



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104024255 A

(43) 申请公布日 2014. 09. 03

(21) 申请号 201280065838. 8

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2012. 11. 02

C07D 471/04 (2006. 01)

(30) 优先权数据

C07D 495/04 (2006. 01)

61/555, 395 2011. 11. 03 US

C07D 519/00 (2006. 01)

A61K 31/4985 (2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 31/381 (2006. 01)

2014. 07. 02

A61P 35/00 (2006. 01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61P 37/00 (2006. 01)

PCT/US2012/063198 2012. 11. 02

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/067277 EN 2013. 05. 10

(71) 申请人 霍夫曼 - 拉罗奇有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 J. J. 克劳福德 W. B. 扬

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 张文辉

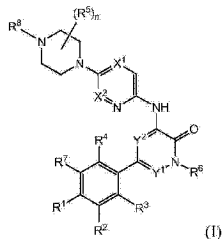
权利要求书4页 说明书102页 附图13页

(54) 发明名称

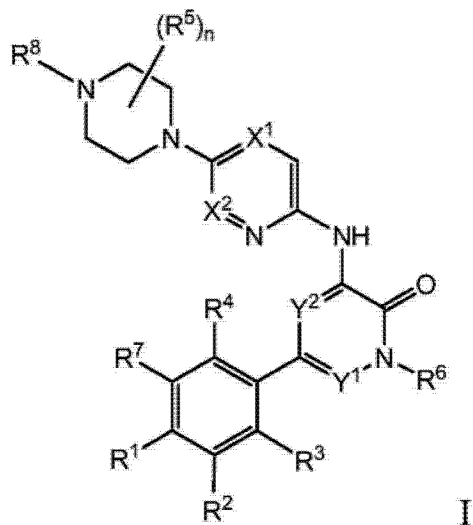
作为 BTK 活性的抑制剂的烷基化哌嗪化合物

(57) 摘要

本发明提供式 I 的烷基化哌嗪化合物, 包括其立体异构体、互变异构体和药用盐, 其用于抑制 Btk 激酶, 并用于治疗免疫病症例如由 Btk 激酶介导的炎症。本发明公开使用式 I 化合物用于体外、原位和体内诊断以及治疗哺乳动物细胞中的所述病症或相关的病理状态的方法。



1. 化合物,其选自式 I:



或其立体异构体、互变异构体或药用盐,其中:

$R^1$ 、 $R^2$  和  $R^3$  独立地选自 H、F、Cl、 $-NH_2$ 、 $-NHCH_3$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CH_2O$  H 和  $C_1-C_3$  烷基;

$R^4$  选自 H、F、Cl、CN、 $-CH_2OH$ 、 $-CH(CH_3)OH$ 、 $-C(CH_3)_2OH$ 、 $-CH(CF_3)OH$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CH_2CHF_2$ 、 $-CF_3$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHCH_3$ 、 $-C(O)N(CH_3)_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHCH_3$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-NHC(O)CH_3$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CH_2OH$ 、环丙基、环丙基甲基、1-羟基环丙基、咪唑基、吡唑基、3-羟基-氧杂环丁烷-3-基、氧杂环丁烷-3-基和氮杂环丁烷-1-基;

$R^5$  选自  $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$  和  $-CH_2CH_2OH$ ;

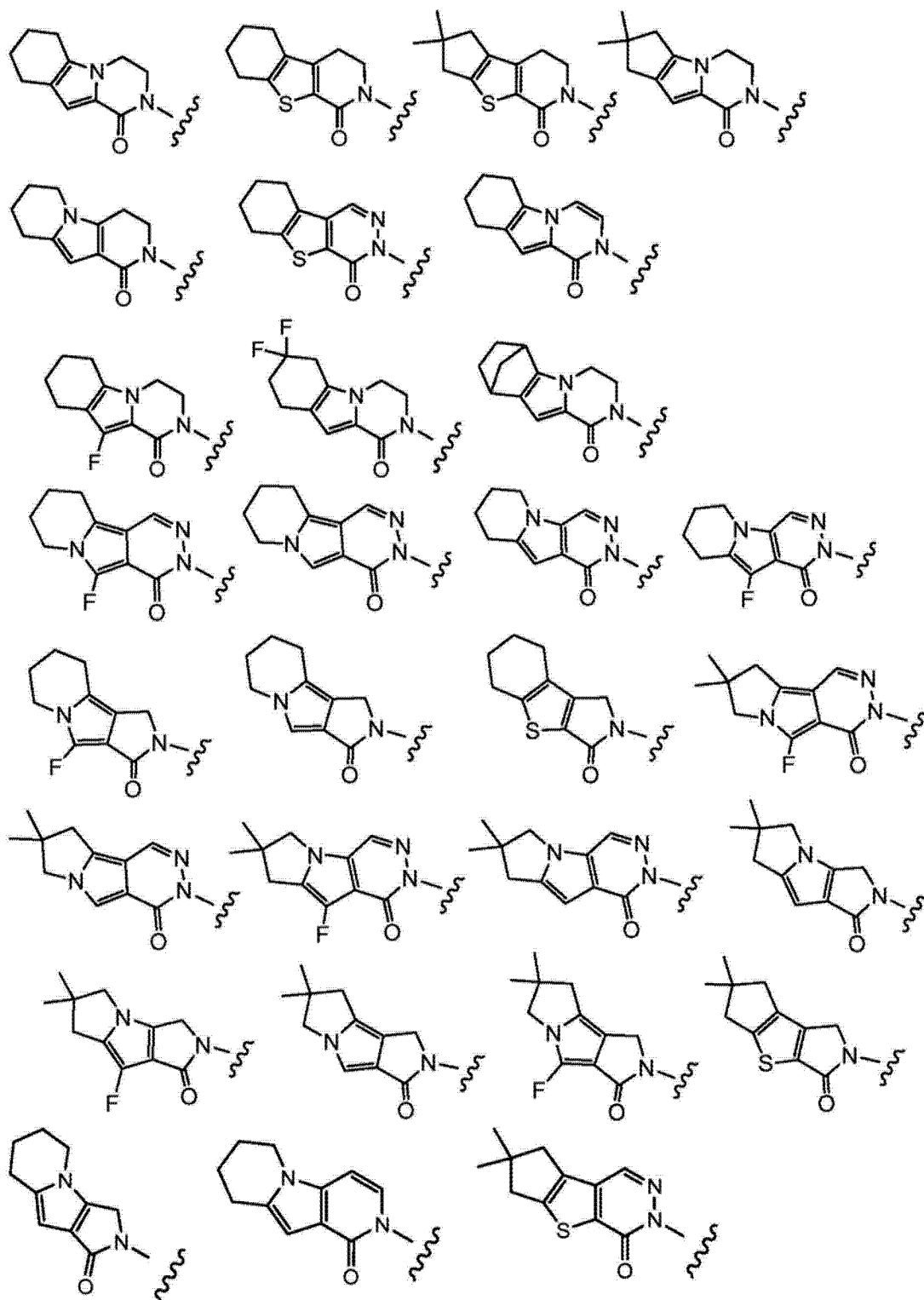
或两个  $R^5$  基团形成 3-、4-、5- 或 6- 元碳环或杂环;

或  $R^5$  基团和  $R^8$  基团形成 3-、4-、5- 或 6- 元碳环或杂环;

n 是 1、2、3 或 4;

$R^6$  选自 H、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-NH_2$  和  $-OH$ ;

$R^7$  选自以下结构:



其中波浪线指示连接位点；

$R^8$  选自  $-CH_3$ 、 $-S(O)_2CH_3$ 、环丙基、氮杂环丁烷-3-基、氧杂环丁烷-3-基和吗啉-4-基；

$X^1$  是  $CR^9$  或 N，其中  $R^9$  选自 H、F、Cl、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHCH_3$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$  和  $-OCH_2CH_2OH$ ；

$X^2$  是  $CR^{10}$  或 N，其中  $R^{10}$  选自 H、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$  和  $-CH_2CH_2OH$ ；且

$Y^1$  和  $Y^2$  独立地选自 CH 和 N，其中  $Y^1$  和  $Y^2$  不同时是 N。

2. 权利要求 1 的化合物，其中 X 是  $CR^9$ ，且  $R^9$  是 H。

3. 权利要求 1 的化合物,其中 X 是 N。
4. 权利要求 1 的化合物,其中 R<sup>4</sup> 是 -CH<sub>2</sub>OH。
5. 权利要求 4 的化合物,其中 R<sup>2</sup> 是 F。
6. 权利要求 5 的化合物,其中 R<sup>1</sup> 和 R<sup>3</sup> 是 H。
7. 权利要求 1 的化合物,其中 R<sup>6</sup> 是 CH<sub>3</sub>。
8. 权利要求 1 的化合物,其选自表 1。
9. 权利要求 1 的化合物,其选自表 2。
10. 药物组合物,其包含权利要求 1-9 中任一项的化合物,以及药用载体、助流剂、稀释剂或赋形剂。
11. 权利要求 10 的药物组合物,进一步包含治疗剂。
12. 制备药物组合物的方法,其包括将权利要求 1-9 中任一项的化合物与药用载体混合。
13. 治疗疾病或病症的方法,其包括向患有疾病或病症的患者给药治疗有效量的权利要求 10 的药物组合物,所述疾病或病症选自免疫病症、癌症、心血管疾病、病毒感染、炎症、代谢 / 内分泌功能障碍和神经障碍,并且所述疾病或病症由 Bruton 酪氨酸激酶介导。
14. 权利要求 13 的方法,其中所述疾病或病症是免疫病症。
15. 权利要求 14 的方法,其中所述免疫病症是类风湿性关节炎。
16. 权利要求 13 的方法,其中所述疾病或病症是系统性和局部性炎症、关节炎、与免疫抑制相关的炎症、器官移植排斥、变态反应、溃疡性结肠炎、克罗恩病、皮炎、哮喘、系统性红斑狼疮、斯耶格伦综合征、多发性硬化、硬皮病 / 系统性硬化病、特发性血小板减少性紫癜 (ITP)、抗中性粒细胞胞质抗体 (ANCA) 型血管炎、慢性阻塞性肺病 (COPD)、银屑病。
17. 权利要求 13 的方法,其中所述疾病或病症是选自以下的癌症:乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、前列腺癌、睾丸癌、生殖泌尿道癌、食道癌、喉癌、成胶质细胞瘤、神经母细胞瘤、胃癌、皮肤癌、角化棘皮瘤、肺癌、表皮样癌、大细胞癌、非小细胞肺癌 (NSCLC)、小细胞癌、肺腺癌、骨癌、结肠癌、腺瘤、胰腺癌、腺癌、甲状腺癌、滤泡性癌、未分化癌、乳头状癌、精原细胞瘤、黑素瘤、肉瘤、膀胱癌、肝癌和胆道癌、肾癌、胰腺癌、骨髓病症、淋巴瘤、毛细细胞瘤、口腔癌、鼻咽癌、咽癌、唇癌、舌癌、口癌、小肠癌、结直肠癌、大肠癌、直肠癌、脑和中枢神经系统癌、何杰金淋巴瘤、白血病、支气管癌、甲状腺癌、肝和肝内胆管癌、肝细胞癌、胃癌、神经胶质瘤 / 成胶质细胞瘤、子宫内膜癌、黑素瘤、肾和肾盂癌、膀胱癌、子宫体癌、子宫颈癌、多发性骨髓瘤、急性髓性白血病、慢性髓性白血病、淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病 (CLL)、髓样白血病、口腔和咽癌、非何杰金淋巴瘤、黑素瘤和结肠绒毛腺瘤。
18. 权利要求 13 的方法,其进一步包括给药选自以下的另外治疗剂:抗炎剂、免疫调节剂、化疗剂、神经营养因子、心血管疾病的治疗剂、肝病的治疗剂、抗病毒剂、血液疾病的治疗剂、糖尿病的治疗剂以及免疫缺陷病症的治疗剂。
19. 用于治疗由 Bruton 酪氨酸激酶介导的病症的试剂盒,其包含:
  - a) 权利要求 10 的药物组合物;和
  - b) 使用说明书。
20. 权利要求 10 的药物组合物,其用作治疗疾病或病症的药物,所述疾病或病症选自免疫病症、癌症、心血管疾病、病毒感染、炎症、代谢 / 内分泌功能障碍和神经障碍,并且所

述疾病或病症由 Bruton 酪氨酸激酶介导。

21. 权利要求 10 的药物组合物在制备用于治疗免疫病症、癌症、心血管疾病、病毒感染、炎症、代谢 / 内分泌功能障碍和神经障碍的药物中的用途 ; 并且其中所述药物调节 Bruton 酪氨酸激酶。

## 作为 BTK 活性的抑制剂的烷基化哌嗪化合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 根据 37CFR § 1.53(b) 提交的该非临时申请,根据 35USC § 119(e) 要求于 2011 年 11 月 3 日提交的美国临时申请 61/555,395 的权益,本申请将其全部内容通过引用的方式并入本申请。

### 技术领域

[0003] 本发明大体上涉及用于治疗由 Bruton 酪氨酸激酶 (Btk) 介导的病症包括炎症、免疫性病症和癌症的化合物,更具体地涉及抑制 Btk 活性的化合物。本发明还涉及使用所述化合物引用体外、原位及体内诊断或治疗哺乳动物细胞或相关病理状态的方法。

### 背景技术

[0004] 蛋白激酶是最大的人类酶家族,包括超过 500 种蛋白质。Bruton 酪氨酸激酶 (Btk) 是酪氨酸激酶中的 Tec 家族的成员,并且是早期 B 细胞发育及成熟 B 细胞活化、信号转导和存活的调节剂。

[0005] 经 B 细胞受体 (BCR) 的 B 细胞信号转导能产生广泛的生物学输出信号,而所述信号转而取决于 B 细胞的发育阶段。BCR 信号的强度和持续时间必须被精确地调节。异常的 BCR 介导的信号转导能造成失调的 B 细胞活化和 / 或形成导致多种自身免疫疾病和 / 或炎症性疾病的致病性自身抗体。人体内 Btk 的突变导致 X 连锁无  $\gamma$  球蛋白血症 (XLA)。这种疾病与 B 细胞成熟受损、免疫球蛋白产生减少、不依赖 T 细胞的免疫应答受损以及在 BCR 刺激时持续的钙信号的显著减弱有关。Btk 在变态反应性疾病和 / 或自身免疫疾病和 / 或炎症性疾病中起作用的证据已经在 Btk- 缺陷小鼠模型中得到确定。例如,在系统性红斑狼疮 (SLE) 的标准鼠类临床前模型中,已经表明 Btk 缺陷引起疾病进展的明显改善。而且, Btk 缺陷小鼠还能抵抗形成胶原诱发性关节炎并能对葡萄球菌诱发性关节炎更不易感。大量的证据支持 B 细胞和体液免疫系统在自身免疫疾病和 / 或炎症性疾病的发病机制中的作用。已开发的为了耗竭 B 细胞的基于蛋白质的治疗剂 (诸如 Rituxan) 代表治疗许多自身免疫疾病和 / 或炎症性疾病的方法。由于 Btk 在 B 细胞活化中的作用, Btk 抑制剂可以被用作 B 细胞介导的致病性活动 (例如产生自身抗体) 的抑制剂。Btk 也在破骨细胞、肥大细胞和单核细胞中表达,并且显示其对于这些细胞的功能很重要。例如,小鼠 Btk 缺陷与 IgE 介导的肥大细胞活化受损 (显著减少 TNF- $\alpha$  及其它炎性细胞因子的释放) 有关,并且人 Btk 缺陷与由激活的单核细胞产生 TNF- $\alpha$  大大减少有关。

[0006] 因此,抑制 Btk 活性可以用于治疗变态反应性病症和 / 或自身免疫疾病和 / 或炎症性疾病,例如: SLE、类风湿性关节炎、多血管炎、特发性血小板减少性紫癜 (ITP)、重症肌无力、变应性鼻炎和哮喘 (Di Paolo 等人 (2011) Nature Chem. Biol. 7(1):41-50; Liu 等人 (2011) Jour. of Pharm. and Exper. Ther. 338(1):154-163)。此外,据报道, Btk 在细胞凋亡中起作用;因此,抑制 Btk 活性可用于癌症以及治疗 B 细胞淋巴瘤、白血病和其它血液恶性肿瘤。而且,考虑到 Btk 在破骨细胞功能方面的作用,抑制

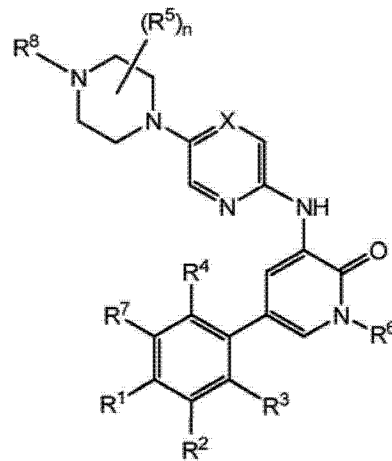
Btk 活性可用于治疗骨病例如骨质疏松。特定 Btk 抑制剂已被报道 (Liu(2011)Drug Metab. and Disposition39(10):1840-1849 ;US7884108, W02010/056875 ;US7405295 ;US7393848 ;W02006/053121 ;US7947835 ;US2008/0139557 ;US7838523 ;US2008/0125417 ;US2011/0118233 ;2011 年 8 月 31 日提交的 PCT/US2011/050034 “PYRIDINONES/PYRAZINONES, METHOD OF MAKING, AND METHOD OF USE THEREOF”;2011 年 8 月 31 日提交的 PCT/US2011/050013 “PYRIDAZINONES, METHOD OF MAKING, AND METHOD OF USE THEREOF”;2011 年 5 月 6 日提交的 US 序列号 13/102720 “PYRIDONE AND AZA-PYRIDONE COMPOUNDS AND METHODS OF USE”)。

## 发明内容

[0007] 本发明大体上涉及具有 Bruton 酪氨酸激酶 (Btk) 调节活性的式 I 的烷基化哌嗪吡啶酮化合物。

[0008] 式 I 化合物具有以下结构：

[0009]



I

[0010] 包括其立体异构体、互变异构体或药用盐。各种取代基的定义如下。

[0011] 本发明的一方面是药物组合物,其包含式 I 化合物以及药用载体、助流剂、稀释剂或赋形剂。所述药物组合物可进一步包含第二治疗剂。

[0012] 本发明的另一方面是制备药物组合物的方法,其包括将式 I 化合物与药用载体混合。

[0013] 本发明包括治疗疾病或病症的方法,所述方法包括向患有疾病或病症的患者给药治疗有效量的式 I 化合物,所述疾病或病症选自免疫病症、癌症、心血管疾病、病毒感染、炎症、代谢 / 内分泌功能障碍和神经障碍,并由 Bruton 酪氨酸激酶介导。

[0014] 本发明包括用于治疗由 Bruton 酪氨酸激酶介导的病症的试剂盒,其包含 :a) 包含式 I 化合物的第一药物组合物 ;和 b) 使用说明书。

[0015] 本发明包括式 I 化合物,其用作药物并且用于治疗疾病或病症,所述疾病或病症选自免疫病症、癌症、心血管疾病、病毒感染、炎症、代谢 / 内分泌功能障碍和神经障碍,并由 Bruton 酪氨酸激酶介导。

[0016] 本发明包括式 I 化合物在制备用于治疗免疫病症、癌症、心血管疾病、病毒感染、炎症、代谢 / 内分泌功能障碍和神经障碍的药物中的用途,并且其中所述药物调节 Bruton

酪氨酸激酶。

[0017] 本发明包括制备式 I 化合物的方法。

#### 附图说明

[0018] 图 1 显示 (S)-2-(5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡啶并[3,4-b]吡嗪-1(2H)-酮 101 的制备,以中间体 2,6-二溴-4-氟苯甲醛 101a 起始。

[0019] 图 2 显示 (S)-5-[5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-苯基]-8-硫杂-4,5-二氮杂三环[7.4.0.0<sup>2,7</sup>]十三-1(9),2(7),3-三烯-6-酮 102 的制备,以中间体 (S)-乙酸[4-氟-2-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-6-{6-氧代-8-硫杂-4,5-二氮杂三环[7.4.0.0<sup>2,7</sup>]十三-1(9),2(7),3-三烯-5-基}苯基]甲酯 102a 起始。

[0020] 图 3 显示 (2S)-10-[5-氟-2-(羟基甲基)-3-[1-甲基-5-({5-[2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]吡啶-2-基}氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基]-苯基]-4,4-二甲基-1,10-二氮杂三环[6.4.0.0<sup>2,6</sup>]十二-2(6),7-二烯-9-酮 103 的制备,以中间体 (E)-3-(2-氯-4,4-二甲基环戊-1-烯基)丙烯酸乙酯 103a 起始。

[0021] 图 4a 显示 2-(3-(5-(5-((2S,5R)-2,5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-1(2H)-酮 104 的制备,以中间体 (2R,5S)-2,5-二甲基-4-(6-硝基吡啶-3-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯 104a 起始。

[0022] 图 4b 显示从 3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-1(2H)-酮 104j 制备乙酸 4-氟-2-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢-吡嗪并[1,2-a]吡啶-2(1H)-基)-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苄酯 104o。

[0023] 图 5 显示 (S)-2-(3-(5-(5-(2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-1(2H)-酮 105 的制备,以中间体 (S)-乙酸 2-(5-(5-(2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-4-氟-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-2(1H)-基)苄酯 105a 起始。

[0024] 图 6 显示 (S)-2-(5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-1(2H)-酮 106 的制备,以中间体 (S)-乙酸 4-氟-2-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-2(1H)-基)苄酯 106a 起始。

[0025] 图 7 显示 (S)-2-(3-(5-(5-(3,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡



嗪并 [1, 2-a] 咪唑 -1(2H)- 酮 107 的制备, 以中间体 (S)-2- 甲基 -4-(6- 硝基吡啶 -3- 基) 哌嗪 -1- 羧酸叔丁酯 107a 起始。

[0026] 图 8 显示 (R)-2-(3-(5-(5-(3, 4- 二甲基哌嗪 -1- 基) 吡啶 -2- 基氨基) -1- 甲基 -6- 氧代 -1, 6- 二氢吡啶 -3- 基) -5- 氟 -2-( 羟基甲基) - 苯基) -3, 4, 6, 7, 8, 9- 六氢吡嗪并 [1, 2-a] 咪唑 -1(2H)- 酮 108 的制备, 以中间体 (R)-2- 甲基 -4-(6- 硝基吡啶 -3- 基) 哌嗪 -1- 羧酸叔丁酯 108a 起始。

[0027] 图 9 显示 (R)-2-(3-(5-(5-(2, 4- 二甲基哌嗪 -1- 基) 吡啶 -2- 基氨基) -1- 甲基 -6- 氧代 -1, 6- 二氢吡啶 -3- 基) -5- 氟 -2-( 羟基甲基) 苯基) -3, 4, 6, 7, 8, 9- 六氢吡嗪并 [1, 2-a] 咪唑 -1(2H)- 酮 109 的制备, 以中间体 (R)-3- 甲基 -4-(6- 硝基吡啶 -3- 基) 哌嗪 -1- 羧酸叔丁酯 109a 起始。

[0028] 图 10 显示 (S)-2-(3-(5-(5-(2, 4- 二甲基哌嗪 -1- 基) 吡啶 -2- 基氨基) -1- 甲基 -6- 氧代 -1, 6- 二氢吡啶 -3- 基) -5- 氟 -2-( 羟基甲基) 苯基) -3, 4, 6, 7, 8, 9- 六氢吡嗪并 [1, 2-a] 咪唑 -1(2H)- 酮 110 的制备, 以中间体 (S)-5- 溴 -3-(5-(2, 4- 二甲基哌嗪 -1- 基) 吡啶 -2- 基氨基) -1- 甲基吡啶 -2(1H)- 酮 110a 起始。

[0029] 图 11 显示 2-(5- 氟 -3-(5-(5-(3-( 氟甲基) -4- 甲基哌嗪 -1- 基) 吡啶 -2- 基氨基) -1- 甲基 -6- 氧代 -1, 6- 二氢吡啶 -3- 基) -2-( 羟基甲基) 苯基) -3, 4, 6, 7, 8, 9- 六氢吡嗪并 [1, 2-a] 咪唑 -1(2H)- 酮 111 的制备, 以中间体 4- 苄基哌嗪 -1, 2- 二羧酸 1- 叔丁酯 · 2- 甲酯 111a 起始。

[0030] 图 12 显示 2-(5- 氟 -2-( 羟基甲基) -3-(1- 甲基 -5-(5-(9- 甲基 -7- 氧杂 -3, 9- 二氮杂 - 二环 [3. 3. 1] 壬 -3- 基) 吡啶 -2- 基氨基) -6- 氧代 -1, 6- 二氢吡啶 -3- 基) 苯基) -3, 4, 6, 7, 8, 9- 六氢吡嗪并 [1, 2-a] 咪唑 -1(2H)- 酮 112 的制备, 以中间体 N, N- 二溴苯磺酰胺 112a 起始。

[0031] 图 13 显示 (S)- 乙酸 2-(7, 7- 二氟 -1- 氧代 -3, 4, 6, 7, 8, 9- 六氢吡嗪并 [1, 2-a] 咪唑 -2(1H)- 基) -4- 氟 -6-(1- 甲基 -5-(5-(2- 甲基 -4-( 氧杂环丁烷 -3- 基) 哌嗪 -1- 基) 吡啶 -2- 基氨基) -6- 氧代 -1, 6- 二氢吡啶 -3- 基) 苄酯 113q 的制备, 以中间体 (3S)-3- 甲基 -4-(6- 硝基吡啶 -3- 基) 哌嗪 -1- 羧酸叔丁酯 113a 起始。

[0032] 图 14 显示从中间体 1H- 吡咯 -2- 羧酸乙酯制备 113o。

[0033] 图 15 显示从中间体 3- 甲基环戊 -2- 烯酮制备 2- 溴 -6-{4, 4- 二甲基 -9- 氧代 -7- 硫杂 -10, 11- 二氮杂三环 [6. 4. 0. 0<sup>2,6</sup>] 十二 -1(8), 2(6), 11- 三烯 -10- 基} -4- 氟苯甲醛 131i。

## 具体实施方式

[0034] 现详细描述本发明的某些实施方案, 其实例在随附结构和分子式中示例说明。虽然结合列举的实施方案来描述本发明, 但是应理解本发明并不限于那些实施方案。相反, 本发明意在涵盖可包括在本发明的由权利要求书限定的范围内的所有替代方案、修改和等效。本领域技术人员会认识到, 与本申请中所述的那些相似或等同的许多方法和材料可用于实施本发明。本发明绝不限于所述的方法和材料。在所引的文献、专利及相似的材料中的一者或多者与本申请 (包括但不限于定义的术语、术语用法、所述的技术等) 不同或矛盾的情况下, 以本申请为准。除非另外定义, 否则本申请使用的所有技术和科学术语具有与本发

明所属领域普通技术人员通常理解的不同含义。虽然与本申请所述类似或等效的方法和材料可用于实施或测试本发明,然而下文将描述适当的方法和材料。所有出版物、专利申请、专利以及本申请提及的其它参考文献通过引用的方式将其全部内容并入本申请。除非另外说明,否则本申请中使用的命名法是基于 IUPAC 系统命名法。

[0035] 定义

[0036] 当说明取代基数目时,术语“一个或多个”是指从一个取代基至最多可能取代基数目的范围,即,由取代基置换一个氢至置换全部氢。术语“取代基”表示在母体分子上置换氢原子的原子或原子团。术语“经取代”表示指定基团带有一个或多个取代基。当任何基团可带有多个取代基及提供各种可能取代基时,该取代基是独立选择的且无需相同。术语“未取代”是指指定基团不带有取代基。术语“任选取代”是指指定基团是未取代的或被一个或多个独立选自可能的取代基的取代基取代。当说明取代基数目时,术语“一个或多个”是指从一个取代基至最多可能取代基数目,即,由取代基置换一个氢至置换全部氢。

[0037] 术语“烷基”用于本申请中是指具有 1-12 个碳原子 ( $C_1-C_{12}$ ) 的饱和的直链或支链一价烃基,其中所述烷基可任选地独立地被下述一种或多种取代基取代。在另一个实施方案中,烷基具有 1-8 个碳原子 ( $C_1-C_8$ ),或者 1-6 个碳原子 ( $C_1-C_6$ )。烷基的实例包括但不限于:甲基 (Me,  $-CH_3$ )、乙基 (Et,  $-CH_2CH_3$ )、1-丙基 (n-Pr, 正丙基,  $-CH_2CH_2CH_3$ )、2-丙基 (i-Pr, 异丙基,  $-CH(CH_3)_2$ )、1-丁基 (n-Bu, 正丁基,  $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ )、2-甲基-1-丙基 (i-Bu, 异丁基,  $-CH_2CH(CH_3)_2$ )、2-丁基 (s-Bu, 仲丁基,  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ )、2-甲基-2-丙基 (t-Bu, 叔丁基,  $-C(CH_3)_3$ )、1-戊基 (正戊基,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ )、2-戊基 ( $-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_3$ )、3-戊基 ( $-CH(CH_2CH_3)_2$ )、2-甲基-2-丁基 ( $-C(CH_3)_2CH_2CH_3$ )、3-甲基-2-丁基 ( $-CH(CH_3)CH(CH_3)_2$ )、3-甲基-1-丁基 ( $-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$ )、2-甲基-1-丁基 ( $-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_3$ )、1-己基 ( $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ )、2-己基 ( $-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2CH_3$ )、3-己基 ( $-CH(CH_2CH_3)(CH_2CH_2CH_3)$ )、2-甲基-2-戊基 ( $-C(CH_3)_2CH_2CH_2CH_3$ )、3-甲基-2-戊基 ( $-CH(CH_3)CH(CH_3)CH_2CH_3$ )、4-甲基-2-戊基 ( $-CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$ )、3-甲基-3-戊基 ( $-C(CH_3)(CH_2CH_3)_2$ )、2-甲基-3-戊基 ( $-CH(CH_2CH_3)CH(CH_3)_2$ )、2,3-二甲基-2-丁基 ( $-C(CH_3)_2CH(CH_3)_2$ )、3,3-二甲基-2-丁基 ( $-CH(CH_3)C(CH_3)_3$ )、1-庚基、1-辛基等。

[0038] 术语“亚烷基”用于本申请中是指具有 1-12 个碳原子 ( $C_1-C_{12}$ ) 的饱和直链或支链二价烃基,其中所述亚烷基可任选地独立地被下述一种或多种取代基取代。在另一个实施方案中,亚烷基具有 1-8 个碳原子 ( $C_1-C_8$ ),或者 1-6 个碳原子 ( $C_1-C_6$ )。亚烷基的实例包括但不限于亚甲基 ( $-CH_2-$ )、亚乙基 ( $-CH_2CH_2-$ )、亚丙基 ( $-CH_2CH_2CH_2-$ ) 等。

[0039] 术语“烯基”是指具有 2-8 个碳原子 ( $C_2-C_8$ ),具有至少一个不饱和位点,即,碳-碳  $sp^2$  双键的直链或支链一价烃基,其中所述烯基可任选地独立地被本申请所述的一种或多种取代基取代,并包括具有“顺式”和“反式”定向,或“E”和“Z”定向的基团。实例包括但不限于乙烯基 ( $-CH=CH_2$ )、烯丙基 ( $-CH_2CH=CH_2$ ) 等。

[0040] 术语“亚烯基”是指具有 2-8 个碳原子 ( $C_2-C_8$ ),具有至少一个不饱和位点,即,碳-碳  $sp^2$  双键的直链或支链二价烃基,其中所述亚烯基可任选地独立地被本申请所述的一种或多种取代基取代,并包括具有“顺式”和“反式”定向,或“E”和“Z”定向的基团。实例包括但不限于亚乙烯基 ( $-CH=CH-$ ),烯丙基 ( $-CH_2CH=CH-$ ) 等。

[0041] 术语“炔基”是指具有 2-8 个碳原子 ( $C_2-C_8$ ),具有至少一个不饱和位点,即,碳-碳

sp 三键的直链或支链一价烃基,其中所述炔基可任选地独立地被本申请所述的一种或多种取代基取代。实例包括但不限于乙炔基 ( $-C \equiv CH$ )、丙炔基 (炔丙基,  $-CH_2C \equiv CH$ ) 等。

[0042] 术语“亚炔基”是指具有 2-8 个碳原子 ( $C_2-C_8$ ),具有至少一个不饱和位点,即,碳-碳 sp 三键的直链或支链二价烃基,其中所述亚炔基可任选地独立地被本申请所述的一种或多种取代基取代。实例包括但不限于亚乙炔基 ( $-C \equiv C-$ )、亚丙炔基 (亚炔丙基,  $-CH_2C \equiv C-$ ) 等。

[0043] 术语“碳环 (carbocycle)”、“碳环基”、“碳环 (carbocyclic ring)”和“环烷基”是指具有 3-12 个碳原子 ( $C_3-C_{12}$ ) 的单环形式的、或具有 7-12 个碳原子的二环形式的一价非芳香性饱和或部分不饱和的环。具有 7-12 个原子的二环碳环可排列成例如二环 [4, 5]、[5, 5]、[5, 6] 或 [6, 6] 系统,且具有 9 或 10 个环原子的二环碳环可排列成二环 [5, 6] 或 [6, 6] 系统或者可排列成桥环系统,例如二环 [2. 2. 1] 庚烷、二环 [2. 2. 2] 辛烷和二环 [3. 2. 2] 壬烷。螺环部分也包括在此定义的范围。单环碳环的实例包括但不限于:环丙基、环丁基、环戊基、1-环戊-1-烯基、1-环戊-2-烯基、1-环戊-3-烯基、环己基、1-环己-1-烯基、1-环己-2-烯基、1-环己-3-烯基、环己二烯基、环庚基、环辛基、环壬基、环癸基、环十一烷基、环十二烷基等。碳环基任选地独立地被本申请所述的一种或多种取代基取代。

[0044] “芳基”是指通过从母体芳香性环系统的单个碳原子除去一个氢原子而得的具有 6-20 个碳原子 ( $C_6-C_{20}$ ) 的一价芳香性烃基。一些芳基在示例结构中表示为“Ar”。芳基包括包含与饱和的、部分不饱和的环或芳香性碳环稠合的芳香环的二环基团。典型的芳基包括但不限于由苯(苯基)、取代苯、萘、蒽、联苯、茛基、茛满基、1, 2-二氢萘、1, 2, 3, 4-四氢萘基等得到的基团。芳基任选地独立地被本申请所述的一种或多种取代基取代。

[0045] “亚芳基”是指通过从母体芳香性环系统的两个碳原子除去两个氢原子而得的具有 6-20 个碳原子 ( $C_6-C_{20}$ ) 的二价芳香性烃基。一些亚芳基在示例结构中表示为“Ar”。亚芳基包括包含与饱和的、部分不饱和的环或芳香性碳环稠合的芳香环的二环基团。典型的亚芳基包括但不限于由苯(亚苯基)、取代苯、萘、蒽、亚联苯、亚茛基、亚茛满基、1, 2-二氢萘、1, 2, 3, 4-四氢萘基等得到的基团。亚芳基任选地被本申请所述的一种或多种取代基取代。

[0046] 术语“杂环 (heterocycle)”、“杂环基”和“杂环 (heterocyclic ring)”在本申请中可互换使用,并且是指具有 3-约 20 个环原子、其中至少一个环原子是选自氮、氧、磷和硫的杂原子且其余环原子是 C 的饱和或部分不饱和的(即在环内具有一个或多个双键和/或三键)碳环基团,其中一个或多个环原子任选地独立地被下述一个或多个取代基取代。杂环可以是具有 3-7 个环成员(2-6 个碳原子和 1-4 个选自 N、O、P 和 S 的杂原子)的单环,或者具有 7-10 个环成员(4-9 个碳原子和 1-6 个选自 N、O、P 和 S 的杂原子)的二环,例如:二环 [4, 5]、[5, 5]、[5, 6] 或 [6, 6] 系统。杂环在 Paquette, Leo A. ;“Principles of Modern Heterocyclic Chemistry”(W. A. Benjamin, New York, 1968),特别是第 1、3、4、6、7 和 9 章;“The Chemistry of Heterocyclic 化合物, A series of Monographs”(John Wiley&Sons, New York, 1950 发行),特别是第 13、14、16、19 和 28 卷;和 J. Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566 中有述。“杂环基”还包括其中杂环基与饱和的、部分不饱和的环或者芳香性碳环或杂环稠合的基团。杂环的实例包括但不限于:吗啉-4-基、哌啶-1-基、哌嗪基、哌嗪-4-基-2-酮、哌



述特定的疾病、病症或障碍的一种或多种症状的发作的本发明的化合物的量。在癌症的情况下,药物的治疗有效量可以减少癌细胞数量;缩小肿瘤尺寸;抑制(即,在一定程度上减缓而且优选终止)癌细胞浸润进入周围器官中;抑制(即,在一定程度上减缓而且优选终止)肿瘤转移;在一定程度上抑制肿瘤生长;和/或在一定程度上缓解与癌症相关的一种或多种症状。只要药物可防止现存的癌细胞生长和/或杀死现存的癌细胞,它就可以是抑制细胞生长的和/或细胞毒性的。对于癌症治疗,可通过例如评估疾病进展的时间(TTP)和/或测定应答率(RR)来量度效力。

[0052] “炎性病症”用于本申请中可以是指其中过度或失调的炎性反应造成过度的炎性症状、宿主组织损伤或者组织功能丧失的任何疾病、病症或综合征。“炎性病症”也指由白细胞流入和/或中性白细胞趋化介导的病理学状态。

[0053] “炎症”用于本申请中是指由组织的损伤或破坏引发的局部保护性反应,其起到破坏、稀释或屏蔽(隔离)有害物质和受伤组织的作用。炎症明显与白细胞流入和/或中性白细胞趋化相关。炎症可起因于致病生物体和病毒导致的感染,以及诸如外伤或者在心肌梗塞或中风之后再灌注、对外来抗原的免疫反应和自身免疫性反应之类的非感染性途径。因此,顺应式 I 化合物治疗的炎性病症包括与特异性防御系统的反应以及非特异性防御系统的反应相关的病症。

[0054] “特异性防御系统”是指对特异性抗原的存在做出反应的免疫系统的组成部分。由特异性防御系统的应答所致的炎症的实例包括对外来抗原的常规应答、自身免疫疾病和由 T 细胞介导的迟发型超敏反应。特异性防御系统的炎性反应的其它实例还有慢性炎症性疾病、对实体移植的组织和器官例如肾移植和骨髓移植的排斥,以及移植物抗宿主疾病(GVHD)。

[0055] 术语“非特异性防御系统”用于本申请中是指由不能够免疫记忆的白细胞(例如粒细胞和巨噬细胞)介导的炎性病症。至少部分起因于非特异性防御系统的反应的炎症的实例包括与诸如以下的病症相关的炎症:成人(急性)呼吸窘迫综合征(ARDS)或者多器官损伤综合征;再灌注损伤;急性肾小球肾炎;反应性关节炎;伴有急性炎性部分的皮肤病;急性化脓性脑膜炎或其它中枢神经系统炎症病症例如中风;热损伤;炎性肠病;粒细胞输血相关综合征;和细胞因子引发的中毒。

[0056] “自身免疫疾病”用于本申请中是指其中组织损伤与由体液或细胞介导的对身体自身组成部分的反应相关的任一类病症。

[0057] “变应性疾病”用于本申请中是指由变态反应产生的任何症状、组织损伤或组织功能丧失。“关节炎性疾病”用于本申请中是指以可归因于各种病因学的关节炎性损伤为特征的任何疾病。“皮炎”用于本申请中是指以可归因于各种病因学的皮肤炎症为特征的一大类疾病中的任一种。“移植排斥”用于本申请中是指以移植的组织和周围组织功能丧失、疼痛、肿胀、白细胞增多和血小板减少为特征的针对移植的组织例如器官或细胞(例如骨髓)的任何免疫反应。本发明的治疗方法包括用于治疗与炎性细胞激活相关的病症的方法。

[0058] “炎性细胞激活”是指通过增生性细胞反应的刺激物(包括但不限于细胞因子、抗原或自身抗体)、可溶性介质(包括但不限于细胞因子、氧自由基、酶、前列腺素或血管活性胺)的产生、或者在炎性细胞(包括但不限于单核细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、粒细胞(即多形核白细胞例如中性粒细胞、嗜碱性粒细胞和嗜酸性粒细胞)、肥大细胞、树突细胞、朗氏细胞和内皮细胞)中新的或增量的介质(包括但不限于主要的组织相容性抗

原或细胞粘附分子)的细胞表面表达来诱导。本领域技术人员可理解,在这些细胞中的这些表型中的一种或组合的激活可促进炎症病症的引发、永久化或恶化。

[0059] 术语“NSAID”是“非甾体抗炎药”的首字母缩略词,是具有止痛、退烧(降低身体的高温并且缓解疼痛而不损及知觉)并且在较高剂量具有抗炎效力(减轻炎症)的治疗剂。术语“非甾体”用来将这些药物与具有相似的降低类二十烷酸、抗炎作用(宽范围的其它作用)的甾体相区分。作为镇痛药,NSAID的不寻常之处在于它们是非麻醉性的。NSAID包括阿司匹林、布洛芬和萘普生。NSAID通常指定用于治疗其中伴有疼痛和炎症的急性或慢性病症。NSAID一般指定用于在症状上缓解以下病症:类风湿性关节炎、骨关节炎、炎性关节病(例如强直性脊柱炎、银屑病关节炎、莱特尔综合征、急性痛风、痛经、转移性骨痛、头痛和偏头痛、术后疼痛、因炎症和组织损伤所致的轻度至中度疼痛、发热、肠梗阻和肾绞痛。大多数NSAID用作环氧合酶的非选择性抑制剂,抑制环氧合酶-1(COX-1)和环氧合酶-2(COX-2)同功酶。环氧合酶催化由花生四烯酸(其本身通过磷脂酶A2由细胞磷脂双层而得)形成前列腺素和血栓素。前列腺素尤其在炎症过程中用作信使分子。COX-2抑制剂包括塞来考昔、依托考昔、罗美昔布、帕瑞考昔、罗非考昔、罗非考昔和伐地考昔。

[0060] 术语“癌症”是指或描述哺乳动物中以细胞生长失调为典型特征的生理状况。“肿瘤”包括一种或多种癌细胞。癌症的实例包括但不限于:癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤和白血病或淋巴恶性肿瘤。所述癌症的更具体的实例包括鳞状细胞癌(例如上皮鳞状细胞癌)、包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌(“NSCLC”)、肺腺瘤和肺鳞癌在内的肺癌、腹膜癌、肝细胞癌、包括胃肠癌在内的胃癌、胰腺癌、成胶质细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、子宫内膜癌或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、肛门癌、阴茎癌,以及头颈癌。

[0061] “血液恶性肿瘤”(英国拼写“Haematological”(血液学)恶性肿瘤)是影响血液、骨髓和淋巴结的癌症类型。由于它们三个通过免疫系统紧密相连,所以影响三者之一的疾病通常也影响另外两者:虽然淋巴瘤是淋巴结的疾病,但其通常蔓延至骨髓,影响血液。血液恶性肿瘤是恶性肿瘤(“癌症”),且其基本上是由血液学和/或肿瘤学专家治疗。在某些中心“血液学/肿瘤学”是内科医学的单独亚学科,而在其它中心,其被视为不同部分(还存在外科及放射肿瘤学家)。血液病并非均为恶性(“癌性”);这些其它血液病症也可由血液学家管理。血液恶性肿瘤可由两个主要血液细胞谱系产生:髓样及淋巴样细胞系。髓样细胞系正常产生粒细胞、红细胞、血小板、巨噬细胞及肥大细胞;淋巴样细胞系产生B、T、NK和浆细胞。淋巴瘤、淋巴细胞性白血病和骨髓瘤是来自淋巴样细胞系,而急性和慢性骨髓性白血病、骨髓增生异常综合征和骨髓增生性疾病是源自髓样细胞。白血病包括急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、急性单核细胞白血病(AMOL)和小淋巴细胞淋巴瘤(SLL)。淋巴瘤包括霍奇金氏淋巴瘤(所有四种亚型)和非霍奇金氏淋巴瘤(所有亚型)。

[0062] “化疗剂”是用于治疗癌症的化合物,无论作用机制如何。化疗剂的类别包括但不限于:烷化剂、抗代谢物、纺锤体毒素植物生物碱、细胞毒性/抗肿瘤抗生素、拓扑异构酶抑制剂、抗体、光敏剂和激酶抑制剂。化疗剂包括用于“靶向治疗”和常规化疗中的化合物。化疗剂的实例包括:厄洛替尼(TARCEVA® , Genentech/OSI Pharm.)、多西他赛(TAXOTERE® , Sanofi-Aventis)、5-FU(氟尿嘧啶,5-氟尿嘧啶,CAS号51-21-8)、吉

西他滨 (**GEMZAR®**, Lilly)、PD-0325901 (CAS 号 391210-10-9, Pfizer)、顺铂 (顺-二胺, 二氯化铂 (II), CAS 号 15663-27-1)、卡铂 (CAS 号 41575-94-4)、紫杉醇 (**TAXOL®**, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N. J.)、曲妥单抗 (**HERCEPTIN®**, Genentech)、替莫唑胺 (4-甲基-5-氧代-2,3,4,6,8-五氮杂二环 [4.3.0] 壬-2,7,9-三烯-9-甲酰胺, CAS 号 85622-93-1, **TEMODAR®**, **TEMODAL®**, Schering Plough)、他莫昔芬 ((Z)-2-[4-(1,2-二苯基丁-1-烯基)苯氧基]-N,N-二甲基乙胺, **NOLVADEX®**, **ISTUBAL®**, **VALODEX®**) 和多柔比星 (**ADRIAMYCIN®**)、Akti-1/2、HPPD 和雷帕霉素。

[0063] 化疗剂的其它实例包括: 奥沙利铂 (oxaliplatin) (**ELOXATIN®**, Sanofi)、硼替佐米 (bortezomib) (**VELCADE®**, Millennium Pharm.)、舒尼替尼 (sunitinib) (**SUNITINIB®**, SU11248, Pfizer)、来曲唑 (letrozole) (**FEMARA®**, Novartis)、甲磺酸伊马替尼 (imatinib mesylate) (**GLEEVEC®**, Novartis)、XL-518 (MEK 抑制剂, Exelixis, WO2007/044515)、ARRY-886 (MEK 抑制剂, AZD6244, Array BioPharma, AstraZeneca)、SF-1126 (PI3K 抑制剂, Semaphore Pharmaceuticals)、BEZ-235 (PI3K 抑制剂, Novartis)、XL-147 (PI3K 抑制剂, Exelixis)、PTK787/ZK222584 (Novartis)、氟维司群 (fulvestrant) (**FASLODEX®**, AstraZeneca)、甲酰四氢叶酸 (leucovorin) (亚叶酸)、雷帕霉素 (西罗莫司, **RAPAMUNE®**, Wyeth)、拉帕替尼 (lapatinib) (**TYKERB®**, GSK572016, Glaxo Smith Kline)、lonafarnib (SARASAR™, SCH66336, Schering Plough)、索拉非尼 (sorafenib) (**NEXAVAR®**, BAY43-9006, Bayer Labs)、吉非替尼 (gefitinib) (**IRESSA®**, AstraZeneca)、伊立替康 (irinotecan) (**CAMPTOSAR®**, CPT-11, Pfizer)、tipifarnib (ZARNESTRA™, Johnson&Johnson)、ABRAXANE™ (Cremophor-free)、紫杉醇的白蛋白工程化纳米微粒制剂 (albumin-engineered nanoparticle formulations of paclitaxel) (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, IL)、vandetanib (rINN, ZD6474, **ZACTIMA®**, AstraZeneca)、chlorambucil、AG1478、AG1571 (SU5271; Sugen)、temsirolimus (**TORISEL®**, Wyeth)、pazopanib (GlaxoSmithKline)、canfosamide (**TELCYTA®**, Telik)、塞替派 (thiotepa) 和环磷酰胺 (cyclophosphamide) (**CYTOXAN®**, **NEOSAR®**); 磺酸烷基酯 (alkyl sulfonate) 如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡 (piposulfan); 氮丙啶 (aziridine) 如 benzodopa、卡波醌、meturedopa 和 uredopa; 乙撑亚胺 (ethylenimine) 和 甲基氨基吡啶 (methylenamine), 包括六甲蜜胺、三亚胺嗪 (triethylenemelamine)、三亚乙基磷酰胺 (triethylenephosphoramidate)、三亚乙基硫化磷酰胺 (triethylenethiophosphoramidate) 和 trimethylomelamine; 番荔枝内酯 (acetogenin) (尤其是布拉它辛 (bullatacin) 和 布拉它辛酮 (bullatacinone)); 喜树碱 (包括合成性类似物托泊替康 (topotecan)); 苔藓抑素 (bryostatin); callistatin;

CC-1065(包括其阿多来新(adozelesin)、卡折来新(carzelesin)和比折来新(bizelesin)合成性类似物);cryptophycins(特别是 cryptophycin1 和 cryptophycin8);多拉司他汀(dolastatin);duocarmycin(包括合成性类似物 KW-2189 和 CBI-TM1);艾榴塞洛素(eleutherobin);pancratistatin;sarcodictyin;spongistatin;氮芥如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷酰胺(chlorophosphamide)、雌莫司汀、异环磷酰胺、双氯乙基甲胺(mechlorethamine)、盐酸氧氮芥(mechlorethamine oxide hydrochloride)、美法仑、新氮芥(novembichin)、苯芥胆甾醇(phenesterine)、泼尼莫司汀(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥(uracil mustard);硝基脲如卡莫司汀、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀和雷莫司汀;抗生素如烯二炔(enediynes) 抗生素(例如刺孢霉素(calicheamicin), 刺孢霉素  $\gamma$  II、刺孢霉素  $\omega$  II(Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994)33:183-186);蒽环类抗生素(dynemicin), dynemicin A;二膦酸盐(bisphosphonate)如氯膦酸盐(clodronate);埃斯培拉霉素(esperamicin);以及新抑癌蛋白生色团(neocarzinostatin chromophore)和相关色蛋白烯二炔抗生素生色团(enediynes antibiotic chromophore)、aclacinomycin、放线菌素(actinomycin)、authramycin、偶氮丝氨酸(azaserine)、博来霉素、放线菌素 C(cactinomycin)、carabicin、去甲柔红霉素(carminomycin)、嗜癌素(carzinophilin)、色霉素(chromomycin)、放线菌素 D(dactinomycin)、柔红霉素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮基-5-氧代-L-正亮氨酸(6-diazo-5-oxo-L-norleucine)、吗啉代-多柔比星、氰基吗啉代-多柔比星、2-吡咯啉子基-多柔比星和去氧多柔比星)、表柔比星(epirubicin)、依索比星、伊达比星、奈莫柔比星(nemorubicin)、麻西罗霉素(marcellomycin)、丝裂霉素如丝裂霉素 C、麦考酚酸(mycophenolic acid)、诺拉霉素(nogalamycin)、橄榄霉素(olivomycins)、培洛霉素(peplomycin)、泊非霉素(porfirromycin)、嘌呤霉素(puromycin)、三铁阿霉素(quelamycin)、罗多比星(rodorubicin)、链黑霉素(streptonigrin)、链佐星(streptozocin)、杀结核菌素(tubercidin)、乌苯美司(ubenimex)、净司他丁(zinostatin)、佐柔比星;抗代谢物如甲氨喋呤和 5-氟尿嘧啶(5-FU);叶酸类似物如二甲叶酸(denopterin)、甲氨喋呤(methotrexate)、喋罗呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate);嘌呤类似物如氟达拉滨(fludarabine)、6-巯嘌呤、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鸟嘌呤(thioguanine);嘧啶类似物如安西他滨(ancitabine)、阿扎胞苷(azacytidine)、6-氮鸟苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、二脱氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、伊诺他滨(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine);雄激素如卡普睾酮(calusterone)、丙酸甲雄烷酮(dromostanolone propionate)、环硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾内酯(testolactone);抗肾上腺素(anti-adrenal)如氨鲁米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane);叶酸补充剂(folic acid replenisher)如亚叶酸(frolinic acid);醋葡醛内酯(aceglatone);醛磷酰胺糖苷(aldophosphamide glycoside);氨基乙酰丙酸(aminolevulinic acid);恩尿嘧啶(eniluracil);安吡啶(amsacrine);bestrabucil;比生群(bisantrene);伊达曲杀(edatraxate);地磷酰胺(defofamine);秋水仙胺(demecolcine);地吡醌(diaziquone);elfornithine;依利醋铵(elliptinium acetate);埃坡霉素(epothilone);依托格鲁



(etoglucid); 硝酸镓 (gallium nitrate); 羟基脲 (hydroxyurea); 香菇多糖 (lentinan); 氯尼达明 (lonidainine); 美登醇 (maytansinoid) 如美登素 (maytansine) 和安丝菌素 (ansamitocin); 米托胍脲 (mitoguazone); 米托蒽醌 (mitoxantrone); mopidanmol; 根瘤菌剂 (nitraerine); 喷司他丁 (pentostatin); 蛋氨酸芥 (phenamet); 吡柔比星 (pirarubicin); 洛索蒽醌 (losoxantrone); 鬼臼酸 (podophyllinic acid); 2-乙基胍; 丙卡巴肼 (procarbazine); **PSK®** 多糖复合物 (JHS Natural Products, Eugene, OR); 雷佐生 (razoxane); 根霉素 (rhizoxin); 西佐喃 (sizofiran); 锗螺胺 (spirogermanium); 细交链孢菌酮酸 (tenuazonic acid); 三亚胺醌 (triaziquone); 2, 2', 2''-三氯三乙胺; 单端孢菌毒素 (trichothecene) (尤其是 T-2 毒素、verracurin A、杆孢菌素 A 和 anguidine); 乌拉坦; 长春地辛; 达卡巴嗪 (dacarbazine); 甘露莫司汀 (mannomustine); 二溴甘露醇 (mitobronitol); 二溴卫矛醇 (mitolactol); 哌泊溴烷 (pipobroman); gacytosine; 阿糖胞苷 (arabioside) (“Ara-C”); 环磷酰胺; 塞替派; 6-硫代鸟嘌呤; 巯嘌呤; 甲氨嘌呤; 铂类似物如顺铂和卡铂; 长春碱; 依托泊苷 (VP-16); 异环磷酰胺; 米托蒽醌; 长春新碱; 长春瑞滨 (**NAVELBINE®**); 诺消灵 (novantrone); 替尼泊苷 (teniposide); 伊达曲杀 (edatrexate); 柔红霉素; 氨基嘌呤 (aminopterin); 卡培他滨 (capecitabine) (**XELODA®**, Roche); 伊班膦酸盐 (ibandronate); CPT-11; 拓扑异构酶抑制剂 RFS2000; 二氟甲基鸟氨酸 (difluoromethylornithine, DMFO); 类视黄醇 (retinoid) 如视黄酸 (retinoic acid); 以及上述任何物质的可药用盐、酸和衍生物。

[0064] 以下物质也包括在“化疗剂”的定义中: (i) 用于调节或抑制激素对肿瘤的作用的抗激素药物, 如抗雌激素药物 (anti-estrogen) 和选择性雌激素受体调节剂 (selective estrogen receptor modulator, SERM), 包括例如他莫昔芬 (包括 **NOLVADEX®**; 枸橼酸他莫昔芬)、雷洛昔芬、屈洛昔芬、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬 (trioxifene)、雷洛西芬 (keoxifene)、LY117018、奥那司酮 (onapristone) 和 **FARESTON®** (枸橼酸托米芬 (toremifine citrate)); (ii) 抑制芳香酶 (调节肾上腺中雌激素产生) 的芳香酶抑制剂, 例如 4(5)-咪唑、氨鲁米特、**MEGASE®** (醋酸甲地孕酮 (megestrol acetate))、**AROMASIN®** (依西美坦 (exemestane); Pfizer)、formestanie、法偈唑 (fadrozole)、**RIVISOR®** (伏氯唑 (vorozole))、**FEMARA®** (来曲唑; Novartis) 和 **ARIMIDEX®** (阿那曲唑 (anastrozole); AstraZeneca); (iii) 抗雄激素药物 (anti-androgen), 如氟他胺 (flutamide)、尼鲁米特 (nilutamide)、比卡鲁胺 (bicalutamide)、醋酸亮丙瑞林 (leuprolide) 和戈舍瑞林 (goserelin) 以及曲沙他滨 (troxacitabine) (1, 3-二氧戊环核苷胞嘧啶类似物); (iv) 蛋白激酶抑制剂, 例如 MEK 抑制剂 (W02007/044515); (v) 脂质激酶抑制剂; (vi) 反义寡核苷酸, 特别是抑制异常细胞增殖中所涉及的信号转导途径中的基因表达的那些反义寡核苷酸, 例如 PKC- $\alpha$ 、Raf 和 H-Ras, 如 oblimersen (**GENASENSE®**, Genta Inc.); (vii) 核酶如 VEGF 表达抑制剂 (例如 **ANGIOZYME®**) 和 HER2 表达抑制剂; (viii) 疫苗如基因治疗疫苗, 例如 **ALLOVECTIN®**, **LEUVECTIN®** 和 **VAXID®**; **PROLEUKIN®** rIL-2; 拓扑异构

酶 1 抑制剂如 **LURTOTECAN®**; **ABARELIX®** rmRH; (ix) 抗血管生成药物如贝伐单抗 (**AVASTIN®**, Genentech); 以及上述任何物质的药用盐、酸和衍生物。

[0065] 还包括在“化疗剂”定义中的有治疗性抗体, 比如阿仑珠单抗 (alemtuzumab, Campath)、贝伐珠单抗 (**AVASTIN®**, Genentech); 西妥昔单抗 (**ERBITUX®**, Imclone); 帕木单抗 (panitumumab, **VECTIBIX®**, Amgen)、利妥昔单抗 (**RITUXAN®**, Genentech/Biogen Idec)、培妥珠单抗 (pertuzumab, **OMNITARG®**, 2C4, Genentech)、曲妥单抗 (**HERCEPTIN®**, Genentech)、托西莫单抗 (Bexxar, Corixa) 和抗体药物轭合物奥吉妥珠单抗 (gemtuzumab ozogamicin, **MYLOTARG®**, Wyeth)。

[0066] 具有作为化学治疗剂的治疗潜力而与本发明的 Btk 抑制剂联用的人源化单克隆抗体包括: 阿仑珠单抗 (alemtuzumab)、阿泊珠单抗 (apolizumab)、阿塞珠单抗 (aselizumab)、atlizumab、bapineuzumab、贝伐珠单抗 (bevacizumab)、莫比伐珠单抗 (bivatuzumab mertansine)、莫坎妥珠单抗 (cantuzumab mertansine)、西利珠单抗 (cedelizumab)、赛妥珠单抗 (certolizumab pegol)、cidfusituzumab、cidtuzumab、达克珠单抗 (daclizumab)、依库珠单抗 (eculizumab)、依法珠单抗 (efalizumab)、依帕珠单抗 (epratuzumab)、厄利珠单抗 (erlizumab)、泛维珠单抗 (felvizumab)、芳妥珠单抗 (fontolizumab)、奥吉妥珠单抗 (gemtuzumab ozogamicin)、奥英妥珠单抗 (inotuzumab ozogamicin)、ipilimumab、拉贝珠单抗 (labetuzumab)、林妥珠单抗 (lintuzumab)、马妥珠单抗 (matuzumab)、美泊珠单抗 (mepolizumab)、莫维珠单抗 (motavizumab)、motovizumab、那他珠单抗 (natalizumab)、尼妥珠单抗 (nimotuzumab)、nolovizumab、numavizumab、ocrelizumab、奥马珠单抗 (omalizumab)、帕利珠单抗 (palivizumab)、帕考珠单抗 (pascolizumab)、pecfusituzumab、pectuzumab、培妥珠单抗 (pertuzumab)、培克珠单抗 (pexelizumab)、ralivizumab、雷珠单抗 (ranibizumab)、瑞利珠单抗 (reslivizumab)、瑞利珠单抗 (reslizumab)、resyvizumab、罗维珠单抗 (rovelizumab)、卢利珠单抗 (ruplizumab)、西罗珠单抗 (sibrotuzumab)、西利珠单抗 (siplizumab)、索土珠单抗 (sontuzumab)、他珠单抗 (tacatuzumab tetraxetan)、tadocizumab、他利珠单抗 (talizumab)、特非珠单抗 (tefibazumab)、托珠单抗 (tocilizumab)、托利珠单抗 (toralizumab)、曲司珠单抗 (trastuzumab)、Tucotuzumab 西莫白介素 (tucotuzumab celmoleukin)、tucosituzumab、umavizumab、乌珠单抗 (urtoxazumab) 和维西珠单抗 (visilizumab)。

[0067] “代谢物”是通过具体化合物或其盐在体内的代谢而产生的产物。可使用本领域已知的常规技术鉴定化合物的代谢物, 并使用如本申请所述的试验确定它们的活性。所述产物可起因于例如所给药的化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、脱酰胺化、酯化、脱酯化、酶法裂解等。因此, 本发明包括本发明化合物的代谢物, 包括由以下方法产生的化合物, 所述方法包括使本发明式 I 化合物与哺乳动物接触足以产生其代谢产物的一段时间。

[0068] 术语“包装说明书”是指通常包括在治疗产品的市售包装中的说明书, 其含有关于适应症、用法、剂量、给药、禁忌症和 / 或注意事项的信息, 这些信息涉及上述治疗产品的使用。

[0069] 术语“手性”是指具有镜像配偶体 (mirror image partner) 不可重叠性质的分子, 而术语“非手性”是指可与其镜像配偶体重叠的分子。

[0070] 术语“立体异构体”是指具有相同化学组成但原子或基团的取向在空间上的排列不同的化合物。

[0071] “非对映异构体”是指具有两个或更多手性中心并且其分子不互为镜像的立体异构体。非对映异构体具有不同的物理性质, 如熔点、沸点、光谱性质和反应性。非对映异构体的混合物可通过高分辨分析操作如电泳和色谱来分离。

[0072] “对映异构体”是指互为不可重叠镜像的化合物的两种立体异构体。

[0073] 本申请使用的立体化学定义和常规用语 (convention) 通常遵循 S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; and Eliel, E. and Wilen, S., “Stereochemistry of Organic Compounds”, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994。本发明化合物可含有不对称或手性中心, 因此以不同立体异构形式存在。预期的是, 本发明化合物的所有立体异构形式, 包括但不限于非对映异构体、对映异构体和阻转异构体 (atropisomers) 及它们的混合物如外消旋混合物, 形成了本发明的部分。许多有机化合物以光学活性形式存在, 即它们具有旋转平面偏振光的平面的能力。在描述有光学活性的化合物时, 使用前缀 D 和 L 或者 R 和 S 来表示分子关于其一个或多个手性中心的绝对构型。前缀 d 和 l 或者 (+) 和 (-) 用于指定平面偏振光由化合物引起的旋转的符号, 其中 (-) 或 l 表示化合物是左旋的。前缀为 (+) 或 d 的化合物是右旋的。对于给定的化学结构而言, 除了这些立体异构体互为镜像外, 这些立体异构体是相同的。具体的立体异构体也可称为对映异构体, 所述异构体的混合物通常称作对映异构混合物。对映异构体的 50:50 混合物称为外消旋混合物或外消旋体, 当化学反应或方法中没有立体选择性或立体专一性时可出现这种情况。术语“外消旋混合物”和“外消旋体”是指两种对映异构物质的等摩尔混合物, 其没有光学活性。对映异构体可通过手性分离方法, 例如超临界流体色谱法 (SFC) 而从外消旋混合物分离。经分离对映异构体中手性中心处的构型排布可为暂定的, 并用于说明目的在表 1 结构中描述, 而立体化学确定待定, 如 x-射线晶体学数据。

[0074] 术语“互变异构体”或“互变异构形式”是指可通过低能垒 (low energy barrier) 互相转化的不同能量的结构异构体。例如, 质子互变异构体 (proton tautomer) (也称为质子移变互变异构体 (prototropic tautomer)) 包括通过质子迁移进行的互相转化, 如酮-烯醇异构化和亚胺-烯胺异构化。价键互变异构体 (valence tautomer) 包括通过一些成键电子的重组进行的互相转化。

[0075] 术语“药用盐”表示并非生物学或其它情况下不期望的盐。药用盐包括酸和碱加成盐。短语“药用的”表明该物质或组合物需与制剂包含的其它成分和 / 或采用其治疗的哺乳动物在化学和 / 或毒物学上相容。

[0076] 术语“药用酸加成盐”表示与以下酸形成的那些药用盐: 无机酸, 例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、碳酸、磷酸, 以及选自脂肪族、环脂族、芳香族、芳脂族、杂环、羧酸和磺酸类的有机酸, 例如甲酸、乙酸、丙酸、乙醇酸、葡萄糖酸、乳酸、丙酮酸、草酸、苹果酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、天冬氨酸、抗坏血酸、谷氨酸、氨基甲酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、双羟萘酸、苯乙酸、甲磺酸“甲磺酸”、乙磺酸、对甲苯磺酸和水杨酸。

[0077] 术语“药用碱加成盐”表示与有机或无机碱形成的那些药用盐。可接受的无机碱的实例包括钠、钾、铵、钙、镁、铁、锌、铜、锰和铝盐。源自药用有机无毒碱的盐包括以下化合物的盐：伯、仲和叔胺，经取代胺，包括天然经取代胺、环胺及碱性离子交换树脂，如异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、2-二乙氨基乙醇、三甲胺、二环己胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、哈胺 (hydrabamine)、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡萄糖胺、甲基葡萄糖胺、可可碱、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶和聚胺树脂。

[0078] “溶剂化物”是指一种或多种溶剂分子与本发明化合物的缔合物 (association) 或络合物 (complex)。形成溶剂化物的溶剂的实例包括但不限于水、异丙醇、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸和乙醇胺。

[0079] 术语“ $EC_{50}$ ”是半数最大有效浓度，并表示在体内获得特定效应的最大值的 50% 所需的特定化合物的血浆浓度。

[0080] 术语“ $K_i$ ”是抑制常数并表示特定抑制剂对受体的绝对亲和力。其测量是使用竞争结合测定，且等于当不存在竞争配体（例如，放射配体）时特定抑制剂占据 50% 受体时的浓度。 $K_i$  值可以对数方式转化为  $pK_i$  值 ( $-\log K_i$ )，其中较高值表示指数较大效力。

[0081] 术语“ $IC_{50}$ ”是半数最大抑制浓度并表示在体外获得对生物过程的 50% 抑制所需的特定化合物浓度。 $IC_{50}$  值可以对数方式转化为  $pIC_{50}$  值 ( $-\log IC_{50}$ )，其中较高值表示指数较大效力。 $IC_{50}$  值并非绝对值，而是视实验条件而定，例如所使用的浓度，并可利用 Cheng-Prusoff 等式转化为绝对抑制常数 ( $K_i$ ) (Biochem. Pharmacol. (1973) 22:3099)。可计算其它百分抑制参数，例如  $IC_{70}$ 、 $IC_{90}$  等。

[0082] 术语“该发明化合物”和“本发明化合物”和“式 I 化合物”包括式 I 化合物及其立体异构体、几何异构体、互变异构体、溶剂化物、代谢物和药用盐和前药。

[0083] 本申请给出的任意式或结构（包括式 I 化合物）也预期表示所述化合物的水合物、溶剂化物和多晶型物或它们的混合物。

[0084] 本申请给出的任意式或结构（包括式 I 化合物）也预期表示所述化合物的未标记形式和同位素标记形式。同位素标记的化合物具有本申请给出的式所描述的结构，不同的是一个或多个原子被具有所选原子质量或质量数的原子替换。可结合到本发明化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素，例如但不限于  $^2H$  (氘 D)、 $^3H$  (氚)、 $^{11}C$ 、 $^{13}C$ 、 $^{14}C$ 、 $^{15}N$ 、 $^{18}F$ 、 $^{31}P$ 、 $^{32}P$ 、 $^{35}S$ 、 $^{36}Cl$  和  $^{125}I$ 。各种同位素标记的本发明化合物例如其中结合了放射性同位素例如  $^3H$ 、 $^{13}C$  和  $^{14}C$  的那些化合物。所述同位素标记的化合物可用在代谢研究、反应动力性研究、检测或成像技术例如正电子发射断层扫描 (PET) 或单光子发射计算机断层成像 (SPECT)（包括药物或底物组织分布测定）中，或用在放射活性治疗患者中。氘标记或氚取代的本发明化合物可具有改善的 DMPK (药物代谢和药代动力学) 性质，涉及分布、代谢和排泄 (ADME)。用较重同位素例如氘取代可因较大代谢稳定性而得到一些治疗益处，例如体内半衰期延长或剂量需要量减少。 $^{18}F$  标记的化合物可用于 PET 或 SPECT 研究。同位素标记的本发明化合物及其前药可大体上通过以下方式用实施例披露的操作和下面描述的制备方法制备，所述方式为用容易获得的同位素标记的试剂代替非同位素标记的试剂。此外，用较重同位素特别是氘（即， $^2H$  或 D）取代可因较大代谢稳定性而得到一些治疗益处，例如体内半衰期延长或剂量需要量减少或治疗指数得到改善。应当理解的是，该上下文中的氘被认为是式化合物 (I) 中的取代基。所述较重同位素（特别是氘）的浓度可通过

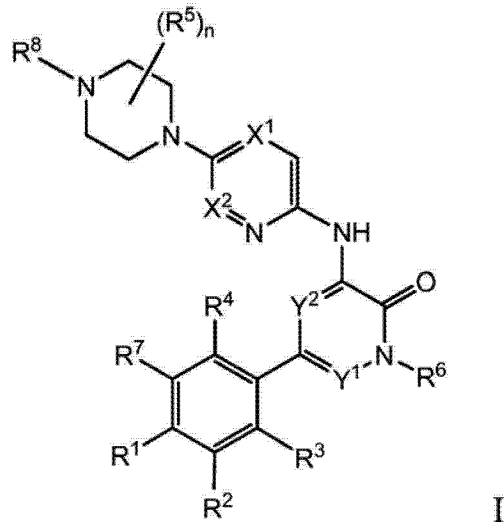
同位素富集因子 (isotopic enrichment factor) 定义。在本发明的化合物中,未被专门指定为特定同位素的原子是表示该原子的任意稳定同位素。除非另有说明,当将一处位置专门指定为“H”或“氢”,该位置应被理解为具有天然丰度同位素组成的氢。因此,本在本发明化合物中,被专门指定为氘(D)的任意原子意欲表示氘。

[0085] 烷基化哌嗪化合物

[0086] 本发明提供式 I 的烷基化哌嗪化合物及其药物制剂,其可用于治疗由 Btk 激酶调节的疾病、病症和 / 或障碍。

[0087] 式 I 化合物的示例性实施方案包括

[0088]



I

[0089] 或其立体异构体、互变异构体或药用盐,其中:

[0090]  $R^1$ 、 $R^2$  和  $R^3$  独立地选自 H、F、Cl、 $-NH_2$ 、 $-NHCH_3$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CH_2OH$  和  $C_1-C_3$  烷基;

[0091]  $R^4$  选自 H、F、Cl、CN、 $-CH_2OH$ 、 $-CH(CH_3)OH$ 、 $-C(CH_3)_2OH$ 、 $-CH(CF_3)OH$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CH_2CHF_2$ 、 $-CF_3$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHCH_3$ 、 $-C(O)N(CH_3)_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHCH_3$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-NHC(O)CH_3$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CH_2OH$ 、环丙基、环丙基甲基、1-羟基环丙基、咪唑基、吡啶基、3-羟基-氧杂环丁烷-3-基、氧杂环丁烷-3-基和氮杂环丁烷-1-基;

[0092]  $R^5$  选自  $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$  和  $-CH_2CH_2OH$ ;

[0093] 或两个  $R^5$  基团形成 3-、4-、5- 或 6- 元碳环或杂环;

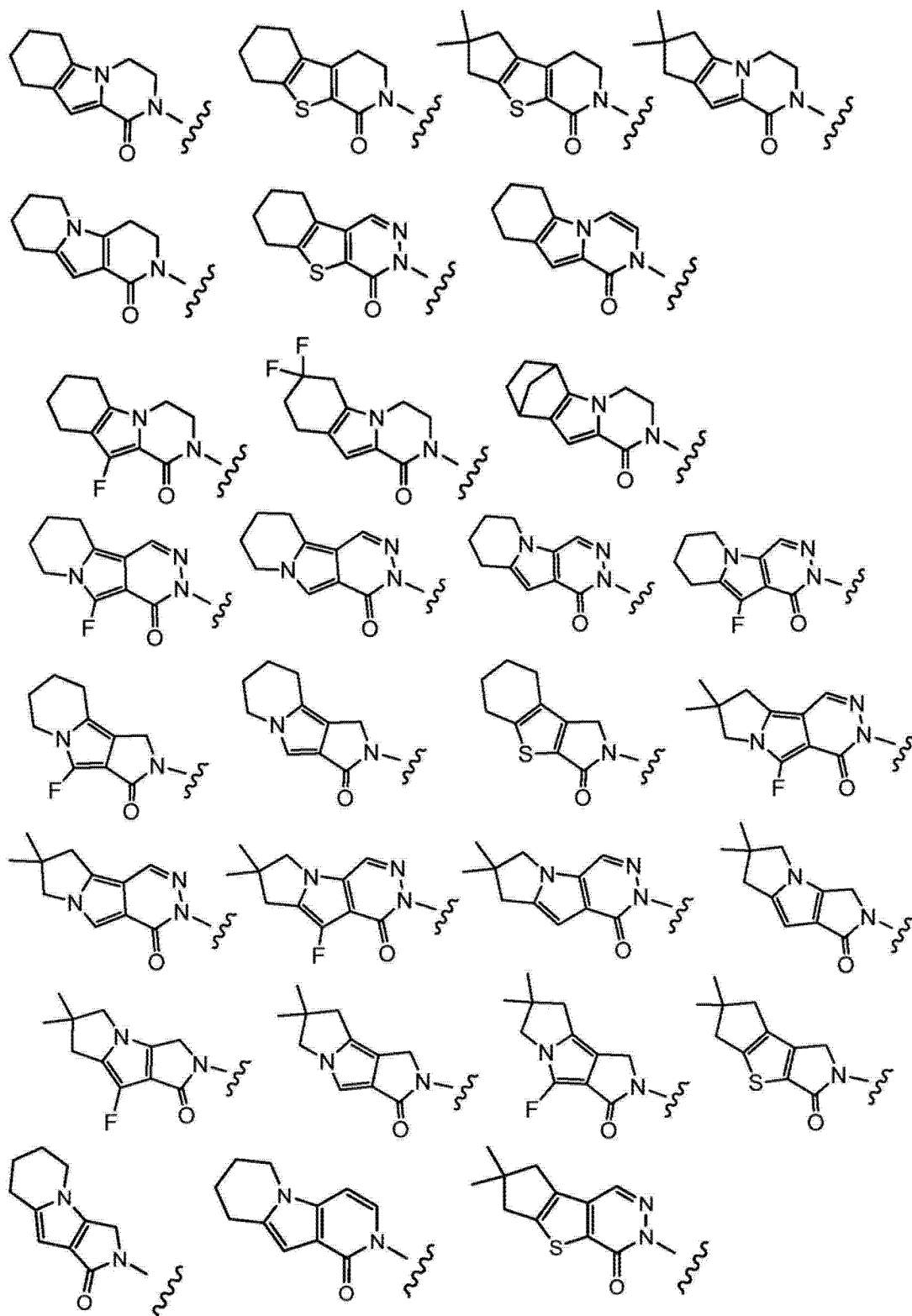
[0094] 或  $R^5$  基团和  $R^8$  基团形成 3-、4-、5- 或 6- 元碳环或杂环;

[0095] n 是 1、2、3 或 4;

[0096]  $R^6$  选自 H、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-NH_2$  和  $-OH$ ;

[0097]  $R^7$  选自以下结构:

[0098]



[0099] 其中波浪线指示连接位点；

[0100]  $R^8$  选自  $-CH_3$ 、 $-S(O)_2CH_3$ 、环丙基、氮杂环丁烷-3-基、氧杂环丁烷-3-基和吗啉-4-基；

[0101]  $X^1$  是  $CR^9$  或 N，其中  $R^9$  选自 H、F、Cl、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHCH_3$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$  和  $-OCH_2CH_2OH$ ；

[0102]  $X^2$  是  $CR^{10}$  或 N，其中  $R^{10}$  选自 H、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$  和  $-CH_2CH_2OH$ ；且

[0103]  $Y^1$  和  $Y^2$  独立地选自 CH 和 N, 其中  $Y^1$  和  $Y^2$  不同时是 N。

[0104] 式 I 化合物的示例性实施方案包括其中 X 是  $CR^9$ , 且  $R^9$  是 H。

[0105] 式 I 化合物的示例性实施方案包括其中 X 是 N。

[0106] 式 I 化合物的示例性实施方案包括其中  $R^4$  是  $-CH_2OH$ 。

[0107] 式 I 化合物的示例性实施方案包括其中  $R^2$  是 F。

[0108] 式 I 化合物的示例性实施方案包括其中  $R^1$  和  $R^3$  是 H。

[0109] 式 I 化合物的示例性实施方案包括其中  $R^6$  是  $CH_3$ 。

[0110] 本发明的式 I 化合物可包含不对称中心或手性中心, 因而以不同的立体异构体形式存在。本发明化合物的所有立体异构体形式, 包括但不限于其非对映异构体、对映异构体和阻转异构体以及它们的混合物例如外消旋混合物, 意在构成本发明的一部分。

[0111] 此外, 本发明涵盖所有的非对映异构体, 包括顺-反(几何)异构体和构象异构体。例如, 若式 I 化合物包含双键或稠合环, 则顺式和反式形式以及其混合物被涵盖在本发明的范围内。

[0112] 在本申请所示的结构中, 若未指明任何具体手性原子的立体化学, 则所有的立体异构体被视为并被包含为本发明的化合物。若以表示具体构型的楔形实线或虚线指明立体化学, 则如此指明和定义该立体异构体。

[0113] 本发明的化合物可以未溶剂化的形式、以及用药用溶剂例如水、乙醇等溶剂化的形式存在, 并且本发明意在涵盖溶剂化的和未溶剂化的形式。

[0114] 本发明的化合物还可以不同的互变异构体形式存在, 并且所有这样的形式都被涵盖在本发明的范围内。术语“互变异构体”或“互变异构形式”是指通过低能垒可互相转变的能量不同的结构异构体。例如, 质子互变异构体(也称为质子转移互变异构体)包括通过质子的迁移互相转化, 例如酮-烯醇和亚胺-烯胺异构化。价键互变异构体包括通过一些成键电子的重组互相转化。

[0115] 生物学评价

[0116] 可通过测定每种化合物将活性抑制到预定程度时的浓度而后将结果对比来确定式 I 化合物作为酶活性(或其它生物活性)的抑制剂的相对效力。通常, 优选测定的是在生化测定中抑制 50% 的活性时的浓度, 即, 50% 抑制浓度或“ $IC_{50}$ ”。可利用本领域已知的常规技术完成  $IC_{50}$  值的测定。一般可通过测量特定酶在一系列浓度的待研究的抑制剂存在下的活性来确定  $IC_{50}$ 。然后以实验获得的酶活性值对所用的抑制剂浓度作图。将显示 50% 酶活性(与不存在任何抑制剂时的活性相比)时的抑制剂浓度作为  $IC_{50}$  值。类似地, 可通过适当地测定活性来确定其它的抑制浓度。例如, 在一些情况中可能期望确定 90% 抑制浓度, 即  $IC_{90}$  等。

[0117] 通过标准生化 Btk 激酶测定来测试式 I 化合物(实施例 901)。

[0118] 可用来测试式 I 化合物的标准细胞 Btk 激酶测定的一般方法是 Ramos 细胞 Btk 测定(实施例 902)。

[0119] 标准细胞 B 细胞增殖测定可用来以从 Ba1b/c 小鼠脾纯化的 B 细胞测试式 I 化合物(实施例 903)。

[0120] 标准 T 细胞增殖测定可用来以从 Ba1b/c 小鼠脾纯化的 T 细胞测试式 I 化合物(实施例 904)。

[0121] 针对抑制 B 细胞活性,可以用从 8-16 周龄的 Balb/c 小鼠脾纯化的全小鼠脾细胞对式 I 化合物进行 CD86 抑制测定(实施例 905)。

[0122] 为了测量在培养物中存活的 B-ALL 细胞的数量,可以对式 I 化合物对进行 B-ALL 细胞存活测定(实施例 906)。

[0123] 可对式 I 化合物进行 CD69 全血测定以测量化合物对由表面 IgM 与山羊 F(ab')<sub>2</sub> 抗-人类 IgM 交联所活化的人类全血中的 B 淋巴细胞产生 CD69 的抑制能力(实施例 907)。CD69 是参与淋巴细胞迁移和细胞因子分泌的 II 型 C 型凝集素。CD69 表达代表白细胞激活的最早可用指示剂之一且其快速诱导通过转录激活发生(Vazquez 等人(2009) *Jour. of Immunology*, 2009 年 10 月 19 日公开, doi:10.4049/jimmunol.0900839)。选择性 Btk 抑制剂对抗原受体刺激的浓度依赖性抑制诱导淋巴细胞活化标记物 CD69 的细胞表面表达(Honigberg 等人(2010) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107(29):13075-13080)。因此,选择性 Btk 抑制剂的 CD69 抑制可与某些 B 细胞病症的治疗功效相关。示例性的式 I 化合物的 CD69Hu Blood FACS IC70 值示于表 1 和 2 中。

[0124] 示例性的式 I 化合物的细胞毒性或细胞生长抑制活性可如下测量:在细胞培养基中确立增殖哺乳动物肿瘤细胞系,加入式 I 化合物,培养细胞约 6 小时至约 5 天时间;并测量细胞存活力(实施例 908)。基于细胞的体外测定用于测量存活力,即增殖(IC<sub>50</sub>)、细胞毒性(EC<sub>50</sub>)和诱导细胞凋亡(半胱天冬酶活化)并可用于预测对血液恶性肿瘤和实体瘤的临床功效。

[0125] 式 I 化合物与化疗剂的组合的体外功效可如下测量:实施例 908 的细胞增殖测定;可从 Promega Corp., Madison, WI 商购的 **CellTiter-Glo**<sup>®</sup> 发光细胞存活力测定。该均质测定法是基于鞘翅目萤光素酶的重组表达(US5583024 ;US5674713 ;US5700670)和基于存在的 ATP(代谢活性细胞的指示剂)的定量来测量培养物中活细胞数目(Crouch 等人(1993) *J. Immunol. Meth.* 160:81-88 ;US6602677)。**CellTiter-Glo**<sup>®</sup> 测定以 96 或 384 孔模式进行,使得可进行自动高通量筛选(HTS)(Cree 等人(1995) *AntiCancer Drugs* 6:398-404)。所述均质测定程序包括将单一试剂(**CellTiter-Glo**<sup>®</sup> 试剂)直接加入到补充血清的培养基中培养的细胞中。不需要细胞洗涤、移除培养基和多次移液步骤。在加入试剂并混合后的 10 分钟内,所述系统以 384 孔模式检测少至 15 个细胞/孔。

[0126] 均质“加入-混合-测量”模式导致细胞溶解并产生与存在的 ATP 的量成比例的发光信号。ATP 的量直接与培养物中存在的细胞数目成比例。**CellTiter-Glo**<sup>®</sup> 测定产生由萤光素酶引起的“辉光型”发光信号,其具有通常大于五小时的半衰期,取决于所使用的细胞类型和培养基。以相对发光单位(RLU)反映活细胞。通过重组萤火虫萤光素酶使底物(甲虫萤光素(Beetle Luciferin))氧化脱羧,伴随着将 ATP 转化成 AMP 并产生光子。延长的半衰期消除了对使用试剂注射器的需要并且为多板的连续或分批模式处理提供了灵活性。该细胞增殖测定可用于各种多孔模式,例如 96 或 384 孔模式。可通过光度计或 CCD 相机成像装置记录数据。发光输出(luminescence output)表示为随时间测量的相对光单位(RLU)。

[0127] 通过 **CellTiter-Glo**<sup>®</sup> 测定(实施例 908)测量示例性的式 I 化合物和与化疗剂的组合对某些血液肿瘤细胞系的抗增殖功效。确立测试的化合物和组合的 EC<sub>50</sub> 值。

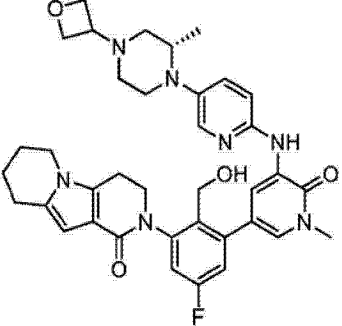
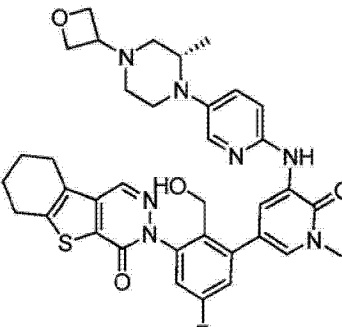
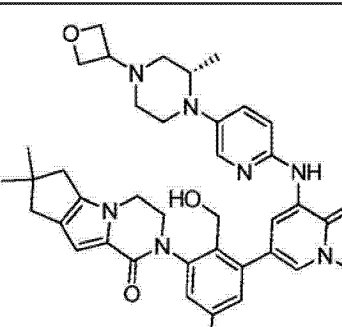
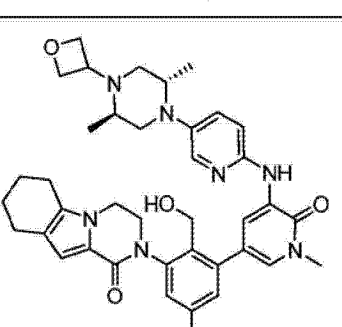
[0128] 按照本发明的方法制备和表征了表 1 和 2 中示例性的式 I 化合物,并且测试了它



们对 Btk 的抑制,所述示例性的式 I 化合物具有以下结构和相应的名称 (ChemDraw Ultra, 9.0.1 版, 和 ChemBioDraw, 11.0 版, CambridgeSoft Corp., Cambridge MA)。在多于一种名称与式 I 化合物或中间体相关的情况中,应以化学结构定义该化合物。

[0129] 表 1.

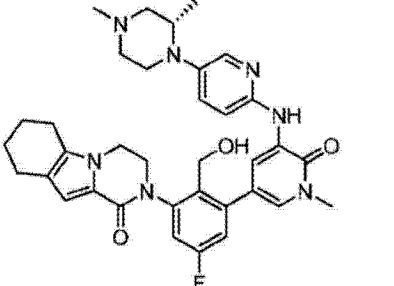
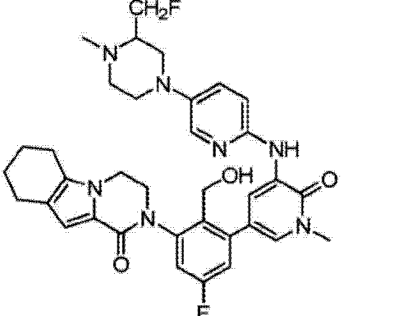
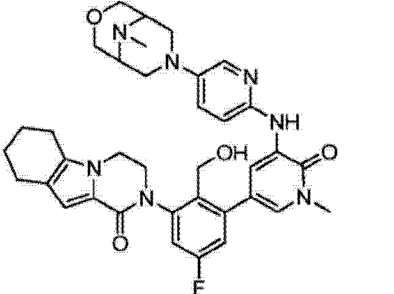
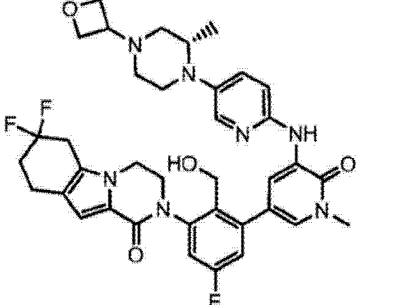
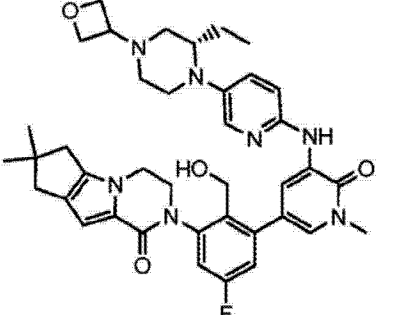
[0130]

编号	结构	IUPAC 名称	摩尔重量	CD69 人类血液 FACS IC70 ( $\mu\text{M}$ )
101		(S)-2-(5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡啶并[3,4-b]喹啉-1(2H)-酮	669	0.0338
102		(S)-5-[5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)苯基]-8-硫杂-4,5-二氮杂三环[7.4.0.0.2,7]十三-1(9),2(7),3-三烯-6-酮	684	0.031
103		(2S)-10-[5-氟-2-(羟基甲基)-3-[1-甲基-5-({5-[2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]吡啶-2-基}氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基]苯基]-4,4-二甲基-1,10-二氮杂三环[6.4.0.0.2,6]十二-2(6),7-二烯-9-酮	682	0.0145
104		2-(3-(5-(5-((2S,5R)-2,5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡啶并[1,2-a]喹啉-1(2H)-酮	682	0.015

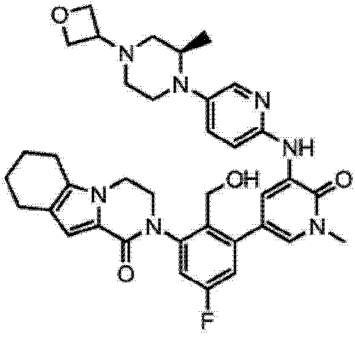
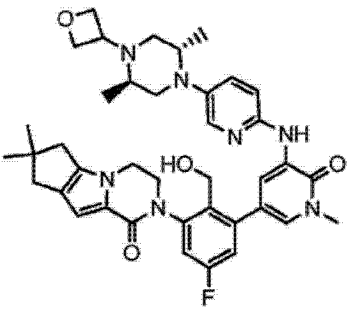
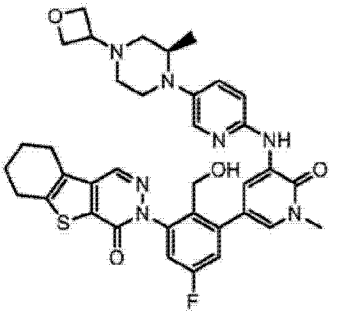
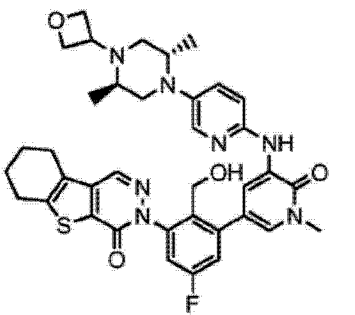
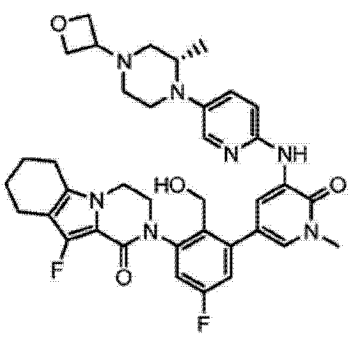
[0131]

105		(S)-2-(3-(5-(5-(2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-1(2H)-酮	682	0.008
106		(S)-2-(5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-1(2H)-酮	668	0.019
107		(S)-2-(3-(5-(5-(3,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-1(2H)-酮	626	0.044
108		(R)-2-(3-(5-(5-(3,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-1(2H)-酮	626	0.023
109		(R)-2-(3-(5-(5-(2,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-1(2H)-酮	626	0.029

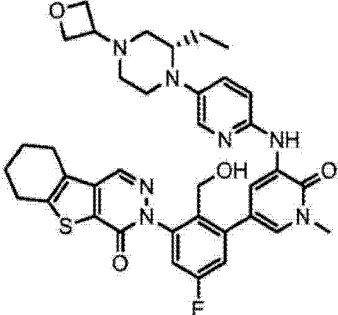
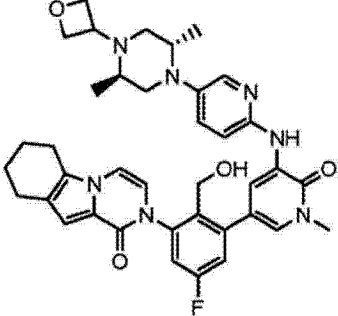
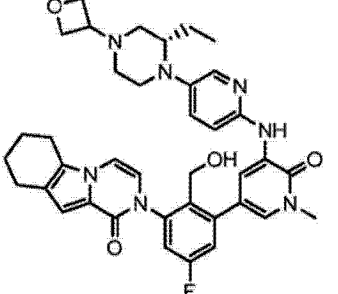
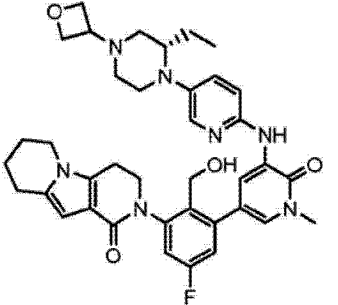
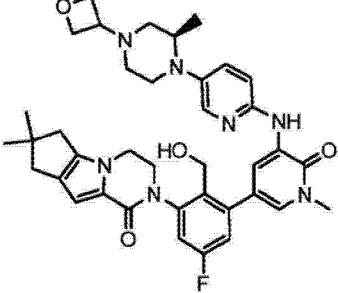
[0132]

110		(S)-2-(3-(5-(5-(2,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吲哚-1(2H)-酮	626	0.006
111		2-(5-氟-3-(5-(5-(3-(氟甲基)-4-甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吲哚-1(2H)-酮	644	0.092
112		2-(5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(9-甲基-7-氧杂-3,9-二氧杂-二环[3.3.1]壬-3-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吲哚-1(2H)-酮	654	0.17
113		(S)-7,7-二氟-2-(5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吲哚-1(2H)-酮	703.75	
114		2-(3-{5-[5-((S)-2-乙基-4-氧杂环丁烷-3-基-哌嗪-1-基)-吡啶-2-基氨基]-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢-吡啶-3-基}-5-氟-2-羟基甲基-苯基)-7,7-二甲基-3,4,7,8-四氢-2H,6H-环戊二烯并[4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪-1-酮	695.83	

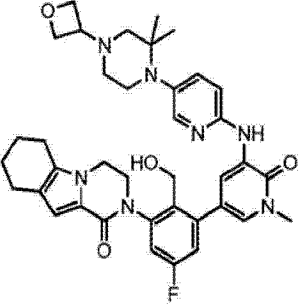
[0133]

115		(R)-2-(5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-1(2H)-酮	667.77	
116		2-(3-{5-[5-((2S,5R)-2,5-二甲基-4-氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]-吡啶-2-基氨基}-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢-吡啶-3-基}-5-氟-2-羟基甲基-苯基)-7,7-二甲基-3,4,7,8-四氢-2H,6H-环戊二烯并[4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪-1-酮	695.83	
117		3-(5-氟-2-羟基甲基-3-{1-甲基-5-[5-((R)-2-甲基-4-氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]-吡啶-2-基氨基}-6-氧代-1,6-二氢-吡啶-3-基}-苯基)-6,7,8,9-四氢-3H-苯并[4,5]噻吩并[2,3-d]吡嗪-4-酮	683.79	
118		3-(3-{5-[5-((2S,5R)-2,5-二甲基-4-氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]-吡啶-2-基氨基}-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢-吡啶-3-基}-5-氟-2-羟基甲基-苯基)-6,7,8,9-四氢-3H-苯并[4,5]噻吩并[2,3-d]吡嗪-4-酮	697.82	
119		(S)-10-氟-2-(5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-1(2H)-酮	685.76	

[0134]

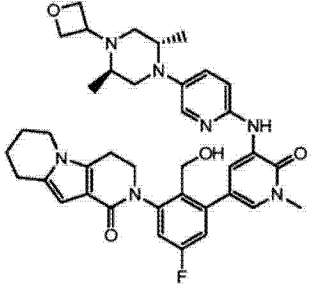
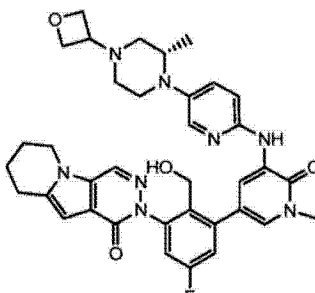
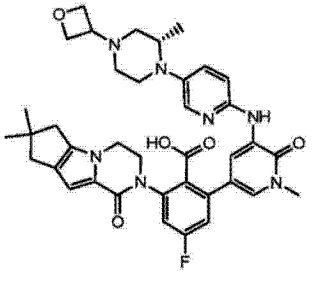
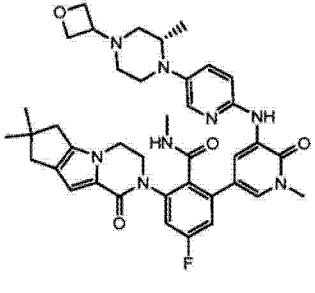
120		3-(3-{5-[5-((S)-2-乙基-4-氧杂环丁烷-3-基-哌嗪-1-基)-吡啶-2-基氨基]-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢-吡啶-3-基}-5-氟-2-羟基甲基-苯基)-6,7,8,9-四氢-3H-苯并[4,5]噻吩并[2,3-d]哒嗪-4-酮	697.82	
121		2-(3-(5-(5-((2S,5R)-2,5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-6,7,8,9-四氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-1(2H)-酮	679.78	
122		(S)-2-(3-(5-(5-(2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-6,7,8,9-四氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-1(2H)-酮	680.78	
123		(S)-2-(3-(5-(5-(2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡啶并[3,4-b]咪唑-1(2H)-酮	681.80	
124		2-(5-氟-2-羟基甲基-3-{1-甲基-5-[5-((R)-2-甲基-4-氧杂环丁烷-3-基-哌嗪-1-基)-吡啶-2-基氨基]-6-氧代-1,6-二氢-吡啶-3-基}-苯基)-7,7-二甲基-3,4,7,8-四氢-2H,6H-环戊二烯并[4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪-1-酮	681.80	

[0135]

125		2-(3-(5-(5-(2,2-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-1(2H)-酮	681.80	
-----	---	--	--------	--

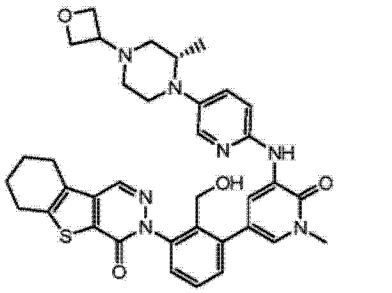
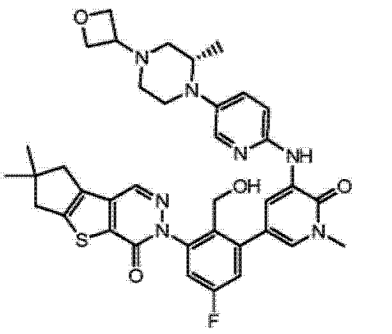
[0136] 表 2.

[0137]

编号	结构	IUPAC 名称	CD69 人类 血液 FACS (IC70)
126		2-[3-[5-[[5-[(2S,5R)-2,5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]-2-吡啶基]氨基]-1-甲基-6-氧代-3-吡啶基]-5-氟-2-(羟基甲基)苯基]-3,4,6,7,8,9-六氢吡啶并[3,4-b]喹啉-1-酮	0.0571
127		2-[5-氟-2-(羟基甲基)-3-[1-甲基-5-[[5-[(2S)-2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]-2-吡啶基]氨基]-6-氧代-3-吡啶基]苯基]-6,7,8,9-四氢吡啶并[4,5-b]喹啉-1-酮	0.051
128		2-(7,7-二甲基-4-氧代-1,2,6,8-四氢环戊二烯并[3,4]吡咯并[3,5-b]吡嗪-3-基)-4-氟-6-[1-甲基-5-[[5-[(2S)-2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]-2-吡啶基]氨基]-6-氧代-3-吡啶基]苯甲酸	5
129		2-(7,7-二甲基-4-氧代-1,2,6,8-四氢环戊二烯并[3,4]吡咯并[3,5-b]吡嗪-3-基)-4-氟-N-甲基-6-[1-甲基-5-[[5-[(2S)-2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]-2-吡啶基]氨基]-6-氧代-3-吡啶基]苯甲酰胺	0.472

[0138]



130		3-[2-(羟基甲基)-3-[1-甲基-5-[[5-[(2S)-2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)吡啶-1-基]-2-吡啶基]氨基]-6-氧代-3-吡啶基]苯基]-6,7,8,9-四氢苯并咪唑并2,3-d]噻嗪-4-酮	0.0354
131		3-[5-氟-2-(羟基甲基)-3-[1-甲基-5-[[5-[(2S)-2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)吡啶-1-基]-2-吡啶基]氨基]-6-氧代-3-吡啶基]苯基]-7,7-二甲基-6,8-二氧环戊二烯并[3,4]噻吩并[1,3-d]噻嗪-4-酮	0.0349

[0139] 式 I 化合物的给药

[0140] 本发明化合物可通过适于待治疗的病症的任何途径给药。合适的途径包括口服、肠胃外（包括皮下、肌内、静脉内、动脉内、皮内、鞘内和硬膜外）、经皮、直肠、经鼻、局部（包括口腔和舌下）、阴道、腹膜内、肺内和鼻内。对于局部免疫抑制治疗而言，化合物可通过损伤区给药（包括灌注或在移植前使移植物与抑制剂接触）来给药。应该理解的是优选的途径可随例如受体的条件而变化。当口服给药化合物时，可将其与药用载体或赋形剂配制成丸剂、胶囊剂、片剂等。当化合物肠胃外给药时，可将其与药用肠胃外媒介物一起配制，并且呈如下文详述的单位剂量可注射形式。

[0141] 治疗人类患者的剂量可为约 10 毫克至约 1000 毫克的式 I 的化合物。典型的剂量可为约 100 毫克至约 300 毫克化合物。剂量可每日一次 (QID)、每日两次 (BID) 或更频繁给药，这取决于药物代谢动力学和药效学性质，包括具体化合物的吸收、分布、代谢和排泄。此外，毒性因素可能影响剂量和给药方案。当口服给药时，在指定时间期限内，丸剂、胶囊剂或片剂可每日服用，或以更低的频率服用。所述方案可重复多个治疗周期。

[0142] 用式 I 化合物治疗的方法

[0143] 本发明的式 I 化合物用于治疗患有起因于与 Btk 激酶相关的异常的细胞生长、功能或行为的疾病或病症的人或动物患者，所述疾病或病症是例如免疫病症、心血管疾病、病毒感染、炎症、代谢 / 内分泌障碍或神经障碍，因此可通过包括向其给药如上定义的本发明的化合物的方法来治疗。患有癌症的人或动物患者还可通过包括向其给药如上定义的本发明的化合物的方法来治疗。由此可改进或改善所述患者的病症。

[0144] 式 I 化合物可用于体外、原位和体内诊断或治疗哺乳动物细胞、生物体或相关的病理状态，例如系统性和局部性炎症、免疫炎症疾病例如类风湿性关节炎、免疫抑制、器官移植排斥、变态反应、溃疡性结肠炎、克罗恩病、皮炎、哮喘、系统性红斑狼疮、斯耶格伦综合征、多发性硬化、硬皮病 / 系统性硬化病、特发性血小板减少性紫癜 (ITP)、抗中性粒细胞胞质抗体 (ANCA) 血管炎、慢性阻塞性肺病 (COPD)、银屑病，以及总体关节保护效力。

[0145] 本发明的方法还包括治疗疾病例如：关节疾病例如类风湿性关节炎、单关节炎、骨关节炎、痛风性关节炎、脊椎炎；贝切特病；脓毒症、败血症性休克、内毒素性休克、革兰阴性脓毒症、革兰阳性脓毒症和中毒性休克综合征；败血病继发性多器官损伤综合征、外伤或出血；眼病例如变应性结膜炎、春季结膜炎、葡萄膜炎以及甲状腺相关的眼病；嗜酸性细胞肉芽肿；肺部或呼吸道病症例如哮喘、慢性支气管炎、变应性鼻炎、ARDS、慢性肺部炎性疾病（例如慢性阻塞性肺病）、矽肺、肺结节病、胸膜炎、肺炎、血管炎、肺气肿、肺炎、支气管扩张和肺型氧中毒；心肌、脑或肢端的再灌注损伤；纤维化例如囊性纤维化；瘢痕疙瘩形成或疤痕组织形成；动脉粥样硬化；自身免疫疾病例如系统性红斑狼疮（SLE）、自身免疫性甲状腺炎、多发性硬化、糖尿病的一些形式和雷诺综合征；以及移植排斥性病症例如 GVHD 和同种异体移植排斥；慢性肾小球肾炎；炎性肠病例如慢性炎性肠病（CIBD）、克罗恩病、溃疡性结肠炎和坏死性小肠结肠炎；炎性皮肤病例如接触性皮炎、特应性皮炎、银屑病或风疹；起因于感染的发烧和肌痛；中枢或周围神经系统炎性病症例如脑膜炎、脑炎以及起因于较轻外伤的脑或脊髓损伤；斯耶格伦综合征；涉及白细胞渗出的疾病；酒精性肝炎；细菌性肺炎；抗原-抗体复合物介导的疾病；低血容量性休克；I 型糖尿病；急性和迟发性超敏反应；起因于白细胞恶液质和转移的疾病状态；热损伤；粒细胞输血相关的综合征；以及细胞因子诱导的中毒。

[0146] 本发明的方法还包括治疗选自以下的癌症：乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、前列腺癌、睾丸癌、生殖泌尿道癌、食道癌、喉癌、成胶质细胞瘤、神经母细胞瘤、胃癌、皮肤癌、角化棘皮瘤、肺癌、表皮样癌、大细胞癌、非小细胞肺癌（NSCLC）、小细胞癌、肺腺癌、骨癌、结肠癌、腺瘤、胰腺癌、腺癌、甲状腺癌、滤泡性癌、未分化癌、乳头状癌、精原细胞瘤、黑素瘤、肉瘤、膀胱癌、肝癌和胆道癌、肾癌、胰腺癌、骨髓病症、淋巴瘤、毛细细胞瘤、口腔癌、鼻咽癌、咽癌、唇癌、舌癌、口癌、小肠癌、结直肠癌、大肠癌、直肠癌、脑和中枢神经系统癌、何杰金淋巴瘤、白血病、支气管癌、甲状腺癌、肝和肝内胆管癌、肝细胞癌、胃癌、神经胶质瘤 / 成胶质细胞瘤、子宫内膜癌、黑素瘤、肾和肾盂癌、膀胱癌、子宫体癌、子宫颈癌、多发性骨髓瘤、急性髓性白血病、慢性髓性白血病、淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病（CLL）、髓样白血病、口腔和咽癌、非何杰金淋巴瘤、黑素瘤和结肠绒毛腺瘤。

[0147] 本发明的方法可用于治疗受到或可能受到再灌注损伤（即，由组织或器官经受一段时间的缺血而后再灌注的情形造成的损伤）的受试者。术语“缺血”是指由阻塞动脉血的流入导致的局部组织贫血。短暂缺血而后再灌注特征性地导致中性粒细胞激活并移形经过受影响区域中的血管的内皮。被激活的中性粒细胞的积累转而导致产生反应性氧代谢物，其损害相关组织或器官的组成部分。“再灌注损伤”的这种现象通常与诸如血管中风（包括全脑缺血和病灶缺血）、出血性休克、心肌缺血或梗死形成、器官移植和脑血管痉挛之类的病症相关。举例说明，再灌注损伤发生在心脏搭桥手术结束时或者发生在心脏停搏的过程中（当曾被阻止接受血液的心脏起始再灌注时）。据预期，对 Btk 活性的抑制可导致在这样的情形中再灌注损伤的量减小。

[0148] 药物制剂

[0149] 为了使用本发明化合物用于对哺乳动物（包括人）进行治疗性处置，通常根据标准药学实践将其配制为药物组合物。根据本发明的这一方面，其提供了药物组合物，其包含本发明化合物，以及结合有药用稀释剂或载体。

[0150] 典型的制剂通过将本发明化合物与载体、稀释剂或赋形剂混合来制备。合适的载体、稀释剂和赋形剂是本领域技术人员公知的,并且包括以下物质,诸如碳水化合物、蜡、水溶性聚合物和/或水可溶胀聚合物 (swellable polymer)、亲水性物质或疏水性物质、明胶、油、溶剂、水等。所用的具体载体、稀释剂或赋形剂将取决于应用本发明化合物的方式和目的。通常基于本领域技术人员认为给予哺乳动物安全的溶剂 (GRAS) 来选择溶剂。一般而言,安全溶剂为无毒性含水溶剂如水和可在水中溶解或混溶的其它无毒性溶剂。合适的含水溶剂包括水、乙醇、丙二醇、聚乙二醇 (例如, PEG400、PEG300) 等及其混合物。制剂还可包括以下物质中的一种或多种: 缓冲剂、稳定剂、表面活性剂、润湿剂、润滑剂、乳化剂、助悬剂、防腐剂、抗氧化剂、遮光剂 (opaquing agent)、助流剂、加工助剂 (processing aid)、着色剂、增甜剂、芳香剂、矫味剂和提供药物 (即本发明化合物或其药物组合物) 的优质外观或辅助制造药物产品 (即药物) 的其它已知添加剂。

[0151] 制剂可使用常规溶出和混合操作制备。例如,将大块的药品 (即,本发明化合物或化合物的经稳定形式 (例如,与环糊精衍生物或其它已知复合剂 (complexation agent) 的复合物)) 在一种或多种上述的赋形剂存在下溶于合适的溶剂中。通常将本发明化合物配制成提供容易可控制药物的剂量且使患者能够依从所给出的方案的药物剂型。

[0152] 取决于用于给药药物的方法,用于施用的药物组合物 (或制剂) 可按多种方式包装。一般地,用于分配的物品包括容器,容器内存放有适当形式的药物制剂。合适的容器是本领域技术人员公知的,并且包括以下物质,诸如瓶 (塑料的和玻璃的)、小袋 (sachet)、安瓿、塑料袋、金属圆筒等。容器还可包括防止不慎重取得包装中的内含物的防干扰装置 (tamper-proof assemblage)。此外,在容器上具有描述容器中的内含物的标签。所述标签还可包括适当的注意事项。

[0153] 可制备本发明化合物的药物制剂用于多种给药途径和类型。例如,具有期望的纯度的式 I 的化合物可任选与药用稀释剂、载体、赋形剂或稳定剂 (Remington's Pharmaceutical Sciences (1980) 16th edition, Osol, A. Ed.) 以冻干制剂、磨细的粉末剂或水溶液剂形式混合。配制可如下进行: 在环境温度在适当的 pH 以及在适当的纯度与生理学可接受的载体 (即在采用的剂量和浓度下对受体是无毒性的载体) 混合。制剂的 pH 主要取决于具体用途和化合物的浓度,但范围可为约 3 至约 8。在乙酸盐缓冲液中 pH 为 5 的制剂是合适的实施方案。

[0154] 化合物通常可储存为固体组合物、冻干制剂或水溶液剂。

[0155] 本发明的药物组合物将按照与良好医学实践一致的方式 (即量、浓度、时间表、过程、媒介物和给药途径) 来配制、确定剂量和给药。在此背景下考虑的因素包括所治疗的具体病症、所治疗的具体哺乳动物、个体患者的临床情况、病症的起因、药物的递送位点、给药方法、给药的时间表和医学实践者已知的其它因素。所给药的化合物的“治疗有效量”将由这些考虑因素控制,并且是改善或治疗过度增殖性病症所需的最小量。

[0156] 作为通常的建议,每剂量肠胃外给药的初始药理学有效量的抑制剂为约每日 0.01-100 毫克/kg,即约 0.1 至 20 毫克/kg 患者体重,所使用的化合物的典型的最初范围为 0.3 至 15 毫克/kg/日。

[0157] 可接受的稀释剂、载体、赋形剂和稳定性在所用的剂量和浓度下对受体是无毒性的,并且包括缓冲剂诸如磷酸盐、枸橼酸盐和其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和蛋氨酸。

酸 (methionine); 防腐剂 (如十八烷基二甲基苄基氯化铵; 氯化六甲双铵 (hexamethonium chloride); 苯扎氯铵、苄索氯胺; 苯酚、丁醇或苄醇; 对羟基苯甲酸烷基酯, 如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯; 儿茶酚; 间苯二酚 (resorcinol); 环己醇; 3-戊醇和间甲酚); 低分子量 (少于约 10 个残基) 多肽; 蛋白质, 如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白; 亲水性聚合物, 如聚乙烯吡咯烷酮; 氨基酸, 如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸; 单糖、二糖和其它碳水化合物, 包括葡萄糖、甘露糖或糊精; 螯合剂, 如 EDTA; 糖如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇; 成盐的抗衡离子, 如钠; 金属络合物 (例如, Zn-蛋白质络合物); 和 / 或非离子型表面活性剂, 如 TWEEN™、PLURONICS™ 或聚乙二醇 (PEG)。活性药物成分还可包埋在通过例如凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中, 例如在胶体药物递送系统 (例如脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊 (nanocapsules)) 中或在宏观乳液 (macroemulsion) 中, 分别为羟基甲基纤维素或明胶微胶囊和聚-(甲基丙烯酸甲酯) 微胶囊。所述技术披露于 Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980) 中。

[0158] 可制备式 I 的化合物的缓释制剂。缓释制剂的合适实例包括含有式 I 的化合物的固态疏水性聚合物的半渗透性基质, 其中基质以成形的物品形式 (例如薄膜或微胶囊) 存在。缓释基质的实例包括聚酯、水凝胶 (例如, 聚(甲基丙烯酸 2-羟基乙酯) 或聚(乙烯醇))、聚交酯 (US3, 773, 919)、L-谷氨酸和  $\gamma$ -乙基-L-谷氨酸的共聚物、非降解性乙烯-乙酸乙烯酯、降解性乳酸-羟乙酸共聚物如 LUPRON DEPOT™ (由乳酸-羟乙酸共聚物和醋酸亮丙瑞林组成的可注射微球) 和聚-D(-)-3-羟基丁酸。

[0159] 所述制剂包括适于本申请详述的给药途径的制剂。制剂可适宜地以单位剂量形式存在并可通过药学领域公知的任何方法制备。技术和制剂通常参见 Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA)。所述方法包括使活性成分与构成一种或多种助剂 (accessory ingredient) 的载体结合的步骤。通常制剂如下制备: 使活性成分与液态载体或微细分散的固态载体或与这两种载体同时均匀和紧密的结合, 然后必要时, 对产品进行成型。

[0160] 适于口服给药的式 I 的化合物的制剂可制备为离散的单位, 如各自含有预定量的式 I 的化合物的丸剂、胶囊剂、扁囊剂或片剂。压制片可如下制备: 在合适的机器中对自由流动形式 (如粉末或颗粒) 的活性成分以及任选混合的粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、表面活性剂或分散剂进行压制。模制片可如下制备: 在合适的机器中对用惰性液态稀释剂润湿的粉末状活性成分的混合物进行模制。可任选对片剂进行包衣或刻痕, 并任选进行配制以提供活性成分从其中缓慢或控制释放。可制备片剂、含片 (troche)、糖锭、水性混悬剂或油性混悬剂、可分散粉末剂或可分散颗粒剂、乳剂、硬胶囊剂或软胶囊剂例如明胶胶囊、糖浆剂或酞剂, 以用于口服。预期用于口服的式 I 的化合物的制剂可根据制备药物组合物的领域已知的任何方法制备, 所述组合物可含有一种或多种试剂, 包括增甜剂、矫味剂、着色剂和防腐剂, 以提供适口的制剂。含有活性成分以及混合有适于制造片剂的无毒生理学可接受的赋形剂的片剂是可接受的。这些赋形剂可以是, 例如, 惰性稀释剂, 如碳酸钙或碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠; 成粒剂和崩解剂 (granulating and disintegrating agent), 如玉米淀粉或海藻酸; 粘合剂, 如淀粉、明胶或阿拉伯胶; 以及润滑剂, 如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石。片剂可以是未包衣的或可通过已知技术 (包括微胶囊化) 包衣, 以延迟

在胃肠道的崩解和吸收,由此在较长的时间提供持续的作用。例如,可采用定时延迟物质,如单独的或与蜡结合的单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。

[0161] 对于治疗眼部或其它外部组织如嘴和皮肤而言,所述制剂优选应用为局部软膏剂(ointment)或乳膏剂(cream),其含有的活性成分的量为例如,0.075至20% w/w。当配制成软膏剂时,活性成分可与石蜡(paraffinic)或可与水混溶的软膏基质一起使用。可供选择地,活性成分可与水包油性乳膏基质一起配制成乳膏。如果期望的话,乳膏基质的水相可包括多元醇,即,具有两个或更多个羟基的醇,如丙二醇、丁-1,3-二醇、甘露醇、山梨醇、甘油和聚乙二醇(包括PEG400)及这些醇的混合物。局部制剂可包括增强活性成分通过皮肤或其它作用区域吸收或渗透的化合物。所述皮肤渗透增强剂的实例包括二甲基亚砜和相关类似物。本发明的乳剂的油相可由已知成分以已知方式构成。当所述相可仅包含乳化剂时,预期其包含至少一种乳化剂与脂肪或油或与脂肪和油两者的混合物。优选地,可包括亲水性乳化剂以及作为稳定剂的亲脂性乳化剂。其还优选同时包括油和脂肪。同时,含有或不含有稳定剂的乳化剂构成了所谓的乳化蜡(emulsifying wax),所述蜡和油和脂肪一起构成了形成软膏制剂的油性分散相的所谓乳化软膏基质。适用于本发明制剂的乳化剂和乳化稳定剂包括**Tween® 60**、**Span® 80**、十八醇/十六醇(cetostearyl alcohol)、苜醇、肉豆蔻醇、单硬脂酸甘油酯和月桂基硫酸钠。

[0162] 式I的化合物的水性混悬剂含有活性物质以及混合有适于制备水性混悬剂的赋形剂。所述赋形剂包括助悬剂,如羧甲基纤维素钠、交联羧甲基纤维素、聚维酮、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、海藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、西黄蓍胶和阿拉伯胶,以及分散或润湿剂(dispersing or wetting agent),如天然存在的磷脂(例如,卵磷脂)、烯化氧与脂肪酸的缩合产物(例如,聚氧乙烯硬脂酸酯)、环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物(例如,十七亚乙氧基十六醇(heptadeca ethyleneoxycetanol))、环氧乙烷与衍生自脂肪酸和己糖醇脱水物(hexitol anhydride)的偏酯的缩合产物(例如,聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯(polyoxyethylene sorbitan monooleate))。水性混悬剂还可含有一种或多种防腐剂如对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸正丙酯、一种或多种着色剂、一种或多种矫味剂和一种或多种增甜剂如蔗糖或糖精。

[0163] 式I的化合物的药物组合物可呈无菌注射制剂,如无菌注射水性混悬剂或油性悬浮液制剂形式存在。该悬浮液可使用上文已提及的合适的分散剂或润湿剂和助悬剂根据本领域已知方法配制。无菌注射制剂还可以是于无毒性的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌注射溶液或悬浮液,如于1,3-丁二醇中的溶液,或制备为冻干粉末。可使用的可接受媒介物和溶剂包括水、林格氏溶液(Ringer's solution)和等张氯化钠溶液。此外,无菌不挥发性油(sterile fixed oil)通常可用作溶剂或助悬介质。出于该目的,可采用任何温和的不挥发性油,包括合成性甘油一酯或甘油二酯。此外,脂肪酸如油酸同样可用于制备注射剂。

[0164] 可与载体物质结合以产生单一剂量形式的活性成分的量将随着所治疗的宿主和具体的给药模式而变化。例如,意在对人类口服给药的定时释放制剂可含有约1至1000毫克活性物质,以及混合有适当和适宜量的载体物质,所述载体其可占总组合物(重量:重量)的约5至约95%。可制备药物组合物以提供给药时容易测量的量。例如,意在用于静脉输注的水溶液每毫升溶液可含有约3至500 μg活性成分,从而合适体积的输注以约30

毫升/hr 的速率出现。

[0165] 适于肠胃外给药的制剂包括水性和非水性无菌注射溶液剂,其可含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和使得制剂与预期受体的血液等张的溶质;以及水性和非水性无菌混悬剂,其可包括助悬剂和增稠剂。

[0166] 适于局部给药至眼部的制剂还包括滴眼剂,其中将活性成分溶于或悬浮于合适的载体(尤其是活性成分的含水溶剂)中。在所述制剂中存在的活性成分的浓度优选为约 0.5 至 20% w/w,例如约 0.5 至 10% w/w,例如约 1.5% w/w。

[0167] 适于在口内局部给药的制剂包括糖锭(lozenge),其含有于矫味基质(通常是蔗糖和阿拉伯胶或西黄蓍胶)中的活性成分;锭剂(pastille),其含有于惰性基质(如明胶和甘油,或蔗糖和阿拉伯胶)中的活性成分;以及漱口剂,其包含于液态载体中的活性成分。

[0168] 适于直肠给药的制剂可呈现为栓剂形式,其具有合适基质(其包含例如可可脂或水杨酸酯)。

[0169] 适于肺内或经鼻给药的制剂具有例如为 0.1 至 500 微米的粒度(包括在 0.1 和 500 微米之间,增量为例如 0.5、1、30 微米、35 微米等的粒度),其通过鼻道经快速吸入给药或通过口径吸入给药,以便到达肺泡囊(alveolar sacs)。合适的制剂包括活性成分的水性或油性溶液剂。适于气雾剂或干粉给药的制剂可根据常规方法制备,并可与其它治疗药物(如迄今用于治疗或预防下文所述的病症的化合物)一起递送。

[0170] 适于阴道给药的制剂可呈现为阴道栓剂、棉塞(tampon)、乳膏剂、凝胶剂、糊剂、泡沫或喷雾制剂,这些制剂除了活性成分外还含有本领域已知为适当的载体。

[0171] 制剂可包装在单位剂量或多剂量容器例如密封安瓿或小瓶中,并且可在冷冻干燥(冻干)条件下储存,在立即使用前仅需要加入无菌液态载体例如水,用于注射。即时注射溶液剂(Extemporaneous injection solutions and suspension)和混悬剂从前述种类的无菌粉末、颗粒和片剂制备。优选的单位剂量制剂是含有本申请上文所述的日剂量或单位日亚剂量(sub-dose)或其适当分数的活性成分的制剂。

[0172] 本发明还提供了兽用组合物(veterinary composition),由此其含有上文定义的至少一种活性成分以及兽用载体。兽用载体是用于给药所述组合物目的的物质,并可为固态、液态或气态物质,这些物质在兽医领域要么是惰性的要么是可接受的,并且与活性成分相容。这些兽用组合可经肠胃外、口服或经任何其它期望的途径给药。

[0173] 组合治疗

[0174] 式 I 化合物可单独使用,或者与用于治疗本申请所述的疾病或病症例如炎症或过度增殖性病征(例如癌症)的其它治疗剂组合使用。在一些实施方案中,在药学组合制剂或者作为组合治疗的给药方案中,将式 I 化合物与具有抗炎性或抗过度增殖性或者用于治疗炎症、免疫反应性病征或过度增殖性病征(例如癌)的第二治疗性化合物组合。所述第二治疗剂可以是 NSAID 抗炎药。所述第二治疗剂可以是化疗剂。所述药学组合制剂或给药方法的第二化合物优选地具有与式 I 化合物互补的活性,从而它们不会不利地相互影响。这样的化合物适合地以对预期目的有效的量组合存在。在一个实施方案中,本发明的组合物包含式 I 化合物或其立体异构体、互变异构体、溶剂化物、代谢物或药用盐或前药与治疗剂例如 NSAID 的组合。

[0175] 组合治疗可作为同时或先后方案给药。当先后给药时,组合物可按两次或多次给药方式给药。联用给药包括使用分开的制剂或单一的药物制剂同时给药,和以任一顺序先后给药,其中优选的是存在两种(或所有)活性药物同时发挥其生物活性的一段时间。

[0176] 任何上述同时给药药物的合适剂量是目前所用的剂量,并且由于新鉴定的药物和其它治疗剂或治疗的联用作用(协同),所述剂量可降低。

[0177] 联用治疗可提供“协同(synergy)”及提供“协同作用(synergistic)”,即,当活性成分一起使用时实现的作用大于分别使用这些化合物导致的作用的总和。当活性成分:(1)在组合的单位剂量制剂中同时配制以及同时给药或递送时;(2)作为分开的制剂经交替或平行递送时;或(3)通过一些其它方案给药时,可达到协同作用。当在交替治疗中递送时,当化合物例如通过在分开的注射器中分开注射,通过分开的丸剂或胶囊剂或分开输注而先后给药或递送时,可达到协同作用。一般而言,在交替治疗期间,将有效剂量的各种活性成分先后(即顺次)给药,而在联用治疗中,将有效剂量的两种或多种活性成分一起给药。

[0178] 在治疗的一个具体的实施方案中,式 I 的化合物或其立体异构体、互变异构体、溶剂化物、代谢产物或药用盐或前药,可与其它治疗剂、激素药物或抗体药物(例如本申请描述的化合物)联用,或与外科治疗和放射治疗联用。根据本发明的联用治疗由此包括给药至少一种式 I 的化合物或其立体异构体、互变异构体、溶剂化物、代谢产物或药用盐或前药,以及使用至少一种其它癌症治疗方法。将对式 I 的化合物和其它药学活性的治疗剂的量和相关的给药时限进行选择,以便实现期望的联用治疗作用。

[0179] 式 I 化合物的代谢物

[0180] 本申请描述的式 I 的体内代谢物也落入本发明的范围内。所述产物可以是由例如所给药的化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、脱酰胺化、酯化、脱脂化、酶法裂解等而引起的。因此,本发明包括式 I 的化合物的代谢物,包括由以下方法产生的化合物,所述方法包括使本发明化合物与哺乳动物接触足以产生其代谢物的一段时间。

[0181] 代谢物通常如下鉴定:制备本发明化合物的放射标记的(例如, $^{14}\text{C}$ 或 $^3\text{H}$ )同位素,将其以可检测的剂量(例如,大于约 0.5 毫克/kg)肠胃外给药至动物,如大鼠、小鼠、豚鼠、猴或给药至人,允许足够发生代谢的时间(通常约 30 秒至 30 小时),然后将其转化产物与尿、血样或其它生物试样分离。这些产物容易分离,因为它们进行了标记(其它的通过使用能够与代谢物中存活的抗原表位结合的抗体来分离)。代谢物结构以常规方式,例如通过 MS/LC/MS 或 NMR 分析确定。一般而言,代谢物的分析与本领域技术人员公知的常规药物代谢研究中相同的方式完成。所述代谢物,只要它们不是在体内另外存在的,就用于本发明化合物的治疗剂量的诊断测定。

[0182] 制品

[0183] 在本发明的另一实施方案中,其提供了含有用于治疗上文描述的疾病和病症的物质的制品和“试剂盒”。在一个实施方案中,所述试剂盒包含容器,所述容器包含式 I 的化合物或其立体异构体、互变异构体、溶剂化物、代谢产物或药用盐或前药。所述试剂盒还可包含附在容器上或容器中的标签或包装说明书。术语“包装说明书”用来指通常包括在治疗产品的市售包装中的说明书,其含有关于适应症、用法、剂量、给药、禁忌症和/或注意事项的信息,这些信息涉及所述治疗产品的使用。合适的容器包括,例如,瓶、小瓶、注射器、发泡包装(blister pack)等。容器可从多种材料(如玻璃或塑料)形成。容器可装有有效治

疗所述病症的式 I 的化合物或其制剂,并可具有无菌入口(例如,容器可为静脉注射溶液袋或具有可由皮下注射针头刺穿的塞子的小瓶)。在组合物中至少一种活性药物是式 I 的化合物。标签或包装说明书指示所述组合物用于治疗选择的病症如癌症。此外,标签或包装说明书可指示待治疗的患者是患有病症如过度增殖性病症、神经变性、心脏肥大、疼痛、偏头痛或神经创伤性疾病或事件的患者。在一个实施方案中,标签或包装说明书指示包含式 I 的化合物的组合物可用于治疗起因于异常细胞生长的病症。标签或包装说明书还可指示所述组合物可用于治疗其它病症。可供选择地或另外地,所述制品还可包含第二种容器,所述容器包含药用缓冲液,如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲生理盐水、林格氏溶液和葡萄糖溶液。试剂盒还可包括从商业和使用者角度看是期望的其它物质,包括其它缓冲液、稀释剂、滤器、针头和注射器。

[0184] 试剂盒还可包含给药式 I 的化合物以及第二种药物制剂(如果存在)的说明。例如,若试剂盒包含第一种组合物(含有式 I 的化合物)和第二种药物制剂,则试剂盒还可包含将第一种和第二种药物组合物同时、先后或分开给予需要所述制剂的患者的说明。

[0185] 在另一实施方案中,试剂盒适于递送固态口服形式的式 I 的化合物,如片剂或胶囊剂。这样的试剂盒优选包括多个单位剂量。所述试剂盒可以包括针对预期用途为目的的剂量卡片。这样的试剂盒的一个实例是“泡罩包装”。泡罩包装在包装工业中是公知的,并且广泛用于包装药物单位剂量形式。如果期望的话,可提供记忆辅助装置(memory aid),其可呈例如数字、字母或其它标记形式,或具有日历插入物,所述记忆辅助装置指定在可对所述剂量进行给药的治疗时间表中的天数。

[0186] 根据一个实施方案,试剂盒可包含(a)在其中含有式 I 的化合物的第一个容器;以及任选地(b)在其中含有第二种药物制剂的第二个容器,其中所述第二种药物制剂包含具有抗过度增殖活性的第二种化合物。可供选择地或另外地,所述试剂盒还可包含第三个容器,其包含药用缓冲液,如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲生理盐水、林格氏溶液和葡萄糖溶液。其还可包括从商用和使用者角度来看是期望的其它物质,包括其它缓冲液、稀释剂、滤器、针头和注射器。

[0187] 在试剂盒包含式 I 和第二种治疗药物的组合物的某些其它实施方案中,所述试剂盒可包含用于容纳分开的组合物的容器,如分开的瓶或分开的箔包装(foil packet),然而,分开的组合物还可容纳在单一的未分开的容器中。典型地,试剂盒包含给药分开的组分的说明。当分开的组分优选以不同剂量形式(例如口服和肠胃外)给药时,当以不同剂量间隔给药时,或当对联用的单独组分进行滴定对主治医师是期望之时,试剂盒形式是特别有益的。

[0188] 式 I 化合物的制备

[0189] 式 I 的化合物可通过合成途径来合成,所述合成途径包括与化学领域中公知的方法类似的方法,具体而言是借助本申请所包含的说明书,以及针对所述其它杂环的方法:Comprehensive Heterocyclic Chemistry II, Editors Katritzky and Rees, Elsevier, 1997, e. g. Volume 3; Liebigs Annalen der Chemie, (9):1910-16, (1985); Helvetica Chimica Acta, 41:1052-60, (1958); Arzneimittel-Forschung, 40(12):1328-31, (1990), 清楚地将其各自引入作为参考。起始物质通常可从商业来源如 Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI) 得到或者使用本领域的技术人员公知的方法



容易地制备（例如，通过 Louis F. Fieser and Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis, v. 1-23, Wiley, N. Y. (1967-2006ed.), 或者 Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlin, 包括附录（还可通过 Beilstein 网上数据库得到）中通常所述的方法制备）。

[0190] 在合成式 I 化合物中有用的合成化学转化和保护基方法学（保护和脱保护）及必要的试剂和中间体是本领域中已知的并包括，例如，在 R. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers (1989) ; T. W. Greene and P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Ed., John Wiley and Sons (1999) ; and L. Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1995) 及其后续版本中所描述的那些。

[0191] 式 I 的化合物可单独制备或作为包含至少 2 种，例如 5 至 1,000 种或 10 至 100 种化合物的化合物库来制备。式 I 的化合物库可通过本领域技术人员已知的操作，使用溶液相或固相化学，通过组合的“分裂和混合 (split and mix)”途径来制备，或通过多平行合成 (multiple parallel syntheses) 来制备。由此根据本发明的另一个方法，其提供了含有至少 2 种化合物或其药用盐的化合物库。

[0192] 附图和实施例提供了制备式 I 化合物的示例性方法。本领域的技术人员应当理解的是，其它合成途径可用于合成式 I 化合物。虽然在附图和实施例中描述并讨论了具体的起始物质和试剂，但是其它起始物质和试剂可容易地被替换，从而提供多种衍生物和 / 或反应条件。除此之外，多种通过所述方法制备的示例性化合物可根据本公开使用本领域的技术人员所熟知的常规化学来进一步修饰。

[0193] 在制备式 I 的化合物时，对中间体的远距离官能团（例如，伯胺或仲胺）的保护可能是必要的。对所述保护的需要将随着远距离官能团 (remote functionality) 的性质和制备方法的条件而变化。合适的氨基保护基包括乙酰基、三氟乙酰基、叔丁氧基羰基 (BOC)、苄基氧基羰基 (CBZ) 和 9- 芴基甲氧基羰基 (Fmoc)。对所述保护的需要由本领域技术人员容易地确定。对于保护基及其用途的一般描述，参见 T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 1991。

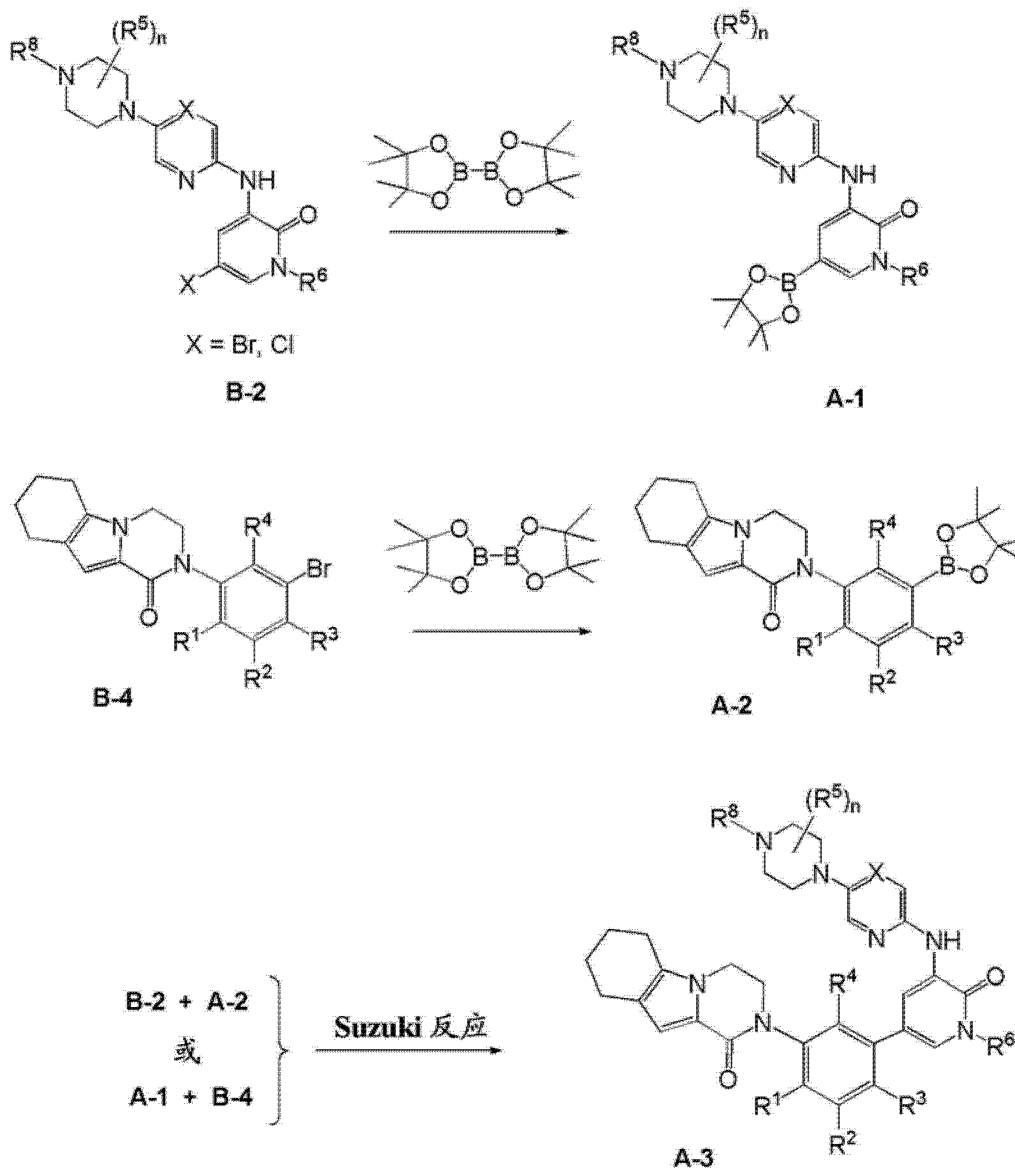
[0194] 用于制备式 I 化合物的实验步骤、中间体和试剂可在 2011 年 5 月 6 日提交的 US13/102720, “PYRIDONE AND AZA-PYRIDONE COMPOUNDS AND METHODS OF USE” 中找到，将其全部内容通过引用的方式并入本申请。

[0195] 图 1-12 描述了式 I 化合物 101-125 的示例性实施方案的合成，更全面地描述在实施例 101-112 中，并可用于制备其它式 I 化合物。

[0196] 一般制备方法

[0197] 一般方法 : Suzuki 偶联

[0198]



[0199] Suzuki 型偶联反应用来形成碳-碳键,以连接式 I 化合物和中间体例如 A-3 的环 (Suzuki (1991) Pure Appl. Chem. 63:419-422; Miyaura 和 Suzuki (1979) Chem. Reviews 95(7):2457-2483; Suzuki (1999) J. Organometal. Chem. 576:147-168)。Suzuki 偶联是钯介导的芳基卤例如 B-2 或 B-4 与硼酸例如 A-1 或 A-2 的交叉偶联反应。例如,可将 B-2 与约 1.5 当量的 4,4,4',4',5,5,5',5'-八甲基-2,2'-二(1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷)混合,并且溶于约 3 当量的碳酸钠 (1M 水溶液) 和等体积的乙腈中。加入催化量或更多的低价钯试剂例如二(三苯基膦)氯化钯 (II)。在一些情况中,用乙酸钾替代碳酸钠来调节水层的 pH。然后将反应混合物在微波反应器 (Biotage AB, Uppsala, Sweden) 中,在压力下加热至约 140-150°C 且保持 10-30 分钟。用乙酸乙酯或另一种有机溶剂萃取内容物。在蒸发有机层后,可在硅胶上或通过反相 HPLC 纯化硼酸酯 A-1。取代基如所定义的那些,或者是其受保护形式或前体。同样,可将溴化物中间体 B-4 硼酸酯化得到 A-2。

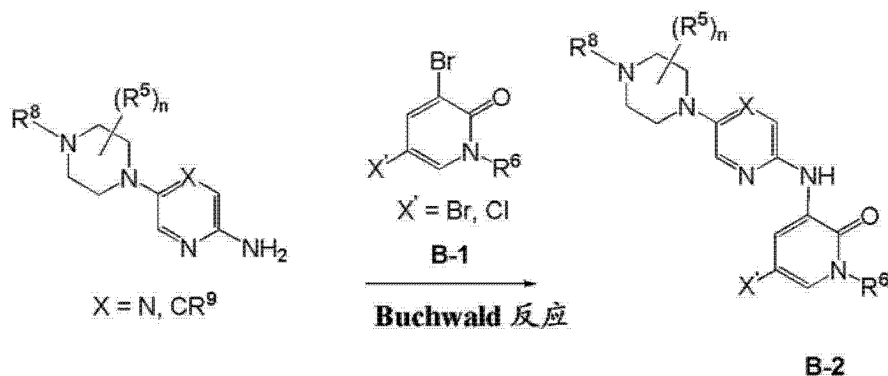
[0200] B-2 和 A-2 或者 A-1 和 B-4 的 Suzuki 偶联产生式 I 化合物或中间体 A-3。将硼酸酯 (或硼酸) (1.5 当量) A-1 或 A-2 和钯催化剂例如二(三苯基膦)氯化钯 (II) (0.05 当量) 加入到卤代中间体 (1 当量) B-2 或 B-4 在乙腈和 1M 碳酸钠水溶液 (与乙腈等体积)

中的混合物中。将反应混合物在微波中加热至约 150°C 且保持约 15 分钟。LC/MS 指示何时反应完成。将水加入到混合物中, 过滤沉淀的产物, 然后通过 HPLC 纯化得到产物 A-3。取代基如所定义的那些, 或者其被保护的形式或前体。

[0201] 在 Suzuki 偶联步骤中可使用各种钯催化剂。各种低价 Pd(II) 和 Pd(0) 催化剂可用于 Suzuki 偶联反应, 包括 PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、Pd(t-Bu)<sub>3</sub>、PdCl<sub>2</sub>dppfCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>、Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>、Pd(OAc)<sub>2</sub>/PPh<sub>3</sub>、Cl<sub>2</sub>Pd[(Pet<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>、Pd(DIPHOS)<sub>2</sub>、Cl<sub>2</sub>Pd(Bipy)、[PdCl(Ph<sub>2</sub>PCH<sub>2</sub>PPh<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>、Cl<sub>2</sub>Pd[P(o-tol)<sub>3</sub>]<sub>2</sub>、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>/P(o-tol)<sub>3</sub>、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>/P(furyl)<sub>3</sub>、Cl<sub>2</sub>Pd[P(furyl)<sub>3</sub>]<sub>2</sub>、Cl<sub>2</sub>Pd(PMePh<sub>2</sub>)<sub>2</sub>、Cl<sub>2</sub>Pd[P(4-F-Ph)<sub>3</sub>]<sub>2</sub>、Cl<sub>2</sub>Pd[P(C<sub>6</sub>F<sub>6</sub>)<sub>3</sub>]<sub>2</sub>、Cl<sub>2</sub>Pd[P(2-COOH-Ph)(Ph)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>、Cl<sub>2</sub>Pd[P(4-COOH-Ph)(Ph)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>, 以及包封的催化剂 Pd EnCat<sup>TM</sup>30、Pd EnCat<sup>TM</sup>TPP30 和 Pd(II) EnCat<sup>TM</sup> BINAP30 (US2004/0254066)。

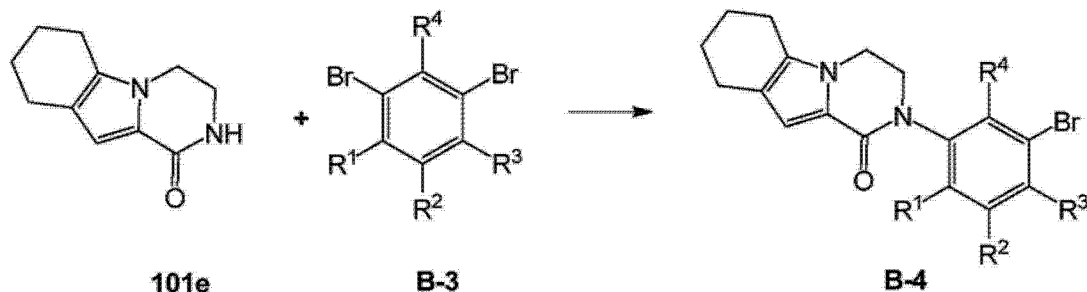
[0202] 一般方法: Buchwald 反应

[0203]



[0204] Buchwald 反应用于氨化 6-溴中间体 B-1 (Wolf 和 Buchwald (2004) Org. Synth Coll. Vol. 10:423 ; Paul 等人 (1994) Jour. Amer. Chem. Soc. 116:5969-5970)。向 3,5-二卤代-吡啶酮中间体 B-1 在 DMF 中的溶液中加入适合的 5-(哌嗪-1-基)吡啶-2-胺, 例如 104b, 或 5-(哌嗪-1-基)吡啶-2-胺 (200mol%)、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (50mol%)、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (5mol%) 和 4,5-二(二苯基膦基)-9,9-二甲基咕吨 (Xantphos, CAS 登记号 161265-03-8, 10mol%)。将反应混合物在微波反应器 (Biotage AB, Uppsala, Sweden) 中, 在压力下加热至约 110°C 且保持约 30 分钟。在真空中浓缩所得的溶液得到 B-2。可使用其它钯催化剂和膦配体。

[0205]



[0206] N-芳基酰胺中间体 B-4 也可用环状酰胺中间体 (R<sup>7</sup>) 例如 3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并 [1,2-a] 吡啶-1(2H)-酮 101e 和芳基溴化物 B-3 在 Buchwald 条件下进行制备。

[0207] 分离方法

[0208] 在制备式 I 化合物的方法中, 将反应产物彼此分离和 / 或与原料分离可能是有益

的。通过本领域常见技术将每步或多步中期望的产物分离和 / 或纯化为期望的均匀性程度。通常所述分离涉及多相萃取、从溶剂或溶剂混合物中结晶、蒸馏、升华或色谱法。色谱法可涉及任何数目的方法,包括例如:反相和正相;尺寸排阻(size exclusion);离子交换;高、中和和低压液相色谱方法和装置;小规模分析;模拟移动床(SMB)和制备性薄层或厚层色谱,以及小规模薄层和快速色谱技术。

[0209] 另一类分离方法涉及用所选择的试剂处理混合物,从而与期望的产物、未反应的原料、反应副产物等结合或使得期望的产物、未反应的原料、反应副产物等分离。所述试剂包括吸附剂(adsorbent)或吸收剂(absorbent),如活性炭、分子筛、离子交换介质等。可供选择地,所述试剂可以是酸(在碱性物质的情况下),碱(在酸性物质的情况下),结合剂如抗体、结合蛋白,选择性螯合剂如冠醚,液/液离子交换试剂(LIX)等。对适当的分离方法的选择依赖于所涉及物质的性质。例如,沸点和分子量(在蒸馏和升华中)、存在或不存在极性官能团(在色谱法中)、在酸性和碱性介质中物质的稳定性(在多相萃取中)等等。

[0210] 可通过本领域技术人员公知的方法(如色谱法和/或分级结晶),基于非对映异构体的物理化学差别,将非对映异构混合物分离为其单独的非对映异构体。对映异构体可通过以下方式分离:通过使对映异构体混合物与适当的光学活性的化合物(例如,手性助剂如手性醇或 Mosher's 酰氯)反应将其转化为非对映异构混合物,分离非对映异构体,然后将单独的非对映异构体转化(例如,水解)为相应的纯的对映异构体。此外,一些本发明化合物可以是阻转异构体(例如,取代的联芳(biaryl))并视为本发明的部分。对映异构体也可通过使用手性 HPLC 柱分离。

[0211] 单一的立体异构体,例如,基本上不含其立体异构体的对映异构体,可通过以下方式获得:使用诸如形成非对映异构体的方法,用光学活性的拆分剂来拆分外消旋混合物(Eliel, E. and Wilen, S. "Stereochemistry of Organic Compounds," John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994; Lochmuller, C. H., (1975) J. Chromatogr., 113(3):283-302)。本发明的手性化合物的外消旋混合物可通过任何合适的方法分开和离析,所述方法包括:(1)与手性化合物形成离子性非对映异构的盐,然后通过分级结晶或其它方法分离,(2)与手性衍生试剂形成非对映异构的化合物,分离所述非对映异构体,然后转化为纯的立体异构体,(3)在手性条件下直接分离基本上纯的或富含的立体异构体。参见:"Drug Stereochemistry, Analytical Methods and Pharmacology," Irving W. Wainer, Ed., Marcel Dekker, Inc., New York (1993)。

[0212] 在方法(1)的情况下,非对映异构的盐可通过以下方式形成:使对映异构纯的手性碱如马钱子碱(brucine)、奎宁、麻黄碱、番木鳖碱(strychnine)、 $\alpha$ -甲基- $\beta$ -苯基乙胺(安非他明)等与带有酸性官能团的不对称化合物如羧酸和磺酸反应。可通过分级结晶或离子色谱法诱导非对映异构体的盐分离。对于氨基化合物的光学异构体的分离而言,加入手性羧酸或磺酸如樟脑磺酸、酒石酸、扁桃酸或乳酸可引起非对映异构体的盐的形成。

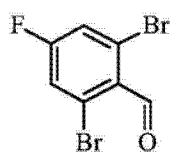
[0213] 可供选择地,通过方法(2),使待拆分的底物与手性化合物的一种对映异构体反应,形成非对映异构对(Eliel, E. and Wilen, S. "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., 1994, p. 322)。非对映异构化合物可通过以下方式形成:使不对称化合物与对映异构纯的手性衍生试剂如薄荷基衍生物反应,接着分离非对映异构体,然后水解得到纯的或富集的对映异构体。确定光学纯度的方法涉及制备外消旋混

合物的手性酯,如在碱的存在下制备薄荷基酯例如(-) 氯甲酸薄荷基酯,或 Mosher 酯,乙酸  $\alpha$ -甲氧基- $\alpha$ -(三氟甲基)苯基酯 (Jacob III. J. Org. Chem. (1982) 47:4165), 然后就两种阻转异构的对映异构体或非对映异构体的存在而分析  $^1\text{H}$  NMR 光谱。阻转异构化合物的稳定的非对映异构体可遵循分离阻转异构的萘基-异喹啉 (W01996/15111) 的方法通过正相和反相色谱分开和离析。通过方法 (3), 两种对映异构体的外消旋混合物可使用手性固定相通过色谱来分离 ("Chiral Liquid Chromatography" (1989) W. J. Lough, Ed., Chapman and Hall, New York ; Okamoto, J. Chromatogr., (1990) 513:375-378)。富集或纯化的对映异构体可通过用于区分带有不对称碳原子的其它手性分子的方法 (如旋光性或圆二色性) 来区分。

[0214] 实施例

[0215] 实施例 101a 2,6-二溴-4-氟苯甲醛 101a

[0216]

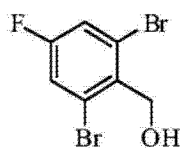


101a

[0217] 将 1,3-二溴-5-氟-2-碘苯 (50g, 132mmol) 在无水甲苯 (300mL) 中的溶液冷却至  $-35^\circ\text{C}$ 。在保持内部温度低于  $-25^\circ\text{C}$  的情况下经 30 分钟时间加入异丙基氯化镁溶液 (84mL, 171mmol, 乙醚中 2.0M)。参见图 1。获得澄清棕色溶液。继续搅拌 1.5h。然后经 30 分钟时间加入无水 DMF (34mL, 436mmol)。反应混合物的温度升至  $-19^\circ\text{C}$ 。经 1h 将反应混合物温热至  $10^\circ\text{C}$  (室温) 并在此温度搅拌 1.5h。用饱和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  水溶液 (100mL) 淬灭反应混合物, 过滤并减压蒸发。通过硅胶柱色谱 (用石油醚 / 乙酸乙酯 : 50:1 至 20:1 洗脱) 纯化残留物得到黄色固体状的 101a (20g, 收率 54%)。

[0218] 实施例 101b 2,6-二溴-4-氟苯基) 甲醇 101b

[0219]

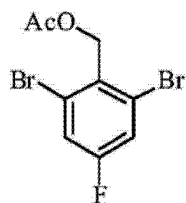


101b

[0220] 往 2,6-二溴-4-氟苯甲醛 101a (20g, 71mmol) 在乙醇 (500mL) 中的溶液中加入  $\text{NaBH}_4$  (10g, 284mmol)。室温 ( $10^\circ\text{C}$ ) 搅拌该混合物 4h。TLC 显示起始原料消失。用 HCl 溶液 (150mL, 1M) 淬灭反应混合物。减压蒸发大部分乙醇。通过乙酸乙酯 ( $3 \times 500\text{mL}$ ) 萃取残留物。合并有机层, 用无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥并真空下蒸发。通过硅胶柱色谱 (用石油醚 / 乙酸乙酯 : 50:1 至 20:1 洗脱) 纯化残留物得到白色固体状的 101b (15g, 收率 75%)。

[0221] 实施例 101c 乙酸 2,6-二溴-4-氟苯酯 101c

[0222]

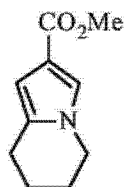


101c

[0223] 往配有磁力搅拌器和氮气入口的 500-mL 单颈圆底烧瓶中装入 101b (23.0g, 81.0mmol)、三乙胺 (25.0g, 247mmol) 在无二氯甲烷 (100mL) 中的溶液。加入乙酸酐 (10.0g, 98.0mmol) 并在室温搅拌该混合物 16h。此后,用二氯甲烷 (100mL) 稀释混合物并用饱和碳酸氢钠水溶液 (100mL) 洗涤。分离各层并用二氯甲烷 (2×20mL) 萃取水层。合并有机萃取物并经硫酸钠干燥。通过过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液,并通过快速柱色谱 (二氧化硅,0%至 50%乙酸乙酯 / 己烷) 纯化所得残留物得到白色固体状的 87%收率的 101c (23.0g)。

[0224] 实施例 101d 5,6,7,8-四氢吲哚-2-羧酸甲酯 112d

[0225]

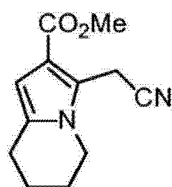


101d

[0226] 用氮气吹扫配有磁力搅拌器和氮气入口的 500-mL 圆底烧瓶并装入 5,6,7,8-四氢吲哚-2-羧酸 (30.4g, 184mmol)、DMF (1.00g, 13.6mmol) 和二氯甲烷 (300mL)。用冰浴冷却溶液至 0°C。滴加草酰氯 (28.0g, 221mmol), 经 30 分钟将反应混合物温热至室温并搅拌 5h。此后,浓缩所得溶液得到棕色固体。将该固体溶于无水甲醇 (400mL), 并冷却溶液至 0°C。将三乙胺 (57g, 552mmol) 加入到反应混合物中, 并在室温再搅拌 2h。此后,减压浓缩反应混合物至干燥。用二氯甲烷 (300mL) 洗涤残留物并用水 (200mL) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (200mL) 洗涤。经硫酸钠干燥有机层, 过滤并减压浓缩。用己烷 (200mL) 滴定所得残留物得到白色固体状的 58%收率的 101d (19.1g); mp 72 - 74°C; <sup>1</sup>H NMR (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.13 (s, 1H), 6.23 (s, 1H), 3.93 (t, 2H, J = 6.0Hz), 3.77 (s, 3H), 2.75 (t, 2H, J = 6.0Hz), 1.93 (m, 2H), 1.80 (m, 2H); (APCI+) m/z 180.1 (M+H)

[0227] 实施例 101e 3-(氰基甲基)-5,6,7,8-四氢吲哚-2-羧酸甲酯 101e

[0228]



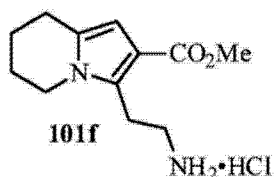
101e

[0229] 500-mL 三颈圆底烧瓶配有加料漏斗、温度计并装入 5,6,7,8-四氢吲哚-2-羧酸甲酯 101d (6.70g, 37.4mmol)、碘乙腈 (12.5g, 74.9mmol)、七水硫酸亚铁 (5.20g, 18.7mmol)

和二甲基亚砜 (250mL)。在室温 1h 内,利用水浴经由注射器泵将过氧化氢 (35%, 18.2g, 187mmol) 滴加到混合物中。将七水硫酸亚铁 (2 至 3 当量) 分批加入到反应混合物中保持温度在 25°C 至 35°C 之间,直至反应混合物的颜色为深红色。如果 TLC 显示反应未完成,则以相同方式再加入过氧化氢 (2-3 当量) 和七水硫酸亚铁 (1-2 当量) 直至反应完成。然后,在饱和碳酸氢钠水溶液 (200mL) 和乙酸乙酯 (400mL) 之间分配反应混合物。分离有机层,并用乙酸乙酯 (2×100mL) 萃取水层。用饱和硫代硫酸钠溶液 (50mL) 洗涤经合并的有机层,经硫酸钠干燥并减压浓缩。通过柱色谱纯化残留物得到黄色油状的 78% 收率 (6.40g) 的 101e :<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.23 (s, 1H), 4.23 (s, 2H), 3.94 (t, 2H, J = 6.5Hz), 3.81 (s, 3H), 2.74 (t, 2H, J = 6.5Hz), 2.00 (m, 2H), 1.83 (m, 2H); (APCI+) m/z 219.3 (M+H)

[0230] 实施例 101f 3-(2-氨基乙基)-5,6,7,8-四氢吲哚-2-羧酸甲酯盐酸盐 101f

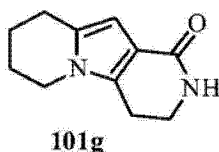
[0231]



[0232] 在存在氯化氢的情况下在乙醇和乙酸乙酯中采用氧化铂催化剂在 50psi 氢气下室温过夜氢化 3-(氰基甲基)-5,6,7,8-四氢吲哚-2-羧酸甲酯 101e 得到 101f (380mg, 1.74mmol), 其直接用于下一步。

[0233] 实施例 101g 3,4,6,7,8,9-六氢吡啶并[3,4-b]吲哚-1(2H)-酮 101g

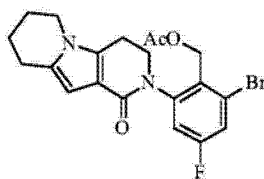
[0234]



[0235] 用氮气吹扫配有磁力搅拌器和氮气入口的 100-mL 单颈圆底烧瓶并装入 3-(2-氨基乙基)-5,6,7,8-四氢吲哚-2-羧酸甲酯盐酸盐 101f (上文制备的,估计 1.74mmol,假定定量收率)、乙醇钠 (354mg, 5.22mmol) 和乙醇 (20mL)。55°C 搅拌该混合物 5h。然后,减压浓缩反应混合物并在乙酸乙酯 (200mL) 和水 (100mL) 之间分配残留物。分离有机层,并用乙酸乙酯 (2×100mL) 萃取水层。用盐水洗涤经合并的有机层,经硫酸钠干燥并减压浓缩。通过柱色谱纯化残留物得到白色固体状的 67% 收率 (220mg) 的 101g : mp 195 - 197°C; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 6.76 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 3.78 (t, 2H, J = 6.5Hz), 3.35 (m, 2H), 2.66 (m, 4H), 1.87 (m, 2H), 1.72 (m, 2H); (APCI+) m/z 191.3 (M+H)

[0236] 实施例 101h 乙酸 2-溴-4-氟-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡啶并[3,4-b]-吲哚-2(1H)-基)苯酯 101h

[0237]

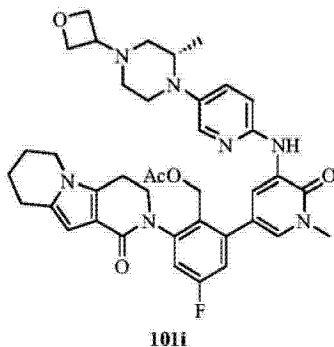


101h

[0238] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 1,4-二噁烷 (60mL)、101c (1.9g, 6.0mmol)、101g (400mg, 2.0mmol) 和碳酸铯 (1.3g, 4.0mmol)。将氮气鼓泡通过所得混合物 30 分钟后, 加入 Xantphos (120mg, 0.2mmol) 和三(二亚苄基丙酮)二钯(0) (180mg, 0.2mmol), 并在 100℃ 加热反应混合物 12h。此后冷却反应混合物至室温, 在乙酸乙酯 (40mL) 和水 (40mL) 之间分配, 并过滤。分离水层并用乙酸乙酯 (70mL×3) 萃取。用盐水 (30mL) 洗涤经合并的有机层并经硫酸钠干燥。通过过滤除去干燥剂并减压浓缩滤液。通过快速柱纯化残留物(用 2:1PE/EA 洗脱)得到黄色固体状的 101h (421mg, 46%)。MS: [M+H]<sup>+</sup>435。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, MeOD) δ 7.52-7.50 (m, 1H), 7.20-7.23 (m, 1H), 6.14 (s, 1H), 5.10-5.20 (m, 2H), 4.06-4.12 (m, 1H), 3.92-3.97 (m, 1H), 3.83-3.88 (m, 1H), 3.75-3.79 (m, 1H), 3.03-3.10 (m, 1H), 2.94-2.99 (m, 1H), 2.75-2.83 (m, 2H), 2.00-2.05 (m, 5H), 1.83-1.88 (m, 2H)

[0239] 实施例 101i (S)-乙酸 4-氟-2-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡啶并[3,4-b]吡啶-2(1H)-基)苯酯 101i

[0240]



[0241] 100℃ 加热 101h (300mg, 0.70mmol)、(S)-1-甲基-3-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2(1H)-酮 (332mg, 0.70mmol)、CH<sub>3</sub>COONa (114mg, 1.4mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (368mg, 1.4mmol)、PdCl<sub>2</sub>(dppf) (56mg, 0.07mmol)、CH<sub>3</sub>CN (25mL) 和 H<sub>2</sub>O (1mL) 的混合物 3 小时。然后蒸发并通过硅胶柱纯化残留物(用二氯甲烷/甲醇 (30:1) 洗脱)得到棕色固体状的 101i (293mg, 收率 41%)。MS: (M+H)<sup>+</sup>710。

[0242] 实施例 101 (S)-2-(5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡啶并[3,4-b]吡啶-1(2H)-酮 101

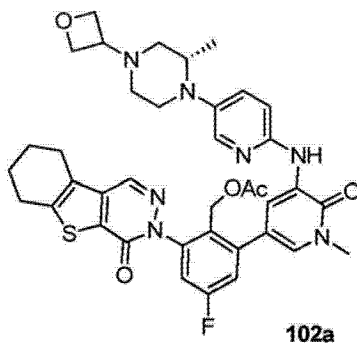
[0243] 往 101i (270mg, 0.38mmol) 在丙-2-醇 (8mL)、四氢呋喃 (8mL) 和水 (1.5mL) 中的溶液中加入 LiOH (914mg, 38mmol)。30℃ 搅拌该混合物 2h。蒸发并通过反相制备型 HPLC 纯化残留物得到白色固体状的 101 (127mg, 收率 50%)。MS: (M+H)<sup>+</sup>669。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO) δ 8.58 (t, J = 2.5, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.85 (d, J = 3.0, 1H), 7.35-7.38 (m, 2H), 7.22-7.25 (m, 2H), 7.13-7.16 (m, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.76 (s, 1H), 4.57-4.54 (m, 2H), 4.47 (t, J = 6.0, 1H), 4.42 (t, J = 6.5, 1H), 4.29 (s, 2H), 3.98-4.04 (m, 1H), 3.89-3.94 (m, 1H), 3.78-3.83 (m, 2H), 3.67 (s, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.37-3.42 (m, 1H), 3.00-3.10 (m, 2H), 2.90-2.95 (m, 2H), 2.71 (t, J = 6.0, 2H), 2.52-2.55 (m, 1H), 2.28-2.35 (m, 2H), 2.18 (t, J =



8.5, 1H), 1.89-1.94 (m, 2H), 1.72-1.78 (m, 2H), 0.93 (t, J = 6.5, 3H)

[0244] **实施例 102a** (S)-乙酸 [4-氟-2-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)-哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-6-(6-氧代-8-硫杂-4,5-二氮杂三环[7.4.0.0<sup>2,7</sup>]十三-1(9),2(7),3-三烯-5-基)苯基]甲酯 102a

[0245]



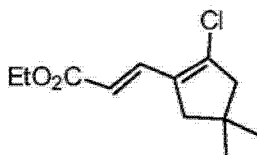
[0246] 按照如 101i 所述的方法并以乙酸 (4-氟-2-{6-氧代-8-硫杂-4,5-二氮杂三环[7.4.0.0<sup>2,7</sup>]十三-1(9),2(7),3-三烯-5-基}-6-(四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苯基)甲酯 (250mg) 和 5-溴-1-甲基-3-(3-甲基-5-(4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)吡啶-2(1H)-酮 (218mg) 起始,得到黄色固体状的 102a (225mg, 62%)。LCMS:[M+H]<sup>+</sup>726。参见图 2。

[0247] **实施例 102** (S)-5-[5-氟-2-(羟基甲基)-3(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)苯基]-8-硫杂-4,5-二氮杂三环[7.4.0.0<sup>2,7</sup>]十三-1(9),2(7),3-三烯-6-酮 102

[0248] 按照如 101 所述的方法,用氢氧化锂水解 102a (210mg, 0.29mmol) 得到白色固体状的 102 (117mg, 85%)。LCMS:[M+H]<sup>+</sup>684。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDC13) δ 8.61 (d, J = 2.5, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.99 (d, J = 2.5, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.46 (d, J = 2.0, 1H), 7.29-7.32 (m, 2H), 7.11 (dd, J = 2.0, 8.0, 1H), 6.82 (d, J = 9.0, 1H), 4.62-4.73 (m, 4H), 4.31 (d, J = 6.5, 2H), 4.02 (t, J = 6.5, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.52-3.55 (m, 1H), 3.45-3.49 (m, 1H), 3.09 (t, J = 4.5, 2H), 2.99 (t, J = 4.5, 2H), 2.87 (t, J = 4.5, 2H), 2.56 (dd, J = 3.0, 11.0, 1H), 2.46-2.49 (m, 2H), 2.19-2.25 (m, 1H), 1.96-2.01 (m, 4H), 1.00 (d, J = 6.0, 3H)

[0249] **实施例 103a** (E)-3-(2-氯-4,4-二甲基环戊-1-烯基)丙烯酸乙酯 103a

[0250]

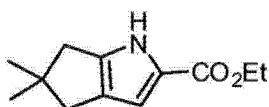


**103a**

[0251] 以下两种方法调整自 Organic Preparations and Procedures Int., 29(4), 471-498。往配有磁力搅拌器和氮气入口的 500-mL 单颈圆底烧瓶中装入 2-氯-4,4-二甲基环戊-1-烯甲醛 (38g, 240mmol) 在苯 (240mL) 中的溶液。参见图 3。往该溶液中加入乙氧基羰基亚甲基三苯基膦 (84g, 240mmol)。搅拌混合物 14h。然后,蒸发溶剂并用己烷 (2L)

研磨残留物萃取产物除去  $\text{PPh}_3$  副产物。经硫酸钠干燥有机层并真空浓缩。通过柱色谱使用 100% 己烷 - 1:1 己烷 / 乙酸乙酯梯度纯化残留物得到 37% 收率 (20g) 的 103a。

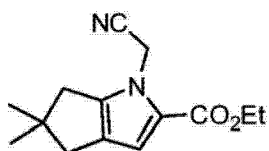
[0252] 实施例 103b 5,5-二甲基-1,4,5,6-四氢环戊二烯并[b]吡咯-2-羧酸乙酯 103b  
[0253]



103b

[0254] 往配有磁力搅拌器和氮气入口的 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入 103a (17g, 74mmol) 在 DMSO (100mL) 中的溶液。往溶液中加入叠氮化钠 (9.6g, 150mmol)。然后加热该混合物至 75°C 并搅拌 8h。冷却至室温后,加入  $\text{H}_2\text{O}$  (100mL) 和  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (200mL) 并分离有机层。用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 萃取水层。用盐水洗涤经合并的有机层,经硫酸钠干燥并真空浓缩。通过柱色谱使用 100% 己烷 - 1:1 己烷 / 乙酸乙酯梯度纯化残留物得到 37% 收率 (5.7g) 的 103b。

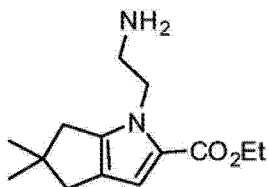
[0255] 实施例 103c 1-(氰基甲基)-5,5-二甲基-1,4,5,6-四氢环戊二烯并[b]吡咯-2-羧酸乙酯 103c  
[0256]



103c

[0257] 往配有磁力搅拌器和氮气入口的 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入 103b (6.2g, 30mmol) 在 DMF (57mL) 中的溶液。往该溶液中加入 NaH (矿物油中的 80% 分散液, 1.26g, 42.1mmol)。室温搅拌所得混合物 90 分钟。然后,加入溴乙腈 (2.94mL, 42mmol)。搅拌混合物 14h。然后,加入水 (100mL) 和乙酸乙酯 (200mL) 并分离有机层。用乙酸乙酯 (2X50mL) 萃取水层。用盐水洗涤经合并的有机层,经硫酸钠干燥并真空浓缩。通过柱色谱纯化残留物得到 95% 收率 (7g) 的 103c。

[0258] 实施例 103d 1-(2-氨基乙基)-5,5-二甲基-1,4,5,6-四氢环戊二烯并[b]吡咯-2-羧酸乙酯盐酸盐 103d  
[0259]



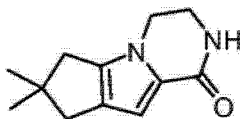
103d

[0260] 用氮气吹扫 500-mL Parr 反应器瓶并装入 10% 钯 / 炭 (50% 湿, 2.0g 干重)、103c (4.5g, 18mmol)、12% 盐酸 (9.2mL, 37mmol)、乙酸乙酯 (80mL) 和乙醇 (52mL)。将瓶连接至 Parr 氢化器,抽真空,充入氢气至 50psi 并振摇 6h。此后,抽空氢气,并向瓶中充入

氮气。加入硅藻土过滤剂 (Celite® 521, 10.0g), 并通过硅藻土 521 垫过滤混合物。用乙醇 (2×50mL) 洗涤滤饼, 并减压浓缩经合并的滤液至干燥。未经进一步纯化采用粗残留物 103d 进行下一步。

[0261] 实施例 103e 4,4-二甲基-1,10-二氮杂三环 [6.4.0.0<sup>2,6</sup>] 十二-2(6),7-二烯-9-酮 103e

[0262]

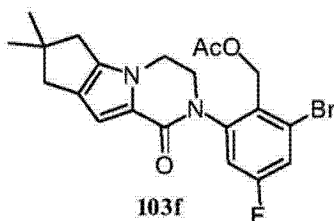


103e

[0263] 用氮气吹扫配有磁力搅拌器和氮气入口的 100-mL 单颈圆底烧瓶并装入粗 103d (~18mmol)、乙醇钠 (6.2g, 92mmol) 和乙醇 (120mL)。55℃ 搅拌该混合物过夜。然后, 减压浓缩反应混合物并在乙酸乙酯 (200mL) 和水 (100mL) 之间分配残留物。过滤溶液。用乙酸乙酯 (15mL) 洗涤固体得到 850mg 所需产物 103e。分离有机层, 并用乙酸乙酯 (2×100mL) 萃取水层。经硫酸钠干燥经合并的有机层并减压浓缩至近干。过滤溶液并用乙酸乙酯 (15mL) 洗涤固体 (1.44g)。真空干燥经合并的固体得到 61% 收率 (2.3g) 的 103e。

[0264] 实施例 103f 乙酸 2-溴-4-氟-6-(9-氧代-4,4-二甲基-1,10-二氮杂三环 [6.4.0.0<sup>2,6</sup>]-十二-2(6),7-二烯-10-基) 苄酯 103f

[0265]



103f

[0266] 密封管配有磁力搅拌器并装入 103e (740mg, 3.6mmol)、乙酸 2,6-二溴-4-氟苄酯 101c (2.4g, 7.2mmol) 和碳酸铯 (2.6g, 7.9mmol) 在 1,4-二噁烷 (36mL) 中的溶液。将氮气鼓泡通过该溶液 30 分钟后, 加入 Xantphos (250mg, 0.43mmol) 和三(二亚苄基丙酮)二钯 (0) (260mg, 0.29mmol), 并将反应混合物加热至 100℃ 且保持 16h。此后加入 H<sub>2</sub>O (50mL) 和乙酸乙酯 (50mL)。分离水层并用乙酸乙酯 (2×50mL) 萃取。用盐水 (100mL) 洗涤经合并的有机萃取物并经硫酸钠干燥。通过柱色谱纯化所得残留物 (用 100% 己烷 - 100% 乙酸乙酯梯度洗脱) 得到 56% 收率 (910mg) 的 103f。

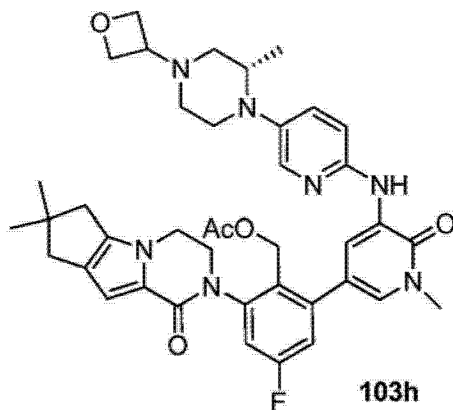
[0267] 实施例 103g 乙酸 2-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-4-氟-6-(9-氧代-4,4-二甲基-1,10-二氮杂三环 [6.4.0.0<sup>2,6</sup>]-十二-2(6),7-二烯-10-基) 苄酯 103g

[0268] 将化合物 103f (450mg, 1.0mmol)、4,4,4',4',5,5,5',5'-八甲基-2,2'-二(1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷) (635mg, 2.5mmol)、乙酸钾 (393mg, 4.0mmol)、二(二苄基膦基)-二茂铁] 氯化钯 (II) 与 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 的络合物 (PdCl<sub>2</sub>dppf:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1), 66mg, 0.08mmol) 和 1,4-二噁烷 (20mL) 混合并在 100℃ 加热 5h。冷却反应混合物至室温并通过硅藻土 521 垫过滤。用乙酸乙酯 (2×25mL) 洗涤滤饼, 并减压浓缩经合并的滤液至干燥得到黑色油状

的 103g (定量收率), 其直接用于下一步。MS (ESI+)  $m/z$  497.3 (M+H)。

[0269] **实施例 103h** (2S)-乙酸(2-{4,4-二甲基-9-氧代-1,10-二氮杂三环-[6.4.0.0<sup>2,6</sup>]十二-2(6),7-二烯-10-基}-4-氟-6-[1-甲基-5-({5-[2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]吡啶-2-基}氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基]苯基)-甲酯 103h

[0270]



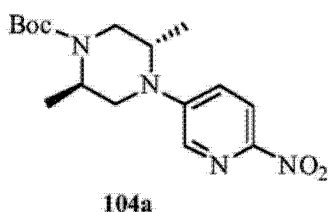
[0271] 按照如化合物 101i 所述的方法,使乙酸(2-{4,4-二甲基-9-氧代-1,10-二氮杂三环-[6.4.0.0<sup>2,6</sup>]十二-2(6),7-二烯-10-基}-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苯基)甲酯(229mg,0.46mmol)与(S)-5-溴-1-甲基-3-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)吡啶-2(1H)-酮(200mg,0.46mmol)反应,得到黄色固体状的 103h(80mg,24%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>724。

[0272] **实施例 103** (2S)-10-[5-氟-2-(羟基甲基)-3-[1-甲基-5-({5-[2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]吡啶-2-基}氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基]苯基]-4,4-二甲基-1,10-二氮杂三环[6.4.0.0<sup>2,6</sup>]十二-2(6),7-二烯-9-酮 103

[0273] 按照如 101 所述的方法,用氢氧化锂水解中间体 103h(80mg,0.11mmol)得到黄色固体状的 103(40mg,53%)。LCMS:[M+H]<sup>+</sup>682。<sup>1</sup>H NMR(500MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ 8.56(dd, J = 2.0,7.0,1H),7.95(t, J = 3.0,1H),7.82(d, J = 3.0,1H),7.47(t, J = 3.0,1H),7.31(dd, J = 3.0,9.0,1H),7.17-7.14(m,1H),6.95(dd, J = 2.5,9.0,1H),6.82-6.80(m,2H),4.71-4.61(m,4H),4.56-4.53(m,1H),4.41-4.37(m,1H),4.33-4.28(m,1H),4.23-4.15(m,3H),3.91-3.86(m,1H),3.70(s,3H),3.55-3.44(m,2H),3.08-3.06(m,2H),2.56-2.46(m,7H),2.21-2.16(m,1H),1.27(s,6H),0.98-0.97(m,3H)

[0274] **实施例 104a** (2R,5S)-2,5-二甲基-4-(6-硝基吡啶-3-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯 104a

[0275]

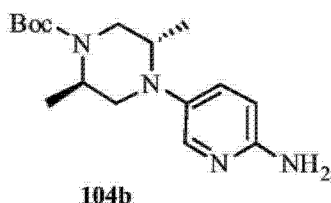


[0276] 按照如化合物 108a 所述的方法,使(2R,5S)-4-氯-2,5-二甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯(1.5g,6.0mmol)与5-溴-2-硝基吡啶(1212mg,6.0mmol)反应得到黄色固体状的

104a (1500mg, 75%)。LCMS :  $[M+H]^+337$ 。参见图 4。

[0277] 实施例 104b (2R, 5S)-4-(6-氨基吡啶-3-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯  
104b

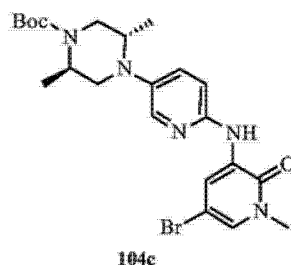
[0278]



[0279] 按照如化合物 108b 所述的方法,使 104a (1.5g, 4.46mmol) 反应,得到黄色固体状的 104b (1130mg, 83%)。LCMS :  $[M+H]^+307$

[0280] 实施例 104c (2R, 5S)-4-(6-(5-溴-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基氨基)吡啶-3-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 104c

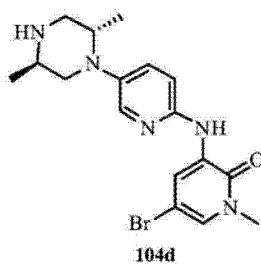
[0281]



[0282] 按照如化合物 108c 所述的方法,使 (2R, 5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 (332mg, 1.08mmol) 与 3,5-二溴-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 (294mg, 1.08mmol) 反应,得到黄色固体状的 104c (402mg, 75%)。LCMS :  $[M+H]^+492$

[0283] 实施例 104d (2R, 5S)-4-(6-(5-溴-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基氨基)吡啶-3-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 104d

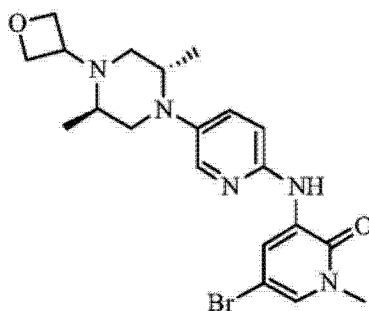
[0284]



[0285] 按照如化合物 108d 所述的方法,酸水解 104c (402mg, 0.82mmol) 除去 boc 基团,得到黄色固体状的 104d (300mg, 94%)。LCMS :  $[M+H]^+392$

[0286] 实施例 104e 5-溴-3-(5-((2S, 5R)-2,5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)-吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 104e

[0287]

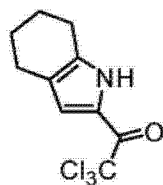


104e

[0288] 按照如化合物 108e 所述的方法并以 5-溴-3-(5-((2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-吡啶-2(H)-酮 (300mg, 0.77mmol) 起始, 得到黄色固体状的 104e (320mg, 93%)。LCMS:  $[M+H]^+ 448$

[0289] 实施例 104f 2,2,2-三氯-1-(4,5,6,7-四氢-1H-吡啶-2-基)乙酮 104f

[0290]

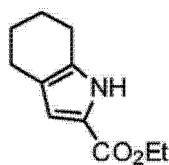


104f

[0291] 用氮气吹扫配有磁力搅拌器、冷凝器和氮气入口的 100-mL 单颈圆底烧瓶并装入 4,5,6,7-四氢-1H-吡啶 (3.00g, 24.8mmol)、三氯乙酰氯 (13.5g, 74.4mmol) 和 1,2-二氯乙烷 (50mL)。85°C 搅拌该溶液 2h。然后, 减压浓缩反应混合物得到黑色半固体状的 100% 收率 (6.50g) 的 104f:  $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.94 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 2.62 (t, 2H,  $J = 6.0$ Hz), 2.47 (t, 2H,  $J = 6.0$ Hz), 1.80 (m, 2H), 1.65 (m, 2H); MS (ESI+)  $m/z$  266.0 (M+H)

[0292] 实施例 104g 4,5,6,7-四氢-1H-吡啶-2-羧酸乙酯 104g

[0293]

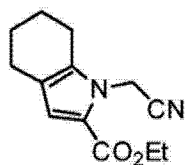


104g

[0294] 用氮气吹扫配有磁力搅拌器和氮气入口的 100-mL 单颈圆底烧瓶并装入 2,2,2-三氯-1-(4,5,6,7-四氢-1H-吡啶-2-基)乙酮 104f (6.50g, 24.8mmol)、乙醇钠 (17.0mg, 0.25mmol) 和乙醇 (40mL)。室温搅拌该溶液 1h。然后, 减压浓缩反应混合物。通过柱色谱纯化残留物得到棕色固体状的 100% 收率 (4.80g) 的 4,5,6,7-四氢-1H-吡啶-2-羧酸乙酯 104g: mp 70 - 72°C;  $^1H$  NMR (300MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  9.08 (s, 1H), 6.75 (s, 1H), 4.25 (q, 2H,  $J = 7.2$ Hz), 2.65 (t, 2H,  $J = 6.0$ Hz), 2.56 (t, 2H,  $J = 6.0$ Hz), 1.85 (m, 4H), 1.28 (t, 3H,  $J = 7.2$ Hz); MS (ESI+)  $m/z$  194.1 (M+H)

[0295] 实施例 104h 1-(氰基甲基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡啶-2-羧酸乙酯 104h

[0296]

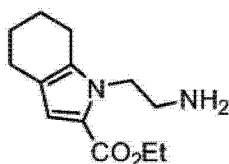


104h

[0297] 用氮气吹扫配有磁力搅拌器和氮气入口的 125-mL 单颈圆底烧瓶并装入 4,5,6,7-四氢-1H-吲哚-2-羧酸乙酯 104g (5.76g, 29.8mmol) 和 DMF (50mL)。用冰浴冷却溶液至 0°C。加入氢化钠 NaH (矿物油中的 60% 分散液, 1.43g, 35.8mmol)。室温搅拌所得混合物 1h。然后, 加入溴乙腈 (1.43g, 35.8mmol)。室温搅拌该混合物 14h。然后, 减压浓缩反应混合物并在乙酸乙酯 (150mL) 和水 (450mL) 之间分配残留物。分离有机层, 并用乙酸乙酯 (3×150mL) 萃取水层。用盐水洗涤经合并的有机层, 经硫酸钠干燥并减压浓缩。通过柱色谱纯化残留物得到黄色半固体状的 55% 收率 (3.80g) 的 104h:  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.66 (s, 1H), 5.29 (s, 2H), 4.28 (q, 2H,  $J = 7.2\text{Hz}$ ), 2.62 (t, 2H,  $J = 6.3\text{Hz}$ ), 2.49 (t, 2H,  $J = 6.3\text{Hz}$ ), 1.92 (m, 2H), 1.75 (m, 2H), 1.33 (t, 3H,  $J = 7.2\text{Hz}$ ); MS (ESI+)  $m/z$  233.1 (M+H)

[0298] 实施例 104i 1-(2-氨基乙基)-4,5,6,7-四氢-1H-吲哚-2-羧酸乙酯 104i

[0299]

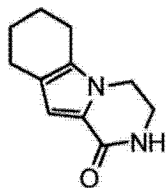


104i

[0300] 用氮气吹扫 200-mL Parr 反应器瓶并装入 10% 钯 / 炭 (50% 湿, 1.28g 干重)、104h (3.00g, 12.9mmol)、12% 盐酸 (6.5mL, 25mmol)、乙酸乙酯 (60mL) 和乙醇 (40mL)。将瓶连接至 Parr 氢化器, 抽真空, 充入氢气至 50psi 的压力并振摇 6h。此后, 抽空氢气, 并向瓶中充入氮气。加入硅藻土 521 (4.0g), 并通过硅藻土 521 垫过滤混合物。用乙醇 (2×20mL) 洗涤滤饼, 并减压浓缩经合并的滤液至干燥。在乙酸乙酯 (150mL) 和 10% 碳酸钾水溶液 (100mL) 之间分配残留物。分离有机层, 并用乙酸乙酯 (3×75mL) 萃取水层。经硫酸钠干燥经合并的有机层并减压浓缩。用乙醇 (5mL) 研磨残留物得到白色固体状的 71% 收率 (1.71g) 的 104i: mp 102 - 104 °C;  $^1\text{H NMR}$  (500MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  6.61 (s, 1H), 6.22 (br, 2H), 4.15 (m, 4H), 2.77 (m, 2H), 2.59 (t, 2H,  $J = 6.5\text{Hz}$ ), 2.42 (t, 2H,  $J = 6.5\text{Hz}$ ), 1.70 (m, 2H), 1.62 (m, 2H), 1.23 (t, 3H,  $J = 7.0\text{Hz}$ ); MS (APCI+)  $m/z$  237.2 (M+H)

[0301] 实施例 104j 3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并 [1,2-a] 吲哚-1(2H)-酮 104j

[0302]



104j

[0303] 用氮气吹扫配有磁力搅拌器和氮气入口的 100-mL 单颈圆底烧瓶并装入 104i (1.80g, 7.63mmol)、乙醇钠 (1.55g, 22.8mmol) 和乙醇 (50mL)。55°C 搅拌该混合物

5h。然后,减压浓缩反应混合物并在乙酸乙酯(200mL)和水(100mL)之间分配残留物。分离有机层,并用乙酸乙酯(2×100mL)萃取水层。用盐水洗涤经合并的有机层,经硫酸钠干燥并减压浓缩。通过柱色谱纯化残留物得到白色固体状的42%收率(605mg)的104j: mp207-209 °C; <sup>1</sup>H NMR(500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.41(s, 1H), 6.36(s, 1H), 3.84(t, 2H, J = 6.0Hz), 3.42(m, 2H), 2.51(t, 2H, J = 6.0Hz), 2.42(t, 2H, J = 6.0Hz), 1.76(m, 2H), 1.65(m, 2H); (APCI+)m/z191.3 (M+H)

[0304] 实施例 104k 2,6-二溴-4-氟苯甲醛 104k

[0305] 在保持内部温度低于-25 °C的情况下经30分钟往-35 °C冷却的1,3-二溴-5-氟-2-碘苯(50g, 132mmol)在无水甲苯(300mL)中的溶液中加入异丙基氯化镁溶液(84mL, 171mmol, Et<sub>2</sub>O中2.0M)。获得澄清棕色溶液并在-25 °C继续搅拌1.5h。然后经30分钟时间加入无水DMF(34mL, 436mmol)。经1h将反应混合物温热至10 °C(室温)并在此温度搅拌1.5h。然后用3.0M HCl淬灭并接着加入乙酸乙酯。分离有机层并减压蒸发。通过硅胶柱色谱纯化残留物(用石油醚/乙酸乙酯(50:1至20:1)洗脱)得到白色固体状的104k(20g, 54%)。 <sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10.23(s, 1H), 7.48(d, J = 7.5, 2H)。

[0306] 实施例 104l (2,6-二溴-4-氟苯基)甲醇 104l

[0307] 往104k(20g, 71mmol)在EtOH(500mL)中的溶液中加入NaBH<sub>4</sub>(10g, 284mmol)。室温(10 °C)搅拌该混合物4h且TLC显示起始原料消失。通过HCl水溶液(150mL, 1M)淬灭反应混合物并真空蒸发直至蒸馏大部分EtOH。通过乙酸乙酯(500mL×3)萃取残留物。合并有机层,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并真空蒸发。通过硅胶柱色谱纯化残留物(用石油醚/乙酸乙酯(50:1至20:1)洗脱)得到白色固体状的104l(15g, 75%)。MS:[M-OH]<sup>+</sup>267。 <sup>1</sup>H NMR(500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.68(d, J = 8.5, 2H), 5.23(s, 1H), 4.71(s, 2H)。

[0308] 实施例 104m 乙酸2,6-二溴-4-氟苄酯 104m

[0309] 0 °C往(2,6-二溴-4-氟苯基)甲醇(104l)(20g, 71mmol)在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(500mL)中的溶液中加入吡啶(8.4g, 107mmol)和乙酰氯(8.3g, 107mmol)。室温搅拌该混合物5h。TLC显示起始原料消失。真空蒸发反应混合物并通过硅胶柱色谱纯化残留物(用石油醚/乙酸乙酯(50:1至20:1)洗脱)得到白色固体状的104m(20g, 87%)。MS:[M-Oac]<sup>+</sup>267。 <sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.36(d, J = 7.5, 2H), 5.38(s, 2H), 2.10(s, 3H)

[0310] 实施例 104n 乙酸2-溴-4-氟-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吲哚-2(1H)-基)苄酯 104n

[0311] 往配有磁力搅拌器的250-mL单颈圆底烧瓶中装入104j(3.8g, 20mmol)、104m(20g, 60mmol)、XantPhos(1.2g, 2mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(0)(1.8g, 2mmol)、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(16g, 50mmol)和1,4-二噁烷(120mL)。抽空该系统并接着用N<sub>2</sub>再充满。将回流冷凝器连接至烧瓶,并在100 °C加热反应混合物16h。然后冷却混合物至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过快速柱色谱纯化所得残留物(用5:1石油醚/乙酸乙酯洗脱)得到白色固体状的104n(5.2g, 60%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>435。 <sup>1</sup>H NMR(500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.70(dd, J = 3, 1H), 7.48(dd, J = 3, 1H), 6.52(s, 1H), 5.01(m, 2H), 4.18(m, 2H), 4.02(m, 1H), 3.73(m, 1H), 2.60(m, 2H), 2.45(m, 2H), 1.98(s, 3H), 1.77(m, 2H), 1.68(m, 2H)。

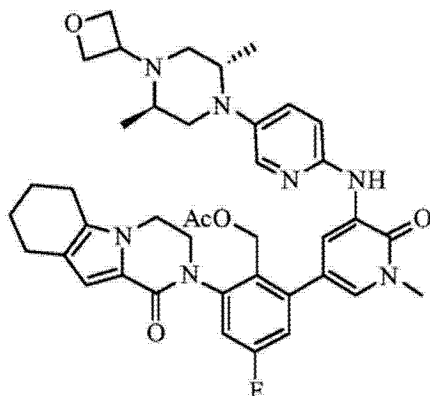
[0312] 实施例 104o 乙酸4-氟-2-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢-吡嗪并[1,2-a]吲哚-2(1H)-基)-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苄酯 104o



[0313] 往配有磁力搅拌器的 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入 104n (3.8g, 8.65mmol)、(PinB)<sub>2</sub> (11g, 43.25mmol)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (0.4g, 0.5mmol)、KOAc (2.5g, 26mmol) 和 1,4-二噁烷 (150mL)。抽空该系统并接着用 N<sub>2</sub> 再充满。将回流冷凝器连接至烧瓶并在 100℃ 加热反应混合物 15h。然后冷却混合物至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过快速柱色谱纯化所得残留物 (用 5:1 石油醚 / 乙酸乙酯洗脱) 得到黄色固体状的 104o (3.2g, 77%)。MS: [M+H]<sup>+</sup>483。

[0314] 实施例 104p 乙酸 2-(5-(5-((2S,5R)-2,5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-4-氟-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-2(1H)-基)苄酯 104p

[0315]



104p

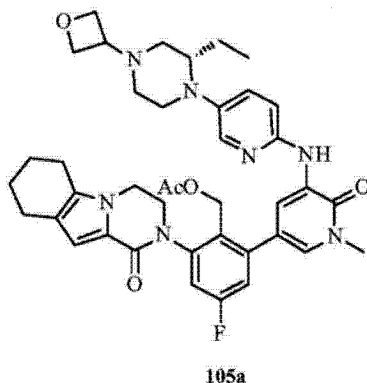
[0316] 按照如化合物 108f 所述的方法,使 104e (268mg, 0.60mmol) 与 104o (289mg, 0.60mmol) 反应,得到黄色固体状的 104p (300mg, 85%)。LCMS: [M+H]<sup>+</sup>724

[0317] 实施例 104 2-(3-(5-(5-((2S,5R)-2,5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-1(2H)-酮 104

[0318] 按照实施例 101i 中的方法,用氢氧化锂水解 104p 的乙酸酯 (288mg, 0.40mmol) 得到白色固体状的 104 (80mg, 25%)。LCMS: [M+H]<sup>+</sup>682。<sup>1</sup>HNMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.60 (d, J = 2.0, 1H), 8.02 (d, J = 2.5, 1H), 7.87 (d, J = 1.5, 1H), 7.49-7.48 (m, 1H), 7.37 (d, J = 9.0, 1H), 7.16 (d, J = 9.0, 1H), 6.96 (d, J = 8.5, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.81 (d, J = 9.0, 1H), 4.77-4.61 (m, 4H), 4.54 (d, J = 11.5, 1H), 4.39-4.31 (m, 2H), 4.19-4.15 (m, 3H), 3.92-3.91 (m, 1H), 3.77-3.74 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.18 (s, 1H), 2.92-2.89 (m, 1H), 2.73-2.70 (m, 2H), 2.61-2.56 (m, 4H), 2.48 (s, 1H), 1.98-1.79 (m, 5H), 0.91-0.89 (m, 6H)

[0319] 实施例 105a (S)-乙酸 2-(5-(5-(2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-4-氟-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-2(1H)-基)苄酯 105a

[0320]



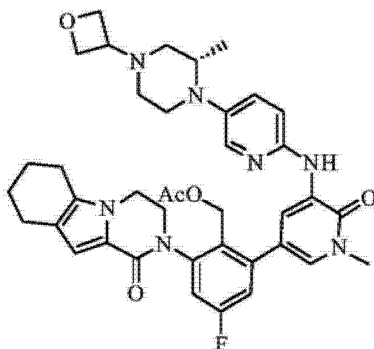
[0321] 往配有磁力搅拌器的密封管中装入 (S)-5-溴-3-(5-(2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 (203mg, 0.45mmol)、乙酸4-氟-2-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-2(1H)-基)-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苯酯 (216mg, 0.45mmol)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (18mg, 0.0225mmol)、NaOAc (74mg, 0.90mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (191mg, 0.90mmol) 和乙腈 (3mL)。参见图 5。真空/氩气冲洗三个循环后, 100°C 加热该混合物 1h。然后过滤并真空蒸发滤液。通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用二氯甲烷/甲醇 (25:1, V/V) 洗脱) 得到棕色固体状的 105a (220mg, 87%)。LCMS: [M+H]<sup>+</sup>724

[0322] **实施例 105** (S)-2-(3-(5-(5-(2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-1(2H)-酮 105

[0323] 30°C 搅拌 105a (220mg, 0.30mmol) 和 LiOH (72mg, 3.0mmol) 在 <sup>i</sup>PrOH/THF (1:1, 4mL) 和 H<sub>2</sub>O (1mL) 中的混合物 1h。真空蒸发混合物并用 EtOAc (10mL X2) 萃取残留物。减压浓缩经合并的 EtOAc 萃取物并通过反相制备型 HPLC 纯化残留物得到白色固体状的 105 (54mg, 25%)。LCMS: [M+H]<sup>+</sup>682。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.54 (t, J = 2.5, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.47 (d, J = 1.5, 1H), 7.26-7.24 (m, 1H), 7.18-7.15 (m, 1H), 6.95 (dd, J = 2.5, 9.0, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.81 (d, J = 7.5, 1H), 4.72-4.61 (m, 4H), 4.54 (d, J = 11.5, 1H), 4.33-4.30 (m, 2H), 4.20-4.14 (m, 3H), 3.92-3.90 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.53 (t, J = 5.5, 1H), 3.31 (s, 1H), 3.12 (s, 2H), 2.61-2.56 (m, 5H), 2.44 (s, 2H), 2.35 (s, 1H), 1.91-1.89 (m, 2H), 1.80-1.79 (m, 2H), 1.67 (s, 1H), 1.43-1.37 (m, 1H), 0.82 (t, J = 5.5, 3H)

[0324] **实施例 106a** (S)-乙酸4-氟-2-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-2(1H)-基)苯酯 106a

[0325]



106a

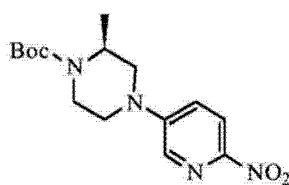
[0326] 往密封管中装入乙酸 4-氟-2-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吲哚-2(1H)-基)-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苄酯(337mg, 0.7mmol)、(S)-5-溴-1-甲基-3-(3-甲基-5-(4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)吡啶-2(1H)-酮(303mg, 0.7mmol)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>(33mg, 0.04mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O(372mg, 1.4mmol)和NaOAc(115mg, 1.4mmol)在CH<sub>3</sub>CN(20mL)中的混合物。参见图6。抽空该系统并用N<sub>2</sub>再充满。110℃加热反应混合物2h。然后冷却至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过快速柱色谱纯化所得残留物(用30:1DCM/MeOH洗脱)得到黄色固体状的106a(258mg, 52%)。LCMS:[M+H]<sup>+</sup>710

[0327] 实施例106 (S)-2-(5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吲哚-1(2H)-酮106

[0328] 在室温和搅拌下往106a(153mg, 0.22mmol)在THF/iPA/H<sub>2</sub>O(6mL/6mL/2mL)中的溶液中加入LiOH(70mg, 2.9mmol)。搅拌该混合物0.5h。然后加入H<sub>2</sub>O(20mL)并用EA(30mL X3)萃取混合物。用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥经合并的有机层并浓缩得到黄色固体,通过反相制备型HPLC进一步纯化得到白色固体状的106(60mg, 42%收率)。LCMS:[M+H]<sup>+</sup>668。<sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDC13) δ 8.57(dd, J = 2.0, 7.0, 1H), 7.97(s, 1H), 7.85(s, 1H), 7.48(t, J = 2.5, 1H), 7.33(d, J = 7.0, 1H), 7.16(d, J = 8.0, 1H), 6.96(dd, J = 2.5, 9.0, 1H), 6.87(s, 1H), 6.83(d, J = 9.0, 1H), 4.69-4.72(m, 4H), 4.55(d, J = 11.5, 1H), 4.29-4.38(m, 2H), 4.14-4.20(m, 3H), 3.90-3.93(m, 1H), 3.71(s, 3H), 3.57(s, 1H), 3.48(s, 1H), 3.09-3.14(m, 2H), 2.52-2.61(m, 7H), 2.23(s, 1H), 1.88-1.91(m, 2H), 1.79-1.81(m, 2H), 0.99(d, J = 5.0, 3H)

[0329] 实施例107a (S)-2-甲基-4-(6-硝基吡啶-3-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯107a

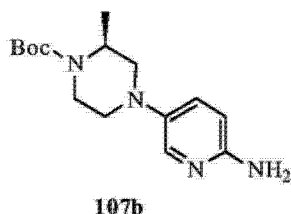
[0330]



107a

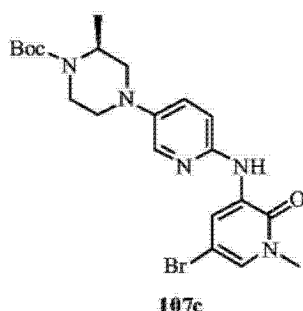
[0331] 按照如化合物108a所述的方法,使5-溴-2-硝基吡啶(1.5g)与(S)-2-甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯(2.3g)反应,得到黄色固体状的107a(1.5g, 40%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>323。参见图7。

[0332] 实施例 107b (S)-4-(6-氨基吡啶-3-基)-2-甲基-哌嗪-1-羧酸叔丁酯 107b  
[0333]



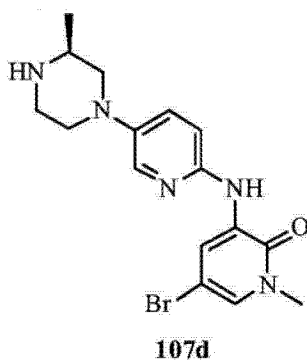
[0334] 按照如化合物 108b 所述的方法, 还原 107a(4.0g), 得到黄色固体状的 107b(1.23g, 97%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>293

[0335] 实施例 107c (S)-4-(6-(5-溴-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基氨基)吡啶-3-基)-2-甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 107c  
[0336]



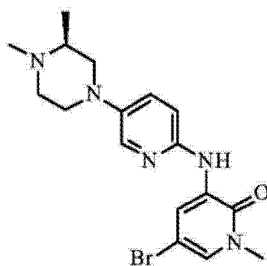
[0337] 按照如化合物 108c 所述的方法, 使 3,5-二溴-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 (83mg) 与 107b(90mg) 反应, 得到黄色固体状的 107c(120mg, 81%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>480

[0338] 实施例 107d (S)-5-溴-3-(5-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)-吡啶-2-基-氨基)吡啶-2(1H)-酮) 107d  
[0339]



[0340] 按照如化合物 108d 所述的方法, 酸水解 107c(120mg) 的 boc 基团, 得到黄色固体状的 107d(100mg, 90%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>380

[0341] 实施例 107e (S)-5-溴-3-(5-(3,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 107e  
[0342]

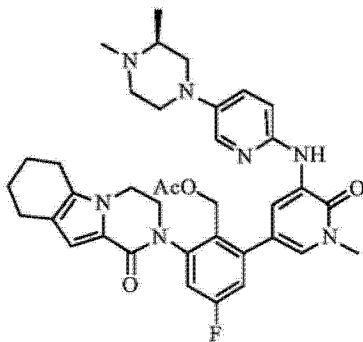


107e

[0343] 按照如化合物 108e 所述的方法,使 107d(100mg) 甲基化,得到黄色固体状的 107e(60mg, 59%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>394

[0344] 实施例 107f (S)-乙酸 2-(5-(5-(3,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-4-氟-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并-[1,2-a]咪唑-2(1H)-基)苯酯 107f

[0345]



107f

[0346] 按照如化合物 108f 所述的方法,使乙酸 4-氟-2-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并-[1,2-a]咪唑-2(1H)-基)-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苯酯(74mg)与 107e(60mg)反应,得到黄色固体状的 107f(60mg, 59%)。LCMS : [M+H]<sup>+</sup>668

[0347] 实施例 107 (S)-2-(3-(5-(5-(3,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并-[1,2-a]咪唑-1(2H)-酮 107

[0348] 按照实施例 108 中的方法,用氢氧化锂水解 107f(60mg),得到白色固体状的 107(20mg, 36%)。LCMS : [M+H]<sup>+</sup>626。<sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ : 8.55(s, 1H), 7.90(d, J = 2.5, 1H), 7.77(s, 1H), 7.46(d, J = 2.5, 1H), 7.26(dd, J = 3.0, 9.5, 1H), 7.17(dd, J = 3.0, 9.5, 1H), 6.95(dd, J = 3.0, 9.0, 1H), 6.87(s, 1H), 6.81(d, J = 9.0, 1H), 4.55(d, J = 10.5, 1H), 4.31-4.36(m, 2H), 4.14-4.20(m, 3H), 3.90-3.92(m, 1H), 3.70(s, 3H), 3.38(d, J = 11, 1H), 3.32(d, J = 11.5, 1H), 2.94(s, 2H), 2.56-2.61(m, 5H), 2.49(s, 1H), 2.38(s, 4H), 1.89-1.91(m, 2H), 1.79-1.80(m, 2H), 1.17(d, J = 5.0, 3H)

[0349] 实施例 108a (R)-2-甲基-4-(6-硝基吡啶-3-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯 108a

[0350] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入甲基亚磺酰基甲烷(50mL)、5-溴-2-硝基吡啶(2.2g, 11mmol)、(R)-2-甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯(2.2g, 11mmol)和碳酸钾(3.08g, 22mmol)。参见图 8。系统经真空/氮气冲洗三个循环并在 65°C 加热 15h。然后冷却至室温,并在乙酸乙酯(100mL)和水(20mL)之间分配。分离水层并用

乙酸乙酯 (50mL×2) 萃取。用盐水 (50mL) 洗涤经合并的有机层并经无水硫酸钠干燥。通过过滤除去干燥剂并减压浓缩滤液。通过快速柱色谱纯化残留物 (用 2:1(V/V) 石油醚 / 乙酸乙酯洗脱) 得到黄色固体状的 108a(1.75g, 50%)。LCMS : [M+H]<sup>+</sup>323

[0351] 实施例 108b (R)-4-(6-氨基吡啶-3-基)-2-甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 108b

[0352] 往 108a(1.0g, 3.1mmol) 在甲醇 (15mL) 中的混合物中加入 10% 钨 / 炭 (100mg)。在室温和氢气氛下搅拌该混合物过夜。反应结束时, 过滤并减压浓缩滤液。通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用 DCM/MeOH(10:1, V/V) 洗脱) 得到棕色固体状的 108b(800mg, 88%)。LCMS : [M+H]<sup>+</sup>293

[0353] 实施例 108c (R)-4-(6-(5-溴-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基氨基)吡啶-3-基)-2-甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 108c

[0354] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 50-mL 单颈圆底烧瓶中装入 1,4-二噁烷 (15mL)、108b(800mg, 2.7mmol)、3,5-二溴-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 (720mg, 2.7mmol) 和碳酸铯 (1.76g, 5.4mmol)。将氮气鼓泡通过悬浮液 3 分钟后, 加入 Xantphos(78mg, 0.14mmol) 和三(二亚苄基丙酮)二钨(0) (128mg, 0.14mmol)。系统经真空 / 氩气冲洗三个循环并在回流下加热 3h。然后冷却至室温并过滤。在乙酸乙酯 (30mL) 和水 (30mL) 之间分配滤液。分离水层并用乙酸乙酯 (50mL×2) 萃取。用盐水 (50mL) 洗涤经合并的有机层并经无水硫酸钠干燥。通过过滤除去干燥剂并减压浓缩滤液。通过快速柱色谱纯化残留物 (用 10:1 二氯甲烷 / 甲醇洗脱) 得到黄色固体状的 108c(624mg, 47%)。LCMS : [M+H]<sup>+</sup>480

[0355] 实施例 108d (R)-5-溴-1-甲基-3-(5-(3-甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)吡啶-2(1H)-酮 108d

[0356] 室温往 108c(624mg, 1.3mmol) 在二氯甲烷 (8mL) 中的混合物中滴加三氟乙酸 (300mg, 2.6mmol)。然后混合物搅拌过夜。加入 2.0N NaOH 调节 pH 至大于 10。然后用乙酸乙酯 (50mL×2) 萃取混合物。用盐水 (50mL) 洗涤经合并的有机层, 经无水硫酸钠干燥, 并减压浓缩得到棕色固体状的 108d(300mg, 61%)。LCMS : [M+H]<sup>+</sup>380

[0357] 实施例 108e (R)-5-溴-3-(5-(3,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 108e

[0358] 室温往 108d(300mg, 0.8mmol) 在甲醇 (8mL) 中的溶液中加入两滴乙酸、30% 甲醛溶液 (0.5mL) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (354mg, 1.6mmol)。然后在室温搅拌混合物 1h。反应结束时, 加入水 (10mL) 并用乙酸乙酯 (20mL×2) 萃取混合物。经无水硫酸钠干燥经合并的有机层并减压浓缩得到棕色固体状的 108e(280mg, 90%)。LCMS : [M+H]<sup>+</sup>392

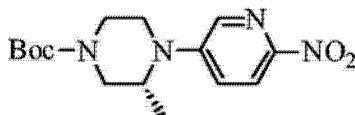
[0359] 实施例 108f (R)-乙酸 2-(5-(5-(3,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-4-氟-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并 [1,2-a] 吡啶-2(1H)-基) 苄酯 108f

[0360] 往配有磁力搅拌器的密封管中装入 108e(280mg, 0.71mmol)、乙酸 4-氟-2-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并 [1,2-a] 吡啶-2(1H)-基)-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基) 苄酯 (344mg, 0.71mmol)、PdCl<sub>2</sub>(dppf) (58mg, 0.071mmol)、1.0M NaOAc(2.0 当量)、1.0M K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(2.0 当量) 和二噁烷 (5mL)。真空 / 氩气冲洗三个循环后, 110°C 加热该混合物 2h。然后过滤并真空蒸发滤液。通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用二氯甲烷 / 甲醇 (10:1, V/V) 洗脱) 得到白色固体状的 108f(250mg, 58%)。LCMS : [M+H]<sup>+</sup>668

[0361] 实施例 108 (R)-2-(3-(5-(5-(3,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)-苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-1(2H)-酮 108

[0362] 30 °C 搅拌 108f(250mg,0.375mmol) 和 LiOH·H<sub>2</sub>O(98mg,2.0mmol) 在 <sup>1</sup>PrOH/THF(1:1,3mL) 和 H<sub>2</sub>O(1mL) 中的混合物 2h。真空蒸发混合物并用 EtOAc(10mL X2) 萃取残留物。减压浓缩经合并的 EtOAc 萃取物并用反相制备型 HPLC 纯化残留物得到白色固体状的 108(62mg,26%)。LCMS:[M+H]<sup>+</sup>626。<sup>1</sup>H NMR(500MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ 8.53(s,1H),7.89(d,J=2.5,1H),7.76(s,1H),7.45(d,J=2,1H),7.26(s,1H),7.14-7.16(m,1H),6.92-6.94(m,1H),6.86(s,1H),6.79(d,J=9,1H),4.52-4.54(m,1H),4.30-4.32(m,2H),4.14-1.16(m,3H),3.90-3.91(m,1H),3.69(s,3H),3.34-3.35(m,2H),2.91-2.92(m,2H),2.60-2.38(m,10H),1.83-1.85(m,2H),1.78-1.79(m,2H),1.17(s,3H)

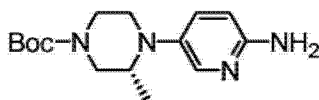
[0363] 实施例 109a (R)-3-甲基-4-(6-硝基吡啶-3-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯 109a  
[0364]



109a

[0365] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 1,4-二噁烷(60mL)、5-溴-2-硝基吡啶(2.0g,10.0mmol)、(R)-3-甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯(2.0g,10.0mmol) 和碳酸铯(6.5g,20mmol)。参见图 9。将氮气鼓泡通过所得混合物 30 分钟后,加入 XantPhos(579mg,1.0mmol) 和三(二亚苄基丙酮)二钯(0)(915mg,1.0mmol),并在 100 °C 加热反应混合物 15h。此后冷却反应混合物至室温并过滤。在乙酸乙酯(100mL) 和水(100mL) 之间分配滤液。分离水层并用乙酸乙酯(150mL×3) 萃取。用盐水(50mL) 洗涤经合并的有机层并经硫酸钠干燥。通过过滤除去干燥剂并减压浓缩滤液。通过快速柱纯化残留物(用 30:1DCM/MeOH 洗脱) 得到黄色固体状的 109a(1.6g,44%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>323。<sup>1</sup>H NMR(500MHz,DMSO) δ 8.21(d,J=3.5,1H),8.18(d,J=9.0,1H),7.43-7.45(m,1H),4.33(s,1H),3.92-3.99(m,1H),3.80(d,J=12.5,2H),3.06-3.23(m,3H),1.43(s,9H),1.09(d,J=6.5,3H)。

[0366] 实施例 109b (R)-4-(6-氨基吡啶-3-基)-3-甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 109b  
[0367]

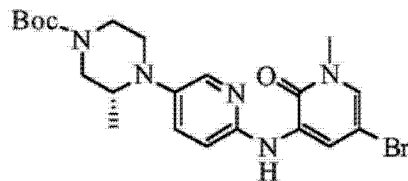


109b

[0368] 用氮气吹扫 500-mL 烧瓶并装入 109a(1.5g,4.6mmol)、10% 钯/炭(50% 湿,200mg) 和甲醇(70mL)。抽真空,充入氢气,并在室温搅拌 10h。然后抽空氢气并向烧瓶中充入氮气。通过硅藻土垫过滤除去催化剂并减压浓缩滤液得到棕色固体状的 109b(1.1g,81%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>293

[0369] 实施例 109c (R)-4-(6-(5-溴-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基氨基)吡啶-3-基)-3-甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 109c

[0370]

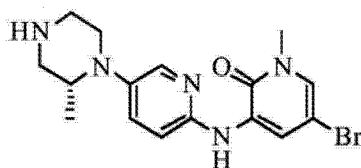


109c

[0371] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 1,4-二噁烷 (50mL)、109b (1.0g, 3.4mmol)、3,5-二溴-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 (2.7g, 10.2mmol) 和碳酸铯 (2.2g, 6.8mmol)。将氮气鼓泡通过所得混合物 30 分钟后,加入 XantPhos (198mg, 0.34mmol) 和三(二亚苄基丙酮)-二钯(0) (313mg, 0.34mmol), 并在 100°C 加热反应混合物 5h。此后冷却反应混合物至室温并过滤。在乙酸乙酯 (100mL) 和水 (100mL) 之间分配滤液。分离水层并用乙酸乙酯 (100mL×3) 萃取。用盐水 (50mL) 洗涤经合并的有机层并经硫酸钠干燥。通过过滤除去干燥剂并减压浓缩滤液。通过快速柱纯化残留物(用 30:1DCM/MeOH 洗脱)得到黄色固体状的 109c (1.1g, 63%)。MS: [M+H]<sup>+</sup>478。

[0372] 实施例 109d (R)-5-溴-1-甲基-3-(5-(2-甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)吡啶-2(1H)-酮 109d

[0373]

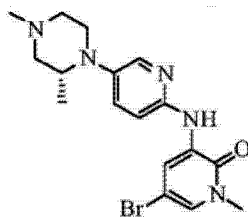


109d

[0374] 往 109c (600mg, 1.26mmol) 在甲醇 (20mL) 中的混合物中加入 HCl/二噁烷 (4.0M, 4mL)。室温搅拌反应混合物 4h。然后减压浓缩。用 1.0M NaOH 水溶液碱化残留物并用 DCM 萃取。用 H<sub>2</sub>O 洗涤经合并的有机层并减压浓缩得到黄色固体状的 109d (450mg, 95%)。MS: [M+H]<sup>+</sup>378。

[0375] 实施例 109e (R)-5-溴-3-(5-(2,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 109e

[0376]



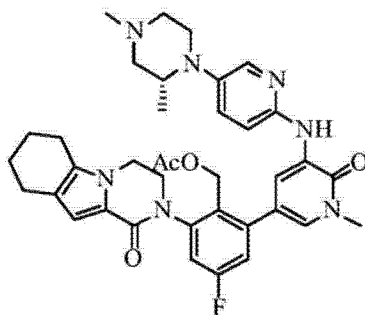
109e

[0377] 室温搅拌 109d (500mg, 1.3mmol) 和 30% 甲醛 (6.5mmol) 在甲醇/HOAc (30mL/3mL) 中的混合物 5 分钟,接着加入 NaBH<sub>3</sub>CN (120mg, 1.9mmol)。室温搅拌该混合物 4h。冷却至室温并加入 H<sub>2</sub>O (20mL)。用 DCM (50mL) 萃取混合物三次。减压浓缩经合并的有机层并通过柱色谱纯化残留物(用 30:1DCM/甲醇洗脱)得到黄色固体状的 109e (473mg, 83%)。MS: [M+H]<sup>+</sup>392。



[0378] **实施例 109f** (R)-乙酸 2-(5-(5-(2,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-4-氟-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-2(1H)-基)苄酯 109f

[0379]



109f

[0380] 100℃加热 109e (400mg, 1.0mmol)、乙酸 4-氟-2-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-2(1H)-基)-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧化杂硼杂环戊烷-2-基)苄酯 (490mg, 1.0mmol)、PdCl<sub>2</sub>(dppf) (80mg, 0.1mmol)、2.0M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.0 当量) 在 DMF (4mL) 中的混合物 2h。加入盐水并用 EA (50mL) 萃取混合物三次。减压浓缩经合并的有机层。通过快速柱色谱纯化残留物 (用 30:1DCM/MeOH 洗脱) 得到棕色固体状的 109f (354mg, 52%)。LCMS: [M+H]<sup>+</sup>668

[0381] **实施例 109** (R)-2-(3-(5-(5-(2,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-1(2H)-酮 109

[0382] 按照如化合物 108 所述的方法,用氢氧化锂水解 109f (337mg, 0.5mmol) 得到黄色固体状的 109 (152mg, 48%)。LCMS: (M+H)<sup>+</sup>626。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO) δ 8.57 (t, J = 2.5, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.83 (d, J = 3.0, 1H), 7.31-7.36 (m, 3H), 7.23 (d, J = 9.0, 1H), 7.17-7.20 (m, 1H), 6.53 (s, 1H), 4.86-4.88 (m, 1H), 4.32 (d, J = 4.5, 2H), 4.09-4.20 (m, 3H), 3.87-3.91 (m, 1H), 3.66 (s, 1H), 3.59 (s, 3H), 3.04-3.08 (m, 1H), 2.90-2.94 (m, 1H), 2.57-2.65 (m, 3H), 2.47 (t, J = 5.5, 2H), 2.35-2.42 (m, 2H), 2.19-2.21 (m, 1H), 2.18 (s, 3H), 1.79 (t, J = 6.0, 2H), 1.66-1.69 (m, 2H), 0.91 (d, J = 6.0, 3H)

[0383] **实施例 110a** (S)-5-溴-3-(5-(2,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 110a

[0384] 按照如化合物 109e 所述的方法,通过还原甲酰化将 (S)-5-溴-1-甲基-3-(5-(2-甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)吡啶-2(1H)-酮 (377mg, 1mmol) 甲基化得到白色固体状的 110a (294mg, 75%)。LCMS: [M+H]<sup>+</sup>393。参见图 10。

[0385] **实施例 110b** (S)-乙酸 2-(5-(5-(2,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-4-氟-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-2(1H)-基)苄酯 110b

[0386] 按照如化合物 109f 所述的方法,通过 Suzuki 反应将 110a (391mg, 1mmol) 与乙酸 4-氟-2-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-2(1H)-基)-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧化杂硼杂环戊烷-2-基)苄酯 (482mg, 1mmol) 偶联得到白色固体状的

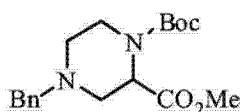
110b(334mg, 50%)。LCMS : [M+H]<sup>+</sup>668

[0387] **实施例 110** (S)-2-(3-(5-(5-(2,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]咪唑-1(2H)-酮 110

[0388] 按照实施例 109 中的方法,水解 110b 的乙酸酯(667mg, 1.0mmol),得到白色固体状的 110(75mg, 12%)。LCMS : [M+H]<sup>+</sup>626。<sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.57(d, J = 8, 1H), 7.96(s, 1H), 7.82(s, 1H), 7.47(d, J = 1.5, 1H), 7.33(s, 1H), 7.15-7.16(m, 1H), 6.94-6.96(m, 1H), 6.86(s, 1H), 6.80(d, J = 8.5, 1H), 4.52-4.54(m, 1H), 4.31-4.33(m, 2H), 4.18-4.19(m, 3H), 3.90-3.91(m, 2H), 3.70(s, 3H), 3.49-3.50(m, 1H), 3.06-3.07(m, 2H), 2.58-2.60(m, 7H), 2.34(s, 3H), 1.88-1.89(m, 2H), 1.78-1.79(m, 2H), 0.96(s, 3H)

[0389] **实施例 111a** 4-苄基哌嗪-1,2-二羧酸 1-叔丁酯·2-甲酯 111a

[0390]

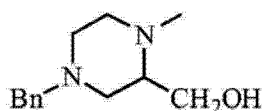


111a

[0391] N<sub>2</sub> 下往配有搅拌棒的 100ml 干燥单颈圆底烧瓶中加入哌嗪-1,2-二羧酸 1-叔丁酯·2-甲酯(5g, 20.5mmol)(图 1)。加入无水乙腈(60mL),接着加入 BnBr(2.7mL, 22.5mmol)和三乙胺(8.5mL, 61.5mmol)。然后将冷凝器安装到烧瓶上并在 71°C 加热反应混合物 45 分钟。使反应混合物达到室温并减压浓缩。然后用二氯甲烷稀释并用水和盐水洗涤。经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥有机层,过滤并减压浓缩。用快速柱(PE:EA = 8:1)纯化粗化合物得到 4.5g(66%)的 111a。MS : [M+H]<sup>+</sup>;335

[0392] **实施例 111b** (4-苄基-1-甲基哌嗪-2-基)甲醇 111b

[0393]

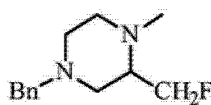


111b

[0394] 化合物 111a(1g, 2.99mmol) 溶于 100mL 无水四氢呋喃,0°C 小心地加入氢化铝锂(342mg, 8.98mmol) 并搅拌混合物 30 分钟。然后回流 3h 并将反应混合物分批倒在冰上。然后过滤并真空蒸发滤液。加入 100mL 盐水后,用二氯甲烷(100mL x3) 萃取。经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥经合并的有机层,过滤并浓缩得到黄色油状的 111b(0.6g, 收率 91%)

[0395] **实施例 111c** 4-苄基-2-(氟甲基)-1-甲基哌嗪 111c

[0396]



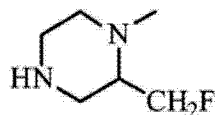
111c

[0397] N<sub>2</sub> 下往 N,N'-二甲基氨基三氟化硫(10.8ml, 81.8mmol) 在二氯甲烷中的冰冷溶

液中滴加 111b(9g, 40.9mmol) 在二氯甲烷中的溶液。0℃搅拌该黄色溶液 1 小时, 温热至室温并搅拌 15 小时。用 NaHCO<sub>3</sub> 稀释反应混合物, 分离有机层并经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥。通过硅胶 (DCM:MeOH = 50:1) 纯化粗产物得到黄色油状的 111c(3g, 收率 33%)。MS : [M+H]<sup>+</sup> : 223

[0398] 实施例 111d 2-(氟甲基)-1-甲基哌嗪 111d

[0399]

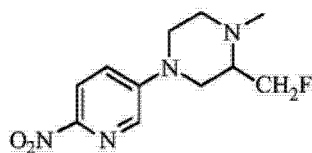


111d

[0400] 往配有磁力搅拌器的 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入 111c(3g, 13.5mmol) 和 MeOH(80mL), 并往所得混合物中加入 Pd/C(10%) (300mg)。氢气 (H<sub>2</sub>) 下搅拌反应混合物 15h。反应完成后, 过滤并浓缩得到黄色油状的 111d(1.6g, 收率 90%)。

[0401] 实施例 111e 2-(氟甲基)-1-甲基-4-(6-硝基吡啶-3-基)哌嗪 111e

[0402]

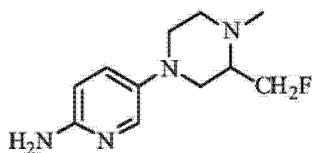


111e

[0403] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 111d(1.6g, 12.1mmol)、5-溴-2-硝基吡啶 (3.7g, 18.2mmol) 和碳酸铯 (9.9g, 30.2mmol)。将氮气鼓泡通过所得溶液 30 分钟后, 加入 Xantphos(700mg, 0.12mmol) 和三(二亚苄基丙酮)二钯 (0) (550mg, 0.06mmol), 并在回流下加热反应混合物 15h。此后冷却反应混合物至室温, 过滤并浓缩得到黑色固体作为粗产物。然后通过硅胶 (DCM:MeOH = 100:1) 纯化得到黄色固体状的 111e(2.6g, 收率 76%)。<sup>1</sup>H NMR(500MHz, MeOD) δ 8.20(dd, J = 12.5Hz, 2H), 7.51(dd, J = 9.0Hz, 1H), 4.74-4.54(m, 2H), 4.03-3.92(m, 2H), 3.20(m, 1H), 3.09-2.99(m, 2H), 2.50(m, 2H), 2.46(s, 3H),

[0404] 实施例 111f 5-(3-(氟甲基)-4-甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-胺 111f

[0405]

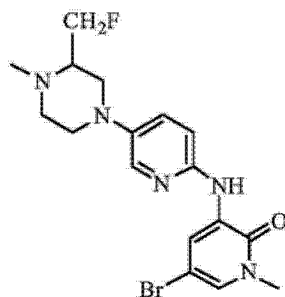


111f

[0406] 往配有磁力搅拌器的 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入 111e(2.6g, 10.2mmol) 和 MeOH(50mL), 并往所得混合物中加入 Pd/C(10%) (260mg)。H<sub>2</sub> 下搅拌反应混合物 15h。反应完成后, 过滤并浓缩得到 111f, 其未经纯化用于下一步。

[0407] 实施例 111g 5-溴-3-(5-(3-(氟甲基)-4-甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 111g

[0408]

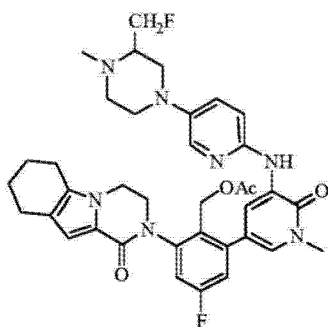


111g

[0409] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 1,4-二噁烷 (60mL)、111e (粗, 14.1mmol)、3,5-二溴-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 (4.5g, 16.9mmol) 和碳酸铯 (11.5g, 35.2mmol)。将氮气鼓泡通过所得溶液 30 分钟后, 加入 Xantphos (820mg, 1.41mmol) 和三(二亚苄基丙酮)二钯(0) (645mg, 0.7mmol), 然后在回流下加热反应混合物 15h。此后冷却反应混合物至室温, 过滤并浓缩得到黑色固体作为粗产物。然后通过硅胶 (DCM:MeOH = 100:1 至 50:1) 纯化得到黄色固体状的 111g (3.1g, 收率 50%)。

[0410] 实施例 111h 乙酸 4-氟-2-(5-(5-(3-(氟甲基)-4-甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡啶并[1,2-a]吡啶-2(1H)-基)苯酯 111h

[0411]



111h

[0412] 110°C 加热 111g (1g, 2.4mmol)、乙酸 4-氟-2-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡啶并[1,2-a]吡啶-2(1H)-基)-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苯酯 (1.3g, 2.68mmol)、PdCl<sub>2</sub>(dppf) (190mg, 0.24mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (1g, 4.8mmol) 和 NaOAc (390mg, 4.8mmol) 在 MeCN (15mL) 和 H<sub>2</sub>O (1.5mL) 中的混合物 3h。真空蒸发溶剂。通过硅胶柱 (DCM:MeOH = 50:1) 纯化残留物得到 111h (0.8g, 收率 45%)。

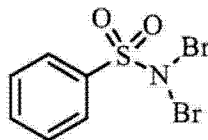
[0413] 实施例 111 2-(5-氟-3-(5-(5-(3-(氟甲基)-4-甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡啶并[1,2-a]吡啶-1(2H)-酮 111

[0414] 30°C 搅拌 111h (750mg, 1.09mmol) 和 LiOH 水合物 (2.3g, 55mmol) 在 iPrOH (10mL)、THF (10mL) 和 H<sub>2</sub>O (10mL) 中的混合物 1h。真空蒸发混合物, 并用 DCM (3x30mL) 萃取残留物。减压浓缩经合并的萃取物。并通过硅胶柱 (DCM:MeOH = 50:1) 纯化残留物得到黄色固体状的 111 (700mg, 93%)。MS: [M+H]<sup>+</sup>644。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, MeOD) δ 8.54 (d, J = 2.0Hz, 1H), 7.93 (d, J = 1.5Hz, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.33 (d, J = 2.0Hz, 1H), 7.21 (d, J = 9.0Hz, 2H),

7.02(d, J = 9.0Hz, 1H), 6.72(s, 1H), 4.67-4.46(m, 4H), 4.19(s, 3H), 4.02(m, 1H), 3.70(s, 3H), 3.51(d, J = 11.5Hz, 1H), 3.42(d, J = 11. Hz, 1H), 3.36(s, 1H), 2.96(d, J = 11.5Hz, 1H), 2.85(m, 1H), 2.73-2.50(m, 7H), 2.48(s, 3H), 1.88(m, 2H), 1.78(m, 2H)

[0415] 实施例 112a N, N- 二溴苯磺酰胺 112a

[0416]

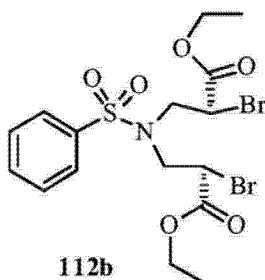


112a

[0417] 将苯磺酰胺 (115g, 731.4mmol)、KOH(82.8g, 1.48mol) 和水 (500ml) 置于 1000-mL 三颈烧瓶中 (图 12)。然后在剧烈搅拌下滴加溴 (230g, 1.48mol)。过滤所得析出物,用水洗涤并过滤得到黄色粉末状的 112a(207g, 90%)

[0418] 实施例 112b (S)-2- 溴 -3-(N-((R)-2- 溴 -3- 乙氧基 -3- 氧代丙基) 苯基 - 磺酰氨基) 丙酸乙酯 112b

[0419]

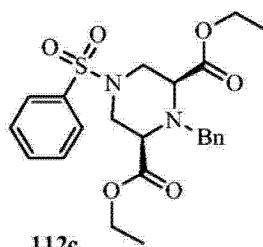


112b

[0420] 往 112a(207g, 658.26mmol) 在 DCM(500ml) 中的溶液中加入丙烯酸乙酯 (331.2g, 3.29mol)。搅拌该混合物至回流并打开水银灯以确保反应在汞弧光下进行 4h。然后通过硅胶柱纯化反应混合物 (用 PE:EA = 15:1 至 10:1 洗脱) 得到白色固体状的 112b(20g, 6%)。MS : [M+H]<sup>+</sup> : 538

[0421] 实施例 112c (2R, 6S)-1- 苄基 -4-( 苯基磺酰基) 哌嗪 -2, 6- 二羧酸二乙酯 112c

[0422]

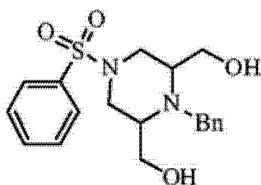


112c

[0423] 往 112b(20g, 38.8mmol) 在 甲苯 (100ml) 中的溶液中加入 BnNH<sub>2</sub>(12.48g, 116.5mmol)。90℃ 搅拌反应混合物 3h。然后通过硅胶柱纯化该混合物 (用 PE:EA = 50:1 至 10:1 洗脱) 得到白色晶体状的 112c(10.7g, 60%) MS : [M+H]<sup>+</sup> : 461

[0424] 实施例 112d (1- 苄基 -4-( 苯基磺酰基) 哌嗪 -2, 6- 二基) 二甲醇 112d

[0425]

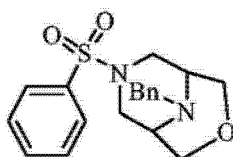


112d

[0426] 冷却和搅拌下将  $\text{LiAlH}_4$  在 THF (70ml ; 70mmol) 中的 1M 溶液滴加到 112c (10.7g ; 23.2mmol) 在 THF (275ml) 中的溶液中。将反应混合物回流 20 分钟, 倒入饱和  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液中并用 TBME 萃取三次。经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥经合并的有机相并蒸发至干燥得到无色固体, 用 TBME 洗涤得到白色晶体状的 112d (7g, 80%)。MS :  $[\text{M}+\text{H}]^+ : 377$

[0427] 实施例 112e 9-苄基-3-(苯基磺酰基)-7-氧杂-3,9-二氮杂-二环 [3.3.1] 壬烷 112e

[0428]

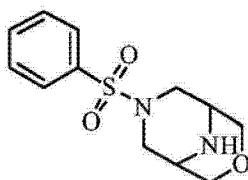


112e

[0429] 室温和搅拌下将  $\text{SOCl}_2$  (1.34ml ; 18.5mmol) 在甲苯 (14ml) 中的溶液快速滴加到 112e (7.0g, 18.57mmol) 在 DMF (276ml) 中的溶液中。在油浴 (170°C) 中回流下加热反应混合物 5h。蒸发反应混合物, 吸收于饱和  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液并用 EtOAc 萃取三次。经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥经合并的有机相, 过滤并蒸发至干燥, 通过硅胶柱纯化 (用 PE:EA = 10:1 至 5:1 洗脱) 得到无色晶体状的 112e (3.0g, 45%) MS :  $[\text{M}+\text{H}]^+ : 413$

[0430] 实施例 112f 3-(苯基磺酰基)-7-氧杂-3,9-二氮杂-二环 [3.3.1] 壬烷 112f

[0431]

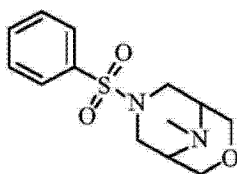


112f

[0432] 往 112e (3.0g, 8.37mmol) 在 EtOH (100ml) 中的溶液中加入 Pd/C (0.5g) 在 MeOH (30ml) 中的溶液。在大气氢气和 50°C 氢化反应混合物过夜。然后滤出催化剂, 用乙醇洗涤, 并蒸发溶剂得到无色固体状的 112f (2.0g, 90%) MS :  $[\text{M}+\text{H}]^+ : 268$

[0433] 实施例 112g 9-甲基-3-(苯基磺酰基)-7-氧杂-3,9-二氮杂-二环 [3.3.1] 壬烷 112g

[0434]

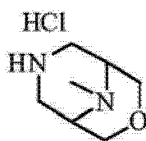


112g

[0435] 室温往 112f (2.0g, 7.5mmol) 在 MeCN (60ml) 中的溶液中加入 HCHO (1.4ml, 16mmol) 和 5 滴 AcOH。然后加入 NaCNBH<sub>3</sub> (1g, 16mmol) 并搅拌混合物 2h。将其倒入水中并用 EA (100\*3) 萃取。经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥有机层, 滤出, 蒸发, 并通过硅胶柱纯化 (用 PE:EA = 5:1 至 1:1 洗脱) 得到无色油状的 112g (1.5g, 72%) MS: [M+H]<sup>+</sup>: 283

[0436] 实施例 112h 9-甲基-7-氧杂-3,9-二氮杂-二环 [3.3.1] 壬烷盐酸盐 112h

[0437]

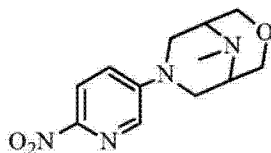


112h

[0438] 往 112g (1.5g, 5.3mmol) 在甲苯 (15ml) 和 THF (15ml) 的混合物中的溶液中加入 LiAlH<sub>4</sub> (0.42g, 10.8mmol)。110℃ 加热反应混合物过夜。然后将其倒入 HCl (2mol/l) 中。分配有机层, 蒸发水层至干燥并溶于甲醇。过滤所得悬浮液并蒸发滤液得到无色油状的 112h (800mg, 43%)。MS: [M+H]<sup>+</sup>: 143

[0439] 实施例 112i 9-甲基-3-(6-硝基吡啶-3-基)-7-氧杂-3,9-二氮杂-二环 [3.3.1] 壬烷 112i

[0440]

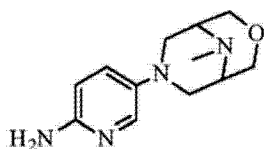


112i

[0441] 往 112h (800mg, 5.6mmol) 和 5-溴-2-硝基吡啶 (1.37g, 6.86mmol) 在 DMSO (50ml) 中的溶液中加入 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5g) 和 t-BuNH<sub>4</sub>I (催化剂)。120℃ 搅拌反应混合物过夜。然后冷却至室温, 并用 EtOAc (300ml) 萃取。用水 (3x100ml) 和盐水 (150ml) 洗涤有机层, 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并浓缩得到粗产物, 通过硅胶柱纯化 (用 DCM:MeOH = 100:1 至 50:1 洗脱) 得到黄色固体状的 112i (850mg, 72%) MS: [M+H]<sup>+</sup>: 265

[0442] 实施例 112j 5-(9-甲基-7-氧杂-3,9-二氮杂-二环 [3.3.1] 壬-3-基) 吡啶-2-胺 112j

[0443]

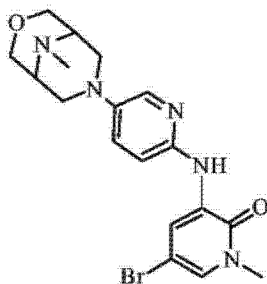


112j

[0444] 室温往 112i (800mg, 3.0mmol) 在 THF (80ml) 中的溶液中加入 Pd/C (50mg) 在 MeOH (20ml) 中的溶液。在大气氢气压下氢化反应混合物并在室温搅拌过夜。过滤混合物并蒸发滤液得到无色油状的 112j (680mg, 90%)。MS : [M+H]<sup>+</sup> : 235

[0445] 实施例 112k 5-溴-1-甲基-3-(5-(9-甲基-7-氧杂-3,9-二氮杂-二环[3.3.1]壬-3-基)吡啶-2-基氨基)吡啶-2(1H)-酮 112k

[0446]

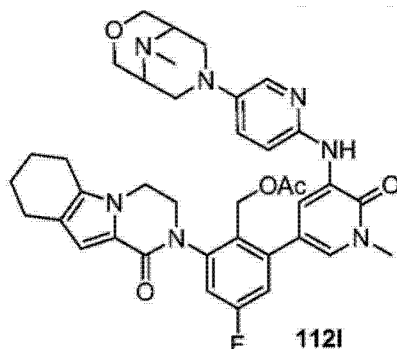


112k

[0447] 往 112j (500mg, 2.1mmol) 和 3,5-二溴-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 (852mg, 3.2mmol) 在二噁烷 (100ml) 中的溶液中加入 Xantphos (58mg, 0.1mmol)、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.1g, 6.4mmol) 和 Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (110mg, 0.1mmol)。105℃ 搅拌反应混合物过夜。冷却混合物至 RT, 过滤, 浓缩, 并通过硅胶柱纯化粗产物 (用 MeOH:DCM = 0 至 1:5 洗脱) 得到 112k (500mg, 46.4%)。MS : [M+H]<sup>+</sup> : 421

[0448] 实施例 112l 乙酸 4-氟-2-(1-甲基-5-(5-(9-甲基-7-氧杂-3,9-二氮杂-二环[3.3.1]壬-3-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-2(1H)-基)苯酯 112l

[0449]



112l

[0450] 110℃ 加热 112l (500mg, 1.2mmol)、乙酸 4-氟-2-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-2(1H)-基)-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苯酯 (636mg, 1.32mmol)、PdCl<sub>2</sub>(dppf) (95mg, 0.12mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (500mg, 2.4mmol) 和 NaOAc (195mg, 2.4mmol) 在 MeCN (8mL) 和 H<sub>2</sub>O (0.8mL) 中的混合物 3h。真空蒸发溶剂。



通过硅胶柱纯化残留物（用 DCM:MeOH = 50:1 洗脱）得到 1121 (340mg, 收率 41%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>:696

[0451] 实施例 112 2-(5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(9-甲基-7-氧杂-3,9-二氮杂-二环[3.3.1]壬-3-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-1(2H)-酮 112

[0452] 30 °C 搅拌 1121 (340mg, 0.489mmol) 和 LiOH 水合物 (445mg, 24.45mmol) 在 i-PrOH (4mL)、THF (4mL) 和 H<sub>2</sub>O (4mL) 中的混合物 1h。真空蒸发混合物, 并通过制备型 HPLC 纯化残留物得到浅黄色固体状的 112 (105mg, 32.85%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>654。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.46 (d, J = 2.5Hz, 1H), 7.87 (d, J = 3.0Hz, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.42 (d, J = 2.0Hz, 1H), 7.23-7.14 (m, 2H), 6.94 (d, J = 2.5Hz, 1H), 6.84 (m, 2H), 4.52 (d, J = 11.5Hz, 1H), 4.31 (m, 2H), 4.12 (m, 5H), 3.89 (m, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.43 (m, 4H), 2.84 (s, 2H), 5.62-2.54 (m, 7H), 1.88 (m, 2H), 1.78 (m, 2H)

[0453] 实施例 113a (3S)-3-甲基-4-(6-硝基吡啶-3-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯 113a

[0454] 实施例 104 中描述的方法并以 (3S)-3-甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 (10.0g, 50mmol) 和 5-溴-2-硝基吡啶 (10.5g, 50mmol) 起始, 得到黄色固体状的 113a (8.05g, 50%)。参见图 13。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup>323

[0455] 实施例 113b (3S)-4-(6-氨基吡啶-3-基)-3-甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 113b

[0456] 实施例 104 中描述的方法并以 113a (5.8g, 18mmol) 起始, 得到棕色固体状的 113b (4.9g, 93%)。参见图 13。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup>293

[0457] 实施例 113c (3S)-4-(6-(5-溴-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基氨基)吡啶-3-基)-3-甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 113c

[0458] 实施例 104 中描述的方法并以 113b (4.0g, 13.7mmol) 和 3,5-二溴-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 (5.5g, 20.6mmol) 起始, 得到黄色固体状的 113c (5.4g, 83%)。参见图 13。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup>478

[0459] 实施例 113d (3S)-5-溴-1-甲基-3-(5-(2-甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)吡啶-2(1H)-酮 113d

[0460] 实施例 104 中描述的方法并以 113c (3.1g, 6.5mmol) 起始, 得到黄色固体状的 113d (2.3g, 94%)。参见图 13。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup>378。

[0461] 实施例 113e (S)-5-溴-1-甲基-3-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)吡啶-2(1H)-酮 113e

[0462] 50 °C 搅拌 113d (40.0g, 106mmol)、氧杂环丁烷-3-酮 (11.4g, 159mmol)、NaBH<sub>3</sub>CN (10.0g, 159mmol) 和氯化锌 (21.3g, 159mmol) 在甲醇 (700mL) 中的混合物 5 小时。将该混合物加入到水 (100mL) 中并减压浓缩。用二氯甲烷 (3X200mL) 萃取残留物。减压浓缩经合并的有机层并通过硅胶柱色谱纯化残留物（用 40:1 二氯甲烷 / 甲醇洗脱）得到 113e (35g, 73%)。参见图 13。MS : [M+H]<sup>+</sup>434。

[0463] 实施例 113f (3S)-1-甲基-3-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)-吡啶-2-基氨基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2(1H)-酮 113f

[0464] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 113e (1.0g,

1.0 当量, 2.3mmol)、 $\text{Pin}_2\text{B}_2$ (1.46g, 2.50 当量, 5.75mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (105mg, 0.05 当量, 0.125mmol)、X-Phos(93mg, 0.1 当量, 0.23mmol)、乙酸钾(676mg, 3.0 当量, 6.9mmol)和二噁烷(50mL)。真空/氩气冲洗三个循环后, 90°C 加热该混合物 4h。然后冷却至室温并过滤。减压浓缩滤液并用 3:1 石油醚/乙酸乙酯(80mL)洗涤所得残留物得到黄色固体状的 113f(1.0g, 90%)。参见图 13。MS:  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 482。

[0465] 实施例 113g 4-[5-(乙氧基羰基)-1H-吡咯-3-基]-4-氧代丁酸 113g

[0466] 往 3000-mL4 颈圆底烧瓶中加入氧杂环戊烷-2,5-二酮(100g, 999.27mmol, 2.00 当量)在 1,2-二氯乙烷(690mL)中的溶液和  $\text{AlCl}_3$ (400.5g, 3.00mmol, 6.00 当量),接着在室温和搅拌下经 20 分钟滴加 1H-吡咯-2-羧酸乙酯(69g, 495.86mmol, 1.00 当量)在 1,2-二氯乙烷(660mL)中的溶液(图 14)。室温搅拌所得溶液 3h 并通过加入 3kg 的水/冰淬灭。通过过滤收集固体,用 1x1000mL 水洗涤并在真空烘箱中干燥得到白色固体状的 105g(89%)的 113g。

[0467] 实施例 113h 4-[5-(乙氧基羰基)-1H-吡咯-3-基]丁酸 113h

[0468] 往 2000-mL4 颈圆底烧瓶中加入 113g(105g, 438.92mmol, 1.00 当量)在  $\text{CF}_3\text{COOH}$ (1000mL)中的溶液,接着在室温和搅拌下经 30 分钟滴加三乙基甲硅烷(204g, 1.75mmol, 4.00 当量)(图 14)。室温搅拌所得溶液 8h,真空浓缩并用 500mL 水和 500mL 乙酸乙酯稀释。用饱和碳酸氢钠水溶液调节溶液的 pH 值至 7。用 3x500mL 乙酸乙酯萃取所得溶液。经无水硫酸钠干燥经合并的有机层并真空浓缩得到浅棕色固体状的 30g(30%)的 113h。

[0469] 实施例 113i 7-氧代-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯-2-羧酸乙酯 113i

[0470] 往 1000-mL 圆底烧瓶中加入 113h(30g, 133.19mmol, 1.00 当量)在  $\text{CF}_3\text{COOH}$ (500mL)和 2,2,2-三氟乙酸三氟乙酰基酯(42g, 199.97mmol, 1.50 当量)中的溶液。参见图 14。室温搅拌所得溶液 60 分钟,真空浓缩,用 500mL 水和 500mL EA 稀释,并用 3x500mL 乙酸乙酯萃取。用 1x500mL 饱和碳酸钾水溶液和 1x500mL 盐水洗涤经合并的有机层,经无水硫酸钠干燥并真空浓缩得到浅棕色固体状的 24g(87%)的 113i。

[0471] 实施例 113j 6,6-二氟-7-氧代-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯-2-羧酸乙酯 113j

[0472] 往用氮气惰性气氛吹扫和保持的 2000-mL4 颈圆底烧瓶中加入 113i(24g, 115.82mmol, 1.00 当量)在四氢呋喃(200mL)中的溶液,接着经 30 分钟在搅拌和 -78°C 滴加 LiHMDS(406mL, 3.50 当量)(图 14)。经 30 分钟在搅拌和 -78°C 往其中滴加 N-(苯磺酰基)-S-苯基氟烷磺酰胺(109.5g, 347.24mmol, 3.00 当量)在四氢呋喃(500mL)中的溶液。室温搅拌所得溶液过夜,通过加入 200mL 饱和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  水溶液淬灭并用 3x200mL 乙酸乙酯萃取。经无水硫酸钠干燥经合并的有机层并真空浓缩。通过硅胶柱纯化残留物(用石油醚/乙酸乙酯(30:1)洗脱)得到黄色固体状的 9.5g(34%)的 113j。

[0473] 实施例 113k 6,6-二氟-7-羟基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯-2-羧酸乙酯 113k

[0474] 往 250-mL3 颈圆底烧瓶中加入 113j(18g, 74.01mmol, 1.00 当量)在乙醇(100mL)中的溶液,接着在 0°C 分若干批加入  $\text{NaBH}_4$ (2.8g, 74.02mmol, 1.00 当量)(图 14)。5°C 搅拌所得溶液 10 分钟,通过加入 50mL 饱和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  水溶液淬灭,真空浓缩并用 3x50mL 乙酸乙酯萃取。用 1x100mL 水和 1x100mL 盐水洗涤经合并的有机层,经无水硫酸钠干燥并真空浓缩得到白色固体状的 18g(99%)的 113k。

[0475] 实施例 113l 6,6-二氟-4,5,6,7-四氢-1H-吡啶-2-羧酸乙酯 113l

[0476] 往 500-mL 3 颈圆底烧瓶中加入 113k (18g, 73.40mmol, 1.00 当量) 在二氯甲烷 (200mL) 和  $\text{CF}_3\text{COOH}$  (41.9g, 367.48mmol, 5.00 当量) 中的溶液, 接着在搅拌和 0°C 经 20 分钟滴加三乙基甲硅烷 (25.6g, 220.16mmol, 3.00 当量) (图 14)。室温搅拌所得溶液 4h, 用饱和碳酸氢钠水溶液调节 pH 至 7 并用 1x200mL 二氯甲烷萃取。用 1x100mL 水和 1x100mL 盐水洗涤经合并的有机层, 经无水硫酸钠干燥并真空浓缩。通过快速制备型 HPLC 纯化粗产物得到白色固体状的 10g (59%) 的 113l。

[0477] 实施例 113m 1-(氰基甲基)-6,6-二氟-4,5,6,7-四氢-1H-吡啶-2-羧酸乙酯 113m

[0478] 往 250-mL 3 颈圆底烧瓶中加入 113l (5.0g, 21.81mmol, 1.00 当量) 在 N,N-二甲基甲酰胺 (50mL) 中的溶液, 接着在 0°C 经 10 分钟分若干批加入氢化钠 (1.3g, 54.17mmol, 1.40 当量, 60%) (图 14)。搅拌和 20°C 经 10 分钟往其中滴加 2-溴乙腈 (3.7g, 30.85mmol, 1.40 当量)。室温搅拌所得溶液 7h, 用 100mL 水稀释并用 3x50mL 乙酸乙酯萃取。用 1x100mL 水和 1x100mL 盐水洗涤经合并的有机层, 经无水硫酸钠干燥并真空浓缩。通过硅胶柱纯化残留物 (用乙酸乙酯 / 石油醚 (1:20) 洗脱) 得到淡黄色油状的 3.3g (56%) 的 113m。

[0479] 实施例 113n 1-(2-氨基乙基)-6,6-二氟-4,5,6,7-四氢-1H-吡啶-2-羧酸乙酯 113n

[0480] 往 100-mL 圆底烧瓶中加入 113m (3.3g, 12.30mmol, 1.00 当量) 在乙醇 (30mL) 中溶液和  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (3.2g, 13.45mmol, 1.10 当量), 接着在 0°C 分若干批加入  $\text{NaBH}_4$  (1.4g, 37.01mmol, 3.00 当量) (图 14)。室温搅拌所得溶液 24h。滤出固体并真空浓缩滤液。用 30mL 乙酸乙酯稀释所得溶液并用 1x30mL 盐酸 (2N) 洗涤。用饱和碳酸氢钠水溶液调节溶液至 pH = 9 并用 2x30mL 乙酸乙酯萃取。经无水硫酸钠干燥经合并的有机层并真空浓缩得到浅黄色油状的 0.7g (21%) 的 113n。

[0481] 实施例 113o 7,7-二氟-1H,2H,3H,4H,6H,7H,8H,9H-吡嗪并 [1,2-a] 吡啶-1-酮 113o

[0482] 往 250-mL 圆底烧瓶中加入 113n (10g, 36.73mmol, 1.00 当量) 在甲苯 (100mL) 中的溶液和乙酸 (1.1g, 18.32mmol, 0.50 当量)。参见图 14。加热所得溶液至回流 2h, 冷却并真空浓缩。在 100mL 干燥乙醚中研磨残留物。通过从乙醇中重结晶纯化粗产物得到白色固体状的 4.43g (53%) 的 113o。MS-ESI:  $[\text{M}+\text{H}]^+ 227$ 。 $^1\text{H}$  NMR (300MHz, DMSO)  $\delta$  2.10-2.24 (2H, m), 2.59-2.64 (2H, m), 3.17-3.27 (2H, m), 3.43-3.48 (2H, m), 3.88-3.92 (2H, m), 6.44 (1H, s), 7.56 (1H, s)。

[0483] 实施例 113p 乙酸 2-溴-6-(7,7-二氟-1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并 [1,2-a] 吡啶-2(1H)-基)-4-氟苄酯 113p

[0484] 往配有回流冷凝器的 100-mL 圆底烧瓶中装入 1,4-二噁烷 (40mL)、113o (890mg, 3.94mmol)、乙酸 2,6-二溴-4-氟苄酯 101c (3847mg, 11.8mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (180mg, 0.197mmol)、XantPhos (227mg, 0.394mmol) 和碳酸铯 (2.57g, 7.88mmol)。真空 / 氩气冲洗三个循环后, 100°C 加热该混合物 16h。然后过滤并减压蒸发滤液。通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用 3:1 石油醚 / 乙酸乙酯洗脱) 得到白色固体状的 113p (1100mg, 62%)。MS-ESI:  $[\text{M}+\text{H}]^+ 471.1$ 。

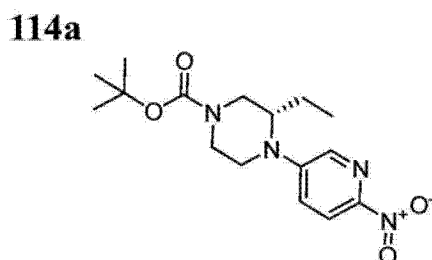
[0485] **实施例 113q** (S)-乙酸 2-(7,7-二氟-1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吲哚-2(1H)-基)-4-氟-6-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)苄酯 113q

[0486] 往密封管中装入 113p(47mg, 0.10mmol)、113f(47mg, 0.10mmol)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>(4mg, 0.005mmol)、乙酸钠(16mg, 0.2mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(43mg, 0.2mmol)、乙腈(2mL)和水(0.2mL)。真空/氩气冲洗三个循环后, 100℃加热该混合物 1h。然后过滤并减压蒸发滤液。通过硅胶柱色谱纯化残留物(用 25:1 二氯甲烷/甲醇洗脱)得到棕色固体状的 113q(37mg, 50%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>746.3

[0487] **实施例 113** (S)-7,7-二氟-2-(5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吲哚-1(2H)-酮 113

[0488] 30℃搅拌 113q(37mg, 0.05mmol)和氢氧化锂(12mg, 0.5mmol)在异丙醇/THF(1:1, 4mL)和水(1mL)中的混合物 1h。减压蒸发该混合物。将水(10mL)加入到残留物中并用乙酸乙酯(2X10mL)萃取所得混合物。减压浓缩经合并的有机层并通过反相制备型 HPLC 纯化残留物得到白色固体状的 113(20mg, 57%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>704.3。<sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.57-8.54(m, 1H), 7.95(d, J = 3.0Hz, 1H), 7.82(d, J = 3.5Hz, 1H), 7.45-7.41(m, 1H), 7.32(d, J = 8.5Hz, 1H), 7.19-7.16(m, 1H), 6.99-6.95(m, 1H), 6.88(d, J = 6.5Hz, 1H), 6.82(d, J = 8.5Hz, 1H), 5.97(d, J = 11.5Hz, 1H), 4.71-4.64(m, 4H), 4.54(d, J = 12.0Hz, 1H), 4.35-4.18(m, 5H), 3.99-3.95(m, 1H), 3.71(s, 3H), 3.53(t, J = 6.0Hz, 1H), 3.47-3.45(m, 1H), 3.17(t, J = 12.0Hz, 1H), 3.08(t, J = 5.0Hz, 2H), 2.90(t, J = 8.5Hz, 1H), 2.79(t, J = 6.0Hz, 1H), 2.66-2.63(m, 1H), 2.56(d, J = 11.0Hz, 1H), 2.49-2.47(m, 2H), 2.30-2.20(m, 2H), 0.99(d, J = 6.0Hz, 3H)。

[0489] **实施例 114a** (S)-3-乙基-4-(6-硝基吡啶-3-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯  
[0490]



[0491] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入 1,4-二噁烷(50mL)、5-溴-2-硝基吡啶(2.02g, 10mmol)、(S)-3-乙基哌嗪-1-羧酸叔丁酯(2.14g, 10.0mmol)、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(458mg, 0.50mmol)、XantPhos(576mg, 1.0mmol)和碳酸铯(6.52g, 20mmol)。真空/氩气冲洗三个循环后, 100℃加热该混合物过夜。此后冷却反应混合物至室温。然后过滤并减压蒸发滤液。通过硅胶柱色谱纯化残留物(用 3:1 石油醚/乙酸乙酯洗脱)得到黄色固体状的 114a(700mg, 22%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>336

[0492] **实施例 114b** (S)-4-(6-氨基吡啶-3-基)-3-乙基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 114b

[0493] 用氮气吹扫 100-mL 单颈圆底烧瓶并装入 114a(0.7g, 2.08mmol)、10%钯/炭(50%湿, 208mg)和甲醇(40mL)。将混合物抽真空, 充入氢气, 并在室温搅拌 6h。然后抽空氢

气并向烧瓶中充入氮气。通过硅藻土垫过滤除去催化剂并减压浓缩滤液得到 114b (568mg, 89%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>306

[0494] **实施例 114c** (S)-4-(6-(5-溴-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基氨基)吡啶-3-基)-3-乙基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 114c

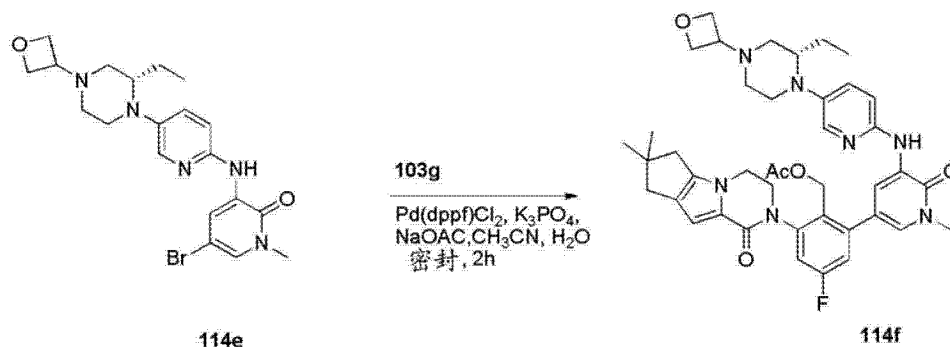
[0495] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 1,4-二噁烷 (50mL)、114b (568mg, 1.86mmol)、3,5-二溴-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 (498mg, 1.86mmol)、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (85mg, 0.093mmol)、XantPhos (107mg, 0.186mmol) 和碳酸铯 (1.198g, 3.72mmol)。真空/氩气冲洗三个循环后, 100°C 加热该混合物 6h。然后过滤并减压蒸发滤液。通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用 100:1 二氯甲烷/甲醇洗脱) 得到黄色固体状的 114c (502mg, 55%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>492。

[0496] **实施例 114d** (S)-5-溴-3-(5-(2-乙基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 114d

[0497] 室温搅拌 114c (502mg, 1.02mmol)、二氯甲烷 (2mL) 和 4.0M HCl/二噁烷 (4mL) 的混合物 5h。然后减压浓缩得到黄色固体状的粗 114d (263mg, 66%)，其未经纯化用于下一步。MS : [M+H]<sup>+</sup>392。

[0498] **实施例 114e** (S)-5-溴-3-(5-(2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 114e

[0499]



[0500] 50 °C 搅拌 114d (263mg, 0.67mmol)、氧杂环丁烷-3-酮 (96mg, 1.34mmol)、NaBH<sub>3</sub>CN (104mg, 1.68mmol) 和氯化锌 (227mg, 1.68mmol) 在甲醇 (10mL) 中的混合物 5 小时。然后将水 (10mL) 加入到反应混合物中。减压浓缩所得混合物。用二氯甲烷萃取残留物三次。减压浓缩经合并的有机层并通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用 50:1 二氯甲烷/甲醇洗脱) 得到 114e (203mg, 68%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>448。

[0501] **实施例 114f** (S)-3-(5-(2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2(1H)-酮 114f

[0502] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 114e (3219mg, 7.20mmol)、Pin<sub>2</sub>B<sub>2</sub> (9072mg, 36.0mmol)、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (329mg, 0.36mmol)、X-phos (302mg, 0.72mmol)、乙酸钾 (2117mg, 21.6mmol) 和二噁烷 (50mL)。真空/氩气冲洗三个循环后, 60°C 加热该混合物 16h。然后冷却至室温并过滤。减压浓缩滤液并用 8:1 石油醚/乙酸乙酯 (80mL) 洗涤所得残留物得到黄色固体状的 114f (3.0g, 84%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>496.4。

[0503] **实施例 114g** 乙酸 (2-[4,4-二甲基-9-氧代-1,10-二氮杂三环 [6.4.0.0<sup>2,6</sup>]

十二-2(6),7-二烯-10-基}-6-[5-({5-[(2S)-2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]吡啶-2-基}氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基]-4-氟苯基)甲酯 114g

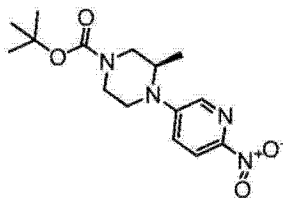
[0504] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 25-mL 单颈圆底烧瓶中装入 114f(180mg, 0.40mmol)、乙酸(2-{4,4-二甲基-9-氧代-1,10-二氮杂三环[6.4.0.0<sup>2,6</sup>]十二-2(6),7-二烯-10-基}-4-氟-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苯基)甲酯 103g(198mg, 0.40mmol)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>(29mg, 0.04mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(170mg, 0.8mmol)、乙酸钠(66mg, 0.8mmol)、乙腈(5mL)和水(1.0mL)。真空/氩气冲洗三个循环后,回流下加热该混合物 2h。然后冷却至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过硅胶柱色谱纯化所得残留物(用 30:1 二氯甲烷/甲醇洗脱)得到黄色固体状的 114g(115mg, 39%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>738.4

[0505] 实施例 114 2-(3-{5-[5-((S)-2-乙基-4-氧杂环丁烷-3-基-哌嗪-1-基)-吡啶-2-基氨基]-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢-吡啶-3-基}-5-氟-2-羟基甲基-苯基)-7,7-二甲基-3,4,7,8-四氢-2H,6H-环戊二烯并[4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪-1-酮 114

[0506] 30 °C 搅拌 114g(115mg, 0.16mmol) 和氢氧化锂(38mg, 1.6mmol) 在异丙醇/THF(1:1, 4mL) 和水(1mL) 中的混合物 1h。减压蒸发该混合物并用乙酸乙酯(2X10mL) 萃取残留物。减压浓缩经合并的乙酸乙酯萃取物并通过反相制备型 HPLC 纯化残留物得到白色固体状的 114(45mg, 40%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>696.4。<sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.55-8.54(m, 1H), 7.91(s, 1H), 7.80(d, J = 1.5Hz, 1H), 7.47(s, 1H), 7.26(d, J = 3.0Hz, 1H), 7.17(d, J = 9.0Hz, 1H), 6.95(dd, J = 2.5, 8.5Hz, 1H), 6.83-6.81(m, 2H), 4.71(t, J = 6.5Hz, 2H), 4.67(t, J = 6.0Hz, 1H), 4.62(t, J = 6.0Hz, 1H), 4.57-4.55(m, 1H), 4.41-4.38(m, 1H), 4.32-4.30(m, 1H), 4.24-4.14(m, 3H), 3.92-3.87(m, 1H), 3.71(s, 3H), 3.56-3.50(m, 1H), 3.33-3.29(m, 1H), 3.13-3.11(m, 2H), 2.58-2.56(m, 3H), 2.52(s, 2H), 2.44-2.43(m, 2H), 2.38-2.32(m, 1H), 1.66-1.64(m, 1H), 1.42-1.37(m, 1H), 1.28(s, 6H), 0.82(t, J = 7.0Hz, 3H)。

[0507] 实施例 115a (R)-3-甲基-4-(6-硝基吡啶-3-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯 115a

[0508]



[0509] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入 1,4-二噁烷(60mL)、5-溴-2-硝基吡啶(2.0g, 10.0mmol)、(R)-3-甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯(2.0g, 10.0mmol)和碳酸铯(6.5g, 20mmol)。将氮气鼓泡通过所得混合物 10 分钟后,加入三(二亚苄基丙酮)二钯(0)(915mg, 1.0mmol)和 XantPhos(579mg, 1.0mmol)。系统经真空/氩气冲洗三个循环并在 100 °C 加热 15h。此后冷却反应混合物至室温并过滤。在乙酸乙酯(100mL)和水(100mL)之间分配滤液。分离水层并用乙酸乙酯(3X50mL)萃取。用盐水(100mL)洗涤经合并的有机层并经硫酸钠干燥。通过过滤除去干燥剂并减压浓缩滤液。通过硅胶柱

色谱纯化残留物（用 30:1 二氯甲烷 / 甲醇洗脱）得到黄色固体状的 115a (1.6g, 44%)。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup>323。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.21 (d, J = 3.5Hz, 1H), 8.18 (d, J = 9.0Hz, 1H), 7.45-7.43 (m, 1H), 4.34-4.33 (m, 1H), 3.92-3.99 (m, 1H), 3.80 (d, J = 12.5Hz, 2H), 3.06-3.23 (m, 3H), 1.43 (s, 9H), 1.09 (d, J = 6.5Hz, 3H)。

[0510] 实施例 115b (R)-4-(6-氨基吡啶-3-基)-3-甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 115b

[0511] 用氮气吹扫 250-mL 烧瓶并装入 115a (1.5g, 4.6mmol)、10% 钯 / 炭 (50% 湿, 200mg) 和甲醇 (70mL)。抽真空, 充入氢气, 并在室温搅拌 10h。然后抽空氢气并向烧瓶中充入氮气。通过硅藻土垫过滤除去催化剂并减压浓缩滤液得到棕色固体状的 115b (1.1g, 81%)。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup>293

[0512] 实施例 115c (R)-4-(6-(5-溴-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基氨基)吡啶-3-基)-3-甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 115c

[0513] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 1,4-二噁烷 (40mL)、115b (1.0g, 3.4mmol)、3,5-二溴-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 (2.7g, 10.2mmol) 和碳酸铯 (2.2g, 6.8mmol)。将氮气鼓泡通过所得混合物 10 分钟后, 加入 XantPhos (198mg, 0.34mmol) 和三(二亚苄基丙酮)二钯(0) (313mg, 0.34mmol)。反应混合物经真空 / 氩气冲洗三个循环并在 100°C 加热 5h。此后冷却反应混合物至室温并过滤。在乙酸乙酯 (50mL) 和水 (50mL) 之间分配滤液。分离水层并用乙酸乙酯 (3X30mL) 萃取。用盐水 (50mL) 洗涤经合并的有机层并经硫酸钠干燥。通过过滤除去干燥剂并减压浓缩滤液。通过硅胶柱色谱纯化残留物（用 30:1 二氯甲烷 / 甲醇洗脱）得到黄色固体状的 115c (1.1g, 63%)。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup>478。

[0514] 实施例 115d (R)-5-溴-1-甲基-3-(5-(2-甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)吡啶-2(1H)-酮 115d

[0515] 往 115c (600mg, 1.26mmol) 在甲醇 (20mL) 中的混合物中加入 HCl / 二噁烷 (4M, 4mL)。室温搅拌反应混合物 4h。然后减压浓缩。用 1M NaOH 水溶液碱化残留物并用二氯甲烷 (3X30mL) 萃取。用盐水洗涤经合并的有机层并减压浓缩得到黄色固体状的 115d (450mg, 95%)。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup>378。

[0516] 实施例 115e (R)-5-溴-3-(5-(2,4-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 115e

[0517] 室温搅拌 115d (500mg, 1.3mmol) 和 30% 甲醛 (650mg, 6.5mmol) 在甲醇 / 乙酸 (30mL/3mL) 中的混合物 5 分钟, 接着加入 NaBH<sub>3</sub>CN (120mg, 1.9mmol)。室温搅拌该混合物 4h。加入水 (20mL) 并减压浓缩所得混合物。用二氯甲烷 (3X30mL) 萃取残留物。减压浓缩经合并的有机层并通过硅胶柱色谱纯化残留物（用 30:1 二氯甲烷 / 甲醇洗脱）得到黄色固体状的 115e (473mg, 92%)。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup>392。

[0518] 实施例 115f (R)-5-溴-1-甲基-3-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)吡啶-2(1H)-酮 115f

[0519] 50 °C 搅拌 115e (40.0g, 106mmol)、氧杂环丁烷-3-酮 (11.4g, 159mmol)、NaBH<sub>3</sub>CN (10.0g, 159mmol) 和氯化锌 (21.3g, 159mmol) 在甲醇 (700mL) 中的混合物 5 小时。将水 (50mL) 加入到混合物中并减压浓缩。用二氯甲烷 (3X200mL) 萃取残留物并减压浓缩经合并的有机层。通过硅胶柱色谱纯化残留物（用 40:1 二氯甲烷 / 甲醇洗脱）得到 115f (35g,

73%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>434。

[0520] 实施例 115g 2,2,2-三氯-1-(4,5,6,7-四氢-1H-吡啶-2-基)乙酮 115g

[0521] 用氮气吹扫配有磁力搅拌器、冷凝器和氮气入口的 100-mL 单颈圆底烧瓶并装入 4,5,6,7-四氢-1H-吡啶 (3.00g, 24.8mmol)、三氯乙酰氯 (13.5g, 74.4mmol) 和 1,2-二氯乙烷 (50mL)。85°C 搅拌溶液 2h。然后,减压浓缩反应混合物得到黑色半固体状的 100% 收率 (6.50g) 的 115g: <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.94 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 2.62 (t, 2H, J = 6.0Hz), 2.47 (t, 2H, J = 6.0Hz), 1.80 (m, 2H), 1.65 (m, 2H); MS (ESI+) m/z 266.0 (M+H)

[0522] 实施例 115h 4,5,6,7-四氢-1H-吡啶-2-羧酸乙酯 115h

[0523] 用氮气吹扫配有磁力搅拌器和氮气入口的 100-mL 单颈圆底烧瓶并装入 115g (6.50g, 24.8mmol)、乙醇钠 (17.0mg, 0.25mmol) 和乙醇 (40mL)。室温搅拌溶液 1h。然后,减压浓缩反应混合物。通过柱色谱纯化残留物得到棕色固体状的 100% 收率 (4.80g) 的 115h: mp 70 - 72 °C; <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.08 (s, 1H), 6.75 (s, 1H), 4.25 (q, 2H, J = 7.2Hz), 2.65 (t, 2H, J = 6.0Hz), 2.56 (t, 2H, J = 6.0Hz), 1.85 (m, 4H), 1.28 (t, 3H, J = 7.2Hz); MS (ESI+) m/z 194.1 (M+H)

[0524] 实施例 115i 1-(氰基甲基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡啶-2-羧酸乙酯 115i

[0525] 用氮气吹扫配有磁力搅拌器和氮气入口的 125-mL 单颈圆底烧瓶并装入 115h (5.76g, 29.8mmol) 和 DMF (50mL)。用冰浴冷却溶液至 0°C。加入 NaH (矿物油中的 60% 分散液, 1.43g, 35.8mmol)。室温搅拌所得混合物 1h。然后,加入溴乙腈 (1.43g, 35.8mmol)。室温搅拌该混合物 14h。然后,减压浓缩反应混合物并在乙酸乙酯 (150mL) 和水 (450mL) 之间分配残留物。分离有机层,并用乙酸乙酯 (3×150mL) 萃取水层。用盐水洗涤经合并的有机层,经硫酸钠干燥并减压浓缩。通过柱色谱纯化残留物得到黄色半固体状的 55% 收率 (3.80g) 的 115i: <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.66 (s, 1H), 5.29 (s, 2H), 4.28 (q, 2H, J = 7.2Hz), 2.62 (t, 2H, J = 6.3Hz), 2.49 (t, 2H, J = 6.3Hz), 1.92 (m, 2H), 1.75 (m, 2H), 1.33 (t, 3H, J = 7.2Hz); MS (ESI+) m/z 233.1 (M+H)

[0526] 实施例 115j 1-(2-氨基乙基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡啶-2-羧酸乙酯 115j

[0527] 用氮气吹扫 200-mL Parr 反应器瓶并装入 10% 钯/炭 (50% 湿, 1.28g 干重)、115i (3.00g, 12.9mmol)、12% 盐酸 (6.5mL, 25mmol)、乙酸乙酯 (60mL) 和乙醇 (40mL)。将瓶连接至 Parr 氢化器,抽真空,充入氢气至 50psi 的压力并振摇 6h。此后,抽空氢气,并向瓶中充入氮气。加入硅藻土 521 (4.0g),并通过硅藻土 521 垫过滤混合物。用乙醇 (2×20mL) 洗涤滤饼,并减压浓缩经合并的滤液至干燥。在乙酸乙酯 (150mL) 和 10% 碳酸钾水溶液 (100mL) 之间分配残留物。分离有机层,并用乙酸乙酯 (3×75mL) 萃取水层。经硫酸钠干燥经合并的有机层并减压浓缩。用乙醇 (5mL) 研磨残留物得到白色固体状的 71% 收率 (1.71g) 的 115j: mp 102 - 104 °C; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 6.61 (s, 1H), 6.22 (br, 2H), 4.15 (m, 4H), 2.77 (m, 2H), 2.59 (t, 2H, J = 6.5Hz), 2.42 (t, 2H, J = 6.5Hz), 1.70 (m, 2H), 1.62 (m, 2H), 1.23 (t, 3H, J = 7.0Hz); MS (APCI+) m/z 237.2 (M+H)

[0528] 实施例 115k 3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并 [1,2-a] 吡啶-1(2H)-酮 115k

[0529] 用氮气吹扫配有磁力搅拌器和氮气入口的 100-mL 单颈圆底烧瓶并装入 1-(2-氨基乙基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡啶-2-羧酸乙酯 115j (1.80g, 7.63mmol)、乙醇钠 (1.55g, 22.8mmol) 和乙醇 (50mL)。55°C 搅拌该混合物 5h。然后,减压浓缩反应混合物并在乙酸乙



酯 (200mL) 和水 (100mL) 之间分配残留物。分离有机层,并用乙酸乙酯 (2×100mL) 萃取水层。用盐水洗涤经合并的有机层,经硫酸钠干燥并减压浓缩。通过柱色谱纯化残留物得到白色固体状的 42% 收率 (605mg) 的 115k :mp207 - 209°C ;<sup>1</sup>H NMR(500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.41 (s, 1H), 6.36 (s, 1H), 3.84 (t, 2H, J = 6.0Hz), 3.42 (m, 2H), 2.51 (t, 2H, J = 6.0Hz), 2.42 (t, 2H, J = 6.0Hz), 1.76 (m, 2H), 1.65 (m, 2H) ; (APCI+) m/z 191.3 (M+H)

[0530] 实施例 115l 乙酸 2-溴-4-氟-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吲哚-2(1H)-基)苄酯 115l

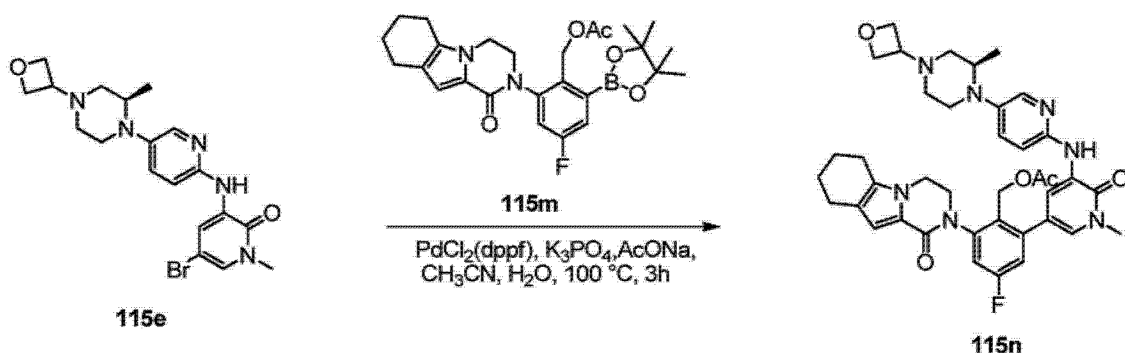
[0531] 往配有磁力搅拌器的 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入 115k (3.8g, 20mmol)、乙酸 2,6-二溴-4-氟苄酯 101c (20.0g, 61mmol)、XantPhos (1.16g, 2.0mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(0) (1.83g, 2.0mmol)、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (16.3g, 50mmol) 和 1,4-二噁烷 (120mL)。抽空该系统并接着用 N<sub>2</sub> 再充满。将回流冷凝器连接至烧瓶并在 100°C 加热反应混合物 16h。冷却该混合物至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过硅胶柱色谱纯化所得残留物(用 5:1 石油醚/乙酸乙酯洗脱)得到白色固体状的 115l (5.2g, 60%)。MS : [M+H]<sup>+</sup> 435。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.71-7.69 (m, 1H), 7.49-7.47 (m, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.01 (m, 2H), 4.18 (m, 2H), 4.02 (m, 1H), 3.73 (m, 1H), 2.60 (m, 2H), 2.45 (m, 2H), 1.98 (s, 3H), 1.77 (m, 2H), 1.68 (m, 2H)。

[0532] 实施例 115m 乙酸 4-氟-2-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吲哚-2(1H)-基)-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苄酯 115m

[0533] 往配有磁力搅拌器的 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入 115l (3.8g, 8.8mmol)、(PinB)<sub>2</sub> (10.9g, 43mmol)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (0.37g, 0.50mmol)、乙酸钾 (2.55g, 26mmol) 和 1,4-二噁烷 (150mL)。抽空该系统并接着用 N<sub>2</sub> 再充满。将回流冷凝器连接至烧瓶并在 100°C 加热反应混合物 15h。冷却混合物至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过硅胶柱色谱纯化所得残留物(用 5:1 石油醚/乙酸乙酯洗脱)得到黄色固体状的 115m (3.2g, 75%)。MS : [M+H]<sup>+</sup> 483。

[0534] 实施例 115n (R)-乙酸 4-氟-2-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吲哚-2(1H)-基)苄酯 115n

[0535]



[0536] 按照实施例 102 中的方法并以 115e (220mg, 0.50mmol, 1.0 当量)、115m (482mg, 1.0mmol, 2.0 当量) 起始,得到黄色固体状的 115n (195mg, 55%)。MS : [M+H]<sup>+</sup> 710.4

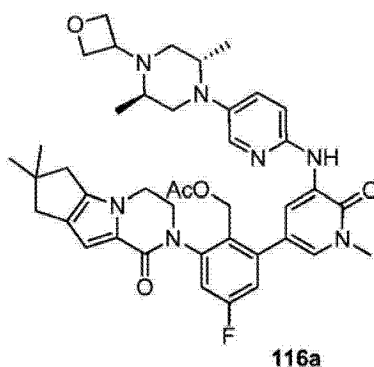
[0537] 实施例 115 (R)-2-(5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)苄

基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-1(2H)-酮 115

[0538] 按照实施例 102 中的方法并以 115n(190mg,0.27mmol) 起始,得到白色固体状的 115(47mg,26%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>668.4。<sup>1</sup>H NMR(500MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.58(s,1H),8.42(s,1H),7.84(d,J = 3.0Hz,1H),7.36-7.32(m,3H),7.25-7.18(m,2H),6.52(s,1H),4.88(s,1H),4.56-4.42(m,4H),4.31-4.30(m,2H),4.18-4.13(m,3H),3.89-3.88(m,1H),3.68-3.67(m,1H),3.58(s,3H),3.39-3.38(m,1H),3.08-3.07(m,1H),2.94-2.93(m,1H),2.51-2.45(m,5H),2.33-2.32(m,2H),2.19-2.18(m,1H),1.79-1.69(m,4H),0.93-0.92(m,3H)。

[0539] 实施例 116a 乙酸 {2-[5-({5-[(2S,5R)-2,5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]吡啶-2-基}氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基]-6-[4,4-二甲基-9-氧代-1,10-二氮杂三环[6.4.0.0<sup>2,6</sup>]十二-2(6),7-二烯-10-基]-4-氟苯基}甲酯 116a

[0540]



[0541] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 25-mL 单颈圆底烧瓶中装入 5-溴-3-(5-((2S,5R)-2,5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 104e(134mg,0.30mmol)、1-甲基-3-(5-(4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2(1H)-酮 103g(298mg,0.6mmol)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>(22mg,0.03mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(127mg,0.6mmol)、乙酸钠(49mg,0.6mmol)、乙腈(5mL)和水(1.0mL)。真空/氩气冲洗三个循环后,回流下加热该混合物 2h。然后冷却至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过硅胶柱色谱纯化所得残留物(用 30:1 二氯甲烷/甲醇洗脱)得到黄色固体状的 116a(150mg,68%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>738.3

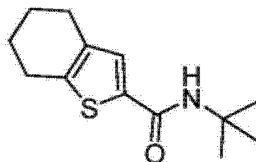
[0542] 实施例 116 2-(3-{5-[5-((2S,5R)-2,5-二甲基-4-氧杂环丁烷-3-基-哌嗪-1-基)-吡啶-2-基氨基]-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢-吡啶-3-基}-5-氟-2-羟基甲基-苯基)-7,7-二甲基-3,4,7,8-四氢-2H,6H-环戊二烯并[4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪-1-酮 116

[0543] 30 °C 搅拌 116a(150mg,0.20mmol) 和氢氧化锂(48mg,2.0mmol) 在异丙醇/THF(1:1,4mL) 和水(1mL) 中的混合物 1h。减压蒸发该混合物。用乙酸乙酯(2X10mL) 萃取所得残留物。减压浓缩经合并的有机层并通过反相制备型 HPLC 纯化残留物得到白色固体状的 116(57mg,41%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>696.3。<sup>1</sup>H NMR(500MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ 8.60(dd,J = 2.0,6.5Hz,1H),8.02(d,J = 2.5Hz,1H),7.88(s,1H),7.50-7.49(m,1H),7.37(d,J = 8.5Hz,1H),7.16(d,J = 9.0Hz,1H),6.96(dd,J = 2.5,9.0Hz,1H),6.83-6.81(m,2H),

4.77-4.74 (m, 2H), 4.66-4.62 (m, 2H), 4.57-4.55 (m, 1H), 4.33-4.31 (m, 1H), 4.23-4.14 (m, 3H), 3.92-3.89 (m, 1H), 3.78-3.76 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.22-3.20 (m, 1H), 2.93-2.91 (m, 1H), 2.75-2.73 (m, 2H), 2.58 (s, 2H), 2.52 (s, 3H), 1.97-1.90 (m, 2H), 1.28 (s, 6H), 0.91 (d, J = 5.5Hz, 6H)。

[0544] 实施例 117a N-叔丁基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-2-甲酰胺 117a

[0545]



[0546] 将 4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-2-羧酸 (500g, 2.75mol, 1.0 当量) 和亚硫酸酐 (655g, 5.5mol, 2.0 当量) 的混合物在回流下煮沸 3h。通过减压蒸馏除去过量亚硫酸酐。残留物吸收于二氯甲烷 (1.0L) 并在保持混合物的温度低于 10°C 的情况下在搅拌下加入叔丁基胺 (402g, 5.5mol, 2.0 当量) 在二氯甲烷 (500mL) 中的溶液。25°C 搅拌所得溶液 16h。减压除去大部分溶剂。将残留物在冰浴中冷却并在搅拌下缓慢加入 2M KOH 溶液以调节 pH 至 11。过滤悬浮液并收集固体,用水洗涤三次,并真空干燥得到白色固体状的 117a (580g, 80%, 经两步)。MS: [M+H]<sup>+</sup>238。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.02 (s, 1H), 5.77 (s, 1H), 2.65 (t, J = 6.0Hz, 1H), 2.47 (t, J = 6.0Hz, 1H), 1.74-1.70 (m, 4H), 1.35 (s, 9H)。

[0547] 实施例 117b N-叔丁基-3-(二氮烯基甲基)-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-2-甲酰胺 117b

[0548] -78°C 和氩气下往 117a (100g, 0.42mol, 1.0 当量) 在 THF (500mL) 中的溶液中缓慢加入 n-BuLi (672mL, THF 中 2.5M, 1.68mol, 4.0 当量)。搅拌该混合物 2h。在保持温度为 -78°C 的情况下将 DMF (306g, 4.2mol, 10.0 当量) 加入到混合物中。再过 2.0h 后, -78°C 用甲醇 (500mL) 淬灭反应混合物。室温搅拌 0.50h。加入 80% 水合肼水溶液 (131g, 2.1mol) 并将混合物在 65°C 回流过夜。减压除去有机溶剂。过滤残留物并用水洗涤经收集的黄色固体。真空干燥固体得到粗 117b, 其未经纯化用于下一步。MS: [M+H]<sup>+</sup>280。

[0549] 实施例 117c 8-硫杂-4,5-二氮杂三环 [7.4.0.0<sup>2,7</sup>] 十三-(9), 2(7), 3-三烯-6-酮 117c

[0550] 105°C 将 117b (40g, 144mmol) 在 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (30% 水溶液, 3L) 中的混合物回流 24h。然后过滤并通过二氯甲烷 (3 x 1L) 萃取滤液。经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥经合并的萃取物并减压蒸发。通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用 100:1 二氯甲烷 / 甲醇洗脱) 得到白色固体状的 117c (9.0g, 31%)。MS: [M+H]<sup>+</sup>207。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.15 (s, 1H), 2.96-2.94 (m, 2H), 2.86-2.84 (m, 2H), 1.96-1.94 (m, 4H)。

[0551] 实施例 117d 乙酸 (2-溴-4-氟-6-{6-氧代-8-硫杂-4,5-二氮杂三环 [7.4.0.0<sup>2,7</sup>] 十三-(9), 2(7), 3-三烯-5-基} 苯基) 甲酯 117d

[0552] 往配有磁力搅拌器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 117c (1.0g, 4.85mmol)、乙酸 2,6-二溴-4-氟苄酯 101c (4.8g, 14.6mmol)、碘化亚铜 (I) (553mg, 2.9mmol)、N<sup>1</sup>, N<sup>2</sup>-二甲基乙烷-1,2-二胺 (512mg, 5.82mmol)、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3.2g, 9.7mmol) 和 1,4-二噁烷 (50mL)。抽空该系统并接着用 N<sub>2</sub> 再充满。将回流冷凝器连接至烧瓶,并在 100°C 加热反应混合物 16h。

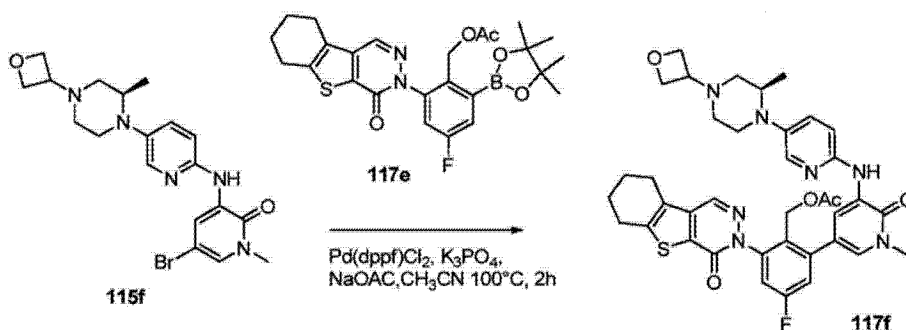
然后冷却至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过硅胶柱色谱纯化所得残留物（用 5:1 石油醚 / 乙酸乙酯洗脱）得到黄色固体状的 117d(437mg, 20%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>451。

[0553] **实施例 117e** 乙酸 (4-氟-2-{6-氧代-8-硫杂-4,5-二氮杂三环 [7.4.0.0<sup>2,7</sup>] 十三-1(9),2(7),3-三烯-5-基}-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苯基)甲酯 117e

[0554] 按照实施例 104 中的方法并以 117d(400mg, 0.88mmol) 起始, 得到黄色固体状的 117e(353mg, 80%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>499

[0555] **实施例 117f** 乙酸 {4-氟-2-[1-甲基-5-({5-[(2R)-2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]吡啶-2-基}氨基)-6-氧代吡啶-3-基]-6-{6-氧代-8-硫杂-4,5-二氮杂三环 [7.4.0.0<sup>2,7</sup>] 十三-1(9),2(7),3-三烯-5-基}苯基}甲酯 117f

[0556]



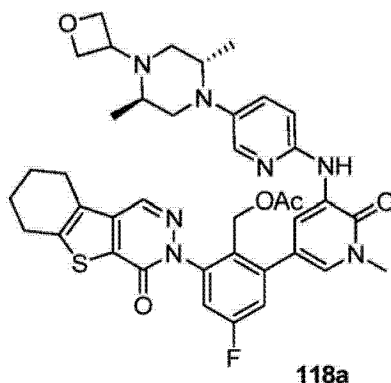
[0557] 按照实施例 102 中的方法并以 (R)-5-溴-1-甲基-3-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)吡啶-2(1H)-酮 115f(217mg, 0.50mmol) 和 117e(249mg, 0.50mmol) 起始, 得到黄色固体状的 117f(174mg, 48%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>726。

[0558] **实施例 117** 3-(5-氟-2-羟基甲基-3-{1-甲基-5-[5-((R)-2-甲基-4-氧杂环丁烷-3-基-哌嗪-1-基)-吡啶-2-基氨基]-6-氧代-1,6-二氢-吡啶-3-基}-苯基)-6,7,8,9-四氢-3H-苯并 [4,5] 噻吩并 [2,3-d] 哒嗪-4-酮 117

[0559] 按照实施例 102 中的方法并以 117f(72mg, 0.10mmol) 起始, 得到黄色固体状的 117(35mg, 51%)。LCMS : [M+H]<sup>+</sup>684。<sup>1</sup>H NMR(500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.56(d, J = 2.0Hz, 1H), 8.48(s, 1H), 8.43(s, 1H), 7.85(d, J = 2.5Hz, 1H), 7.37-7.32(m, 4H), 7.24(d, J = 9.0Hz, 1H), 4.60(t, J = 5.5Hz, 1H), 4.57-4.53(m, 2H), 4.47-4.41(m, 2H), 4.28-4.27(d, J = 4.0Hz, 2H), 3.68-3.66(m, 1H), 3.58(s, 3H), 3.40-3.38(m, 1H), 3.10-3.07(m, 1H), 2.93-2.91(m, 3H), 2.84-2.82(m, 2H), 2.54-2.52(m, 1H), 2.32-2.30(m, 2H), 2.19-2.18(m, 1H), 1.89-1.84(m, 4H), 0.93(t, J = 6.5Hz, 2H)。

[0560] **实施例 118a** 乙酸 {2-[5-({5-[(2S,5R)-2,5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]吡啶-2-基}氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基]-4-氟-6-{6-氧代-8-硫杂-4,5-二氮杂三环 [7.4.0.0<sup>2,7</sup>] 十三-1(9),2(7),3-三烯-5-基}苯基}甲酯 118a

[0561]



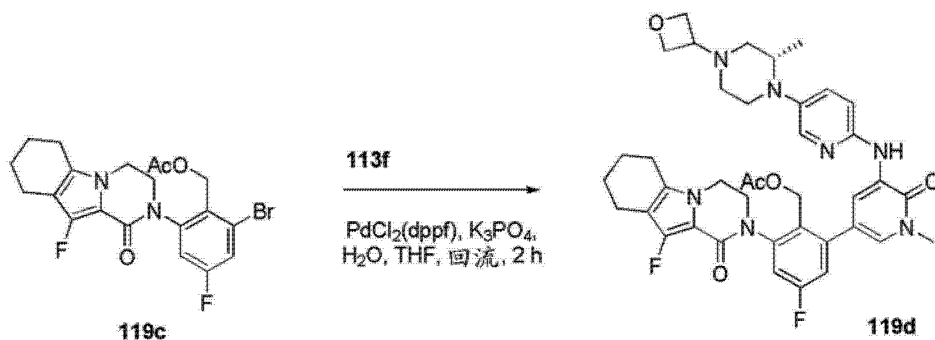
[0562] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 25-mL 单颈圆底烧瓶中装入 5-溴-3-(5-((2S,5R)-2,5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 104e (179mg, 0.40mmol)、乙酸(4-氟-2-{6-氧代-8-硫杂-4,5-二氮杂三环[7.4.0.0<sup>2,7</sup>]十三-1(9),2(7),3-三烯-5-基}-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苯基)甲酯 117d (200mg, 0.40mmol)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (29mg, 0.04mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (170mg, 0.8mmol)、乙酸钠 (66mg, 0.8mmol)、乙腈 (5mL)、水 (1.0mL)。真空/氩气冲洗三个循环后,回流下加热该混合物 2h。然后冷却至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过硅胶柱色谱纯化所得残留物(用 30:1 二氯甲烷/甲醇洗脱)得到黄色固体状的 118a (100mg, 34%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>740.3

[0563] **实施例 118** 3-(3-{5-[5-((2S,5R)-2,5-二甲基-4-氧杂环丁烷-3-基-哌嗪-1-基)-吡啶-2-基氨基]-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢-吡啶-3-基}-5-氟-2-羟基甲基-苯基)-6,7,8,9-四氢-3H-苯并[4,5]噻吩并[2,3-d]哒嗪-4-酮 118

[0564] 30℃ 搅拌 118a (100mg, 0.135mmol) 和氢氧化锂 (33mg, 1.35mmol) 在异丙醇/THF (1:1, 4mL) 和水 (1mL) 中的混合物 1h。减压蒸发该混合物。用乙酸乙酯 (2X10mL) 萃取所得残留物。减压浓缩经合并的有机层并通过反相制备型 HPLC 纯化残留物得到白色固体状的 118 (36mg, 38%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>698.3。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.64 (d, J = 2.0Hz, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.05 (d, J = 2.0Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.48 (d, J = 2.5Hz, 1H), 7.37 (d, J = 5.5Hz, 1H), 7.30 (dd, J = 2.5, 9.0Hz, 1H), 7.11 (dd, J = 2.5, 8.5Hz, 1H), 6.82 (d, J = 9.0Hz, 1H), 4.79-4.73 (m, 2H), 4.67-4.61 (m, 2H), 4.31 (s, 2H), 3.77 (t, J = 7.0Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.21-3.19 (m, 1H), 2.99-2.98 (m, 2H), 2.94-2.91 (m, 1H), 2.88-2.86 (m, 2H), 2.78-2.71 (m, 2H), 2.51-2.49 (m, 1H), 1.99-1.96 (m, 6H), 0.92-0.90 (m, 6H)。

[0565] **实施例 119a** 乙酸 2-溴-4-氟-6-(10-氟-1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吲哚-2(1H)-基)苯酯 119a

[0566]



[0567] 实施例 119a 10-溴-1H, 2H, 3H, 4H, 6H, 7H, 8H, 9H-吡嗪并[1, 2-a]吡啶-1-酮 119a

[0568] 往 250-mL 三颈圆底烧瓶中加入 1H, 2H, 3H, 4H, 6H, 7H, 8H, 9H-吡嗪并[1, 2-a]吡啶-1-酮 104j (9.5g, 49.94mmol, 1.00 当量) 在 N,N-二甲基甲酰胺 (100mL) 中的溶液, 接着在 0°C 分若干批加入 N-溴代琥珀酰亚胺 (9.8g, 55.06mmol, 1.10 当量)。室温搅拌所得溶液 2h 并用 500mL 水稀释。过滤析出物并在真空烘箱中干燥得到浅棕色固体状的 9.5g (71%) 的 119a。

[0569] 实施例 119b 10-氟-1H, 2H, 3H, 4H, 6H, 7H, 8H, 9H-吡嗪并[1, 2-a]吡啶-1-酮 119b

[0570] 往用氮气惰性气氛吹扫和保持的 2-L 三颈圆底烧瓶中加入 119a (40g, 148.62mmol, 1.00 当量) 在四氢呋喃 (200mL) 中的溶液, 接着在 -78°C 和搅拌下滴加 n-BuLi (2.4M) (218mL, 3.50 当量)。-40°C 搅拌所得溶液 3h。-78°C 和搅拌下往其中滴加 N-氟苯磺酰亚胺 (98.7g, 313.33mmol, 2.10 当量) 在四氢呋喃 (200mL) 中的溶液。室温搅拌所得溶液 3h, 通过加入 200mL 水淬灭并用 3x500mL 乙酸乙酯萃取。经无水硫酸钠干燥经合并的有机层并真空浓缩。通过制备型 HPLC 纯化粗产物 (30g), 采用以下条件 (流动相, A: 0.05% 三氟乙酸 / 水; B: CH<sub>3</sub>CN; 梯度: 10% B-25% B) 得到白色固体状的 5.05g (16%) 的 119b。MS: [M+H]<sup>+</sup>209。<sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.16 (br, 1H), 3.90-3.86 (m, 2H), 3.65-3.62 (m, 2H), 2.53-2.47 (m, 4H), 1.88-1.80 (m, 2H), 1.77-1.72 (m, 2H)。

[0571] 实施例 119c 乙酸 2-溴-4-氟-6-(10-氟-1-氧代-3, 4, 6, 7, 8, 9-六氢吡嗪并[1, 2-a]吡啶-2(1H)-基) 苄酯 119c

[0572] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 1, 4-二噁烷 (60mL)、乙酸 2, 6-二溴-4-氟苄酯 101c (2.34g, 7.2mmol)、119b (500mg, 2.4mmol) 和碳酸铯 (1.6g, 4.8mmol)。将氮气鼓泡通过所得混合物 30 分钟后, 加入 Xantphos (140mg, 0.24mmol) 和三(二亚苄基丙酮)二钯(0) (220mg, 0.24mmol) 并在 100°C 加热反应混合物 12h。此后冷却反应混合物至室温并过滤。在乙酸乙酯 (40mL) 和水 (40mL) 之间分配滤液。分离水层并用乙酸乙酯 (3x70mL) 萃取。用盐水 (30mL) 洗涤经合并的有机层并经硫酸钠干燥。通过过滤除去干燥剂并减压浓缩滤液。通过硅胶柱纯化残留物 (用 3:1 石油醚 / 乙酸乙酯洗脱) 得到黄色固体状的 119c (632mg, 58%)。MS: [M+H]<sup>+</sup>453.2

[0573] 实施例 119d (S)-乙酸 4-氟-2-(10-氟-1-氧代-3, 4, 6, 7, 8, 9-六氢吡嗪并[1, 2-a]吡啶-2(1H)-基)-6-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1, 6-二氢吡啶-3-基) 苄酯 119d

[0574] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 50-mL 单颈圆底烧瓶中装入 119c (150mg, 1.0 当量, 0.33mmol)、(S)-1-甲基-3-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-5-(4, 4, 5, 5-四甲基-1, 3, 2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基) 吡啶-2(1H)-酮

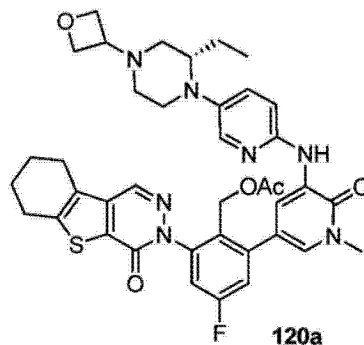
113f(160mg, 1.0 当量, 0.33mmol)、 $K_3PO_4$ (210mg, 3.0 当量, 0.99mmol)、 $PdCl_2(dppf)$ (27.0mg, 0.10 当量, 0.033mmol)、THF(20mL) 和水 (0.1mL)。真空 / 氩气冲洗三个循环后, 回流下加热该混合物 2h。然后冷却至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过硅胶柱色谱纯化所得残留物 (用 40:1 二氯甲烷 / 甲醇洗脱) 得到黄色固体状的 119d(90mg, 37%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>728.3。

[0575] **实施例 119** (S)-10-氟-2-(5-氟-2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并[1,2-a]吡啶-1(2H)-酮 119

[0576] 往配有磁力搅拌器的 50-mL 单颈圆底烧瓶中装入 119d(90mg, 1.0 当量, 0.12mmol)、氢氧化锂 (9.0mg, 3.0 当量, 0.37mmol)、异丙醇 (3mL)、THF (3mL) 和水 (2mL)。室温搅拌该混合物 1h。然后过滤并浓缩。通过反相制备型 HPLC 纯化残留物得到 119(42mg, 49%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>686.3。<sup>1</sup>H NMR(500MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.54(dd, J = 2.0Hz, 9.0, 1H), 7.94-7.93(m, 1H), 7.81(d, J = 4.0Hz, 1H), 7.45-7.44(m, 1H), 7.31(dd, J = 3.0, 9.0Hz, 1H), 7.15-7.14(m, 1H), 6.94(dd, J = 2.0, 9.0Hz, 1H), 6.81(d, J = 8.5Hz, 1H), 4.71-4.61(m, 4H), 4.53(d, J = 9.5Hz, 1H), 4.32-4.31(m, 2H), 4.15-4.08(m, 3H), 3.89-3.86(m, 1H), 3.69(s, 3H), 3.55-3.43(m, 2H), 3.07(m, 2H), 2.57-2.46(m, 7H), 2.20-2.16(m, 1H), 1.88-1.76(m, 4H), 0.98-0.96(m, 3H)。

[0577] **实施例 120a** 乙酸 {2-[5-({5-[(2S)-2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]吡啶-2-基}氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基]-4-氟-6-{6-氧代-8-硫杂-4,5-二氮杂三环[7.4.0.0<sup>2,7</sup>]十三-1(9),2(7),3-三烯-5-基}苯基}甲酯 120a

[0578]



[0579] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 25-mL 单颈圆底烧瓶中装入 (S)-5-溴-3-(5-(2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 114e(179mg, 0.40mmol)、乙酸 (4-氟-2-{6-氧代-8-硫杂-4,5-二氮杂三环[7.4.0.0<sup>2,7</sup>]十三-1(9),2(7),3-三烯-5-基}-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苯基)甲酯 117e(200mg, 0.40mmol)、 $Pd(dppf)Cl_2$ (29mg, 0.04mmol)、 $K_3PO_4$ (170mg, 0.8mmol)、乙酸钠 (66mg, 0.8mmol)、乙腈 (5mL) 和水 (1.0mL)。真空 / 氩气冲洗三个循环后, 回流下加热该混合物 2h。然后冷却至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过硅胶柱色谱纯化所得残留物 (用 30:1 二氯甲烷 / 甲醇洗脱) 得到黄色固体状的 120a(120mg, 41%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>740.3

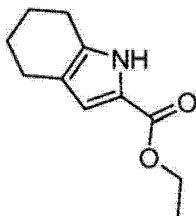
[0580] **实施例 120** 3-(3-{5-[5-((S)-2-乙基-4-氧杂环丁烷-3-基-哌嗪-1-基)-吡啶-2-基氨基]-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢-吡啶-3-基}-5-氟-2-羟基甲基-苯

基)-6, 7, 8, 9-四氢-3H-苯并[4, 5]噻吩并[2, 3-d]吡嗪-4-酮 120

[0581] 30 °C 搅拌 120a (120mg, 0.16mmol) 和氢氧化锂 (38mg, 1.6mmol) 在异丙醇 / THF (1:1, 4mL) 和水 (1mL) 中的混合物 1h。减压蒸发该混合物。用乙酸乙酯 (2X10mL) 萃取所得残留物。减压浓缩经合并的有机层并通过反相制备型 HPLC 纯化残留物得到白色固体状的 120 (73mg, 65%)。MS: [M+H]<sup>+</sup> 698.3。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.58 (d, J = 1.5Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.94 (d, J = 2.5Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.45 (d, J = 2.5Hz, 1H), 7.30 (d, J = 9.0Hz, 1H), 7.27 (d, J = 9.0Hz, 1H), 7.11 (dd, J = 2.5, 8.0Hz, 1H), 6.82 (d, J = 9.0Hz, 1H), 4.72-4.62 (m, 4H), 4.31 (s, 2H), 4.01 (bs, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.53 (t, J = 6.0Hz, 1H), 3.34-3.32 (m, 1H), 3.13 (t, J = 6.0Hz, 2H), 2.99 (t, J = 5.0Hz, 2H), 2.87 (t, J = 5.0Hz, 2H), 2.60-2.56 (m, 1H), 2.46-2.44 (m, 2H), 2.36-2.34 (m, 1H), 2.01-1.96 (m, 4H), 1.71-1.68 (m, 1H), 1.44-1.36 (m, 1H), 0.83 (t, J = 7.5Hz, 3H)。

[0582] 实施例 121a 4, 5, 6, 7-四氢-1H-吡啶-2-羧酸乙酯 121a

[0583]



[0584] 往 3-(2-氯环己-1-烯基)丙烯酸乙酯 (21.4g, 100mmol) 在 DMSO (100mL) 中的混合物中加入叠氮化钠 (9.75g, 150mmol)。105 °C 加热反应混合物 4h。冷却至室温后, 将混合物倒入冰水中。通过过滤收集所得析出物得到 121a (18.0g, 93.3%)。MS-ESI: [M+H]<sup>+</sup> 194。

[0585] 实施例 121b 1-(2, 2-二乙氧基乙基)-4, 5, 6, 7-四氢-1H-吡啶-2-羧酸乙酯 121b

[0586] 0 °C 往 NaH (1.44g, 60.2mmol) 在 N, N-二甲基甲酰胺 (DMF) (30mL) 中的悬浮液中缓慢加入 121a (5.80g, 30.1mmol)。室温搅拌所得混合物 0.5h, 接着加入 2-溴-1, 1-二乙氧基乙烷 (11.9g, 60.2mmol)。70 °C 加热反应混合物 30h 并用水 (100mL) 淬灭。然后用乙酸乙酯 (3x100mL) 萃取混合物。减压浓缩经合并的有机相并用硅胶柱色谱纯化残留物 (用 40:1 石油醚 / 乙酸乙酯洗脱) 得到 121b (4.7g, 51%)。MS-ESI: [M-乙醇+H]<sup>+</sup> 264。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 6.65 (s, 1H), 4.59 (t, J = 5.0Hz, 1H), 4.17-4.16 (m, 4H), 3.59-3.57 (m, 2H), 3.27-3.26 (m, 2H), 2.61 (t, J = 6.0Hz, 2H), 2.51 (t, J = 6.0Hz, 2H), 1.73-1.71 (m, 2H), 1.63-1.61 (m, 2H), 1.25 (t, J = 7.0Hz, 3H), 1.02 (t, J = 7.0Hz, 6H)。

[0587] 实施例 121c 1-(2, 2-二乙氧基乙基)-4, 5, 6, 7-四氢-1H-吡啶-2-羧酸 121c

[0588] 往 121b (4.7g, 15.2mmol) 在乙醇 (20mL)、四氢呋喃 (20mL) 和水 (30mL) 的混合溶剂中的混合物中加入氢氧化钠 (3.0g, 75.0mmol)。75 °C 加热反应混合物 2 天并减压浓缩。将残留物悬浮于水中并用稀柠檬酸水溶液中和。用乙酸乙酯 (3X100mL) 萃取混合物并减压浓缩经合并的有机相得到 121c (3.32g, 78%)。MS-ESI: [M-乙醇+H]<sup>+</sup> 236。

[0589] 实施例 121d 1-(2, 2-二乙氧基乙基)-4, 5, 6, 7-四氢-1H-吡啶-2-甲酰胺 121d

[0590] 往 121c (2.8g, 10.0mmol) 在 N, N-二甲基甲酰胺 (30mL) 中的混合物中加入 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N, N', N'-四甲基脒六氟磷酸盐 (HATU) (5.7g, 15.0mmol)、三乙胺 (1.5g, 15.0mmol) 和 DMAP (128mg, 1.0mmol)。室温搅拌反应混合物过



夜。加入饱和氢氧化铵 (30mL) 并再搅拌所得混合物 2h。然后用水 (100mL) 稀释并用乙酸乙酯 (3X100mL) 萃取。减压浓缩经合并的有机相并通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用石油醚 / 乙酸乙酯 (6:1 至 3:1) 洗脱) 得到 121d (2.7g, 96%)。MS-ESI:  $[M - \text{乙醇} + H]^+ 235$ 。 $^1H$  NMR (500MHz, DMSO)  $\delta$  7.35 (bs, 1H), 6.70 (bs, 1H), 6.60 (s, 1H), 4.60 (t,  $J = 5.5\text{Hz}$ , 1H), 4.18 (d,  $J = 4.0\text{Hz}$ , 2H), 3.57-3.56 (m, 2H), 3.25 (m, 2H), 2.57 (t,  $J = 6.0\text{Hz}$ , 2H), 2.40 (t,  $J = 6.0\text{Hz}$ , 2H), 1.71 (t,  $J = 5.0\text{Hz}$ , 2H), 1.64 (t,  $J = 5.0\text{Hz}$ , 2H), 1.01 (t,  $J = 7.0\text{Hz}$ , 6H)。

[0591] **实施例 121e** 6, 7, 8, 9-四氢吡嗪并 [1, 2-a] 咪唑 -1 (2H)-酮 121e

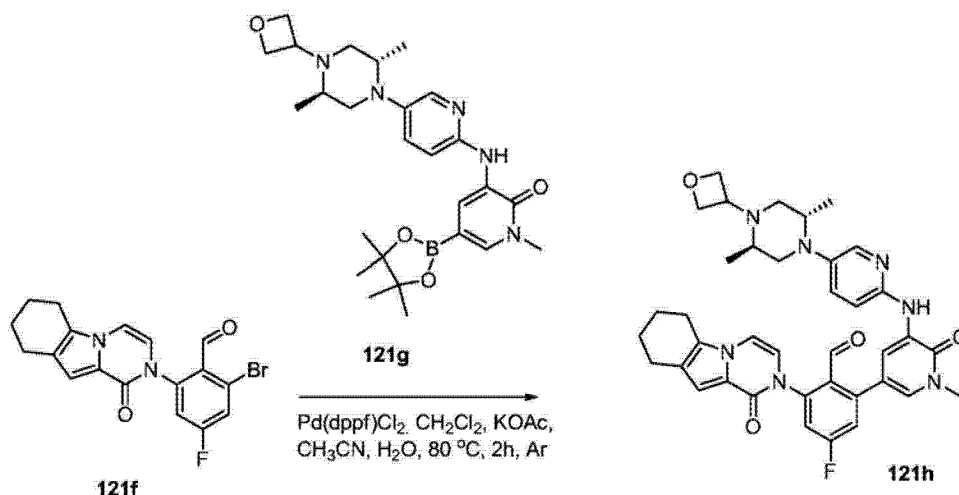
[0592] 110°C 加热 121d (2.7g, 9.6mmol) 和乙酸 (10mL) 的混合物 2h。冷却该混合物至室温, 用碳酸钠水溶液中中和并用乙酸乙酯 (3X30mL) 萃取。减压浓缩经合并的有机相得到黄色固体状的 121e (1.6g, 88%)。MS-ESI:  $[M+H]^+ 189.3$ 。 $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.28 (s, 1H), 7.02 (d,  $J = 5.5\text{Hz}$ , 1H), 6.63 (s, 1H), 6.52 (pt,  $J = 5.5\text{Hz}$ , 1H), 2.66 (t,  $J = 6.0\text{Hz}$ , 2H), 2.57 (t,  $J = 6.0\text{Hz}$ , 2H), 1.83-1.82 (m, 2H), 1.73-1.72 (m, 2H)。

[0593] **实施例 121f** 2-溴-4-氟-6-(1-氧代-6, 7, 8, 9-四氢吡嗪并 [1, 2-a] 咪唑 -2 (1H)-基) 苯甲醛 121f

[0594] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 121e (500mg, 2.66mmol)、2, 6-二溴-4-氟苯甲醛 (1.50g, 5.32mmol) 和乙酸钾 (521mg, 5.32mmol)。将氩气鼓泡通过该悬浮液 30 分钟后, 加入 4, 7-二甲氧基-1, 10-菲咯啉 (638.4mg, 2.66mmol) 和碘化亚铜 (506mg, 2.66mmol)。系统经真空 / 氩气冲洗三个循环, 然后在 100°C 加热 16h。然后冷却至室温并过滤。用二氯甲烷 (2X100mL) 洗涤固体。减压浓缩经合并的滤液并通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用石油醚 / 乙酸乙酯 (10:1 至 3:1) 洗脱) 得到黄色固体状的 121f (510mg, 49%)。MS:  $[M+H]^+ 389$ 。

[0595] **实施例 121g** 3-(5-((2S, 5R)-2, 5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-5-(4, 4, 5, 5-四甲基-1, 3, 2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2 (1H)-酮 121g

[0596]



[0597] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 5-溴-3-(5-((2S, 5R)-2, 5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2 (1H)-酮 104e (3.0g, 6.70mmol)、 $\text{Pin}_2\text{B}_2$  (8442mg, 33.5mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (311mg, 0.34mmol)、X-phos (319mg, 0.67mmol)、乙酸钾 (1970mg, 20.1mmol) 和二

噁烷 (50mL)。真空 / 氩气冲洗三个循环后, 60°C 加热该混合物 16h。然后冷却至室温并过滤。减压浓缩滤液。用 8:1 石油醚 / 乙酸乙酯 (80mL) 洗涤所得残留物得到黄色固体状的 121g (3g, 90%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>496.4。

[0598] **实施例 121h** 2-(5-(5-((2S, 5R)-2, 5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)-吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1, 6-二氢吡啶-3-基)-4-氟-6-(1-氧代-6, 7, 8, 9-四氢吡嗪并[1, 2-a]吡啶-2(1H)-基)苯甲醛 121h

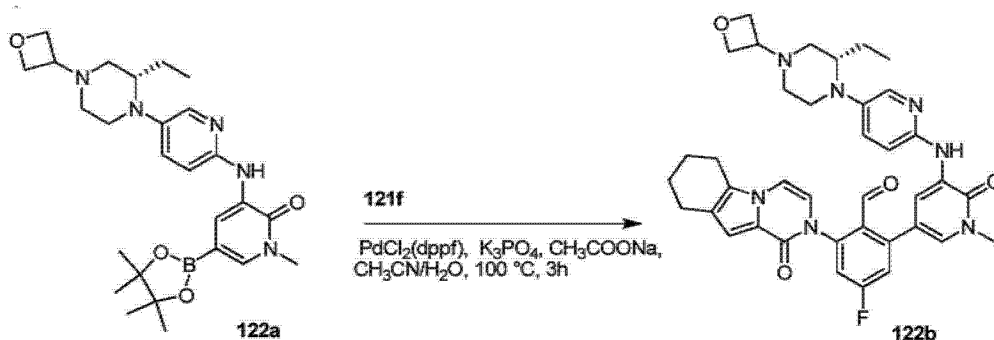
[0599] 往 50-mL 圆底烧瓶中装入 121f (194mg, 0.5mmol)、121g (347.0mg, 0.7mmol)、乙酸钾 (98.0mg, 1.0mmol)、1, 1'-二(二苯基膦基)二茂铁-二氯化钯 (II) (20.4mg, 0.025mmol)、水 (0.5mL) 和乙腈 (20mL)。系统经真空 / 氩气冲洗 3 个循环并在 100°C 和氩气氛下加热 3h。反应混合物的 LCMS 分析显示残留少量起始原料。冷却反应混合物至室温并过滤。用二氯甲烷 (50mL) 和水 (50mL) 稀释滤液。分离水层并用二氯甲烷 (3×20mL) 萃取。经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥经合并的有机层, 过滤, 并减压浓缩。通过硅胶柱色谱纯化深色残留物 (用二氯甲烷 / 甲醇 (80/1 至 30/1) 洗脱) 得到黄色固体状的 121g (182mg, 54%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>678。

[0600] **实施例 121** 2-(3-(5-(5-((2S, 5R)-2, 5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1, 6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-6, 7, 8, 9-四氢吡嗪并[1, 2-a]吡啶-1(2H)-酮 121

[0601] 室温往 121h (150mg, 0.22mmol) 在甲醇 (10mL) 中的溶液中加入 NaBH<sub>4</sub> (41.8mg, 1.1mmol)。搅拌反应混合物 1h 后, LCMS 表明反应完全。将混合物倒入水 (30mL) 中并减压浓缩。用二氯甲烷 (3×30mL) 萃取残留物。用盐水 (30mL) 洗涤经合并的有机层, 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤, 并减压浓缩。通过制备型 HPLC 纯化残留固体得到白色固体状的 121 (60.3mg, 40%)。MS : [M+H]<sup>+</sup>680。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.63 (d, J = 2.0Hz, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.90 (d, J = 3.0Hz, 1H), 7.41 (m, 2H), 7.31-7.23 (m, 4H), 6.78 (d, J = 1.0Hz, 2H), 4.80 (m, 1H), 4.55-4.54 (m, 2H), 4.49-4.48 (m, 2H), 4.28-4.20 (m, 2H), 3.69-3.64 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.29-3.27 (m, 2H), 2.89-2.88 (m, 1H), 2.75-2.67 (m, 4H), 2.61 (m, 2H), 1.93-1.86 (m, 3H), 1.59 (m, 2H), 0.85-0.81 (m, 6H)。

[0602] **实施例 122a** (S)-3-(5-(2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-5-(4, 4, 5, 5-四甲基-1, 3, 2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2(1H)-酮 122a

[0603]



[0604] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 (S)-5-溴-3-(5-(2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲



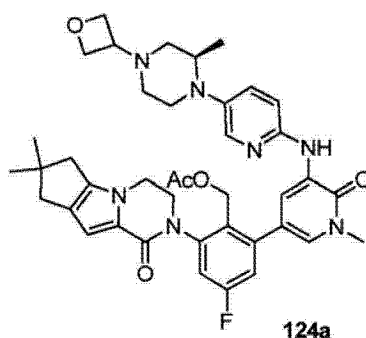
氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2(1H)-酮 122a(158.4mg, 0.32mmol)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>(24.5mg, 0.03mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(114.5mg, 0.54mmol)、乙酸钠三水合物(73.4mg, 0.54mmol)、水(0.5mL)和乙腈(20mL)。抽空该系统并用N<sub>2</sub>再充满。100℃加热反应混合物2h。然后冷却至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过硅胶柱色谱纯化所得残留物(用25:1二氯甲烷/甲醇洗脱)得到黄棕色固体状的123a(105mg, 53%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>724.3。

[0612] **实施例 123** (S)-2-(3-(5-(5-(2-乙基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡啶并[3,4-b]吡嗪-1(2H)-酮 123

[0613] 30℃搅拌123a(105mg, 0.15mmol)和氢氧化锂(36mg, 1.5mmol)在异丙醇/THF(1:1, 4mL)和水(1mL)中的混合物1h。减压蒸发该混合物并用乙酸乙酯(2X10mL)萃取残留物。减压浓缩经合并的乙酸乙酯萃取物并通过反相制备型HPLC纯化残留物得到淡粉红色固体状的123(40mg, 40%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>682.3。<sup>1</sup>H NMR(500M, CHCl<sub>3</sub>) δ 8.55(s, 1H), 7.93(s, 1H), 7.82(s, 1H), 7.51(s, 1H), 7.29(d, J = 3.5Hz, 1H), 7.15-7.12(m, 1H), 6.94(dd, J = 3.5Hz, 10.5, 1H), 6.81(d, J = 10.0Hz, 1H), 6.30(s, 1H), 4.77-4.74(m, 4H), 4.72-4.70(m, 1H), 4.57-4.55(m, 1H), 4.29-4.24(m, 1H), 4.12-4.05(m, 1H), 3.90-3.78(m, 4H), 3.70(s, 3H), 3.52-3.50(m, 1H), 3.32-3.30(m, 1H), 3.12-3.10(m, 2H), 3.04-2.83(m, 2H), 2.81(m, 2H), 2.57-2.50(m, 1H), 2.43-2.33(m, 2H), 2.05-2.00(m, 2H), 1.87-1.85(m, 2H), 1.49-1.35(m, 2H), 0.81(t, J = 8.5Hz, 3H)。

[0614] **实施例 124a** 乙酸(2-{4,4-二甲基-9-氧代-1,10-二氮杂三环[6.4.0.0<sup>2,6</sup>]十二-2(6),7-二烯-10-基}-4-氟-6-[1-甲基-5-({5-[(2R)-2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]吡啶-2-基}氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基]苯基)甲酯 124a

[0615]



[0616] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的圆底烧瓶中装入(R)-5-溴-1-甲基-3-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)吡啶-2(1H)-酮 115f(152mg, 0.35mmol)、乙酸(2-{4,4-二甲基-9-氧代-1,10-二氮杂三环[6.4.0.0<sup>2,6</sup>]十二-2(6),7-二烯-10-基}-4-氟-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苯基)甲酯 103g(206mg, 0.415mmol)、PdCl<sub>2</sub>(dppf)(28mg, 0.04mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(147mg, 0.69mmol)、乙酸钠(57mg, 0.69mmol)、乙腈(20mL)和水(2mL)。真空/氩气冲洗三个循环后,100℃加热该混合物3h。然后过滤并减压蒸发滤液。通过硅胶柱色谱纯化残留物(用1:20甲醇/二氯甲烷洗脱)得到红色固体状的124a(70mg, 28%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>724.2

[0617] **实施例 124** 2-(5-氟-2-羟基甲基-3-{1-甲基-5-[5-((R)-2-甲基-4-氧杂

环丁烷-3-基-哌嗪-1-基)-吡啶-2-基氨基]-6-氧代-1,6-二氢-吡啶-3-基}-苯基)-7,7-二甲基-3,4,7,8-四氢-2H,6H-环戊二烯并[4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪-1-酮 124

[0618] 室温搅拌 124a(59mg, 0.080mmol)、氢氧化锂(19mg, 0.80mmol)、THF(10mL)、异丙醇(8mL)和水(10mL)的混合物 1.5h。然后减压浓缩并用二氯甲烷(2X10mL)萃取残留物。减压浓缩经合并的二氯甲烷萃取物。用反相制备型 HPLC 纯化残留物得到 124(43mg, 79%)。MS:[M+H]<sup>+</sup>682.3。<sup>1</sup>HNMR(500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.58-8.57(m, 1H), 8.41(s, 1H), 7.84(d, J = 3.0Hz, 1H), 7.37-7.31(m, 3H), 7.22(d, J = 9.5Hz, 1H), 7.19-7.16(m, 1H), 6.50(s, 1H), 4.87(d, J = 2.0Hz, 1H), 4.57-4.53(m, 2H), 4.46(t, J = 6.0Hz, 1H), 4.41(t, J = 6.0Hz, 1H), 4.31(d, J = 3.0Hz, 2H), 4.21-4.18(m, 2H), 4.15-4.10(m, 1H), 3.88-3.85(m, 1H), 3.67(d, J = 2.0Hz, 1H), 3.58(s, 3H), 3.41-3.37(m, 2H), 3.10-3.07(m, 1H), 2.95-2.91(m, 1H), 2.56(d, J = 1.5Hz, 2H), 2.41(s, 2H), 2.32-2.28(m, 2H), 2.17-2.15(m, 1H), 1.21(s, 6H), 0.91(d, J = 6.5Hz, 3H)

[0619] 实施例 125a 3,3-二甲基-4-(6-硝基吡啶-3-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯 125a

[0620] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 5-溴-2-硝基吡啶(5.6g, 28.0mmol)、3,3-二甲基-哌嗪-1-羧酸叔丁酯(3.0g, 14.0mmol)、碳酸铯(9.1g, 28mmol)和 1,4-二噁烷(50mL)。将氮气鼓泡通过所得溶液 30 分钟后,加入 Binap(870mg, 1.4mmol)和三(二亚苄基丙酮)二钯(0)(1.2g, 1.4mmol)。反应混合物经真空/氩气冲洗三个循环并在 120°C 搅拌 24h。此后冷却反应混合物至室温,过滤并在乙酸乙酯(200mL)和水(50mL)之间分配滤液。分离水层并用乙酸乙酯(3×50mL)萃取。用盐水(50mL)洗涤经合并的有机层并经硫酸钠干燥。通过过滤除去干燥剂并减压浓缩滤液。通过硅胶柱色谱纯化残留物(用 5:1 石油醚/乙酸乙酯洗脱)得到 125a(1.27g, 27%)。LCMS:[M+H]<sup>+</sup>337.2。

[0621] 实施例 125b 4-(6-氨基吡啶-3-基)-3,3-二甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 125b

[0622] 用氮气吹扫 50-mL 圆底烧瓶并装入 125a(1100mg, 3.2mmol)、10%钯/炭(10%湿, 110mg)和甲醇(20mL)。然后抽真空,充入氢气,并在室温搅拌 5h。抽空氢气并向烧瓶中充入氮气。通过硅藻土垫过滤除去催化剂并减压浓缩滤液得到 125b(950mg, 94%)。LCMS:[M+H]<sup>+</sup>307.3

[0623] 实施例 125c 4-(6-(5-溴-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基氨基)吡啶-3-基)-3,3-二甲基哌嗪-1-羧酸叔丁酯 125c

[0624] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 125b(950mg, 3.1mmol)、3,5-二溴-1-甲基吡啶-2(1H)-酮(1240mg, 4.6mmol)、1,4-二噁烷(30mL)和碳酸铯(2015mg, 6.2mmol)。将氮气鼓泡通过所得溶液 5 分钟后,加入 Xantphos(179mg, 0.31mmol)和三(二亚苄基丙酮)二钯(0)(283mg, 0.31mmol)。反应混合物经真空/氩气冲洗三个循环并在回流下加热 10h。此后冷却反应混合物至室温并过滤。在乙酸乙酯(50mL)和水(10mL)之间分配滤液。分离水层并用乙酸乙酯(3×20mL)萃取。用盐水(30mL)洗涤经合并的有机层并经硫酸钠干燥。通过过滤除去干燥剂并减压浓缩滤液。通过硅胶柱色谱纯化残留物(用 4:1 石油醚/乙酸乙酯洗脱)得到 125c(1.21g, 79%)。LCMS:[M+H]<sup>+</sup>492.1。

[0625] 实施例 125d 5-溴-3-(5-(2,2-二甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 125d

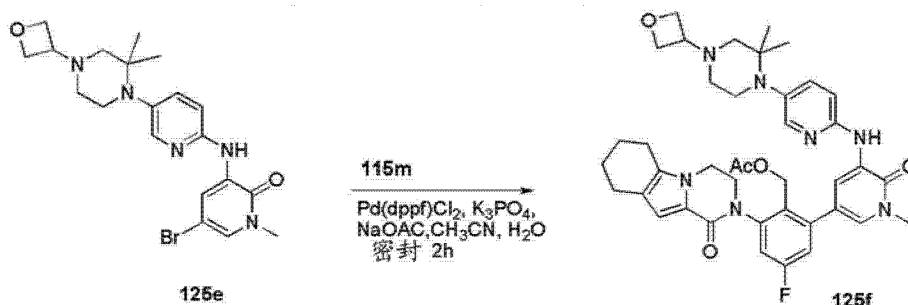
[0626] 往 125c (1.19g, 1.9mmol) 在二氯甲烷 (20mL) 中的溶液中加入乙醚 (15mL) 中的 3M HCl。室温搅拌反应混合物 4h。然后减压浓缩得到 125d (900mg, 95%)。LCMS:  $[M+H]^+$  392.1。

[0627] 实施例 125e 5-溴-3-(5-(2,2-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基吡啶-2(1H)-酮 125e

[0628] 50 °C 搅拌 125d (900mg, 2.3mmol)、氧杂环丁烷-3-酮 (497mg, 6.9mmol)、 $\text{NaBH}_3\text{CN}$  (435mg, 6.9mmol) 和氯化锌 (311mg, 2.3mmol) 在甲醇 (30mL) 中的混合物 4 小时。然后减压浓缩。将水 (10mL) 加入到残留物中并用  $\text{CHCl}_3$  (3X50mL) 萃取混合物。减压浓缩经合并的有机层。通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用 50:1 二氯甲烷/甲醇洗脱) 得到 125e (800mg, 78%)。LCMS:  $[M+H]^+$  448.1。 $^1\text{H NMR}$  (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.65 (d,  $J = 2.0\text{Hz}$ , 1H), 8.11 (d,  $J = 2.5\text{Hz}$ , 1H), 7.85 (s, 1H), 7.37-7.34 (m, 1H), 6.96 (d,  $J = 2.5\text{Hz}$ , 1H), 6.72 (d,  $J = 8.5\text{Hz}$ , 1H), 4.69-4.61 (m, 4H), 3.60 (s, 3H), 3.50-3.14 (m, 3H), 2.43-2.17 (m, 4H), 1.06 (s, 6H)。

[0629] 实施例 125f 乙酸 2-(5-(5-(2,2-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-4-氟-6-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并 [1,2-a] 咪唑-2(1H)-基)苯酯 125f

[0630]



[0631] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 50-mL 单颈圆底烧瓶中装入 125e (190mg, 1.0 当量, 0.42mmol)、乙酸 4-氟-2-(1-氧代-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并 [1,2-a] 咪唑-2(1H)-基)-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苯酯 115m (405mg, 2.0 当量, 0.84mmol)、 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$  (33mg, 0.10 当量, 0.040mmol)、 $\text{K}_3\text{PO}_4$  (178mg, 2.0 当量, 0.84mmol)、乙酸钠 (69mg, 2.0 当量, 0.84mmol)、乙腈 (20mL) 和水 (0.1mL)。真空/氩气冲洗三个循环后, 90°C 加热该混合物 2h。然后冷却至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过硅胶柱色谱纯化所得残留物 (用 50:1 二氯甲烷/乙醇洗脱) 得到黄色固体状的 125f (90mg, 29%)。MS:  $[M+H]^+$  724.3。

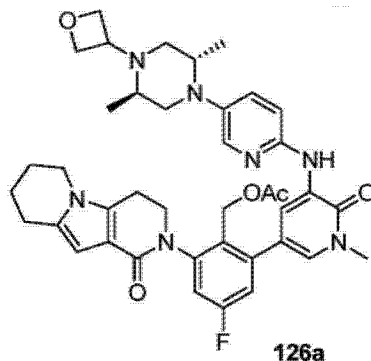
[0632] 实施例 125 2-(3-(5-(5-(2,2-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-5-氟-2-(羟基甲基)苯基)-3,4,6,7,8,9-六氢吡嗪并 [1,2-a] 咪唑-1(2H)-酮 125

[0633] 50-mL 单颈圆底烧瓶配有磁力搅拌器并装入 125f (85mg, 1 当量, 0.11mmol)、氢氧化锂 (14mg, 5 当量, 0.55mmol)、异丙醇 (3mL)、THF (3mL) 和水 (2mL)。30 °C 搅拌该混合物 1h。然后过滤并减压浓缩残留物。通过反相制备型 HPLC 纯化残留物得到 125 (43mg, 57%)。MS:  $[M+H]^+$  682.4。 $^1\text{HNMR}$  (500MHz, DMSO)  $\delta$  8.62 (d,  $J = 2.0\text{Hz}$ , 1H), 8.55 (s, 1H), 7.94 (d,  $J = 2.5\text{Hz}$ , 1H), 7.41-7.39 (m, 2H), 7.33-7.31 (m, 1H), 7.23-7.17 (m, 2H), 6.52 (s, 1H), 4.86 (brs, 1H), 4.54 (t,  $J = 6.5\text{Hz}$ , 2H), 4.42 (t,  $J = 6.0\text{Hz}$ , 2H), 4.30 (s, 2H), 4.17-4.11 (m,

3H), 3.89-3.86 (m, 1H), 3.58 (m, 3H), 3.39-3.36 (m, 1H), 3.08-2.98 (m, 2H), 2.63-2.56 (m, 2H), 2.46 (t,  $J = 6.0\text{Hz}$ , 2H), 2.33-2.12 (m, 4H), 1.80-1.67 (m, 4H), 0.96 (s, 6H)。

[0634] **实施例 126a** 乙酸 2-(5-(5-((2S, 5R)-2, 5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1, 6-二氢吡啶-3-基)-4-氟-6-(1-氧代-3, 4, 6, 7, 8, 9-六氢吡啶并[3, 4-b]吡嗪-2(1H)-基)苄酯 126a

[0635]



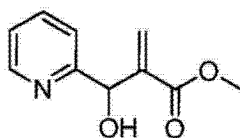
[0636] 往 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入乙酸 2-溴-4-氟-6-(1-氧代-3, 4, 6, 7, 8, 9-六氢吡啶并[3, 4-b]吡嗪-2(1H)-基)苄酯 101h (347mg, 0.80mmol)、3-(5-((2S, 5R)-2, 5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-1-甲基-5-(4, 4, 5, 5-四甲基-1, 3, 2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2(1H)-酮 121g (792mg, 1.6mmol)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (32.7mg, 0.040mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (340.0mg, 1.6mmol)、乙酸钠三水合物 (217.6mg, 1.6mmol)、水 (0.5mL) 和乙腈 (50mL)。抽空该系统并用 N<sub>2</sub> 再充满。100℃ 加热反应混合物 2h。然后冷却至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过硅胶柱色谱纯化所得残留物 (用 25:1 二氯甲烷 / 甲醇洗脱) 得到黄棕色固体状的 126a (200mg, 34.6%)。MS: [M+H]<sup>+</sup>724.5。

[0637] **实施例 126** 2-[3-[5-[[5-[(2S, 5R)-2, 5-二甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]-2-吡啶基]氨基]-1-甲基-6-氧代-3-吡啶基]-5-氟-2-(羟基甲基)苯基]-3, 4, 6, 7, 8, 9-六氢吡啶并[3, 4-b]吡嗪-1-酮 126

[0638] 30℃ 搅拌 126a (150mg, 0.20mmol) 和氢氧化锂 (72mg, 3.0mmol) 在异丙醇 / THF (5:3, 8.0mL) 和水 (2.0mL) 中的混合物 1h。减压蒸发该混合物并用乙酸乙酯 (2X20mL) 萃取残留物。减压浓缩经合并的乙酸乙酯萃取物并通过制备型 HPLC 纯化残留物得到白色固体状的 126 (45mg, 33%)。MS: [M+H]<sup>+</sup>682.9。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CHCl<sub>3</sub>) δ 8.60 (dd,  $J = 2, 5\text{Hz}$ , 1H), 8.03 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.37-7.35 (m, 1H), 7.14-7.12 (m, 1H), 6.96-6.94 (m, 1H), 6.82-6.80 (m, 1H), 6.31 (s, 1H), 4.77-4.71 (m, 2H), 4.67-4.62 (m, 2H), 4.58-4.55 (m, 1H), 4.41-4.40 (m, 1H), 4.29-4.25 (m, 1H), 4.13-4.09 (m, 1H), 3.91-3.80 (m, 3H), 3.77-3.74 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.18 (d,  $J = 5.0\text{Hz}$ , 1H), 3.06-3.01 (m, 1H), 2.98-2.90 (m, 2H), 2.83 (m, 2H), 2.77-2.70 (m, 2H), 2.47 (m, 1H), 2.06-2.01 (m, 2H), 1.97-1.93 (m, 1H), 1.88-1.87 (m, 2H), 0.91-0.89 (m, 6H)。

[0639] **实施例 127a** 2-(羟基(吡啶-2-基)甲基)丙烯酸甲酯 127a

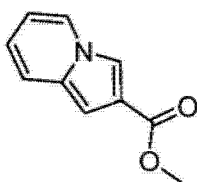
[0640]



[0641] 往 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入氯仿 (100mL)、吡啶甲醛 (10.7g, 0.10mol)、丙烯酸甲酯 (8.60g, 0.10mol) 和 1,4-二氮杂二环 [2.2.2] 辛烷 (0.560g, 5.00mmol)。室温搅拌反应混合物 48h。此后减压浓缩反应混合物并通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用 3:1 石油醚 / 乙酸乙酯洗脱) 得到深黄色油状的 127a (11.6g, 60%)。MS-ESI: (M+H)<sup>+</sup>194.2。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.54 (d, J = 5.0Hz, 1H), 7.69-7.66 (m, 1H), 7.42 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.22-7.20 (m, 1H), 6.36 (s, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.62 (s, 1H), 4.85 (s, 1H), 3.74 (s, 3H)。

[0642] 实施例 127b 吲哚 -2- 羧酸甲酯 127b

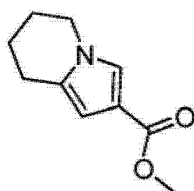
[0643]



[0644] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入乙酸酐 (80mL) 和 127a (6.68g, 34.6mmol)。回流和氮气下加热反应混合物 4h。此后冷却反应混合物至室温, 倒入冰 (100g) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (200mL) 的混合物中, 并搅拌 1h。用饱和碳酸氢钠水溶液中和所得溶液并用二氯甲烷 (3×200mL) 萃取。经硫酸钠干燥经合并的有机萃取物并减压浓缩。通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用 10:1 石油醚 / 乙酸乙酯 (10:1) 洗脱) 得到白色固体状的 127b (2.1g, 35%)。MS-ESI: (M+H)<sup>+</sup>176.2。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.86-7.84 (m, 1H), 7.79 (d, J = 1.0Hz, 1H), 7.36-7.34 (m, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.70-6.66 (m, 1H), 6.55-6.51 (m, 1H), 3.88 (s, 3H)。

[0645] 实施例 127c 5,6,7,8-四氢吲哚 -2- 羧酸甲酯 127c

[0646]

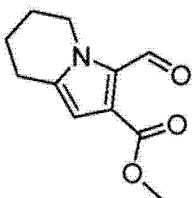


[0647] 用氮气吹扫 250-mL 圆底烧瓶并装入 127b (2.0g, 11.4mmol)、10% 钯 / 炭 (50% 湿, 200mg) 和甲醇 (50mL)。抽真空, 装入氢气, 并在 5atm 氢气和室温搅拌 8h。然后抽空氢气并向烧瓶中充入氮气。通过 **CELITE®** 垫过滤除去催化剂并减压浓缩滤液得到白色固体状的 127c (1.1g, 81%)。MS-ESI: [M+H]<sup>+</sup>180.3。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.25 (d, J = 2.0Hz, 1H), 6.09 (s, 1H), 3.93 (t, J = 6.0Hz, 2H), 3.66 (s, 3H), 2.67 (t, J = 6.0Hz, 2H), 1.87-1.83 (m, 2H), 1.75-1.70 (m, 2H)。

[0648] 实施例 127d 3- 甲酰基 -5,6,7,8-四氢吲哚 -2- 羧酸甲酯 127d

[0649]

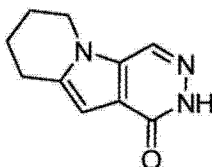




[0650] 用氮气吹扫配有磁力搅拌器的 100-mL 圆底烧瓶并装入无水二氯乙烷 (20mL) 和无水 DMF (0.70mL, 9.0mmol)。经 2 分钟时间往 0℃ 冷却的混合物中加入三氯氧磷 (0.70mL, 7.3mmol), 并保持反应温度在 0 和 10℃ 之间。除去冷却浴并在室温搅拌反应混合物 1 小时。加入 5,6,7,8-四氢吡啶-2-羧酸甲酯 (127c) (1.0g, 5.6mmol) 在乙腈 (10mL) 中的溶液并在室温搅拌反应混合物 3 小时。此后, 减压浓缩。用饱和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (20mL) 吸收油状残留物并用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取。用水 (50mL) 洗涤经合并的有机层, 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 并减压蒸发。通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用 1:5 乙酸乙酯 / 石油醚洗脱) 得到白色固体状的 127d (703mg, 58%)。MS-ESI: (M+H)<sup>+</sup>208.3。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.14 (s, 1H), 6.40 (s, 1H), 4.27 (t, J = 6.0Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 2.78 (t, J = 6.0Hz, 2H), 1.94-1.85 (m, 2H), 1.78-1.69 (m, 2H)。

[0651] 实施例 127e 6,7,8,9-四氢吡啶并 [4,5-b] 吡啶-1(2H)-酮 127e

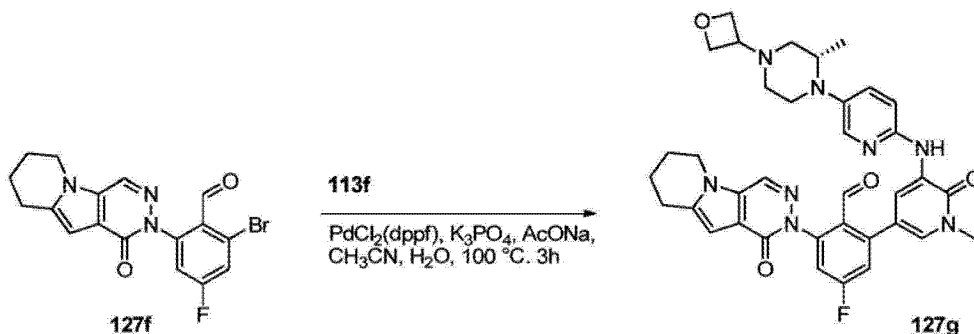
[0652]



[0653] 往配有回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 3-甲酰基-5,6,7,8-四氢吡啶-2-羧酸甲酯 (127d) (600mg, 2.9mmol) 和氢氧化胼 (20mL)。100℃ 加热反应混合物 4 小时。此后冷却反应混合物至室温并过滤得到黄色固体状的 127e (413mg, 75%)。MS-ESI: (M+H)<sup>+</sup>190.1。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.17 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 6.33 (s, 1H), 4.16 (t, J = 6.0Hz, 2H), 2.88 (t, J = 6.5Hz, 2H), 2.00-1.96 (m, 2H), 1.84-1.79 (m, 2H)。

[0654] 实施例 127f 2-溴-4-氟-6-(1-氧代-6,7,8,9-四氢吡啶并 [4,5-b] 吡啶-2(1H)-基) 苯甲醛 127f

[0655]



[0656] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 127e (450mg, 2.4mmol)、2,6-二溴-4-氟苯甲醛 (2.0g, 7.2mmol)、碳酸铯 (1.6g, 4.8mmol) 和 1,4-二噁烷 (50mL)。将氮气鼓泡通过所得混合物 10 分钟后, 加入碘化亚铜 (I) (450mg, 2.4mmol) 和

4,7-二甲氧基-1,10-菲咯啉 (571mg, 2.4mmol), 并在 90°C 加热反应混合物 12h。此后冷却反应混合物至室温并过滤。在二氯甲烷 (40mL) 和水 (40mL) 之间分配滤液。分离水层并用二氯甲烷 (3X30mL) 萃取。用盐水 (50mL) 洗涤经合并的有机层并经硫酸钠干燥。通过过滤除去干燥剂并减压浓缩滤液。通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用 1:2 乙酸乙酯 / 石油醚洗脱) 得到棕色固体状的 127f (251mg, 31%)。MS-ESI: (M+H)<sup>+</sup>390.0。

[0657] **实施例 127g** 4-氟-2-(1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-6-(1-氧代-6,7,8,9-四氢吡啶并[4,5-b]吡嗪-2(1H)-基)苯甲醛 127g

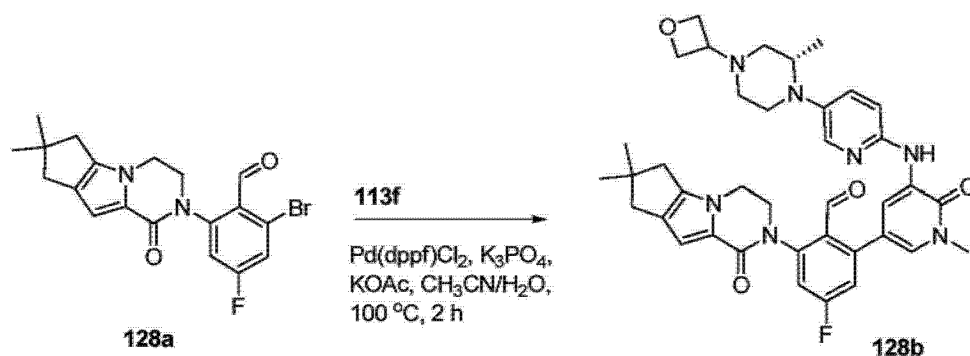
[0658] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 圆底烧瓶中装入 127f (125.0mg, 0.32mmol)、1-甲基-3-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2(1H)-酮 113f (155.0mg, 0.32mmol)、乙酸钠 (53.0mg, 0.64mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (135.7.0mg, 0.64mmol)、PdCl<sub>2</sub>(dppf) (50.0mg, 0.06mmol)、乙腈 (25mL) 和水 (1mL)。系统经真空 / 氩气冲洗 3 个循环并在 100°C 加热 3 小时。然后减压蒸发并通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用 30:1 二氯甲烷 / 甲醇洗脱) 得到棕色固体状的 127g 化合物 (108mg, 51%)。MS: [M+H]<sup>+</sup>665.4。

[0659] **实施例 127** 2-[5-氟-2-(羟基甲基)-3-[1-甲基-5-[[5-[(2S)-2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]-2-吡啶基]氨基]-6-氧代-3-吡啶基]苯基]-6,7,8,9-四氢吡啶并[4,5-b]吡嗪-1-酮 127

[0660] 往 127g (100.0mg, 0.15mmol) 在甲醇 (20mL) 中的溶液中加入 NaBH<sub>4</sub> (17.0mg, 0.45mmol)。室温搅拌该混合物 2h。然后用水 (1mL) 淬灭并减压蒸发该混合物。通过反相制备型 HPLC 纯化残留物得到白色固体状的 127 (56mg, 收率 56%)。MS: [M+H]<sup>+</sup>667.4。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.58 (d, J = 2.0, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.85 (d, J = 2.5, 1H), 7.39 (d, J = 2.0, 1H), 7.37-7.34 (m, 1H), 7.30-7.28 (m, 1H), 7.25-7.22 (m, 2H), 6.48 (s, 1H), 4.57-4.53 (m, 2H), 4.46 (m, 2H), 4.41 (m, 1H), 4.25 (m, 2H), 4.20 (s, 2H), 3.69-3.64 (m, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.41-3.36 (m, 1H), 3.10-3.07 (m, 1H), 2.96-2.92 (m, 3H), 2.54-2.50 (m, 1H), 2.35-2.28 (m, 2H), 2.18 (m, 1H), 2.04-2.00 (m, 2H), 1.87-1.82 (m, 2H), 0.92 (d, J = 6.0, 3H)。

[0661] **实施例 128a** 2-溴-6-{4,4-二甲基-9-氧代-1,10-二氮杂三环[6.4.0.0<sup>2,6</sup>]十二-2(6),7-二烯-10-基}-4-氟苯甲醛 128a

[0662]



[0663] 往配有回流冷凝器的 100-mL 圆底烧瓶中装入 4,4-二甲基-1,10-二氮杂三环

[6.4.0.0<sup>2,6</sup>] 十二-2(6),7-二烯-9-酮 103e (1.0g, 4.90mmol, 1.0 当量)、2-溴-6-氯-4-氟苯甲醛 (2.76g, 9.8mmol, 2.0 当量)、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (224mg, 0.24mmol, 0.050 当量)、Xantphos (283mg, 0.49mmol, 0.10 当量)、乙酸钾 (1.44g, 14.7mmol, 3.0 当量) 和 1,4-二噁烷 (50mL)。抽空该系统并用 N<sub>2</sub> 再充满。80℃ 加热反应混合物 5h。此后冷却反应混合物至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过硅胶柱纯化残留物 (用 80:1 二氯甲烷 / 甲醇洗脱) 得到黄色固体状的 128a (992mg, 50%)。MS: [M+H]<sup>+</sup> 405.1

[0664] **实施例 128b** 2-{4,4-二甲基-9-氧代-1,10-二氮杂三环 [6.4.0.0<sup>2,6</sup>] 十二-2(6),7-二烯-10-基}-4-氟-6-[1-甲基-5-({5-[(2S)-2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]吡啶-2-基}氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基]苯甲醛 128b

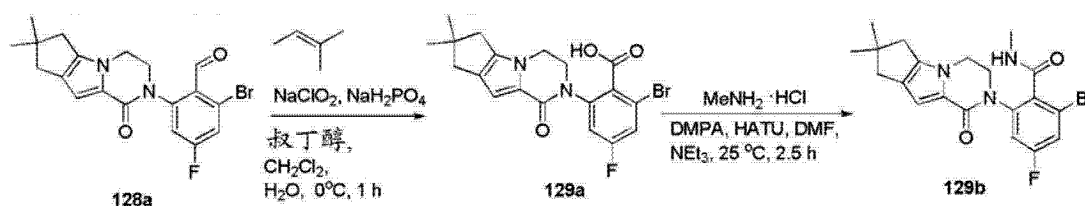
[0665] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 50-mL 圆底烧瓶中装入 128a (303mg, 0.75mmol)、1-甲基-3-({5-[(2S)-2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]吡啶-2-基}氨基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂-硼戊环-2-基)-1,2-二氢吡啶-2-酮 113f (385mg, 0.80mmol)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (68.6mg, 0.075mmol)、乙酸钾 (147mg, 1.50mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (327mg, 1.50mmol)、乙腈 (15mL) 和水 (6 滴)。真空 / 氩气冲洗三个循环后, 100℃ 加热该混合物 2h。此后冷却反应混合物至室温。然后过滤并减压蒸发滤液。通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用 15:1 乙酸乙酯 / 甲醇洗脱) 得到黑色固体状的 128b (382mg, 77%)。MS-ESI: [M+H]<sup>+</sup> 680.3

[0666] **实施例 128** 2-(7,7-二甲基-4-氧代-1,2,6,8-四氢环戊二烯并 [3,4] 吡咯并 [3,5-b] 吡嗪-3-基)-4-氟-6-[1-甲基-5-[[5-[(2S)-2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]-2-吡啶基]氨基]-6-氧代-3-吡啶基]苯甲酸 128

[0667] 往 128b (190mg, 0.28mmol)、叔丁醇 (7mL) 和二氯甲烷 (0.5mL) 的混合物中加入 2-甲基-2-丁烯 (9.0mL, 107mmol)。-10℃ 滴加 NaClO<sub>2</sub> (53mg, 0.59mmol) 和 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2 水 (135.7mg, 0.87mmol) 的水溶液 (2mL)。-10℃ 搅拌该混合物 1h。然后用水 (20mL) 处理并用乙酸乙酯 (4X50mL) 萃取。经 MgSO<sub>4</sub> 干燥经合并的有机萃取物, 过滤, 并减压蒸发。用反相制备型 HPLC 纯化残留物得到淡黄色固体状的 128 (33mg, 17%)。MS-ESI: [M+H]<sup>+</sup> 696.2。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 13.19-13.17 (m, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.86 (d, J = 2.5Hz, 1H), 7.37-7.35 (m, 2H), 7.24-7.22 (m, 3H), 6.46 (s, 1H), 4.57-4.54 (m, 2H), 4.48-4.47 (m, 1H), 4.42-4.41 (m, 1H), 4.10-4.09 (m, 2H), 3.95-3.92 (m, 1H), 3.68-3.67 (m, 1H), 3.56 (s, 3H), 3.42-3.39 (m, 2H), 3.09-3.07 (m, 1H), 2.96-2.94 (m, 1H), 2.92 (s, 3H), 2.41-2.40 (m, 2H), 2.35-2.31 (m, 2H), 2.20-2.17 (m, 1H), 1.21-1.20 (m, 6H), 0.93 (d, J = 6.5Hz, 3H)。

[0668] **实施例 129a** 2-溴-6-{4,4-二甲基-9-氧代-1,10-二氮杂三环 [6.4.0.0<sup>2,6</sup>] 十二-2(6),7-二烯-10-基}-4-氟苯甲酸 129a

[0669]



[0670] 往 2-溴-6-{4,4-二甲基-9-氧代-1,10-二氮杂三环 [6.4.0.0<sup>2,6</sup>] 十二-2(6),7-二烯-10-基}-4-氟苯甲酸 128a (810mg, 2.0mmol)、叔丁醇 (50mL) 和二氯

甲烷 (3mL) 的混合物中加入 2- 甲基 -2- 丁烯 (22mL, 262mmol)。0 °C 滴加 NaClO<sub>2</sub> (1.8g, 20.0mmol) 和 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 二水合物 (2.2g, 14.0mmol) 的水溶液 (20mL)。0 °C 搅拌该混合物 1h。然后用水 (30mL) 处理并用乙酸乙酯 (4×90mL) 萃取。经 MgSO<sub>4</sub> 干燥经合并的有机萃取物并减压浓缩得到黄色固体状的 129a (930mg, 84%)。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup> 421.1

[0671] 实施例 129b 2- 溴 -6- {4, 4- 二甲基 -9- 氧代 -1, 10- 二氮杂三环 [6.4.0.0<sup>2,6</sup>] 十二 -2(6), 7- 二烯 -10- 基 } -4- 氟 -N- 甲基苯甲酰胺 129b

[0672] 往配有磁力搅拌器的 25-mL 单颈圆底烧瓶中装入 DMF (8mL)、129a (160mg, 0.38mmol)、HATU (505mg, 1.33mmol)、DMAP (46mg, 0.38mmol) 和三乙胺 (1.0mL)。25 °C 加热该混合物 0.5h。然后加入 MeNH<sub>2</sub> · HCl (266mg, 3.8mmol) 并在 25 °C 搅拌所得混合物 2.5h。此后冷却反应混合物至室温。然后过滤并减压蒸发滤液。通过制备型 TLC 纯化残留物 (用 1:20 甲醇 / 二氯甲烷展开) 得到黑色固体状的 129b (116mg, 70%)。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup> 434.0

[0673] 实施例 129 2-(7, 7- 二甲基 -4- 氧代 -1, 2, 6, 8- 四氢环戊二烯并 [3, 4] 吡咯并 [3, 5-b] 吡嗪 -3- 基) -4- 氟 -N- 甲基 -6- [1- 甲基 -5- [[5- [(2S)-2- 甲基 -4- (氧杂环丁烷 -3- 基) 哌嗪 -1- 基] -2- 吡啶基] 氨基] -6- 氧代 -3- 吡啶基] 苯甲酰胺 129

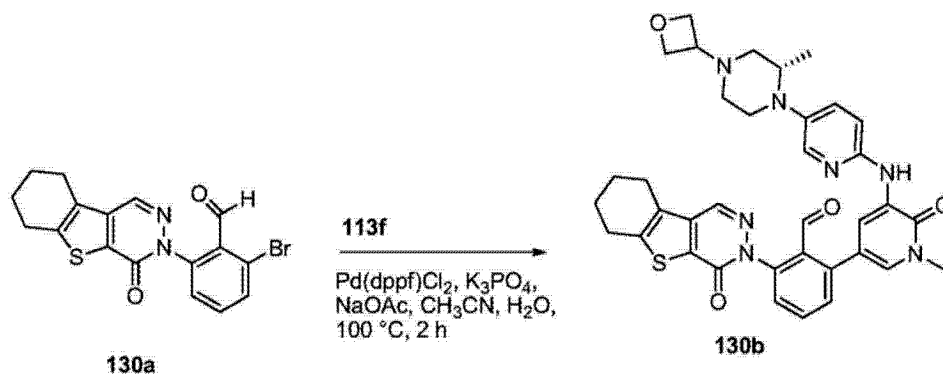
[0674] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 25-mL 单颈圆底烧瓶中装入 129b (116mg, 0.27mmol)、1- 甲基 -3- ({5- [(2S)-2- 甲基 -4- (氧杂环丁烷 -3- 基) 哌嗪 -1- 基] 吡啶 -2- 基} 氨基) -5- (4, 4, 5, 5- 四甲基 -1, 3, 2- 二氧杂硼杂环戊烷 -2- 基) -1, 2- 二氢吡啶 -2- 酮 113f (260mg, 0.54mmol)、Pd (dppf) Cl<sub>2</sub> (26mg, 0.030mmol)、乙酸钾 (53mg, 0.54mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (117mg, 0.54mmol)、乙腈 (5mL) 和水 (0.50mL)。真空 / 氩气冲洗三个循环后, 回流下加热该混合物 2h。此后冷却反应混合物至室温。然后过滤并减压蒸发滤液。用反相制备型 HPLC 纯化残留物得到淡黄色固体状的 129 (80mg, 42%)。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup> 709.5。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.69 (d, J = 2.0Hz, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.11 (d, J = 4.5Hz, 1H), 7.89 (d, J = 2.5Hz, 1H), 7.38-7.36 (m, 1H), 7.32-7.30 (m, 2H), 7.28-7.26 (m, 1H), 7.23-7.21 (m, 1H), 6.47 (s, 1H), 4.58-4.54 (m, 2H), 4.48-4.46 (m, 1H), 4.43-4.41 (m, 1H), 4.05-3.91 (m, 4H), 3.67-3.66 (m, 1H), 3.57 (s, 3H), 3.41-3.38 (m, 1H), 3.10-3.08 (m, 1H), 2.97-2.94 (m, 1H), 2.55-2.54 (m, 3H), 2.48-2.47 (m, 3H), 2.40-2.39 (m, 2H), 2.36-2.28 (m, 2H), 2.22-2.19 (m, 1H), 1.21-1.20 (m, 6H), 0.93 (d, J = 6.5Hz, 3H)。

[0675] 实施例 130a 2- 溴 -6- {6- 氧代 -8- 硫杂 -4, 5- 二氮杂三环 [7.4.0.0<sup>2,7</sup>] 十三 -1(9), 2(7), 3- 三烯 -5- 基} 苯甲醛 130a

[0676] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 25-mL 单颈圆底烧瓶中装入 1, 4- 二噁烷 (20mL)、8- 硫杂 -4, 5- 二氮杂三环 [7.4.0.0<sup>2,7</sup>] 十三 -1(9), 2(7), 3- 三烯 -6- 酮 117c (618mg, 3.0mmol)、2, 6- 二溴苯甲醛 (1980mg, 7.5mmol)、CuBr (215mg, 1.5mmol)、肌氨酸 (267mg, 3.0mmol) 和 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (828mg, 6.0mmol)。真空 / 氩气冲洗三个循环后, 100 °C 加热该混合物 16h。此后冷却反应混合物至室温。然后过滤并减压蒸发滤液。通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用 30:1 二氯甲烷 / 甲醇洗脱) 得到黄色固体状的 130a (702mg, 60%)。MS : [M+H]<sup>+</sup> 389.0

[0677] 实施例 130b 2-[1- 甲基 -5- ({5- [(2S)-2- 甲基 -4- (氧杂环丁烷 -3- 基) 哌嗪 -1- 基] 吡啶 -2- 基} 氨基) -6- 氧代吡啶 -3- 基] -6- {6- 氧代 -8- 硫杂 -4, 5- 二氮杂三环 [7.4.0.0<sup>2,7</sup>] 十三 -1(9), 2(7), 3- 三烯 -5- 基} 苯甲醛 130b

[0678]



[0679] 往配有磁力搅拌器的密封管中装入 130a(160mg, 0.40mmol)、(S)-1-甲基-5-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基硼酸 113f(160mg, 0.40mmol)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>(32mg, 0.040mmol)、乙酸钠(66mg, 0.80mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(170mg, 0.80mmol)和乙腈(6mL)。真空/氩气冲洗三个循环后, 100°C加热该混合物 2h。然后过滤并减压蒸发滤液。通过硅胶柱色谱纯化残留物(用 30:1 二氯甲烷/甲醇洗脱)得到黄色固体状的 130b(123mg, 46%)。LCMS: [M+H]<sup>+</sup>664.3

[0680] 实施例 130 3-[2-(羟基甲基)-3-[1-甲基-5-[[5-[(2S)-2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]-2-吡啶基]氨基]-6-氧代-3-吡啶基]苯基]-6,7,8,9-四氢苯并噻唑并[2,3-d]哒嗪-4-酮 130

[0681] 0°C, 往 130b(120mg, 0.18mmol) 在甲醇(5mL) 中的溶液中加入硼氢化钠(20mg, 0.54mmol)。搅拌反应混合物 30 分钟。然后用水(1mL) 淬灭并减压浓缩。通过反相制备型 HPLC 纯化残留物得到 130(70mg, 59%)。LCMS: [M+H]<sup>+</sup>666.3。<sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.62(d, J = 2.0Hz, 1H), 8.26(s, 1H), 7.98(s, 1H), 7.84(s, 1H), 7.56-7.54(m, 2H), 7.42(d, J = 2.5Hz, 1H), 7.37(dd, J = 2.0, 7.0Hz, 1H), 7.31(d, J = 8.0Hz, 1H), 6.83(d, J = 8.5Hz, 1H), 4.72-4.66(m, 4H), 4.36(d, J = 5.0Hz, 2H), 4.05(t, J = 5.5Hz, 1H), 3.72(s, 3H), 3.55-3.54(m, 1H), 3.46-3.45(m, 1H), 3.08-3.06(m, 2H), 2.99(t, J = 5.0Hz, 2H), 2.87(t, J = 5.0Hz, 2H), 2.60-2.59(m, 1H), 2.49-2.48(m, 2H), 2.20-2.19(m, 1H), 2.02-1.96(m, 4H), 0.99(d, J = 6.0Hz, 3H)。

[0682] 实施例 131a 3,3-二甲基环戊酮 131a

[0683] 经 30 分钟时间往 CuI(81.0g, 420mmol) 在无水乙醚(500mL) 中的冷却至 0°C 的悬浮液中加入甲基锂在乙醚(430mL, 860mmol, 2.0M) 中的溶液。参见图 15。0°C 搅拌该混合物 2h。0°C 经 1h 时间往上述混合物中滴加 3-甲基环戊-2-烯酮(33.6g, 350mmol)。0°C 再搅拌所得混合物 2h。然后用饱和 NH<sub>4</sub>Cl(300mL) 淬灭并过滤。用乙醚(2X200mL) 萃取滤液。经无水 Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥经合并的有机层并过滤。减压蒸发滤液得到无色油状的 131a(28g, 71%)。<sup>1</sup>H NMR(500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 2.31(t, J = 8.0Hz, 2H), 2.05(s, 2H), 1.79(t, J = 8.0Hz, 2H), 1.12(s, 6H)。

[0684] 实施例 131b 2-氯-4,4-二甲基环戊-1-烯甲醛 131b

[0685] 经 10 分钟时间往 DMF(18.3g, 250mmol) 在二氯甲烷(300mL) 中的 0°C 冷却的溶液中加入 POCl<sub>3</sub>(40.5g, 250mmol)。参见图 15。20°C 搅拌该混合物 1h。经 20 分钟时间往上述混合物中滴加 131a(28.0g, 250mmol)。回流下加热所得混合物 20h。冷却反应混合物至室

温并倒入乙酸钠 (60g) 在冰-水 (400g) 中的溶液中。用二氯甲烷 (2X300mL) 萃取混合物。用水 (2X200mL) 洗涤经合并的有机层, 经无水  $Mg_2SO_4$  干燥并过滤。减压蒸发滤液得到无色油状的 131b (33.0g, 粗)。 $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.99 (s, 1H), 2.62 (d,  $J = 2.0$ Hz, 2H), 2.38 (d,  $J = 2.0$ Hz, 2H), 1.15 (s, 6H)。

[0686] 实施例 131c 5,5-二甲基-5,6-二氢-4H-环戊二烯并 [b] 噻吩-2-羧酸乙酯 131c

[0687] 往 131b (33.0g, 粗) 在二氯甲烷 (400mL) 和三乙胺 (60g, 600mmol) 中的溶液中加入 2-巯基乙酸乙酯 (19.2g, 160mmol)。参见图 15。回流下加热反应混合物 6h。然后减压浓缩。残留物溶于乙醇 (400mL) 和三乙胺 (60g, 600mmol)。回流下加热该混合物 12h。再次减压浓缩并通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用 40:1 石油醚/乙酸乙酯洗脱) 得到黄色固体状的 131c (18.0g, 32%, 经两步)。MS-ESI:  $[M+H]^+$  225.3。 $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.49 (s, 1H), 4.32 (q,  $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.72 (s, 2H), 2.56 (s, 2H), 1.35 (t,  $J = 7.0$ Hz, 3H), 1.22 (s, 6H)。

[0688] 实施例 131d 5,5-二甲基-5,6-二氢-4H-环戊二烯并 [b] 噻吩-2-羧酸 131d

[0689] 往 131c (16.0g, 71.0mmol) 在 2-丙醇 (200mL)、四氢呋喃 (200mL) 和水 (200mL) 中的溶液中加入氢氧化锂 (6.82g, 284mmol)。参见图 15。65°C 加热反应混合物 5h。减压下除去有机溶剂。用盐酸 (12M) 调节残留物的 pH 至 1.0。通过过滤收集析出物并真空干燥得到白色固体状的 131d (12.0g, 86%)。MS-ESI:  $[M+H]^+$  196.9

[0690] 实施例 131e N-叔丁基-5,5-二甲基-5,6-二氢-4H-环戊二烯并 [b] 噻吩-2-甲酰胺 131e

[0691] 65°C 加热 131d (12.0g, 61.0mmol) 在  $SOCl_2$  (80mL) 中的悬浮液 2h。减压浓缩反应混合物。参见图 15。用二氯甲烷 (20mL) 洗涤残留物, 将其加入到 2-甲基丙-2-胺 (4.45g, 61.0mmol) 和三乙胺 (18.0g, 180mmol) 在二氯甲烷 (180mL) 中的溶液中。搅拌所得混合物 16h 并用二氯甲烷 (200mL) 稀释。用水 (3X50mL) 洗涤, 经无水  $Mg_2SO_4$  干燥, 过滤, 并减压蒸发得到黄色固体状的 131e (15.0g, 97%)。MS-ESI:  $[M+H]^+$  252.0

[0692] 实施例 131f N-叔丁基-3-甲酰基-5,5-二甲基-5,6-二氢-4H-环戊二烯并 [b] 噻吩-2-甲酰胺 131f

[0693] 经 5 分钟时间往 131e (1.5g, 6.0mmol) 在无水 THF (60mL) 中的冷却至 -70°C 的溶液中加入正丁基锂溶液 (10.0mL, 25mmol, 己烷中 2.5M)。参见图 15。-70°C 搅拌 6h。经 5 分钟时间加入 DMF (1.3g, 18.0mmol) 并在室温搅拌所得混合物过夜。然后用饱和  $NH_4Cl$  (40mL) 淬灭并减压浓缩。用乙酸乙酯 (2X30mL) 萃取残留物。经无水  $Mg_2SO_4$  干燥经合并的有机层并过滤。减压蒸发滤液得到黄色固体状的 131f (1.34g, 80%)。MS-ESI:  $[M+H]^+$  280.3

[0694] 实施例 131g N-叔丁基-3-(亚肼基甲基)-5,5-二甲基-5,6-二氢-4H-环戊二烯并 [b] 噻吩-2-甲酰胺 131g

[0695] 经 5 分钟时间往 85% 肼水溶液 (10mL) 在 THF (180mL) 中的溶液中加入 131f (5.6g, 20.0mmol) 在无水 THF (20mL) 中的溶液。参见图 15。20°C 搅拌 3h。减压浓缩反应混合物得到黑色固体状的 131g (6.0g, 收率: 95%, 纯度: 95%)。MS-ESI:  $[M+H]^+$  294.0

[0696] 实施例 131h 4,4-二甲基-7-硫杂-10,11-二氮杂三环 [6.4.0.0<sup>2,6</sup>] 十二-1(8), 2(6), 11-三烯-9-酮 131h

[0697] 回流下加热 131g (3.8g, 13.0mmol) 在 30%  $H_2SO_4$  (100mL) 中的溶液 16h。参见图

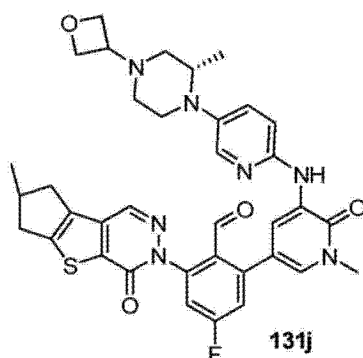
15. 冷却反应混合物至室温并用二氯甲烷 (3x200mL) 萃取。减压浓缩经合并的有机层并通过硅胶柱色谱纯化残留物 (用 100:1 二氯甲烷 / 甲醇洗脱) 得到黄色固体状的 131h (1.72g, 60%)。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup>221.0

[0698] **实施例 131i** 2-溴-6-{4,4-二甲基-9-氧代-7-硫杂-10,11-二氮杂三环 [6.4.0.0<sup>2,6</sup>] 十二-1(8),2(6),11-三烯-10-基}-4-氟苯甲醛 131i

[0699] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 100-mL 圆底烧瓶中装入 131h (330mg, 1.5mmol)、2,6-二溴-4-氟苯甲醛 (1.26g, 4.5mmol)、CuBr (113mg, 0.8mmol)、肌氨酸 (142mg, 1.6mmol)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (420mg, 3.0mmol) 和二噁烷 (20mL)。参见图 15。真空 / 氩气冲洗三个循环后, 95°C 加热该混合物 15h。然后冷却至室温并过滤。减压浓缩滤液并通过硅胶柱色谱纯化所得残留物 (用 5:1 的石油醚 / 乙酸乙酯洗脱) 得到白色固体状的 131i (380mg, 60%)。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup>420.6

[0700] **实施例 131j** 2-{4,4-二甲基-9-氧代-7-硫杂-10,11-二氮杂三环 [6.4.0.0<sup>2,6</sup>] 十二-1(8),2(6),11-三烯-10-基}-4-氟-6-[1-甲基-5-({5-[(2S)-2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]吡啶-2-基}氨基)-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基]苯甲醛 131j

[0701]



[0702] 往配有磁力搅拌器和回流冷凝器的 50-mL 圆底烧瓶中装入 131i (421mg, 1.0mmol)、(S)-1-甲基-3-(5-(2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基氨基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2(1H)-酮 113f (580mg, 1.2mmol)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (59mg, 0.080mmol)、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 三水合物 (360mg, 1.6mmol)、水 (6 滴) 和四氢呋喃 (20mL)。真空 / 氩气冲洗三个循环后, 回流下加热该混合物 6h。然后冷却至室温并过滤。减压浓缩滤液并用 1:1 石油醚 / 乙酸乙酯 (20mL) 洗涤残留物得到白色固体状的 131j (556mg, 80%)。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup>696.3

[0703] **实施例 131** 3-[5-氟-2-(羟基甲基)-3-[1-甲基-5-[[5-[(2S)-2-甲基-4-(氧杂环丁烷-3-基)哌嗪-1-基]-2-吡啶基]氨基]-6-氧代-3-吡啶基]苯基]-7,7-二甲基-6,8-二氢环戊二烯并 [3,4] 噻吩并 [1,3-d] 哒嗪-4-酮 131

[0704] 20°C 往 131j (520mg, 0.75mmol) 在甲醇 (10mL) 中的溶液中加入硼氢化钠 (110mg, 3.0mmol)。搅拌反应混合物 30 分钟并用水 (3mL) 淬灭。然后减压浓缩并用反相制备型 HPLC 纯化残留物得到 131 (340mg, 65%)。MS-ESI : [M+H]<sup>+</sup>698.3。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.55 (d, J = 2.5Hz, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.85 (d, J = 2.5Hz, 1H), 7.40-7.30 (m, 4H), 7.23 (d, J = 9.0Hz, 1H), 4.60 (t, J = 5.0Hz, 1H), 4.57-4.53 (m, 2H), 4.46 (t, J =

6.0Hz, 1H), 4.41 (t, J = 6.0Hz, 1H), 4.30-4.29 (m, 2H), 3.68-3.65 (m, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.40-3.38 (m, 1H), 3.10-3.07 (m, 1H), 2.95-2.94 (m, 1H), 2.91-2.89 (m, 2H), 2.80-2.78 (m, 2H), 2.54-2.52 (m, 1H), 2.34-2.30 (m, 2H), 2.20-2.16 (m, 1H), 1.27 (s, 6H), 0.93 (d, J = 6.5Hz, 3H)。

#### [0705] 实施例 901 Btk 生化测定

[0706] 可用于测试式 I 化合物的标准生化 Btk 激酶测定的一般方法如下。制备含有 1X 细胞信号转导激酶缓冲液 (25mM Tris-HCl, pH7.5, 5mM  $\beta$ -磷酸甘油、2mM 二硫苏糖醇、0.1mM  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ 、10mM  $\text{MgCl}_2$ )、0.5  $\mu\text{M}$  Promega PTK 生物素化的肽底物 2 和 0.01% BSA 的无 Btk 酶的预混试剂 (master mix)。制备含有 1X 细胞信号转导激酶缓冲液、0.5  $\mu\text{M}$  PTK 生物素化的肽底物 2、0.01% BSA 和 100ng/孔 (0.06mU/孔) Btk 酶的含 Btk 酶的预混试剂。Btk 酶的制备如下:使具有 C-末端 V5 和 6x His 标记的全长人野生型 Btk (登记号 NM-000061) 亚克隆到 pFastBac 载体中,用于制备携带该表位标记的 Btk 的杆状病毒。根据 Invitrogen 在其出版的实验方案“Bac-to-Bac Baculovirus Expression Systems” (Cat. Nos. 10359-016 和 10608-016) 中详述的使用说明制备杆状病毒。传代 3 病毒用于感染 Sf9 细胞以过量表达重组 Btk 蛋白。然后使用 Ni-NTA 柱将 Btk 蛋白纯化至同质。根据敏感的 Sypro-Ruby 染色法,最终蛋白制品的纯度大于 95%。在水中制备 200  $\mu\text{M}$  ATP 溶液并且用 1N NaOH 调节至 pH7.4。将量为 1.25  $\mu\text{L}$  的化合物的 5% DMSO 溶液转移至 96 孔半区 Costar 聚苯乙烯板。逐一地并用 11 点剂量响应曲线 (起始浓度是 10  $\mu\text{M}$ ; 1:2 稀释度) 来测试化合物。将量为 18.75  $\mu\text{L}$  的无酶预混试剂 (作为阴性对照) 和含酶预混试剂转移至 96 孔半区 Costar 聚苯乙烯板中的合适孔。将 5  $\mu\text{L}$  200  $\mu\text{M}$  ATP 加入 96 孔半区 Costar 聚苯乙烯板中的混合物中,使最终 ATP 浓度是 40  $\mu\text{M}$ 。使反应混合物在室温培养 1 小时。用含有 30mM EDTA、20nM SA-APC 和 1nM PT66Ab 的 Perkin Elmer 1X 检测缓冲液使反应停止。用使用激发滤光片 330nm、发射滤光片 665nm 和第二发射滤光片 615nm 的 Perkin Elmer Envision, 使用时间分辨荧光读板。然后计算  $\text{IC}_{50}$  值。或者,可以使用 Lanthascreen 测定,通过定量其磷酸化的肽产物来评价 Btk 活性。在肽产物上的荧光素和在检测抗体上的铽之间发生的 FRET (荧光共振能量跃迁) 随着添加降低肽的磷酸化的 Btk 抑制剂而下降。在 25 $\mu\text{L}$  的最终反应体积中,使 Btk (h) (0.1ng/25 $\mu\text{L}$  反应) 与 50mM Hepes pH7.5、10mM  $\text{MgCl}_2$ 、2mM  $\text{MnCl}_2$ 、2mM DTT、0.2mM  $\text{NaVO}_4$ 、0.01% BSA 和 0.4 $\mu\text{M}$  荧光素聚-GAT 一起孵育。通过添加 ATP 至 25 $\mu\text{M}$  (ATP 的  $K_m$ ) 引发反应。在室温孵育 60 分钟后,通过在室温添加在 60mM EDTA 中浓度为 2nM Tb-PY20 的检测抗体持续 30 分钟,来终止反应。在 Perkin Elmer Envision 上,使用在 340nm 激发以及在 495nm 和 520nm 发射进行检测。示例性 Btk 抑制  $\text{IC}_{50}$  值示于表 1、2 和 3 中。

#### [0707] 实施例 902 Ramos 细胞 Btk 测定

[0708] 可用于测试式 I 化合物的标准细胞 Btk 激酶测定的另一种一般方法如下。以  $0.5 \times 10^7$  个细胞/ml 的密度在测试化合物存在下在 37 $^\circ\text{C}$  培养 Ramos 细胞 1 小时。然后通过用 10  $\mu\text{g/ml}$  抗人 IgM F(ab) $_2$  在 37 $^\circ\text{C}$  培养 5 分钟来刺激细胞。使细胞成丸 (pelleted)、溶解,并且对澄清溶解液进行蛋白测定。对等蛋白量的各样品进行 SDS-PAGE 并且用抗磷酸 Btk (Tyr223) 抗体 (Cell Signaling Technology #3531; Epitomics, cat. #2207-1) 或磷酸 Btk (Tyr551) 抗体 (BD Transduction Labs #558034) 进行蛋白质印迹,以评估 Btk 自磷酸化或者用抗 Btk 抗体 (BD Transduction Labs #611116) 来控制各溶解液中 Btk 的总量。



**[0709] 实施例 903 B 细胞增殖测定**

[0710] 可用于测试式 I 化合物的标准细胞 B 细胞增殖测定的一般方法如下。使用 B 细胞分离试剂盒 (Miltenyi Biotech, Cat#130-090-862) 从 8-16 周龄 Balb/c 小鼠的脾纯化 B 细胞。将测试化合物稀释在 0.25% DMSO 中, 与  $2.5 \times 10^5$  纯化的小鼠脾 B 细胞培养 30 分钟, 然后加入  $10 \mu\text{g/ml}$  抗小鼠 IgM 抗体 (Southern Biotechnology Associates Cat#1022-01), 最终体积是  $100 \mu\text{l}$ 。培养 24 小时后, 加入  $1 \mu\text{Ci}^3\text{H}$ - 胸苷, 将板培养另外 36 小时, 然后使用生产商的关于 SPA $^3\text{H}$  胸苷吸收测定系统 (Amersham Biosciences#RPNQ0130) 的实验方案收集。在 Microbeta 计数器 (Wallace Triplex1450, PerkinElmer) 中计数基于 SPA 珠的荧光。

**[0711] 实施例 904 T 细胞增殖测定**

[0712] 可用于测试式 I 化合物的标准 T 细胞增殖测定的一般方法如下。使用全 T 细胞分离试剂盒 (Miltenyi Biotech, Cat#130-090-861) 从 8-16 周龄 Balb/c 小鼠的脾纯化 T 细胞。将测试化合物稀释在 0.25% DMSO 中并且与  $2.5 \times 10^5$  个纯化的小鼠脾 T 细胞以  $100 \mu\text{l}$  最终体积在透明平底板中一起培养, 所述板用各为  $10 \mu\text{g/ml}$  的抗 CD3 (BD#553057) 和抗 CD28 (BD#553294) 抗体在  $37^\circ\text{C}$  预涂覆 90 分钟。培养 24 小时后, 加入  $1 \mu\text{Ci}^3\text{H}$ - 胸苷, 将板培养另外 36 小时, 然后使用生产商的关于 SPA $^3\text{H}$  胸苷吸收测定系统 (Amersham Biosciences#RPNQ0130) 的实验方案收集。在 Microbeta 计数器 (Wallace Triplex1450, Perkin Elmer) 中计数基于 SPA 珠的荧光。

**[0713] 实施例 905 CD86 抑制测定**

[0714] 可用于测试式 I 化合物的抑制 B 细胞活性的标准测定的一般方法如下。通过红细胞裂解 (BD Pharmingen#555899), 从 8-16 周龄 Balb/c 小鼠的脾纯化总小鼠脾细胞。在透明平底板 (Falcon353072) 中, 使测试化合物稀释在 0.5% DMSO 中并且与  $1.25 \times 10^6$  个脾细胞在  $200 \mu\text{l}$  最终体积中于  $37^\circ\text{C}$  培养 60 分钟。然后加入  $15 \mu\text{g/ml}$  IgM (Jackson ImmunoResearch115-006-020) 来刺激细胞, 并且细胞在  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  中培养 24 小时。培养 24 小时后, 使细胞转移至锥形底透明 96 孔板并且通过以  $1200 \times \text{g} \times 5\text{min}$  离心使细胞成丸。用 CD16/CD32 (BD Pharmingen#553142) 将细胞预封闭 (preblock), 随后用 CD19-FITC (BD Pharmingen#553785)、CD86-PE (BD Pharmingen#553692) 和 7AAD (BD Pharmingen#51-68981E) 进行三重染色。在 BD FACSCalibur 上将细胞分类并且对  $\text{CD19}^+/\text{7AAD}^-$  群设门 (gated)。测量对应于测试化合物的浓度, 设门的群上的 CD86 表面表达的水平。

**[0715] 实施例 906 B-ALL 细胞存活测定**

[0716] 以下是标准 B-ALL (急性淋巴细胞性白血病) 细胞存活研究的方法, 其使用 XTT 读数器来测量活细胞的数量。该测定可以用于测试式 I 化合物抑制培养物中 B-ALL 细胞的存活的能力。可以使用的一种人 B 细胞急性淋巴细胞性白血病系是 SUP-B15, 其为一种可从 ATCC 获得的人前 B 细胞 ALL 系。

[0717] 以  $5 \times 10^5$  个细胞 /ml 的浓度将 SUP-B15 前 B-ALL 细胞接种在多个 96 孔微量滴定板的  $100 \mu\text{l}$  Iscove 培养基 +20% FBS 中。然后加入测试化合物, 使最终浓度是 0.4% DMSO。细胞在  $37^\circ\text{C}$  和 5%  $\text{CO}_2$  下培养至多 3 天。三天后, 将细胞按 1:3 分到含有测试化合物的新鲜 96 孔板中并允许生长另外 3 天。每 24h 的时间段后, 向一个复制 96 孔板加入  $50 \mu\text{l}$  XTT

溶液,并且按照生产商的指示在 2、4 和 20 小时采集吸光度读数。然后采集仅用 DMSO 处理的细胞在本测定的线性范围 (0.5-1.5) 内的 OD 读数,并且测量化合物处理的孔中的活细胞相对于仅 DMSO 处理的细胞的百分率。

[0718] 实施例 907 CD69 全血测定

[0719] 从具有以下限制的健康志愿者获得人血:1 周末用药、不抽烟。通过静脉穿刺入含有肝素钠的 Vacutainer® (Becton, Dickinson and Co.) 管收集血液(约 20ml 以测试 8 种化合物)。

[0720] 将式 I 化合物在 DMSO 中的 10mM 溶液以 1:10 在 100% DMSO 中稀释,然后为了 10 点剂量-响应曲线,在 100% DMSO 中以三倍连续稀释进行稀释。将化合物以 1:10 在 PBS 中进一步稀释,然后将 5.5  $\mu$ l 等分量的各化合物一式两份地加入到 2ml96 孔板;加入 5.5  $\mu$ l 的 10% DMSO/PBS 作为对照和无刺激孔。将人全血-HWB(100  $\mu$ l) 加入到各孔。在混合后,将板在 37°C、5% CO<sub>2</sub>、100%湿度培养 30 分钟。将山羊 F(ab')<sub>2</sub> 抗人 IgM(10  $\mu$ l 500  $\mu$ g/ml 溶液,50  $\mu$ g/ml 最终) 加入到各孔(除了无刺激孔之外)并且混合,将板再培养 20 小时。在 20 小时培养结束时,使样品与荧光标记的抗体在 37°C、5% CO<sub>2</sub>、100%湿度一起培养 30 分钟。包括诱导的对照、用于补偿调节的未染色的和单染色的、以及初始电压设定。然后按照生产商的说明书用 PharM Lyse™ (BD Biosciences Pharmingen) 溶解样品。而后将样品转移至适合于在 LSRII 仪上的 BD Biosciences HTS96 孔系统上工作的 96 孔板。利用 BD Biosciences DIVA 软件获得采集的数据和平均荧光强度值。通过 FACS 分析软件 (Flow Jo) 初步分析结果。测试化合物的抑制浓度 (IC<sub>50</sub>、IC<sub>70</sub>、IC<sub>90</sub> 等) 定义为使经抗-IgM 刺激也呈 CD20 阳性的 CD69 阳性细胞降低例如 50% 时的浓度(在减去无刺激背景的 8 个孔的平均值后,8 个对照孔的平均值)。使用非线性回归曲线拟合,通过 Prism 第 5 版计算 IC<sub>70</sub> 值,结果示于表 1 和 2 中。

[0721] 实施例 908 体外细胞增殖测定

[0722] 采用下列方案通过细胞增殖测定来测量式 I 化合物的功效 (Mendoza 等人 (2002) Cancer Res. 62:5485-5488)。CellTiter-Glo® 发光细胞存活力测定(包括试剂和方案)是商购获得的 (Promega Corp., Madison, WI, Technical Bulletin TB288)。该测定评估化合物进入细胞和抑制细胞增殖的能力。测定原理是基于通过定量均质测定中存在的 ATP 来确定存在的活细胞数目,其中加入 Cell-Titer Glo 试剂导致细胞溶解并通过荧光素酶反应产生发光信号。发光信号与存在的 ATP 的量成比例。

[0723] 将一组 B 细胞淋巴瘤细胞系 (BJAB、SUDHL-4、TMD8、OCI-Ly10、OCI-Ly3、WSU-DLCL2) 放入到正常生长培养基的 384 孔板中,并将连续稀释的 BTK 抑制剂或 DMSO 单独加入到各孔中。孵育 96 小时后通过 CellTiter-Glo® (Promega) 评估细胞存活力。数据可以表示为 BTK 抑制剂处理的细胞相对于 DMSO 处理的对照细胞的相对细胞存活力。数据点是各剂量水平的重复 4 次的平均数。误差线表示平均数的 SD。

[0724] 程序:第 1 天 - 接种细胞板(来自 Falcon#353962 的带盖的 384 孔黑色、透明底(微透明)的 TC 板),收获细胞,以 1000 个细胞/54  $\mu$ l/孔接种细胞到 384 孔细胞板中进行 3 天测定。细胞培养基:RPMI 或 DMEM 高葡萄糖、10%胎牛血清、2mM L-谷氨酰胺,P/S。37°C、5% CO<sub>2</sub> 下孵育 0/N。

[0725] 第 2 天 - 将药物加入到细胞中, 稀释化合物, DMSO 板 (连续 1:2, 9 个点), 在 96 孔板的第 2 栏中加入 10mM 的 20  $\mu$  l 化合物。对于总共 9 个点, 在整个板中使用 Precision 进行 1:2 连续稀释 (10  $\mu$  l + 20  $\mu$  l 100% DMSO)。培养基板为来自 Nunc (目录编号 249946) 的 96 孔圆锥形底聚丙烯板 (1:50 稀释)。将 147  $\mu$  l 培养基加入到所有孔中。使用 Rapidplate 将来自 DMSO 板每个孔中的 3  $\mu$  l DMSO+ 化合物转移到培养基板上每个相应孔中。

[0726] 将药物加入到细胞中, 细胞板 (1:10 稀释), 将 6  $\mu$  l 培养基 + 化合物直接加入到细胞 (在细胞上已有 54  $\mu$  l 培养基) 中。37°C、5% CO<sub>2</sub> 下在不经常打开的培养箱中孵育 3 天。

[0727] 第 5 天 - 孵育板, 室温解冻 Thaw Cell Titer Glo 缓冲液。将细胞板从 37°C 移出并平衡至室温约 30 分钟。将 Cell Titer Glo 缓冲液加入到 Cell Titer Glo 底物中 (瓶对瓶)。将 30  $\mu$  l Cell Titer Glo 试剂 (Promega 目录编号 G7572) 加入到每孔细胞中。在板振荡器上放置约 30 分钟。在 Analyst HT 板读数器上读取发光 (半秒 / 孔)。

[0728] 细胞存活力测定和联合测定: 将细胞以 1000-2000 个细胞 / 孔接种到 384 孔板中 16h。第二天, 在 96 孔板中在 DMSO 中进行 9 次 1:2 的化合物连续稀释。使用 Rapidplate 自动设备 (Zymark Corp., Hopkinton, MA) 将化合物进一步在生长培养基中稀释。然后将稀释的化合物以一式四份加入到 384 孔细胞板的孔中并在 37°C 和 5% CO<sub>2</sub> 下孵育。4 天后, 根据制造商的说明书使用 Cell-Titer Glo (Promega) 发光来测量活细胞的相对数目并在 Wallac Multilabel 读数器 (PerkinElmer, Foster City) 上读取。使用 Prism<sup>®</sup> 4.0 软件 (GraphPad, San Diego) 计算 EC<sub>50</sub> 值。在所有测定中同时或相隔 4 小时 (一种在另一种之前) 加入式 I 化合物和化疗剂。

[0729] 额外示例性体外细胞增殖测定包括下列步骤:

[0730] 1. 将在培养基中含有约 10<sup>4</sup> 个细胞的 100  $\mu$  l 细胞培养物的等分试样放入 384 孔不透明壁板的各孔中。

[0731] 2. 制备含有培养基而不含细胞的对照孔。

[0732] 3. 将化合物加入到实验孔中并孵育 3-5 天。

[0733] 4. 将板平衡至室温约 30 分钟。

[0734] 5. 加入与各孔中存在的细胞培养基体积相同的体积的 CellTiter-Glo 试剂。

[0735] 6. 在定轨振荡器上混合内容物 2 分钟以诱导细胞溶解。

[0736] 7. 将板在室温孵育 10 分钟以稳定发光信号。

[0737] 8. 记录发光并在图中报道为 RLU = 相对发光单位。

[0738] 尽管已通过示例说明和实施例在一定程度上详细描述了前述发明从而用于理解清晰的目的, 但描述和实施例不应理解为限制本发明的范围。因此, 可将所有合适修改和等价物视为落入由以下权利要求所限定的本发明的范围内。本申请中引用的所有专利和科学文献的公开内容均通过引用的方式整体明确地并入本申请。

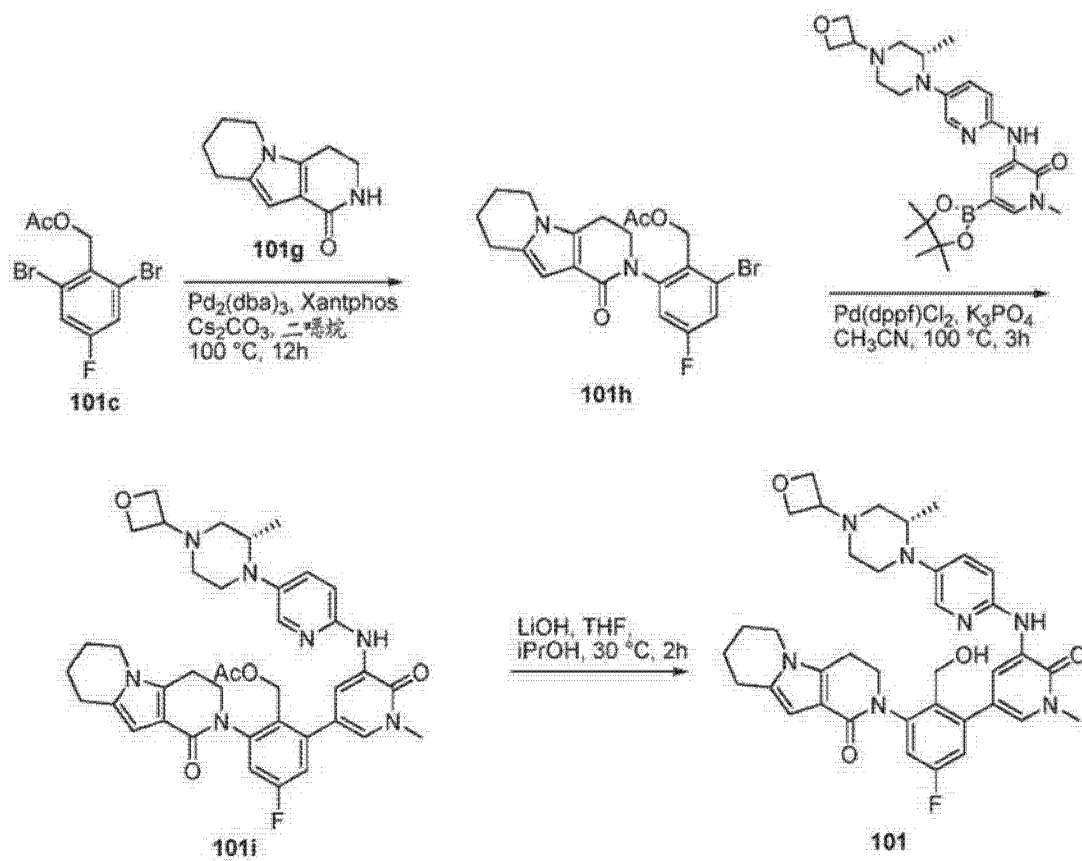


图 1

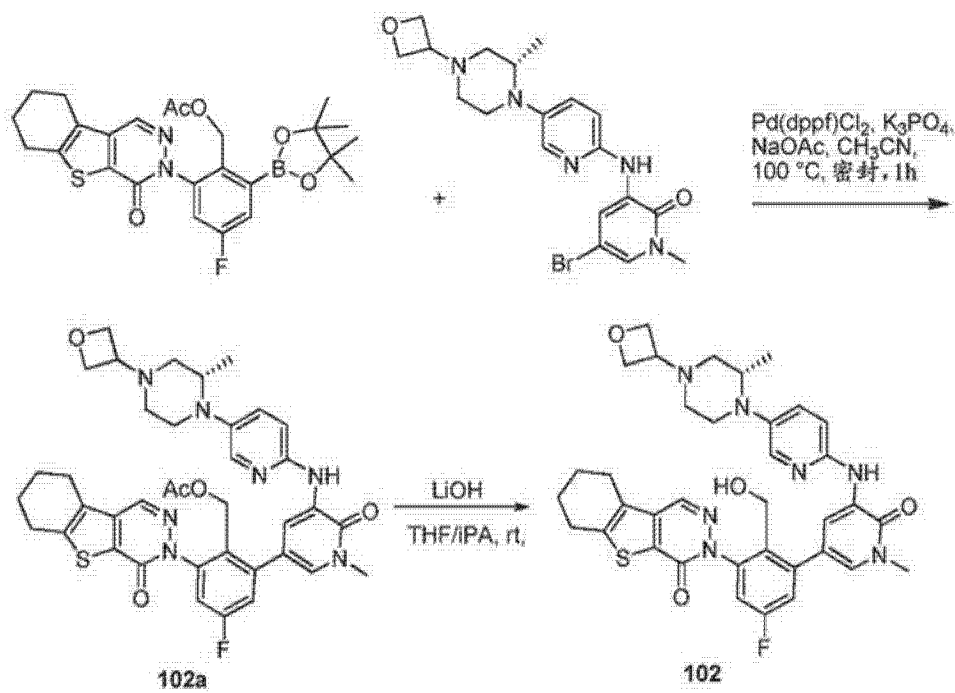


图 2

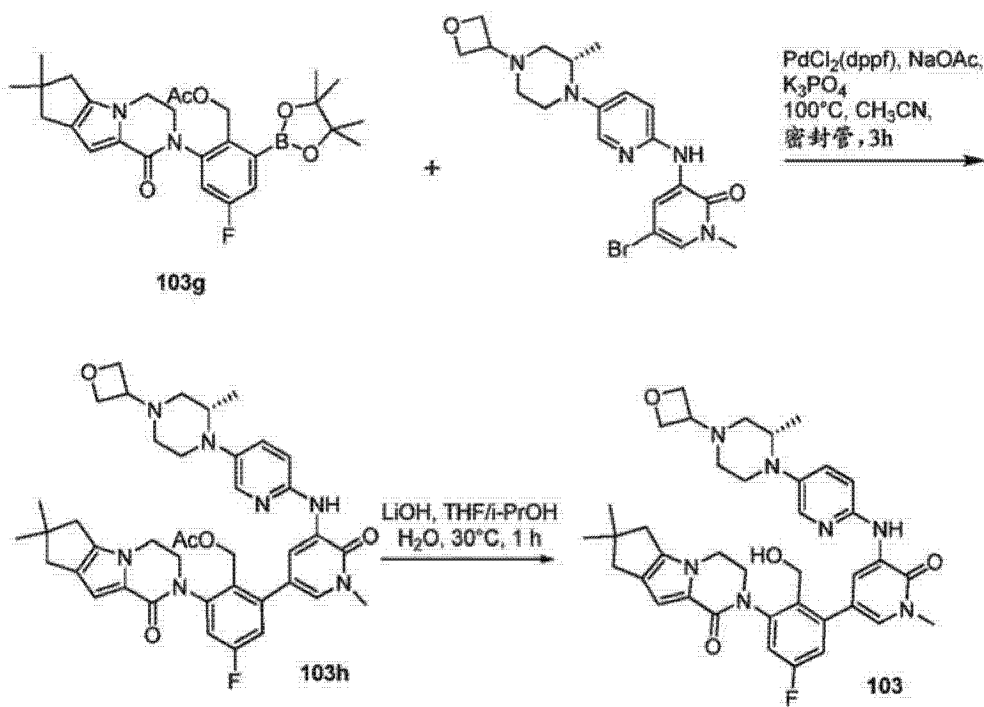


图 3

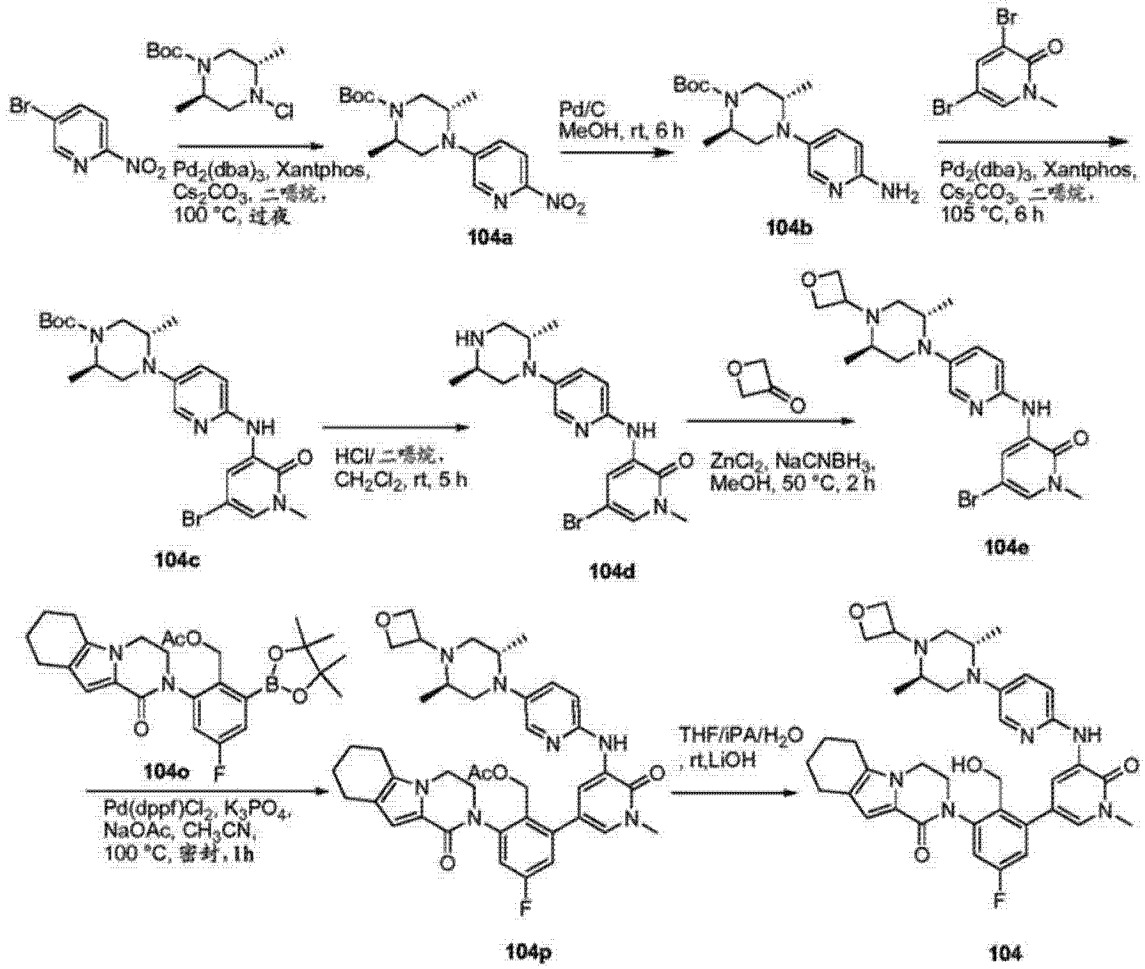


图 4a

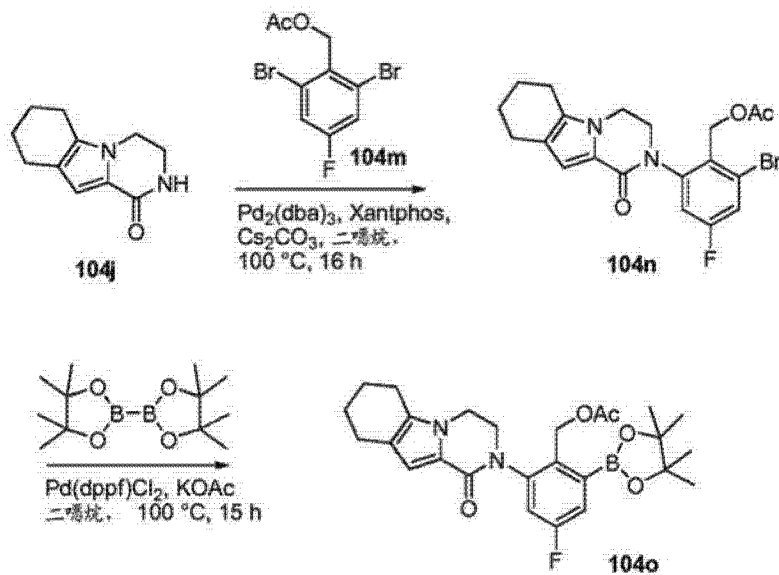


图 4b

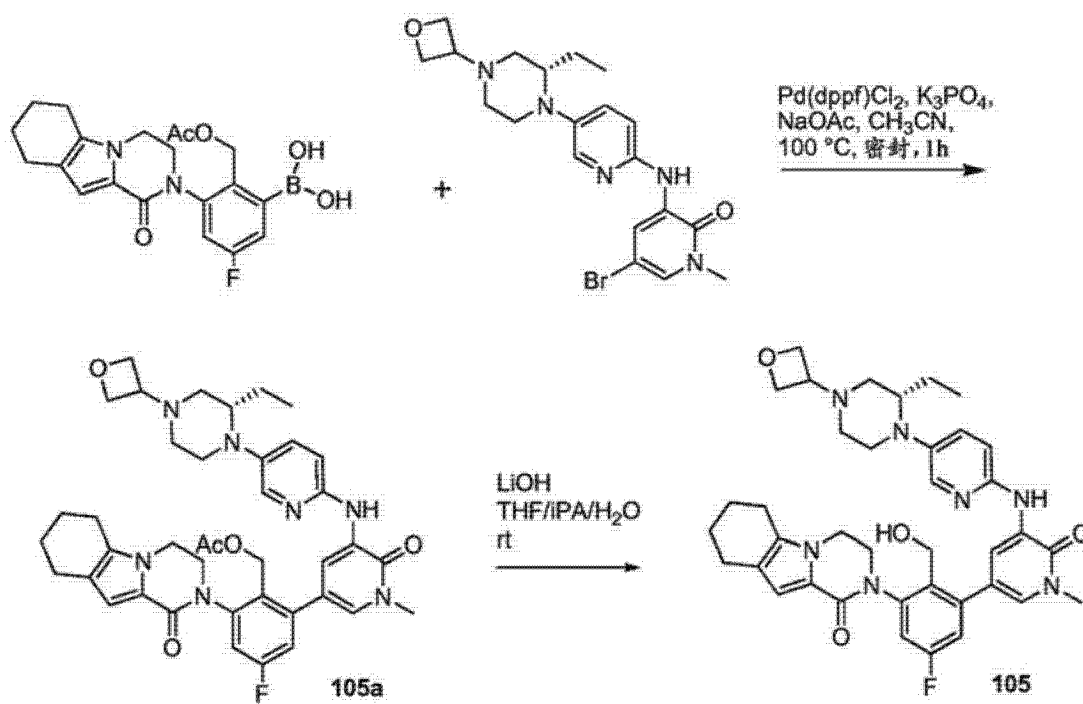


图 5

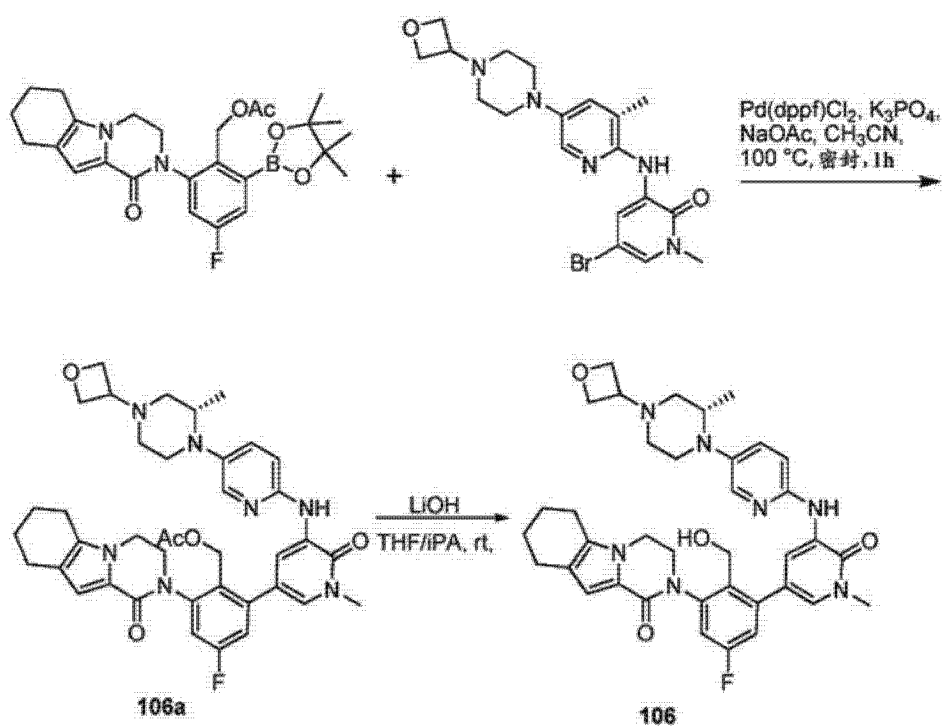


图 6

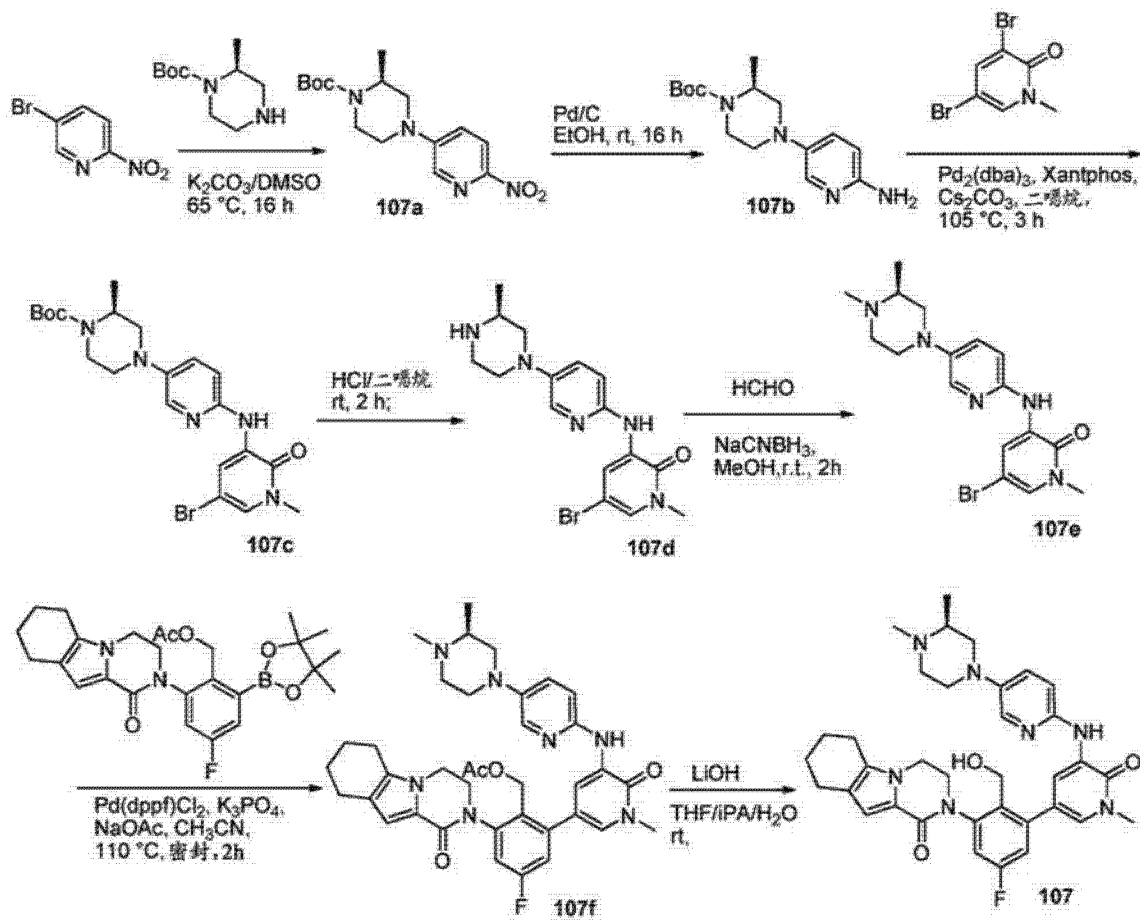


图 7



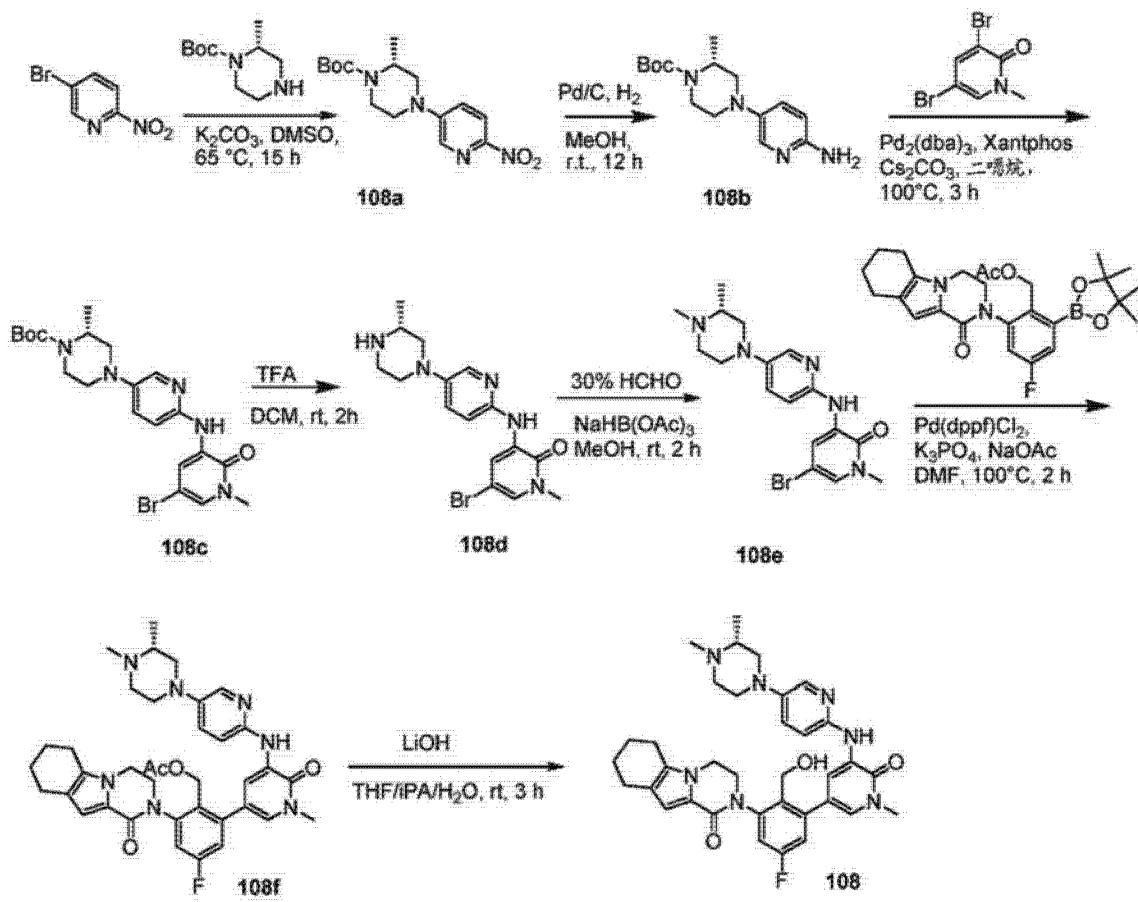


图 8

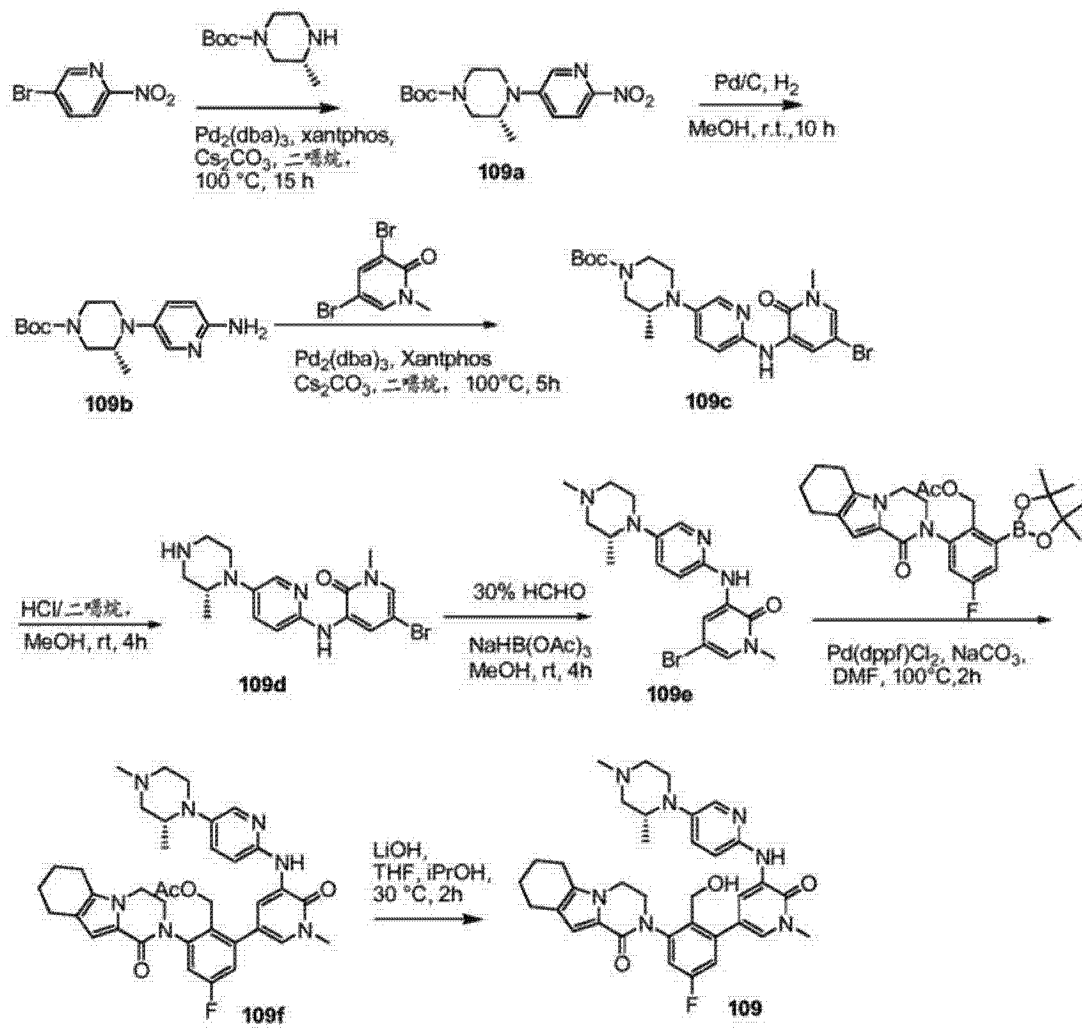


图 9

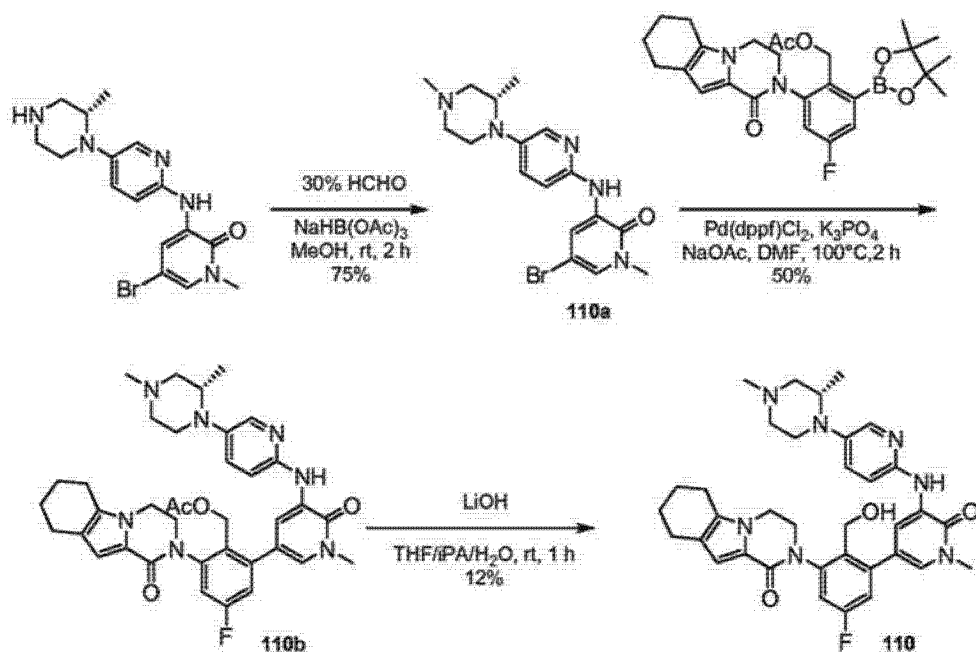


图 10

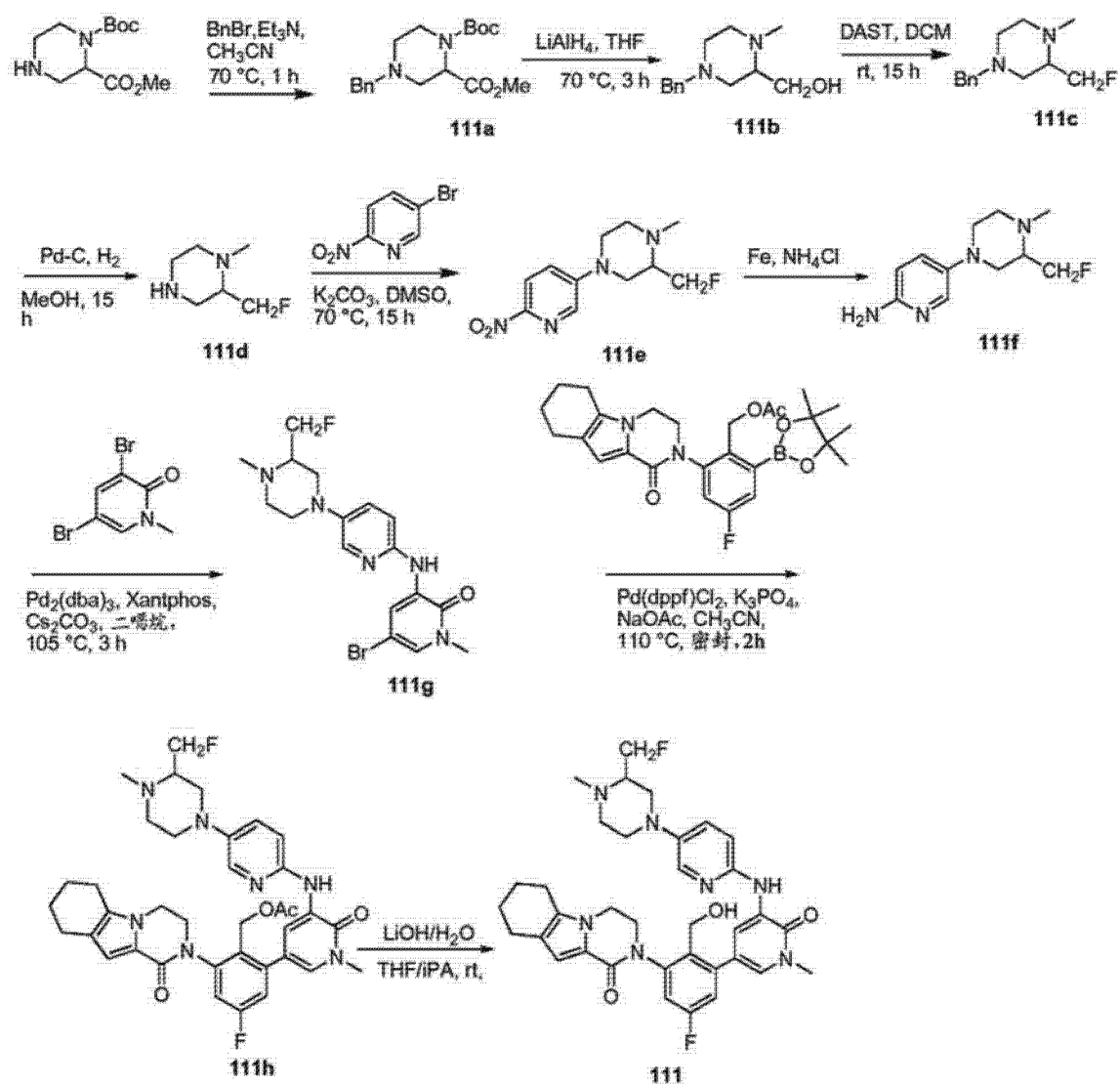


图 11

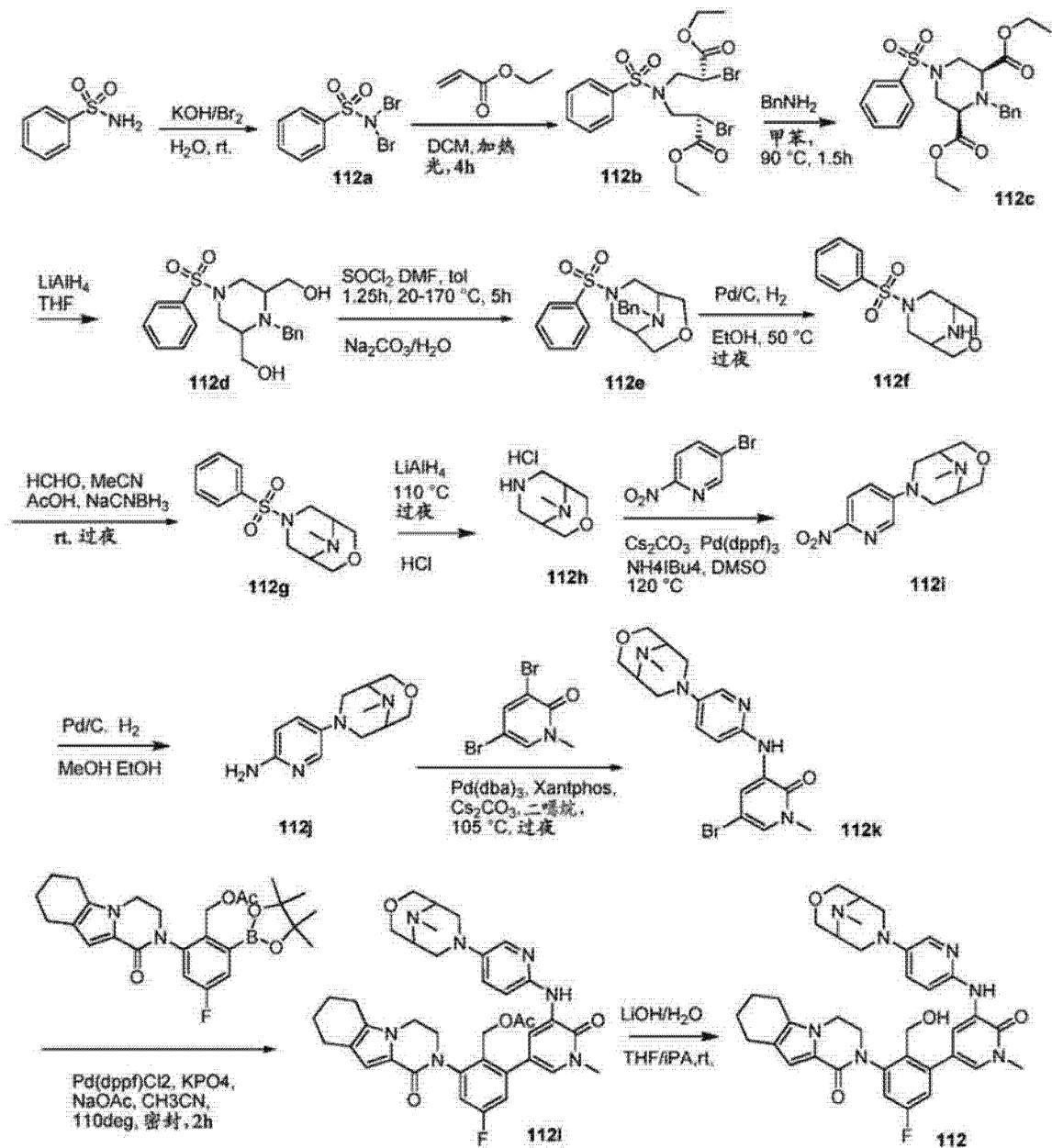


图 12

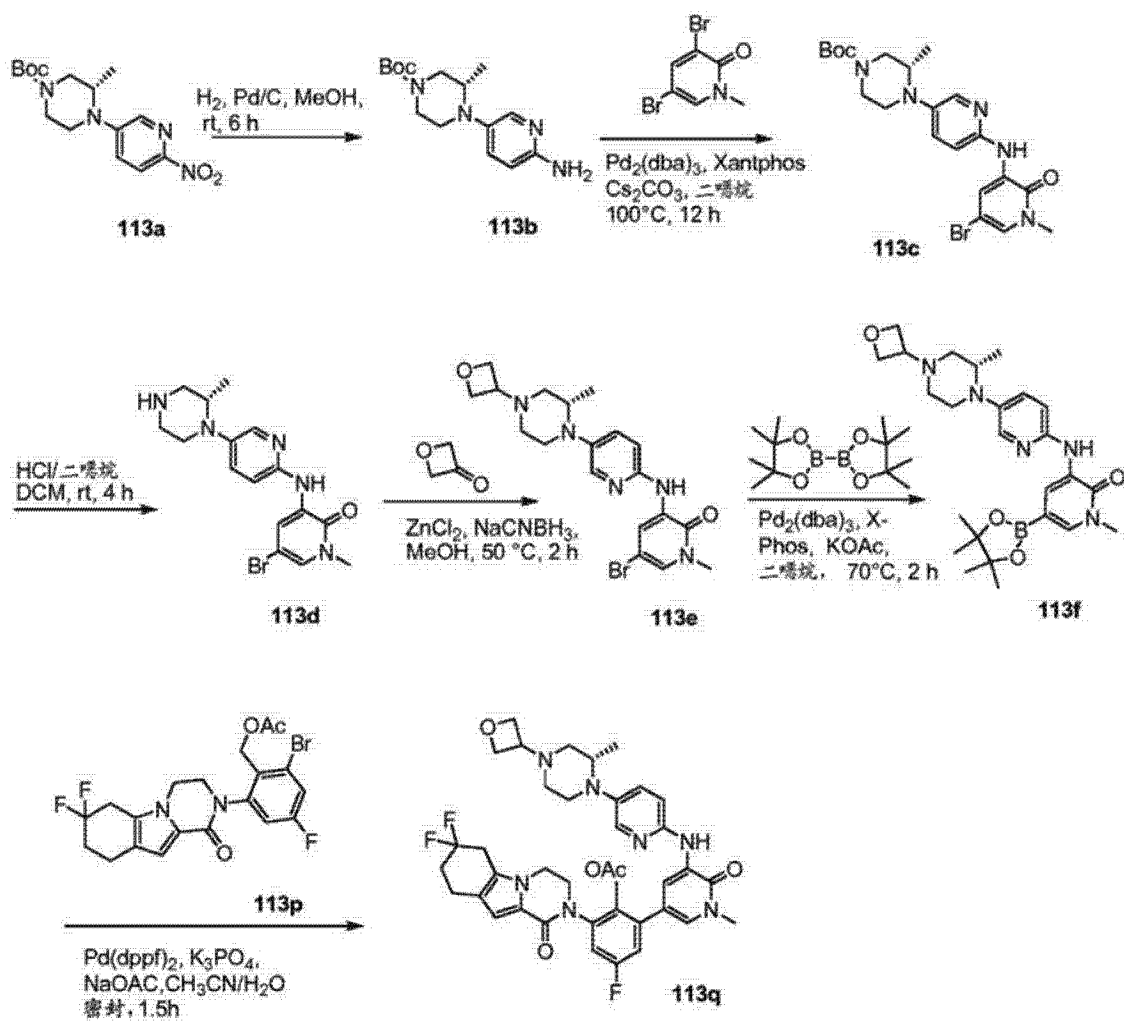


图 13

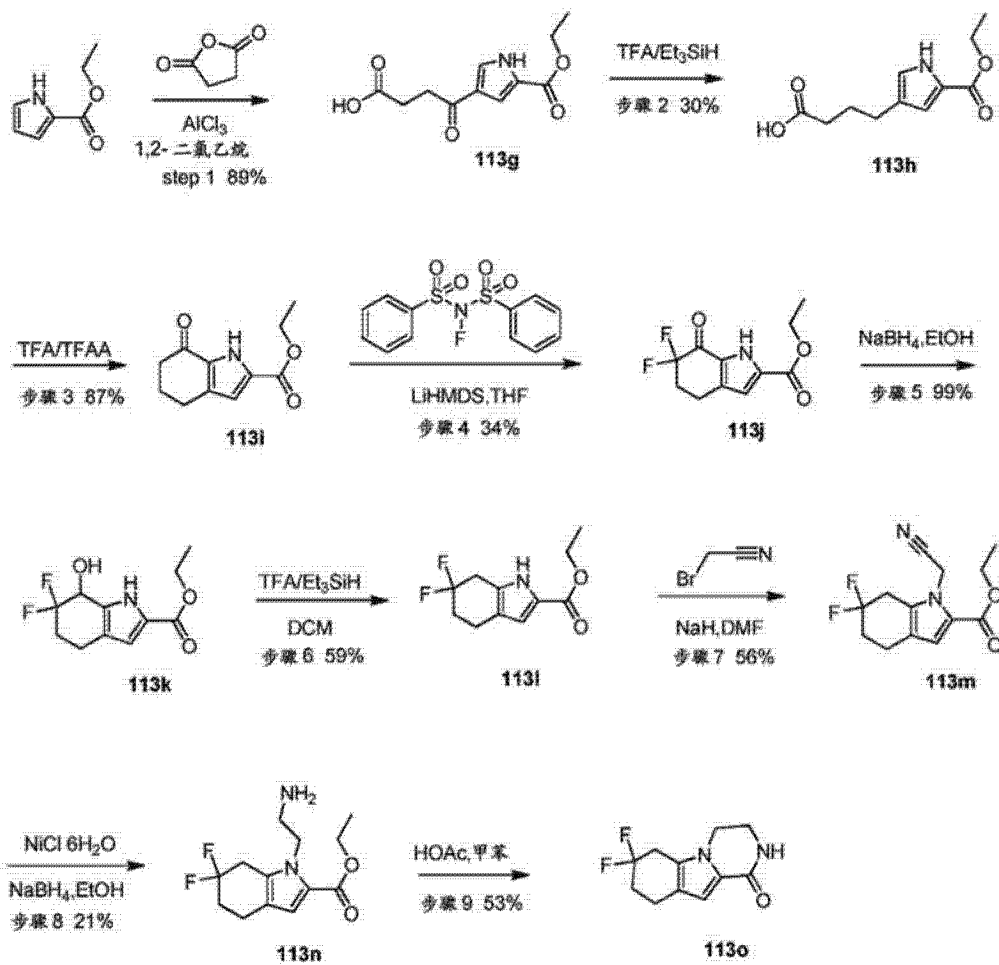


图 14

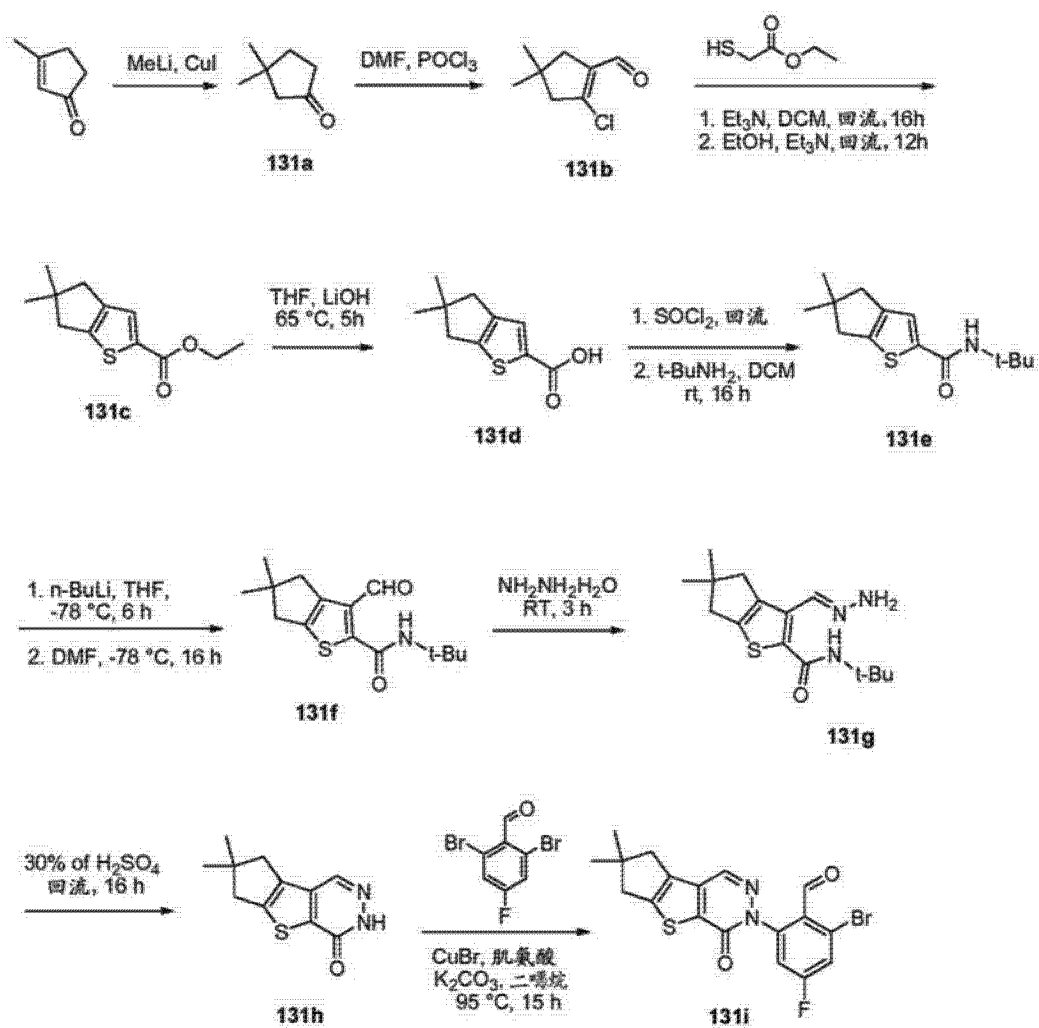


图 15