



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114945571 B

(45) 授权公告日 2025. 02. 25

(21) 申请号 202080092668.7

(22) 申请日 2020.12.24

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114945571 A

(43) 申请公布日 2022.08.26

(30) 优先权数据
62/954,262 2019.12.27 US
63/040,582 2020.06.18 US
63/119,521 2020.11.30 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2022.07.11

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/066999 2020.12.24

(87) PCT国际申请的公布数据
W02021/134004 EN 2021.07.01

(73) 专利权人 薛定谔公司
地址 美国纽约

(72) 发明人 冯书路 摩根·劳伦斯
戈兰·克里洛夫
安德鲁·普莱泽克 聂喆
林尼·特佐斯 迈克尔·特佐斯
唐海峰 H·雷切尔·拉吉亚科斯

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理
有限责任公司 11204
专利代理师 王达佐 洪欣

(51) Int.Cl.
C07D 471/14 (2006.01)
C07D 487/14 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件
AU 2017302182 A1, 2019.03.07
CN 107072205 A, 2017.08.18

审查员 郭美超

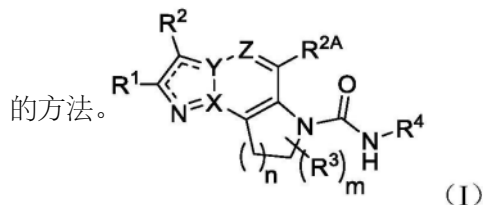
权利要求书28页 说明书536页
序列表88页

(54) 发明名称

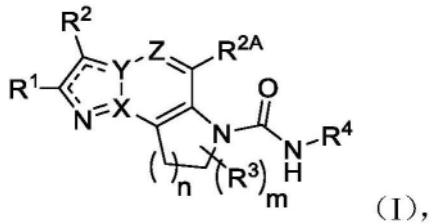
环状化合物及其使用方法

(57) 摘要

本申请涉及如本文所定义的式 (I) 化合物及其药学上可接受的盐, 其是 MALT1 抑制剂。本申请还描述了包括式 (I) 化合物及其药学上可接受的盐的药物组合物, 以及使用所述化合物和组合物治疗如癌症、自身免疫性病症和炎性病症等疾病



1. 一种式 (I) 化合物:



或其药学上可接受的盐,其中:

每个 --- 为单键或双键;

X为N或C;

Y为N或C;

Z为N或CR⁵;

其中,当X和Y中的一个为N时,X和Y中的另一个为C;

n为1或2;

R¹为氢、卤素、氰基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基或任选地被1-3个独立地选自羟基和C1-C3烷氧基的取代基取代的C1-C3烷基;

R²为氢、氨基或卤素;

R^{2A}为氢;

每个R³独立地为羟基、C3-C6环烷基、任选地被C1-C3烷基取代的含有1个或多个选自N、O和S的杂原子的5-6元杂芳基;任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基、C1-C3烷氧基或C1-C3卤代烷基;

m为0、1、2或3;

R⁴为苯基、含有1个或多个选自N、O和S的杂原子的5-10元杂芳基、含有1、2或3个选自N、O和S的杂原子的3-10元杂环基或C3-C8环烷基;其中每个R⁴基团任选地被1-3个独立地选自R⁶的取代基取代;

R⁵为氢;并且

每个R⁶独立地选自卤素;氰基;羟基;-CO₂H;-N=(S=O)(C1-C3烷基)₂;-S(=O)_p(C1-C3烷基)-NR^ER^F;-C(=O)NR^ER^F;任选地被氨基、羟基或-C(=O)NR^ER^F取代的C1-C3烷氧基;C1-C3卤代烷基;C1-C3卤代烷氧基;任选地被1-3个独立选择的R^X取代的含有1个或多个选自N、O和S的杂原子的5-6元杂芳基;任选地被1-2个独立地选自羟基、-NR^ER^F、C1-C3烷氧基和C3-C6环烷基的取代基取代的C1-C3烷基;任选地被羟基取代的C3-C6环烷基;以及任选地被1-3个独立选择的C1-C3烷基取代的含有1、2或3个选自N、O和S的杂原子的-(Q)_q-3-8元杂环基;

p为1或2;

Q为-O-或-NH-;

q为0或1;

每个R^X独立地选自卤素、氰基、羟基、氨基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基或任选地被1-3个独立地选自羟基、C1-C3烷氧基和-NR^GR^H的取代基取代的C1-C6烷基;并且

R^E、R^F、R^G和R^H独立地为氢、C1-C3烷基或C3-C6环烷基,或R^E和R^F,或R^G和R^H,连同它们所连接的氮原子一起形成任选地被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的含有1、2或3个选自N、O和S

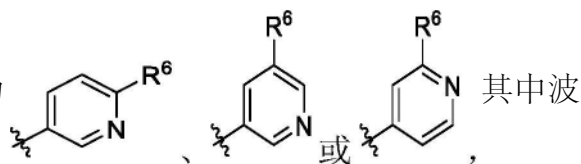
的杂原子的4-6元杂环基；

其中所述术语“杂环基”是指饱和或部分不饱和的3-12元烃单环或双环系统，其不是芳香族的，在环内具有至少一个选自N、O和S的杂原子。

2. 根据权利要求1所述的化合物，其中X为N，Y为C并且Z为N。
3. 根据权利要求1所述的化合物，其中R¹为氢。
4. 根据权利要求1所述的化合物，其中R¹为卤素或氰基。
5. 根据权利要求1所述的化合物，其中R¹为氟或氯。
6. 根据权利要求1所述的化合物，其中R¹为C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基或任选地被1-3个独立地选自羟基和C1-C3烷氧基的取代基取代的C1-C3烷基。
7. 根据权利要求1所述的化合物，其中R²为氢。
8. 根据权利要求1所述的化合物，其中R²为卤素或氨基。
9. 根据权利要求1所述的化合物，其中n为1。
10. 根据权利要求1所述的化合物，其中m为1。
11. 根据权利要求1所述的化合物，其中m为2。
12. 根据权利要求1所述的化合物，其中m为3。
13. 根据权利要求1所述的化合物，其中每个R³独立地为C3-C6环烷基、任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基、C1-C3卤代烷基或C1-C3烷氧基。
14. 根据权利要求1所述的化合物，其中每个R³独立地为环丙基、三氟甲基、甲氧基或任选地被甲氧基取代的甲基。
15. 根据权利要求1所述的化合物，其中m为2，并且每个R³为甲基；或其中m为2，并且每个R³为三氟甲基；或者其中m为2，并且一个R³为甲基并且另一个R³为三氟甲基；或者其中m为2，并且一个R³为甲氧基甲基并且另一个R³为三氟甲基；或者其中m为2，并且一个R³为甲基并且另一个R³为环丙基；或者其中m为2，并且一个R³为甲氧基甲基并且另一个R³为环丙基；或者其中m为2，并且一个R³为三氟甲基并且另一个R³为环丙基；或者其中m为2，并且一个R³为甲基并且另一个R³为甲氧基；或者其中m为2，并且一个R³为环丙基并且另一个R³为甲氧基。
16. 根据权利要求1所述的化合物，其中所述R³基团是成对的。
17. 根据权利要求1所述的化合物，其中R⁴为任选地被1-3个独立选择的R⁶取代的苯基或者任选地被1-3个独立选择的R⁶取代的含有1个或多个选自N、O和S的杂原子的5-6元杂芳基。
18. 根据权利要求1所述的化合物，其中R⁶中的一个为卤素、氰基、羟基或-CO₂H。
19. 根据权利要求18所述的化合物，其中R⁶中的一个为氯。
20. 根据权利要求1所述的化合物，其中R⁶中的一个为-NR^ER^F、-(C=O)NR^ER^F、-N=(S=O)(C1-C3烷基)₂或-S(=O)_p(C1-C3烷基)。
21. 根据权利要求1所述的化合物，其中R⁶中的一个为C1-C3卤代烷基；C1-C3卤代烷氧基；或者任选地被氨基、羟基或-(C=O)NR^ER^F取代的C1-C3烷氧基。
22. 根据权利要求1所述的化合物，其中R⁶中的一个为任选地被1-3个独立选择的R^X取代的含有1个或多个选自N、O和S的杂原子的5-6元杂芳基。
23. 根据权利要求1所述的化合物，其中R⁶中的一个为未经取代的含有1个或多个选自N、O和S的杂原子的5-6元杂芳基。

24. 根据权利要求1所述的化合物,其中R⁶中的一个任选地被1-2个独立地选自羟基、-NR^ER^F、C1-C3烷氧基和C3-C6环烷基的取代基取代的C1-C3烷基;任选地被羟基取代的C3-C6环烷基;或者任选地被1-3个独立选择的C1-C3烷基取代的含有1、2或3个选自N、O和S的杂原子的-(Q)_q-3-8元杂环基。

25. 根据权利要求1所述的化合物,其中R⁴为



浪线穿过连接至式(I)的-C(=O)NH-部分的键。

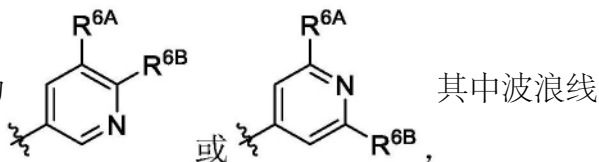
26. 根据权利要求25所述的化合物,其中:

R⁶选自由以下组成的组:氰基、卤素、C1-C3卤代烷基和C1-C3烷氧基。

27. 根据权利要求25所述的化合物,其中:

R⁶选自由以下组成的组:氰基、氯、二氟甲基、三氟甲基和甲氧基。

28. 根据权利要求1所述的化合物,其中R⁴为



穿过连接至式(I)的-C(=O)NH-部分的键。

29. 根据权利要求28所述的化合物,其中:

R^{6A}选自由以下组成的组:氰基、卤素、未经取代的C1-C3烷基、C1-C3烷氧基和C1-C3卤代烷基;并且

R^{6B}选自由以下组成的组:任选地被氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3烷基或氨基取代的含有1个或多个选自N、O和S的杂原子的5-6元杂芳基,所述C1-C3烷基任选被1-3个独立地选自羟基、C1-C3烷氧基和-NR^GR^H的取代基取代;-N=(S=O)(C1-C3烷基)₂;-C(=O)NR^ER^F;C1-C3烷氧基;C1-C3卤代烷基;C1-C3卤代烷氧基;氰基;C1-C3烷基;以及任选地被1-3个独立选择的C1-C3烷基取代的含有1、2或3个选自N、O和S的杂原子的-(Q)_q-3-8元杂环基。

30. 根据权利要求28所述的化合物,其中:

R^{6A}选自由以下组成的组:氰基、氟、氯、甲基、乙基、甲氧基、二氟甲基、三氟甲基;并且

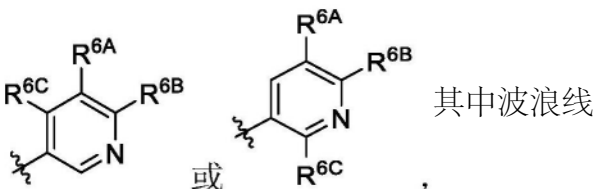
R^{6B}选自由以下组成的组:1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-羟甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-(1,2-二羟乙基)-1,2,3-三唑-2-基、4-(1-羟乙基)-1,2,3-三唑-2-基、4-甲氧基甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-1-基、4-甲氧基-1,2,3-三唑-2-基、4-氨基-1,2,3-三唑-2-基、4-二甲基氨基甲基-1,2,3-三唑-2-基、5-氰基-1,2,3-三唑-1-基、1,2,3-三唑-1-基、3-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-氨基-1,2,4-三唑-1-基、1-甲基-5-氨基-1,2,4-三唑-3-基、1,2,4-三唑-4-对-2-基、四唑-5-基、2-甲基-四唑-5-基、1-甲基-四唑-5-基、咪唑-1-基、吡唑-1-基、5-氰基-吡唑-1-基、1-甲基-咪唑-3-基、1-甲基-5-氨基-咪唑-3-基、3-甲基咪唑-2-对-1-基、1-甲基-吡唑-3-基、1-甲基-吡唑-5-基、吡咯-1-基、噻唑-2-基、异噻唑啉-2-基-1,1-二氧化物、吡咯烷-2-对-1-基、噁唑-2-基、噁二唑-2-基、2-氨基-嘧啶-4-基、2-四氢呋喃基、-(C=O)4-甲基哌嗪-1-基、-(C=O)N(CH₃)₂、-(C=O)NHCH₃、-N=(S=O)(甲基)₂、甲氧基、乙氧基、二氟甲氧基、甲基、氰基。

31. 根据权利要求28所述的化合物,其中:

R^{6A} 选自自由以下组成的组:氰基、氯基和三氟甲基;并且

R^{6B} 选自自由以下组成的组:1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-1-基、4-氨基-1,2,3-三唑-2-基、5-氰基-1,2,3-三唑-1-基、1,2,3-三唑-1-基、3-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-氨基-1,2,4-三唑-1-基、1-甲基-5-氨基-1,2,4-三唑-3-基和1,2,4-三唑-4-对-2-基。

32. 根据权利要求1所述的化合物,其中 R^4 为



穿过连接至式(I)的-C(=O)NH-部分的键。

33. 根据权利要求32所述的化合物,其中:

R^{6A} 选自自由以下组成的组:氰基、卤素、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基和C1-C3卤代烷基;

R^{6B} 选自自由以下组成的组:任选地被氰基、C1-C3烷基或氨基取代的含有1个或多个选自N、O和S的杂原子的5-6元杂芳基;-(C=O)NR^ER^F;C1-C3烷氧基;C1-C3卤代烷基;C1-C3卤代烷氧基;氰基;以及C1-C3烷基;并且

R^{6C} 选自自由以下组成的组:氰基、卤素、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基和C1-C3卤代烷基。

34. 根据权利要求32所述的化合物,其中:

R^{6A} 选自自由以下组成的组:氰基、氟、氯、甲基、乙基、甲氧基、三氟甲基;

R^{6B} 选自自由以下组成的组:1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-1-基、4-氨基-1,2,3-三唑-2-基、5-氰基-1,2,3-三唑-1-基、1,2,3-三唑-1-基、3-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-氨基-1,2,4-三唑-1-基、1-甲基-5-氨基-1,2,4-三唑-3-基、1,2,4-三唑-4-对-2-基、四唑-5-基、2-甲基-四唑-5-基、1-甲基-四唑-5-基、咪唑-1-基、1-甲基-咪唑-3-基、1-甲基-5-氨基-咪唑-3-基、3-甲基咪唑-2-对-1-基、1-甲基-吡唑-3-基、1-甲基-吡唑-5-基、吡咯-1-基、噻唑-2-基、异噻唑啉-2-基-1,1-二氧化物、吡咯烷-2-对-1-基、噁唑-2-基、噁二唑-2-基、2-氨基-嘧啶-4-基、-(C=O)4-甲基哌嗪-1-基、-(C=O)N(CH₃)₂、-(C=O)NHCH₃、甲氧基、乙氧基、二氟甲氧基、甲基、氰基;并且

R^{6C} 选自自由以下组成的组:氰基、氟、氯、甲基、乙基、甲氧基、甲基和三氟甲基。

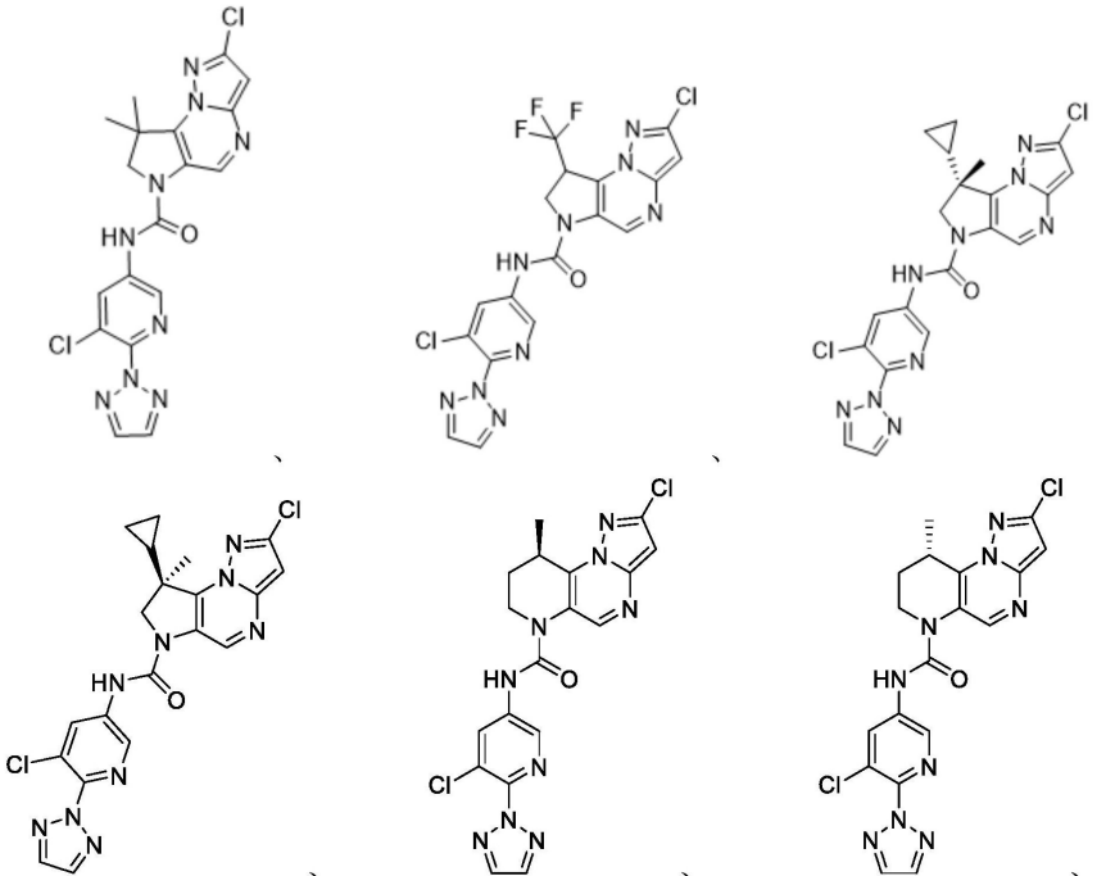
35. 根据权利要求32所述的化合物,其中:

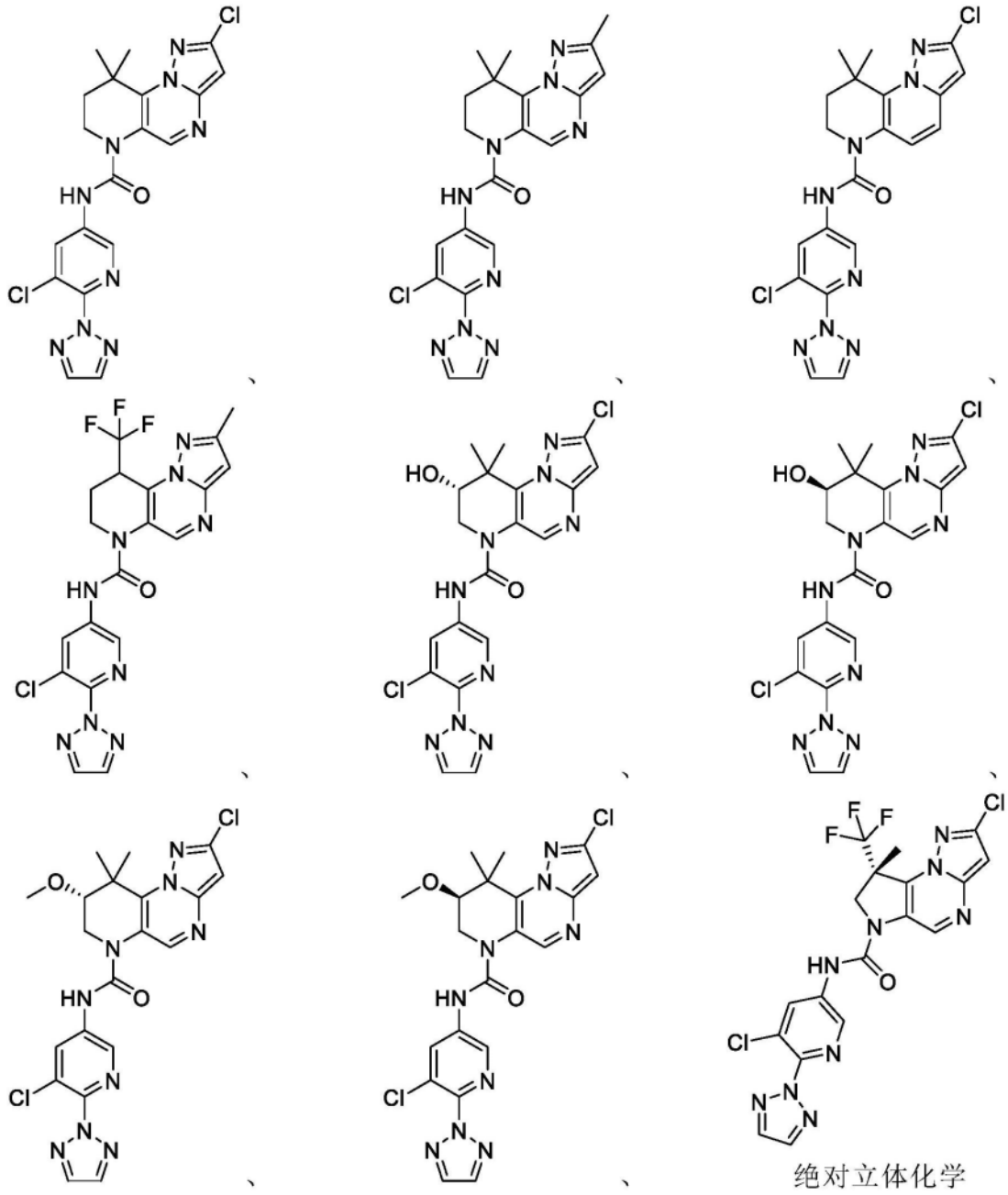
R^{6A} 选自自由以下组成的组:氰基、氯基和三氟甲基;

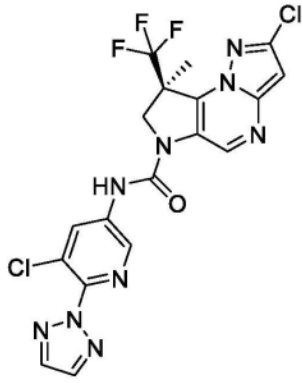
R^{6B} 选自自由以下组成的组:1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-1-基、4-氨基-1,2,3-三唑-2-基、5-氰基-1,2,3-三唑-1-基、1,2,3-三唑-1-基、3-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-氨基-1,2,4-三唑-1-基、1-甲基-5-氨基-1,2,4-三唑-3-基和1,2,4-三唑-4-对-2-基;并且

R^{6C} 选自自由以下组成的组:氰基、氯基、甲基和三氟甲基。

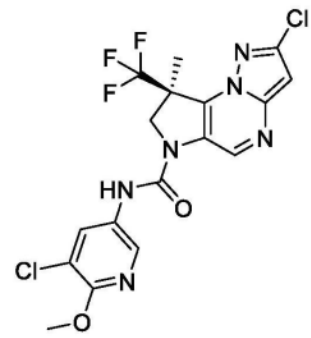
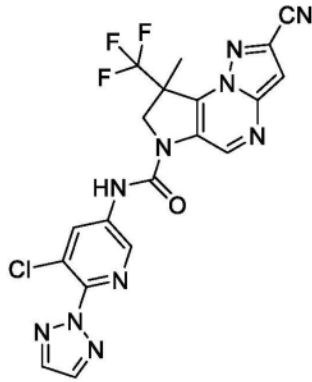
36. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物选自如下化合物:



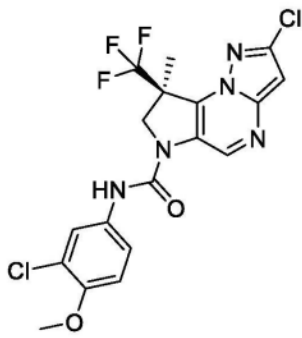




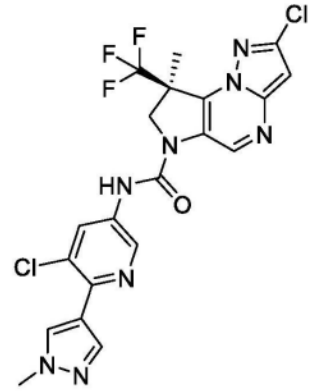
绝对立体化学



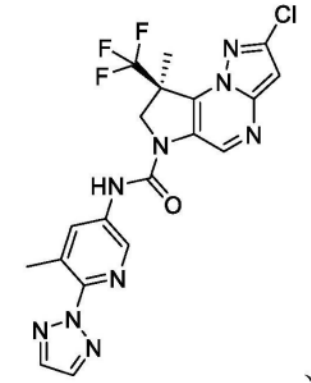
绝对立体化学



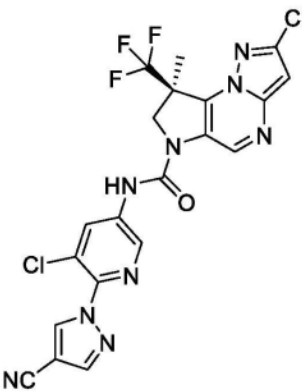
绝对立体化学



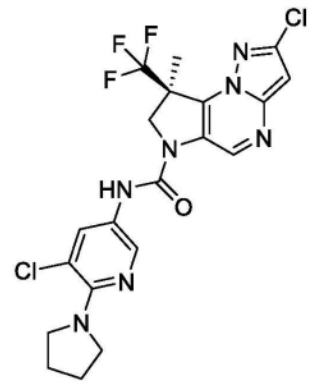
绝对立体化学



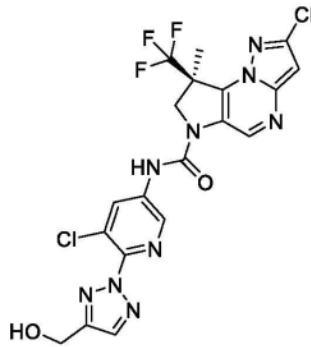
绝对立体化学



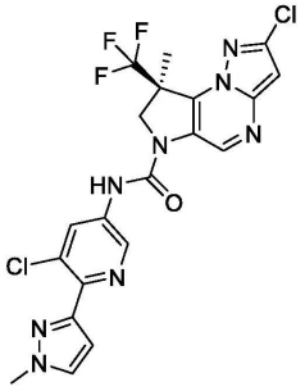
绝对立体化学



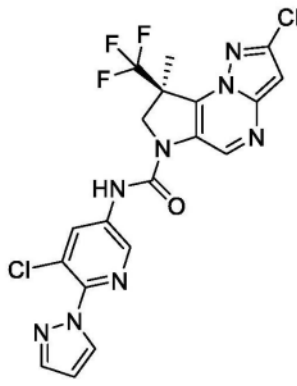
绝对立体化学



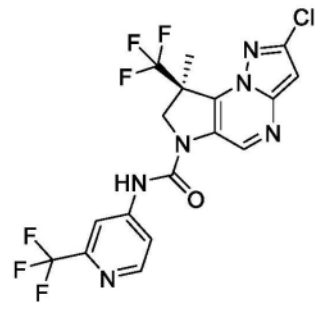
绝对立体化学



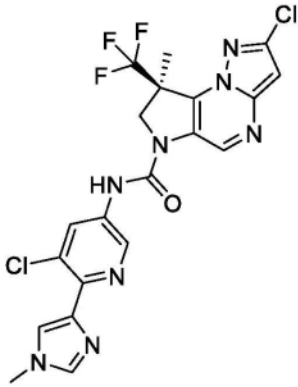
绝对立体化学



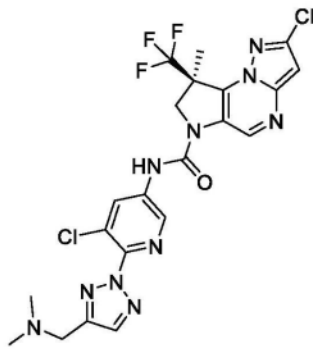
绝对立体化学



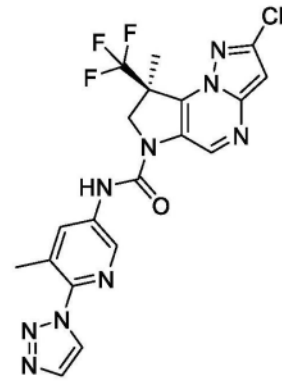
绝对立体化学



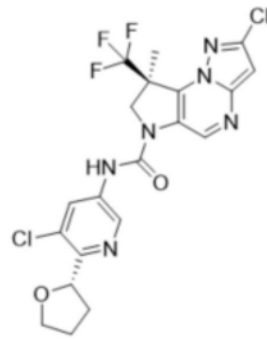
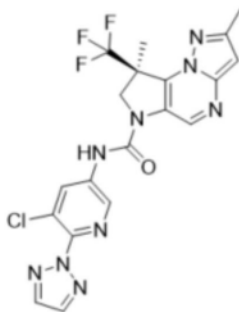
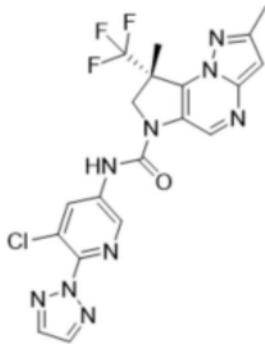
绝对立体化学



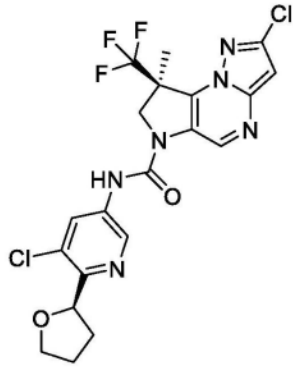
绝对立体化学



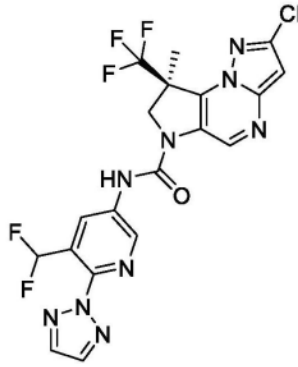
绝对立体化学



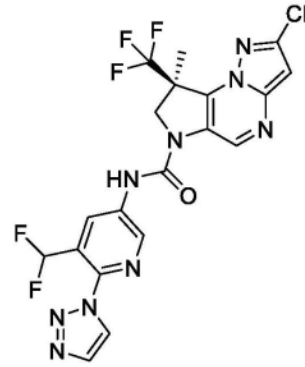
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



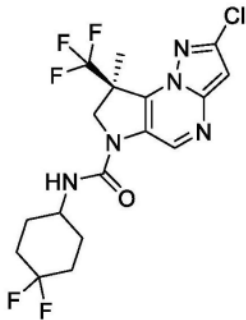
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



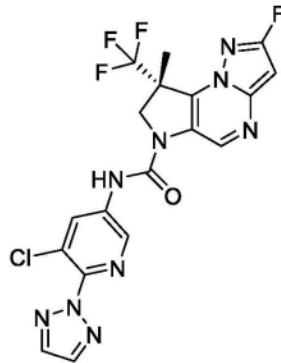
绝对立体化学



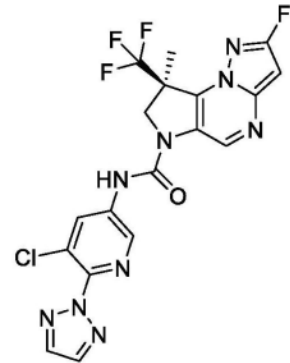
绝对立体化学



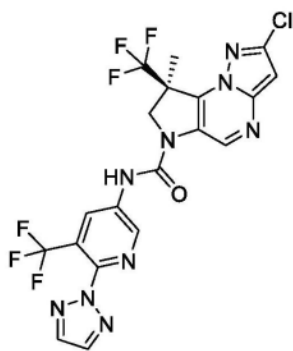
绝对立体化学



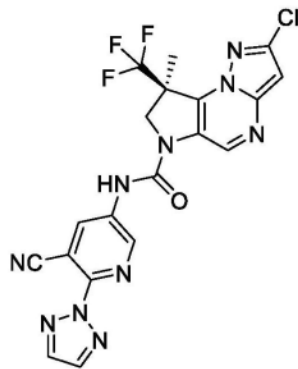
绝对立体化学



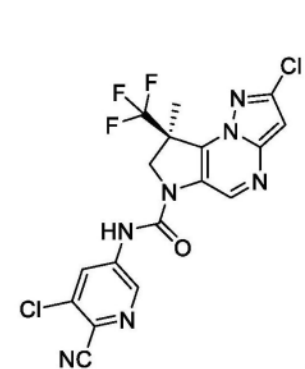
绝对立体化学



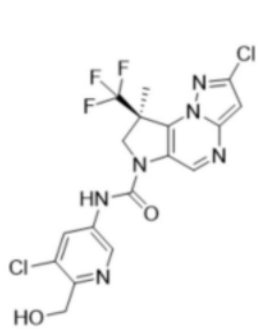
绝对立体化学



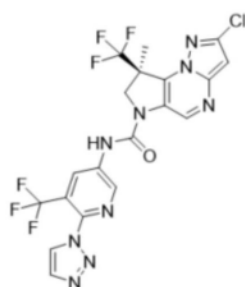
绝对立体化学



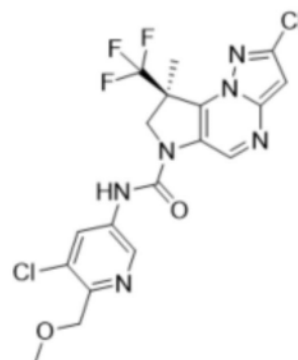
绝对立体化学



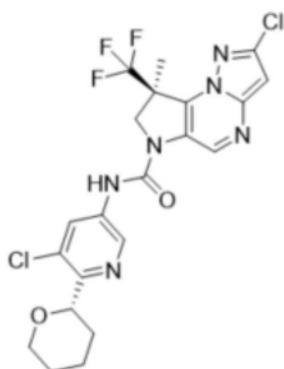
绝对立体化学



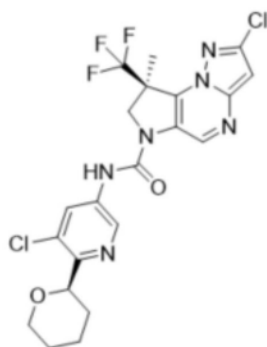
绝对立体化学



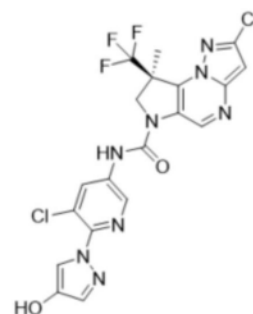
绝对立体化学



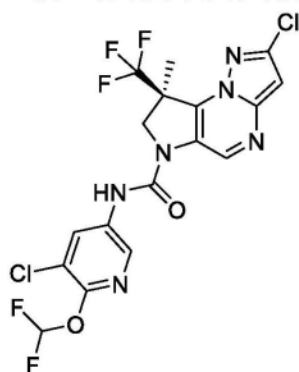
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



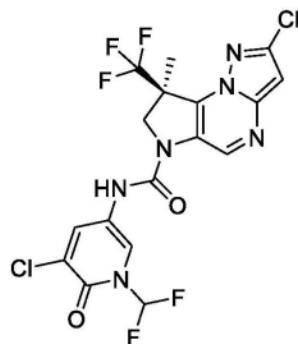
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



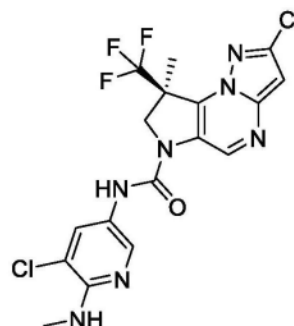
绝对立体化学



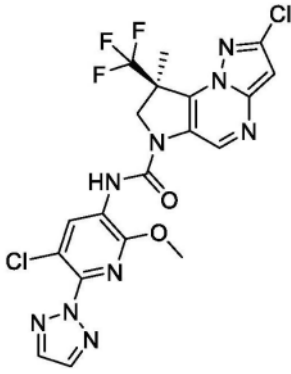
绝对立体化学



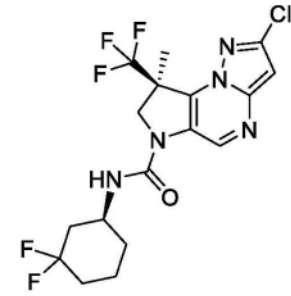
绝对立体化学



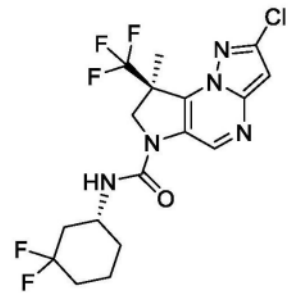
绝对立体化学



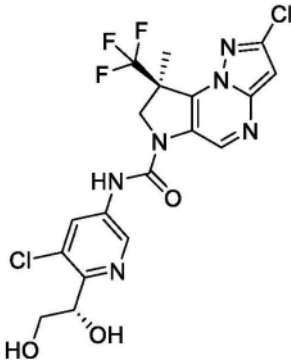
绝对立体化学



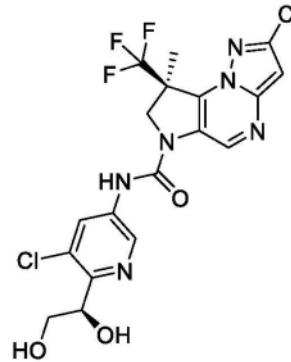
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



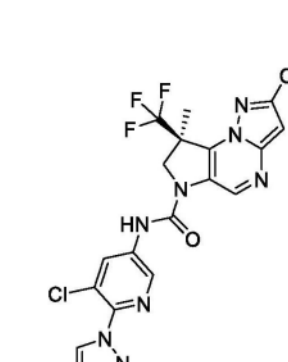
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



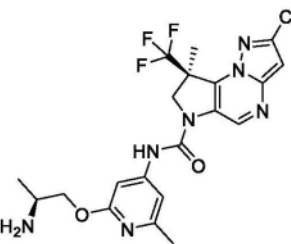
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



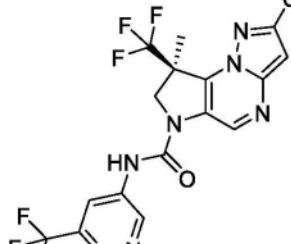
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



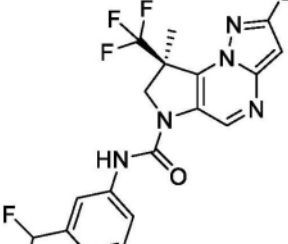
绝对立体化学



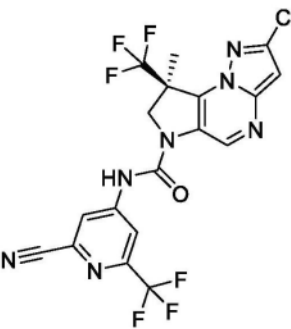
两个立体中心的立体化学是绝对的



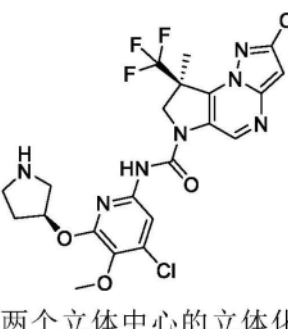
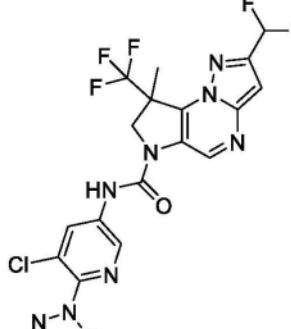
绝对立体化学



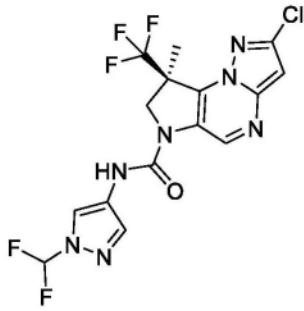
绝对立体化学



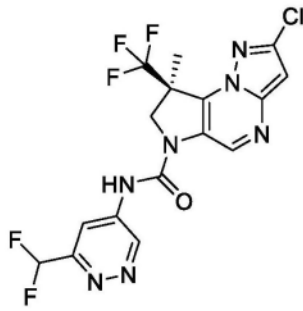
绝对立体化学



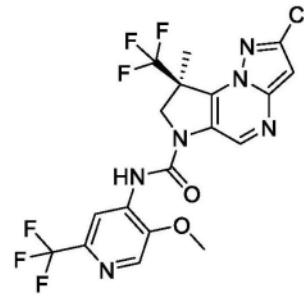
两个立体中心的立体化学是绝对的



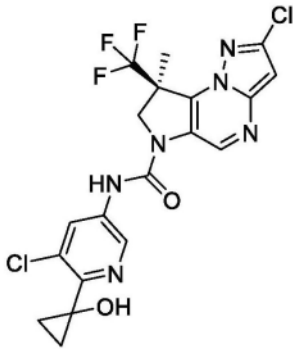
绝对立体化学



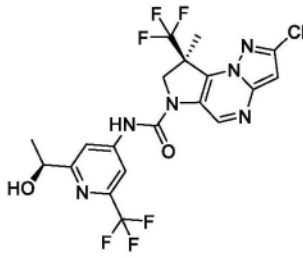
绝对立体化学



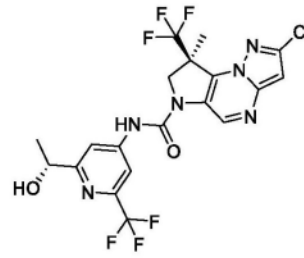
绝对立体化学



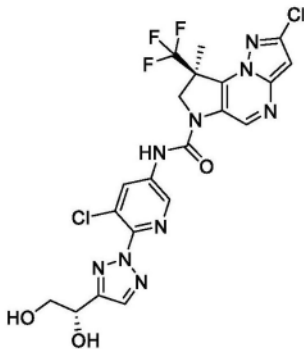
绝对立体化学



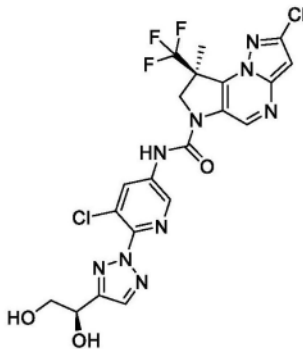
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



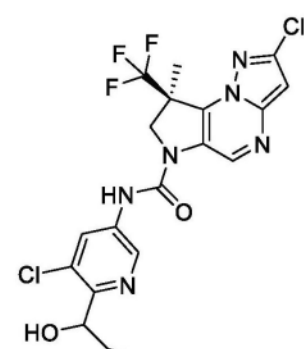
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



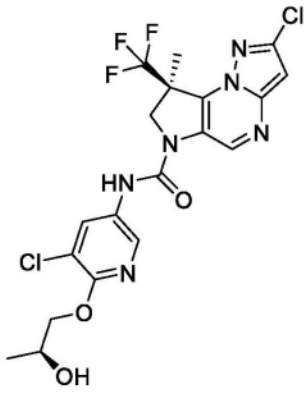
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



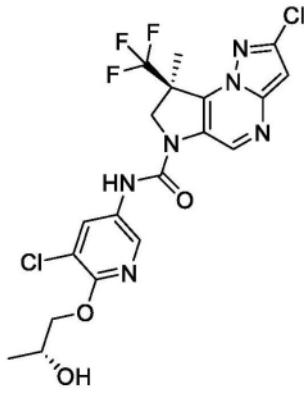
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



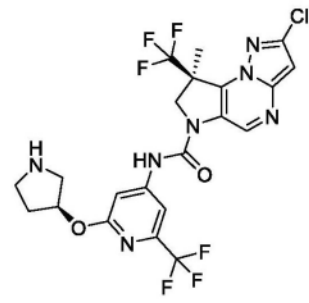
绝对立体化学



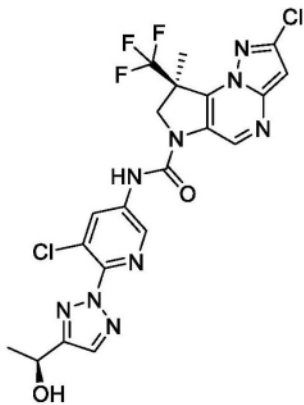
两个立体中心的立体化学是绝对的



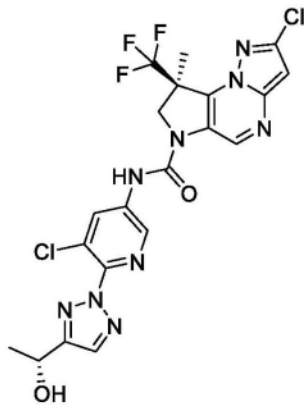
两个立体中心的立体化学是绝对的



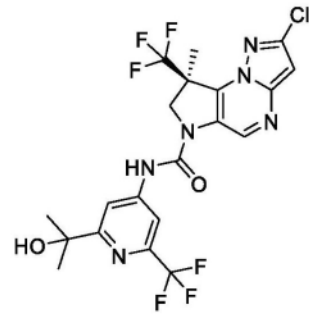
两个立体中心的立体化学是绝对的



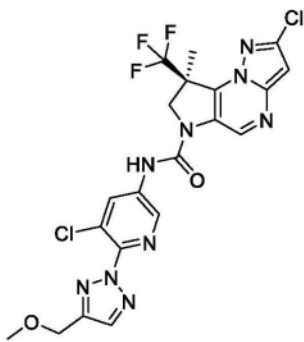
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



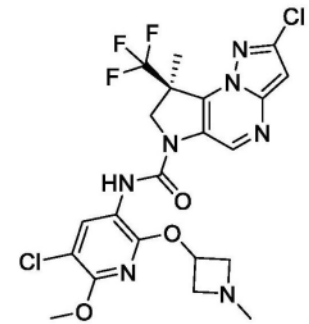
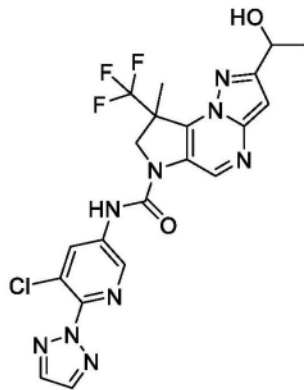
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



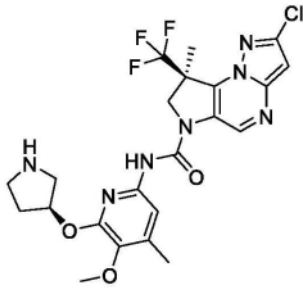
绝对立体化学



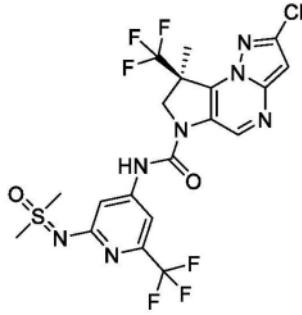
绝对立体化学



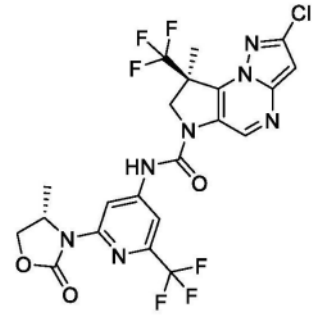
绝对立体化学



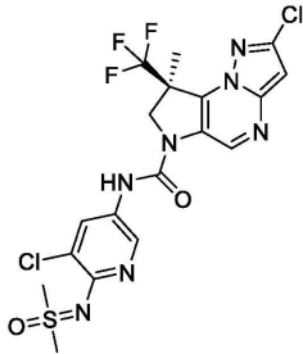
两个立体中心的立体化学是绝对的



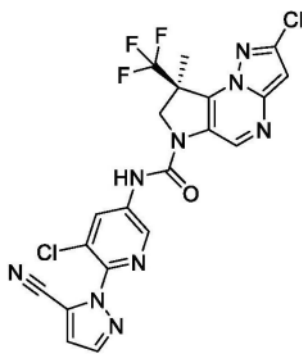
绝对立体化学



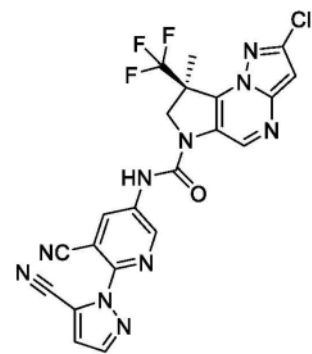
两个立体中心的立体化学是绝对的



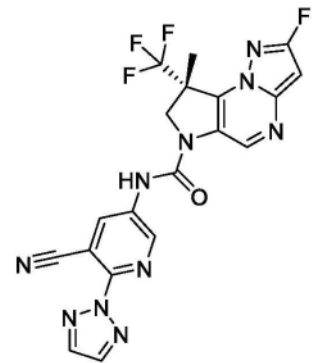
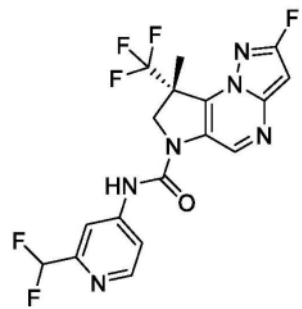
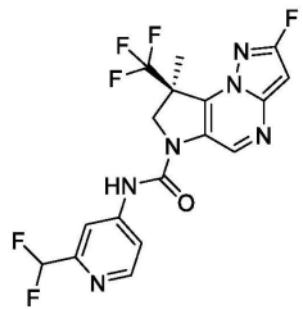
绝对立体化学



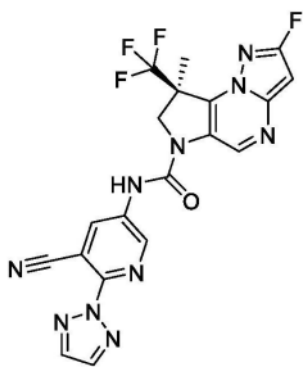
绝对立体化学



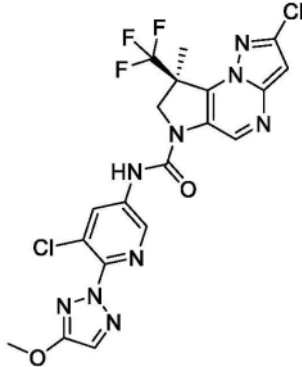
绝对立体化学



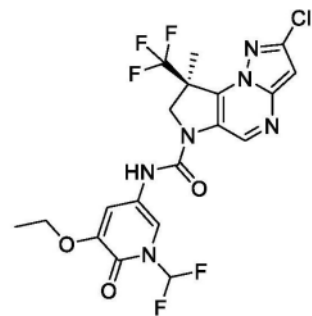
绝对立体化学



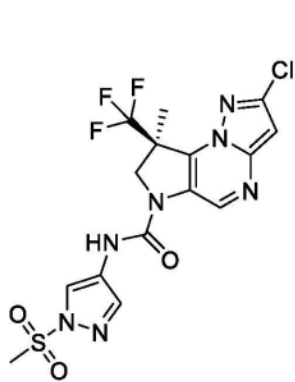
绝对立体化学



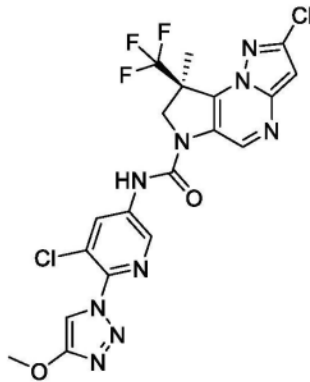
绝对立体化学



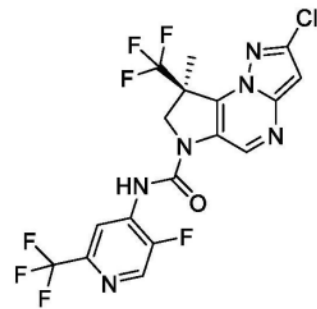
绝对立体化学



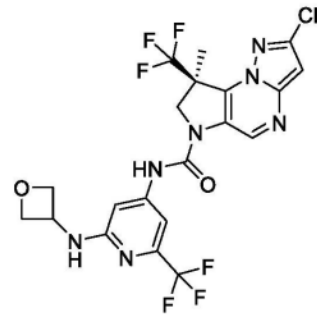
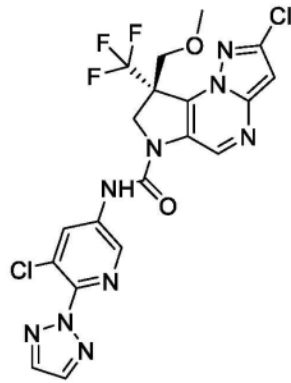
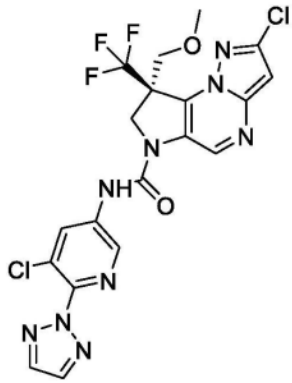
绝对立体化学



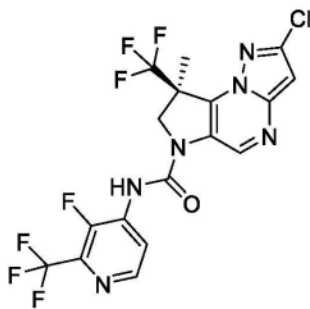
绝对立体化学



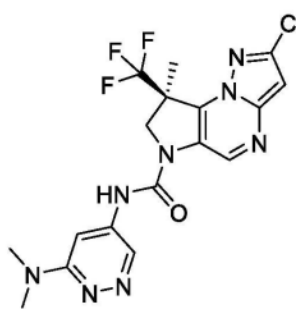
绝对立体化学



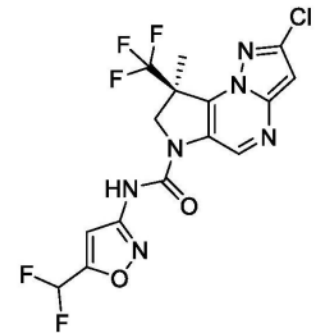
绝对立体化学



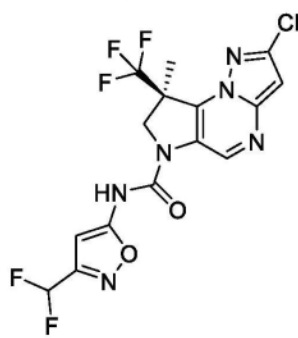
绝对立体化学



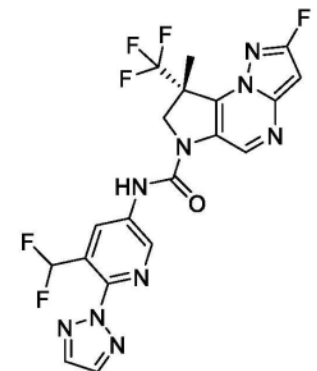
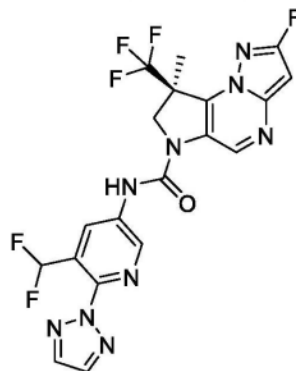
绝对立体化学

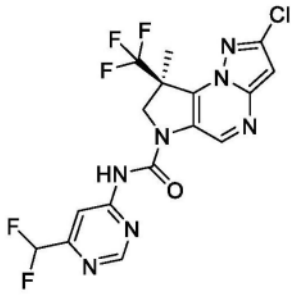


绝对立体化学

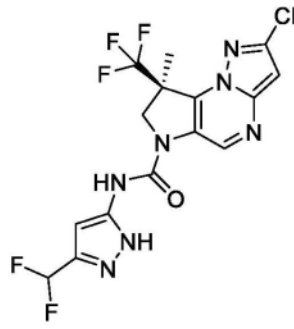


绝对立体化学

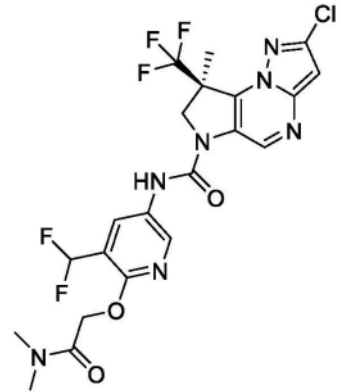




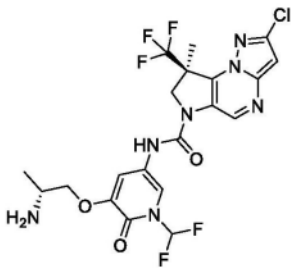
绝对立体化学



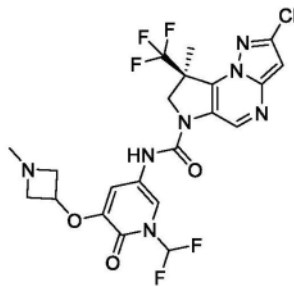
绝对立体化学



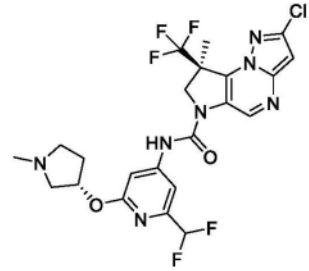
绝对立体化学



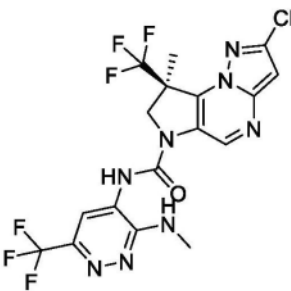
两个立体中心的立体化学是绝对的



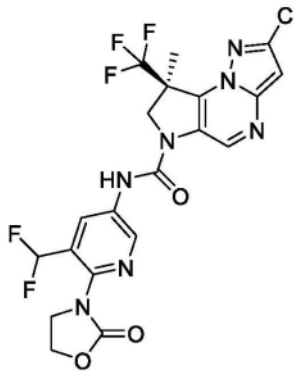
绝对立体化学



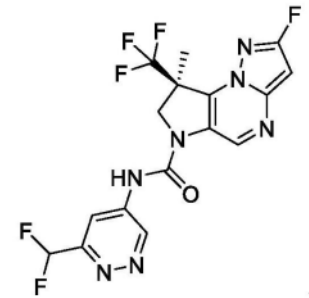
两个立体中心的立体化学是绝对的

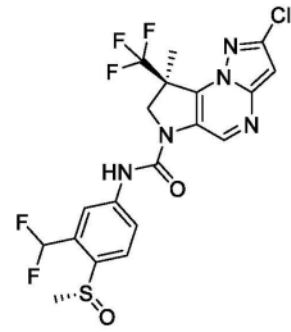
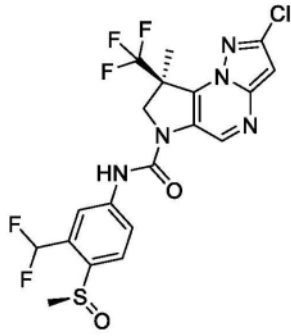
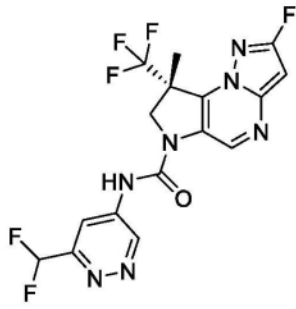


绝对立体化学



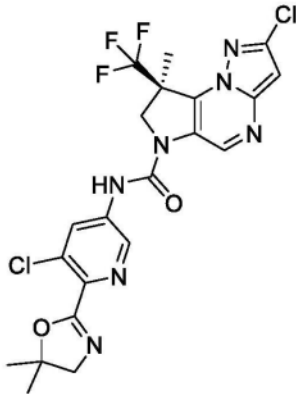
绝对立体化学



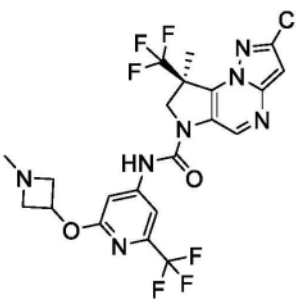
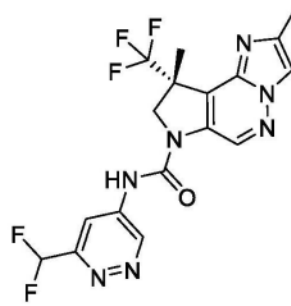
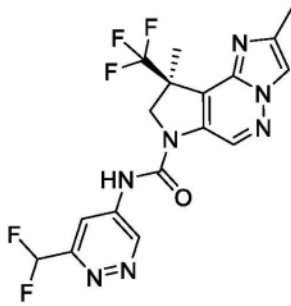


与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的

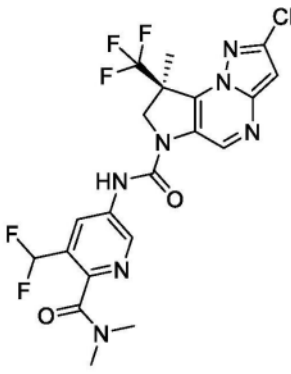
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



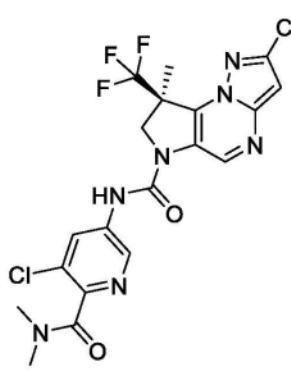
绝对立体化学



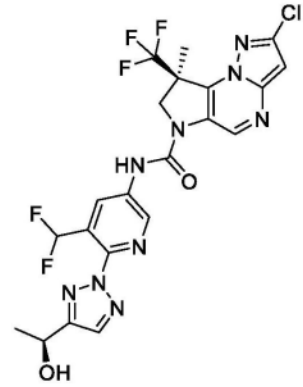
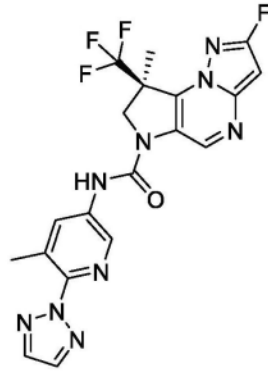
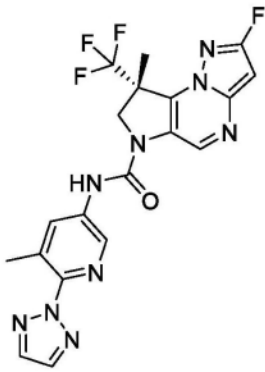
绝对立体化学



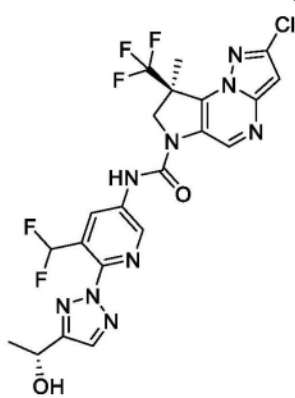
绝对立体化学



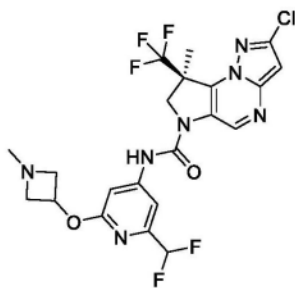
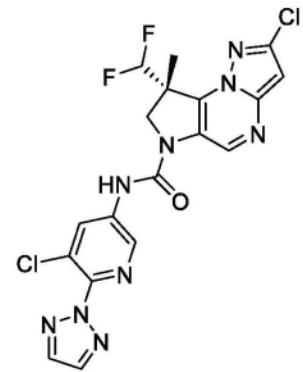
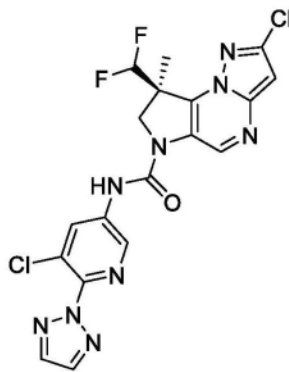
绝对立体化学



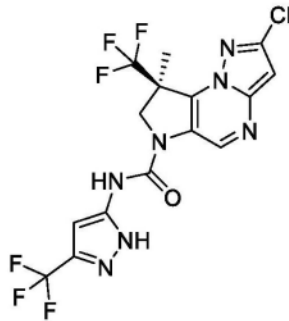
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



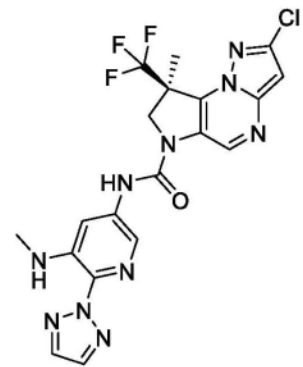
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



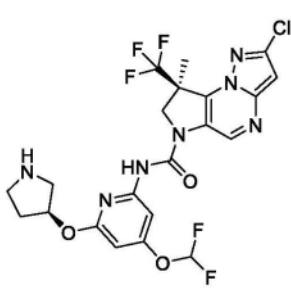
绝对立体化学



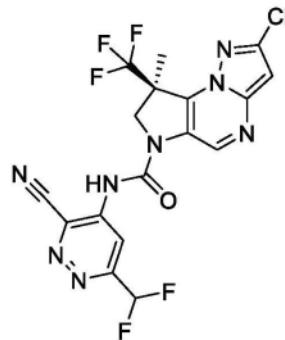
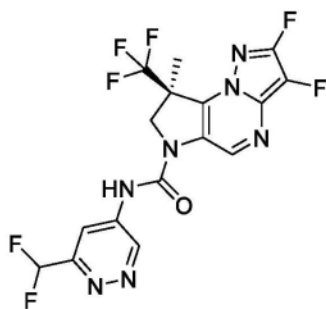
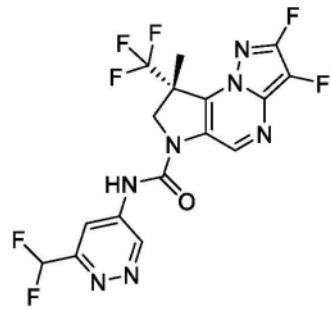
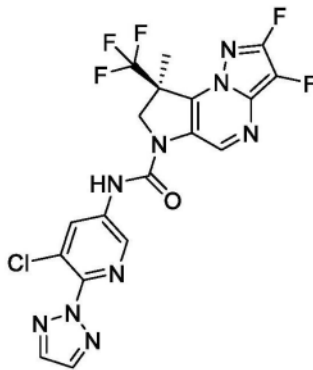
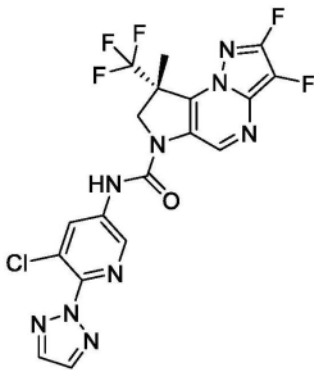
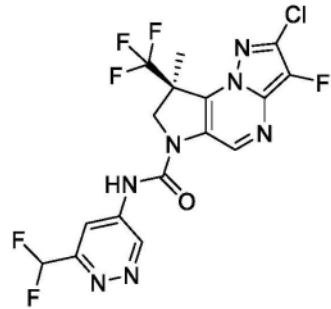
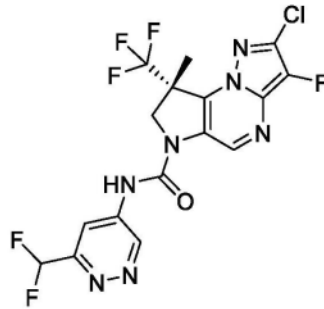
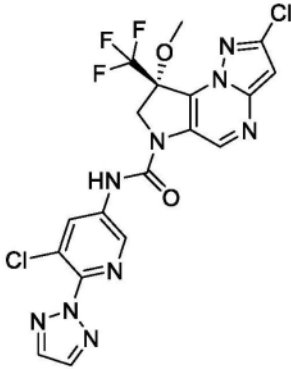
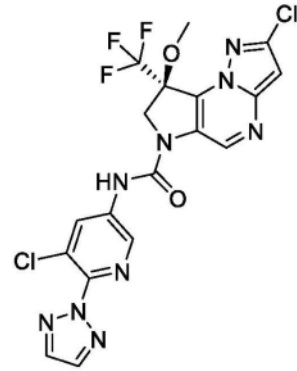
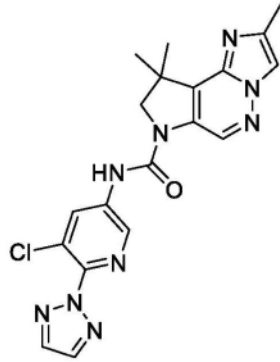
绝对立体化学



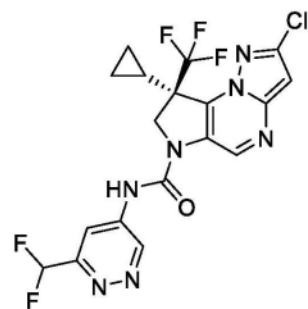
绝对立体化学

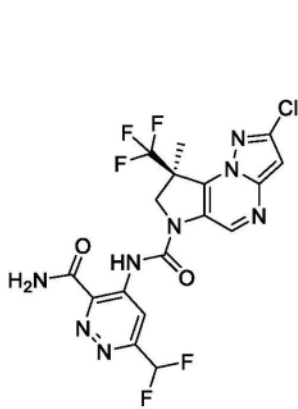
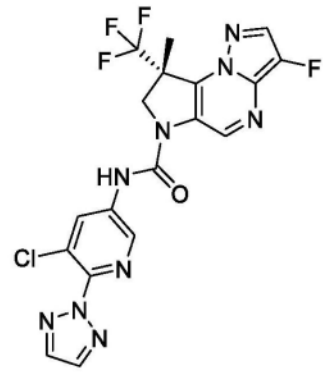
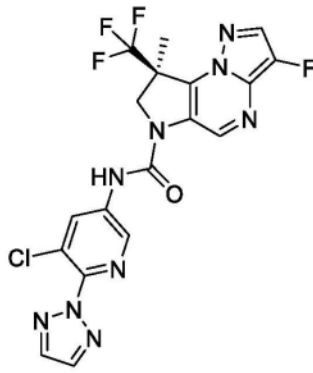
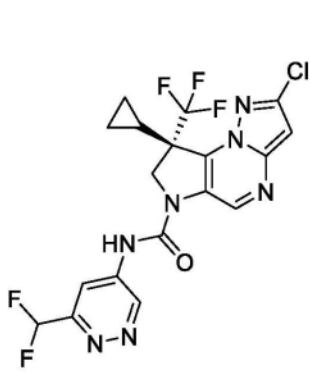


两个立体中心的立体化学是绝对的

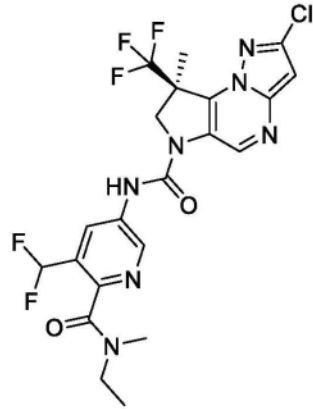


绝对立体化学

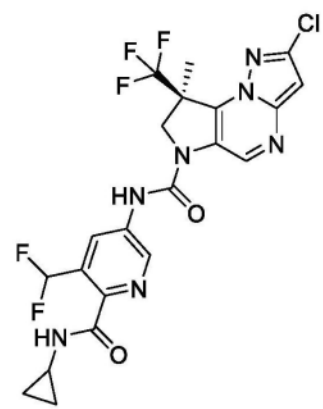




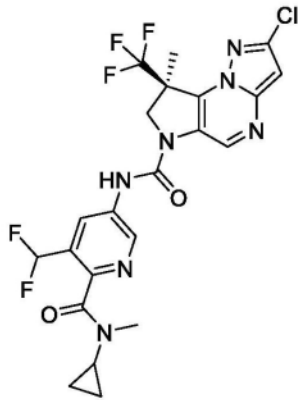
绝对立体化学



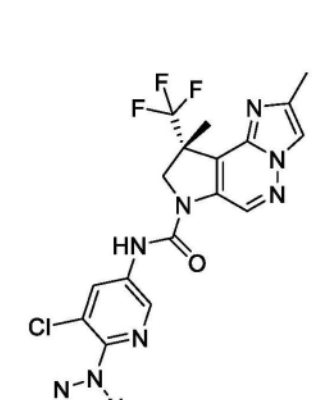
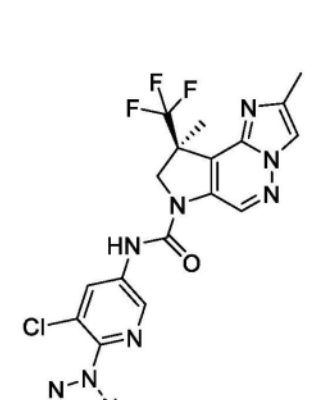
绝对立体化学

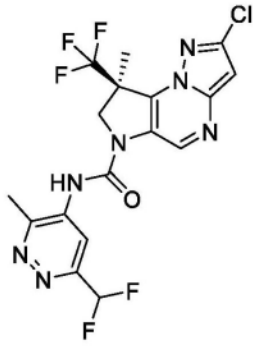


绝对立体化学

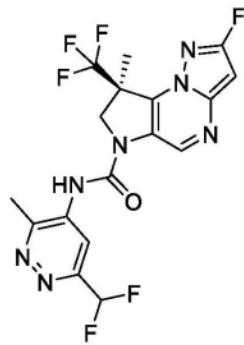
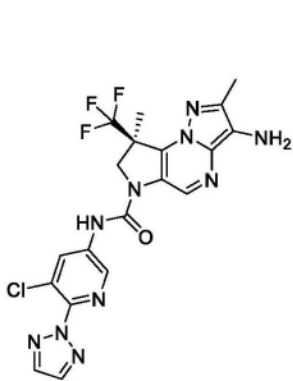
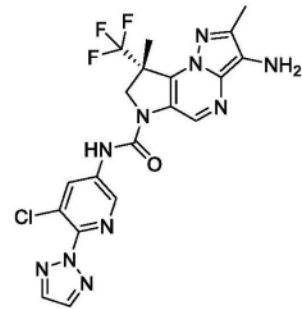
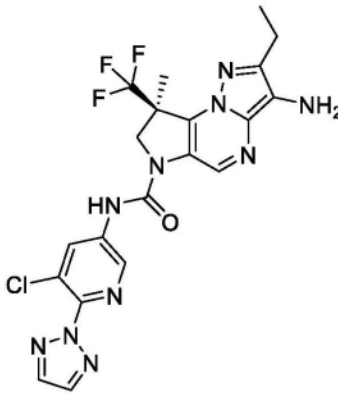
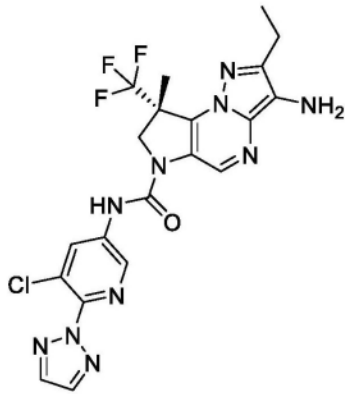
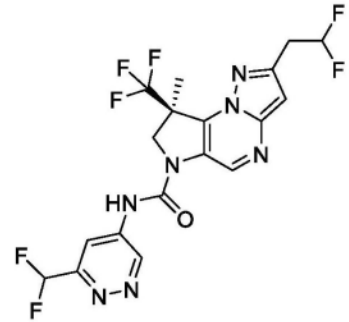
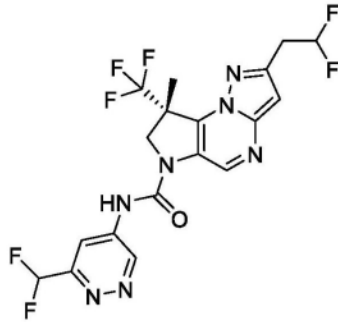


绝对立体化学

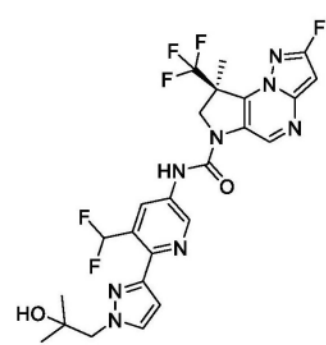




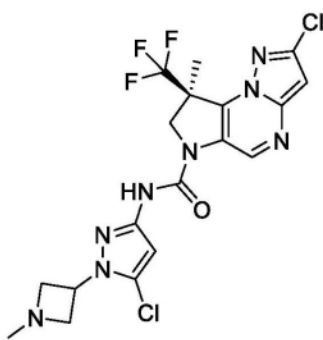
绝对立体化学



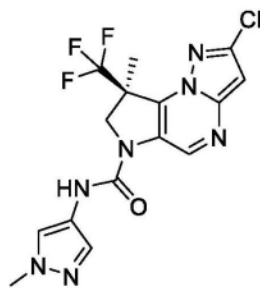
绝对立体化学



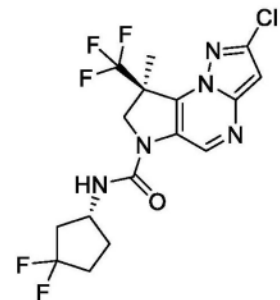
绝对立体化学



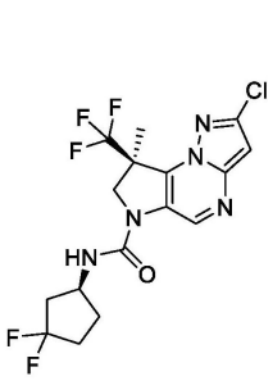
绝对立体化学



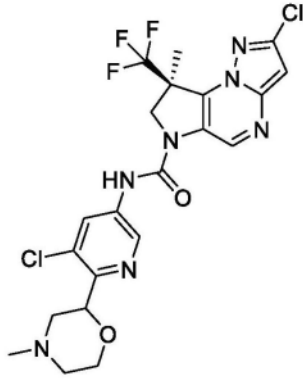
绝对立体化学



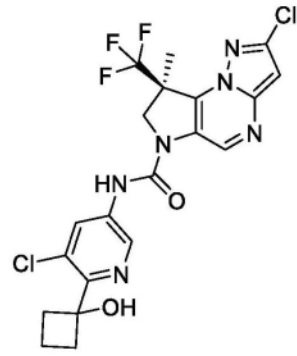
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



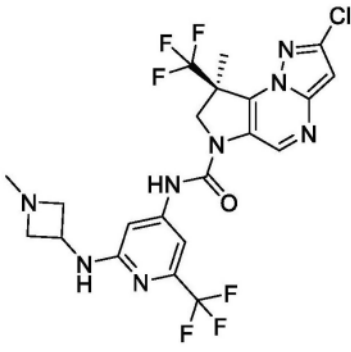
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



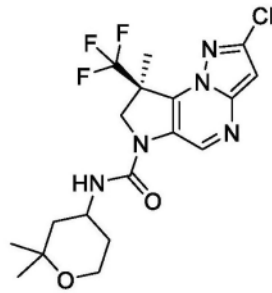
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



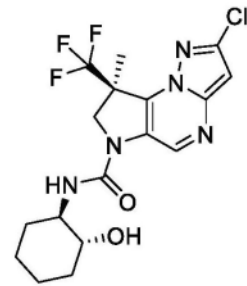
绝对立体化学



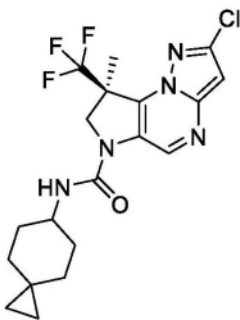
绝对立体化学



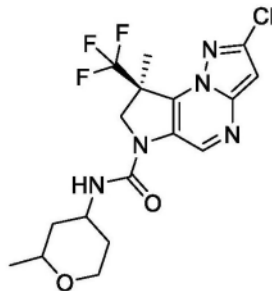
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



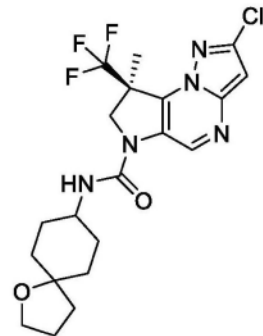
绝对立体化学



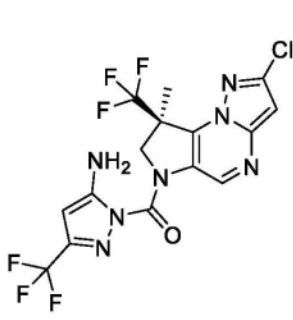
绝对立体化学



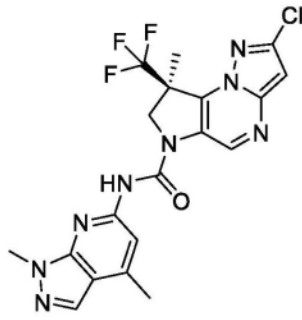
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



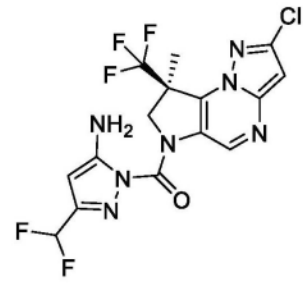
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



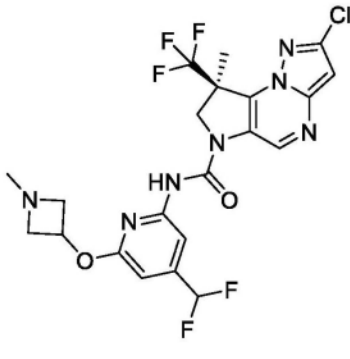
绝对立体化学



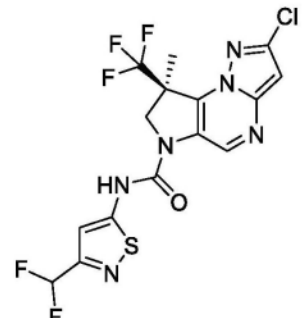
绝对立体化学



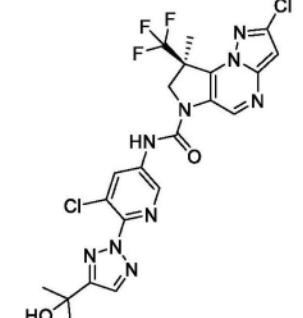
绝对立体化学



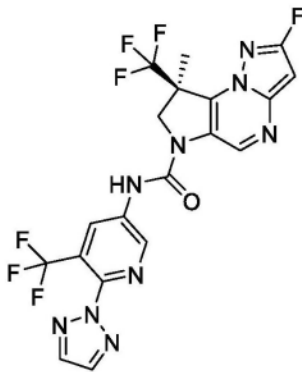
绝对立体化学



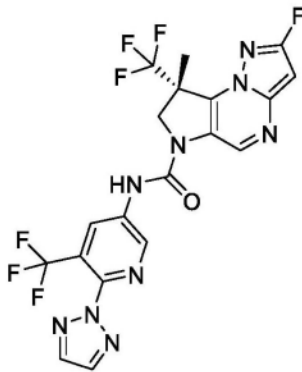
绝对立体化学



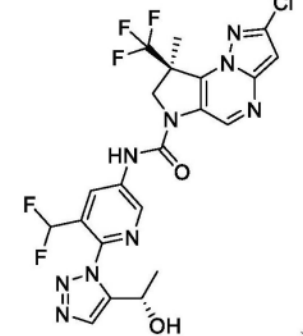
绝对立体化学



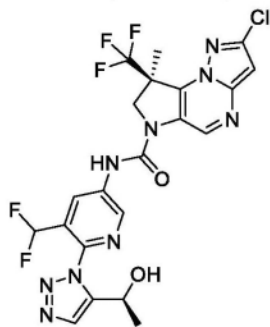
绝对立体化学



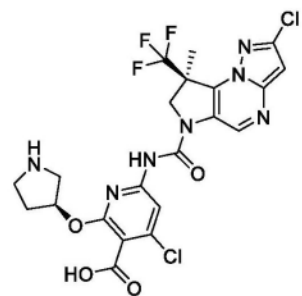
绝对立体化学



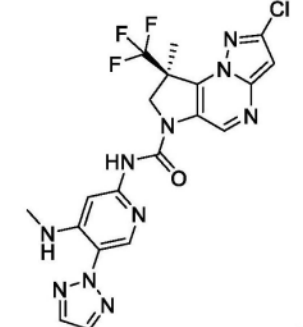
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



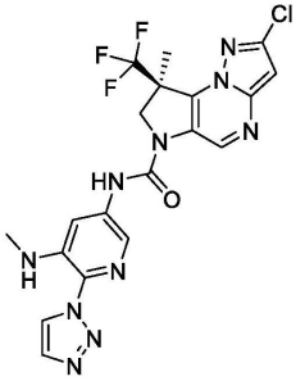
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



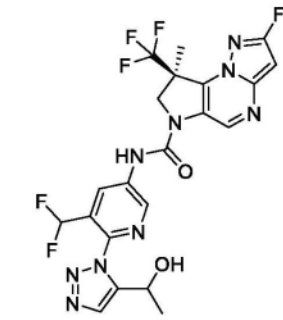
两个立体中心的立体化学是绝对的



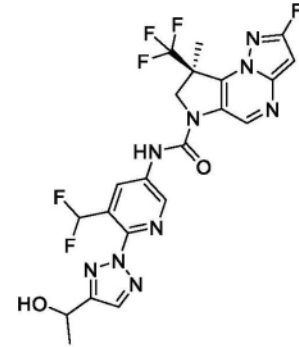
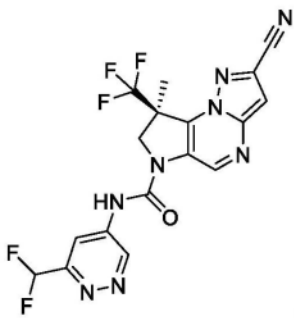
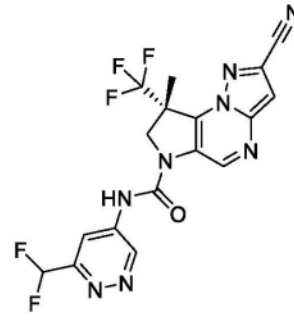
绝对立体化学



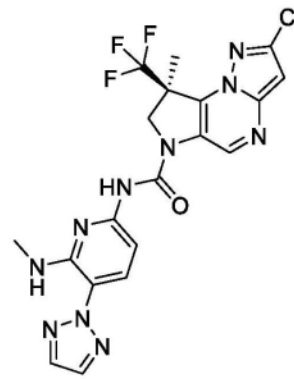
绝对立体化学



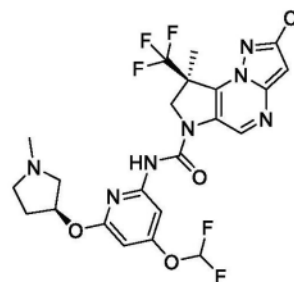
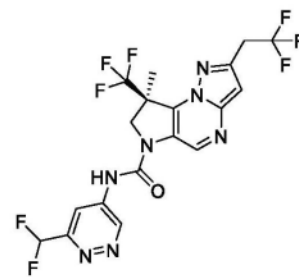
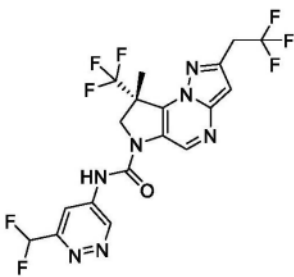
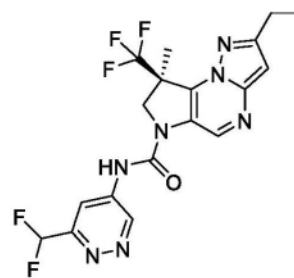
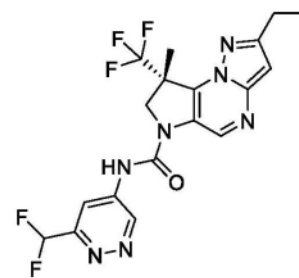
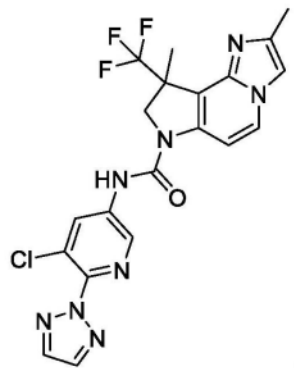
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



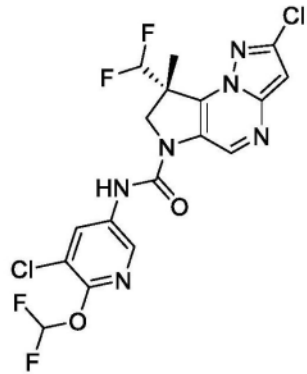
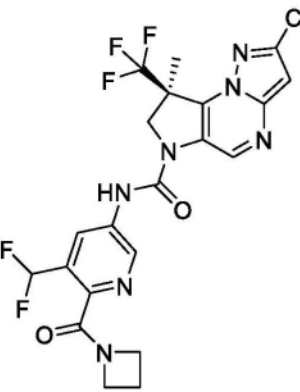
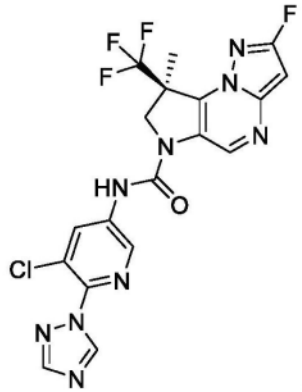
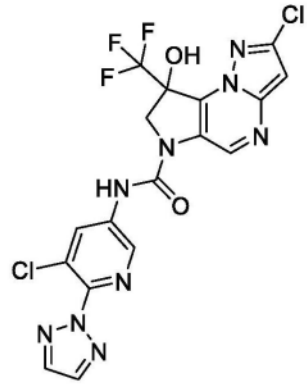
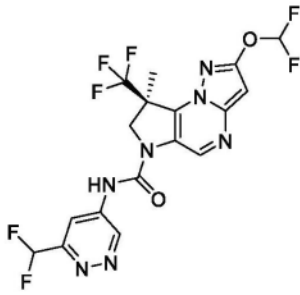
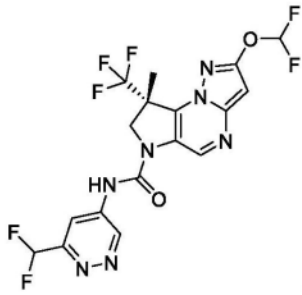
与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的



绝对立体化学

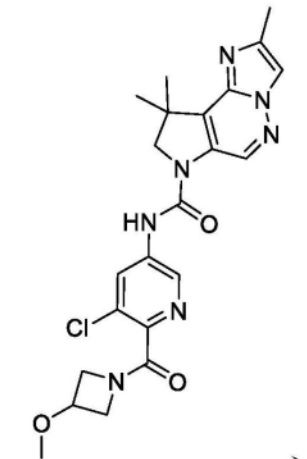
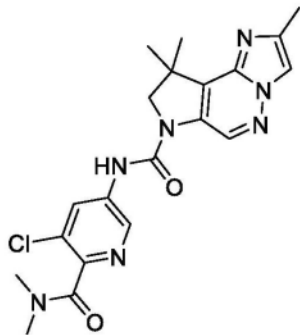
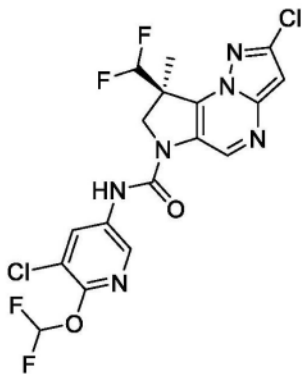


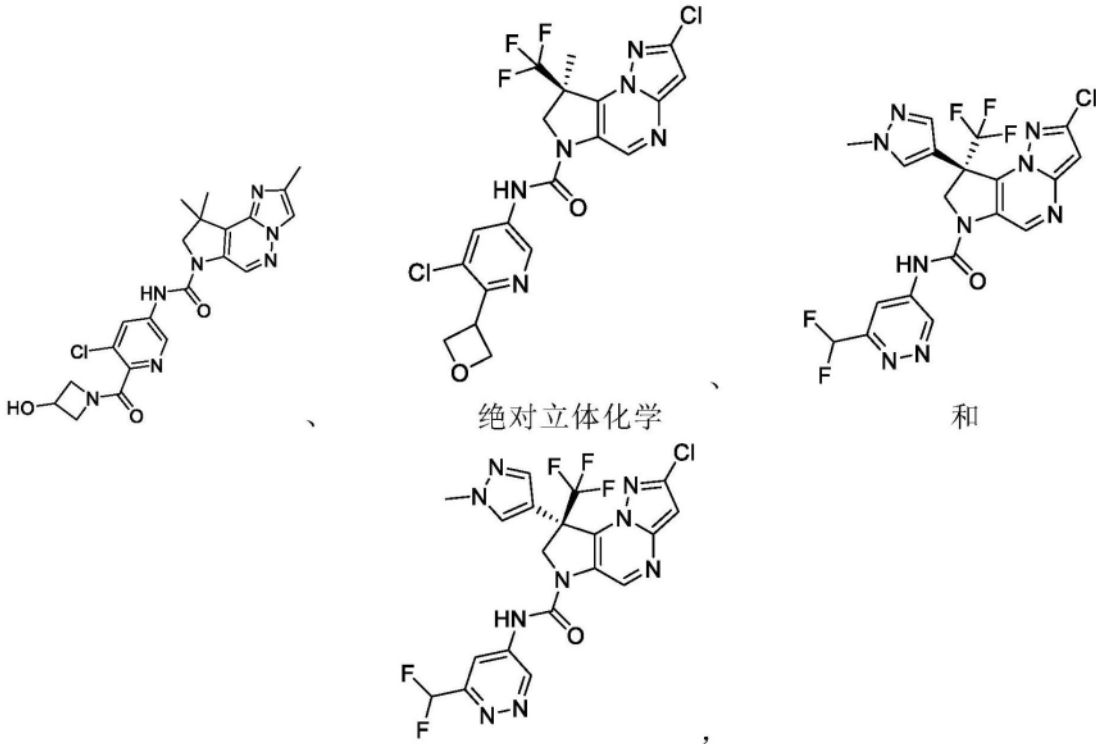
两个立体中心的立体化学是绝对的



绝对立体化学

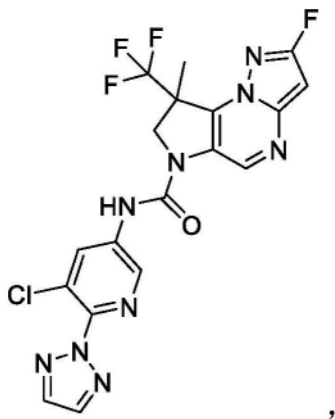
绝对立体化学





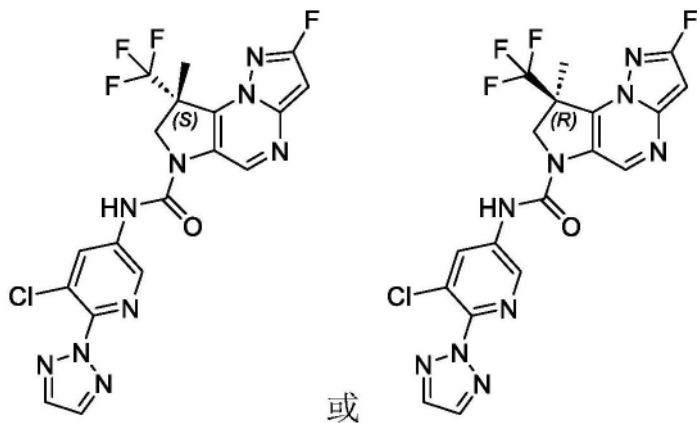
或其药学上可接受的盐。

37. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为:



或其药学上可接受的盐。

38. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为:

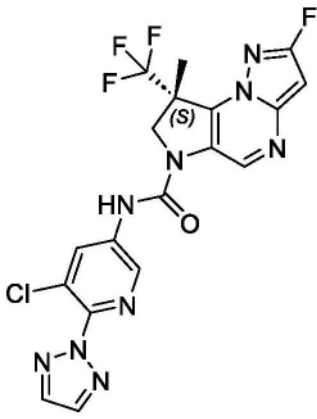


或其药学上可接受的盐。

39. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为使用2x 25cm, 5 μ m, CHIRALPAK IA柱对N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺进行手性HPLC纯化,从中分离的第一个洗脱异构体。

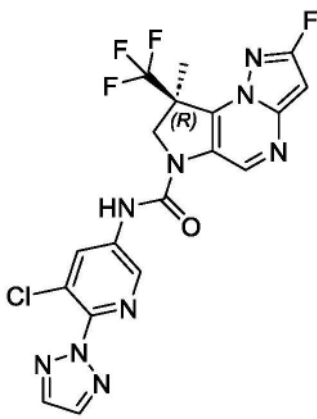
40. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为使用2x 25cm, 5 μ m, CHIRALPAK IA柱对N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺进行手性HPLC纯化,从中分离的第二个洗脱异构体。

41. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为:



(S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺或其药学上可接受的盐。

42. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为:



(R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺或其药学上可接受的盐。

43. 一种药物组合物,其包括根据权利要求1至42中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

44. 权利要求1至42中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗有需要的受试者的癌症的药物中的用途。

45. 根据权利要求44所述的用途,其中所述癌症为白血病或淋巴瘤。

46. 根据权利要求44所述的用途,其中所述癌症为非霍奇金淋巴瘤。

47. 根据权利要求44所述的用途,其中所述癌症选自弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、巨球蛋白血症、结外边缘区淋巴瘤、淋巴结边缘区淋巴瘤、脾边缘区淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤和T细胞淋巴瘤。

48. 根据权利要求44所述的用途,其中所述药物与另外的疗法组合,并且其中所述另外的疗法选自放射疗法、细胞毒性化学疗法、蛋白酶靶向治疗、激酶靶向治疗、免疫靶向疗法和血管生成靶向疗法。

49. 权利要求1至42中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗有需要的受试者的自身免疫性病症的药物中的用途。

50. 根据权利要求49所述的用途,其中所述自身免疫性病症选自类风湿性关节炎、多发性硬化或系统性红斑狼疮(SLE)。

51. 权利要求1至42中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或权利要求43的药物组合物在制备用于治疗有需要的受试者的炎性病症的药物中的用途。

52. 根据权利要求51所述的用途,其中所述炎性病症是慢性移植物抗宿主病(cGVHD)。

环状化合物及其使用方法

[0001] 对以电子方式提交的文本文件的描述

[0002] 与本申请一起以电子方式提交的文本文件的内容通过引用整体并入本文:序列表的计算机可读格式副本,文件名:17367-0076W01.txt,记录日期:2020年12月24日,文件大小:约214千字节。

技术领域

[0003] 本申请涉及三环和其它多环化合物,它们可用于治疗如癌症等增殖性病症,以及自身免疫性和炎性病症。

背景技术

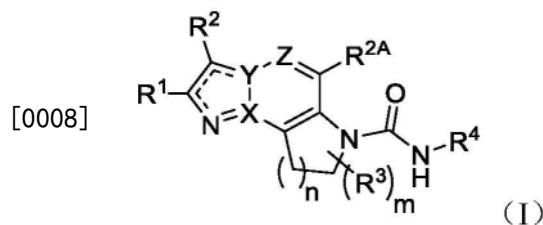
[0004] MALT1(粘膜相关性淋巴组织淋巴瘤易位蛋白1)是一种细胞内蛋白,其通过NF- κ B的上游信号传导参与淋巴细胞增殖,以控制淋巴细胞的活化、存活、增殖和分化。与CARMA或CARD支架蛋白(例如,CARD11(胱天蛋白酶募集结构域家族成员11,也被称为CARMA1)、CARD14(胱天蛋白酶募集结构域家族成员14,也被称为CARMA2)、CARD10(胱天蛋白酶募集结构域家族成员10,也被称为CARMA3)或CARD9(胱天蛋白酶募集结构域家族成员9))和BCL10(B细胞CLL/淋巴瘤10)一起,MALT1是在细胞表面抗原受体活化时形成的CBM复合物的三个亚基之一。参见Jaworski等人,《细胞与分子生命科学(Cell Mol Life Science)》2016,73,459-473,以及Juilland和Thome,《免疫学前沿(Frontiers in Immunology)》2018,9,1927。已知MALT1通过至少两种机制介导NF- κ B信号传导:首先,MALT1作为支架蛋白发挥作用,募集NF- κ B信号传导蛋白,如TRAF6、TAB(例如,TAB1、TAB2、TAB3)、TAK1和NEMO- $\text{IKK}\alpha/\beta$;其次,作为一种半胱氨酸蛋白酶,其切割和灭活NF- κ B信号传导的负调节因子,如RelB、A20或CYLD。参见Rosebeck等人,《科学(Science)》,2011,331,468-472。

[0005] MALT1的蛋白酶活性已成为潜在的治疗靶点,特别是在NF- κ B和相关途径被认为发挥重要作用的情况下。活化的B细胞样弥漫性大B细胞淋巴瘤(ABC-DLBCL)是侵袭性淋巴瘤,其通常以NF- κ B过度活化为特征,并且研究表明,MALT1蛋白酶抑制可显著抑制高度侵袭性ABC型DLBCL的生长并促进其细胞凋亡。参见Ferch U等人,《实验医学杂志(J Exp Med)》2009,206,2313-2320;另参见Hailfinger S等人,《美国国家科学院院刊(Proc Natl Acad Sci USA)》2009,106,19946-19951。MALT1或融合蛋白API2-MALT1的已知肽底物包含A20、CYLD、BCL10、RelB、regnase-1、roquin-1、NIK和LIMA 1a。参见Rebeaud等人,《自然免疫学(Nat Immunol)》2008,9,272-281;另参见Coornaert等人,《自然免疫学》2008,9,263-271;Staal等人,《欧洲分子生物学学会杂志(EMBO J)》2011,30,1742-1752;Hailfinger等人,《美国国家科学院院刊(PNAS)》2011,108,14596-14601;Jeltsch等人,《自然免疫学》2014,15,1079-1089;Uehata等人,《细胞(Cell)》2013,153,1036-1049;Nie等人,《自然通讯(Nat Commun)》2015,6,5908;以及Baens等人,《公共科学图书馆-综合(PLoS ONE)》2014,9,e103774。MALT1底物的一种一般概况描述于以下文献中:Kasperkiewicz等人《科学报告(Scientific Reports)》8.1(2018):1-10。

[0006] 此外,已在ABC-DLBCL中鉴定出几种导致生成组成型活性MALT1的染色体易位,并且关于MALT1融合蛋白API2-MALT1/IgH-MALT1导致独立于上游刺激的NF- κ B活化的鉴定进一步突出了这种蛋白质在癌症和各种疾病中的重要性。参见Farinha等人,《临床肿瘤学杂志(J Clinical Oncology)》2005,23,6370-6378。进一步地,MALT1已被证明与几种不同类型的癌症有关,例如血液恶性肿瘤(如套细胞淋巴瘤)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)和实体瘤(如肺腺癌、乳腺癌、胰腺癌和胶质母细胞瘤)。参见Jiang等人,《癌症研究(Cancer Research)》2011,71,2183-2192;另参见Pan等人,《分子癌症研究(Mol Cancer Res)》2016,14,93-102, Penas等人,《血液(Blood)》2010,115,2214-2219以及《分子与细胞医学杂志J Cell Mol Med.》2020 Jul;24(13):7550-7562。MALT1作为一种免疫调节蛋白,也参与先天性和适应性免疫,并且可能对多种炎症病症产生影响,例如,牛皮癣、多发性硬化症、类风湿性关节炎、干燥综合征、溃疡性结肠炎和由慢性炎症引起的不同类型的过敏性病症。参见Afofina等人,《欧洲生化学会联合会杂志(FEBS Journal)》2015,DOI:10.1111/febs.13325;另参见Lowes等人,《免疫学年鉴(Ann Review Immunology)》2014,32,227-255;Jabara等人,《变态反应与临床免疫学杂志(J Allergy Clin Immunology)》2013,132,151-158;Streubel等人,《临床癌症研究(Clin Cancer Research)》2004,10,476-480;以及Liu等人,《肿瘤靶标(Oncotarget)》2016,1-14。最近,研究结果还表明了MALT1在控制调节性T细胞(Treg)功能和体内平衡中的重要性。正在进行研究以确认MALT1抑制剂单独或与免疫检查点机制联合治疗实体瘤患者的潜力。然而,目前尚无MALT1抑制剂被批准用于治疗用途。

发明内容

[0007] 因此,本文提供了一种式(I)化合物:



[0009] 或其药学上可接受的盐,其中X、Y、Z、n、R¹、R²、R³、m、R⁴、R⁵、R⁶、R^A、R^B、R^C、R^D、R^E和R^F如本文所定义。

[0010] 本文还提供了一种药物组合物,其包括式(I)化合物或其药学上可接受的盐以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0011] 还提供了用于在有需要的受试者中治疗CBM复合物途径相关性癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物。

[0012] 还提供了用于在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括:

[0013] (a) 将所述癌症鉴定为CBM复合物途径相关性癌症;以及

[0014] (b) 向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物。

[0015] 还提供了用于在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括:

[0016] 将有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物施用于被鉴定为患有CBM复合物途径相关性癌症的受试者

[0017] 还提供了用于在受试者中治疗MALT1相关性癌症的方法,所述方法包括向被鉴定或诊断为患有MALT1相关性癌症的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物。

[0018] 还提供了用于在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括:

[0019] (a) 确定所述癌症与MALT1基因、MALT1蛋白酶或二者中任一个的表达或活性或水平的失调有关;以及

[0020] (b) 向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物。

[0021] 还提供了用于在需要此类治疗的患有癌症的受试者中抑制转移的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物。

[0022] 还提供了用于在有需要的受试者中治疗自身免疫性病征的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物。

[0023] 还提供了用于在有需要的受试者中治疗CBM复合物途径相关性疾病或病征的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物。

[0024] 还提供了用于在有需要的受试者中治疗疾病或病征的方法,所述方法包括:

[0025] (a) 将所述癌症鉴定为CBM复合物途径相关性疾病或病征;以及

[0026] (b) 向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物。

[0027] 还提供了用于在有需要的受试者中治疗疾病或病征的方法,所述方法包括:

[0028] 将有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物施用于被鉴定为患有CBM复合物途径相关性疾病或病征的受试者。

[0029] 还提供了用于在受试者中治疗MALT1相关性自身免疫性病征的方法,所述方法包括向被鉴定或诊断为患有MALT1相关性自身免疫性病征的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物。

[0030] 还提供了用于在受试者中治疗MALT1相关性自身免疫性病征的方法,所述方法包括向被鉴定或诊断为患有MALT1相关性自身免疫性病征的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物。

[0031] 还提供了用于在有需要的受试者中治疗自身免疫性病征的方法,所述方法包括:

[0032] (a) 确定所述自身免疫性病征与MALT1基因、MALT1蛋白酶或二者中任一个的表达或活性或水平的失调有关;以及

[0033] (b) 向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物。

[0034] 还提供了用于在受试者中治疗MALT1相关性自身免疫性病征的方法,所述方法包括将有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物施用于被确

定为患有MALT1相关性自身免疫性病症的受试者。

[0035] 还提供了用于在有需要的受试者中治疗炎性病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物。

[0036] 还提供了用于在受试者中治疗MALT1相关性炎性病症的方法,所述方法包括向被鉴定或诊断为患有MALT1相关性炎性病症的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物。

[0037] 还提供了用于在受试者中治疗MALT1相关性炎性病症的方法,所述方法包括向被鉴定或诊断为患有MALT1相关性炎性病症的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物。

[0038] 还提供了用于在有需要的受试者中治疗炎性病症的方法,所述方法包括:

[0039] (a) 确定所述炎性病症与MALT1基因、MALT1蛋白酶或二者中任一个的表达或活性或水平的失调有关;以及

[0040] (b) 向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物。

[0041] 还提供了用于在有需要的受试者中治疗MALT1相关性炎性病症的方法,所述方法包括将有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或如本文所述的药物组合物施用于被确定为患有MALT1相关性炎性病症的受试者。

[0042] 还提供了用于在哺乳动物细胞中抑制CBM复合物途径活性的方法,所述方法包括使所述哺乳动物细胞与式(I)化合物或其药学上可接受的盐接触。

[0043] 还提供了用于在哺乳动物细胞中抑制MALT1蛋白酶活性的方法,所述方法包括使所述哺乳动物细胞与式(I)化合物或其药学上可接受的盐接触。

[0044] 还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐用于治疗CBM复合物途径相关性疾病或病症的用途。

[0045] 还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其用于制备用于治疗CBM复合物途径相关性疾病或病症的药物。

[0046] 还提供了治疗患有MALT1相关性癌症的个体的方法,所述方法包含在施用其它抗癌药(例如,第一MALT1抑制剂或另一种MALT1抑制剂)之前、期间或之后,施用式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0047] 本文还提供了一种用于制备式(I)化合物或其药学上可接受的盐的过程。

[0048] 本文还提供了一种通过如本文定义的制备化合物的过程获得的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0049] 除非另有定义,否则本文所用的所有技术和科学术语都具有与本公开所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。本文中描述了用于本公开中的方法和材料;还可以使用本领域已知的其它合适的方法和材料。这些材料、方法、和实例仅是说明性的并且不旨在是限制性的。本文所提及的所有出版物、专利申请、专利、序列、数据库条目和其它参考文献均通过引用整体并入。在发生冲突的情况下,应以本说明书(包含定义)为准。

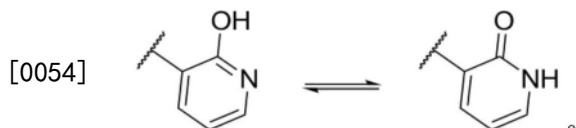
[0050] 本公开的其它特征以及优点通过以下详细描述以及权利要求将会变得显而易见。

具体实施方式

[0051] 定义

[0052] 如本文所使用的,术语“化合物”旨在包含所描绘结构的所有立体异构体、几何异构体、互变异构体和同位素富集的变体。除非另外说明,否则本文按名称或结构确定为一种特定互变异构形式的化合物旨在包含其它互变异构形式。

[0053] 如本文所使用的,术语“互变异构体”是指其结构在原子排列上明显不同,但是以容易且快速的平衡存在的化合物,并且应理解,本文提供的化合物可描绘为不同的互变异构体,并且当化合物具有互变异构体形式时,所有互变异构体形式都意图在本公开的范围之内,并且化合物的命名不排除任何互变异构体。以下是包含的互变异构形式的实例:



[0055] 应当理解,本文提供的某些化合物可以含有一个或多个不对称中心,并且因此可以以异构体的混合物(如外消旋混合物)或对映异构体纯的形式进行制备和分离。

[0056] 术语“卤基”是指元素周期表第17族的卤素之一。具体地说,该术语是指氟、氯、溴和碘。优选地,该术语是指氟或氯。

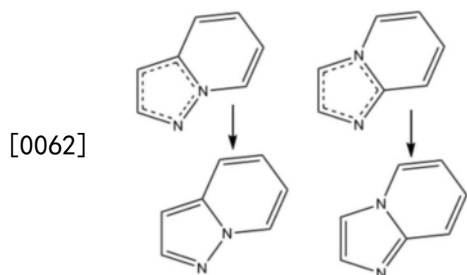
[0057] 术语“C1-C6烷基”是指含有1个、2个、3个、4个、5个或6个碳原子的直链或支链烃链,例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲-丁基、叔丁基、正戊基和正己基。类似地,C1-C3烷基是含有1个、2个或3个碳原子的直链或支链烃链。

[0058] 术语“C1-C6卤代烷基”是指被至少一个在每次出现时独立选择的卤素原子(例如氟、氯、溴和碘)取代的烃链。卤素原子可以存在于烃链上的任何位置。类似地,C1-C3卤代烷基是含有被至少一个卤素原子取代的1个、2个或3个碳原子的直链或支链烃链。例如,C1-C3卤代烷基可以指氯甲基、氟甲基、三氟甲基、氯乙基(例如1-氯乙基和2-氯乙基)、三氯乙基(例如1,2,2-三氯乙基、2,2,2-三氯乙基)、氟乙基(例如1-氟甲基和2-氟乙基)、三氟乙基(例如1,2,2-三氟乙基和2,2,2-三氟乙基)、氯丙基、三氯丙基、氟丙基、三氟丙基。

[0059] 术语“C1-C6烷氧基”是指通过氧与分子连接的C1-C6烷基。这包含烷基部分可以是直链或支链的部分,如甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、正戊氧基和正己氧基。

[0060] 术语“C1-C6卤代烷氧基”是指C1-C6烷基,其通过氧与分子连接并且其中烷基的至少一个氢原子被卤素替换。这包含烷基部分可以是直链或支链的部分,如氟甲氧基、二氟甲氧基、三氟甲氧基、2,2,2-三氟乙氧基或三氟丙氧基。

[0061] 在化合价允许时, 代表单键或双键。例如,



[0063] 如本文所使用的,术语“氰基”是指-CN基团。

- [0064] 如本文所使用的,术语“羟基”是指-OH基团。
- [0065] 如本文所使用的,术语“氨基”是指-NH₂基团。
- [0066] 如本文所使用的,术语“芳基”是指6-10个全碳单环或双环基团,其中系统中的至少一个环是芳香族的。芳基的非限制性实例包含苯基、萘基、四氢萘基。在其中只有一个环是芳香族的双环系统中,非芳香族环可以是如本文所定义的环境基。
- [0067] 如本文所使用的,术语“杂芳基”是指5-10元单环或双环基团,其中系统中的至少一个环是芳香族的;其中系统中至少一个环中的一个或多个碳原子被独立地选自N、O和S的杂原子替换。杂芳基包含其中一个或多个基团被氧化的环,如吡啶酮部分。杂芳基的非限制性实例包含吡啶、嘧啶、吡咯、咪唑和吡啶。在其中只有一个环是芳香族的双环系统中,非芳香族环可以是如本文所定义的环境基或杂环基。
- [0068] 如本文所使用的,术语“环烷基”是指饱和或部分不饱和的3-10个单环或双环烷基;其中双环系统包含稠环系统、螺环系统(任选地被称为“螺环烷基”基团)和桥环系统。环烷基的非限制性实例包含环丙基、环己基、螺[2.3]己基和双环[1.1.1]戊基。
- [0069] 术语“杂环基”是指饱和或部分不饱和的3-12元烃单环或双环系统,其不是芳香族的,在环内具有至少一个选自N、O和S的杂原子。双环杂环基包含稠环系统、螺环系统(任选地被称为“螺杂环基”基团)和桥环系统。杂环基环系统可以在一个或多个C、N或S环成员处包含氧基取代。杂环基可以表示为例如“5-10元杂环基”,其是含有5个、6个、7个、8个、9个或10个原子的环系统,其中至少一个原子是杂原子。例如,可以存在1个、2个或3个杂原子,任选地1个或2个。杂环基可以通过任何碳原子或通过如氮等杂原子与分子的其余部分键合。示例性杂环基包含但不限于哌啶基、哌嗪基、吗啉基、四氢吡喃基、氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、2-氮杂螺[3.3]庚烷基、吡咯烷-2-酮、环丁砜、异噻唑啉S、S-二氧化物和十氢萘基。
- [0070] 如本文所使用的,术语“成对”是指与分子中的相同原子连接的取代基原子或基团。
- [0071] 如本文所使用的,术语“邻位”是指与分子中的相邻原子连接的取代基原子或基团。取代基原子或基团之间的立体化学关系可以是顺式、反式、未定义或未解析的。
- [0072] 如本文所使用的,术语“氧基”是指连接至碳原子的“=O”基团。
- [0073] 如本文所使用的,符号描绘了原子或部分与分子其余部分中的指定原子或基团的连接点。
- [0074] 应当理解,式(I)化合物中包括原子X、Y和Z的环不包含多于两个相邻的氮原子。
- [0075] 式(I)化合物包含其药学上可接受的盐。另外,式(I)化合物还包含此类化合物的其它盐,其不一定是药学上可接受的盐,并且可用作用于制备和/或纯化式(I)化合物和/或用于分离式(I)化合物的对映异构体的中间体。式(I)化合物的药学上可接受的盐的非限制性实例包含三氟乙酸盐和盐酸盐。
- [0076] 将进一步理解,可以以溶剂化物的形式分离式(I)化合物或其盐,并且因此任何此类溶剂化物都包含在本公开的范围。例如,式(I)化合物及其盐可以与药学上可接受的溶剂(如水、乙醇等)一起以未溶剂化形式和溶剂化形式存在。
- [0077] 在一些实施例中,式(I)化合物包含实例1-211的化合物及其立体异构体和药学上可接受的盐。在一些实施例中,式(I)化合物包含实例1-211的化合物及其药学上可接受的盐。在一些实施例中,实例1-211的化合物呈游离碱形式。在一些实施例中,实例1-211的化

合物呈药学上可接受的盐的形式。

[0078] 术语“药学上可接受的”表示该化合物或其盐或组合物在化学和/或毒理学上与构成调配物的其它成分和/或用所述调配物治疗的受试者相容。

[0079] 保护基团可以是保护潜在反应性官能团免受不期望的化学转化影响的临时取代基。所使用的特定保护基团的选择完全在本领域普通技术人员的技能范围内。许多考虑因素可以决定保护基团的选择,包含但不限于被保护的官能团、分子中存在的其它官能团、合成序列每个步骤的反应条件、分子中存在的其它保护基团、官能团对去除保护基团所需的条件的耐受性,以及本文提供的化合物热分解的反应条件。已经对保护基化学领域进行了回顾(Greene, T.W. and Wuts, P.G.M.《有机合成中的保护基(Protective Groups in Organic Synthesis)》,第2版,编者:Wiley:纽约,1991)。

[0080] 氮保护基团可以是保护胺部分免受不期望的化学转化影响的任何临时取代基。当此类保护基团与胺键合时形成的部分的实例包含但不限于烯丙胺、苄胺(例如,苄胺、对甲氧基苄胺、2,4-二甲氧基苄胺和三苯甲胺)、乙酰胺、三氯乙酰胺、三氟乙酰胺、戊-4-烯酰胺、邻苯二甲酰亚胺、氨基甲酸酯(例如,氨基甲酸甲酯、氨基甲酸叔丁酯、氨基甲酸苄酯、氨基甲酸烯丙酯、氨基甲酸2,2,2-三氯乙基酯和氨基甲酸9-苄基甲酯)、亚胺和磺酰胺(例如,苯磺酰胺、对甲苯磺酰胺和对硝基苯磺酰胺)。

[0081] 氧保护基团可以是保护羟基部分免受不期望的化学转化影响的任何临时取代基。当此类保护基团与羟基键合时形成的部分的实例包含但不限于酯(例如,乙酰基、叔丁基羰基和苯甲酰基)、苄基(例如,苄基、对甲氧基苄基和2,4-二甲氧基苄基和三苯甲基)、碳酸酯(例如,碳酸甲酯、碳酸烯丙酯、碳酸2,2,2-三氯乙酯和碳酸苄酯)缩酮、缩醛和醚。

[0082] 本文提供的化合物还可以在构成此类化合物的一个或多个原子上含有非天然比例的原子同位素。也就是说,原子(特别是当关于式(I)化合物提及时)包括该原子的所有同位素和同位素混合物,这些同位素或同位素混合物是天然存在的或合成产生的,具有天然丰度或呈同位素富集的形式。例如,当提及氢时,应理解为是指 ^1H 、 ^2H 、 ^3H 或其混合物;当提及碳时,应理解为是指 ^{11}C 、 ^{12}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 或其混合物;当提及氮时,应理解为是指 ^{13}N 、 ^{14}N 、 ^{15}N 或其混合物;当提及氧时,应理解为是指 ^{14}O 、 ^{15}O 、 ^{16}O 、 ^{17}O 、 ^{18}O 或其混合物;并且当提及氟时,应理解为是指 ^{18}F 、 ^{19}F 或其混合物;除非另有明确说明。例如,在氘烷基和氘烷氧基中,一个或多个氢原子被氘(^2H)特异性地替换。由于一些上述同位素是放射性的,因此本文提供的化合物还包括具有一个或多个原子的一个或多个同位素及其混合物的化合物,包含放射性化合物,其中一个或多个非放射性原子已被其富放射性同位素之一替换。放射性标记的化合物可用作治疗剂,例如癌症治疗剂、研究试剂(例如,测定试剂)和诊断剂(例如,体内显像剂)。本文提供的化合物的所有同位素变化,不论是放射性的还是非放射性的,均旨在涵盖在本公开的范围之内。

[0083] 出于说明性目的,本文提供了用于制备化合物的一般方法以及关键中间体。有关各个反应步骤的详细说明,请参见下文的“实例”部分。本领域技术人员将理解,可以使用其它合成路径来合成本发明的化合物。尽管在方案中描述了特定的起始材料和试剂,并在下文进行了讨论,但也可以轻松取代其它起始材料和试剂,以提供多种衍生物和/或反应条件。另外,根据本公开,可以使用本领域技术人员熟知的常规化学方法进一步修饰通过下述方法制备的许多化合物。

[0084] 所选化合物充当MALT1抑制剂的能力可以通过本文所述的生物学测定法来证明。 IC_{50} 值在表A中示出。

[0085] 式(I)化合物或其药学上可接受的盐可用于治疗可以用MALT1抑制剂治疗的疾病和病症,如MALT1相关性癌症,包含血液癌症和实体瘤、MALT1相关性自身免疫性病症以及MALT1相关性炎性病症。

[0086] 如本文所使用的,术语“治疗(treat或treatment)”是指治疗性或减缓性措施。有益或期望的临床结果包含但不限于完全或部分地缓解与疾病或病症或病状相关的症状、减轻疾病程度、稳定疾病状态(即,不恶化)、延迟或减慢疾病的进展、改善或减轻疾病状态(例如,一种或多种疾病症状)以及缓解(无论是部分还是全部),无论是可检测的还是不可检测的。“治疗”还可以意味着与未接受治疗的情况下的预期生存期相比,生存期延长。

[0087] 如本文所使用的,术语“受试者”是指任何动物,包含哺乳动物,如人。在一些实施例中,受试者是人。在一些实施例中,受试者已经经历和/或表现出待治疗和/或预防的疾病或病症的至少一种症状。

[0088] 如本文所使用的,术语“儿科受试者”是指在诊断或治疗时未满21岁的受试者。术语“儿科”可以进一步分为不同的亚群,包含:新生儿(从出生到生命的第一个月);婴儿(1个月到2岁);儿童(2岁到12岁);和青少年(12岁到21岁(至多但不包含22岁生日))。Berhman RE、Kliegman R、Arvin AM、Nelson WE.《尼尔森儿科教科书(Nelson Textbook of Pediatrics)》,第15版,费城:W.B.桑德斯公司(W.B.Saunders Company),1996;Rudolph AM等人《鲁道夫儿科学(Rudolph's Pediatrics)》,第21版,纽约:麦格劳希尔出版公司(McGraw-Hill),2002;以及Avery MD,First LR.《儿科医学(Pediatric Medicine)》,第2版,巴尔的摩:威廉姆斯和威尔金斯出版社(Williams&Wilkins);1994。在一些实施例中,儿科受试者的年龄为从出生到生命的前28天、从29天到两岁以下、从两岁到12岁以下或从12岁到21岁(至多但不包含二十二岁生日)。在一些实施例中,儿科受试者的年龄为从出生到生命的前28天、从29天到1岁以下、从一个月到四个月以下、从三个月到七个月以下、从六个月到1岁以下、从1岁到2岁以下、从2岁到3岁以下、从2岁到七岁以下、从3岁到5岁以下、从5岁到10岁以下、从6岁到13岁以下、从10岁到15岁以下或从15岁到22岁以下。

[0089] 在某些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐可用于预防本文所定义的疾病和病症(例如,自身免疫性病症、炎性病症和癌症)。如本文所使用的,术语“预防”是指完全或部分地预防本文所述的疾病或病状的发作、复发或扩散或其症状。

[0090] 术语“监管机构”是指一个国家的机构,用于批准该国药剂的医疗用途。例如,监管机构的非限制性实例是美国食品和药物管理局(FDA)。

[0091] 通过NF- κ B途径的信号传导与许多癌症有关。参见例如,Staudt,《冷泉港生物学展望(Cold Spring Harbor Perspectives in Biology)》2.6(2010):a000109,Xia等人,《癌症免疫学研究(Cancer Immunol.Res.)》2.9(2014):823-830,Xia等人,《肿瘤靶标与疗法(OncoTargets and Therapy)》11(2018):2063。NF- κ B是一个转录因子家族,包含p50、p52、p65(RelA)、RelB和c-Rel,其可作为各种同源和异源二聚体与 κ B增强子元件结合以诱导许多基因的转录。在某些细胞表面受体(例如,CD28、BCR、HER1(也被称为EGFR(表皮生长因子受体)和ERBB1)或HER2(也被称为HER2/neu或ERBB2))活化后,通过CARD或CARMA蛋白,可能是通过蛋白激酶C(例如,蛋白激酶C β 或蛋白激酶C θ)的磷酸化以及BCL10-MALT1复合物的募

集形成CBM复合物。参见例如, Xia等人,《肿瘤靶标与疗法》11(2018):2063, Shi和Sun.《分子免疫学(Mol Immunol.)》68.2(2015):546-557, Xia等人,《癌症免疫学研究》2.9(2014):823-830以及Pan,《分子癌症研究》14.1(2016):93-102。

[0092] 如上文所述,CBM复合物可以作为支架蛋白在NF- κ B途径的活化中发挥作用。形成后,CBM复合物可以活化IKK复合物(例如,IKK γ (也被称为NEMO)、IKK α 和IKK β),可能是通过MALT1的泛素化(例如,K63连接的泛素化),其导致IKK γ 的募集、泛素化(例如,K63连接的泛素化)和降解,从而释放IKK α 和IKK β 以使IKK磷酸化,从而导致IKK的泛素化(例如,K48连接的泛素化)和降解,从而将NF- κ B转录因子(通常是NF- κ B1亚型:p50-Re1A和p50-cRel)释放到细胞核。该级联反应可能由泛素连接酶TRAF6(肿瘤坏死因子受体(TNFR)相关因子6)介导。CBM复合物还可能通过另外的蛋白质复合物来影响NF- κ B信号传导,如TAB1/2-TAK和线性泛素链组装复合物(LUBAC)。参见例如, Israël,《冷泉港生物学展望》2.3(2010):a000158, Xia等人,《肿瘤靶标与疗法》11(2018):2063, Juilland,《免疫学前沿(Front.Immunol.)》9(2018):1927。MALT1还可以活化JNK途径(也被称为JNK/AP-1途径),尽管对该领域的研究工作较少。参见;例如, Juilland,《免疫学前沿》9(2018):1927以及Wang等人,《肿瘤形成(Oncogenesis)》6.7(2017):e365-e365。

[0093] 此外,MALT1具有半胱氨酸蛋白酶活性。野生型MALT1底物的非限制性实例包含BCL10、A20、CYLD、Re1B、Regnase 1、roquin-1和HOIL1。此外,API2-MALT1(也被称为cIAP2;凋亡抑制剂2的氨基末端)融合蛋白也被证明可以切割NIK和LIMA1 α 。MALT1对BCL10的切割被认为会导致BCL10非依赖性NF- κ B活化。通过切割A20(TNF α 诱导蛋白3),MALT1可以减少NF- κ B途径的负调节,因为A20是一种去泛素化酶,其已被建议减少MALT1的泛素化,从而减少IKK复合物的募集和活化。CYLD(CYLD赖氨酸63去泛素酶)是一种去泛素化酶,并且通过切割该酶,据信MALT1通过NF- κ B途径和/或JNK途径增加信号传导。Re1B的切割通常会缓解NF- κ B途径的负调节,因为Re1B与Re1A和c-Re1形成转录无活性的复合物。通过切割HOIL1(也被称为RBCK1),据信NF- κ B的负调节得到缓解,因为HOIL1被认为可以减少线性泛素化。MALT1还可以自动加工,通过一种尚未完全了解的机制促进通过NF- κ B途径的信号传导。通过切割NIK(NF- κ B诱导激酶),API2-MALT1蛋白酶生成NIK的c端片段,该片段对蛋白酶体降解具有抗性,从而增加非经典NF- κ B信号传导。通过切割LIMA1 α (LIM结构域和肌动蛋白结合蛋白1),该蛋白的肿瘤抑制性质减轻,并且据信剩余的片段具有致癌性质并增强细胞增殖、集落形成和细胞粘附。Regnase 1(调节性RNase 1,也被称为MCPIP-1或Zc3h12a)和roquin-1(也被称为RC3H1)的切割被认为会导致mRNA的稳定,包含细胞因子、趋化因子和共刺激蛋白(如ICOS、OX40和TNF)的mRNA的稳定。这种活性可能独立于NF- κ B和JNK途径中的MALT1活性。参见例如, Afonina等人《欧洲生化学会联合会杂志(FEBS J.)》282.17(2015):3286-3297 Klein等人《自然通讯》6.1(2015):1-17, Baens等人《公共科学图书馆-综合》9.8(2014):e103774以及Juilland,《免疫学前沿》9(2018):1927。MALT1还参与依鲁替尼反应细胞系和活检样品中的致癌BCR信号传导,由MYD88、TLR9和BCR形成的多蛋白超复合物(以下称为My-T-BCR超复合物)协调。My-T-BCR超复合物与mTOR共定位在内溶酶体上,在此处,其驱动促生存的NF- κ B和mTOR信号传导。参见Phe1an等人,《自然(Nature.)》2018年8月;560(7718):387-391。

[0094] 因此,MALT1的抑制可以为与NF- κ B途径或JNK途径中的异常信号传导相关的许多

类型的病症提供有益效果。例如,抑制MALT1可以减少通过NF- κ B或JNK途径的通量,所述通量由以下一项或多项引起:

[0095] (1) 灭活的肿瘤抑制基因。可以被灭活的肿瘤抑制基因的非限制性实例包含BRCA1和p53(例如,p53 H61L或I123T)。参见例如,Sau等人,《细胞干细胞(Cell Stem Cell)》19.1(2016):52-65,Xia等人,《癌症免疫学研究》2.9(2014):823-830,Johansson等人,《肿瘤靶标》7.38(2016):62627。

[0096] (2) 失调的细胞表面受体。细胞表面受体的非限制性实例包含HER1和HER2。参见例如,Xia等人,《癌症免疫学研究》2.9(2014):823-830以及Pan,《分子癌症研究》14.1(2016):93-102。

[0097] (3) CBM复合物的一种或多种组分的失调。CBM复合物的组分的非限制性实例包含MALT1、CARD11、CARD14、CARD10、CARD9和BCL10。

[0098] (4) 一种或多种MALT1蛋白酶底物的失调(例如,野生型MALT1蛋白酶或失调的MALT1蛋白酶)。MALT1蛋白酶底物的非限制性实例包含BCL10、A20、CYLD、RelB、Regnase 1、roquin-1、HOIL1、NIK和LIMA1 α 。

[0099] (5) CBM复合物下游的NF- κ B途径的一种或多种组分的失调。CBM复合物下游的NF- κ B途径的组分的非限制性实例包含TRAF6、IKK α 、IKK β 、IKK γ (也被称为NEMO)、I κ B α 、p50、p52、p65(RelA)、RelB和c-Rel。

[0100] (6) CBM复合物下游的JNK途径的一种或多种组分的失调。CBM复合物下游的JNK途径的组分的非限制性实例包含JNK1(丝裂原活化的蛋白激酶8)、JNK2(丝裂原活化的蛋白激酶9)、JNK3(丝裂原活化的蛋白激酶10)或AP-1转录因子(例如,c-Fos、c-Jun、ATF或JDP家族中任一种的异二聚体)。

[0101] (7) MALT1基因染色体易位引起的一种或多种融合蛋白的失调。非限制性实例包含cIAP-MALT1融合蛋白。

[0102] (8) My-T-BCR超复合物的一种或多种组分的失调。My-T-BCR超复合物的组分的非限制性实例包含MYD88、TLR9和mTOR。

[0103] 如本文相关的术语“CBM复合物途径”包含信号传导途径中的基因、转录物和蛋白质,所述信号传导途径包含CBM。例如,NF- κ B途径的许多方面都是CBM复合物途径的一部分。CBM复合物途径可以包含,例如,细胞表面受体(例如,CD28、BCR、HER1和HER2)、细胞表面受体与CBM复合物(例如,蛋白激酶C β 或蛋白激酶C θ)之间的信号转导器、CBM复合物的组分(例如,MALT1、CARD11、CARD14、CARD10、CARD9或BCL10)、MALT1蛋白酶的底物(例如,BCL10、A20、CYLD、RelB、Regnase 1、roquin-1、HOIL1、NIK和LIMA1 α)、CBM复合物下游的NF- κ B途径的组分(例如,TAK1、TRAF6、TAB1、TAB2、TAB3、MKK7、IKK α 、IKK β 、IKK γ 、I κ B α 、p50、p65(RelA)或c-Rel)、CBM复合物下游的JNK途径的组分(例如,JNK1、JNK2、JNK3或AP-1转录因子)或My-T-BCR超复合物的组分(例如,MYD88、TLR9或mTOR)。

[0104] 如本文所使用的,术语“CBM复合物途径相关性疾病或病症”是指与CBM复合物途径中的基因、CBM复合物途径中的蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,如本文所述,CBM复合物途径中的基因、CBM复合物途径中的蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的疾病或病症。CBM复合物途径相关性疾病或病症的非限制性实例包含,例如,CBM相关原发性免疫缺陷疾病、自身免

疫性病、多发性硬化症、结肠炎、牛皮癣和癌症。参见例如,McGuire等人,《神经炎症杂志(J.Neuroinflamm.)》11.1(2014):1-12,Lu等人,《免疫学前沿》9(2018):2078,Jaworski等人,《欧洲分子生物学学会杂志》33.23(2014):2765-2781。CBM复合物途径相关性疾病或病症的非限制性实例包含MALT1相关性疾病或病症,如MALT1相关性癌症、MALT1相关性自身免疫性病和MALT1相关性炎性病。

[0105] 如本文所使用的,术语“CBM复合物途径相关性自身免疫性病”是指与CBM复合物途径基因、CBM复合物途径蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的CBM复合物途径基因、CBM复合物途径蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的自身免疫性病。本文描述了CBM复合物途径相关性自身免疫性病的非限制性实例。

[0106] 如本文所使用的,术语“CBM复合物途径相关性炎性病”是指与CBM复合物途径基因、CBM复合物途径蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的CBM复合物途径基因、CBM复合物途径蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的炎性病。本文描述了CBM复合物途径相关性炎性病的非限制性实例。

[0107] 在一些实施例中,CBM复合物途径相关性疾病或病症是CBM复合物途径相关性癌症,如CBM复合物途径细胞表面受体相关性癌症(例如,CD28相关性癌症、BCR相关性癌症、HER1相关性癌症或HER2相关性癌症),与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导相关的癌症(例如,蛋白激酶C β (PKC β)相关性癌症或蛋白激酶C θ (PCK θ)相关性癌症)、CBM复合物相关性癌症的组分(例如,MALT1相关性癌症、CARD11相关性癌症、CARD14相关性癌症、CARD10相关性癌症、CARD9相关性癌症或BCL10相关性癌症)、MALT1蛋白酶底物相关性癌症(例如,BCL10相关性癌症、A20相关性癌症、CYLD相关性癌症、RelB相关性癌症、Regnase 1相关性癌症、roquin-1相关性癌症、HOIL1相关性癌症、NIK相关性癌症或LIMA1 α 相关性癌症)、与CBM复合物下游的NF- κ B途径的组分相关的癌症(例如,TAK1相关性癌症、TRAF6相关性癌症、TAB1相关性癌症、TAB2相关性癌症、TAB3相关性癌症、MKK7相关性癌症、IKK α 相关性癌症、IKK β 相关性癌症、IKK γ 相关性癌症、I κ B α 相关性癌症、p50相关性癌症、p65(Re1A)相关性癌症或c-Rel相关性癌症)、与CBM复合物下游的JNK途径的组分相关的癌症(例如,JNK1相关性癌症、JNK2相关性癌症、JNK3相关性癌症或AP-1转录因子相关性癌症)、MYD88相关性癌症或其组合。

[0108] 如本文所使用的,术语“CBM复合物途径相关性癌症”是指与CBM复合物途径中的基因、CBM复合物途径中的蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,如本文所述,CBM复合物途径中的基因、CBM复合物途径中的蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)(例如,在诊断后或对先前疗法产生抗性后)的癌症。本文描述了CBM复合物途径相关性癌症的非限制性实例。在一些实施例中,CBM复合物途径相关性癌症可以是CBM复合物途径细胞表面受体相关性癌症(例如,CD28相关性癌症、BCR相关性癌症、HER1相关性癌症或HER2相关性癌症),与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导相关的癌症(例如,蛋白激酶C β (PKC β)相关性癌症或蛋白激酶C θ (PCK θ)相关性癌症)、CBM复合物相关性癌症的组分(例如,MALT1相关性癌症、CARD11相关性癌症、CARD14相关性癌症、CARD10相关性癌症、CARD9相关性癌症或BCL10相关性癌症)、

MALT1蛋白酶底物相关性癌症(例如,BCL10相关性癌症、A20相关性癌症、CYLD相关性癌症、RelB相关性癌症、Regnase 1相关性癌症、roquin-1相关性癌症、HOIL1相关性癌症、NIK相关性癌症或LIMA1 α 相关性癌症)、与CBM复合物下游的NF- κ B途径的组分相关的癌症(例如,TAK1相关性癌症、TRAF6相关性癌症、TAB1相关性癌症、TAB2相关性癌症、TAB3相关性癌症、MKK7相关性癌症、IKK α 相关性癌症、IKK β 相关性癌症、IKK γ 相关性癌症、I κ B α 相关性癌症、p50相关性癌症、p65 (RelA) 相关性癌症或c-Rel相关性癌症)、与CBM复合物下游的JNK途径的组分相关的癌症(例如,JNK1相关性癌症、JNK2相关性癌症、JNK3相关性癌症或AP-1转录因子相关性癌症)或其组合。

[0109] 在一些实施例中,失调可以是导致基因、蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平异常活化的失调。活化可以通过任何适当的机制进行,包括但不限于基因扩增、活化突变、活化易位、转录活化、表观遗传改变和/或癌基因的蛋白质产物的过表达。在一些实施例中,失调可以是导致基因、蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平异常失活的失调。失活可以通过任何适当的机制进行,包括但不限于基因缺失、失活突变、失活易位、转录沉默、表观遗传改变和基因的mRNA和/或蛋白质产物的降解。通常,如本文所使用的,失调(无论是活化还是失活)是导致通过NF- κ B或JNK信号传导途径的信号传导增加的失调。

[0110] 术语“野生型”描述在不患有与核酸或蛋白质(例如,MALT1基因、MALT1 mRNA或MALT1蛋白)相关的疾病或病症(并且任选地也不具有患与核酸或蛋白质相关的疾病或病症的增加风险和/或未被怀疑患有与基因或蛋白质相关的疾病或病症)的受试者中发现,或在来自不患有与基因或蛋白质相关的疾病或病症(例如,MALT1相关性癌症、自身免疫性病症或炎性病症)(并且任选地也不具有患与核酸或蛋白质相关的疾病或病症的增加风险和/或未被怀疑患有与核酸或蛋白质相关的疾病或病症)的受试者的细胞或组织中发现的核酸(例如,MALT1基因或MALT1 mRNA)或蛋白质(例如,MALT1蛋白)。

[0111] 在一些实施例中,受试者已被鉴定或诊断为患有具有CBM复合物途径相关性基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物途径相关性蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调的癌症(CBM复合物途径相关性癌症)(例如,如使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定法或试剂盒所确定的)。在一些实施例中,受试者患有对一种或多种先前疗法具有抗性的癌症。在一些实施例中,受试者患有针对CBM复合物途径相关性基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物途径相关性蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调呈阳性的肿瘤(例如,如使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定法或试剂盒所确定的)。所述受试者可以是具有针对CBM复合物途径相关性基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物途径相关性蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调呈阳性的肿瘤的受试者(例如,使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定法或试剂盒鉴定为阳性)。所述受试者可以是其肿瘤具有CBM复合物途径相关性基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物途径相关性蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者的表达或活性或水平的失调的受试者(例如,在使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定法或试剂盒鉴定肿瘤的情况下)。在一些实施例中,受试者患有对一种或多种先前疗法具有抗性的肿瘤。在一些实施例中,受试者疑似患有CBM复合物途径相关性癌症。在一些实施例中,受试者患有疑似对一种或多种先前疗法具有抗性的肿瘤。在一些实施例中,受试者具有临床记录,所述临床记录表明所述受试者患有肿瘤,所述肿瘤具有CBM复合物途径相关性基因(例如,MALT1基

因)、CBM复合物途径相关性蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调(并且任选地,所述临床记录表明应该用本文提供的任何组合物治疗所述受试者)。在一些实施例中,受试者是儿科受试者。在一些实施例中,受试者具有临床记录,所述临床记录表明所述受试者患有对一种或多种先前疗法具有抗性的肿瘤。在一些实施例中,受试者已被鉴定或诊断为患有癌症,所述癌症基于组织学检查被确定为与CBM复合物途径相关性基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物途径相关性蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调相关联(CBM复合物途径相关性癌症)。

[0112] 在一些实施例中,受试者已被鉴定或诊断为患有具有CBM复合物途径相关性基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物途径相关性蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调的自身免疫性疾病(CBM复合物途径相关性自身免疫性疾病)(例如,如使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定法或试剂盒所确定的)。在一些实施例中,受试者患有针对CBM复合物途径相关性基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物途径相关性蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调呈阳性的肿瘤(例如,如使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定法或试剂盒所确定的)。在一些实施例中,受试者疑似患有CBM复合物途径相关性自身免疫性疾病。在一些实施例中,受试者具有临床记录,所述临床记录表明所述受试者患有肿瘤,所述肿瘤具有CBM复合物途径相关性基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物途径相关性蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调(并且任选地,所述临床记录表明应该用本文提供的任何组合物治疗所述受试者)。在一些实施例中,受试者是儿科受试者。在一些实施例中,受试者已被鉴定或诊断为患有自身免疫性疾病,所述自身免疫性疾病基于组织学检查被确定为与CBM复合物途径相关性基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物途径相关性蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调相关联(CBM复合物途径相关性自身免疫性疾病)。

[0113] 在一些实施例中,受试者已被鉴定或诊断为患有具有CBM复合物途径相关性基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物途径相关性蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调的炎性疾病(CBM复合物途径相关性炎性疾病)(例如,如使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定法或试剂盒所确定的)。在一些实施例中,受试者患有针对CBM复合物途径相关性基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物途径相关性蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调呈阳性的肿瘤(例如,如使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定法或试剂盒所确定的)。在一些实施例中,受试者疑似患有CBM复合物途径相关性炎性疾病。在一些实施例中,受试者具有临床记录,所述临床记录表明所述受试者患有肿瘤,所述肿瘤具有CBM复合物途径相关性基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物途径相关性蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调(并且任选地,所述临床记录表明应该用本文提供的任何组合物治疗所述受试者)。在一些实施例中,受试者是儿科受试者。在一些实施例中,受试者已被鉴定或诊断为患有炎性疾病,所述炎性疾病基于组织学检查被确定为与CBM复合物途径相关性基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物途径相关性蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调相关联(CBM复合物途径相关性炎性疾病)。

[0114] 如本文所使用的,术语“CBM复合物途径细胞表面受体相关性癌症”是指与基因、蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调的癌症,

所述失调与CBM复合物途径细胞表面受体相关。在一些实施例中,CBM复合物途径细胞表面受体相关性癌症选自自由以下组成的组:CD28相关性癌症、BCR相关性癌症、HER1相关性癌症、HER2相关性癌症及其组合。

[0115] 如本文所使用的,术语“*相关性癌症”是指与*基因、*蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症,其中“*”指本文所述的特定CBM复合物途径基因或蛋白质。在一些实施例中,*相关性癌症选自自由以下组成的组:CD28相关性癌症、BCR相关性癌症、HER1相关性癌症、HER2相关性癌症、PKC β 相关性癌症、PKC θ 相关性癌症、MALT1相关性癌症、CARD11相关性癌症、CARD14相关性癌症、A20相关性癌症、CYLD相关性癌症、RelB相关性癌症、HOIL1相关性癌症、NIK相关性癌症、Regnase 1相关性癌症、LIMA1 α 相关性癌症、roquin-1相关性癌症、TRAF6相关性癌症、TAK1相关性癌症、TAB1相关性癌症、TAB2相关性癌症、TAB3相关性癌症、MKK7相关性癌症、IKK α 相关性癌症、IKK β 相关性癌症、IKK γ 相关性癌症、I κ B α 相关性癌症、p50相关性癌症、p65相关性癌症、c-Rel相关性癌症、JNK1相关性癌症、JNK2相关性癌症、JNK3相关性癌症、MYD88转录因子相关性癌症和AP-1转录因子相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是CD28相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是BCR相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是HER1相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是HER2相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是PKC β 相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是PKC θ 相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是MALT1相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是CARD11相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是CARD14相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是A20相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是CYLD相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是RelB相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是HOIL1相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是NIK相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是Regnase 1相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是LIMA1 α 相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是roquin-1相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是TRAF6相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是TAK1相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是TAB1相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是TAB2相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是TAB3相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是MKK7相关性癌症和IKK α 相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是IKK β 相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是IKK γ 相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是I κ B α 相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是p50相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是p65相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是c-Rel相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是JNK1相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是JNK2相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是JNK3相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是AP-1转录因子相关性癌症。在一些实施例中,*相关性癌症是MYD88转录因子相关性癌症。

[0116] 短语“*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的失调”(其中*是本文所述的特定CBM复合物途径基因或蛋白质)是指(例如,与对照非癌细胞相比)哺乳动物细胞中野生型*蛋白质的基因突变(例如,染色体易位,其导致包含*结构域和融合伴侣的融合蛋白的表达;*基因中的突变,其导致与野生型*蛋白质相比包含至少一个氨基酸缺失的*蛋白

质的表达;*基因中的突变,其导致与野生型*蛋白质相比具有一个或多个点突变的*蛋白质的表达;*基因中的突变,其导致与野生型*蛋白质相比具有至少一个插入的氨基酸的*蛋白质的表达;基因重复,其导致细胞中*蛋白质水平升高;或调节序列(例如,启动子和/或增强子)中的突变,其导致细胞中*蛋白质水平升高);*mRNA的替代剪接形式,其导致与野生型*蛋白质相比在*蛋白质中具有至少一个氨基酸缺失的*蛋白质;或表达增加(例如,水平升高),这是由于异常的细胞信号传导和/或失调的自分泌/旁分泌信号传导而导致的。作为另外的实例,增加的*基因拷贝数可导致*蛋白质的过表达。例如,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是基因或染色体易位的结果,所述基因或染色体易位导致融合蛋白的表达,所述融合蛋白含有*的第一部分和伴侣蛋白(即,并非*)的第二部分。在一些实例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是一个*基因与另一个非*基因的基因易位的结果。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平选自以下组成的组:CD28、BCR、HER1、HER2、PKC β 、PKC θ 、MALT1、CARD11、CARD14、A20、CYLD、RelB、HOIL1、NIK、Regnase 1、LIMA1 α 、roquin-1、TRAF6、TAK1、TAB1、TAB2、TAB3、MKK7、IKK α 、IKK β 、IKK γ 、I κ B α 、p50、p65、c-Rel、JNK1、JNK2、JNK3、MYD88和AP-1转录因子。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是CD28。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是BCR。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是HER1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是HER2。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是PKC β 。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是PKC θ 。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是MALT1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是CARD11。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是CARD14。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是A20。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是CYLD。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是RelB。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是HOIL1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是NIK。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是Regnase 1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是LIMA1 α 。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是roquin-1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是TRAF6。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是TAK1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是TAB1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是TAB2。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是TAB3。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是MKK7。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是IKK α 。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是IKK β 。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是IKK γ 。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是I κ B α 。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是p50。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是p65。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是c-Rel。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是JNK1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是JNK2。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是JNK3。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是MYD88转录因子。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是AP-1转录因子。

[0117] 在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是编码*蛋白质的*基因中的突变,所述*蛋白质是组成型活性的或与由不包含突变的*基因编码的蛋白质相比具有增加的活性。在一些实施例中,增加的*基因拷贝数可导致*蛋白质的过表达。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平是CD28。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平是BCR。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平是HER1。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平是HER2。在一些实施例中,*基因、*蛋白

质或二者中任一个的表达或活性或水平是PKC β 。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平是PKC θ 。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平是CARD14。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平是CARD9。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平是CARD10。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平是CARD11。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平是MALT1。

[0118] 作为另一个实例,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是编码*蛋白质的*基因中的突变,所述*蛋白质是组成型失活的或与由不包含突变的*基因编码的蛋白质相比具有降低的活性。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平是A20。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平是CYLD。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平是RelB。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平是HOIL1。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平是NIK。

[0119] 与本文所述的特定基因或蛋白质“相关联”的疾病或病症是指与特定基因、特定蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的特定基因、特定蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的疾病或病症。本文描述了此类疾病或病症的非限制性实例。同样,与本文所述的特定基因或蛋白质“相关联”的癌症是指与特定基因、特定蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的特定基因、特定蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述了此类癌症的非限制性实例。

[0120] 本文描述的蛋白质的示例性序列如下所示。

[0121] 人CD28的示例性序列如下所示:

[0122] SEQ ID NO:1(UniParc登录号UPI0000043F4D)

[0123] MLRLLLALNLFPSIQVTGNKILVKQSPMLVAYDNAVNLSCKYSYNLFSREFRASLHKGLDSAVEVCVVY
GNYSQQQLQVYSKTGFNCDGKLGNESVTFYLNQLYVNQTDIYFCKIEVMYPPPYLDNEKSNGTI IHVKGKHLCPSPFL
PGPSKPFVWLVVVGGVLACYSLLVTVAFI IFVWRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS

[0124] CD28基因或CD28蛋白失调的非限制性实例可参见例如Rohr等人,《白血病(Leukemia)》30.5(2016):1062-1070,Yoo等人,《血液学(Haematologica)》101.6(2016):757-763以及Lee等人,《血液学》100.12(2015):e505。

[0125] 人BCR的示例性序列如下所示:

[0126] SEQ ID NO:2(UniParc登录号UPI000016A088)

[0127] MVDPVGFAEAWKAQFPDSEPPRMELRSVGDIEQELERCKAS IRRLEQEVNQRFRMIYLQTL LAKEKKS
YDRQRWGFRRAAQAPDGASEPRASASRPQPAPADGADPPPAEPEARPDEGSPGKARPGTARRPGAAASGERDDRG
PPASVAALRSNFERIRKGGHQP GADAEKPFYVNVFHHERGLVKVNDKEVSDRISLGSQAMQMERKKSQHGAGSSV
GDASRPPYRGRSSESSCGVDGDYEDAELNPRFLKDNL IDANGSRPPWP PLEYQPYQSIYVGGMMEGEGKGPLLRSQ
STSEQEKRLTWPRRSYSPRSFEDCGGGYTPDCSSNENL TSSEEDFSSGQSSRVSPSPTTYRMFRDKSRSPSQNSQQS
FDSSSPPTPQCHKRHRHCPVVVSEATIVGVRKTGQIWPNDGEGAFHGDADGSFGTTPPGYGCAADRAEEQRRHQDGLP
YIDDSPSSSPHLSSKGRGSRDALVSGALESTKASELDLEKGLEMRKWVLSGILASEETYLSHLEALLLPMKPLKAAA

TTSQPVLTSQQIETIFFKVPPELYEIHKEFYDGLFPRVQQWSHQQRVGDLFQKLASQLGVYRAFVDNYGVAMEMAEEKC
 CQANAQFAEISENLRARSNKDAKDPPTKNSLETLLYKPVDRVTRSTLVLHDLLKHTPASHPHDPLLDALRISQNF
 SSINEEITPRRQSMVTKKGEHRQLLKDSFMVELVEGARKLRHVFLFTDLLLCTKLKKQSGGKTQQYDCKWYIPLTDL
 SFQMVDELEAVPNIPLVPDEELDALKIKISQIKNDIQREKRANKGSKATERLKKKLESEQESLLLLMSPSMAFRVHSR
 NGKSYTFLISSDYERAEWRENIREQQKKCFRSFSLTSVELQMLTNSCVKLQTVHSIPLTINKEDDESPGLYGFNLVI
 VHSATGFKQSSNLYCTLEVDSFGYFVNKAKTRVYRDTAEPNWNNEEFEIELEGSQTLRILCYEKCYNKTKIPKEDGES
 TDRLMGKGQVQLDPQALQDRDWQRTVIAMNGIEVKLSVKFNSREFSLKRMP SRKQTGVFGVKIAVVTKRERSKVPYI
 VRQCVEEIERGMEEVGIYRVSGVATDIQALKAADFVNKDVSVMMSEMDVNAIAGTLKLYFRELPEPLFTDEFYPN
 FAEGIALSDPVAKESCMLNLLLSLPEANLLTFLFLLDHLKRVAEKEAVNKMSLHNLATVFGPTLLRPSEKESKLPAN
 PSQPITMTDSWSLEVMSQVQVLLYFLQLEAIPAPDSKRQSILFSTEV

[0128] BCR基因或BCR蛋白(例如,BCR-ABL融合体)失调的非限制性实例可参见例如Yang和Fu,《肿瘤学/血液学关键评论(Crit.Rev.Oncol./Hematol.)》93.3(2015):277-292, Weisberg等人《癌症自然评论(Nat.Rev.Cancer)》7.5(2007):345-356和Jabbour等人《癌症(Cancer)》117.9(2011):1800-1811。

[0129] 人HER1的示例性序列如下所示:

[0130] SEQ ID NO:3(UniParc登录号UPI000003E750)

[0131] MRPSGTAGAALLALLAALCPASRALEEKKVCQGTSNKLTQLGTFEDHFLSLQRMFNCEVVLGNLEITY
 VQRNYDLSFLKTIQEVAGYVLIALNTVERIPLNQLIIRGNMYYENSYALAVLSNYDANKTGLKELPMRNLQEILHG
 AVRFSNNPALCNVESIQWRDIVSSDFLSNMSMDFQNHGSCQKCDPSCPNGSCWGAGEENCQKLTKIICAQQCSGR
 RGKSPSDCCHNQAAGCTGPRESCLVCRKFRDEATCKDTCPLMLYNPTTYQMDVNPEGKYSFGATCVKKCPRNYV
 VTDHGSCVRACGADSYEMEEDGVRKCKKCEGPCRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSISGDLHILPVAFR
 GDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLK
 EISDGDVITISGNKLCYANTINWKKLFGTSGQTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSR
 GRECVDKCNLLEGEPRFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVW
 KYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPNGPKIPSATGMV GALLLLVVALGIGLFMRRRHIVRKRTLRRLLQE
 RELVEPLTPSGEAPNQALLRILKETEFKKIKVLGSGAFGTVYKGLWIPEGEKVKIPVAIKELREATSPKANKEILDE
 AYYMASVDNPHVCRLGICLTSTVQLITQLMPFGCLLDYVREHKDNIGSQYLLNWCVQIAKGMNYLEDRLVHRDLA
 ARNVLVKTPQHVKITDFGLAKLLGAEKEYHAEGGKVPKWMALLESILHRIYTHQSDVWSYGVTVWELMTFGSKPYD
 GIPASEISSILEKGERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDADSRPKFRELIIEFSKMARDPQRYLVIQGDERMHLPSPT
 DSNFYRALMDEEDMDDVDADEYLIPQQGFFSSPSTSRTPLLSSLSATSNNSTVACIDRNLQSCPIKEDSFLQRY
 SDPTGALTEDSIDDFTLPVPEYINQSVPKRPAGSVQNPVYHNQPLNPAPSRDPHYQDPHSTAVGNPEYLN TVQPTCV
 NSTFDSPAHWAAQKGS HQISLDNPDYQQDFFPKEAKPNGIFKGSTAENAEYLRVAPQSSEFIGA

[0132] HER1基因或HER1蛋白失调的非限制性实例可参见例如Zhang等人,《肿瘤靶标》7.48(2016):78985, Ellison等人,《临床病理学杂志(Journal of Clinical Pathology)》66.2(2013):79-89, Midha等人,《美国癌症研究期刊(American Journal of Cancer Research)》5.9(2015):2892以及Yamamoto等人,《肺癌(Lung Cancer)》63.3(2009):315-321。

[0133] 人HER2的示例性序列如下所示:

[0134] SEQ ID NO:4(UniParc登录号UPI000003F55F)

[0135] MELAALCRWGLLLALLPPGAASTQVCTGTDMKLRPASPETHLDMLRHLYQGCQVVGQGNLELTYLPTNASLSFLQDIQEVQGYVLIAHNQVRQVPLQRLRIVRGTQLFEDNYALAVLDNGDPLNNTTPVTGASPGGLRELQLRSLTEILKGGVLIQRNPQLCYQDTILWKDIFHKNNQLALTLIDTNRSRACHPCSPMCKGSRWGESSEDCQSLTRTV CAGG CARCKGPLPTDCHEQCAAGCTGPKHSDCLACLFHNHSGICELHCPALVTYNTDTFESMPNPEGRYTFGASCVTACPYNYLSTDVGSCTLVCPHNLQEVTAEDGTQRCEKCSKPCARVCYGLGMEHLREVRVTSANIQEFAGCKKIFGSLAFLPESFDGDPASNTAPLQPEQLQVFETLEEITGYLYISAWPDSLPLDSVFNQLQVIRGRILHNGAYSLTLQGLGISWGLRSLRELGSGLALIHNTHLCFVHTVPWDQLFRNPHQALLHTANRPEDECVGEGLACHQLCARGHCWGPPTQCVNCSQFLRGQECVEECRVLQGLPREYVNRHCLPCHPECQPQNGSVTCFGPEADQCVACAHYKDPFVCVARCPSGVKPDLSYMPIWKFPDEEGACQPCPINCTHSCVDLDDKGCPAEQRASPLTSIIISAVVGILLVVVLGVVFGILIKRRQKIRKYTMRLLQETELVEPLTPSGAMPNQAQMRILKETELRKVKVLGSGAFGTVYKGIWIPDGENVKIPVAIKVLRENTSPLANKEILDEAYVMAGVGSPPYVSRLGICLTSTVQLVTQLMPYGCLLDHVRENRLGSLDQLLNWCMQIAKGMSYLEDVRLVHRDLAARNVLVKSPNHVKITDFGLARLLDIDETEYHADGGKVP IKWMALESILRRRFTHQSDVWSYGVTVWELMTFGAKPYDGIPIAREIPDLLEKGERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDSECRPRFREL VSEFSRMARDPQRFVVIQNEDLGPASPLDSTFYRSLLEDDDMGDLVDAEEYLVPPQGGFFCPDPAPGAGGMVHHRSSSTRSGGGDLTLGLEPSEEEAPRSPLAPSEGAGSDVFDGDLGMGAAGLQSLPHTDPSPLQRYSEDPTVPLPSETDGYVAPLTCSPQPEYVNPDPVRPQPPSPREGPLPAARPAGATLERPKT LSPGKNGVVKDVFAFGGAVENPEYLT PQGGAAPQHPPPAFSPAFDNLYYWDQDPPERGAPPSTFKGTPTAENPEYLGLDVPV

[0136] HER2基因或HER2蛋白失调的非限制性实例可参见例如Petrelli、Fausto等人,《乳腺癌研究和治疗(Breast Cancer Research and Treatment)》166.2(2017):339-349, Yan等人,《癌症与转移评论(Cancer and Metastasis Reviews)》34.1(2015):157-164, Koshkin等人,《膀胱癌(Bladder Cancer)》5.1(2019):1-12以及Conne11等人,《欧洲肿瘤内科学会期刊(ESMO Open)》2.5(2017)。

[0137] 如本文所使用的,术语“与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导相关的癌症”是指与基因、蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调的癌症,所述失调与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导相关。在一些实施例中,与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导相关的癌症选自PKC β 相关性癌症、PCK θ 相关性癌症及其组合组成的组。与本段中描述的特定基因或蛋白质“相关联”的癌症是指与特定基因、特定蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的特定基因、特定蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述了此类癌症的非限制性实例。

[0138] 人PKC β 的示例性序列如下所示:

[0139] SEQ ID NO:5(UniParc登录号UPI000012DF67)

[0140] MADPAAGPPPSEGEESTVRFARKGALRQKNVHEVKNHKFTARFFKQPTFCSHCTDFIWGFGKQGFQCQVCCFVVHKRCHEFVTFSCPGADKGPASDDPRSKHKFKIHTYSSPTFCDHCGSLLYGLIHQGMKCDTCMMNVHKRCVMNVPSLCGTDHTERRGRIYIQAHI DRDVLIVLVRDAKNLVPMDPNGLSDPYVKLKLIPDPKSESQKTKTIKCSLNPEWNETFRFQLKESDKDRRLSVEIWDWDLTSRNDFMGSLSFGISSELQKASVDGWFKLLSQEEGEYFNVPVPEGESEANEE LRQKFERAKISQGTKVPEEKTTNTVSKFDNNGNRDRMKLTDFNFLMVLGKGSFGKVMLSERKGTDELYAVKILKKDVVIQDDDVECTMVEKRVLALPGKPPFLTQLHSCFQTMDRLYFVMEYVNGGDLMYHIQQVGRFKEPHAVFYAAEIAIGLFFLQSKGI IYRDLKLDNVMLDSEGHKIADFGMCKENIWDGVTTKTFCGTPDYIAPEIIAYQPYGKSVDWWAFGVLL

YEMLAGQAPFEGEDEDELFSQIMEHNVAYPKSMSKEAVAICKGLMTKHPGKRLGCGPEGERDIKEHAFFRYIDWEKL
ERKEIQPPYKPKARDKRDTSNFDKEFTRQPVELTPTDKLFIMNLDQNEFAGFSYTNPEFVINV

[0141] 人PKC θ 的示例性序列如下所示:

[0142] SEQ ID NO:6(UniParc登录号UPI000012DF74)

[0143] MSPFLRIGLSNFDGSCQSCQGEAVNPYCAVLVKEYVESENGQMYIQKKPTMYPPWDSTFDAHINKGRV
MQIIVKGKNVDLISETTVELYSLAERCRKNNKGTEIWLELKPQGRMLMNARYFLEMSDTKDMNEFETEGFFALHQRR
GAIKQAKVHHVKCHEFTATFFPQPTFCVCHFVWGLNKQGYQCRQCNAAIHKKCIDKVIKCTGSAINRETMFHK
ERFKIDMPHRFKVYNYKSPTFCEHCGTLLWGLARQGLKCDACGMNVHRCQTKVANLCGINQKLMAEALAMIESTQQ
ARCLRDTEQIFREGPVEIGLPCSIKNEARPPCLPTPGKREPQGISWESPLDEVDMCHLPEPELNKERPSLQIKLKI
EDFILHKMLGKGSFGKVFLAEFKKTNQFFAIKALKKDVVLMDDVECTMVEKRVLSLAWEHPFLTHMFCTFQTKENL
FFVMEYLNNGDLMYHIQSCHKFDLSRATFYAAEIIILGLQFLHSGKIVYRDLKLDNILLDKDGHIKIADFGMCKENML
GDAKTNTFCGTPDYIAPEILLGQKYNHSDVWSFGVLLYEMLIGQSPFHGQDEEELFHSIRMDNPFYPRWLEKEAKD
LLVKLVFREPEKRLGVRGDIRQHPLFREINWHEELERKEIDPPFRPKVKSFPDCSNFDKEFLNEKPRLSFADRALINS
MDQNMFRNFSFMNPGMERLIS

[0144] 如本文所使用的,术语“CBM复合物相关性癌症的组分”是指与基因、蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调的癌症,所述失调与CBM复合物的组分相关。在一些实施例中,CBM复合物相关性癌症的组分选自由以下组成的组:MALT1相关性癌症、CARD11相关性癌症、CARD14相关性癌症、CARD10相关性癌症、CARD9相关性癌症、BCL10相关性癌症及其组合。在一些实施例中,CBM复合物相关性癌症选自由以下组成的组:MALT1相关性癌症、CARD11相关性癌症、BCL10相关性癌症及其组合。与本段中描述的特定基因或蛋白质“相关联”的癌症是指与特定基因、特定蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的特定基因、特定蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述了此类癌症的非限制性实例。

[0145] 如本文所使用的,术语“MALT1相关性自身免疫性疾病”是指与MALT1基因、MALT1蛋白(在本文中也被称为MALT1蛋白酶蛋白或MALT1蛋白酶)或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的MALT1基因、MALT1蛋白酶、MALT1蛋白酶结构域或三者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的自身免疫性疾病。本文描述了MALT1相关性自身免疫性疾病的非限制性实例。

[0146] 如本文所使用的,术语“MALT1相关性炎性疾病”是指与MALT1基因、MALT1蛋白(在本文中也被称为MALT1蛋白酶蛋白或MALT1蛋白酶)或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的MALT1基因、MALT1蛋白酶、MALT1蛋白酶结构域或三者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的炎性疾病。本文描述了MALT1相关性炎性疾病的非限制性实例。

[0147] 如本文所使用的,术语“MALT1相关性癌症”是指与MALT1基因、MALT1蛋白(在本文中也被称为MALT1蛋白酶蛋白或MALT1蛋白酶)或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的MALT1基因、MALT1蛋白、MALT1蛋白酶结构域或三者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述MALT1相关性癌症的非限制性实例。

[0148] 短语“MALT1基因、MALT1蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调”是指(例如,与对照非癌细胞相比)哺乳动物细胞中野生型MALT1蛋白的基因突变(例如,染色体易位,其导致包含MALT1蛋白酶结构域和融合伴侣的融合蛋白的表达;MALT1基因中的突变,其导致与野生型MALT1蛋白相比包含至少一个氨基酸缺失的MALT1蛋白的表达;MALT1基因中的突变,其导致与野生型MALT1蛋白相比具有一个或多个点突变的MALT1蛋白的表达;MALT1基因中的突变,其导致与野生型MALT1蛋白相比具有至少一个插入的氨基酸的MALT1蛋白的表达;基因重复,其导致细胞中MALT1蛋白水平升高;或调节序列(例如,启动子和/或增强子)中的突变,其导致细胞中MALT1蛋白水平升高);MALT1 mRNA的替代剪接形式,其导致与野生型MALT1蛋白相比在MALT1蛋白中具有至少一个氨基酸缺失的MALT1蛋白;或表达增加(例如,水平升高),这是由于异常的细胞信号传导和/或失调的自分泌/旁分泌信号传导而导致的。作为另一个实例,MALT1基因、MALT1蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是编码MALT1蛋白的MALT1基因中的突变,所述MALT1蛋白是组成型活性的或与由不包含突变的MALT1基因编码的蛋白质相比具有增加的活性。作为另外的实例,增加的MALT1基因拷贝数可导致MALT1蛋白酶的过表达。例如,MALT1基因、MALT1蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是基因或染色体易位的结果,所述基因或染色体易位导致融合蛋白的表达,所述融合蛋白含有MALT1的第一部分(该部分包含功能性蛋白酶结构域)和伴侣蛋白(即,并非MALT1)的第二部分。在一些实例中,MALT1基因、MALT1蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是一个MALT1基因与另一个非MALT1基因的基因易位的结果。

[0149] 人MALT1的示例性序列如下所示:

[0150] SEQ ID NO:7(UniParc登录号UPI000004D05E)

[0151] MSL LGDPLQALPPSAAPTGPLLAPPAGATLNRLREPLLRRLSELDDQAPEGRGWRRLAELAGSRGRLRL
 SCLDLEQC SLK VLEPEGSPSLC LLKLMGEGKCTVTELSDFLQAMEHTEVLQLLSPPGIKITVNPESKAVLAGQFVKL
 CCRATGHPFVQYQWFKMNKEIPNGNTSELIFNAVHVKDAGFYVCRVNNNFTFEFSQWSQLDVCDIPESFQRSVDGVS
 ESKLQICVEPTSQKLM PGSTLVLQCVAVGSP IPHYQWFKNELPLTHE TKKLYMVPYVDLEHQGTYWCHVYND RDSQD
 SKKVEI I I GRTDEAVECTEDELNNLGHDPNKEQT TDQPLAKDKVALLIGNMNYREHPK LKAPLVDVYELTNLLRQLD
 FKVVSLLDL TEYEMRNAVDEFLLLLDKGVYGLLYAGHG YENFGNSFMV PVDAPNPYRSENCLCVQNILKLMQEKET
 GLNVFLLD MCRKRNDYDDTIPILDALKVTANIVFGYATCQGAEAFE IQHSGLANGIFMKFLKDRILLEDKKITVLLDE
 VAEDMGKCHLTKGKQALEIRSSLSEKRALTDPIQGTEYSAESLVRNLQWAKAHELPEMCLKFD CGVQIQLGFAAEF
 SNVMI IYTSIVYKPPEIIMCDAYVTDFPLDLIDPKDANKGTPEETGSYL VSKDLPKHCLYTRLSSLQKLKEHLVFT
 VCLSYQYSGLEDTVEDKQEVNVGKPLIAKLDMHRGLGRKTCFQTCLMSNGPYQSSAATSGGAGHYHSLQDPFHGVYH
 SHPGNPSNVTPADSCHCSRTPDAFISSFAHHASCHFSRSNVPVETTDEIPFSFSDRLRISEK

[0152] MALT1基因或MALT1蛋白失调的非限制性实例显示在下表B1中。

[0153] 表B1.

MALT1 蛋白氨基酸取代/插入/缺失		
氨基酸位置	非限制性示例性突变	非限制性示例性 MALT1 相关性癌症
717	M717I ¹	
MALT 融合伴侣		
融合伴侣	非限制性示例性 MALT1 相关性癌症	
BIRC3 (也被称为 IAP2; CIAP2; 和 API2) ¹	弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL) ¹ ; 结外低级别 MALT 淋巴瘤 ²	
IGH		ABC-DLBCL ²
SEC11C		乳腺癌 ³

[0156] ¹美国专利US 10,711,036

[0157] ²美国专利申请公开US20190160045A1

[0158] ³美国专利申请公开US20130096021A1

[0159] ⁴美国专利申请公开US20150320754A1

[0160] 如本文所使用的,术语“CARD11相关性自身免疫性病症”是指与CARD11基因、CARD11蛋白或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的CARD11基因、CARD11蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的自身免疫性病症。

[0161] 如本文所使用的,术语“CARD11相关性炎性病症”是指与CARD11基因、CARD11蛋白或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的CARD11基因、CARD11蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的炎性病症。

[0162] 如本文所使用的,术语“CARD11相关性癌症”是指与CARD11基因、CARD11蛋白或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的CARD11基因、CARD11蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述了CARD11相关性癌症的非限制性实例。

[0163] 短语“CARD11基因、CARD11蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调”是指(例如,与对照非癌细胞相比)哺乳动物细胞中野生型CARD11蛋白的基因突变(例如,染色体易位,其导致包含CARD11结构域和融合伴侣的融合蛋白的表达;CARD11基因中的突变,其导致与野生型CARD11蛋白相比包含至少一个氨基酸缺失的CARD11蛋白的表达;CARD11基因中的突变,其导致与野生型CARD11蛋白相比具有一个或多个点突变的CARD11蛋白的表达;CARD11基因中的突变,其导致与野生型CARD11蛋白相比具有至少一个插入的氨基酸的CARD11蛋白的表达;基因重复,其导致细胞中CARD11蛋白水平升高;或调节序列(例如,启动子和/或增强子)中的突变,其导致细胞中CARD11蛋白水平升高);CARD11 mRNA的替代剪接形式,其导致与野生型CARD11蛋白相比在CARD11蛋白中具有至少一个氨基酸缺失的CARD11蛋白;或表达增加(例如,水平升高),这是由于异常的细胞信号传导和/或失调的自分泌/旁分泌信号传导而导致的。作为另一个实例,CARD11基因、CARD11蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是编码CARD11蛋白的CARD11基因中的突变,所述CARD11蛋白是组成型活性的或与由不包含突变的CARD11基因编码的蛋白质相比具有增加的活性。作为另外的实例,增加的CARD11基因拷贝数可导致CARD11蛋白的过表达。例如,CARD11基因、CARD11

蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是基因或染色体易位的结果,所述基因或染色体易位导致融合蛋白的表达,所述融合蛋白含有CARD11的第一部分和伴侣蛋白(即,并非CARD11)的第二部分。在一些实例中,CARD11基因、CARD11蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是一个CARD11基因与另一个非CARD11基因的基因易位的结果。

[0164] 人CARD11的示例性序列如下所示:

[0165] SEQ ID NO:8(UniParc登录号UPI00003FED38)

[0166] MPPGGPEMDDYMETLKDEEDALWENVECNRHMLSRYPINPAKLTPYLRQCKVIDEQDEDEVLNAPMLPSK
 INRAGRLLDILHTKGQRGYVVFLESLEFYYPELYKLVGTGKEPTRRFSTIVVEEGHEGLTHFLMNEVIKLLQQMKAKD
 LQRCELLARLRQLEDEKKQMTLTRVELLTFQERYYKMKEERDSYNDELVKVKDDNYNLAMRYAQLSEEKNMAVMRSR
 DLQLEIDQLKHRLNKMEEECKLERNQSLKLNKNDIENRPKKEQVLELERENEMLKTKNQELQSI IQAGKRSPLPDSKA
 ILDILEHDRKEALEDRQELVNRIYNLQEEARQAEELRDKYLEEKEDLELKCSTLGKDCEMYKHRMNTVMLQLEEVER
 ERDQAFHSRDEAQTQYSQCLIEKDKYRKQIRELEEKNDEMRIEMVRREACIVNLESKLRLRSKDSNNLDQSLPRNLP
 VTIISQDFGDASPRTNGQEADDSSTSEESPEDSKYFLPYHPPQRRMNLKGIQLQRAKSPISLKRTSDFQAKGHEEEG
 TDASPSSCGSLPITNSFTKMQPPRSRSSIMSI TAEPGNDIVRRYKEDAPHRSTVEEDNDSGGFDALDLDDDSHER
 YSFGPSSIHSSSSSHQSEGLDAYDLEQVNL MFRKFSLERPFRPSVTSVGHVVRGPGPSVQHTTLNGDSLTSQLTLLGG
 NARGSFVHVSVKPGSLAEKAGLREGHQLLLLLEGCIRGERQSVPLDTCTKEEAHWTIQRCSPVTLHYKVNHEGYRKL
 KDMEDGLITSGDSFYIRLNLNISSQLDACTMSLKCDDVVHVRD TMYQDRHEWLCARVDPFTDHDLDMGTI PSYSRAQ
 QLLLVLKLRMLHRGSREEVDGTHHTLRALRNTLQPEEALSTSDPRVSPRLSRASFLFGQLLQFVSRSENKYKRMNSN
 ERVRIISGSPLGSLARSSLDATKLLTEKQEELDPESELGKNLSLIPYSLVRAFYCERRRPVLFPTPTVLAKTLVQRLL
 NSGGAMEFTICKSDIVTRDEFLRRQKTETI IYSREKNPNAFECIAPANIEAVAANKHCLLEAGIGCTRDLIKSNIY
 PIVLFI RVECKNIKRFRKLLPRPETEEEF LRVCR LKEKELEALPCLYATVEPDMWGSVEELLRVVKDKIGEEQRKTI
 WVDEDQL

[0167] CARD11基因或CARD11蛋白失调的非限制性实例显示在下表B2中。

[0168] 表B2.

CARD11 蛋白氨基酸取代/插入/缺失		
氨基酸位置	非限制性示例性突变	非限制性示例性 CARD11 相关性癌症
47	R47C ²	皮肤鳞状细胞癌 ²
123	G123S ¹	淋巴瘤 ¹
126	G126D ¹	淋巴瘤 ¹
130	F130V ²	皮肤鳞状细胞癌 ²
167	T167M ²	皮肤鳞状细胞癌 ²
215	K215M、K215N ¹	淋巴瘤 ¹
230	D230N ¹	淋巴瘤 ¹
357	D357E ¹	淋巴瘤 ¹
[0169] 360	M360V ¹	淋巴瘤 ¹
361	Y361C ¹	淋巴瘤 ¹
368	V368I ²	皮肤鳞状细胞癌 ²
737	H737L ²	皮肤鳞状细胞癌 ²
750	H750R ²	皮肤鳞状细胞癌 ²
833	P833L ²	皮肤鳞状细胞癌 ²
900	L900F ²	皮肤鳞状细胞癌 ²
1015	L1015F ²	皮肤鳞状细胞癌 ²
1016	R1016L ²	皮肤鳞状细胞癌 ²
1085	R1085S ²	皮肤鳞状细胞癌 ²
1086	F1086S ²	皮肤鳞状细胞癌 ²

[0170] ¹Wu等人,《肿瘤靶》7.25(2016):38180。

[0171] ²Watt, et al.《美国病理学杂志(The American Journal of Pathology)》185.9(2015):2354-2363。

[0172] 如本文所使用的,术语“CARD14相关性自身免疫性病”是指与CARD14基因、CARD14蛋白或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的CARD14基因、CARD14蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的自身免疫性病。

[0173] 如本文所使用的,术语“CARD14相关性炎性病”是指与CARD14基因、CARD14蛋白或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的CARD14基因、CARD14蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的炎性病。

[0174] 如本文所使用的,术语“CARD14相关性癌症”是指与CARD14基因、CARD14蛋白或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的CARD14基因、CARD14蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。

[0175] 人CARD14的示例性序列如下所示:

[0176] SEQ ID NO:9(UniParc登录号UPI000013D81B)

[0177] MGELCRRDSALTALDEETLWEMESHRRHRIVRCICPSRLTPYLQAKVLCQLDEEEVLHSPRLTNSAMR
AGHLLDLLKTRGKNGAIAFLESCLKFHPDPVYTLVTGLQPDVDFSNFSGLMETSKLTECLAGAIIGSLQEELNQEKGQK
EVLLRRCQQLQEHLGLAETRAEGLHQLEADHSRMKREVS AHFHEVLR LKDEMLSLSLHYSNALQEKELAA SRCSLQ
EELYLLKQELQRANMVSSCELELQEQLRTASDQESGDEELNRLKEENEKLRSLTFSLAEKDILEQSLDEARGSRQE
LVERIHSLRERAVAAERQREQYWEKEQTLLQFQKSKMACQLYREKVNALQAQVCELQKERDQAYSARDSAQREISQ
SLVEKDSLRRQVFELTDQVCELRTQLRQLQAEPGVLKQEARTREPCPREKQRLVRMHAICPRDDSDCSLVSSTESQ
LLSDLSATSSRELVD SFRSSSPAPPSQQSLYKRV AEDFGEEPWSFSSCLEIPEGDPGALPGAKAGDPHLDYELLDTA

DLPQLESSLQPVSPGRLDVSESGVLMRRRPARRILSQVTMLAFQGDALLEQISVIGGNLTGIFIHRTVPGSAADQMA
LRPGTQIVMVDYEASEPLFKAVLEDTTLEEAVGLLRVDGFCCLSVKVNTDGYKRLLDLEAKVATSGDSFYIRVNL
AMEGRAKQELQVHCNEVLHVTDTMFQCGCWHHRVNSYTMKDAAHGTPNYSRAQQQLIALIQDMTQQCTVTRKP
SSGGPQKLVRIVSMDKAKASPLRLSFDRGQLDPSRMEGSSTCFWAESCLTLVPYTLVPRHRPARPRVLLVPRAVGK
ILSEKLCLLQGFKKCLAEYLSQEYEAWSQRGDI IQEGEVSGGRCWVTRHAVESLMEKNTHALLDVQLDSVCTLHRM
DIFPIVIHVSVNEKMAKKLKKGLQRLGTSEEQLLEAARQEEGDLDRAPCLYSSLAPDGWSDLDGLLSCVRQAI ADEQ
KKVVWTEQSPR

[0178] 如本文所使用的,术语“CARD10相关性自身免疫性疾病”是指与CARD10基因、CARD10蛋白或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的CARD10基因、CARD10蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的自身免疫性疾病。

[0179] 如本文所使用的,术语“CARD10相关性炎性疾病”是指与CARD10基因、CARD10蛋白或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的CARD10基因、CARD10蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的炎性疾病。

[0180] 如本文所使用的,术语“CARD10相关性癌症”是指与CARD10基因、CARD10蛋白或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的CARD10基因、CARD10蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。

[0181] 短语“CARD10基因、CARD10蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调”是指(例如,与对照非癌细胞相比)哺乳动物细胞中野生型CARD10蛋白的基因突变(例如,染色体易位,其导致包含CARD10结构域和融合伴侣的融合蛋白的表达;CARD10基因中的突变,其导致与野生型CARD10蛋白相比包含至少一个氨基酸缺失的CARD10蛋白的表达;CARD10基因中的突变,其导致与野生型CARD10蛋白相比具有一个或多个点突变的CARD10蛋白的表达;CARD10基因中的突变,其导致与野生型CARD10蛋白相比具有至少一个插入的氨基酸的CARD10蛋白的表达;基因重复,其导致细胞中CARD10蛋白水平升高;或调节序列(例如,启动子和/或增强子)中的突变,其导致细胞中CARD10蛋白水平升高);CARD10 mRNA的替代剪接形式,其导致与野生型CARD10蛋白相比在CARD10蛋白中具有至少一个氨基酸缺失的CARD10蛋白;或表达增加(例如,水平升高),这是由于异常的细胞信号传导和/或失调的自分泌/旁分泌信号传导而导致的。作为另一个实例,CARD10基因、CARD10蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是编码CARD10蛋白的CARD10基因中的突变,所述CARD10蛋白是组成型活性的或与由不包含突变的CARD10基因编码的蛋白质相比具有增加的活性。作为另外的实例,增加的CARD10基因拷贝数可导致CARD10蛋白的过表达。例如,CARD10基因、CARD10蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是基因或染色体易位的结果,所述基因或染色体易位导致融合蛋白的表达,所述融合蛋白含有CARD10的第一部分和伴侣蛋白(即,并非CARD10)的第二部分。在一些实例中,CARD10基因、CARD10蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是一个CARD10基因与另一个非CARD10基因的基因易位的结果。

[0182] 人CARD10的示例性序列如下所示:

[0183] SEQ ID NO:10(UniParc登录号UPI0000044645)

[0184] MPGRAEAGEAEEEEAGAGSGSEAEEDALWERIEGVRHRLARALNPAKLTPYLRQCRVIDEQDEEEVLSTY
 RFPCRNVNRTGRLMDILRCRGKRGYEAFLAALFEFYYPEHFTLLTGQEPAQRCSMILDEEGPEGLTQFLMTEVRRLEA
 RKSQQLQREQLQARGRVLEERAGLEQRLRDQQQAQERCQRLREDWEAGSLELLRLKDENYMIAMRLAQLSEEKNSA
 VLRSRDLQLAVDQLKLVSRLEEECALLRRARGPPPGAEKEKEKEKEKEPEPDNDLVSELRAENQRLTASLRELQEG
 LQQEASRPGAPGSERILLDILEHDWREAQDSRQELCQKLHAVQGELQWAEELRDQYLQEMEDLRLKHRTLQKDCDLY
 KHRMATVLAQLEEIEKERDQAIQSRDRIQLQYSQSLIEKDQYRKQVRGLEAERDELTTLTSLEGTKALLEVQLQRA
 QGGTCLKACASSHSLCSNLSSTWSLSEFPSPGGPEATGEAAVMGGPEPHNSEEATDSEKEINRLSILPFPPSAGSI
 LRRQREEDPAPPKRSFSSMSDITGSVTLKPWSPGLSSSSSSDSVWPLGKPEGLLARGCGLDFLNRSLAIRVSGRSPP
 GGPEPQDKGPDGLSFYGRWSGAVVRRVLSGPGSARMEPREQRVEAAGLEGACLEAEAQQRTLLWNQGSTLPSLMDS
 KACQSFHEALEAWAKGPGAEPFYIRANLTLPERADPHALCVKAQEILRLVDSAYKRRQEWFCRVDPLTLRDLDRGT
 VPNYQRAQQLLEVQEKCLPSSRHRGPRSNLKKRALDQLRLVRPKVPGAPAGDSPDLLLEPCAEPERSLRPYSLVRP
 LLVSALRPVLLPECLAPRLIRNLLDLSSRLDFQVCPAESLSGEELCPSSAPGAPKAQPATPGLGSRIRAIQESVG
 KKHCLLELGARGVRELVQNEIYPIVIVHVEVTEKNVREVRGLLGRPGWRDSELLRQCRGSEQVLWGLPCSWVQVPAHE
 WGHAEEELAKVVRGRILQEQARLVWVECGSSRGCPSSSEA

[0185] 如本文所使用的,术语“CARD9相关性自身免疫性疾病”是指与CARD9基因、CARD9蛋白或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的CARD9基因、CARD9蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的自身免疫性疾病。

[0186] 如本文所使用的,术语“CARD9相关性炎症性疾病”是指与CARD9基因、CARD9蛋白或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的CARD9基因、CARD9蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的炎症性疾病。

[0187] 如本文所使用的,术语“CARD9相关性癌症”是指与CARD9基因、CARD9蛋白或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的CARD9基因、CARD9蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。

[0188] 短语“CARD9基因、CARD9蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调”是指(例如,与对照非癌细胞相比)哺乳动物细胞中野生型CARD9蛋白的基因突变(例如,染色体易位,其导致包含CARD9结构域和融合伴侣的融合蛋白的表达;CARD9基因中的突变,其导致与野生型CARD9蛋白相比包含至少一个氨基酸缺失的CARD9蛋白的表达;CARD9基因中的突变,其导致与野生型CARD9蛋白相比具有一个或多个点突变的CARD9蛋白的表达;CARD9基因中的突变,其导致与野生型CARD9蛋白相比具有至少一个插入的氨基酸的CARD9蛋白的表达;基因重复,其导致细胞中CARD9蛋白水平升高;或调节序列(例如,启动子和/或增强子)中的突变,其导致细胞中CARD9蛋白水平升高);CARD9 mRNA的替代剪接形式,其导致与野生型CARD9蛋白相比在CARD9蛋白中具有至少一个氨基酸缺失的CARD9蛋白;或表达增加(例如,水平升高),这是由于异常的细胞信号传导和/或失调的自分泌/旁分泌信号传导而导致的。作为另一个实例,CARD9基因、CARD9蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是编码CARD9蛋白的CARD9基因中的突变,所述CARD9蛋白是组成型活性的或与由不包含突变的CARD9基因编码的蛋白质相比具有增加的活性。作为另外的实例,增加的CARD9基因拷贝数可导致CARD9蛋白的过表达。例如,CARD9基因、CARD9蛋白或二者中任一个的表达或

活性或水平的失调可以是基因或染色体易位的结果,所述基因或染色体易位导致融合蛋白的表达,所述融合蛋白含有CARD9的第一部分和伴侣蛋白(即,并非CARD9)的第二部分。在一些实例中,CARD9基因、CARD9蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是一个CARD9基因与另一个非CARD9基因的基因易位的结果。

[0189] 人CARD9的示例性序列如下所示:

[0190] SEQ ID NO:11(UniParc登录号UPI000013E4EB)

[0191] MSDYENDDECWSVLEGFVTLTSVIDPSRITPYLRQCKVLNPDDEEQVLSDPNLVIRKRKVGVLDDILQ
RTGHKGYVAFLESLELYYPQLYKKVGTGKEPARVFSMI IDASGESGLTQLLMTEVMKLQKKVQDLTALLSSKDDFIKE
LRVKDSLRLKHKQERVQRKKEECEAGSRELKRCKEENYDLAMRLAHQSEEKGAALMRNRDLQLEIDQLKHSMLKAEDD
CKVERKHTLKL RHAMEQRPSQELLWELQQEKALLQARVQELEASVQEGKDRSSPYIQVLEEDWRQALRDHQEQANT
IFSLRKDLRQGEARRLCMEEKEMFELQCLALRKDSKMYKDRIEAILLQMEEVAIERDQAIATREELHAQHARGLQE
KDALRKQVRELGEKADELQLQVFQCEAQLLAVEGRLRRQQLETLVLSSDLEDGSPRRSQELSLPQDLEDTQLSDKGC
LAGGGSPKQPFALHQEQVLRNPHDAGLSSGEPPEKERRRLKESFENYRRKRALRKMKGWRQGEEDRENTTGSNT
DTEGS

[0192] 如本文所使用的,术语“BCL10相关性自身免疫性疾病”是指与BCL10基因、BCL10蛋白或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的BCL10基因、BCL10蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的自身免疫性疾病。

[0193] 如本文所使用的,术语“BCL10相关性炎性疾病”是指与BCL10基因、BCL10蛋白或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的BCL10基因、BCL10蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的炎性疾病。

[0194] 如本文所使用的,术语“BCL10相关性癌症”是指与BCL10基因、BCL10蛋白或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的BCL10基因、BCL10蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。

[0195] 短语“BCL10基因、BCL10蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调”是指(例如,与对照非癌细胞相比)哺乳动物细胞中野生型BCL10蛋白的基因突变(例如,染色体易位,其导致包含BCL10结构域和融合伴侣的融合蛋白的表达;BCL10基因中的突变,其导致与野生型BCL10蛋白相比包含至少一个氨基酸缺失的BCL10蛋白的表达;BCL10基因中的突变,其导致与野生型BCL10蛋白相比具有一个或多个点突变的BCL10蛋白的表达;BCL10基因中的突变,其导致与野生型BCL10蛋白相比具有至少一个插入的氨基酸的BCL10蛋白的表达;基因重复,其导致细胞中BCL10蛋白水平升高;或调节序列(例如,启动子和/或增强子)中的突变,其导致细胞中BCL10蛋白水平升高);BCL10 mRNA的替代剪接形式,其导致与野生型BCL10蛋白相比在BCL10蛋白中具有至少一个氨基酸缺失的BCL10蛋白;或表达增加(例如,水平升高),这是由于异常的细胞信号传导和/或失调的自分泌/旁分泌信号传导而导致的。例如,BCL10基因、BCL10蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是基因或染色体易位的结果,所述基因或染色体易位导致融合蛋白的表达,所述融合蛋白含有BCL10的第一部分和伴侣蛋白(即,并非BCL10)的第二部分。在一些实例中,BCL10基因、BCL10蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以是一个BCL10基因与另一个非BCL10基因

的基因易位的结果。

[0196] 人BCL10的示例性序列如下所示：

[0197] SEQ ID NO:12(UniParc登录号UPI000012682F)

[0198] MEPTAPSLTEEDLTEVKKDALENLRVYLCEKIIAERHFDHLRAKKILSREDTEEISCR TSSRK RAGK L
LDY LQENPKGLDTLVESIRREKTQNFLIQKITDEVLKLRNIKLEHLKGLKCSSCEPFPD GATN NLSRNSDES NFS
EKLRASTVMYHPEGESSTPPFFSTNSSLNLPVLEVGR TENTIFSSTTLPRPGDPGAPPLPDLQLEEEGTCANSSE
MFLPLRSRTVSRQBCL10基因或BCL10蛋白失调的非限制性实例显示在下表B3中。

[0199] 表B3.

BCL10 蛋白氨基酸取代/插入/缺失		
氨基酸位置	非限制性示例性突变	非限制性示例性 BCL10 相关性癌症
5	A5S ²	淋巴瘤 ²
16	V16E ²	淋巴瘤 ²
20	A20T ¹	生殖细胞肿瘤 ¹
[0200] 31	K31E	淋巴瘤 ²
32	I32V ¹	淋巴瘤 ¹
43	A43* ²	淋巴瘤 ²
46	I46* ¹	T-ALL ¹ 、结肠癌 ¹
49	R49G ¹	淋巴瘤 ¹
52	T52I ¹	间皮瘤 ¹
55	I55* ¹	淋巴瘤 ¹
57	C57R ²	淋巴瘤 ²
58	R58G ¹ 、R58* ¹	生殖细胞肿瘤 ¹
64	R64K ²	淋巴瘤 ²
77	K77* ¹	淋巴瘤 ¹
80	D80N	淋巴瘤 ¹
91	T91* ¹	生殖细胞肿瘤 ¹
100	T100S ¹	淋巴瘤 ¹
101	D101E ²	淋巴瘤 ²
115	K115* ¹	淋巴瘤 ¹
116-126	剪接突变 ¹	淋巴瘤 ¹
116-121	剪接突变 ²	淋巴瘤 ²
116-120	剪接突变 ¹	间皮瘤 ¹
[0201] 133	L133* ¹	淋巴瘤 ¹
134	S134P ²	淋巴瘤 ²
137	N137* ¹	淋巴瘤 ¹
143	F143* ¹	淋巴瘤 ¹
152	V152* ²	淋巴瘤 ²
165	F165* ²	淋巴瘤 ²
167	S167* ¹	淋巴瘤 ¹
168	T168A ²	淋巴瘤 ²
170-180	del S170-G180 ¹	淋巴瘤 ¹
175-181	del P175-G180 ¹	淋巴瘤 ¹
210	del 210 ¹	淋巴瘤 ¹
213	G213E	淋巴瘤 ²
218	S218F ¹	生殖细胞肿瘤 ¹
230	V230I ²	淋巴瘤 ²
终止	终止->R	淋巴瘤 ²

[0202] ¹Willis等人《细胞》96.1(1999):35-45。

[0203] ²Zhang等人《自然遗传学(Nature Genetics)》22.1(1999):63-68。

[0204] 如本文所使用的,术语“MALT1蛋白酶底物相关性癌症”是指与基因、蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调的癌症,所述失调与MALT1蛋白酶底物相关。在一些实施例中,MALT1蛋白酶底物相关性癌症选自以下组成的组:BCL10相关性癌症、A20相关性癌症、CYLD相关性癌症、RelB相关性癌症、Regnase1相关性癌症、roquin-1相关性癌症、HOIL1相关性癌症、NIK相关性癌症、LIMA1 α 相关性癌症及其组合。在一些实施例中,MALT1蛋白酶底物相关性癌症选自以下组成的组:BCL10相关性癌症、A20相关性癌症、CYLD相关性癌症及其组合。与本段中描述的特定基因或蛋白质“相关联”的癌症是指与特定基因、特定蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的特定基因、特定蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述了此类癌症的非限制性实例。

[0205] 人A20的示例性序列如下所示:

[0206] SEQ ID NO:13(UniParc登录号UPI000000D92D)

[0207] MAEQVLPQALYLSNMRKAVKIRERTPEDIFKPTNGI IHHFKTMHRYTLEMFRTCQFCPQFREI IHKALI DRNIQATLESQKKLNWCREVRKLVALKTNMGDGNCLMHATSQYMWGVQDSDLVLRKALFSTLKETDTRNFKFRWQLES LKSQEFVETGLCYDTRNWNDEWDNL IKMASTDTPMARSGLQYNSLEE IHIFVLCNILLRPI IIVISDKMLRSLESGSN FAPLKVGGIYLPWHWAQECYRYP IVLGYDSHHFVPLVTLKDSGPE IRAVPLVNRDRGRFEDLKVHFL TDPENEMKE KLLKEYLMVIEIPVQGDHGTTHL INAAKLDEANLPKE INLVDDYFELVQHEYKQWQENSEQGRREGHAQNPMEPSV PQLSLMDVKCETPNCPFFMSVNTQPLCHECSERRQKNQNKLPKLSKPGPEGLPGMALGASRGEAYEPLAWNPEEST GGPHSAPPTAPSPFLFSETTAMKCRSPGCPFTLNQVHNGFCERCHNARQLHASHAPDHRHLDPGKQACLQDVTRT FNGICSTCFKRRTAEASSSLSTSLPPSCHQRSKSDPSRLVRSPPHRSCHRAGNDAPAGCLSQAARTPGDRTGTSKCR KAGCVYFGTPENKGFCTLCFIEYRENKHF AAASGKVSPTASRFQNTIPCLGRECGTLGSTMFEGYCQKCFIEAQNR FHEAKRTEEQLRSSQRRDVPRTTQSTSRPKCARASCKNILACRSEELCMECQHPNQRMGPGAHRGEPAPEDPPKQRC RAPACDHFGNAKCNQYCECFQFKQMYG

[0208] A20基因或A20蛋白失调的非限制性实例显示在下表B4中。

[0209] 表B4.

A20 蛋白氨基酸取代/插入/缺失		
氨基酸位置	非限制性示例性突变	非限制性示例性 A20 相关性癌症
100	D100* ²	结外边缘区淋巴瘤 ²
162	R162* ²	淋巴结边缘区淋巴瘤 ²
[0210] 183	R183X ¹	淋巴瘤 ¹
271	R271X ¹	淋巴瘤 ¹
278	R278* ²	淋巴结边缘区淋巴瘤 ²
288	V288* ²	脾边缘区淋巴瘤 ²
491	H491* ²	淋巴结边缘区淋巴瘤 ²
633	E633* ²	结外边缘区淋巴瘤 ²

[0211] ¹Johansson等人《肿瘤标靶》7.38(2016):62627。

[0212] ²Novak等人《血液》113.20(2009):4918-4921。

[0213] 人CYLD的示例性序列如下所示:

[0214] SEQ ID NO:14(UniParc登录号UPI0000073A15)

[0215] MSSGLWSQEKVTSFYWEERIFYLLQLQECVTDKQTQKLLKVPKGSIGQYIQDRSVGHSRIPSAKGGKKNQ
 IGLKILEQPHAVLFFVDEKDVVEINEKFTTELLLAITNCEERFSLFKNRNRLSKGLQIDVGCVPKVKQLRSGEKFPQGVV
 RFRGPLLAERTVSGIFFGVELLEEGRGQGFDTGVYQKQLFQCEDEDCGVFVALDKLELIEDDDTALESYAGPGDTM
 QVELPPLEINRSVSLKVGETIESGTVIFCDVLPKESLGYFVGVMDNPIGNWDGRFDGVQLCSFACVESTILLHIN
 DIIPALSESVTQERRPPKLAFMRSRGGVGDGSSSHNPKPKATGSTSDPGNRNRSELFYTLNGSSVDSQPQSKSKNTWYI
 DEVAEDPAKSLTEISTDFDRSSPPLQPPPVNSLTENRFHSLPFSLTKMPNTNGSIGHSPLSLSAQSVMEELNTAPV
 QESPLAMPNGSHGLEVGLAEVKENPPFYGVIRWIGQPPGLNEVLAGLELEDECAGCTDGTFRGTRYFTCALKKA
 LFFVKKLSCRPSRFAASLQPVSNQIERCNSLAFGGYLSEVVEENTPPKMEKEGLEIMIGKKKGIQGHYNSCYLDSTLF
 CLFAFSSVLDTVLLRPKEKNDVEYYSETQELLRTEIVNPLRIYGYVCATKIMKLRKILEKVEAASGFTSEEKDPPEF
 LNILFHHILRVEPLLKIRSAGQKQVDCYFYQIFMEKNEKVGVPYTIQQLLEWSFINSNLKFAEAPSCLIIQMFRFGKD
 FKLFKKIFPSLELNITDLEDTPRQCRCIGGLAMYECRECYDDPDISAGKIKQFCKTCNTQVHLHPKRLNHNKYNPVS
 LPKDLPDWDRHGCIQNMELFAVLCIETSHYVAFVKYKDDSAWLFSDMADRGGQNGFNIPQVTPCPEVGEYL
 KMSLEDLHSLDSRRIQGCARRLLCDAYMCMYQSPTMSLYK

[0216] CYLD基因或CYLD蛋白失调的非限制性实例可参见例如Massoumi,《未来肿瘤学
 (Future Oncology)》7.2(2011):285-297,Alameda,J.P.等人,《癌基因(Oncogene)》29.50
 (2010):6522-6532,Williams等人,《现代病理学(Modern Pathology)》(2020):1-13以及
 Courtois和Gilmore.《癌基因》25.51(2006):6831-6843。

[0217] 人Re1B的示例性序列如下所示:

[0218] SEQ ID NO:15(UniParc登录号UPI00000012B7)

[0219] MLRSGPASGPSVPTGRAMPSRRVARPPAAPPELGA LGSPDLSSLSLAVSRSTDELEI IDEYIKENGFGLD
 GGQPGPGEGLPRLVSRGAASLSTVTLGPVAPPATPPPWGCPGLRVLVSPAPGPGPQPHLVITEQPKQRGMFRYCECG
 RSAGSILGESSTEASKTLPAIELRDCGGLREVEVTA CLVWKDWP HRVHPHSLV GKDC TDGICRVRLRPHVSPRHSFN
 NLGIQCVRKKEIEAAIERKIQ LGIDPYNAGSLKNHQEVD MNVVRICFQASYRDQQGQMRRMPVLSEPVYDKKSTNT
 SELRICRINKESGPTGGEELYLLCDKVQKEDISVVF SRASWEGRADFSQADVHRQIAIVFKTPPYEDLEIVEPVTV
 NVFLQRLTDGVCSEPLPFTYLP RDHDSYGV DKKRKRGM PDLGELNSSDPHGIESKRRKKKPAILDHFLPNHGSGPF
 LPPSALLPDPDFFSGTVSLPGLPEPPGPDLLDDGFAYDPTAPTFTMLDLLPPAPPHASAVVCSGGAGAVVGETPGP
 EPLTLD SYQAPGPGDGTASLVGSNMFPNHYREAAFGGGLLSPGPEAT

[0220] 人Regnase 1的示例性序列如下所示:

[0221] SEQ ID NO:16(UniParc登录号UPI000004D30E)

[0222] MSGPCGEKPVLEASPTMSLWFE DSHSRQGT PRPGQELAAEEASALELQMKVDFFRKLGYSSTEIHSV
 LQKLG VQADTNTVLGELVKHGTATERERQTS PDPCPQLPLVPRGGGTPKAPNLEPPLPEEEKEGSDLRPVVIDGSN
 VAMSHGNKEVFSCRGILLAVNWFLERGHDTITV FVPSWRKEQPRPDVPI TDQHILRELEKKILVFTPSRRVGGKR
 VVCYDDRFIVKLAYESDGI VVSNDTYRDLQGERQEWKRFIEERLLMYSFVNDKFMPPDDPLGRHGPSLDNFLRKKP
 LTLEHRKQPCPYGRKCTYGIKCRFFHPERPSCPQRSVADEL RANALLSPPRAPS KDKNRRRSPSSQSSSLTTESE
 QCSLDGKKLGAQASPGSRQEGLTQTYAPSGRSLAPSGGSGSSFGPTDWLPQTLDLSPYVSQDCLDSGIGSLESQMS
 ELWGVRRGGGPGEPGPPRAPYTGYSYSEL PATAAFSAFGRAMGAGHFSVPADYPPAPPAPPPREYWSEPYPLPPP
 TSVLQEPVQSPGAGRSPWGRAGSLAKEQASVYTKLCGVFP PHLVEAVMGRFPQLLDPQQLAAEILSYKSQHPSE人
 roquin-1的示例性序列如下所示:

[0223] SEQ ID NO:17(UniParc登录号UPI00001D7DA8)

[0224] MPVQAPQWTDFLSCPICTQTFDETIKRPISLGGCGHTVCKMCLNKLHRKACPFQTTINTDIELLPVNSA
 LLQLVGAQVPEQQPITLCSGVEDTKHYEEAKKCV EELALYLKPLSSARGVGLNSTTQSVLSRPMQRKLVTLVHCQLV
 EEEGRIRAMRAARSLGERTVTELILQHQNPPQLSSNLWAAVRARGCQFLGPAMQEEALKLVLLALEDGSALSARKVLV
 LFVVQRLEPRFPQASKTSIGHVVQLLYRASCFAKVKTRDESSLMQLKEEFRTYEALRREHDSQIVQIAMEAGLRIAP
 DQWSSLLYGDQSHKSHMQSIIDKLQTPASFAQSVQELTIALQRTGDPANLNRPHLELLANIDPSPDAPPPTWEQL
 ENGLVAVRTVVHGLVDYIQNHSSKKGADQQPPQHSKYKTYMCRDMKQRGGCPRGASCTFAHSQEELEKFRKMNKRLV
 PRRPLSASLGQLNEVGLPSAAILPDEGAVDLPSRKPPALPNGIVSTGNTVTQLIPRGTDPSYDSSLKPGKIDHLSSS
 APGSPPDLLESVPKISALPVNPHSIPPRGPADLPPMPVTKPLQMVPRGSQLYPAQQTDVYYQDPRGAAPPFEPAPY
 QQGMYTTPPPQCVSRFVRPPPSAPEPAPPYLDHYPPYLQERVNSQYGTQPQQYPIIYPSHYDGRRVYPAPSYTREE
 IFRESPIPIEIPPAAVPSYVPESRERYQQIESYYPVAPHPTQIRPSYLREPPYSRLPPPPQHPHSLDELHRRRKEIM
 AQL EERKVISPPPFAPSPTLPPTFHPEEFLDEDLKVAGKYKNDYSQYSPWSCDTIGSYIGTKDAKPKDVVAAGSVE
 MMNVESKGMRDQRDLQRRAAETSDDDLIPFGDRPTVSRFGAISRTSKTIYQGAGPMQAMAPQGAPTKSINISDYSP
 YGTHGGWGASPYSPHQNIPSQGHFSERERISMSEVASHGKPLPSAEREQLRLELQQLNHQISQQTQLRGLEAVSNRL
 VLQREANTLAGQSQPPPPPPPKWPGMISSEQLSLELHQVEREIGKRTRELSMENQCSLDMKSKLNTSKQAENGQPEP
 QNKVPAEDLTLTFSDVPNGSALTQENISLLSNKTSSLNLSEDPEGGGDNDSQRSGVTPSSAP

[0225] 人HOIL1的示例性序列如下所示：

[0226] SEQ ID NO:17(UniParc登录号UPI000006F045)

[0227] MDEKTKKAEEMALSLTRAVAGGDEQVAMKCAIWLAEQRVPLSVQLKPEVSPTQDIRLWVSVEDAQMHTV
 TIWLTVRPDMTVAASLKDMVFLDYGFPPVLQQWVIGQRLARDQETLHSHGVRQNGDSAYLYLLSARNTSLNPQELQRE
 RQLRMLLEDLGFKDLTLQPRGPLEPGPPKPGVPQEPGRGQPDVPEPPPVGWQCPGCTFINKPTRPGCEMCCRARPEA
 YQVPASYQPDEEERARLAGEEEALRQYQQRKQQQEGNYLQHVQLDQRSLVLNTEPAECPVCYSVLAPGEAVVLR
 LHTFCRECLQGTIRNSQEA EVSCPFIDNTYSCSGKLLEREIKALLTPEDYQRFLDLGISIAENRSAFEYHCKTPDCK
 GWCFEDDVNEFTCPVCFHVNCLLCKAIEHQMNCKEYQEDLALRAQNDVAARQTTEMLKVMLQQGEAMRCPQCQIVV
 QKKDGCWIRCTVCHTEICWVTKGPRWGGPGGDTSGGCRCRVNGIPCHPSCQNCH

[0228] 人NIK的示例性序列如下所示：

[0229] SEQ ID NO:18(UniParc登录号UPI0000074220)

[0230] MAVMEMACPGAPGSAVGGQKELPKAKEKTPPLGKKQSSVYKLEAVEKSPVFCGKWEILNDVITKGTAK
 GSEAGPAAISIIAQAECENSQEFSPTFSERIFIAGSKQYSQSESLDQIPNNVAHATEGKMARVCWKGKRRSKARKKR
 KKKSSKSLAHAGVALAKPLPRTPEQESCTIPVQEDESPLGAPYVRNTPQFTKPLKEPGLGQLCFKQLGEGLRPALPR
 SELHKLISPLQCLNHVWKLHHPQDGGPLPLPHTHPFYSRLPHFPFHPLQPWKPHPLESFLGKLACVDSQKPLPDPH
 LSKLACVDSPKPLPGPHLEPSCLSRGAHEKFSVEEYLVHALQGSVSSGQAHSLSLAKTWAARGSRSPKTEDN
 EGVLLTEKLPVDYREYREEVHWATHQLRLGRGSFGEVHRMEDKQTFQCAVKKVRLEVFRAEELMACAGLTSPIRVP
 LYGAVREGPWWNIFMELLEGGSLGQLVKEQGCLPEDRALYYLGQALEGLEYLHSRRI LHGDVKADNVLLSSDGSHAA
 LCDFGHAVCLQPDGLGKSLTGDYIPGTETHMAPEVVLGRSCDAKVDVWSSCCMMLHMLNGCHPWTQFFRGLPLCKI
 ASEPPPVREIPPSCAPLTAQAIQEGLRKEPIHRVSAEELGGKVNRLQQVGGGLKSPWRGEYKEPRHPPPNQANYHQT
 LHAQPRELSRAPGPRPAEETTGRAPKLQPPLPPEPPEPNKSPPLTSLKEESGMWEPLPLSSLEPAPARNPSSPERK
 ATVPEQELQQLEIELFLNSLSQPFSL EEQEQLSCLSIDSLSLSDDSEKNPSKASQSSRDTLSSGVHSSWSSQAEARS
 SSWNMVLARGRPTDTPSYFNGVKVQIQSLNGEHLHIREFHVRVKVGDIA TGISSQIPAAAFSLVTKDGPVRYDMEVP
 DSGIDLQCTLAPDGSFAWSWRVKHGQLENRP

[0231] 人LIMA1 α 的示例性序列如下所示:

[0232] SEQ ID NO:19(UniParc登录号UPI000002A906)

[0233] MENCLGESRHEVEKSEISENTDASGKIEKYNVPLNRLKMMFEKGEPTQTKILRAQSRASGRKISENSY
SLDDLEIGPGQLSSSTFDSEKNESRRNLELPRLSETS IKDRMAKYQAAVSKQSSSTNYTNELKASGGEIKIHKMEQK
ENVPPGPEVCITHQEGEKISANENSLAVRSTPAEDDSRDSQVKSEVQQPVHPKPLSPDSRASSLSESSPPKAMKKFQ
APARETCVECQKTVPYMERLLANQQVFHISCFRCSYCNKLSLGTASLHGRIYCKPHFNQLFKSKGNYDEGFGHRP
HKDLWASKNENEEILERPAQLANARETPHSPGVEDAPIAKVGVLAASMEAKASSQQEKEDKPAETKKLR IAWPPPTE
LGSSGSALEEGIKMSKPKWPEDEISKPEVPEDVDL DLKLRSSSLKERSRPFTVAASFQSTSVKSPKTVSPPIRK
GWSMSEQSEESVGRVAERKQVENAKASKNGNVGKTTWQNKESKGETGKRSKEGHSLEMENENLVENGADSDDEDN
SFLKQQSPQEPKSLNWSFVDNTFAEEFTTQNKSQDVELWEGEVVKELSVVEEQIKRNRYYDEDEDEE

[0234] 如本文所使用的,术语“与CBM复合物下游的NF- κ B途径的组分相关的癌症”是指与基因、蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调的癌症,所述失调与CBM复合物下游的NF- κ B途径的组分相关。在一些实施例中,与CBM复合物下游的NF- κ B途径的组分相关的癌症选自由以下组成的组:TAK1相关性癌症、TRAF6相关性癌症、TAB1相关性癌症、TAB2相关性癌症、TAB3相关性癌症、MKK7相关性癌症、IKK α 相关性癌症、IKK β 相关性癌症、IKK γ 相关性癌症、I κ B α 相关性癌症、p50相关性癌症、p65(Re1A)相关性癌症、c-Re1相关性癌症及其组合。在一些实施例中,与CBM复合物下游的NF- κ B途径的组分相关的癌症是IKK γ 相关性癌症。与本段中描述的特定基因或蛋白质“相关联”的癌症是指与特定基因、特定蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的特定基因、特定蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述了此类癌症的非限制性实例。

[0235] 人TAK1的示例性序列如下所示:

[0236] SEQ ID NO:20(UniParc登录号UPI000012EAD6)

[0237] MSTASAASSSSSSSAGEMIEAPSQVLNFEEIDYKEIEVEEVVGRGAFGVVCKAKWRAKDVAIKQIESES
ERKAFIVELRQLSRVNHPNIVKLYGACLNVPCLVMEYAEAGSLYNVLHGAEPLPYYTAAHAMS WCLQCSQGVAYLHS
MQPKALIHRLDKPPNLLL VAGGTVLKICDFGTACDIQTHMTNNGSAAWMAPEVFEFSNYSEKCDVFSWGIILWEVI
TRRKPFDEIGGPAFRIMWAVHNGTRPPLIKNLPKPIESLMTRCWSKDPQRPSMEEIVKIMTHLMRYFPGADEPLQY
PCQYSDEGQNSATSTGSFMDIASTNTSNKSDTNMEQVPATNDTIKRLSKLLKNQAKQQSESGRSLGASRGSSVE
SLPPTSEGKRMSADMSEIEARIAATTAYS KPKRGHRKTASFGNILDVPEIVISGNGQPRRRSIQDLTVTGTGTEPGQVS
SRSSSPSVRMITTS GPTSEKPTRSHPWTPDDSTDTNGSDNSIPMAYLTLDHQLQPLAPCPNSKESMAVFEQHCKMAQ
EYMKVQTEIALLLQRKQELVAELDQDEKDQNTSRLVQEHHKLLDENKSLSTYYQQCKKQLEV IRSQQQKRQGT S

[0238] 人TRAF6的示例性序列如下所示:

[0239] SEQ ID NO:21(UniParc登录号UPI000000D924)

[0240] MSLLCNENSCGSSQSESDCCVAMASSCSAVTKDSSVGGTASTGNLSSSFMEEIQGYDVEFDPPLESKYE
CPICLMALREAVQTPCGHRFCKACIKSIRDAGHKCPVDNEILLENQLFPDNFAKREILSLMVKCPNEGCLHKMELR
HLEDHQAHC EFALMDCPQCQRPFQKFHINIHLKDCPRRQVSCDNCAASMAFEDKEIHDQNCPLANVICEYCN TILI
REQMPNHYDLDCPTAPIPCTFSTFGCHEKMQRNHLARHLQENTQSHMRMLAQAVHLSVIPDSGYISEVRNFQETIH
QLEGRLVRQDHQIRELTAKMETQSMYVSELKRTIRTLEDKVAEIEAQQCNGIYIWKIGNFGMHLKCQEEKPVV IHS
PGFYTGKPGYKLCMRLHLQLPTAQRCANYISL FVHTMQGEYD SHLPWPFQGTIRLTILDQSEAPVRQNHEEIMDAKP

ELLAFQRPTIPRNPKGFGYVTFMHLEALRQRTFIKDDTLLVRCEVSTRFDMGSLRREGFQPRSTDAGV

[0241] 人TAB1的示例性序列如下所示:

[0242] SEQ ID NO:22(UniParc登录号UPI0000136861)

[0243] MAAQRRSLLQSEQQPSWTDDLPLCHLSGVGSASNRSYSADGKGTESHPPEDSWLKFRSENNCFLYGVFN
GYDGNRVTNFVAQRLSAELLGQLNAEHAADVRRVLLQAFDVVERSFLSIDDALAEKASLQSQLPEGVPQHQLPP
QYQKILERLKTLEREISGGAMAVVAVLLNNKLYVANVGTNRALLCKSTVDGLQVTQLNVDHTTENEDLFRLSQLGL
DAGKIKQVGIICGQESTRRIGDYKVYGYTDIDLLSAAKSKPIIAEPEIHGAQPLDGVTFGLVLMSEGLYKALEAAH
GPGQANQEIAAMIDTEFAKQTSLEDAVAQAVVDRVKRIHSDTFASGGERARFCPRHEDMTLLVRNFGYPLGEMSQPTP
SPAPAAGGRVYPVSVPYSSAQSTSKTSVTLVMPSSQGMVNGAHSASTLDEATPTLTNQSPTLTLQSTNTHTQSSS
SSSDGGLFRSRPAHSLPPGEDGRVEPYVDFAEFYRLWSVDHGEQSVVTAP

[0244] 人TAB2的示例性序列如下所示:

[0245] SEQ ID NO:23(UniParc登录号UPI0000073C75)

[0246] MAQGSHQIDFQVLHDLRQKFPEVPEVVSRCLQNNNLDACCAVLSQESTRYLYGEGDLNFSDDSGIS
GLRNHMTSLNLDLQSQNIYHHGREGSRMNGSRTLTHSISDGQLQGGQSNSELFQQEPQTAPAQVPQGFNVFGMSSSS
GASNSAPHLGFHLGSKGTSSLSQQTPRFNPIMVTLAPNIQTGRNTPSLHIHGVPVPPVLSNPQNSIYIRPYITTPG
GTTRQTQQHSGWVSQFNPMNPQQVYQPSQPGPWTCASNPLSHTSSQQPNQQGHQTSHVYMPISSPTTSQPPTIHS
SGSSQSSAHSQYNIQNIISTGPRKNQIEIKLEPPQRNNSKLRSSGPRTSSTSSSVNSQTLNRNQPTVYIAASPPNTD
ELMSRSQPKVYISANAATGDEQVMRNQPTLFI STNSGASAASRNMSGQVSMGPAFIIHHPPKSRAIGNNSATSPRVV
VTQPNTKYTFKITVSPNKPPAVSPGVVSPTEFELTNLLNHPDHVETENIQHLTDPTLAHVDRISETRKLMSGSDDA
YTQALLVHQKARMERLQRELEIQKKKLDKLGSEVNEMENLRRRLKRSNSISQIPSL EEMQQLRSCNRQLQIDIDC
LTKEIDLQARGPHFNPSAIHNFYDNI GFVGPVPPPKPKDQRSI IKTPKTQDTEDEGAQWNCTACTFLNHPALIRCE
QCEMPRHF

[0247] 人TAB3的示例性序列如下所示:

[0248] SEQ ID NO:24(UniParc登录号UPI0000071648)

[0249] MAQSSPQLDIQVLHDLRQRFPEIPEGVVSQCMLQNNNLEACCRALSQESSKYLMEYHSPDDNRMNRN
RLLHINLGIHSPSSYHPGDGAQLNGGRTL VHSSSDGHIDPQHAAGKQLICLVQEPHSAPAVVAATPNYNPFFMNEQN
RSAATPPSQPPQPPSSMQTGMNPSAMQGPSPPPPPPSYMHIPRYSTNPITVTVSQNLPSGQTVPRALQILPQIPSNL
YGSPGSIYIRQTSQSSSGRQTPQSTPWQSSPQGPVPHYSQRPLPVYPHQNYQPSQYSPKQQQIPQSAYHSPPPSQC
PSPFSSPQHQQVPSQLGHIFMPPSPSTTPPHYQQGPPSYQKQGSHSVAYLPYTASSLSKGS MKKIEITVEPSQRPG
TAINRSPSPISNQPSRNQHSLYTATTPSSSPSRGISSQPKPPFSVNPVYITYTQPTGPSCTPSPSPRVIPNPTTV
FKITVGRATTENLLNLVDQEERSAAPEPIQPISVIPGSGGEKGS HKYQRSSSSGSDDYAYTQALLLHQRRARMERLAK
QLKLEKEELERL KSEVNGMEHDLMQRRRLRRVSCCTA IPTPEEMTRLRSMNRQLQINVDCTLKEVDLLQSRGNFDPKA
MNNFYDNI EPGVVPKPSKKDSSDPCTIERKARRISVTSKVQADIHDTQAAA ADEHRTGSTQSPRTQPRDEDEYEGA
PWNCDSCTFLNHPALNRCEQCEMPRYT

[0250] 人MKK7的示例性序列如下所示:

[0251] SEQ ID NO:25(UniParc登录号UPI000012F494)

[0252] MAASSLEQKLSRLEAKLKQENREARRRIDLNLDISPQRPRPTLQLPLANDGGSRSPPSESSPQHPTPPA
RPRHMLGLPSTLFTPRSMESIEIDQKLQEIMKQTGYLTIGGQRYQAEINDLENLGEMSGTGGQVWKMFRKTHGVI
AVKQMRRSNGKEENKRILMDLDVVLKSHDCPYIVQCFGTFITNTDVFIAEMLMGTC AEKLLKRMQGP IPERILGKMT

VAIVKALYYLKEKHGVIHRDVKPSNILLDERGQIKLCDFGISGRLVDSKAKTRSAGCAAYMAPERIDPPDPTKPDYD
IRADVWSLGISLVELATGQFPYKCKTDFEVLTKVLQEEPLLPGHMGFSGDFQSFVKDCLTKDHRKRPKYNKLEH
SFIKRYETLEVDVASWFKDVMAKTESPRTSGVLSQPHLPFFR

[0253] 人IKK α 的示例性序列如下所示:

[0254] SEQ ID NO:26(UniParc登录号UPI000013D6C7)

[0255] MERPPGLRPGAGGPWEMRERLGTGGFGNVCLYQHRELDLKI AIKSCRLELSTKNRERWCHEIQIMKKLN
HANVVKACDVPEELNIL IHDVPLAMEYCSGGDLRKL NKPENCCGLKESQILSLLSDIGSGIRYLHENKIIHRDLK
PENIVLQDVGGKIIHKIIDLGYAKDVDQGSLSCTSFVGT LQYLAPELFENKPYTATVDYWSFGTMVFECIAGYRPFLH
HLQPFTWHEKIKKKDPKCFACEEMSGEVRFSHLPQPNLSLCSLVVPEMENWLQMLNWDPPQRRGPPVDLTLKQPRC
FVLM DHILNLKIVHILNMTSAKII SFLLPPDESLHSLQSRIERETGINTGSQELLSETGISLDPRK PASQCVLDGVR
GCDSYMVYLFDKSKTVYEGPFASRSLSDCVNYIVQDSKIQLPIIQLRKVWAEAVHYVSGLKEDYSRLFQGGRAAMLS
LLRYNANLTKMKNTLISASQQLKAKLEFFHKS IQLDLERYSEQMTYGISSEKMLKAWKEMEEKAIHYAEVGVIGYLE
DQIMSLHAEIMELQKSPYGRRQGDLMESLEQRAIDLYKQLKHRPSDHSYSDSTEMVKIIVHTVQSQRV LKELFGHL
SKLLGCKQKI IDLLPKVEVALSNIKEADNTVMFMQGRQKEIWHLLK IACTQSSARSLVGS SLEGAVTPQTS AWLPP
TSAEHDHSLSCVVT PQGETSAQMIEENLNCLGHLSTI IHEANEEQGNMMLNDWSWLTE

[0256] 人IKK β 的示例性序列如下所示:

[0257] SEQ ID NO:27(UniParc登录号UPI0000033729)

[0258] MSWSPSLTTQTCGAWEMKERLGTGGFGN VIRWHNQTGEQIAIKQCRQELSPRNRERWCLEIQIMRRLT
HPNVVAARDVPEGMQNLAPNDLPLAMEYCCGGDLRKYLNQFENCCLREGAILTLLSDIASALRYLHENRI IHRDL
KPENIVLQQGEQRLIHKIIDLGYAKELDQGSLSCTSFVGT LQYLAPELLEQQKYTVTVDYWSFGTLAFECITGFRPFL
PNWQPVQWHSKVRQKSEVDIVVSEDLNGTVKFSSSL PYPNNLSVLAERLEKWLQMLMWHPRQRGTDPTYGPNCGF
KALDDILNLKLVHILNMVTGTIHTYPVTEDESLQSLKARIQQDTG IPEEDQELLQEAGLALIPDKPATQCISDGKLN
EGHTLDMDLVFLFDNSKITIYETQISPRQPESVSCILQEPKRNLAFFQLRKVWGQVWHSIQTLKEDCNRLQQGQRAA
MMNLLRNNSCLSKMKNSMASMSQQLKAKLDFFKTSIQIDLEKYSEQTEFGITSDKLLLAWREMEQAVELCGRENEVK
LLVERMMALQTDIVDLQRSPMGRKQGGTLDLLEE QARELYRRLREKPRDQRTEGDSQEMVRLLLQAIQSFEKKV RVI
YTQLSKTVVCKQKALELLPKVEEVVSLMNEDEKTVVRLQEKRQKELWNLLKIACSKVRGPVSGSPDSMNASRLSQPG
QLMSQPSTASNSLPEPAKKSEELVAEAHNLTLL ENAIQD TVREQDQSFTALDWSWLQTEEEEHSCLEQAS

[0259] 人IKK γ 的示例性序列如下所示:

[0260] SEQ ID NO:28(UniParc登录号UPI0000000CC4)

[0261] MNRHLWKSQ LCEMVQPSGGPAADQDVLGEESPLGKPAMLHLPSEQGAPETLQRCL ENQELRDAIRQSN
QILRERCEELLHFQASQREEKEFLMCKFQEAR KLVRLGLEKLDLKRQKEQALREVEHLKRCQQQMAEDKASVKAQV
TSLLGELQESQSRLEAATKECQALEGRARAASEQARQLESEREALQQQHSVQVDQLRMQQSVEAALRMERQAASEE
KRKLAQLQVAYHQLFQEYDNHIKSSVVG SERKRGMQLEDLKQQLQQAEEALVAKQEVIDKLKEEA EQHKIVMETVPV
LKAQADIYKADFQAERQAREKLA EK KELLQEQLQREYSK LKASCQESARIEDMRKRHVEVSQAPLPPAPAYLSS
PLALPSQRRSPPEPPDFCCPKCQYQAPDMDTLQIHVMECIE

[0262] IKK γ 基因或IKK γ 蛋白失调的非限制性实例可参见例如Courtois和Gilmore,《癌基因》25.51(2006):6831-6843。

[0263] 人IkB α 的示例性序列如下所示:

[0264] SEQ ID NO:29(UniParc登录号UPI000004F0A9)

[0265] MFQAAERPQEWAMEGPRDGLKKERLLDDRHDSGLDSMKDEEYEQMVKELQEIRLEPQEVPRGSEPWKQQ
 LTEDGDSFLHLAI IHEEKAL TMEVIRQVKGDLAFLNFQNNLQQTPLHLAVITNQPEIAEALLGAGCDPELRDFRGNT
 PLHLACEQGCLASVGLTQSC TTPHLHS ILKATNYNGHTCLHLAS IHGYLGIVELLVSLGADVNAQEPCNGRTALHL
 AVDLQNPDLVSLLLKCGADVNRVTYQGYSPLYQLTWGRPSTRIQQQLGQLTLENLQMLPESEDEESYDTESEFTEFTE
 DELPYDDCVFGGQRLTL

[0266] 被加工成p50的人p105的示例性序列如下所示:

[0267] SEQ ID NO:30(UniParc登录号UPI000000D917)

[0268] MAEDDPYLGRPEQMFLDPSLTHTIFNPEVFQPMALPTDGPYLQILEQPKQRGFRFRYVCEGPSHGGL
 PGASSEKNKKSYPQVKICNYVGPAAKVIQVLTNGKNIHLHAHSLVGKHCEDGICTVTAGPKDMVVGAFANLILHVTK
 KKVFE TLEARMTEACIRGYNPGLLVHPDLAYLQAE GGGDRQLGDREKELIRQAALQQTKEMDLSVVRMLFTAFLPDS
 TGSFTRRLEPVVSDAIYDSKAPNASNLKIVRMDRTAGCVTGGEIYLLCDKVQKDDIQIRFYEEEEENG VWEFGDF
 SPTDVHRQFAIVFKTPKYKDINITKPASV FVQLRRKSDLETSEPKPFLYYPEIKDKEEVQRKRQKLMFNFSDFSFGG
 SGAGAGGGGMFGSGGGGGGTSTGPGYSFPHYGFPTYGGITFHPGTTKSNAGMKHGTMDTESKKDPEGCDKSDDKNT
 VNLFGKVIETTEQDQEPSEATVGNGEVTLTYATGTKEESAGVQDNLFLEKAMQLAKRHANALFDYAVTGDVKMLLAV
 QRHLTAVQDENGDSVLHLAI IHLHSQ LVRDLLEVTSGLISDDI INMRNDLYQTPLHLAVITKQEDVVEDLLRAGADL
 SLLDRLGNSVLHLAAKEGHDKVLSILLKHKKAALLLDHPNGDGLNAIHLAMMSNSLPCLLLLVAAGADVNAQE QKSG
 RTALHLAVEHDNISLAGCLLLEGDAHVDSTTYDGTPLHIAAGRGSTRLAALLKAAGADPLVENFEPLYDLDDSWEN
 AGEDEGVVPGTTPLDMATSWQVFDILNGKPYEPEFTSDDLLAQGDMKQLAEDVKLQLYKLEIPDPDKNWATLAQKL
 GLGILNNAFRLSPAPSKTLMNYEVSGGTVRELVEALRQMGYTEAIEVIQAASSPVKTTSAHSLPLSPASTRQQID
 ELRSDSDVCDSGVETSFRKLSFTESLTSGASLLTLNKMPHDYGGQEGPLEGKI

[0269] 人p65的示例性序列如下所示:

[0270] SEQ ID NO:31(UniParc登录号UPI000013ED68)

[0271] MDELFP LIFPAEPAQASGPYVEIIEQPKQRGMFRYKCEGRSAGSIPGERSTD TTKTHPTIKINGYTG
 GTVRISLVTKDPPHRPHHEL VGKDCRDGFYEAELCPDRCIHSFQNLGIQCVKKRDLEQAISQRIQTNNNPFVPIE
 EQRGDYDLNAVRLCFQVTVRDP SGRPLRPPVLSHP IFDNRAPNTAELKICRVNRNSG SCLGGDEIFLLCDKVQKED
 IEVYFTGPGWEARGSFQADVHRQVAIVFRTPPYADPSLQAPVRVSMQLRRPSDRELSEPMFQYLPD TDDRHRIEE
 KRKRTYETFKSI MKKSPFSGPTDPRPPRR IAVPSRSSASVPKPAPQYPFTSSLSTINYDEFPTMVFP SQISQAS
 ALAPAPPQVLPQAPAPAPAMVSALA QAPAPVPLAPGPPQAVAPPAPKPTQAGEGTLSEALLQLQFDD EDL GALL
 GNSTDPAVFTDLASVDNSEFQQLLNQGIPVAPHTTEPMLMEYPEAITRLVTGAQRPPDPAPAPL GAPGLPNGLLSGD
 EDFSSIADMDFSALLSQISS

[0272] 人c-Re1的示例性序列如下所示:

[0273] SEQ ID NO:32(UniParc登录号UPI000013367B)

[0274] MASGAYNPYIEIIEQPRQRGMFRYKCEGRSAGSIPGEHSTDNNRTYPSIQIMNYYGKGKVRITLVTKN
 DPYKPHPHDLVGKDCRDGYEAEFGQERRPLFFQNLGIRC VKKKEVKEAII TRIKAGINPNFVPEKQLNDIEDCDLN
 VVRLCFQVFLPDEHGNTTALPPVVSNIYDNRAPNTAELRICRVNKNCGSVRGGDEIFLLCDKVQKDDIEVRFVLN
 DWEAKGIFSQADVHRQVAIVFKTPPYCKAITEPVTKMQLRRPSDQEVSESMDFRYLPDEKDTYGNKAKKQKTTLLF
 QKLCQDHVETGFRHVDQDGLELLTSGDPPTLASQSAGITVNFPERPRPGLLSIGEGRYFKKEPNLFSHDAVVREMP
 TGVSSQAESYPPSPGPISSGLSHHASMALPSSSWSSVAHPTPRSGNTNPLSSFSTRTLPSNSQGIPFLRIPVGN
 LNASNACIYNNADDIVGMEASSMPSADLYGISDPNMLSNCSVNMMTSSDSMGETDNPRLLSMNLENPSCNSVLDPR

DLRQLHQMSSSSMSAGANSNTTVFVSQSDAFEGSDFSCADNSMINESGPSNSTNPNSHGQVQDSQYSGIGSMQNEQL
SDSFPYEFFQV

[0275] 如本文所使用的,术语“与CBM复合物下游的JNK途径的组分相关的癌症”是指与基因、蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调的癌症,所述失调与CBM复合物下游的JNK途径的组分相关。在一些实施例中,与CBM复合物下游的JNK途径的组分相关的癌症选自以下组成的组:JNK1相关性癌症、JNK2相关性癌症、JNK3相关性癌症、MYD88转录因子相关性癌症、AP-1转录因子相关性癌症及其组合。与本段中描述的特定基因或蛋白质“相关联”的癌症是指与特定基因、特定蛋白质或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的特定基因、特定蛋白质或二者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述了此类癌症的非限制性实例。

[0276] 人JNK1的示例性序列如下所示:

[0277] SEQ ID NO:33(UniParc登录号UPI000012F17A)

[0278] MSRSKRDNFYSVEIGDSTFTVLKRYQNLKPIGSGAQGIVCAAYDAILERNVAIKKLSRPFQNTTHAKR
AYRELVLMKCVNHKNI IGLLNVFVTPQKSLEEFQDVYIVMELMDANLCQVIQMELDHERMSYLLYQMLCGIKHLHSAG
I IHRDLKPSNIVVKS DCTLKILDFGLARTAGTSFMMPYVTRYRRAPEVILGMGYKENVDLWSVGCIMGEMVCHKI
LFPGRDYIDQWNKVI EQLGTPCPEFMKKLQPTVRNYVENRPKYAGYSFEKLPDVLFPADSEHNKLKASQARDLLSK
MLVIDASKRISVDEALQHPYINVWYDPSEAEAPPPKIPDKQLDEREHTIEEWKELIYKEVMDLEERTKNGVIRGQPS
PLGAAVINGSQHPSSSSSVNDVSSMSTDPTLASD TDSSLEAAAGPLGCCR

[0279] 人JNK2的示例性序列如下所示:

[0280] SEQ ID NO:34(UniParc登录号UPI000006E3AD)

[0281] MSDSKCDSQFYSVQVADSTFTVLKRYQQLKPIGSGAQGIVCAAFDVTVLGINVAVKKLSRPFQNTTHAKR
AYRELVLLKCVNHKNI ISLLNVFVTPQKTLEEFQDVYIVMELMDANLCQVIHMELDHERMSYLLYQMLCGIKHLHSAG
I IHRDLKPSNIVVKS DCTLKILDFGLARTACTNFMMPYVTRYRRAPEVILGMGYKENVDIWSVGCIMGELVKGCV
IFQGTDHIDQWNKVI EQLGTPSAEFMKKLQPTVRNYVENRPKYPGIKFEELFPDWIFPSESERDKIKTSQARDLLSK
MLVIDPDKRISVDEALRHPYITVWYDPAEAEAPPPQIYDAQLEEREHAIEEWKELIYKEVMDWEERSKNGVVKDQPS
DAAVSSNATPSQSSSINDISSMSTEQT LASD TDSSLDASTGPLEGCR

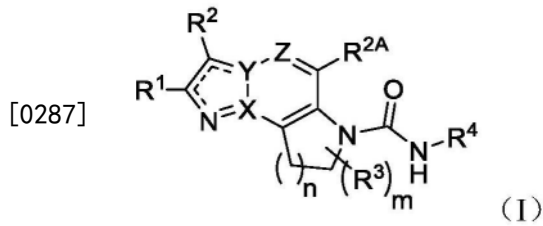
[0282] 人JNK3的示例性序列如下所示:

[0283] SEQ ID NO:35(UniParc登录号UPI0000049042)

[0284] MSLHFLYYCSEPTLDVKIAFCQGFDKQVDVSYIAKHYNMKS KVDNQFYSVEVGDSTFTVLKRYQNLKPI
IGSGAQGIVCAAYDAVLDRNVAIKKLSRPFQNTTHAKRAYRELVLMKCVNHKNI ISLLNVFVTPQKTLEEFQDVYIVM
ELMDANLCQVIQMELDHERMSYLLYQMLCGIKHLHSAGI IHRDLKPSNIVVKS DCTLKILDFGLARTAGTSFMMPY
VTRYRRAPEVILGMGYKENVDIWSVGCIMGEMVRHKILFPGRDYIDQWNKVI EQLGTPCPEFMKKLQPTVRNYVEN
RPKYAGLTFPKLPDLPADSEHNKLKASQARDLLSKMLVIDPAKRISVDDALQHPYINVWYDPAEVEAPPPQIYD
KQLDEREHTIEEWKELIYKEVMNSEEKTKNGVVKGQPSPSGAAVNSES LPPSSSVNDISSMSTDQTLASD TDSSLE
ASAGPLGCCR

[0285] 式(I)化合物

[0286] 本文提供了式(I)化合物,或其药学上可接受的盐:



[0288] 其中:

[0289] 每个 --- 为单键或双键;

[0290] X为N或C;

[0291] Y为N或C;

[0292] Z为N或 CR^5 ;

[0293] 其中,当X和Y中的一个为N时,X和Y中的另一个为C;

[0294] n为1、2、或3;

[0295] R^1 为氢、卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基、 $-\text{NR}^{\text{A}}\text{R}^{\text{B}}$ 或任选地被1-3个独立地选自羟基和C1-C3烷氧基的取代基取代的C1-C3烷基;

[0296] R^2 为氢、氨基或卤素;

[0297] $\text{R}^{2\text{A}}$ 为氢、卤素或C1-C6烷基;

[0298] 每个 R^3 独立地为卤素、羟基、氰基、C3-C6环烷基、 $-\text{NR}^{\text{A}}\text{R}^{\text{B}}$ 、任选地被C1-C3烷基取代的5-6元杂芳基;C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基或任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基;或两个 R^3 连同它们所连接的碳原子一起形成氧基或C3-C8环烷基;

[0299] m为0、1、2或3;

[0300] R^4 为苯基、萘基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基或C3-C8环烷基;其中每个 R^4 基团任选地被1-3个独立地选自 R^6 的取代基取代;

[0301] R^5 为氢、卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基、 $-\text{NR}^{\text{C}}\text{R}^{\text{D}}$ 或C1-C3烷基;并且

[0302] 每个 R^6 独立地选自卤素;氰基;羟基; $-\text{CO}_2\text{H}$; $-\text{N}=(\text{S}=\text{O})(\text{C}1-\text{C}3\text{烷基})_2$; $-\text{S}(\text{=O})_p(\text{C}1-\text{C}3\text{烷基})$; $-\text{NR}^{\text{E}}\text{R}^{\text{F}}$; $-(\text{C}=\text{O})\text{NR}^{\text{E}}\text{R}^{\text{F}}$;任选地被氨基、羟基或 $-(\text{C}=\text{O})\text{NR}^{\text{E}}\text{R}^{\text{F}}$ 取代的C1-C3烷氧基;C1-C3卤代烷基;C1-C3卤代烷氧基;任选地被1-3个独立选择的 R^{X} 取代的5-6元杂芳基;任选地被1-2个独立地选自羟基、 $-\text{NR}^{\text{E}}\text{R}^{\text{F}}$ 、C1-C3烷氧基和C3-C6环烷基的取代基取代的C1-C3烷基;任选地被羟基取代的C3-C6环烷基;以及任选地被1-3个独立选择的C1-C3烷基取代的 $-(\text{Q})_q$ -3-8元杂环基;

[0303] p为1或2;

[0304] Q为-O-或-NH-;

[0305] q为0或1;

[0306] 每个 R^{X} 独立地选自卤素、氰基、羟基、氨基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基或任选地被1-3个独立地选自羟基、C1-C3烷氧基和 $-\text{NR}^{\text{G}}\text{R}^{\text{H}}$ 的取代基取代的C1-C6烷基;并且

[0307] R^{A} 、 R^{B} 、 R^{C} 、 R^{D} 独立地为氢、C1-C3烷基,或 R^{A} 和 R^{B} ,或 R^{C} 和 R^{D} ,连同它们所连接的氮原子一起形成4-6元杂环基;并且

[0308] R^E 、 R^F 、 R^G 和 R^H 独立地为氢、C1-C3烷基或C3-C6环烷基,或 R^E 和 R^F ,或 R^G 和 R^H ,连同它们所连接的氮原子一起形成任选地被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的4-6元杂环基。

[0309] 在一些实施例中:

[0310] 每个 --- 为单键或双键;

[0311] X为N或C;

[0312] Y为N或C;

[0313] Z为N或 CR^5 ;

[0314] 其中,当X和Y中的一个为N时,X和Y中的另一个为C;

[0315] n为1、2、或3;

[0316] R^1 为氢、卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基、 $-NR^A R^B$ 或任选地被1-3个独立地选自羟基和C1-C3烷氧基的取代基取代的C1-C3烷基;

[0317] R^2 为氢或卤素;

[0318] R^{2A} 为氢;

[0319] 每个 R^3 独立地为卤素、羟基、C3-C6环烷基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基或任选地被C1-C3烷氧基取代的C1-C3烷基;或两个 R^3 连同它们所连接的碳原子一起形成氧基或C3-C8环烷基;

[0320] m为0、1、2或3;

[0321] R^4 为苯基、5-6元杂芳基、3-10元杂环基或C3-C8环烷基;其中每个 R^4 基团任选地被1-3个独立地选自 R^6 的取代基取代;

[0322] R^5 为氢、卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基、 $-NR^C R^D$ 或C1-C3烷基;并且

[0323] 每个 R^6 独立地选自卤素;氰基; $-CO_2H$; $-NR^E R^F$; $-(C=O)NR^E R^F$; C1-C3烷氧基; C1-C3卤代烷基; C1-C3卤代烷氧基; 任选地被C1-C3烷基取代的5-6元杂芳基,所述C1-C3烷基任选地被羟基、 $-NR^E R^F$ 或C1-C3烷氧基取代;以及3-8元杂环基;

[0324] R^A 、 R^B 、 R^C 、 R^D 独立地为氢、C1-C3烷基,或 R^A 和 R^B ,或 R^C 和 R^D ,连同它们所连接的氮原子一起形成4-6元杂环基;并且

[0325] R^E 和 R^F 独立地为氢、C1-C3烷基,或 R^E 和 R^F 连同它们所连接的氮原子一起形成任选地被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的4-6元杂环基。

[0326] 在一些实施例中,部分由X和Y形成的五元含氮环是杂芳环。

[0327] 在一些实施例中,X为C并且Y为C。

[0328] 在一些实施例中,X为N并且Y为C。

[0329] 在一些实施例中,X为C并且Y为N。

[0330] 在一些实施例中,Z为N。在一些实施例中,Z为 CR^5 。

[0331] 在一些实施例中,X为C;Y为C;并且Z为 CR^5 。在一些实施例中,X为N;Y为C;并且Z为 CR^5 。在一些实施例中,X为C;Y为N;并且Z为 CR^5 。在一些实施例中,X为C;Y为C;并且Z为N。在一些实施例中,X为N;Y为C;并且Z为N。在一些实施例中,X为C;Y为N;并且Z为N。

[0332] 在一些实施例中, R^1 为氢。

[0333] 在一些实施例中, R^1 为卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷基、 $-NR^A R^B$ 或任选地被1-3个独立地选自羟基和C1-C3烷氧基的取代基取代的C1-C3烷基。

[0334] 在一些实施例中, R^1 为卤素或氰基。在一些实施例中, R^1 为氯或氰基。在一些实施例中, R^1 为卤素。例如, R^1 为氟。例如, R^1 为氯。在一些实施例中, R^1 为氰基。在一些实施例中, R^1 为羟基。

[0335] 在一些实施例中, R^1 为 C1-C3 烷基。在一些实施例中, R^1 为甲氧基或乙氧基。

[0336] 在一些实施例中, R^1 为 C1-C3 卤代烷氧基。在一些实施例中, R^1 为三氟甲氧基、二氟甲氧基或氟甲氧基。

[0337] 在一些实施例中, R^1 为 C1-C3 卤代烷基。在一些实施例中, R^1 为三氟甲基或 2,2,2-三氟乙基。

[0338] 在一些实施例中, R^1 为 $-NR^A R^B$ 。在一些实施例中, R^A 和 R^B 独立地为氢或 C1-C3 烷基。在某些实施例中, R^A 和 R^B 中的一个为氢并且 R^A 和 R^B 中的另一个为 C1-C3 烷基。在一些实施例中, R^A 和 R^B 中的一个为氢并且 R^A 和 R^B 中的另一个为甲基。在一些实施例中, R^A 和 R^B 中的一个为氢并且 R^A 和 R^B 中的另一个为乙基。在某些实施例中, R^A 和 R^B 均为氢。在某些实施例中, R^A 和 R^B 均为 C1-C3 烷基。在一些实施例中, R^A 和 R^B 均为甲基。在一些实施例中, R^A 和 R^B 中的一个为甲基并且 R^A 和 R^B 中的另一个为乙基。在一些实施例中, R^A 和 R^B 均为乙基。

[0339] 在一些实施例中, R^A 和 R^B 连同它们所连接的氮原子一起形成 4-6 元杂环基。在某些实施例中, R^A 和 R^B 连同它们所连接的氮原子一起形成 4 元杂环基。在一些实施例中, R^A 和 R^B 连同它们所连接的氮原子一起形成 5 元杂环基。在一些实施例中, R^A 和 R^B 连同它们所连接的氮原子一起形成 6 元杂环基。

[0340] 在一些实施例中, R^1 为任选地被 1-3 个独立地选自羟基和 C1-C3 烷氧基的取代基取代的 C1-C3 烷基。在某些实施例中, R^1 为任选地被 1 个选自羟基和 C1-C3 烷氧基的取代基取代的 C1-C3 烷基。在这些实施例中的某些实施例中, R^1 为任选地被 1 个选自羟基和 C1-C3 烷氧基的取代基取代的甲基。在某些实施例中, R^1 为任选地被 1 个选自羟基和 C1-C3 烷氧基的取代基取代的乙基。在某些实施例中, R^1 为任选地被羟基取代的 C1-C3 烷基。在某些实施例中, R^1 为任选地被 C1-C3 烷氧基 (例如, 甲氧基) 取代的 C1-C3 烷基。在一些实施例中, R^1 为羟甲基或甲氧基乙基。

[0341] 在一些实施例中, R^1 为未经取代的 C1-C3 烷基 (例如, 甲基或乙基)。

[0342] 在一些实施例中, R^2 是氢。在一些实施例中, R^2 为卤素。例如, R^2 为氟。例如, R^2 为氯。在一些实施例中, R^2 为氨基。

[0343] 在一些实施例中, R^{2A} 为氢。在一些实施例中, R^{2A} 为卤素, 例如, R^{2A} 为氟或氯。在一些实施例中, R^{2A} 为 C1-C6 烷基, 如本文所述的那些。

[0344] 在一些实施例中, n 为 1、2 或 3。在一些实施例中, n 为 1 或 2。在一些实施例中, n 为 2 或 3。在一些实施例中, n 为 1 或 3。在一些实施例中, n 为 1。在一些实施例中, n 为 2。在一些实施例中, n 为 3。

[0345] 在一些实施例中, m 为 0、1、2 或 3。在一些实施例中, m 为 0、1 或 2。在一些实施例中, m 为 1、2 或 3。在一些实施例中, m 为 0、2 或 3。在一些实施例中, m 为 0、1 或 3。在一些实施例中, m 为 0 或 1。在一些实施例中, m 为 0 或 2。在一些实施例中, m 为 0 或 3。在一些实施例中, m 为 1 或 2。在一些实施例中, m 为 1 或 3。在一些实施例中, m 为 2 或 3。在一些实施例中, m 为 0。在一些实施例中, m 为 1。在一些实施例中, m 为 2。在一些实施例中, m 为 3。

[0346] 在一些实施例中, 每个 R^3 独立地为卤素、氰基、C3-C6 环烷基、任选地被 C1-C3 烷氧

基或氰基取代的C1-C3烷基、C1-C3卤代烷基、C1-C3烷氧基或C1-C3卤代烷氧基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为C3-C6环烷基、任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基、C1-C3卤代烷基、C1-C3烷氧基或C1-C3卤代烷氧基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为未经取代的C1-C3烷基或C1-C3卤代烷基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为环丙基、任选地被甲氧基取代的甲基、三氟甲基、甲氧基或三氟甲氧基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为环丙基、甲基、甲氧基甲基或三氟甲基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为羟基、C3-C6环烷基、任选地被C1-C3烷氧基取代的C1-C3烷基,或C1-C3卤代烷基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为羟基、环丙基、任选地被甲氧基取代的甲基或三氟甲基。

[0347] 在一些实施例中,每个 R^3 独立地为羟基、氰基、 $-NR^A R^B$ 、任选地被C1-C3烷基取代的5-6元杂芳基;C3-C6环烷基、任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基,或C1-C3卤代烷基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为羟基、C3-C6环烷基、被C1-C3烷氧基取代的C1-C3烷基,或C1-C3卤代烷基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为羟基、氰基、C3-C6环烷基、C1-C3烷基或C1-C3卤代烷基。

[0348] 在一些实施例中,每个 R^3 独立地为卤素。例如, R^3 为氟或氯。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为羟基。

[0349] 在一些实施例中,每个 R^3 独立地为C3-C6环烷基、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基或C1-C3卤代烷基。

[0350] 在一些实施例中,每个 R^3 独立地为羟基。

[0351] 在一些实施例中,每个 R^3 独立地为氰基。

[0352] 在一些实施例中,每个 R^3 独立地为C3-C6环烷基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为C3-C5环烷基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为环丙基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为C3-C6环烷基,并且 m 为1或2。在一些实施例中,当 m 为2时,一个 R^3 为C3-C6环烷基并且另一个 R^3 不是C3-C6环烷基。

[0353] 在一些实施例中,每个 R^3 为独立地 $-NR^A R^B$ 。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为 $-NR^A R^B$,并且 m 为1或2。在一些实施例中,当 m 为2时,一个 R^3 为 $-NR^A R^B$ 并且另一个 R^3 不是 $-NR^A R^B$ 。

[0354] 在一些实施例中,每个 R^3 独立地为任选地被C1-C3烷基取代的5-6元杂芳基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为任选地被C1-C3烷基取代的5-6元杂芳基,并且 m 为1或2。在一些实施例中,当 m 为2时,一个 R^3 为任选地被C1-C3烷基取代的5-6元杂芳基并且另一个 R^3 不是5-6元杂芳基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为被C1-C3烷基取代的5-6元杂芳基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为被C1-C3烷基取代的5-6元杂芳基,并且 m 为1或2。在一些实施例中,当 m 为2时,一个 R^3 为被C1-C3烷基取代的5-6元杂芳基并且另一个 R^3 不是5-6元杂芳基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为5-6元杂芳基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为5-6元杂芳基,并且 m 为1或2。在一些实施例中,当 m 为2时,一个 R^3 为5-6元杂芳基并且另一个 R^3 不是5-6元杂芳基。

[0355] 在一些实施例中,每个 R^3 独立地为任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为C1-C3烷基。例如, R^3 为甲基或乙基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为被C1-C3烷氧基取代的C1-C3烷基,如甲氧基、乙氧基、正丙氧基或异丙氧基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为甲氧基甲基或甲氧基乙基。在一些实施例中,每个 R^3 独立地为被氰基取代的C1-C3烷基,如氰基甲基,或1-或2-氰基乙基。在一些实施例中,每个 R^3

独立地为C1-C3烷氧基。例如， R^3 为甲氧基或乙氧基。在一些实施例中，每个 R^3 独立地为C1-C3卤代烷氧基。例如， R^3 为三氟甲氧基、二氟甲氧基或氟甲氧基。在一些实施例中，每个 R^3 独立地为C1-C3卤代烷基。例如，每个 R^3 为三氟甲基或2,2,2-三氟乙基。

[0356] 在一些实施例中， m 为1，并且 R^3 为任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基。在一些实施例中， m 为2，并且每个 R^3 独立地为任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基。在一些实施例中， m 为1，并且 R^3 为C1-C3烷基。在一些实施例中， m 为2，并且每个 R^3 独立地为C1-C3烷基。在一些实施例中， m 为1，并且 R^3 为被C1-C3烷氧基取代的C1-C3烷基。在一些实施例中， m 为2，并且每个 R^3 独立地为被C1-C3烷氧基取代的C1-C3烷基。在一些实施例中， m 为1，并且 R^3 为被氰基取代的C1-C3烷基。在一些实施例中， m 为2，并且每个 R^3 独立地为被氰基取代的C1-C3烷基。

[0357] 在一些实施例中， m 为2，并且每个 R^3 独立地为任选地被C1-C3烷氧基取代的C1-C3烷基， R^3 基团是成对C1-C3烷基，其各自任选地被C1-C3烷氧基取代。在一些实施例中，每个 R^3 独立地为任选地被C1-C3烷氧基取代的C1-C3烷基。在一些实施例中，一个 R^3 基团为甲基或甲氧基甲基。

[0358] 在一些实施例中，每个 R^3 独立地为C1-C3烷氧基。在一些实施例中，每个 R^3 独立地为C1-C3烷氧基，并且 m 为1或2。在一些实施例中，当 m 为2时，一个 R^3 为C1-C3烷氧基并且另一个 R^3 不是C1-C3烷氧基。在这些实施例中的某些实施例中，C1-C3烷氧基为甲氧基。

[0359] 在一些实施例中，每个 R^3 独立地为C1-C3卤代烷氧基。在一些实施例中，每个 R^3 独立地为C1-C3卤代烷氧基，并且 m 为1或2。在一些实施例中，当 m 为2时，一个 R^3 为C1-C3卤代烷氧基并且另一个 R^3 不是C1-C3卤代烷氧基。在这些实施例中的某些实施例中，C1-C3卤代烷氧基为三氟甲氧基。

[0360] 在一些实施例中，每个 R^3 独立地为C1-C3卤代烷基。在一些实施例中，每个 R^3 独立地为C1-C3卤代烷基，并且 m 为1或2。在一些实施例中，当 m 为2时，一个 R^3 为C1-C3卤代烷基并且另一个 R^3 不是C1-C3卤代烷基。在这些实施例中的某些实施例中，C1-C3卤代烷基为三氟甲基。

[0361] 在一些实施例中， m 为2，并且 R^3 基团是成对的。在一些实施例中， m 为2，并且每个 R^3 独立地为C1-C3卤代烷基。在一些实施例中， R^3 基团是成对的独立选择的C1-C3卤代烷基。在一些实施例中， m 为2，一个 R^3 为任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基并且另一个 R^3 为C1-C3卤代烷基。在一些实施例中， m 为2，一个 R^3 为被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基并且另一个 R^3 为C1-C3卤代烷基。在一些实施例中， m 为2，一个 R^3 为C1-C3烷基并且另一个 R^3 为C1-C3卤代烷基。在一些实施例中， R^3 基团是成对的C1-C3烷基（其任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代）和C1-C3卤代烷基。在一些实施例中， R^3 基团是成对的C1-C3烷基（其被C1-C3烷氧基或氰基取代）和C1-C3卤代烷基。在一些实施例中， R^3 基团是成对的C1-C3烷基和C1-C3卤代烷基。在一些实施例中， m 为2，一个 R^3 为任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基并且另一个 R^3 为C3-C6环烷基。在一些实施例中， m 为2，一个 R^3 为被C1-C3烷氧基取代的C1-C3烷基并且另一个 R^3 为C3-C6环烷基。在一些实施例中， m 为2，一个 R^3 为被氰基取代的C1-C3烷基并且另一个 R^3 为C3-C6环烷基。在一些实施例中， m 为2，一个 R^3 为C1-C3烷基并且另一个 R^3 为C3-C6环烷基。在一些实施例中， R^3 基团是成对的C1-C3烷基（其任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代）和C3-C6环烷基。在一些实施例中， R^3 基团是成对的C1-C3烷基（其被C1-C3烷氧基

或氰基取代)和C3-C6环烷基。在一些实施例中, R^3 基团是成对的C1-C3烷基和C3-C6环烷基。在一些实施例中, m 为2,一个 R^3 为C1-C3卤代烷基并且另一个 R^3 为C3-C6环烷基。在一些实施例中, R^3 基团是成对的C1-C3卤代烷基和C3-C6环烷基。

[0362] 在一些实施例中, m 为1,并且 R^3 为甲基、甲氧基甲基、三氟甲基或环丙基。在一些实施例中, m 为2,并且每个 R^3 为甲基。在一些实施例中, m 为2,并且每个 R^3 为三氟甲基。在一些实施例中, m 为2,并且一个 R^3 为甲基并且另一个 R^3 为甲氧基。在一些实施例中, m 为2,并且一个 R^3 为环丙基并且另一个 R^3 为甲氧基。

[0363] 在一些实施例中, m 为1,并且每个 R^3 为甲基。在一些实施例中, m 为2,并且每个 R^3 为甲基。在一些实施例中, m 为2,每个 R^3 为甲基,并且 R^3 基团是成对的甲基。在一些实施例中,每个 R^3 为甲基。在一些实施例中, m 为1,并且 R^3 为甲氧基甲基。在一些实施例中, m 为2,并且一个 R^3 为甲基。在一些实施例中, m 为2,并且一个 R^3 为甲氧基甲基。在一些实施例中, m 为2,每个 R^3 为甲基,并且 R^3 基团是成对的甲基。在一些实施例中, m 为2,并且 R^3 基团是成对的甲基和甲氧基甲基。

[0364] 在一些实施例中, m 为2,并且 R^3 基团是成对的。在一些实施例中, m 为2,并且每个 R^3 为三氟甲基。在一些实施例中, R^3 基团是成对的三氟甲基。在一些实施例中, m 为2,一个 R^3 为任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基并且另一个 R^3 为三氟甲基。在一些实施例中, m 为2,一个 R^3 为被C1-C3烷氧基取代的C1-C3烷基并且另一个 R^3 为三氟甲基。在一些实施例中, m 为2,一个 R^3 为C1-C3烷基并且另一个 R^3 为三氟甲基。在一些实施例中, m 为2,一个 R^3 为甲基并且另一个 R^3 为三氟甲基。在一些实施例中, m 为2,一个 R^3 为甲氧基甲基并且另一个 R^3 为三氟甲基。在一些实施例中, R^3 基团是成对的甲基和三氟甲基。在一些实施例中, R^3 基团是成对的甲氧基甲基和三氟甲基。在一些实施例中, m 为2,一个 R^3 为甲基并且另一个 R^3 为环丙基。在一些实施例中, m 为2,一个 R^3 为甲氧基甲基并且另一个 R^3 为环丙基。在一些实施例中, R^3 基团是成对的甲基和环丙基。在一些实施例中, R^3 基团是成对的甲氧基甲基和环丙基。在一些实施例中, m 为2,一个 R^3 为三氟甲基并且另一个 R^3 为环丙基。在一些实施例中, R^3 基团是成对的三氟甲基和环丙基。

[0365] 在一些实施例中, m 为2,并且两个 R^3 连同它们所连接的碳原子一起形成氧基。在一些实施例中, m 为2,并且两个 R^3 一起形成C3-C8环烷基(例如,环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基或环辛基)。

[0366] 在一些实施例中, R^4 为苯基、萘基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基或C3-C8环烷基;其中每个 R^4 基团任选地被1-2个独立选择的 R^6 取代。在一些实施例中, R^4 为苯基、5-6元杂芳基、3-10元杂环基或C3-C8环烷基;其中每个 R^4 基团任选地被1-2个独立选择的 R^6 取代。在一些实施例中, R^4 为苯基、萘基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基或C3-C8环烷基;其中每个 R^4 基团任选地被2-3个独立选择的 R^6 取代。在一些实施例中, R^4 为苯基、萘基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基或C3-C8环烷基;其中每个 R^4 基团任选地被1或3个独立选择的 R^6 取代。在一些实施例中, R^4 为苯基、萘基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基或C3-C8环烷基;其中每个 R^4 基团任选地被1个独立选择的 R^6 取代。在一些实施例中, R^4 为苯基、萘基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基或C3-C8环烷基;其中每个 R^4 基团任选地被2个独立选择的 R^6 取代。在一些实施例中, R^4 为苯基、萘基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基或C3-C8环烷基;其中每个 R^4 基团任选地被3个独立选择的 R^6 取代。在一些实施例中, R^4 为苯基、5-6元杂芳基、3-10元杂环基或C3-C8环烷基;其中每

个 R^4 基团任选地被2-3个独立选择的 R^6 取代。在一些实施例中, R^4 为苯基、5-6元杂芳基、3-10元杂环基或C3-C8环烷基;其中每个 R^4 基团任选地被1或3个独立选择的 R^6 取代。在一些实施例中, R^4 为苯基、5-6元杂芳基、3-10元杂环基或C3-C8环烷基;其中每个 R^4 基团任选地被1个独立选择的 R^6 取代。在一些实施例中, R^4 为苯基、5-6元杂芳基、3-10元杂环基或C3-C8环烷基;其中每个 R^4 基团任选地被2个独立选择的 R^6 取代。在一些实施例中, R^4 为苯基、5-6元杂芳基、3-10元杂环基或C3-C8环烷基;其中每个 R^4 基团任选地被3个独立选择的 R^6 取代。

[0367] 在一些实施例中, R^4 为苯基或5元杂芳基;其中每个 R^4 基团任选地被1-3个独立地选自 R^6 的取代基取代。在一些实施例中, R^4 为苯基或6元杂芳基;其中每个 R^4 基团任选地被1-3个独立地选自 R^6 的取代基取代。在一些实施例中, R^4 为萘基或9-10元杂芳基;其中每个 R^4 基团任选地被1-3个独立地选自 R^6 的取代基取代。

[0368] 在一些实施例中, R^4 为苯基、5元杂芳基或环戊基;其中每个 R^4 基团任选地被1-3个独立地选自 R^6 的取代基取代。在一些实施例中, R^4 为苯基、6元杂芳基、环戊基或环己基;其中每个 R^4 基团任选地被1-3个独立地选自 R^6 的取代基取代。

[0369] 在一些实施例中, R^4 为任选地被1-3个独立选择的 R^6 取代的苯基。在某些实施例中, R^4 为任选地被1个 R^6 取代的苯基。在某些实施例中, R^4 为任选地被2个独立选择的 R^6 取代的苯基。在某些实施例中, R^4 为任选地被3个独立选择的 R^6 取代的苯基。

[0370] 在一些实施例中, R^4 为未经取代的苯基。

[0371] 在一些实施例中, R^4 为被1-3个独立地选自 R^6 的取代基的取代的苯基。在某些实施例中, R^4 为被 R^6 取代的苯基。在某些实施例中, R^4 为被2个独立选择的 R^6 取代的苯基。在一些实施例中, R^4 为被3个独立选择的 R^6 取代的苯基。

[0372] 在一些实施例中, R^4 为任选地被1-3个独立选择的 R^6 取代的萘基。在一些实施例中, R^4 为被1-3个独立选择的 R^6 取代的萘基。

[0373] 在一些实施例中, R^4 为未经取代的萘基。

[0374] 在一些实施例中, R^4 为任选地被1-3个(例如,2个)独立地选自 R^6 的取代基取代的5-6元杂芳基。在一些实施例中, R^4 为任选地被1-3个(例如,2个)独立选择的 R^6 取代的6元杂芳基。在一些实施例中, R^4 为任选地被1-3个(例如,2个)独立选择的 R^6 取代的9-10元杂芳基。在一些实施例中, R^4 为任选地被1-3个(例如,2个)独立选择的 R^6 取代的9元杂芳基。在一些实施例中, R^4 为任选地被1-3个(例如,2个)独立选择的 R^6 取代的10元杂芳基。

[0375] 在一些实施例中, R^4 为未经取代的5-6元杂芳基。在一些实施例中, R^4 为未经取代的9-10元杂芳基。

[0376] 在一些实施例中, R^4 为被1-3个独立地选自 R^6 的取代基取代的5-6元杂芳基。在一些实施例中, R^4 为被1-3个独立地选自 R^6 的取代基取代的9-10元杂芳基。

[0377] 在一些实施例中,5-6元杂芳基是3-吡啶基、4-吡啶基或4-哒嗪基。在一些实施例中, R^4 5-6元杂芳基是3-吡啶基或4-吡啶基。在一些实施例中, R^4 5-6元杂芳基是吡啶酮基。

[0378] 在一些实施例中, R^4 为任选地被1-3个独立地选自 R^6 的取代基取代的3-10元杂环基。在一些实施例中, R^4 为任选地被1-3个独立地选自 R^6 的取代基取代的6-10元杂环基。在一些实施例中, R^4 为被1-3个独立地选自 R^6 的取代基取代的3-10元杂环基。在一些实施例中, R^4 为被1-3个独立地选自 R^6 的取代基取代的6-10元杂环基。在一些实施例中, R^4 为被1-2个独立地选自 R^6 的取代基取代的3-10元杂环基。在一些实施例中, R^4 为被1-2个独立地选自 R^6 的取

代基取代的6-10元杂环基。在一些实施例中, R^4 为3-10元杂环基。在一些实施例中, R^4 为6-10元杂环基。在一些实施例中, R^4 为任选地被1-2个独立选择的 R^6 取代的吗啉基。在一些实施例中, R^4 为任选地被1-2个独立选择的 R^6 取代的四氢吡喃基。在一些实施例中, R^4 为任选地被1-2个独立选择的 R^6 取代的1-氧杂螺[4.5]癸烷。

[0379] 在一些实施例中, R^4 为任选地被1-3个独立选择的 R^6 取代的C3-C8环烷基。在某些实施例中, R^4 为任选地被1个 R^6 取代的C3-C8环烷基。在某些实施例中, R^4 为任选地被2个独立选择的 R^6 取代的C3-C8环烷基。在某些实施例中, R^4 为任选地被3个独立选择的 R^6 取代的C3-C8环烷基。

[0380] 在一些实施例中, R^4 为未经取代的C3-C8环烷基。

[0381] 在一些实施例中, R^4 为被1-3个独立选择的 R^6 取代的C3-C8环烷基。在某些实施例中, R^4 为被1个 R^6 取代的C3-C8环烷基。在某些实施例中, R^4 为被2个独立选择的 R^6 取代的C3-C8环烷基。在某些实施例中, R^4 为被3个独立选择的 R^6 取代的C3-C8环烷基。

[0382] 在一些实施例中, R^6 中的至少一个是卤素。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是氟。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是氯。在一些实施例中, R^6 中的一个为卤素。在一些实施例中, R^6 中的一个为氟。在一些实施例中, R^6 中的一个为氯。在一些实施例中, R^6 中的两个为卤素。在一些实施例中, R^6 中的两个为氟。在一些实施例中, R^6 中的两个为氯。在一些实施例中, R^6 中的三个为卤素。在一些实施例中, R^6 中的三个为氟。在一些实施例中, R^6 中的三个为氯。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是氰基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是羟基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是 $-CO_2H$ 。

[0383] 在一些实施例中, R^6 中的至少一个是 $-N=(S=O)(C1-C3烷基)_2$ 。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是 $-N=(S=O)(甲基)_2$ 。

[0384] 在一些实施例中, R^6 中的至少一个是 $-S(=O)_p(C1-C3烷基)$ (例如, $-S(=O)_p(甲基)$)。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是 $-S(=O)(C1-C3烷基)$ (例如, $-S(=O)(甲基)$)。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是 $-S(=O)_2(C1-C3烷基)$ (例如, $-S(=O)_2(甲基)$)。

[0385] 在一些实施例中, p 为1。在一些实施例中, p 为2。

[0386] 在一些实施例中, R^6 中的至少一个是 $-NR^E R^F$ 。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是 $-(C=O)NR^E R^F$ 。

[0387] 在一些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被氨基、羟基或 $-(C=O)NR^E R^F$ 取代的C1-C3烷氧基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是未经取代的C1-C3烷氧基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是被氨基、羟基或 $-(C=O)NR^E R^F$ 取代的C1-C3烷氧基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是被氨基取代的C1-C3烷氧基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是被羟基取代的C1-C3烷氧基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是被 $-(C=O)NR^E R^F$ 取代的C1-C3烷氧基。

[0388] 在某些实施例中, R^6 中的至少一个是甲氧基或乙氧基。

[0389] 在一些实施例中, R^E 和 R^F 独立地为氢或C1-C3烷基。在某些实施例中, R^E 和 R^F 中的一个为氢并且 R^E 和 R^F 中的另一个为C1-C3烷基。在一些实施例中, R^E 和 R^F 中的一个为氢并且 R^E 和 R^F 中的另一个为甲基。在一些实施例中, R^E 和 R^F 中的一个为氢并且 R^E 和 R^F 中的另一个为乙基。在某些实施例中, R^E 和 R^F 均为氢。在某些实施例中, R^E 和 R^F 均为C1-C3烷基。在一些实施例中, R^E 和 R^F 均为甲基。在一些实施例中, R^E 和 R^F 中的一个为甲基并且 R^E 和 R^F 中的另一个为乙基。在

一些实施例中, R^E 和 R^F 均为乙基。在一些实施例中, R^E 和 R^F 独立地为氢或C3-C6环烷基。在一些实施例中, R^E 和 R^F 独立地为氢或环丙基。在一些实施例中, R^E 和 R^F 中的一个为氢并且 R^E 和 R^F 中的另一个为环丙基。

[0390] 在一些实施例中, R^E 和 R^F 连同它们所连接的氮原子一起形成任选地被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的4-6元杂环基。在某些实施例中, R^E 和 R^F 连同它们所连接的氮原子一起形成任选地被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的4元杂环基。在一些实施例中, R^E 和 R^F 连同它们所连接的氮原子一起形成任选地被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的5元杂环基。在一些实施例中, R^E 和 R^F 连同它们所连接的氮原子一起形成任选地被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的6元杂环基。在一些实施例中, R^E 和 R^F 连同它们所连接的氮原子一起形成被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的4-6元杂环基。在某些实施例中, R^E 和 R^F 连同它们所连接的氮原子一起形成被C1-C3烷基取代的4-6元杂环基。在一些实施例中, R^E 和 R^F 连同它们所连接的氮原子一起形成被C1-C3烷氧基取代的4-6元杂环基。在一些实施例中, R^E 和 R^F 连同它们所连接的氮原子一起形成未经取代的4-6元杂环基。

[0391] 在一些实施例中, R^6 中的至少一个是C1-C3卤代烷基。在某些实施例中, R^6 中的至少一个是三氟甲基、二氟甲基或2,2,2-三氟乙基。在某些实施例中, R^6 中的至少一个是三氟甲基或2,2,2-三氟乙基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是二氟甲基。

[0392] 在一些实施例中, R^6 中的至少一个是C1-C3卤代烷氧基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是三氟甲氧基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是二氟甲氧基。

[0393] 在一些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被1-3个独立选择的 R^X 取代的5-6元杂芳基。在某些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被1-2个独立选择的 R^X 取代的5-6元杂芳基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被2-3个独立选择的 R^X 取代的5-6元杂芳基。在某些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被1或3个独立选择的 R^X 取代的5-6元杂芳基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被1个 R^X 取代的5-6元杂芳基。在某些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被2个独立选择的 R^X 取代的5-6元杂芳基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被3个独立选择的 R^X 取代的5-6元杂芳基。在某些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、氨基、C1-C3卤代烷基或C1-C3烷基取代的5-6元杂芳基, 所述C1-C3烷基任选地被羟基或 $-NR^E R^F$ 取代。在某些实施例中, R^6 为任选地被C1-C3烷基取代的5-6元杂芳基, 所述C1-C3烷基任选地被羟基或 $-NR^E R^F$ 取代。在某些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被卤素、C1-C3卤代烷基或C1-C3烷基取代的5-6元杂芳基, 所述C1-C3烷基任选地被羟基或 $-NR^E R^F$ 取代。在某些实施例中, R^6 为被C1-C3烷基取代的5-6元杂芳基, 所述C1-C3烷基被羟基或 $-NR^E R^F$ 取代。在某些实施例中, R^6 为被羟甲基、氨基甲基、羟乙基、氨基乙基、丙-2-醇或丙-2-胺取代的5-6元杂芳基。

[0394] 在某些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被1-3个(例如, 1-2个、2-3个、1个、2个或3个)独立选择的 R^X 取代的5元杂芳基。在某些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3烷基、氨基或C1-C3卤代烷基取代的5元杂芳基。在某些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、氨基、C1-C3卤代烷基或C1-C3烷基取代的6元杂芳基, 所述C1-C3烷基任选地被羟基或 $-NR^E R^F$ 取代。在某些实施例中, R^6 为被羟甲基、氨基甲基、羟乙基、氨基乙基、丙-2-醇或丙-2-胺取代的5元杂芳基。在某些实施例中, R^6 为被羟甲基、氨基甲基、羟乙基、氨基乙

基、丙-2-醇或丙-2-胺取代的6元杂芳基。

[0395] 在一些实施例中, R^6 中的至少一个是未经取代的5-6元杂芳基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是1,2,3-三唑-2-基。

[0396] 在一些实施例中, 每个 R^X 独立地选自氰基、羟基、C1-C3烷氧基或任选地被1-3个独立地选自羟基、C1-C3烷氧基和 $-NR^G R^H$ 的取代基取代的C1-C6烷基。在一些实施例中, 每个 R^X 独立地选自羟基或任选地被1-3个独立地选自羟基、C1-C3烷氧基和 $-NR^G R^H$ 的取代基取代的C1-C6烷基。在一些实施例中, 每个 R^X 独立地选自羟基或任选地被1-3个(例如, 1-2个)独立地选自羟基、甲氧基和二甲基氨基的取代基取代的C1-C2烷基。在一些实施例中, 每个 R^X 独立地选自羟基或任选地被1-3个独立地选自羟基、C1-C3烷氧基和 $-NR^G R^H$ 的取代基取代的C1-C4烷基。

[0397] 在一些实施例中, R^G 和 R^H 独立地为氢或C1-C3烷基。在某些实施例中, R^G 和 R^H 中的一个为氢并且 R^G 和 R^H 中的另一个为C1-C3烷基。在一些实施例中, R^G 和 R^H 中的一个为氢并且 R^G 和 R^H 中的另一个为甲基。在一些实施例中, R^G 和 R^H 中的一个为氢并且 R^G 和 R^H 中的另一个为乙基。在某些实施例中, R^G 和 R^H 均为氢。在某些实施例中, R^G 和 R^H 均为C1-C3烷基。在一些实施例中, R^G 和 R^H 均为甲基。在一些实施例中, R^G 和 R^H 中的一个为甲基并且 R^G 和 R^H 中的另一个为乙基。在一些实施例中, R^G 和 R^H 均为乙基。在一些实施例中, R^G 和 R^H 独立地为氢或C3-C6环烷基。在一些实施例中, R^G 和 R^H 独立地为氢或环丙基。在一些实施例中, R^G 和 R^H 中的一个为氢并且 R^G 和 R^H 中的另一个为环丙基。

[0398] 在一些实施例中, R^G 和 R^H 连同它们所连接的氮原子一起形成任选地被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的4-6元杂环基。在某些实施例中, R^G 和 R^H 连同它们所连接的氮原子一起形成任选地被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的4元杂环基。在一些实施例中, R^G 和 R^H 连同它们所连接的氮原子一起形成任选地被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的5元杂环基。在一些实施例中, R^G 和 R^H 连同它们所连接的氮原子一起形成任选地被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的6元杂环基。在一些实施例中, R^G 和 R^H 连同它们所连接的氮原子一起形成被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的4-6元杂环基。在一些实施例中, R^G 和 R^H 连同它们所连接的氮原子一起形成被C1-C3烷基取代的4-6元杂环基。在一些实施例中, R^G 和 R^H 连同它们所连接的氮原子一起形成被C1-C3烷氧基取代的4-6元杂环基。在一些实施例中, R^G 和 R^H 连同它们所连接的氮原子一起形成未经取代的4-6元杂环基。

[0399] 在一些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被1-2个独立地选自羟基、 $-NR^E R^F$ 、C1-C3烷氧基和C3-C6环烷基的取代基取代的C1-C3烷基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被羟基取代的C3-C6环烷基。

[0400] 在一些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被羟基、 $-NR^E R^F$ 或C1-C3烷氧基取代的C1-C3烷基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被羟基、 $-NR^E R^F$ 或C1-C3烷氧基取代的甲基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是羟甲基、2-氨基乙基或甲氧基乙基。在一些实施例中, R^6 中的至少一个是任选地被羟基、 $-NR^E R^F$ 或C1-C3烷氧基取代的乙基。

[0401] 在一些实施例中, R^E 和 R^F 连同它们所连接的氮原子一起形成任选地被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的4-6元杂环基。在某些实施例中, R^E 和 R^F 连同它们所连接的氮原子一起形成4元杂环基。在一些实施例中, R^E 和 R^F 连同它们所连接的氮原子一起形成5元杂环基。在一些实施例中, R^E 和 R^F 连同它们所连接的氮原子一起形成6元杂环基。在一些实施例中, R^E 和 R^F

连同它们所连接的氮原子一起形成被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的4-6元杂环基。在一些实施例中， R^E 和 R^F 连同它们所连接的氮原子一起形成未经取代的4-6元杂环基。

[0402] 在一些实施例中， R^6 中的至少一个是任选地被1-3个独立选择的C1-C3烷基取代的-(Q)_q-3-8元杂环基。在一些实施例中， R^6 中的至少一个是任选地被1-3个独立选择的C1-C3烷基取代的-0-3-8元杂环基。在一些实施例中， R^6 中的至少一个是任选地被1-3个独立选择的取代的C1-C3烷基取代的-NH-3-8元杂环基。在一些实施例中， R^6 为-(Q)_q-3-8元杂环基。在一些实施例中， R^6 为被1-3个独立选择的C1-C3烷基取代的-(Q)_q-3-8元杂环基。在一些实施例中， R^6 为被C1-C3烷基取代的-(Q)_q-3-8元杂环基。在一些实施例中， R^6 为被2个独立选择的C1-C3烷基取代的-(Q)_q-3-8元杂环基。在一些实施例中， R^6 为被3个独立选择的C1-C3烷基取代的-(Q)_q-3-8元杂环基。

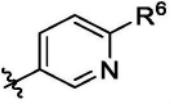
[0403] 在一些实施例中，q为0。在一些实施例中，q为1。

[0404] 在一些实施例中，Q为-0-。在一些实施例中，Q为-NH-。

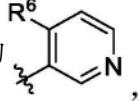
[0405] 在一些实施例中， R^6 中的至少一个是3-8元杂环基。在某些实施例中， R^6 中的至少一个是3元杂环基。在某些实施例中， R^6 中的至少一个是4元杂环基。在某些实施例中， R^6 中的至少一个是5元杂环基。在某些实施例中， R^6 中的至少一个是包括1个选自O、S和NH的杂原子环成员的5元杂环基。在某些实施例中， R^6 中的至少一个是四氢呋喃基（例如，2-四氢呋喃基）。在某些实施例中， R^6 中的至少一个是6元杂环基。在某些实施例中， R^6 中的至少一个是7元杂环基。在某些实施例中， R^6 中的至少一个是8元杂环基。

[0406] 在一些实施例中， R^4 为吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、吡咯基或咪唑基；其中的每一个被2个 R^6 取代：一个 R^6 为三唑基、咪唑基、噁唑基、吡唑基或吡咯烷基；并且另一个 R^6 为甲氧基、三氟甲基、三氟甲氧基、氯或氰基。在一些实施例中， R^4 为吡啶基、嘧啶基或吡嗪基；其中的每一个被2个 R^6 取代：一个 R^6 为三唑基、咪唑基、噁唑基、吡唑基或吡咯烷基；并且另一个 R^6 为甲氧基、三氟甲基、三氟甲氧基、氯或氰基。在一些实施例中， R^4 为被2个 R^6 取代的吡啶基：一个 R^6 为三唑基、咪唑基或噁唑基；并且另一个 R^6 为甲氧基、三氟甲基、三氟甲氧基、氯或氰基。在一些实施例中， R^4 为吡啶基或苯基；其中的每一个被2个 R^6 取代：一个 R^6 为三唑基或吡唑基，其各自任选地被羟甲基、甲基、羟基、羟乙基、氰基或甲氧基取代；并且另一个 R^6 为甲氧基、三氟甲基、三氟甲氧基、二氟甲基、氯或氰基。

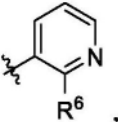
[0407] 在一些实施例中， R^4 为被1-3个独立选择的 R^6 取代的3-吡啶基或4-吡啶基。

[0408] 在一些实施例中， R^4 为 ，其中波浪线穿过连接至式(I)的-C(=O)NH-部分的键。

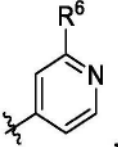
[0409] 在一些实施例中， R^4 为 ，其中波浪线穿过连接至式(I)的-C(=O)NH-部分的键。

[0410] 在一些实施例中， R^4 为 ，其中波浪线穿过连接至式(I)的-C(=O)NH-部分

的键。

[0411] 在一些实施例中, R^4 为  其中波浪线穿过连接至式 (I) 的 -C(=O)NH- 部分的

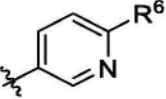
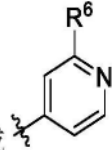
键。

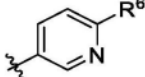
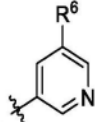


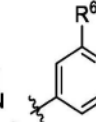

[0412] 在一些实施例中, R^4 为  其中波浪线穿过连接至式 (I) 的 -C(=O)NH- 部分的

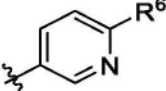
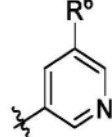
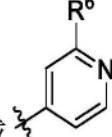
键。

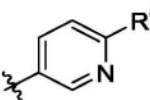
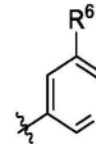
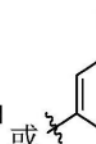
[0413] 在一些实施例中, R^4 为  其中波浪线穿过连接至式 (I) 的 -C(=O)NH- 部分的

的键。

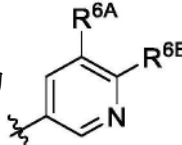
[0414] 在一些实施例中, 当 R^4 为 、 或  时, R^6 选自由以下组成的组: 氰基、卤素、C1-C3 卤代烷基和 C1-C3 烷氧基。

[0415] 在一些实施例中, 当 R^4 为 、、、、 或  时, R^6 选自由以下组成的组: 氰基、卤素、C1-C3 卤代烷基和 C1-C3 烷氧基。

[0416] 在一些实施例中, 当 R^4 为 、 或  时, R^6 选自由以下组成

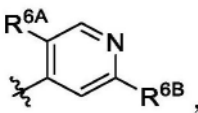
的组: 氰基、氯、二氟甲基、三氟甲基和甲氧基。例如, 当 R^4 为 、 或 

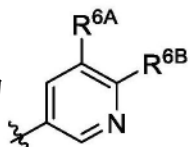
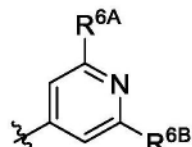
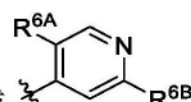
时, R^6 为氯或三氟甲基 (例如, 氯)。

[0417] 在一些实施例中, R^4 为  其中波浪线穿过连接至式 (I) 的 -C(=O)NH-

部分的键。

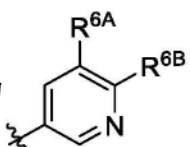
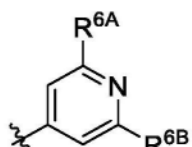
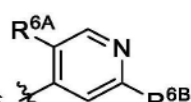
[0418] 在一些实施例中, R^4 为  其中波浪线穿过连接至式 (I) 的 $-C(=O)NH-$ 部分的键。

[0419] 在一些实施例中, R^4 为  其中波浪线穿过连接至式 (I) 的 $-C(=O)NH-$ 部分的键。

[0420] 在一些实施例中, 当 R^4 为 、 或  时,

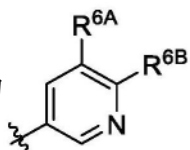
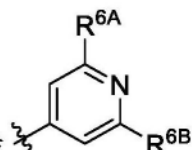
[0421] R^{6A} 选自由以下组成的组: 氰基、卤素、C1-3烷基、C1-3烷氧基和C1-3卤代烷基; 并且

[0422] R^{6B} 选自由以下组成的组: 任选地被氰基、氨基或C1-3烷基取代的5-6元杂芳基, 所述C1-3烷基任选地被羟基或 $-NR^E R^F$ 取代; $-(C=O)NR^E R^F$; C1-3烷氧基; C1-3卤代烷基; C1-3卤代烷氧基; 氰基; 以及C1-3烷基。

[0423] 在一些实施例中, 当 R^4 为 、 或  时,

[0424] R^{6A} 选自由以下组成的组: 氰基、卤素、未经取代的C1-3烷基、C1-3烷氧基和C1-3卤代烷基; 并且

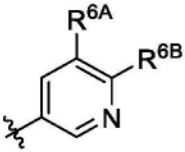
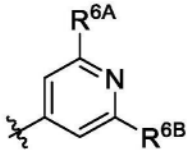
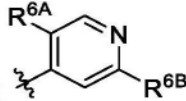
[0425] R^{6B} 选自由以下组成的组: 任选地被氰基、羟基、 $-N(S=O)(C1-3烷基)_2$ 、C1-3烷氧基、C1-3烷基或氨基取代的5-6元杂芳基, 所述C1-3烷基任选被1-2个独立地选自羟基、C1-3烷氧基和 $-NR^G R^H$ 的取代基取代; $-(C=O)NR^E R^F$; C1-3烷氧基; C1-3卤代烷基; C1-3卤代烷氧基; 氰基; C1-3烷基; 以及任选地被1-3个独立选择的C1-3烷基取代的 $-(Q)_q$ -3-8元杂环基。

[0426] 在一些实施例中, 当 R^4 为  或  时,

[0427] R^{6A} 选自由以下组成的组: 氰基、氟、氯、甲基、乙基、甲氧基、三氟甲基; 并且

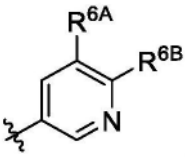
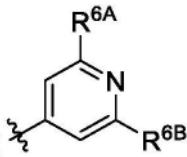
[0428] R^{6B} 选自由以下组成的组: 1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-1-基、4-氨基-1,2,3-三唑-2-基、5-氰基-1,2,3-三唑-1-基、1,2,3-三唑-1-基、3-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-氨基-1,2,4-三唑-1-基、1-甲基-5-氨基-1,2,4-三唑-3-基、1,2,4-三唑-4-对-2-基、四唑-5-基、2-甲基-四唑-5-基、1-甲基-四唑-5-基、咪唑-1-基、1-甲基-咪唑-3-基、1-甲基-5-氨基-咪唑-3-基、3-甲基咪唑-2-对-1-基、1-甲基-吡唑-3-基、1-甲基-吡唑-5-基、吡咯-1-基、噻唑-2-基、异噻唑啉-2-基-

1,1-二氧化物、吡咯烷-2-对-1-基、噁唑-2-基、噁二唑-2-基、2-氨基-嘧啶-4-基、-(C=O)4-甲基哌嗪-1-基、-(C=O)N(CH₃)₂、-(C=O)NHCH₃、甲氧基、乙氧基、二氟甲氧基、甲基、氰基。

[0429] 在一些实施例中,当R⁴为 、或  时,

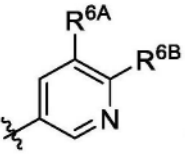
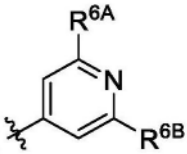
[0430] R^{6A}选自由以下组成的组:氰基、氟、氯、甲基、乙基、甲氧基、三氟甲基;并且

[0431] R^{6B}选自由以下组成的组:1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-1-基、4-氨基-1,2,3-三唑-2-基、5-氰基-1,2,3-三唑-1-基、1,2,3-三唑-1-基、3-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-氨基-1,2,4-三唑-1-基、1-甲基-5-氨基-1,2,4-三唑-3-基、1,2,4-三唑-4-对-2-基、四唑-5-基、2-甲基-四唑-5-基、1-甲基-四唑-5-基、咪唑-1-基、1-甲基-咪唑-3-基、1-甲基-5-氨基-咪唑-3-基、3-甲基咪唑-2-对-1-基、1-甲基-吡唑-3-基、1-甲基-吡唑-5-基、吡咯-1-基、噁唑-2-基、异噁唑啉-2-基-1,1-二氧化物、吡咯烷-2-对-1-基、噁唑-2-基、噁二唑-2-基、2-氨基-嘧啶-4-基、-(C=O)4-甲基哌嗪-1-基、-(C=O)N(CH₃)₂、-(C=O)NHCH₃、甲氧基、乙氧基、二氟甲氧基、三氟甲基、甲基和氰基。

[0432] 在一些实施例中,当R⁴为 或  时,

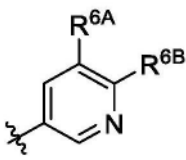
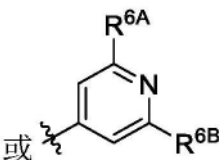
[0433] R^{6A}选自由以下组成的组:氰基、氟、氯、甲基、乙基、甲氧基、二氟甲基、三氟甲基;并且

[0434] R^{6B}选自由以下组成的组:1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-羟甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-(1,2-二羟乙基)-1,2,3-三唑-2-基、4-(1-羟乙基)-1,2,3-三唑-2-基、4-甲氧基甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-1-基、4-甲氧基-1,2,3-三唑-2-基、4-氨基-1,2,3-三唑-2-基、4-二甲基氨基甲基-1,2,3-三唑-2-基、5-氰基-1,2,3-三唑-1-基、1,2,3-三唑-1-基、3-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-氨基-1,2,4-三唑-1-基、1-甲基-5-氨基-1,2,4-三唑-3-基、1,2,4-三唑-4-对-2-基、四唑-5-基、2-甲基-四唑-5-基、1-甲基-四唑-5-基、咪唑-1-基、吡唑-1-基、5-氰基-吡唑-1-基、1-甲基-咪唑-3-基、1-甲基-5-氨基-咪唑-3-基、3-甲基咪唑-2-对-1-基、1-甲基-吡唑-3-基、1-甲基-吡唑-5-基、吡咯-1-基、噁唑-2-基、异噁唑啉-2-基-1,1-二氧化物、吡咯烷-2-对-1-基、噁唑-2-基、噁二唑-2-基、2-氨基-嘧啶-4-基、2-四氢呋喃基、-(C=O)4-甲基哌嗪-1-基、-(C=O)N(CH₃)₂、-(C=O)NHCH₃、-N=(S=O)(甲基)₂、甲氧基、乙氧基、二氟甲氧基、甲基、氰基。

[0435] 在一些实施例中,当R⁴为 或  时,

[0436] R^{6A} 选自由以下组成的组:氰基、氯基和三氟甲基;并且

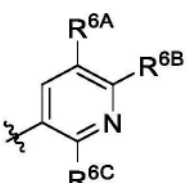
[0437] R^{6B} 选自由以下组成的组:1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-1-基、4-氨基-1,2,3-三唑-2-基、5-氰基-1,2,3-三唑-1-基、1,2,3-三唑-1-基、3-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-氨基-1,2,4-三唑-1-基、1-甲基-5-氨基-1,2,4-三唑-3-基和1,2,4-三唑-4-对-2-基。

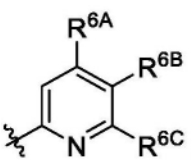
[0438] 在一些实施例中,当 R^4 为  或  时,

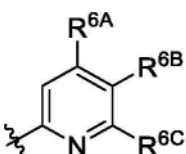
[0439] R^{6A} 为氯;并且

[0440] R^{6B} 选自由以下组成的组:1,2,3-三唑-2-基、1,2,3-三唑-1-基和1,2,4-三唑-4-对-2-基。

[0441] 在一些实施例中, R^4 为 , 其中波浪线穿过连接至式(I)的-C(=O)NH-部分的键。

[0442] 在一些实施例中, R^4 为 , 其中波浪线穿过连接至式(I)的-C(=O)NH-部分的键。

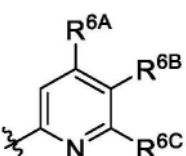
[0443] 在一些实施例中, R^4 为 , 其中波浪线穿过连接至式(I)的-C(=O)NH-部分的键。

[0444] 在一些实施例中,当 R^4 为  时,

[0445] R^{6A} 选自由以下组成的组:氰基、卤素、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基和C1-C3卤代烷基;

[0446] R^{6B} 选自由以下组成的组:任选地被氰基、C1-C3烷基或氨基取代的5-6元杂芳基;-(C=O)NR^ER^F;C1-C3烷氧基;C1-C3卤代烷基;C1-C3卤代烷氧基;氰基;以及C1-C3烷基;并且

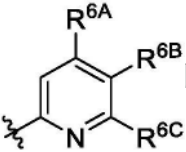
[0447] R^{6C} 选自由以下组成的组:氰基、卤素、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷基和任选地被1-3个独立选择的C1-C3烷基取代的-(Q)_q-3-8元杂环基。

[0448] 在一些实施例中,当 R^4 为  时,

[0449] R^{6A} 选自由以下组成的组:氰基、氟、氯、甲基、乙基、甲氧基、三氟甲基;

[0450] R^{6B} 选自由以下组成的组:1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-1-基、4-氨基-1,2,3-三唑-2-基、5-氰基-1,2,3-三唑-1-基、1,2,3-三唑-1-基、3-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-氨基-1,2,4-三唑-1-基、1-甲基-5-氨基-1,2,4-三唑-3-基、1,2,4-三唑-4-对-2-基、四唑-5-基、2-甲基-四唑-5-基、1-甲基-四唑-5-基、咪唑-1-基、1-甲基-咪唑-3-基、1-甲基-5-氨基-咪唑-3-基、3-甲基咪唑-2-对-1-基、1-甲基-吡唑-3-基、1-甲基-吡唑-5-基、吡咯-1-基、噻唑-2-基、异噻唑啉-2-基-1,1-二氧化物、吡咯烷-2-对-1-基、噁唑-2-基、噁二唑-2-基、2-氨基-嘧啶-4-基、-(C=O)-4-甲基哌嗪-1-基、-(C=O)N(CH₃)₂、-(C=O)NHCH₃、甲氧基、乙氧基、二氟甲氧基、甲基、氰基;并且

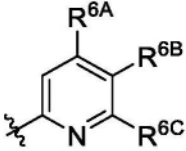
[0451] R^{6C} 选自由以下组成的组:氰基、氟、氯、甲基、乙基、甲氧基、甲基、三氟甲基和吡咯烷-3-基氧基。

[0452] 在一些实施例中,当 R^4 为  时,

[0453] R^{6A} 选自由以下组成的组:氰基、氯基和三氟甲基;

[0454] R^{6B} 选自由以下组成的组:甲氧基、1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-1-基、4-氨基-1,2,3-三唑-2-基、5-氰基-1,2,3-三唑-1-基、1,2,3-三唑-1-基、3-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-氨基-1,2,4-三唑-1-基、1-甲基-5-氨基-1,2,4-三唑-3-基和1,2,4-三唑-4-对-2-基;并且

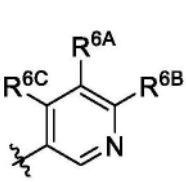
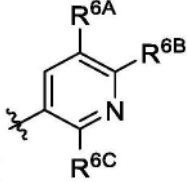
[0455] R^{6C} 选自由以下组成的组:氰基、氯、甲基、三氟甲基和吡咯烷-3-基氧基。

[0456] 在一些实施例中,当 R^4 为  时,

[0457] R^{6A} 为氯;

[0458] R^{6B} 选自由以下组成的组:甲氧基、1,2,3-三唑-2-基、1,2,4-三唑-4-对-2-基;并且

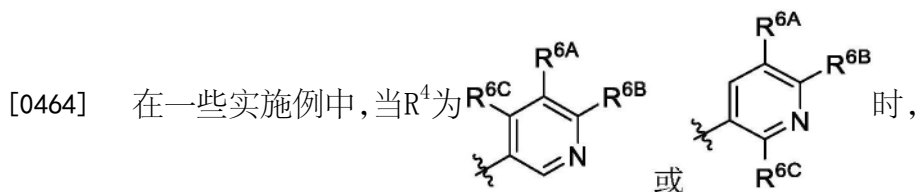
[0459] R^{6C} 选自由以下组成的组:氰基、氯、甲基、三氟甲基和吡咯烷-3-基氧基。

[0460] 在一些实施例中,当 R^4 为  或  时,

[0461] R^{6A} 选自由以下组成的组:氰基、卤素、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基和C1-C3卤代烷基;

[0462] R^{6B} 选自由以下组成的组:任选地被氰基、C1-C3烷基或氨基取代的5-6元杂芳基;- (C=O)NR^ER^F;C1-C3烷氧基;C1-C3卤代烷基;C1-C3卤代烷氧基;氰基;以及C1-C3烷基;并且

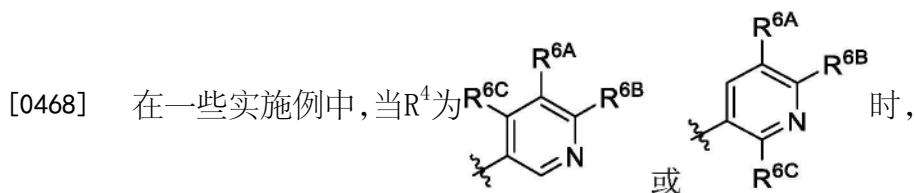
[0463] R^{6C} 选自由以下组成的组:氰基、卤素、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基和C1-C3卤代烷基。



[0465] R^{6A} 选自由以下组成的组:氰基、氟、氯、甲基、乙基、甲氧基、三氟甲基;

[0466] R^{6B} 选自由以下组成的组:1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-1-基、4-氨基-1,2,3-三唑-2-基、5-氰基-1,2,3-三唑-1-基、1,2,3-三唑-1-基、3-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-氨基-1,2,4-三唑-1-基、1-甲基-5-氨基-1,2,4-三唑-3-基、1,2,4-三唑-4-对-2-基、四唑-5-基、2-甲基-四唑-5-基、1-甲基-四唑-5-基、咪唑-1-基、1-甲基-咪唑-3-基、1-甲基-5-氨基-咪唑-3-基、3-甲基咪唑-2-对-1-基、1-甲基-吡唑-3-基、1-甲基-吡唑-5-基、吡咯-1-基、噻唑-2-基、异噻唑啉-2-基-1,1-二氧化物、吡咯烷-2-对-1-基、噁唑-2-基、噁二唑-2-基、2-氨基-嘧啶-4-基、-(C=O)-4-甲基哌嗪-1-基、-(C=O)N(CH₃)₂、-(C=O)NHCH₃、甲氧基、乙氧基、二氟甲氧基、甲基、氰基;并且

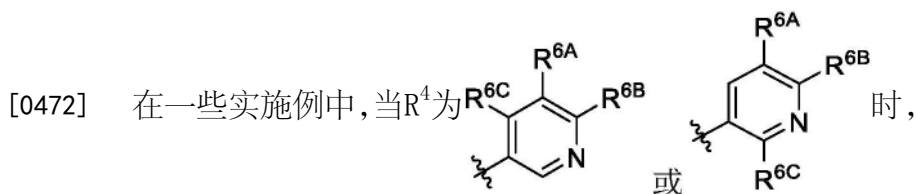
[0467] R^{6C} 选自由以下组成的组:氰基、氟、氯、甲基、乙基、甲氧基、甲基和三氟甲基。



[0469] R^{6A} 选自由以下组成的组:氰基、氯基和三氟甲基;

[0470] R^{6B} 选自由以下组成的组:1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-1-基、4-氨基-1,2,3-三唑-2-基、5-氰基-1,2,3-三唑-1-基、1,2,3-三唑-1-基、3-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-氨基-1,2,4-三唑-1-基、1-甲基-5-氨基-1,2,4-三唑-3-基和1,2,4-三唑-4-对-2-基;并且

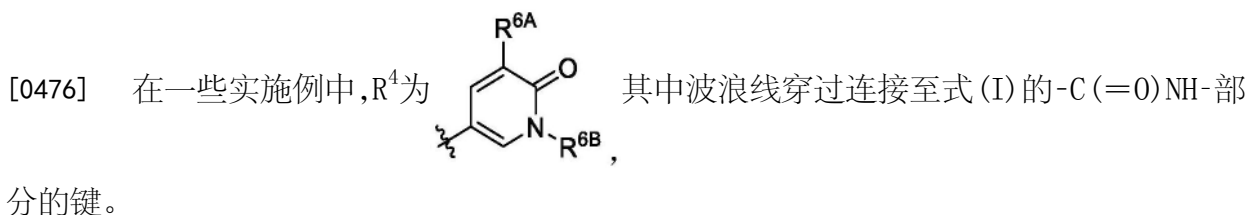
[0471] R^{6C} 选自由以下组成的组:氰基、氯基、甲基和三氟甲基。

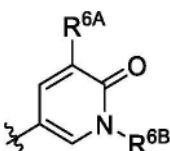


[0473] R^{6A} 为氯;

[0474] R^{6B} 选自由以下组成的组:1,2,3-三唑-2-基和1,2,4-三唑-4-对-2-基;并且

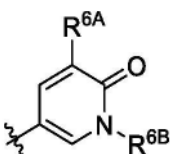
[0475] R^{6C} 选自由以下组成的组:氰基、氯基、甲基和三氟甲基。



[0477] 在一些实施例中,当 R^4 为  时,

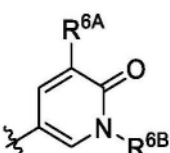
[0478] R^{6A} 选自由以下组成的组:氰基、卤素、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基和C1-C3卤代烷基;

[0479] R^{6B} 选自由以下组成的组:C1-C3烷基和C1-C3卤代烷基。

[0480] 在一些实施例中,当 R^4 为  时,

[0481] R^{6A} 选自由以下组成的组:氰基、氟、氯、甲基、乙基、甲氧基、三氟甲基;

[0482] R^{6B} 选自由以下组成的组:甲基、乙基、二氟甲基和三氟甲基;

[0483] 在一些实施例中,当 R^4 为  时,

[0484] R^{6A} 为氯;并且

[0485] R^{6B} 选自由以下组成的组:三氟甲基和二氟甲基。

[0486] 在一些实施例中, R^5 是氢。

[0487] 在一些实施例中, R^5 是卤素。例如, R^5 为氟。例如, R^5 为氯。在一些实施例中, R^5 为氰基。在一些实施例中, R^5 为羟基。

[0488] 在一些实施例中, R^5 为C1-C3烷氧基。在一些实施例中, R^5 为甲氧基或乙氧基。

[0489] 在一些实施例中, R^5 为C1-C3卤代烷氧基。在一些实施例中, R^5 为三氟甲氧基、二氟甲氧基或氟甲氧基。

[0490] 在一些实施例中, R^5 为C1-C3卤代烷基。在一些实施例中, R^5 为三氟甲基或2,2,2-三氟乙基。

[0491] 在一些实施例中, R^5 为 $-NR^C R^D$ 。在一些实施例中, R^C 和 R^D 独立地为氢或C1-C3烷基。在某些实施例中, R^C 和 R^D 中的一个为氢并且 R^C 和 R^D 中的另一个为C1-C3烷基。在一些实施例中, R^C 和 R^D 中的一个为氢并且 R^C 和 R^D 中的另一个为甲基。在一些实施例中, R^C 和 R^D 中的一个为氢并且 R^C 和 R^D 中的另一个为乙基。在某些实施例中, R^C 和 R^D 均为氢。在某些实施例中, R^C 和 R^D 均为C1-C3烷基。在一些实施例中, R^C 和 R^D 均为甲基。在一些实施例中, R^C 和 R^D 中的一个为甲基并且 R^C 和 R^D 中的另一个为乙基。在一些实施例中, R^C 和 R^D 均为乙基。

[0492] 在一些实施例中, R^C 和 R^D 连同它们所连接的氮原子一起形成4-6元杂环基。在一些实施例中, R^C 和 R^D 连同它们所连接的氮原子一起形成4元杂环基。在一些实施例中, R^C 和 R^D 连同它们所连接的氮原子一起形成5元杂环基。在一些实施例中, R^C 和 R^D 连同它们所连接的氮原子一起形成6元杂环基。

[0493] 在一些实施例中, R^5 为C1-C3烷基。在一些实施例中, R^5 为甲基或乙基。

[0494] 在一些实施例中,

[0495] X为N;

[0496] Y为C;

[0497] Z为N;

[0498] R¹为卤素;

[0499] R²为氢;

[0500] R^{2A}为氢;

[0501] m为2并且R³独立地为未经取代的C1-C3烷基或C1-C3卤代烷氧基;

[0502] n为1;并且

[0503] R⁴为任选地被1-2个独立地选自C1-C3卤代烷基的取代基取代的5-6元杂芳基和任选地被1-3个独立选择的R^X取代的5-6元杂芳基。

[0504] 在一些实施例中,R¹为氯或氟。

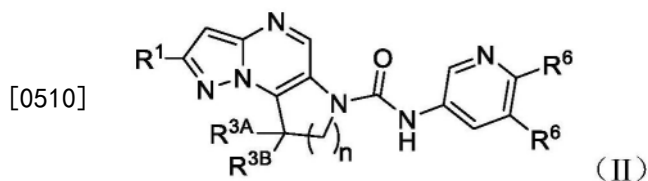
[0505] 在一些实施例中,R²是氢。

[0506] 在一些实施例中,R^{2A}为氢。

[0507] 在一些实施例中,每个R³是成对的。在一些实施例中,一个R³为未经取代的C1-C3烷基并且另一个R³为C1-C3卤代烷氧基。在一些实施例中,一个R³为甲基并且另一个R³为三氟甲基。

[0508] 在一些实施例中,R⁴为未经取代的6元杂芳基。在一些实施例中,R⁴为未经取代的1,2,3-三唑基。

[0509] 在一些实施例中,式(I)化合物是式(II)化合物:



[0511] 其中:

[0512] n为1或2;

[0513] R¹为氢、卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基、-NR^AR^B或任选地被1-3个独立地选自羟基和C1-C3烷氧基的取代基取代的C1-C3烷基;

[0514] R^{3A}为卤素、羟基、氰基、C3-C6环烷基、-NR^AR^B、任选地被C1-C3烷基取代的5-6元杂芳基;C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基或任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基;

[0515] R^{3B}为卤素、羟基、氰基、C3-C6环烷基、-NR^AR^B、任选地被C1-C3烷基取代的5-6元杂芳基;C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基或任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基;

[0516] 或R^{3A}和R^{3B}连同它们所连接的碳原子一起形成氧基或C3-C8环烷基;

[0517] 每个R⁶独立地选自卤素;氰基;羟基;-CO₂H;-N=(S=O)(C1-C3烷基)₂;-S(=O)_p(C1-C3烷基);-NR^ER^F;-C(=O)NR^ER^F;任选地被氨基、羟基或-C(=O)NR^ER^F取代的C1-C3烷氧基;C1-C3卤代烷基;C1-C3卤代烷氧基;任选地被1-3个独立选择的R^X取代的5-6元杂芳基;任选地被1-2个独立地选自羟基、-NR^ER^F、C1-C3烷氧基和C3-C6环烷基的取代基取代的C1-C3烷基;任选地被羟基取代的C3-C6环烷基;以及任选地被1-3个独立选择的C1-C3烷基取代的-(Q)_q-3-8元杂环基;

[0518] p为1或2;

[0519] Q为-O-或-NH-;

[0520] q为0或1;

[0521] 每个 R^X 独立地选自卤素、氰基、羟基、氨基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基或任选地被1-3个独立地选自羟基、C1-C3烷氧基和-NR^GR^H的取代基取代的C1-C6烷基;并且

[0522] R^A和R^B独立地为氢、C1-C3烷基,或R^A和R^B与它们所连接的氮原子一起形成4-6元杂环基;并且

[0523] R^E、R^F、R^G和R^H独立地为氢、C1-C3烷基或C3-C6环烷基,或R^E和R^F,或R^G和R^H,连同它们所连接的氮原子一起形成任选地被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的4-6元杂环基。

[0524] 在式(II)的一些实施例中:

[0525] n为1;

[0526] R¹为氢、卤素或氰基;

[0527] R^{3A}和R^{3B}中的一个为卤素、羟基、氰基、C3-C6环烷基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基或任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基;并且R^{3A}和R^{3B}中的另一个为C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基或任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基;

[0528] 每个R⁶独立地选自卤素;氰基;羟基;-CO₂H;-N=(S=O)(C1-C3烷基)₂;-S(=O)_p(C1-C3烷基);-NR^ER^F;- (C=O)NR^ER^F;任选地被氨基、羟基或-(C=O)NR^ER^F取代的C1-C3烷氧基;C1-C3卤代烷基;C1-C3卤代烷氧基;任选地被1-3个独立选择的R^X取代的5-6元杂芳基;任选地被1-2个独立地选自羟基、-NR^ER^F、C1-C3烷氧基和C3-C6环烷基的取代基取代的C1-C3烷基;以及任选地被羟基取代的C3-C6环烷基;

[0529] p为1或2;

[0530] 每个 R^X 独立地选自卤素、氰基、羟基、氨基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基或任选地被1-3个独立地选自羟基、C1-C3烷氧基和-NR^GR^H的取代基取代的C1-C6烷基;并且

[0531] R^E、R^F、R^G和R^H独立地为氢、C1-C3烷基或C3-C6环烷基,或R^E和R^F,或R^G和R^H,连同它们所连接的氮原子一起形成任选地被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的4-6元杂环基。

[0532] 在式(II)的一些实施例中:

[0533] n为2;

[0534] R¹为氢、卤素或氰基;

[0535] R^{3A}和R^{3B}中的一个为卤素、羟基、氰基、C3-C6环烷基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基或任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基;并且R^{3A}和R^{3B}中的另一个为C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基或任选地被C1-C3烷氧基或氰基取代的C1-C3烷基;

[0536] 每个R⁶独立地选自卤素;氰基;羟基;-CO₂H;-N=(S=O)(C1-C3烷基)₂;-S(=O)_p(C1-C3烷基);-NR^ER^F;- (C=O)NR^ER^F;任选地被氨基、羟基或-(C=O)NR^ER^F取代的C1-C3烷氧基;C1-C3卤代烷基;C1-C3卤代烷氧基;任选地被1-3个独立选择的R^X取代的5-6元杂芳基;任选地被1-2个独立地选自羟基、-NR^ER^F、C1-C3烷氧基和C3-C6环烷基的取代基取代的C1-C3烷基;以及任选地被羟基取代的C3-C6环烷基;

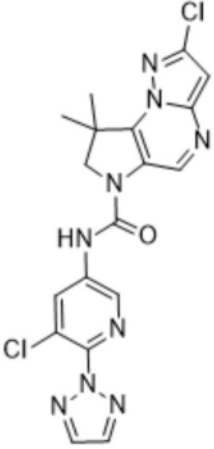
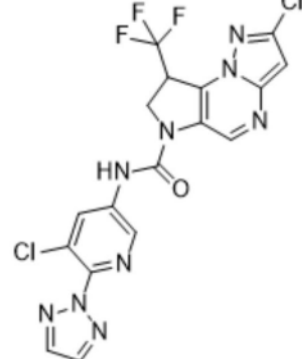
[0537] p为1或2;

[0538] 每个 R^x 独立地选自卤素、氰基、羟基、氨基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基或任选地被1-3个独立地选自羟基、C1-C3烷氧基和 $-NR^G R^H$ 的取代基取代的C1-C6烷基;并且

[0539] R^E 、 R^F 、 R^G 和 R^H 独立地为氢、C1-C3烷基或C3-C6环烷基,或 R^E 和 R^F ,或 R^G 和 R^H ,连同它们所连接的氮原子一起形成任选地被C1-C3烷基或C1-C3烷氧基取代的4-6元杂环基。

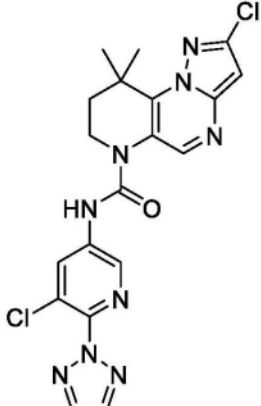
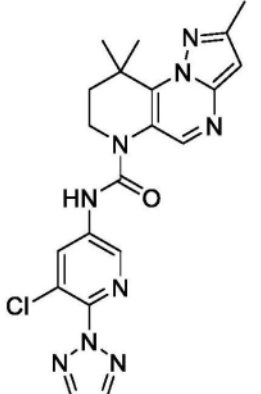
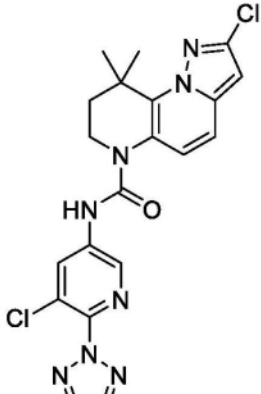
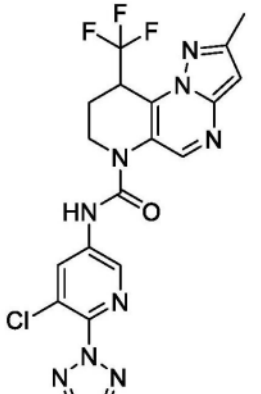
[0540] 在一些实施例中,所述化合物是选自表1的化合物或其药学上可接受的盐。除非另有说明,否则(1)以破折号和楔形键表示法示出的每个立体中心的立体化学构型和/或相邻的CIP构型被假定为是相对的;并且(2)化合价被未使用破折号和楔形描绘的键填充的任何立体中心是该立体中心处立体化学构型的混合物。例如,化合物3和4是对映异构体,但尚不清楚哪个是(R)对映异构体,哪个是(S)对映异构体。在另一个实例中,化合物33和34是非对映异构体,其中与三氟甲基连接的立体中心的绝对构型是已知的,但四氢呋喃基中的立体中心是相对的(即,化合物33和34中的一个中的四氢呋喃基立体中心具有(R)构型,并且化合物33和34中的另一个中的四氢呋喃基立体中心具有(S)构型)。

[0541] 表1

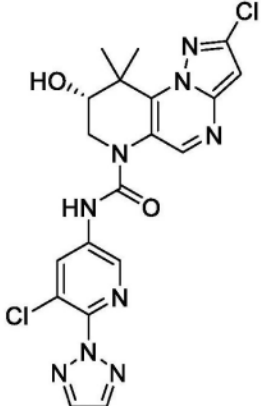
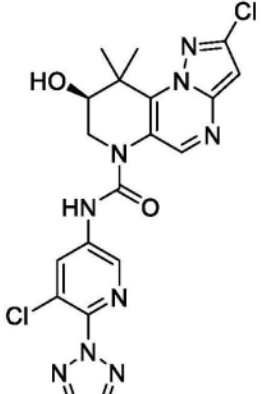
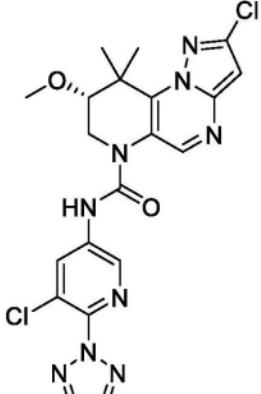
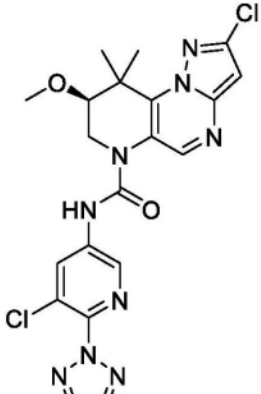
化合物编号	结构
1	
2	

[0542]

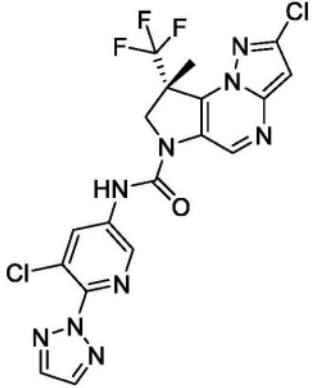
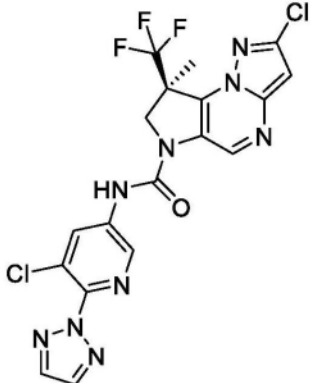
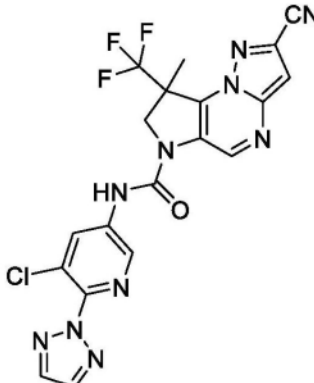
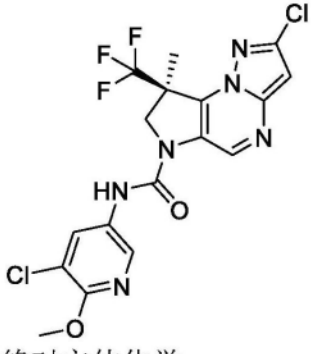
3	
4	
5	[0543]
6	

7	
8	
9	
10	

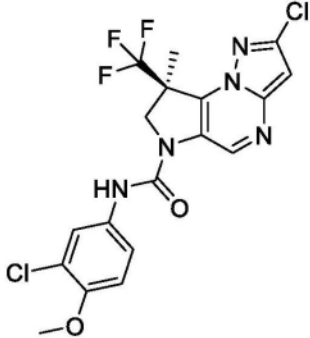
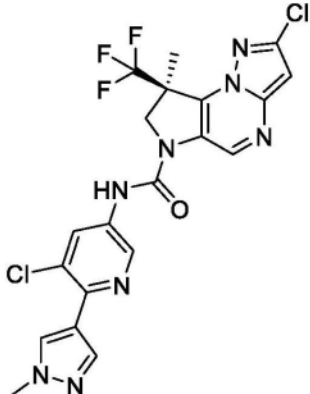
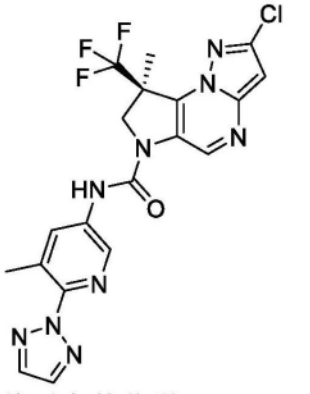
[0544]

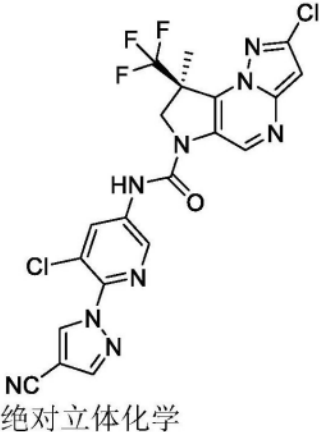
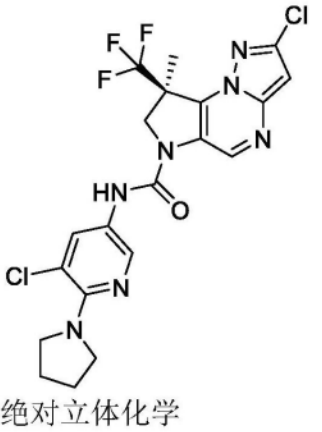
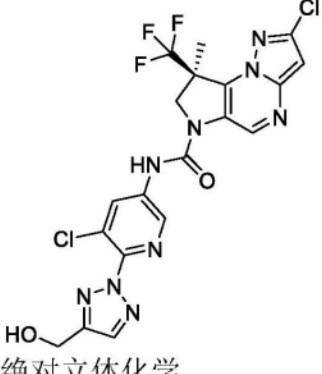
11	
12	
13	
14	

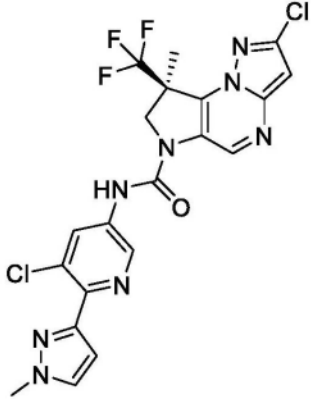
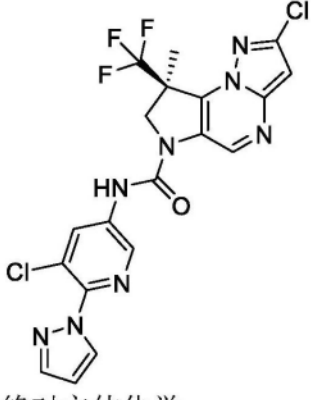
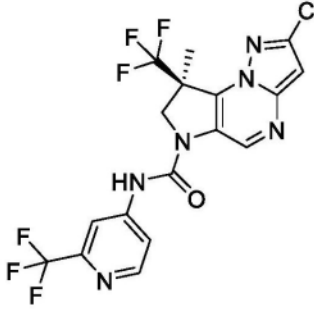
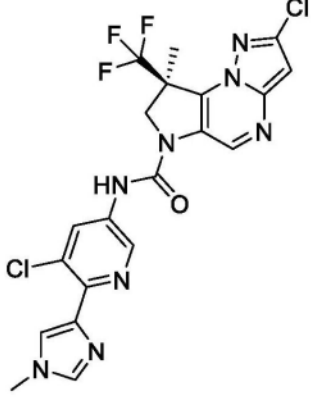
[0545]

15	 <p>绝对立体化学</p>
16	 <p>绝对立体化学</p>
17	 <p>绝对立体化学</p>
18	 <p>绝对立体化学</p>

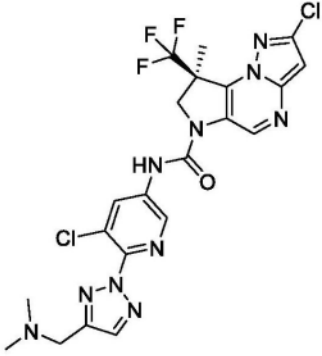
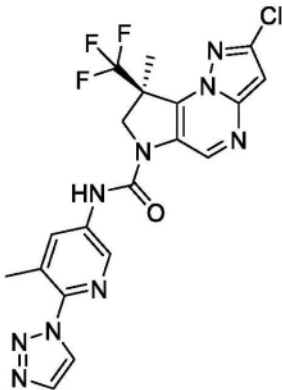
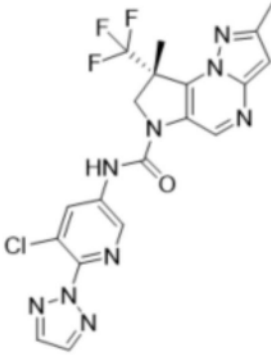
[0546]

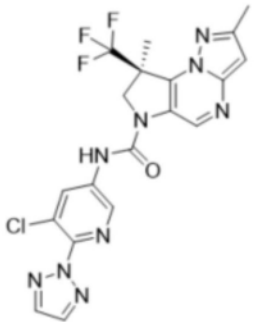
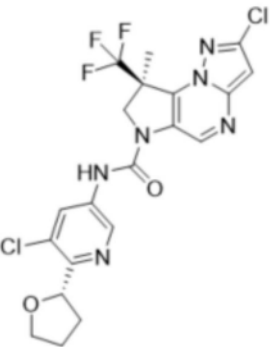
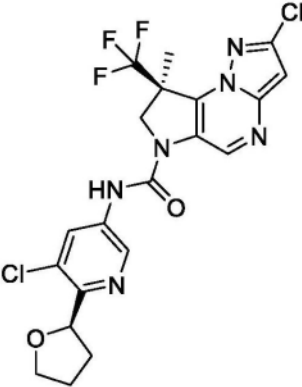
19	 <p>绝对立体化学</p>
[0547] 20	 <p>绝对立体化学</p>
21	 <p>绝对立体化学</p>

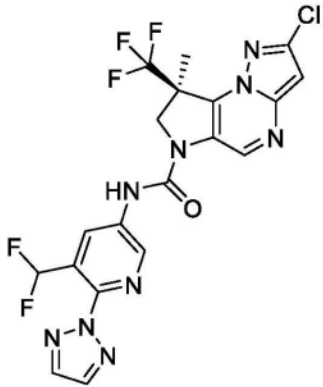
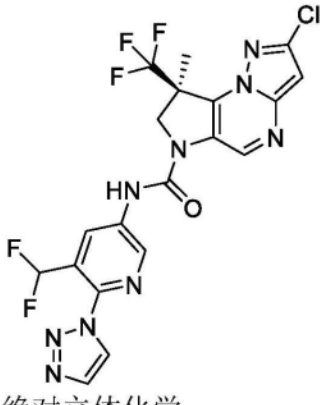
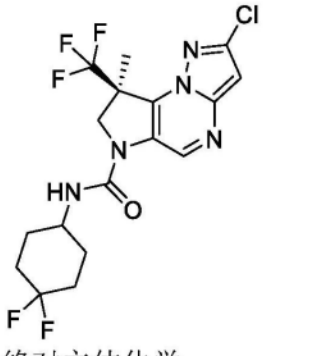
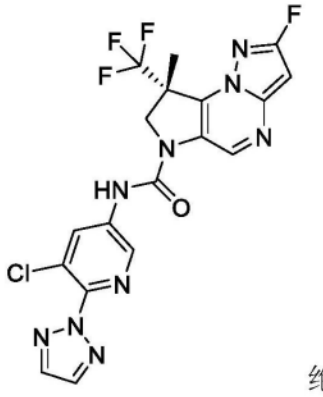
22	 <p>绝对立体化学</p>
[0548] 23	 <p>绝对立体化学</p>
24	 <p>绝对立体化学</p>

25	 <p>绝对立体化学</p>
26	 <p>绝对立体化学</p>
27	 <p>绝对立体化学</p>
28	 <p>绝对立体化学</p>

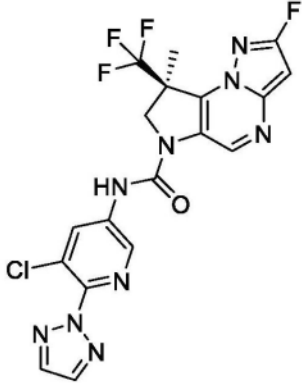
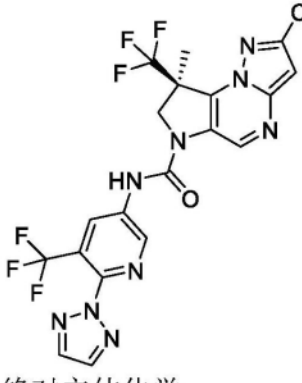
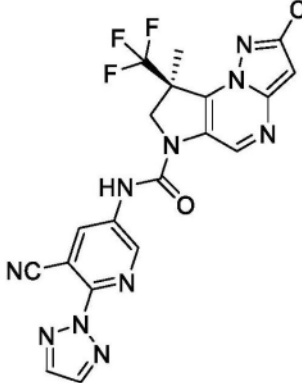
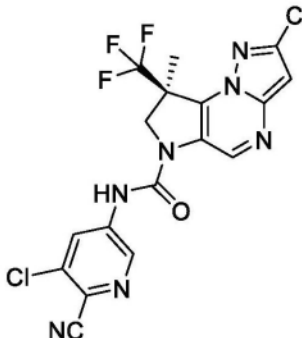
[0549]

29	 <p>绝对立体化学</p>
[0550] 30	 <p>绝对立体化学</p>
31	

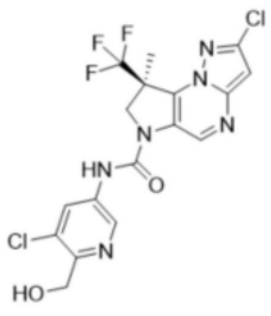
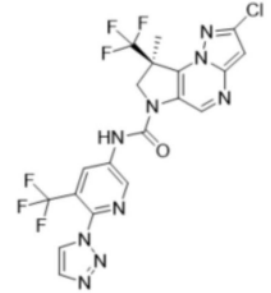
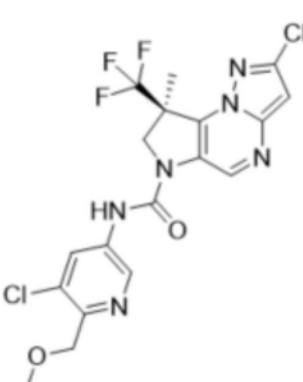
32	
[0551] 33	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
34	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>

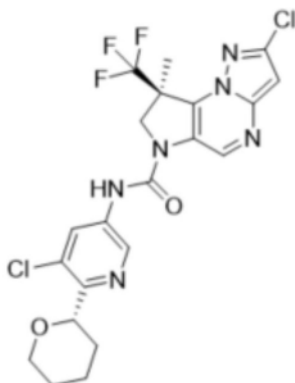
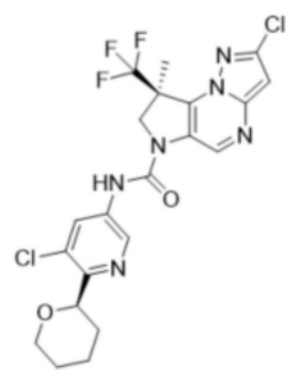
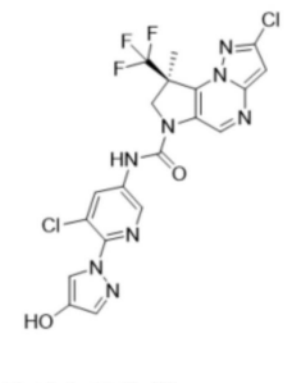
35	 <p>绝对立体化学</p>
36	 <p>绝对立体化学</p>
37	 <p>绝对立体化学</p>
38	 <p>绝对立体化学</p>

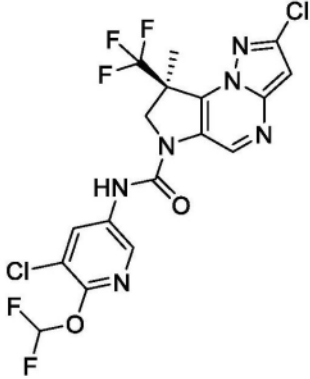
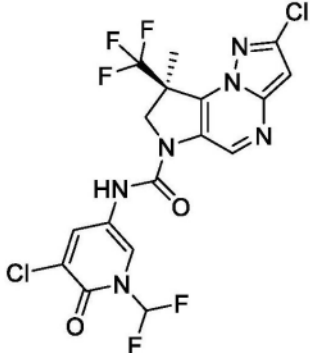
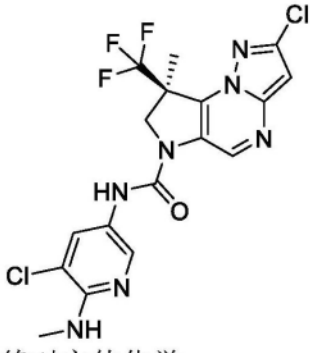
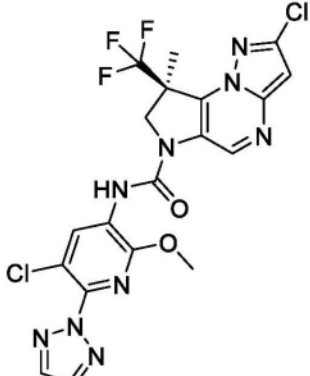
[0552]

39	 <p>绝对立体化学</p>
40	 <p>绝对立体化学</p>
41	 <p>绝对立体化学</p>
42	 <p>绝对立体化学</p>

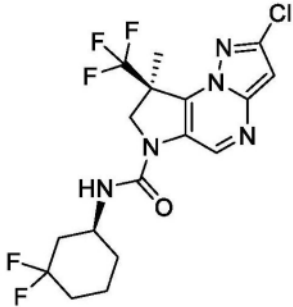
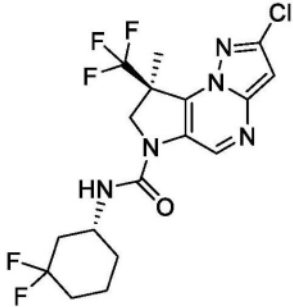
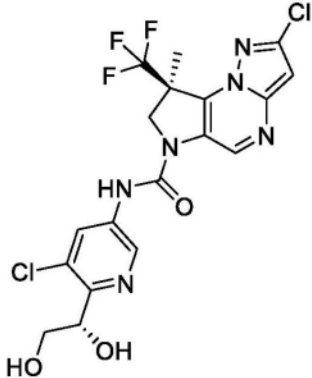
[0553]

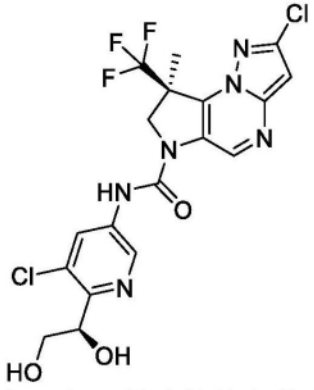
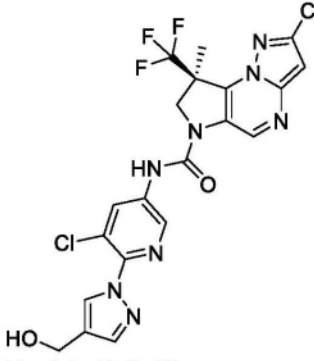
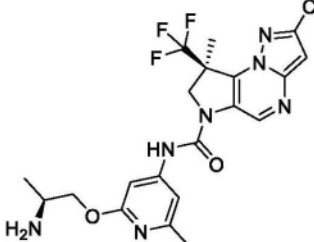
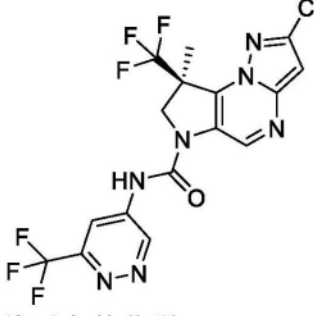
43	 <p>绝对立体化学</p>
[0554] 44	 <p>绝对立体化学</p>
45	 <p>绝对立体化学</p>

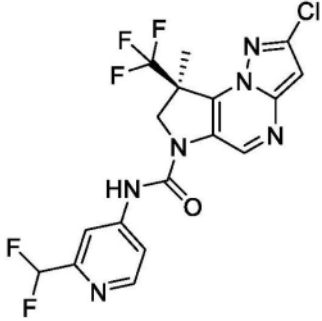
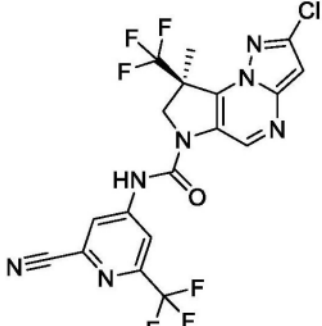
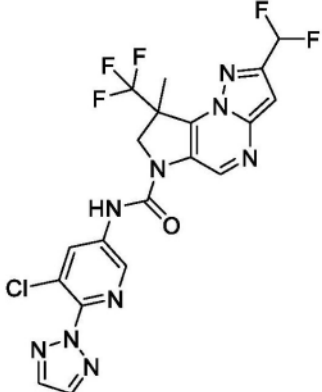
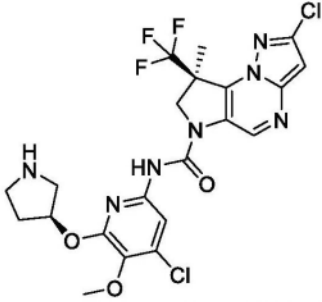
46	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
[0555] 47	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
48	 <p>绝对立体化学</p>

49	 <p>绝对立体化学</p>
50	 <p>绝对立体化学</p>
51	 <p>绝对立体化学</p>
52	 <p>绝对立体化学</p>

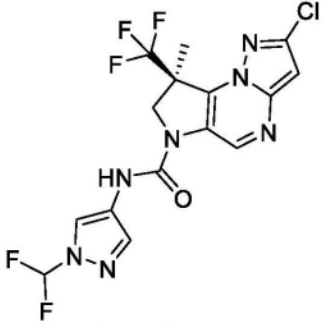
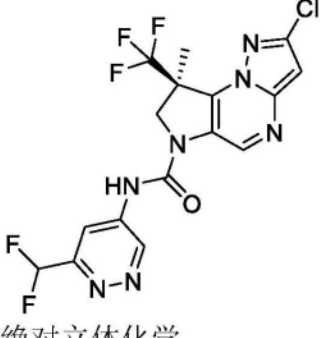
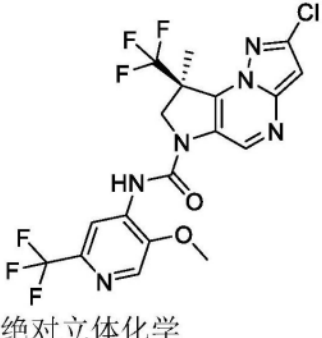
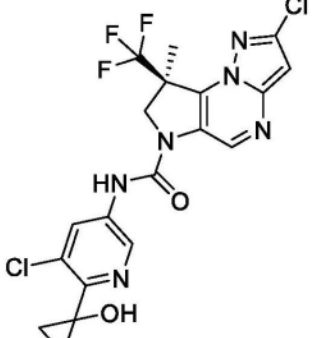
[0556]

53	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
[0557] 54	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
55	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>

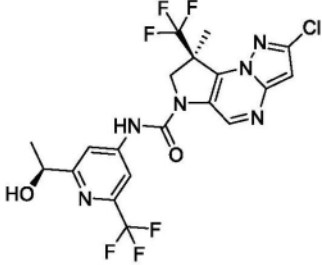
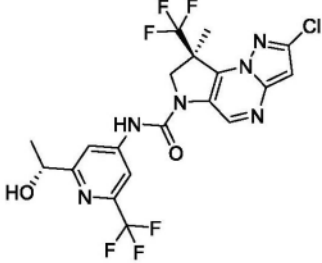
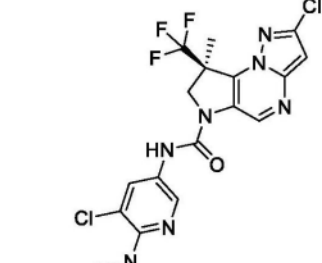
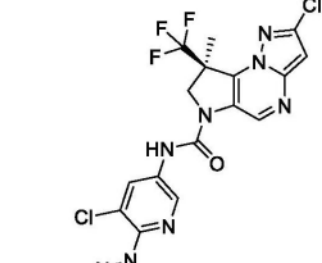
56	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
57 [0558]	 <p>绝对立体化学</p>
58	 <p>两个立体中心的立体化学是绝对的</p>
59	 <p>绝对立体化学</p>

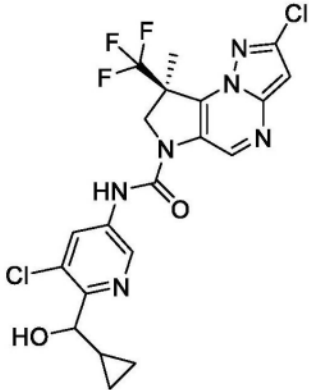
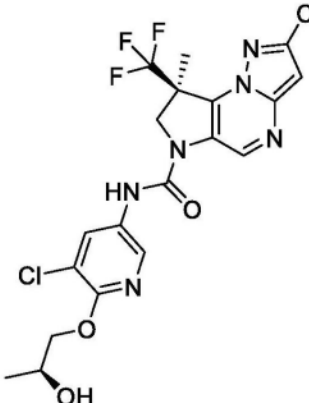
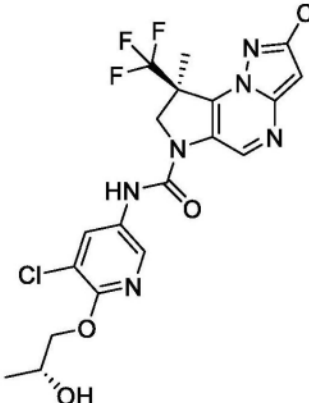
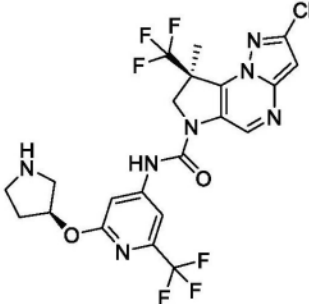
60	 <p>绝对立体化学</p>
61	 <p>绝对立体化学</p>
62	 <p></p>
63	 <p>两个立体中心的立体化学是绝对的</p>

[0559]

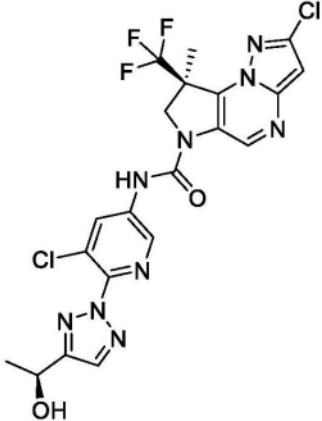
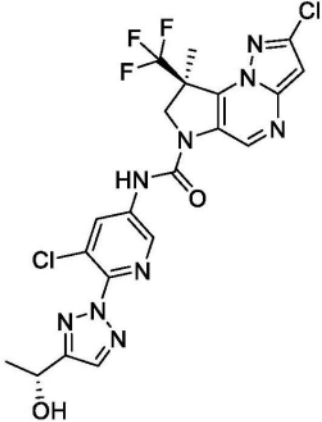
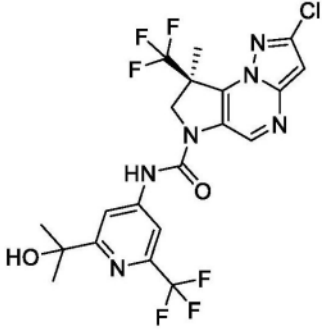
64	 <p>绝对立体化学</p>
65	 <p>绝对立体化学</p>
66	 <p>绝对立体化学</p>
67	 <p>绝对立体化学</p>

[0560]

68	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
69	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
[0561] 70	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
71	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>

72	 <p>绝对立体化学</p>
73	 <p>两个立体中心的立体化学是绝对的</p>
74	 <p>两个立体中心的立体化学是绝对的</p>
75	 <p>两个立体中心的立体化学是绝对的</p>

[0562]

76	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
[0563] 77	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
78	 <p>绝对立体化学</p>

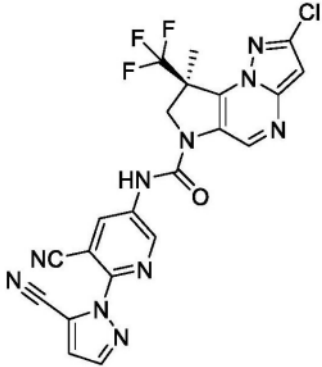
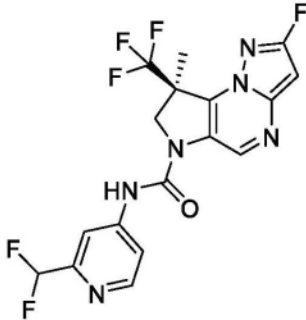
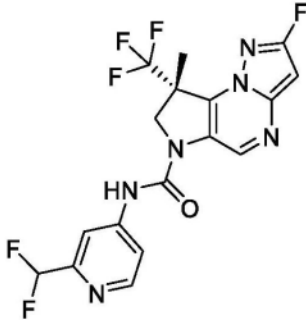
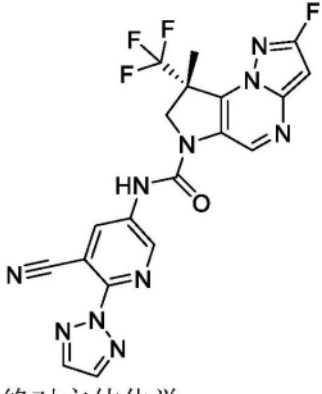
79	<p>绝对立体化学</p>
80	<p>绝对立体化学</p>
81	<p>绝对立体化学</p>
82	<p>两个立体中心的立体化学是绝对的</p>

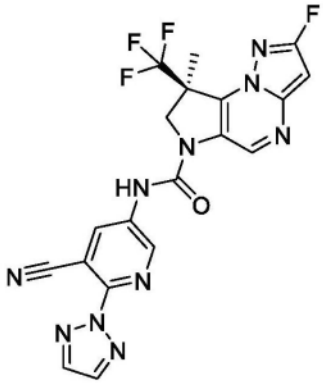
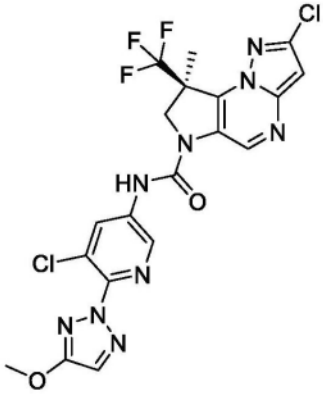
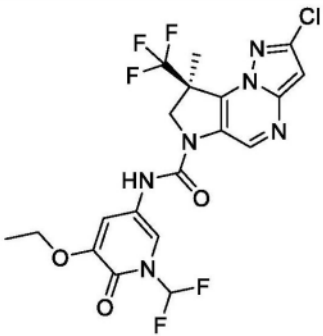
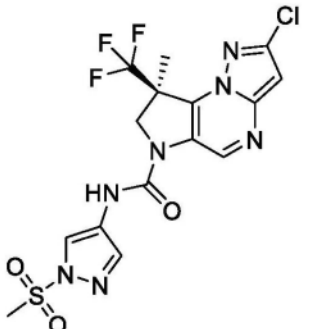
[0564]

83	<p>绝对立体化学</p>
84	<p>两个立体中心的立体化学是绝对的</p>
85	<p>绝对立体化学</p>
86	<p>绝对立体化学</p>

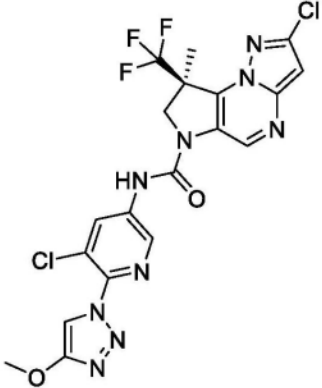
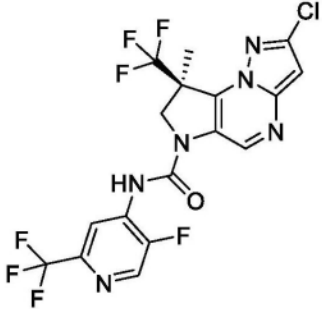
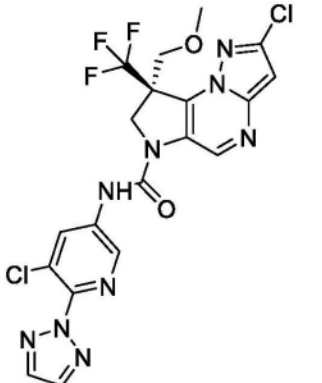
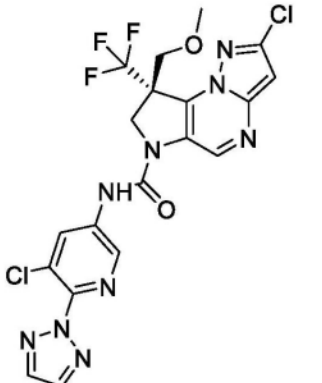
[0565]

[0566]

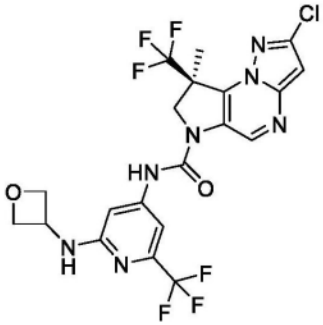
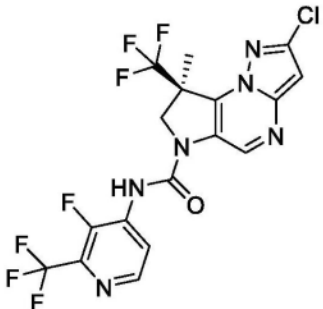
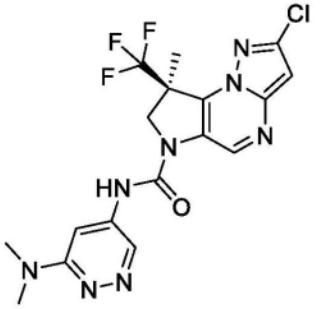
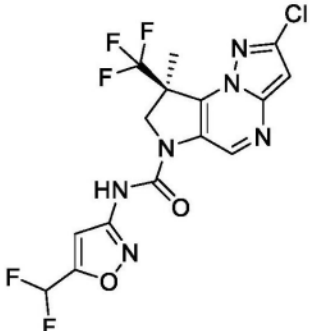
87	 <p>绝对立体化学</p>
88	 <p>绝对立体化学</p>
89	 <p>绝对立体化学</p>
90	 <p>绝对立体化学</p>

91	 <p>绝对立体化学</p>
92	 <p>绝对立体化学</p>
93	 <p>绝对立体化学</p>
94	 <p>绝对立体化学</p>

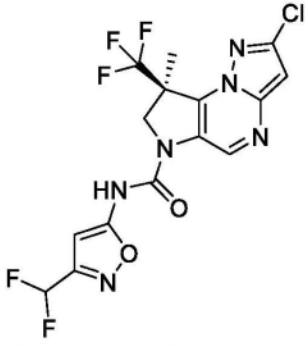
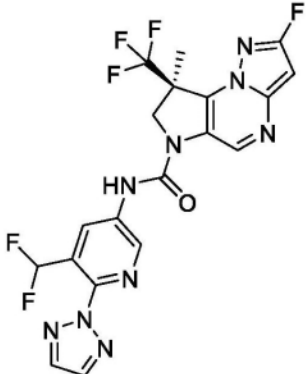
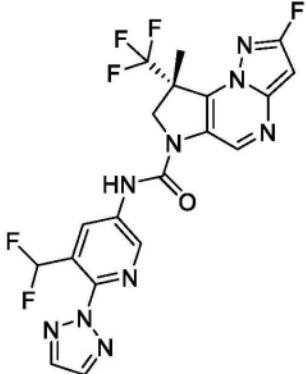
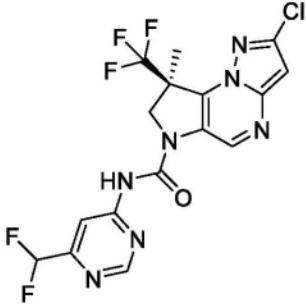
[0567]

95	 <p>绝对立体化学</p>
96	 <p>绝对立体化学</p>
97	
98	

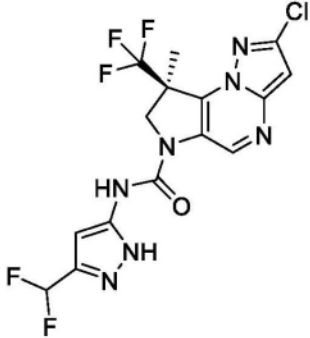
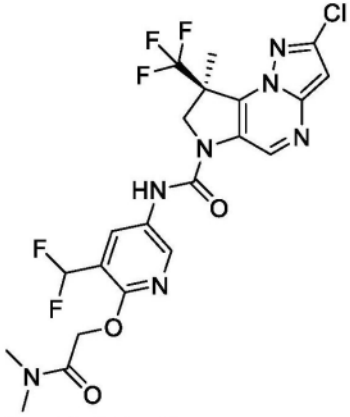
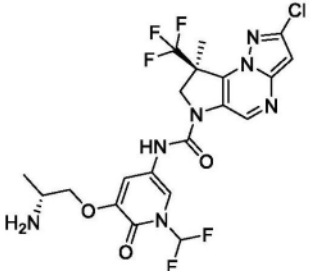
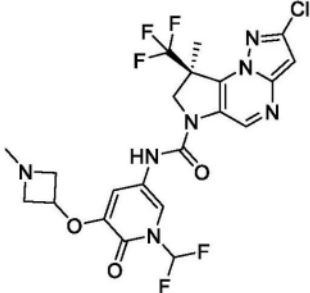
[0568]

99	 <p>绝对立体化学</p>
100	 <p>绝对立体化学</p>
101	 <p>绝对立体化学</p>
102	 <p>绝对立体化学</p>

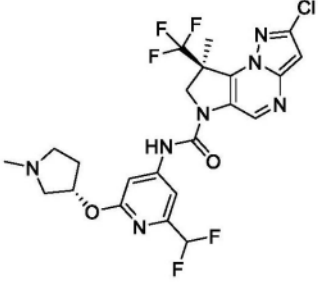
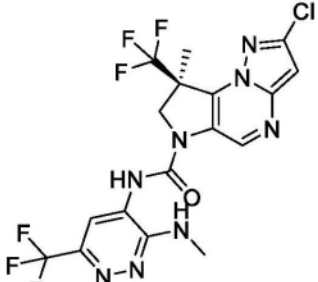
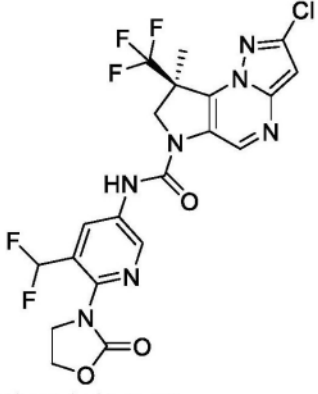
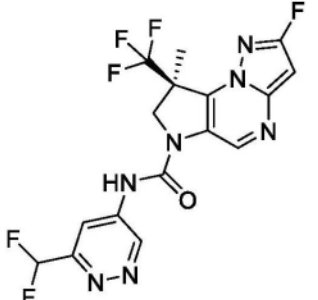
[0569]

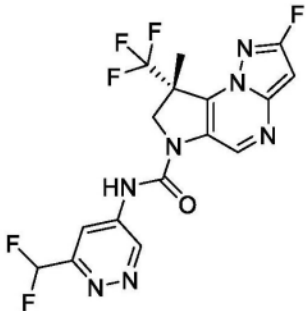
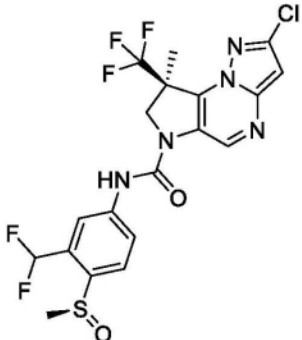
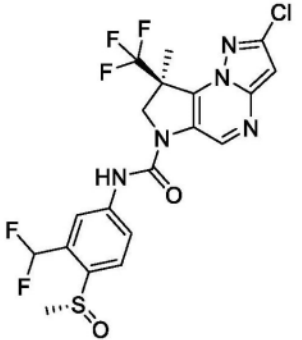
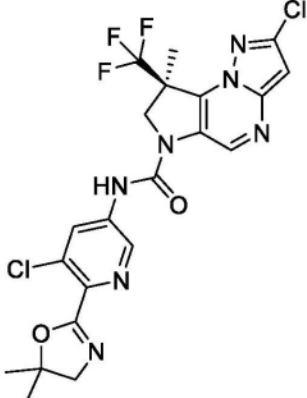
103	 <p>绝对立体化学</p>
104	 <p>绝对立体化学</p>
105	 <p>绝对立体化学</p>
106	 <p>绝对立体化学</p>

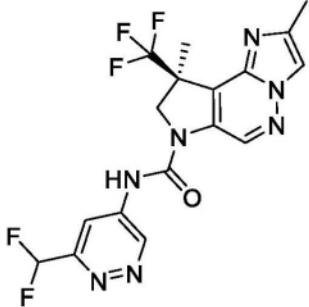
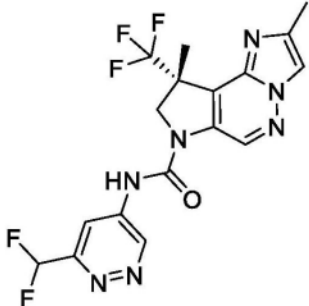
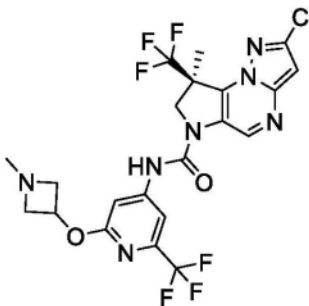
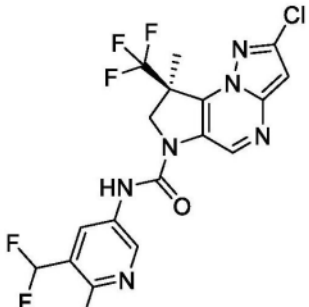
[0570]

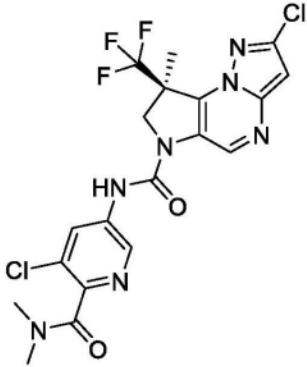
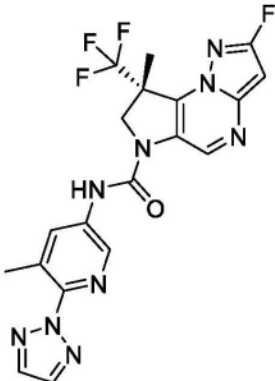
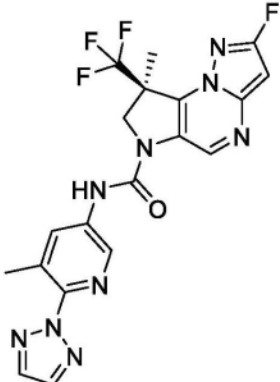
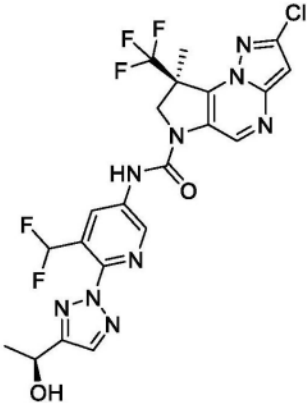
107	 <p>绝对立体化学</p>
108	 <p>绝对立体化学</p>
109	 <p>两个立体中心的立体化学是绝对的</p>
110	 <p>绝对立体化学</p>

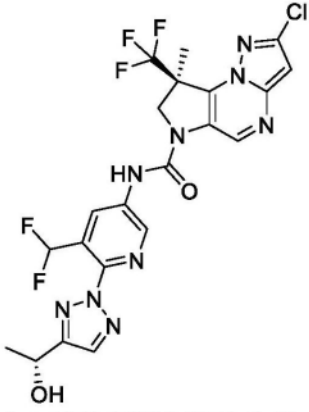
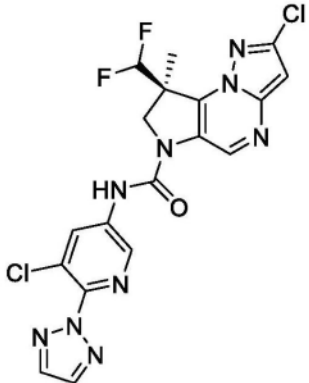
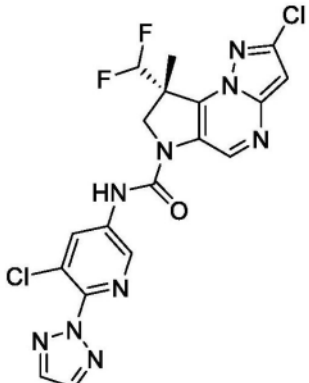
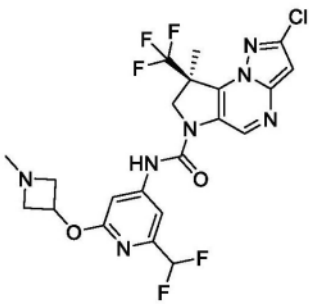
[0571]

111	 <p>两个立体中心的立体化学是绝对的</p>
112	 <p>绝对立体化学</p>
[0572] 113	 <p>绝对立体化学</p>
114	

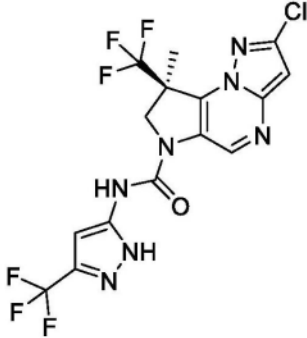
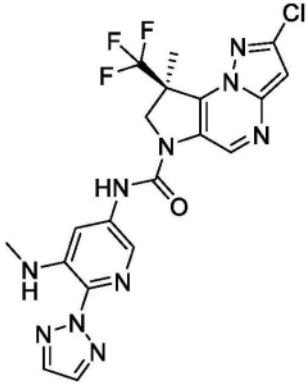
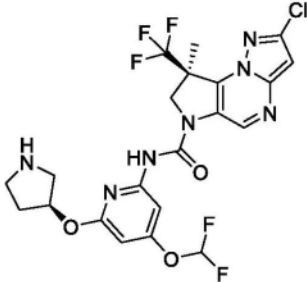
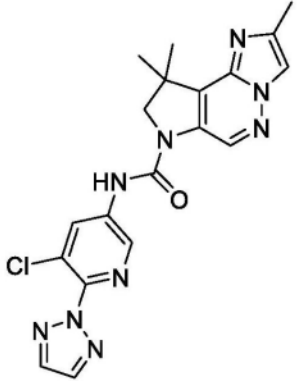
115	
116	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
[0573] 117	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
118	 <p>绝对立体化学</p>

119	
120	
[0574] 121	 <p>绝对立体化学</p>
122	 <p>绝对立体化学</p>

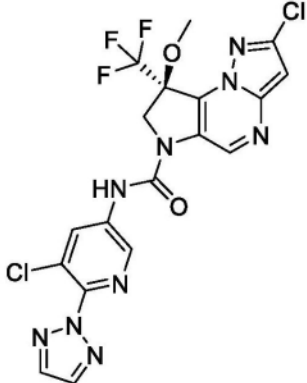
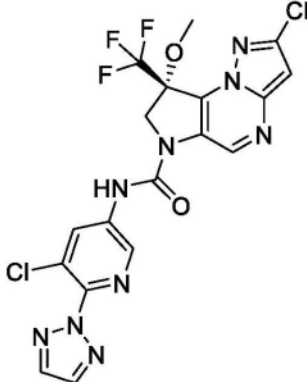
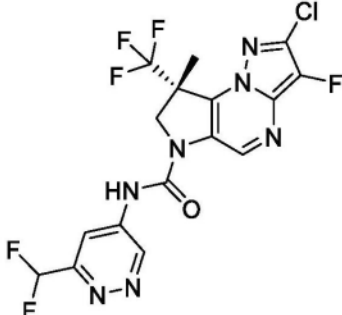
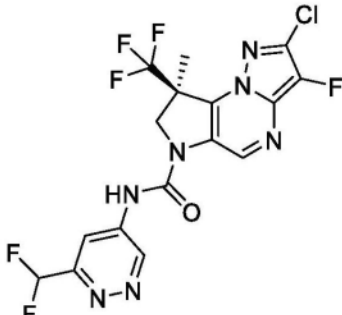
123	 <p>绝对立体化学</p>
124	
[0575] 125	
126	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>

127	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
128	
129	
130	 <p>绝对立体化学</p>

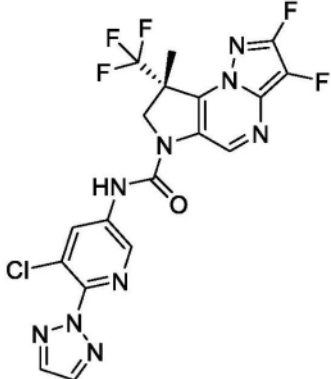
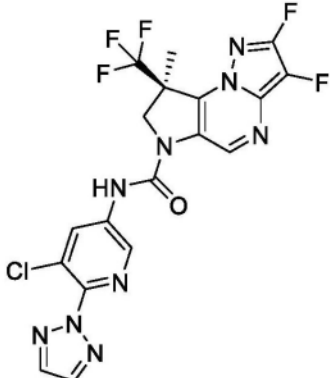
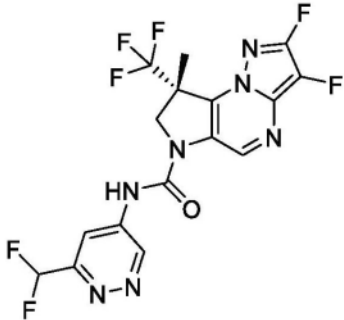
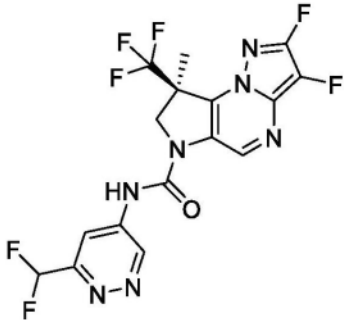
[0576]

131	 <p>绝对立体化学</p>
132	 <p>绝对立体化学</p>
133	 <p>两个立体中心的立体化学是绝对的</p>
134	

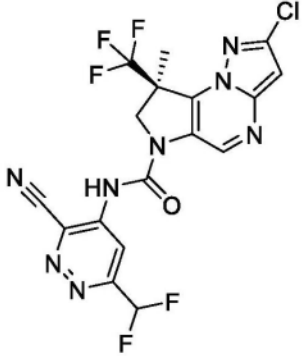
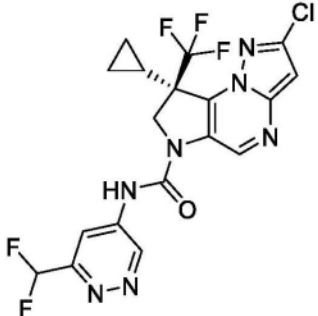
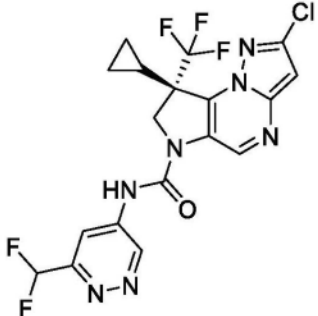
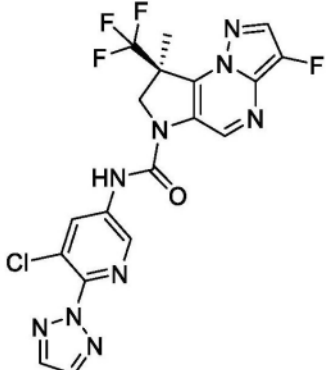
[0577]

135	
136	
137	
138	

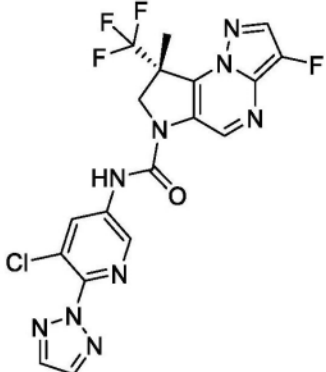
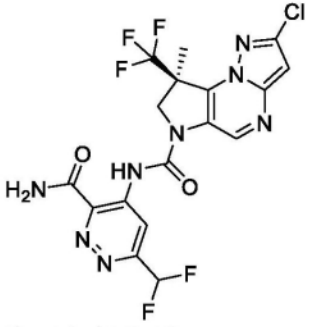
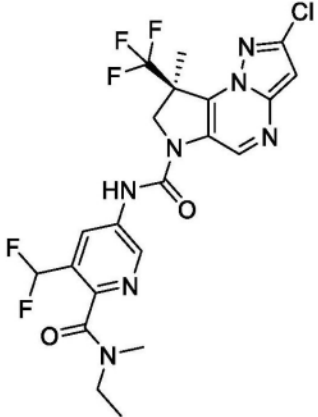
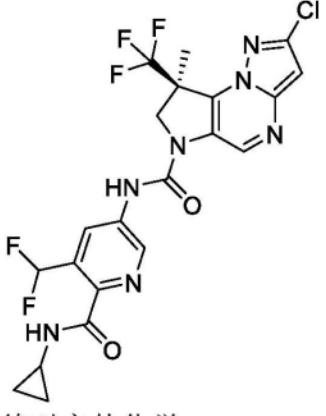
[0578]

139	
140	
141	
142	

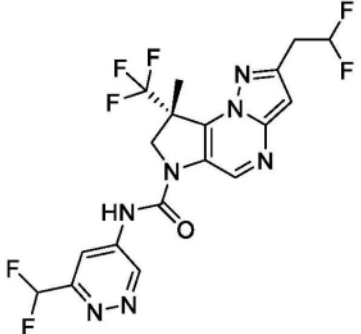
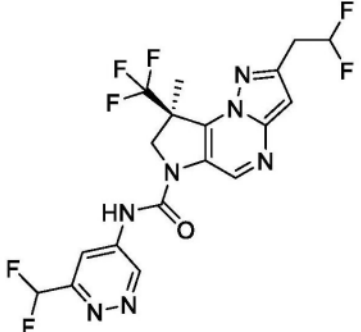
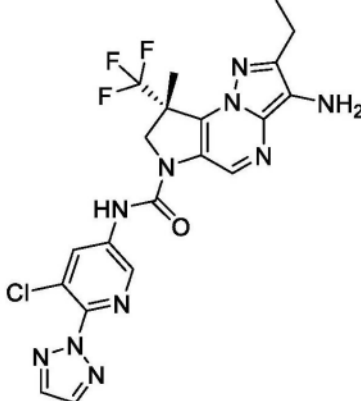
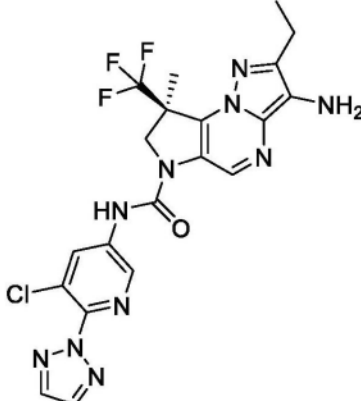
[0579]

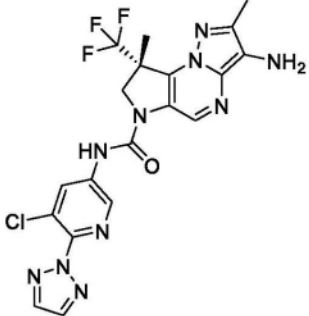
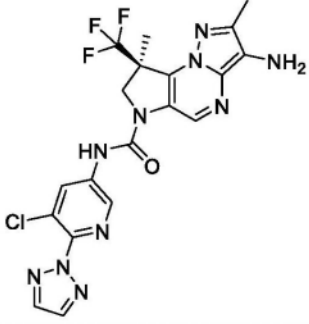
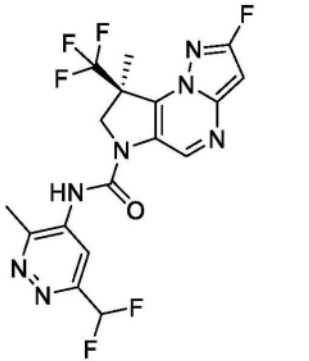
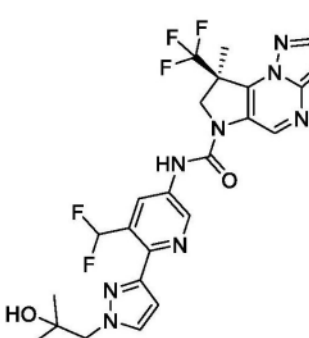
143	 <p>绝对立体化学</p>
144	
145	
146	

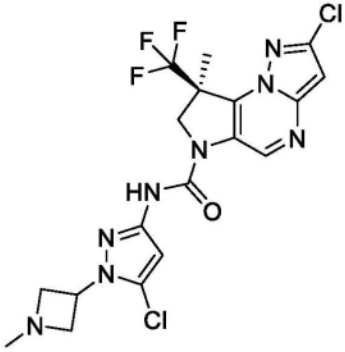
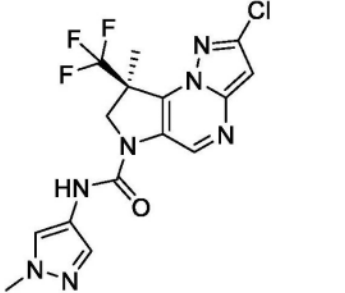
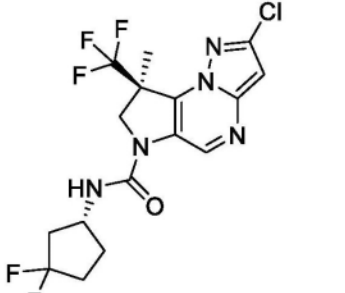
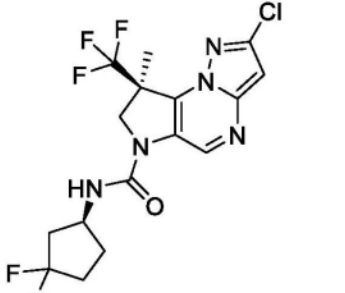
[0580]

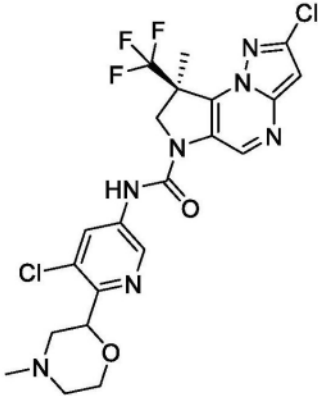
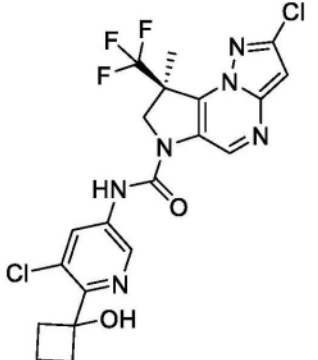
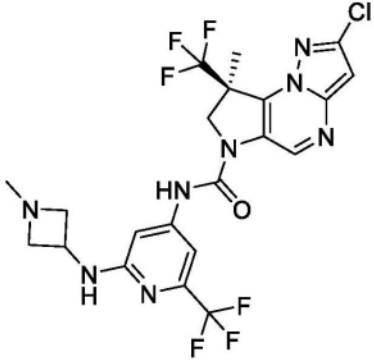
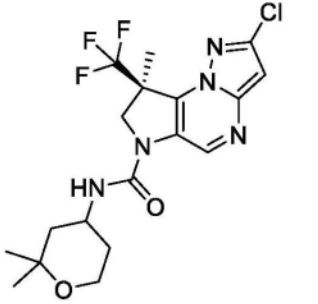
147	
148	 <p>绝对立体化学</p>
[0581] 149	 <p>绝对立体化学</p>
150	 <p>绝对立体化学</p>

151	<p>绝对立体化学</p>
152	<p>[0582]</p>
153	<p>[0582]</p>
154	<p>绝对立体化学</p>

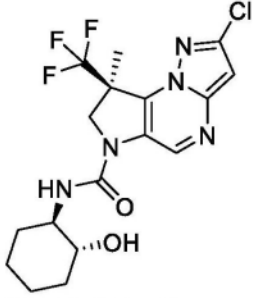
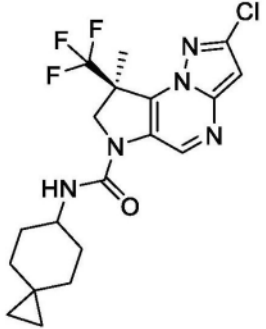
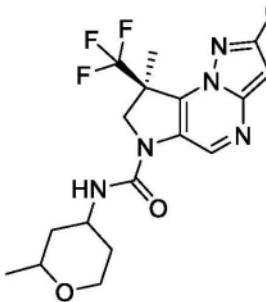
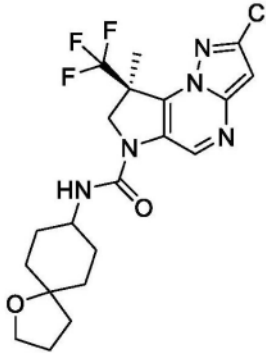
155	
156	
[0583] 157	
158	

159	
160	
[0584] 161	 <p>绝对立体化学</p>
162	 <p>绝对立体化学</p>

163	 <p>绝对立体化学</p>
164	 <p>绝对立体化学</p>
[0585] 165	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
166	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>

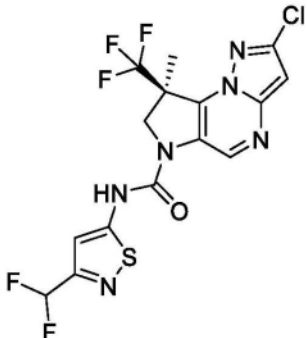
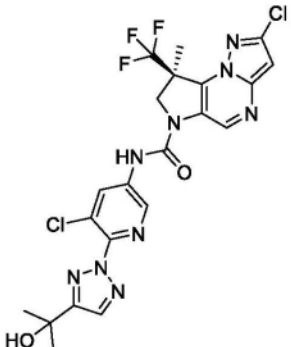
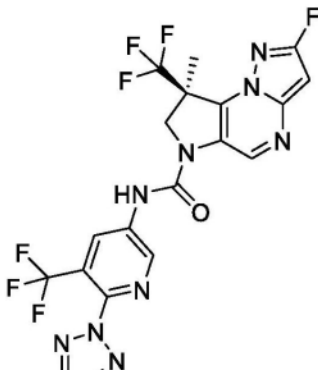
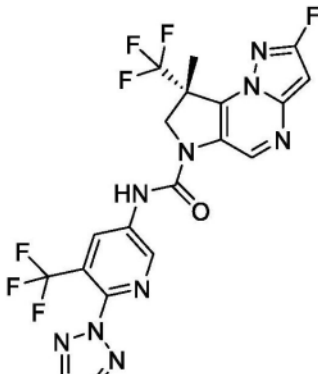
167	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
168	 <p>绝对立体化学</p>
169	 <p>绝对立体化学</p>
170	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>

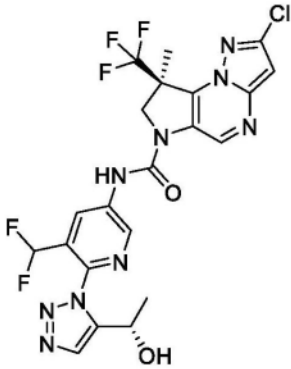
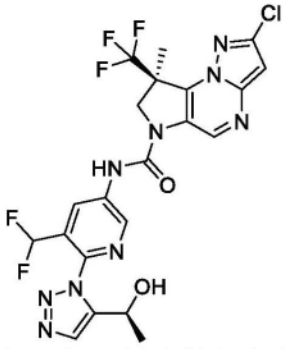
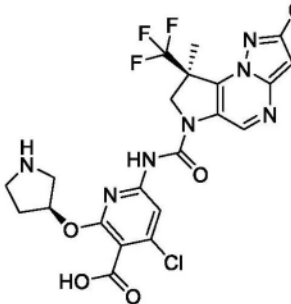
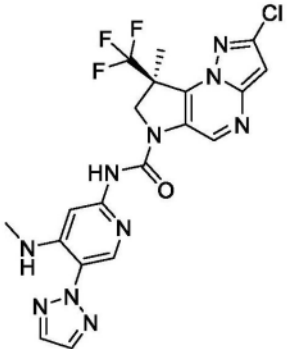
[0586]

171	 <p>绝对立体化学</p>
172	 <p>绝对立体化学</p>
[0587] 173	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
174	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>

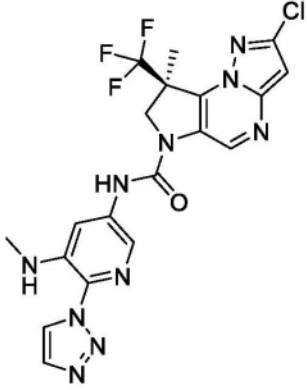
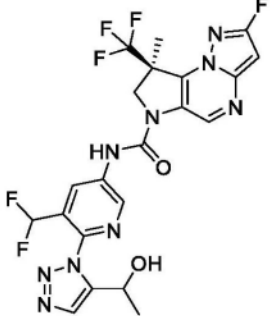
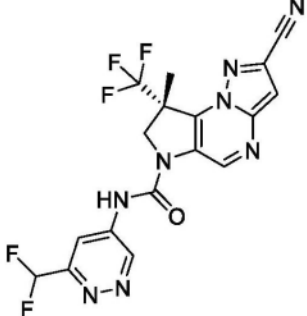
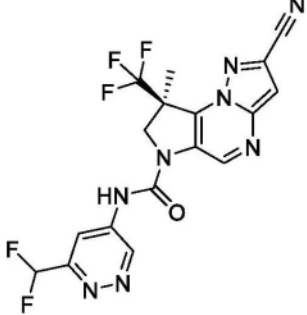
175	<p>绝对立体化学</p>
176	<p>绝对立体化学</p>
177	<p>绝对立体化学</p>
178	<p>绝对立体化学</p>

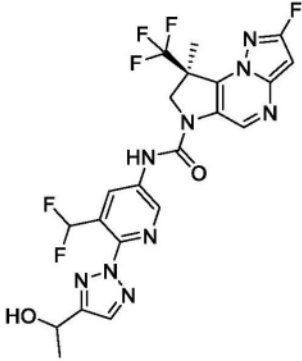
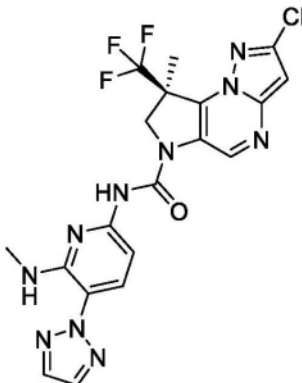
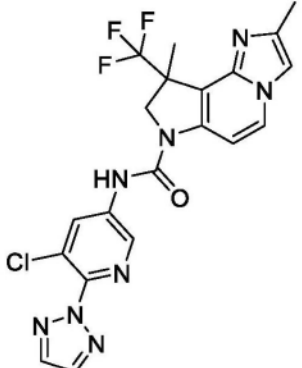
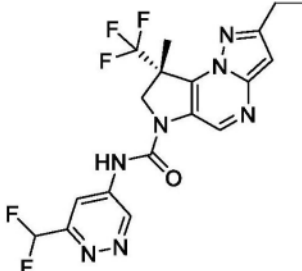
[0588]

179	 <p>绝对立体化学</p>
180	 <p>绝对立体化学</p>
[0589] 181	 <p>绝对立体化学</p>
182	 <p>绝对立体化学</p>

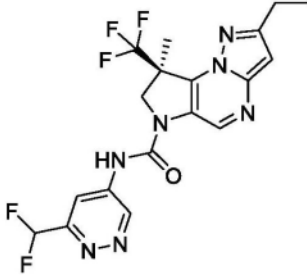
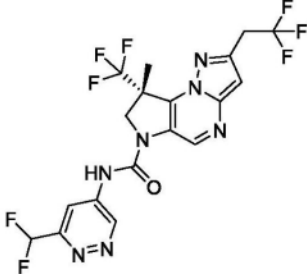
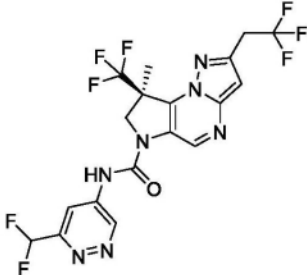
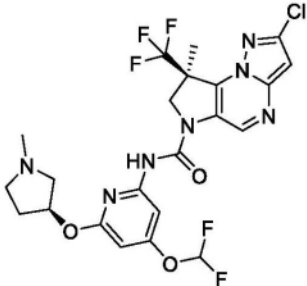
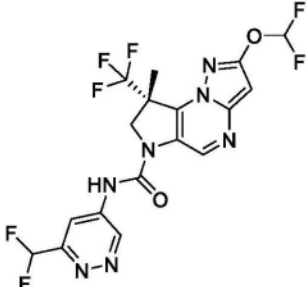
183	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
184	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
185	 <p>两个立体中心的立体化学是绝对的</p>
186	 <p>绝对立体化学</p>

[0590]

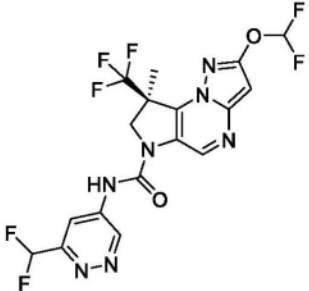
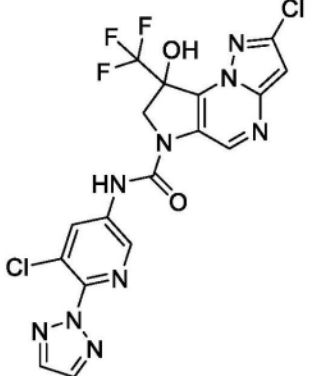
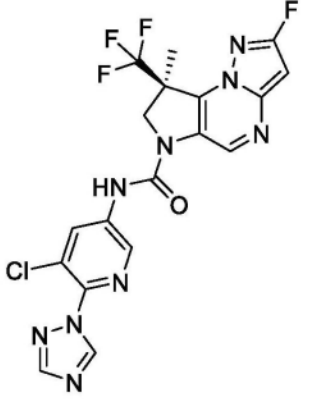
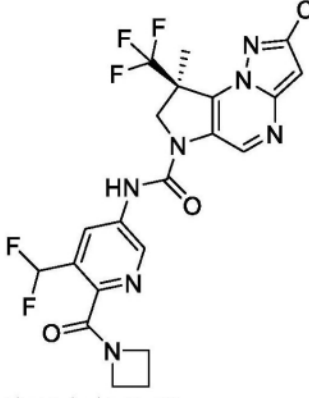
187	 <p>绝对立体化学</p>
[0591] 188	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
189	
190	

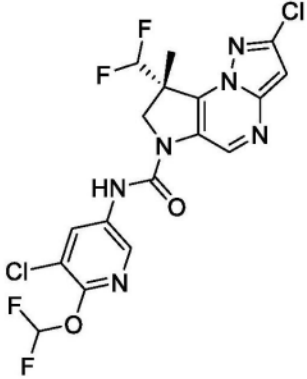
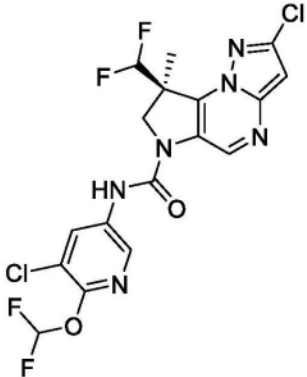
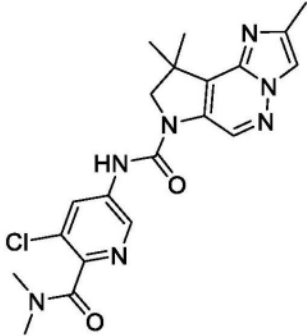
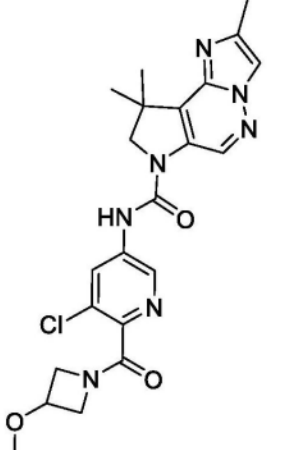
191	 <p>与三氟甲基连接的立体中心的立体化学是绝对的</p>
192	 <p>绝对立体化学</p>
193	
194	

[0592]

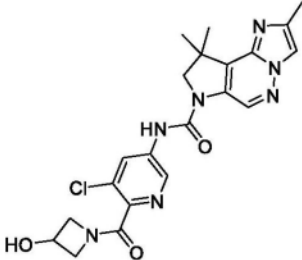
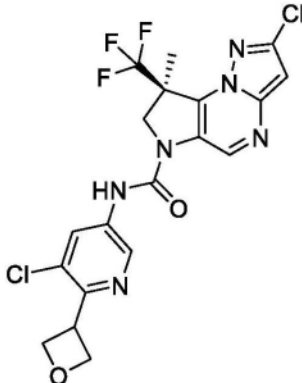
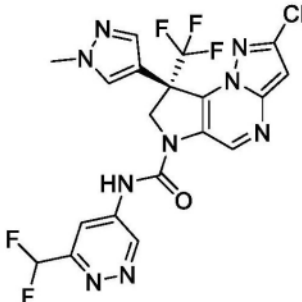
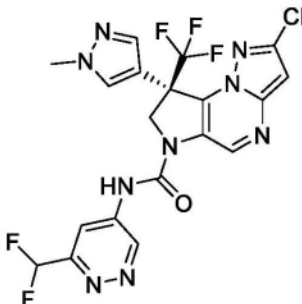
195	
196	
197	
198	 <p>两个立体中心的立体化学是绝对的</p>
199	

[0593]

200	
201	
[0594] 202	 <p>绝对立体化学</p>
203	 <p>绝对立体化学</p>

204	
205	
206	
207	

[0595]

208	
209	 <p>绝对立体化学</p>
210	
211	

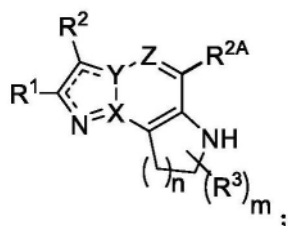
[0596]

[0597] 制备过程

[0598] 本文提供了制备式 (I) 化合物 (例如, 本文所述的任何化合物) 的过程, 所述过程包括:

[0599] 使式 (I-A) 化合物

[0600]

[0601] 与R⁴-NH₂反应;

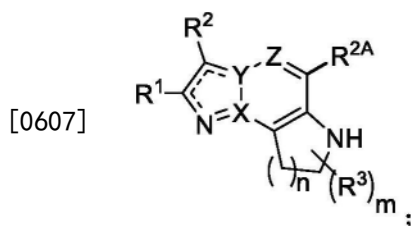
[0602] 以形成式 (I) 化合物。

[0603] 在一些实施例中,使式 (I-A) 化合物与 R^4-NH_2 反应包括使式 (I-A) 化合物和 R^4-NH_2 中的一个与羰基等价物反应以形成中间体,然后使式 (I-A) 化合物和 R^4-NH_2 中的另一个与前述中间体反应。在这些实施例中的一些实施例中,使式 (I-A) 化合物与 R^4-NH_2 反应包括使 R^4-NH_2 与羰基等价物反应以形成中间体,然后使式 (I-A) 化合物与前述中间体反应。在任何前述实施例中,“羰基等价物”是指用羰基部分替换式 (I-A) 化合物和/或 R^4-NH_2 中的NH基团的试剂。羰基等价物的非限制性实例包含三光气和碳酸双(三氯甲基)酯。

[0604] 在一些实施例中,使式 (I-A) 化合物与 R^4-NH_2 反应包括使式 (I-A) 化合物和 R^4-NH_2 中的一个与选自三光气和碳酸双(三氯甲基)酯的羰基等价物反应以形成中间体,然后使式 (I-A) 化合物和 R^4-NH_2 中的另一个与前述中间体反应。在这些实施例中的一些实施例中,使式 (I-A) 化合物与 R^4-NH_2 反应包括使 R^4-NH_2 与选自三光气和碳酸双(三氯甲基)酯的羰基等价物反应以形成中间体,然后使式 (I-A) 化合物与前述中间体反应。在一些实施例中,羰基等价物是三光气。在一些实施例中,羰基等价物是碳酸双(三氯甲基)酯。

[0605] 本文提供了制备式 (I) 化合物(例如,本文所述的任何化合物)的过程,所述过程包括:

[0606] 使式 (I-A) 化合物

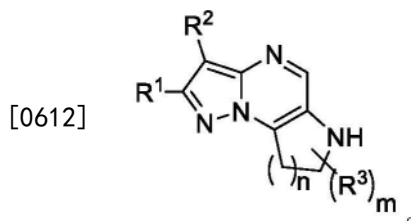


[0608] 与 $R^4-C(O)OH$ 反应;

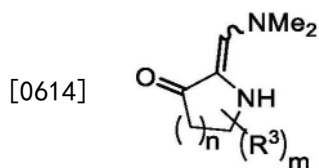
[0609] 以形成式 (I) 化合物。

[0610] 在一些实施例中,使式 (I-A) 化合物与 $R^4-C(O)OH$ 反应包括使 $R^4-C(O)OH$ 与二苯基磷酰叠氮化物反应(例如,以形成中间体(例如, $R^4-C(O)N_3$)),然后在存在式 (I-A) 化合物的情况下加热(以例如形成第二中间体(例如, $R^4-N=C=O$)),以形成式 (I) 化合物

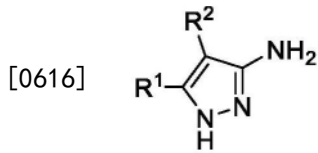
[0611] 在一些实施例中,式 (I-A) 化合物是式 (I-A-N) 化合物:



[0613] 在一些实施例中,当式 (I-A) 化合物是式 (I-A-N) 化合物时,所述过程进一步包括使式 (I-A-N-i) 化合物



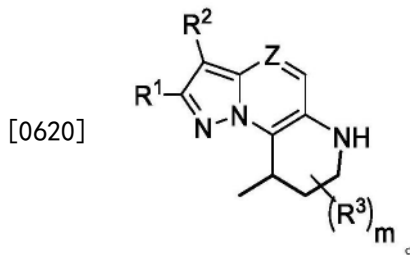
[0615] 与式 (I-A-N-ii) 化合物反应



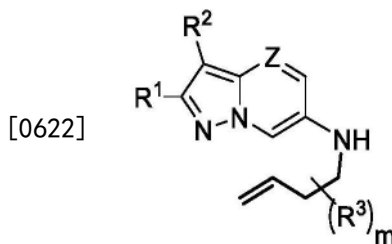
[0617] 以形成式 (I-A-N) 化合物。

[0618] 在某些实施例中,在存在酸(如有机或无机酸)的情况下进行式 (I-A-N-i) 化合物与式 (I-A-N-ii) 化合物的反应。在一些实施例中,酸是盐酸或乙酸。

[0619] 在一些实施例中,式 (I-A) 化合物是式 (I-A-M) 化合物:



[0621] 在一些实施例中,当式 (I-A) 化合物是式 (I-A-M) 化合物时,所述过程进一步包括使式 (I-A-M-i) 化合物反应



[0623] 以形成式 (I-A-M) 化合物。

[0624] 在这些实施例中的一些实施例中,使式 (I-A-M-i) 化合物与铁盐、硅烷、过氧化物和酸反应以形成式 (I-A-M) 的化合物。在一些实施例中,铁盐是 (Z) - 4-氧基戊-2-烯-2-醇铁。在一些实施例中,硅烷是苯基硅烷。在一些实施例中,过氧化物是2-叔丁基过氧-2-甲基-丙烷。在一些实施例中,酸是2,2,2-三氟乙酸。

[0625] 治疗方法

[0626] 一些实施例提供了在需要此类治疗的受试者中治疗自身免疫性疾病(例如,MALT1相关性自身免疫性疾病)的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的式 (I) 化合物,或其药学上可接受的盐或其药物组合物。在一些实施例中,所述自身免疫性疾病是类风湿性关节炎、多发性硬化或系统性红斑狼疮 (SLE)。

[0627] 一些实施例提供了在需要此类治疗的受试者中治疗炎性疾病(例如,MALT1相关性炎性疾病)的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的式 (I) 化合物,或其药学上可接受的盐或其药物组合物。在一些实施例中,所述炎性疾病是慢性移植物抗宿主病 (cGVHD)。

[0628] 一些实施例提供了在需要此类治疗的受试者中治疗癌症(例如,MALT1相关性癌症)的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的式 (I) 化合物,或其药学上可接受的盐或其药物组合物。例如,本文提供了用于在需要此类治疗的受试者中治疗MALT1相关性癌症的方法,所述方法包括a) 在来自受试者的样品中检测MALT1基因、MALT1蛋白酶或二者中

任一个的表达或活性或水平的失调;以及b)施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,MALT1基因、MALT1蛋白酶或二者中任一个的表达或活性或水平的失调包含一个或多个融合蛋白。

[0629] 在本文描述的任何方法或用途的一些实施例中,所述癌症(例如,MALT1相关性癌症)是血液癌症。在本文描述的任何方法或用途的一些实施例中,所述癌症(例如,MALT1相关性癌症)是实体瘤。在本文描述的任何方法或用途的一些实施例中,所述癌症(例如,MALT1相关性癌症)是肺癌(例如,小细胞肺癌或非小细胞肺癌)、甲状腺癌(例如,乳头状甲状腺癌、甲状腺髓样癌(例如,散发性甲状腺髓样癌或遗传性甲状腺髓样癌)、分化型甲状腺癌、复发性甲状腺癌或难治性分化型甲状腺癌)、甲状腺腺瘤、内分泌腺肿瘤、肺腺癌、细支气管肺癌、2A或2B型多发性内分泌肿瘤(分别为MEN2A或MEN2B)、嗜铬细胞瘤、甲状旁腺增生、乳腺癌、乳腺癌、乳腺瘤、乳腺肿瘤、结直肠癌(例如,转移性结直肠癌)、乳头状肾细胞癌、胃肠粘膜神经节神经瘤病、炎性肌纤维母细胞瘤或子宫颈癌。在本文描述的任何方法或用途的一些实施例中,所述癌症(例如,MALT1相关性癌症)选自由以下组成的组:急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓细胞性白血病(AML)、青少年癌症、肾上腺皮质癌、肛门癌、阑尾癌、星形细胞瘤、非典型畸形瘤/横纹肌样瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脑干神经胶质瘤、脑瘤、乳腺癌、支气管肿瘤、伯基特淋巴瘤(Burkitt lymphoma)、类癌瘤、未知的原发性癌、心脏肿瘤、子宫颈癌、儿童期癌症、脊索瘤、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性骨髓增生性肿瘤、按部位分布的肿瘤、肿瘤、结肠癌、结直肠癌、颅咽管瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、皮肤血管肉瘤、胆管癌、原位导管癌、胚胎肿瘤、子宫内膜癌、室管膜瘤、食道癌、嗅神经母细胞瘤、尤文肉瘤(Ewing sarcoma)、颅外生殖细胞肿瘤、性腺外生殖细胞肿瘤、肝外胆管癌、眼癌、输卵管癌、骨纤维组织细胞瘤、胆囊癌、胃癌、胃肠道类癌、胃肠道间质瘤(GIST)、生殖细胞瘤、妊娠滋养细胞疾病、胶质瘤、毛细血管瘤、毛细血管瘤、头颈癌、胸腔肿瘤、头颈肿瘤、CNS肿瘤、原发性CNS肿瘤、心脏病、肝细胞癌、组织细胞增生、霍奇金淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)、下咽癌、眼内黑色素瘤、胰岛细胞瘤、胰腺神经内分泌肿瘤、卡波济肉瘤(Kaposi sarcoma)、肾癌、朗格汉斯细胞组织细胞增多症(Langerhans cell histiocytosis)、喉癌、白血病、嘴唇和口腔癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、巨球蛋白血症、骨恶性纤维组织细胞瘤、骨癌、黑色素瘤、默克尔细胞癌(Merkel cell carcinoma)、间皮瘤、转移性鳞状颈癌、中线癌、口腔癌、多发性内分泌肿瘤综合征、多发性骨髓瘤、蕈样肉芽肿、骨髓增生异常综合征、骨髓增生异常/骨髓增生性肿瘤、按部位分布的肿瘤、肿瘤、骨髓性白血病、髓样白血病、多发性骨髓瘤、骨髓增生性肿瘤、鼻腔和鼻窦癌、鼻咽癌、成神经细胞瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小细胞肺癌、肺肿瘤、肺癌、肺部肿瘤、呼吸道肿瘤、支气管癌、支气管肿瘤、口癌、口腔癌、唇癌、口咽癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、乳头状瘤病、副神经节瘤、鼻窦和鼻腔癌、甲状旁腺癌、阴茎癌、咽癌、嗜铬细胞瘤、垂体癌、浆细胞瘤、胸膜肺母细胞瘤、与妊娠有关的乳腺癌、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性腹膜癌、前列腺癌、直肠癌、结肠癌、结肠肿瘤、肾细胞癌、横纹肌肉瘤、唾液腺癌、肉瘤、塞泽里综合征(Sezary syndrome)、皮肤癌、斯皮茨瘤(Spitz tumor)、小细胞肺癌、小肠癌、软组织肉瘤、鳞状细胞癌、鳞状颈癌、胃癌、T细胞淋巴瘤、睾丸癌、喉癌、胸腺瘤和胸腺癌、甲状腺癌、肾盂的移行细胞癌、未知的原发性癌、尿道癌、子宫癌、子宫肉瘤、阴道癌、外阴癌和维耳姆斯瘤(Wilms' tumor)。

[0630] 在一些实施例中,所述癌症是血液癌症,如白血病或淋巴瘤。在一些实施例中,血

液癌症(例如,作为MALT1相关性癌症的血液癌症)选自由以下组成的组:白血病、淋巴瘤(非霍奇金淋巴瘤)、霍奇金病(也被称为霍奇金淋巴瘤)和骨髓瘤,例如,急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓细胞性白血病(AML)、急性早幼粒细胞性白血病(APL)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性粒细胞性白血病(CML)、慢性粒细胞性白血病(CMML)、慢性中性粒细胞性白血病(CNL)、急性未分化的白血病(AUL)、间变性大细胞淋巴瘤(ALCL)、淋巴细胞性白血病(PML)、青少年骨髓单核细胞白血病(JMML)、成人T细胞ALL、伴有三系骨髓增生异常的AML(AML/TMDS)、混合谱系白血病(MLL)、骨髓增生异常综合征(MDS)、骨髓增生异常(MPD)和多发性骨髓瘤(MM)。血液癌症的另外的实例包含骨髓增生异常(MPD),如真性红细胞增多症(PV)、原发性血小板减少症(ET)和特发性原发性骨髓纤维化(IMF/IPF/PMF)。在一些实施例中,血液癌症(例如,作为MALT1相关性癌症的血液癌症)是AML或CMML。

[0631] 在一些实施例中,所述癌症是胶质母细胞瘤、慢性粒细胞白血病、粒细胞白血病或非霍奇金淋巴瘤。

[0632] 在一些实施例中,所述癌症(例如,MALT1相关性癌症)是实体瘤。实体瘤(例如,作为MALT1相关性癌症的实体瘤)的实例包含例如,肺癌(例如,肺腺癌、小细胞肺癌)、胰腺癌、胰腺导管癌、乳腺癌、结肠癌、结直肠癌、前列腺癌、肾细胞癌、成神经细胞瘤和黑色素瘤。参见例如,Jiang等人,《癌症研究》2011,71,2183-2192;另见Pan等人,《分子癌症研究》2016,14,93-102和Penas等人,《血液》2010,115,2214-2219。

[0633] 在一些实施例中,受试者是人。

[0634] 式(I)化合物及其药学上可接受的盐也可用于治疗MALT1相关性癌症。式(I)化合物及其药学上可接受的盐也可用于治疗MALT1相关性自身免疫性疾病。式(I)化合物及其药学上可接受的盐也可用于治疗MALT1相关性炎性疾病。

[0635] 因此,本文还提供了一种用于治疗被诊断为患有或鉴定为患有MALT1相关性癌症(例如,本文公开的任何示例性MALT1相关性癌症)的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的如本文所定义的式(I)或其药学上可接受的盐或其药物组合物。

[0636] 在本文提供的任一种方法的一些实施例中,式(I)化合物选自实例1-211。

[0637] MALT1蛋白酶、MALT1因基或二者中任一个(例如,一个或多个)的表达或活性或水平的失调可有助于肿瘤发生。例如,与野生型MALT1蛋白相比,融合蛋白可以具有增加的蛋白酶活性,由于异常的细胞信号传导和/或失调的自分泌/旁分泌信号传导,野生型MALT1蛋白酶在哺乳动物细胞中的表达增加(例如,水平增加)(例如,与对照非癌细胞相比),MALT1mRNA剪接变体也可能导致MALT1失调。

[0638] 在一些方面,本文提供了一种用于在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包含向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。本文还提供了一种用于在有需要的受试者中治疗CBM复合物途径相关性癌症(如本文公开的任何癌症)的方法,所述方法包含向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。还提供了一种用于在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包含(a)将所述癌症鉴定为CBM复合物途径相关性癌症;以及(b)向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0639] 将受试者中的癌症鉴定为CBM复合物途径相关性癌症可以通过任何适当的方法进行。在一些实施例中,将受试者中的癌症鉴定为CBM复合物途径相关性癌症的步骤包含执行

测定法以在来自受试者的样品中检测CBM复合物途径相关性基因、CBM复合物途径相关性蛋白酶蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,所述方法进一步包含从受试者获得样品(例如,活检样品)。所述测定法可以是任何适当的测定法。在一些实施例中,所述测定法选自测序(例如,焦磷酸测序或下一代测序)、免疫组织化学、酶联免疫吸附测定和荧光原位杂交(FISH)。

[0640] 此外,本文提供了一种用于在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包含将有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐施用于被鉴定为患有CBM复合物途径相关性癌症的受试者。

[0641] 本文还提供了一种在受试者中治疗MALT1相关性癌症的方法,所述方法包含向被鉴定或诊断为患有MALT1相关性癌症的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。本文还提供了一种用于在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包含:(a)确定所述癌症与MALT1基因、MALT1蛋白酶或二者中任一个的表达或活性或水平的失调有关;以及(b)向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0642] 确定所述癌症与MALT1基因、MALT1蛋白酶或二者中任一个的表达或活性或水平的失调有关可以使用任何适当的方法进行。在一些实施例中,确定所述受试者中的癌症是MALT1相关性癌症的步骤包含执行测定法以在来自受试者的样品中检测MALT1基因、MALT1蛋白酶蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,所述方法进一步包含从受试者获得样品(例如,活检样品)。所述测定法可以是任何适当的测定法。在一些实施例中,所述测定法选自测序(例如,焦磷酸测序或下一代测序)、免疫组织化学、酶联免疫吸附测定和荧光原位杂交(FISH)。

[0643] 如本文所述,CBM复合物途径相关性癌症可以是任何适当的CBM复合物途径相关性癌症(如本文所述的任何癌症)。在一些实施例中,CBM复合物途径相关性癌症选自由以下组成的组:CBM复合物途径细胞表面受体相关性癌症、与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导相关的癌症、CBM复合物相关性癌症的组分、MALT1蛋白酶底物相关性癌症、与CBM复合物下游的NF- κ B途径的组分相关的癌症、与CBM复合物下游的JNK途径的组分相关的癌症及其组合。在一些实施例中,所述CBM复合物途径细胞表面受体相关性癌症选自由以下组成的组:CD28相关性癌症、BCR相关性癌症、HER1相关性癌症、HER2相关性癌症及其组合。在一些实施例中,与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导相关的癌症是蛋白激酶C β (PKC β)相关性癌症、蛋白激酶C θ (PKC θ)相关性癌症或其组合。在一些实施例中,所述CBM复合物相关性癌症的组分选自由以下组成的组:MALT1相关性癌症、CARD11相关性癌症、CARD14相关性癌症、CARD10相关性癌症、CARD9相关性癌症、BCL10相关性癌症及其组合。在一些实施例中,CBM复合物相关性癌症的组分选自由以下组成的组:MALT1相关性癌症、CARD11相关性癌症、BCL10相关性癌症及其组合。有关MALT1、CARD11和BCL10中的示例性失调,参见例如表B1、B2和B3。在一些实施例中,所述MALT1蛋白酶底物相关性癌症选自由以下组成的组:BCL10相关性癌症、A20相关性癌症、CYLD相关性癌症、RelB相关性癌症、Regnase 1相关性癌症、roquin-1相关性癌症、HOIL1相关性癌症、NIK相关性癌症、LIMA1 α 相关性癌症及其组合。在一些实施例中,所述MALT1蛋白酶底物相关性癌症选自由以下组成的组:BCL10相关性癌症、A20相关性癌症、CYLD相关性癌症及其组合。有关BCL10和A20中的示例性失调,参见例如表B3和B4。在一些实施方案中,与CBM复合物下游的NF- κ B途径的组分相关的癌症选自由以

下组成的组：TAK1相关性癌症、TRAF6相关性癌症、TAB1相关性癌症、TAB2相关性癌症、TAB3相关性癌症、MKK7相关性癌症、IKK α 相关性癌症、IKK β 相关性癌症、IKK γ 相关性癌症、I κ B α 相关性癌症、p50相关性癌症、p65 (RelA) 相关性癌症、c-Rel相关性癌症及其组合。在一些实施方案中，与CBM复合物下游的NF- κ B途径的组分相关的癌症是IKK γ 相关性癌症。在一些实施方案中，与CBM复合物下游的JNK途径的组分相关的癌症选自以下组成的组：JNK1相关性癌症、JNK2相关性癌症、JNK3相关性癌症、MYD88转录因子相关性癌症、AP-1转录因子相关性癌症及其组合。

[0644] 在一些实施例中，CBM复合物途径相关性癌症是MALT1相关性癌症。MALT1相关性癌症可以具有任何适当的失调，如本文所述的任何那些。在一些实施例中，MALT1相关性癌症包括IAP2-MALT1融合。在一些实施例中，MALT1相关性癌症包括IGH-MALT1融合。

[0645] 本文还提供了治疗CBM复合物途径相关性疾病或病症、自身免疫性病症和炎性病症的方法。因此，本文提供了一种用于在有需要的受试者中治疗自身免疫性病症的方法，所述方法包含向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。本文还提供了一种在受试者中治疗MALT1相关性自身免疫性病症的方法，所述方法包含向被鉴定或诊断为患有MALT1相关性自身免疫性病症的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些情况下，本文提供了一种用于在有需要的受试者中治疗自身免疫性病症的方法，所述方法包含：(a) 确定所述自身免疫性病症与MALT1基因、MALT1蛋白酶或二者中任一个的表达或活性或水平的失调有关；以及(b) 向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。本文还提供了一种在受试者中治疗MALT1相关性自身免疫性病症的方法，所述方法包含将有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐施用于被确定为患有MALT1相关性自身免疫性病症的受试者。此外，本文提供了一种用于在有需要的受试者中治疗炎性病症的方法，所述方法包含向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些情况下，本文提供了一种在受试者中治疗MALT1相关性炎性病症的方法，所述方法包含向被鉴定或诊断为患有MALT1相关性炎性病症的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。本文还提供了一种用于在有需要的受试者中治疗炎性病症的方法，所述方法包含：(a) 确定所述炎性病症与MALT1基因、MALT1蛋白酶或二者中任一个的表达或活性或水平的失调有关；以及(b) 向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。本文还提供了一种在受试者中治疗MALT1相关性炎性病症的方法，所述方法包含将有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐施用于被确定为患有MALT1相关性炎性病症的受试者。

[0646] 本文另外提供了一种用于在有需要的受试者中治疗CBM复合物途径相关性疾病或病症的方法，所述方法包含向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。还提供了一种用于在有需要的受试者中治疗疾病或病症的方法，所述方法包含：(a) 将所述癌症鉴定为CBM复合物途径相关性疾病或病症；以及(b) 向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。此外，本文提供了一种用于在有需要的受试者中治疗疾病或病症的方法，所述方法包含：将有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐施用于被鉴定为患有CBM复合物途径相关性疾病或病症的受试者。

[0647] CBM复合物途径相关性疾病或病症可以是任何适当的CBM复合物途径相关性疾病或病症，如本文所述的任何疾病或病症。在一些实施例中，CBM复合物途径相关性疾病或病

症是自身免疫性疾病。在一些实施例中,CBM复合物途径相关性疾病或病症是炎性病症。在一些实施例中,所述CBM复合物途径相关性癌症选自由以下组成的组:CBM复合物途径细胞表面受体相关性癌症、与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导相关的疾病或病症、CBM复合物相关性癌症的组分、MALT1蛋白酶底物相关性癌症、与CBM复合物下游的NF- κ B途径的组分相关的疾病或病症、与CBM复合物下游的JNK途径的组分相关的疾病或病症及其组合。在一些实施例中,CBM复合物途径相关性疾病或病症是MALT1相关性疾病或病症。

[0648] 在一些情况下,式(I)化合物或其药学上可接受的盐可用于抑制细胞过程,如抑制细胞增殖。因此,本文提供了一种用于抑制哺乳动物细胞增殖的方法,所述方法包含使所述哺乳动物细胞与式(I)化合物或其药学上可接受的盐接触。本文还提供了一种在哺乳动物细胞中抑制CBM复合物途径活性的方法,所述方法包含使所述哺乳动物细胞与式(I)化合物或其药学上可接受的盐接触。本文还提供了一种在哺乳动物细胞中抑制MALT1蛋白酶活性的方法,所述方法包含使所述哺乳动物细胞与式(I)化合物或其药学上可接受的盐接触。在一些实施例中,接触发生在体内。在一些实施例中,接触发生在体外。哺乳动物细胞可以是任何适当的细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物免疫细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是哺乳动物CBM复合物途径相关性癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是哺乳动物MALT1相关性癌细胞。在一些实施例中,哺乳动物细胞具有MALT1基因、MALT1蛋白酶蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,MALT1基因、MALT1蛋白酶蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调是IAP2-MALT1融合、IGH-MALT1融合或其组合。

[0649] 式(I)化合物或其药学上可接受的盐也可用于制备药物。因此,本文提供了一种式(I)化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗CBM复合物途径相关性疾病或病症的药物中的用途。CBM复合物途径相关性疾病或病症可以是任何适当的CBM复合物途径相关性疾病或病症,如本文所述的疾病或病症。在一些实施例中,所述CBM复合物途径相关性疾病或病症选自由以下组成的组:CBM复合物途径细胞表面受体相关性癌症、与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导相关的疾病或病症、CBM复合物相关性癌症的组分、MALT1蛋白酶底物相关性癌症、与CBM复合物下游的NF- κ B途径的组分相关的疾病或病症、与CBM复合物下游的JNK途径的组分相关的疾病或病症及其组合。在一些实施例中,CBM复合物途径相关性疾病或病症是CBM复合物途径相关性自身免疫性疾病。在一些实施例中,CBM复合物途径相关性疾病或病症是CBM复合物途径相关性炎性疾病。在一些实施例中,CBM复合物途径相关性疾病或病症是CBM复合物途径相关性癌症。在一些实施例中,CBM复合物途径相关性疾病或病症是MALT1相关性疾病或病症。在一些实施例中,MALT1相关性疾病或病症包括MALT1基因、MALT1蛋白酶蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,MALT1基因、MALT1蛋白酶蛋白或二者中任一个的表达或活性或水平的失调是IAP2-MALT1融合、IGH-MALT1融合或其组合。

[0650] 在一些实施例中,本文提供的化合物表现出脑和/或中枢神经系统(CNS)渗透性。此类化合物能够穿过血脑屏障并抑制脑和/或其它CNS结构中的MALT1蛋白酶。在一些实施例中,本文提供的化合物能够以有效量穿过血脑屏障。例如,对患有癌症(例如,MALT1相关性癌症,如MALT1相关性脑癌或CNS癌症)的受试者的治疗可以包含向所述受试者施用(例如,口服施用)化合物。在一些此类实施例中,本文提供的化合物可用于治疗原发性脑肿瘤

或转移性脑肿瘤。例如,所述化合物可用于治疗一种或多种神经胶质瘤,如胶质母细胞瘤(也被称为多形胶质母细胞瘤)、星形细胞瘤、少突胶质细胞瘤、室管膜瘤和混合性胶质瘤、脑膜瘤、髓母细胞瘤、颅内节细胞胶质瘤、神经鞘瘤(schwannomas和neurilemmomas)和颅咽管瘤(参见例如以下文献中列出的肿瘤:Louis, D.N. 等人《神经病理学报告(Acta Neuropathol)》131(6), 803-820(June 2016))。在一些实施例中,脑肿瘤是原发性脑肿瘤。在一些实施例中,先前已经用另一种抗癌剂,例如另一种蛋白酶抑制剂(例如,并非式(I)化合物的化合物)对受试者进行了治疗。在一些实施例中,脑肿瘤是转移性脑肿瘤。在一些实施例中,先前已经用另一种抗癌剂,例如另一种蛋白酶抑制剂(例如,并非式(I)化合物的化合物)对受试者进行了治疗。

[0651] 在本文描述的任何方法或用途的一些实施例中,用于使用来自受试者的样品确定受试者是否具有基因(例如,MALT1基因)、或蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调的测定法可以包含例如下一代测序、免疫组织化学、荧光显微镜、FISH分离分析、Southern印迹、Western印迹、FACS分析、Northern印迹和基于PCR的扩增(例如,RT-PCR和定量实时RT-PCR)。如本领域众所周知的,通常用例如至少一个经标记的核酸探针或至少一个经标记的抗体或其抗原结合片段来进行所述测定法。测定法可以利用本领域已知的其它检测方法来检测基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,样品是来自受试者的生物样品或活检样品(例如,石蜡包埋的活检样品)。在一些实施例中,受试者是疑似患有MALT1相关性癌症的受试者、具有MALT1相关性癌症的一种或多种症状的受试者和/或患MALT1相关性癌症的风险增加的受试者)。

[0652] 在一些实施例中,可以使用液体活检(不同地被称为液体活检或液体相活检)来鉴定基因(例如,MALT1基因)、MALT1蛋白(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调。液体活检方法可用于检测总的肿瘤负荷和/或基因(例如,MALT1蛋白)、MALT1蛋白(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调。可以对(例如,通过简单的抽血)相对容易从受试者获得的生物样品进行液体活检,并且与用于检测肿瘤负荷和/或和/或基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调的传统方法相比,所述液体活检侵入性较小。在一些实施例中,与传统方法相比,可以在更早的阶段使用液体活检来检测是否存在基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,用于液体活检的生物样品可以包含血液、血浆、尿液、脑脊髓液、唾液、痰、支气管肺泡灌洗液、胆汁、淋巴液、囊肿液、粪便、腹水及其组合。在一些实施例中,液体活检可用于检测循环性肿瘤细胞(CTC)。在一些实施例中,液体活检可用于检测无细胞DNA。在一些实施例中,使用液体活检检测到的无细胞DNA是循环性肿瘤DNA(ctDNA),其源自肿瘤细胞。对ctDNA的分析(例如,使用敏感的检测技术,如但不限于下一代测序(NGS)、传统PCR、数字PCR或微阵列分析)可用于鉴定基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调。

[0653] 在一些实施例中,可以使用液体活检来检测源自单个基因的ctDNA。在一些实施例中,可以使用液体活检来检测源自多个基因(例如,2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、15个、20个、25个、30个、35个、40个、45个、50个、55个、60个、65个、70个、75个、80个、85

个、90个、95个、100个或更多个基因,或者在这些数目之间的任何数目的基因)的ctDNA。在一些实施例中,可以使用多种市售测试面板(例如,被设计成检测基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调的市售测试面板)中的任何一种测试面板来检测源自多个基因的ctDNA。液体活检可用于检测基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调,包括但不限于点突变或单核苷酸变体(SNV)、拷贝数变体(CNV)、基因融合(例如,易位或重排)、插入、缺失或其任何组合。在一些实施例中,液体活检可用于检测种系突变。在一些实施例中,液体活检可用于检测体细胞突变。在一些实施例中,液体活检可用于检测原发性基因突变(例如,与疾病(例如,癌症)的初始发展相关的原发性突变或原发性融合)。在一些实施例中,在受试者中存在的癌细胞中(例如,在肿瘤中)也存在使用液体活检鉴定的基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,可以使用液体活检来检测本文所述的基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,通过液体活检鉴定的基因突变可用于将受试者鉴定为特定治疗的候选者。例如,在受试者中检测到基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者中任一个的表达或活性或水平的失调可以表明受试者将对包含施用式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有反应。

[0654] 可以在诊断过程、监测过程和/或治疗过程期间多次进行液体活检,以确定一个或多个临床相关参数,所述临床相关参数包括但不限于疾病的进展和/或治疗的功效。例如,在诊断过程、监测过程和/或治疗过程期间,可以在第一个时间点进行第一次液体活检,并且可以在第二个时间点进行第二次液体活检。在一些实施例中,第一个时间点可以是在诊断患有疾病的受试者之前的时间点(例如,当受试者健康时),而第二个时间点可以是受试者患有疾病之后的时间点(例如,第二个时间点可用于诊断患有该疾病的受试者)。在一些实施例中,第一个时间点可以是在诊断患有疾病的受试者之前的时间点(例如,当受试者健康时),之后对该受试者进行监视,而第二个时间点可以是在监视受试者之后的时间点。在一些实施例中,第一个时间点可以是在诊断患有疾病的受试者之后的时间点,之后对该受试者施用治疗,而第二个时间点可以是在施用治疗之后的时间点;在这种情况下,第二个时间点可用于评估治疗的功效(例如,如果在第一个时间点检测到的基因突变大量减少或无法检测到)。在一些实施例中,待施用给受试者的治疗可以包含式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0655] 在一些实施例中,可以通过评估在不同时间点从受试者获得的cfDNA(例如,在第一个时间点从受试者获得的cfDNA和在第二个时间点从受试者获得的cfDNA)中基因(例如,MALT1基因)失调的等位基因频率来确定式(I)化合物或其药学上可接受的盐的功效,其中在第一个时间点和第二个时间点之间向受试者施用至少一个剂量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。这些方法的一些实施例可以进一步包含在第一个时间点和第二个时间点之间向受试者施用至少一个剂量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。例如,与在第一个时间点从受试者获得的cfDNA中基因(例如,MALT1基因)失调的等位基因频率(AF)相比,在第二个时间点从受试者获得的cfDNA中基因(例如,MALT1基因)失调的等位基因频率(AF)减少(例如,减少1%到约99%、减少1%到约95%、减少1%到约90%、减少1%到约85%、减少1%到约80%、减少1%到约75%、减少1%到减少约70%、减少1%到减少约65%、减少1%到减

少约60%、减少1%到减少约55%、减少1%到减少约50%、减少1%到减少约45%、减少1%到减少约40%、减少1%到减少约35%、减少1%到减少约30%、减少1%到减少约25%、减少1%到减少约20%、减少1%到减少约15%、减少1%到减少约10%、减少1%到减少约5%、减少约5%到约99%、减少约10%到约99%、减少约15%到约99%、减少约20%到约99%、减少约25%到约99%、减少约30%到约99%、减少约35%到约99%、减少约40%到约99%、减少约45%到约99%、减少约50%到约99%、减少约55%到约99%、减少约60%到约99%、减少约65%到约99%、减少约70%到约99%、减少约75%到约95%、减少约80%到约99%、减少约90%到约99%、减少约95%到约99%、减少约5%到约10%、减少约5%到约25%、减少约10%到约30%、减少约20%到约40%、减少约25%到约50%、减少约35%到约55%、减少约40%到约60%、减少约50%到约75%、减少约60%到约80%或减少约65%到约85%)，这表明式(I)化合物或其药学上可接受的盐对受试者有效。在一些实施例中，减小AF，使得水平低于仪器的检测极限。可替代地，与在第一个时间点从受试者获得的cfDNA中基因(例如，MALT1基因)失调的等位基因频率(AF)相比，在第二个时间点从受试者获得的cfDNA中基因(例如，MALT1基因)失调的等位基因频率(AF)增加，这表明式(I)化合物或其药学上可接受的盐对受试者无效。这些方法的一些实施例可以进一步包含向其中式(I)化合物或其药学上可接受的盐被确定为有效的受试者施用另外剂量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。这些方法的一些实施例可以进一步包含向其中式(I)化合物或其药学上可接受的盐被确定为无效的受试者施用不同的治疗(例如，不包含作为单一疗法施用式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗)。

[0656] 在这些方法的一些实例中，第一个时间点和第二个时间点之间的时间差可以为约1天到约1年、约1天到约11个月、约1天到约10个月、约1天到约9个月、约1天到约8个月、约1天到约7个月、约1天到约6个月、约1天到约5个月、约1天到约4个月、约1天到约3个月、约1天到约10周、约1天到约2个月、约1天到约6周、约1天到约1个月、约1天到约25天、约1天到约20天、约1天到约15天、约1天到约10天、约1天到约5天、约2天到约1年、约5天到约1年、约10天到约1年、约15天到约1年、约20天到约1年、约25天到约1年、约1个月到约1年、约6周到约1年、约2个月到约1年、约3个月到约1年、约4个月到约1年、约5个月到约1年、约6个月到约1年、约7个月到约1年、约8个月到约1年、约9个月到约1年、约10个月到约1年、约11个月到约1年、约1天到约7天、约1天到约14天、约5天到约10天、约5天到约20天、约10天到约20天、约15天到约1个月、约15天到约2个月、约1周到约1个月、约2周到约1个月、约1个月到约3个月、约3个月到约6个月、约4个月到约6个月、约5个月到约8个月或约7个月到约9个月。在这些方法的一些实施例中，受试者可以事先被鉴定为患有具有失调的基因(例如，本文所述的失调的基因的任何实例)(例如，MALT1基因)的癌症。在这些方法的一些实施例中，受试者可以事先被诊断患有本文所述的任何类型的癌症。在这些方法的一些实施例中，受试者可以具有一种或多种转移(例如，一种或多种脑转移)。

[0657] 在上述一些实施例中，cfDNA包括ctDNA，如MALT1相关性ctDNA。例如，cfDNA是ctDNA，如MALT1相关性ctDNA。在一些实施例中，确定cfDNA的至少一部分是MALT1相关性ctDNA，例如，确定测序和/或定量的量的总cfDNA具有MALT1融合和/或MALT1的过表达。

[0658] 在医学肿瘤学领域，通常的实践是使用不同形式的治疗的组合来治疗每个患有癌症的受试者。在医学肿瘤学中，除本文提供的组合物外，此类联合治疗或疗法的一种或多种

其它组分还可以是例如外科手术、放射疗法和化学治疗剂,如其它蛋白酶抑制剂、激酶抑制剂、信号转导抑制剂和/或单克隆抗体。

[0659] 例如,外科手术可以是开放手术或微创手术。因此,式(I)化合物或其药学上可接受的盐也可用作癌症治疗的佐剂,即,其可以与一种或多种另外的疗法或治疗剂(例如,通过相同或不同的作用机理起作用的化学治疗剂)组合使用。在一些实施例中,可以在施用另外的治疗剂或另外的疗法之前施用式(I)化合物或其药学上可接受的盐。例如,可以在一段时间内向有需要的受试者施用一个或多个剂量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,然后至少部分地切除肿瘤。在一些实施例中,在至少部分地切除肿瘤之前,用一个或多个剂量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐进行治疗可减少肿瘤的大小(例如,肿瘤负荷)。在一些实施例中,可以在一段时间内并在一轮或多轮放射疗法下向有需要的受试者施用一个或多个剂量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,在进行一轮或多轮放射疗法之前,用一个或多个剂量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐进行治疗可减少肿瘤的大小(例如,肿瘤负荷)。

[0660] 在一些实施例中,受试者患有难治的或对标准疗法(例如,施用化学治疗剂),如第一MALT1抑制剂、激酶抑制剂、免疫疗法、细胞或基因疗法或放射法(例如,放射性碘)不耐受的癌症。在一些实施例中,受试者患有难治的或对先前疗法(例如,施用化学治疗剂,如第一MALT1抑制剂或另一种蛋白酶抑制剂、免疫疗法、细胞或基因疗法或放射法(例如,放射性碘)不耐受的癌症。在一些实施例中,受试者患有没有标准疗法的癌症(例如,局部晚期或转移性肿瘤)。在一些实施例中,受试者未使用过MALT1蛋白酶抑制剂。例如,受试者未用选择性MALT1蛋白酶抑制剂进行过治疗。在一些实施例中,受试者使用过MALT1蛋白酶抑制剂。

[0661] 在本文描述的任何方法的一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与有效量的至少一种另外的治疗剂组合施用,所述至少一种另外的治疗剂选自一种或多种另外的疗法或治疗剂(例如,化学疗法或免疫调节剂)。另外的疗法或治疗剂可以是任何适当的另外的疗法或治疗剂,如本文所述的任何另外的疗法或治疗剂。

[0662] 另外的治疗剂的非限制性实例包含:其它MALT1靶向治疗剂(即第一或第二MALT1蛋白酶抑制剂,例如, JNJ-67856633或CTX-177)、其它蛋白酶抑制剂、激酶抑制剂(例如,受体酪氨酸激酶靶向治疗剂,如BTK或EGFR抑制剂)、信号转导途径抑制剂、检查点抑制剂、凋亡途径的调节剂(例如,维奈托克(venetoclax)或奥贝托克(obataclax));细胞毒性化学疗法、血管生成靶向疗法、免疫靶向剂(包含抗体和基于细胞的免疫疗法,以及抗体-药物缀合物)和放射疗法。

[0663] 在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐以及另外的治疗剂以单独剂量同时施用。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐以及另外的治疗剂以单独剂量按任何顺序依次施用。

[0664] 在一些实施例中,其它MALT1靶向治疗剂是表现出MALT1抑制活性的另一种蛋白酶抑制剂。在一些实施例中,其它MALT1靶向治疗剂对MALT1蛋白酶具有选择性。示例性MALT1蛋白酶抑制剂可以针对MALT1蛋白酶表现出小于约1000nM、小于约500nM、小于约200nM、小于约100nM、小于约50nM、小于约25nM、小于约10nM或小于约1nM的抑制活性(IC_{50}),如本文所述的测定法中所测量的。在一些实施例中,MALT1蛋白酶抑制剂可以针对MALT1蛋白酶表现出小于约25nM、小于约10nM、小于约5nM或小于约1nM的抑制活性(IC_{50}),如本文提供的测定

法中所测量的。

[0665] 蛋白酶靶向治疗剂(例如,第一MALT1抑制剂或第二MALT1抑制剂)的非限制性实例包含JNJ-67856633和CTX-177。

[0666] 多激酶抑制剂的非限制性实例包含阿来替尼(alectinib)(9-乙基-6,6-二甲基-8-[4-(吗啉-4-基)哌啶-1-基]-11-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[b]咪唑-3-甲腈);安姆伐替尼(amuvatinib)(MP470、HPK56)(N-(1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-基甲基)-4-([1]苯并咪唑[3,2-d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-硫代酰胺);阿帕替尼(apatinib)(YN968D1)(甲磺酸N-[4-(1-氰基环戊基)苯基-2-(4--吡啶甲基)氨基-3-烟酰胺酯]);卡博替尼(cabozantinib)(Cometriq XL-184)(N-(4-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-N'-(4-氟苯基)环丙烷-1,1-二甲酰胺);多韦替尼(dovitinib)(TKI258;GFKI-258;CHIR-258)((3Z)-4-氨基-5-氟-3-[5-(4-甲基哌嗪-1-基)-1,3-二氢苯并咪唑-2-亚基]喹啉-2-酮);法米替尼(famitinib)(5-[2-(二乙氨基)乙基]-2-[(Z)-(5-氟-2-氧代-1H-吡啶-3-亚基)甲基]-3-甲基-6,7-二氢-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-4-酮);菲达替尼(fedratinib)(SAR302503、TG101348)(N-(2-甲基-2-丙烷基)-3-{{[5-甲基-2-({4-[2-(1-吡咯烷基)乙氧基]苯基}氨基)-4-嘧啶基]氨基}苯磺酰胺);福瑞替尼(foretinib)(XL880、EXEL-2880、GSK1363089、GSK089)(N1'-[3-氟-4-[[6-甲氧基-7-(3-吗啉代丙氧基)-4-喹啉基]氧基]苯基]-N1-(4-氟苯基)环丙烷-1,1-二甲酰胺);福他替尼(fostamantinib)(R788)(2H-吡啶并[3,2-b]-1,4-噁嗪-3(4H)-酮-6-[[5-氟-2-[(3,4,5-三甲氧基苯基)氨基]-4-嘧啶基]氨基]-2,2-二甲基-4-[(膦酰氧基)甲基]-、钠盐(1:2));伊洛沙替尼(ilorasertib)(ABT-348)(1-(4-(4-氨基-7-(1-(2-羟乙基)-1H-吡唑-4-基)噁吩基[3,2-c]吡啶-3-基)苯基)-3-(3-氟苯基)脲);乐伐替尼(lenvatinib)(E7080,乐卫玛(Lenvima)(4-[3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基]-7-甲氧基-6-喹啉甲酰胺);莫特沙尼(motesanib)(AMG 706)(N-(3,3-二甲基-2,3-二氢-1H-吡啶-6-基)-2-[(吡啶-4-基甲基)氨基]吡啶-3-甲酰胺);尼达尼布(nintedanib)(3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-氨基)-苯胺基)-1-苯基-亚甲基]-6-甲氧基羰基-2-吡啶酮);普纳替尼(ponatinib)(AP24534)(3-(2-咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基乙炔基)-4-甲基-N-[4-[(4-甲基哌嗪-1-基)甲基]-3-(三氟甲基)苯基]苯甲酰胺);PP242(拓克尼布(torkinib))(2-[4-氨基-1-(1-甲基乙基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-3-基]-1H-吡啶-5-醇);奎扎替尼(quizartinib)(1-(5-(叔丁基)异噁唑-3-基)-3-(4-(7-(2-吗啉代乙氧基)苯并[d]咪唑并[2,1-b]噁唑-2-基)苯基)脲);瑞戈非尼(regorafenib)(BAY 73-4506, stivarga)(4-[4-({[4-氯-3-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基}氨基)-3-氟苯氧基]-N-甲基吡啶-2-甲酰胺水合物);RXDX-105(CEP-32496,阿戈拉非尼(agerafenib)(1-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-3-(5-(1,1,1-三氟-2-甲基丙-2-基)异噁唑-3-基)脲);司马沙尼(semaxanib)(SU5416)((3Z)-3-[(3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基]-1,3-二氢-2H-吡啶-2-酮);司曲替尼(sitravatinib)(MGCD516、MG516)(N-(3-氟-4-{{[2-(5-{{[2-(甲氧基乙基)氨基]甲基}-2-吡啶基)噁吩并[3,2-b]吡啶-7-基]氧基}苯基}-N'-(4-氟苯基)-1,1-环丙二甲酰胺);索拉非尼(sorafenib)(BAY 43-9006)(4-[4-[[[4-氯-3-(三氟甲基)苯基]氨基]羰基]氨基]苯氧基)-N-甲基-2-吡啶甲酰胺);凡德他尼(vandetanib)(N-(4-溴-2-氟苯基)-6-甲氧基-7-[(1-甲基哌啶-4-基)甲氧基]喹啉-4-胺);瓦他拉尼(vatalanib)(PTK787、PTK/ZK、ZK222584)(N-(4-氯苯基)-4-(吡啶-4-基甲

基) 酞嗪-1-胺); AD-57 (N-[4-[4-氨基-1-(1-甲基乙基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-3-基]苯基]-N'-[3-(三氟甲基)苯基]-脲); AD-80 (1-[4-(4-氨基-1-丙-2-基吡唑并[3,4-d]嘧啶-3-基)苯基]-3-[2-氟-5-(三氟甲基)苯基]脲); AD-81 (1-(4-(4-氨基-1-异丙基-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-3-基)苯基)-3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲); ALW-II-41-27 (N-(5-((4-((4-乙基哌嗪-1-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯基)氨基甲酰基)-2-甲基苯基)-5-(噁吩-2-基)烟酰胺); BPR1K871 (1-(3-氯苯基)-3-(5-(2-((7-(3-(二甲基氨基)丙氧基)喹唑啉-4-基)氨基)乙基)噁唑-2-基)脲); CLM3 (1-苄乙基-N-(1-苄乙基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺); EBI-907 (N-(2-氯-3-(1-环丙基-8-甲氧基-3H-吡唑并[3,4-c]异喹啉-7-基)-4-氟苯基)-3-氟丙烷-1-磺酰胺); NVP-AST-487 (N-[4-[(4-乙基-1-哌嗪基)甲基]-3-(三氟甲基)苯基]-N'-[4-[[6-(甲基氨基)-4-嘧啶基]氧基]苯基]-脲); NVP-BBT594 (BBT594) (5-((6-乙酰氨基嘧啶-4-基)氧基)-N-(4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯基)二氢吡啶-1-甲酰胺); PD173955 (6-(2,6-二氯苯基)-8-甲基-2-(3-甲硫基苯胺基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-酮); PP2 (4-氨基-5-(4-氯苯基)-7-(二甲基乙基)吡唑并[3,4-d]嘧啶); PZ-1 (N-(5-(叔丁基)异噁唑-3-基)-2-(4-(5-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-1H-苯并[d]咪唑-1-基)苯基)乙酰胺); RPI-1 (1,3-二氢-5,6-二甲氧基-3-[(4-羟基苯基)亚甲基]-H-吡啶-2-酮; (3E)-3-[(4-羟基苯基)亚甲基]-5,6-二甲氧基-1H-吡啶-2-酮); SGI-7079 (3-[2-[[3-氟-4-(4-甲基-1-哌嗪基)苯基]氨基]-5-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基]-苄乙腈); SPP86 (1-异丙基-3-(苯基乙炔基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺); SU4984 (4-[4-[(E)-(2-氧代-1H-吡啶-3-亚基)甲基]苯基]哌嗪-1-甲醛); 舒尼替尼 (sunitinib) (SU11248) (N-(2-二乙氨基乙基)-5-[(Z)-(5-氟-2-氧代-1H-吡啶-3-亚基)甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺); TG101209 (N-叔丁基-3-(5-甲基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯磺酰胺); 醉茄素 A (Withaferin A) ((4 β ,5 β ,6 β ,22R)-4,27-二羟基-5,6:22,26-二环氧麦角甾-2,24-二烯-1,26-二酮); XL-999 ((Z)-5-((1-乙基哌啶-4-基)氨基)-3-((3-氟苯基)(5-甲基-1H-咪唑-2-基)亚甲基)二氢吡啶-2-酮); BPR1J373 (5-苯基噁唑-2-基胺-嘧啶衍生物); CG-806 (CG'806); DCC-2157; GTX-186; HG-6-63-01 ((E)-3-(2-(4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)乙烯基)-N-(4-((4-乙基哌嗪-1-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯基)-4-甲基苯甲酰胺); SW-01 (盐酸环苯扎林); XMD15-44 (N-(4-((4-乙基哌嗪-1-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯基)-4-甲基-3-(吡啶-3-基乙炔基)苯甲酰胺 (从结构生成)); ITRI-305 (DON5TB、DIB003599); BLU-667 ((1S,4R)-N-((S)-1-(6-(4-氟-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)乙基)-1-甲氧基-4-(4-甲基-6-((5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-2-基)环己烷-1-甲酰胺); BLU6864; DS-5010; GSK3179106; GSK3352589; NMS-E668; TAS0286/HM05; TPX0046; 以及 N-(3-(2-(二甲基氨基)乙氧基)-5-(三氟甲基)苯基)-2-(4-(4-乙氧基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-2-氟苯基)乙酰胺。

[0667] 受体酪氨酸激酶 (例如, Trk) 靶向治疗剂的非限制性实例包含阿法替尼 (afatinib)、卡博替尼、西妥昔单抗 (cetuximab)、克唑替尼 (crizotinib)、达拉非尼 (dabrafenib)、恩曲替尼 (entrectinib)、厄洛替尼 (erlotinib)、吉非替尼 (gefitinib)、伊马替尼 (imatinib)、拉帕替尼 (lapatinib)、来他替尼 (lestaurtinib)、尼洛替尼 (nilotinib)、帕唑帕尼 (pazopanib)、帕尼单抗 (panitumumab)、帕妥珠单抗 (pertuzumab)、舒尼替尼、曲妥珠单抗 (trastuzumab)、1-((3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯

烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基嘧啶-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲、AG 879、AR-772、AR-786、AR-256、AR-618、AZ-23、AZ623、DS-6051、Gö 6976、GNF-5837、GTx-186、GW 441756、LOXO-101、MGCD516、PLX7486、RXDX101、VM-902A、TPX-0005、TSR-011、GNF-4256、N-[3-[2,3-二氢-2-氧代-3-(1H-吡咯-2-基亚甲基)-1H-吡啶-6-基]氨基]-4-甲基苯基]-N'-[2-氟-5-(三氟甲基)苯基]-脲、AZ623、AZ64、(S)-5-Chloro-N2-(1-(5-氟吡啶-2-基)乙基)-N4-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-2,4-二胺、AZD7451、CEP-751、CT327、舒尼替尼、GNF-8625以及(R)-1-(6-(6-(2-(3-氟苯基)吡咯烷-1-基)咪唑并[1,2-b]哒嗪-3-基)-[2,4'-联吡啶]-2'-基)哌啶-4-醇。

[0668] 在一些实施例中,另外的治疗剂是BRAF抑制剂。BRAF抑制剂的非限制性实例包含:达拉非尼、威罗非尼(vemurafenib)(也被称为RG7204或PLX4032)、对甲苯磺酸索拉非尼(sorafenib tosylate)、PLX-4720、GDC-0879、BMS-908662(百时美施贵宝公司(Bristol-Meyers Squibb))、LGX818(诺华公司(Novartis))、PLX3603(豪夫迈罗氏公司(Hofmann-LaRoche))、RAF265(诺华公司)、R05185426(豪夫迈罗氏公司)和GSK2118436(葛兰素史克公司(GlaxoSmithKline))。BRAF抑制剂的另外的实例是本领域已知的。

[0669] 在一些实施例中,另外的治疗剂是表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR)。例如,EGFR抑制剂可以包含奥希替尼(osimertinib)(merelectinib,Tagrisso)、厄洛替尼(Tarceva)、吉非替尼(Iressa)、西妥昔单抗(Erbix)、耐昔妥珠单抗(necitumumab)(Portrazza)、来那替尼(neratinib)(Nerlynx)、拉帕替尼(Tykerb)、帕尼单抗(Vectibix)和凡德他尼(Caprelsa)。

[0670] 在一些实施例中,另外的治疗剂是Ras-Raf-MEK-ERK途径抑制剂(例如,比美替尼(binimetinib)、司美替尼(selumetinib)、康奈非尼(encorafenib)、索拉非尼、曲美替尼(trametinib)和威罗非尼)、PI3K-Akt-mTOR-S6K途径抑制剂(例如,依维莫司(everolimus)、雷帕霉素(rapamycin)、哌立福新(perifosine)、替西罗莫司(temsirolimus))和其它激酶抑制剂,如巴瑞替尼(baricitinib)、布加替尼(brigatinib)、卡马替尼(capmatinib)、达鲁色替(danuserib)、依鲁替尼(ibrutinib)、密西尼(milciclib)、槲皮素(quercetin)、瑞戈非尼、鲁索替尼(ruxolitinib)、司马沙尼、AP32788、BLU285、BLU554、INCB39110、INCB40093、INCB50465、INCB52793、INCB54828、MGCD265、NMS-088、NMS-1286937、PF 477736((R)-氨基-N-N-[5,6-二氢-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-氧代-1H吡咯并[4,3,2-ef][2,3]苯并二氮杂-8-基]-环己烷乙酰胺)、PLX3397、PLX7486、PLX8394、PLX9486、PRN1008、PRN1371、RXDX103、RXDX106、RXDX108和TG101209(N-叔丁基-3-(5-甲基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯磺酰胺)。

[0671] 在一些实施例中,另外的治疗剂是BTK抑制剂。BTK抑制剂的非限制性实例包含依鲁替尼、阿卡替尼(acalabrutinib)和泽布替尼(zanubrutinib)。

[0672] 在一些实施例中,另外的治疗剂是Bcl-2抑制剂。Bcl-2抑制剂的非限制性实例包含维奈托克、纳维托克(navitoclax)、奥利默森(oblimersen)、奥贝托克和AT-101。

[0673] 在一些实施例中,另外的治疗剂是PI3K抑制剂。PI3K抑制剂的非限制性实例包含艾德拉尼(idelalisib)、库潘尼西(copanlisib)、杜韦利西布(duvelisib)、阿培利司(alpelisib)、塔西利司(taselisib)、布帕尼西(buparlisib)、厄布利塞(umbralisib)和库

潘尼西。

[0674] 在一些实施例中,另外的治疗剂是mTOR抑制剂。mTOR抑制剂的非限制性实例包含依维莫司、替西罗莫司和瑞达莫司(ridaforolimus)。

[0675] 在一些实施例中,另外的治疗剂是HDAC抑制剂。HDAC抑制剂的非限制性实例包含伏立诺他(vorinostat)、罗米地辛(romidepsin)、贝立司他(belinostat)、西达本胺(chidamide)、帕比司他(panobinostat)、CXD101和艾贝司他(abexinostat)。

[0676] 在一些实施例中,另外的治疗剂是检查点抑制剂。检查点抑制剂的非限制性实例包含伊匹木单抗(ipilimumab)、曲美木单抗(tremelimumab)、纳武单抗(nivolumab)、匹地利珠单抗(pidilizumab)、MPDL3208A、MEDI4736、MSB0010718C、BMS-936559、BMS-956559、BMS-935559(MDX-1105)、AMP-224和派姆单抗(pembrolizumab)。

[0677] 在一些实施例中,另外的治疗剂是细胞毒性化学疗法。在一些实施例中,细胞毒性化学疗法包含三氧化二砷(arsenic trioxide)、博来霉素(bleomycin)、苯达莫司汀(bendamustine)、卡巴他赛(cabazitaxel)、卡培他滨(capecitabine)、卡铂(carboplatin)、顺铂(cisplatin)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、阿糖胞苷(cytarabine)、达卡巴嗪(dacarbazine)、柔红霉素(daunorubicin)、多西他赛(docetaxel)、多柔比星(doxorubicin)、依托泊苷(etoposide)、氟尿嘧啶(flourouracil)、吉西他滨、伊立替康(irinotecan)、洛莫司丁(lomustine)、甲氨蝶呤(methotrexate)、丝裂霉素C(mitomycin C)、奥沙利铂(oxaliplatin)、紫杉醇(paclitaxel)、培美曲塞(pemetrexed)、替莫唑胺(temozolomide)和长春新碱(vincristine)。

[0678] 在一些实施例中,另外的治疗剂是血管生成靶向治疗剂。靶向血管生成的疗法的非限制性实例包含来那度胺(lenalidomide)、恩扎妥林(enzastaurine)、阿柏西普(aflibercept)和贝伐单抗(bevacizumab)。

[0679] 在一些实施例中,另外的疗法或治疗剂可以包含组氨酰-tRNA合成酶(HRS)多肽或编码HRS多肽的可表达核苷酸。

[0680] 术语“免疫疗法”是指调节免疫系统的药剂。在一些实施例中,免疫疗法可以增加免疫系统调节剂的表达和/或活性。在一些实施例中,免疫疗法可以降低免疫系统调节剂的表达和/或活性。在一些实施例中,免疫疗法可以募集和/或增强免疫细胞的活性。

[0681] 在一些实施例中,免疫疗法是细胞免疫疗法(例如,过继T细胞疗法、树突状细胞疗法、自然杀伤细胞疗法)。在一些实施例中,细胞免疫疗法是sipuleucel-T(APC8015; Provenge™; Plosker (2011)《药物》71(1):101-108)。在一些实施例中,细胞免疫疗法包含表达嵌合抗原受体(CAR)的细胞。在一些实施例中,细胞免疫疗法是CAR-T细胞疗法。在一些实施例中,CAR-T细胞疗法是替沙仑赛(tisagenlecleucel)(Kymria)。在一些实施例中,CAR-T细胞疗法是阿基仑赛(aticabtagene ciloleucel)(Yescarta)。在一些实施例中,CAR-T细胞疗法是布瑞基奥仑赛(brexucabtagene autoleucel)(Tecartus)。在一些实施例中,CAR-T细胞疗法是瑞基奥仑赛(relmacabtagene autoleucel)。在一些实施例中,CAR-T细胞疗法是ALLO-501。

[0682] 在一些实施例中,免疫疗法是抗体疗法(例如,单克隆抗体、缀合抗体或双特异性抗体)。在一些实施例中,抗体疗法是贝伐单抗(Mvastin™, Avastin®)、曲妥珠单抗(Herceptin®)、阿维单抗(avelumab)(Bavencio®)、利妥昔单抗(rituximab)(MabThera™,

Rituxan®)、含有人透明质酸酶的利妥昔单抗(Rituxan Hycela™)、依决洛单抗(edrecolomab)(Panorex)、达雷妥尤单抗(daratumuab)(Darzalex®)、奥拉单抗(olaratumab)(Lartruvo™)、奥法木单抗(ofatumumab)(Arzerra®)、阿仑单抗(alemtuzumab)(Campath®)、西妥昔单抗(Erbix®)、奥戈伏单抗(oregovomab)、派姆单抗(Keytruda®)、地努妥昔单抗(dinutiximab)(Unituxin®)、阿托珠单抗(obinutuzumab)(Gazyva®)、曲美木单抗(CP-675,206)、雷莫芦单抗(ramucirumab)(Cyramza®)、乌利妥昔单抗(ublrituximab)(TG-1101)、帕尼单抗(Vectibix®)、依洛珠单抗(elotuzumab)(Empliciti™)、阿维单抗(avelumab)(Bavencio®)、耐昔妥珠单抗(Portrazza™)、西妥珠单抗(cirmtuzumab)(UC-961)、伊布单抗(ibritumomab)(Zevalin®)、伊沙妥昔单抗(isatuximab)(SAR650984)、尼妥珠单抗(nimotuzumab)、非苏木单抗(fresolimumab)(GC1008)、利瑞鲁单抗(lirilumab)(INN)、莫格利珠单抗(mogamulizumab)(Poteligeo®)、非克拉珠单抗(ficlatuzumab)(AV-299)、地舒单抗(denosumab)(Xgeva®)、仑兹鲁单抗(lenzilumab)、阿维单抗、斯巴达珠单抗(spartalizumab)、派姆单抗、乌托鲁单抗(utomilumab)、乌利妥昔单抗、博纳吐单抗(blinatumomab)、盖尼塔单抗(ganitumab)、乌瑞芦单抗(urelumab)、匹地利珠单抗、阿麦妥单抗(amatumaximab)、莫舒尼妥珠单抗(mosunetuzumab)(BTCT4465A)、CD20-TCB、R07082859、XmAb13676、格菲妥单抗(glofitamab)、CD20-TDB、奥尼妥单抗(odronextamab)(REGN1979)、IGM-2323、BTCT4465A、AMG-562或TTI-621。

[0683] 在一些实施例中,免疫疗法是抗体-药物缀合物。在一些实施例中,抗体-药物缀合物是吉妥珠单抗奥佐米星(gemtuzumab ozogamicin)(Mylotarg™)、奥英妥珠单抗奥佐米星(inotuzumab ozogamicin)(Besponsa®)、维汀-本妥昔单抗(brentuximab vedotin)(Adcetris®)、恩美曲妥珠单抗(ado-trastuzumab emtansine)(TDM-1; Kadcyla®)、索星-米妥昔单抗(mirvetuximab soravtansine)(IMGN853)、雷星-阿奈妥单抗(anetumab ravtansine)、维汀-泊洛妥珠单抗(polatuzumab vedotine)、替朗妥昔单抗(loncastuximab tesirine)(ADCT-402)、替卡利尤单抗(camidanlumab tesirine)(ADCT-301)或恩星-那妥昔单抗(naratuximab emtansine)(Debio 1562)。

[0684] 在一些实施例中,免疫疗法包含博纳吐单抗(AMG103; Blincyto®)或米哌妥林(midostaurin)(Rydapt)。

[0685] 在一些实施例中,免疫疗法包含毒素。在一些实施例中,免疫疗法是地尼白介素(denileukin diftitox)(Ontak®)。

[0686] 在一些实施例中,免疫疗法是细胞因子疗法。在一些实施例中,细胞因子疗法是白介素2(IL-2)疗法、干扰素 α (IFN α)疗法、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)疗法、白介素12(IL-12)疗法、白介素疗法15(IL-15)疗法、白介素7(IL-7)疗法或促红细胞生成素 α (EPO)疗法。在一些实施例中,IL-2疗法是阿地白介素(aldesleukin)(Proleukin®)。在一些实施例中,IFN α 疗法是IntronA®(Roferon-A®)。在一些实施例中,G-CSF疗法是非格司亭(filgrastim)(Neupogen®)。

[0687] 在一些实施例中,免疫疗法是免疫检查点抑制剂。在一些实施例中,免疫疗法包含一种或多种免疫检查点抑制剂。在一些实施例中,免疫检查点抑制剂是CTLA-4抑制剂、PD-1抑制剂或PD-L1抑制剂。在一些实施例中,CTLA-4抑制剂是伊匹木单抗(Yervoy®)或曲美木单抗(CP-675,206)。在一些实施例中,PD-1抑制剂是派姆单抗(Keytruda®)或纳武单抗(Opdivo®)。在一些实施例中,PD-L1抑制剂是阿妥珠单抗(atezolizumab)(Tecentriq®)、阿维单抗(Bavencio®)或德瓦鲁单抗(durvalumab)(Imfinzi™)。

[0688] 在一些实施例中,免疫疗法是基于mRNA的免疫疗法。在一些实施例中,基于mRNA的免疫疗法是CV9104(参见例如,Rausch等人(2014)《人类疫苗和免疫疗法(Human Vaccin Immunother)》10(11):3146-52;和Kubler等人(2015)《癌症免疫治疗杂志(J.Immunother Cancer)》3:26)。

[0689] 在一些实施例中,免疫疗法是卡介苗芽孢杆菌(BCG)疗法。

[0690] 在一些实施例中,免疫疗法是溶瘤病毒疗法。在一些实施例中,溶瘤病毒疗法是拉他莫基(talimogene alherparepvec)(T-VEC; Imlygic®)。

[0691] 在一些实施例中,免疫疗法是癌症疫苗。在一些实施例中,癌症疫苗是人乳头瘤病毒(HPV)疫苗。在一些实施例中,HPV疫苗是Gardasil®、Gardasil9®或Cervarix®。在一些实施例中,癌症疫苗是乙型肝炎病毒(HBV)疫苗。在一些实施例中,HBV疫苗是Engerix-B®、Recombivax HB®或GI-13020(Tarmogen®)。在一些实施例中,癌症疫苗是Twinrix®或Pedarix®。在一些实施例中,癌症疫苗是BiovaxID®、Oncophage®、GVAX、ADXS11-001、ALVAC-CEA、PROSTVAC®、Rindopepimut®、CimaVax-EGF、Iapuleucel-T(APC8024; Neuvence™)、GRNVAC1、GRNVAC2、GRN-1201、hepcortespenlisimut-L(Hepko-V5)、DCVAX®、SCIB1、BMT CTN 1401、PrCa VBIR、PANVAC、ProstAtak®、DPX-Survivac或viagenpumatulcel-L(HS-110)。

[0692] 在一些实施例中,免疫疗法是肽疫苗。在一些实施例中,肽疫苗是nelipepimut-S(E75)(NeuVax™)、IMA901或SurVaxM(SVN53-67)。在一些实施例中,癌症疫苗是免疫原性的个人新抗原疫苗(参见例如,Ott等人(2017)《自然》547:217-221;Sahin等(2017)《自然》547:222-226)。在一些实施例中,癌症疫苗是RGSH4K或NEO-PV-01。在一些实施例中,癌症疫苗是基于DNA的疫苗。在一些实施例中,基于DNA的疫苗是乳球蛋白-A DNA疫苗(参见例如, Kim等人(2016)《肿瘤免疫学(OncoImmunology)》5(2):e1069940)。

[0693] 在一些实施例中,免疫靶向剂选自阿地白介素、干扰素 α -2b、伊匹木单抗、兰洛利珠单抗(lambrolizumab)、纳武单抗、泼尼松(prednisone)和sipuleucel-T。

[0694] 在一些实施例中,另外的疗法是放射疗法。放射疗法的非限制性实例包含放射性碘疗法、外束放射和镭223疗法。

[0695] 在一些实施例中,另外的治疗剂是GSK-3368715、PF-06821497、塞拉色替(ceralasertib);AZD6738、BI-894999、MAK-683、AZD-6738、taminadenant、TAK-981、MIK-665或丹伐特生(danvatirsen)。

[0696] 另外的激酶抑制剂包含在以下专利中描述的那些:例如,美国专利第7,514,446号;第7,863,289号;第8,026,247号;第8,501,756号;第8,552,002号;第8,815,901号;第8,

912,204号;第9,260,437号;第9,273,051号;美国公开号US 2015/0018336;国际公开号WO 2007/002325;WO 2007/002433;WO 2008/080001;WO 2008/079906;WO 2008/079903;WO 2008/079909;WO 2008/080015;WO 2009/007748;WO 2009/012283;WO 2009/143018;WO 2009/143024;WO 2009/014637;2009/152083;WO 2010/111527;WO 2012/109075;WO 2014/194127;WO 2015/112806;WO 2007/110344;WO 2009/071480;WO 2009/118411;WO 2010/031816;WO 2010/145998;WO 2011/092120;WO 2012/101032;WO 2012/139930;WO 2012/143248;WO 2012/152763;WO 2013/014039;WO 2013/102059;WO 2013/050448;WO 2013/050446;WO 2014/019908;WO 2014/072220;WO 2014/184069;WO 2016/075224;WO 2016/081450;WO 2016/022569;WO 2016/011141;WO 2016/011144;WO 2016/011147;WO 2015/191667;WO 2012/101029;WO 2012/113774;WO 2015/191666;WO 2015/161277;WO 2015/161274;WO 2015/108992;WO 2015/061572;WO 2015/058129;WO 2015/057873;WO 2015/017528;WO/2015/017533;WO 2014/160521;和WO 2014/011900,所述专利中的每个专利在此通过引用整体并入本文。

[0697] 在一些实施例中,受试者先前被施用一种或多种针对淋巴瘤的标准护理疗法。在一些实施例中,先前施用的标准护理疗法是维汀-泊洛妥珠单抗、塞利尼索(selinexor)、阿基仑赛(Yescarta)、替沙仑赛(Kymria)、苯达莫司汀与利妥昔单抗和维汀-泊洛妥珠单抗的组合、坦昔妥单抗(tafasitamab)与来那度胺的组合或利妥昔单抗与人透明质酸酶(Rituxan Hycela)的组合。

[0698] 在一些实施例中,受试者同时接受针对淋巴瘤的标准护理疗法。在一些实施例中,标准护理疗法是维汀-泊洛妥珠单抗、塞利尼索、阿基仑赛(Yescarta)、替沙仑赛(Kymria)、苯达莫司汀与利妥昔单抗和维汀-泊洛妥珠单抗的组合、坦昔妥单抗与来那度胺的组合或利妥昔单抗与人透明质酸酶(Rituxan Hycela)的组合。

[0699] 尽管在不同类型的癌症之间肿瘤发生的遗传基础可能有所不同,但对于所有实体瘤类型而言,转移所需的细胞和分子机制似乎是相似的。在转移性级联过程中,癌细胞失去生长抑制反应,发生粘附性改变,并产生可降解细胞外基质成分的酶。这导致肿瘤细胞与原始肿瘤分离,通过新形成的脉管系统渗透到循环系统中,肿瘤细胞在可能形成菌落的有利的远端位点处发生迁移和外渗。

[0700] 因此,本文还提供了一种用于在有需要的受试者中抑制、预防、帮助预防或减轻癌症的转移症状的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或其药物组合物。此类方法可用于治疗本文所述的一种或多种癌症。参见例如,美国公开号2013/0029925;国际公开号WO 2014/083567;和美国专利第8,568,998号。另见例如,Hezam K等人,《神经科学评论(Rev Neurosci)》2018年1月26日;29:93-98;Gao L等人,《胰腺(Pancreas)》2015年1月;44:134-143;Ding K等人,《生物化学杂志(J Biol Chem)》2014年6月6日;289:16057-71;以及Amit M等人,《癌基因》2017Jun 8;36:3232-3239。在一些实施例中,所述癌症是MALT1相关性癌症。在一些实施例中,如本文所述,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与另外的疗法或另一种治疗剂组合使用。例如,第一或第二MALT1蛋白酶抑制剂。

[0701] 术语“转移”是本领域已知的术语,并且是指在受试者中远离原发性肿瘤的位点处形成另外的肿瘤(例如,实体瘤),其中另外的肿瘤包含与原发性肿瘤相同或相似的癌细胞。

[0702] 还提供了在患MALT1相关性癌症的受试者中降低发生转移或另外的转移的风险的方法,所述方法包含:选择、鉴定或诊断患有MALT1相关性癌症的受试者,以及将有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐施用于被选择、鉴定或诊断为患有MALT1相关性癌症的受试者。还提供了在患有MALT1相关性癌症的受试者中降低发生转移或另外的转移的风险的方法,所述方法包含将有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐施用于患有MALT1相关性癌症的受试者。可以将患有MALT1相关性癌症的受试者中发生转移或另外的转移的风险的降低与治疗前受试者中发生转移或另外的转移的风险进行比较,或者与尚未接受任何治疗或接受不同治疗的患有相似或相同的MALT1相关性癌症的受试者或受试者群体进行比较。

[0703] 短语“发生转移的风险”意指患有原发性肿瘤的受试者在设定的时间段内在远离受试者中的原发性肿瘤的位点处出现另外的肿瘤(例如,实体瘤)的风险,其中所述另外的肿瘤包含与原发性肿瘤相同或相似的癌细胞。本文描述了用于在患有癌症的受试者中降低发生转移的风险的方法。

[0704] 短语“发生另外的转移的风险”意指患有原发性肿瘤并在远离原发性肿瘤的位点处患有一种或多种另外的肿瘤(其中所述一种或多种另外的肿瘤包含与原发性肿瘤相同或相似的癌细胞)的受试者将出现远离原发性肿瘤的一种或多种另外的肿瘤的风险,其中所述另外的肿瘤包含与原发性肿瘤相同或相似的癌细胞。本文描述了降低发生另外的转移的风险的方法。

[0705] 本文所述的一些实施例提供了治疗如类风湿性关节炎、多发性硬化症和SLE等自身免疫性疾病(例如,MALT1相关性自身免疫性疾病)的方法,所述方法包括将有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐施用于有需要的受试者。

[0706] 本文所述的一些实施例提供了治疗如慢性移植物抗宿主病等炎性疾病(例如,MALT1相关性自身免疫性疾病)的方法,所述方法包括将有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐施用于有需要的受试者。

[0707] 还提供了一种用于在哺乳动物细胞中抑制MALT1蛋白酶活性的方法,所述方法包括使所述哺乳动物细胞与式(I)化合物接触。在一些实施例中,所述接触是体外的。在一些实施例中,所述接触是体内的。在一些实施例中,所述接触是体内的,其中所述方法包括将有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐施用于哺乳动物细胞具有MALT1蛋白酶活性的受试者。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物免疫细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是本文所述的任何癌症。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是MALT1相关性哺乳动物癌细胞。

[0708] 还提供了一种用于在哺乳动物细胞中抑制MALT1蛋白酶活性的方法,所述方法包括使所述哺乳动物细胞与式(I)化合物接触。在一些实施例中,所述接触是体外的。在一些实施例中,所述接触是体内的。在一些实施例中,所述接触是体内的,其中所述方法包括将有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐施用于哺乳动物细胞具有MALT1蛋白酶活性的哺乳动物。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物免疫细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是本文所述的任何癌症。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是MALT1相关性哺乳动物癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是胃肠道哺乳动物细胞。

[0709] 如本文所使用的,术语“接触”是指使体外系统或体内系统中的指示部分在一起。例如,使MALT1蛋白酶与本文提供的化合物“接触”包含向具有MALT1蛋白酶的受试者(如人)施用本文提供的化合物,以及例如将本文提供的化合物引入到含有哺乳动物细胞或纯化制剂的样品中,所述制剂含有MALT1蛋白酶。

[0710] 本文还提供了一种在体外或体内抑制哺乳动物细胞增殖的方法,所述方法包括使细胞与有效量的如本文所定义的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或其药物组合物接触。

[0711] 如本文所定义的,“MALT1蛋白酶抑制剂”包含表现出MALT1抑制活性的任何化合物。在一些实施例中,MALT1蛋白酶抑制剂对MALT1蛋白酶具有选择性。示例性MALT1蛋白酶抑制剂可以针对MALT1蛋白酶表现出小于约1000nM、小于约500nM、小于约200nM、小于约100nM、小于约50nM、小于约25nM、小于约10nM或小于约1nM的抑制活性(IC_{50}),如本文所述的测定法中所测量的。在一些实施例中,MALT1蛋白酶抑制剂可以针对MALT1蛋白酶表现出小于约25nM、小于约10nM、小于约5nM或小于约1nM的抑制活性(IC_{50}),如本文提供的测定法中所测量的。

[0712] 如本文所使用的,“第一MALT1蛋白酶抑制剂”或“第一MALT1抑制剂”是如本文所定义的MALT1蛋白酶抑制剂,但其不包含如本文所定义的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。如本文所使用的,“第二MALT1蛋白酶抑制剂”或“第二MALT1抑制剂”是如本文所定义的MALT1蛋白酶抑制剂,但其不包含如本文所定义的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。当本文提供的方法中同时存在第一和第二MALT1抑制剂时,第一和第二MALT1蛋白酶抑制剂是不同的。

[0713] 本文中描述了示例性的第一和第二MALT1蛋白酶抑制剂。在一些实施例中,第一或第二MALT1蛋白酶抑制剂可以是例如JNJ-67856633或CTX-177。

[0714] 短语“有效量”是指当施用于需要此类治疗的受试者时足以(i)治疗MALT1相关性疾病或病症(如MALT1相关性癌症);(ii)减轻、改善或消除特定疾病、病状或病症的一种或多种症状;或(iii)延迟本文所述特定疾病、病状或病症的一种或多种症状的发作的化合物的量。对应于该量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐的量将根据如具体化合物、疾病状况及其严重程度、需要治疗的受试者的身份(例如,体重)等因素而变化,但仍然可以由本领域技术人员常规确定。

[0715] 当用作药物时,式(I)化合物(包含其药学上可接受的盐)可以以药物组合物的形式施用。这些组合物可以按制药领域中熟知的方式制备,并且可以通过多种途径施用,取决于希望局部治疗还是全身性治疗并且取决于有待治疗的部位。施用可以是局部的(包含经皮、表皮、眼部和至粘膜,包含鼻内、阴道和直肠递送)、肺部的(例如,通过吸入或吹入粉末或气溶胶,包含通过喷雾器;气管内或鼻内)、经口的或肠胃外的。口服施用可以包含被配制用于每天一次或每天两次(BID)施用的剂型。肠胃外施用包含静脉内、动脉内、皮下、腹膜内肌肉内或注射或输注;或颅内(例如,鞘内或脑室内)施用。肠胃外施用可以呈单次团注剂量的形式,或者可以例如通过连续的灌注泵进行。用于局部施用的药物组合物和调配物可以包含透皮贴剂、软膏、洗剂、乳膏、凝胶剂、滴剂、栓剂、喷雾剂、液体以及粉末。常规的药物载体、水性、粉末或油性基质、增稠剂等可能是必要的或希望的。

[0716] 本文还提供了药物组合物,所述药物组合物含有作为活性成分的式(I)化合物或

其药学上可接受的盐,以及一种或多种药学上可接受的赋形剂。例如,使用式(I)化合物或其药学上可接受的盐制备的药物组合物。在一些实施例中,所述组合物适合于局部施用。在制备本文提供的组合物时,通常将活性成分与赋形剂混合、用赋形剂稀释或封装在此类载体之内,所述载体呈例如胶囊、药袋(sachet)、纸或其它容器的形式。当该赋形剂作为一种稀释剂时,它可以是一种固体、半固体或液体材料,该材料可以作为活性成分的媒剂、载体或介质而起作用。因此,组合物可以呈片剂、丸剂、粉剂、锭剂、药袋、扁囊剂、酏剂、悬浮液、乳液、溶液、糖浆剂、气溶胶(作为固体或在液体介质中)、含有例如至多10重量%的活性化合物的软膏、软明胶胶囊和硬明胶胶囊、栓剂、无菌可注射溶液以及无菌包装粉剂的形式。在一些实施例中,所述组合物被配制用于口服施用。在一些实施例中,所述组合物是固体口服调配物。在一些实施例中,所述组合物被配制成片剂或胶囊。

[0717] 本文进一步提供了含有式(I)化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体的药物组合物。可以通过根据常规药物混合技术将式(I)化合物或其药学上可接受的盐与药物载体充分混合来制备含有式(I)化合物或其药学上可接受的盐作为活性成分的药物组合物。取决于期望的施用途径(例如,口服、肠胃外),载体可以采取各种形式。在一些实施例中,所述组合物是固体口服组合物。

[0718] 合适的药学上可接受的载体是本领域众所周知的。这些药学上可接受的载体中的一些载体的描述可以在《药物赋形剂手册(The Handbook of Pharmaceutical Excipients)》中找到,该手册由美国药学会和英国药学会出版。

[0719] 配制药物组合物的方法已经在许多出版物中有所描述,如《药物剂型:片剂,第二版,修订和扩展(Pharmaceutical Dosage Forms:Tablets,Second Edition,Revised and Expanded)》,第1-3卷,Lieberman等人编辑;《药物剂型:肠胃外药物(Pharmaceutical Dosage Forms:Parenteral Medications)》,第1-2卷,Avis等人编辑;以及《药物剂型:分散系统(Pharmaceutical Dosage Forms:Disperse Systems)》,第1-2卷,Lieberman等人编辑;由马塞尔德克尔公司(Marcel Dekker, Inc)出版。

[0720] 在制备呈口服剂型的组合物时,可以使用任何常规药物介质。因此对于液体口服制剂如(悬浮液、酏剂和溶液),合适的载体和添加剂包含水、乙二醇、油、醇、调味剂、防腐剂、稳定剂、着色剂等;对于固体口服制剂(如粉末、胶囊和片剂),合适的载体和添加剂包含淀粉、糖、稀释剂、成粒剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂等。合适的粘合剂包含但不限于淀粉、明胶、天然糖(如葡萄糖或 β -乳糖)、玉米甜味剂、天然和合成的树胶(如阿拉伯胶、黄蓍胶或油酸钠)、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠等。崩解剂包含但不限于淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土、黄原胶等。固体口服制剂也可以用如糖等物质进行包衣或肠溶衣,从而调节吸收的主要位点。对于肠胃外施用,载体通常将由无菌水组成,并且可以加入其它成分以增加溶解性或保存性。也可以利用水性载体和适当的添加剂来制备可注射的混悬液或溶液。本文的药物组合物在每个剂量单位(例如,片剂、胶囊、粉末、注射剂、一茶匙等)中将含有递送本文所述的有效剂量所必需的一定量的活性成分。

[0721] 可以将包括式(I)化合物或其药学上可接受的盐的组合物配制成单位剂型,每个剂量含有约5到约1,000mg(1g)的活性成分,更通常为约100mg到约500mg的活性成分。术语“单位剂型”是指适合作为人类受试者和其它受试者的单位剂量的物理上离散的单位,每个单位含有预定量的活性物质(即,式(I)化合物或其药学上可接受的盐),经计算所述预定量

的活性物质与合适的药物赋形剂一起产生期望的治疗效果。

[0722] 在一些实施例中,本文提供的组合物含有约5mg到约50mg的活性成分。本领域普通技术人员将理解,这体现了含有约5mg到约10mg、约10mg到约15mg、约15mg到约20mg、约20mg到约25mg、约25mg到约30mg、约30mg到约35mg、约35mg到约40mg、约40mg到约45mg或约45mg到约50mg活性成分的化合物或组合物。

[0723] 在一些实施例中,本文提供的组合物含有约50mg到约500mg的活性成分。本领域普通技术人员将理解,这体现了含有约50mg到约100mg、约100mg到约150mg、约150mg到约200mg、约200mg到约250mg、约250mg到约300mg、约350mg到约400mg或约450mg到约500mg活性成分的化合物或组合物。在一些实施例中,本文提供的组合物含有约10mg、约20mg、约80mg或约160mg的活性成分。

[0724] 在一些实施例中,本文提供的组合物含有约500mg到约1,000mg的活性成分。本领域普通技术人员将理解,这体现了含有约500mg到约550mg、约550mg到约600mg、约600mg到约650mg、约650mg到约700mg、约700mg到约750mg、约750mg到约800mg、约800mg到约850mg、约850mg到约900mg、约900mg到约950mg或约950mg到约1,000mg活性成分的化合物或组合物。

[0725] 式(I)化合物或其药学上可接受的盐的日剂量可以在每成人每天1.0到10,000mg或更高的宽范围内或其中的任何范围内变化。对于口服施用,优选地以片剂形式提供组合物,所述片剂含有0.01、0.05、0.1、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、25.0、50.0、100、150、160、200、250和500毫克的活性成分,用于对待治疗受试者的剂量进行对症调整。通常以每天约0.1mg/kg到约1000mg/kg体重(或其中的任何范围)的剂量水平提供有效量的药物。优选地,所述范围为每天约0.5到约500mg/kg体重,或其中的任何范围。更优选地,所述范围为每天约1.0到约250mg/kg体重,或其中的任何范围。更优选地,所述范围为每天约0.1到约100mg/kg体重,或其中的任何范围。在一个实例中,所述范围可以为每天约0.1到约50.0mg/kg体重,或其中的任何量或范围。在另一个实例中,所述范围可以为每天约0.1到约15.0mg/kg体重,或其中的任何范围。在又一个实例中,所述范围可以为每天约0.5到约7.5mg/kg体重,或其中的任何范围。可以按照每天1-4次的方案或以单个日剂量施用含有式(I)化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0726] 活性化合物可以在宽的剂量范围内有效,并且通常以药学有效量施用。本领域技术人员可以容易地确定待施用的最佳剂量。因此,应该理解,实际施用的化合物的量通常将由医生确定,并且将根据相关情况而变化,包含施用方式、实际施用的化合物、制剂的强度、待治疗的病状以及疾病状况的进展。另外,与正在治疗的特定受试者相关的因素,包含患者反应、年龄、体重、饮食、施用时间和受试者症状的严重程度,将导致需要调整剂量。

[0727] 在一些实施例中,可以以约1mg/kg到约100mg/kg范围内的量施用本文提供的化合物。在一些实施例中,可以以约1mg/kg到约20mg/kg、约5mg/kg到约50mg/kg、约10mg/kg到约40mg/kg、约15mg/kg到约45mg/kg、约20mg/kg到约60mg/kg或约40mg/kg到约70mg/kg的量施用本文提供的化合物。例如,约5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约35mg/kg、约40mg/kg、约45mg/kg、约50mg/kg、约55mg/kg、约60mg/kg、约65mg/kg、约70mg/kg、约75mg/kg、约80mg/kg、约85mg/kg、约90mg/kg、约95mg/kg或约100mg/kg。

[0728] 本领域技术人员将认识到,使用合适的、已知的和普遍接受的细胞和/或动物模型

的体内和体外试验均预示了测试化合物治疗或预防给定病症的能力。

[0729] 本领域的技术人员将进一步认识到,可以根据临床和医学领域中已知的方法完成在健康受试者和/或患有给定病症的受试者中的人类临床试验,包含首次人类试验、剂量范围试验和功效试验。

[0730] 本文提供了可用于例如治疗MALT1相关性疾病或病症(如癌症)的药物试剂盒,所述药物试剂盒包含一个或多个容器,所述一个或多个容器含有包括有效量的本文提供的化合物的药物组合物。如将对本领域的技术人员显而易见的是,如果需要,此类试剂盒可以进一步包含各种常规药物试剂盒组分中的一个或多个,如例如具有一种或多种药学上可接受的载体的容器、另外的容器等。试剂盒中还可以包含指示待施用的组分的量的说明书(作为插入物或作为标签)、施用指南和/或用于混合组分的指南。

[0731] 实例

[0732] 材料与方法

[0733] 本文提供的化合物(包含其盐)可以使用已知的有机合成技术制备并且可以根据多种可能的合成途径中的任一种途径合成。

[0734] 用于制备本文提供的化合物的反应可以在合适的溶剂中进行,所述合适的溶剂可以由有机合成领域中的技术人员容易地选择。合适的溶剂可以在进行反应的温度(例如,范围可以为从溶剂的冻结温度到溶剂的沸腾温度的温度)下与起始材料(反应物)、中间体或产物基本上无反应性。给定的反应可以在一种溶剂或多于一种溶剂的混合物中进行。取决于特定的反应步骤,特定反应步骤的合适溶剂可以由技术人员选择。

[0735] 本文提供的化合物的制备可以涉及各种化学基团的保护和脱保护。保护和脱保护的需要以及适当的保护基团的选择可以由本领域技术人员容易地确定。保护基团的化学可以在例如以下文献中找到:《保护基团化学(Protecting Group Chemistry)》,第1版,牛津大学出版社(Oxford University Press),2000;《玛奇高等有机化学:反应、机理和结构(March's Advanced Organic Chemistry:Reactions,Mechanisms,and Structure)》,第5版,威利国际科学出版公司(Wiley-Interscience),2001;以及Petursson,S.等人,“碳水化合物化学中的保护基团(Protecting Groups in Carbohydrate Chemistry)”,《化学教育杂志(J.Chem.Educ.)》,74(11),1297(1997)。

[0736] 对水分或空气敏感的反应在氮气或氩气下使用无水溶剂和试剂进行。通过通常用Sanpont预涂TLC板、硅胶GF-254、层厚0.25mm进行的分析薄层色谱(TLC)或液相色谱-质谱(LC-MS)确定反应进程。

[0737] 通常,所使用的分析型LC-MS系统由Shimadzu LCMS-2020组成,带正离子检测模式的电喷雾电离,配备有20ADXR泵、SIL-20ACXR自动进样器、CTO-20AC柱温箱、M20A PDA检测器和LCMS 2020MS检测器。色谱柱通常是HALO a C18 30*5.0mm,2.7 μ m。流动相A是含有0.05%TFA的水,并且流动相B是含有0.05%TFA的乙腈。梯度是在2.0分钟内从5%流动相B到100%,保持0.7分钟,然后在0.05分钟内恢复到5%流动相B,并保持0.25分钟。柱温箱(CTO-20AC)在40.0 $^{\circ}$ C的温度下运行。流速为1.5毫升/分钟,并且注射体积为1 μ l。PDA(SPD-M20A)检测范围为190-400nm。MS检测器,其配置有电喷雾电离作为可电离源;采集模式:扫描;雾化气体流量:1.5升/分钟;干燥气体流量:15升/分钟;检测器电压:调谐电压 \pm 0.2kv;DL温度:250 $^{\circ}$ C;加热块温度:250 $^{\circ}$ C;扫描范围:90.00-900.00m/z。ELSD(Alltech 3300)检测

器参数:漂移管温度: $60 \pm 5^\circ\text{C}$;N₂流速: 1.8 ± 0.2 升/分钟。流动相梯度针对单个化合物进行了优化。

[0738] GC-MS系统通常使用带有FID和MS检测器的Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra进行。采集模式的MS检测器:开始时间:2.00分钟;结束时间:9.00分钟;ACQ模式:扫描;事件时间:0.30秒;扫描速度:2000;开始m/z:50.00;结束m/z:550.00;离子源温度:200.00 $^\circ\text{C}$;接口温度:250.00 $^\circ\text{C}$;溶剂切割时间:2.00分钟。

[0739] 制备型HPLC纯化法通常使用配备有2489UV检测器的Waters Auto纯化系统(2545-2767)进行。色谱柱为Waters C18,19x150 mm,5 μm 。流动相由乙腈(5-95%)在含有0.1%FA的水中的混合物组成。流速保持在25毫升/分钟,注射体积为1200 μL ,并且UV检测器使用254nm和220nm两个通道。流动相梯度针对单个化合物进行了优化。

[0740] 在以下之一上进行手性分析色谱法:Chiralpak AS、AD、Chiralcel OD、OJ Chiralpak IA、IB、IC、ID、IE、IF、IG、IH柱(大赛璐化学工业株式会社(Daicel Chemical Industries,Ltd.));(R,R)-Whelk-01、(S,S)-Whelk-01色谱柱(瑞吉斯技术公司(Regis technologies,Inc.));CHIRAL Cellulose-SB、SC、SA色谱柱(YMC Co.,Ltd.),在不同色谱柱尺寸(50x4.6mm、100x4.6mm、150x4.6mm、250x4.6mm、50x3.0mm、100x3.0mm)下,其中己烷中的乙醇(%Et/Hex)或己烷中的异丙醇(%IPA/Hex)的标注百分比作为等度溶剂系统。

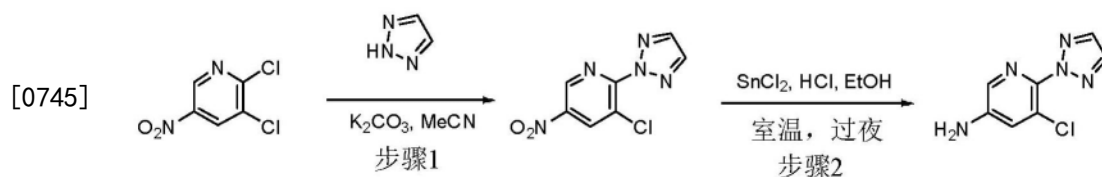
[0741] 使用微波照射进行的反应通常使用由Biotage制造的Initiator进行。在旋转蒸发仪上减压浓缩溶液。快速柱色谱法通常使用Biotage快速色谱法设备(Dyax Corp.)在硅胶(40-60 μm ,60 Å孔径)上在所述尺寸的预装盒中进行。除非另有说明,否则¹H NMR光谱在DMSO-d₆溶液中以400MHz光谱仪获得。化学位移以百万分率(ppm)为单位报告。在DMSO-d₆溶液中使用四甲基硅烷(TMS)作为内参,并且在CD₃OD溶液中使用残留的CH₃OH峰或TMS作为内参。耦合常数(J)以赫兹(Hz)为单位报告。手性分析色谱法在Chiralpak AS、Chiralpak AD、Chiralcel OD、Chiralcel IA或Chiralcel OJ色谱柱(250x4.6 mm)(大赛璐化学工业株式会社)之一上进行,其中己烷中的乙醇(%Et/Hex)或庚烷中的异丙醇(%IPA/Hep)的标注百分比作为等度溶剂系统。在以下之一上进行手性制备色谱法:Chiralpak AS、AD、Chiralcel OD、OJ、Chiralpak IA、IB、IC、ID、IE、IF、IG、IH柱(大赛璐化学工业株式会社);(R,R)-Whelk-01、(S,S)-Whelk-01色谱柱(瑞吉斯技术公司(Regis technologies,Inc.));CHIRAL Cellulose-SB、SC、SA色谱柱(YMC Co.,Ltd.),在不同色谱柱尺寸(250x20mm、250x30mm、250x50mm)下,其中在手性分析色谱上鉴定出期望的等度溶剂系统。

[0742] 本文使用的缩写包含:-C(O)CH₃(Ac);乙酸(AcOH);-OC(O)CH₃(OAc);水溶液(aq);Cbz(苄氧羰基);N,N-二异丙基乙胺(DIEA);N,N-二甲基甲酰胺(DMF);1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDCI);乙酸乙酯(EtOAc);二乙醚(乙醚或Et₂O);石油醚(PE);克(g);小时(h或hr);2-丙醇(IPA);质谱(ms或MS);微升(μL);毫克(mg);毫升(mL);毫摩尔(mmol);分钟(min);甲基叔丁基醚(MTBE);六氟磷酸(苯并三唑-1-基氧基)三吡咯烷基磷酸(PyBOP);保留时间(R_t);室温(rt或RT);饱和氯化钠水溶液(盐水);三氟乙酸(TFA);四氢呋喃(THF);快速色谱法(FC);液相色谱法(LC);液相色谱-质谱法(LCMS或LC-MS);超临界流体色谱法(SFC);叔丁氧羰基(Boc或BOC);二乙氨基三氟化硫(DAST);二氯甲烷(DCM);二甲基乙酰胺(DMA或DMAC);二甲亚砜(DMSO);甲苯(tol);1,3-双(二苯基膦基)丙烷(DPPP);乙酸(HOAc);3-氯过氧苯甲酸(m-CPBA);甲基(Me);甲醇(MeOH);氯化氧化二氧铬;吡啶-1-鎓

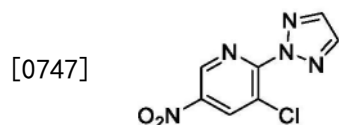
(PCC); N-溴代琥珀酰胺 (NBS); 薄层色谱法 (TLC)。

[0743] 以下是用于制备以下实例中使用的化合物的代表性程序, 或者其可以替代以下实例中使用的可能无法商购的化合物。

[0744] 方法A1

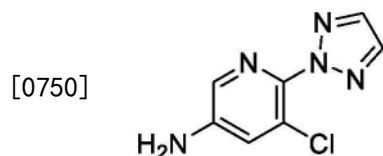


[0746] 步骤1: 3-氯-5-硝基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶



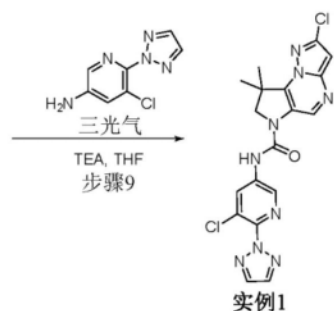
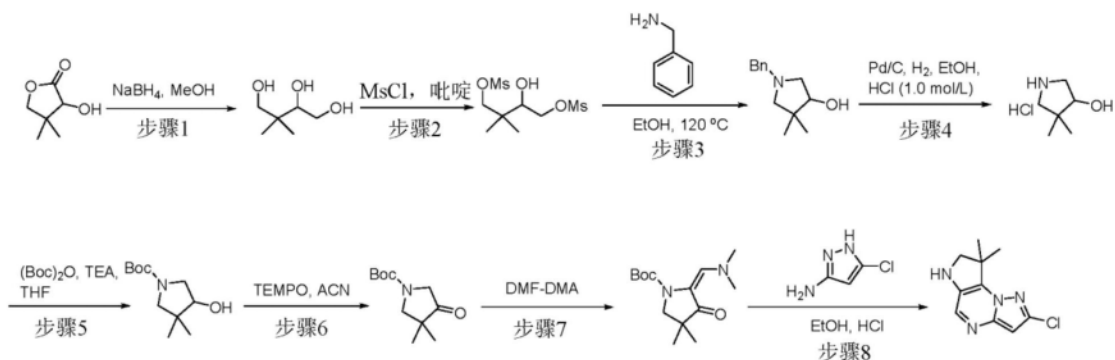
[0748] 将2,3-二氯-5-硝基吡啶 (22.8g, 118.2mmol, 1.0当量)、CH₃CN (250mL)、2H-1,2,3-三唑 (9.0g, 130.0mmol, 1.1当量) 和K₂CO₃ (21.2g, 153.6mmol, 1.3当量) 放入500mL烧瓶中。将所得混合物在40℃下搅拌15小时。使混合物冷却至25℃。将混合物倒入300mL EtOAc中。将有机层用H₂O (2x300mL) 和盐水 (300mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩。向残留物中加入CH₂Cl₂ (50mL)。将所得混合物过滤。将滤饼用CH₂Cl₂ (2x10mL) 洗涤并干燥, 以得到呈灰白色固体的3-氯-5-硝基-2-(1,2,3-三唑-2-基)吡啶 (6.8g, 26%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 8.39 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.14 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.33 (s, 2H)。LC-MS: m/z 226 [M+H]⁺。

[0749] 步骤2: 5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺



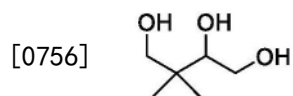
[0751] 将3-氯-5-硝基-2-(1,2,3-三唑-2-基)吡啶 (6.6g, 29.3mmol, 1.0当量) 和EtOH (200mL) 放入1.0L烧瓶中。在0℃下加入HCl (50mL)。然后在0℃下分份加入二水合SnCl₂ (33.0g, 146.3mmol, 5.0当量)。将所得混合物在25℃下搅拌15小时。将混合物在减压下浓缩, 并将残留物溶解在水 (300mL) 中。用3N NaOH将混合物碱化至pH 9。用EtOAc (2x400mL) 萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水 (500mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以得到呈灰白色固体的5-氯-6-(1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺 (5.4g, 94%产率)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ: 8.05 (s, 2H), 7.83 (d, J=2.5Hz, 1H), 7.21 (d, J=2.5Hz, 1H), 6.19 (s, 2H)。LC-MS: m/z 196 [M+H]⁺。

[0752] 方法B1



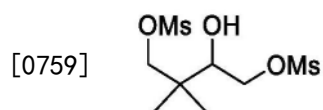
[0754] 实例1:2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8,8-二甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[0755] 步骤1:3,3-二甲基丁烷-1,2,4-三醇



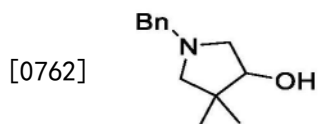
[0757] 将泛酸内酯(26.0g,199.8mmol,1.0当量)和MeOH(800mL)放入2.0L三颈烧瓶中。在0℃下分份加入NaBH₄(18.9g,499.5mmol,2.5当量)。将所得混合物在25℃下搅拌4小时。用1N HCl将混合物酸化至pH 7。将所得混合物在减压下浓缩。加入MeOH(200mL),并滤出固体。将滤液在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用CH₂Cl₂/MeOH(10:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的3,3-二甲基丁烷-1,2,4-三醇(21.0g,78%产率)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ:4.36(s,3H),3.70-3.30(m,5H),0.87-0.83(m,6H)。

[0758] 步骤2:二甲磺酸3-羟基-2,2-二甲基丁烷-1,4-二基酯



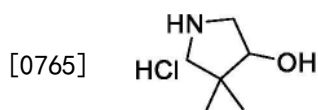
[0760] 将3,3-二甲基丁烷-1,2,4-三醇(21.0g,156.5mmol,1.0当量)和吡啶(150mL)放入500mL三颈烧瓶中。在0℃下逐滴加入甲磺酰氯(35.9g,312.9mmol,2.0当量)。将所得混合物在25℃下搅拌18小时。将混合物倒入DCM(200mL)中。用2N HCl将混合物酸化至pH 2。用CH₂Cl₂(3x300mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥。过滤后,将滤液在减压下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用CH₂Cl₂/MeOH(25:1)洗脱,以得到呈红色油状物的甲磺酸2-羟基-4-(甲磺酰氧基)-3,3-二甲基丁基酯(17.4g,38%产率)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ:4.35-4.31(m,1H),4.19-4.11(m,2H),3.88(d,J=9.4Hz,1H),3.81-3.78(m,1H),3.05(s,3H),3.02(s,3H),1.02(s,3H),0.94(s,3H)。LC-MS:m/z 291(M+H)⁺。

[0761] 步骤3:1-苄基-4,4-二甲基吡咯烷-3-醇



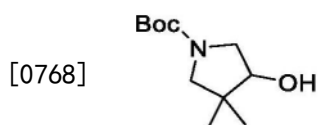
[0763] 将甲磺酸2-羟基-4-(甲磺酰氧基)-3,3-二甲基丁基酯(15.0g, 51.6mmol, 1.0当量)、EtOH(70mL)和苄胺(16.6g, 154.9mmol, 3.0当量)放入150mL压力罐反应器中。将所得混合物在120℃下搅拌18小时。使混合物冷却至25℃并在真空下浓缩。加入Et₂O(500mL), 并滤出固体。将滤液在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用CH₂Cl₂/MeOH(30:1)洗脱, 以得到呈红色油状物的1-苄基-4,4-二甲基吡咯烷-3-醇(5.5g, 52%产率)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 7.32-7.22(m, 5H), 3.75-3.73(m, 1H), 3.62(s, 2H), 2.95-2.91(m, 1H), 2.59-2.52(m, 2H), 2.31-2.24(m, 2H), 1.06(s, 6H)。LC-MS:m/z 206(M+H)⁺。

[0764] 步骤4: 4,4-二甲基吡咯烷-3-醇盐酸盐



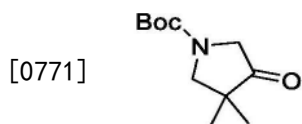
[0766] 将1-苄基-4,4-二甲基吡咯烷-3-醇(5.6g, 27.4mmol, 1.0当量)、EtOH(140mL)、1N HCl(30mL)和Pd/C(500mg)放入500mL烧瓶中。将所得混合物在氢气气氛下在25℃下搅拌18小时。将所得混合物过滤。将滤液在减压下浓缩, 以得到呈淡黄色固体的4,4-二甲基吡咯烷-3-醇盐酸盐(4.0g, 96%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 3.79-3.77(m, 1H), 3.47-3.35(m, 1H), 3.00-2.86(m, 3H), 1.00(s, 3H), 0.97(s, 3H)。LC-MS:m/z 116(M+H)⁺。

[0767] 步骤5: 4-羟基-3,3-二甲基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[0769] 将4,4-二甲基吡咯烷-3-醇盐酸盐(4.0g, 26.3mmol, 1.0当量)、THF(100mL)、(Boc)₂O(8.6g, 39.5mmol, 1.5当量)和TEA(13.4g, 131.9mmol, 5.0当量)放入500mL烧瓶中。将所得混合物在25℃下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用CH₂Cl₂/MeOH(20:1)洗脱, 以得到呈黄色油状物的4-羟基-3,3-二甲基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(5.5g, 96%产率)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 3.94-3.79(m, 1H), 3.74-3.64(m, 1H), 3.34-3.06(m, 3H), 1.46(s, 9H), 1.07(s, 3H), 1.02(s, 3H)。LC-MS:m/z 216(M+H)⁺。

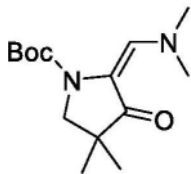
[0770] 步骤6: 3,3-二甲基-4-氧代吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[0772] 将4-羟基-3,3-二甲基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(5.0g, 23.2mmol, 1.0当量)、ACN(60mL)、N-甲基吗啉N-氧化物(3.5g, 30.2mmol, 1.3当量)和TPAP(408mg, 1.2mmol, 0.05当量)放入250mL烧瓶中。将所得混合物在25℃下搅拌1.5小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用PE/EtOAc(8:1)洗脱, 以得到呈无色油状物的3,3-二甲基-4-氧代吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(3.4g, 68%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 3.80(s, 2H), 3.45(s, 2H), 1.43(s, 9H), 1.06(s, 6H)。LC-MS:m/z 214(M+H)⁺。

[0773] 步骤7: (E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4,4-二甲基-3-氧代吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

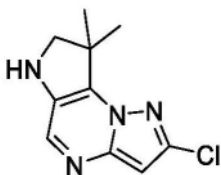
[0774]



[0775] 将3,3-二甲基-4-氧代-吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(3.4g, 15.9mmol)和DMF-DMA(35mL)放入250mL烧瓶中。将混合物在105℃下搅拌5小时。将反应混合物冷却至20℃并在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4,4-二甲基-3-氧代吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(4.3g, 粗品)。LC-MS:m/z 269(M+H)⁺。

[0776] 步骤8: 2-氯-8,8-二甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶

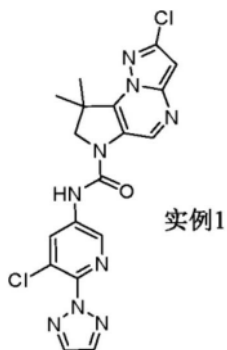
[0777]



[0778] 将(2E)-2-((二甲基氨基亚甲基)-4,4-二甲基-3-氧代-吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(4.2g, 15.6mmol)、5-氯-1H-吡唑-3-胺(1.8g, 15.6mmol)、EtOH(45mL)和HCl(4N, 22.5mL)的混合物分流并等量放入三个40mL小瓶中。将小瓶在80℃下搅拌1.5小时。将反应混合物冷却至25℃,合并,并在真空下浓缩。向残留物中加入NaHCO₃水溶液(50mL),并用EtOAc(3x50mL)萃取所得混合物。将有机层合并,经Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用MeOH/DCM(1/20)洗脱,以得到呈黄色油状物的2-氯-8,8-二甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(300mg, 9%产率)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 8.22(s, 1H), 6.60(s, 1H), 3.52(s, 2H), 1.66(s, 6H)。LC-MS:m/z 223(M+H)⁺。

[0779] 步骤9: 2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8,8-二甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

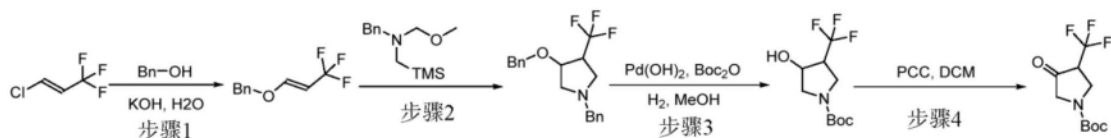
[0780]



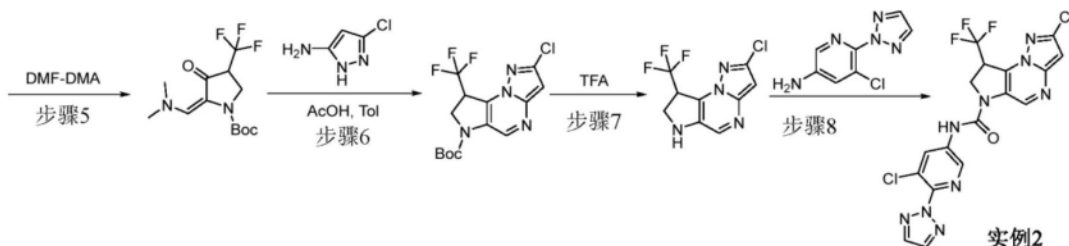
[0781] 将5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2; 179mg, 0.9mmol)、THF(10mL)、三光气(113mg, 0.4mmol)和N,N-二乙基乙胺(100mg, 1.0mmol)放入40mL小瓶中。将混合物在25℃下搅拌0.5小时。滤出形成的固体,并将2-氯-8,8-二甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(170mg, 0.8mmol)和N,N-二乙基乙胺(313mg, 3.1mmol)加入滤液中。将混合物在25℃下搅拌15小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用MeOH/DCM(1/30)洗脱,以得到呈黄色固体的160mg粗产物。通过制备型HPLC纯化粗产物。将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-

基)-8,8-二甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (22.2mg, 6% 产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 9.50 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 8.78 (d, J=2.0Hz, 1H), 8.54 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.18 (s, 2H), 6.94 (s, 1H), 4.19 (s, 2H), 1.69 (s, 6H)。LC-MS: m/z 444 (M+H)⁺。

[0782] 方法C1

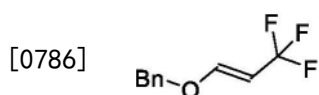


[0783]



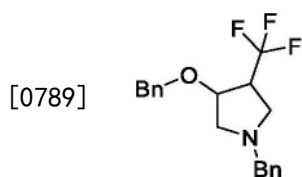
[0784] 实例2: 2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[0785] 步骤1: (E)-(((3,3,3-三氟丙-1-烯-1-基)氧基)甲基)苯



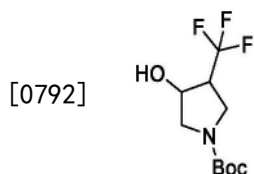
[0787] 向150mL压力罐反应器中加入苯基甲醇 (37.3g, 344.8mmol)、H₂O (6.2g, 344.8mmol) 和氢氧化钾 (19.4g, 344.8mmol)。在-20℃下加入(E)-1-氯-3,3,3-三氟丙-1-烯 (22.5g, 172.4mmol)。将混合物在22℃下搅拌1小时,然后在70℃下再搅拌12.0小时。将混合物冷却至25℃。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用EtOAc/己烷(1/25)洗脱,以得到呈无色液体的(E)-(((3,3,3-三氟丙-1-烯-1-基)氧基)甲基)苯 (11.5g, 29%产率)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 7.49-7.35 (m, 5H), 7.22-7.13 (m, 1H), 5.19-5.04 (m, 1H), 4.86 (s, 2H)。

[0788] 步骤2: 1-苄基-3-(苄氧基)-4-(三氟甲基)吡咯烷



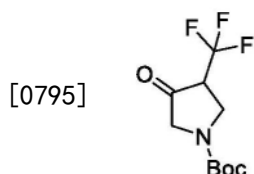
[0790] 将(E)-(((3,3,3-三氟丙-1-烯-1-基)氧基)甲基)苯 (8.9g, 44.1mmol) 和N-(甲氧基甲基)-1-苄基-N-(三甲基甲硅烷基甲基)甲胺 (15.7g, 66.2mmol) 放入250mL三颈烧瓶中,然后在0℃下逐滴加入2,2,2-三氟乙酸 (503mg, 4.4mmol)。将混合物在25℃下搅拌5小时并倒入150mL的NaHCO₃ (aq) 中。用3x150mL的EtOAc萃取所得溶液。将有机层合并,干燥,并在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用EtOAc/己烷(1/20)洗脱,以得到呈无色液体的1-苄基-3-苄氧基-4-(三氟甲基)吡咯烷 (5.0g, 30%产率)。LC-MS: m/z 336 (M+H)⁺。

[0791] 步骤3: 3-羟基-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



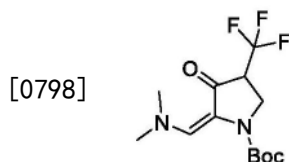
[0793] 将1-苄基-3-苄氧基-4-(三氟甲基)吡咯烷(5.0g, 14.9mmol)、MeOH(60mL)、(Boc)₂O(3.6g, 16.4mmol)和Pd(OH)₂/C(3.0g)放入250mL烧瓶中。将烧瓶抽空并用氮气冲洗三次, 然后用氢气冲洗。将混合物在氢气(气球)气氛下在25℃下搅拌15小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用EtOAc/己烷(1/3)洗脱, 以得到呈无色油状物的3-羟基-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(3.7g, 77%产率)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ: 4.60-4.53(m, 1H), 3.90-3.65(m, 2H), 3.57-3.30(m, 2H), 2.97-2.90(m, 1H), 2.70-2.45(m, 1H), 1.48(s, 9H)。LC-MS:m/z 256(M+H)⁺。

[0794] 步骤4: 3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



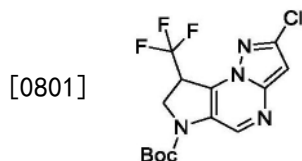
[0796] 将3-羟基-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(2.2g, 8.4mmol)、DCM(50mL)、氯铬酸吡啶鎓(PCC)(7.26g, 33.7mmol)和硅胶(2.0g)放入250mL烧瓶中。将混合物在40℃下搅拌48小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用EtOAc/己烷(1/10)洗脱, 以得到呈无色油状物的3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(560mg, 24%产率)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ: 4.20-4.09(m, 1H), 3.97-3.75(m, 3H), 3.45-3.30(m, 1H), 1.51(s, 9H)。LC-MS:m/z 254(M+H)⁺。

[0797] 步骤5: (E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[0799] 将3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(560mg, 2.2mmol)和DMF-DMA(6mL)放入100mL烧瓶中。将混合物在35℃下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩, 以得到呈黄色油状物的(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(682mg, 粗品)。LC-MS:m/z 309(M+H)⁺。

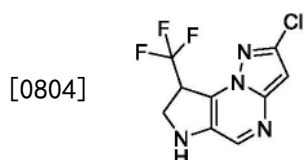
[0800] 步骤6: 2-氯-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[0802] 将3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(682mg, 2.7mmol)、3-氯-1H-吡唑-

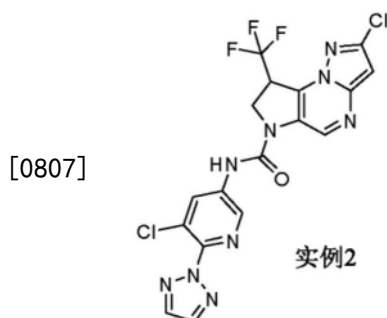
5-胺 (316mg, 2.7mmol)、甲苯 (10mL) 和 AcOH (1mL) 放入 100mL 烧瓶中。将混合物在 95℃ 下搅拌 15 小时。将反应混合物冷却至 25℃, 并在真空下浓缩。然后加入 20mL 的 NaHCO₃ (aq)。用 3x20mL 的 EtOAc 萃取所得溶液。将有机层合并, 干燥, 并在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用 EtOAc/己烷 (1/20) 洗脱, 以得到呈黄色油状物的 2-氯-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯 (200mg, 18% 产率)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ: 8.83-8.79 (m, 1H), 7.06 (s, 1H), 4.37-4.20 (m, 2H), 4.07-3.99 (m, 1H), 1.47 (s, 9H)。LC-MS: m/z 363 (M+H)⁺。

[0803] 步骤7: 2-氯-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



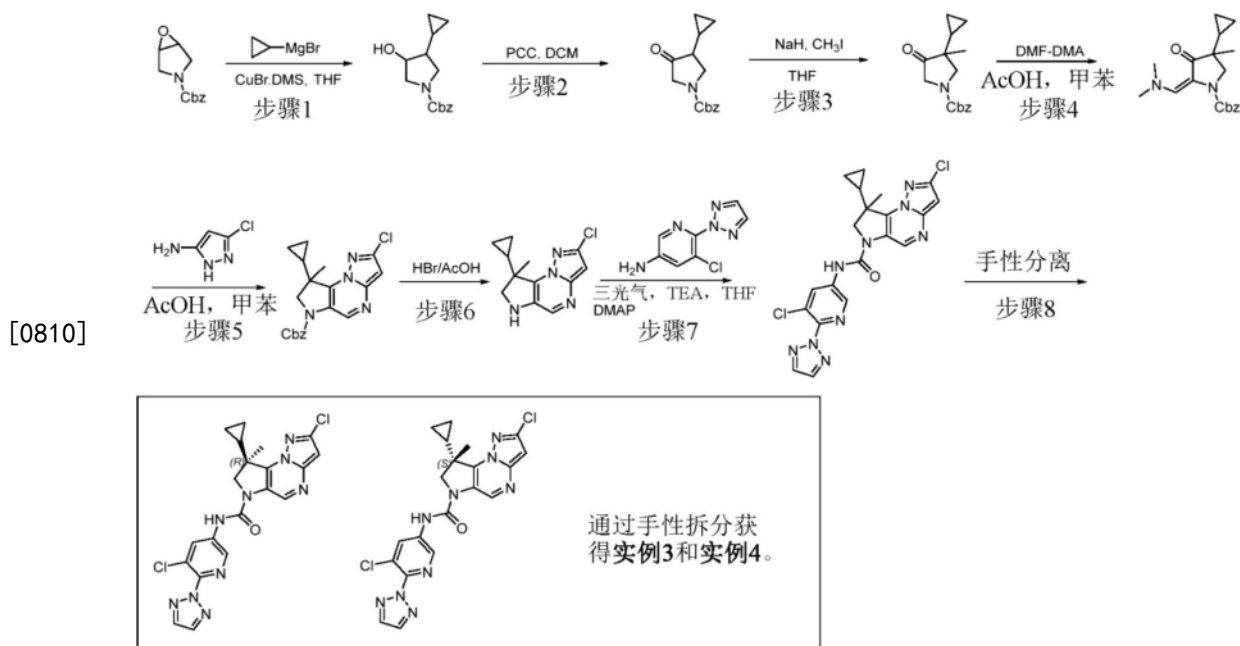
[0805] 将 2-氯-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯 (170mg, 0.5mmol)、DCM (8mL) 和 TFA (2mL) 放入 100mL 烧瓶中。将混合物在 25℃ 下搅拌 1 小时并在真空下浓缩。然后加入 30mL 的 NaHCO₃ (aq)。用 3x40mL 的 DCM 萃取所得溶液。将有机层合并, 干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过用 MeOH/DCM (1/35) 展开的薄层色谱法进行纯化, 以得到呈黄色油状物的 2-氯-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶 (75mg, 55% 产率)。LC-MS: m/z 263 (M+H)⁺。

[0806] 步骤8: 2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



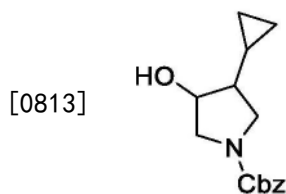
[0808] 将 5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺 (方法A1步骤2; 67mg, 0.3mmol)、THF (8mL)、碳酸双(三氯甲基)酯 (51mg, 0.2mmol) 和 N,N-二乙基乙胺 (43mg, 0.4mmol) 放入 40mL 小瓶中。将混合物在 25℃ 下搅拌 0.5 小时。将固体滤出。然后将 2-氯-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶 (75mg, 0.29mmol) 和 N,N-二乙基乙胺 (115mg, 1.2mmol) 加入滤液中。将混合物在 25℃ 下搅拌 15.0 小时并在真空下浓缩。将残留物施加到硅胶柱上并用 MeOH/DCM (1/35) 洗脱, 以得到 101mg 粗物质。然后使用制备型 HPLC 对粗物质进行纯化。将收集的级分冻干, 以得到呈淡黄色固体的 2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (53.8mg, 38% 产率)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ: 9.72 (s, 1H), 9.33 (s, 1H), 8.77 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.52 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.18 (s, 2H), 7.08 (s, 1H), 5.49-5.26 (m, 1H), 4.77-4.72 (m, 1H), 4.62-4.58 (m, 1H)。LC-MS: m/z 484 (M+H)⁺。

[0809] 方法D1



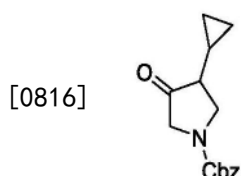
[0811] 实例3和4:由含有(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-环丙基-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-环丙基-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[0812] 步骤1:3-环丙基-4-羟基吡咯烷-1-甲酸苄酯



[0814] 在 -30°C 下,向6-氧杂-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-3-甲酸苄酯(1.2g,5.4mmol)于THF(20mL)中的搅拌溶液中逐滴加入环丙基溴化镁(0.5M,32.4mL)。将所得混合物在 -15°C 下搅拌1小时。将溶液用 NH_4Cl (150mL)淬灭并用EtOAc(3x50mL)萃取。将合并的有机层在减压下浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法纯化(用0-100%EtOAc/己烷洗脱),以得到呈淡黄色油状物的3-环丙基-4-羟基-吡咯烷-1-甲酸苄酯(1.0g,70%产率)。 ^1H NMR(300MHz, CDCl_3): 7.29-7.58(m,5H),5.06(s,2H),4.25-4.29(m,1H),3.52-3.80(m,1H),3.35-3.48(m,2H),1.43-1.51(m,1H),0.11-0.66(m,5H)。LC-MS:m/z 262[M+H] $^+$ 。

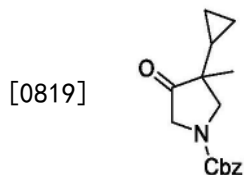
[0815] 步骤2:3-环丙基-4-氧代-吡咯烷-1-甲酸苄酯



[0817] 向3-环丙基-4-羟基-吡咯烷-1-甲酸苄酯(0.95g,3.64mmol)于DCM(100mL)中的搅拌混合物中加入氯铬酸吡啶鎓(PCC)(165.3mg,766.7 μmol)。将所得混合物在 25°C 下搅拌16小时。将固体滤出,并用DCM(3x50mL)洗涤。在减压下浓缩滤液。将残留物通过硅胶柱色谱法

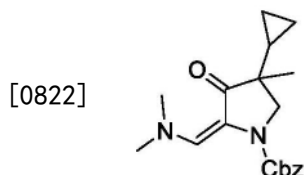
纯化(用0-100%EtOAc/己烷洗脱),以得到呈淡黄色油状物的3-环丙基-4-氧代-吡咯烷-1-甲酸苄酯(0.6g,64%产率)。¹H NMR(300MHz,CDCl₃):7.30-7.33(m,5H),5.06(s,2H),4.25-4.29(m,1H),4.07-4.17(m,1H),3.52-3.80(m,1H),3.35-3.48(m,2H),1.43-1.51(m,1H),0.11-0.66(m,5H)。LC-MS:m/z 260[M+H]⁺。

[0818] 步骤3:3-环丙基-3-甲基-4-氧代-吡咯烷-1-甲酸苄酯



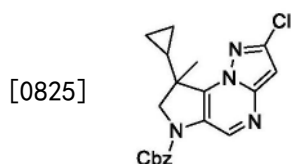
[0820] 在0℃下,向3-环丙基-4-氧代-吡咯烷-1-甲酸苄酯(1.00g,3.86mmol)于THF(20mL)中的搅拌混合物中加入氢化钠(177.3mg,4.6mmol,60%,于矿物油中)。将所得混合物在0℃下搅拌1小时。向混合物中逐滴加入CH₃I(547.6mg,3.9mmol)。将所得混合物在0℃下搅拌0.5小时。将混合物通过倒入饱和NH₄Cl(20mL)中进行淬灭,并用EtOAc(3x10mL)萃取。将有机层用盐水(2x20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法纯化(用0-100%EtOAc/己烷洗脱),以得到呈淡黄色油状物的3-环丙基-3-甲基-4-氧代-吡咯烷-1-甲酸苄酯(0.6g,48%)。¹H NMR(300MHz,CDCl₃):7.39(s,5H),5.20(s,2H),3.95-4.29(m,1H),3.35-3.58(m,1H),1.28-1.35(m,4H),0.22-0.55(m,4H)。LC-MS:m/z274[M+H]⁺。

[0821] 步骤4:(2E)-4-环丙基-2-(二甲基氨基亚甲基)-4-甲基-3-氧代-吡咯烷-1-甲酸苄酯



[0823] 向3-环丙基-2,3-二甲基-4-氧代-吡咯烷-1-甲酸苄酯(0.60g,2.09mmol)中加入1,1-二甲氧基-N,N-二甲基-甲胺(248.8mg,2.1mmol,279.6μL)。将混合物在80℃下搅拌1小时。将所得混合物冷却至室温并在减压下浓缩,以得到呈红色胶状物的(2E)-4-环丙基-2-(二甲基氨基亚甲基)-4-甲基-3-氧代-吡咯烷-1-甲酸苄酯(0.8g,粗品),其无需进一步纯化即可用于下一步骤。LC-MS:m/z 329[M+H]⁺。

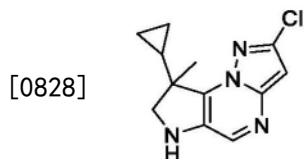
[0824] 步骤5:2-氯-8-环丙基-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸苄酯



[0826] 将3-氯-1H-吡唑-5-胺(286.3mg,2.4mmol)和(2E)-4-环丙基-2-(二甲基氨基亚甲基)-4-甲基-3-氧代-吡咯烷-1-甲酸苄酯(0.8g,2.44mmol)于甲苯(10mL)和AcOH(1mL)中的混合物在80℃下搅拌4小时。LCMS显示反应完成。将混合物在真空中浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法纯化(用0-100%EtOAc/己烷洗脱),以得到呈淡黄色油状物的2-氯-8-环丙基-

8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸苄酯(0.2g,24%产率)。¹H NMR(300MHz,CDCl₃):9.22(s,1H),7.32-7.53(m,5H),6.67(s,1H),5.18(s,2H),3.58-3.73(m,1H),1.07-1.35(m,4H),0.22-0.64(m,4H)。LC-MS:m/z 383[M+H]⁺。

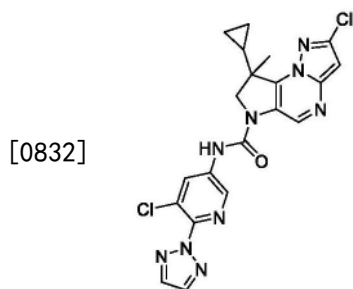
[0827] 步骤6:2-氯-8-环丙基-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[0829] 将2-氯-8-环丙基-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸苄酯(0.1g,261.2μmol)于HBr/AcOH(1mL,13.6μmol)中的溶液在25℃下搅拌3小时。将混合物在真空中浓缩以得到粗产物。将残留物用EtOAc(30mL)稀释,用饱和碳酸氢钠(3x20mL)、盐水(2x20mL)和水(20mL)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法纯化(用0-100%EtOAc/己烷洗脱),以得到呈棕色油状物的2-氯-8-环丙基-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶

[0830] (0.02g,31%产率)。¹H NMR(300MHz,CDCl₃):8.37(s,1H),6.65(s,1H),3.38-3.41(m,1H),1.68-1.55(m,4H),0.44-0.84(m,4H)。LC-MS:m/z 249[M+H]⁺。

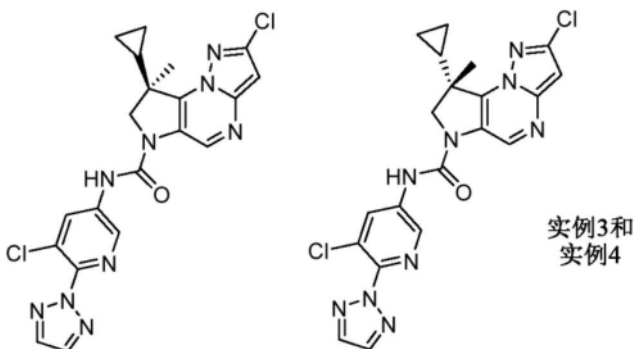
[0831] 步骤7:2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-环丙基-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[0833] 在0℃下,向5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2;40.0mg,204.5μmol)和碳酸双(三氯甲基)酯(42.5mg,143.2μmol)于THF(1mL)中的搅拌混合物中逐滴加入TEA(62.1mg,613.5μmol,85.5μL)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时并过滤。将滤液加入到2-氯-8-环丙基-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(25.4mg,102.2μmol)于THF(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(12.5mg,102.2μmol),并在25℃下搅拌16小时。将残留物用EtOAc(300mL)稀释,用盐水(2x10mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残留物首先通过硅胶柱色谱法纯化(用0-100%EtOAc/己烷洗脱),然后通过制备型HPLC纯化,以得到呈外消旋混合物的2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-环丙基-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(3.7mg,8%产率)。LC-MS:m/z 470[M+H]⁺。

[0834] 步骤8:分离对映异构体以获得(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-环丙基-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-环丙基-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺。

[0835]

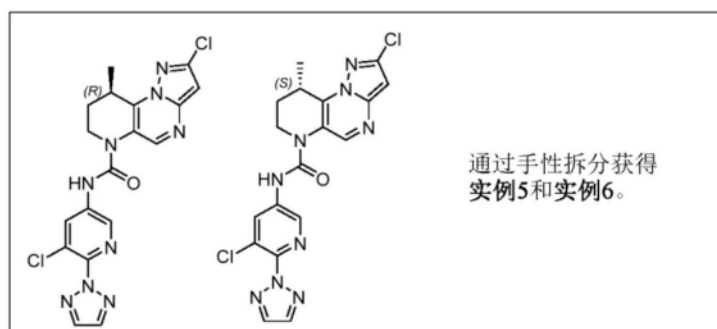
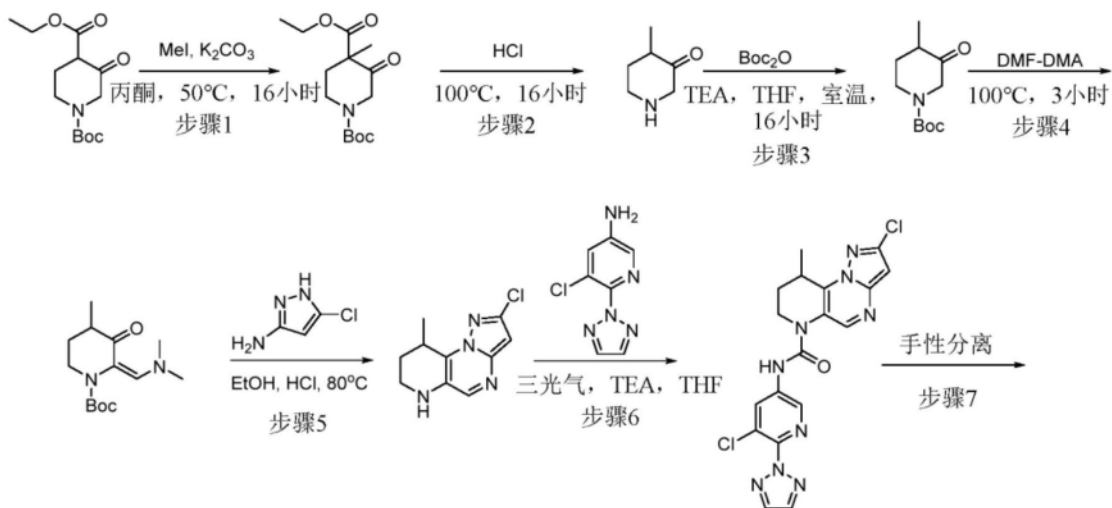


[0836] 将2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-环丙基-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(50.0mg,106.1 μ mol)的外消旋混合物通过CHIRAL-HPLC纯化(色谱柱:CHIRAL ART Cellulose-SB,2*25cm,5 μ m;流动相A:Hex:DCM=3:1(10mM NH₃-MeOH)-HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20毫升/分钟;等度20%B;254/220nm;RT1:12.586;RT2:15.434;注射体积:0.6ml;运行次数:5)。将第一个洗脱异构体浓缩、冻干并通过制备型HPLC再纯化,以得到实例3(14.1mg,37%)。将第二个洗脱异构体浓缩、冻干并通过制备型HPLC再纯化,以得到实例4(12.8mg,34%)。

[0837] 实例3:¹H NMR(300MHz,CDC1₃):9.38(s,1H),8.61(s,1H),8.41(s,1H),8.00(s,2H),6.75(s,2H),3.77-3.84(m,2H),1.81-1.82(m,4H),0.73-0.76(m,1H),0.69-0.71(m,2H),0.58-0.61(m,1H)。LC-MS:m/z 470[M+H]⁺。

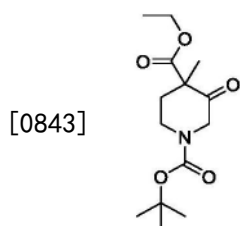
[0838] 实例4:¹H NMR(300MHz,CDC1₃):9.34(s,1H),8.64(s,1H),8.42(s,1H),8.00(s,2H),6.70(s,2H),3.78-3.84(m,2H),1.81-1.82(m,4H),0.86-0.91(m,1H),0.74-0.78(m,2H),0.72-0.73(m,1H)。LC-MS:m/z 470[M+H]⁺。

[0839] 方法E1



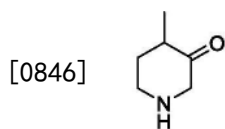
[0841] 实例5和6:由含有(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-9-甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺和(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-9-甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[0842] 步骤1:4-甲基-3-氧代哌啶-1,4-二甲酸1-(叔丁基)酯4-乙酯



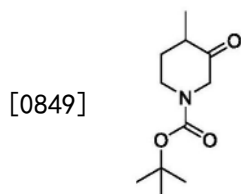
[0844] 在氮气下在室温下,向3-氧代哌啶-1,4-二甲酸1-叔丁酯4-乙酯(20g,73mmol,1当量)和 K_2CO_3 (20.4g,146mmol,2当量)于丙酮(100mL)中的搅拌溶液中加入MeI(20.9g,146mmol,2当量)。将所得混合物在氮气下在50°C下搅拌16小时。使混合物冷却至25°C。将所得混合物过滤,并将滤饼用EtOAc(3x50mL)洗涤。在减压下浓缩滤液。向残留物中加入水(300mL),并将所得混合物用EtOAc(3x200mL)萃取。将合并的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并在减压下浓缩,以得到呈黄色液体的4-甲基-3-氧代哌啶-1,4-二甲酸1-叔丁酯4-乙酯(20g,91%)。 1H NMR(300MHz, $CDCl_3$) δ :4.08-4.18(m,2H),3.46-3.63(s,2H),2.54-2.62(m,2H),1.71(s,1H),1.61(s,1H),1.47(s,9H),1.36(s,3H),1.19-1.34(m,3H)。LC-MS: m/z 286 $[M+H]^+$ 。

[0845] 步骤2:4-甲基哌啶-3-酮



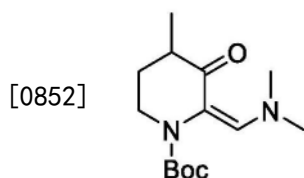
[0847] 将4-甲基-3-氧代哌啶-1,4-二甲酸1-叔丁酯4-乙酯(6g,21mmol,1当量)于HCl(60mL)中的溶液在100℃下搅拌16小时。使混合物冷却至室温。将所得混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色油状物的4-甲基哌啶-3-酮盐酸盐(6g,粗品)。LC-MS:m/z 114[M+H]⁺。

[0848] 步骤3:4-甲基-3-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯



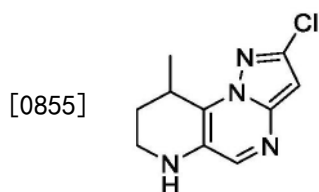
[0850] 在室温下,向4-甲基哌啶-3-酮盐酸盐(6g,40mmol,1当量)和TEA(12.2g,120mmol,3当量)于THF(100mL)中的搅拌溶液中分份加入Boc₂O(26.3g,120mmol,3当量)。将所得混合物在室温下搅拌16小时。通过加入水(200mL)来淬灭反应。用EtOAc(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,并经无水Na₂SO₄干燥。过滤后,将滤液在减压下浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法纯化(用CH₂Cl₂/PE(10:1)洗脱),以得到呈黄色液体的4-甲基-3-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯(4.7g,55%)。¹H NMR(300MHz,CDCl₃) δ:4.07-4.11(m,2H),3.33-3.48(m,2H),2.42-2.47(m,1H),1.60-1.74(m,2H),1.51-1.65(m,1H),1.36(s,3H),1.15(d,J=6.9Hz,6H)。LC-MS:m/z 214[M+H]⁺。

[0851] 步骤4:(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯



[0853] 将4-甲基-3-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯(2g,9.4mmol,1.0当量)于DMF-DMA(10mL)中的溶液在100℃下搅拌4小时。使混合物冷却至25℃。将所得混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色油状物的(2E)-2-[(二甲基氨基)亚甲基]-4-甲基-3-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯(2g,79%)。LC-MS:m/z 269[M+H]⁺。

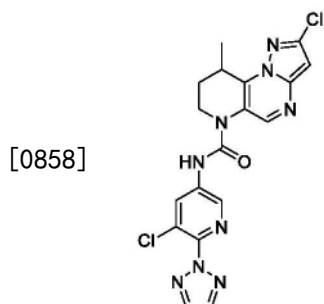
[0854] 步骤5:2-氯-9-甲基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶



[0856] 在25℃下,向(2E)-2-[(二甲基氨基)亚甲基]-4-甲基-3-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯(2.0g,7.4mmol,1.0当量)于EtOH(20mL)中的搅拌溶液中加入5-氯-1H-吡唑-3-胺(0.9g,7.4mmol,1.0当量)和HCl,于1,4-二噁烷(10mL)中。将所得混合物在80℃下搅拌16小时。使混合物冷却至25℃。将所得混合物在减压下浓缩。加入饱和NaHCO₃溶液(100mL),并用EtOAc(3x100mL)萃取混合物。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥,过滤,并在减压下浓缩。将残留

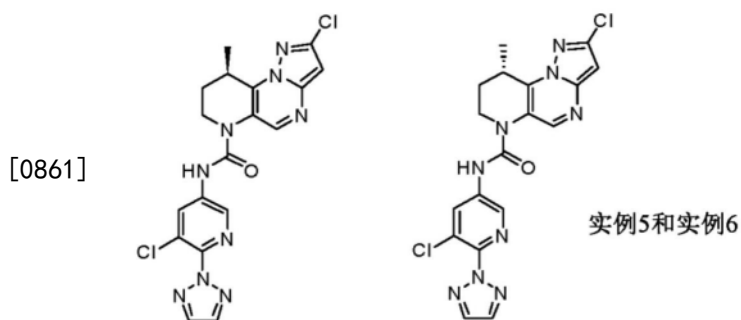
物施加在硅胶柱上并用PE/EtOAc (1:1) 洗脱,以得到呈黄色油状物的2-氯-9-甲基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶 (260mg, 15%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 8.18 (s, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.02 (s, 1H), 3.37-3.47 (m, 1H), 3.10-3.27 (m, 1H), 1.73-2.03 (m, 2H), 1.35 (d, J=6.9Hz, 3H)。LC-MS:m/z 223 [M+H]⁺。

[0857] 步骤6: 2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-9-甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺



[0859] 在0℃下,向5-氯-6-(1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2; 242.4mg, 1.2mmol, 1.2当量)和TEA (125.4mg, 1.2mmol, 1.2当量)于THF (20mL)中的搅拌溶液中加入三光气 (122.6mg, 0.4mmol, 0.4当量)。将所得混合物在25℃下搅拌30分钟。将固体滤出,并向滤液中加入2-氯-9-甲基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶 (230mg, 1.0mmol, 1.0当量)。将所得混合物在25℃下搅拌16小时。将混合物倒入到水 (50mL)中并用EtOAc (3x50mL)萃取。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥,过滤,并在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化。将收集的级分冻干,以得到呈外消旋混合物的16mg 2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-9-甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺 (3%产率)。LC-MS:m/z 444 [M+H]⁺。

[0860] 步骤7: 分离对映异构体以获得(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-9-甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺和(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-9-甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺

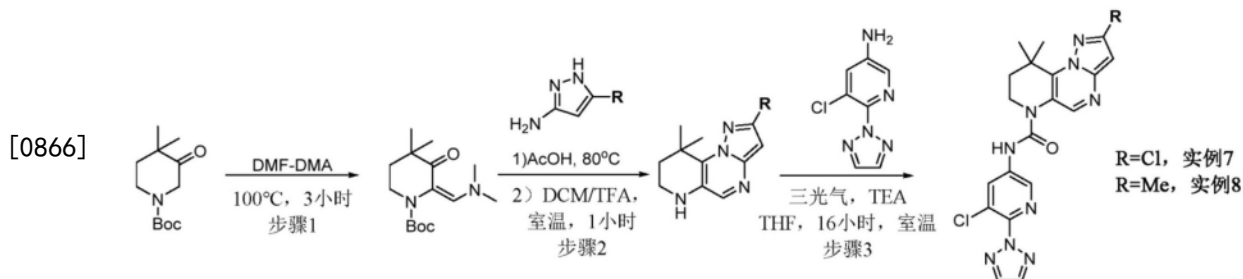


[0862] 对100mg 2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-9-甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺进行CHIRAL-HPLC纯化(色谱柱: CHIRAL ART Cellulose-SB, 2*25cm, 5μm; 流动相A: Hex:DCM=3:1 (10mM NH₃-MeOH) -HPLC, 流动相B: EtOH -HPLC; 流速: 20毫升/分钟; 等度20%B; 254/220nm; RT1: 12.586; RT2: 15.434; 注射体积: 0.6ml; 运行次数: 5),以得到第一个洗脱异构体实例5 (46mg, 10%产率)和第二个洗脱异构体实例6 (45mg, 9%产率)。

[0863] 实例5: ^1H NMR (300MHz, DMSO-d_6) δ : 9.99 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.64 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.39 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.17 (s, 2H), 6.90 (s, 1H), 3.98-4.05 (m, 1H), 3.82-3.85 (m, 1H), 3.55-3.61 (m, 1H), 2.20-2.25 (m, 1H), 1.91-1.94 (m, 1H), 1.47 (d, $J=6.9\text{Hz}$, 3H)。LC-MS: m/z 444 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

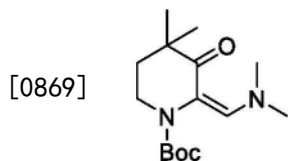
[0864] 实例6: ^1H NMR (300MHz, DMSO-d_6) δ : 9.99 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.64 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.39 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.17 (s, 2H), 6.90 (s, 1H), 3.98-4.05 (m, 1H), 3.82-3.85 (m, 1H), 3.55-3.61 (m, 1H), 2.20-2.25 (m, 1H), 1.91-1.94 (m, 1H), 1.47 (d, $J=6.9\text{Hz}$, 3H)。LC-MS: 444 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0865] 方法F1



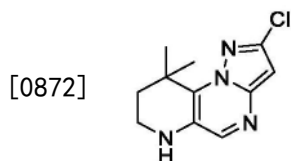
[0867] 实例7: 2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺

[0868] 步骤1: (E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4,4-二甲基-3-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯



[0870] 将4,4-二甲基-3-氧代-哌啶-1-甲酸叔丁酯 (5.0g, 22.0mmol) 于1,1-二甲氧基-N,N-二甲基-甲胺 (20ml) 中的溶液在氮气气氛下在100°C下搅拌3小时。使混合物冷却至25°C。将所得混合物在真空下浓缩,以得到呈棕色油状物的产物 (2E)-2-(二甲基氨基亚甲基)-4,4-二甲基-3-氧代-哌啶-1-甲酸叔丁酯 (5.0g, 80%产率)。将粗产物在不进一步纯化的情况下直接用于下一步骤。LC-MS: m/z 283 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0871] 步骤2: 2-氯-9,9-二甲基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶

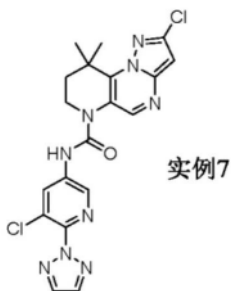


[0873] 将5-氯-1H-吡唑-3-胺 (83.2mg, 708.3 μmol) 和 (2E)-2-(二甲基氨基亚甲基)-4,4-二甲基-3-氧代-哌啶-1-甲酸叔丁酯 (200mg, 708.3 μmol) 于AcOH (4mL) 中的溶液在氮气气氛下在80°C下搅拌3小时。使混合物冷却至25°C并在真空下浓缩。加入TFA (0.5mL) 和DCM (2.5ml)。将所得混合物在25°C下再搅拌1小时。将所得混合物在真空下浓缩并通过硅胶柱色谱法纯化 (用0-50%乙酸乙酯/己烷洗脱), 以得到呈淡黄色油状物的2-氯-9,9-二甲基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶 (80mg, 48%产率)。LC-MS: m/z 237 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0874] 步骤3: 2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-9,9-二甲基-8,9-二

氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺

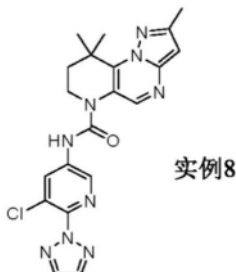
[0875]



[0876] 在25℃下,向5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2;69mg,354.9 μ mol)于THF(6mL)中的搅拌溶液中分份加入碳酸双(三氯甲基)酯(52mg,177.4 μ mol)和N,N-二乙基乙胺(38mg,384.4 μ mol,53.6 μ L)。将所得混合物在25℃下搅拌30分钟。将固体滤出。向滤液中分份加入2-氯-9,9-二甲基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶(70mg,295.7 μ mol)。将所得混合物在25℃下搅拌过夜。加入水(50mL),并用3x50mL的DCM萃取混合物。将有机层合并,用盐水洗涤,干燥,并在真空下浓缩。通过制备型HPLC纯化粗产物(70mg),并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺(25mg,18%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 9.97(s,1H),8.73(s,1H),8.63(d,J=2.4Hz,1H),8.40(d,J=2.4Hz,1H),8.17(s,2H),6.90(s,1H),3.88-3.90(m,2H),2.08(s,1H),1.98-2.00(m,2H),1.65(s,6H)。LC-MS:m/z 458[M+H]⁺。

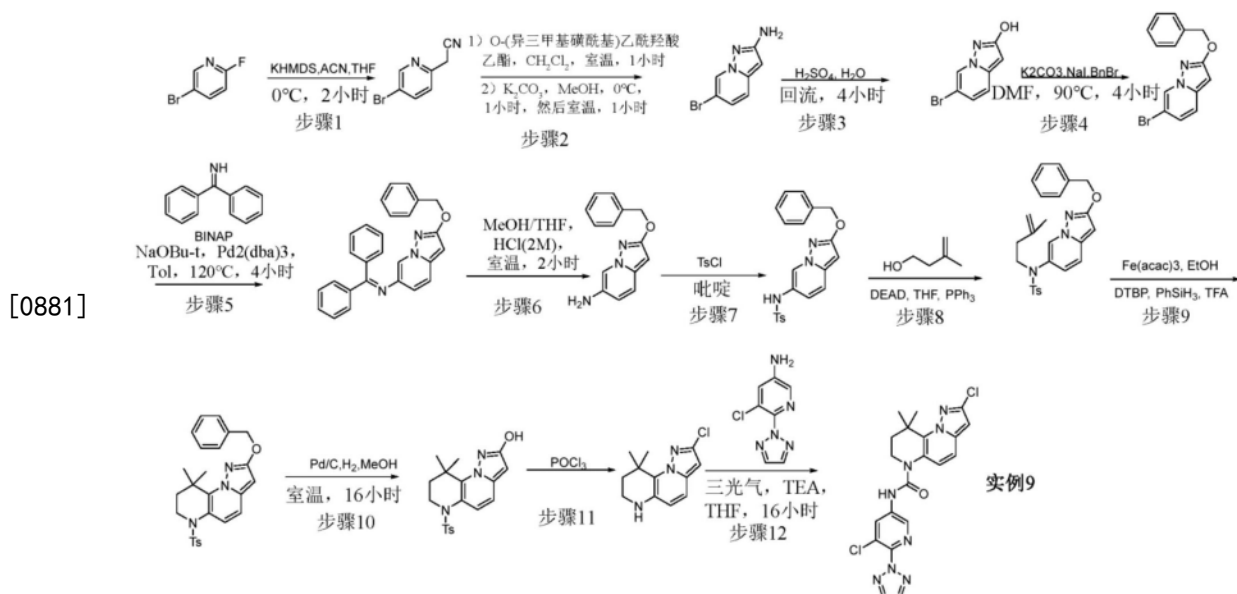
[0877] 实例8:N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺

[0878]



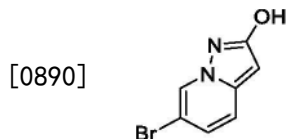
[0879] 根据方法F1在步骤2中使用的5-甲基-1H-吡唑-3-胺制备标题化合物(46mg,22%产率)。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ :8.60(d,J=2.4Hz,1H),8.54(s,1H),8.44(d,J=2.4Hz,1H),8.03(s,2H),6.46(d,J=0.6Hz,1H),3.94-3.97(m,2H),2.51(s,3H),2.07(dt,J=8.4,2.8Hz,2H),1.77(s,6H)。LC-MS:m/z 438[M+H]⁺。

[0880] 方法G1



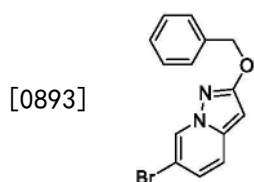
EtOAc (3x250mL) 萃取。将有机层合并,用盐水洗涤,干燥,并在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用EtOAc/PE (1/1) 洗脱,以得到呈棕色固体的6-溴吡唑并[1,5-a]吡啶-2-胺 (2.8g, 43% 产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ8.58 (dt, J=1.8, 0.8Hz, 1H), 7.24 (dd, J=9.2, 0.8Hz, 1H), 7.10 (dd, J=9.2, 1.8Hz, 1H), 5.69 (d, J=0.8Hz, 1H), 5.40 (s, 2H)。LC-MS: m/z 212[M+H]⁺。

[0889] 步骤3:6-溴吡唑并[1,5-a]吡啶-2-醇



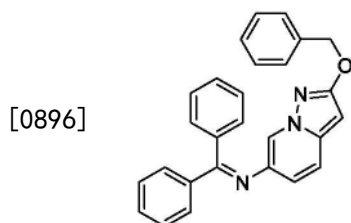
[0891] 将6-溴吡唑并[1,5-a]吡啶-2-胺 (2.8g, 13.20mmol) 于H₂SO₄ (20mL, 50%) 中的溶液在氮气下在100℃下搅拌2小时。使混合物冷却至室温。将所得混合物在真空下浓缩。加入水 (50mL), 并用DCM (3x50mL) 萃取混合物。将有机层合并,用盐水洗涤,干燥,并在真空下浓缩,以得到呈棕色固体的6-溴吡唑并[1,5-a]吡啶-2-醇 (2.5g, 89% 产率)。将粗产物在不进行进一步纯化的情况下直接用于下一步骤。LC-MS: 213[M+H]⁺。

[0892] 步骤4:2-(苄氧基)-6-溴吡唑并[1,5-a]吡啶



[0894] 在室温下,向6-溴吡唑并[1,5-a]吡啶-2-醇 (2.5g, 11.7mmol)、碳酸钾 (4.9g, 35.2mmol) 和碘化钠 (1.8g, 11.7mmol) 于DMF (15mL) 中的搅拌混合物中分份加入溴甲苯 (2.0g, 11.7mmol, 1.4mL)。将所得混合物在90℃下搅拌16小时。使混合物冷却至室温,用150ml碳酸钠 (水溶液) 稀释并用EtOAc (3x150mL) 萃取。将有机层合并,用盐水洗涤,干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法纯化(用DCM/MeOH (10:1) 洗脱),以得到呈棕色固体的2-苄氧基-6-溴-吡唑并[1,5-a]吡啶 (2.5g, 70% 产率)。LC-MS: m/z 303[M+H]⁺。

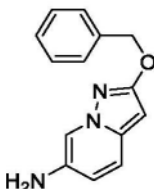
[0895] 步骤5:N-(2-(苄氧基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1,1-二苯基甲亚胺



[0897] 向二苯基甲亚胺 (1.8g, 9.9mmol, 1.7mL) 和2-苄氧基-6-溴-吡唑并[1,5-a]吡啶 (2.5g, 8.2mmol) 于甲苯 (20mL) 中的溶液中加入2-甲基丙烷-2-醇钠 (1.6g, 16.5mmol)、Pd₂(dba)₃ (755.2mg, 824.7μmol) 和苄基-[1-[2-[苄基(苯基)膦基]-1-萘基]-2-萘基]-苯基-膦 (1.1g, 1.6mmol)。在氮气下在120℃下搅拌4小时后,将所得混合物在减压下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用EtOAc/PE (1/5) 洗脱,以得到呈棕色固体的N-(2-苄氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1,1-二苯基-甲亚胺 (2.4g, 72% 产率)。LC-MS: m/z 404[M+H]⁺。

[0898] 步骤6:2-(苄氧基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-胺

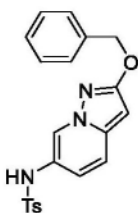
[0899]



[0900] 将N-(2-苄氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1,1-二苯基-甲亚胺(2.4g,6.0mmol)、HCl(2M,6.0mL)、THF(10mL)和MeOH(10mL)的混合物在氮气下在25℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法纯化(DCM/MeOH=10:1),以得到呈棕色油状物的2-苄氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(1.1g,78%产率)。LC-MS:m/z 240[M+H]⁺。

[0901] 步骤7:N-(2-(苄氧基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-4-甲基苯磺酰胺

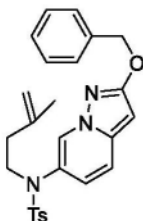
[0902]



[0903] 将2-苄氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(1.1g,4.8mmol)和4-甲基苯磺酰氯(999mg,5.2mmol)于吡啶(15mL)中的溶液在氮气下在室温下搅拌过夜。将所得混合物在真空下浓缩。向残留物中加入水(150mL),并通过加入0.5M HCl将pH调整到7。用EtOAc(3x140mL)萃取混合物。将有机层合并,用盐水洗涤,干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法使用PE/EA(1:1)作为洗脱液进行纯化,以得到呈灰白色固体的N-(2-苄氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-4-甲基-苯磺酰胺(1.6g,85%产率)。LC-MS:m/z 394[M+H]⁺。

[0904] 步骤8:N-(2-(苄氧基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-4-甲基-N-(3-甲基丁-3-烯-1-基)苯磺酰胺

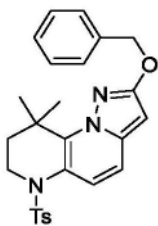
[0905]



[0906] 在氮气下在0℃下,向3-甲基丁-3-烯-1-醇(385mg,4.5mmol)、三苯基膦(2.1g,8.1mmol)和N-(2-苄氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-4-甲基-苯磺酰胺(1.6g,4.0mmol)于THF(50mL)中的搅拌溶液中逐滴加入N-异丙氧基羰基亚氨基氨基甲酸异丙酯(2M,4.1mL)。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法使用PE/EtOAc(5:1)作为洗脱液进行纯化,以得到呈白色固体的N-(2-苄氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-4-甲基-N-(3-甲基丁-3-烯基)苯磺酰胺(1.5g,80%产率)。LC-MS:m/z 462[M+H]⁺。

[0907] 步骤9:2-(苄氧基)-9,9-二甲基-6-甲磺酰基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a][1,5]萘啶

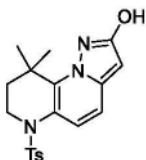
[0908]



[0909] 在氮气下在室温下,向2-苄氧基-N-(3-甲基丁-3-烯基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(300mg, 976.0 μ mol)和(Z)-4-氧基戊-2-烯-2-醇铁(172mg, 488.0 μ mol)于EtOH(2mL)中的搅拌混合物中分份加入苯基硅烷(22mg, 203.3 μ mol)、2-叔丁基过氧-2-甲基-丙烷(35mg, 244.0 μ mol)和2,2,2-三氟乙酸(222mg, 2.0mmol),并将混合物在氮气下在60 $^{\circ}$ C下搅拌过夜。将混合物在真空下浓缩,并将残留物通过硅胶柱色谱法使用PE/EtOAc(5:1)作为洗脱剂进行纯化,以得到呈淡黄色固体的2-(苄氧基)-9,9-二甲基-6-甲苯磺酰基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a][1,5]萘啶(150mg, 33%产率)。LC-MS:m/z 462[M+H]⁺。

[0910] 步骤10:9,9-二甲基-6-甲苯磺酰基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a][1,5]萘啶-2-醇

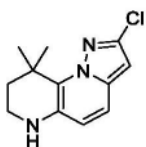
[0911]



[0912] 在氮气下在100ml圆底烧瓶中,向2-苄氧基-9,9-二甲基-6-甲苯磺酰基-7,8-四氢吡唑并[1,5-a][1,5]萘啶(300mg, 649.9 μ mol)于MeOH(20mL)中的溶液中加入Pd/C(10%, 38.5mg)。将混合物在氢气气氛下使用氢气球在室温下搅拌16小时,通过硅藻土垫过滤,并在减压下浓缩。将残留物干燥,以得到呈灰白色固体的9,9-二甲基-6-甲苯磺酰基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a][1,5]萘啶-2-醇(150mg, 62%产率)。LC-MS:m/z 372[M+H]⁺。

[0913] 步骤11:2-氯-9,9-二甲基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a][1,5]萘啶

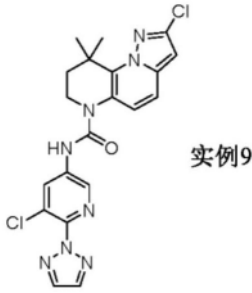
[0914]



[0915] 在室温下,向4mL小瓶中加入9,9-二甲基-6-(对甲苯磺酰基)-7,8-二氢吡唑并[1,5-a][1,5]萘啶-2-醇(100mg, 269.2 μ mol)和POCl₃(0.8mL)。将所得混合物在氮气下在145 $^{\circ}$ C下搅拌6小时。将反应混合物倒在50g碎冰上。用CHCl₃(3x50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水洗涤,并经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法使用CH₂Cl₂/MeOH(10:1)作为洗脱剂进行纯化,以得到呈棕色固体的2-氯-9,9-二甲基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a][1,5]萘啶(15mg, 24%产率)。LC-MS:m/z 236[M+H]⁺。

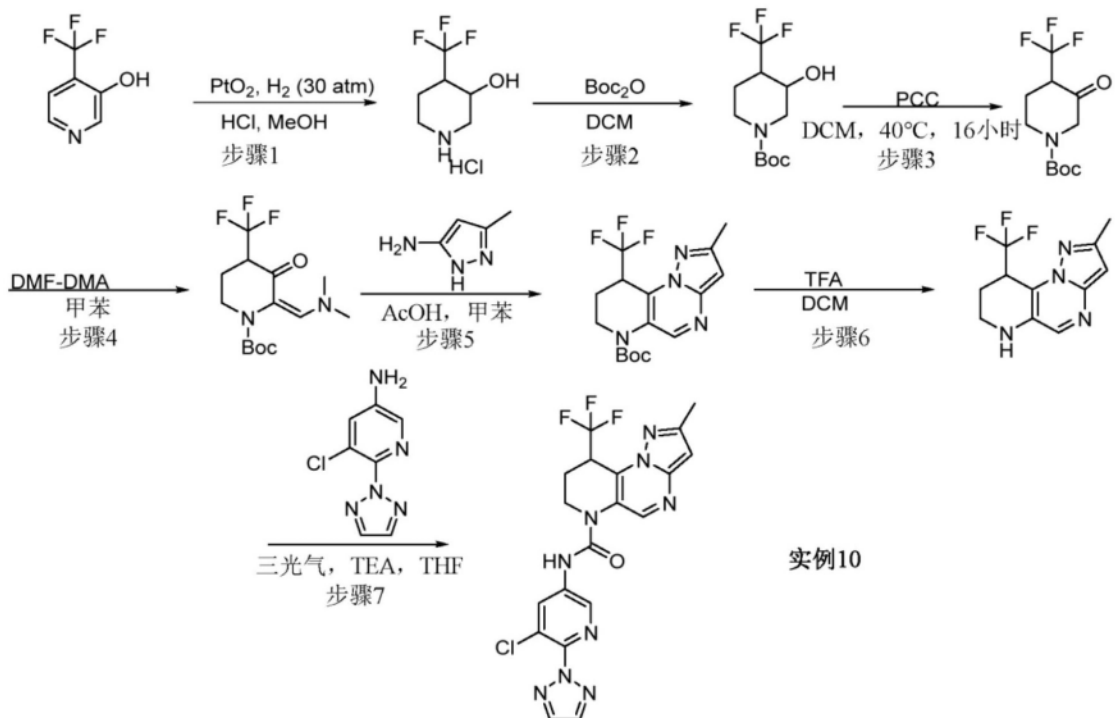
[0916] 步骤12:2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a][1,5]萘啶-6(7H)-甲酰胺

[0917]



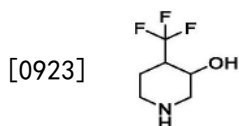
[0918] 在室温下,向5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2;15.9mg,81.5 μ mol)于THF(3mL)中的搅拌溶液中分份加入碳酸双(三氯甲基)酯(12mg,40.7 μ mol)和N,N-二乙基乙胺(10mg,101.8 μ mol,14.2 μ L)。将所得混合物在室温下搅拌30分钟。将固体滤出。向滤液中分份加入2-氯-9,9-二甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a][1,5]萘啶(16mg,67.9 μ mol),并将混合物在室温下搅拌过夜。加入水(20ml),并用DCM(3x20mL)萃取所得混合物。将有机层合并,用盐水洗涤,干燥,并在真空下浓缩。通过制备型HPLC纯化粗产物(20mg),以得到呈白色固体的2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a][1,5]萘啶-6(7H)-甲酰胺(7.8mg,22%产率)。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ 8.55(d,J=2.0Hz,1H),8.39(d,J=2.4Hz,1H),8.00(s,2H),7.42(d,J=9.6Hz,1H),7.34(d,J=9.6Hz,1H),6.52(s,1H),3.88-3.91(m,2H),2.02-2.05(m,2H),1.70(d,J=9.6,1H)。LC-MS:m/z 457[M+H]⁺。

[0919] 方法H1



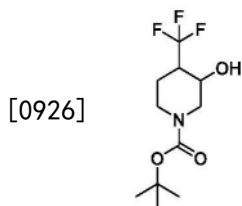
[0921] 实例10:N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺

[0922] 步骤1:4-(三氟甲基)哌啶-3-醇盐酸盐



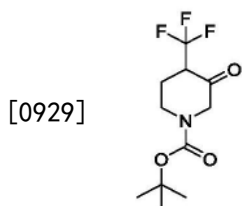
[0924] 向500mL压力罐反应器中加入MeOH(300mL)中的4-(三氟甲基)吡啶-3-醇(9g, 55.2mmol)。加入PtO₂(1.4g)和HCl(9mL),并将反应混合物在氢气(30atm)下在50℃下搅拌48小时。将反应混合物冷却至室温,过滤并在真空下浓缩,以得到4-(三氟甲基)哌啶-3-醇盐酸盐(11g,粗品)。LC-MS:m/z 170[M+H]⁺。

[0925] 步骤2:3-羟基-4-(三氟甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯



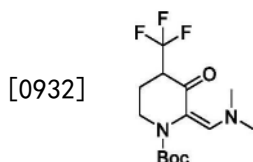
[0927] 向4-(三氟甲基)哌啶-3-醇盐酸盐(11g, 53.5mmol)于DCM(200mL)中的溶液加入Et₃N(22g, 214mmol, 29.8mL)和Boc₂O(23.3g, 107mmol, 24.6mL)。将反应混合物在室温下搅拌16小时。真空去除溶剂,并将残留物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:2)洗脱,以得到3-羟基-4-(三氟甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(14g, 41.6mmol, 78%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 5.03(s, 1H), 3.88-4.01(m, 4H), 2.74-2.86(m, 2H), 1.74-1.87(m, 2H), 1.40(s, 9H)。LC-MS:m/z 270[M+H]⁺。

[0928] 步骤3:3-氧代-4-(三氟甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯



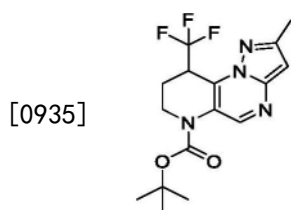
[0930] 向3-羟基-4-(三氟甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(7g, 26.0mmol)于DCM(200mL)中的溶液中加入PCC(56g, 260.0mmol, 79.1μL)和硅胶(10g)。将反应混合物在40℃下搅拌48小时。将固体滤出,并将滤液在真空下浓缩。将粗产物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:3)洗脱,以得到3-氧代-4-(三氟甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(800mg, 2.4mmol, 9%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆): δ4.07-4.19(m, 3H), 3.15-3.26(m, 2H), 2.04-2.11(m, 2H), 1.40(s, 9H)。LC-MS:m/z 268.0[M+H]⁺。

[0931] 步骤4:2-((二甲基氨基)亚甲基)-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



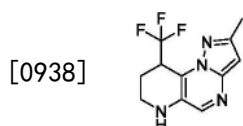
[0933] 向3-氧代-4-(三氟甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(500mg, 1.9mmol)于甲苯(15mL)中的溶液中加入DMF-DMA(1.1g, 9.4mmol)。将反应混合物在40℃下搅拌1小时,并使其冷却至室温。将反应混合物浓缩,以得到2-((二甲基氨基)亚甲基)-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(500mg,粗品)。LC-MS:m/z 323[M+H]⁺。

[0934] 步骤5: 2-甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酸叔丁酯



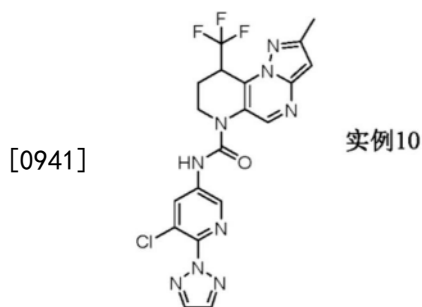
[0936] 向2-((二甲基氨基)亚甲基)-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(100mg, 310.2 μ mol)于甲苯(5mL)中的溶液中加入3-甲基-1H-吡唑-5-胺(54mg, 558.4 μ mol)和AcOH(0.5mL)。将反应混合物在90 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。使混合物冷却至室温。将反应混合物在减压下浓缩。向残留物中加入水(50mL),并用碳酸氢钠(饱和水溶液)将pH调整到6-7。用EtOAc(50mL x3)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:3)洗脱,以得到2-甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酸叔丁酯(60mg, 54%产率)。 1 H NMR(300MHz, CDCl₃) δ : 8.81(s, 1H), 6.52(s, 1H), 4.80-4.88(m, 1H), 3.74-3.86(m, 2H), 2.53(s, 3H), 2.00-2.13(m, 2H), 1.28(s, 9H)。LC-MS:m/z 357[M+H]⁺。

[0937] 步骤6: 2-甲基-9-(三氟甲基)-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶



[0939] 向2-甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酸叔丁酯(40mg, 111.1 μ mol)于CH₂Cl₂(2mL)中的溶液中加入TFA(0.5mL)。将反应在室温下搅拌1小时。去除溶剂后,向残留物中加入NaHCO₃(30mL)并用CH₂Cl₂(3x30mL)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经硫酸钠干燥并在真空中浓缩。将残留物通过快速色谱法EtOAc/PE(1:1)纯化,以得到呈黄色固体的2-甲基-9-(三氟甲基)-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶(8mg, 28%产率)。LC-MS:m/z 257.0[M+H]⁺。

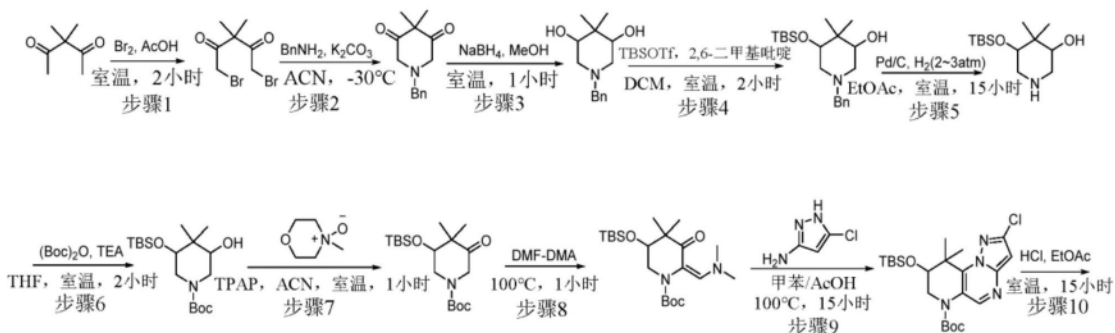
[0940] 步骤7: N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺



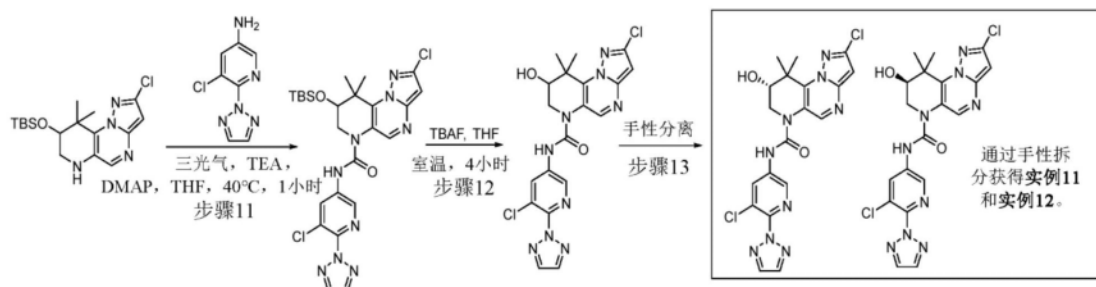
[0942] 在室温下,向5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2; 7mg, 37.5 μ mol)于THF(1mL)中的溶液中加入碳酸双(三氯甲基)酯(6mg, 21.9 μ mol)和N,N-二乙基乙胺(9mg, 93.7 μ mol, 13.1 μ L)。将反应混合物在室温下搅拌30分钟。将固体滤出。向滤液中加入2-甲基-9-(三氟甲基)-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶(8mg, 31.2 μ mol),并将反应

将混合物在室温下搅拌16小时。加入水(50mL),并用3x50 mL的EtOAc萃取混合物。将有机层合并,干燥,并在真空下浓缩。通过HPLC纯化残留物,以得到呈外消旋混合物的N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺(2.4mg,16%产率)。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ:8.76(s,1H), 8.62-8.61(m,1H), 8.44-8.45(m,1H), 8.01(s,2H), 6.56(s,1H), 4.86-4.89(m,1H), 4.06-4.12(m,1H), 3.82-3.89(m,1H), 2.65-2.73(m,1H), 2.51(s,3H), 2.42-2.49(m,1H)。LC-MS: m/z 478[M+H]⁺。

[0943] 方法I1

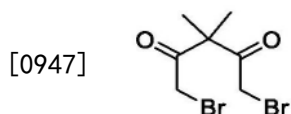


[0944]



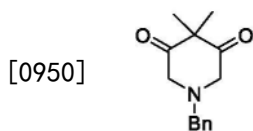
[0945] 实例11和12:由含有(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-羟基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺和(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-羟基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[0946] 步骤1:1,5-二溴-3,3-二甲基戊烷-2,4-二酮



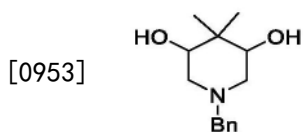
[0948] 在10°C下,在1小时内将溴(12.5g,78.0mmol)于AcOH(30mL)中的溶液加入到3,3-二甲基戊烷-2,4-二酮(5.0g,39.0mmol)于AcOH(150mL)中的溶液中。将反应混合物在25°C下搅拌2小时。加入AcOK(11.5g,117.0mmol),然后加入150mL水,并用200mL叔丁基甲基醚萃取混合物。将合并的有机相用水(3x200mL)、饱和Na₂S₂O₃水溶液(2x200mL)和盐水(2x200mL)洗涤。将所得溶液经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下去除所有挥发物,以得到呈棕色油状物的1,5-二溴-3,3-二甲基戊烷-2,4-二酮(7g,63%产率)。¹H NMR(300MHz,CDCl₃-d) δ4.14(s,4H),1.56(s,6H)。

[0949] 步骤2:1-苄基-4,4-二甲基哌啶-3,5-二酮



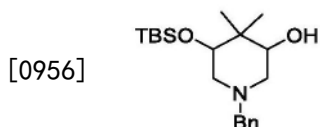
[0951] 在 -30°C 下,向1,5-二溴-3,3-二甲基戊烷-2,4-二酮(1.0g,3.5mmol)和 K_2CO_3 (966mg,7.0mmol)于ACN(50mL)中的混合物中逐滴加入苯甲胺(300mg,2.8mmol,于2mL ACN中)。将反应混合物在 -30°C 下搅拌30分钟,然后在 25°C 下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩。将残留物用水(100mL)猝灭并用EtOAc(3x100mL)萃取。将合并的有机层用盐水(2x200mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,并在真空下浓缩。粗产物通过反相HPLC纯化。将收集的级分合并,并在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的1-苄基-4,4-二甲基哌啶-3,5-二酮(340mg,42%产率)。 ^1H NMR(300MHz, CDCl_3 -d) δ 7.29-7.40(m,5H),3.67(s,2H),3.35(s,4H),1.47(s,6H);LC-MS:m/z 232[M+H]⁺。

[0952] 步骤3:1-苄基-4,4-二甲基哌啶-3,5-二醇



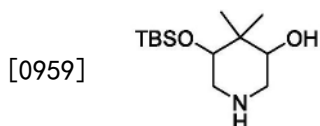
[0954] 分几份向1-苄基-4,4-二甲基哌啶-3,5-二酮(2.5g,10.8mmol)于MeOH(50mL)中的溶液中加入 NaBH_4 (613mg,16.2mmol)。将反应混合物在 25°C 下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物溶解在EtOAc(200mL)中。将混合物用水(3x150mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥并浓缩,以得到呈黄色固体的1-苄基-4,4-二甲基哌啶-3,5-二醇(2.3g,90%产率)。LC-MS:m/z 236[M+H]⁺。

[0955] 步骤4:1-苄基-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4,4-二甲基哌啶-3-醇



[0957] 在 0°C 下,向1-苄基-4,4-二甲基哌啶-3,5-二醇(2.1g,8.9mmol)和2,6-二甲基吡啶(2.4g,22.3mmol)于DCM(100mL)中的混合物中逐滴加入三氟甲磺酸[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]酯(2.6g,9.8mmol)。将反应混合物在 25°C 下搅拌2小时。将混合物浓缩。将残留物通过反相HPLC纯化。将收集的级分合并,并在真空下浓缩,以得到呈淡黄色固体的1-苄基-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4,4-二甲基哌啶-3-醇(710mg,23%产率)。 ^1H NMR(400MHz, CDCl_3 -d) δ 7.32-7.39(m,5H),3.93-4.01(m,2H),7.75-3.78(m,1H),3.47-3.49(m,1H),2.89-2.98(m,2H),2.70-2.73(m,1H),2.29-2.35(m,1H),1.08(s,3H),0.85(s,9H),0.82(s,3H),0.05(s,3H),0.02(s,3H)。LC-MS:m/z 350[M+H]⁺。

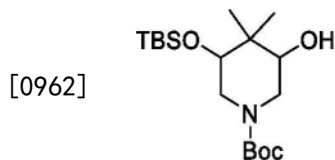
[0958] 步骤5:5-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4,4-二甲基哌啶-3-醇



[0960] 在 25°C 下,向1-苄基-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4,4-二甲基哌啶-3-醇(710mg,2.0mmol)于EtOAc(50mL)中的混合物中加入Pd/C(10%,700mg)。将烧瓶抽空并用氮气冲洗三次,然后用氢气冲洗。将混合物在氢气(气球)气氛下在室温下搅拌15小时。滤出固

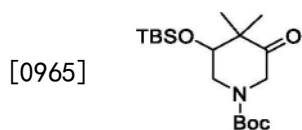
体并将滤液浓缩,以得到呈黄色固体的5-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4,4-二甲基哌啶-3-醇(600mg,粗品)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃-d) δ3.55-3.59(m,1H),3.45-3.48(m,1H),2.94-2.99(m,1H),2.81-2.86(s,1H),2.54-2.71(m,2H),0.94(s,3H),0.93(s,3H),0.89(s,9H),0.06(s,3H),0.03(s,3H);LC-MS:m/z 260[M+H]⁺。

[0961] 步骤6:3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-羟基-4,4-二甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯



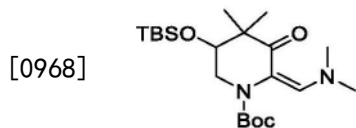
[0963] 在25℃下,向5-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4,4-二甲基哌啶-3-醇(600mg,2.3mmol)于THF(100mL)中的混合物中加入TEA(1.2g,11.7mmol)和叔丁氧基羰基碳酸叔丁酯(763mg,3.5mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。将混合物浓缩。将残留物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:2)洗脱,以得到呈白色固体的3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-羟基-4,4-二甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯(640mg,88%产率,两步)。¹H NMR(300MHz,CDCl₃-d) δ3.59-3.70(m,4H),3.38-3.45(m,1H),3.00-3.06(m,1H),1.48(s,9H),1.03(s,3H),0.96(s,3H),0.92(s,9H),0.12(s,3H),0.09(s,3H);LC-MS:m/z 360[M+H]⁺。

[0964] 步骤7:3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4,4-二甲基-5-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯



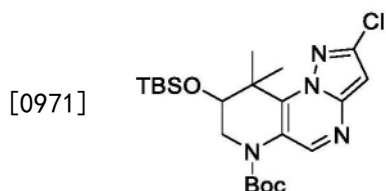
[0966] 在25℃下,向3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-羟基-4,4-二甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯(650mg,1.8mmol)和TPAP(32mg,90.4μmol)于ACN(10mL)中的混合物中加入4-甲基-4-氧化-吗啉-4-鎓(275mg,2.4mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌1小时。将混合物在减压下浓缩。将残留物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:4)洗脱,以得到呈白色固体的3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4,4-二甲基-5-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯(420mg,65%产率)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃-d) δ4.16-4.25(m,1H),3.73-3.91(m,3H),3.50-3.53(m,1H),1.46(s,9H),1.26(s,3H),1.25(s,3H),0.86(s,9H),0.10(s,3H),0.06(s,3H)。LC-MS:m/z 358[M+H]⁺。

[0967] 步骤8:(E)-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4,4-二甲基-3-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯



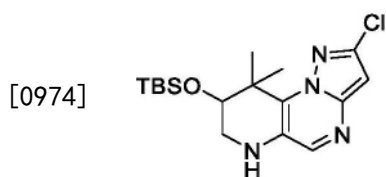
[0969] 将3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4,4-二甲基-5-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯(420mg,1.2mmol)于DMF-DMA(10mL)中的混合物在100℃下搅拌1小时。冷却至25℃后,浓缩混合物,以得到呈黄色油状物的(E)-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4,4-二甲基-3-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯(500mg,粗品)。粗产物无需进一步纯化而用于下一步骤。LC-MS:m/z 413[M+H]⁺。

[0970] 步骤9: 8-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-氯-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酸叔丁酯



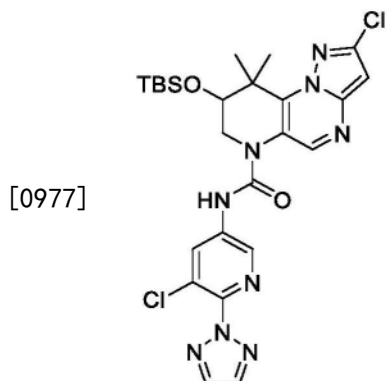
[0972] 在25℃下,向(E)-5-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4,4-二甲基-3-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯(500mg, 1.2mmol)和5-氯-1H-吡唑-3-胺(142mg, 1.2mmol)于甲苯(10mL)中的混合物中加入AcOH(1mL)。将反应混合物在100℃下搅拌15小时。冷却至25℃后,将混合物在真空下浓缩。将残留物溶解在EtOAc(200mL)中。将混合物用饱和NaHCO₃水溶液(3x150mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并浓缩。将残留物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:4)洗脱,以得到呈白色固体的8-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-氯-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酸叔丁酯(230mg, 42%产率,经两步)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃-d) δ8.80(s, 1H), 6.59(s, 1H), 3.80-3.92(m, 1H), 2.66-2.76(m, 2H), 1.70(s, 3H), 1.65(s, 3H), 1.57(s, 9H), 0.96(s, 9H), 0.22(s, 3H), 0.19(s, 3H); LC-MS:m/z 467[M+H]⁺。

[0973] 步骤10: 8-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-氯-9,9-二甲基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶



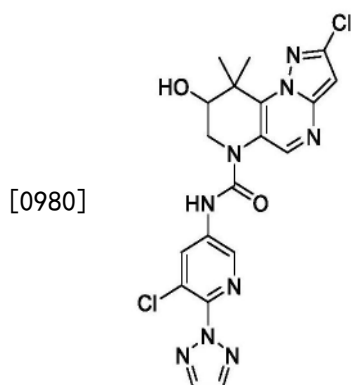
[0975] 在25℃下,向8-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-氯-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酸叔丁酯(200mg, 428μmol)于EtOAc(15mL)中的混合物中加入HCl(4M, 于EtOAc中, 5mL)。将反应混合物搅拌15小时。将混合物浓缩。将残留物溶解在乙酸乙酯(50mL)中,用碳酸钠(50mL, 饱和水溶液)和盐水(50mL)洗涤。将所得溶液经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。这导致呈黄色固体的8-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-氯-9,9-二甲基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶(120mg, 76%产率)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃-d) δ8.19(s, 1H), 6.65(s, 1H), 6.02(s, 1H), 3.76-3.82(m, 1H), 3.14-3.19(m, 1H), 3.04-3.09(m, 1H), 1.52(s, 3H), 1.49(s, 3H), 0.90(s, 9H), 0.13(s, 3H), 0.06(s, 3H); LC-MS:m/z 367[M+H]⁺。

[0976] 步骤11: 8-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺



[0978] 在25℃下,向5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2;64mg,327.0 μ mol)于THF(1mL)中的混合物中加入三光气(48mg,163.5 μ mol)和TEA(41mg,408.7 μ mol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将所得滤液加入到8-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-氯-9,9-二甲基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]咪啶(100mg,272.5 μ mol)于THF(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(276mg,2.7mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(66mg,545.0 μ mol)。将反应混合物在40℃下搅拌1小时。将混合物溶解在EtOAc(50mL)中,用盐水(2x50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型TLC用EtOAc/PE(1:4)纯化,以得到呈淡黄色固体的8-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]咪啶-6(7H)-甲酰胺(65mg,40%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ 9.45(s,1H),8.74(s,1H),8.61(d,J=2.4Hz,1H),8.39(d,J=2.4Hz,1H),8.16(s,2H),6.92(s,1H),4.17-4.23(m,1H),3.96-4.07(m,1H),3.64-3.76(m,1H),1.68(s,3H),1.52(s,3H),0.74(s,9H),0.16(s,3H),0.06(s,3H);LC-MS:m/z 588[M+H]⁺。

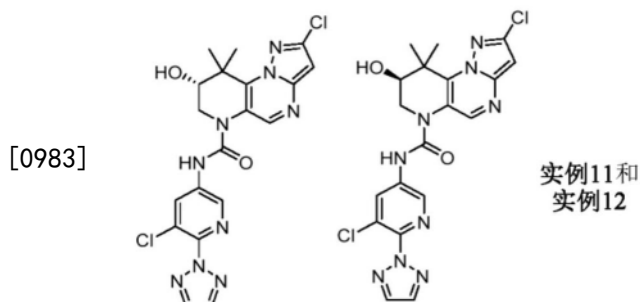
[0979] 步骤12:2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-羟基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]咪啶-6(7H)-甲酰胺



[0981] 在25℃下,向8-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]咪啶-6(7H)-甲酰胺(55mg,93.5 μ mol)于THF(2mL)中的溶液中加入TBAF(1M,2mL)。将所得混合物在室温下搅拌4小时。将反应混合物在减压下浓缩。将残留物用水(50mL)稀释并用EtOAc(3x50mL)萃取。将合并的有机层用饱和氯化铵水溶液(3x50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型TLC用EtOAc纯化,以得到30mg粗产物(90%纯度)。对残留物进行制备型HPLC纯化并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三

唑-2-基)吡啶-3-基)-8-羟基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺(19.3mg,45%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:9.95(s,1H),8.69(s,1H),8.63(d,J=2.4Hz,1H),8.37(d,J=2.4Hz,1H),8.15(s,2H),6.88(s,1H),5.62-5.63(m,1H),4.03-4.09(m,1H),3.72-3.77(m,2H),1.64(s,3H),1.57(s,3H);LC-MS:m/z 474[M+H]⁺。

[0982] 步骤13:分离对映异构体以获得(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-羟基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-羟基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺。

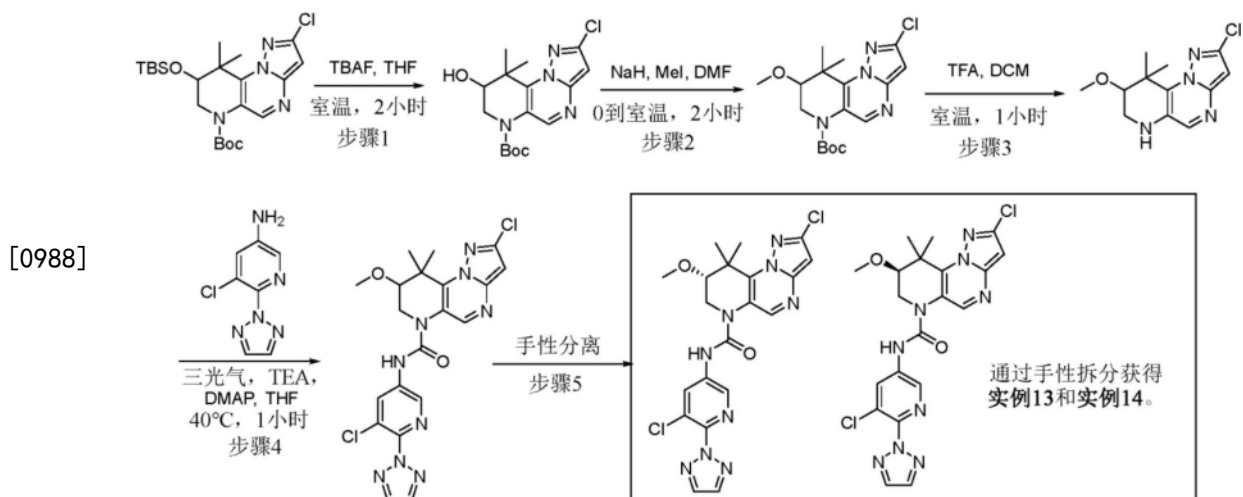


[0984] 对2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-羟基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺(16mg,33.7μmol)进行手性HPLC纯化(色谱柱:CHIRALPAK IF,2x25cm,5μm;流动相A:Hex(0.5%2M NH₃-MeOH)-HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:14毫升/分钟;等度45%B;220/254nm;RT1:11.82;RT2:14.305;注射体积:3.8ml;运行次数:1)。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈淡黄色固体的实例11(6.4mg,40%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例12(7.4mg,46%产率)。

[0985] 实例11:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:9.97(s,1H),8.69(s,1H),8.63(d,J=2.4Hz,1H),8.38(d,J=2.4Hz,1H),8.16(s,2H),6.89(s,1H),5.64-5.65(m,1H),4.04-4.11(m,1H),3.72-3.76(m,2H),1.64(s,3H),1.57(s,3H);LC-MS:m/z 474[M+H]⁺。

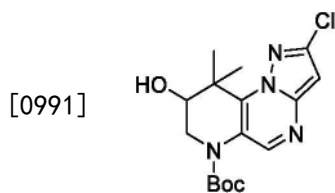
[0986] 实例12:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:9.97(s,1H),8.69(s,1H),8.63(d,J=2.4Hz,1H),8.38(d,J=2.4Hz,1H),8.16(s,2H),6.89(s,1H),5.64-5.65(m,1H),4.04-4.10(m,1H),3.72-3.76(m,2H),1.64(s,3H),1.57(s,3H);LC-MS:m/z 474[M+H]⁺。

[0987] 方法J1



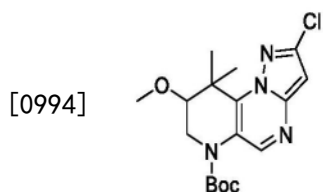
[0989] 实例13和14:由含有(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲氧基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺和(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲氧基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[0990] 步骤1:2-氯-8-羟基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酸叔丁酯



[0992] 在25°C下,向8-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-氯-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酸叔丁酯(250mg, 536.5 μ mol)于THF(5mL)中的混合物中加入TBAF(1M,于THF中,5mL),并将混合物在此温度下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,并将残留物通过制备型TLC用EtOAc/PE(1:1)纯化,以得到呈淡黄色固体的2-氯-8-羟基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酸叔丁酯(120mg, 63%产率)。LC-MS:m/z 353[M+H]⁺。

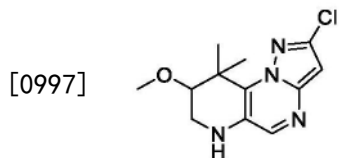
[0993] 步骤2:2-氯-8-甲氧基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酸叔丁酯



[0995] 在0°C下,向2-氯-8-羟基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酸叔丁酯(120mg, 340.9 μ mol)于DMF(8mL)中的混合物中加入NaH(60%,于矿物油中,16mg, 409.1 μ mol)。将混合物在0°C下搅拌0.5小时。逐滴加入MeI(58mg, 409.1 μ mol),并将所得混合物在25°C下搅拌1小时。将混合物倒入到冰/水(50mL)中,并用EtOAc(3x50mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残留物通

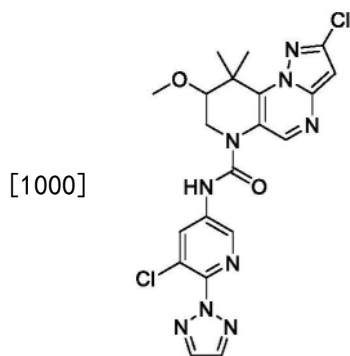
过制备型TLC用EtOAc/PE(1:2)纯化,以得到呈白色固体的2-氯-8-甲氧基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酸叔丁酯(60mg,48%产率)。¹H NMR(400MHz,CDC1₃-d)δ8.68(s,1H),6.56(s,1H),4.26-4.30(m,1H),3.44-3.48(m,4H),3.17-3.19(m,1H),1.72(s,3H),1.62(s,3H),1.53(s,9H);LC-MS:m/z 367[M+H]⁺。

[0996] 步骤3:2-氯-8-甲氧基-9,9-二甲基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶



[0998] 向2-氯-8-甲氧基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酸叔丁酯(50mg,136.3μmol)于DCM(4mL)中的混合物中加入TFA(1mL)。将混合物在25℃下搅拌1小时。将混合物在减压下浓缩,并将残留物通过制备型TLC用EtOAc/PE(1:1)纯化,以得到呈白色固体的2-氯-8-甲氧基-9,9-二甲基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶(35mg,96%产率)。¹H NMR(300MHz,CDC1₃-d)δ:8.16(s,1H),6.54(s,1H),3.54(s,3H),3.39-3.40(m,2H),3.29-3.32(m,1H),1.73(s,3H),1.69(s,3H)。LC-MS:m/z 267[M+H]⁺。

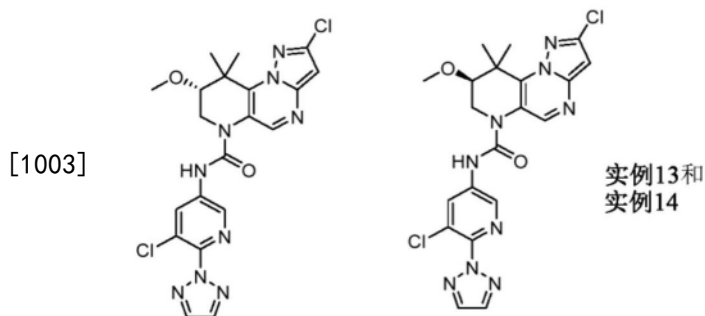
[0999] 步骤4:2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲氧基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺



[1001] 在25℃下,向5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2;26mg,133.3μmol)于THF(4mL)中的混合物中加入三光气(20mg,67.5μmol)、TEA(17mg,168.7μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将所得滤液加入到2-氯-8-甲氧基-9,9-二甲基-6,7,8,9-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶(30mg,112.5μmol)于THF(4mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(114mg,1.1mmol)和DMAP(27mg,224.9μmol)。将所得混合物在40℃下搅拌1小时。将混合物倒入到水(20mL)中,并用EtOAc(3x20mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲氧基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺(9.3mg,17%产率)。LC-MS:m/z 488[M+H]⁺。

[1002] 步骤5:分离对映异构体以获得(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲氧基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲

酰胺和(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲氧基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺。

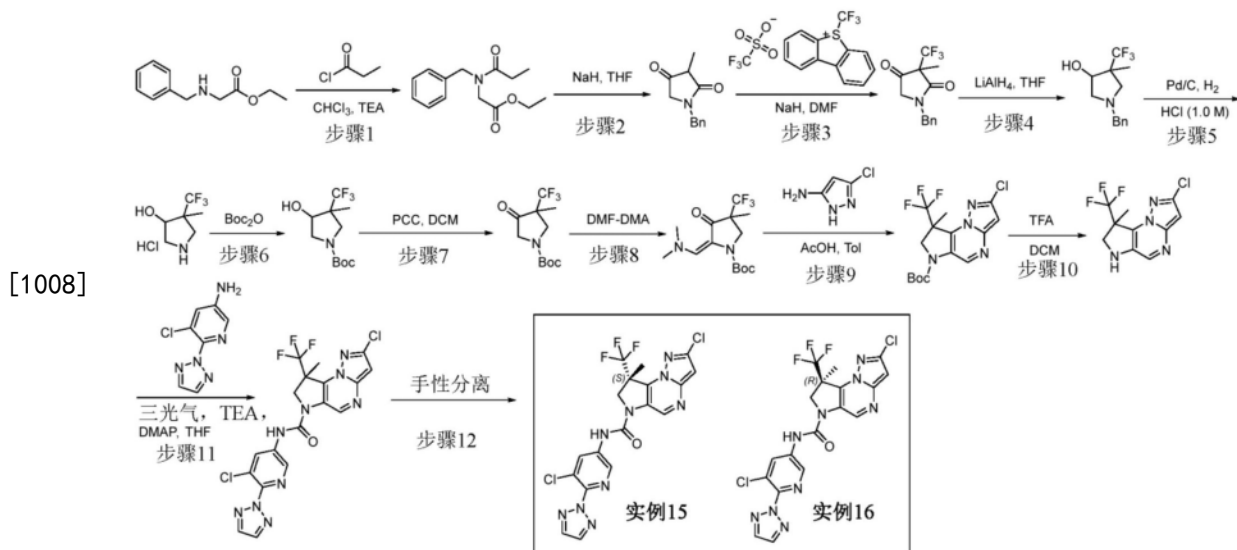


[1004] 对2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲氧基-9,9-二甲基-8,9-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[2,3-e]嘧啶-6(7H)-甲酰胺(7mg, 14 μ mol)进行手性HPLC纯化(色谱柱:CHIRALPAK IA, 2x25cm, 5 μ m; 流动相A:Hex (0.5% 2M NH₃-MeOH) -HPLC, 流动相B:EtOH-HPLC; 流速:16毫升/分钟; 等度50%B; 220/254nm; RT1:9.279; RT2:13.158; 注射体积:1ml; 运行次数:1)。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈黄色固体的实例13(2mg, 28%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈黄色固体的实例14(2.8mg, 40%产率)。

[1005] 实例13:¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ : 8.53(s, 1H), 8.43(d, J=2.0Hz, 1H), 8.39(d, J=2.4Hz, 1H), 7.93(s, 2H), 7.09(s, 1H), 6.66(s, 1H), 4.67-4.71(m, 1H), 3.43-3.47(m, 4H), 3.32(d, J=4.0Hz, 1H), 1.84(s, 3H), 1.65(s, 3H); LC-MS:m/z 488[M+H]⁺。

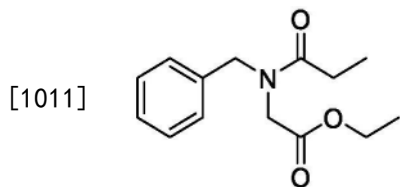
[1006] 实例14:¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ : 8.53(s, 1H), 8.43(d, J=2.4Hz, 1H), 8.39(d, J=2.4Hz, 1H), 7.93(s, 2H), 7.11(s, 1H), 6.66(s, 1H), 4.67-4.71(m, 1H), 3.43-3.47(m, 4H), 3.32(d, J=4.0Hz, 1H), 1.84(s, 3H), 1.65(s, 3H); LC-MS:m/z 488[M+H]⁺。

[1007] 方法K1



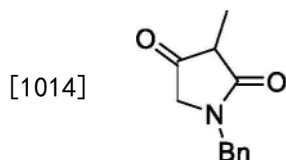
[1009] 实例15和16: (S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1010] 步骤1:N-苄基-N-丙酰基甘氨酸乙酯



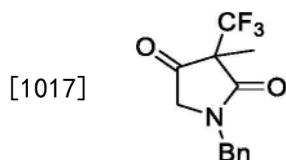
[1012] 将2-(苄基氨基)乙酸乙酯(13.5g,69.9mmol)、 CHCl_3 (130mL)、N,N-二乙基乙胺(14.2g,139.7mmol)放入250mL三颈烧瓶中。在 0°C 下逐滴加入20mL CHCl_3 中的丙酰氯(7.1g,76.9mmol)。将混合物在 25°C 下搅拌1小时。将混合物倒入200mL的 H_2O 中。用DCM(3x200mL)萃取所得溶液。将有机层合并,干燥,并在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:2)洗脱,以得到呈淡黄色油状物的N-苄基-N-丙酰基甘氨酸乙酯(15.7g,81%产率)。 ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ :7.16-7.37(m,5H),4.61-4.64(m,2H),4.08-4.17(m,2H),3.90-4.03(m,2H),2.28-2.47(m,2H),1.14-1.25(m,6H)。LC-MS:m/z 250[M+H]⁺。

[1013] 步骤2:1-苄基-3-甲基吡咯烷-2,4-二酮



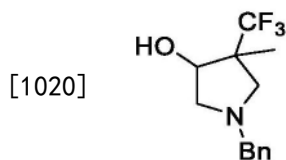
[1015] 将NaH(963mg,24.1mmol)和THF(100mL)放入250mL三颈烧瓶中。在 75°C 下逐滴加入THF(50mL)中的N-苄基-N-丙酰基甘氨酸乙酯(5.0g,20.1mmol)。将混合物在 75°C 下搅拌12小时。将反应冷却至 20°C ,然后加入水(20mL)。将混合物在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用MeOH/DCM(1:30)洗脱,以得到呈灰白色固体的1-苄基-3-甲基吡咯烷-2,4-二酮(2.2g,49%产率)。 ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ :10.62(s,1H),7.14-7.34(m,5H),4.44(s,2H),3.62(d,J=1.6Hz,2H),1.57(s,3H)。LC-MS:m/z 204[M+H]⁺。

[1016] 步骤3:1-苄基-3-甲基-3-(三氟甲基)吡咯烷-2,4-二酮



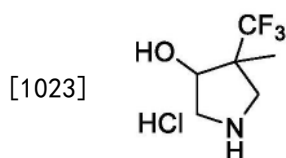
[1018] 将1-苄基-3-甲基吡咯烷-2,4-二酮(500mg,2.5mmol)和DMF(10mL)放入100mL三颈烧瓶中。在 0°C 下分份加入NaH(94mg,2.5mmol)。将混合物在 25°C 下搅拌0.5小时。在 -55°C 下加入三氟甲磺酸酯;5-(三氟甲基)二苯并噻吩-5-鎓(989mg,2.5mmol)。将混合物在 -55°C 下搅拌1小时。将反应混合物逐渐温热至 25°C ,并搅拌1小时。将混合物倒入到冰/水的混合物(40mL)中。用EtOAc(3x40mL)萃取所得混合物。将有机层合并,经无水 Na_2SO_4 干燥,并在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:4)洗脱,以得到呈淡黄色油状物的1-苄基-3-甲基-3-(三氟甲基)吡咯烷-2,4-二酮(670mg,90%产率)。 ^1H NMR(300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ :7.28-7.42(m,5H),4.84(d,J=15.03Hz,1H),4.45(d,J=15.06Hz,1H),4.05(s,2H),1.48(s,3H)。LC-MS:m/z 272[M+H]⁺。

[1019] 步骤4:1-苄基-4-甲基-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇



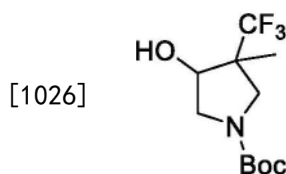
[1021] 将1-苄基-3-甲基-3-(三氟甲基)吡咯烷-2,4-二酮(620mg, 2.3mmol)和THF(20mL)放入100mL圆瓶烧瓶中。在0℃下加入LiAlH₄(582mg, 15.3mmol)。将反应混合物温热至80℃, 并在这个温度下搅拌15小时。将反应混合物冷却至0℃。在搅拌的同时, 加入582mg H₂O和582mg NaOH水溶液(10%), 然后加入582mg H₂O。将混合物在25℃下搅拌10分钟并滤出沉淀。将滤液在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用MeOH/DCM(1:50)洗脱, 以得到呈无色油状物的1-苄基-4-甲基-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇(530mg, 80%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 7.20-7.32(m, 5H), 5.30(d, J=5.88Hz, 1H), 3.92-3.97(m, 1H), 3.50-3.61(m, 2H), 3.00-3.04(m, 1H), 2.65(d, J=9.48Hz, 1H), 2.50(s, 1H), 2.24-2.28(m, 1H), 1.21(s, 3H)。LC-MS: m/z 260[M+H]⁺。

[1022] 步骤5: 4-甲基-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇盐酸盐



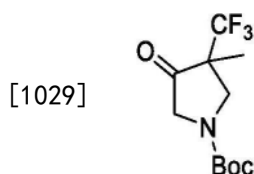
[1024] 将1-苄基-4-甲基-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇(430mg, 1.7mmol)、EtOH(15mL)、HCl(1.0M, 1.7mL)和Pd/C(100mg, 10%)放入100mL圆瓶烧瓶中。将烧瓶抽空并用氮气冲洗三次, 然后用氢气冲洗。将混合物在氢气(气球)气氛下在25℃下搅拌18小时。在搅拌下加入HCl(1.0M, 1.7mL)。将混合物在25℃下搅拌15分钟。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。这导致呈黄色固体的4-甲基-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇盐酸盐(300mg, 79%产率)。LC-MS: m/z 170[M+H]⁺。

[1025] 步骤6: 4-羟基-3-甲基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



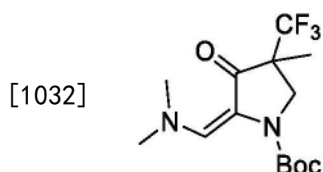
[1027] 将4-甲基-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇盐酸盐(300mg, 1.5mmol)、THF(15.0mL)、(Boc)₂O(477mg, 2.2mmol)和N,N-二乙基乙胺(738mg, 7.3mmol)放入100mL圆瓶烧瓶中。将混合物在25℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:4)洗脱, 以得到呈白色固体的4-羟基-3-甲基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(370mg, 85%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 5.60-5.62(m, 1H), 4.04-4.12(m, 1H), 3.54-3.61(m, 2H), 3.14-3.21(m, 2H), 1.40(s, 9H), 1.18(s, 3H)。LC-MS: m/z 270[M+H]⁺。

[1028] 步骤7: 3-甲基-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



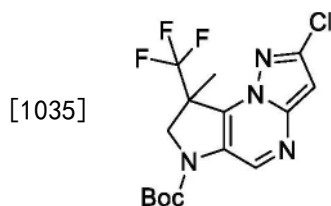
[1030] 将4-羟基-3-甲基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(300mg, 1.1mmol)、DCM(15mL)、PCC(1.2g, 5.6mmol)和硅胶(600mg)放入100mL圆瓶烧瓶中。将混合物在40℃下搅拌12小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:10)洗脱,以得到呈白色固体的3-甲基-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(200mg, 60%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 3.92-4.00(m, 3H), 3.56-3.62(m, 1H), 1.41(s, 9H), 1.33(s, 3H)。LC-MS:m/z 268[M+H]⁺。

[1031] 步骤8:(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



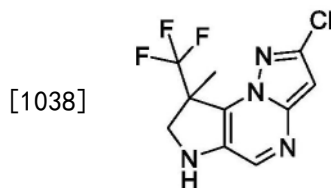
[1033] 将3-甲基-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(160mg, 598.7μmol)和DMF-DMA(1:1, 6.0mL)放入100mL圆瓶烧瓶中。将混合物在35℃下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩,以得到呈淡黄色油状物的(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(193mg, 粗品)。LC-MS:m/z 323[M+H]⁺。

[1034] 步骤9:2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[1036] 将(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(193mg, 598.8μmol)、3-氯-1H-吡唑-5-胺(70mg, 598.8μmol)、甲苯(10mL)和HOAc(1.0mL)放入100mL圆瓶烧瓶中。将混合物在95℃下搅拌15小时。将反应冷却至25℃,并在真空下浓缩。加入20mL的NaHCO₃(水溶液,饱和)。用EtOAc(3x20mL)萃取所得溶液。将有机层合并,干燥,并在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱上并用EtOAc/PE(13:87)洗脱,以得到呈黄色油状物的2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(90mg, 36%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 9.14(s, 1H), 7.04(s, 1H), 3.95-4.03(m, 2H), 1.52(s, 9H), 1.47(s, 3H)。LC-MS:m/z 377[M+H]⁺。

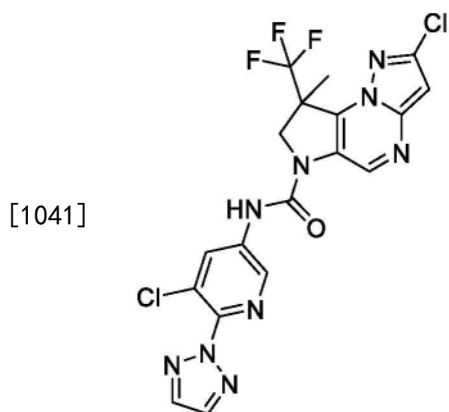
[1037] 步骤10:2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[1039] 将2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(80mg, 212.3μmol)、DCM(6mL)和TFA(2mL)放入40mL小瓶中。将混合物在25

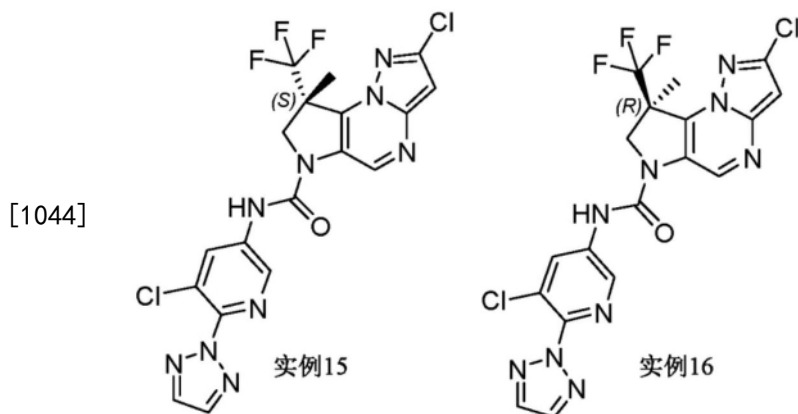
℃下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。加入20mL的NaHCO₃ (水溶液, 饱和)。用DCM (3x20mL) 萃取所得混合物。将有机层合并, 干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过制备型TLC纯化, 用MeOH/DCM(1:35) 洗脱。这导致呈黄色油状物的2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶 (32mg, 49%产率)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ: 8.37 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 5.95-5.99 (br, 1H), 3.87-3.92 (m, 1H), 3.54-3.59 (m, 1H), 1.79 (s, 3H)。LC-MS:m/z 277[M+H]⁺。

[1040] 步骤11: 2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1042] 在0℃下, 向5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2; 19mg, 95.4μmol) 和碳酸双(三氟甲基)酯(14mg, 47.7μmol) 于THF (5mL) 中的搅拌混合物中逐滴加入TEA (12mg, 119.3μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时, 然后过滤。将所得滤液加入到2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶 (22mg, 79.5μmol) 于THF (1mL) 中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA (81mg, 795.2μmol) 和N,N-二甲基吡啶-4-胺 (19mg, 159.1μmol)。将混合物在40℃下搅拌2小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型TLC纯化, 用MeOH/DCM(3.5:120) 洗脱。通过制备型HPLC纯化粗产物 (45mg)。将含有产物的级分冻干, 以得到呈白色固体的2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (25.1mg, 61%产率)。LC-MS:m/z 498[M+H]⁺。

[1043] 步骤12: 分离对映异构体以获得(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺。



[1045] 对25mg 2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺进行手性HPLC纯化(色谱柱:CHIRALPAK IE, 2x25cm, 5 μ m; 流动相A:Hex (8mmol/L NH₃.MeOH) --HPLC, 流动相B:EtOH--HPLC; 流速:20毫升/分钟; 等度25%B; 220/254nm; RT1:8.945; RT2:10.506; 注射体积:0.5ml; 运行次数:6)。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到实例15(7.8mg, 31%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例16(6.1mg, 24%产率)。

[1046] 实例15:¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ :9.72 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.75 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.51 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.18 (s, 2H), 7.09 (s, 1H), 4.86 (d, J=11.6Hz, 1H), 4.31 (d, J=11.6Hz, 1H), 1.99 (s, 3H)。LC-MS:m/z 498[M+H]⁺。

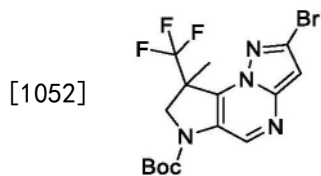
[1047] 实例16:¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ :9.72 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.76 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.51 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.18 (s, 2H), 7.09 (s, 1H), 4.86 (d, J=11.6Hz, 1H), 4.31 (d, J=11.2Hz, 1H), 1.99 (s, 3H)。LC-MS:m/z 498[M+H]⁺。

[1048] 方法L1



[1050] 实例17:N-[5-氯-6-(三唑-2-基)-3-吡啶基]-11-氰基-3-甲基-3-(三氟甲基)-1,5,8,12-四氮杂三环[7.3.0.0^{2,6}]十二碳-2(6),7,9,11-四烯-5-甲酰胺

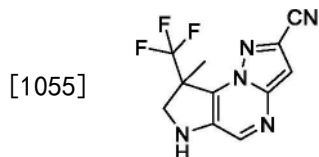
[1051] 步骤1:2-溴-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[1053] 在25°C下,向(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(方法K1步骤8;500mg,1.6mmol)于甲苯(10mL)中的混合物中加入AcOH(1mL)和3-溴-1H-吡唑-5-胺(304mg,1.9mmol)。将反应混合物在95°C下搅拌1小时。冷却至

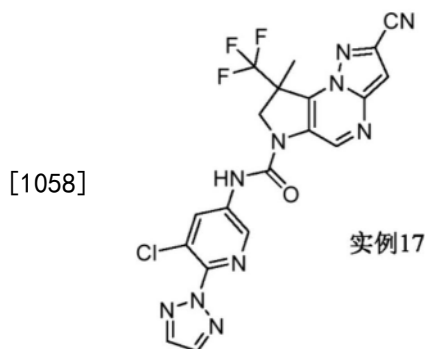
25℃后,将混合物在真空下浓缩。将残留物溶解在EtOAc(100mL)中。将混合物用饱和NaHCO₃水溶液(50mL x3)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。将残留物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:4)洗脱,以得到呈黄色油状物的2-溴-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(188mg,29%产率)。LC-MS:m/z 421[M+H]⁺。

[1054] 步骤2:8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-2-甲腈



[1056] 在N₂下,向2-溴-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(150mg,356.1μmol)于DMF(3mL)中的混合物中加入Zn(CN)₂(84mg,712.0μmol)和Pd(dppf)Cl₂(43.62mg,53.4μmol)。将反应混合物在微波反应器中在180℃下加热30分钟。冷却至25℃后,将混合物倒入到水(50mL)中,并用EtOAc(3x50mL)萃取。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型TLC用EtOAc纯化,以得到呈黄色固体的8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-2-甲腈(50mg,38%产率)。LC-MS:m/z 268[M+H]⁺。

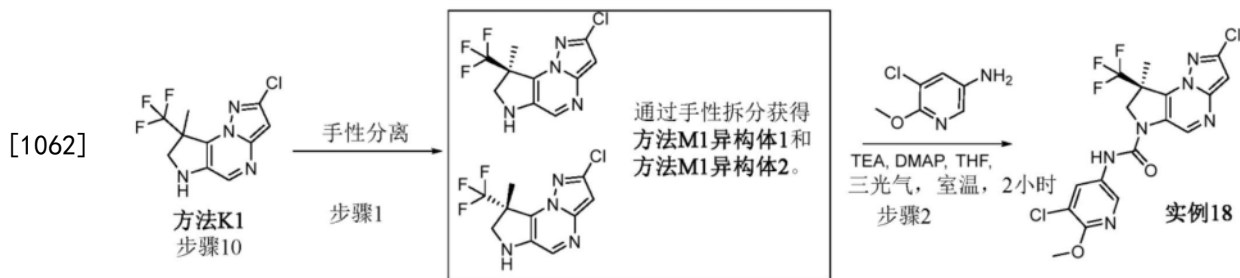
[1057] 步骤3:N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氰基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1059] 在25℃下,向5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2;45mg,224.5μmol)于THF(3mL)中的混合物中加入三光气(34mg,112.0μmol)和TEA(29mg,280.5μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-2-甲腈(50mg,187.1μmol)于THF(3mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(190mg,1.9mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(46mg,374.5μmol)。将所得混合物在40℃下搅拌1小时。将混合物倒入到水(40mL)中,并用EtOAc(3x40mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将含有产物的级分冻干,以得到呈白色固体的N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氰基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(3.5mg,4%产率)。

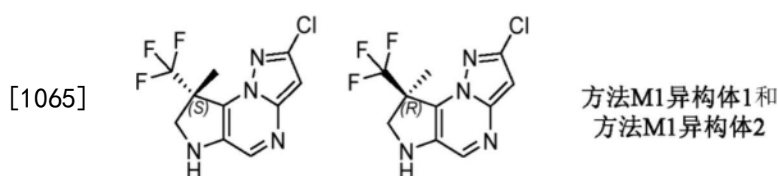
[1060] 实例17:¹H NMR(400MHz,CDC1₃-d) δ9.61(s,1H),8.56(d,J=2.4Hz,1H),8.46(d,J=2.0Hz,1H),7.98(s,2H),7.00(d,J=2.8Hz,1H),4.68(d,J=10.8Hz,1H),4.14(d,J=10.8Hz,1H),2.11(s,3H)。LC-MS:m/z 489[M+H]⁺。

[1061] 方法M1



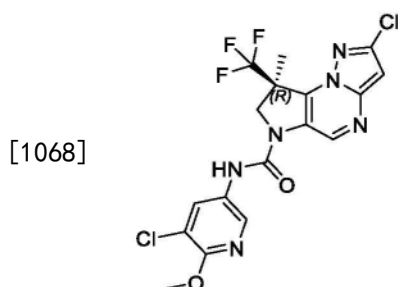
[1063] 实例18: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-甲氧基吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1064] 步骤1: (S)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶和(R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[1066] 将2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(方法K1步骤10; 2.2g)的外消旋混合物通过制备型SFC纯化(色谱柱: CHIRAL ART Amylose-C NEO, 3x25cm, 5 μ m; 流动相A: CO₂, 流动相B: MeOH(0.1% 2M NH₃-MeOH); 流速: 100毫升/分钟; 等度20%B; 220nm; RT1: 2.78; RT2: 3.43; 注射体积: 1ml; 运行次数: 30)。将第一个洗脱异构体(RT 2.78分钟)浓缩并冻干, 以得到呈黄色固体的方法M1异构体1(800mg, 36%产率)。LC-MS: m/z 277 [M+H]⁺. ee% = 99.3%。将第二个洗脱异构体(RT 3.43分钟)浓缩并冻干, 以得到呈黄色固体的方法M1异构体2。LC-MS: m/z 277 [M+H]⁺. ee% = 98.3%。然后对两种异构体分别进行方法K1步骤11, 以分别转化为实例15和实例16。实例16与MALT1酶共结晶。该复合物的X射线晶体学确定实例16的立体化学为“R”。实例16衍生自方法M1异构体2。

[1067] 步骤2: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-甲氧基吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(实例18)

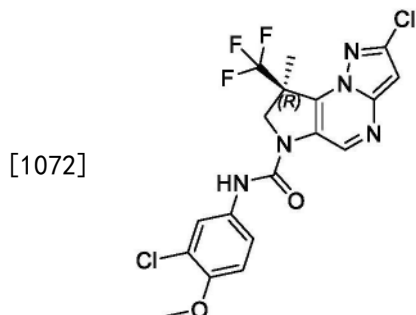


[1069] 在0℃下, 向5-氯-6-甲氧基-吡啶-3-胺(14mg, 86.8 μ mol)和碳酸双(三氯甲基)酯(13mg, 43.4 μ mol)于THF(4mL)中的搅拌溶液中加入TEA(11mg, 108.4 μ mol, 15.1 μ L)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时, 然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(20mg, 72.3 μ mol)于THF(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(73mg, 722.9 μ mol, 100.8 μ L)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(18mg, 144.6 μ mol)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将所得混合物通过制

备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-甲氧基吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(15.9mg,47%产率)。实例18的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1070] 实例18:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:9.33(s,1H),9.19(s,1H),8.27(d,J=2.4Hz,1H),8.13(d,J=2.4Hz,1H),7.06(s,1H),4.76(d,J=11.2Hz,1H),4.22(d,J=11.1Hz,1H),3.93(s,3H),1.97(s,3H)。LC-MS:m/z 461[M+H]⁺。

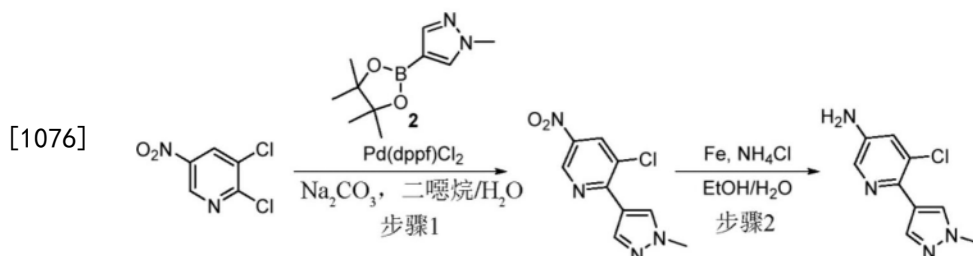
[1071] 实例19:(R)-2-氯-N-(3-氯-4-甲氧基苯基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



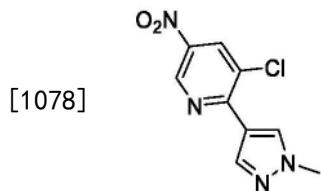
[1073] 根据方法M1步骤2,通过使用3-氯-4-甲氧基苯胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例19的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1074] 实例19:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:9.33(s,1H),9.01(s,1H),7.71(d,J=2.7Hz,1H),7.45-7.49(m,1H),7.15(d,J=9.0Hz,1H),7.04(s,1H),4.79(d,J=11.7Hz,1H),4.21(d,J=11.7Hz,1H),3.84(s,3H),1.97(s,3H)。LC-MS:m/z 460[M+H]⁺。

[1075] 方法N1



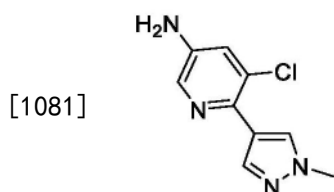
[1077] 步骤1:3-氯-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-5-硝基吡啶



[1079] 向2,3-二氯-5-硝基吡啶(2.00g,10.4mmol)于二噁烷(40mL)和H₂O(20mL)中的搅拌混合物中加入1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)-1H-吡唑(2.37g,11.4mmol)、Pd(dppf)Cl₂(758mg,1.0mmol)和碳酸钠(2.75g,25.9mmol)。将所得混合物在氮气气氛下在100℃下搅拌15小时。将所得混合物冷却至室温,倒入水(100mL)中,并用EtOAc(3x100mL)萃取。将合并的有机层用盐水(250mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩。将残留物通过硅胶柱纯化并用EtOAc/PE(3:7)洗脱,以得到呈灰白色固体的3-

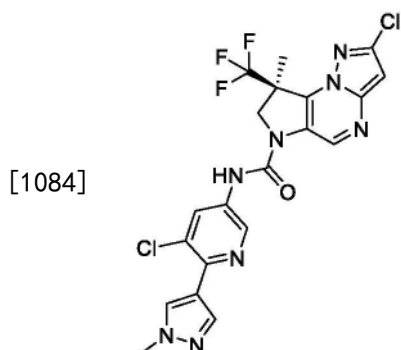
氯-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-5-硝基吡啶 (2.0g, 83% 产率)。¹H NMR (300MHz, 氯仿-d) δ 9.27 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.50 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 4.01 (s, 3H)。LC-MS: m/z 239 [M+H]⁺。

[1080] 步骤2: 5-氯-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-3-胺



[1082] 向3-氯-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-5-硝基吡啶 (800mg, 3.4mmol) 于EtOH (15mL) 和H₂O (15mL) 中的搅拌混合物中加入铁 (786mg, 14.1mmol) 和氯化铵 (753mg, 14.1mmol)。将所得混合物在95℃下搅拌1小时。将混合物冷却至室温, 过滤并在减压下浓缩以去除EtOH。用EtOAc (3x20mL) 萃取水层。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将残留物通过硅胶柱纯化并用DCM/MeOH (93:7) 洗脱, 以得到呈黄色固体的5-氯-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-3-胺 (510mg, 73% 产率)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 8.14 (s, 1H), 7.91 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.02 (d, J=2.4Hz, 1H), 5.58 (s, 2H), 3.86 (s, 3H)。LC-MS: m/z 209 [M+H]⁺。

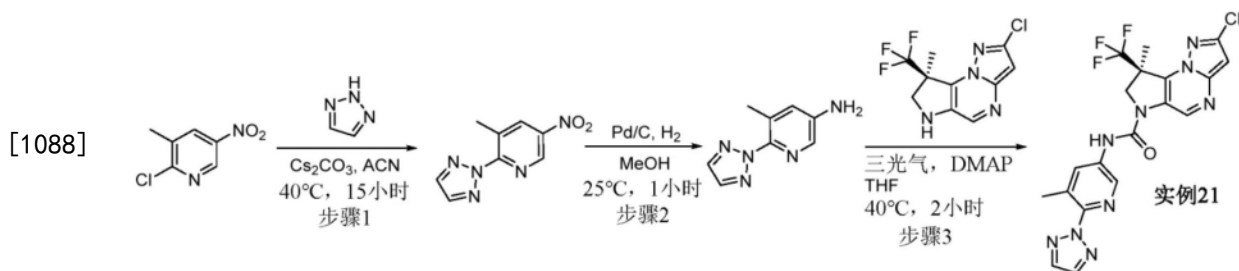
[1083] 实例20: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1085] 根据方法M1步骤2, 通过使用5-氯-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-3-胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例20的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1086] 实例20: ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 9.40 (s, 1H), 9.35 (s, 1H), 8.69 (d, J=2.1Hz, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.22 (d, J=2.1Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 4.82 (d, J=11.7Hz, 1H), 4.27 (d, J=11.7Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 1.98 (s, 3H)。LC-MS: m/z 511 [M+H]⁺。

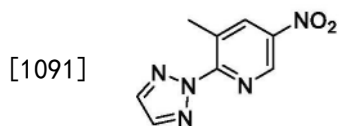
[1087] 方法01



[1089] 实例21: (R)-2-氯-8-甲基-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-

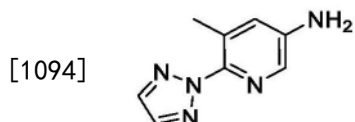
(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1090] 步骤1:3-甲基-5-硝基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶



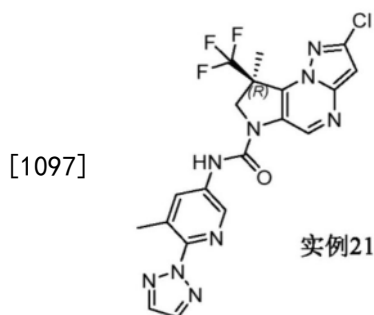
[1092] 向2-氯-3-甲基-5-硝基吡啶(2g, 11.6mmol)于ACN(30mL)中的搅拌溶液中加入2H-1,2,3-三唑(880mg, 12.7mmol)和Cs₂CO₃(2.1g, 15.1mmol)。将反应混合物在40℃下搅拌15小时。LCMS显示反应完成。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用水(50mL)稀释并用EtOAc(2x50mL)萃取。将合并的有机层在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱色谱上并用EtOAc/PE(1:10)洗脱,以得到呈白色固体的3-甲基-5-硝基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶(300mg, 12%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 9.25-9.27(m, 1H), 8.85-8.86(m, 1H), 8.28(s, 2H), 2.52-2.53(m, 3H)。LC-MS:m/z 206[M+H]⁺。

[1093] 步骤2:5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺



[1095] 向3-甲基-5-硝基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶(50mg, 243.7μmol)于MeOH(5mL)中的搅拌溶液中加入Pd/C(25mg, 10%)。将反应在氢气气氛下在25℃下搅拌1小时。LCMS显示反应完全。将反应混合物过滤。将滤液在真空下浓缩。这导致呈无色油状物的5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(40mg, 89%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 8.00-8.03(s, 2H), 7.70(d, J=2.7Hz, 1H), 6.95(d, J=2.7Hz, 1H), 5.76(s, 2H), 1.95(s, 3H)。LC-MS:m/z 176[M+H]⁺。

[1096] 步骤3: (R)-2-氯-8-甲基-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

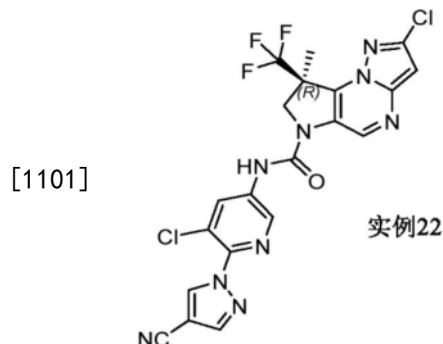


[1098] 向5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(25mg, 140.9μmol)于THF(5mL)中的搅拌溶液中加入三光气(19mg, 65.1μmol)和TEA(16mg, 162.7μmol)。将所得混合物在28℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(30mg, 108.4μmol)于THF(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(26mg, 216.9μmol)和TEA(110mg, 1.1mmol)。将混合物在40℃下搅拌2小时。LCMS显示反应完成。将溶剂在真空下浓缩。将残留物通过制备型TLC用MeOH/DCM(1:30)纯化,以得到42mg粗产物。将粗产物通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-8-甲基-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(25.3mg,

48%产率)。实例21的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1099] 实例21: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.47 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.61 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.12 (s, 2H), 7.07 (s, 1H), 4.86 (d, $J=11.2\text{Hz}$, 1H), 4.29 (d, $J=11.2\text{Hz}$, 1H), 2.21 (s, 3H), 1.99 (s, 3H)。LC-MS: m/z 478 $[\text{M}+\text{H}]^+$

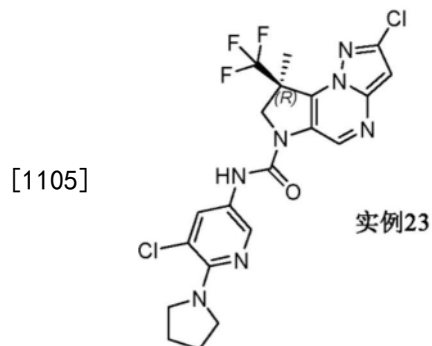
[1100] 实例22: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-氰基-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1102] 根据方法01步骤3,通过使用1-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-甲腈和方法M1异构体2制备标题化合物。实例22的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1103] 实例22: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.68 (s, 1H), 9.35 (s, 1H), 9.12 (s, 1H), 8.72 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.47 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 4.84 (d, $J=11.7\text{Hz}$, 1H), 4.29 (d, $J=11.7\text{Hz}$, 1H), 1.99 (s, 3H)。LC-MS: m/z 522 $[\text{M}+\text{H}]^+$

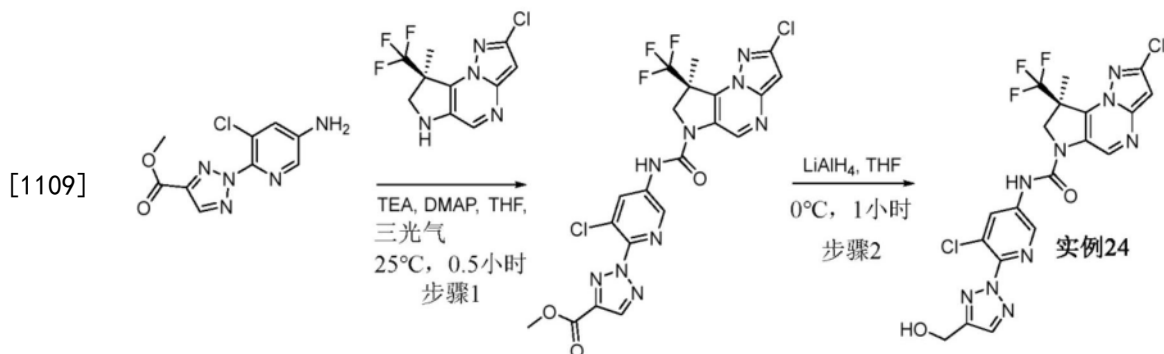
[1104] 实例23: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(吡咯烷-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1106] 根据方法01步骤3,通过使用5-氯-6-(吡咯烷-1-基)吡啶-3-胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例23的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

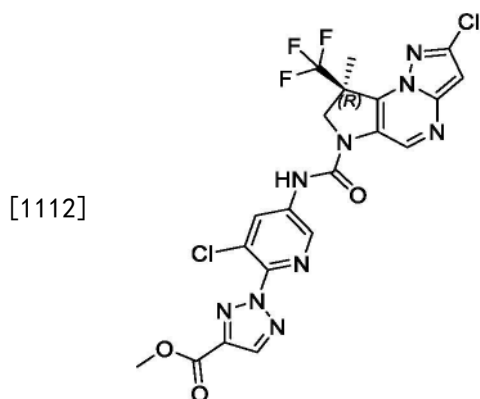
[1107] 实例23: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.32 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.19 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 7.88 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 7.04 (s, 1H), 4.74 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 4.21 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 3.50-3.62 (m, 4H), 1.96 (s, 3H), 1.81-1.91 (m, 4H)。LC-MS: m/z 500 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[1108] 方法P1



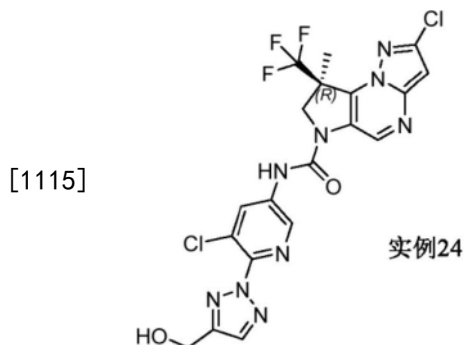
[1110] 实例24: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(羟甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1111] 步骤1: (R)-2-(3-氯-5-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯



[1113] 在0°C下,向2-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(55mg, 216.9 μ mol)和三光气(80mg, 271.1 μ mol)于THF(5mL)中的搅拌溶液中加入TEA(27mg, 271.1 μ mol, 38 μ L)。将所得混合物在25°C下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(50mg, 180.7 μ mol)于THF(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(183mg, 1.8mmol, 251.9 μ L)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(44mg, 361.5 μ mol)。将混合物在40°C下搅拌2小时。将所得混合物通过制备型TLC用MeOH/DCM(1/10)纯化,以得到呈白色固体的(R)-2-(3-氯-5-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(70mg, 35%产率)。LC-MS:m/z 556[M+H]⁺。

[1114] 步骤2: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(羟甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

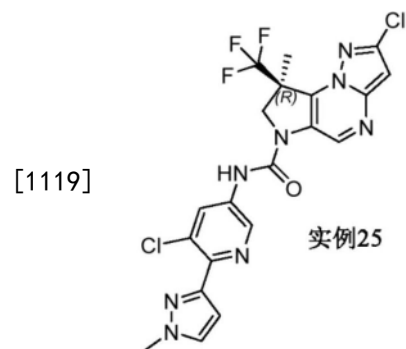


[1116] 在0°C下,向(R)-2-(3-氯-5-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并

[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(35mg, 31.4 μ mol)于THF(1mL)中的搅拌溶液中加入LiAlH₄(1.4mg, 37.7 μ mol)。将反应混合物在0°C下搅拌1小时。将所得混合物用饱和氯化铵水溶液(1mL)淬灭,并用EtOAc(3x5mL)萃取混合物。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥,并且在减压下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(羟甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(1.4mg, 8%产率)。实例24的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1117] 实例24: ¹H NMR (300MHz, 氯仿-d) δ : 9.43 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.70 (s, 1H), 4.95 (s, 2H), 4.62 (d, J=10.1Hz, 1H), 4.10 (d, J=10.0Hz, 1H), 2.11 (s, 3H)。LC-MS: m/z 528[M+H]⁺。

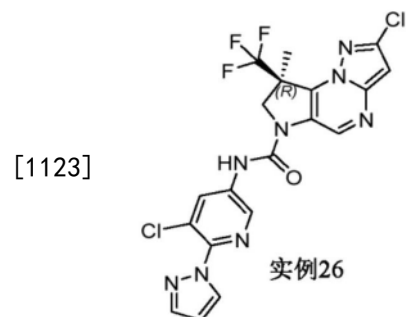
[1118] 实例25: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1120] 根据方法01步骤3,通过使用5-氯-6-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)吡啶-3-胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例25的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1121] 实例25: ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ : 9.44 (s, 1H), 9.35 (s, 1H), 8.74 (d, J=2.1Hz, 1H), 8.25 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.77 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.73 (d, J=2.4Hz, 1H), 4.83 (d, J=11.7Hz, 1H), 4.30 (d, J=11.7Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 1.98 (s, 3H)。LC-MS: m/z 511[M+H]⁺。

[1122] 实例26: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

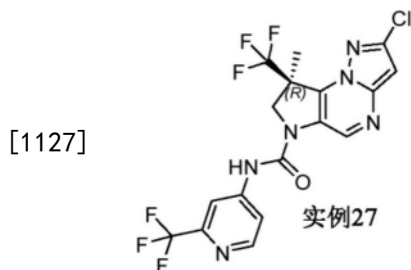


[1124] 根据方法01步骤3,通过使用5-氯-6-(1H-吡唑-1-基)吡啶-3-胺和方法M异构体2制备标题化合物。实例26的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1125] 实例26: ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ : 9.58 (s, 1H), 9.35 (s, 1H), 8.68 (d, J=2.4Hz,

1H), 8.42 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.22 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.78 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.53-6.55 (m, 1H), 4.84 (d, J=11.7Hz, 1H), 4.29 (d, J=11.7Hz, 1H), 1.98 (s, 3H)。LC-MS:m/z 497[M+H]⁺。

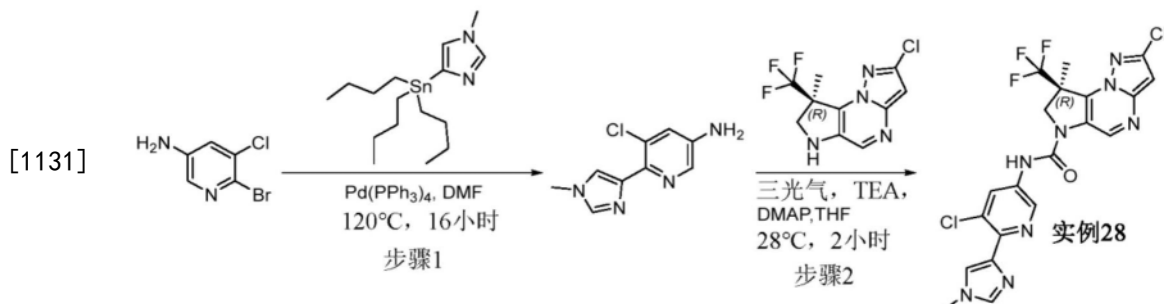
[1126] 实例27: (R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-N-(2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1128] 根据方法01步骤3,通过使用2-(三氟甲基)吡啶-4-胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例27的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

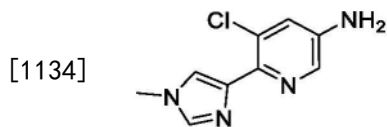
[1129] 实例27: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 9.74 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.63 (d, J=4.2Hz, 1H), 8.11 (d, J=1.5Hz, 1H), 7.88 (d, J=4.2Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 4.87 (d, J=11.6Hz, 1H), 4.29 (d, J=11.5Hz, 1H), 1.97 (s, 3H)。LC-MS:m/z 465[M+H]⁺。

[1130] 方法Q1



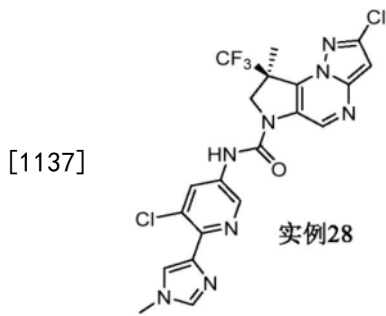
[1132] 实例28: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(1-甲基-1H-咪唑-4-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1133] 步骤1: 5-氯-6-(1-甲基-1H-咪唑-4-基)吡啶-3-胺



[1135] 在氮气下,向6-溴-5-氯-吡啶-3-胺 (200mg, 964.1μmol) 于DMF (5mL) 中的搅拌溶液中加入1-甲基-4-(三丁基甲锡烷基)-1H-咪唑 (429mg, 1.16mmol) 和Pd(PPh₃)₄ (111mg, 96.3μmol)。将反应混合物在120°C下搅拌16小时。将反应混合物用水 (10mL) 淬灭。用EtOAc (3x5mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,以得到呈淡黄色固体的5-氯-6-(1-甲基咪唑-4-基)吡啶-3-胺 (70mg, 31%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 9.12 (s, 1H), 8.19 (d, J=1.2Hz, 1H), 8.04 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.14 (d, J=2.4Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 2.74 (s, 2H)。LC-MS:m/z 209[M+H]⁺。

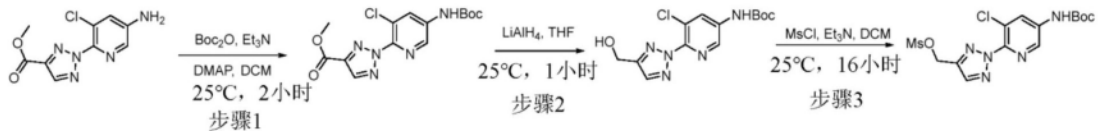
[1136] 步骤2: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(1-甲基-1H-咪唑-4-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



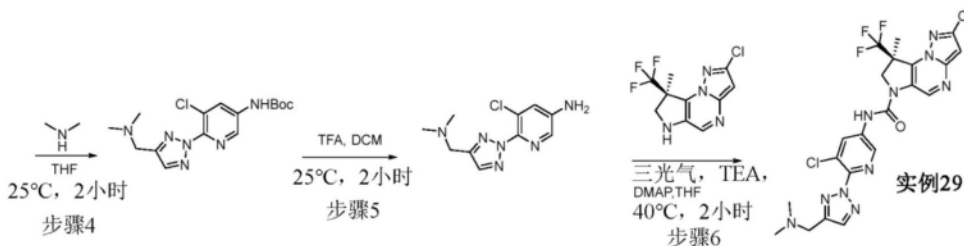
[1138] 根据方法M1步骤2,通过使用5-氯-6-(1-甲基咪唑-4-基)吡啶-3-胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例28的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1139] 实例28: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.40 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.21 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 4.79 (d, $J=11.7\text{Hz}$, 1H), 4.24 (d, $J=11.7\text{Hz}$, 1H), 3.73 (s, 3H), 1.97 (s, 3H)。LC-MS: m/z 511 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1140] 方法R1

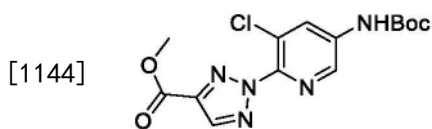


[1141]



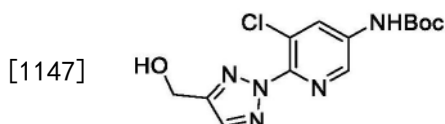
[1142] 实例29: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-((二甲基氨基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1143] 步骤1: 2-(5-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯



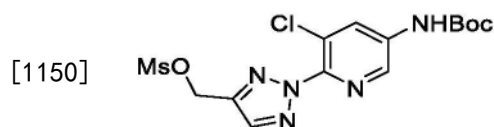
[1145] 向2-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(500mg, 2.0mmol)于DCM(10mL)中的溶液中加入TEA(598mg, 5.91mmol)、N,N-二甲基吡啶-4-胺(24mg, 197.1 μ mol)和二碳酸二叔丁酯(516mg, 2.4mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌2小时。将反应混合物用水(10mL)淬灭,并用DCM(3x10mL)萃取水相。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的粗品2-(5-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(600mg, 51%产率),其直接用于下一步骤。LC-MS: m/z 354 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1146] 步骤2: (5-氯-6-(4-(羟甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯



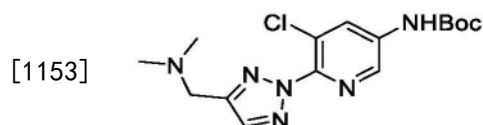
[1148] 向2-(5-((叔丁氧羰基)氨基)-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(540mg, 1.5mmol)于THF(10mL)中的搅拌溶液中加入LiAlH₄(69mg, 1.8mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌1小时。将所得混合物用水(10mL)淬灭,并用EtOAc(3x20mL)萃取水相。将合并的有机层用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。将残留物施加到硅胶柱色谱上并用EtOAc/PE(1:4)洗脱,以得到呈白色固体的(5-氯-6-(4-(羟甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(130mg, 25%产率)。LC-MS:m/z 326[M+H]⁺。

[1149] 步骤3: (2-(5-((叔丁氧羰基)氨基)-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)甲磺酸甲酯



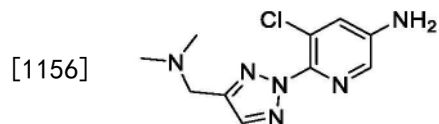
[1151] 向(5-氯-6-(4-(羟甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(120mg, 357.3μmol)于DCM(1mL)中的搅拌溶液中缓慢加入甲磺酰氯(61mg, 536.0μmol)和TEA(108mg, 1.1mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌16小时。将所得混合物用水(2mL)稀释,并用DCM(3x3mL)萃取混合物。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩,以得到粗品(2-(5-((叔丁氧羰基)氨基)-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)甲磺酸甲酯(100mg, 66%产率),其直接用于下一步骤。LC-MS:m/z 404[M+H]⁺。

[1152] 步骤4: (5-氯-6-(4-((二甲基氨基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯



[1154] 向(2-(5-((叔丁氧羰基)氨基)-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)甲磺酸甲酯(90mg, 211.7μmol)于THF(5mL)中的搅拌溶液中加入N-甲基甲胺(11mg, 254.1μmol)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。将所得混合物用水(5mL)稀释,并用EtOAc(3x5mL)萃取水相。将合并的有机层用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩,以得到呈白色固体的(5-氯-6-(4-((二甲基氨基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(100mg, 粗品)。LC-MS:m/z 353[M+H]⁺。

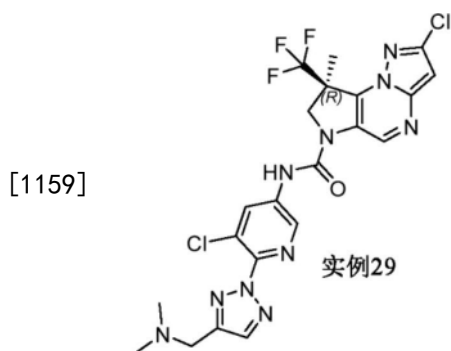
[1155] 步骤5: 5-氯-6-(4-((二甲基氨基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺



[1157] 向(5-氯-6-(4-((二甲基氨基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(100mg, 260.8μmol)于DCM(10mL)中的搅拌溶液中缓慢加入2,2,2-三氟乙酸(297mg, 2.6mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。将混合物的pH用饱和碳酸氢钠水溶液调整到7,并用DCM(3x10mL)萃取。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥,并且在减压下浓缩。将残留物通过制备型TLC用MeOH/DCM(1:10)纯化,以得到呈白色固体的5-氯-6-(4-((二甲基氨基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(50mg, 74%产率)。LC-MS:m/z 253[M+H]⁺。

[1158] 步骤6: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-((二甲基氨基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡

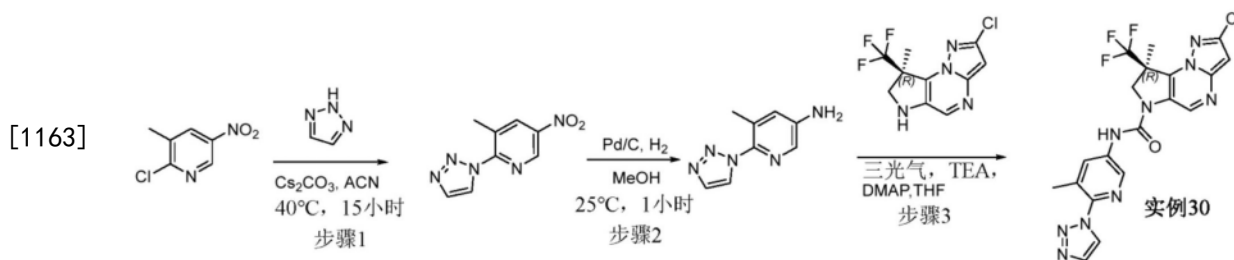
啉-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



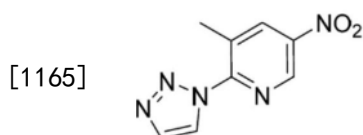
[1160] 根据方法01步骤3,通过使用5-氯-6-(1-甲基咪唑-4-基)吡啶-3-胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例29的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1161] 实例29: $^1\text{H NMR}$ (300MHz, DMSO-d_6) δ : 9.77 (s, 1H), 9.29 (s, 1H), 8.72 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.48 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 4.80 (d, $J=11.7\text{Hz}$, 1H), 4.48 (s, 2H), 4.23 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 2.75 (s, 6H), 1.92 (s, 3H)。LC-MS: m/z 555 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1162] 方法S1



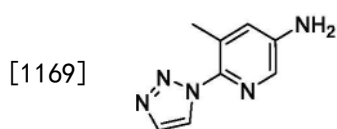
[1164] 实例30: (R)-2-氯-8-甲基-N-(5-甲基-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1166] 步骤1: 3-甲基-5-硝基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶

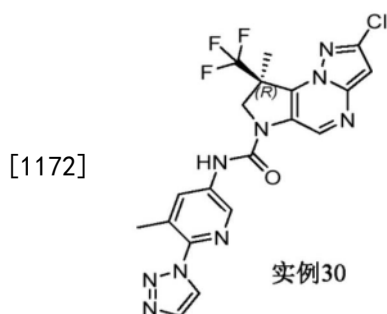
[1167] 向2-氯-3-甲基-5-硝基吡啶(2g, 11.6mmol)于ACN(30mL)中的搅拌溶液中加入2H-1,2,3-三唑(880mg, 12.8mmol)和 Cs_2CO_3 (2.1g, 15.1mmol)。将反应物在40°C下搅拌15小时。LCMS显示反应完成。在真空下去除溶剂。将残留物用水(50mL)稀释并用EtOAc(2x50mL)萃取。将合并的有机层在真空下浓缩。将粗产物通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的3-甲基-5-硝基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶(300mg, 12%产率)。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ : 9.24 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.87 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.78 (d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 8.03 (d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 2.58 (s, 3H)。LC-MS: m/z 206 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1168] 步骤2: 5-甲基-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-胺



[1170] 向3-甲基-5-硝基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶(100mg, 487.4 μ mol)于MeOH(10mL)中的搅拌溶液中加入Pd/C(20mg, 10%)。将烧瓶抽空并用氮气冲洗三次,然后用氢气冲洗。将反应在氢气气氛下在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。LCMS显示反应完全。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。这导致呈白色固体的5-甲基-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-胺(62mg, 65%产率)。 ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 8.36(d, J=1.2Hz, 1H), 7.85(d, J=0.8Hz, 1H), 7.70(d, J=2.4Hz, 1H), 6.96(d, J=2.4Hz, 1H), 5.73(s, 2H), 2.06(s, 3H)。LC-MS:m/z 176[M+H] $^+$ 。

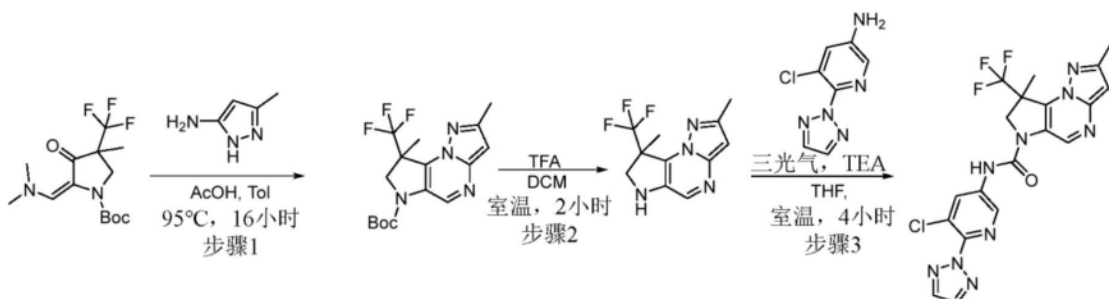
[1171] 步骤3: (R)-2-氯-8-甲基-N-(5-甲基-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



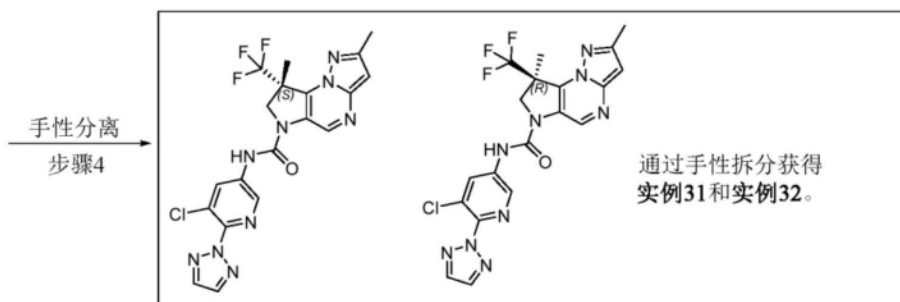
[1173] 根据方法01步骤3,通过使用5-甲基-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例30的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1174] 实例30: ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.48(s, 1H), 9.36(s, 1H), 8.60-8.64(m, 2H), 8.20(d, J=2.0Hz, 1H), 7.97(d, J=0.8Hz, 1H), 7.08(s, 1H), 4.86(d, J=11.6Hz, 1H), 4.30(d, J=11.5Hz, 1H), 2.33(s, 3H), 1.99(s, 3H)。LC-MS:m/z 478[M+H] $^+$ 。

[1175] 方法T1



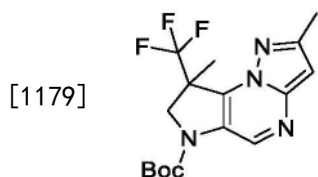
[1176]



[1177] 实例31和32:由含有(S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体。

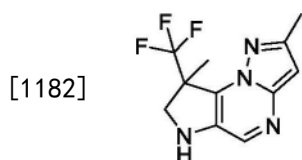
[1178] 步骤1: 2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]

嘧啶-6-甲酸叔丁酯



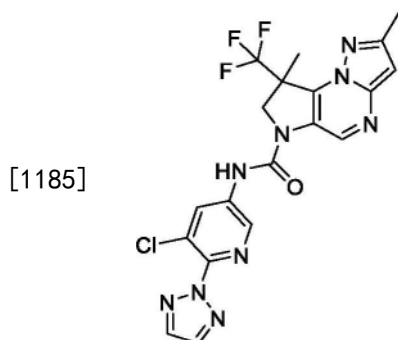
[1180] 在 N_2 下,向(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(方法K1步骤8;500mg,1.5mmol)于甲苯(10mL)和AcOH(1mL)中的溶液中加入3-甲基-1H-吡唑-5-胺(1.2g,1.5mmol)。将所得混合物在95℃下搅拌16小时。将反应混合物用水(100mL)猝灭并用EtOAc(3x100mL)萃取。将合并的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥,并在真空下浓缩。将残留物施加到硅胶柱色谱上并用EtOAc/PE(1:3)洗脱,以得到呈黄色油状物的2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(300mg,53%产率)。LC-MS:m/z 357[M+H]⁺。

[1181] 步骤2:2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[1183] 向2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(300mg,841.8 μ mol)于DCM(8mL)中的溶液中加入TFA(2mL)。将所得混合物在室温下搅拌2小时并在真空下浓缩。向残留物中加入水(50mL),并用EtOAc(3x50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥,并在真空下浓缩。将残留物施加到硅胶柱色谱上并用EtOAc/PE(1:3)洗脱,以得到呈黄色固体的2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(180mg,76%产率)。LC-MS:m/z 257[M+H]⁺。

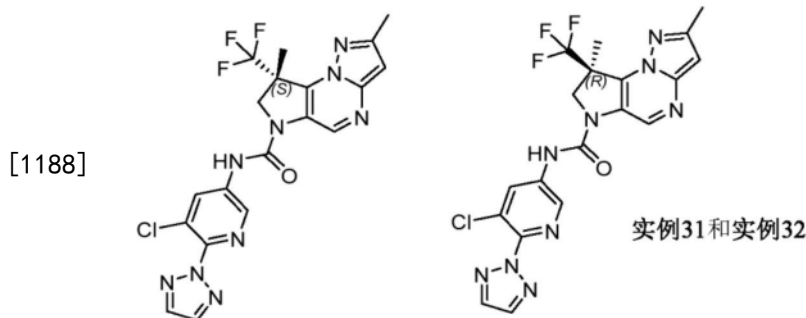
[1184] 步骤3:N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1186] 在25℃下,向5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2;80mg,351.2 μ mol)于THF(8mL)中的溶液中加入三光气(62mg,210.7 μ mol)和TEA(46mg,456 μ mol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将所得滤液加入到2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(90mg,351.2 μ mol)于THF(1mL)中的溶液中。将反应在室温下搅拌4小时。将反应混合物用水(50mL)猝灭并用EtOAc(3x50mL)萃取。将合并的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法进行

纯化,用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到呈白色固体的N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(30mg,19%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ :9.66(s,1H),9.24(s,1H),8.75(d,J=2.4Hz,1H),8.51(d,J=2.4Hz,1H),8.17(s,2H),6.69(s,1H),4.83(d,J=11.4Hz,1H),4.29(d,J=11.4Hz,1H),2.46-2.51(m,3H),2.01(s,3H);LC-MS:m/z 478[M+H]⁺。

[1187] 步骤4:分离对映异构体以获得(S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺。

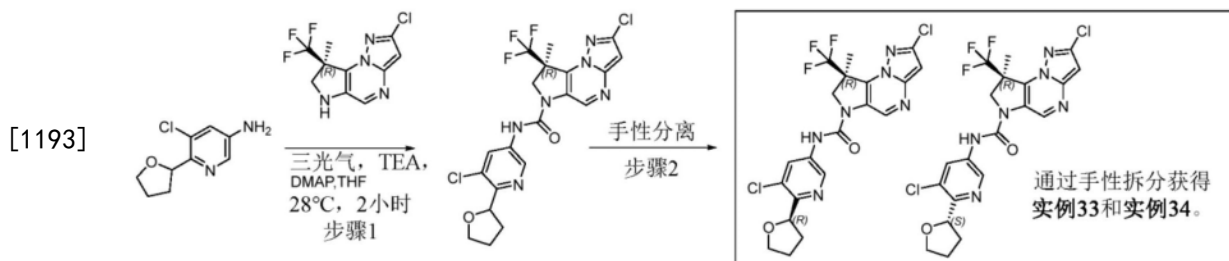


[1189] 对30mg N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺进行手性HPLC纯化(色谱柱:CHIRALPAK IA,2x25cm,5 μ m;流动相A:Hex(0.5%2M NH₃-MeOH)-HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20毫升/分钟;等度10%B;220/254nm;RT1:15.722;RT2:21.47;注射体积:1.2ml;运行次数:4)。将第一个洗脱异构体(RT 15.72分钟)浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例31(7.1mg,25%产率)。将第二个洗脱异构体(RT 21.47分钟)浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例32(9.2mg,32%产率)。

[1190] 实例31:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ :9.66(s,1H),9.24(s,1H),8.75(d,J=2.4Hz,1H),8.51(d,J=2.4Hz,1H),8.17(s,2H),6.69(s,1H),4.84(d,J=11.4Hz,1H),4.29(d,J=11.4Hz,1H),2.46-2.51(m,3H),2.01(s,3H)。LC-MS:m/z 478[M+H]⁺。

[1191] 实例32:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ :9.66(s,1H),9.24(s,1H),8.75(d,J=2.4Hz,1H),8.51(d,J=2.4Hz,1H),8.17(s,2H),6.69(s,1H),4.83(d,J=11.4Hz,1H),4.30(d,J=11.4Hz,1H),2.46-2.51(m,3H),2.01(s,3H)。LC-MS:m/z 478[M+H]⁺。

[1192] 方法U1

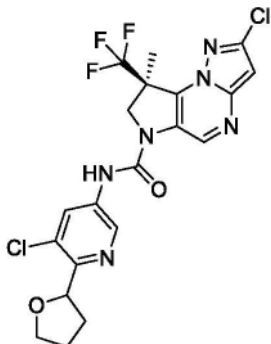


[1194] 实例33和34:由含有(R)-2-氯-N-(5-氯-6-((R)-四氢呋喃-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-氯-6-((S)-四氢呋喃-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡

唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的混合物获得的单一立体异构体。

[1195] 步骤1: (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(四氢呋喃-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

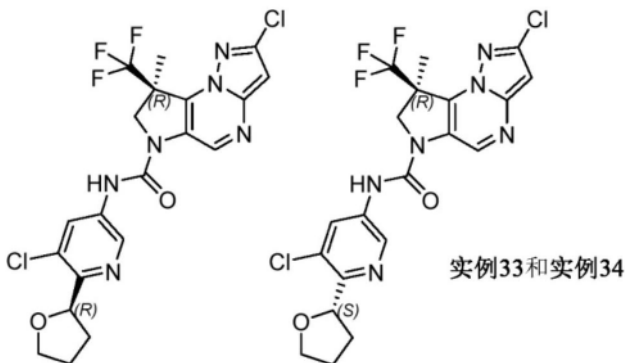
[1196]



[1197] 在0℃下,向方法M1异构体2 (40mg, 144.6μmol) 和三光气 (26mg, 86.7μmol) 于THF (3mL) 中的搅拌溶液中加入TEA (22mg, 216.9μmol, 30uL)。将混合物在28℃下搅拌0.5小时, 然后过滤。将所得滤液加入到5-氯-6-四氢呋喃-2-基-吡啶-3-胺 (29mg, 144.6μmol) 于THF (1mL) 中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA (146mg, 1.4mmol, 201.5μL) 和N,N-二甲基吡啶-4-胺 (35mg, 289.2μmol)。将混合物在28℃下搅拌2小时。真空去除溶剂, 并将残留物通过制备型TLC用MeOH/DCM (10:1) 纯化, 以得到呈黄色固体的 (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(四氢呋喃-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (18mg, 25%产率)。LC-MS:m/z 501[M+H]⁺。

[1198] 步骤2: 分离立体异构体以获得 (R)-2-氯-N-(5-氯-6-((R)-四氢呋喃-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和 (R)-2-氯-N-(5-氯-6-((S)-四氢呋喃-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺。

[1199]

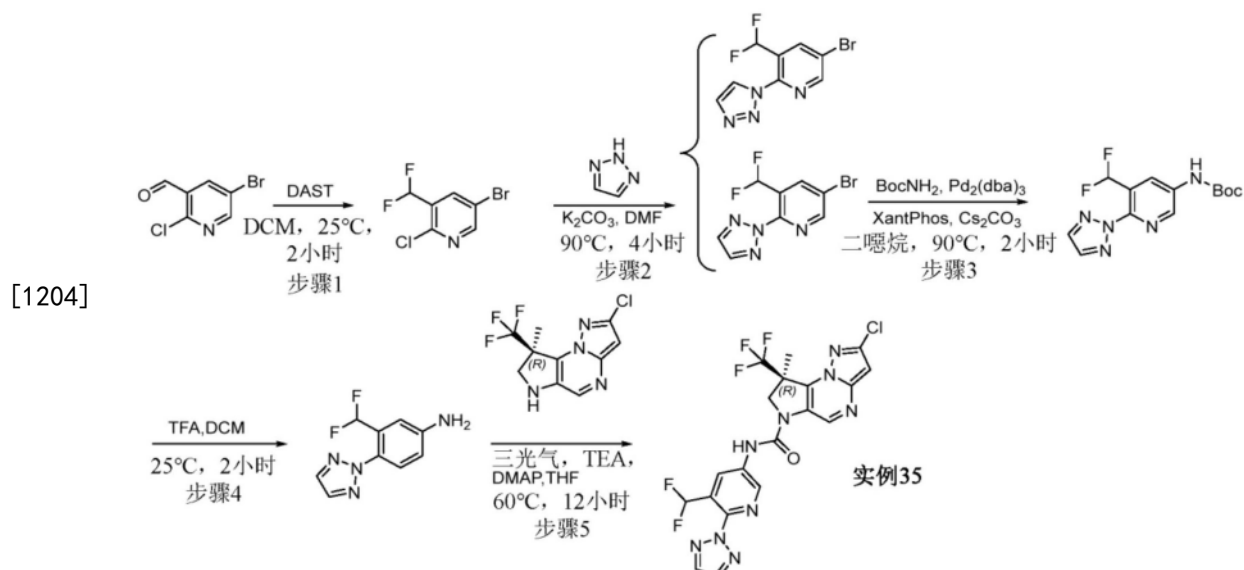


[1200] 对15mg (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(四氢呋喃-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺进行手性HPLC纯化(色谱柱: CHIRAL ART Cellulose-SB, 2x25cm, 5μm; 流动相A: Hex (0.5% 2M NH₃-MeOH) --HPLC, 流动相B: EtOH --HPLC; 流速: 20毫升/分钟; 梯度: 在20分钟内, 30B到30B; 220/254nm; RT1: 10.1; RT2: 16.62; 注射体积: 2ml; 运行次数: 1)。将第一个洗脱异构体 (RT 10.1分钟) 浓缩并冻干, 以得到呈白色固体的实例33 (3.9mg, 52%产率)。将第二个洗脱异构体 (RT 16.62分钟) 浓缩并冻干, 以得到呈白色固体的实例34 (1.5mg, 20%产率)。实例33和实例34的对应的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1201] 实例33: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.42 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.67 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.17 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 7.07 (s, 1H), 5.24 (t, $J=6.9\text{Hz}$, 1H), 4.82 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 4.26 (d, $J=12.0\text{Hz}$, 1H), 3.80-3.94 (m, 2H), 1.98-2.23 (m, 4H), 1.98 (s, 3H)。LC-MS: m/z 501 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

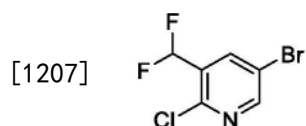
[1202] 实例34: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.42 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.67 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.18 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 7.07 (s, 1H), 5.24 (t, $J=6.9\text{Hz}$, 1H), 4.82 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 4.26 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 3.78-3.96 (m, 2H), 1.95-2.28 (m, 4H), 1.96 (s, 3H)。LC-MS: m/z 501 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1203] 方法V1



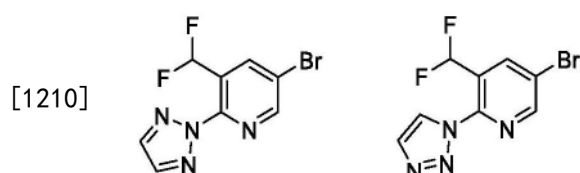
[1205] 实例35: (R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1206] 步骤1: 5-溴-2-氯-3-(二氟甲基)吡啶



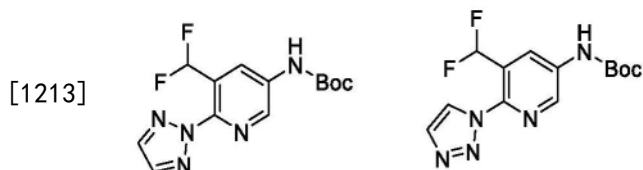
[1208] 在0°C下,向5-溴-2-氯烟醛(2.5g, 11.3mmol)于DCM(50mL)中的搅拌溶液中逐滴加入DAST(3.6g, 22.6mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌2小时。将混合物的pH用饱和 NaHCO_3 水溶液调整到8。用DCM(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并在减压下浓缩,以得到呈淡黄色油状物的5-溴-2-氯-3-(二氟甲基)吡啶(1.5g, 55%产率)。 ^1H NMR (400MHz, 氯仿- d) δ : 8.55-8.59 (m, 1H), 8.09-8.14 (m, 1H), 6.87 (t, $J=54.0\text{Hz}$, 1H)。LC-MS: m/z 242 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1209] 步骤2: 5-溴-3-(二氟甲基)-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶和5-溴-3-(二氟甲基)-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶



[1211] 向5-溴-2-氯-3-(二氟甲基)吡啶(1.5g, 6.2mmol)于DMF(20mL)中的搅拌溶液中加入 K_2CO_3 (1.7g, 12.8mmol)和2H-1,2,3-三唑(512mg, 7.4mmol)。将反应混合物在90℃下搅拌4小时。将混合物倒入到水(30mL)中,并用EtOAc(3x100mL)萃取。将合并的有机层用盐水(3x100mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥。过滤后,将滤液在减压下浓缩。将残留物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:3)洗脱,以得到呈黄色固体的5-溴-3-(二氟甲基)-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶和5-溴-3-(二氟甲基)-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶的混合物(1.6g, 94%产率)。LC-MS:m/z 275[M+H]⁺。

[1212] 步骤3: (5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯和(5-(二氟甲基)-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯

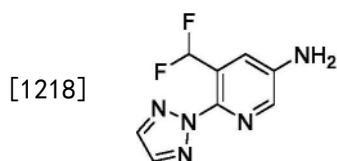


[1214] 向5-溴-3-(二氟甲基)-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶和5-溴-3-(二氟甲基)-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶的混合物(1.6g, 5.8mmol)于二噁烷(160mL)中的搅拌溶液中加入氨基甲酸叔丁酯(1.02g, 8.7mmol)、xantphos(1.01g, 1.7mmol)、 $Pd_2(dba)_3$ (668mg, 1.2mmol)和 Cs_2CO_3 (5.7g, 17.4mmol)。将反应混合物在90℃下在 N_2 下搅拌2小时。使混合物冷却至室温。将所得混合物过滤。将滤饼用EtOAc(3x100mL)洗涤。在减压下浓缩滤液。将残留物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:4)洗脱,以得到呈黄色固体的(5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(700mg, 38.7%产率)和(5-(二氟甲基)-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(600mg, 33%产率)。

[1215] (5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯:¹H NMR(400MHz, 甲醇- d_4) δ : 8.69(d, J=2.4Hz, 1H), 8.50(d, J=2.4Hz, 1H), 8.04(s, 2H), 7.45(t, J=54.8Hz, 1H), 1.55(s, 9H)。LC-MS:m/z 312[M+H]⁺

[1216] (5-(二氟甲基)-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯¹H NMR(400MHz, 甲醇- d_4) δ : 8.72(d, J=2.4Hz, 1H), 8.59(d, J=1.2Hz, 1H), 8.50(d, J=2.4Hz, 1H), 7.91(d, J=1.2Hz, 1H), 7.60(t, J=54.8Hz, 1H), 1.56(s, 9H)。LC-MS:m/z 312[M+H]⁺。

[1217] 步骤4: 5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺

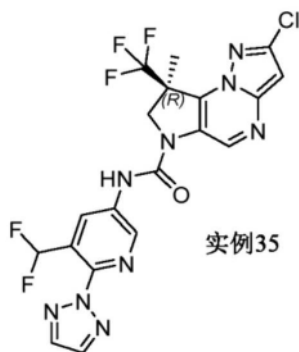


[1219] 向(5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(200mg, 643 μ mol)于DCM(20mL)中的搅拌溶液中加入TFA(2.9g, 25.7mmol)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物施加到硅胶柱色谱上并用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到呈黄色固体的5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(110mg, 81%产率)。¹H NMR(300MHz, 甲醇- d_4) δ : 8.00(d, J=2.7Hz, 1H), 7.96(s, 2H), 7.08(t, J=55.2Hz, 1H)。LC-MS:m/z 212[M+H]⁺。

[1220] 步骤5: (R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲

基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

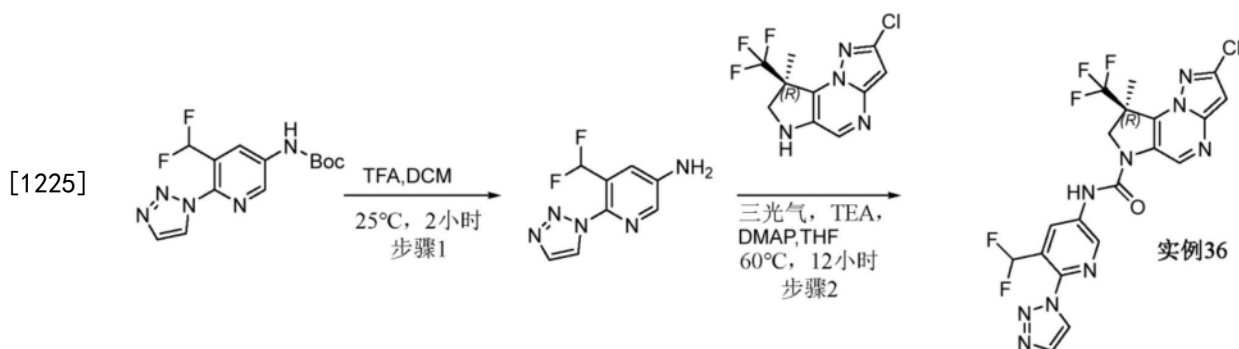
[1221]



[1222] 在0℃下,向方法M1异构体2(13mg,43μmol)于THF(4mL)中的搅拌溶液中加入三光气(13mg,43μmol)和TEA(11mg,108μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(18mg,86μmol)于THF(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(73mg,722μmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(18mg,144μmol)。将混合物在60℃下搅拌12小时。将混合物倒入到水(40mL)中,并用EtOAc(3x40mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(15.8mg,42%产率)。实例35的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

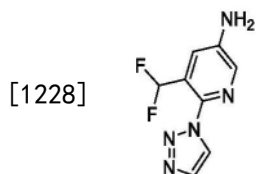
[1223] 实例35:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:9.70(s,1H),9.38(s,1H),8.97(d,J=2.4Hz,1H),8.60(d,J=2.4Hz,1H),8.23(s,2H),7.36(t,J=54.3Hz,1H),7.08(s,1H),4.88(d,J=11.4Hz,1H),4.32(d,J=11.4Hz,1H),1.99(s,3H)。LC-MS:m/z 514[M+H]⁺。

[1224] 方法W1



[1226] 实例36:(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1227] 步骤1:5-(二氟甲基)-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-胺

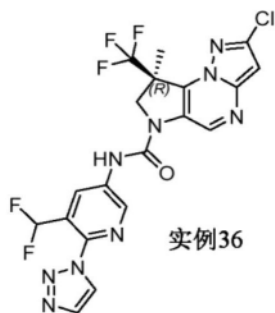


[1229] 向(5-(二氟甲基)-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(方法V1

步骤2; 200mg, 642 μ mol) 于DCM(20mL) 中的搅拌溶液中加入TFA(2.9g, 25.7mmol)。将混合物在室温下搅拌2小时。将所得混合物在减压下浓缩。将残留物施加到硅胶柱色谱上并用EtOAc/PE(1:1) 洗脱, 以得到呈黄色固体的5-(二氟甲基)-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-胺(110mg, 81%产率)。¹H NMR(300MHz, 甲醇-d₄) δ : 8.41(d, J=1.2Hz, 1H), 8.00-8.04(m, 1H), 7.87(d, J=1.2Hz, 1H), 7.46(d, J=3.0Hz, 1H), 7.08(t, J=54.9Hz, 1H)。LC-MS:m/z 212[M+H]⁺。

[1230] 步骤2: (R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1231]



[1232] 根据方法V1步骤5, 通过使用5-(二氟甲基)-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例36的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1233] 实例36:¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ : 9.70(s, 1H), 9.38(s, 1H), 8.99(d, J=2.4Hz, 1H), 8.80(d, J=1.2Hz, 1H), 8.62(d, J=2.4Hz, 1H), 8.04(d, J=2.4Hz, 1H), 7.43(t, J=54.0Hz, 1H), 7.09(s, 1H), 4.88(d, J=11.4Hz, 1H), 4.32(d, J=11.4Hz, 1H), 2.00(s, 3H)。LC-MS:m/z 514[M+H]⁺。

[1234] 实例37: (R)-2-氯-N-(4,4-二氟环己基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1235] 步骤1: (R)-2-氯-N-(4,4-二氟环己基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

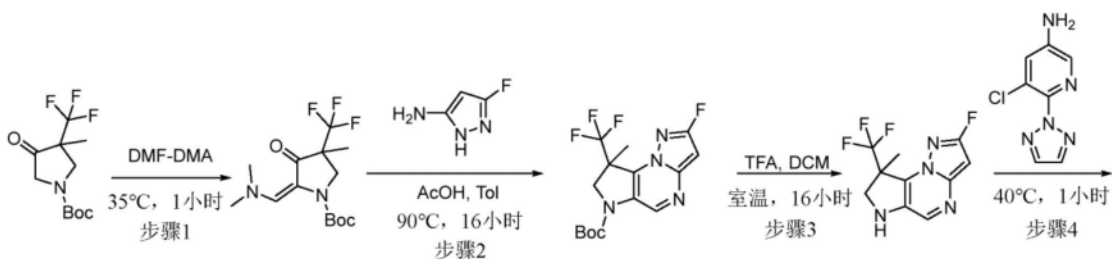
[1236]



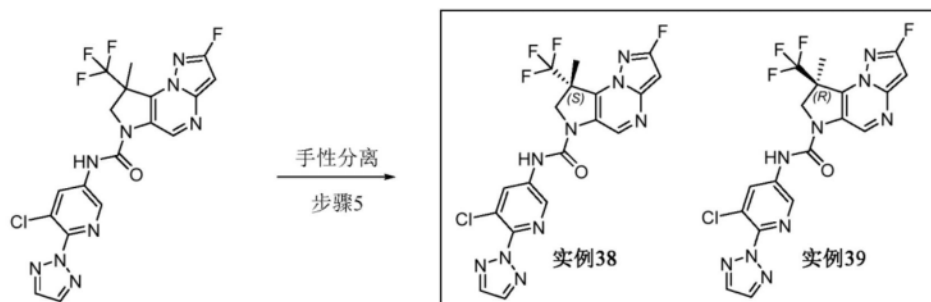
[1237] 根据方法M1步骤2, 通过使用4,4-二氟环己-1-胺盐酸盐和方法M1异构体2制备标题化合物。实例37中的非对映异构体对的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1238] 实例37:¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ : 9.30(s, 1H), 7.00(s, 1H), 6.91(d, J=7.5Hz, 1H), 4.58(d, J=11.7Hz, 1H), 4.00(d, J=11.7Hz, 1H), 3.73-3.80(m, 1H), 1.85-2.04(m, 9H), 1.56-1.67(m, 2H)。LC-MS:m/z 438[M+H]⁺。

[1239] 方法X1



[1240]

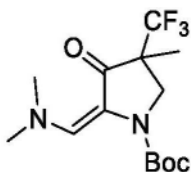


[1241] 实例38: (S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1242] 实例39: (R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1243] 步骤1: 2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[1244]



[1245] 将3-甲基-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(500mg, 1.9mmol)和1,1-二甲氧基-N,N-二甲基甲胺(8.9g, 74.7mmol)的混合物在35°C下搅拌1小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色油状物的粗品2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(500mg, 74%产率)。LC-MS:m/z 323[M+H]⁺。

[1246] 步骤2: 2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯

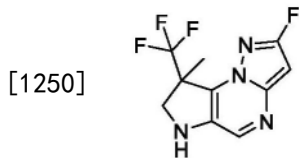
[1247]



[1248] 向2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(526mg, 1.6mmol)和3-氟-1H-吡唑-5-胺(150mg, 1.5mmol)于甲苯(2mL)中的搅拌溶液中加入乙酸(210mg, 3.5mmol)。将所得混合物在氮气下在90°C下搅拌16小时。使混合物冷却至室温并在减压下浓缩。将残留物用水(10mL)稀释。将pH用碳酸氢钠(饱和,水溶液)调整到6-7,并用EtOAc(2x10mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱色谱上并用EtOAc/PE(1:5)洗脱,以得到呈黄色固体的2-氟-8-

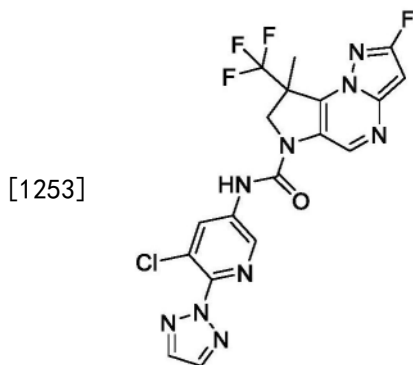
甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯 (90mg, 16%产率)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ : 9.26 (s, 1H), 6.29 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.43 (d, J=10.8Hz, 1H), 3.81 (d, J=10.8Hz, 1H), 1.95 (s, 3H), 1.58 (s, 9H)。LC-MS: m/z 361 [M+H]⁺。

[1249] 步骤3: 2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[1251] 向2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯 (80mg, 222 μ mol) 于二氯甲烷 (0.5mL) 中的搅拌溶液中加入2,2,2-三氟乙酸 (740mg, 6.5mmol)。将反应在氮气下在室温下搅拌1.5小时。将pH调用碳酸氢钠(饱和, 水溶液) 调整到6-7。用DCM (2x5mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥, 并在真空下浓缩, 以得到呈黄色油状物的2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶 (50mg, 85%产率)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ : 8.27 (s, 1H), 6.23 (d, J=5.1Hz, 1H), 4.08 (d, J=11.4Hz, 1H), 3.56 (dd, J=11.4, 1.2Hz, 1H), 1.89 (s, 3H)。LC-MS: m/z 261 [M+H]⁺。

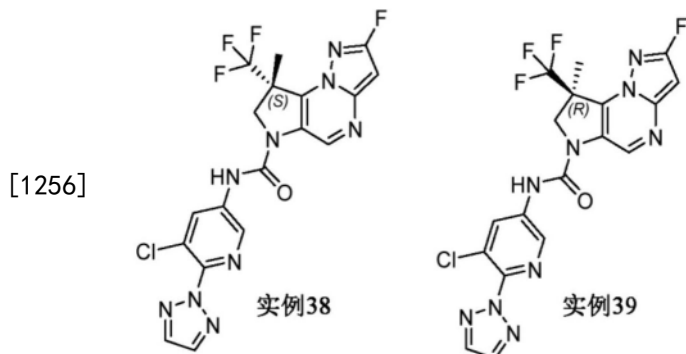
[1252] 步骤4: N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1254] 向5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺 (方法A1步骤2; 101mg, 518 μ mol) 和三光气 (77mg, 259 μ mol) 于四氢呋喃 (2mL) 中的搅拌混合物中加入TEA (52mg, 519 μ mol)。将反应混合物在35 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将所得混合物过滤, 并将滤液加入到2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶 (45mg, 173 μ mol)、TEA (262mg, 2.6mmol) 和N,N-二甲基吡啶-4-胺 (42mg, 346 μ mol) 于THF (2mL) 中的搅拌混合物中。将反应混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将溶剂在真空下浓缩。将残留物施加在硅胶柱色谱上并用MeOH/DCM (1:10) 洗脱, 以得到呈灰白色固体的N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (80mg, 95%产率)。LC-MS: m/z 482 [M+H]⁺。

[1255] 步骤5: 分离对映异构体以获得(S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-

7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

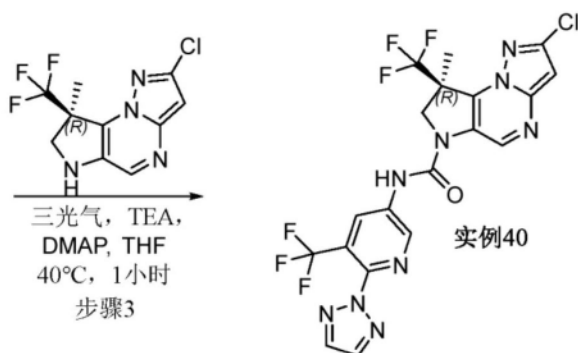
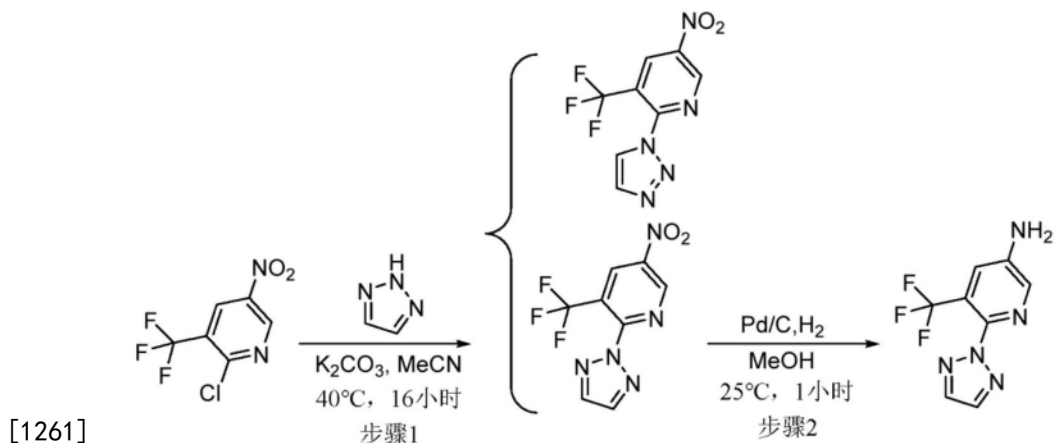


[1257] 对80mg N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺进行手性HPLC纯化(CHIRALPAK IA, 2x25cm, 5 μ m; 流动相A:Hex (0.5% 2M NH₃-MeOH) --HPLC, 流动相B:EtOH--HPLC; 流速:20毫升/分钟; 等度20%B; 220/254nm; RT1:8.496; RT2:10.912; 注射体积:0.5ml; 运行次数:7)。将第一个洗脱异构体(RT 8.50分钟)浓缩并冻干,以得到呈灰白色固体的实例38(13.6mg, 16%产率)。将第二个洗脱异构体(RT 10.91分钟)浓缩并冻干,以得到呈灰白色固体的实例39(14.9mg, 18%产率)。

[1258] 实例38:¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ :9.41 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 7.96 (s, 2H), 6.82 (s, 1H), 6.36 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.61 (d, J=10.0Hz, 1H), 4.08 (d, J=10.0Hz, 1H), 2.06 (s, 3H)。LC-MS:m/z 482[M+H]⁺。

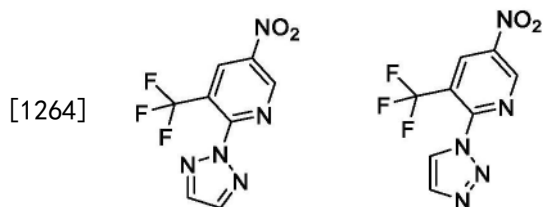
[1259] 实例39:¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ :9.41 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 7.96 (s, 2H), 6.88 (s, 1H), 6.36 (d, J=4.8Hz, 1H), 4.61 (d, J=10.0Hz, 1H), 4.08 (d, J=9.6Hz, 1H), 2.06 (s, 3H)。LC-MS:m/z 482[M+H]⁺。

[1260] 方法Y1



[1262] 实例40: (R)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]咪啶-6-甲酰胺

[1263] 步骤1: 5-硝基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-3-(三氟甲基)吡啶和5-硝基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)-3-(三氟甲基)吡啶

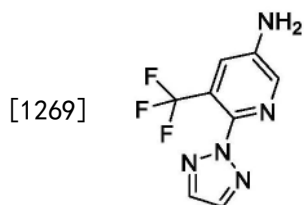


[1265] 向2-氯-5-硝基-3-(三氟甲基)吡啶(2g, 8.8mmol)于MeCN(40mL)中的搅拌溶液中加入2H-三唑(670mg, 9.7mmol)和 K_2CO_3 (2.4g, 51.8mmol)。将所得混合物在40°C下搅拌16小时。使混合物冷却至25°C。过滤反应混合物,并用EtOAc(3x50mL)洗涤收集的固体。将合并的有机层在减压下浓缩。将残留物施加在硅胶柱色谱上并用EtOAc/PE(1:3)洗脱,以得到呈白色固体的5-硝基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-3-(三氟甲基)吡啶(1.2g, 52%产率)和呈白色固体的5-硝基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)-3-(三氟甲基)吡啶(0.4g, 17%产率)。

[1266] 5-硝基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-3-(三氟甲基)吡啶 1H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.70(d, J=4Hz, 1H), 9.17(d, J=4Hz, 1H), 8.87(s, 2H)。LC-MS:m/z 260[M+H] $^+$ 。

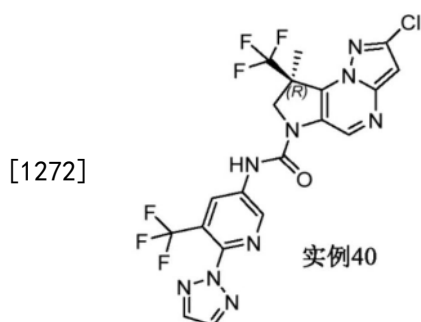
[1267] 5-硝基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)-3-(三氟甲基)吡啶 1H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.71(d, J=3.6Hz, 1H), 9.22(d, J=3.2Hz, 1H), 8.86(d, J=1.6Hz, 1H), 8.10(d, J=1.6Hz, 1H)。LC-MS:m/z 260[M+H] $^+$ 。

[1268] 步骤2: 6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺



[1270] 在25℃下,向5-硝基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-3-(三氟甲基)吡啶(1.2g, 4.4mmol)的溶液中加入Pd/C(10%,236mg)。将烧瓶抽空并用氮气冲洗三次,然后用氢气冲洗。将混合物在氢气气氛下在室温下搅拌1小时。将固体滤出。在减压下浓缩滤液。将残留物施加在硅胶柱色谱上并用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(800mg,78%产率)。LC-MS:m/z 230[M+H]⁺。

[1271] 步骤3:(R)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

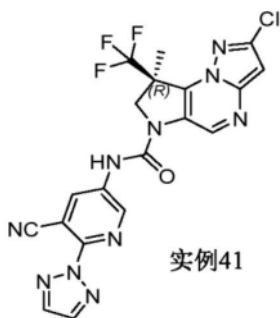


[1273] 在25℃下,向6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(32mg,135.6μmol)于THF(5mL)中的混合物中加入三光气(16mg,54.2μmol)和TEA(12mg,135.6μmol)。将所得混合物在28℃下搅拌1小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(25mg,90.4μmol)于THF(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(92mg,2.7mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(23mg,180.8μmol)。将反应混合物在40℃下搅拌1小时。将残留物用水(50mL)稀释并用EtOAc(3x50mL)萃取。将合并的有机层用饱和氯化铵水溶液(3x50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(18.1mg,54%产率)。实例40的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1274] 实例40:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ:9.86(s,1H),9.37(s,1H),9.08(d,J=2Hz,1H),8.72(d,J=2.4Hz,1H),8.20(s,2H),7.09(s,1H),4.86-4.89(m,1H),4.31-4.34(m,1H),2.00(s,3H)。LC-MS:m/z 532[M+H]⁺。

[1275] 实例41:(R)-2-氯-N-(5-氰基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1276]

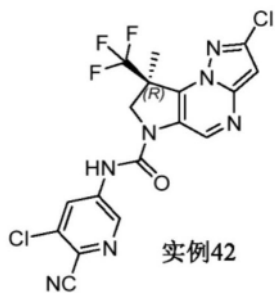


[1277] 根据方法01步骤3,通过使用5-氨基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)烟腈和方法M1异构体2制备标题化合物。实例41的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1278] 实例41: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.82 (s, 1H), 9.39 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.29 (s, 2H), 7.07 (s, 1H), 4.83 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 4.29 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 1.99 (s, 3H)。LC-MS: m/z 489 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1279] 实例42: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-氰基吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1280]



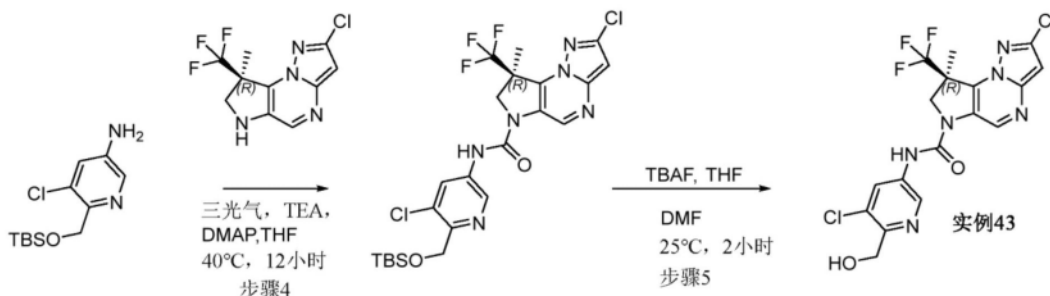
[1281] 在25°C下,向5-氨基-3-氯-吡啶-2-甲腈(20mg, 130 μmol)于THF(4mL)中的搅拌混合物中加入三光气(19mg, 65 μmol)和TEA(16mg, 162 μmol)。将所得混合物在25°C下搅拌1小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(30mg, 108 μmol)于THF(4mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(110mg, 1.1mmol)和DMAP(26mg, 217 μmol)。将反应混合物在60°C下搅拌2小时。向混合物中加入EtOAc(20mL)。将混合物用盐水(2x20mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-氰基吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(9.1mg, 18%产率)。实例42的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1282] 实例42: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.93 (s, 1H), 9.33 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 4.85 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 4.35 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 1.97 (s, 3H); LC-MS: m/z 456 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1283] 方法Z1

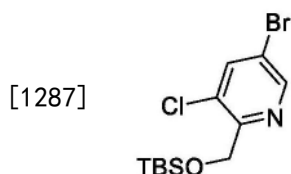


[1284]



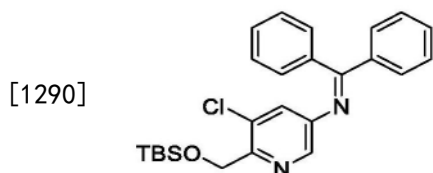
[1285] 实例43: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(羟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1286] 步骤1: 5-溴-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-氯吡啶



[1288] 在氮气气氛下在0℃下,向(5-溴-3-氯吡啶-2-基)甲醇(500mg,2.25mmol)和TEA(682.28mg,6.74mmol)于DMF(5mL)中的搅拌溶液中加入叔丁基氯二甲基硅烷(240.62mg,2.92mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌2小时。LCMS显示反应完成。将溶液倒入盐水(10mL)中,并用EtOAc(3x10mL)萃取水层。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥,并且在减压下浓缩。将残留物施加到硅胶柱色谱上并用EtOAc/PE(1:2)洗脱,以得到呈无色油状物的5-溴-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-氯吡啶(580mg,77%产率)。¹HNMR(400MHz,氯仿-d)δ:8.53(d,J=2.0Hz,1H),7.82(d,J=2.0Hz,1H),4.85(d,J=6.4Hz,2H),0.91(s,9H),0.11(s,6H)。LCMS(ES,m/z):336[M+H]⁺。

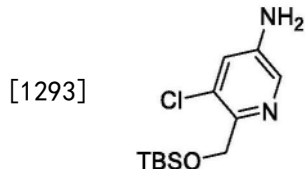
[1289] 步骤2:N-(6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-氯吡啶-3-基)-1,1-二苯基甲亚胺



[1291] 在氮气气氛下,向5-溴-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-氯吡啶(200mg,593.95μmol)和二苯基甲亚胺(107.64mg,593.95μmol)于二噁烷(5mL)中的搅拌溶液中加入xantphos(103.10mg,178.19μmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯-氯仿加合物(122.96mg,118.79μmol)和Cs₂CO₃(580.56mg,1.78mmol)。将所得混合物在110℃下搅拌2小时。将反应混合物冷却至室温,然后倒入盐水(10mL)中。将水层分离并进一步用EtOAc(3x10mL)萃取。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥,在减压下浓缩。将残留物施加到硅胶柱

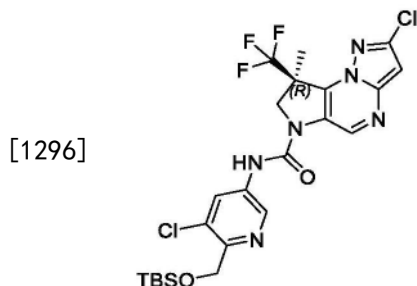
色谱上并用EtOAc/PE(1:3)洗脱,以得到N-(6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-氯吡啶-3-基)-1,1-二苯基甲亚胺(160mg,62%产率)。¹HNMR(400MHz,氯仿-d) δ :7.73-7.86(m,3H),7.53-7.59(m,1H),7.41-7.49(m,2H),7.28-7.36(m,3H),7.10-7.23(m,3H),0.87(s,9H),0.03(s,6H)。LCMS(ES,m/z):437[M+H]⁺。

[1292] 步骤3:6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-氯吡啶-3-胺



[1294] 向N-(6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-氯吡啶-3-基)-1,1-二苯基甲亚胺(120mg,274.57 μ mol)的搅拌溶液中加入盐酸羟胺(38.16mg,549.14 μ mol)、AcONa(93.41mg,686.42 μ mol)和MeOH(3mL)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。然后将溶液倒入冰水(10mL)中,分离残留物并用EtOAc(3x10mL)进一步萃取。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥,在减压下浓缩。将残留物施加到硅胶柱色谱上并用EtOAc/PE(1:4)洗脱,以得到6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-氯吡啶-3-胺(60mg,80%产率)。¹HNMR(400MHz,氯仿-d) δ :8.03(s,1H),7.04(s,1H),4.81(s,2H),0.91(s,9H),0.11(s,6H)。LCMS(ES,m/z):273[M+H]⁺。

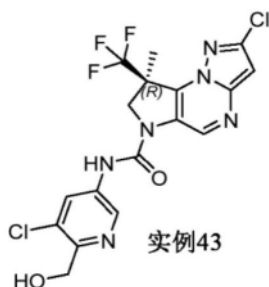
[1295] 步骤4:(R)-N-(6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1297] 向6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-氯吡啶-3-胺(29.59mg,108.44 μ mol)于THF(4mL)中的搅拌混合物中加入三光气(12.87mg,43.38 μ mol)和TEA(10.97mg,108.44 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。向滤液中加入方法M1异构体2(20mg,72.29 μ mol)、TEA(73.16mg,722.95 μ mol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(17.66mg,144.59 μ mol)的溶液。将所得混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌12小时。将所得混合物在减压下浓缩。将残留物通过制备型TLC用MeOH/DCM(1:30)纯化,以得到呈白色固体的(R)-N-(6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(20mg,40%产率)。LCMS(ES,m/z):575[M+H]⁺。

[1298] 步骤5:(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(羟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1299]

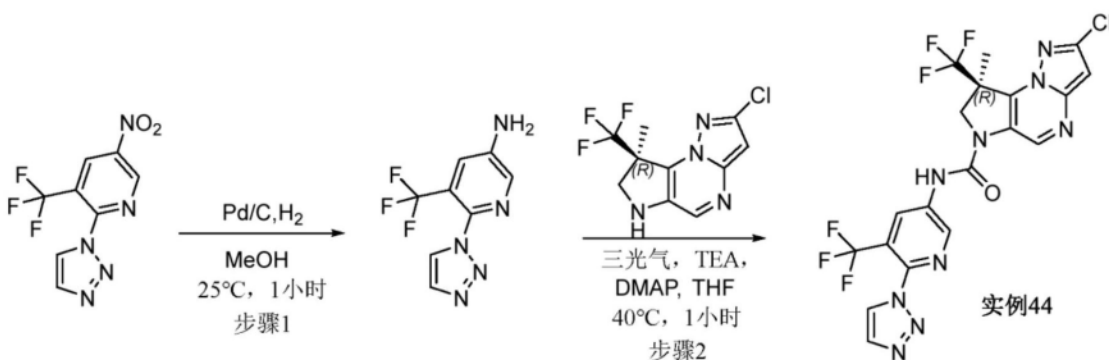


[1300] 向(R)-N-(6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(18mg, 31.28 μ mol)于THF(10mL)中的搅拌溶液中加入TBAF(1mL, 3.45mmol, 1M, 于THF中)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈灰白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(羟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(6.2mg, 43%产率)。实例43的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1301] 实例43: ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.48(b, 1H), 9.34(s, 1H), 8.67(d, J=2.0Hz, 1H), 8.17(d, J=2.0Hz, 1H), 7.07(s, 1H), 5.15-5.30(m, 1H), 4.75-4.85(m, 1H), 4.60(d, J=5.2Hz, 2H), 4.30-4.23(m, 1H), 1.97(s, 3H)。LCMS(ES, m/z): 461[M+H] $^+$ 。

[1302] 方法A2

[1303]



[1304] 实例44: (R)-N-(6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1305] 步骤1: 6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺

[1306]

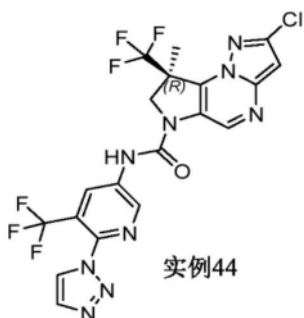


[1307] 在25 $^{\circ}$ C下,向5-硝基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)-3-(三氟甲基)吡啶(方法Y1步骤1)(0.46g, 1.78mmol)的溶液中加入Pd/C(10%, 95mg)。将烧瓶抽空并用氮气冲洗三次,然后用氢气冲洗。将混合物在氢气气氛下在室温下搅拌1小时。过滤固体。在减压下浓缩滤液。将残留物施加到硅胶柱色谱上并用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(300mg, 73%产率)。LC-MS: m/z 230[M+H] $^+$ 。

[1308] 步骤2: (R)-N-(6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氯-8-甲

基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

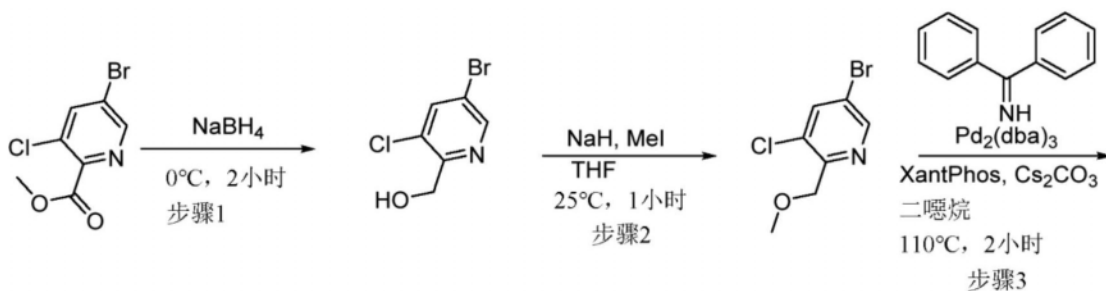
[1309]



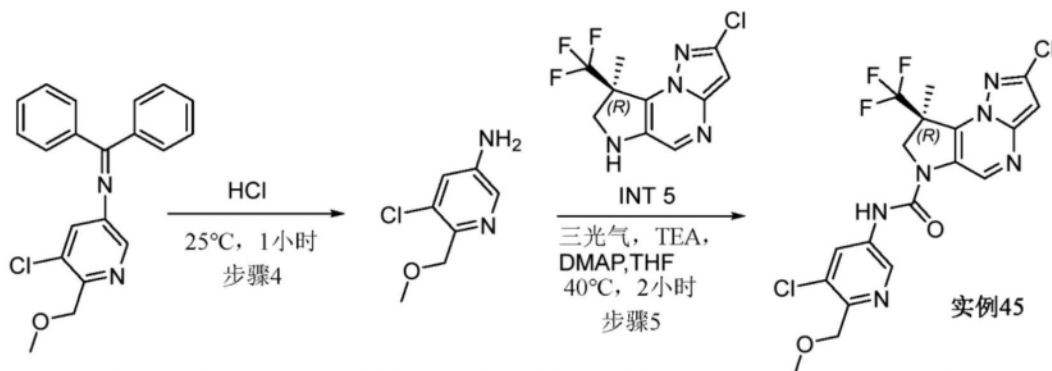
[1310] 在25℃下,向6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(37mg,126.6 μ mol)于THF(6mL)中的混合物中加入三光气(19mg,65.1 μ mol)和TEA(17mg,163.1 μ mol)。将所得混合物在28℃下搅拌1小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(30mg,108.7 μ mol)于THF(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(110mg,1.09mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(27mg,218.4 μ mol)。将反应混合物在40℃下搅拌1小时。将反应混合物用水(50mL)稀释并用EtOAc(3x50mL)萃取。将合并的有机层用饱和的氯化铵水溶液(3x50mL)洗涤。将所得溶液经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-N-(6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(9.6mg,16%产率)。实例44的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1311] 实例44:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.87(s,1H),9.38(s,1H),9.09(s,1H),8.67-8.73(m,2H),8.00(s,1H),7.10(s,1H),4.86-4.89(m,1H),4.31-4.34(m,1H),2.00(s,3H)。LC-MS:m/z532[M+H]⁺。

[1312] 方法B2

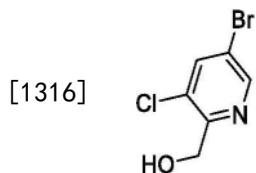


[1313]



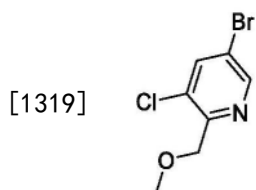
[1314] 实例45:(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(甲氧基甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1315] 步骤1: (5-溴-3-氯吡啶-2-基) 甲醇



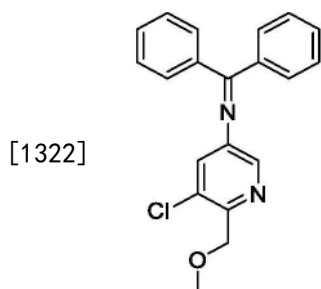
[1317] 在0℃下,向5-溴-3-氯吡啶甲酸甲酯(2.0g,8.0mmol)于MeOH(30mL)中的搅拌溶液中加入NaBH₄(1.2g,32.0mmol)。将混合物在0℃下搅拌2小时。通在0℃下加入饱和NH₄Cl水溶液(20mL)来淬灭反应。用EtOAc(3x50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水(80mL)洗涤,并经无水Na₂SO₄干燥。过滤后,将滤液在真空下浓缩,以得到呈白色固体的(5-溴-3-氯吡啶-2-基)甲醇(1.8g,81%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d) δ:8.55(d,J=2.1Hz,1H),7.86(d,J=2.1Hz,1H),4.75(s,2H),3.97(s,1H)。LC-MS:m/z 222[M+H]⁺。

[1318] 步骤2:5-溴-3-氯-2-(甲氧基甲基)吡啶



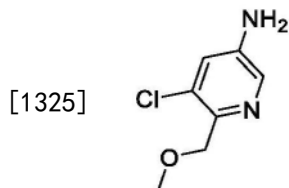
[1320] 在氮气气氛下在0℃下,向(5-溴-3-氯吡啶-2-基)甲醇(1.0g,4.5mmol)于THF(50mL)中的搅拌溶液中分份加入NaH(60%,于矿物油中,216mg,5.4mmol)。将混合物在0℃下搅拌30分钟。将MeI(955mg,6.7mmol)加入混合物中。将混合物在25℃下搅拌1小时。通过在0℃下加入水/冰(70mL)来淬灭反应。用EtOAc(3x50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空下浓缩。这导致5-溴-3-氯-2-(甲氧基甲基)吡啶(700mg,66%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ:8.58(d,J=2.0Hz,1H),7.86(d,J=2.0Hz,1H),4.64(s,2H),3.49(s,3H)。LC-MS:m/z 236[M+H]⁺。

[1321] 步骤3:N-(5-氯-6-(甲氧基甲基)吡啶-3-基)-1,1-二苯基甲亚胺



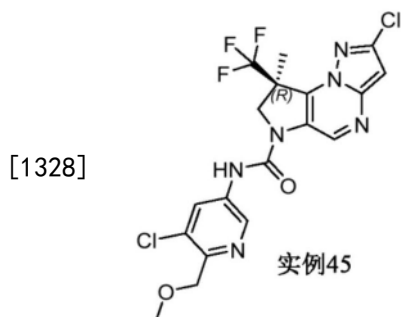
[1323] 在N₂下,向5-溴-3-氯-2-(甲氧基甲基)吡啶(300mg,1.3mmol)和二苯基甲亚胺(275mg,1.5mmol)于二噁烷(4mL)中的搅拌溶液中加入XantPhos(220mg,380μmol)、Pd₂(dba)₃(145mg,253μmol)和Cs₂CO₃(1.2g,3.8mmol)。将混合物在110℃下搅拌2小时。使混合物冷却至室温。将所得混合物用EtOAc(20mL)稀释并过滤。将滤饼用EtOAc(3x20mL)洗涤。将滤液在真空下浓缩。将残留物施加到硅胶柱色谱上并用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到呈黄色固体的N-(5-氯-6-(甲氧基甲基)吡啶-3-基)-1,1-二苯基甲亚胺(600mg,70%产率)。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ:7.91(d,J=2.4Hz,1H),7.74(d,J=2.4Hz,1H),7.38-7.53(m,7H),7.27-7.36(m,3H),4.58(s,2H),3.43(s,3H)。LC-MS:m/z 337[M+H]⁺。

[1324] 步骤4:5-氯-6-(甲氧基甲基)吡啶-3-胺



[1326] 将N-[5-氯-6-(甲氧基甲基)-3-吡啶基]-1,1-二苯基-甲亚胺(600mg, 1.9mmol)溶解在HCl(4mL, 12N, 于H₂O中)中。将混合物在25℃下搅拌1小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物施加到硅胶柱色谱上并用MeOH/DCM(1:10)洗脱,以得到呈白色固体的5-氯-6-(甲氧基甲基)吡啶-3-胺(110mg, 35%产率)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ:7.99(d, J=2.4Hz, 1H), 7.00(d, J=2.4Hz, 1H), 4.58(s, 2H), 3.64-3.98(m, 2H), 3.47(s, 3H)。LC-MS:m/z 173[M+H]⁺。

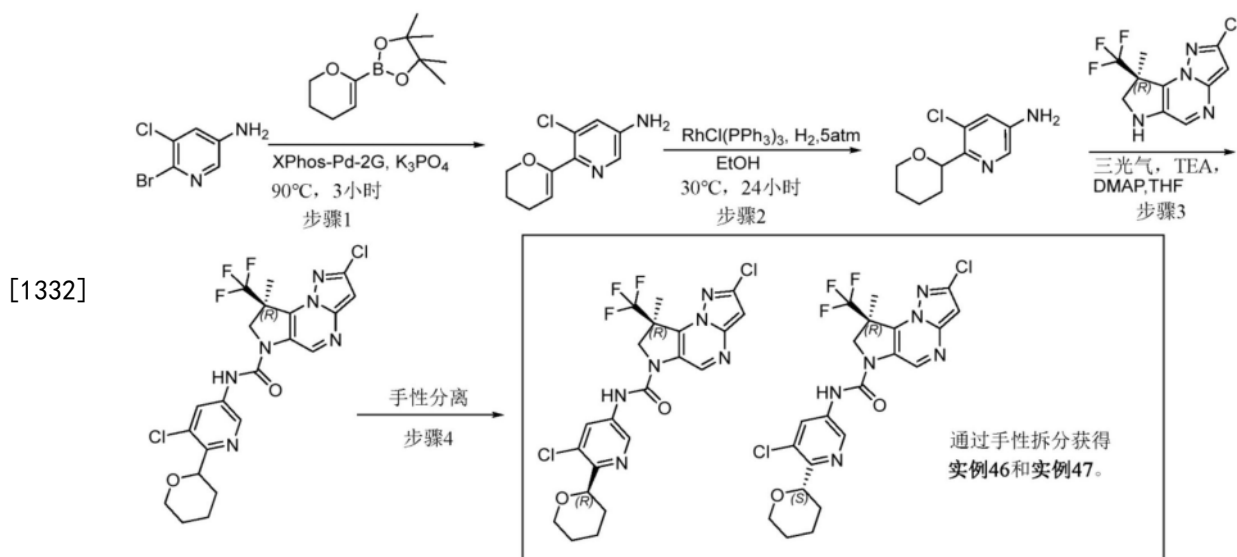
[1327] 步骤5:(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(甲氧基甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1329] 在0℃下,向5-氯-6-(甲氧基甲基)吡啶-3-胺(15mg, 86μmol)和三光气(13mg, 43μmol)于THF(4mL)中的搅拌溶液中加入TEA(11mg, 107μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(20mg, 72μmol)于THF(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(73mg, 722μmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(18mg, 144μmol)。将混合物在40℃下搅拌2小时。将混合物倒入到水(40mL)中,并用EtOAc(3x40mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(甲氧基甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(12.8mg, 37%产率)。实例45的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

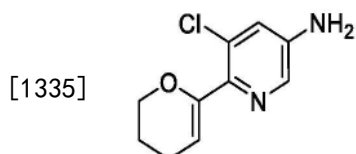
[1330] 实例45:¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ:9.43(s, 1H), 9.34(s, 1H), 8.68(d, J=2.1Hz, 1H), 8.21(d, J=2.1Hz, 1H), 7.07(s, 1H), 4.82(d, J=11.4Hz, 1H), 4.54(s, 2H), 4.27(d, J=11.4Hz, 1H), 3.03-3.32(m, 3H), 1.98(s, 3H)。LC-MS:m/z 475[M+H]⁺。

[1331] 方法C2



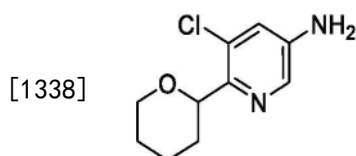
[1333] 实例46和实例47:由含有(R)-2-氯-N-(5-氯-6-((R)-四氢-2H-吡喃-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-氯-6-((S)-四氢-2H-吡喃-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的混合物获得的单一立体异构体。

[1334] 步骤1:5-氯-6-(3,4-二氢-2H-吡喃-6-基)吡啶-3-胺



[1336] 向6-溴-5-氯吡啶-3-胺(1g,4.8mmol)于二噁烷(16mL)和H₂O(4mL)中的溶液中加入2-(3,4-二氢-2H-吡喃-6-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼烷(1.2g,5.8mmol)、K₃PO₄(3.1g,14.5mmol)和XPhos-Pd-2G(427mg,482.2μmol)。将所得混合物在90℃下搅拌3小时。使混合物冷却至室温并在真空下浓缩。将残留物用水(100mL)稀释,并用NaHCO₃(饱和,水溶液)调整至pH 7-8。用EtOAc(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残留物施加到硅胶柱色谱上并用EtOAc/PE(1:3)洗脱,以得到呈黄色固体的5-氯-6-(3,4-二氢-2H-吡喃-6-基)吡啶-3-胺(380mg,37%产率)。LC-MS:m/z 211[M+H]⁺。

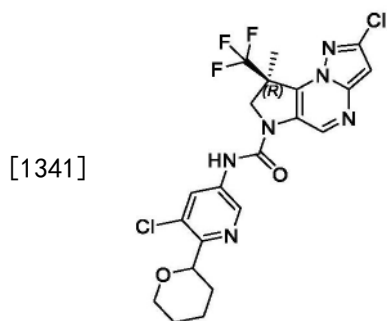
[1337] 步骤2:5-氯-6-(四氢-2H-吡喃-2-基)吡啶-3-胺



[1339] 在H₂(5atm)下,向5-氯-6-(3,4-二氢-2H-吡喃-6-基)吡啶-3-胺(385mg,1.8mmol)于EtOH(5mL)中的溶液中加入RhCl(PPh₃)₃(485mg,541.5μmol)。将所得混合物在30℃下搅拌24小时。向反应混合物中加入水(100mL)。用EtOAc(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残留物施加到硅胶柱色谱上并用EtOAc/PE(1:3)

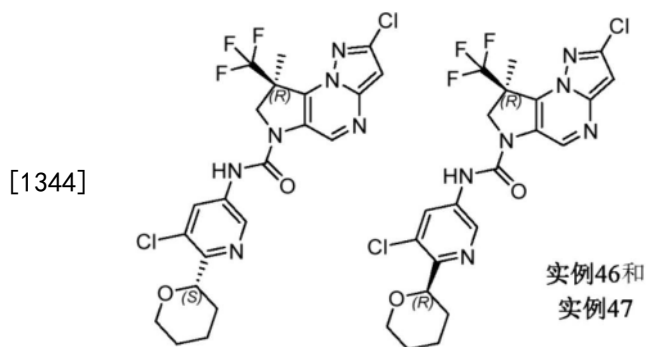
洗脱,以得到呈黄色固体的5-氯-6-(四氢-2H-吡喃-2-基)吡啶-3-胺(150mg,39%产率)。LC-MS:m/z 213[M+H]⁺。

[1340] 步骤3: (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(四氢-2H-吡喃-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1342] 在25℃下,向5-氯-6-(四氢-2H-吡喃-2-基)吡啶-3-胺(30mg,141.1μmol)于THF(2mL)中的混合物中加入三光气(25mg,84.6μmol)和TEA(21mg,211.5μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(39mg,141.1μmol)于THF(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(142mg,1.41mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(34mg,282.0μmol)。将反应混合物在40℃下搅拌1小时。向反应混合物中加入EtOAc(50mL),并将有机层用盐水(2x50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并浓缩。将残留物通过制备型TLC用MeOH/DCM(1:10)纯化,以得到呈淡黄色固体的(8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(四氢-2H-吡喃-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(20mg,28%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ:9.33(s,2H),8.66(d,J=2.4Hz,1H),8.10(d,J=2.4Hz,1H),6.99(s,1H),4.81(d,J=11.6Hz,1H),4.68-4.71(m,1H),4.26(d,J=11.6Hz,1H),3.94(s,1H),3.37(s,1H),1.97(s,5H),1.48-1.59(m,4H);LC-MS:m/z515[M+H]⁺。

[1343] 步骤4:分离立体异构体以获得(R)-2-氯-N-(5-氯-6-((R)-四氢-2H-吡喃-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-氯-6-((S)-四氢-2H-吡喃-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺。



[1345] 对20mg(8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(四氢-2H-吡喃-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺进行手性HPLC纯化(色谱柱:CHIRAL ART Cellulose-SC,2x25cm,5μm;流动相A:Hex(0.5%2M NH₃-MeOH)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20毫升/分钟;等度50%B;220/254nm;RT1:5.952;RT2:

7.605;注射体积:1ml;运行次数:4)。将第一个洗脱异构体(RT 5.95分钟)浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例46(8.0mg,29%产率)。将第二个洗脱异构体(RT 7.61分钟)浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例47(8.5mg,32%产率)。实例46和实例47的对应的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

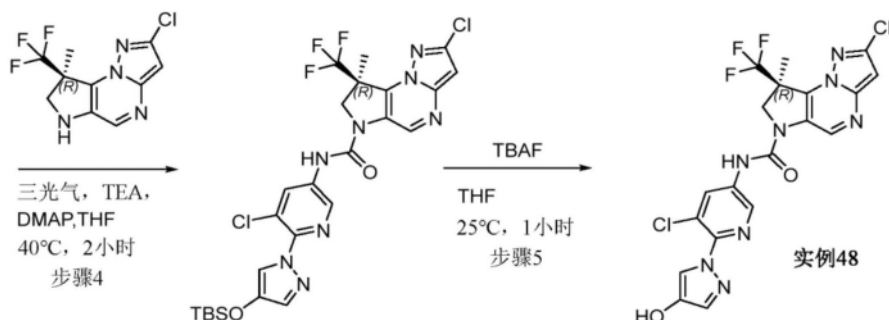
[1346] 实例46:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:9.33(s,2H),8.67(d,J=2.4Hz,1H),8.10(d,J=2.4Hz,1H),6.99(s,1H),4.76(d,J=11.6Hz,1H),4.63(dd,J=11.6Hz,1.6Hz,1H),4.18(d,J=11.6Hz,1H),3.94(d,J=11.6Hz,1H),3.45(m,1H),1.97(s,5H),1.48-1.59(m,4H); LC-MS:m/z515[M+H]⁺。

[1347] 实例47:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:9.33(s,2H),8.66(d,J=2.4Hz,1H),8.19(d,J=2.4Hz,1H),7.07(s,1H),4.81(d,J=11.6Hz,1H),4.70(dd,J=11.6Hz,1.6Hz,1H),4.25(d,J=11.6Hz,1H),3.94(d,J=11.6Hz,1H),3.45(m,1H),1.97(s,5H),1.48-1.59(m,4H); LC-MS:m/z 515[M+H]⁺。

[1348] 方法D2

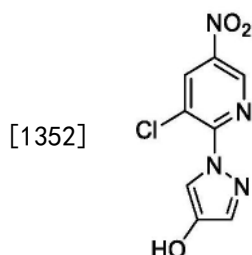


[1349]



[1350] 实例48:(R)-N-(6-(4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1H-吡唑-1-基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

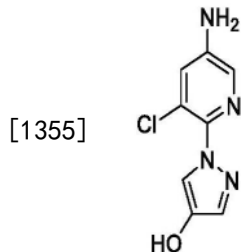
[1351] 步骤1:1-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-醇



[1353] 将2,3-二氯-5-硝基-吡啶(1.5g,7.77mmol)、1H-吡唑-4-醇(653mg,7.8mmol)和K₂CO₃(3.2g,23.3mmol)于DMF(30mL)中的溶液在25°C下搅拌15小时。将所得混合物倒入冰/水(200mL)中,用EtOAc(3x200mL)萃取。将合并的有机层用水(3x200mL)、盐水(500mL)洗涤,

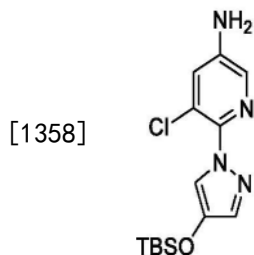
经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并在减压下浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法进行纯化,用EtOAc/PE(3:7)洗脱,以得到呈黄色固体的1-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-醇(1.5g,80%产率)。 ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ :9.45(s,1H),9.22(d, $J=4.0\text{Hz}$,1H),8.87(d, $J=4.0\text{Hz}$,1H),7.94(d, $J=4.0\text{Hz}$,1H),7.66(s,1H)。LC-MS(ES, m/z):241[M+H] $^+$ 。

[1354] 步骤2:1-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-醇



[1356] 向1-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-醇(700mg,2.9mmol)于EtOH(30mL)和 H_2O (30mL)中的搅拌溶液中加入铁(682mg,12.2mmol)和氯化铵(654mg,12.2mmol)。将所得混合物在95 $^\circ\text{C}$ 下搅拌1小时。将混合物冷却至室温。将反应混合物冷却并过滤,并将滤液在真空下浓缩。将残留物用制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈灰白色固体的1-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-醇(410mg,67%产率)。 ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ :8.70(s,1H),7.65(d, $J=4.0\text{Hz}$,1H),7.42(s,1H),7.27(s,1H),7.14(d, $J=4.0\text{Hz}$,1H),5.88(s,2H)。LC-MS(ES, m/z):211[M+H] $^+$

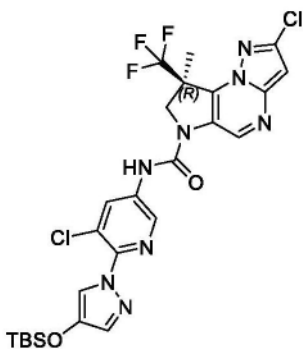
[1357] 步骤3:6-(4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1H-吡唑-1-基)-5-氯吡啶-3-胺



[1359] 在氮气气氛下在0 $^\circ\text{C}$ 下,向1-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-醇(150mg,712.2 μmol)和咪唑(73mg,1.1mmol)于DMF(5mL)中的搅拌溶液中逐滴加入TBSCl(129mg,854.6 μmol)。将所得混合物搅拌2小时。LCMS显示反应完成。将溶液倒入冰水(10mL)中,并用EtOAc(3x10mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥,并且在减压下浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱纯化,用EtOAc/PE(1:4)洗脱,以得到呈黄色油状物的6-(4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1H-吡唑-1-基)-5-氯吡啶-3-胺(200mg,83%产率)。 ^1H NMR(400MHz,氯仿- d) δ :7.87(d, $J=2.8\text{Hz}$,1H),7.52(d, $J=0.8\text{Hz}$,1H),7.41(d, $J=0.8\text{Hz}$,1H),7.14(d, $J=2.8\text{Hz}$,1H),0.98(s,9H),0.19(s,6H)。LC-MS(ES, m/z):325[M+H] $^+$ 。

[1360] 步骤4:(R)-N-(6-(4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1H-吡唑-1-基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

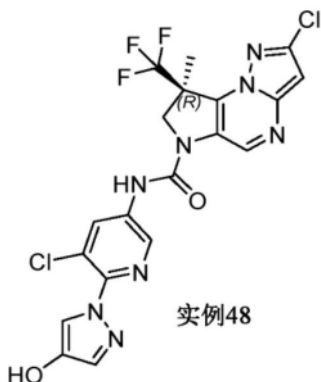
[1361]



[1362] 向6-(4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1H-吡唑-1-基)-5-氯吡啶-3-胺(28mg, 86.8 μ mol)于THF(4mL)中的搅拌混合物中加入三光气(13mg, 43.4 μ mol)和TEA(11mg, 108.4 μ mol)。将混合物在23 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将所得混合物过滤,并将滤液加入到方法M1异构体2(20mg, 72.3 μ mol)、N,N-二甲基吡啶-4-胺(18mg, 144.6 μ mol)和TEA(73mg, 723.0 μ mol, 101 μ L)于THF(4mL)中的溶液中。将反应混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌12小时。将反应混合物浓缩。将残留物通过制备型TLC用MeOH/DCM(1:30)纯化,以得到呈白色固体的(R)-N-(6-(4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1H-吡唑-1-基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(31mg, 69%产率)。LCMS(ES, m/z): 627[M+H]⁺。

[1363] 步骤5: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-羟基-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

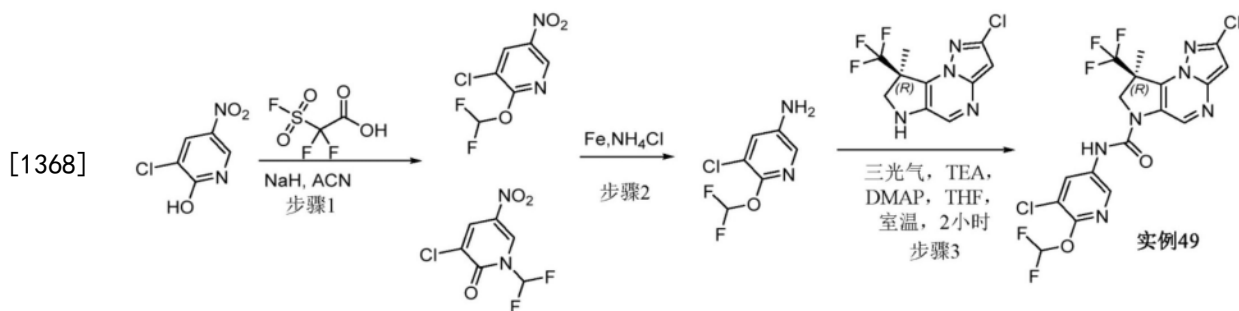
[1364]



[1365] 在25 $^{\circ}$ C下,向(R)-N-(6-(4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1H-吡唑-1-基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(30mg, 47.8 μ mol)于THF(3mL)中的搅拌混合物中逐滴加入TBAF(0.3mL, 1.0mmol, 1M, 于THF中)。将混合物在相同温度下搅拌1小时,LCMS显示反应完成。在减压下浓缩混合物,并将残留物通过制备型HPLC纯化。将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-羟基-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(12.1mg, 48%产率)。实例48的对应的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

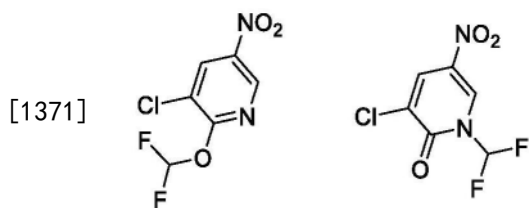
[1366] 实例48: ¹HNMR(400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.52(s, 1H), 9.35(s, 1H), 8.96(s, 1H), 8.61(d, J=2.0Hz, 1H), 8.34(d, J=2.0Hz, 1H), 7.68(s, 1H), 7.41(s, 1H), 7.07(s, 1H), 4.81(d, J=11.2Hz, 1H), 4.26(d, J=11.2Hz, 1H), 1.98(s, 3H)。LCMS(ES, m/z): 513[M+H]⁺。

[1367] 方法E2



[1369] 实例49: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1370] 步骤1: 3-氯-2-(二氟甲氧基)-5-硝基-吡啶和3-氯-1-(二氟甲基)-5-硝基-吡啶-2-酮

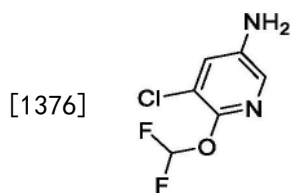


[1372] 在0℃下,向3-氯-5-硝基-吡啶-2-醇(1g,5.7mmol)于乙腈(50mL)中的搅拌溶液中加入氢氧化钠(618mg,15.4mmol,60%,于矿物油中)。将反应混合物在23℃下搅拌0.5小时。加入2,2-二氟-2-氟碘酰基-乙酸(1.7g,9.7mmol),并将混合物在23℃下搅拌18小时。通过加入水(50mL)来淬灭反应,并用EtOAc(3x50mL)萃取混合物。将合并的有机层用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,并浓缩。将残留物通过制备型TLC纯化(石油醚:EtOAc=6:1),以得到呈无色油状物的3-氯-2-(二氟甲氧基)-5-硝基-吡啶(260mg,18%产率)和呈无色油状物的3-氯-1-(二氟甲基)-5-硝基-吡啶-2-酮(70mg,4%产率)。

[1373] 3-氯-2-(二氟甲氧基)-5-硝基-吡啶:¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ :8.98(d,J=2.4Hz,1H),8.60(d,J=2.4Hz,1H),7.52(t,J=71.2Hz,1H)。

[1374] 3-氯-1-(二氟甲基)-5-硝基-吡啶-2-酮:¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ :8.71(1H,d,J=2.4Hz),8.36(1H,d,J=2.8Hz),7.69(1H,t,J=59.6Hz)。

[1375] 步骤2: 5-氯-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-胺

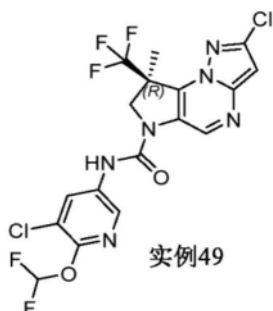


[1377] 向3-氯-2-(二氟甲氧基)-5-硝基-吡啶(210mg,0.9mmol)于乙醇(7.5mL)和水(2.5mL)中的混合物中加入氯化铵(100mg,1.9mmol)和铁(313mg,5.6mmol)。将反应混合物在80℃下搅拌2小时。将反应混合物冷却并过滤,并在真空下去除乙醇。用EtOAc(3x10mL)萃取残留物,并将合并的有机层用饱和氯化铵水溶液洗涤,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩。将残留物施加到硅胶柱上并用PE/EtOAc(3:1)洗脱,以得到呈无色油状物的5-氯-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-胺(140mg,50%产率)。LC-MS:m/z 195[M+H]⁺。

[1378] 步骤3: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-

7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1379]

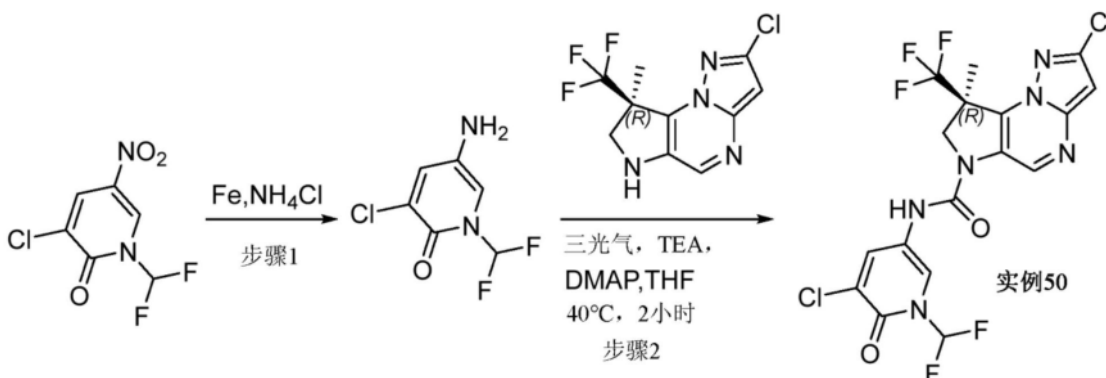


[1380] 将5-氯-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-胺(20mg, 0.1mmol)加入到碳酸双(三氯甲基)酯(15mg, 0.05mmol)和N,N-二乙基乙胺(17mg, 0.2mmol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。将混合物在23℃下搅拌1小时。将所得混合物过滤,并将滤液加入到方法M1异构体2(23mg, 0.1mmol)、N,N-二乙基乙胺(86mg, 0.8mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(21mg, 0.2mmol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。将所得混合物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(11mg, 26%产率)。实例49的对应的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1381] 实例49: ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.31(s, 1H), 9.03(s, 1H), 8.09(d, J=2.8Hz, 1H), 8.03(d, J=2.4Hz, 1H), 7.95(t, J=59.6Hz, 1H), 7.06(s, 1H), 4.70(d, J=11.6Hz, 1H), 4.19(d, J=11.2Hz, 1H), 1.97(s, 3H)。LC-MS:m/z 497[M+H] $^+$ 。

[1382] 方法F2

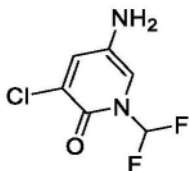
[1383]



[1384] 实例50: (R)-2-氯-N-(5-氯-1-(二氟甲基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1385] 步骤1: 5-氨基-3-氯-1-(二氟甲基)吡啶-2(1H)-酮

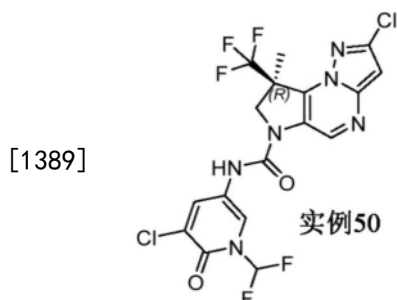
[1386]



[1387] 向3-氯-1-(二氟甲基)-5-硝基吡啶-2(1H)-酮(方法E2步骤1; 70mg, 0.3mmol)于乙醇(1.5mL)和水(0.5mL)中的溶液中加入氯化铵(33mg, 0.6mmol)和铁(104mg, 1.9mmol)。将反应混合物在80℃下搅拌2小时。将反应混合物冷却并过滤,并将滤液在真空下浓缩。用EtOAc(3x10mL)萃取残留物,并将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残留

物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:3)洗脱,以得到呈无色油状物的5-氨基-3-氯-1-(二氟甲基)吡啶-2(1H)-酮(20mg,26%产率)。LC-MS:m/z 195[M+H]⁺。

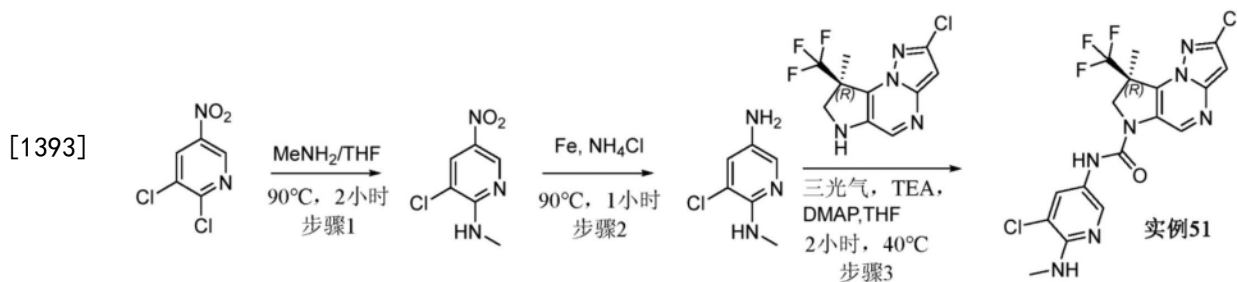
[1388] 步骤2:(R)-2-氯-N-(5-氯-1-(二氟甲基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1390] 将方法M1异构体2(17mg,0.06mmol)加入到三光气(11mg,0.03mmol)和TEA(12mg,0.12mmol)于THF(1mL)中的溶液中。将混合物在23℃下搅拌1小时。将所得混合物过滤,并将滤液加入到5-氨基-3-氯-1-(二氟甲基)吡啶-2(1H)-酮(16mg,0.1mmol)、TEA(62mg,0.6mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(15mg,0.1mmol)于THF(1mL)中的溶液中。将反应混合物在40℃下搅拌2小时。将所得混合物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈淡黄色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-1-(二氟甲基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(6.4mg,21%产率)。实例50的对应的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

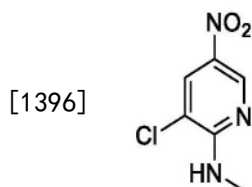
[1391] 实例50:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:9.39(s,1H),9.33(s,1H),8.37(d,J=2.4Hz,1H),8.32(d,J=2.4Hz,1H),7.71(t,J=72.4Hz,1H),7.07(s,1H),4.78(d,J=11.6Hz,1H),4.25(d,J=11.6Hz,1H),1.98(s,3H)。LC-MS:m/z 497[M+H]⁺。

[1392] 方法G2



[1394] 实例51:(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(甲基氨基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

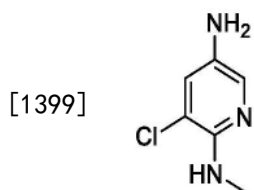
[1395] 步骤1:3-氯-N-甲基-5-硝基吡啶-2-胺



[1397] 将2,3-二氯-5-硝基吡啶(500mg,2.6mmol)于MeNH₂(2M,于THF中,10mL)中的溶液在90℃下搅拌2小时。将混合物过滤。将滤液浓缩,以得到呈黄色固体的3-氯-N-甲基-5-硝基吡啶-2-胺(470mg,97%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d) δ:9.02(s,1H),8.28(s,1H),5.79

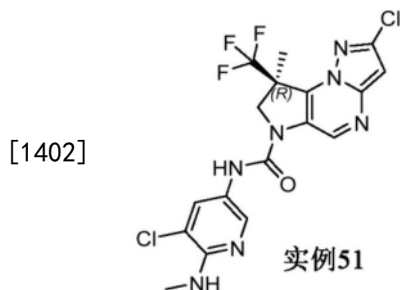
(s, 1H), 3.17 (s, 3H); LC-MS: m/z 188 [M+H]⁺。

[1398] 步骤2: 3-氯-N2-甲基吡啶-2,5-二胺



[1400] 向3-氯-N-甲基-5-硝基-吡啶-2-胺 (470mg, 2.5mmol) 于EtOH/H₂O (4:1, 10mL) 中的搅拌溶液中加入铁 (279mg, 5.0mmol) 和NH₄Cl (670mg, 12.5mmol)。将所得混合物在90℃下搅拌1小时。过滤混合物, 并将滤液用水 (50mL) 稀释并用EtOAc (3x50mL) 萃取。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥并在真空下浓缩, 以得到呈红色油状物的3-氯-N2-甲基吡啶-2,5-二胺 (160mg, 40%产率)。¹H NMR (300MHz, 氯仿-d) δ: 7.69 (s, 1H), 7.06 (s, 1H), 4.61 (s, 1H), 3.01 (s, 3H)。LC-MS: m/z 158 [M+H]⁺。

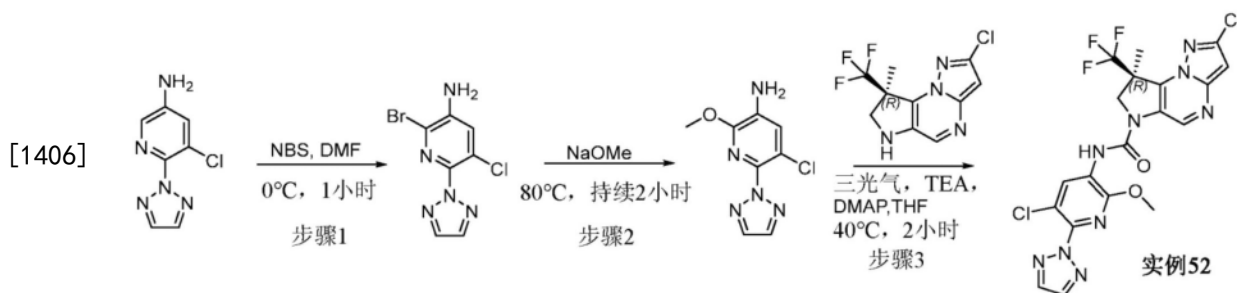
[1401] 步骤3: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(甲基氨基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1403] 在25℃下, 向方法M1异构体2 (20mg, 74μmol) 于THF (2mL) 中的搅拌混合物中加入三光气 (13mg, 44μmol) 和TEA (11mg, 111μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时, 然后过滤。将所得滤液加入到3-氯-N2-甲基吡啶-2,5-二胺 (35mg, 222μmol) 于THF (2mL) 中的混合物中。加入TEA (75mg, 740μmol) 和DMAP (18mg, 148μmol), 并将反应混合物在40℃下搅拌2小时。向混合物中加入EtOAc (50mL), 并将所得有机层用盐水 (2x50mL) 洗涤, 干燥并浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化, 并将收集的级分冻干, 以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(甲基氨基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (6.6mg, 19.37%产率)。实例51的对应的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

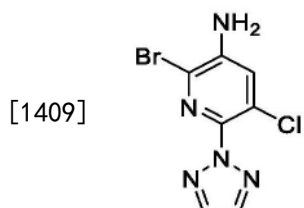
[1404] 实例51: ¹H NMR (300MHz, 甲醇-d₄) δ: 9.34 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 6.78 (s, 1H), 4.7 (d, J=2.4Hz, 1H), 4.16 (d, J=2.4Hz, 1H), 2.98 (s, 3H), 2.05 (s, 3H); LC-MS: m/z 460 [M+H]⁺。

[1405] 方法H2



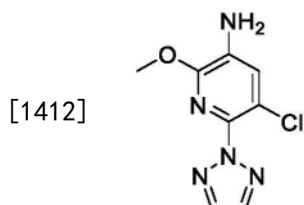
[1407] 实例52: (R)-2-氯-N-(5-氯-2-甲氧基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1408] 步骤1: 2-溴-5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺



[1410] 在0°C下,向5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2;500mg, 2.6mmol)于DMF(10mL)中的搅拌溶液中缓慢加入DMF(10mL)中的NBS(682mg, 3.8mmol)。将反应混合物在0°C下搅拌1小时。将所得混合物用水(20mL)稀释,并用EtOAc(3x20mL)萃取混合物。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥,并浓缩。将残留物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:2)洗脱,以得到呈黄色固体的2-溴-5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(560mg, 72%产率)。LC-MS:m/z 274[M+H]⁺。

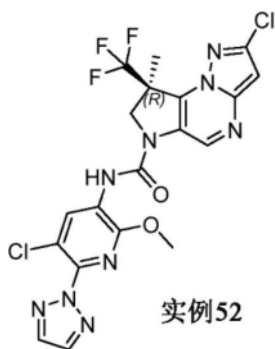
[1411] 步骤2: 5-氯-2-甲氧基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺



[1413] 向2-溴-5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(500mg, 1.8mmol)于二噁烷(10mL)中的搅拌溶液中缓慢加入MeOH(0.5mL)中的甲醇钠(394mg, 7.3mmol)。将反应混合物在80°C下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,并将残留物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:2)洗脱,以得到呈黄色固体的5-氯-2-甲氧基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(350mg, 71%产率)。LC-MS:m/z 226[M+H]⁺。

[1414] 步骤3: (R)-2-氯-N-(5-氯-2-甲氧基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

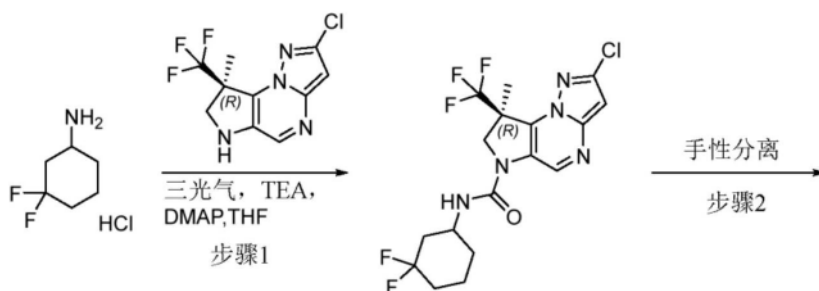
[1415]



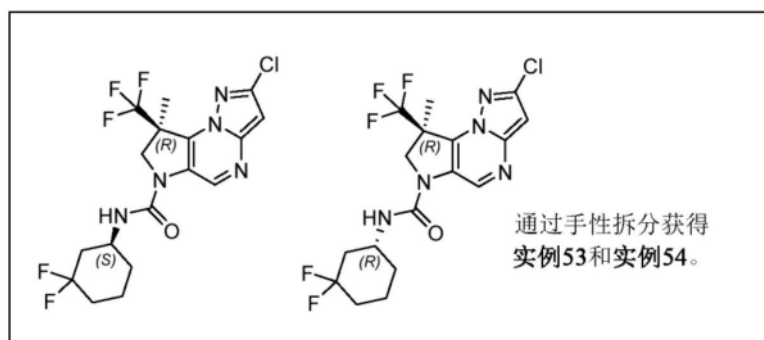
[1416] 根据方法01步骤3,通过使用5-氯-2-甲氧基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例52的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1417] 实例52: $^1\text{H NMR}$ (300MHz, 氯仿- d) δ : 9.45 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 7.95 (s, 2H), 7.10 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 4.56 (d, $J=10.2\text{Hz}$, 1H), 4.15 (s, 3H), 4.08 (d, $J=10.2\text{Hz}$, 1H), 2.12 (s, 3H)。LC-MS: m/z 528 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1418] 方法I2



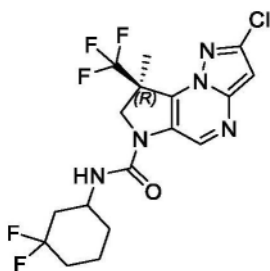
[1419]



[1420] 实例53和54:由含有(R)-2-氯-N-((S)-3,3-二氟环己基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-((R)-3,3-二氟环己基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体。

[1421] 步骤1: (8R)-2-氯-N-(3,3-二氟环己基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

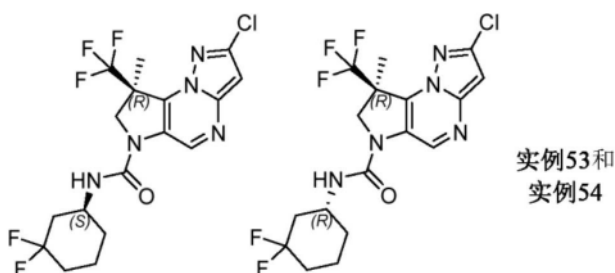
[1422]



[1423] 在0℃下,向方法M1异构体2 (20mg, 72.3 μ mol) 和碳酸双(三氯甲基)酯 (13mg, 43.4 μ mol) 于THF (4mL) 中的搅拌溶液中加入N,N-二乙基乙胺 (11mg, 108.4 μ mol, 15.1 μ L)。将混合物在28℃下搅拌0.5小时。将所得混合物加入到3,3-二氟环己胺盐酸盐 (15mg, 86.7 μ mol) 于THF (1mL) 中的溶液中。然后向该溶液中加入N,N-二乙基乙胺 (73mg, 722.9 μ mol, 100.7 μ L) 和N,N-二甲基吡啶-4-胺 (18mg, 144.6 μ mol)。将混合物在28℃下搅拌2小时。将所得混合物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到20mg (8R)-2-氯-N-(3,3-二氟环己基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺。LC-MS:m/z 438[M+H]⁺。

[1424] 步骤2:分离对映异构体以获得(R)-2-氯-N-((S)-3,3-二氟环己基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-((R)-3,3-二氟环己基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1425]

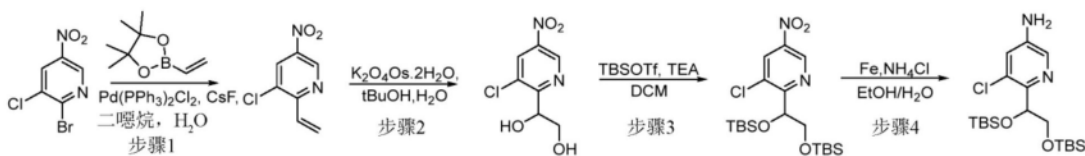


[1426] 对20mg (8R)-2-氯-N-(3,3-二氟环己基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺进行手性HPLC纯化(CHIRALPAK IF, 2x25cm, 5 μ m; 流动相A:Hex (0.5% 2M NH₃-MeOH)-HPLC, 流动相B:EtOH-HPLC; 流速:20毫升/分钟; 等度5%B, 27分钟内; 220/254nm; RT1:18.869; RT2:23.747; 注射体积:0.5ml; 运行次数:9)。将第一个洗脱异构体(RT 18.87分钟)浓缩并冻干,以得到实例53(11.8mg, 37%产率)。将第二个洗脱异构体(RT 23.75分钟)浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例54(5.9mg, 18%产率)。

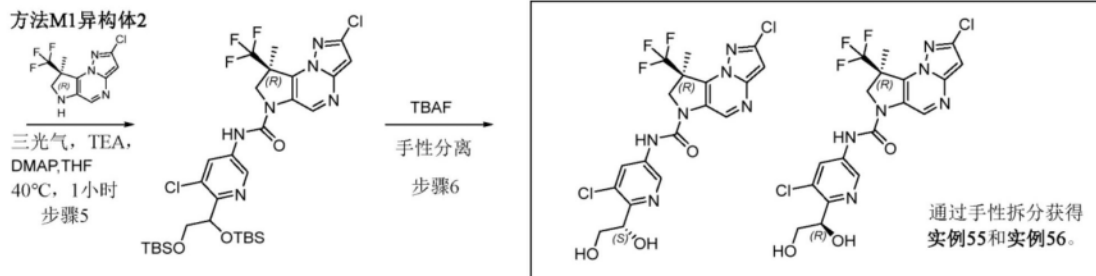
[1427] 实例53:¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ :9.30 (s, 1H), 7.07 (d, J=7.5Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 4.54 (d, J=11.4Hz, 1H), 4.01 (d, J=11.4Hz, 1H), 3.76-3.79 (m, 1H), 2.21-2.31 (m, 1H), 2.00-2.08 (m, 1H), 1.93 (s, 3H), 1.76-1.88 (m, 4H), 1.37-1.46 (m, 2H)。LC-MS:m/z 438[M+H]⁺。

[1428] 实例54:¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ :9.30 (s, 1H), 7.09 (br, 1H), 7.01 (s, 1H), 4.55 (d, J=10.5Hz, 1H), 4.01 (d, J=1.05Hz, 1H), 3.75-3.79 (m, 1H), 2.20-2.30 (m, 1H), 1.60-2.16 (m, 8H), 1.24-1.48 (m, 2H)。LC-MS:m/z 438[M+H]⁺。

[1429] 方法J2

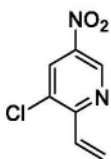


[1430]



[1431] 实例55和56:由含有(R)-2-氯-N-(5-氯-6-((S)-1,2-二羟乙基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-氯-6-((R)-1,2-二羟乙基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的混合物获得的单一对映异构体

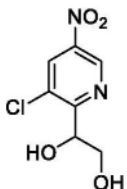
[1432] 步骤1:3-氯-5-硝基-2-乙烯基吡啶



[1433]

[1434] 在氮气气氛下,向2-溴-3-氯-5-硝基吡啶(6.0g, 25.2mmol)于二噁烷(20mL)和水(2mL)中的溶液中加入CsF(11.5g, 75.6mmol)、4,4,5,5-四甲基-2-乙基-1,3,2-二氧硼烷(5.8g, 37.8mmol)和Pd(PPh₃)₂Cl₂(1.8g, 2.5mmol)。将所得混合物在85°C下搅拌3小时。将反应混合物用水(200mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的3-氯-5-硝基-2-乙烯基吡啶(3.3g, 51%产率)。LC-MS:m/z 185[M+H]⁺。

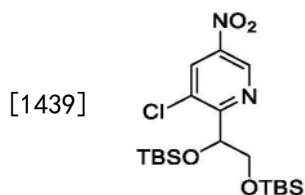
[1435] 步骤2:1-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)乙烷-1,2-二醇



[1436]

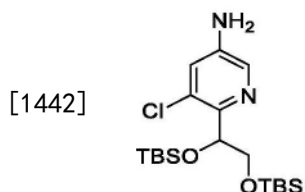
[1437] 向3-氯-5-硝基-2-乙烯基吡啶(3.3g, 17.8mmol)于t-BuOH(40mL)和水(10mL)中的溶液中加入K₂O₄Os·2H₂O(2.3g, 6.2mmol)和4-甲基吗啉4-氧化物(4.2g, 35.6mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌2小时。将混合物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法直接纯化,以得到呈黄色固体的1-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)乙烷-1,2-二醇(400mg, 10%产率)。LC-MS:m/z 219[M+H]⁺。

[1438] 步骤3:3-氯-5-硝基-2-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)吡啶



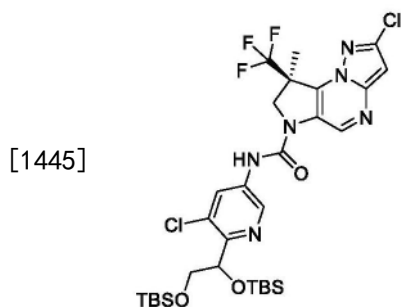
[1440] 在0℃下,向1-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)乙烷-1,2-二醇(400mg,1.8mmol)于二氯甲烷(3mL)中的溶液中加入TBSOTf(1.4g,5.4mmol)和DIEA(820mg,6.3mol)。将反应混合物在0℃下搅拌3小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用水(50mL)稀释。然后用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用饱和NaHCO₃水溶液(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用67%石油醚和33%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的3-氯-5-硝基-2-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)吡啶(200mg,24%产率)。LC-MS:m/z 447[M+H]⁺。

[1441] 步骤4:5-氯-6-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)吡啶-3-胺



[1443] 向3-氯-5-硝基-2-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)吡啶(200mg,447.0μmol)于乙醇(9mL)和水(3mL)中的溶液中加入Fe(123mg,2.2mmol)、NH₄Cl(95mg,1.7mmol)。将所得混合物在80℃下搅拌1小时。通过加入水(50mL)来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用67%石油醚和33%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的5-氯-6-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)吡啶-3-胺(120mg,64%产率)。LC-MS:m/z 417[M+H]⁺。

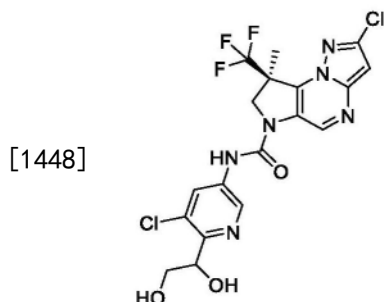
[1444] 步骤5:(8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1446] 在25℃下,向3-氯-5-硝基-2-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)吡啶(50mg,120.0μmol)于四氢呋喃(3mL)中的混合物中加入三光气(48mg,

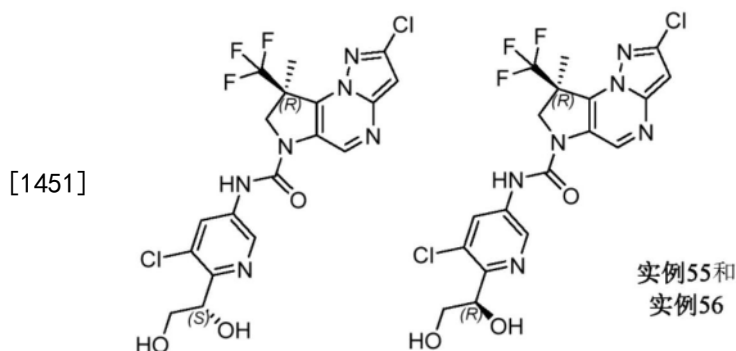
72.2 μ mol) 和TEA (41mg, 180.1 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2 (33mg, 120.0 μ mol) 于四氢呋喃 (1mL) 中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA (121mg, 1.2mmol) 和N,N-二甲基吡啶-4-胺 (42mg, 240.0 μ mol)。将反应混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将残留物用水 (50mL) 稀释。用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水 (50mL) 洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用20%石油醚和80%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈灰白色固体的 (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (50mg, 53%产率)。LC-MS:m/z 719[M+H]⁺。

[1447] 步骤6: (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(1,2-二羟乙基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1449] 在25 $^{\circ}$ C下,向 (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (50mg, 69.6 μ mol) 于四氢呋喃 (2mL) 中的溶液中加入TBAF (2mL, 2mmol, 1M, 于四氢呋喃中)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌4小时。将反应混合物在减压下浓缩。将残留物用水 (50mL) 稀释。用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层用饱和NH₄Cl水溶液 (3x50mL) 洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型TLC用乙酸乙酯纯化,以得到30mg粗产物 (90%纯度)。对粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的 (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(1,2-二羟乙基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (20mg, 54%产率)。LC-MS:m/z 491[M+H]⁺。

[1450] 步骤7:分离对映异构体以获得 (R)-2-氯-N-(5-氯-6-((S)-1,2-二羟乙基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和 (R)-2-氯-N-(5-氯-6-((R)-1,2-二羟乙基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺。

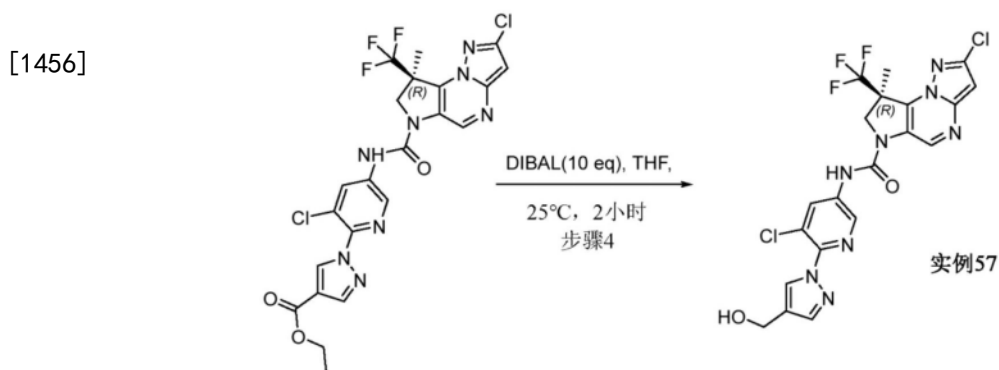


[1452] 对20mg (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(1,2-二羟乙基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺进行手性HPLC纯化(色谱柱:CHIRALPAK IF, 2x25cm, 5 μ m; 流动相A:MTBE (0.5% 2M NH₃-MeOH) --HPLC, 流动相B: EtOH--HPLC; 流速:20毫升/分钟; 梯度:在21分钟内, 10B到10B; 220/254nm; RT₁:12.1; RT₂: 14.928; 注射体积:1.5ml; 运行次数:2)。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干, 以得到呈白色固体的实例55 (5.0mg, 19%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干, 以得到呈白色固体的实例56 (4.5mg, 18%产率)。实例55和56的对映异构体可以使用步骤5中方法M1异构体1类似地制备。

[1453] 实例55: ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 9.41 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.69 (d, J=2.1Hz, 1H), 8.15 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 5.17-5.19 (m, 1H), 4.93-4.99 (m, 1H), 4.81 (d, J=11.4Hz, 1H), 4.67-4.71 (m, 1H), 4.27 (d, J=11.4Hz, 1H), 3.63-3.73 (m, 2H), 1.98 (s, 3H); LC-MS: m/z 491 [M+H]⁺。

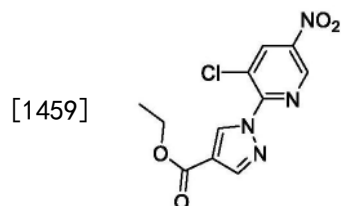
[1454] 实例56: ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 9.39 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.69 (d, J=2.1Hz, 1H), 8.15 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 5.16-5.18 (m, 1H), 4.93-4.99 (m, 1H), 4.82 (d, J=11.7Hz, 1H), 4.67-4.71 (m, 1H), 4.27 (d, J=11.7Hz, 1H), 3.63-3.73 (m, 2H), 1.98 (s, 3H); LC-MS: m/z 491 [M+H]⁺

[1455] 方法K2



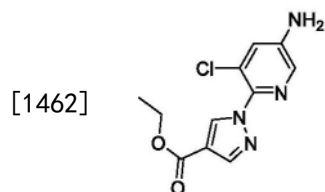
[1457] 实例57: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(羟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1458] 步骤1: 1-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯



[1460] 在25℃下,向1H-吡唑-4-甲酸乙酯(1.0g,7.1mmol)和2,3-二氯-5-硝基吡啶(1.4g,7.1mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(20mL)中的搅拌混合物中加入K₂CO₃(2.9g,21.4mmol)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物用乙酸乙酯(150mL)稀释。将所得溶液用水(2x100mL)和盐水(2x100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的1-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯(1.4g,64%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d)δ:9.26(d,J=2.4Hz,1H),8.86(s,1H),8.76(d,J=2.1Hz,1H),8.24(s,1H),4.35-4.42(m,2H),1.41(t,J=7.2Hz,3H)。LC-MS:m/z 297[M+H]⁺。

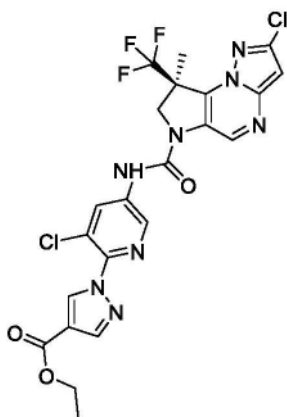
[1461] 步骤2: 1-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯



[1463] 在25℃下,向1-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯(500mg,1.7mmol)于乙醇(15mL)和水(5mL)中的搅拌混合物中加入Fe(282mg,5.1mmol)和NH₄Cl(459mg,8.4mmol)。将混合物在80℃下搅拌1小时。冷却至25℃后,将反应混合物用水(50mL)稀释。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的1-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯(410mg,91%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:8.35(s,1H),8.11(s,1H),7.86(d,J=2.4Hz,1H),7.14(d,J=2.8Hz,1H),4.29-4.35(m,2H),3.86(brs,2H),1.25(t,J=6.8Hz,3H)。LC-MS:m/z 267[M+H]⁺。

[1464] 步骤3: (R)-1-(3-氯-5-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯

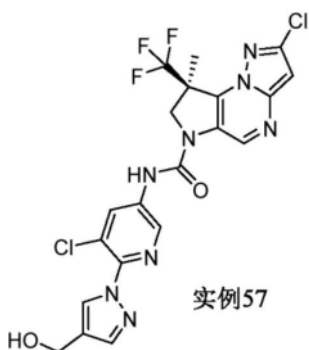
[1465]



[1466] 向方法M1异构体2 (50mg, 180.7 μ mol) 于四氢呋喃 (5mL) 中的搅拌溶液中加入三光气 (32mg, 108.4 μ mol) 和TEA (27mg, 271.1 μ mol)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌30分钟, 然后过滤。将滤液加入到1-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯 (96.40mg, 361.47 μ mol) 于四氢呋喃 (5mL) 中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺 (44mg, 361.5 μ mol) 和TEA (183mg, 1.8mmol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物使用25%石油醚和75%乙酸乙酯通过制备型TLC进行纯化, 以得到呈淡黄色固体的(R)-1-(3-氯-5-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯 (45mg, 43%产率)。 1 H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.63 (br, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.69 (d, J=2.1Hz, 1H), 8.43 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.06 (s, 1H), 4.83 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.18-4.29 (m, 3H), 1.97 (s, 3H), 1.30-1.28 (m, 3H)。LC-MS: m/z 569 [M+H] $^+$ 。

[1467] 步骤4: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(羟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

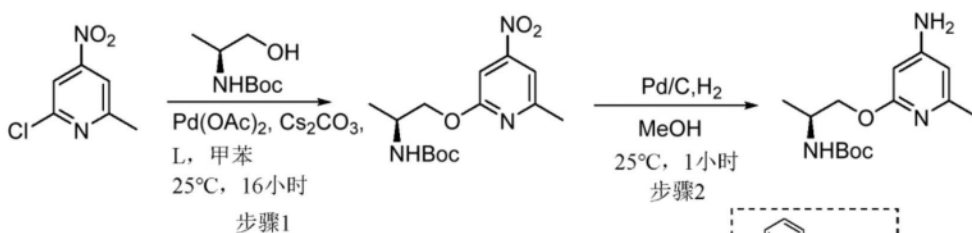
[1468]



[1469] 在0 $^{\circ}$ C下, 向(R)-1-(3-氯-5-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯 (50mg, 87.8 μ mol) 于四氢呋喃 (5mL) 中的搅拌混合物中逐滴加入DIBAL-H (0.45mL, 9.0mmol, 2M, 于四氢呋喃中)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将混合物倒入冰/水 (30mL) 中。用乙酸乙酯 (3x20mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。对粗产物进行制备型HPLC纯化, 并将收集的级分冻干, 以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(羟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (5.3mg, 11%产率)。实例57的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

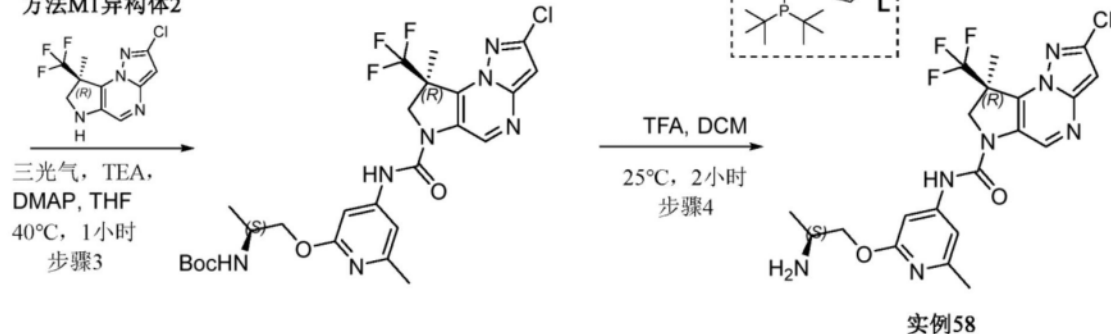
[1470] 实例57: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.37 (s, 1H), 8.60-8.62 (m, 1H), 8.38-8.43 (m, 2H), 8.06 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 4.96-5.02 (m, 1H), 4.79 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 4.45 (s, 2H), 4.26 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 1.97 (s, 3H)。LC-MS: m/z 527 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1471] 方法L2



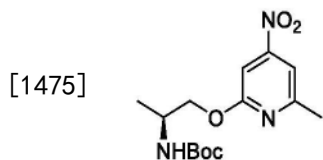
[1472]

方法M1异构体2



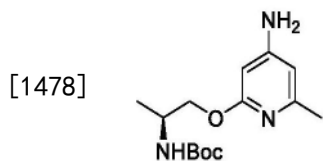
[1473] 实例58: (R)-N-(2-((S)-2-氨基丙氧基)-6-甲基吡啶-4-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1474] 步骤1: (S)-(1-((6-甲基-4-硝基吡啶-2-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯



[1476] 向2-氯-6-甲基-4-硝基吡啶 (5g, 29.0mmol) 于二噁烷 (50mL) 中的搅拌混合物中加入 (S)-(1-羟基丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (10.2g, 58.0mmol)、 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (1.3g, 5.8mmol)、[1,1'-联苯]-2-基二叔丁基膦 (2.2g, 7.2mmol) 和 Cs_2CO_3 (18.9g, 57.8mmol)。将反应混合物在氮气下在 25°C 下搅拌 16 小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用 85% 石油醚和 15% 乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈黄色固体的 (S)-(1-((6-甲基-4-硝基吡啶-2-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (4.6g, 50% 产率)。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6) δ : 7.58 (d, $J=1.8\text{Hz}$, 1H), 7.25 (d, $J=1.8\text{Hz}$, 1H), 6.86 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 1H), 4.10-4.23 (m, 2H), 3.81-3.91 (m, 1H), 2.52 (d, $J=0.6\text{Hz}$, 3H), 1.36 (s, 9H), 1.11 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 3H)。LC-MS: m/z 312 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[1477] 步骤2: (S)-(1-((4-氨基-6-甲基吡啶-2-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯

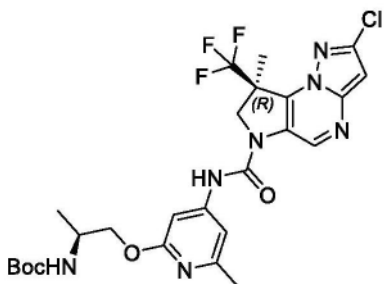


[1479] 向 (S)-(1-((6-甲基-4-硝基吡啶-2-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (1g,

3.2mmol)于甲醇(200mL)中的搅拌溶液中加入Pd/C(171mg,10%)。将反应混合物在一个氢气气氛下在25℃下搅拌1小时。将反应混合物过滤,并将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(S)-1-((4-氨基-6-甲基吡啶-2-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯(700mg,75%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:6.88(d,J=9Hz,1H),6.01(d,J=3Hz,1H),5.81(s,2H),5.62(d,J=3Hz,1H),3.91-3.95(m,2H),3.67-3.82(m,1H),2.14(s,3H),1.38(s,9H),1.06(d,J=6Hz,3H)。LC-MS:m/z282[M+H]⁺。

[1480] 步骤3:((S)-1-((4-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-6-甲基吡啶-2-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯

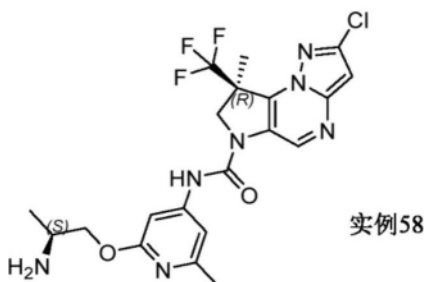
[1481]



[1482] 向(S)-1-((4-氨基-6-甲基吡啶-2-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯(62mg,216.9μmol)于四氢呋喃(8mL)中的搅拌溶液中加入三光气(26mg,86.8μmol)和TEA(22mg,21.8μmol)。将所得混合物在28℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(40mg,145.4μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(36mg,290.9μmol)和TEA(147mg,1.5mmol)。将混合物在40℃下搅拌1小时。将混合物用水(20mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x40mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,并经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的((S)-1-((4-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-6-甲基吡啶-2-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯(50mg,47%产率)。LC-MS:m/z 584[M+H]⁺

[1483] 步骤4:(R)-N-(2-((S)-2-氨基丙氧基)-6-甲基吡啶-4-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1484]

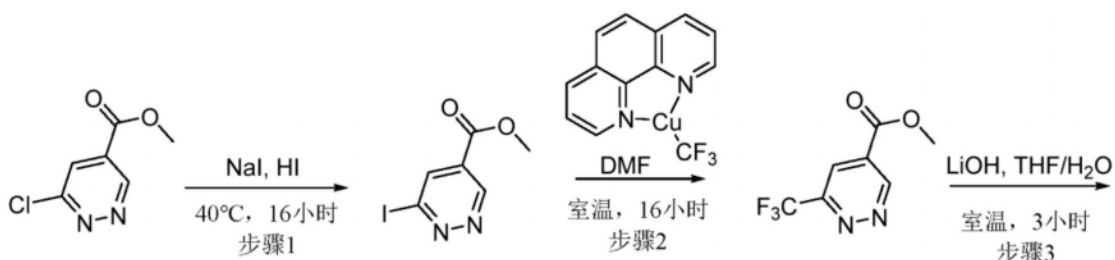


[1485] 向((S)-1-((4-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-6-甲基吡啶-2-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯(40mg,68.6μmol)于二氯甲烷(4.8mL)中的搅拌溶液中加入TFA(1.2mL)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。向残留物中加入饱和NaHCO₃水溶液(40mL)。用乙酸乙酯(3x40mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,并经无水硫酸钠干燥,

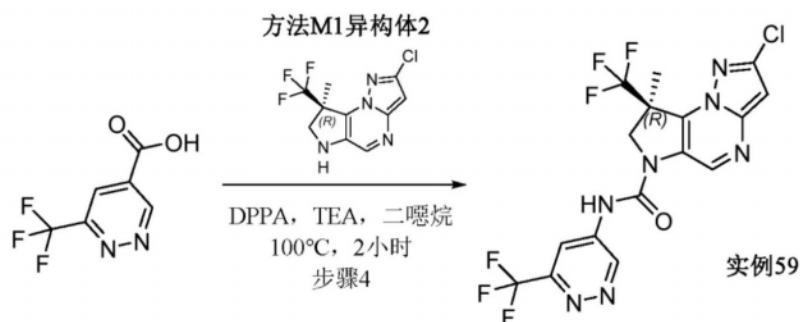
并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-N-(2-((S)-2-氨基丙氧基)-6-甲基吡啶-4-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(12.5mg,37%产率)。实例58的差向异构体(S)-N-(2-((S)-2-氨基丙氧基)-6-甲基吡啶-4-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1486] 实例58: ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.32(s, 1H), 7.06(s, 1H), 7.01(d, J=0.8Hz, 1H), 6.94(d, J=1.2Hz, 1H), 4.82-4.85(m, 1H), 4.21-4.24(m, 1H), 3.94-3.96(m, 2H), 3.10-3.12(m, 1H), 2.33(s, 3H), 1.96(s, 3H), 1.04(d, J=6.4Hz, 3H)。LC-MS:m/z 484[M+H] $^+$ 。

[1487] 方法M2

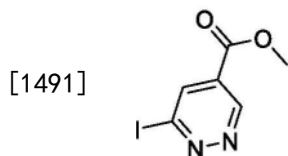


[1488]



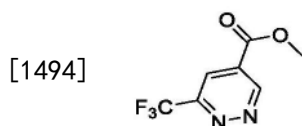
[1489] 实例59: (R)-11-氯-3-甲基-3-(三氟甲基)-N-[6-(三氟甲基)哒嗪-4-基]-1,5,8,12-四氮杂三环[7.3.0.0 2,6]十二碳-2(6),7,9,11-四烯-5-甲酰胺

[1490] 步骤1: 6-碘哒嗪-4-甲酸甲酯



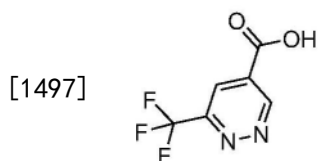
[1492] 向6-氯哒嗪-4-甲酸甲酯(3.0g, 17.4mmol)于氢碘酸(30mL, 57%)中的搅拌溶液中加入NaI(3.4g, 23.0mmol)。将反应物在40°C下搅拌16小时。将混合物冷却至室温。将pH用饱和NaHCO₃水溶液调整到7。用乙酸乙酯(3x150mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用饱和NH₄Cl水溶液(150mL)、盐水(150mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈黄色固体的6-碘哒嗪-4-甲酸甲酯(2.5g, 54%产率)。 ^1H NMR(300MHz, 氯仿- d) δ : 9.61(d, J=1.8Hz, 1H), 8.39(d, J=1.8Hz, 1H), 4.04(s, 3H)。LC-MS:m/z 265[M+H] $^+$ 。

[1493] 步骤2: 6-(三氟甲基)哒嗪-4-甲酸甲酯



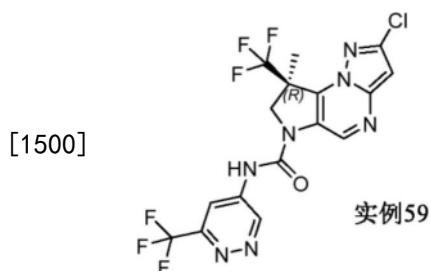
[1495] 在氮气下,向6-碘吡啶-4-甲酸甲酯(200mg,758 μ mol)于N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中的搅拌溶液中加入N,N-二甲基甲酰胺(5mL)中的(1,10-菲咯啉)(三氟甲基)铜(308mg,985 μ mol)。将所得溶液在25 $^{\circ}$ C下搅拌16小时(避光)。将反应混合物用乙酸乙酯(50mL)稀释,并通过硅藻土过滤。将有机层用水(20mL)、盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯的柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的6-(三氟甲基)吡啶-4-甲酸甲酯(60mg,38%产率)。 ^1H NMR(300MHz,氯仿-d) δ :9.87(d,J=1.8Hz,1H),8.35(d,J=1.8Hz,1H),4.09(s,3H)。LC-MS:m/z 207[M+H] $^{+}$ 。

[1496] 步骤3:6-(三氟甲基)吡啶-4-甲酸



[1498] 向6-(三氟甲基)吡啶-4-甲酸甲酯(70mg,340 μ mol)于四氢呋喃(1mL)和水(1mL)中的搅拌溶液中加入LiOH(20mg,849 μ mol)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌3小时。将混合物浓缩。将残留物用水(20mL)稀释。用HCl(6N)将pH调整到2。用乙酸乙酯(3x20mL)萃取混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈黄色固体的6-(三氟甲基)吡啶-4-甲酸(35mg,53%产率)。 ^1H NMR(300MHz,氯仿-d) δ :9.95(d,J=1.8Hz,1H),8.42(d,J=1.8Hz,1H)。LC-MS:m/z 193[M+H] $^{+}$ 。

[1499] 步骤4:(R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-N-(6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

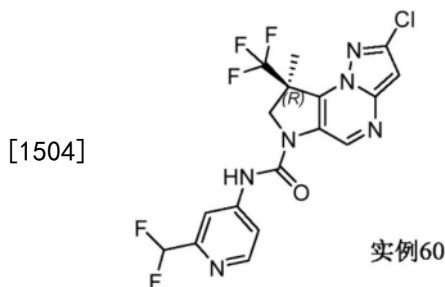


[1501] 向6-(三氟甲基)吡啶-4-甲酸(12mg,62 μ mol)于二噁烷(1mL)中的搅拌溶液中加入DPPA(21mg,75 μ mol)和TEA(32mg,312 μ mol)。将溶液在25 $^{\circ}$ C下搅拌30分钟。加入方法M1异构体2(10mg,37 μ mol),并将混合物在100 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将反应混合物冷却至25 $^{\circ}$ C。将反应混合物用水(10mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将得到的粗品通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-N-(6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(7.1mg,24%产率)。实例59的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1502] 实例59: ^1H NMR(300MHz,甲醇-d $_4$) δ :9.58(d,J=2.4Hz,1H),9.43(s,1H),8.48(d,J=2.4Hz,1H),6.83(s,1H),4.86-4.92(m,1H),4.25-4.29(m,1H),2.07(s,3H)。LC-MS:m/z

466 [M+H]⁺。

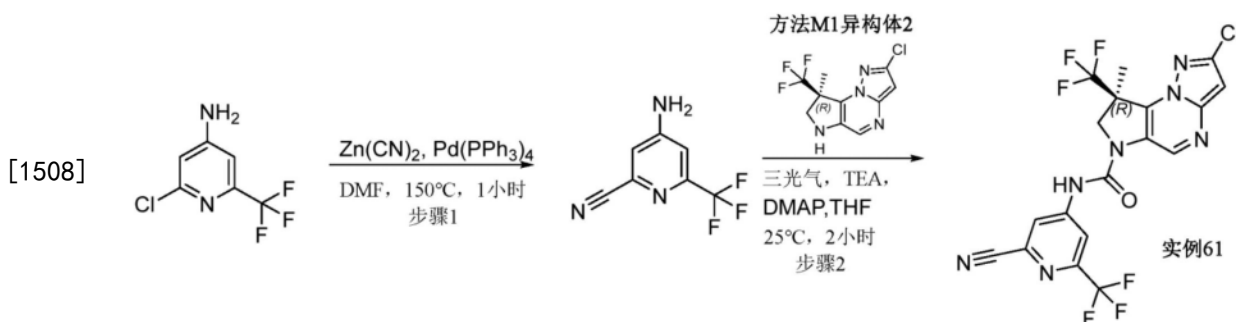
[1503] 实例60: (R)-2-氯-N-(2-(二氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1505] 根据方法M1步骤2,通过使用2-(二氟甲基)吡啶-4-胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例60的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

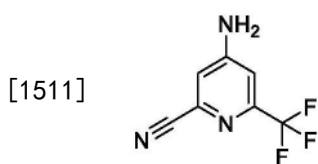
[1506] 实例60: ¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ: 9.41 (s, 1H), 8.59 (d, J=5.6Hz, 1H), 7.69-7.72 (m, 2H), 6.80-6.49 (m, 3H), 4.57 (d, J=10.4Hz, 1H), 4.06 (d, J=10.4Hz, 1H), 2.08 (s, 3H)。LC-MS: m/z 447 [M+H]⁺。

[1507] 方法N2



[1509] 实例61: (R)-2-氯-N-(2-氰基-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

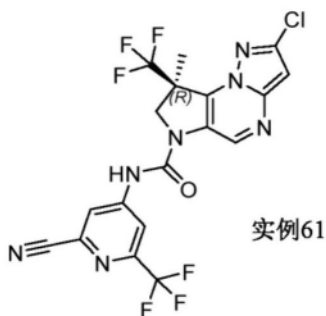
[1510] 步骤1: 4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶甲腈



[1512] 向2-氯-6-(三氟甲基)吡啶-4-胺 (250mg, 1.3mmol) 于N,N-二甲基甲酰胺 (2mL) 中的搅拌溶液中加入Zn(CN)₂ (149mg, 1.3mmol) 和Pd(PPh₃)₄ (73mg, 63.6μmol)。将反应混合物在氮气下在150°C下搅拌1小时。将反应混合物用水 (10mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (3x10mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用20%石油醚和80%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶甲腈 (170mg, 71%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 7.21 (br, 2H), 7.14 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.09 (d, J=2.0Hz, 1H)。LC-MS: m/z 188 [M+H]⁺。

[1513] 步骤2: (R)-2-氯-N-(2-氰基-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

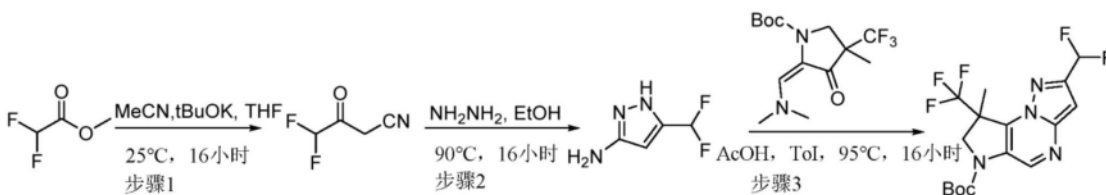
[1514]



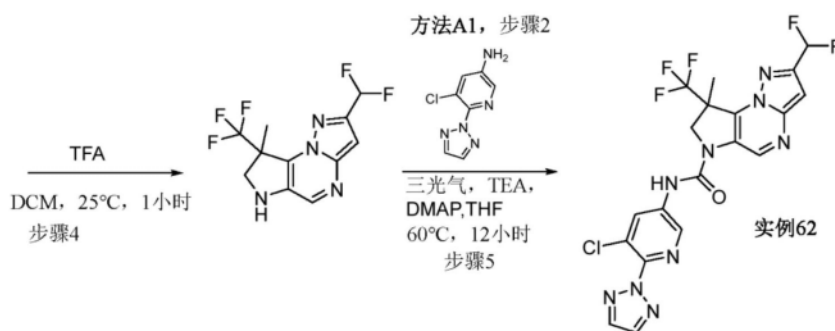
[1515] 向方法M1异构体2 (20mg, 72.3 μ mol) 于四氢呋喃 (2mL) 中的搅拌溶液中加入三光气 (13mg, 43.4 μ mol) 和TEA (11mg, 108.4 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时, 然后过滤。将滤液加入到4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶甲腈 (27mg, 144.6 μ mol) 于四氢呋喃 (1mL) 中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺 (18mg, 144.6 μ mol) 和TEA (73mg, 723.0 μ mol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化, 并将收集的级分冻干, 以得到呈白色固体的 (R)-2-氯-N-(2-氰基-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (5.2mg, 14% 产率)。实例61的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1516] 实例61: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 10.12 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.39 (d, J=1.8Hz, 1H), 8.31 (d, J=1.8Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 4.86 (d, J=11.7Hz, 1H), 4.30 (d, J=11.7Hz, 1H), 1.98 (s, 3H)。LC-MS: m/z 490 [M+H] $^+$ 。

[1517] 方法02



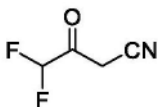
[1518]



[1519] 实例62: N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-(二氟甲基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1520] 步骤1: 4,4-二氟-3-氧代丁腈

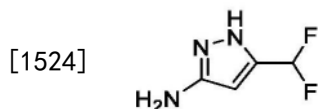
[1521]



[1522] 向2,2-二氟乙酸甲酯 (5.0g, 45.4mmol) 于四氢呋喃 (50mL) 中的搅拌溶液中加入t-BuOK (10.2g, 90.9mmol) 和乙腈 (1.8g, 45.4mmol)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌16小时。通过

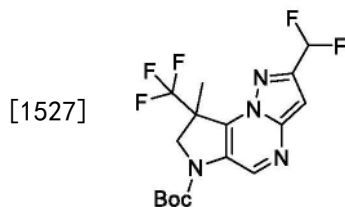
加入水 (500mL) 来淬灭反应混合物。用二乙醚 (3x300mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。这导致呈无色油状物的4,4-二氟-3-氧代丁腈 (2.5g, 45%产率)。LC-MS:m/z 120[M+H]⁺。

[1523] 步骤2:5-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-胺



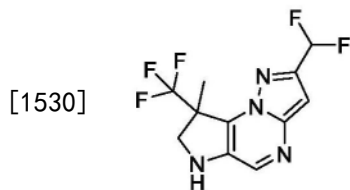
[1525] 向4,4-二氟-3-氧代丁腈 (2.5g, 21.0mmol) 于乙醇 (20mL) 中的搅拌溶液中加入一水合肼 (21g, 42.0mmol)。将反应混合物在氮气下在90℃下搅拌16小时。使混合物冷却至25℃。通过加入水 (200mL) 来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯 (3x200mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的5-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-胺 (700mg, 25%产率)。¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ: 11.9 (s, 1H), 6.62 (t, J=56.0Hz, 1H), 6.78 (s, 1H), 4.90 (s, 2H)。LC-MS:m/z 134[M+H]⁺。

[1526] 步骤3:2-(二氟甲基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[1528] 将(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(方法K1步骤8; 484mg, 1.5mmol)、5-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-胺 (200mg, 1.5mmol)、甲苯 (10mL) 和乙酸 (1mL) 放入100mL圆底烧瓶中。将混合物在95℃下搅拌15小时。将反应冷却至25℃,并在真空下浓缩。加入饱和NaHCO₃水溶液 (20mL)。用乙酸乙酯 (3x30mL) 萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-(二氟甲基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯 (120mg, 16%产率)。¹H NMR (400MHz, 甲醇-d₄) δ: 8.35 (s, 1H), 6.91 (t, J=56.0Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 4.03 (d, J=8.0Hz, 1H), 3.62 (d, J=11.4Hz, 1H), 1.90 (s, 9H), 1.44 (s, 3H)。LC-MS: m/z 393[M+H]⁺。

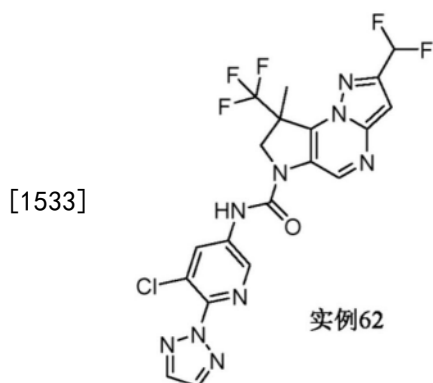
[1529] 步骤4:2-(二氟甲基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[1531] 将叔丁基2-(二氟甲基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯 (120mg, 306.2μmol)、二氯甲烷 (6mL) 和TFA (2mL) 放入30mL

小瓶中。将混合物在25℃下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。加入饱和NaHCO₃水溶液(20mL)。用二氯甲烷(3x20mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈白色固体的2-(二氟甲基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(80mg,89%产率)。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ:8.35(s,1H),6.91(t,J=56.0Hz,1H),6.88(s,1H),4.03(d,J=8.0Hz,1H),3.62(d,J=11.4Hz,1H),1.44(s,3H)。LC-MS:m/z 293[M+H]⁺。

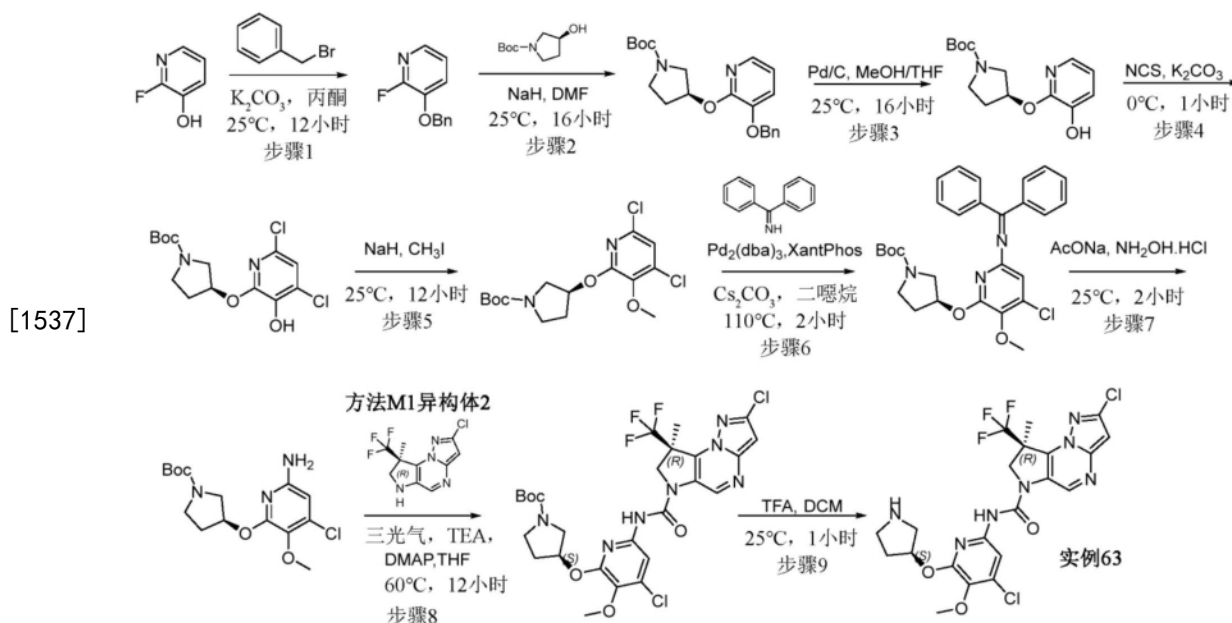
[1532] 步骤5:N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-(二氟甲基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1534] 在25下,向5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(19mg,95.4μmol)和三光气(14mg,47.7μmol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌混合物中逐滴加入TEA(12mg,119.3μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将所得滤液加入到2-(二氟甲基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(18mg,79.5μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(19mg,159.1μmol)和TEA(81mg,795.2μmol)。将混合物在40℃下搅拌16小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用91%二氯甲烷和9%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到粗产物(35mg)。对粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-(二氟甲基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(6.0mg,19%产率)。

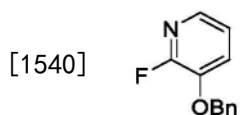
[1535] 实例62:¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ:9.47(s,1H),8.72(d,J=2.4Hz,1H),8.66(d,J=2.4Hz,1H),8.02(s,2H),7.02(s,1H),6.98(t,J=54.8Hz,1H),4.87(d,J=11.6Hz,1H),4.27(d,J=11.2Hz,1H),2.03(s,3H)。LC-MS:m/z 514[M+H]⁺。

[1536] 方法P2



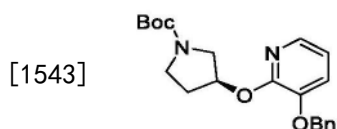
[1538] 实例63: (R)-2-氯-N-(4-氯-5-甲氧基-6-(((S)-吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1539] 步骤1: 3-(苄氧基)-2-氟吡啶



[1541] 将丙酮(100mL)和2-氟吡啶-3-醇(10.0g, 88.4mmol)放入250mL圆底烧瓶中。在 25°C 下将(溴甲基)苯(22.7g, 132.6mmol)和 K_2CO_3 (24.4g, 176.9mmol)加入溶液中。将反应混合物在 25°C 下搅拌12小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用水(300mL)稀释。用乙酸乙酯(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯的柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的3-(苄氧基)-2-氟吡啶(15.0g, 81%产率)。 ^1H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ : 7.77-7.79(m, 1H), 7.35-7.48(m, 5H), 7.29-7.33(m, 1H), 7.07-7.12(m, 1H), 5.18(s, 2H)。LC-MS: m/z 204[M+H] $^+$ 。

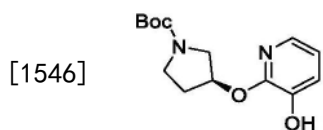
[1542] 步骤2: (S)-3-(((3-(苄氧基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[1544] 在 0°C 下,向(S)-3-羟基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(4.1g, 21.7mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(10mL)中的搅拌溶液中分批加入NaH(1.1g, 29.5mmol, 60%, 于矿物油中)。将反应搅拌0.5小时,并在 0°C 下加入3-(苄氧基)-2-氟吡啶(4.0g, 19.7mmol)。将反应混合物在 25°C 下搅拌16小时。将混合物用水(200mL)稀释。用乙酸乙酯(3x150mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(S)-3-(((3-(苄氧基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(7.0g, 91%产率)。 ^1H NMR(400MHz, DMSO-d $_6$) δ : 7.70(dd, J=5.0, 1.5Hz, 1H), 7.43-7.25(m, 6H), 6.89(dd, J=7.8, 5.0Hz, 1H), 5.44-5.53(m, 1H), 5.12(s, 2H), 3.58-3.62(m, 1H), 3.33-3.47(m, 3H), 2.00-2.22(m, 2H), 1.37(d, J=5.3Hz, 9H)。LC-

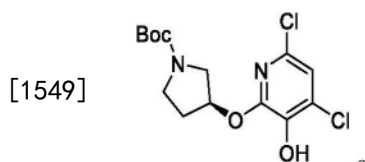
MS:m/z 371 [M+H]⁺

[1545] 步骤3: (S)-3-((3-羟基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



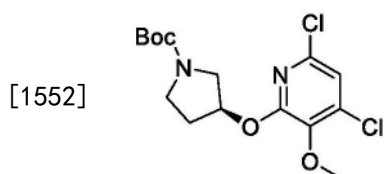
[1547] 将(S)-3-((3-(苄氧基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(18.0g, 48.6mmol)、四氢呋喃(140mL)、甲醇(140mL)和Pd/C(1.8g, 10%)放入500mL圆底烧瓶中。将烧瓶抽空并用氮气冲洗,然后用氢气冲洗。将混合物在氢气气氛下在25℃下搅拌16小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。这导致呈灰白色固体的粗品(S)-3-((3-羟基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(10.0g, 72%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ9.42(s, 1H), 7.56(dd, J=4.9, 1.6Hz, 1H), 7.08(dd, J=7.7, 1.6Hz, 1H), 6.79(dd, J=7.6, 4.9Hz, 1H), 5.40-5.45(m, 1H), 3.57-3.60(m, 1H), 3.30-3.46(m, 3H), 2.01-2.15(m, 2H), 1.37(d, J=8.2Hz, 9H)。LC-MS:m/z 281 [M+H]⁺

[1548] 步骤4: (S)-3-((4,6-二氯-3-羟基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[1550] 在0℃下,向(S)-3-((3-羟基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(6.0g, 19.1mmol)于水(10mL)和四氢呋喃(18mL)中的搅拌混合物中加入K₂CO₃(13.2g, 95.3mmol)和1-氯吡咯烷-2,5-二酮(12.7g, 95.3mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌1小时。将反应混合物用水(50mL)稀释。用HCl(2N)将pH调整到6-7。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈白色固体的(S)-3-((4,6-二氯-3-羟基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(3.0g, 粗品)。LC-MS:m/z 349 [M+H]⁺

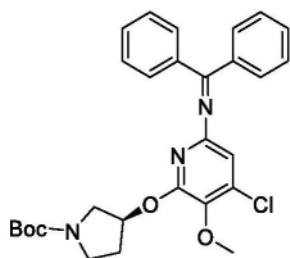
[1551] 步骤5: (S)-3-((4,6-二氯-3-甲氧基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[1553] 在0℃下,向(S)-3-((4,6-二氯-3-羟基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(2.0g, 5.7mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(40mL)中的搅拌溶液中分份加入NaH(0.4g, 11.5mmol, 60%, 于矿物油中)。将MeI(1.6g, 11.5mmol)加入混合物中。将反应混合物温热至25℃,并搅拌12小时。将混合物倒入冰/水(80mL)中。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(S)-3-((4,6-二氯-3-甲氧基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.0g, 38%产率)。LC-MS:m/z 363 [M+H]⁺

[1554] 步骤6: (S)-3-((4-氯-6-((二苯基亚甲基)氨基)-3-甲氧基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

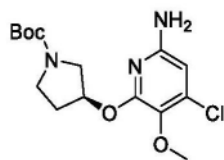
[1555]



[1556] 在氮气气氛下将(S)-3-((4,6-二氯-3-甲氧基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(0.4g, 1.1mmol)、二苯基甲亚胺(0.2g, 1.1mmol)和二噁烷(20mL)加入40mL小瓶中,并向其中加入Xantphos(0.2g, 330.4 μ mol)、Pd₂(dba)₃(0.2g, 220.2 μ mol)和Cs₂CO₃(1.1g, 3.3mmol)。将所得混合物在110℃下搅拌2小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的(S)-3-((4-氯-6-((二苯基亚甲基)氨基)-3-甲氧基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(0.4g, 78.8%产率)。LC-MS:m/z 508[M+H]⁺

[1557] 步骤7: (S)-3-((6-氨基-4-氯-3-甲氧基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

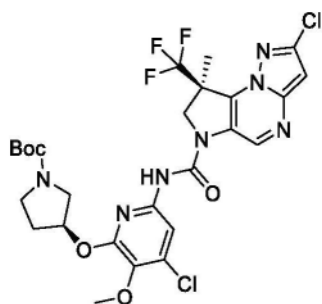
[1558]



[1559] 将(S)-3-((4-氯-6-((二苯基亚甲基)氨基)-3-甲氧基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(0.4g, 826.8 μ mol)、盐酸羟胺(0.1g, 1.7mmol)、乙酸钠(0.3g, 2.1mmol)和甲醇(20mL)放入100mL圆底烧瓶中。将混合物在25℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的(S)-3-((6-氨基-4-氯-3-甲氧基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(0.3g, 88%产率)。LC-MS:m/z 344[M+H]⁺。

[1560] 步骤8: (S)-3-((4-氯-6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-3-甲氧基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

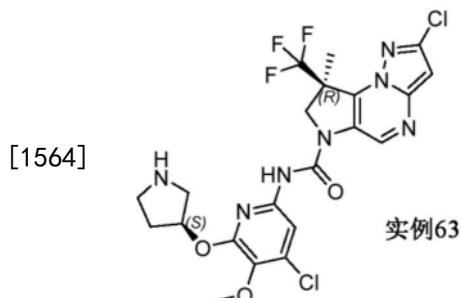
[1561]



[1562] 在0℃下,向方法M1异构体2(10mg, 36.2 μ mol)于四氢呋喃(4mL)中的搅拌溶液中加入三光气(6mg, 21.7 μ mol)和TEA(6mg, 54.2 μ mol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到(S)-3-((6-氨基-4-氯-3-甲氧基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(15mg, 43.4 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(9mg, 72.3 μ mol)和TEA(37mg, 361.5 μ mol)。将混合物在60℃下搅拌12小时。将混合物倒入水(10mL)中,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无

水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%二氯甲烷和40%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈黄色油状物的(S)-3-((4-氯-6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-3-甲氧基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(20mg,42%产率)。LC-MS:m/z 646[M+H]⁺。

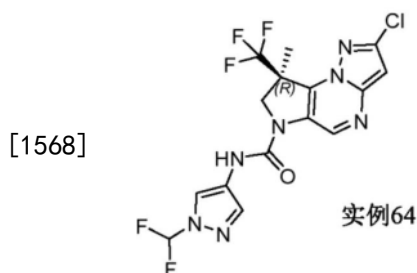
[1563] 步骤9:(R)-2-氯-N-(4-氯-5-甲氧基-6-((S)-吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1565] 向(S)-3-((4-氯-6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-3-甲氧基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(20mg,30.9 μ mol)于二氯甲烷(9mL)中的搅拌溶液中加入TFA(1.9g,1.3mL)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将所得混合物在减压下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(4-氯-5-甲氧基-6-((S)-吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(6mg,14.15%产率)。实例63的差向异构体((S)-2-氯-N-(4-氯-5-甲氧基-6-((S)-吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺)可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1566] 实例63:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.29(s,1H),8.27(s,1H),7.52(s,1H),7.04(s,1H),5.51(s,1H),4.93(d,J=11.6Hz,1H),4.22(d,J=11.6Hz,1H),3.75(s,3H),2.92-3.07(m,4H),2.06-2.17(m,2H),1.93(s,3H)。LC-MS:m/z 546[M+H]⁺

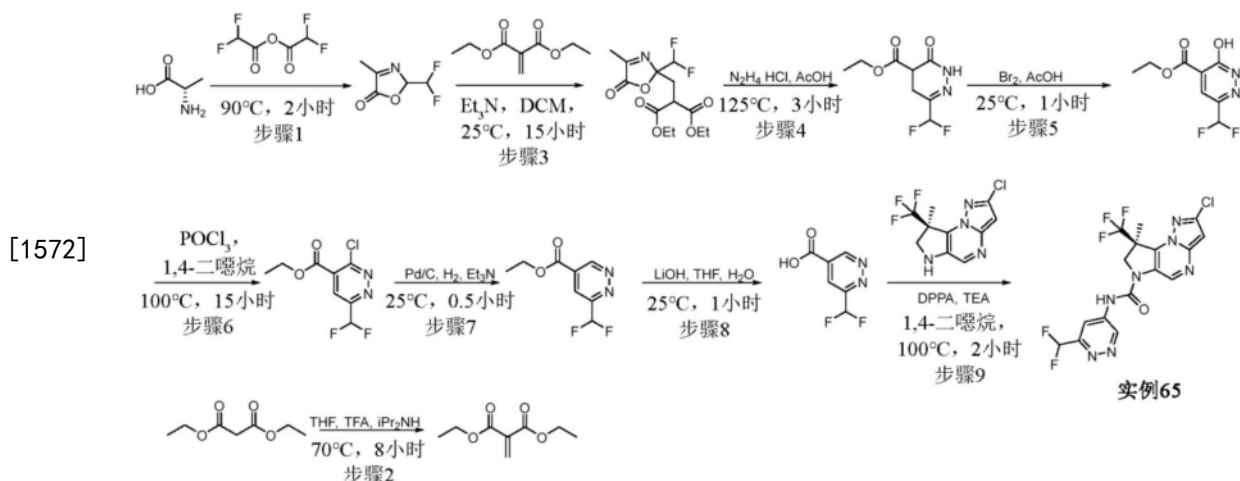
[1567] 实例64:(R)-2-氯-N-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1569] 根据方法M1步骤2,通过使用1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例64的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

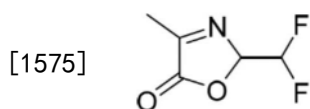
[1570] 实例64:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ :9.46(s,1H),9.36(s,1H),8.28(s,1H),7.85(s,1H),7.79(t,J=58.8Hz,1H),7.05(s,1H),4.70(d,J=11.4Hz,1H),4.20(d,J=11.4Hz,1H),1.97(s,3H)。LC-MS:m/z 436[M+H]⁺

[1571] 方法Q2



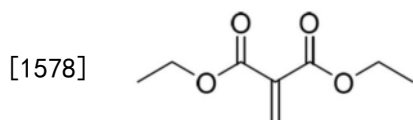
[1573] 实例65: (R)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1574] 步骤1: 2-(二氟甲基)-4-甲基噁唑-5(2H)-酮



[1576] 在 0°C 下在10分钟内将2,2-二氟乙酸酐(62.5g, 359.2mmol)缓慢加入到L-丙氨酸(12.5g, 140.4mmol)中。再搅拌0.5小时后,将澄清混合物在 90°C 下搅拌2小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用二氯甲烷(200mL)稀释,并用饱和 NaHCO_3 水溶液将pH调整到7-8。用二氯甲烷(2x500mL)萃取所得溶液。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈黑色油状物的2-(二氟甲基)-4-甲基噁唑-5(2H)-酮(7.1g,粗品)。将产物在不进行进一步纯化的情况下直接用于下一步骤。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, 氯仿-d) δ : 5.80-6.09(m, 2H), 2.35(d, $J=2.3\text{Hz}$, 3H)。LC-MS: m/z 150[M+H] $^+$ 。

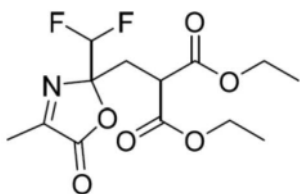
[1577] 步骤2: 2-亚甲基丙二酸二乙酯



[1579] 在火焰干燥的500mL圆底烧瓶中装入干燥的四氢呋喃(150mL)、二异丙胺(10.1g, 99.9mmol)、TFA(12.5g, 109.9mmol)、丙二酸二乙酯(16.0g, 99.9mmol)和多聚甲醛(6.0g, 199.8mmol)。加入冷凝器并将悬浮液在 70°C 下搅拌2小时。在 70°C 下再加入第二批多聚甲醛(6.0g, 199.8mmol),持续另外6小时。将反应在真空下浓缩。将粗混合物溶解在二乙醚(80mL)中。将固体滤出。将滤液用1N盐酸水溶液(2x80mL)洗涤。将水层合并,并用乙醚(80mL)萃取。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈黄色液体的2-亚甲基丙二酸二乙酯(19g,粗品)。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz, 氯仿-d) δ : 6.52(s, 2H), 4.14-4.30(m, 4H), 1.18-1.34(m, 6H)。LC-MS: m/z 173[M+H] $^+$ 。

[1580] 步骤3: 2-((2-(二氟甲基)-4-甲基-5-氧代-2,5-二氢噁唑-2-基)甲基)丙二酸二乙酯

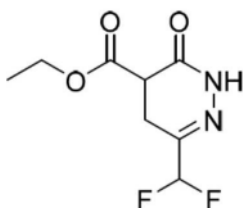
[1581]



[1582] 在0℃下,向2-(二氟甲基)-4-甲基噁唑-5(2H)-酮(7.1g,粗品)于二氯甲烷(70mL)中的搅拌溶液中加入2-亚甲基丙二酸二乙酯(9.8g,57.2mmol)和TEA(7.2g,71.5mmol)。将反应混合物在23℃下搅拌15小时。将反应混合物用水(80mL)稀释并且用二氯甲烷(2x80mL)萃取。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈黑色油状物的2-((2-(二氟甲基)-4-甲基-5-氧代-2,5-二氢噁唑-2-基)甲基)丙二酸二乙酯(12.4g,粗品)。将粗物质在不进行进一步纯化的情况下用于下一步骤。LC-MS:m/z 322[M+H]⁺。

[1583] 步骤4:6-(二氟甲基)-3-氧代-2,3,4,5-四氢哒嗪-4-甲酸乙酯

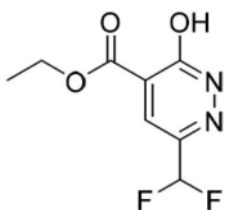
[1584]



[1585] 在23℃下,向2-((2-(二氟甲基)-4-甲基-5-氧代-2,5-二氢噁唑-2-基)甲基)丙二酸二乙酯(12.4g,粗品)于乙酸(150mL)中的搅拌溶液中加入盐酸二氢盐(13.8g,201.8mmol)。将反应混合物在125℃下搅拌3小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用乙酸乙酯(200mL)稀释,并用饱和NaHCO₃水溶液将pH调整到7-8。用乙酸乙酯(3x300mL)萃取所得溶液。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用65%石油醚和35%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的6-(二氟甲基)-3-氧代-2,3,4,5-四氢哒嗪-4-甲酸乙酯(2.9g,9%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d) δ:8.89-8.96(m,1H),5.96-6.32(m,1H),4.25-4.34(m,2H),3.58(t,J=8.0Hz,1H),2.48-2.95(m,2H),1.30-1.37(m,3H)。LC-MS:m/z 221[M+H]⁺。

[1586] 步骤5:6-(二氟甲基)-3-羟基哒嗪-4-甲酸乙酯

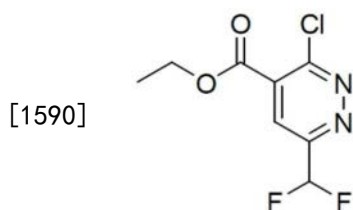
[1587]



[1588] 在0℃下,向6-(二氟甲基)-3-氧代-2,3,4,5-四氢哒嗪-4-甲酸乙酯(2.9g,13.2mmol)于乙酸(25mL)中的搅拌溶液中加入溴(2.1g,13.2mmol)于乙酸(15mL)中的溶液。将反应混合物在23℃下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用乙酸乙酯(100mL)稀释,并用饱和NaHCO₃水溶液将pH调整到7-8。用乙酸乙酯(2x200mL)萃取所得溶液。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色固体的6-(二氟甲基)-3-羟基哒嗪-4-甲酸乙酯(1.6g,34%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:13.89(s,1H),7.98(s,1H),6.78-7.04(m,1H),4.27(q,J=7.1Hz,2H),1.27(t,J=7.1Hz,3H)。LC-MS:m/z

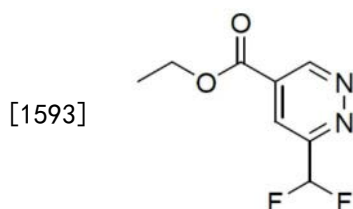
219[M+H]⁺。

[1589] 步骤6:3-氯-6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸乙酯



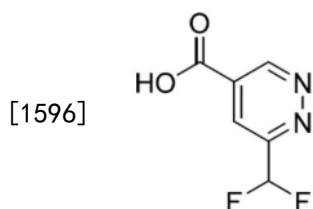
[1591] 在0℃下,向6-(二氟甲基)-3-羟基哒嗪-4-甲酸乙酯(1.6g,7.3mmol)于二噁烷(20mL)中的搅拌溶液中加入磷酰三氯(11.3g,73.3mmol)。将反应混合物在100℃下搅拌15小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用乙酸乙酯(100mL)稀释,并用饱和NaHCO₃水溶液将pH调整到7-8。用乙酸乙酯(2x200mL)萃取所得溶液。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用84%石油醚和16%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色液体的3-氯-6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸乙酯(1.4g,82%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:8.42(s,1H),7.20-7.56(m,1H),4.42(q,J=7.1Hz,2H),1.36(t,J=7.1Hz,3H)。LC-MS:m/z 237[M+H]⁺。

[1592] 步骤7:6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸乙酯



[1594] 在23℃下,向3-氯-6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸乙酯(600mg,2.5mmol)于乙酸乙酯(10mL)中的搅拌溶液中加入TEA(0.6mL)和Pd/C(120mg,10%)。将反应混合物在氢气气氛(气球压力)下在23℃下搅拌0.5小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色液体的6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸乙酯(230mg,44%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:9.75(d,J=1.9Hz,1H),8.29(d,J=2.0Hz,1H),7.23-7.59(m,1H),4.43(q,J=7.1Hz,2H),1.38(t,J=7.1Hz,3H)。LC-MS:m/z 203[M+H]⁺。

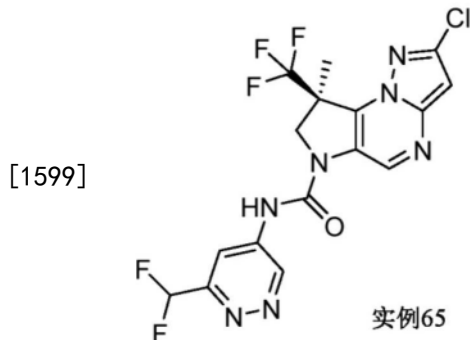
[1595] 步骤8:6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸



[1597] 在0℃下,向6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸乙酯(230mg,1.1mmol)于四氢呋喃(6mL)和水(1.5mL)的混合物中的搅拌溶液中加入氢氧化锂(81.7mg,3.4mmol)。将反应混合物逐渐温热至23℃,并搅拌1小时。将混合物在减压下浓缩,然后用水(30mL)稀释。将pH用HCl(1N)调整到2-3,并用乙酸乙酯(3x35mL)萃取。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将获得的固体用正戊烷(20mL)洗涤,以得到呈灰白色固体的6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸(160mg,74%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:9.68(d,J=1.9Hz,1H),8.21(d,J=1.9Hz,

1H), 7.23-7.50(m, 1H)。LC-MS:m/z 175[M+H]⁺。

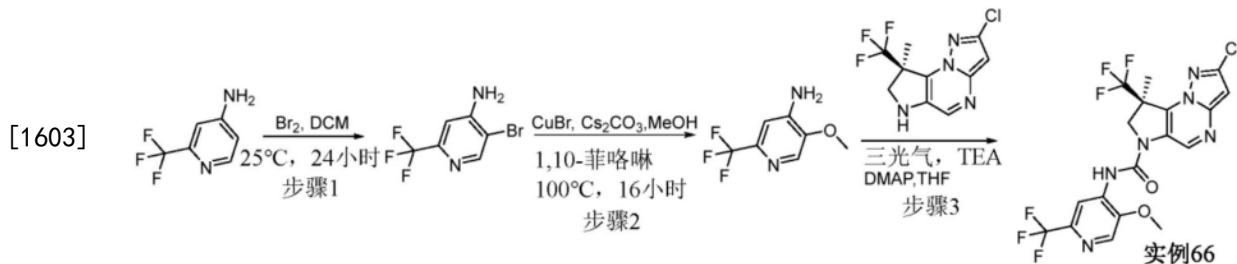
[1598] 步骤9: (R)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)吡嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺。



[1600] 向6-(二氟甲基)吡嗪-4-甲酸(60mg, 344.8 μ mol)于二噁烷(8mL)中的搅拌溶液中加入方法M1异构体2(95.2mg, 344.8 μ mol)、TEA(174.1mg, 1.7mmol)和DPPA(106.3mg, 413.8 μ mol)。将混合物在100 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到110mg粗产物。将得到的粗品通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)吡嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(31.8mg, 20.6%产率)。实例65的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

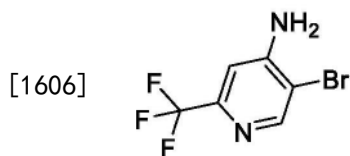
[1601] 实例65:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.93(s, 1H), 9.51(d, J=2.5Hz, 1H), 9.35(s, 1H), 8.21(d, J=2.5Hz, 1H), 7.07-7.40(m, 2H), 4.88(d, J=11.6Hz, 1H), 4.31(d, J=11.6Hz, 1H), 1.98(s, 3H)。LC-MS:m/z 448[M+H]⁺。

[1602] 方法R2



[1604] 实例66: (R)-2-氯-N-(5-甲氧基-2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

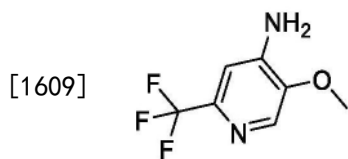
[1605] 步骤1: 5-溴-2-(三氟甲基)吡啶-4-胺



[1607] 在0 $^{\circ}$ C下,向2-(三氟甲基)吡啶-4-胺(3.0g, 18.5mmol)于二氯甲烷(50mL)中的溶液中逐滴加入溴(3.0g, 18.5mmol)于二氯甲烷(50mL)中的溶液。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌24小时。有机溶液用饱和NH₄Cl水溶液(100mL)、水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈黄色固体的5-溴-2-(三氟甲基)吡啶-4-胺(4.0g, 81%产率)。¹H NMR

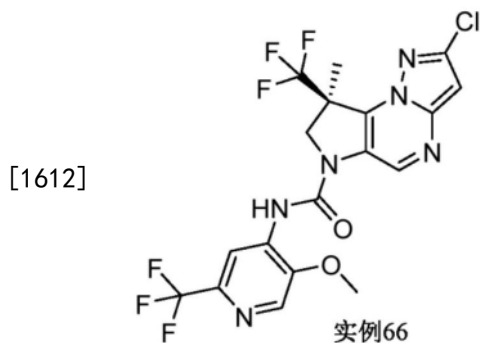
(400MHz, DMSO- d_6) δ : 8.40 (s, 1H), 7.10 (s, 1H), 6.88 (s, 2H)。LC-MS: m/z 241 [M+H]⁺。

[1608] 步骤2: 5-甲氧基-2-(三氟甲基)吡啶-4-胺



[1610] 在氮气气氛下, 向5-溴-2-(三氟甲基)吡啶-4-胺 (200mg, 829.8 μ mol) 于甲醇 (5mL) 中的混合物中加入溴化铜(I) (71.4mg, 497.9 μ mol)、Cs₂CO₃ (541mg, 1.7mmol) 和1,10-菲咯啉 (45mg, 248.9 μ mol)。将所得混合物在100 $^{\circ}$ C下搅拌16小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈粉色固体的5-甲氧基-2-(三氟甲基)吡啶-4-胺 (60mg, 37%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 7.99 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.20 (s, 2H), 3.90 (s, 3H)。LC-MS: m/z 193 [M+H]⁺。

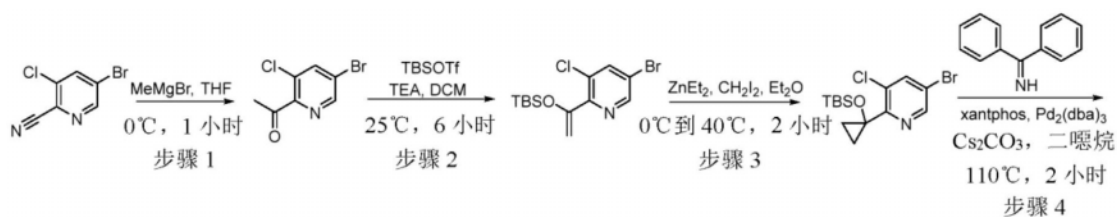
[1611] 步骤3: (R)-2-氯-N-(5-甲氧基-2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



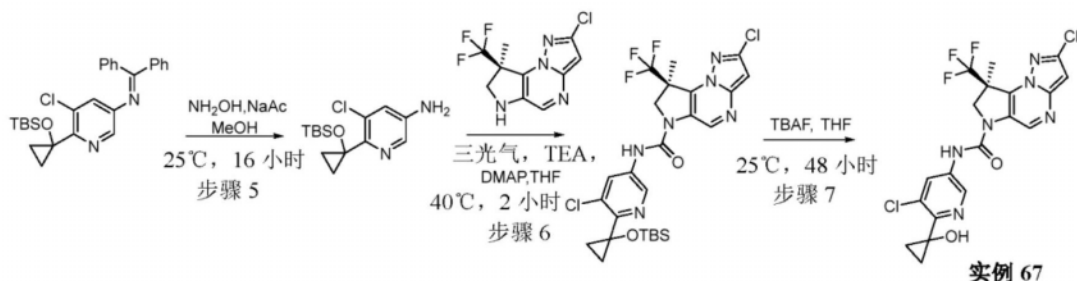
[1613] 向方法M1异构体2 (20mg, 72.3 μ mol) 于四氢呋喃 (2mL) 中的搅拌溶液中加入三光气 (13mg, 43.4 μ mol) 和TEA (11mg, 108.4 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时, 然后过滤。将滤液加入到5-甲氧基-2-(三氟甲基)吡啶-4-胺 (25mg, 130.1 μ mol) 于四氢呋喃 (1mL) 中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺 (18mg, 144.6 μ mol) 和TEA (73mg, 723.0 μ mol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化, 并将收集的级分冻干, 以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-甲氧基-2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (20.4mg, 57%产率)。实例66的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1614] 实例66: ¹H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.31 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 4.96 (d, J=11.2Hz, 1H), 4.32 (d, J=11.6Hz, 1H), 4.09 (s, 3H), 1.96 (s, 3H)。LC-MS: m/z 495 [M+H]⁺。

[1615] 方法S2

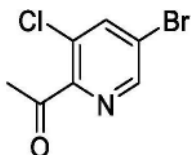


[1616]



[1617] 实例67: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(1-羟基环丙基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

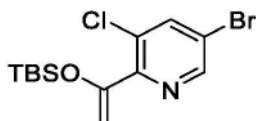
[1618] 步骤1: 1-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)乙-1-酮



[1619]

[1620] 在0°C下,向5-溴-3-氯-吡啶-2-甲腈(15.0g,68.9mmol)于四氢呋喃(150mL)中的搅拌溶液中逐滴加入甲基溴化镁(34.8mL,308.4mmol,1M,于四氢呋喃中)。将混合物在0°C下搅拌1小时。通在0°C下加入饱和NH₄Cl水溶液(200mL)来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯(3x200mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的1-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)乙-1-酮(6g,37%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ8.59(d,J=2.0Hz,1H),7.97(d,J=2.0Hz,1H),2.66(s,3H)。LC-MS:m/z 234[M+H]⁺。

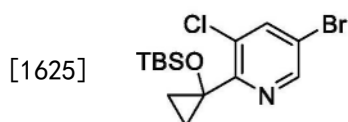
[1621] 步骤2: 5-溴-2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙烯基)-3-氯吡啶



[1622]

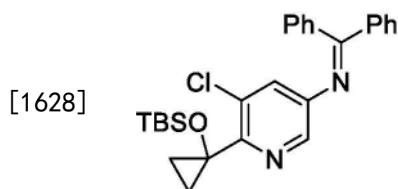
[1623] 向1-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)乙-1-酮(2.0g,8.4mmol)于二氯甲烷(100mL)中的搅拌溶液中加入TEA(2.5g,25.3mmol)和二甲基甲硅烷基三氟甲磺酸叔丁酯(2.9g,10.9mmol)。将混合物在25°C下搅拌6小时。将所得混合物用水(100mL)稀释。用二氯甲烷(3x200mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的5-溴-2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙烯基)-3-氯吡啶(2.5g,84%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d) δ8.52(d,J=2.1Hz,1H),7.87(d,J=2.1Hz,1H),4.82(d,J=1.8Hz,1H),4.77(d,J=1.8Hz,1H),0.92(s,9H),0.17(s,6H)。LC-MS:m/z 348[M+H]⁺。

[1624] 步骤3: 5-溴-2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丙基)-3-氯吡啶



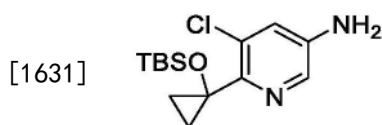
[1626] 在1小时内向5-溴-2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙烯基)-3-氯吡啶(1.0g, 2.8mmol)和二乙基锌(8.5mL, 8.6mmol, 1M, 于己烷中)于二乙醚(16mL)中的搅拌溶液中逐滴加入二碘甲烷(2.4g, 8.9mmol)于二乙醚(16mL, 在0°C下)中的溶液。将混合物在40°C下搅拌2小时。通过加入甲醇(50mL)来淬灭反应。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的5-溴-2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丙基)-3-氯吡啶(280mg, 27%产率)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ8.47(d, J=2.0Hz, 1H), 7.89(d, J=2.0Hz, 1H), 1.11-1.14(m, 4H), 0.78(s, 9H), 0.10(s, 6H)。LC-MS:m/z 362[M+H]⁺。

[1627] 步骤4:N-(6-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丙基)-5-氯吡啶-3-基)-1,1-二苯基甲亚胺



[1629] 在氮气气氛下,向5-溴-2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丙基)-3-氯吡啶(300mg, 826.9μmol)和二苯基甲亚胺(80mg, 992.3μmol)于二噁烷(4mL)中的搅拌溶液加入Xantphos(143mg, 248.0μmol)、Pd₂(dba)₃(95mg, 165.4μmol)和Cs₂CO₃(808mg, 2.4mmol)。将所得混合物在110°C下搅拌2小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的N-(6-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丙基)-5-氯吡啶-3-基)-1,1-二苯基甲亚胺(170mg, 44%产率)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ7.72-7.83(m, 4H), 7.38-7.54(m, 5H), 7.06-7.14(m, 3H), 1.01-1.07(m, 4H), 0.77(s, 9H), 0.21(s, 6H)。LC-MS:m/z 463[M+H]⁺。

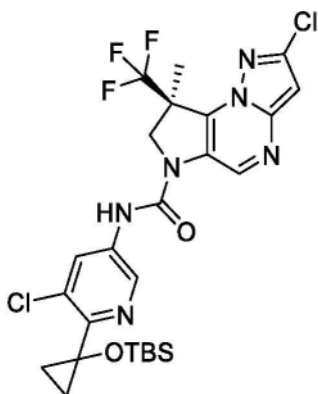
[1630] 步骤5:6-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丙基)-5-氯吡啶-3-胺



[1632] 将N-(6-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丙基)-5-氯吡啶-3-基)-1,1-二苯基甲亚胺(200mg, 431.8μmol)、盐酸羟胺(60mg, 863.4μmol)、乙酸钠(141mg, 1.7mmol)和甲醇(10mL)放入50mL圆底烧瓶中。将混合物在25°C下搅拌16小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的6-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丙基)-5-氯吡啶-3-胺(70mg, 54%产率)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ7.92(s, 1H), 7.04(s, 1H), 3.87(s, 2H), 1.03-1.11(m, 4H), 0.78(s, 9H), 0.10(s, 6H)。LC-MS:m/z 299[M+H]⁺。

[1633] 步骤6:(R)-N-(6-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丙基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

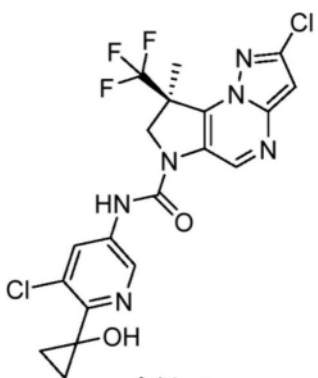
[1634]



[1635] 在0℃下,向方法M1异构体2(17mg,61.4 μ mol)于四氢呋喃(4mL)中的搅拌溶液中加入三光气(10mg,36.8 μ mol)和TEA(9mg,92.1 μ mol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到6-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丙基)-5-氯吡啶-3-胺(18mg,61.4 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(15mg,122.9 μ mol)和TEA(62mg,614.5 μ mol)。将混合物在40℃下搅拌2小时。将混合物倒入水(10mL)中,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈黄色油状物的(R)-N-(6-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丙基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(16mg,43%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 9.37(s,1H),9.32(s,1H),8.59(d,J=2.4Hz,1H),8.17(d,J=2.4Hz,1H),7.04(s,1H),4.79(d,J=11.6Hz,1H),4.24(d,J=11.6Hz,1H),1.94(s,3H),1.00-1.06(m,2H),0.80-0.86(m,2H),0.74(s,9H),0.15(s,6H)。LC-MS:m/z 601[M+H]⁺

[1636] 步骤7:(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(1-羟基环丙基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1637]



[1638] 在25℃下,向(R)-N-(6-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丙基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(10mg,16.6 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的搅拌溶液中加入TBAF(166 μ L,166 μ mol,1M,于四氢呋喃中)。在25℃下搅拌所得混合物48小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到粗产物(20mg)。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(1-羟基环丙基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-

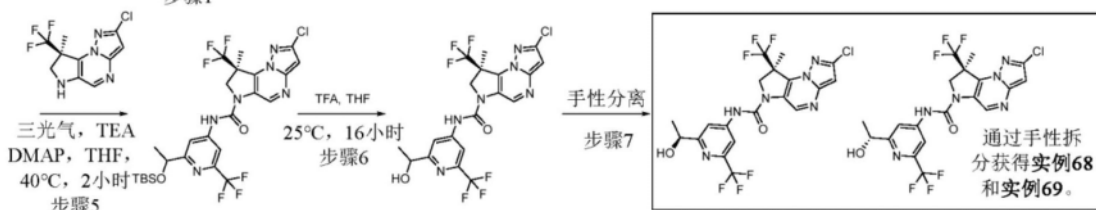
e]嘧啶-6-甲酰胺 (1.9mg, 23% 产率)。实例67的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1639] 实例67: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 9.37 (s, 1H), 9.33 (s, 1H), 8.58 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 8.15 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.06 (s, 1H), 5.95 (s, 1H), 4.81 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 4.25 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 1.97 (s, 3H), 0.96-1.02 (m, 4H)。LC-MS: m/z 487 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[1640] 方法T2

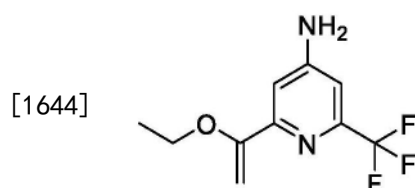


[1641]



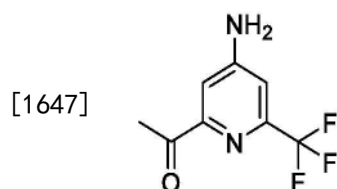
[1642] 实例68和69:由含有(R)-2-氯-N-(2-((S)-1-羟乙基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(2-((R)-1-羟乙基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[1643] 步骤1: 2-(1-乙氧基乙烯基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-胺



[1645] 在氮气气氛下,向2-氯-6-(三氟甲基)吡啶-4-胺(1g, 5.1mmol)于二噁烷(10mL)中的混合物中加入三丁基(1-乙氧基乙烯基)锡烷(2.2g, 6.1mmol)、CsF(1.7g, 11.2mmol)和Pd(PPh_3) $_2\text{Cl}_2$ (178mg, 254.4 μmol)。将所得混合物在100°C下搅拌7小时。将反应混合物用水(100mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2-(1-乙氧基乙烯基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-胺(0.8g, 68%产率)。LC-MS: m/z 233 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

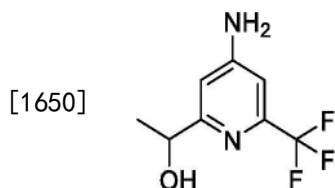
[1646] 步骤2: 1-(4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)乙-1-酮



[1648] 在0°C下,向2-(1-乙氧基乙烯基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-胺(700mg, 3.0mmol)于四氢呋喃(15mL)中的溶液中加入HCl(aq)(7.5mL, 1M)。将反应混合物在25°C下搅拌1小时。将pH用饱和 NaHCO_3 水溶液调整到7。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机溶液用

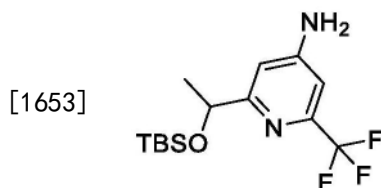
盐水(150mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈黄色固体的1-(4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)乙-1-酮(600mg,92%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ :7.37(d,J=2.4Hz,1H),7.02(d,J=2.4Hz,1H),4.60(s,2H),2.70(s,3H)。LC-MS:m/z 205[M+H]⁺。

[1649] 步骤3:1-(4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)乙-1-醇



[1651] 在0℃下,向1-(4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)乙-1-酮(600mg,2.9mmol)于甲醇(10mL)中的溶液中加入四氢硼酸钠(133mg,3.5mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩。加入水(10mL),并用乙酸乙酯(3x20mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的1-(4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)乙-1-醇(450mg,74%产率)。¹H NMR(300MHz,甲醇-d₄) δ :6.87(d,J=2.1Hz,1H),6.80(d,J=2.1Hz,1H),4.71(q,J=6.6Hz,1H),1.40(d,J=6.6Hz,3H)。LC-MS:m/z 207[M+H]⁺。

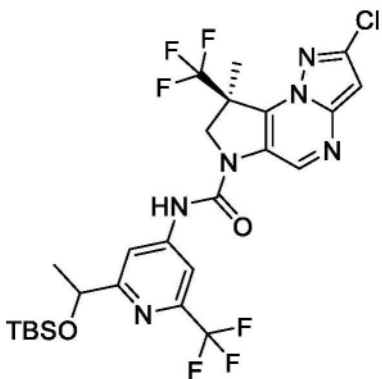
[1652] 步骤4:2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-胺



[1654] 向1-(4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)乙-1-醇(450mg,2.2mmol)于四氢呋喃(10mL)中的溶液中加入咪唑(446mg,6.5mmol)和叔丁基氯二甲基硅烷(395mg,2.6mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌18小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈灰白色固体的2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-胺(500mg,71%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :6.80(d,J=2.0Hz,1H),6.75(d,J=2.4Hz,1H),6.58(s,2H),4.71(q,J=6.4Hz,1H),1.31(d,J=6.4Hz,3H),0.89(s,9H),0.06(s,3H),0.02(s,3H)。LC-MS:m/z 321[M+H]⁺。

[1655] 步骤5:(8R)-N-(2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

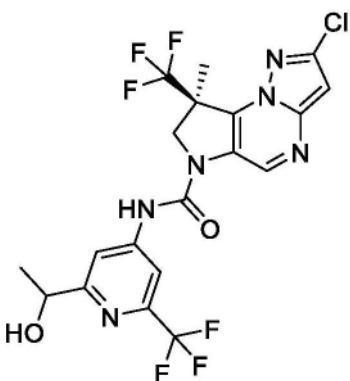
[1656]



[1657] 向2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-胺(139mg, 433.8 μmol)于四氢呋喃(10mL)中的搅拌溶液中加入三光气(64mg, 216.9 μmol)和TEA(55mg, 542.2 μmol)。将所得混合物在40 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌2小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(100mg, 361.5 μmol)于四氢呋喃(5mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(88mg, 722.9 μmol)和TEA(366mg, 3.6mmol)。将混合物在40 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(8R)-N-(2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(145mg, 64%产率)。LC-MS:m/z 623[M+H]⁺。

[1658] 步骤6:(8R)-2-氯-N-(2-(1-羟乙基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

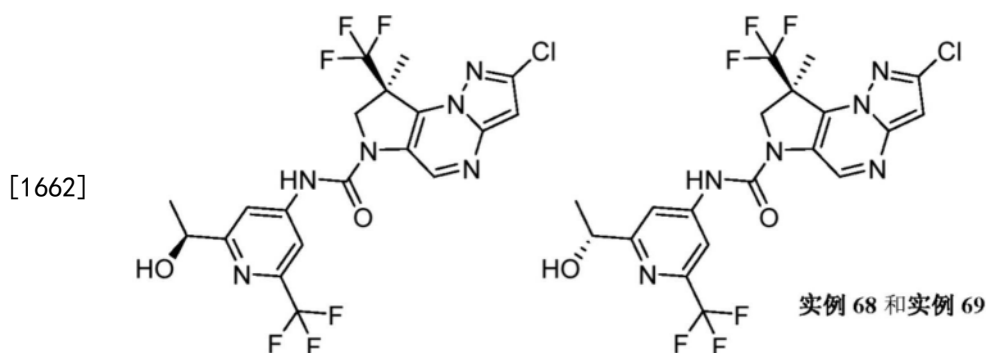
[1659]



[1660] 向(8R)-N-(2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(140mg, 222.4 μmol)于四氢呋喃(2.0mL)中的混合物中加入TFA(2.0mL)。将所得混合物在25 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌16小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(8R)-2-氯-N-(2-(1-羟乙基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(80mg, 71%产率)。¹H NMR(400MHz, 甲醇-d₄) δ : 9.37(s, 1H), 8.04-7.99(m, 2H), 6.78-6.77(m, 1H), 4.90-4.82(m, 2H), 4.21(d, J=11.6Hz, 1H), 2.03(s, 3H), 1.48(d, J=6.8Hz, 3H)。LC-MS:m/z 509[M+H]⁺。

[1661] 步骤7:分离对映异构体以获得(R)-2-氯-N-(2-((S)-1-羟乙基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲

酰胺和(R)-2-氯-N-(2-((R)-1-羟乙基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

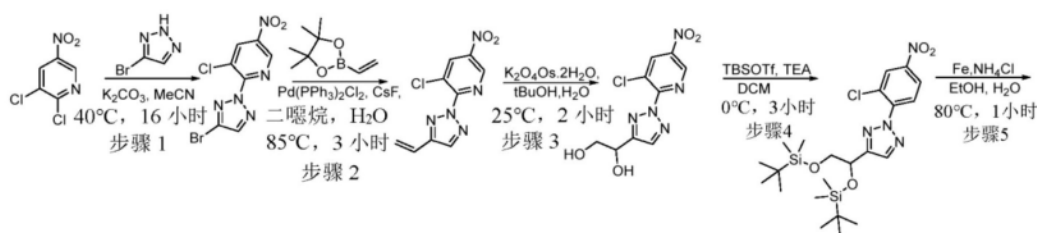


[1663] 对80mg (8R)-2-氯-N-(2-(1-羟乙基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺进行手性HPLC纯化(色谱柱:CHIRALCEL OD-H, 2*25mm, 5 μ m; 流动相A:Hex (0.3% IPA) --HPLC, 流动相B:IPA--HPLC; 流速:20毫升/分钟; 梯度:在29分钟内, 10B到10B; 220/254nm; RT1:18.215; RT2:22.902; 注射体积:0.3ml; 运行次数:15)。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干, 以得到呈白色固体的实例68 (14.4mg, 18%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干, 以得到呈白色固体的实例69 (13.5mg, 17%产率)。实例68和69的对映异构体可以使用步骤5中方法M1异构体1类似地制备。

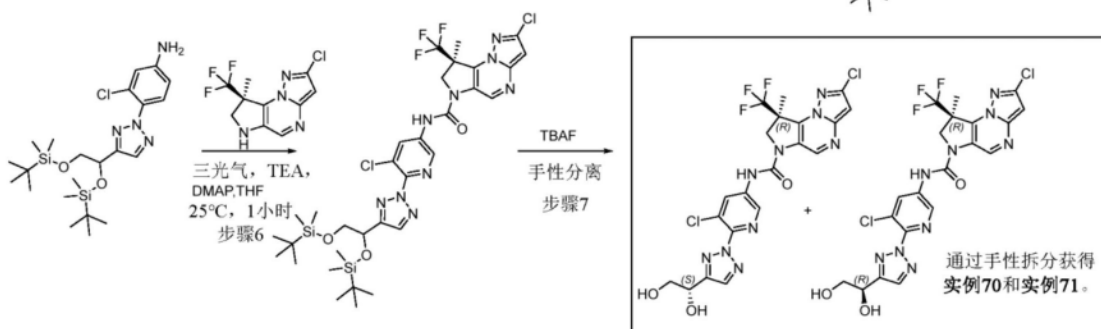
[1664] 实例68: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 9.73 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.05 (d, J=1.6Hz, 1H), 8.01 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 5.65 (d, J=4.0Hz, 1H), 4.90 (d, J=11.6Hz, 1H), 4.74-4.76 (m, 1H), 4.28 (d, J=11.6Hz, 1H), 1.96 (s, 3H), 1.37 (d, J=6.4Hz, 3H)。LC-MS: m/z 509 [M+H] $^+$ 。

[1665] 实例69: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 9.74 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.04 (d, J=2.0Hz, 1H), 8.01 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 5.65 (d, J=4.2Hz, 1H), 4.89 (d, J=11.6Hz, 1H), 4.72-4.76 (m, 1H), 4.28 (d, J=11.6Hz, 1H), 1.97 (s, 3H), 1.37 (d, J=6.8Hz, 3H)。LC-MS: m/z 509 [M+H] $^+$ 。

[1666] 方法U2

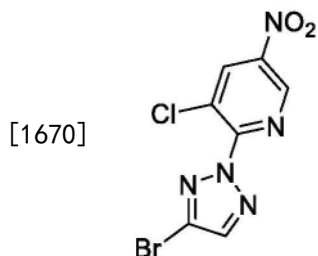


[1667]



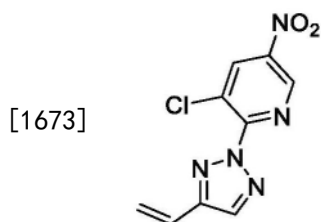
[1668] 实例70和71:由含有(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-((S)-1,2-二羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]吡啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-((R)-1,2-二羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]吡啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[1669] 步骤1:2-(4-溴-2H-1,2,3-三唑-2-基)-3-氯-5-硝基吡啶



[1671] 向2,3-二氯-5-硝基吡啶(5g,25.9mmol)于乙腈(100mL)中的搅拌溶液中加入4-溴-2H-1,2,3-三唑(4.2g,28.5mmol)和 K_2CO_3 (7.2g,51.8mmol)。将所得混合物在40℃下搅拌16小时。将反应混合物过滤,并用乙酸乙酯(3x50mL)洗涤。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用83%石油醚和17%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-(4-溴-2H-1,2,3-三唑-2-基)-3-氯-5-硝基吡啶(3.6g,62%产率)。 1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ 9.39(d,J=3Hz,1H),9.16(d,J=3Hz,1H),8.55(s,1H);LC-MS:m/z 304[M+H] $^+$

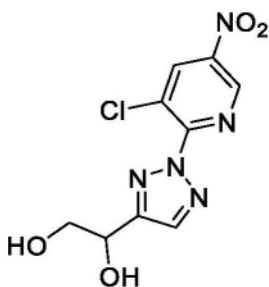
[1672] 步骤2:3-氯-5-硝基-2-(4-乙烯基-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶



[1674] 在氮气气氛下,向2-(4-溴-2H-1,2,3-三唑-2-基)-3-氯-5-硝基吡啶(3.0g,9.9mmol)于二噁烷(60mL)和水(6mL)中的溶液中加入 CsF (4.5g,29.7mmol)、4,4,5,5-四甲基-2-乙烯基-1,3,2-二氧硼烷(2.3g,14.9mmol)、 $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (0.7g,1.0mmol)。将所得混合物在85℃下搅拌3小时。将反应混合物用水(200mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用83%石油醚和17%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的3-氯-5-硝基-2-(4-乙烯基-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶(690mg,28%产率)。 1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 9.39(d,J=4Hz,1H),9.11(d,J=4Hz,1H),8.56(s,1H),6.83-7.39(m,1H),6.13-6.18(m,1H),5.63-5.74(m,1H);LC-MS:m/z 252[M+H] $^+$ 。

[1675] 步骤3:1-(2-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙烷-1,2-二醇

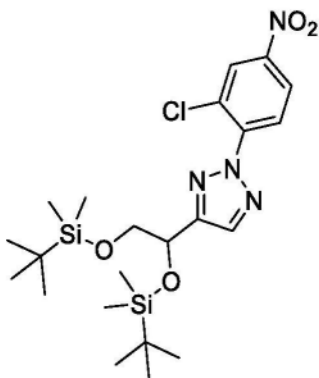
[1676]



[1677] 向3-氯-5-硝基-2-(4-乙烯基-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶(690mg, 2.7mmol)于叔丁醇(12mL)和水(3mL)中的溶液中加入 $K_2O_4 \cdot 0.5 \cdot 2H_2O$ (354mg, 1mmol)和4-甲基吗啉4-氧化物(632mg, 5.4mmol)。将反应溶液在25℃下搅拌2小时。将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%甲醇和20%二氯甲烷作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈灰白色固体的1-(2-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙烷-1,2-二醇(500mg, 61%)。 1H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ 9.38(d, J=3Hz, 1H), 9.11(d, J=3Hz, 1H), 8.2(s, 1H), 5.71-5.73(m, 1H), 4.80-4.95(m, 2H), 3.61-3.69(m, 2H); LC-MS: m/z 286[M+H] $^+$ 。

[1678] 步骤4: 3-氯-5-硝基-2-(4-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶

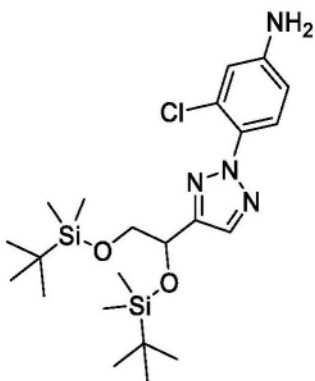
[1679]



[1680] 在0℃下,向1-(2-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙烷-1,2-二醇(500mg, 1.8mmol)于二氯甲烷(34mL)中的溶液中加入二甲基甲硅烷基三氟甲磺酸叔丁酯(2.1g, 8.1mmol)和DIEA(1.6g, 12.3mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌3小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用水(50mL)稀释,然后用乙酸乙酯(3x50mL)萃取。将合并的有机层用饱和 $NaHCO_3$ 水溶液(50mL)洗涤。将所得溶液经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩。将残留物通过使用83%石油醚和17%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的3-氯-5-硝基-2-(4-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶(700mg, 79%产率)。LC-MS: m/z 513[M+H] $^+$ 。

[1681] 步骤5: 5-氯-6-(4-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺

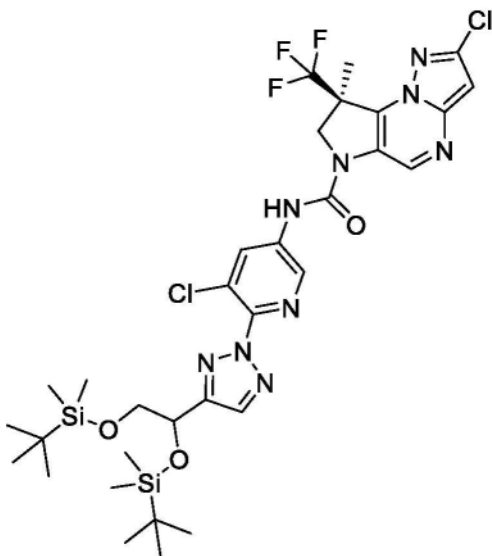
[1682]



[1683] 向3-氯-5-硝基-2-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)吡啶(200mg,390.0 μ mol)于乙醇(9mL)和水(3mL)中的溶液中加入Fe(108mg,2.0mmol)和NH₄Cl(83mg,1.6mmol)。将所得混合物在80℃下搅拌1小时。通过加入水(50mL)来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的5-氯-6-(4-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(120mg,64%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ 7.91(s,1H),7.82(d,J=3Hz,1H),7.19(d,J=3Hz,1H),6.17(s,1H),4.95-4.98(m,1H),3.77-3.79(m,2H),0.85(s,18H),0.08(s,12H);LC-MS:m/z 483[M+H]⁺。

[1684] 步骤6:(8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]吡啶-6-甲酰胺

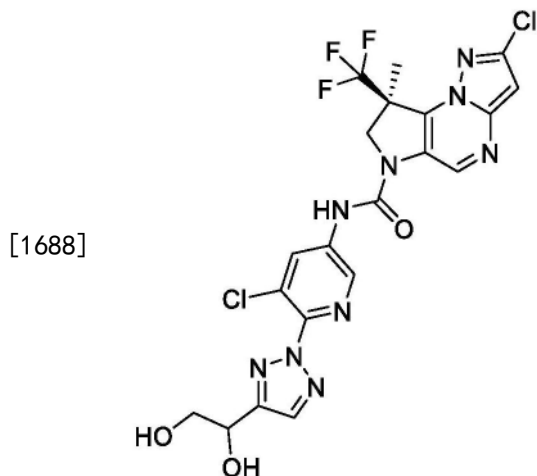
[1685]



[1686] 在25℃下,向5-氯-6-(4-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(53mg,109.7 μ mol)于四氢呋喃(4mL)中的混合物中加入三光气(13mg,43.5 μ mol)和TEA(11mg,180.7 μ mol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(20mg,72.5 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(121mg,725 μ mol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(18mg,144.9 μ mol)。将反应混合物在40℃下搅拌1小时。将残留物用水(50mL)稀释,然后用乙酸乙酯(3x50mL)萃

取。将合并的有机层用盐水 (50mL) 洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈灰白色固体的 (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]吡啶-6-甲酰胺 (40mg,70%产率)。LC-MS:m/z 786[M+H]⁺。

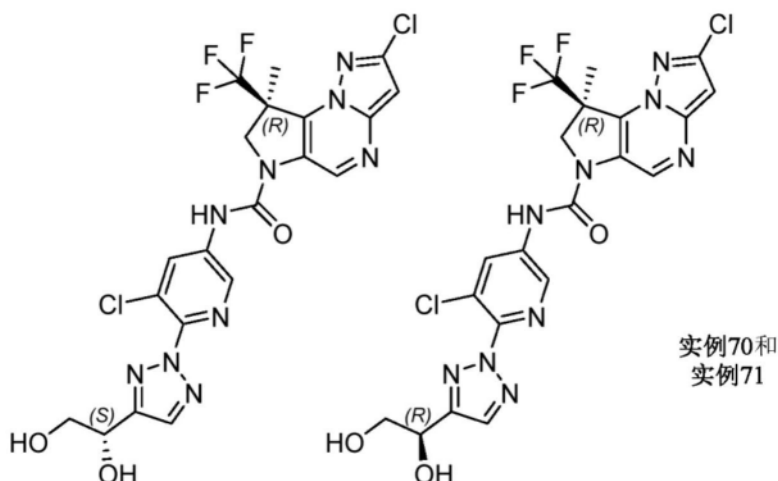
[1687] 步骤7: (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(1,2-二羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]吡啶-6-甲酰胺



[1689] 在25℃下,向 (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(2,2,3,3,8,8,9,9-八甲基-4,7-二氧杂-3,8-二硅十六烷-5-基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]吡啶-6-甲酰胺 (40mg,51.0μmol) 于四氢呋喃 (5mL) 中的溶液中加入TBAF (0.5mL,510μmol,1M,于四氢呋喃中)。将所得混合物在25℃下搅拌4小时。将反应混合物在减压下浓缩。将残留物用水 (50mL) 稀释。用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层用饱和NH₄Cl水溶液 (3x50mL) 洗涤。将所得溶液经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩。将残留物通过制备型TLC用乙酸乙酯纯化,以得到30mg粗产物 (90%纯度)。对粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的 (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(1,2-二羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]吡啶-6-甲酰胺 (20mg,71%产率)。LC-MS:m/z 558[M+H]⁺

[1690] 步骤8:分离对映异构体以获得 (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-((S)-1,2-二羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]吡啶-6-甲酰胺和 (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-((R)-1,2-二羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]吡啶-6-甲酰胺。

[1691]

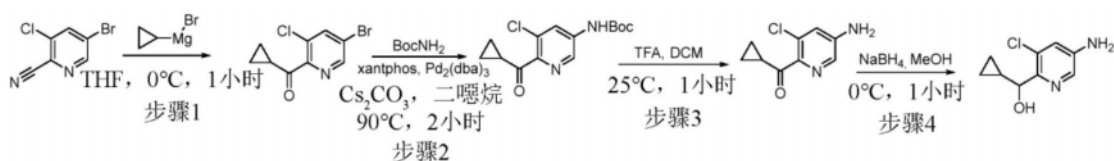


[1692] 对20mg (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(1,2-二羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]吡啶-6-甲酰胺进行手性HPLC纯化(色谱柱:CHIRAL ART Cellulose-SB, 2*25cm, 5 μ m; 流动相A:Hex (0.5% 2M NH₃-MeOH) --HPLC, 流动相B:EtOH--HPLC; 流速:20毫升/分钟; 梯度:在30分钟内, 30B到30B; 220/254nm; RT1:20.983; RT2:25.151; 注射体积:0.7ml; 运行次数:4)。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干, 以得到呈白色固体的实例70 (4.3mg, 10%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干, 以得到呈白色固体的实例71 (5mg, 10%产率)。实例70和71的对映异构体可以使用步骤6中方法M1异构体1类似地制备。

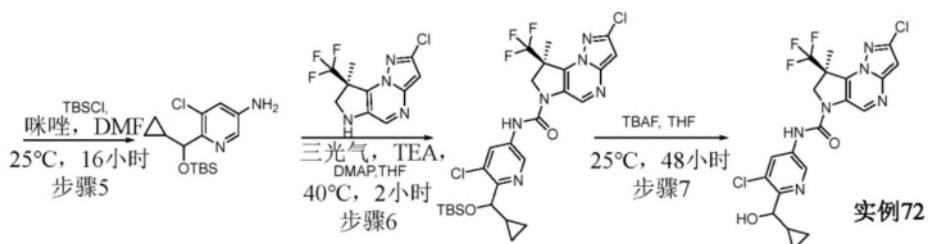
[1693] 实例70: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.66 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.73 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.49 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 5.59 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.83-4.89 (m, 2H), 4.77-4.78 (m, 1H), 4.30 (d, J=12Hz, 1H), 3.61-3.67 (m, 2H), 1.98 (s, 3H); LC-MS: m/z 558 [M+H]⁺。

[1694] 实例71: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.66 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.73 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.49 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 5.59 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.83-4.89 (m, 2H), 4.77-4.78 (m, 1H), 4.30 (d, J=12Hz, 1H), 3.63-3.67 (m, 2H), 1.98 (s, 3H); LC-MS: m/z 558 [M+H]⁺。

[1695] 方法V2



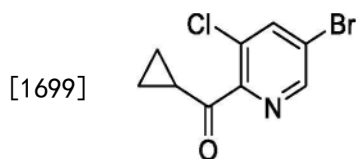
[1696]



[1697] 实例72: (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(环丙基(羟基)甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三

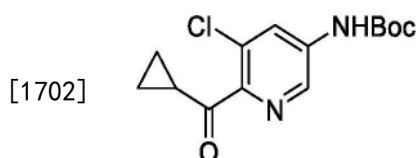
氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1698] 步骤1: (5-溴-3-氯吡啶-2-基) (环丙基) 甲酮



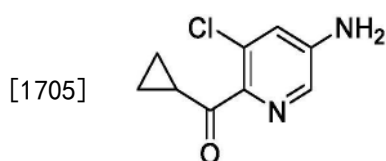
[1700] 在0℃下,向5-溴-3-氯吡啶甲腈(2.0g,9.2mmol)于四氢呋喃(20mL)中的搅拌溶液中逐滴加入环丙基溴化镁(2.5g,18.4mmol)。将混合物在0℃下搅拌1小时。通在0℃下加入饱和NH₄Cl水溶液(40mL)来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的(5-溴-3-氯吡啶-2-基) (环丙基) 甲酮(1.7g,68%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ8.63(d,J=2.0Hz,1H),7.98(d,J=2.0Hz,1H),2.88-2.97(m,1H),1.22-1.34(m,2H),1.06-1.19(m,2H)。LC-MS:m/z 260,262[M+H]⁺。

[1701] 步骤2: (5-氯-6-(环丙烷羰基)吡啶-3-基) 氨基甲酸叔丁酯



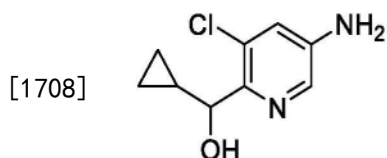
[1703] 在氮气气氛下,向(5-溴-3-氯吡啶-2-基) (环丙基) 甲酮(1.4g,5.3mmol)和氨基甲酸叔丁酯(944mg,8.0mmol)于二噁烷(30mL)中的搅拌溶液中加入Xantphos(932mg,1.6mmol)、Pd₂(dba)₃(618mg,1.1mmol)和Cs₂CO₃(5.2g,16.1mmol)。将所得混合物在90℃下搅拌2小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的(5-氯-6-(环丙烷羰基)吡啶-3-基) 氨基甲酸叔丁酯(1g,62%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ8.40(d,J=2.4Hz,1H),8.21(d,J=2.4Hz,1H),3.00-3.10(m,1H),1.52(s,9H),1.22-1.27(m,2H),1.02-1.09(m,2H)。LC-MS:m/z 297[M+H]⁺。

[1704] 步骤3: (5-氨基-3-氯吡啶-2-基) (环丙基) 甲酮



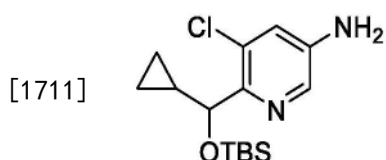
[1706] 向(5-氯-6-(环丙烷羰基)吡啶-3-基) 氨基甲酸叔丁酯(400mg,1.3mmol)于二氯甲烷(20mL)中的搅拌溶液中加入TFA(4mL)。将混合物在25℃下搅拌1小时。将所得混合物在真空下浓缩。向残留物中加入饱和NaHCO₃水溶液(40mL)。用乙酸乙酯(3x40mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的(5-氨基-3-氯吡啶-2-基) (环丙基) 甲酮(170mg,64%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d) δ8.02(d,J=2.4Hz,1H),7.00(d,J=2.4Hz,1H),3.53-4.26(m,2H),3.04-3.26(m,1H),1.16-1.26(m,2H),0.96-1.06(m,2H)。LC-MS:m/z 197[M+H]⁺。

[1707] 步骤4: (5-氨基-3-氯吡啶-2-基) (环丙基) 甲醇



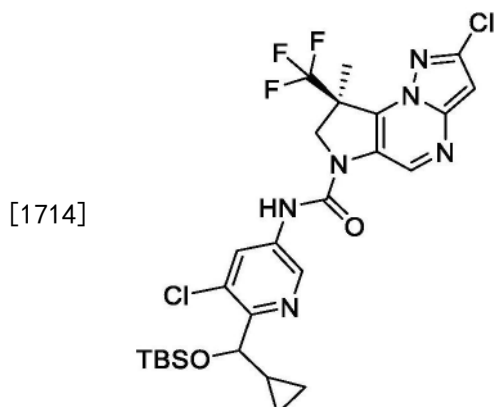
[1709] 在氮气气氛下在0℃下,向(5-氨基-3-氯吡啶-2-基) (环丙基) 甲酮(210mg, 1.1mmol)于甲醇(4mL)中的搅拌溶液中加入四氢硼酸钠(48mg, 1.3mmol)。将混合物在0℃下搅拌1小时。将反应混合物用水/冰(10mL)淬灭。将所得混合物在减压下浓缩。用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(5-氨基-3-氯吡啶-2-基) (环丙基) 甲醇(140mg, 65%产率)。¹H NMR(400MHz, 甲醇-d₄) δ 7.91(d, J=2.4Hz, 1H), 7.05(d, J=2.4Hz, 1H), 4.38(d, J=8.0Hz, 1H), 1.30-1.44(m, 1H), 0.94-1.09(m, 1H), 0.27-0.64(m, 3H)。LC-MS:m/z 199[M+H]⁺。

[1710] 步骤5: 6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基) (环丙基) 甲基) -5-氯吡啶-3-胺



[1712] 在0℃下,向(5-氨基-3-氯吡啶-2-基) (环丙基) 甲醇(130mg, 654.4μmol)于N,N-二甲基甲酰胺(5mL)中的溶液中加入二甲基甲硅烷基三氟甲磺酸叔丁酯(542mg, 3.6mmol)和咪唑(300mg, 4.4mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌16小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用水(50mL)稀释。然后用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用饱和NaHCO₃水溶液(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基) (环丙基) 甲基) -5-氯吡啶-3-胺(40mg, 19%产率)。LC-MS:m/z 313[M+H]⁺

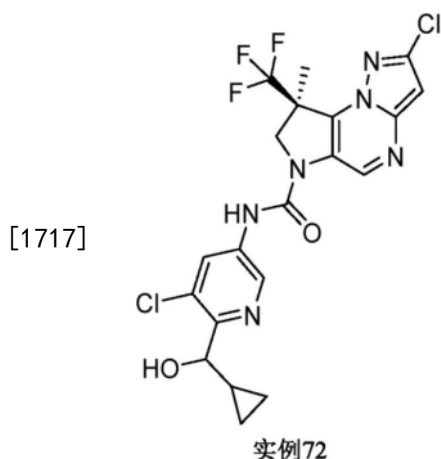
[1713] 步骤6: (8R) -N-(6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基) (环丙基) 甲基) -5-氯吡啶-3-基) -2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基) -7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1715] 在0℃下,向方法M1异构体2(28mg, 101.2μmol)于四氢呋喃(4mL)中的搅拌溶液中加入三光气(18mg, 60.7μmol)和TEA(11mg, 107.7μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小

时,然后过滤。将滤液加入到6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)(环丙基)甲基)-5-氯吡啶-3-胺(38mg,121.1 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(24mg,202.3 μ mol)和TEA(102mg,1.0mmol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将混合物倒入水(10mL)中,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈白色固体的(8R)-N-(6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)(环丙基)甲基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(20mg,32%产率)。LC-MS:m/z 615[M+H]⁺。

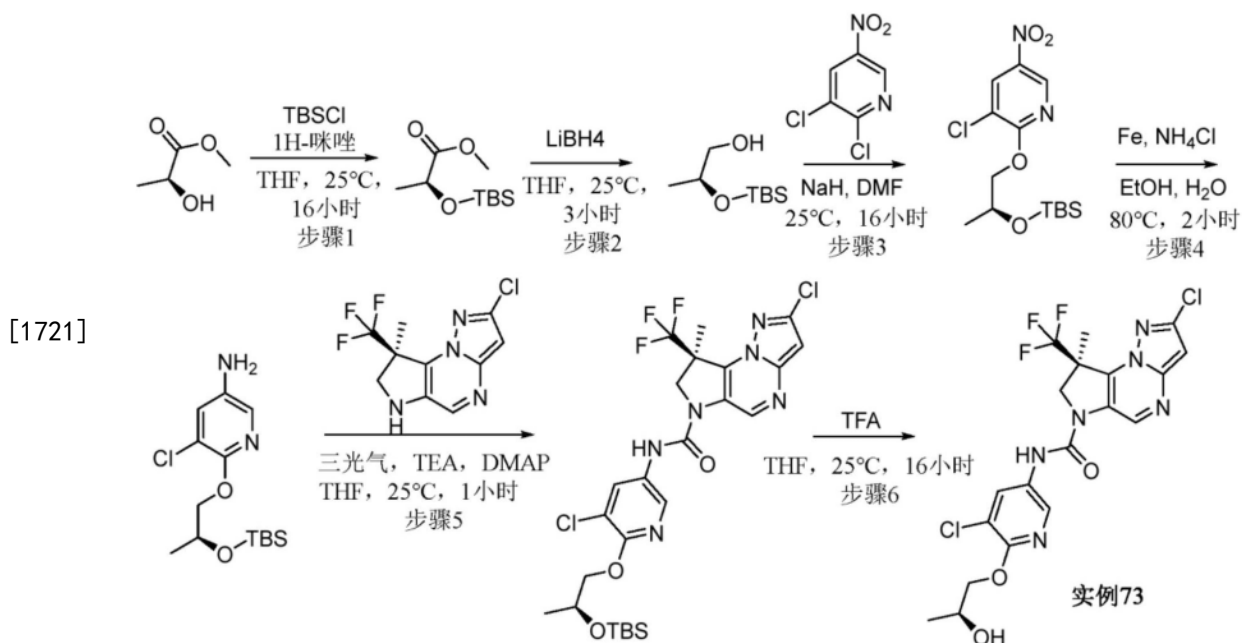
[1716] 步骤7:(8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(环丙基(羟基)甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1718] 在25 $^{\circ}$ C下,向(8R)-N-(6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)(环丙基)甲基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(15mg,24.3 μ mol)于四氢呋喃(4mL)中的搅拌溶液中加入TBAF(244 μ L,244 μ mol,1M,于四氢呋喃中)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌48小时。将所得混合物在减压下浓缩。将残留物通过使用乙酸乙酯(100%)作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到10mg粗产物。将粗产物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(环丙基(羟基)甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(2.8mg,22%产率)。实例72的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

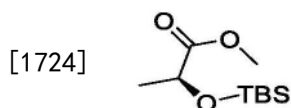
[1719] 实例72:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 9.38(s,1H),9.33(s,1H),8.69(t,J=2.0Hz,1H),8.14(t,J=2.0Hz,1H),7.06(s,1H),5.16(d,J=6.4Hz,1H),4.77-4.85(m,1H),4.20-4.35(m,2H),1.98(s,3H),1.31-1.44(m,1H),0.19-0.53(m,4H)。LC-MS:m/z 501[M+H]⁺

[1720] 方法W2



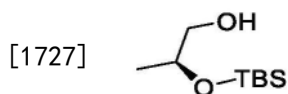
[1722] 实例73: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-((S)-2-羟基丙氧基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1723] 步骤1: (S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙酸甲酯



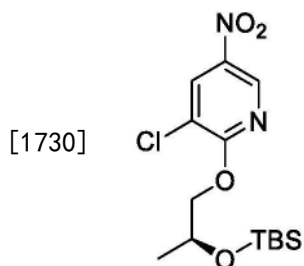
[1725] 在 0°C 下,向(S)-2-羟基丙酸甲酯(2.0g,19.2mmol)和咪唑(3.9g,57.6mmol)于四氢呋喃(50mL)中的搅拌溶液中加入叔丁基氯二甲基硅烷(3.5g,23.0mmol)。将反应混合物在 25°C 下搅拌16小时。将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(2x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈无色油状物的(S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙酸甲酯(4.0g,95%产率),其在不进行进一步纯化的情况下用于下一步骤。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz,氯仿-d) δ :4.34(q,J=6.8Hz,1H),3.72(s,3H),1.39(d,J=6.8Hz,3H),0.91(s,9H),0.11(s,3H),0.09(s,3H)。

[1726] 步骤2: (S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙-1-醇



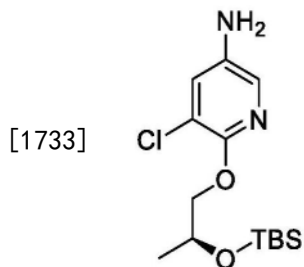
[1728] 在 0°C 下,向(S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙酸甲酯(2.0g,9.2mmol)于四氢呋喃(20mL)中的搅拌溶液中加入四氢硼酸锂(399mg,18.3mmol)。将所得混合物在 25°C 下搅拌3小时。将反应混合物用水(10mL)淬灭。用二氯甲烷(2x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙-1-醇(1.3g,44%产率)。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz,DMSO-d₆) δ :4.61(t,J=5.6Hz,1H),3.70-3.75(m,1H),3.28-3.35(m,1H),3.14-3.23(m,1H),1.09(d,J=6.4Hz,3H),0.90(s,9H),0.05(s,6H)。

[1729] 步骤3: (S)-2-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-3-氯-5-硝基吡啶



[1731] 在0℃下,向(S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙-1-醇(1.5g,7.9mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(20mL)中的搅拌溶液中加入NaH(473mg,11.8mmol,60%,于矿物油中)。将反应混合物在0℃下搅拌1小时。然后加入2,3-二氯-5-硝基吡啶(1.5g,7.9mmol),并将反应混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物用水(20mL)淬灭。用乙酸乙酯(2x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用95%石油醚和5%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(S)-2-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-3-氯-5-硝基吡啶(600mg,16%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ :8.93-8.96(m,1H),8.47-8.44(m,1H),4.44(dd,J=10.8,7.2Hz,1H),4.31(dd,J=10.8,4.4Hz,1H),4.21-4.25(m,1H),1.26(d,J=6.4Hz,3H),0.87(s,9H),0.06(s,3H),0.01(s,3H)。LC-MS:m/z 347[M+H]⁺。

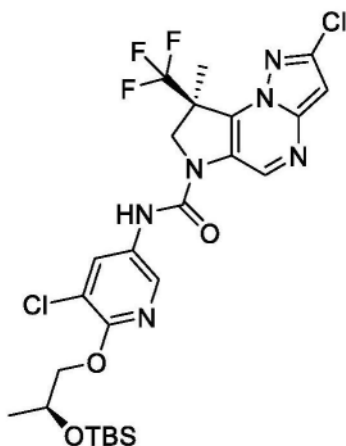
[1732] 步骤4:(S)-6-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-5-氯吡啶-3-胺



[1734] 向(S)-2-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-3-氯-5-硝基吡啶(580mg,1.6mmol)和NH₄Cl(179mg,3.3mmol)于乙醇(3mL)和水(3mL)中的搅拌混合物中加入Fe(467mg,8.4mmol)。将反应混合物在80℃下搅拌2小时。将所得混合物过滤,并用乙酸乙酯(2x50mL)萃取滤液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分浓缩,以得到呈黄色油状物的(S)-6-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-5-氯吡啶-3-胺(140mg,19%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 7.41(d,J=2.6Hz,1H),7.13(d,J=2.8Hz,1H),5.00(s,2H),3.96-4.16(m,3H),1.14(d,J=6.4Hz,3H),0.84(s,9H),0.05(s,3H),0.02(s,3H)。LC-MS:m/z 317[M+H]⁺。

[1735] 步骤5:(R)-N-(6-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

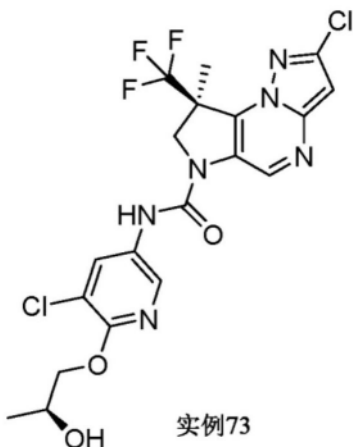
[1736]



[1737] 向(S)-6-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-5-氯吡啶-3-胺(110mg, 347 μ mol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中加入三光气(41mg, 139 μ mol)和TEA(35mg, 347 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(64mg, 231 μ mol)于四氢呋喃(5mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(57mg, 463 μ mol)和TEA(234mg, 2.3mmol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。通过加入甲醇(2mL)来淬灭反应混合物,并将混合物在真空下浓缩。将残留物用水(10mL)稀释。用乙酸乙酯(2x20mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的(R)-N-(6-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(80mg, 45%产率)。 ^1H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ : 9.39(s, 1H), 7.95-8.04(m, 2H), 6.75(s, 1H), 6.33(s, 1H), 4.54(d, J=10.0Hz, 1H), 4.11-4.36(m, 3H), 4.02(d, J=10.4Hz, 1H), 2.07(s, 3H), 1.25(d, J=6.0Hz, 3H), 0.89(s, 9H), 0.10(s, 3H), 0.08(s, 3H)。LC-MS:m/z 619[M+H] $^+$ 。

[1738] 步骤6: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-((S)-2-羟基丙氧基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1739]



[1740] 向(R)-N-(6-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(70mg, 113 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的搅拌溶液中加入TFA(0.5mL)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌16小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收

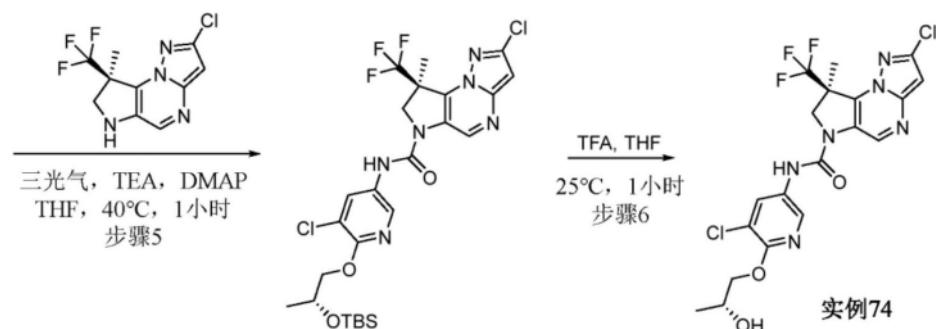
集的级分冻干,以得到呈灰白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-((S)-2-羟基丙氧基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(23.1mg,40%产率)。实例73的差向异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1741] 实例73:¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ :9.38(s,1H),8.04(d,J=2.4Hz,1H),7.99(d,J=2.4Hz,1H),6.75(s,1H),6.38(s,1H),4.53(d,J=10.4Hz,1H),4.38-4.42(m,1H),4.21-4.27(m,2H),4.02(d,J=10.4Hz,1H),2.07(s,3H),1.30(d,J=6.0Hz,3H)。LC-MS:m/z 505 [M+H]⁺。

[1742] 方法X2



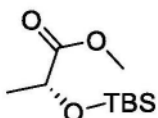
[1743]



[1744] 实例74:(R)-2-氯-N-(5-氯-6-((R)-2-羟基丙氧基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1745] 步骤1:(R)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙酸甲酯

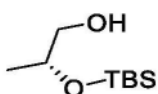
[1746]



[1747] 在0°C下,向(R)-2-羟基丙酸甲酯(5.0g,48.0mmol)和咪唑(9.8g,143.9mmol)于四氢呋喃(100mL)中的搅拌溶液中加入叔丁基氯二甲基硅烷(8.6g,57.1mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌16小时。将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(2x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈无色油状物的(R)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙酸甲酯(7.6g,65%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ :4.33(q,J=6.8Hz,1H),3.72(s,3H),1.40(d,J=6.8Hz,3H),0.90(s,9H),0.10(s,3H),0.07(s,3H)。

[1748] 步骤2:(R)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙-1-醇

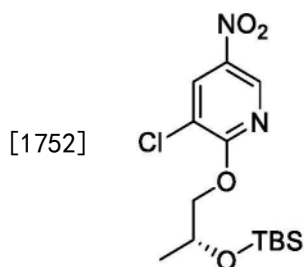
[1749]



[1750] 在0°C下,向(R)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙酸甲酯(5.0g,22.9mmol)于

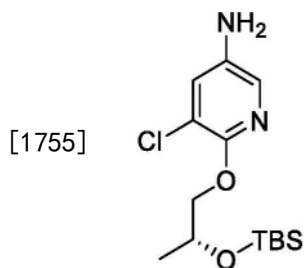
四氢呋喃 (30mL) 中的搅拌溶液中加入四氢硼酸锂 (1.0g, 45.9mmol)。将所得混合物在 25℃ 下搅拌 3 小时。将反应混合物用水 (20mL) 淬灭。用二氯甲烷 (3x20mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用 80% 石油醚和 20% 乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈黄色油状物的 (R)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙-1-醇 (2.5g, 57% 产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 4.60-4.57 (m, 1H), 3.75-3.79 (m, 1H), 3.31-3.35 (m, 1H), 3.15-3.21 (m, 1H), 1.09 (d, J=6.0Hz, 3H), 0.90 (s, 9H), 0.08 (s, 6H)。

[1751] 步骤3: (R)-2-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-3-氯-5-硝基吡啶



[1753] 在 0℃ 下, 向 (R)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙-1-醇 (1.0g, 5.2mmol) 于 N,N-二甲基甲酰胺 (10mL) 中的搅拌溶液中加入 NaH (231mg, 5.9mmol, 60%, 于矿物油中)。将反应混合物在 0℃ 下搅拌 1 小时。然后加入 2,3-二氯-5-硝基吡啶 (1.2g, 6.3mmol) 并将反应混合物在 25℃ 下搅拌 18 小时。将反应混合物用水 (20mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (2x50mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用 96% 石油醚和 4% 乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈黄色油状物的 (R)-2-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-3-氯-5-硝基吡啶 (0.8g, 35% 产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 9.03 (d, J=2.8Hz, 1H), 8.73 (d, J=2.4Hz, 1H), 4.36-4.39 (m, 2H), 4.20-4.25 (m, 1H), 1.18 (d, J=6.4Hz, 3H), 0.81 (s, 9H), 0.06 (s, 3H), 0.02 (s, 3H)。LC-MS: m/z 347 [M+H]⁺。

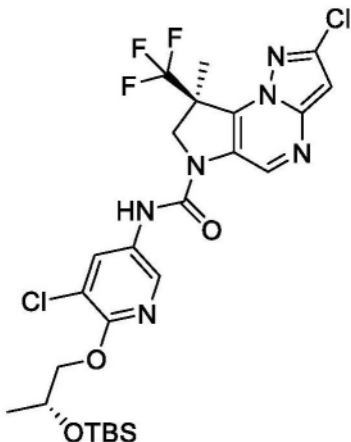
[1754] 步骤4: (R)-6-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-5-氯吡啶-3-胺



[1756] 向 (R)-2-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-3-氯-5-硝基吡啶 (400mg, 911.0μmol) 和 NH₄Cl (97mg, 1.8mmol) 于乙醇 (15mL) 和水 (5mL) 中的搅拌混合物中加入 Fe (305mg, 5.5mmol)。将反应混合物在 80℃ 下搅拌 5 小时。将所得混合物过滤, 并用乙酸乙酯 (2x50mL) 萃取滤液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过制备型 HPLC 纯化法进行纯化, 并将收集的级分浓缩, 以得到呈黄色油状物的 (R)-6-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-5-氯吡啶-3-胺 (110mg, 30% 产率)。¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ: 7.58 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.16 (d, J=2.4Hz, 1H), 4.17-4.24 (m, 2H), 4.07-4.06 (m, 1H), 1.23 (d, J=5.6Hz, 3H), 0.88 (s, 9H), 0.09 (s, 3H), 0.07 (s, 3H)。LC-MS: m/z 317 [M+H]⁺。

[1757] 步骤5: (R)-N-(6-((R)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

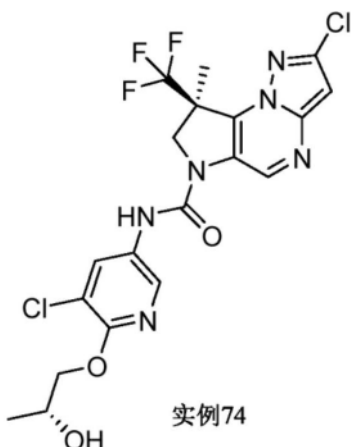
[1758]



[1759] 向(R)-6-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-5-氯吡啶-3-胺(60mg, 189.3 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的搅拌溶液中加入三光气(42mg, 141.5 μ mol)和TEA(47mg, 464.5 μ mol)。将所得混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(50mg, 180.7 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(44mg, 360.2 μ mol)和TEA(183mg, 1.8mmol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。通过加入甲醇(2mL)来淬灭反应混合物,并将混合物在真空下浓缩。将残留物用水(10mL)稀释。用乙酸乙酯(2x20mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈灰白色固体的(R)-N-(6-((R)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(33mg, 28%产率)。LC-MS:m/z619[M+H]⁺。

[1760] 步骤6: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-((R)-2-羟基丙氧基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1761]



[1762] 向(R)-N-(6-((R)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙氧基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(32mg, 51.6 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的搅拌溶液中加入TFA(0.5mL)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C

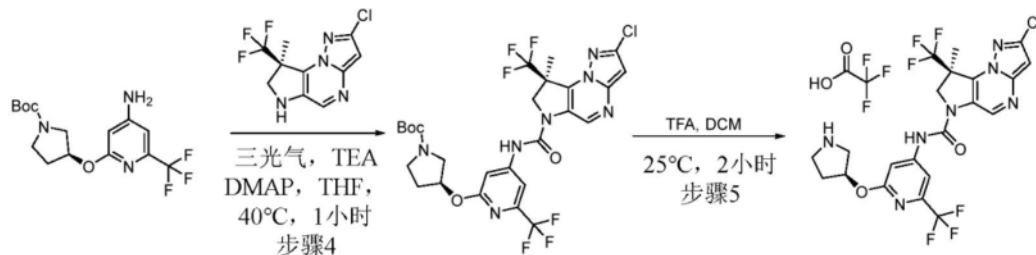
下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈灰白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-((S)-2-羟基丙氧基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(8.5mg,32%产率)。实例74的差向异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1763] 实例74: ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ : 9.38 (s, 1H), 8.06 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 8.00 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 6.75 (s, 1H), 6.42 (s, 1H), 4.54 (d, $J=10.0\text{Hz}$, 1H), 4.38-4.44 (m, 1H), 4.22-4.29 (m, 2H), 4.02 (d, $J=10.0\text{Hz}$, 1H), 2.07 (s, 3H), 1.30 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 3H)。LC-MS: m/z 505 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1764] 方法Y2



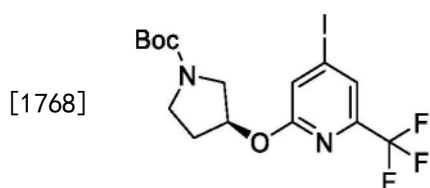
[1765]



实例75

[1766] 实例75: (R)-2-氯-8-甲基-N-(2-(((S)-吡咯烷-3-基)氧基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺2,2,2-三氟乙酸酯

[1767] 步骤1: (S)-3-((4-碘-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

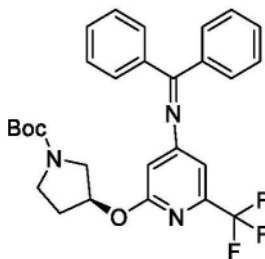


[1769] 在0°C下,向(S)-3-羟基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.0g,5.3mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(16mL)中的搅拌溶液中分批加入NaH(256mg,6.4mmol,60%,于矿物油中)。将混合物在0°C下搅拌20分钟。将2-氯-4-碘-6-(三氟甲基)吡啶(1.6g,5.3mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(18mL)中的溶液加入到混合物中。将反应混合物在60°C下搅拌6小时。将混合物冷却至25°C,并通过加入水(100mL)进行淬灭。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(S)-3-((4-碘-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(533mg,22%产率)。LC-MS: m/z 459 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1770] 步骤2: (S)-3-((4-((二苯基亚甲基)氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)氧基)吡咯

烷-1-甲酸叔丁酯

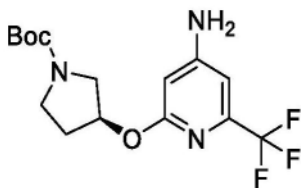
[1771]



[1772] 在氮气气氛下,向(S)-3-((4-碘-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(433mg, 944.9 μ mol)和二苯基甲亚胺(171mg, 944.9 μ mol)于二噁烷(17mL)中的搅拌溶液中加入Pd₂(dba)₃(197mg, 190.3 μ mol)、Cs₂CO₃(921mg, 2.8mmol)和Xantphos(164mg, 283.5 μ mol)。将混合物在110℃下搅拌2小时。然后将溶液冷却至25℃并过滤。将滤饼用乙酸乙酯(10mL)洗涤。将滤液倒入水(50mL)中,并用乙酸乙酯(3x50mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(S)-3-((4-((二苯基亚甲基)氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(360mg, 74%产率)。LC-MS:m/z 512[M+H]⁺。

[1773] 步骤3: (S)-3-((4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

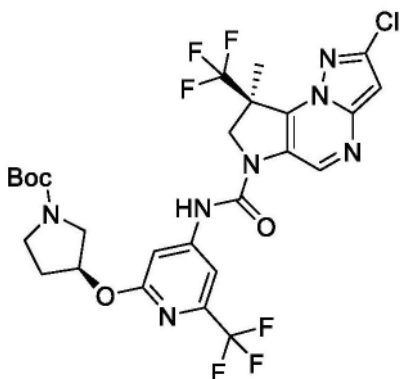
[1774]



[1775] 向(S)-3-((4-((二苯基亚甲基)氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(180mg, 351.9 μ mol)于甲醇(10mL)中的搅拌溶液中加入盐酸羟胺(49mg, 703.8 μ mol)和乙酸钠(72mg, 879.7 μ mol)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用85%石油醚和15%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈黄色固体的(S)-3-((4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(90mg, 74%产率)。LC-MS:m/z 348[M+H]⁺。

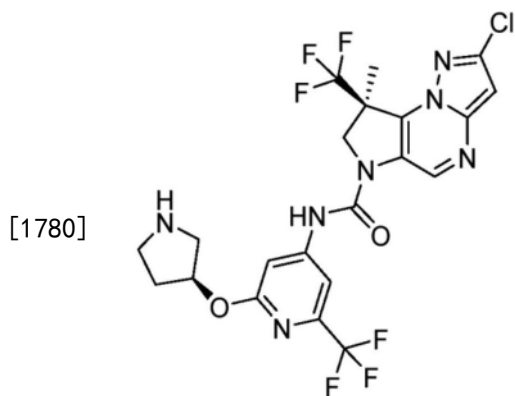
[1776] 步骤4: (S)-3-((4-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[1777]



[1778] 向(S)-3-((4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(90mg, 259.3 μ mol)于四氢呋喃(36mL)中的溶液加入三光气(46mg, 155.6 μ mol)和TEA(39mg, 389.0 μ mol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(50mg, 181.4 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入TEA(261mg, 2.6mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(64mg, 519.2 μ mol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将混合物倒入水(10mL)中,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈灰白色固体的(S)-3-((4-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(90mg)。LC-MS:m/z 650[M+H]⁺。

[1779] 步骤5:2,2,2-三氟乙酸(R)-2-氯-8-甲基-N-(2-(((S)-吡咯烷-3-基)氧基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺酯

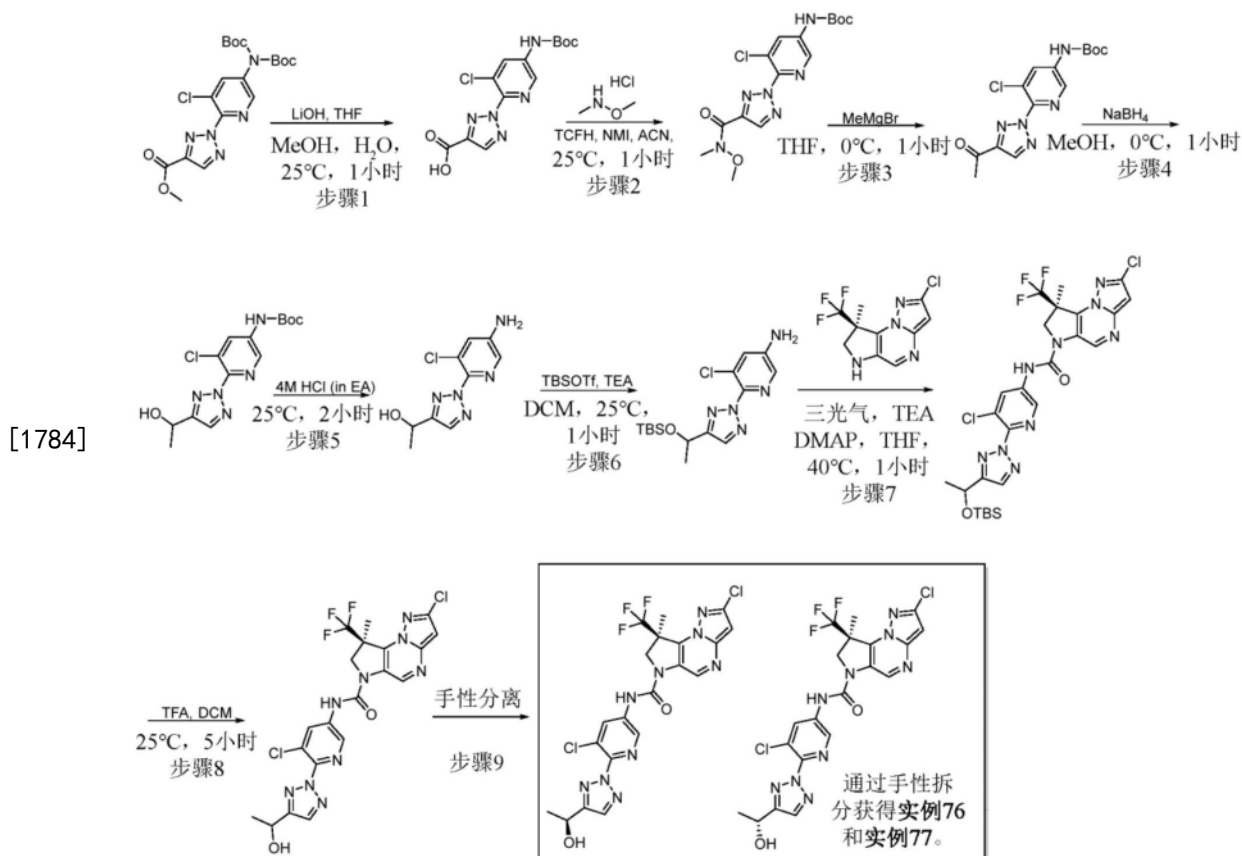


实例75

[1781] 向(S)-3-((4-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(80mg, 123.1 μ mol)于二氯甲烷(5mL)中的溶液中加入TFA(1mL)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的实例75(21mg, 25%产率)。实例75的差向异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

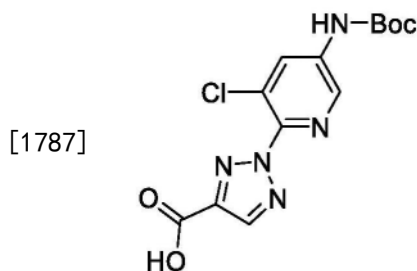
[1782] 实例75:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 9.74(s, 1H), 9.32(s, 1H), 7.67(d, J=1.6Hz, 1H), 7.50(d, J=1.6Hz, 1H), 7.08(s, 1H), 5.57-5.60(m, 1H), 4.83-4.86(m, 1H), 4.26-4.28(m, 1H), 3.40-3.50(m, 4H), 2.27-2.33(m, 1H), 2.16-2.18(m, 1H), 1.97(s, 3H)。LC-MS:m/z 550[M+H]⁺。

[1783] 方法Z2



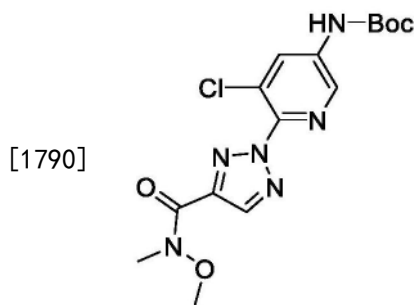
[1785] 实例76和77:由含有(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-((S)-1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-((R)-1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[1786] 步骤1:2-(5-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸



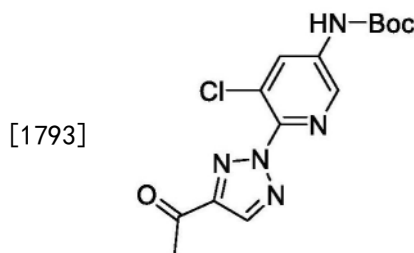
[1788] 向2-(5-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(1.8g,3.9mmol;方法B3,步骤3)于甲醇(10mL)和四氢呋喃(20mL)中的搅拌溶液中加入水(10mL)中的LiOH(190mg,7.9mmol)。将反应在25°C下搅拌1小时。将反应用水(50mL)稀释。用HCl(4M)将pH调整到4-5。用乙酸乙酯(2x100mL)萃取混合物。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈白色固体的2-(5-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸(1.5g,94%产率)。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz,DMSO- d_6) δ :13.02(s,1H),10.26(s,1H),8.59(d,J=2.3Hz,1H),8.55(s,1H),8.35(d,J=2.3Hz,1H),1.52(s,9H)。LC-MS:m/z 340[M+H] $^+$ 。

[1789] 步骤2: (5-氯-6-(4-(甲氧基(甲基)氨基甲酰基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯



[1791] 向2-(5-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸(400mg, 1.2mmol)于乙腈中的搅拌溶液中加入N,0-二甲基羟胺;盐酸盐(229mg, 2.3mmol)、六氟磷酸N-(氯(二甲基氨基)亚甲基)-N-甲基甲胺酯(991mg, 3.5mmol)和1-甲基-1H-咪唑(676mg, 8.2mmol)。将混合物在25℃下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(5-氯-6-(4-(甲氧基(甲基)氨基甲酰基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(300mg, 59%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 10.25 (s, 1H), 8.57 (d, J=2.3Hz, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.33 (d, J=2.3Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 2.67 (s, 3H), 1.50 (s, 9H)。LC-MS: m/z 383 [M+H]⁺。

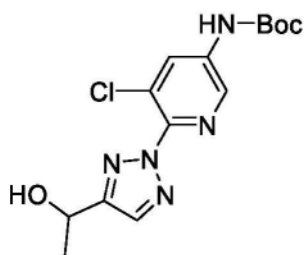
[1792] 步骤3: (6-(4-乙酰基-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-氯吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯



[1794] 在氮气气氛下在0℃下,向(5-氯-6-(4-(甲氧基(甲基)氨基甲酰基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(280mg, 731.1μmol)于四氢呋喃(20mL)中的搅拌溶液中逐滴加入甲基溴化镁(0.5mL, 1.5mmol, 3M, 于二乙醚中)。将反应在0℃下搅拌1小时。将反应用饱和NH₄Cl水溶液(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得混合物。将有机层合并,用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(6-(4-乙酰基-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-氯吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(170mg, 61%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 10.27 (s, 1H), 8.48-8.67 (m, 2H), 8.34 (d, J=2.3Hz, 1H), 2.59 (s, 3H), 1.50 (s, 9H)。LC-MS: m/z 338 [M+H]⁺。

[1795] 步骤4: (5-氯-6-(4-(1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯

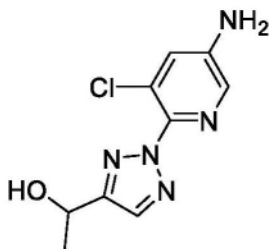
[1796]



[1797] 在0℃下,向(6-(4-乙酰基-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-氯吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(140mg,414.5 μ mol)于甲醇(4mL)中的搅拌溶液中加入NaBH₄(19mg,497.4 μ mol)。将反应在0℃下搅拌1小时。在真空下去除溶剂。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈白色固体的(5-氯-6-(4-(1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(140mg,94%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :10.16(s,1H),8.53(d,J=2.3Hz,1H),8.28(d,J=2.3Hz,1H),7.98(s,1H),5.50(d,J=5.1Hz,1H),4.88-4.94(m,1H),1.49(s,9H),1.43(d,J=6.5Hz,3H)。LC-MS:m/z 340[M+H]⁺。

[1798] 步骤5:1-(2-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙-1-醇

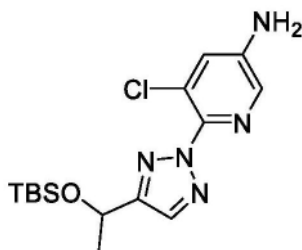
[1799]



[1800] 向(5-氯-6-(4-(1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(100mg,220.2 μ mol)于乙酸乙酯(2mL)中的搅拌溶液中加入HCl(2.2mL,4M,于乙酸乙酯中)。将反应在25℃下搅拌2小时。在真空下去除溶剂。将残留物用乙酸乙酯(50mL)稀释,并通过饱和NaHCO₃水溶液(50mL)进行淬灭。将该含水层用乙酸乙酯(2x50mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈无色油状物的1-(2-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙-1-醇(38mg,54%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ :7.87(s,1H),7.79(d,J=2.5Hz,1H),7.17(d,J=2.5Hz,1H),6.14(s,2H),5.43(s,1H),4.89(s,1H),1.42(d,J=6.5Hz,3H)。LC-MS:m/z 240[M+H]⁺。

[1801] 步骤6:6-(4-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-氯吡啶-3-胺

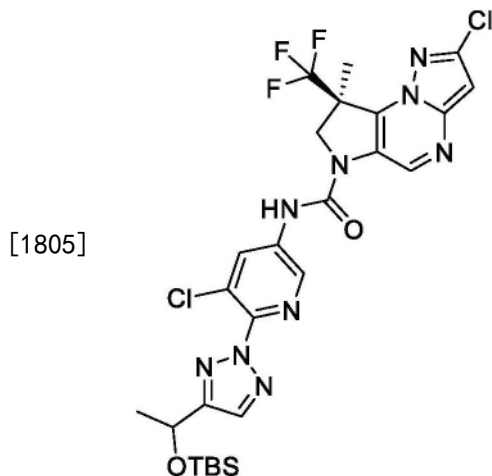
[1802]



[1803] 在0℃下,向1-(2-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙-1-醇(50mg,208.6 μ mol)于二氯甲烷(7mL)中的搅拌溶液中加入三氟甲磺酸叔丁基二甲基甲硅烷基酯(72mg,271.2 μ mol)和2,6-二甲基吡啶(63mg,625.9 μ mol)。将反应在25℃下搅拌1小时。

在真空下去除溶剂。将残留物通过使用50%石油醚和50%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈白色固体的6-(4-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-氯吡啶-3-胺(40mg,51%产率)。LC-MS:m/z 354[M+H]⁺。

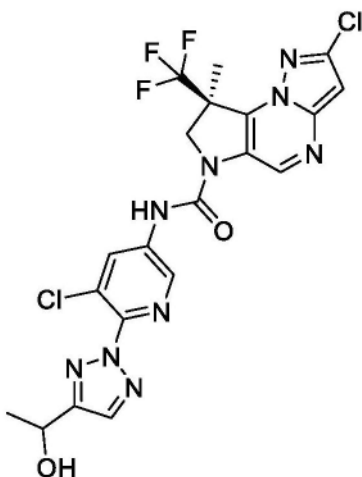
[1804] 步骤7:(8R)-N-(6-(4-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1806] 向方法M1异构体2(31mg,113.0 μ mol)于四氢呋喃(3mL)中的搅拌溶液中加入TEA(17mg,169.5 μ mol)和三光气(20mg,67.8 μ mol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌30分钟,然后过滤。将滤液加入到6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)(环丙基)甲基)-5-氯吡啶-3-胺(40mg,113.0 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(28mg,226.0 μ mol)和TEA(114mg,1.1mmol)。将反应在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。在真空下去除溶剂。将残留物通过使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈白色固体的(8R)-N-(6-(4-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(40mg,52%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d) δ :9.43(d,J=0.9Hz,1H),8.49-8.63(m,1H),8.42(d,J=2.2Hz,1H),7.90(s,1H),6.88(s,1H),6.79(d,J=0.9Hz,1H),5.21(q,J=6.4Hz,1H),4.62(d,J=10.3Hz,1H),4.08(d,J=10.3Hz,1H),2.09(s,3H),1.59(dd,J=6.4,0.9Hz,3H),0.94(d,J=0.9Hz,9H),0.07-0.15(m,6H)。LC-MS:m/z 656[M+H]⁺。

[1807] 步骤8:(8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

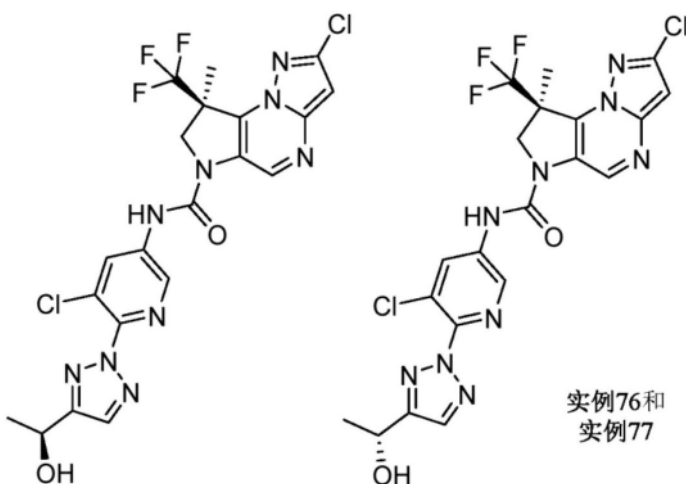
[1808]



[1809] 在25℃下,向(8R)-N-(6-(4-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(30mg, 45.7 μ mol)于二氯甲烷(12mL)中的搅拌溶液中加入TFA(6mL)。将反应在25℃下搅拌5小时。在真空下去除溶剂。将残留物通过使用使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到24mg粗产物。将粗产物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈淡黄色固体的(8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(9.6mg, 37%产率)。LC-MS:m/z 542[M+H]⁺。

[1810] 步骤9:分离对映异构体以获得(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-((S)-1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-((R)-1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1811]



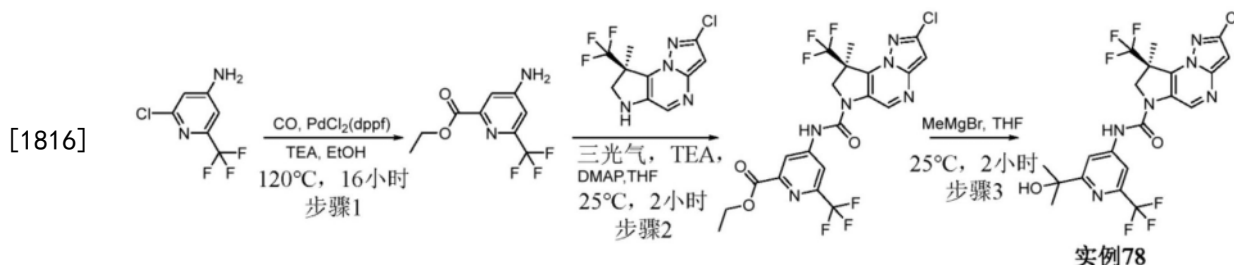
[1812] 对(8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(9mg, 16.6 μ mol)进行手性HPLC纯化,色谱柱:CHIRAL ART Cellulose-SB, 2x25cm, 5 μ m;流动相A:MTBE(0.5% 2M NH₃-甲醇)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在35分钟内,10B到10B;220/254nm;RT1:25.605;RT2:28.879;注射体积:0.5ml;运行次数:5。将第一

个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例76 (3.0mg, 33%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例77 (3.0mg, 33%产率)。实例76和实例77的对应的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。实例76和77的对映异构体可以使用步骤7中方法M1异构体1类似地制备。

[1813] 实例76: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.67 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.72 (t, J=2.2Hz, 1H), 8.48 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.06 (s, 1H), 5.51 (d, J=5.1Hz, 1H), 4.90-5.04 (m, 1H), 4.84 (d, J=11.5Hz, 1H), 4.29 (d, J=11.5Hz, 1H), 1.97 (s, 3H), 1.45 (d, J=6.5Hz, 3H)。LC-MS: m/z 542 [M+H] $^+$

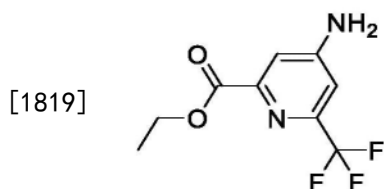
[1814] 实例77: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.67 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.72 (d, J=2.2Hz, 1H), 8.48 (d, J=2.3Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.06 (s, 1H), 5.51 (d, J=5.1Hz, 1H), 4.88-4.98 (m, 1H), 4.84 (d, J=11.5Hz, 1H), 4.29 (d, J=11.5Hz, 1H), 1.97 (s, 3H), 1.45 (d, J=6.5Hz, 3H)。LC-MS: m/z 542 [M+H] $^+$

[1815] 方法A3



[1817] 实例78: (R)-2-氯-N-(2-(2-羟基丙-2-基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]咪啶-6-甲酰胺

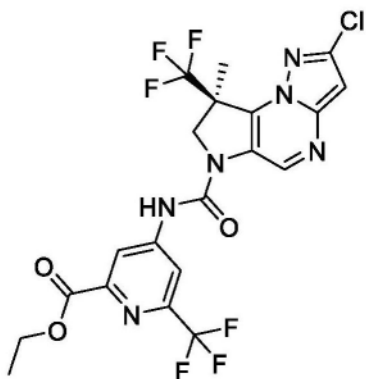
[1818] 步骤1: 4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶甲酸乙酯



[1820] 向2-氯-6-(三氟甲基)吡啶-4-胺 (2.0g, 10.2mmol) 于乙醇 (30mL) 中的混合物中加入PdCl₂(dppf) (744mg, 1.0mmol) 和TEA (3.1g, 30.5mmol)。将所得混合物在一氧化碳气氛下在120°C下搅拌16小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用水 (20mL) 稀释。用乙酸乙酯 (3x10mL) 萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色固体的4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶甲酸乙酯 (1.2g, 48%产率)。 ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 7.41 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.07 (d, J=2.1Hz, 1H), 6.96 (s, 2H), 4.33 (q, J=7.2Hz, 2H), 1.32 (t, J=7.2Hz, 3H)。LC-MS: m/z 235 [M+H] $^+$ 。

[1821] 步骤2: (R)-4-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]咪啶-6-甲酰胺基)-6-(三氟甲基)吡啶甲酸乙酯

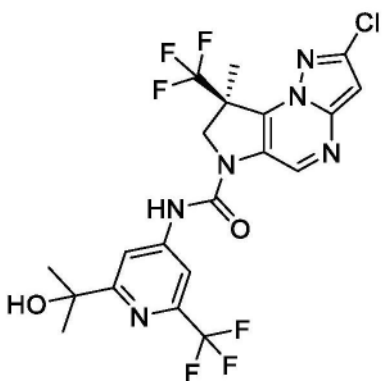
[1822]



[1823] 向4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶甲酸乙酯(44mg, 180.7 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的搅拌溶液中加入三光气(32mg, 108.4 μ mol)和TEA(27mg, 271.1 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(50mg, 180.7 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(44mg, 361.5 μ mol)和TEA(183mg, 1.8mmol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-4-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-6-(三氟甲基)吡啶甲酸乙酯(30mg, 30%产率)。 ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 9.96(s, 1H), 9.34(s, 1H), 8.51(d, J=2.0Hz, 1H), 8.36(d, J=2.0Hz, 1H), 7.07(s, 1H), 4.87(d, J=11.6Hz, 1H), 4.40(q, J=7.2Hz, 2H), 4.29(d, J=11.6Hz, 1H), 1.97(s, 3H), 1.35(t, J=7.2Hz, 3H)。LC-MS:m/z 537[M+H] $^+$ 。

[1824] 步骤3: (R)-2-氯-N-(2-(2-羟基丙-2-基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1825]

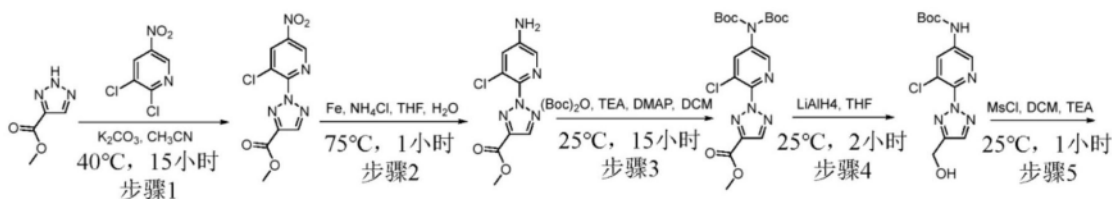


[1826] 在0 $^{\circ}$ C下,向(R)-4-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-6-(三氟甲基)吡啶甲酸乙酯(20mg, 36.5 μ mol)于THF(2mL)中溶液中加入甲基溴化镁(0.03mL, 90 μ mol, 3M, 于二乙醚中)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将反应混合物用水(3mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x5mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈灰白色固体的(R)-4-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-6-(三氟甲基)吡啶甲酸乙酯(1.5mg, 6%产率)。实例78的对应的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1827] 实例78: ^1H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ :9.75(s, 1H), 9.36(s, 1H), 8.15(d, J=1.8Hz,

1H), 8.05 (d, J=1.8Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 5.46 (s, 1H), 4.91 (d, J=11.7Hz, 1H), 4.29 (d, J=11.7Hz, 1H), 1.97 (s, 3H), 1.46 (s, 6H)。LC-MS:m/z 523[M+H]⁺。

[1828] 方法B3

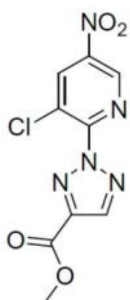


[1829]



[1830] 实例79: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(甲氧基甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

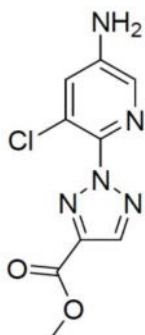
[1831] 步骤1: 2-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯



[1832]

[1833] 将2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(6.5g, 51.5mmol)、乙腈(150mL)、2,3-二氯-5-硝基吡啶(9.0g, 46.9mmol)和K₂CO₃(8.4g, 60.9mmol)放入500mL烧瓶中。将反应混合物在40°C下搅拌15小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分浓缩,以得到呈白色固体的2-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(4.9g, 33.8%产率)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ: 9.36 (d, J=2.3Hz, 1H), 8.83 (d, J=2.3Hz, 1H), 8.44 (s, 1H), 4.05 (s, 3H)。LC-MS:m/z 284[M+H]⁺。

[1834] 步骤2: 2-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯

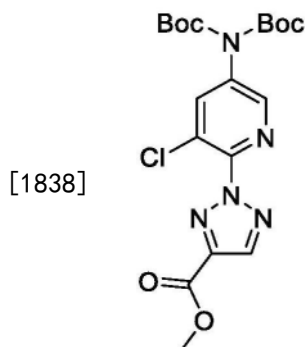


[1835]

[1836] 将2-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(1.3g, 4.6mmol)、四氢呋喃(20mL)、水(10mL)、NH₄Cl(1.2g, 22.9mmol)和Fe(1.3g, 22.9mmol)放入250mL烧瓶中。

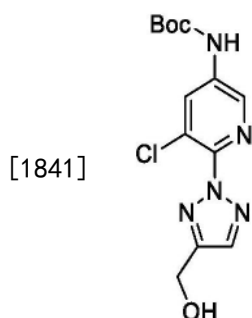
将混合物在75℃下搅拌1小时。将反应冷却至25℃。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将所得混合物用水(100mL)稀释。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(844mg,72.8%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:8.30(s,1H),7.90(d,J=2.6Hz,1H),7.16(d,J=2.5Hz,1H),3.98(s,3H)。LC-MS:m/z 254[M+H]⁺。

[1837] 步骤3:2-[5-[双(叔丁氧基羰基)氨基]-3-氯-2-吡啶基]三唑-4-甲酸甲酯



[1839] 将2-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(844mg,3.3mmol)、二氯甲烷(20mL)、TEA(673.4mg,6.7mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(40.7mg,332.8μmol)放入100mL烧瓶中。将反应冷却至0℃。然后加入二碳酸二叔丁酯(1.5g,6.7mmol)。将反应加热至室温并搅拌15小时。将所得混合物用水(100mL)稀释。用二氯甲烷(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用65%石油醚和35%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-[5-[双(叔丁氧基羰基)氨基]-3-氯-2-吡啶基]三唑-4-甲酸甲酯(912mg,60.4%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:8.36(s,1H),8.35(d,J=2.2Hz,1H),7.83(d,J=2.3Hz,1H),4.00(s,3H),1.45(s,18H)。LC-MS:m/z 454[M+H]⁺。

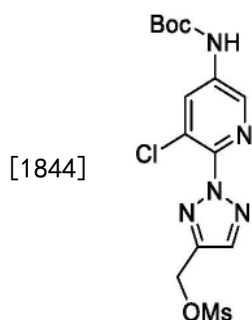
[1840] 步骤4:(5-氯-6-(4-(羟甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯



[1842] 将2-[5-[双(叔丁氧基羰基)氨基]-3-氯-2-吡啶基]三唑-4-甲酸甲酯(600mg,1.3mmol)和四氢呋喃(20mL)放入100mL烧瓶中。在0℃分几份加入LiAlH₄(75.3mg,1.9mmol)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物用四氢呋喃(30mL)稀释。将混合物冷却至-30℃并通过加入水(75.3mg)、氢氧化钠水溶液(75.3mg,10%)和水(75.3mg)进行淬灭。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(5-氯-6-(4-(羟甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(350mg,75.1%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ:

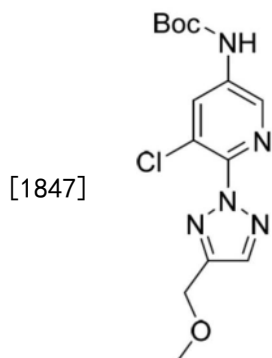
10.18 (s, 1H), 8.53 (d, J=2.3Hz, 1H), 8.28 (d, J=2.3Hz, 1H), 8.00 (s, 1H), 5.44 (t, J=5.8Hz, 1H), 4.61 (d, J=5.8Hz, 2H), 1.49 (s, 9H)。LC-MS:m/z 326[M+H]⁺。

[1843] 步骤5: (2-(5-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)甲磺酸甲酯



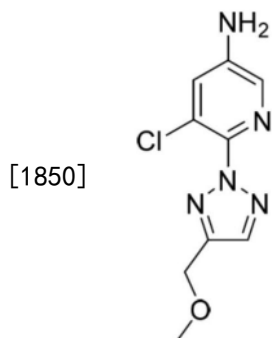
[1845] 将(5-氯-6-(4-(羟甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(260mg, 798.2 μ mol)和二氯甲烷(10mL)放入100mL烧瓶中。将反应冷却至0 $^{\circ}$ C并加入甲磺酰氯(137.1mg, 1.20mmol)和TEA(242.3mg, 2.4mmol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将反应混合物真空浓缩,以得到呈白色油状物的(2-(5-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)甲磺酸甲酯(320mg, 粗品)。将产物在不进行进一步纯化的情况下直接用于下一步骤。LC-MS:m/z 404[M+H]⁺。

[1846] 步骤6: (5-氯-6-(4-(甲氧基甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯



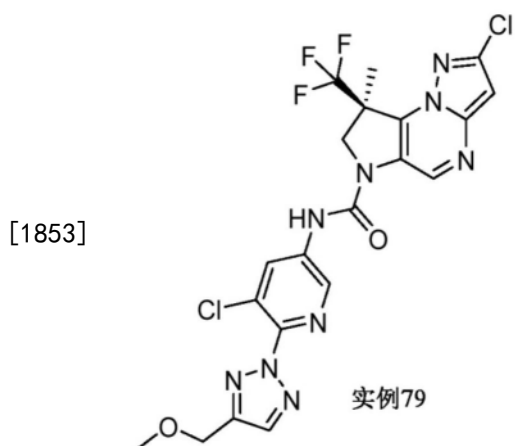
[1848] 将(2-(5-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)甲基(322mg, 797 μ mol)、甲醇(15mL)和TEA(322.7mg, 3.2mmol)放入100mL烧瓶中。将混合物在60 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的(5-氯-6-(4-(甲氧基甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(85mg, 31.3%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ : 10.17 (d, J=7.7Hz, 1H), 8.55 (d, J=2.3Hz, 1H), 8.30 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.09 (s, 1H), 4.57 (s, 2H), 3.32 (s, 3H), 1.50 (s, 9H)。LC-MS:m/z 340[M+H]⁺。

[1849] 步骤7: 5-氯-6-(4-(甲氧基甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺



[1851] 将(5-氯-6-(4-(甲氧基甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(85mg, 250.2 μ mol)、二氯甲烷(4mL)和TFA(1mL)放入100mL烧瓶中。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将所得溶液在真空下浓缩。将残留物用乙酸乙酯(50mL)稀释。将pH用饱和NaHCO₃水溶液调整到7-8。用乙酸乙酯(2x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用98%二氯甲烷和2%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的5-氯-6-(4-(甲氧基甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(25mg, 41.2%产率)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ : 8.00 (s, 1H), 7.81 (d, J=2.5Hz, 1H), 7.20 (d, J=2.5Hz, 1H), 6.17 (s, 2H), 4.55 (s, 2H), 3.31 (s, 3H)。LC-MS: m/z 240 [M+]⁺。

[1852] 步骤8: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(甲氧基甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

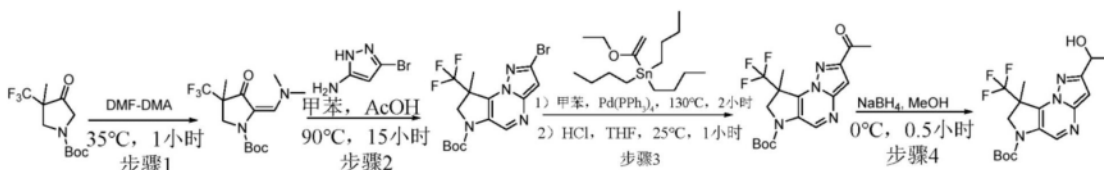


[1854] 向方法M1异构体2(16.5mg, 59.6 μ mol)于四氢呋喃(3mL)中的搅拌溶液中加入三光气(10.6mg, 35.8 μ mol)和TEA(9.1mg, 89.4 μ mol)。将所得混合物在28 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到5-氯-6-(4-(甲氧基甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(10mg, 41.7 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(60.3mg, 596.1 μ mol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(728.2 μ g, 5.9 μ mol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将溶剂在真空下浓缩。将残留物通过使用96%二氯甲烷和4%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到30mg粗产物。将得到的粗产物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(甲氧基甲基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(3mg, 15.0%产率)。实例79的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

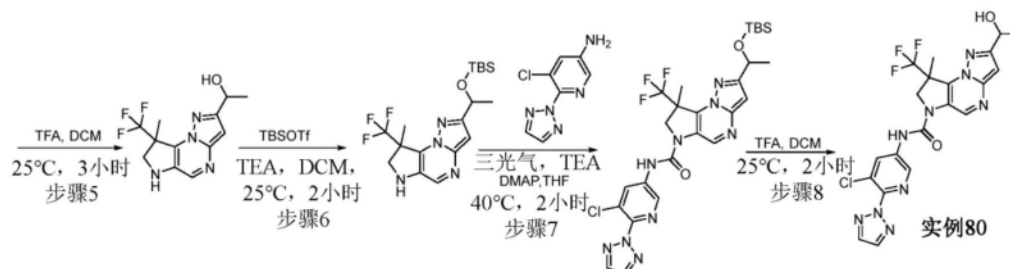
[1855] 实例79: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.70 (s, 1H), 9.35 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.49 (d, J=2.3Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.06 (s, 1H), 4.84 (d, J=11.5Hz, 1H), 4.58 (s, 2H), 4.28 (d,

$J=11.5\text{Hz}, 1\text{H}$), 3.32 (s, 3H), 1.97 (s, 3H)。LC-MS: m/z 542 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1856] 方法C3

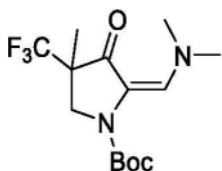


[1857]



[1858] 实例80: N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-(1-羟乙基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

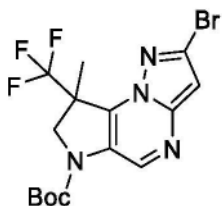
[1859] 步骤1: (E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[1860]

[1861] 将3-甲基-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.0g, 3.7mmol; 方法K1, 步骤7)、DMF-DMA(10mL)放入100mL烧瓶中。将反应在35°C下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.3g, 粗品)。将产物在不进行进一步纯化的情况下直接用于下一步骤。LC-MS: m/z 323 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1862] 步骤2: 2-溴-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯

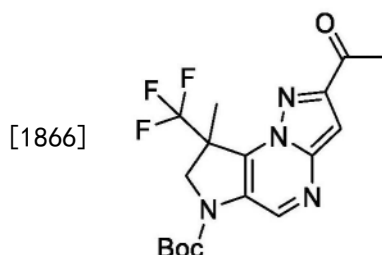


[1863]

[1864] 将(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.1g, 3.4mmol)、甲苯(15mL)、3-溴-1H-吡啶-5-胺(527.2mg, 3.3mmol)和乙酸(1.5mL)放入100mL烧瓶中。将混合物在95°C下搅拌15小时。将所得溶液在真空下浓缩。将残留物用乙酸乙酯(100mL)稀释。将pH用饱和 NaHCO_3 水溶液调整到7-8。用乙酸乙酯(2x100mL)萃取所得溶液。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2-溴-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁

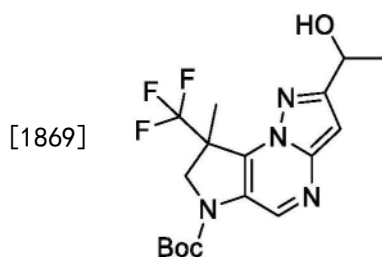
酯(408mg, 28.6%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.82-9.13 (m, 1H), 7.09 (s, 1H), 4.32-4.35 (m, 1H), 3.99-4.03 (m, 1H), 1.90 (s, 3H), 1.52 (s, 9H)。LC-MS: m/z 421 [M+H]⁺。

[1865] 步骤3: 2-乙酰基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[1867] 在氮气气氛下将2-溴-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(364mg, 864.2μmol)、甲苯(10mL)、三丁基(1-乙氧基乙烯基)锡烷(343.3mg, 950.6μmol)、Pd(PPh₃)₄(99.9mg, 86.4μmol)放入100mL烧瓶中。将混合物在130℃下搅拌2小时。将反应混合物在真空下浓缩。将所得残留物溶解在四氢呋喃(5mL)中,并加入HCl(5mL, 2M, 于H₂O中)。将混合物在25℃下搅拌1小时,然后在真空下浓缩。将残留物用乙酸乙酯(100mL)稀释。将pH用饱和NaHCO₃水溶液调整到7-8。用乙酸乙酯(2x100mL)萃取所得溶液。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用87%石油醚和13%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-乙酰基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(240mg, 72.1%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.91-9.21 (m, 1H), 7.29 (s, 1H), 4.37 (d, J=12.4Hz, 1H), 4.07 (d, J=12.4Hz, 1H), 2.61 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 1.53 (s, 9H)。LC-MS: m/z 385 [M+H]⁺。

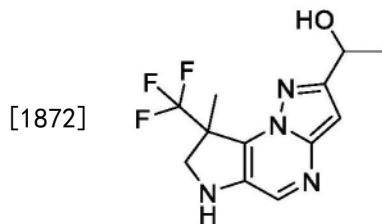
[1868] 步骤4: 2-(1-羟乙基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[1870] 将2-乙酰基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(197mg, 512.6μmol)、甲醇(10mL)放入100mL烧瓶中。在0℃下加入NaBH₄(23.3mg, 615.1μmol)。将混合物在0℃下搅拌0.5小时。通过加入冰水(5mL)来淬灭反应。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2-(1-羟乙基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(197mg, 98.4%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.74-9.06 (m, 1H), 6.74 (d, J=1.4Hz, 1H), 5.41 (t, J=5.0Hz, 1H), 4.83-4.93 (m, 1H), 4.32 (d, J=12.0Hz, 1H), 4.01 (q, J=7.1Hz, 1H), 1.92 (s, 3H), 1.52 (s, 9H), 1.41-1.44 (m, 3H)。LC-MS: m/z 387 [M+H]⁺。

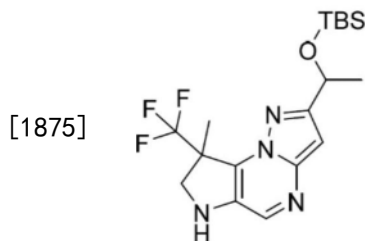
[1871] 步骤5: 1-(8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧

啶-2-基)乙-1-醇



[1873] 将2-(1-羟乙基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(50mg, 129.4 μ mol)、二氯甲烷(4mL)和TFA(1mL)放入50mL烧瓶中。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌3.0小时,然后在真空下浓缩。将残留物用乙酸乙酯(50mL)稀释。将pH用饱和NaHCO₃水溶液调整到7-8。用乙酸乙酯(2x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用96%二氯甲烷和4%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的1-(8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-2-基)乙-1-醇(23mg, 62.1%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ : 8.26(s, 1H), 6.60(s, 1H), 5.76(t, J=3.0Hz, 1H), 5.23-5.27(m, 1H), 4.82-4.90(m, 1H), 3.88(dd, J=11.4, 2.4Hz, 1H), 3.55(dd, J=11.4, 4.1Hz, 1H), 1.83(s, 3H), 1.44(dd, J=6.5, 1.5Hz, 3H)。LC-MS:m/z 287[M+H]⁺。

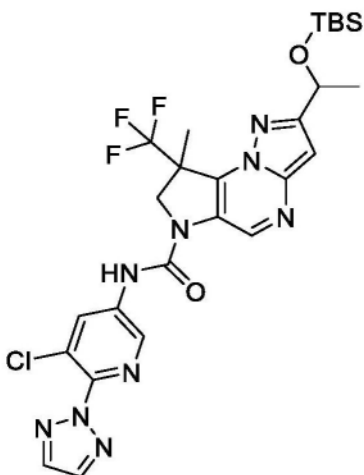
[1874] 步骤6: 2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[1876] 将1-(8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-2-基)乙-1-醇(112mg, 391.3 μ mol)、二氯甲烷(7mL)、TEA(118.8mg, 1.2mmol)和二甲基甲硅烷基三氟甲磺酸叔丁酯(134.5mg, 508.6 μ mol)放入50mL烧瓶中。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时,然后在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(108mg, 68.7%产率)。LC-MS:m/z 401[M+H]⁺。

[1877] 步骤7: 2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

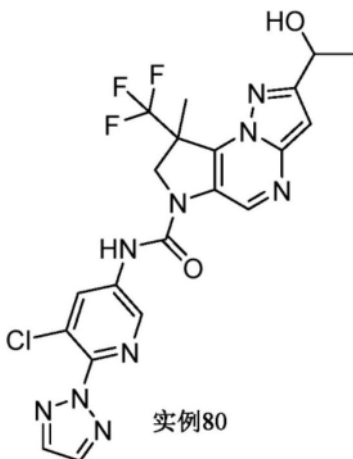
[1878]



[1879] 向5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(26.4mg,134.8 μ mol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中加入三光气(20.0mg,67.4 μ mol)和TEA(17.1mg,168.5 μ mol)。将所得混合物在28 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(45mg,112.4 μ mol)于四氢呋喃(1.5mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(113.7mg,1.1mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(27.45mg,224.71 μ mol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将溶剂在真空下浓缩。将残留物通过使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈黄色固体的2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(40mg,57.1%产率)。LC-MS:m/z 622[M+H]⁺。

[1880] 步骤8:N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-(1-羟乙基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1881]

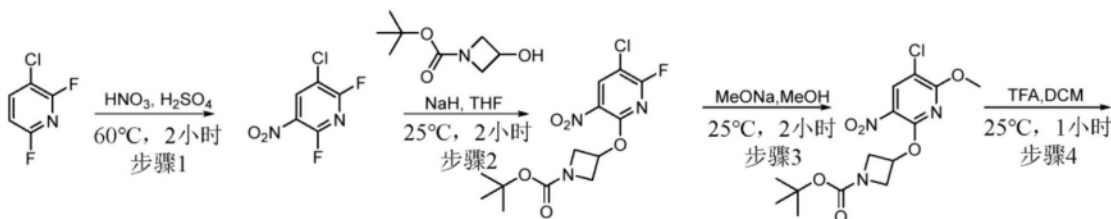


[1882] 将2-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(40mg,64.3 μ mol)、二氯甲烷(1.2mL)和TFA(0.4mL)放入100mL烧瓶中。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时,然后在真空下浓缩。将残留物用乙酸乙酯(30mL)稀释。将pH用饱和NaHCO₃水溶液调整到7-8。用乙酸乙酯(2x30mL)萃取所得溶液。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的制

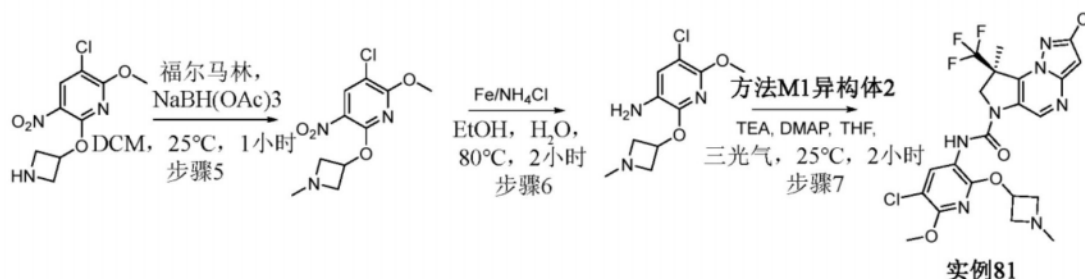
备型TLC进行纯化,以得到28mg粗品。将得到的粗品通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-(1-羟乙基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(8.9mg,26.9%产率)。

[1883] 实例80: ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.27(s, 1H), 8.78(s, 1H), 8.54(s, 1H), 8.18(s, 2H), 6.79(s, 1H), 5.42-5.44(m, 1H), 4.84-4.94(m, 2H), 4.31(d, $J=10.8\text{Hz}$, 1H), 2.02(s, 3H), 1.48(d, $J=6.0\text{Hz}$, 3H)。LC-MS: m/z 508[M+H] $^+$ 。

[1884] 方法D3



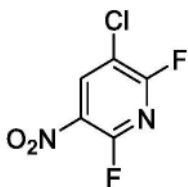
[1885]



[1886] 实例81: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-甲氧基-2-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1887] 步骤1: 3-氯-2,6-二氟-5-硝基吡啶

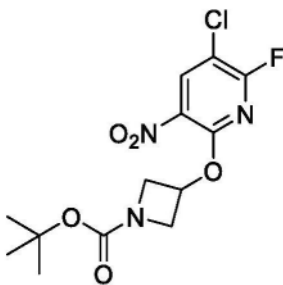
[1888]



[1889] 向3-氯-2,6-二氟吡啶(4.9g, 32.7mmol)于发烟硝酸(40mL)中的溶液中逐滴加入硫酸(30mL)。将所得混合物在60°C下搅拌2小时。将反应混合物冷却至25°C,并倒入碎冰(200g)中。用正己烷(200mL)萃取溶液。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈灰白色固体的3-氯-2,6-二氟-5-硝基吡啶(5.0g, 74%产率)。 ^1H NMR(300MHz, 氯仿- d) δ 8.75(s, 1H); LC-MS: m/z 195[M+H] $^+$ 。

[1890] 步骤2: 3-((5-氯-6-氟-3-硝基吡啶-2-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯

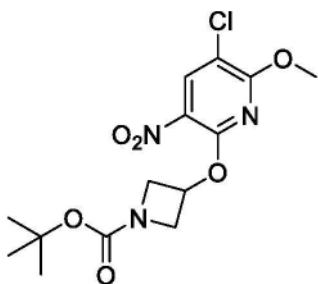
[1891]



[1892] 在0℃下,向3-羟基氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(2.2g,12.7mmol)于四氢呋喃(40mL)中的溶液中分几份加入NaH(728mg,19.0mmol,60%,于矿物油中)。将混合物在0℃下搅拌15分钟。加入3-氯-2,6-二氟-5-硝基吡啶(3.1g,15.8mmol)并将混合物温热至25℃并搅拌2小时。将反应混合物倒入碎冰(200g)中。用乙酸乙酯(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用65%石油醚和35%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈灰白色固体的3-((5-氯-6-氟-3-硝基吡啶-2-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(3.0g,54%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d)δ 8.58(s,1H),5.40-5.46(m,1H),4.34-4.48(m,2H),4.04-4.15(m,2H),1.48(s,9H)。LC-MS:m/z 348[M+H]⁺。

[1893] 步骤3:3-((5-氯-6-甲氧基-3-硝基吡啶-2-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯

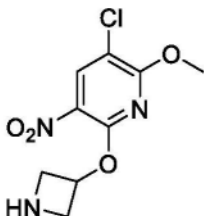
[1894]



[1895] 在25℃下,向3-((5-氯-6-氟-3-硝基吡啶-2-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(3.0g,8.6mmol)于甲醇(200mL)中的溶液中逐滴加入甲醇(9mL)中的甲醇钠(483mg,8.6mmol)。将所得混合物在氮气气氛下在25℃下搅拌30分钟。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的3-((5-氯-6-甲氧基-3-硝基吡啶-2-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(2.0g,64%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d)δ 8.48(s,1H),5.48-5.35(m,1H),4.39-4.45(m,2H),4.22-4.08(m,2H),4.08(s,3H),1.48(s,9H)。LC-MS:m/z 360[M+H]⁺。

[1896] 步骤4:2-(氮杂环丁烷-3-基氧基)-5-氯-6-甲氧基-3-硝基吡啶

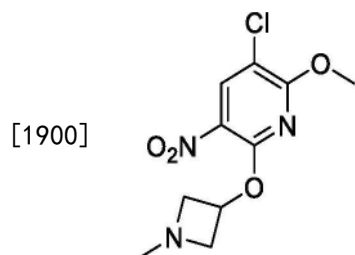
[1897]



[1898] 在25℃下,向3-((5-氯-6-甲氧基-3-硝基吡啶-2-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(1.0g,2.7mmol)于二氯甲烷(25mL)中的搅拌溶液中加入TFA(5mL)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后在减压下浓缩。将残留物通过使用93%二氯甲烷和7%甲醇作为洗脱

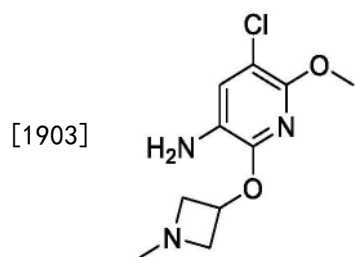
剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈棕色固体的2-(氮杂环丁烷-3-基氧基)-5-氯-6-甲氧基-3-硝基吡啶(700mg,66%产率)。LC-MS:m/z 260[M+H]⁺。

[1899] 步骤5:3-氯-2-甲氧基-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)-5-硝基吡啶



[1901] 在25℃下,向2-(氮杂环丁烷-3-基氧基)-5-氯-6-甲氧基-3-硝基吡啶(700mg, 2.7mmol)于二氯甲烷(25mL)中的搅拌溶液中加入甲醛(323mg,3.2mmol,30%,于水中)和三乙酰氧基硼氢化钠(857mg,4.1mmol)。将所得混合物在氮气气氛下在25℃下搅拌2小时。通过加入水(100mL)来淬灭反应,并用二氯甲烷(3x100mL)萃取水层。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈灰白色固体的3-氯-2-甲氧基-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)-5-硝基吡啶(500mg,68%产率)。LC-MS:m/z 274[M+H]⁺。

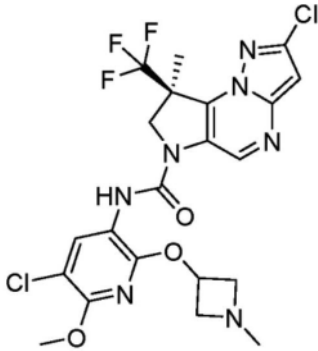
[1902] 步骤6:5-氯-6-甲氧基-2-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-3-胺



[1904] 向3-氯-2-甲氧基-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)-5-硝基吡啶(500mg, 1.8mmol)和NH₄Cl(293mg,5.4mmol)于乙醇(40mL)和水(12mL)中的溶液中加入Fe(510mg, 9.1mmol)。将反应混合物在80℃下搅拌2小时。将混合物通过硅藻土垫过滤,并且将所述垫用乙酸乙酯(50mL)洗涤。将滤液在真空下浓缩。将残留物用水(80mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x80mL)萃取。将合并的有机萃取物用盐水(300mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈棕色固体的5-氯-6-甲氧基-2-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-3-胺(180mg,37%产率)。LC-MS:m/z 244[M+H]⁺

[1905] 步骤7:(R)-2-氯-N-(5-氯-6-甲氧基-2-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺。

[1906]

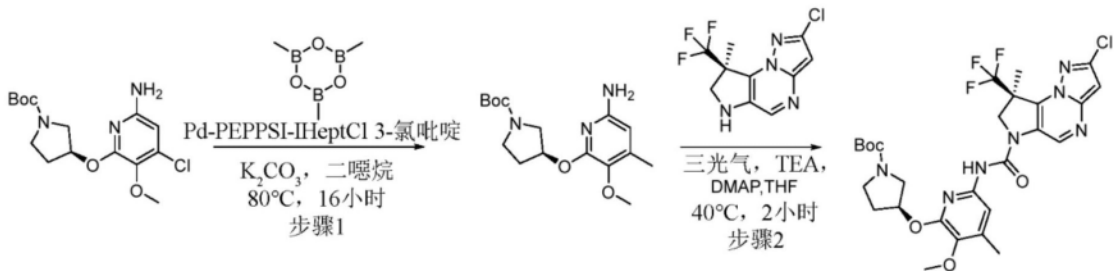


实例81

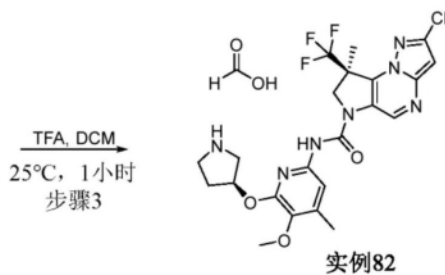
[1907] 根据方法M1步骤2,通过使用5-氯-6-甲氧基-2-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-3-胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例81的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1908] 实例81: ^1H NMR (300MHz, 甲醇- d_4) δ 9.30 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 6.79 (s, 1H), 5.30-5.38 (m, 1H), 4.73 (d, $J=11.2\text{Hz}$, 1H), 4.16-4.22 (m, 3H), 3.99 (s, 3H), 3.69 (dd, $J=10.8, 5.2\text{Hz}$, 2H), 2.67 (s, 3H), 2.05 (s, 3H)。LC-MS: m/z 546 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1909] 方法E3



[1910]

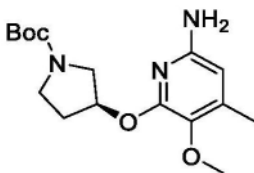


实例82

[1911] 实例82: (R)-2-氯-N-(5-甲氧基-4-甲基-6-(((S)-吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸甲酰胺酯

[1912] 步骤1: (S)-3-((6-氨基-3-甲氧基-4-甲基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

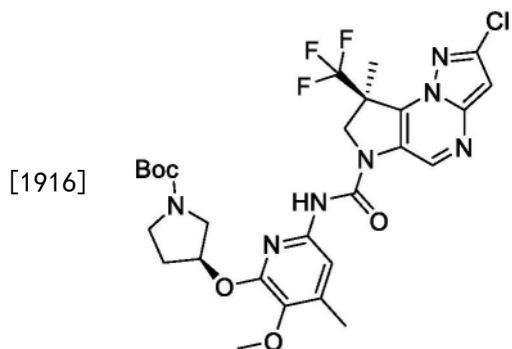
[1913]



[1914] 在氮气气氛下在25°C下,向(S)-3-((6-氨基-4-氯-3-甲氧基吡啶-2-基)氧基)吡

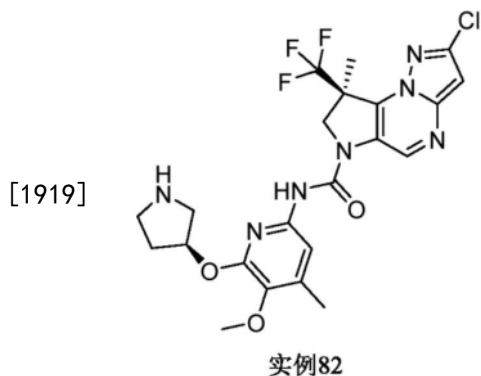
咯烷-1-甲酸叔丁酯(100mg, 290.8 μ mol; 方法P2, 步骤7)于二噁烷(10mL)中的搅拌溶液中分份加入2,4,6-三甲基-1,3,5,2,4,6-三氧杂三硼烷(219mg, 1.8mmol)、K₂CO₃(80mg, 581.7 μ mol)和Pd-PEPSI-IHeptCl 3-氯吡啶(28mg, 29.1 μ mol)。将混合物在80℃下搅拌16小时。冷却至25℃后,将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈黄色油状物的(S)-3-((6-氨基-3-甲氧基-4-甲基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(50mg, 16%产率)。¹H NMR(300MHz, 甲醇-d₄) δ 6.24(s, 1H), 5.50-5.52(m, 1H), 3.69(s, 3H), 3.50-3.56(m, 4H), 2.17-2.21(m, 5H), 1.47(s, 9H)。LC-MS:m/z 324[M+H]⁺。

[1915] 步骤2: (S)-3-((6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺)-3-甲氧基-4-甲基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[1917] 在25℃下,向(S)-3-((6-氨基-3-甲氧基-4-甲基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(40mg, 123.7 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的搅拌混合物中加入三光气(22mg, 74.2 μ mol)和TEA(18.7mg, 185.5 μ mol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(34mg, 123.7 μ mol)于四氢呋喃(5mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(30mg, 247.4 μ mol)和TEA(125mg, 1.2mmol)。将混合物在40℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈白色固体的(S)-3-((6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺)-3-甲氧基-4-甲基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(30mg, 38%产率)。LC-MS:m/z 626[M+H]⁺。

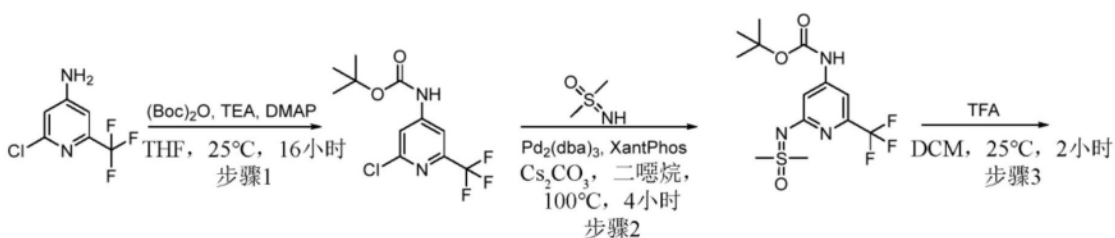
[1918] 步骤3: (R)-2-氯-N-(5-甲氧基-4-甲基-6-(((S)-吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺酯



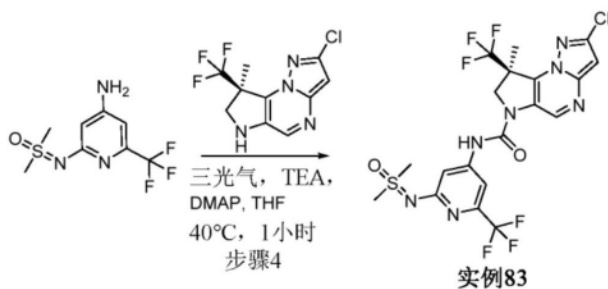
[1920] 在25℃下,向(S)-3-((6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺)-3-甲氧基-4-甲基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(30mg, 47.9 μ mol)于二氯甲烷(10mL)中的溶液中逐滴加入TFA(1mL)。将反应混合物在25℃下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将粗产物(30mg)通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的实例82(8.6mg, 29%产率)。实例82的差向异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1921] 实例82: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9.31 (s, 1H), 9.20-9.22 (m, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.06 (d, J=1.2Hz, 1H), 5.56-5.58 (m, 1H), 4.87-4.93 (m, 1H), 4.21-4.25 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.25-3.32 (m, 4H), 2.22 (s, 3H), 2.05-2.17 (m, 2H), 1.96 (s, 3H)。LC-MS: m/z 526 [M+H] $^+$ 。

[1922] 方法F3

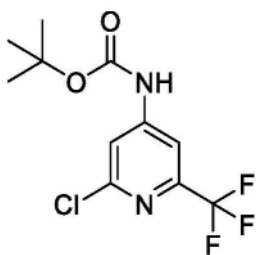


[1923]



[1924] 实例83: (R)-2-氯-N-(2-((二甲基(氧代)- λ^6 -亚硫基)氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1925] 步骤1: (2-氯-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯

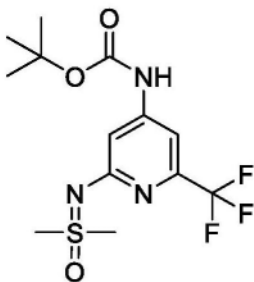


[1926]

[1927] 向2-氯-6-(三氟甲基)吡啶-4-胺(10g, 50.9mmol)于四氢呋喃(250mL)中的搅拌溶液中加入二碳酸叔丁酯(16.7g, 76.3mmol)、TEA(12.9g, 127.2mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(0.6g, 5.1mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用83%石油醚和17%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(2-氯-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(5.2g, 33%产率)。 ^1H NMR (300MHz, 氯仿- d) δ : 7.65 (s, 2H), 1.53 (s, 9H); LC-MS: m/z 297 [M+H] $^+$

[1928] 步骤2: (2-((二甲基(氧代)- λ^6 -亚硫基)氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯

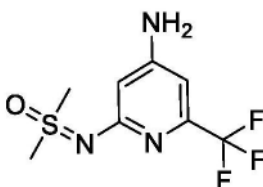
[1929]



[1930] 在氮气气氛下,向(2-氯-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(600mg, 2.0mmol)于二噁烷(12mL)中的搅拌溶液中加入亚氨基二甲基-λ⁶-砒(226mg, 2.4mmol) Pd₂(dba)₃(186mg, 0.2mmol)、XantPhos(235mg, 0.4mmol)、Cs₂CO₃(989mg, 0.4mmol)。将所得混合物在100℃下搅拌3小时。使混合物冷却至室温并在减压下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行进行纯化,以得到呈黄色固体的(2-((二甲基(氧代)-λ⁶-亚硫基)氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(600mg, 82%产率)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ: 9.96(s, 1H), 7.45(d, J=3Hz, 1H), 6.88(d, J=3Hz, 1H), 3.38(s, 6H), 1.49(s, 9H); LC-MS: m/z 354[M+H]⁺。

[1931] 步骤3: ((4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)亚氨基)二甲基-λ⁶-砒

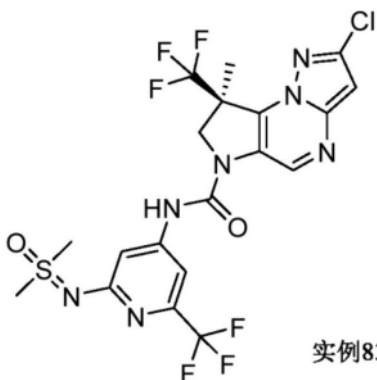
[1932]



[1933] 向(2-((二甲基(氧代)-λ⁶-亚硫基)氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(100mg, 282.5μmol)于二氯甲烷(9.6mL)中的搅拌溶液中加入TFA(2.4mL)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。向残留物中加入饱和NaHCO₃溶液(40mL),并用乙酸乙酯(3x40mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的((4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)亚氨基)二甲基-λ⁶-砒(60mg, 83%产率)。LC-MS: m/z 254[M+H]⁺。

[1934] 步骤4: (R)-2-氯-N-(2-((二甲基(氧代)-λ⁶-亚硫基)氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1935]



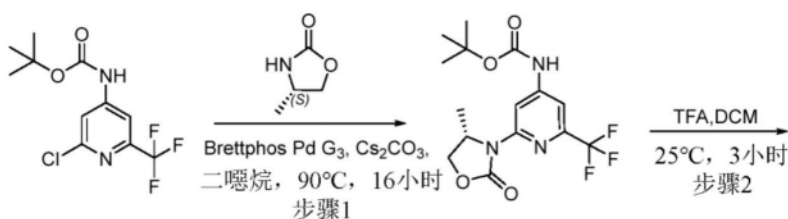
实例83

[1936] 向((4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)亚氨基)二甲基-λ⁶-砒(42mg, 166μmol)于四氢呋喃(4mL)中的搅拌溶液中加入三光气(20mg, 65.2μmol)和TEA(17mg, 163μmol)。将所

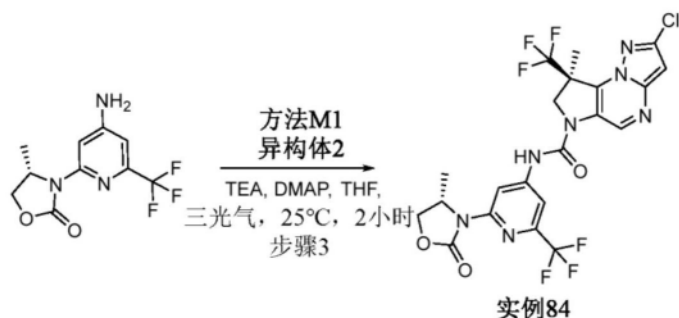
得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2 (30mg, 109 μ mol) 于THF (1mL) 中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA (111mg, 1.1mmol) 和N,N-二甲基吡啶-4-胺 (27mg, 218 μ mol)。将混合物在40℃下搅拌12小时。将混合物倒入水 (40mL) 中,并用乙酸乙酯 (3x40mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (50mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(2-((二甲基(氧代)- λ^6 -亚硫基)氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]噻啶-6-甲酰胺 (26mg, 42%产率)。实例83的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1937] 实例83: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.35 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 7.50 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.20 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 4.84 (d, J=12Hz, 1H), 4.25 (d, J=12Hz, 1H), 3.41 (s, 6H), 1.96 (s, 3H)。LC-MS: m/z 556 [M+H]⁺。

[1938] 方法G3

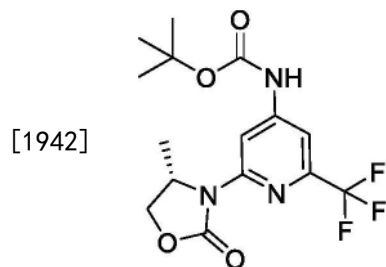


[1939]



[1940] 实例84: (R)-2-氯-8-甲基-N-(2-((S)-4-甲基-2-氧代噁唑烷-3-基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]噻啶-6-甲酰胺

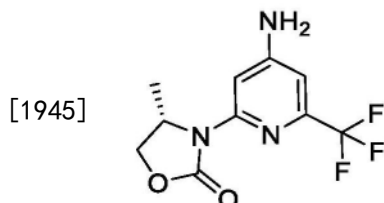
[1941] 步骤1: (S)-2-(4-甲基-2-氧代噁唑烷-3-基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基氨基甲酸叔丁酯



[1943] 在氮气气氛下,向(2-氯-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯 (200mg, 675.6 μ mol; 方法F3, 步骤1)、(S)-4-甲基噁唑烷-2-酮 (69mg, 675.6 μ mol) 于二噁烷 (10mL) 中的溶

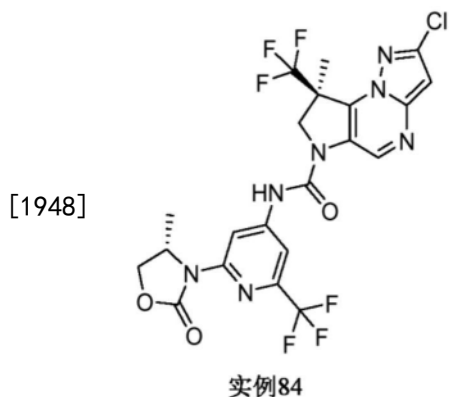
液中加入 Cs_2CO_3 (439mg, 1.3mmol)、Brettphos Pd G3 (13mg, 135.1 μmol)。将所得混合物在90℃下搅拌16小时。将反应混合物用水 (50mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (3x60mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(S) - (2-(4-甲基-2-氧代噁唑烷-3-基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯 (120mg, 50%产率)。 ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.34 (s, 1H), 8.45 (d, $J=3\text{Hz}$, 1H), 7.69 (d, $J=3\text{Hz}$, 1H), 4.79-4.84 (m, 1H), 4.51-4.57 (m, 1H), 4.02-4.09 (m, 1H), 1.50 (s, 9H), 1.37 (d, $J=6\text{Hz}$, 3H); LC-MS: m/z 362 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1944] 步骤2: (S) - 3-(4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)-4-甲基噁唑烷-2-酮



[1946] 在25℃下,向(S) - (2-(4-甲基-2-氧代噁唑啉-3-基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯 (120mg, 332.1 μmol)于二氯甲烷 (10mL)中的搅拌溶液中分份加入TFA (2mL)。将所得混合物在25℃下搅拌3小时。将所得混合物在减压下浓缩。将残留物通过使用93%二氯甲烷和7%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(S) - 3-(4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)-4-甲基噁唑烷-2-酮 (80mg, 60%产率)。LC-MS: m/z 262 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

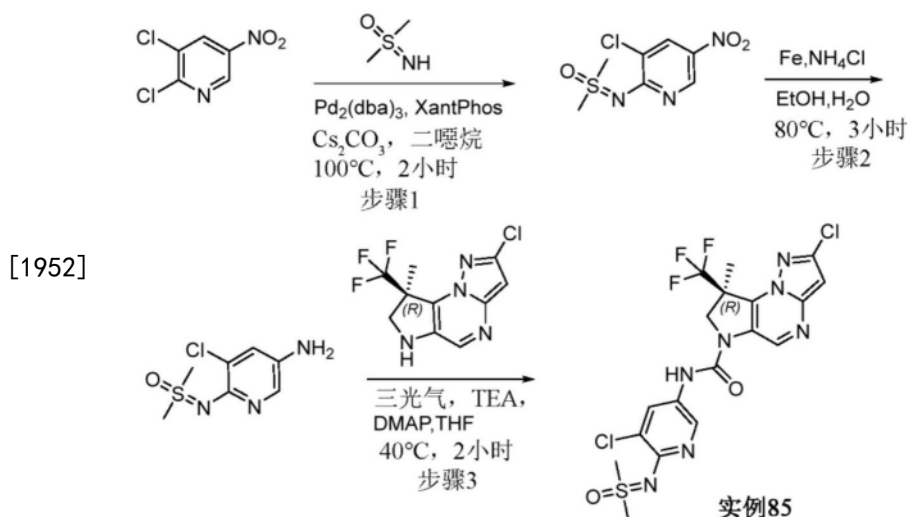
[1947] 步骤3: (R) - 2-氯-8-甲基-N-(2-((S) - 4-甲基-2-氧代噁唑烷-3-基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1949] 根据方法M1步骤2,通过使用(S) - 3-(4-氨基-6-(三氟甲基)吡啶-2-基)-4-甲基噁唑烷-2-酮和方法M1异构体2制备标题化合物。实例84的差向异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

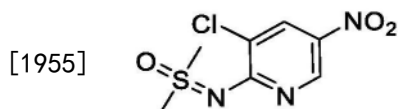
[1950] 实例84: ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.89 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 4.90-4.79 (m, 2H), 4.56-4.59 (m, 1H), 4.31 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 4.11-4.14 (m, 1H), 1.97 (s, 3H), 1.40 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 3H)。LC-MS: m/z 564 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1951] 方法H3



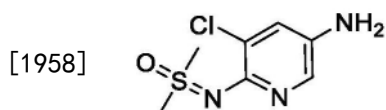
[1953] 实例85: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-((二甲基(氧代)- λ^6 -亚硫基)氨基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺。

[1954] 步骤1: ((3-氯-5-硝基吡啶-2-基)亚氨基)二甲基- λ^6 -砜



[1956] 在氮气气氛下,向甲基2,3-二氯-5-硝基吡啶(1.0g,5.2mmol)和亚氨基二甲基- λ^6 -砜(579.2mg,6.2mmol)于二噁烷(10mL)中的搅拌溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (474.6mg,518.1 μmol)、XantPhos(599.0mg,1.1mmol)和 Cs_2CO_3 (2.5g,7.7mmol)。将所得混合物在100°C下搅拌2小时。将混合物冷却至25°C。通过加入水(50mL)来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的((3-氯-5-硝基吡啶-2-基)亚氨基)二甲基- λ^6 -砜(700mg,48%产率)。 ^1H NMR(400MHz,氯仿-d) δ 8.96(d,J=2.4Hz,1H),8.38(d,J=2.4Hz,1H),3.47(s,6H)。LC-MS:m/z 250[M+H] $^+$ 。

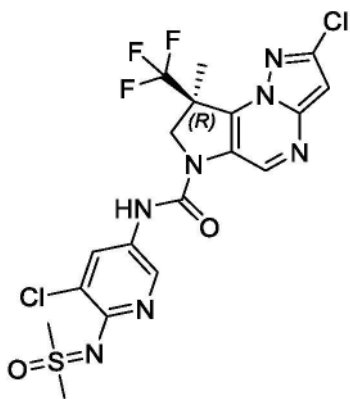
[1957] 步骤2: ((5-氨基-3-氯吡啶-2-基)亚氨基)二甲基- λ^6 -砜



[1959] 向((3-氯-5-硝基吡啶-2-基)亚氨基)二甲基- λ^6 -砜(300mg,1.2mmol)于乙醇(9mL)和水(3mL)中的溶液中加入Fe(335mg,6.0mmol)和 NH_4Cl (194mg,3.6mmol)。将所得混合物在80°C下搅拌3小时。通过加入水(50mL)来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的((5-氨基-3-氯吡啶-2-基)亚氨基)二甲基- λ^6 -砜(200mg,74%产率)。 ^1H NMR(400MHz,氯仿-d) δ 7.65(d,J=2.4Hz,1H),7.07(d,J=2.4Hz,1H),3.36(s,6H)。LC-MS:m/z 220[M+H] $^+$ 。

[1960] 步骤3: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-((二甲基(氧代)- λ^6 -亚硫基)氨基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

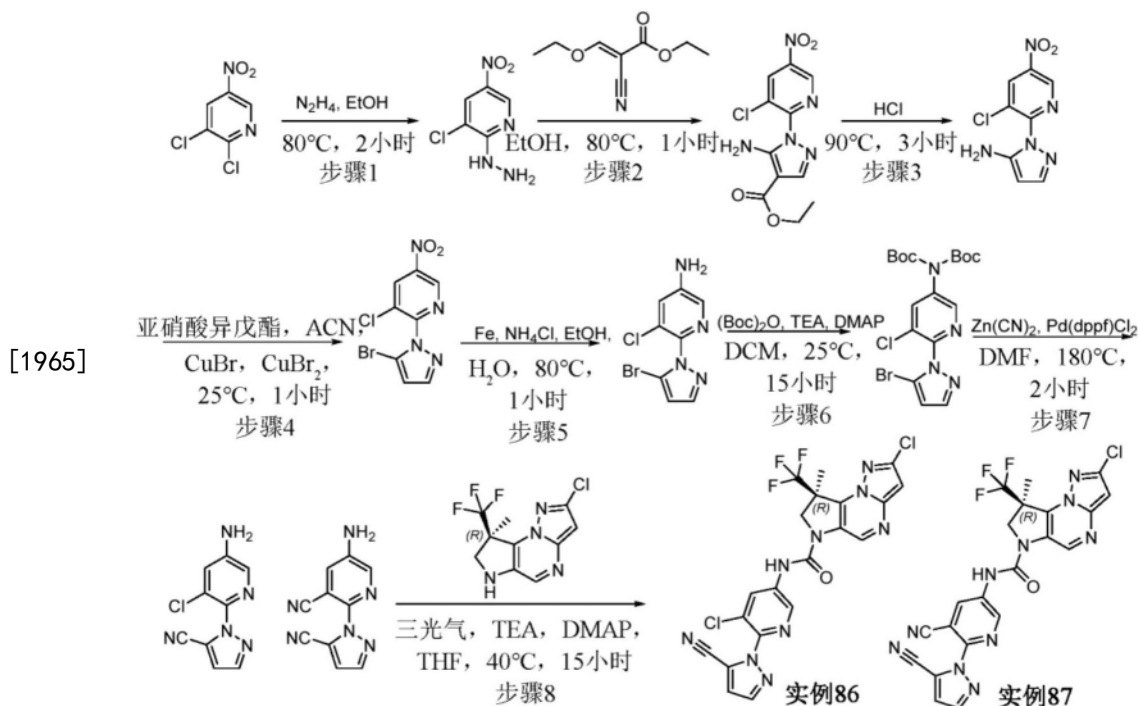
[1961]



[1962] 向方法M1异构体2 (20mg, 72.3 μ mol) 于四氢呋喃 (2mL) 中的搅拌溶液中加入三光气 (13mg, 43.4 μ mol) 和TEA (11mg, 108.4 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时, 然后过滤。将滤液加入到 ((5-氨基-3-氯吡啶-2-基) 亚氨基) 二甲基- λ^6 -砷 (16mg, 72.3 μ mol) 于四氢呋喃 (1mL) 中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺 (18mg, 144.6 μ mol) 和TEA (73mg, 723.0 μ mol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化, 并将收集的级分冻干, 以得到呈白色固体的 (R)-2-氯-N-(5-氯-6-((二甲基(氧代)- λ^6 -亚硫基)氨基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (1.6mg, 3% 产率)。实例85的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1963] 实例85: ^1H NMR (400MHz, 甲醇- d_4) δ 9.34 (s, 1H), 8.18 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.94 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 6.77 (s, 1H), 4.72 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 4.16 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 3.43 (s, 6H), 2.03 (s, 3H)。LC-MS: m/z 522 [M+H] $^+$ 。

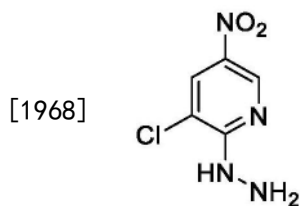
[1964] 方法I3



[1966] 实例86和87: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(5-氰基-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和 (R)-2-氯-N-

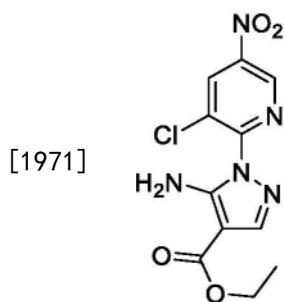
(5-氰基-6-(5-氰基-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[1967] 步骤1:3-氯-2-肼基-5-硝基吡啶



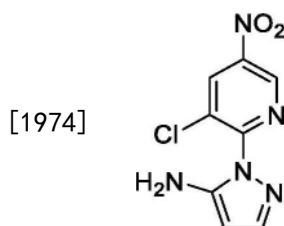
[1969] 在25℃下,向2,3-二氯-5-硝基吡啶(15.0g,77.7mmol)于乙醇(200mL)中的搅拌混合物中加入水合肼(48.6g,777.2mmol,80%)。将所得混合物在80℃下搅拌2小时。通过过滤收集沉淀的产物,然后从乙醇(200mL)中重结晶,以得到呈淡黄色固体的3-氯-2-肼基-5-硝基吡啶(12.0g,81%产率)。LC-MS:m/z 189[M+H]⁺。

[1970] 步骤2:5-氨基-1-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯



[1972] 将3-氯-2-肼基-5-硝基吡啶(12.0g,63.6mmol)和(E)-2-氰基-3-乙氧基丙烯酸乙酯(10.7g,63.6mmol)于乙醇(80mL)中的溶液在80℃下搅拌1小时。将混合物冷却至25℃并在真空下浓缩。将残留物通过使用20%石油醚和80%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的5-氨基-1-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯(14g,70%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) 9.31(d,J=2.4Hz,1H),9.05(d,J=2.4Hz,1H),7.78(s,1H),6.78(br,2H),4.21(d,J=7.2Hz,2H),1.26(d,J=7.2Hz,3H)。LC-MS:m/z 312[M+H]⁺。

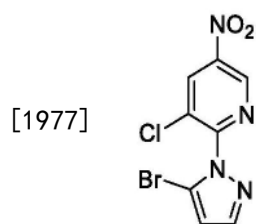
[1973] 步骤3:1-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-胺



[1975] 将5-氨基-1-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯(3.1g,9.9mmol)于浓盐酸(80mL)中的溶液在90℃下搅拌3小时。将混合物冷却至25℃。将pH用饱和NaHCO₃水溶液调整到8。用乙酸乙酯(3x55mL)萃取混合物。将合并的有机层用盐水(60mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈红色固体的1-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-胺(1.1g,46%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ9.25(d,J=3.2Hz,1H),8.96(d,J=3.6Hz,

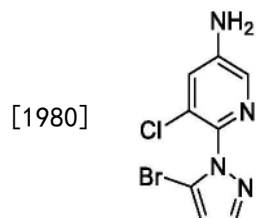
1H) 7.43 (d, J=2.4Hz, 1H) 5.91 (br, 2H) , 5.46 (d, J=2.4Hz, 1H) 。LC-MS:m/z 240 [M+H]⁺。

[1976] 步骤4: 2-(5-溴-1H-吡唑-1-基)-3-氯-5-硝基吡啶



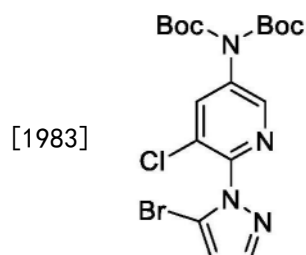
[1978] 在氮气气氛下在0℃下,向加入1-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-胺(640mg, 2.6mmol)和亚硝酸异戊酯(312mg, 2.6mmol)于乙腈(10mL)中的搅拌混合物中加入溴化铜(II)(596mg, 2.6mmol)和溴化铜(I)(383mg, 2.6mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时。将所得混合物倒入水(30mL)中,并用乙酸乙酯(3x35mL)萃取。将合并的有机层用盐水(60mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩。将残留物通过使用30%石油醚和70%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-(5-溴-1H-吡唑-1-基)-3-氯-5-硝基吡啶(360mg, 44%产率)。LC-MS:m/z 303 [M+H]⁺。

[1979] 步骤5: 6-(5-溴-1H-吡唑-1-基)-5-氯吡啶-3-胺



[1981] 向2-(5-溴-1H-吡唑-1-基)-3-氯-5-硝基吡啶(1.2g, 3.9mmol)于乙醇(24mL)和水(8mL)中的搅拌溶液中加入Fe(656mg, 11.7mmol)和NH₄Cl(1.0g, 19.6mmol)。将混合物在80℃下搅拌1小时。使混合物冷却至25℃。将混合物用水(50mL)稀释。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用30%石油醚和70%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的6-(5-溴-1H-吡唑-1-基)-5-氯吡啶-3-胺(820mg, 72%产率)。LC-MS:m/z 273 [M+H]⁺

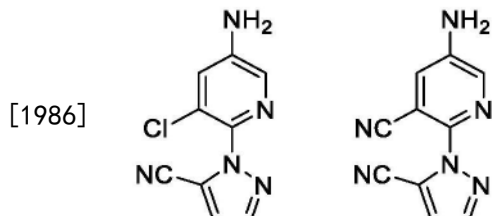
[1982] 步骤6: N-[6-(5-溴-1H-吡唑-1-基)-5-氯吡啶-3-基]-N-[(叔丁氧基)羰基]氨基甲酸叔丁酯



[1984] 在0℃下,向6-(5-溴吡唑-1-基)-5-氯-吡啶-3-胺(820mg, 3.0mmol)、TEA(910mg, 8.9mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(73mg, 599.6μmol)于二氯甲烷(20mL)中的搅拌溶液中加入叔丁氧基羰基碳酸叔丁酯(2.6g, 11.9mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌15小时。将所得溶液在真空下浓缩。将残留物通过使用40%石油醚和60%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的N-[6-(5-溴-1H-吡唑-1-基)-5-氯吡啶-3-基]-N-[(叔

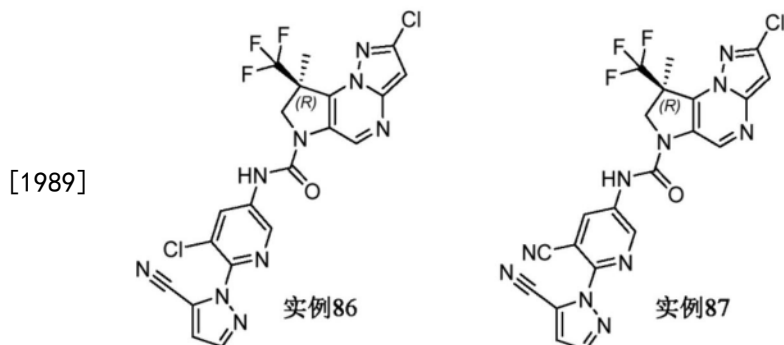
丁氧基)羰基]氨基甲酸叔丁酯(980mg,68%产率)。 ^1H NMR(400MHz,氯仿-d) δ 8.35(d,J=2.4Hz,1H),7.77(dd,J=8.4,2.4Hz,2H),6.52(d,J=2.0Hz,1H),1.46(s,18H)。LC-MS:m/z 473[M+H] $^+$ 。

[1985] 步骤7:1-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-甲腈和5-氨基-2-(5-氰基-1H-吡唑-1-基)烟腈的混合物



[1987] 在氮气气氛下,向N-[6-(5-溴吡唑-1-基)-5-氯-3-吡啶基]-N-叔丁氧基羰基-氨基甲酸叔丁酯(800mg,1.7mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(12mL)中的搅拌溶液中加入 $\text{Zn}(\text{CN})_2$ (396mg,3.4mmol)和 $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (276mg,337.7 μmol)。将反应混合物在微波反应器中在180 $^\circ\text{C}$ 下加热2小时。通过加入水(100mL)来淬灭混合物。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的1-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-甲腈和5-氨基-2-(5-氰基-1H-吡唑-1-基)烟腈的混合物(170mg,24%产率)。LC-MS:m/z 220和211[M+H] $^+$ 。

[1988] 步骤8:(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(5-氰基-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-氰基-6-(5-氰基-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



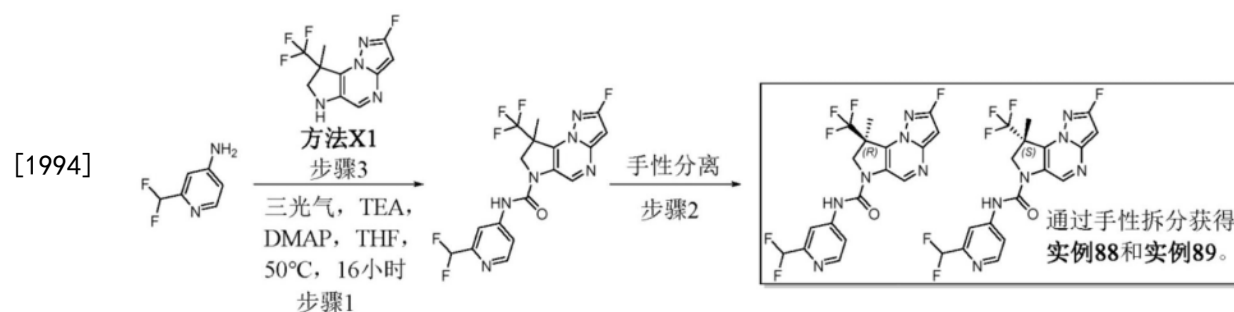
[1990] 向2-(5-氨基-3-氯-2-吡啶基)吡唑-3-甲腈和5-氨基-2-(5-氰基吡唑-1-基)吡啶-3-甲腈的混合物(170mg,819.6 μmol)于四氢呋喃(2mL)中的混合物中加入TEA(62mg,614.7 μmol)和三光气(73mg,245.9 μmol)。将混合物在25 $^\circ\text{C}$ 下搅拌30分钟,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(91mg,327.8 μmol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(415mg,4.1mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(100mg,819.6 μmol)。将反应混合物在40 $^\circ\text{C}$ 下搅拌15小时。在真空下去除溶剂。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到60mg粗产物。对粗产物进行制备型HPLC纯化。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氰基-6-(5-氰基-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧

啉-6-甲酰胺(实例87;5.6mg,0.5%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(5-氟基-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(实例86;22.0mg,2.1%产率)。实例86和实例87的对应的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[1991] 实例86:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆)δ9.75(br,1H),9.36(s,1H),8.75(s,1H),8.53(d,J=2.1Hz,1H),8.10(d,J=2.1Hz,1H),7.52(d,J=2.1Hz,1H),7.07(s,1H),4.85(d,J=11.7Hz,1H),4.30(d,J=11.4Hz,1H),1.99(s,3H)。LC-MS:m/z 522[M+H]⁺。

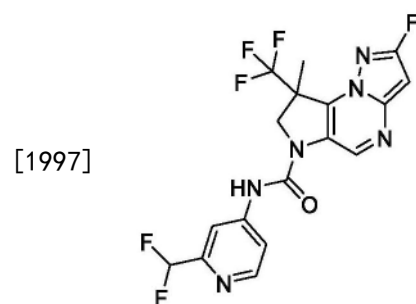
[1992] 实例87:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆)δ9.76(br,1H),9.36(s,1H),8.94(d,J=2.4Hz,1H),8.70(d,J=2.4Hz,1H),8.18(d,J=1.8Hz,1H),7.61(d,J=2.1Hz,1H),7.08(s,1H),4.83(d,J=11.1Hz,1H),4.30(d,J=11.4Hz,1H),1.99(s,3H)。LC-MS:m/z 513[M+H]⁺。

[1993] 方法J3



[1995] 实例88和89:由含有(R)-N-(2-(二氟甲基)吡啶-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(S)-N-(2-(二氟甲基)吡啶-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

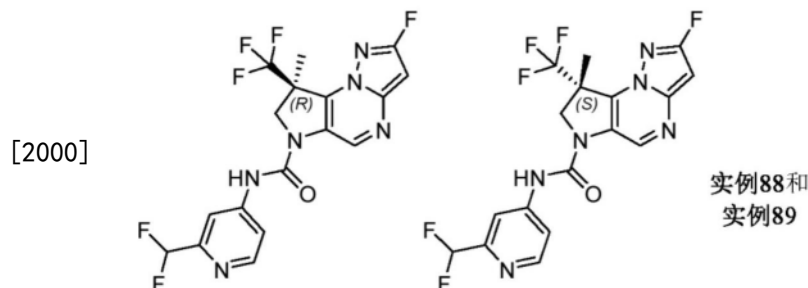
[1996] 步骤1:N-(2-(二氟甲基)吡啶-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[1998] 在0°C下,向2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(方法X1,步骤3)(40mg,154μmol)于THF(1mL)中的搅拌溶液中加入三光气(30mg,102μmol)和TEA(26mg,256μmol)。将所得混合物在25°C下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到2-(二氟甲基)吡啶-4-胺(25mg,171μmol)于THF(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(173mg,1.7mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(31mg,256μmol)。将混合物在50°C下搅拌16小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈灰白色固体的N-(2-(二氟甲基)吡啶-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(20mg,30%产率)。LC-MS:m/z431[M+

H]⁺。

[1999] 步骤2:分离对映异构体以获得(R)-N-(2-(二氟甲基)吡啶-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(S)-N-(2-(二氟甲基)吡啶-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

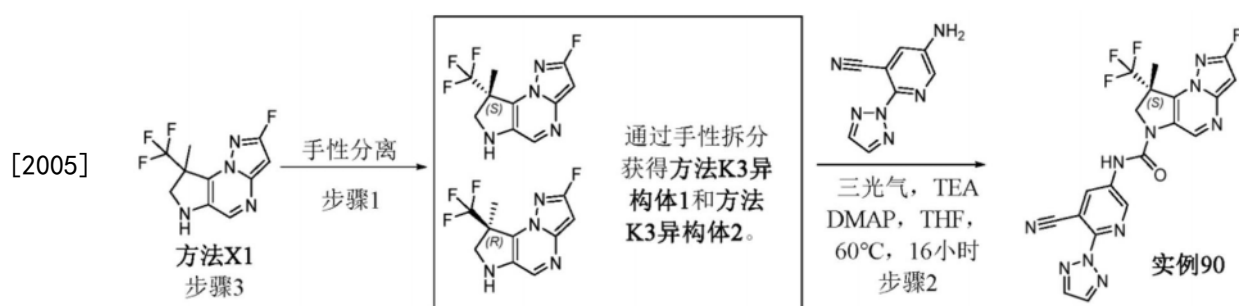


[2001] 对含有20mg N-(2-(二氟甲基)吡啶-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的样品进行手性HPLC(色谱柱:Lux 5u Cellulose-4, 2.12*25cm, 5um; 流动相A:Hex (0.5% 2M NH₃-MeOH) --HPLC, 流动相B:EtOH--HPLC; 流速:20毫升/分钟; 梯度:在21分钟内, 10B到10B; 220/254nm; RT1:12.058; RT2:17.004; 注射体积:1.5ml; 运行次数:4)。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干, 以得到呈灰白色固体的实例88(9.8mg, 13%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干, 以得到呈灰白色固体的实例89(6.5mg, 9%产率)。

[2002] 实例88:¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ9.38 (s, 1H), 8.53 (d, J=6.0Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 6.76 (t, J=54.8Hz, 1H), 6.36 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.77 (d, J=10.8Hz, 1H), 4.18 (d, J=10.8Hz, 1H), 2.05 (s, 3H)。LC-MS:m/z 431 [M+H]⁺。

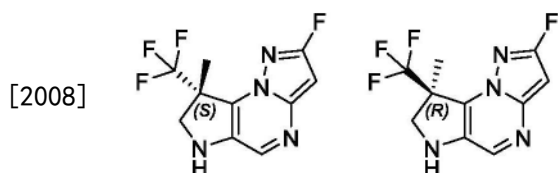
[2003] 实例89:¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ9.39 (s, 1H), 8.56 (d, J=5.6Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.79 (d, J=5.6Hz, 1H), 6.67 (t, J=55.2Hz, 1H), 6.35 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.63 (d, J=10.4Hz, 1H), 4.09 (d, J=10.4Hz, 1H), 2.05 (s, 3H)。LC-MS:m/z 431 [M+H]⁺。

[2004] 方法K3



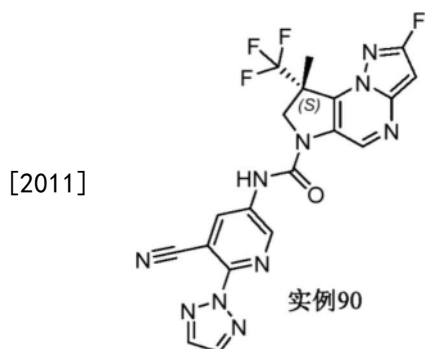
[2006] 实例90:(S)-N-(5-氰基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2007] 步骤1:分离对映异构体以获得(S)-2-氰基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶和(R)-2-氰基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3e]嘧啶



[2009] 对2-氰基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(方法X1,步骤3;500mg)的外消旋混合物进行手性HPLC纯化(色谱柱:CHIRALPAK IG,3*25cm,5um;流动相A:CO₂,流动相B:MEOH(0.1%2M NH₃-MEOH);流速:100毫升/分钟;梯度:20%B;220nm;RT1:2.13;RT2:3.52;注射体积:4.8ml;运行次数:5)。将第一个洗脱异构体(RT 2.13分钟)浓缩并冻干,以得到呈黄色固体的方法K3异构体1(150mg,30%产率)。将第二个洗脱异构体(RT 3.52分钟)浓缩并冻干,以得到呈黄色固体的方法K3异构体2(100mg,20%产率)。然后将两种异构体分别进行方法X1步骤4,以分别转化为实例38和实例39。实例39衍生自方法K3异构体2。

[2010] 步骤2: (S)-N-(5-氰基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

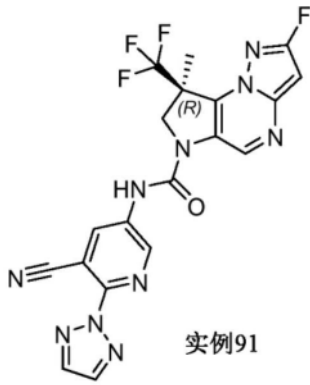


[2012] 向方法K3异构体1(30mg,115.3 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的搅拌溶液中加入三光气(20mg,69.2 μ mol)和TEA(17mg,173.0 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到5-氨基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)烟腈(43mg,230.6 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(21mg,173.0 μ mol)和TEA(117mg,1.2mmol)。将混合物在60 $^{\circ}$ C下搅拌16小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(S)-N-(5-氰基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(3.6mg,6%产率)。

[2013] 实例90:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 9.79(s,1H),9.36(s,1H),8.96(s,1H),8.72(d,J=2.4Hz,1H),8.29(s,2H),6.69(d,J=4.8Hz,1H),4.83(d,J=11.6Hz,1H),4.28(d,J=11.6Hz,1H),1.97(s,3H)。LC-MS:m/z 473[M+H]⁺。

[2014] 实例91: (R)-N-(5-氰基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2015]



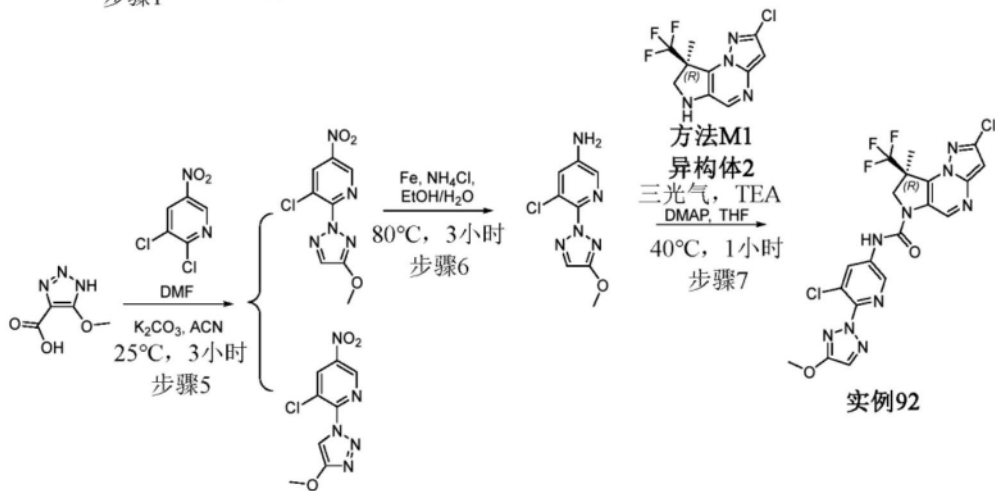
[2016] 根据方法K3步骤2,通过使用5-氨基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)烟腈和方法K3异构体2制备标题化合物。

[2017] 实例91: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.76 (s, 1H), 9.35 (s, 1H), 8.98 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.72 (d, $J=2.8\text{Hz}$, 1H), 8.30 (s, 2H), 6.70 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 4.84 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 4.30 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 1.98 (s, 3H)。LC-MS: m/z 473 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2018] 方法L3



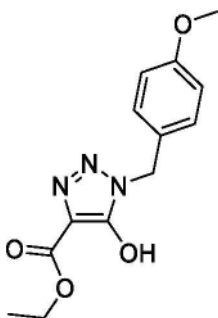
[2019]



[2020] 实例92: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-甲氧基-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2021] 步骤1: 5-羟基-1-(4-甲氧基苄基)-1H-1,2,3-三唑-4-甲酸乙酯

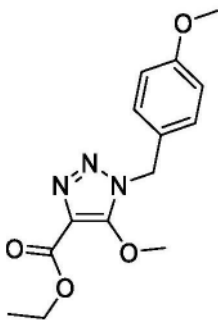
[2022]



[2023] 在25℃下,向1-(叠氮甲基)-4-甲氧基苯(4.0g,24.5mmol)于二甲亚砜(30mL)中的搅拌混合物中加入 K_2CO_3 (13.5g,98.1mmol)和丙二酸二乙酯(5.5g,34.3mmol)。将反应混合物在40℃下搅拌16小时。将反应混合物冷却至0℃,并通过加入HCl(70mL,5M)进行淬灭。将混合物在25℃下搅拌2小时。通过过滤收集固体,以得到呈灰白色固体的5-羟基-1-(4-甲氧基苄基)-1H-1,2,3-三唑-4-甲酸乙酯(4.7g,69%产率)。 1H NMR(300MHz,氯仿-d) δ 7.94(s,1H),7.24-7.34(m,2H),6.86-6.91(m,2H),4.44-4.51(m,2H),4.30(q,J=7.2Hz,2H),3.82(s,3H),1.32(t,J=7.2Hz,3H)。LC-MS:m/z 278[M+H] $^+$ 。

[2024] 步骤2:5-甲氧基-1-(4-甲氧基苄基)-1H-1,2,3-三唑-4-甲酸乙酯

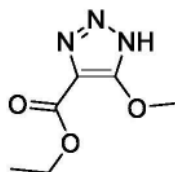
[2025]



[2026] 向5-羟基-1-(4-甲氧基苄基)-1H-1,2,3-三唑-4-甲酸乙酯(6.0g,21.6mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(120mL)中的搅拌混合物中加入 $Rh_2(AcO)_4$ (68mg,246.7 μ mol)和(三甲基甲硅烷基)重氮甲烷溶液(741mg,6.5mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌16小时。将混合物冷却至0℃,并通过加入甲醇(10mL)、冰醋酸(1mL)和水(100mL)进行淬灭。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取混合物。将合并的有机萃取物用盐水(3x200mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的5-甲氧基-1-(4-甲氧基苄基)-1H-1,2,3-三唑-4-甲酸乙酯(3.4g,54%产率)。 1H NMR(300MHz,氯仿-d) δ 7.24-7.29(m,2H),6.86-6.91(m,2H),5.31(s,2H),4.42(q,J=7.2Hz,2H),4.12(s,3H),3.81(s,3H),1.43(t,J=7.2Hz,3H)。LC-MS:m/z 292[M+H] $^+$ 。

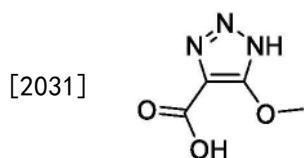
[2027] 步骤3:5-甲氧基-1H-1,2,3-三唑-4-甲酸乙酯

[2028]



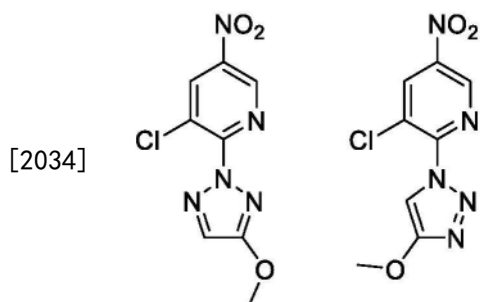
[2029] 向5-甲氧基-1-(4-甲氧基苄基)-1H-1,2,3-三唑-4-甲酸乙酯(3.0g,10.3mmol)于乙腈(70mL)和水(7mL)中的溶液中加入CAN(5.6g,10.3mmol)。将所得溶液在25℃下搅拌3小时。将反应混合物在减压下浓缩。将残留物溶解在水(100mL)中,并用乙酸乙酯(2x100mL)萃取。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的5-甲氧基-1H-三唑-4-甲酸乙酯(1.3g,74%产率)。 1H NMR(300MHz,氯仿-d) δ 12.69(br,1H),4.49(q,J=7.2Hz,2H),4.12(s,3H),1.43(t,J=7.2Hz,3H)。LC-MS:m/z 172[M+H] $^+$ 。

[2030] 步骤4:5-甲氧基-1H-1,2,3-三唑-4-甲酸



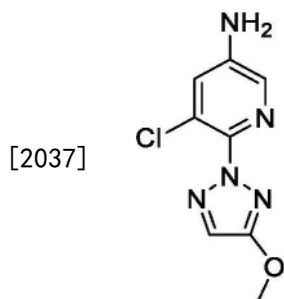
[2032] 向5-甲氧基-1H-三唑-4-甲酸乙酯(560mg, 3.3mmol)于乙醇(10mL)中的搅拌溶液中加入H₂O(3mL)中的NaOH(785mg, 19.2mmol)。将所得溶液在50℃下搅拌2小时。用HCl(6M)将pH调整到3。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取混合物。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并浓缩,以得到呈无色油状物的5-甲氧基-1H-1,2,3-三唑-4-甲酸(460mg, 98%产率)。¹H NMR(300MHz, 甲醇-d₄) δ4.02(s, 3H)。LC-MS:m/z 144[M+H]⁺。

[2033] 步骤5:3-氯-2-(4-甲氧基-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-硝基吡啶和3-氯-2-(4-甲氧基-1H-1,2,3-三唑-2-基)-5-硝基吡啶



[2035] 将5-甲氧基-1H-1,2,3-三唑-4-甲酸(400mg, 2.8mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(8mL)中的混合物在130℃下搅拌4小时。将K₂CO₃(2.4g, 17.4mmol)和2,3-二氯-5-硝基-吡啶(600mg, 3.1mmol)加入溶液中。将混合物在25℃下搅拌3小时。将反应混合物用水(100mL)淬灭,用乙酸乙酯(3x100mL)萃取。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的3-氯-2-(4-甲氧基-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-硝基吡啶(100mg, 14%产率)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ9.31(d, J=2.4Hz, 1H), 8.75(d, J=2.4Hz, 1H), 7.58(s, 1H), 4.14(s, 3H)。LC-MS:m/z 256[M+H]⁺和呈白色固体的3-氯-2-(4-甲氧基-1H-1,2,3-三唑-2-基)-5-硝基吡啶(60mg, 8%产率)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ9.29(d, J=2.4Hz, 1H), 8.81(d, J=2.4Hz, 1H), 7.84(s, 1H), 4.11(s, 3H)。LC-MS:m/z 256[M+H]⁺。

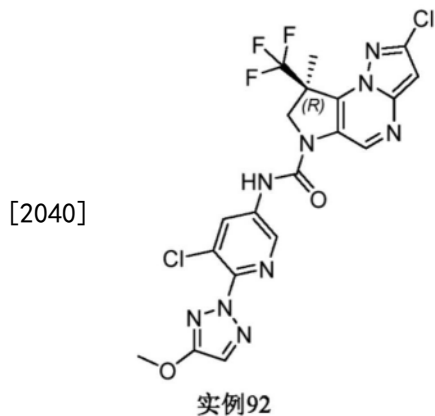
[2036] 步骤6:5-氯-6-(4-甲氧基-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺



[2038] 向3-氯-2-(4-甲氧基-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-硝基吡啶(100mg, 391.2μmol)于乙醇(2mL)和水(0.5mL)中的溶液中加入Fe(65mg, 1.3mmol)和NH₄Cl(104mg, 2.3mmol)。将所得混合物在80℃下搅拌3小时。将混合物过滤。将滤液在真空下浓缩,用水(10mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取。将合并的有机层用盐水(2x20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真

空下浓缩。将残留物通过使用40%石油醚和60%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的5-氯-6-(4-甲氧基-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(60mg, 68%产率)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ 7.93(d, J=2.7Hz, 1H), 7.37(s, 1H), 7.19(d, J=2.7Hz, 1H), 4.06(s, 3H)。LC-MS:m/z 226[M+H]⁺。

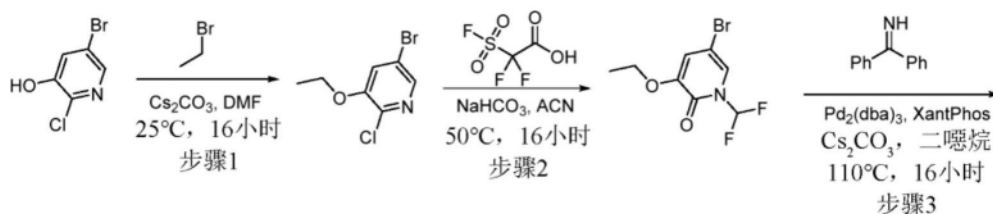
[2039] 步骤7: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-甲氧基-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



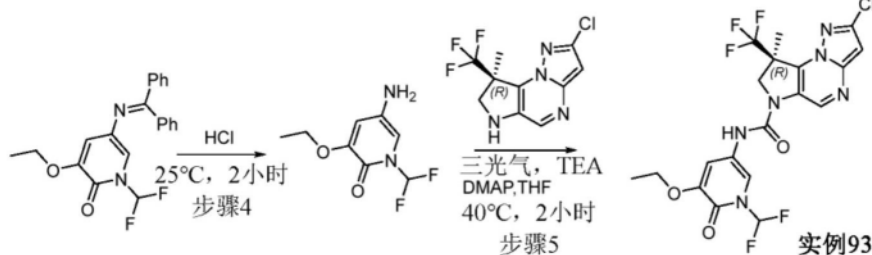
[2041] 根据方法A2步骤2,通过使用5-氯-6-(4-甲氧基三唑-2-基)吡啶-3-胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例92的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2042] 实例92:¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ 9.68(s, 1H), 9.37(s, 1H), 8.72(d, J=2.4Hz, 1H), 8.48(d, J=2.4Hz, 1H), 7.79(s, 1H), 7.09(s, 1H), 4.86(d, J=11.4Hz, 1H), 4.31(d, J=11.4Hz, 1H), 3.97(s, 3H), 1.99(s, 3H)。LC-MS:m/z 528[M+H]⁺。

[2043] 方法M3

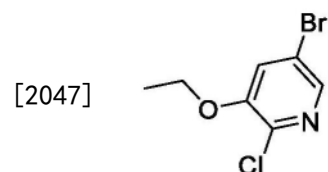


[2044]



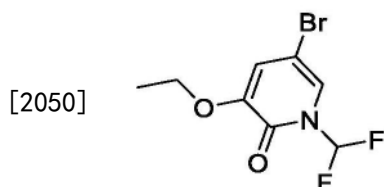
[2045] 实例93: (R)-2-氯-N-(1-(二氟甲基)-5-乙氧基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2046] 步骤1: 5-溴-2-氯-3-乙氧基吡啶



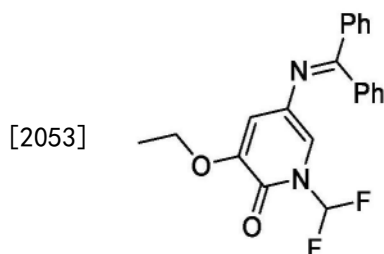
[2048] 向5-溴-2-氯吡啶-3-醇 (1.7g, 8.2mmol) 和 Cs_2CO_3 (4.0g, 12.2mmol) 于N,N-二甲基甲酰胺 (20mL) 中的搅拌混合物中逐滴加入溴乙烷 (1.1g, 9.8mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物用水 (20mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水 (50mL) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈白色固体的5-溴-2-氯-3-乙氧基吡啶 (1.7g, 86%产率)。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, 氯仿-d) δ 8.04 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.30 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 4.11 (q, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 1.51 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H)。LC-MS: m/z 236 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2049] 步骤2: 5-溴-1-(二氟甲基)-3-乙氧基吡啶-2(1H)-酮



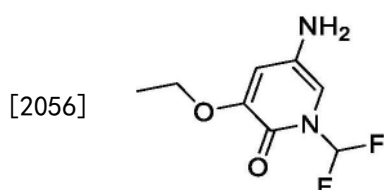
[2051] 向5-溴-2-氯-3-乙氧基吡啶 (1.0g, 4.1mmol) 于乙腈 (10mL) 中的搅拌溶液中加入 NaHCO_3 (418mg, 5.0mmol) 和2,2-二氟-2-(氟磺酰基)乙酸 (2.2g, 12.4mmol)。将反应混合物在50℃下搅拌16小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈黄色油状物的5-溴-1-(二氟甲基)-3-乙氧基吡啶-2(1H)-酮 (690mg, 61%产率)。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz, 氯仿-d) δ 7.69 (t, $J=60.0\text{Hz}$, 1H), 7.21 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 6.61 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 4.02 (q, $J=6.9\text{Hz}$, 2H), 1.49 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H)。LC-MS: m/z 268 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2052] 步骤3: 1-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)-3-乙氧基吡啶-2(1H)-酮



[2054] 在氮气气氛下, 向5-溴-1-(二氟甲基)-3-乙氧基吡啶-2(1H)-酮 (500mg, 1.8mmol) 于二噁烷 (20mL) 中的混合物中加入二苯基甲亚胺 (662mg, 3.7mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (568mg, 548 μmol)、Xantphos (317mg, 548 μmol) 和 Cs_2CO_3 (1.8g, 5.5mmol)。将所得混合物在110℃下搅拌16小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈红色固体的1-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)-3-乙氧基吡啶-2(1H)-酮 (330mg, 49%产率)。LC-MS: m/z 369 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

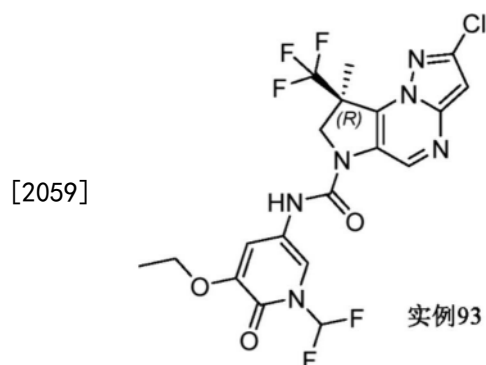
[2055] 步骤4: 5-氨基-1-(二氟甲基)-3-乙氧基吡啶-2(1H)-酮



[2057] 向1-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)-3-乙氧基吡啶-2(1H)-酮 (330mg, 895.8 μmol) 于四氢呋喃 (10mL) 中的溶液中加入盐酸盐 (5mL, 1M)。将所得混合物在25℃下搅

拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用水(5mL)稀释。将pH用饱和NaHCO₃水溶液调整到7-8。用乙酸乙酯(3x5mL)萃取所得溶液。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈红色固体的5-氨基-1-(二氟甲基)-3-乙氧基吡啶-2(1H)-酮(180mg,81%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d) δ7.74(t, J=60.0Hz, 1H), 6.54(d, J=2.4Hz, 1H), 6.32(d, J=2.4Hz, 1H), 4.00(q, J=7.2Hz, 2H), 1.48(t, J=7.2Hz, 3H)。LC-MS:m/z 205[M+H]⁺。

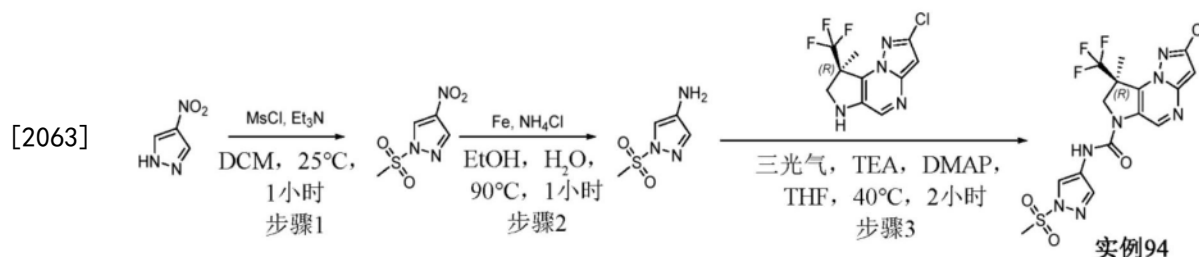
[2058] 步骤6: (R)-2-氯-N-(1-(二氟甲基)-5-乙氧基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2060] 向方法M1异构体2(56mg, 204.1μmol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中加入三光气(30mg, 102.0μmol)和TEA(31mg, 306.1μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到5-氨基-1-(二氟甲基)-3-乙氧基吡啶-2(1H)-酮(50mg, 244.9μmol)于四氢呋喃(5mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(50mg, 408.1μmol)和TEA(206mg, 2.0mmol)。将混合物在40℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈黄色固体的(R)-2-氯-N-(1-(二氟甲基)-5-乙氧基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(5.0mg, 5%产率)。实例93的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

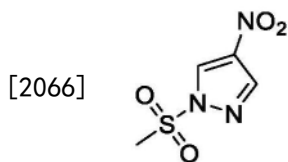
[2061] 实例93:¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ9.30(s, 1H), 8.84(s, 1H), 7.94(t, J=60.0Hz, 1H), 7.68(d, J=2.4Hz, 1H), 7.05(d, J=2.4Hz, 1H), 7.03(s, 1H), 4.70(d, J=11.4Hz, 1H), 4.18(d, J=11.7Hz, 1H), 3.99(q, J=6.9Hz, 2H), 1.95(s, 3H), 1.36(t, J=6.9Hz, 3H)。LC-MS:m/z 507[M+H]⁺。

[2062] 方法N3



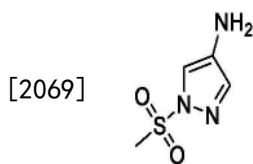
[2064] 实例94: (R)-2-氯-8-甲基-N-(1-(甲基磺酰基)-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2065] 步骤1: 1-(甲基磺酰基)-4-硝基-1H-吡唑



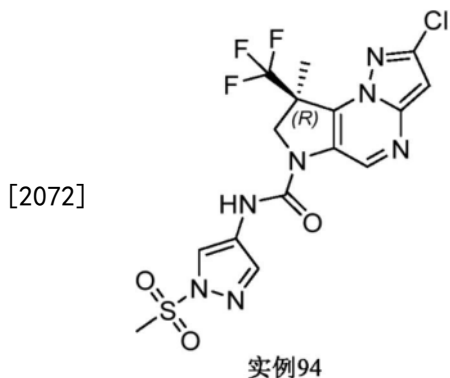
[2067] 在25°C下,向4-硝基-1H-吡唑(1.0g,8.8mmol)于二氯甲烷(20mL)中的搅拌溶液中加入TEA(1.3g,13.3mmol)和甲磺酰氯(1.2g,10.6mmol)。将混合物在25°C下搅拌1小时。通过加入水(100mL)来淬灭混合物。用二氯甲烷(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的1-(甲基磺酰基)-4-硝基-1H-吡唑(1.4g,57%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ9.37(s,1H),8.71(s,1H),3.76(s,3H)。LC-MS:m/z 192[M+H]⁺。

[2068] 步骤2:1-(甲基磺酰基)-1H-吡唑-4-胺



[2070] 向1-(甲基磺酰基)-4-硝基-1H-吡唑(300mg,1.6mmol)于乙醇(9mL)和水(3mL)中的溶液中加入NH₄Cl(420mg,7.9mmol)和Fe(263mg,4.7mmol)。将所得混合物在90°C下搅拌1小时。冷却至25°C后,过滤混合物。将滤液倒入水(50mL)中,并用乙酸乙酯(3x50mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的1-(甲基磺酰基)-1H-吡唑-4-胺(190mg,47%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ7.52(s,1H),7.32(s,1H),4.49(s,2H),3.31(m,3H)LC-MS:m/z 162[M+H]⁺。

[2071] 步骤3:(R)-2-氯-8-甲基-N-(1-(甲基磺酰基)-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



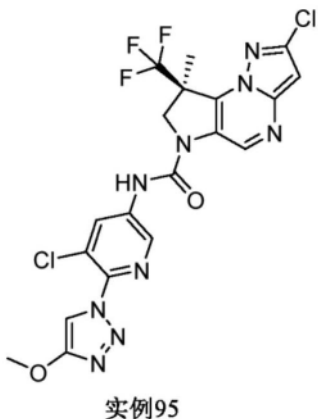
[2073] 根据方法01步骤2,通过使用1-(甲基磺酰基)-1H-吡唑-4-胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例94的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2074] 实例94:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ9.58(br,1H),9.36(s,1H),8.28(s,1H),8.02(s,1H),7.06(s,1H),4.69(d,J=11.4Hz,1H),4.21(d,J=11.1Hz,1H),3.52(s,3H),1.97(s,3H)。LC-MS:m/z 464[M+H]⁺。

[2075] 实例95:(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-甲氧基-1H-1,2,3-三唑-1-yl)吡啶-3-基)-8-

甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

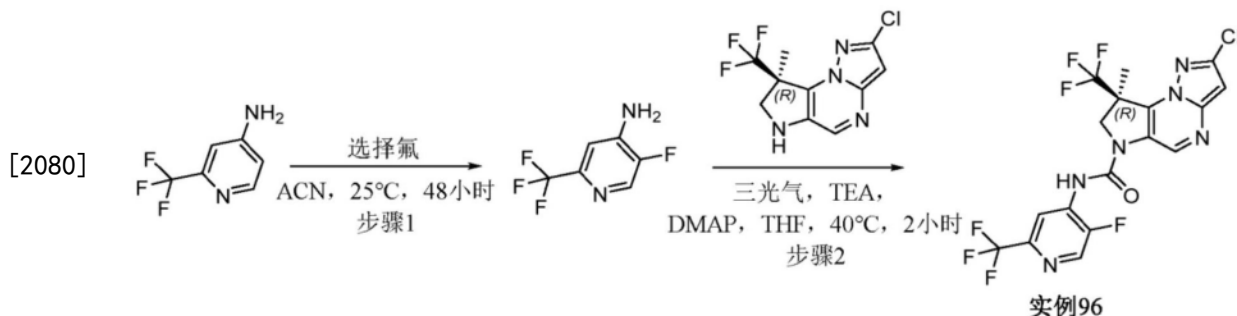
[2076]



[2077] 根据方法L3步骤6和7,通过使用3-氯-2-(4-甲氧基-1H-1,2,3-三唑-2-基)-5-硝基吡啶和方法M1异构体2制备标题化合物。实例95的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

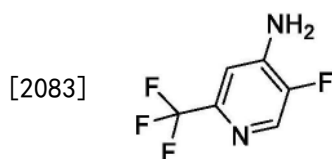
[2078] 实例95: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 9.72 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.76 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.51 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 4.86 (d, $J=11.7\text{Hz}$, 1H), 4.31 (d, $J=11.7\text{Hz}$, 1H), 3.93 (s, 3H), 2.00 (s, 3H)。LC-MS: m/z 528 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2079] 方法03



[2081] 实例96: (R)-2-氯-N-(5-氟-2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2082] 步骤1: 5-氟-2-(三氟甲基)吡啶-4-胺

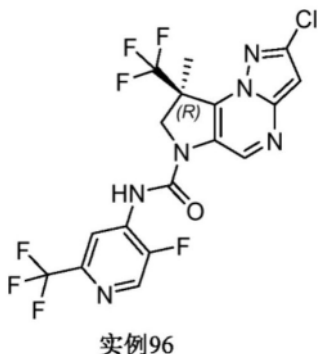


[2084] 向2-(三氟甲基)吡啶-4-胺 (3g, 18.5mmol) 于乙腈 (50mL) 中的搅拌溶液中加入1-(氯甲基)-4-氟-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-四氟硼酸二铵 (14g, 40.7mmol)。将混合物在25°C下搅拌48小时。在真空下去除溶剂。向残留物中加入乙酸乙酯 (50mL) 和饱和 NaHCO_3 水溶液 (50mL)。分离各层,并用乙酸乙酯 (2x50mL) 萃取水层。将合并的有机层在真空下浓缩。将残留物通过使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的5-氟-2-(三氟甲基)吡啶-4-胺 (310mg, 8%产率)。 ^1H NMR (300MHz, 氯仿- d) δ : 8.26 (d, $J=2.7\text{Hz}$, 1H), 7.06 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 4.66 (s, 2H)。LC-MS: m/z 181 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2085] 步骤2: (R)-2-氯-N-(5-氟-2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,

8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

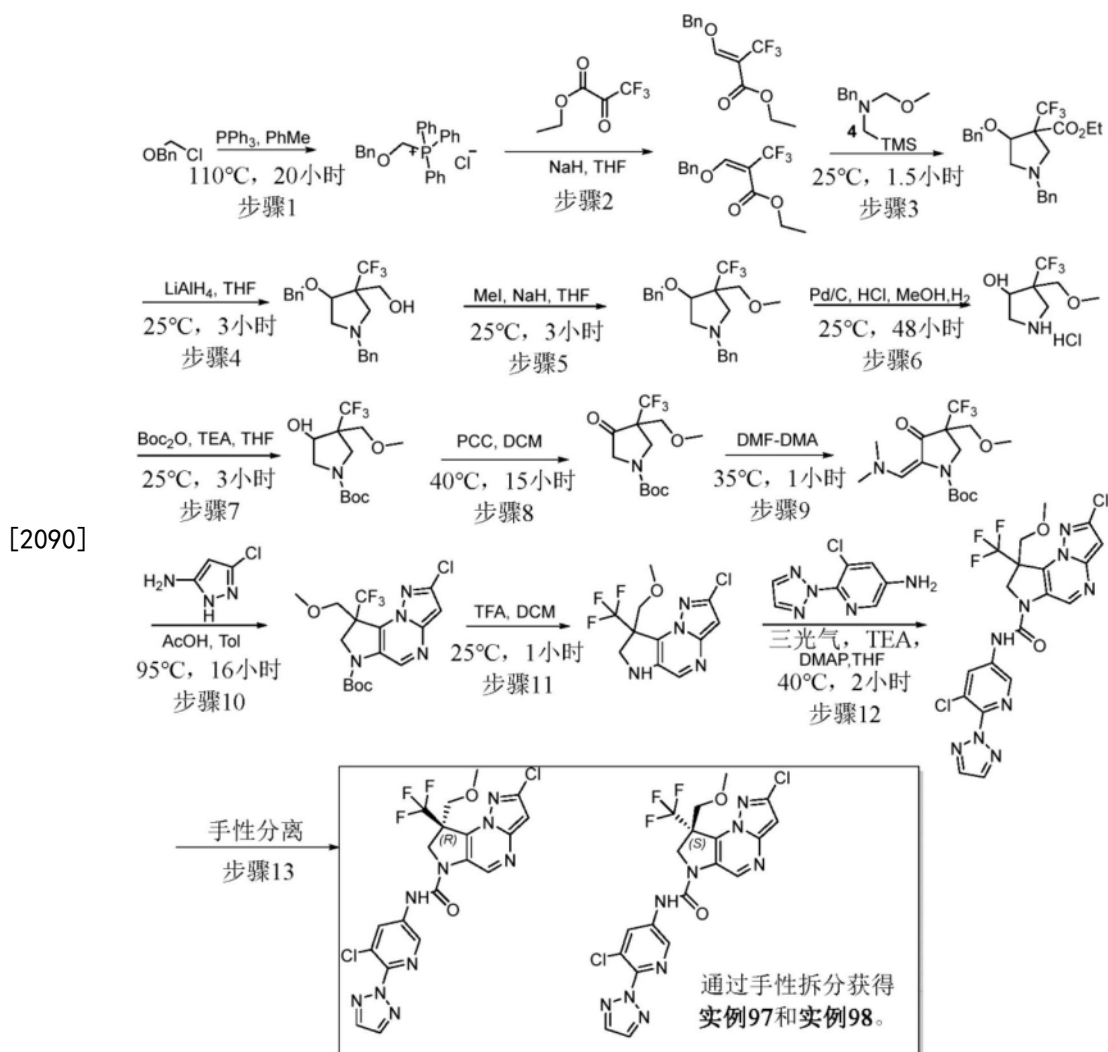
[2086]



[2087] 根据方法01步骤3,通过使用5-氟-2-(三氟甲基)吡啶-4-胺和方法M1异构体2制备标题化合物。实例96的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2088] 实例96: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.70 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 8.76 (d, $J=2.6\text{Hz}$, 1H), 8.36 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 1H), 7.06 (s, 1H), 4.96 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 4.29 (d, $J=11.5\text{Hz}$, 1H), 1.94 (s, 3H)。LC-MS: m/z 483 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

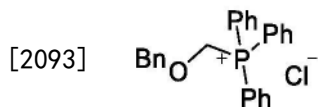
[2089] 方法P3



[2091] 实例97和98:由含有(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-

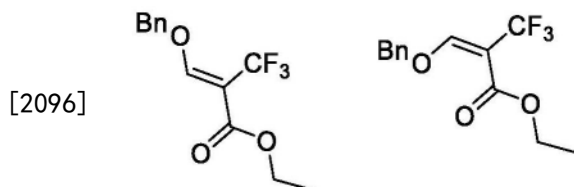
(甲氧基甲基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(甲氧基甲基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[2092] 步骤1: ((苄氧基)甲基)三苯基氯化磷



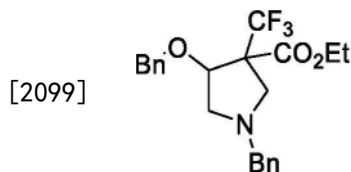
[2094] 向((氯甲氧基)甲基)苯(50g, 319.3mmol)于甲苯(100mL)中的搅拌溶液中缓慢加入三苯基磷(92.1g, 351.2mmol)。将所得混合物在110℃搅拌20小时。过滤混合物,并用50mL石油醚洗涤固体,以得到呈白色固体的((苄氧基)甲基)三苯基氯化磷(90g, 66%产率)。LC-MS:m/z 383[M-Cl]⁺。

[2095] 步骤2: (Z)-3-(苄氧基)-2-(三氟甲基)丙烯酸乙酯和(E)-3-(苄氧基)-2-(三氟甲基)丙烯酸乙酯



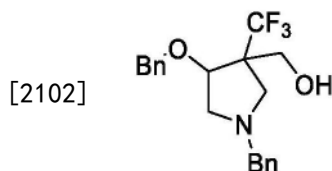
[2097] 在0℃下,向((苄氧基)甲基)三苯基氯化磷(20.0g, 47.7mmol)于四氢呋喃(200mL)中的混合物中分批加入NaH(1.9g, 47.7mmol, 60%, 于矿物油中)。将所得混合物在0℃下搅拌0.5小时。然后,逐滴加入3,3,3-三氟-2-氧代丙酸乙酯(6.50g, 38.2mmol)于THF(50mL)中的溶液。将所得混合物在50℃下搅拌15小时。将反应混合物用水(50mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x200mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色油状物的(Z)-3-(苄氧基)-2-(三氟甲基)丙烯酸乙酯和(E)-3-(苄氧基)-2-(三氟甲基)丙烯酸乙酯的混合物(2.5g, 10%产率)。LC-MS:m/z 275[M+H]⁺。

[2098] 步骤3: 1-苄基-4-(苄氧基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-3-甲酸乙酯



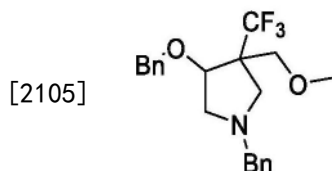
[2100] 在0℃下,向(Z)-3-(苄氧基)-2-(三氟甲基)丙烯酸乙酯和(E)-3-(苄氧基)-2-(三氟甲基)丙烯酸乙酯(3.6g, 13.1mmol)于N-(甲氧基甲基)-1-苯基-N-(三甲基甲硅烷基)甲胺(4.7g, 19.7mmol)中的搅拌混合物中逐滴加入TFA(150mg, 1.3mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物用水(100mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x100mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色油状物的1-苄基-4-(苄氧基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-3-甲酸乙酯(3.6g, 68%产率)。LC-MS:m/z 408[M+H]⁺。

[2101] 步骤4: (1-苄基-4-(苄氧基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-3-基)甲醇



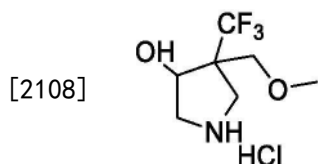
[2103] 在0℃下,向1-苄基-4-(苄氧基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-3-甲酸乙酯(2.8g, 6.8mmol)于四氢呋喃(20mL)中的搅拌溶液中加入LiAlH₄(313mg, 8.2mmol)。将反应混合物在25℃搅拌3小时。将反应混合物用水(10mL)淬灭,并滤出固体。用乙酸乙酯(3x20mL)萃取滤液。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(1-苄基-4-(苄氧基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-3-基)甲醇(1.9g, 75%产率)。¹H NMR (400MHz, 甲醇-d₄) δ7.22-7.33 (m, 10H), 4.62 (d, J=12.0Hz, 1H), 4.53 (d, J=11.6Hz, 1H), 4.11 (t, J=6.8Hz, 1H), 3.77 (d, J=12.0Hz, 1H), 3.54-3.63 (m, 3H), 3.04-3.08 (m, 1H), 2.64-2.73 (m, 2H), 2.45-2.49 (m, 1H)。LC-MS:m/z 366[M+H]⁺。

[2104] 步骤5:1-苄基-4-(苄氧基)-3-(甲氧基甲基)-3-(三氟甲基)吡咯烷



[2106] 在0℃下,向(1-苄基-4-(苄氧基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-3-基)甲醇(1.9g, 5.4mmol)于四氢呋喃(20mL)中的溶液中分批加入NaH(260mg, 6.5mmol, 60%, 于矿物油中)。将反应混合物在0℃下搅拌0.5小时。然后在0℃下逐滴加入碘甲烷(1.2g, 8.1mmol)并将反应混合物在25℃下搅拌3小时。将反应混合物用水(20mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x20mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物1-苄基-4-(苄氧基)-3-(甲氧基甲基)-3-(三氟甲基)吡咯烷(1.7g, 83%产率)。¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ7.23-7.36 (m, 10H), 4.68 (d, J=12.4Hz, 1H), 4.54 (d, J=12.4Hz, 1H), 4.08-4.14 (m, 1H), 3.67 (d, J=12.8Hz, 1H), 3.57 (d, J=10.0Hz, 1H), 3.52 (d, J=12.8Hz, 1H), 3.35-3.38 (m, 4H), 3.12-3.16 (m, 1H), 2.71 (d, J=10.0Hz, 1H), 2.64 (d, J=10.0Hz, 1H), 2.46-2.51 (m, 1H)。LC-MS:m/z 380[M+H]⁺。

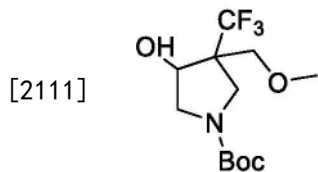
[2107] 步骤6:4-(甲氧基甲基)-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇盐酸盐



[2109] 向1-苄基-4-苄氧基-3-(甲氧基甲基)-3-(三氟甲基)吡咯烷(1.8g, 4.7mmol)和HCl(4.7mL, 1M(MeOH))于甲醇(50mL)中的溶液中加入Pd/C(1.8g, 10%)。将所得混合物在氢气气氛下在25℃下搅拌48小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩,以得到呈黄色固体的4-(甲氧基甲基)-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇盐酸盐(1.1g, 99%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ9.57 (s, 2H), 6.15 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.37-4.43 (m, 1H), 3.51 (s, 2H), 3.40-3.48 (m,

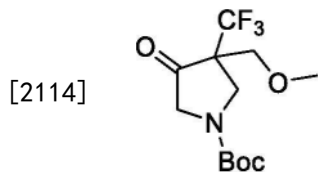
2H), 3.31-3.34 (m, 1H), 3.30 (s, 3H), 3.05 (dd, J=5.2, 12.0Hz, 1H)。LC-MS: m/z 200 [M+H-Cl]⁺。

[2110] 步骤7: 4-羟基-3-(甲氧基甲基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



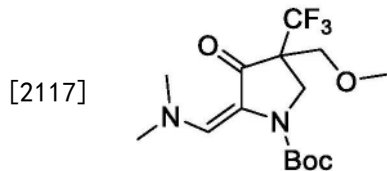
[2112] 向4-(甲氧基甲基)-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇盐酸盐(1.1g, 4.7mmol)和二碳酸二叔丁酯(1.5g, 7.0mmol)于四氢呋喃(20mL)中的溶液中加入三乙胺(2.4g, 23.3mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌3小时。将反应混合物用水(20mL)淬灭。用乙酸乙酯(2x20mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的4-羟基-3-(甲氧基甲基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.2g, 86%产率)。LC-MS: m/z 300 [M+H]⁺。

[2113] 步骤8: 3-(甲氧基甲基)-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



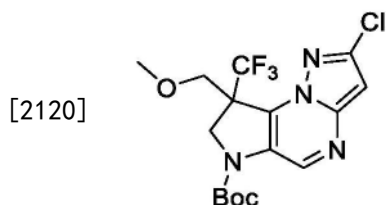
[2115] 向4-羟基-3-(甲氧基甲基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.1g, 3.7mmol)和硅胶(360mg)于二氯甲烷(10mL)中的混合物中加入PCC(360mg, 1.7mmol)。将所得混合物在40℃下搅拌15小时。将反应混合物用水(30mL)淬灭并且用二氯甲烷(3x30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(60mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的3-(甲氧基甲基)-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(515mg, 31%产率)。¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 3.79-4.14 (m, 5H), 3.57 (d, J=8.8Hz, 1H), 3.34 (s, 3H), 1.49 (s, 9H)。LC-MS: m/z 242 [M+H-C₄H₉]⁺。

[2116] 步骤9: (E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-(甲氧基甲基)-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



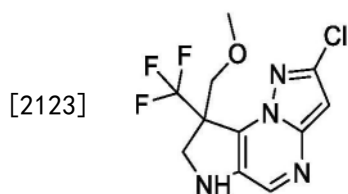
[2118] 将3-(甲氧基甲基)-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(515mg, 1.7mmol)于DMF-DMA(10mL)中的溶液在35℃下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-(甲氧基甲基)-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(610mg, 粗品)。LC-MS: m/z 353 [M+H]⁺。

[2119] 步骤10: 2-氯-8-(甲氧基甲基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



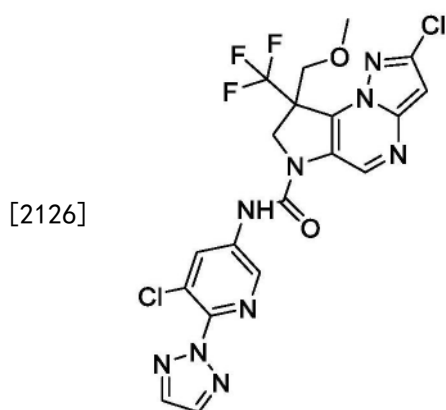
[2121] 向(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-(甲氧基甲基)-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(610mg, 1.7mmol)于甲苯(20mL)和乙酸(2mL)中的搅拌溶液中加入3-氯-1H-吡唑-5-胺(203mg, 1.7mmol)。将所得混合物在95℃搅拌15小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(10mL)稀释。用乙酸乙酯(3x30mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-氯-8-(甲氧基甲基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(45mg, 6%产率)。LC-MS:m/z 407[M+H]⁺。

[2122] 步骤11:2-氯-8-(甲氧基甲基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[2124] 向2-氯-8-(甲氧基甲基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(45mg, 110.6μmol)于二氯甲烷(4mL)中的搅拌溶液中加入TFA(1mL)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(5mL)稀释。用二氯甲烷(3x20mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-氯-8-(甲氧基甲基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(32mg, 90%产率)。LC-MS:m/z 307[M+H]⁺。

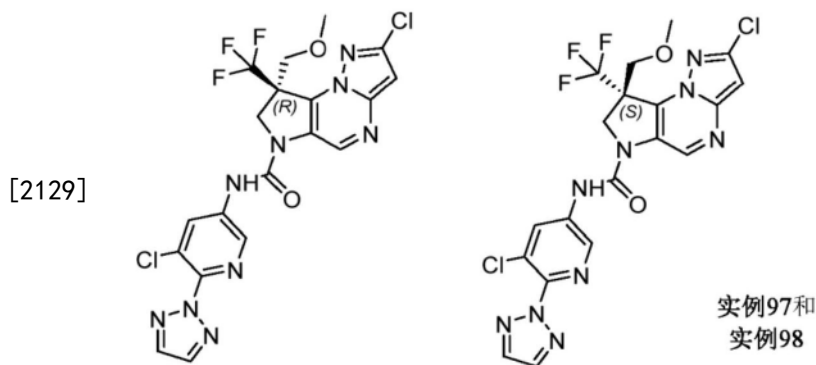
[2125] 步骤12:2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(甲氧基甲基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2127] 向5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(27mg, 88.0μmol)于四氢呋喃(2mL)

中的搅拌溶液中加入三光气(18mg, 60.7 μ mol)和TEA(20mg, 197.6 μ mol)。将所得混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到2-氯-8-(甲氧基甲基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(34mg, 176.1 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(50mg, 409.3 μ mol)和TEA(200mg, 1.9mmol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈灰白色固体的2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(甲氧基甲基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(20mg, 34%产率)。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, 甲醇- d_4) δ 9.38(s, 1H), 8.71(d, J=2.4Hz, 1H), 8.55(d, J=2.4Hz, 1H), 8.02(s, 2H), 6.80(s, 1H), 4.76(d, J=11.6Hz, 1H), 4.64(d, J=9.2Hz, 1H), 4.59(d, J=11.6Hz, 1H), 4.07(d, J=9.2Hz, 1H), 3.38(s, 3H)。LC-MS:m/z 528[M+H] $^+$ 。

[2128] 步骤13:分离对映异构体以获得(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(甲氧基甲基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(甲氧基甲基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

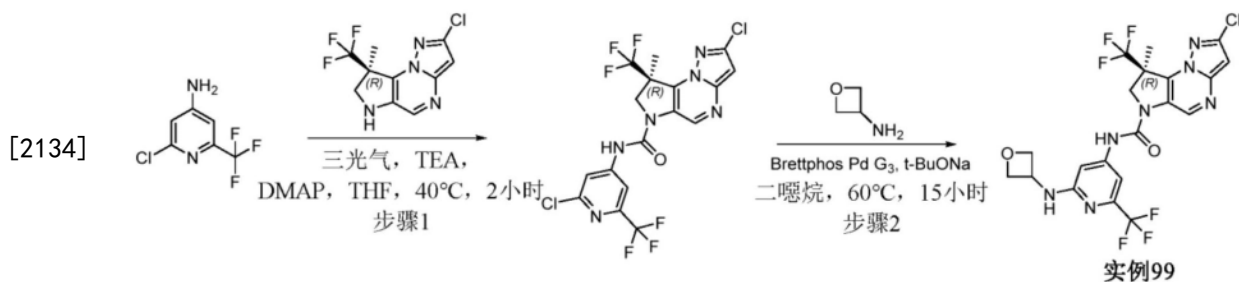


[2130] 对含有2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(甲氧基甲基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(20mg)的样品进行手性HPLC:色谱柱:CHIRALPAK IC, 2x25cm, 5 μ m;流动相A:Hex(0.5%2M NH_3 -MeOH)-HPLC, 流动相B:EtOH-HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在13分钟内, 30B到30B;220/254nm; RT1:9.734;RT2:10.518;注射体积:0.3ml;运行次数:10。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈灰白色固体的实例97(3.8mg, 19%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈灰白色固体的实例98(3.8mg, 19%产率)。

[2131] 实例97: $^1\text{HNMR}$ (400MHz, 甲醇- d_4) δ 9.38(s, 1H), 8.71(d, J=2.4Hz, 1H), 8.55(d, J=2.4Hz, 1H), 8.02(s, 2H), 6.80(s, 1H), 4.76(d, J=11.2Hz, 1H), 4.64(d, J=9.2Hz, 1H), 4.59(d, J=11.6Hz, 1H), 4.07(d, J=9.2Hz, 1H), 3.38(s, 3H)。LC-MS:m/z 528[M+H] $^+$ 。

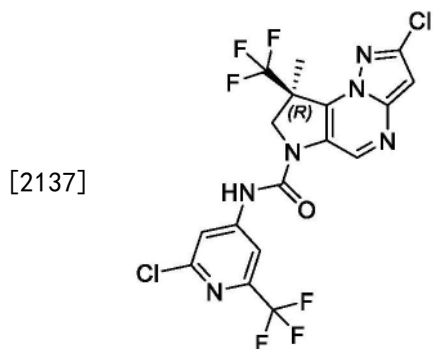
[2132] 实例98: $^1\text{HNMR}$ (400MHz, 甲醇- d_4) δ 9.38(s, 1H), 8.71(d, J=2.4Hz, 1H), 8.55(d, J=2.4Hz, 1H), 8.02(s, 2H), 6.80(s, 1H), 4.76(d, J=11.2Hz, 1H), 4.64(d, J=9.2Hz, 1H), 4.59(d, J=11.6Hz, 1H), 4.07(d, J=9.2Hz, 1H), 3.38(s, 3H)。LC-MS:m/z 528[M+H] $^+$ 。

[2133] 方法Q3



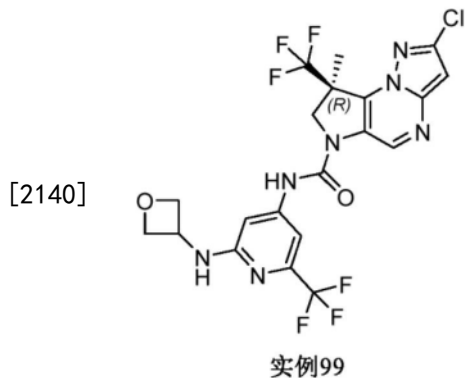
[2135] 实例99: (R)-2-氯-8-甲基-N-(2-(氧杂环丁烷-3-基氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2136] 步骤1: (R)-2-氯-N-(2-氯-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2138] 向2-氯-6-(三氟甲基)吡啶-4-胺 (200mg, 1.0mmol) 于四氢呋喃 (10mL) 中的搅拌溶液中加入三光气 (181mg, 610.5 μ mol) 和TEA (154mg, 1.5mmol)。将所得混合物在25°C下搅拌0.5小时, 然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2 (225mg, 814.0 μ mol) 的溶液中。然后向该溶液中加入TEA (1.0g, 10.2mmol) 和N,N-二甲基吡啶-4-胺 (248mg, 2.0mmol)。将混合物在40°C下搅拌2小时。将反应混合物浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈黄色固体的 (R)-2-氯-N-(2-氯-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (350mg, 69%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.93 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 7.99-8.05 (m, 2H), 7.08 (s, 1H), 4.82-4.85 (m, 1H), 4.25-4.28 (m, 1H), 1.95 (s, 3H)。LC-MS: m/z 499 [M+H]⁺。

[2139] 步骤2: (R)-2-氯-8-甲基-N-(2-(氧杂环丁烷-3-基氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

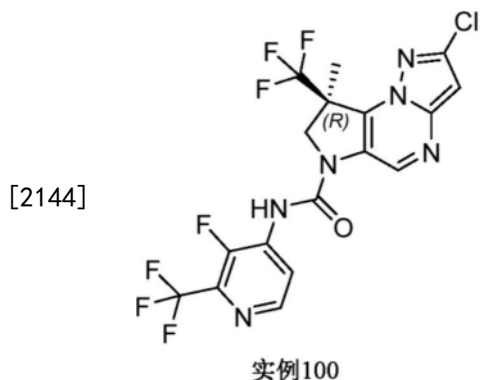


[2141] 在氮气气氛下在25°C下, 向 (R)-2-氯-N-(2-氯-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (350mg,

721.1 μ mol)和t-BuONa (208mg, 2.1mmol)于二噁烷(40mL)中的搅拌混合物中加入氧杂环丁烷-3-胺(53mg, 721.1 μ mol)和Brettphos Pd G3(130.7mg, 144.2 μ mol)。将反应混合物在60 $^{\circ}$ C下搅拌15小时。将反应混合物冷却至25 $^{\circ}$ C,并浓缩。将残留物通过使用40%石油醚和60%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到粗产物。对粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈黄色固体的(R)-2-氯-8-甲基-N-(2-(氧杂环丁烷-3-基氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(11.8mg, 3%产率)。实例99的对映异构体可以使用方法Q3步骤1中的方法M1异构体1类似地制备。

[2142] 实例99: ^1H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ 9.31-9.32(m, 2H), 7.80(d, J=5.7Hz, 1H), 7.19(s, 1H), 7.12(s, 1H), 7.04(s, 1H), 4.75-4.88(m, 4H), 4.42-4.45(m, 2H), 4.21-4.24(m, 1H), 1.94(s, 3H)。LC-MS: m/z 536[M+H] $^+$ 。

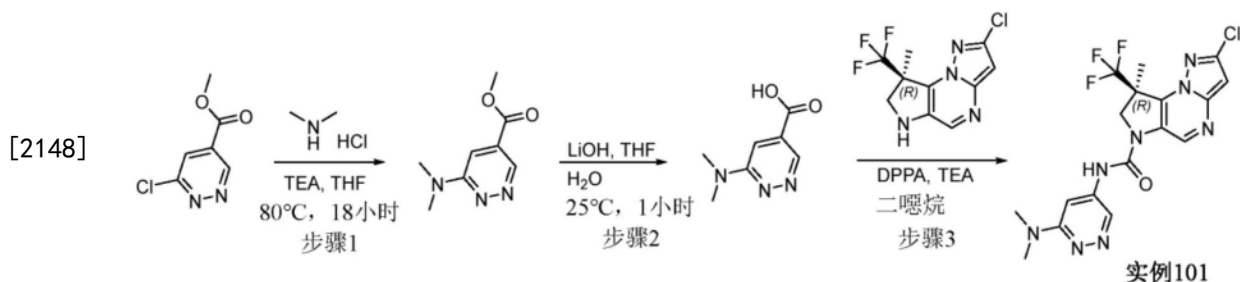
[2143] 实例100: (R)-2-氯-N-(3-氟-2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2145] 根据方法M2步骤4,通过使用(3-氟-2-(三氟甲基)异烟酸和方法M1异构体2制备标题化合物。实例100的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2146] 实例100: ^1H NMR(400MHz, 甲醇- d_4) δ : 9.34(s, 1H), 8.42(d, J=5.6Hz, 1H), 8.32-8.35(m, 1H), 6.83(s, 1H), 4.89-4.98(m, 1H), 4.29(d, J=11.6Hz, 1H), 2.05(s, 3H)。LC-MS: m/z 483[M+H] $^+$ 。

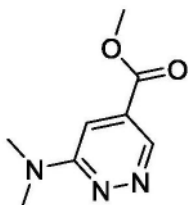
[2147] 方法R3



[2149] 实例101: (R)-2-氯-N-(6-(二甲基氨基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2150] 步骤1: 6-(二甲基氨基)哒嗪-4-甲酸甲酯

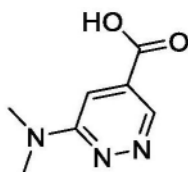
[2151]



[2152] 向6-氯吡嗪-4-甲酸甲酯(5.0g, 28.0mmol)于四氢呋喃(100mL)中的溶液中加入二甲胺氯化氢盐(2.84g, 34.8mmol)和TEA(5.9g, 57.9mmol)。将反应混合物在80℃下搅拌18小时。将反应混合物在真空下浓缩。将所得混合物用水(100mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x50mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色固体的6-(二甲基氨基)吡嗪-4-甲酸甲酯(800mg, 15%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 8.81(s, 1H), 7.34(s, 1H), 3.91(s, 3H), 3.16(s, 6H)。LC-MS:m/z 182[M+H]⁺。

[2153] 步骤2: 6-(二甲基氨基)吡嗪-4-甲酸

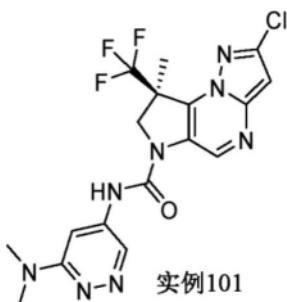
[2154]



[2155] 向6-(二甲基氨基)吡嗪-4-甲酸甲酯(300mg, 1.6mmol)于四氢呋喃(2.5mL)和水(2.5mL)中的混合物中加入LiOH(79mg, 3.3mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌1小时。用盐酸(1M)将pH调整到3。用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈淡黄色固体的6-(二甲基氨基)吡嗪-4-甲酸(400mg)。LC-MS:m/z 168[M+H]⁺。

[2156] 步骤3: (R)-2-氯-N-(6-(二甲基氨基)吡嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

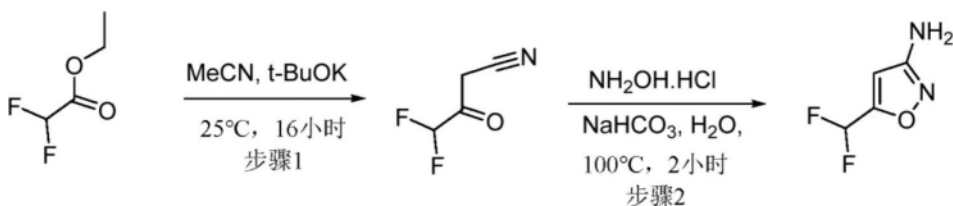
[2157]



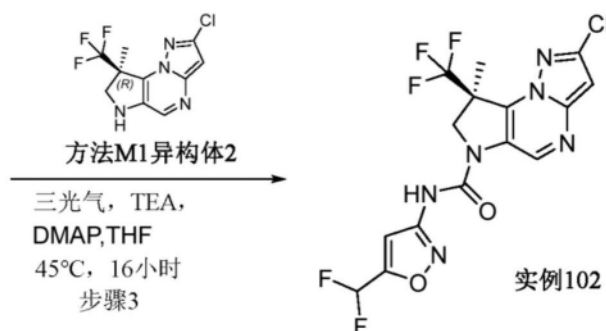
[2158] 向6-(二甲基氨基)吡嗪-4-甲酸(100mg, 598.2μmol)于二噁烷(2mL)中的溶液中加入DPPA(197mg, 717.8μmol)、三乙胺(302mg, 3.0mmol)和方法M1异构体2(164mg, 598.2μmol)。将混合物在100℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(6-(二甲基氨基)吡嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(17mg, 6%产率)。实例101的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2159] 实例101:¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 9.34(s, 2H), 8.75(d, J=1.5Hz, 1H), 7.27(d, J=1.8Hz, 1H), 7.08(s, 1H), 4.86(d, J=11.7Hz, 1H), 4.29(d, J=11.4Hz, 1H), 3.09(s, 6H), 1.97(s, 3H)。LC-MS:m/z 441[M+H]⁺。

[2160] 方法S3



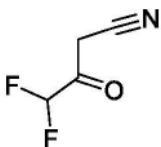
[2161]



[2162] 实例102: (R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)异噁唑-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2163] 步骤1: 4,4-二氟-3-氧代丁腈

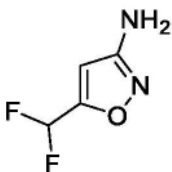
[2164]



[2165] 向2,2-二氟乙酸甲酯(10.0g, 90.8mmol)于四氢呋喃(50mL)中的搅拌溶液中加入t-BuOK(20.2g, 181.9mmol)和乙腈(3.6g, 90.8mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌16小时。通过加入水(500mL)来淬灭反应混合物。用二乙醚(3x300mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。这导致呈无色油状物的4,4-二氟-3-氧代丁腈(5.0g, 45%产率)。LC-MS:m/z 120[M+H]⁺。

[2166] 步骤2: 5-(二氟甲基)异噁唑-3-胺

[2167]

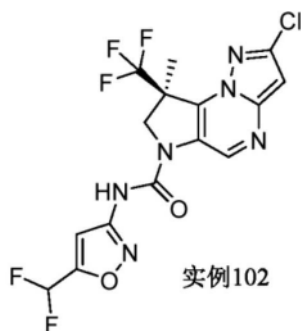


[2168] 向NaHCO₃(7.0g, 83.9mmol)于水(30mL)中的搅拌溶液中加入盐酸羟胺(8.7g, 125.9mmol)。将混合物在25°C下搅拌1小时。向反应溶液中加入4,4-二氟-3-氧代丁腈(10.0g, 83.9mmol)。将反应混合物在氮气下在100°C下搅拌2小时。使混合物冷却至25°C。通过加入水(200mL)来淬灭反应混合物。将所得溶液用乙酸乙酯(3x200mL)萃取,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的5-(二氟甲基)异噁唑-3-胺(250mg, 2%产率)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ: 6.57(t, J=56.0Hz, 1H), 5.33(s, 1H), 4.63(br, 2H)。LC-MS:m/z 135[M+H]⁺。

[2169] 步骤3: (R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)异噁唑-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二

氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2170]

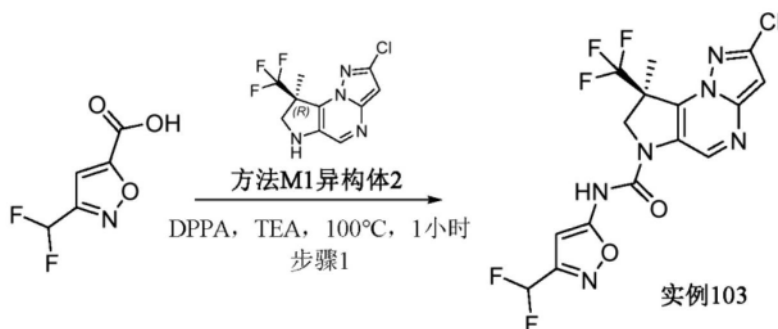


[2171] 在0℃下,向方法M1异构体2 (50mg, 204.2 μ mol) 于四氢呋喃 (5mL) 中的搅拌溶液中加入三光气 (36mg, 102.1 μ mol) 和TEA (22mg, 205.4 μ mol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到5-(二氟甲基)异噁唑-3-胺 (54mg, 408.2 μ mol) 于四氢呋喃 (2mL) 中的溶液中。然后向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺 (48mg, 404.6 μ mol) 和TEA (204mg, 2.0mmol)。将混合物在45℃下搅拌16小时。将混合物倒入水 (20mL) 中,并用乙酸乙酯 (3x20mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (20mL) 洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)异噁唑-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (20mg, 11%产率)。实例102的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2172] 实例102:¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ : 11.33 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 7.19 (t, J = 53.2Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.40 (s, 1H), 4.81 (d, J = 11.6Hz, 1H), 4.22 (d, J = 11.6Hz, 1H), 1.94 (s, 3H)。LC-MS:m/z 437 [M+H]⁺。

[2173] 方法T3

[2174]



[2175] 实例103: (R)-2-氯-N-(3-(二氟甲基)异噁唑-5-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

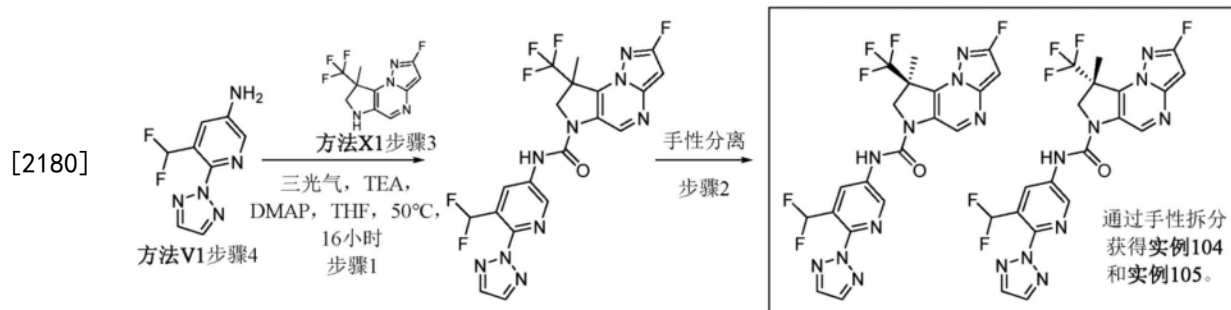
[2176] 步骤1: (R)-2-氯-N-(3-(二氟甲基)异噁唑-5-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2177] 向3-(二氟甲基)异噁唑-5-甲酸 (100mg, 613 μ mol) 于二噁烷 (2mL) 中的溶液中加入 DPPA (179mg, 736 μ mol)、TEA (310mg, 3.1mmol) 和方法M1异构体2 (170mg, 613 μ mol)。将混合物在100℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(3-(二氟甲基)异噁唑-5-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (17.5mg, 6.5%产率)。

率)。实例103的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

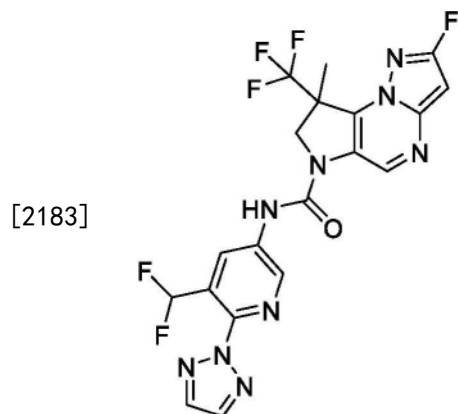
[2178] 实例103: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 11.34 (s, 1H), 9.33 (s, 1H), 7.19 (t, $J=53.2\text{Hz}$, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.40 (s, 1H), 4.82 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 4.23 (d, $J=12.0\text{Hz}$, 1H), 1.95 (s, 3H)。LC-MS: m/z 437 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2179] 方法U3



[2181] 实例104和105:由含有(R)-N-(5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(S)-N-(5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一一对映异构体

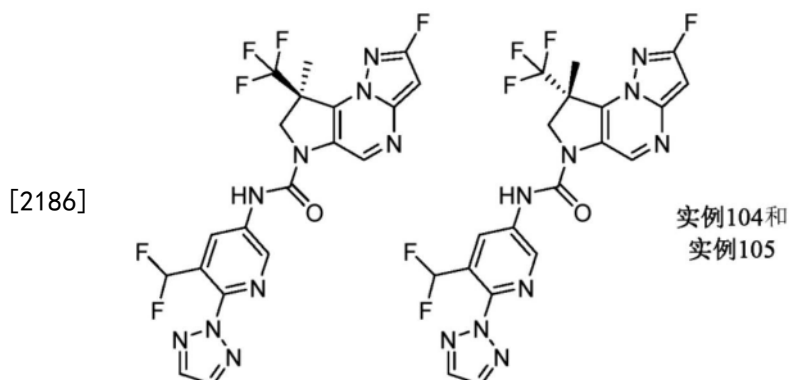
[2182] 步骤1: N-(5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2184] 向2-氟基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(方法X1步骤3; 111mg, 426.2 μmol)于四氢呋喃(2mL)中的搅拌溶液中加入三光气(84mg, 284.1 μmol)和TEA(72mg, 710.3 μmol)。将所得混合物在25 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法V1步骤4; 100mg, 473.6 μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(87mg, 710.3 μmol)和TEA(479mg, 4.7mmol)。将混合物在50 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌16小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的N-(5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(100mg, 47%产率)。LC-MS: m/z 498 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2185] 步骤2:分离对映异构体以获得(R)-N-(5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

啉-6-甲酰胺和(S)-N-(5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

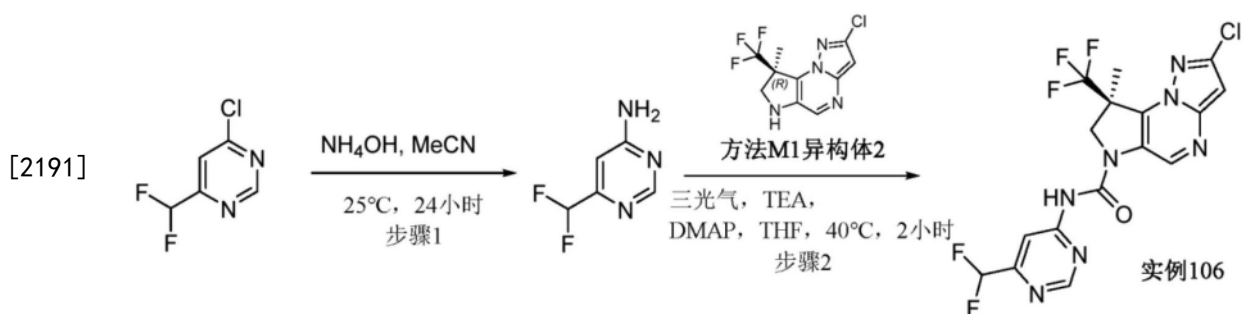


[2187] 对100mg N-(5-(二氟甲基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺进行手性HPLC: 色谱柱:Lux 5u Cellulose-4,2.12*25cm,5um;流动相A:Hex(0.5%2M NH₃-MeOH)--HPLC, 流动相B:EtOH--HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在21分钟内,10B到10B;220/254nm;RT1:12.058;RT2:17.004;注射体积:1.5ml;运行次数:4。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例105(26.9mg,11%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例104(21.8mg,9%产率)。实例104和105是对映异构体,但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[2188] 实例104:¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:9.41(s,1H),8.76(s,1H),8.61(s,1H),7.96(s,2H),7.55(t,J=54.8Hz,1H),6.90(s,1H),6.35(d,J=5.2Hz,1H),4.63(d,J=10.4Hz,1H),4.09(d,J=10.4Hz,1H),2.05(s,3H)。LC-MS:m/z 498[M+H]⁺。

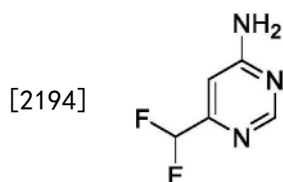
[2189] 实例105:¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:9.42(s,1H),8.77(s,1H),8.61(s,1H),7.96(s,2H),7.56(t,J=54.8Hz,1H),6.78(s,1H),6.36(d,J=5.2Hz,1H),4.62(d,J=10.4Hz,1H),4.09(d,J=10.4Hz,1H),2.06(s,3H)。LC-MS:m/z 498[M+H]⁺。

[2190] 方法V3



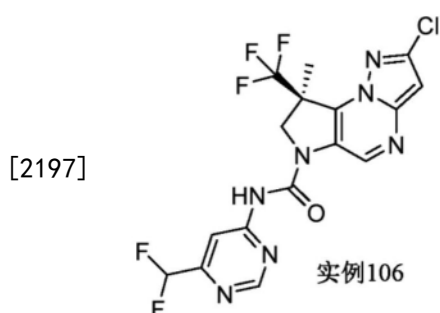
[2192] 实例106:(R)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)嘧啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2193] 步骤1:6-(二氟甲基)嘧啶-4-胺



[2195] 向4-氯-6-(二氟甲基)嘧啶(200mg, 1.2mmol)于乙腈(2mL)中的搅拌溶液中加入氢氧化铵(1mL)。将所得混合物在25℃下搅拌24小时。将反应混合物在真空下浓缩。将所得混合物用水(10mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈淡黄色固体的6-(二氟甲基)嘧啶-4-胺(160mg, 90%产率)。¹HNMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 8.42 (s, 1H), 7.28 (s, 2H), 6.71 (t, J=54.8Hz, 1H), 6.64 (s, 1H)。LC-MS: m/z 146 [M+H]⁺。

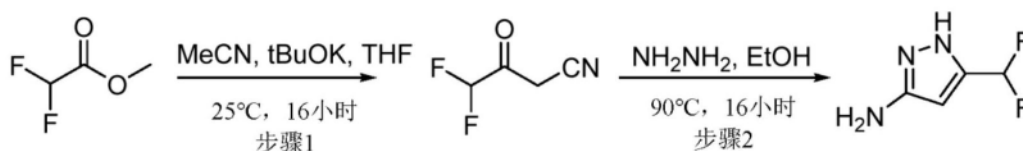
[2196] 步骤2: (R)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)嘧啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



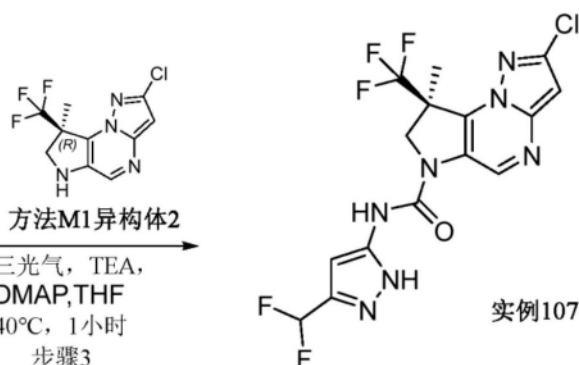
[2198] 在0℃下,向6-(二氟甲基)嘧啶-4-胺(63mg, 434μmol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中加入三光气(86mg, 289μmol)和TEA(58mg, 578μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(80mg, 289μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(293mg, 2.9mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(71mg, 578μmol)。将混合物在40℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈淡黄色固体的(R)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)嘧啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(15.3mg, 12%产率)。实例106的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2199] 实例106: ¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 10.71 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.98 (t, J=54.6Hz, 1H), 5.01 (d, J=11.7Hz, 1H), 4.28 (d, J=11.7Hz, 1H), 1.94 (s, 3H)。LC-MS: m/z 448 [M+H]⁺。

[2200] 方法W3

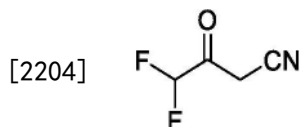


[2201]



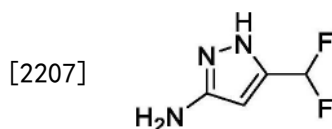
[2202] 实例107: (R)-2-氯-N-(3-(二氟甲基)-1H-吡唑-5-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2203] 步骤1: 4,4-二氟-3-氧代丁腈



[2205] 向2,2-二氟乙酸甲酯(5.0g, 45.4mmol)于四氢呋喃(50mL)中的搅拌溶液中加入t-BuOK(10.2g, 90.9mmol)和乙腈(1.8g, 45.4mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌16小时。将反应混合物用水(200mL)淬灭。用二乙醚(3x300mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将合并的有机层在真空下浓缩,以得到呈无色油状物的4,4-二氟-3-氧代丁腈(2.5g, 45%产率)。LC-MS:m/z 120[M+H]⁺。

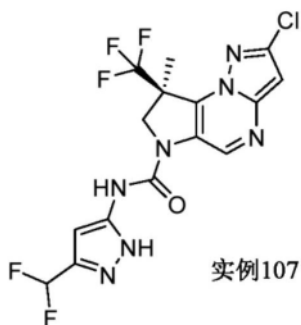
[2206] 步骤2: 5-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-胺



[2208] 向4,4-二氟-3-氧代丁腈(2.5g, 21.0mmol)于乙醇(20mL)中的搅拌溶液中加入水合肼(21g, 42.0mmol)。将反应混合物在氮气下在90°C下搅拌16小时。使混合物冷却至25°C。将反应混合物用水(200mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的5-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-胺(700mg, 25%产率)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ: 11.9(br, 1H), 6.55(t, d=56.0Hz, 1H), 5.78(s, 1H), 4.90(br, 2H)。LC-MS:m/z 134[M+H]⁺。

[2209] 步骤3: (R)-2-氯-N-(3-(二氟甲基)-1H-吡唑-5-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2210]



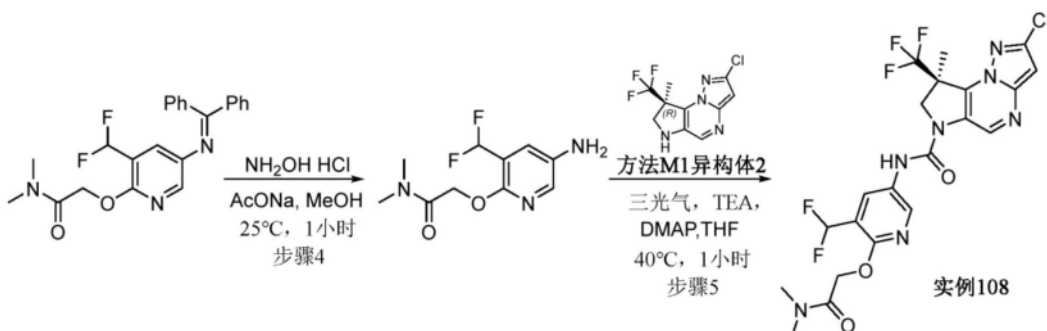
[2211] 在25℃下,向5-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-胺(40mg,225.6 μ mol)于四氢呋喃(8mL)中的搅拌溶液中加入三光气(54mg,180.5 μ mol)和TEA(22mg,217.4 μ mol)。将所得混合物在28℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(40mg,144.9 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(146mg,1.4mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(36mg,289.9 μ mol)。将所得混合物在40℃下搅拌1小时。使混合物冷却至25℃。将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到粗产物,对所述粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(3-(二氟甲基)-1H-吡唑-5-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(23.2mg,36.8%产率)。实例107的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2212] 实例107:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :13.06(br,1H),9.81(br,1H),9.33(s,1H),7.05(s,1H),6.68(t,d=56Hz,1H),6.30(s,1H),4.77(d,J=8.8Hz,1H),4.20(d,J=11.6Hz,1H),1.96(s,3H)。LC-MS:m/z 436[M+H]⁺。

[2213] 方法X3

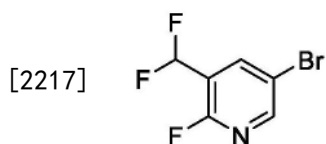


[2214]



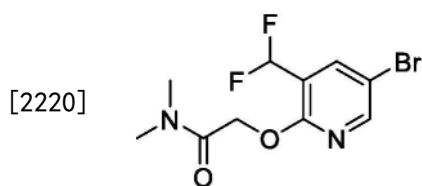
[2215] 实例108:(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(2-(二甲基氨基)-2-氧代乙氧基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2216] 步骤1:5-溴-3-(二氟甲基)-2-氟吡啶



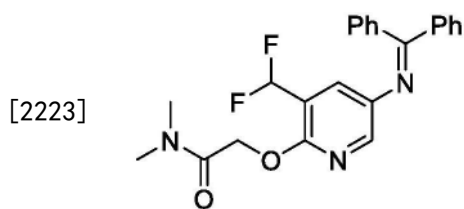
[2218] 在-20℃下,向5-溴-2-氟烟醛(9.5g,46.6mmol)于二氯甲烷(200mL)中的搅拌溶液中加入DAST(15.0g,93.1mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌1小时。将反应溶液通过饱和NaHCO₃水溶液(500mL)淬灭。用二氯甲烷(3x500mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的5-溴-3-(二氟甲基)-2-氟吡啶(8.5g,73%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:8.42(s,1H),8.16(s,1H),6.83(t,J=54.4Hz,1H)。LC-MS:m/z 226[M+H]⁺。

[2219] 步骤2:2-((5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)氧基)-N,N-二甲基乙酰胺



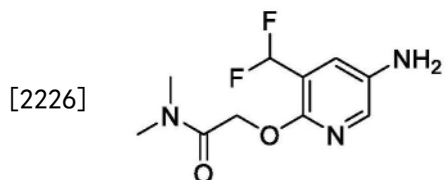
[2221] 在0℃下,向2-羟基-N,N-二甲基乙酰胺(2.1g,20.1mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(100mL)中的搅拌溶液中分批加入NaH(2.2g,92.9mmol,60%,于矿物油中)。将反应混合物在0℃下搅拌15分钟,并逐滴加入5-溴-3-(二氟甲基)-2-氟吡啶(3.5g,15.5mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(10mL)中的溶液。将混合物在0℃下搅拌2小时。将反应混合物通过水(500mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x500mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(3x1000mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-((5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)氧基)-N,N-二甲基乙酰胺(4.5g,85%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ:8.40(s,1H),8.14(s,1H),7.04(t,J=54.4Hz,1H),5.15(s,2H),2.96(s,3H),2.79(s,3H)。LC-MS:m/z 309[M+H]⁺。

[2222] 步骤3:2-((3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)氧基)-N,N-二甲基乙酰胺



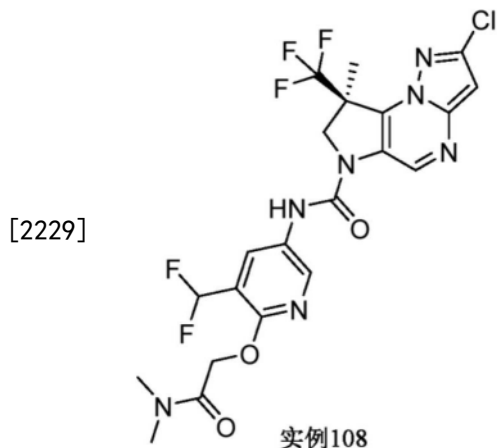
[2224] 在氮气气氛下,向2-((5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)氧基)-N,N-二甲基乙酰胺(200mg,647.0μmol)于二噁烷(6mL)中的搅拌溶液中加入二苯基甲亚胺(234mg,1.3mmol)Cs₂CO₃(632mg,1.9mmol)、Xantphos(112mg,194.1μmol)和Pd₂(dba)₃(178mg,194.1μmol)。将反应混合物在氮气气氛下在110℃下搅拌1小时。将混合物冷却至25℃。在真空下去除溶剂。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈棕色油状物的2-((3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)氧基)-N,N-二甲基乙酰胺(200mg,68%产率)。LC-MS:m/z 410[M+H]⁺。

[2225] 步骤4:2-((5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)氧基)-N,N-二甲基乙酰胺



[2227] 向2-((3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)氧基)-N,N-二甲基乙酰胺(180mg, 439.6 μ mol)于甲醇(5mL)中的搅拌溶液加入盐酸羟胺(64mg, 923.2 μ mol)和乙酸钠(90mg, 1.1mmol)。将反应在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。在真空下去除溶剂。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈白色固体的2-((5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)氧基)-N,N-二甲基乙酰胺(80mg, 67%产率)。 1 H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ : 7.56(s, 1H), 7.22(s, 1H), 6.98(t, J=55.2Hz, 1H), 5.04(s, 2H), 4.96(br, 2H), 2.94(s, 3H), 2.78(s, 3H)。LC-MS:m/z 246[M+H] $^+$ 。

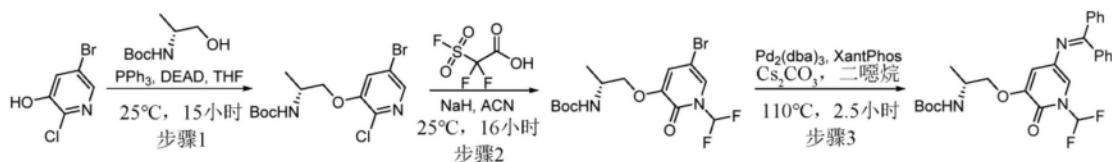
[2228] 步骤5: (R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(2-(二甲基氨基)-2-氧代乙氧基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



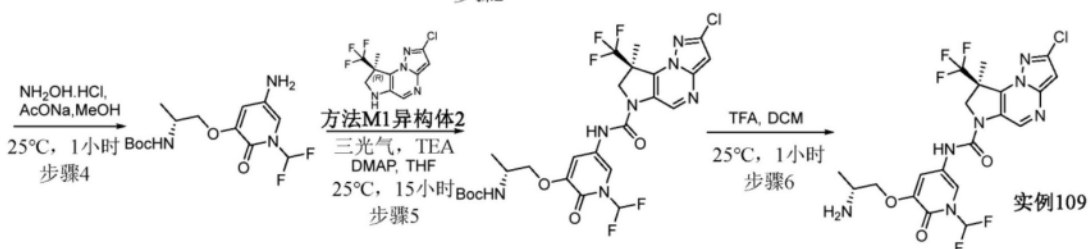
[2230] 向2-((5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)氧基)-N,N-二甲基乙酰胺(51mg, 207.9 μ mol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中加入三光气(37mg, 124.8 μ mol)和TEA(32mg, 311.9 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(40mg, 145.6 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(50mg, 415.9 μ mol)和TEA(210mg, 2.1mmol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(2-(二甲基氨基)-2-氧代乙氧基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(40mg, 35%产率)。实例108的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2231] 实例108: 1 H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.34(s, 1H), 9.21(br, 1H), 8.39(s, 1H), 8.17(s, 1H), 7.12(t, J=54.9Hz, 1H), 7.05(s, 1H), 5.16(s, 2H), 4.78(d, J=11.4Hz, 1H), 4.25(d, J=11.4Hz, 1H), 3.00(s, 3H), 2.83(s, 3H), 1.98(s, 3H)。LC-MS:m/z 548[M+H] $^+$ 。

[2232] 方法Y3

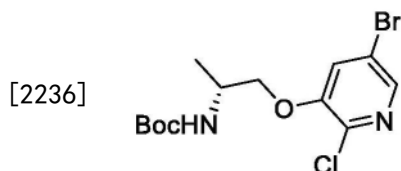


[2233]



[2234] 实例109: (R)-N-(5-((R)-2-氨基丙氧基)-1-(二氟甲基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

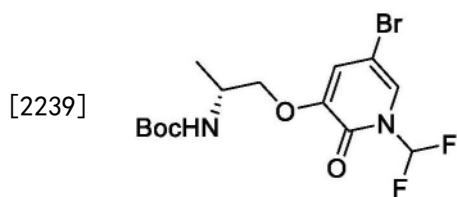
[2235] 步骤1: (R)-(1-((5-溴-2-氯吡啶-3-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯



[2236]

[2237] 在0℃下,向5-溴-2-氯吡啶-3-醇(10g,47.9mmol)、(R)-(1-羟基丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯(16.8g,95.9mmol)和三苯基膦(18.9g,71.9mmol)于四氢呋喃(100mL)中的搅拌溶液中逐滴加入DEAD(12.5g,71.9mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌15小时。将反应混合物在真空下浓缩。将所得混合物用水(200mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x200mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(R)-(1-((5-溴-2-氯吡啶-3-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯(15g,85%产率)。LC-MS:m/z 365[M+H]⁺。

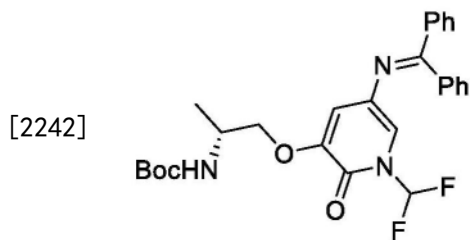
[2238] 步骤2: (R)-(1-((5-溴-1-(二氟甲基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯



[2239]

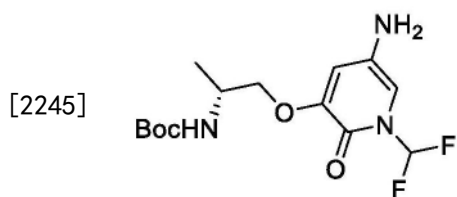
[2240] 在0℃下,向(R)-(1-((5-溴-2-氯吡啶-3-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯(8.0g,21.9mmol)于乙腈(100mL)中的混合物中分批加入NaH(1.5g,37.2mmol,60%,于矿物油中)。将所得混合物在0℃下搅拌0.5小时。然后逐滴加入2,2-二氟-2-(氟磺酰基)乙酸(6.6g,37.2mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物用水(100mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(R)-(1-((5-溴-1-(二氟甲基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯(1.1g,10%产率)。LC-MS:m/z 397[M+H]⁺。

[2241] 步骤3: (R) - (1 - ((1 - (二氟甲基) - 5 - ((二苯基亚甲基) 氨基) - 2 - 氧代 - 1, 2 - 二氢吡啶 - 3 - 基) 氧基) 丙 - 2 - 基) 氨基甲酸叔丁酯



[2243] 在氮气气氛下,向 (R) - (1 - ((5 - 溴 - 1 - (二氟甲基) - 2 - 氧代 - 1, 2 - 二氢吡啶 - 3 - 基) 氧基) 丙 - 2 - 基) 氨基甲酸叔丁酯 (2.1g, 5.3mmol) 于二噁烷 (20mL) 中的混合物中加入二苯基甲亚胺 (1.1g, 5.8mmol)、Pd₂(dba)₃ (1.6g, 1.6mmol)、Xantphos (917mg, 1.6mmol) 和 Cs₂CO₃ (5.2g, 15.8mmol)。将所得混合物在 110℃ 下搅拌 2.5 小时。将反应混合物冷却至 25℃, 并滤出固体。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用 75% 石油醚和 25% 乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈黄色固体的 (R) - (1 - ((1 - (二氟甲基) - 5 - ((二苯基亚甲基) 氨基) - 2 - 氧代 - 1, 2 - 二氢吡啶 - 3 - 基) 氧基) 丙 - 2 - 基) 氨基甲酸叔丁酯 (840mg, 32% 产率)。LC-MS: m/z 498 [M+H]⁺。

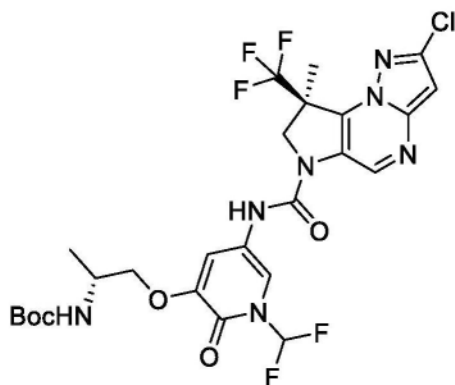
[2244] 步骤4: (R) - (1 - ((5 - 氨基 - 1 - (二氟甲基) - 2 - 氧代 - 1, 2 - 二氢吡啶 - 3 - 基) 氧基) 丙 - 2 - 基) 氨基甲酸叔丁酯



[2246] 向 (R) - (1 - ((1 - (二氟甲基) - 5 - ((二苯基亚甲基) 氨基) - 2 - 氧代 - 1, 2 - 二氢吡啶 - 3 - 基) 氧基) 丙 - 2 - 基) 氨基甲酸叔丁酯 (400mg, 627μmol) 于甲醇 (5mL) 中的搅拌溶液中加入盐酸羟胺 (87mg, 1.3mmol) 和乙酸钠 (213mg, 1.6mmol)。将反应混合物在 25℃ 下搅拌 1 小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用水 (20mL) 稀释。用乙酸乙酯 (3x20mL) 萃取所得溶液。将有机层合并, 经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用 50% 石油醚和 50% 乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈黄色固体的 (R) - (1 - ((5 - 氨基 - 1 - (二氟甲基) - 2 - 氧代 - 1, 2 - 二氢吡啶 - 3 - 基) 氧基) 丙 - 2 - 基) 氨基甲酸叔丁酯 (120mg, 33% 产率)。LC-MS: m/z 334 [M+H]⁺。

[2247] 步骤5: ((R) - 1 - ((5 - ((R) - 2 - 氯 - 8 - 甲基 - 8 - (三氟甲基) - 7, 8 - 二氢 - 6H - 吡唑并 [1, 5 - a] 吡咯并 [2, 3 - e] 嘧啶 - 6 - 甲酰胺基) - 1 - (二氟甲基) - 2 - 氧代 - 1, 2 - 二氢吡啶 - 3 - 基) 氧基) 丙 - 2 - 基) 氨基甲酸叔丁酯

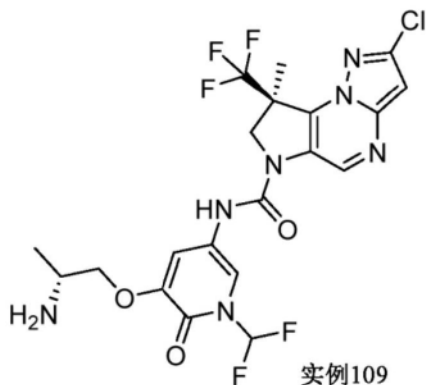
[2248]



[2249] 在0℃下,向方法M1异构体2(49mg,179 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的搅拌溶液中加入三光气(32mg,106 μ mol)和TEA(36mg,356 μ mol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到(R)-1-((5-氨基-1-(二氟甲基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯(50mg,98 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(36mg,299 μ mol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(150mg,1.5mmol)。将混合物在25℃下搅拌15小时。将反应混合物用水(20mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x20mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的((R)-1-((5-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-1-(二氟甲基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯(32mg,50%产率)。LC-MS:m/z 636[M+H]⁺。

[2250] 步骤6:(R)-N-(5-((R)-2-氨基丙氧基)-1-(二氟甲基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

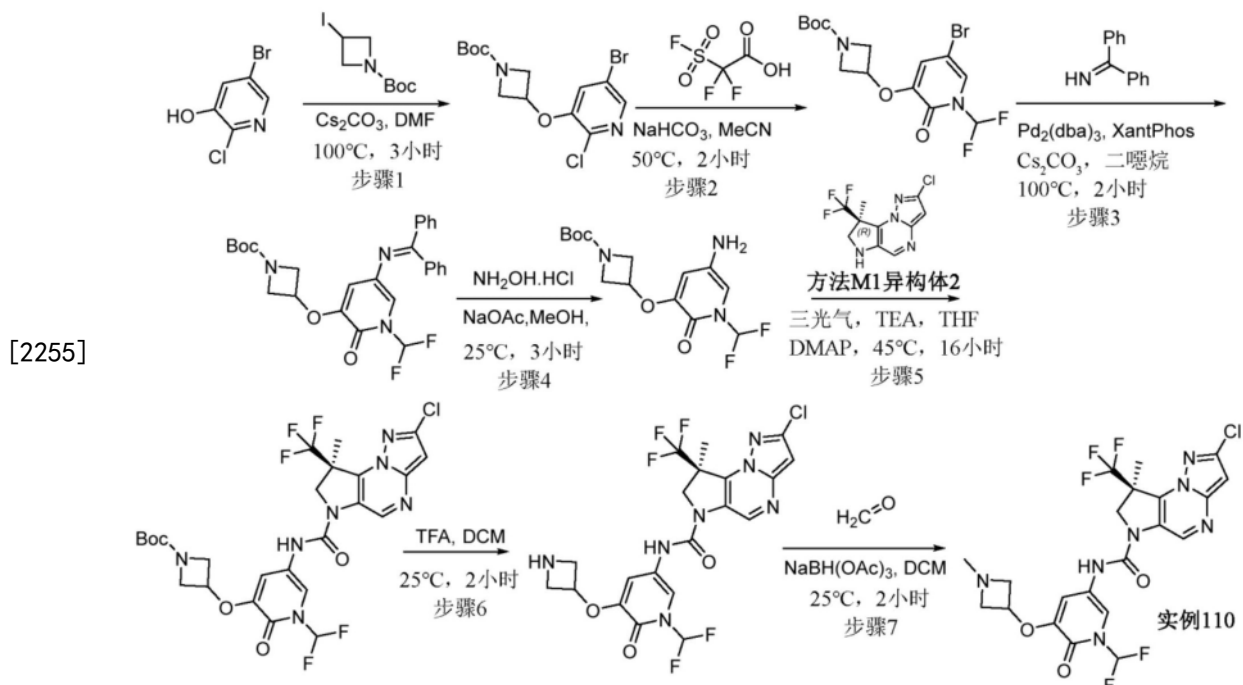
[2251]



[2252] 向((R)-1-((5-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-1-(二氟甲基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯(32mg,50 μ mol)于二氯甲烷(3mL)中的搅拌溶液中加入TFA(1mL)。将所得混合物在25℃搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈黄色固体的(R)-N-(5-((R)-2-氨基丙氧基)-1-(二氟甲基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(10.2mg,60%产率)。实例109的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

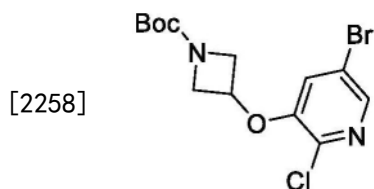
[2253] 实例109: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.32 (s, 1H), 8.85 (br, 1H), 7.95 (t, $J=59.8\text{Hz}$, 1H), 7.71 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.11 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.04 (s, 1H), 4.71 (d, $J=11.2\text{Hz}$, 1H), 4.20 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 3.62-3.72 (m, 2H), 3.15-3.21 (m, 3H), 1.97 (s, 3H), 1.07 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 3H)。LC-MS: m/z 536 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2254] 方法Z3



[2256] 实例110: (R)-2-氯-N-(1-(二氟甲基)-5-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺。

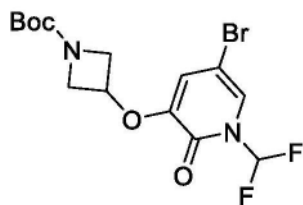
[2257] 步骤1: 3-((5-溴-2-氯吡啶-3-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯



[2259] 向5-溴-2-氯吡啶-3-醇 (5.0g, 24.0mmol) 和3-碘代氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯 (6.8g, 24.0mmol) 于DMF (50mL) 中的搅拌溶液中加入 Cs_2CO_3 (15.6g, 48.0mmol)。将所得混合物在 100°C 下搅拌3小时。将反应冷却至 25°C 。将反应混合物用水 (150mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (3x250mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈白色固体的3-((5-溴-2-氯吡啶-3-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯 (8.0g, 90%产率)。 ^1H NMR (400MHz, 氯仿- d) δ : 8.11 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 6.98 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 4.90-4.92 (m, 1H), 4.35-4.39 (m, 2H), 4.09-4.11 (m, 2H), 1.46 (s, 9H)。LC-MS: m/z 363 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2260] 步骤2: 3-((5-溴-1-(二氟甲基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯

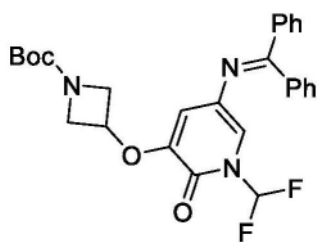
[2261]



[2262] 向3-((5-溴-2-氯吡啶-3-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(3.0g,8.2mmol)于乙腈(30mL)中的溶液中加入2,2-二氟-2-(氟磺酰基)乙酸(4.4g,24.7mmol)和 NaHCO_3 (1.5g,8.6mmol)。将所得混合物在50℃下搅拌2小时。将反应混合物冷却至25℃。通过加入水(150mL)来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯(3x150mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的3-((5-溴-1-(二氟甲基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(1.0g,54%产率)。 ^1H NMR(400MHz,氯仿-d) δ :8.10(d,J=2.0Hz,1H),7.03(d,J=2.0Hz,1H),5.06-5.08(m,1H),4.36(s,1H),4.09(d,J=8.2Hz,2H),3.98(t,J=7.8Hz,2H),1.46(s,9H)。LC-MS:m/z 395[M+H] $^+$ 。

[2263] 步骤3:3-((1-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯

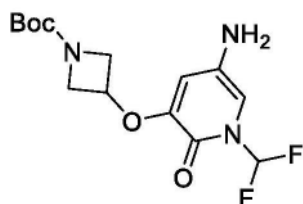
[2264]



[2265] 在氮气气氛下,向3-((5-溴-1-(二氟甲基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(600mg,1.5mmol)和二苯基甲亚胺(550mg,3.3mmol)于二噁烷(10mL)中的搅拌溶液加入XantPhos(175mg,302.8mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (157mg,302.8 μmol)和 Cs_2CO_3 (975mg,3.0mmol)。将所得混合物在110℃下搅拌2小时。将反应混合物冷却至25℃。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的3-((1-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(400mg,37%产率)。 ^1H NMR(400MHz,氯仿-d) δ :8.10-8.90(m,11H),7.71(t,J=60.3Hz,1H),5.06-5.08(m,1H),4.36(s,1H),4.09(d,J=8.2Hz,2H),3.98(t,J=7.8Hz,2H),1.46(s,9H)。LC-MS:m/z 496[M+H] $^+$ 。

[2266] 步骤4:3-((5-氨基-1-(二氟甲基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯

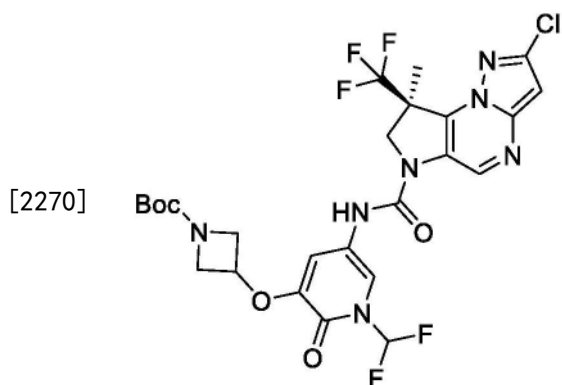
[2267]



[2268] 将3-((1-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧

基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯放入(400mg, 807.8 μ mol)、盐酸羟胺(112mg, 1.6mmol)、乙酸钠(283mg, 3.4mmol)和甲醇(10mL)放入50mL圆底烧瓶中。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌3小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的3-((5-氨基-1-(二氟甲基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(150mg, 30%产率)。 ^1H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ : 7.71 (t, J=60.3Hz, 1H), 6.58 (d, J=2.4Hz, 1H), 6.10 (d, J=2.4Hz, 1H), 4.22-4.34 (m, 2H), 4.80-4.82 (m, 1H), 4.09-4.17 (m, 2H), 1.44 (s, 9H)。LC-MS:m/z 332[M+H] $^+$ 。

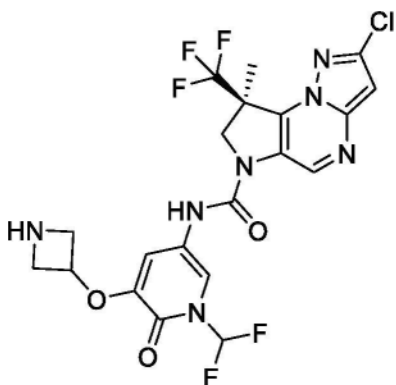
[2269] 步骤5: (R)-3-((5-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-1-(二氟甲基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯



[2271] 在0 $^{\circ}$ C下,向方法M1异构体2(100mg, 362.3 μ mol)于四氢呋喃(4mL)中的搅拌溶液中加入三光气(64mg, 217.4 μ mol)和TEA(55mg, 543.4 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到3-((5-氨基-1-(二氟甲基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(120mg, 362.3 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(53mg, 434.8 μ mol)和TEA(363mg, 3.6mmol)。将所得混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将混合物倒入水(30mL)中,并用乙酸乙酯(3x30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈白色固体的(R)-3-((5-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-1-(二氟甲基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(80mg, 30%产率)。LC-MS:m/z 634[M+H] $^+$ 。

[2272] 步骤6: (R)-N-(5-(氮杂环丁烷-3-基氧基)-1-(三氟甲基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

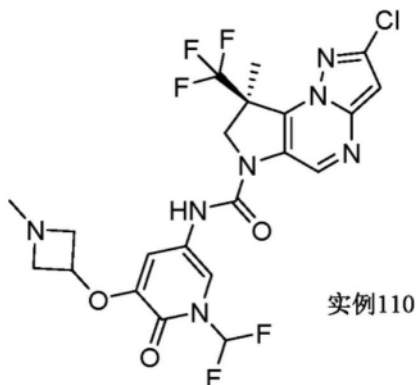
[2273]



[2274] 向(R)-3-((5-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-1-(二氟甲基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(80mg, 126.3 μ mol)于二氯甲烷(10mL)中的搅拌溶液中加入TFA(2mL)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。向残留物中加入饱和NaHCO₃溶液(40mL)。用乙酸乙酯(3x40mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,并经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用30%石油醚和70%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的(R)-N-(5-(氮杂环丁烷-3-基氧基)-1-(三氟甲基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(50mg, 76%产率)。LC-MS:m/z 534[M+H]⁺。

[2275] 步骤6: (R)-2-氯-N-(1-(二氟甲基)-5-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2276]



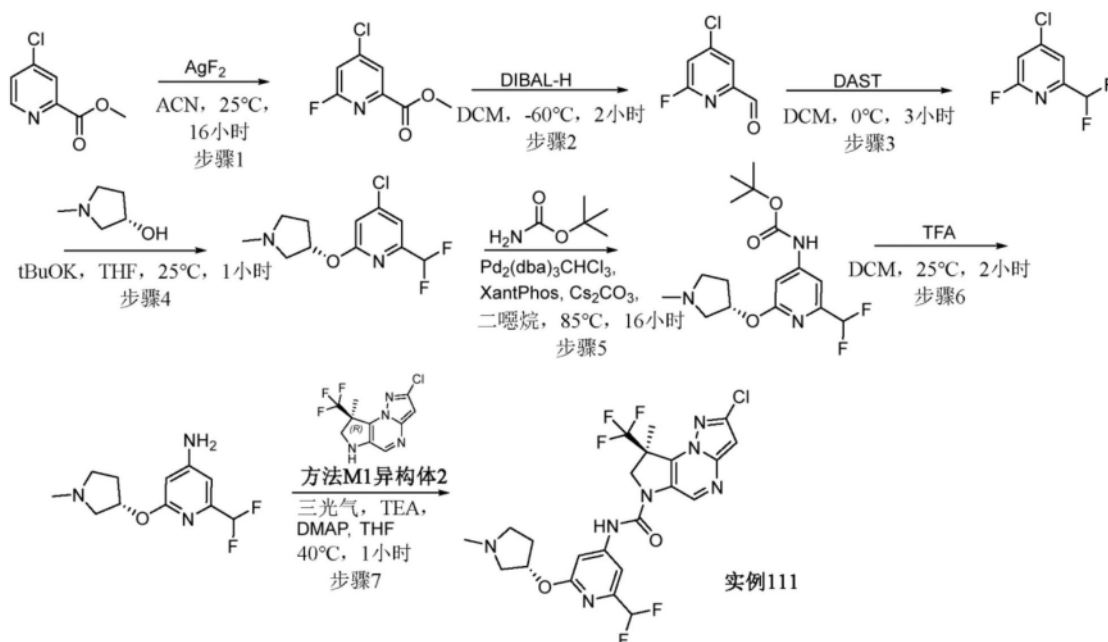
实例110

[2277] 向(R)-N-(5-(氮杂环丁烷-3-基氧基)-1-(三氟甲基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(50mg, 93.8 μ mol)于二氯甲烷(5mL)中的搅拌溶液中加入甲醛(0.1mL, 469 μ mol, 40%, 于水中)和三乙酰氧基硼氢化钠(29mg, 140.7 μ mol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(1-(二氟甲基)-5-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(9mg, 28%产率)。实例110的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2278] 实例110:¹H NMR(300MHz, 甲醇-d₄) δ : 9.32(s, 1H), 7.86(t, J=60.0Hz, 1H), 7.66

(s, 1H), 7.12 (s, 1H), 6.78 (s, 1H), 5.03-5.05 (m, 1H), 4.67 (d, J=10.8Hz, 1H), 4.43-4.53 (m, 2H), 4.10-4.15 (m, 3H), 2.90 (s, 3H), 2.03 (s, 3H)。LC-MS:m/z 548 [M+H]⁺。

[2279] 方法A4

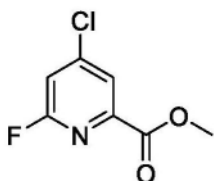


[2280]

[2281] 实例111: (R)-2-氯-N-(2-(二氟甲基)-6-(((S)-1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2282] 步骤1: 4-氯-6-氟吡啶甲酸甲酯

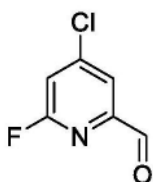
[2283]



[2284] 在氮气氛下,向4-氯吡啶甲酸甲酯(40g, 233.9mmol)于乙腈(1200mL)中的搅拌溶液中加入AgF₂(101.7g, 701.7mmol)。将所得混合物在25°C下搅拌16小时。过滤反应混合物,并用乙酸乙酯(3x200mL)洗涤收集的固体。将所得溶液在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的4-氯-6-氟吡啶甲酸甲酯(11.8g, 26%产率)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ: 8.01-8.08 (m, 1H), 7.20-7.28 (m, 1H), 4.03 (s, 3H)。LC-MS:m/z 190 [M+H]⁺。

[2285] 步骤2: 4-氯-6-氟吡啶甲醛

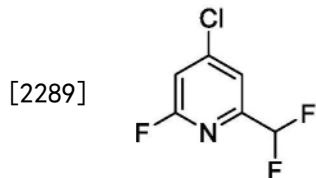
[2286]



[2287] 在氮气下在-60°C下,向4-氯-6-氟吡啶甲酸甲酯(8.0g, 42.3mmol)于二氯甲烷(200mL)中的溶液中加入氢化二异丁基铝(80mL, 80mmol, 1M, 于二氯甲烷中)。将所得混合物在-60°C下搅拌2小时。将反应混合物用饱和酒石酸钾钠四水合物水溶液(200mL)淬灭。过滤固体并用二氯甲烷(3x100mL)洗涤。用二氯甲烷(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层

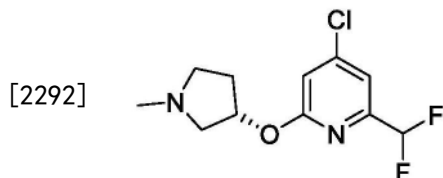
经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的4-氯-6-氟吡啶甲醛(4.9g,72%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:9.92(s,1H),7.84-7.85(m,1H),7.22-7.23(m,1H)。LC-MS:m/z 160[M+H]⁺。

[2288] 步骤3:4-氯-2-(二氟甲基)-6-氟吡啶



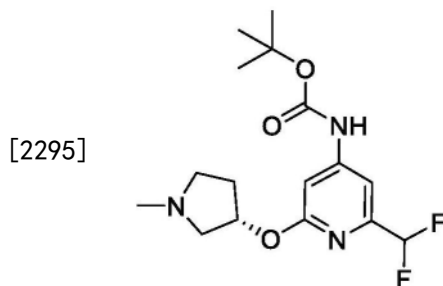
[2290] 在-30℃下,向4-氯-6-氟吡啶甲醛(4.9g,30.8mmol)于二氯甲烷(163mL)中的搅拌溶液中加入DAST(14.9g,92.4mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌2小时。将反应混合物用水(200mL)淬灭。用二氯甲烷(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层通过饱和NaHCO₃水溶液(200mL)洗涤,并经无水硫酸钠干燥。将所得溶液在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的4-氯-2-(二氟甲基)-6-氟吡啶(4g,71%产率),其无需进一步纯化即可使用。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:7.59(d,J=28Hz,1H),7.09-7.11(m,1H),6.52(t,J=56Hz,1H)。

[2291] 步骤4:(S)-4-氯-2-(二氟甲基)-6-((1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)吡啶



[2293] 向4-氯-2-(二氟甲基)-6-氟吡啶(3.0g,16.3mmol)于四氢呋喃(90mL)中的搅拌溶液中加入(S)-1-甲基吡咯烷-3-醇(1.5g,14.9mmol)和t-BuOK(3.3g,29.8mmol)。将所得混合物在0℃下搅拌1小时。将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用10%甲醇和90%二氯甲烷作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(S)-4-氯-2-(二氟甲基)-6-((1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)吡啶(1.5g,71%产率)。LC-MS:m/z 263[M+H]⁺。

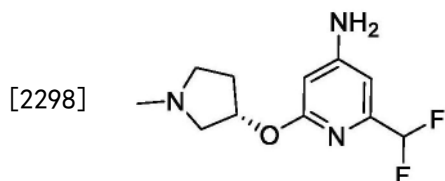
[2294] 步骤5:(S)-(2-(二氟甲基)-6-((1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯



[2296] 在氮气气氛下,向(S)-4-氯-2-(二氟甲基)-6-((1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)吡啶(500mg,1.9mmol)于二噁烷(15mL)中的搅拌溶液中加入氨基甲酸叔丁酯(664mg,5.7mmol)、Pd₂(dba)₃CHCl₃(198mg,0.2mmol)、XantPhos(232mg,0.4mmol)和Cs₂CO₃(1.3g,3.8mmol)。将所得混合物在85℃下搅拌16小时。使混合物冷却至25℃。将混合物在减压下浓缩。将残留物

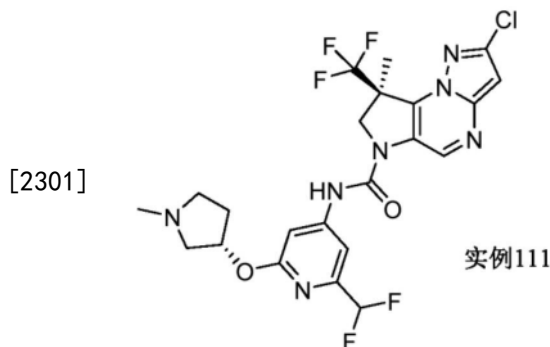
通过使用10%甲醇和90%二氯甲烷作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的(S)-2-(二氟甲基)-6-((1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(270mg,41%产率)。LC-MS:m/z 344[M+H]⁺。

[2297] 步骤6:(S)-2-(二氟甲基)-6-((1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-4-胺



[2299] 向(S)-2-(2-(二氟甲基)-6-((1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(270mg,787 μ mol)于二氯甲烷(10mL)中的溶液中加入TFA(2mL)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将pH用饱和NaHCO₃水溶液调整到8。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用10%甲醇和90%二氯甲烷作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(S)-2-(二氟甲基)-6-((1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-4-胺(170mg,81%产率)。LC-MS:m/z 244[M+H]⁺。

[2300] 步骤7:(R)-2-氯-N-(2-(二氟甲基)-6-((S)-1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

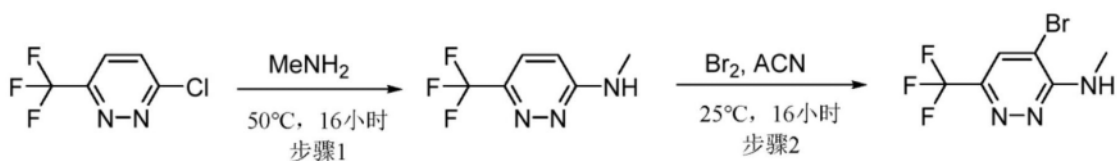


[2302] 在0 $^{\circ}$ C下,向(S)-2-(二氟甲基)-6-((1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-4-胺(62mg,255.1 μ mol)于四氢呋喃(10mL)中的搅拌溶液中加入三光气(23mg,77.7 μ mol)和TEA(20mg,190 μ mol)。将所得混合物在28 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(35mg,127 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(110mg,1.1mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(27mg,217.4 μ mol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用10%甲醇和90%二氯甲烷作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到粗产物。将粗产物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(2-(二氟甲基)-6-((S)-1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(15.8mg,33%产率)。实例111的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

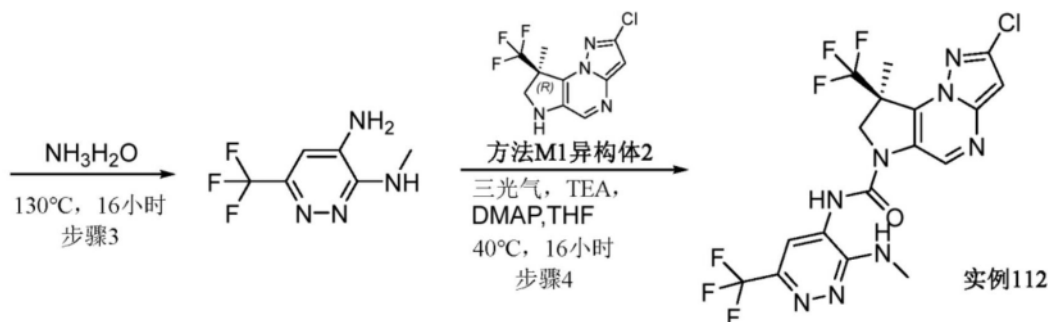
[2303] 实例111:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.52(br,1H),9.32(s,1H),7.48(d,J=1.2Hz,1H),7.23(s,1H),7.07(s,1H),6.81(t,J=54Hz,1H),5.33(s,1H),4.84-4.87(m,1H),4.25-4.28(m,1H),2.78-2.82(m,1H),2.60-2.68(m,2H),2.29-2.40(m,5H),2.27(s,

3H), 1.90-1.96 (m, 1H)。LC-MS: m/z 546 [M+H]⁺。

[2304] 方法B4

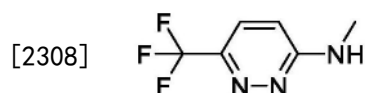


[2305]



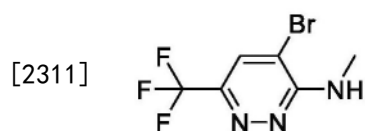
[2306] 实例112: (R)-2-氯-8-甲基-N-(3-(甲基氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2307] 步骤1: N-甲基-6-(三氟甲基)吡啶-3-胺



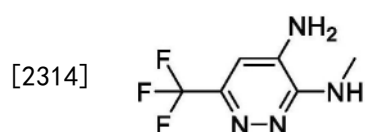
[2309] 将3-氯-6-(三氟甲基)吡啶 (5.0g, 27.4mmol) 于甲胺 (50mL, 100mmol, 2M, 于THF中) 中的溶液在50°C下搅拌16小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈白色固体的N-甲基-6-(三氟甲基)吡啶-3-胺 (2.5g, 51%产率)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ: 7.64 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.57 (br, 1H), 6.93 (d, J=9.6Hz, 1H), 2.93 (d, J=4.8Hz, 3H)。LC-MS: m/z 178 [M+H]⁺。

[2310] 步骤2: 4-溴-N-甲基-6-(三氟甲基)吡啶-3-胺



[2312] 向N-甲基-6-(三氟甲基)吡啶-3-胺 (2.7g, 15.2mmol) 于乙腈 (50mL) 中的搅拌溶液中逐滴加入溴 (4.9g, 30.5mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌16小时。将反应混合物用饱和NaHCO₃水溶液 (50mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈黄色固体的4-溴-N-甲基-6-(三氟甲基)吡啶-3-胺 (1.4g, 32%产率)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ: 8.24 (s, 1H), 7.45 (br, 1H), 3.02 (d, J=4.8Hz, 3H)。LC-MS: m/z 256 [M+H]⁺。

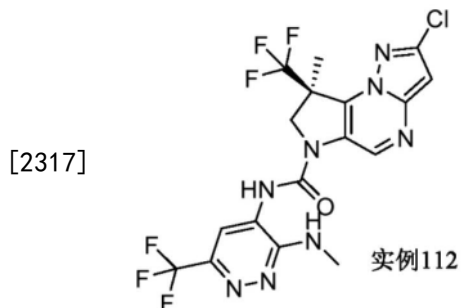
[2313] 步骤3: N-甲基-6-(三氟甲基)吡啶-3,4-二胺



[2315] 将4-溴-N-甲基-6-(三氟甲基)吡啶-3-胺 (500mg, 1.9mmol) 于氨 (15mL) 中的混合

物在130℃下搅拌16小时。用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的N-甲基-6-(三氟甲基)哒嗪-3,4-二胺(300mg,80%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:6.65(s,1H),6.49(d,J=4.8Hz,1H),6.26(s,2H),2.95(d,J=4.8Hz,3H)。LC-MS:m/z 193[M+H]⁺。

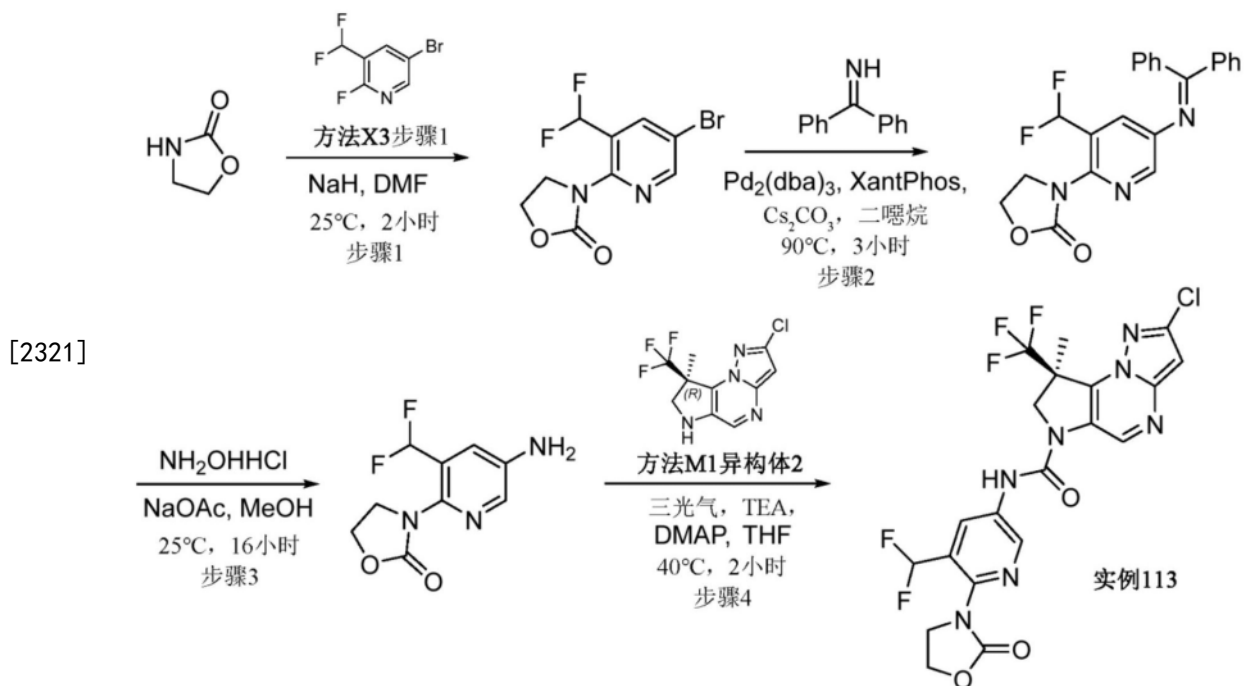
[2316] 步骤4: (R)-2-氯-8-甲基-N-(3-(甲基氨基)-6-(三氟甲基)哒嗪-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2318] 向方法M1异构体2(100mg,361μmol)于四氢呋喃(3mL)中的搅拌溶液中加入三光气(32mg,108μmol)和TEA(55mg,542μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到N-甲基-6-(三氟甲基)哒嗪-3,4-二胺(104mg,542μmol)于四氢呋喃(3mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(88mg,723μmol)和TEA(366mg,3.6mmol)。将混合物在40℃下搅拌16小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈黄色固体的(R)-2-氯-8-甲基-N-(3-(甲基氨基)-6-(三氟甲基)哒嗪-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(2mg,1%产率)。实例112的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

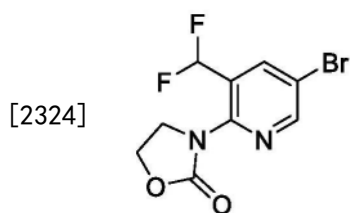
[2319] 实例112:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:9.38(s,1H),8.77(br,1H),7.96(s,1H),7.25(s,1H),7.03(s,1H),4.84(d,J=12.0Hz,1H),4.25(d,J=12.0Hz,1H),3.06(d,J=4.8Hz,3H),1.96(s,3H)。LC-MS:m/z 495[M+H]⁺。

[2320] 方法C4



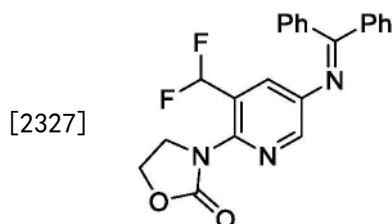
[2322] 实例113: (R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(2-氧代噁唑烷-3-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2323] 步骤1: 3-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)噁唑烷-2-酮



[2325] 在0°C下,向噁唑烷-2-酮(539mg,6.2mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(5mL)中的搅拌溶液中分批加入NaH(283mg,7.1mmol,60%,于矿物油中)。将反应混合物在0°C下搅拌0.5小时。然后将5-溴-3-(二氟甲基)-2-氟-吡啶(方法X3步骤1;2.0g,8.8mmol)加入到混合物中。将所得混合物在25°C下搅拌2小时。将反应混合物用水(100mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的3-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)噁唑烷-2-酮(800mg,31%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d) δ:8.55-8.56(m,1H),8.15-8.16(m,1H),7.15(t,J=55.8Hz,1H),4.54-4.65(m,2H),4.26-4.31(m,2H)。LC-MS:m/z 293[M+H]⁺。

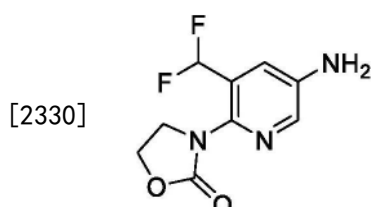
[2326] 步骤2: 3-(3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)噁唑烷-2-酮



[2328] 向3-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)噁唑烷-2-酮(400mg,1.4mmol)于1,4-二噁

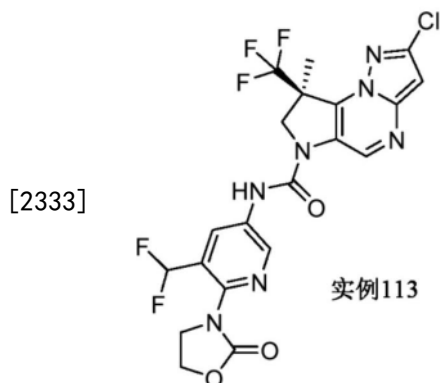
烷(8mL)中的混合物中加入XantPhos(59mg,102.4 μ mol)、Pd₂(dba)₃(62mg,68.2 μ mol)、Cs₂CO₃(1.1g,3.4mmol)和二苯基甲亚胺(247mg,1.4mmol)。将所得混合物在氮气气氛下在90℃下搅拌3小时。冷却至25℃后,将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的3-(3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)噁唑烷-2-酮(500mg,93%产率)。LC-MS:m/z 394[M+H]⁺。

[2329] 步骤3:3-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)噁唑烷-2-酮



[2331] 向3-(3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)噁唑烷-2-酮(400mg,1.2mmol)和乙酸钠(346mg,2.5mmol)于甲醇(8mL)中的搅拌溶液中加入盐酸羟胺(141mg,2.1mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用40%石油醚和60%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的3-(3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)噁唑烷-2-酮(180mg,77%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d) δ :7.96-7.98(m,1H),7.27-7.28(m,1H),7.00(t,J=55.5Hz,1H),4.53-4.58(m,2H),4.15-4.20(m,2H)。LC-MS:m/z 230[M+H]⁺

[2332] 步骤4:(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(2-氧代噁唑烷-3-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

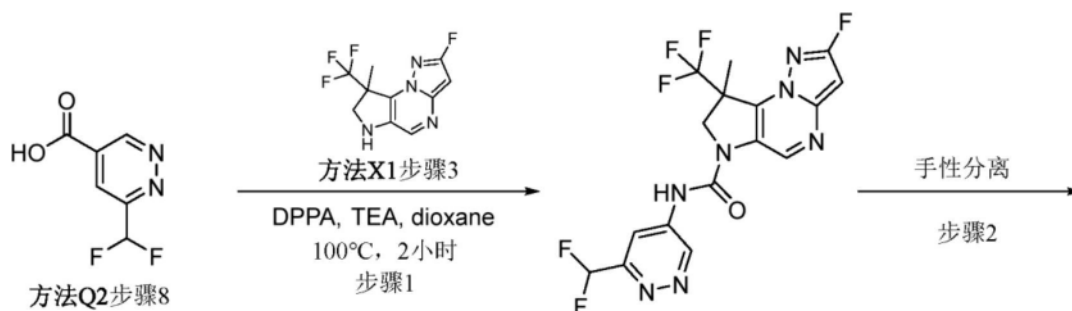


[2334] 在25℃下,向方法M1异构体2(70mg,254.3 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的混合物中加入三光气(45mg,152.2 μ mol)和TEA(38mg,382.4 μ mol)。将反应混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到3-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)噁唑烷-2-酮(70mg,305.1 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。向该溶液中加入TEA(257mg,2.5mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(62mg,509.6 μ mol)。将反应混合物在40℃下搅拌2小时。将反应混合物用水(20mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x20mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(2-氧代噁唑烷-3-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-

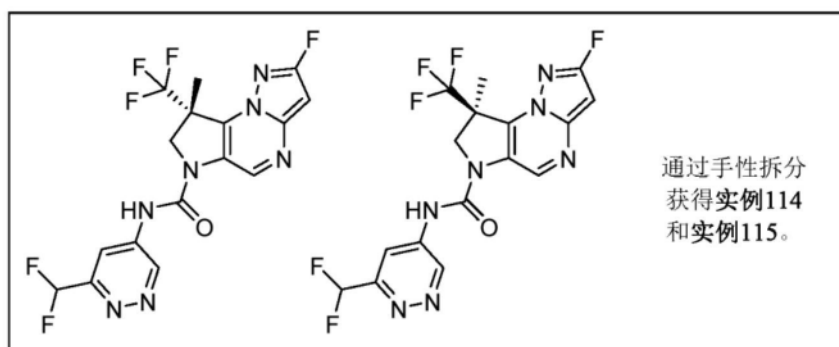
7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (6mg, 7%产率)。实例113的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2335] 实例113: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.50 (br, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.82-8.83 (m, 1H), 8.37-8.38 (m, 1H), 7.17 (t, $J=54.3\text{Hz}$, 1H), 7.07 (s, 1H), 4.84 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 4.52-4.57 (m, 2H), 4.29 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 4.14-4.19 (m, 2H), 1.99 (s, 3H)。LC-MS: m/z 532 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2336] 方法D4



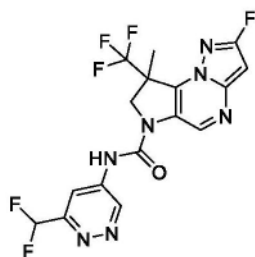
[2337]



[2338] 实例114和115:由含有(S)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[2339] 步骤1: N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

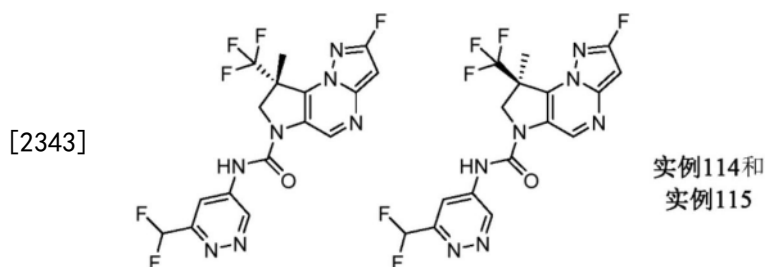
[2340]



[2341] 向6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸(方法Q2步骤8; 40mg, 229.8 μmol)于二噁烷(10mL)中的搅拌溶液中加入DPPA(75.9mg, 275.7 μmol)、TEA(69.7mg, 689.2 μmol)和2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(方法X1步骤3; 59.8mg, 229.8 μmol)。将反应混合物在100 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌2小时。将混合物冷却至25 $^{\circ}\text{C}$ 。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到80mg粗产物。将粗产物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固

体的N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(16mg,16.1%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:9.91(br,1H),9.48(s,1H),9.34(s,1H),8.21(d,J=2.8Hz,1H),7.23(t,J=54.2Hz,1H),6.70(d,J=4.8Hz,1H),4.85(d,J=11.6Hz,1H),4.30(d,J=11.6Hz,1H),1.96(s,3H)。LC-MS:m/z 432[M+H]⁺。

[2342] 步骤2:分离对映异构体以获得(S)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

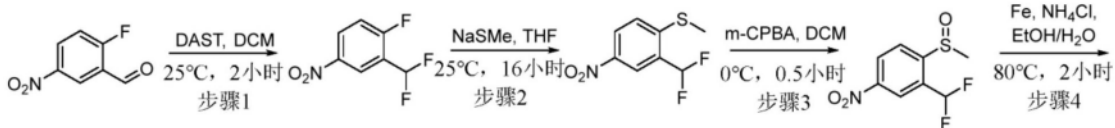


[2344] 对N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(16mg,37.1μmol)进行手性HPLC(色谱柱:CHIRAL ART Cellulose-SB,2x25cm,5μm;流动相A:Hex(0.5%2M NH₃-MeOH)-HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在19分钟内,15B到15B;220/254nm;RT1:13.572;RT2:16.226;注射体积:0.8ml;运行次数:6)。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例114(5.9mg,36%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例115(5.1mg,32%产率)。实例114和115是对映异构体,但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

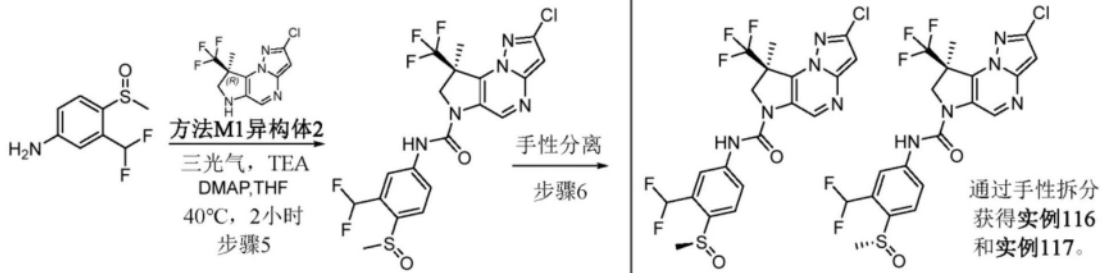
[2345] 实例114:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:9.91(br,1H),9.50(d,J=2.4Hz,1H),9.33(s,1H),8.21(d,J=2.8Hz,1H),7.24(t,J=56.0Hz,1H),6.71(d,J=5.2Hz,1H),4.86(d,J=11.2Hz,1H),4.30(d,J=11.2Hz,1H),1.96(s,3H)。LC-MS:m/z 432[M+H]⁺。

[2346] 实例115:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:9.91(br,1H),9.50(d,J=2.4Hz,1H),9.33(s,1H),8.21(d,J=2.8Hz,1H),7.24(t,J=54.4Hz,1H),6.71(d,J=4.8Hz,1H),4.86(d,J=11.2Hz,1H),4.30(d,J=11.2Hz,1H),1.96(s,3H)。LC-MS:m/z 432[M+H]⁺。

[2347] 方法E4



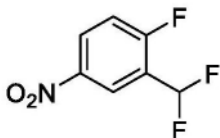
[2348]



[2349] 实例116和117: (R)-2-氯-N-(3-(二氟甲基)-4-((S)-甲基亚磺酰基)苯基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(3-(二氟甲基)-4-((R)-甲基亚磺酰基)苯基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2350] 步骤1: 2-(二氟甲基)-1-氟-4-硝基苯

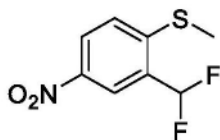
[2351]



[2352] 在0℃下,向2-氟-5-硝基苯甲醛(10.0g,59.1mmol)于二氯甲烷(100mL)中的搅拌溶液中逐滴加入DAST(19.0g,118.2mmol)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将pH用饱和NaHCO₃水溶液调整到7-8。用二氯甲烷(3x200mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-(二氟甲基)-1-氟-4-硝基苯(10.0g,88%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:8.51-8.56(m,1H),8.40-8.44(m,1H),7.36(t,J=9.2Hz,1H),6.93(t,J=54.4Hz,1H)。

[2353] 步骤2: (2-(二氟甲基)-4-硝基苯基)(甲基)硫烷

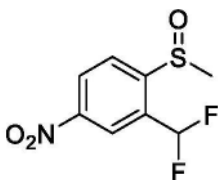
[2354]



[2355] 在氮气氛下在0℃下,向2-(二氟甲基)-1-氟-4-硝基苯(4.0g,20.9mmol)于四氢呋喃(100mL)中的搅拌溶液中加入甲硫醇钠(1.4g,20.9mmol)。将混合物在25℃下搅拌16小时。通过过滤收集固体。将滤饼用乙酸乙酯(2x100mL)洗涤。将粗产物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的(2-(二氟甲基)-4-硝基苯基)(甲基)硫烷(3.2g,69%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:8.44(d,J=2.8Hz,1H),8.27(dd,J=2.8,8.8Hz,1H),7.41(d,J=8.8Hz,1H),6.89(t,J=54.4Hz,1H),2.62(s,3H)。

[2356] 步骤3: 2-(二氟甲基)-1-(甲基亚磺酰基)-4-硝基苯

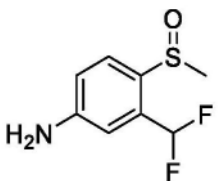
[2357]



[2358] 在0℃下,向(2-(二氟甲基)-4-硝基苯基)(甲基)硫烷(1.0g,4.5mmol)于二氯甲烷(100mL)中的搅拌溶液中加入3-氯苯并过氧酸(787mg,4.5mmol)。将混合物在0℃下搅拌0.5小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-(二氟甲基)-1-(甲基亚磺酰基)-4-硝基苯(850mg,79%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:8.55-8.59(m,1H),8.51-8.52(m,1H),8.42(d,J=8.4Hz,1H),6.99(t,J=54.8Hz,1H),2.83(s,3H)。LC-MS:m/z 236[M+H]⁺。

[2359] 步骤4:3-(二氟甲基)-4-(甲基亚磺酰基)苯胺

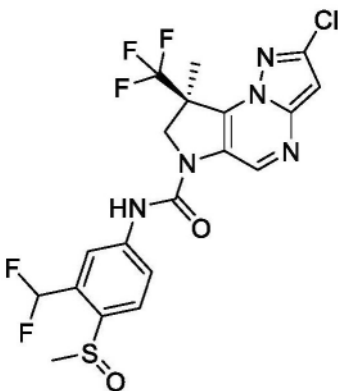
[2360]



[2361] 向2-(二氟甲基)-1-(甲基亚磺酰基)-4-硝基苯(850mg,3.6mmol)于乙醇(15mL)和水(5mL)中的搅拌溶液中加入Fe(605mg,10.8mmol)和NH₄Cl(966mg,18.0mmol)。将混合物在80℃下搅拌2小时。冷却至25℃后,滤出固体。将滤液用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的3-(二氟甲基)-4-(甲基亚磺酰基)苯胺(540mg,72%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:7.83-7.90(m,1H),6.74-7.09(m,3H),4.16(br,2H),2.71(s,3H)。LC-MS:m/z 206[M+H]⁺。

[2362] 步骤5:(8R)-2-氯-N-(3-(二氟甲基)-4-(甲基亚磺酰基)苯基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

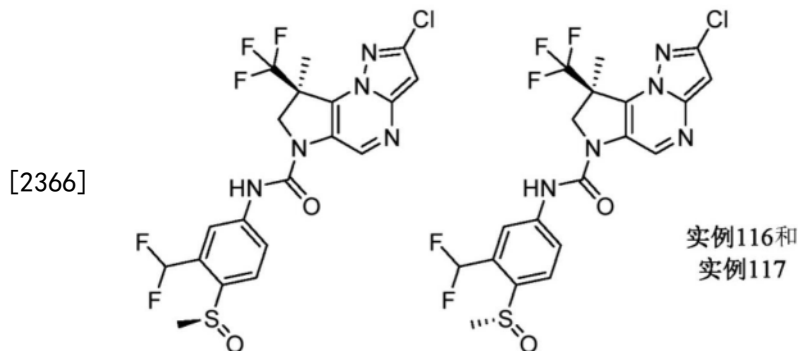
[2363]



[2364] 在0℃下,向3-(二氟甲基)-4-(甲基亚磺酰基)苯胺(100mg,487.8μmol)于四氢呋喃(40mL)中的搅拌溶液中加入三光气(86mg,292.7μmol)和TEA(73mg,722.7μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(134mg,487.8μmol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(119mg,975.6μmol)和TEA(493mg,4.8mmol)。将混合物在40℃下搅拌2小时。将溶剂在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(8R)-2-氯-N-(3-(二氟甲

基)-4-(甲基亚磺酰基)苯基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(140mg,56%产率)。

[2365] 步骤6:分离对映异构体以获得(R)-2-氯-N-(3-(二氟甲基)-4-((S)-甲基亚磺酰基)苯基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(3-(二氟甲基)-4-((R)-甲基亚磺酰基)苯基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

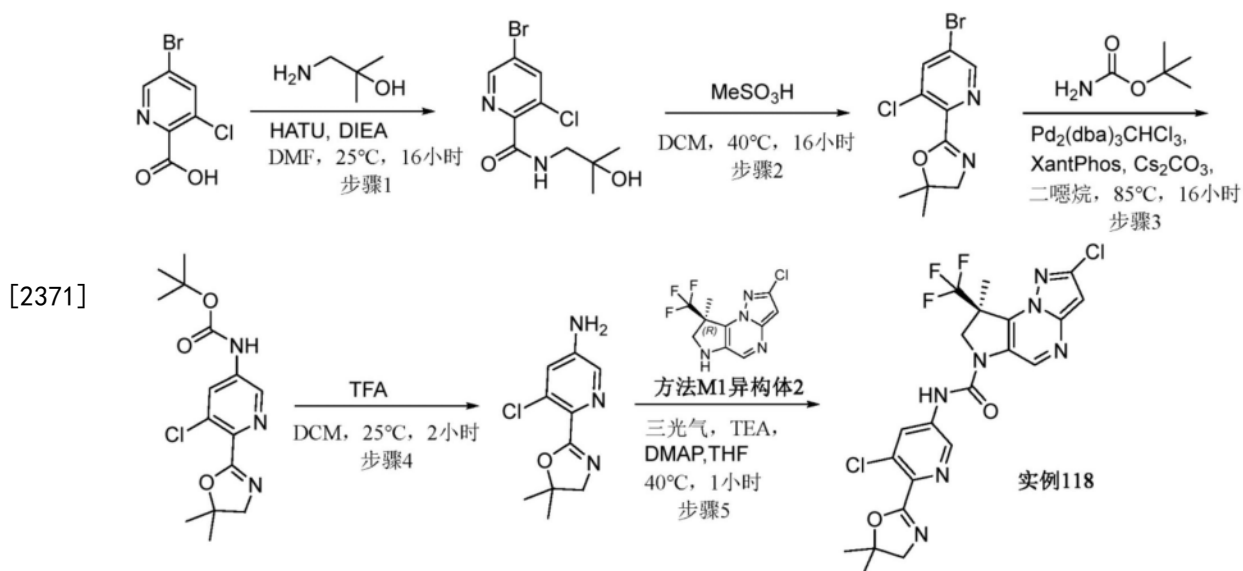


[2367] 对(8R)-2-氯-N-(3-(二氟甲基)-4-(甲基亚磺酰基)苯基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(140mg,275.5 μ mol)进行手性HPLC:色谱柱:CHIRAL ART Cellulose-SB,2x25cm,5 μ m;流动相A:MTBE(0.5%2M NH₃-甲醇)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在35分钟内,10B到10B;220/254nm;RT1:25.605;RT2:28.879;注射体积:0.5ml;运行次数:5。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例116(45.2mg,32%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例117(42.5mg,30%产率)。实例116和实例117的对应的立体异构体可以使用步骤5中方法M1异构体1类似地制备。实施例116和117是非对映异构体,其中与三氟甲基连接的立体中心是绝对的并且亚磺立体中心是相对的(即,实例116和117中的一个中的亚磺立体中心是(S),实例116和117中的另一个中的亚磺立体中心是(R))。

[2368] 实例116:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.47(s,1H),9.34(s,1H),7.99-8.06(m,3H),7.37(t,J=54.8Hz,1H),7.06(s,1H),4.86(d,J=11.6Hz,1H),4.27(d,J=11.6Hz,1H),2.73(s,3H),1.97(s,3H)。LC-MS:m/z 508[M+H]⁺。

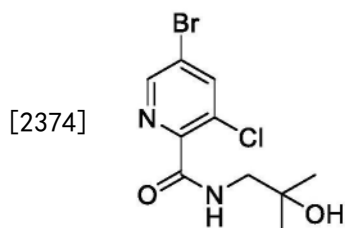
[2369] 实例117:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.47(s,1H),9.34(s,1H),7.98-8.10(m,3H),7.37(t,J=54.8Hz,1H),7.06(s,1H),4.87(d,J=11.6Hz,1H),4.27(d,J=11.6Hz,1H),2.73(s,3H),1.97(s,3H)。LC-MS:m/z 508[M+H]⁺。

[2370] 方法F4



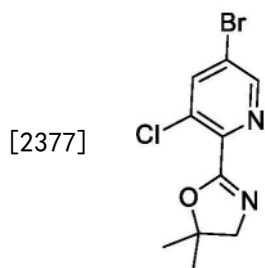
[2372] 实例118: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(5,5-二甲基-4,5-二氢噁唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2373] 步骤1: 5-溴-3-氯-N-(2-羟基-2-甲基丙基)吡啶酰胺



[2375] 向5-溴-3-氯吡啶甲酸 (10.0g, 42.6mmol) 于N,N-二甲基甲酰胺 (200mL) 中的搅拌溶液中加入1-氨基-2-甲基丙-2-醇 (3.8g, 42.6mmol)、HATU (26.2g, 63.8mmol) 和DIEA (16.5g, 127.7mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌16小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用10%甲醇和90%二氯甲烷作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的5-溴-3-氯-N-(2-羟基-2-甲基丙基)吡啶酰胺 (1.0g, 72%产率)。¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ : 8.52 (d, J=4Hz, 1H), 8.00 (d, J=4Hz, 1H), 3.46 (d, J=4Hz, 2H), 1.29 (s, 6H)。LC-MS: m/z 307 [M+H]⁺。

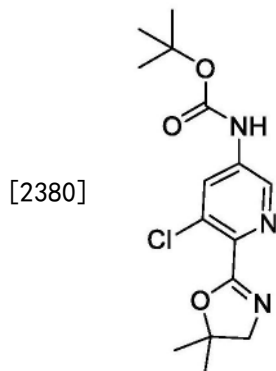
[2376] 步骤2: 2-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)-5,5-二甲基-4,5-二氢噁唑



[2378] 向5-溴-3-氯-N-(2-羟基-2-甲基丙基)吡啶酰胺 (5.0g, 16.3mmol) 于二氯甲烷 (80mL) 中的搅拌溶液中加入甲磺酸 (7.8g, 81.5mmol)。将反应混合物在40°C下搅拌16小时。使混合物冷却至25°C。将反应混合物用饱和 NaHCO_3 溶液 (200mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (3x200mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物

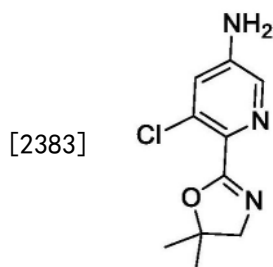
通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)-5,5-二甲基-4,5-二氢噁唑(2.0g,42%产率)。¹H NMR (400MHz,氯仿-d) δ :8.68(d,J=2Hz,1H),8.01(d,J=2Hz,1H),3.91(s,2H),1.57(s,6H)。LC-MS:m/z 289[M+H]⁺。

[2379] 步骤3:(5-氯-6-(5,5-二甲基-4,5-二氢噁唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯



[2381] 在氮气气氛下,向2-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)-5,5-二甲基-4,5-二氢噁唑(1g,3.5mmol)于二噁烷(30mL)中的搅拌溶液中加入氨基甲酸叔丁酯(1.6g,14mmol)、Pd₂(dba)₃CHCl₃(0.4g,0.3mmol)、XantPhos(0.4g,0.6mmol)和Cs₂CO₃(2.3g,7mmol)。将所得混合物在85℃下搅拌16小时。使混合物冷却至25℃。将所得溶液在真空下浓缩。将残留物通过使用10%甲醇和90%二氯甲烷作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(5-氯-6-(5,5-二甲基-4,5-二氢噁唑-2-基)吡啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(1g,72%产率)。¹H NMR (400MHz,氯仿-d) δ :8.32-8.33(m,2H),3.87(s,2H),1.53(s,6H),1.52(s,9H)。LC-MS:m/z 326[M+H]⁺。

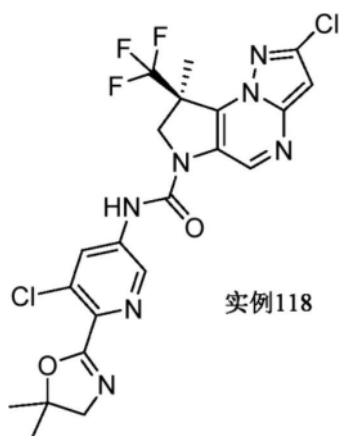
[2382] 步骤4:5-氯-6-(5,5-二甲基-4,5-二氢噁唑-2-基)吡啶-3-胺



[2384] 向5-氯-6-(5,5-二甲基-4,5-二氢噁唑-2-基)吡啶-3-胺(500mg,1.5mmol)于二氯甲烷(20mL)中的溶液中加入TFA(4mL)。将所得混合物在25℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将pH用饱和NaHCO₃水溶液调整到8。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用20%甲醇和80%二氯甲烷作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的5-氯-6-(5,5-二甲基-4,5-二氢噁唑-2-基)吡啶-3-胺(300mg,86%产率)。¹H NMR (300MHz,DMSO-d₆) δ :7.88(s,1H),6.99(s,1H),6.09(br,2H),3.66(s,2H),1.39(s,6H);LC-MS:m/z 226[M+H]⁺。

[2385] 步骤5:(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(5,5-二甲基-4,5-二氢噁唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2386]

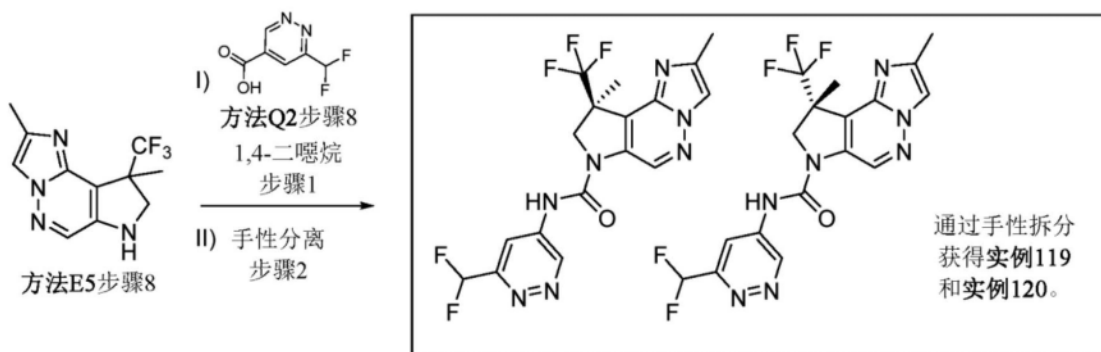


[2387] 在0℃下,向方法M1异构体2(30mg,108.6 μ mol)于四氢呋喃(6mL)中的搅拌溶液中加入三光气(20mg,65.2 μ mol)和TEA(17mg,163 μ mol)。将所得混合物在28℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到5-氯-6-(5,5-二甲基-4,5-二氢噁唑-2-基)吡啶-3-胺(39mg,173 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(110mg,1.1mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(27mg,217.4 μ mol)。将混合物在40℃下搅拌1小时。将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用10%甲醇和90%二氯甲烷作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到粗产物。将粗产物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(5,5-二甲基-4,5-二氢噁唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(4mg,6%产率)。实例118的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2388] 实例118:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.58(s,1H),9.35(s,1H),8.73(d,J=8Hz,1H),8.28(d,J=32Hz,1H),7.07(s,1H),4.84(d,J=12Hz,1H),4.28(d,J=12Hz,1H),3.72(s,2H),1.97(s,3H),1.60(s,6H)。LC-MS:m/z 528[M+H]⁺。

[2389] 方法G4

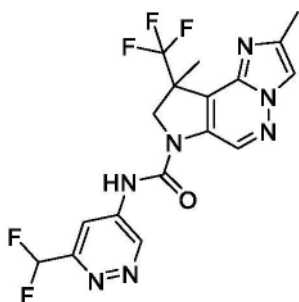
[2390]



[2391] 实例119和120:由含有(S)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺和(R)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[2392] 步骤1:N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺

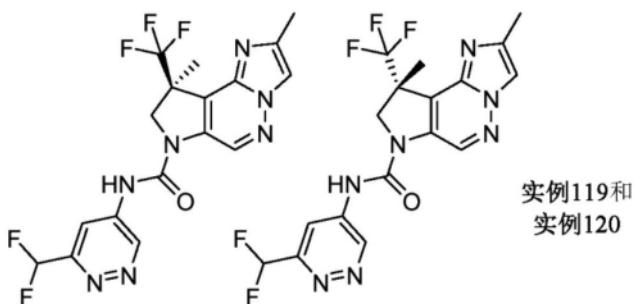
[2393]



[2394] 向2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪(方法E5步骤8;35mg,0.137mmol)中加入6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸(方法Q2步骤8;23.78mg,0.137mmol)和1,4-二噁烷(超干)(3mL)。向所得溶液中加入三乙胺(0.094mL,0.673mmol)和二苯基磷酰叠氮化物(0.036mL,0.164mmol)。将混合物加热至100℃并搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩。将残留物(140mg)溶解在DMSO中并通过色谱法进行纯化,以获得N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺(41mg)。LC-MS:m/z 428[M+H]⁺。

[2395] 步骤10:分离对映异构体以获得(S)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺和(R)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺

[2396]

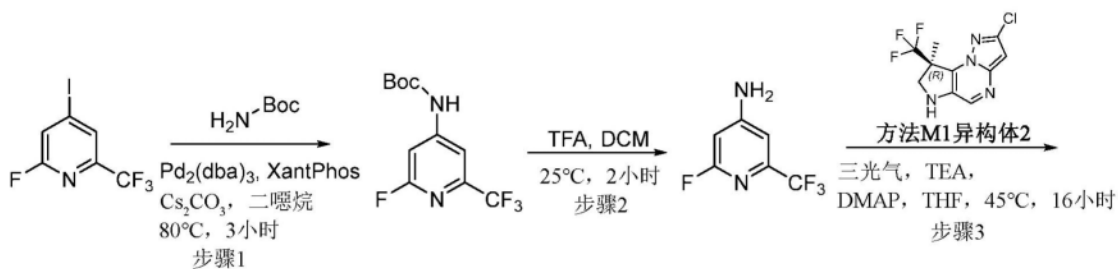


[2397] 对N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺(41mg)进行手性SFC(色谱柱:Phenomenex Cellulose-2,4.6x100mm,5μm;流动相A:CO₂,流动相B:iPrOH 20mM氨--HPLC;流速:2.5毫升/分钟;梯度:在5分钟内,5B到50%B;210-320nm;RT1:3.434;RT2:3.822)。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干以得到实例119(15.4mg,26%产率),并将第二个洗脱异构体浓缩并冻干以得到实例120(15.3mg,26.2%产率)。实例119和120是对映异构体,但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

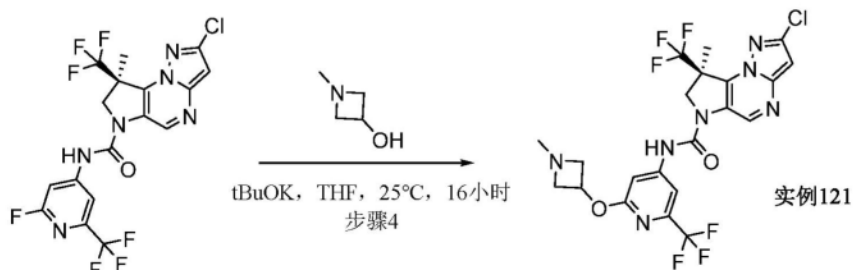
[2398] 实例119:¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ:9.31(d,J=2.6Hz,1H),9.29(s,1H),8.39(d,J=2.5Hz,1H),7.79(s,2H),6.88(t,J=54.6Hz,1H),4.66(d,J=10.5Hz,1H),4.08(d,J=10.5Hz,1H),2.51(s,3H),1.98(s,3H)。LC-MS:m/z 428[M+H]⁺。

[2399] 实例120:¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ:9.32(d,J=2.6Hz,1H),9.29(s,1H),8.36(d,J=2.5Hz,1H),7.79(s,1H),7.41(s,1H),6.89(t,J=54.5Hz,1H),4.62(d,J=10.5Hz,1H),4.06(d,J=10.5Hz,1H),2.52(s,3H),2.00(s,3H)。LC-MS:m/z 428[M+H]⁺。

[2400] 方法H4

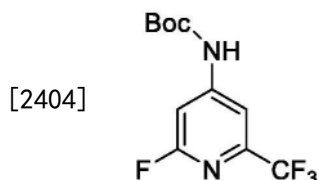


[2401]



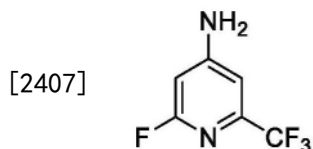
[2402] 实例121: (R)-2-氯-8-甲基-N-(2-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2403] 步骤1: (2-氟-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯



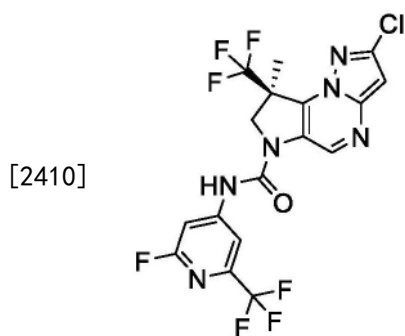
[2405] 在氮气气氛下,向2-氟-4-碘-6-(三氟甲基)吡啶(500mg, 1.7mmol)和氨基甲酸叔丁酯(302mg, 2.6mmol)于二噁烷(10mL)中的搅拌溶液中加入Xantphos(198mg, 342 μ mol)、Pd₂(dba)₃(117mg, 171 μ mol)和Cs₂CO₃(1.1g, 3.4mmol)。将所得混合物在80°C下搅拌3小时。将反应冷却至25°C。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(2-氟-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(400mg, 70%产率)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ : 7.55-7.59(m, 1H), 6.90(s, 1H), 1.56(s, 9H)。LC-MS:m/z 281[M+H]⁺。

[2406] 步骤2: 2-氟-6-(三氟甲基)吡啶-4-胺



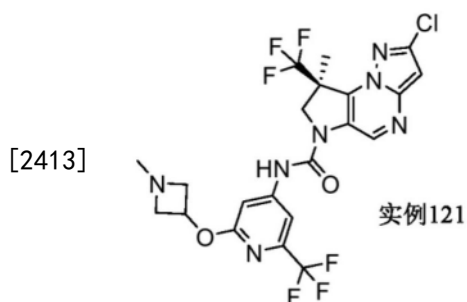
[2408] 向(2-氟-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(400mg, 1.4mmol)于二氯甲烷(12mL)中的搅拌溶液中加入TFA(3mL)。将混合物在25°C下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。向残留物中加入饱和NaHCO₃水溶液(40mL)。用二氯甲烷(3x40mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,并经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用40%石油醚和60%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-氟-6-(三氟甲基)吡啶-4-胺(200mg, 70%产率)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ : 6.79(s, 1H), 6.22(d, J=1.8Hz, 1H), 4.64(br, 2H)。LC-MS:m/z 181[M+H]⁺。

[2409] 步骤3: (R)-2-氯-N-(2-氟-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2411] 在0℃下,向方法M1异构体2 (50mg, 181.2μmol) 于四氢呋喃(4mL)中的搅拌溶液中加入三光气(32mg, 108.6μmol)和TEA(27mg, 271.8μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到2-氟-6-(三氟甲基)吡啶-4-胺(32mg, 181.2μmol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(20mg, 181.2μmol)和TEA(182mg, 1.8mmol)。将所得混合物在45℃下搅拌16小时。将反应冷却至25℃。将混合物倒入水(20mL)中,并用乙酸乙酯(3x20mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(2-氟-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(30mg, 34%产率)。¹H NMR(300MHz, 甲醇-d₄) δ: 7.61(s, 1H), 7.53(s, 1H), 6.91(d, J=1.8Hz, 1H), 6.79(s, 1H), 4.61(d, J=12Hz, 1H), 4.21(d, J=12Hz, 1H), 2.07(s, 3H)。LC-MS:m/z 483[M+H]⁺。

[2412] 步骤4: (R)-2-氯-8-甲基-N-(2-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

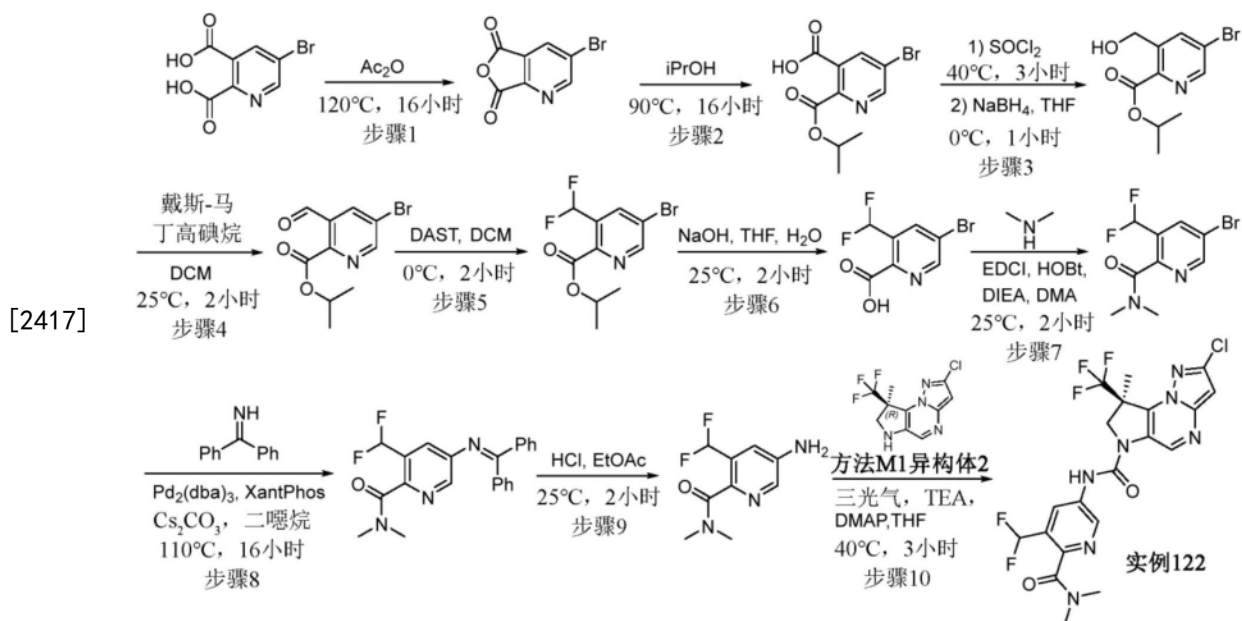


[2414] 向(R)-2-氯-N-(2-氟-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(30mg, 62.3μmol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中加入1-甲基氮杂环丁烷-3-醇(12mg, 133.3μmol)和叔丁醇钾(15mg, 133.3μmol)。将混合物在25℃下搅拌16小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-8-甲基-N-(2-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(3mg, 9%产率)。实例121的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2415] 实例121:¹H NMR(300MHz, 甲醇-d₄) δ: 9.35(s, 1H), 7.66(s, 1H), 7.35(s, 1H), 6.79(s, 1H), 5.21-5.23(m, 1H), 4.81(d, J=12Hz, 1H), 4.20(d, J=12Hz, 1H), 3.83-3.85(m, 2H),

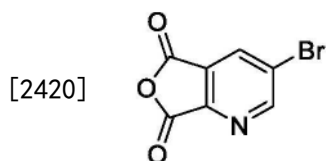
3.13-3.24(m, 2H), 2.42(s, 3H), 2.02(s, 3H)。LC-MS:m/z 550 [M+H]⁺。

[2416] 方法I4



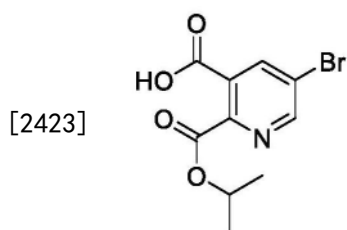
[2418] 步骤122: (R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(二甲基氨基甲酰基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2419] 步骤1: 3-溴咪喃[3,4-b]吡啶-5,7-二酮



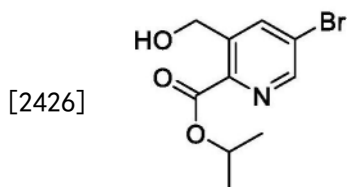
[2421] 将5-溴吡啶-2,3-二甲酸(5.0g, 20.3mmol)于乙酸酐(20mL)中的溶液在120°C下搅拌16小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物与石油醚(100mL)一起研磨,并过滤固体,以得到呈棕色固体的3-溴咪喃[3,4-b]吡啶-5,7-二酮(4.5g, 87%产率)。LC-MS:m/z 228 [M+H]⁺。

[2422] 步骤2: 5-溴-2-(异丙氧基羰基)烟酸



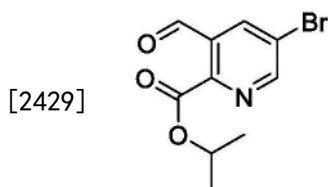
[2424] 将3-溴咪喃[3,4-b]吡啶-5,7-二酮(4.4g, 19.3mmol)于异丙醇(100mL)中的混合物在90°C下搅拌16小时。将反应混合物冷却至25°C。将反应混合物在真空下浓缩,以得到呈棕色固体的5-溴-2-(异丙氧基羰基)烟酸(4.4g, 79%产率)。LC-MS:m/z 288 [M+H]⁺。

[2425] 步骤3: 5-溴-3-(羟甲基)吡啶甲酸异丙酯



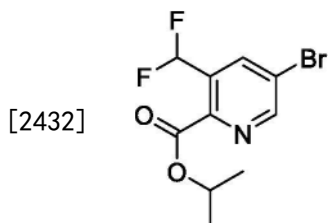
[2427] 将5-溴-2-(异丙氧基羰基)烟酸(5.0g, 17.4mmol)于亚硫酸氯(3.1g, 26.0mmol)中的溶液在40℃下搅拌3小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物溶解在四氢呋喃(100mL)中,并在0℃下分批加入硼氢化钠(985mg, 26.0mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌1小时。将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的5-溴-3-(羟甲基)吡啶甲酸异丙酯(2.5g, 38%产率)。LC-MS:m/z 274[M+H]⁺。

[2428] 步骤4:5-溴-3-甲酰基吡啶甲酸异丙酯



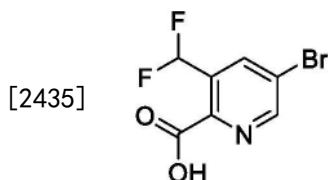
[2430] 向5-溴-3-(羟甲基)吡啶甲酸异丙酯(2.5g, 9.1mmol)于二氯甲烷(20mL)中的搅拌溶液中加入戴斯-马丁(Dess-Martin)高碘烷(4.6g, 10.9mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的5-溴-3-甲酰基吡啶甲酸异丙酯(1.1g, 44%产率)。LC-MS:m/z 272[M+H]⁺。

[2431] 步骤5:5-溴-3-(二氟甲基)吡啶甲酸异丙酯



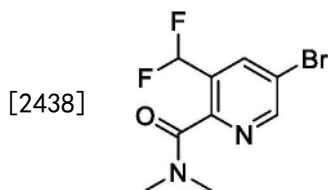
[2433] 在0℃下,向5-溴-3-甲酰基吡啶甲酸异丙酯(1.1g, 4.0mmol)于二氯甲烷(20mL)中的搅拌溶液中逐滴加入DAST(1.9g, 12.1mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌2小时。将反应混合物用水(30mL)淬灭。用二氯甲烷(3x30mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(60mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的5-溴-3-(二氟甲基)吡啶甲酸异丙酯(500mg, 42%产率)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ:8.87(d, J=2.4, 1H), 8.28(d, J=2.4, 1H), 7.45(t, J=55.2Hz, 1H), 5.31-5.38(m, 1H), 1.44(d, J=6.4Hz, 6H)。LC-MS:m/z294[M+H]⁺。

[2434] 步骤6:5-溴-3-(二氟甲基)吡啶甲酸



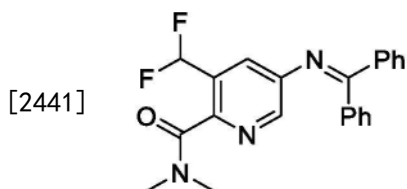
[2436] 向5-溴-3-(二氟甲基)吡啶甲酸异丙酯(500mg, 1.7mmol)于四氢呋喃(5mL)和水(5mL)中的搅拌混合物中加入NaOH(748mg, 18.7mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。用HCl(1M)将pH调整到3。用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机溶液经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈白色固体的5-溴-3-(二氟甲基)吡啶甲酸(400mg, 86%产率)。LC-MS:m/z 252[M+H]⁺。

[2437] 步骤7:5-溴-3-(二氟甲基)-N,N-二甲基吡啶酰胺



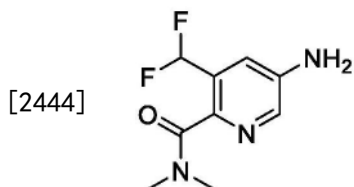
[2439] 向5-溴-3-(二氟甲基)吡啶甲酸(300mg, 1.2mmol)于N,N-二甲基乙酰胺(10mL)中的搅拌溶液中加入二甲胺盐酸盐(194mg, 2.4mmol)、EDCI(297mg, 1.5mmol)、HOBt(209mg, 1.5mmol)和DIEA(461mg, 3.6mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物用水(30mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x30mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的5-溴-3-(二氟甲基)-N,N-二甲基吡啶酰胺(200mg, 60%产率)。LC-MS:m/z 279[M+H]⁺。

[2440] 步骤8:3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)-N,N-二甲基吡啶酰胺



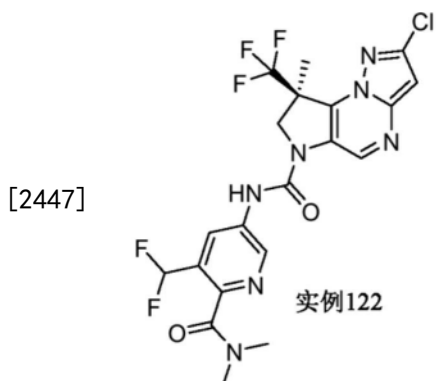
[2442] 在氮气气氛下,向5-溴-3-(二氟甲基)-N,N-二甲基吡啶酰胺(200mg, 717μmol)于二噁烷(10mL)中的混合物中加入二苯基甲亚胺(260mg, 1.4mmol)、Pd₂(dba)₃(223mg, 215μmol)、Xantphos(124mg, 215μmol)和Cs₂CO₃(700mg, 2.1mmol)。将所得混合物在110℃下搅拌16小时。将反应混合物在真空下浓缩。将所得混合物用水(10mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)-N,N-二甲基吡啶酰胺(200mg, 74%产率)。LC-MS:m/z 380[M+H]⁺。

[2443] 步骤9:5-氨基-3-(二氟甲基)-N,N-二甲基吡啶酰胺



[2445] 向3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)-N,N-二甲基吡啶酰胺(200mg, 527 μ mol)于乙酸乙酯(5mL)中的溶液中加入HCl(1mL, 1M)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将pH用饱和NaHCO₃水溶液调整到7-8。用乙酸乙酯(3x5mL)萃取所得溶液。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的5-氨基-3-(二氟甲基)-N,N-二甲基吡啶酰胺(90mg, 78%产率)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ : 8.10(d, J=2.7Hz, 1H), 7.28(d, J=2.7Hz, 1H), 7.06(t, J=55.8Hz, 1H), 3.14(s, 3H), 2.99(s, 3H)。LC-MS:m/z 216[M+H]⁺。

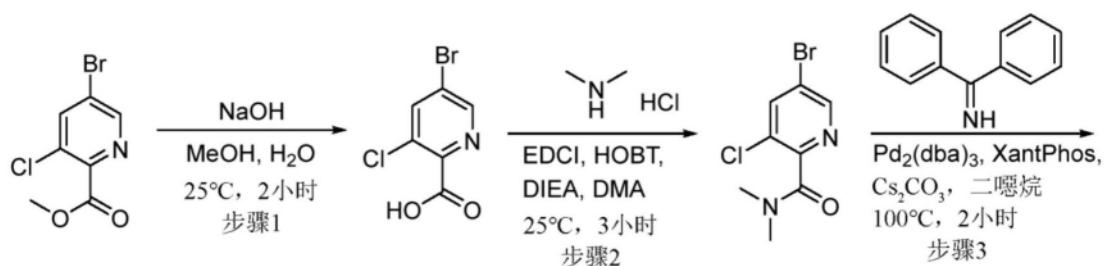
[2446] 步骤10: (R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(二甲基氨基甲酰基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



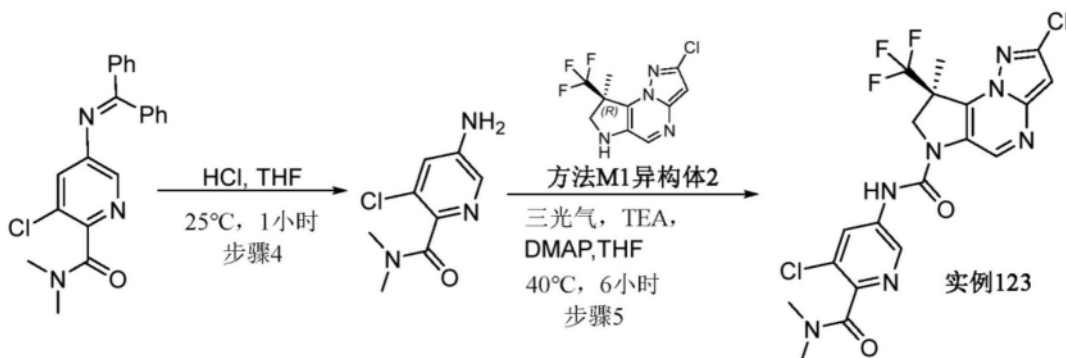
[2448] 向5-氨基-3-(二氟甲基)-N,N-二甲基吡啶酰胺(50mg, 232 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的搅拌溶液中加入三光气(41mg, 139 μ mol)和TEA(35mg, 348 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(77mg, 279 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(57mg, 465 μ mol)和TEA(235mg, 2.3mmol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌3小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(二甲基氨基甲酰基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(18mg, 15%产率)。实例122的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2449] 实例122:¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ : 9.54(s, 1H), 9.33(s, 1H), 8.91(d, J=2.1Hz, 1H), 8.36(d, J=2.1Hz, 1H), 7.10(t, J=54.9Hz, 1H), 7.05(s, 1H), 4.83(d, J=11.7Hz, 1H), 4.27(d, J=11.7Hz, 1H), 3.01(s, 3H), 2.83(s, 3H), 1.96(s, 3H)。LC-MS:m/z 518[M+H]⁺。

[2450] 方法J4

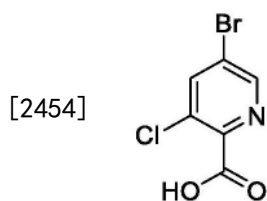


[2451]



[2452] 实例123: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(二甲基氨基甲酰基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

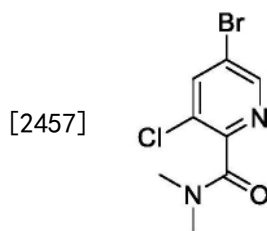
[2453] 步骤1: 5-溴-3-氯吡啶甲酸



[2454]

[2455] 向5-溴-3-氯吡啶甲酸甲酯 (5g, 20.0mmol) 于甲醇 (40mL) 和水 (20mL) 中的搅拌溶液中加入氢氧化钠 (1.6g, 39.9mmol)。将所得混合物在25°C下搅拌2小时。用HCl (1M) 将pH调整到3。用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取所得溶液。将合并的有机溶液经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩, 以得到呈黄色油状物的5-溴-3-氯吡啶甲酸 (3.7g, 77%产率)。LC-MS: m/z 236 [M+H]⁺。

[2456] 步骤2: 5-溴-3-氯-N,N-二甲基吡啶酰胺

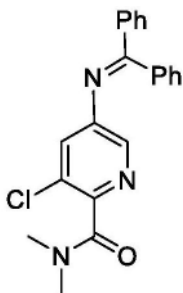


[2457]

[2458] 向5-溴-3-氯吡啶甲酸 (3.7g, 15.5mmol) 于N,N-二甲基乙酰胺 (40mL) 中的搅拌溶液中加入二甲胺盐酸盐 (1.3g, 15.6mmol)、EDCI (3.9g, 20.3mmol)、HOBT (2.7g, 20.3mmol) 和 DIEA (6.0g, 46.7mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌3小时。将反应混合物用水 (100mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (3x100mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水 (200mL) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈白色固体的5-溴-3-氯-N,N-二甲基吡啶酰胺 (3.4g, 70%产率)。LC-MS: m/z 263 [M+H]⁺。

[2459] 步骤3: 3-氯-5-((二苯基亚甲基)氨基)-N,N-二甲基吡啶酰胺

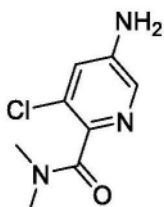
[2460]



[2461] 在氮气气氛下,向5-溴-3-氯-N,N-二甲基吡啶酰胺(2.0g,7.6mmol)于二噁烷(30mL)中的混合物中加入二苯基甲亚胺(1.4g,7.5mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (780mg,753.5 μmol)、Xantphos(440mg,760 μmol)和 Cs_2CO_3 (7.4g,22.8mmol)。将所得混合物在100 $^\circ\text{C}$ 下搅拌2小时。将反应混合物冷却至25 $^\circ\text{C}$,并在真空下浓缩。将所得混合物用水(50mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x50mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的3-氯-5-((二苯基亚甲基)氨基)-N,N-二甲基吡啶酰胺(1.7g,61%产率)。LC-MS:m/z 364[M+H]⁺。

[2462] 步骤4:5-氨基-3-氯-N,N-二甲基吡啶酰胺

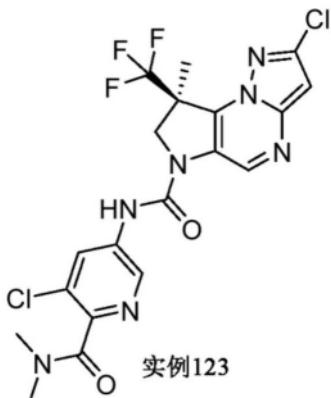
[2463]



[2464] 向3-氯-5-((二苯基亚甲基)氨基)-N,N-二甲基吡啶酰胺(700mg,1.9mmol)于四氢呋喃(10mL)中的溶液中加入HCl(4mL,1M)。将所得混合物在25 $^\circ\text{C}$ 下搅拌1小时。将pH用饱和 NaHCO_3 水溶液调整到7-8。用乙酸乙酯(3x20mL)萃取所得溶液。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的5-氨基-3-氯-N,N-二甲基吡啶酰胺(252mg,65%产率)。LC-MS:m/z 200[M+H]⁺。

[2465] 步骤5:(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(二甲基氨基甲酰基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2466]

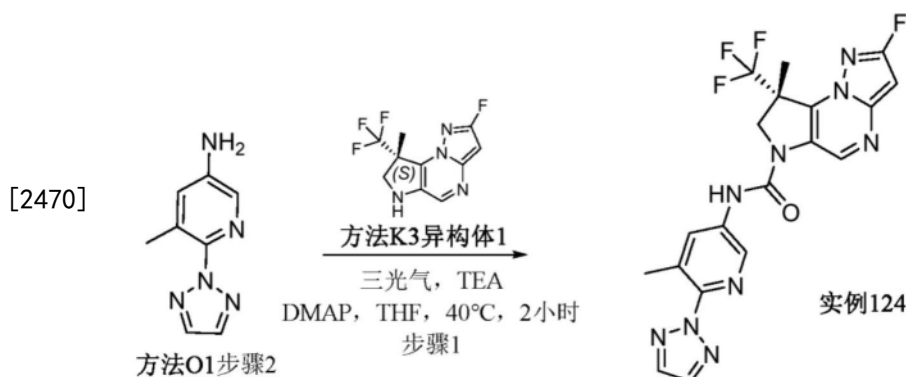


[2467] 向方法M1异构体2(100mg,361 μmol)于四氢呋喃(4mL)中的搅拌溶液中加入三光气(64mg,217 μmol)和TEA(55mg,542 μmol)。将所得混合物在25 $^\circ\text{C}$ 下搅拌1小时,然后过滤。将滤

液加入到5-氨基-3-氯-N,N-二甲基吡啶酰胺(108mg, 542 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(88mg, 723 μ mol)和TEA(366mg, 3.6mmol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌6小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(二甲基氨基甲酰基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(13.7mg, 7%产率)。实例123的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

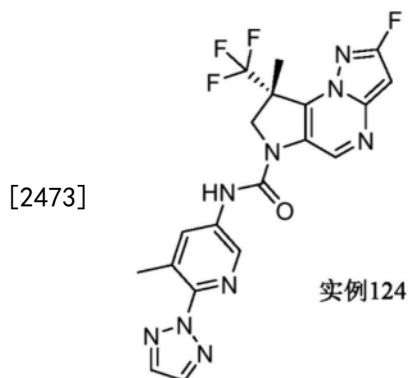
[2468] 实例123: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.52 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 4.83 (d, J=11.6Hz, 1H), 4.27 (d, J=11.6Hz, 1H), 3.02 (s, 3H), 2.78 (s, 3H), 1.98 (s, 3H)。LC-MS: m/z 502 [M+H] $^+$ 。

[2469] 方法K4



[2471] 实例124: (S)-2-氟-8-甲基-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2472] 步骤1: (S)-2-氟-8-甲基-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

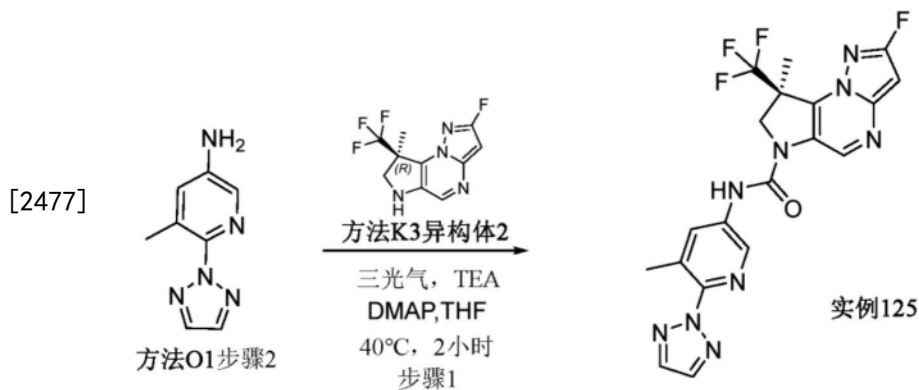


[2474] 向(S)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(方法K3异构体1; 30mg, 115.3 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的搅拌溶液中加入三光气(20mg, 69.1 μ mol)和TEA(17mg, 172.9 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法O1步骤2; 35mg, 172.9 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(21mg, 173.0 μ mol)和TEA(117mg, 1.2mmol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈黄色固体的(S)-2-氟-8-甲基-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,

5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (16.6mg, 31%产率)。

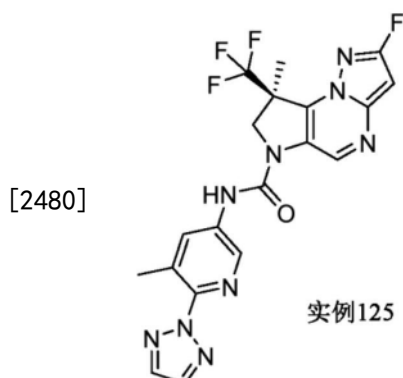
[2475] 实例124: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, 氯仿-d) δ : 9.41 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.89 (s, 2H), 6.94 (s, 1H), 6.34 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 4.61 (d, $J=10.4\text{Hz}$, 1H), 4.06 (d, $J=10.4\text{Hz}$, 1H), 2.50 (s, 3H), 2.04 (s, 3H)。LC-MS: m/z 462 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2476] 方法L4



[2478] 实例125: (R)-2-氟-8-甲基-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

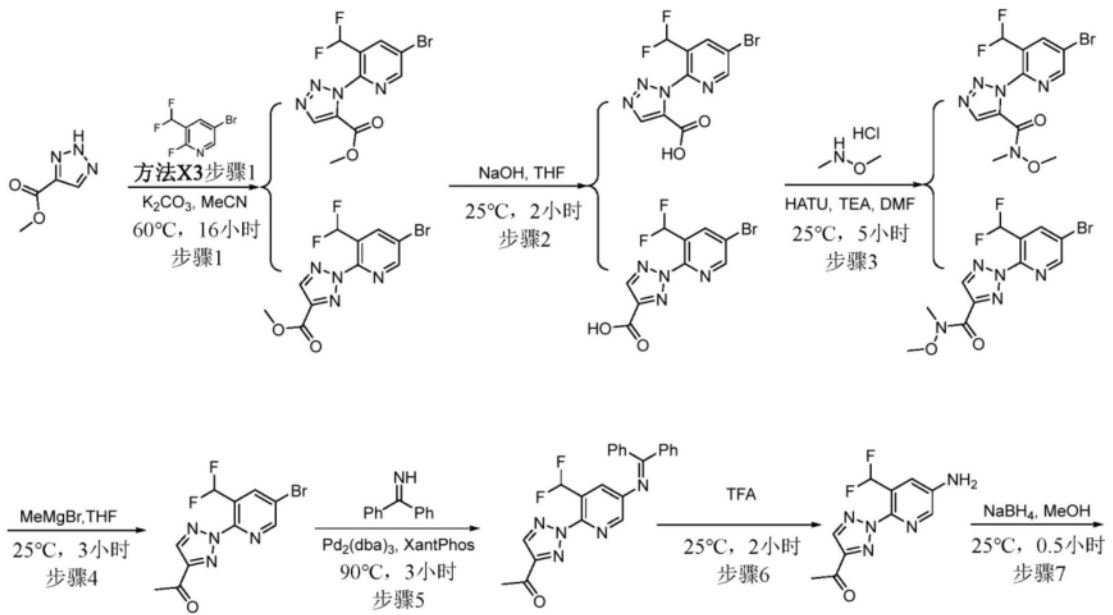
[2479] 步骤1: (R)-2-氟-8-甲基-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



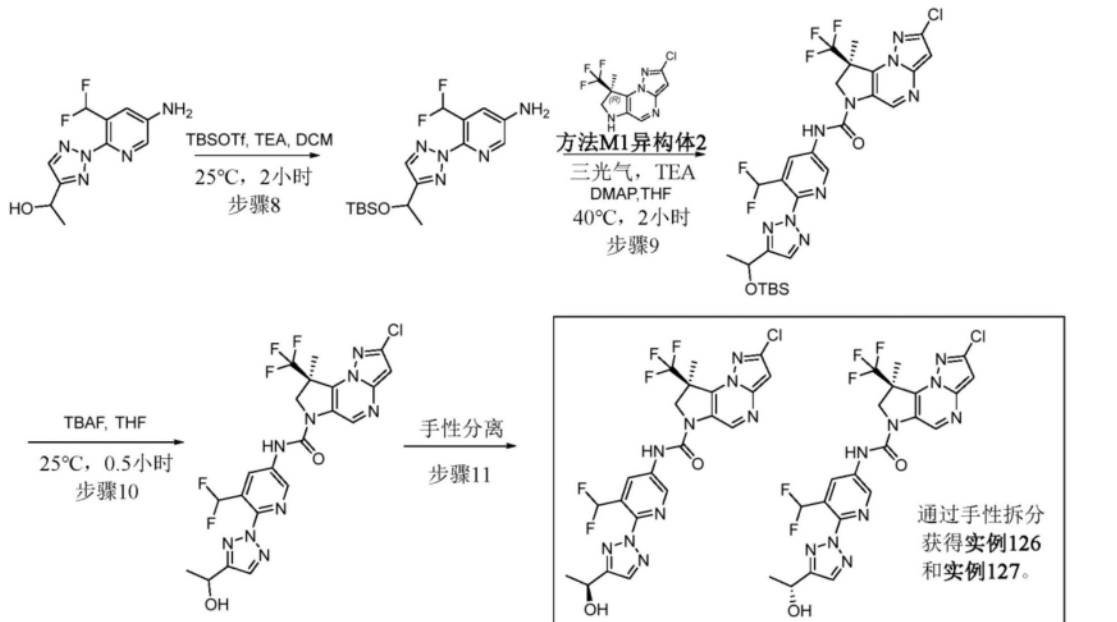
[2481] 向(R)-2-氟基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(方法K3异构体2; 30mg, 115.3 μmol)于四氢呋喃(1mL)中的搅拌溶液中加入三光气(20mg, 69.1 μmol)和TEA(17mg, 172.9 μmol)。将所得混合物在25 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法O1步骤2; 62mg, 230.6 μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(21mg, 173.0 μmol)和TEA(117mg, 1.2mmol)。将混合物在40 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氟-8-甲基-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(10.9mg, 21%产率)。

[2482] 实例125: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, 氯仿-d) δ : 9.41 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.90 (s, 2H), 6.71 (s, 1H), 6.34 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 4.59 (d, $J=10.4\text{Hz}$, 1H), 4.06 (d, $J=10.4\text{Hz}$, 1H), 2.50 (s, 3H), 2.05 (s, 3H)。LC-MS: m/z 462 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2483] 方法M4



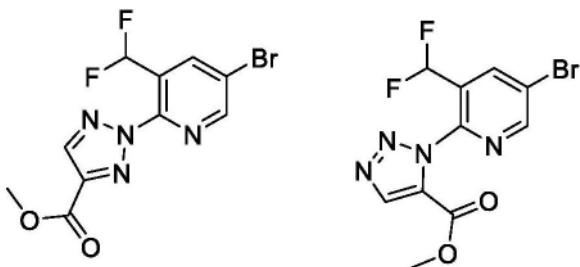
[2484]



[2485] 实例126和127:由含有(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(4-((S)-1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(4-((R)-1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[2486] 步骤1:2-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯和1-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-甲酸甲酯的混合物

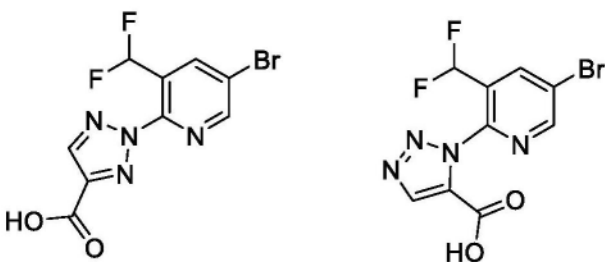
[2487]



[2488] 向2H-三唑-4-甲酸甲酯(8.0g,62.9mmol)于乙腈(130mL)中的溶液中加入 K_2CO_3 (26.1g,188.8mmol)和5-溴-3-(二氟甲基)-2-氟-吡啶(方法X3,步骤1;15.6g,69.2mmol)。将所得混合物在60℃下搅拌16小时。冷却至25℃后,将反应混合物用水(100mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用30%石油醚和70%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯和1-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-甲酸甲酯的混合物(7.5g,35%产率)。LC-MS: m/z 333[M+H]⁺。

[2489] 步骤2:2-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸和1-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-甲酸的混合物

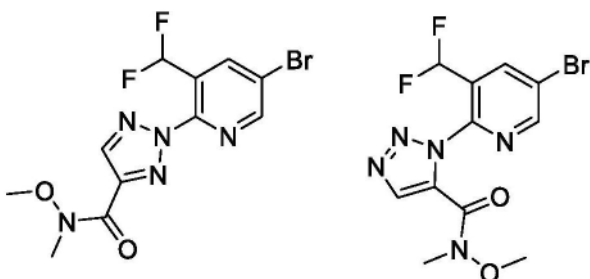
[2490]



[2491] 向2-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯和1-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-甲酸甲酯(2.0g,6.0mmol)于四氢呋喃(40mL)中的混合物中加入水(8mL)中的NaOH(480mg,12.0mmol)。将所得溶液在25℃下搅拌2小时。用HCl(1M)将pH调整到3-4。浓缩混合物以去除四氢呋喃。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩,以得到呈白色固体的2-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸和1-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-甲酸的混合物(1.2g,62%产率)。LC-MS: m/z 319[M+H]⁺。

[2492] 步骤3:2-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-N-甲氧基-N-甲基-2H-1,2,3-三唑-4-甲酰胺和1-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-N-甲氧基-N-甲基-1H-1,2,3-三唑-5-甲酰胺的混合物

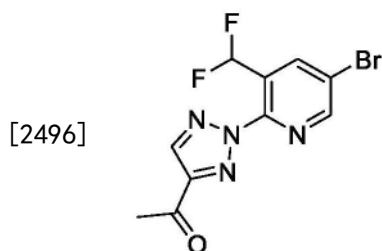
[2493]



[2494] 向2-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸和1-(5-溴-3-(二

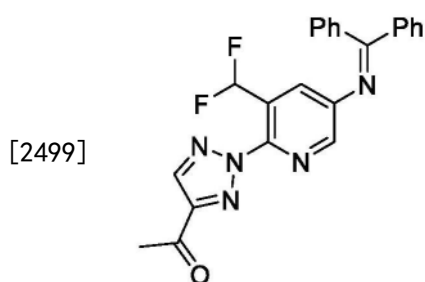
氟甲基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-甲酸(1.5g,4.7mmol)和N,0-二甲基羟胺;盐酸盐(700mg,7mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(10mL)中的混合物加入HATU(2.7g,7.1mmol)和TEA(1.4g,14.1mmol)。将所得溶液在25℃下搅拌5小时。将反应混合物用水(100mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-N-甲氧基-N-甲基-2H-1,2,3-三唑-4-甲酰胺和1-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-N-甲氧基-N-甲基-1H-1,2,3-三唑-5-甲酰胺的混合物(1.3g,76%产率)。LC-MS:m/z 362[M+H]⁺。

[2495] 步骤4:1-(2-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙-1-酮



[2497] 在氮气下在-20℃下,向2-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-N-甲氧基-N-甲基-2H-1,2,3-三唑-4-甲酰胺和1-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-N-甲氧基-N-甲基-1H-1,2,3-三唑-5-甲酰胺(7.0g,19.3mmol)于四氢呋喃(140mL)中的混合物中逐滴加入甲基溴化镁(58mL,58.0mmol,1M,于THF中)。将所得溶液在-20℃下搅拌3小时。将反应混合物用水(200mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的1-(2-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙-1-酮(1.8g,29%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d)δ:8.84(d,J=2.1Hz,1H)8.43(d,J=2.1Hz,1H),8.37(s,1H),7.67(t,J=54.3Hz,1H),2.76(s,3H)。LC-MS:m/z 317[M+H]⁺。

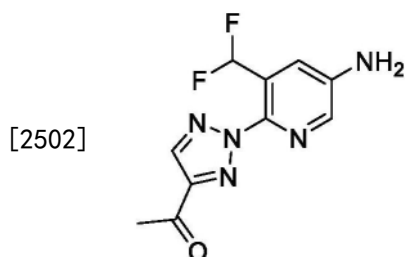
[2498] 步骤5:1-(2-(3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙-1-酮



[2500] 向1-(2-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙-1-酮(1.8g,5.7mmol)和二苯基甲亚胺(1.1g,6.2mmol)于二噁烷(5mL)中的搅拌溶液中加入XantPhos(246mg,425.5μmol)、Pd₂(dba)₃(259mg,283.8μmol)和Cs₂CO₃(4.6g,14.1mmol)。将所得混合物在90℃下搅拌3小时。冷却至25℃后,将反应混合物用水(30mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x30mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的1-(2-(3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)

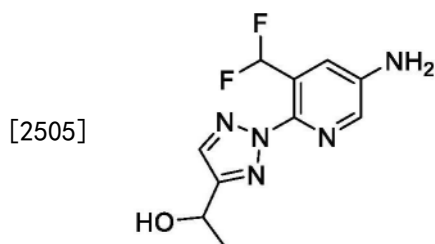
乙-1-酮(850mg,35%产率)。LC-MS:m/z 418[M+H]⁺。

[2501] 步骤6:1-(2-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙-1-酮



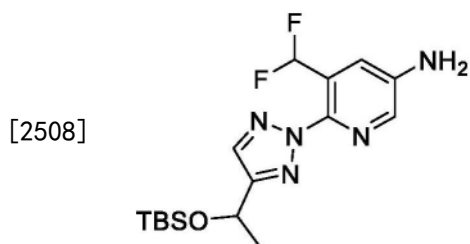
[2503] 将1-(2-(3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙-1-酮(890mg,2.1mmol)于TFA(20mL)中的溶液在25℃下搅拌2小时。将溶液在真空下浓缩。将pH用饱和NaHCO₃水溶液调整到7。用乙酸乙酯(3x20mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的1-(2-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙-1-酮(320mg,59%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d)δ:8.77(s,1H),8.06(d,J=2.4Hz,1H),7.49(d,J=2.4Hz,1H),7.45(t,J=54.6Hz,1H),2.78(s,3H)。LC-MS:m/z 254[M+H]⁺。

[2504] 步骤7:1-(2-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙-1-醇



[2506] 在0℃下,向1-[2-[5-氨基-3-(二氟甲基)-2-吡啶基]三唑-4-基]乙酮(150mg,592.4μmol)于甲醇(10mL)中的搅拌混合物中加入NaBH₄(27mg,710.8μmol)。将反应混合物在25℃下搅拌0.5小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用40%石油醚和60%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈无色油状物的1-(2-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙-1-醇(120mg,79%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d)δ:8.13(d,J=3.0Hz,1H),7.86(s,1H),7.46(d,J=2.7Hz,1H),7.33(t,J=54.9Hz,1H),5.21(q,J=6.6Hz,1H),1.67(d,J=6.6Hz,3H)。LC-MS:m/z 256[M+H]⁺。

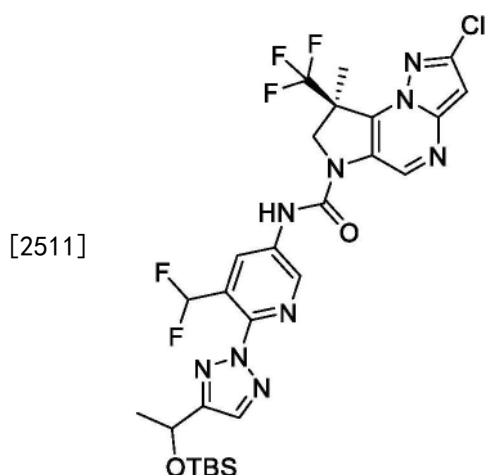
[2507] 步骤8:6-(4-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-胺



[2509] 在25℃下,向1-(2-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)乙-1-醇(120mg,470.2μmol)于二氯甲烷(10mL)中的搅拌混合物中加入TEA(142.7mg,1.4mmol)

和二甲基甲硅烷基三氟甲磺酸叔丁酯 (248.5mg, 940.3 μ mol)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈淡黄色固体的6-(4-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-胺 (160mg, 92%产率)。 ^1H NMR (300MHz, 氯仿-d) δ : 8.11 (d, J=3.0Hz, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.43 (d, J=3.0Hz, 1H), 7.32 (t, J=54.9Hz, 1H), 5.17 (q, J=6.6Hz, 1H), 1.55 (d, J=6.6Hz, 3H), 0.92 (s, 9H), 0.11 (s, 3H), 0.05 (s, 3H)。LC-MS: m/z 370 [M+H] $^+$ 。

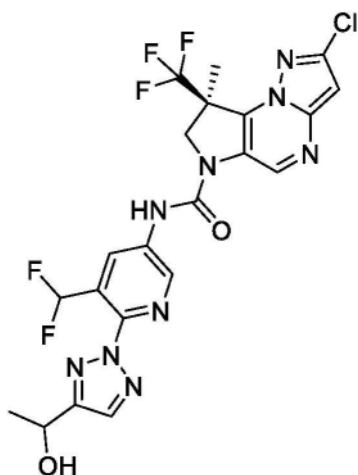
[2510] 步骤9: (8R)-N-(6-(4-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2512] 在25 $^{\circ}$ C下,向6-(4-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-胺 (150mg, 405.9 μ mol) 于四氢呋喃 (5mL) 中的搅拌混合物中加入三光气 (72.7mg, 243.5 μ mol) 和TEA (62mg, 608.9 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2 (67mg, 243.5 μ mol) 于四氢呋喃 (1mL) 中的溶液中。向该溶液中加入TEA (411mg, 4.1mmol) 和N,N-二甲基吡啶-4-胺 (99.20mg, 811.94 μ mol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈白色固体的(8R)-N-(6-(4-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (110mg, 40%产率)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO-d $_6$) δ : 9.66 (br, 1H), 9.35 (s, 1H), 8.93 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.56 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.36 (t, J=54.4Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 5.16 (q, J=6.4Hz, 1H), 4.85 (d, J=11.2Hz, 1H), 4.30 (d, J=11.2Hz, 1H), 1.97 (s, 3H), 1.50 (d, J=6.4Hz, 3H), 0.87 (s, 9H), 0.10 (s, 3H), 0.04 (s, 3H)。LC-MS: m/z 672 [M+H] $^+$ 。

[2513] 步骤10: (8R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(4-(1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

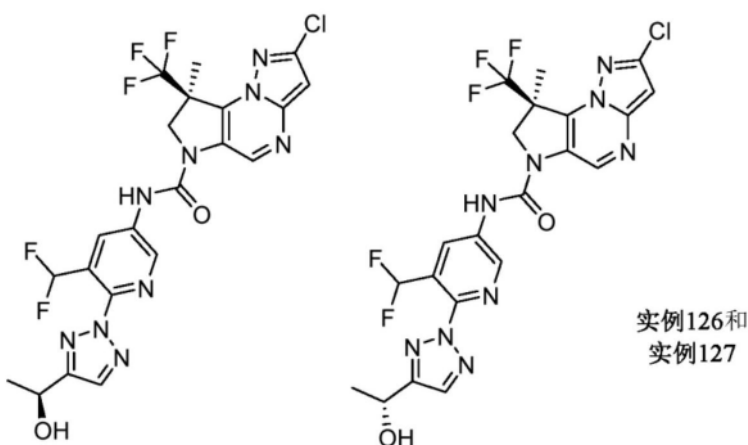
[2514]



[2515] 在25℃下,向(8R)-N-(6-(4-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(110mg,163.6 μmol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌混合物中加入TBAF(1M,于四氢呋喃中,1mL)。将反应混合物在25℃下搅拌0.5小时。将反应混合物浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到70mg粗产物。对粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈灰白色固体的(8R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(4-(1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(38mg,41%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ :9.67(br,1H),9.38(s,1H),8.96(s,1H),8.58(s,1H),8.09(s,1H),7.42(t,J=54.6Hz,1H),7.08(s,1H),5.56(d,J=5.1Hz,1H),4.93-5.03(m,1H),4.88(d,J=11.4Hz,1H),4.32(d,J=11.4Hz,1H),2.00(s,3H),1.49(d,J=6.6Hz,3H)。LC-MS:m/z 558[M+H]⁺。

[2516] 步骤11:分离对映异构体以获得(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(4-((R)-1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(4-((S)-1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2517]



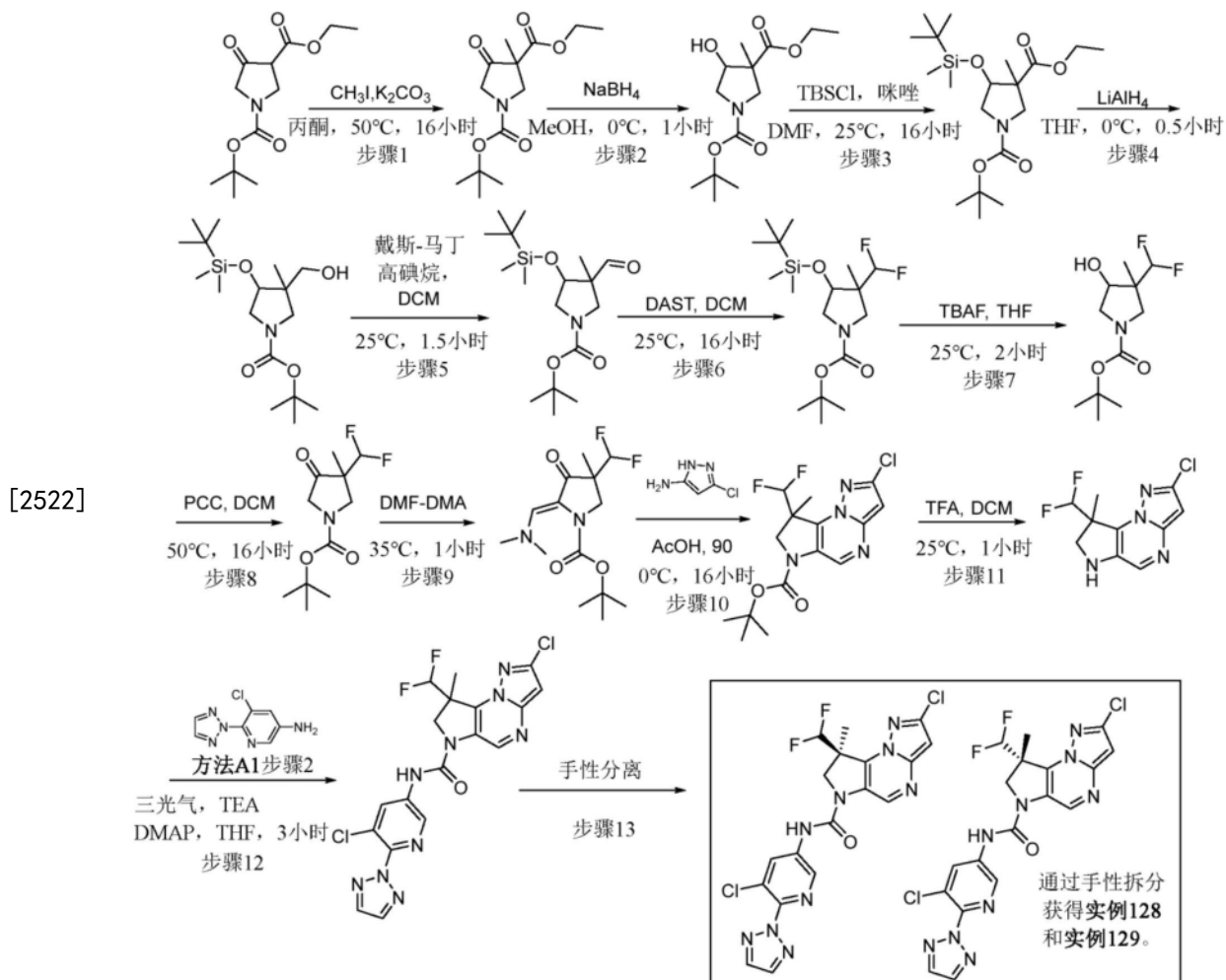
[2518] 对(8R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(4-(1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

(35mg, 62.7 μ mol) 进行手性HPLC纯化, 色谱柱: CHIRAL ART Cellulose-SB, 3x25cm, 5 μ m; 流动相A: Hex:DCM=3:1 (0.5% 2M NH₃-MeOH) --HPLC, 流动相B: EtOH--HPLC; 流速: 40毫升/分钟; 梯度: 在37分钟内, 7B到7B; 220/254nm; RT1: 31.2; RT2: 34.3; 注射体积: 0.4ml; 运行次数: 7。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干, 以得到呈白色固体的实例126 (9.0mg, 26%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干成呈白色固体的实例127 (6.9mg, 20%产率)。实例126和127的对应的立体异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。实施例126和127是非对映异构体, 其中与三氟甲基连接的立体中心是绝对的并且甲醇立体中心是相对的 (即, 实例126和127中的一个中的甲醇立体中心是(S), 实例126和127中的另一个中的甲醇立体中心是(R))。

[2519] 实例126: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.67 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 8.94 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.57 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.41 (t, J=54.4Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 5.55 (d, J=4.8Hz, 1H), 4.93-5.00 (m, 1H), 4.86 (d, J=11.6Hz, 1H), 4.31 (d, J=11.6Hz, 1H), 1.99 (s, 3H), 1.47 (d, J=6.4Hz, 3H)。LC-MS: m/z 558 [M+H]⁺。

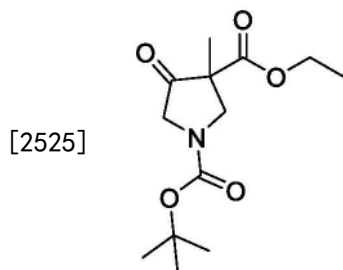
[2520] 实例127: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.65 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.93 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.56 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.39 (t, J=54.4Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 5.54 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.89-5.00 (m, 1H), 4.85 (d, J=11.2Hz, 1H), 4.30 (d, J=11.2Hz, 1H), 1.97 (s, 3H), 1.47 (d, J=6.4Hz, 3H)。LC-MS: m/z 558 [M+H]⁺。

[2521] 方法N4



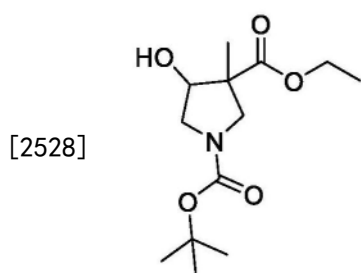
[2523] 实例128和129:由含有(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[2524] 步骤1:3-甲基-4-氧代吡咯烷-1,3-二甲酸1-(叔丁基)酯3-乙酯



[2526] 向4-氧代吡咯烷-1,3-二甲酸1-(叔丁基)酯3-乙酯(400g,1.6mol)于丙酮(2000mL)中的搅拌溶液中加入 K_2CO_3 (430g,3.2mol)和碘甲烷(442g,3.2mol)。将所得混合物在50℃下搅拌16小时。使混合物冷却至25℃。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的3-甲基-4-氧代吡咯烷-1,3-二甲酸1-(叔丁基)酯3-乙酯(320g,75.9%产率)。 1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ :4.11-4.14(m,1H),3.95-4.06(m,2H),3.84-3.91(m,1H),3.62-3.67(m,1H),3.25-3.34(d,J=3.6Hz,1H),1.33(s,9H),1.24(s,3H),1.08-1.11(m,3H)。LC-MS: m/z 272[M+H] $^+$ 。

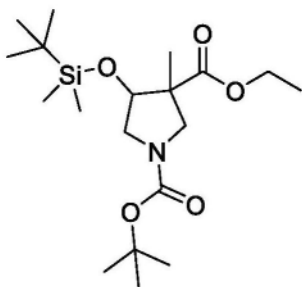
[2527] 步骤2:4-羟基-3-甲基吡咯烷-1,3-二甲酸1-(叔丁基)酯3-乙酯



[2529] 在0℃下,向3-甲基-4-氧代吡咯烷-1,3-二甲酸1-(叔丁基)酯3-乙酯(210g,774.0mmol)于乙醇(1000mL)中的搅拌溶液中分份加入 $NaBH_4$ (30g,774.0mmol)。将反应在氮气下在0℃下搅拌1小时。将混合物倒入水(1000mL)中并在真空下浓缩。用乙酸乙酯(3x1000mL)萃取混合物。将合并的有机层用盐水(500mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的4-羟基-3-甲基吡咯烷-1,3-二甲酸1-(叔丁基)酯3-乙酯(98.7g,46.7%产率)。LC-MS: m/z 274[M+H] $^+$ 。

[2530] 步骤3:4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-甲基吡咯烷-1,3-二甲酸1-(叔丁基)酯3-乙酯

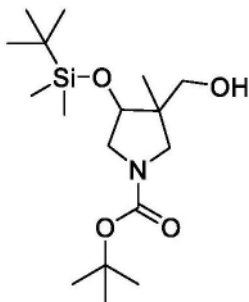
[2531]



[2532] 在25℃下,向4-羟基-3-甲基吡咯烷-1,3-二甲酸1-(叔丁基)酯3-乙酯(98.7g, 361.1mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(500mL)中的搅拌溶液中加入叔丁基氯二甲基硅烷(108.8g,722.2mmol)和咪唑(98.3g,1.5mol)。将所得混合物在25℃下搅拌16小时。将混合物倒入水(1000mL)中,并用乙酸乙酯(3x1000mL)萃取。将合并的有机层用盐水(1000mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用20%石油醚和80%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到粗产物。将粗产物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-甲基吡咯烷-1,3-二甲酸1-(叔丁基)酯3-乙酯(25.8g,16.4%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:4.47-4.50(m,1H),4.07-4.17(m,2H),3.69-3.74(m,1H),3.46-3.58(m,1H),3.10-3.33(m,2H),1.43(s,9H),1.23(s,6H),0.85(s,9H),0.07(s,6H)。LC-MS:m/z 388[M+H]⁺。

[2533] 步骤4:4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-(羟甲基)-3-甲基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

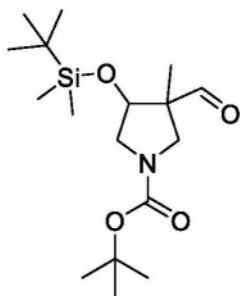
[2534]



[2535] 在0℃下,向4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-甲基吡咯烷-1,3-二甲酸1-(叔丁基)酯3-乙酯(25.8g,66.6mmol)于四氢呋喃(200mL)中的搅拌溶液中加入LiAlH₄(2.6g,66.6mmol)。将所得混合物在0℃下搅拌0.5小时。向混合物中加入水(2.6g)和10%NaOH水溶液(2.6g)。将所得混合物过滤并在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-(羟甲基)-3-甲基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(21.2g,92.2%产率)。LC-MS:m/z 346[M+H]⁺。

[2536] 步骤5:4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-甲酰基-3-甲基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

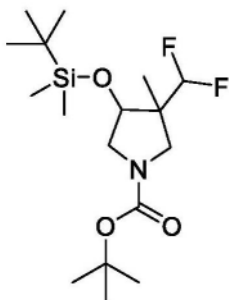
[2537]



[2538] 在25℃下,向4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-(羟甲基)-3-甲基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(21.2g,61.3mmol)于二氯甲烷(500mL)中的搅拌混合物中加入戴斯-马丁高碘烷(52.1g,122.7mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌1.5小时。将反应混合物用水(800mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x800mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(600mL)洗涤,并经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-甲酰基-3-甲基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(11.1g,48.4%产率)。LC-MS:m/z 344[M+H]⁺。

[2539] 步骤6:4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-(二氟甲基)-3-甲基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

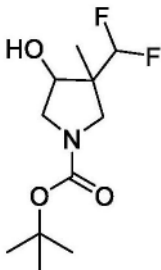
[2540]



[2541] 在0℃下,向4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-甲酰基-3-甲基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(11.1g,32.3mmol)于二氯甲烷(200mL)中的搅拌混合物中加入DAST(15.6g,96.9mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌2小时。将反应混合物温热至25℃,并搅拌16小时。将反应混合物用水(500mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x500mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-(二氟甲基)-3-甲基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(5.5g,46.6%产率)。LC-MS:m/z 366[M+H]⁺。

[2542] 步骤7:3-(二氟甲基)-4-羟基-3-甲基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

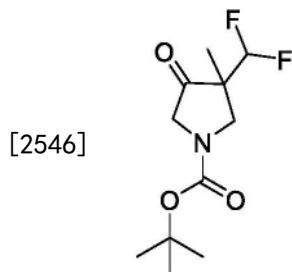
[2543]



[2544] 在25℃下,向4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-(二氟甲基)-3-甲基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(5.5g,15.0mmol)于四氢呋喃(100mL)中的搅拌混合物中加入TBAF(62mL,1M,

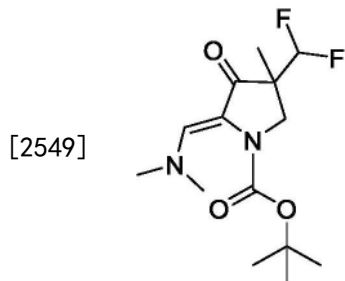
于四氢呋喃中)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物用水(200mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的3-(二氟甲基)-4-羟基-3-甲基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.1g,28.3%产率)。LC-MS:m/z 252[M+H]⁺。

[2545] 步骤8:3-(二氟甲基)-3-甲基-4-氧代吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



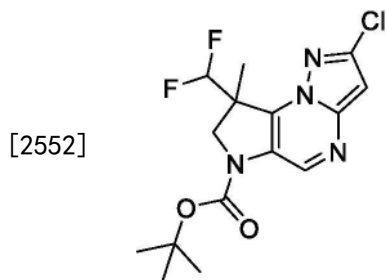
[2547] 在25℃下,向3-(二氟甲基)-4-羟基-3-甲基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.1g,4.2mmol)于二氯甲烷(100mL)中的搅拌混合物中加入PCC(4.6g,21.3mmol)和SiO₂(4.6g)。将反应混合物在50℃下搅拌16小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的3-(二氟甲基)-3-甲基-4-氧代吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(500mg,47.1%产率)。LC-MS:m/z 250[M+H]⁺。

[2548] 步骤9:(Z)-4-(二氟甲基)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



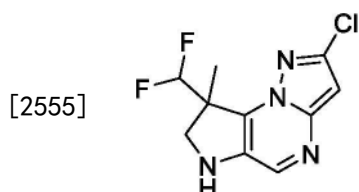
[2550] 将3-(二氟甲基)-3-甲基-4-氧代吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(500mg,2.0mmol)于DMF-DMA(25mL)中的混合物在35℃下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩,以得到呈棕色固体的(Z)-4-(二氟甲基)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(700mg,粗品)。LC-MS:m/z 305[M+H]⁺。

[2551] 步骤10:2-氯-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



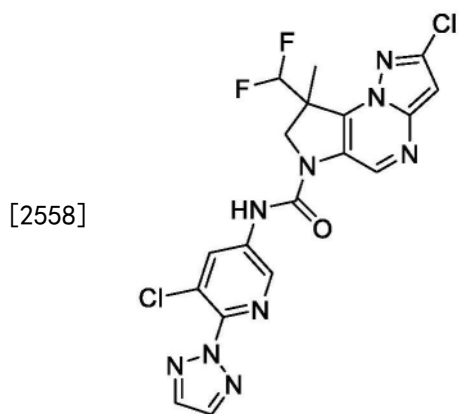
[2553] 向(Z)-4-(二氟甲基)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(700mg, 2.3mmol)于甲苯(20mL)中的搅拌溶液中加入乙酸(2mL)和3-氯-1H-吡唑-5-胺(324.4mg, 2.7mmol)。将反应混合物在95℃下搅拌16小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-氯-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(220mg, 26.1%产率)。LC-MS:m/z 359[M+H]⁺。

[2554] 步骤11.2-氯-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[2556] 在25℃下,向2-氯-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(220mg, 613.2μmol)于二氯甲烷(15mL)中的溶液中加入三氟乙酸(3mL)。将反应在25℃下搅拌1小时。将残留物通过饱和NaHCO₃水溶液(40mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层在真空下浓缩。将残留物通过使用30%石油醚和70%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈棕色固体的2-氯-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(120mg, 72.6%产率)。LC-MS:m/z 259[M+H]⁺。

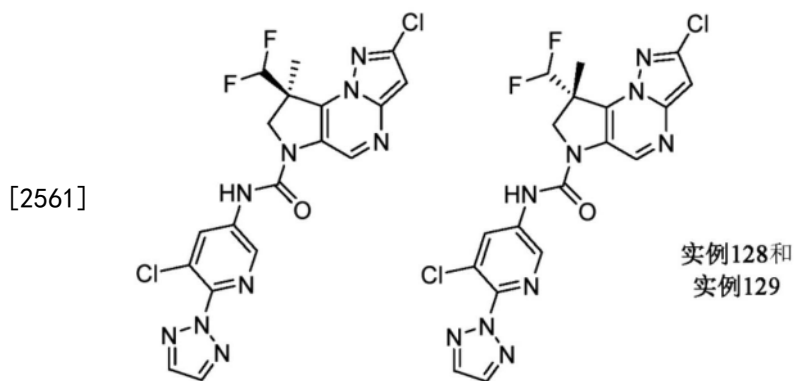
[2557] 步骤12.2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2559] 向5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2; 137mg, 698.6μmol)于四氢呋喃(3mL)中的搅拌溶液中加入三光气(83mg, 279.4μmol)和TEA(142mg, 1.4mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到2-氯-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(120mg, 465.7μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。将混合物在25℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。通过加入水(50mL)来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用10%甲醇和90%二氯甲烷作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到粗产物。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈灰

白色固体的2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(57mg,117.5 μ mol)。LC-MS:m/z 480[M+H]⁺。

[2560] 步骤13:分离对映异构体以获得(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

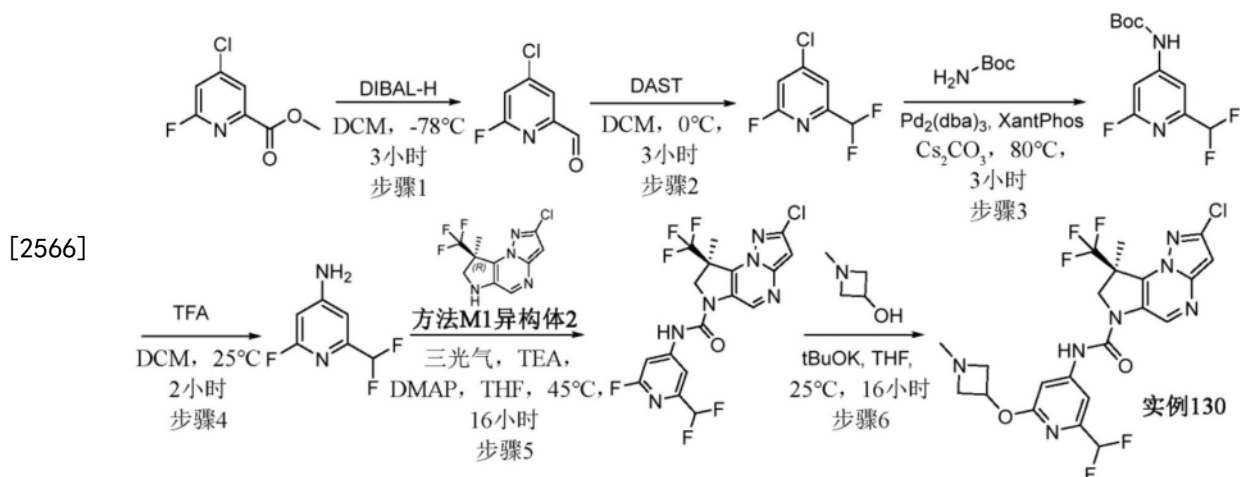


[2562] 对2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(57mg,117.5 μ mol)进行手性HPLC:色谱柱:CHIRALPAK IA,2x25cm,5 μ m;流动相A:Hex(0.5%2M NH₃-MeOH)-HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在12分钟内,20B到20B;254/220nm;RT1:7.818;RT2:9.92;注射体积:0.8ml;运行次数:5。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干以得到呈灰白色固体的实例129(10mg,4.4%产率),并将第二个洗脱异构体浓缩并冻干以得到呈灰白色固体的实例128(10mg,4.4%产率)。实例128和129是对映异构体,但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[2563] 实例128:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.64(br,1H),9.31(s,1H),8.77(d,J=2.4Hz,1H),8.53(d,J=2.4Hz,1H),8.17(s,2H),7.03(s,1H),6.80(t,J=55.6Hz,1H),4.70(d,J=10.8Hz,1H),4.20(d,J=10.8Hz,1H),1.80(s,3H)。LC-MS:m/z 480[M+H]⁺。

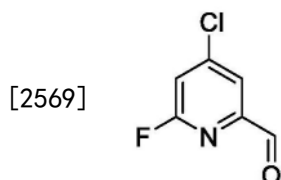
[2564] 实例129:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.64(br,1H),9.31(s,1H),8.77(d,J=2.4Hz,1H),8.53(d,J=2.4Hz,1H),8.17(s,2H),7.03(s,1H),6.79(t,J=55.2Hz,1H),4.70(d,J=10.8Hz,1H),4.20(d,J=10.8Hz,1H),1.80(s,3H)。LC-MS:m/z 480[M+H]⁺。

[2565] 方法04



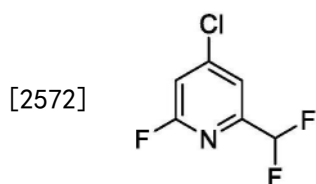
[2567] 实例130: (R)-2-氯-N-(2-(二氟甲基)-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2568] 步骤1: 4-氯-6-氟吡啶甲醛



[2570] 在-78°C下,向4-氯-6-氟吡啶甲酸甲酯(4.0g,21.1mmol)于二氯甲烷(50mL)中的搅拌溶液中加入氢化二异丁基铝(21mL,21.1mmol,1M,于二氯甲烷中)。将所得混合物在-78°C下搅拌3小时。将反应混合物在-78°C下用饱和酒石酸钾钠水溶液(100mL)淬灭。使混合物温热至25°C并过滤。将滤液用二氯甲烷(3x100mL)洗涤。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用85%石油醚和15%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的4-氯-6-氟吡啶甲醛(1.5g,45%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:9.91(s,1H),7.84-7.86(m,1H),7.22-7.26(m,1H)。LC-MS:m/z 160[M+H]⁺。

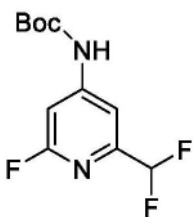
[2571] 步骤2: 4-氯-2-(二氟甲基)-6-氟吡啶



[2573] 在-30°C下,向4-氯-6-氟吡啶甲醛(1.5g,9.4mmol)于二氯甲烷(20mL)中的搅拌溶液中加入DAST(3g,18.8mmol)。将所得混合物在0°C下搅拌3小时。通过加入水(150mL)来淬灭反应混合物。用二氯甲烷(3x150mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈无色油状物的4-氯-2-(二氟甲基)-6-氟吡啶(1.0g,54%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:7.55(s,1H),7.10-7.12(m,1H),6.52(t,J=56Hz,1H)。LC-MS:m/z 182[M+H]⁺。

[2574] 步骤3: (2-(二氟甲基)-6-氟吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯

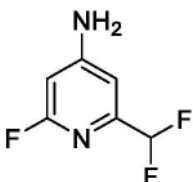
[2575]



[2576] 在氮气气氛下,向4-氯-2-(二氟甲基)-6-氟吡啶(1.0g,5.5mmol)和氨基甲酸叔丁酯(1.3g,11.1mmol)于二噁烷(20mL)中的搅拌溶液中加入XantPhos(637mg,1.1mmol)、Pd₂(dba)₃(570mg,550.8μmol)和Cs₂CO₃(3.6g,11.1mmol)。将所得混合物在80℃下搅拌3小时。将反应混合物冷却至25℃。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(2-(二氟甲基)-6-氟吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(800mg,55%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ:7.75(br,1H),7.55(s,1H),7.10-7.12(m,1H),6.45(t,J=56Hz,1H),1.51(s,9H)。LC-MS:m/z 263[M+H]⁺。

[2577] 步骤4:2-(二氟甲基)-6-氟吡啶-4-胺

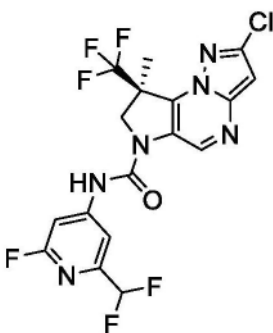
[2578]



[2579] 向(2-(二氟甲基)-6-氟吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(800mg,3.1mmol)于二氯甲烷(12mL)中的搅拌溶液中加入TFA(3mL)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。向残留物中加入饱和NaHCO₃水溶液(40mL)。用二氯甲烷(3x40mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,并经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用40%石油醚和60%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-(二氟甲基)-6-氟吡啶-4-胺(400mg,79%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:7.90(br,2H),6.73(s,1H),6.45(t,J=56Hz,1H),6.14-6.16(m,1H)。LC-MS:m/z 163[M+H]⁺。

[2580] 步骤5:(R)-2-氯-N-(2-(二氟甲基)-6-氟吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

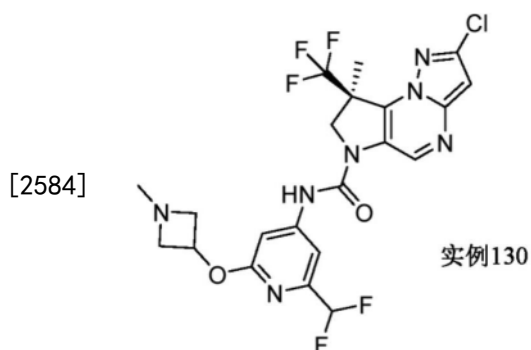
[2581]



[2582] 在0℃下,向方法M1异构体2(100mg,362.3μmol)于四氢呋喃(4mL)中的搅拌溶液中加入三光气(64mg,217.4μmol)和TEA(49mg,489.4μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到3-((5-氨基-1-(二氟甲基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(118mg,724.6μmol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该

溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(88mg, 724.6 μ mol)和TEA(364mg, 3.6mmol)。将所得混合物在45 $^{\circ}$ C下搅拌16小时。将反应冷却至25 $^{\circ}$ C。将混合物倒入水(30mL)中,并用乙酸乙酯(3 \times 30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(2-(二氟甲基)-6-氟吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(80mg, 47%产率)。 1 H NMR(300MHz, 甲醇- d_4) δ : 9.39(s, 1H), 7.43-7.52(m, 1H), 6.79(s, 1H), 6.52(t, J=56Hz, 1H), 5.35(s, 1H), 4.43-4.45(m, 2H), 2.03(s, 3H)。LC-MS:m/z 465[M+H] $^+$ 。

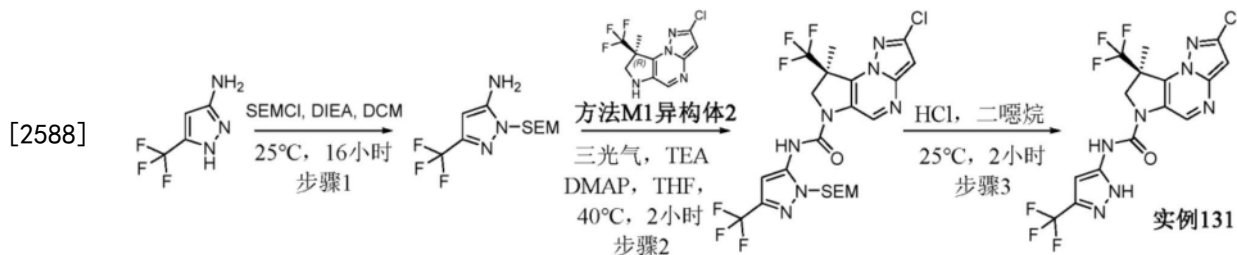
[2583] 步骤6: (R)-2-氯-N-(2-(二氟甲基)-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2585] 向(R)-2-氯-N-(2-(二氟甲基)-6-氟吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(30mg, 172.0 μ mol)于四氢呋喃(6mL)中的搅拌溶液中加入1-甲基氮杂环丁烷-3-醇(30mg, 344.0 μ mol)和叔丁醇钾(38mg, 344.0 μ mol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌16小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(2-(二氟甲基)-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(2mg, 2%产率)。实例130的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

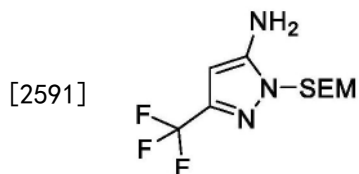
[2586] 实例130: 1 H NMR(300MHz, 甲醇- d_4) δ : 9.35(s, 1H), 7.52(d, J=1.2Hz, 1H), 7.43(s, 1H), 6.79(s, 1H), 6.53(t, J=56Hz, 1H), 5.38-5.42(m, 1H), 4.78(d, J=11.4Hz, 1H), 4.43-4.45(m, 2H), 4.17(d, J=11.6Hz, 1H), 4.03-4.05(m, 2H), 2.86(s, 3H), 2.03(s, 3H)。LC-MS:m/z 532[M+H] $^+$ 。

[2587] 方法P4



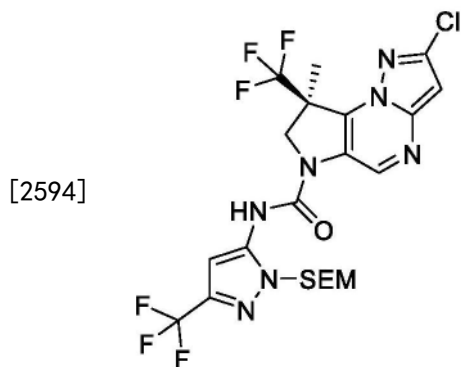
[2589] 实例131: (R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-N-(3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2590] 步骤1: 3-(三氟甲基)-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-5-胺



[2592] 在0℃下,向5-(三氟甲基)-1H-吡唑-3-胺(1.0g,6.6mmol)和DIEA(1.7g,13.2mmol)于二氯甲烷(20mL)中的搅拌混合物中加入(2-(氯甲氧基)乙基)三甲基硅烷(1.1g,6.6mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌16小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用88%石油醚和12%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的3-(三氟甲基)-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-5-胺(870mg,37%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:6.05(s,1H),5.23(s,2H),5.12(s,2H),3.49-3.54(m,2H),0.76-0.83(m,2H),0.03(s,9H)。LC-MS:m/z 282[M+H]⁺。

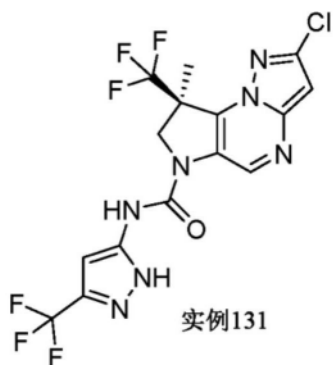
[2593] 步骤2:(R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-N-(3-(三氟甲基)-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2595] 向3-(三氟甲基)-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-5-胺(203mg,722.9μmol)于四氢呋喃(2mL)中的搅拌溶液中加入三光气(64mg,217μmol)和TEA(55mg,542.2μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(100mg,361.5μmol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(66mg,542.2μmol)和TEA(366mg,3.6mmol)。将混合物在40℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈黄色固体的(R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-N-(3-(三氟甲基)-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(200mg,89%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:10.22(s,1H),9.31(s,1H),7.08(s,1H),7.05(s,1H),5.48(s,2H),4.86(d,J=12.0Hz,1H),4.19(d,J=12.0Hz,1H),3.59(t,J=8.0Hz,2H),1.94(s,3H),0.85(t,J=8.0Hz,2H),0.03(s,9H)。LC-MS:m/z 584[M+H]⁺。

[2596] 步骤3:(R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-N-(3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2597]

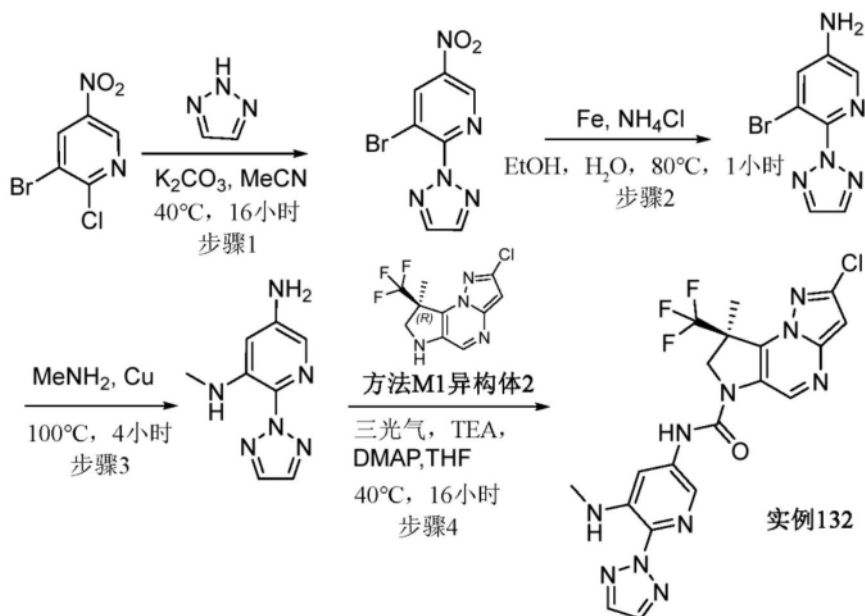


[2598] 向(R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-N-(3-(三氟甲基)-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(100mg, 171.2 μ mol)于二噁烷(1mL)中的搅拌混合物中加入HCl(10mL, 40.0mmol, 4M, 于二噁烷中)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到白色固体的(R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-N-(3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(16.6mg, 20%产率)。实例131的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2599] 实例131: 1 H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ : 9.43(s, 1H), 7.40(s, 1H), 6.80(s, 1H), 6.36(s, 1H), 4.54(d, J=10.4Hz, 1H), 4.02(d, J=10.4Hz, 1H), 2.07(s, 3H)。LC-MS:m/z 454[M+H] $^+$ 。

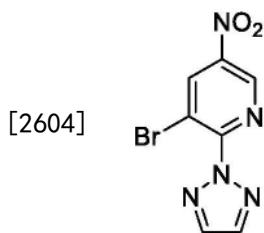
[2600] 方法Q4

[2601]



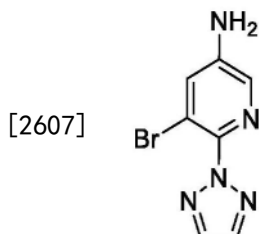
[2602] 实例132: (R)-2-氯-8-甲基-N-(5-(甲基氨基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2603] 步骤1: 3-溴-5-硝基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶



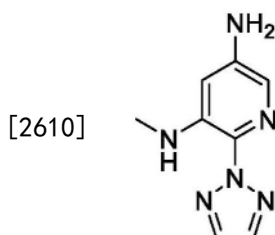
[2605] 向3-溴-2-氯-5-硝基吡啶(10.0g, 42.4mmol)于乙腈(200mL)中的搅拌溶液中加入2H-1,2,3-三唑(3.2g, 46.6mmol)和 K_2CO_3 (11.7g, 84.7mmol)。将所得混合物在40℃下搅拌16小时。使混合物冷却至25℃。过滤反应混合物,并将收集的固体用乙酸乙酯(3×200mL)洗涤。将合并的有机层在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的3-溴-5-硝基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶(2.5g, 22%产率)。 1H NMR(300MHz, $DMSO-d_6$) δ : 9.42(d, $J=2.4$ Hz, 1H), 9.22(d, $J=2.4$ Hz, 1H), 8.31(s, 2H)。LC-MS: m/z 270[M+H] $^+$ 。

[2606] 步骤2:5-溴-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺



[2608] 向3-溴-5-硝基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶(1.0g, 3.7mmol)于乙醇(45mL)和水(15mL)中的溶液中加入Fe(1.0g, 18.6mmol)和 NH_4Cl (0.8g, 14.8mmol)。将所得混合物在80℃下搅拌1小时。使混合物冷却至25℃。过滤反应混合物,并用乙酸乙酯(3×50mL)洗涤固体。将合并的有机层在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的5-溴-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(0.8g, 89%产率)。 1H NMR(400MHz, $DMSO-d_6$) δ : 8.01(br, 2H), 7.82(d, $J=4$ Hz, 1H), 7.34(d, $J=4$ Hz, 1H), 6.14(s, 2H); LC-MS: m/z 240[M+H] $^+$

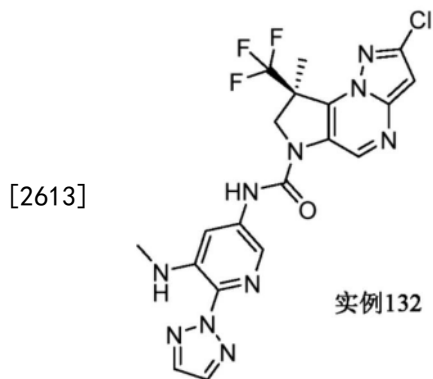
[2609] 步骤3: N^3 -甲基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3,5-二胺



[2611] 向5-溴-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(500mg, 3.3mmol)于甲胺(4mL, 40%, 于水中)中的搅拌溶液中加入铜(8mg, 0.1mmol)。将反应混合物在100℃下搅拌4小时。使混合物冷却至25℃。将反应混合物用水(20mL)淬灭。用乙酸乙酯(3×50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用10%甲醇和90%二氯甲烷作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的 N^3 -甲基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3,5-二胺(280mg, 71%产率)。 1H NMR(400MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.98(s, 2H), 7.11(d, $J=4$ Hz, 1H), 6.32(s, $J=4$ Hz, 1H), 5.57-5.59(m, 1H), 5.49(br, 2H), 2.67(d, $J=4$ Hz,

3H)。LC-MS:m/z 191 [M+H]⁺。

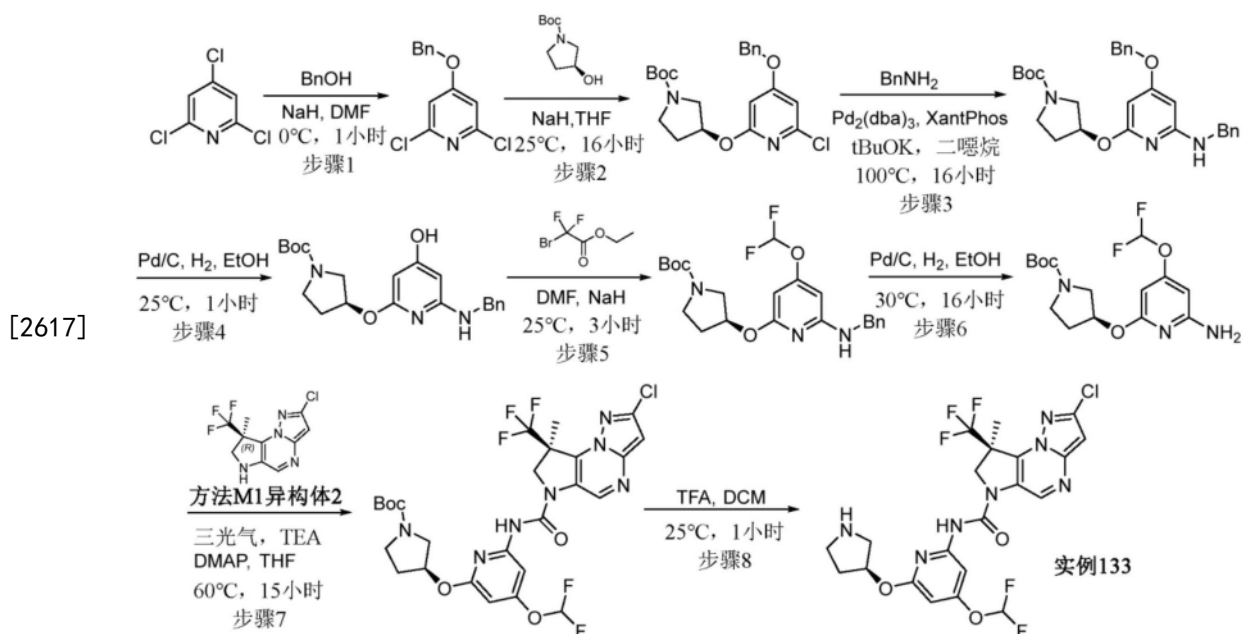
[2612] 步骤3: (R)-2-氯-8-甲基-N-(5-(甲基氨基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2614] 在25℃下,向N³-甲基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3,5-二胺(42mg,217μmol)于四氢呋喃(8mL)中的搅拌溶液中加入三光气(26mg,87μmol)和TEA(22mg,217.4μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(40mg,144.9μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(146mg,1.4mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(2mg,14.5μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时。将反应混合物用水(20mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到粗产物。对粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-8-甲基-N-(5-(甲基氨基)-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(38.6mg,53%产率)。实例132的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

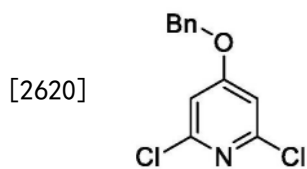
[2615] 实例132:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:9.36(s,1H),9.24(s,1H),8.12(s,2H),8.05(d,J=2Hz,1H),7.53(d,J=2Hz,1H),7.06(s,1H),6.24-6.27(m,1H),4.87(d,J=12Hz,1H),4.29(d,J=12Hz,1H),2.81(d,J=4Hz,3H),1.98(s,3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]⁺。

[2616] 方法R4



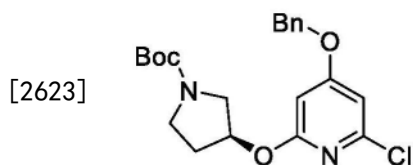
[2618] 实例133: (R)-2-氯-N-(4-(二氟甲氧基)-6-(((S)-吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2619] 步骤1: 4-(苄氧基)-2,6-二氯吡啶



[2621] 在 0°C 下,向苯基甲醇(5.9g,54.8mmol)于DMF(50mL)中的溶液中分批加入NaH(2.4g,54.8mmol,60%,于矿物油中)。将反应混合物在 0°C 下搅拌10分钟。然后在 0°C 下加入2,4,6-三氯吡啶(10g,54.8mmol),并将反应混合物在 0°C 下搅拌1小时。将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的4-(苄氧基)-2,6-二氯吡啶(7g,45%产率)。LC-MS: m/z 254[M+H]⁺。

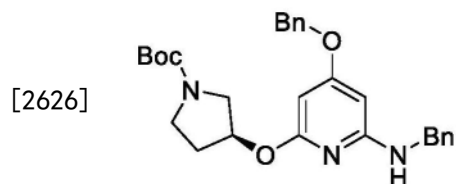
[2622] 步骤2: (S)-3-((4-(苄氧基)-6-氯吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[2624] 在 0°C 下,向(S)-3-羟基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(5.2g,27.5mmol)于四氢呋喃(50mL)中的搅拌溶液中分批加入NaH(1.1g,26.4mmol,60%,于矿物油中)。将反应混合物在 0°C 下搅拌10分钟。然后在 0°C 下加入4-(苄氧基)-2,6-二氯吡啶(7g,27.5mmol),并将反应混合物在 25°C 下搅拌16小时。将反应混合物用水(100mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用85%石油醚和15%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的(S)-3-((4-(苄氧基)-6-氯吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(3.7g,33%产率)。LC-MS: m/z

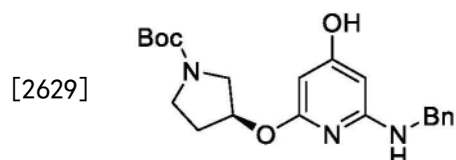
405 [M+H]⁺。

[2625] 步骤3: (S)-3-((6-(苄基氨基)-4-(苄氧基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



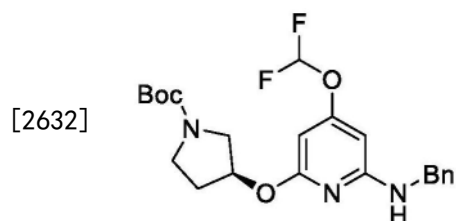
[2627] 在氮气气氛下,向(3S)-3-[[4-(苄氧基)-6-氯-2-吡啶基]氧基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(2.0g,4.9mmol)于二噁烷(160mL)中的混合物中加入苄胺(582mg,5.4mmol)、Pd₂(dba)₃(1.5g,1.5mmol)、Xantphos(857mg,1.5mmol)和t-BuOK(1.7g,14.8mmol)。将所得混合物在100℃下搅拌16小时。将反应混合物冷却至25℃,并在真空下浓缩。将所得混合物用水(100mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x100mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(S)-3-((6-(苄基氨基)-4-(苄氧基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.0g,28%产率)。LC-MS:m/z 476[M+H]⁺。

[2628] 步骤4: (S)-3-((6-(苄基氨基)-4-羟基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[2630] 向(3S)-3-[[6-(苄基氨基)-4-苄氧基-2-吡啶基]氧基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(3.5g,3.8mmol)于乙醇(30mL)中的搅拌溶液中加入Pd/C(924mg,10%)。将反应混合物在氢气下在25℃下搅拌1小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的(S)-3-((6-(苄基氨基)-4-羟基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(450mg,31%产率)。LC-MS:m/z 386[M+H]⁺。

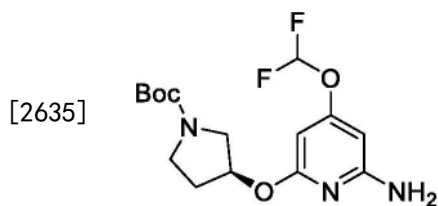
[2631] 步骤5: (S)-3-((6-(苄基氨基)-4-(二氟甲氧基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[2633] 在0℃下,向(S)-3-((6-(苄基氨基)-4-羟基吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(450mg,1.2mmol)于DMF(5mL)中的搅拌溶液中分批加入NaH(93mg,2.3mmol,60%,于矿物油中)。将反应混合物在0℃下搅拌10分钟。然后在0℃下加入2-溴-2,2-二氟乙酸乙酯(355mg,1.7mmol),并将反应混合物在25℃下搅拌3小时。将反应混合物用水(20mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x30mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到

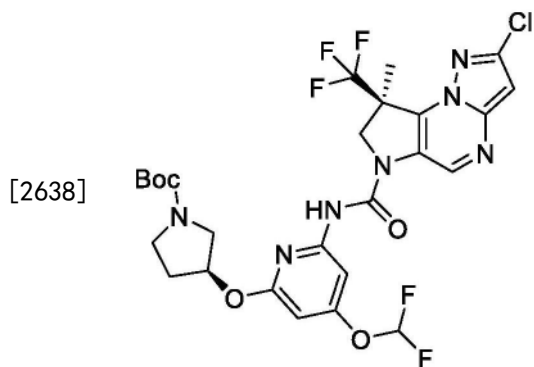
呈无色油状物的(S)-3-((6-(苄基氨基)-4-(二氟甲氧基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(68mg,13%产率)。LC-MS:m/z 436[M+H]⁺。

[2634] 步骤6:(S)-3-((6-氨基-4-(二氟甲氧基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[2636] 向(S)-3-((6-(苄基氨基)-4-(二氟甲氧基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(68mg,148.4 μ mol)于乙醇(5mL)中的搅拌溶液中加入Pd/C(50mg,10%)。将反应混合物在氢气下在30℃下搅拌16小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的(S)-3-((6-氨基-4-(二氟甲氧基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(30mg,44%产率)。LC-MS:m/z 346[M+H]⁺。

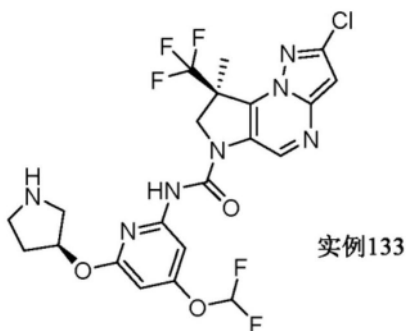
[2637] 步骤7:(S)-3-((6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-4-(二氟甲氧基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[2639] 向方法M1异构体2(22mg,79.5 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的搅拌溶液中加入三光气(14mg,47.4 μ mol)和TEA(16mg,158.1 μ mol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到(S)-3-((6-氨基-4-(二氟甲氧基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(30mg,87.5 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(21mg,172.9 μ mol)和TEA(26mg,256.9 μ mol)。将混合物在60℃下搅拌15小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用水(10mL)稀释。用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得溶液。将有机层合并,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的(S)-3-((6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-4-(二氟甲氧基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(55mg,45%产率)。LC-MS:m/z 648[M+H]⁺。

[2640] 步骤8:(R)-2-氯-N-(4-(二氟甲氧基)-6-((S)-吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

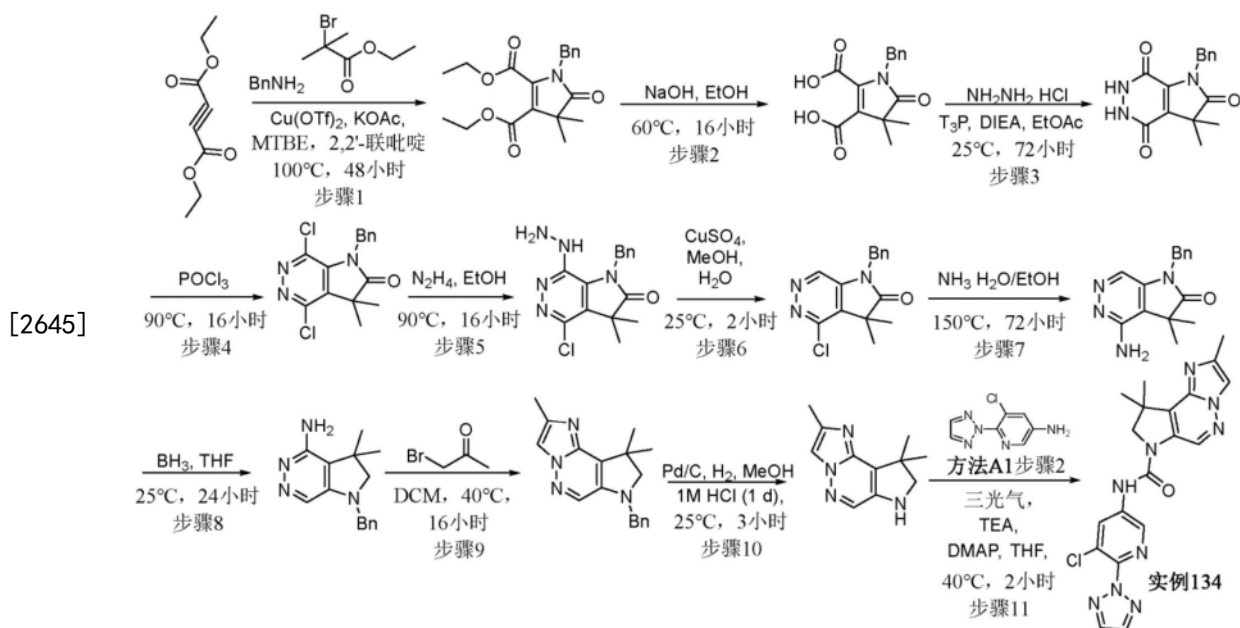
[2641]



[2642] 向(S)-3-((6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-4-(二氟甲氧基)吡啶-2-基)氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(53mg, 34.4 μ mol)于二氯甲烷(3mL)中的搅拌溶液中加入TFA(1mL)。将反应混合物在25°C下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈灰白色固体的(R)-2-氯-N-(4-(二氟甲氧基)-6-((S)-吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(11mg, 58%产率)。实例133的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

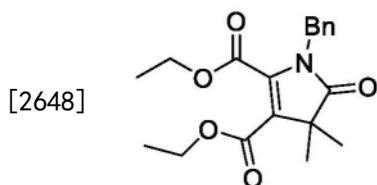
[2643] 实例133:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.30(s, 1H), 7.43(t, J=73.2Hz, 1H), 7.29(s, 1H), 7.06(s, 1H), 6.28(s, 1H), 5.43(s, 1H), 4.97(d, J=11.6Hz, 1H), 4.25(d, J=12Hz, 1H), 3.20-3.28(m, 2H), 2.83-3.02(m, 3H), 2.07-2.11(m, 1H), 1.94(s, 3H), 1.80-1.89(m, 1H)。LC-MS:m/z 548[M+H]⁺。

[2644] 方法S4



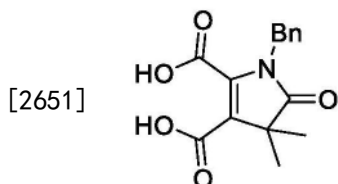
[2646] 实例134:N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]喹啉-7-甲酰胺

[2647] 步骤1:1-苄基-4,4-二甲基-5-氧代-4,5-二氢-1H-吡咯-2,3-二甲酸二乙酯



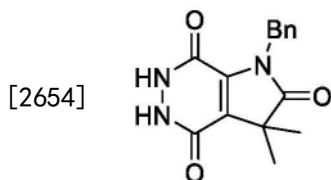
[2649] 在氮气气氛下在0℃下,向苯甲胺(16.5g,154.3mmol)于叔丁基甲基醚(300mL)中的搅拌溶液中逐滴加入丁-2-炔二酸二乙酯(26.2g,154.3mmol)和2-溴-2-甲基丙酸乙酯(60.2g,308.5mmol)。然后在氮气气氛下在25℃下将Cu(OTf)₂(5.6g,15.4mmol)、2,2'-联吡啶(2.4g,15.4mmol)和KOAc(15.1g,154.3mmol)加入到溶液中。将反应混合物在100℃下搅拌48小时。将混合物冷却至25℃。在真空下去除溶剂。将残留物用二氯甲烷(500mL)稀释。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色油状物的1-苄基-4,4-二甲基-5-氧代-4,5-二氢-1H-吡咯-2,3-二甲酸二乙酯(50g,80%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d) δ :7.28-7.35(m,3H),7.15-7.18(m,2H),4.78(s,2H),4.08-4.24(m,4H),1.47(s,6H),1.27(t,J=7.2Hz,3H),1.11(t,J=7.2Hz,3H)。LC-MS:m/z 346[M+H]⁺。

[2650] 步骤2:1-苄基-4,4-二甲基-5-氧代-4,5-二氢-1H-吡咯-2,3-二甲酸



[2652] 在25℃下,向1-苄基-4,4-二甲基-5-氧代-4,5-二氢-1H-吡咯-2,3-二甲酸二乙酯(36.0g,104.2mmol)于甲醇(240mL)和水(110mL)中的搅拌溶液在加入NaOH(12.5g,312.7mmol)。将反应混合物在60℃下搅拌16小时。使混合物冷却至25℃。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用水(500mL)稀释。用HCl(4M)将pH调整到1-2。用乙酸乙酯(2x500mL)萃取混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩,以得到呈白色固体的1-苄基-4,4-二甲基-5-氧代-4,5-二氢-1H-吡咯-2,3-二甲酸(24.5g,77%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :7.20-7.40(m,3H),7.12-7.14(m,2H),4.70(s,2H),1.28(s,6H)。LC-MS:m/z 290[M+H]⁺。

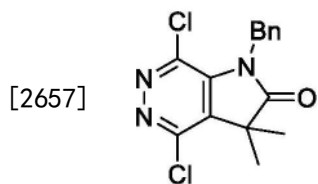
[2653] 步骤3:1-苄基-3,3-二甲基-5,6-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-2,4,7(3H)-三酮



[2655] 向1-苄基-4,4-二甲基-5-氧代-4,5-二氢-1H-吡咯-2,3-二甲酸(5.0g,17.3mmol)于乙酸乙酯(300mL)中的搅拌溶液中加入胍单盐酸盐(2.4g,34.6mmol)、1-丙基膦酸环酐(22.0g,69.1mmol,50%,于乙酸乙酯中)和DIEA(11.2g,86.4mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌72小时。通过加入水(500mL)来淬灭混合物。用乙酸乙酯(3x500mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。这导致呈白色固体的1-苄基-3,3-二甲基-5,6-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-2,4,7(3H)-三酮(4.5g,粗品)。¹H NMR(400MHz,

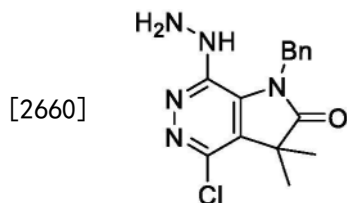
DMSO- d_6) δ : 7.20-7.40(m, 5H), 5.23(s, 2H), 1.52(s, 6H)。LC-MS:m/z 286[M+H]⁺。

[2656] 步骤4: 1-苄基-4,7-二氯-3,3-二甲基-1,3-二氢-2H-吡咯并[2,3-d]咪嗪-2-酮



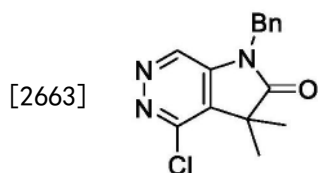
[2658] 将1-苄基-3,3-二甲基-5,6-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]咪嗪-2,4,7(3H)-三酮(11g, 38.56mmol)于三氯氧磷(59.1g, 385.6mmol)中的溶液在90℃下搅拌16小时。使混合物冷却至25℃。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用乙酸乙酯(500mL)稀释。将有机层用饱和NaHCO₃水溶液(500mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用85%石油醚和15%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的1-苄基-4,7-二氯-3,3-二甲基-1,3-二氢-2H-吡咯并[2,3-d]咪嗪-2-酮(8g, 58%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 7.01-7.48(m, 5H), 5.21(s, 2H), 1.50(s, 6H)。LC-MS:m/z 322[M+H]⁺。

[2659] 步骤5: 1-苄基-4-氯-7-胍基-3,3-二甲基-1,3-二氢-2H-吡咯并[2,3-d]咪嗪-2-酮



[2661] 向1-苄基-4,7-二氯-3,3-二甲基-1,3-二氢-2H-吡咯并[2,3-d]咪嗪-2-酮(2.6g, 8.1mmol)于乙醇(20mL)中的搅拌溶液中加入水合肼(6.1g, 121.1mmol, 80%)。将反应混合物在90℃下搅拌16小时。使混合物冷却至25℃。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色固体的1-苄基-4-氯-7-胍基-3,3-二甲基-1,3-二氢-2H-吡咯并[2,3-d]咪嗪-2-酮(1.5g, 53%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 7.41(br, 1H), 7.07-7.34(m, 5H), 5.22(s, 2H), 4.39(br, 2H), 1.43(s, 6H)。LC-MS:m/z 318[M+H]⁺。

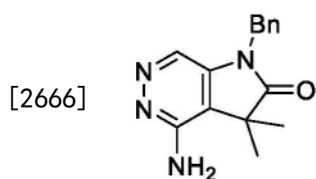
[2662] 步骤6: 1-苄基-4-氯-3,3-二甲基-1,3-二氢-2H-吡咯并[2,3-d]咪嗪-2-酮



[2664] 向1-苄基-4-氯-7-胍基-3,3-二甲基-1,3-二氢-2H-吡咯并[2,3-d]咪嗪-2-酮(800mg, 2.5mmol)于甲醇(10mL)和水(10mL)中的搅拌溶液中加入CuSO₄(2.0g, 12.6mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用乙酸乙酯(50mL)稀释。将有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈棕色油状物的1-苄基-4-氯-3,3-二甲基-1,3-二氢-2H-吡咯并[2,3-d]咪嗪-2-酮(500mg, 62%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.24(s, 1H), 7.02-7.59(m, 5H), 5.00(s, 2H), 1.47(s,

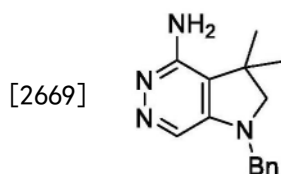
6H)。LC-MS:m/z 288[M+H]⁺。

[2665] 步骤7:4-氨基-1-苄基-3,3-二甲基-1,3-二氢-2H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-2-酮



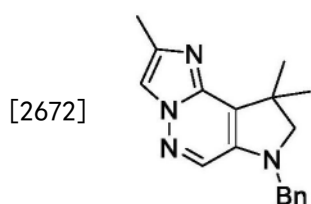
[2667] 向1-苄基-4-氯-3,3-二甲基-1,3-二氢-2H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-2-酮(1g, 3.48mmol)于乙醇(0.5mL)中的搅拌溶液中加入氢氧化铵(30mL)。将反应混合物在150℃下搅拌72小时。使混合物冷却至25℃。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色固体的4-氨基-1-苄基-3,3-二甲基-1,3-二氢-2H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-2-酮(500mg, 48%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ:8.47(d, J=1.6Hz, 1H), 7.23-7.39(m, 5H), 6.37(s, 2H), 4.89(s, 2H), 1.39(s, 6H)。LC-MS:m/z 269[M+H]⁺。

[2668] 步骤8:1-苄基-3,3-二甲基-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-4-胺



[2670] 向4-氨基-1-苄基-3,3-二甲基-1,3-二氢-2H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-2-酮(100mg, 372.7μmol)于四氢呋喃(3mL)中的搅拌溶液中加入硼烷(3mL, 3mmol, 1M, 于四氢呋喃中)。将反应混合物在25℃下搅拌24小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈无色油状物的1-苄基-3,3-二甲基-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-4-胺(28mg, 26%产率)。LC-MS:m/z 255[M+H]⁺。

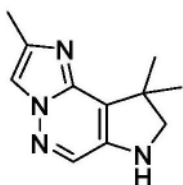
[2671] 步骤9:7-苄基-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪



[2673] 在氮气气氛下在0℃下,向1-苄基-3,3-二甲基-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-4-胺(50mg, 196.6μmol)于二氯甲烷(4mL)中的搅拌溶液中加入溴丙酮(269mg, 2.0mmol)。将反应混合物在40℃下搅拌16小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈棕色油状物的7-苄基-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪(14mg, 22%产率)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ:7.90(s, 1H), 7.56(q, J=0.9Hz, 1H), 7.29-7.45(m, 5H), 4.37(s, 2H), 3.25(s, 2H), 2.49(d, J=0.9Hz, 3H), 1.60(s, 6H)。LC-MS:m/z 293[M+H]⁺。

[2674] 步骤10:2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪

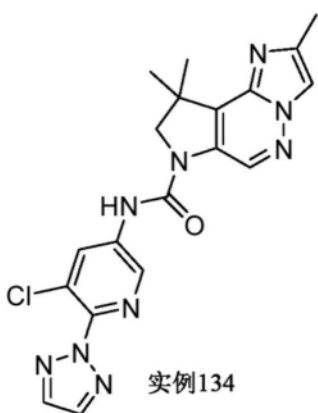
[2675]



[2676] 向7-苄基-2,9,9-三甲基-8,9-d-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪(30mg, 102.6 μ mol)于甲醇(5mL)中的搅拌溶液中加入Pd/C(100mg)和HCl(240 μ L, 1M)。将反应混合物在氢气气氛下在25 $^{\circ}$ C下搅拌3小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈棕色油状物的2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪(15mg, 65%产率)。LC-MS:m/z 203[M+H]⁺。

[2677] 步骤11:N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺

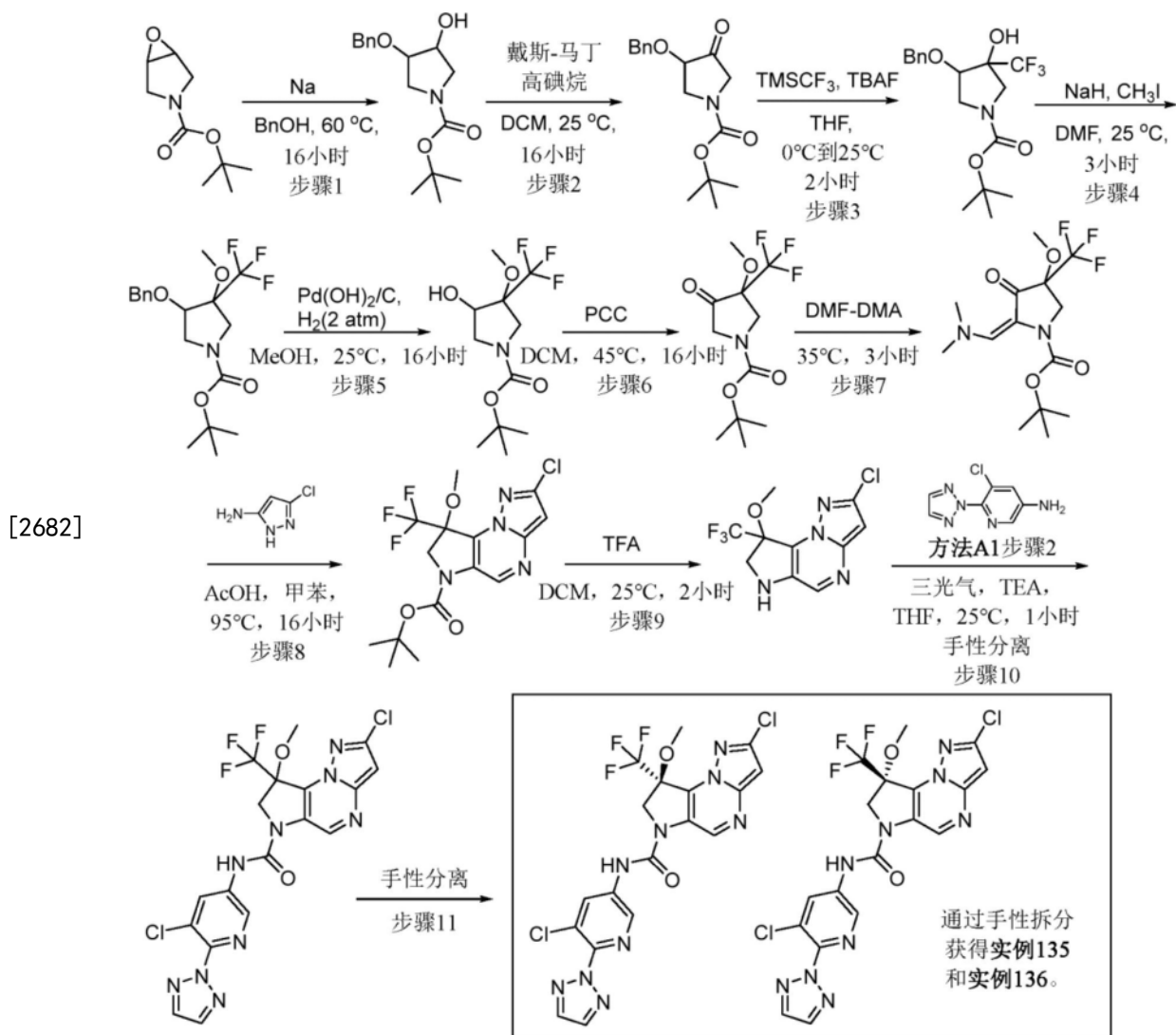
[2678]



[2679] 向5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2;10mg, 51.9 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中加入三光气(13mg, 44.5 μ mol)和TEA(11mg, 111.2 μ mol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪(15mg, 74.2 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入TEA(75mg, 741.6 μ mol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(18mg, 148.3 μ mol)。将所得混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到15mg粗产物。将得到的粗产物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺(6.4mg, 20%产率)。

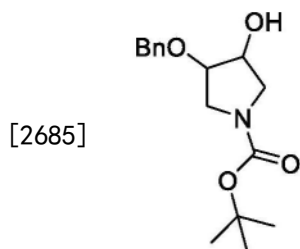
[2680] 实例134:¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ :9.47(s, 1H), 9.16(s, 1H), 8.79(d, J=2.3Hz, 1H), 8.55(d, J=2.4Hz, 1H), 8.18(s, 2H), 7.99(d, J=0.9Hz, 1H), 4.13(s, 2H), 2.39(d, J=0.9Hz, 3H), 1.63(s, 6H)。LC-MS:m/z 424[M+H]⁺。

[2681] 方法T4



[2683] 实例135和136:由含有(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲氧基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲氧基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

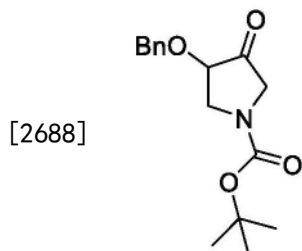
[2684] 步骤1:3-(苄氧基)-4-羟基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[2686] 在0 °C下,将钠(9.3g,404.9mmol)分份加入到苯基甲醇(146.0g,1.4mol)中。将反应在60 °C下搅拌40分钟。然后向反应中加入6-氧杂-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-3-甲酸叔丁酯(50.0g,270.0mmol)。将所得混合物在60 °C下搅拌16小时。使混合物冷却至25 °C。通过加入水(500mL)来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯(3x500mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经

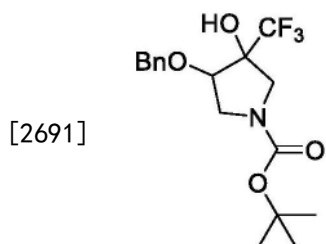
无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的3-(苄氧基)-4-羟基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(40g,40%产率)。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6) δ : 7.26-7.39 (m, 5H), 5.22 (d, $J=3\text{Hz}$, 1H), 4.55 (d, $J=3\text{Hz}$, 2H), 4.14 (s, 1H), 3.82 (s, 1H), 3.37-3.45 (m, 2H), 3.16-3.20 (m, 2H), 1.40 (s, 9H); LC-MS: m/z 294 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2687] 步骤2: 3-(苄氧基)-4-氧代吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[2689] 向3-(苄氧基)-4-羟基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(40.0g, 136.5mmol)于二氯甲烷(800mL)中的溶液中加入戴斯-马丁高碘烷(86.8g, 240.8mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌16小时。将固体滤出。向滤液中加入二氯甲烷(400mL),用饱和 NaHSO_3 水溶液(400mL)和饱和 NaHCO_3 水溶液(400mL)洗涤。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的3-(苄氧基)-4-氧代吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(30g, 75%产率)。LC-MS: m/z 292 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

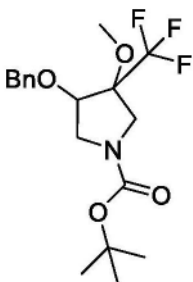
[2690] 步骤3: 4-(苄氧基)-3-羟基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[2692] 向3-(苄氧基)-4-氧代吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(30g, 102.7mmol)于四氢呋喃(800mL)中的溶液中加入(三氟甲基)三甲基硅烷(72.9g, 513.5mmol)。在0℃下,向该溶液中加入四丁基氟化铵(205mL, 205mmol, 1M, 于THF中)。将所得混合物在25℃下搅拌2小时。通过加入水(500mL)来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯(3x500mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用饱和 NH_4Cl 水溶液(3x500mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的4-(苄氧基)-3-羟基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(20g, 54%产率)。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6) δ : 7.27-7.37 (m, 5H), 6.45 (s, 1H), 4.55-4.65 (m, 2H), 4.18-4.23 (m, 1H), 3.67-3.73 (m, 1H), 3.47-3.51 (m, 1H), 3.36 (d, $J=12\text{Hz}$, 1H), 3.19-3.22 (m, 1H), 1.39 (s, 9H); LC-MS: m/z 362 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2693] 步骤4: 4-(苄氧基)-3-甲氧基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

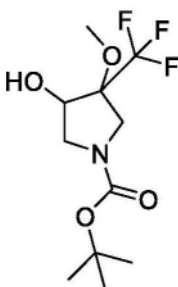
[2694]



[2695] 在0℃下,向4-(苄氧基)-3-羟基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(20.0g, 55.4mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(320mL)中的溶液中加入NaH(4.4g, 110.8mmol, 60%, 于矿物油中)。将反应混合物在0℃下搅拌0.5小时。然后在0℃下,向混合物中加入碘甲烷(23.6g, 166.2mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌3小时。通过加入水(500mL)来淬灭反应混合物。所得溶液用乙酸乙酯(500mL)萃取并用盐水洗涤(3x500mL)。将有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的4-(苄氧基)-3-甲氧基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(15.6g, 75%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 6.48-6.56(m, 5H), 4.03(s, 2H), 3.77-3.89(m, 2H), 3.53-3.58(m, 1H), 2.86-3.01(m, 2H), 2.74(s, 3H), 0.66(s, 9H); LC-MS: m/z 376[M+H]⁺。

[2696] 步骤5: 4-羟基-3-甲氧基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

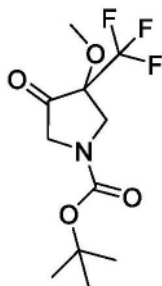
[2697]



[2698] 向4-(苄氧基)-3-甲氧基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(15.6g, 41.6mmol)于甲醇(300mL)中的溶液中加入Pd(OH)₂/C(7.8g, 50%)。将烧瓶抽空并用氮气冲洗三次,然后用氢气冲洗。将混合物在氢气气球气氛下在25℃下搅拌16小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的4-羟基-3-甲氧基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(8.0g, 67%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 5.55(s, 1H), 4.36(d, J=8Hz, 1H), 3.68-3.73(m, 1H), 3.52-3.58(m, 1H), 3.42(s, 3H), 3.36-3.39(m, 1H), 3.06-3.12(m, 1H), 1.38(s, 9H); LC-MS: m/z 286[M+H]⁺。

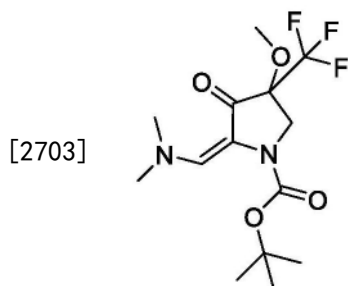
[2699] 步骤6: 3-甲氧基-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[2700]



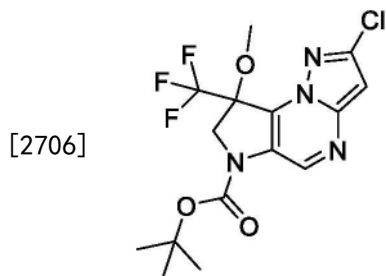
[2701] 向4-羟基-3-甲氧基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(5g, 17.5mmol)于二氯甲烷(200mL)中的溶液中加入PCC(37.6g, 175mmol)和SiO₂(37.6g)。将所得混合物在45℃下搅拌16小时。使混合物冷却至25℃。将固体滤出。将所得溶液在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到成白色固体的3-甲氧基-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.5g, 50%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 4.02-4.06(m, 4H), 3.39(s, 3H), 1.42(s, 9H); LC-MS: m/z 284[M+H]⁺。

[2702] 步骤7: (E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲氧基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



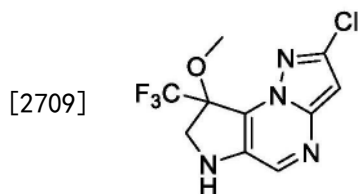
[2704] 将3-甲氧基-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.5g, 5.2mmol)于DMF-DMA(30mL)中的溶液在35℃下搅拌3小时。使混合物冷却至25℃。将所得溶液在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲氧基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.6g, 粗品),其直接用于下一步骤。LC-MS: m/z 339[M+H]⁺。

[2705] 步骤8: 2-氯-8-甲氧基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



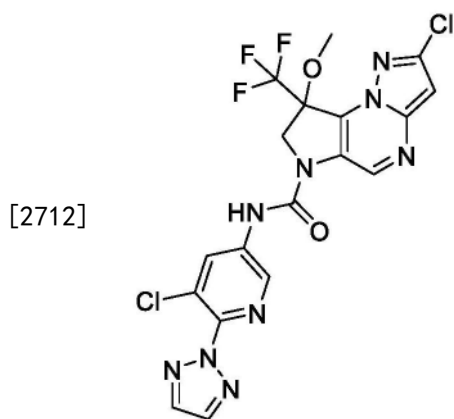
[2707] 向(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲氧基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.6g, 4.7mmol)于甲苯(30mL)中的溶液中加入3-氯-1H-吡唑-5-胺(550mg, 4.7mmol)和乙酸(3mL)。将所得混合物在95℃下搅拌16小时。使混合物冷却至25℃。将所得溶液在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-氯-8-甲氧基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(265mg, 14%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 9.16(s, 1H), 7.15(s, 1H), 4.20-4.41(m, 2H), 3.26(s, 3H), 1.57(s, 9H); LC-MS: m/z 393[M+H]⁺。

[2708] 步骤9: 2-氯-8-甲氧基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[2710] 向2-氯-8-甲氧基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(265mg, 676.0 μ mol)于二氯甲烷(20mL)中的溶液中加入TFA(5mL)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将pH用饱和NaHCO₃水溶液调整到7-8。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-氯-8-甲氧基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(100mg, 50%产率)。LC-MS:m/z 293[M+H]⁺。

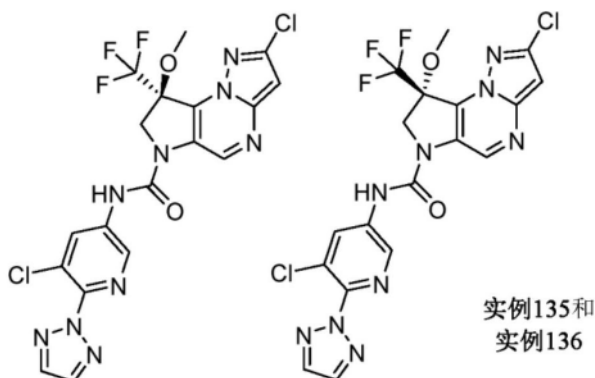
[2711] 步骤10:2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲氧基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2713] 向5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2; 100mg, 512.8 μ mol)于四氢呋喃(20mL)中的搅拌溶液中加入三光气(61mg, 205.4 μ mol)和TEA(104mg, 1.0mmol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时,然后过滤。将所得滤液加入到2-氯-8-甲氧基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(100mg, 342.4 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。通过加入水(50mL)来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用10%甲醇和90%二氯甲烷作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到粗产物,将所述粗产物通过制备型HPLC进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲氧基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(70mg, 40%产率)。LC-MS:m/z 514[M+H]⁺。

[2714] 步骤11:分离对映异构体以获得(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲氧基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲氧基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2715]



[2716] 对70mg 2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲氧基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺进行手性HPLC纯化(色谱柱:CHIRAL ART Cellulose-SC,2x25cm,5 μ m;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.5%2M NH₃-MeOH)-HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在14分钟内,50B到50B;220/254nm;RT1:7.66;RT2:11.725;注射体积:3ml;运行次数:3;将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈灰白色固体的实例135(24.5mg,13%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈灰白色固体的实例136(26mg,14%产率)。实例135和136是对映异构体,但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

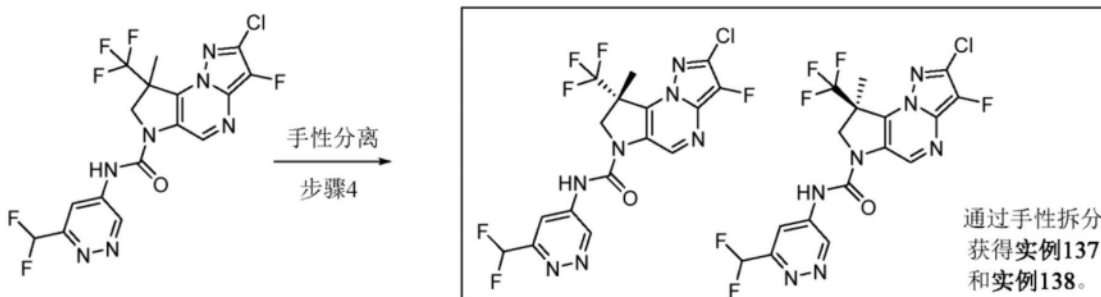
[2717] 实例135:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.82(s,1H),9.55(s,1H),8.82(d,J=2.4Hz,1H),8.58(d,J=2.4Hz,1H),8.24(s,2H),7.23(s,1H),4.74-4.82(m,2H),3.37(s,3H);LC-MS:m/z 514[M+H]⁺。

[2718] 实例136:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.75(s,1H),9.49(s,1H),8.76(d,J=2.4Hz,1H),8.52(d,J=2.4Hz,1H),8.18(s,2H),7.16(s,1H),4.72-4.73(m,2H),3.31(s,3H);LC-MS:m/z 514[M+H]⁺。

[2719] 方法U4

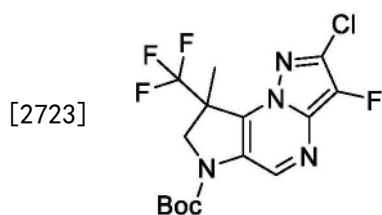


[2720]



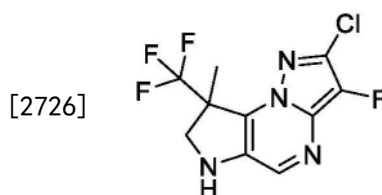
[2721] 实例136和137:由含有(S)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[2722] 步骤1:2-氯-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[2724] 在氮气气氛下在 -20°C 下,向2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(方法K1步骤9;300mg,797.4 μmol)于甲醇(6mL)和二氯甲烷(6mL)中的搅拌溶液中加入N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中的1-氯甲基-4-氟-1,4-重氮双环[2.2.2]辛烷双(四氟硼酸酯)(562mg,1.6mmol)。将所得混合物在 25°C 下搅拌16小时。将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2-氯-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(110mg,35%产率)。 ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ :9.21(s,1H),4.01-4.37(m,2H),1.52(s,9H),1.23(s,3H)。LC-MS: m/z 395[M+H] $^+$ 。

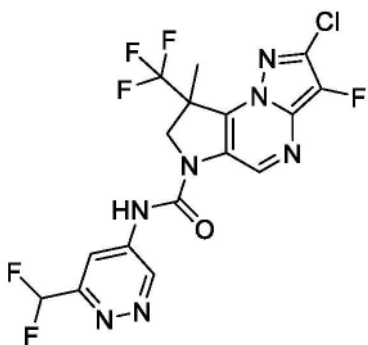
[2725] 步骤2:2-氯-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[2727] 向2-氯-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(110mg,279.2 μmol)于二氯甲烷(8mL)中的搅拌溶液中加入TFA(2mL)。将反应混合物在 25°C 下搅拌1小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和 NaHCO_3 水溶液(40mL)稀释。用二氯甲烷(3x30mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(30mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-氯-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(50mg,61%产率)。 ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ :8.39(s,1H),6.12(br,1H),3.85-3.95(m,1H),3.52-3.62(m,1H),1.77(s,3H)。LC-MS: m/z 295[M+H] $^+$ 。

[2728] 步骤3:2-氯-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

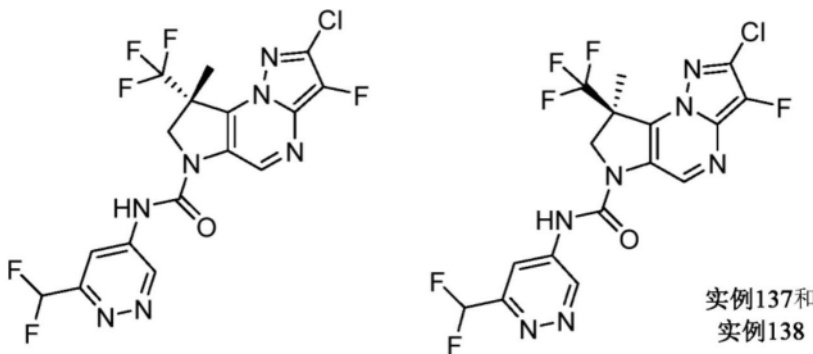
[2729]



[2730] 在25℃下,向2-氯-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(50mg,170.0 μ mol)和6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸(方法Q2步骤8;30mg,170.0 μ mol)于二噁烷(10mL)中的搅拌溶液中加入DPPA(56mg,204.0 μ mol)和TEA(86mg,850 μ mol)。将所得混合物在100℃下搅拌16小时。将反应冷却至25℃。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到40mg粗产物,对所述粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈黄色固体的2-氯-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(18mg,18%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.94(br,1H),9.48(d,J=2.4Hz,1H),9.36(s,1H),8.19(d,J=2.4Hz,1H),7.24(t,J=54.2Hz,1H),4.86(d,J=11.6Hz,1H),4.30(d,J=11.6Hz,1H),1.95(s,3H)。LC-MS:m/z 466 [M+H]⁺。

[2731] 步骤4:分离对映异构体以获得(S)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2732]



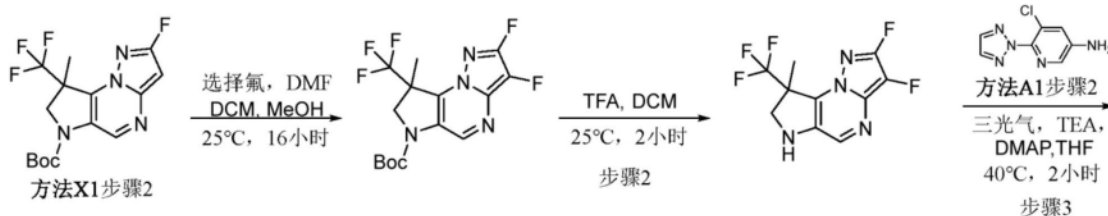
[2733] 对2-氯-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(16mg,34.5 μ mol)进行手性HPLC:色谱柱:CHIRALPAK IE-3,4.6x50mm 3 μ m;流动相A:Hex(0.1%DEA):乙醇=80:20,流动相B:IPA-HPLC;流速:1毫升/分钟;梯度:在10分钟内,0B到40B;220/254nm;RT1:2.77;RT2:3.06;运行次数:5。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例137(6mg,75%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例138(4mg,44%产率)。实例137和138是对映异构体,但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[2734] 实例137:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.94(br,1H),9.49(d,J=2.4Hz,1H),9.36

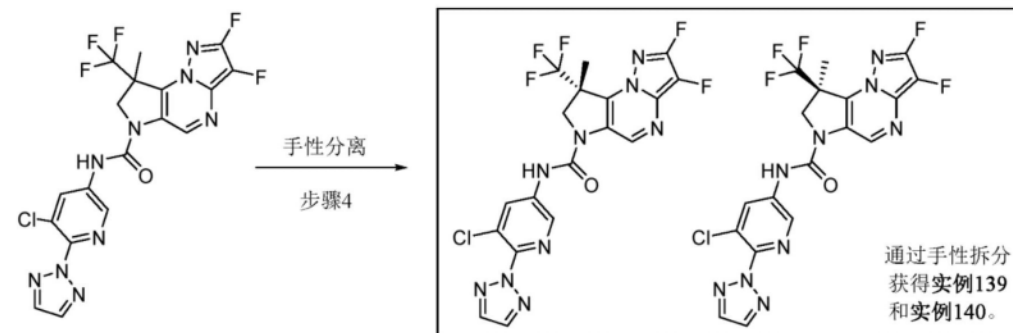
(s, 1H), 8.20 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.24 (t, J=54.2Hz, 1H), 4.86 (d, J=11.6Hz, 1H), 4.30 (d, J=11.6Hz, 1H), 1.95 (s, 3H)。LC-MS:m/z 466 [M+H]⁺。

[2735] 实例138: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 9.94 (br, 1H), 9.49 (d, J=2.4Hz, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.20 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.24 (t, J=54.2Hz, 1H), 4.86 (d, J=11.6Hz, 1H), 4.30 (d, J=11.6Hz, 1H), 1.95 (s, 3H)。LC-MS:m/z 466 [M+H]⁺。

[2736] 方法V4

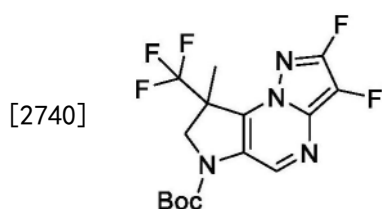


[2737]



[2738] 实例139和140:由含有(S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

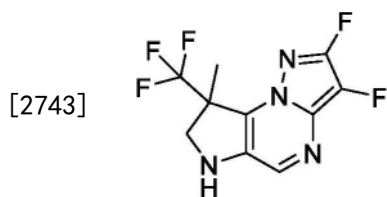
[2739] 步骤1:2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[2741] 在-20℃下,向2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(方法X1步骤2;500mg,1.4mmol)于二氯甲烷(15mL)和甲醇(15mL)中的搅拌溶液中加入N,N-二甲基甲酰胺(5mL)中的1-氯甲基-4-氟-1,4-重氮双环[2.2.2]辛烷双(四氟硼酸酯)(983mg,2.8mmol)。将混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物用水(100mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈灰白色固体的2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(110mg,20%产率)。¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ: 9.05 (s, 1H), 4.48 (d, J=12.4Hz, 1H), 3.80 (d, J=12.4Hz, 1H), 1.93 (s, 3H), 1.59

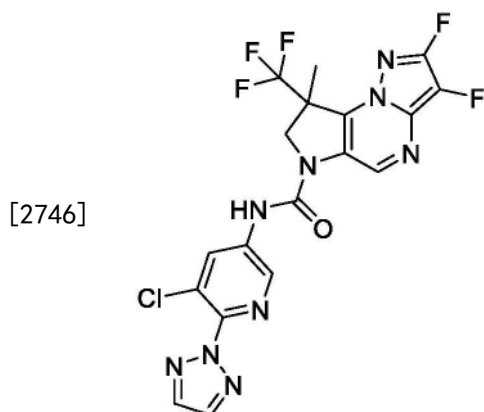
(s, 9H)。LC-MS:m/z 379[M+H]⁺。

[2742] 步骤2: 2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[2744] 在0℃下,向2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(110mg, 290μmol)于二氯甲烷(4mL)中的搅拌溶液中加入TFA(1mL)。将所得混合物在25℃下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(80mg, 98%产率)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ: 8.27(s, 1H), 4.08(d, J=11.6Hz, 1H), 3.56(d, J=11.6Hz, 1H), 1.89(s, 3H)。LC-MS:m/z 279[M+H]⁺。

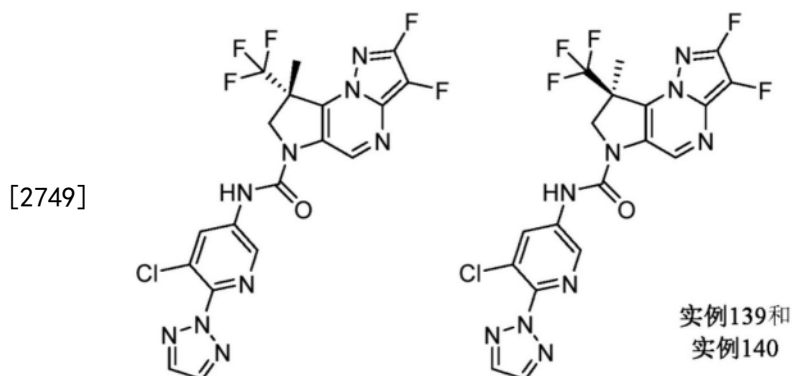
[2745] 步骤3: N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2747] 在0℃下,向5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2; 52mg, 265.3 μmol)于四氢呋喃(4mL)中的搅拌溶液中加入三光气(32mg, 108.1 μmol)和TEA(27mg, 267.3 μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(50mg, 179.2 μmol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(43mg, 349.6 μmol)和TEA(181mg, 1.8 mmol)。将混合物在40℃下搅拌2小时。将反应混合物用水(10mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(42.8mg, 47%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 9.72(s, 1H), 9.37(s, 1H), 8.75(d, J=2.4Hz, 1H), 8.50(d, J=2.4Hz, 1H), 8.17(s, 2H), 4.86(d, J=11.6Hz, 1H), 4.30(d, J=11.6Hz, 1H), 1.95(s, 3H)。LC-MS:m/z 500[M+H]⁺。

[2748] 步骤4: 分离对映异构体以获得(S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-

基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

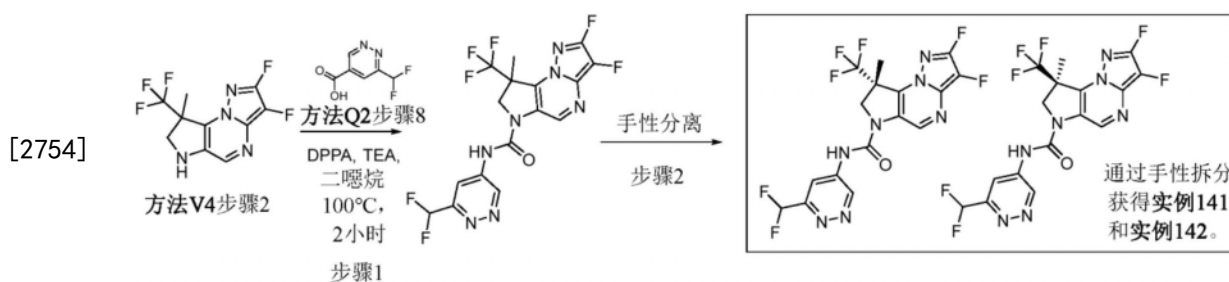


[2750] 对N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(40mg,80 μ mol)进行手性HPLC纯化:柱:CHIRAL ART Cellulose-SC,2x25cm,5 μ m;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.5%2M NH₃-MeOH)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在11钟内,15B到15B;254/220nm;RT1:8.430;RT2:9.412;注射体积:0.6ml;运行次数:6;将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例140(7.1mg,17%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例139(5.9mg,14%产率)。实例139和140是对映异构体,但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[2751] 实例139:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ :9.72(s,1H),9.37(s,1H),8.74(s,1H),8.50(s,1H),8.17(s,2H),4.86(d,J=11.4Hz,1H),4.30(d,J=11.4Hz,1H),1.95(s,3H)LC-MS:m/z500[M+H]⁺。

[2752] 实例140:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ :9.72(s,1H),9.37(s,1H),8.75(d,J=2.4Hz,1H),8.50(d,J=2.4Hz,1H),8.17(s,2H),4.86(d,J=11.4Hz,1H),4.30(d,J=11.4Hz,1H),1.95(s,3H)LC-MS:m/z 500[M+H]⁺。

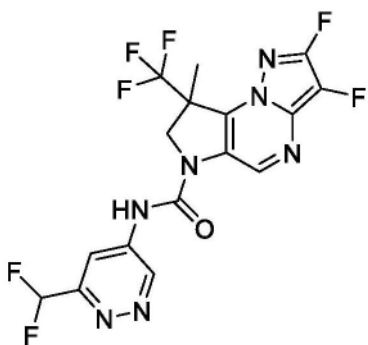
[2753] 方法W4



[2755] 实例141和142:由含有(S)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[2756] 步骤1:N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

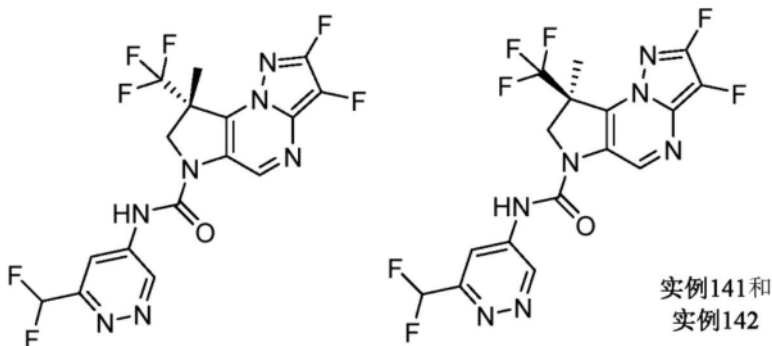
[2757]



[2758] 向2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(方法V4步骤2;64mg,230.2 μ mol)和6-(二氟甲基)咪嗪-4-甲酸(方法Q2步骤8;40mg,229.9 μ mol)于二噁烷(5mL)中的搅拌溶液中加入DPPA(75mg,276.2 μ mol)和TEA(116mg,1.1mmol)。将混合物在100 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。冷却至25 $^{\circ}$ C后,将混合物在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈淡黄色固体的N-(6-(二氟甲基)咪嗪-4-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(62.3mg,60%产率)。 1 H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ :9.93(s,1H),9.50(d,J=2.4Hz,1H),9.35(s,1H),8.21(d,J=2.8Hz,1H),7.24(t,J=55.4Hz,1H),4.87(d,J=11.6Hz,1H),4.30(d,J=11.6Hz,1H),1.94(s,3H)。LC-MS:m/z 450[M+H] $^+$ 。

[2759] 步骤2:分离对映异构体以获得(S)-N-(6-(二氟甲基)咪嗪-4-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-N-(6-(二氟甲基)咪嗪-4-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2760]

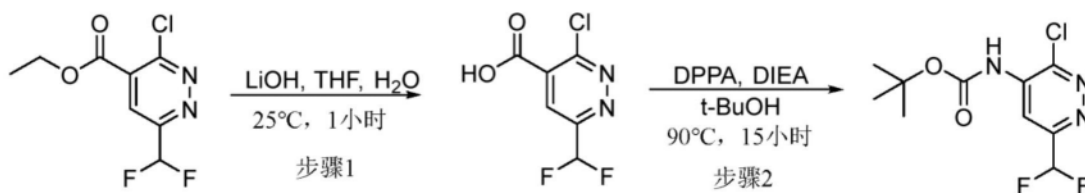


[2761] 对N-(6-(二氟甲基)咪嗪-4-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(60mg,133 μ mol)进行手性HPLC纯化:柱:CHIRAL ART Cellulose-SB,2x25cm,5 μ m;流动相A:Hex(0.5%2M NH $_3$ -MeOH)-HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在16分钟内,20B到20B;220/254nm;RT1:6.342;RT2:11.264;注射体积:4ml;运行次数:3;将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例141(9.4mg,15%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例142(7.6mg,12%产率)。实例141和142是对映异构体,但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

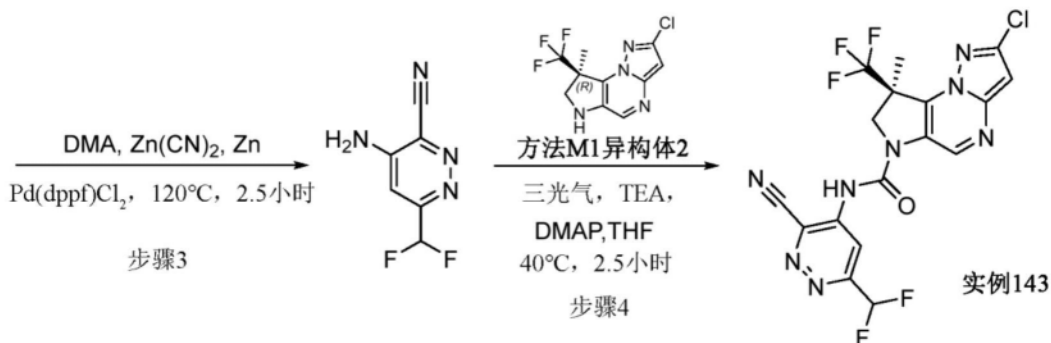
[2762] 实例141: 1 H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ :9.93(s,1H),9.50(d,J=2.4Hz,1H),9.36(s,1H),8.21(d,J=2.7Hz,1H),7.24(t,J=54.3Hz,1H),4.87(d,J=11.7Hz,1H),4.30(d,J=11.7Hz,1H),1.93(s,3H)。LC-MS:m/z 450[M+H] $^+$ 。

[2763] 实例142: $^1\text{H NMR}$ (300MHz, DMSO-d_6) δ : 9.93 (s, 1H), 9.50 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.21 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.24 (t, $J=54.3\text{Hz}$, 1H), 4.87 (d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 4.31 (d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 1.94 (s, 3H)。LC-MS: m/z 450 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2764] 方法X4



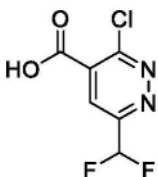
[2765]



[2766] 实例143: (R)-2-氯-N-(3-氰基-6-(二氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2767] 步骤1: 3-氯-6-(二氟甲基)吡啶-4-甲酸

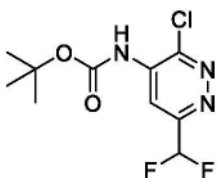
[2768]



[2769] 在0°C下,向3-氯-6-(二氟甲基)吡啶-4-甲酸乙酯(800mg, 3.4mmol)于四氢呋喃(8mL)和水(2mL)中的搅拌溶液中加入氢氧化锂(242.9mg, 10.1mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌1小时。将混合物在减压下浓缩。然后将所得溶液用水(30mL)稀释。用HCl(1M)将pH调整到3。用乙酸乙酯(3x30mL)萃取所得溶液。将合并的有机萃取物经无水硫酸钠干燥,并在减压下浓缩。将获得的固体用正戊烷(20mL)洗涤,以得到呈灰白色固体的3-氯-6-(二氟甲基)吡啶-4-甲酸(590mg, 83%产率)。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ : 8.32 (s, 1H), 7.35 (t, $J=53.6\text{Hz}$, 1H)。LC-MS: m/z 209 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2770] 步骤2: (3-氯-6-(二氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯

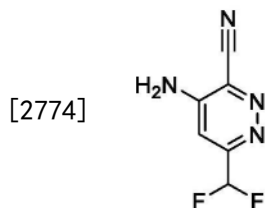
[2771]



[2772] 向3-氯-6-(二氟甲基)吡啶-4-甲酸(200mg, 959.0 μmol)于2-甲基丙-2-醇(10mL)中的搅拌溶液中加入DPPA(527.8mg, 1.9mmol)和DIEA(247.9mg, 1.9mmol)。将所得混合物在氮气气氛下在90°C下搅拌15小时。使混合物冷却至25°C并在真空下浓缩。将残留物用水

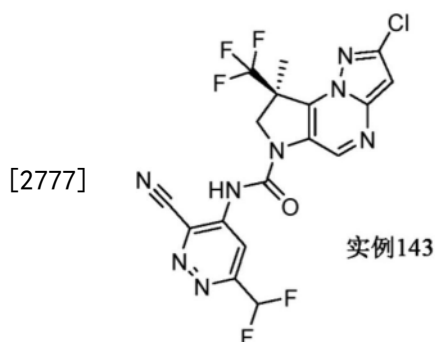
(50mL) 稀释并用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(3-氯-6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)氨基甲酸叔丁酯(170mg,63.4%产率)。LC-MS:m/z 280[M+H]⁺。

[2773] 步骤3:4-氨基-6-(二氟甲基)哒嗪-3-甲腈



[2775] 在氮气气氛下,向(3-氯-6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)氨基甲酸叔丁酯(120mg,429.1 μmol)于N,N-二甲基乙酰胺(6mL)中的搅拌溶液中加入氰化锌(50.4mg,429.1 μmol)、锌(2.8mg,42.9 μmol)和Pd(dppf)Cl₂(31.4mg,42.9 μmol)。将所得混合物在氮气气氛下在120 °C下搅拌2.5小时。使混合物冷却至25 °C。将反应混合物用水(50mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x50mL)萃取。将合并的有机层用盐水(3x50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的4-氨基-6-(二氟甲基)哒嗪-3-甲腈(54mg,70%产率)。LC-MS:m/z 171[M+H]⁺。

[2776] 步骤4:(R)-2-氯-N-(3-氰基-6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

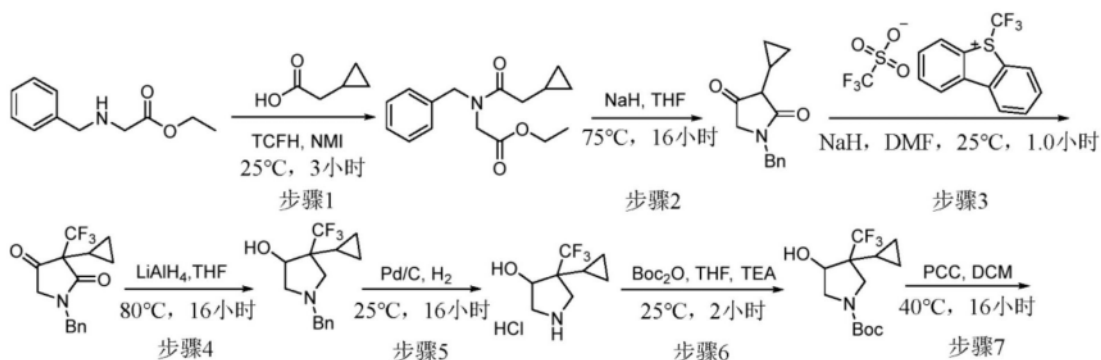


[2778] 向4-氨基-6-(二氟甲基)哒嗪-3-甲腈(25mg,146.9 μmol)于四氢呋喃(8mL)中的搅拌溶液中加入三光气(34.9mg,117.6 μmol)和TEA(22.3mg,220.4 μmol)。将所得混合物在40 °C下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(40.7mg,146.9 μmol)于四氢呋喃(1.5mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(148.7mg,1.8 mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(35.9mg,293.9 μmol)。将混合物在40 °C下搅拌2小时。将溶剂在真空下浓缩。将残留物通过使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC纯化法进行纯化,以得到30mg粗产物,将所述粗产物通过制备型HPLC进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈淡黄色固体的(R)-2-氯-N-(3-氰基-6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(2mg,2.80%产率)。实例143的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

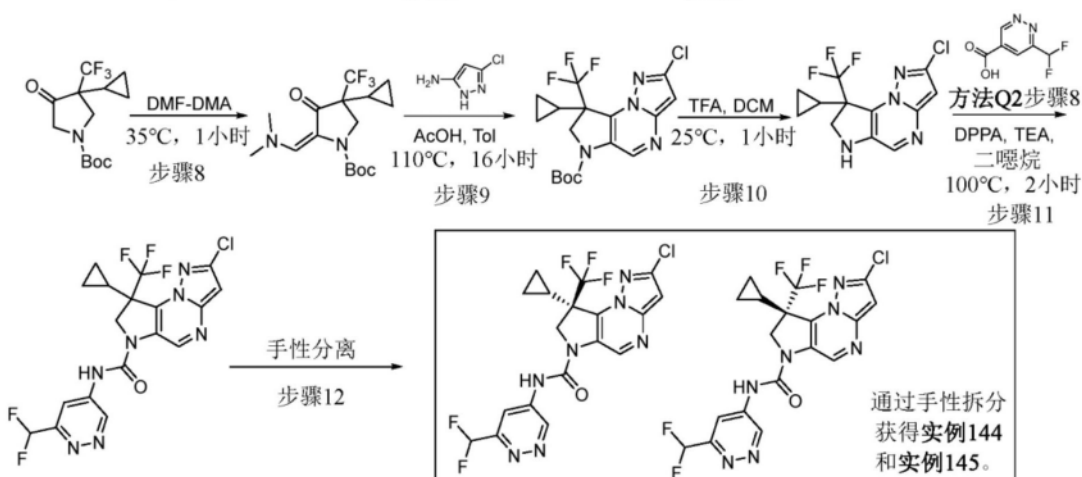
[2779] 实例143:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:10.27(br,1H),9.32(s,1H),8.33(s,1H),7.38(t,J=54.0Hz,1H),7.10(s,1H),4.87(d,J=10.8Hz,1H),4.32(d,J=10.8Hz,1H),

1.99 (s, 3H)。LC-MS: m/z 473 [M+H]⁺。

[2780] 方法Y4

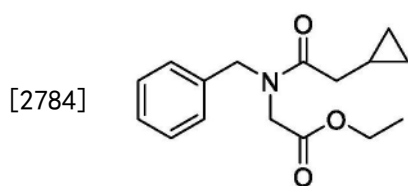


[2781]



[2782] 实例144和145:由含有(R)-2-氯-8-环丙基-N-(6-(二氟甲基)吡嗪-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(S)-2-氯-8-环丙基-N-(6-(二氟甲基)吡嗪-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

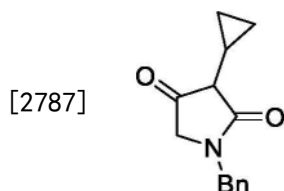
[2783] 步骤1:N-苄基-N-(2-环丙基乙酰基)甘氨酸乙酯



[2784]

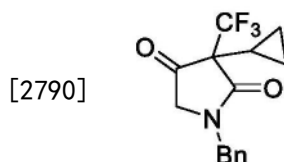
[2785] 向苄基甘氨酸乙酯(15.0g, 77.6mmol)于乙腈(150mL)中的搅拌混合物中加入2-环丙基乙酸(9.3g, 93.2mmol)、1-甲基咪唑(19.1g, 232.9mmol)和六氟磷酸N,N,N,N-四甲基氯甲脒酯(65.5g, 232.9mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌3小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的N-苄基-N-(2-环丙基乙酰基)甘氨酸乙酯(19.6g, 91%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 7.23-7.38 (m, 5H), 4.62 (s, 1H), 4.51 (s, 1H), 4.10 (s, 1H), 4.04-4.08 (m, 2H), 4.00 (s, 1H), 2.31 (d, J=6.4Hz, 1H), 2.24 (d, J=6.8Hz, 1H), 1.13-1.19 (m, 3H), 0.90-1.04 (m, 1H), 0.40-0.47 (m, 2H), 0.03-0.11 (m, 2H)。LC-MS: m/z 276 [M+H]⁺。

[2786] 步骤2:1-苄基-3-环丙基吡咯烷-2,4-二酮



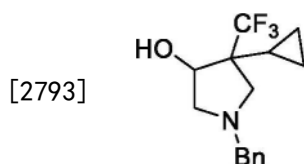
[2788] 在0℃下,向四氢呋喃(100mL)的搅拌溶液中分批加入NaH(4.0g,98.4mmol,60%,于矿物油中)。将反应混合物在75℃下搅拌,并逐滴加入N-苄基-N-(2-环丙基乙酰基)甘氨酸乙酯(22.5g,81.72mmol)于四氢呋喃(100mL)中的溶液。将反应混合物在75℃下搅拌16小时。将反应混合物用水(100mL)淬灭。用HCl(1M)将pH调整到3-4。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用98%二氯甲烷和2%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色固体的1-苄基-3-环丙基吡咯烷-2,4-二酮(12.9g,68.8%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:10.55(s,1H),7.15-7.35(m,5H),4.43(s,2H),3.60(s,2H),1.41-1.48(m,1H),0.89-0.92(m,2H),0.57-0.62(m,2H)。LC-MS:m/z 230[M+H]⁺。

[2789] 步骤3:1-苄基-3-环丙基-3-(三氟甲基)吡咯烷-2,4-二酮



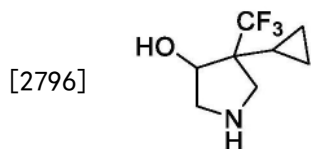
[2791] 在0℃下,向1-苄基-3-环丙基吡咯烷-2,4-二酮(7.0g,30.5mmol)于N,N-二甲基乙酰胺(100mL)中的搅拌溶液中分批加入NaH(1.3g,33.6mmol,60%,于矿物油中)。将反应混合物在25℃下搅拌0.5小时。在-55℃下加入三氟甲磺酸5-(三氟甲基)-5H-二苯并[b,d]噻吩-5-鎓酯(12.1g,30.5mmol)。将反应混合物在-55℃下搅拌1小时,并在25℃下再搅拌1小时。将反应混合物用水(400mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x400mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(3x800mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的1-苄基-3-环丙基-3-(三氟甲基)吡咯烷-2,4-二酮(4.9g,55.1%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:7.23-7.41(m,5H),4.63(s,2H),4.04-4.15(m,2H),1.35-1.41(m,1H),0.67-0.73(m,1H),0.57-0.65(m,2H),0.31-0.39(m,1H)。LC-MS:m/z 298[M+H]⁺。

[2792] 步骤4:1-苄基-4-环丙基-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇



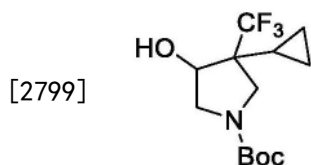
[2794] 在0℃下,向1-苄基-3-环丙基-3-(三氟甲基)吡咯烷-2,4-二酮(4.3g,14.5mmol)于四氢呋喃(60mL)中的搅拌溶液中加入LiAlH₄(2.2g,57.9mmol)。将反应混合物在80℃下搅拌16小时。将反应混合物冷却至0℃。在搅拌的同时,加入H₂O(2.2g)和NaOH水溶液(10%,2.2g),然后加入H₂O(2.2g)。将所得混合物过滤并在真空下浓缩。将残留物通过使用98%二氯甲烷和2%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色固体的1-苄基-4-环丙基-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇(2.2g,7.71mmol,74.79%产率)。LC-MS:m/z 286[M+H]⁺。

[2795] 步骤5:4-环丙基-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇盐酸盐



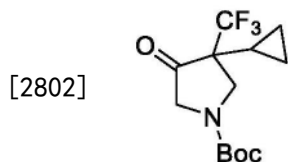
[2797] 向1-苄基-4-环丙基-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇(2.2g,7.7mmol)于乙醇(60mL)中的搅拌溶液中加入Pd/C(1.0g,10%)和HCl(1M,7.7mL)。将反应混合物在氢气下在25℃下搅拌16小时。然后在25℃下加入HCl(1M,7.7mL),并将反应混合物在25℃下再搅拌0.5小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩,以得到呈黄色固体的4-环丙基-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇盐酸盐(1.5g,粗品)。LC-MS:m/z 196[M+H]⁺。

[2798] 步骤6:3-环丙基-4-羟基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



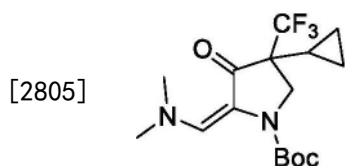
[2800] 向4-环丙基-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇盐酸盐(1.5g,7.7mmol)于四氢呋喃(20mL)中的搅拌溶液中加入(Boc)₂O(2.5g,11.6mmol)和TEA(3.9g,38.5mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色油状物的3-环丙基-4-羟基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(2.1g,94.1%产率)。LC-MS:m/z 296[M+H]⁺。

[2801] 步骤7:3-环丙基-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[2803] 在25℃下,向3-环丙基-4-羟基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(2.2g,7.3mmol)于二氯甲烷(50mL)中的搅拌混合物中加入PCC(7.8g,36.3mmol)和硅胶(16.0g)。将反应混合物在40℃下搅拌16小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的3-环丙基-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.4g,63.1%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:3.89-4.08(m,2H),3.65-3.75(m,1H),3.46(d,J=12.4Hz,1H),1.43(s,9H),1.18-1.26(m,1H),0.54-0.64(m,2H),0.34-0.44(m,2H)。LC-MS:m/z 294[M+H]⁺。

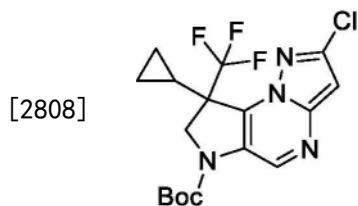
[2804] 步骤8:(E)-4-环丙基-2-((二甲基氨基)亚甲基)-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[2806] 将3-环丙基-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.3g,4.5mmol)于DMF-DMA(15mL)中的混合物在35℃下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩,以得到呈黄色固

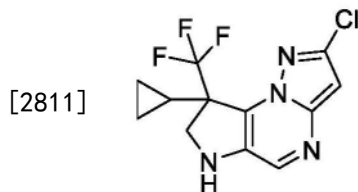
体的(E)-4-环丙基-2-((二甲基氨基)亚甲基)-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.5g,粗品)。LC-MS:m/z 349[M+H]⁺。

[2807] 步骤9:2-氯-8-环丙基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[2809] 向(E)-4-环丙基-2-((二甲基氨基)亚甲基)-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.5g,4.2mmol)于甲苯(20mL)中的搅拌溶液中加入乙酸(2mL)和3-氯-1H-吡唑-5-胺(489mg,4.2mmol)。将反应混合物在110℃下搅拌16小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(40mL)稀释。用乙酸乙酯(3x40mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-氯-8-环丙基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(567mg,33.8%产率)。LC-MS:m/z 403[M+H]⁺。

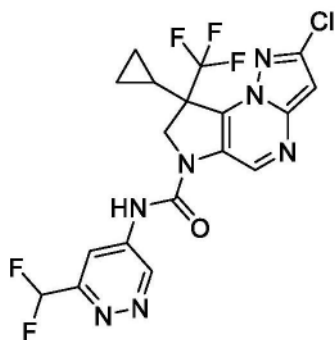
[2810] 步骤10:2-氯-8-环丙基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[2812] 在25℃下,向2-氯-8-环丙基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(550mg,1.4mmol)于二氯甲烷(9mL)中的溶液加入TFA(3mL)。将反应混合物在25℃下搅拌1小时,并在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(30mL)稀释。用乙酸乙酯(3x30mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用99%二氯甲烷和1%甲醇作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色固体的2-氯-8-环丙基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(197mg,72.6%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:8.39(s,1H),6.89(s,1H),5.89(s,1H),3.56(d,J=12.0Hz,1H),3.18(d,J=12.0Hz,1H),2.00-2.07(m,1H),0.67-0.74(m,1H),0.42-0.51(m,3H)。LC-MS:m/z 303[M+H]⁺。

[2813] 步骤11:2-氯-8-环丙基-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

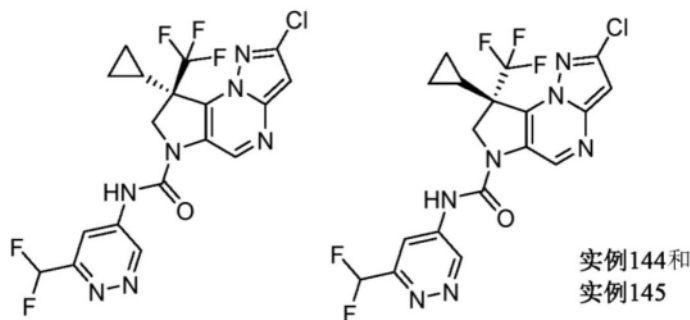
[2814]



[2815] 向2-氯-8-环丙基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(70mg, 231.3 μ mol)于二噁烷(10mL)中的搅拌溶液中加入6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸(方法Q2步骤8; 40mg, 231.3 μ mol)、DPPA(71mg, 277.5 μ mol)和TEA(116mg, 1.2mmol)。将所得混合物在100 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。使混合物冷却至25 $^{\circ}$ C并在真空下浓缩。将残留物通过使用4%甲醇和96%二氯甲烷作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到80mg粗产物,对所述粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的2-氯-8-环丙基-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(50mg, 45.9%产率)。 ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.79(s, 1H), 9.49(d, J=2.4Hz, 1H), 9.37(s, 1H), 8.19(d, J=2.4Hz, 1H), 7.25(t, J=53.8Hz, 1H), 7.12(s, 1H), 4.43(d, J=11.6Hz, 1H), 3.81(d, J=12.0Hz, 1H), 2.26-2.29(m, 1H), 0.83-0.92(m, 1H), 0.59-0.67(m, 1H), 0.48-0.56(m, 2H)。LC-MS:m/z 474[M+H] $^+$ 。

[2816] 步骤12:分离对映异构体以获得(R)-2-氯-8-环丙基-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(S)-2-氯-8-环丙基-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2817]

实例144和
实例145

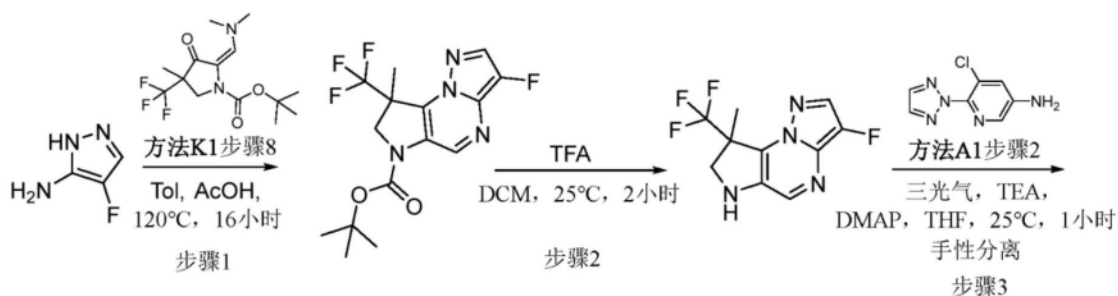
[2818] 对2-氯-8-环丙基-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(50mg, 105.5 μ mol)进行手性HPLC:色谱柱: CHIRALPAK IA, 2x25cm, 5 μ m;流动相A:Hex(0.5%2M NH_3 -MeOH)-HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在12分钟内,20B到20B;254/220nm;RT1:7.818;RT2:9.92;注射体积:0.8ml;运行次数:5。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例144(18.8mg, 37.6%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例145(16.7mg, 33.4%产率)。实例144和145是对映异构体,但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[2819] 实例144: ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.79(s, 1H), 9.50(d, J=2.4Hz, 1H), 9.37(s,

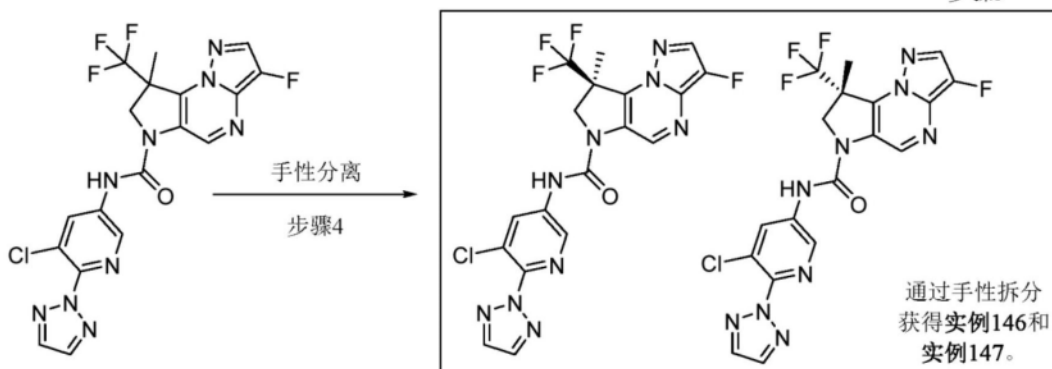
1H), 8.19 (d, J=2.8Hz, 1H), 7.25 (t, J=53.8Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 4.43 (d, J=12.0Hz, 1H), 3.81 (d, J=12.4Hz, 1H), 2.23-2.29 (m, 1H), 0.83-0.92 (m, 1H), 0.60-0.67 (m, 1H), 0.48-0.56 (m, 2H)。LC-MS:m/z 474[M+H]⁺。

[2820] 实例145:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 9.77 (s, 1H), 9.47 (d, J=2.8Hz, 1H), 9.35 (s, 1H), 8.17 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.23 (t, J=53.6Hz, 1H), 7.10 (s, 1H), 4.41 (d, J=12.4Hz, 1H), 3.79 (d, J=12.0Hz, 1H), 2.21-2.27 (m, 1H), 0.81-0.90 (m, 1H), 0.58-0.65 (m, 1H), 0.46-0.54 (m, 2H)。LC-MS:m/z 474[M+H]⁺。

[2821] 方法Z4



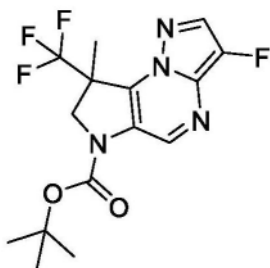
[2822]



[2823] 实例146和147: 由含有 (R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和 (S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[2824] 步骤1: 3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺叔丁酯

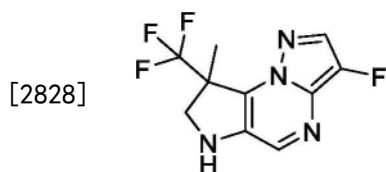
[2825]



[2826] 向 4-氟-1H-吡唑-5-胺 (256mg, 2.5mmol) 于甲苯 (10mL) 中的溶液中加入 (E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (方法K1步骤 8; 817mg, 2.5mmol) 和乙酸 (1mL)。将所得混合物在 120°C 下搅拌 16 小时。将所得溶液在真空下浓缩。将残留物通过使用 75% 石油醚和 25% 乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化，以得到呈黄色固体的 3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并

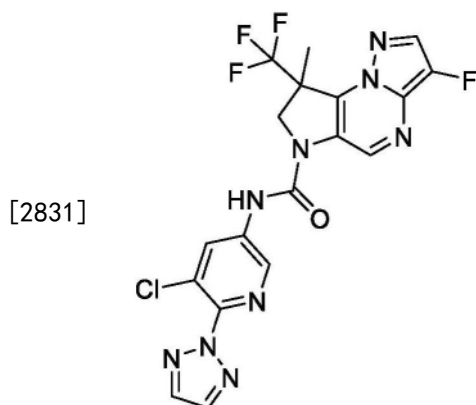
[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(350mg,38%产率)。LC-MS:m/z 361[M+H]⁺。

[2827] 步骤2:3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[2829] 向3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(350mg,1.0mmol)于二氯甲烷(5mL)中的溶液中加入TFA(1mL)。将所得混合物在25℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将反应混合物用水(10mL)淬灭。将pH用饱和NaHCO₃水溶液调整到7-8。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(100mg,40%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:8.35(s,1H),8.15(d,J=3.3Hz,1H),3.89(d,J=12.6Hz,1H),3.57(d,J=12.6Hz,1H),1.81(s,3H);LC-MS:m/z261[M+H]⁺。

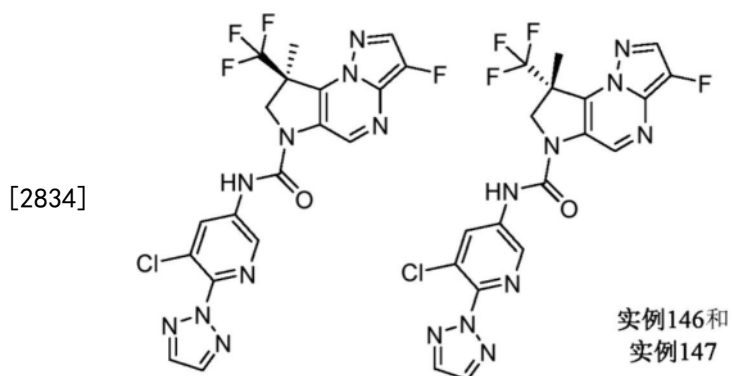
[2830] 步骤3:N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2832] 向5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2;113mg,579.5μmol)于四氢呋喃(8mL)中的搅拌溶液中加入三光气(69mg,233.1μmol)和TEA(117mg,1.2mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将所得滤液加入到3-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(100mg,383.1μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。将混合物在25℃下搅拌1小时。将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到粗产物。将粗产物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈黄色固体的N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(30mg,16%产率)。LC-MS:m/z 482[M+H]⁺。

[2833] 步骤4:分离对映异构体以获得(S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲

酰胺和(R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

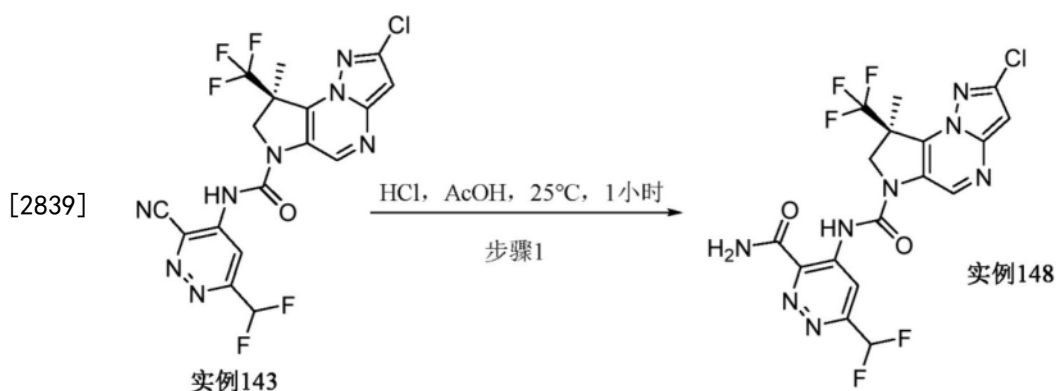


[2835] 对28mg N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-3-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺进行手性HPLC纯化:色谱柱:CHIRALPAK IA, 2x25cm, 5 μ m;流动相A:Hex (0.5% 2M NH_3 -MeOH) -HPLC, 流动相B:EtOH-HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在30分钟内, 10B到10B; 220/254nm; RT1:20.819; RT2:25.766;注射体积:0.8ml;运行次数:5;将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈黄色固体的实例147 (8.8mg, 5%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈黄色固体的实例146 (8.9mg, 5%产率)。实例146和147是对映异构体,但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[2836] 实例146: ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.71 (br, 1H), 9.33 (s, 1H), 8.75 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.51 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.42 (d, $J=3.2\text{Hz}$, 1H), 8.18 (s, 2H), 4.86 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 4.32 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 2.00 (s, 3H); LC-MS: m/z 482 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2837] 实例147: ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.71 (br, 1H), 9.33 (s, 1H), 8.75 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.51 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.42 (d, $J=3.2\text{Hz}$, 1H), 8.18 (s, 2H), 4.86 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 4.32 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 2.00 (s, 3H); LC-MS: m/z 482 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

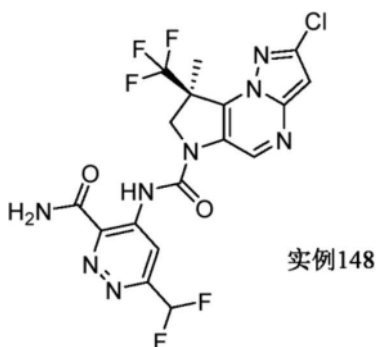
[2838] 方法A5



[2840] 实例148: (R)-N-(3-氨基甲酰基-6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2--8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2841] 步骤1: (R)-N-(3-氨基甲酰基-6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2--8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

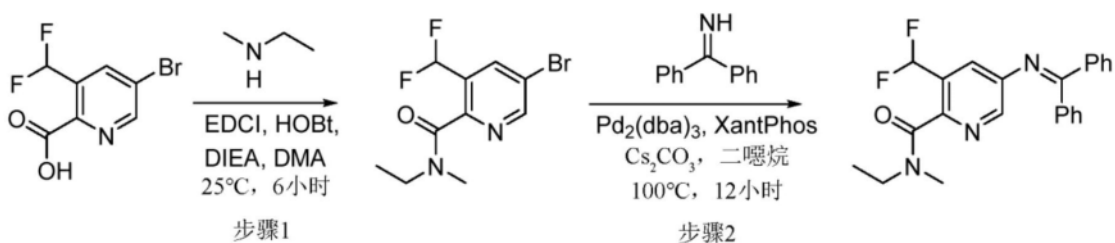
[2842]



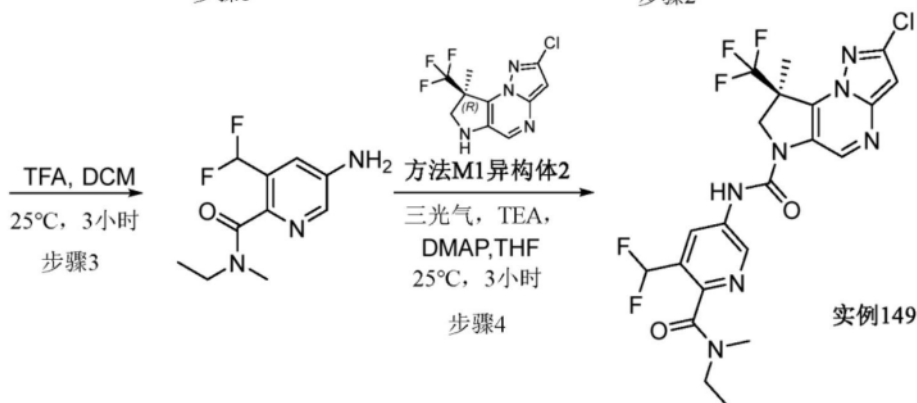
[2843] 向(R)-2-氯-N-(3-氰基-6-(二氟甲基)咪唑-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(54mg, 114.2 μ mol)于浓HCl(4mL)中的搅拌溶液中加入乙酸(4mL)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈淡黄色固体的(R)-N-(3-氨基甲酰基-6-(二氟甲基)咪唑-4-基)-2-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(13.5mg, 23.8%产率)。

[2844] 实例148: 1 H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ : 12.73(br, 1H), 9.40(s, 1H), 9.22(br, 1H), 8.83(s, 1H), 8.51(br, 1H), 7.35(t, J=54.0Hz, 1H), 7.11(s, 1H), 4.63(d, J=11.1Hz, 1H), 4.39(d, J=11.1Hz, 1H), 2.01(s, 3H)。LC-MS:m/z 491[M+H] $^+$ 。

[2845] 方法B5



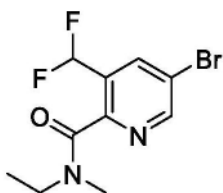
[2846]



[2847] 实例149:(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(乙基(甲基)氨基甲酰基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

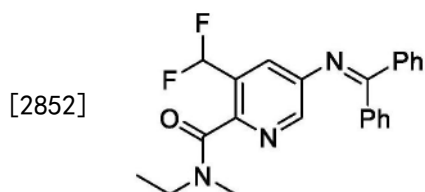
[2848] 步骤1:5-溴-3-(二氟甲基)-N-乙基-N-甲基吡啶酰胺

[2849]



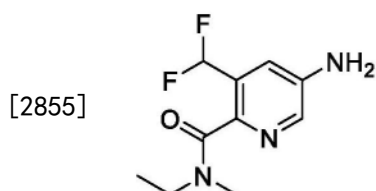
[2850] 向5-溴-3-(二氟甲基)吡啶甲酸(330mg, 1.3mmol)于N,N-二甲基乙酰胺(6mL)中的搅拌溶液中加入N-甲基乙胺(93mg, 1.6mmol)、EDCI(326mg, 1.7mmol)、HOBt(230mg, 1.7mmol)和DIEA(508mg, 3.9mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌6小时。将反应混合物用水(30mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x30mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的5-溴-3-(二氟甲基)-N-乙基-N-甲基吡啶酰胺(240mg, 61%产率)。LC-MS:m/z 293[M+H]⁺。

[2851] 步骤2:3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)-N-乙基-N-甲基吡啶酰胺



[2853] 在氮气气氛下,向5-溴-3-(二氟甲基)-N-乙基-N-甲基吡啶酰胺(200mg, 682μmol)于二噁烷(10mL)中的混合物中加入二苯基甲亚胺(185mg, 1.0mmol)、Pd₂(dba)₃(62mg, 68μmol)、Xantphos(39mg, 68μmol)和Cs₂CO₃(667mg, 2.1mmol)。将所得混合物在100℃下搅拌12小时。将反应混合物在真空下浓缩。将所得混合物用水(10mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)-N-乙基-N-甲基吡啶酰胺(250mg, 77%产率)。LC-MS:m/z 394[M+H]⁺。

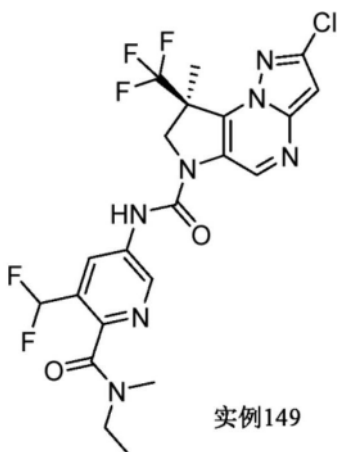
[2854] 步骤3:5-氨基-3-(二氟甲基)-N-乙基-N-甲基吡啶酰胺



[2856] 向3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)-N-乙基-N-甲基吡啶酰胺(250mg, 635μmol)于二氯甲烷(5mL)中的搅拌混合物中加入TFA(1mL)。将所得混合物在25℃下搅拌3小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(10mL)稀释。用二氯甲烷(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的5-氨基-3-(二氟甲基)-N-乙基-N-甲基吡啶酰胺(100mg, 67%产率)。LC-MS:m/z 230[M+H]⁺。

[2857] 步骤4:(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(乙基(甲基)氨基甲酰基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

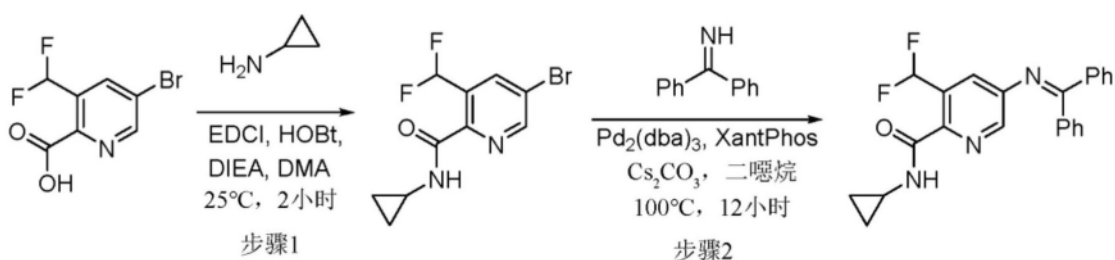
[2858]



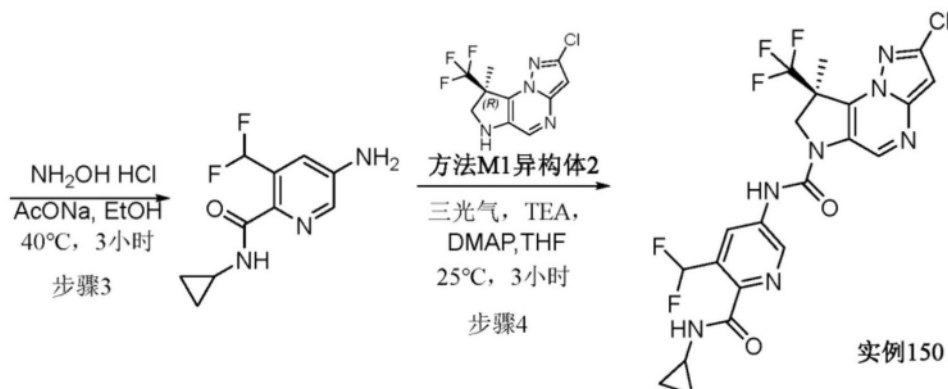
[2859] 向5-氨基-3-(二氟甲基)-N-乙基-N-甲基吡啶酰胺(20mg, 87 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的搅拌溶液中加入三光气(16mg, 52 μ mol)和TEA(18mg, 174 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(24mg, 87 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(11mg, 87 μ mol)和TEA(18mg, 174 μ mol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌3小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(乙基(甲基)氨基甲酰基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(13.6mg, 29%产率)。实例149的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2860] 实例149: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.56(s, 1H), 9.35(s, 1H), 8.92(d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 8.37(d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.11(t, $J=55.2\text{Hz}$, 1H), 7.07(s, 1H), 4.87(d, $J=11.2\text{Hz}$, 1H), 4.28(d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 3.50(m, 1H), 3.17(m, 1H), 2.81-3.00(m, 3H), 1.99(s, 3H), 1.05-1.16(m, 3H)。LC-MS: m/z 532 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2861] 方法C5



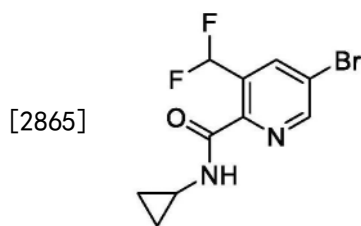
[2862]



[2863] 实例150: (R)-2-氯-N-(6-(环丙基氨基甲酰基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-8-甲

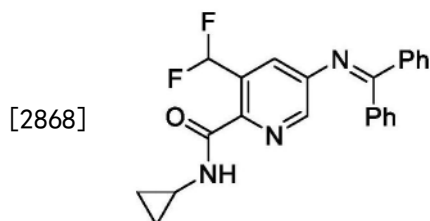
基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2864] 步骤1:5-溴-N-环丙基-3-(二氟甲基)吡啶酰胺



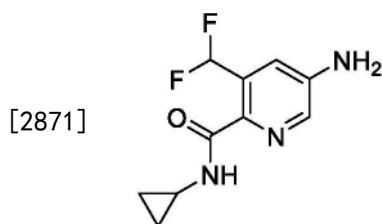
[2866] 向5-溴-3-(二氟甲基)吡啶甲酸 (220mg, 873 μ mol) 于N,N-二甲基乙酰胺 (4mL) 中的搅拌溶液中加入环丙胺 (60mg, 1.1mmol)、EDCI (218mg, 1.1mmol)、HOBt (153mg, 1.1mmol) 和 DIEA (338mg, 2.6mmol)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将反应混合物用水 (20mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (3x20mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水 (30mL) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈白色固体的5-溴-N-环丙基-3-(二氟甲基)吡啶酰胺 (100mg, 39%产率)。LC-MS:m/z 291 [M+H]⁺。

[2867] 步骤2:N-环丙基-3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶甲酰胺



[2869] 在氮气气氛下, 向5-溴-N-环丙基-3-(二氟甲基)吡啶酰胺 (95mg, 326 μ mol) 于二噁烷 (10mL) 中的混合物中加入二苯基甲亚胺 (89mg, 490 μ mol)、Pd₂(dba)₃ (30mg, 33 μ mol)、Xantphos (19mg, 33 μ mol) 和Cs₂CO₃ (319mg, 979 μ mol)。将所得混合物在100 $^{\circ}$ C下搅拌12小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用水 (10mL) 稀释, 并用乙酸乙酯 (3x10mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈黄色固体的N-环丙基-3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶甲酰胺 (93mg, 73%产率)。LC-MS:m/z 392 [M+H]⁺。

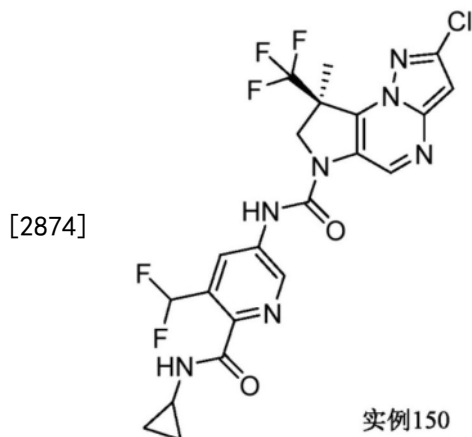
[2870] 步骤3:5-氨基-N-环丙基-3-(二氟甲基)吡啶酰胺



[2872] 向N-环丙基-3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶甲酰胺 (90mg, 230 μ mol) 于乙醇 (3mL) 中的搅拌混合物加入盐酸羟胺 (32mg, 460 μ mol) 和乙酸钠 (47mg, 575 μ mol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌3小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用水 (10mL) 稀释, 并用乙酸乙酯 (3x10mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈白色固体的5-氨基-N-环丙基-3-(二氟甲基)吡啶酰胺 (30mg, 50%产率)。LC-

MS:m/z 228[M+H]⁺。

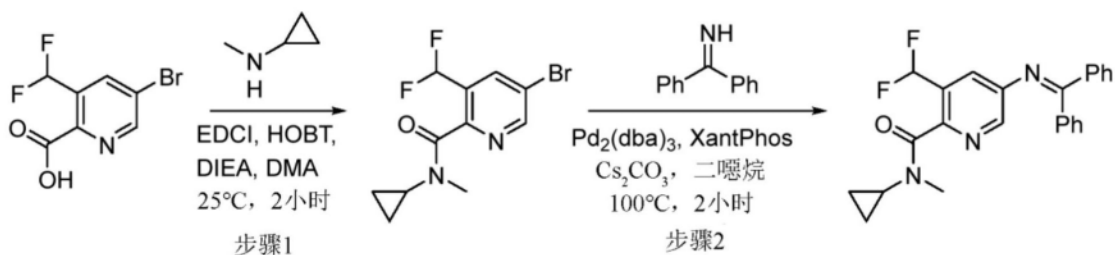
[2873] 步骤4: (R)-2-氯-N-(6-(环丙基氨基甲酰基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



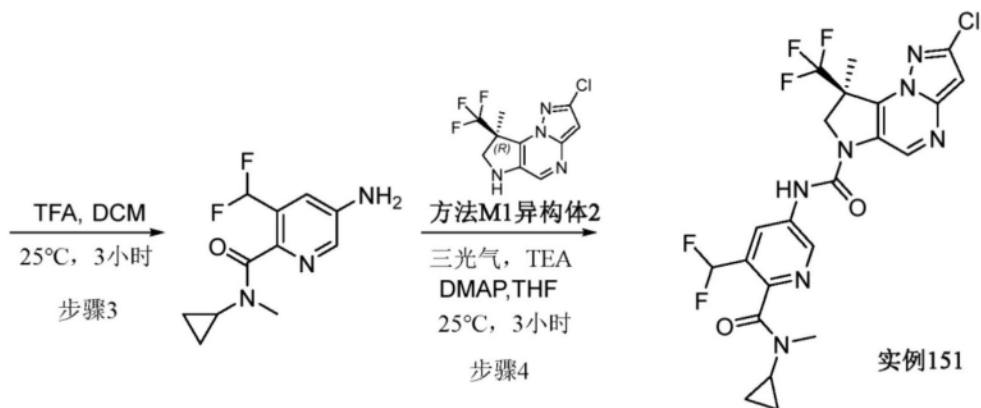
[2875] 向5-氨基-N-环丙基-3-(二氟甲基)吡啶酰胺(20mg, 88 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的搅拌溶液中加入三光气(16mg, 52 μ mol)和TEA(18mg, 176 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(24mg, 87 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(11mg, 88 μ mol)和TEA(18mg, 176 μ mol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌3小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(6-(环丙基氨基甲酰基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(17mg, 36%产率)。实例150的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2876] 实例150:¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ : 9.61(s, 1H), 9.34(s, 1H), 8.96(d, J=2.1Hz, 1H), 8.83(d, J=5.1Hz, 1H), 8.46(d, J=2.1Hz, 1H), 7.89(t, J=55.5Hz, 1H), 7.06(s, 1H), 4.84(d, J=11.7Hz, 1H), 4.28(d, J=11.7Hz, 1H), 2.85-2.90(m, 1H), 1.96(s, 3H), 0.65-0.71(m, 4H)。LC-MS:m/z 530[M+H]⁺。

[2877] 方法D5



[2878]



[2879] 实例151(R)-2-氯-N-(6-(环丙基(甲基)氨基甲酰基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2880] 步骤1:5-溴-N-环丙基-3-(二氟甲基)-N-甲基吡啶酰胺

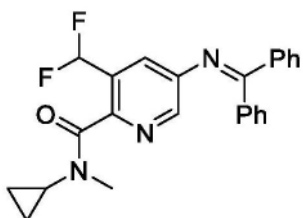
[2881]



[2882] 向5-溴-3-(二氟甲基)吡啶甲酸(220mg, 873 μ mol)于N,N-二甲基乙酰胺(5mL)中的搅拌溶液中加入N-甲基环丙胺(75mg, 1.1mmol)、EDCI(218mg, 1.1mmol)、HOBT(153mg, 1.1mmol)和DIEA(338mg, 2.6mmol)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将反应混合物用水(20mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x20mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的5-溴-N-环丙基-3-(二氟甲基)-N-甲基吡啶酰胺(81mg, 30%产率)。LC-MS:m/z 305[M+H]⁺。

[2883] 步骤2:N-环丙基-3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)-N-甲基吡啶酰胺

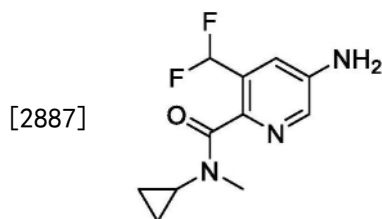
[2884]



[2885] 在氮气气氛下,向5-溴-N-环丙基-3-(二氟甲基)-N-甲基吡啶酰胺(81mg, 265 μ mol)于二噁烷(4mL)中的混合物中加入二苯基甲亚胺(48mg, 265 μ mol)、Pd₂(dba)₃(24mg, 27 μ mol)、Xantphos(15mg, 27 μ mol)和Cs₂CO₃(259mg, 796 μ mol)。将所得混合物在100 $^{\circ}$ C下搅拌2小

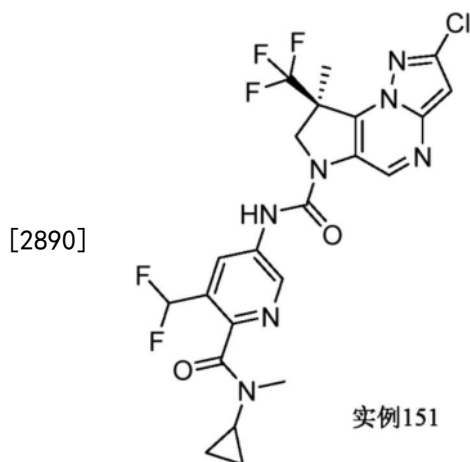
时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用水 (10mL) 稀释,并用乙酸乙酯 (3x10mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的N-环丙基-3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)-N-甲基吡啶酰胺 (81mg,30%产率)。LC-MS:m/z 406[M+H]⁺。

[2886] 步骤3:5-氨基-N-环丙基-3-(二氟甲基)-N-甲基吡啶酰胺



[2888] 向N-环丙基-3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)-N-甲基吡啶酰胺 (83mg, 205 μ mol) 于二氯甲烷 (5mL) 中的搅拌混合物中加入TFA (1mL)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌3小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液 (10mL) 稀释。用二氯甲烷 (3x10mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的5-氨基-N-环丙基-3-(二氟甲基)-N-甲基吡啶酰胺 (35mg,71%产率)。LC-MS:m/z 242[M+H]⁺。

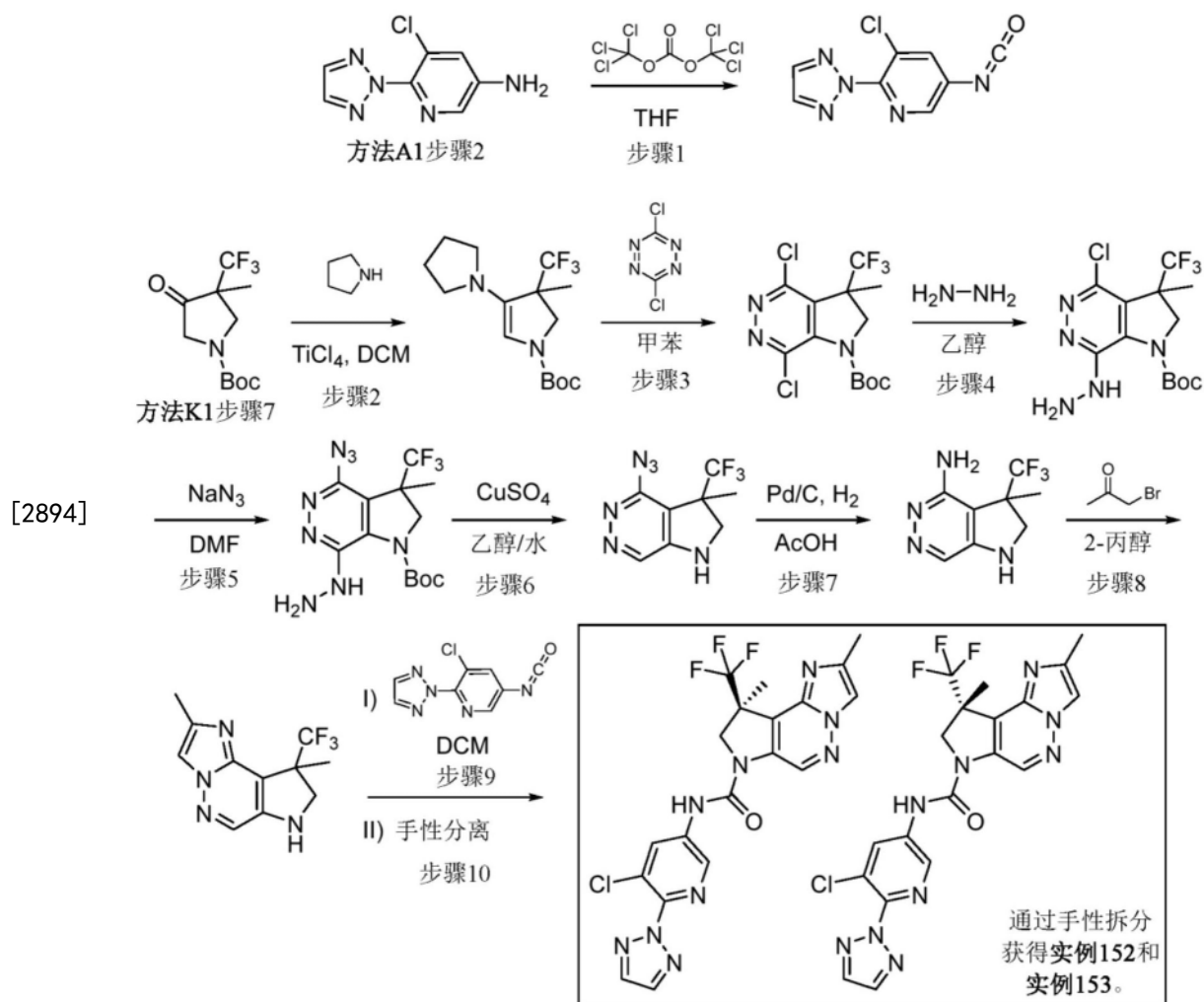
[2889] 步骤4:(R)-2-氯-N-(6-(环丙基(甲基)氨基甲酰基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2891] 向5-氨基-N-环丙基-3-(二氟甲基)-N-甲基吡啶酰胺 (35mg,145 μ mol) 于四氢呋喃 (2mL) 中的搅拌溶液中加入三光气 (26mg,87 μ mol) 和TEA (29mg,290 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2 (40mg,145 μ mol) 于四氢呋喃 (2mL) 中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺 (18mg,145 μ mol) 和TEA (29mg,290 μ mol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌3小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(6-(环丙基(甲基)氨基甲酰基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (27.2mg,42%产率)。实例151的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

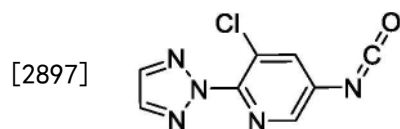
[2892] 实例151: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.60 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.14 (t, $J=55.2\text{Hz}$, 1H), 7.07 (s, 1H), 4.85 (d, $J=11.1\text{Hz}$, 1H), 4.29 (d, $J=11.1\text{Hz}$, 1H), 3.03 (s, 3H), 2.75-2.80 (m, 1H), 1.98 (s, 3H), 0.37-0.52 (m, 4H)。LC-MS: m/z 544 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2893] 方法E5



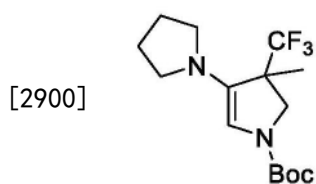
[2895] 实例152和153:由含有(S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺和(R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[2896] 步骤1:3-氯-5-异氰酸基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶



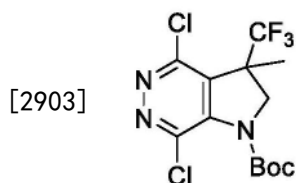
[2898] 向5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2;100mg,0.511mmol)于四氢呋喃(干)(4.5mL)中的溶液中加入三乙胺(0.178mL,1.278mmol)。冷却至0℃后,加入三光气(77mg,0.261mmol)。将所得悬浮液在70℃下搅拌1.5小时。将反应混合物冷却至室温并滤出白色沉淀。将滤饼用EtOAc(5mL)洗涤,并将滤液在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的3-氯-5-异氰酸基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶(110mg),其直接用于步骤9。

[2899] 步骤2:3-甲基-4-(吡咯烷-1-基)-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯-1-甲酸叔丁酯



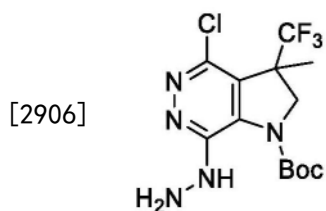
[2901] 在氮气气氛下,将3-甲基-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(方法K1步骤7;1.75g,6.55mmol)溶解在吡咯烷(17.5mL,213mmol)中,并将反应溶液冷却至0°C。在30分钟内通过注射器将1M氯化钛(IV)于DCM(3.27mL,3.27mmol)中的溶液逐滴加入到反应混合物中。前半部分TiCl₄的加入速度应使反应混合物在加入下一滴之前脱色。获得深红色混合物。使反应混合物温热至室温过夜。将反应混合物在冰水浴中冷却并用二乙醚(25mL)稀释。将该均匀混合物逐滴加入到冰冷的饱和水溶液中。NaHCO₃溶液(150mL),同时搅拌。用二乙醚(2x150 mL)萃取所得混合物。将合并的有机物用水(2x150 mL)和盐水(150mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤,在减压下浓缩,溶解在二乙醚中,转移到含有搅拌棒的100mL圆底烧瓶中,并使用油泵在45°C下在真空下浓缩2小时。由此得到呈黄色油状物的3-甲基-4-(吡咯烷-1-基)-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯-1-甲酸叔丁酯(1.97g),其直接用于下一步骤。

[2902] 步骤3:4,7-二氯-3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-1-甲酸叔丁酯



[2904] 将3-甲基-4-(吡咯烷-1-基)-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯-1-甲酸叔丁酯(1.97g,6.15mmol)于无水甲苯(35mL)中的溶液在冰水浴中冷却。立即加入3,6-二氯-1,2,4,5-四嗪(0.42g,2.78mmol)并将所得红色溶液在0°C下搅拌30分钟。在减压下去除溶剂,并将残留物与庚烷共蒸发三次以去除过量的四嗪,并通过快速柱色谱法(220g,0%-10%乙酸乙酯/庚烷)进行纯化。这提供了呈橙色油状物的4,7-二氯-3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-1-甲酸叔丁酯(800mg,35%产率),其静置后会凝固。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ:4.64(d,J=12.6Hz,1H),3.77(d,J=12.6Hz,1H),1.74(s,3H),1.54(s,9H);GC-MS:m/z 271[M-Boc]⁺。

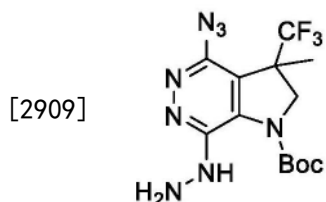
[2905] 步骤4:4-氯-7-胍基-3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-1-甲酸叔丁酯



[2907] 将4,7-二氯-3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-1-甲酸叔

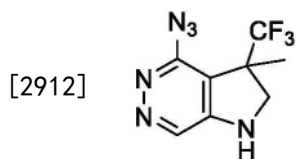
丁酯 (240mg, 0.645mmol) 溶解在乙醇 (96%, 10mL) 中, 并加入一水合肼 (0.491mL, 6.45mmol)。将反应混合物加热至 70°C 持续两小时, 然后冷却至环境温度过夜。通过过滤收集沉淀, 以获得呈白色固体的 4-氯-7-胍基-3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-1-甲酸叔丁酯 (170mg, 0.462mmol, 71.7% 产率)。LC-MS: m/z 368 [M+H]⁺。

[2908] 步骤5: 4-叠氮基-7-胍基-3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-1-甲酸叔丁酯



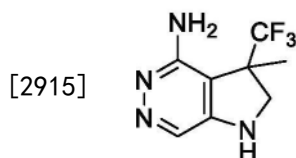
[2910] 在氮气气氛下, 将叠氮化钠 (0.457g, 7.04mmol) 加入到 4-氯-7-胍基-3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-1-甲酸叔丁酯 (1.294g, 3.52mmol) 于 DMF (35mL) 中的溶液中。将所得混合物在 80°C 下搅拌过夜。在减压下浓缩反应混合物, 溶解在 DMSO 中并通过制备型 HPLC 纯化。将纯级分合并并冷冻干燥, 以得到 4-叠氮基-7-胍基-3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-1-甲酸叔丁酯 (790mg, 60% 产率)。LC-MS: m/z 375 [M+H]⁺。

[2911] 步骤6: 4-叠氮基-3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪



[2913] 向 4-叠氮基-7-胍基-3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-1-甲酸叔丁酯 (374mg, 0.999mmol) 于乙醇 (35mL) 中的搅拌溶液中加入水 (35mL) 和五水合硫酸铜 (II) (1247mg, 5.00mmol)。将混合物在 70°C 下搅拌 30 小时。将反应混合物冷却至室温并经硅藻土过滤。将滤饼用乙醇洗涤, 并将滤液在减压下浓缩。通过色谱法纯化残留物, 以获得 4-叠氮基-3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪 (151mg, 62% 产率)。LC-MS: m/z 245 [M+H]⁺。

[2914] 步骤7: 3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-4-胺



[2916] 向 4-叠氮基-3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪 (151mg, 0.619mmol) 于乙酸 (10mL) 中的溶液中加入 10% 钯/活性炭 (57mg, 0.054mmol)。将所得悬浮液用氢气吹扫, 并在氢气气氛下在 70°C 下剧烈搅拌 16 小时。将反应混合物过滤, 将过滤器用乙酸乙酯冲洗, 并将滤液在减压下浓缩, 与甲苯和乙酸乙酯一起共蒸发, 以得到呈黄色固体的 3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-4-胺 (135mg, 97% 产率)。LC-MS: m/z 219 [M+H]⁺。

[2917] 步骤8: 2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]

哒嗪

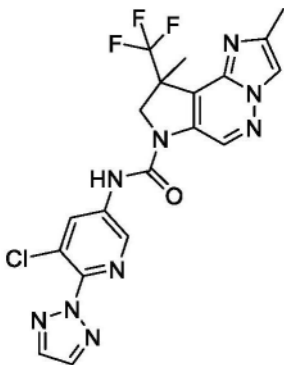
[2918]



[2919] 随后向3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-d]哒嗪-4-胺(129mg, 0.591mmol)于2-丙醇(30mL)中的溶液中加入溴丙酮(0.052mL, 0.621mmol)和DIPEA(0.206mL, 1.182mmol)。用隔膜盖住烧瓶并将反应混合物在50℃下搅拌6小时。将反应混合物在减压下浓缩,并将残留物通过快速柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪(61mg, 39%产率)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 7.97(s, 1H), 7.59(s, 1H), 4.07(d, J=10.9Hz, 1H), 3.89(bs, 1H), 3.54(d, J=10.9Hz, 1H), 2.46(s, 3H), 1.86(s, 3H); LC-MS: m/z 257[M+H]⁺。

[2920] 步骤9: N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺

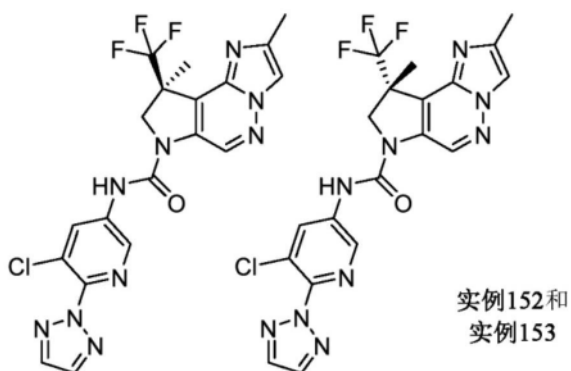
[2921]



[2922] 向2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪(30mg, 0.117mmol)于二氯甲烷(1.25mL)中的溶液中加入3-氯-5-异氰酸基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶(40mg, 0.154mmol),并将混合物搅拌10分钟。加入三乙胺(0.016mL, 0.117mmol),并将混合物搅拌14小时。将反应混合物在减压下浓缩,溶解在DMSO中,并通过色谱法进行纯化,以得到N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺(38mg) LC-MS: m/z 478[M+H]⁺。

[2923] 步骤10: 离对映异构体以获得(S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺和(R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺

[2924]

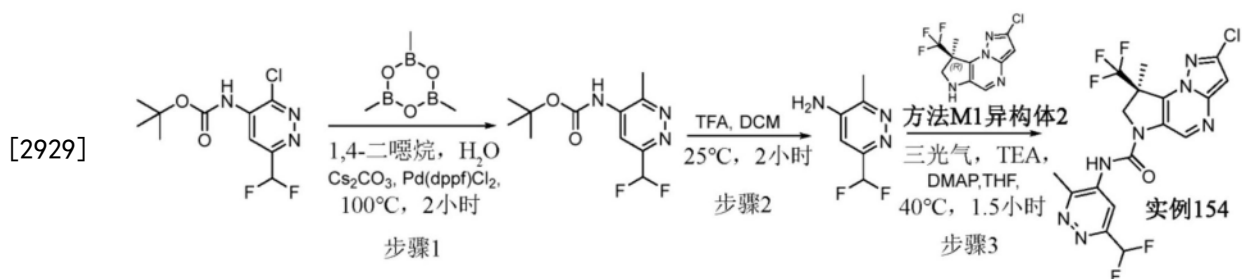


[2925] 对N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺(38mg)进行手性SFC(色谱柱: Chiralpak IC, 4.6x100mm, 5 μ m; 流动相A: CO₂, 流动相B: iPrOH-HPLC; 流速: 2.5毫升/分钟; 梯度: 在5分钟内, 30B到50%B; 210-320nm; RT1: 3.572; RT2: 3.907)。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干以得到实例152(10.6mg, 19%产率), 并将第二个洗脱异构体浓缩并冻干以得到实例153(9.3mg, 16.6%产率)。实例152和153是对映异构体, 但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[2926] 实例152: ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 9.31 (s, 1H), 8.59 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.44 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.95 (s, 2H), 7.78 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 4.56 (d, J=10.1Hz, 1H), 4.04 (d, J=10.1Hz, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.01 (s, 3H)。LC-MS: m/z 478 [M+H]⁺。

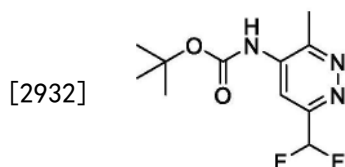
[2927] 实例153: ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 9.30 (s, 1H), 8.59 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.44 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.95 (s, 2H), 7.78 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 4.56 (d, J=10.1Hz, 1H), 4.02 (d, J=10.1Hz, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.01 (s, 3H)。LC-MS: m/z 478 [M+H]⁺。

[2928] 方法F5



[2930] 实例154: (R)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)-3-甲基哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

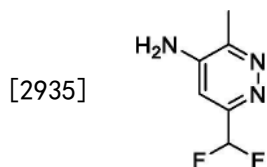
[2931] 步骤1: (6-(二氟甲基)-3-甲基哒嗪-4-基)氨基甲酸叔丁酯



[2933] 向(3-氯-6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)氨基甲酸叔丁酯(方法X4步骤2; 520mg, 1.9mmol)于二噁烷(16mL)和H₂O(4mL)中的搅拌溶液中加入2,4,6-三甲基-1,3,5,2,4,6-三氧杂三硼烷(26.9mg, 214.5 μ mol)、Pd(dppf)Cl₂(8.8mg, 10.7 μ mol)和Cs₂CO₃(104.9mg, 321.8 μ mol)。将混合物在氮气气氛下在100°C下搅拌2小时。将反应混合物冷却至25°C, 并在真空

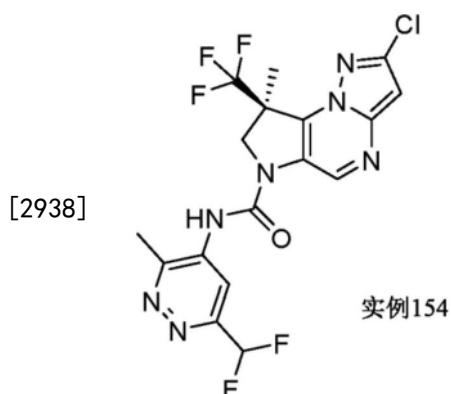
下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的(6-(二氟甲基)-3-甲基哒嗪-4-基)氨基甲酸叔丁酯(300mg,62%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:9.38(br,1H),8.26(s,1H),7.17(t,J=54.0Hz,1H),2.68(s,3H),1.54(s,9H)。LC-MS:m/z 260[M+H]⁺。

[2934] 步骤2:6-(二氟甲基)3-甲基哒嗪-4-胺



[2936] 向(6-(二氟甲基)-3-甲基哒嗪-4-基)氨基甲酸叔丁酯(270mg,1.0mmol)于二氯甲烷(9mL)中的搅拌溶液中加入TFA(3mL)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时,并在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(40mL)稀释。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈灰白色固体的6-(二氟甲基)3-甲基哒嗪-4-胺(130mg,78.8%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:6.92(t,J=54.8Hz,1H),6.81(s,1H),6.58(br,2H),2.42(s,3H)。LC-MS:m/z 160[M+H]⁺。

[2937] 步骤3:(R)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)-3-甲基哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

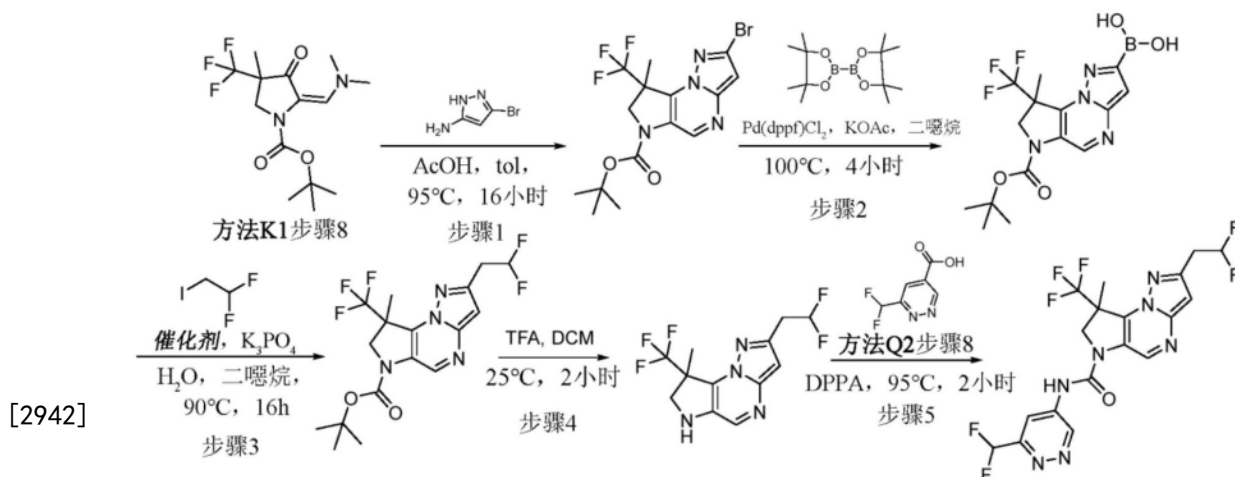


[2939] 向6-(二氟甲基)-3-甲基哒嗪-4-胺(40mg,251.4μmol)于四氢呋喃(8mL)中的搅拌溶液中加入碳酸双(三氯甲基)酯(44.8mg,150.8μmol)和TEA(38.2mg,377.0μmol)。将所得混合物在40℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(55.6mg,201.1μmol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(254.4mg,2.5mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(61.4mg,502.7μmol)。将混合物在40℃下搅拌1小时。将溶剂在真空下浓缩。将残留物通过使用96%二氯甲烷和4%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到90mg粗产物,将所述粗产物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)-3-甲基哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(25.6mg,21.8%产率)。实例154的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[2940] 实例154:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:9.32(s,1H),8.88(br,1H),8.24(s,1H),7.24(t,J=54.1Hz,1H),7.09(s,1H),4.96(d,J=11.7Hz,1H),4.39(d,J=11.7Hz,1H),2.76(s,

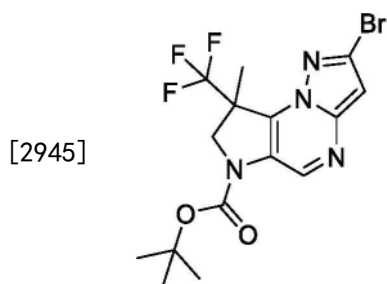
3H), 1.99 (s, 3H)。LC-MS: m/z 462 [M+H]⁺。

[2941] 方法G5



[2943] 实例155和156:由含有(S)-2-(2,2-二氟乙基)-N-(6-(二氟甲基)吡嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-(2,2-二氟乙基)-N-(6-(二氟甲基)吡嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

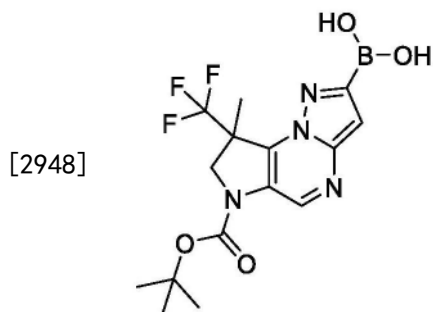
[2944] 步骤1: 2-溴-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[2946] 向(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(方法K1步骤8; 7g, 21.7mmol)于甲苯(100mL)中的搅拌溶液中加入3-溴-1H-吡唑-5-胺(3.5g, 21.7mmol)和乙酸(10mL)。将混合物在95°C下搅拌16小时。将反应混合物冷却至25°C,并在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(100mL)稀释。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-溴-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁

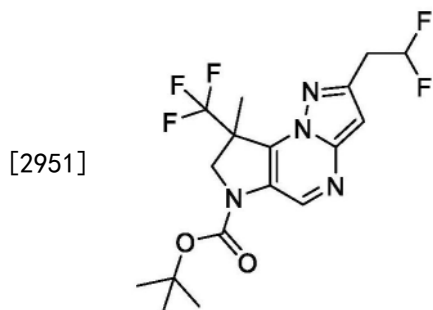
酯 (2.6g, 28% 产率)。LC-MS: m/z 421 [M+H]⁺。

[2947] 步骤2: (6-(叔丁氧基羰基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-2-基)硼酸



[2949] 在氮气气氛下,向2-溴-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯 (2.6g, 6.2mmol) 和4,4,5,5-四甲基-2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)-1,3,2-二氧硼烷 (1.9g, 7.4mmol) 于二噁烷 (100mL) 中的搅拌溶液中加入Pd(dppf)Cl₂ (903mg, 1.2mmol) 和乙酸钾 (1.8g, 18.5mmol)。将混合物在100℃下搅拌16小时。将混合物冷却至25℃。将所得混合物用乙酸乙酯 (200mL) 稀释。将所得混合物过滤。将滤饼用乙酸乙酯 (3x200mL) 洗涤。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(6-(叔丁氧基羰基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-2-基)硼酸 (2g, 67.1% 产率)。LC-MS: m/z 387 [M+H]⁺。

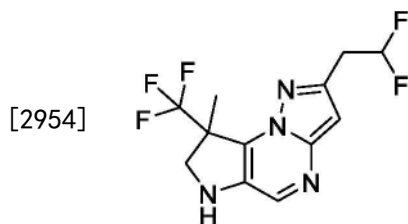
[2950] 步骤3: 2-(2,2-二氟乙基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[2952] 向(6-(叔丁氧基羰基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-2-基)硼酸 (1g, 2.6mmol) 于二噁烷 (20mL) 和水 (4mL) 中的搅拌溶液中加入钯、[1,3-双[2,6-双(1-丙基丁基)苯基]-4,5-二氯-1,3-二氢-2H-咪唑-2-亚基]二氯(3-氯吡啶-κN)-、(SP-4-1) (239mg, 258.9μmol)、1,1-二氟-2-碘乙烷 (5g, 26.0mmol) 和磷酸三钾 (1.1g, 5.2mmol)。将反应混合物在氮气气氛下在90℃下搅拌16小时。将反应冷却至25℃,并在真空下浓缩。将残留物用水 (100mL) 稀释,并用乙酸乙酯 (3x200mL) 萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-(2,2-二氟乙基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯 (400mg, 28.9% 产率)。LC-MS: m/z 407 [M+H]⁺。

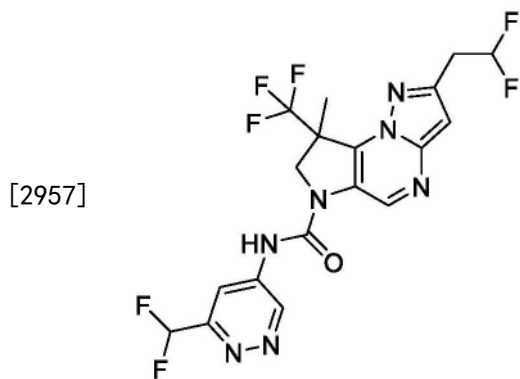
[2953] 步骤4: 2-(2,2-二氟乙基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]

吡咯并[2,3-e]嘧啶



[2955] 向2-(2,2-二氟乙基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(400mg, 984.3 μ mol)于二氯甲烷(25mL)中混合物中加入TFA(5mL)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(20mL)稀释,并用二氯甲烷(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈棕色固体的2-(2,2-二氟乙基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(230mg, 63.3%产率)。LC-MS:m/z 307[M+H]⁺。

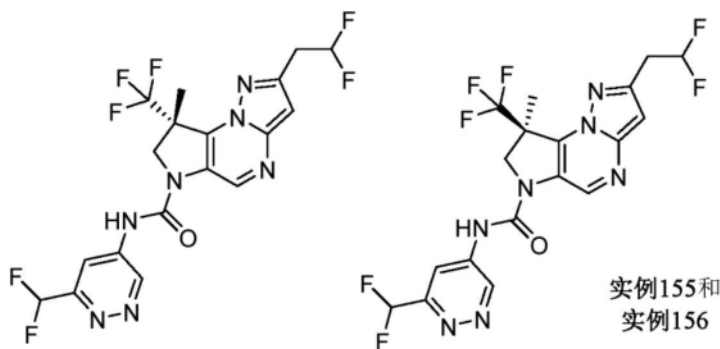
[2956] 步骤5:2-(2,2-二氟乙基)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2958] 向2-(2,2-二氟乙基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(200mg, 653.1 μ mol)和6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸(方法Q2步骤8; 114mg, 653.1 μ mol)于二噁烷(10mL)中的搅拌溶液中加入DPPA(191mg, 783.7 μ mol)和TEA(331mg, 3.3mmol)。将所得混合物在100 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。冷却至25 $^{\circ}$ C后,将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到粗产物,对所述粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的2-(2,2-二氟乙基)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(60mg, 19.1%产率)。LC-MS:m/z 478[M+H]⁺。

[2959] 步骤6:分离对映异构体以获得(S)-2-(2,2-二氟乙基)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-(2,2-二氟乙基)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2960]

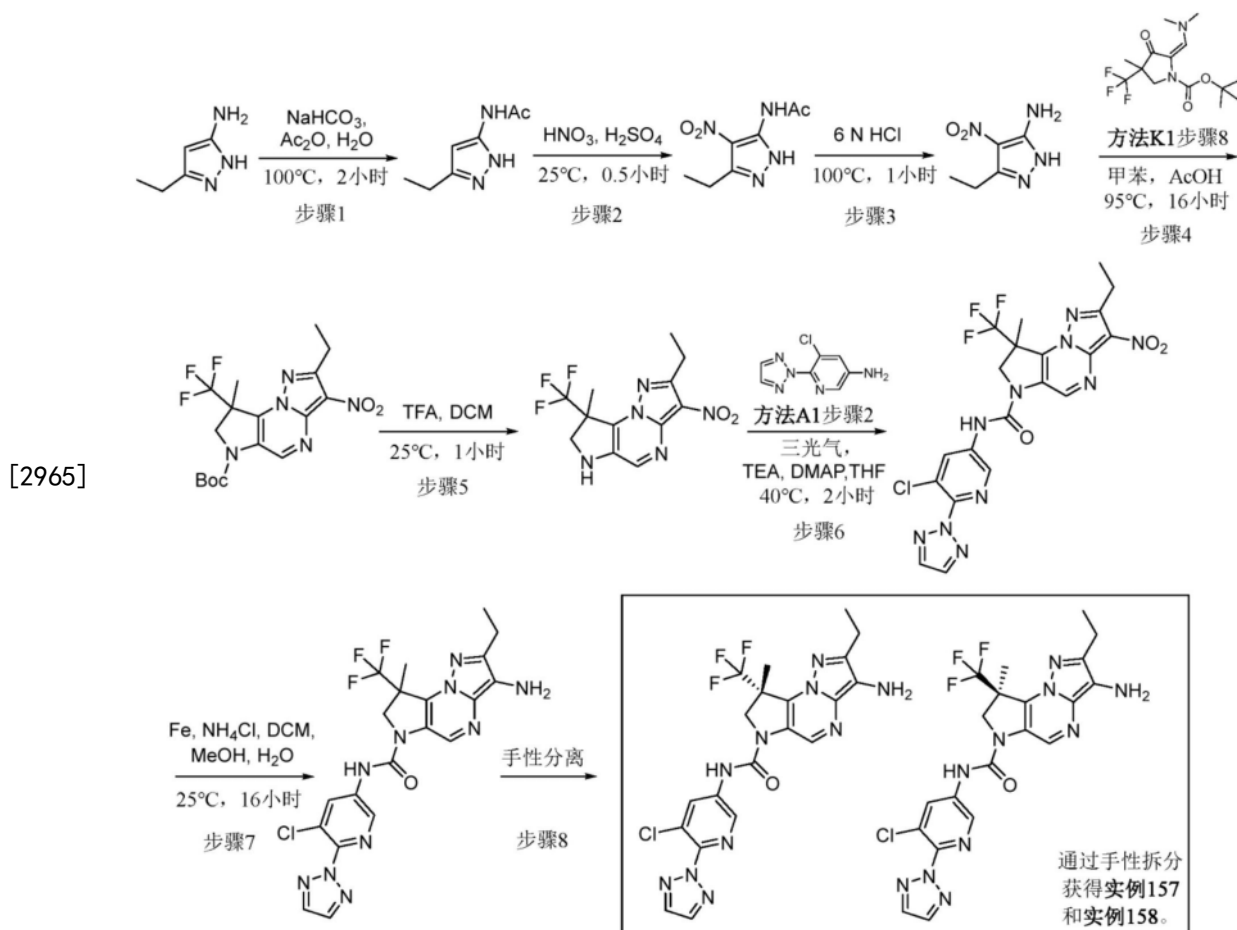


[2961] 对2-(2,2-二氟乙基)-N-(6-(二氟甲基)咪唑-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(55mg, 117.5 μ mol)进行手性HPLC: 色谱柱:Lux 5 μ m Cellulose-2, 2.12x25cm, 5 μ m; 流动相A:Hex(0.5% 2M NH₃-MeOH) --HPLC, 流动相B:EtOH--HPLC; 流速:20毫升/分钟; 梯度:在19分钟内, 50B到50B; 220/254nm; RT1: 8.682; RT2:17.225; 注射体积:3ml; 运行次数:3。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干以得到呈灰白色固体的实例155(17.5mg, 7.42%产率), 并将第二个洗脱异构体浓缩并冻干以得到呈灰白色固体的实例156(15.5mg, 6%产率)。实例155和156是对映异构体, 但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[2962] 实例155:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.90(br, 1H), 9.51(d, J=2.4Hz, 1H), 9.29(s, 1H), 8.21(d, J=2.4Hz, 1H), 7.24(t, J=54.4Hz, 1H), 6.86(s, 1H), 6.44(t, J=56.0Hz, 1H), 4.86(d, J=11.2Hz, 1H), 4.30(d, J=11.2Hz, 1H), 3.51-3.41(m, 2H), 2.01(s, 3H)。LC-MS:m/z478[M+H]⁺。

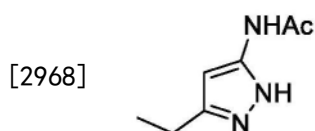
[2963] 实例156:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.91(br, 1H), 9.52(d, J=2.8Hz, 1H), 9.29(s, 1H), 8.22(d, J=2.4Hz, 1H), 7.24(t, J=54.4Hz, 1H), 6.86(s, 1H), 6.44(t, J=56.0Hz, 1H), 4.86(d, J=11.2Hz, 1H), 4.31(d, J=11.6Hz, 1H), 3.51-3.41(m, 2H), 2.01(s, 3H)。LC-MS:m/z478[M+H]⁺。

[2964] 方法H5



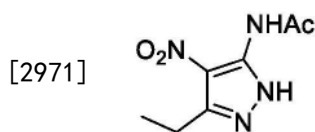
[2966] 实例157和158:由含有(S)-3-氨基-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-3-氨基-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[2967] 步骤1:N-(3-乙基-1H-吡唑-5-基)乙酰胺



[2969] 在 25°C 下,向3-乙基-1H-吡唑-5-胺(10.0g,90.0mmol)于水(100mL)中的搅拌溶液中缓慢加入 NaHCO_3 (22.7g,270.2mmol)和乙酸酐(18.3g,179.4mmol)。将反应混合物在 100°C 下搅拌2小时。将反应混合物在 25°C 下搅拌16小时。收集固体,以得到呈白色固体的N-(3-乙基-1H-吡唑-5-基)乙酰胺(5.3g,38%产率)。LC-MS: m/z 154[M+H]⁺。

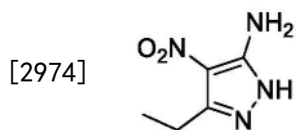
[2970] 步骤2:N-(3-乙基-4-硝基-1H-吡唑-5-基)乙酰胺



[2972] 0°C 下,向N-(3-乙基-1H-吡唑-5-基)乙酰胺(7.37g,48.1mmol)于浓硫酸(17mL)中的搅拌溶液中逐滴加入发烟硝酸(3.03g,48.1mmol)。将混合物在 25°C 下搅拌30分钟。将所

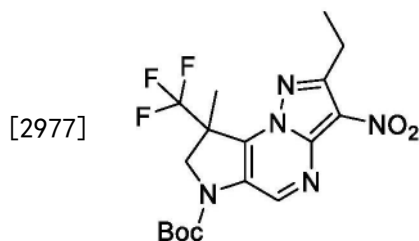
得混合物用冰水 (50mL) 稀释。通过过滤收集沉淀的固体,并将滤饼用水 (2x20mL) 洗涤。这导致呈白色固体的N-(3-乙基-4-硝基-1H-吡唑-5-基)乙酰胺 (5.4g, 56%产率)。LC-MS:m/z 199[M+H]⁺。

[2973] 步骤3:3-乙基-4-硝基-1H-吡唑-5-胺



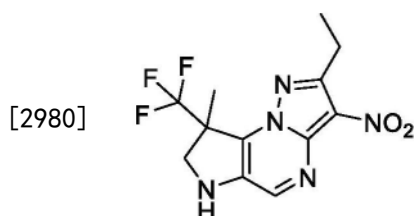
[2975] 将N-(3-乙基-4-硝基-1H-吡唑-5-基)乙酰胺 (5.40g, 27.2mmol) 溶解在水 (10mL) 和浓HCl (10mL) 中。将混合物在100℃下搅拌1小时。冷却至25℃后,浓缩反应混合物。将残留物用叔丁基甲基醚 (100mL) 稀释。通过过滤收集沉淀的固体,并将滤饼用叔丁基甲基醚 (2x50mL) 洗涤。这导致呈黄色固体的3-乙基-4-硝基-1H-吡唑-5-胺 (3.8g, 89%产率)。LC-MS:m/z 157[M+H]⁺。

[2976] 步骤4:2-乙基-8-甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[2978] 向3-乙基-4-硝基-1H-吡唑-5-胺 (500mg, 3.2mmol) 和(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (方法K1步骤8; 1.03g, 3.2mmol) 于甲苯 (20mL) 中的搅拌溶液中加入乙酸 (2mL)。将混合物在95℃下搅拌16小时。冷却至25℃后,将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2-乙基-8-甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯 (240mg, 18%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 9.39 (s, 1H), 4.38 (d, J=12.0Hz, 1H), 4.06 (d, J=12.0Hz, 1H), 3.16 (q, J=7.6Hz, 2H), 1.93 (s, 3H), 1.54 (s, 9H), 1.30 (t, J=8.0Hz, 3H)。LC-MS:m/z 416[M+H]⁺。

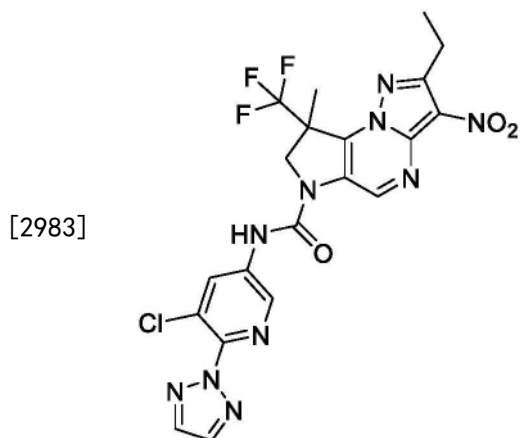
[2979] 步骤5:2-乙基-8-甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[2981] 在0℃下,向2-乙基-8-甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯 (220mg, 534.2μmol) 于二氯甲烷 (5mL) 中的搅拌溶液中加入TFA (1mL)。将混合物在25℃下搅拌1小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液 (40mL) 稀释。用二氯甲烷 (3x30mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水 (30mL) 洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙

酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2-乙基-8-甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(160mg,95%产率)。¹H NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ:8.62(s,1H),6.45(br,1H),3.94-3.99(m,1H),3.60-3.69(m,1H),3.09(q,J=7.6Hz,2H),1.83(s,3H),1.28(t,J=7.2Hz,3H)。LC-MS:m/z 316[M+H]⁺。

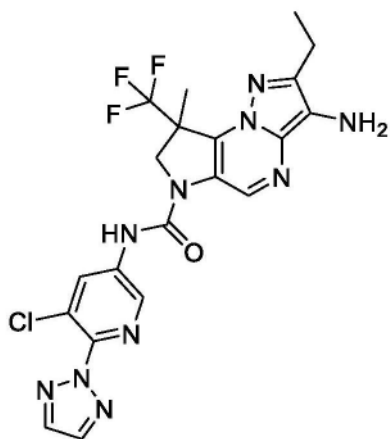
[2982] 步骤6:N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-乙基-8-甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[2984] 在0℃下,向5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2;100mg,511.1μmol)于四氢呋喃(30mL)中的搅拌溶液中加入三光气(91mg,307.4μmol)和TEA(77mg,762.3μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到2-乙基-8-甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(160mg,511.1μmol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(517mg,5.1mmol)和N,N-二甲氨基吡啶-4-胺(124mg,1.0mmol)。将混合物在40℃下搅拌2小时。将混合物用水(10mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC进行纯化,并将收集的级分在真空下浓缩,以得到呈黄色固体的N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-乙基-8-甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(180mg,65%产率)。¹H NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ:9.78(s,1H),9.60(s,1H),8.74(d,J=2.4Hz,1H),8.51(d,J=2.4Hz,1H),8.16(s,2H),4.91(d,J=11.6Hz,1H),4.34(d,J=11.6Hz,1H),3.16(q,J=7.6Hz,2H),2.01(s,3H),1.32(t,J=7.6Hz,3H)。LC-MS:m/z 537[M+H]⁺。

[2985] 步骤7:3-氨基-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

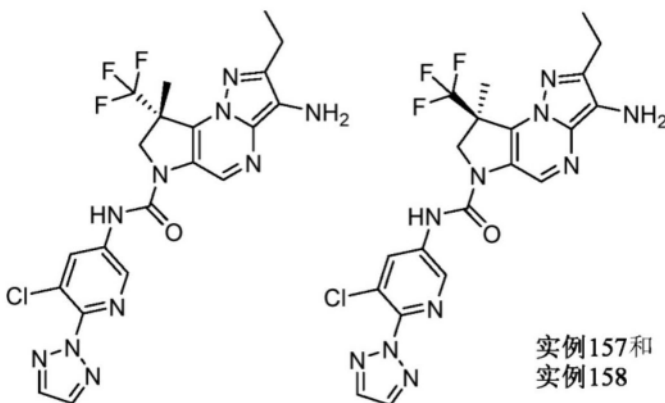
[2986]



[2987] 向N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-乙基-8-甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(80mg, 149.0 μ mol)于二氯甲烷(2mL)和甲醇(2mL)中的搅拌溶液中加入饱和NH₄Cl水溶液(2mL)和Fe(83mg, 1.5mmol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌16小时。将反应混合物用水(30mL)淬灭。然后用乙酸乙酯(3x30mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,并经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈黄色固体的3-氨基-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(44mg, 57%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ :9.47(br, 1H), 8.94(s, 1H), 8.72(d, J=2.1Hz, 1H), 8.50(d, J=2.1Hz, 1H), 8.15(s, 2H), 4.74(d, J=11.4Hz, 1H), 4.11-4.43(m, 3H), 2.72(q, J=7.6Hz, 2H), 1.95(s, 3H), 1.21(t, J=7.6Hz, 3H)。LC-MS:m/z507[M+H]⁺。

[2988] 步骤8:分离对映异构体以获得(S)-3-氨基-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-3-氨基-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[2989]

实例157和
实例158

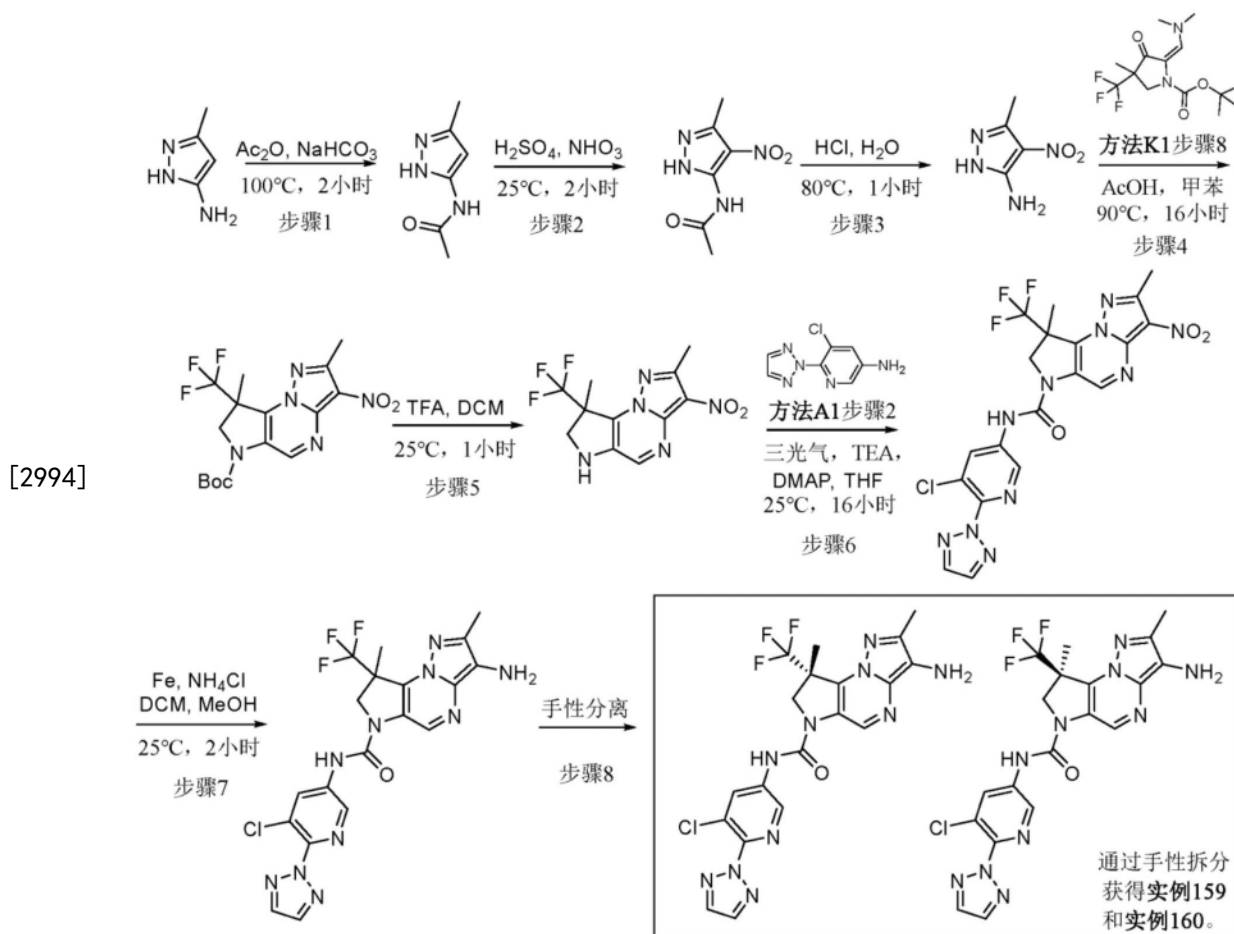
[2990] 对3-氨基-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(38mg, 74.9 μ mol)进行手性HPLC:色谱柱:CHIRAL ART Cellulose-SB, 2x25cm, 5 μ m;流动相A:Hex(0.5%2M NH₃-MeOH)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在18分钟内,50B到50B;254/220nm;RT1:11.603;RT2:15.848;注射体积:1ml;运行次数:9;将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例157(10.8mg, 28%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,

以得到呈白色固体的实例158 (9.9mg, 25%产率)。实例157和158是对映异构体,但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[2991] 实例157: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.47 (br, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.72 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.50 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.15 (s, 2H), 4.74 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 4.11-4.43 (m, 3H), 2.72 (q, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 1.96 (s, 3H), 1.21 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 3H)。LC-MS: m/z 507 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[2992] 实例158: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.58 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.75 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.52 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.17 (s, 2H), 4.77 (d, $J=11.7\text{Hz}$, 1H), 4.23-4.38 (m, 3H), 2.74 (q, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 1.98 (s, 3H), 1.24 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 3H)。LC-MS: m/z 507 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

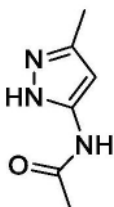
[2993] 方法I5



[2995] 实例159和160:由含有(S)-3-氨基-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-3-氨基-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[2996] 步骤1: N-(3-甲基-1H-吡唑-5-基)乙酰胺

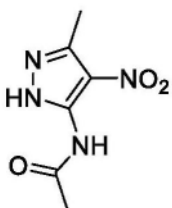
[2997]



[2998] 在25℃下,向3-甲基-1H-吡唑-5-胺(10.00g,102.9mmol)于水(100mL)中的溶液中加入NaHCO₃(25.95g,308.9mmol)和乙酸酐(21.02g,205.9mmol)。将反应混合物在100℃下搅拌2小时,然后将反应混合物在25℃下搅拌16小时。收集固体,以得到呈白色固体的N-(3-甲基-1H-吡唑-5-基)乙酰胺(7g,49%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:11.89(br,1H),10.17(br,1H),6.21(s,1H),2.15(s,3H),1.94(s,3H)。LC-MS:m/z 140[M+H]⁺。

[2999] 步骤2:N-(3-甲基-4-硝基-1H-吡唑-5-基)乙酰胺

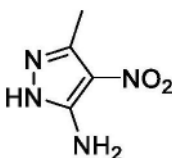
[3000]



[3001] 在0℃下,向N-(3-甲基-1H-吡唑-5-基)乙酰胺(7g,50.3mmol)于浓硫酸(20mL)中的溶液中加入发烟硝酸(2.5mL)。将反应溶液在25℃下搅拌2小时。将反应溶液倒在冰-水(100mL)上。收集固体,以得到呈黄色固体的N-(3-甲基-4-硝基-1H-吡唑-5-基)乙酰胺(5g,37%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:13.40(br,1H),10.21(br,1H),2.43(s,3H),2.12(s,3H)。LC-MS:m/z 185[M+H]⁺。

[3002] 步骤3:3-甲基-4-硝基-1H-吡唑-5-胺

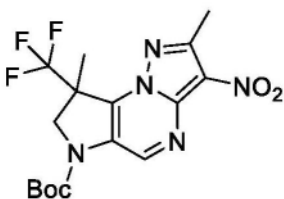
[3003]



[3004] 将N-(3-甲基-4-硝基-1H-吡唑-5-基)乙酰胺(5g,27.15mmol)于水(20mL)和浓HCl(20mL)中的混合物在80℃下搅拌1小时。将反应混合物冷却至25℃。将反应混合物浓缩。将固体通过二乙醚(50mL)洗涤。收集固体,以得到呈黄色固体的3-甲基-4-硝基-1H-吡唑-5-胺(3g,71%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:9.77(br,2H),2.29(s,3H)。LC-MS:m/z143[M+H]⁺。

[3005] 步骤4:2,8-二甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯

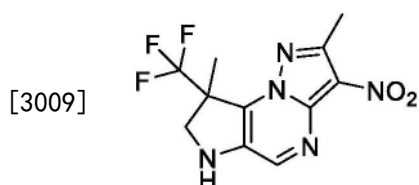
[3006]



[3007] 在25℃下,向3-乙基-4-硝基-1H-吡唑-5-胺(532mg,3.7mmol)于甲苯(10mL)中的搅拌溶液中加入(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-

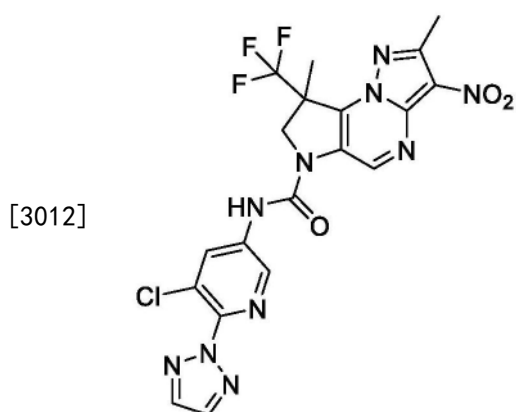
甲酸叔丁酯(方法K1步骤8;1.20g,3.7mmol)和乙酸(1mL)。将反应混合物在90℃下搅拌16小时。将反应溶液冷却至25℃。将反应溶液浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(30mL)稀释。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2,8-二甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(380mg,25%产率)。LC-MS:m/z 402[M+H]⁺。

[3008] 步骤5:2,8-二甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[3010] 在25℃下,向2,8-二甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(228mg,568.1μmol)于二氯甲烷(10mL)中的搅拌溶液中加入TFA(3mL)。将反应溶液在25℃下搅拌1小时。将pH用饱和NaHCO₃水溶液调整到8。用二氯甲烷(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并浓缩。将残留物通过使用25%石油醚和75%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2,8-二甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(114mg,63%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:8.62(s,1H),6.45(s,1H),3.97(dd,J=11.6,1.6Hz,1H),3.64(dd,J=11.6,2.0Hz,1H),2.66(s,3H),1.83(s,3H)。LC-MS:m/z 302[M+H]⁺。

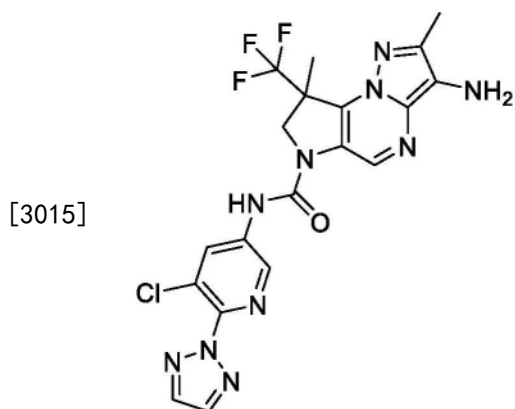
[3011] 步骤6:N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3013] 在0℃下,向5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2;40mg,208.1μmol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中加入三光气(34mg,113.5μmol)和TEA(28mg,283.8μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到2,8-二甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(54mg,178.8μmol)于四氢呋喃(5mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(46mg,378.4μmol)。将混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈黄色固体的N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-

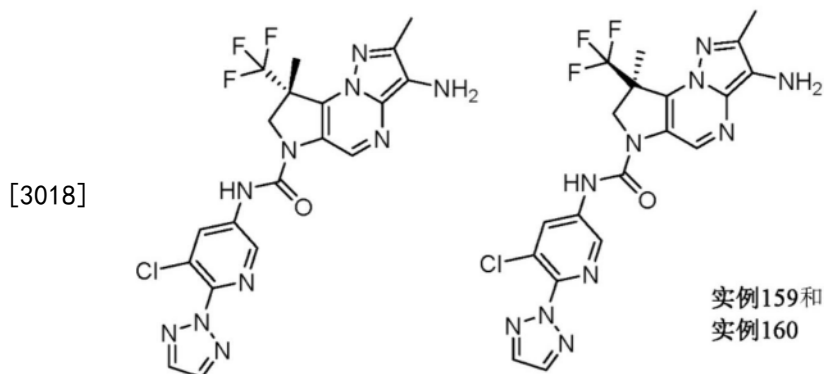
二甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (52mg, 48%产率)。LC-MS:m/z 523[M+H]⁺。

[3014] 步骤7:3-氨基-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3016] 在氮气下,向N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-3-硝基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (46mg, 87.98 μ mol) 于甲醇 (25mL) 和二氯甲烷 (25mL) 中的搅拌溶液中加入饱和NH₄Cl水溶液 (25mL) 和Fe (49mg, 879.8 μ mol)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。用二氯甲烷 (3x30mL) 萃取反应混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并浓缩。将残留物通过制备型HPLC进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈黄色固体的3-氨基-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (28.6mg, 66%产率)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ : 9.58 (br, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.74 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.52 (d, J=2.1Hz, 1H), 8.18 (s, 2H), 4.77 (d, J=11.7Hz, 1H), 4.30 (br, 2H), 4.25 (d, J=11.7Hz, 1H), 2.35 (s, 3H), 1.97 (s, 3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]⁺。

[3017] 步骤8:分离对映异构体以获得(S)-3-氨基-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-3-氨基-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



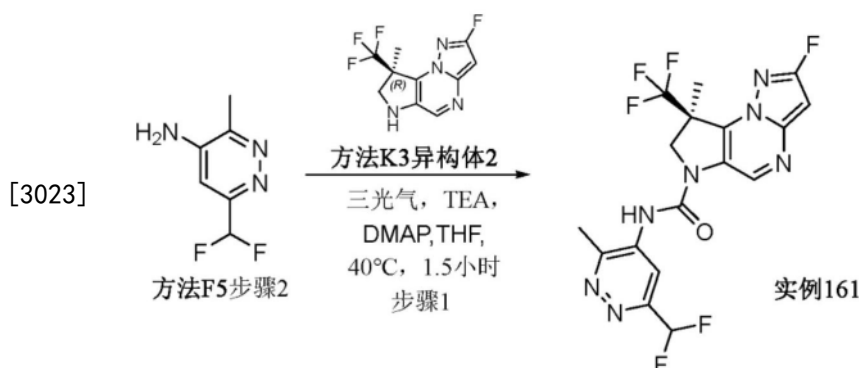
[3019] 对25mg 3-氨基-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,8-二甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺进行手性HPLC: CHIRAL ART Cellulose-SB, 2x25cm, 5 μ m; 流动相A: Hex (0.5% 2M NH₃-MeOH) -HPLC, 流动相B: EtOH -HPLC; 流速: 20毫升/分钟; 梯度: 在21分钟内, 50B到50B; 220/254nm; RT1: 14.363;

RT2:19.752;注射体积:0.7ml;运行次数:10。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈黄色固体的实例159(3.1mg,12%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈黄色固体的实例160(3.5mg,14%产率)。实例159和160是对映异构体,但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[3020] 实例159:¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ:9.57 (br, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.74 (d, J=2.3Hz, 1H), 8.51 (d, J=2.3Hz, 1H), 8.17 (s, 2H), 4.76 (d, J=11.5Hz, 1H), 4.30 (br, 2H), 4.24 (d, J=11.5Hz, 1H), 2.34 (s, 3H), 1.96 (s, 3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]⁺。

[3021] 实例160:¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ:9.57 (br, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.73 (d, J=2.3Hz, 1H), 8.51 (d, J=2.3Hz, 1H), 8.17 (s, 2H), 4.76 (d, J=11.5Hz, 1H), 4.30 (br, 2H), 4.24 (d, J=11.5Hz, 1H), 2.34 (s, 3H), 1.96 (s, 3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]⁺。

[3022] 方法J5



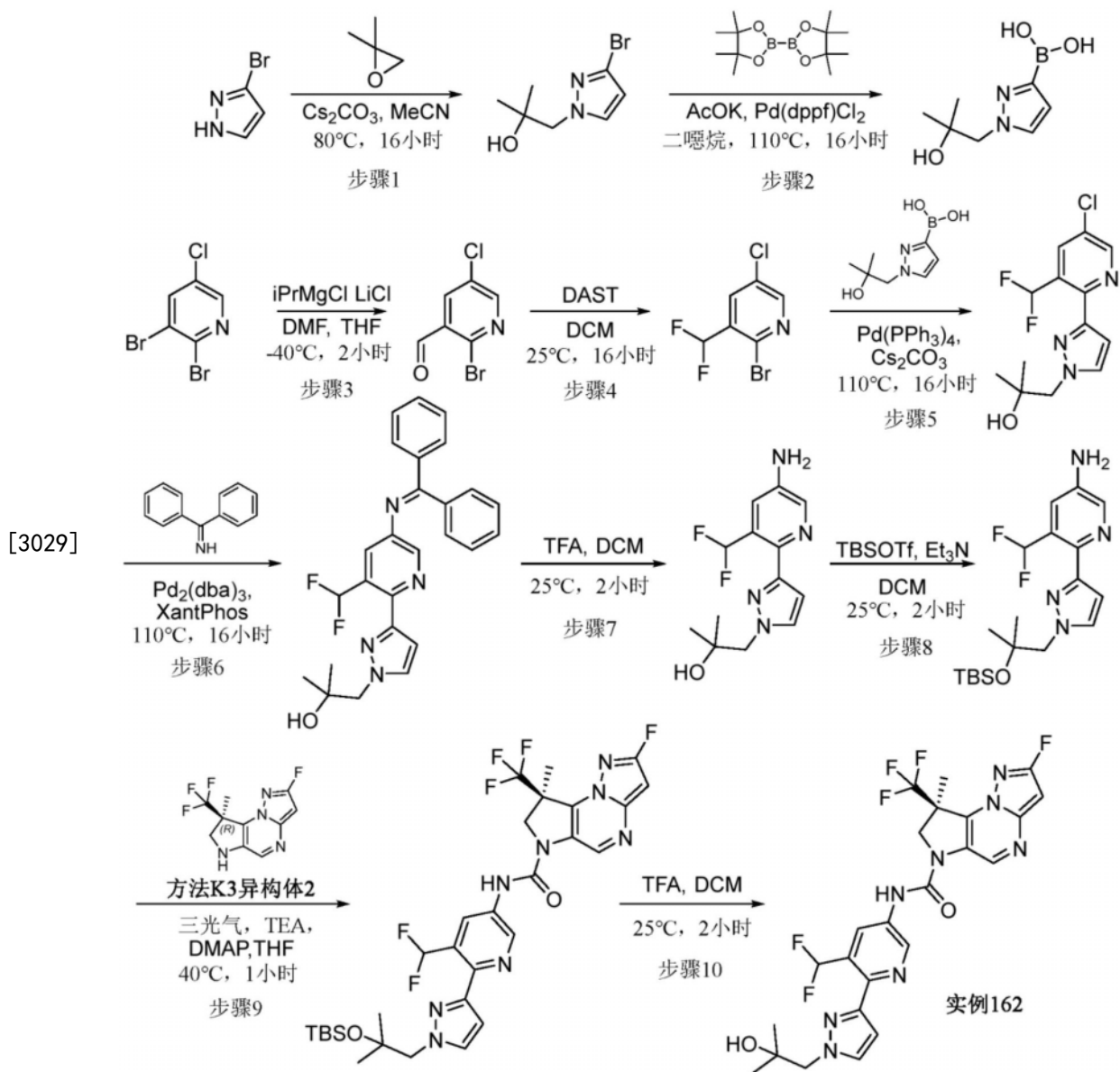
[3024] 实例161: (R)-N-(6-(二氟甲基)-3-甲基吡啶-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]咪啉-6-甲酰胺

[3025] 步骤1: (R)-N-(6-(二氟甲基)-3-甲基吡啶-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]咪啉-6-甲酰胺

[3026] 向6-(二氟甲基)-3-甲基吡啶-4-胺(方法F5步骤2;40mg,251.4 μ mol)于四氢呋喃(8mL)中的搅拌溶液中加入三光气(45mg,150.8 μ mol)和TEA(38mg,377 μ mol)。将所得混合物在40°C下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到(R)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]咪啉(方法K3异构体2;52mg,200 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(255mg,2.5mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(61mg,502.7 μ mol)。将混合物在40°C下搅拌1.5小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用96%二氯甲烷和4%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到90mg粗产物,将所述粗产物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-N-(6-(二氟甲基)-3-甲基吡啶-4-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]咪啉-6-甲酰胺(29.2mg,33%产率)。实例161的对映异构体可以使用方法K3异构体1类似地制备。

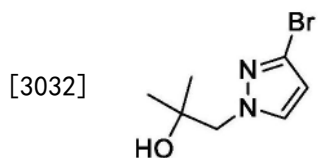
[3027] 实例161:¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ:9.31 (s, 1H), 8.87 (br, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.30 (t, J=54.3Hz, 1H), 6.71 (d, J=5.1Hz, 1H), 4.96 (d, J=11.4Hz, 1H), 4.38 (d, J=11.4Hz, 1H), 2.78 (s, 3H), 1.98 (s, 3H)。LC-MS:m/z 446[M+H]⁺。

[3028] 方法K5



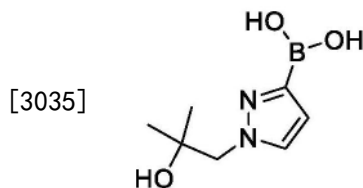
[3030] 实例162: (R)-N-(5-(二氟甲基)-6-(1-(2-羟基-2-甲基丙基)-1H-吡唑-3-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3031] 步骤1: 1-(3-溴-1H-吡唑-1-基)-2-甲基丙-2-醇



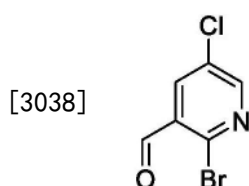
[3033] 向3-溴-1H-吡唑 (10.0g, 68.0mmol) 于乙腈 (100mL) 中的搅拌混合物中加入碳酸铯 (44.3g, 136.1mmol) 和2,2-二甲基环氧乙烷 (24.5g, 340.2mmol)。将混合物在80°C下搅拌16小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用水 (100mL) 稀释。用乙酸乙酯 (3x100mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用95%石油醚和5%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈黄色油状物的1-(3-溴-1H-吡唑-1-基)-2-甲基丙-2-醇 (18.5g, 37%产率)。LC-MS: m/z 219 [M+H]⁺。

[3034] 步骤2: (1-(2-羟基-2-甲基丙基)-1H-吡唑-3-基)硼酸



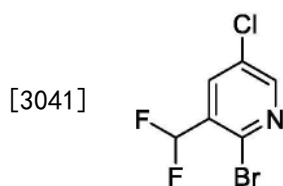
[3036] 在氮气气氛下,向1-(3-溴-1H-吡唑-1-基)-2-甲基丙-2-醇(8.0g,36.5mmol)于二噁烷(80mL)中的搅拌混合物中加入4,4,4',4',5,5,5',5'-八甲基-2,2'-双(1,3,2-二氧硼烷)(11.1g,43.8mmol)、乙酸钾(10.8g,109.6mmol)和Pd(dppf)Cl₂(5.3g,7.3mmol)。将反应混合物在110℃下搅拌16小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC进行纯化,并将收集的级分浓缩,以得到呈无色油状物的(1-(2-羟基-2-甲基丙基)-1H-吡唑-3-基)硼酸(8.5g,38%产率)。LC-MS:m/z 185[M+H]⁺。

[3037] 步骤3:2-溴-5-氯烟醛



[3039] 在氮气气氛下在-40℃下,向2,3-二溴-5-氯吡啶(10.0g,36.9mmol)于四氢呋喃(50mL)中的搅拌溶液中逐滴加入异丙基镁(II)氯化锂(31.2mL,40.6mmol,1.3M,于四氢呋喃中)。将反应混合物在-40℃下搅拌1小时。在-40℃下逐滴加入N,N-二甲基甲酰胺(20mL)。将反应混合物在25℃下搅拌1小时。将反应混合物用HCl(50mL,1M)淬灭。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2-溴-5-氯烟醛(5.4g,66%产率)。LC-MS:m/z 220[M+H]⁺。

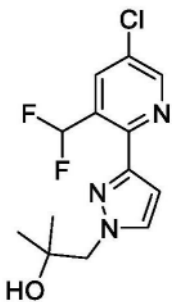
[3040] 步骤4:2-溴-5-氯-3-(二氟甲基)吡啶



[3042] 在0℃下,向2-溴-5-氯烟醛(5.4g,25.0mmol)于二氯甲烷(100mL)中的搅拌溶液中逐滴加入DAST(12.1g,74.9mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物用水(100mL)淬灭。用二氯甲烷(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-溴-5-氯-3-(二氟甲基)吡啶(1.3g,21%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆)δ:8.68-8.70(m,1H),8.26(d,J=2.4Hz,1H),7.15(t,J=53.4Hz,1H)。LC-MS:m/z 242[M+H]⁺。

[3043] 步骤5:1-(3-(5-氯-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-吡唑-1-基)-2-甲基丙-2-醇

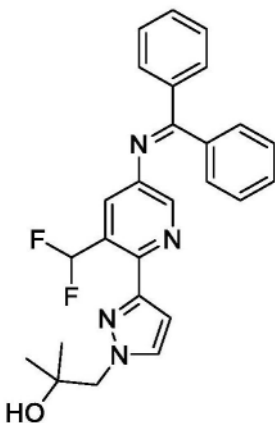
[3044]



[3045] 在氮气气氛下,向2-溴-5-氯-3-(二氟甲基)吡啶(1.2g,5.0mmol)于二噁烷(30mL)和水(20mL)中的搅拌混合物中加入(1-(2-羟基-2-甲基丙基)-1H-吡唑-3-基)硼酸(9.1g,49.5mmol)、碳酸铯(4.0g,12.4mmol)和Pd(PPh₃)₄(362.2mg,495.0μmol)。将反应混合物在110℃下搅拌16小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的1-(3-(5-氯-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-吡唑-1-基)-2-甲基丙-2-醇(1.8g,47%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ:8.82-8.83(m,1H),8.22(d,J=2.4Hz,1H),7.94(t,J=54.8Hz,1H),7.81(d,J=2.4Hz,1H),6.89(d,J=2.4Hz,1H),4.75(s,1H),4.12(s,2H),1.12(s,6H)。LC-MS:m/z 302[M+H]⁺。

[3046] 步骤6:1-(3-(3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)-1H-吡唑-1-基)-2-甲基丙-2-醇

[3047]



[3048] 在氮气气氛下,向1-(3-(5-氯-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-吡唑-1-基)-2-甲基丙-2-醇(1.8g,2.3mmol)于二噁烷(20mL)中的搅拌混合物中加入二苯基甲亚胺(846mg,4.7mmol)、Pd₂(dba)₃(427mg,466.7μmol)和XantPhos(270mg,466.7μmol)。将反应混合物在110℃下搅拌16小时。将反应混合物在减压下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的1-(3-(3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)-1H-吡唑-1-基)-2-甲基丙-2-醇(2.0g,92%产率)。LC-MS:m/z 447[M+H]⁺。

[3049] 步骤7:1-(3-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-吡唑-1-基)-2-甲基丙-2-醇

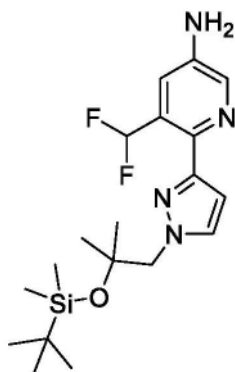
[3050]



[3051] 向1-(3-(3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)-1H-吡唑-1-基)-2-甲基丙-2-醇(2.0g, 2.2mmol)于二氯甲烷(15mL)中的搅拌混合物中加入TFA(5mL)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(50mL)稀释。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%二氯甲烷和20%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的1-(3-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-吡唑-1-基)-2-甲基丙-2-醇(470mg, 69%产率)。LC-MS:m/z 283[M+H]⁺。

[3052] 步骤8:6-(1-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-甲基丙基)-1H-吡唑-3-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-胺

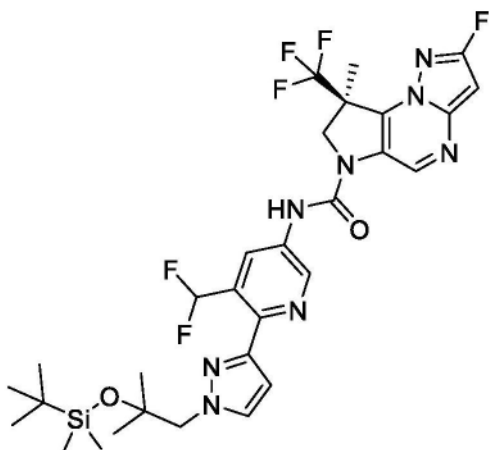
[3053]



[3054] 向1-(3-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-吡唑-1-基)-2-甲基丙-2-醇(500mg, 1.8mmol)于二氯甲烷(5mL)中的搅拌混合物中加入TEA(538mg, 5.3mmol)和二甲基甲硅烷基三氟甲磺酸叔丁酯(936mg, 3.5mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩。将残留物用水(10mL)稀释。用乙酸乙酯(2x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用40%石油醚和60%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的6-(1-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-甲基丙基)-1H-吡唑-3-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-胺(330mg, 42%产率)。LC-MS:m/z 397[M+H]⁺。

[3055] 步骤9:(R)-N-(6-(1-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-甲基丙基)-1H-吡唑-3-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

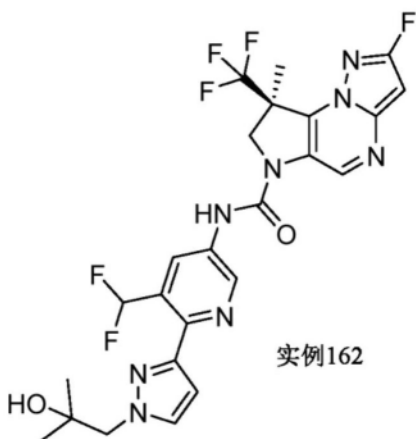
[3056]



[3057] 向6-(1-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-甲基丙基)-1H-吡啶-3-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-胺(70mg, 176.5 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的搅拌溶液中加入三光气(21mg, 70.6 μ mol)和TEA(17.9mg, 176.5 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到(R)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(方法K3异构体2; 31mg, 117.7 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入TEA(119mg, 1.2mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(22mg, 176.5 μ mol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将反应混合物用水(10mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的(R)-N-(6-(1-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-甲基丙基)-1H-吡啶-3-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(44mg, 21%产率)。LC-MS:m/z 683[M+H]⁺。

[3058] 步骤10: (R)-N-(5-(二氟甲基)-6-(1-(2-羟基-2-甲基丙基)-1H-吡啶-3-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3059]

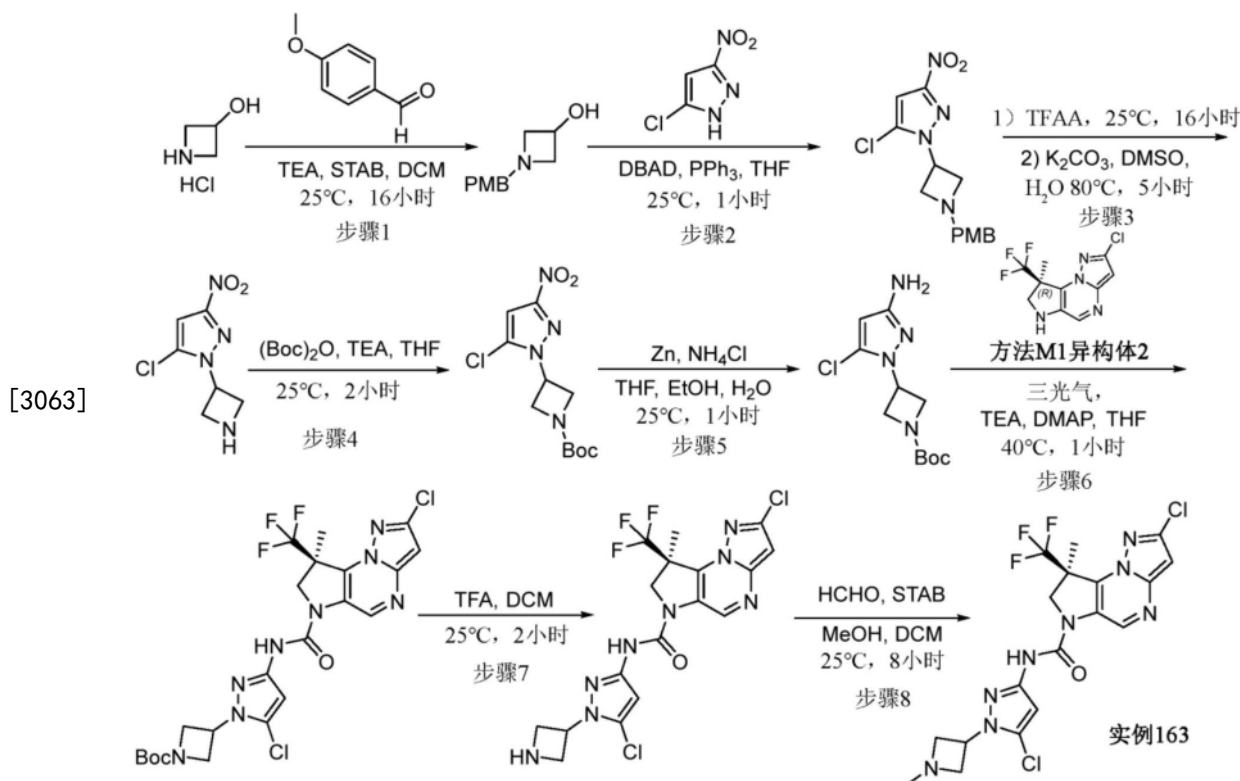


[3060] 向(R)-N-(6-(1-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-甲基丙基)-1H-吡啶-3-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(44mg, 64.5 μ mol)于二氯甲烷(2mL)中的搅拌溶液中加入2,2,2-三氟乙酸(2mL)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将所得混合物在减压下浓缩。将残留物

通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-N-(5-(二氟甲基)-6-(1-(2-羟基-2-甲基丙基)-1H-吡唑-3-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(12mg,33%产率)。实例162的对应的对映异构体可以使用方法K3异构体1类似地制备。

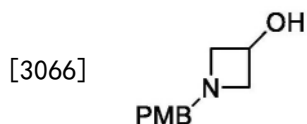
[3061] 实例162: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ : 9.36 (s, 1H), 8.95 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.41 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.97 (t, $J=55.2\text{Hz}$, 1H), 7.78 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 6.84 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 6.67 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 4.84 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.29 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 4.11 (s, 2H), 1.97 (s, 3H), 1.12 (s, 6H)。LC-MS: m/z 569 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[3062] 方法L5



[3064] 实例163: (R)-2-氯-N-(5-氯-1-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

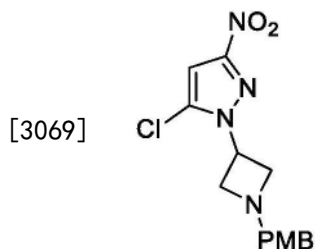
[3065] 步骤1: 1-(4-甲氧基苄基)氮杂环丁烷-3-醇



[3067] 向4-甲氧基苯甲醛(1.00g, 7.3mmol)于二氯甲烷(10mL)中的混合物中加入氮杂环丁烷-3-醇盐酸盐(933mg, 8.5mmol)和TEA(862mg, 8.5mmol)。将混合物在25°C下搅拌1小时,然后分份加入三乙酰氧基硼氢化钠(3.11g, 14.7mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌16小时。将反应混合物通过水(100mL)淬灭,并用二氯甲烷(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用10%石油醚和90%乙酸乙酯(1% TEA)作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的1-(4-甲氧基苄基)氮杂环丁烷-3-醇(886mg, 62%产率)。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ : 7.10-

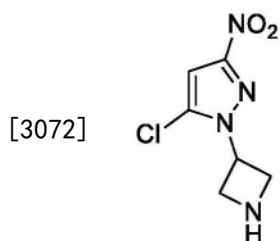
7.16 (m, 2H), 6.80-6.85 (m, 2H), 5.23 (d, J=6.4Hz, 1H), 3.90-4.20 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.37-3.45 (m, 4H), 2.65-2.71 (m, 2H)。LC-MS:m/z 194[M+H]⁺。

[3068] 步骤2:5-氯-1-(1-(4-甲氧基苄基)氮杂环丁烷-3-基)-3-硝基-1H-吡唑



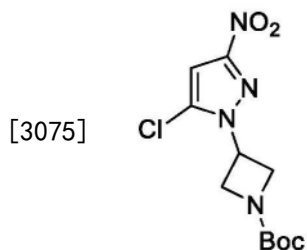
[3070] 向5-氯-3-硝基-1H-吡唑(1.0g, 6.8mmol)于四氢呋喃(100mL)中的搅拌溶液中加入1-(4-甲氧基苄基)氮杂环丁烷-3-醇(2.0g, 10.1mmol)、偶氮二甲酸二苄酯(3.1g, 13.5mmol)和三苯膦(3.6g, 13.6mmol)。将混合物在25℃下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的5-氯-1-(1-(4-甲氧基苄基)氮杂环丁烷-3-基)-3-硝基-1H-吡唑(1g, 60%产率)。LC-MS:m/z 323[M+H]⁺。

[3071] 步骤3:1-(氮杂环丁烷-3-基)-5-氯-3-硝基-1H-吡唑



[3073] 将5-氯-1-(1-(4-甲氧基苄基)氮杂环丁烷-3-基)-3-硝基-1H-吡唑(1.0g, 3.1mmol)于三氟乙酸酐(20mL)中的混合物在25℃下搅拌16小时。浓缩混合物,并将残留物稀释在二甲亚砜(8mL)和水(4mL)中。向该混合物中加入K₂CO₃(1.71g, 12.4mmol)。将混合物在80℃下搅拌5小时。冷却至25℃后,将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩,以得到呈黄色固体的1-(氮杂环丁烷-3-基)-5-氯-3-硝基-1H-吡唑(620mg, 粗品),其为无需进一步纯化直接使用。LC-MS:m/z 203[M+H]⁺。

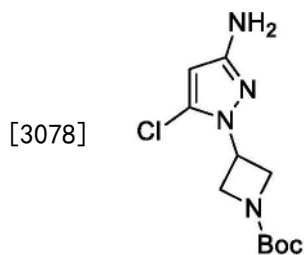
[3074] 步骤4:3-(5-氯-3-硝基-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯



[3076] 向1-(氮杂环丁烷-3-基)-5-氯-3-硝基-1H-吡唑(200mg, 987.1μmol)于四氢呋喃(10mL)中的搅拌溶液中加入(Boc)₂O(323mg, 1.5mmol)和TEA(300mg, 3.0mmol)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用85%石油醚和15%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的3-(5-氯-3-硝基-1H-吡

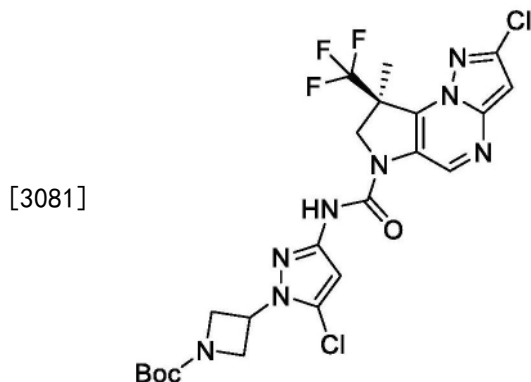
唑-1-基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(120mg,40%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ :7.44(s,1H),5.39-5.59(m,1H),4.36-4.38(m,2H),4.10-4.23(m,2H),1.42(s,9H)。LC-MS:m/z 303[M+H]⁺。

[3077] 步骤5:3-(3-氨基-5-氯-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯



[3079] 向3-(5-氯-3-硝基-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(150mg,495.5 μ mol)于四氢呋喃(4mL)中的搅拌混合物中加入乙醇(1mL)、水(1mL)、NH₄Cl(398mg,7.4mmol)和Zn(324mg,5.0mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌1小时。将固体滤出。将滤液浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的3-(3-氨基-5-氯-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(100mg,74%产率)。LC-MS:m/z 273[M+H]⁺。

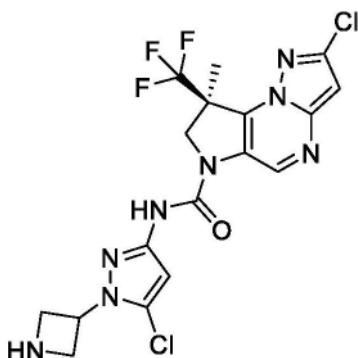
[3080] 步骤6:(R)-3-(5-氯-3-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯



[3082] 向方法M1异构体2(40mg,144.6 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的混合物中加入三光气(26mg,86.8 μ mol)和TEA(22mg,216.9 μ mol)。将混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到3-(3-氨基-5-氯-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(79mg,289.2 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(146mg,1.5mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(35mg,289.1 μ mol)。将混合物在40℃下搅拌1小时。将反应混合物浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的(R)-3-(5-氯-3-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(40mg,48%产率)。LC-MS:m/z 575[M+H]⁺。

[3083] 步骤7:(R)-N-(1-(氮杂环丁烷-3-基)-5-氯-1H-吡唑-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

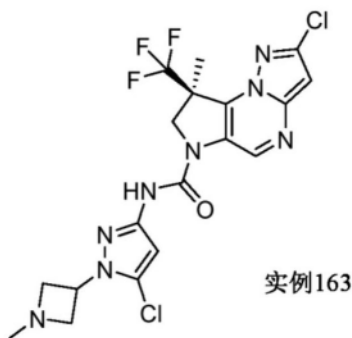
[3084]



[3085] 向(R)-3-(5-氯-3-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(40mg, 69.5 μ mol)于二氯甲烷(4mL)中的搅拌溶液中加入TFA(2mL)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将反应混合物浓缩,以得到呈黄色固体的(R)-N-(1-(氮杂环丁烷-3-基)-5-氯-1H-吡唑-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(40mg,粗品),其无需进一步纯化即可直接使用。LC-MS:m/z 475[M+H]⁺。

[3086] 步骤8:(R)-2-氯-N-(5-氯-1-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3087]

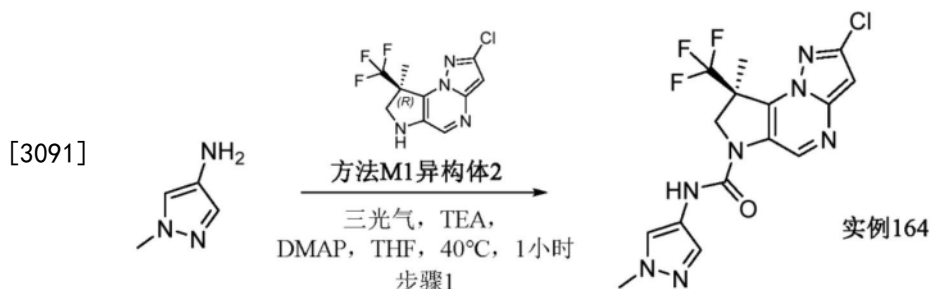


实例163

[3088] 向(R)-N-(1-(氮杂环丁烷-3-基)-5-氯-1H-吡唑-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(50mg, 105.2 μ mol)于二氯甲烷(2mL)和甲醇(2mL)中的搅拌混合物中加入甲醛(34mg, 420.8 μ mol, 37%, 于水中)和三乙酰氧基硼氢化钠(89mg, 420.8 μ mol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌8小时。将反应混合物在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-1-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(15.0mg, 29%产率)。实例163的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

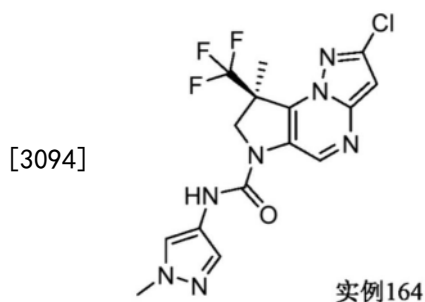
[3089] 实例163:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ : 10.01(s, 1H), 9.30(s, 1H), 7.04(s, 1H), 6.56(s, 1H), 4.94-5.05(m, 1H), 4.89(d, J=11.6Hz, 1H), 4.18(d, J=11.6Hz, 1H), 3.74-3.84(m, 2H), 3.38-3.47(m, 2H), 2.35(s, 3H), 1.94(s, 3H)。LC-MS:m/z 489[M+H]⁺。

[3090] 方法M5



[3092] 实例164: (R)-2-氯-8-甲基-N-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3093] 步骤1: (R)-2-氯-8-甲基-N-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

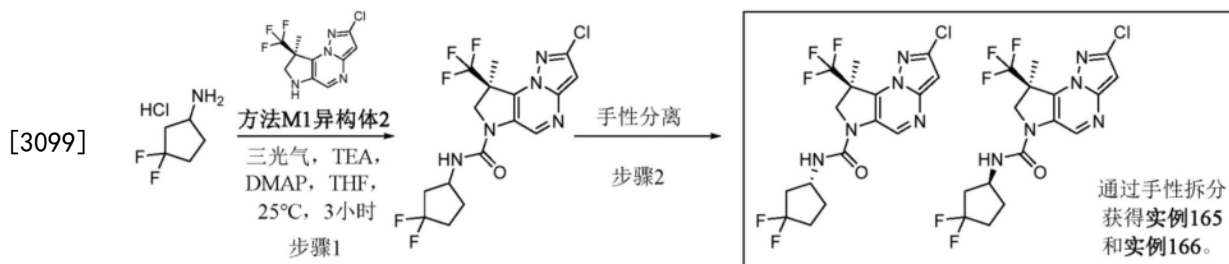


[3095] 向1-甲基-1H-吡唑-4-胺(21mg, 217.4 μ mol)于四氢呋喃(6mL)中的搅拌溶液中加入三光气(20mg, 65.2 μ mol)和TEA(17mg, 168.3 μ mol)。将所得混合物在28°C下搅拌0.5

[3096] 小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(30mg, 108.7 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(27mg, 217.4 μ mol)和TEA(110mg, 1.1mmol)。将混合物在40°C下搅拌1小时。使混合物冷却至25°C。将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到粗产物。对粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈灰白色固体的(R)-2-氯-8-甲基-N-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(17.6mg, 28%产率)。实例164的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[3097] 实例164: ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.35(s, 1H), 9.13(br, 1H), 7.81(d, J=0.8Hz, 1H), 7.45(d, J=0.8Hz, 1H), 7.03(s, 1H), 4.67(d, J=11.2Hz, 1H), 4.16(d, J=11.6Hz, 1H), 3.81(s, 3H), 1.96(s, 3H)。LC-MS: m/z 400[M+H] $^+$ 。

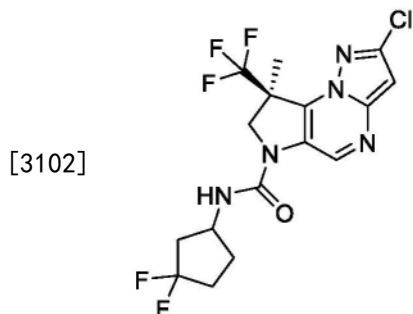
[3098] 方法N5



[3100] 实例165和166: 由含有(R)-2-氯-N-((R)-3,3-二氟环戊基)-8-甲基-8-(三氟甲

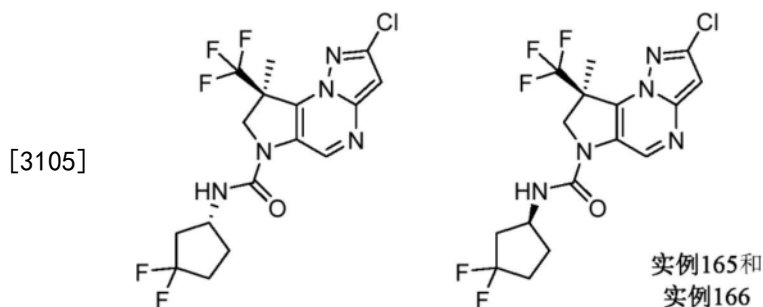
基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-((S)-3,3-二氟环戊基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[3101] 步骤1: (8R)-2-氯-N-(3,3-二氟环戊基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3103] 向方法M1异构体2 (40mg, 144.6 μ mol) 于四氢呋喃 (2mL) 中的搅拌溶液中加入三光气 (26mg, 86.8 μ mol) 和TEA (22mg, 216.9 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时, 然后过滤。将滤液加入到3,3-二氟环戊烷-1-胺盐酸盐 (23mg, 144.6 μ mol) 于四氢呋喃 (1mL) 中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺 (35mg, 289.2 μ mol) 和TEA (146mg, 1.5mmol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌3小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化, 并将收集的级分冻干, 以得到呈白色固体的 (8R)-2-氯-N-(3,3-二氟环戊基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (28mg, 46% 产率)。LC-MS: m/z 424[M+H]⁺。

[3104] 步骤2: 分离对映异构体以获得 (R)-2-氯-N-((R)-3,3-二氟环戊基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和 (R)-2-氯-N-((S)-3,3-二氟环戊基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



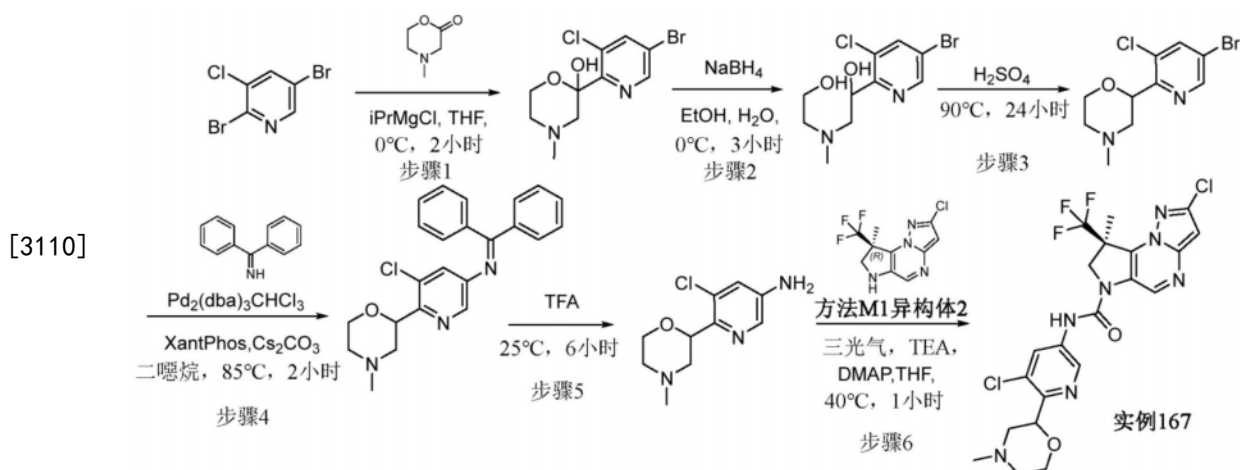
[3106] 对 (8R)-2-氯-N-(3,3-二氟环戊基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (28mg, 66 μ mol) 进行手性HPLC纯化: 色谱柱: CHIRAL ART Cellulose-SB, 2*25cm, 5 μ m; 流动相A: Hex (0.5% 2M NH₃-MeOH) --HPLC, 流动相B: EtOH--HPLC; 流速: 20毫升/分钟; 梯度: 在15分钟内, 8B到8B; 220/254nm; RT1: 10.681; RT2: 12.396; 注射体积: 0.5ml; 运行次数: 3; 将第一个洗脱异构体浓缩并冻干, 以得到呈白色固体的实例165 (6mg, 10% 产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干, 以得到呈白色固体的实例166 (3mg, 5% 产率)。实例165和166的对应的立体异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。实例165和166是非对映异构体, 其中与三氟甲基连接的立体中心是绝对的并且环戊

基立体中心是相对的(即,实例165和166中的一个中的环戊基立体中心是(S),实例165和166中的另一个中的环戊基立体中心是(R))。

[3107] 实例165: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ : 9.29(s, 1H), 7.20(d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 7.01(s, 1H), 4.56(d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 4.18-4.27(m, 1H), 4.00(d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 2.43-2.52(m, 1H), 1.99-2.32(m, 4H), 1.92(s, 3H), 1.78-1.85(m, 1H)。LC-MS: m/z 424 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

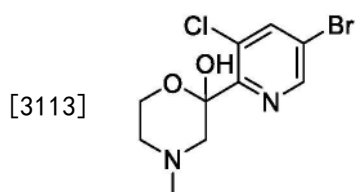
[3108] 实例166: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ : 9.29(s, 1H), 7.20(d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 7.01(s, 1H), 4.56(d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 4.20-4.25(m, 1H), 4.00(d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 2.44-2.51(m, 1H), 1.98-2.32(m, 4H), 1.93(s, 3H), 1.78-1.86(m, 1H)。LC-MS: m/z 424 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[3109] 方法05



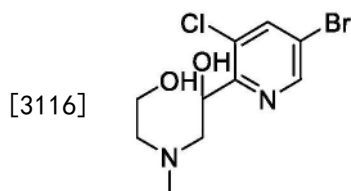
[3111] 实例167: (8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-甲基吗啉-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3112] 步骤1: 2-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)-4-甲基吗啉-2-醇



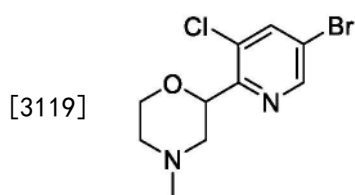
[3114] 在氮气气氛下在 0°C 下,向2,5-二溴-3-氯吡啶(18.8g, 69.3mmol)于四氢呋喃(400mL)中的搅拌溶液中加入异丙基氯化镁(35mL, 69.3mmol, 2M, 于四氢呋喃中)。将反应混合物在 0°C 下搅拌0.5小时,然后在 0°C 下逐滴加入4-甲基吗啉-2-酮(8g, 69.3mmol)。将反应混合物在 0°C 下搅拌2小时。将反应混合物用饱和 NH_4Cl 水溶液(200mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x200mL)萃取。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)-4-甲基吗啉-2-醇(12g, 50%产率)。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz, DMSO-d_6) δ : 8.45(d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.05(d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 6.84(br, 1H), 3.97-4.12(m, 2H), 2.60-2.79(m, 2H), 2.12-2.28(m, 2H), 2.19(s, 3H)。LC-MS: m/z 307 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[3115] 步骤2: 1-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)-2-((2-羟乙基)(甲基)氨基)乙-1-醇



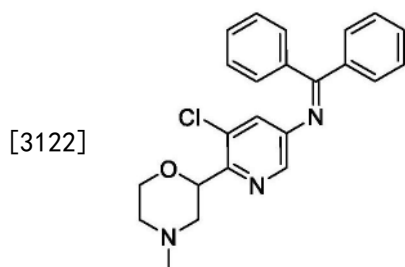
[3117] 在0℃下,向2-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)-4-甲基吗啉-2-醇(6g,19.5mmol)于乙醇(100mL)和水(40mL)中的搅拌溶液中加入NaBH₄(2.9g,78mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌3小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用水(100mL)稀释。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的1-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)-2-((2-羟乙基)(甲基)氨基)乙-1-醇(5g,83%产率)。LC-MS:m/z 309[M+H]⁺。

[3118] 步骤3:2-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)-4-甲基吗啉



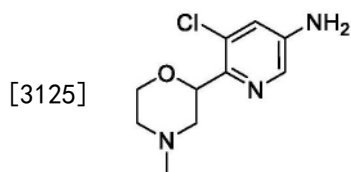
[3120] 将1-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)-2-((2-羟乙基)(甲基)氨基)乙-1-醇(4g,12.9mmol)于浓硫酸(40mL)中的溶液在90℃下搅拌24小时。将反应混合物冷却至25℃。将反应溶液倒入冰水(200mL)中,用NaOH水溶液(4M)将pH调整到6-7,并用乙酸乙酯(3x200mL)萃取。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)-4-甲基吗啉(2g,52%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:8.26(d,J=2.0Hz,1H),7.79(d,J=2.0Hz,1H),4.60-4.62(m,1H),4.03-4.07(m,1H),3.82-3.88(m,1H),2.92(d,J=11.6Hz,1H),2.78(d,J=11.6Hz,1H),2.37(s,3H),2.21-2.32(m,1H),1.99-2.05(m,1H)。LC-MS:m/z 291[M+H]⁺。

[3121] 步骤4:N-(5-氯-6-(4-甲基吗啉-2-基)吡啶-3-基)-1,1-二苯基甲亚胺



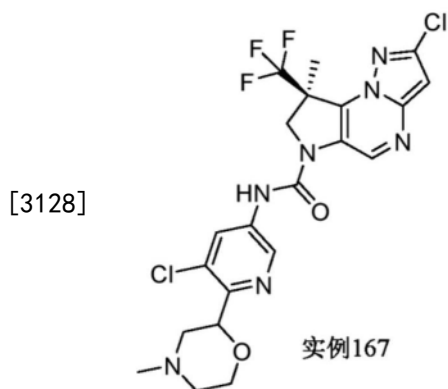
[3123] 向2-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)-4-甲基吗啉(1g,3.4mmol)于二噁烷(20mL)中的搅拌溶液中加入二苯基甲亚胺(621mg,3.4mmol)、Xantphos(396mg,685μmol)、Pd₂(dba)₃CHCl₃(355mg,343μmol)和Cs₂CO₃(2.2g,6.8mmol)。将反应混合物在氮气下在85℃下搅拌2小时。将混合物冷却至25℃。将所得混合物过滤。将滤饼用乙酸乙酯(3x20mL)洗涤。在减压下浓缩滤液。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的N-(5-氯-6-(4-甲基吗啉-2-基)吡啶-3-基)-1,1-二苯基甲亚胺(1g,66%产率)。LC-MS:m/z 392[M+H]⁺。

[3124] 步骤5:5-氯-6-(4-甲基吗啉-2-基)吡啶-3-胺



[3126] 将N-(5-氯-6-(4-甲基吗啉-2-基)吡啶-3-基)-1,1-二苯基甲亚胺(400mg, 1.0mmol)于TFA(20mL)中的溶液在25℃下搅拌6小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用水(20mL)稀释,并用饱和NaHCO₃水溶液将pH调整到6-7。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈棕色油状物的5-氯-6-(4-甲基吗啉-2-基)吡啶-3-胺(100mg,30%产率)。LC-MS:m/z 228[M+H]⁺。

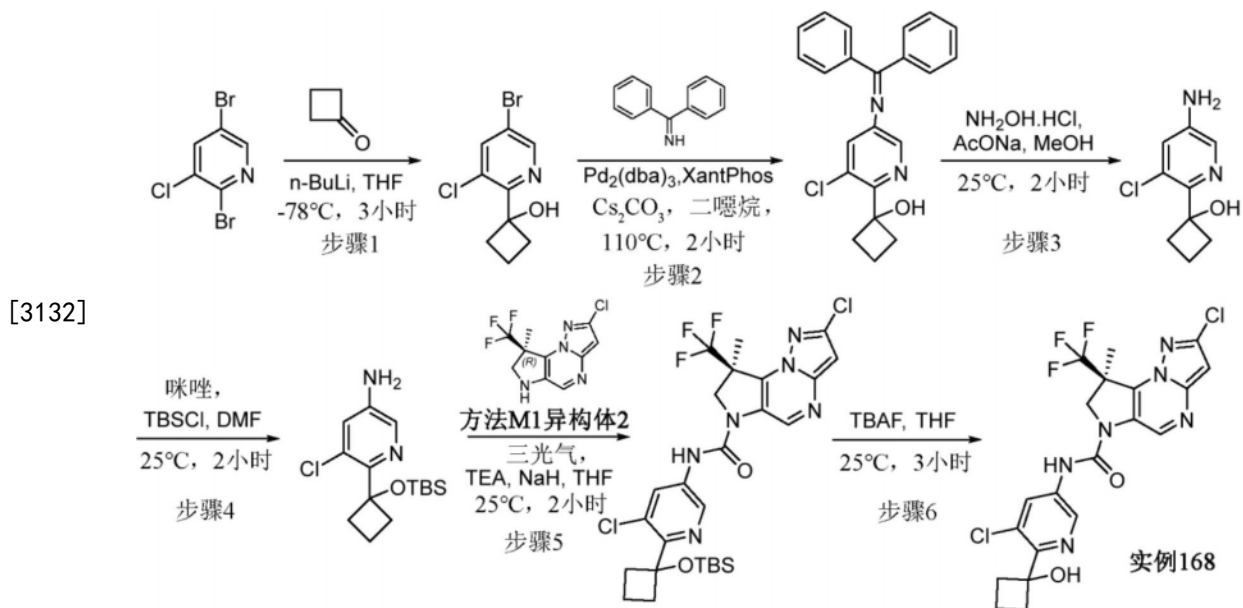
[3127] 步骤6:(8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-甲基吗啉-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3129] 在25℃下,向5-氯-6-(4-甲基吗啉-2-基)吡啶-3-胺(82mg,360μmol)于四氢呋喃(8mL)中的搅拌溶液中加入三光气(32mg,108μmol)和TEA(36mg,360μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(50mg,180μmol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(44mg,360μmol)和TEA(182mg,1.8mmol)。将混合物在40℃下搅拌1小时。将反应混合物用水(50mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-甲基吗啉-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(12mg,12%产率)。实例167的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

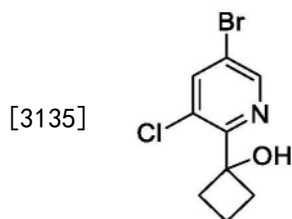
[3130] 实例167:¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄)δ:9.33(s,1H),8.34(s,1H),8.00(d,J=2.0Hz,1H),6.80(s,1H),4.77(d,J=11.7Hz,1H),4.62-4.65(m,1H),4.22(d,J=11.7Hz,1H),4.05-4.09(m,1H),3.79-3.87(m,1H),3.02(d,J=11.7Hz,1H),2.81(d,J=11.7Hz,1H),2.37(s,3H),2.25-2.33(m,1H),2.03-2.06(m,1H),2.05(s,3H)。LC-MS:m/z 530[M+H]⁺。

[3131] 方法P5



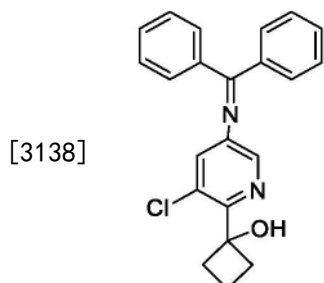
[3133] 实例168: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(1-羟基环丁基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3134] 步骤1: 1-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)环丁-1-醇



[3136] 在-78°C下,向2,5-二溴-3-氯吡啶(10.00g,36.8mmol)于四氢呋喃(60mL)中的搅拌溶液中逐滴加入n-BuLi(17.7mL,44.2mmol,2.5M,于己烷中)。将反应混合物在-78°C下搅拌1小时,然后在-78°C下将环丁酮(2.58g,36.8mmol)加入混合物中。将反应混合物在-78°C下搅拌3小时。将反应混合物通过盐水(200mL)淬灭并用乙酸乙酯(3x200mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的1-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)环丁-1-醇(1g,10%产率)。LC-MS:m/z 262[M+H]⁺。

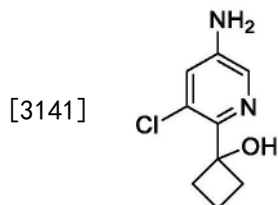
[3137] 步骤2: 1-(3-氯-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)环丁-1-醇



[3139] 向1-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)环丁-1-醇(500mg,1.9mmol)和二苯基甲亚胺(345mg,1.9mmol)于二噁烷(3mL)中的搅拌溶液中加入Pd₂(dba)₃(394mg,380.9μmol)、XantPhos(330mg,571.3μmol)和Cs₂CO₃(1.86g,5.7mmol)。将所得混合物在氮气气氛下在110°C下搅拌

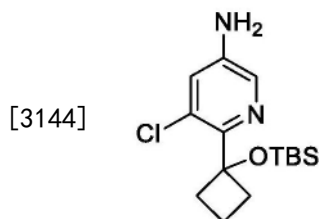
2小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用水(50mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的1-(3-氯-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)环丁-1-醇(375mg,86%产率)。LC-MS:m/z 363[M+H]⁺。

[3140] 步骤3:1-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)环丁-1-醇



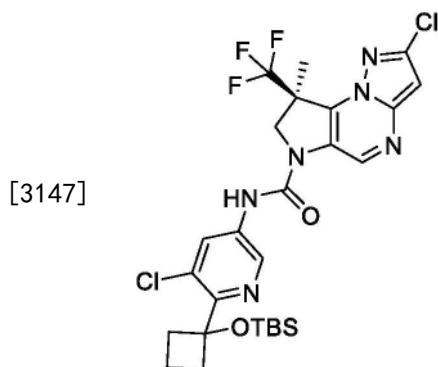
[3142] 向1-(3-氯-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)环丁-1-醇(400mg,1.1mmol)于甲醇(10mL)中的搅拌溶液中加入盐酸羟胺(153mg,2.2mmol)和乙酸钠(375mg,2.7mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的1-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)环丁-1-醇(200mg,91%产率)。LC-MS:m/z 199[M+H]⁺。

[3143] 步骤4:6-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丁基)-5-氯吡啶-3-胺



[3145] 在氮气气氛下在0℃下,向1-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)环丁-1-醇(100mg,503.4μmol)于N,N-二甲基甲酰胺(10mL)中的搅拌溶液中加入咪唑(51mg,755.1μmol)和TBSCl(91mg,604.1μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用水(80mL)淬灭。用乙酸乙酯(2x80mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的6-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丁基)-5-氯吡啶-3-胺(150mg,95%产率)。LC-MS:m/z 313[M+H]⁺。

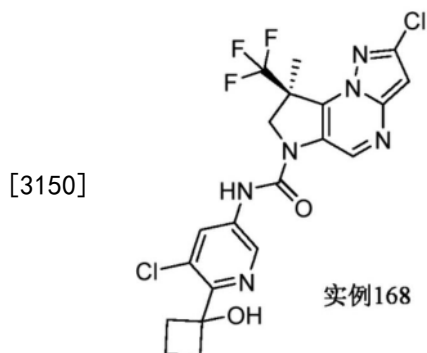
[3146] 步骤5:(R)-N-(6-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丁基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3148] 向方法M1异构体2(22mg,79.9μmol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌混合物中加入TEA

(24mg, 239.7 μ mol) 和三光气 (24mg, 79.9 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时, 然后过滤。将滤液加入到6-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丁基)-5-氯吡啶-3-胺 (50mg, 159.1 μ mol) 于四氢呋喃 (5mL) 中的溶液中。向该溶液中加入NaH (12mg, 319.5 μ mol, 60%, 于矿物油中)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将反应混合物用水 (10mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (3x10mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化, 以得到呈白色固体的(R)-N-(6-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丁基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (13mg, 13%产率)。LC-MS:m/z 615[M+H]⁺。

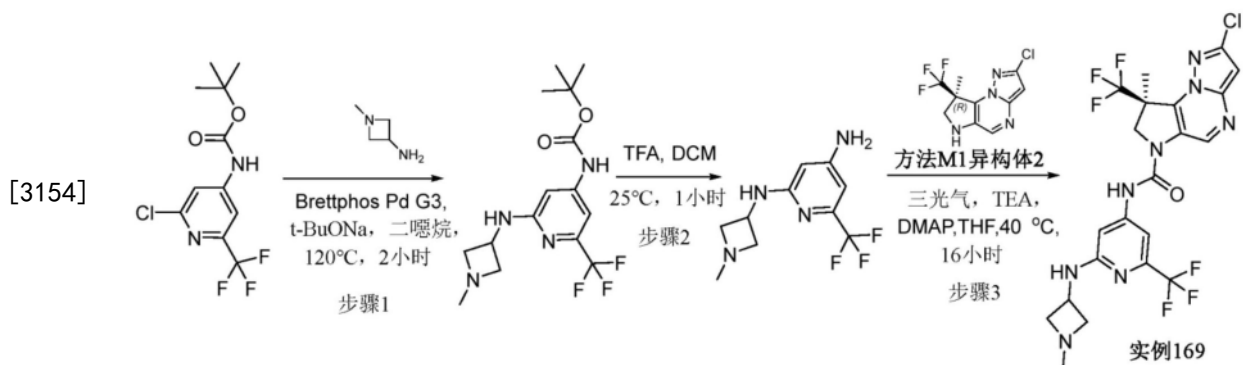
[3149] 步骤6: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(1-羟基环丁基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3151] 向(R)-N-(6-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环丁基)-5-氯吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (13mg, 21.1 μ mol) 于四氢呋喃 (1mL) 中的搅拌混合物中加入TBAF (1mL, 1M, 于THF中)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌3小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化, 以得到粗产物, 将所述粗产物通过制备型HPLC进行纯化, 并将收集的级分冻干, 以得到呈淡黄色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(1-羟基环丁基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (2.6mg, 24%产率)。实例168的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

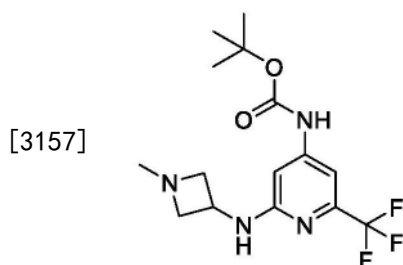
[3152] 实例168:¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ : 9.27 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.01 (d, J=1.8Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 5.87-5.91 (m, 1H), 4.79 (d, J=12.0Hz, 1H), 4.21 (d, J=12.0Hz, 1H), 2.28-2.35 (m, 4H), 1.91-1.97 (m, 4H), 1.69-1.75 (m, 1H)。LC-MS:m/z 501[M+H]⁺。

[3153] 方法Q5



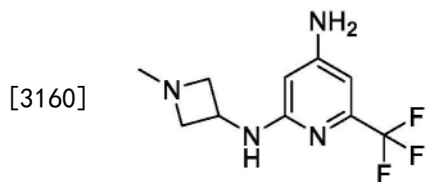
[3155] 实例169: (R)-2-氯-8-甲基-N-(2-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3156] 步骤1: (2-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯



[3158] 在氮气气氛下在25℃下,向(2-氯-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(300mg,1.0mmol)于二噁烷(10mL)中的搅拌溶液中加入叔丁醇钠(480mg,5.0mmol)、1-甲基氮杂环丁烷-3-胺(610mg,7.1mmol)和Brettphos Pd G3(91mg,101.4 μ mol)。将所得混合物在120℃下搅拌2小时。将反应混合物冷却至25℃。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(2-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(130mg,37%产率)。LC-MS:m/z 347[M+H]⁺。

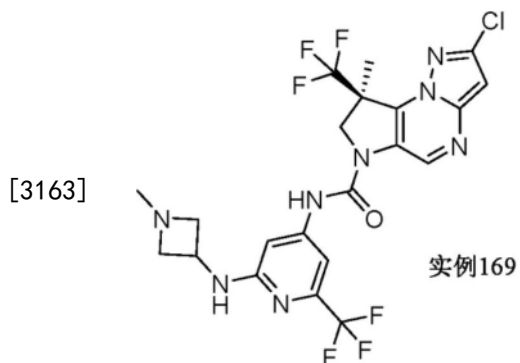
[3159] 步骤2:N²-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-6-(三氟甲基)吡啶-2,4-二胺



[3161] 向(2-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(130mg,375.7 μ mol)于二氯甲烷(12mL)中的搅拌溶液中加入TFA(3mL)。将混合物在25℃下搅拌1小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(30mL)稀释。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%二氯甲烷和20%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的N²-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-6-(三氟甲基)吡啶-2,4-二胺(80mg,87%产率)。LC-MS:m/z 247[M+H]⁺。

[3162] 步骤3:(R)-2-氯-8-甲基-N-(2-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氨基)-6-(三氟甲基)

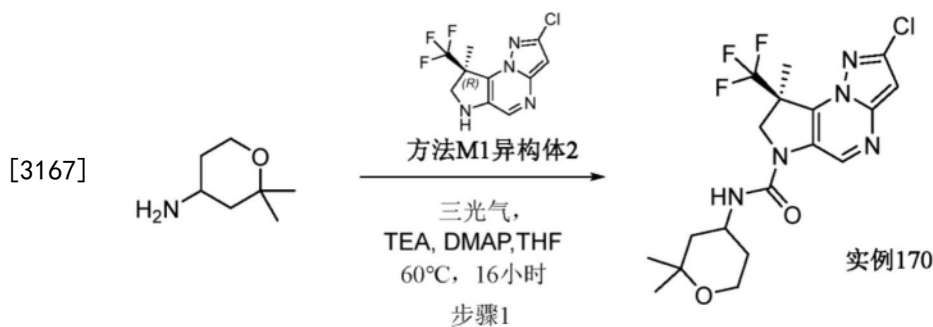
吡啶-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3164] 向N²-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-6-(三氟甲基)吡啶-2,4-二胺(30mg, 121.9 μ mol)于四氢呋喃(8mL)中的搅拌溶液中加入三光气(21mg, 73.2 μ mol)和TEA(31mg, 304.7 μ mol)。将所得混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(34mg, 121.9 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(121mg, 1.2mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(18mg, 146.3 μ mol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌16小时。将溶剂在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到30mg粗产物,将所述粗产物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-8-甲基-N-(2-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氨基)-6-(三氟甲基)吡啶-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(12mg, 18%产率)。实例169的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[3165] 实例169:¹H NMR(400MHz, 甲醇-d₄) δ : 8.62(d, J=4.4Hz, 1H), 8.55(br s, 1H), 6.74-6.77(m, 2H), 5.99-6.02(m, 1H), 4.58-4.61(m, 2H), 4.34-4.41(m, 2H), 4.15-4.25(m, 2H), 3.75-3.88(m, 1H), 3.42-3.55(m, 1H), 3.17(s, 3H), 1.96(s, 3H)。LC-MS:m/z 549[M+H]⁺。

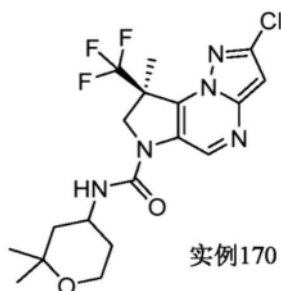
[3166] 方法R5



[3168] 实例170: (8R)-2-氯-N-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3169] 步骤1: (8R)-2-氯-N-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

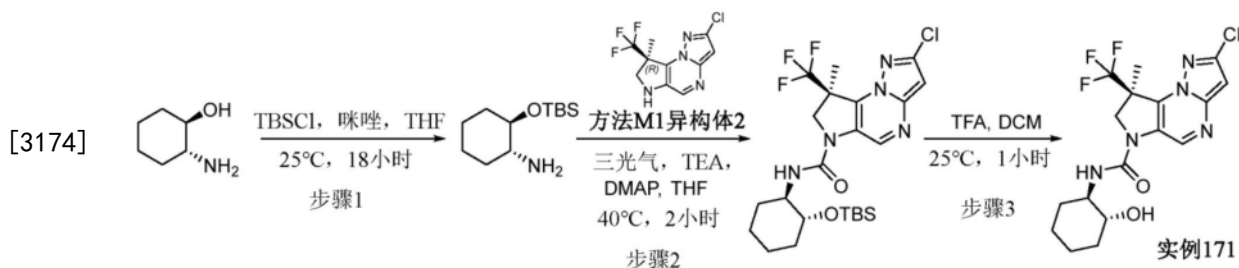
[3170]



[3171] 向2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-胺(56mg, 434.1 μ mol)于四氢呋喃(8mL)中的搅拌溶液中加入三光气(77mg, 260.1 μ mol)和TEA(65mg, 650.1 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(39mg, 140.8 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(438mg, 4.3mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(105mg, 853.6 μ mol)。将混合物在60 $^{\circ}$ C下搅拌16小时。将混合物用水(10mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(8R)-2-氯-N-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(25mg, 13%产率)。实例170的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

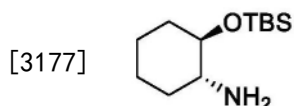
[3172] 实例170: 1 H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.29(s, 1H), 6.98(s, 1H), 6.85(br, 1H), 4.54-4.57(m, 1H), 3.85-4.01(m, 2H), 3.64-3.70(m, 2H), 1.92(s, 3H), 1.65-1.80(m, 2H), 1.26-1.47(m, 2H), 1.18(s, 3H), 1.15(s, 3H)。LC-MS:m/z 432[M+H] $^+$ 。

[3173] 方法S5



[3175] 实例171: (R)-2-氯-N-((1R,2R)-2-羟基环己基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

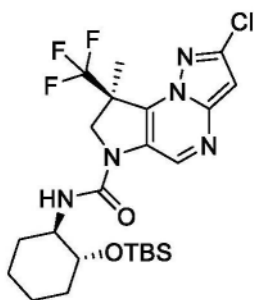
[3176] 步骤1: (1R,2R)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环己-1-胺



[3178] 在0 $^{\circ}$ C下,向(1R,2R)-2-氨基环己-1-醇(500mg, 4.3mmol)于四氢呋喃(10mL)中的搅拌溶液中加入咪唑(880mg, 12.9mmol)和叔丁基氯二甲基硅烷(780mg, 5.2mmol)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌18小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC进行纯化,并将收集的级分浓缩,以得到呈黄色油状物的(1R,2R)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环己-1-胺(190mg, 11%产率)。LC-MS:m/z 230[M+H] $^+$ 。

[3179] 步骤2: (R)-N-((1R,2R)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环己基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

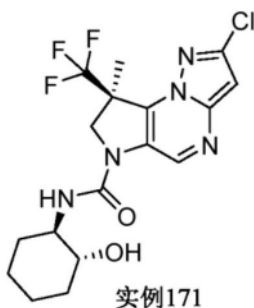
[3180]



[3181] 向(1R,2R)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环己-1-胺(62mg,162.6 μ mol)于四氢呋喃(3mL)中的搅拌溶液中加入三光气(29mg,97.7 μ mol)和TEA(33mg,326.1 μ mol)。将所得混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(30mg,108.4 μ mol)于四氢呋喃(3mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(26mg,212.8 μ mol)和TEA(110mg,1.09mmol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将所得混合物过滤。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色固体的(R)-N-((1R,2R)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环己基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(45mg,78%产率)。LC-MS:m/z 532[M+H]⁺。

[3182] 步骤3:(R)-2-氯-N-((1R,2R)-2-羟基环己基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

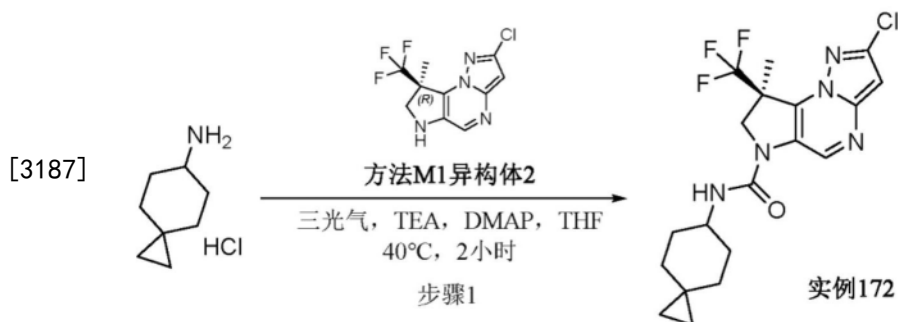
[3183]



[3184] 向(R)-N-((1R,2R)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)环己基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(30mg,56 μ mol)于二氯甲烷(2mL)中的混合物中加入TFA(1mL)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(5mL)稀释,并用二氯甲烷(3x5mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈灰白色固体的(R)-2-氯-N-((1R,2R)-2-羟基环己基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(18.3mg,77%产率)。实例171的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

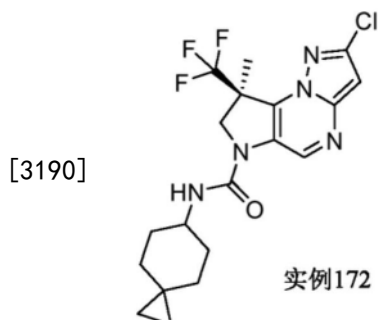
[3185] 实例171:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.30(s,1H),6.98(s,1H),6.76(d,J=7.6Hz,1H),4.71(d,J=4.4Hz,1H),4.58(d,J=11.6Hz,1H),3.99(d,J=11.6Hz,1H),3.32-3.38(m,2H),1.92(s,3H),1.79-1.90(m,2H),1.60-1.67(m,2H),1.18-1.24(m,4H)。LC-MS:m/z 418[M+H]⁺。

[3186] 方法T5



[3188] 实例172: (R)-2-氯-8-甲基-N-(螺[2.5]辛-6-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

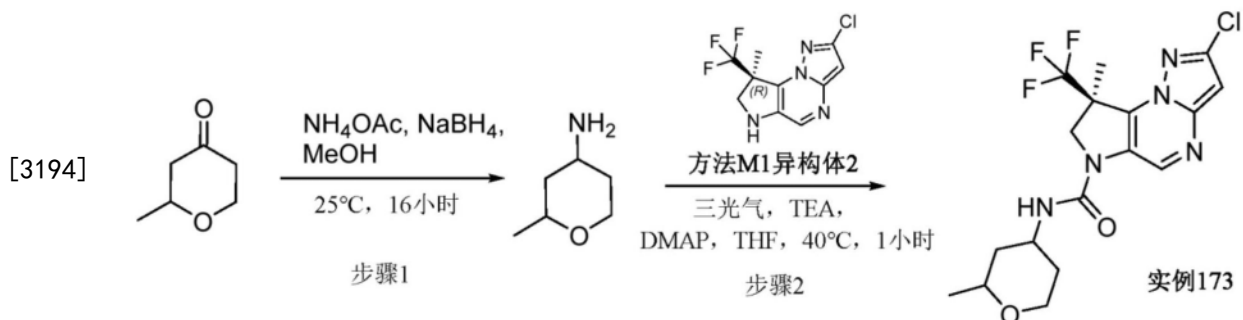
[3189] 步骤1: (R)-2-氯-8-甲基-N-(螺[2.5]辛-6-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3191] 向方法M1异构体2 (34mg, 123.7 μ mol) 于四氢呋喃 (2mL) 中的搅拌溶液中加入三光气 (21mg, 73.8 μ mol) 和TEA (25mg, 247.4 μ mol)。将所得混合物在40°C下搅拌1小时, 然后过滤。将滤液加入到螺[2.5]辛-6-胺氯化氢盐 (20mg, 123.7 μ mol) 于四氢呋喃 (2mL) 中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺 (30mg, 246.5 μ mol) 和TEA (123mg, 1.2mmol)。将混合物在40°C下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化, 并将收集的级分冻干, 以得到呈灰白色固体的 (R)-2-氯-8-甲基-N-(螺[2.5]辛-6-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (13.7mg, 25%产率)。实例172的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

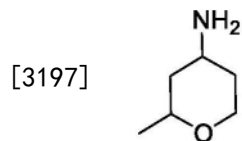
[3192] 实例172: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.30 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.87 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 4.59 (d, $J=12.0\text{Hz}$, 1H), 3.97 (d, $J=12.0\text{Hz}$, 1H), 3.54-3.65 (m, 1H), 1.92 (s, 3H), 1.68-1.85 (m, 4H), 1.42-1.51 (m, 2H), 0.88-0.99 (m, 2H), 0.20-0.36 (m, 4H)。LC-MS: m/z 428 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[3193] 方法U5



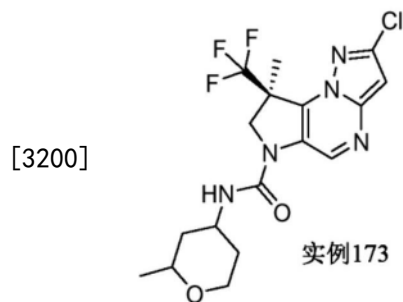
[3195] 实例173: (8R)-2-氯-8-甲基-N-(2-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3196] 步骤1: 2-甲基四氢-2H-吡喃-4-胺



[3198] 向2-甲基四氢-4H-吡喃-4-酮(2.0g, 17.5mmol)于甲醇(94mL)中的搅拌溶液中加入乙酸铵(13.5g, 175.0mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌0.5小时。然后向该溶液中加入NaBH₄(13.5g, 19.3mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物用水(500mL)淬灭。用二氯甲烷(3x300mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将合并的有机层在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的2-甲基四氢-2H-吡喃-4-胺(400mg, 粗品),其无需进一步纯化即可直接使用。LC-MS: m/z 116[M+H]⁺。

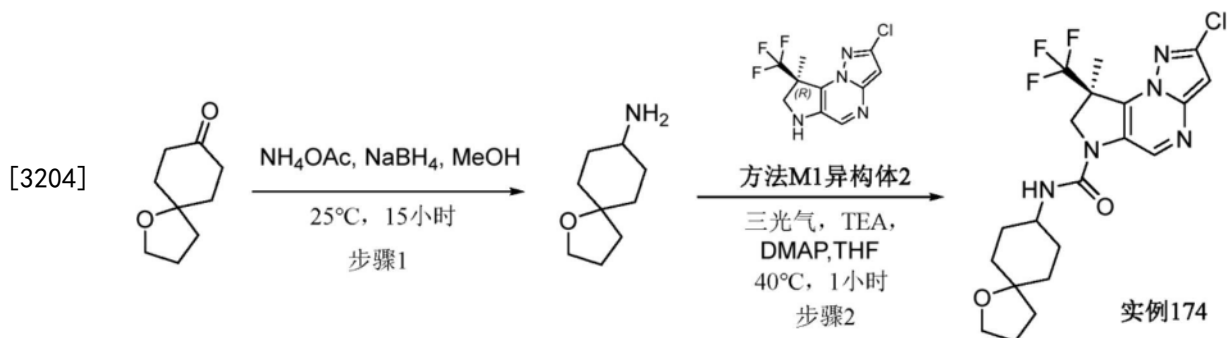
[3199] 步骤2: (8R)-2-氯-8-甲基-N-(2-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3201] 在25℃下,向方法M1异构体2(50mg, 181.1μmol)于四氢呋喃(10mL)中的搅拌溶液中加入三光气(33mg, 108.7μmol)和TEA(28mg, 271.7μmol)。将所得混合物在28℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到2-甲基四氢-2H-吡喃-4-胺(300mg, 2.6mmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(183mg, 1.8mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(44mg, 362.3μmol)。将反应混合物在40℃下搅拌1小时。将混合物冷却至25℃。将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到粗产物,对所述粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(8R)-2-氯-8-甲基-N-(2-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(3mg, 4%产率)。实例173的立体异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

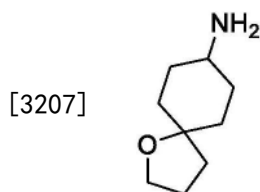
[3202] 实例173: ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 9.29(s, 1H), 6.99(s, 1H), 6.93(br, 1H), 4.56(d, J=11.6Hz, 1H), 3.98(d, J=12.0Hz, 1H), 3.86-3.87(m, 1H), 3.75-3.78(m, 1H), 3.40-3.44(m, 2H), 1.92(s, 3H), 1.80-1.85(m, 2H), 1.38-1.48(m, 1H), 1.05-1.22(m, 4H)。LC-MS: m/z 418[M+H]⁺。

[3203] 方法V5



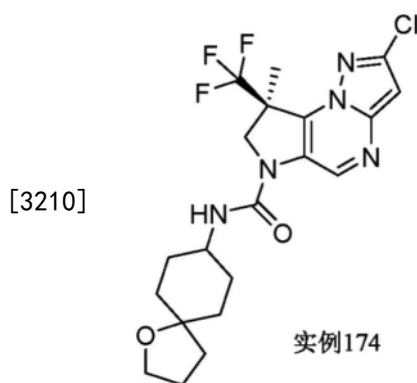
[3205] 实例174: (R)-2-氯-8-甲基-N-(1-氧杂螺[4.5]癸-8-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3206] 步骤1: 1-氧杂螺[4.5]癸-8-胺



[3208] 在25°C下,向1-氧杂螺[4.5]癸-8-酮(500mg,3.2mmol)于甲醇(2mL)中的搅拌混合物中加入乙酸铵(2.50g,32.4mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌0.5小时。在0°C下,向混合物中分批加入NaBH₄(135mg,3.6mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌15小时。将反应混合物浓缩。将残留物通过制备型HPLC进行纯化,并将收集的级分合并并在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的1-氧杂螺[4.5]癸-8-胺(60mg,12%产率)。LC-MS:m/z 156[M+H]⁺。

[3209] 步骤2: (R)-2-氯-8-甲基-N-(1-氧杂螺[4.5]癸-8-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3211] 在25°C下,向方法M1异构体2(50mg,180.7μmol)于四氢呋喃(3mL)中的搅拌溶液中加入三光气(32mg,108.4μmol)和TEA(27mg,271.1μmol)。将所得混合物在40°C下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到1-氧杂螺[4.5]癸-8-胺(28mg,180.7μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(183mg,1.8mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(44mg,361.5μmol)。将混合物在40°C下搅拌1小时,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-8-甲基-N-(1-氧杂螺[4.5]癸-8-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(14.9mg,18%产率)。实例174的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[3212] 实例174: ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:9.29(s,1H),6.98(s,1H),6.87(d,J=7.6Hz,

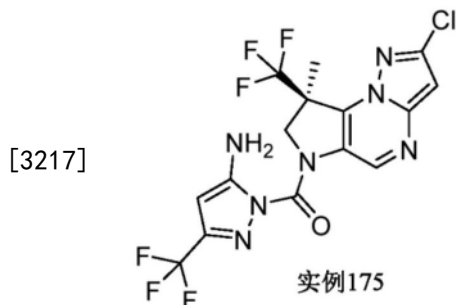
1H), 4.58 (d, J=11.6Hz, 1H), 3.95 (d, J=11.6Hz, 1H), 3.71 (t, J=6.4Hz, 2H), 3.50-3.54 (m, 1H), 1.91 (s, 3H), 1.81-1.89 (m, 2H), 1.62-1.70 (m, 8H), 1.51-1.55 (m, 2H)。LC-MS: m/z 458 [M+H]⁺。

[3213] 方法W5



[3215] 实例175: (R) - (5-氨基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-基)甲酮

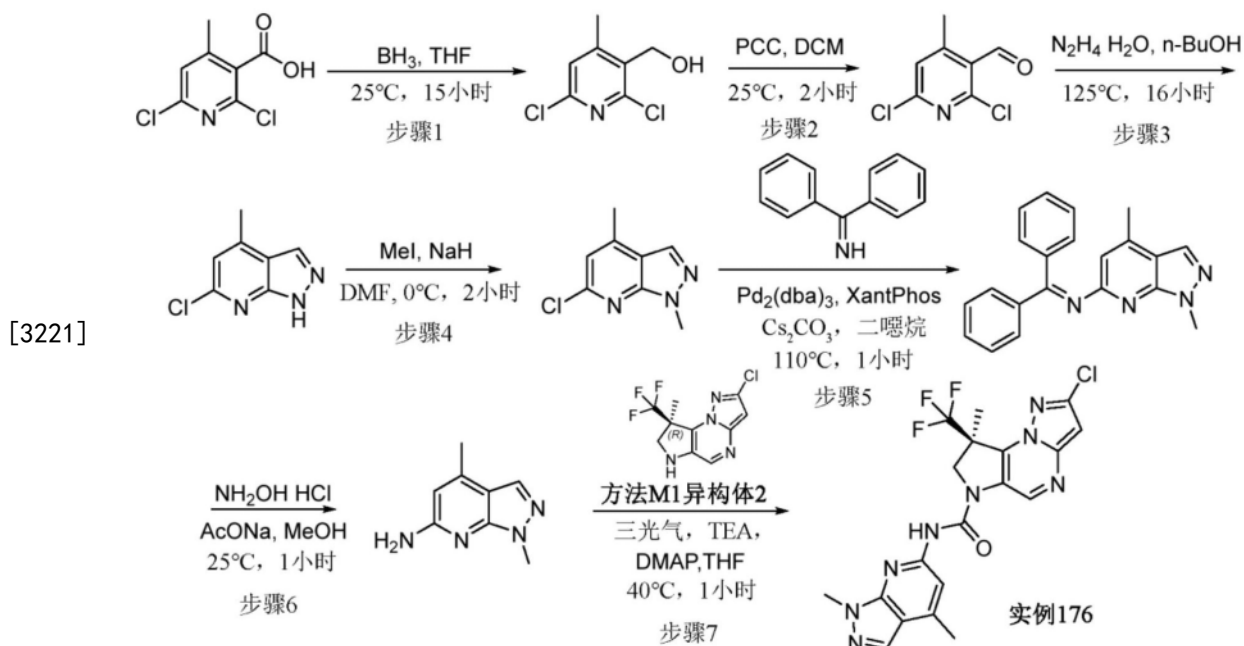
[3216] 步骤1: (R) - (5-氨基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-基)甲酮



[3218] 向方法M1异构体2(183mg, 661.8 μ mol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中加入三光气(118mg, 397.1 μ mol)和TEA(100mg, 992.8 μ mol)。将所得混合物在25°C下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到5-(三氟甲基)-1H-吡唑-3-胺(100mg, 661.8 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(162mg, 1.3mmol)和TEA(670mg, 6.6mmol)。将混合物在40°C下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R) - (5-氨基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-基)甲酮(23.4mg, 8%产率)。实例175的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

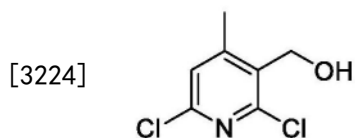
[3219] 实例175: ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.15 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 6.82 (br, 2H), 5.74 (s, 1H), 5.00 (d, J=12.8Hz, 1H), 4.50 (d, J=12.8Hz, 1H), 1.95 (s, 3H)。LC-MS: m/z 454 [M+H]⁺。

[3220] 方法X5



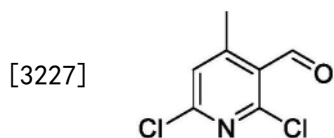
[3222] 实例176: (R)-2-氯-N-(1,4-二甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-6-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3223] 步骤1: (2,6-二氯-4-甲基吡啶-3-基)甲醇



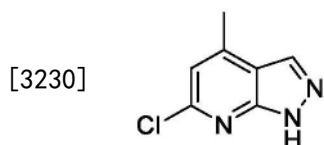
[3225] 在 0°C 下,向2,6-二氯-4-甲基烟酸(5.0g, 24.3mmol)于四氢呋喃(50mL)中的搅拌溶液中加入硼烷(44.9mL, 44.9mmol, 1M, 于四氢呋喃中)。将反应混合物在 25°C 下搅拌15小时。将反应混合物用饱和 NaHCO_3 水溶液(200mL)淬灭。用二氯甲烷(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(2,6-二氯-4-甲基吡啶-3-基)甲醇(4.4g, 84%产率)。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz, 氯仿-d) δ : 7.15(s, 1H), 4.83(s, 2H), 2.50(s, 3H), 2.08(br, 1H)。LC-MS: m/z 192[M+H]⁺。

[3226] 步骤2: 2,6-二氯-4-甲基烟醛



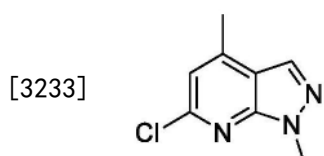
[3228] 向(2,6-二氯-4-甲基吡啶-3-基)甲醇(4.2g, 21.9mmol)于二氯甲烷(150mL)中的搅拌溶液中加入PCC(14.1g, 65.6mmol)和硅胶(14.0g)。将反应混合物在 25°C 下搅拌2小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩,以得到呈白色固体的2,6-二氯-4-甲基烟醛(3.7g, 85%产率)。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, 氯仿-d) δ : 10.53(br, 1H), 7.22(s, 1H), 2.61(s, 3H)。LC-MS: m/z 190[M+H]⁺。

[3229] 步骤3: 6-氯-4-甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶



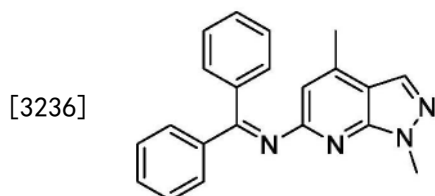
[3231] 在25℃下,向2,6-二氯-4-甲基烟醛(3.5g,18.4mmol)于丁-1-醇(60mL)中的搅拌溶液中加入水合肼(3.4g,55.3mmol)。将反应混合物在125℃下搅拌16小时。将混合物冷却至25℃。在真空下去除溶剂。将残留物通过使用98%二氯甲烷和2%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的6-氯-4-甲基-1H-吡啶并[3,4-b]吡啶(1.7g,49%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:13.73(br,1H),8.24(s,1H),7.08(s,1H),2.58(s,3H)。LC-MS:m/z 168[M+H]⁺

[3232] 步骤4:6-氯-1,4-二甲基-1H-吡啶并[3,4-b]吡啶



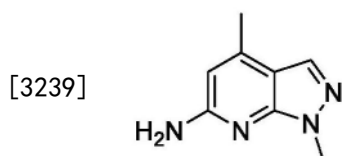
[3234] 在0℃下,向6-氯-4-甲基-1H-吡啶并[3,4-b]吡啶(1.6g,9.6mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(20mL)中的搅拌溶液中分批加入NaH(572mg,14.3mmol,60%,于矿物油中)。将反应混合物在25℃下搅拌0.5小时。在0℃下逐滴加入碘甲烷(2.0g,14.3mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌2小时。将反应混合物用水(200mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(3x500mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的6-氯-1,4-二甲基-1H-吡啶并[3,4-b]吡啶(1.2g,66%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:8.20(s,1H),7.05(s,1H),3.96(s,3H),2.55(s,3H)。LC-MS:m/z 182[M+H]⁺。

[3235] 步骤5:N-(1,4-二甲基-1H-吡啶并[3,4-b]吡啶-6-基)-1,1-二苯基甲亚胺



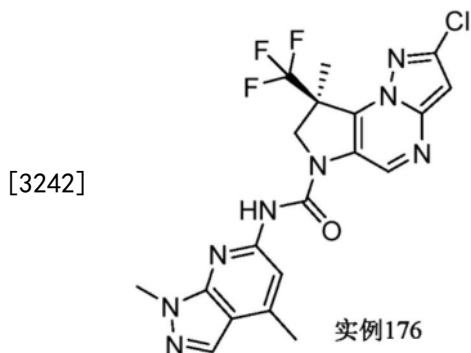
[3237] 在氮气气氛下,向6-氯-1,4-二甲基-1H-吡啶并[3,4-b]吡啶(200mg,1.1mmol)于二噁烷(10mL)中的搅拌溶液中加入二苯基甲亚胺(399mg,2.2mmol)、Xantphos(191mg,330.4μmol)、Cs₂CO₃(1.1g,3.3mmol)和Pd₂(dba)₃(302mg,330.4μmol)。在110℃下搅拌所得混合物1小时。将反应混合物冷却至25℃。在真空下去除溶剂。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的N-(1,4-二甲基-1H-吡啶并[3,4-b]吡啶-6-基)-1,1-二苯基甲亚胺(320mg,62%产率)。LC-MS:m/z 327[M+H]⁺。

[3238] 步骤6:1,4-二甲基-1H-吡啶并[3,4-b]吡啶-6-胺



[3240] 向N-(1,4-二甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-6-基)-1,1-二苯基甲亚胺(320mg, 980.4 μ mol)于甲醇(6mL)中的搅拌溶液中加入盐酸羟胺(136mg, 2.0mmol)和乙酸钠(201mg, 2.5mmol)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。在真空下去除溶剂。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的1,4-二甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-6-胺(160mg, 96%产率)。 1 H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 7.73 (s, 1H), 6.29 (br, 2H), 6.12 (s, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.33 (s, 3H)。LC-MS: m/z 163 [M+H] $^+$ 。

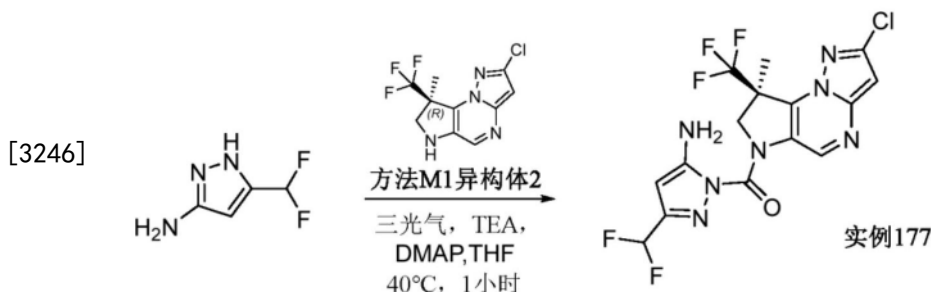
[3241] 步骤7: (R)-2-氯-N-(1,4-二甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-6-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3243] 向1,4-二甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-6-胺(50mg, 308.3 μ mol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中加入三光气(55mg, 185.0 μ mol)和TEA(47mg, 462.4 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(60mg, 215.8 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(75mg, 616.6 μ mol)和TEA(312mg, 3.1mmol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(1,4-二甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-6-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(30mg, 21%产率)。实例176的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[3244] 实例176: 1 H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.95 (br, 1H), 9.33 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 5.04 (d, J=11.6Hz, 1H), 4.28 (d, J=11.6Hz, 1H), 3.99 (s, 3H), 2.58 (s, 3H), 1.95 (s, 3H)。LC-MS: m/z 465 [M+H] $^+$ 。

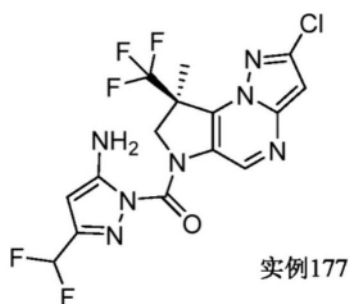
[3245] 方法Y5



[3247] 实例177: (R)-(3-氨基-5-(二氟甲基)-1H-吡唑-1-基)(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-基)甲酮

[3248] 步骤1: (R)-(3-氨基-5-(二氟甲基)-1H-吡唑-1-基)(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-基)甲酮

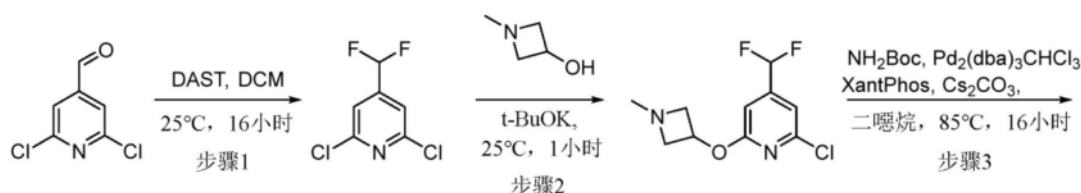
[3249]



[3250] 在25℃下,向方法M1异构体2 (50mg, 181.2 μ mol) 于四氢呋喃 (8mL) 中的搅拌溶液中加入三光气 (33mg, 180.7 μ mol) 和TEA (28mg, 271.7 μ mol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到5-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-胺 (48mg, 362.3 μ mol) 于四氢呋喃 (1mL) 中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA (183mg, 1.8mmol) 和N,N-二甲基吡啶-4-胺 (45mg, 362.3 μ mol)。将反应混合物在40℃下搅拌1小时。将混合物冷却至25℃。将反应混合物用水 (50mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到粗产物,对所述粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈黄色固体的(R)- (3-氨基-5-(二氟甲基)-1H-吡唑-1-基) (2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-基) 甲酮 (12.6mg, 16%产率)。实例177的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[3251] 实例177: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 9.14 (s, 1H), 7.13 (s, 1H), 6.89 (t, J=56.0Hz, 1H), 6.66 (br, 2H), 5.59 (s, 1H), 5.00 (d, J=12.8Hz, 1H), 4.52 (d, J=12.8Hz, 1H), 1.94 (s, 3H)。LC-MS: m/z 436 [M+H] $^+$ 。

[3252] 方法Z5



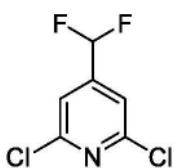
[3253]



[3254] 实例178: (R)-2-氯-N-(4-(二氟甲基)-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

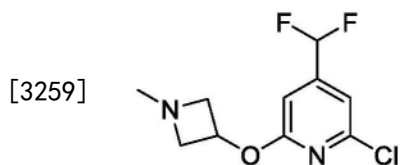
[3255] 步骤1: 2,6-二氯-4-(二氟甲基)吡啶

[3256]



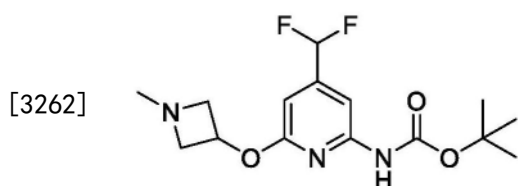
[3257] 在氮气气氛下在-78℃下,向2,6-二氯吡啶-4-甲醛(10g,56.8mmol)于二氯甲烷(500mL)中的搅拌溶液中加入DAST(27.5g,170.4mmol)。将所得混合物温热至25℃。将所得混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物用水(500mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x500mL)萃取。将合并的有机层用盐水(500mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2,6-二氯-4-(二氟甲基)吡啶(10g,86%产率)。LC-MS:m/z 198[M+H]⁺。

[3258] 步骤2:2-氯-4-(二氟甲基)-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶



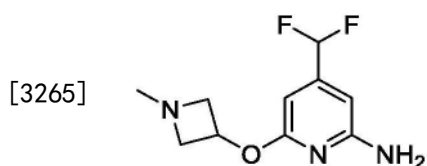
[3260] 向1-甲基氮杂环丁烷-3-醇(3.7g,42.1mmol)于四氢呋喃(100mL)中的搅拌溶液中加入2,6-二氯-4-(二氟甲基)吡啶(10g,50.5mmol)和叔丁醇钾(9.5g,84.2mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时。将反应混合物用水(500mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x500mL)萃取。将合并的有机层用盐水(500mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色油状物的2-氯-4-(二氟甲基)-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶(9.9g,73%产率)。LC-MS:m/z 249[M+H]⁺。

[3261] 步骤3:(4-(二氟甲基)-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯



[3263] 向2-氯-4-(二氟甲基)-6-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基-吡啶(560mg,2.2mmol)于二噁烷(10mL)中的搅拌溶液中加入氨基甲酸叔丁酯(1.1g,9.0mmol)、Pd₂(dba)₃CHCl₃(233mg,225.2μmol)、Xantphos(260mg,450.4μmol)和K₂CO₃(1.5g,4.5mmol)。将反应混合物在氮气气氛下在85℃下搅拌16小时。将反应混合物用水(100mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(4-(二氟甲基)-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯(185mg,24%产率)。LC-MS:m/z 330[M+H]⁺。

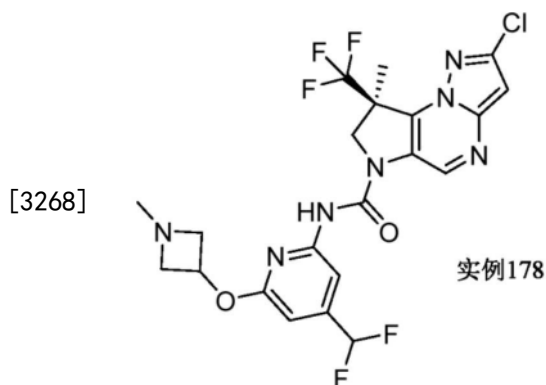
[3264] 步骤4:4-(二氟甲基)-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-2-胺



[3266] 向(4-(二氟甲基)-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯(1.3g,3.9mmol)于二氯甲烷(30mL)中的搅拌溶液中加入TFA(6mL)。将所得混合物在25℃

下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(100mL)稀释。用二氯甲烷(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的4-(二氟甲基)-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-2-胺(500mg,47%产率)。LC-MS:m/z 230[M+H]⁺。

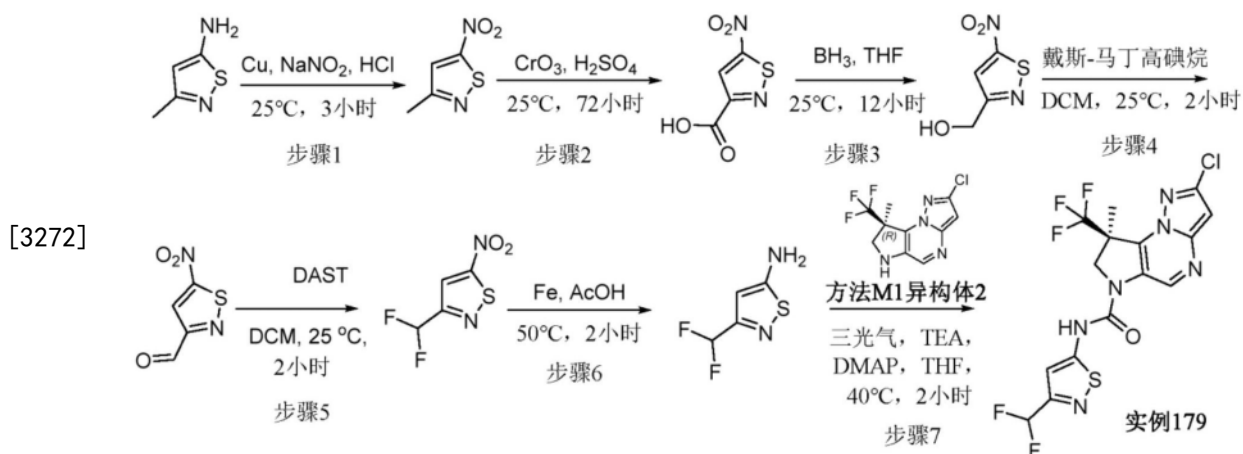
[3267] 步骤5: (R)-2-氯-N-(4-(二氟甲基)-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3269] 向方法M1异构体2(80mg,290.8μmol)于四氢呋喃(2mL)中的搅拌溶液中加入三光气(52mg,174.5μmol)和N,N-二乙基乙胺(88mg,872.5μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到4-(二氟甲基)-6-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氧基)吡啶-2-胺(100mg,436.2μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。将混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物用水(50mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x50mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到100mg粗产物。将得到的粗产物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈黄色固体的实例178(28mg,17%产率)。实例178的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[3270] 实例178:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:8.65(br,1H),7.02(s,1H),6.68(t,J=52.0Hz,1H),6.15(s,1H),5.26-5.29(m,2H),4.32(d,J=12.0Hz,1H),4.07-4.15(m,2H),3.66-3.84(m,3H),3.07(s,3H),1.86(s,3H)。LC-MS:m/z 532[M+H]⁺。

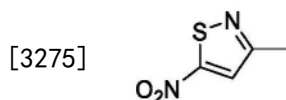
[3271] 方法A6



[3273] 实例179: (R)-2-氯-N-(3-(二氟甲基)异噻唑-5-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-

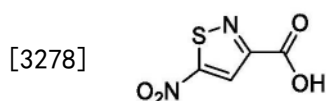
二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3274] 步骤1:3-甲基-5-硝基异噻唑



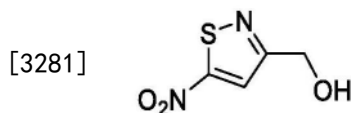
[3276] 向铜(16.7g, 262.8mmol)于水(150mL)中的搅拌混合物中加入亚硝酸钠(18.1g, 262.8mmol)和HCl(0.3mL, 12M)。将反应混合物在25℃下搅拌20分钟。然后在25℃下逐滴加入水(100mL)和HCl(10.9mL, 12M)中的3-甲基异噻唑-5-胺(10g, 87.6mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌3小时。将固体滤出。用乙酸乙酯(3x200mL)萃取滤液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈红色固体的3-甲基-5-硝基异噻唑(3.4g, 27%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 8.11(s, 1H), 2.50(s, 3H)。

[3277] 步骤2:5-硝基异噻唑-3-甲酸



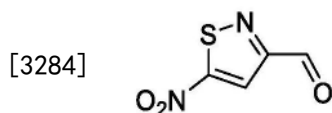
[3279] 向3-甲基-5-硝基异噻唑(2.4g, 16.6mmol)于硫酸(30mL)中的搅拌溶液中分份加入氧化铬(VI)(5.0g, 49.9mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌72小时。将反应混合物用冰水(200mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的5-硝基异噻唑-3-甲酸(550mg, 19%产率)。LC-MS:m/z175 [M+H]⁺。

[3280] 步骤3:(5-硝基异噻唑-3-基)甲醇



[3282] 向5-硝基异噻唑-3-甲酸(550mg, 3.2mmol)于四氢呋喃(10mL)中的搅拌溶液中加入硼烷(4.7mL, 4.7mmol, 1M, 于四氢呋喃中)。将反应混合物在25℃下搅拌12小时。在0℃下将反应混合物用甲醇(5mL)淬灭。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用水(10mL)稀释。用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(5-硝基异噻唑-3-基)甲醇(280mg, 55%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 8.09(s, 1H), 5.75(t, J=6.3Hz, 1H), 4.57(d, J=6.3Hz, 2H)。

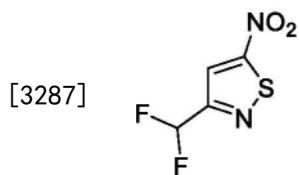
[3283] 步骤4:5-硝基异噻唑-3-甲醛



[3285] 向(5-硝基异噻唑-3-基)甲醇(300mg, 1.9mmol)于二氯甲烷(10mL)中的搅拌溶液中加入戴斯-马丁高碘烷(953mg, 2.3mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物用饱和NaHCO₃水溶液(10mL)淬灭。用二氯甲烷(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(30mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的5-硝基异

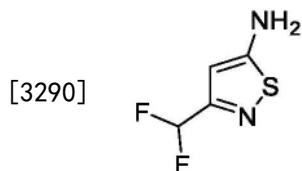
噻唑-3-甲醛 (160mg, 54% 产率)。LC-MS: m/z 157 [M-H]⁻。

[3286] 步骤5: 3-(二氟甲基)-5-硝基异噻唑



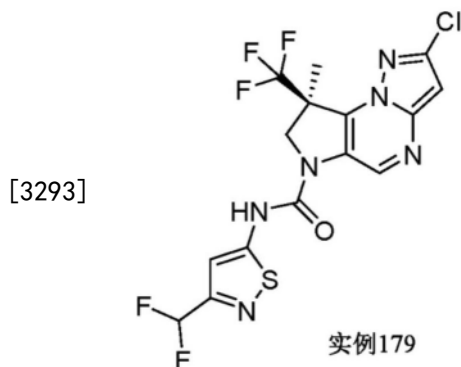
[3288] 在0℃下,向5-硝基异噻唑-3-甲醛 (300mg, 1.9mmol) 于二氯甲烷 (10mL) 中的搅拌溶液中逐滴加入DAST (917mg, 5.7mmol)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物用饱和NaHCO₃水溶液 (10mL) 淬灭。用二氯甲烷 (3x10mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水 (30mL) 洗涤,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的3-(二氟甲基)-5-硝基异噻唑 (200mg, 58% 产率), 其在不进行进一步纯化的情况下直接用于下一步骤。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ: 8.54 (s, 1H), 7.16 (t, J=53.7Hz, 1H)。

[3289] 步骤6: 3-(二氟甲基)异噻唑-5-胺



[3291] 向3-(二氟甲基)-5-硝基异噻唑 (200mg, 1.1mmol) 于乙酸 (5mL) 中的搅拌混合物中加入Fe (186mg, 3.3mmol)。将混合物在50℃下搅拌2小时。将混合物用乙酸乙酯 (10mL) 稀释,并将所得混合物用30%氢氧化铵溶液 (20mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (3x20mL) 萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用40%石油醚和60%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的3-(二氟甲基)异噻唑-5-胺 (60mg, 36% 产率)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ: 6.99 (s, 2H), 6.72 (t, J=54.6Hz, 1H), 6.31 (s, 1H)。LC-MS: m/z 151 [M+H]⁺。

[3292] 步骤7: (R)-2-氯-N-(3-(二氟甲基)异噻唑-5-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

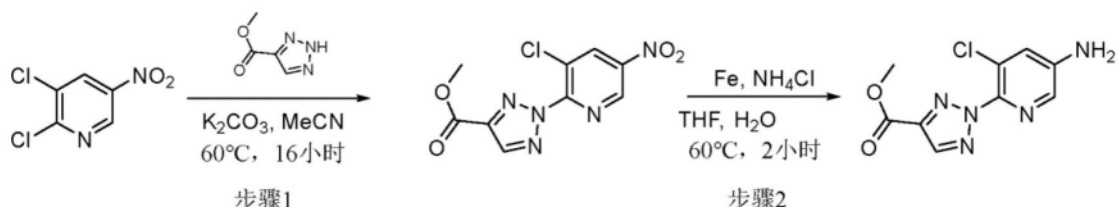


[3294] 向方法M1异构体2 (74mg, 266.4μmol) 于四氢呋喃 (2mL) 中的搅拌溶液中加入三光气 (40mg, 133.2μmol) 和TEA (40mg, 399.6μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到3-(二氟甲基)异噻唑-5-胺 (40mg, 266.4μmol) 于四氢呋喃 (2mL) 中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺 (65mg, 532.8μmol) 和TEA (270mg, 2.7mmol)。将混合物在40℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收

集的级分冻干,以得到呈黄色固体的(R)-2-氯-N-(3-(二氟甲基)异噻唑-5-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(30mg,24%产率)。实例179的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[3295] 实例179:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ :11.34(s,1H),9.34(s,1H),7.12(s,1H),7.08(s,1H),6.97(t,J=54.6Hz,1H),4.75(d,J=11.4Hz,1H),4.28(d,J=11.4Hz,1H),1.96(s,3H)。LC-MS:m/z 453[M+H]⁺。

[3296] 方法B6



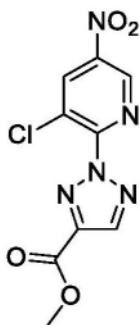
[3297]



[3298] 实例180:(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(2-羟基丙-2-基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3299] 步骤1:2-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯

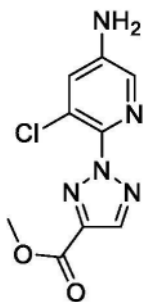
[3300]



[3301] 向2,3-二氯-5-硝基吡啶(5g,25.9mmol)于乙腈(60mL)中的搅拌溶液中加入碳酸钾(9.8g,70.7mmol)和1H-1,2,3-三唑-5-甲酸甲酯(3.0g,23.6mmol)。将反应混合物在60°C下搅拌16小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(4.8g,66%产率)。LC-MS:m/z 284[M+H]⁺。

[3302] 步骤2:2-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯

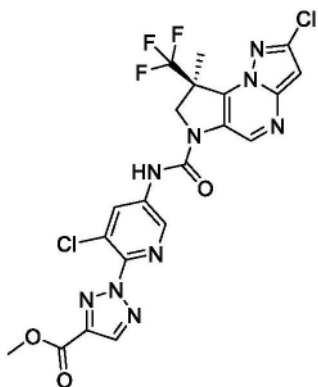
[3303]



[3304] 向2-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(3g,10.1mmol)于四氢呋喃(20mL)和水(10mL)中的搅拌溶液中加入Fe(2.8g,50.2mmol)和 NH_4Cl (2.7g,50.2mmol)。将混合物在60℃下搅拌2小时。冷却至25℃后,滤出固体。用乙酸乙酯(3x20mL)萃取滤液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(1.1g,41%产率)。 ^1H NMR(300MHz,氯仿-d) δ :8.30(s,1H),7.92(d,J=2.7Hz,1H),7.19(d,J=2.4Hz,1H),3.99(s,3H)。LC-MS:m/z 254[M+H] $^+$ 。

[3305] 步骤3:(R)-2-(3-氯-5-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯

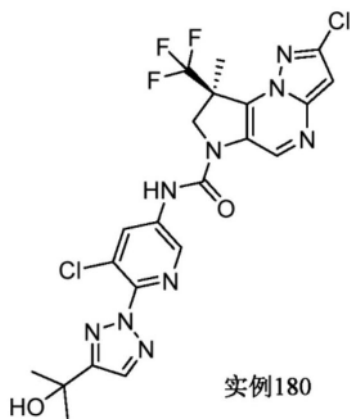
[3306]



[3307] 向2-(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(55mg,216.9 μmol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中加入三光气(80mg,271.1 μmol)和TEA(28mg,271.1 μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(50mg,180.7 μmol)于四氢呋喃(5mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(44mg,361.5 μmol)和TEA(183mg,1.8mmol)。将混合物在40℃下搅拌2小时。将反应混合物用水(15mL)稀释。用乙酸乙酯(3x15mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(30mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(R)-2-(3-氯-5-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(70mg,35%产率)。LC-MS:m/z 556[M+H] $^+$ 。

[3308] 步骤4:(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(2-羟基丙-2-基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3309]

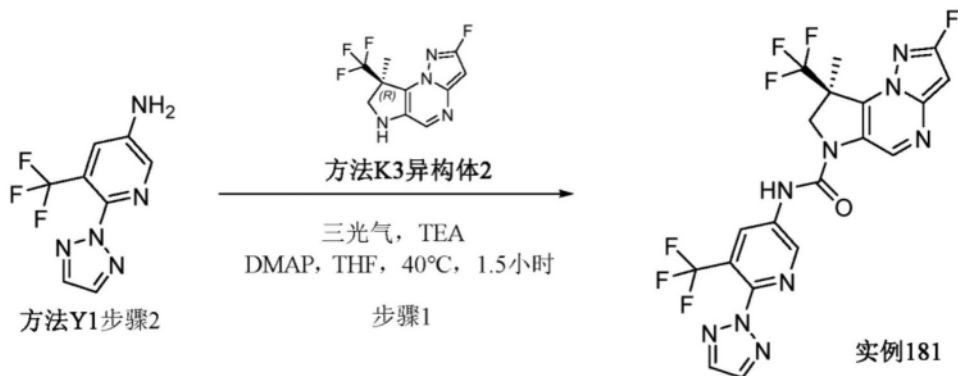


[3310] 在氮气气氛下在0℃下,向(R)-2-(3-氯-5-(2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)吡啶-2-基)-2H-1,2,3-三唑-4-甲酸甲酯(30mg, 53.9 μ mol)于四氢呋喃(5mL)中的混合物中逐滴加入甲基溴化镁(43.1 μ L, 129.3 μ mol, 3M, 于THF中)。将所得溶液在0℃下搅拌2小时。将反应混合物用饱和NH₄Cl水溶液(2mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x5mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(4-(2-羟基丙-2-基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(1.7mg, 5%产率)。实例180的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[3311] 实例180:¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ : 9.68(s, 1H), 9.36(s, 1H), 8.75(d, J=2.1Hz, 1H), 8.49(d, J=2.1Hz, 1H), 8.32(s, 1H), 7.08(s, 1H), 5.26(s, 1H), 4.85(d, J=11.4Hz, 1H), 4.30(d, J=11.4Hz, 1H), 1.99(s, 3H), 1.55(s, 6H)。LC-MS:m/z 556[M+H]⁺。

[3312] 方法C6

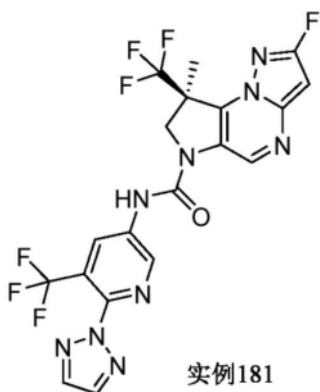
[3313]



[3314] 实例181: (R)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3315] 步骤1: (R)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3316]

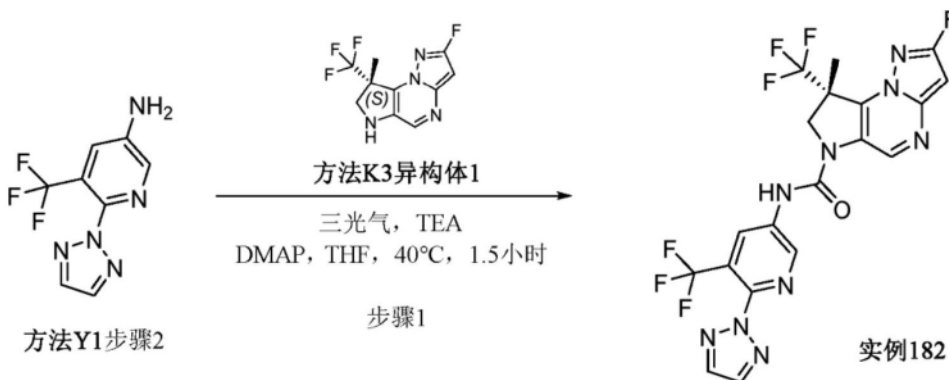


[3317] 向6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(方法Y1步骤2;26mg,115.3 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的搅拌溶液中加入三光气(21mg,69.2 μ mol)和TEA(23mg,226.9 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到(R)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(方法K3异构体2;30mg,115.3 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(21mg,173.0 μ mol)和TEA(57mg,567.3 μ mol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1.5小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(31.7mg,53%产率)。

[3318] 实例181: 1 H NMR(400MHz,氯仿-d) δ :9.40(s,1H),8.71-8.74(m,2H),7.96(s,2H),7.07(s,1H),6.36(d,J=5.2Hz,1H),4.62(d,J=10.4Hz,1H),4.07(d,J=10.4Hz,1H),2.05(s,3H)。LC-MS:m/z 516[M+H] $^+$ 。

[3319] 方法D6

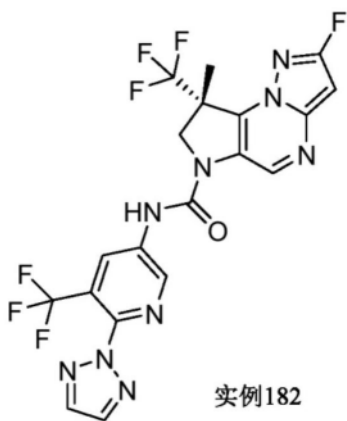
[3320]



[3321] 实例182:(S)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3322] 步骤1:(S)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

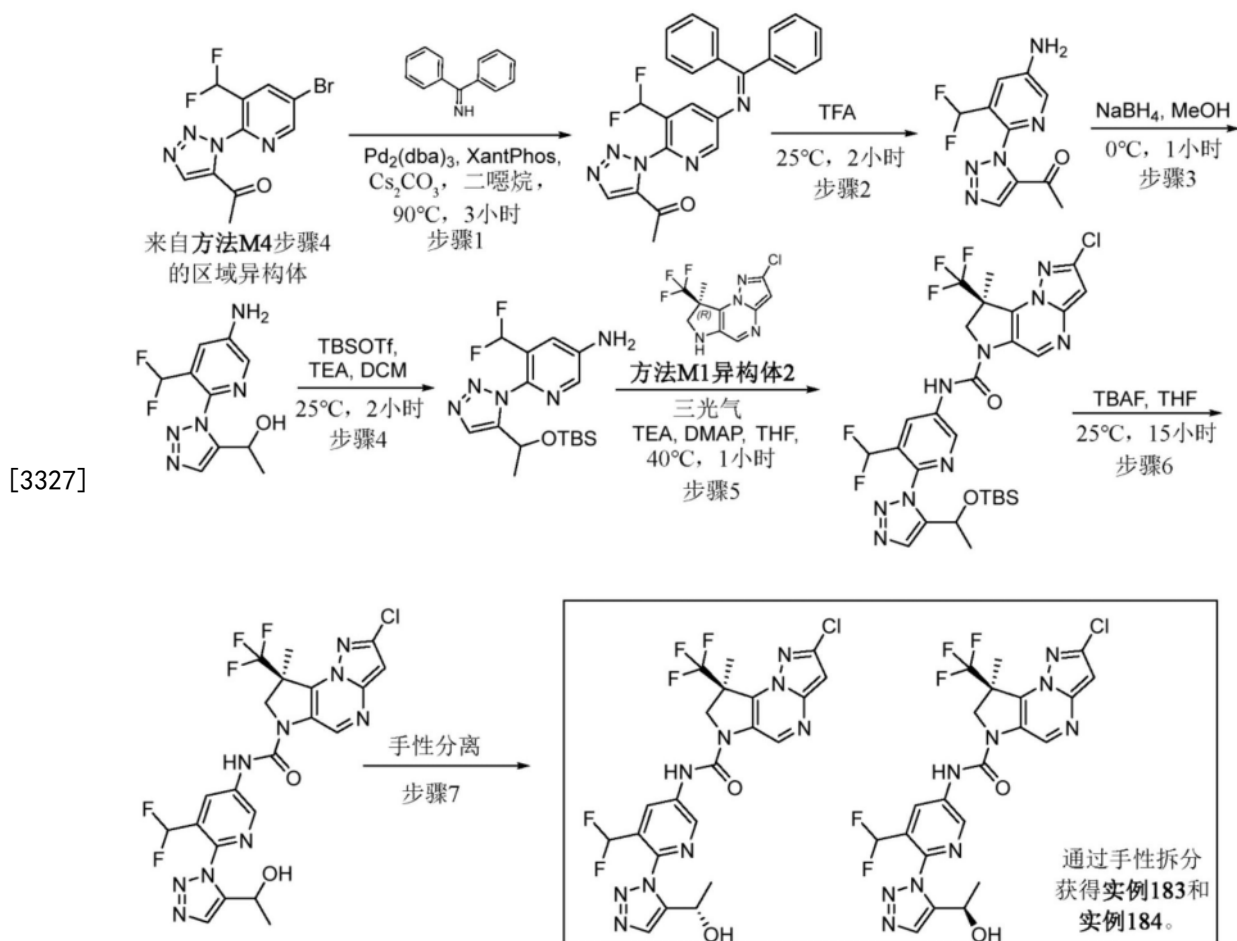
[3323]



[3324] 向6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(方法Y1步骤2;26mg,115.3 μmol)于四氢呋喃(1mL)中的搅拌溶液中加入三光气(21mg,69.2 μmol)和TEA(23mg,226.9 μmol)。将所得混合物在25 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到(S)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(方法K3异构体1;30mg,115.3 μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(21mg,173.0 μmol)和TEA(57mg,567.3 μmol)。将混合物在40 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌1.5小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(S)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(32.3mg,54%产率)。

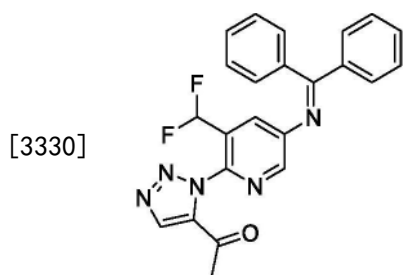
[3325] 实例182: ^1H NMR(400MHz,氯仿-d) δ :9.40(s,1H),8.69-8.73(m,2H),7.96(s,2H),7.21(s,1H),6.36(d,J=5.2Hz,1H),4.62(d,J=10.4Hz,1H),4.06(d,J=10.4Hz,1H),2.04(s,3H)。LC-MS:m/z 516[M+H] $^+$ 。

[3326] 方法E6



[3328] 实例183和184:由含有(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(5-((R)-1-羟乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(5-((S)-1-羟乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

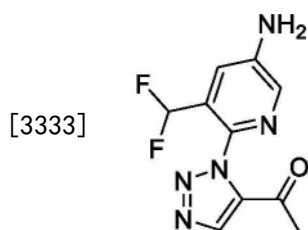
[3329] 步骤1:1-(1-(3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-基)乙-1-酮



[3331] 在氮气气氛下,向1-(1-(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-基)乙-1-酮(方法M4步骤4;1.8g,5.7mmol)和二苯基亚胺(1.1g,6.2mmol)于二噁烷(20mL)中的搅拌溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (259mg,283.8 μmol)、 Cs_2CO_3 (4.6g,14.1mmol)和XantPhos(246mg,425.0 μmol)。将反应混合物在 90°C 下搅拌3小时。冷却至 25°C 后,将反应混合物过滤。将滤饼用乙酸乙酯(10mL)洗涤。将滤液倒入水(50mL)中,并用乙酸乙酯(3x80mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油

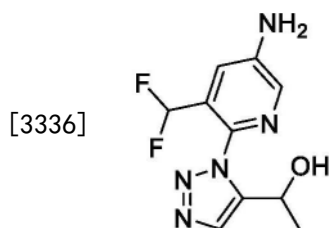
醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的1-(1-(3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-基)乙-1-酮(850mg, 36%产率)。LC-MS:m/z 418[M+H]⁺。

[3332] 步骤2:1-(1-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-基)乙-1-酮



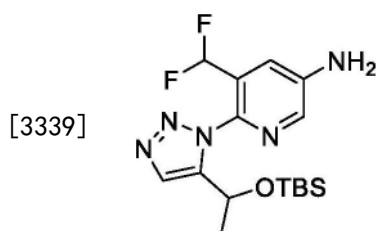
[3334] 将1-(1-(3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-基)乙-1-酮(700mg, 1.7mmol)于TFA(20mL)中的溶液在25℃下搅拌2小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(40mL)稀释。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的1-(1-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-基)乙-1-酮(260mg, 59%产率)。LC-MS:m/z 254[M+H]⁺。

[3335] 步骤3:1-(1-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-基)乙-1-醇



[3337] 在0℃下,向1-(1-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-基)乙-1-酮(165mg, 651.6μmol)于甲醇(30mL)中的搅拌混合物中加入NaBH₄(30mg, 782.0μmol)。将所得混合物在0℃下搅拌1小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用30%石油醚和70%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的1-(1-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-基)乙-1-醇(140mg, 85%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 8.28(s, 1H), 7.98(d, J=2.7Hz, 1H), 7.37(d, J=2.7Hz, 1H), 7.12(t, J=53.4Hz, 1H), 6.12(br, 2H), 5.34(d, J=5.7Hz, 1H), 4.85-4.93(m, 1H), 1.45(d, J=6.6Hz, 3H)。LC-MS:m/z 256[M+H]⁺。

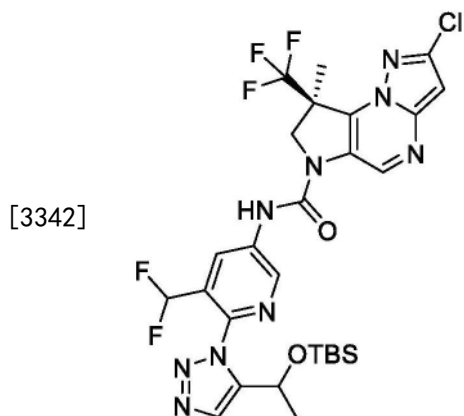
[3338] 步骤4:6-(5-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-胺



[3340] 在0℃下,向1-(1-(5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)-1H-1,2,3-三唑-5-基)乙-

1-醇(140mg, 548.5 μ mol)于二氯甲烷(10mL)中的搅拌溶液中加入二甲基甲硅烷基三氟甲磺酸叔丁酯(290mg, 1.1mmol)和TEA(167mg, 1.7mmol)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈淡黄色固体的6-(5-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-胺(170mg, 79%产率)。 1 H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ : 8.29 (s, 1H), 7.98 (d, J=2.7Hz, 1H), 7.37 (d, J=2.7Hz, 1H), 7.10 (t, J=54.6Hz, 1H), 6.13 (br, 2H), 5.09 (q, J=6.6Hz, 1H), 1.49 (d, J=6.3Hz, 3H), 0.85 (s, 9H), 0.09 (s, 3H), 0.01 (s, 3H)。LC-MS:m/z 370[M+H] $^+$ 。

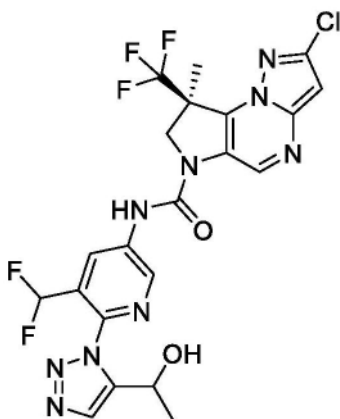
[3341] 步骤5: (8R)-N-(6-(5-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3343] 向6-(5-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-胺(90mg, 243.6 μ mol)于四氢呋喃(3mL)中的搅拌溶液中加入TEA(37mg, 365.4 μ mol)和三光气(43mg, 146.2 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(47mg, 170.5 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(60mg, 487.2 μ mol)和TEA(246mg, 2.4mmol)。将反应混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈白色固体的(8R)-N-(6-(5-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(150mg, 79%产率)。LC-MS:m/z 672[M+H] $^+$ 。

[3344] 步骤6: (8R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(5-(1-羟乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

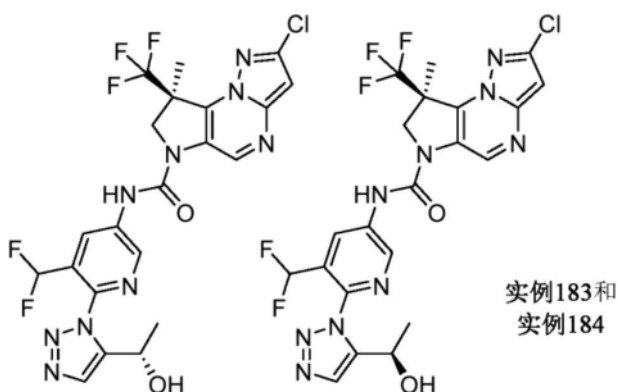
[3345]



[3346] 在25℃下,向(8R)-N-(6-(5-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(150mg,223.3 μ mol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中加入四丁基氟化铵(1mL,1M,于四氢呋喃中)。将反应混合物在25℃下搅拌15小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用93%二氯甲烷和7%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈白色固体的(8R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(5-(1-羟乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(60mg,48%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ :9.67(s,1H),9.35(s,1H),8.96(d,J=2.1Hz,1H),8.58(d,J=2.4Hz,1H),8.52(s,1H),7.44(t,J=54.3Hz,1H),7.06(s,1H),4.89-4.96(m,1H),4.85(d,J=11.4Hz,1H),4.30(d,J=11.4Hz,1H),1.98(s,3H),1.48(d,J=6.6Hz,3H)。LC-MS:m/z 558[M+H]⁺。

[3347] 步骤7:分离对映异构体以获得(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(5-((R)-1-羟乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(5-((S)-1-羟乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3348]

实例183和
实例184

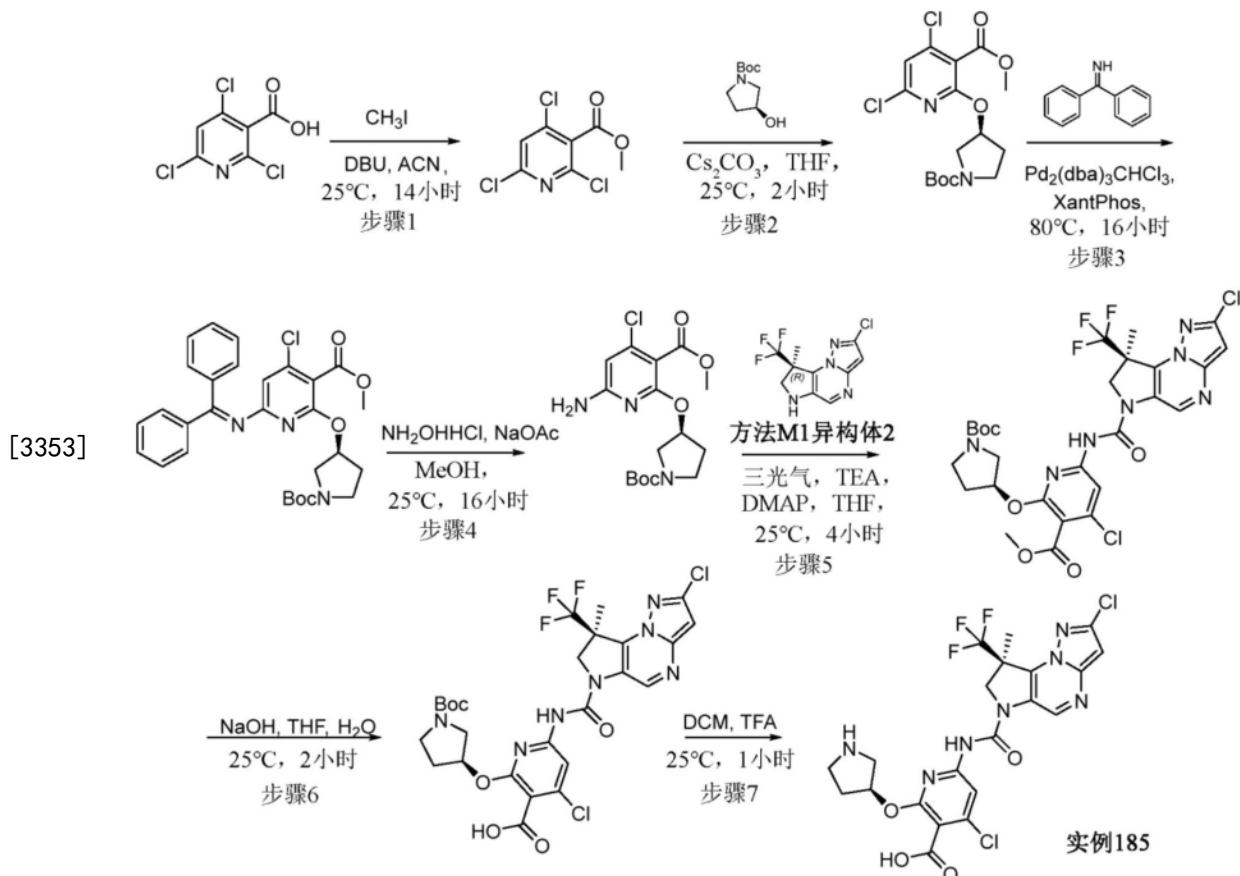
[3349] 对(8R)-2-氯-N-(5-(二氟甲基)-6-(5-(1-羟乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(50mg,89.6 μ mol)进行手性HPLC纯化:色谱柱:CHIRALPAK IA,3x25cm,5 μ m;流动相A:Hex(0.5%2M NH₃-MeOH)-HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:40毫升/分钟;梯度:在28分钟内,15%B到15%B;波长:220/254nm;RT1(分钟):19.3;RT2(分钟):23.7;样品溶剂:EtOH--

HPLC;注射体积:0.5mL;运行次数:5。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例183(9.1mg,18%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例184(13.2mg,26%产率)。实例183和184的对应的立体异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。实施例183和184是非对映异构体,其中与三氟甲基连接的立体中心是绝对的并且甲醇立体中心是相对的(即,实例183和184中的一个中的甲醇立体中心是(S),实例183和184中的另一个中的甲醇立体中心是(R))。

[3350] 实例183: ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ :9.70(s, 1H), 9.37(s, 1H), 8.98(d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 8.60(d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 8.53(s, 1H), 7.46(t, $J=54.4\text{Hz}$, 1H), 7.08(s, 1H), 5.44(d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 4.92-4.96(m, 1H), 4.87(d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 4.33(d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 1.99(s, 3H), 1.49(d, $J=6.8\text{Hz}$, 3H)。LC-MS: m/z 558 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

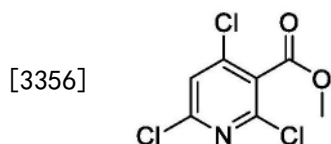
[3351] 实例184: ^1H NMR(300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ :9.67(s, 1H), 9.35(s, 1H), 8.97(d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.58(d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.51(s, 1H), 7.44(t, $J=54.0\text{Hz}$, 1H), 7.06(s, 1H), 5.40(d, $J=5.1\text{Hz}$, 1H), 4.91-4.95(m, 1H), 4.85(d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 4.30(d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 1.97(s, 3H), 1.47(d, $J=6.6\text{Hz}$, 3H)。LC-MS: m/z 558 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[3352] 方法F6



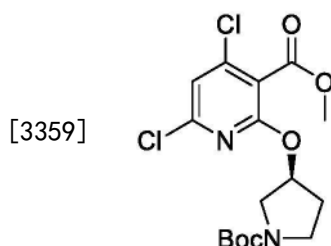
[3354] 实例185:4-氯-6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-2-(((S)-吡咯烷-3-基)氧基)烟酸

[3355] 步骤1:2,4,6-三氯烟酸甲酯



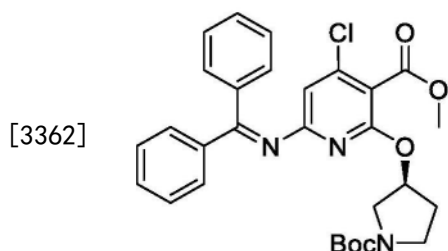
[3357] 在0℃下,向2,4,6-三氯烟酸(20g,88.3mmol)于乙腈(400mL)中的搅拌混合物中加入碘甲烷(62.6g,441.6mmol)和DBU(40.3g,291.8mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌14小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用水(800mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x1000mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2,4,6-三氯烟酸甲酯(18.6g,84%产率)。LC-MS:m/z 240[M+H]⁺。

[3358] 步骤2: (S)-2-((1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)氧基)-4,6-二氯烟酸甲酯



[3360] 在25℃下,向(S)-3-羟基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(7g,37.4mmol)于四氢呋喃(200mL)中的搅拌混合物中加入2,4,6-三氯烟酸甲酯(9g,37.4mmol)和碳酸铯(24.4g,74.8mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(S)-2-((1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)氧基)-4,6-二氯烟酸甲酯(3.9g,26%产率)。LC-MS:m/z391[M+H]⁺。

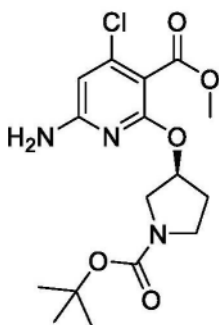
[3361] 步骤3: (S)-2-((1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)氧基)-4-氯-6-((二苯基亚甲基)氨基)烟酸甲酯



[3363] 向(S)-2-((1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)氧基)-4,6-二氯烟酸甲酯(3.9g,9.9mmol)于二噁烷(200mL)中的搅拌溶液中加入二苯基甲亚胺(2.7g,14.9mmol)、Pd₂(dba)₃CHCl₃(1.0g,996.8μmol)、XantPhos(1.1g,1.9mmol)和Cs₂CO₃(6.5g,19.9mmol)。将所得混合物在80℃下搅拌16小时。将混合物冷却至25℃。将混合物在真空下浓缩。将残留物用水(200mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈黄色油状物的(S)-2-((1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)氧基)-4-氯-6-((二苯基亚甲基)氨基)烟酸甲酯(3g,13%产率)。LC-MS:m/z 536[M+H]⁺。

[3364] 步骤4: (S)-6-氨基-2-((1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)氧基)-4-氯烟酸甲酯

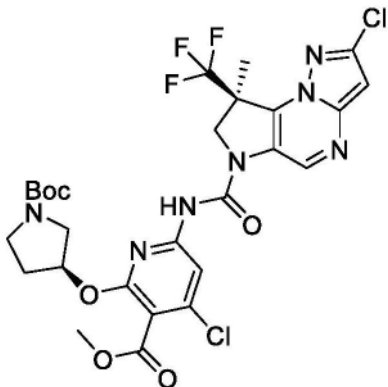
[3365]



[3366] 向(S)-2-((1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)氧基)-4-氯-6-((二苯基亚甲基)氨基)烟酸甲酯(3g, 5.6mmol)于甲醇(100mL)中的搅拌溶液中加入盐酸羟胺(583mg, 8.4mmol)和乙酸钠(918mg, 11.1mmol)。将混合物在25℃下搅拌16小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用水(200mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(S)-6-氨基-2-((1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)氧基)-4-氯烟酸甲酯(1g, 44%产率)。LC-MS:m/z 372[M+H]⁺。

[3367] 步骤5:2-(((S)-1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)氧基)-4-氯-6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)烟酸甲酯

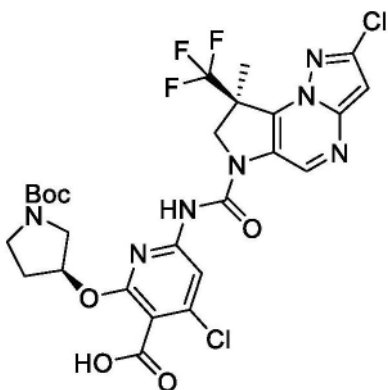
[3368]



[3369] 向方法M1异构体2(49mg, 179.3μmol)于四氢呋喃(2mL)中的搅拌溶液中加入三光气(31mg, 107.5μmol)和TEA(54mg, 537.9μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到(S)-6-氨基-2-((1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)氧基)-4-氯烟酸甲酯(100mg, 268.9μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(43mg, 358.6μmol)和TEA(108mg, 1.1mmol)。将混合物在25℃下搅拌3小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的2-(((S)-1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)氧基)-4-氯-6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)烟酸甲酯(100mg, 66%产率)。LC-MS:m/z 674[M+H]⁺。

[3370] 步骤6:2-(((S)-1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)氧基)-4-氯-6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)烟酸

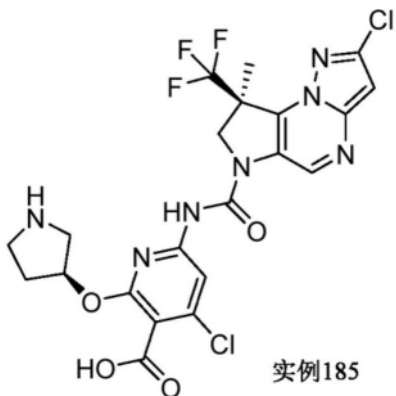
[3371]



[3372] 向2-(((S)-1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)氧基)-4-氯-6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)烟酸甲酯(50mg, 74 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的搅拌溶液中加入氢氧化钠(6mg, 148.27 μ mol)和水(1mL)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。用HCl(1M)将pH调整到3。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将反应混合物浓缩,以得到呈白色固体的2-(((S)-1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)氧基)-4-氯-6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)烟酸(30mg, 61%产率)。LC-MS:m/z 660[M+H]⁺。

[3373] 步骤7:4-氯-6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-2-(((S)-吡咯烷-3-基)氧基)烟酸

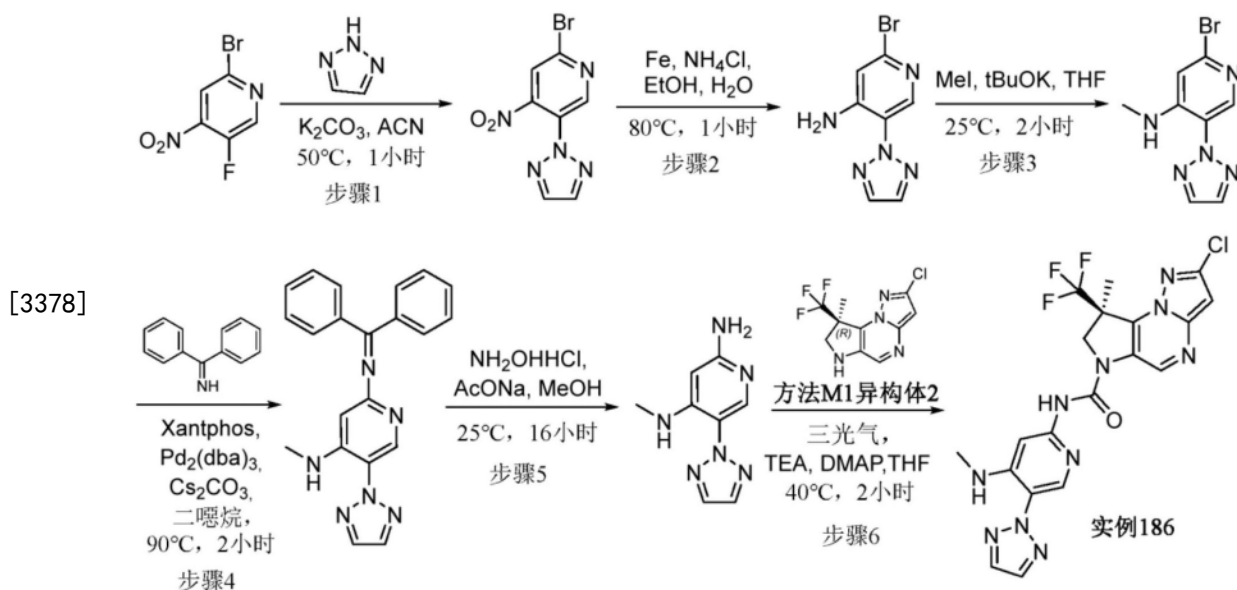
[3374]



[3375] 向2-(((S)-1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)氧基)-4-氯-6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)烟酸(30mg, 45 μ mol)于二氯甲烷(2mL)中的搅拌混合物中加入TFA(0.4mL)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的4-氯-6-((R)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺基)-2-(((S)-吡咯烷-3-基)氧基)烟酸(4.4mg, 17%产率)。实例185的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

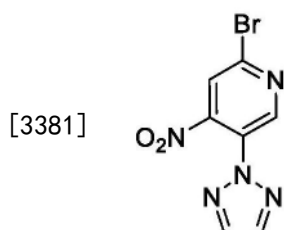
[3376] 实例185:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ : 14.88(br, 1H), 9.38(s, 1H), 7.95(br, 2H), 7.01(s, 1H), 6.46(s, 1H), 5.41-5.43(m, 1H), 4.53(d, J=11.6Hz, 1H), 4.23(d, J=11.6Hz, 1H), 3.55-3.65(m, 1H), 3.28(s, 3H), 2.28-2.32(m, 1H), 2.15-2.16(m, 1H), 1.99(s, 3H)。LC-MS:m/z560[M+H]⁺。

[3377] 方法G6



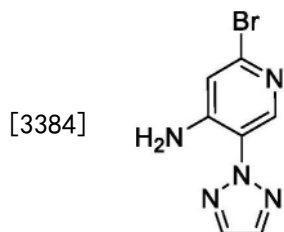
[3379] 实例186: (R)-2-氯-8-甲基-N-(4-(甲基氨基)-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3380] 步骤1: 2-溴-4-硝基-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶



[3382] 向2-溴-5-氟-4-硝基吡啶 (2.80g, 12.6mmol) 于乙腈 (20mL) 中的搅拌溶液中加入 2H-1,2,3-三唑 (875mg, 12.6mmol) 和 K_2CO_3 (3.50g, 25.2mmol)。将反应混合物在 50°C 下搅拌 1 小时。冷却至 25°C 后, 将反应混合物用水 (100mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (3x100mL) 萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水 (100mL) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用 60% 石油醚和 40% 乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化, 以得到呈白色固体的 2-溴-4-硝基-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶 (1.20g, 35% 产率)。 1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ : 9.14 (s, 1H), 7.93 (s, 2H), 7.81 (s, 1H)。LC-MS: m/z 270 [M+H]⁺。

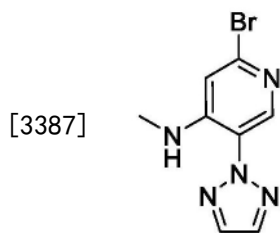
[3383] 步骤2: 2-溴-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-4-胺



[3385] 在 25°C 下, 向 2-溴-4-硝基-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶 (1.20g, 4.4mmol) 于乙醇 (60mL) 和水 (20mL) 中的搅拌溶液中加入 Fe (740mg, 13.2mmol) 和 NH_4Cl (1.17g, 22.0mmol)。将反应混合物在 80°C 下搅拌 1 小时。冷却至 25°C 后, 滤出固体。将滤液在真空下浓缩以去除乙醇。用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水 (100mL) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用 60% 石油醚和 40% 乙酸乙酯作

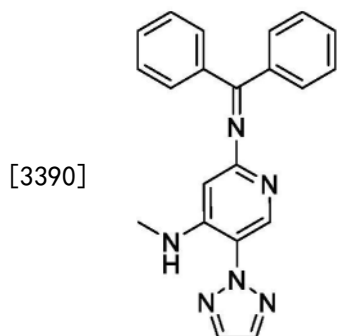
为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-溴-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-4-胺(880mg,82%产率)。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ :8.56(s,1H),7.99(s,2H),7.05(s,1H)。LC-MS:m/z240[M+H]⁺。

[3386] 步骤3:2-溴-N-甲基-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-4-胺



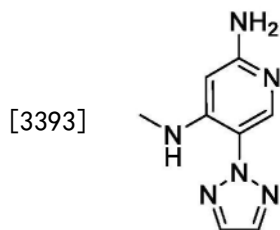
[3388] 向2-溴-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-4-胺(880mg,3.6mmol)于四氢呋喃(30mL)中的搅拌溶液中加入碘甲烷(484mg,3.4mmol)和叔丁醇钾(822mg,7.2mmol)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分浓缩,以得到呈白色固体的2-溴-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-4-胺(520mg,55%产率)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ :8.76(s,1H),7.85(s,2H),7.67(s,1H),6.83(br,1H),2.97(d,J=5.2Hz,3H),0.07(s,1H)。LC-MS:m/z 254[M+H]⁺。

[3389] 步骤4:2-((二苯基亚甲基)氨基)-N-甲基-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-4-胺



[3391] 向2-溴-N-甲基-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-4-胺(520mg,2.0mmol)和二苯基亚甲胺(370mg,2.0mmol)于二噁烷(40mL)中的搅拌溶液中加入XantPhos(355mg,613.9 μ mol)、Pd₂(dba)₃(235mg,409.3 μ mol)和Cs₂CO₃(2.00g,6.1mmol)。将反应混合物在氮气气氛下在90℃下搅拌2小时。冷却至25℃后,滤出固体。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2-((二苯基亚甲基)氨基)-N-甲基-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-4-胺(160mg,22%产率)。LC-MS:m/z 355[M+H]⁺。

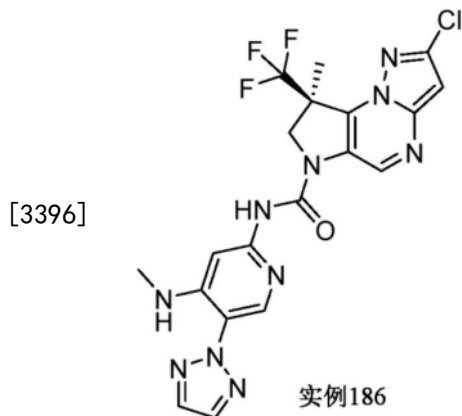
[3392] 步骤5:N⁴-甲基-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2,4-二胺



[3394] 向2-((二苯基亚甲基)氨基)-N-甲基-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-4-胺(160mg,451.4 μ mol)于甲醇(10mL)中的搅拌溶液加入盐酸羟胺(62mg,892.2 μ mol)和乙酸钠

(92mg, 1.1mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌16小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的N⁴-甲基-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2,4-二胺(80mg, 93%产率)。¹H NMR(400MHz, 甲醇-d₄) δ: 8.41(s, 1H), 7.93(s, 2H), 5.99(s, 1H), 2.74(s, 3H)。LC-MS:m/z 191[M+H]⁺。

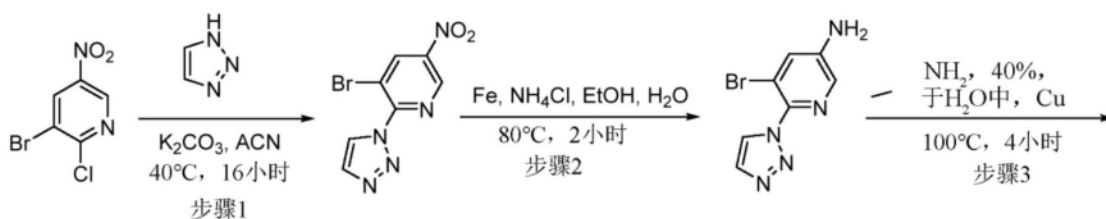
[3395] 步骤6: (R)-2-氯-8-甲基-N-(4-(甲基氨基)-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



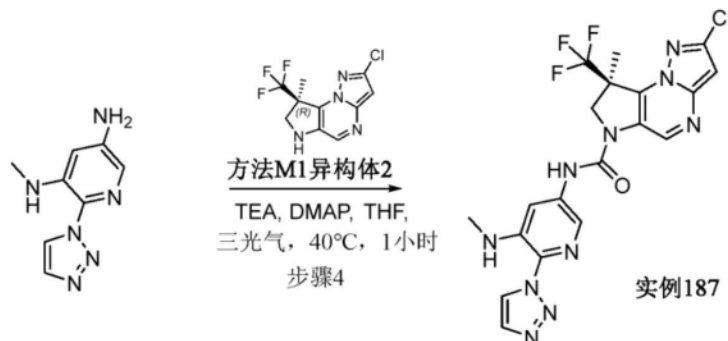
[3397] 向方法M1异构体2(40mg, 144.5μmol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中加入三光气(25mg, 86.7μmol)和TEA(22mg, 216μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到N⁴-甲基-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2,4-二胺(27mg, 144.5μmol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(146mg, 1.4mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(35mg, 289μmol)。将混合物在40℃下搅拌2小时。将反应混合物用水(10mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-8-甲基-N-(4-(甲基氨基)-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(10.7mg, 14%产率)。实例186的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[3398] 实例186:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 9.85(br, 1H), 9.35(s, 1H), 8.33(s, 1H), 8.15(s, 2H), 7.37(s, 1H), 7.00-7.05(m, 2H), 4.98(d, J=11.6Hz, 1H), 4.24(d, J=11.6Hz, 1H), 2.86(d, J=4.8Hz, 3H), 1.94(s, 3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]⁺。

[3399] 方法H6

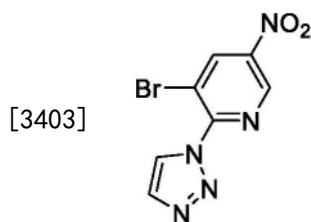


[3400]



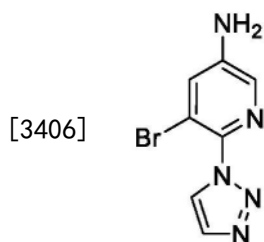
[3401] 实例187: (R)-2-氯-8-甲基-N-(5-(甲基氨基)-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3402] 步骤1: 3-溴-5-硝基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶



[3404] 向3-溴-2-氯-5-硝基吡啶 (10.0g, 42.4mmol) 于乙腈 (200mL) 中的搅拌溶液中加入2H-1,2,3-三唑 (3.2g, 46.6mmol) 和 K_2CO_3 (11.7g, 84.7mmol)。将所得混合物在40°C下搅拌16小时。将混合物冷却至25°C。过滤反应混合物,并将收集的固体用乙酸乙酯 (3x200mL) 洗涤。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的3-溴-5-硝基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶 (2.0g, 17%产率)。LC-MS: m/z 270[M+H]⁺。

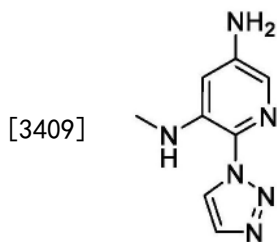
[3405] 步骤2: 5-溴-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-胺



[3407] 向3-溴-5-硝基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶 (1.0g, 3.7mmol) 于乙醇 (45mL) 和水 (15mL) 中的溶液中加入Fe (1.0g, 18.6mmol)、 NH_4Cl (0.8g, 14.8mmol)。将所得混合物在80°C下搅拌2小时。冷却至25°C后,滤出固体。将滤液在真空下浓缩以去除乙醇。将所得溶液用水 (50mL) 稀释,用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (100mL) 洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的5-溴-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-胺

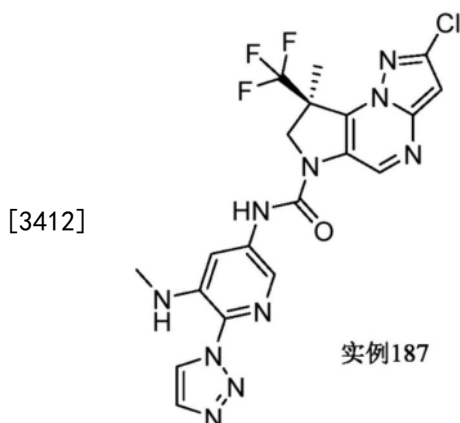
(0.8g, 89%产率)。LC-MS:m/z 240[M+H]⁺。

[3408] 步骤3: N³-甲基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3,5-二胺



[3410] 向5-(二氟甲基)-1H-吡啶-3-胺(500mg, 3.3mmol)于甲胺(4mL, 40%, 于水中)中的搅拌溶液中加入铜(8mg, 0.1mmol)。将反应混合物在100℃下搅拌4小时。将混合物冷却至25℃。将反应混合物用水(20mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的N³-甲基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3,5-二胺(280mg, 71%产率)。LC-MS:m/z 191[M+H]⁺。

[3411] 步骤4: (R)-2-氯-8-甲基-N-(5-(甲基氨基)-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

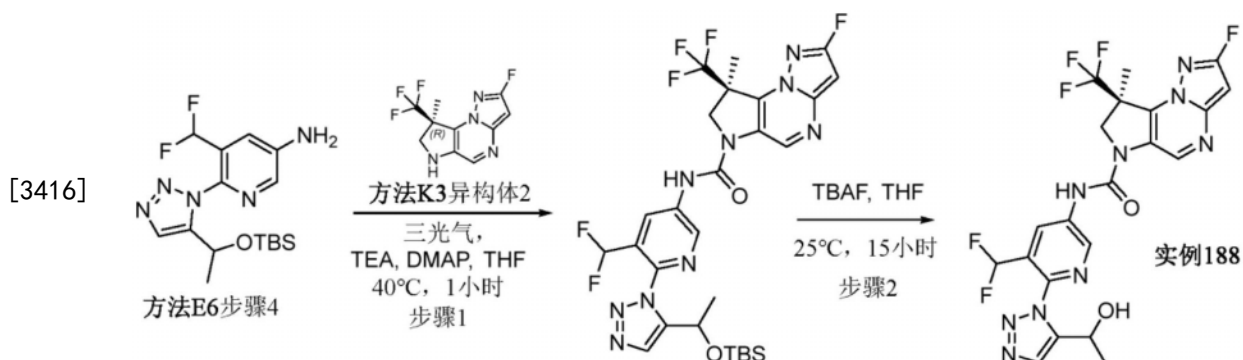


[3413] 在25℃下,向N³-甲基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3,5-二胺(42mg, 217μmol)于四氢呋喃(8mL)中的搅拌溶液中加入三光气(32mg, 108μmol)和TEA(22mg, 217.4μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2(48mg, 173μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(220mg, 2.2mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(53mg, 434μmol)。将反应混合物在40℃下搅拌1小时。将反应混合物用水(20mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到粗产物。对粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-8-甲基-N-(5-(甲基氨基)-6-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(23mg, 31%产率)。实例187的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[3414] 实例187: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 9.37 (s, 1H), 9.26 (br, 1H), 8.70 (d, J=1.2Hz, 1H), 8.10 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.98 (d, J=1.2Hz, 1H), 7.57 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.76 (br, 1H), 4.86 (d, J=11.2Hz, 1H), 4.28 (d, J=11.2Hz, 1H), 2.88 (d, J=4.0Hz,

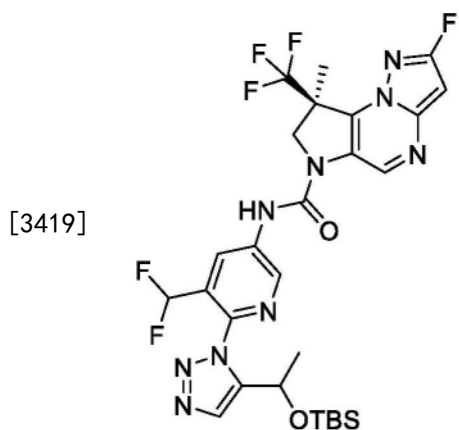
3H), 1.99 (s, 3H)。LC-MS: m/z 493 [M+H]⁺。

[3415] 方法I6



[3417] 实例188: (8R)-N-(5-(二氟甲基)-6-(5-(1-羟乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

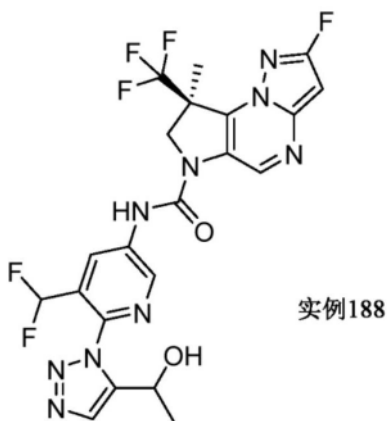
[3418] 步骤1: (8R)-N-(6-(5-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3420] 向6-(5-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-胺(与方法M4步骤8类似地制备; 30mg, 81.2 μ mol)于四氢呋喃(3mL)中的搅拌溶液中加入TEA(12mg, 121.8 μ mol)和三光气(14mg, 48.7 μ mol)。将所得混合物在25°C下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到(R)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(方法K3异构体2; 15mg, 57.7 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(20mg, 162.4 μ mol)和TEA(82mg, 800 μ mol)。将混合物在40°C下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈白色固体的(8R)-N-(6-(5-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(25mg, 45%产率)。LC-MS: m/z 656 [M+H]⁺。

[3421] 步骤2: (8R)-N-(5-(二氟甲基)-6-(5-(1-羟乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

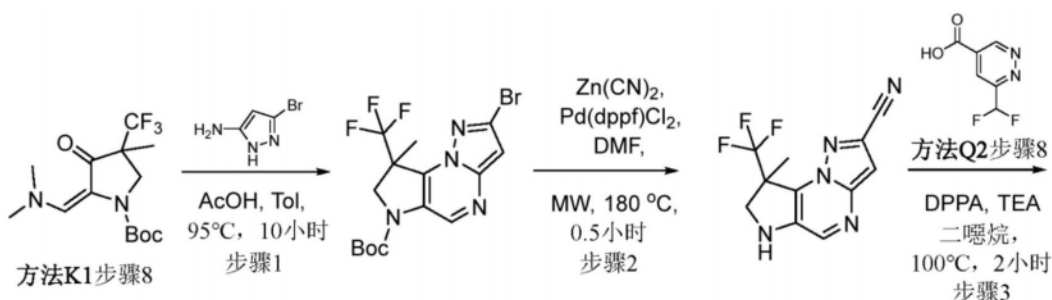
[3422]



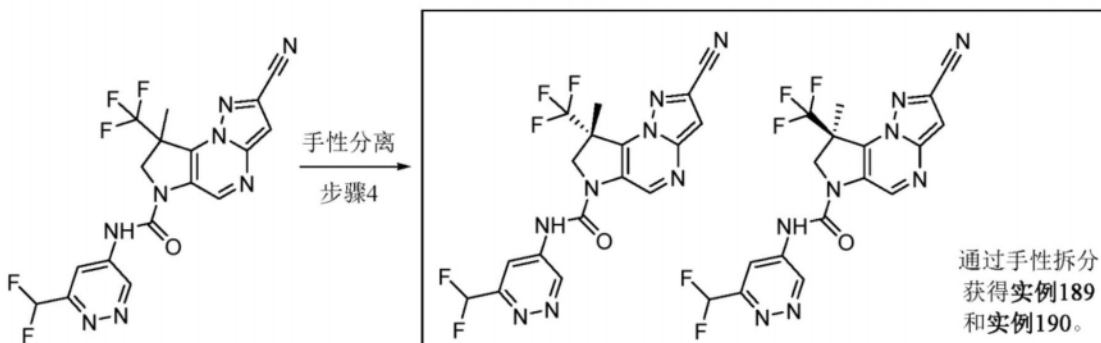
[3423] 在25℃下,向(8R)-N-(6-(5-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(25mg, 38.1 μ mol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中加入四丁基氟化铵(1mL, 1M, 于四氢呋喃中)。将反应在25℃下搅拌15小时。在真空下去除溶剂。将混合物在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(8R)-N-(5-(二氟甲基)-6-(5-(1-羟乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(16.8mg, 81%产率)。实例188的相对于与三氟甲基连接的手性中心的对应的立体异构体可以使用方法K3异构体1类似地制备。

[3424] 实例188:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.67(s, 1H), 9.36(s, 1H), 8.98(d, J=2.4Hz, 1H), 8.60(d, J=2.4Hz, 1H), 8.53(s, 1H), 7.45(t, J=54.0Hz, 1H), 6.70(d, J=4.8Hz, 1H), 5.43(d, J=5.2Hz, 1H), 4.92-4.98(m, 1H), 4.85(d, J=11.6Hz, 1H), 4.31(d, J=11.6Hz, 1H), 1.98(s, 3H), 1.49(d, J=6.4Hz, 3H)。LC-MS:m/z 542[M+H]⁺。

[3425] 方法J6



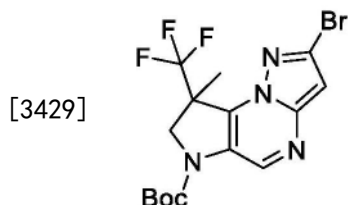
[3426]



[3427] 实例189和190:由含有(S)-2-氰基-N-(6-(二氟甲基)吡啶-4-基)-8-甲基-8-(三

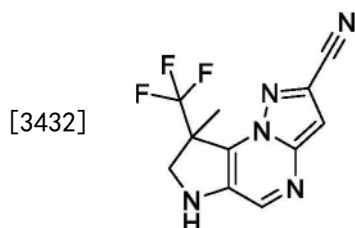
氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氰基-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[3428] 步骤1:2-溴-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[3430] 向3-溴-1H-吡唑-5-胺(280mg,1.7mmol)于甲苯(10mL)中的搅拌溶液中加入乙酸(1mL)和(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(方法K1步骤8;557mg,1.7mmol)。将反应混合物在95℃下搅拌10小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(10mL)稀释。用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2-溴-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(420mg,57%产率)。LC-MS:m/z 421[M+H]⁺。

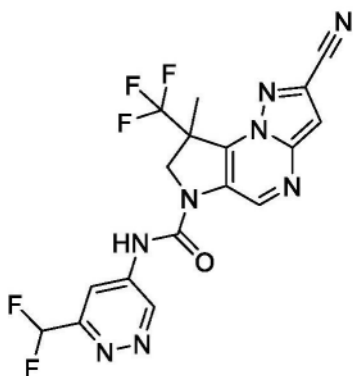
[3431] 步骤2:8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-2-甲腈



[3433] 在氮气气氛下,向2-溴-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(200mg,474.8μmol)于N,N-二甲基甲酰胺(5mL)中的搅拌溶液中加入Zn(CN)₂(112mg,949.6μmol)和PdCl₂(dppf)(52mg,71.2μmol)。将最终的反应混合物在180℃下用微波辐射照射0.5小时。冷却至25℃后,滤出固体。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-2-甲腈(100mg,76%产率)。LC-MS:m/z 268[M+H]⁺。

[3434] 步骤3:2-氰基-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

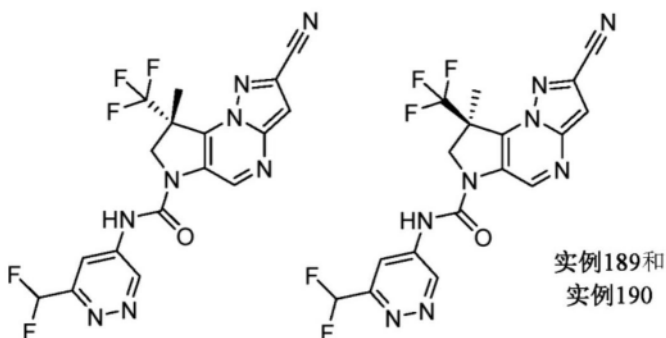
[3435]



[3436] 在25℃下,向8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-2-甲腈(50mg,187.1 μ mol)和6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸(方法Q2步骤8;33mg,187.1 μ mol)于二噁烷(5mL)中的搅拌溶液中加入DPPA(55mg,224.5 μ mol)和TEA(95mg,935.6 μ mol)。将所得混合物在100℃下搅拌2小时。将反应冷却至25℃。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用水(10mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的2-氰基-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(15mg,18%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.99(s,1H),9.51(s,2H),8.21(d,J=2.8Hz,1H),7.78(s,1H),7.25(t,J=54.4Hz,1H),4.91(d,J=11.6Hz,1H),4.35(d,J=11.6Hz,1H),1.99(s,3H)。LC-MS:m/z 439[M+H]⁺。

[3437] 步骤4:分离对映异构体以获得(S)-2-氰基-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氰基-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3438]

实例189和
实例190

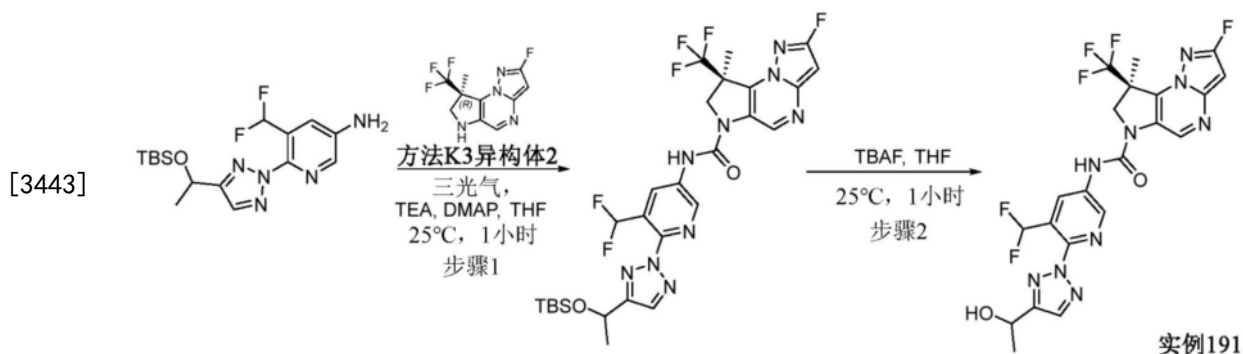
[3439] 对2-氰基-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(15mg,34.2 μ mol)进行手性HPLC:色谱柱:Lux 5 μ m Cellulose-2,2.12*25cm,5 μ m;流动相A:Hex(0.5%2M NH₃-MeOH)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在25分钟内,40B到40B;254/220nm;RT1:13.242;RT2:19.844;注射体积:1ml;运行次数:2。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈淡黄色固体的实例189(6.7mg,44%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈淡黄色固体的实例190(6.4mg,42%产率)。实例189和190是对映异构体,但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[3440] 实例189:¹H NMR(300MHz,甲醇-d₄) δ :9.57(s,1H),9.48(d,J=2.4Hz,1H),8.34(d,

$J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.40 (s, 1H), 6.96 (t, $J=54.3\text{Hz}$, 1H), 4.85 (d, $J=10.5\text{Hz}$, 1H), 4.28 (d, $J=10.5\text{Hz}$, 1H), 2.06 (s, 3H)。LC-MS: m/z 439[M+H]⁺。

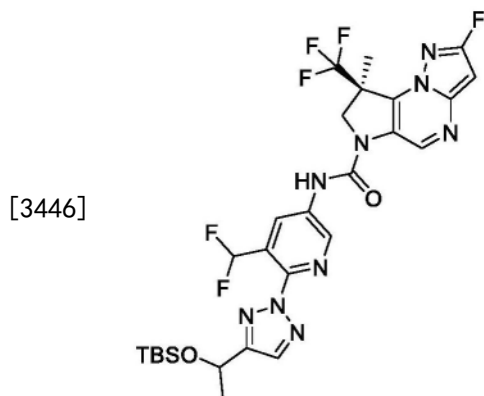
[3441] 实例190:¹H NMR(300MHz, 甲醇-d₄) δ : 9.57 (s, 1H), 9.49 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.34 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.40 (s, 1H), 6.97 (t, $J=54.3\text{Hz}$, 1H), 4.85 (d, $J=11.7\text{Hz}$, 1H), 4.29 (d, $J=11.7\text{Hz}$, 1H), 2.06 (s, 3H)。LC-MS: m/z 439[M+H]⁺。

[3442] 方法K6



[3444] 实例191: (8R)-N-(5-(二氟甲基)-6-(4-(1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3445] 步骤1: (8R)-N-(6-(4-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

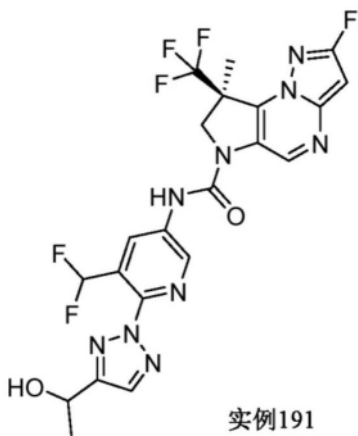


[3447] 在25°C下,向6-(4-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-胺(40mg, 108.2 μmol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌混合物中加入三光气(19mg, 64.96 μmol)和TEA(16mg, 162.4 μmol)。将所得混合物在25°C下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到(R)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(20mg, 75.8 μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(109mg, 1.1mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(26mg, 216.5 μmol)。将混合物在25°C下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈白色固体的(8R)-N-(6-(4-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(15mg, 21%产

率)。LC-MS:m/z 656[M+H]⁺。

[3448] 步骤2: (8R)-N-(5-(二氟甲基)-6-(4-(1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

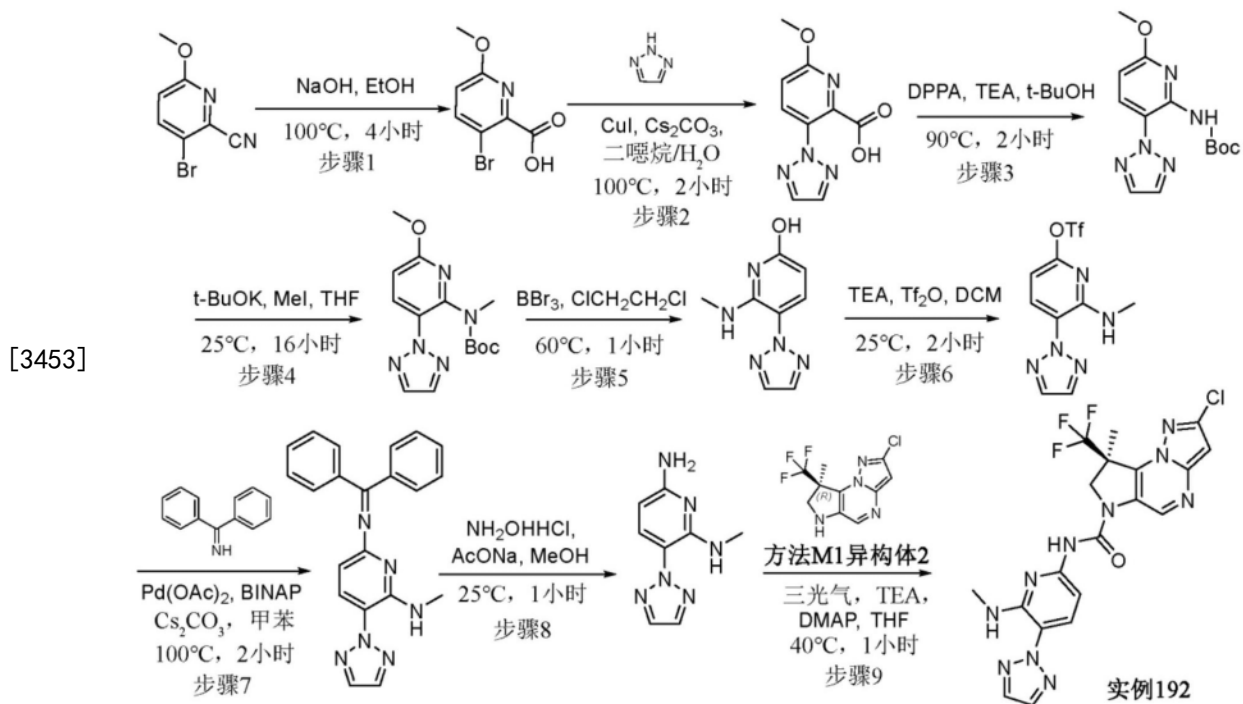
[3449]



[3450] 向(8R)-N-(6-(4-(1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(15mg, 22.88 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的搅拌混合物中加入四丁基氟化铵(1mL, 1M, 于四氢呋喃中)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将反应混合物浓缩。将残留物通过使用100%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到粗产物。对粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈灰白色固体的(8R)-N-(5-(二氟甲基)-6-(4-(1-羟乙基)-2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(4.5mg, 36%产率)。实例191的相对于与三氟甲基连接的手性中心的对应的立体异构体可以使用方法K3异构体1类似地制备。

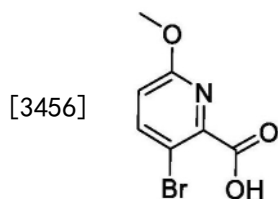
[3451] 实例191:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.65(s, 1H), 9.36(s, 1H), 8.95(d, J=2.4Hz, 1H), 8.57(d, J=2.4Hz, 1H), 8.09(s, 1H), 7.41(t, J=54.4Hz, 1H), 6.69(d, J=4.8Hz, 1H), 5.55(d, J=5.2Hz, 1H), 4.93-4.99(m, 1H), 4.86(d, J=11.6Hz, 1H), 4.31(d, J=11.6Hz, 1H), 1.97(s, 3H), 1.48(d, J=6.4Hz, 3H)。LC-MS:m/z 542[M+H]⁺。

[3452] 方法L6



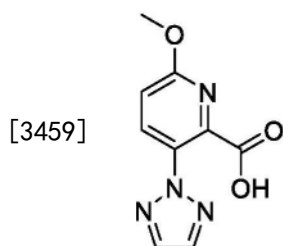
[3454] 实例192: (R)-2-氯-8-甲基-N-(6-(甲基氨基)-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3455] 步骤1: 3-溴-6-甲氧基吡啶甲酸



[3457] 在25°C下,向3-溴-6-甲氧基吡啶甲腈(850mg, 3.9mmol)于乙醇(15mL)中的搅拌溶液中加入氢氧化钠(1.60g, 39.9mmol)。将所得混合物在100°C下搅拌4小时。冷却至25°C后,将反应溶液用水(50mL)淬灭。用HCl(1M)将pH调整到3。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取混合物。将合并的有机层用盐水(60mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈黄色固体的3-溴-6-甲氧基吡啶甲酸(850mg, 75%产率)。LC-MS:m/z 232[M+H]⁺。

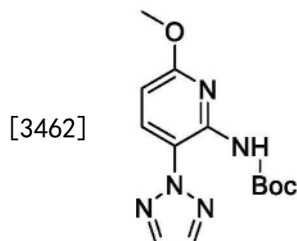
[3458] 步骤2: 6-甲氧基-3-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶甲酸



[3460] 在25°C下,向3-溴-6-甲氧基吡啶甲酸(500mg, 2.1mmol)和2H-1,2,3-三唑(297mg, 4.3mmol)于二噁烷(10mL)和水(0.05mL)中的搅拌混合物中加入(1S,2R)-环己烷-1,2-二胺(49mg, 430.9μmol)、碘化铜(I)(82mg, 430.9μmol)和Cs₂CO₃(1.4g, 4.3mmol)。将所得混合物在100°C下搅拌2小时。冷却至25°C后,将反应溶液用水(50mL)淬灭。用HCl(1M)将pH调整到5。用乙酸乙酯(4x80mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水硫酸

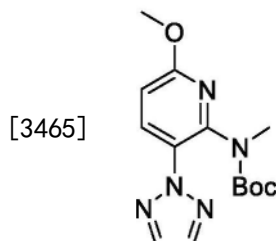
钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈黄色固体的6-甲氧基-3-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶甲酸(250mg,52%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :13.43(s,1H),8.17-8.20(m,1H),8.11(s,2H),7.14-7.16(m,1H),3.93(s,3H)。LC-MS:m/z 221[M+H]⁺。

[3461] 步骤3:(6-甲氧基-3-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯



[3463] 在25℃下,向6-甲氧基-3-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶甲酸(500mg,2.2mmol)于2-甲基丙-2-醇(10mL)中的搅拌溶液中加入TEA(758mg,7.4mmol)和二苯基磷酰叠氮化物(2.1g,7.4mmol)。将所得混合物在90℃下搅拌2小时。冷却至25℃后,将反应混合物用水(100mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x150mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的(6-甲氧基-3-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯(450mg,68%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.59(br,1H),8.03(s,2H),8.01(d,J=8.8Hz,1H),6.74(d,J=8.8Hz,1H),3.88(s,3H),1.28(s,9H)。LC-MS:m/z 292[M+H]⁺。

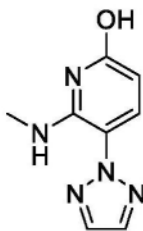
[3464] 步骤4:(6-甲氧基-3-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯



[3466] 在25℃下,向(6-甲氧基-3-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯(2.3g,7.9mmol)于四氢呋喃(120mL)中的搅拌溶液中加入叔丁醇钾(1.7g,15.7mmol)和碘甲烷(3.3g,23.6mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物用水(300mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x300mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(300mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(6-甲氧基-3-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯(2g,82%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ :8.12(s,2H),8.09(d,J=8.7Hz,1H),6.94(d,J=8.7Hz,1H),3.93(s,3H),3.33(s,3H),1.08(s,9H)。LC-MS:m/z306[M+H]⁺。

[3467] 步骤5:6-(甲基氨基)-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-醇

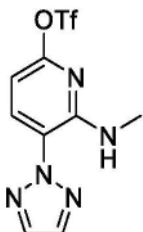
[3468]



[3469] 在氮气气氛下在0℃下,向(6-甲氧基-3-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯(1.2g,3.9mmol)于1,2-二氯乙烷(15mL)中的搅拌溶液中逐滴加入三溴硼烷(11.7mL,11.7mmol,1M,于二氯甲烷中)。将所得混合物在60℃下搅拌1小时。在0℃下将反应用甲醇(10mL)淬灭。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的6-(甲基氨基)-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-醇(400mg,53%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:8.03(s,2H),7.75(d,J=8.4Hz,1H),5.86(d,J=8.4Hz,1H),2.88(s,3H)。LC-MS:m/z 192[M+H]⁺。

[3470] 步骤6:三氟甲磺酸6-(甲基氨基)-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-基酯

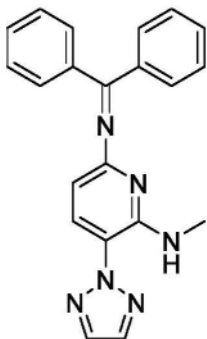
[3471]



[3472] 向6-(甲基氨基)-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-醇(430mg,2.2mmol)于二氯甲烷(15mL)中的搅拌溶液中加入TEA(682mg,6.7mmol)。在氮气气氛下在0℃下加入三氟甲磺酸酐(951mg,3.3mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物用水(100mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x150mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用75%石油醚和25%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的三氟甲磺酸6-(甲基氨基)-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-基酯(500mg,68%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:8.25(d,J=8.1Hz,1H),8.22(m,2H),7.87(br,1H),6.74(d,J=8.4Hz,1H),2.92(d,J=4.5Hz,3H)。LC-MS:m/z324[M+H]⁺。

[3473] 步骤7:6-((二苯基亚甲基)氨基)-N-甲基-3-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-胺

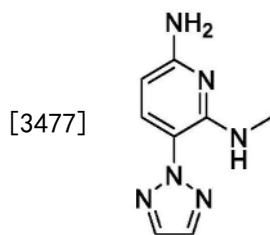
[3474]



[3475] 在氮气气氛下,向三氟甲磺酸6-(甲基氨基)-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-基酯(650mg,2.0mmol)和二苯基甲亚胺(728mg,4.0mmol)于甲苯(30mL)中的搅拌混合物中加入Pd(OAc)₂(135mg,603μmol)、BINAP(392mg,603μmol)和Cs₂CO₃(1.3g,4.0mmol)。将所得混

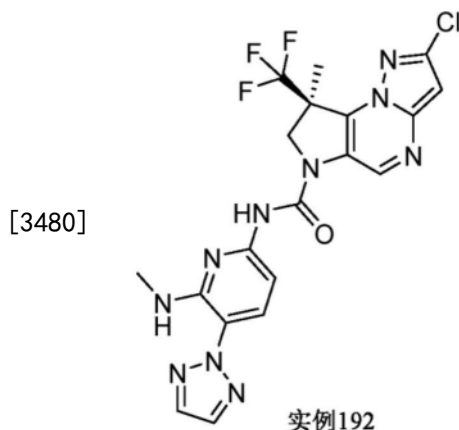
合物在氮气气氛下在100℃下搅拌2小时。冷却至25℃后,将反应混合物用水(50mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x80mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用20%石油醚和80%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的6-((二苯基亚甲基)氨基)-N-甲基-3-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-胺(610mg,68%产率)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:8.09(s,2H),7.81(d,J=8.1Hz,1H),7.66-7.74(m,3H),7.48-7.60(m,3H),7.34-7.36(m,3H),7.18-7.22(m,2H),6.06(d,J=8.1Hz,1H),2.75(d,J=4.8Hz,3H)。LC-MS:m/z 355[M+H]⁺。

[3476] 步骤8:N²-甲基-3-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2,6-二胺



[3478] 在25℃下,向6-((二苯基亚甲基)氨基)-N-甲基-3-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-胺(300mg,846.5μmol)于甲醇(8mL)中的搅拌混合物中加入盐酸羟胺(117mg,1.6mmol)和乙酸钠(173mg,2.1mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈黄色固体的N²-甲基-3-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2,6-二胺(120mg,74%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:7.97(s,2H),7.57(d,J=8.4Hz,1H),6.74-6.78(m,1H),5.95(br,2H),5.75(d,J=8.4Hz,1H),2.85(d,J=4.4Hz,3H)。LC-MS:m/z 191[M+H]⁺。

[3479] 步骤9:(R)-2-氯-8-甲基-N-(6-(甲基氨基)-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

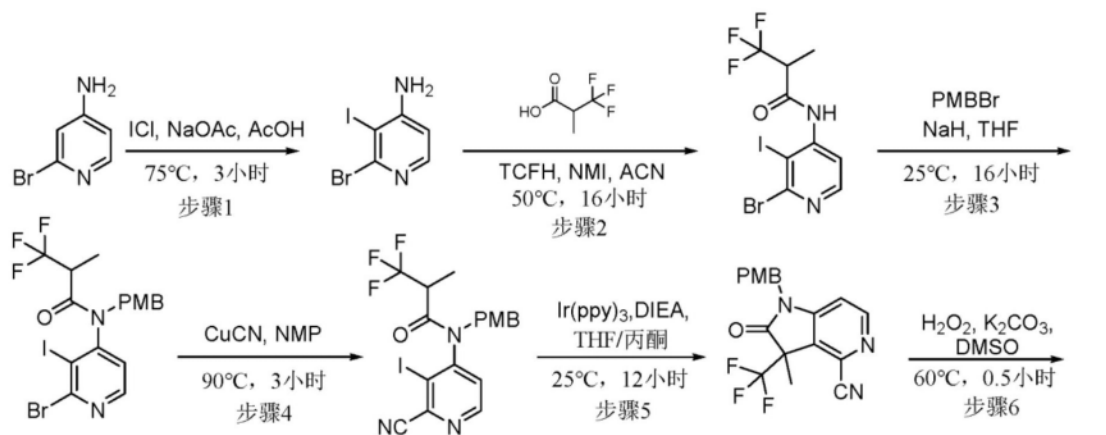


[3481] 向N²-甲基-3-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2,6-二胺(60mg,315.4μmol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌混合物中加入三光气(56mg,189.2μmol)和TEA(47mg,473.7μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到方法M1异构体2(80mg,252.3μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入TEA(319mg,3.1mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(77mg,630.9μmol)。将混合物在40℃下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈淡黄色固体的(R)-2-氯-8-甲基-N-(6-(甲基氨基)-5-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-2-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并

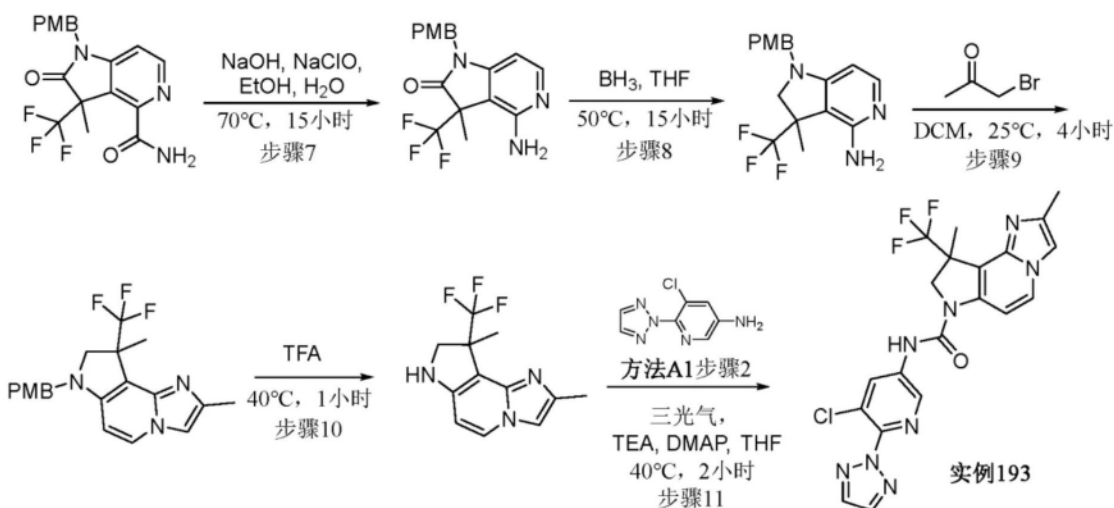
[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (27.8mg, 17% 产率)。实例192的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

[3482] 实例192: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.39 (br, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.13 (s, 2H), 8.00 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.26-7.29 (m, 2H), 7.05 (s, 1H), 5.05 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 4.27 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 1H), 3.01 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 3H), 1.96 (s, 3H)。LC-MS: m/z 493 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[3483] 方法M6



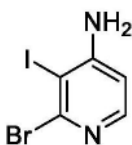
[3484]



[3485] 实例193: N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-a]吡咯并[3,2-c]吡啶-7-甲酰胺

[3486] 步骤1: 2-溴-3-碘吡啶-4-胺

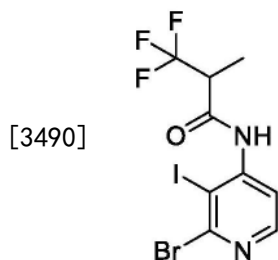
[3487]



[3488] 向2-溴吡啶-4-胺 (50.0g, 289.0mmol) 和乙酸钠 (78.6g, 578.0mmol) 于乙酸 (160mL) 中的搅拌溶液中加入一氯化碘 (46.9g, 289.0mmol)。将反应混合物在75°C下搅拌3小时。将反应混合物用水 (500mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (3x500mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水 (2x1000mL) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈灰白色固体的2-溴-3-碘吡啶-4-胺 (28.0g, 32% 产率)。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz, 氯仿-d) δ : 7.90 (d, $J=5.4\text{Hz}$, 1H), 6.50

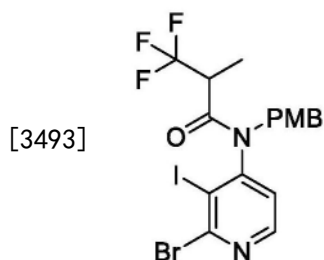
(d, J=5.4Hz, 1H), 4.94 (br, 2H)。LC-MS:m/z 299 [M+H]⁺。

[3489] 步骤2:N-(2-溴-3-碘吡啶-4-基)-3,3,3-三氟-2-甲基丙酰胺



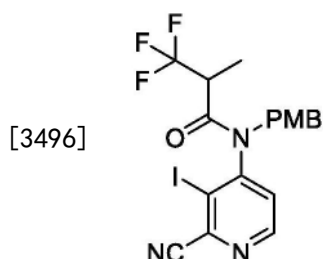
[3491] 向2-溴-3-碘-吡啶-4-胺 (20.0g, 66.9mmol)、六氟磷酸N,N,N',N'-四甲基氯甲脒酯 (56.3g, 200.7mmol) 和1-甲基咪唑 (27.4g, 334.5mmol) 于乙腈 (190mL) 中的溶液中加入3,3,3-三氟-2-甲基丙酸 (9.5g, 66.9mmol)。将反应混合物在50℃下搅拌16小时。将反应溶液在真空下浓缩。将残留物用水 (500mL) 淬灭。用二氯甲烷 (3x500mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水 (1000mL) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈白色固体的N-(2-溴-3-碘吡啶-4-基)-3,3,3-三氟-2-甲基丙酰胺 (5.5g, 19%产率)。¹H NMR (300MHz, 氯仿-d) δ: 8.22-8.32 (m, 2H), 8.17 (br, 1H), 3.25-3.41 (m, 1H), 1.57 (d, J=7.2Hz, 3H)。LC-MS:m/z 423 [M+H]⁺。

[3492] 步骤3:N-(2-溴-3-碘吡啶-4-基)-3,3,3-三氟-N-(4-甲氧基苄基)-2-甲基丙酰胺



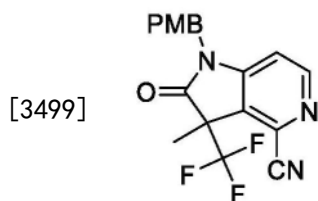
[3494] 在0℃下, 向N-(2-溴-3-碘代吡啶-4-基)-3,3,3-三氟-2-甲基丙酰胺 (5.0g, 12.1mmol) 于N,N-二甲基甲酰胺 (100mL) 中的搅拌溶液中分批加入氢化钠 (520mg, 13.4mmol, 60%, 于矿物油中)。将混合物在0℃下搅拌0.5小时。然后将1-(溴甲基)-4-甲氧基苯 (2.8g, 14mmol) 加入到反应混合物中。将反应混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物用冰/水 (200mL) 淬灭。用乙酸乙酯 (3x200mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水 (500mL) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈无色油状物的N-(2-溴-3-碘吡啶-4-基)-3,3,3-三氟-N-(4-甲氧基苄基)-2-甲基丙酰胺 (5.2g, 77%产率)。LC-MS:m/z 543 [M+H]⁺。

[3495] 步骤4:N-(2-氰基-3-碘吡啶-4-基)-3,3,3-三氟-N-(4-甲氧基苄基)-2-甲基丙酰胺



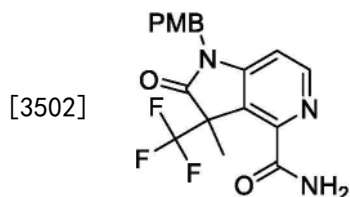
[3497] 向N-(2-溴-3-碘吡啶-4-基)-3,3,3-三氟-N-(4-甲氧基苄基)-2-甲基丙酰胺(1.5g, 2.7mmol)于1-甲基-2-吡咯烷酮(30mL)中的搅拌溶液中加入氰化铜(I)(517mg, 5.5mmol)。将反应混合物在90℃下搅拌3小时。将反应混合物用水(200mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(600mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的N-(2-氰基-3-碘吡啶-4-基)-3,3,3-三氟-N-(4-甲氧基苄基)-2-甲基丙酰胺(1.0g, 74%产率)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ: 8.55-8.57(m, 1H), 7.03-7.08(m, 2H), 6.80-6.88(m, 3H), 5.67(d, J=14.1Hz, 1H), 3.96(d, J=14.4Hz, 1H), 3.82(s, 3H), 2.63-2.73(m, 1H), 1.50(d, J=6.6Hz, 3H)。LC-MS:m/z 490[M+H]⁺。

[3498] 步骤5:1-(4-甲氧基苄基)-3-甲基-2-氧代-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-4-甲腈



[3500] 向N-(2-氰基-3-碘吡啶-4-基)-3,3,3-三氟-N-(4-甲氧基苄基)-2-甲基丙酰胺(500mg, 1.1mmol)于四氢呋喃(5mL)和丙酮(5mL)中的搅拌溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(660mg, 5.1mmol)和三(2-苯基吡啶)铱(6mg, 10.2μmol)。将反应混合物在25℃下搅拌12小时,用450nm LED照射。将反应混合物浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的1-(4-甲氧基苄基)-3-甲基-2-氧代-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-4-甲腈(60mg, 16%产率)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ: 8.54(d, J=5.4Hz, 1H), 7.18(d, J=5.7Hz, 2H), 6.84-6.93(m, 3H), 5.09(d, J=15.6Hz, 1H), 4.74(d, J=15.3Hz, 1H), 3.81(s, 3H), 1.97(s, 3H)。LC-MS:m/z 362[M+H]⁺。

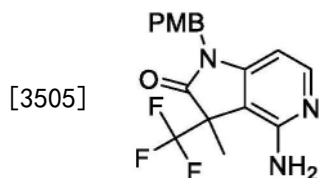
[3501] 步骤6:1-(4-甲氧基苄基)-3-甲基-2-氧代-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-4-甲酰胺



[3503] 向1-(4-甲氧基苄基)-3-甲基-2-氧代-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-4-甲腈(670mg, 1.8mmol)和K₂CO₃(512mg, 3.7mmol)于二甲亚砜(10mL)中的搅拌混合

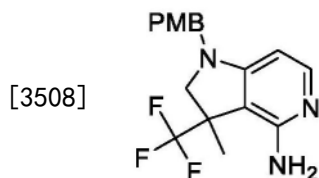
物中加入过氧化氢(630mg, 5.5mmol, 30%, 于水中)。将反应混合物在60°C下搅拌0.5小时。将反应混合物用冰/水(100mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤, 经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩, 以得到呈黄色固体的1-(4-甲氧基苄基)-3-甲基-2-氧代-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-4-甲酰胺(600mg, 85%产率)。LC-MS:m/z 380[M+H]⁺。

[3504] 步骤7: 4-氨基-1-(4-甲氧基苄基)-3-甲基-3-(三氟甲基)-1,3-二氢-2H-吡咯并[3,2-c]吡啶-2-酮



[3506] 向1-(4-甲氧基苄基)-3-甲基-2-氧代-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-4-甲酰胺(600mg, 1.9mmol)于乙醇(20mL)和水(10mL)中的搅拌混合物中加入氢氧化钠(253mg, 6.3mmol)和次氯酸钠(6.05g, 7.91mmol, 10%, 于水中)。将反应混合物在70°C下搅拌15小时。将反应混合物在真空下浓缩以去除乙醇。用乙酸乙酯(3x30mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈黄色固体的4-氨基-1-(4-甲氧基苄基)-3-甲基-3-(三氟甲基)-1,3-二氢-2H-吡咯并[3,2-c]吡啶-2-酮(400mg, 72%产率)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ: 7.97(d, J=5.7Hz, 1H), 7.18(d, J=8.7Hz, 2H), 6.88(d, J=8.7Hz, 2H), 6.29(d, J=5.4Hz, 1H), 5.00(d, J=15.6Hz, 1H), 4.97(br, 2H), 4.69(d, J=15.6Hz, 1H), 3.80(s, 3H), 1.77(s, 3H)。LC-MS:m/z 352[M+H]⁺。

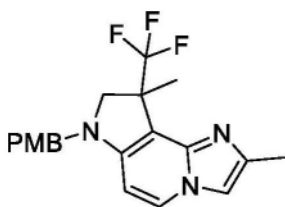
[3507] 步骤8: 1-(4-甲氧基苄基)-3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-4-胺



[3509] 在25°C下, 向4-氨基-1-(4-甲氧基苄基)-3-甲基-3-(三氟甲基)-1,3-二氢-2H-吡咯并[3,2-c]吡啶-2-酮(400mg, 1.1mmol)于四氢呋喃(10mL)中的搅拌溶液中加入硼烷(1N, 于四氢呋喃中, 20mL)。将混合物在50°C下搅拌15小时。将反应混合物用甲醇(50mL)淬灭。将所得溶液浓缩。将残留物溶解在HCl(20mL, 1M)中。用乙酸乙酯(3x30mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(60mL)洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。通过制备型HPLC纯化残留物, 以得到呈黄色油状物的1-(4-甲氧基苄基)-3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-4-胺(160mg, 41%产率)。LC-MS:m/z 338[M+H]⁺。

[3510] 步骤9: 7-(4-甲氧基苄基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑[1,2-a]吡咯[3,2-c]吡啶

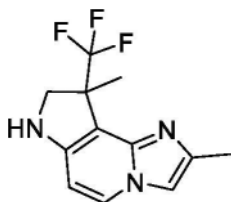
[3511]



[3512] 在25℃下,向1-(4-甲氧基苄基)-3-甲基-3-(三氟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-4-胺(160mg,474.3 μ mol)于二氯甲烷(30mL)中的搅拌溶液中加入1-溴丙烷-2-酮(1.95g,14.2mmol)。将混合物在25℃下搅拌4小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用90%乙酸乙酯和10%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的7-(4-甲氧基苄基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑[1,2-a]吡咯[3,2-c]吡啶(70mg,39%产率)。LC-MS:m/z 376[M+H]⁺。

[3513] 步骤10:2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-a]吡咯并[3,2-c]吡啶

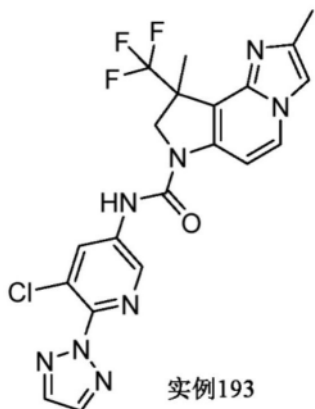
[3514]



[3515] 将7-(4-甲氧基苄基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑[1,2-a]吡咯[3,2-c]吡啶(70mg,186.4 μ mol)于TFA(5mL)中的混合物在40℃下搅拌1小时。将反应混合物浓缩。将残留物通过制备型HPLC进行纯化。将收集的级分合并,并在真空下浓缩,以得到呈灰白色固体的2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-a]吡咯并[3,2-c]吡啶(15mg,31%产率)。LC-MS:m/z 256[M+H]⁺。

[3516] 步骤11:N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-a]吡咯并[3,2-c]吡啶-7-甲酰胺

[3517]



[3518] 在0℃下,向5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2;14mg,70.5 μ mol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中加入三光气(10mg,35.2 μ mol)和TEA(9mg,88.1 μ mol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-a]吡咯并[3,2-c]吡啶(15mg,58.7 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(59mg,587.7 μ mol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(14mg,117.5 μ mol)。将混合物在40℃下搅拌2小时。将反应混合物用水(10mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取。

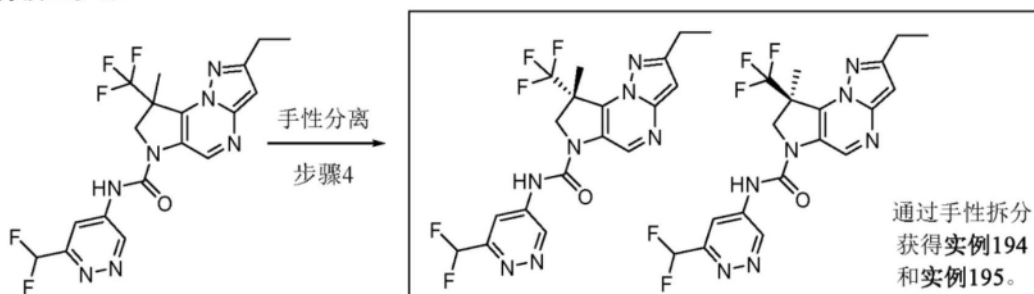
将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,9-二甲基-9-(三氟甲基)-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-a]吡咯并[3,2-c]吡啶-7-甲酰胺(11.4mg,40%产率)。

[3519] 实例193:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.50(br,1H),8.76(d,J=2.4Hz,1H),8.49(d,J=2.4Hz,1H),8.48(s,1H),8.17(s,2H),7.66-7.71(m,2H),4.70(d,J=11.6Hz,1H),4.19(d,J=11.6Hz,1H),2.32(s,3H),1.90(s,3H)。LC-MS:m/z 477[M+H]⁺。

[3520] 方法N6

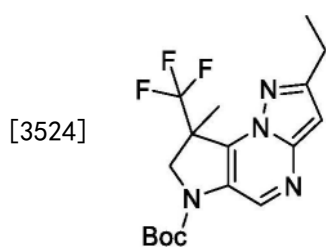


[3521]



[3522] 实例194和195:由含有(S)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

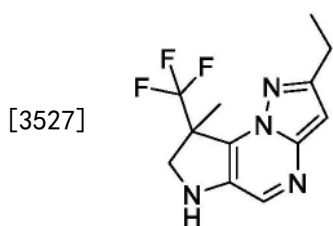
[3523] 步骤1:2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[3524]

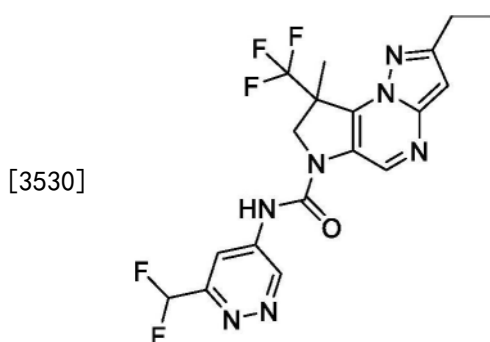
[3525] 向3-乙基-1H-吡唑-5-胺(56mg,511.9 μ mol)于甲苯(10mL)中的搅拌溶液中加入乙酸(1mL)和(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(方法K1步骤8;165mg,511.9 μ mol)。将反应混合物在120°C下搅拌12小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(10mL)稀释。用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(109mg,57%产率)。LC-MS:m/z 371[M+H]⁺。

[3526] 步骤2:2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[3528] 向2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(102mg, 275.4 μ mol)于二氯甲烷(5mL)中的搅拌溶液中加入TFA(1mL)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(10mL)稀释。用二氯甲烷(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(30mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(60mg, 81%产率)。LC-MS:m/z 271[M+H]⁺。

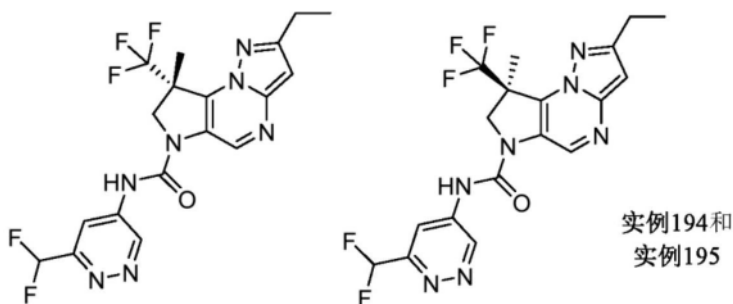
[3529] 步骤3:N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3531] 在25 $^{\circ}$ C下,向2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(50mg, 185 μ mol)和6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸(方法Q2步骤8; 48mg, 277.5 μ mol)于二噁烷(5mL)中的搅拌溶液中加入DPPA(101mg, 370 μ mol)和TEA(94mg, 925.1 μ mol)。将所得混合物在100 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将反应冷却至25 $^{\circ}$ C。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用水(10mL)稀释,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(32mg, 35%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ : 9.86(br, 1H), 9.51(d, J=2.4Hz, 1H), 9.23(s, 1H), 8.22(d, J=2.4Hz, 1H), 7.24(t, J=54.3Hz, 1H), 6.74(s, 1H), 4.84(d, J=11.4Hz, 1H), 4.29(d, J=11.4Hz, 1H), 2.84(q, J=7.8Hz, 2H), 2.01(s, 3H), 1.30(t, J=7.5Hz, 3H)。LC-MS:m/z 442[M+H]⁺。

[3532] 步骤4:分离对映异构体以获得(S)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3533]

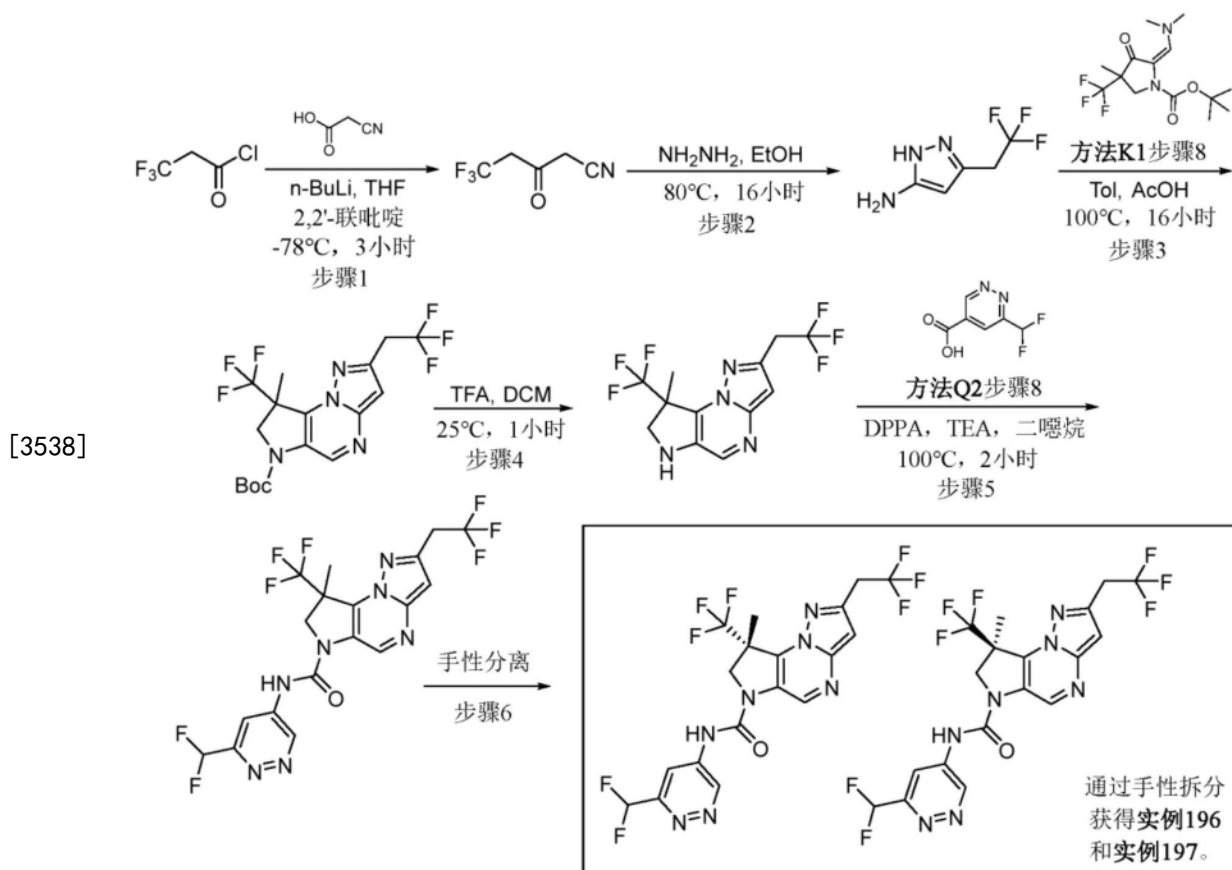


[3534] 对N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-2-乙基-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(30mg, 68.0 μ mol)进行手性HPLC:色谱柱:CHIRALPAK IA, 2x25cm, 5 μ m;流动相A:Hex (0.1%FA) -HPLC, 流动相B:EtOH -HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在36分钟内, 5B到5B; 220/254nm; RT1:35.529; RT2:43.483; 注射体积:0.7ml; 运行次数:4。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干, 以得到呈白色固体的实例194(2.3mg, 3%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干, 以得到呈白色固体的实例195(2.4mg, 3%产率)。实例194和195是对映异构体, 但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[3535] 实例194:¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.43 (s, 1H), 9.26 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.20 (t, J=54.4Hz, 1H), 6.72 (s, 1H), 4.82 (d, J=11.6Hz, 1H), 4.27 (d, J=11.6Hz, 1H), 2.83 (q, J=7.6Hz, 2H), 2.00 (s, 3H), 1.30 (t, J=7.6Hz, 3H)。LC-MS:m/z 442[M+H]⁺。

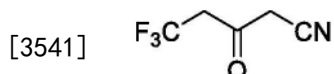
[3536] 实例195:¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.42 (s, 1H), 9.26 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.19 (t, J=54.8Hz, 1H), 6.72 (s, 1H), 4.82 (d, J=11.6Hz, 1H), 4.27 (d, J=11.6Hz, 1H), 2.81 (q, J=7.2Hz, 2H), 2.00 (s, 3H), 1.30 (t, J=7.6Hz, 3H)。LC-MS:m/z 442[M+H]⁺。

[3537] 方法06



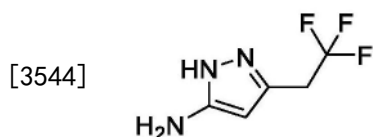
[3539] 实例196和197:由含有(S)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[3540] 步骤1:5,5,5-三氟-3-氧代戊腈



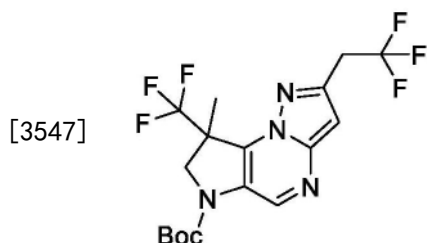
[3542] 在氮气气氛下在-78°C下,向2-氰基乙酸(3.5g,40.9mmol)和2,2'-联吡啶(32mg,204.8 μ mol)于四氢呋喃(120mL)中的搅拌溶液中逐滴加入n-BuLi(32.8mL,82.0mmol,2.5M,于四氢呋喃中)。将反应混合物在-10°C下搅拌15分钟。然后在-78°C下,向该混合物中逐滴加入3,3,3-三氟丙酰氯(3.1g,20.4mmol)。将反应混合物在-78°C下搅拌3小时。在-78°C下将反应混合物用水(400mL)淬灭。向该溶液中加入HCl(50mL,1M)。用乙酸乙酯(3x500mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用83%石油醚和17%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈红色固体的5,5,5-三氟-3-氧代戊腈(2.2g,67%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d) δ :3.66(s,2H),3.48(q,J=9.9Hz,2H)。LC-MS:m/z 152[M+H]⁺。

[3543] 步骤2:3-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-5-胺



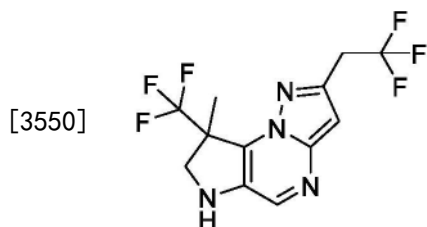
[3545] 向5,5,5-三氟-3-氧代戊腈(500mg, 3.3mmol)于乙醇(10mL)中的搅拌溶液中加入水合肼(497mg, 9.9mmol)。将反应混合物在80℃下搅拌16小时。将混合物冷却至25℃。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色固体的3-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-5-胺(260mg, 43%产率)。LC-MS:m/z 166[M+H]⁺。

[3546] 步骤3:8-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[3548] 向3-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-5-胺(200mg, 1.2mmol)于甲苯(10mL)中的搅拌溶液中加入乙酸(1mL)和(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(方法K1步骤8;558mg, 1.2mmol)。将反应混合物在100℃下搅拌16小时。将混合物冷却至25℃。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(40mL)稀释。用乙酸乙酯(3x40mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色固体的8-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(380mg, 70%产率)。LC-MS:m/z 425[M+H]⁺。

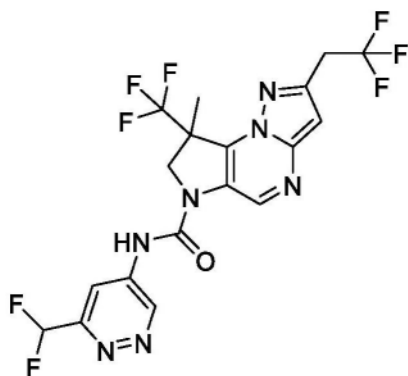
[3549] 步骤4:8-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[3551] 向8-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(300mg, 706.9μmol)于二氯甲烷(6mL)中的搅拌溶液中加入TFA(2.5mL)。将反应混合物在25℃下搅拌1小时。将所得溶液在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(40mL)稀释。用二氯甲烷(3x40mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用99%二氯甲烷和1%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的8-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(220mg, 91%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 8.35(s, 1H), 6.72(s, 1H), 5.91(br, 1H), 3.81-3.92(m, 3H), 3.58(d, J=11.7Hz, 1H), 1.84(s, 3H)。LC-MS:m/z 325[M+H]⁺。

[3552] 步骤5:N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

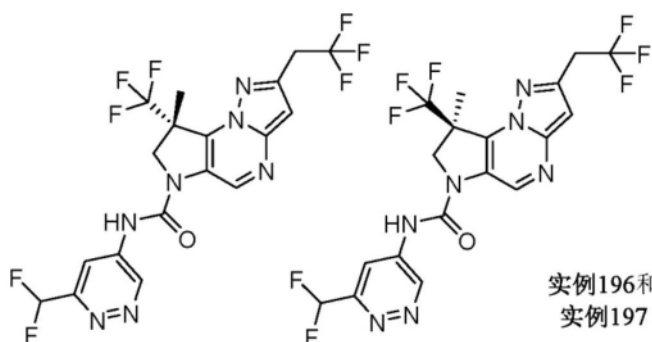
[3553]



[3554] 在25℃下,向8-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶于二噁烷(6mL)中的搅拌溶液中加入6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸(方法Q2步骤8;54mg,308.4 μ mol)、TEA(156mg,1.5mmol)和DPPA(102mg,370 μ mol)。将反应混合物在100℃下搅拌2小时。将反应混合物冷却至25℃,并将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到粗产物。对粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(60mg,39%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ :9.90(br,1H),9.50(d,J=2.4Hz,1H),9.33(s,1H),8.22(d,J=2.4Hz,1H),7.24(t,J=54.4Hz,1H),6.92(s,1H),4.86(d,J=11.6Hz,1H),4.31(d,J=11.6Hz,1H),3.97(q,J=11.2Hz,2H),2.01(s,3H)。LC-MS:m/z 496[M+H]⁺。

[3555] 步骤6:分离对映异构体以获得(S)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3556]

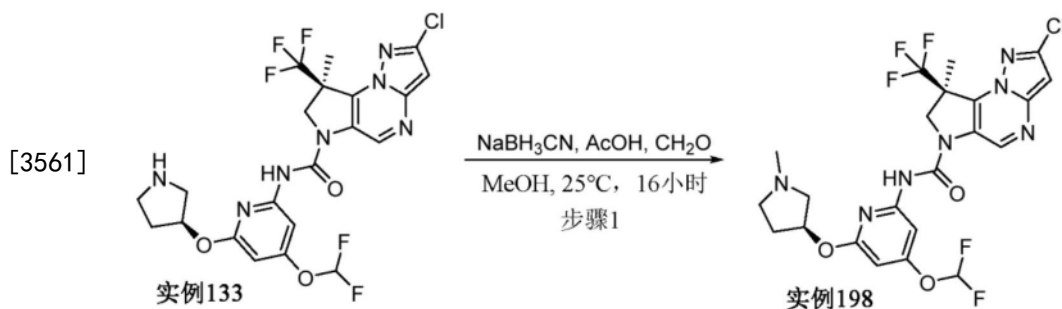


[3557] 对N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-2-(2,2,2-三氟乙基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(50mg,100.9 μ mol)进行手性HPLC纯化:色谱柱:CHIRALPAK IH,2x25cm,5 μ m;流动相A:Hex(0.5%2M NH₃-MeOH)-HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在19分钟内,20B到20B;220/254nm;RT1:10.496;RT2:12.863;注射体积:0.5ml;运行次数:5。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例196(11mg,23%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例197(15mg,30%产率)。实例196和197是对映异构体,但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[3558] 实例196: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.91 (br, 1H), 9.52 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 9.33 (s, 1H), 8.23 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.25 (t, $J=54.3\text{Hz}$, 1H), 6.92 (s, 1H), 4.87 (d, $J=11.7\text{Hz}$, 1H), 4.32 (d, $J=11.7\text{Hz}$, 1H), 3.97 (q, $J=11.4\text{Hz}$, 2H), 2.02 (s, 3H)。LC-MS: m/z 496 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

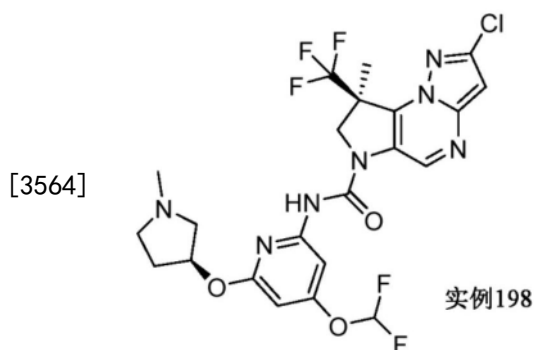
[3559] 实例197: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.91 (br, 1H), 9.52 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 9.33 (s, 1H), 8.23 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.25 (t, $J=54.3\text{Hz}$, 1H), 6.92 (s, 1H), 4.87 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 4.32 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 3.97 (q, $J=11.4\text{Hz}$, 2H), 2.02 (s, 3H)。LC-MS: m/z 496 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[3560] 方法P6



[3562] 实例198: (R)-2-氯-N-(4-(二氟甲氧基)-6-(((S)-1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3563] 步骤1: (R)-2-氯-N-(4-(二氟甲氧基)-6-(((S)-1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

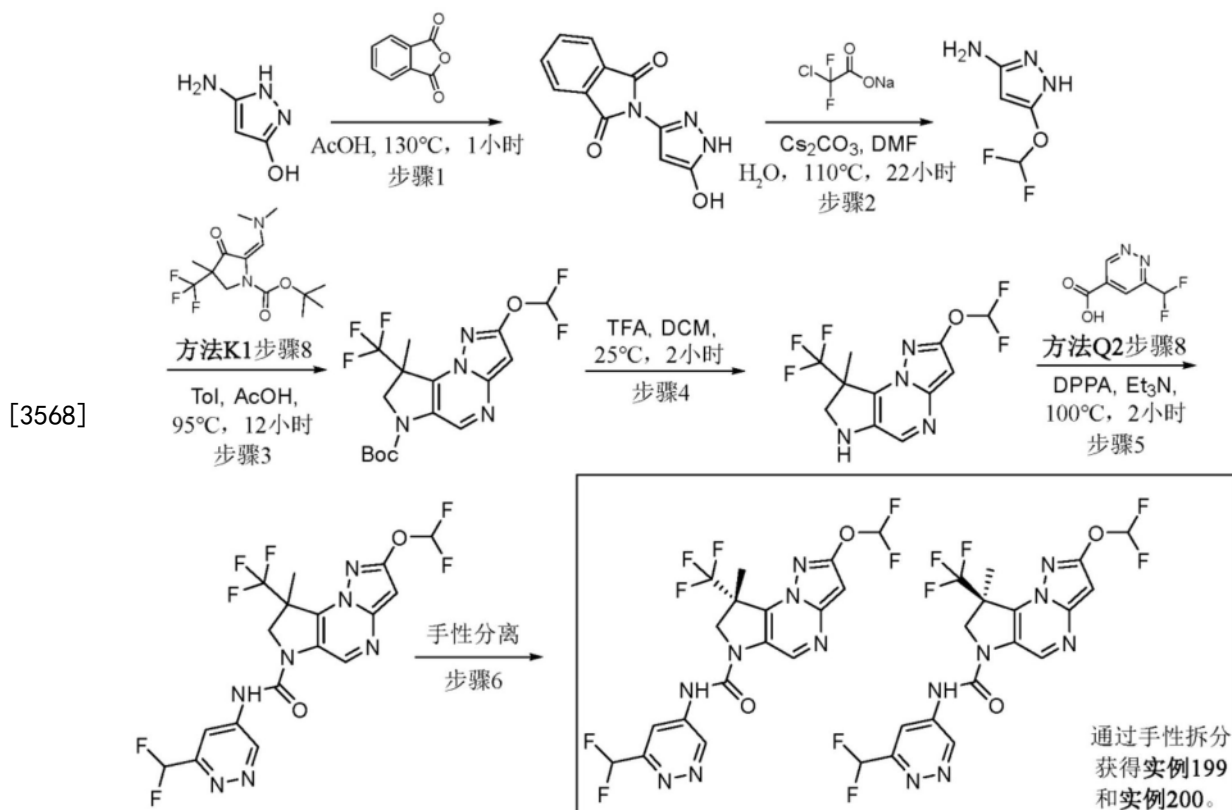


[3565] 在0°C下,向(R)-2-氯-N-(4-(二氟甲氧基)-6-(((S)-吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(实例133; 9mg, 16.4 μmol)于甲醇(0.5mL)中的搅拌溶液中加入乙酸(5 μL)和甲醛(4 μL , 19 μmol , 40%, 于水中)。将混合物在0°C下搅拌10分钟。然后在0°C下加入氰基硼氢化钠(3mg, 41 μmol)。将混合物在25°C下搅拌16小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-2-氯-N-(4-(二氟甲氧基)-6-(((S)-1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)吡啶-2-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(4.1mg, 44%产率)。实例198的相对于与三氟甲基连接的手性中心的对应的差向异构体可以使用实例133的差向异构体类似地制备。

[3566] 实例198: ^1H NMR (400MHz, 氯仿- d) δ : 9.41 (s, 1H), 7.51 (d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 6.76 (s, 1H), 6.66 (t, $J=72.4\text{Hz}$, 1H), 6.21 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 5.53 (s, 1H), 4.67 (d, $J=10.8\text{Hz}$, 1H),

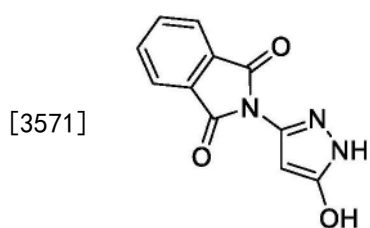
4.11 (d, J=10.8Hz, 1H), 3.30-3.77 (m, 1H), 2.91-3.32 (m, 3H), 2.71 (s, 3H), 2.43-2.54 (m, 1H), 2.06-2.23 (m, 1H), 2.08 (s, 3H)。LC-MS: m/z 562 [M+H]⁺。

[3567] 方法Q6



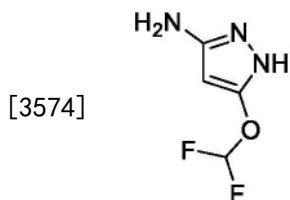
[3569] 实例199和200:由含有(S)-2-(二氟甲氧基)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-(二氟甲氧基)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[3570] 步骤1:2-(5-羟基-1H-吡唑-3-基)异二氢吡啶-1,3-二酮



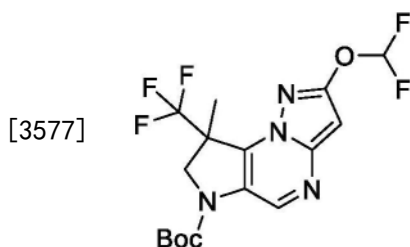
[3572] 在25°C下,向5-氨基-1H-吡唑-3-醇(10.0g,100.9mmol)于乙酸(250mL)中的搅拌混合物中分份加入异苯并呋喃-1,3-二酮(15.0g,101.3mmol)。将所得混合物在130°C下搅拌1小时。将反应冷却至25°C。收集沉淀的固体,以得到呈黄色固体的2-(5-羟基-1H-吡唑-3-基)异二氢吡啶-1,3-二酮(18.6g,82%产率)。LC-MS: m/z 230 [M+H]⁺。

[3573] 步骤2:5-(二氟甲氧基)-1H-吡唑-3-胺



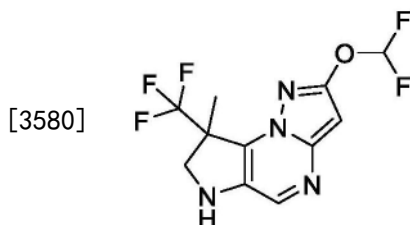
[3575] 在25℃下,向2-(5-羟基-1H-吡唑-3-基)异二氢吡啶-1,3-二酮(9g,39.3mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(90mL)和水(20mL)中的搅拌溶液中加入Cs₂CO₃(25.6g,78.5mmol)和2-氯-2,2-二氟乙酸钠(14.1g,92.5mmol)。将所得混合物在110℃下搅拌22小时。将反应混合物用饱和NaHCO₃水溶液(100mL)淬灭。用二氯甲烷(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用65%石油醚和35%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的5-(二氟甲氧基)-1H-吡唑-3-胺(1.0g,6%产率)。LC-MS:m/z 150[M+H]⁺。

[3576] 步骤3:2-(二氟甲氧基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯



[3578] 向5-(二氟甲氧基)-1H-吡唑-3-胺(200mg,1.3mmol)于甲苯(20mL)中的搅拌溶液中加入乙酸(2mL)和(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(方法K1步骤8;418mg,1.3mmol)。将反应混合物在95℃下搅拌12小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(20mL)稀释。用二氯甲烷(3x20mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用65%石油醚和35%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2-(二氟甲氧基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(247mg,46%产率)。LC-MS:m/z 409[M+H]⁺。

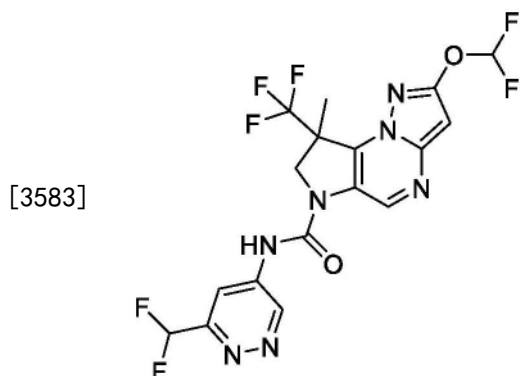
[3579] 步骤4:2-(二氟甲氧基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶



[3581] 向2-(二氟甲氧基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(247mg,604.9μmol)于二氯甲烷(5mL)中的搅拌溶液中加入TFA(1mL)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(10mL)稀释。用二氯甲烷(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(30mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈黄色固体的2-(二氟甲氧基)-8-

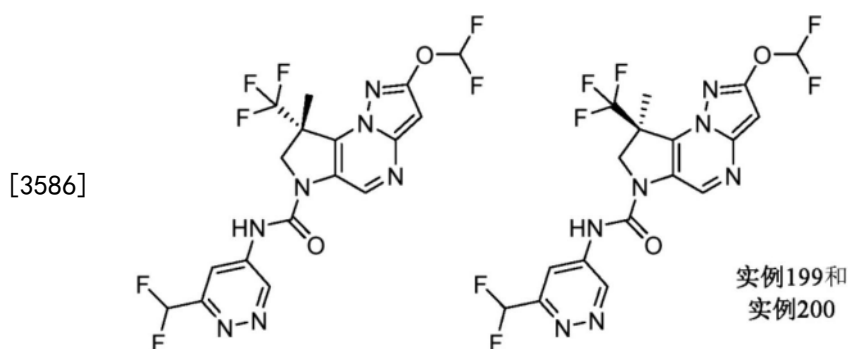
甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(187mg,92%产率)。LC-MS:m/z 309[M+H]⁺。

[3582] 步骤5:2-(二氟甲氧基)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3584] 在25℃下,向2-(二氟甲氧基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(103mg,334.2μmol)和6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸(方法Q2步骤8;70mg,401.0μmol)于二噁烷(5mL)中的搅拌溶液中加入DPPA(138mg,501.3μmol)和TEA(169mg,1.7mmol)。将所得混合物在100℃下搅拌2小时。将反应冷却至25℃。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用水(10mL)稀释并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的2-(二氟甲氧基)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(24mg,15%产率)。LC-MS:m/z 480[M+H]⁺。

[3585] 步骤6:分离对映异构体以获得(S)-2-(二氟甲氧基)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-(二氟甲氧基)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



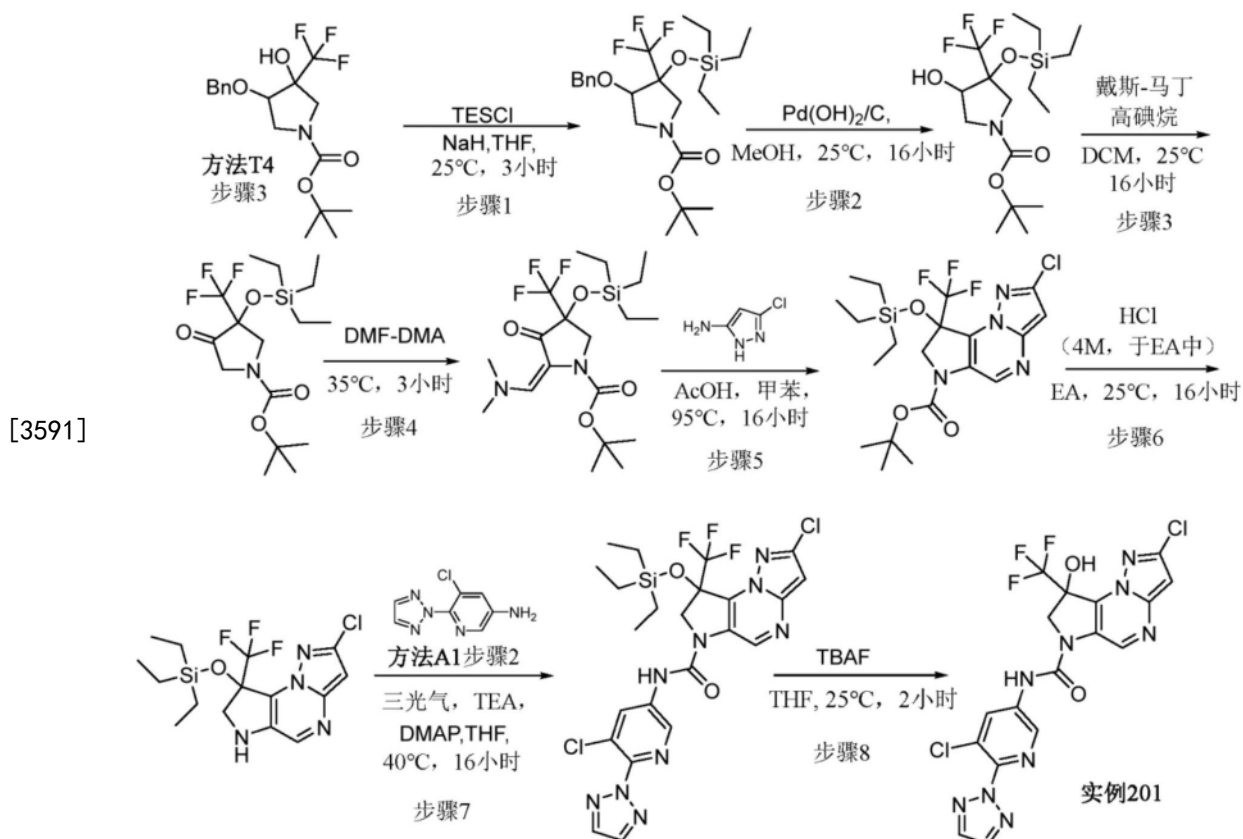
[3587] 对2-(二氟甲氧基)-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(24mg,50.0μmol)进行手性HPLC:色谱柱:CHIRAL ART Cellulose-SB,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.5%2M NH₃-MeOH)-HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20毫升/分钟;梯度:在15分钟内,20%B到20%B;波长:220/254nm;RT1(分钟):10.623;RT2(分钟):13.043;样品溶剂:EtOH-HPLC;注射体积:1mL;运行次数:2。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例199(6.4mg,4%产率)。

将第二个洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例200(6.1mg,4%产率)。实例199和200是对映异构体,但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[3588] 实例199:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:9.91(s,1H),9.50(s,1H),9.31(s,1H),8.21(s,1H),7.54(t,J=72.6Hz,1H),7.24(t,J=54.0Hz,1H),6.67(s,1H),4.86(d,J=11.4Hz,1H),4.30(d,J=11.4Hz,1H),1.98(s,3H)。LC-MS:m/z 480[M+H]⁺。

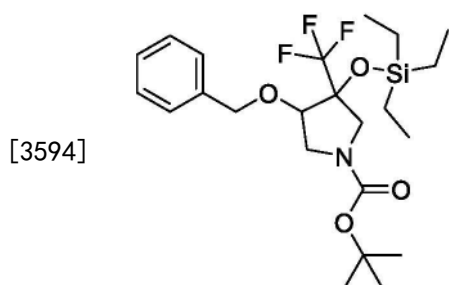
[3589] 实例200:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:9.90(s,1H),9.50(s,1H),9.30(s,1H),8.21(s,1H),7.54(t,J=72.9Hz,1H),7.24(t,J=54.0Hz,1H),6.65(s,1H),4.86(d,J=11.4Hz,1H),4.30(d,J=11.4Hz,1H),1.97(s,3H)。LC-MS:m/z 480[M+H]⁺。

[3590] 方法R6



[3592] 实例201:2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-羟基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

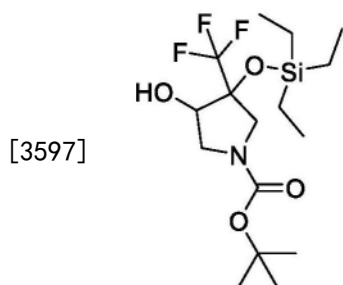
[3593] 步骤1:4-(苄氧基)-3-((三乙基甲硅烷基)氧基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[3595] 在0℃下,向4-(苄氧基)-3-羟基-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(方法T4步骤3;7.1g,19mmol)于四氢呋喃(140mL)中的溶液中加入NaH(1.5g,39mmol,60%,于矿物油

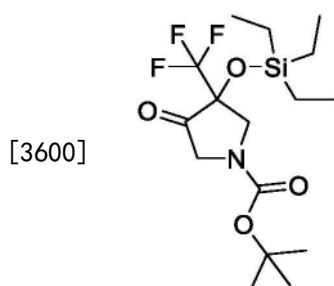
中)。将反应混合物在0℃下搅拌0.5小时。在0℃下,向混合物中加入氯代三乙基硅烷(4.4g, 29mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌3小时。通过加入水(200mL)来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用70%石油醚和30%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的4-(苄氧基)-3-((三乙基甲硅烷基)氧基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(7g, 59%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 7.24-7.39(m, 5H), 4.57(s, 2H), 4.22-4.28(m, 1H), 3.64-3.69(m, 1H), 3.55-3.59(m, 1H), 3.38-3.41(m, 1H), 3.18-3.23(m, 1H), 1.37(s, 9H), 0.86(t, J=8.0Hz, 9H), 0.50-0.64(m, 6H)。LC-MS:m/z 476 [M+H]⁺。

[3596] 步骤2: 4-羟基-3-((三乙基甲硅烷基)氧基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[3598] 向4-(苄氧基)-3-((三乙基甲硅烷基)氧基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(12g, 25.2mmol)于甲醇(240mL)中的溶液中加入Pd(OH)₂/C(6g, 20%)。将反应混合物在氢气气氛下在25℃下搅拌16小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的4-羟基-3-((三乙基甲硅烷基)氧基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(7g, 72%产率)。LC-MS:m/z 386 [M+H]⁺。

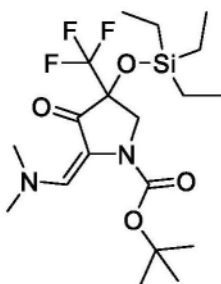
[3599] 步骤3: 4-氧代-3-((三乙基甲硅烷基)氧基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[3601] 向4-羟基-3-((三乙基甲硅烷基)氧基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(6g, 15.5mmol)于二氯甲烷(100mL)中的溶液中加入戴斯-马丁高碘烷(33g, 77.8mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物用饱和NaHCO₃水溶液(200mL)稀释。用二氯甲烷(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的4-氧代-3-((三乙基甲硅烷基)氧基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.6g, 26%产率)。LC-MS:m/z 384 [M+H]⁺。

[3602] 步骤4: (E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-3-氧代-4-((三乙基甲硅烷基)氧基)-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

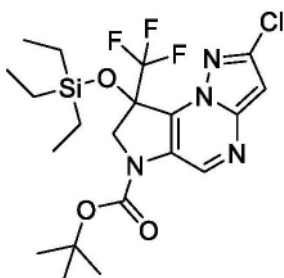
[3603]



[3604] 将4-氧代-3-((三乙基甲硅烷基)氧基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.6g, 4.2mmol)于DMF-DMA(30mL)中的溶液在35℃下搅拌3小时。将混合物冷却至25℃。将所得溶液在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-3-氧代-4-((三乙基甲硅烷基)氧基)-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.6g,粗品),其无需进一步纯化即可直接使用。LC-MS:m/z 439[M+H]⁺。

[3605] 步骤5:2-氯-8-((三乙基甲硅烷基)氧基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯

[3606]



[3607] 向(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-3-氧代-4-((三乙基甲硅烷基)氧基)-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.6g, 3.6mmol)于甲苯(30mL)中的溶液中加入3-氯-1H-吡唑-5-胺(420mg, 3.6mmol)和乙酸(3mL)。将所得混合物在95℃下搅拌16小时。将混合物冷却至25℃。将所得溶液在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(100mL)稀释。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用80%石油醚和20%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-氯-8-((三乙基甲硅烷基)氧基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(200mg, 11%产率)。LC-MS:m/z 493[M+H]⁺。

[3608] 步骤6:2-氯-8-((三乙基甲硅烷基)氧基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶

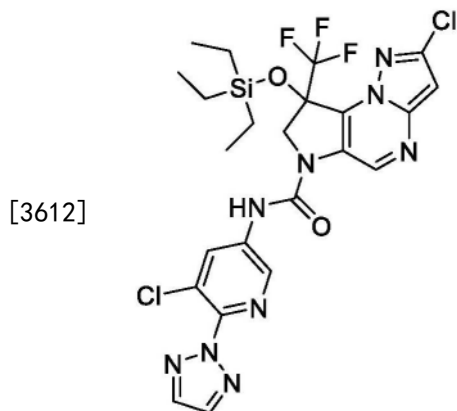
[3609]



[3610] 向2-氯-8-((三乙基甲硅烷基)氧基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(200mg, 405μmol)于乙酸乙酯(4mL)中的溶液中加入HCl(2mL, 4.0M, 于乙酸乙酯中)。将所得混合物在25℃下搅拌16小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(50mL)稀释。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙

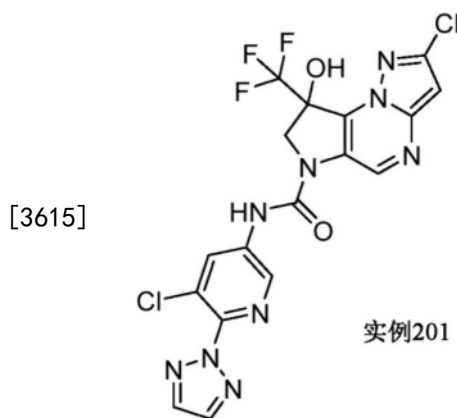
酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的2-氯-8-((三乙基甲硅烷基)氧基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(66mg, 41%产率)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d) δ :8.33(s,1H),6.73(s,1H),4.06-4.14(m,1H),3.70-3.75(m,1H),0.86(t,J=7.8Hz,9H),0.37-0.46(m,6H)。LC-MS:m/z 393[M+H]⁺。

[3611] 步骤7:2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-((三乙基甲硅烷基)氧基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3613] 向5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(方法A1步骤2;34mg,175 μ mol)于四氢呋喃(3mL)中的溶液中加入三光气(21mg,70 μ mol)和TEA(18mg,175 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时,然后过滤。将所得滤液加入到2-氯-8-((三乙基甲硅烷基)氧基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(46mg,117 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(118mg,1.2mmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(29mg,234 μ mol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌16小时。通过加入水(20mL)来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯(3x20mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用10%甲醇和90%二氯甲烷作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-((三乙基甲硅烷基)氧基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(36mg,40%产率)。LC-MS:m/z 614[M+H]⁺。

[3614] 步骤8:2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-羟基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

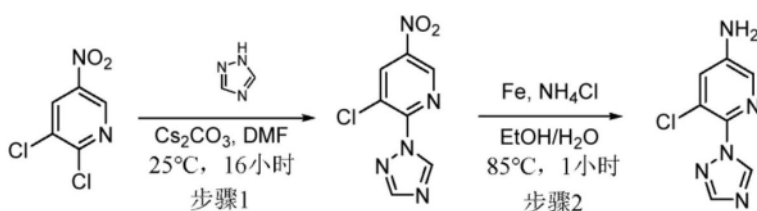


[3616] 向2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-((三乙基甲硅烷基)氧基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(36mg,58 μ

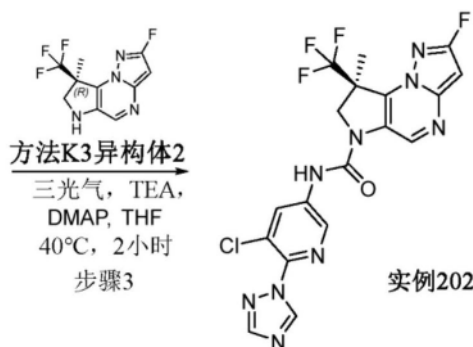
mol) 于四氢呋喃 (3mL) 中的搅拌混合物中加入四丁基氟化铵 (0.29mL, 290 μ mol, 1M, 于四氢呋喃中)。将所得混合物在 25 $^{\circ}$ C 下搅拌 2 小时。通过加入水 (20mL) 来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯 (3x20mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层用饱和 NH_4Cl 水溶液 (3x20mL) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过制备型 HPLC 进行纯化, 并将收集的级分冻干, 以得到呈白色固体的 2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-羟基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (5.3mg, 18% 产率)。

[3617] 实例 201: ^1H NMR (400MHz, 甲醇- d_4) δ : 9.48 (s, 1H), 8.71 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.55 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.02 (s, 2H), 6.84 (s, 1H), 4.81 (d, $J=12\text{Hz}$, 1H), 4.34-4.38 (m, 1H); LC-MS: m/z 500 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[3618] 方法 S6

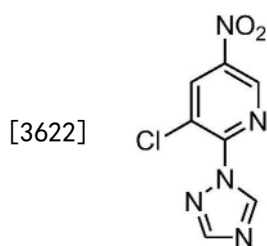


[3619]



[3620] 实例 202: (R)-N-(5-氯-6-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

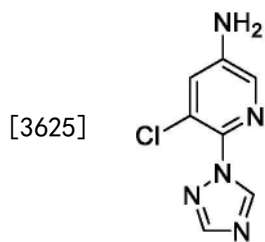
[3621] 步骤 1: 3-氯-5-硝基-2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶



[3622]

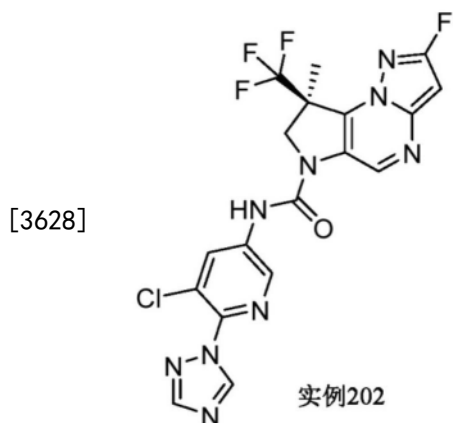
[3623] 向 2,3-二氯-5-硝基吡啶 (1.0g, 5.1mmol) 于 N,N-二甲基甲酰胺 (10mL) 中的搅拌溶液中加入 1H-1,2,4-三唑 (465mg, 6.7mmol) 和 Cs_2CO_3 (3.4g, 10.4mmol)。将反应混合物在 25 $^{\circ}$ C 下搅拌 16 小时。将反应混合物用水 (100mL) 淬灭。用二氯甲烷 (3x100mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水 (300mL) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用 60% 石油醚和 40% 乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈白色固体的 3-氯-5-硝基-2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶 (800mg, 68% 产率)。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.37 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 9.28 (s, 1H), 9.13 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 8.42 (s, 1H)。

[3624] 步骤 2: 5-氯-6-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-3-胺



[3626] 在25℃下,向3-氯-5-硝基-2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶(300mg,1.3mmol)于乙醇(3mL)和水(1mL)中的搅拌混合物中加入Fe(148mg,2.6mmol)和NH₄Cl(142mg,2.6mmol)。将所得混合物在85℃下搅拌1小时。将反应混合物冷却至25℃。将反应混合物过滤,并将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用40%石油醚和60%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的5-氯-6-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-3-胺(120mg,46%产率)。LC-MS:m/z 196[M+H]⁺。

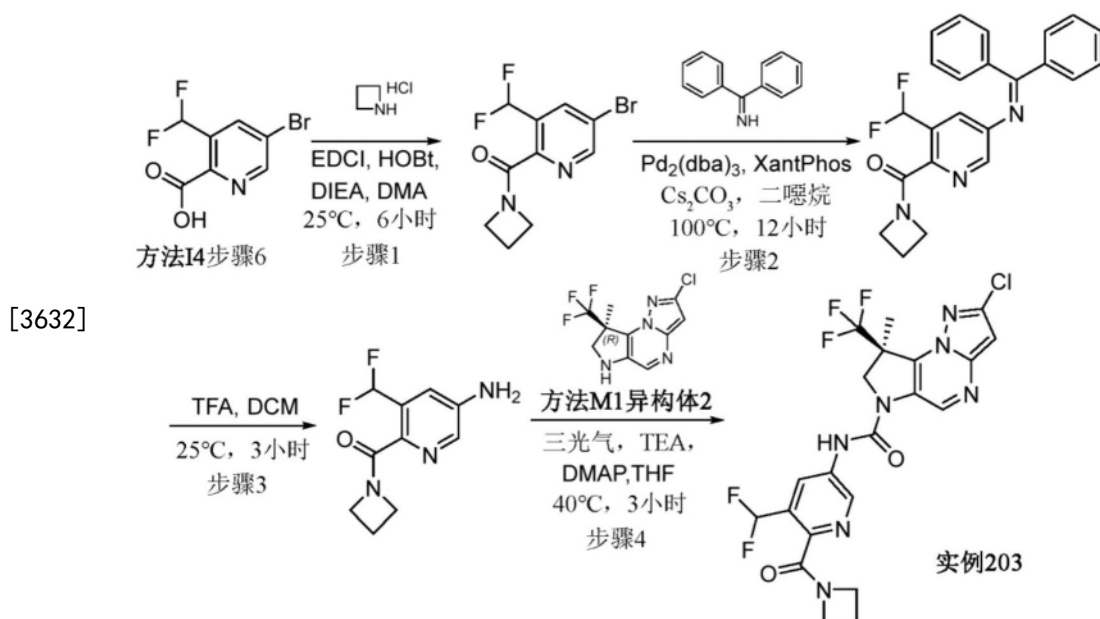
[3627] 步骤3: (R)-N-(5-氯-6-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3629] 在25℃下,向5-氯-6-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-3-胺(18mg,92.4μmol)于四氢呋喃(2mL)中的搅拌混合物中加入三光气(13mg,46.1μmol)和TEA(15mg,153.7μmol)。将所得混合物在25℃下搅拌1小时,然后过滤。将滤液加入到(R)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(方法K3异构体2;220mg,76.8μmol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。向该溶液中加入TEA(77mg,768.6μmol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(18mg,153.7μmol)。将反应混合物在40℃下搅拌2小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的(R)-N-(5-氯-6-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(14mg,38%产率)。实例202的对应的对映异构体可以使用方法K3异构体1类似地制备。

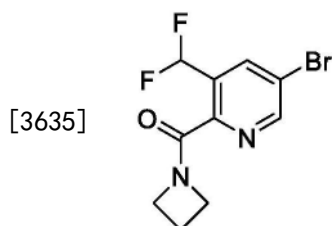
[3630] 实例202:¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ:9.66(br,1H),9.33(s,1H),9.05(s,1H),8.70(s,1H),8.47(d,J=2.1Hz,1H),8.28(s,1H),6.68(d,J=5.7Hz,1H),4.82(d,J=11.4Hz,1H),4.27(d,J=11.4Hz,1H),1.95(s,3H)。LC-MS:m/z 482[M+H]⁺。

[3631] 方法T6



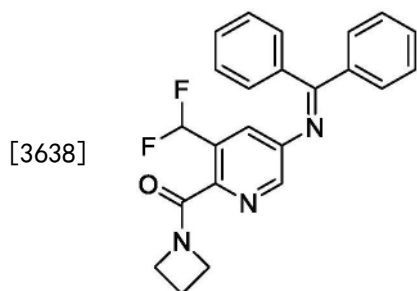
[3633] 实例203: (R)-N-(6-(氮杂环丁烷-1-羰基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3634] 步骤1: 氮杂环丁烷-1-基(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)甲酮



[3636] 向5-溴-3-(二氟甲基)吡啶甲酮(方法I4步骤6; 300mg, 1.2mmol)于N,N-二甲基乙酰胺(2mL)中的搅拌溶液中加入氮杂环丁烷氯化氢盐(145mg, 1.6mmol)、EDCI(297mg, 1.6mmol)、HOBT(209mg, 1.6mmol)和DIEA(615mg, 4.8mmol)。将反应混合物在25°C下搅拌6小时。将反应混合物用水(30mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x30mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的氮杂环丁烷-1-基(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)甲酮(160mg, 46%产率)。LC-MS:m/z 291 [M+H]⁺。

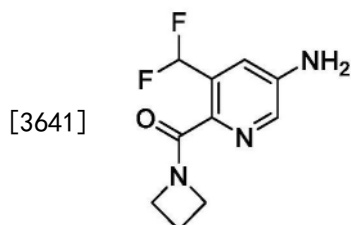
[3637] 步骤2: 氮杂环丁烷-1-基(3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)甲酮



[3639] 在氮气气氛下,向氮杂环丁烷-1-基(5-溴-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)甲酮(80mg, 274.8μmol)于二噁烷(10mL)中的混合物中加入二苯基甲亚胺(100mg, 549.6μmol)、Pd₂

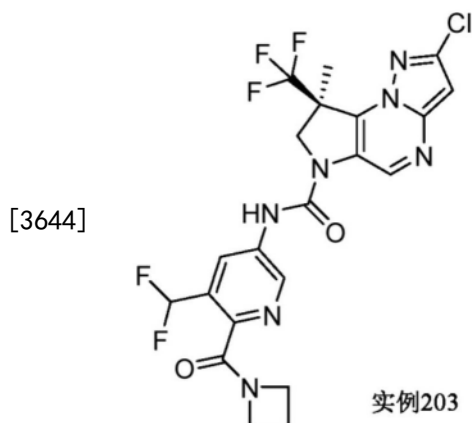
(dba)₃ (85mg, 82.4 μ mol)、Xantphos (48mg, 82.4 μ mol) 和 Cs₂CO₃ (269mg, 824.4 μ mol)。将所得混合物在 100℃ 下搅拌 12 小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用水 (10mL) 稀释, 并用乙酸乙酯 (3x10mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用 60% 石油醚和 40% 乙酸乙酯的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈黄色固体的氮杂环丁烷-1-基 (3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基) 甲酮 (80mg, 74% 产率)。LC-MS: m/z 392 [M+H]⁺。

[3640] 步骤3: (5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)(氮杂环丁烷-1-基)甲酮



[3642] 向氮杂环丁烷-1-基 (3-(二氟甲基)-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基) 甲酮 (80mg, 204.4 μ mol) 于二氯甲烷 (5mL) 中的搅拌混合物中加入 TFA (1mL)。将所得混合物在 25℃ 下搅拌 3 小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和 NaHCO₃ 水溶液 (10mL) 稀释。用二氯甲烷 (3x10mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。将残留物通过使用 90% 二氯甲烷和 10% 甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化, 以得到呈黄色固体的 (5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)(氮杂环丁烷-1-基) 甲酮 (40mg, 86% 产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 7.95 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.54 (t, J=56.0Hz, 1H), 7.19 (d, J=2.4Hz, 1H), 6.16 (br, 2H), 4.32-4.40 (m, 2H), 3.94-4.01 (m, 2H), 2.13-2.23 (m, 2H)。LC-MS: m/z 228 [M+H]⁺。

[3643] 步骤4: (R)-N-(6-(氮杂环丁烷-1-羰基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

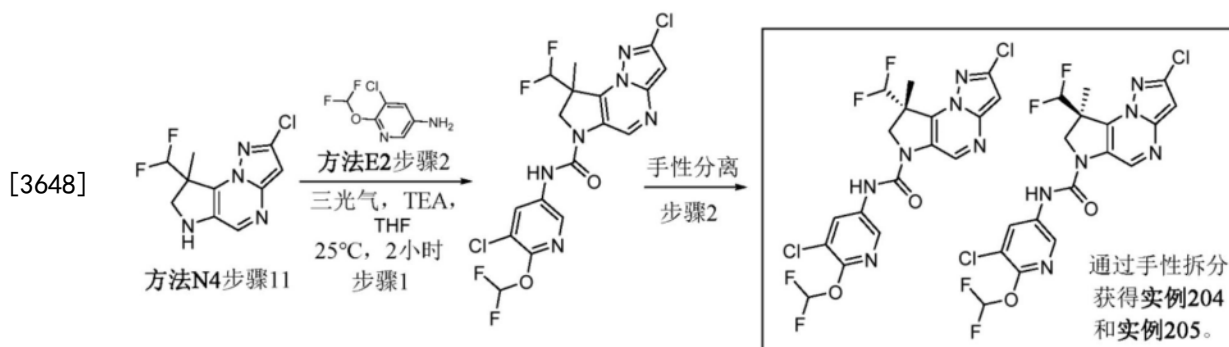


[3645] 向 (5-氨基-3-(二氟甲基)吡啶-2-基)(氮杂环丁烷-1-基) 甲酮 (40mg, 176.1 μ mol) 于四氢呋喃 (2mL) 中的搅拌溶液中加入三光气 (31mg, 105.6 μ mol) 和 TEA (27mg, 264.1 μ mol)。将所得混合物在 25℃ 下搅拌 1 小时, 然后过滤。将滤液加入到方法 M1 异构体 2 (58mg, 211.3 μ mol) 于四氢呋喃 (1mL) 中的溶液中。向该溶液中加入 N,N-二甲基吡啶-4-胺 (43mg, 352.1 μ mol) 和 TEA (178mg, 1.8mmol)。将混合物在 40℃ 下搅拌 3 小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型 HPLC 纯化, 并将收集的级分冻干, 以得到呈白色固体的 (R)-N-(6-(氮杂环丁烷-1-羰基)-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-2-氯-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶

并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺(6mg,6%产率)。实例203的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

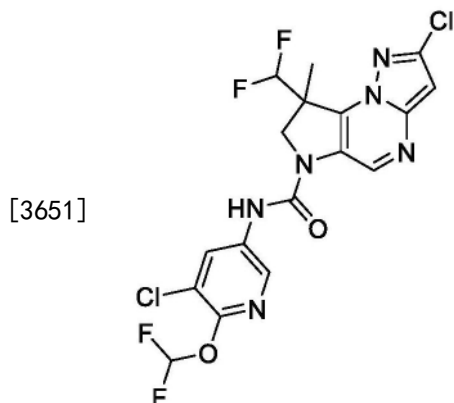
[3646] 实例203:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ:9.59(s,1H),9.35(s,1H),8.95(d,J=2.4Hz,1H),8.40(d,J=2.4Hz,1H),7.57(t,J=56.0Hz,1H),7.07(s,1H),4.85(d,J=11.6Hz,1H),4.37-4.42(m,2H),4.28(d,J=11.6Hz,1H),4.06-4.10(m,2H),2.23-2.30(m,2H),1.98(s,3H)。LC-MS:m/z 530[M+H]⁺。

[3647] 方法U6



[3649] 实例204和205:(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

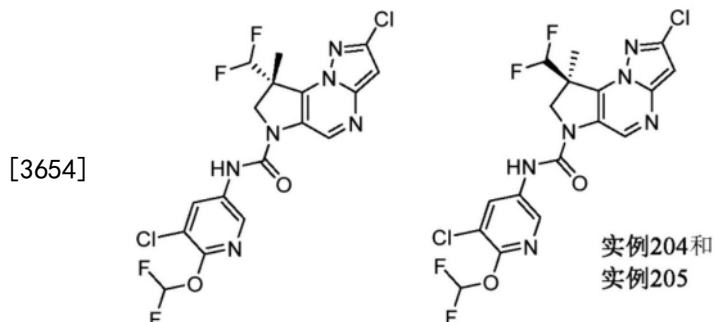
[3650] 步骤1:2-氯-N-(5-氯-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3652] 向5-氯-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-胺(方法E2步骤2;137mg,698.6μmol)于四氢呋喃(3mL)中的搅拌溶液中加入三光气(82mg,278.3μmol)和TEA(140mg,1.3mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到2-氯-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(方法N4步骤11;120mg,465.7μmol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。将混合物在25℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。通过加入水(50mL)来淬灭反应混合物。用乙酸乙酯(3x50mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用10%甲醇和90%二氯甲烷作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到粗产物。将粗产物通过制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈灰白色固体的2-氯-N-(5-氯-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-

8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (60mg, 26%产率)。LC-MS:m/z 479[M+H]⁺。

[3653] 步骤2:分离对映异构体以获得(S)-2-氯-N-(5-氯-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

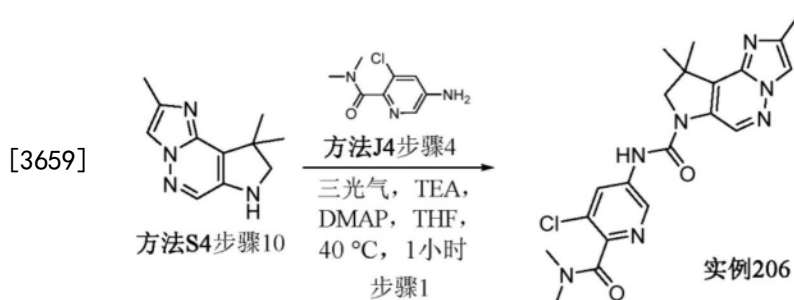


[3655] 对2-氯-N-(5-氯-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(二氟甲基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (50mg, 104.3 μ mol) 进行手性HPLC:色谱柱:CHIRALPAK IA, 5x25cm, 5 μ m; 流动相A:Hex (0.5% 2M NH₃-MeOH) - -HPLC, 流动相B:EtOH - -HPLC; 流速:20毫升/分钟; 梯度:在18分钟内, 10B到10B; 220/254nm; RT1:15.075; RT2:23.483; 注射体积:0.5ml; 运行次数:16。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干以得到呈灰白色固体的实例204 (14.2mg, 28%产率), 并将第二个洗脱异构体浓缩并冻干以得到呈灰白色固体的实例205 (15.4mg, 30%产率)。实例204和205是对映异构体, 但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[3656] 实例204:¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.32 (s, 1H), 9.28 (br, 1H), 8.37 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.33 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.70 (t, J=72.0Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.78 (t, J=56.0Hz, 1H), 4.62 (d, J=10.8Hz, 1H), 4.12 (d, J=10.8Hz, 1H), 1.78 (s, 3H)。LC-MS:m/z 479 [M+H]⁺。

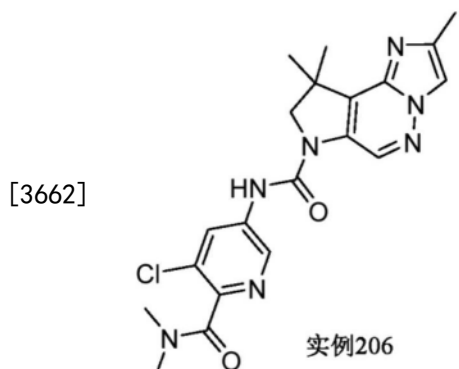
[3657] 实例205:¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.32 (s, 1H), 9.28 (br, 1H), 8.37 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.33 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.70 (t, J=72.0Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.78 (t, J=56.0Hz, 1H), 4.62 (d, J=10.8Hz, 1H), 4.12 (d, J=10.8Hz, 1H), 1.78 (s, 3H)。LC-MS:m/z 479 [M+H]⁺。

[3658] 方法V6



[3660] 实例206:N-(5-氯-6-(二甲基氨基甲酰基)吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]喹啉-7-甲酰胺

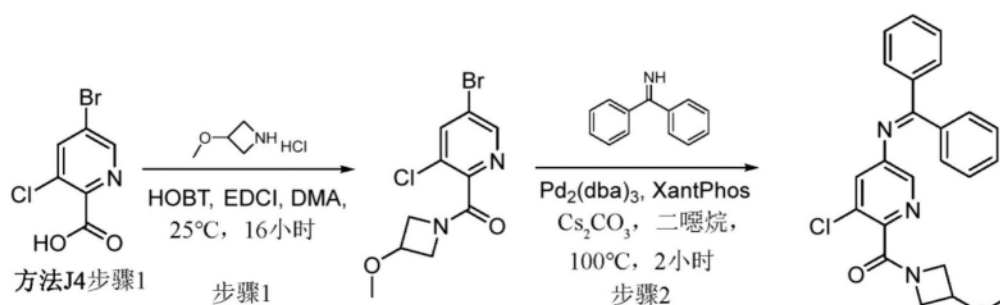
[3661] 步骤1:N-(5-氯-6-(二甲基氨基甲酰基)吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]吡嗪-7-甲酰胺



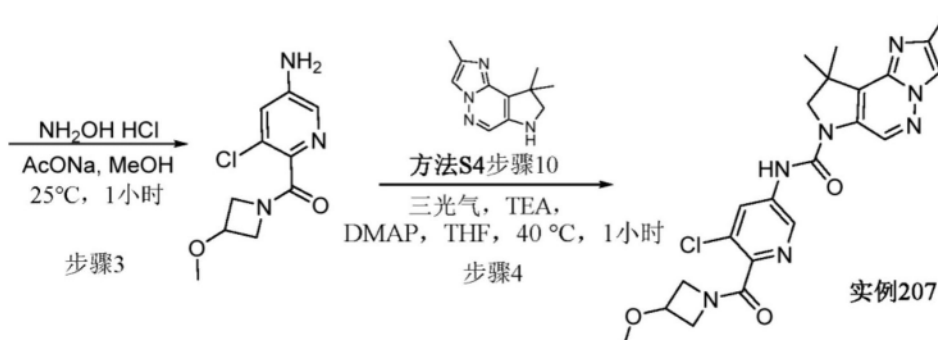
[3663] 向5-氨基-3-氯-N,N-二甲基吡啶酰胺(方法J4步骤4;7mg,34.6 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的搅拌溶液中加入三光气(6mg,20.7 μ mol)和TEA(5mg,51.9 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]吡嗪(方法S4步骤10;7mg,34.6 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(8mg,69.2 μ mol)和TEA(35mg,346.1 μ mol)。将反应混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的N-(5-氯-6-(二甲基氨基甲酰基)吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]吡嗪-7-甲酰胺(7mg,51%产率)。

[3664] 实例206: 1 H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ :9.24(br,1H),9.13(s,1H),8.74(d,J=2.0Hz,1H),8.29(d,J=2.0Hz,1H),7.97(s,1H),4.08(s,2H),3.02(s,3H),2.78(s,3H),2.37(s,3H),1.60(s,6H)。LC-MS:m/z 428[M+H] $^+$ 。

[3665] 方法W6



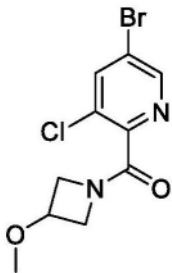
[3666]



[3667] 实例207:N-(5-氯-6-(3-甲氧基氮杂环丁烷-1-羰基)吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]吡嗪-7-甲酰胺

[3668] 步骤1: (5-溴-3-氯吡啶-2-基) (3-甲氧基氮杂环丁烷-1-基) 甲酮

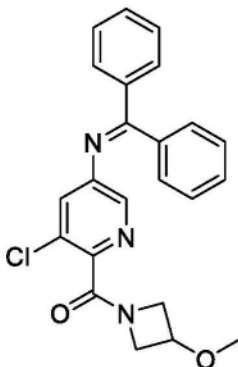
[3669]



[3670] 向5-溴-3-氯吡啶甲酸(方法J4步骤1;900mg,3.8mmol)于N,N-二甲基乙酰胺(25mL)中的搅拌溶液中加入3-甲氧基氮杂环丁烷盐酸盐(949mg,4.9mmol)、HOBt(669mg,4.9mmol)、EDCI(950mg,4.9mmol)和DIEA(1.5g,11.4mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物用水(200mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x200mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(3x500mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的(5-溴-3-氯吡啶-2-基) (3-甲氧基氮杂环丁烷-1-基) 甲酮(900mg,73%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ:8.72(d,J=2.0Hz,1H),8.50(d,J=2.0Hz,1H),4.23-4.29(m,2H),4.12-4.17(m,1H),3.77-3.93(m,2H),3.20(s,3H)。LC-MS:m/z 305[M+H]⁺。

[3671] 步骤2: (3-氯-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基) (3-甲氧基氮杂环丁烷-1-基) 甲酮

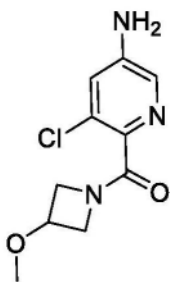
[3672]



[3673] 在氮气气氛下,向(5-溴-3-氯吡啶-2-基) (3-甲氧基氮杂环丁烷-1-基) 甲酮(600mg,2.0mmol)于二噁烷(18mL)中的搅拌溶液中加入二苯基甲亚胺(534mg,2.9mmol)、Pd₂(dba)₃(203mg,196.1μmol)、Xantphos(114mg,196.4μmol)和Cs₂CO₃(1.9g,5.9mmol)。将反应混合物在100℃下搅拌2小时。将反应混合物冷却至25℃。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物用水(50mL)稀释并用乙酸乙酯(3x50mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用98%二氯甲烷和2%甲醇作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈棕色油状物的(3-氯-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基) (3-甲氧基氮杂环丁烷-1-基) 甲酮(500mg,56%产率)。LC-MS:m/z 406[M+H]⁺。

[3674] 步骤3: (5-氨基-3-氯吡啶-2-基) (3-甲氧基氮杂环丁烷-1-基) 甲酮

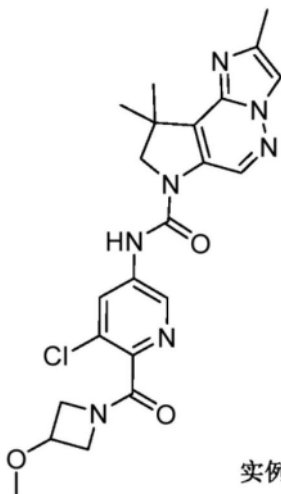
[3675]



[3676] 向(3-氯-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)(3-甲氧基氮杂环丁烷-1-基)甲酮(400mg, 985.5 μ mol)于甲醇(12mL)中的搅拌溶液中加入羟胺盐酸盐(171mg, 2.5mmol)和乙酸钠(242mg, 2.9mmol)。将反应混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)(3-甲氧基氮杂环丁烷-1-基)甲酮(200mg, 75%产率)。LC-MS:m/z 242[M+H]⁺。

[3677] 步骤4:N-(5-氯-6-(3-甲氧基氮杂环丁烷-1-羰基)吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺

[3678]

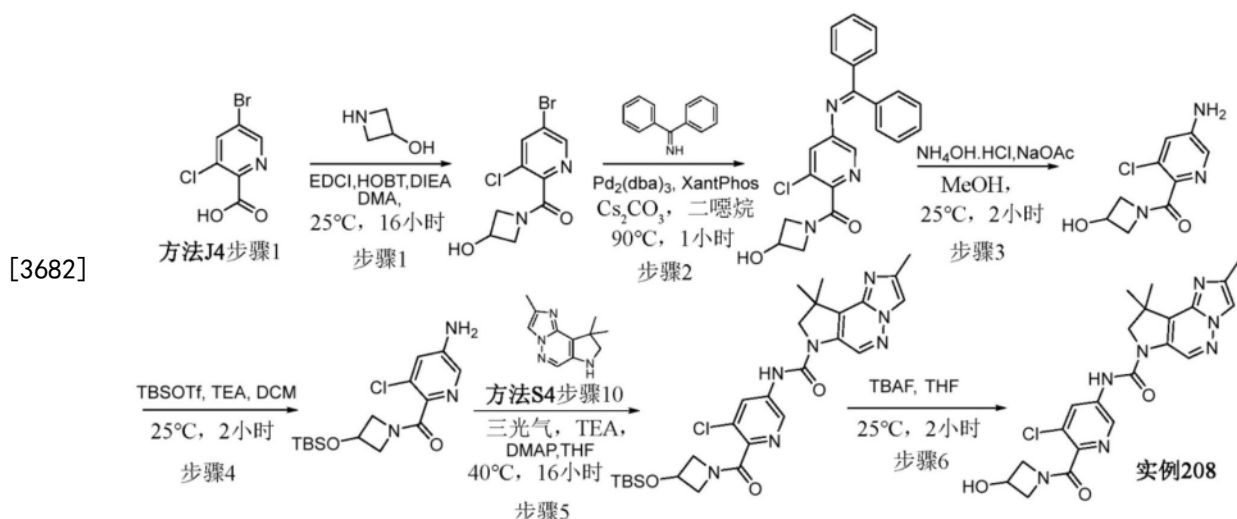


实例207

[3679] 向(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)(3-甲氧基氮杂环丁烷-1-基)甲酮(11mg, 44.5 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的搅拌溶液中加入三光气(7mg, 22.2 μ mol)和TEA(6mg, 55.6 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将滤液加入到2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪(方法S4步骤10;7mg, 37.1 μ mol)于四氢呋喃(1mL)中的溶液中。向该溶液中加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(9mg, 74.2 μ mol)和TEA(38mg, 370.8 μ mol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的N-(5-氯-6-(3-甲氧基氮杂环丁烷-1-羰基)吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺(6mg, 36%产率)。

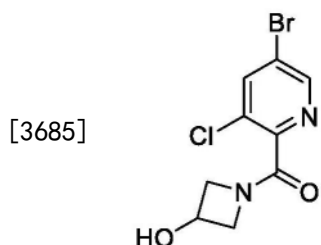
[3680] 实例207:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.29(br, 1H), 9.12(s, 1H), 8.74(d, J=2.0Hz, 1H), 8.29(d, J=2.0Hz, 1H), 7.97(s, 1H), 4.18-4.27(m, 3H), 4.08(s, 2H), 3.84-3.89(m, 2H), 3.21(s, 3H), 2.37(s, 3H), 1.60(s, 6H)。LC-MS:m/z 470[M+H]⁺。

[3681] 方法X6



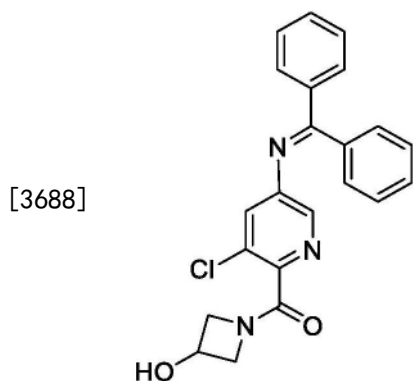
[3683] 实例208: N-(5-氯-6-(3-羟基氮杂环丁烷-1-羰基)吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺

[3684] 步骤1: (5-溴-3-氯吡啶-2-基)(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)甲酮



[3686] 向5-溴-3-氯吡啶甲酸(方法J4步骤1; 1.80g, 7.6mmol)于N,N-二甲基乙酰胺(10mL)中的搅拌溶液中加入氮杂环丁烷-3-醇(834mg, 7.6mmol)、EDCI(1.90g, 9.9mmol)、DIEA(2.95g, 22.8mmol)和HOBT(1.34g, 9.9mmol)。将混合物在25°C下搅拌16小时。将反应混合物用水(100mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的(5-溴-3-氯吡啶-2-基)(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)甲酮(800mg, 36%产率)。LC-MS:m/z 291[M+H]⁺。

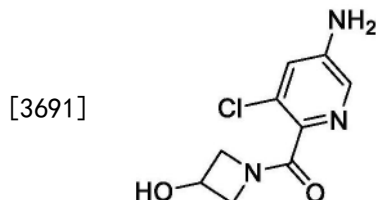
[3687] 步骤2: (3-氯-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)甲酮



[3689] 向(5-溴-3-氯吡啶-2-基)(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)甲酮(300mg, 1.0mmol)于二噁烷(20mL)中的搅拌溶液中加入二苯基甲亚胺(223mg, 1.2mmol)、XantPhos(178mg, 308μ

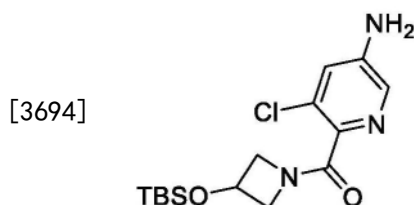
mol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (188mg, 205 μmol) 和 Cs_2CO_3 (1.01g, 3.1mmol)。将混合物在氮气气氛下在90℃下搅拌1小时。冷却至25℃后,滤出固体。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用90%石油醚和10%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈黄色固体的(3-氯-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)甲酮(180mg, 44%产率)。LC-MS: m/z 392[M+H]⁺。

[3690] 步骤3:(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)甲酮



[3692] 向(3-氯-5-((二苯基亚甲基)氨基)吡啶-2-基)(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)甲酮(180mg, 459 μmol)于甲醇(5mL)中的搅拌溶液中加入羟胺盐酸盐(80mg, 1.1mmol)和乙酸钠(113mg, 1.4mmol)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。对残留物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分浓缩,以得到呈黄色固体的(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)甲酮(90mg, 86%产率)。LC-MS: m/z 228[M+H]⁺。

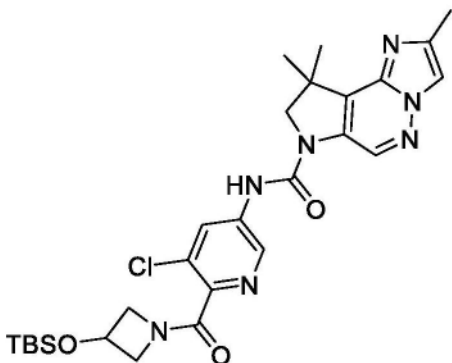
[3693] 步骤4:(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)(3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)氮杂环丁烷-1-基)甲酮



[3695] 在0℃下,向(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)甲酮(80mg, 351 μmol)于二氯甲烷(2mL)中的搅拌溶液中加入三氟甲磺酸叔丁基二甲基甲硅烷基酯(557mg, 2.1mmol)和TEA(213mg, 2.1mmol)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈白色固体的(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)(3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)氮杂环丁烷-1-基)甲酮(95mg, 79%产率)。¹H NMR(300MHz, 甲醇-d₄) δ : 7.88(d, J=2.4Hz, 1H), 7.08(d, J=2.4Hz, 1H), 4.72-4.81(m, 1H), 4.28-4.43(m, 2H), 3.88-4.05(m, 2H), 0.93(s, 9H), 0.02(s, 6H)。LC-MS: m/z 342[M+H]⁺。

[3696] 步骤5:N-(6-(3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)氮杂环丁烷-1-羰基)-5-氯吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]喹啉-7-甲酰胺

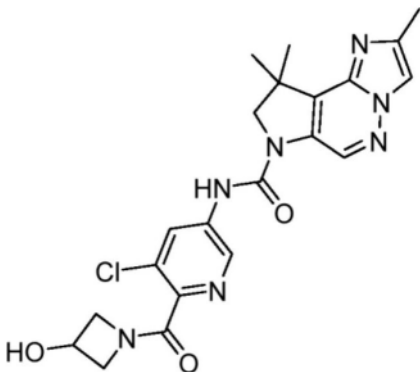
[3697]



[3698] 向(5-氨基-3-氯吡啶-2-基)(3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)氮杂环丁烷-1-基)甲酮(50mg, 148.3 μ mol)于四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中加入三光气(17mg, 57.3 μ mol)和TEA(15mg, 148.33 μ mol)。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪(方法S4步骤10; 20mg, 98 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA(100mg, 988 μ mol)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(24mg, 197 μ mol)。将混合物在40 $^{\circ}$ C下搅拌16小时。将混合物用水(10mL)淬灭,并用乙酸乙酯(3x10mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到呈黄色固体的N-(6-(3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)氮杂环丁烷-1-羰基)-5-氯吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺(20mg, 35%产率)。LC-MS:m/z 570[M+H]⁺。

[3699] 步骤6:N-(5-氯-6-(3-羟基氮杂环丁烷-1-羰基)吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺

[3700]



实例208

[3701] 向N-(6-(3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)氮杂环丁烷-1-羰基)-5-氯吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺(18mg, 31.57 μ mol)于四氢呋喃(2mL)中的溶液中加入四丁基氟化铵(1mL, 1M, 于四氢呋喃中)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用使用90%二氯甲烷和10%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到粗产物(30mg)。对粗产物进行制备型HPLC纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈白色固体的N-(5-氯-6-(3-羟基氮杂环丁烷-1-羰基)吡啶-3-基)-2,9,9-三甲基-8,9-二氢-7H-咪唑并[1,2-b]吡咯并[3,2-d]哒嗪-7-甲酰胺(3.7mg, 25%产率)。

[3702] 实例208:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ : 9.28(br, 1H), 9.12(s, 1H), 8.74(d, J=

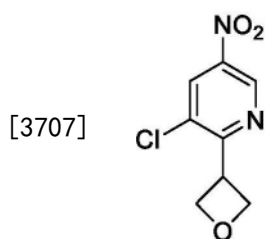
2.4Hz, 1H), 8.29 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.98 (s, 1H), 5.82 (s, 1H), 4.51 (s, 1H), 4.20-4.29 (m, 1H), 4.12-4.19 (m, 1H), 4.08 (s, 2H), 3.74-3.83 (m, 2H), 2.37 (s, 3H), 1.60 (s, 6H)。LC-MS:m/z 456 [M+H]⁺。

[3703] 方法Y6



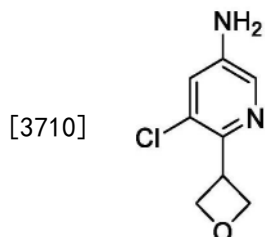
[3705] 实例209: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(氧杂环丁烷-3-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

[3706] 步骤1: 3-氯-5-硝基-2-(氧杂环丁烷-3-基)吡啶



[3708] 向3-氯-5-硝基吡啶 (158mg, 1.0mmol) 于二甲亚砜 (2mL) 中的搅拌混合物中加入氧杂环丁烷-3-甲酸 (1.0g, 10.0mmol)、吡啶甲酸 (13mg, 0.1mmol)、溴酸钠 (300mg, 2.0mmol) 和七水硫酸亚铁 (14mg, 50μmol)。将反应混合物在氮气下在25°C下搅拌16小时,用450nm LED照射。将残留物用氢氧化钠水溶液 (50mL, 1M) 稀释,并用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的3-氯-5-硝基-2-(氧杂环丁烷-3-基)吡啶 (17mg, 8%产率)。¹H NMR (300MHz, 氯仿-d) δ: 9.39 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.49 (d, J=2.4Hz, 1H), 4.95-5.15 (m, 4H), 4.67-4.91 (m, 1H)。LC-MS:m/z 215 [M+H]⁺。

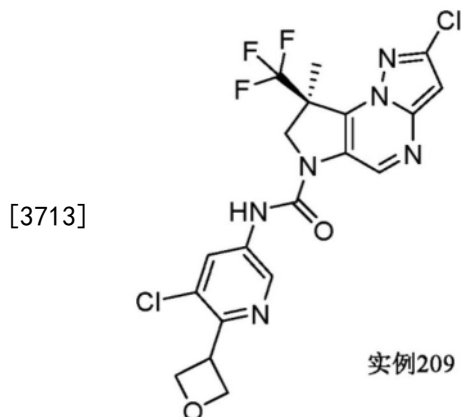
[3709] 步骤2: 5-氯-6-(氧杂环丁烷-3-基)吡啶-3-胺



[3711] 向3-氯-5-硝基-2-(氧杂环丁烷-3-基)吡啶 (70mg, 326μmol) 于乙醇 (12mL) 和水 (4mL) 中的溶液中加入Fe (91mg, 1.6mmol)、NH₄Cl (52mg, 978μmol)。将所得混合物在80°C下搅拌1小时。将混合物冷却至25°C。过滤反应混合物,并用乙酸乙酯 (3x25mL) 洗涤收集的固体。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用25%石油醚和75%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的5-氯-6-(氧杂

环丁烷-3-基)吡啶-3-胺 (30mg, 49%产率)。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz, DMSO-d_6) δ : 7.91 (d, $J=3.0\text{Hz}$, 1H), 6.98 (d, $J=3.0\text{Hz}$, 1H), 5.54 (br, 2H), 4.71-4.83 (m, 4H), 4.38-4.54 (m, 1H)。LC-MS: m/z 185 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

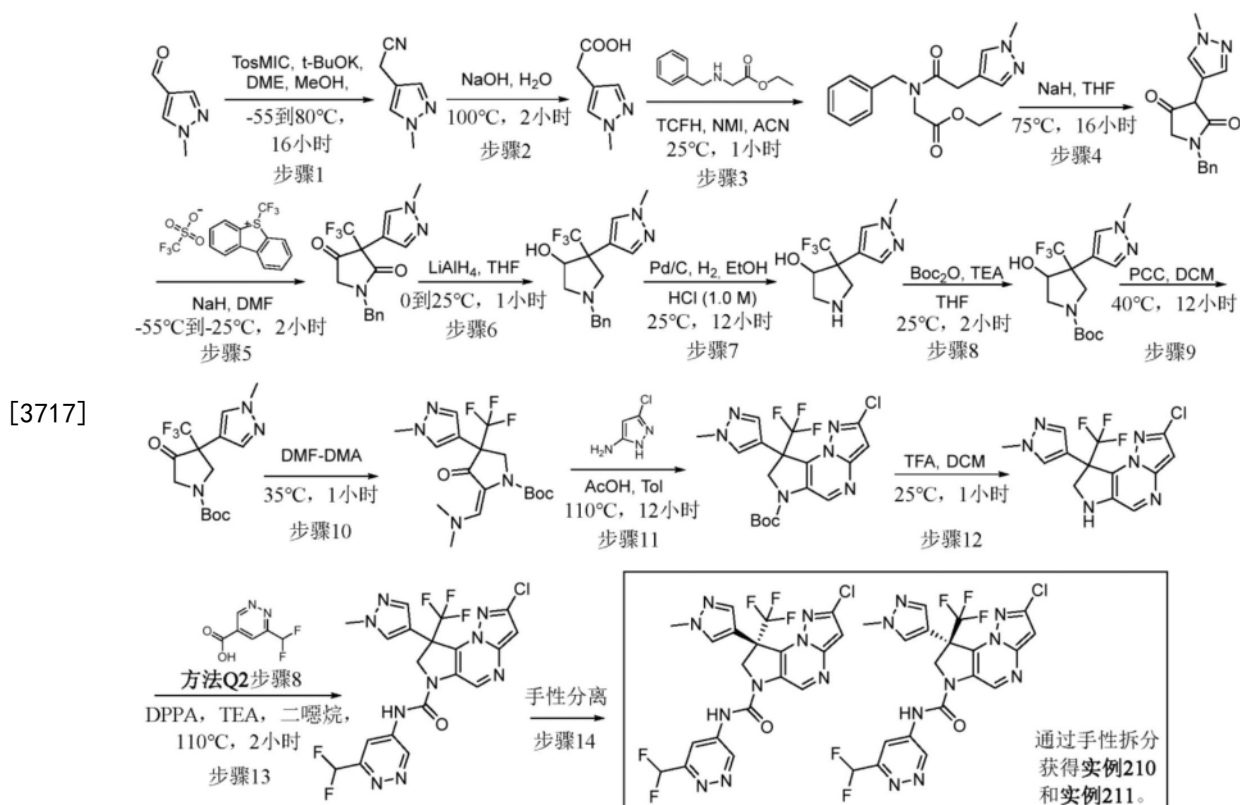
[3712] 步骤3: (R)-2-氯-N-(5-氯-6-(氧杂环丁烷-3-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3714] 向5-氯-6-(氧杂环丁烷-3-基)吡啶-3-胺 (32mg, 173 μmol) 于四氢呋喃 (8mL) 中的搅拌溶液中加入三光气 (26mg, 87 μmol) 和TEA (26mg, 260 μmol)。将所得混合物在40 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌0.5小时,然后过滤。将所得滤液加入到方法M1异构体2 (48mg, 173 μmol) 于四氢呋喃 (1.5mL) 中的溶液中。然后向该溶液中加入TEA (175mg, 1.7mmol) 和N,N-二甲基吡啶-4-胺 (42mg, 346 μmol)。将混合物在40 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌2小时。将溶剂在真空下浓缩。将残留物通过使用使用97%二氯甲烷和3%甲醇作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化,以得到20mg粗产物。将得到的粗产物通过制备型HPLC纯化法进行纯化,并将收集的级分冻干,以得到呈灰白色固体的(R)-2-氯-N-(5-氯-6-(氧杂环丁烷-3-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡啶并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (6mg, 7%产率)。实例209的对映异构体可以使用方法M1异构体1类似地制备。

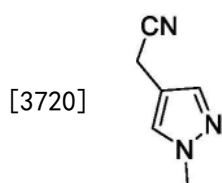
[3715] 实例209: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ : 9.41 (br, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.73 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 8.19 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.06 (s, 1H), 4.80-4.95 (m, 5H), 4.60-4.69 (m, 1H), 4.28 (d, $J=12.0\text{Hz}$, 1H), 1.98 (s, 3H)。LC-MS: m/z 487 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[3716] 方法Z6



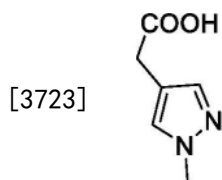
[3718] 实例210和211:由含有(S)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)咪唑-4-基)-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)咪唑-4-基)-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺的外消旋混合物获得的单一对映异构体

[3719] 步骤1:2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)乙腈



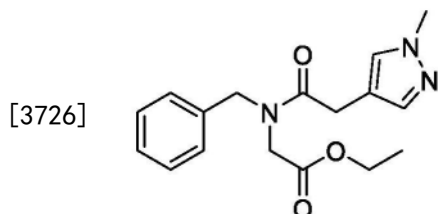
[3721] 向叔丁醇钾(203.81g,1.8mol)于1,2-二甲氧基-乙烷(600mL)中的溶液中加入1,2-二甲氧基-乙烷(800mL)中的甲磺酰甲基异氰化物(186.17g,953.5mmol)和1,2-二甲氧基-乙烷(600mL)中的1-甲基吡唑-4-甲醛(100g,908.1mmol)。将反应混合物在-55°C下搅拌1小时。然后将甲醇(1000mL)加入混合物中。将所得溶液在80°C下搅拌16小时。冷却至25°C后,将反应混合物浓缩,然后用水(1000mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x1000mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)乙腈(60g,54%产率)。 ^1H NMR(300MHz,氯仿-d) δ :7.40(s,1H),7.37(s,1H),3.86(s,3H),3.56(s,2H)。LC-MS:m/z 122[M+H] $^+$ 。

[3722] 步骤2:2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)乙酸



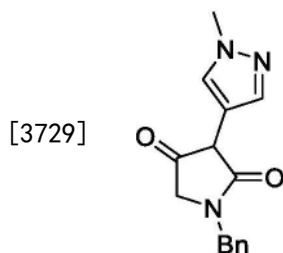
[3724] 向2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)乙腈(70g, 577.8mmol)于水(200mL)中的溶液中加入水(200mL)中的氢氧化钠(115.56g, 2.9mol)。将所得溶液在100℃下搅拌2小时。冷却至25℃后,将反应混合物用乙酸乙酯(2x300mL)洗涤。用HCl(1M)将水层的pH调整到3-4。用乙酸乙酯(6x500mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩,以得到呈黄色固体的2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)乙酸(55g, 68%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 12.25(br, 1H), 7.55(s, 1H), 7.29(s, 1H), 3.78(s, 3H), 3.39(s, 2H)。LC-MS:m/z 141[M+H]⁺。

[3725] 步骤3:N-苄基-N-(2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)乙酰基)甘氨酸乙酯



[3727] 向2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)乙酸(50g, 356.8mmol)于乙腈(1000mL)中的溶液中加入苄基甘氨酸乙酯(68.95g, 356.8mmol)、TCFH(150.16g, 535.2mmol)和NMI(87.88g, 1.0mol)。将所得溶液在25℃下搅拌1小时。将反应混合物浓缩,然后用水(1000mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x1000mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过制备型HPLC进行纯化,并将收集的级分浓缩,以得到呈黄色油状物的N-苄基-N-(2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)乙酰基)甘氨酸乙酯(100g, 88%产率)。LC-MS:m/z 316[M+H]⁺。

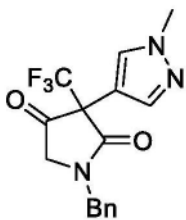
[3728] 步骤4:1-苄基-3-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡咯烷-2,4-二酮



[3730] 在0℃下,向氢化钠(4.57g, 114.15mmol, 60%纯度)于四氢呋喃(600mL)中的溶液中逐滴加入四氢呋喃(100mL)中的N-苄基-N-(2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)乙酰基)甘氨酸乙酯(30g, 95.13mmol)。将所得混合物在75℃下搅拌16小时。冷却至25℃后,将反应混合物用水(500mL)淬灭。将所得溶液在真空下浓缩以去除四氢呋喃。用HCl(1M)将pH调整到6。通过过滤收集固体,以得到呈白色固体的1-苄基-3-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡咯烷-2,4-二酮(16.5g, 64%产率)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ: 11.43(br, 1H), 8.01(s, 1H), 7.83(s, 1H), 7.21-7.38(m, 5H), 4.54(s, 2H), 3.85(s, 3H), 3.81(s, 2H)。LC-MS:m/z 270[M+H]⁺。

[3731] 步骤5:1-苄基-3-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-2,4-二酮

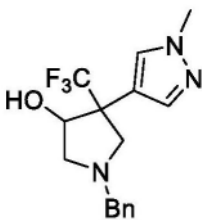
[3732]



[3733] 在0℃下,向1-苄基-3-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡咯烷-2,4-二酮(75g, 278.5mmol)于N,N-二甲基甲酰胺(1000mL)中的搅拌溶液中分批加入氢化钠(12.25g, 306.3mmol, 60%, 于矿物油中)。将反应混合物在25℃下搅拌0.5小时。在-55℃下分批加入三氟甲磺酸5-(三氟甲基)-5H-二苯并[b,d]噻吩-5-鎓酯(112.33g, 278.5mmol)。将反应混合物在-55℃下搅拌1小时,并在25℃下再搅拌1小时。将反应混合物用水(5000mL)淬灭。用乙酸乙酯(3x5000mL)萃取所得溶液。将合并的有机层用盐水(3x5000mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用10%石油醚和90%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈淡黄色油状物的1-苄基-3-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-2,4-二酮(2.2g, 2%产率)。¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ: 7.78 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.33-7.45 (m, 3H), 7.25-7.27 (m, 2H), 4.85 (d, J=14.8Hz, 1H), 4.63 (d, J=14.8Hz, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.91 (d, J=18.0Hz, 0.5H), 3.79 (d, J=18.0Hz, 0.5H)。LC-MS:m/z 338 [M+H]⁺。

[3734] 步骤6:1-苄基-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇

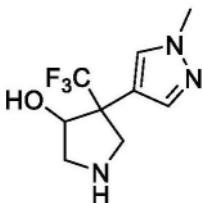
[3735]



[3736] 在0℃下,向1-苄基-3-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-2,4-二酮(2.5g, 7.4mmol)于四氢呋喃(120mL)中的搅拌混合物中分批加入LiAlH₄(898mg, 23.7mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌1小时。将反应混合物冷却至0℃。在搅拌的同时,加入水(900mg)和NaOH水溶液(10%, 900mg),然后加入水(900mg)。将所得混合物过滤并在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的1-苄基-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇(2g, 粗品)。LC-MS:m/z 326 [M+H]⁺。

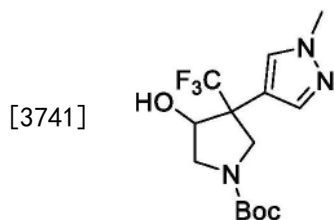
[3737] 步骤7:4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇

[3738]



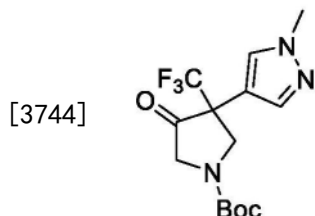
[3739] 向1-苄基-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇(2g, 6.15mmol)于乙醇(100mL)中的搅拌混合物中分批加入HCl(1N, 2mL)和Pd/C(2g, 10%)。将反应混合物在氢气下在25℃下搅拌12小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩,以得到呈黄色固体的4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇(1.7g, 粗品)。LC-MS:m/z 236 [M+H]⁺。

[3740] 步骤8:4-羟基-3-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



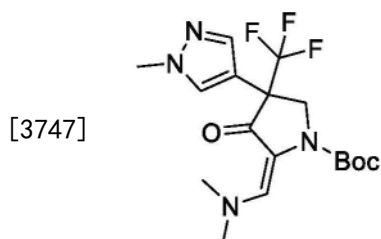
[3742] 向4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(三氟甲基)吡咯烷-3-醇(1.7g,7.2mmol)于四氢呋喃(100mL)中的搅拌混合物中加入TEA(3.66g,36.1mmol)和(Boc)₂O(2.37g,10.8mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用10%石油醚和90%乙酸乙酯作为洗脱剂的硅胶柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色油状物的4-羟基-3-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.2g,50%,三步)。LC-MS:m/z 336[M+H]⁺。

[3743] 步骤9:3-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[3745] 向4-羟基-3-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.2g,3.6mmol)于二氯甲烷(150mL)中的搅拌混合物中加入硅胶(770mg)和PCC(771mg,3.6mmol)。将反应混合物在40℃下搅拌12小时。将固体滤出。将滤液在真空下浓缩。将残留物通过使用60%石油醚和40%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈无色油状物的3-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(420mg,35%产率)。LC-MS:m/z 334[M+H]⁺。

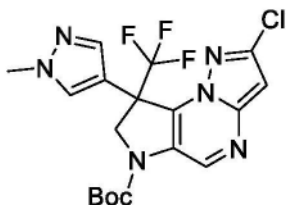
[3746] 步骤10:(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[3748] 将3-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-氧代-3-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(300mg,900.0μmol)于DMF-DMA(1mL)中的混合物在35℃下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(400mg,粗品)。LC-MS:m/z 389[M+H]⁺。

[3749] 步骤11:2-氯-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯

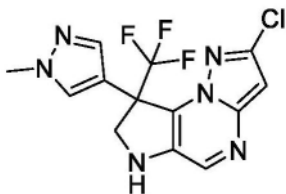
[3750]



[3751] 向(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-3-氧代-4-(三氟甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(400mg, 1.0mmol)于甲苯(5mL)中的搅拌溶液中加入乙酸(0.5mL)和3-氯-1H-吡唑-5-胺(121mg, 1.0mmol)。将反应混合物在110℃下搅拌12小时。冷却至25℃后,将混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(80mL)稀释。用乙酸乙酯(3x100mL)萃取所得溶液。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2-氯-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(80mg, 20%, 两步产率)。LC-MS:m/z 443[M+H]⁺。

[3752] 步骤12:2-氯-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶

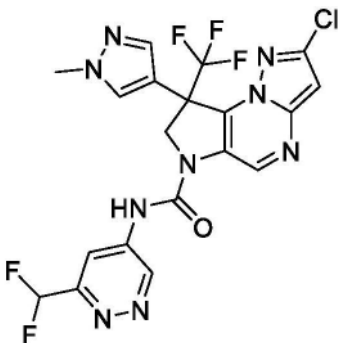
[3753]



[3754] 向2-氯-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(80mg, 180.6μmol)于二氯甲烷(5mL)中的搅拌溶液中加入TFA(2mL)。将反应混合物在25℃下搅拌1小时。将反应混合物在真空下浓缩。将残留物用饱和NaHCO₃水溶液(40mL)稀释。用乙酸乙酯(3x40mL)萃取所得混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。将残留物通过使用95%二氯甲烷和5%甲醇作为洗脱剂的柱色谱法进行纯化,以得到呈黄色固体的2-氯-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶(50mg, 80%产率)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d)δ:8.32(s, 1H), 7.82(s, 1H), 7.56(s, 1H), 6.71(s, 1H), 4.31(d, J=11.4Hz, 1H), 4.10(d, J=11.4Hz, 1H), 3.91(s, 3H)。LC-MS:m/z 343[M+H]⁺。

[3755] 步骤13:2-氯-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺

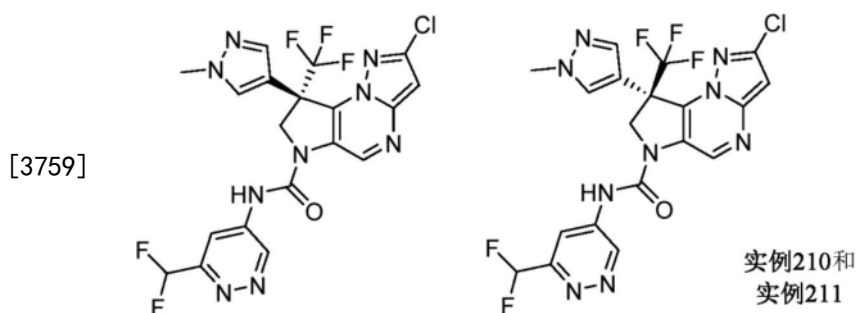
[3756]



[3757] 向2-氯-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]

吡咯并[2,3-e]嘧啶 (60mg, 175.1 μ mol) 和6-(二氟甲基)哒嗪-4-甲酸(方法Q2步骤8; 45mg, 262.6 μ mol) 于二噁烷(1mL) 中的搅拌溶液中加入TEA (53mg, 525.2 μ mol) 和DPPA (51mg, 210.1 μ mol)。将反应混合物在110 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。冷却至25 $^{\circ}$ C后, 将混合物在真空下浓缩。将残留物通过使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂的制备型TLC进行纯化, 以得到80mg粗产物。对粗产物进行制备型HPLC纯化, 并将收集的级分冻干, 以得到呈白色固体的2-氯-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (53mg, 58%产率)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ : 9.93 (br, 1H), 9.50 (d, J=2.1Hz, 1H), 9.41 (s, 1H), 8.20 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.25 (t, J=54.3Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 5.00 (d, J=11.7Hz, 1H), 4.79 (d, J=11.1Hz, 1H), 3.62 (s, 3H)。LC-MS:m/z 514[M+H]⁺。

[3758] 步骤14: 分离对映异构体以获得(S)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺和(R)-2-氯-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺



[3760] 对2-氯-N-(6-(二氟甲基)哒嗪-4-基)-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-8-(三氟甲基)-7,8-二氢-6H-吡唑并[1,5-a]吡咯并[2,3-e]嘧啶-6-甲酰胺 (50mg, 97.3 μ mol) 进行手性HPLC: 色谱柱: CHIRAL ART Cellulose-SC, 2x25cm, 5 μ m; 流动相A: Hex (0.1%FA) --HPLC, 流动相B: EtOH--HPLC; 流速: 20毫升/分钟; 梯度: 在13.25分钟内, 30%B到30%B; 波长: 220/254nm; RT1 (分钟): 9.79; RT2 (分钟): 12.16; 样品溶剂: MeOH:DCM=1:1; 注射体积: 1mL; 运行次数: 3。将第一个洗脱异构体浓缩并冻干, 以得到呈白色固体的实例210 (18.0mg, 36%产率)。将第二个洗脱异构体浓缩并冻干, 以得到呈白色固体的实例211 (17.3mg, 34%产率)。实例210和211是对映异构体, 但它们的绝对立体化学性质尚不清楚。

[3761] 实例210: ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ : 10.01 (br, 1H), 9.42-9.44 (m, 2H), 8.19 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.22 (t, J=54.3Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 5.00 (d, J=11.7Hz, 1H), 4.75 (d, J=11.4Hz, 1H), 3.82 (s, 3H)。LC-MS:m/z 514[M+H]⁺。

[3762] 实例211: ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ : 10.01 (br, 1H), 9.42-9.45 (m, 2H), 8.19 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.22 (t, J=54.3Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 5.00 (d, J=11.7Hz, 1H), 4.75 (d, J=11.7Hz, 1H), 3.82 (s, 3H)。LC-MS:m/z 514[M+H]⁺。

[3763] 生物测定

[3764] MALT1蛋白酶测定

[3765] 使用四肽作为底物和从杆状病毒感染的昆虫细胞中纯化的全长MALT1蛋白His-MALT1 (1-824) 在体外测定中评估MALT1蛋白酶活性。四肽底物是Ac-LRSR-AMC (SM生化公司)

(SM Biochemicals), 其中在约100 μ M下测量 K_m 。

[3766] 最终测定缓冲液包含1nM(测定2)或2nM(测定1)的MALT1全长蛋白、50 μ M Ac-LRSR-AMC底物、50mM Tris pH 7.5、600mM柠檬酸钠、1mM DTT、1mM EDTA和0.05%BSA,使用黑色微量滴定方形孔板(Optiplate 384-F, 珀金埃尔默公司(Perkin Elmer)),采用384孔板格式。

[3767] 将测试化合物以10mM的原液溶解在100%DMSO中,最终DMSO浓度为0.1%。将测试化合物与MALT1蛋白一起在室温下预温育2小时。预温育后加入底物,并在室温下温育8小时后,使用Envision在355nm激发和460nm发射处测量荧光信号。在此期间测定信号的增加是线性的并且与酶含量的增加成正比。

[3768] 利用以下公式,通过使用高对照(HC,来自含有MALT1蛋白、底物和DMSO的孔的荧光信号的中值)和低对照(LC,来自仅含有底物的孔的荧光信号的中值)将荧光单位转换为剩余活性的百分比:

$$[3769] \quad \text{剩余活性百分比} = 100\% \times \frac{\text{信号}_{\text{样品}} - \text{信号}_{\text{LC}}}{\text{信号}_{\text{HC}} - \text{信号}_{\text{LC}}}$$

[3770] 使用Graph Pad Prism(美国Graph Pad软件公司(Graph Pad software, Inc, USA))和非线性回归分析获得 IC_{50} 和希尔系数(Hill coefficient)。本文所述的某些化合物的MALT1抑制 IC_{50} 值提供于下表A中。

[3771] 人IL10分泌测定

[3772] IL10是通过活化NF- κ B信号传导来调节的细胞因子之一。例如,在ABC-DLBCL细胞系中,活化的NF- κ B信号传导导致IL10分泌增加。已显示,NF- κ B信号传导的抑制导致IL10分泌减少。

[3773] 测定1:在96孔圆底板(Corning 3799,康宁公司(Corning))中以每孔 3×10^5 个细胞将OCI-LY10细胞接种在补充有20%胎牛血清的IMEM中,从10mM开始,用100nL的3倍系列化合物稀释液进行处理。所有孔中的最终媒剂浓度为0.1%DMSO。温育24小时后,将细胞转移到96-PCR板(Axygen:PCR-96-FLT-C)并离心,然后将16 μ L细胞培养基转移到HTRF板中,并使用人IL-10测定试剂盒(Cisbio)使用HTRF格式测量IL10水平。通过使用高对照(HC,来自含有用DMSO处理的细胞的孔的信号的中值)和低对照(LC,来自没有细胞的孔的信号的中值)将信号转换为剩余活性的百分比。使用4参数曲线拟合确定 IC_{50} 值(nM),并使用Graph Pad Prism(美国Graph Pad软件公司(Graph Pad software, Inc, USA))和非线性回归分析获得希尔系数。

[3774] 测定2:在96孔V型底细胞培养板(康宁,3894)中以每孔 4.8×10^5 个细胞/160 μ L将OCI-LY10细胞接种在补充有20%胎牛血清的IMEM中,从4mM开始,用120nL的3倍系列化合物稀释液进行处理。所有孔中的最终媒剂浓度为0.075%DMSO。温育24小时后,将人IL-10预包被板(Meso Scale Discovery)用PBST洗涤3次,将50 μ L培养基吸入MSD板中,并在4 $^{\circ}$ C下温育过夜。然后弃去上清液并用PBST将孔洗涤3次。根据Meso Scale Protocol将SULFO-TAG抗人IL-10抗体(50X)稀释50倍,然后加入25 μ L的SULFO-TAG抗人IL-10抗体(1X)。在室温下温育2小时后,弃去上清液并用PBST将孔洗涤3次。加入2X读取缓冲液,并在MSD Sector S600上读取信号。相对于DMSO的影响,示出了特定化合物对IL10分泌的影响;设置为100%。使用4参数曲线拟合确定 IC_{50} 值(nM)。

[3775] 使用上述测定法的某些化合物的生物活性显示在表A中。MALT1 IC₅₀和IL10分泌细胞测定法IC₅₀的范围如下：A表示IC₅₀<10nM；B表示10nM≤IC₅₀<100nM；C表示100nM≤IC₅₀<1000nM；D表示IC₅₀≥1000nM。NA表示该测定未确定特定化合物的值。

[3776] 表A. 选定的式(I)化合物的IC₅₀值

[3777]

实例号	MALT1 IC ₅₀ [nM] 测定 1	MALT1 IC ₅₀ [nM] 测定 2	IL-10 分泌 IC ₅₀ [nM] 测定 1	IL-10 分泌 IC ₅₀ [nM] 测定 2
1	B	B	B	B
2	A	NA	C	NA
3	B	NA	C	NA
4	A	B	B	NA
5	A	NA	C	NA
6	B	NA	C	NA
7	A	NA	B	NA
8	B	NA	C	NA
9	B	NA	D	NA
10	A	NA	C	NA

[3778]

11	B	NA	NA	NA
12	A	NA	B	NA
13	B	NA	C	NA
14	C	NA	NA	NA
15	B	NA	NA	NA
16	A	A	B	B
17	B	NA	NA	NA
18	A	A	B	NA
19	A	NA	C	NA
20	B	NA	C	NA
21	A	A	B	NA
22	B	NA	NA	NA
23	B	NA	NA	NA
24	A	A	B	NA
25	A	A	B	NA
26	A	A	B	NA
27	A	A	B	NA
28	B	NA	NA	NA
29	A	B	B	NA
30	B	NA	NA	NA
31	B	NA	NA	NA
32	A	A	B	NA
33	B	NA	C	NA
34	A	NA	B	NA
35	A	A	B	B
36	A	A	B	NA
37	C	C	NA	NA
38	B	NA	C	NA
39	A	A	B	B
40	A	A	B	B
41	A	A	B	NA
42	B	B	C	NA
43	B	NA	C	NA
44	A	NA	B	NA
45	B	NA	B	NA
46	B	NA	NA	NA
47	B	NA	C	NA
48	A	NA	B	NA
49	A	NA	B	B
50	B	NA	NA	NA
51	B	NA	NA	NA
52	A	NA	B	NA

[3779]

53	NA	C	NA	NA
54	D	C	NA	NA
55	NA	B	NA	NA
56	NA	C	NA	NA
57	NA	A	B	NA
58	NA	B	NA	NA
59	NA	B	B	NA
60	NA	A	B	NA
61	NA	B	C	NA
62	NA	B	B	NA
63	NA	A	B	NA
64	NA	B	B	NA
65	NA	B	NA	B
66	NA	A	C	NA
67	NA	C	NA	NA
68	NA	B	NA	C
69	NA	B	NA	B
70	NA	A	C	NA
71	NA	A	C	NA
72	NA	B	C	NA
73	NA	B	B	NA
74	NA	B	B	NA
75	NA	B	C	NA
76	NA	A	B	NA
77	NA	A	B	NA
78	NA	C	NA	NA
79	NA	A	B	NA
80	NA	C	NA	NA
81	NA	C	NA	NA
82	NA	B	C	NA
83	NA	A	C	NA
84	NA	B	C	NA
85	NA	A	C	NA
86	NA	A	NA	B
87	NA	A	NA	B
88	NA	B	NA	B
89	NA	C	NA	NA
90	NA	B	NA	NA
91	NA	A	NA	B
92	NA	A	NA	B
93	NA	B	NA	B
94	NA	C	NA	NA

[3780]

95	NA	B	NA	B
96	NA	B	NA	C
97	NA	A	NA	B
98	NA	B	NA	C
99	NA	C	NA	NA
100	NA	C	NA	NA
101	NA	C	NA	NA
102	NA	C	NA	NA
103	NA	C	NA	NA
104	NA	A	B	B
105	NA	C	NA	NA
106	NA	B	NA	NA
107	NA	B	NA	NA
108	NA	D	NA	NA
109	NA	C	NA	NA
110	NA	C	NA	NA
111	NA	B	B	B
112	NA	C	NA	NA
113	NA	B	C	B
114	NA	D	NA	NA
115	NA	B	B	B
116	NA	A	B	B
117	NA	C	NA	NA
118	NA	B	NA	NA
119	NA	B	NA	NA
120	NA	D	NA	NA
121	NA	B	NA	NA
122	NA	A	B	B
123	NA	B	B	B
124	NA	D	NA	NA
125	NA	A	B	B
126	NA	A	B	B
127	NA	A	B	B
128	NA	A	B	B
129	NA	B	NA	NA
130	NA	C	NA	NA
131	NA	B	NA	NA
132	NA	C	NA	NA
133	NA	B	C	B
134	NA	B	C	B
135	NA	C	NA	NA
136	NA	A	B	B

[3781]

137	NA	D	NA	NA
138	NA	B	NA	NA
139	NA	D	NA	NA
140	NA	A	C	B
141	NA	D	NA	NA
142	NA	B	NA	NA
143	NA	C	NA	NA
144	NA	B	C	B
145	NA	C	NA	NA
146	NA	A	C	C
147	NA	D	NA	NA
148	NA	C	NA	NA
149	NA	A	B	B
150	NA	A	B	B
151	NA	A	B	B
152	NA	A	B	B
153	NA	B	D	C
154	NA	C	NA	NA
155	NA	C	NA	NA
156	NA	D	NA	NA
157	NA	C	NA	NA
158	NA	D	NA	NA
159	NA	B	NA	NA
160	NA	D	NA	NA
161	NA	C	NA	NA
162	NA	B	NA	NA
163	NA	D	NA	NA
164	NA	C	NA	NA
165	NA	D	NA	NA
166	NA	D	NA	NA
167	NA	D	NA	NA
168	NA	D	NA	NA
169	NA	D	NA	NA
170	NA	D	NA	NA
171	NA	D	NA	NA
172	NA	C	NA	NA
173	NA	D	NA	NA
174	NA	D	NA	NA
175	NA	D	NA	NA
176	NA	D	NA	NA
177	NA	D	NA	NA
178	NA	D	NA	NA

[3782]

179	NA	D	NA	NA
180	NA	C	NA	NA
181	NA	A	B	B
182	NA	D	NA	NA
183	NA	B	B	B
184	NA	B	B	B
185	NA	D	NA	NA
186	NA	D	NA	NA
187	NA	D	NA	NA
188	NA	B	C	B
189	NA	C	NA	NA
190	NA	D	NA	NA
191	NA	A	B	B
192	NA	D	NA	NA
193	NA	B	NA	NA
194	NA	D	NA	NA
195	NA	B	NA	NA
196	NA	D	NA	NA
197	NA	D	NA	NA
198	NA	B	NA	NA
199	NA	D	NA	NA
200	NA	D	NA	NA
201	NA	A	B	B
202	NA	B	C	B
203	NA	C	NA	NA
204	NA	B	B	B
205	NA	A	B	B
206	NA	D	NA	NA
207	NA	D	NA	NA
208	NA	D	NA	NA
209	NA	D	NA	NA
210	NA	D	NA	NA
211	NA	B	NA	NA

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 薛定谔公司(Schrödinger, LLC)
- [0003] 冯书路(Feng, Shulu)
- [0004] 摩根·劳伦斯(Lawrenz, Morgan)
- [0005] 戈兰·克里洛夫(Krilov, Goran)
- [0006] 安德鲁·普莱泽克(Placzek, Andrew)
- [0007] 聂喆(Nie, Zhe)
- [0008] 林尼·特佐斯(Trzoss, Lynnie)
- [0009] 迈克尔·特佐斯(Trzoss, Michael)
- [0010] 唐海峰(Tang, Haifeng)
- [0011] H·雷切尔·拉吉亚科斯(Lagiakos, H. Rachel)
- [0012] <120> 环状化合物及其使用方法
- [0013] <130> 17367-0076W01
- [0014] <150> US 63/119,521
- [0015] <151> 2020-11-30
- [0016] <150> US 63/040,582
- [0017] <151> 2020-06-18
- [0018] <150> US 62/954,262
- [0019] <151> 2019-12-27
- [0020] <160> 36
- [0021] <170> SIPOSequenceListing 1.0
- [0022] <210> 1
- [0023] <211> 220
- [0024] <212> PRT
- [0025] <213> 智人(Homo sapiens)
- [0026] <400> 1
- [0027] Met Leu Arg Leu Leu Leu Ala Leu Asn Leu Phe Pro Ser Ile Gln Val
- [0028] 1 5 10 15
- [0029] Thr Gly Asn Lys Ile Leu Val Lys Gln Ser Pro Met Leu Val Ala Tyr
- [0030] 20 25 30
- [0031] Asp Asn Ala Val Asn Leu Ser Cys Lys Tyr Ser Tyr Asn Leu Phe Ser
- [0032] 35 40 45
- [0033] Arg Glu Phe Arg Ala Ser Leu His Lys Gly Leu Asp Ser Ala Val Glu
- [0034] 50 55 60
- [0035] Val Cys Val Val Tyr Gly Asn Tyr Ser Gln Gln Leu Gln Val Tyr Ser
- [0036] 65 70 75 80
- [0037] Lys Thr Gly Phe Asn Cys Asp Gly Lys Leu Gly Asn Glu Ser Val Thr
- [0038] 85 90 95

[0039]	Phe Tyr Leu Gln Asn Leu Tyr Val Asn Gln Thr Asp Ile Tyr Phe Cys
[0040]	100 105 110
[0041]	Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser
[0042]	115 120 125
[0043]	Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro
[0044]	130 135 140
[0045]	Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly
[0046]	145 150 155 160
[0047]	Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile
[0048]	165 170 175
[0049]	Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met
[0050]	180 185 190
[0051]	Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro
[0052]	195 200 205
[0053]	Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
[0054]	210 215 220
[0055]	<210> 2
[0056]	<211> 1271
[0057]	<212> PRT
[0058]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0059]	<400> 2
[0060]	Met Val Asp Pro Val Gly Phe Ala Glu Ala Trp Lys Ala Gln Phe Pro
[0061]	1 5 10 15
[0062]	Asp Ser Glu Pro Pro Arg Met Glu Leu Arg Ser Val Gly Asp Ile Glu
[0063]	20 25 30
[0064]	Gln Glu Leu Glu Arg Cys Lys Ala Ser Ile Arg Arg Leu Glu Gln Glu
[0065]	35 40 45
[0066]	Val Asn Gln Glu Arg Phe Arg Met Ile Tyr Leu Gln Thr Leu Leu Ala
[0067]	50 55 60
[0068]	Lys Glu Lys Lys Ser Tyr Asp Arg Gln Arg Trp Gly Phe Arg Arg Ala
[0069]	65 70 75 80
[0070]	Ala Gln Ala Pro Asp Gly Ala Ser Glu Pro Arg Ala Ser Ala Ser Arg
[0071]	85 90 95
[0072]	Pro Gln Pro Ala Pro Ala Asp Gly Ala Asp Pro Pro Pro Ala Glu Glu
[0073]	100 105 110
[0074]	Pro Glu Ala Arg Pro Asp Gly Glu Gly Ser Pro Gly Lys Ala Arg Pro
[0075]	115 120 125
[0076]	Gly Thr Ala Arg Arg Pro Gly Ala Ala Ala Ser Gly Glu Arg Asp Asp
[0077]	130 135 140

[0078]	Arg Gly Pro Pro Ala Ser Val Ala Ala Leu Arg Ser Asn Phe Glu Arg
[0079]	145 150 155 160
[0080]	Ile Arg Lys Gly His Gly Gln Pro Gly Ala Asp Ala Glu Lys Pro Phe
[0081]	165 170 175
[0082]	Tyr Val Asn Val Glu Phe His His Glu Arg Gly Leu Val Lys Val Asn
[0083]	180 185 190
[0084]	Asp Lys Glu Val Ser Asp Arg Ile Ser Ser Leu Gly Ser Gln Ala Met
[0085]	195 200 205
[0086]	Gln Met Glu Arg Lys Lys Ser Gln His Gly Ala Gly Ser Ser Val Gly
[0087]	210 215 220
[0088]	Asp Ala Ser Arg Pro Pro Tyr Arg Gly Arg Ser Ser Glu Ser Ser Cys
[0089]	225 230 235 240
[0090]	Gly Val Asp Gly Asp Tyr Glu Asp Ala Glu Leu Asn Pro Arg Phe Leu
[0091]	245 250 255
[0092]	Lys Asp Asn Leu Ile Asp Ala Asn Gly Gly Ser Arg Pro Pro Trp Pro
[0093]	260 265 270
[0094]	Pro Leu Glu Tyr Gln Pro Tyr Gln Ser Ile Tyr Val Gly Gly Met Met
[0095]	275 280 285
[0096]	Glu Gly Glu Gly Lys Gly Pro Leu Leu Arg Ser Gln Ser Thr Ser Glu
[0097]	290 295 300
[0098]	Gln Glu Lys Arg Leu Thr Trp Pro Arg Arg Ser Tyr Ser Pro Arg Ser
[0099]	305 310 315 320
[0100]	Phe Glu Asp Cys Gly Gly Gly Tyr Thr Pro Asp Cys Ser Ser Asn Glu
[0101]	325 330 335
[0102]	Asn Leu Thr Ser Ser Glu Glu Asp Phe Ser Ser Gly Gln Ser Ser Arg
[0103]	340 345 350
[0104]	Val Ser Pro Ser Pro Thr Thr Tyr Arg Met Phe Arg Asp Lys Ser Arg
[0105]	355 360 365
[0106]	Ser Pro Ser Gln Asn Ser Gln Gln Ser Phe Asp Ser Ser Ser Pro Pro
[0107]	370 375 380
[0108]	Thr Pro Gln Cys His Lys Arg His Arg His Cys Pro Val Val Val Ser
[0109]	385 390 395 400
[0110]	Glu Ala Thr Ile Val Gly Val Arg Lys Thr Gly Gln Ile Trp Pro Asn
[0111]	405 410 415
[0112]	Asp Gly Glu Gly Ala Phe His Gly Asp Ala Asp Gly Ser Phe Gly Thr
[0113]	420 425 430
[0114]	Pro Pro Gly Tyr Gly Cys Ala Ala Asp Arg Ala Glu Glu Gln Arg Arg
[0115]	435 440 445
[0116]	His Gln Asp Gly Leu Pro Tyr Ile Asp Asp Ser Pro Ser Ser Ser Pro

[0117]	450	455	460
[0118]	His Leu Ser Ser Lys Gly Arg Gly Ser Arg Asp Ala Leu Val Ser Gly		
[0119]	465	470	475 480
[0120]	Ala Leu Glu Ser Thr Lys Ala Ser Glu Leu Asp Leu Glu Lys Gly Leu		
[0121]		485	490 495
[0122]	Glu Met Arg Lys Trp Val Leu Ser Gly Ile Leu Ala Ser Glu Glu Thr		
[0123]		500	505 510
[0124]	Tyr Leu Ser His Leu Glu Ala Leu Leu Leu Pro Met Lys Pro Leu Lys		
[0125]		515	520 525
[0126]	Ala Ala Ala Thr Thr Ser Gln Pro Val Leu Thr Ser Gln Gln Ile Glu		
[0127]		530	535 540
[0128]	Thr Ile Phe Phe Lys Val Pro Glu Leu Tyr Glu Ile His Lys Glu Phe		
[0129]		545	550 555 560
[0130]	Tyr Asp Gly Leu Phe Pro Arg Val Gln Gln Trp Ser His Gln Gln Arg		
[0131]		565	570 575
[0132]	Val Gly Asp Leu Phe Gln Lys Leu Ala Ser Gln Leu Gly Val Tyr Arg		
[0133]		580	585 590
[0134]	Ala Phe Val Asp Asn Tyr Gly Val Ala Met Glu Met Ala Glu Lys Cys		
[0135]		595	600 605
[0136]	Cys Gln Ala Asn Ala Gln Phe Ala Glu Ile Ser Glu Asn Leu Arg Ala		
[0137]		610	615 620
[0138]	Arg Ser Asn Lys Asp Ala Lys Asp Pro Thr Thr Lys Asn Ser Leu Glu		
[0139]		625	630 635 640
[0140]	Thr Leu Leu Tyr Lys Pro Val Asp Arg Val Thr Arg Ser Thr Leu Val		
[0141]		645	650 655
[0142]	Leu His Asp Leu Leu Lys His Thr Pro Ala Ser His Pro Asp His Pro		
[0143]		660	665 670
[0144]	Leu Leu Gln Asp Ala Leu Arg Ile Ser Gln Asn Phe Leu Ser Ser Ile		
[0145]		675	680 685
[0146]	Asn Glu Glu Ile Thr Pro Arg Arg Gln Ser Met Thr Val Lys Lys Gly		
[0147]		690	695 700
[0148]	Glu His Arg Gln Leu Leu Lys Asp Ser Phe Met Val Glu Leu Val Glu		
[0149]		705	710 715 720
[0150]	Gly Ala Arg Lys Leu Arg His Val Phe Leu Phe Thr Asp Leu Leu Leu		
[0151]		725	730 735
[0152]	Cys Thr Lys Leu Lys Lys Gln Ser Gly Gly Lys Thr Gln Gln Tyr Asp		
[0153]		740	745 750
[0154]	Cys Lys Trp Tyr Ile Pro Leu Thr Asp Leu Ser Phe Gln Met Val Asp		
[0155]		755	760 765

[0156]	Glu Leu Glu Ala Val Pro Asn Ile Pro Leu Val Pro Asp Glu Glu Leu
[0157]	770 775 780
[0158]	Asp Ala Leu Lys Ile Lys Ile Ser Gln Ile Lys Asn Asp Ile Gln Arg
[0159]	785 790 795 800
[0160]	Glu Lys Arg Ala Asn Lys Gly Ser Lys Ala Thr Glu Arg Leu Lys Lys
[0161]	805 810 815
[0162]	Lys Leu Ser Glu Gln Glu Ser Leu Leu Leu Leu Met Ser Pro Ser Met
[0163]	820 825 830
[0164]	Ala Phe Arg Val His Ser Arg Asn Gly Lys Ser Tyr Thr Phe Leu Ile
[0165]	835 840 845
[0166]	Ser Ser Asp Tyr Glu Arg Ala Glu Trp Arg Glu Asn Ile Arg Glu Gln
[0167]	850 855 860
[0168]	Gln Lys Lys Cys Phe Arg Ser Phe Ser Leu Thr Ser Val Glu Leu Gln
[0169]	865 870 875 880
[0170]	Met Leu Thr Asn Ser Cys Val Lys Leu Gln Thr Val His Ser Ile Pro
[0171]	885 890 895
[0172]	Leu Thr Ile Asn Lys Glu Asp Asp Glu Ser Pro Gly Leu Tyr Gly Phe
[0173]	900 905 910
[0174]	Leu Asn Val Ile Val His Ser Ala Thr Gly Phe Lys Gln Ser Ser Asn
[0175]	915 920 925
[0176]	Leu Tyr Cys Thr Leu Glu Val Asp Ser Phe Gly Tyr Phe Val Asn Lys
[0177]	930 935 940
[0178]	Ala Lys Thr Arg Val Tyr Arg Asp Thr Ala Glu Pro Asn Trp Asn Glu
[0179]	945 950 955 960
[0180]	Glu Phe Glu Ile Glu Leu Glu Gly Ser Gln Thr Leu Arg Ile Leu Cys
[0181]	965 970 975
[0182]	Tyr Glu Lys Cys Tyr Asn Lys Thr Lys Ile Pro Lys Glu Asp Gly Glu
[0183]	980 985 990
[0184]	Ser Thr Asp Arg Leu Met Gly Lys Gly Gln Val Gln Leu Asp Pro Gln
[0185]	995 1000 1005
[0186]	Ala Leu Gln Asp Arg Asp Trp Gln Arg Thr Val Ile Ala Met Asn Gly
[0187]	1010 1015 1020
[0188]	Ile Glu Val Lys Leu Ser Val Lys Phe Asn Ser Arg Glu Phe Ser Leu
[0189]	1025 1030 1035 1040
[0190]	Lys Arg Met Pro Ser Arg Lys Gln Thr Gly Val Phe Gly Val Lys Ile
[0191]	1045 1050 1055
[0192]	Ala Val Val Thr Lys Arg Glu Arg Ser Lys Val Pro Tyr Ile Val Arg
[0193]	1060 1065 1070
[0194]	Gln Cys Val Glu Glu Ile Glu Arg Arg Gly Met Glu Glu Val Gly Ile

[0195]	1075	1080	1085
[0196]	Tyr Arg Val Ser Gly Val Ala Thr Asp Ile Gln Ala Leu Lys Ala Ala		
[0197]	1090	1095	1100
[0198]	Phe Asp Val Asn Asn Lys Asp Val Ser Val Met Met Ser Glu Met Asp		
[0199]	1105	1110	1115
[0200]	Val Asn Ala Ile Ala Gly Thr Leu Lys Leu Tyr Phe Arg Glu Leu Pro		
[0201]	1125	1130	1135
[0202]	Glu Pro Leu Phe Thr Asp Glu Phe Tyr Pro Asn Phe Ala Glu Gly Ile		
[0203]	1140	1145	1150
[0204]	Ala Leu Ser Asp Pro Val Ala Lys Glu Ser Cys Met Leu Asn Leu Leu		
[0205]	1155	1160	1165
[0206]	Leu Ser Leu Pro Glu Ala Asn Leu Leu Thr Phe Leu Phe Leu Leu Asp		
[0207]	1170	1175	1180
[0208]	His Leu Lys Arg Val Ala Glu Lys Glu Ala Val Asn Lys Met Ser Leu		
[0209]	1185	1190	1195
[0210]	His Asn Leu Ala Thr Val Phe Gly Pro Thr Leu Leu Arg Pro Ser Glu		
[0211]	1205	1210	1215
[0212]	Lys Glu Ser Lys Leu Pro Ala Asn Pro Ser Gln Pro Ile Thr Met Thr		
[0213]	1220	1225	1230
[0214]	Asp Ser Trp Ser Leu Glu Val Met Ser Gln Val Gln Val Leu Leu Tyr		
[0215]	1235	1240	1245
[0216]	Phe Leu Gln Leu Glu Ala Ile Pro Ala Pro Asp Ser Lys Arg Gln Ser		
[0217]	1250	1255	1260
[0218]	Ile Leu Phe Ser Thr Glu Val		
[0219]	1265	1270	
[0220]	<210> 3		
[0221]	<211> 1210		
[0222]	<212> PRT		
[0223]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[0224]	<400> 3		
[0225]	Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala		
[0226]	1	5	10
[0227]	Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln		
[0228]	20	25	30
[0229]	Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe		
[0230]	35	40	45
[0231]	Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn		
[0232]	50	55	60
[0233]	Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys		

[0234]	65	70	75	80
[0235]	Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val			
[0236]		85	90	95
[0237]	Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr			
[0238]		100	105	110
[0239]	Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn			
[0240]		115	120	125
[0241]	Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu			
[0242]		130	135	140
[0243]	His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu			
[0244]	145	150	155	160
[0245]	Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met			
[0246]		165	170	175
[0247]	Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro			
[0248]		180	185	190
[0249]	Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln			
[0250]		195	200	205
[0251]	Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg			
[0252]		210	215	220
[0253]	Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys			
[0254]	225	230	235	240
[0255]	Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp			
[0256]		245	250	255
[0257]	Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro			
[0258]		260	265	270
[0259]	Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly			
[0260]		275	280	285
[0261]	Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His			
[0262]		290	295	300
[0263]	Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu			
[0264]	305	310	315	320
[0265]	Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val			
[0266]		325	330	335
[0267]	Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn			
[0268]		340	345	350
[0269]	Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp			
[0270]		355	360	365
[0271]	Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr			
[0272]		370	375	380

[0273]	Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
[0274]	385 390 395 400
[0275]	Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp
[0276]	405 410 415
[0277]	Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
[0278]	420 425 430
[0279]	His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu
[0280]	435 440 445
[0281]	Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
[0282]	450 455 460
[0283]	Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
[0284]	465 470 475 480
[0285]	Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu
[0286]	485 490 495
[0287]	Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro
[0288]	500 505 510
[0289]	Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn
[0290]	515 520 525
[0291]	Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly
[0292]	530 535 540
[0293]	Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
[0294]	545 550 555 560
[0295]	Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
[0296]	565 570 575
[0297]	Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
[0298]	580 585 590
[0299]	Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
[0300]	595 600 605
[0301]	Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
[0302]	610 615 620
[0303]	Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly
[0304]	625 630 635 640
[0305]	Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu
[0306]	645 650 655
[0307]	Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met Arg Arg Arg His
[0308]	660 665 670
[0309]	Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg Glu Leu
[0310]	675 680 685
[0311]	Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala Leu Leu

[0312]	690	695	700
[0313]	Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Gly Ser		
[0314]	705	710	715
[0315]	Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile Pro Glu Gly Glu		
[0316]		725	730
[0317]	Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg Glu Ala Thr Ser		
[0318]		740	745
[0319]	Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Ser		
[0320]		755	760
[0321]	Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser		
[0322]		770	775
[0323]	Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe Gly Cys Leu Leu Asp		
[0324]		785	790
[0325]	Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln Tyr Leu Leu Asn		
[0326]		805	810
[0327]	Trp Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu Glu Asp Arg Arg		
[0328]		820	825
[0329]	Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys Thr Pro		
[0330]		835	840
[0331]	Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Gly Ala		
[0332]		850	855
[0333]	Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp		
[0334]		865	870
[0335]	Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp		
[0336]		885	890
[0337]	Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ser		
[0338]		900	905
[0339]	Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ser Ser Ile Leu Glu		
[0340]		915	920
[0341]	Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr		
[0342]		930	935
[0343]	Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp Ser Arg Pro Lys		
[0344]		945	950
[0345]	Phe Arg Glu Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met Ala Arg Asp Pro Gln		
[0346]		965	970
[0347]	Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His Leu Pro Ser Pro		
[0348]		980	985
[0349]	Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu Glu Asp Met Asp		
[0350]		995	1000
			1005

[0351]	Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln Gln Gly Phe Phe
[0352]	1010 1015 1020
[0353]	Ser Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser Ser Leu Ser Ala
[0354]	1025 1030 1035 1040
[0355]	Thr Ser Asn Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asp Arg Asn Gly Leu Gln
[0356]	1045 1050 1055
[0357]	Ser Cys Pro Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln Arg Tyr Ser Ser Asp
[0358]	1060 1065 1070
[0359]	Pro Thr Gly Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp Asp Thr Phe Leu Pro
[0360]	1075 1080 1085
[0361]	Val Pro Glu Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro Lys Arg Pro Ala Gly Ser
[0362]	1090 1095 1100
[0363]	Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln Pro Leu Asn Pro Ala Pro Ser
[0364]	1105 1110 1115 1120
[0365]	Arg Asp Pro His Tyr Gln Asp Pro His Ser Thr Ala Val Gly Asn Pro
[0366]	1125 1130 1135
[0367]	Glu Tyr Leu Asn Thr Val Gln Pro Thr Cys Val Asn Ser Thr Phe Asp
[0368]	1140 1145 1150
[0369]	Ser Pro Ala His Trp Ala Gln Lys Gly Ser His Gln Ile Ser Leu Asp
[0370]	1155 1160 1165
[0371]	Asn Pro Asp Tyr Gln Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu Ala Lys Pro Asn
[0372]	1170 1175 1180
[0373]	Gly Ile Phe Lys Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala Glu Tyr Leu Arg Val
[0374]	1185 1190 1195 1200
[0375]	Ala Pro Gln Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
[0376]	1205 1210
[0377]	<210> 4
[0378]	<211> 1255
[0379]	<212> PRT
[0380]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0381]	<400> 4
[0382]	Met Glu Leu Ala Ala Leu Cys Arg Trp Gly Leu Leu Leu Ala Leu Leu
[0383]	1 5 10 15
[0384]	Pro Pro Gly Ala Ala Ser Thr Gln Val Cys Thr Gly Thr Asp Met Lys
[0385]	20 25 30
[0386]	Leu Arg Leu Pro Ala Ser Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His
[0387]	35 40 45
[0388]	Leu Tyr Gln Gly Cys Gln Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr
[0389]	50 55 60

[0390]	Leu Pro Thr Asn Ala Ser Leu Ser Phe Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val
[0391]	65 70 75 80
[0392]	Gln Gly Tyr Val Leu Ile Ala His Asn Gln Val Arg Gln Val Pro Leu
[0393]	85 90 95
[0394]	Gln Arg Leu Arg Ile Val Arg Gly Thr Gln Leu Phe Glu Asp Asn Tyr
[0395]	100 105 110
[0396]	Ala Leu Ala Val Leu Asp Asn Gly Asp Pro Leu Asn Asn Thr Thr Pro
[0397]	115 120 125
[0398]	Val Thr Gly Ala Ser Pro Gly Gly Leu Arg Glu Leu Gln Leu Arg Ser
[0399]	130 135 140
[0400]	Leu Thr Glu Ile Leu Lys Gly Gly Val Leu Ile Gln Arg Asn Pro Gln
[0401]	145 150 155 160
[0402]	Leu Cys Tyr Gln Asp Thr Ile Leu Trp Lys Asp Ile Phe His Lys Asn
[0403]	165 170 175
[0404]	Asn Gln Leu Ala Leu Thr Leu Ile Asp Thr Asn Arg Ser Arg Ala Cys
[0405]	180 185 190
[0406]	His Pro Cys Ser Pro Met Cys Lys Gly Ser Arg Cys Trp Gly Glu Ser
[0407]	195 200 205
[0408]	Ser Glu Asp Cys Gln Ser Leu Thr Arg Thr Val Cys Ala Gly Gly Cys
[0409]	210 215 220
[0410]	Ala Arg Cys Lys Gly Pro Leu Pro Thr Asp Cys Cys His Glu Gln Cys
[0411]	225 230 235 240
[0412]	Ala Ala Gly Cys Thr Gly Pro Lys His Ser Asp Cys Leu Ala Cys Leu
[0413]	245 250 255
[0414]	His Phe Asn His Ser Gly Ile Cys Glu Leu His Cys Pro Ala Leu Val
[0415]	260 265 270
[0416]	Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Phe Glu Ser Met Pro Asn Pro Glu Gly Arg
[0417]	275 280 285
[0418]	Tyr Thr Phe Gly Ala Ser Cys Val Thr Ala Cys Pro Tyr Asn Tyr Leu
[0419]	290 295 300
[0420]	Ser Thr Asp Val Gly Ser Cys Thr Leu Val Cys Pro Leu His Asn Gln
[0421]	305 310 315 320
[0422]	Glu Val Thr Ala Glu Asp Gly Thr Gln Arg Cys Glu Lys Cys Ser Lys
[0423]	325 330 335
[0424]	Pro Cys Ala Arg Val Cys Tyr Gly Leu Gly Met Glu His Leu Arg Glu
[0425]	340 345 350
[0426]	Val Arg Ala Val Thr Ser Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys
[0427]	355 360 365
[0428]	Lys Ile Phe Gly Ser Leu Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp

[0429]	370	375	380
[0430]	Pro Ala Ser Asn Thr Ala Pro Leu Gln Pro Glu Gln Leu Gln Val Phe		
[0431]	385	390	395
[0432]	Glu Thr Leu Glu Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Tyr Ile Ser Ala Trp Pro		
[0433]	405	410	415
[0434]	Asp Ser Leu Pro Asp Leu Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile Arg		
[0435]	420	425	430
[0436]	Gly Arg Ile Leu His Asn Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln Gly Leu		
[0437]	435	440	445
[0438]	Gly Ile Ser Trp Leu Gly Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu Gly Ser Gly		
[0439]	450	455	460
[0440]	Leu Ala Leu Ile His His Asn Thr His Leu Cys Phe Val His Thr Val		
[0441]	465	470	475
[0442]	Pro Trp Asp Gln Leu Phe Arg Asn Pro His Gln Ala Leu Leu His Thr		
[0443]	485	490	495
[0444]	Ala Asn Arg Pro Glu Asp Glu Cys Val Gly Glu Gly Leu Ala Cys His		
[0445]	500	505	510
[0446]	Gln Leu Cys Ala Arg Gly His Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr Gln Cys		
[0447]	515	520	525
[0448]	Val Asn Cys Ser Gln Phe Leu Arg Gly Gln Glu Cys Val Glu Glu Cys		
[0449]	530	535	540
[0450]	Arg Val Leu Gln Gly Leu Pro Arg Glu Tyr Val Asn Ala Arg His Cys		
[0451]	545	550	555
[0452]	Leu Pro Cys His Pro Glu Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val Thr Cys		
[0453]	565	570	575
[0454]	Phe Gly Pro Glu Ala Asp Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr Lys Asp		
[0455]	580	585	590
[0456]	Pro Pro Phe Cys Val Ala Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro Asp Leu		
[0457]	595	600	605
[0458]	Ser Tyr Met Pro Ile Trp Lys Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala Cys Gln		
[0459]	610	615	620
[0460]	Pro Cys Pro Ile Asn Cys Thr His Ser Cys Val Asp Leu Asp Asp Lys		
[0461]	625	630	635
[0462]	Gly Cys Pro Ala Glu Gln Arg Ala Ser Pro Leu Thr Ser Ile Ile Ser		
[0463]	645	650	655
[0464]	Ala Val Val Gly Ile Leu Leu Val Val Val Leu Gly Val Val Phe Gly		
[0465]	660	665	670
[0466]	Ile Leu Ile Lys Arg Arg Gln Gln Lys Ile Arg Lys Tyr Thr Met Arg		
[0467]	675	680	685

[0468]	Arg Leu Leu Gln Glu Thr Glu Leu Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly
[0469]	690 695 700
[0470]	Ala Met Pro Asn Gln Ala Gln Met Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Leu
[0471]	705 710 715 720
[0472]	Arg Lys Val Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys
[0473]	725 730 735
[0474]	Gly Ile Trp Ile Pro Asp Gly Glu Asn Val Lys Ile Pro Val Ala Ile
[0475]	740 745 750
[0476]	Lys Val Leu Arg Glu Asn Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu
[0477]	755 760 765
[0478]	Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Gly Val Gly Ser Pro Tyr Val Ser Arg
[0479]	770 775 780
[0480]	Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser Thr Val Gln Leu Val Thr Gln Leu
[0481]	785 790 795 800
[0482]	Met Pro Tyr Gly Cys Leu Leu Asp His Val Arg Glu Asn Arg Gly Arg
[0483]	805 810 815
[0484]	Leu Gly Ser Gln Asp Leu Leu Asn Trp Cys Met Gln Ile Ala Lys Gly
[0485]	820 825 830
[0486]	Met Ser Tyr Leu Glu Asp Val Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala
[0487]	835 840 845
[0488]	Arg Asn Val Leu Val Lys Ser Pro Asn His Val Lys Ile Thr Asp Phe
[0489]	850 855 860
[0490]	Gly Leu Ala Arg Leu Leu Asp Ile Asp Glu Thr Glu Tyr His Ala Asp
[0491]	865 870 875 880
[0492]	Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu Arg
[0493]	885 890 895
[0494]	Arg Arg Phe Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val
[0495]	900 905 910
[0496]	Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ala Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala
[0497]	915 920 925
[0498]	Arg Glu Ile Pro Asp Leu Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro
[0499]	930 935 940
[0500]	Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met
[0501]	945 950 955 960
[0502]	Ile Asp Ser Glu Cys Arg Pro Arg Phe Arg Glu Leu Val Ser Glu Phe
[0503]	965 970 975
[0504]	Ser Arg Met Ala Arg Asp Pro Gln Arg Phe Val Val Ile Gln Asn Glu
[0505]	980 985 990
[0506]	Asp Leu Gly Pro Ala Ser Pro Leu Asp Ser Thr Phe Tyr Arg Ser Leu

[0507]	995	1000	1005
[0508]	Leu Glu Asp Asp Asp Met Gly Asp Leu Val Asp Ala Glu Glu Tyr Leu		
[0509]	1010	1015	1020
[0510]	Val Pro Gln Gln Gly Phe Phe Cys Pro Asp Pro Ala Pro Gly Ala Gly		
[0511]	1025	1030	1035
[0512]	Gly Met Val His His Arg His Arg Ser Ser Ser Thr Arg Ser Gly Gly		1040
[0513]	1045	1050	1055
[0514]	Gly Asp Leu Thr Leu Gly Leu Glu Pro Ser Glu Glu Glu Ala Pro Arg		
[0515]	1060	1065	1070
[0516]	Ser Pro Leu Ala Pro Ser Glu Gly Ala Gly Ser Asp Val Phe Asp Gly		
[0517]	1075	1080	1085
[0518]	Asp Leu Gly Met Gly Ala Ala Lys Gly Leu Gln Ser Leu Pro Thr His		
[0519]	1090	1095	1100
[0520]	Asp Pro Ser Pro Leu Gln Arg Tyr Ser Glu Asp Pro Thr Val Pro Leu		
[0521]	1105	1110	1115
[0522]	Pro Ser Glu Thr Asp Gly Tyr Val Ala Pro Leu Thr Cys Ser Pro Gln		
[0523]	1125	1130	1135
[0524]	Pro Glu Tyr Val Asn Gln Pro Asp Val Arg Pro Gln Pro Pro Ser Pro		
[0525]	1140	1145	1150
[0526]	Arg Glu Gly Pro Leu Pro Ala Ala Arg Pro Ala Gly Ala Thr Leu Glu		
[0527]	1155	1160	1165
[0528]	Arg Pro Lys Thr Leu Ser Pro Gly Lys Asn Gly Val Val Lys Asp Val		
[0529]	1170	1175	1180
[0530]	Phe Ala Phe Gly Gly Ala Val Glu Asn Pro Glu Tyr Leu Thr Pro Gln		
[0531]	1185	1190	1195
[0532]	Gly Gly Ala Ala Pro Gln Pro His Pro Pro Pro Ala Phe Ser Pro Ala		1200
[0533]	1205	1210	1215
[0534]	Phe Asp Asn Leu Tyr Tyr Trp Asp Gln Asp Pro Pro Glu Arg Gly Ala		
[0535]	1220	1225	1230
[0536]	Pro Pro Ser Thr Phe Lys Gly Thr Pro Thr Ala Glu Asn Pro Glu Tyr		
[0537]	1235	1240	1245
[0538]	Leu Gly Leu Asp Val Pro Val		
[0539]	1250	1255	
[0540]	<210> 5		
[0541]	<211> 671		
[0542]	<212> PRT		
[0543]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[0544]	<400> 5		
[0545]	Met Ala Asp Pro Ala Ala Gly Pro Pro Pro Ser Glu Gly Glu Glu Ser		

[0546]	1	5	10	15
[0547]	Thr Val Arg Phe Ala Arg Lys Gly Ala Leu Arg Gln Lys Asn Val His			
[0548]		20	25	30
[0549]	Glu Val Lys Asn His Lys Phe Thr Ala Arg Phe Phe Lys Gln Pro Thr			
[0550]		35	40	45
[0551]	Phe Cys Ser His Cys Thr Asp Phe Ile Trp Gly Phe Gly Lys Gln Gly			
[0552]		50	55	60
[0553]	Phe Gln Cys Gln Val Cys Cys Phe Val Val His Lys Arg Cys His Glu			
[0554]	65	70	75	80
[0555]	Phe Val Thr Phe Ser Cys Pro Gly Ala Asp Lys Gly Pro Ala Ser Asp			
[0556]		85	90	95
[0557]	Asp Pro Arg Ser Lys His Lys Phe Lys Ile His Thr Tyr Ser Ser Pro			
[0558]		100	105	110
[0559]	Thr Phe Cys Asp His Cys Gly Ser Leu Leu Tyr Gly Leu Ile His Gln			
[0560]		115	120	125
[0561]	Gly Met Lys Cys Asp Thr Cys Met Met Asn Val His Lys Arg Cys Val			
[0562]		130	135	140
[0563]	Met Asn Val Pro Ser Leu Cys Gly Thr Asp His Thr Glu Arg Arg Gly			
[0564]	145	150	155	160
[0565]	Arg Ile Tyr Ile Gln Ala His Ile Asp Arg Asp Val Leu Ile Val Leu			
[0566]		165	170	175
[0567]	Val Arg Asp Ala Lys Asn Leu Val Pro Met Asp Pro Asn Gly Leu Ser			
[0568]		180	185	190
[0569]	Asp Pro Tyr Val Lys Leu Lys Leu Ile Pro Asp Pro Lys Ser Glu Ser			
[0570]		195	200	205
[0571]	Lys Gln Lys Thr Lys Thr Ile Lys Cys Ser Leu Asn Pro Glu Trp Asn			
[0572]		210	215	220
[0573]	Glu Thr Phe Arg Phe Gln Leu Lys Glu Ser Asp Lys Asp Arg Arg Leu			
[0574]	225	230	235	240
[0575]	Ser Val Glu Ile Trp Asp Trp Asp Leu Thr Ser Arg Asn Asp Phe Met			
[0576]		245	250	255
[0577]	Gly Ser Leu Ser Phe Gly Ile Ser Glu Leu Gln Lys Ala Ser Val Asp			
[0578]		260	265	270
[0579]	Gly Trp Phe Lys Leu Leu Ser Gln Glu Glu Gly Glu Tyr Phe Asn Val			
[0580]		275	280	285
[0581]	Pro Val Pro Pro Glu Gly Ser Glu Ala Asn Glu Glu Leu Arg Gln Lys			
[0582]		290	295	300
[0583]	Phe Glu Arg Ala Lys Ile Ser Gln Gly Thr Lys Val Pro Glu Glu Lys			
[0584]	305	310	315	320

[0585]	Thr Thr Asn Thr Val Ser Lys Phe Asp Asn Asn Gly Asn Arg Asp Arg
[0586]	325 330 335
[0587]	Met Lys Leu Thr Asp Phe Asn Phe Leu Met Val Leu Gly Lys Gly Ser
[0588]	340 345 350
[0589]	Phe Gly Lys Val Met Leu Ser Glu Arg Lys Gly Thr Asp Glu Leu Tyr
[0590]	355 360 365
[0591]	Ala Val Lys Ile Leu Lys Lys Asp Val Val Ile Gln Asp Asp Asp Val
[0592]	370 375 380
[0593]	Glu Cys Thr Met Val Glu Lys Arg Val Leu Ala Leu Pro Gly Lys Pro
[0594]	385 390 395 400
[0595]	Pro Phe Leu Thr Gln Leu His Ser Cys Phe Gln Thr Met Asp Arg Leu
[0596]	405 410 415
[0597]	Tyr Phe Val Met Glu Tyr Val Asn Gly Gly Asp Leu Met Tyr His Ile
[0598]	420 425 430
[0599]	Gln Gln Val Gly Arg Phe Lys Glu Pro His Ala Val Phe Tyr Ala Ala
[0600]	435 440 445
[0601]	Glu Ile Ala Ile Gly Leu Phe Phe Leu Gln Ser Lys Gly Ile Ile Tyr
[0602]	450 455 460
[0603]	Arg Asp Leu Lys Leu Asp Asn Val Met Leu Asp Ser Glu Gly His Ile
[0604]	465 470 475 480
[0605]	Lys Ile Ala Asp Phe Gly Met Cys Lys Glu Asn Ile Trp Asp Gly Val
[0606]	485 490 495
[0607]	Thr Thr Lys Thr Phe Cys Gly Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Pro Glu Ile
[0608]	500 505 510
[0609]	Ile Ala Tyr Gln Pro Tyr Gly Lys Ser Val Asp Trp Trp Ala Phe Gly
[0610]	515 520 525
[0611]	Val Leu Leu Tyr Glu Met Leu Ala Gly Gln Ala Pro Phe Glu Gly Glu
[0612]	530 535 540
[0613]	Asp Glu Asp Glu Leu Phe Gln Ser Ile Met Glu His Asn Val Ala Tyr
[0614]	545 550 555 560
[0615]	Pro Lys Ser Met Ser Lys Glu Ala Val Ala Ile Cys Lys Gly Leu Met
[0616]	565 570 575
[0617]	Thr Lys His Pro Gly Lys Arg Leu Gly Cys Gly Pro Glu Gly Glu Arg
[0618]	580 585 590
[0619]	Asp Ile Lys Glu His Ala Phe Phe Arg Tyr Ile Asp Trp Glu Lys Leu
[0620]	595 600 605
[0621]	Glu Arg Lys Glu Ile Gln Pro Pro Tyr Lys Pro Lys Ala Arg Asp Lys
[0622]	610 615 620
[0623]	Arg Asp Thr Ser Asn Phe Asp Lys Glu Phe Thr Arg Gln Pro Val Glu

[0624]	625	630	635	640
[0625]	Leu Thr Pro Thr Asp Lys Leu Phe Ile Met Asn Leu Asp Gln Asn Glu			
[0626]		645	650	655
[0627]	Phe Ala Gly Phe Ser Tyr Thr Asn Pro Glu Phe Val Ile Asn Val			
[0628]		660	665	670
[0629]	<210> 6			
[0630]	<211> 706			
[0631]	<212> PRT			
[0632]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[0633]	<400> 6			
[0634]	Met Ser Pro Phe Leu Arg Ile Gly Leu Ser Asn Phe Asp Cys Gly Ser			
[0635]	1	5	10	15
[0636]	Cys Gln Ser Cys Gln Gly Glu Ala Val Asn Pro Tyr Cys Ala Val Leu			
[0637]		20	25	30
[0638]	Val Lys Glu Tyr Val Glu Ser Glu Asn Gly Gln Met Tyr Ile Gln Lys			
[0639]		35	40	45
[0640]	Lys Pro Thr Met Tyr Pro Pro Trp Asp Ser Thr Phe Asp Ala His Ile			
[0641]		50	55	60
[0642]	Asn Lys Gly Arg Val Met Gln Ile Ile Val Lys Gly Lys Asn Val Asp			
[0643]	65	70	75	80
[0644]	Leu Ile Ser Glu Thr Thr Val Glu Leu Tyr Ser Leu Ala Glu Arg Cys			
[0645]		85	90	95
[0646]	Arg Lys Asn Asn Gly Lys Thr Glu Ile Trp Leu Glu Leu Lys Pro Gln			
[0647]		100	105	110
[0648]	Gly Arg Met Leu Met Asn Ala Arg Tyr Phe Leu Glu Met Ser Asp Thr			
[0649]		115	120	125
[0650]	Lys Asp Met Asn Glu Phe Glu Thr Glu Gly Phe Phe Ala Leu His Gln			
[0651]		130	135	140
[0652]	Arg Arg Gly Ala Ile Lys Gln Ala Lys Val His His Val Lys Cys His			
[0653]	145	150	155	160
[0654]	Glu Phe Thr Ala Thr Phe Phe Pro Gln Pro Thr Phe Cys Ser Val Cys			
[0655]		165	170	175
[0656]	His Glu Phe Val Trp Gly Leu Asn Lys Gln Gly Tyr Gln Cys Arg Gln			
[0657]		180	185	190
[0658]	Cys Asn Ala Ala Ile His Lys Lys Cys Ile Asp Lys Val Ile Ala Lys			
[0659]		195	200	205
[0660]	Cys Thr Gly Ser Ala Ile Asn Ser Arg Glu Thr Met Phe His Lys Glu			
[0661]		210	215	220
[0662]	Arg Phe Lys Ile Asp Met Pro His Arg Phe Lys Val Tyr Asn Tyr Lys			

[0663]	225	230	235	240
[0664]	Ser Pro Thr Phe Cys Glu His Cys Gly Thr Leu Leu Trp Gly Leu Ala			
[0665]		245	250	255
[0666]	Arg Gln Gly Leu Lys Cys Asp Ala Cys Gly Met Asn Val His His Arg			
[0667]		260	265	270
[0668]	Cys Gln Thr Lys Val Ala Asn Leu Cys Gly Ile Asn Gln Lys Leu Met			
[0669]		275	280	285
[0670]	Ala Glu Ala Leu Ala Met Ile Glu Ser Thr Gln Gln Ala Arg Cys Leu			
[0671]		290	295	300
[0672]	Arg Asp Thr Glu Gln Ile Phe Arg Glu Gly Pro Val Glu Ile Gly Leu			
[0673]	305	310	315	320
[0674]	Pro Cys Ser Ile Lys Asn Glu Ala Arg Pro Pro Cys Leu Pro Thr Pro			
[0675]		325	330	335
[0676]	Gly Lys Arg Glu Pro Gln Gly Ile Ser Trp Glu Ser Pro Leu Asp Glu			
[0677]		340	345	350
[0678]	Val Asp Lys Met Cys His Leu Pro Glu Pro Glu Leu Asn Lys Glu Arg			
[0679]		355	360	365
[0680]	Pro Ser Leu Gln Ile Lys Leu Lys Ile Glu Asp Phe Ile Leu His Lys			
[0681]		370	375	380
[0682]	Met Leu Gly Lys Gly Ser Phe Gly Lys Val Phe Leu Ala Glu Phe Lys			
[0683]	385	390	395	400
[0684]	Lys Thr Asn Gln Phe Phe Ala Ile Lys Ala Leu Lys Lys Asp Val Val			
[0685]		405	410	415
[0686]	Leu Met Asp Asp Asp Val Glu Cys Thr Met Val Glu Lys Arg Val Leu			
[0687]		420	425	430
[0688]	Ser Leu Ala Trp Glu His Pro Phe Leu Thr His Met Phe Cys Thr Phe			
[0689]		435	440	445
[0690]	Gln Thr Lys Glu Asn Leu Phe Phe Val Met Glu Tyr Leu Asn Gly Gly			
[0691]		450	455	460
[0692]	Asp Leu Met Tyr His Ile Gln Ser Cys His Lys Phe Asp Leu Ser Arg			
[0693]	465	470	475	480
[0694]	Ala Thr Phe Tyr Ala Ala Glu Ile Ile Leu Gly Leu Gln Phe Leu His			
[0695]		485	490	495
[0696]	Ser Lys Gly Ile Val Tyr Arg Asp Leu Lys Leu Asp Asn Ile Leu Leu			
[0697]		500	505	510
[0698]	Asp Lys Asp Gly His Ile Lys Ile Ala Asp Phe Gly Met Cys Lys Glu			
[0699]		515	520	525
[0700]	Asn Met Leu Gly Asp Ala Lys Thr Asn Thr Phe Cys Gly Thr Pro Asp			
[0701]		530	535	540

[0702]	Tyr Ile Ala Pro Glu Ile Leu Leu Gly Gln Lys Tyr Asn His Ser Val
[0703]	545 550 555 560
[0704]	Asp Trp Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Tyr Glu Met Leu Ile Gly Gln
[0705]	565 570 575
[0706]	Ser Pro Phe His Gly Gln Asp Glu Glu Glu Leu Phe His Ser Ile Arg
[0707]	580 585 590
[0708]	Met Asp Asn Pro Phe Tyr Pro Arg Trp Leu Glu Lys Glu Ala Lys Asp
[0709]	595 600 605
[0710]	Leu Leu Val Lys Leu Phe Val Arg Glu Pro Glu Lys Arg Leu Gly Val
[0711]	610 615 620
[0712]	Arg Gly Asp Ile Arg Gln His Pro Leu Phe Arg Glu Ile Asn Trp Glu
[0713]	625 630 635 640
[0714]	Glu Leu Glu Arg Lys Glu Ile Asp Pro Pro Phe Arg Pro Lys Val Lys
[0715]	645 650 655
[0716]	Ser Pro Phe Asp Cys Ser Asn Phe Asp Lys Glu Phe Leu Asn Glu Lys
[0717]	660 665 670
[0718]	Pro Arg Leu Ser Phe Ala Asp Arg Ala Leu Ile Asn Ser Met Asp Gln
[0719]	675 680 685
[0720]	Asn Met Phe Arg Asn Phe Ser Phe Met Asn Pro Gly Met Glu Arg Leu
[0721]	690 695 700
[0722]	Ile Ser
[0723]	705
[0724]	<210> 7
[0725]	<211> 824
[0726]	<212> PRT
[0727]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0728]	<400> 7
[0729]	Met Ser Leu Leu Gly Asp Pro Leu Gln Ala Leu Pro Pro Ser Ala Ala
[0730]	1 5 10 15
[0731]	Pro Thr Gly Pro Leu Leu Ala Pro Pro Ala Gly Ala Thr Leu Asn Arg
[0732]	20 25 30
[0733]	Leu Arg Glu Pro Leu Leu Arg Arg Leu Ser Glu Leu Leu Asp Gln Ala
[0734]	35 40 45
[0735]	Pro Glu Gly Arg Gly Trp Arg Arg Leu Ala Glu Leu Ala Gly Ser Arg
[0736]	50 55 60
[0737]	Gly Arg Leu Arg Leu Ser Cys Leu Asp Leu Glu Gln Cys Ser Leu Lys
[0738]	65 70 75 80
[0739]	Val Leu Glu Pro Glu Gly Ser Pro Ser Leu Cys Leu Leu Lys Leu Met
[0740]	85 90 95

[0741]	Gly	Glu	Lys	Gly	Cys	Thr	Val	Thr	Glu	Leu	Ser	Asp	Phe	Leu	Gln	Ala
[0742]				100					105						110	
[0743]	Met	Glu	His	Thr	Glu	Val	Leu	Gln	Leu	Leu	Ser	Pro	Pro	Gly	Ile	Lys
[0744]				115					120						125	
[0745]	Ile	Thr	Val	Asn	Pro	Glu	Ser	Lys	Ala	Val	Leu	Ala	Gly	Gln	Phe	Val
[0746]				130					135						140	
[0747]	Lys	Leu	Cys	Cys	Arg	Ala	Thr	Gly	His	Pro	Phe	Val	Gln	Tyr	Gln	Trp
[0748]				145					150						155	
[0749]	Phe	Lys	Met	Asn	Lys	Glu	Ile	Pro	Asn	Gly	Asn	Thr	Ser	Glu	Leu	Ile
[0750]									165						170	
[0751]	Phe	Asn	Ala	Val	His	Val	Lys	Asp	Ala	Gly	Phe	Tyr	Val	Cys	Arg	Val
[0752]									180						185	
[0753]	Asn	Asn	Asn	Phe	Thr	Phe	Glu	Phe	Ser	Gln	Trp	Ser	Gln	Leu	Asp	Val
[0754]									195						200	
[0755]	Cys	Asp	Ile	Pro	Glu	Ser	Phe	Gln	Arg	Ser	Val	Asp	Gly	Val	Ser	Glu
[0756]									210						215	
[0757]	Ser	Lys	Leu	Gln	Ile	Cys	Val	Glu	Pro	Thr	Ser	Gln	Lys	Leu	Met	Pro
[0758]									225						230	
[0759]	Gly	Ser	Thr	Leu	Val	Leu	Gln	Cys	Val	Ala	Val	Gly	Ser	Pro	Ile	Pro
[0760]									245						250	
[0761]	His	Tyr	Gln	Trp	Phe	Lys	Asn	Glu	Leu	Pro	Leu	Thr	His	Glu	Thr	Lys
[0762]									260						265	
[0763]	Lys	Leu	Tyr	Met	Val	Pro	Tyr	Val	Asp	Leu	Glu	His	Gln	Gly	Thr	Tyr
[0764]									275						280	
[0765]	Trp	Cys	His	Val	Tyr	Asn	Asp	Arg	Asp	Ser	Gln	Asp	Ser	Lys	Lys	Val
[0766]									290						295	
[0767]	Glu	Ile	Ile	Ile	Gly	Arg	Thr	Asp	Glu	Ala	Val	Glu	Cys	Thr	Glu	Asp
[0768]									305						310	
[0769]	Glu	Leu	Asn	Asn	Leu	Gly	His	Pro	Asp	Asn	Lys	Glu	Gln	Thr	Thr	Asp
[0770]									325						330	
[0771]	Gln	Pro	Leu	Ala	Lys	Asp	Lys	Val	Ala	Leu	Leu	Ile	Gly	Asn	Met	Asn
[0772]									340						345	
[0773]	Tyr	Arg	Glu	His	Pro	Lys	Leu	Lys	Ala	Pro	Leu	Val	Asp	Val	Tyr	Glu
[0774]									355						360	
[0775]	Leu	Thr	Asn	Leu	Leu	Arg	Gln	Leu	Asp	Phe	Lys	Val	Val	Ser	Leu	Leu
[0776]									370						375	
[0777]	Asp	Leu	Thr	Glu	Tyr	Glu	Met	Arg	Asn	Ala	Val	Asp	Glu	Phe	Leu	Leu
[0778]									385						390	
[0779]	Leu	Leu	Asp	Lys	Gly	Val	Tyr	Gly	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Ala	Gly	His	Gly

[0780]		405		410		415										
[0781]	Tyr	Glu	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Phe	Met	Val	Pro	Val	Asp	Ala	Pro	Asn
[0782]		420		425		430										
[0783]	Pro	Tyr	Arg	Ser	Glu	Asn	Cys	Leu	Cys	Val	Gln	Asn	Ile	Leu	Lys	Leu
[0784]		435		440		445										
[0785]	Met	Gln	Glu	Lys	Glu	Thr	Gly	Leu	Asn	Val	Phe	Leu	Leu	Asp	Met	Cys
[0786]		450		455		460										
[0787]	Arg	Lys	Arg	Asn	Asp	Tyr	Asp	Asp	Thr	Ile	Pro	Ile	Leu	Asp	Ala	Leu
[0788]	465		470		475	480										
[0789]	Lys	Val	Thr	Ala	Asn	Ile	Val	Phe	Gly	Tyr	Ala	Thr	Cys	Gln	Gly	Ala
[0790]		485		490		495										
[0791]	Glu	Ala	Phe	Glu	Ile	Gln	His	Ser	Gly	Leu	Ala	Asn	Gly	Ile	Phe	Met
[0792]		500		505		510										
[0793]	Lys	Phe	Leu	Lys	Asp	Arg	Leu	Leu	Glu	Asp	Lys	Lys	Ile	Thr	Val	Leu
[0794]		515		520		525										
[0795]	Leu	Asp	Glu	Val	Ala	Glu	Asp	Met	Gly	Lys	Cys	His	Leu	Thr	Lys	Gly
[0796]		530		535		540										
[0797]	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Ile	Arg	Ser	Ser	Leu	Ser	Glu	Lys	Arg	Ala	Leu
[0798]	545		550		555	560										
[0799]	Thr	Asp	Pro	Ile	Gln	Gly	Thr	Glu	Tyr	Ser	Ala	Glu	Ser	Leu	Val	Arg
[0800]		565		570		575										
[0801]	Asn	Leu	Gln	Trp	Ala	Lys	Ala	His	Glu	Leu	Pro	Glu	Ser	Met	Cys	Leu
[0802]		580		585		590										
[0803]	Lys	Phe	Asp	Cys	Gly	Val	Gln	Ile	Gln	Leu	Gly	Phe	Ala	Ala	Glu	Phe
[0804]		595		600		605										
[0805]	Ser	Asn	Val	Met	Ile	Ile	Tyr	Thr	Ser	Ile	Val	Tyr	Lys	Pro	Pro	Glu
[0806]		610		615		620										
[0807]	Ile	Ile	Met	Cys	Asp	Ala	Tyr	Val	Thr	Asp	Phe	Pro	Leu	Asp	Leu	Asp
[0808]	625		630		635	640										
[0809]	Ile	Asp	Pro	Lys	Asp	Ala	Asn	Lys	Gly	Thr	Pro	Glu	Glu	Thr	Gly	Ser
[0810]		645		650		655										
[0811]	Tyr	Leu	Val	Ser	Lys	Asp	Leu	Pro	Lys	His	Cys	Leu	Tyr	Thr	Arg	Leu
[0812]		660		665		670										
[0813]	Ser	Ser	Leu	Gln	Lys	Leu	Lys	Glu	His	Leu	Val	Phe	Thr	Val	Cys	Leu
[0814]		675		680		685										
[0815]	Ser	Tyr	Gln	Tyr	Ser	Gly	Leu	Glu	Asp	Thr	Val	Glu	Asp	Lys	Gln	Glu
[0816]		690		695		700										
[0817]	Val	Asn	Val	Gly	Lys	Pro	Leu	Ile	Ala	Lys	Leu	Asp	Met	His	Arg	Gly
[0818]	705		710		715	720										

[0819]	Leu Gly Arg Lys Thr Cys Phe Gln Thr Cys Leu Met Ser Asn Gly Pro
[0820]	725 730 735
[0821]	Tyr Gln Ser Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Ala Gly His Tyr His Ser
[0822]	740 745 750
[0823]	Leu Gln Asp Pro Phe His Gly Val Tyr His Ser His Pro Gly Asn Pro
[0824]	755 760 765
[0825]	Ser Asn Val Thr Pro Ala Asp Ser Cys His Cys Ser Arg Thr Pro Asp
[0826]	770 775 780
[0827]	Ala Phe Ile Ser Ser Phe Ala His His Ala Ser Cys His Phe Ser Arg
[0828]	785 790 795 800
[0829]	Ser Asn Val Pro Val Glu Thr Thr Asp Glu Ile Pro Phe Ser Phe Ser
[0830]	805 810 815
[0831]	Asp Arg Leu Arg Ile Ser Glu Lys
[0832]	820
[0833]	<210> 8
[0834]	<211> 1154
[0835]	<212> PRT
[0836]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0837]	<400> 8
[0838]	Met Pro Gly Gly Gly Pro Glu Met Asp Asp Tyr Met Glu Thr Leu Lys
[0839]	1 5 10 15
[0840]	Asp Glu Glu Asp Ala Leu Trp Glu Asn Val Glu Cys Asn Arg His Met
[0841]	20 25 30
[0842]	Leu Ser Arg Tyr Ile Asn Pro Ala Lys Leu Thr Pro Tyr Leu Arg Gln
[0843]	35 40 45
[0844]	Cys Lys Val Ile Asp Glu Gln Asp Glu Asp Glu Val Leu Asn Ala Pro
[0845]	50 55 60
[0846]	Met Leu Pro Ser Lys Ile Asn Arg Ala Gly Arg Leu Leu Asp Ile Leu
[0847]	65 70 75 80
[0848]	His Thr Lys Gly Gln Arg Gly Tyr Val Val Phe Leu Glu Ser Leu Glu
[0849]	85 90 95
[0850]	Phe Tyr Tyr Pro Glu Leu Tyr Lys Leu Val Thr Gly Lys Glu Pro Thr
[0851]	100 105 110
[0852]	Arg Arg Phe Ser Thr Ile Val Val Glu Glu Gly His Glu Gly Leu Thr
[0853]	115 120 125
[0854]	His Phe Leu Met Asn Glu Val Ile Lys Leu Gln Gln Gln Met Lys Ala
[0855]	130 135 140
[0856]	Lys Asp Leu Gln Arg Cys Glu Leu Leu Ala Arg Leu Arg Gln Leu Glu
[0857]	145 150 155 160

[0858]	Asp	Glu	Lys	Lys	Gln	Met	Thr	Leu	Thr	Arg	Val	Glu	Leu	Leu	Thr	Phe
[0859]					165					170						175
[0860]	Gln	Glu	Arg	Tyr	Tyr	Lys	Met	Lys	Glu	Glu	Arg	Asp	Ser	Tyr	Asn	Asp
[0861]					180					185						190
[0862]	Glu	Leu	Val	Lys	Val	Lys	Asp	Asp	Asn	Tyr	Asn	Leu	Ala	Met	Arg	Tyr
[0863]					195					200						205
[0864]	Ala	Gln	Leu	Ser	Glu	Glu	Lys	Asn	Met	Ala	Val	Met	Arg	Ser	Arg	Asp
[0865]					210					215						220
[0866]	Leu	Gln	Leu	Glu	Ile	Asp	Gln	Leu	Lys	His	Arg	Leu	Asn	Lys	Met	Glu
[0867]					225					230						240
[0868]	Glu	Glu	Cys	Lys	Leu	Glu	Arg	Asn	Gln	Ser	Leu	Lys	Leu	Lys	Asn	Asp
[0869]					245					250						255
[0870]	Ile	Glu	Asn	Arg	Pro	Lys	Lys	Glu	Gln	Val	Leu	Glu	Leu	Glu	Arg	Glu
[0871]					260					265						270
[0872]	Asn	Glu	Met	Leu	Lys	Thr	Lys	Asn	Gln	Glu	Leu	Gln	Ser	Ile	Ile	Gln
[0873]					275					280						285
[0874]	Ala	Gly	Lys	Arg	Ser	Leu	Pro	Asp	Ser	Asp	Lys	Ala	Ile	Leu	Asp	Ile
[0875]					290					295						300
[0876]	Leu	Glu	His	Asp	Arg	Lys	Glu	Ala	Leu	Glu	Asp	Arg	Gln	Glu	Leu	Val
[0877]					305					310						320
[0878]	Asn	Arg	Ile	Tyr	Asn	Leu	Gln	Glu	Glu	Ala	Arg	Gln	Ala	Glu	Glu	Leu
[0879]					325					330						335
[0880]	Arg	Asp	Lys	Tyr	Leu	Glu	Glu	Lys	Glu	Asp	Leu	Glu	Leu	Lys	Cys	Ser
[0881]					340					345						350
[0882]	Thr	Leu	Gly	Lys	Asp	Cys	Glu	Met	Tyr	Lys	His	Arg	Met	Asn	Thr	Val
[0883]					355					360						365
[0884]	Met	Leu	Gln	Leu	Glu	Glu	Val	Glu	Arg	Glu	Arg	Asp	Gln	Ala	Phe	His
[0885]					370					375						380
[0886]	Ser	Arg	Asp	Glu	Ala	Gln	Thr	Gln	Tyr	Ser	Gln	Cys	Leu	Ile	Glu	Lys
[0887]					385					390						400
[0888]	Asp	Lys	Tyr	Arg	Lys	Gln	Ile	Arg	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Asp	Glu
[0889]					405					410						415
[0890]	Met	Arg	Ile	Glu	Met	Val	Arg	Arg	Glu	Ala	Cys	Ile	Val	Asn	Leu	Glu
[0891]					420					425						430
[0892]	Ser	Lys	Leu	Arg	Arg	Leu	Ser	Lys	Asp	Ser	Asn	Asn	Leu	Asp	Gln	Ser
[0893]					435					440						445
[0894]	Leu	Pro	Arg	Asn	Leu	Pro	Val	Thr	Ile	Ile	Ser	Gln	Asp	Phe	Gly	Asp
[0895]					450					455						460
[0896]	Ala	Ser	Pro	Arg	Thr	Asn	Gly	Gln	Glu	Ala	Asp	Asp	Ser	Ser	Thr	Ser

[0897]	465	470	475	480
[0898]	Glu Glu Ser Pro Glu Asp Ser Lys Tyr Phe Leu Pro Tyr His Pro Pro			
[0899]		485	490	495
[0900]	Gln Arg Arg Met Asn Leu Lys Gly Ile Gln Leu Gln Arg Ala Lys Ser			
[0901]		500	505	510
[0902]	Pro Ile Ser Leu Lys Arg Thr Ser Asp Phe Gln Ala Lys Gly His Glu			
[0903]		515	520	525
[0904]	Glu Glu Gly Thr Asp Ala Ser Pro Ser Ser Cys Gly Ser Leu Pro Ile			
[0905]		530	535	540
[0906]	Thr Asn Ser Phe Thr Lys Met Gln Pro Pro Arg Ser Arg Ser Ser Ile			
[0907]		545	550	555
[0908]	Met Ser Ile Thr Ala Glu Pro Pro Gly Asn Asp Ser Ile Val Arg Arg			
[0909]		565	570	575
[0910]	Tyr Lys Glu Asp Ala Pro His Arg Ser Thr Val Glu Glu Asp Asn Asp			
[0911]		580	585	590
[0912]	Ser Gly Gly Phe Asp Ala Leu Asp Leu Asp Asp Asp Ser His Glu Arg			
[0913]		595	600	605
[0914]	Tyr Ser Phe Gly Pro Ser Ser Ile His Ser Ser Ser Ser Ser His Gln			
[0915]		610	615	620
[0916]	Ser Glu Gly Leu Asp Ala Tyr Asp Leu Glu Gln Val Asn Leu Met Phe			
[0917]		625	630	635
[0918]	Arg Lys Phe Ser Leu Glu Arg Pro Phe Arg Pro Ser Val Thr Ser Val			
[0919]		645	650	655
[0920]	Gly His Val Arg Gly Pro Gly Pro Ser Val Gln His Thr Thr Leu Asn			
[0921]		660	665	670
[0922]	Gly Asp Ser Leu Thr Ser Gln Leu Thr Leu Leu Gly Gly Asn Ala Arg			
[0923]		675	680	685
[0924]	Gly Ser Phe Val His Ser Val Lys Pro Gly Ser Leu Ala Glu Lys Ala			
[0925]		690	695	700
[0926]	Gly Leu Arg Glu Gly His Gln Leu Leu Leu Leu Glu Gly Cys Ile Arg			
[0927]		705	710	715
[0928]	Gly Glu Arg Gln Ser Val Pro Leu Asp Thr Cys Thr Lys Glu Glu Ala			
[0929]		725	730	735
[0930]	His Trp Thr Ile Gln Arg Cys Ser Gly Pro Val Thr Leu His Tyr Lys			
[0931]		740	745	750
[0932]	Val Asn His Glu Gly Tyr Arg Lys Leu Val Lys Asp Met Glu Asp Gly			
[0933]		755	760	765
[0934]	Leu Ile Thr Ser Gly Asp Ser Phe Tyr Ile Arg Leu Asn Leu Asn Ile			
[0935]		770	775	780

[0936]	Ser Ser Gln Leu Asp Ala Cys Thr Met Ser Leu Lys Cys Asp Asp Val
[0937]	785 790 795 800
[0938]	Val His Val Arg Asp Thr Met Tyr Gln Asp Arg His Glu Trp Leu Cys
[0939]	805 810 815
[0940]	Ala Arg Val Asp Pro Phe Thr Asp His Asp Leu Asp Met Gly Thr Ile
[0941]	820 825 830
[0942]	Pro Ser Tyr Ser Arg Ala Gln Gln Leu Leu Leu Val Lys Leu Gln Arg
[0943]	835 840 845
[0944]	Leu Met His Arg Gly Ser Arg Glu Glu Val Asp Gly Thr His His Thr
[0945]	850 855 860
[0946]	Leu Arg Ala Leu Arg Asn Thr Leu Gln Pro Glu Glu Ala Leu Ser Thr
[0947]	865 870 875 880
[0948]	Ser Asp Pro Arg Val Ser Pro Arg Leu Ser Arg Ala Ser Phe Leu Phe
[0949]	885 890 895
[0950]	Gly Gln Leu Leu Gln Phe Val Ser Arg Ser Glu Asn Lys Tyr Lys Arg
[0951]	900 905 910
[0952]	Met Asn Ser Asn Glu Arg Val Arg Ile Ile Ser Gly Ser Pro Leu Gly
[0953]	915 920 925
[0954]	Ser Leu Ala Arg Ser Ser Leu Asp Ala Thr Lys Leu Leu Thr Glu Lys
[0955]	930 935 940
[0956]	Gln Glu Glu Leu Asp Pro Glu Ser Glu Leu Gly Lys Asn Leu Ser Leu
[0957]	945 950 955 960
[0958]	Ile Pro Tyr Ser Leu Val Arg Ala Phe Tyr Cys Glu Arg Arg Arg Pro
[0959]	965 970 975
[0960]	Val Leu Phe Thr Pro Thr Val Leu Ala Lys Thr Leu Val Gln Arg Leu
[0961]	980 985 990
[0962]	Leu Asn Ser Gly Gly Ala Met Glu Phe Thr Ile Cys Lys Ser Asp Ile
[0963]	995 1000 1005
[0964]	Val Thr Arg Asp Glu Phe Leu Arg Arg Gln Lys Thr Glu Thr Ile Ile
[0965]	1010 1015 1020
[0966]	Tyr Ser Arg Glu Lys Asn Pro Asn Ala Phe Glu Cys Ile Ala Pro Ala
[0967]	1025 1030 1035 1040
[0968]	Asn Ile Glu Ala Val Ala Ala Lys Asn Lys His Cys Leu Leu Glu Ala
[0969]	1045 1050 1055
[0970]	Gly Ile Gly Cys Thr Arg Asp Leu Ile Lys Ser Asn Ile Tyr Pro Ile
[0971]	1060 1065 1070
[0972]	Val Leu Phe Ile Arg Val Cys Glu Lys Asn Ile Lys Arg Phe Arg Lys
[0973]	1075 1080 1085
[0974]	Leu Leu Pro Arg Pro Glu Thr Glu Glu Glu Phe Leu Arg Val Cys Arg

[0975]	1090	1095	1100
[0976]	Leu Lys Glu Lys Glu Leu Glu Ala Leu Pro Cys Leu Tyr Ala Thr Val		
[0977]	1105	1110	1115 1120
[0978]	Glu Pro Asp Met Trp Gly Ser Val Glu Glu Leu Leu Arg Val Val Lys		
[0979]		1125	1130 1135
[0980]	Asp Lys Ile Gly Glu Glu Gln Arg Lys Thr Ile Trp Val Asp Glu Asp		
[0981]		1140	1145 1150
[0982]	Gln Leu		
[0983]	<210> 9		
[0984]	<211> 1004		
[0985]	<212> PRT		
[0986]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[0987]	<400> 9		
[0988]	Met Gly Glu Leu Cys Arg Arg Asp Ser Ala Leu Thr Ala Leu Asp Glu		
[0989]	1	5	10 15
[0990]	Glu Thr Leu Trp Glu Met Met Glu Ser His Arg His Arg Ile Val Arg		
[0991]		20	25 30
[0992]	Cys Ile Cys Pro Ser Arg Leu Thr Pro Tyr Leu Arg Gln Ala Lys Val		
[0993]		35	40 45
[0994]	Leu Cys Gln Leu Asp Glu Glu Glu Val Leu His Ser Pro Arg Leu Thr		
[0995]		50	55 60
[0996]	Asn Ser Ala Met Arg Ala Gly His Leu Leu Asp Leu Leu Lys Thr Arg		
[0997]	65	70	75 80
[0998]	Gly Lys Asn Gly Ala Ile Ala Phe Leu Glu Ser Leu Lys Phe His Asn		
[0999]		85	90 95
[1000]	Pro Asp Val Tyr Thr Leu Val Thr Gly Leu Gln Pro Asp Val Asp Phe		
[1001]		100	105 110
[1002]	Ser Asn Phe Ser Gly Leu Met Glu Thr Ser Lys Leu Thr Glu Cys Leu		
[1003]		115	120 125
[1004]	Ala Gly Ala Ile Gly Ser Leu Gln Glu Glu Leu Asn Gln Glu Lys Gly		
[1005]		130	135 140
[1006]	Gln Lys Glu Val Leu Leu Arg Arg Cys Gln Gln Leu Gln Glu His Leu		
[1007]	145	150	155 160
[1008]	Gly Leu Ala Glu Thr Arg Ala Glu Gly Leu His Gln Leu Glu Ala Asp		
[1009]		165	170 175
[1010]	His Ser Arg Met Lys Arg Glu Val Ser Ala His Phe His Glu Val Leu		
[1011]		180	185 190
[1012]	Arg Leu Lys Asp Glu Met Leu Ser Leu Ser Leu His Tyr Ser Asn Ala		
[1013]		195	200 205

[1014]	Leu Gln Glu Lys Glu Leu Ala Ala Ser Arg Cys Arg Ser Leu Gln Glu
[1015]	210 215 220
[1016]	Glu Leu Tyr Leu Leu Lys Gln Glu Leu Gln Arg Ala Asn Met Val Ser
[1017]	225 230 235 240
[1018]	Ser Cys Glu Leu Glu Leu Gln Glu Gln Ser Leu Arg Thr Ala Ser Asp
[1019]	245 250 255
[1020]	Gln Glu Ser Gly Asp Glu Glu Leu Asn Arg Leu Lys Glu Glu Asn Glu
[1021]	260 265 270
[1022]	Lys Leu Arg Ser Leu Thr Phe Ser Leu Ala Glu Lys Asp Ile Leu Glu
[1023]	275 280 285
[1024]	Gln Ser Leu Asp Glu Ala Arg Gly Ser Arg Gln Glu Leu Val Glu Arg
[1025]	290 295 300
[1026]	Ile His Ser Leu Arg Glu Arg Ala Val Ala Ala Glu Arg Gln Arg Glu
[1027]	305 310 315 320
[1028]	Gln Tyr Trp Glu Glu Lys Glu Gln Thr Leu Leu Gln Phe Gln Lys Ser
[1029]	325 330 335
[1030]	Lys Met Ala Cys Gln Leu Tyr Arg Glu Lys Val Asn Ala Leu Gln Ala
[1031]	340 345 350
[1032]	Gln Val Cys Glu Leu Gln Lys Glu Arg Asp Gln Ala Tyr Ser Ala Arg
[1033]	355 360 365
[1034]	Asp Ser Ala Gln Arg Glu Ile Ser Gln Ser Leu Val Glu Lys Asp Ser
[1035]	370 375 380
[1036]	Leu Arg Arg Gln Val Phe Glu Leu Thr Asp Gln Val Cys Glu Leu Arg
[1037]	385 390 395 400
[1038]	Thr Gln Leu Arg Gln Leu Gln Ala Glu Pro Pro Gly Val Leu Lys Gln
[1039]	405 410 415
[1040]	Glu Ala Arg Thr Arg Glu Pro Cys Pro Arg Glu Lys Gln Arg Leu Val
[1041]	420 425 430
[1042]	Arg Met His Ala Ile Cys Pro Arg Asp Asp Ser Asp Cys Ser Leu Val
[1043]	435 440 445
[1044]	Ser Ser Thr Glu Ser Gln Leu Leu Ser Asp Leu Ser Ala Thr Ser Ser
[1045]	450 455 460
[1046]	Arg Glu Leu Val Asp Ser Phe Arg Ser Ser Ser Pro Ala Pro Pro Ser
[1047]	465 470 475 480
[1048]	Gln Gln Ser Leu Tyr Lys Arg Val Ala Glu Asp Phe Gly Glu Glu Pro
[1049]	485 490 495
[1050]	Trp Ser Phe Ser Ser Cys Leu Glu Ile Pro Glu Gly Asp Pro Gly Ala
[1051]	500 505 510
[1052]	Leu Pro Gly Ala Lys Ala Gly Asp Pro His Leu Asp Tyr Glu Leu Leu

[1053]	515	520	525
[1054]	Asp Thr Ala Asp Leu Pro Gln Leu Glu Ser Ser Leu Gln Pro Val Ser		
[1055]	530	535	540
[1056]	Pro Gly Arg Leu Asp Val Ser Glu Ser Gly Val Leu Met Arg Arg Arg		
[1057]	545	550	555
[1058]	Pro Ala Arg Arg Ile Leu Ser Gln Val Thr Met Leu Ala Phe Gln Gly		
[1059]	565	570	575
[1060]	Asp Ala Leu Leu Glu Gln Ile Ser Val Ile Gly Gly Asn Leu Thr Gly		
[1061]	580	585	590
[1062]	Ile Phe Ile His Arg Val Thr Pro Gly Ser Ala Ala Asp Gln Met Ala		
[1063]	595	600	605
[1064]	Leu Arg Pro Gly Thr Gln Ile Val Met Val Asp Tyr Glu Ala Ser Glu		
[1065]	610	615	620
[1066]	Pro Leu Phe Lys Ala Val Leu Glu Asp Thr Thr Leu Glu Glu Ala Val		
[1067]	625	630	635
[1068]	Gly Leu Leu Arg Arg Val Asp Gly Phe Cys Cys Leu Ser Val Lys Val		
[1069]	645	650	655
[1070]	Asn Thr Asp Gly Tyr Lys Arg Leu Leu Gln Asp Leu Glu Ala Lys Val		
[1071]	660	665	670
[1072]	Ala Thr Ser Gly Asp Ser Phe Tyr Ile Arg Val Asn Leu Ala Met Glu		
[1073]	675	680	685
[1074]	Gly Arg Ala Lys Gly Glu Leu Gln Val His Cys Asn Glu Val Leu His		
[1075]	690	695	700
[1076]	Val Thr Asp Thr Met Phe Gln Gly Cys Gly Cys Trp His Ala His Arg		
[1077]	705	710	715
[1078]	Val Asn Ser Tyr Thr Met Lys Asp Thr Ala Ala His Gly Thr Ile Pro		
[1079]	725	730	735
[1080]	Asn Tyr Ser Arg Ala Gln Gln Gln Leu Ile Ala Leu Ile Gln Asp Met		
[1081]	740	745	750
[1082]	Thr Gln Gln Cys Thr Val Thr Arg Lys Pro Ser Ser Gly Gly Pro Gln		
[1083]	755	760	765
[1084]	Lys Leu Val Arg Ile Val Ser Met Asp Lys Ala Lys Ala Ser Pro Leu		
[1085]	770	775	780
[1086]	Arg Leu Ser Phe Asp Arg Gly Gln Leu Asp Pro Ser Arg Met Glu Gly		
[1087]	785	790	795
[1088]	Ser Ser Thr Cys Phe Trp Ala Glu Ser Cys Leu Thr Leu Val Pro Tyr		
[1089]	805	810	815
[1090]	Thr Leu Val Arg Pro His Arg Pro Ala Arg Pro Arg Pro Val Leu Leu		
[1091]	820	825	830

[1092]	Val Pro Arg Ala Val Gly Lys Ile Leu Ser Glu Lys Leu Cys Leu Leu
[1093]	835 840 845
[1094]	Gln Gly Phe Lys Lys Cys Leu Ala Glu Tyr Leu Ser Gln Glu Glu Tyr
[1095]	850 855 860
[1096]	Glu Ala Trp Ser Gln Arg Gly Asp Ile Ile Gln Glu Gly Glu Val Ser
[1097]	865 870 875 880
[1098]	Gly Gly Arg Cys Trp Val Thr Arg His Ala Val Glu Ser Leu Met Glu
[1099]	885 890 895
[1100]	Lys Asn Thr His Ala Leu Leu Asp Val Gln Leu Asp Ser Val Cys Thr
[1101]	900 905 910
[1102]	Leu His Arg Met Asp Ile Phe Pro Ile Val Ile His Val Ser Val Asn
[1103]	915 920 925
[1104]	Glu Lys Met Ala Lys Lys Leu Lys Lys Gly Leu Gln Arg Leu Gly Thr
[1105]	930 935 940
[1106]	Ser Glu Glu Gln Leu Leu Glu Ala Ala Arg Gln Glu Glu Gly Asp Leu
[1107]	945 950 955 960
[1108]	Asp Arg Ala Pro Cys Leu Tyr Ser Ser Leu Ala Pro Asp Gly Trp Ser
[1109]	965 970 975
[1110]	Asp Leu Asp Gly Leu Leu Ser Cys Val Arg Gln Ala Ile Ala Asp Glu
[1111]	980 985 990
[1112]	Gln Lys Lys Val Val Trp Thr Glu Gln Ser Pro Arg
[1113]	995 1000
[1114]	<210> 10
[1115]	<211> 1032
[1116]	<212> PRT
[1117]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1118]	<400> 10
[1119]	Met Pro Gly Arg Ala Glu Ala Gly Glu Ala Glu Glu Glu Ala Gly Ala
[1120]	1 5 10 15
[1121]	Gly Ser Gly Ser Glu Ala Glu Glu Asp Ala Leu Trp Glu Arg Ile Glu
[1122]	20 25 30
[1123]	Gly Val Arg His Arg Leu Ala Arg Ala Leu Asn Pro Ala Lys Leu Thr
[1124]	35 40 45
[1125]	Pro Tyr Leu Arg Gln Cys Arg Val Ile Asp Glu Gln Asp Glu Glu Glu
[1126]	50 55 60
[1127]	Val Leu Ser Thr Tyr Arg Phe Pro Cys Arg Val Asn Arg Thr Gly Arg
[1128]	65 70 75 80
[1129]	Leu Met Asp Ile Leu Arg Cys Arg Gly Lys Arg Gly Tyr Glu Ala Phe
[1130]	85 90 95

[1131]	Leu Glu Ala Leu Glu Phe Tyr Tyr Pro Glu His Phe Thr Leu Leu Thr
[1132]	100 105 110
[1133]	Gly Gln Glu Pro Ala Gln Arg Cys Ser Met Ile Leu Asp Glu Glu Gly
[1134]	115 120 125
[1135]	Pro Glu Gly Leu Thr Gln Phe Leu Met Thr Glu Val Arg Arg Leu Arg
[1136]	130 135 140
[1137]	Glu Ala Arg Lys Ser Gln Leu Gln Arg Glu Gln Gln Leu Gln Ala Arg
[1138]	145 150 155 160
[1139]	Gly Arg Val Leu Glu Glu Glu Arg Ala Gly Leu Glu Gln Arg Leu Arg
[1140]	165 170 175
[1141]	Asp Gln Gln Gln Ala Gln Glu Arg Cys Gln Arg Leu Arg Glu Asp Trp
[1142]	180 185 190
[1143]	Glu Ala Gly Ser Leu Glu Leu Leu Arg Leu Lys Asp Glu Asn Tyr Met
[1144]	195 200 205
[1145]	Ile Ala Met Arg Leu Ala Gln Leu Ser Glu Glu Lys Asn Ser Ala Val
[1146]	210 215 220
[1147]	Leu Arg Ser Arg Asp Leu Gln Leu Ala Val Asp Gln Leu Lys Leu Lys
[1148]	225 230 235 240
[1149]	Val Ser Arg Leu Glu Glu Glu Cys Ala Leu Leu Arg Arg Ala Arg Gly
[1150]	245 250 255
[1151]	Pro Pro Pro Gly Ala Glu Glu Lys Glu Lys Glu Lys Glu Lys Glu Lys
[1152]	260 265 270
[1153]	Glu Pro Asp Asn Val Asp Leu Val Ser Glu Leu Arg Ala Glu Asn Gln
[1154]	275 280 285
[1155]	Arg Leu Thr Ala Ser Leu Arg Glu Leu Gln Glu Gly Leu Gln Gln Glu
[1156]	290 295 300
[1157]	Ala Ser Arg Pro Gly Ala Pro Gly Ser Glu Arg Ile Leu Leu Asp Ile
[1158]	305 310 315 320
[1159]	Leu Glu His Asp Trp Arg Glu Ala Gln Asp Ser Arg Gln Glu Leu Cys
[1160]	325 330 335
[1161]	Gln Lys Leu His Ala Val Gln Gly Glu Leu Gln Trp Ala Glu Glu Leu
[1162]	340 345 350
[1163]	Arg Asp Gln Tyr Leu Gln Glu Met Glu Asp Leu Arg Leu Lys His Arg
[1164]	355 360 365
[1165]	Thr Leu Gln Lys Asp Cys Asp Leu Tyr Lys His Arg Met Ala Thr Val
[1166]	370 375 380
[1167]	Leu Ala Gln Leu Glu Glu Ile Glu Lys Glu Arg Asp Gln Ala Ile Gln
[1168]	385 390 395 400
[1169]	Ser Arg Asp Arg Ile Gln Leu Gln Tyr Ser Gln Ser Leu Ile Glu Lys

[1170]		405		410		415
[1171]	Asp Gln Tyr Arg Lys Gln Val Arg Gly Leu Glu Ala Glu Arg Asp Glu					
[1172]		420		425		430
[1173]	Leu Leu Thr Thr Leu Thr Ser Leu Glu Gly Thr Lys Ala Leu Leu Glu					
[1174]		435		440		445
[1175]	Val Gln Leu Gln Arg Ala Gln Gly Gly Thr Cys Leu Lys Ala Cys Ala					
[1176]		450		455		460
[1177]	Ser Ser His Ser Leu Cys Ser Asn Leu Ser Ser Thr Trp Ser Leu Ser					
[1178]	465		470		475	480
[1179]	Glu Phe Pro Ser Pro Leu Gly Gly Pro Glu Ala Thr Gly Glu Ala Ala					
[1180]		485		490		495
[1181]	Val Met Gly Gly Pro Glu Pro His Asn Ser Glu Glu Ala Thr Asp Ser					
[1182]		500		505		510
[1183]	Glu Lys Glu Ile Asn Arg Leu Ser Ile Leu Pro Phe Pro Pro Ser Ala					
[1184]		515		520		525
[1185]	Gly Ser Ile Leu Arg Arg Gln Arg Glu Glu Asp Pro Ala Pro Pro Lys					
[1186]		530		535		540
[1187]	Arg Ser Phe Ser Ser Met Ser Asp Ile Thr Gly Ser Val Thr Leu Lys					
[1188]	545		550		555	560
[1189]	Pro Trp Ser Pro Gly Leu Ser Ser Ser Ser Ser Ser Asp Ser Val Trp					
[1190]		565		570		575
[1191]	Pro Leu Gly Lys Pro Glu Gly Leu Leu Ala Arg Gly Cys Gly Leu Asp					
[1192]		580		585		590
[1193]	Phe Leu Asn Arg Ser Leu Ala Ile Arg Val Ser Gly Arg Ser Pro Pro					
[1194]		595		600		605
[1195]	Gly Gly Pro Glu Pro Gln Asp Lys Gly Pro Asp Gly Leu Ser Phe Tyr					
[1196]		610		615		620
[1197]	Gly Asp Arg Trp Ser Gly Ala Val Val Arg Arg Val Leu Ser Gly Pro					
[1198]	625		630		635	640
[1199]	Gly Ser Ala Arg Met Glu Pro Arg Glu Gln Arg Val Glu Ala Ala Gly					
[1200]		645		650		655
[1201]	Leu Glu Gly Ala Cys Leu Glu Ala Glu Ala Gln Gln Arg Thr Leu Leu					
[1202]		660		665		670
[1203]	Trp Asn Gln Gly Ser Thr Leu Pro Ser Leu Met Asp Ser Lys Ala Cys					
[1204]		675		680		685
[1205]	Gln Ser Phe His Glu Ala Leu Glu Ala Trp Ala Lys Gly Pro Gly Ala					
[1206]		690		695		700
[1207]	Glu Pro Phe Tyr Ile Arg Ala Asn Leu Thr Leu Pro Glu Arg Ala Asp					
[1208]	705		710		715	720

[1209]	Pro His Ala Leu Cys Val Lys Ala Gln Glu Ile Leu Arg Leu Val Asp
[1210]	725 730 735
[1211]	Ser Ala Tyr Lys Arg Arg Gln Glu Trp Phe Cys Thr Arg Val Asp Pro
[1212]	740 745 750
[1213]	Leu Thr Leu Arg Asp Leu Asp Arg Gly Thr Val Pro Asn Tyr Gln Arg
[1214]	755 760 765
[1215]	Ala Gln Gln Leu Leu Glu Val Gln Glu Lys Cys Leu Pro Ser Ser Arg
[1216]	770 775 780
[1217]	His Arg Gly Pro Arg Ser Asn Leu Lys Lys Arg Ala Leu Asp Gln Leu
[1218]	785 790 795 800
[1219]	Arg Leu Val Arg Pro Lys Pro Val Gly Ala Pro Ala Gly Asp Ser Pro
[1220]	805 810 815
[1221]	Asp Gln Leu Leu Leu Glu Pro Cys Ala Glu Pro Glu Arg Ser Leu Arg
[1222]	820 825 830
[1223]	Pro Tyr Ser Leu Val Arg Pro Leu Leu Val Ser Ala Leu Arg Pro Val
[1224]	835 840 845
[1225]	Val Leu Leu Pro Glu Cys Leu Ala Pro Arg Leu Ile Arg Asn Leu Leu
[1226]	850 855 860
[1227]	Asp Leu Pro Ser Ser Arg Leu Asp Phe Gln Val Cys Pro Ala Glu Ser
[1228]	865 870 875 880
[1229]	Leu Ser Gly Glu Glu Leu Cys Pro Ser Ser Ala Pro Gly Ala Pro Lys
[1230]	885 890 895
[1231]	Ala Gln Pro Ala Thr Pro Gly Leu Gly Ser Arg Ile Arg Ala Ile Gln
[1232]	900 905 910
[1233]	Glu Ser Val Gly Lys Lys His Cys Leu Leu Glu Leu Gly Ala Arg Gly
[1234]	915 920 925
[1235]	Val Arg Glu Leu Val Gln Asn Glu Ile Tyr Pro Ile Val Ile His Val
[1236]	930 935 940
[1237]	Glu Val Thr Glu Lys Asn Val Arg Glu Val Arg Gly Leu Leu Gly Arg
[1238]	945 950 955 960
[1239]	Pro Gly Trp Arg Asp Ser Glu Leu Leu Arg Gln Cys Arg Gly Ser Glu
[1240]	965 970 975
[1241]	Gln Val Leu Trp Gly Leu Pro Cys Ser Trp Val Gln Val Pro Ala His
[1242]	980 985 990
[1243]	Glu Trp Gly His Ala Glu Glu Leu Ala Lys Val Val Arg Gly Arg Ile
[1244]	995 1000 1005
[1245]	Leu Gln Glu Gln Ala Arg Leu Val Trp Val Glu Cys Gly Ser Ser Arg
[1246]	1010 1015 1020
[1247]	Gly Cys Pro Ser Ser Ser Glu Ala

[1248]	1025	1030
[1249]	<210> 11	
[1250]	<211> 536	
[1251]	<212> PRT	
[1252]	<213> 智人(Homo sapiens)	
[1253]	<400> 11	
[1254]	Met Ser Asp Tyr Glu Asn Asp Asp Glu Cys Trp Ser Val Leu Glu Gly	
[1255]	1 5 10 15	
[1256]	Phe Arg Val Thr Leu Thr Ser Val Ile Asp Pro Ser Arg Ile Thr Pro	
[1257]	20 25 30	
[1258]	Tyr Leu Arg Gln Cys Lys Val Leu Asn Pro Asp Asp Glu Glu Gln Val	
[1259]	35 40 45	
[1260]	Leu Ser Asp Pro Asn Leu Val Ile Arg Lys Arg Lys Val Gly Val Leu	
[1261]	50 55 60	
[1262]	Leu Asp Ile Leu Gln Arg Thr Gly His Lys Gly Tyr Val Ala Phe Leu	
[1263]	65 70 75 80	
[1264]	Glu Ser Leu Glu Leu Tyr Tyr Pro Gln Leu Tyr Lys Lys Val Thr Gly	
[1265]	85 90 95	
[1266]	Lys Glu Pro Ala Arg Val Phe Ser Met Ile Ile Asp Ala Ser Gly Glu	
[1267]	100 105 110	
[1268]	Ser Gly Leu Thr Gln Leu Leu Met Thr Glu Val Met Lys Leu Gln Lys	
[1269]	115 120 125	
[1270]	Lys Val Gln Asp Leu Thr Ala Leu Leu Ser Ser Lys Asp Asp Phe Ile	
[1271]	130 135 140	
[1272]	Lys Glu Leu Arg Val Lys Asp Ser Leu Leu Arg Lys His Gln Glu Arg	
[1273]	145 150 155 160	
[1274]	Val Gln Arg Leu Lys Glu Glu Cys Glu Ala Gly Ser Arg Glu Leu Lys	
[1275]	165 170 175	
[1276]	Arg Cys Lys Glu Glu Asn Tyr Asp Leu Ala Met Arg Leu Ala His Gln	
[1277]	180 185 190	
[1278]	Ser Glu Glu Lys Gly Ala Ala Leu Met Arg Asn Arg Asp Leu Gln Leu	
[1279]	195 200 205	
[1280]	Glu Ile Asp Gln Leu Lys His Ser Leu Met Lys Ala Glu Asp Asp Cys	
[1281]	210 215 220	
[1282]	Lys Val Glu Arg Lys His Thr Leu Lys Leu Arg His Ala Met Glu Gln	
[1283]	225 230 235 240	
[1284]	Arg Pro Ser Gln Glu Leu Leu Trp Glu Leu Gln Gln Glu Lys Ala Leu	
[1285]	245 250 255	
[1286]	Leu Gln Ala Arg Val Gln Glu Leu Glu Ala Ser Val Gln Glu Gly Lys	

[1287]	260	265	270
[1288]	Leu Asp Arg Ser Ser Pro Tyr Ile Gln Val Leu Glu Glu Asp Trp Arg		
[1289]	275	280	285
[1290]	Gln Ala Leu Arg Asp His Gln Glu Gln Ala Asn Thr Ile Phe Ser Leu		
[1291]	290	295	300
[1292]	Arg Lys Asp Leu Arg Gln Gly Glu Ala Arg Arg Leu Arg Cys Met Glu		
[1293]	305	310	315
[1294]	Glu Lys Glu Met Phe Glu Leu Gln Cys Leu Ala Leu Arg Lys Asp Ser		
[1295]	325	330	335
[1296]	Lys Met Tyr Lys Asp Arg Ile Glu Ala Ile Leu Leu Gln Met Glu Glu		
[1297]	340	345	350
[1298]	Val Ala Ile Glu Arg Asp Gln Ala Ile Ala Thr Arg Glu Glu Leu His		
[1299]	355	360	365
[1300]	Ala Gln His Ala Arg Gly Leu Gln Glu Lys Asp Ala Leu Arg Lys Gln		
[1301]	370	375	380
[1302]	Val Arg Glu Leu Gly Glu Lys Ala Asp Glu Leu Gln Leu Gln Val Phe		
[1303]	385	390	395
[1304]	Gln Cys Glu Ala Gln Leu Leu Ala Val Glu Gly Arg Leu Arg Arg Gln		
[1305]	405	410	415
[1306]	Gln Leu Glu Thr Leu Val Leu Ser Ser Asp Leu Glu Asp Gly Ser Pro		
[1307]	420	425	430
[1308]	Arg Arg Ser Gln Glu Leu Ser Leu Pro Gln Asp Leu Glu Asp Thr Gln		
[1309]	435	440	445
[1310]	Leu Ser Asp Lys Gly Cys Leu Ala Gly Gly Gly Ser Pro Lys Gln Pro		
[1311]	450	455	460
[1312]	Phe Ala Ala Leu His Gln Glu Gln Val Leu Arg Asn Pro His Asp Ala		
[1313]	465	470	475
[1314]	Gly Leu Ser Ser Gly Glu Pro Pro Glu Lys Glu Arg Arg Arg Leu Lys		
[1315]	485	490	495
[1316]	Glu Ser Phe Glu Asn Tyr Arg Arg Lys Arg Ala Leu Arg Lys Met Gln		
[1317]	500	505	510
[1318]	Lys Gly Trp Arg Gln Gly Glu Glu Asp Arg Glu Asn Thr Thr Gly Ser		
[1319]	515	520	525
[1320]	Asp Asn Thr Asp Thr Glu Gly Ser		
[1321]	530	535	
[1322]	<210> 12		
[1323]	<211> 233		
[1324]	<212> PRT		
[1325]	<213> 智人(Homo sapiens)		

[1326] <400> 12
 [1327] Met Glu Pro Thr Ala Pro Ser Leu Thr Glu Glu Asp Leu Thr Glu Val
 [1328] 1 5 10 15
 [1329] Lys Lys Asp Ala Leu Glu Asn Leu Arg Val Tyr Leu Cys Glu Lys Ile
 [1330] 20 25 30
 [1331] Ile Ala Glu Arg His Phe Asp His Leu Arg Ala Lys Lys Ile Leu Ser
 [1332] 35 40 45
 [1333] Arg Glu Asp Thr Glu Glu Ile Ser Cys Arg Thr Ser Ser Arg Lys Arg
 [1334] 50 55 60
 [1335] Ala Gly Lys Leu Leu Asp Tyr Leu Gln Glu Asn Pro Lys Gly Leu Asp
 [1336] 65 70 75 80
 [1337] Thr Leu Val Glu Ser Ile Arg Arg Glu Lys Thr Gln Asn Phe Leu Ile
 [1338] 85 90 95
 [1339] Gln Lys Ile Thr Asp Glu Val Leu Lys Leu Arg Asn Ile Lys Leu Glu
 [1340] 100 105 110
 [1341] His Leu Lys Gly Leu Lys Cys Ser Ser Cys Glu Pro Phe Pro Asp Gly
 [1342] 115 120 125
 [1343] Ala Thr Asn Asn Leu Ser Arg Ser Asn Ser Asp Glu Ser Asn Phe Ser
 [1344] 130 135 140
 [1345] Glu Lys Leu Arg Ala Ser Thr Val Met Tyr His Pro Glu Gly Glu Ser
 [1346] 145 150 155 160
 [1347] Ser Thr Thr Pro Phe Phe Ser Thr Asn Ser Ser Leu Asn Leu Pro Val
 [1348] 165 170 175
 [1349] Leu Glu Val Gly Arg Thr Glu Asn Thr Ile Phe Ser Ser Thr Thr Leu
 [1350] 180 185 190
 [1351] Pro Arg Pro Gly Asp Pro Gly Ala Pro Pro Leu Pro Pro Asp Leu Gln
 [1352] 195 200 205
 [1353] Leu Glu Glu Glu Gly Thr Cys Ala Asn Ser Ser Glu Met Phe Leu Pro
 [1354] 210 215 220
 [1355] Leu Arg Ser Arg Thr Val Ser Arg Gln
 [1356] 225 230
 [1357] <210> 13
 [1358] <211> 790
 [1359] <212> PRT
 [1360] <213> 智人(Homo sapiens)
 [1361] <400> 13
 [1362] Met Ala Glu Gln Val Leu Pro Gln Ala Leu Tyr Leu Ser Asn Met Arg
 [1363] 1 5 10 15
 [1364] Lys Ala Val Lys Ile Arg Glu Arg Thr Pro Glu Asp Ile Phe Lys Pro

[1404]	Lys	Glu	Ile	Asn	Leu	Val	Asp	Asp	Tyr	Phe	Glu	Leu	Val	Gln	His	Glu
[1405]				340					345					350		
[1406]	Tyr	Lys	Lys	Trp	Gln	Glu	Asn	Ser	Glu	Gln	Gly	Arg	Arg	Glu	Gly	His
[1407]				355					360					365		
[1408]	Ala	Gln	Asn	Pro	Met	Glu	Pro	Ser	Val	Pro	Gln	Leu	Ser	Leu	Met	Asp
[1409]				370					375					380		
[1410]	Val	Lys	Cys	Glu	Thr	Pro	Asn	Cys	Pro	Phe	Phe	Met	Ser	Val	Asn	Thr
[1411]				385					390					395		400
[1412]	Gln	Pro	Leu	Cys	His	Glu	Cys	Ser	Glu	Arg	Arg	Gln	Lys	Asn	Gln	Asn
[1413]					405					410					415	
[1414]	Lys	Leu	Pro	Lys	Leu	Asn	Ser	Lys	Pro	Gly	Pro	Glu	Gly	Leu	Pro	Gly
[1415]					420					425					430	
[1416]	Met	Ala	Leu	Gly	Ala	Ser	Arg	Gly	Glu	Ala	Tyr	Glu	Pro	Leu	Ala	Trp
[1417]					435					440					445	
[1418]	Asn	Pro	Glu	Glu	Ser	Thr	Gly	Gly	Pro	His	Ser	Ala	Pro	Pro	Thr	Ala
[1419]					450					455					460	
[1420]	Pro	Ser	Pro	Phe	Leu	Phe	Ser	Glu	Thr	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Arg	Ser
[1421]					465					470					475	480
[1422]	Pro	Gly	Cys	Pro	Phe	Thr	Leu	Asn	Val	Gln	His	Asn	Gly	Phe	Cys	Glu
[1423]						485					490					495
[1424]	Arg	Cys	His	Asn	Ala	Arg	Gln	Leu	His	Ala	Ser	His	Ala	Pro	Asp	His
[1425]					500						505				510	
[1426]	Thr	Arg	His	Leu	Asp	Pro	Gly	Lys	Cys	Gln	Ala	Cys	Leu	Gln	Asp	Val
[1427]					515						520				525	
[1428]	Thr	Arg	Thr	Phe	Asn	Gly	Ile	Cys	Ser	Thr	Cys	Phe	Lys	Arg	Thr	Thr
[1429]					530						535				540	
[1430]	Ala	Glu	Ala	Ser	Ser	Ser	Leu	Ser	Thr	Ser	Leu	Pro	Pro	Ser	Cys	His
[1431]					545						550				555	560
[1432]	Gln	Arg	Ser	Lys	Ser	Asp	Pro	Ser	Arg	Leu	Val	Arg	Ser	Pro	Ser	Pro
[1433]						565					570				575	
[1434]	His	Ser	Cys	His	Arg	Ala	Gly	Asn	Asp	Ala	Pro	Ala	Gly	Cys	Leu	Ser
[1435]					580						585				590	
[1436]	Gln	Ala	Ala	Arg	Thr	Pro	Gly	Asp	Arg	Thr	Gly	Thr	Ser	Lys	Cys	Arg
[1437]					595						600				605	
[1438]	Lys	Ala	Gly	Cys	Val	Tyr	Phe	Gly	Thr	Pro	Glu	Asn	Lys	Gly	Phe	Cys
[1439]					610						615				620	
[1440]	Thr	Leu	Cys	Phe	Ile	Glu	Tyr	Arg	Glu	Asn	Lys	His	Phe	Ala	Ala	Ala
[1441]					625						630				635	640
[1442]	Ser	Gly	Lys	Val	Ser	Pro	Thr	Ala	Ser	Arg	Phe	Gln	Asn	Thr	Ile	Pro

[1443]		645		650		655												
[1444]	Cys	Leu	Gly	Arg	Glu	Cys	Gly	Thr	Leu	Gly	Ser	Thr	Met	Phe	Glu	Gly		
[1445]			660						665					670				
[1446]	Tyr	Cys	Gln	Lys	Cys	Phe	Ile	Glu	Ala	Gln	Asn	Gln	Arg	Phe	His	Glu		
[1447]			675						680					685				
[1448]	Ala	Lys	Arg	Thr	Glu	Glu	Gln	Leu	Arg	Ser	Ser	Gln	Arg	Arg	Asp	Val		
[1449]		690						695					700					
[1450]	Pro	Arg	Thr	Thr	Gln	Ser	Thr	Ser	Arg	Pro	Lys	Cys	Ala	Arg	Ala	Ser		
[1451]	705					710					715					720		
[1452]	Cys	Lys	Asn	Ile	Leu	Ala	Cys	Arg	Ser	Glu	Glu	Leu	Cys	Met	Glu	Cys		
[1453]				725						730					735			
[1454]	Gln	His	Pro	Asn	Gln	Arg	Met	Gly	Pro	Gly	Ala	His	Arg	Gly	Glu	Pro		
[1455]				740						745					750			
[1456]	Ala	Pro	Glu	Asp	Pro	Pro	Lys	Gln	Arg	Cys	Arg	Ala	Pro	Ala	Cys	Asp		
[1457]			755						760					765				
[1458]	His	Phe	Gly	Asn	Ala	Lys	Cys	Asn	Gly	Tyr	Cys	Asn	Glu	Cys	Phe	Gln		
[1459]		770					775						780					
[1460]	Phe	Lys	Gln	Met	Tyr	Gly												
[1461]	785					790												
[1462]	<210>	14																
[1463]	<211>	956																
[1464]	<212>	PRT																
[1465]	<213>	智人 (Homo sapiens)																
[1466]	<400>	14																
[1467]	Met	Ser	Ser	Gly	Leu	Trp	Ser	Gln	Glu	Lys	Val	Thr	Ser	Pro	Tyr	Trp		
[1468]	1				5					10					15			
[1469]	Glu	Glu	Arg	Ile	Phe	Tyr	Leu	Leu	Leu	Gln	Glu	Cys	Ser	Val	Thr	Asp		
[1470]				20						25					30			
[1471]	Lys	Gln	Thr	Gln	Lys	Leu	Leu	Lys	Val	Pro	Lys	Gly	Ser	Ile	Gly	Gln		
[1472]				35						40					45			
[1473]	Tyr	Ile	Gln	Asp	Arg	Ser	Val	Gly	His	Ser	Arg	Ile	Pro	Ser	Ala	Lys		
[1474]		50						55						60				
[1475]	Gly	Lys	Lys	Asn	Gln	Ile	Gly	Leu	Lys	Ile	Leu	Glu	Gln	Pro	His	Ala		
[1476]	65					70						75			80			
[1477]	Val	Leu	Phe	Val	Asp	Glu	Lys	Asp	Val	Val	Glu	Ile	Asn	Glu	Lys	Phe		
[1478]				85						90					95			
[1479]	Thr	Glu	Leu	Leu	Leu	Ala	Ile	Thr	Asn	Cys	Glu	Glu	Arg	Phe	Ser	Leu		
[1480]				100						105					110			
[1481]	Phe	Lys	Asn	Arg	Asn	Arg	Leu	Ser	Lys	Gly	Leu	Gln	Ile	Asp	Val	Gly		

[1482]	115	120	125
[1483]	Cys Pro Val Lys Val Gln Leu Arg Ser Gly Glu Glu Lys Phe Pro Gly		
[1484]	130	135	140
[1485]	Val Val Arg Phe Arg Gly Pro Leu Leu Ala Glu Arg Thr Val Ser Gly		
[1486]	145	150	155
[1487]	Ile Phe Phe Gly Val Glu Leu Leu Glu Glu Gly Arg Gly Gln Gly Phe		
[1488]	165	170	175
[1489]	Thr Asp Gly Val Tyr Gln Gly Lys Gln Leu Phe Gln Cys Asp Glu Asp		
[1490]	180	185	190
[1491]	Cys Gly Val Phe Val Ala Leu Asp Lys Leu Glu Leu Ile Glu Asp Asp		
[1492]	195	200	205
[1493]	Asp Thr Ala Leu Glu Ser Asp Tyr Ala Gly Pro Gly Asp Thr Met Gln		
[1494]	210	215	220
[1495]	Val Glu Leu Pro Pro Leu Glu Ile Asn Ser Arg Val Ser Leu Lys Val		
[1496]	225	230	235
[1497]	Gly Glu Thr Ile Glu Ser Gly Thr Val Ile Phe Cys Asp Val Leu Pro		
[1498]	245	250	255
[1499]	Gly Lys Glu Ser Leu Gly Tyr Phe Val Gly Val Asp Met Asp Asn Pro		
[1500]	260	265	270
[1501]	Ile Gly Asn Trp Asp Gly Arg Phe Asp Gly Val Gln Leu Cys Ser Phe		
[1502]	275	280	285
[1503]	Ala Cys Val Glu Ser Thr Ile Leu Leu His Ile Asn Asp Ile Ile Pro		
[1504]	290	295	300
[1505]	Ala Leu Ser Glu Ser Val Thr Gln Glu Arg Arg Pro Pro Lys Leu Ala		
[1506]	305	310	315
[1507]	Phe Met Ser Arg Gly Val Gly Asp Lys Gly Ser Ser Ser His Asn Lys		
[1508]	325	330	335
[1509]	Pro Lys Ala Thr Gly Ser Thr Ser Asp Pro Gly Asn Arg Asn Arg Ser		
[1510]	340	345	350
[1511]	Glu Leu Phe Tyr Thr Leu Asn Gly Ser Ser Val Asp Ser Gln Pro Gln		
[1512]	355	360	365
[1513]	Ser Lys Ser Lys Asn Thr Trp Tyr Ile Asp Glu Val Ala Glu Asp Pro		
[1514]	370	375	380
[1515]	Ala Lys Ser Leu Thr Glu Ile Ser Thr Asp Phe Asp Arg Ser Ser Pro		
[1516]	385	390	395
[1517]	Pro Leu Gln Pro Pro Pro Val Asn Ser Leu Thr Thr Glu Asn Arg Phe		
[1518]	405	410	415
[1519]	His Ser Leu Pro Phe Ser Leu Thr Lys Met Pro Asn Thr Asn Gly Ser		
[1520]	420	425	430

[1521]	Ile Gly His Ser Pro Leu Ser Leu Ser Ala Gln Ser Val Met Glu Glu
[1522]	435 440 445
[1523]	Leu Asn Thr Ala Pro Val Gln Glu Ser Pro Pro Leu Ala Met Pro Pro
[1524]	450 455 460
[1525]	Gly Asn Ser His Gly Leu Glu Val Gly Ser Leu Ala Glu Val Lys Glu
[1526]	465 470 475 480
[1527]	Asn Pro Pro Phe Tyr Gly Val Ile Arg Trp Ile Gly Gln Pro Pro Gly
[1528]	485 490 495
[1529]	Leu Asn Glu Val Leu Ala Gly Leu Glu Leu Glu Asp Glu Cys Ala Gly
[1530]	500 505 510
[1531]	Cys Thr Asp Gly Thr Phe Arg Gly Thr Arg Tyr Phe Thr Cys Ala Leu
[1532]	515 520 525
[1533]	Lys Lys Ala Leu Phe Val Lys Leu Lys Ser Cys Arg Pro Asp Ser Arg
[1534]	530 535 540
[1535]	Phe Ala Ser Leu Gln Pro Val Ser Asn Gln Ile Glu Arg Cys Asn Ser
[1536]	545 550 555 560
[1537]	Leu Ala Phe Gly Gly Tyr Leu Ser Glu Val Val Glu Glu Asn Thr Pro
[1538]	565 570 575
[1539]	Pro Lys Met Glu Lys Glu Gly Leu Glu Ile Met Ile Gly Lys Lys Lys
[1540]	580 585 590
[1541]	Gly Ile Gln Gly His Tyr Asn Ser Cys Tyr Leu Asp Ser Thr Leu Phe
[1542]	595 600 605
[1543]	Cys Leu Phe Ala Phe Ser Ser Val Leu Asp Thr Val Leu Leu Arg Pro
[1544]	610 615 620
[1545]	Lys Glu Lys Asn Asp Val Glu Tyr Tyr Ser Glu Thr Gln Glu Leu Leu
[1546]	625 630 635 640
[1547]	Arg Thr Glu Ile Val Asn Pro Leu Arg Ile Tyr Gly Tyr Val Cys Ala
[1548]	645 650 655
[1549]	Thr Lys Ile Met Lys Leu Arg Lys Ile Leu Glu Lys Val Glu Ala Ala
[1550]	660 665 670
[1551]	Ser Gly Phe Thr Ser Glu Glu Lys Asp Pro Glu Glu Phe Leu Asn Ile
[1552]	675 680 685
[1553]	Leu Phe His His Ile Leu Arg Val Glu Pro Leu Leu Lys Ile Arg Ser
[1554]	690 695 700
[1555]	Ala Gly Gln Lys Val Gln Asp Cys Tyr Phe Tyr Gln Ile Phe Met Glu
[1556]	705 710 715 720
[1557]	Lys Asn Glu Lys Val Gly Val Pro Thr Ile Gln Gln Leu Leu Glu Trp
[1558]	725 730 735
[1559]	Ser Phe Ile Asn Ser Asn Leu Lys Phe Ala Glu Ala Pro Ser Cys Leu

[1599]	50	55	60
[1600]	Gly Phe Gly Leu Asp Gly Gly Gln Pro Gly Pro Gly Glu Gly Leu Pro		
[1601]	65	70	75
[1602]	Arg Leu Val Ser Arg Gly Ala Ala Ser Leu Ser Thr Val Thr Leu Gly		
[1603]	85	90	95
[1604]	Pro Val Ala Pro Pro Ala Thr Pro Pro Pro Trp Gly Cys Pro Leu Gly		
[1605]	100	105	110
[1606]	Arg Leu Val Ser Pro Ala Pro Gly Pro Gly Pro Gln Pro His Leu Val		
[1607]	115	120	125
[1608]	Ile Thr Glu Gln Pro Lys Gln Arg Gly Met Arg Phe Arg Tyr Glu Cys		
[1609]	130	135	140
[1610]	Glu Gly Arg Ser Ala Gly Ser Ile Leu Gly Glu Ser Ser Thr Glu Ala		
[1611]	145	150	155
[1612]	Ser Lys Thr Leu Pro Ala Ile Glu Leu Arg Asp Cys Gly Gly Leu Arg		
[1613]	165	170	175
[1614]	Glu Val Glu Val Thr Ala Cys Leu Val Trp Lys Asp Trp Pro His Arg		
[1615]	180	185	190
[1616]	Val His Pro His Ser Leu Val Gly Lys Asp Cys Thr Asp Gly Ile Cys		
[1617]	195	200	205
[1618]	Arg Val Arg Leu Arg Pro His Val Ser Pro Arg His Ser Phe Asn Asn		
[1619]	210	215	220
[1620]	Leu Gly Ile Gln Cys Val Arg Lys Lys Glu Ile Glu Ala Ala Ile Glu		
[1621]	225	230	235
[1622]	Arg Lys Ile Gln Leu Gly Ile Asp Pro Tyr Asn Ala Gly Ser Leu Lys		
[1623]	245	250	255
[1624]	Asn His Gln Glu Val Asp Met Asn Val Val Arg Ile Cys Phe Gln Ala		
[1625]	260	265	270
[1626]	Ser Tyr Arg Asp Gln Gln Gly Gln Met Arg Arg Met Asp Pro Val Leu		
[1627]	275	280	285
[1628]	Ser Glu Pro Val Tyr Asp Lys Lys Ser Thr Asn Thr Ser Glu Leu Arg		
[1629]	290	295	300
[1630]	Ile Cys Arg Ile Asn Lys Glu Ser Gly Pro Cys Thr Gly Gly Glu Glu		
[1631]	305	310	315
[1632]	Leu Tyr Leu Leu Cys Asp Lys Val Gln Lys Glu Asp Ile Ser Val Val		
[1633]	325	330	335
[1634]	Phe Ser Arg Ala Ser Trp Glu Gly Arg Ala Asp Phe Ser Gln Ala Asp		
[1635]	340	345	350
[1636]	Val His Arg Gln Ile Ala Ile Val Phe Lys Thr Pro Pro Tyr Glu Asp		
[1637]	355	360	365

[1638]	Leu Glu Ile Val Glu Pro Val Thr Val Asn Val Phe Leu Gln Arg Leu
[1639]	370 375 380
[1640]	Thr Asp Gly Val Cys Ser Glu Pro Leu Pro Phe Thr Tyr Leu Pro Arg
[1641]	385 390 395 400
[1642]	Asp His Asp Ser Tyr Gly Val Asp Lys Lys Arg Lys Arg Gly Met Pro
[1643]	405 410 415
[1644]	Asp Val Leu Gly Glu Leu Asn Ser Ser Asp Pro His Gly Ile Glu Ser
[1645]	420 425 430
[1646]	Lys Arg Arg Lys Lys Lys Pro Ala Ile Leu Asp His Phe Leu Pro Asn
[1647]	435 440 445
[1648]	His Gly Ser Gly Pro Phe Leu Pro Pro Ser Ala Leu Leu Pro Asp Pro
[1649]	450 455 460
[1650]	Asp Phe Phe Ser Gly Thr Val Ser Leu Pro Gly Leu Glu Pro Pro Gly
[1651]	465 470 475 480
[1652]	Gly Pro Asp Leu Leu Asp Asp Gly Phe Ala Tyr Asp Pro Thr Ala Pro
[1653]	485 490 495
[1654]	Thr Leu Phe Thr Met Leu Asp Leu Leu Pro Pro Ala Pro Pro His Ala
[1655]	500 505 510
[1656]	Ser Ala Val Val Cys Ser Gly Gly Ala Gly Ala Val Val Gly Glu Thr
[1657]	515 520 525
[1658]	Pro Gly Pro Glu Pro Leu Thr Leu Asp Ser Tyr Gln Ala Pro Gly Pro
[1659]	530 535 540
[1660]	Gly Asp Gly Gly Thr Ala Ser Leu Val Gly Ser Asn Met Phe Pro Asn
[1661]	545 550 555 560
[1662]	His Tyr Arg Glu Ala Ala Phe Gly Gly Gly Leu Leu Ser Pro Gly Pro
[1663]	565 570 575
[1664]	Glu Ala Thr
[1665]	<210> 16
[1666]	<211> 599
[1667]	<212> PRT
[1668]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1669]	<400> 16
[1670]	Met Ser Gly Pro Cys Gly Glu Lys Pro Val Leu Glu Ala Ser Pro Thr
[1671]	1 5 10 15
[1672]	Met Ser Leu Trp Glu Phe Glu Asp Ser His Ser Arg Gln Gly Thr Pro
[1673]	20 25 30
[1674]	Arg Pro Gly Gln Glu Leu Ala Ala Glu Glu Ala Ser Ala Leu Glu Leu
[1675]	35 40 45
[1676]	Gln Met Lys Val Asp Phe Phe Arg Lys Leu Gly Tyr Ser Ser Thr Glu

[1677]	50	55	60
[1678]	Ile His Ser Val Leu Gln Lys Leu Gly Val Gln Ala Asp Thr Asn Thr		
[1679]	65	70	75
[1680]	Val Leu Gly Glu Leu Val Lys His Gly Thr Ala Thr Glu Arg Glu Arg		
[1681]	85	90	95
[1682]	Gln Thr Ser Pro Asp Pro Cys Pro Gln Leu Pro Leu Val Pro Arg Gly		
[1683]	100	105	110
[1684]	Gly Gly Thr Pro Lys Ala Pro Asn Leu Glu Pro Pro Leu Pro Glu Glu		
[1685]	115	120	125
[1686]	Glu Lys Glu Gly Ser Asp Leu Arg Pro Val Val Ile Asp Gly Ser Asn		
[1687]	130	135	140
[1688]	Val Ala Met Ser His Gly Asn Lys Glu Val Phe Ser Cys Arg Gly Ile		
[1689]	145	150	155
[1690]	Leu Leu Ala Val Asn Trp Phe Leu Glu Arg Gly His Thr Asp Ile Thr		
[1691]	165	170	175
[1692]	Val Phe Val Pro Ser Trp Arg Lys Glu Gln Pro Arg Pro Asp Val Pro		
[1693]	180	185	190
[1694]	Ile Thr Asp Gln His Ile Leu Arg Glu Leu Glu Lys Lys Lys Ile Leu		
[1695]	195	200	205
[1696]	Val Phe Thr Pro Ser Arg Arg Val Gly Gly Lys Arg Val Val Cys Tyr		
[1697]	210	215	220
[1698]	Asp Asp Arg Phe Ile Val Lys Leu Ala Tyr Glu Ser Asp Gly Ile Val		
[1699]	225	230	235
[1700]	Val Ser Asn Asp Thr Tyr Arg Asp Leu Gln Gly Glu Arg Gln Glu Trp		
[1701]	245	250	255
[1702]	Lys Arg Phe Ile Glu Glu Arg Leu Leu Met Tyr Ser Phe Val Asn Asp		
[1703]	260	265	270
[1704]	Lys Phe Met Pro Pro Asp Asp Pro Leu Gly Arg His Gly Pro Ser Leu		
[1705]	275	280	285
[1706]	Asp Asn Phe Leu Arg Lys Lys Pro Leu Thr Leu Glu His Arg Lys Gln		
[1707]	290	295	300
[1708]	Pro Cys Pro Tyr Gly Arg Lys Cys Thr Tyr Gly Ile Lys Cys Arg Phe		
[1709]	305	310	315
[1710]	Phe His Pro Glu Arg Pro Ser Cys Pro Gln Arg Ser Val Ala Asp Glu		
[1711]	325	330	335
[1712]	Leu Arg Ala Asn Ala Leu Leu Ser Pro Pro Arg Ala Pro Ser Lys Asp		
[1713]	340	345	350
[1714]	Lys Asn Gly Arg Arg Pro Ser Pro Ser Ser Gln Ser Ser Ser Leu Leu		
[1715]	355	360	365

[1716]	Thr Glu Ser Glu Gln Cys Ser Leu Asp Gly Lys Lys Leu Gly Ala Gln
[1717]	370 375 380
[1718]	Ala Ser Pro Gly Ser Arg Gln Glu Gly Leu Thr Gln Thr Tyr Ala Pro
[1719]	385 390 395 400
[1720]	Ser Gly Arg Ser Leu Ala Pro Ser Gly Gly Ser Gly Ser Ser Phe Gly
[1721]	405 410 415
[1722]	Pro Thr Asp Trp Leu Pro Gln Thr Leu Asp Ser Leu Pro Tyr Val Ser
[1723]	420 425 430
[1724]	Gln Asp Cys Leu Asp Ser Gly Ile Gly Ser Leu Glu Ser Gln Met Ser
[1725]	435 440 445
[1726]	Glu Leu Trp Gly Val Arg Gly Gly Gly Pro Gly Glu Pro Gly Pro Pro
[1727]	450 455 460
[1728]	Arg Ala Pro Tyr Thr Gly Tyr Ser Pro Tyr Gly Ser Glu Leu Pro Ala
[1729]	465 470 475 480
[1730]	Thr Ala Ala Phe Ser Ala Phe Gly Arg Ala Met Gly Ala Gly His Phe
[1731]	485 490 495
[1732]	Ser Val Pro Ala Asp Tyr Pro Pro Ala Pro Pro Ala Phe Pro Pro Arg
[1733]	500 505 510
[1734]	Glu Tyr Trp Ser Glu Pro Tyr Pro Leu Pro Pro Pro Thr Ser Val Leu
[1735]	515 520 525
[1736]	Gln Glu Pro Pro Val Gln Ser Pro Gly Ala Gly Arg Ser Pro Trp Gly
[1737]	530 535 540
[1738]	Arg Ala Gly Ser Leu Ala Lys Glu Gln Ala Ser Val Tyr Thr Lys Leu
[1739]	545 550 555 560
[1740]	Cys Gly Val Phe Pro Pro His Leu Val Glu Ala Val Met Gly Arg Phe
[1741]	565 570 575
[1742]	Pro Gln Leu Leu Asp Pro Gln Gln Leu Ala Ala Glu Ile Leu Ser Tyr
[1743]	580 585 590
[1744]	Lys Ser Gln His Pro Ser Glu
[1745]	595
[1746]	<210> 17
[1747]	<211> 1133
[1748]	<212> PRT
[1749]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1750]	<400> 17
[1751]	Met Pro Val Gln Ala Pro Gln Trp Thr Asp Phe Leu Ser Cys Pro Ile
[1752]	1 5 10 15
[1753]	Cys Thr Gln Thr Phe Asp Glu Thr Ile Arg Lys Pro Ile Ser Leu Gly
[1754]	20 25 30

[1755]	Cys Gly His Thr Val Cys Lys Met Cys Leu Asn Lys Leu His Arg Lys
[1756]	35 40 45
[1757]	Ala Cys Pro Phe Asp Gln Thr Thr Ile Asn Thr Asp Ile Glu Leu Leu
[1758]	50 55 60
[1759]	Pro Val Asn Ser Ala Leu Leu Gln Leu Val Gly Ala Gln Val Pro Glu
[1760]	65 70 75 80
[1761]	Gln Gln Pro Ile Thr Leu Cys Ser Gly Val Glu Asp Thr Lys His Tyr
[1762]	85 90 95
[1763]	Glu Glu Ala Lys Lys Cys Val Glu Glu Leu Ala Leu Tyr Leu Lys Pro
[1764]	100 105 110
[1765]	Leu Ser Ser Ala Arg Gly Val Gly Leu Asn Ser Thr Thr Gln Ser Val
[1766]	115 120 125
[1767]	Leu Ser Arg Pro Met Gln Arg Lys Leu Val Thr Leu Val His Cys Gln
[1768]	130 135 140
[1769]	Leu Val Glu Glu Glu Gly Arg Ile Arg Ala Met Arg Ala Ala Arg Ser
[1770]	145 150 155 160
[1771]	Leu Gly Glu Arg Thr Val Thr Glu Leu Ile Leu Gln His Gln Asn Pro
[1772]	165 170 175
[1773]	Gln Gln Leu Ser Ser Asn Leu Trp Ala Ala Val Arg Ala Arg Gly Cys
[1774]	180 185 190
[1775]	Gln Phe Leu Gly Pro Ala Met Gln Glu Glu Ala Leu Lys Leu Val Leu
[1776]	195 200 205
[1777]	Leu Ala Leu Glu Asp Gly Ser Ala Leu Ser Arg Lys Val Leu Val Leu
[1778]	210 215 220
[1779]	Phe Val Val Gln Arg Leu Glu Pro Arg Phe Pro Gln Ala Ser Lys Thr
[1780]	225 230 235 240
[1781]	Ser Ile Gly His Val Val Gln Leu Leu Tyr Arg Ala Ser Cys Phe Lys
[1782]	245 250 255
[1783]	Val Thr Lys Arg Asp Glu Asp Ser Ser Leu Met Gln Leu Lys Glu Glu
[1784]	260 265 270
[1785]	Phe Arg Thr Tyr Glu Ala Leu Arg Arg Glu His Asp Ser Gln Ile Val
[1786]	275 280 285
[1787]	Gln Ile Ala Met Glu Ala Gly Leu Arg Ile Ala Pro Asp Gln Trp Ser
[1788]	290 295 300
[1789]	Ser Leu Leu Tyr Gly Asp Gln Ser His Lys Ser His Met Gln Ser Ile
[1790]	305 310 315 320
[1791]	Ile Asp Lys Leu Gln Thr Pro Ala Ser Phe Ala Gln Ser Val Gln Glu
[1792]	325 330 335
[1793]	Leu Thr Ile Ala Leu Gln Arg Thr Gly Asp Pro Ala Asn Leu Asn Arg

[1794]		340		345		350												
[1795]	Leu	Arg	Pro	His	Leu	Glu	Leu	Leu	Ala	Asn	Ile	Asp	Pro	Ser	Pro	Asp		
[1796]			355						360						365			
[1797]	Ala	Pro	Pro	Pro	Thr	Trp	Glu	Gln	Leu	Glu	Asn	Gly	Leu	Val	Ala	Val		
[1798]			370						375						380			
[1799]	Arg	Thr	Val	Val	His	Gly	Leu	Val	Asp	Tyr	Ile	Gln	Asn	His	Ser	Lys		
[1800]	385						390					395						400
[1801]	Lys	Gly	Ala	Asp	Gln	Gln	Gln	Pro	Pro	Gln	His	Ser	Lys	Tyr	Lys	Thr		
[1802]					405						410							415
[1803]	Tyr	Met	Cys	Arg	Asp	Met	Lys	Gln	Arg	Gly	Gly	Cys	Pro	Arg	Gly	Ala		
[1804]					420						425							430
[1805]	Ser	Cys	Thr	Phe	Ala	His	Ser	Gln	Glu	Glu	Leu	Glu	Lys	Phe	Arg	Lys		
[1806]					435						440							445
[1807]	Met	Asn	Lys	Arg	Leu	Val	Pro	Arg	Arg	Pro	Leu	Ser	Ala	Ser	Leu	Gly		
[1808]					450						455							460
[1809]	Gln	Leu	Asn	Glu	Val	Gly	Leu	Pro	Ser	Ala	Ala	Ile	Leu	Pro	Asp	Glu		
[1810]	465						470					475						480
[1811]	Gly	Ala	Val	Asp	Leu	Pro	Ser	Arg	Lys	Pro	Pro	Ala	Leu	Pro	Asn	Gly		
[1812]					485						490							495
[1813]	Ile	Val	Ser	Thr	Gly	Asn	Thr	Val	Thr	Gln	Leu	Ile	Pro	Arg	Gly	Thr		
[1814]					500						505							510
[1815]	Asp	Pro	Ser	Tyr	Asp	Ser	Ser	Leu	Lys	Pro	Gly	Lys	Ile	Asp	His	Leu		
[1816]					515						520							525
[1817]	Ser	Ser	Ser	Ala	Pro	Gly	Ser	Pro	Pro	Asp	Leu	Leu	Glu	Ser	Val	Pro		
[1818]					530						535							540
[1819]	Lys	Ser	Ile	Ser	Ala	Leu	Pro	Val	Asn	Pro	His	Ser	Ile	Pro	Pro	Arg		
[1820]	545						550					555						560
[1821]	Gly	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Pro	Met	Pro	Val	Thr	Lys	Pro	Leu	Gln	Met		
[1822]					565							570						575
[1823]	Val	Pro	Arg	Gly	Ser	Gln	Leu	Tyr	Pro	Ala	Gln	Gln	Thr	Asp	Val	Tyr		
[1824]					580							585						590
[1825]	Tyr	Gln	Asp	Pro	Arg	Gly	Ala	Ala	Pro	Pro	Phe	Glu	Pro	Ala	Pro	Tyr		
[1826]					595							600						605
[1827]	Gln	Gln	Gly	Met	Tyr	Tyr	Thr	Pro	Pro	Pro	Gln	Cys	Val	Ser	Arg	Phe		
[1828]					610							615						620
[1829]	Val	Arg	Pro	Pro	Pro	Ser	Ala	Pro	Glu	Pro	Ala	Pro	Pro	Tyr	Leu	Asp		
[1830]	625						630					635						640
[1831]	His	Tyr	Pro	Pro	Tyr	Leu	Gln	Glu	Arg	Val	Val	Asn	Ser	Gln	Tyr	Gly		
[1832]					645							650						655

[1833]	Thr	Gln	Pro	Gln	Gln	Tyr	Pro	Pro	Ile	Tyr	Pro	Ser	His	Tyr	Asp	Gly
[1834]				660					665					670		
[1835]	Arg	Arg	Val	Tyr	Pro	Ala	Pro	Ser	Tyr	Thr	Arg	Glu	Glu	Ile	Phe	Arg
[1836]				675					680					685		
[1837]	Glu	Ser	Pro	Ile	Pro	Ile	Glu	Ile	Pro	Pro	Ala	Ala	Val	Pro	Ser	Tyr
[1838]				690					695					700		
[1839]	Val	Pro	Glu	Ser	Arg	Glu	Arg	Tyr	Gln	Gln	Ile	Glu	Ser	Tyr	Tyr	Pro
[1840]									705					710		
[1841]	Val	Ala	Pro	His	Pro	Thr	Gln	Ile	Arg	Pro	Ser	Tyr	Leu	Arg	Glu	Pro
[1842]														725		
[1843]	Pro	Tyr	Ser	Arg	Leu	Pro	Pro	Pro	Pro	Gln	Pro	His	Pro	Ser	Leu	Asp
[1844]														740		
[1845]	Glu	Leu	His	Arg	Arg	Arg	Lys	Glu	Ile	Met	Ala	Gln	Leu	Glu	Glu	Arg
[1846]														755		
[1847]	Lys	Val	Ile	Ser	Pro	Pro	Pro	Phe	Ala	Pro	Ser	Pro	Thr	Leu	Pro	Pro
[1848]														770		
[1849]	Thr	Phe	His	Pro	Glu	Glu	Phe	Leu	Asp	Glu	Asp	Leu	Lys	Val	Ala	Gly
[1850]														785		
[1851]	Lys	Tyr	Lys	Gly	Asn	Asp	Tyr	Ser	Gln	Tyr	Ser	Pro	Trp	Ser	Cys	Asp
[1852]														805		
[1853]	Thr	Ile	Gly	Ser	Tyr	Ile	Gly	Thr	Lys	Asp	Ala	Lys	Pro	Lys	Asp	Val
[1854]														820		
[1855]	Val	Ala	Ala	Gly	Ser	Val	Glu	Met	Met	Asn	Val	Glu	Ser	Lys	Gly	Met
[1856]														835		
[1857]	Arg	Asp	Gln	Arg	Leu	Asp	Leu	Gln	Arg	Arg	Ala	Ala	Glu	Thr	Ser	Asp
[1858]														850		
[1859]	Asp	Asp	Leu	Ile	Pro	Phe	Gly	Asp	Arg	Pro	Thr	Val	Ser	Arg	Phe	Gly
[1860]														865		
[1861]	Ala	Ile	Ser	Arg	Thr	Ser	Lys	Thr	Ile	Tyr	Gln	Gly	Ala	Gly	Pro	Met
[1862]														885		
[1863]	Gln	Ala	Met	Ala	Pro	Gln	Gly	Ala	Pro	Thr	Lys	Ser	Ile	Asn	Ile	Ser
[1864]														900		
[1865]	Asp	Tyr	Ser	Pro	Tyr	Gly	Thr	His	Gly	Gly	Trp	Gly	Ala	Ser	Pro	Tyr
[1866]														915		
[1867]	Ser	Pro	His	Gln	Asn	Ile	Pro	Ser	Gln	Gly	His	Phe	Ser	Glu	Arg	Glu
[1868]														930		
[1869]	Arg	Ile	Ser	Met	Ser	Glu	Val	Ala	Ser	His	Gly	Lys	Pro	Leu	Pro	Ser
[1870]														945		
[1871]	Ala	Glu	Arg	Glu	Gln	Leu	Arg	Leu	Glu	Leu	Gln	Gln	Leu	Asn	His	Gln

[1911]		100		105		110
[1912]	Thr Leu His Ser His Gly Val Arg Gln Asn Gly Asp Ser Ala Tyr Leu					
[1913]		115		120		125
[1914]	Tyr Leu Leu Ser Ala Arg Asn Thr Ser Leu Asn Pro Gln Glu Leu Gln					
[1915]		130		135		140
[1916]	Arg Glu Arg Gln Leu Arg Met Leu Glu Asp Leu Gly Phe Lys Asp Leu					
[1917]		145		150		155
[1918]	Thr Leu Gln Pro Arg Gly Pro Leu Glu Pro Gly Pro Pro Lys Pro Gly					
[1919]		165		170		175
[1920]	Val Pro Gln Glu Pro Gly Arg Gly Gln Pro Asp Ala Val Pro Glu Pro					
[1921]		180		185		190
[1922]	Pro Pro Val Gly Trp Gln Cys Pro Gly Cys Thr Phe Ile Asn Lys Pro					
[1923]		195		200		205
[1924]	Thr Arg Pro Gly Cys Glu Met Cys Cys Arg Ala Arg Pro Glu Ala Tyr					
[1925]		210		215		220
[1926]	Gln Val Pro Ala Ser Tyr Gln Pro Asp Glu Glu Glu Arg Ala Arg Leu					
[1927]		225		230		235
[1928]	Ala Gly Glu Glu Glu Ala Leu Arg Gln Tyr Gln Gln Arg Lys Gln Gln					
[1929]		245		250		255
[1930]	Gln Gln Glu Gly Asn Tyr Leu Gln His Val Gln Leu Asp Gln Arg Ser					
[1931]		260		265		270
[1932]	Leu Val Leu Asn Thr Glu Pro Ala Glu Cys Pro Val Cys Tyr Ser Val					
[1933]		275		280		285
[1934]	Leu Ala Pro Gly Glu Ala Val Val Leu Arg Glu Cys Leu His Thr Phe					
[1935]		290		295		300
[1936]	Cys Arg Glu Cys Leu Gln Gly Thr Ile Arg Asn Ser Gln Glu Ala Glu					
[1937]		305		310		315
[1938]	Val Ser Cys Pro Phe Ile Asp Asn Thr Tyr Ser Cys Ser Gly Lys Leu					
[1939]		325		330		335
[1940]	Leu Glu Arg Glu Ile Lys Ala Leu Leu Thr Pro Glu Asp Tyr Gln Arg					
[1941]		340		345		350
[1942]	Phe Leu Asp Leu Gly Ile Ser Ile Ala Glu Asn Arg Ser Ala Phe Ser					
[1943]		355		360		365
[1944]	Tyr His Cys Lys Thr Pro Asp Cys Lys Gly Trp Cys Phe Phe Glu Asp					
[1945]		370		375		380
[1946]	Asp Val Asn Glu Phe Thr Cys Pro Val Cys Phe His Val Asn Cys Leu					
[1947]		385		390		395
[1948]	Leu Cys Lys Ala Ile His Glu Gln Met Asn Cys Lys Glu Tyr Gln Glu					
[1949]		405		410		415

[1950]	Asp Leu Ala Leu Arg Ala Gln Asn Asp Val Ala Ala Arg Gln Thr Thr
[1951]	420 425 430
[1952]	Glu Met Leu Lys Val Met Leu Gln Gln Gly Glu Ala Met Arg Cys Pro
[1953]	435 440 445
[1954]	Gln Cys Gln Ile Val Val Gln Lys Lys Asp Gly Cys Asp Trp Ile Arg
[1955]	450 455 460
[1956]	Cys Thr Val Cys His Thr Glu Ile Cys Trp Val Thr Lys Gly Pro Arg
[1957]	465 470 475 480
[1958]	Trp Gly Pro Gly Gly Pro Gly Asp Thr Ser Gly Gly Cys Arg Cys Arg
[1959]	485 490 495
[1960]	Val Asn Gly Ile Pro Cys His Pro Ser Cys Gln Asn Cys His
[1961]	500 505 510
[1962]	<210> 19
[1963]	<211> 947
[1964]	<212> PRT
[1965]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1966]	<400> 19
[1967]	Met Ala Val Met Glu Met Ala Cys Pro Gly Ala Pro Gly Ser Ala Val
[1968]	1 5 10 15
[1969]	Gly Gln Gln Lys Glu Leu Pro Lys Ala Lys Glu Lys Thr Pro Pro Leu
[1970]	20 25 30
[1971]	Gly Lys Lys Gln Ser Ser Val Tyr Lys Leu Glu Ala Val Glu Lys Ser
[1972]	35 40 45
[1973]	Pro Val Phe Cys Gly Lys Trp Glu Ile Leu Asn Asp Val Ile Thr Lys
[1974]	50 55 60
[1975]	Gly Thr Ala Lys Glu Gly Ser Glu Ala Gly Pro Ala Ala Ile Ser Ile
[1976]	65 70 75 80
[1977]	Ile Ala Gln Ala Glu Cys Glu Asn Ser Gln Glu Phe Ser Pro Thr Phe
[1978]	85 90 95
[1979]	Ser Glu Arg Ile Phe Ile Ala Gly Ser Lys Gln Tyr Ser Gln Ser Glu
[1980]	100 105 110
[1981]	Ser Leu Asp Gln Ile Pro Asn Asn Val Ala His Ala Thr Glu Gly Lys
[1982]	115 120 125
[1983]	Met Ala Arg Val Cys Trp Lys Gly Lys Arg Arg Ser Lys Ala Arg Lys
[1984]	130 135 140
[1985]	Lys Arg Lys Lys Lys Ser Ser Lys Ser Leu Ala His Ala Gly Val Ala
[1986]	145 150 155 160
[1987]	Leu Ala Lys Pro Leu Pro Arg Thr Pro Glu Gln Glu Ser Cys Thr Ile
[1988]	165 170 175

[1989]	Pro Val Gln Glu Asp Glu Ser Pro Leu Gly Ala Pro Tyr Val Arg Asn
[1990]	180 185 190
[1991]	Thr Pro Gln Phe Thr Lys Pro Leu Lys Glu Pro Gly Leu Gly Gln Leu
[1992]	195 200 205
[1993]	Cys Phe Lys Gln Leu Gly Glu Gly Leu Arg Pro Ala Leu Pro Arg Ser
[1994]	210 215 220
[1995]	Glu Leu His Lys Leu Ile Ser Pro Leu Gln Cys Leu Asn His Val Trp
[1996]	225 230 235 240
[1997]	Lys Leu His His Pro Gln Asp Gly Gly Pro Leu Pro Leu Pro Thr His
[1998]	245 250 255
[1999]	Pro Phe Pro Tyr Ser Arg Leu Pro His Pro Phe Pro Phe His Pro Leu
[2000]	260 265 270
[2001]	Gln Pro Trp Lys Pro His Pro Leu Glu Ser Phe Leu Gly Lys Leu Ala
[2002]	275 280 285
[2003]	Cys Val Asp Ser Gln Lys Pro Leu Pro Asp Pro His Leu Ser Lys Leu
[2004]	290 295 300
[2005]	Ala Cys Val Asp Ser Pro Lys Pro Leu Pro Gly Pro His Leu Glu Pro
[2006]	305 310 315 320
[2007]	Ser Cys Leu Ser Arg Gly Ala His Glu Lys Phe Ser Val Glu Glu Tyr
[2008]	325 330 335
[2009]	Leu Val His Ala Leu Gln Gly Ser Val Ser Ser Gly Gln Ala His Ser
[2010]	340 345 350
[2011]	Leu Thr Ser Leu Ala Lys Thr Trp Ala Ala Arg Gly Ser Arg Ser Arg
[2012]	355 360 365
[2013]	Glu Pro Ser Pro Lys Thr Glu Asp Asn Glu Gly Val Leu Leu Thr Glu
[2014]	370 375 380
[2015]	Lys Leu Lys Pro Val Asp Tyr Glu Tyr Arg Glu Glu Val His Trp Ala
[2016]	385 390 395 400
[2017]	Thr His Gln Leu Arg Leu Gly Arg Gly Ser Phe Gly Glu Val His Arg
[2018]	405 410 415
[2019]	Met Glu Asp Lys Gln Thr Gly Phe Gln Cys Ala Val Lys Lys Val Arg
[2020]	420 425 430
[2021]	Leu Glu Val Phe Arg Ala Glu Glu Leu Met Ala Cys Ala Gly Leu Thr
[2022]	435 440 445
[2023]	Ser Pro Arg Ile Val Pro Leu Tyr Gly Ala Val Arg Glu Gly Pro Trp
[2024]	450 455 460
[2025]	Val Asn Ile Phe Met Glu Leu Leu Glu Gly Gly Ser Leu Gly Gln Leu
[2026]	465 470 475 480
[2027]	Val Lys Glu Gln Gly Cys Leu Pro Glu Asp Arg Ala Leu Tyr Tyr Leu

[2028]		485		490		495
[2029]	Gly Gln Ala Leu Glu Gly Leu Glu Tyr Leu His Ser Arg Arg Ile Leu					
[2030]		500		505		510
[2031]	His Gly Asp Val Lys Ala Asp Asn Val Leu Leu Ser Ser Asp Gly Ser					
[2032]		515		520		525
[2033]	His Ala Ala Leu Cys Asp Phe Gly His Ala Val Cys Leu Gln Pro Asp					
[2034]		530		535		540
[2035]	Gly Leu Gly Lys Ser Leu Leu Thr Gly Asp Tyr Ile Pro Gly Thr Glu					
[2036]		545		550		555
[2037]	Thr His Met Ala Pro Glu Val Val Leu Gly Arg Ser Cys Asp Ala Lys					
[2038]		565		570		575
[2039]	Val Asp Val Trp Ser Ser Cys Cys Met Met Leu His Met Leu Asn Gly					
[2040]		580		585		590
[2041]	Cys His Pro Trp Thr Gln Phe Phe Arg Gly Pro Leu Cys Leu Lys Ile					
[2042]		595		600		605
[2043]	Ala Ser Glu Pro Pro Pro Val Arg Glu Ile Pro Pro Ser Cys Ala Pro					
[2044]		610		615		620
[2045]	Leu Thr Ala Gln Ala Ile Gln Glu Gly Leu Arg Lys Glu Pro Ile His					
[2046]		625		630		635
[2047]	Arg Val Ser Ala Ala Glu Leu Gly Gly Lys Val Asn Arg Ala Leu Gln					
[2048]		645		650		655
[2049]	Gln Val Gly Gly Leu Lys Ser Pro Trp Arg Gly Glu Tyr Lys Glu Pro					
[2050]		660		665		670
[2051]	Arg His Pro Pro Pro Asn Gln Ala Asn Tyr His Gln Thr Leu His Ala					
[2052]		675		680		685
[2053]	Gln Pro Arg Glu Leu Ser Pro Arg Ala Pro Gly Pro Arg Pro Ala Glu					
[2054]		690		695		700
[2055]	Glu Thr Thr Gly Arg Ala Pro Lys Leu Gln Pro Pro Leu Pro Pro Glu					
[2056]		705		710		715
[2057]	Pro Pro Glu Pro Asn Lys Ser Pro Pro Leu Thr Leu Ser Lys Glu Glu					
[2058]		725		730		735
[2059]	Ser Gly Met Trp Glu Pro Leu Pro Leu Ser Ser Leu Glu Pro Ala Pro					
[2060]		740		745		750
[2061]	Ala Arg Asn Pro Ser Ser Pro Glu Arg Lys Ala Thr Val Pro Glu Gln					
[2062]		755		760		765
[2063]	Glu Leu Gln Gln Leu Glu Ile Glu Leu Phe Leu Asn Ser Leu Ser Gln					
[2064]		770		775		780
[2065]	Pro Phe Ser Leu Glu Glu Gln Glu Gln Ile Leu Ser Cys Leu Ser Ile					
[2066]		785		790		800

[2067]	Asp Ser Leu Ser Leu Ser Asp Asp Ser Glu Lys Asn Pro Ser Lys Ala
[2068]	805 810 815
[2069]	Ser Gln Ser Ser Arg Asp Thr Leu Ser Ser Gly Val His Ser Trp Ser
[2070]	820 825 830
[2071]	Ser Gln Ala Glu Ala Arg Ser Ser Ser Trp Asn Met Val Leu Ala Arg
[2072]	835 840 845
[2073]	Gly Arg Pro Thr Asp Thr Pro Ser Tyr Phe Asn Gly Val Lys Val Gln
[2074]	850 855 860
[2075]	Ile Gln Ser Leu Asn Gly Glu His Leu His Ile Arg Glu Phe His Arg
[2076]	865 870 875 880
[2077]	Val Lys Val Gly Asp Ile Ala Thr Gly Ile Ser Ser Gln Ile Pro Ala
[2078]	885 890 895
[2079]	Ala Ala Phe Ser Leu Val Thr Lys Asp Gly Gln Pro Val Arg Tyr Asp
[2080]	900 905 910
[2081]	Met Glu Val Pro Asp Ser Gly Ile Asp Leu Gln Cys Thr Leu Ala Pro
[2082]	915 920 925
[2083]	Asp Gly Ser Phe Ala Trp Ser Trp Arg Val Lys His Gly Gln Leu Glu
[2084]	930 935 940
[2085]	Asn Arg Pro
[2086]	945
[2087]	<210> 20
[2088]	<211> 599
[2089]	<212> PRT
[2090]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2091]	<400> 20
[2092]	Met Glu Asn Cys Leu Gly Glu Ser Arg His Glu Val Glu Lys Ser Glu
[2093]	1 5 10 15
[2094]	Ile Ser Glu Asn Thr Asp Ala Ser Gly Lys Ile Glu Lys Tyr Asn Val
[2095]	20 25 30
[2096]	Pro Leu Asn Arg Leu Lys Met Met Phe Glu Lys Gly Glu Pro Thr Gln
[2097]	35 40 45
[2098]	Thr Lys Ile Leu Arg Ala Gln Ser Arg Ser Ala Ser Gly Arg Lys Ile
[2099]	50 55 60
[2100]	Ser Glu Asn Ser Tyr Ser Leu Asp Asp Leu Glu Ile Gly Pro Gly Gln
[2101]	65 70 75 80
[2102]	Leu Ser Ser Ser Thr Phe Asp Ser Glu Lys Asn Glu Ser Arg Arg Asn
[2103]	85 90 95
[2104]	Leu Glu Leu Pro Arg Leu Ser Glu Thr Ser Ile Lys Asp Arg Met Ala
[2105]	100 105 110

[2106]	Lys Tyr Gln Ala Ala Val Ser Lys Gln Ser Ser Ser Thr Asn Tyr Thr
[2107]	115 120 125
[2108]	Asn Glu Leu Lys Ala Ser Gly Gly Glu Ile Lys Ile His Lys Met Glu
[2109]	130 135 140
[2110]	Gln Lys Glu Asn Val Pro Pro Gly Pro Glu Val Cys Ile Thr His Gln
[2111]	145 150 155 160
[2112]	Glu Gly Glu Lys Ile Ser Ala Asn Glu Asn Ser Leu Ala Val Arg Ser
[2113]	165 170 175
[2114]	Thr Pro Ala Glu Asp Asp Ser Arg Asp Ser Gln Val Lys Ser Glu Val
[2115]	180 185 190
[2116]	Gln Gln Pro Val His Pro Lys Pro Leu Ser Pro Asp Ser Arg Ala Ser
[2117]	195 200 205
[2118]	Ser Leu Ser Glu Ser Ser Pro Pro Lys Ala Met Lys Lys Phe Gln Ala
[2119]	210 215 220
[2120]	Pro Ala Arg Glu Thr Cys Val Glu Cys Gln Lys Thr Val Tyr Pro Met
[2121]	225 230 235 240
[2122]	Glu Arg Leu Leu Ala Asn Gln Gln Val Phe His Ile Ser Cys Phe Arg
[2123]	245 250 255
[2124]	Cys Ser Tyr Cys Asn Asn Lys Leu Ser Leu Gly Thr Tyr Ala Ser Leu
[2125]	260 265 270
[2126]	His Gly Arg Ile Tyr Cys Lys Pro His Phe Asn Gln Leu Phe Lys Ser
[2127]	275 280 285
[2128]	Lys Gly Asn Tyr Asp Glu Gly Phe Gly His Arg Pro His Lys Asp Leu
[2129]	290 295 300
[2130]	Trp Ala Ser Lys Asn Glu Asn Glu Glu Ile Leu Glu Arg Pro Ala Gln
[2131]	305 310 315 320
[2132]	Leu Ala Asn Ala Arg Glu Thr Pro His Ser Pro Gly Val Glu Asp Ala
[2133]	325 330 335
[2134]	Pro Ile Ala Lys Val Gly Val Leu Ala Ala Ser Met Glu Ala Lys Ala
[2135]	340 345 350
[2136]	Ser Ser Gln Gln Glu Lys Glu Asp Lys Pro Ala Glu Thr Lys Lys Leu
[2137]	355 360 365
[2138]	Arg Ile Ala Trp Pro Pro Pro Thr Glu Leu Gly Ser Ser Gly Ser Ala
[2139]	370 375 380
[2140]	Leu Glu Glu Gly Ile Lys Met Ser Lys Pro Lys Trp Pro Pro Glu Asp
[2141]	385 390 395 400
[2142]	Glu Ile Ser Lys Pro Glu Val Pro Glu Asp Val Asp Leu Asp Leu Lys
[2143]	405 410 415
[2144]	Lys Leu Arg Arg Ser Ser Ser Leu Lys Glu Arg Ser Arg Pro Phe Thr

[2145]		420		425		430													
[2146]	Val	Ala	Ala	Ser	Phe	Gln	Ser	Thr	Ser	Val	Lys	Ser	Pro	Lys	Thr	Val			
[2147]			435					440					445						
[2148]	Ser	Pro	Pro	Ile	Arg	Lys	Gly	Trp	Ser	Met	Ser	Glu	Gln	Ser	Glu	Glu			
[2149]			450					455					460						
[2150]	Ser	Val	Gly	Gly	Arg	Val	Ala	Glu	Arg	Lys	Gln	Val	Glu	Asn	Ala	Lys			
[2151]	465						470					475				480			
[2152]	Ala	Ser	Lys	Lys	Asn	Gly	Asn	Val	Gly	Lys	Thr	Thr	Trp	Gln	Asn	Lys			
[2153]					485						490					495			
[2154]	Glu	Ser	Lys	Gly	Glu	Thr	Gly	Lys	Arg	Ser	Lys	Glu	Gly	His	Ser	Leu			
[2155]					500						505					510			
[2156]	Glu	Met	Glu	Asn	Glu	Asn	Leu	Val	Glu	Asn	Gly	Ala	Asp	Ser	Asp	Glu			
[2157]					515						520					525			
[2158]	Asp	Asp	Asn	Ser	Phe	Leu	Lys	Gln	Gln	Ser	Pro	Gln	Glu	Pro	Lys	Ser			
[2159]					530						535					540			
[2160]	Leu	Asn	Trp	Ser	Ser	Phe	Val	Asp	Asn	Thr	Phe	Ala	Glu	Glu	Phe	Thr			
[2161]	545						550					555				560			
[2162]	Thr	Gln	Asn	Gln	Lys	Ser	Gln	Asp	Val	Glu	Leu	Trp	Glu	Gly	Glu	Val			
[2163]					565							570				575			
[2164]	Val	Lys	Glu	Leu	Ser	Val	Glu	Glu	Gln	Ile	Lys	Arg	Asn	Arg	Tyr	Tyr			
[2165]					580							585				590			
[2166]	Asp	Glu	Asp	Glu	Asp	Glu	Glu												
[2167]					595														
[2168]	<210>	21																	
[2169]	<211>	606																	
[2170]	<212>	PRT																	
[2171]	<213>	智人 (Homo sapiens)																	
[2172]	<400>	21																	
[2173]	Met	Ser	Thr	Ala	Ser	Ala	Ala	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Ala	Gly			
[2174]	1				5						10				15				
[2175]	Glu	Met	Ile	Glu	Ala	Pro	Ser	Gln	Val	Leu	Asn	Phe	Glu	Glu	Ile	Asp			
[2176]					20						25				30				
[2177]	Tyr	Lys	Glu	Ile	Glu	Val	Glu	Glu	Val	Val	Gly	Arg	Gly	Ala	Phe	Gly			
[2178]					35						40				45				
[2179]	Val	Val	Cys	Lys	Ala	Lys	Trp	Arg	Ala	Lys	Asp	Val	Ala	Ile	Lys	Gln			
[2180]					50						55				60				
[2181]	Ile	Glu	Ser	Glu	Ser	Glu	Arg	Lys	Ala	Phe	Ile	Val	Glu	Leu	Arg	Gln			
[2182]	65						70					75			80				
[2183]	Leu	Ser	Arg	Val	Asn	His	Pro	Asn	Ile	Val	Lys	Leu	Tyr	Gly	Ala	Cys			

[2184]		85		90		95										
[2185]	Leu	Asn	Pro	Val	Cys	Leu	Val	Met	Glu	Tyr	Ala	Glu	Gly	Gly	Ser	Leu
[2186]				100					105						110	
[2187]	Tyr	Asn	Val	Leu	His	Gly	Ala	Glu	Pro	Leu	Pro	Tyr	Tyr	Thr	Ala	Ala
[2188]				115					120						125	
[2189]	His	Ala	Met	Ser	Trp	Cys	Leu	Gln	Cys	Ser	Gln	Gly	Val	Ala	Tyr	Leu
[2190]				130					135						140	
[2191]	His	Ser	Met	Gln	Pro	Lys	Ala	Leu	Ile	His	Arg	Asp	Leu	Lys	Pro	Pro
[2192]				145					150						155	
[2193]	Asn	Leu	Leu	Leu	Val	Ala	Gly	Gly	Thr	Val	Leu	Lys	Ile	Cys	Asp	Phe
[2194]									165						170	
[2195]	Gly	Thr	Ala	Cys	Asp	Ile	Gln	Thr	His	Met	Thr	Asn	Asn	Lys	Gly	Ser
[2196]															180	
[2197]	Ala	Ala	Trp	Met	Ala	Pro	Glu	Val	Phe	Glu	Gly	Ser	Asn	Tyr	Ser	Glu
[2198]															195	
[2199]	Lys	Cys	Asp	Val	Phe	Ser	Trp	Gly	Ile	Ile	Leu	Trp	Glu	Val	Ile	Thr
[2200]															210	
[2201]	Arg	Arg	Lys	Pro	Phe	Asp	Glu	Ile	Gly	Gly	Pro	Ala	Phe	Arg	Ile	Met
[2202]															225	
[2203]	Trp	Ala	Val	His	Asn	Gly	Thr	Arg	Pro	Pro	Leu	Ile	Lys	Asn	Leu	Pro
[2204]															245	
[2205]	Lys	Pro	Ile	Glu	Ser	Leu	Met	Thr	Arg	Cys	Trp	Ser	Lys	Asp	Pro	Ser
[2206]															260	
[2207]	Gln	Arg	Pro	Ser	Met	Glu	Glu	Ile	Val	Lys	Ile	Met	Thr	His	Leu	Met
[2208]															275	
[2209]	Arg	Tyr	Phe	Pro	Gly	Ala	Asp	Glu	Pro	Leu	Gln	Tyr	Pro	Cys	Gln	Tyr
[2210]															290	
[2211]	Ser	Asp	Glu	Gly	Gln	Ser	Asn	Ser	Ala	Thr	Ser	Thr	Gly	Ser	Phe	Met
[2212]															305	
[2213]	Asp	Ile	Ala	Ser	Thr	Asn	Thr	Ser	Asn	Lys	Ser	Asp	Thr	Asn	Met	Glu
[2214]															325	
[2215]	Gln	Val	Pro	Ala	Thr	Asn	Asp	Thr	Ile	Lys	Arg	Leu	Glu	Ser	Lys	Leu
[2216]															340	
[2217]	Leu	Lys	Asn	Gln	Ala	Lys	Gln	Gln	Ser	Glu	Ser	Gly	Arg	Leu	Ser	Leu
[2218]															355	
[2219]	Gly	Ala	Ser	Arg	Gly	Ser	Ser	Val	Glu	Ser	Leu	Pro	Pro	Thr	Ser	Glu
[2220]															370	
[2221]	Gly	Lys	Arg	Met	Ser	Ala	Asp	Met	Ser	Glu	Ile	Glu	Ala	Arg	Ile	Ala
[2222]															385	

[2223]	Ala Thr Thr Ala Tyr Ser Lys Pro Lys Arg Gly His Arg Lys Thr Ala
[2224]	405 410 415
[2225]	Ser Phe Gly Asn Ile Leu Asp Val Pro Glu Ile Val Ile Ser Gly Asn
[2226]	420 425 430
[2227]	Gly Gln Pro Arg Arg Arg Ser Ile Gln Asp Leu Thr Val Thr Gly Thr
[2228]	435 440 445
[2229]	Glu Pro Gly Gln Val Ser Ser Arg Ser Ser Ser Pro Ser Val Arg Met
[2230]	450 455 460
[2231]	Ile Thr Thr Ser Gly Pro Thr Ser Glu Lys Pro Thr Arg Ser His Pro
[2232]	465 470 475 480
[2233]	Trp Thr Pro Asp Asp Ser Thr Asp Thr Asn Gly Ser Asp Asn Ser Ile
[2234]	485 490 495
[2235]	Pro Met Ala Tyr Leu Thr Leu Asp His Gln Leu Gln Pro Leu Ala Pro
[2236]	500 505 510
[2237]	Cys Pro Asn Ser Lys Glu Ser Met Ala Val Phe Glu Gln His Cys Lys
[2238]	515 520 525
[2239]	Met Ala Gln Glu Tyr Met Lys Val Gln Thr Glu Ile Ala Leu Leu Leu
[2240]	530 535 540
[2241]	Gln Arg Lys Gln Glu Leu Val Ala Glu Leu Asp Gln Asp Glu Lys Asp
[2242]	545 550 555 560
[2243]	Gln Gln Asn Thr Ser Arg Leu Val Gln Glu His Lys Lys Leu Leu Asp
[2244]	565 570 575
[2245]	Glu Asn Lys Ser Leu Ser Thr Tyr Tyr Gln Gln Cys Lys Lys Gln Leu
[2246]	580 585 590
[2247]	Glu Val Ile Arg Ser Gln Gln Gln Lys Arg Gln Gly Thr Ser
[2248]	595 600 605
[2249]	<210> 22
[2250]	<211> 522
[2251]	<212> PRT
[2252]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2253]	<400> 22
[2254]	Met Ser Leu Leu Asn Cys Glu Asn Ser Cys Gly Ser Ser Gln Ser Glu
[2255]	1 5 10 15
[2256]	Ser Asp Cys Cys Val Ala Met Ala Ser Ser Cys Ser Ala Val Thr Lys
[2257]	20 25 30
[2258]	Asp Asp Ser Val Gly Gly Thr Ala Ser Thr Gly Asn Leu Ser Ser Ser
[2259]	35 40 45
[2260]	Phe Met Glu Glu Ile Gln Gly Tyr Asp Val Glu Phe Asp Pro Pro Leu
[2261]	50 55 60

[2262]	Glu Ser Lys Tyr Glu Cys Pro Ile Cys Leu Met Ala Leu Arg Glu Ala
[2263]	65 70 75 80
[2264]	Val Gln Thr Pro Cys Gly His Arg Phe Cys Lys Ala Cys Ile Ile Lys
[2265]	85 90 95
[2266]	Ser Ile Arg Asp Ala Gly His Lys Cys Pro Val Asp Asn Glu Ile Leu
[2267]	100 105 110
[2268]	Leu Glu Asn Gln Leu Phe Pro Asp Asn Phe Ala Lys Arg Glu Ile Leu
[2269]	115 120 125
[2270]	Ser Leu Met Val Lys Cys Pro Asn Glu Gly Cys Leu His Lys Met Glu
[2271]	130 135 140
[2272]	Leu Arg His Leu Glu Asp His Gln Ala His Cys Glu Phe Ala Leu Met
[2273]	145 150 155 160
[2274]	Asp Cys Pro Gln Cys Gln Arg Pro Phe Gln Lys Phe His Ile Asn Ile
[2275]	165 170 175
[2276]	His Ile Leu Lys Asp Cys Pro Arg Arg Gln Val Ser Cys Asp Asn Cys
[2277]	180 185 190
[2278]	Ala Ala Ser Met Ala Phe Glu Asp Lys Glu Ile His Asp Gln Asn Cys
[2279]	195 200 205
[2280]	Pro Leu Ala Asn Val Ile Cys Glu Tyr Cys Asn Thr Ile Leu Ile Arg
[2281]	210 215 220
[2282]	Glu Gln Met Pro Asn His Tyr Asp Leu Asp Cys Pro Thr Ala Pro Ile
[2283]	225 230 235 240
[2284]	Pro Cys Thr Phe Ser Thr Phe Gly Cys His Glu Lys Met Gln Arg Asn
[2285]	245 250 255
[2286]	His Leu Ala Arg His Leu Gln Glu Asn Thr Gln Ser His Met Arg Met
[2287]	260 265 270
[2288]	Leu Ala Gln Ala Val His Ser Leu Ser Val Ile Pro Asp Ser Gly Tyr
[2289]	275 280 285
[2290]	Ile Ser Glu Val Arg Asn Phe Gln Glu Thr Ile His Gln Leu Glu Gly
[2291]	290 295 300
[2292]	Arg Leu Val Arg Gln Asp His Gln Ile Arg Glu Leu Thr Ala Lys Met
[2293]	305 310 315 320
[2294]	Glu Thr Gln Ser Met Tyr Val Ser Glu Leu Lys Arg Thr Ile Arg Thr
[2295]	325 330 335
[2296]	Leu Glu Asp Lys Val Ala Glu Ile Glu Ala Gln Gln Cys Asn Gly Ile
[2297]	340 345 350
[2298]	Tyr Ile Trp Lys Ile Gly Asn Phe Gly Met His Leu Lys Cys Gln Glu
[2299]	355 360 365
[2300]	Glu Glu Lys Pro Val Val Ile His Ser Pro Gly Phe Tyr Thr Gly Lys

[2301]	370	375	380
[2302]	Pro Gly Tyr Lys Leu Cys Met Arg Leu His Leu Gln Leu Pro Thr Ala		
[2303]	385	390	395
[2304]	Gln Arg Cys Ala Asn Tyr Ile Ser Leu Phe Val His Thr Met Gln Gly		
[2305]	405	410	415
[2306]	Glu Tyr Asp Ser His Leu Pro Trp Pro Phe Gln Gly Thr Ile Arg Leu		
[2307]	420	425	430
[2308]	Thr Ile Leu Asp Gln Ser Glu Ala Pro Val Arg Gln Asn His Glu Glu		
[2309]	435	440	445
[2310]	Ile Met Asp Ala Lys Pro Glu Leu Leu Ala Phe Gln Arg Pro Thr Ile		
[2311]	450	455	460
[2312]	Pro Arg Asn Pro Lys Gly Phe Gly Tyr Val Thr Phe Met His Leu Glu		
[2313]	465	470	475
[2314]	Ala Leu Arg Gln Arg Thr Phe Ile Lys Asp Asp Thr Leu Leu Val Arg		
[2315]	485	490	495
[2316]	Cys Glu Val Ser Thr Arg Phe Asp Met Gly Ser Leu Arg Arg Glu Gly		
[2317]	500	505	510
[2318]	Phe Gln Pro Arg Ser Thr Asp Ala Gly Val		
[2319]	515	520	
[2320]	<210> 23		
[2321]	<211> 504		
[2322]	<212> PRT		
[2323]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[2324]	<400> 23		
[2325]	Met Ala Ala Gln Arg Arg Ser Leu Leu Gln Ser Glu Gln Gln Pro Ser		
[2326]	1	5	10
[2327]	Trp Thr Asp Asp Leu Pro Leu Cys His Leu Ser Gly Val Gly Ser Ala		
[2328]	20	25	30
[2329]	Ser Asn Arg Ser Tyr Ser Ala Asp Gly Lys Gly Thr Glu Ser His Pro		
[2330]	35	40	45
[2331]	Pro Glu Asp Ser Trp Leu Lys Phe Arg Ser Glu Asn Asn Cys Phe Leu		
[2332]	50	55	60
[2333]	Tyr Gly Val Phe Asn Gly Tyr Asp Gly Asn Arg Val Thr Asn Phe Val		
[2334]	65	70	75
[2335]	Ala Gln Arg Leu Ser Ala Glu Leu Leu Leu Gly Gln Leu Asn Ala Glu		
[2336]	85	90	95
[2337]	His Ala Glu Ala Asp Val Arg Arg Val Leu Leu Gln Ala Phe Asp Val		
[2338]	100	105	110
[2339]	Val Glu Arg Ser Phe Leu Glu Ser Ile Asp Asp Ala Leu Ala Glu Lys		

[2340]	115	120	125
[2341]	Ala Ser Leu Gln Ser Gln Leu Pro Glu Gly Val Pro Gln His Gln Leu		
[2342]	130	135	140
[2343]	Pro Pro Gln Tyr Gln Lys Ile Leu Glu Arg Leu Lys Thr Leu Glu Arg		
[2344]	145	150	155
[2345]	Glu Ile Ser Gly Gly Ala Met Ala Val Val Ala Val Leu Leu Asn Asn		
[2346]	165	170	175
[2347]	Lys Leu Tyr Val Ala Asn Val Gly Thr Asn Arg Ala Leu Leu Cys Lys		
[2348]	180	185	190
[2349]	Ser Thr Val Asp Gly Leu Gln Val Thr Gln Leu Asn Val Asp His Thr		
[2350]	195	200	205
[2351]	Thr Glu Asn Glu Asp Glu Leu Phe Arg Leu Ser Gln Leu Gly Leu Asp		
[2352]	210	215	220
[2353]	Ala Gly Lys Ile Lys Gln Val Gly Ile Ile Cys Gly Gln Glu Ser Thr		
[2354]	225	230	235
[2355]	Arg Arg Ile Gly Asp Tyr Lys Val Lys Tyr Gly Tyr Thr Asp Ile Asp		
[2356]	245	250	255
[2357]	Leu Leu Ser Ala Ala Lys Ser Lys Pro Ile Ile Ala Glu Pro Glu Ile		
[2358]	260	265	270
[2359]	His Gly Ala Gln Pro Leu Asp Gly Val Thr Gly Phe Leu Val Leu Met		
[2360]	275	280	285
[2361]	Ser Glu Gly Leu Tyr Lys Ala Leu Glu Ala Ala His Gly Pro Gly Gln		
[2362]	290	295	300
[2363]	Ala Asn Gln Glu Ile Ala Ala Met Ile Asp Thr Glu Phe Ala Lys Gln		
[2364]	305	310	315
[2365]	Thr Ser Leu Asp Ala Val Ala Gln Ala Val Val Asp Arg Val Lys Arg		
[2366]	325	330	335
[2367]	Ile His Ser Asp Thr Phe Ala Ser Gly Gly Glu Arg Ala Arg Phe Cys		
[2368]	340	345	350
[2369]	Pro Arg His Glu Asp Met Thr Leu Leu Val Arg Asn Phe Gly Tyr Pro		
[2370]	355	360	365
[2371]	Leu Gly Glu Met Ser Gln Pro Thr Pro Ser Pro Ala Pro Ala Ala Gly		
[2372]	370	375	380
[2373]	Gly Arg Val Tyr Pro Val Ser Val Pro Tyr Ser Ser Ala Gln Ser Thr		
[2374]	385	390	395
[2375]	Ser Lys Thr Ser Val Thr Leu Ser Leu Val Met Pro Ser Gln Gly Gln		
[2376]	405	410	415
[2377]	Met Val Asn Gly Ala His Ser Ala Ser Thr Leu Asp Glu Ala Thr Pro		
[2378]	420	425	430

[2379]	Thr Leu Thr Asn Gln Ser Pro Thr Leu Thr Leu Gln Ser Thr Asn Thr
[2380]	435 440 445
[2381]	His Thr Gln Ser Ser Ser Ser Ser Ser Asp Gly Gly Leu Phe Arg Ser
[2382]	450 455 460
[2383]	Arg Pro Ala His Ser Leu Pro Pro Gly Glu Asp Gly Arg Val Glu Pro
[2384]	465 470 475 480
[2385]	Tyr Val Asp Phe Ala Glu Phe Tyr Arg Leu Trp Ser Val Asp His Gly
[2386]	485 490 495
[2387]	Glu Gln Ser Val Val Thr Ala Pro
[2388]	500
[2389]	<210> 24
[2390]	<211> 693
[2391]	<212> PRT
[2392]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2393]	<400> 24
[2394]	Met Ala Gln Gly Ser His Gln Ile Asp Phe Gln Val Leu His Asp Leu
[2395]	1 5 10 15
[2396]	Arg Gln Lys Phe Pro Glu Val Pro Glu Val Val Val Ser Arg Cys Met
[2397]	20 25 30
[2398]	Leu Gln Asn Asn Asn Leu Asp Ala Cys Cys Ala Val Leu Ser Gln
[2399]	35 40 45
[2400]	Glu Ser Thr Arg Tyr Leu Tyr Gly Glu Gly Asp Leu Asn Phe Ser Asp
[2401]	50 55 60
[2402]	Asp Ser Gly Ile Ser Gly Leu Arg Asn His Met Thr Ser Leu Asn Leu
[2403]	65 70 75 80
[2404]	Asp Leu Gln Ser Gln Asn Ile Tyr His His Gly Arg Glu Gly Ser Arg
[2405]	85 90 95
[2406]	Met Asn Gly Ser Arg Thr Leu Thr His Ser Ile Ser Asp Gly Gln Leu
[2407]	100 105 110
[2408]	Gln Gly Gly Gln Ser Asn Ser Glu Leu Phe Gln Gln Glu Pro Gln Thr
[2409]	115 120 125
[2410]	Ala Pro Ala Gln Val Pro Gln Gly Phe Asn Val Phe Gly Met Ser Ser
[2411]	130 135 140
[2412]	Ser Ser Gly Ala Ser Asn Ser Ala Pro His Leu Gly Phe His Leu Gly
[2413]	145 150 155 160
[2414]	Ser Lys Gly Thr Ser Ser Leu Ser Gln Gln Thr Pro Arg Phe Asn Pro
[2415]	165 170 175
[2416]	Ile Met Val Thr Leu Ala Pro Asn Ile Gln Thr Gly Arg Asn Thr Pro
[2417]	180 185 190

[2418]	Thr Ser Leu His Ile His Gly Val Pro Pro Pro Val Leu Asn Ser Pro
[2419]	195 200 205
[2420]	Gln Gly Asn Ser Ile Tyr Ile Arg Pro Tyr Ile Thr Thr Pro Gly Gly
[2421]	210 215 220
[2422]	Thr Thr Arg Gln Thr Gln Gln His Ser Gly Trp Val Ser Gln Phe Asn
[2423]	225 230 235 240
[2424]	Pro Met Asn Pro Gln Gln Val Tyr Gln Pro Ser Gln Pro Gly Pro Trp
[2425]	245 250 255
[2426]	Thr Thr Cys Pro Ala Ser Asn Pro Leu Ser His Thr Ser Ser Gln Gln
[2427]	260 265 270
[2428]	Pro Asn Gln Gln Gly His Gln Thr Ser His Val Tyr Met Pro Ile Ser
[2429]	275 280 285
[2430]	Ser Pro Thr Thr Ser Gln Pro Pro Thr Ile His Ser Ser Gly Ser Ser
[2431]	290 295 300
[2432]	Gln Ser Ser Ala His Ser Gln Tyr Asn Ile Gln Asn Ile Ser Thr Gly
[2433]	305 310 315 320
[2434]	Pro Arg Lys Asn Gln Ile Glu Ile Lys Leu Glu Pro Pro Gln Arg Asn
[2435]	325 330 335
[2436]	Asn Ser Ser Lys Leu Arg Ser Ser Gly Pro Arg Thr Ser Ser Thr Ser
[2437]	340 345 350
[2438]	Ser Ser Val Asn Ser Gln Thr Leu Asn Arg Asn Gln Pro Thr Val Tyr
[2439]	355 360 365
[2440]	Ile Ala Ala Ser Pro Pro Asn Thr Asp Glu Leu Met Ser Arg Ser Gln
[2441]	370 375 380
[2442]	Pro Lys Val Tyr Ile Ser Ala Asn Ala Ala Thr Gly Asp Glu Gln Val
[2443]	385 390 395 400
[2444]	Met Arg Asn Gln Pro Thr Leu Phe Ile Ser Thr Asn Ser Gly Ala Ser
[2445]	405 410 415
[2446]	Ala Ala Ser Arg Asn Met Ser Gly Gln Val Ser Met Gly Pro Ala Phe
[2447]	420 425 430
[2448]	Ile His His His Pro Pro Lys Ser Arg Ala Ile Gly Asn Asn Ser Ala
[2449]	435 440 445
[2450]	Thr Ser Pro Arg Val Val Val Thr Gln Pro Asn Thr Lys Tyr Thr Phe
[2451]	450 455 460
[2452]	Lys Ile Thr Val Ser Pro Asn Lys Pro Pro Ala Val Ser Pro Gly Val
[2453]	465 470 475 480
[2454]	Val Ser Pro Thr Phe Glu Leu Thr Asn Leu Leu Asn His Pro Asp His
[2455]	485 490 495
[2456]	Tyr Val Glu Thr Glu Asn Ile Gln His Leu Thr Asp Pro Thr Leu Ala

[2535]	Ser Pro Ile Ser Asn Gln Pro Ser Pro Arg Asn Gln His Ser Leu Tyr
[2536]	385 390 395 400
[2537]	Thr Ala Thr Thr Pro Pro Ser Ser Ser Pro Ser Arg Gly Ile Ser Ser
[2538]	405 410 415
[2539]	Gln Pro Lys Pro Pro Phe Ser Val Asn Pro Val Tyr Ile Thr Tyr Thr
[2540]	420 425 430
[2541]	Gln Pro Thr Gly Pro Ser Cys Thr Pro Ser Pro Ser Pro Arg Val Ile
[2542]	435 440 445
[2543]	Pro Asn Pro Thr Thr Val Phe Lys Ile Thr Val Gly Arg Ala Thr Thr
[2544]	450 455 460
[2545]	Glu Asn Leu Leu Asn Leu Val Asp Gln Glu Glu Arg Ser Ala Ala Pro
[2546]	465 470 475 480
[2547]	Glu Pro Ile Gln Pro Ile Ser Val Ile Pro Gly Ser Gly Gly Glu Lys
[2548]	485 490 495
[2549]	Gly Ser His Lys Tyr Gln Arg Ser Ser Ser Ser Gly Ser Asp Asp Tyr
[2550]	500 505 510
[2551]	Ala Tyr Thr Gln Ala Leu Leu Leu His Gln Arg Ala Arg Met Glu Arg
[2552]	515 520 525
[2553]	Leu Ala Lys Gln Leu Lys Leu Glu Lys Glu Glu Leu Glu Arg Leu Lys
[2554]	530 535 540
[2555]	Ser Glu Val Asn Gly Met Glu His Asp Leu Met Gln Arg Arg Leu Arg
[2556]	545 550 555 560
[2557]	Arg Val Ser Cys Thr Thr Ala Ile Pro Thr Pro Glu Glu Met Thr Arg
[2558]	565 570 575
[2559]	Leu Arg Ser Met Asn Arg Gln Leu Gln Ile Asn Val Asp Cys Thr Leu
[2560]	580 585 590
[2561]	Lys Glu Val Asp Leu Leu Gln Ser Arg Gly Asn Phe Asp Pro Lys Ala
[2562]	595 600 605
[2563]	Met Asn Asn Phe Tyr Asp Asn Ile Glu Pro Gly Pro Val Val Pro Pro
[2564]	610 615 620
[2565]	Lys Pro Ser Lys Lys Asp Ser Ser Asp Pro Cys Thr Ile Glu Arg Lys
[2566]	625 630 635 640
[2567]	Ala Arg Arg Ile Ser Val Thr Ser Lys Val Gln Ala Asp Ile His Asp
[2568]	645 650 655
[2569]	Thr Gln Ala Ala Ala Ala Asp Glu His Arg Thr Gly Ser Thr Gln Ser
[2570]	660 665 670
[2571]	Pro Arg Thr Gln Pro Arg Asp Glu Asp Tyr Glu Gly Ala Pro Trp Asn
[2572]	675 680 685
[2573]	Cys Asp Ser Cys Thr Phe Leu Asn His Pro Ala Leu Asn Arg Cys Glu

[2574]	690	695	700
[2575]	Gln Cys Glu Met Pro Arg Tyr Thr		
[2576]	705	710	
[2577]	<210> 26		
[2578]	<211> 419		
[2579]	<212> PRT		
[2580]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[2581]	<400> 26		
[2582]	Met Ala Ala Ser Ser Leu Glu Gln Lys Leu Ser Arg Leu Glu Ala Lys		
[2583]	1	5	10 15
[2584]	Leu Lys Gln Glu Asn Arg Glu Ala Arg Arg Arg Ile Asp Leu Asn Leu		
[2585]		20	25 30
[2586]	Asp Ile Ser Pro Gln Arg Pro Arg Pro Thr Leu Gln Leu Pro Leu Ala		
[2587]		35	40 45
[2588]	Asn Asp Gly Gly Ser Arg Ser Pro Ser Ser Glu Ser Ser Pro Gln His		
[2589]		50	55 60
[2590]	Pro Thr Pro Pro Ala Arg Pro Arg His Met Leu Gly Leu Pro Ser Thr		
[2591]		65	70 75 80
[2592]	Leu Phe Thr Pro Arg Ser Met Glu Ser Ile Glu Ile Asp Gln Lys Leu		
[2593]		85	90 95
[2594]	Gln Glu Ile Met Lys Gln Thr Gly Tyr Leu Thr Ile Gly Gly Gln Arg		
[2595]		100	105 110
[2596]	Tyr Gln Ala Glu Ile Asn Asp Leu Glu Asn Leu Gly Glu Met Gly Ser		
[2597]		115	120 125
[2598]	Gly Thr Cys Gly Gln Val Trp Lys Met Arg Phe Arg Lys Thr Gly His		
[2599]		130	135 140
[2600]	Val Ile Ala Val Lys Gln Met Arg Arg Ser Gly Asn Lys Glu Glu Asn		
[2601]		145	150 155 160
[2602]	Lys Arg Ile Leu Met Asp Leu Asp Val Val Leu Lys Ser His Asp Cys		
[2603]		165	170 175
[2604]	Pro Tyr Ile Val Gln Cys Phe Gly Thr Phe Ile Thr Asn Thr Asp Val		
[2605]		180	185 190
[2606]	Phe Ile Ala Met Glu Leu Met Gly Thr Cys Ala Glu Lys Leu Lys Lys		
[2607]		195	200 205
[2608]	Arg Met Gln Gly Pro Ile Pro Glu Arg Ile Leu Gly Lys Met Thr Val		
[2609]		210	215 220
[2610]	Ala Ile Val Lys Ala Leu Tyr Tyr Leu Lys Glu Lys His Gly Val Ile		
[2611]		225	230 235 240
[2612]	His Arg Asp Val Lys Pro Ser Asn Ile Leu Leu Asp Glu Arg Gly Gln		

[2613]		245		250		255
[2614]	Ile Lys Leu Cys Asp Phe Gly Ile Ser Gly Arg Leu Val Asp Ser Lys					
[2615]		260		265		270
[2616]	Ala Lys Thr Arg Ser Ala Gly Cys Ala Ala Tyr Met Ala Pro Glu Arg					
[2617]		275		280		285
[2618]	Ile Asp Pro Pro Asp Pro Thr Lys Pro Asp Tyr Asp Ile Arg Ala Asp					
[2619]		290		295		300
[2620]	Val Trp Ser Leu Gly Ile Ser Leu Val Glu Leu Ala Thr Gly Gln Phe					
[2621]		305		310		320
[2622]	Pro Tyr Lys Asn Cys Lys Thr Asp Phe Glu Val Leu Thr Lys Val Leu					
[2623]		325		330		335
[2624]	Gln Glu Glu Pro Pro Leu Leu Pro Gly His Met Gly Phe Ser Gly Asp					
[2625]		340		345		350
[2626]	Phe Gln Ser Phe Val Lys Asp Cys Leu Thr Lys Asp His Arg Lys Arg					
[2627]		355		360		365
[2628]	Pro Lys Tyr Asn Lys Leu Leu Glu His Ser Phe Ile Lys Arg Tyr Glu					
[2629]		370		375		380
[2630]	Thr Leu Glu Val Asp Val Ala Ser Trp Phe Lys Asp Val Met Ala Lys					
[2631]		385		390		400
[2632]	Thr Glu Ser Pro Arg Thr Ser Gly Val Leu Ser Gln Pro His Leu Pro					
[2633]		405		410		415
[2634]	Phe Phe Arg					
[2635]	<210> 27					
[2636]	<211> 745					
[2637]	<212> PRT					
[2638]	<213> 智人(Homo sapiens)					
[2639]	<400> 27					
[2640]	Met Glu Arg Pro Pro Gly Leu Arg Pro Gly Ala Gly Gly Pro Trp Glu					
[2641]		1		5		10
[2642]	Met Arg Glu Arg Leu Gly Thr Gly Gly Phe Gly Asn Val Cys Leu Tyr					
[2643]		20		25		30
[2644]	Gln His Arg Glu Leu Asp Leu Lys Ile Ala Ile Lys Ser Cys Arg Leu					
[2645]		35		40		45
[2646]	Glu Leu Ser Thr Lys Asn Arg Glu Arg Trp Cys His Glu Ile Gln Ile					
[2647]		50		55		60
[2648]	Met Lys Lys Leu Asn His Ala Asn Val Val Lys Ala Cys Asp Val Pro					
[2649]		65		70		75
[2650]	Glu Glu Leu Asn Ile Leu Ile His Asp Val Pro Leu Leu Ala Met Glu					
[2651]		85		90		95

[2652]	Tyr Cys Ser Gly Gly Asp Leu Arg Lys Leu Leu Asn Lys Pro Glu Asn
[2653]	100 105 110
[2654]	Cys Cys Gly Leu Lys Glu Ser Gln Ile Leu Ser Leu Leu Ser Asp Ile
[2655]	115 120 125
[2656]	Gly Ser Gly Ile Arg Tyr Leu His Glu Asn Lys Ile Ile His Arg Asp
[2657]	130 135 140
[2658]	Leu Lys Pro Glu Asn Ile Val Leu Gln Asp Val Gly Gly Lys Ile Ile
[2659]	145 150 155 160
[2660]	His Lys Ile Ile Asp Leu Gly Tyr Ala Lys Asp Val Asp Gln Gly Ser
[2661]	165 170 175
[2662]	Leu Cys Thr Ser Phe Val Gly Thr Leu Gln Tyr Leu Ala Pro Glu Leu
[2663]	180 185 190
[2664]	Phe Glu Asn Lys Pro Tyr Thr Ala Thr Val Asp Tyr Trp Ser Phe Gly
[2665]	195 200 205
[2666]	Thr Met Val Phe Glu Cys Ile Ala Gly Tyr Arg Pro Phe Leu His His
[2667]	210 215 220
[2668]	Leu Gln Pro Phe Thr Trp His Glu Lys Ile Lys Lys Lys Asp Pro Lys
[2669]	225 230 235 240
[2670]	Cys Ile Phe Ala Cys Glu Glu Met Ser Gly Glu Val Arg Phe Ser Ser
[2671]	245 250 255
[2672]	His Leu Pro Gln Pro Asn Ser Leu Cys Ser Leu Val Val Glu Pro Met
[2673]	260 265 270
[2674]	Glu Asn Trp Leu Gln Leu Met Leu Asn Trp Asp Pro Gln Gln Arg Gly
[2675]	275 280 285
[2676]	Gly Pro Val Asp Leu Thr Leu Lys Gln Pro Arg Cys Phe Val Leu Met
[2677]	290 295 300
[2678]	Asp His Ile Leu Asn Leu Lys Ile Val His Ile Leu Asn Met Thr Ser
[2679]	305 310 315 320
[2680]	Ala Lys Ile Ile Ser Phe Leu Leu Pro Pro Asp Glu Ser Leu His Ser
[2681]	325 330 335
[2682]	Leu Gln Ser Arg Ile Glu Arg Glu Thr Gly Ile Asn Thr Gly Ser Gln
[2683]	340 345 350
[2684]	Glu Leu Leu Ser Glu Thr Gly Ile Ser Leu Asp Pro Arg Lys Pro Ala
[2685]	355 360 365
[2686]	Ser Gln Cys Val Leu Asp Gly Val Arg Gly Cys Asp Ser Tyr Met Val
[2687]	370 375 380
[2688]	Tyr Leu Phe Asp Lys Ser Lys Thr Val Tyr Glu Gly Pro Phe Ala Ser
[2689]	385 390 395 400
[2690]	Arg Ser Leu Ser Asp Cys Val Asn Tyr Ile Val Gln Asp Ser Lys Ile

[2691]		405		410		415
[2692]	Gln Leu Pro Ile Ile Gln Leu Arg Lys Val Trp Ala Glu Ala Val His					
[2693]		420		425		430
[2694]	Tyr Val Ser Gly Leu Lys Glu Asp Tyr Ser Arg Leu Phe Gln Gly Gln					
[2695]		435		440		445
[2696]	Arg Ala Ala Met Leu Ser Leu Leu Arg Tyr Asn Ala Asn Leu Thr Lys					
[2697]		450		455		460
[2698]	Met Lys Asn Thr Leu Ile Ser Ala Ser Gln Gln Leu Lys Ala Lys Leu					
[2699]		465		470		480
[2700]	Glu Phe Phe His Lys Ser Ile Gln Leu Asp Leu Glu Arg Tyr Ser Glu					
[2701]		485		490		495
[2702]	Gln Met Thr Tyr Gly Ile Ser Ser Glu Lys Met Leu Lys Ala Trp Lys					
[2703]		500		505		510
[2704]	Glu Met Glu Glu Lys Ala Ile His Tyr Ala Glu Val Gly Val Ile Gly					
[2705]		515		520		525
[2706]	Tyr Leu Glu Asp Gln Ile Met Ser Leu His Ala Glu Ile Met Glu Leu					
[2707]		530		535		540
[2708]	Gln Lys Ser Pro Tyr Gly Arg Arg Gln Gly Asp Leu Met Glu Ser Leu					
[2709]		545		550		560
[2710]	Glu Gln Arg Ala Ile Asp Leu Tyr Lys Gln Leu Lys His Arg Pro Ser					
[2711]		565		570		575
[2712]	Asp His Ser Tyr Ser Asp Ser Thr Glu Met Val Lys Ile Ile Val His					
[2713]		580		585		590
[2714]	Thr Val Gln Ser Gln Asp Arg Val Leu Lys Glu Leu Phe Gly His Leu					
[2715]		595		600		605
[2716]	Ser Lys Leu Leu Gly Cys Lys Gln Lys Ile Ile Asp Leu Leu Pro Lys					
[2717]		610		615		620
[2718]	Val Glu Val Ala Leu Ser Asn Ile Lys Glu Ala Asp Asn Thr Val Met					
[2719]		625		630		640
[2720]	Phe Met Gln Gly Lys Arg Gln Lys Glu Ile Trp His Leu Leu Lys Ile					
[2721]		645		650		655
[2722]	Ala Cys Thr Gln Ser Ser Ala Arg Ser Leu Val Gly Ser Ser Leu Glu					
[2723]		660		665		670
[2724]	Gly Ala Val Thr Pro Gln Thr Ser Ala Trp Leu Pro Pro Thr Ser Ala					
[2725]		675		680		685
[2726]	Glu His Asp His Ser Leu Ser Cys Val Val Thr Pro Gln Asp Gly Glu					
[2727]		690		695		700
[2728]	Thr Ser Ala Gln Met Ile Glu Glu Asn Leu Asn Cys Leu Gly His Leu					
[2729]		705		710		720

[2730]	Ser Thr Ile Ile His Glu Ala Asn Glu Glu Gln Gly Asn Ser Met Met
[2731]	725 730 735
[2732]	Asn Leu Asp Trp Ser Trp Leu Thr Glu
[2733]	740 745
[2734]	<210> 28
[2735]	<211> 756
[2736]	<212> PRT
[2737]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2738]	<400> 28
[2739]	Met Ser Trp Ser Pro Ser Leu Thr Thr Gln Thr Cys Gly Ala Trp Glu
[2740]	1 5 10 15
[2741]	Met Lys Glu Arg Leu Gly Thr Gly Gly Phe Gly Asn Val Ile Arg Trp
[2742]	20 25 30
[2743]	His Asn Gln Glu Thr Gly Glu Gln Ile Ala Ile Lys Gln Cys Arg Gln
[2744]	35 40 45
[2745]	Glu Leu Ser Pro Arg Asn Arg Glu Arg Trp Cys Leu Glu Ile Gln Ile
[2746]	50 55 60
[2747]	Met Arg Arg Leu Thr His Pro Asn Val Val Ala Ala Arg Asp Val Pro
[2748]	65 70 75 80
[2749]	Glu Gly Met Gln Asn Leu Ala Pro Asn Asp Leu Pro Leu Leu Ala Met
[2750]	85 90 95
[2751]	Glu Tyr Cys Gln Gly Gly Asp Leu Arg Lys Tyr Leu Asn Gln Phe Glu
[2752]	100 105 110
[2753]	Asn Cys Cys Gly Leu Arg Glu Gly Ala Ile Leu Thr Leu Leu Ser Asp
[2754]	115 120 125
[2755]	Ile Ala Ser Ala Leu Arg Tyr Leu His Glu Asn Arg Ile Ile His Arg
[2756]	130 135 140
[2757]	Asp Leu Lys Pro Glu Asn Ile Val Leu Gln Gln Gly Glu Gln Arg Leu
[2758]	145 150 155 160
[2759]	Ile His Lys Ile Ile Asp Leu Gly Tyr Ala Lys Glu Leu Asp Gln Gly
[2760]	165 170 175
[2761]	Ser Leu Cys Thr Ser Phe Val Gly Thr Leu Gln Tyr Leu Ala Pro Glu
[2762]	180 185 190
[2763]	Leu Leu Glu Gln Gln Lys Tyr Thr Val Thr Val Asp Tyr Trp Ser Phe
[2764]	195 200 205
[2765]	Gly Thr Leu Ala Phe Glu Cys Ile Thr Gly Phe Arg Pro Phe Leu Pro
[2766]	210 215 220
[2767]	Asn Trp Gln Pro Val Gln Trp His Ser Lys Val Arg Gln Lys Ser Glu
[2768]	225 230 235 240

[2769]	Val Asp Ile Val Val Ser Glu Asp Leu Asn Gly Thr Val Lys Phe Ser
[2770]	245 250 255
[2771]	Ser Ser Leu Pro Tyr Pro Asn Asn Leu Asn Ser Val Leu Ala Glu Arg
[2772]	260 265 270
[2773]	Leu Glu Lys Trp Leu Gln Leu Met Leu Met Trp His Pro Arg Gln Arg
[2774]	275 280 285
[2775]	Gly Thr Asp Pro Thr Tyr Gly Pro Asn Gly Cys Phe Lys Ala Leu Asp
[2776]	290 295 300
[2777]	Asp Ile Leu Asn Leu Lys Leu Val His Ile Leu Asn Met Val Thr Gly
[2778]	305 310 315 320
[2779]	Thr Ile His Thr Tyr Pro Val Thr Glu Asp Glu Ser Leu Gln Ser Leu
[2780]	325 330 335
[2781]	Lys Ala Arg Ile Gln Gln Asp Thr Gly Ile Pro Glu Glu Asp Gln Glu
[2782]	340 345 350
[2783]	Leu Leu Gln Glu Ala Gly Leu Ala Leu Ile Pro Asp Lys Pro Ala Thr
[2784]	355 360 365
[2785]	Gln Cys Ile Ser Asp Gly Lys Leu Asn Glu Gly His Thr Leu Asp Met
[2786]	370 375 380
[2787]	Asp Leu Val Phe Leu Phe Asp Asn Ser Lys Ile Thr Tyr Glu Thr Gln
[2788]	385 390 395 400
[2789]	Ile Ser Pro Arg Pro Gln Pro Glu Ser Val Ser Cys Ile Leu Gln Glu
[2790]	405 410 415
[2791]	Pro Lys Arg Asn Leu Ala Phe Phe Gln Leu Arg Lys Val Trp Gly Gln
[2792]	420 425 430
[2793]	Val Trp His Ser Ile Gln Thr Leu Lys Glu Asp Cys Asn Arg Leu Gln
[2794]	435 440 445
[2795]	Gln Gly Gln Arg Ala Ala Met Met Asn Leu Leu Arg Asn Asn Ser Cys
[2796]	450 455 460
[2797]	Leu Ser Lys Met Lys Asn Ser Met Ala Ser Met Ser Gln Gln Leu Lys
[2798]	465 470 475 480
[2799]	Ala Lys Leu Asp Phe Phe Lys Thr Ser Ile Gln Ile Asp Leu Glu Lys
[2800]	485 490 495
[2801]	Tyr Ser Glu Gln Thr Glu Phe Gly Ile Thr Ser Asp Lys Leu Leu Leu
[2802]	500 505 510
[2803]	Ala Trp Arg Glu Met Glu Gln Ala Val Glu Leu Cys Gly Arg Glu Asn
[2804]	515 520 525
[2805]	Glu Val Lys Leu Leu Val Glu Arg Met Met Ala Leu Gln Thr Asp Ile
[2806]	530 535 540
[2807]	Val Asp Leu Gln Arg Ser Pro Met Gly Arg Lys Gln Gly Gly Thr Leu

[2808]	545	550	555	560
[2809]	Asp Asp Leu Glu Glu Gln Ala Arg Glu Leu Tyr Arg Arg Leu Arg Glu			
[2810]		565	570	575
[2811]	Lys Pro Arg Asp Gln Arg Thr Glu Gly Asp Ser Gln Glu Met Val Arg			
[2812]		580	585	590
[2813]	Leu Leu Leu Gln Ala Ile Gln Ser Phe Glu Lys Lys Val Arg Val Ile			
[2814]		595	600	605
[2815]	Tyr Thr Gln Leu Ser Lys Thr Val Val Cys Lys Gln Lys Ala Leu Glu			
[2816]		610	615	620
[2817]	Leu Leu Pro Lys Val Glu Glu Val Val Ser Leu Met Asn Glu Asp Glu			
[2818]	625	630	635	640
[2819]	Lys Thr Val Val Arg Leu Gln Glu Lys Arg Gln Lys Glu Leu Trp Asn			
[2820]		645	650	655
[2821]	Leu Leu Lys Ile Ala Cys Ser Lys Val Arg Gly Pro Val Ser Gly Ser			
[2822]		660	665	670
[2823]	Pro Asp Ser Met Asn Ala Ser Arg Leu Ser Gln Pro Gly Gln Leu Met			
[2824]		675	680	685
[2825]	Ser Gln Pro Ser Thr Ala Ser Asn Ser Leu Pro Glu Pro Ala Lys Lys			
[2826]		690	695	700
[2827]	Ser Glu Glu Leu Val Ala Glu Ala His Asn Leu Cys Thr Leu Leu Glu			
[2828]	705	710	715	720
[2829]	Asn Ala Ile Gln Asp Thr Val Arg Glu Gln Asp Gln Ser Phe Thr Ala			
[2830]		725	730	735
[2831]	Leu Asp Trp Ser Trp Leu Gln Thr Glu Glu Glu Glu His Ser Cys Leu			
[2832]		740	745	750
[2833]	Glu Gln Ala Ser			
[2834]		755		
[2835]	<210> 29			
[2836]	<211> 419			
[2837]	<212> PRT			
[2838]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[2839]	<400> 29			
[2840]	Met Asn Arg His Leu Trp Lys Ser Gln Leu Cys Glu Met Val Gln Pro			
[2841]	1	5	10	15
[2842]	Ser Gly Gly Pro Ala Ala Asp Gln Asp Val Leu Gly Glu Glu Ser Pro			
[2843]		20	25	30
[2844]	Leu Gly Lys Pro Ala Met Leu His Leu Pro Ser Glu Gln Gly Ala Pro			
[2845]		35	40	45
[2846]	Glu Thr Leu Gln Arg Cys Leu Glu Glu Asn Gln Glu Leu Arg Asp Ala			

[2847]	50	55	60
[2848]	Ile Arg Gln Ser Asn Gln Ile Leu Arg Glu Arg Cys Glu Glu Leu Leu		
[2849]	65	70	75
[2850]	His Phe Gln Ala Ser Gln Arg Glu Glu Lys Glu Phe Leu Met Cys Lys		
[2851]	85	90	95
[2852]	Phe Gln Glu Ala Arg Lys Leu Val Glu Arg Leu Gly Leu Glu Lys Leu		
[2853]	100	105	110
[2854]	Asp Leu Lys Arg Gln Lys Glu Gln Ala Leu Arg Glu Val Glu His Leu		
[2855]	115	120	125
[2856]	Lys Arg Cys Gln Gln Gln Met Ala Glu Asp Lys Ala Ser Val Lys Ala		
[2857]	130	135	140
[2858]	Gln Val Thr Ser Leu Leu Gly Glu Leu Gln Glu Ser Gln Ser Arg Leu		
[2859]	145	150	155
[2860]	Glu Ala Ala Thr Lys Glu Cys Gln Ala Leu Glu Gly Arg Ala Arg Ala		
[2861]	165	170	175
[2862]	Ala Ser Glu Gln Ala Arg Gln Leu Glu Ser Glu Arg Glu Ala Leu Gln		
[2863]	180	185	190
[2864]	Gln Gln His Ser Val Gln Val Asp Gln Leu Arg Met Gln Gly Gln Ser		
[2865]	195	200	205
[2866]	Val Glu Ala Ala Leu Arg Met Glu Arg Gln Ala Ala Ser Glu Glu Lys		
[2867]	210	215	220
[2868]	Arg Lys Leu Ala Gln Leu Gln Val Ala Tyr His Gln Leu Phe Gln Glu		
[2869]	225	230	235
[2870]	Tyr Asp Asn His Ile Lys Ser Ser Val Val Gly Ser Glu Arg Lys Arg		
[2871]	245	250	255
[2872]	Gly Met Gln Leu Glu Asp Leu Lys Gln Gln Leu Gln Gln Ala Glu Glu		
[2873]	260	265	270
[2874]	Ala Leu Val Ala Lys Gln Glu Val Ile Asp Lys Leu Lys Glu Glu Ala		
[2875]	275	280	285
[2876]	Glu Gln His Lys Ile Val Met Glu Thr Val Pro Val Leu Lys Ala Gln		
[2877]	290	295	300
[2878]	Ala Asp Ile Tyr Lys Ala Asp Phe Gln Ala Glu Arg Gln Ala Arg Glu		
[2879]	305	310	315
[2880]	Lys Leu Ala Glu Lys Lys Glu Leu Leu Gln Glu Gln Leu Glu Gln Leu		
[2881]	325	330	335
[2882]	Gln Arg Glu Tyr Ser Lys Leu Lys Ala Ser Cys Gln Glu Ser Ala Arg		
[2883]	340	345	350
[2884]	Ile Glu Asp Met Arg Lys Arg His Val Glu Val Ser Gln Ala Pro Leu		
[2885]	355	360	365

[2886]	Pro Pro Ala Pro Ala Tyr Leu Ser Ser Pro Leu Ala Leu Pro Ser Gln
[2887]	370 375 380
[2888]	Arg Arg Ser Pro Pro Glu Glu Pro Pro Asp Phe Cys Cys Pro Lys Cys
[2889]	385 390 395 400
[2890]	Gln Tyr Gln Ala Pro Asp Met Asp Thr Leu Gln Ile His Val Met Glu
[2891]	405 410 415
[2892]	Cys Ile Glu
[2893]	<210> 30
[2894]	<211> 317
[2895]	<212> PRT
[2896]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2897]	<400> 30
[2898]	Met Phe Gln Ala Ala Glu Arg Pro Gln Glu Trp Ala Met Glu Gly Pro
[2899]	1 5 10 15
[2900]	Arg Asp Gly Leu Lys Lys Glu Arg Leu Leu Asp Asp Arg His Asp Ser
[2901]	20 25 30
[2902]	Gly Leu Asp Ser Met Lys Asp Glu Glu Tyr Glu Gln Met Val Lys Glu
[2903]	35 40 45
[2904]	Leu Gln Glu Ile Arg Leu Glu Pro Gln Glu Val Pro Arg Gly Ser Glu
[2905]	50 55 60
[2906]	Pro Trp Lys Gln Gln Leu Thr Glu Asp Gly Asp Ser Phe Leu His Leu
[2907]	65 70 75 80
[2908]	Ala Ile Ile His Glu Glu Lys Ala Leu Thr Met Glu Val Ile Arg Gln
[2909]	85 90 95
[2910]	Val Lys Gly Asp Leu Ala Phe Leu Asn Phe Gln Asn Asn Leu Gln Gln
[2911]	100 105 110
[2912]	Thr Pro Leu His Leu Ala Val Ile Thr Asn Gln Pro Glu Ile Ala Glu
[2913]	115 120 125
[2914]	Ala Leu Leu Gly Ala Gly Cys Asp Pro Glu Leu Arg Asp Phe Arg Gly
[2915]	130 135 140
[2916]	Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Cys Glu Gln Gly Cys Leu Ala Ser Val
[2917]	145 150 155 160
[2918]	Gly Val Leu Thr Gln Ser Cys Thr Thr Pro His Leu His Ser Ile Leu
[2919]	165 170 175
[2920]	Lys Ala Thr Asn Tyr Asn Gly His Thr Cys Leu His Leu Ala Ser Ile
[2921]	180 185 190
[2922]	His Gly Tyr Leu Gly Ile Val Glu Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Asp
[2923]	195 200 205
[2924]	Val Asn Ala Gln Glu Pro Cys Asn Gly Arg Thr Ala Leu His Leu Ala

[2925]	210	215	220
[2926]	Val Asp Leu Gln Asn Pro Asp Leu Val Ser Leu Leu Leu Lys Cys Gly		
[2927]	225	230	235
[2928]	Ala Asp Val Asn Arg Val Thr Tyr Gln Gly Tyr Ser Pro Tyr Gln Leu		
[2929]	245	250	255
[2930]	Thr Trp Gly Arg Pro Ser Thr Arg Ile Gln Gln Gln Leu Gly Gln Leu		
[2931]	260	265	270
[2932]	Thr Leu Glu Asn Leu Gln Met Leu Pro Glu Ser Glu Asp Glu Glu Ser		
[2933]	275	280	285
[2934]	Tyr Asp Thr Glu Ser Glu Phe Thr Glu Phe Thr Glu Asp Glu Leu Pro		
[2935]	290	295	300
[2936]	Tyr Asp Asp Cys Val Phe Gly Gly Gln Arg Leu Thr Leu		
[2937]	305	310	315
[2938]	<210> 31		
[2939]	<211> 968		
[2940]	<212> PRT		
[2941]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[2942]	<400> 31		
[2943]	Met Ala Glu Asp Asp Pro Tyr Leu Gly Arg Pro Glu Gln Met Phe His		
[2944]	1	5	10
[2945]	Leu Asp Pro Ser Leu Thr His Thr Ile Phe Asn Pro Glu Val Phe Gln		
[2946]	20	25	30
[2947]	Pro Gln Met Ala Leu Pro Thr Asp Gly Pro Tyr Leu Gln Ile Leu Glu		
[2948]	35	40	45
[2949]	Gln Pro Lys Gln Arg Gly Phe Arg Phe Arg Tyr Val Cys Glu Gly Pro		
[2950]	50	55	60
[2951]	Ser His Gly Gly Leu Pro Gly Ala Ser Ser Glu Lys Asn Lys Lys Ser		
[2952]	65	70	75
[2953]	Tyr Pro Gln Val Lys Ile Cys Asn Tyr Val Gly Pro Ala Lys Val Ile		
[2954]	85	90	95
[2955]	Val Gln Leu Val Thr Asn Gly Lys Asn Ile His Leu His Ala His Ser		
[2956]	100	105	110
[2957]	Leu Val Gly Lys His Cys Glu Asp Gly Ile Cys Thr Val Thr Ala Gly		
[2958]	115	120	125
[2959]	Pro Lys Asp Met Val Val Gly Phe Ala Asn Leu Gly Ile Leu His Val		
[2960]	130	135	140
[2961]	Thr Lys Lys Lys Val Phe Glu Thr Leu Glu Ala Arg Met Thr Glu Ala		
[2962]	145	150	155
[2963]	Cys Ile Arg Gly Tyr Asn Pro Gly Leu Leu Val His Pro Asp Leu Ala		

[2964]		165		170		175
[2965]	Tyr Leu Gln Ala Glu Gly Gly Gly Asp Arg Gln Leu Gly Asp Arg Glu					
[2966]		180		185		190
[2967]	Lys Glu Leu Ile Arg Gln Ala Ala Leu Gln Gln Thr Lys Glu Met Asp					
[2968]		195		200		205
[2969]	Leu Ser Val Val Arg Leu Met Phe Thr Ala Phe Leu Pro Asp Ser Thr					
[2970]		210		215		220
[2971]	Gly Ser Phe Thr Arg Arg Leu Glu Pro Val Val Ser Asp Ala Ile Tyr					
[2972]		225		230		235
[2973]	Asp Ser Lys Ala Pro Asn Ala Ser Asn Leu Lys Ile Val Arg Met Asp					
[2974]		245		250		255
[2975]	Arg Thr Ala Gly Cys Val Thr Gly Gly Glu Glu Ile Tyr Leu Leu Cys					
[2976]		260		265		270
[2977]	Asp Lys Val Gln Lys Asp Asp Ile Gln Ile Arg Phe Tyr Glu Glu Glu					
[2978]		275		280		285
[2979]	Glu Asn Gly Gly Val Trp Glu Gly Phe Gly Asp Phe Ser Pro Thr Asp					
[2980]		290		295		300
[2981]	Val His Arg Gln Phe Ala Ile Val Phe Lys Thr Pro Lys Tyr Lys Asp					
[2982]		305		310		315
[2983]	Ile Asn Ile Thr Lys Pro Ala Ser Val Phe Val Gln Leu Arg Arg Lys					
[2984]		325		330		335
[2985]	Ser Asp Leu Glu Thr Ser Glu Pro Lys Pro Phe Leu Tyr Tyr Pro Glu					
[2986]		340		345		350
[2987]	Ile Lys Asp Lys Glu Glu Val Gln Arg Lys Arg Gln Lys Leu Met Pro					
[2988]		355		360		365
[2989]	Asn Phe Ser Asp Ser Phe Gly Gly Gly Ser Gly Ala Gly Ala Gly Gly					
[2990]		370		375		380
[2991]	Gly Gly Met Phe Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Thr					
[2992]		385		390		395
[2993]	Gly Pro Gly Tyr Ser Phe Pro His Tyr Gly Phe Pro Thr Tyr Gly Gly					
[2994]		405		410		415
[2995]	Ile Thr Phe His Pro Gly Thr Thr Lys Ser Asn Ala Gly Met Lys His					
[2996]		420		425		430
[2997]	Gly Thr Met Asp Thr Glu Ser Lys Lys Asp Pro Glu Gly Cys Asp Lys					
[2998]		435		440		445
[2999]	Ser Asp Asp Lys Asn Thr Val Asn Leu Phe Gly Lys Val Ile Glu Thr					
[3000]		450		455		460
[3001]	Thr Glu Gln Asp Gln Glu Pro Ser Glu Ala Thr Val Gly Asn Gly Glu					
[3002]		465		470		475
						480

[3003]	Val Thr Leu Thr Tyr Ala Thr Gly Thr Lys Glu Glu Ser Ala Gly Val
[3004]	485 490 495
[3005]	Gln Asp Asn Leu Phe Leu Glu Lys Ala Met Gln Leu Ala Lys Arg His
[3006]	500 505 510
[3007]	Ala Asn Ala Leu Phe Asp Tyr Ala Val Thr Gly Asp Val Lys Met Leu
[3008]	515 520 525
[3009]	Leu Ala Val Gln Arg His Leu Thr Ala Val Gln Asp Glu Asn Gly Asp
[3010]	530 535 540
[3011]	Ser Val Leu His Leu Ala Ile Ile His Leu His Ser Gln Leu Val Arg
[3012]	545 550 555 560
[3013]	Asp Leu Leu Glu Val Thr Ser Gly Leu Ile Ser Asp Asp Ile Ile Asn
[3014]	565 570 575
[3015]	Met Arg Asn Asp Leu Tyr Gln Thr Pro Leu His Leu Ala Val Ile Thr
[3016]	580 585 590
[3017]	Lys Gln Glu Asp Val Val Glu Asp Leu Leu Arg Ala Gly Ala Asp Leu
[3018]	595 600 605
[3019]	Ser Leu Leu Asp Arg Leu Gly Asn Ser Val Leu His Leu Ala Ala Lys
[3020]	610 615 620
[3021]	Glu Gly His Asp Lys Val Leu Ser Ile Leu Leu Lys His Lys Lys Ala
[3022]	625 630 635 640
[3023]	Ala Leu Leu Leu Asp His Pro Asn Gly Asp Gly Leu Asn Ala Ile His
[3024]	645 650 655
[3025]	Leu Ala Met Met Ser Asn Ser Leu Pro Cys Leu Leu Leu Leu Val Ala
[3026]	660 665 670
[3027]	Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Glu Gln Lys Ser Gly Arg Thr Ala
[3028]	675 680 685
[3029]	Leu His Leu Ala Val Glu His Asp Asn Ile Ser Leu Ala Gly Cys Leu
[3030]	690 695 700
[3031]	Leu Leu Glu Gly Asp Ala His Val Asp Ser Thr Thr Tyr Asp Gly Thr
[3032]	705 710 715 720
[3033]	Thr Pro Leu His Ile Ala Ala Gly Arg Gly Ser Thr Arg Leu Ala Ala
[3034]	725 730 735
[3035]	Leu Leu Lys Ala Ala Gly Ala Asp Pro Leu Val Glu Asn Phe Glu Pro
[3036]	740 745 750
[3037]	Leu Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Trp Glu Asn Ala Gly Glu Asp Glu Gly
[3038]	755 760 765
[3039]	Val Val Pro Gly Thr Thr Pro Leu Asp Met Ala Thr Ser Trp Gln Val
[3040]	770 775 780
[3041]	Phe Asp Ile Leu Asn Gly Lys Pro Tyr Glu Pro Glu Phe Thr Ser Asp

[3042]	785	790	795	800
[3043]	Asp Leu Leu Ala Gln Gly Asp Met Lys Gln Leu Ala Glu Asp Val Lys			
[3044]		805	810	815
[3045]	Leu Gln Leu Tyr Lys Leu Leu Glu Ile Pro Asp Pro Asp Lys Asn Trp			
[3046]		820	825	830
[3047]	Ala Thr Leu Ala Gln Lys Leu Gly Leu Gly Ile Leu Asn Asn Ala Phe			
[3048]		835	840	845
[3049]	Arg Leu Ser Pro Ala Pro Ser Lys Thr Leu Met Asp Asn Tyr Glu Val			
[3050]		850	855	860
[3051]	Ser Gly Gly Thr Val Arg Glu Leu Val Glu Ala Leu Arg Gln Met Gly			
[3052]		865	870	880
[3053]	Tyr Thr Glu Ala Ile Glu Val Ile Gln Ala Ala Ser Ser Pro Val Lys			
[3054]		885	890	895
[3055]	Thr Thr Ser Gln Ala His Ser Leu Pro Leu Ser Pro Ala Ser Thr Arg			
[3056]		900	905	910
[3057]	Gln Gln Ile Asp Glu Leu Arg Asp Ser Asp Ser Val Cys Asp Ser Gly			
[3058]		915	920	925
[3059]	Val Glu Thr Ser Phe Arg Lys Leu Ser Phe Thr Glu Ser Leu Thr Ser			
[3060]		930	935	940
[3061]	Gly Ala Ser Leu Leu Thr Leu Asn Lys Met Pro His Asp Tyr Gly Gln			
[3062]		945	950	955
[3063]	Glu Gly Pro Leu Glu Gly Lys Ile			
[3064]		965		
[3065]	<210> 32			
[3066]	<211> 551			
[3067]	<212> PRT			
[3068]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[3069]	<400> 32			
[3070]	Met Asp Glu Leu Phe Pro Leu Ile Phe Pro Ala Glu Pro Ala Gln Ala			
[3071]	1	5	10	15
[3072]	Ser Gly Pro Tyr Val Glu Ile Ile Glu Gln Pro Lys Gln Arg Gly Met			
[3073]		20	25	30
[3074]	Arg Phe Arg Tyr Lys Cys Glu Gly Arg Ser Ala Gly Ser Ile Pro Gly			
[3075]		35	40	45
[3076]	Glu Arg Ser Thr Asp Thr Thr Lys Thr His Pro Thr Ile Lys Ile Asn			
[3077]		50	55	60
[3078]	Gly Tyr Thr Gly Pro Gly Thr Val Arg Ile Ser Leu Val Thr Lys Asp			
[3079]		65	70	75
[3080]	Pro Pro His Arg Pro His Pro His Glu Leu Val Gly Lys Asp Cys Arg			

[3081]		85		90		95
[3082]	Asp Gly Phe Tyr Glu Ala Glu Leu Cys Pro Asp Arg Cys Ile His Ser					
[3083]		100		105		110
[3084]	Phe Gln Asn Leu Gly Ile Gln Cys Val Lys Lys Arg Asp Leu Glu Gln					
[3085]		115		120		125
[3086]	Ala Ile Ser Gln Arg Ile Gln Thr Asn Asn Asn Pro Phe Gln Val Pro					
[3087]		130		135		140
[3088]	Ile Glu Glu Gln Arg Gly Asp Tyr Asp Leu Asn Ala Val Arg Leu Cys					
[3089]		145		150		155
[3090]	Phe Gln Val Thr Val Arg Asp Pro Ser Gly Arg Pro Leu Arg Leu Pro					
[3091]		165		170		175
[3092]	Pro Val Leu Ser His Pro Ile Phe Asp Asn Arg Ala Pro Asn Thr Ala					
[3093]		180		185		190
[3094]	Glu Leu Lys Ile Cys Arg Val Asn Arg Asn Ser Gly Ser Cys Leu Gly					
[3095]		195		200		205
[3096]	Gly Asp Glu Ile Phe Leu Leu Cys Asp Lys Val Gln Lys Glu Asp Ile					
[3097]		210		215		220
[3098]	Glu Val Tyr Phe Thr Gly Pro Gly Trp Glu Ala Arg Gly Ser Phe Ser					
[3099]		225		230		235
[3100]	Gln Ala Asp Val His Arg Gln Val Ala Ile Val Phe Arg Thr Pro Pro					
[3101]		245		250		255
[3102]	Tyr Ala Asp Pro Ser Leu Gln Ala Pro Val Arg Val Ser Met Gln Leu					
[3103]		260		265		270
[3104]	Arg Arg Pro Ser Asp Arg Glu Leu Ser Glu Pro Met Glu Phe Gln Tyr					
[3105]		275		280		285
[3106]	Leu Pro Asp Thr Asp Asp Arg His Arg Ile Glu Glu Lys Arg Lys Arg					
[3107]		290		295		300
[3108]	Thr Tyr Glu Thr Phe Lys Ser Ile Met Lys Lys Ser Pro Phe Ser Gly					
[3109]		305		310		315
[3110]	Pro Thr Asp Pro Arg Pro Pro Pro Arg Arg Ile Ala Val Pro Ser Arg					
[3111]		325		330		335
[3112]	Ser Ser Ala Ser Val Pro Lys Pro Ala Pro Gln Pro Tyr Pro Phe Thr					
[3113]		340		345		350
[3114]	Ser Ser Leu Ser Thr Ile Asn Tyr Asp Glu Phe Pro Thr Met Val Phe					
[3115]		355		360		365
[3116]	Pro Ser Gly Gln Ile Ser Gln Ala Ser Ala Leu Ala Pro Ala Pro Pro					
[3117]		370		375		380
[3118]	Gln Val Leu Pro Gln Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Met Val					
[3119]		385		390		400

[3120]	Ser Ala Leu Ala Gln Ala Pro Ala Pro Val Pro Val Leu Ala Pro Gly
[3121]	405 410 415
[3122]	Pro Pro Gln Ala Val Ala Pro Pro Ala Pro Lys Pro Thr Gln Ala Gly
[3123]	420 425 430
[3124]	Glu Gly Thr Leu Ser Glu Ala Leu Leu Gln Leu Gln Phe Asp Asp Glu
[3125]	435 440 445
[3126]	Asp Leu Gly Ala Leu Leu Gly Asn Ser Thr Asp Pro Ala Val Phe Thr
[3127]	450 455 460
[3128]	Asp Leu Ala Ser Val Asp Asn Ser Glu Phe Gln Gln Leu Leu Asn Gln
[3129]	465 470 475 480
[3130]	Gly Ile Pro Val Ala Pro His Thr Thr Glu Pro Met Leu Met Glu Tyr
[3131]	485 490 495
[3132]	Pro Glu Ala Ile Thr Arg Leu Val Thr Gly Ala Gln Arg Pro Pro Asp
[3133]	500 505 510
[3134]	Pro Ala Pro Ala Pro Leu Gly Ala Pro Gly Leu Pro Asn Gly Leu Leu
[3135]	515 520 525
[3136]	Ser Gly Asp Glu Asp Phe Ser Ser Ile Ala Asp Met Asp Phe Ser Ala
[3137]	530 535 540
[3138]	Leu Leu Ser Gln Ile Ser Ser
[3139]	545 550
[3140]	<210> 33
[3141]	<211> 619
[3142]	<212> PRT
[3143]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3144]	<400> 33
[3145]	Met Ala Ser Gly Ala Tyr Asn Pro Tyr Ile Glu Ile Ile Glu Gln Pro
[3146]	1 5 10 15
[3147]	Arg Gln Arg Gly Met Arg Phe Arg Tyr Lys Cys Glu Gly Arg Ser Ala
[3148]	20 25 30
[3149]	Gly Ser Ile Pro Gly Glu His Ser Thr Asp Asn Asn Arg Thr Tyr Pro
[3150]	35 40 45
[3151]	Ser Ile Gln Ile Met Asn Tyr Tyr Gly Lys Gly Lys Val Arg Ile Thr
[3152]	50 55 60
[3153]	Leu Val Thr Lys Asn Asp Pro Tyr Lys Pro His Pro His Asp Leu Val
[3154]	65 70 75 80
[3155]	Gly Lys Asp Cys Arg Asp Gly Tyr Tyr Glu Ala Glu Phe Gly Gln Glu
[3156]	85 90 95
[3157]	Arg Arg Pro Leu Phe Phe Gln Asn Leu Gly Ile Arg Cys Val Lys Lys
[3158]	100 105 110

[3159]	Lys Glu Val Lys Glu Ala Ile Ile Thr Arg Ile Lys Ala Gly Ile Asn
[3160]	115 120 125
[3161]	Pro Phe Asn Val Pro Glu Lys Gln Leu Asn Asp Ile Glu Asp Cys Asp
[3162]	130 135 140
[3163]	Leu Asn Val Val Arg Leu Cys Phe Gln Val Phe Leu Pro Asp Glu His
[3164]	145 150 155 160
[3165]	Gly Asn Leu Thr Thr Ala Leu Pro Pro Val Val Ser Asn Pro Ile Tyr
[3166]	165 170 175
[3167]	Asp Asn Arg Ala Pro Asn Thr Ala Glu Leu Arg Ile Cys Arg Val Asn
[3168]	180 185 190
[3169]	Lys Asn Cys Gly Ser Val Arg Gly Gly Asp Glu Ile Phe Leu Leu Cys
[3170]	195 200 205
[3171]	Asp Lys Val Gln Lys Asp Asp Ile Glu Val Arg Phe Val Leu Asn Asp
[3172]	210 215 220
[3173]	Trp Glu Ala Lys Gly Ile Phe Ser Gln Ala Asp Val His Arg Gln Val
[3174]	225 230 235 240
[3175]	Ala Ile Val Phe Lys Thr Pro Pro Tyr Cys Lys Ala Ile Thr Glu Pro
[3176]	245 250 255
[3177]	Val Thr Val Lys Met Gln Leu Arg Arg Pro Ser Asp Gln Glu Val Ser
[3178]	260 265 270
[3179]	Glu Ser Met Asp Phe Arg Tyr Leu Pro Asp Glu Lys Asp Thr Tyr Gly
[3180]	275 280 285
[3181]	Asn Lys Ala Lys Lys Gln Lys Thr Thr Leu Leu Phe Gln Lys Leu Cys
[3182]	290 295 300
[3183]	Gln Asp His Val Glu Thr Gly Phe Arg His Val Asp Gln Asp Gly Leu
[3184]	305 310 315 320
[3185]	Glu Leu Leu Thr Ser Gly Asp Pro Pro Thr Leu Ala Ser Gln Ser Ala
[3186]	325 330 335
[3187]	Gly Ile Thr Val Asn Phe Pro Glu Arg Pro Arg Pro Gly Leu Leu Gly
[3188]	340 345 350
[3189]	Ser Ile Gly Glu Gly Arg Tyr Phe Lys Lys Glu Pro Asn Leu Phe Ser
[3190]	355 360 365
[3191]	His Asp Ala Val Val Arg Glu Met Pro Thr Gly Val Ser Ser Gln Ala
[3192]	370 375 380
[3193]	Glu Ser Tyr Tyr Pro Ser Pro Gly Pro Ile Ser Ser Gly Leu Ser His
[3194]	385 390 395 400
[3195]	His Ala Ser Met Ala Pro Leu Pro Ser Ser Ser Trp Ser Ser Val Ala
[3196]	405 410 415
[3197]	His Pro Thr Pro Arg Ser Gly Asn Thr Asn Pro Leu Ser Ser Phe Ser

[3237]	65	70	75	80
[3238]	Asn His Lys Asn Ile Ile Gly Leu Leu Asn Val Phe Thr Pro Gln Lys			
[3239]		85	90	95
[3240]	Ser Leu Glu Glu Phe Gln Asp Val Tyr Ile Val Met Glu Leu Met Asp			
[3241]		100	105	110
[3242]	Ala Asn Leu Cys Gln Val Ile Gln Met Glu Leu Asp His Glu Arg Met			
[3243]		115	120	125
[3244]	Ser Tyr Leu Leu Tyr Gln Met Leu Cys Gly Ile Lys His Leu His Ser			
[3245]		130	135	140
[3246]	Ala Gly Ile Ile His Arg Asp Leu Lys Pro Ser Asn Ile Val Val Lys			
[3247]		145	150	160
[3248]	Ser Asp Cys Thr Leu Lys Ile Leu Asp Phe Gly Leu Ala Arg Thr Ala			
[3249]		165	170	175
[3250]	Gly Thr Ser Phe Met Met Thr Pro Tyr Val Val Thr Arg Tyr Tyr Arg			
[3251]		180	185	190
[3252]	Ala Pro Glu Val Ile Leu Gly Met Gly Tyr Lys Glu Asn Val Asp Leu			
[3253]		195	200	205
[3254]	Trp Ser Val Gly Cys Ile Met Gly Glu Met Val Cys His Lys Ile Leu			
[3255]		210	215	220
[3256]	Phe Pro Gly Arg Asp Tyr Ile Asp Gln Trp Asn Lys Val Ile Glu Gln			
[3257]		225	230	240
[3258]	Leu Gly Thr Pro Cys Pro Glu Phe Met Lys Lys Leu Gln Pro Thr Val			
[3259]		245	250	255
[3260]	Arg Thr Tyr Val Glu Asn Arg Pro Lys Tyr Ala Gly Tyr Ser Phe Glu			
[3261]		260	265	270
[3262]	Lys Leu Phe Pro Asp Val Leu Phe Pro Ala Asp Ser Glu His Asn Lys			
[3263]		275	280	285
[3264]	Leu Lys Ala Ser Gln Ala Arg Asp Leu Leu Ser Lys Met Leu Val Ile			
[3265]		290	295	300
[3266]	Asp Ala Ser Lys Arg Ile Ser Val Asp Glu Ala Leu Gln His Pro Tyr			
[3267]		305	310	320
[3268]	Ile Asn Val Trp Tyr Asp Pro Ser Glu Ala Glu Ala Pro Pro Pro Lys			
[3269]		325	330	335
[3270]	Ile Pro Asp Lys Gln Leu Asp Glu Arg Glu His Thr Ile Glu Glu Trp			
[3271]		340	345	350
[3272]	Lys Glu Leu Ile Tyr Lys Glu Val Met Asp Leu Glu Glu Arg Thr Lys			
[3273]		355	360	365
[3274]	Asn Gly Val Ile Arg Gly Gln Pro Ser Pro Leu Gly Ala Ala Val Ile			
[3275]		370	375	380

[3276]	Asn Gly Ser Gln His Pro Ser Ser Ser Ser Ser Val Asn Asp Val Ser
[3277]	385 390 395 400
[3278]	Ser Met Ser Thr Asp Pro Thr Leu Ala Ser Asp Thr Asp Ser Ser Leu
[3279]	405 410 415
[3280]	Glu Ala Ala Ala Gly Pro Leu Gly Cys Cys Arg
[3281]	420 425
[3282]	<210> 35
[3283]	<211> 424
[3284]	<212> PRT
[3285]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3286]	<400> 35
[3287]	Met Ser Asp Ser Lys Cys Asp Ser Gln Phe Tyr Ser Val Gln Val Ala
[3288]	1 5 10 15
[3289]	Asp Ser Thr Phe Thr Val Leu Lys Arg Tyr Gln Gln Leu Lys Pro Ile
[3290]	20 25 30
[3291]	Gly Ser Gly Ala Gln Gly Ile Val Cys Ala Ala Phe Asp Thr Val Leu
[3292]	35 40 45
[3293]	Gly Ile Asn Val Ala Val Lys Lys Leu Ser Arg Pro Phe Gln Asn Gln
[3294]	50 55 60
[3295]	Thr His Ala Lys Arg Ala Tyr Arg Glu Leu Val Leu Leu Lys Cys Val
[3296]	65 70 75 80
[3297]	Asn His Lys Asn Ile Ile Ser Leu Leu Asn Val Phe Thr Pro Gln Lys
[3298]	85 90 95
[3299]	Thr Leu Glu Glu Phe Gln Asp Val Tyr Leu Val Met Glu Leu Met Asp
[3300]	100 105 110
[3301]	Ala Asn Leu Cys Gln Val Ile His Met Glu Leu Asp His Glu Arg Met
[3302]	115 120 125
[3303]	Ser Tyr Leu Leu Tyr Gln Met Leu Cys Gly Ile Lys His Leu His Ser
[3304]	130 135 140
[3305]	Ala Gly Ile Ile His Arg Asp Leu Lys Pro Ser Asn Ile Val Val Lys
[3306]	145 150 155 160
[3307]	Ser Asp Cys Thr Leu Lys Ile Leu Asp Phe Gly Leu Ala Arg Thr Ala
[3308]	165 170 175
[3309]	Cys Thr Asn Phe Met Met Thr Pro Tyr Val Val Thr Arg Tyr Tyr Arg
[3310]	180 185 190
[3311]	Ala Pro Glu Val Ile Leu Gly Met Gly Tyr Lys Glu Asn Val Asp Ile
[3312]	195 200 205
[3313]	Trp Ser Val Gly Cys Ile Met Gly Glu Leu Val Lys Gly Cys Val Ile
[3314]	210 215 220

[3315]	Phe Gln Gly Thr Asp His Ile Asp Gln Trp Asn Lys Val Ile Glu Gln
[3316]	225 230 235 240
[3317]	Leu Gly Thr Pro Ser Ala Glu Phe Met Lys Lys Leu Gln Pro Thr Val
[3318]	245 250 255
[3319]	Arg Asn Tyr Val Glu Asn Arg Pro Lys Tyr Pro Gly Ile Lys Phe Glu
[3320]	260 265 270
[3321]	Glu Leu Phe Pro Asp Trp Ile Phe Pro Ser Glu Ser Glu Arg Asp Lys
[3322]	275 280 285
[3323]	Ile Lys Thr Ser Gln Ala Arg Asp Leu Leu Ser Lys Met Leu Val Ile
[3324]	290 295 300
[3325]	Asp Pro Asp Lys Arg Ile Ser Val Asp Glu Ala Leu Arg His Pro Tyr
[3326]	305 310 315 320
[3327]	Ile Thr Val Trp Tyr Asp Pro Ala Glu Ala Glu Ala Pro Pro Pro Gln
[3328]	325 330 335
[3329]	Ile Tyr Asp Ala Gln Leu Glu Glu Arg Glu His Ala Ile Glu Glu Trp
[3330]	340 345 350
[3331]	Lys Glu Leu Ile Tyr Lys Glu Val Met Asp Trp Glu Glu Arg Ser Lys
[3332]	355 360 365
[3333]	Asn Gly Val Val Lys Asp Gln Pro Ser Asp Ala Ala Val Ser Ser Asn
[3334]	370 375 380
[3335]	Ala Thr Pro Ser Gln Ser Ser Ser Ile Asn Asp Ile Ser Ser Met Ser
[3336]	385 390 395 400
[3337]	Thr Glu Gln Thr Leu Ala Ser Asp Thr Asp Ser Ser Leu Asp Ala Ser
[3338]	405 410 415
[3339]	Thr Gly Pro Leu Glu Gly Cys Arg
[3340]	420
[3341]	<210> 36
[3342]	<211> 464
[3343]	<212> PRT
[3344]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3345]	<400> 36
[3346]	Met Ser Leu His Phe Leu Tyr Tyr Cys Ser Glu Pro Thr Leu Asp Val
[3347]	1 5 10 15
[3348]	Lys Ile Ala Phe Cys Gln Gly Phe Asp Lys Gln Val Asp Val Ser Tyr
[3349]	20 25 30
[3350]	Ile Ala Lys His Tyr Asn Met Ser Lys Ser Lys Val Asp Asn Gln Phe
[3351]	35 40 45
[3352]	Tyr Ser Val Glu Val Gly Asp Ser Thr Phe Thr Val Leu Lys Arg Tyr
[3353]	50 55 60

[3354]	Gln Asn Leu Lys Pro Ile Gly Ser Gly Ala Gln Gly Ile Val Cys Ala
[3355]	65 70 75 80
[3356]	Ala Tyr Asp Ala Val Leu Asp Arg Asn Val Ala Ile Lys Lys Leu Ser
[3357]	85 90 95
[3358]	Arg Pro Phe Gln Asn Gln Thr His Ala Lys Arg Ala Tyr Arg Glu Leu
[3359]	100 105 110
[3360]	Val Leu Met Lys Cys Val Asn His Lys Asn Ile Ile Ser Leu Leu Asn
[3361]	115 120 125
[3362]	Val Phe Thr Pro Gln Lys Thr Leu Glu Glu Phe Gln Asp Val Tyr Leu
[3363]	130 135 140
[3364]	Val Met Glu Leu Met Asp Ala Asn Leu Cys Gln Val Ile Gln Met Glu
[3365]	145 150 155 160
[3366]	Leu Asp His Glu Arg Met Ser Tyr Leu Leu Tyr Gln Met Leu Cys Gly
[3367]	165 170 175
[3368]	Ile Lys His Leu His Ser Ala Gly Ile Ile His Arg Asp Leu Lys Pro
[3369]	180 185 190
[3370]	Ser Asn Ile Val Val Lys Ser Asp Cys Thr Leu Lys Ile Leu Asp Phe
[3371]	195 200 205
[3372]	Gly Leu Ala Arg Thr Ala Gly Thr Ser Phe Met Met Thr Pro Tyr Val
[3373]	210 215 220
[3374]	Val Thr Arg Tyr Tyr Arg Ala Pro Glu Val Ile Leu Gly Met Gly Tyr
[3375]	225 230 235 240
[3376]	Lys Glu Asn Val Asp Ile Trp Ser Val Gly Cys Ile Met Gly Glu Met
[3377]	245 250 255
[3378]	Val Arg His Lys Ile Leu Phe Pro Gly Arg Asp Tyr Ile Asp Gln Trp
[3379]	260 265 270
[3380]	Asn Lys Val Ile Glu Gln Leu Gly Thr Pro Cys Pro Glu Phe Met Lys
[3381]	275 280 285
[3382]	Lys Leu Gln Pro Thr Val Arg Asn Tyr Val Glu Asn Arg Pro Lys Tyr
[3383]	290 295 300
[3384]	Ala Gly Leu Thr Phe Pro Lys Leu Phe Pro Asp Ser Leu Phe Pro Ala
[3385]	305 310 315 320
[3386]	Asp Ser Glu His Asn Lys Leu Lys Ala Ser Gln Ala Arg Asp Leu Leu
[3387]	325 330 335
[3388]	Ser Lys Met Leu Val Ile Asp Pro Ala Lys Arg Ile Ser Val Asp Asp
[3389]	340 345 350
[3390]	Ala Leu Gln His Pro Tyr Ile Asn Val Trp Tyr Asp Pro Ala Glu Val
[3391]	355 360 365
[3392]	Glu Ala Pro Pro Pro Gln Ile Tyr Asp Lys Gln Leu Asp Glu Arg Glu

[3393]	370	375	380
[3394]	His Thr Ile Glu Glu Trp Lys Glu Leu Ile Tyr Lys Glu Val Met Asn		
[3395]	385	390	395 400
[3396]	Ser Glu Glu Lys Thr Lys Asn Gly Val Val Lys Gly Gln Pro Ser Pro		
[3397]	405	410	415
[3398]	Ser Gly Ala Ala Val Asn Ser Ser Glu Ser Leu Pro Pro Ser Ser Ser		
[3399]	420	425	430
[3400]	Val Asn Asp Ile Ser Ser Met Ser Thr Asp Gln Thr Leu Ala Ser Asp		
[3401]	435	440	445
[3402]	Thr Asp Ser Ser Leu Glu Ala Ser Ala Gly Pro Leu Gly Cys Cys Arg		
[3403]	450	455	460