



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105636646 B

(45)授权公告日 2017.12.19

(21)申请号 201480046182.4

(22)申请日 2014.07.10

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105636646 A

(43)申请公布日 2016.06.01

(30)优先权数据

3196/CHE/2013 2013.07.17 IN

3196/CHE/2013 2014.04.30 IN

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.02.19

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/046100 2014.07.10

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/009525 EN 2015.01.22

(73)专利权人 全球结核病药物研发联盟

地址 美国纽约

专利权人 被忽视疾病研究基金会

(72)发明人 马鲁蒂·N·奈克

沙胡尔·哈米德·皮尔穆罕默德

拉达·K·尚迪尔

维卡斯·纳达扬·欣德

普拉温·S·希鲁德

莫纳利萨·查特吉

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 郑斌 彭鲲鹏

(51)Int.Cl.

C07D 471/04(2006.01)

C07D 403/12(2006.01)

A61K 31/437(2006.01)

(56)对比文件

US 20070027140 A1,2007.02.01,

CN 20070287726 A1,2007.12.13,

CN 101778850 A,2010.07.14,

CN 102869661 A,2013.01.09,

审查员 王瑞

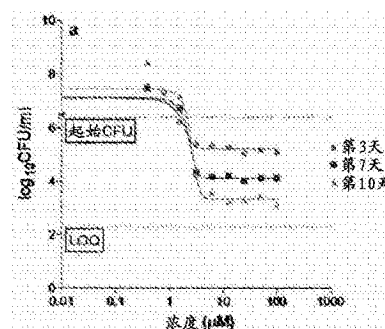
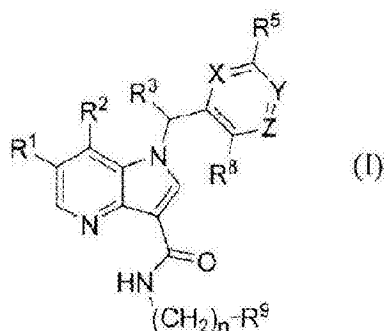
权利要求书9页 说明书62页 附图26页

(54)发明名称

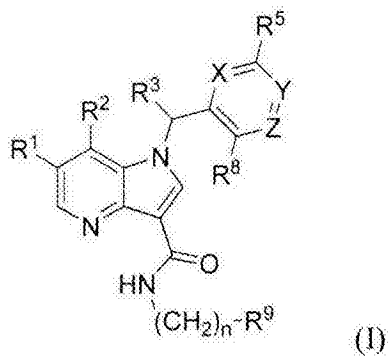
氮杂吡啶化合物、其合成及其使用方法

(57)摘要

本发明提供了式(I)的化合物以及用其治疗分枝杆菌感染或结核病或者抑制DprE1的方法。



1. 式 (I) 的化合物或其可药用盐：



其中

R^1 选自氢、氟、溴、 $-OCH_3$ 和甲基；

R^2 是氢或甲基；

R^3 是氢或甲基；

X 是 N；

R^5 选自氢、氟、 $-CF_3$ 和 $-CN$ ；

Y 是 N；

Z 是 N 或 CR^7 ；

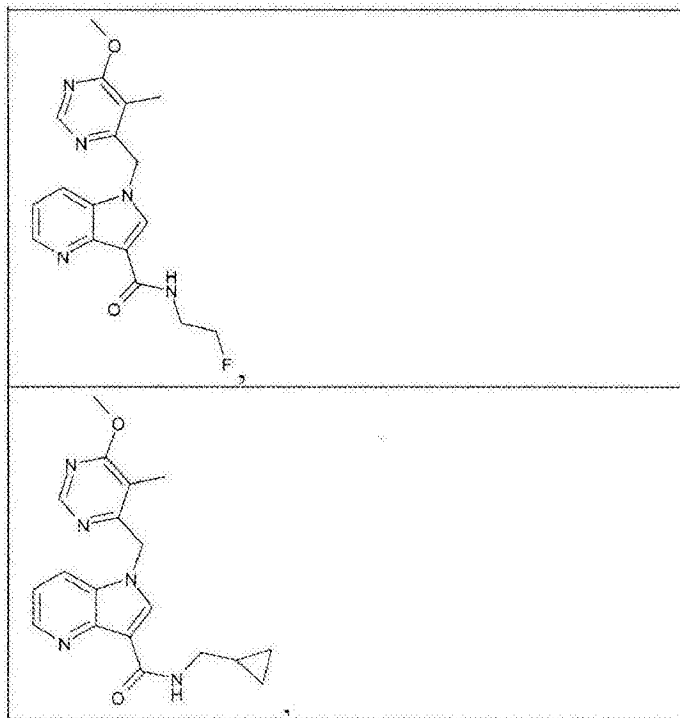
R^7 选自氢、氟、 $-OCH_3$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2CF_3$ 和 $-N(CH_3)_2$ ；

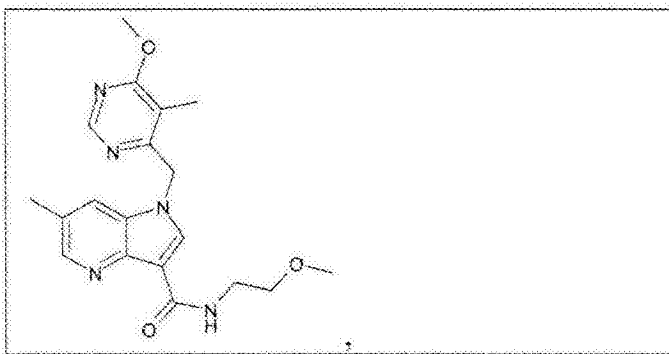
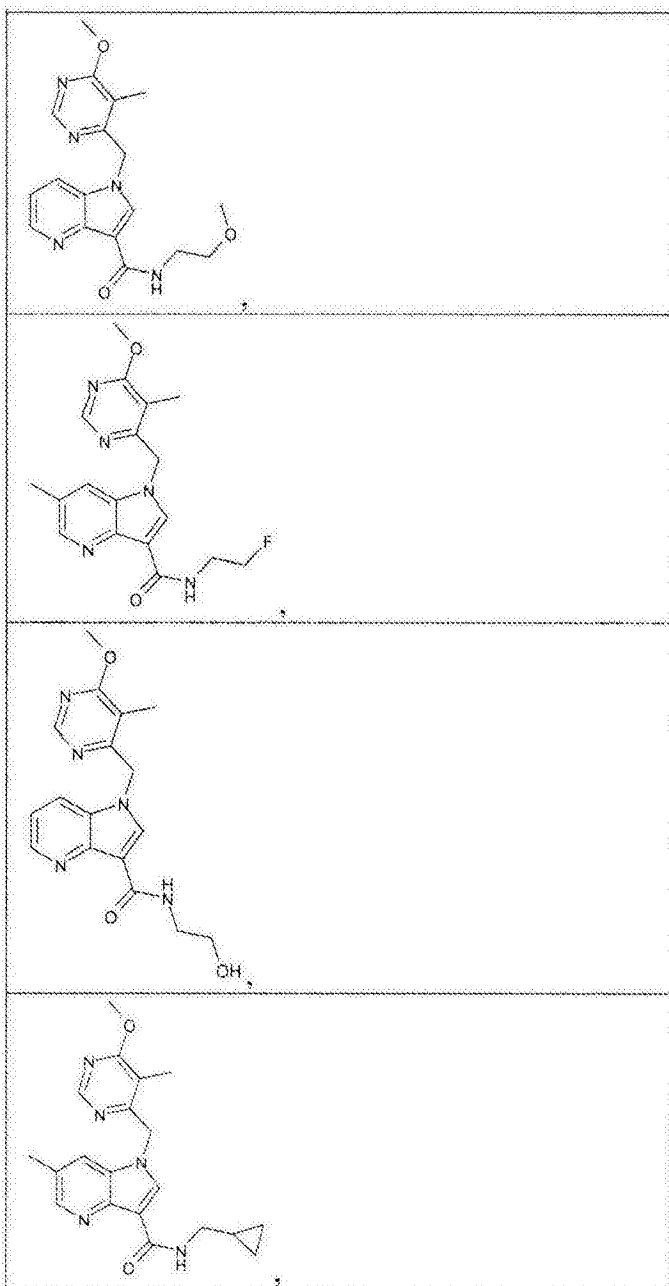
R^8 选自氢、氟、甲基和 $-OCH_3$ ；

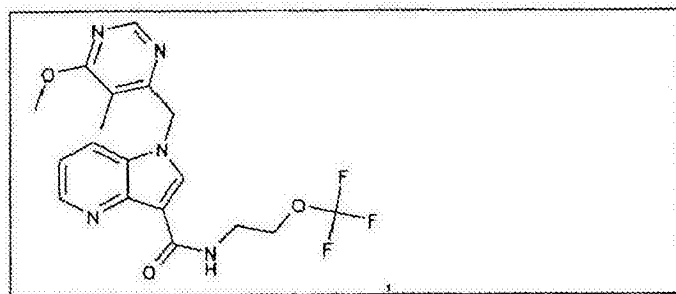
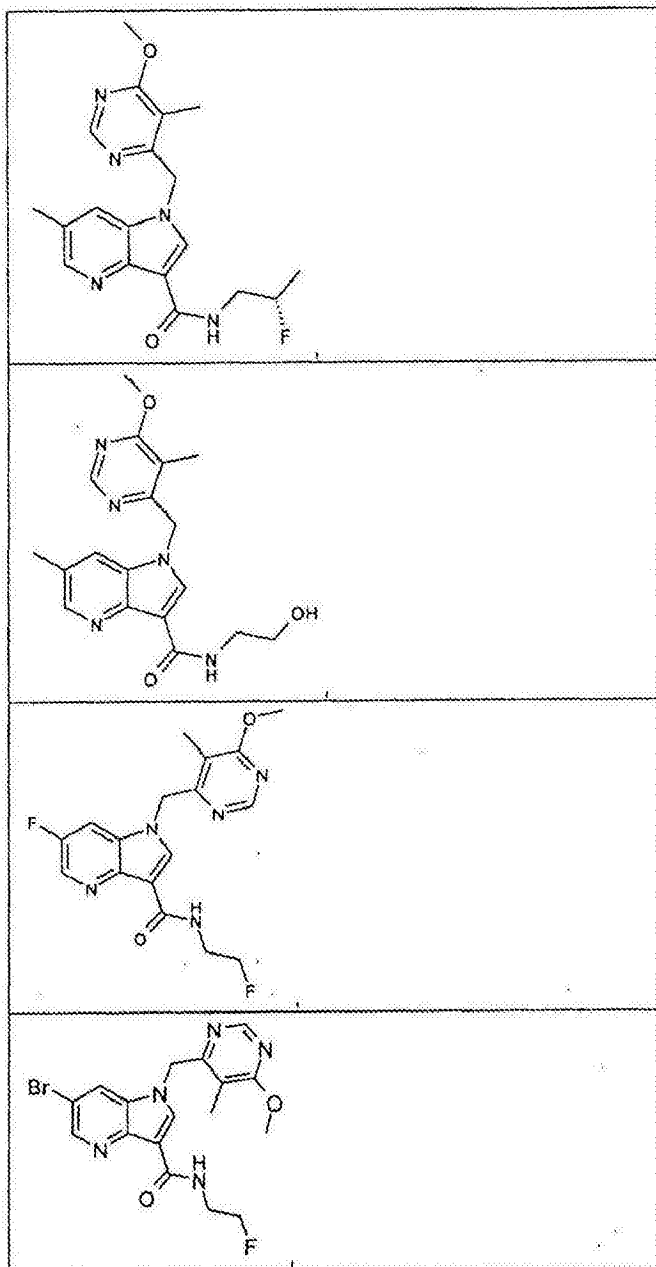
n 是 1 或 2；

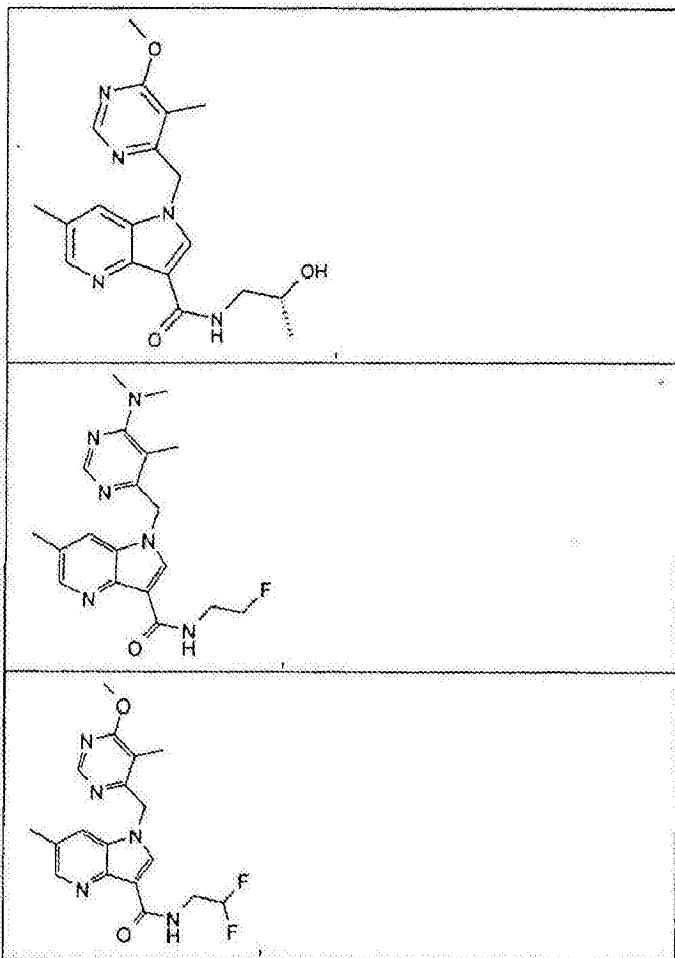
R^9 选自氟、环丙基、 $-OCH_3$ 、 $-OH$ 、 $-OCF_3$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CH(F)CH_3$ 和 $-CH(OH)CH_3$ 。

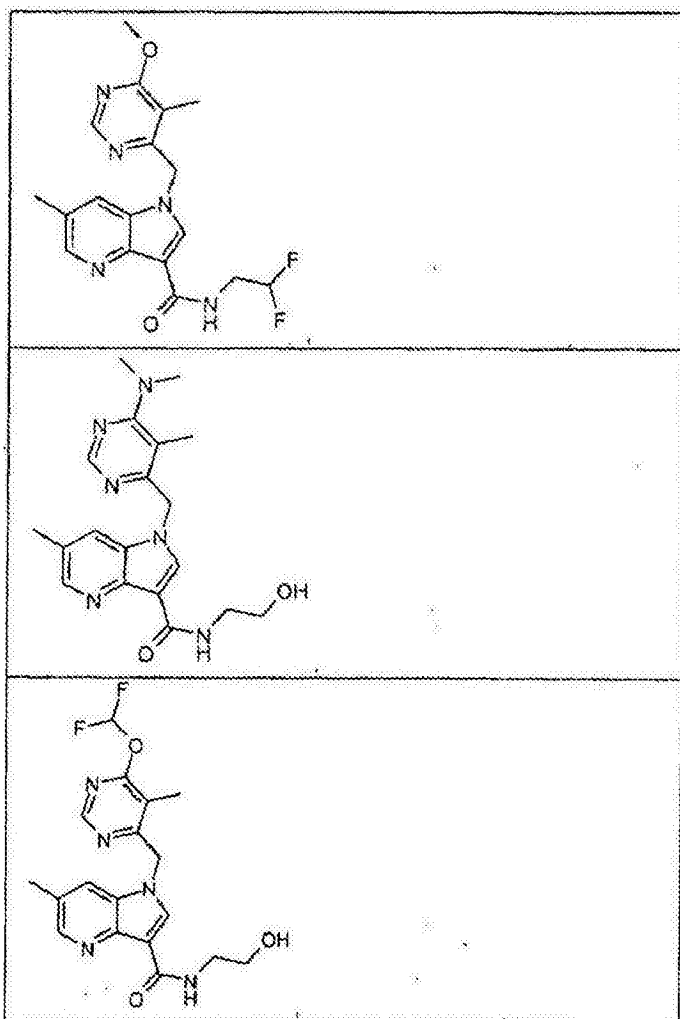
2. 权利要求 1 所述的化合物，其中所述化合物选自：

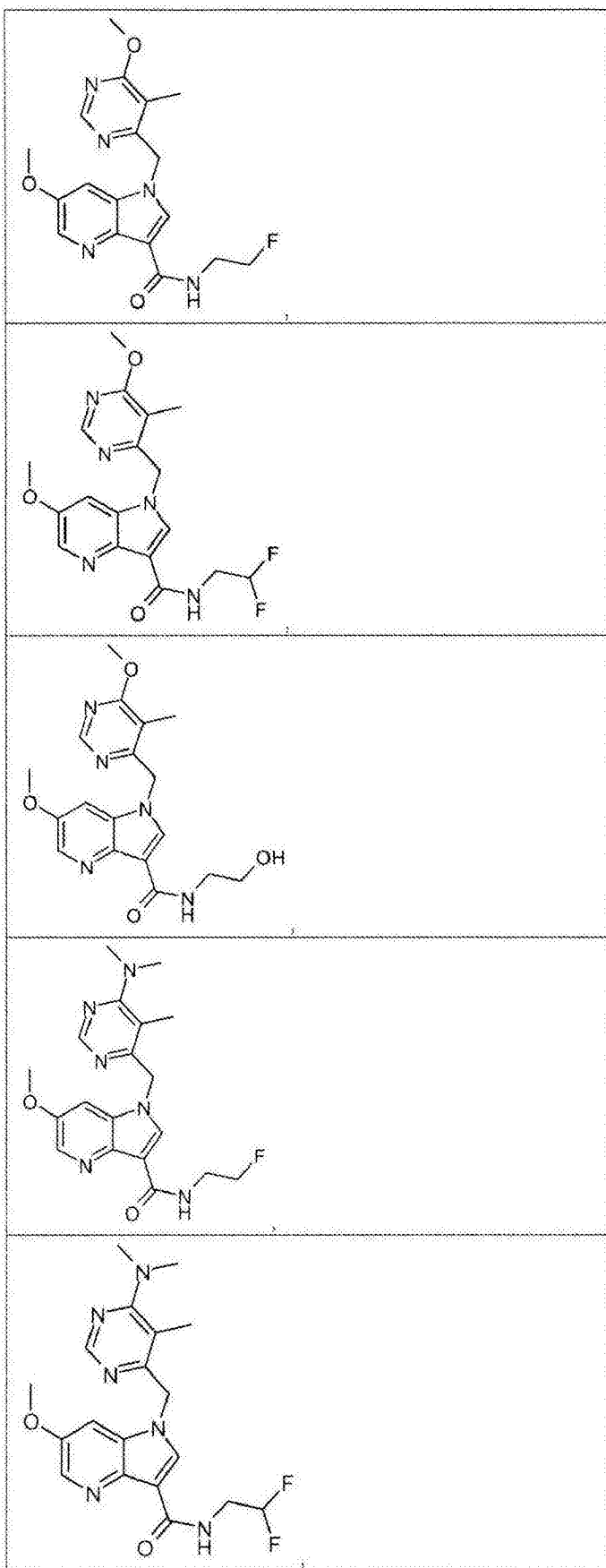


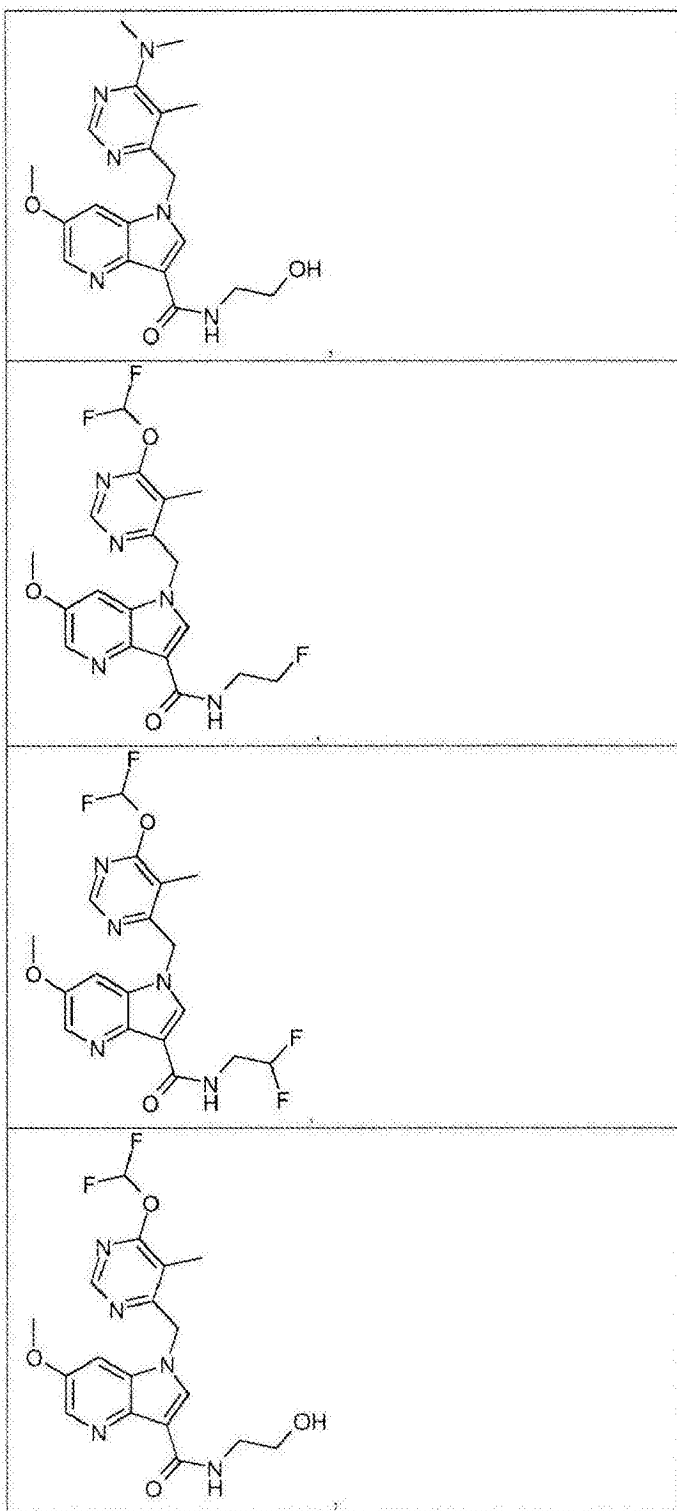


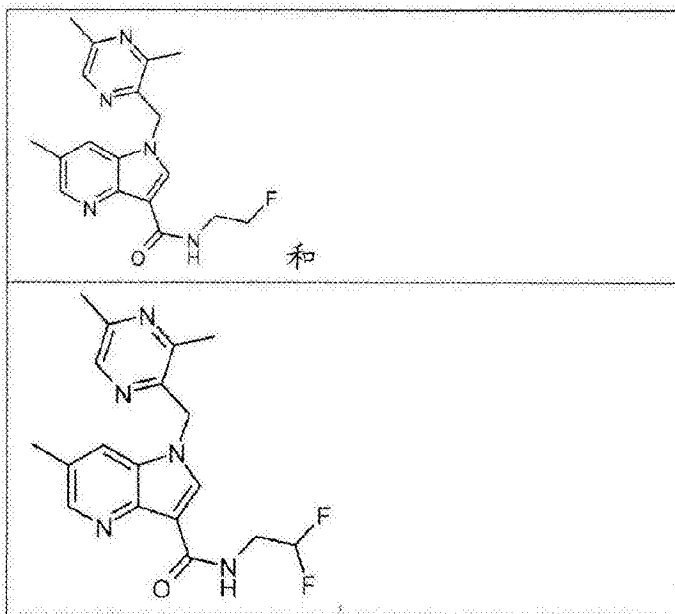












或其可药用盐。

3. 药物组合物, 其包含权利要求1所述的化合物或其可药用盐, 以及可药用载体或稀释剂。

4. 药物组合物, 其包含权利要求2所述的化合物或其可药用盐, 以及可药用载体或稀释剂。

5. 权利要求1所述的化合物或其可药用盐, 其用于治疗结核病或分枝杆菌 (*Mycobacterium*) 感染。

6. 权利要求2所述的化合物或其可药用盐, 其用于治疗结核病或分枝杆菌感染。

7. 权利要求1所述的化合物, 其用于制备用于治疗结核病或分枝杆菌感染的药物。

8. 权利要求2所述的化合物, 其用于制备用于治疗结核病或分枝杆菌感染的药物。

9. 治疗有效量的权利要求1所述的化合物或其可药用盐, 其用于制备用于治疗结核病或分枝杆菌感染的药物。

10. 治疗有效量的权利要求2所述的化合物或其可药用盐, 其用于制备用于治疗结核病或分枝杆菌感染的药物。

11. 包含权利要求1所述的化合物或其可药用盐的药物组合物, 其用于治疗结核病或分枝杆菌感染。

12. 包含权利要求2所述的化合物或其可药用盐的药物组合物, 其用于治疗结核病或分枝杆菌感染。

13. 权利要求1所述的化合物或其可药用盐, 其用于治疗表达DprE1的分枝杆菌的感染。

14. 权利要求2所述的化合物或其可药用盐, 其用于治疗表达DprE1的分枝杆菌的感染。

15. 权利要求1所述的化合物, 其用于制备用于治疗表达DprE1之分枝杆菌的感染的药物。

16. 权利要求2所述的化合物, 其用于制备用于治疗表达DprE1之分枝杆菌的感染的药物。

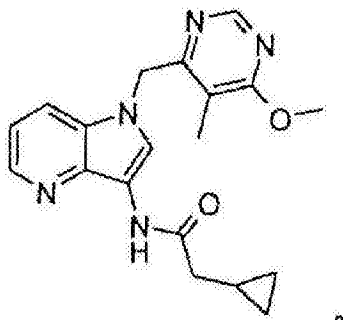
17. 治疗有效量的权利要求1所述的化合物或其可药用盐, 其用于制备用于治疗表达DprE1之分枝杆菌的感染的药物。

18. 治疗有效量的权利要求2所述的化合物或其可药用盐,其用于制备用于治疗表达DprE1之分枝杆菌的感染的药物。

19. 包含权利要求1所述的化合物或其可药用盐的药物组合物,其用于治疗表达DprE1的分枝杆菌的感染。

20. 包含权利要求2所述的化合物或其可药用盐的药物组合物,其用于治疗表达DprE1的分枝杆菌的感染。

21. 下式的化合物或其可药用盐:



22. 药物组合物,其包含权利要求21所述的化合物或其可药用盐,以及可药用载体或稀释剂。

23. 权利要求21所述的化合物或其可药用盐,其用于治疗结核病或分枝杆菌感染。

24. 权利要求21所述的化合物,其用于制备用于治疗结核病或分枝杆菌感染的药物。

25. 治疗有效量的权利要求21所述的化合物或其可药用盐,其用于制备用于治疗结核病或分枝杆菌感染的药物。

26. 包含权利要求21所述的化合物或其可药用盐的药物组合物,其用于治疗结核病或分枝杆菌感染。

27. 权利要求21所述的化合物或其可药用盐,其用于治疗表达DprE1的分枝杆菌的感染。

28. 权利要求21所述的化合物,其用于制备用于治疗表达DprE1之分枝杆菌的感染的药物。

29. 治疗有效量的权利要求21所述的化合物或其可药用盐,其用于制备用于治疗表达DprE1之分枝杆菌的感染的药物。

30. 包含权利要求21所述的化合物或其可药用盐的药物组合物,其用于治疗表达DprE1的分枝杆菌的感染。

31. 权利要求1所述的化合物或其可药用盐在制备用于治疗结核病或分枝杆菌感染的药物中的用途。

32. 权利要求2或21所述的化合物或其可药用盐在制备用于治疗结核病或分枝杆菌感染的药物中的用途。

33. 权利要求1所述的化合物或其可药用盐在制备用于治疗表达DprE1的分枝杆菌的感染的药物中的用途。

34. 权利要求2或21所述的化合物或其可药用盐在制备用于治疗表达DprE1的分枝杆菌的感染的药物中的用途。

氮杂吡啶化合物、其合成及其使用方法

背景技术

[0001] 本申请要求于2013年7月17日提交的标题为“Azaindole Compounds, Synthesis Thereof, and Methods of Using the Same”的印度临时专利申请No.3196/CHE/2013的权益,并且还要求具有相同序列号(3196/CHE/2013)的提交日期为2014年4月30日的第二和更新的临时申请的权益,两者的全部内容均在此通过引用并入。

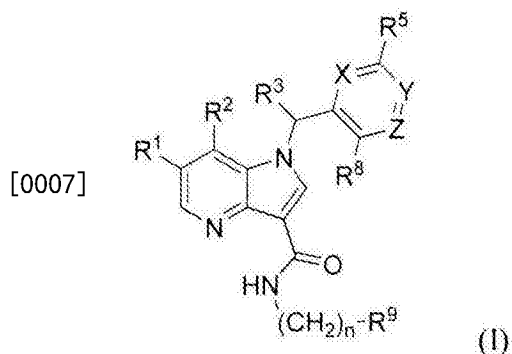
[0002] 尽管40年前已实现有效且经济的四重药物治疗方案,但是结核病(tuberculosis, TB)仍然在世界范围内引起相当大的发病率和死亡率(Raviglione, M.等Lancet 379,1902-1913(2012); World Health Organization. Global Tuberculosis Report (2012))。令人欣喜的是看到美国食品和药品管理局(US Food and Drug Administration, FDA)最近加速批准Janssen的Sirturo(贝达喹啉, bedaquiline)用于多重抗药性结核病(multidrug-resistant tuberculosis, MDR-TB),结束了具有新作用机制之新TB药物的四十年长的间歇(Cohen, J. Science 339,130-131(2013))。然而,就相关安全性风险和市场后研究的负担而言,Sirturo对疾病状况和患者生命的影响尚需进行观察。

[0003] 已知硝基-苯并噻嗪酮(nitro-benzothiazinone, BTZ)及相关化合物抑制参与十异戊二烯基磷酸基- β -D-核糖(decaprenylphosphoryl- β -D-ribose, DPR)转化成分枝杆菌细胞壁阿拉伯多糖的前体十异戊二烯基磷酸基- β -D-呋喃阿拉伯糖(decaprenylphosphoryl- β -D-arabinofuranose, DPA)的十异戊二烯基磷酸基- β -D-核糖2'-差向异构酶1(decaprenylphosphoryl- β -D-ribose 2'-epimerase1, DprE1)(Trefzer, C.等J. Am. Chem. Soc. 132,13663-13665)。这一反应由异聚体酶(heteromeric enzyme)十异戊二烯基-磷酸-核糖2'-差向异构酶(decaprenyl-phospho-ribose 2'-epimerase, DprE)催化,其经由涉及中间体(十异戊二烯基磷酸基-2-酮基- β -D-赤型-戊呋喃糖(decaprenylphosphoryl-2-keto- β -D-erythro-pentofuranose, DPX)的顺序氧化-还原机制发生。该酶由经dprE1和dprE2基因编码的两种蛋白质构成。DprE1酶是含FAD的氧化还原酶,而DprE2是NAPH依赖性还原酶(Mikusova, K.等J. Bacteriol. 187,8020-8025(2005); Makarov, V.等Science 324,801-804(2009))。

[0004] 作为具有强大抗分枝杆菌活性的DprE1共价抑制剂BTZ043的鉴定证实了该靶标用于新型TB治疗的有效性(Science 324,801-804(2009))。然而,尚需了解DprE1的非硝基抑制剂是否将引起体内效力?另外地,纳摩尔细胞活性是否是体内效力所必需的?有关DprE1抑制的这些方面的更多了解将显著影响针对该靶标的未来TB药物发现研究工作。因此,本领域中存在对靶向DprE1的另外化合物的需求。

[0005] 发明概述

[0006] 在一些方面,本发明至少部分地提供了式(I)的化合物或其可药用盐:



[0008] 其中

[0009] R^1 选自氢、氟、溴、 $-OCH_3$ 和甲基；

[0010] R^2 是氢或甲基；

[0011] R^3 是氢或甲基；

[0012] X是N或 CR^4 ；

[0013] R^4 选自氢、氟和 $-OCH_3$ ；

[0014] R^5 选自氢、氟、 $-CF_3$ 和 $-CN$ ；

[0015] Y是N或 CR^6 ；

[0016] R^6 是氢或甲基；

[0017] Z是N或 CR^7 ；

[0018] R^7 选自氢、氟、 $-OCH_3$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2CF_3$ 和 $-N(CH_3)_2$ ；

[0019] R^8 选自氢、氟、甲基和 $-OCH_3$ ；

[0020] n是1或2；

[0021] R^9 选自氟、环丙基、 $-OCH_3$ 、 $-OH$ 、 $-OCF_3$ 、 CHF_2 、 $-CH(F)CH_3$ 和 $-CH(OH)CH_3$ 。

[0022] 在一些方面，本发明至少部分地提供了一种药物组合物，其包含式(I)的化合物或其可药用盐，以及可药用载体或稀释剂。

[0023] 在一些方面，本发明提供了式(I)的化合物或其可药用盐，其用于治疗结核病或分枝杆菌(Mycobacterium)感染。

[0024] 在一些方面，本发明提供了式(I)的化合物，其用于制备用于治疗结核病或分枝杆菌感染的药物。

[0025] 在一些方面，本发明提供了一种治疗结核病或分枝杆菌感染的方法，其包括向有此需要的对象施用治疗有效量的式(I)化合物或其可药用盐。

[0026] 在一些方面，本发明提供了包含式(I)化合物或其可药用盐的药物组合物，其用于治疗结核病或分枝杆菌感染。

[0027] 在一些方面，本发明提供了式(I)的化合物或其可药用盐，其用于抑制DprE1。

[0028] 在一些方面，本发明提供了式(I)的化合物，其用于制备用于抑制DprE1的药物。

[0029] 在一些方面，本发明提供了抑制DprE1的方法，其包括施用治疗有效量的式(I)化合物或其可药用盐。

[0030] 在一些方面，本发明提供了包含式(I)化合物或其可药用盐的药物组合物，其用于抑制DprE1。

[0031] 附图简述

[0032] 图1示出了以下的体外细胞杀菌性(cidalty)和体内效力:(a)化合物3的细胞杀菌性的动力学,(b)化合物4的细胞杀菌性的动力学,(c)在小鼠TB模型中的急性效力,(d)在小鼠TB模型中的长期效力。

[0033] 图2示出了化合物3和化合物4在THP1模型中的细胞内效力。

[0034] 图3示出了(a)在以100mg/kg经口施用之后小鼠中化合物3和4的时间相对于浓度曲线(time vs concentration profile)(具有ABT),(b)在以30mg/kg经口施用之后大鼠中化合物3和4的时间相对于浓度曲线,(c)在分别以0.5mg/kg和2mg/kg静脉内(IV)推注之后大鼠中化合物3和化合物17的时间相对于浓度曲线。

[0035] 图4示出了(a)在慢性感染小鼠中以30mg/kg和100mg/kg多次经口施用之后小鼠中化合物3的时间相对于浓度曲线(具有ABT),(b)在慢性感染小鼠中以30mg/kg和100mg/kg多次经口施用之后小鼠中化合物4的时间相对于浓度曲线(具有ABT),(c)在100mg/kg下健康小鼠中化合物3的ELF PK,(d)在100mg/kg下健康小鼠中化合物4的ELF PK。

[0036] 图5示出了(a)在经Mtb慢性感染的大鼠中以100mg/kg多次经口施用之后1,4-氮杂吡啶化合物的时间相对于浓度曲线,(b)对在以每周6天经口(po)给药持续4周之后1,4-氮杂吡啶化合物在Wistar大鼠之慢性TB感染模型中的效力的总结。肺的净log10cfu降低/左叶通过从经载剂处理的对照减去肺细菌计数获得。相对于未经处理的对照,所有化合物均表现出统计学上显著的效应(*p<0.05)。

[0037] 图6示出了用于合成中间体3至9的合成方案1。

[0038] 图7示出了用于合成中间体11至15的合成方案2。

[0039] 图8示出了用于合成中间体17至21的合成方案3。

[0040] 图9示出了用于合成中间体23至25的合成方案4。

[0041] 图10示出了用于合成中间体27至30的合成方案5。

[0042] 图11示出了用于合成中间体32至33的合成方案6。

[0043] 图12示出了用于合成中间体35至37的合成方案7。

[0044] 图13示出了用于合成中间体39至44的合成方案8。

[0045] 图14示出了用于合成中间体41至47的合成方案9。

[0046] 图15示出了用于合成中间体48a和48b至50的合成方案10。

[0047] 图16示出了(a)-(d)实施例1至4中的化合物的合成。

[0048] 图17示出了(a)-(d)实施例5至8中的化合物的合成。

[0049] 图18示出了(a)-(d)实施例9至12中的化合物的合成。

[0050] 图19示出了(a)-(d)实施例13至16中的化合物的合成。

[0051] 图20示出了(a)-(d)实施例17至20中的化合物的合成。

[0052] 图21示出了(a)-(d)实施例21至24中的化合物的合成。

[0053] 图22示出了实施例25中的化合物的合成。

[0054] 图23示出了(a)-(d)实施例26至29中的化合物的合成。

[0055] 图24示出了(a)-(c)实施例30至32中的化合物的合成。

[0056] 图25示出了表2,病原体特异性。

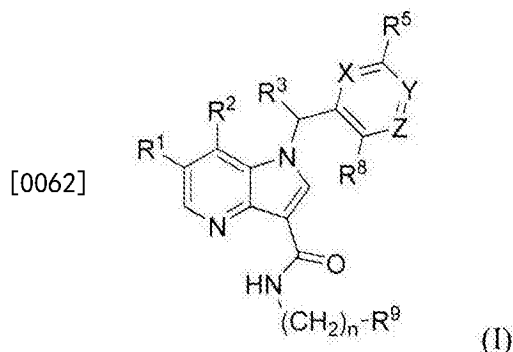
[0057] 图26示出了表3,针对药物敏感性和抗药性Mtb的活性。

[0058] 发明详述

[0059] 化合物

[0060] 在一些方面,本发明提供了式(I)的化合物,其中

[0061] 在一些方面,本发明至少部分地提供了式(I)的化合物或其可药用盐:



[0063] 其中

[0064] R^1 选自氢、氟、溴、 $-OCH_3$ 和甲基;

[0065] R^2 是氢或甲基;

[0066] R^3 是氢或甲基;

[0067] X是N或 CR^4 ;

[0068] R^4 选自氢、氟和 $-OCH_3$;

[0069] R^5 选自氢、氟、 $-CF_3$ 和 $-CN$;

[0070] Y是N或 CR^6 ;

[0071] R^6 是氢或甲基;

[0072] Z是N或 CR^7 ;

[0073] R^7 选自氢、氟、 $-OCH_3$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2CF_3$ 和 $-N(CH_3)_2$;

[0074] R^8 选自氢、氟、甲基和 $-OCH_3$;

[0075] n是1或2;

[0076] R^9 选自氟、环丙基、 $-OCH_3$ 、 $-OH$ 、 $-OCF_3$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CH(F)CH_3$ 和 $-CH(OH)CH_3$ 。

[0077] 在一些方面, R^1 和 R^2 各自是氢。

[0078] 在一些方面, R^1 是氢,并且 R^2 是甲基。

[0079] 在一些方面, R^1 选自氟、溴和甲基,并且 R^2 是氢。

[0080] 在一些方面, R^1 、 R^2 和 R^3 各自是氢。

[0081] 在一些方面, R^1 是甲基,并且 R^2 和 R^3 各自是氢。

[0082] 在一些方面,n是1,并且 R^9 是环丙基。

[0083] 在一些方面,n是1,并且 R^9 是 $-CH(F)CH_3$ 。

[0084] 在一些方面,n是1,并且 R^9 是 $-CHF_2$ 。

[0085] 在一些方面,n是1,并且 R^9 是 $-CH(OH)CH_3$ 。

[0086] 在一些方面,n是2,并且 R^9 是氟。

[0087] 在一些方面,n是2,并且 R^9 是 $-OMe$ 。

[0088] 在一些方面,n是2,并且 R^9 是 $-OH$ 。

[0089] 在一些方面,n是2,并且 R^9 是 $-OCF_3$ 。

[0090] 在一些方面,X是N, R^5 是氢,Y是N,Z是 CR^7 , R^7 是 $-OMe$,并且 R^8 是甲基。

[0091] 在一些方面, X是 CR^4 , R^4 是氢, R^5 选自氟、-CN和 $-CF_3$, Y是 CR^6 , R^6 是氢, Z是N, 并且 R^8 是-OMe。

[0092] 在一些方面, R^1 是氢, R^2 是氢, R^3 是氢, X是N, R^5 是氢, Y是N, Z是 CR^7 , R^7 是-OMe, 并且 R^8 是甲基。

[0093] 在一些方面, R^1 是甲基, R^2 是氢, R^3 是氢, X是N, R^5 是氢, Y是N, Z是 CR^7 , R^7 是-OMe, 并且 R^8 是甲基。

[0094] 在一些方面, R^1 是氟, R^2 是氢, R^3 是氢, X是N, R^5 是氢, Y是N, Z是 CR^7 , R^7 是-OMe, 并且 R^8 是甲基。

[0095] 在一些方面, R^1 是溴, R^2 是氢, R^3 是氢, X是N, R^5 是氢, Y是N, Z是 CR^7 , R^7 是-OMe, 并且 R^8 是甲基。

[0096] 在一些方面, R^1 是氢, R^2 是氢, R^3 是甲基, X是 CR^4 , R^4 是氟, R^5 是氢, Y是 CR^6 , R^6 是氢, Z是 CR^7 , R^7 是氢, R^8 是氟, n是2, 并且 R^9 是氟。

[0097] 在一些方面, R^1 是氢, R^2 是甲基, R^3 是氢, X是 CR^4 , R^4 是-OMe, R^5 是氢, Y是 CR^6 , R^6 是氢, Z是 CR^7 , R^7 是氟, R^8 是氢, n是1, 并且 R^9 是环丙基。

[0098] 在一些方面, R^1 是氢, R^2 是氢, R^3 是氢, X是N, R^5 是氢, Y是N, Z是 CR^7 , R^7 是-OMe, R^8 是甲基, n是2, 并且 R^9 是氟。

[0099] 在一些方面, R^1 是氢, R^2 是氢, R^3 是氢, X是N, R^5 是氢, Y是N, Z是 CR^7 , R^7 是-OMe, R^8 是甲基, n是1, 并且 R^9 是环丙基。

[0100] 在一些方面, R^1 是氢, R^2 是氢, R^3 是氢, X是 CR^4 , R^4 是-OMe, R^5 是氢, Y是 CR^6 , R^6 是氢, Z是 CR^7 , R^7 是氟, R^8 是氟, n是2, 并且 R^9 是氟。

[0101] 在一些方面, R^1 是氢, R^2 是氢, R^3 是氢, X是 CR^4 , R^4 是氢, R^5 是氢, Y是 CR^6 , R^6 是氢, Z是N, R^8 是-OMe, n是2, 并且 R^9 是-OMe。

[0102] 在一些方面, R^1 是氢, R^2 是氢, R^3 是氢, X是N, R^5 是氢, Y是N, Z是 CR^7 , R^7 是-OMe, R^8 是甲基, n是2, 并且 R^9 是-OMe。

[0103] 在一些方面, R^1 是甲基, R^2 是氢, R^3 是氢, X是N, R^5 是氢, Y是N, Z是 CR^7 , R^7 是-OMe, R^8 是甲基, n是2, 并且 R^9 是氟。

[0104] 在一些方面, R^1 是氢, R^2 是氢, R^3 是氢, X是N, R^5 是氢, Y是N, Z是 CR^7 , R^7 是-OMe, R^8 是甲基, n是2, 并且 R^9 是-OH。

[0105] 在一些方面, R^1 是甲基, R^2 是氢, R^3 是氢, X是N, R^5 是氢, Y是N, Z是 CR^7 , R^7 是-OMe, R^8 是甲基, n是1, 并且 R^9 是环丙基。

[0106] 在一些方面, R^1 是甲基, R^2 是氢, R^3 是氢, X是N, R^5 是氢, Y是N, Z是 CR^7 , R^7 是-OMe, R^8 是甲基, n是2, 并且 R^9 是-OMe。

[0107] 在一些方面, R^1 是氢, R^2 是氢, R^3 是氢, X是N, R^5 是氢, Y是 CR^6 , R^6 是氢, Z是 CR^7 , 并且 R^7 是 $-OCH_2CF_3$, R^8 是甲基, n是2, 并且 R^9 是氟。

[0108] 在一些方面, R^1 是氢, R^2 是氢, R^3 是氢, X是 CR^4 , R^4 是氢, R^5 是 $-CF_3$, Y是 CR^6 , R^6 是氢, Z是N, R^8 是-OMe, n是2, 并且 R^9 是氟。

[0109] 在一些方面, R^1 是氢, R^2 是氢, R^3 是氢, X是 CR^4 , R^4 是氢, R^5 是-CN, Y是 CR^6 , R^6 是氢, Z是N, R^8 是-OMe, n是2, 并且 R^9 是氟。

[0110] 在一些方面, R^1 是甲基, R^2 是氢, R^3 是氢, X是 CR^4 , R^4 是氢, R^5 是氟, Y是 CR^6 , R^6 是氢, Z是

N, R⁸是-OMe, n是2, 并且R⁹是氟。

[0111] 在一些方面, R¹是甲基, R²是氢, R³是氢, X是N, R⁵是氢, Y是N, Z是CR⁷, R⁷是-OMe, R⁸是甲基, n是1, 并且R⁹是CH(F)CH₃。

[0112] 在一些方面, R¹是甲基, R²是氢, R³是氢, X是N, R⁵是氢, Y是N, Z是CR⁷, R⁷是-OMe, R⁸是甲基, n是2, 并且R⁹是-OH。

[0113] 在一些方面, R¹是氢, R²是氢, R³是氢, X是CR⁴, R⁴是氢, R⁵是-氟, Y是CR⁶, R⁶是甲基, Z是N, R⁸是-OMe, n是2, 并且R⁹是氟。

[0114] 在一些方面, R¹是氟, R²是氢, R³是氢, X是N, R⁵是氢, Y是N, Z是CR⁷, R⁷是-OMe, R⁸是甲基, n是2, 并且R⁹是氟。

[0115] 在一些方面, R¹是溴, R²是氢, R³是氢, X是N, R⁵是氢, Y是N, Z是CR⁷, R⁷是-OMe, R⁸是甲基, n是2, 并且R⁹是氟。

[0116] 在一些方面, R¹是甲基, R²是氢, R³是氢, X是N, R⁵是氢, Y是CR⁶, R⁶是氢, Z是CR⁷, R⁷是-OCH₂CF₃, R⁸是甲基, n是2, 并且R⁹是氟。

[0117] 在一些方面, R¹是甲基, R²是氢, R³是氢, X是CR⁴, R⁴是氢, R⁵是-CF₃, Y是CR⁶, R⁶是氢, Z是N, R⁸是-OMe, n是1, 并且R⁹是CH(F)CH₃。

[0118] 在一些方面, R¹是氢, R²是氢, R³是氢, X是N, R⁵是氢, Y是N, Z是CR⁷, R⁷是-OMe, R⁸是甲基, n是2, 并且R⁹是-OCF₃。

[0119] 在一些方面, R¹是甲基, R²是氢, R³是氢, X是CR⁴, R⁴是氢, R⁵是氟, Y是CR⁶, R⁶是氢, Z是N, R⁸是-OMe, n是1, 并且R⁹是-CH(F)CH₃。

[0120] 在一些方面, R¹是氢, R²是氢, R³是氢, X是N, R⁵是氢, Y是N, Z是CR⁷, R⁷是-OMe, R⁸是甲基, n是1, 并且R⁹是环丙基。

[0121] 在一些方面, R¹是甲基, R²是氢, R³是氢, X是CR⁴, R⁴是氢, R⁵是氟, Y是CR⁶, R⁶是甲基, Z是N, R⁸是甲基, n是2, 并且R⁹是氟。

[0122] 在一些方面, R¹是甲基, R²是氢, R³是氢, X是N, R⁵是氢, Y是CR⁶, R⁶是氢, Z是CR⁷, R⁷是-OCH₂CF₃, R⁸是甲基, n是2, 并且R⁹是-OH。

[0123] 在一些方面, R¹是甲基, R²是氢, R³是氢, X是N, R⁵是氢, Y是N, Z是CR⁷, R⁷是-OMe, R⁸是甲基, n是1, 并且R⁹是-CH(OH)CH₃。

[0124] 在一些方面, R¹是甲基, R²是氢, R³是氢, X是N, R⁵是氢, Y是N, Z是CR⁷, R⁷是-N(CH₃)₂, R⁸是甲基, n是2, 并且R⁹是氟。

[0125] 在一些方面, R¹是甲基, R²是氢, R³是氢, X是N, R⁵是氢, Y是N, Z是CR⁷, R⁷是-OMe, R⁸是甲基, n是1, 并且R⁹是CHF₂。

[0126] 在一些方面, R¹是氢, R²是氢, R³是氢, X是CR⁴, R⁴是氢, R⁵是氢, Y是CR⁶, R⁶是甲基, Z是CR⁷, R⁷是氢, R⁸是甲基, n是2, 并且R⁹是氟。

[0127] 在一些方面, R¹是氢, R²是氢, R³是氢, X是CR⁴, R⁴是氟, R⁵是氢, Y是CR⁶, R⁶是氢, Z是CR⁷, R⁷是氢, R⁸是-OMe, n是1, 并且R⁹是环丙基。

[0128] 在一些方面, R¹是甲基, R²是氢, R³是氢, X是N, R⁵是氢, Y是N, Z是CR⁷, R⁷是-OCH₃, R⁸是甲基, n是1, 并且R⁹是-CHF₂。

[0129] 在一些方面, R¹是甲基, R²是氢, R³是氢, X是N, R⁵是氢, Y是N, Z是CR⁷, R⁷是-N(CH₃)₂, R⁸是甲基, n是2, 并且R⁹是-OH。

[0130] 在一些方面, R^1 是甲基, R^2 是氢, R^3 是氢, X 是N, R^5 是氢, Y 是N, Z 是 CR^7 , R^7 是 $-OCHF_2$, R^8 是甲基, n 是2, 并且 R^9 是 $-OH$ 。

[0131] 在一些方面, R^1 是 $-OCH_3$, R^2 是氢, R^3 是氢, X 是N, R^5 是氢, Y 是N, Z 是 CR^7 , R^7 是 $-OCH_3$, R^8 是甲基, n 是2, 并且 R^9 是 $-OH$ 。

[0132] 在一些方面, R^1 是 $-OCH_3$, R^2 是氢, R^3 是氢, X 是N, R^5 是氢, Y 是N, Z 是 CR^7 , R^7 是 $-OCH_3$, R^8 是甲基, n 是1, 并且 R^9 是 $-CHF_2$ 。

[0133] 在一些方面, R^1 是 $-OCH_3$, R^2 是氢, R^3 是氢, X 是N, R^5 是氢, Y 是N, Z 是 CR^7 , R^7 是 $-OCH_3$, R^8 是甲基, n 是2, 并且 R^9 是 $-OH$ 。在一些方面, R^1 是 $-OCH_3$, R^2 是氢, R^3 是氢, X 是N, R^5 是氢, Y 是N, Z 是 CR^7 , R^7 是 $-N(CH_3)_2$, R^8 是甲基, n 是2, 并且 R^9 是F。

[0134] 在一些方面, R^1 是 $-OCH_3$, R^2 是氢, R^3 是氢, X 是N, R^5 是氢, Y 是N, Z 是 CR^7 , R^7 是 $-N(CH_3)_2$, R^8 是甲基, n 是1, 并且 R^9 是 $-CHF_2$ 。

[0135] 在一些方面, R^1 是 $-OCH_3$, R^2 是氢, R^3 是氢, X 是N, R^5 是氢, Y 是N, Z 是 CR^7 , R^7 是 $-N(CH_3)_2$, R^8 是甲基, n 是2, 并且 R^9 是 $-OH$ 。

[0136] 在一些方面, R^1 是 $-OCH_3$, R^2 是氢, R^3 是氢, X 是N, R^5 是氢, Y 是N, Z 是 CR^7 , R^7 是 $-OCHF_2$, R^8 是甲基, n 是2, 并且 R^9 是F。

[0137] 在一些方面, R^1 是 $-OCH_3$, R^2 是氢, R^3 是氢, X 是N, R^5 是氢, Y 是N, Z 是 CR^7 , R^7 是 $-OCHF_2$, R^8 是甲基, n 是1, 并且 R^9 是 $-CHF_2$ 。

[0138] 在一些方面, R^1 是 $-OCH_3$, R^2 是氢, R^3 是氢, X 是N, R^5 是氢, Y 是N, Z 是 CR^7 , R^7 是 $-OCHF_2$, R^8 是甲基, n 是2, 并且 R^9 是 $-OH$ 。

[0139] 在一些方面, R^1 是 $-OCH_3$, R^2 是氢, R^3 是氢, X 是N, R^5 是氢, Y 是N, Z 是 CR^7 , R^7 是 $-OCHF_2$, R^8 是甲基, n 是2, 并且 R^9 是F。

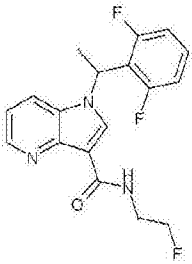
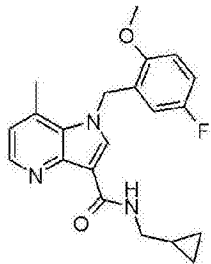
[0140] 在一些方面, R^1 是甲基, R^2 是氢, R^3 是氢, X 是N, R^5 是氢, Y 是 CR^6 , R^6 是甲基, Z 是N, R^8 是甲基, n 是2, 并且 R^9 是F。

[0141] 在一些方面, R^1 是甲基, R^2 是氢, R^3 是氢, X 是N, R^5 是氢, Y 是 CR^6 , R^6 是甲基, Z 是N, R^8 是甲基, n 是1, 并且 R^9 是 $-CHF_2$ 。

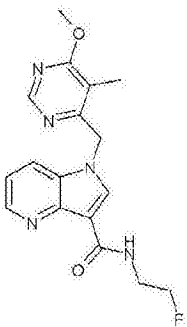
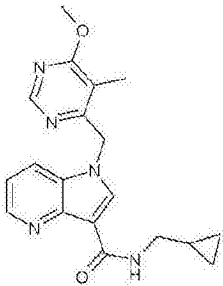
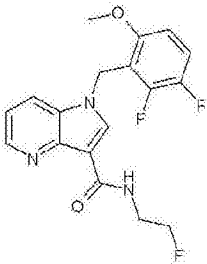
[0142] 在一些方面, 式(I)的化合物包括表1中的化合物或其可药用盐。

[0143] 表1

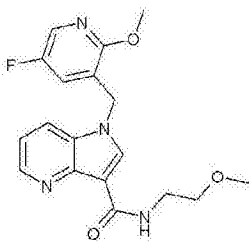
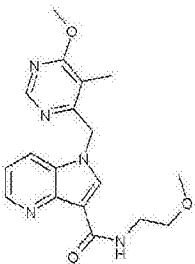
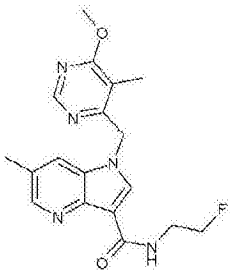
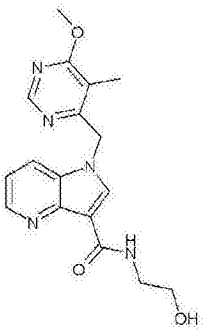
[0144]

化合物编号	化合物	Mtb MIC (μM)
1	 1-(1-(2,6-二氟苯基)乙基)-N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并 [3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	12.5
2	 1-(1-(4-氟-3-甲氧基苄基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	6.25

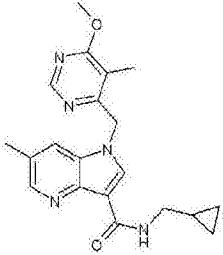
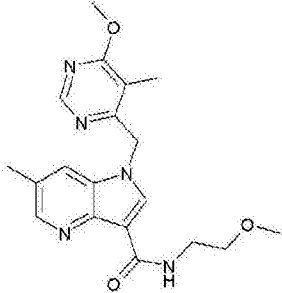
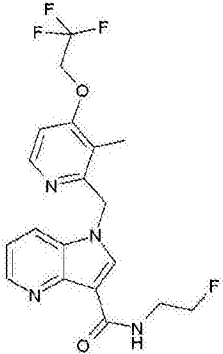
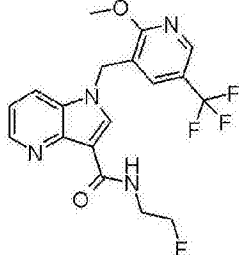
[0145]

	N-(环丙基甲基)-1-(5-氟-2-甲氧基苄基)-7-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	
3	 N-(2-氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	1.56
4	 N-(环丙基甲基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.781
5	 1-(2,3-二氟-6-甲氧基苄基)-N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.66

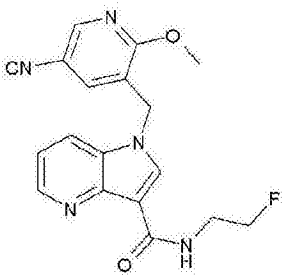
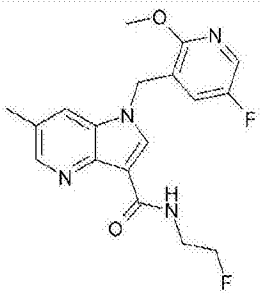
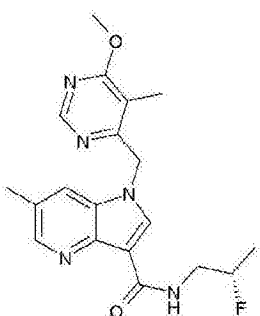
[0146]

6	 1-((5-氟-2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-甲氧基乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	1.3
7	 1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-甲氧基乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<1.33
8	 N-(2-氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.53
9	 N-(2-羟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-	13.9

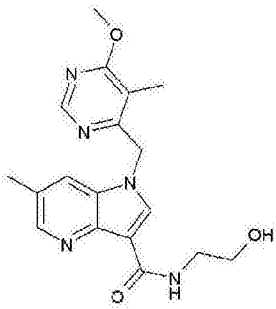
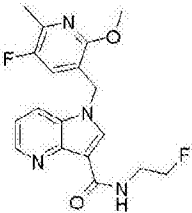
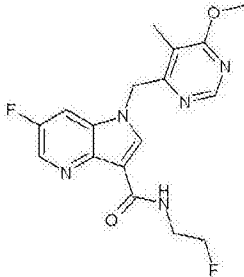
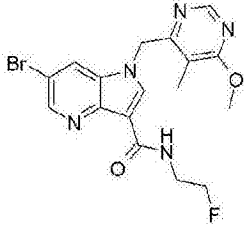
[0147]

	吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	
10	 N-(环丙基甲基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	1.56
11	 1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-甲氧基乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	0.781
12	 N-(2-氟乙基)-1-((3-甲基-4-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	6.25
13	 N-(2-氟乙基)-1-((3-甲基-4-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.53

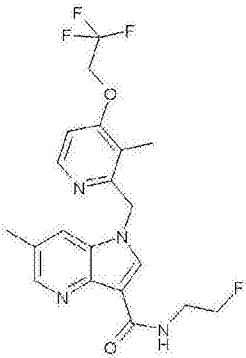
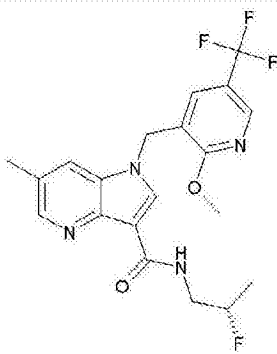
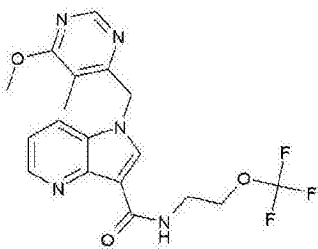
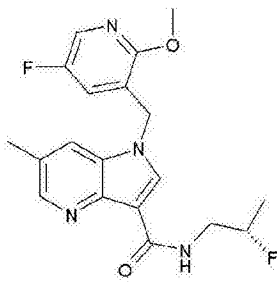
[0148]

	N-(2-氟乙基)-1-((2-甲氧基-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	
14	 1-((5-氰基-2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	3.12
15	 1-((5-氟-2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	1.56
16	 (S)-N-(2-氟丙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	0.156

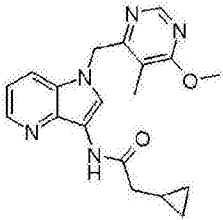
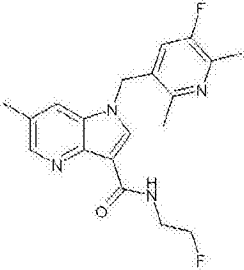
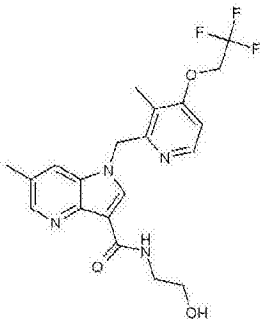
[0149]

17	 N-(2-羟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	1.56
18	 1-((5-氟-2-甲氧基-6-甲基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	0.781
19	 6-氟-N-(2-氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	6.25
20	 6-溴-N-(2-氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	0.781

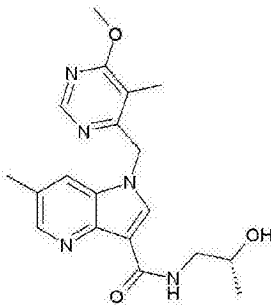
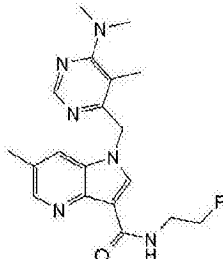
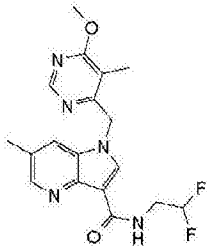
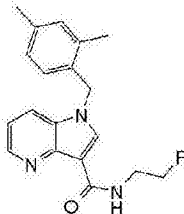
[0150]

21	 N-(2-氟乙基)-6-甲基-1-((3-甲基-4-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	1.56
22	 (S)-N-(2-氟丙基)-1-((2-甲氧基-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.391
23	 1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-(三氟甲氧基)乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	3.12
24		<0.391

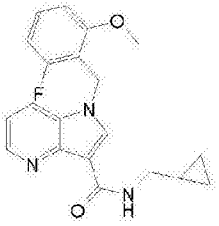
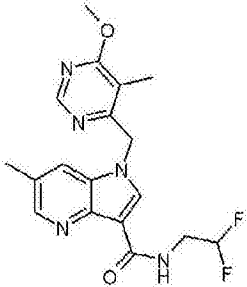
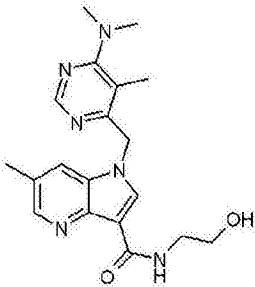
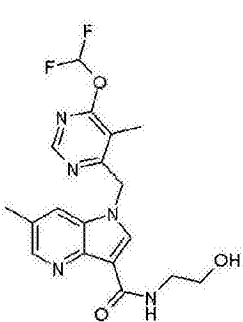
[0151]

	(S)-1-((5-氟-2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-氟丙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	
25	 2-环丙基-N-(1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-基)乙酰胺	25
26	 1-((5-氟-2,6-二甲基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	3.12
27	 N-(2-羟基乙基)-6-甲基-1-((3-甲基-4-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	3.12

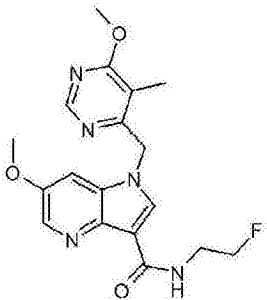
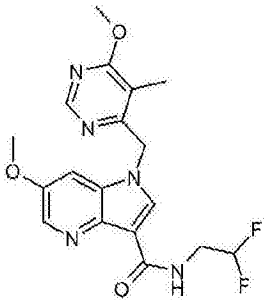
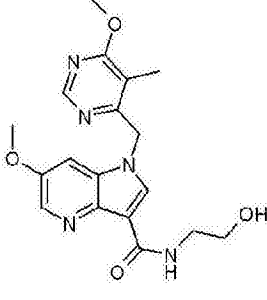
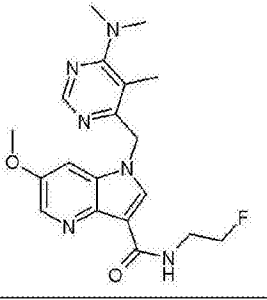
[0152]

28	 (R)-N-(2-羟基丙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	6.25
29	 1-((6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	1.56
30	 N-(2,2-二氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.391
31	 1-(2,4-二甲基苄基)-N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	1.56

[0153]

32	 N-(环丙基甲基)-1-(2-氟-6-甲氧基苄基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	1.56
33	 N-(2,2-二氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.39
34	 1-((6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-羟基乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.39
35	 1-((6-(二氟甲氧基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-羟基乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.39

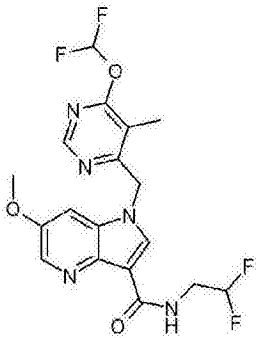
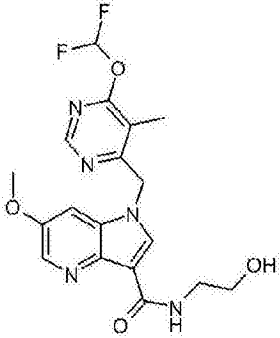
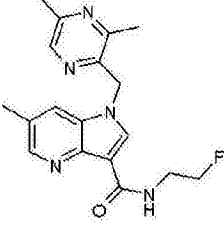
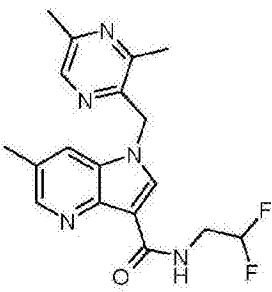
[0154]

36	 N-(2-氟乙基)-6-甲氧基-1-((6-甲氧基-5-甲基咪唑-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.39
37	 N-(2,2-二氟乙基)-6-甲氧基-1-((6-甲氧基-5-甲基咪唑-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.39
38	 N-(2-羟基乙基)-6-甲氧基-1-((6-甲氧基-5-甲基咪唑-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	0.78
39	 N-(2-氟乙基)-6-甲氧基-1-((6-甲氧基-5-甲基-1-甲基咪唑-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.39

[0155]

	1-((6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-6-甲氧基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	
40	N-(2,2-二氟乙基)-1-((6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲氧基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.39
41	1-((6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-羟基乙基)-6-甲氧基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.39
42	1-((6-(二氟甲氧基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-6-甲氧基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.39

[0156]

43	 N-(2,2-二氟乙基)-1-((6-(二氟甲氧基)-5-甲基咪唑-4-基)甲基)-6-甲氧基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.39
44	 1-((6-(二氟甲氧基)-5-甲基咪唑-4-基)甲基)-N-(2-羟基乙基)-6-甲氧基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	0.78
45	 1-((3,5-二甲基吡嗪-2-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.39
46	 N-(2,2-二氟乙基)-1-((3,5-二甲基吡嗪-2-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	<0.39

[0157]

	-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺	
--	------------------------	--

[0158] 药物组合物

[0159] 在一些方面,本发明提供了一种药物组合物,其包含式(I)的化合物或其可药用盐,以及可药用稀释剂或载体。

[0160] 用语“可药用”包括在合理医学判断的范围内适用于与人和动物的组织接触而无过度的毒性、刺激、变态反应或者其他问题或并发症,与合理的益处/风险比相称的化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0161] 式(I)的化合物可形成稳定的可药用酸盐或碱盐,并且在此情况下作为盐施用化合物可以是合适的。酸加成盐的实例包括:醋酸盐、己二酸盐、抗坏血酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、碳酸氢盐、硫酸氢盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、胆碱、柠檬酸盐、环己基氨基磺酸盐、二亚乙基二胺、乙磺酸盐、富马酸盐、谷氨酸盐、羟乙酸盐、半硫酸盐、2-羟乙基磺酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、羟基马来酸盐、乳酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、葡甲胺、2-萘磺酸盐、硝酸盐、草酸盐、扑酸盐、过硫酸盐、苯乙酸盐、磷酸盐、二磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、奎尼酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、氨基磺酸盐、磺胺酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐(对甲苯磺酸盐)、三氟醋酸盐和十一酸盐。碱盐的实例包括:铵盐;碱金属盐,例如钠盐、锂盐和钾盐;碱土金属盐,例如铝盐、钙盐和镁盐;与有机碱的盐,例如二环己基胺盐和N-甲基-D-葡萄糖胺;以及与氨基酸(例如精氨酸、赖氨酸、鸟氨酸)的盐,等。此外,碱性含氮基团可用例如以下的物质季铵化:低级烷基卤,例如甲基卤、乙基卤、丙基卤和丁基卤;二烷基硫酸酯,例如硫酸二甲酯、硫酸二乙酯、硫酸二丁酯和硫酸二戊酯;长链卤化物,例如癸基、月桂基、肉豆蔻基和硬脂基卤化物;芳烷基卤,例如苄基溴等。优选无毒的生理学上可接受的盐,但是其他盐也是可用的,例如在分离或纯化产物时。

[0162] 所述盐可通过常规方法形成,例如通过如下形成:在其中不溶解所述盐的溶剂或介质中或者在例如水的溶剂中使该产物的游离碱形式与一个或更多个当量的合适的酸反应,在真空下或者通过冷冻干燥或者通过将现存盐的阴离子交换成合适离子交换树脂上的另一阴离子将其移除。

[0163] 本发明的组合物可以是适合经口使用的形式(例如,作为片剂,锭剂,硬胶囊剂或软胶囊剂,水性或油性混悬剂,乳剂,可分散的粉剂或颗粒剂,糖浆剂或酞剂)、表面使用的形式(例如,作为乳膏、软膏、凝胶剂,或者水性或油性溶液剂或混悬剂)、通过吸入施用的形式(例如,作为细粒状的粉剂或液体气雾剂)、通过吹入施用的形式(例如,作为细粒状的粉剂),或者用于肠胃外施用的形式(例如,作为用于静脉内、皮下、肌内或肌肉内给药的无菌水性或油性溶液剂,或者作为用于经直肠给药的栓剂)。

[0164] 本发明的组合物可使用本领域中公知的常规药用赋形剂通过常规操作获得。因此,旨在用于经口施用的组合物可包含例如一种或更多种着色剂、甜味剂、矫味剂和/或防腐剂。

[0165] 用于片剂制剂的合适可药用赋形剂包括例如:惰性稀释剂例如乳糖、碳酸钠、磷酸钙或碳酸钙;造粒剂和崩解剂,例如玉米淀粉或藻酸;黏合剂,例如淀粉;润滑剂,例如硬脂

酸镁、硬脂酸或滑石；防腐剂，例如对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸丙酯；以及抗氧化剂，例如抗坏血酸。片剂制剂可以是未经包被或经包被的以改变其崩解和活性成分在胃肠道内的后续吸收，或者改善其稳定性和/或外观，在任一种情况下，均可使用本领域中公知的常规包衣剂和操作。

[0166] 用于经口使用的组合物可以是硬明胶胶囊剂的形式，其中活性成分与惰性固体稀释剂例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土混合；或者作为软明胶胶囊剂，其中活性成分与水或油（例如花生油、液体石蜡或橄榄油）混合。

[0167] 水性混悬剂一般包含精细粉化形式或者纳米级或微米级颗粒形式的活性成分，以及一种或更多种助悬剂，例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、西黄蓍胶和阿拉伯胶；分散剂或润湿剂，例如卵磷脂，或者环氧乙烷与脂肪酸的缩合产物（例如聚氧乙烯硬脂酸酯），或者环氧乙烷与长链脂族醇的缩合产物（例如十七碳乙烯氧基鲸蜡醇），或者环氧乙烷与来自脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物（例如聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯），或者环氧乙烷与长链脂族醇的缩合产物（例如十七碳乙烯氧基鲸蜡醇），或者环氧乙烷与来自脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物（例如聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯），或者环氧乙烷与来自脂肪酸和己糖醇酸酐的偏酯的缩合产物（例如聚乙烯去水山梨糖醇单油酸酯）。水性混悬剂还可包含一种或更多种防腐剂，例如对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸丙酯；抗氧化剂，例如抗坏血酸；着色剂；矫味剂；和/或甜味剂，例如蔗糖、糖精或阿斯帕坦。

[0168] 油性混悬剂可通过将活性成分混悬于植物油（例如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油）中或者混悬于矿物油（例如液体石蜡）中配制。油性混悬剂还可包含增稠剂，例如蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。可添加甜味剂（例如上文提及的那些）和矫味剂以提供可口的经口制剂。这些组合物可通过添加抗氧化剂（例如抗坏血酸）来保存。

[0169] 适合通过添加水制备水性混悬剂的可分散粉剂和颗粒剂一般包含活性成分以及分散剂或润湿剂、助悬剂和一种或更多种防腐剂。合适的分散剂或润湿剂和助悬剂的实例为上文已经例示的那些。还可存在另外的赋形剂，例如甜味剂、矫味剂和着色剂。

[0170] 本发明的药物组合物还可以是水包油型乳剂的形式。油相可以是植物油，例如橄榄油或花生油；或者矿物油，例如液体石蜡；或者这些的任意混合物。合适的乳化剂可以是，例如，天然存在的树胶，例如阿拉伯胶或西黄蓍胶；天然存在的磷脂，例如大豆、卵磷脂、来自脂肪酸和己糖醇酐（hexitol anhydride）的酯或偏酯（例如去水山梨糖醇单油酸酯）；以及所述偏酯与环氧乙烷的缩合产物，例如聚氧乙烯去水山梨糖醇单油酸酯。所述乳剂还可包含甜味剂、矫味剂和防腐剂。

[0171] 糖浆剂和酏剂可用甜味剂（例如甘油、丙二醇、山梨糖醇、阿斯帕坦或蔗糖）配制，并且还可包含缓和剂、防腐剂、矫味剂和/或着色剂。

[0172] 所述药物组合物还可以是无菌的可注射水性或油性混悬剂的形式，其可使用上文中已提及的一种或更多种合适的分散剂或润湿剂和助悬剂根据已知操作配制。无菌的可注射制剂还可以是在肠胃外可接受的无毒稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液剂或混悬剂，例如在1,3-丁二醇中的溶液剂。

[0173] 用于通过吸入施用的组合物可以是布置成作为含有细粒状的固体或液滴的气雾剂分配活性成分的常规加压气雾剂的形式。可使用常规的气雾剂抛射剂，例如挥发性氟化

烃或烃类,并且气雾剂装置方便地布置成分配计量之量的活性成分。

[0174] 有关制剂的更多信息,读者可参考Comprehensive Medicinal Chemistry (Corwin Hansch;编辑委员会主席),Pergamon Press 1990的第5卷,第25.2章。

[0175] 与一种或更多种赋形剂组合以产生单剂型的活性成分的量将必要地根据所治疗的主体和具体施用途径而变化。有关施用途径和剂量方案的更多信息,读者可参考Comprehensive Medicinal Chemistry (Corwin Hansch;编辑委员会主席),Pergamon Press 1990的第5卷,第25.3章。

[0176] 使用方法

[0177] 在一些方面,本发明提供了式(I)的化合物或其可药用盐,其用于治疗结核病或分枝杆菌感染。

[0178] 在一些方面,本发明提供了式(I)的化合物,其用于制备用于治疗结核病或分枝杆菌感染的药物。

[0179] 在一些方面,本发明提供了治疗结核病或分枝杆菌感染的方法,其包括向有此需要的对象施用治疗有效量的式(I)化合物或其可药用盐。

[0180] 用语“治疗有效量”包括将引起对象的生物或医学应答之本文中所述的共结晶体(co-crystal)的量,所述生物或医学应答例如降低或抑制与分枝杆菌感染或结核病相关的酶或蛋白质活性、改善分枝杆菌感染或结核病的症状,或者减慢或延迟分枝杆菌感染或结核病的进展。在一些实施方案中,用语“治疗有效量”包括本文中所述的共结晶体的以下量:当施用于对象时,其在对象中有效地至少部分地减轻、抑制和/或改善分枝杆菌感染或结核病,和/或降低或抑制分枝杆菌的细菌生长、复制或细菌载量。

[0181] 术语“对象”包括温血哺乳动物,例如灵长类动物、牛、绵羊、狗、猫、兔、大鼠、田鼠、海豹和小鼠。在一些实施方案中,所述对象是灵长类动物,例如人。在一些实施方案中,所述对象患有分枝杆菌感染或结核病。在一些实施方案中,所述对象需要治疗(例如,所述对象将在生物学上或医学上受益于治疗)。

[0182] 用语“抑制”包括生物活性或过程的基线活性的降低。

[0183] 用语“治疗”包括在对象中降低或抑制与分枝杆菌感染或结核病相关的酶或蛋白质活性,在对象中改善分枝杆菌感染或结核病的一种或更多种症状,或者在对象中减慢或延迟分枝杆菌感染或结核病的进展。用语“治疗”还包括在对象中降低或抑制分枝杆菌的细菌生长、复制,或者降低或抑制分枝杆菌的细菌载量。

[0184] 用语“分枝杆菌感染”包括由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)复合群(complex)的物种中的一种或更多种引起的感染,所述物种例如结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)、牛分枝杆菌(*Mycobacterium bovis*)、非洲分枝杆菌(*Mycobacterium africanum*)、卡氏分枝杆菌(*Mycobacterium canetti*)、山羊分枝杆菌(*Mycobacterium caprae*)、田鼠分枝杆菌(*Mycobacterium microti*)或海豹分枝杆菌(*Mycobacterium pinnipedii*)。在一些实施方案中,所述分枝杆菌感染是结核分枝杆菌感染。

[0185] 术语“结核病”指对象中由结核分枝杆菌复合群中的一种或更多种物种的感染引起的疾病。术语“结核病”包括潜伏性结核病(latent tuberculosis,LTBI)、非抗药性结核病、多重抗药性结核病(multiple drug resistant tuberculosis,MDR-TB)和广泛抗药性

结核病(extensively drug resistant tuberculosis,XRD-TB)。用语“潜伏性结核病”包括由结核分枝杆菌复合群中的一种或更多种物种引起的对象的感染,但是其中所述对象并非必需表现出结核病的症状。用语“非抗药性结核病”包括由结核分枝杆菌复合群中的一种或更多种物种的感染引起之对标准结核病治疗未表现出抗细菌抗性的结核病。用语“多重抗药性结核病(MDR-TB)”包括由结核分枝杆菌复合群中的一种或更多种物种的感染引起之对利福平和异烟肼具有抗性的结核病。用语“广泛抗药性结核病(XRD-TB)”包括由结核分枝杆菌复合群中的一种或更多种物种的感染引起的这样的结核病,其对利福平和异烟肼以及喹诺酮家族的任意成员具有抗性并且还还对卡那霉素、卷曲霉素和阿米卡星中的至少一种具有抗性。在一些实施方案中,结核病感染是急性的。在一些实施方案中,结核病感染是慢性的。

[0186] 在一些方面,本发明提供了式(I)的化合物或其可药用盐,其用于抑制DprE1。

[0187] 在一些方面,本发明提供了式(I)的化合物,其用于制备用于抑制DprE1的药物。

[0188] 在一些方面,本发明提供了抑制DprE1的方法,其包括使细胞与治疗有效量的式(I)化合物或其可药用盐接触。

[0189] 组合

[0190] 本文中所述的化合物可作为单独治疗施用或者可涉及一种或更多种其他物质和/或治疗。这样的共治疗可通过同时、先后或分开施用各治疗组分的方式实现。当先后或分开施用,施用第二组分的延迟应当不会使得丧失组合的有益效果。合适的种类和物质包括可用于治疗分枝杆菌感染和/或结核病的一种或更多种抗菌剂,例如,如利福平、异烟肼、吡嗪酰胺、乙胺丁醇、喹诺酮类(例如,环丙沙星、左氧氟沙星、莫西沙星和加替沙星)、氨基糖甙类(例如,链霉素、卡那霉素和阿米卡星)、多肽类(例如,卷曲霉素、紫霉素和恩维霉素)、利福布丁、克拉霉素、利奈唑胺、氨硫脲、硫利达嗪、精氨酸、维生素D和R207910。

实施例

[0191] 所有的无水溶剂、用于色谱的试剂级溶剂以及起始材料均购自Sigma Aldrich Chemical Co.或Fisher Scientific。水是经Milli-Q水系统(Millipore Corp.,Bedford,MA)蒸馏和纯化的。纯化化合物的一般性方法涉及使用从Grace Purification systems购买的二氧化硅柱(silica cartridge)。在经预涂覆的Merck 60F254硅胶板上通过TLC监测反应并使用UV光(254nm)可视化。所有的化合物均通过HPLC分析纯度并使用Bruker 300MHz NMR和/或Bruker 400MHz NMR光谱仪通过¹H NMR进行表征。化学位移以相对于对应谱中残余溶剂峰的ppm(δ)报道;氯仿 δ 7.26,甲醇 δ 3.31,DMSO- d_6 δ 3.33,偶合常数(J)以赫兹(Hz)报道(其中s=单峰、bs=宽单峰、d=双峰、dd=双重双峰、bd=宽双峰、ddd=双峰的双重双峰、t=三重峰、tt=三重的三重峰、q=四重峰、m=多重峰)并使用ACD NMR数据处理软件进行分析。质谱数值以m/z报道。除非另有指出,否则所有反应均在氮气下进行。在旋转蒸发器上在真空下去除溶剂。

[0192] 缩写:NMP=N-甲基吡咯烷;HCl=盐酸;DMF=N,N-二甲基甲酰胺;NaH=氢化钠。EI=电喷射电离;HRMS=高分辨率质谱。

[0193] 图6示出了用于合成中间体3至9的合成方案1。

[0194] 中间体3:在30分钟内,向NaH(60%)在无水DMF中的搅拌混悬液逐滴添加丙二酸二乙酯。在1小时内向该混合物分批添加经取代的2-氯-3-硝基吡啶,并在室温下将内容物搅

拌90分钟。在30分钟内将内容物加热至80℃并维持1小时。在真空下使DMF从反应混合物中蒸发并用水稀释残余物。将反应混合物的pH调节至5至6的范围并用乙酸乙酯萃取。将有机层用水、盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并通过旋转蒸发浓缩以得到橙色的油状液体。将该化合物原样用于下一步骤而无需进一步纯化。

[0195] 中间体4:向中间体3在DMSO:H₂O中的搅拌溶液添加LiCl,并将反应混合物在80℃下搅拌16小时。然后,将反应混合物倒入水中并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。使用在己烷中的乙酸乙酯通过硅胶柱色谱纯化粗制产物以获得中间体4。

[0196] 中间体5:向中间体4在DMF中的搅拌溶液添加DMF-DMA,并将反应混合物在80℃下搅拌16小时。在反应完成之后,将反应混合物倒入冰水中并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩以产生中间体5。将粗制材料用于下一步骤而无需纯化。

[0197] 中间体6:向中间体5在乙酸中的搅拌溶液立即添加Fe粉,并将混合物在60℃下搅拌2小时。然后,将反应混合物用甲醇稀释并通过硅藻土(celite)过滤。在减压下浓缩滤液。使用乙酸乙酯通过凝胶柱色谱纯化粗制产物以获得作为固体的中间体6。

[0198] 中间体7:向中间体6和K₂CO₃在DMF中的搅拌溶液添加芳基卤,并将反应混合物在室温下搅拌16小时。将得到的混合物倒入水中并用二氯甲烷萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩以产生作为固体或液体的中间体7。

[0199] 或者

[0200] 在氮气氛下,将中间体6和K₂CO₃置于无水DMF中。向其添加芳基卤。将得到的反应物在80℃下搅拌3小时。将DMF蒸发至干,用水稀释并用DCM萃取。在combiflash系统上进行纯化以得到作为固体或液体的中间体7。

[0201] 或者

[0202] 在氮气氛下,将中间体6溶解于DMF中。在0℃下,向其添加NaH。5分钟后,添加芳基卤。将得到的反应在室温下搅拌6小时。将反应物倒在冰水上,添加乙酸乙酯。将有机层分离,用盐水洗涤并浓缩。在combiflash系统上进行纯化以得到作为固体或液体的中间体7。

[0203] 中间体8:向中间体7在乙醇中的溶液添加在水中的氢氧化锂。将反应混合物在室温下搅拌5小时。在减压下使溶剂蒸发以产生作为灰白色固体的中间体8。

[0204] 或者

[0205] 向中间体7在甲醇中的溶液添加在水中的氢氧化锂。将反应混合物在60℃下搅拌3小时。在减压下使溶剂蒸发,用乙酸中和以产生作为灰白色固体的中间体8。

[0206] 图7示出了用于合成中间体11至15的合成方案2。

[0207] 中间体11:在0℃下,向2-氯-5-(三氟甲基)吡啶(5g,27.60mmol)在甲醇中的溶液添加甲醇钠(2.98g,55.20mmol)。将反应混合物在室温下搅拌6小时。然后,在真空下去除溶剂。将得到的混合物倒入水(100mL)中,添加水并用乙酸乙酯(2×50mL)萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩以产生作为浅黄色液体的2-甲氧基-5-(三氟甲基)吡啶(11)(4g,82.1%)。

[0208] 中间体12:在0℃下,向2-甲氧基-5-(三氟甲基)吡啶(4g,22.58mmol)溶解于乙腈(50mL)中的搅拌溶液分批添加NBS(6g,33.87mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜。然

后,在真空下去除溶剂,用水(100mL)淬灭并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩以产生作为浅黄色液体的3-溴-2-甲氧基-5-(三氟甲基)吡啶(12)(2g,34.7%)。

[0209] 中间体13:向3-溴-2-甲氧基-5-(三氟甲基)吡啶(23)(1.2g,4.68mmol)溶解于甲醇(10mL)/甲苯(10mL)之混合物中的搅拌溶液添加三乙胺(1mL,7.65mmol)、[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)(70mg,0.102mmol)。在80℃下于C0[5kg]下将反应混合物碳化12小时。然后,通过硅藻土过滤溶剂并在真空下浓缩溶剂,得到粗制品。通过使用硅胶色谱用在己烷中的30%乙酸乙酯进行洗脱纯化粗制化合物以获得作为液体的2-甲氧基-5-(三氟甲基)烟酸甲酯(13)(0.5g,45.4%)。

[0210] 中间体14:在0℃下,向2-甲氧基-5-(三氟甲基)烟酸甲酯(13)(0.5g,2.12mmol)溶解于DCM中的溶液添加DIBAL-H(6.38mL,在甲苯中1M)。将反应混合物在室温下搅拌2小时。然后,将反应混合物用饱和的NH₄Cl溶液淬灭并用乙酸乙酯(2×25mL)萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩以产生作为浅黄色液体的(2-甲氧基-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)甲醇(14)(0.4g,90%)。

[0211] 中间体15:向(2-甲氧基-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)甲醇(14)(0.4g,1.93mmol)溶解于DCM中的溶液添加亚硫酸氯(0.38mL,3.86mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2小时。在减压下使溶剂蒸发,将反应混合物倒入水(50mL)中并用DCM(2×50mL)萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩以产生作为液体的3-(氯甲基)-2-甲氧基-5-(三氟甲基)吡啶(15)。(产率0.3g,69.76%)

[0212] 图8示出了用于合成中间体17至21的合成方案3。

[0213] 中间体17:在0℃下,向2,6-二氯-5-氟烟酸(16)(5g,23.8mmol)在甲醇(50mL)中的溶液逐滴添加亚硫酸氯(5.66g,47.62mmol),并添加2滴DMF[观察到剧烈起泡]。将混合物在室温下搅拌3小时。向其添加甲醇并将反应混合物在室温下搅拌2小时。在减压下浓缩反应混合物,将混合物倒入冰冷水(20mL)中并用二氯甲烷(2×50mL)萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,并在减压下使溶剂蒸发以产生2,6-二氯-5-氟烟酸甲酯(17)(5g,93.8%)。

[0214] 中间体18:在110℃下,将2,6-二氯-5-氟烟酸甲酯(17)(3.5g,15.62mmol)、三甲基环硼氧烷(1.96g,15.62mmol)、1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁-二氯化钯(II)二氯甲烷(1.276g,1.562mmol)和碳酸铯(15.27g,46.86mmol)的混合物加热过夜。将混合物冷却至室温,用水稀释并用EtOAc萃取。将合并的有机相用水,接着是盐水洗涤,然后经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。使用0%至30%EtOAc/庚烷的梯度通过快速凝胶色谱纯化残余物以提供0.8g作为无色固体的2-氯-5-氟-6-甲基烟酸甲酯(18)(0.8g,25%)。

[0215] 中间体19:在0℃下,向2-氯-5-氟-6-甲基盐酸甲酯(18)(0.8g,3.92mmol)在THF(35mL)中的搅拌溶液添加甲醇钠(0.42g,7.85mmol)。将混合物在60℃下搅拌6小时并冷却至室温。然后,将混合物倒入水中并用二氯甲烷(2×50mL)萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,并在减压下使溶剂蒸发。通过在硅胶上进行的柱色谱用在己烷中的10%乙酸乙酯洗脱纯化残余物以得到作为白色固体的5-氟-2-甲氧基-6-甲基烟酸甲酯(19)(250mg,32%)。

[0216] 中间体20:在0℃下,向5-氟-2-甲氧基-6-甲基烟酸甲酯(19)(0.25g,mmol)在MDC中的溶液逐滴添加DIBAL-H(2.5mL,在甲苯中1M)。将反应混合物在室温下搅拌2小时。将反应用饱和的氯化铵溶液淬灭并用DCM(2×50mL)萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,并在

减压下使溶剂蒸发以产生作为液体的(5-氟-2-甲氧基-6-甲基吡啶-3-基) 甲醇(20) (0.2g, 90%)。

[0217] 中间体21:向(5-氟-2-甲氧基-6-甲基吡啶-3-基) 甲醇(20) (0.2g, 1.16mmol) 在DCM中的溶液添加亚硫酸氯(0.278g, 2.33mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2小时。在减压下使溶剂蒸发,将反应混合物倒入水(50mL)中并用DCM(2×50mL)萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩以获得作为浅黄色液体的3-(氯甲基)-5-氟-2-甲氧基-6-甲基吡啶(21) (0.2g) 90%。

[0218] 图9示出了用于合成中间体23至25的合成方案4。

[0219] 中间体23:向6-氯-5-甲基嘧啶-4-羧酸乙酯(35) (0.9g, 4.48mmol) 溶解于二氧六环(20ml)中的溶液添加二异丙基乙胺(3ml, 22.43mmol)和在THF中的二甲胺(1M, 22.43ml, 22.43mmol)。将反应混合物加热至80℃保持16小时。然后,将混合物冷却至室温,用水稀释并用EtOAc(2×50mL)萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩以产生作为浅黄色液体的6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-羧酸乙酯(23);0.4g (43%)。

[0220] 中间体24:在0℃下,向6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-羧酸乙酯(23) (0.4g, 1.91mmol)在MeOH(10mL)中的搅拌溶液分批添加NaBH₄(0.14g, 3.82mmol),并将混合物在室温下搅拌16小时。在减压下使溶剂蒸发,将反应混合物倒入水(20mL)中并用乙酸乙酯(3×30mL)萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩以产生6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基) 甲醇(24);0.1g (31.3%)。

[0221] 中间体25:向(6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基) 甲醇(24) (0.1g, 0.60mmol)在DCM中的溶液添加亚硫酸氯(0.14g, 1.1961mmol)。将反应混合物在室温下搅拌4小时。在减压下去除溶剂以获得作为白色固体的6-(氯甲基)-N,N,5-三甲基嘧啶-4-胺(25);0.1g, 90.9%)。

[0222] 图10示出了用于合成中间体27至30的合成方案5。

[0223] 中间体27:将2-氯-6-三氟甲基吡啶(1.0g, 5.5mmol)的THF溶液(10ml)缓慢地添加至LDA(4.58ml, 8.2mmol)在无水THF(15ml)中的冷(在-78℃下)溶液。将得到的混合物在-78℃下搅拌4小时,之后添加在THF(4ml)中的甲基碘(0.705ml, 0.0082mol)。在-75℃下继续搅拌4小时,之后在相同温度下用水(10ml)淬灭,并在2小时后于0℃下进一步添加水(15ml)。将粗制产物用乙酸乙酯萃取,用盐水溶液洗涤,将合并的有机层经Na₂SO₄干燥,并在真空中去除溶剂以获得粗制固体,通过在硅胶上进行快速柱色谱(乙酸乙酯/石油醚(0%至10%)纯化粗制固体以获得作为灰白色固体的27;(0.6g, 33%)。

[0224] 中间体28:在微型釜(tinyclave)设备中,将2-氯-3-甲基-6-(三氟甲基)吡啶(27) (0.5g, 2.5mmol)溶解于MeOH(10ml)中并添加经氮气脱气15分钟的TEA(0.5ml, 3.7mmol),之后添加Pd(dppf)Cl₂·DCM络合物(0.061g, 0.075mmol)。将微型釜用CO气体(75Psi, 5kg)填充,并在75℃下加热16小时。将混合物通过硅藻土过滤并用甲醇洗涤。将合并的滤液浓缩并通过在硅胶上进行快速柱色谱(乙酸乙酯/己烷(0%至10%)纯化粗制品以获得3-甲基-6-(三氟甲基)吡啶甲酸甲酯(28):灰白色固体(280mg, 49.9%)。

[0225] 中间体29:在氮气下,向在-78℃下的(3-甲基-6-(三氟甲基)吡啶甲酸甲酯(0.28g)在DCM(10ml)中的溶液添加DIBAL-H(1.92ml, 1.91mmol)。使反应混合物达到室温并搅拌1小时。将RM用氯化铵溶液淬灭并用乙酸乙酯(330mL)萃取。将合并的有机层用盐水洗

涤,经Na₂SO₄干燥并浓缩以提供3-甲基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基) 甲醇(29)。将粗制醇直接用于下一步骤(180mg,72%)。

[0226] 中间体30:向3-甲基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基) 甲醇(29) (0.18g,0.94mmol) 在DCM (5ml) 中的溶液添加亚硫酸氯(0.112g,0.95mmol) 并在室温下搅拌2小时。在反应完成之后,将混合物浓缩并用己烷洗涤以获得2-(氯甲基)-3-甲基-6-(三氟甲基)吡啶(30)。将粗制固体直接用于下一步骤(180mg,91.8%)。

[0227] 图11示出了用于合成中间体32至33的合成方案6。

[0228] 中间体32:在0℃下,向1-(2,4-二甲基苯基) 乙-1-酮(1.0g,0.0067mol) 在MeOH (10ml) 中的搅拌溶液逐滴添加NaBH₄ (0.77g,0.020mol) 。将所得混合物在室温下搅拌1小时。在反应完成之后,将混合物用冰冷水(2.5ml) 淬灭并在减压下浓缩溶剂。将反应混合物用水稀释并用EtOAc (3×15ml) 萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。使粗制混合物恰好通过硅胶垫并用3:1己烷:EtOAc洗涤以获得作为白色固体的标题化合物32(0.9g,88.8%)。

[0229] 中间体33:在室温下,向1-(2,4-二甲基苯基) 乙-1-醇(32) (0.9g,0.006mol) 在CH₂Cl₂ (10ml) 中的搅拌溶液添加三溴化磷(0.85ml,0.009mol) 。于相同温度下再继续搅拌2小时。将混合物用水淬灭并用CH₂Cl₂ (3×15ml) 萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩以得到作为浅橙色固体的标题化合物(33) (900mg,产率70.8%)。

[0230] 图12示出了用于合成中间体35至37的合成方案7。

[0231] 中间体35:向2,5-二溴-3-甲基吡啶(1) (3g,12.1mmol) 在甲醇(20ml) 中的溶液添加甲醇钠(2M,20mL) 并在100℃下回流2小时。将反应混合物倒在冰水上,用盐酸水溶液(1M) 中和并用二氯甲烷(2×15ml) 萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩以得到5-溴-2-甲氧基-3-甲基-吡啶(35),其无需进一步纯化即可使用(1.9g,77.8%)。

[0232] 中间体36:向5-溴-2-甲氧基-3-甲基-吡啶(1.0g,5.0mmol) 在DMF (10ml) 中的溶液添加CuCN(0.534g,6.0mmol),并将得到的混合物在回流下加热28小时。在冷却至室温之后,将混合物用EtOAc稀释并用10%氨溶液,之后是水和盐水溶液洗涤。将有机层分离,经MgSO₄干燥并在减压下蒸发。通过快速色谱(5%EtOAc/己烷) 纯化残余物以得到5-氰基-2-甲氧基-3-甲基-吡啶(36) (0.68g,93%)。

[0233] 中间体37:向5-氰基-2-甲氧基-3-甲基-吡啶(36) (0.25g,1.7mmol) 在CCl₄ (10mL) 中的溶液添加N-溴代琥珀酰亚胺(346mg,1.7mmol) 和2',2'-偶氮二异丁腈(13.0mg,0.085mmol) 。将反应混合物在80℃下搅拌1小时。将反应混合物过滤并浓缩滤液以获得作为黄色固体的5-(溴甲基)-6-甲氧基烟腈(37); (180mg,46.9%)。

[0234] 图13示出了用于合成中间体39至44的合成方案8。

[0235] 中间体39:在室温下,向38(300g,2.94mol) 和丙酸乙酯(429.4g,2.94mol) 在1.8L 无水EtOH中的溶液添加NaOEt (300g,4.41mol) 。将混合物搅拌过夜。在冷却之后,用6N HCl 将混合物调节至pH=7。在真空下浓缩混合物。将残余物用水稀释,然后用EtOAc萃取。将合并的EtOAc层经Na₂SO₄干燥并在真空下浓缩以提供作为红色液体的产物39(400g,67%),其无需进一步纯化即可用于下一步骤。

[0236] ¹H NMR: (400MHz,CDCl₃) δppm 4.103-4.386 (m,5H); 1.246-1.439 (m,9H)。

[0237] 中间体40:将39 (300g, 1.485mol)、醋酸甲脒 (formimidamide acetate) (225g, 2.12mol) 和NaOEt (160g, 2.36mol) 在EtOH (2000mL) 中的混合物加热回流12小时。在冷却之后,用6N HCl将混合物调节至pH=7。在真空下浓缩混合物。将残余物用水稀释,然后用DCM萃取。将合并的DCM层用水、盐水洗涤并在真空下浓缩。通过在硅胶上进行色谱 (PE:EtOAc=1:1-纯EtOAc) 纯化粗制产物以获得作为白色固体的产物 (80g, 产率30%)。

[0238] ES+MS m/z: 183.0 (M+1). ^1H NMR: (400MHz, CDCl_3) δ ppm 8.126 (s, 1H); 4.345-4.399 (m, 2H); 2.242 (s, 3H); 1.337-1.373 (t, 3H).

[0239] 中间体41:将40 (80g, 0.44mol) 在 POCl_3 (800g) 中的溶液加热回流4小时。在冷却之后,于减压下去除过量的 POCl_3 以得到作为黑色油状物的41 (88g粗制品, 产率100%)。

[0240] ES+MS m/z: 201.0 (M+1). ^1H NMR: (400MHz, CDCl_3) δ ppm 8.954 (s, 1H); 4.492-4.545 (m, 2H); 2.591 (s, 3H); 1.454-1.490 (t, 3H).

[0241] 中间体42:在室温下向41 (88g, 0.4mol) 在 CH_3OH (1L) 中的溶液添加 CH_3ONa (40g, 0.74mol) 并将混合物在室温下搅拌过夜。用6N HCl将混合物调节至pH=7。在真空下浓缩混合物。将残余物用水稀释,然后用EtOAc萃取。将合并的EtOAc层经无水 Na_2SO_4 干燥并在真空下浓缩。通过在硅胶上进行色谱 (PE:EtOAc=5:1) 纯化粗制产物以获得作为黄色油状物的42 (10g, 产率14%)。

[0242] ES+MS m/z: 197.0 (M+1). ^1H NMR: (400MHz, CDCl_3) δ ppm 8.626 (s, 1H), 4.357-4.410 (m, 2H), 3.969 (s, 3H), 2.279 (s, 3H), 1.344-1.380 (t, 3H).

[0243] 中间体43:在0℃下向42 (10g, 0.057mol) 在 CH_3OH (100mL) 中的溶液添加 NaBH_4 (10g, 0.29mol), 使得到的反应物温热至室温并搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩并在水和EtOAc之间分配。用EtOAc萃取水层。将合并的EtOAc层经 Na_2SO_4 干燥,过滤并在真空下浓缩以获得作为白色固体的43 (7.5g, 产率85%)。

[0244] ES+MS m/z: 155.0 (M+1). ^1H NMR: (400MHz, CDCl_3) δ ppm 8.629 (s, 1H), 4.641 (s, 2H), 4.007 (s, 3H), 2.028 (s, 3H).

[0245] 中间体44:在0℃下。向43 (7.5g, 48.7mmol) 在DCM (150mL) 中的溶液添加 SOCl_2 (75g, 0.64mol)。使得到的反应物温热至室温并搅拌2小时。TLC显示起始材料被消耗。在真空下浓缩混合物以提供作为黄色固体的44 (8.3g, 产率99%)。

[0246] ES+MS m/z: 173.0 (M+1). ^1H NMR: (400MHz, CDCl_3) δ ppm 8.877 (s, 1H), 4.992 (s, 2H), 4.207 (s, 3H), 2.317 (s, 3H).

[0247] 图14示出了用于合成中间体41至47的合成方案9。

[0248] 中间体41:将6-羟基-5-甲基嘧啶-4-羧酸乙酯40 (100g, 549mmol) 在 POCl_3 (1000mL) 中的溶液在密封管中于100℃下加热回流5小时。在冷却至室温之后,于减压下去除过量的 POCl_3 ,然后用冰水淬灭并用EtOAc萃取。将合并的有机相用水、盐水洗涤,并在减压下浓缩以获得作为黑色液体的6-氯-5-甲基嘧啶-4-羧酸乙酯41。产率:80g (72%)。将该材料原样用于下一步骤而无需纯化。

[0249] 中间体45:向6-氯-5-甲基嘧啶-4-羧酸乙酯 (41) (80g, 398.0mmol) 溶解于二氧六环 (800mL) 中的溶液添加二异丙基乙胺 (330mL, 1990.0mmol) 和在THF中的二甲胺 (2M, 600mL, 1196.0mmol)。将反应混合物加热至80℃保持16小时。然后,将混合物冷却至室温,用水稀释并用EtOAc (2×50mL) 萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压

下浓缩以产生作为浅黄色液体的6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-羧酸乙酯(45);产率:60g(72%)。

[0250] 中间体46:在0℃下向6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-羧酸乙酯(45)(60.0g, 287.0mmol)在EtOH(600mL)中的搅拌溶液分批添加NaBH₄(21.82g, 574.0mmol),并将混合物在室温下搅拌16小时。在减压下使溶剂蒸发,将反应混合物倒入水(200mL)中并用乙酸乙酯(3×100mL)萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩以产生(6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲醇(46);47g(97%)。

[0251] 中间体47:向(6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲醇(46)(40g, 239mmol)在DCM中的溶液添加亚硫酸氯(35mL, 478mmol)。将反应混合物在室温下搅拌4小时。在减压下去除溶剂以获得作为褐色固体的6-(氯甲基)-N,N,5-三甲基嘧啶-4-胺(47);产率:40g(90.9%);

[0252] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ=8.69(s, 1H), 4.86(s, 2H), 3.27(s, 6H), 2.35(s, 3H)。

[0253] 图15示出了用于合成中间体48a和48b至50的合成方案10。

[0254] 中间体48b:将6-羟基-5-甲基嘧啶-4-羧酸乙酯40(85g, 466mmol)、氯二氟乙酸钠盐(106.7g, 699mmol)、碳酸钠(98.9g, 933mmol)、乙腈(1500mL)和DMF(425mL)置于在圆底瓶(5升)中。将反应混合物加热至90℃保持16小时。通过LCMS监测反应的进展。将反应混合物冷却至室温,然后用饱和氯化铵中和。在真空下去除溶剂,并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱洗脱(3%至4%乙酸乙酯)纯化粗制化合物以获得作为浅黄色液体的6-(二氟甲氧基)-5-甲基嘧啶-4-羧酸乙酯48b。产率:14g(13%)。

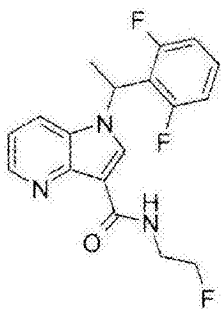
[0255] 中间体49:在0℃下,向6-(二氟甲氧基)-5-甲基嘧啶-4-羧酸酯48b(14g, 60.30mmol)在乙醇(200mL)中的搅拌溶液添加NaBH₄(4.58g, 120.59mmol),并将混合物在室温下搅拌16小时。然后,在减压下使溶剂蒸发,将反应混合物倒入水中并用乙酸乙酯萃取。将有机层用水、盐水洗涤并在减压下浓缩以获得作为黄色固体的(6-(二氟甲氧基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲醇39。产率:8.4g(73.3%)。

[0256] 中间体50:向(6-(二氟甲氧基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲醇49(15g, 78.94mmol)溶解于DCM(150mL)中的溶液添加亚硫酸氯(8.59mL, 118.42mmol)。将反应混合物在室温下搅拌4小时。在真空泵下去除溶剂以获得作为褐色固体的4-(氯甲基)-6-(二氟甲氧基)-5-甲基嘧啶50。产率:14g(85%);

[0257] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ=8.74(s, 1H), 7.77(t, 1H, J=95.4Hz), 4.81(s, 2H), 2.24(s, 3H)。

[0258] 实施例1:1-(1-(2,6-二氟苯基)乙基)-N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0259]

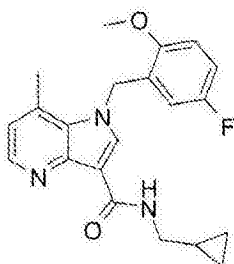


[0260] 参见图16(a)。在N₂下,将1-(1-(2,6-二氟苯基)乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(0.090g,0.30mmol)、2-氟乙胺(0.019g,0.30mmol)和三乙胺(0.166mL,1.19mmol)置于DCM(15mL)中并搅拌。5分钟后,添加1-丙烷膦酸环酐(0.379g,1.19mmol)。将得到的反应物在室温下搅拌40分钟。LCMS分析显示形成所需产物。用DCM和水稀释反应物。萃取DCM层,用盐水洗涤,经硫酸钠干燥并浓缩。在Waters RP系统上进行纯化以得到作为固体的产物1-(1-(2,6-二氟苯基)乙基)-N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(0.040g,38.7%)。ES+MS *m/z*:348.40。

[0261] ¹H NMR(300MHz,DMSO-*d*₆) δppm 2.05(d,J=6.97Hz,3H) 3.67(q,J=5.21Hz,1H) 3.71-3.82(m,1H) 4.49(t,J=4.90Hz,1H) 4.65(t,J=4.99Hz,1H) 6.22(q,J=7.16Hz,1H) 7.13(t,J=8.57Hz,2H) 7.29(dd,J=8.48,4.71Hz,1H) 7.34-7.52(m,1H) 7.80(d,J=8.29Hz,1H) 8.41(s,1H) 8.50(d,J=4.71Hz,1H) 8.92(t,J=5.75Hz,1H)。

[0262] 实施例2:N-(环丙基甲基)-1-(5-氟-2-甲氧苄基)-7-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0263]

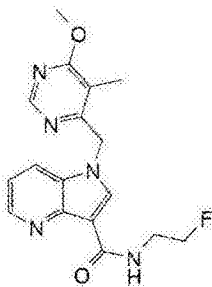


[0264] 参见图16(b)。向在二氯甲烷(10mL)中的1-(5-氟-2-甲氧苄基)-7-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(0.22g,0.000699摩尔)的搅拌溶液中添加2-氟乙烷-1-胺(0.06g,0.000836摩尔)、三乙胺(0.29mL,0.002摩尔)和T3P(1.32mL,0.002摩尔),并在室温下将混合物搅拌16小时。将反应混合物倒入水中并用二氯甲烷萃取。用水、盐水洗涤合并的有机层,并在减压下蒸发溶剂。使用50%乙酸乙酯的己烷通过快速柱色谱法纯化粗制品以得到作为灰白色固体的N-(环丙基甲基)-1-(5-氟-2-甲氧苄基)-7-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺。产率24%。ES+MS *m/z*:368。

[0265] ¹H NMR(400MHz,DMSO-*d*₆) δppm:0.22-0.24(m,2H),0.48-0.50(m,2H),1.05-1.09(m,1H),2.44(s,3H),3.28(t,2H,J=6.2Hz),3.86(s,3H),5.63(s,2H),5.97-6.00(m,1H),7.03-7.04(m,1H),7.12-7.14(m,2H),8.22(s,1H),8.37(d,1H,J=4.8Hz),9.01(t,1H,J=5.6Hz)。

[0266] 实施例3:N-(2-氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0267]

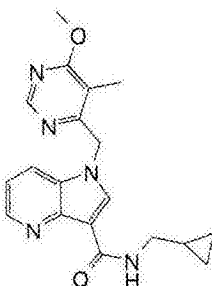


[0268] 参见图16(c)。将1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(250mg, 0.84mmol)溶于装有空气冷凝器(连接至氮源)的100ml单颈烧瓶中。添加DCM(10mL)以得到混悬液。添加三乙胺(1.162mL, 8.38mmol)以得到澄清溶液。添加1-丙烷膦酸环酐(1.497mL, 2.51mmol), 随后添加2-氟乙胺盐酸盐(83mg, 0.84mmol)。将反应物质在室温下搅拌过夜, 观察混悬液。反应完成后, 用DCM稀释, 添加水并分离DCM层, 用盐水溶液洗涤。DCM层经硫酸钠干燥、蒸发并通过柱色谱法纯化该化合物。产率52%。ES+MS m/z : 344 ($M+1$)。

[0269] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.25 (s, 20H) 3.67 (d, $J=5.46\text{Hz}$, 7H) 3.77 (d, $J=5.46\text{Hz}$, 7H) 4.50 (t, $J=4.90\text{Hz}$, 7H) 4.66 (t, $J=4.99\text{Hz}$, 7H) 5.69 (s, 13H) 7.26 (dd, $J=8.29$, 4.71Hz, 7H) 7.94 (d, $J=8.48\text{Hz}$, 7H) 8.28 (s, 7H) 8.41 (s, 6H) 8.49 (d, $J=4.52\text{Hz}$, 7H) 8.95 (t, $J=5.84\text{Hz}$, 7H)。

[0270] 实施例4: N-(环丙基甲基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0271]

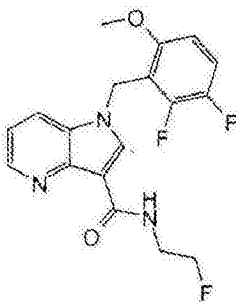


[0272] 参见图16(b)。将1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(200mg, 0.67mmol)溶于DCM(10mL)中。添加1-丙烷膦酸环酐(427mg, 1.34mmol), 随后添加三乙胺(339mg, 3.35mmol)和环丙甲胺(95mg, 1.34mmol)。将反应物料在室温下搅拌过夜。反应完成后, 添加水并用DCM萃取。用水和盐水溶液洗涤有机层。分离有机层, 经硫酸钠干燥。蒸发有机层以得到残余物, 通过柱色谱法纯化残余物以得到纯的化合物。产率74%。ES+MS m/z : 352.38 ($M+1$)。

[0273] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0.02 (q, $J=4.58\text{Hz}$, 2H) 0.18-0.31 (m, 2H) 0.83 (t, $J=6.88\text{Hz}$, 1H) 2.00 (s, 3H) 2.98-3.11 (m, 3H) 3.69 (s, 3H) 5.43 (s, 2H) 7.00 (dd, $J=8.29$, 4.71Hz, 1H) 7.68 (dd, $J=8.29$, 1.13Hz, 1H) 7.98 (s, 1H) 8.17 (s, 1H) 8.24 (dd, $J=4.71$, 1.13Hz, 1H) 8.55 (t, $J=5.75\text{Hz}$, 1H)。

[0274] 实施例5: 1-(2,3-二氟-6-甲氧苄基)-N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0275]

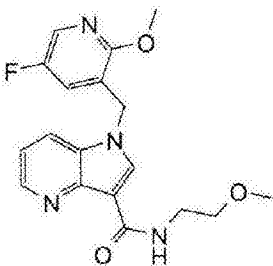


[0276] 参见图17(a)。在50mL圆底烧瓶中,将N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(0.1g,0.48mmol)溶于DMF(10mL)中以得到无色混悬液。将反应混合物冷却至0℃,并添加碳酸钾(0.200g,1.45mmol)和2-(溴甲基)-3,4-二氟-1-甲氧基苯(0.114g,0.48mmol),然后将反应混合物(RM)在80℃下搅拌4小时。通过LCMS监测反应。在真空下浓缩DMF,添加水并用DCM萃取。用盐水洗涤合并的有机层,经硫酸钠干燥、过滤并蒸发以得到粗制产物。在反相制备型HPLC系统上纯化粗制材料以得到1-((2,3-二氟-6-甲氧基苄基)-N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(0.060g,34.2%)。ES+MS m/z :364 (M+1)。

[0277] ^1H NMR (DMSO- d_6 ,300MHZ): δ ppm 8.90 (br.s.,1H),8.50 (d, J =4.3Hz,1H),8.02-8.15 (m,2H),7.30-7.52 (m,2H),6.92 (d, J =8.7Hz,1H),5.53 (s,2H),4.63 (t, J =4.4Hz,1H),4.47 (t, J =4.8Hz,1H),3.86 (s,3H),3.74 (d, J =5.3Hz,1H),3.65 (d, J =5.3Hz,1H)。

[0278] 实施例6:1-((5-氟-2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-甲氧乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0279]

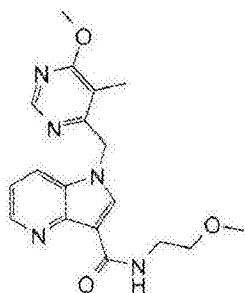


[0280] 参见图17(b)。将1-((5-氟-2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(100mg,0.33mmol)溶于二氯甲烷(15mL)中以得到混悬液。添加三乙胺(230mL,1.66mmol)以得到澄清溶液。添加1-丙烷膦酸环酐(198mL,0.66mmol)并在室温下搅拌5分钟。添加2-甲氧基乙胺(74.8mg,1.00mmol)并将反应物料在室温下搅拌2小时。反应完成后,用DCM稀释反应物料,用水、盐水溶液洗涤。分离DCM层,经硫酸钠干燥并蒸发以得到粗制化合物。使用甲醇和二氯甲烷作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化该化合物。产率63%。ES+MS m/z :359.1 (M+1)。

[0281] ^1H NMR (500MHz,DMSO- d_6) δ ppm 3.44-3.52 (m,2H) 3.56 (q, J =5.46Hz,2H) 3.89 (s,3H) 5.47 (s,2H) 7.31 (dd, J =8.20,4.73Hz,1H) 7.46 (dd, J =8.20,2.84Hz,1H) 8.09-8.22 (m,2H) 8.31 (s,1H) 8.51 (dd, J =4.73,0.95Hz,1H) 8.85 (t, J =5.52Hz,1H)。

[0282] 实施例7:1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-甲氧乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0283]

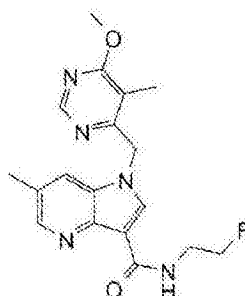


[0284] 参见图17(c)。将1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(200mg, 0.67mmol)溶于DCM(10mL)中以得到混悬液。添加三乙胺(0.929mL, 6.70mmol)以得到澄清溶液。添加1-丙烷膦酸环酐(1.197mL, 2.01mmol)并在室温下搅拌5分钟。添加2-甲氧基乙胺(151mg, 2.01mmol)并在室温下搅拌过夜。反应完成后,用DCM稀释反应物料,用水、盐水溶液洗涤,然后蒸发以得到粗制化合物。通过硅胶色谱法纯化该化合物。产率90%。ES+MS m/z : 356.2 (M+1)。

[0285] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.24 (s, 3H) 3.30 (s, 3H) 3.43-3.63 (m, 4H) 3.93 (s, 3H) 5.68 (s, 2H) 7.24 (dd, $J=8.29, 4.71\text{Hz}$, 1H) 7.92 (dd, $J=8.38, 1.22\text{Hz}$, 1H) 8.25 (s, 1H) 8.41 (s, 1H) 8.48 (dd, $J=4.71, 1.13\text{Hz}$, 1H) 8.85 (t, $J=5.65\text{Hz}$, 1H)。

[0286] 实施例8: N-(2-氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0287]

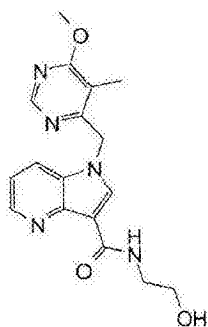


[0288] 参见图17(d)。向1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(0.190g, 0.61mmol)和2-氟乙胺(0.077g, 1.22mmol)中添加TEA(0.254mL, 1.83mmol)。3分钟后,添加1-丙烷膦酸环酐(0.484g, 1.52mmol)。将所得的反应混合物在室温下搅拌50分钟。LCMS分析证实了所需产物的形成。用DCM和水稀释反应物。萃取DCM层并用盐水洗涤,经硫酸钠干燥并浓缩。在Waters RP系统上进行纯化以得到产物N-(2-氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(0.090g, 41.4%)。ES+MS m/z : 358.36。

[0289] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.17-2.30 (3, 3H) 2.40 (s, 3H) 3.59-3.73 (m, 1H) 3.73-3.83 (m, 1H) 3.94 (s, 3H) 4.50 (t, $J=4.99\text{Hz}$, 1H) 4.66 (t, $J=4.99\text{Hz}$, 1H) 5.64 (s, 2H) 7.76 (s, 1H) 8.15 (s, 1H) 8.35 (s, 1H) 8.42 (s, 1H) 8.87 (t, $J=5.84\text{Hz}$, 1H)。

[0290] 实施例9: N-(2-羟基乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0291]

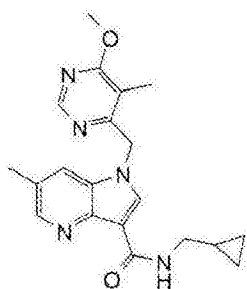


[0292] 参见图18(a)。将1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(1g, 3.35mmol)溶于DCM(20mL)中以得到混悬液。添加三乙胺(1.394mL, 10.06mmol), 随后添加1-丙烷膦酸环酐(3.991mL, 6.70mmol)。将反应物料在室温下搅拌5分钟。添加乙醇胺(6.02mL, 10.06mmol)并在室温下搅拌2小时。反应完成后, 用DCM稀释, 然后用水和盐水溶液洗涤。分离有机层、干燥、蒸发, 并通过硅胶色谱法纯化粗制化合物。产率45%。ES+MS m/z : 342 (M+1)。

[0293] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.24 (s, 3H) 3.37-3.64 (m, 4H) 3.94 (s, 3H) 4.80 (t, J = 4.99Hz, 1H) 5.67 (s, 2H) 7.24 (dd, J = 8.29, 4.52Hz, 1H) 7.92 (d, J = 8.10Hz, 1H) 8.23 (s, 1H) 8.41 (s, 1H) 8.47 (d, J = 4.52Hz, 1H) 8.85 (t, J = 5.37Hz, 1H)。

[0294] 实施例10: N-(环丙基甲基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0295]

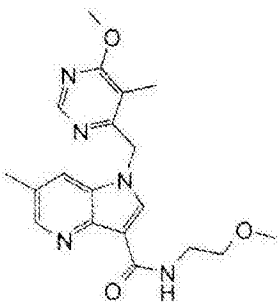


[0296] 参见图18(b)。向1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(0.100g, 0.32mmol)和环丙甲胺(0.046g, 0.64mmol)中添加TEA(0.134mL, 0.96mmol)。3分钟后, 添加1-丙烷膦酸环酐(0.255g, 0.80mmol)。将所得的反应混合物在室温下搅拌50分钟。LCMS分析显示形成所需产物。用DCM和水稀释反应物。萃取DCM层并用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥并浓缩。在Waters RP系统上进行纯化以得到产物N-(环丙基甲基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(0.045g, 38.5%)。ES+MS m/z : 366.44。

[0297] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0.21-0.33 (m, 2H) 0.41-0.56 (m, 2H) 1.08 (m, J = 6.97Hz, 1H) 2.24 (s, 3H) 2.40 (s, 3H) 3.26 (d, 2H) 3.94 (s, 3H) 5.63 (s, 2H) 7.75 (s, 1H) 8.11 (s, 1H) 8.35 (s, 1H) 8.42 (s, 1H) 8.74 (t, J = 5.65Hz, 1H)。

[0298] 实施例11: 1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-甲氧乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0299]

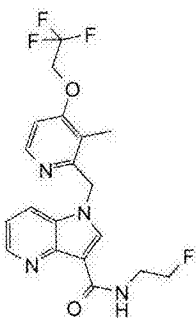


[0300] 参见图18(c)。向1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(0.100g,0.32mmol)和2-甲氧基乙胺(0.048g,0.64mmol)中添加TEA(0.134mL,0.96mmol)。3分钟后,添加1-丙烷膦酸环酐(0.255g,0.80mmol)。将所得的反应混合物在室温下搅拌50分钟。LCMS分析显示形成所需产物。用DCM和水稀释反应物。萃取DCM层并用盐水洗涤,经硫酸钠干燥并浓缩。在Waters RP系统上进行纯化以得到产物1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-甲氧基乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(0.045g,38.0%)。ES+MS m/z :370.21。

[0301] ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ ppm 2.17-2.28(s,3H) 2.40(s,3H) 3.30(s,13H) 3.50(d, J =4.52Hz,2H) 3.55(t, J =5.18Hz,2H) 3.94(s,3H) 5.63(s,2H) 7.74(s,1H) 8.12(s,1H) 8.34(s,1H) 8.42(s,1H) 8.78(t, J =5.46Hz,1H)。

[0302] 实施例12:N-(2-氟乙基)-1-((3-甲基-4-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0303]

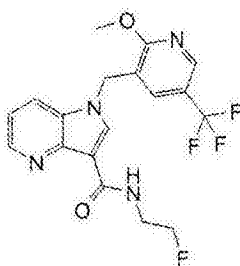


[0304] 参见图18(d)。将1-((3-甲基-4-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(100mg,0.27mmol)溶于DCM(10mL)中以得到澄清溶液。添加三乙胺(0.190mL,1.37mmol),随后添加在乙酸乙酯中的1-丙烷膦酸环酐(0.326mL,0.55mmol)溶液并将反应物料搅拌5分钟。添加2-氟乙胺盐酸盐(54.5mg,0.55mmol)并将反应物料搅拌3小时。反应完成后,用DCM稀释,然后用水和盐水溶液洗涤。分离有机层、干燥、蒸发并使用甲醇和二氯甲烷作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化粗制化合物。产率49%。ES+MS m/z :411(M+1)。

[0305] ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ ppm 2.25(s,3H) 3.67(q, J =5.21Hz,1H) 3.76(q, J =5.21Hz,1H) 4.50(t, J =4.99Hz,1H) 4.66(t, J =4.90Hz,1H) 4.90(q, J =8.85Hz,2H) 5.68(s,2H) 7.06(d, J =5.84Hz,1H) 7.24(dd, J =8.38,4.62Hz,1H) 7.93(d, J =7.35Hz,1H) 8.17(d, J =5.65Hz,1H) 8.24(s,1H) 8.48(d, J =3.77Hz,1H) 8.94(t, J =5.75Hz,1H)。

[0306] 实施例13:N-(2-氟乙基)-1-((2-甲氧基-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0307]

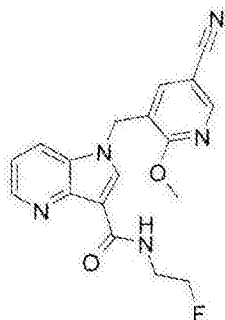


[0308] 参见图19(a)。向在二氯甲烷(5mL)中的1-((2-甲氧基-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(60mg,0.177mmol)的搅拌溶液中添加2-氟乙烷-1-胺盐酸盐(26mg,0.26mmol)、三乙胺(0.053g,0.531mmol)和T3P(0.33g,0.531mmol)并将反应混合物在室温下搅拌16小时。然后将反应混合物倒入水中并用二氯甲烷萃取。将反应混合物倒入水中并用二氯甲烷萃取。用水、盐水洗涤合并的有机层,并在减压下蒸发溶剂。通过硅胶柱色谱法纯化粗制产物以得到作为白色固体的N-(2-氟乙基)-1-((2-甲氧基-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺。产率:15mg(22.3%)。ES+MS m/z:397。

[0309] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6): δ ppm3.66-3.70(m,2H),3.72-3.76(m,2H),4.00(s,3H),4.50-4.52(m,2H),4.62-4.64(m,2H),5.76(s,2H),7.30-7.33(m,1H),7.92(s,1H),8.11(d,1H,J=8.3Hz),8.32(s,1H),8.50-8.52(m,1H),8.66-8.67(m,1H),8.94(t,1H,J=5.6Hz)。

[0310] 实施例14:1-((5-氰基-2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0311]

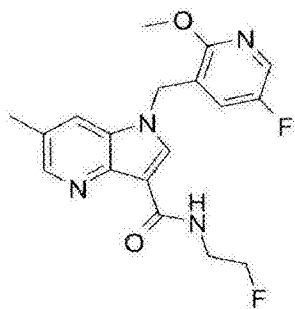


[0312] 参见图19(b)。向在DCM中的1-((5-氰基-2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(0.10g,0.32mmol)的溶液中添加TEA(0.098g,0.135mL,0.97mmol)、2-氟乙烷-1-胺盐酸盐(0.095g,0.97mmol)和T3P(0.308g,0.97mmol)。将反应混合物在室温下搅拌12小时。向反应混合物中添加水并用DCM萃取。用水、盐水洗涤合并的有机层,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。通过快速柱色谱法纯化粗制产物以得到作为固体的产物1-((5-氰基-2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(17mg,14.9%)。ES+MS m/z:354。

[0313] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6): δ 8.95(t,J=5.80Hz,1H),8.66(d,J=2.04Hz,1H),8.51(d,J=4.08Hz,1H),8.32(s,1H),8.11(d,J=8.40Hz,1H),7.93(d,J=1.92Hz,1H),7.30-7.33(m,1H),5.49(s,2H),5.30(t,J=5.00Hz,1H),4.51(t,J=4.96Hz,1H),3.91(s,3H),3.72-3.76(m,1H),3.66-3.70(m,1H)。

[0314] 实施例15:1-((5-氰基-2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0315]

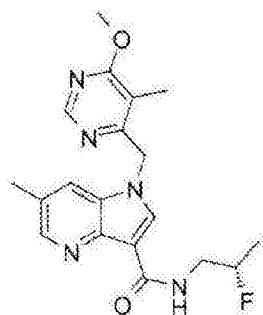


[0316] 参见图19(c)。向1-((5-氟-2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(60mg,0.19mmol)和2-氟乙胺(21.60mg,0.34mmol)中添加TEA(0.080mL,0.57mmol)。3分钟后,添加1-丙烷膦酸环酐(151mg,0.48mmol)。将所得的反应混合物在室温下搅拌50分钟。LCMS分析显示形成所需产物。用DCM和水稀释反应物。萃取DCM层并用盐水洗涤,经硫酸钠干燥并浓缩。在Waters RP系统上进行纯化以得到产物1-((5-氟-2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(25.00mg,36.5%)。ES+MS m/z :361.33。

[0317] ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ ppm 2.44(s,3H) 3.65(d, J =5.27Hz,1H) 3.75(d, J =5.27Hz,1H) 3.90(s,3H) 4.49(t, J =4.99Hz,1H) 4.64(t, J =4.99Hz,1H) 5.42(s,2H) 7.36(dd, J =8.29,3.01Hz,1H) 7.93(s,1H) 8.12(d, J =3.01Hz,1H) 8.23(s,1H) 8.38(s,5H) 8.88(t, J =5.65Hz,1H)。

[0318] 实施例16: (S)-N-(2-氟丙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0319]

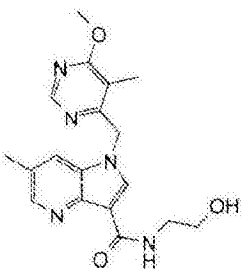


[0320] 参见图19(d)。将1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(100mg,0.32mmol)溶于二氯甲烷(10mL)中以得到混悬液。添加三乙胺(0.133mL,0.96mmol),随后添加1-丙烷膦酸环酐(0.381mL,0.64mmol)。将反应物料在室温下搅拌5分钟。添加(R)-2-氟丙烷-1-胺(49.4mg,0.64mmol)并在室温下搅拌过夜。反应完成后,用DCM稀释反应物料,用水和盐水溶液洗涤。有机层经硫酸钠干燥,蒸发并通过硅胶色谱法纯化粗制化合物。产率75%。ES+MS m/z :373.2(M+1)。

[0321] ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ ppm 1.25-1.42(m,4H) 2.24(s,3H) 2.40(s,3H) 3.42-3.81(m,2H) 3.94(s,3H) 4.65-4.85(m,1H) 4.93(td, J =6.50,3.39Hz,1H) 5.64(s,2H) 7.76(s,1H) 8.16(s,1H) 8.29-8.47(m,2H) 8.91(t, J =6.03Hz,1H)。

[0322] 实施例17: N-(2-羟基乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0323]

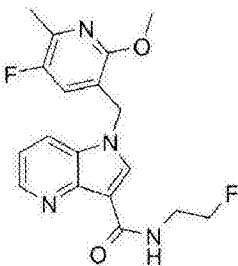


[0324] 参见图20(a)。将1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(75mg, 0.24mmol)溶于二氯甲烷(10mL)中以获得混悬液。添加三乙胺(0.0669mL, 0.48mmol), 随后添加1-丙烷膦酸环酐(0.286mL, 0.48mmol)。将反应物料在室温下搅拌5分钟。添加乙醇胺(0.029mL, 0.48mmol)并在室温下搅拌过夜。反应完成后, 用DCM稀释反应物料, 用水和盐水溶液洗涤。DCM层经硫酸钠干燥, 蒸发以得到粗制化合物, 通过柱色谱法纯化粗制化合物。产率52.7%。ES+MS m/z : 356.4 (M+1)。

[0325] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.23 (s, 3H) 2.39 (s, 3H) 3.39-3.65 (m, 4H) 3.93 (s, 3H) 4.84 (t, $J=5.09\text{Hz}$, 1H) 5.63 (s, 2H) 7.74 (s, 1H) 8.12 (s, 1H) 8.33 (s, 1H) 8.41 (s, 1H) 8.80 (t, $J=5.65\text{Hz}$, 1H)。

[0326] 实施例18: 1-((5-氟-2-甲氧基-6-甲基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0327]

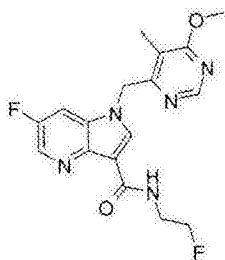


[0328] 参见图20(b)。向在二氯甲烷(10mL)中的1-((5-氟-2-甲氧基-6-甲基吡啶-3-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸甲酯(0.15g, 0.47mmol)的搅拌溶液中添加2-氟乙烷-1-胺盐酸盐(71mg, 0.71mmol)、三乙胺(0.142g, 1.41mmol)和T3P(0.9g, 1.41mmol), 并将混合物在室温下搅拌16小时。然后将反应混合物倒入水中并用二氯甲烷萃取。用水、盐水洗涤合并的有机层, 经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残余物以得到作为白色固体的1-((5-氟-2-甲氧基-6-甲基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺。产率: 30mg (18%)。ES+MS m/z : 361 (M+1)。

[0329] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ ppm 2.31 (d, 3H, $J=2.9\text{Hz}$), 3.64-3.68 (m, 2H), 3.71-3.75 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 4.49-4.51 (m, 2H), 4.61-4.63 (m, 2H), 5.41 (s, 2H), 7.28-7.32 (m, 1H), 7.45 (d, 1H, $J=9.0\text{Hz}$), 8.08-8.11 (m, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.49-8.50 (m, 1H), 8.92 (t, 1H, $J=5.8\text{Hz}$)。

[0330] 实施例19: 6-氟-N-(2-氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0331]

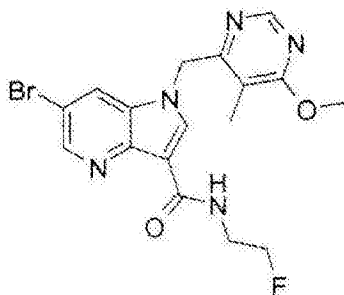


[0332] 参见图20(c)。向6-氟-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(20mg, 0.06mmol)和2-氟乙胺(7.18mg, 0.11mmol)中添加TEA(0.026mL, 0.19mmol)。3分钟后, 添加1-丙烷膦酸环酐(50.3mg, 0.16mmol)。将所得的反应混合物在室温下搅拌50分钟。LCMS分析显示形成所需产物。用DCM和水稀释反应物。萃取DCM层并用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥并浓缩。在Waters RP系统上进行纯化以得到产物6-氟-N-(2-氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(20.00mg, 88%)。ES+MS m/z : 362。

[0333] ^1H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.24(s, 3H) 3.57-3.70(q, 1H) 3.70-3.80(q, 1H) 3.94(s, 3H) 4.43-4.58(t, 1H) 4.66(t, $J=4.99\text{Hz}$, 1H) 5.68(s, 2H) 8.03(dd, $J=9.89$, 2.54Hz, 1H) 8.29(s, 6H) 8.40(s, 1H) 8.53(t, $J=2.07\text{Hz}$, 1H) 8.71(t, $J=5.84\text{Hz}$, 1H)。

[0334] 实施例20: 6-溴-N-(2-氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0335]

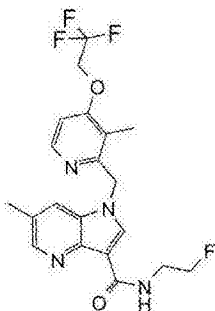


[0336] 参见图20(d)。向在二氯甲烷(10mL)中的6-溴-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(0.13g, 0.34mmol)的搅拌溶液中添加2-氟乙烷-1-胺(0.06g, 0.68mmol)、三乙胺(0.1g, 1.02mmol)和T3P(0.32g, 1.02mmol), 并将该混合物在室温下搅拌16小时。然后将反应混合物倒入水中并用二氯甲烷萃取。用盐水洗涤有机层并浓缩。通过硅胶柱色谱法和随后的PREP纯化法纯化粗制产物以得到作为白色固体的6-溴-N-(2-氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺。产率: 25mg(17%)。ES+MS m/z : 424.2(M+1)。

[0337] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6): δ ppm 2.24(s, 3H), 3.68(bs, 1H), 3.75(bs, 1H), 4.51(bs, 1H), 4.64(bs, 1H), 5.70(s, 2H), 8.28(s, 1H), 8.39(d, 1H, $J=10.9\text{Hz}$), 8.58(s, 1H), 8.64(bs, 2H)

[0338] 实施例21: N-(2-氟乙基)-6-甲基-1-((3-甲基-4-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0339]

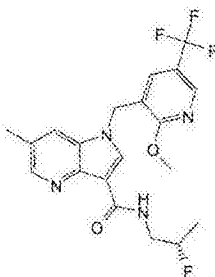


[0340] 参见图21(a)。将6-甲基-1-((3-甲基-4-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(111mg, 0.29mmol)溶于二氯甲烷(10mL)中。添加三乙胺(0.204mL, 1.46mmol)以得到澄清溶液。添加1-丙烷膦酸环酐(0.348mL, 0.59mmol)并在室温下搅拌5分钟。添加2-氟乙胺盐酸盐(87mg, 0.88mmol)并在室温下搅拌过夜。反应完成后,用二氯甲烷稀释反应物料,用水、盐水溶液洗涤。分离有机层,经硫酸钠干燥、蒸发以得到粗制化合物。使用甲醇和二氯甲烷作为洗脱剂通过硅胶色谱法纯化该化合物。产率44.3%。ES+MS m/z : 425.2 (M+1)。

[0341] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.24 (s, 3H) 2.39 (s, 3H) 3.66 (q, $J=5.21\text{Hz}$, 1H) 3.75 (q, $J=5.15\text{Hz}$, 1H) 4.49 (t, $J=4.99\text{Hz}$, 1H) 4.65 (t, $J=4.99\text{Hz}$, 1H) 4.90 (q, $J=8.85\text{Hz}$, 2H) 5.63 (s, 2H) 7.07 (d, $J=5.65\text{Hz}$, 1H) 7.76 (s, 1H) 8.11 (s, 1H) 8.17 (d, $J=5.65\text{Hz}$, 1H) 8.34 (s, 1H) 8.88 (t, $J=5.84\text{Hz}$, 1H)。

[0342] 实施例22: (S)-N-(2-氟丙基)-1-((2-甲氧基-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0343]



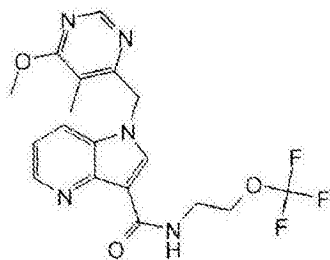
[0344] 参见图21(b)。在25mL热瓶(thermal vial)中装入溶于NMP(4mL)中的1-((2-甲氧基-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(100mg, 0.27mmol)和HATU(125mg, 0.33mmol),并在室温下搅拌10分钟。然后添加(S)-2-氟丙烷-1-胺盐酸盐(37.3mg, 0.33mmol)和三乙胺(0.114mL, 0.82mmol)并在室温下搅拌1小时。LCMS显示反应的完成。将反应混合物倒入水中并用氯仿萃取。将有机层干燥并浓缩,使粗制品进行反相纯化。浓缩纯的级分以得到固体(S)-N-(2-氟丙基)-1-((2-甲氧基-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(82mg, 70.6%)。ES+MS m/z : 425 (M+1)。

[0345] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.15-1.44 (m, 3H) 2.44 (s, 3H) 3.39-3.79 (m, 2H) 3.98 (s, 3H) 4.75 (td, $J=6.50, 3.39\text{Hz}$, 1H) 4.92 (td, $J=6.50, 3.20\text{Hz}$, 1H) 5.48 (s, 2H) 7.81 (d, $J=2.26\text{Hz}$, 1H) 7.91-8.03 (m, 1H) 8.25 (s, 1H) 8.34-8.42 (m, 1H) 8.53-8.62 (m, 1H) 8.90 (t, $J=5.93\text{Hz}$, 1H)。

[0346] 实施例23: 1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-(三氟甲氧基)乙基)-

1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0347]

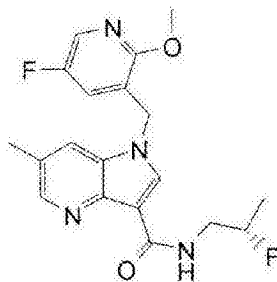


[0348] 参见图21(c)。将1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(40mg, 0.13mmol)置于装有空气冷凝器(连接至氮源)的50mL单颈烧瓶中。添加NMP(3mL, 31.17mmol)以获得溶液。添加三乙胺(0.056mL, 0.40mmol), 随后添加2-(三氟甲氧基)乙胺盐酸盐(44.4mg, 0.27mmol)。将反应物料在室温下搅拌5分钟。添加HATU(61.2mg, 0.16mmol)并在室温下搅拌30分钟。反应完成后, 添加几滴甲醇并使澄清溶液进行反相HPLC纯化以得到1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-(三氟甲氧基)乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(15.00mg, 27.3%)。ES+MS m/z : 410 (M+1)。

[0349] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.25 (s, 3H) 3.68-3.80 (m, 2H) 3.93 (s, 3H) 4.24 (t, $J=5.27\text{Hz}$, 2H) 5.69 (s, 2H) 7.26 (dd, $J=8.29, 4.71\text{Hz}$, 1H) 7.94 (d, $J=7.35\text{Hz}$, 1H) 8.28 (s, 1H) 8.38-8.54 (m, 2H) 8.96 (s, 1H)。

[0350] 实施例24: (S)-1-((5-氟-2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-氟丙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0351]



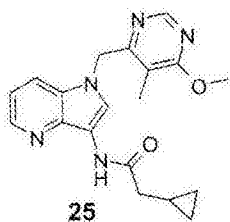
[0352] 参见图21(d)。将1-((5-氟-2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(147mg, 0.47mmol)置于装有空气冷凝器(连接至氮源)的50mL单颈烧瓶中。添加NMP(3mL, 31.17mmol)以获得混悬液。添加HATU(213mg, 0.56mmol), 随后添加(S)-2-氟丙烷-1-胺(71.9mg, 0.93mmol)。将反应物料在室温下搅拌5分钟。添加三乙胺(0.195mL, 1.40mmol)并在室温下搅拌10分钟。

[0353] 反应完成后, 添加水并用乙酸乙酯萃取。有机层经硫酸钠干燥, 蒸发以得到粗制化合物。通过Gilson制备型HPLC纯化粗制化合物以得到(S)-1-((5-氟-2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-氟丙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(110mg, 63.0%)。ES+MS m/z : 375 (M+1)。

[0354] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.24-1.37 (m, 3H) 2.44 (s, 3H) 3.47 (s, 1H) 3.64 (br. s., 1H) 3.75 (s, 1H) 3.90 (s, 3H) 4.76 (br. s., 1H) 4.90 (br. s., 1H) 5.42 (s, 2H) 7.38 (s, 1H) 7.93 (s, 1H) 8.12 (d, $J=3.01\text{Hz}$, 1H) 8.23 (s, 1H) 8.38 (s, 1H) 8.90 (s, 1H)。

[0355] 实施例25: 2-环丙基-N-(1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-基)乙酰胺

[0356]



[0357] 参见图22。

[0358] 3-硝基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶 (25b) : 在 -10°C 下, 向在浓 H_2SO_4 (50mL) 中的化合物-1 (5g, 0.042摩尔) 的溶液中添加浓 HNO_3 (溶液3mL, 0.063摩尔)。在此温度下将反应混合物搅拌5小时。然后将混合物倒入冰冷的水 (100mL) 中, 用NaOH水溶液 (10%) 中和并用乙酸乙酯 ($2 \times 100\text{mL}$) 萃取。用盐水洗涤合并的有机层, 并在减压下蒸发溶剂以得到3-硝基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶 (25b) 3g (43.4%)。

[0359] 1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-3-硝基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶 (25c) : 向在DMF (10mL) 中的3-硝基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶 (25b) (0.5g, 3.04mmol) 和 K_2CO_3 (0.5g, 9.12mmol) 的搅拌混悬液中添加4-(氯甲基)-6-甲氧基-5-甲基嘧啶 (0.7g, 6.09mmol), 并将所得的混合物在室温下搅拌16小时。然后将反应混合物倒入到水 (50mL) 中并用二氯甲烷 ($2 \times 50\text{mL}$) 萃取。用盐水洗涤合并的有机层并在减压下蒸发溶剂以得到作为淡黄色固体的1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-3-硝基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶 (25c) [300mg (33%)]。

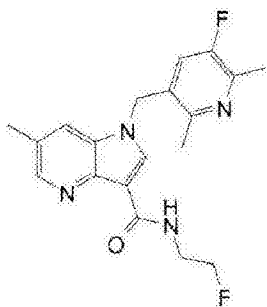
[0360] 1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-胺 (25d) : 向在乙醇 (5mL) 中的1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-3-硝基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶 (0.15g, 0.58mmol) 的溶液中添加Pd/C (0.03g)。在球压 (balloon pressure) 下将反应混合物在室温下氢化16小时。溶剂在减压下过滤并蒸发以得到1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-胺 (25d), 0.1g (74%)。

[0361] 2-环丙基-N-(1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-基)乙酰胺: 向在二氯甲烷 (10mL) 中的1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-胺 (25d) (0.1g, 0.37mmol) 的搅拌溶液中添加三乙胺 (0.15mL, 1.11mmol)、T3P (0.35g, 1.11mmol) 和2-环丙乙酸 (0.037g, 0.37mmol), 并将混合物在室温下搅拌16小时。然后将反应混合物倒入水 (20mL) 中并用二氯甲烷 ($2 \times 50\text{mL}$) 萃取。用盐水洗涤合并的有机层, 并在减压下蒸发溶剂。使用己烷中的50%乙酸乙酯通过硅胶柱色谱法纯化粗制产物以得到作为灰白色固体的2-环丙基-N-(1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-基)乙酰胺; 产率: 25mg (19%)。ES+MS m/z : 352 (M+1)。

[0362] ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm 2.25 (s, 3H), 3.67-3.69 (m, 1H), 3.73-3.76 (m, 1H), 4.50-4.52 (m, 1H), 4.62-4.64 (m, 1H), 5.49 (s, 2H), 6.94-6.96 (m, 3H), 7.27-7.30 (m, 1H), 8.08 (d, $J=8.2\text{Hz}$), 8.45 (s, 1H), 8.50 (d, $J=3.88\text{Hz}$), 8.92 (t, $J=5.6\text{Hz}$)。

[0363] 实施例26: 1-((5-氟-2,6-二甲基嘧啶-3-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0364]

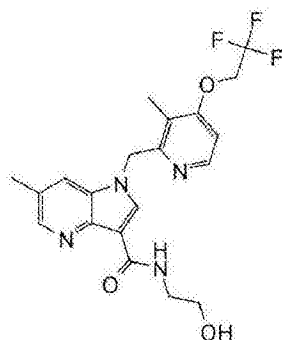


[0365] 参见图23(a)。在25mL热瓶中装入溶于NMP(4mL)中的1-((5-氟-2,6-二甲基吡啶-3-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(100mg,0.32mmol)和HATU(146mg,0.38mmol),并在室温下搅拌10分钟。然后添加2-氟乙胺(20.13mg,0.32mmol)和三乙胺(133mL,0.96mmol),并在室温下搅拌1小时。LCMS显示反应的完成。将反应混合物倒入水中并用氯仿萃取。将有机层干燥并浓缩,将粗制品进行反相纯化。浓缩纯的级分以得到作为固体的1-((5-氟-2,6-二甲基吡啶-3-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(75mg,65.6%)。ES+MS m/z :359(M+1)。

[0366] ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ ppm 2.37(d, J =2.64Hz,3H) 2.42(s,6H) 3.66(d, J =5.46Hz,1H) 3.75(d, J =5.27Hz,1H) 4.49(t, J =4.90Hz,1H) 4.65(t, J =4.99Hz,1H) 5.52(s,2H) 6.85(d, J =10.17Hz,1H) 7.86(s,1H) 8.15(s,1H) 8.34-8.46(m,1H) 8.89(t, J =5.84Hz,1H)。

[0367] 实施例27:N-(2-羟基乙基)-6-甲基-1-((3-甲基-4-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0368]

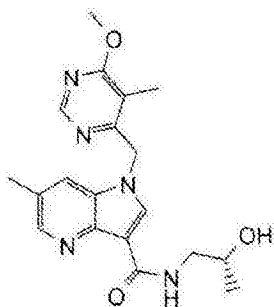


[0369] 参见图23(b)。将6-甲基-1-((3-甲基-4-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(55mg,0.14mmol)和NMP(13.95 μ l,0.14mmol)置于装有空气冷凝器(连接至氮源)的50mL单颈烧瓶中。添加HATU(66.2mg,0.17mmol)以获得混悬液。添加乙醇胺(17.50 μ l,0.29mmol),随后添加三乙胺(60.6 μ l,0.43mmol)。将反应物料在室温下搅拌5分钟。LCMS显示反应的完成。通过Gilson制备型HPLC纯化粗制化合物以得到纯的N-(2-羟基乙基)-6-甲基-1-((3-甲基-4-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(15.00mg,24.49%)。ES+MS m/z :423(M+1)。

[0370] ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ ppm 2.23(s,3H) 2.39(s,3H) 3.45(br.s.,2H) 3.53(br.s.,2H) 4.83(s,1H) 4.90(d, J =9.04Hz,2H) 5.62(s,2H) 7.06(d, J =5.65Hz,1H) 7.75(s,1H) 8.07(s,1H) 8.17(d, J =5.09Hz,1H) 8.32(s,1H) 8.79(s,1H)。

[0371] 实施例28:(R)-N-(2-羟基丙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0372]

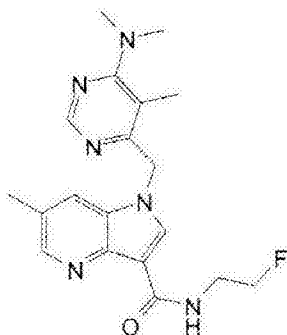


[0373] 参见图23(c)。将1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(75mg,0.24mmol)置于热反应器中。添加DCM(5mL)以获得混悬液。添加三乙胺(0.067mL,0.48mmol),随后添加1-丙烷膦酸环酐(0.286mL,0.48mmol)。添加(R)-1-氨基丙烷-2-醇(36.1mg,0.48mmol),并在室温下搅拌过夜(ON)。反应完成后,将反应混合物浓缩并溶于DCM:MeOH中。使该粗制化合物进行反相纯化以获得作为灰白色固体的(R)-N-(2-羟基丙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(35.0mg,39.5%)。ES+MS m/z :370 (M+1)。

[0374] ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ ppm 1.10(d, J =5.84Hz,3H) 2.24(s,3H) 2.39(s,3H) 3.16-3.29(m,1H) 3.37-3.48(m,1H) 3.77(br.s.,1H) 3.93(s,3H) 4.85(d, J =4.33Hz,1H) 5.63(s,2H) 7.74(s,1H) 8.12(s,1H) 8.33(s,1H) 8.41(s,1H) 8.82(br.s.,1H)。

[0375] 实施例29:1-((6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0376]

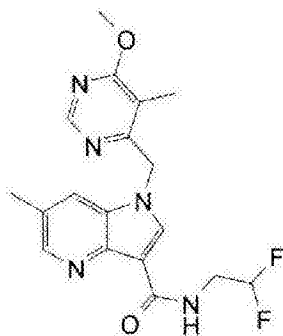


[0377] 参见图23(d)。将1-((6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(75mg,0.23mmol)置于热反应器中。添加DCM(5mL)以获得混悬液。添加三乙胺(0.064mL,0.46mmol),随后添加1-丙烷膦酸环酐(0.274mL,0.46mmol)。添加2-氟乙胺盐酸盐(22.94mg,0.23mmol)并在室温下搅拌过夜。反应完成后,将反应混合物浓缩并溶于DCM:MeOH中。使该粗制化合物进行反相纯化。最终获得的化合物是作为白色固体的1-((6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(12.00mg,14.05%)。ES+MS m/z :371 (M+1)。

[0378] ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ ppm 2.27(s,3H) 2.40(s,3H) 2.95(s,6H) 3.66(d, J =5.46Hz,1H) 3.75(d, J =5.27Hz,1H) 4.49(t, J =4.99Hz,1H) 4.65(t, J =4.99Hz,1H) 5.54(s,2H) 7.75(s,1H) 8.13(s,1H) 8.22(s,1H) 8.34(s,1H) 8.88(t, J =5.84Hz,1H)。

[0379] 实施例30:N-(2,2-二氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0380]

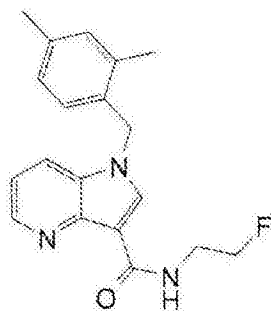


[0381] 参见图24(a)。将1-((6-甲氧基-5-甲基咪唑-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(100mg,0.32mmol)置于热反应器中。添加DCM(3mL)以获得混悬液。添加三乙胺(0.089mL,0.64mmol),随后添加1-丙烷膦酸环酐(0.381mL,0.64mmol)。添加2,2-二氟乙胺(26.0mg,0.32mmol)并在室温下搅拌过夜。反应完成后,将反应混合物浓缩并溶于DCM:MeOH中。使该粗制化合物进行反相纯化以获得作为灰白色固体的N-(2,2-二氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基咪唑-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(20.00mg,16.64%)。ES+MS m/z :376 (M+1)。

[0382] ^1H NMR (300MHz,DMSO- d_6) δ_{ppm} 2.24 (s,4H) 2.40 (s,3H) 3.77-3.89 (m,2H) 3.93 (s,4H) 5.65 (s,2H) 7.77 (s,1H) 8.20 (s,1H) 8.40 (s,1H) 8.36 (s,1H) 8.91 (br.s.,1H)。

[0383] 实施例31:1-(2,4-二甲基苄基)-N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0384]

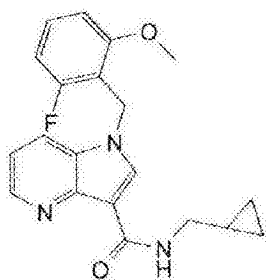


[0385] 参见图24(b)。将1-(2,4-二甲基苄基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(200mg,0.71mmol)置于装有空气冷凝器(连接到氮源)的100ml单颈烧瓶中。添加 CH_2Cl_2 (10mL)以得到澄清溶液。添加三乙胺(5mL,35.87mmol),随后添加1-丙基膦酸环酐(2mL,1.43mmol)和2-氟乙胺盐酸盐(142mg,1.43mmol)。将反应物料在室温下搅拌过夜。使该粗制化合物进行反相纯化以获得作为灰白色固体的1-(2,4-二甲基苄基)-N-(2-氟乙基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(50.00mg,22%)。ES+MS m/z :326 (M+1)。

[0386] ^1H NMR (300MHz,DMSO- d_6) δ_{ppm} 2.21 (s,3H) 2.24 (s,3H) 3.57-3.86 (m,2H) 4.50 (t, $J=4.99\text{Hz}$,1H) 4.66 (t, $J=4.99\text{Hz}$,1H) 5.41-5.60 (m,2H) 6.72 (d, $J=7.72\text{Hz}$,1H) 6.94 (d, $J=7.54\text{Hz}$,1H) 7.05 (s,1H) 7.28 (dd, $J=8.29,4.71\text{Hz}$,1H) 7.98 (dd, $J=8.38,1.04\text{Hz}$,1H) 8.13 (s,1H) 8.51 (dd, $J=4.62,1.04\text{Hz}$,1H) 8.94 (t, $J=5.84\text{Hz}$,1H)。

[0387] 实施例32:N-(环丙基甲基)-1-(2-氟-6-甲氧基苄基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0388]



[0389] 参见图24(c)。在N₂下,在50mL圆底烧瓶中,将1-(2-氟-6-甲氧基苄基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-羧酸(0.130g,0.43mmol)、环丙甲胺(0.040g,0.56mmol)和TEA(0.181mL,1.30mmol)溶于DCM(10mL)中。向其中添加1-丙烷膦酸环酐(0.317g,1.00mmol)。将得到的反应物在室温下搅拌50分钟。LCMS分析显示形成所需产物。用DCM和水稀释反应物。萃取DCM层并用盐水洗涤,经硫酸钠干燥并浓缩。在Waters RP系统上进行纯化以得到产物N-(环丙基甲基)-1-(2-氟-6-甲氧基苄基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺(0.060g,39.2%)。ES+MS m/z:354(M+1)。

[0390] ¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δppm 0.24(q,J=4.90Hz,2H) 0.38-0.50(m,2H) 1.03(t,J=7.06Hz,1H) 3.25(t,J=6.22Hz,2H) 3.88(s,3H) 5.47(s,2H) 6.83-6.99(m,2H) 7.26-7.46(m,2H) 8.02(s,1H) 8.07(d,J=8.10Hz,1H) 8.49(d,J=3.96Hz,1H) 8.75(t,J=5.65Hz,1H)。

[0391] 实施例33:N-(2,2-二氟乙基)-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0392] ES+MS m/z:376

[0393] ¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δppm 2.18-2.31(m,3H) 2.40(s,3H) 3.84-3.97(m,5H) 5.62-5.70(m,2H) 6.01-6.22(tt,1H) 7.78(s,1H) 8.20(s,1H) 8.38-8.41(d,J=14.51Hz,2H) 8.87-8.96(m,1H)。

[0394] 实施例34:1-((6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-羟基乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0395] ES+MS m/z:369

[0396] ¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δppm 2.27(s,3H) 2.40(s,3H) 2.95(s,6H) 3.41-3.58(m,4H) 4.84(t,J=4.99Hz,1H) 5.53(s,2H) 7.73(s,1H) 8.10(s,1H) 8.22(s,1H) 8.33(s,1H) 8.80(t,J=5.46Hz,1H)。

[0397] 实施例35:1-((6-(二氟甲氧基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-羟基乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0398] ES+MS m/z:392

[0399] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 2.32(s,3H), 2.40(s,3H), 3.46(d,J=5.6Hz,2H), 3.56(d,J=5.1Hz,2H), 5.75(s,2H), 4.83(brs,1H), 8.02-7.53(m,2H), 8.21-8.04(m,1H), 8.35(s,1H), 8.52(s,1H), 8.81(br s,1H)。

[0400] 实施例36:N-(2-氟乙基)-6-甲氧基-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0401] ES+MS m/z:374

[0402] ¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δppm 2.14-2.32(m,3H) 3.64-3.86(m,5H) 3.94(s,3H) 4.49(t,J=4.99Hz,1H) 4.65(t,J=4.90Hz,1H) 5.64(s,2H) 7.63(d,J=2.45Hz,1H) 8.07(s,

1H) 8.26 (d, J=2.45Hz, 1H) 8.43 (s, 1H) 8.76 (t, J=5.93Hz, 1H) .

[0403] 实施例37: N-(2,2-二氟乙基)-6-甲氧基-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0404] ES+MS m/z: 392

[0405] ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 2.18-2.31 (m, 3H) 3.77-3.97 (m, 8H) 5.62-5.69 (m, 2H) 6.00-6.38 (tt, 1H) 7.64 (d, J=2.45Hz, 1H) 8.11 (s, 1H) 8.27 (d, J=2.45Hz, 1H) 8.43 (s, 1H) 8.74-8.84 (m, 1H) .

[0406] 实施例38: N-(2-羟基乙基)-6-甲氧基-1-((6-甲氧基-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0407] ES+MS m/z: 372

[0408] ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 2.23 (s, 3H) 3.31-3.43 (m, 4H) 3.81 (s, 3H) 3.94 (s, 3H) 4.83 (t, J=4.99Hz, 1H) 5.63 (s, 2H) 7.61 (d, J=2.45Hz, 1H) 8.03 (s, 1H) 8.25 (d, J=2.45Hz, 1H) 8.43 (s, 1H) 8.64-8.74 (m, 1H) .

[0409] 实施例39: 1-((6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-6-甲氧基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0410] ES+MS m/z: 387

[0411] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 2.28 (s, 3H) , 2.96 (s, 6H) , 3.67 (q, J=5.2Hz, 1H) , 3.74 (q, J=5.4Hz, 1H) , 3.83 (s, 3H) , 4.51 (t, J=5.0Hz, 1H) , 4.63 (t, J=5.0Hz, 1H) , 5.55 (s, 2H) , 7.62 (d, J=2.4Hz, 1H) , 8.05 (s, 1H) , 8.27-8.25 (m, 2H) , 8.77 (t, J=6.0Hz, 1H) .

[0412] 实施例40: N-(2,2-二氟乙基)-1-((6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲氧基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0413] ES+MS m/z: 405

[0414] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 2.27 (s, 3H) , 2.95 (s, 6H) , 4.00-3.84 (m, 5H) , 5.55 (s, 2H) , 6.32-6.04 (m, 1H) , 7.62 (d, J=2.3Hz, 1H) , 8.08 (s, 1H) , 8.27-8.24 (m, 2H) , 8.79 (t, J=6.0Hz, 1H) .

[0415] 实施例41: 1-((6-(二甲基氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-羟基乙基)-6-甲氧基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0416] ES+MS m/z: 385

[0417] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 2.28 (s, 3H) , 2.96 (s, 6H) , 3.46-3.43 (m, 2H) , 3.55-3.54 (m, 2H) , 3.82 (s, 3H) , 4.82 (br.s., 1H) , 5.54 (s, 2H) , 7.60 (d, J=2.4Hz, 1H) , 8.01 (s, 1H) , 8.37-8.17 (m, 2H) , 8.69 (t, J=5.7Hz, 1H) .

[0418] 实施例42: 1-((6-(二氟甲氧基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-6-甲氧基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0419] ES+MS m/z: 410

[0420] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 2.31 (s, 3H) , 3.68-3.67 (m, 1H) , 3.77-3.71 (m, 1H) , 3.82 (s, 3H) , 4.52 (t, J=4.9Hz, 1H) , 4.64 (t, J=4.9Hz, 1H) , 5.75 (s, 2H) , 7.99-7.63 (m, 2H) , 8.09 (s, 1H) , 8.27 (d, J=2.2Hz, 1H) , 8.54 (s, 1H) , 8.78 (t, J=5.7Hz, 1H) .

[0421] 实施例43: N-(2,2-二氟乙基)-1-((6-(二氟甲氧基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-6-甲氧基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0422] ES+MS m/z :428

[0423] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} 2.32 (s, 3H), 3.90–3.82 (m, 5H), 5.76 (s, 2H), 6.34–6.05 (m, 1H), 7.99–7.63 (m, 2H), 8.13 (s, 1H), 8.29 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.81 (t, $J=6.2\text{Hz}$, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.81 (t, $J=6.2\text{Hz}$, 1H).

[0424] 实施例44:1-((6-(二氟甲氧基)-5-甲基嘧啶-4-基)甲基)-N-(2-羟基乙基)-6-甲氧基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0425] ES+MS m/z :408

[0426] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} 2.30 (s, 3H), 3.46–3.42 (m, 2H), 3.56–3.52 (m, 2H), 3.82 (s, 3H) 4.81 (t, $J=5.0\text{Hz}$, 1H), 5.73 (s, 2H), 7.97–7.61 (m, 2H), 8.04 (s, 1H), 8.25 (d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.69 (t, $J=5.6\text{Hz}$, 1H).

[0427] 实施例45:1-((3,5-二甲基吡嗪-2-基)甲基)-N-(2-氟乙基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0428] ES+MS m/z :342

[0429] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} 2.40 (d, $J=0.94\text{Hz}$, 6H) 2.58 (s, 4H) 3.63–3.70 (m, 1H) 3.75 (q, $J=5.53\text{Hz}$, 1H) 4.49 (t, $J=4.99\text{Hz}$, 1H) 4.65 (t, $J=5.18\text{Hz}$, 1H) 5.67 (s, 2H) 7.75–7.79 (m, 1H) 8.12–8.17 (m, 2H) 8.33–8.37 (m, 1H) 8.87 (t, $J=5.93\text{Hz}$, 1H).

[0430] 实施例46:N-(2,2-二氟乙基)-1-((3,5-二甲基吡嗪-2-基)甲基)-6-甲基-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-3-甲酰胺

[0431] ES+MS m/z :360

[0432] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} 2.39 (s, 6H) 2.58 (s, 3H) 3.76–3.95 (m, 2H) 5.68 (s, 2H) 5.98–6.05 (m, 1H) 6.15–6.22 (m, 1H) 6.35–6.40 (m, 1H) 7.78 (s, 1H) 8.14 (s, 1H) 8.19 (s, 1H) 8.36 (s, 1H) 8.85–8.97 (m, 1H).

[0433] 最低抑制浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC)

[0434] 如Jayaram等(2003)中所报道的培养用于进行MIC测定的结核分枝杆菌(Mtb) H37Rv ATCC 27294。用于所有实验的接种物来自维持在 -70°C 的单一批(seed lot)。简言之,在 37°C 下,将Mtb在滚瓶(roller bottle)中在补充有0.2%甘油、0.05%吐温80(Sigma)和10%白蛋白右旋糖过氧化氢酶(Difco Laboratories, Detroit, Mich.)的Middlebrook 7H9肉汤(broth)(在本文件的其余部分称为7H9肉汤)中培养7至10天。通过离心收获细胞,在7H9肉汤液中清洗两次,并重悬于新鲜的7H9肉汤中。分配成0.5ml的等分试样,并将该种批混悬液储存于 -70°C 。在 -70°C 下24小时后,将一个小瓶解冻并平板接种以用于菌落形成单位(colony forming unit, CFU)计数。所有受试化合物的储备液和稀释液均在DMSO中制备。

[0435] 通过进行了具有一些修改的标准微量稀释法(Balganesh等,2010)在7H9肉汤中测定受试化合物的Mtb MIC。简言之,将受试化合物之 $1\mu\text{l}$ 的连续两倍稀释液添加到384孔板中,终浓度为 $100\mu\text{M}$ – $0.19\mu\text{M}$ 。对照孔包含培养基和培养物对照。除了培养基对照孔之外,向所有孔中添加 $40\mu\text{l}$ ($3-7 \times 10^5\text{CFU/ml}$)的细菌培养物。将平板包在气体可渗透的聚乙烯袋中并在 37°C 下孵育5天。在此孵育期之后,向所有孔中添加 $8\mu\text{L}$ 新鲜制备的刃天青(Resazurin, 0.02%于水中)和10%吐温80的1:1混合物。在 37°C 下,将平板重新再孵育24小时并记录所有孔的颜色转变。孔中蓝色被解释为没有生长,粉色被评为有生长。最低抑制浓度(MIC)被

定义为阻止颜色从蓝色变为粉色的最低药物浓度。监测在575nm和610nm处的吸光度并计算其比值。产生80%抑制的最低浓度被认为是MIC。异烟肼被用作用于该测定的参照药物。

[0436] 将来自MIC平板的样品孔(MIC和更高浓度)的等分试样以1:10稀释,并平板接种于7H10琼脂平板上。将平板在37℃下孵育3至4周,对CFU进行计数。导致从开始CFU降低两个 $\log_{10}$ CFU的最低化合物浓度被认为是MBC。

[0437] 药物敏感的和单抗药性的结核分枝杆菌分离株的MIC

[0438] 使用与以上相同的方案设置该测定,但是将孵育期延长到2至3周。通过浊度分析(turbidometrically)来监测细胞生长并且显示出没有生长的最低浓度被确定为MIC。对于单抗药性菌株,包含各自的抗性标记药物作为阳性对照。

[0439] 用于其他细菌(革兰氏阳性和革兰氏阴性)的MIC测定方法

[0440] 对于不同的细菌菌株(金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) ARC517、肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*) ARC548、流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenzae*) ARC446、流感嗜血杆菌ARC158、大肠杆菌(*Escherichia coli*) ARC523、大肠杆菌ARC524、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) ARC545、铜绿假单胞菌ARC546、肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*) ARC1865、耻垢分枝杆菌(*Mycobacterium smegmatis*) (Msm) ATCC607、Msm mc²155和白色念珠菌(*Candida albicans*) ARC526)的MIC值根据临床实验室标准化研究所(Clinical Laboratory Standards Institute, CLSI)指导方针(National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2009)在经阳离子调节的Muller Hinton肉汤培养基中使用384孔格式确定。包含培养基对照、培养物对照和适当的参照药物对照。通过检查在600nm处的吸光度来监测生长。将导致生长抑制 $\geq 80\%$ 的浓度视为最低抑制浓度(MIC)。

[0441] 在7H9肉汤和人THP-1巨噬细胞中的杀伤动力学

[0442] 使用具有Middlebrook 7H9培养基的96孔板以200 μ L的体积进行7H9肉汤中的杀伤动力学测定。在DMSO中分别制成化合物的连续两倍稀释液,浓度范围为128mg/L至0.25mg/L。向96孔平板之含有约 3×10^7 CFU/mL Mtb H37Rv的各孔中添加4 μ L的每种这些稀释液。将平板在37℃下孵育并在第0、3、7、10、14天在Middlebrook 7H9肉汤中稀释等分试样并平板接种于Middlebrook 7H11琼脂平板上。21至28天后对细菌菌落进行计数。对于每种药物处理,数据表示为 $\log_{10}$ CFU。

[0443] 1,4-氮杂吡啶在THP-1巨噬细胞中的细胞内效力

[0444] 使用补充有2mM L谷氨酰胺的具有10%胎牛血清(Sigma, St. Louis, Mo.)的RPMI1640在75cm²烧瓶中将THP-1细胞(ATCC)培养至汇合。使细胞在具有5%CO₂和95%空气的37℃培养箱中培养,直到其达到500,000个细胞/mL的密度。在37℃下,用结核分枝杆菌H37Rv将培养物中密度为 $1-2 \times 10^5$ 细胞/mL的细胞感染2小时(批量感染),感染复数(multiplicity of infection, MOI)为1:10(巨噬细胞:细菌)。2小时后,用预热的磷酸盐缓冲盐水将细胞清洗两次以除去细胞外细菌,然后重悬于完全的RPMI1640中。使用40nM浓度的豆蔻酸佛波醇乙酸酯(Sigma)使所述细胞分化为巨噬细胞,并在37℃下使细胞黏附至96孔板24小时。24小时后,将不同浓度的受试化合物添加至单层并孵育7天。定期在显微镜下观察巨噬细胞单层以监测由于药物毒性引起的细胞形态的不利变化。在药物处理开始时和治疗后7天时,将单层轻轻地清洗并用0.04%SDS裂解并平板接种于Middlebrook 7H11琼脂

平板上。在21至28天后对细菌菌落进行计数。对于每种药物处理,数据表示为 $\log_{10}$ CFU。

[0445] 针对低氧诱导的非复制持久性(NRP) Mtb细胞的抗微生物活性

[0446] 如在Wayne和Hayes (1996) 中所述(进行了微小的改变),使结核分枝杆菌H37Rv培养物适应低氧条件。简言之,使用确定的0.5顶部空间比(head-space ratio, HSR),使Mtb细胞在具有磁珠的McCartney瓶中于Dubos吐温肉汤中培养。向所有的瓶子里添加亚甲蓝作为氧化还原指示剂(终浓度为1.5g/mL)以监测氧气消耗。将MacCartney瓶置于磁搅拌器上,设置成180rpm,置于37℃培养箱内。亚甲蓝指示剂在第8天开始褪色,在12天完全脱色。在MIC测定部分下,如上所述使用14天的低氧适应培养物在96孔微量滴定板中测定多种化合物对NRP Mtb细胞的抗微生物活性。在37℃下,在缺氧箱(DuPoy)中通过使低氧细胞暴露于不同浓度的化合物7天来进行整个测定。将缺氧指示剂带(strip)放置在箱内以便在视觉上确认在整个过程中氧气的除去。在Middlebrook 7H11琼脂平板上进行细菌计数。异烟肼和尼日利亚菌素(nigericin)被用作该测定中的对照。异烟肼显示细菌CFU没有降低(甚至在10 μ g/mL的浓度时),表明了严格的NRP状态。对于每种药物处理,数据表示为 $\log_{10}$ CFU。

[0447] A549细胞毒性

[0448] 如在Eakin等(2012)中所述,针对A549人肺癌细胞测量化合物的体外细胞毒性。简言之,使A549细胞(ATCC)在含有10%热灭活的胎牛血清(GIBCO-BRL)和1mM L-谷氨酰胺(GIBCO-BRL)的RPMI培养基(GIBCO-BRL)中以约1,000个细胞/孔的密度培养。将细胞与化合物在37℃下在CO₂气氛下孵育72小时后,在添加10 μ M的刃天青溶液(Sigma)后,使用荧光计通过测量荧光(在535nm激发,在590nm发射)测定细胞生存力。生长被抑制50%的浓度被认为是IC₅₀值。

[0449] 突变体产生、抗性频率和全基因组测序及分析

[0450] 抗性突变株的产生和抗性频率

[0451] 使用单步选择法(single step selection method)产生了针对化合物31和32的自发抗性突变体。简言之,将Mtb H37Rv的对数中期培养物离心并浓缩100倍以达到约10¹⁰CFU/mL的细菌数目。将细菌培养物的不同稀释液平板接种于含有化合物的平板上(浓度相当于4 $\times$ 、8 $\times$ 和16 $\times$ MIC浓度)。将细菌培养物的适当稀释液也平板接种于无药物的Middlebrook 7H11琼脂上以对培养物中的细菌数目进行计数。将平板在37℃下孵育4周并对无药物平板中的CFU进行计数。将含有药物的平板在37℃下孵育长达6周以确认自发抗性菌落的最终数目。通过用含药物的平板上的菌落数(在给定浓度时)除以在无药物的平板上估计的活菌总数来计算抗性的自发率。从含药物平板上随机挑选抗性菌落并使其在完全的7H9肉汤中生长以确定其针对具体的化合物以及其他具有不同作用机制的标准TB药物的抗性水平。

[0452] 全基因组测序

[0453] 用于全基因组测序的总DNA是使用标准的苯酚-氯仿法从抗性Mtb细胞中提取的。使用dsDNA宽范围分析试剂盒(Life Technologies, Grand Island, NY)在Qubit 2.0荧光计上对产量进行定量。使用NextEra XT DNA样品制备试剂盒和NextEra XT索引引物(Illumina, San Diego, CA)产生文库。采用所推荐的方法,但具有如下不同之处:使用高初始浓度的DNA并在结束时省略有利于qPCR文库定量的文库归一化步骤。使用Kapa BioSystems (Woburn, MA) 文库定量试剂盒(KK4824)在BioRad CFX96循环仪上进行qPCR。将其

中稀释至4nM标准浓度的文库与2.5μL的各个样品(取决于8至12个样品)合并,并用1N NaOH(终浓度0.1N NaOH)变性5分钟。将足够的样品稀释至600μl以提供15至20pmol的复用样品(multiplexed sample)。用Illumina MiSeq V2仪器按照2×150末端配对单个索引读取对样品进行测序。所有测序均针对约50倍的覆盖。

[0454] 使用CLCBio Genomics Workbench v 6.0 (Cambridge, MA) 仪器外(off-instrument)进行序列读取的组装和分析。如下所述处理并分析Fastq文件;除去重复的序列读取并修整其余读取的质量和最小长度(50bp)。然后在高严格条件下(片段长度=0.9, 片段相似性=0.99)使用默认的错配/插入/删除损失从头组装读取。使用相同的组装条件通过将经处理的读取映射为参照亲本组装来完成突变体分离株中SNP/indel的检测。使用默认标准在最低频率为80%处检测以质量(quality)基础的SNP。针对从头组装,通过区域的BLAST比较验证了相关的SNP/indel以帮助消除由于直接映射组装(mapping assembly)而可能产生的错误。

[0455] 氮杂吡啶化合物的药代动力学(PK):

[0456] 在小鼠(健康和被感染)以及大鼠中进行了氮杂吡啶化合物的PK。在施用化合物前两小时,用100mg/kg的ABT预处理小鼠。来自健康小鼠的PK数据用来设计用于效力研究的给药方案,而来自被感染小鼠的信息用于PK-PD分析。

[0457] BALB/c小鼠或Wistar大鼠通过经口管饲施用不同组中的受试化合物3、4、8和17。所有经口施用均以在0.5%HPMC和0.1%吐温80的混悬液进行。在不同的组中,受试化合物3(0.5mg/kg)和17(2mg/kg)以溶液(在磷酸缓冲盐水中20%v/v DMA)静脉内施用。通过隐静脉将所有血液样品收集到涂布有锂-肝素的Microvette**CB300®** (Starstedt, Germany)管中,并且通过离心由所收集的血液制备血浆。

[0458] 单个小鼠感染的POPK:在0.5%HPMC(羟丙基甲基纤维素)和0.1%吐温80的混悬液中配制化合物和参照药物。BALB/c小鼠(3只小鼠/组),通过经口管饲以50、100和200mg/kg进行施用。在给药的第24天在被感染小鼠上进行药代动力学分析(Rennard, 1986)。在施用化合物后的第0.5、1.5、3、5、7和24小时从每个小鼠中收集血液样品。通过从所有组中连续取样,通过隐静脉将约30μL的血液样品收集到涂布有锂-肝素的Microvette**CB300®** (Starstedt, Germany)管中并且离心后以制备血浆(10μL)。将血浆样品储存在-20℃直至使用LC-MS/MS进行分析。

[0459] 上皮衬液(Epithelial lining fluid, ELF) PK:如先前所述(Solapure等, 2013),在施用于0.5%HPMC和0.1%吐温80混悬液中配制的100mg/kg单次经口剂量的化合物后,在健康的小鼠(3只小鼠/组)中进行ELF PK。给药0.5、1.5、3、5、7、17和24小时后,使用异氟烷麻醉小鼠并通过眶后血管丛(Retro-Orbital Plexus)穿刺收集血液。在气管切开后,使用0.7mL冰冷的PBS进行支气管肺泡灌洗(Broncho-Alveolar Lavage, BAL)。尿素评估试剂盒DIUR-500 (Bio-assay Systems, U.S.A)用于进行血浆和BAL样品中的尿素评估。如在Marry等, 2011中所述的,在将BAL中的尿素浓度与血浆中的尿素浓度归一化后计算ELF的体积。将血浆和BAL样品储存在-20℃,直至使用LC-MS/MS进行分析。

[0460] 血浆和BAL样品分析:在二甲基亚砜(DMSO)中制备各个化合物之1mg/mL的储备溶液并用乙腈稀释两倍。对于每种分析物使用16个点的校正曲线,并且标准曲线为0.001μg/mL至40μg/mL。通过添加含有卡马西平作为内标(250μg/mL)的冷却乙腈(1:10v/v)来沉淀血

浆/BAL样品。将样品涡旋,并在10℃下以4000rpm离心30分钟。将所得的上清液与流动相混合(50%的乙腈水溶液与0.1%甲酸)。向耦联至三重四极杆质谱仪(Waters-ACQUITY-TQD; MS/MS)的液相色谱系统(Waters-ACQUITY UPLC)中进样10μL的样品。在正离子模式下获得样品并通过多反应监测(multiple reaction monitoring,MRM)进行检测。通过将分析物的已知浓度对峰面积比(分析物/内标准峰响应)进行绘图而获得的标准曲线来确定分析物的浓度。

[0461] 健康和被感染PK数据分析:用WinNonlin Phoenix软件(6.2版本;Pharsight,USA)进行血浆浓度-时间关系的PK分析。使用非房室(Non-compartmental)分析程序,模型200来计算PK参数。评估了血浆中药物的最大浓度(C_{max}),达到 C_{max} 的时间(T_{max})、消除半衰期($t_{1/2}$)和从时间零至无穷大的AUC($AUC_{0-\infty}$)。使用梯形法则(线性上升和log下降)计算AUC并且只有当外推的AUC不超过原值的20%时才认为是 $AUC_{0-\infty}$ 值。使用在末端斜率上3个采样点的最小值来评估计算半衰期。

[0462] ELF PK的分析:

[0463] 如(Solapure等,2013;Marry等,2011)所述,BAL样品中ELF的体积计算为BAL的体积乘以BAL和血浆中尿素浓度之比。通过将BAL样品中的浓度乘以BAL体积与ELF体积之比来计算ELF中的化合物浓度。通过非房室分析WinNonlin Phoenix软件(6.2版本;Pharsight,USA)计算ELF和血浆中的 $AUC_{0-\infty}$ 。在将各个时间点的浓度乘以血浆中的游离级分后,计算游离血浆AUC。以在相同的时间间隔内ELF中的 $AUC_{0-\infty}$ 与游离血浆/总血浆中游离 $AUC_{0-\infty}$ 之比来计算肺ELF渗透率。假定在单剂量施用后的健康小鼠中测量的该比值在被感染小鼠的多剂量效力研究过程中保持不变。在WinNonlin中的稀少样品分析用于评估与AUC评估相关的标准误(SE)。

[0464] 体内效力研究

[0465] 结核分枝杆菌感染接种物:如上所述培养对所有标准的抗分枝杆菌剂均敏感的Mtb H37Rv(ATCC 27294)。7至10天后,通过离心收集细胞,在7H9肉汤中清洗两次并重悬浮于新鲜的7H9肉汤中。分配成1mL的等分试样并储存在-70℃。在动物感染的当天使冷冻的储备液解冻并用作接种物。

[0466] 伦理声明和动物:所有动物实验方案和用途均经过印度政府的机构动物伦理委员会(Institutional Animal Ethics Committee,IAEC)批准,向控制和监督宗旨委员会(Committee for the purpose of Control and Supervision,CPCSEA)登记。雄性BALB/c小鼠购自印度RCC Hyderabad,大鼠购自Bioneds,Bangalore。将8只大鼠和小鼠(6至8周)随机分组,每个笼子三或四只,并在开始研究之前经一周时间使其适应环境。在标准条件下将动物以12小时昼夜循环进行饲养。随意给予饲料(**Nutrilab®**)和水。被感染小鼠均维持在生物安全级别3(bio-safety level3,BSL-3)设施的单独通风笼(Allentown Technologies,USA)中。用于在被感染小鼠上进行药代动力学的所有步骤(包括给药和采集血样)均在严格的生物防护(bio-containment)下进行。

[0467] 气雾剂感染:使用经改进的Madison气雾剂设备(Jayaram等,2003)通过吸入步骤用结核分枝杆菌感染小鼠和大鼠。通过在小鼠中灌输约 10^4 CFU/肺的高剂量气雾剂感染而建立急性感染模型并在感染后三天开始药物处理(Schroeder等,2003;Jayaram等,2003)。与此相反,用递送约50-100杆菌/肺的低剂量Mtb气雾剂感染来开发慢性感染模型(小鼠和

大鼠) (Schroeder等, 2003; Jayaram等, 2003; Kumar等2014) 并在感染后28天开始药物处理。测定在药物处理开始时存在于肺部的细菌数目。在处理结束时, 使小鼠安乐死, 无菌地取出肺, 并使用Wheaton Teflon-Glass组织研磨器在3.0ml凝胶盐水中使其均质化。将肺匀浆连续稀释10倍并平板接种于补充有10%ADC的Middlebrook 7H11琼脂平板上。将平板在37℃下用5%CO₂孵育3周以获得分离的菌落。

[0468] 小鼠体内剂量响应研究: 在施用化合物前两小时, 用100mg/kg日经口剂量的氨基苯并三唑 (aminobenzotriazole, ABT) 预处理被感染小鼠以阻止P450代谢酶。在0.5% (w/v) HPMC和0.1%吐温80 (Sigma chemical co. USA) 混悬液中配制氮杂吡啶化合物3和4并通过经口管饲递送。在急性小鼠模型中, 向动物给予50mg/kg、100mg/kg的化合物3和4, 并给予3mg/kg的异烟肼作为阳性对照。在慢性模型中, 使用30mg/kg和100mg/kg剂量的化合物3和4。使用10mg/kg的利福平作为参照药物对照。使用两个不同的载剂对照组 (具有和没有ABT) 来排除ABT对Mtb感染的任何不良作用。所有药物和受试化合物均经口施用4周, 给药形式是每周6/7天。给药期结束后48小时, 用CO₂将动物安乐死, 无菌地取出肺并如上所述在平板接种后对CFU计数。

[0469] 大鼠体内剂量响应研究: 在0.5% (w/v) HPMC和0.1%吐温80 (Sigma chemical co. USA) 混悬液中配制氮杂吡啶化合物8、17、30和34并通过经口管饲递送。在慢性大鼠模型中, 向动物给予30mg/kg、100mg/kg的化合物8、17、30和34。使用10mg/kg利福平作为参照药物对照。所有药物和受试化合物均经口施用4周, 给药形式是每周6/7天。给药期结束后48小时, 用CO₂对动物实施安乐死, 无菌地取出肺并如上所述在平板接种后对CFU计数。

[0470] 统计学分析: 将从平板接种得到的菌落数转换为Log₁₀ (X+1), 其中x等于存在于给定样品中的活杆菌总数。使用Prism软件, 版本4 (Graph Pad Software, Inc., San Diego, California) 进行药效作用的绘图。使用Dunnet's多重对比检验来区分经处理的与未处理的小鼠肺CFU中的统计差异。

[0471] 溶解度测定

[0472] 如上所述测定了化合物在0.1M磷酸盐缓冲液 (pH 7.4) 中的溶解度, 在测定中使用格列本脲作为QC标准。简言之, 将化合物在ACN/水 (40:60) 中稀释以达到期望的浓度, 使用Genevac将样品干燥4小时, 随后添加800μl的缓冲液。在25℃下在Eppendorf Thermomix R上将含化合物的平板以750rpm搅拌24小时。最后, 使用UV和MS分析评估化合物浓度。

[0473] 血浆蛋白结合测定

[0474] 使用平衡透析技术测量蛋白结合。将化合物添加到10%的血浆中得到20μM的浓度并在37℃下用等渗缓冲液透析18小时。使用通用LCUVMS分析血浆和缓冲液并且推导出化合物的第一表观结合常数。然后使用结合常数来测定在100%血浆中的游离%。

[0475] 代谢稳定性测定 (小鼠/人微粒体Cl_{int})

[0476] 在37℃下, 将1μM化合物与1mg/mL微粒体 (具有20mg/mL蛋白质浓度之合并的HLM/MLM) 在含2mM NADPH溶液的166μL缓冲液 (100mM磷酸盐缓冲液, pH7.4) 中进行孵育。在新的96孔板中, 在不同的时间点 (即0、2、5、10、20和30分钟), 用4体积冷却的乙腈使20μL的孵育混合物淬灭。将淬灭板以4000rpm离心15分钟。用水中的50%乙腈将30μL的上清液稀释至300μL, 使用LC-MS/MS分析底物消耗。

[0477] 代谢稳定性测定 (大鼠/人肝细胞Cl_{int})

[0478] 使用台盼蓝来测定冷冻保存的肝细胞的生存力并用缓冲液(KHB缓冲液)将细胞浓度调节至 10^6 个细胞/mL。在NUNC板中用500 μ L肝细胞(1百万个细胞/mL)孵育1 μ M化合物(在乙腈;0.01%DMSO中)。在不同的时间点(0、5、15、30、60、90和120分钟)通过向100 μ L的反应混合物中添加3倍体积的冷却乙腈停止反应并在4℃下离心15分钟。使用LC-MS/MS分析上清液以分析底物消耗。

[0479] logD

[0480] 已经如下所述测量了以摇瓶原理为基础的辛醇-水分配系数(log D)。使用的水溶液是10mM磷酸钠缓冲液,pH 7.4。将溶解于DMSO中的20 μ L的10mM化合物溶于玻璃小瓶板中。使用GeneVac除去DMSO。使用Tomtec添加435 μ L的辛醇,搅拌5分钟以使其溶解。通过在25℃下反转5小时,随后在3000RPM下离心30分钟完成进一步混合。进行水层和辛醇层两者的LC/UV/APPI/MS定量。根据下面的等式测定Log D值。

$$[0481] \quad \text{LogD} = \text{Log} \left(\frac{\left| \frac{\text{辛醇}}{\text{辛醇注入体积}} \right|}{\left| \frac{\text{缓冲液}}{\text{缓冲液注入体积}} \right|} \right)$$

[0482] 已经证实该方法的log D为-2至5.0。

[0483] hERG测定

[0484] 使用中等吞吐量电生理学IonWorks™装置在电压门控离子通道上测试化合物。关于IonWorks™运行的详细方法已经出版(Schroeder 2013)。为了进行实验,在IonWorks™仪器的“细胞”位置的船(boat)中装入细胞混悬液,并将96孔PBS目标平板置于“板1”位置。384-孔PatchPlate™放置于IonWorks™增压室中并使用增压夹(plenum clamp)保持在一定位置。从这点开始,自动化地进行实验并最终报告受试化合物的非累积浓度-效应曲线。

[0485] 总结

[0486] 虽然对于Mtb和耻垢分枝杆菌(Msm)有杀菌性,所公开的化合物没有表现出针对广谱病原体的活性,从而表明优良的靶病原体特异性(表2,图25)。该系列化合物保留了对Mtb之药物敏感和单药抗性临床分离株的MIC(表3,图26),表明其用于药物敏感和MDR TB治疗的可能性。该化合物显示出对复制中Mtb的时间依赖性杀伤动力学,在第10天在1至4倍的MIC浓度时,菌落形成单位(CFU)降低约4log10(图1)。这些化合物也对细胞内的Mtb有活性,在比被感染Mtb的THP1细胞中MIC的浓度高1至4倍时,CFU降低约1log10(图2)。除了其对复制中细菌的有效活性,所述系列分子的亚组在低氧条件下显示出对非复制Mtb的中度活性(在韦恩模型中以HBC测量的杀菌性),由化合物3表示(表4)。发现在处理72小时后,该系列中的化合物对A549人肺腺癌上皮细胞系(MMIC>100 μ M,表4)没有细胞毒性。我们还观察到化合物以32 μ M最大值暴露7天后,>95%的THP-1巨噬细胞有生存力(表4)。

[0487] 图25示出了表2,病原体特异性。

[0488] 图26示出了表3,针对药物敏感性和抗药性Mtb的活性。

[0489] 表4.化合物的微生物学特性

化合物编号	Mtb (μM)	MIC	Mtb (μM)	MBC	Mtb HBC (μM)	MMIC (A549) (μM)
[0490] 3	1.56-3.12		1.56-3.12		50	>100
4	0.39-1.56		0.78-1.56		>100	>100
8	<0.39		<0.39		100	>100
17	1.56-3.12		0.78-1.56		>100	>100

[0491] 在 $8 \times \text{MIC}$ 浓度时以 2.9×10^{-9} 的频率出现对1,4-氮杂吡啶具有降低易感性的自发抗性突变体(表5)。抗性Mtb突变体的全基因组测序揭示了在dprE1 (Rv 3790) 中的单核苷酸改变,导致在314位的氨基酸替换(Tyr→His),但没有观察到显著的次要靶标。而该系列中的化合物对突变株(Tyr314His)具有交叉抗性,没有观察到对包括BTZ043在内的参照药物的抗性。半胱氨酸387DprE1突变(Cys→Ser,Cys→Gly),赋予了对BTZ043的抗性(Makarov, V.等,Science,324,801-804(2009)),并没有显示出对1,4-氮杂吡啶的交叉抗性(表6)。此外,通过对DprE1过表达的MIC调整再次确认了靶标特异性,如也可见于BTZ043(表6)。

[0492] 表5. 抗性频率

	Mtb H37Rv MIC (μM)	Mtb H37Rv MBC (μM)	Mtb H37Rv HBC (μM)	MMIC (A549) (μM)
[0493] 化合物31	1.56-3.12	3.12-6.25	12.5-25	>82
化合物32	1.56-3.12	1.56-6.25	>200	>100
	Mtb DprE1 OE MIC (μM)	Mtb DprE1 C387S	Mtb DprE1 C387G MIC (μM)	Mtb DprE1 Y314H MIC (μM)
化合物31	25	0.78	0.78	25
化合物32	50	0.39	0.39	200

[0494] 表6. 系列中化合物与参照化合物的交叉抗性

[0495]

以 μM 计的值	Mtb H37Rv	Mtb DprE1 OE	Mtb DprE1 C387S	Mtb DprE1 C387G	Mtb DprE1 Y314H
化合物3	3.12	50	3.12	0.78	>100
化合物4	0.39	25	0.39	0.39	>200
化合物8	0.39	6.25	0.39	0.39	>200
化合物17	1.56	100	0.39	0.78	>200
BTZ043	0.003	50	>0.1	>0.1	0.0015-0.003
异烟肼	0.06	0.03	0.06	0.06	0.06
乙胺丁醇	2	2	2	4	2.0-4.0
利福平	0.01	0.003	0.003	0.003	0.006
TMC207	0.6	0.15	0.3	0.15	0.15-0.3

莫西沙星	0.125	0.06	0.06	0.06	0.06
氧氟沙星	1	0.5	0.5	0.5	0.5
D-环丝氨酸	8	8	8	8	8.0-16.0
氯法齐明	0.125	0.06	0.03	0.03	0.125

[0496] 描述了该系列中的化合物的体外药物代谢和药代动力学 (drug metabolism and pharmacokinetics, DMPK) 性质, 代表性的化合物示于表7中。化合物3、4和8在无水DMSO中的溶解度比化合物17低; 改善的溶解度可能是由于羟乙基酰胺侧链。化合物3-4、8和17的蛋白质结合 (游离%) 值在5%至22%。通过使用人微粒体、人肝细胞和大鼠肝细胞评估的化合物3-4、8和17的预测清除率为肝血流量 (%LBF) 的4%至18%。与此相反, 由小鼠微粒体预测的清除率更高 (表8), 这表明了物种特异性清除机制。通过Caco-2测定测量的渗透性表明这些化合物是高度可渗透的, 没有观察到显著的流出。该系列中的化合物在50 μM 时没有显示出对CYP酶的抑制 (表7), 表明其用于组合治疗的可能性。化合物3-4、8和17对一系列人靶标和心脏通道的体外安全性分析显示没有与这一系列相关的重大安全责任 (表7)。

[0497] 表7. 化合物的DMPK和安全性

[0498]

化合物	3	4	8	17
logD	2.1	3.0	2.6	1.8
溶解度 (μM)	8 ^a	5 ^a	4 ^a	124
人 CL _{pred} 微粒体 (%LBF)	10.4	15.6	10.1	16.1
人 CL _{pred} 肝细胞 (%LBF)	6.0	4.3	4.3	9.2
大鼠 CL _{pred} 肝细胞 (%LBF)	13	13	14.9	17.9
人 PPB (游离%)	9.8	5	5	22
Caco-2 A-B/B-A (1E-6.cm/s)	25/17	38/24	33/17	11/30
CYP ^b 抑制 (μM)	>50	>50	>50	>50
hERG (μM)	>33	>33	>33	>33

第二药理学命中 IC₅₀ (μM) 没有显著的命中

[0499] [a]:在测试培养基中的动力学溶解度>100 μM , [b]:CYP1A2,CYP2C9,CYP2C19,CYP2D6,CYP3A4。

[0500] 表8.小鼠微粒体的高内在清除率

化合物	3	4	8	17
[0501] Mo微粒体 Cl _{int} ($\mu\text{l}/\text{min}/\text{mg}$)	104	180	108	25

[0502] 基于体外性质,描述了化合物3-4、8和17在小鼠和大鼠体内的PK以评估经口暴露(oral exposure)。在氨基苯并三唑(ABT)存在下,测量了小鼠中的PK暴露,使用CYP同种型的泛抑制剂(Pan-inhibitor)来阻碍小鼠特异性清除率。在大鼠和小鼠二者中对于化合物3-4、8和17均观察到显著的经口暴露(图3,表9)。在大鼠中,观察到在体外和体内清除率之间有良好的相关性,对于化合物17有92%的生物利用度(表9)。在BALB/c小鼠的“急性”和“慢性TB模型”中评估了两种代表性化合物(3和4)的体内效力(Jayaram等,2003;Marry等2011;Kumar等2014)。在急性模型中,感染后3天开始处理,而在慢性模型中在第28天开始处理。化合物3和4进行4周的处理将肺部的细菌负荷降低>1.5log₁₀CFU并且观察到统计学上显著的剂量依赖效力(图1)。从被感染动物评估的化合物3和4的经口暴露,显示AUC为200-700 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ 且在每次给药后将浓度维持高于MIC达约10小时(%T>约10小时的MIC),这导致在慢性小鼠模型中产生效力(图4;表10)。有趣的是,对于这两种化合物,在健康小鼠肺上皮衬液(ELF PK)测量的化合物3和4的水平与游离血浆水平相当(图4,表11),证明在靶位点处有

显著暴露。因此,血浆和/或ELF水平和药理学效应之间观察到良好的相关性。在急性和慢性小鼠模型中,动物耐受1个月的施用剂量,在体重和大体病理学方面没有观察到不良作用。

[0503] 表9.在健康BALB/c小鼠和Wistar大鼠中单次剂量施用后化合物的药代动力学参数(数据是平均值±SD,除非另有说明,否则n=3)。

[0504]

化合物		3	4	8 ^a	17 ^b
小鼠POPK (+ABT)	剂量(mg/kg)	100	100	30	50
	AUC _{0-∞} (μM.h)	521.50±19.60	346.73±42.75	64.19	420.30±23.5
	T _{max} (h)	6.33±1.15	4.67±1.15	2	1.33±0.58
	C _{max} (μM)	66.01±11.17	44.12±13.0	13.36	74.79±15.61
	T _{1/2} (h)	1.91±0.11	3.63±1.46	4.15	1.78±0.10
	剂量(mg/kg)	0.5			2
大鼠IVPK	CL (μl/min/kg)	15.50±3.21			27.35
	V _d (L/kg)	1.05±0.28	ND	ND	7.34
	AUC ₀₋₄ (μM.h)	1.60±0.29			3.46
	T _{1/2} (h)	2.22±2.51			2.06
	C _{0h} (μM)	1.76±0.42			2.64
	剂量(mg/kg)	30	30	30	20
大鼠POPK ^c	AUC _{0-∞} (μM.h)	101.38	22.86	29.29	59.82
	T _{max} (h)	2.0	3.0	4.5	0.5
	C _{max} (μM)	15.01	2.35	3.69	17.84
	T _{1/2} (h)	2.01	3.64	3.58	2.74
	F	96%	ND	ND	100%

[0505] ND: 未测定;^a化合物5 (n=2); ^b化合物6对于大鼠IvPK (n=2); 对于所有的化合物 (n=2)

[0506] 表10.在健康BALB/c小鼠中经口单剂量施用后,1,4-氮杂吡啶的ELF渗透率(数据是平均值±SD,除非另有说明,否则n=3)。

[0507]

化合物	3			4		
基质	ELF	血浆	/ 血浆	ELF	血浆	/ 血浆
剂量(mg/kg)	100			100		
C_{max} (μM)	74.0 ± 63.84±	4.85±		39.92 ± 38.09 ±	1.52 ±	
	3.77	7.37	0.56	13.71	5.86	0.07
AUC_{0-24} (h*μM)	712.85 ± 573.27±	43.46 ±		410.37 ± 406.81 ±	12.97 ±	
	176.16	78.76	5.96	91.52	44.56	2.78
ELF渗透率 (基于游离 血浆AUC) *	7.29-26.10			12.4-50.9		
ELF渗透率 (基于 总血浆AUC)	0.60-1.97			0.52-1.51		

[0508] * 基于Hu PPB游离%计算;在95%置信区间内计算的ELF渗透率

[0509] 表11. 在被感染BALB/c小鼠中多次经口剂量后,1,4-氮杂吡啶的药代动力学参数(数据是平均值±SD,除非另有说明,否则n=3)。

[0510]

化合物	3	4
剂量 (mg/kg)	50	50
	100	100
被感染小鼠 的POPK, 来自急性 效力 (+ABT)	C_{max} (μ M)	17.79 ± 5.61 41.28 ± 10.28 38.91 ± 15.16 72.62 ± 8.31
	$AUC_{0-\infty}$ (μ M*h)	106.08 ± 332.15 199.62 ± 529.03
	T_{max} (h)	3.04 152.51 101.21 85.07
	$T_{1/2}$ (h)	4.33 ± 1.15 3.83 ± 2.84 4.50 ± 2.78 5.67 ± 2.31
	% f T>MIC	2.38 ± 0.19 3.02 ± 1.99 2.23 ± 0.35 2.02 ± 0.09
	% T>MIC	23 41 39 50
	58 66 75 83	
剂量 (mg/kg)	30	30
	100 ^a	100 ^b
被感染小鼠 的POPK, 来自慢性 效力 (+ABT)	C_{max} (μ M)	32.78 ± 71.24 17.36 ± 1.76 43.17
	$AUC_{0-\infty}$ (μ M*h)	14.41 251.94 ± 695.76 226.98 ± 772.33
	T_{max} (h)	64.01 28.87
	$T_{1/2}$ (h)	2.00 ± 0.87 3 5.67 ± 2.31 5
	% f T>MIC	4.46 ± 0.16 4.4 3.85 ± 0.54 4.21
	% T>MIC	29 63 29 100
	92 100 100 100	

[0511] ^a化合物3 (n=2); ^b化合物4 (n=1)[0512] 表12. 被Mtb感染的雄性Wistar大鼠中在多次经口剂量(100mg/kg)之后,1,4-氮杂吡啶化合物的药代动力学参数(平均值 $\pm$ SD)。

[0513]

化合物	8	17	30	34
剂量 (mg/kg)		100		
C_{max} (μ M)	11.9 ± 3.0	46.1 ± 7.7	3.4 ± 2.0	31.5 ± 3.0
T_{max} (h)	1.5 ± 0.6	5.3 ± 1.2	3.3 ± 2.3	2.0 ± 0.0
$AUC_{0-\infty}$ (μ M*h)	98.4 ± 31.9	986.4 ± 274.3	23.3 ± 11.7	166.1 ± 43.9
$T_{1/2}$ (h)	7.2 ± 1.3	3.8 ± 0.6	3.3 ± 1.1	4.6 ± 0.0

[0514] 参考文献

[0515] Jayaram et.al.Antimicrob.Agents Chemother.47,2118-2124 (2003) .

[0516] Balganes et.al.Antimicrob.Agents Chemother.54,5167-5172 (2010) .

[0517] National Committee for Clinical Laboratory Standards.2009.Volume 29, Number 2.

- [0518] National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA.
- [0519] Wayne and Hayes Infect. Immun. 64, 2062–2069 (1996) .
- [0520] Eakin et.al, Antimicrob. Agents Chemother 56, 1240–1246 (2012) .
- [0521] Reddy et.al. Eur. J. Pharm. Sci. 47, 444–450 (2012) .
- [0522] Louie et.al. Antimicrob. Agents Chemother 53, 3325–30 (2009) .
- [0523] Rennard, S. I. et.al. J. Appl. Physiol. 60, 532–538 (1986) .
- [0524] Solapure et.al, Antimicrob. Agents Chemother. 57, 2506–2510 (2013) .
- [0525] Marry et.al, Antimicrob. Agents Chemother. 55, 1237–1247 (2011) .
- [0526] Schroeder et.al, J. Biomol. Screen. 8, 50–64 (2003) .
- [0527] Marry et al. Antimicrob. Agents Chemother. 55, 1237–1247 (2011) .
- [0528] Kumar et al. Tuberculosis. (2014) .

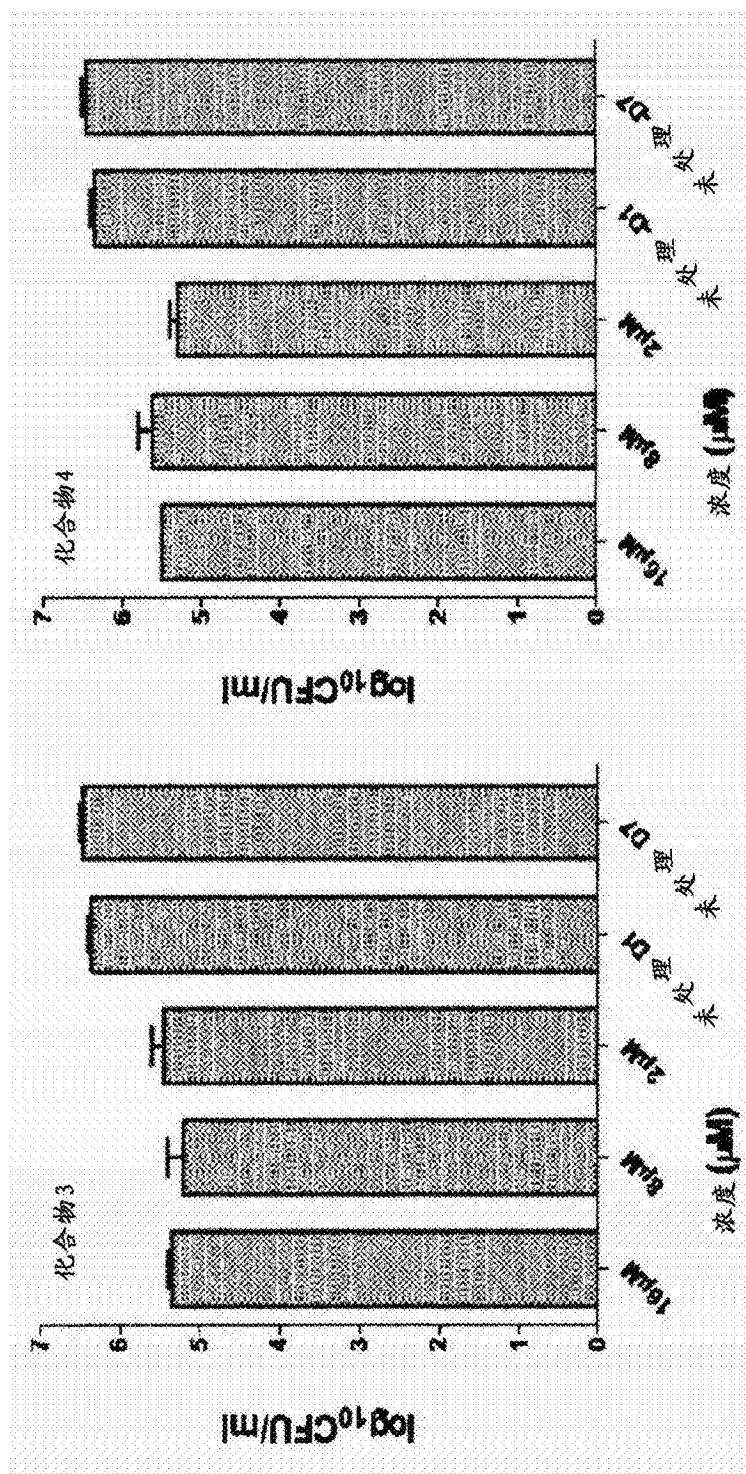


图2

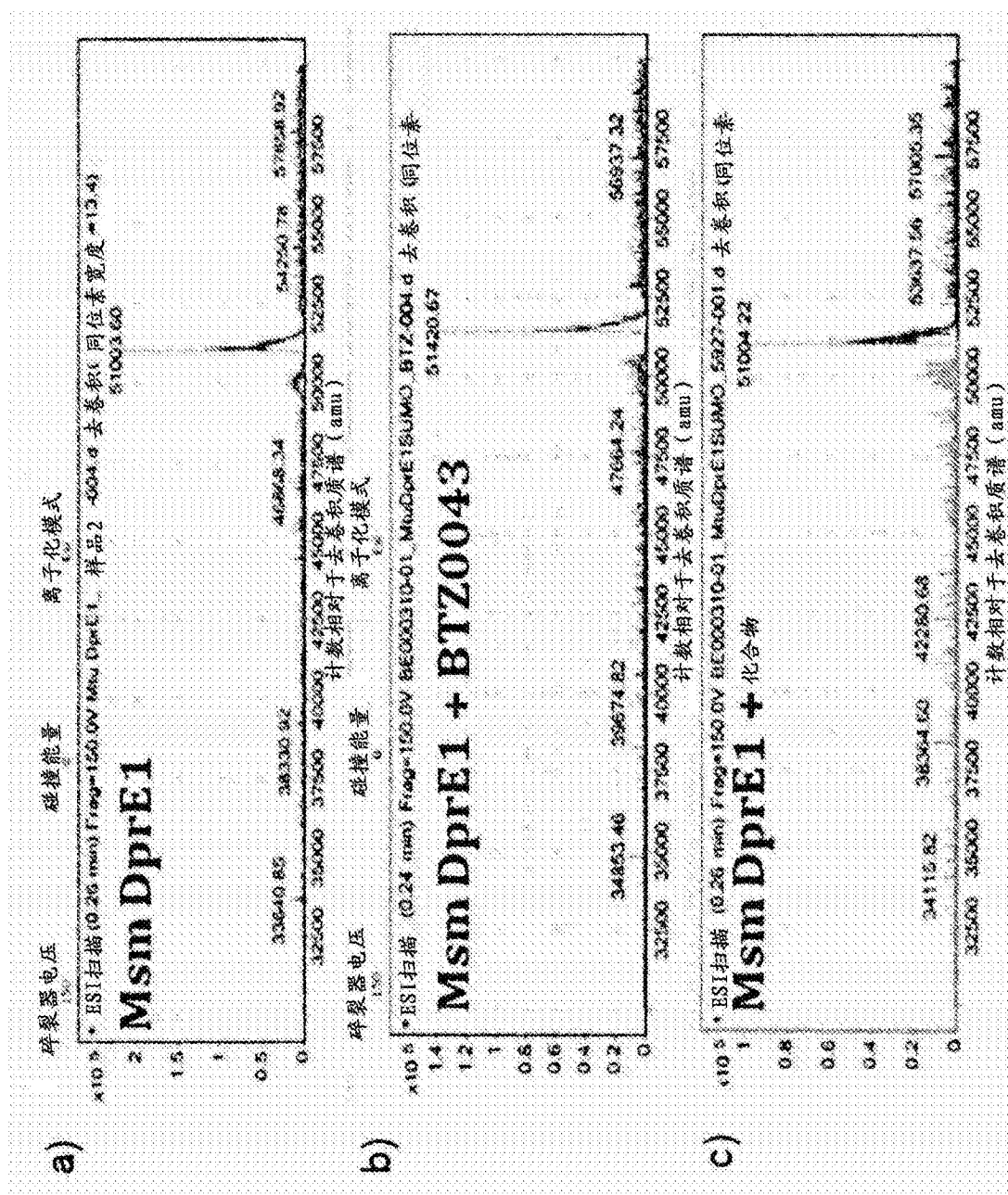


图3

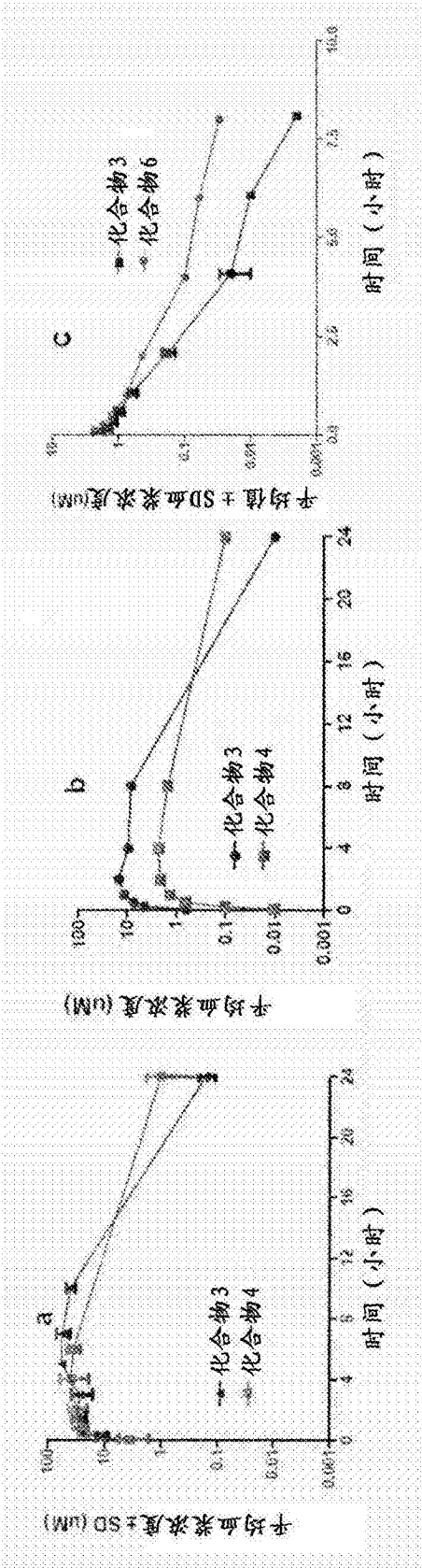


图4

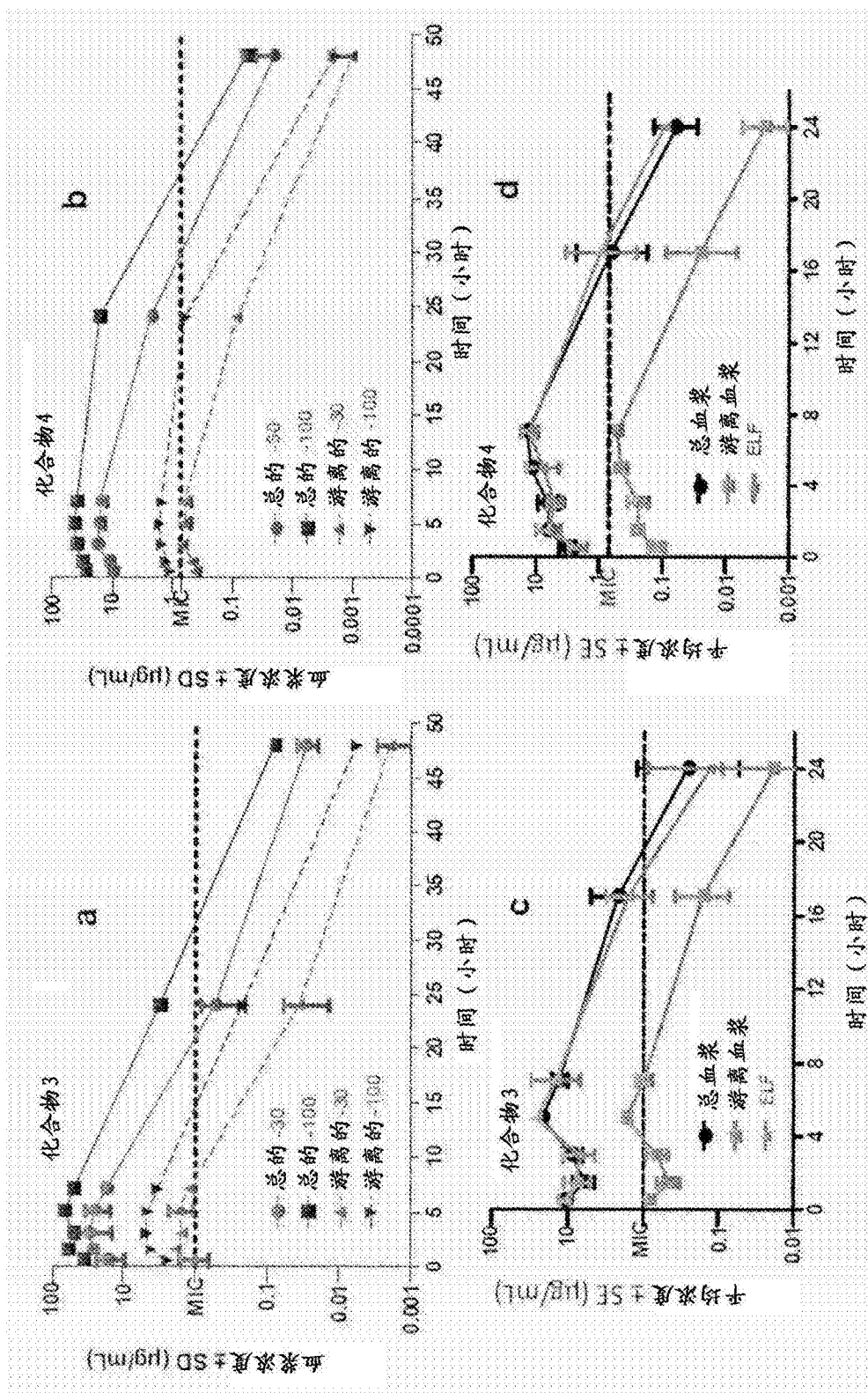


图5

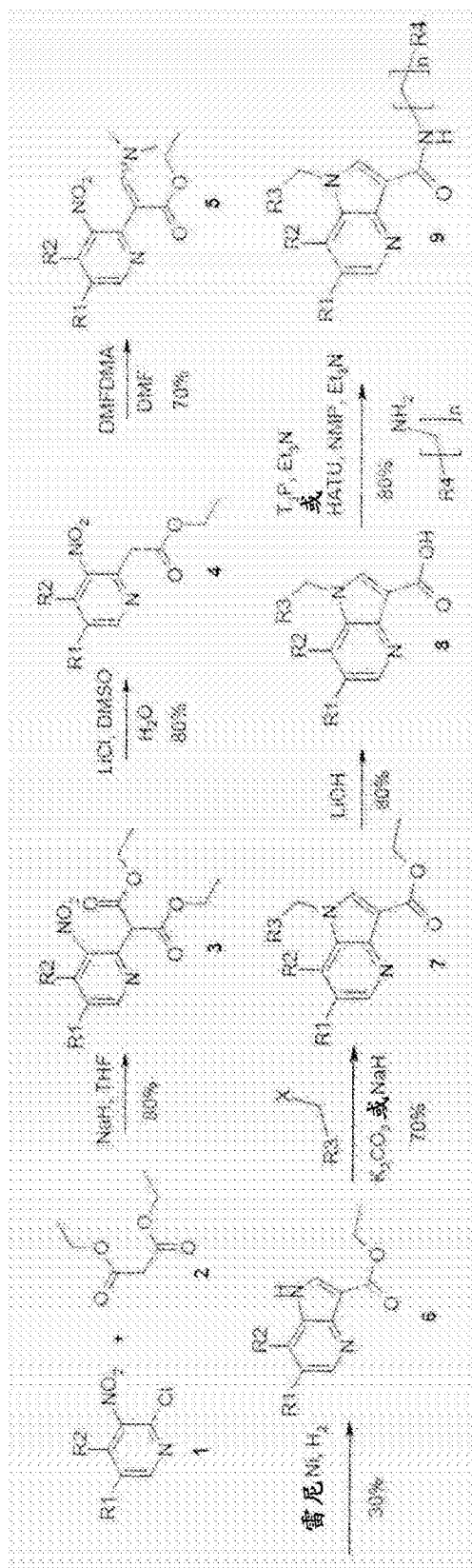


图6

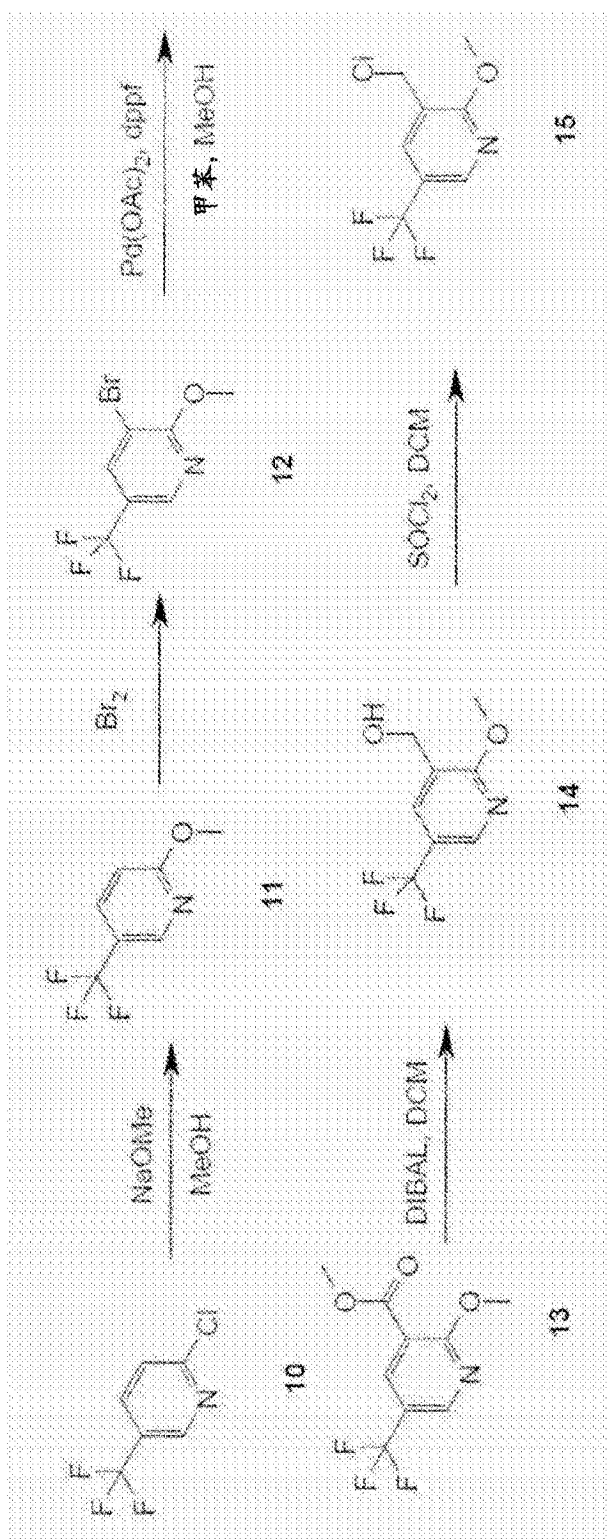


图7

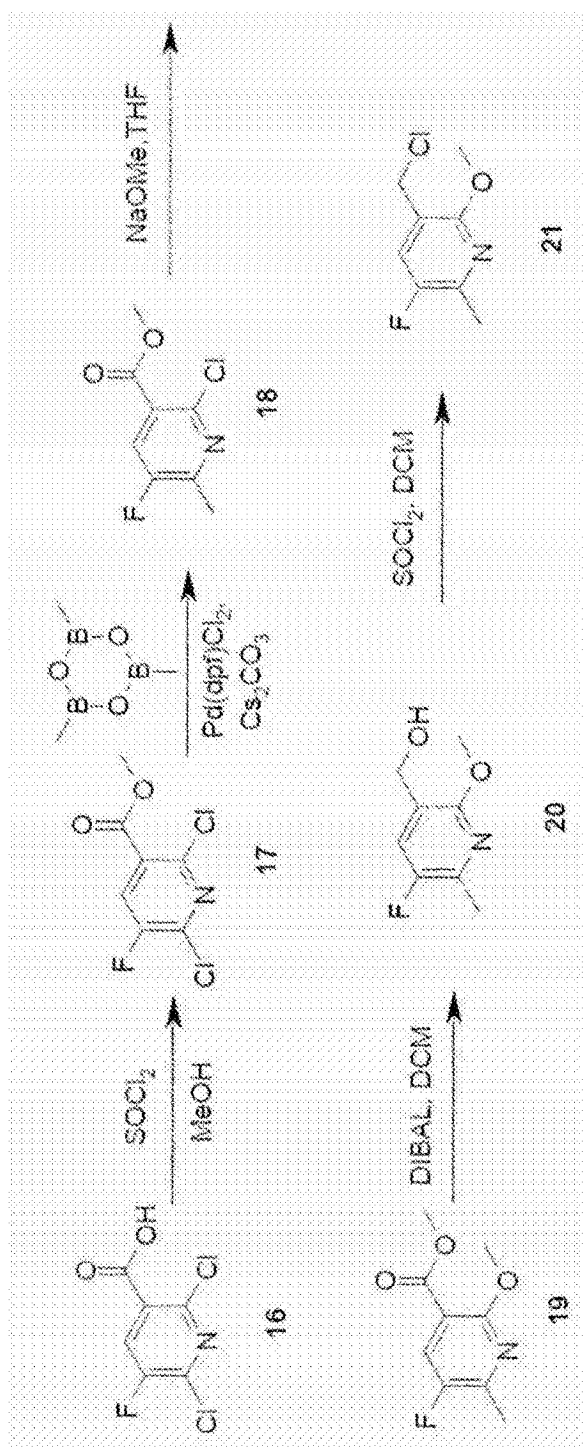


图8

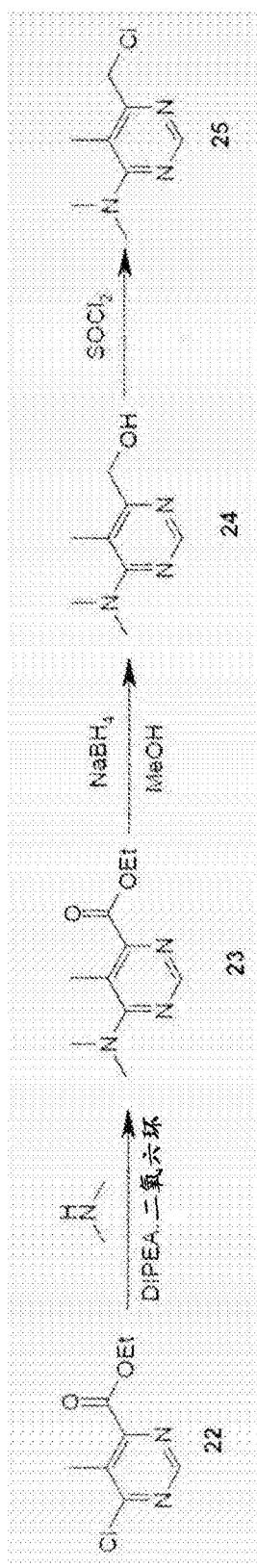


图9

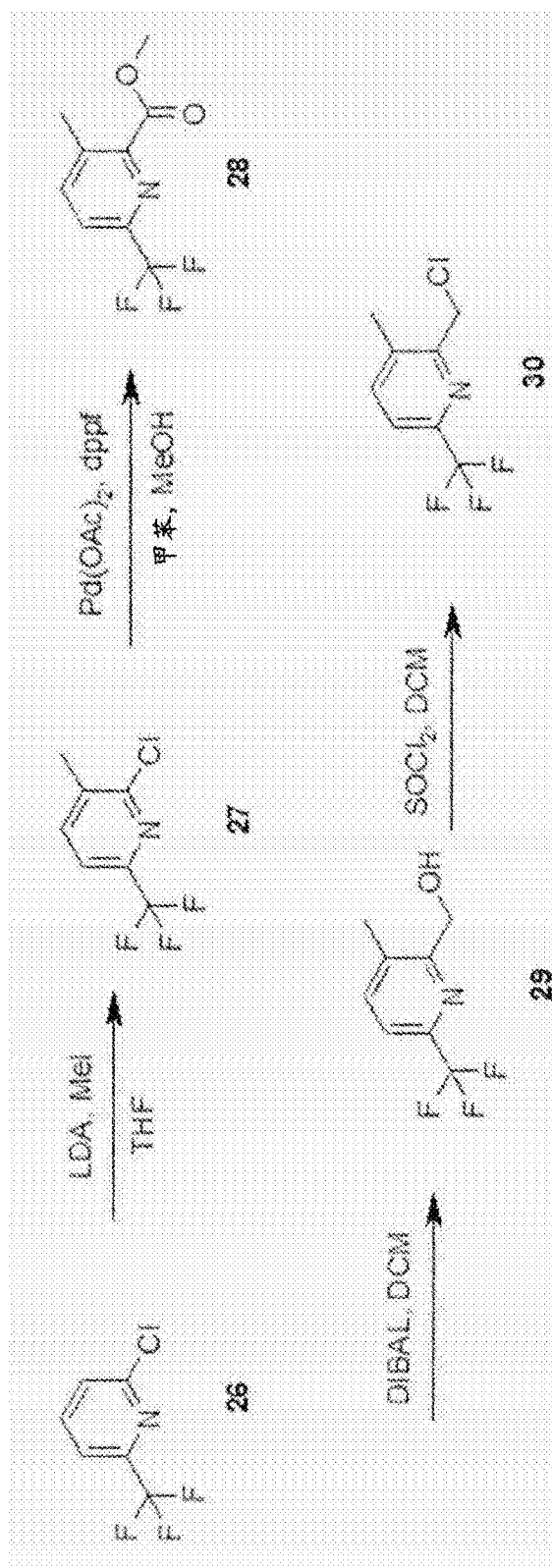


图10

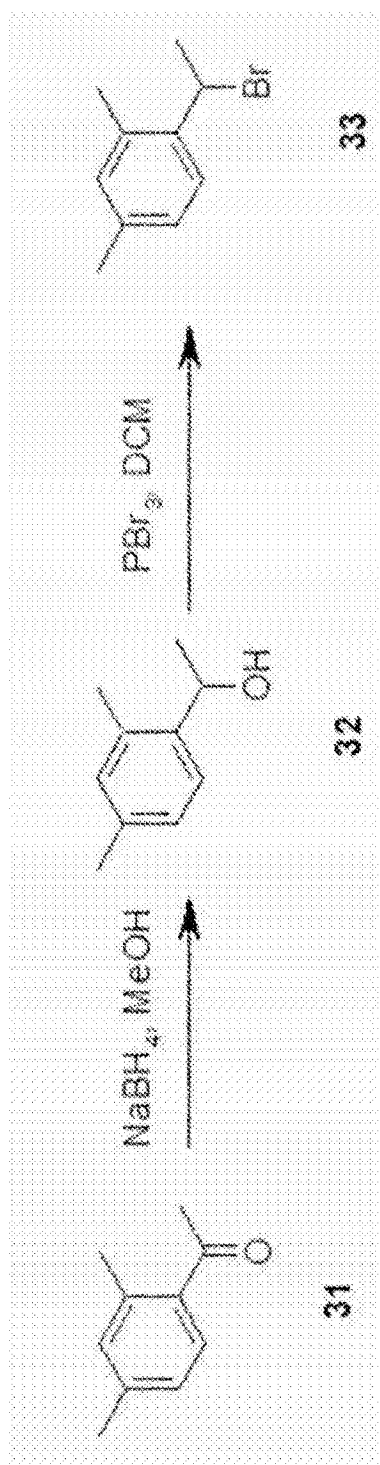


图11

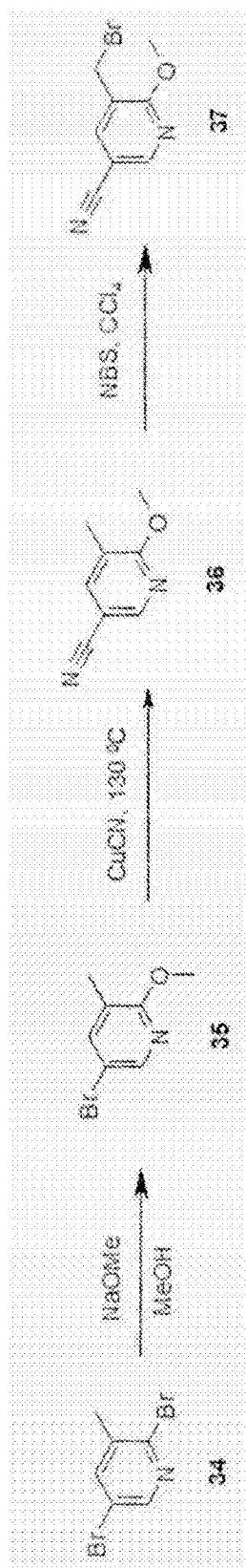


图12

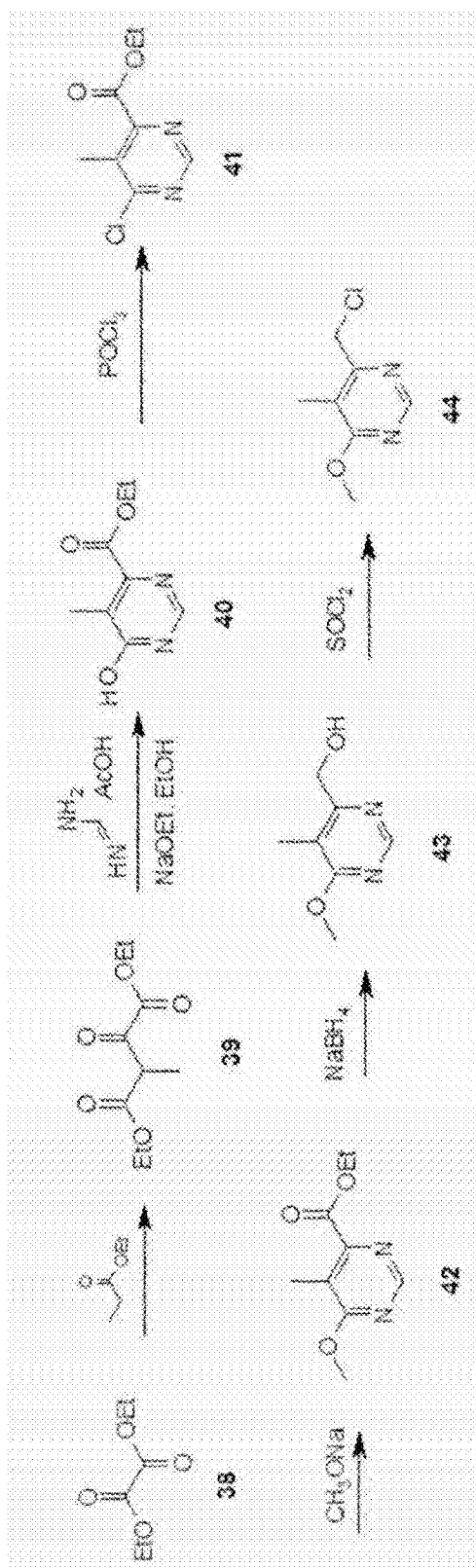


图13

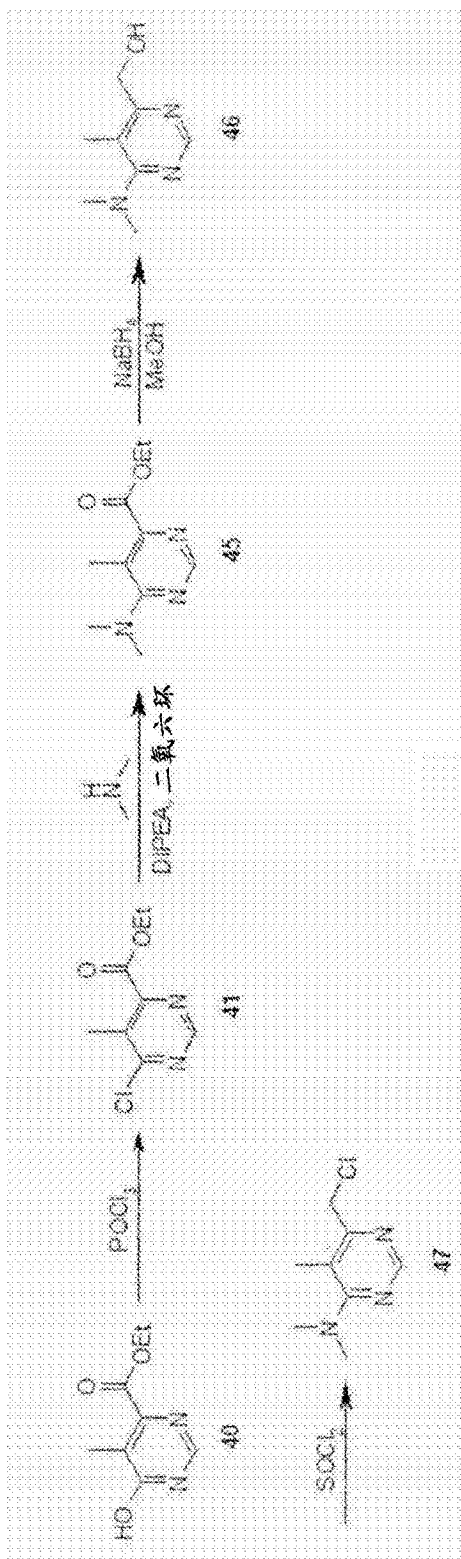


图14

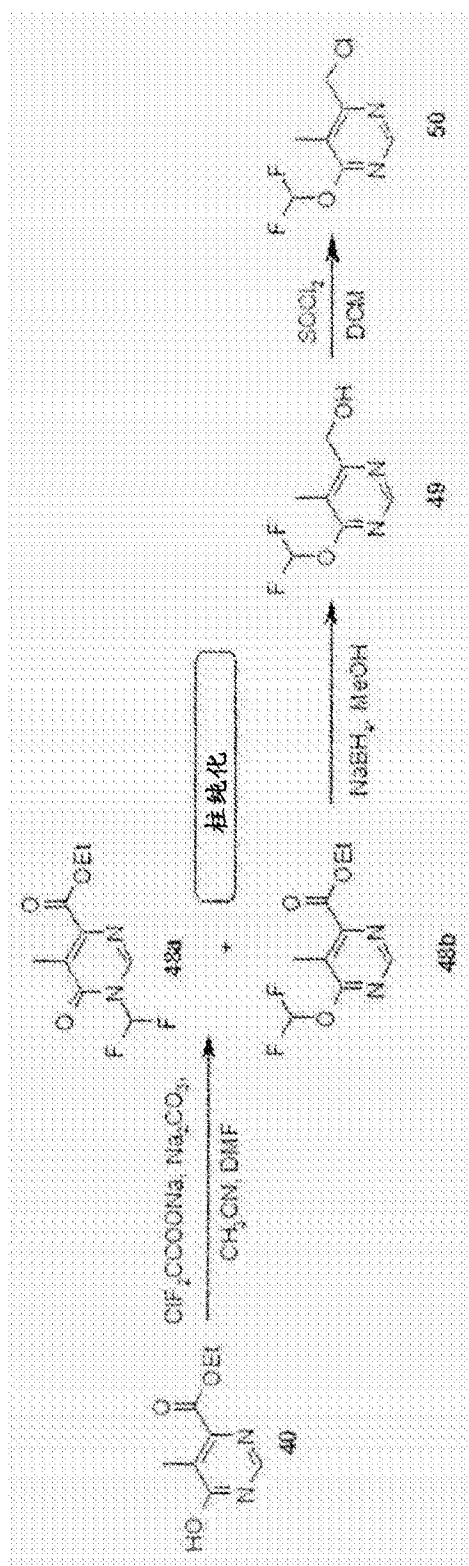


图15

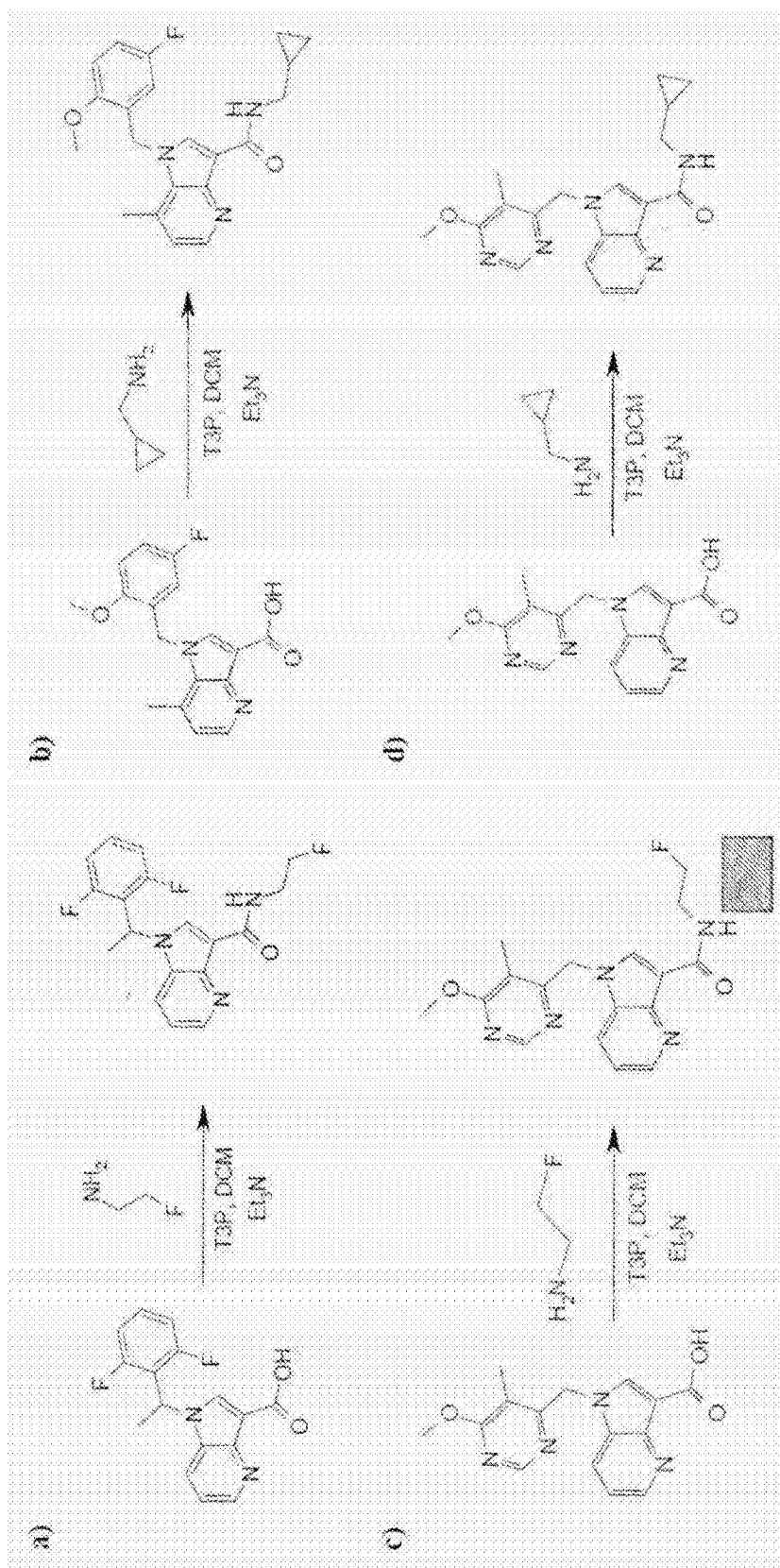


图16

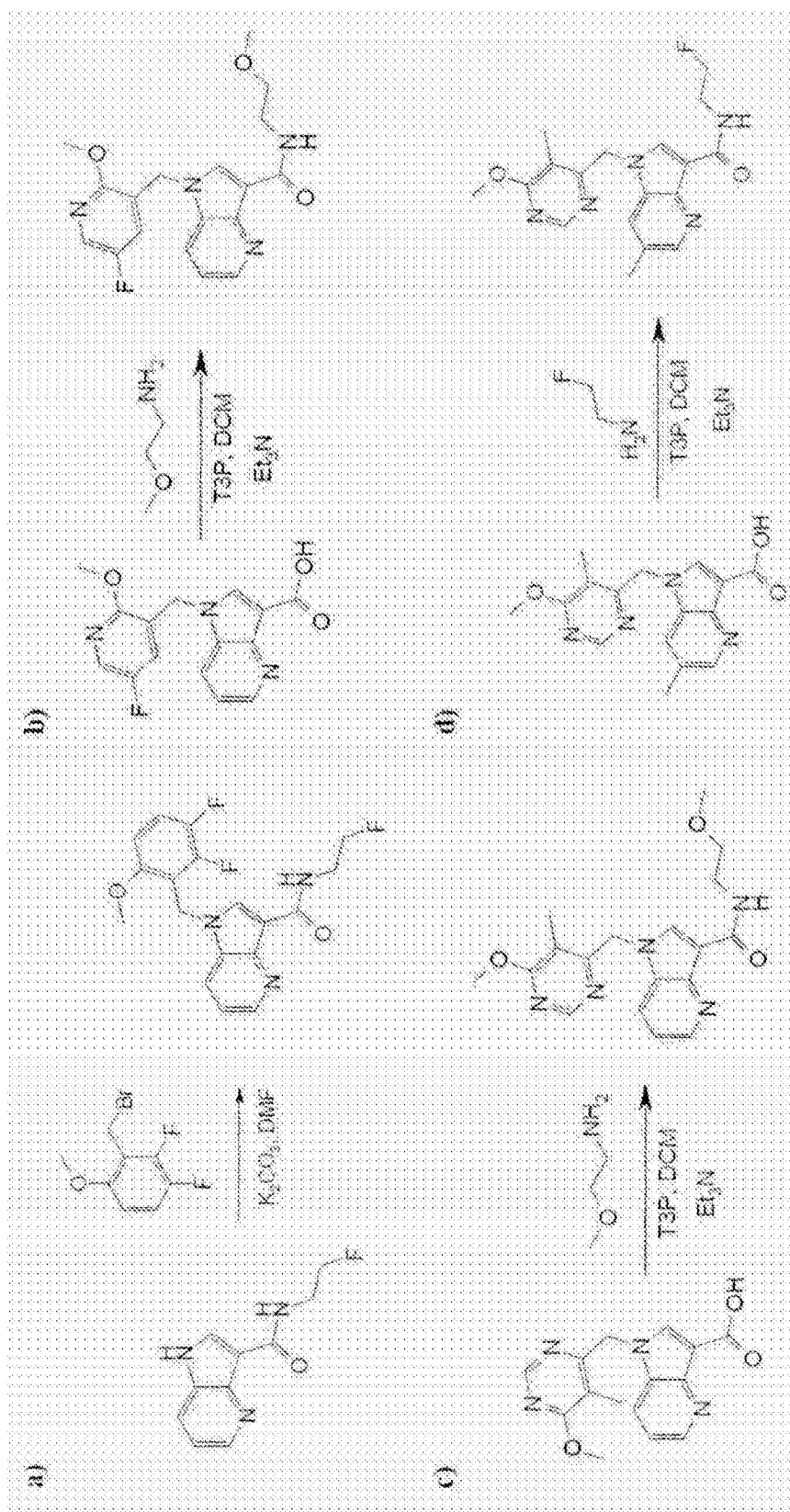


图17

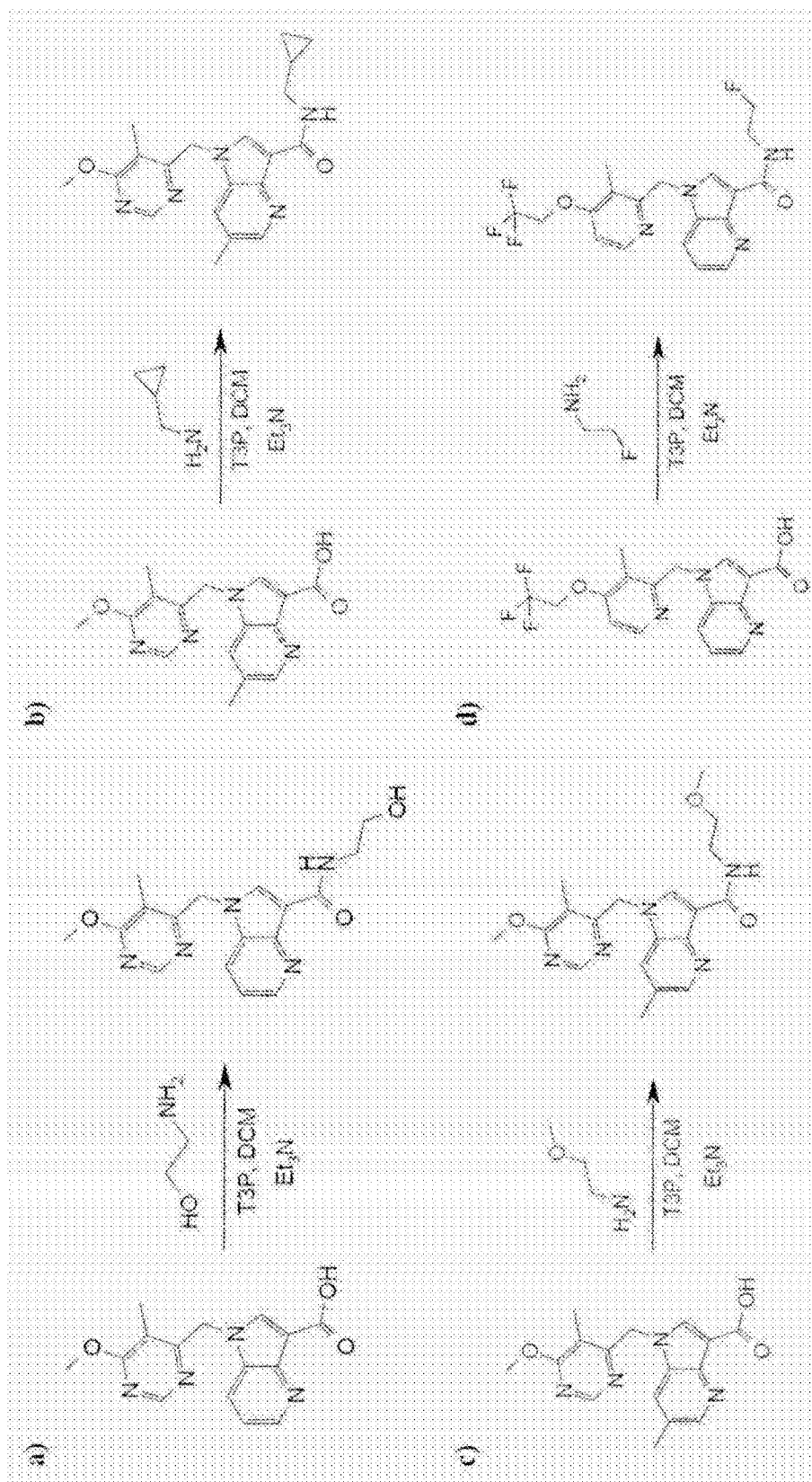


图18

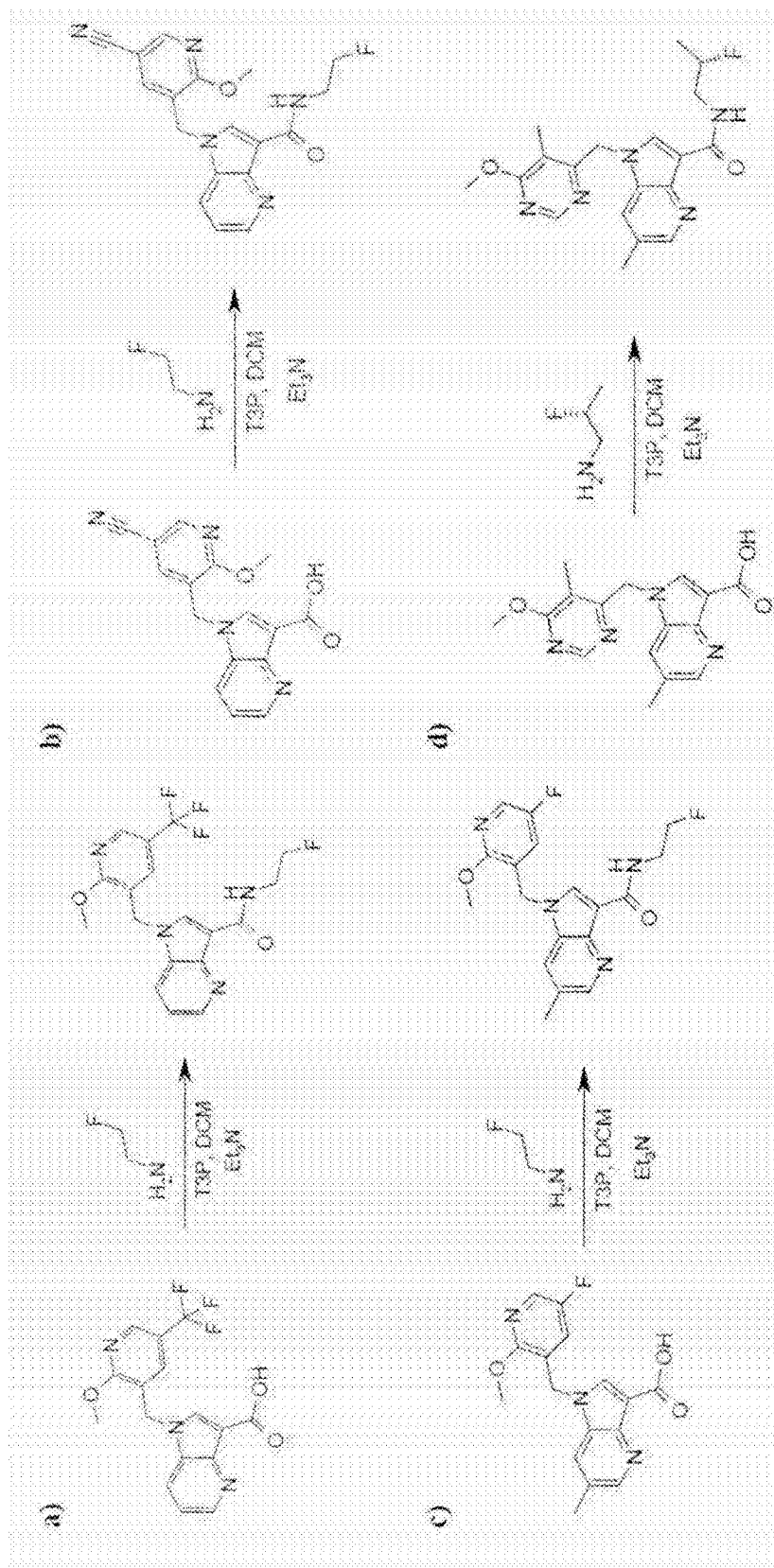


图19

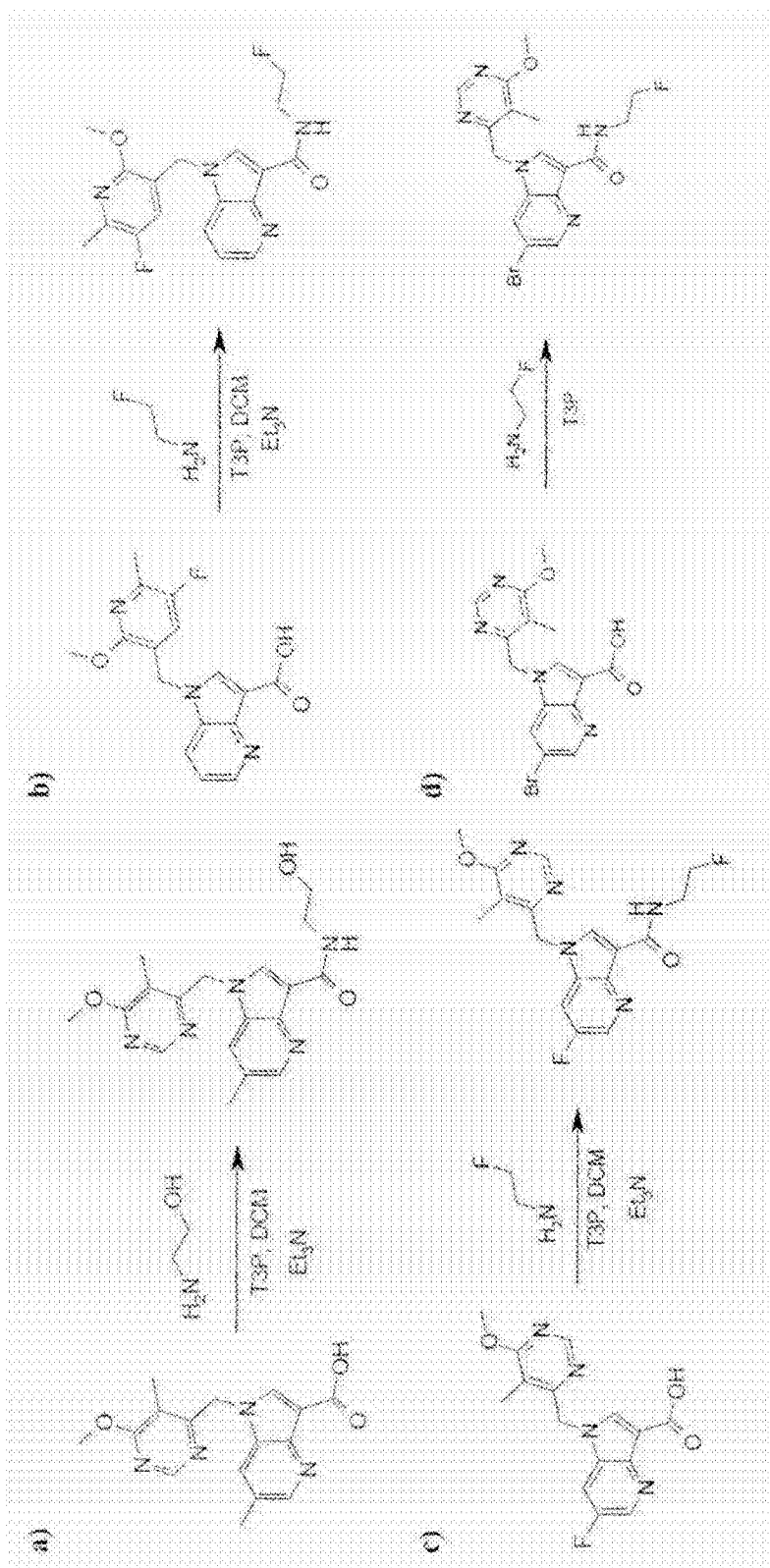


图20

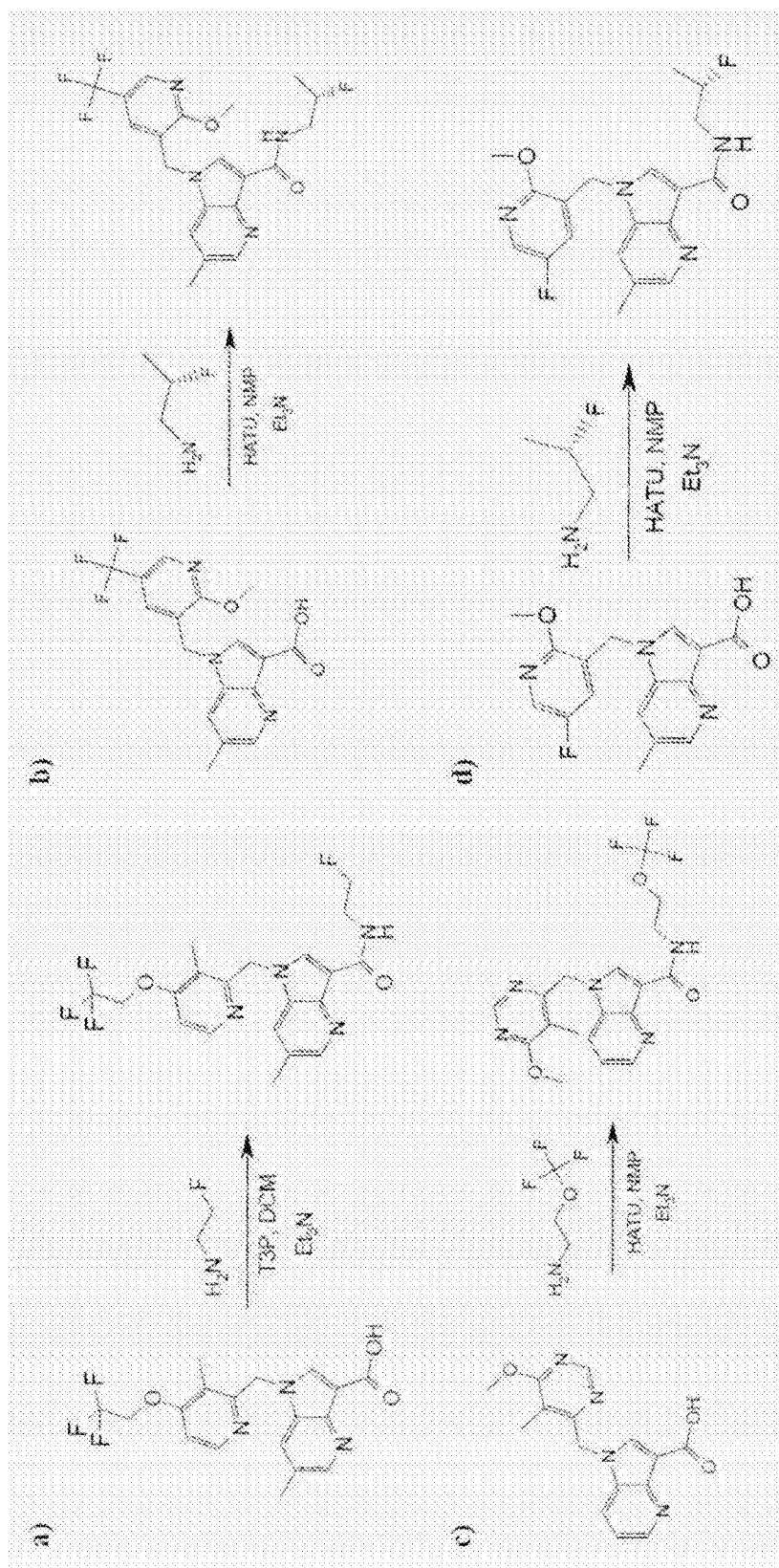


图21

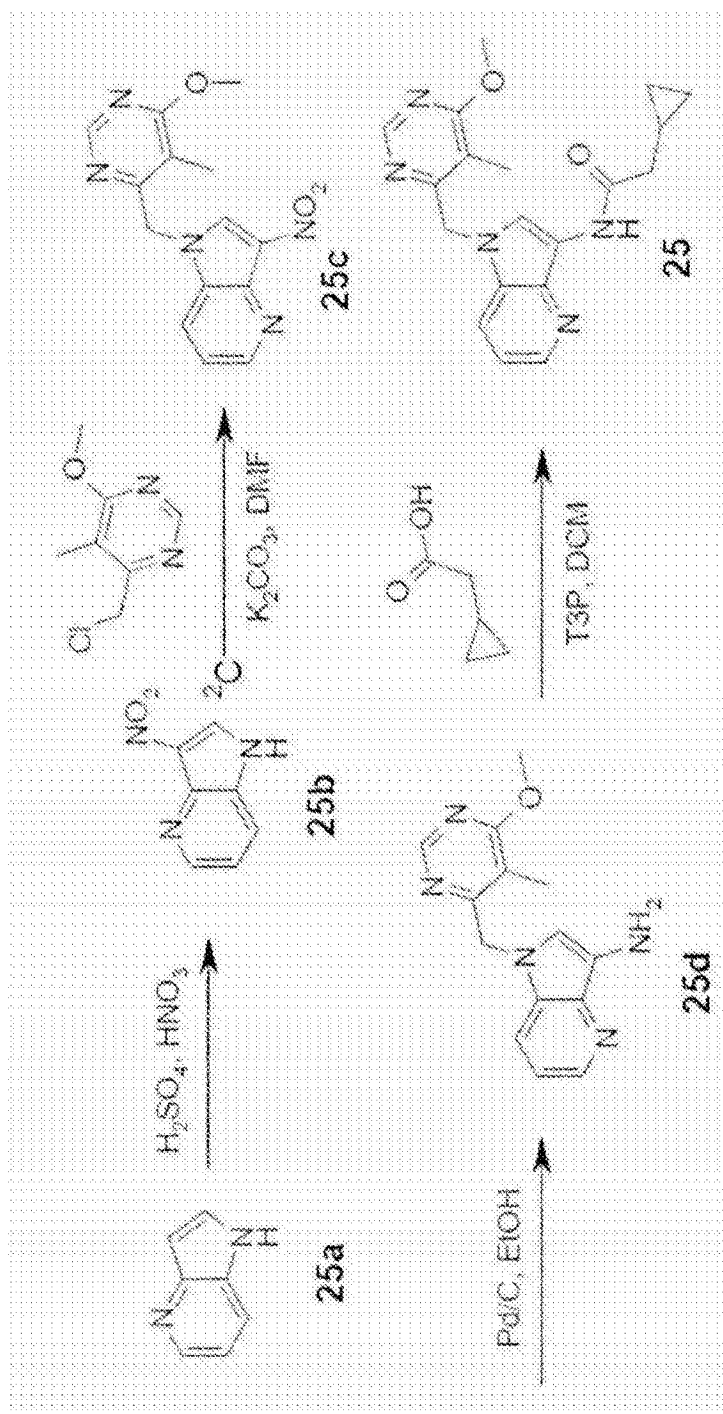


图22

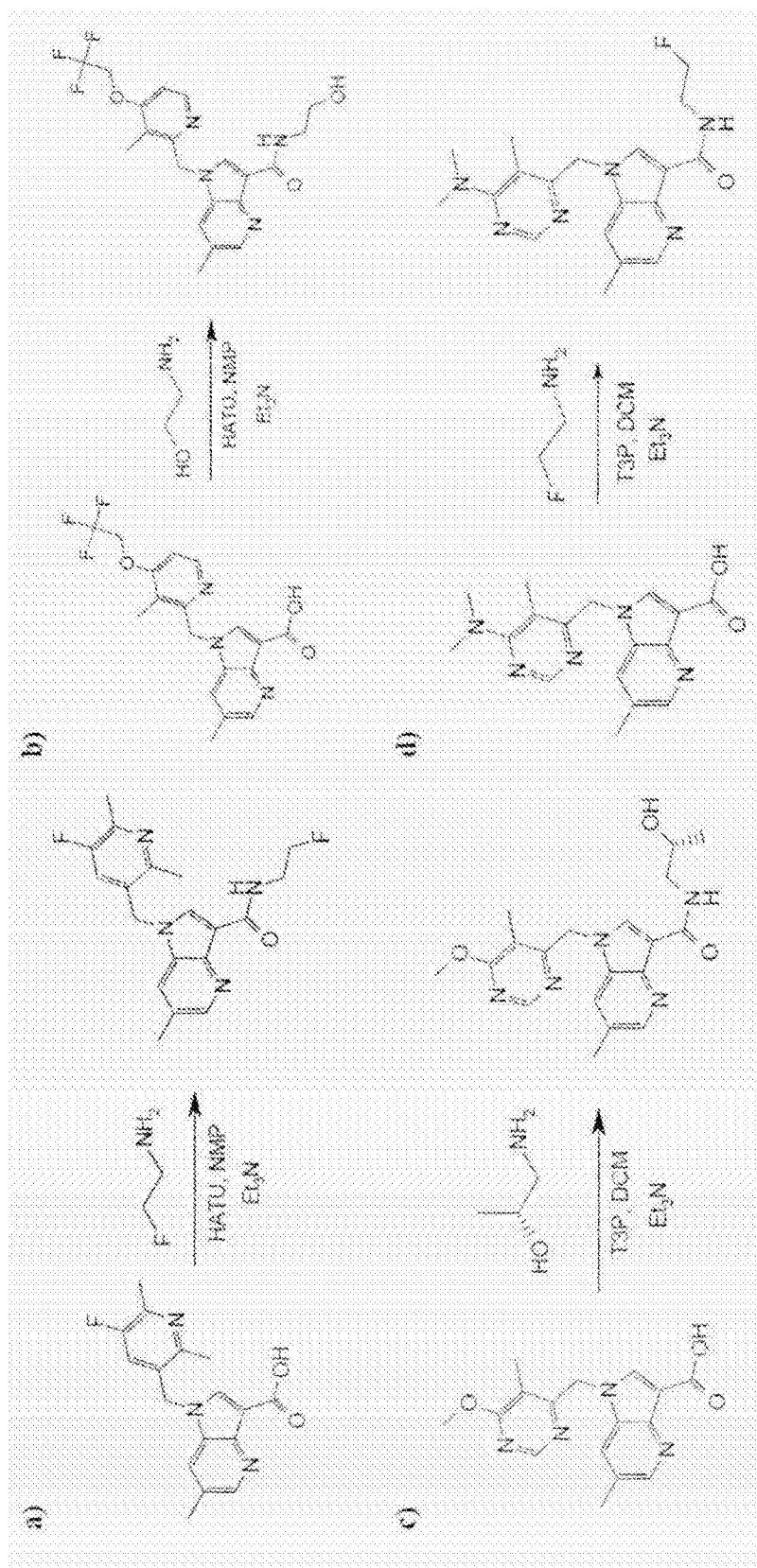


图23

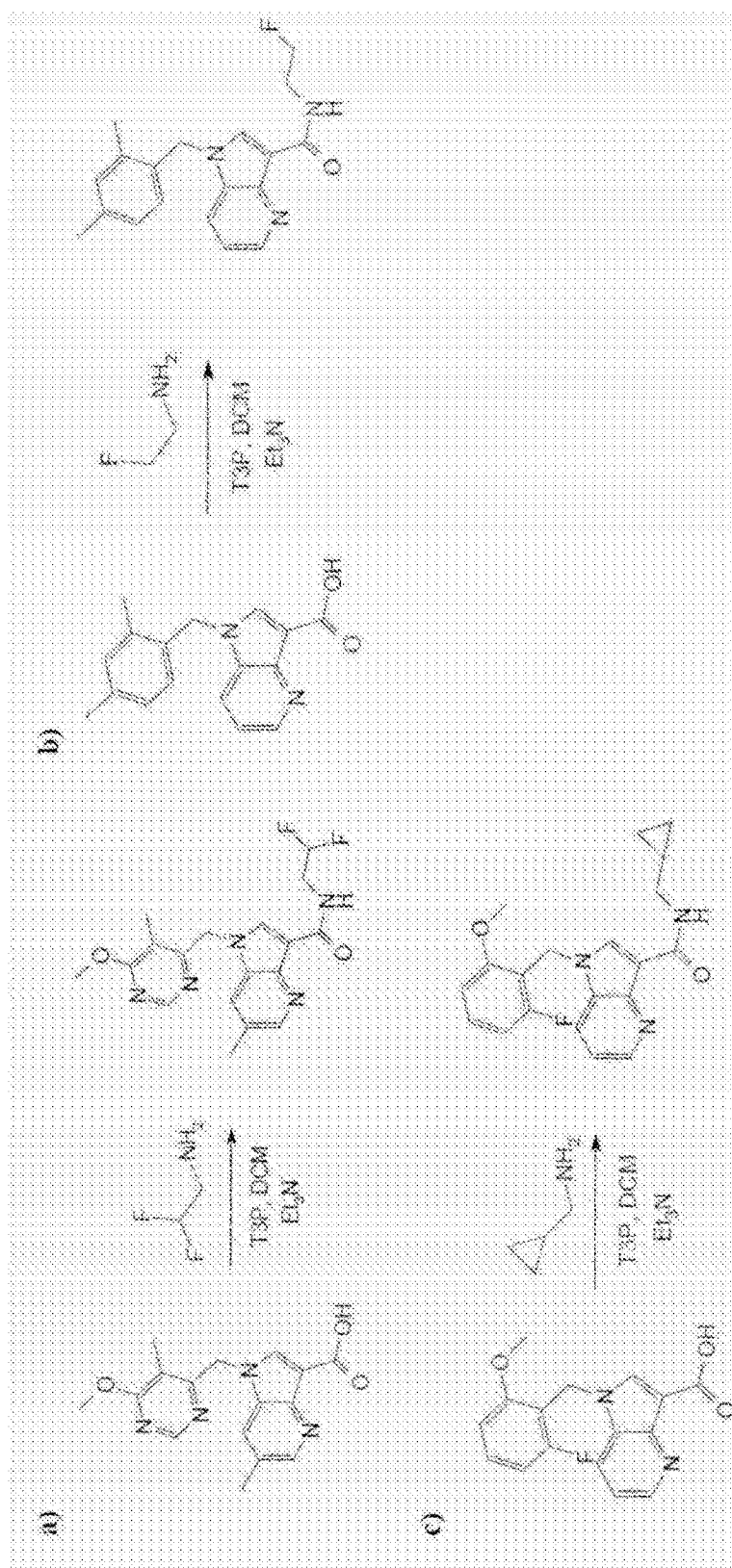


图24

		MIC (μM)													
化合物	H37Rv ATCC 27294	Msm ATCC	Msm mc2155	Eco ARC 523	Eco toIC	Hin ARC 446	Hin ARC 158	Pae ARC 545	Pae ARC 546	Kpn ARC 1865	Sau ARC 517	Spn ARC 548	Spn ARC 546	Cal ARC 527	
化合物3	2	6.25	2	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	
化合物4	<0.39	<0.39	<0.39	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>300	>200	
化合物8	<0.39	<0.39	<0.39	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	
化合物17	2	3.125	2	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	
Msm ATCC	耻垢分枝杆菌 607														
Msm mc2155	耻垢分枝杆菌 mc2155														
Eco ARC523	大肠杆菌 ARC523														
Eco toIC	大肠杆菌 toIC菌株 (toIC 突变体)														
HinARC 446	流感嗜血杆菌 ARC446														
HinARC 158	流感嗜血杆菌 ARC158(acrB突变体)														
PaeARC 545	铜绿假单胞菌 ARC545														
PaeARC 546	铜绿假单胞菌 ARC546(MexABCDXY突变体)														
KpnARC 1865	肺炎克雷伯菌 ARC1865														
SauARC517	金黄色葡萄球菌 ARC517														
SpnARC548	肺炎链球菌 ARC548														
SpnARC546	肺炎链球菌 ARC546														
CalARC 527	白色念珠菌 ARC527														

图25

		结核分枝杆菌敏感菌株															StrR			InhR	RifR
		MIC (μM)																			
化合物	H37Rv ATCC 27294	Erdmanoe	Beijing (E-47/94)	Hawkingen	CDC1551	TN14149	SA161	SA3110	DKU- 76	DKU- 97A	DKU- 211	DKU- 720	ATCC 35811	ATCC 35820	ATCC 6570						
化合物3	3.125	3.125	1.56	1.56	1.56	1.56	3.125	1.56	3.125	3.125	3.125	1.56	1.56	3.125	3.125	3.125				35822	Rif
化合物4	0.39	0.39	0.78	0.39	0.78	0.78	0.78	0.39	0.78	0.39	0.39	0.78	0.78	0.39	0.39	0.39				0.39	0.78
化合物8	0.78	0.39	0.39	0.78	0.39	1.56	0.78	0.39	0.78	0.78	0.39	0.78	0.78	0.39	0.39	0.39				0.39	0.39
化合物17	1.56	1.56	1.56	0.78	0.78	1.56	0.78	0.78	1.56	0.78	0.78	0.39	0.78	0.78	0.78	0.78				0.78	0.78
链霉素	0.34	0.34	0.17	0.17	0.34	0.34	0.34	0.34	0.17	0.17	0.17	0.58	0.34	>5	>5	>5				0.17	0.17
异烟肼	0.24	0.24	0.24	0.24	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12				>29	0.12
利福平	0.015	0.007	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003				>4.6	>4.6

StrR - 链霉素抗性
InhR - 异烟肼抗性
RifR - 利福平抗性

图26