物也是适宜的。TFA优选在添加其它溶剂的情况下过量使用,高氯酸优选以9:1比例的乙酸和70%高氯酸的混合物形式使用。裂解的反应温度有利地在约0至约50°C,优选在15至30°C之间(RT)。

[0087] BOC、OBut和Mtr基团可,例如,优选采用在DCM中的TFA或采用约3至5N在二噁烷中的HCl于15-30°C裂解,且Fmoc基团可采用约5至50%二甲胺、二乙胺或哌啶在DMF中的溶液于15-30°C裂解。

[0088] 可通过水解(hydrogenolytically)脱除的保护基团(例如CBZ、苄基或自其二噁啉衍生物释放脒基基团)可被裂解,例如,通过在催化剂(贵重-金属催化剂诸如钯,有利地在支持体上,诸如在碳上)的存在下用氢处理来裂解。本发明中适宜的溶剂为上述的那些,尤其,例如,醇诸如甲醇或乙醇,或酰胺诸如DMF。氢解通常在约0至100°C之间的温度和在约1至200巴之间的压力下进行,优选在20-30°C和1-10巴下进行。CBZ基团的氢解很顺利进行,例如,在5至10%Pd/C上在甲醇中或采用甲酸铵(而不是氢)在Pd/C上在甲醇/DMF中于20-30°C进行。

[0089] 适宜的惰性溶剂的实例为烃类,诸如己烷、石油醚、苯、甲苯或二甲苯;氯化烃类,诸如三氯乙烯、1,2-二氯乙烷、四氯甲烷、三氟-甲基苯、氯仿或DCM;醇类,诸如甲醇、乙醇、异丙醇、正丙醇、正丁醇或叔丁醇;醚类,诸如乙醚、二异丙醚、四氢呋喃(THF)或二噁烷;乙

二醇醚,诸如乙二醇单甲基或单乙基醚或乙二醇二甲醚(二甘醇二甲醚);酮类,诸如丙酮或丁酮;酰胺类,诸如乙酰胺、二甲基乙酰胺、N-甲基吡咯烷酮(NMP)或二甲基甲酰胺(DMF);腈类,诸如乙腈;亚砷类,诸如二甲亚砷(DMSO);二硫化碳;羧酸类,诸如甲酸或乙酸;硝基化合物,诸如硝基甲烷或硝基苯;酯类,诸如EtOAc、或所述所述溶剂的混合物。

[0090] 酯可例如,使用在水中的LiOH、NaOH或KOH、水/THF、水/THF/乙醇或水/二噁烷,在0至100°C之间的温度下皂化。此外,还可将酯水解,例如用乙酸、TFA或HCL水解。

[0091] 自由氨基还可用酰基氯或酸酐以常规的方式进行酰化或用未取代或取代的烷基卤进行烷基化或与 $\text{CH}_3\text{-C(=NH)-OEt}$ 反应,有利地在惰性溶剂诸如DCM或THF中和/或在碱诸如三乙胺或吡啶的存在下,在-60°C至+30°C之间的温度下进行。

[0092] 在整篇说明书中,术语离去基团优选表示Cl、Br、I或反应修饰的OH基团,例如,活化的酯、咪唑鎓(imidazole)或具有1-6个碳原子的烷基磺酰氧基(优选甲基磺酰氧基或三氟甲基磺酰氧基)或具有6-10个碳原子的芳基磺酰氧基(优选苯基-或对甲苯基磺酰氧基)。

[0093] 在典型的酰化反应中用于活化羧基基团的此类基团在文献中有描述(例如,在标准著作,诸如Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie [有机化学方法], Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart中)。

[0094] 活化酯有利地原位形成,例如通过添加HOBt或N羟基琥珀酰亚胺。

[0095] 术语“可药用的衍生物”指,例如,式I化合物和所谓的前药化合物的盐。

[0096] 术语“前药衍生物”指已经用,例如,烷基或酰基基团、糖或寡肽修饰并且在有机体内迅速地裂解生成活性化合物的式I化合物。

[0097] 这些还包括本发明化合物的可生物降解的聚合物衍生物,如描述于例如Int. J. Pharm. 115, 61-67 (1995)中的衍生物。

[0098] 药用盐及其它形式

[0099] 所述的式(I)化合物可以它们最终的非盐形式使用。另一方面,本发明还涉及以它们药学上可接受的盐形式存在的这些化合物的用途,其可由多种有机和无机的酸和碱通过本领域已知的方法衍生而来。式I化合物的药学上可接受的盐形式大部分通过常规的方法来制备。如果式I化合物含有酸性中心,则其适宜的盐之一可通过使化合物与适宜的碱反应得到相应的碱加成盐而形成。这种碱为,例如,碱金属氢氧化物,包括氢氧化钾和氢氧化钠;碱土金属氢氧化物,诸如氢氧化镁和氢氧化钙;和各种有机碱,诸如吡啶、二乙醇胺和N-甲基葡糖胺(葡甲胺)、苄星青霉素、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、苯乙胺、二乙胺、哌嗪、赖氨酸、L-精氨酸、氨、三乙醇胺、甜菜碱、乙醇胺、吗啉和氨丁三醇。在某些含有碱性中心的式I化合物的情况下,酸加成盐可通过用药学上可接受的有机酸和无机酸处理这些化合物形成,其中有机酸和无机酸,例如卤化氢,诸如氯化氢或溴化氢,其它矿物酸及其相应的盐,诸如硫酸盐、顺丁烯二酸盐马来酸阴离子硝酸盐或磷酸盐等,和烷基-和单芳基-磺酸盐,诸如甲磺酸盐、乙磺酸盐、甲苯磺酸盐和苯磺酸盐,和其它有机酸及其相应的盐,诸如碳酸盐、乙酸盐、三氟-乙酸盐、酒石酸盐、马来酸盐、琥珀酸盐、柠檬酸盐、苯甲酸盐、水杨酸盐、抗坏血酸盐等。因此,式I化合物的药学上可接受的酸加成盐包括下列:乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸氢盐、溴化物、樟脑酸盐(camphorate)、樟脑磺酸盐、癸酸盐、辛酸盐、氯化物、氯苯甲酸盐、柠檬酸盐、环己烷氨基磺酸盐、肉桂酸盐、

二葡萄糖酸盐、二氢磷酸盐、二硝基苯甲酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、羟乙酸盐、富马酸盐、galacterate (由粘酸形成)、半乳糖醛酸盐、葡庚酸盐、葡糖酸盐、谷氨酸盐、甘油磷酸盐、半琥珀酸盐、半硫酸盐、庚酸酯、己酸盐、马尿酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙烷-磺酸盐、碘化物、羟乙基磺酸盐、异丁酸盐、乳酸盐、乳糖酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、偏磷酸盐、甲磺酸盐、甲基苯甲酸盐、单氢磷酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、草酸盐、油酸盐、棕榈酸盐 (palmo-ate)、果胶酸盐、过硫酸盐、苯乙酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、膦酸盐、邻苯二甲酸盐, 但这不代表限制。两种类型的盐均可优选采用离子交换树脂技术形成或相互转化。

[0100] 此外, 式I化合物的碱盐包括铝、铵、钙、铜、铁(III)、铁(II)、锂、镁、锰(III)、锰(II)、钾、钠和锌盐, 但这不意图代表限制。上述盐中, 优选铵盐; 碱金属盐钠盐和钾盐、和碱土金属盐钙盐和镁盐。由药学上可接受的有机无毒碱衍生而来的式I化合物的盐包括伯胺、仲胺和叔胺、取代的胺、也包括天然存在的取代的胺、环胺、和碱性离子交换树脂例如精氨酸、甜菜碱、咖啡因、氯普鲁卡因、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺(苄星青霉素)、二环己基胺、二乙醇胺、二乙基胺、2-二乙基-氨基-乙醇、2-二甲基-氨基-乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基-哌啶、葡糖胺、氨基葡萄糖、组氨酸、海巴明(hydrabamine)、异丙基胺、利多卡因、赖氨酸、葡甲胺(N-甲基-D-葡糖胺)、吗啉、哌嗪、哌啶、聚胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可碱、三乙醇胺、三乙胺、三甲胺、三丙胺和三(羟基-甲基)甲基胺(氨丁三醇)的盐, 但这不意图代表限制。

[0101] 含有碱性含N2-基团的本发明的式I化合物可采用试剂诸如(C1-C4)烷基卤, 例如甲基、乙基、异丙基和叔丁基氯化物、溴化物和碘化物; 二(C1-C4)烷基硫酸盐, 例如二甲基、二乙基和二戊基硫酸盐; (C10-C18)烷基卤, 例如癸基、十二烷基、月桂基、肉豆蔻基和硬脂基氯化物、溴化物和碘化物; 和芳基-(C1-C4)烷基卤, 例如苄基氯和苯乙基溴化物。水溶性和油溶性式I化合物均可采用这种盐制备。

[0102] 优选的上述药用盐包括乙酸盐、三氟醋酸盐、苯磺酸盐、柠檬酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、半琥珀酸酯、马尿酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、羟乙基磺酸盐、扁桃酸盐、甲葡胺、硝酸盐、油酸盐、膦酸盐、新戊酸盐、磷酸钠、硬脂酸盐、硫酸盐、磺基水杨酸盐、酒石酸盐、硫代苹果酸盐、甲苯磺酸盐和氨基丁三醇, 但这不意图代表限制。

[0103] 碱性式(I)化合物的酸加成盐通过使游离碱形式与足量的期望的酸接触、导致以常规的方式形成盐来制备。游离碱可通过使盐形式与碱接触和以常规的方式分离游离碱而再生。在某些物理性质方面诸如在极性溶剂中的溶解性, 游离碱形式在某些方面与其相应的盐形式不同; 不过, 对本发明而言, 盐在其它方面与其各游离碱形式相符。

[0104] 如所述, 式I化合物的药学上可接受的碱加成盐由金属或胺诸如碱金属和碱土金属或有机胺形成。优选的金属为钠、钾、镁和钙。优选的有机胺为N,N'-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、N-甲基-D-葡糖胺和普鲁卡因。

[0105] 酸性式I化合物的碱加成盐通过使游离酸形式与足量的期望的碱接触、导致以常规的方式形成盐来制备。游离酸可通过使盐形式与酸接触和以常规的方式分离游离酸而再生。在某些物理性质方面诸如在极性溶剂中的溶解性, 游离酸形式在某些方面与其相应的盐形式不同; 不过, 对本发明而言, 盐在其它方面与其各游离酸形式相符。

[0106] 如果式(I)化合物含有一个以上的能形成此类型的药学上可接受的盐的基团, 则

式I还包括多重盐。典型的多重盐形式包括,例如重酒石酸盐、二乙酸盐、二富马酸盐、二甲葡胺(dimeglumine)、二磷酸盐、二钠盐和三盐酸盐,但这不意图代表限制。

[0107] 鉴于上面所述,可见在上下文中术语“药学上可接受的盐”指包括以其盐之一的形式的式I化合物的活性成分,特别是如果与活性成分的游离形式或早期使用的活性成分的任意其它盐形式相比此盐形式赋予活性成分改善的药物动力学性质时。活性成分的药学上可接受的盐的形式还可以第一时间给活性成分提供期望的药物动力学的性质,其中所述性质是它早期不具有的且甚至可能在体内的治疗效力方面对此活性成分的药物动力学有正影响。

[0108] 由于它们的分子结构,式(I)化合物可以是手性的因此可以各种对映体形式存在。因此它们可以外消旋形式或以光学活性形式存在。

[0109] 由于本发明化合物的外消旋体或立体异构体的药物活性可能不同,因而使用对映异构体可能是期望的。在这些情况下,最终产品或甚至中间体可通过本领域技术人员已知的或本身甚至在合成中使用的化学或物理措施分离成对映体化合物。

[0110] 在外消旋胺的情况下,非对映异构体通过与光学活性的拆分剂反应由混合物生成。适宜的拆分剂的实例为光学活性的酸,诸如(R)和(S)形式的酒石酸、二乙酰基酒石酸、二苯甲酰基酒石酸、扁桃酸、苹果酸、乳酸、适宜的N-保护的氨基酸(例如N-苯甲酰基脯氨酸或N-苯磺酰基脯氨酸)、或各种光学活性的樟脑磺酸。借助于光学活性拆分剂(例如固定在硅胶上的二硝基苯甲酰基苯基甘氨酸、三乙酸纤维素或碳水化合物的其它衍生物或手性衍生的甲基丙烯酸聚合物)进行色谱的对映体拆分也是有利的。用于此目的的适宜的洗脱剂为含水的或含醇的溶剂混合物,例如己烷/异丙醇/乙腈,例如以比例82:15:3。

[0111] 本发明还涉及式I和相关式的化合物的用途,其中式I和相关式的化合物与至少一种另外的药物活性成分(优选用于治疗多发性硬化症的药物诸如克拉屈滨)或另一种辅助剂诸如干扰素(例如聚乙二醇化或非聚乙二醇化干扰素优选干扰素B)和/或与改善血管功能的化合物组合或与免疫调节剂组合,其中免疫调节剂例如芬戈莫德;环孢菌素类、雷帕霉素类或子囊霉素类,或它们免疫抑制类似物,例如环孢菌素A、环孢菌素G、FK-506、ABT-281、ASM981、雷帕霉素、40-0-(2-羟基)乙基-雷帕霉素等;皮质类甾醇类;环磷酰胺;咪唑硫嘌呤;甲氨喋呤;来氟米特;咪唑立宾;霉酚酸;麦考酚酸酯;15-脱氧精肌菌素;戊酸二氟可龙;二氟泼尼酯;二丙酸阿氯米松;安西奈德;安吡啶;天冬酰胺酶;硫唑嘌呤;巴利昔单抗;二丙酸倍氯米松;倍他米松;醋酸倍他米松;二丙酸倍他米松;倍他米松磷酸钠;戊酸倍他米松;布地奈德;卡托普利;盐酸氮芥;克拉屈滨;丙酸氯倍他索;醋酸可的松;可的伐唑;环磷酰胺;阿糖胞苷;达克珠单抗;放线菌素D;地奈德;去羟米松;地塞米松;醋酸地塞米松;异烟酸地塞米松;地塞米松间磺基苯甲酸钠;磷酸地塞米松;叔丁乙酸地塞米松;醋酸二氯松;盐酸多柔比星;盐酸表柔比星;氟氯奈德;醋酸氟氢可的松;氟氢缩松;新戊酸氟米松;氟尼缩松;氟轻松;醋酸氟轻松;氟可龙;己酸氟可龙;新戊酸氟可龙;氟米龙;醋酸氟泼尼定;丙酸氟替卡松;盐酸吉西他滨;哈西奈德;氢化可的松、醋酸氢化可的松、丁酸氢化可的松、半琥珀酸氢化可的松;美法仑;甲泼尼松;硫嘌呤;甲泼尼龙;醋酸甲泼尼龙;半琥珀酸甲泼尼龙;米索前列醇;莫罗单抗-cd3;麦考酚酸酯;醋酸帕拉米松;泼那唑啉,泼尼松龙;醋酸泼尼松龙;己酸泼尼松龙;泼尼松龙间磺基苯甲酸钠;泼尼松龙磷酸钠;泼尼松;泼尼立定;利福平;利福平钠;他克莫司;特立氟胺;沙利度胺;塞替派;新戊酸替可的松;曲安西龙;半琥珀酸曲安奈

德;苯曲安奈德;二乙酸曲安西龙;己曲安奈德;免疫抑制性单克隆抗体,例如,针对白血球受体的单克隆抗体,例如,MHC、CD2、CD3、CD4、CD7、CD25、CD28、B7、CD40、CD45或CD58或它们的配体;或其它免疫调节化合物,例如CTLA41g,或其它粘附分子抑制剂,例如ImAbs或低分子量抑制剂包括选择蛋白拮抗剂和VLA-4拮抗剂。优选的组合物与环孢菌素A、FK506、雷帕霉素或40-(2-羟基)乙基-雷帕霉素和芬戈莫德一起。这些另外的药物,诸如干扰素 β ,可同时或顺序给药,例如经皮下、肌内或经口途径给药。

[0112] 这些组合物可作为人药和兽药中的药物使用。

[0113] 药物制剂可以剂量单位的形式施用,其中每个剂量单位包含预定量的活性成分。这样的单位可包含例如0.5mg至1g、优选1mg至700mg、特别优选5mg至100mg的本发明化合物,依赖于所治疗的疾病状况、给药方法和患者的年龄、体重和状况,或者药物制剂可以剂量单位的形式给药,其中每个剂量单位包含预定量的活性成分。优选的剂量单位制剂为包含如上所述的日剂量或部分-剂量、或其相应部分的活性成分的那些。此外,此类型的药物制剂可采用药物领域中公知的方法制备。

[0114] 药物制剂可适于经任何期望的适宜方法给药,例如通过经口(包括颊内或舌下)、直肠、鼻、局部(包括颊内、舌下或透皮)、阴道或肠胃外(包括皮下、肌内、静脉内或皮内)方法给药。此种制剂可采用药物领域中所有已知的方法来制备,例如通过将活性成分与赋形剂或助剂组合来制备。

[0115] 适用于经口给药的药物制剂可以独立的单位施用,例如,胶囊或片剂;粉剂或颗粒;在含水液体或非含水液体中的溶液或悬浮液;可食用的泡沫剂或泡沫食品;或水包油液体乳液或油包水液体乳液。

[0116] 因此,例如,在以片剂或胶囊的形式经口给药的情况下,活性成分组分可与口服的、无毒的和药学上可接受的惰性赋形剂,例如乙醇、甘油、水等结合。粉剂通过将化合物粉碎成适宜的精细尺寸和将其与粉碎的赋形剂例如可食用的碳水化合物(例如,淀粉或甘露醇)以类似的方式混合来制备。矫味剂、防腐剂、分散剂和染料同样可以存在。

[0117] 胶囊通过制备如上所述的粉末混合物和以其填充成形的明胶壳来制备。在填充操作之前可将助流剂和润滑剂例如固体形式的高度分散的硅酸、滑石粉、硬脂酸镁、硬脂酸钙或聚乙二醇加入到粉末混合物中。同样可按顺序加入崩解剂或增溶剂例如琼脂、碳酸钙或碳酸钠以改善胶囊服用之后药物的利用度。

[0118] 此外,如果期望或必要,同样可将适宜的粘合剂、润滑剂和崩解剂以及染料掺入混合物中。适宜的粘合剂包括淀粉,明胶,天然糖例如葡萄糖或 β -乳糖,由玉米制成的甜味剂,天然和合成橡胶例如阿拉伯胶、西黄蓍胶或藻酸钠,羧甲基纤维素,聚乙二醇,蜡等。用于这些剂型中的润滑剂包括油酸钠,硬脂酸钠,硬脂酸镁,苯甲酸钠,醋酸钠,氯化钠等。崩解剂包括,但不限于,淀粉,甲基纤维素,琼脂,膨润土,黄原胶等。片剂通过例如制备粉末混合物、制粒或干压混合物、添加润滑剂和崩解剂和压整个混合物得到片剂来配制。粉末混合物通过将以适宜的方式粉碎的化合物与如上所述的稀释剂或碱混合,任选地与粘合剂例如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶或聚乙烯基-吡咯烷酮,溶出阻滞剂例如石蜡,吸收加速剂例如季盐,和/或吸收剂例如膨润土、白陶土或磷酸二钙混合来制备。粉末混合物可通过用粘合剂例如糖浆、淀粉糊、阿拉伯胶浆(acacia mucilage)或纤维素或聚合物材料的溶液将其湿润和挤压它通过筛来制粒。作为制粒的替代方法,可将粉末混合物迅速通过压片机,产生不均

匀形状的团块,将其破碎形成颗粒。颗粒可通过添加硬脂酸、硬脂酸盐、滑石粉或矿物油来润滑以免粘住片剂铸模。然后挤压润滑的混合物得到片剂。活性成分还可与自由流动的惰性赋形剂结合然后直接挤压得到片剂而不实施制粒或干压步骤。可存在由虫胶封闭层、糖层或聚合材料和蜡光泽层构成的透明或不透明保护层。将染料加入到这些包衣中以便能区分不同的剂量单位。

[0119] 口服液体例如溶液、糖浆剂和酞剂,可以剂量单位的形式制备使得给定的量包含预先指定量的化合物。糖浆剂可通过将化合物与适宜的矫味剂一起溶解于含水溶液中制备,而酞剂采用无毒的醇载体制备。悬浮液可通过将化合物分散于无毒的载体中来配制。同样可加入增溶剂和乳化剂例如乙氧基化异硬脂醇类和聚氧乙烯山梨醇醚类,防腐剂,矫味添加剂例如薄荷油或天然甜味剂或糖精,或其它人造甜味剂等。

[0120] 用于经口给药的剂量单位制剂,如果期望,可在微囊中囊化。制剂还可,例如,通过将颗粒物质包衣或包埋于聚合物、蜡等中制备使得释放延长或延迟。

[0121] 式(I)化合物及其盐、溶剂合物和生理学官能衍生物和其它活性成分也可以脂质体给药系统例如小单层囊泡、大单层囊泡和多层囊泡的形式给药。脂质体可由各种磷脂例如胆固醇、硬脂胺或磷脂酰胆碱形成。

[0122] 式(I)化合物及其盐、溶剂合物和生理学官能衍生物和其它活性成分也可使用单克隆抗体作为单独的载体递送,其中化合物分子与载体偶联。化合物也可与作为靶向药物载体的可溶性聚合物偶联。此种聚合物可包括聚乙烯吡咯烷酮、吡喃共聚物、聚羟丙基-甲基丙烯酸酰胺苯酚、聚羟乙基门冬酰胺苯酚或聚氧乙烯聚赖氨酸,被棕榈酰基基团取代。化合物还可与一类适于实现药物控释的生物可降解聚合物偶联,其中生物可降解聚合物,例如聚乳酸、聚- ϵ -己内酯、聚羟基丁酸、聚原酸酯、聚缩醛、聚二羟基吡喃、聚氰基丙烯酸酯和水凝胶的交联或两亲性嵌段共聚物。

[0123] 配制适合于透皮给药的药物制剂可以独立的膏药形式给药用于与接受者的表皮长时间、密切接触。因此,例如,活性成分可由膏药通过离子电渗按照Pharmaceutical Research, 3(6), 318(1986)中的一般描述递送。

[0124] 适宜局部给药的药物化合物可配制成软膏、霜剂、悬浮液、洗液、粉剂、溶液、糊剂、凝胶、喷雾剂、气雾剂或油剂。

[0125] 为了治疗眼或其它外部组织,例如嘴和皮肤,制剂优选以局部的软膏或霜剂的形式应用。在配制得到软膏的情况下,活性成分可与石蜡膏基或与水混溶性膏基一起使用。作为替代,活性成分可与水包油膏基或与油包水膏基质一起配制得到霜剂。

[0126] 适合于局部施用于眼睛的药物制剂包括滴眼剂,其中将活性成分溶解或悬浮于适宜的载体特别是含水溶剂中。

[0127] 适合于局部施用于口腔内的药物制剂包括锭剂(lozenges)、软锭剂(pastilles)和漱口剂。

[0128] 适合于直肠给药的药物制剂可以栓剂或灌肠剂的形式给药。

[0129] 适合于经鼻给药的药物制剂,其中载体物质为固体,包含粒度例如在20-500微米范围内的粗粉,其以采取用鼻吸的方式给药,即通过经鼻道自含有粉末的容器迅速吸入,其中粉末保持在鼻子附近。用于以鼻喷雾剂或滴鼻剂的形式给药的适宜制剂包括活性成分在水或油中的溶液,其中鼻喷雾剂或滴鼻剂以液体作为载体物质。

[0130] 适合于通过吸入给药的药物制剂包括细颗粒粉尘或烟雾,其可通过各种类型的含气雾剂、雾化剂或吸入器的加压分配器产生。

[0131] 适合于阴道给药的药物制剂可以阴道栓剂(pessaries)、卫生栓(tampons)、霜剂、凝胶、糊剂、泡沫剂或喷雾剂的形式给药。

[0132] 适合于肠胃外给药的药物制剂包括包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和溶质(借助于这些物质使制剂与受治疗的接受者的血液等张)的含水和非含水无菌注射溶液剂;含水和非含水无菌悬浮液(其可包含悬浮介质和增稠剂)。制剂可在单剂量或多剂量容器例如密封的安瓿和小瓶中施用,并以冷冻干燥(冻干)状态贮存,使得仅在临用前立即加入无菌载体液体例如注射用水是必要的。

[0133] 根据处方制备的注射溶液和悬浮液可由无菌粉末、颗粒和片剂制备。

[0134] 不言而喻,除以上特别提及的组分之外,制剂还可包含本领域中对特定类型的制剂常用的其它试剂;因此,例如,适于经口给药的制剂可包含矫味剂。

[0135] 治疗有效量的式I化合物和其它活性成分依赖于许多因素,包括,例如,动物的年龄和体重、需要治疗的确切的疾病状态、及其严重程度、制剂的特性及给药方法,且最终由治疗医生或兽医确定。然而,有效量的化合物通常在每天0.1至100mg/kg接受者(哺乳动物)体重的范围内,特别典型地在每天1至10mg/kg体重的范围内。因此,对于重70kg的成年哺乳动物的每天实际量通常在70至700mg之间,其中该量可以每天单独剂量的形式或通常每天以一系列的部分-剂量(例如,两剂、三剂、四剂、五剂或六剂)给药,使得总日剂量相同。有效量的其盐或溶剂合物或生理学官能衍生物可以有效量的化合物本身的部分确定。

[0136] 本发明还涉及治疗患鞘氨醇1-磷酸酯相关病症的受试者的方法,包括给所述受试者施用有效量的式(I)化合物。本发明优选涉及一种方法,其中鞘氨醇1-磷酸酯-1相关病症为自身免疫性障碍或与活动过度的免疫应答相关的病症。

[0137] 分析方法的列举

[0138] 所有的NMRs在Bruker仪器上在400MHz下获得。

[0139] 名称采用Cambridgesoft Chemistry Cartridge(v.9.0.0.182)软件产生。

[0140] 所有与空气或水分敏感的试剂有关的反应都使用干溶剂和玻璃器皿在氮气氛下进行。

[0141] HPLC条件如下:

[0142] 方法A:柱子:-Supelco, **Ascentis®** Express C18或Hichrom Halo C18, 2.7 μ m C18, 150x 4.6mm, 以ACN/水/0.1%甲酸(在6min内4%至100%,流速为1mL/min)梯度洗脱

[0143] 方法B:柱子:柱子:-Phenomenex Luna 5 μ m C18(2), 100x 4.6mm, 以ACN/水/0.1%甲酸(在3.5min内5%至95%,流速为2mL/min)梯度洗脱

[0144] 方法C:柱子:-Phenomenex, Gemini NX, 3 μ m C18, 150x 4.6mm, 以ACN/10mM在水中的碳酸氢铵(在6min内4%至100%,流速为1mL/min)梯度洗脱

[0145] 方法D:柱子:-Waters Xterra MS 5 μ m C18, 100x 4.6mm, 以ACN/10mM碳酸氢铵水溶液(在3.5min内5%至95%,流速为2mL/min)梯度洗脱

[0146] 方法E:柱子:柱子:-Phenomenex Luna 5 μ m C18(2), 100x 4.6mm, 以ACN/水/0.1%甲酸(在4min内5%至95%,继续以此浓度的ACN再洗脱4min;流速为2mL/min)梯度洗脱

[0147] 方法F:柱子:-Waters Xterra MS 5 μ m C18, 100x 4.6mm, 以ACN/10mM碳酸氢铵水

溶液(在3.5min内5%至95%,继续以此浓度的ACN再洗脱4min,流速为2mL/min)梯度洗脱

[0148] 手性纯化

[0149] 手性纯化采用以下二者之一进行:

[0150] 1.Chiralpak IA柱(25cm x 4.6mm),用庚烷(80%)和1:1IPA/MeOH/0.1%DEA(20%)的溶剂以1.5mL/min的流速洗脱。

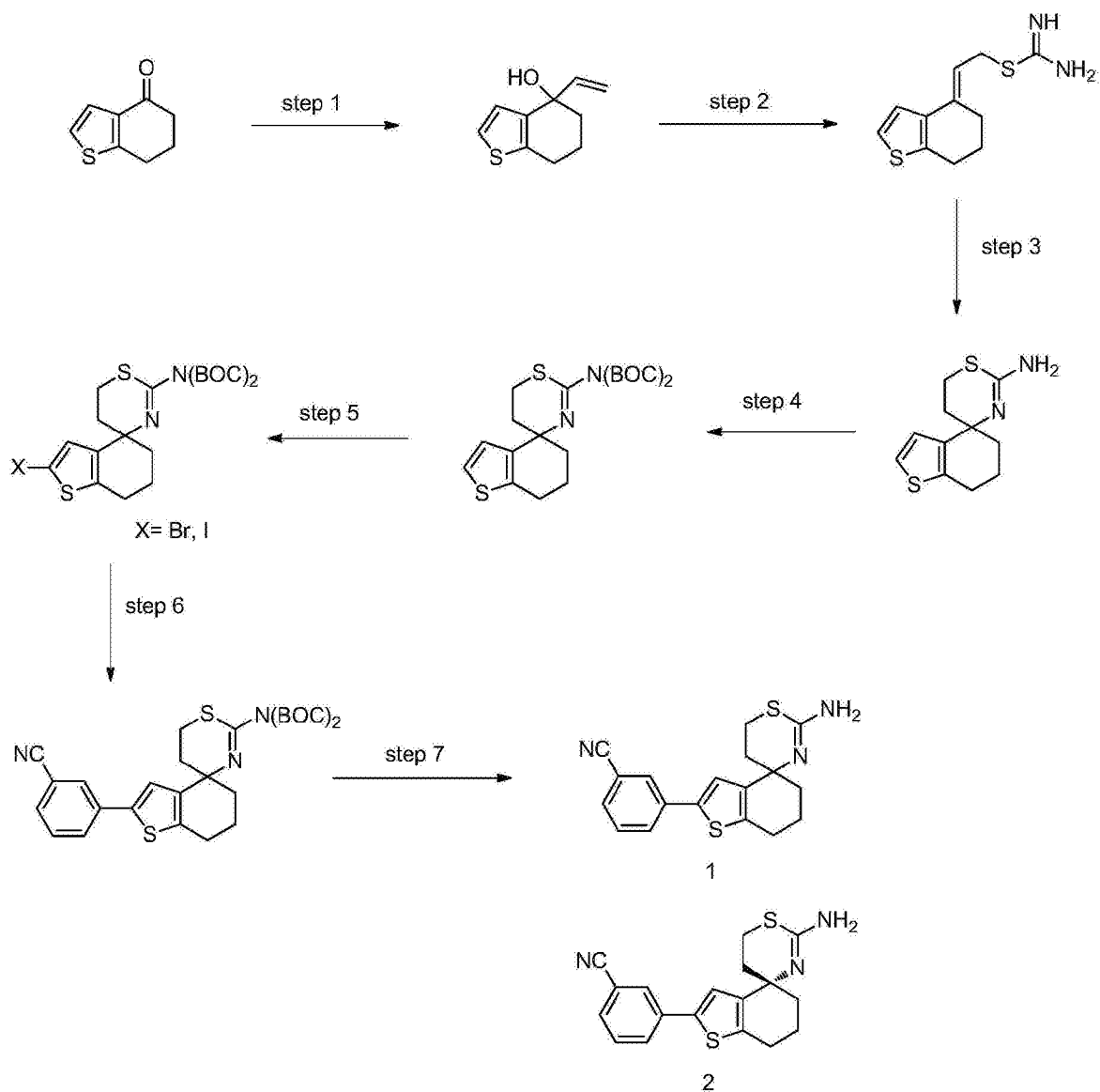
[0151] 2.Chiralpak IB柱(25cm x 4.6mm),用庚烷(75%)和乙醇(25%)的溶剂以1.5mL/min的流速洗脱。

[0152] 分析方法A-F在下面的文献中概述的数据表中引用。

[0153] 实施例1:3-(2'-氨基-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2-基)苯甲腈,甲酸盐

[0154] 方法1

[0155]



[0156] 步骤1:4-乙烯基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-醇

[0157] 将6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮(8.48g,56mmol)溶解于无水乙醚(200mL)中并

将溶液冷却至 -30°C 。将乙烯基氯化镁(60mL, 1.6M在THF中的溶液, 96mmol)分批加入到酮中同时维持温度在 -30°C 。添加完毕, 将反应于 -30°C 搅拌30min然后允许温热至 25°C 。继续搅拌过夜然后将溶液用饱和氯化铵溶液处理。将产物萃取到二氯甲烷中并将此溶液用水和饱和盐水反萃取。将二氯甲烷溶液干燥(MgSO_4), 过滤和在真空中浓缩得到粗品黄色油状的标题化合物(10.1g, 100%)。此化合物不经进一步纯化在下一步中直接使用。

[0158] 步骤2: 2-(6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-亚甲基)乙基异硫脲盐

[0159] 将4-乙烯基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-醇(10.1g, 56mmol)溶解于乙酸(70mL)中并加入一份硫脲(4.3g, 56mmol)。将反应于 25°C 搅拌2小时然后在真空中除去大部分乙酸。残留物用乙醚稀释得到白色固体。将此产物滤出并在真空中干燥之前用额外的醚洗涤。分离乙酸盐形式的标题化合物(13.8g, 83%)。

[0160] 步骤3: 5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-胺

[0161] 将2-(6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-亚甲基)乙基异硫脲盐(13.8g, 46mmol)混悬于浓HCl(150mL)中并于 25°C 搅拌直至所有固体溶解。通过LC/MS监测反应直至不再有起始原料剩下。然后将混合物用2MNaOH水溶液和冰中和, 于是固体沉淀出。将此沉淀滤出, 用水洗涤并在真空中干燥得到白色固体形式的标题化合物(10.35g, 93%)。 $^1\text{H NMR}\delta$ (ppm)($\text{CHCl}_3\text{-d}$): 7.05(1H, d, $J=5.25\text{Hz}$), 6.88(1H, d, $J=5.24\text{Hz}$), 4.79(2H, s), 3.20-3.01(2H, m), 2.90-2.74(2H, m), 2.10-1.98(2H, m), 1.96-1.77(4H, m)。LCMS(方法f) Rt 2.83(min)m/z 239(MH^+)。

[0162] 步骤4: 二-叔丁基-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-基氨基甲酸酯

[0163] 将5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-胺(13.1g, 55mmol)溶解于二氯甲烷(300mL)中并加入重碳酸二叔丁基酯(48g, 220mmol)和二甲氨基吡啶(13.4g, 110mmol)。将反应于 25°C 搅拌过夜然后将其在真空中浓缩。将残留物收纳在乙醚中并将通过过滤除去产生的固体。将滤液蒸发至粗残留物, 将其在硅胶上用40-60石油醚: 乙酸乙酯(3:1)纯化得到黄色油状的标题化合物(21.6g, 89%)。

[0164] 步骤5: 溴化或碘化

[0165] 二-叔丁基-2-溴-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-基亚氨基重碳酸酯

[0166] 将二-叔丁基-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-基氨基甲酸酯(6.0g, 13.7mmol)溶解于二氯甲烷(130mL)并冷却至 -5°C 。加入一份N-溴代琥珀酰亚胺(2.56g, 14.4mmol)并将反应搅拌1小时之后再于 25°C 搅拌1小时。然后将二氯甲烷溶液用水洗涤, 干燥(MgSO_4), 过滤并在真空中浓缩。然后将粗残留物在硅胶上采用0-50%在40-60石油醚中的乙酸乙酯梯度洗脱纯化, 得到标题化合物(4.02g, 57%)。 $^1\text{H NMR}\delta$ (ppm)(CDCl_3): 6.79(1H, s), 3.28-3.17(1H, m), 3.12-3.04(1H, m), 2.80-2.68(2H, m), 2.09-1.86(6H, m), 1.52(18H, s)。LCMS(方法d) Rt 4.47(min)m/z 539(MH^+)。

[0167] 二-叔丁基-2-碘-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-基氨基甲酸酯

[0168] 将二-叔丁基-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-基氨基甲酸酯(2.55g, 5.8mmol)溶解于二氯甲烷(60mL)中并冷却至 0°C 。加入一份N-碘代琥珀酰

亚胺 (1.38g, 6.11mmol) 并将反应温热至室温并搅拌1小时。再加入一部分N-碘代琥珀酰亚胺 (1.38g, 6.11mmol) 并将混合物于室温再搅拌18小时。然后将二氯甲烷溶液用水洗涤, 干燥 (MgSO₄), 过滤并在真空中浓缩。将粗残留物在硅胶上采用0-50%在40-60石油醚中的乙酸乙酯梯度洗脱纯化 (2.46g, 75%)。

[0169] 步骤6: 二-叔丁基2-(3-氰基苯基)-5', 6, 6', 7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4, 4'-[1, 3]噻嗪]-2'-基亚氨基重碳酸酯

[0170] 将二-叔丁基2-溴-5', 6, 6', 7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4, 4'-[1, 3]噻嗪]-2'-基氨基甲酸酯 (0.51g, 1mmol) 溶解于DMF (15mL) 中。加入Cs₂CO₃水溶液 (3.7M, 0.6mL) 和3-氰基苯基硼酸 (0.147g, 1mmol) 并将溶液在氮气流下脱气10min。加入Pd (dppf) Cl₂ (0.082g, 0.1mmol) 并将反应于90℃加热2小时。将反应冷却并在真空中蒸发留下残留物, 将残留物在硅胶上采用0-75%在40-60石油醚中的乙酸乙酯梯度洗脱 (0.41g, 76%)。¹H NMRδ (ppm) (CHCl₃-d): 7.80 (1H, t, J=1.68Hz), 7.71 (1H, dt, J=7.86, 1.53Hz), 7.54-7.42 (2H, m), 7.17 (1H, s), 3.28 (1H, ddd, J=12.69, 10.13, 4.84Hz), 3.12 (1H, dt, J=12.72, 4.72Hz), 2.96-2.81 (2H, m), 2.13-1.86 (5H, m), 1.87-1.78 (1H, m), 1.53 (18H, s)。LCMS (方法e) Rt 5.12 (min) m/z 562 (MH⁺)。

[0171] 步骤7: 3-(2'-氨基-5', 6, 6', 7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4, 4'-[1, 3]噻嗪]-2-基) 苯甲腈, 甲酸盐

[0172] 将二-叔丁基2-(3-氰基苯基)-5', 6, 6', 7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4, 4'-[1, 3]噻嗪]-2'-基亚氨基重碳酸酯 (0.084g, 0.25mmol) 在三氟乙酸 (1mL) 中于室温搅拌18小时。将反应在真空中蒸发留下残留物, 将残留物采用制备型HPLC纯化得到灰白色固体和甲酸盐形式的标题化合物 (21mg, 25%)。¹H NMRδ (ppm) (CHCl₃-d): 8.45 (1H, s), 7.80 (1H, s), 7.74 (1H, dt, J=7.87, 1.53Hz), 7.53 (1H, dt, J=7.71, 1.38Hz), 7.46 (1H, t, J=7.78Hz), 7.15 (1H, s), 3.26-3.13 (2H, m), 3.01-2.91 (1H, m), 2.81 (1H, dt, J=16.94, 5.24Hz), 2.44-2.36 (1H, m), 2.28-2.09 (3H, m), 2.01-1.89 (2H, m)。没有观察到NH₂峰。HPLC (方法a) Rt 7.75 (min) m/z 340 (MH⁺)。

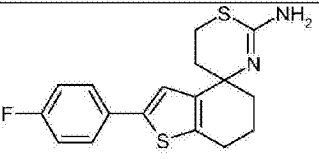
[0173] 实施例2: (R)-3-(2'-氨基-5', 6, 6', 7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4, 4'-[1, 3]噻嗪]-2-基) 苯甲腈

[0174] 将3-(2'-氨基-5', 6, 6', 7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4, 4'-[1, 3]噻嗪]-2-基) 苯甲腈采用手性制备型HPLC纯化得到白色固体形式的标题化合物 (5.9mg, 保留时间=10.68min) 和白色固体形式的其对映体, (S)-3-(2'-氨基-5', 6, 6', 7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4, 4'-[1, 3]噻嗪]-2-基) 苯甲腈 (3.9mg, 保留时间=13.66min)。(R)-对映体:¹H NMRδ (ppm) (CHCl₃-d): 7.79 (1H, s), 7.73 (1H, dt, J=7.85, 1.52Hz), 7.52-7.40 (2H, m), 7.13 (1H, s), 3.24-3.15 (1H, m), 3.07 (1H, ddd, J=12.47, 6.49, 4.13Hz), 2.93-2.77 (2H, m), 2.10-1.95 (3H, m), 1.95-1.78 (3H, m)。没有观察到NH₂峰。LCMS (方法e) Rt 2.67 (min) m/z 340 (MH⁺)。

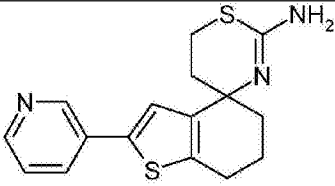
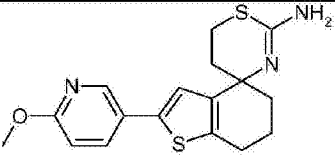
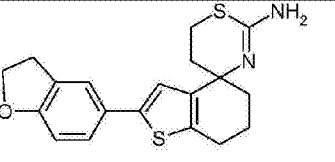
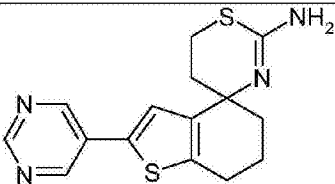
[0175] (S)-对映体:¹H NMRδ (ppm) (CHCl₃-d): 7.79 (1H, t, J=1.68Hz), 7.73 (1H, dt, J=7.84, 1.55Hz), 7.52-7.41 (2H, m), 7.13 (1H, s), 3.20 (1H, ddd, J=12.43, 9.74, 4.38Hz), 3.06 (1H, ddd, J=12.45, 6.23, 4.26Hz), 2.92-2.77 (2H, m), 2.09-1.93 (3H, m), 1.94-1.80 (3H, m)。没有观察到NH₂峰。LCMS (方法e) Rt 2.67 (min) m/z 340 (MH⁺)。

[0176] 采用方法1用不同的硼酸或酯衍生物类似地制备:

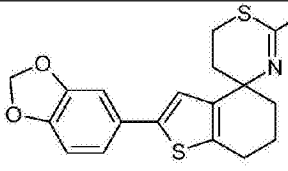
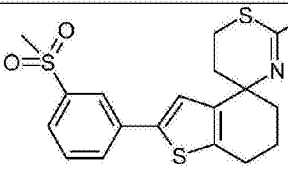
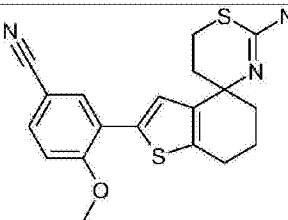
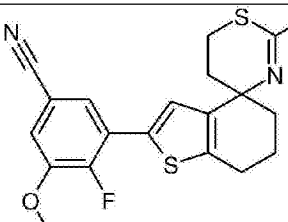
[0177]

结构	MH ⁺	HPLC Rt	NMR
 3	333	7.87'	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 7.51-7.44 (2H, m), 7.05-6.98 (3H, m), 4.28 (2H, s), 3.19 (1H, ddd, <i>J</i> = 12.41, 10.00, 4.04 Hz), 3.07 (1H, ddd, <i>J</i> = 12.41, 6.44, 4.12 Hz), 2.91-2.75 (2H, m), 2.09-1.97 (2H, m), 1.98-1.78 (4H, m)。 (灰白色固体)

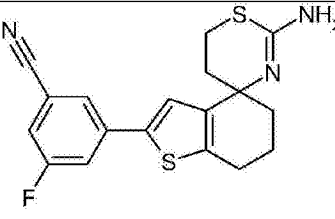
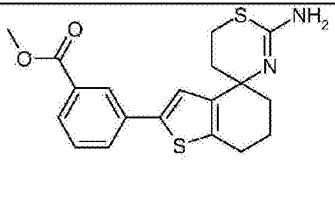
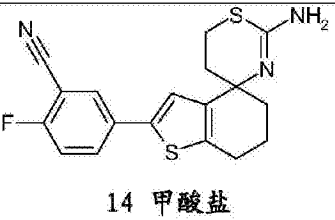
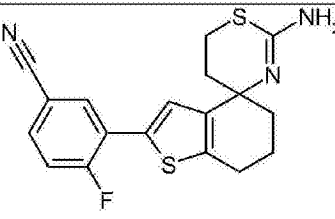
[0178]

 <p style="text-align: center;">4</p>	316	6.7 ^a	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.69 (1H, d, J = 2.36 Hz), 8.35 (1H, dd, J = 4.85, 1.57 Hz), 7.80 (1H, dt, J = 8.00, 1.95 Hz), 7.29-7.14 (1H, m, 与溶剂峰重叠), 7.02 (1H, s), 3.09-3.00 (1H, m), 2.91 (1H, ddd, J = 12.47, 6.35, 4.07 Hz), 2.79-2.63 (2H, m), 1.95-1.64 (6H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p style="text-align: center;">5 甲酸盐</p>	346	2.15 ^b	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.48 (1H, s), 8.34 (1H, d, J = 2.52 Hz), 7.73 (1H, dd, J = 8.62, 2.56 Hz), 6.99 (1H, s), 6.76 (1H, d, J = 8.61 Hz), 3.96 (3H, s), 3.21 (2H, t, J = 6.02 Hz), 3.00-2.89 (1H, m), 2.79 (1H, dt, J = 16.85, 5.19 Hz), 2.45-2.37 (1H, m), 2.25 (1H, t, J = 12.27 Hz), 2.18-2.08 (2H, m), 2.00-1.89 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p style="text-align: center;">6 甲酸盐</p>	357	2.29 ^b	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.45 (1H, s), 7.31 (1H s), 7.21 (1H, dd, J = 8.44, 2, 28), 6.94 (1H, s), 6.77 (1H, d, J = 8.29 Hz), 4.60 (2H, t, J = 8.68 Hz), 3.28-3.14 (4H, m), 2.92 (1H, ddd, J = 16.94, 8.30, 5.79 Hz), 2.78 (1H, dt, J = 16.84, 5.30 Hz), 2.47-2.38 (1H, m), 2.21-2.02 (3H, m), 2.00-1.87 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p style="text-align: center;">7</p>	317	8.92 ^c	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 9.07 (1H, s), 8.88 (2H, s), 7.19 (1H, s), 3.22 (1H, ddd, J = 12.45, 9.24, 5.07 Hz), 3.07 (1H, dt, J = 12.48, 5.13 Hz), 2.92-2.81 (2H, m), 2.11-1.82 (6H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)

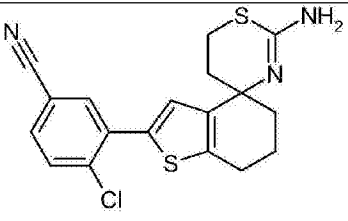
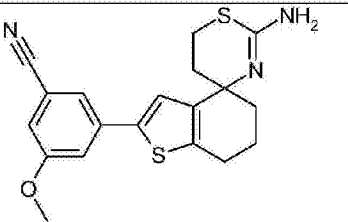
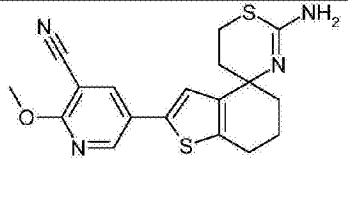
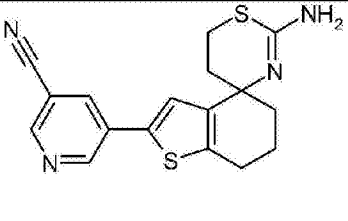
[0179]

 <p style="text-align: center;">8</p>	359	2.29 ^b	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.36 (0.5 H, s), 7.0–6.88 (2H, m), 6.87 (1H, s), 6.73 (1H, d, J = 8.07 Hz), 5.90 (2H, s), 3.23–3.11 (2H, m), 2.89–2.78 (1H, m), 2.70 (1H, d, J = 16.70 Hz), 2.38–2.29 (1H, m), 2.08 (2H, t, J = 13.81 Hz), 2.00 (1H, s), 1.85 (2H, s)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p style="text-align: center;">9</p>	393	2.07 ^b	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.08 (1H, t, J = 1.88 Hz), 7.78 (2H, d, J = 7.76 Hz), 7.56–7.49 (1H, m), 7.21–7.17 (1H, m), 3.21 (1H, ddd, J = 12.44, 9.25, 5.18 Hz), 3.12–3.02 (4H, m), 2.94–2.78 (2H, m), 2.10–1.79 (6H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p style="text-align: center;">10 甲酸盐</p>	370	2.69 ^e	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.48 (1H, s), 7.84 (1H, d, J = 2.09 Hz), 7.54 (1H, dd, J = 8.59, 2.12 Hz), 7.30 (1H, s), 7.03–6.96 (1H, m), 3.98 (3H, s), 3.25–3.18 (2H, m), 3.01–2.90 (1H, m), 2.82 (1H, dt, J = 17.24, 4.97 Hz), 2.46–2.37 (1H, m), 2.27 (1H, t, J = 12.42 Hz), 2.19–2.07 (2H, m), 2.01–1.90 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p style="text-align: center;">11 甲酸盐</p>	388	7.83 ^a	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.39 (1H, s), 7.45 (1H, dd, J = 6.00, 1.92 Hz), 7.27 (1H, s, obscured by solvent peak), 7.10–7.05 (1H, m), 3.91 (3H, s), 3.25–3.10 (2H, m), 3.00–2.88 (2H, m), 2.85–2.74 (1H, m), 2.41–2.32 (1H, m), 2.22–2.06 (2H, m), 2.00–1.86 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)

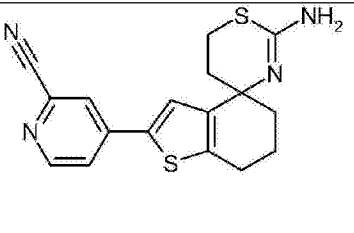
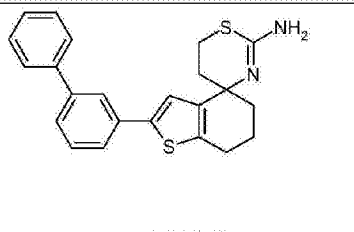
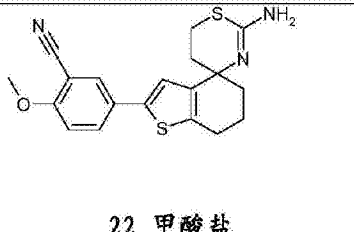
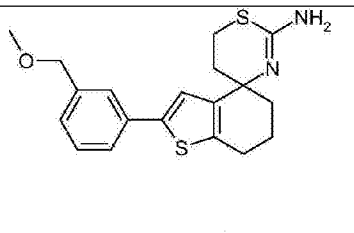
[0180]

 <p>12 甲酸盐</p>	358	3.37 ^d	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.38 (1H, s), 7.61-7.57 (1H, m), 7.45 (1H, dt, J = 9.54, 1.98 Hz), 7.24-7.15 (2H, m), 3.23 (1H, ddd, J = 12.94, 9.58, 3.61 Hz), 3.15-3.06 (1H, m), 3.03-2.90 (1H, m), 2.83-2.72 (2H, m), 2.39-2.30 (1H, m), 2.20-2.03 (2H, m), 1.99-1.85 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(白色固体)
 <p>13 甲酸盐</p>	373	3.36 ^d	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.46 (1H, s), 8.19 (1H, t, J = 1.76 Hz), 7.92 (1H, d, J = 7.78 Hz), 7.73-7.69 (1H, m), 7.43 (1H, t, J = 7.78 Hz), 7.15 (1H, s), 3.95 (3H, s), 3.21 (2H, t, J = 6.02 Hz), 3.01-2.91 (1H, m), 2.81 (1H, dt, J = 16.82, 5.22 Hz), 2.47-2.39 (1H, m), 2.31-2.23 (1H, m), 2.18-2.08 (2H, m), 2.00-1.88 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(白色固体)
 <p>14 甲酸盐</p>	358	7.86 ^a	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.43 (1H, s), 7.78-7.68 (2H, m), 7.24-7.14 (1H, m), 7.08 (1H, s), 3.27-3.11 (2H, m), 3.00-2.89 (1H, m), 2.80 (1H, dt, J = 16.97, 5.27 Hz), 2.43-2.34 (1H, m), 2.25-2.08 (3H, m), 2.02-1.88 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p>15 甲酸盐</p>	358	7.76 ^a	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.46 (1H, s), 7.87 (1H, dd, J = 7.04, 2.09 Hz), 7.53 (1H, ddd, J = 8.55, 4.45, 2.11 Hz), 7.31 (1H, s), 7.24-7.18 (1H, m), 3.27-3.15 (2H, m), 3.03-2.93 (1H, m), 2.83 (1H, dt, J = 17.01, 5.25 Hz), 2.44-2.36 (1H, m), 2.30-2.21 (1H, m), 2.19-2.08 (2H, m), 2.01-1.90 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)

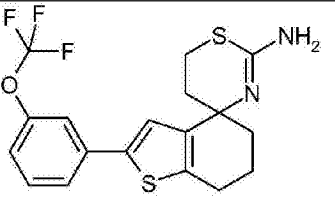

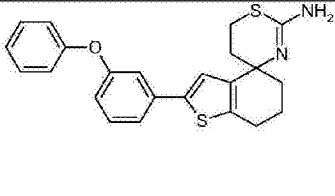
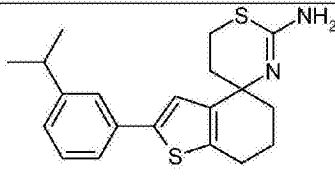
[0181]

 <p>16 甲酸盐</p>	374	7.91 ^a	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.39 (1H, s), 7.75 (1H, d, J = 1.97 Hz), 7.52 (1H, t, J = 8.30 Hz), 7.50-7.44 (1H, m), 7.15 (1H, s), 3.25-3.11 (2H, m), 3.00-2.87 (2H, m), 2.84-2.74 (1H, m), 2.41-2.32 (1H, m), 2.21-2.05 (2H, m), 1.97-1.86 (2H, m). 没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p>17 甲酸盐</p>	370	2.76 ^c	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.41 (1H, s), 7.39 (1H, t, J = 1.43 Hz), 7.25-7.22 (1H, m), 7.11 (1H, s), 7.04-6.99 (1H, m), 3.87 (3H, s), 3.28-3.15 (2H, m), 3.01-2.91 (1H, m), 2.81 (1H, dt, J = 17.06, 5.23 Hz), 2.46-2.37 (1H, m), 2.27-2.09 (3H, m), 2.00-1.89 (2H, m). 没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p>18 甲酸盐</p>	371	7.76 ^a	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.49 (1H, d, J = 2.50 Hz), 8.36 (1H, s), 8.00 (1H, d, J = 2.51 Hz), 7.04 (1H, s), 4.07 (3H, s), 3.29-3.13 (2H, m), 3.01-2.90 (1H, m), 2.80 (1H, dd, J = 17.32, 0.04 Hz), 2.45-2.36 (1H, m), 2.28-2.08 (3H, m), 1.98-1.90 (2H, m). 没有观察到 NH ₂ 峰。(白色固体)
 <p>19 甲酸盐</p>	341	7.35 ^a	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.91 (1H, d, J = 2.27 Hz), 8.67 (1H, d, J = 1.87 Hz), 8.27 (1H, s), 8.08 (1H, t, J = 2.08 Hz), 7.25 (1H, s), 3.28-3.19 (1H, m), 3.15-3.07 (1H, m), 3.00-2.89 (1H, m), 2.78 (1H, dt, J = 17.22, 5.49 Hz), 2.37 (1H, ddd, J = 14.34, 9.84, 3.73 Hz), 2.24-2.04 (3H, m), 1.96-1.85 (2H, m). 没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)

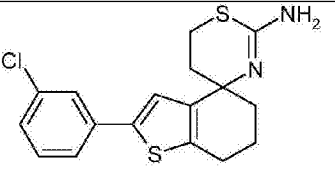
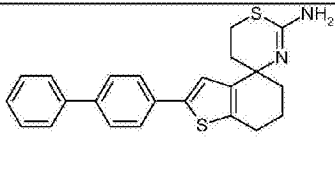
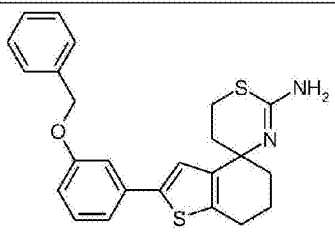
[0182]

 <p>20</p>	341	2.49°	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.65 (1H, d, <i>J</i> = 5.26 Hz), 7.80 (1H, d, <i>J</i> = 1.77 Hz), 7.58 (1H, dd, <i>J</i> = 5.25, 1.87 Hz), 7.35-7.30 (1H, m), 3.33-3.17 (2H, m), 3.04-2.97 (1H, m), 2.87 (1H, dt, <i>J</i> = 17.64, 5.20 Hz), 2.49-2.41 (1H, m), 2.29-2.14 (3H, m), 2.04-1.96 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p>21 甲酸盐</p>	391	3.05°	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.44 (1H, s), 7.70 (1H, s), 7.61-7.56 (2H, m), 7.54-7.32 (6H, m), 7.11 (1H, s), 3.24-3.10 (2H, m), 2.93 (1H, ddd, <i>J</i> = 17.04, 8.37, 5.79 Hz), 2.78 (1H, dt, <i>J</i> = 17.15, 5.58 Hz), 2.44-2.34 (1H, m), 2.21-2.04 (3H, m), 1.99-1.82 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p>22 甲酸盐</p>	370	7.78°	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.39 (1H, s), 7.72-7.66 (2H, m), 7.03-6.95 (2H, m), 3.96 (3H, s), 3.27-3.16 (2H, m), 3.00-2.89 (1H, m), 2.80 (1H, dt, <i>J</i> = 16.92, 5.15 Hz), 2.47-2.38 (1H, m), 2.28-2.09 (3H, m), 1.99-1.90 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p>23 甲酸盐</p>	359	7.79°	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.48 (1H, s), 7.54-7.40 (2H, m), 7.42-7.28 (1H, m), 7.29-7.20 (1H, m), 7.09 (1H, s), 4.51-4.42 (2H, m), 3.43-3.33 (3H, m), 3.17 (2H, s), 2.99-2.88 (1H, m), 2.78 (1H, d, <i>J</i> = 16.74 Hz), 2.44-2.35 (1H, m), 2.28-2.15 (1H, m), 2.14-2.05 (2H, m), 1.91 (2H, s)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)

[0183]

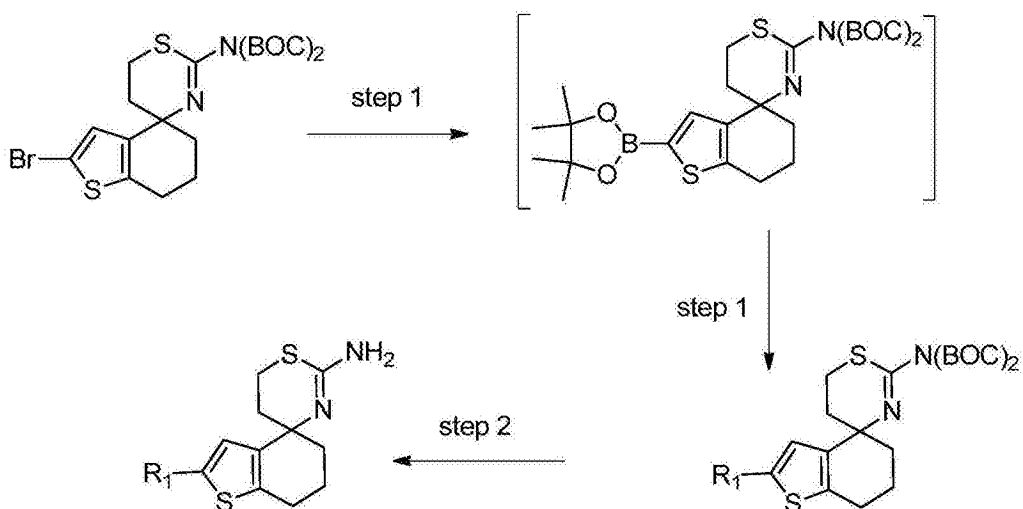
 <p>24 甲酸盐</p>	399	3.33 ^d	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.46 (1H, s), 7.47 (1H, d, <i>J</i> = 7.88 Hz), 7.42-7.34 (2H, m), 7.15-7.11 (2H, m), 3.25-3.13 (2H, m), 3.01-2.91 (1H, m), 2.80 (1H, dt, <i>J</i> = 16.95, 5.21 Hz), 2.46-2.37 (1H, m), 2.27-2.07 (3H, m), 2.01-1.89 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p>25 甲酸盐</p>	383	3.87 ^d	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.48 (1H, s), 7.79-7.66 (2H, m), 7.54-7.44 (2H, m), 7.15 (1H, s), 3.24-3.12 (2H, m), 2.97 (1H, ddd, <i>J</i> = 17.11, 8.46, 5.92 Hz), 2.81 (1H, dt, <i>J</i> = 16.99, 5.25 Hz), 2.46-2.36 (1H, m), 2.28-2.08 (3H, m), 2.02-1.88 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(棕色固体)
 <p>26 甲酸盐</p>	407	2.6 ^b	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.46 (1H, s), 7.41-7.25 (5H, m), 7.22 (1H, s), 7.16-7.02 (3H, m), 6.90-6.85 (1H, m), 3.20 (2H, t, <i>J</i> = 6.01 Hz), 3.00-2.89 (1H, m), 2.79 (1H, dt, <i>J</i> = 16.99, 5.31 Hz), 2.46-2.38 (1H, m), 2.26 (1H, t, <i>J</i> = 12.20 Hz), 2.20-2.06 (2H, m), 1.93 (2H, dd, <i>J</i> = 12.72, 5.43 Hz)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p>27 甲酸盐</p>	357	3.59 ^d	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.51 (1H, s), 7.36 (2H, d, <i>J</i> = 8.83 Hz), 7.31-7.24 (1H, m), 7.14 (1H, d, <i>J</i> = 7.63 Hz), 7.07 (1H, s), 3.15 (2H, t, <i>J</i> = 6.04 Hz), 3.00-2.87 (2H, m), 2.78 (1H, dt, <i>J</i> = 16.84, 5.11 Hz), 2.42-2.32 (1H, m), 2.29-2.15 (1H, m), 2.15-1.97 (2H, m), 1.96-1.86 (2H, m), 1.28 (6H, d, <i>J</i> = 6.92 Hz)。没有观察到 NH ₂ 峰。(棕色固体)

[0184]

 <p style="text-align: center;">28</p>	349	2.43 ^b	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.45 (1H, s), 7.52 (1H, s), 7.41 (1H, d, <i>J</i> = 7.64 Hz), 7.36-7.18 (2H, m), 7.10 (1H, s), 3.21 (2H, t, <i>J</i> = 5.97 Hz), 3.02-2.92 (1H, m), 2.85-2.74 (1H, m), 2.47-2.39 (1H, m), 2.25 (1H, d, <i>J</i> = 12.76 Hz), 2.20-2.09 (2H, m), 1.94 (2H, dd, <i>J</i> = 13.27, 6.45 Hz)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p style="text-align: center;">29 甲酸盐</p>	391	8.99 ^a	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.49 (1H, s), 7.65-7.58 (6H, m), 7.46 (2H, t, <i>J</i> = 7.56 Hz), 7.37 (1H, d, <i>J</i> = 7.35 Hz), 7.13 (1H, s), 3.24 (1H, dt, <i>J</i> = 7.65, 4.02 Hz), 2.28 (1H, s), 2.21-2.09 (6H, m), 2.00-1.91 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p style="text-align: center;">30 甲酸盐</p>	421	2.62 ^b	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.48 (1H, s), 7.49-7.32 (5H, m), 7.31-7.23 (1H, m, obscured by solvent peak), 7.15 (2H, t, <i>J</i> = 5.22 Hz), 7.06 (1H, s), 6.89 (1H, dd, <i>J</i> = 8.21, 2.44 Hz), 5.11 (2H, s), 3.23-3.17 (2H, m), 2.93 (1H, t, <i>J</i> = 8.04 Hz), 2.82 (1H, t, <i>J</i> = 5.29 Hz), 2.47-2.39 (1H, m), 2.25 (1H, d, <i>J</i> = 13.13 Hz), 2.16-2.06 (2H, m), 1.97-1.90 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)

[0185] ^{a-f}Rt指HPLC法A至F

[0186] 方法2:



[0187]

[0188] 步骤1:

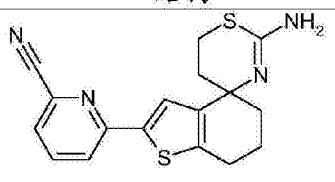
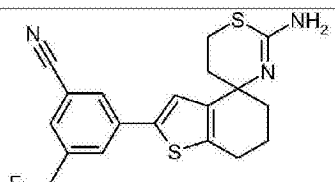
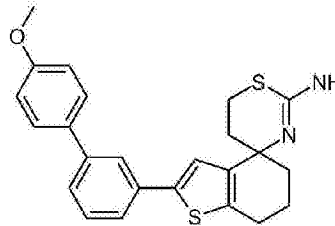
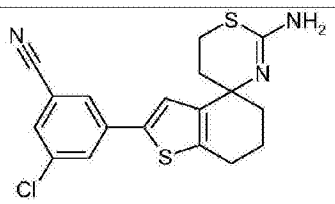
[0189] 将二-叔丁基-2-溴-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-基氨基甲酸酯(0.1g,0.2mmol)溶解于DMF(1mL)中,加入双(频那醇合)二硼(90mg,0.4mmol)、乙酸钾(59mg,0.6mmol)和Pd(dppf)Cl₂(16mg,0.02mmol)并将溶液在氮气流下脱气10min。将反应于80℃加热15min。将混合物冷却并加入芳族或杂芳溴化物或氯化物(0.2mmol)和水溶液Cs₂CO₃(0.15mL,3.7M,0.55mmol)并将溶液在氮气流下再脱气10min。加入Pd(dppf)Cl₂(16mg,0.02mmol)并将溶液于80℃加热2小时。然后将反应冷却并在真空中蒸发留下残留物,其不经进一步纯化在下一步中直接使用。

[0190] 步骤2:

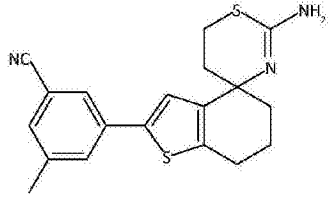
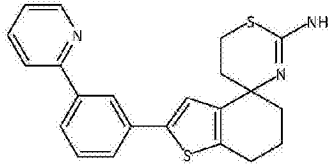
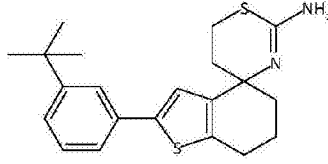
[0191] 将得自步骤1的二-叔丁基保护的中间体(0.2mmol)在三氟乙酸(2mL)中于室温搅拌18小时。将反应混合物在真空中蒸发留下残留物,将其采用制备型HPLC纯化得到期望的产物。

[0192] 采用方法2用不同的芳基或杂芳基溴化物类似地制备:

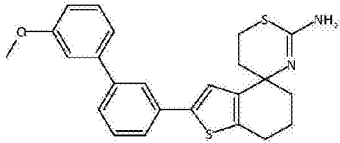
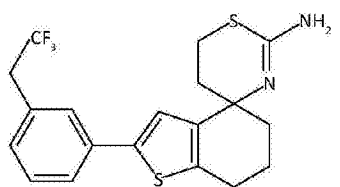
[0193]

结构	MH ⁺	HPLC Rt	NMR
 <p>31</p>	341	7.84 ^a	¹ H NMR δ (ppm) (DMSO-d ₆): 8.27-8.16 (1H, m), 8.05 (1H, t, <i>J</i> = 7.90 Hz), 7.90-7.81 (2H, m), 3.30 (1H, t, <i>J</i> = 12.22 Hz), 3.16 (1H, d, <i>J</i> = 13.32 Hz), 2.88-2.73 (2H, m), 2.20 (1H, t, <i>J</i> = 11.83 Hz), 2.10 (1H, d, <i>J</i> = 11.07 Hz), 1.91 (3H, s), 1.83 (1H, d, <i>J</i> = 13.17 Hz). 没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p>32</p>	408	2.91 ^e	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.42 (1H, s), 7.95 (2H, d, <i>J</i> = 9.31 Hz), 7.76 (1H, s), 7.23 (1H, s), 3.27 (1H, t, <i>J</i> = 10.76 Hz), 3.21-3.13 (1H, m), 3.05-2.95 (1H, m), 2.88-2.78 (1H, m), 2.44-2.35 (1H, m), 2.30-2.10 (3H, m), 1.96 (2H, t, <i>J</i> = 11.28 Hz). 没有观察到 NH ₂ 峰。(棕色固体)
 <p>33 甲酸盐</p>	421	3.07 ^e	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.51 (1H, s), 7.68 (1H, s), 7.56 (2H, d, <i>J</i> = 8.37 Hz), 7.48-7.37 (3H, m), 7.10 (1H, s), 7.00 (2H, d, <i>J</i> = 8.23 Hz), 3.86 (3H, s), 3.20 (2H, s), 3.02-2.74 (2H, m), 2.44-2.03 (4 H m), 1.94 (2H, s). 没有观察到 NH ₂ 峰。(棕色固体)
 <p>34 甲酸盐</p>	374	7.93 ^a	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.43 (1H, s), 7.70 (2H, dt, <i>J</i> = 14.93, 1.68 Hz), 7.50 (1H, t, <i>J</i> = 1.60 Hz), 7.16 (1H, s), 3.27-3.14 (2H, m), 3.00-2.93 (1H, m), 2.84 (1H, t, <i>J</i> = 5.30 Hz), 2.42-2.35 (1H, m), 2.23 (1H, d, <i>J</i> = 10.17 Hz), 2.16 (2H,

[0194]

			ddd, $J=14.41, 7.84, 3.84$ Hz), 1.94 (2H, dd, $J=13.36, 6.80$ Hz)。没有观察到 NH_2 峰。(棕色固体)
 <p>35 甲酸盐</p>	354	7.84 ^a	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl_3 -d): 8.46 (1H, s), 7.60 (1H, s), 7.54 (1H, s), 7.34 (1H, s), 7.11 (1H, s), 3.25-3.17 (2H, m), 2.99-2.90 (1H, m), 2.83 (1H, s), 2.49-2.31 (3H, m), 2.25 (1H, t, $J=12.12$ Hz), 2.18-2.10 (2H, m), 1.94 (3H, d, $J=11.98$ Hz)。没有观察到 NH_2 峰。(米黄色固体)
 <p>36 甲酸盐</p>	392	2.16 ^b	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl_3 -d): 8.71 (1H, d, $J=4.88$ Hz), 8.47 (1H, s), 8.15 (1H, s), 7.86 (1H, d, $J=7.88$ Hz), 7.77 (2H, s), 7.58 (1H, d, $J=7.83$ Hz), 7.53-7.41 (1H, m), 7.17 (2H, s), 3.19 (2H, s), 3.02-2.90 (1H, m), 2.80 (1H, d, $J=17.26$ Hz), 2.48-2.38 (1H, m), 2.25 (1H, t, $J=12.30$ Hz), 2.17-2.07 (2H, m), 1.93 (2H, t, $J=6.83$ Hz)。没有观察到 NH_2 峰。(黄色固体)
 <p>37 甲酸盐</p>	371	2.65 ^b	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl_3 -d): 8.48 (1H, s), 7.52 (1H, s), 7.40-7.24 (3H, m, 与溶剂峰重叠), 7.05 (1H, s), 3.20 (2H, s), 3.00-2.90 (1H, m), 2.84-2.74 (1H, m), 2.47-2.38 (1H, m), 2.26 (1H, t, $J=11.75$ Hz), 2.17-2.04 (2H, m), 1.94 (2H, t, $J=11.26$ Hz), 1.35 (9 H, s)。没有观察到 NH_2 峰。(棕色固体)

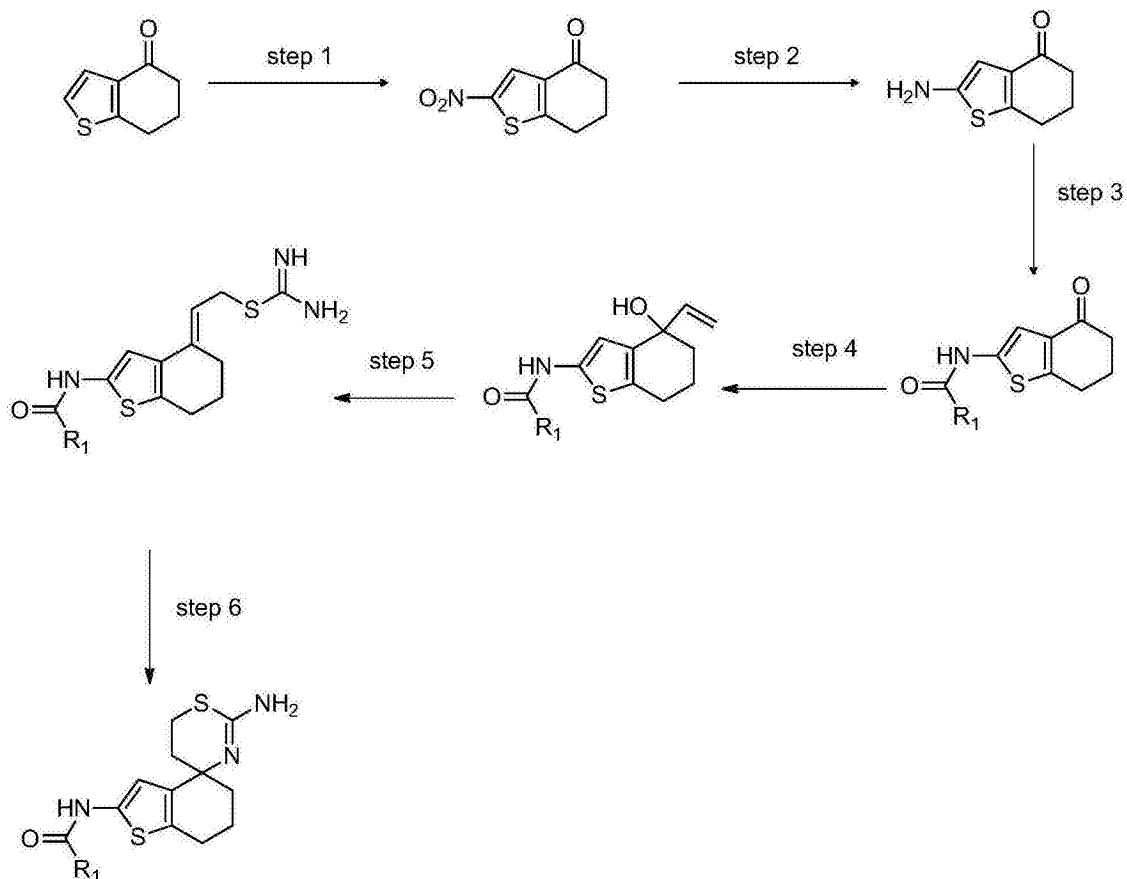
[0195]

 <p>38 甲酸盐</p>	421	2.59 ^b	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.47 (1H, s), 7.71 (1H, s), 7.51-7.34 (4H, m), 7.20 (1H, d, J = 7.93 Hz), 7.13 (2H, d, J = 12.05 Hz), 6.98-6.88 (1H, m), 3.88 (3H, s), 3.31-3.16 (2H, m), 3.04-2.89 (1H, m), 2.87-2.76 (1H, m), 2.54-2.39 (1H, m), 2.34-2.21 (1H, m), 2.20-2.06 (2H, m), 1.99-1.88 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(棕色固体)
 <p>39 甲酸盐</p>	397	2.46 ^b	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.49 (0.25 H, s), 7.52 (1H, d, J = 7.89 Hz), 7.46 (1H, s), 7.37 (1H, t, J = 7.73 Hz), 7.23 (1H, d, J = 7.68 Hz), 7.08 (1H, s), 3.42 (2H, q, J = 10.77 Hz), 3.22 (2H, d, J = 6.37 Hz), 3.02-2.91 (1H, m), 2.87-2.78 (1H, m), 2.49-2.40 (1H, m), 2.25 (1H, t, J = 12.53 Hz), 2.17-2.08 (2H, m), 2.00-1.93 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(黄色固体)

[0196] ^{a-f}Rt指HPLC法A至F

[0197] 方法3:

[0198]



[0199] 步骤1: 2-硝基-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮

[0200] 将6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮(5g, 32.9mmol)溶解于浓硫酸(30mL)中并在冰/盐浴中冷却至0℃。滴加在浓硫酸(20mL)中的浓硝酸(3.5mL),保持反应温度在0℃以下。将反应混合物于0-5℃搅拌1小时。将溶液倒在冰上并将所得到的固体过滤,用水洗涤并在真空干燥箱中干燥,得到标题化合物(5.68g, 88%)。

[0201] 步骤2: 2-氨基-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮

[0202] 将2-硝基-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮(3.6g, 18.2mmol)溶解于DMF(50mL)中并在氢气氛下与10%碳载钯一起搅拌(300psi)18小时。将混合物通过赛力特硅藻土(celite)过滤并以在DMF中的溶液形式在下一步中直接使用。

[0203] 步骤3:

[0204] 将在DMF(10mL)中的2-氨基-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮(0.4g, 2.7mmol)用甲酸(2.7mmol)、HATU(0.91g, 2.7mmol)和二-异丙基乙基胺(1.24g, 1.7mL, 9.6mmol)处理。将所得混合物于室温搅拌1小时。将混合物在真空中浓缩留下残留物,将其在硅胶上采用0-100%在40-60石油醚中的乙酸乙酯梯度洗脱得到期望的酮。

[0205] 步骤4:

[0206] 将在步骤3中得到的酮衍生物(0.7mmol)溶解于无水THF(20mL)中并将溶液在氮气氛下冷却至-40℃。将乙烯基氯化镁(2.55mL, 1.6M在THF中的溶液, 4.2mmol)分批加入到酮中同时维持温度在-40℃。添加完毕,将反应于-30℃搅拌30min然后允许温热至25℃。然后将溶液用饱和氯化铵水溶液处理。将产物萃取到乙酸乙酯中并将此溶液用水和饱和盐水反

萃取。将乙酸乙酯溶液干燥 (MgSO₄)，过滤并在真空中浓缩得到粗品黄色油状的期望的产物，其在静置时结晶。与乙醚一起研磨得到固体形式的期望的产物。

[0207] 步骤5:

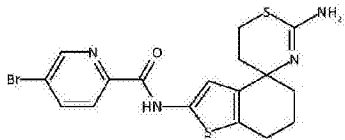
[0208] 将在步骤4中得到的产物 (0.17mmol) 悬浮于乙酸 (0.35mL) 中。加入硫脲 (14mg, 0.19mmol) 并将反应于 25°C 搅拌 2 小时。在真空中除去大部分乙酸并将残留物用乙醚稀释得到灰白色固体。将此产物滤出并在真空中干燥之前用额外的醚洗涤得到乙酸盐形式的期望的产物。

[0209] 步骤6:

[0210] 将在步骤5中得到的产物 (0.08mmol) 悬浮于浓 HCl (1mL) 中并于 25°C 搅拌直至所有固体溶解。通过 LC/MS 监测反应直至不再有起始原料剩下。然后将混合物用饱和 NaHCO₃ 水溶液中和。水层然后用二氯甲烷萃取 (x3)。将有机相合并，干燥 (MgSO₄) 并在真空中浓缩得到期望的产物。在某些情况下，将其通过制备型 HPLC 进一步纯化。

[0211] 采用方法 3，从不同的羧酸开始类似地制备:

[0212]

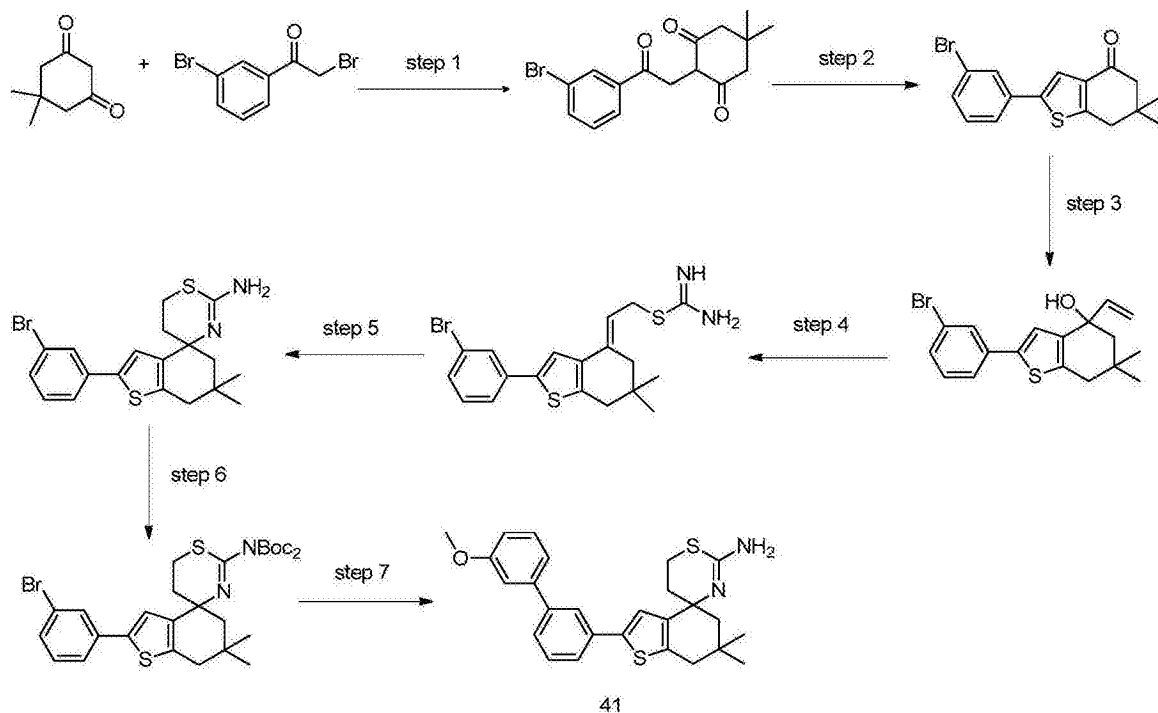
结构	MH ⁺	HPLC Rt	NMR
 <p>40 甲酸盐</p>	437	2.2 ^b	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.52 (1H, s), 8.31-8.26 (1H, m), 7.96 (1H, d, J = 8.10 Hz), 7.89 (1H, d, J = 7.57 Hz), 7.28-7.25 (1H, m, 与溶剂峰重叠), 6.64 (1H, s), 3.01 (2H, s), 2.67 (2H, s), 2.54 (1H, d, J = 18.32 Hz), 2.42 (1H, s), 2.18 (1H, s), 2.03 (1H, t, J = 12.54 Hz), 1.91 (2H, s), 1.77 (2H, s)。 (黄色固体)

[0213] ^{a-f}Rt 指 HPLC 法 A 至 F

[0214] 实施例 41: 2-(3'-甲氧联苯基-3-基)-6,6-二甲基-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-胺, 甲酸盐

[0215] 方法 4

[0216]



41

[0217] 步骤1: 2-(2-(3-溴苯基)-2-氧代乙基)-5,5-二甲基环己烷-1,3-二酮

[0218] 将5,5-二甲基环己烷-1,3-二酮(1.4g, 10mmol)、2-溴-1-(3-溴苯基)乙酮(2.78g, 10mmol)和 K_2CO_3 (1.38g, 10mmol)在氯仿(40mL)中混合。将混合物于室温搅拌18小时于是生成白色沉淀。固体通过过滤收集, 悬浮于水中并用1M HCl(水溶液)酸化至pH 5。将所得固体过滤, 用水洗涤并在真空中干燥得到标题化合物。将含水滤液蒸发并将粗残留物在硅胶上采用0-100%在40-60石油醚中的乙酸乙酯梯度洗脱纯化得到标题产物(2.77g, 82%)。

[0219] 步骤2: 2-(3-溴苯基)-6,6-二甲基-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮

[0220] 将2-(2-(3-溴苯基)-2-氧代乙基)-5,5-二甲基环己烷-1,3-二酮(2.77g, 8.2mmol)和2,4-双(4-甲氧苯基)-1,3,2,4-二硫杂二磷杂丁环-2,4-二硫化物(Lawesson氏试剂)(2.29g, 5.4mmol)在甲苯(100mL)中回流6小时。将反应混合物在真空中浓缩并在硅胶上采用0-10%在40-60石油醚中的乙酸乙酯梯度洗脱纯化得到标题化合物(0.6g, 22%)。

[0221] 步骤3: 2-(3-溴苯基)-6,6-二甲基-4-乙烯基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-醇

[0222] 将2-(3-溴苯基)-6,6-二甲基-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮(0.36g, 1.0mmol)溶解于无水THF(10mL)中并将溶液在氮气氛下冷却至 $-30^{\circ}C$ 。将乙烯基氯化镁(2.8mL, 1.6M在THF中的溶液, 5.4mmol)分批加入到酮中同时维持温度在 $-30^{\circ}C$ 。添加完毕, 让反应温热至 $25^{\circ}C$ 然后搅拌18小时。通过LC/MS监测反应指示还存在起始原料因此再加入乙烯基氯化镁(2.8mL, 1.6M在THF中的溶液, 5.4mmol)。2小时后溶液用饱和氯化铵水溶液处理。将产物萃取到乙酸乙酯中(x3)并将此溶液用水和饱和盐水反萃取。将有机萃取液合并, 干燥($MgSO_4$), 过滤并在真空中浓缩得到标题化合物(0.43g, 定量的)。

[0223] 步骤4: (E)-2-(2-(3-溴苯基)-6,6-二甲基-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-亚甲基)乙基异硫脲盐

[0224] 将2-(3-溴苯基)-6,6-二甲基-4-乙烯基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-醇(0.39g, 1.0mmol)悬浮于乙酸(2.0mL)中。加入硫脲(83mg, 1.0mmol)并将反应于 $25^{\circ}C$ 搅拌18

小时。混合物用乙醚和石油醚稀释产生固体沉淀。将固体过滤,用额外的乙醚洗涤并在真空中干燥得到乙酸盐形式的标题化合物(0.3g,60%)。

[0225] 步骤5:2-(3-溴苯基)-6,6-二甲基-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-胺

[0226] 将(E)-2-(2-(3-溴苯基)-6,6-二甲基-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-亚甲基)乙基异硫脲盐(0.31g,0.65mmol)悬浮于浓HCl(水溶液)(10mL)和异丙醇(10mL)中并回流2h。再加入部分异丙醇(5mL)和浓HCl(水溶液)(15mL)并将混合物再回流18小时。将混合物冰浴冷却然后用2M NaOH水溶液中和。水层然后用二氯甲烷萃取(x3)。将有机相合并,干燥(MgSO₄)并在真空中浓缩得到标题化合物(0.131g,48%)。

[0227] 步骤6:二-叔丁基2-(3-溴苯基)-6,6-二甲基-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-基氨基甲酸酯

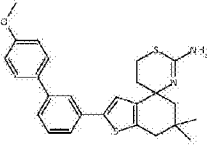
[0228] 将2-(3-溴苯基)-6,6-二甲基-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-胺(0.13g,0.32mmol)、重碳酸二叔丁基酯(0.27g,1.2mmol)、和二甲基氨基吡啶(76mg,0.62mmol)在二氯甲烷(5mL)中于25℃搅拌过夜。将反应混合物在真空中浓缩。将粗残留物在硅胶上采用0-50%在40-60石油醚中的乙酸乙酯梯度洗脱纯化得到黄色油状的标题化合物(0.125g,72%)。

[0229] 步骤7:2-(3'-甲氧联苯基-3-基)-6,6-二甲基-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-胺,甲酸盐

[0230] 将二-叔丁基2-(3-溴苯基)-6,6-二甲基-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-基氨基甲酸酯(60mg,0.096mmol)溶解于DMF(1mL)和Cs₂CO₃水溶液(0.1mL,3.7M,0.37mmol)中。然后加入4-甲氧苯基硼酸(0.0162g,0.10mmol)并将溶液在氮气流下脱气10min。加入Pd(dppf)Cl₂(8mg,0.0096mmol)并将反应于90℃加热2小时。然后将反应冷却并在真空中浓缩。粗残留物用三氟乙酸(2ml)处理并于室温搅拌18小时。将混合物在真空中浓缩留下残留物,将其采用制备型HPLC纯化得到米黄色胶状的甲酸盐形式的标题化合物(8mg,19%)。¹H NMRδ(ppm)(CHCl₃-d):8.49(1H,s),7.81(1H,s),7.60(1H,d,J=7.61Hz),7.53(1H,d,J=7.71Hz),7.52-7.39(2H,m),7.29-7.25(2H,m),7.22(1H,t,J=2.02Hz),6.99(1H,dd,J=8.21,2.53Hz),3.95(3H,s),3.40(1H,dd,J=12.04,4.06Hz),3.23(1H,dt,J=12.47,4.34Hz),2.81(1H,d,J=17Hz),2.68(1H,d,J=16.82Hz),2.40-2.30(1H,m),2.21(1H,dt,J=14.11,4.37Hz),2.10(1H,d,J=14.4Hz),1.76(1H,d,J=14.9Hz),1.23(3H,s),1.19(3H,s)。没有观察到NH₂峰。LCMS(方法b)Rt 2.72(min)m/z 449(MH⁺)。

[0231] 采用方法4,从不同的硼酸或酯衍生物开始类似地制备:

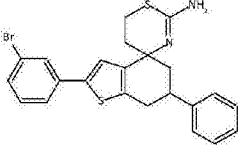
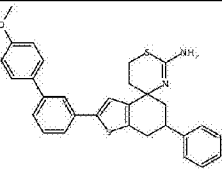
[0232]

结构	MH ⁺	HPLC Rt	NMR
 <p>42 甲酸盐</p>	449	2.71 ^b	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.41 (1H, s), 7.72 (1H, s), 7.60-7.52 (2H, m), 7.52-7.35 (3H, m), 7.21 (1H, s), 7.05-6.97 (2H, m), 3.87 (3H, s), 3.34 (1H, td, <i>J</i> = 12.08, 3.99 Hz), 3.16 (1H, dt, <i>J</i> = 12.51, 4.46 Hz), 2.75 (1H, d, <i>J</i> = 16.6 Hz), 2.59 (1H, d, <i>J</i> = 16.6 Hz), 2.36-2.26 (1H, m), 2.16 (1H, dt, <i>J</i> = 14.17, 4.35 Hz), 2.03 (1H, d, <i>J</i> = 15.4 Hz), 1.70 (1H, d, <i>J</i> = 14.1 Hz), 1.16 (3H, s), 1.13 (3H, s). 没有观察到 NH ₂ 峰。(米黄色固体)

[0233] ^{a-f}Rt指HPLC法A至F

[0234] 采用方法4从5-苯基环己烷-1,3-二酮和不同的硼酸或酯衍生物开始类似地制备:

[0235]

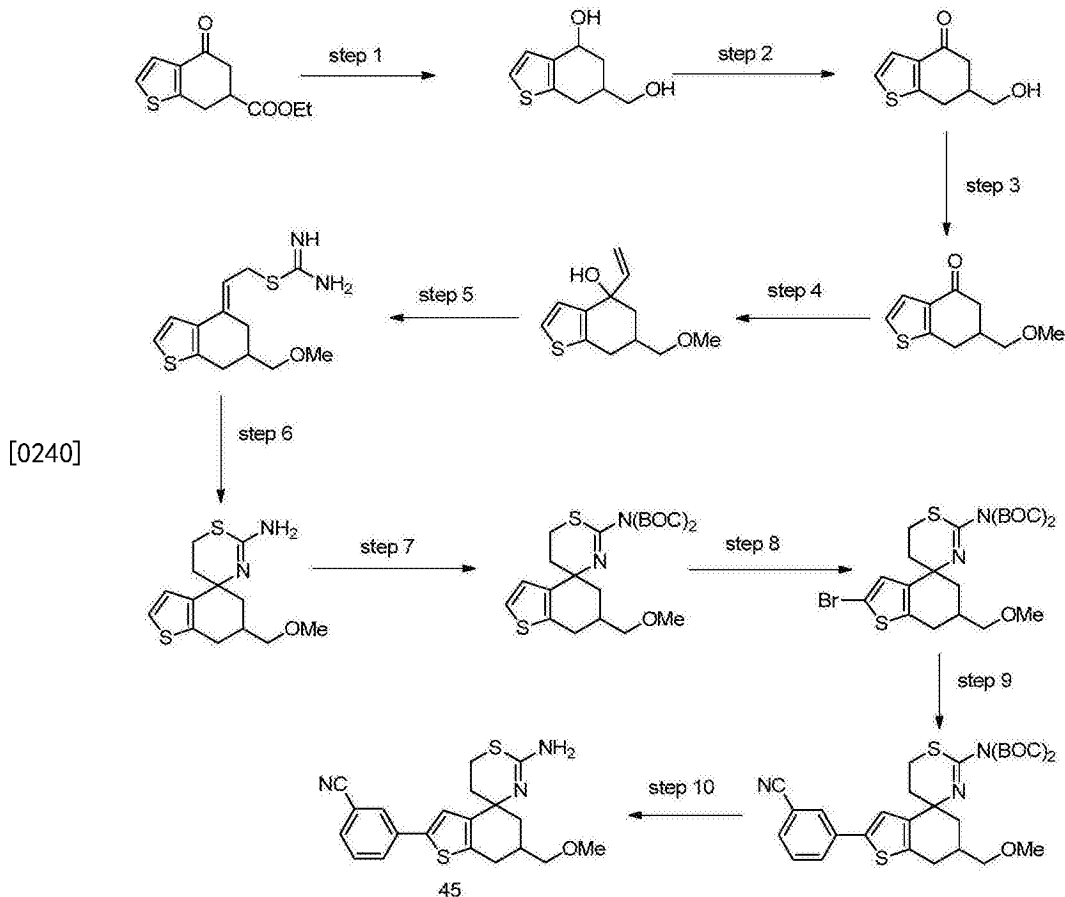
结构	MH ⁺	HPLC Rt	NMR
 <p>43 甲酸盐</p>	469	2.69 ^b	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.44 (1H, s), 7.72-7.70 (1H, m), 7.47 (1H, d, <i>J</i> = 7.86 Hz), 7.41-7.16 (8 H, m, 与溶剂峰重叠), 3.57 (1H, t, <i>J</i> = 12.71 Hz), 3.40 (1H, td, <i>J</i> = 12.72, 3.70 Hz), 3.27 (1H, dd, <i>J</i> = 16.61, 4.79 Hz), 3.13 (1H, dt, <i>J</i> = 12.63, 4.15 Hz), 2.87 (1H, dd, <i>J</i> = 16.61, 11.56 Hz), 2.47 (1H, td, <i>J</i> = 13.48, 4.22 Hz), 2.34 (1H, d, <i>J</i> = 13.05 Hz), 2.22 (1H, dt, <i>J</i> = 14.23, 3.87 Hz), 1.93 (1H, t, <i>J</i> = 13.00 Hz). 没有观察到 NH ₂ 峰。(白色固体)
 <p>44 HCl salt</p>	497	3.32 ^c	¹ H NMR δ (ppm) (DMSO-d ₆): 10.60 (1H, s), 7.95 (2H, d, <i>J</i> = 11.94 Hz), 7.75 (2H, d, <i>J</i> = 8.53 Hz), 7.61 (2H, dd, <i>J</i> = 7.51, 4.78 Hz), 7.53 (1H, t, <i>J</i> = 7.65 Hz), 7.43 (4H, d, <i>J</i> = 4.34 Hz), 7.39-7.29 (1H, m), 7.11 (2H, d, <i>J</i> = 8.53 Hz), 3.87 (3H, s), 3.62-3.51 (1H, m), 3.47-3.30 (1H, m, 在水峰之下), 3.26-3.18 (1H, m), 3.01-2.91 (1H, sm), 2.78-2.66 (1H, m), 2.42-2.37 (3H, dd, <i>J</i> = 26.26, 13.32 Hz), 2.22-2.14 (1H, m). 没有观察到 NH ₂ 峰。(米黄色固体)

[0236] ^{a-f}Rt指HPLC法A至F

[0237] 对于实施例43和44,在方法4的步骤5时,只分离出外消旋混合物形式的一种非对映异构体。

[0238] 实施例45:3-(2'-氨基-6-(甲氧甲基)-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2-基)苯甲腈,盐酸盐

[0239] 方法5



[0241] 步骤1:6-(羟甲基)-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-醇

[0242] 将乙基-4-氧代-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-6-甲酸酯(1.5g,6.7mmol)溶解于EtOH(20mL)中。分批加入1M NaOH(水溶液)(7mL)并将混合物于室温搅拌1小时45分钟。将混合物在真空中浓缩并将残留物用2M HCl(水溶液)处理。将产物萃取到乙酸乙酯中(x3)并将此溶液用水和饱和盐水反萃取。将有机萃取液合并,干燥(MgSO₄)并在真空中浓缩得到粗品4-氧代-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-6-甲酸(1.27g,100%)。将此产物溶解于THF(15mL)和BH₃中。于0℃滴加DMS(4.8mL,2M在THF中,8.7mmol)。将混合物温热至室温并搅拌18小时。加入甲醇并将反应混合物在真空中浓缩。将粗残留物溶解于乙酸乙酯中并用1M NaOH(含水)溶液、水和盐水洗涤。将有机提取物干燥(MgSO₄)并在真空中浓缩得到标题化合物(1.2g,定量的)。

[0243] 步骤2:6-(羟甲基)-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮

[0244] 将6-(羟甲基)-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-醇(1.2g,6.7mmol)溶解于1,4-二噁烷(30mL)中并于室温分批加入二氧化锰(5.8g,67mmol)。将混合物搅拌1小时40分钟。溶液

通过赛力特硅藻土过滤,用1,4-二噁烷洗涤并在真空中浓缩。将粗残留物在硅胶上采用40-60%在40-60石油醚中的乙酸乙酯梯度洗脱纯化得到黄色油状的标题化合物(0.745g, 62%)。

[0245] 步骤3:6-(甲氧甲基)苯并[b]噻吩-4(7H)-酮

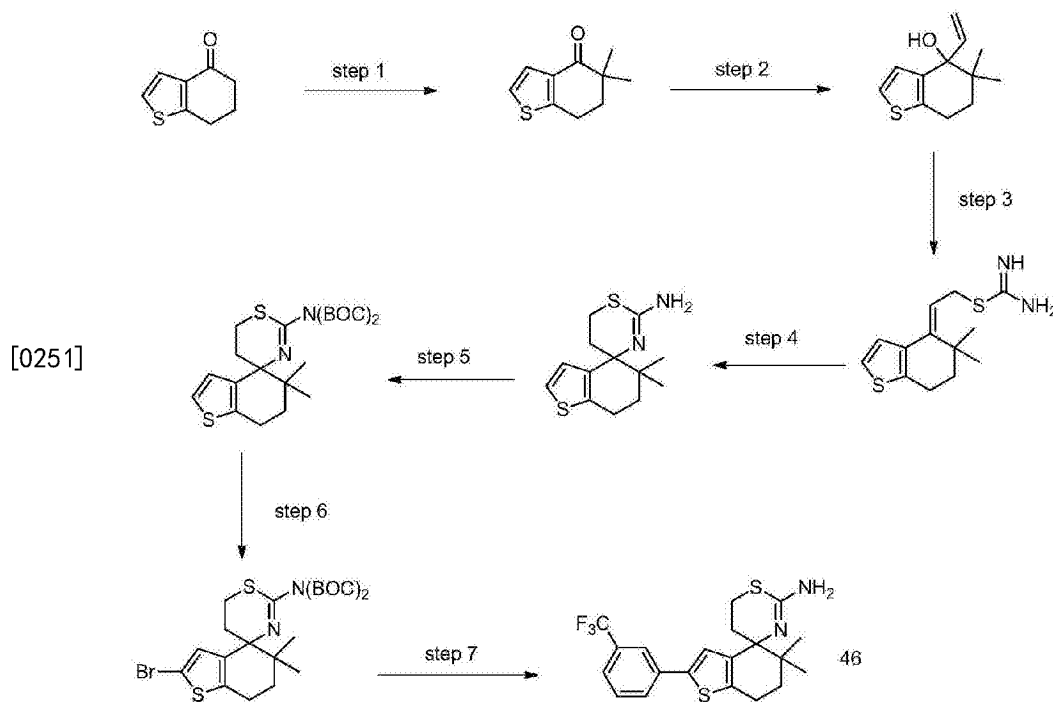
[0246] 将氢化钠(60%在矿物油中的分散液,0.2g,5mmol)用己烷洗涤然后于0°C在氮气氛下悬浮于THF(6mL)中。将6-(羟甲基)-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮(0.745g, 4.1mmol)溶解于THF(4mL)中并滴加至氢化钠悬浮液中。10min之后加入碘甲烷(0.71g, 0.31mL,5mmol)并将反应混合物温热至室温并搅拌3小时。加入水和饱和盐水溶液(2mL,1:1)并将产物萃取到二氯甲烷中(x3)。将有机层合并,干燥(MgSO₄)并在真空中浓缩。将粗残留物在硅胶上采用0-50%在异己烷中的乙酸乙酯梯度洗脱纯化得到标题化合物(0.109g, 34%)。

[0247] 步骤4-10:3-(2'-氨基-6-(甲氧甲基)-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2-基)苯甲腈,盐酸盐

[0248] 按照方法1步骤1-7概述的方法由6-(甲氧甲基)苯并[b]噻吩-4(7H)-酮合成3-(2'-氨基-6-(甲氧甲基)-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2-基)苯甲腈,得到HCl盐形式的标题化合物(5.7mg)。在步骤6中,只分离出黄色固体状的外消旋混合物形式的一种非对映异构体。¹H NMRδ(ppm)(CH₃OH-d₄):8.06(1H,s),7.97(1H,d,J=7.94Hz),7.74-7.60(3H,m),3.63(1H,dd,J=13.21,3.89Hz),3.59-3.49(2H,m),3.46(3H,s),3.44-3.39(1H,m,与溶剂峰重叠),3.14(1H,dd,J=16.75,4.63Hz),2.81-2.59(2H,m),2.39(3H,t,J=13.47Hz),1.68(1H,t,J=13.25Hz)。没有观察到NH₂峰。LCMS(方法d)R_t3.13(min)m/z 384(MH⁺)。

[0249] 实施例46:5,5-二甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基)-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-胺

[0250] 方法6



[0252] 步骤1: 5,5-二甲基-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮

[0253] 将在甲苯(10mL)中的6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮(1.0g, 6.6mmol)滴加至在甲苯(5mL)中的NaH(60%在矿物油中的分散液, 1.32g, 32.9mmol)中。加入DMF(5mL)并将反应于室温搅拌1小时。将混合物冷却至0°C, 滴加碘甲烷(4.67g, 2.1mL, 32.9mmol)并将溶液回流3h。将混合物冷却并小心地用异丙醇处理。将产物萃取到乙醚中(x3)并将此溶液用水和饱和盐水反萃取。将乙醚溶液干燥(MgSO₄), 过滤并在真空中浓缩。将粗残留物在硅胶上采用0-75%在40-60石油醚中的乙酸乙酯梯度洗脱纯化得到黄色油状的标题化合物(0.375g, 32%)。

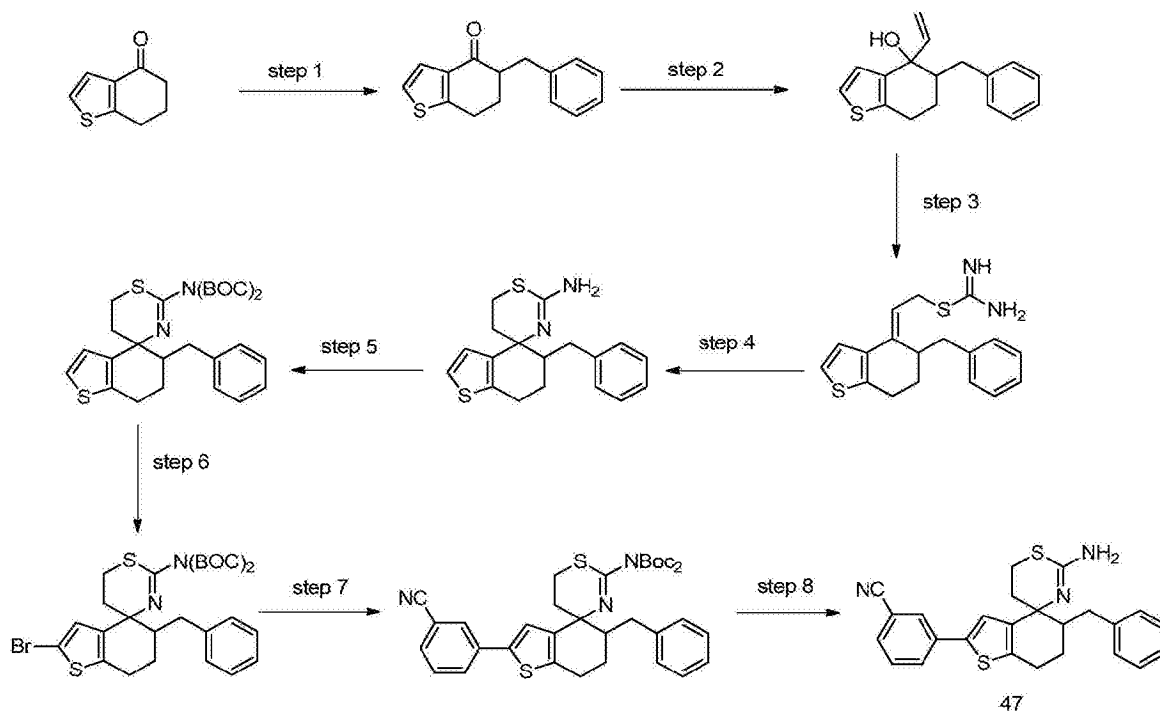
[0254] 步骤2: 7: 5,5-二甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基)-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-胺

[0255] 按照方法1步骤1-7概述的方法由5,5-二甲基-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮合成5,5-二甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基)-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2'-胺, 得到米黄色胶状的标题化合物(3.7mg)。¹H NMRδ(ppm)(CHCl₃-d): 7.75(1H, s), 7.73-7.67(1H, m), 7.50-7.42(2H, m), 7.08(1H, s), 3.15-3.06(1H, m), 3.00-2.78(3H, m), 2.11-1.99(2H, m), 1.98-1.87(1H, m), 1.72(1H, ddd, J=13.93, 7.00, 2.17Hz), 1.08(3H, s), 0.99(3H, s)。没有观察到NH₂峰。LCMS(方法e) Rt 3.04(min) m/z 411(MH⁺)。

[0256] 实施例47: 3-(2'-氨基-5-苄基-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2-基)苯甲腈

[0257] 方法7

[0258]



[0259] 步骤1: 5-苄基-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮

[0260] 将在THF(7.5mL)中的6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮(0.5g, 3.3mmol)于-78°C在氮气氛下滴加至LDA(2.2mL, 3.67mmol)中。将混合物温热至-30°C 10min, 之后再冷却至-78°C。然后滴加溴化苄(1.17mL, 9.9mmol)并将混合物逐渐温热至室温并搅拌18小时。将饱和

氯化铵溶液加入到反应混合物中并将产物萃取到乙酸乙酯中(x3)。将合并的有机萃取液合并,干燥(MgSO₄)并在真空中浓缩。将粗残留物在硅胶上采用0-50%在异己烷中的乙酸乙酯梯度洗脱纯化得到黄色油状的标题化合物(0.55g,62%)。

[0261] 步骤2-8:3-(2'-氨基-5-苄基-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2-基)苯甲腈

[0262] 按照方法1步骤1-7概述的方法由5-苄基-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮合成3-(2'-氨基-5-苄基-5',6,6',7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-[1,3]噻嗪]-2-基)苯甲腈,得到标题化合物(60mg)。在步骤4中,只分离出黄色泡沫状的外消旋混合物形式的一种非对映异构体。¹H NMR δ (ppm) (CHCl₃-d): 7.79 (1H, s), 7.72 (1H, d, J=7.88Hz), 7.51 (1H, d, J=7.70Hz), 7.44 (1H, t, J=7.92Hz), 7.32-7.15 (5H, m, 与溶剂峰重叠), 7.11 (1H, s), 3.23 (1H, t, J=12.62Hz), 3.01 (2H, d, J=11.07Hz), 2.86 (1H, dd, J=17.67, 6.12Hz), 2.81-2.68 (1H, m), 2.29-2.14 (2H, m), 2.10 (1H, d, J=13.69Hz), 2.02-1.81 (3H, m)。没有观察到NH₂峰。HPLC (方法a) Rt 8.19 (min) m/z 430 (MH⁺)。

[0263] 采用方法7和第一步中的1-溴甲基-4-甲氧基-苯类似地制备:

[0264]

结构	MH ⁺	HPLC Rt	NMR
	460	8.17 ^a	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.63 (1H, s), 7.84-7.70 (2H, m), 7.56-7.42 (2H, m), 7.31-7.24 (2H, m, 与溶剂

[0265]

48 甲酸盐			峰重叠), 7.18-7.07 (1H, m), 6.86 (2H, d, J=7.95 Hz), 3.80 (3H, s), 3.32 (1H, t, J=12.63 Hz), 3.04 (2H, t, J=10.68 Hz), 2.88-2.70 (2H, m), 2.49 (1H, t, J=12.18 Hz), 2.36-2.12 (3H, m), 2.01 (1H, d, J=13.51 Hz), 1.78-1.64 (1H, m)。没有观察到NH ₂ 峰。(白色泡沫)
--------	--	--	---

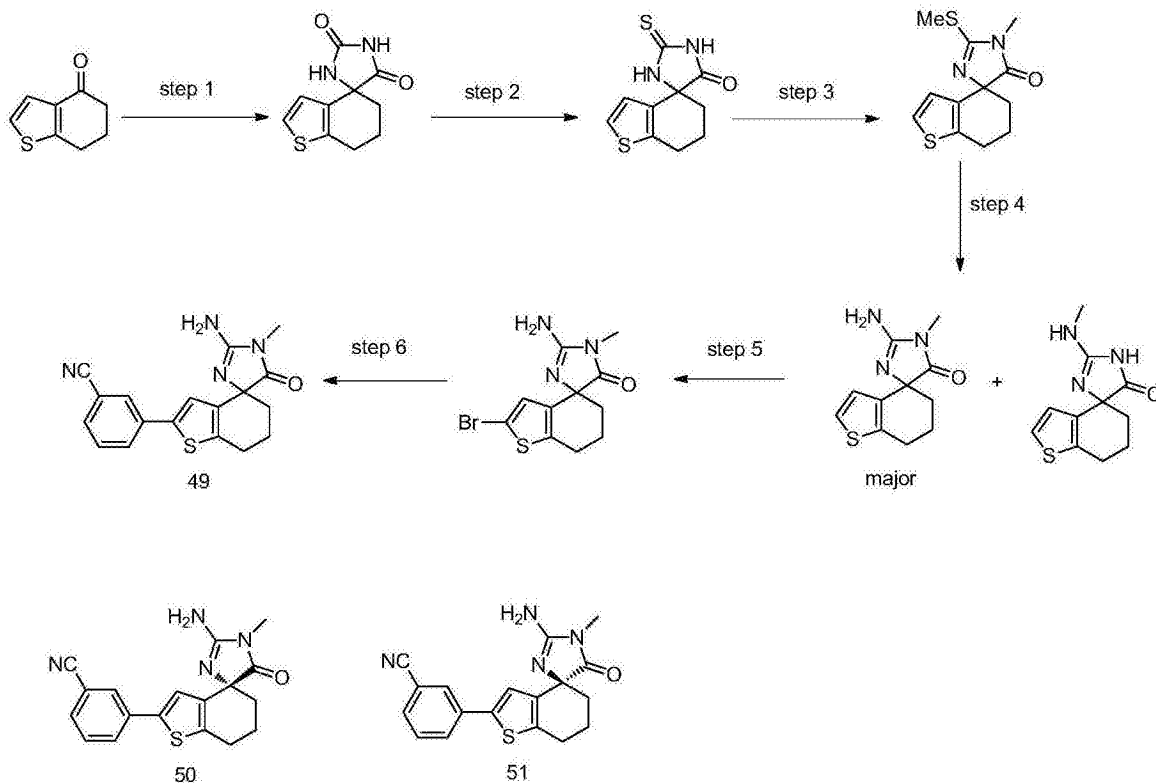
[0266] ^{a-f}Rt指HPLC法A至F

[0267] 对于实施例48,在方法7的步骤4时,只分离出外消旋混合物形式的一种非对映异构体。

[0268] 2'-氨基-1'-甲基-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-5'(1'H)-酮的制备

[0269] 方法8:

[0270]



[0271] 步骤1:6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑烷]-2',5'-二酮

[0272] 将50%含水的EtOH(35mL)加入到大反应管中的6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮(1.0g,6.5mmol)、KCN(0.85g,13mmol)和 $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (5.36g,55mmol)中。将管密封并于80℃加热24小时。将混合物冷却并倒入冰水(100mL)中。溶液用浓HCl水溶液酸化,生成固体沉淀。通过过滤收集沉淀,用水洗涤并在真空中干燥得到标题化合物(1.33g,91%)。

[0273] 步骤2:2'-硫羰基-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑烷]-5'-酮

[0274] 将6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑烷]-2',5'-二酮(0.5g,2.25mmol)和2,4-双(4-甲氧苯基)-1,3,2,4-二硫杂二磷杂丁环-2,4-二硫化物(Lawesson氏试剂)(0.91g,2.25mmol)悬浮于1,4-二噁烷(5mL)中。将混合物通过微波辐射于120℃加热30min。将溶液在真空中浓缩并将粗残留物在硅胶上采用20-100%在40-60石油醚中的乙酸乙酯梯度洗脱纯化。将分离出的物质在硅胶上采用2-5%在二氯甲烷中的甲醇梯度洗脱再纯化得到无色固体形式的标题化合物(0.54g,100%)。

[0275] 步骤3:1'-甲基-2'-(甲硫基)-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-5'-(1'H)-酮

[0276] 将2'-硫羰基-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑烷]-5'-酮(0.192g,0.86mmol)溶解于甲醇(16mL)中。加入碘甲烷(1.83g,0.8mL,12.9mmol)和NaOH(水溶液)(3.22mL,0.6M,1.93mmol)并将混合物通过微波辐射于60℃加热10min。将溶液在真空中浓缩并将粗残留物在硅胶上采用20-100%在异己烷中的乙酸乙酯梯度洗脱纯化得到白色固体形式的标题化合物(0.26g,100%)。

[0277] 步骤4:2'-氨基-1'-甲基-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-5'-(1'H)-酮

[0278] 将1'-甲基-2'-(甲硫基)-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-5'(1'H)-酮(1.5g,5.63mmol)、碘化铵(4.89g,33.78mmol)和7N在甲醇(20mL)中的氨于90℃加热12h。然后在减压下蒸发溶剂并将残留物在水和二氯甲烷中分配。将二氯甲烷提取物合并,经硫酸镁干燥并在减压下蒸发得到油。这由作为主要组分的标题化合物和其次要的区域异构体(regioisomer)以2:1比例构成。将油加载到Biotage SNAP筒上并用二氯甲烷-二氯甲烷/7N在甲醇中的氨(9:1)洗脱。将合适的级分合并并在减压下蒸发得到泡沫状的2'-氨基-1'-甲基-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-5'(1'H)-酮(800mg,60%)。

[0279] 步骤5:2'-氨基-2-溴-1'-甲基-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-5'(1'H)-酮

[0280] 将2'-氨基-1'-甲基-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-5'(1'H)-酮(75mg,0.32mmol)溶解于乙酸(0.5mL)和水(0.5mL)中。将混合物冷却至0℃并滴加溴(51mg,0.016mL,0.32mmol)。在0℃下20min之后将反应温热至室温并搅拌1小时。在真空中除去溶剂得到黄色油,其在静置时固化。将残留物悬浮于二氯甲烷中并用7NNH₃/MeOH溶液处理产生沉淀,通过过滤将其除去。将有机母液在真空中浓缩并将粗残留物在硅胶上采用2-10% 7N NH₃/在二氯甲烷中的甲醇梯度洗脱纯化得到浅黄色泡沫状的甲酸盐形式的标题化合物(0.285g,95%)。¹H NMRδ(ppm)(DMSO-d⁶):8.22(1H,s),6.71(1H,s),3.01-2.95(3H,m),2.77-2.65(2H,m),2.11-2.04(1H,m),1.87(2H,t,J=9.50Hz),1.76-1.68(1H,m)。没有观察到NH₂峰。HPLC(方法c)Rt 8.77(min)m/z 314(MH⁺)。

[0281] 步骤6:3-(2'-氨基-1'-甲基-5'-氧代-1',5',6,7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-2-基)苯甲腈

[0282] 将2'-氨基-2-溴-1'-甲基-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-5'(1'H)-酮(0.127g,0.4mmol)、3-氰基苯基硼酸(59mg,0.4mmol)和Pd(dppf)Cl₂(33mg,0.04mmol),悬浮于DMF(1.5mL)中。加入Cs₂CO₃(0.35mL,3.7M水溶液,1.29mmol)并将溶液在氮气流下脱气10min。将混合物于90℃加热2小时。将反应冷却并在真空中除去溶剂。将粗残留物采用制备型HPLC纯化得到灰白色固体形式的标题化合物(14mg,11%)。¹H NMRδ(ppm)(DMSO-d⁶):8.11(1H,s),7.86(1H,d,J=8.18Hz),7.71(1H,d,J=7.72Hz),7.57(1H,t,J=7.85Hz),7.14(1H,s),6.41(2H,br s),3.02(3H,s),2.84-2.76(2H,m),2.11(1H,d,J=13.56Hz),1.91(2H,s),1.70(1H,s)。HPLC(方法c)Rt 9.2(min)m/z 337(MH⁺)。

[0283] 实施例50和51:(R)-3-(2'-氨基-1'-甲基-5'-氧代-1',5',6,7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-2-基)苯甲腈(3.7mg)和(S)-3-(2'-氨基-1'-甲基-5'-氧代-1',5',6,7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-2-基)苯甲腈。

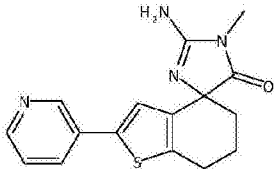
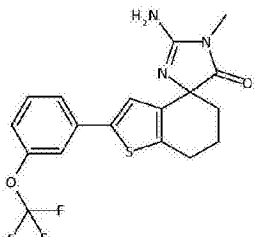
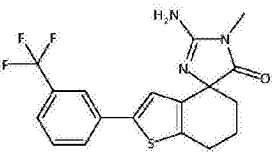
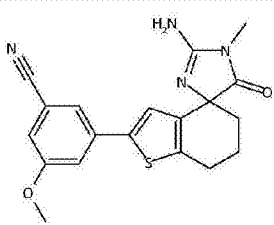
[0284] 实施例49经手性制备型HPLC纯化得到实施例50,灰白色固体形式的(R)-3-(2'-氨基-1'-甲基-5'-氧代-1',5',6,7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-2-基)苯甲腈(3.7mg),和实施例51,灰白色固体形式的(S)-3-(2'-氨基-1'-甲基-5'-氧代-1',5',6,7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-2-基)苯甲腈(3.3mg)。构型被任意分配。

[0285] 实施例50:(R)-对映体:¹H NMRδ(ppm)(CH₃OH-d⁴):6.38(1H,s),6.30(1H,dt,J=7.89,1.53Hz),6.08-5.95(2H,m),5.50(1H,s),1.61(3H,s),1.39-1.31(2H,m),0.78-0.70(1H,m),0.56-0.47(2H,m),0.38-0.30(1H,m)。没有观察到NH₂峰。HPLC(方法a)Rt 7.56(min)m/z 337(MH⁺)。

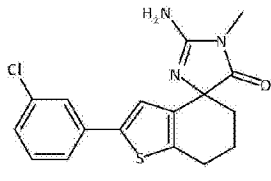
[0286] 实施例51: (S)-对映体: $^1\text{H NMR}$ δ (ppm) ($\text{CH}_3\text{OH}-d^4$): 6.40–6.36 (1H, m), 6.30 (1H, dt, $J=7.86, 1.51\text{Hz}$), 6.10–5.97 (2H, m), 5.50 (1H, s), 1.61 (3H, s), 1.38–1.31 (2H, m), 0.78–0.71 (1H, m), 0.56–0.47 (2H, m), 0.38–0.32 (1H, m)。没有观察到 NH_2 峰。LCMS(方法e) Rt 2.67 (min) m/z 337 (MH^+)。

[0287] 采用方法8用不同的硼酸或酯衍生物类似地制备:

[0288]

结构	MH^+	HPLC Rt	NMR
 <p>52</p>	313	6.69 ^a	$^1\text{H NMR}$ δ (ppm) ($\text{DMSO}-d^6$): 8.80 (1H, d, $J=2.38\text{Hz}$), 8.46 (1H, dd, $J=4.76, 1.51\text{Hz}$), 7.96 (1H, dt, $J=8.04, 1.93\text{Hz}$), 7.40 (1H, dd, $J=8.02, 4.77\text{Hz}$), 7.06 (1H, s), 3.01 (3H, s), 2.88–2.74 (2H, m), 2.18–2.10 (1H, m), 1.95–1.84 (2H, m), 1.77–1.67 (1H, m)。没有观察到 NH_2 峰。(灰白色固体)
 <p>53 甲酸盐</p>	396	10.91 ^a	$^1\text{H NMR}$ δ (ppm) (CHCl_3-d): 8.50 (1H, s), 7.45–7.31 (3H, m), 7.12–7.09 (1H, m), 6.80 (1H, s), 3.28–3.19 (3H, m), 2.93–2.82 (2H, m), 2.38–2.28 (1H, m), 2.25–2.14 (1H, m), 2.06–1.95 (2H, m)。没有观察到 NH_2 峰。(灰白色固体)
 <p>54</p>	380	2.4 ^b	$^1\text{H NMR}$ δ (ppm) ($\text{DMSO}-d^6$): 7.83 (2H, s), 7.65–7.50 (2H, m), 7.05 (1H, s), 6.39 (2H, s), 2.99 (3H, s), 2.83–2.75 (2H, m), 2.10 (1H, s), 1.95–1.75 (2H, m), 1.66 (1H, d, $J=9.74\text{Hz}$)。 (灰白色固体)
 <p>55 甲酸盐</p>	367	2.85 ^b	$^1\text{H NMR}$ δ (ppm) ($\text{DMSO}-d^6$): 8.18 (1H, s), 7.64 (1H, t, $J=1.45\text{Hz}$), 7.33–7.30 (2H, m), 7.17 (1H, s), 3.83 (3H, s), 3.01 (3H, s), 2.86–2.71 (2H, m), 2.14–2.03 (1H, m), 1.87 (2H, t, $J=9.60\text{Hz}$), 1.71 (1H, t, $J=8.95\text{Hz}$)。没有观察到 NH_2 峰。(灰白色固体)

[0289]

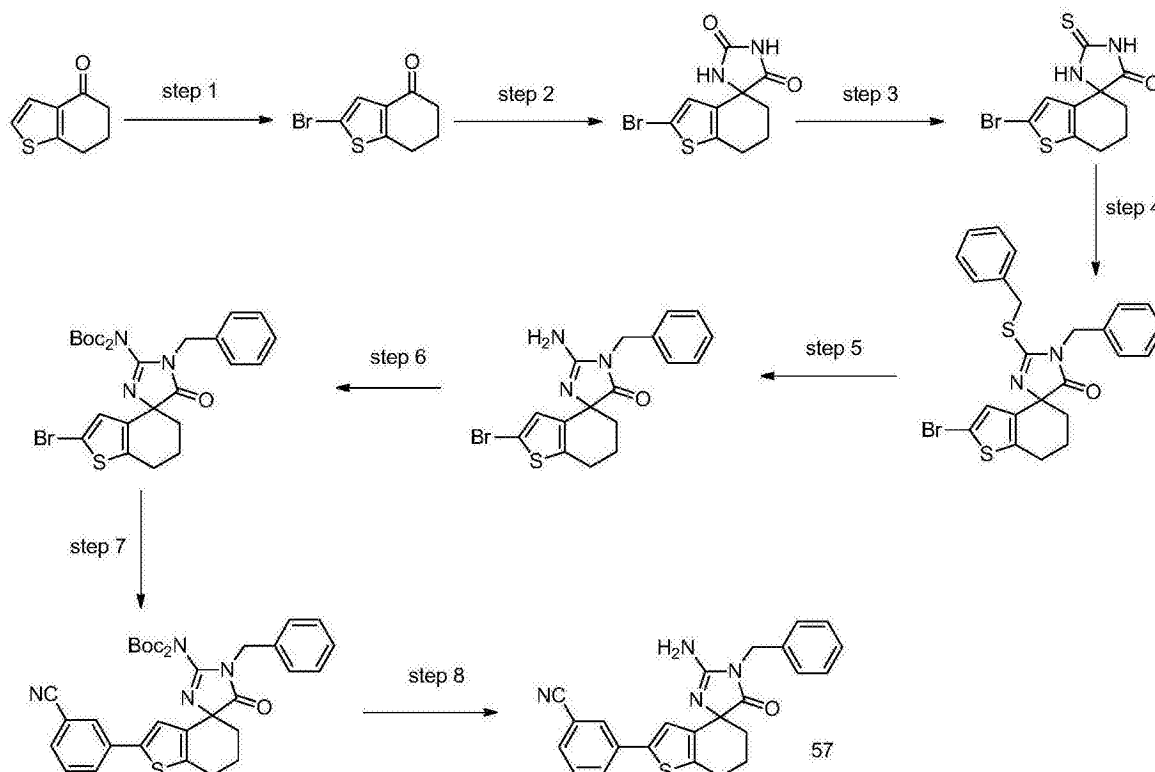
 <p>56 甲酸盐</p>	346	2.35 ^b	¹ H NMR δ (ppm) (DMSO- <i>d</i> ⁶): 8.18 (1H, s), 7.64 (1H, t, <i>J</i> = 1.89 Hz), 7.48 (1H, dt, <i>J</i> = 7.79, 1.37 Hz), 7.37 (1H, t, <i>J</i> = 9.2 Hz), 7.30 (1H, ddd, <i>J</i> = 7.96, 2.05, 1.06 Hz), 7.07 (1H, s), 3.00 (3H, s), 2.81–2.74 (2H, m), 2.09 (1H, s), 1.88 (2H, d, <i>J</i> = 9.66 Hz), 1.76–1.65 (1H, m). 没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
---	-----	-------------------	--

[0290] ^{a-f}Rt指HPLC法A至F

[0291] 实施例57:3-(2'-氨基-1'-苄基-5'-氧代-1',5',6,7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-2-基)苯甲腈

[0292] 方法9

[0293]



[0294] 步骤1:2-溴-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮

[0295] 将6,7-二氢-4-苯并[B]噻吩酮(1.5g,9.86mmol)溶解于乙酸(10mL)和水(10mL)中。将混合物冷却至0℃并滴加溴(0.51mL,9.86mmol)。在0℃下20min之后将反应温热至室温并搅拌18小时。将反应混合物在冰中冷却然后用1M氢氧化钠水溶液处理直至混合物为碱性。将生成的沉淀通过过滤收集,用水洗涤并在真空干燥箱中于50℃干燥得到灰色固体形式的标题化合物(2.1g,96%)。

[0296] 步骤2:2-溴-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑烷]-2',5'-二酮

[0297] 将50%含水的EtOH(20mL)加入到大反应管中的2-溴-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮(1.0g,4.5mmol)、KCN(0.586g,9mmol)和(NH₄)₂CO₃(3.68g,38.2mmol)中。将管密封并于80℃加热18小时。将混合物冷却并倒入冰水(100mL)中。溶液用浓HCl水溶液酸化,生成固体沉淀。通过过滤收集沉淀,用水洗涤并在真空中干燥得到标题化合物(1.1g,81%)。

[0298] 步骤3:2-溴-2'-硫羰基-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑烷]-5'-酮

[0299] 将2-溴-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑烷]-2',5'-二酮(0.5g,1.67mmol)和2,4-双(4-甲氧苯基)-1,3,2,4-二硫杂二磷杂丁环-2,4-二硫化物(Lawesson氏试剂)(0.371g,0.91mmol)悬浮于1,4-二噁烷(5mL)中。将混合物通过微波辐射于110℃加热2x30min。将溶液在真空中浓缩并将粗残留物在硅胶上采用在40-60石油醚中的乙酸乙酯(1:1)纯化得到无色固体形式的标题化合物(0.28g,53%)。

[0300] 步骤4:1'-苄基-2'-(苯甲硫基)-2-溴-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-5'(1'H)-酮

[0301] 将2-溴-2'-硫羰基-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑烷]-5'-酮(0.285g,0.9mmol)溶解于THF(20mL)中并在冰浴中冷却至0℃。加入氢化钠(50%在油中的分散液,26mg,1.08mmol)并将混合物搅拌15min。加入溴化苄(0.13mL,1.08mmol)并将反应混合物于室温搅拌1h。将混合物再次冷却至0℃并再加入一部分氢化钠(50%在油中的分散液,26mg,1.08mmol)。将混合物搅拌15min,加入溴化苄(0.13mL,1.08mmol)并将反应混合物于室温搅拌18小时。在减压下蒸发溶剂。将残留物溶于水中并用二氯甲烷(x3)萃取。将有机萃取液合并,干燥(MgSO₄),并在真空中浓缩。将粗残留物在硅胶上采用在异己烷中的乙酸乙酯(1:1)纯化得到无色油状的标题化合物(0.25g,56%)。

[0302] 步骤5:2'-氨基-1'-苄基-2-溴-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-5'(1'H)-酮

[0303] 将1'-苄基-2'-(苯甲硫基)-2-溴-6,7-二氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-5'(1'H)-酮(0.25g,0.5mmol)和碘化铵(0.43g,3mmol)悬浮于7N NH₃/甲醇溶液(10mL)中。将混合物于90℃加热18小时。将溶液在真空中浓缩并将粗残留物在水和二氯甲烷之间分配。将产物萃取到二氯甲烷中(x3),将有机萃取液合并,干燥(MgSO₄)并在真空中浓缩。将粗残留物在硅胶上采用7N NH₃/在二氯甲烷中的甲醇(1:9)纯化得到泡沫状的标题化合物(80mg,41%)。

[0304] 步骤6:二-叔丁基1'-苄基-2-溴-5'-氧代-1',5',6,7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-2'-基亚氨基重碳酸酯

[0305] 根据方法1步骤7制备标题化合物。其不经进一步纯化即使用。

[0306] 步骤7:二-叔丁基1'-苄基-2-(3-氰基苯基)-5'-氧代-1',5',6,7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-2'-基氨基甲酸酯

[0307] 将二-叔丁基1'-苄基-2-溴-5'-氧代-1',5',6,7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-2'-基亚氨基重碳酸酯(80mg,0.14mmol)、3-氰基苯基硼酸(30mg,0.2mmol)和Na₂CO₃(0.2mL,2M水溶液,0.4mmol)悬浮于1,4-二噁烷(4mL)中。将溶液在氮气流下脱气10min。加入Pd(dppf)Cl₂(11mg,0.013mmol)并将混合物于100℃加热18小时。将反应冷却并倒入水中。产物用乙酸乙酯萃取(x3)。将有机层合并,干燥(MgSO₄)并在真空中浓缩。粗残留物不经进一步纯化在下一步中使用。

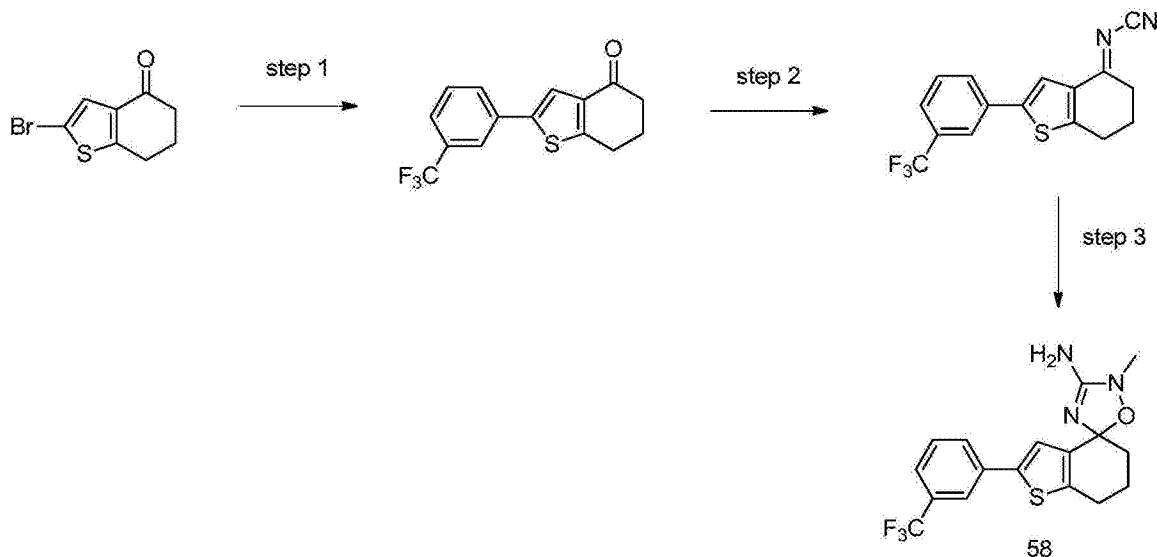
[0308] 步骤8:3-(2'-氨基-1'-苄基-5'-氧代-1',5',6,7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-2-基)苯甲腈

[0309] 将二-叔丁基1'-苄基-2-(3-氰基苯基)-5'-氧代-1',5',6,7-四氢-5H-螺[苯并[b]噻吩-4,4'-咪唑]-2'-基氨基甲酸酯(0.13mmol)在二氯甲烷(1mL)和三氟乙酸(1mL)中于室温搅拌18小时。将反应在真空中蒸发留下残留物,将其溶解于二氯甲烷中。有机层用饱和Na₂CO₃(水溶液)溶液洗涤。将有机萃取液合并,干燥(MgSO₄)并在真空中浓缩。将粗残留物采用制备型HPLC纯化得到灰白色固体形式和甲酸盐形式的标题化合物(21.4mg,38%)。¹H NMRδ(ppm)(DMSO-d₆):8.18(1H,s),7.89(1H,t,J=1.72Hz),7.75-7.69(2H,m),7.56(1H,t,J=7.83Hz),7.40-7.28(5H,m),6.86(1H,s),4.74(2H,q,J=7.38Hz),2.82-2.72(2H,m),2.15-2.04(1H,m),1.91(2H,d,J=9.98Hz),1.76(1H,t,J=9.53Hz)。HPLC(方法a)Rt 7.91(min)m/z 413(MH⁺)。

[0310] 实施例58:2'-甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基)-6,7-二氢-2'H,5H-螺[苯并[b]噻吩-4,5'-[1,2,4]噁二唑]-3'-胺

[0311] 方法10

[0312]



[0313] 步骤1:2-(3-(三氟甲基)苯基)-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮

[0314] 将2-溴-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮(0.118g,0.48mmol)、3-三氟甲基硼酸(0.137g,0.72mmol)和Cs₂CO₃(0.313g,0.96mmol)悬浮于1,4-二噁烷(5mL)和水(0.5mL)中。将溶液在氮气流下脱气10min。加入Pd(PPh₃)₂Cl₂(17mg,0.024mmol)并将混合物通过微波辐射于110℃加热30min。将反应冷却并倒入水中。产物用二氯甲烷萃取(x3)。将有机层合并,干燥(MgSO₄)并在真空中浓缩。将粗残留物在硅胶上采用在异己烷中的乙酸乙酯(1:3)纯化得到固体形式的标题化合物(93mg,65%)。

[0315] 步骤2:(E)-N-(2-(3-(三氟甲基)苯基)-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-亚甲基)氨腈

[0316] 将2-(3-(三氟甲基)苯基)-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-酮(0.252g,0.85mmol)溶解于二氯甲烷(2mL)中。加入四氯化钛(1.7mL,1.0M在二氯甲烷中的溶液,1.7mmol)并将反应混合物于室温搅拌1小时。然后加入双-三甲基硅烷基碳二亚胺(0.42mL,1.87mmol)并

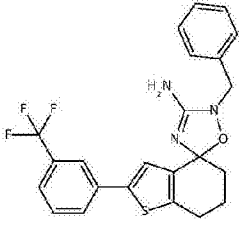
将混合物于室温搅拌18小时。将反应混合物倒在冰/水上并将产物用二氯甲烷萃取。将此溶液用水和饱和碳酸钠(水溶液)溶液反萃取。将有机萃取液合并,干燥(MgSO₄)并在真空中浓缩得到乳膏固体状的标题化合物(0.27g,99%)。

[0317] 步骤3:2'-甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基)-6,7-二氢-2'H,5H-螺[苯并[b]噻吩-4,5'-[1,2,4]噁二唑]-3'-胺

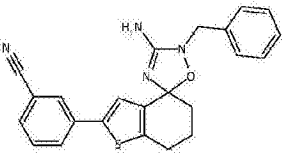
[0318] 向盐酸甲基羟胺在甲醇(2mL)中的溶液(23mg,0.28mmol)中加入碳酸钾(44mg,0.32mmol),之后加入(E)-N-(2-(3-(三氟甲基)苯基)-6,7-二氢苯并[b]噻吩-4(5H)-亚甲基)氨脒(50mg,0.16mmol)。将反应混合物于室温搅拌1小时。将混合物在真空中浓缩并将粗残留物在二氯甲烷和水之间分配。将产物萃取到二氯甲烷中(x3)。将有机萃取液合并,干燥(MgSO₄)并在减压下浓缩。将粗残留物采用制备型HPLC纯化得到黄色固体形式的标题化合物(34.2mg,58%)。(与2'-甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基)-6,7-二氢-2'H,5H-螺[苯并[b]噻吩-4,3'-[1,2,4]噁二唑]-5'-胺的区域异构体混合)。¹H NMRδ(ppm)(DMSO-d₆):7.87-7.80(2H,m),7.64-7.58(2H,m),7.34(1H,s),6.12(2H,s),2.94(3H,s),2.80-2.60(2H,m),1.93-1.80(3H,m),1.80-1.69(1H,m)。HPLC(方法a)Rt 8.05(min)m/z 368(MH⁺)。

[0319] 采用方法10和步骤3中的盐酸盐中的N-苄基羟胺类似地制备:

[0320]

结构	MH ⁺	HPLC Rt	NMR
 <p>59</p>	444	8.46 ^a	¹ H NMR δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 7.71 (1H, s), 7.63 (1H, d, J = 7.47 Hz), 7.50-7.40 (4H, m), 7.38-7.25 (3 H, m, 与溶剂峰重叠), 6.88 (1H, s), 4.44 (2H, s), 4.17 (2H, s), 2.84-2.67 (2H, m), 2.06-1.96 (2H, m), 1.95-1.87 (1H, m), 1.86-1.78 (1H, m)。 (灰白色固体)

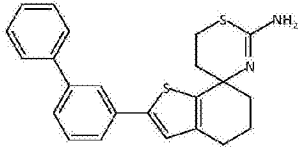
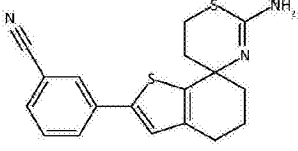
[0321]

 <p>60</p>	401	8.08 ^a	¹ H NMR δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 7.74-7.73 (1H, m), 7.67 (1H, dt, J = 7.87, 1.51 Hz), 7.54-7.40 (4H, m), 7.39-7.30 (3H, m), 6.87 (1H, s), 4.44 (2H, s), 4.24 (2H, s), 2.85-2.67 (2H, m), 2.05-1.94 (2H, m), 1.96-1.77 (2H, m)。 (灰白色固体)
---	-----	-------------------	---

[0322] ^{a-f}Rt指HPLC法A至F

[0323] 采用方法1并从5,6-二氢苯并[b]噻吩-7(4H)-酮和不同的硼酸或酯衍生物开始类似地制备:

[0324]

结构	MH ⁺	Rt	NMR
 <p>61 甲酸盐</p>	391	8.26 ^a	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.58 (1H, s), 7.83 (1H, s), 7.72-7.67 (2H, m), 7.63-7.40 (5H, m), 7.34 (1H, s), 7.13 (1H, s), 3.45-3.37 (1H, m), 3.27 (1H, ddd, J = 12.77, 8.67, 3.64 Hz), 2.89 (1H, dt, J = 16.68, 6.75 Hz), 2.71 (1H, dt, J = 16.54, 5.66 Hz), 2.53-2.44 (1H, m), 2.38-2.11 (3H, m), 1.99 (2H, t, J = 9.98 Hz)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)
 <p>62 甲酸盐</p>	340	7.59 ^a	¹ H NMR δ (ppm) (CHCl ₃ -d): 8.46 (1H, s), 7.81 (1H, t, J = 1.68 Hz), 7.76 (1H, dt, J = 7.89, 1.49 Hz), 7.54 (1H, dt, J = 7.72, 1.37 Hz), 7.46 (1H, t, J = 7.79 Hz), 7.05 (1H, s), 3.37-3.20 (2H, m), 2.82 (1H, dt, J = 16.79, 6.64 Hz), 2.64 (1H, dt, J = 16.80, 5.75 Hz), 2.46-2.37 (1H, m), 2.32-2.16 (2H, m), 2.16-2.07 (1H, m), 1.97-1.86 (2H, m)。没有观察到 NH ₂ 峰。(灰白色固体)

[0325] ^{a-f}Rt指HPLC法A至F

[0326] 实施例63:体外检测

[0327] 评价化合物抑制BACE-1的生物化学检测

[0328] 将得自Invitrogen的LanthaScreen™ BACE1检测试剂盒(产品样本号PV4748)用作筛选级联中的主要检测。

[0329] 检测原理使得荧光标记的生物素化的底物在铽标记的反式-生物素抗体的存在下显示FRET。在活性BACE1酶的存在下,FRET信号由于底物裂解而降低且这可通过β-分泌酶抑制剂IV(Calbiochem 565788)抑制,IC₅₀为15-30nM。能抑制BACE-1蛋白酶活性的化合物因此与高FRET值相关联。

[0330] 采用700mU/ml的酶浓度(相当于20nM(BACE1EC₅₀为0.106U/ml))和200nM的底物浓度按照制造商的说明在384孔微量培养板中进行检测。随着程序的进行,酶浓度降低至10nM反映试验化合物的改进的效力。简而言之,将试验化合物与酶和底物一起以15μl的反应体积于室温温育1小时,然后加入5nm铽标记的反式-生物素抗体终止反应,并将溶液于室温再温育1小时。将微量培养板在装有光度测定的340nm激发滤光片的Envision酶标仪上读数,已经裂解的底物的量由TR-FRET比例表示,通过分开荧光素发射信号(520nm)与铽发射信号(495nm)计算。

[0331] 对在LanthaScreen™ BACE-1生物化学检测中具有活性的化合物继续进行在基于

HTRF细胞的检测中的试验。

[0332] 基于细胞的检测评价化合物对BACE-1的抑制

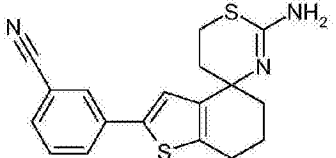
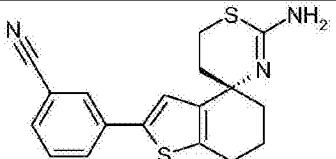
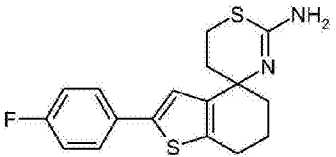
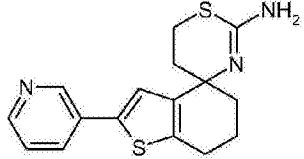
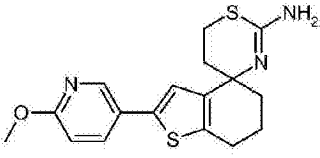
[0333] 基于细胞的检测用于支持得自Cisbio的程序应用的HTRF检测试剂(产品样本号62B40PEB)以量化由重组HEK293细胞分泌的Aβ1-40肽的量。在潮霉素选择压力下,对细胞进行工程处理产生高量的APP,Aβ1-40肽的前体。简而言之,将细胞平铺到384孔微量培养板中并在加入化合物之前允许沉降2小时。在用化合物过夜处理之后,将含有分泌肽的培养基转入低容量检测板中用于以HTRF免疫测定试剂量化。遵循制造商的量化方案,在加入穴状化合物缀合的抗体和XL665缀合的抗体之后在Aβ1-40肽的存在下获得TR-FRET信号,各自升至Aβ1-40肽的不同的表位。当细胞用抑制APP裂解和肽分泌的化合物处理时得到低FRET信号。

[0334] 由检测孔中30,000个细胞分泌的Aβ1-40肽的浓度为大约7500pg/ml且分泌通过用γ-分泌酶抑制剂(Ca l biochem 565789)处理被抑制,IC₅₀为200pM。

[0335] 采用得自Promega的**CellTiter-Glo®**发光细胞(产品样本号G7570)生存能力检测来评价由化合物毒性产生的分泌抑制。通过对代谢活性细胞产生的ATP定量,证实活性化合物不通过诱导细胞死亡发挥它们的作用是不可能的。

[0336] 结果在下表I中给出:

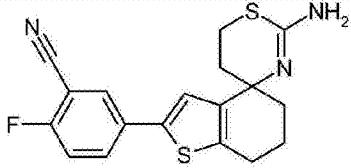
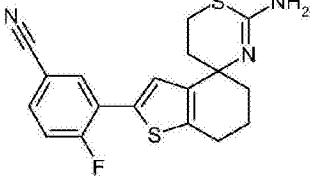
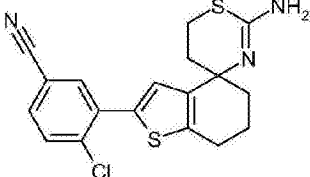
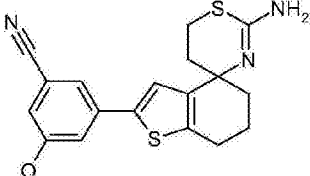
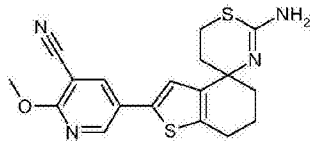
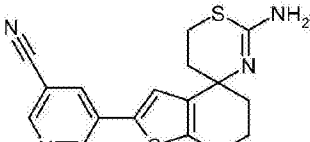
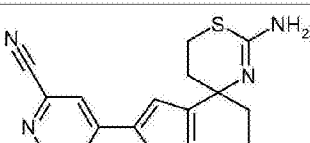
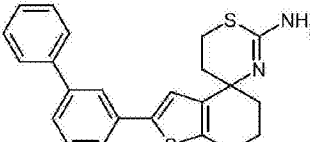
[0337]

实施例	化合物	酶解检测 IC ₅₀ 范围	细胞检测 EC ₅₀ 范围
1		b	a
2		a	a
3		c	c
4		c	c
5		c	c

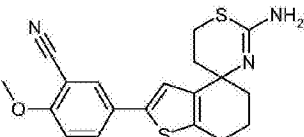
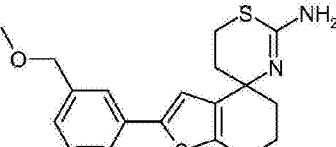
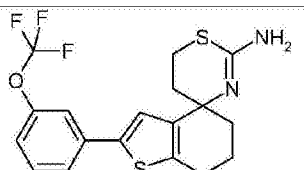
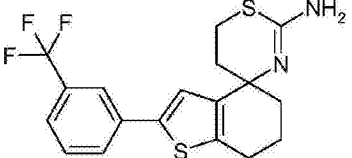
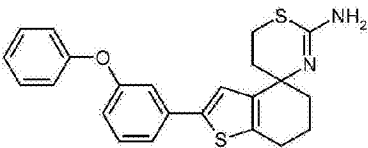
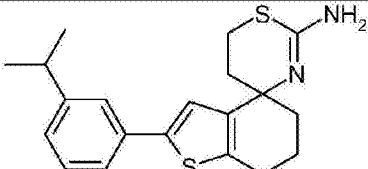
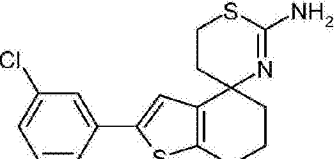
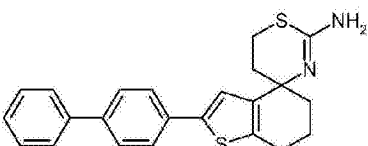
[0338]

实施例	化合物	酶解检测 IC ₅₀ 范围	细胞检测 EC ₅₀ 范围
6		c	c
7		c	c
8		c	c
9		c	b
10		b	a
11		c	b
12		c	b
13		c	c

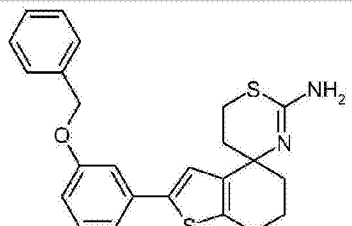
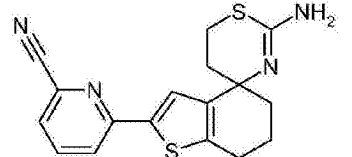
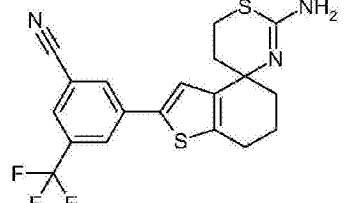
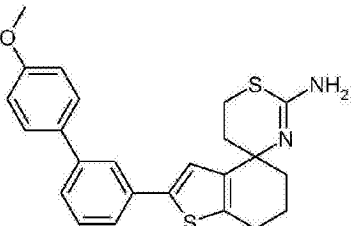
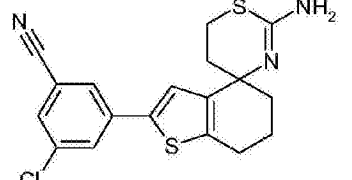
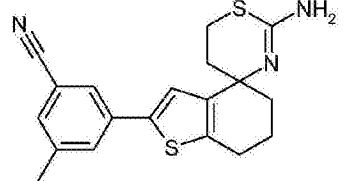
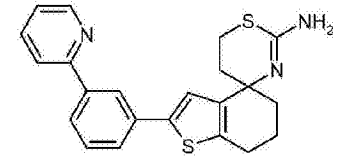
[0339]

实施例	化合物	酶解检测 IC ₅₀ 范围	细胞检测 EC ₅₀ 范围
14		b	b
15		b	a
16		b	a
17		b	b
18		c	b
19		c	b
20		c	b
21		b	c

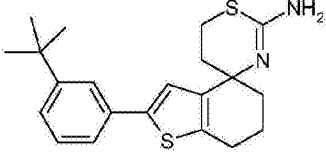
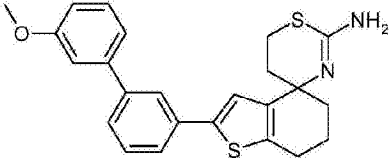
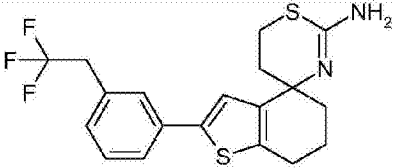
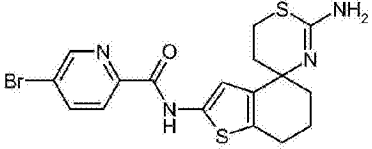
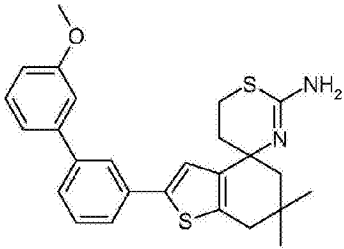
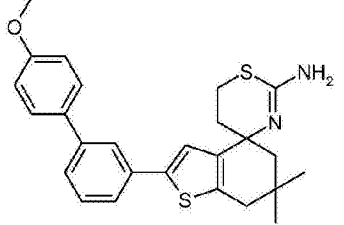
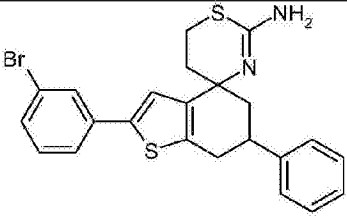
[0340]

实施例	化合物	酶解检测 IC ₅₀ 范围	细胞检测 EC ₅₀ 范围
22		c	b
23		c	b
24		b	c
25		b	c
26		b	c
27		b	c
28		b	c
29		b	c

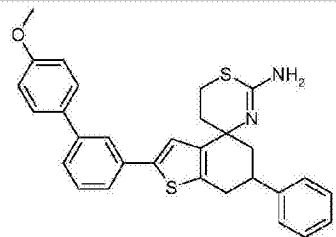
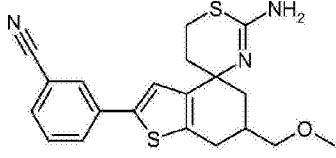
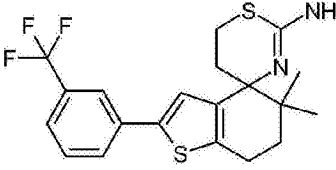
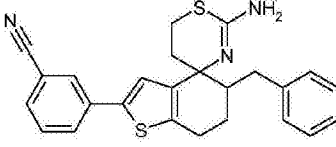
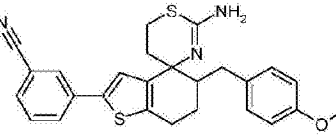
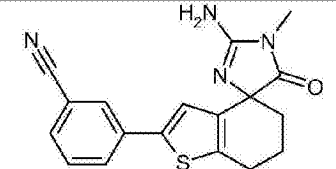
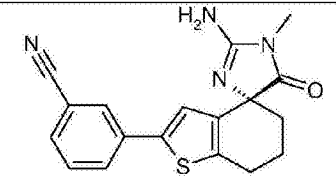
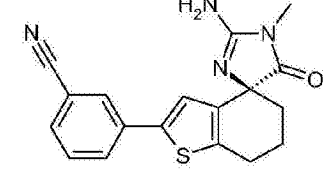
[0341]

实施例	化合物	酶解检测 IC ₅₀ 范围	细胞检测 EC ₅₀ 范围
30		b	c
31		b	b
32		b	c
33		b	c
34		b	b
35		b	b
36		c	c

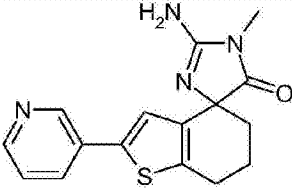
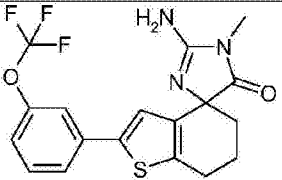
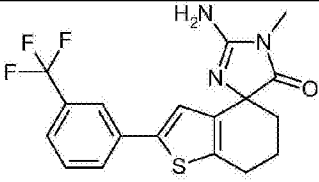
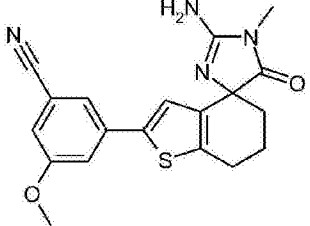
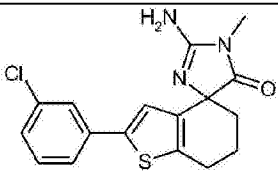
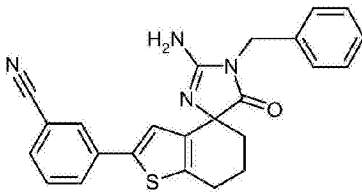
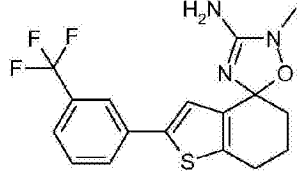
[0342]

实施例	化合物	酶解检测 IC ₅₀ 范围	细胞检测 EC ₅₀ 范围
37		c	c
38		b	c
39		c	c
40		c	c
41		b	c
42		b	c
43		c	c

[0343]

实施例	化合物	酶解检测 IC ₅₀ 范围	细胞检测 EC ₅₀ 范围
44		b	c
45		c	b
46		c	c
47		c	b
48		b	c
49		a	a
50		c	b
51		a	a

[0344]

实施例	化合物	酶解检测 IC ₅₀ 范围	细胞检测 EC ₅₀ 范围
52		c	b
53		b	c
54		a	b
55		b	b
56		b	b
57		a	c
58		b	c

[0345]

实施例	化合物	酶解检测 IC ₅₀ 范围	细胞检测 EC ₅₀ 范围
59		b	c
60		a	c
61		b	c
62		c	c

[0346]

酶解检测**IC₅₀ 范围**a: IC₅₀ < 1 μMb: 1 μM < IC₅₀ < 5 μMc: 5 μM < IC₅₀ < 65 μM**细胞检测****EC₅₀ 范围**a: EC₅₀ < 1 μMb: 1 μM < EC₅₀ < 5 μMc: 5 μM < EC₅₀ < 50 μM

[0347] 实施例64: 药物制剂的制备

[0348] 制剂1-片剂

[0349] 将式(I)化合物以干粉的形式与干明胶粘合剂以接近1:2的重量比混合。加入少量的作为润滑剂的硬脂酸镁。在压片机中将混合物制成240-270mg的片剂(每片80-90mg本发明的活性化合物)。

[0350] 制剂2-胶囊

[0351] 将式(I)化合物以干粉的形式与淀粉稀释剂以接近1:1的重量比混合。将混合物装入制成250mg胶囊(每个胶囊125mg本发明的活性化合物)。

[0352] 制剂3-液体

[0353] 将式(I)化合物(1250mg)、蔗糖(1.75g)和黄原胶(4mg)混合,通过10目美国筛,然后与之前制备的微晶纤维素和羧甲基纤维素钠(11:89,50mg)在水中混合。将苯甲酸钠

(10mg)、矫味剂、和颜料用水稀释并在搅拌下加入。然后加入充足的水得到5mL的总体积。

[0354] 制剂4-片剂

[0355] 将式(I)化合物以干粉的形式与干明胶粘合剂以接近1:2的重量比混合。加入少量的作为润滑剂的硬脂酸镁。在压片机中将混合物制成450-900mg的片剂(150-300mg本发明的活性化合物)。

[0356] 制剂5-注射剂

[0357] 将式(I)化合物溶解于含有缓冲的无菌盐水可注射水介质中至浓度为约5mg/mL。