

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101300251 B

(45) 授权公告日 2011. 08. 03

(21) 申请号 200680040812. 2

A61K 31/4184(2006. 01)

(22) 申请日 2006. 08. 28

A61P 35/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

60/714, 337 2005. 09. 06 US

60/786, 244 2006. 03. 27 US

(56) 对比文件

CN 1558761 A, 2004. 12. 29, 说明书第 1 页第 7 行至第 5 页第 2 行.

WO 2004014899 A1, 2004. 02. 19, 说明书第 1 页第 5 行至第 9 页第 16 行.

CN 1496257 A, 2004. 05. 12, 说明书第 4 页第 23 行至第 9 页第 27 行.

(85) PCT 申请进入国家阶段日

2008. 04. 30

(86) PCT 申请的申请数据

PCT/US2006/033683 2006. 08. 28

审查员 宫方斌

(87) PCT 申请的公布数据

W02007/030361 EN 2007. 03. 15

(73) 专利权人 史密丝克莱恩比彻姆公司

地址 美国宾夕法尼亚州

(72) 发明人 M·张 K·A·埃米特

J·M·萨洛维奇

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 刘冬 李连涛

(51) Int. Cl.

C07D 409/04(2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 55 页

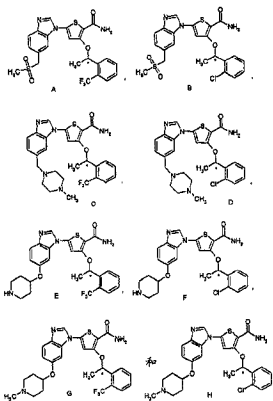
序列表 1 页

(54) 发明名称

作为 PLK 抑制剂的苯并咪唑噻吩化合物

(57) 摘要

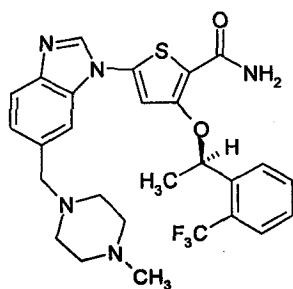
本发明提供(式 A-H) 苯并咪唑噻吩化合物、包含它们的药用组合物、制备它们的方法和它们



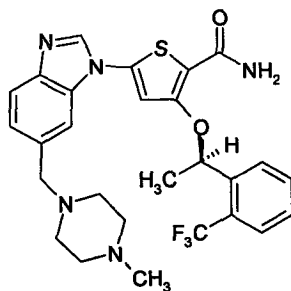
作为药物的应用。

CN 101300251 B

1. 一种下式化合物：



2. 一种下式化合物的药学上可接受的盐：



3. 一种药用组合物，其包含依据权利要求 1 的化合物或依据权利要求 2 的盐和药学上可接受的载体或赋形剂。

4. 权利要求 3 的药用组合物，其中相对于相应的 S 异构体，所述组合物富含所述结构式的 R 对映异构体。

5. 权利要求 3 的药用组合物，其中相对于相应的 S 异构体，所述组合物包含至少 90% 重量的所述结构式的 R 异构体。

作为 PLK 抑制剂的苯并咪唑噻吩化合物

[0001] 发明背景

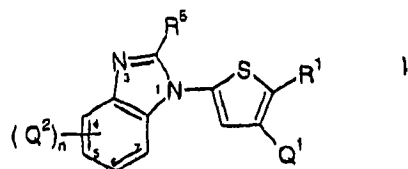
[0002] 本发明涉及新的苯并咪唑噻吩化合物、包含这些化合物的药用制剂和这些化合物在治疗中的应用。

[0003] Polo-样激酶(“PLK”)是在细胞周期的调节过程中起关键作用的进化中保守的丝氨酸/苏氨酸激酶。PLK 在从酵母至哺乳动物细胞的不同有机体中的有丝分裂的进口和出口中起作用。PLK 包括 PLK1、PLK2、PLK3 和 PLK4。

[0004] PLK1 的过表达似乎与肿瘤(包括癌症)细胞有强烈关联。一项已经发表的研究显示,在 > 80% 肺和乳腺肿瘤中具有高水平的 PLK1 RNA 表达,而在邻近的正常组织很少甚至不表达。多项研究已经显示 PLK 表达与许多类型的癌症的病理级别(histological grade)和预后之间的相关性。已发现在 PLK-阳性细胞的百分率与卵巢癌和子宫内膜癌的病理级别之间显著的相关性($p < 0.001$)。这些研究提示,PLK 在受侵袭的子宫内膜癌细胞中强烈表达并且该表达可反映子宫内膜癌的恶性程度和增殖程度。使用 RT-PCR 分析,与相应的正常组织比较,在 97% 的食道癌和 73% 的胃癌中检测到 PLK 过表达。再者,在食道癌中,具有高水平的 PLK 过表达的患者表示其预后比低水平的 PLK 过表达的患者显著地差。在头颈癌中,在大多数肿瘤中观察到升高的 PLK1 的 mRNA 表达;Kaplan-Meier 分析显示,那些具有中等水平的 PLK1 表达的患者生存时间比那些具有高水平的 PLK1 表达的患者长。对非-小细胞肺癌的患者分析显示与 PLK1 表达相关的类似的结果。

[0005] 史密丝克莱恩比彻姆(SmithKline Beecham)的 PCT 公布号 W02004/014899 公开了新的式(I)苯并咪唑噻吩化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或生理学上的功能衍生物:

[0006]



[0007] 其中:

[0008] R^1 选自 H、烷基、烯基、炔基、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)N(R^7)OR^8$ 、 $-C(O)N(R^7)-R^2-OR^8$ 、 $-C(O)N(R^7)-Ph$ 、 $-C(O)N(R^7)-R^2-Ph$ 、 $-C(O)N(R^7)C(O)R^8$ 、 $-C(O)N(R^7)CO_2R^8$ 、 $-C(O)N(R^7)C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)N(R^7)S(O)_2R^8$ 、 $-R^2-OR^7$ 、 $-R^2-O-C(O)R^7$ 、 $-C(S)R^7$ 、 $-C(S)NR^7R^8$ 、 $-C(S)N(R^7)-Ph$ 、 $-C(S)N(R^7)-R^2-Ph$ 、 $-R^2-SR^7$ 、 $-C(=NR^7)NR^7R^8$ 、 $-C(=NR^7)N(R^8)-Ph$ 、 $-C(=NR^7)N(R^8)-R^2-Ph$ 、 $-R^2-NR^7R^8$ 、 $-CN$ 、 $-OR^7$ 、 $-S(O)_fR^7$ 、 $-S(O)_2NR^7R^8$ 、 $-S(O)_2N(R^7)-Ph$ 、 $-S(O)_2N(R^7)-R^2-Ph$ 、 $-NR^7R^8$ 、 $N(R^7)-Ph$ 、 $-N(R^7)-R^2-Ph$ 、 $-N(R^7)-SO_2R^8$ 和 Het;

[0009] Ph 是由选自卤代、烷基、 $-OH$ 、 $-R^2-OH$ 、 $-O-$ 烷基、 $-R^2-O-$ 烷基、 $-NH_2$ 、 $-N(H)$ 烷基、 $-N(烷基)_2$ 、 $-CN$ 和 $-N_3$ 的取代基任选取代 1-3 次的苯基;

[0010] Het 是具有 1、2、3 或 4 个选自 N、O 和 S 的杂原子的 5-7 元杂环,或具有 1、2、3 或 4 个选自 N、O 和 S 的杂原子的 5-6 元杂芳基,所述杂环或杂芳基各自由选自卤代、烷基、氧代、 $-OH$ 、 $-R^2-OH$ 、 $-O-$ 烷基、 $-R^2-O-$ 烷基、 $-NH_2$ 、 $-N(H)$ 烷基、 $-N(烷基)_2$ 、 $-CN$ 和 $-N_3$ 的取代基

任选取代 1-2 次；

[0011] Q^1 是下式的基团： $-(R^2)_a-(Y^1)_b-(R^2)_c-R^3$

[0012] a、b 和 c 相同或不同且各自独立为 0 或 1，并且至少 a 或 b 之一是 1；

[0013] n 是 0、1、2、3 或 4；

[0014] Q^2 是下式的基团： $-(R^2)_{aa}-(Y^2)_{bb}-(R^2)_{cc}-R^4$

[0015] 或两个邻近的 Q^2 基团选自烷基、烯基、 $-OR^7$ 、 $-S(O)_fR^7$ 和 $-NR^7R^8$ ，并且与和它们相连接的碳原子一起形成 C_{5-6} 环烷基、 C_{5-6} 环烯基、苯基、具有 1 或 2 个选自 N、O 和 S 的杂原子的 5-7 元杂环或具有 1 或 2 个选自 N、O 和 S 的杂原子的 5-6 元杂芳基；

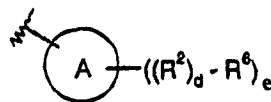
[0016] aa、bb 和 cc 相同或不同且各自独立为 0 或 1；

[0017] 每一 Y^1 和 Y^2 相同或不同且独立选自 $-O-$ 、 $-S(O)_f-$ 、 $-N(R^7)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-CO_2-$ 、 $-C(O)N(R^7)-$ 、 $-C(O)N(R^7)S(O)_2-$ 、 $-OC(O)N(R^7)-$ 、 $-OS(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R^7)-$ 、 $-S(O)_2N(R^7)C(O)-$ 、 $-N(R^7)S(O)_2-$ 、 $-N(R^7)C(O)-$ 、 $-N(R^7)CO_2-$ 和 $-N(R^7)C(O)N(R^7)-$ ；

[0018] 每一 R^2 相同或不同且独立选自亚烷基、亚烯基和亚炔基；

[0019] 每一 R^3 和 R^4 相同或不同且各自独立选自 H、卤代、烷基、烯基、炔基、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-C(S)R^7$ 、 $-C(S)NR^7R^8$ 、 $-C(=NR^7)R^8$ 、 $-C(=NR^7)NR^7R^8$ 、 $-CR^7=N-OR^7$ 、 $-OR^7$ 、 $-S(O)_fR^7$ 、 $-S(O)_2NR^7R^8$ 、 $-NR^7R^8$ 、 $-N(R^7)C(O)R^8$ 、 $-N(R^7)S(O)_2R^8$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-N_3$ 和式 (ii) 的基团：

[0020]



[0021] 其中：

[0022] 环 A 选自 C_{5-10} 环烷基、 C_{5-10} 环烯基、芳基、具有 1、2 或 3 个选自 N、O 和 S 的杂原子的 5-10 元杂环或具有 1、2 或 3 个选自 N、O 和 S 的杂原子的 5-10 元杂芳基

[0023] 每一 d 是 0 或 1；

[0024] e 是 0、1、2、3 或 4；

[0025] 每一 R^6 相同或不同且独立选自 H、卤代、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、Ph、Het、 $-CH(OH)-R^2OH$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-CO_2-R_2-Ph$ 、 $-CO_2-R^2-Het$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)CO_2R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)N(R^7)S(O)_2R^7$ 、 $-C(S)R^7$ 、 $-C(S)NR^7R^8$ 、 $-C(=NR^7)R^8$ 、 $-C(=NR^7)NR^7R^8$ 、 $-CR^7=N-OR^8$ 、 $=O$ 、 $-OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-OC(O)Ph$ 、 $-OC(O)Het$ 、 $-OC(O)NR^7R^8$ 、 $-O-R^2-S(O)_2R^7$ 、 $-S(O)_fR^7$ 、 $-S(O)_2NR^7R^8$ 、 $-S(O)_2Ph$ 、 $-S(O)_2Het$ 、 $-NR^7R^8$ 、 $-N(R^7)C(O)R^8$ 、 $-N(R^7)CO_2R^8$ 、 $-N(R^7)-R^2-CO_2R^8$ 、 $-N(R^7)C(O)NR^7R^8$ 、 $-N(R^7)-R^2-C(O)NR^7R^8$ 、 $-N(R^7)C(O)Ph$ 、 $-N(R^7)C(O)Het$ 、 $-N(R^7)Ph$ 、 $-N(R^7)Het$ 、 $-N(R^7)C(O)NR^7-R^2-NR^7R^8$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)Ph$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)Het$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)-R^2-Het$ 、 $-N(R^7)S(O)_2R^8$ 、 $-N(R^7)-R^2-S(O)_2R^8$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 和 $-N_3$ ；

[0026] 其中当定义其中 b 是 1 和 c 是 0 的 Q^1 时， R^3 不是卤代、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-C(S)R^7$ 、 $-C(S)NR^7R^8$ 、 $-C(=NR^7)R^8$ 、 $-C(=NR^7)NR^7R^8$ 、 $-CR^7=N-OR^7$ 、 $-OR^7$ 、 $-S(O)_fR^7$ 、 $-S(O)_2NR^7R^8$ 、 $-NR^7R^8$ 、 $-N(R^7)C(O)R^8$ 、 $-N(R^7)S(O)_2R^8$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 或 $-N_3$ ；

[0027] 其中当定义其中 bb 是 1 和 cc 是 0 的 Q^2 时， R^4 不是卤代、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-CO_2R^7$ 、 $-C(S)R^7$ 、 $-C(S)NR^7R^8$ 、 $-C(=NR^7)R^8$ 、 $-C(=NR^7)NR^7R^8$ 、 $-CR^7=N-OR^7$ 、 $-OR^7$ 、 $-S(O)$

fR^7 、 $-S(O)_2NR^7R^8$ 、 $-NR^7R^8$ 、 $-N(R^7)C(O)R^8$ 、 $-N(R^7)S(O)_2R^8$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 或 $-N_3$ ；

[0028] R^5 选自 H、卤代、烷基、环烷基、 OR^7 、 $-S(O)_fR^7$ 、 $-NR^7R^8$ 、 $-NHC(O)R^7$ 、 $-NHC(O)NR^7R^8$ 和 $-NHS(O)_2R^7$ ；

[0029] f 是 0、1 或 2；和

[0030] 每一 R^7 和每一 R^8 相同或不同且各自独立选自 H、烷基、烯基、炔基、环烷基和环烯基；

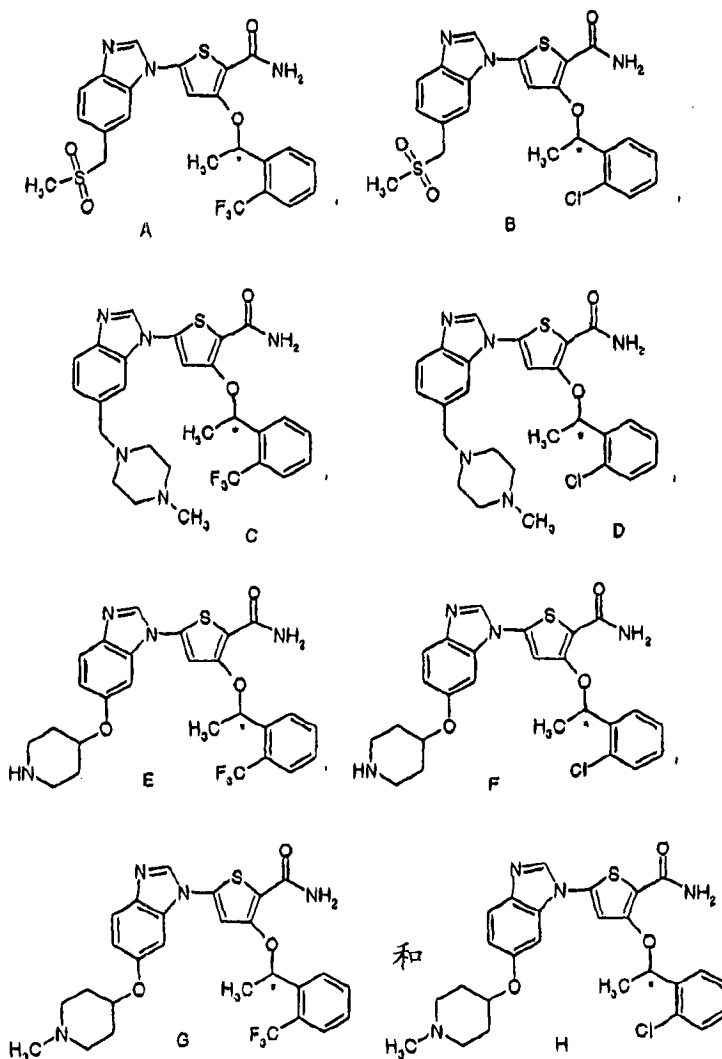
[0031] 其中当 R^1 是 $-CO_2CH_3$ 和 n 是 0 时， Q^1 不是 $-OH$ 。

[0032] 还公开包含这些化合物的药用组合物、制备它们的方法和应用这些化合物治疗由 PLK 介导的病症的方法。

[0033] 发明简述

[0034] 依据本发明的第一方面，本文提供选自下式的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物：

[0035]



[0036] 其中 * 指手性碳。

[0037] 另一方面，本文提供选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的富含对映体的化合物，其中手性

碳的立体化学是 R。

[0038] 本发明的第三方面,提供包含选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物的药用组合物。在一个实施方案中,所述药用组合物还包含药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0039] 本发明的第四方面,提供在有需要的哺乳动物中治疗由 PLK 介导的病症的方法。所述方法包括给予所述哺乳动物有效治疗量的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0040] 本发明的第五方面,提供在有需要的哺乳动物中治疗易感肿瘤的方法。所述方法包括给予所述哺乳动物有效治疗量的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物。所述易感肿瘤可选自乳腺癌、结肠癌、包括小细胞肺癌和非小细胞肺癌在内的肺癌、前列腺癌、子宫内膜癌、胃癌、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、鳞状细胞癌、头颈部癌、食道癌、肝细胞癌和血液的恶性疾病,诸如急性白血病和侵袭性淋巴瘤。

[0041] 本发明的第六方面,提供在有需要的哺乳动物中治疗乳腺癌的方法。所述方法包括给予所述哺乳动物有效治疗量的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0042] 本发明的第七方面,提供在有需要的哺乳动物中治疗卵巢癌的方法。所述方法包括给予所述哺乳动物有效治疗量的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0043] 本发明的第八方面,提供在有需要的哺乳动物中治疗非小细胞肺癌的方法。所述方法包括给予所述哺乳动物有效治疗量的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0044] 本发明的第九方面,提供在有需要的哺乳动物中治疗前列腺癌的方法。所述方法包括给予所述哺乳动物有效治疗量的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0045] 本发明的第十方面,提供在有需要的哺乳动物中治疗血液的恶性疾病的方法。所述方法包括给予所述哺乳动物有效治疗量的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0046] 在本发明的另一方面,提供治疗以不适当的细胞增殖为特征的病症的方法。所述方法包括使细胞与有效治疗量的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物接触。

[0047] 在另一方面,本发明提供抑制细胞增殖的方法。所述方法包括使细胞与一定量的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物接触。

[0048] 在另一方面,本发明提供抑制细胞的有丝分裂的方法。所述方法包括给予细胞一定量的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0049] 在另一方面,本发明提供用于治疗的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0050] 在还一方面,本发明提供用于在有需要的哺乳动物中治疗由 PLK 介导的病症的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0051] 在还一方面,本发明提供用于在哺乳动物中治疗易感肿瘤的、选自 A、B、C、D、E、F、

G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0052] 在还一方面,本发明提供用于在哺乳动物中治疗乳腺癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌或血液的恶性疾病的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0053] 在另一方面,本发明提供用于治疗以不适当的细胞增殖为特征的病症的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0054] 在还一方面,本发明提供用于抑制细胞增殖的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0055] 在还一方面,本发明提供用于抑制细胞的有丝分裂的、选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0056] 在还一方面,本发明提供选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物,在制备用于在哺乳动物中治疗由 PLK 介导的病症的药物中的应用。

[0057] 在还一方面,本发明提供选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物,在制备用于在哺乳动物中治疗易感肿瘤的药物中的应用。

[0058] 在还一方面,本发明提供选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物,在制备用于在哺乳动物中治疗乳腺癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌或血液的恶性疾病的药物中的应用。

[0059] 在还一方面,本发明提供选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物,在制备用于在哺乳动物中治疗以不适当的细胞增殖为特征的病症的药物中的应用。

[0060] 在还一方面,本发明提供选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物,在制备用于抑制细胞增殖的药物中的应用。

[0061] 在还一方面,本发明提供选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物,在制备用于抑制细胞的有丝分裂的药物中的应用。

[0062] 在还一方面,本发明提供包含选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物及其药学上可接受的盐或溶剂化物的药用组合物,其用于在哺乳动物中治疗易感肿瘤,诸如乳腺癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌和血液的恶性疾病。

[0063] 发明详述

[0064] 如本文所用的,“本发明化合物”或“选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物”意指选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的化合物,或选自 A、B、C、D、E、F、G 和 H 的富含对映体的化合物,或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0065] 如本文所用的,“选自 A-1、B-1、C-1、D-1、E-1、F-1、G-1 和 H-1 的化合物”意指选自“选自 A-1、B-1、C-1、D-1、E-1、F-1、G-1 和 H-1 的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物”。

[0066] 如本文所用的,术语“任选”意指随后描述的事件可发生或可不发生,并且包括发生的事件以及不发生的事件两者。

[0067] 本发明化合物以立体异构形式存在(如它们含一个或多个手性或不对称碳原子)。术语“手性”指不是镜象重合的分子。术语“非手性”指的是镜象重合的分子。

[0068] 术语“立体异构体”指具有普通化学构成但在原子或基团的空间排列上不同的化

合物。立体异构体可为光学异构体或几何异构体。光学异构体包含对映异构体和非对映体。“对映体”是一对包含手性碳原子的光学异构体之一，其分子构型具有左-和右-手（手性）形式。即，对映体”指一对彼此不镜象重合的化合物的光学异构体之一。“非对映体”是一对具有两个或更多个不对称中心的化合物的光学异构体之一，并且其分子不是彼此镜象重合的。手性中心的命名由(R)-(S)系统确定。具体的化合物依据所述系统是否被指定为“R”或“S”对映体，其取决于结合于手性碳的原子或基团的性质。

[0069] 对映体在其平面偏振光行为，即它们的光学活性上表现不同。平面偏振光以顺时针方向旋转的对映体被称为右旋性的并被以符号“d”或“(+)”指定为正向旋转。平面偏振光以逆时针方向旋转的对映体被称为左旋性的并被以符号“l”或“(-)”指定为负向旋转。对映体的构型与平面偏振光旋转的方向之间没有相关性。(R)和(S)称号与平面偏振光旋转的方向之间也没有必然的相关性。可采用常规技术测定本发明化合物的对映体的光学活性或平面偏振光旋转的方向。

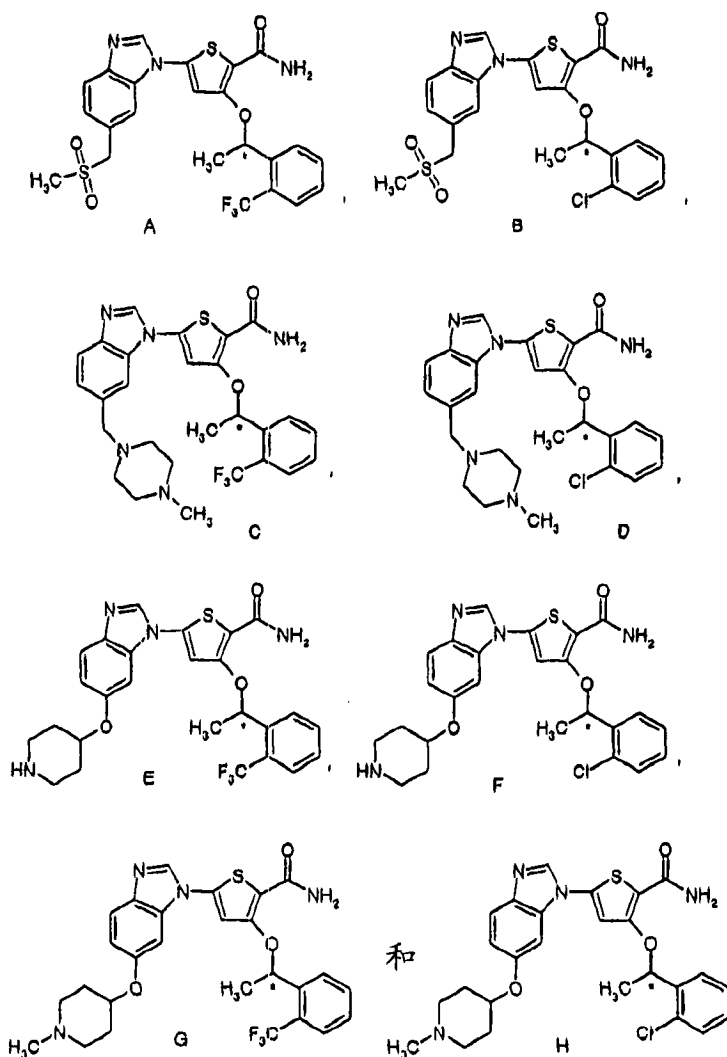
[0070] 如本文所用的，术语“外消旋物”和“外消旋混合物”指等量，即50：50比例在的化合物的(R)-和(S)-光学异构体（如对映体）的混合物。

[0071] 如本文所用的，术语“富含对映体的”指包含光学异构体混合物的制备物，其中一种对映体的量高于另一种对映体的量。因此，“对映体富集的”指其中对映体的比率大于50：50的光学异构体的混合物。富含对映体的化合物包含相对于另一种对映体的大于50%重量的一种对映体。例如富含对映体的5-{6-[(甲基磺酰基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-[(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基]氧基)-2-噻吩甲酰胺指包含相对于化合物的(S)-对映体的大于50%重量的(R)-对映体的组合。在一个实施方案中，富含对映体的化合物包含相对于另一种对映体的至少75%重量的一种对映体。在另一个实施方案中，富含对映体的化合物包含相对于另一种对映体的至少80%重量的一种对映体。在一个特别的实施方案中，富含对映体的化合物包含相对于另一种对映体的至少85%重量的一种对映体。

[0072] 如本文所用的，术语“对映体纯”指包含相对于另一种对映体至少90%重量的一种对映体的富含对映体的化合物。在一个实施方案中，对映体纯的化合物包含相对于另一种对映体的至少95%重量的一种对映体。在一个特别的实施方案中，对映体纯的化合物包含相对于另一种对映体的至少99%重量的一种对映体。

[0073] 本发明提供选自下式的化合物及其药学上可接受的盐和溶剂化物：

[0074]

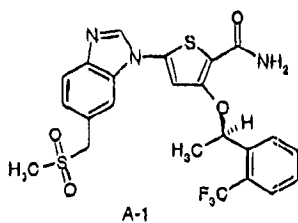


[0075] 其中 * 指手性碳。

[0076] 在一个特别的实施方案中,化合物 A、B、C、D、E、F、G 和 H 是富含对映体的,其中手性碳的立体化学是 R。在另一个实施方案中,化合物 A、B、C、D、E、F、G 和 H 是对映体纯的,其中手性碳的立体化学是 S。

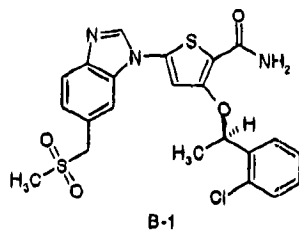
[0077] 因此,在一个优选的实施方案中,本发明提供选自以下式的富含对映体的和对映体纯的化合物:

[0078]



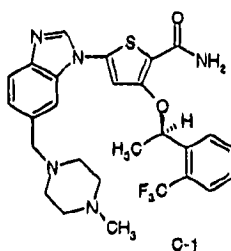
[0079] 5-{6-[(甲基磺酰基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-({(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]-乙基}氧基)-2-噻吩甲酰胺;

[0080]



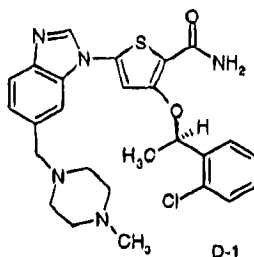
[0081] 3-{[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基}-5-{6-[(甲基磺酰基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-2-噻吩甲酰胺;

[0082]



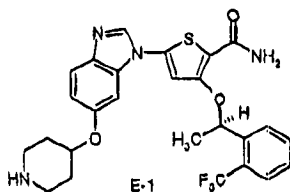
[0083] 5-{6-[(4-甲基哌嗪-1-基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-{(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基}噻吩-2-甲酰胺;

[0084]



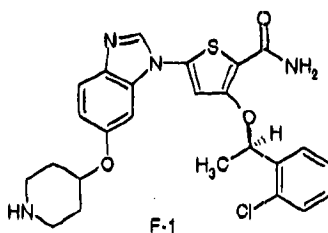
[0085] 3-{[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基}-5-{6-[(4-甲基哌嗪-1-基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}噻吩-2-甲酰胺;

[0086]



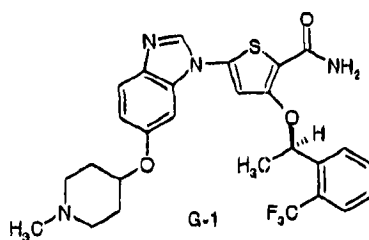
[0087] 5-[6-(4-哌啶基氧基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-({(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)-2-噻吩甲酰胺;

[0088]



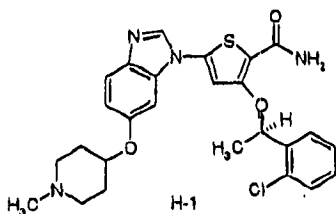
[0089] 3-{[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基}-5-[6-(4-哌啶基氧基)-1H-苯并咪唑-1-基]-2-噻吩甲酰胺;

[0090]



[0091] 5-{6-[(1-甲基-4-哌啶基)氧基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-({(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)-2-噻吩甲酰胺;和

[0092]



[0093] 3-{{(1R)-1-(2-氯苯基)乙基}氧基}-5-{6-[(1-甲基-4-哌啶基)氧基]-1H-苯并咪唑-1-基}-2-噻吩甲酰胺;

[0094] 及其药学上可接受的盐和溶剂化物。

[0095] 本领域那些专业技术人员应该意识到,本发明化合物可以以其药学上可接受的盐或溶剂化物形式应用。本发明化合物(或其富含对映体的或对映体纯的形式)的药学上可接受的盐包括由药学上可接受的无机酸或有机酸或碱形成的常规盐以及季铵盐。适宜的酸性盐的更具体的实例包括盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、过氯酸盐、反丁烯二酸盐、乙酸盐、丙酸盐、丁二酸盐、乙醇酸盐、甲酸盐、乳酸盐、顺丁烯二酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、棕榈酸盐、丙二酸盐、羟基顺丁烯二酸盐、苯基乙酸盐、谷氨酸盐、苯甲酸盐、水杨酸盐、反丁烯二酸盐、甲苯磺酸盐、甲烷磺酸盐(甲磺酸盐)、萘-2-磺酸盐、苯磺酸盐、羟基萘甲酸盐、氢碘酸盐、苹果酸盐、steroid、单宁酸盐等。其它的酸,诸如草酸,虽然其本身不是药学上可接受的,但可用于制备用作获得本发明化合物及其药学上可接受的盐的中间体的盐。适宜的碱性盐的具体的实例包括钠盐、锂盐、钾盐、镁盐、铝盐、钙盐、锌盐、N,N'-二苄基乙二胺盐、氯普鲁卡因盐、胆碱盐、二乙醇胺盐、乙二胺盐、N-甲基葡糖胺盐和普鲁卡因盐。

[0096] 如本文所用的,术语“溶剂化物”指由溶质(本发明化合物或其富含对映体的或对映体纯的形式)和溶剂形成的在化学计量上可变的复合物。溶剂,例如包括水、甲醇、乙醇或乙酸。

[0097] 用于制备本发明化合物的药学上可接受的盐和溶剂化物的方法是本领域中常规的。参见,如 Burger's 药物化学和药物发现,第5版,第1卷:原理和实践(Medicinal Chemistry And Drug Discovery 5th Edition, Vol 1: Principles And Practice)。

[0098] 如本领域技术人员所显而易见的,在以下描述的制备本发明化合物的方法中,某些中间体,可或者为该化合物的药学上可接受的盐或溶剂化物的形式。那些应用于在制备本发明化合物的方法中使用的任何中间体的术语,与在上面提到的关于本发明化合物的术语具有相同含义。制备这样的中间体的药学上可接受的盐和溶剂化物的方法为本领域已知,并且与制备本发明化合物的药学上可接受的盐和溶剂化物的方法类似。

[0099] 本发明化合物是典型的 PLK 抑制剂。PLK 抑制剂意指在以下实施例中描述的 PLK 抑制试验中表现出 pIC_{50} 大于 6 或在以下实施例中描述的亚甲蓝 (Methylene Blue) 或细胞 - 滴度 Glo 生长 (Cell-Titre GloGrowth) 抑制试验中表现出 IC_{50} 小于 $10 \mu M$ 的化合物; 更具体地, PLK 抑制剂是使用以下实施例中描述的方法而表现出 pIC_{50} 大于 7 或 IC_{50} 小于 $1 \mu M$ 的化合物。

[0100] 本发明还提供在动物, 如哺乳动物, 诸如人中用于医疗的本发明化合物。特别是, 本发明提供用于治疗由 PLK 介导的病症的化合物。本发明也提供用于治疗易感肿瘤的化合物。术语“易感肿瘤”在以下定义。具体地, 本发明提供用于治疗多种实体瘤的化合物, 所述实体瘤包括但不限于乳腺癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌以及血液的恶性疾病, 所述血液的恶性疾病包括但不限于急性 (骨髓性和淋巴性) 白血病和侵袭性淋巴瘤。

[0101] 本发明提供化合物用于治疗以不适当的细胞增殖为特征的病症。本发明也提供用于抑制细胞增殖的化合物。本发明还提供用于抑制细胞的有丝分裂的化合物。

[0102] 本发明提供治疗多种病症或疾病的方法, 所有这些方法包括给予有效治疗量的本发明化合物的步骤。如本文所用的, 术语“治疗”指缓解具体的病症、消除或减少病症的症状、减缓或消除病症的进程以及预防或延迟之前已患个体中病症的复发。

[0103] 如本文所用的, 术语“有效治疗量”意指由例如研究者或临床医生探寻的、在给予的患者中足以引起细胞培养物、组织、系统、动物 (包括人) 生物学或医学反应的本发明化合物的量。例如, 治疗由 PLK 介导的病症的本发明化合物的有效治疗量, 是在患者中足以治疗 PLK 介导的病症的量。类似地, 治疗易感肿瘤的本发明化合物的有效治疗量, 是在患者中足以治疗易感肿瘤的量。在本发明的一个实施方案中, 本发明化合物的有效治疗量是足以抑制细胞有丝分裂的量。在本发明的一个实施方案中, 本发明化合物的有效治疗量是足以调节、调制、结合或抑制 PLK 的量。

[0104] 本发明化合物的精确的有效治疗量, 将取决于众多因素, 包括, 但不限于接受治疗者的年龄和体重、需要治疗的精确疾患及其严重程度、制剂性质和给药途径, 并且最终将由主治医师或兽医进行判断。具体地, 将给予用于治疗的本发明化合物的量是在每天或每剂或每个治疗周期 $0.1-200mg/kg$ 接受者 (动物) 体重的范围内, 并且更常用的是在每天或每剂或每个治疗周期 $1-100mg/kg$ 体重的范围内。可接受的剂量, 可从每天、每剂或每个治疗周期约 $0.1mg$ 至约 $2000mg$, 和优选从每天、每剂或每个治疗周期约 $0.1mg$ 至约 $500mg$ 。

[0105] 作为一个方面, 本发明提供调节、调制、结合或抑制 PLK 以治疗由 PLK (尤其是 PLK1) 介导的病症的方法。“调节、调制、结合或抑制 PLK”指调节、调制、结合或抑制 PLK (尤其是 PLK1) 的活性, 以及调节、调制、结合或抑制 PLK (尤其是 PLK1) 的过表达。所述这样病症包括某些已经与 PLK (尤其是 PLK1) 相关联的肿瘤 (包括癌症和肿瘤) 以及以不适当的细胞增殖为特征的病症。

[0106] 本发明提供治疗由 PLK (尤其是 PLK1) 介导的病症的方法, 所述方法包括给予动物有效治疗量的本发明化合物。本发明的该方法和其它方法用于治疗动物, 诸如哺乳动物并且特别是人。由 PLK 介导的病症为本领域已知, 并且包括, 但不限于以不适当的细胞增殖为特征的肿瘤和病症。

[0107] 本发明也提供在需要时治疗动物, 诸如哺乳动物 (如人) 中的易感肿瘤 (癌症或肿瘤) 的方法, 所述方法包括给予动物有效治疗量的本发明化合物。如本文所用的“易感肿

瘤”，指对用 PLK 抑制剂治疗敏感的肿瘤。已与 PLK 相关联并且因此对用 PLK 抑制剂治疗敏感的肿瘤为本领域已知，并且包括原发性和转移性肿瘤和癌症。例如，本发明范围内的易感肿瘤包括但不限于乳腺癌、结肠癌、肺癌（包括小细胞肺癌和非小细胞肺癌）、前列腺癌、子宫内膜癌、胃癌、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、鳞状细胞癌、头颈部癌、食道癌、肝细胞癌和血液的恶性疾病（包括但不限于急性白血病和侵袭性淋巴瘤）。在一个具体的实施方案中，本发明提供在有需要的动物，诸如哺乳动物（如人）中，通过给予有效治疗量的本发明化合物治疗乳腺癌的方法。在另一个具体的实施方案中，本发明提供在需要的动物，诸如哺乳动物（如人）中，通过给予有效治疗量的本发明化合物治疗卵巢癌的方法。在另一个具体的实施方案中，本发明提供在需要的动物，诸如哺乳动物（如人）中，通过给予有效治疗量的本发明化合物治疗非小细胞肺癌的方法。在另一个具体的实施方案中，本发明提供在需要的动物，诸如哺乳动物（如人）中，通过给予有效治疗量的本发明化合物治疗前列腺癌的方法。在另一个具体的实施方案中，本发明提供在需要的动物，诸如哺乳动物（如人）中，通过给予有效治疗量的本发明化合物治疗包括急性骨髓性白血病和急性淋巴性白血病在内的急性白血病的方法。在另一个具体的实施方案中，本发明提供在需要的动物，诸如哺乳动物（如人）中，通过给予有效治疗量的本发明化合物治疗侵袭性淋巴瘤的方法。

[0108] 本发明化合物可单独用于治疗这样的易感肿瘤，或可用于与一个或更多个其它的本发明化合物一起，或联合某些现有的化学疗法和/或其它抗-肿瘤疗法，提供相加或协同作用。此外，本发明化合物可用于使一个或更多个其它的本发明化合物、某些现有的化学疗法和/或其它抗-肿瘤疗法恢复疗效。如本文所用的，“抗-肿瘤疗法”包括但不限于细胞毒性化学疗法、激素疗法、靶向激酶抑制剂、治疗性单克隆抗体、手术和放射疗法。

[0109] 本发明还提供在有需要的动物，诸如哺乳动物（如人）中，治疗以不适当的细胞增殖为特征的病症的方法。所述方法包括给予有效治疗量的本发明化合物。“不适当的细胞增殖”意指由不适当的细胞生长导致的细胞增殖、由细胞过度分化导致的细胞增殖、由细胞加速分化导致的细胞增殖、由不适当的细胞生存导致的细胞增殖，和/或在正常细胞以正常速率而又是不需要的发生中的细胞增殖。以不适当的细胞增殖为特征的病症，包括但不限于肿瘤、血管增殖性疾病、纤维变性疾患、系膜细胞增殖性疾病和炎症/免疫-介导的疾病。血管增殖性疾病包括关节炎和再狭窄。纤维变性疾患包括肝硬化和动脉粥样硬化。系膜细胞增殖性疾病包括肾小球性肾炎、恶性肾硬化和肾小球病变 (glomerulopathies)。炎症/免疫-介导的疾病包括银屑病、慢性创伤愈合、器官移植排斥、血栓性微血管病综合征和神经退行性疾病。骨关节炎和骨过度再吸收的其它破骨细胞增生依赖性疾患是以不适当的细胞增殖为特征的病症的实例，其中细胞增殖发生在正常细胞中，其以正常速率增殖而该增殖又是不需要的。

[0110] 本发明还提供抑制细胞增殖的方法，所述方法包括使细胞与足以抑制细胞增殖的量的本发明化合物接触。在一个具体的实施方案中，所述细胞是肿瘤细胞。在一个具体的实施方案中，所述细胞是不适当增殖的细胞。如本文所用的术语“不适当增殖的性细胞”，指不适当（异常）生长的细胞、过度或以加速度分化的细胞、不适当（异常）存活的细胞，和/或以正常速率、但是不需要的增生的正常细胞。肿瘤细胞（包括癌症细胞）是不适当增殖的细胞的实例，但不仅仅是不适当的增殖的细胞。

[0111] PLK 对细胞有丝分裂是重要的，于是，相信本发明化合物对抑制有丝分裂有效。“抑

制有丝分裂”指抑制进入细胞周期的 M 期的入口、抑制一旦已经进入 M 期的细胞周期 M 期的正常过程和抑制细胞周期的 M 期的正常出口。因此,本发明化合物可通过抑制细胞进入有丝分裂的入口、抑制细胞通过有丝分裂的过程,或通过抑制细胞有丝分裂的出口而抑制有丝分裂。作为一个方面,本发明提供抑制细胞的有丝分裂的方法,所述方法包括给予细胞足以抑制有丝分裂的量的本发明化合物。在一个具体的实施方案中,所述细胞是肿瘤细胞。在一个具体的实施方案中,所述细胞是不适当增殖的细胞。

[0112] 本发明还提供本发明化合物在制备用于在动物,诸如哺乳动物(如人)中治疗由 PLK 介导的病症药物中的应用。本发明还提供化合物在制备用于在动物中治疗易感肿瘤的药物中的应用。特别是,本发明还提供化合物在制备用于在动物中治疗乳腺癌的药物中的应用。本发明还提供化合物在制备用于在动物中治疗卵巢癌的药物中的应用。本发明还提供化合物在制备用于在动物中治疗非小细胞肺癌的药物中的应用。本发明还提供化合物在制备用于在动物中治疗前列腺癌的药物中的应用。本发明还提供化合物在制备用于在动物中治疗急性白血病(包括急性骨髓性白血病和急性淋巴性白血病)的药物中的应用。本发明还提供化合物在制备用于在动物中治疗侵袭性淋巴瘤的药物中的应用。本发明还提供化合物在制备用于在动物中治疗以不适当的细胞增殖为特征的病症的药物中的应用。本发明还提供化合物在制备用于抑制细胞增殖的药物中的应用。本发明还提供化合物在制备用于抑制细胞的有丝分裂的药物中的应用。

[0113] 当可能用于治疗时,可以原料化学品给予有效治疗量的本发明化合物,典型地是作为药用组合物或制剂的活性成分呈现的。于是,本发明还提供包含本发明化合物的药用组合物。所述药用组合物还可包含一个或更多个药学上可接受的载体、稀释剂和/或赋形剂。所述载体、稀释剂和/或赋形剂必须是可接受的,其与制剂中的其它成分是相容的并且对其接受者没有毒性。依据本发明的另一方面,还提供制备所述药用制剂的方法,所述方法包括使本发明化合物与一个或更多个药学上可接受的载体、稀释剂和/或赋形剂混合。

[0114] 药用制剂可以每单位剂量包含预定量的活性成分的单位剂型呈现。这样的单位可含有有效治疗剂量的本发明化合物或有效治疗剂量的部分,这样,在给药时可给予多个单位剂型以达到预期的有效治疗剂量。优选的单位剂量制剂是那些包含如本文以上所叙述的活性成分的每日剂量或亚剂量,或其适宜的部分的制剂。此外,可通过制药领域内熟悉的任何方法制备这样的药用制剂。

[0115] 药用制剂可适于通过任何适宜的途径给药,所述途径有例如通过口服(包括口颊或舌下)、直肠、鼻、局部(包括口颊、舌下或透皮)、阴道或胃肠外(包括皮下、肌肉、静脉内或皮内)途径。可通过制药领域内熟悉的任何方法,例如通过使活性成分与载体或赋形剂结合制备这样的制剂。

[0116] 适于口服给药的药用制剂可以不连续的单位形式呈现,所述不连续的单位有诸如胶囊剂或片剂;粉剂或颗粒剂;于水或非水液体中的溶液剂或混悬剂;可食用的泡沫剂(foams)或发泡剂(whips);或水包油液体乳剂或油包水液体乳剂。例如,对于以片剂或胶囊剂形式用于口服给药,可将活性药物成分与口服的、无毒的药学上可接受的惰性载体诸如乙醇、丙三醇、水等合并。通过使化合物粉碎成适宜的细度,并与同样粉碎的药用载体诸如可食用的碳水化合物,像例如,淀粉或甘露醇混合,制备粉剂。也可存在矫味剂、防腐剂、分散剂和着色剂。

[0117] 通过如上描述制备粉末混合物,并填充成型的明胶囊壳中,制备胶囊剂。在开始填充操作前,可将助流剂和滑润剂,诸如胶体硅、滑石粉、硬脂酸镁、硬脂酸钙或固体聚乙二醇加进所述粉末混合物中。也可加入崩解剂或助溶剂,诸如琼脂、碳酸钙或碳酸钠,以改善摄入胶囊剂时的药物的利用度。

[0118] 再者,当想要或需要时,也可将适宜的粘合剂、滑润剂、崩解剂和着色剂掺入到混合物中。适宜的粘合剂包括淀粉、明胶、天然糖类,诸如葡萄糖或 β -乳糖、玉米甜味剂、天然和合成树胶,诸如阿拉伯树胶、黄耆胶或褐藻酸钠、羧甲基纤维素、聚乙二醇、蜡等。在这些剂型中使用的滑润剂包括油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠等。崩解剂包括,不限于淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土、黄原胶等。例如,通过制备粉末混合物,制粒或压制,添加滑润剂和崩解剂并压制成压剂,配制片剂。通过将适当粉碎的化合物与以上描述的稀释剂或基质混合,并任选加上粘合剂,诸如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶或聚乙烯吡咯烷酮,溶液阻滞剂,诸如石蜡,再吸收促进剂,诸如,四价盐,和/或吸收剂,诸如膨润土、高岭土或磷酸二钙,制备粉末混合物。可通过用粘合剂,诸如糖浆、淀粉糊、阿卡迪亚胶浆(acacia mucilage)或纤维素性或聚合材料溶液湿润,并且挤压过筛,将粉末混合物粒化。作为备选的制粒方法,可将粉末混合物通过压片机,结果形成不完美的小条块(slugging),被粉碎成为颗粒。可通过加入硬脂酸、硬脂酸盐、滑石粉或矿物油,对颗粒进行滑润,以防止其粘合在片剂成型冲模上。然后将滑润的混合物压成片剂。本发明化合物也可与自由流动的惰性载体组合并直接压成片剂,而不经粒化或制小条块的步骤。可提供清亮的或不透明的保护包衣,所述包衣包括虫胶密封的包衣、糖或聚合材料的包衣以及抛光的蜡包衣组成。可将染料加入这些包衣中以区别不同的单位剂量。

[0119] 可制备口服液体剂,诸如溶液剂、糖浆剂和酞剂的剂量单位形式,这样给予的量包含预定量的活性成分。可通过将所述化合物溶解于经适宜矫味的水溶液中,制备糖浆剂,而通过采用无毒性的含醇溶媒中制备酞剂。通过将所述化合物分散于无毒性的溶媒中,可配制混悬剂。也可加入助溶剂和乳化剂,诸如乙氧基化的异十八烷醇和聚氧乙烯山梨醇醚、防腐剂、调味添加剂诸如薄荷油,或天然甜味剂或糖精,或其它人造甜味剂等。

[0120] 在适宜时,可将用于口服给药的剂量单位制剂装入微胶囊。也可例如通过包衣或埋入聚合物、蜡等的微粒材料中,制备延时或缓慢释放的制剂。

[0121] 也可以脂质体传递系统,诸如小单层囊泡、大单层囊泡和多层囊泡的形式,给予本发明化合物。脂质体可由多种磷脂,诸如胆固醇、硬脂胺或卵磷脂形成。

[0122] 也可通过采用与化合物分子连接的单克隆抗体作为单独的载体传递本发明化合物。也可将所述化合物与适宜的作为可靶向药物载体的聚合体连接。这样的聚合体可包括肽类、聚乙烯吡咯烷酮、吡喃共聚物、聚羟基丙基甲基丙烯酰胺-苯酚、聚羟基乙基天冬酰胺苯酚或由棕榈酰残基取代的聚乙烯氧化物多熔素。此外,所述化合物可与一系列用于达成控制药物释放的、生物可降解的聚合体连接,所述聚合体有例如,聚乳酸、聚 ϵ -己内酯、聚羟基丁酸、聚原酸酯(polyorthoesters)、聚缩醛、聚二氢吡喃、聚氰基丙烯酸酯和水凝胶的交联的或两性分子嵌段共聚物。

[0123] 适于透皮给药的药用制剂可以不连续的贴剂存在,其意欲与接受者的表皮保持紧密接触一段延长的时间。例如,活性成分可通过如在 *Pharmaceutical Research*, 3(6): 318(1986) 中概括描述的离子电渗疗法从贴剂传递。

[0124] 适于局部给药的药用制剂可配制为软膏剂、乳膏剂、混悬剂、洗剂、散剂、溶液剂、糊剂、凝胶剂、喷雾剂、气雾剂或油剂。

[0125] 为了治疗眼睛或其它外部组织,例如嘴和皮肤,制剂优选作为局部用软膏剂或乳膏剂应用。当配制软膏剂时,可将活性成分与或者石蜡或者易与水溶混的软膏剂的基质一起使用。或者,可将活性成分与水包油乳膏基质或油包水基质配制成乳膏剂。

[0126] 适于眼睛局部给药的药用制剂包括滴眼液,其中活性成分溶解或悬浮于适宜的载体,特别是水性溶剂中。

[0127] 适于口内局部给药的药用制剂包括糖锭剂、软锭剂和洗口液。

[0128] 适于直肠局部给药的药用制剂可呈现为栓剂或灌肠剂。

[0129] 适于鼻子局部给药的药用制剂,其中的载体是固体,包含具有粒径大小为,例如20-500微米的粗粉,其以用鼻子使劲吸的方式给药,即从紧贴鼻子的装有粉剂的容器中通过鼻通道快速吸入。其中载体是液体、用作鼻喷雾剂或滴鼻剂给药的适宜的制剂,包括活性成分的水性或油性溶液。

[0130] 适于通过吸入给药的药用制剂,包括细微粒子粉尘或薄雾,可通过多种类型的计量的、压缩剂量的气溶胶、喷雾器或吹药器产生。

[0131] 适于阴道给药的药用制剂可呈现为阴道栓剂、含药棉塞(tampons)、乳膏剂、凝胶剂、糊剂、泡沫剂或喷雾剂。

[0132] 适于胃肠外给药的药用制剂包括水和非-水灭菌注射溶液剂,其可含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和使制剂与意欲的接受者的血液等渗的溶质;以及水和非-水灭菌混悬剂,其可包含助悬剂和增稠剂。所述制剂可以单位剂量或多剂量容器,例如密封的安瓿和小瓶呈现,并且可储存于冷冻-干燥(冻干的)条件下,仅需在用前立即加入注射用灭菌液体载体,例如水。由灭菌的粉剂、颗粒剂和片剂可制备即用型注射溶液剂和混悬剂。

[0133] 应该理解的是,以上特别提到的成分外,所述制剂可包含本领域常规的、涉及所述类型的制剂的其它试剂,例如那些适宜于口服给药的制剂可包含矫味剂。

[0134] 在以上描述的治疗和使用方法中,本发明化合物可单独使用、与一种或更多种将其它本发明化合物联合使用或与其它治疗剂联合使用,和/或与其它抗-肿瘤疗法联合使用。具体地说,在治疗由PLK介导的病症的方法和/或治疗易感肿瘤的方法中,设想联合其它化学治疗药以及联合外科疗法和放射疗法。如本文所用的术语“化学治疗剂”指任何对将给予的患者具有治疗效应的化学药物。“化学治疗剂”包括但不限于抗肿瘤药、镇痛剂和抗呕吐药。如本文所用的,“抗肿瘤药”包括细胞抑制剂和细胞毒性剂,诸如但不限于细胞毒性化疗剂、激素疗法、靶向激酶抑制剂和治疗性单克隆抗体。因此,依据本发明的联合疗法,包括给予至少一种本发明化合物和使用至少一种其它治疗癌症的方法。在一个实施方案中,依据本发明的联合疗法,包括给予至少一种本发明化合物和至少一种其它化学治疗药。在一个具体的实施方案中,本发明包括给予至少一种本发明化合物和至少一种抗肿瘤药。作为另外的一个方面,本发明提供以上描述的治疗和使用的方法,所述方法包括给予本发明化合物并一起给予至少一种化学治疗药。在一个具体的实施方案中,化学治疗药是抗肿瘤药。在另一个特别的实施方案中,本发明提供如上描述的药用组合物还包含至少一种其它化学治疗药,更具体地说,该化学治疗药是抗肿瘤药。

[0135] 典型地,对被治疗的易感肿瘤具有活性的任何化学治疗药可与本发明化合

物联合应用,只要该具体的药物是与应用本发明化合物的疗法在临床上相容的。用于本发明的典型的抗肿瘤药包括,但不限于抗-微管剂,诸如二萜类化合物和长春碱类;铂配位复合物类(coordination complexes);烷基化剂,诸如氮芥类、氧氮磷杂环类(oxazaphosphor-ines)、烷基磺酸盐类、亚硝基脲类和三氮烯类;抗生素药物,诸如蒽环类、放线菌素类和博来霉素类;拓扑异构酶 II 抑制剂,诸如表鬼臼毒素类;抗代谢剂,诸如嘌呤和嘧啶类似物和抗-叶酸化合物;拓扑异构酶 I 抑制剂,诸如喜树碱类;激素和激素类似物;信号传导通路抑制剂;非-受体酪氨酸激酶血管生成抑制剂;免疫治疗剂;促凋亡药物(proapoptotic agents);和细胞周期信号传导抑制剂。

[0136] 抗-微管剂或抗-有丝分裂剂是在细胞周期的 M 期或有丝分裂期有效对抗肿瘤细胞微管的期特异性药物。抗-微管剂的实例包括,但不限于二萜类化合物和长春碱类。二萜类化合物的实例包括,但不限于紫杉醇及其类似物多西他赛。长春碱类的实例包括,但不限于长春碱、长春新碱和长春瑞宾。铂配位复合物是能与 DNA 互相作用的非期特异性抗肿瘤药。铂配位复合物进入肿瘤细胞,经历水合作用并且与 DNA 形成链内和链间交联,对肿瘤产生不利的生物效应。铂配位复合物的实例包括,但不限于奥沙利铂、顺铂和卡铂。

[0137] 烷基化剂是非期特异性抗肿瘤药和强亲电子剂。典型地,烷基化剂通过烷基化作用与 DNA 通过 DNA 分子的亲电子部分,诸如磷酸根、氨基和羟基形成共价键接。这样的烷基化作用使核酸功能紊乱,致使细胞死亡。烷基化剂的实例包括,但不限于氮芥类,诸如环磷酰胺、美法仑和苯丁酸氮芥;烷基磺酸盐类,诸如白消安;亚硝基脲类,诸如卡莫斯汀;和三氮烯类,诸如达卡巴嗪。

[0138] 抗生素化学治疗药是非期特异性药,其与 DNA 结合或插入 DNA 中。典型地,这样的作用导致 DNA 复合物或链断裂,使得核酸的正常功能紊乱,致使细胞死亡。抗生素抗肿瘤药的实例包括,但不限于放线菌素类,诸如放线菌素 D、蒽环类,诸如道诺霉素和多柔比星;和博来霉素。

[0139] 拓扑异构酶 II 抑制剂包括,但不限于表鬼臼毒素类;

[0140] 表鬼臼毒素类是衍生于北美鬼臼根(mandrake)植物的期特异性抗肿瘤药。表鬼臼毒素类典型地在细胞周期的 S 和 G₂ 期影响细胞,通过与拓扑异构酶 II 和 DNA 形成三重复合物,导致 DNA 链断裂。随后 DNA 链断裂聚集,细胞死亡。表鬼臼毒素类的实例包括,但不限于依托泊苷和替尼泊苷。

[0141] 抗代谢物抗肿瘤药是作用于细胞周期 S 期(DNA 合成)的期特异性抗肿瘤药,其通过抑制 DNA 合成或通过抑制嘌呤和嘧啶碱合成由此限制 DNA 合成。因而,S 期不再进行下去,随后细胞死亡。抗代谢物抗肿瘤药包括,但不限于氟尿嘧啶、甲氨蝶呤、阿糖胞苷、巯嘌呤和硫鸟嘌呤。

[0142] 喜树碱类,包括喜树碱和喜树碱衍生物是可用的或正在开发的拓扑异构酶 I 抑制剂。相信喜树碱类细胞毒性活性与其拓扑异构酶 I 抑制活性相关。喜树碱类的实例包括,但不限于伊立替康、拓扑替康以及多种光学形式的 7-(4-甲基哌嗪子基并-亚甲基)-10,11-亚乙二氧基-20-喜树碱。

[0143] 激素和激素类似物是有用的治疗癌症的化合物,其中激素与癌症的生长和/或癌症的生长的缺乏存在关系。相信在肿瘤的治疗中有用的激素和激素类似物的实例包括,但不限于肾上腺皮质甾类,用于治疗恶性淋巴瘤和儿童急性白血病的泼尼松和泼尼龙。氨鲁

米特和其它芳香酶抑制剂,诸如用于治疗肾上腺皮质癌和含雌激素受体的激素依赖性乳腺癌的阿那曲唑、来曲唑、伏氯唑 (vorazole) 和依西美坦;用于治疗激素依赖性乳腺癌和子宫内膜癌的孕酮类 (progestrins),诸如乙酸甲地孕酮;用于治疗前列腺癌和良性前列腺肥大的雌激素类、雄激素类和抗激素类,诸如氟他胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、乙酸环丙氯地孕酮和 5 α -还原酶类,诸如非那雄安 (finasteride) 和度他雄安 (dutasteride);用于治疗激素依赖性乳腺癌的抗-雌激素类,诸如他莫昔芬、托瑞米芬、雷洛昔芬、屈洛昔芬和碘度昔芬 (iodoxyfene);以及促性腺激素-释放激素 (GnRH) 及其类似物,诸如短期或间歇使用导致刺激黄体激素 (LH) 和 / 或卵泡刺激激素 (FSH) 的释放但长期使用导致 LH 和 FSH 抑制的乙酸戈舍瑞林和亮丙瑞林,其适用于治疗前列腺癌和激素依赖性乳腺癌。

[0144] 信号传导通路抑制剂是那些阻滞或抑制激起细胞内变化的化学过程的那些抑制剂。如本文所用的,该变化是细胞增殖、存活、血管生成或分化。用于本发明的信号传导抑制剂包括受体酪氨酸激酶、非-受体酪氨酸激酶、SH2/SH3 域阻滞剂、丝氨酸 / 苏氨酸激酶、磷脂酰肌醇-3 激酶、肌醇信号传导和 Ras 致癌基因的抑制剂。

[0145] 几个蛋白质酪氨酸激酶催化涉及细胞生长的调节的多种蛋白质的特异性酪氨酸残基的磷酸化。这样的蛋白质酪氨酸激酶可广泛地分类为受体激酶或非受体激酶。

[0146] 受体酪氨酸激酶是具有细胞外配体结合域、跨膜域和酪氨酸激酶域的跨膜蛋白质。受体酪氨酸激酶涉及细胞生长的调节并且有时被称为生长因子受体。例如通过过表达或突变,使这些激酶中的许多酶的不适当的或不受控制的激活,即激酶生长因子受体的异常活性,已经显示导致细胞无控制地生长。于是,这样的激酶的异常活性已与恶性组织生长相关联。因此,这样的激酶的抑制剂可提供治疗癌症的方法。生长因子受体包括,例如,表皮生长因子受体 (EGFR, ErbB2 和 ErbB4)、血小板衍生的生长因子受体 (PDGFR)、血管内皮生长因子受体 (VEGFR)、具有免疫球蛋白样和表皮生长因子同源域 (TIE-2) 的酪氨酸激酶、胰岛素生长因子-1 受体 (IGF-1)、巨噬细胞集落刺激因子 (cfms)、BTK、ckit、cmet、成纤维细胞生长因子 (FGF) 受体、Trk 受体 (TrkA、TrkB 和 TrkC)、酪氨酸激酶 (ephrin) (Eph) 受体和 RET 原癌基因 (protooncogene)。正在开发几种生长因子受体抑制剂并且包括配体拮抗剂、抗体、酪氨酸激酶抑制剂、反义寡核苷酸和适配子 (aptamers)。生长因子受体和抑制生长因子受体功能的药物已在,例如 Kath, JohnC., Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10 (6) : 803-818 ;Shawver 等, DDT Vol2, No. 2, 1997 年 2 月 ;和 Lofts, F. J. 等,“作为标靶的生长因子受体”,癌症化疗的新型分子标靶 (New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy), Ed. Workman, Paul 和 Kerr, David, CRC Press 1994, London 中描述。

[0147] 不是生长因子受体激酶的酪氨酸激酶被命名为非-受体酪氨酸激酶。用于本发明的、为抗-肿瘤药物标靶或潜在标靶的非-受体酪氨酸激酶,包括 cSrc、Lck、Fyn、Yes、Jak、cAbl、FAK (粘着斑激酶 (Focal adhesion kinase))、布鲁东氏 (Brutons) 酪氨酸激酶和 Bcr-Abl。这样的非-受体激酶和抑制非-受体酪氨酸激酶功能的药物在 Sinh, S. 和 Corey, S. J., (1999) Journal of Hematotherapy and Stem Cell Research 8(5) :465-80 ;和 Bolen, J. B., Brugge, J. S., (1997) Annual Review of Immunology. 15 :371-404 中描述。

[0148] SH2/SH3 域阻滞剂是破坏多种酶或连接物蛋白 (adaptor proteins) 中 SH2 或 SH3 域结合物的药物,所述连接物蛋白包括 P13-K p85 亚单位、Src 家族激酶、连接物分子 (Shc、Crk、Nck、Grb2) 和 Ras-GAP。作为抗-肿瘤药物的标靶的 SH2/SH3 域在 Smithgall,

T. E. (1995), *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 34(3) 125-32 中讨论。

[0149] 包括 MAP 激酶级联阻滞剂的丝氨酸 / 苏氨酸激酶抑制剂, 包括 Raf 激酶 (Rafk)、有丝分裂原或细胞外调节激酶 (MEKs) 和细胞外调节激酶 (ERKs) 的阻滞剂; 和包括 PKCs 亚型 (α 、 β 、 γ 、 ϵ 、 μ 、 λ 、 ι 、 ξ)、I κ B 激酶家族 (IKKa、IKKb)、PKB 家族激酶、Akt 激酶家族成员和 TGF β 受体激酶的阻滞剂的蛋白激酶 C 家族成员阻滞剂。这样的丝氨酸 / 苏氨酸激酶及其抑制剂在 Yamamoto, T., Taya, S., Kaibuchi, K., (1999), *Journal of Biochemistry*. 126(5) 799-803; Brodt, P., Samani, A., 和 Navab, R. (2000), *Biochemical Pharmacology*, 60. 1101-1107; Massague, J., Weis-Garcia, F. (1996) *Cancer Surveys*. 27 : 41-64; Philip, P. A., 和 Harris, A. L. (1995), *Cancer Treatment and Research*. 78 : 3-27, Lackey, K. 等 *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, (10), 2000, 223-226; 和 Martinez-lacaci, L., 等, *Int. J. Cancer* (2000), 88(1), 44-52 中描述。

[0150] 包括 PI3- 激酶、ATM、DNA-PK 和 Ku 的阻滞剂的磷脂酰肌醇 -3 激酶家族成员的抑制剂也与本发明联合应用。这样的激酶在 Abraham, R. T. (1996), *Current Opinion in Immunology*. 8(3) 412-8; Canman, CE., Lim, D. S. (1998), *Oncogene* 17(25) 3301-3308; Jackson, S. P. (1997), *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 29(7) : 935-8; 和 Zhong, H. 等, *Cancer Res*, (2000) 60(6), 1541-1545 中讨论。

[0151] 还与本发明联合应用的是肌醇信号传导抑制剂, 诸如磷脂酶 C 阻滞剂和肌醇类似物。这样的信号抑制剂在 Powis, G., 和 Kozikowski A., (1994) *New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy* ed., Paul Workman 和 David Kerr, CRC Press 1994, London 中描述。

[0152] 与本发明联合应用的另一组信号传导通路抑制剂是 Ras 致癌基因的抑制剂。这样的抑制剂包括法呢基 (farnesyl) 转移酶、香叶基 - 香叶基 (geranyl-geranyl) 转移酶和 CAAX 蛋白酶抑制剂, 以及反义寡核苷酸、核酶 (ribozymes) 和免疫疗法。这样的抑制剂已经显示阻滞包含野生型突变体 Ras 的细胞中的 Ras 激活过程, 因此作为抗增殖剂。Ras 致癌基因抑制在 Scharovsky, O. G., Rozados, V. R., Gervasoni, S. I. Matar, P. (2000), *Journal of Biomedical Science*. 7(4) 292-8; Ashby, M. N. (1998), *Current Opinion in Lipidology*. 9(2) 99-102; 和 *Biochim. Biophys. Acta*, (1989) 1423(3) : 19-30 中讨论。

[0153] 如以上所提到的, 针对受体激酶配体结合物的抗体也可用作信号传导抑制剂。该组信号传导通路抑制剂包括使用针对受体酪氨酸激酶的细胞外配体结合域的人源抗体。例如, 英克隆 (Imclone) C225 EGFR 特异性抗体 (参见, Green, M. C. 等, 实体瘤的单克隆抗体疗法, *Cancer Treat. Rev.*, (2000), 26(4), 269-286); **Herceptin® ErbB2** 抗体 (参见, 乳腺癌中的酪氨酸激酶信号传导: ErbB 家族受体酪氨酸激酶, *Breast Cancer Res.*, 2000, 2(3), 176-183); 和 2CB VEGFR2 特异性抗体 (参见, Brekken, R. A. 等, 抗-VEGF 单克隆抗体对 VEGFR2 活性的选择性抑制阻滞下鼠肿瘤生长, *Cancer Res.* (2000) 60, 5117-5124)。

[0154] 也可发现受体激酶血管生成抑制剂用于本发明中。血管生成相关性 VEGFR 和 TIE2 抑制剂在上面有关信号传导抑制剂 (两者受体均为 受体酪氨酸激酶) 中讨论。其它的抑制剂可与本发明化合物联合应用。例如, 抗-VEGF 抗体, 其不识别 VEGFR (受体酪氨酸激酶), 但

结合至配体；将抑制血管生成的整合素 ($\alpha_v\beta_3$) 的小分子抑制剂；内皮抑素 (endostatin) 和血管抑素 (angiostatin) (非-RTK) 也可证实与 PLK 抑制剂联合应用。

[0155] 用于免疫疗法方案中的药物也可用与本发明化合物联合应用。用于促凋亡方案中的药物 (e. g., bcl-2 反义寡核苷酸) 也可用与本发明化合物联合应用。Bcl-2 家族蛋白的成员阻滞凋亡。因此, bcl-2 的向上调节与化学抗性相关。已有研究显示, 表皮生长因子 (EGF) 刺激 bcl-2 家族的抗-凋亡成员 (即 mc1-1)。因此, 设计向下调节肿瘤中 bcl-2 表达的策略已被证明是临床有益的, 并且现在正在第 II/III 期试用中, 命名为 Genta' s G3139 bcl-2 反义寡核苷酸。

[0156] 这样的使用对于 bcl-2 的反义寡核苷酸策略的促凋亡策略在 WaterJS 等, J. Clin. Oncol. 18 :1812-1823 (2000) ;和 Kitada S 等, Antisense Res. Dev. 4 :71-79 (1994) 中讨论。

[0157] 细胞周期信号传递抑制剂抑制涉及细胞周期控制的分子。细胞周期蛋白依赖激酶 (CDKs) 及其相互作用细胞周期蛋白控制通达真核细胞周期的进程。不同的细胞周期蛋白 /CDK 复合物的共同协调的激活和失活对于通达细胞周期的正常进程是必需的。正在开发几个细胞周期信号传导抑制剂。例如, 细胞周期蛋白依赖激酶的实例, 包括 CDK2、CDK4 和 CDK6, 而对于同样这些激酶的抑制剂, 例如在 Rosania, 等, Exp. Opin. Ther. Patents 10 (2) : 215-230 (2000) 中描述。

[0158] 在一个实施方案中, 本发明的方法包括给予动物本发明化合物并联合用周期信号传导通路抑制剂, 特别是吉非替尼 (IRESSA®)。

[0159] 使用这些联合的方法和应用, 可包括或者以任何顺序连续地或者同时分开给予本发明化合物和其它化学治疗剂 / 抗肿瘤药, 或联合的药用组合物。当在同样的制剂中联合, 应该意识到两个化合物必须是稳定的并相互适配, 且与制剂的其它成分适配, 并可配制适于给药。当 分开配制时, 可以如对于本领域已知的此类化合物的这样的方式、以任何常规制剂提供它们。

[0160] 当本发明化合物与化学治疗药联合应用时, 每一化合物的剂量可与它们在单独使用时不同。适宜的剂量将易于为本领域专业技术人员所领会。为了达到预期的联合治疗效应, 将选择本发明化合物和其它治疗活性剂的适宜的剂量以及相应的给药时间, 这些均在巡诊医师的专业意见和判断之内。

[0161] 可通过以下实施例描述的方法便利地制备本发明化合物。

[0162] 本发明还提供经放射标记的本发明化合物和生物素化的本发明化合物, 及其固体-载体-结合的形式 (solid-support-bound versions)。采用常规技术可制备经放射标记的本发明化合物和生物素化的本发明化合物。例如, 在适宜的催化剂存在下, 通过使本发明化合物与氟气反应, 产生放射标记的本发明化合物, 可制备经放射标记的本发明化合物。在一个实施方案中, 所述化合物是用氟示踪的。

[0163] 经放射标记的本发明化合物和生物素化的本发明化合物, 在以下分析中是有用的: 对鉴定抑制 PLK 的化合物、对鉴定用于治疗由 PLK 介导的病症的化合物、对鉴定用于治疗易感肿瘤的化合物、对鉴定用于治疗以不适当的增殖为特征的病症的化合物、对鉴定抑制细胞增殖的化合物和对鉴定抑制细胞的有丝分裂的化合物。于是, 本发明提供用于鉴别这样的化合物的检定方法, 所述方法包括特异性地将经放射标记的本发明化合物或生物素化的本发明化合物与靶蛋白质或细胞匀浆物结合的步骤。更具体地, 适宜的分析方法将包

括竞争性的结合分析。在依据本领域常规的分析方法中,可使用经放射标记的本发明化合物和生物素化的本发明化合物及其固体-载体-结合的形式。

[0164] 以下实施例仅意欲进行说明,而并不以任何方式对本发明的范围有所限制,通过以下的权利要求对本发明进行详细说明。

[0165] 如在实施例中使用的下列缩写,具有所陈述的含义。

[0166] g 克

[0167] mg 毫克

[0168] mol 摩尔

[0169] mmol 毫摩尔

[0170] N 正常

[0171] L 升

[0172] mL 毫升

[0173] μ L 微升

[0174] h 小时

[0175] min 分钟

[0176] $^{\circ}$ C 摄氏度

[0177] HCl 盐酸

[0178] DCM 二氯甲

[0179] MeOH 甲醇

[0180] EtOAc 乙酸乙酯

[0181] $MgSO_4$ 硫酸镁

[0182] $NaHCO_3$ 碳酸氢钠

[0183] K_2CO_3 碳酸钾

[0184] Na_2SO_4 硫酸钠

[0185] N_2 氮

[0186] H_2 氢

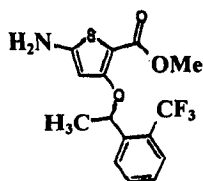
[0187] XANTPHOS (4,5-双(二苯基膦)-9,9-二甲基氧杂蒽),是一种可

[0188] 从Aldrich购得的催化剂

[0189] 试剂是商业上可获得的,或依据文献中的方法制备。在以下的结构中,“Me”指基团 $-CH_3$ 。

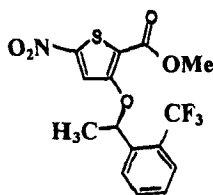
[0190] 中间体实施例 1:5-氨基-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0191]



[0192] 步骤 A-5-硝基-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0193]

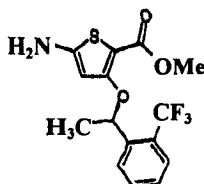


[0194] 将聚合物承载的三苯基膦 (62.36g, 2.21mmol/g, 137.8mmol) 于 DCM(1.0L) 中的浆状物于室温下搅拌 10 分钟。使该混合物冷却至 0℃。加入可以类似于文献 (Barker, J. M. ;Huddleston, P. R. ;Wood, M. L. ;Burkitt, S. A. Journal of Chemical Research (Miniprint) 2001, 1001-1022) 方法的方式制备的 3-羟基-5-硝基-2-噻吩羧酸甲酯 (20.00g, 98.44mmol), 随后加入 (1S)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙醇 (26.20g, 137.8mmol) 和偶氮二羧酸二-叔丁酯 (31.73g, 137.8mmol)。将反应混合物于室温下搅拌 21.25h, 然后经烧结漏斗过滤和浓缩。用 4N HCl 的 1,4-二氧杂环己烷 (300mL) 处理残余物并于室温下搅拌 3h。然后通过加入 3N 氢氧化钠 (300mL) 和饱和的 NaHCO₃ (200mL) 水溶液猝灭该混合物。用 DCM(3×250mL) 提取该混合物。合并的有机部分经 MgSO₄ 干燥, 过滤和在硅胶上浓缩。经柱层析纯化 (0-25% EtOAc : 己烷), 提供 36.08g (98%) 的黄色油样标题化合物。

[0195] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) : δ 7.82 (d, 1H, J = 7.8Hz), 7.68 (d, 1H, J = 7.8Hz), 7.59 (t, 1H, J = 7.4Hz), 7.46 (s, 1H), 7.42 (t, 1H, J = 7.6Hz), 5.77 (q, 1H, J = 6.1Hz), 3.94 (s, 3H), 1.74 (d, 3H, J = 6.1Hz).

[0196] 步骤 B-5-氨基-3-({(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0197]



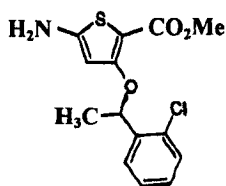
[0198] 向装配温度探针、顶部机械搅拌器、回流冷凝器和加液漏斗的烧瓶中加入铁粉 (26.84g, 480.6mmol) 和乙酸 (130mL)。将铁/乙酸浆状物进行机械搅拌并加热至内温为 50℃。向加液漏斗中加入 5-硝基-3-({(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)-2-噻吩羧酸甲酯 (36.08g, 96.13mmol) 的乙酸 (160mL) 溶液。然后将加液漏斗中的溶液逐滴加至铁/乙酸浆状物中, 以维持内温 < 60℃ 的速度加液 (加液总时间为 2.5h)。使反应混合物冷却至室温, 用 DCM (500mL) 稀释, 然后通过加入 6N 氢氧化钠 (750mL) 和饱和的 NaHCO₃ (200mL) 水溶液猝灭。然后将全部混合物通过硅藻土过滤以去除不溶性物质, 用另外 DCM (250mL) 漂洗硅藻土。分离水和有机部分。用 EtOAc (2×400mL) 提取水溶性部分。有合并机部分, 经 MgSO₄ 干燥, 过滤和浓缩, 得到 30.66g (92%) 的橙色固体样标题化合物。

[0199] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) : δ 7.89 (d, 1H, J = 7.7Hz), 7.62 (d, 1H, J = 7.7Hz), 7.56 (t, 1H, J = 7.7Hz), 7.36 (t, 1H, J = 7.7Hz), 5.72 (s, 1H), 5.65 (q, 1H, J = 6.3Hz), 4.26 (br s, 2H), 3.80 (s, 3H), 1.66 (d, 3H, J = 6.3Hz); MS (APCI) : 368.00 [M+Na]⁺.

[0200] 中间体实施例 2 : 5-氨基-3-[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]-氧基)-2-噻吩羧酸

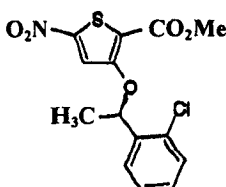
甲酯

[0201]



[0202] 步骤 A-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-5-硝基-2-噻吩羧酸甲酯

[0203]

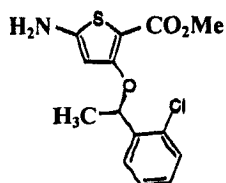


[0204] 用类似于中间体实施例 1, 步骤 A 的方法, 从 3-羟基-5-硝基-2-噻吩羧酸甲酯和 (1S)-1-(2-氯苯基) 乙醇, 制备 3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-5-硝基-2-噻吩羧酸甲酯。

[0205] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) : δ 7.96 (s, 1H), 7.65 (dd, 1H, $J = 1.7, 7.8\text{Hz}$), 7.47 (dd, 1H, $J = 1.5, 7.7\text{Hz}$), 7.40 (dt, 1H, $J = 1.3, 7.5\text{Hz}$), 7.34 (dt, 1H, $J = 1.9, 7.5\text{Hz}$), 5.98 (q, 1H, $J = 6.0\text{Hz}$), 3.85 (s, 3H), 1.59 (d, 3H, $J = 6.2\text{Hz}$).

[0206] 步骤 B-5-氨基-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-2-噻吩羧酸甲酯

[0207]

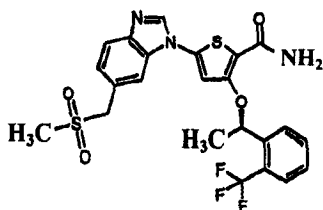


[0208] 用类似于中间体实施例 1, 步骤 B 的方法, 从 3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-5-硝基-2-噻吩羧酸甲酯, 制备 5-氨基-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-2-噻吩羧酸甲酯。

[0209] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) : δ 7.54 (dd, 1H, $J = 1.8, 7.9\text{Hz}$), 7.45 (dd, 1H, $J = 1.4, 7.7\text{Hz}$), 7.37 (dt, 1H, $J = 1.4, 7.7\text{Hz}$), 7.31 (dt, 1H, $J = 1.8, 7.6\text{Hz}$), 6.76 (br s, 2H), 5.57 (q, 1H, $J = 6.2\text{Hz}$), 5.49 (s, 1H), 3.63 (s, 3H), 1.51 (d, 3H, $J = 6.4\text{Hz}$); MS (ESI) : 334.03 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

[0210] 实施例 1: 5-[[6-[(甲基磺酰基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基]-3-[[(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基]氧基]-2-噻吩甲酰胺

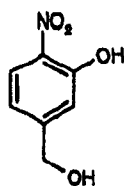
[0211]



[0212] 路径 1 :

[0213] 步骤 A-5-(羟基甲基)-2-硝基苯酚

[0214]

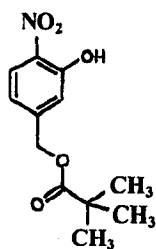


[0215] 向 3-羟基-4-硝基苯甲酸 (5.0g, 27.3mmol) 于 1,2-二氯乙烷 (100mL) 的混合物中加入硼酸三甲基酯 (4.9mL, 43.7mmol), 随后加入三氟化硼乙醚合物 (5.5mL, 43.7mmol)。然后缓慢逐滴加入硼烷-吡啶络合物 (4.1mL, 41.0mmol)。反应于室温下搅拌 4h, 然后冷却至 0°C 并用 MeOH (10mL) 猝灭。将该混合物于真空下浓缩并将残余物溶解于甲苯 (200mL) 中, 然后用 1N 氢氧化钠水溶液 (3×100mL) 提取。通过加入 12N HCl 将合并的水层调节至 pH 1.0, 然后用 EtOAc (3×250mL) 提取。合并的有机层经过用水、盐水洗涤, 经 MgSO₄ 干燥和真空下浓缩, 得到 4.55g (98%) 的浅黄色固体样标题化合物。

[0216] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 10.87 (s, 1H), 7.85 (d, 1H, J = 8.6Hz), 7.08 (s, 1H), 6.88 (dd, 1H, J = 1.19, 8.51Hz), 5.43 (s, 1H), 3.33 (s, 2H).

[0217] 步骤 B-新戊酸 3-羟基-4-硝基苄酯

[0218]

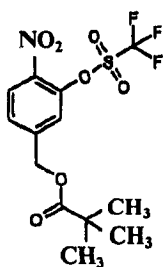


[0219] 100 °C 下, 将可以类似于文献 (Yamada, S. Tetrahedron Letters 1992, 33, 2171-2174) 方法的方式制备 5-(羟基甲基)-2-硝基苯酚 (11.35g, 67.15mmol) 和 3-(2,2-二甲基丙酰基)-1,3-噻唑烷-2-硫酮 (15.0g, 73.89mmol) 的混合物, 于甲苯 (670mL) 中搅拌 40h, 然后冷却至室温。将反应物于真空下浓缩至约 200mL 的体积, 并将得到的浆状物通过滤纸过滤, 用冷甲苯洗涤固体。然后真空下浓缩滤液并经硅胶层析纯化、用 0 至 20% EtOAc/己烷梯度洗脱化, 得到 11.09g (65%) 的清亮黄色油样标题化合物。

[0220] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 11.05 (s, 1H), 7.87 (d, 1H, J = 8.42Hz), 7.06 (s, 1H), 6.90 (dd, 1H, J = 1.46, 8.42Hz), 5.09 (s, 2H), 1.18 (s, 9H).

[0221] 步骤 C-新戊酸 4-硝基-3-[(三氟甲基)磺酰基]氧基苄酯

[0222]

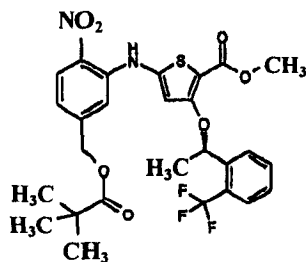


[0223] 向搅拌的、冷却的 (0°C) 3-羟基-4-硝基新戊酸苄酯 (11.11g, 43.9mmol) 和 N-苯

基三氟甲烷磺酰亚胺 (16.51g, 46.2mmol) 的 DCM(220mL) 溶液中, 缓慢加入 N, N-二异丙基乙胺 (15.5mL, 88.9mmol)。将反应于 0℃ 搅拌 45min, 然后室温下搅拌 45min。然后真空下浓缩反应物并经硅胶层析纯化、用 5 至 20% EtOAc/ 己烷梯度洗脱, 得到 16.87g (99%) 的灰白色固体样标题化合物。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) : δ 8.36(d, 1H, J = 8.42Hz), 7.75-7.69(m, 2H), 5.27(s, 2H), 1.19(s, 9H)。

[0224] 步骤 D-5-[5-[(2,2-二甲基丙酰基)氧基]甲基]-2-硝基苯基)氨基]-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)噻吩-2-羧酸甲酯

[0225]

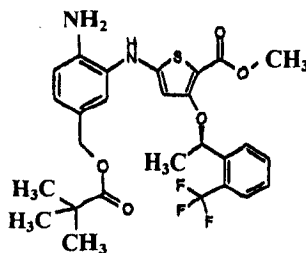


[0226] 于 100℃ 下, 将新戊酸 4-硝基-3-[(三氟甲基)磺酰基]氧基)苄酯 (1.0g, 2.60mmol)、5-氨基-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)-氧基)噻吩-2-羧酸甲酯 (1.34g, 3.88mmol)、四(三苯基膦)钯 (0) (150mg, 0.13 mmol)、三苯基膦 (68mg, 0.26mmol) 和 K₂CO₃ (900mg, 6.5mmol) 的混合物于甲苯 (5.2mL) 中搅拌 2h, 然后冷却至室温以及经硅藻土过滤, 用 EtOAc 和 DCM 洗涤。真空下浓缩滤液并经硅胶层析纯化、用 5 至 25% EtOAc/ 己烷梯度洗脱, 得到 1.26g (84%) 的红色油样标题化合物。

[0227] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) : δ 9.75(s, 1H), 8.09(d, 1H, J = 8.6Hz), 7.89(d, 1H, J = 7.87Hz), 7.69-7.78(m, 2H), 7.52(t, 1H, J = 7.59Hz), 7.34(s, 1H), 7.01(dd, 1H, J = 1.46, 8.60Hz), 6.62(s, 1H), 5.70-5.75(m, 1H), 5.07(s, 2H), 3.74(s, 3H), 1.58(d, 3H, J = 6.22Hz), 1.13(s, 9H)。

[0228] 步骤 E-5-[2-氨基-5-[(2,2-二甲基丙酰基)氧基]甲基]苯基)氨基]-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)噻吩-2-羧酸甲酯

[0229]



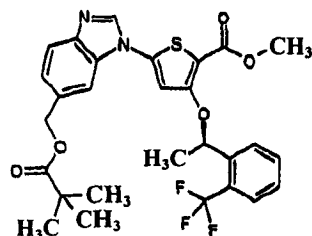
[0230] 将 5-[5-[(2,2-二甲基丙酰基)氧基]甲基]-2-硝基苯基)氨基]-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)噻吩-2-羧酸甲酯 (2.42g, 4.17mmol) 和铂 (经硫化的, 5wt% 载于碳上) (811mg, 0.21mmol) 于 EtOAc (30mL) 中的混合物加至高压反应烧瓶中。用真空以及用 N₂ 气, 然后 H₂ 气于 50psi 下净化反应 1h。反应混合物经硅藻土过滤, 用 EtOAc 洗涤。真空下浓缩滤液, 得到 2.27g (99%) 的棕褐色固体样标题化合物。

[0231] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) : δ 8.62(s, 1H), 7.84(d, 1H, J = 7.87Hz), 7.72(dd, 2H, J = 7.60, 13.09Hz), 7.50(t, 1H, J = 7.60Hz), 7.01(d, 1H, J = 1.46Hz), 6.88(dd, 1H,

$J = 1.74, 8.15), 6.68(d, 1H, J = 8.24Hz), 5.83(s, 1H), 5.59-5.65(m, 1H), 4.97(s, 2H), 4.85(s, 2H), 3.64(s, 3H), 1.55(d, 3H, J = 6.23Hz), 1.11(s, 9H)$; MS(ESI) :551 [M+H]⁺.

[0232] 步骤 F-5-(6-[(2,2-二甲基丙酰基)氧基]甲基)-1H-苯并咪唑-1-基)-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)噻吩-2-羧酸甲酯

[0233]

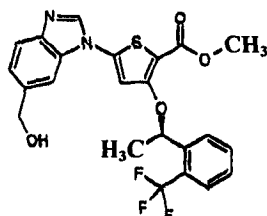


[0234] 向 5-[(2-氨基-5-[(2,2-二甲基丙酰基)氧基]甲基)苯基]氨基]-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)-氧基)噻吩-2-羧酸甲酯 (2.27g, 4.13mmol) 于原甲酸三乙酯 (10mL, 60.2mmol) 和 DCM(3mL) 的混合物中加入对-甲苯磺酸吡啶 (100mg, 0.4mmol)。将反应于 40℃ 搅拌 1h, 然后冷却至室温。将全部反应混合物荷载于硅胶上并经硅胶层析纯化、用 0 至 50% EtOAc/ 己烷梯度洗脱, 得到 2.0g (86%) 的浅棕褐色固体样标题化合物。

[0235] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 8.65(s, 1H), 7.99(d, 1H, J = 7.87Hz), 7.75-7.80(m, 2H), 7.72(d, 1H, J = 7.87Hz), 7.63(s, 1H), 7.53(t, 1H, J = 7.60Hz), 7.40(s, 1H), 7.35(d, 1H, J = 8.42Hz), 5.96(q, 1H, J = 6.10Hz), 5.21(s, 2H), 3.83(s, 3H), 1.65(d, 3H, J = 6.23Hz), 1.16(s, 9H); MS(ESI) :561 [M+H]⁺.

[0236] 步骤 G-5-[6-(羟基甲基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)噻吩-2-羧酸甲酯

[0237]

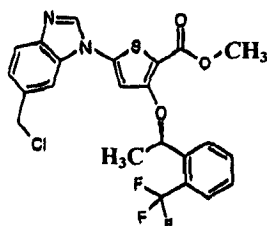


[0238] 向搅拌的 5-(6-[(2,2-二甲基丙酰基)氧基]甲基)-1H-苯并咪唑-1-基)-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)噻吩-2-羧酸甲酯 (5.21g, 来自采用类似于实施例 1, 路径 1, 步骤 F 的方法制备的不同批次, 9.30mmol) 于 MeOH(24mL) 的溶液中加入 0.5M 氢氧化钠的 MeOH(24.0mL, 12mmol)。反应于室温下搅拌 72h, 然后用乙酸 (2mL) 猝灭。用 DCM(350mL) 和半饱和的盐水溶液 (150mL) 稀释该混合物。用 DCM(250mL) 提取水层。合并的有机层经 MgSO₄ 干燥和真空下浓缩, 得到 4.40g (99%) 的浅黄色固体样标题化合物。

[0239] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 8.58(s, 1H), 7.99(d, 1H, J = 7.87Hz), 7.69-7.81(m, 3H), 7.51-7.58(m, 2H), 7.38(s, 1H), 7.30(d, 1H, J = 8.42), 5.96(q, 1H, J = 6.10Hz), 5.30(t, 1H, J = 5.77Hz) 4.62(d, 2H, J = 5.86Hz), 3.83(s, 3H), 1.65(d, 3H, J = 6.23Hz); MS(ESI) :477 [M+H]⁺.

[0240] 步骤 H-5-[6-(氯代甲基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-(((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)噻吩-2-羧酸甲基酯

[0241]

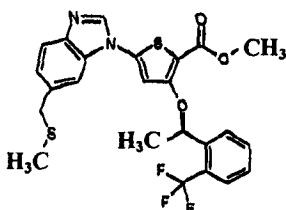


[0242] 向搅拌的 5-[6-(羟基甲基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-(((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)噻吩-2-羧酸甲酯 (1.47g, 3.08mmol) 和三苯基膦 (1.05g, 4.01mmol) 于 DCM (30mL) 的溶液中加入 N-氯代琥珀酰亚胺 (0.53g, 4.01mmol)。然后将反应加热至回流和搅拌 20 分钟, 然后冷却至室温。用 DCM (400mL) 和半饱和的盐水溶液 (150mL) 稀释反应物。然后用 DCM 提取水层。合并的有机层经 Na_2SO_4 干燥, 真空下浓缩并经硅胶层析纯化、用 10 至 60% EtOAc/己烷梯度洗脱, 得到 1.4g (92%) 的白色固体样标题化合物。

[0243] ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8.65 (s, 1H), 7.99 (d, 1H, $J = 7.87\text{Hz}$), 7.72-7.81 (m, 3H), 7.69 (s, 1H), 7.54 (t, 1H, $J = 7.69\text{Hz}$), 7.43 (d, 1H, $J = 8.42$), 7.38 (s, 1H), 5.97 (q, 1H, $J = 6.10\text{Hz}$), 4.91 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 1.66 (d, 3H, $J = 6.23\text{Hz}$); MS (ESI): 495 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0244] 步骤 I-5-[6-((甲硫基)甲基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-(((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)噻吩-2-羧酸甲酯

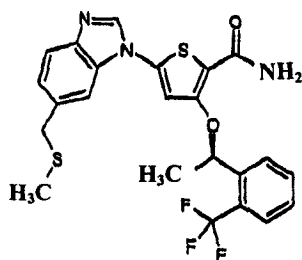
[0245]



[0246] 向搅拌的 5-[6-(氯代甲基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-(((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)噻吩-2-羧酸甲酯 (200mg, 0.40mmol) 于 N,N-二甲基甲酰胺 (2.5mL) 的混合物中加入甲硫醇钠 (sodium thiomethoxide) (37mg, 0.52mmol)。将反应物搅拌 30min, 然后用 EtOAc 稀释, 用水 (5x)、盐水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 真空下浓缩并经硅胶层析纯化、用 0 至 60% EtOAc/己烷梯度洗脱, 得到 147mg (72%) 的白色固体样标题化合物。MS (ESI): 507 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0247] 步骤 J-5-[6-((甲硫基)甲基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-(((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)噻吩-2-甲酰胺

[0248]

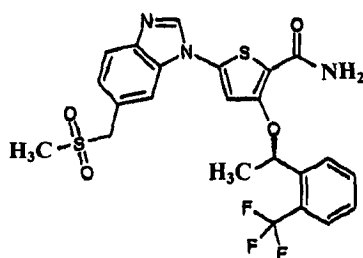


[0249] 将 5-{6-[(甲硫基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)噻吩-2-羧酸甲酯 (144.0mg, 0.28mmol) 和 7N 氨水于 MeOH(18mL, 126.0mmol) 的混合物加至高压玻璃反应烧瓶中。将烧瓶密封, 然后加热至 80℃ 约 16h。使烧瓶冷却至室温, 开启烧瓶, 并使反应混合物于真空下浓缩, 然后经硅胶层析纯化、用含 1% 氢氧化铵的 0 至 3% MeOH/DCM 梯度洗脱, 得到 130mg (93%) 的白金色固体样标题化合物。

[0250] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6): δ 8.49 (s, 1H), 7.93 (d, 1H, $J = 7.68\text{Hz}$), 7.85 (br s, 1H), 7.80-7.75 (m, 2H), 7.69 (d, 1H, $J = 8.23\text{Hz}$), 7.56 (t, 1H, $J = 7.68\text{Hz}$), 7.39 (s, 1H), 7.29 (d, 1H, $J = 8.42\text{Hz}$), 7.15 (br s, 1H), 7.08 (s, 1H), 5.94 (m, 1H), 3.79 (s, 2H), 1.93 (s, 3H), 1.75 (d, 3H, $J = 6.22\text{Hz}$); MS (ESI): 492 [M+H] $^+$ 。

[0251] 步骤 K-5-{6-[(甲基磺酰基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)噻吩-2-甲酰胺

[0252]



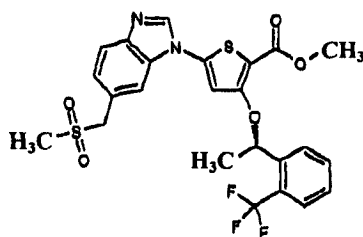
[0253] 向搅拌的、冷却 (-10℃) 的 5-{6-[(甲硫基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)噻吩-2-甲酰胺 (76mg, 0.15mmol) 的 DCM (3.0mL) 溶液中加入间-氯代过氧苯甲酸 (70mg, 0.31mmol)。将反应物搅拌 30min, 温热至室温和搅拌 15min, 然后真空下浓缩。用氯仿稀释残余物并用饱和的 NaHCO_3 水溶液、水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 真空下浓缩并经硅胶层析纯化、用含 1% 氢氧化铵的 0 至 5% MeOH/DCM 梯度洗脱, 得到 78mg (96%) 的白色固体样标题化合物。

[0254] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6): δ 8.57 (s, 1H), 7.95 (d, 1H, $J = 7.87\text{Hz}$), 7.85 (br s, 1H), 7.80-7.73 (m, 3H), 7.69 (s, 1H), 7.55 (t, 1H, $J = 7.69\text{Hz}$), 7.38 (d, 1H, $J = 8.42\text{Hz}$), 7.19 (s, 1H), 7.12 (br s, 1H), 5.95-5.89 (m, 1H), 4.61-4.58 (m, 2H), 2.89 (s, 3H), 1.75 (d, 3H, $J = 6.04\text{Hz}$); MS (ESI): 524 [M+H] $^+$ 。

[0255] 路径 2:

[0256] 步骤 A-5-{6-[(甲基磺酰基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0257]



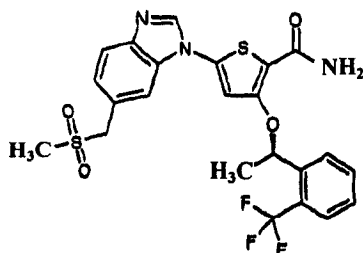
[0258] 将甲基 5-[6-(氯代甲基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)噻吩-2-羧酸酯 (4.53g, 来自采用类似于实施例 1, 路径 1, 步骤 H 的方法制备的不同批次, 9.17mmol)、甲烷磺酸钠盐 (2.81g, 27.5mmol) 和乙醇 (40.0mL) 的混合

物加至高压玻璃反应烧瓶中。将烧瓶密封,然后加热至 85°C 约 16h。使烧瓶冷却至室温,开启烧瓶,并使反应混合物于真空下浓缩,然后经硅胶层析纯化、用 5 至 35% EtOAc/己烷的梯度洗脱,得到 4.54g (92%) 的浅黄色固体样标题化合物。

[0259] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 8.67 (s, 1H), 8.01 (d, 1H, $J = 7.87\text{Hz}$), 7.82-7.70 (m, 4H), 7.53 (t, 1H, $J = 7.69\text{Hz}$), 7.45 (s, 1H), 7.40 (d, 1H, $J = 8.42\text{Hz}$), 5.95 (m, 1H), 4.63 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 2.90 (s, 3H), 1.65 (d, 3H, $J = 6.204\text{Hz}$); MS (ESI): 539 [M+H] $^+$.

[0260] 步骤 B-5-{6-[(甲基磺酰基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-({(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)噻吩-2-甲酰胺

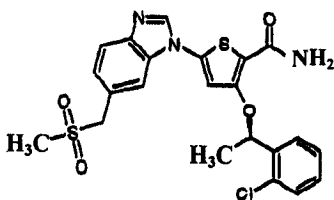
[0261]



[0262] 将 5-{6-[(甲基磺酰基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-({(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)-2-噻吩羧酸甲酯 (4.53g, 8.42mmol) 和 7N 氨水于 MeOH (250.0mL, 1.75mol) 中的混合物加至高压玻璃反应烧瓶中。将烧瓶密封,然后加热至 85°C 约 36h。使烧瓶冷却至室温,开启烧瓶,并将反应混合物与第二批 5-{6-[(甲基磺酰基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-({(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)-2-噻吩羧酸甲酯 (4.11g, 7.63mmol) 合并,上述第二批的化合物也已用 7N 氨 /MeOH (200.0mL, 1.40mol) 于 85°C 高压玻璃反应烧瓶处理约 36h,然后冷却至室温并开启烧瓶。真空下浓缩合并的反应混合物,然后经硅胶层析纯化、用含 1% 氢氧化铵的 0 至 5% MeOH/DCM 梯度洗脱,得到 7.47g (89%) 的灰白色固体样标题化合物。MS (ESI): 524 [M+H] $^+$.

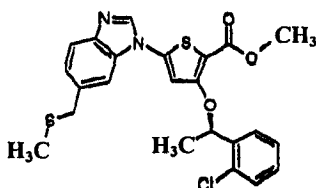
[0263] 实施例 2:3-[(1R)-1-(2-氯代苯基)乙基]氧基}-5-{6-[(甲基磺酰基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-2-噻吩甲酰胺

[0264]



[0265] 步骤 A-3-[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基}-5-{6-[(甲硫基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}噻吩-2-羧酸甲酯

[0266]

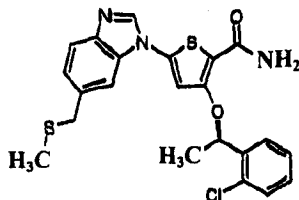


[0267] 用类似于实施例 1, 路径 1, 步骤 I 的方法, 从 5-[6-(氯代甲基)-1H-苯并咪

唑-1-基]-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基]噻吩-2-羧酸甲酯制备标题化合物。
MS(ESI): 473[M+H]⁺。

[0268] 步骤 B-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基]-5-{6-[(甲硫基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}噻吩-2-甲酰胺

[0269]

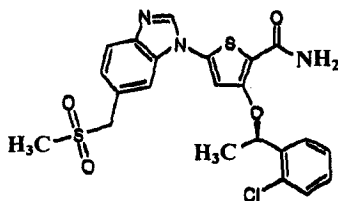


[0270] 用类似于实施例 1, 路径 1, 步骤 J 的方法, 从 3-[[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基]-5-{6-[(甲硫基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}噻吩-2-羧酸甲酯制备标题化合物。

[0271] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.53 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.71-7.66 (m, 2H), 7.49 (d, 1H, J = 7.87Hz), 7.45-7.35 (m, 3H), 7.29 (d, 1H, J = 8.42Hz), 7.16-7.11 (m, 2H), 6.01-5.95 (m, 1H), 3.82 (s, 2H), 1.94 (s, 3H), 1.73 (d, 3H, J = 6.41Hz); MS(ESI): 458[M+H]⁺。

[0272] 步骤 C-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基]-5-{6-[(甲基磺酰基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-2-噻吩甲酰胺

[0273]

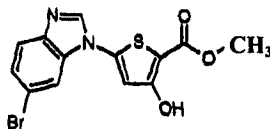


[0274] 用类似于实施例 1, 路径 1, 步骤 K 的方法, 从 3-[[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基]-5-{6-[(甲硫基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}噻吩-2-甲酰胺制备标题化合物。

[0275] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.61 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.79 (d, 1H, J = 8.24Hz), 7.73 (s, 1H), 7.70-7.67 (m, 1H), 7.49-7.47 (m, 1H), 7.44-7.33 (m, 3H), 7.26 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 5.97-5.93 (m, 1H), 4.64-4.60 (m, 2H), 2.90 (s, 3H), 1.73 (d, 3H, J = 6.41Hz); MS(ESI): 490[M+H]⁺。

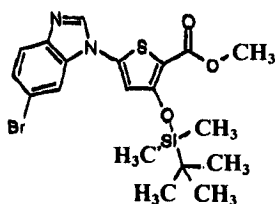
[0276] 中间体实施例 3 : 5-(6-溴代-1H-苯并咪唑-1-基)-3-羟基-2-噻吩羧酸甲酯

[0277]



[0278] 步骤 A-5-(6-溴代-1H-苯并咪唑-1-基)-3-[[(1,1-二甲基乙基)(二甲基)甲硅烷基]氧基]-2-噻吩羧酸甲酯

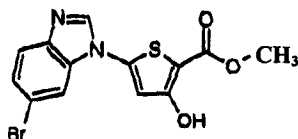
[0279]



[0280] 向 5-溴代-1H-苯并咪唑 (43.78g, 222.0mmol) 于氯仿 (800mL) 的混合物中加入 N-甲基咪唑 (44.5mL, 560.0mmol), 随后加入 2-氯代-3-氧代-2,3-二氢-2-噻吩羧酸甲酯 (44.8g, 233.0mmol)。将反应于室温下搅拌 20h, 然后加入 N-甲基咪唑 (18.0mL, 226.0mmol), 随后加入叔丁基二甲基甲硅烷基氯化物 (36.8g, 245.0mmol)。将反应物搅拌 1hr, 然后用 MeOH 猝灭, 并将反应物倾入 DCM 和水中。用 DCM (3x) 提取水层。然后合并的有机层经 Na_2SO_4 干燥, 浓缩并经硅胶层析纯化、用 50 至 75% 的 25% EtOAc 的己烷/己烷的梯度洗脱, 得到 25.18g (24%) 的标题化合物。MS (ESI) : 467 [M+H]⁺。

[0281] 步骤 B-5-(6-溴代-1H-苯并咪唑-1-基)-3-羟基-2-噻吩羧酸甲酯

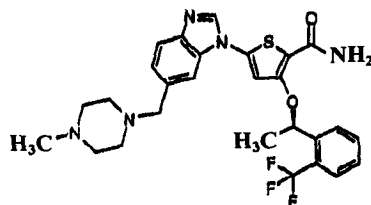
[0282]



[0283] 向搅拌的 5-(6-溴代-1H-苯并咪唑-1-基)-3-[(1,1-二甲基乙基)(二甲基)甲硅烷基]氧基-2-噻吩羧酸甲酯 (25.18g, 53.9mmol) 于 THF (540.0mL) 的溶液中加入 1.0M 氟化四丁基铵的 THF (60.0mL, 60.0mmol) 溶液。将反应物搅拌 1.5h, 然后加入饱和的 NH_4Cl (200mL) 水溶液。将得到的浆状物搅拌 15min, 然后用水 (750mL) 和 EtOAc (1.0L) 稀释。分离水层和通过加入 1M HCl 水溶液将其 pH 调节至 3.0。然后用 EtOAc (3x) 提取水层。合并的有机层用 0.1M HCl 溶液、水、盐水洗涤, 经 MgSO_4 干燥和真空下浓缩, 得到 19.4g (100%) 的浅黄色固体样标题化合物。MS (ESI) : 353 [M+H]⁺。

[0284] 实施例 3: 5-[6-[(4-甲基哌嗪-1-基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基]-3-[(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基]噻吩-2-甲酰胺

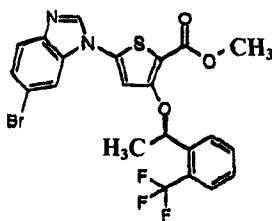
[0285]



[0286] 路径 1:

[0287] 步骤 A-5-(6-溴代-1H-苯并咪唑-1-基)-3-[(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基]噻吩-2-羧酸 3-甲酯

[0288]

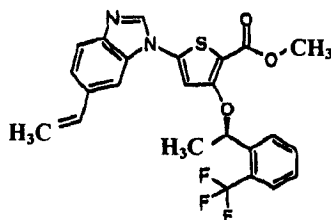


[0289] 将载于聚合物的三苯基膦 (53.0g, 2.04mmol/g, 108mmol)、(1S)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙醇 (15.4g, 81.0mmol) 和 5-(6-溴代-1H-苯并咪唑-1-基)-3-羟基噻吩-2-羧酸甲酯 (中间体实施例 3) (19.0g, 53.9 mmol) 于 DCM(750mL) 中的浆状物于室温下搅拌 10min。然后用偶氮二羧酸二叔丁酯 (24.8g, 108mmol) 处理该浆状物。将反应混合物搅拌 3h, 然后倾倒经滤纸过滤, 用 DCM 和 MeOH 洗涤树脂固体物。真空下浓缩滤液并经硅胶层析纯化、用 5 至 50% EtOAc/ 己烷梯度洗脱, 得到 23.8g (84%) 的浅黄色固体样标题化合物。

[0290] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ 8.63 (s, 1H), 7.97 (d, 1H, $J = 7.87\text{Hz}$), 7.80-7.71 (m, 3H), 7.65 (d, 1H, $J = 1.65\text{Hz}$), 7.57-7.48 (m, 2H), 7.35 (s, 1H), 5.99 (q, 1H, $J = 5.98\text{Hz}$), 3.83 (s, 3H), 1.65 (d, 3H, $J = 6.04\text{Hz}$); MS (ESI): 525 [M+H] $^+$.

[0291] 步骤 B-3-{(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基}-5-(6-乙烯基-1H-苯并咪唑-1-基)噻吩-2-羧酸甲酯

[0292]

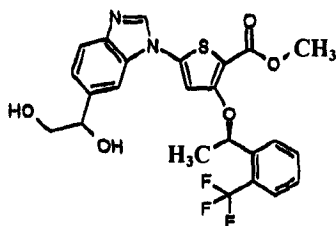


[0293] 于室温下, 向正-丙醇 (230mL) 中搅拌的 3-甲基-5-(6-溴代-1H-苯并咪唑-1-基)-3-{(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基}噻吩-2-羧酸酯 (23.8g, 45.4mmol)、乙烯三氟硼酸钾 (7.25g, 54.5mmol) 和三乙胺 (6.3mL, 45.4mmol) 的混合物中加入 [1, 1'-双(二苯基膦)-二茂铁] 二氯化钨 (II) 二氯甲烷络合物 (750mg, 0.91mmol)。然后将该混合物加热至回流和搅拌 3h, 然后冷却至室温, 倾入水中并用 EtOAc (3x) 提取。合并的有机层用盐水洗涤, 经 MgSO_4 干燥, 真空下浓缩并经硅胶层析纯化、10 至 40% EtOAc/ 己烷的梯度洗脱, 得到 17.06g (80%) 的黄色泡沫固体样标题化合物。

[0294] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ 8.59 (s, 1H), 7.98 (d, 1H, $J = 7.87\text{Hz}$), 7.80-7.71 (m, 3H), 7.59 (s, 1H), 7.56-7.52 (m, 2H), 7.39 (s, 1H), 6.85 (dd, 1H, $J = 10.98$ and 17.75Hz), 6.00 (q, 1H, $J = 6.10\text{Hz}$), 5.86 (d, 1H, $J = 17.56\text{Hz}$), 5.31 (d, 1H, $J = 10.98\text{Hz}$), 3.83 (s, 3H), 1.65 (d, 3H, $J = 6.04\text{Hz}$); MS (ESI): 473 [M+H] $^+$.

[0295] 步骤 C-5-[6-(1,2-二羟基乙基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-{(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基}噻吩-2-羧酸甲酯

[0296]

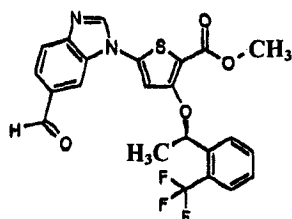


[0297] 向搅拌的 3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基)-5-(6-乙烯基-1H-苯并咪唑-1-基)噻吩-2-羧酸甲酯 (17.06g, 36.1mmol) 于 360mL 的丙酮/水 (3:1) 的溶液中加入 4-甲基吗啉 N-氧化物 (5.1g, 43.4mmol), 随后加入 2.5 重量%的四氧化锇于 2-甲基-2-丙醇 (10.0mL, 0.8mmol) 中的溶液。将反应于室温下搅拌 18h, 然后用 (饱和的) 亚硫酸钠水溶液猝灭。用 EtOAc (3x) 提取混合物。合并的有机层用盐水洗涤, 经 $MgSO_4$ 干燥, 真空下浓缩并经硅胶层析纯化、用含 1% 氢氧化铵的 1 至 8% 的 MeOH/DCM 梯度洗脱, 得到 16.72g (92%) 的浅黄色泡沫固体样标题化合物。

[0298] 1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$): δ 8.59 (d, 1H, $J = 1.46Hz$), 7.98 (d, 1H, $J = 7.87Hz$), 7.80-7.68 (m, 3H), 7.59-7.52 (m, 2H), 7.36-7.31 (m, 2H), 5.95 (q, 1H, $J = 6.10Hz$), 5.37 (t, 1H, $J = 3.66Hz$), 4.76-4.64 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.46-3.42 (m, 2H), 1.65 (d, 3H, $J = 6.04Hz$); MS (ESI): 507 $[M+H]^+$.

[0299] 步骤 D-5-(6-甲酰基-1H-苯并咪唑-1-基)-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基)噻吩-2-羧酸甲酯

[0300]

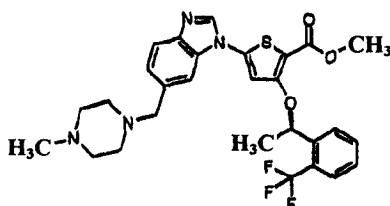


[0301] 向 5-[6-(1,2-二羟基乙基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基)噻吩-2-羧酸甲酯 (16.72g, 33.0mmol) 于 1:1:1 DCM/水/MeOH (220mL) 的溶液中加入高碘酸钠 (10.58g, 49.5mmol)。将得到的浆状物搅拌 1h, 然后用水和 EtOAc 稀释。水层用 EtOAc (3x) 提取。合并的有机层用盐水洗涤, 经 $MgSO_4$ 干燥和真空下浓缩, 得到 14.76g (94%) 的浅黄色泡沫固体样标题化合物。

[0302] 1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$): δ 10.09 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.02-7.89 (m, 3H), 7.81-7.72 (m, 2H), 7.57-7.51 (m, 2H), 5.98 (q, 1H, $J = 6.10Hz$), 3.84 (s, 3H), 1.66 (d, 3H, $J = 6.22Hz$); MS (ESI): 475 $[M+H]^+$.

[0303] 步骤 E-5-(6-[(4-甲基哌嗪-1-基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基)-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基)噻吩-2-羧酸甲酯

[0304]

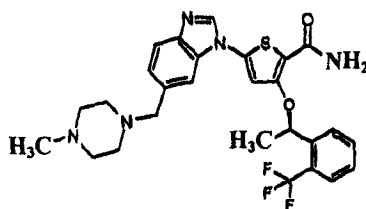


[0305] 向搅拌的 5-(6-甲酰基-1H-苯并咪唑-1-基)-3-{(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基}噻吩-2-羧酸甲酯 (14.76g, 31.1mmol)、n-甲基哌嗪 (5.72mL, 62.3mmol) 和乙酸 (2.1mL, 37.4mmol) 于二氯乙烷 (150mL) 的溶液中加入三乙酰氧基硼氢化钠 (9.9g, 46.7mmol)。将反应物搅拌 1.5h, 然后加入 5% K_2CO_3 水溶液直至 pH 约为 8。然后用 EtOAc 和水稀释该混合物。用 EtOAc (3x) 提取水层。合并的有机层用盐水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 真空下浓缩并经硅胶层析纯化、用含 1% 氢氧化铵的 1 至 8% 的 MeOH/DCM 梯度洗脱, 得到 15.82g (91%) 的浅黄色泡沫固体 样标题化合物。

[0306] 1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$) : δ 8.57 (s, 1H), 7.98 (d, 1H, $J = 7.87Hz$), 7.80-7.68 (m, 3H), 7.54 (t, 1H, $J = 7.59Hz$), 7.46 (s, 1H), 7.33-7.28 (m, 2H), 5.97 (q, 1H, $J = 6.16Hz$), 3.83 (s, 3H), 3.55 (s, 2H), 2.45-2.20 (m, 8H), 2.13 (s, 3H), 1.66 (d, 3H, $J = 6.04Hz$) ; MS (ESI) : 559 [M+H]⁺。

[0307] 步骤 F-5-{6-[(4-甲基哌嗪-1-基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-{(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基}噻吩-2-甲酰胺

[0308]



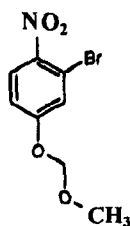
[0309] 将 5-(6-[(4-甲基哌嗪-1-基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基)-3-{(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基}噻吩-2-羧酸甲酯 (15.82g, 28.35mmol) 和 7N 氨水于 MeOH (250mL, 1.75mol) 中的混合物加至高压玻璃反应烧瓶中。将烧瓶密封, 然后加热至 80°C 约 40h。使烧瓶冷却至室温, 开启烧瓶, 并使反应混合物于真空下浓缩, 然后经硅胶层析纯化、用含 1% 氢氧化铵的 2 至 8% 的 MeOH/DCM 的梯度洗脱, 得到 14.11g (92%) 的白色泡沫固体样标题化合物。

[0310] 1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$) : δ 8.49 (s, 1H), 7.93 (d, 1H, $J = 7.87Hz$), 7.86 (br s, 1H), 7.80-7.75 (m, 2H), 7.68 (d, 1H, $J = 8.23Hz$), 7.56 (t, 1H, $J = 7.68Hz$), 7.33 (s, 1H), 7.28 (d, 1H, $J = 8.42Hz$), 7.15 (br s, 1H), 7.06 (s, 1H), 5.94 (q, 1H, $J = 6.10Hz$), 3.52 (s, 2H), 2.45-2.20 (m, 8H), 2.13 (s, 3H), 1.74 (d, 3H, $J = 6.22Hz$) ; MS (ESI) : 544 [M+H]⁺。

[0311] 路径 2 :

[0312] 步骤 A-2-溴代-4-[[[(甲基氧基)甲基]氧基]-1-硝基苯

[0313]



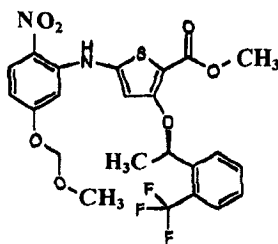
[0314] 于 0°C, 将 3-溴代-4-硝基苯酚 (20.0g, 91.7mmol) 的 DCM (475mL) 溶液搅拌。加入二异丙基乙胺 (19.2mL, 110.0mmol), 随后逐滴加入氯代甲基甲基醚 (7.7mL, 100.9mmol) 的 DCM (25mL) 溶液。将反应于 0°C 搅拌 1hr, 然后温热至室温和用水 (150mL) 猝灭。将该混合物

倾入盐水 (150mL) 中且用 EtOAc (3x) 提取水层。合并的有机层用盐水洗涤, 经 MgSO_4 干燥, 真空下浓缩和经硅胶 (330g) 层析、用 0 至 25% 的 EtOAc/ 己烷的梯度洗脱, 得到 20.0g (83%) 的清亮的橙色油样标题化合物。

[0315] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) : δ 8.07 (d, 1H, $J = 8.97\text{Hz}$), 7.50 (d, 1H, $J = 2.20\text{Hz}$), 7.21 (dd, 1H, $J = 8.97$ 和 2.38Hz), 5.34 (s, 2H), 3.39 (s, 3H).

[0316] 步骤 B-5-[5-[(甲基氧基)甲基]氧基]-2-硝基苯基)氨基]-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0317]

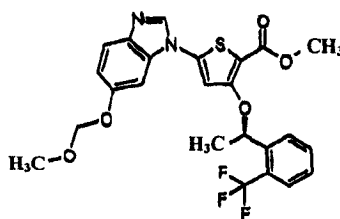


[0318] 向搅拌的 5-氨基-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]-乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯 (1.32g, 3.82mmol) 和 2-溴代-4-[(甲基氧基)甲基]氧基)-1-硝基苯 (1.0g, 3.82mmol) 于二氧杂环己烷 (20mL) 的溶液中, 加入三(二亚苄基丙酮)二钯 (0) (70.0mg, 0.076mmol) 和 XANTPHOS (97.0mg, 0.17mmol), 随后加入碳酸铯 (6.2g, 19.0mmol)。将该混合物加热至 60°C 和搅拌 12h, 然后冷却至室温, 用 EtOAc 稀释和经硅藻土过滤, 用 EtOAc 和 DCM 洗涤固体物。真空下浓缩滤液和经硅胶 (120g) 层析、用 5 至 35% 的 EtOAc/ 己烷的梯度洗脱, 得到 1.64g (82%) 的红色油样标题化合物。

[0319] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) : δ 9.85 (s, 1H), 8.12 (d, 1H, $J = 9.33\text{Hz}$), 7.90 (d, 1H, $J = 7.87\text{Hz}$), 7.74 (m, 2H), 7.53 (t, 1H, $J = 7.68\text{Hz}$), 6.84 (d, 1H, $J = 2.56\text{Hz}$), 6.73-6.68 (m, 2H), 5.77-5.72 (m, 1H), 5.23 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.37 (s, 3H), 1.58 (d, 3H, $J = 6.22\text{Hz}$); MS (ESI) : 527 [M+H]⁺.

[0320] 步骤 C-5-(6-[(甲基氧基)甲基]氧基)-1H-苯并咪唑-1-基)-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0321]

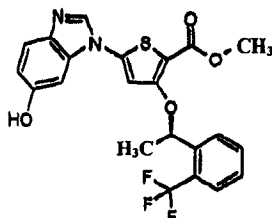


[0322] 向高压氢化反应烧瓶中加入 5-[(5-[(甲基氧基)甲基]氧基)-2-硝基苯基)氨基]-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯 (2.0g, 3.8mmol)、对-甲苯磺酸吡啶 (95.0mg, 0.38mmol)、5% 重量的披铂碳 (经硫化的) (740mg, 0.19mmol) 和原甲酸三甲酯 (40mL)。用 N_2 (气体) 真空 (3x), 然后用 H_2 (气体)/真空 (3x) 使烧瓶净化。然后用 50psi 的 H_2 气进行 3h。然后将反应混合物经硅藻土过滤, 用 EtOAc 和 DCM 洗涤固体物。然后真空下浓缩滤液, 得到 1.92g (100%) 的浅黄色泡沫固体样标题化合物。

[0323] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) : δ 8.49 (s, 1H), 7.98 (d, 1H, $J = 8.05\text{Hz}$), 7.79-7.66 (m, 3H), 7.53 (t, 1H, $J = 7.59\text{Hz}$), 7.35 (s, 1H), 7.22 (d, 1H, $J = 2.20\text{Hz}$), 7.06 (dd, 1H, $J = 8.78$ and 2.20Hz), 5.97 (q, 1H, $J = 6.04\text{Hz}$), 5.23 (s, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.39 (s, 2H), 1.65 (d, 3H, $J = 6.22\text{Hz}$) ;MS (ESI) :507 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0324] 步骤 D-5-(6-羟基-1H-苯并咪唑-1-基)-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0325]

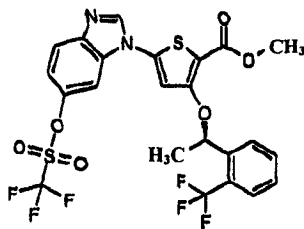


[0326] 向搅拌的 5-(6-[(甲基氧基)甲基]氧基)-1H-苯并咪唑-1-基)-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯 (8.18g, 采用类似于实施例 3, 路径 2, 步骤 C 的方法制备的不同批次, 16.16mmol) 于 1 : 1 THF/MeOH (130mL) 的溶液中, 加入 1N HCl 的水溶液 (65mL, 65.0mmol)。将该反应混合物加热至 35°C 和搅拌 72h, 然后冷却至室温。将反应物倾入 DCM (500mL) 中并加入水 (100mL)。通过加入 (饱和的) NaHCO_3 水溶液将该混合物中和至 pH 7。然后用 DCM (1x) 和 EtOAc (1x) 提取水层。合并的有机层经 MgSO_4 干燥, 真空下浓缩和经硅胶 (120g) 层析、用 10 至 60% 的 EtOAc/己烷的梯度洗脱, 得到 6.9g (92%) 的浅鲑鱼肉色泡沫固体样标题化合物。

[0327] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) : δ 9.62 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.00 (d, 1H, $J = 7.87\text{Hz}$), 7.80-7.71 (m, 2H), 7.56-7.51 (m, 2H), 7.38 (s, 1H), 7.05 (d, 1H, $J = 2.01\text{Hz}$), 6.81 (dd, 1H, $J = 8.70$ and 2.11Hz), 5.95 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 1.64 (d, 3H, $J = 6.23\text{Hz}$) ;MS (ESI) : 463 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0328] 步骤 E-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-5-(6-[(三氟甲基)磺酰基]氧基)-1H-苯并咪唑-1-基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0329]



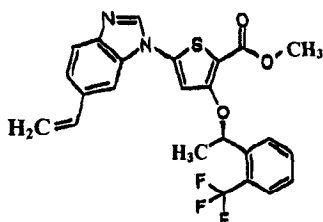
[0330] 向搅拌的、冷却 (0°C) 的 5-(6-羟基-1H-苯并咪唑-1-基)-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯 (2.49g, 5.38mmol) 和正-苯基三氟代甲烷磺酰胺 (2.06g, 5.76mmol) 于 DCM (30mL) 的溶液中, 加入二异丙基乙基胺 (2.0mL, 11.5mmol)。使该反应温热至室温和搅拌 12h。然后将反应混合物真空下浓缩和经硅胶 (120g) 层析、用 5 至 40% 的 EtOAc/己烷的梯度洗脱, 得到 3.12g (98%) 的浅黄色固体样标题化合物。

[0331] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) : δ 8.76 (s, 1H), 8.01-7.94 (m, 2H), 7.80-7.70 (m, 3H), 7.56-7.43 (m, 3H), 5.98 (q, 1H, $J = 6.10\text{Hz}$), 3.84 (s, 3H), 1.65 (d, 3H, $J = 6.22\text{Hz}$) ;

MS(ESI) :595 [M+H]⁺.

[0332] 步骤 F-3-{(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基}-5-(6-乙烯基-1H-苯并咪唑-1-基)噻吩-2-羧酸酯

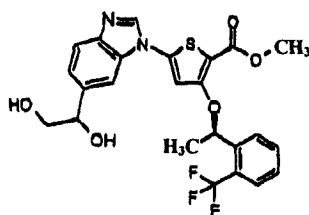
[0333]



[0334] 于室温下,向于正-丙醇(175mL)中搅拌的3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-5-(6-[(三氟甲基)磺酰基]氧基)-1H-苯并咪唑-1-基)-2-噻吩羧酸甲酯(20.69g,来自采用类似于实施例3,路径2,步骤E制备的方法的不同批次,34.83mmol)、乙烯基三氟硼酸钾(5.6g,42.10mmol)和三乙胺(4.85mL,34.86mmol)的混合物中,加入[1,1'-双(二苯基膦)-二茂铁]二氯代钯(II)二氯甲烷络合物(570mg,0.70mmol)。然后将该混合物加热至回流和搅拌3h,然后冷却至室温,倾入水中并用EtOAc(3x)提取。合并的有机层用盐水洗涤,经MgSO₄干燥,真空下浓缩并经硅胶层析纯化、用10至50%的EtOAc/己烷梯度洗脱,得到12.98g(79%)的浅黄色泡沫固体样标题化合物。MS(ESI) :473 [M+H]⁺。

[0335] 步骤 G-5-[6-(1,2-二羟基乙基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-{(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基}噻吩-2-羧酸甲酯

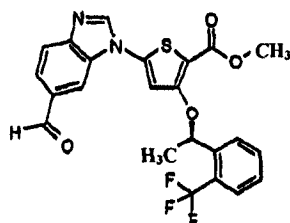
[0336]



[0337] 可用类似于实施例3,路径1,步骤C的方法制备标题化合物。

[0338] 步骤 H-5-(6-甲酰基-1H-苯并咪唑-1-基)-3-{(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基}噻吩-2-羧酸甲酯

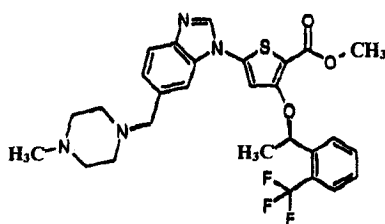
[0339]



[0340] 可用类似于实施例3,路径1,步骤D的方法制备标题化合物。

[0341] 步骤 I-5-{6-[(4-甲基哌嗪-1-基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-{(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基}噻吩-2-羧酸甲酯

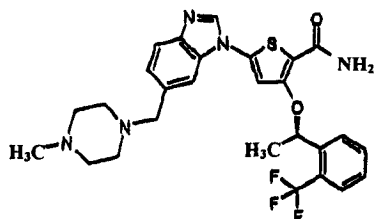
[0342]



[0343] 可用类似于实施例 3, 路径 1, 步骤 E 的方法制备标题化合物。

[0344] 步骤 J-5-{6-[(4-甲基哌嗪-1-基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-[(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基]噻吩-2-甲酰胺

[0345]

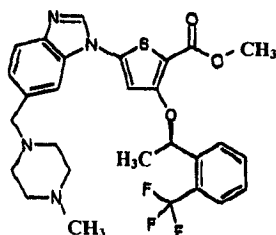


[0346] 可用类似于实施例 3, 路径 1, 步骤 F 的方法制备标题化合物。

[0347] 路径 3 :

[0348] 步骤 A-5-{6-[(4-甲基哌嗪-1-基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-[(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基]氧基]噻吩-2-羧酸甲酯

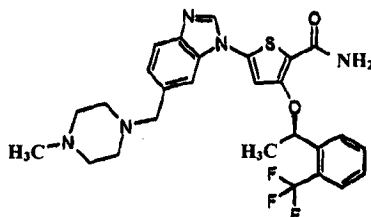
[0349]



[0350] 向搅拌的 5-[6-(氯代甲基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-[(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基]氧基]噻吩-2-羧酸甲酯 (150mg, 0.30mmol) 于二氧杂环己烷 (1.0mL) 的溶液中加入 N-甲基哌嗪 (50 μL, 0.45mmol)。将反应于 60℃ 加热 18h, 冷却至室温和真空下浓缩。将残余物溶解于 EtOAc 和水中。用 EtOAc 提取水层。合并的有机层用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥, 真空下浓缩并经硅胶层析纯化、用含 1% 氢氧化铵的 0 至 10% MeOH/DCM 梯度洗脱, 得到 134mg (79%) 的白色固体样标题化合物。MS (ESI) : 559 [M+H]⁺。

[0351] 步骤 B-5-{6-[(4-甲基哌嗪-1-基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-[(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基]噻吩-2-甲酰胺

[0352]

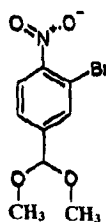


[0353] 可用类似于实施例 3, 路径 1, 步骤 F 的方法制备标题化合物。

[0354] 路径 4 :

[0355] 步骤A-4-[双(甲基氧基)甲基]-2-溴代-1-硝基苯

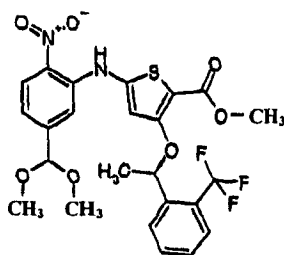
[0356]



[0357] 将以类似于文献 (Katritzky, A. R.; Xie, L. Tetrahedron Letters 1996, 37, 347-350) 方法的方式制备 3-溴代-4-硝基苯甲醛 (7.97g, 34.6mmol)、原甲酸三甲酯 (11.4mL, 104mmol) 和对-甲苯磺酸水合物 (329mg, 1.73mmol) 于 MeOH (69mL) 中的溶液回流 3h。然后通过加入饱和的氢氧化铵 (1mL) 水溶液猝灭反应, 并经硅胶浓缩。经柱层析纯化 (10-25% EtOAc : 己烷), 提供 8.76g (92%) 的橙色油样标题化合物。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) : δ 7.89 (m, 2H), 7.59 (m, 1H), 5.47 (s, 1H), 3.38 (s, 6H)。

[0358] 步骤B-5-({5-[双(甲基氧基)甲基]-2-硝基苯基}氨基)-3-({(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0359]

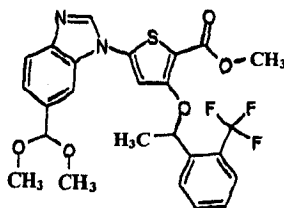


[0360] 在圆底烧瓶中、N₂ 气氛下制备三(二亚苄基丙酮)二钯(0) (117mg, 0.127mmol)、9,9-二甲基-4,5-双(二苯基膦)氧杂蒽 (162mg, 0.280mmol)、5-氨基-3-({(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)-2-噻吩羧酸甲酯 (2.31g, 6.69mmol)、4-[双(甲基氧基)甲基]-2-溴代-1-硝基苯 (1.76g, 6.37mmol) 和碳酸铯 (10.39g, 31.89mmol) 于 1,4-二氧杂环己烷 (25mL) 中的溶液。将烧瓶排空并再用 N₂ 填充三次, 然后于 60°C 搅拌 16h。然后反应混合物用四氢呋喃 (100mL) 稀释并经硅胶浓缩。经柱层析纯化 (5-75% EtOAc : 己烷), 提供 2.79g (81%) 的红色泡沫样标题化合物。

[0361] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) : δ 9.63 (br s, 1H), 8.21 (m, 1H), 7.94 (m, 1H), 7.62 (m, 2H), 7.48 (s, 1H), 7.40 (m, 1H), 7.02 (m, 1H), 6.47 (s, 1H), 5.73 (q, 1H, J = 6.2Hz), 3.88 (s, 3H), 3.34 (s, 1H), 3.31 (s, 3H), 3.28 (s, 3H), 1.72 (d, 3H, J = 6.2Hz); MS (ESI) : 541 [M+H]⁺。

[0362] 步骤C-5-({6-[双(甲基氧基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-({(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0363]

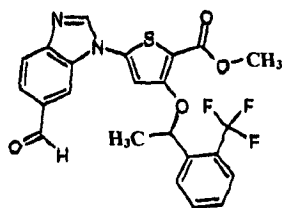


[0364] 向 Fischer-Porter 瓶中的 5-({5-[双(甲基氧基)甲基]-2-硝基苯基}氨基)-3-({(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

基)-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯 (2.71g, 5.01mmol) 于原甲酸三甲酯 (50mL) 的溶液中, 加入对-甲苯磺酸吡啶 (126mg, 0.501mmol) 和经硫化的披铂碳 (5wt% Pt, 977mg, 0.250mmolPt)。于 50psi 氢气压力下、在 Fischer-Porter 氢化装置上将该混合物氢化, 直至停止吸收氢 (17h)。将该反应混合物经熔结的玻璃滤器过滤以除去催化剂, 用 DCM (75mL) 洗涤。浓缩洗脱液, 得到 2.61g (100%) 的橙色油样粗标题化合物, 其无需纯化即进行下一步骤。MS (ESI) : 521 [M+H]⁺。

[0365] 步骤 D-5-(6-甲酰基-1H-苯并咪唑-1-基)-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0366]

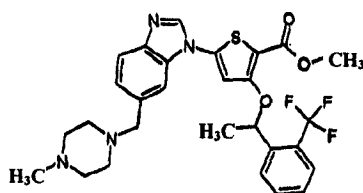


[0367] 向粗的 5-(6-[双(甲基氧基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基)-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯 (2.61g, 5.01mmol) (从以上的步骤 C 制得) 于丙酮 (20mL) 和水 (5mL) 的溶液中, 加入对-甲苯磺酸吡啶 (126mg, 0.501mmol)。将该反应于室温下搅拌 2h 和然后倾入水 (30mL) 和饱和的 NaHCO₃ (30mL) 水溶液中。用 DCM (2×30mL) 提取该混合物。合并的有机部分经硫酸钠干燥, 过滤和经硅胶浓缩。经柱层析纯化 (30-100% EtOAc : 己烷), 提供 1.37g (58%, 2 个步骤) 的浅黄色固体样标题化合物。

[0368] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) ; δ 10.06 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.96-7.88 (m, 4H), 7.72-7.61 (m, 2H), 7.44 (m, 1H), 6.82 (s, 1H), 5.84 (q, 1H, J = 6.3Hz), 3.95 (s, 3H), 1.79 (d, 3H, J = 6.3Hz) ; MS (ESI) : 475 [M+H]⁺。

[0369] 步骤 E-5-(6-[(4-甲基-1-哌嗪基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基)-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

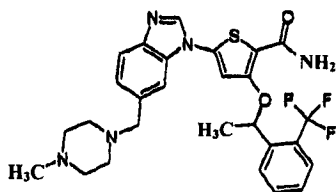
[0370]



[0371] 可用类似于实施例 3, 路径 1, 步骤 E 的方法制备标题化合物。

[0372] 步骤 F-5-(6-[(4-甲基哌嗪-1-基)甲基]-1H-苯并咪唑-1-基)-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙氧基)噻吩-2-甲酰胺

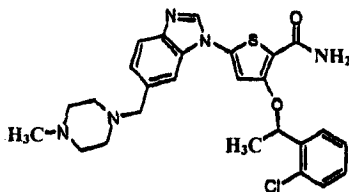
[0373]



[0374] 可用类似于实施例 3, 路径 1, 步骤 F 的方法制备标题化合物。

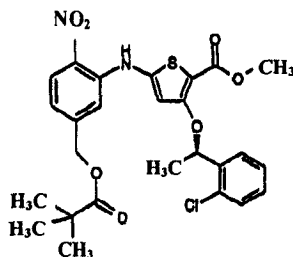
[0375] 实施例 4 : 3-[[(1R)-1-(2-氯代苯基) 乙基] 氧基]-5-{6-[(4-甲基哌嗪-1-基) 甲基]-1H-苯并咪唑-1-基} 噻吩-2-甲酰胺

[0376]



[0377] 步骤 A-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-5-[(5-[(2,2-二甲基丙酰基) 氧基] 甲基)-2-硝基苯基] 氨基]-2-噻吩羧酸甲酯

[0378]

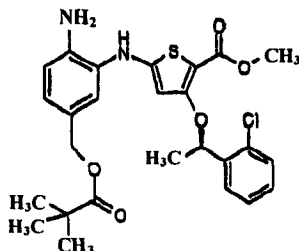


[0379] 向丙酸 (4-硝基-3-[[(三氟甲基) 磺酰基] 氧基] 苯基) 甲基 2,2-二甲酯 (1.0g, 2.59mmol)、5-氨基-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-2-噻吩羧酸甲酯 (中间体实施例 2) (860mg, 2.75mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(0) (70.0mg, 0.076mmol) 和 XANTPHOS (90.0mg, 0.16mmol) 的混合物中加入甲苯 (7.0mL)。开始搅拌, 随后加入碳酸铯 (2.95g, 9.1mmol)。将反应加热至 60°C 和搅拌 30min, 然后冷却至室温, 用 EtOAc 稀释和经硅藻土过滤, 用 EtOAc 和 DCM 洗涤固体物。真空下浓缩滤液和经硅胶 (40g) 层析、用 5 至 15% 的丙酮 / 己烷梯度洗脱, 得到 920mg (65%) 的红色固体样标题化合物。

[0380] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) : δ 9.77 (s, 1H), 8.09 (d, 1H, $J = 8.61\text{Hz}$), 7.63 (dd, 1H, $J = 7.69$ and 1.65Hz), 7.46-7.30 (m, 4H), 7.01 (dd, 1H, $J = 8.79$ and 1.47Hz), 6.67 (s, 1H), 5.76-5.70 (m, 1H), 5.09 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 1.56 (d, 3H, $J = 6.23\text{Hz}$), 1.14 (s, 9H); MS (ESI) : 547 [M+H] $^+$.

[0381] 步骤 B-5-[(2-氨基-5-[(2,2-二甲基丙酰基) 氧基] 甲基)-苯基] 氨基]-3-[[(1R)-7-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-2-噻吩羧酸甲酯

[0382]

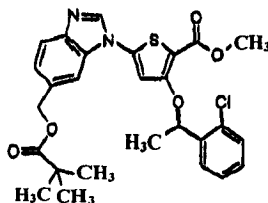


[0383] 向高压氢化反应烧瓶中加入 3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-5-[(5-[(2,2-二甲基丙酰基) 氧基] 甲基)-2-硝基苯基] 氨基]-2-噻吩羧酸甲酯 (6.5g, 来自采用类似于实施例 4, 步骤 A 的方法制备的不同批次, 11.9mmol)、5% 重量的披铂碳 (经硫化的)

(2.2g, 0.56mmol) 和 EtOAc (95mL)。用 N₂ (气体) 真空 (3x), 然后用 H₂ (气体) 真空 (3x) 使烧瓶净化。然后用 50psi 的氢气处理 3h。然后反应混合物经硅藻土过滤, 用 EtOAc 和 DCM 洗涤固体物。然后真空下浓缩滤液, 得到 5.46g (89%) 的黄色固体样标题化合物。MS (ESI) : 517 [M+H]⁺。

[0384] 步骤 C-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-5-(6-[[(2,2-二甲基丙酰基) 氧基] 甲基]-1H-苯并咪唑-1-基)-2-噻吩羧酸甲酯

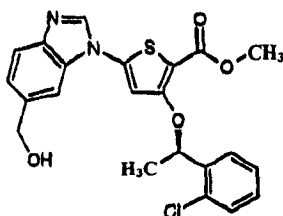
[0385]



[0386] 将已搅拌的 5-[[(2-氨基-5-[[(2,2-二甲基丙酰基) 氧基] 甲基] 苯基) 氨基]-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-2-噻吩羧酸甲酯 (5.45g, 10.5mmol)、对-甲苯磺酸吡啶 (265mg, 1.0mmol) 和原甲酸三乙酯 (15mL) 的混合物加热至 40°C 计 1h, 然后冷却至室温。将全部混合物倾倒在硅胶筒 (25g) 上和经硅胶 (120g) 层析纯化、用 100% 己烷洗脱 10min, 然后用 0 至 10% EtOAc/ 己烷梯度洗脱, 得到 4.71g (85%) 的黄色固体样标题化合物。MS (ESI) : 527 [M+H]⁺。

[0387] 步骤 D-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-5-[6-(羟基甲基)-1H-苯并咪唑-1-基]-2-噻吩羧酸甲酯

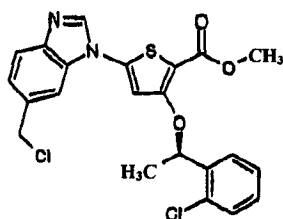
[0388]



[0389] 用类似于实施例 1, 路径 1, 步骤 G 的方法, 从 3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-5-(6-[[(2,2-二甲基丙酰基) 氧基] 甲基]-1H-苯并咪唑-1-基)-2-噻吩羧酸甲酯制备标题化合物。MS (ESI) : 443 [M+H]⁺。

[0390] 步骤 E-5-[6-(氯代甲基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-2-噻吩羧酸甲酯

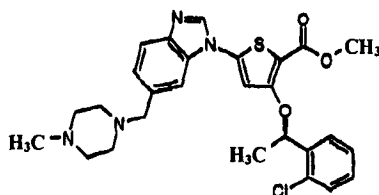
[0391]



[0392] 用类似于实施例 1, 路径 1, 步骤 H 的方法, 从 3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-5-[6-(羟基甲基)-1H-苯并咪唑-1-基]-2-噻吩羧酸甲酯制备标题化合物。MS (ESI) : 461 [M+H]⁺。

[0393] 步骤 F-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-5-{6-[(4-甲基哌嗪-1-基) 甲基]-1H-苯并咪唑-1-基} 噻吩-2-羧酸甲酯

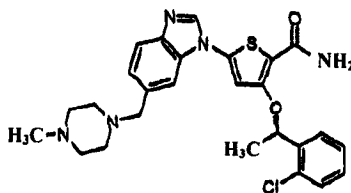
[0394]



[0395] 向搅拌的 5-[6-(氯代甲基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-2-噻吩羧酸甲酯 (150mg, 0.32mmol) 于二氧杂环己烷 (1.5mL) 的混合物中, 加入 n-甲基哌嗪 (55 μ L, 0.49mmol) 和三乙胺 (136 μ L, 0.97mmol)。然后将反应于 45 $^{\circ}$ C 加热 18h, 冷却至室温和真空下浓缩。将残余物溶解于 EtOAc (125mL) 和水 (50mL) 中。然后用 EtOAc 提取水层。合并的有机层用盐水洗涤, 经 MgSO_4 干燥, 真空下浓缩和经硅胶 (4g) 层析、用含 1% 氢氧化铵的 0 至 10% MeOH/DCM 的梯度洗脱, 得到 123mg (72%) 的浅黄色固体样标题化合物。MS (ESI) : 525 [M+H]⁺。

[0396] 步骤 G-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-5-{6-[(4-甲基哌嗪-1-基) 甲基]-1H-苯并咪唑-1-基} 噻吩-2-甲酰胺

[0397]

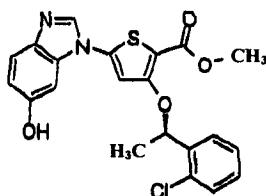


[0398] 用类似于实施例 3, 路径 1, 步骤 F 的方法, 从 3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-5-{6-[(4-甲基哌嗪-1-基) 甲基]-1H-苯并咪唑-1-基} 噻吩-2-羧酸甲酯制备标题化合物。

[0399] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 8.52 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.69 (d, 2H, J = 8.24Hz), 7.51-7.34 (m, 4H), 7.28 (d, 1H, J = 8.24Hz), 7.16-7.11 (m, 2H), 5.98 (q, 1H, J = 6.35Hz), 3.55 (s, 2H), 2.42-2.22 (m, 8H), 2.13 (s, 3H), 1.72 (d, 3H, J = 6.23Hz) ; MS (ESI) : 510 [M+H]⁺。

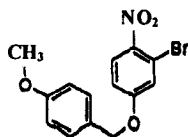
[0400] 中间体实施例 4 : 3-[[(1R)-1-(2-氯代苯基) 乙基] 氧基]-5-(6-羟基-1H-苯并咪唑-1-基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0401]



[0402] 步骤 A-2-溴代-4-([4-(甲基氧基)苯基]甲基)氧基)-1-硝基苯

[0403]

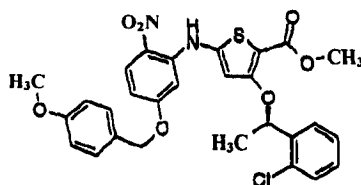


[0404] 搅拌下,将 2-溴代-4-氟代-1-硝基苯 (20.0g,90.9mmol) 和 4-甲氧基苄基醇 (22.7mL,182mmol) 溶解于 DCM(400mL) 中。加入 1N 氢氧化钠溶液 (400mL),随后加入四丁基硫酸氢铵 (3.09g,9.10mmol)。将反应物搅拌 8h 并倾入分液漏斗中。分离各层且水层用 DCM 提取一次和用乙醚提取一次。合并的有机层经 $MgSO_4$ 干燥,过滤和真空浓缩。经快速层析纯化,得到 28.01g(91%) 的标题化合物。

[0405] 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$): δ 8.03(d,1H, $J = 9.2$ Hz),7.50(d,1H, $J = 2.6$ Hz),7.39-7.34(m,2H),7.17(dd,1H, $J = 2.7,9.0$ Hz),6.95-6.91(m,2H),5.14(s,2H),3.73(s,3H)。

[0406] 步骤 B-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-5-[[5-([4-(甲基氧基) 苯基] 甲基) 氧基]-2-硝基苯基] 氨基]-2-噻吩羧酸甲酯

[0407]

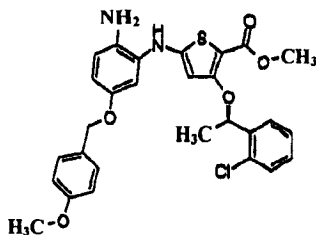


[0408] 搅拌下,在配备机械搅拌器、回流冷凝器和温度计的烧瓶中,将 2-溴代-4-([4-(甲基氧基) 苯基] 甲基) 氧基]-1-硝基苯 (20.19g,59.7mmol) 和 5-氨基-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-2-噻吩羧酸甲酯 (18.60g,59.7mmol) 溶解于 1,4-二氧杂环己烷 (500mL) 中。经鼓泡通入氮气至正在搅拌的溶液中使溶液除气 75min。加入 9,9-二甲基-4,5-双(二苯基膦) 氧杂蒽 (1.52g,2.63mmol)、碳酸铯 (97.26g,299mmol) 和三(二亚苄基丙酮) 二钯 (0) (1.09g,1.19mmol)。将反应加热至 60℃ 和搅拌 16h。使反应冷却至室温和经硅藻土过滤。用 20% MeOH/DCM 洗涤固体物。滤液经约 200g 的硅胶浓缩。将固体物置于烧结漏斗中并用 10% EtOAc 的 DCM 洗涤。真空浓缩滤液。经快速层析纯化,提供 27.18g(80%) 的标题化合物。

[0409] 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$): δ 9.87(s,1H),8.10(d,1H, $J = 9.5$ Hz),7.63(m,1H),7.39-7.29(m,4H),7.23(m,1H),6.96-6.90(m,2H),6.80(d,1H, $J = 2.6$ Hz),6.75(s,1H),6.69(dd,1H, $J = 2.6,9.3$ Hz),5.75(q,1H, $J = 6.3$ Hz),5.03(AB,2H, $J_{AB} = 13.2$ Hz, $J_{AB} = 11.3$ Hz),3.74(s,3H),3.74(s,3H),1.55(d,3H, $J = 6.4$ Hz)。

[0410] 步骤 C-5-[[2-氨基-5-([4-(甲基氧基) 苯基] 甲基) 氧基]-苯基] 氨基]-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-2-噻吩羧酸甲酯

[0411]

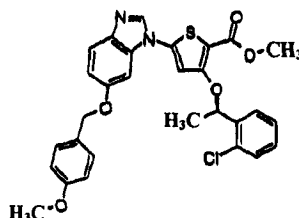


[0412] 搅拌下,将 3-[[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基]-5-[[5-([4-(甲基氧基)苯基]-甲基)氧基]-2-硝基苯基]氨基]-2-噻吩羧酸甲酯 (27.18g, 47.8mmol) 溶解于 EtOAc (400mL) 中。加入经硫化的铂 (以重量计 5%, 载于碳上, 2.80g) 和使用气球装置将反应置于 1atm 的 H_2 之下。36h 后再加入一定量的催化剂 (2.80g) 并且于 1atm 的氢气下持续搅拌。16 个多小时后,将反应物经硅藻土过滤,用 EtOAc 洗涤。浓缩滤液,得到标题化合物,立即用于下一步骤。

[0413] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$): δ 8.66 (br s, 1H), 7.56 (dd, 1H, $J = 1.7, 7.8Hz$), 7.41-7.09 (m, 5H), 6.93-6.88 (m, 2H), 6.71 (d, 1H, $J = 2.8Hz$), 6.65 (d, 1H, $J = 8.6Hz$), 6.57 (dd, 1H, $J = 2.7, 8.6Hz$), 5.87 (s, 1H), 5.62 (q, 1H, $J = 6.4Hz$), 4.82 (s, 2H), 4.46 (br s, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 1.52 (d, 3H, $J = 6.2Hz$).

[0414] 步骤 D-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基]-5-[6-([4-(甲基氧基)苯基]甲基)氧基]-1H-苯并咪唑-1-基]-2-噻吩羧酸甲酯

[0415]

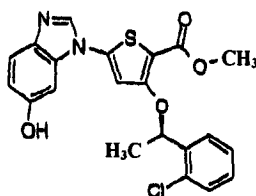


[0416] 搅拌下,将 5-[[2-氨基-5-([4-(甲基氧基)苯基]甲基)氧基]苯基]氨基]-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基]-2-噻吩羧酸甲酯溶解于原甲酸三甲酯 (100mL) 和乙醚 (100mL) 中。一次性加入对-甲苯磺酸吡啶 (0.601g, 2.39mmol)。搅拌反应 2.5h 和通过加入三乙胺 (约 3mL) 猝灭反应。浓缩该混合物并经快速层析纯化,得到 25.45g (97%, 经 2 步骤) 的标题化合物。

[0417] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$): δ 8.47 (s, 1H), 7.71 (dd, 1H, $J = 1.6, 8.2Hz$), 7.63 (d, 1H, $J = 9.0Hz$), 7.43-7.08 (m, 7H), 7.00 (dd, 1H, $J = 2.4, 8.8Hz$), 6.96-6.90 (m, 2H), 5.97 (q, 1H, $J = 6.4Hz$), 5.03 (AB, 2H, $J_{AB} = 17.1Hz$, $J_{AB} = 11.3Hz$), 3.80 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 1.60 (d, 3H, $J = 6.4Hz$).

[0418] 步骤 E-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基]-5-(6-羟基-1H-苯并咪唑-1-基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0419]



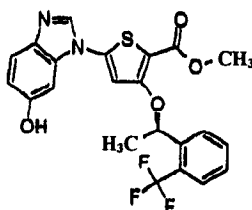
[0420] 搅拌下,将 3-[[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基]-5-[6-([4-(甲基氧基)苯基]-甲基)氧基]-1H-苯并咪唑-1-基]-2-噻吩羧酸甲酯 (25.45g, 46.4mmol) 溶解于 DCM (120mL) 并冷却至 $0^\circ C$ 。经由加液漏斗逐滴加入三氟乙酸 (40.0mL, 519mmol)。搅拌反应 1h 和经由加液漏斗逐滴加入氢氧化钠 (20.0g, 500mmol) 的水 (120mL) 溶液。然后用饱和的 $NaHCO_3$ 溶液将该混合物 pH 调节至中性。将反应物倾入分液漏斗中并分离各层。用

EtOAc 洗涤水层。合并的有机层经 MgSO_4 干燥, 过滤和真空浓缩。经快速层析纯化, 得到 14.86g (75%) 的标题化合物。

[0421] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 9.62 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 7.74 (dd, 1H, $J = 1.7, 7.7\text{Hz}$), 7.53 (d, 1H, $J = 8.8\text{Hz}$), 7.46-7.38 (m, 3H), 7.32 (m, 1H), 7.08 (d, 1H, $J = 2.2\text{Hz}$), 6.79 (dd, 1H, $J = 2.2, 8.6\text{Hz}$), 5.94 (q, 1H, $J = 6.2\text{Hz}$), 3.79 (s, 3H), 1.60 (d, 3H, $J = 6.2\text{Hz}$).

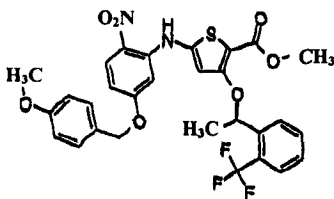
[0422] 中间体实施例 5: 5-(6-羟基-1H-苯并咪唑-1-基)-3-(((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0423]



[0424] 步骤 A-5-[[5-([[4-(甲基氧基)苯基]甲基]氧基)-2-硝基苯基]氨基]-3-(((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

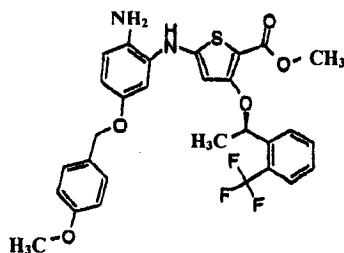
[0425]



[0426] 用类似于中间体实施例 4, 步骤 B 的方法, 从 5-氨基-3-(((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯和 2-溴代-4-([[4-(甲基氧基)苯基]甲基]氧基)-1-硝基苯制备标题化合物。MS (ESI): 603 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0427] 步骤 B-5-[[2-氨基-5-([[4-(甲基氧基)苯基]甲基]氧基)苯基]氨基]-3-(((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

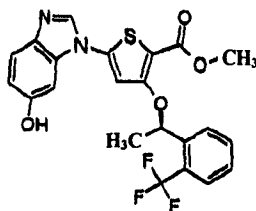
[0428]



[0429] 用类似于中间体实施例 4, 步骤 C 的方法, 从 5-[[5-([[4-(甲基氧基)苯基]甲基]氧基)-2-硝基苯基]氨基]-3-(((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯, 制备标题化合物。MS (ESI): 573 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0430] 步骤 C-5-(6-羟基-1H-苯并咪唑-1-基)-3-(((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0431]

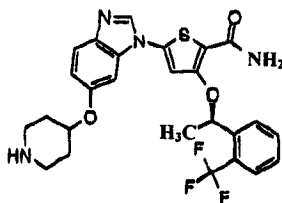


[0432] 搅拌下,将 5-([2-氨基-5-([4-(甲基氧基)苯基]甲基)氧基)苯基]氨基)-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯 (11g, 19.19mmol) 溶解于 100mL 的原甲酸三甲酯中。一次性加入对-甲苯磺酸吡啶 (0.502g, 1.91mmol)。搅拌反应 2.5h。浓缩混合物,并将粗 5-[6-([4-(甲基氧基)苯基]甲基)氧基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯溶解于氯仿 (75mL) 中,搅拌下使之冷却至 0℃。加入三氟乙酸 (50.0mL, 649mmol)。搅拌反应 1h 并使之温热至室温。在冷却时浓缩该混合物以去除大部分三氟乙酸。将该混合物溶解于氯仿 (200mL) 中。将反应物倾入分液漏斗中并分离各层。然后用饱和的 NaHCO₃ 溶液将该混合物的 pH 调节至中性。用氯仿洗涤水层。合并的有机层经 MgSO₄ 干燥,过滤和真空浓缩。经快速层析纯化,得到 8.16g (92%, 经 2 个步骤) 的标题化合物。

[0433] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ 7.88 (d, 1H, J = 7.87Hz), 7.83 (s, 1H), 7.66-7.55 (m, 3H), 7.40 (t, 1H, J = 7.7Hz), 6.92 (d, 1H, J = 2.2Hz), 6.85 (dd, 1H, J = 2.3, 8.7Hz), 5.78 (q, 1H, J = 6.23Hz), 5.47 (s, 1H), 3.91 (s, 3H), 1.75 (d, 3H, J = 6.23Hz); MS (ESI): 463 [M+H]⁺.

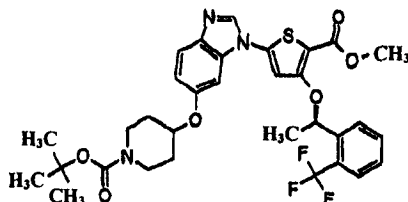
[0434] 实施例 5: 5-[6-(4-哌啶基氧基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩甲酰胺

[0435]



[0436] 步骤 A-4-([1-[5-[(甲基氧基)羰基]-4-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩基]-1H-苯并咪唑-6-基]氧基)-1-哌啶羧酸 1,1-二甲基乙酯

[0437]

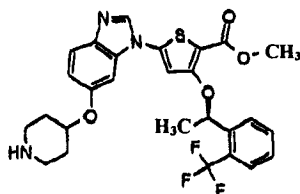


[0438] 搅拌下,将 5-(6-羟基-1H-苯并咪唑-1-基)-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]-乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯 (0.478g, 1.03mmol)、碳酸铯 (0.470g, 1.44mmol) 和 4-(甲苯-4-磺酰基氧基)-哌啶-1-羧酸叔丁酯 (0.439g, 1.24mmol) 合并于 10mL 的 N,N-二甲基甲酰胺和加热至 60℃。将反应加热 36h 和冷却至室温。将该混合物倾入 EtOAc 和水中并分离各层。用盐水洗涤有机层并用 EtOAc 提取合并的水层。合并的有机层经 MgSO₄ 干燥,过滤和真空浓缩。经快速层析纯化,得到 0.482g (72%) 的标题化合物。

[0439] ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6) δ 8.43(s, 1b), 7.95(dd, $J = 7.7\text{Hz}$, 1H), 7.78-7.66(m, 2H), 7.63(d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.50(m, 1H), 7.29(s, 1H), 7.09(d, $J = 2.2\text{Hz}$, 1H), 7.01(dd, $J = 8.8, 2.2\text{Hz}$, 1H), 5.97(q, $J = 6.2\text{Hz}$, 1H), 4.59(m, 1H), 3.81(s, 3H), 3.65-3.56(m, 2H), 3.25-3.15(m, 2H), 1.91-1.82(m, 2H), 1.63(d, $J = 6.2\text{Hz}$, 3H), 1.59-1.49(m, 2H), 1.38(s, 9H). MS m/z 646(M+1).

[0440] 步骤 B-5-[6-(4-哌啶基氧基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0441]

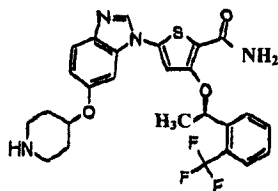


[0442] 搅拌下,将 4-({1-[5-[(甲基氧基)羰基]-4-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基]-2-噻吩基]-1H-苯并咪唑-6-基}氧基)-1-哌啶羧酸 1,1-二甲基乙酯 (1.84g, 来自采用类似于实施例 5, 步骤 A 的方法制备的不同批次, 2.85mmol) 溶解于 30mL 的 DCM 中并冷却至 0°C 。经由加液漏斗逐滴加入三氟乙酸 (10.0mL, 130mmol)。搅拌反应 1h 和经由加液漏斗逐滴加入 2N 氢氧化钠溶液 (60mL)。使用饱和的 NaHCO_3 水溶液调节 pH 至碱性。将该混合物倾入分液漏斗中并分离各层。水层用 DCM 洗涤一次和用乙醚洗涤一次。合并的有机层经 MgSO_4 干燥, 过滤和真空浓缩。经快速层析纯化, 提供 1.37g (88%) 的标题化合物。

[0443] ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6) : δ 8.42(s, 1H), 7.95(d, $J = 7.9\text{Hz}$, 1H), 7.78-7.67(m, 2H), 7.61(d, $J = 8.6\text{Hz}$, 1H), 7.61(m, 1H), 7.30(s, 1H), 7.05(d, $J = 2.2\text{Hz}$, 1H), 6.97(dd, $J = 8.8, 2.2\text{Hz}$, 1H), 5.96(q, $J = 6.1\text{Hz}$, 1H), 4.41(m, 1H), 3.80(s, 3H), 2.97-2.88(m, 2H), 2.59-2.49(m, 2H), 1.92-1.83(m, 2H), 1.63(d, $J = 6.1\text{Hz}$, 3H), 1.51-1.38(m, 2H). MS m/z 546(M+1).

[0444] 步骤 C-5-[6-(4-哌啶基氧基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩甲酰胺

[0445]



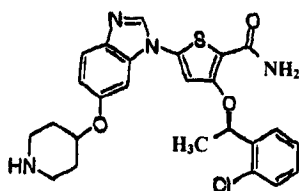
[0446] 将 5-[6-(4-哌啶基氧基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-((1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基)氧基)-2-噻吩羧酸甲酯 (0.154g, 0.282mmol) 溶解于密封的试管中的 7N 氨水 /MeOH(12.0mL, 84.0mmol) 中并加热至 80°C 计 2 天。将反应冷却至室温和真空浓缩。经快速层析纯化, 得到 0.129g (86%) 的标题化合物。

[0447] ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6) δ 8.34(s, 1H), 7.91(d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.81(br s, 1H), 7.78-7.70(m, 2H), 7.61(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.53(m, 1H), 7.12(br s, 1H), 7.03(s, 1H), 7.00-6.93(m, 2H), 5.94(q, $J = 6.2\text{Hz}$, 1H), 4.44(m, 1H), 3.03-2.94(m, 2H), 2.70-2.61(m,

2H), 1.96-1.86 (m, 2H), 1.72 (d, J = 6.2Hz, 3H), 1.59-1.46 (m, 2H). MSm/z 531 (M+1).

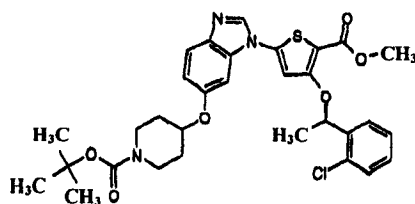
[0448] 实施例 6: 3-[[(1R)-1-(2-氯代苯基) 乙基] 氧基]-5-[6-(4-哌啶基氧基)-1H-苯并咪唑-1-基]-2-噻吩甲酰胺

[0449]



[0450] 步骤 A-4-[(1-{4-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基 }-5-[(甲基氧基) 羰基]-2-噻吩基]-1H-苯并咪唑-6-基) 氧基]-1-哌啶羧酸 1,1-二甲基乙酯

[0451]

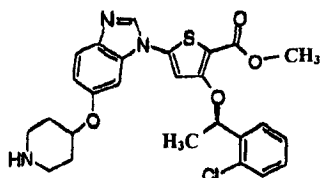


[0452] 搅拌下, 将 3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-5-(6-羟基-1H-苯并咪唑-1-基)-2-噻吩羧酸甲酯 (2.00g, 4.66mmol)、三苯基膦 (4.89g, 18.6mmol) 和 4-羟基-1-哌啶羧酸叔丁酯 (1.88g, 9.34mmol) 溶解于 DCM (50mL) 中并冷却至 10°C。经由注射器逐滴加入偶氮二羧酸二异丙酯 (1.84mL, 9.35mmol)。将反应物搅拌 5min 并温热至室温。将反应物搅拌 4h 并用硅胶吸附。经快速层析纯化, 得到混有少量杂质的标题化合物。

[0453] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 8.47 (s, 1H), 7.70 (dd, 1H, J = 1.6, 7.7Hz), 7.64 (d, 1H, J = 8.8Hz), 7.44-7.37 (m, 2H), 7.34 (s, 1H), 7.31 (m, 1H), 7.15 (d, 1H, J = 2.4Hz), 7.01 (dd, 1H, J = 2.2, 8.8Hz), 5.97 (q, 1H, J = 6.2Hz), 4.59 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.65-3.56 (m, 2H), 3.27-3.14 (m, 2H), 1.92-1.81 (m, 2H), 1.60 (d, 3H, J = 6.2Hz), 1.60-1.47 (m, 2H), 1.38 (s, 9H); MS (ESI): 612 [M+H] $^+$.

[0454] 步骤 B-3-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基]-5-[6-(4-哌啶基氧基)-1H-苯并咪唑-1-基]-2-噻吩羧酸甲酯

[0455]

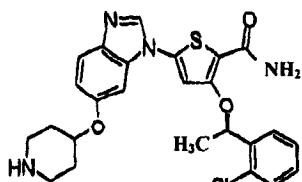


[0456] 将 4-[(1-{4-[[(1R)-1-(2-氯苯基) 乙基] 氧基 }-5-[(甲基氧基)-羰基]-2-噻吩基]-1H-苯并咪唑-6-基) 氧基]-1-哌啶羧酸 1,1-二甲基乙酯溶解于 DCM (60mL) 中并冷却至 0°C。经由加液漏斗逐滴加入三氟乙酸 (15.0mL, 195mmol)。将反应物搅拌 1.5h 和经由加液漏斗逐滴加入 2N 氢氧化钠溶液 (88mL)。使用饱和的 NaHCO_3 水溶液调节 pH 至 ~8。将该混合物倾入分液漏斗中并分离各层。用 DCM (3x) 和 EtOAc (1x) 洗涤水层。合并的有机层经 MgSO_4 干燥, 过滤和真空浓缩。经快速层析纯化, 得到 1.95g (82%, 经 2 个步骤) 的标题化合物。

[0457] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) : δ 8.46 (s, 1H), 7.71 (dd, 1H, $J = 1.7, 7.7\text{Hz}$), 7.62 (d, 1H, $J = 8.8\text{Hz}$), 7.46-7.38 (m, 2H), 7.35 (s, 1H), 7.32 (m, 1H), 7.09 (d, 1H, $J = 2.2\text{Hz}$), 6.97 (dd, 1H, $J = 2.2, 8.8\text{Hz}$), 5.97 (q, 1H, $J = 6.2\text{Hz}$), 4.42 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 2.96-2.88 (m, 2H), 2.58-2.49 (m, 2H), 1.93-1.84 (m, 2H), 1.60 (d, 3H, $J = 6.2\text{Hz}$), 1.51-1.39 (m, 2H) ;MS (ESI) :512[M+] $^+$.

[0458] 步骤 C-3-[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基}-5-[6-(4-哌啶基氧基)-1H-苯并咪唑-1-基]-2-噻吩甲酰胺

[0459]

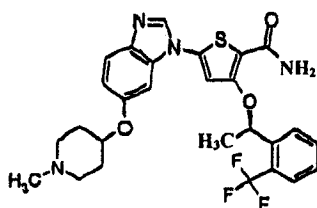


[0460] 将 3-[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基}-5-[6-(4-哌啶基氧基)-1H-苯并咪唑-1-基]-2-噻吩羧酸甲酯 (0.150g, 0.293mmol) 溶解于密封的试管的 7N 氨水 / MeOH (12.0mL, 84.0mmol) 中, 并加热至 80 $^{\circ}\text{C}$ 计 48h。浓缩该溶液并再装入新鲜的 7N 氨水 / MeOH (12.0mL, 84.0mmol) 并加热至 110 $^{\circ}\text{C}$ 计 72h。将反应冷却至室温和真空浓缩。经快速层析纯化, 得到 0.126g (87%) 的标题化合物。

[0461] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) : δ 8.38 (s, 1H), 7.79 (br s, 1H), 7.66 (dd, 1H, $J = 1.6, 7.7\text{Hz}$, 1H), 7.61 (d, 1H, $J = 8.8\text{Hz}$), 7.45 (dd, 1H, $J = 1.3, 7.8\text{Hz}$), 7.40 (m, 1H), 7.84 (m, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.11 (br s, 1H), 7.01 (d, 1H, $J = 2.2\text{Hz}$), 6.96 (dd, 1H, $J = 2.3, 8.7\text{Hz}$), 5.98 (q, 1H, $J = 6.2\text{Hz}$), 4.41 (m, 1H), 2.98-2.89 (m, 2H), 2.62-2.53 (m, 2H), 1.94-1.84 (m, 2H), 1.70 (d, 3H, $J = 6.2\text{Hz}$), 1.54-1.40 (m, 2H) ;MS (ESI) :497[M+] $^+$.

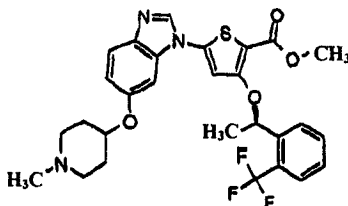
[0462] 实施例 7:5-[6-[(1-甲基-4-哌啶基)氧基]-1H-苯并咪唑-1-基]-3-[(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基]氧基)-2-噻吩甲酰胺

[0463]



[0464] 步骤 A-5-[6-[(1-甲基-4-哌啶基)氧基]-1H-苯并咪唑-1-基]-3-[(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基]氧基)-2-噻吩羧酸甲酯

[0465]



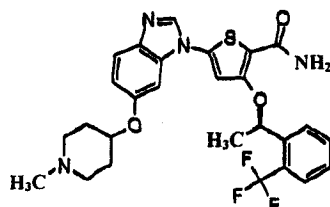
[0466] 将 5-[6-(4-哌啶基氧基)-1H-苯并咪唑-1-基]-3-[(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基]氧基)-2-噻吩羧酸甲酯 (0.200g, 0.367mmol) 溶解于 DCM (4mL) 和 MeOH (2mL) 中。

经由注射器加入乙酸 (0.025mL, 0.44mmol) 和甲醛 (0.055mL, 37%的水溶液, 0.74mmol)。一次性加入三乙酰氧基硼氢化钠 (0.117g, 0.552mmol)。将反应物搅拌 1h 并用饱和的 NaHCO₃ 溶液猝灭。将该混合物倾入 DCM 和半-饱和的 NaHCO₃ 水溶液中。分离各层和用 DCM (3x) 和 EtOAc (1x) 洗涤水层。合并的有机层经 MgSO₄ 干燥, 过滤和真空浓缩。经快速层析纯化, 得到 0.150g (73%) 的标题化合物。

[0467] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 8.43 (s, 1H), 7.96 (d, J = 7.7Hz, 1H), 7.78-7.68 (m, 2H), 7.62 (d, J = 9.0Hz, 1H), 7.51 (m, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.06 (br s, 1H), 6.98 (m, 1H), 5.97 (q, J = 6.0Hz, 1H), 4.41 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.26 (s, 3H), 2.52-2.43 (m, 2H), 2.27-2.11 (m, 2H), 1.98-1.85 (m, 2H), 1.73-1.60 (m, 2H), 1.62 (d, J = 6.0Hz, 3H). MS (ESI) : 560 [M+H]⁺.

[0468] 步骤 B-5-{6-[(1-甲基-4-哌啶基)氧基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-({(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)-2-噻吩甲酰胺

[0469]

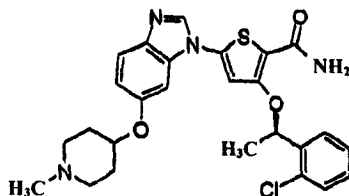


[0470] 将 5-{6-[(1-甲基-4-哌啶基)氧基]-1H-苯并咪唑-1-基}-3-({(1R)-1-[2-(三氟甲基)苯基]乙基}氧基)-2-噻吩羧酸甲酯 (0.148g, 0.264mmol) 溶解于密封的试管中的 7N 氨水/MeOH (12.0mL, 84.0mmol) 中并加热至 80°C 计 24 小时。将反应冷却至室温和真空浓缩。经快速层析纯化, 得到 0.138g (96%) 的标题化合物。

[0471] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 8.35 (s, 1H), 7.92 (d, J = 7.7Hz, 1H), 7.82 (br s, 1H), 7.80-7.71 (m, 2H), 7.64-7.51 (m, 2H), 7.12 (br s, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.99-6.94 (m, 2H), 5.95 (q, J = 6.2Hz, 1H), 4.36 (m, 1H), 2.64-2.53 (m, 2H), 2.23-2.11 (m, 2H), 2.17 (s, 3H), 1.94-1.84 (m, 2H), 1.73 (d, J = 6.2Hz, 3H), 1.71-1.57 (m, 2H). MS (ESI) : 545 [M+H]⁺.

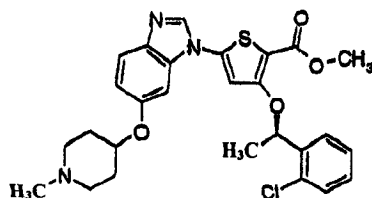
[0472] 实施例 8 : 3-[(1R)-1-(2-氯代苯基)乙基]氧基}-5-{6-[(1-甲基-4-哌啶基)氧基]-1H-苯并咪唑-1-基}-噻吩甲酰胺

[0473]



[0474] 步骤 A-3-[(1R)-1-(2-氯代苯基)乙基]氧基}-5-{6-[(1-甲基-4-哌啶基)氧基]-1H-苯并咪唑-1-基}-2-噻吩羧酸甲酯

[0475]

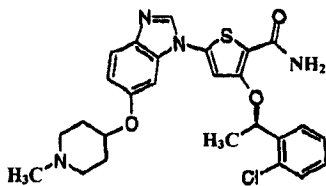


[0476] 将 3-[[[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基]-5-[6-(4-哌啶基氧基)-1H-苯并咪唑-1-基]-2-噻吩羧酸甲酯 (0.260g, 0.508mmol) 溶解于 DCM(4mL) 和 MeOH(2mL) 中。经由注射器加入乙酸 (0.035mL, 0.61mmol) 和甲醛 (0.076mL, 37%的水溶液, 1.0mmol)。一次性加入三乙酰氧基硼氢化钠 (0.161g, 0.760mmol)。将反应物搅拌 2h 并倾入 DCM 和半饱和的 NaHCO₃ 水溶液中。分离各层和用 DCM 和 EtOAc 洗涤水层。合并的有机层经 MgSO₄ 干燥, 过滤和真空浓缩。经快速层析纯化, 得到 0.215g (80%) 的标题化合物。

[0477] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.48 (s, 1H), 7.73 (dd, 1H, J = 1.8, 7.7Hz), 7.63 (d, 1H, J = 8.8Hz), 7.47-7.40 (m, 2H), 7.38 (s, 1H), 7.34 (m, 1H), 7.12 (d, 1H, J = 2.2Hz), 6.99 (dd, 1H, J = 2.2, 8.8Hz), 5.98 (q, 1H, J = 6.2Hz), 4.41 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 2.65-2.54 (m, 2H), 2.24-2.13 (m, 2H), 2.17 (s, 3H), 1.97-1.87 (m, 2H), 1.72-1.61 (m, 2H), 1.62 (d, 3H, J = 6.2Hz); MS (ESI): 526 [M+H]⁺.

[0478] 步骤 B-3-[[[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基]-5-[6-[(1-甲基-4-哌啶基)氧基]-1H-苯并咪唑-1-基]-2-噻吩甲酰胺

[0479]



[0480] 将 3-[[[(1R)-1-(2-氯苯基)乙基]氧基]-5-[6-[(1-甲基-4-哌啶基)氧基]-1H-苯并咪唑-1-基]-2-噻吩羧酸甲酯 (0.214g, 0.407mmol) 溶解于密封的试管中的 7N 氨水的 MeOH (12.0mL, 84.0mmol) 中并加热至 80°C 计 2.5 天。将反应冷却至室温和真空浓缩。经快速层析纯化, 得到 0.208g (100%) 的标题化合物。

[0481] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.39 (s, 1H)-7.80 (br s, 1H), 7.67 (dd, 1H, J = 1.5, 7.6Hz), 7.62 (d, 1H, J = 8.6Hz), 7.45 (m, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.34 (m, 1H), 7.13 (s, 1H), 7.11 (br s, 1H), 7.02 (d, 1H, J = 2.0Hz), 6.97 (dd, 1H, J = 2.2, 8.8Hz), 5.99 (q, 1H, J = 6.2Hz), 4.37 (m, 1H), 2.63-2.53 (m, 2H), 2.22-2.14 (m, 2H), 2.17 (s, 3H), 1.95-1.86 (m, 2H), 1.71 (d, 3H, J = 6.2Hz), 1.70-1.59 (m, 2H); MS (ESI): 511 [M+H]⁺.

[0482] 比较实施例

[0483] 可采用本领域已知的方法, 包括那些在 SmithKline Beecham 有限公司的、PCT 公布号 WO2004/014899 中描述的方法, 制备编号为 121、126、127、136 和 143 的比较实施例。

[0484]

编号	结构
121	
126	
127	
136	
143	

[0485] 生物学实施例

[0486] I. 抑制 PLK1 的分析

[0487] A. 制备 6x N-末端 His- 标记的 PLK 激酶域

[0488] 在多角体蛋白基因启动子 (polyhedrin promoter) 的控制下, 从杆状病毒感染的 T. ni 细胞制备 6x N-末端 His- 标记的 PLK 激酶域 (源于 MKKGHHHHHD 的氨基酸 21-346) SEQ ID :No. 1。所有过程均在 4℃ 进行。将细胞溶解于 50mM HEPES、200mM NaCl、50mM 咪唑、5% 丙三醇 ;pH 7.5 中。将该匀浆于 SLA-1500 离心机 (rotor) 中, 以 14Krpm 下离心 1h 并将上清液经 1.2 微米滤器过滤。将上清液荷载于镍螯化的琼脂糖 (Sepharose) (Amersham Pharmacia) 柱上并用细胞溶解缓冲液洗涤。用 20%、30% 和 100% 的缓冲液 B 逐步洗脱蛋白质, 其中缓冲液 B 是 50mM HEPES、200mM NaCl、300mM 咪唑、5% 丙三醇 ;pH 7.5。通过 SDS-PAGE 测定含 PLK 的流分。用 50mM HEPES、1mM DTT、5% 丙三醇 ;pH 7.5 将含 PLK 的流分稀释五倍, 然后将其荷载于 SP 琼脂糖 (Amersham Pharmacia) 柱上。在用 50mM HEPES、1mM DTT、5% 丙三醇 ;pH 7.5 洗涤柱后, 用 50mM HEPES、1mM DTT、500mM NaCl ;5% 丙三醇 ;pH 7.5 逐步洗脱 PLK。用 10kDa 分子量的截止膜浓缩 PLK, 然后将其荷载于经用 25mM HEPES、1mM DTT、500mM NaCl、5% 丙三醇 ;pH 7.5 平衡的 Superdex 200 凝胶过滤 (Amersham Pharmacia) 柱

上。通过 SDS-PAGE 测定含 PLK 的流分。将 PLK 汇集、等分并储存于 -80°C 。使用质谱法、N-末端测序和氨基酸分析控制样品质量。

[0489] B. 酶活性 +/- 抑制剂测定如下：

[0490] 所有检测值均在信号产生随时间和酶直线增加的条件下获得。以于 100% DMSO 中的可变的已知浓度，将受试化合物加入白色的 384-孔分析板 (0.1 μL 用于 10 μL 和某些 20 μL 测试, 1 μL 用于某些 20 μL 测试) 中。使用 DMSO (适宜时, 终浓度 1-5%) 和 EDTA (反应中 65mM) 作为对照。于 22°C , 如下制备反应混合物 (Reaction Mix)：

[0491] 25mM HEPES, pH 7.2

[0492] 15mM MgCl_2

[0493] 1 μM ATP

[0494] 0.05 μCi /孔 ^{33}P - γ ATP (10Ci/mMol)

[0495] 1 μM 底物肽 (生物素-Ahx-SFNDFLDFD) SEQ ID :No. 2.

[0496] 0.15mg/mL BSA

[0497] 1mM DTT

[0498] 2nM PLK1 激酶域 (最后加入)

[0499] 在用自动移液器加入酶后, 紧接着, 快速将反应混合物 (10 或 20 μL) 加入每一孔中, 并于 22°C 和孵育 1-1.5h。用每孔 50 μL 的终止混合物 (50mM EDTA、4.0mg/ml 的于标准 Dulbecco's PBS (没有 Mg^{2+} 和 Ca^{2+}) 中的链亲合素 SPA 磁珠、50 μM ATP) 使 20 μL 酶反应停止。用每孔 10 μL 的终止混合物 (50mM EDTA、3.0mg/mL 的于标准 Dulbecco's PBS (没有 Mg^{2+} 和 Ca^{2+}) 中的链亲合素偶连的 SPA 显像磁珠 (SPA Imaging Beads ("LeadSeeker"))、50 μM ATP) 使 10 μL 反应停止。用清亮的塑料封条将板密封, 于 500xg 旋转 1min 或放置过夜, 以 Packard TopCount 计数, 30 秒/孔 (规范的 SPA) 或使用 Viewlux 成像仪 (LeadSeeker SPA) 进行成像。将背景上的信号 (EDTA 对照) 转换为相对于在对照 (仅有 DMSO) 孔获得的百分抑制。

[0500] C. 结果

[0501] 数据在下表 1 中报告。在表 1 中, + = $\text{pIC}_{50} < 6$; ++ = $\text{pIC}_{50} 6-8$; +++ = $\text{pIC}_{50} > 8$ 。

[0502] II. 亚甲蓝生长抑制分析 - 由 PLK1 抑制剂的细胞增殖的抑制

[0503] 通常, 将在 37°C , 于 5% CO_2 孵育器中, 在含 10% 胎牛血清的、适宜的培养基中培养的、不同肿瘤来源的指数性生长的细胞系, 以低密度 (少于 2000 个细胞/孔) 铺陈于 96-孔板中。铺陈后 24 小时, 用范围为 10 μM 至 0.04nM 的不同浓度的受试化合物处理细胞。留下几个孔不经处理作为对照。处理后 72 小时, 使用每孔 100 μL 的亚甲蓝 (Sigma M9140) (0.5% 于 50 : 50 乙醇 : 水中) 测定细胞计数。将染色的细胞于室温下孵育 30 分钟, 随后漂洗所述板和将染料溶解于 1% N-十二烷酰基肌氨酸钠盐 (Sigma L5125, 于 PBS 中) (亚甲蓝分析的更多细节在下面描述) 中。在微型读板器上读板, 于 620nm 处检测 OD 值。

[0504] 将细胞生长的百分抑制表示为相对于 100% 增殖 (对照) 的百分增殖。通过与用 Xlfit 所得的数据拟合的 4 个参数, 测定抑制 50% 的细胞生长的受试化合物的浓度 (IC_{50}), (从所有样品减去作为背景的无细胞对照的值)。数据示于下表 1 中并且表示几个不同实验的汇总, 尽管在某些实例中磁珠少许变异, 每个使用以上列出的通用参数完成。

[0505] 在一个分析中,将正常人包皮成纤维细胞(HFF)、人结肠(HCT116, RKO)、肺(H460, A549)和乳腺(MCF7)肿瘤细胞系于含10%胎牛血清的高浓度葡萄糖DMEM(Life Technologies)中,在37℃下潮湿的5%CO₂、95%空气的孵育器中培养。用胰蛋白酶/EDTA收集细胞,用血球计对细胞计数,并将其以下列密度铺陈于96-孔组织培养板(Falcon3075)的每孔100μL的培养基中: HFF 5,000个细胞/孔、HCT116 3,000个细胞/孔、RKO 2,500个细胞/孔、H4602,500个细胞/孔、A549 5,000个细胞/孔、MCF7 4,000个细胞/孔。次日,将从10mM储备溶液于DMSO中的化合物在含100μg/mL庆大霉素的低浓度葡萄糖的DMEM中稀释,稀释的浓度为所需终浓度的两倍浓度。将100μL/孔的这些稀释液加入到在分析板中的100μL的培养基中。将含0.6% DMSO的培养基加至对照孔中。所有孔中的DMSO终浓度是0.3%。将细胞于37℃,5%CO₂孵育72h。通过抽吸去除培养基。通过采用每孔80μL的亚甲蓝(Sigma M9140,0.5%于50:50乙醇:水中)使细胞染色评估细胞生物量,于室温下孵育30-60min。通过抽吸去除色素和通过将板沉浸于水中漂洗板,然后风干。为了使细胞去除色素,加入100μL的增溶作用的溶液(1%N-十二烷基肌氨酸钠盐, Sigma L5125,于PBS中)并将板轻轻振摇约30min。在微型读板器上于620nm检测光密度。计算相对于溶剂处理的对照孔的细胞生长的百分抑制。采用非线性回归(Levenberg-Marquardt)和方程 $y = V_{max} * (1 - (x / (K + x))) + Y2$ (其中“K”等于IC₅₀)进行内插值替换计算抑制50%细胞生长的化合物的浓度(IC₅₀)。

[0506] 数据在下表1中报告。在表1中,+ = IC₅₀ > 1μM; ++ = IC₅₀ 0.1-1μM; +++ = IC₅₀ < 0.1μM。

[0507] III. 采用平衡透析测定对人血浆蛋白的蛋白结合

[0508] 96孔板(高通量透析):将化合物储备溶液掺入人血浆中,目标浓度为2000ng/mL。将混合物轻轻倒转数次以确保均质化,收集一式三份50μL等分试样以验证初始浓度。装配透析板(HT透析膜带,分子量的截止限制范围为12,000-14,000道尔顿)后,将峰药血浆(spiked plasma)(150μL)置于孔的供体室(donor compartment)中,将磷酸盐缓冲的盐水pH 7.4(150μL)置于受体室(receiver compartment)中。每个化合物和血浆型设立八个孔。将板置于37℃孵育器中摇板器上。6h孵育期后,去除板。对(每孔)来自供体室和受体室中的单份50μL等分试样进行分析。用LC/MS/MS进行样品分析(结果以药峰下面积/内标峰下面积(Drug Peak Area/Internal Standard Peak Area)的比率报告)。也可采用透析细胞而不是HT透析96孔板进行蛋白结合分析。数据在下表1中报告。在表1中,%蛋白结合,+ = > 98%; ++ = 95-98%; +++ = < 95%。

[0509] IV. 高通量溶解度(High Throughput Solubility)分析

[0510] 对每一化合物制备两份样品。一份(标准样品)含在水/有机混合溶剂混合物中的20μM固定浓度的化合物。另一份(测试样品)含在pH7.4,0.05M磷酸盐缓冲液中的最高浓度为200μM化合物,并且振摇24h。将测试样品通过0.45μm滤器的过滤,然后离心10min以去除任何不溶性固体物。对这些样品进行HPLC分析。峰面积用于用电脑计算溶解度。数据在下表1中报告。在表1中,溶解度,+ = < 30μM; ++ = 30-100μM; +++ = > 100μM。

[0511]

表 1

[0512]

实施 例号	PLK1 pIC ₅₀	HCT116 IC ₅₀ (μ M)	H460 IC ₅₀ (μ M)	MCF7 IC ₅₀ (μ M)	A549 IC ₅₀ (μ M)	RKO IC ₅₀ (μ M)	HFF IC ₅₀ (μ M)	%蛋 白结 合	溶 解度
1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++
5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++
6	+++	+++	+++	ND	+++	+++	++	+++	+++
7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
8	+++	+++	+++	ND	+++	+++	+++	+++	+++
Com. Ex 127	+++	++	+++	++	+++	+++	+	+	+
Com. Ex 126	+++	+++	+++	+	+++	+++	++	+	ND
Com. Ex 121	++	+	+	+	+	+	+	++	ND
Com. Ex 136	++	++	++	++	ND	++	+	+++	ND
Com. Ex 143	++	++	+	++	+	++	+	+++	+

[0513] ND:未检测到

[0514] 表 1 显示,与测试的比较实施例相比,本文要求保护的化合物具有优越的特性。例如,在试验的多细胞系 PLK1 酶分析和亚甲蓝细胞增殖分析中,与比较实施例 121、136 和 143 相比,实施例化合物 1-8 具有良好的酶和细胞效能。与比较实施例 127 相比,实施例化合物 1-8 在 pH 7.4、0.05M 磷酸盐缓冲液中具有良好的溶解性。与比较实施例 126 和 127 相比,实施例化合物 1-3 和 5-8 在中人血清平衡透析分析中,具有良好的蛋白结合。

[0515] V. 由 PLK1 抑制剂引起的细胞增殖的细胞-滴度-Glo(Cell-Titer-Glo)的抑制

[0516] 将在 37°C、5% CO₂ 孵育器中、于含 10% 胎牛血清的、适宜的培养基中培养的不同肿瘤来源的指数生长细胞系,以低密度(少于 2000 个细胞/孔)铺陈于 96-孔板中。铺陈后 24 小时,用范围为 10 μ M 至 0.04nM 的不同浓度的受试化合物处理细胞。留下几个孔不经处理作为对照。处理后 72 小时,使用每孔 50-100 μ L 的 CellTiter-Glo(Promega#G7573)测定细胞数。将板于室温下孵育 15 分钟,在 Victor V 或 Envision 2100 阅读器上读取化学发光信号。

[0517] 将细胞生长的百分抑制表示为相对于 100% 增殖(对照)的百分增殖。通过与以 Xlfit 所得的数据拟合的 4 个参数,测定抑制 50% 的细胞生长的受试化合物的浓度(IC₅₀), (从所有样品减去作为背景的无细胞对照的值)。Cell-Titer Glo 数据示于下表 2 中并且表示几个不同实验的汇总,尽管在某些实例中磁珠少许变异,每个使用以上列出的通用参数完成。在表 2 中, + = IC₅₀ > 1 μ M; ++ = IC₅₀ 0.5-1 μ M; +++ = IC₅₀ < 0.5 μ M。

[0518]

表 2

[0519]

细胞系	Ex 1	Ex 2	Ex 3	Ex 4	Ex 5	Ex 6	Ex 7	Ex 8
HCT116 IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
A549-L IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
COL0205 IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
HT29 IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
MX-1 IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
SKOV-3 IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
LNCaP IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND
细胞系	Ex 1	Ex 2	Ex 3	Ex 4	Ex 5	Ex 6	Ex 7	Ex 8
P388 IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND
H1299 IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
HeLa IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND
HN5 IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND
MCF7 IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
MV522 IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
MDA-MB-468 IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
PANC-1 IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND
MiaPaca IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND
ASPC3 IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND
BXPC3 IC ₅₀	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND

序列表

<110> 史密丝克莱恩比彻姆公司 (SmithKline Beecham Corporation)

<120> 苯并咪唑噻吩化合物

<130>PR61603

<150>60/714, 337

<151>2005-09-06

<150>60/786, 244

<151>2006-03-27

<160>2

<170> 用于 Windows 4.0 版本的 FastSEQ

<210>1

<211>11

<212>PRT

<213> 杆状病毒感染的 T. ni 细胞

<400>1

Met Lys Lys Gly His His His His His His Asp

1

5

10

<210>2

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优化的 PLK 肽底物

<400>2

Ser Phe Asn Asp Thr Leu Asp Phe Asp

1

5