

一种 ROCK 抑制剂及其制备方法和用途

本申请要求分别于 2020 年 7 月 14 日和 2021 年 1 月 11 日向中国国家知识产权局提交的, 专利申请号分别为 202010676711.6 和 202110040185.9, 发明名称为“一种 ROCK 抑制剂及其制备方法和用途”的两件在先申请的优先权。所述两件申请的全文通过引用的方式结合于本申请中。

技术领域

本发明涉及药物技术领域, 具体涉及一种 ROCK 抑制剂及其制备方法和用途。

背景技术

特发性肺纤维化 (Idiopathic interstitial pulmonary fibrosis, IPF), 是一种原因不明的以普通间质性肺炎为改变的慢性、弥漫性肺间质疾病, 其组织病理学及影像学多显示为普通间质性肺炎的表现。因其发病机制复杂, 病情呈不可逆性进展, 早期诊断困难; 确诊后患者生存率随时间推移显著下降, 其 3 年生存率为 50%, 5 年生存率仅为 20%, 比多数癌症 (例如: 白血病、乳腺癌、结肠癌、子宫癌、肾癌等) 的生存率都低, 被称为“不是癌症的癌症”。目前, IPF 尚无肯定显著有效的治疗药物。根据近年来的随机对照临床试验的结果, 结合我国临床实际情况, 可以酌情使用的药物如吡非尼酮、尼达尼布, 仅推荐轻到中度肺功能障碍的 IPF 患者应用尼达尼布治疗, 而重度肺功能障碍的 IPF 患者服用尼达尼布治疗能否获益, 以及药物服用疗程尚需进一步探讨。

Rho GTP 酶(Rho GTPase)于 1985 年被发现, 属于 Ras 超家族, 与 Ras 有 25% 的同源性。目前发现的分布在哺乳动物组织细胞中的 Rho GTP 酶成员主要有 Rho (A、B、C)、Rac (1、2、3)、Cdc42 (Cdc42Hs/G25K、TC10、Tcl)、Rho D、Rho G、Chp (1、2)、Rnd (Rho E/Rnd3、Rnd1/Rho6、Rnd2/Rho7)、Rho H/TTF、Rif、Wrch1 和 Rho BTB (1、2), 其中 Rho (A、B、C) 是 Rho GTP 酶最主要的成员之一。ROCK(Rho-associated protein kinase)又称 Rho 激酶(Rho-associated kinase), 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 分子质量大约 160 kD, 是目前功能研究最为详细的 Rho 下游靶效应分子。ROCK 包括 ROCK1 (ROK β , p160-ROCK) 和 ROCK2 (ROK α) 亚型。两种亚型的氨基酸序列一致性为 65%, 在激酶结构域有高度相似性(92%一致)。ROCK 分布于全身组织, 相比较而言, ROCK1 在非神经组织(血液、小肠、胸腺等)中有更高表达, 而 ROCK2 在脑、心脏和结肠中有更高表达。

ROCK 参与多种心脑血管疾病, 包括高血压、动脉粥样硬化、缺血性脑卒中、心脏病、糖尿病肾病、眼疾病、肿瘤、神经损伤性疾病、辐射损伤以及自身免疫性疾病等的发生。例如, Rho/ROCK 信号通路参与 NAD(P)H 氧化酶激活, 诱导氧化应激, 诱发心脏微血管损伤和 C 反应蛋白诱导的动脉粥样硬化血栓; 高糖可以激活 Rho/ROCK 通路, 诱导内脂脂肪素和 I 型前胶原在成心肌细胞的表达, 使成心肌细胞过增殖而诱发糖尿病心肌病; Rho/ROCK 信号通路激活可以调节 NF- κ B 信号通路, 上调炎症基因并诱导糖尿病肾病的发生; Rho/ROCK 信号通路改变生物膜通透性影响癌细胞的转移; 脊髓损伤时, Rho 活化, 从而诱发生长锥萎缩导致轴突再生障碍, 同时诱发硫酸软骨素蛋白聚糖对神经元生长的抑制作用。

另外, Rho/ROCK 信号通路还参与了纤维化疾病的发生与发展。Rho/ROCK 信号通路激活可以增加局部缺血心肌纤维化水平, 且急性心肌纤维化大鼠心脏组织的 Rho 和 ROCK 表达明显增高。Rho/ROCK 信号通路激活可以诱导肌动蛋白磷酸化, 引发细胞纤维化。体内和体外实验结果均证明, 暴露于辐射一段时间后造成的心肺生理和病理损伤与 Rho/ROCK 通路参与诱导的纤维化有关。电离辐射导致的内皮黏附纤连蛋白和焦点黏着形成、内皮细胞迁移减少、内皮功能障碍与 Rho/ROCK 信号通路激活诱导的肌动蛋白骨架重组和应力纤维形成有关。

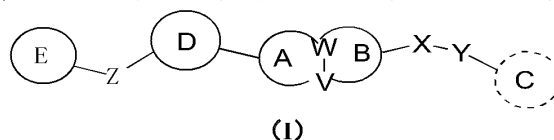
IPF 的肺损伤主要以肺泡上皮细胞(ACEs)为靶点, ACEs 死亡触发创伤愈合反应, 包括天然免疫激活、血管渗漏和血管外凝血、成纤维细胞募集、增殖和活化、细胞外基质合成和交联、肺泡塌陷和上皮细胞再生。ROCK 信号可从根本上调节这些参与愈合反应的细胞的活动, 尤其是上皮细胞、内皮细胞和成纤

维细胞。而 ROCK 在这些反应中的关键作用，进一步提示了 ROCK 抑制剂治疗肺纤维化的潜力。

目前尚无 ROCK 抑制途径治疗包括纤维化在内的众多病症的药物上市。新药剂的发展要求将先导化合物的化学及生物学特性仔细地进行最佳化。进一步地，所述化合物必须具有所希望的药代动力学以及药效动力学特征。该艰巨的开发过程通常要求广泛的试验。在许多情况下，确定所述最佳化合物的过程常常需要制备数以千计的结构上相似的化合物。因此，改善 ROCK 激酶抑制剂，开发出具有 ROCK1 和/或 ROCK2 激酶抑制作用的新骨架化合物，对于上述疾病的治疗具有积极意义。

发明内容

为改善现有技术中存在的问题，本发明提供下式 (I) 所示的化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、溶剂化物、多晶型物、代谢产物、酯、药学上可接受的盐或前药：



其中，

环 A 为无取代或任选被一个、两个或更多个 Rc 取代的如下基团：3-20 元杂环基，或 5-20 元杂芳基；

环 B 为无取代或任选被一个、两个或更多个 Rd 取代的如下基团：C₃₋₂₀ 环烷基，3-20 元杂环基，C₆₋₂₀ 芳基，或 5-20 元杂芳基；

所述环 A 和环 B 构成以 W 和 V 为连接位点的并环；

Rc, Rd 相同或不同，彼此独立地选自卤素，氨基，羟基，甲酰基，无取代或任选被一个、两个或更多个 Rs 取代的如下基团：C₁₋₂₀ 烷基，C₁₋₂₀ 烷氧基；

W 和 V 各自独立地为 C 或者 N，且 W 和 V 不同时为 N；

X 为 -C(=O)-；

Y 为 OH，化学键，C₁₋₂₀ 烷氧基，C₁₋₂₀ 烷基，-NH-或-N(C₁₋₂₀ 烷基)-，-NH(C₁₋₂₀ 烷基)，-NH(C₁₋₂₀ 烷氧基)；所述 C₁₋₂₀ 烷氧基，C₁₋₂₀ 烷基以及“-N(C₁₋₂₀ 烷基)-，-NH(C₁₋₂₀ 烷基)，-NH(C₁₋₂₀ 烷氧基)”中的 C₁₋₂₀ 烷氧基，C₁₋₂₀ 烷基可以为无取代或任选被一个、两个或更多个 Rs 取代；



可以为存在或不存在；

条件是 Y 为 OH，C₁₋₂₀ 烷氧基，C₁₋₂₀ 烷基，-NH(C₁₋₂₀ 烷基)，-NH(C₁₋₂₀ 烷氧基)时， 不存在；

当 Y 为化学键时， 选自无取代或任选被一个、两个或更多个 Ra 取代的如下基团：3-20 元杂环基，5-20 元杂芳基，C₃₋₂₀ 环烷基，或 C₆₋₂₀ 芳基；

当 Y 为 -NH-或-N(C₁₋₂₀ 烷基)-时， 选自无取代或任选被一个、两个或更多个 Rb 取代的如下基团：C₁₋₂₀ 烷基，3-20 元杂环基，5-20 元杂芳基，C₃₋₂₀ 环烷基，或 C₆₋₂₀ 芳基；

所述 Ra, Rb 相同或不同，彼此独立地选自卤素，CN，无取代或任选被一个、两个或更多个 Rs 取代的 C₁₋₂₀ 烷基，OH，5-20 元杂芳基，卤代 5-20 元杂芳基；

环 D 为无取代或任选被一个、两个或更多个 Re 取代的如下基团：C₃₋₂₀ 环烷基，3-20 元杂环基，C₆₋₂₀ 芳基，或 5-20 元杂芳基，并且，所述环 A 通过 N 原子与环 D 连接；

所述 Re 选自卤素，CN，OH，无取代或任选被一个、两个或更多个 Rs 取代的如下基团：C₁₋₂₀ 烷

基, C₃₋₂₀ 环烷基、C₁₋₂₀ 烷氧基, C₆₋₂₀ 芳基, 3-20 元杂环基或 5-20 元杂芳基;

或者当环 D 上至少有两个 Re 取代时, 相邻的两个 Re 与其所键链的 D 环原子共同形成 C₃₋₂₀ 环烷基或 3-20 元杂环基或 3-20 元杂芳基;

所述 Rs 选自卤素, CN, OH, C₁₋₂₀ 烷基, C₁₋₂₀ 烷氧基, C₆₋₂₀ 芳基或 5-20 元杂芳基。

Z 为-NH-;

环 E 为无取代或任选被一个、两个或更多个 Rf 取代的如下基团: C₆₋₂₀ 芳基, 或 5-20 元杂芳基;

Rf 选自卤素、CN、OH、无取代或任选被一个、两个或更多个 Rg 取代的如下基团: C₁₋₂₀ 烷基, C₆₋₂₀ 芳基, 或 5-20 元杂芳基;

Rg 选自卤素、CN、OH、任选被一个、两个或更多个卤素取代的 C₁₋₂₀ 烷基, -O-5-20 元杂芳基, 所述-O-5-20 元杂芳基任选被-C(O)-NH₂ 取代。

根据本发明的实施方案, W 选自 N 或 C;

V 选自 C;

X 为-C(=O)-;

Y 为 OH, 化学键, C₁₋₆ 烷氧基, C₁₋₆ 烷基, -NH-或-N(C₁₋₆ 烷基)-, -NH(C₁₋₆ 烷基), -NH(C₁₋₆ 烷氧基); 所述 C₁₋₆ 烷氧基, C₁₋₆ 烷基以及“-N(C₁₋₆ 烷基)-, -NH(C₁₋₆ 烷基), -NH(C₁₋₆ 烷氧基)”中的 C₁₋₆ 烷氧基, C₁₋₆ 烷基可以为无取代或任选被一个、两个或更多个 Rs 取代;

所述 Rs 选自卤素, CN, OH, C₁₋₆ 烷基, C₁₋₆ 烷氧基, C₆₋₁₂ 芳基或 5-12 元杂芳基。

根据本发明的实施方案,



当 Y 为化学键时, 选自无取代或任选被一个、两个或更多个 Ra 取代的如下基团: 3-6 元杂环基或 5-12 元杂芳基;

所述 Ra 选自 F, Cl, CN, OH 或任选被一个、两个或更多个卤素取代的 C₁₋₆ 烷基;



当 Y 为-NH-或-N(C₁₋₆ 烷基)-时, 选自无取代或任选被一个、两个或更多个 Rb 取代的如下基团: C₃₋₆ 环烷基, C₁₋₆ 烷基, 3-6 元杂环基, 或 5-12 元杂芳基;

所述 Rb 选自 F, Cl, CN, OH, F 或 Cl 代 5-12 元杂芳基;



在一个实施方案中, Y 为化学键时, 所述 X 与 所代表的 3-6 元杂环基的杂原子相连;

环 A 为无取代或任选被一个、两个或更多个 Rc 取代的如下基团: 3-6 元杂环基, 或 5-12 元杂芳基;

环 B 为无取代或任选被一个、两个或更多个 Rd 取代的如下基团: 3-6 元杂环基, C₆₋₁₂ 芳基或 5-12 元杂芳基;

所述环 A 和环 B 构成以所述 W 和 V 为连接位点的并环;

Rc, Rd 相同或不同, 彼此独立地选自 F, Cl, 氨基, 羟基, 甲酰基, C₁₋₆ 烷基, 所述 C₁₋₆ 烷基无取代或任选被一个、两个或更多个卤素取代;

所述环 D 为无取代或任选被一个、两个或更多个 Re 取代的如下基团: C₆₋₁₂ 芳基, 或 5-12 元杂芳基; 并且, 所述环 A 通过 N 原子与环 D 连接;

所述 Re 选自卤素, CN, OH, 无取代或任选被一个、两个或更多个 Rs 取代的如下基团: C₁₋₆ 烷基, C₃₋₆ 环烷基、C₁₋₆ 烷氧基, C₆₋₁₂ 芳基, 3-6 元杂环基或 5-12 元杂芳基;

或者当环 D 上至少有两个 Re 取代时, 相邻的两个 Re 与其所键链的 D 环原子共同形成 C₃₋₆ 环烷基或 3-6 元杂环基或 5-12 元杂芳基;

所述 Rs 选自卤素, CN, OH, C₁₋₆ 烷基, C₁₋₆ 烷氧基, C₆₋₁₂ 芳基或 5-12 元杂芳基;

Z 为 -NH-;

所述环 E 为无取代或任选被一个、两个或更多个 Rf 取代的 C₆₋₁₂ 芳基, 或 5-12 元杂芳基;

Rf 选自 F, Cl, 无取代或任选被一个、两个或更多个 Rg 取代的如下基团: C₆₋₁₂ 芳基, 或 5-12 元杂芳基;

Rg 选自 F, Cl, -O-5-12 元杂芳基, 所述-O-5-12 元杂芳基任选被-C(O)-NH₂ 取代。

根据本发明优选的实施方案, W 选自 N 或 C;

V 选自 C;

X 为 -C(=O)-;

Y 为 OH, 化学键, -NH-或-N(甲基)-, 条件是 Y 为 OH 时,  不存在;

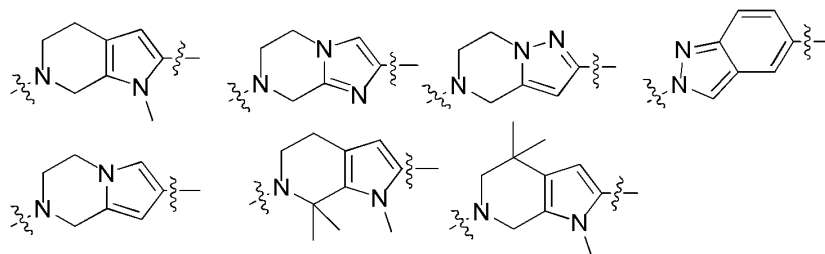
当 Y 为化学键时,  选自如下基团: 无取代, 或被一个, 两个或更多个 F 取代的氮杂环丁烷; 无取代, 或被一个, 两个或更多个 CN 取代的氮杂环丁烷; 无取代, 或被一个, 两个或更多个 CF₂ 取代的氮杂环丁烷; 无取代, 或被一个, 两个或更多个 CF₃ 取代的氮杂环丁烷; 无取代, 或被 F 和/或 OH 取代的氮杂环戊烷;

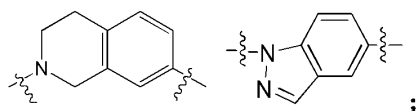
当 Y 为 -NH-或-N(甲基)-时,  选自如下基团: 无取代, 或被一个, 两个或更多个 F 取代的环丁烷; 异丙基; 哒嗪基; 无取代, 或被一个, 两个或更多个 CN 取代的氮杂环丁烷; 被 F 和/或 OH 取代的氮杂环戊烷; 无取代, 或被一个, 两个或更多个 F 取代的乙基; -N-氯代吡啶-哌啶基; 无取代, 或被一个, 两个或更多个 F 取代的吡啶基;

在一个实施方案中, Y 为化学键时, 所述 X 与  所代表的杂环基的杂原子相连;

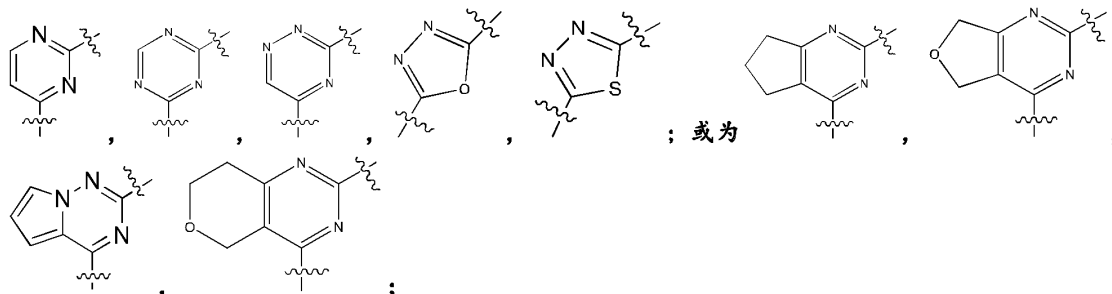
在一个实施方案中,  不存在时, Y 为甲基, 乙基, 丙基, 丁基, -CH₂CF₃, -NH-CH₂CF₃, -NHCH₂(CH₂)₂, -OCH₂CF₃, -OCH₂CH₃;

根据本发明的实施方案, 所述环 A 和环 B 构成如下并环:



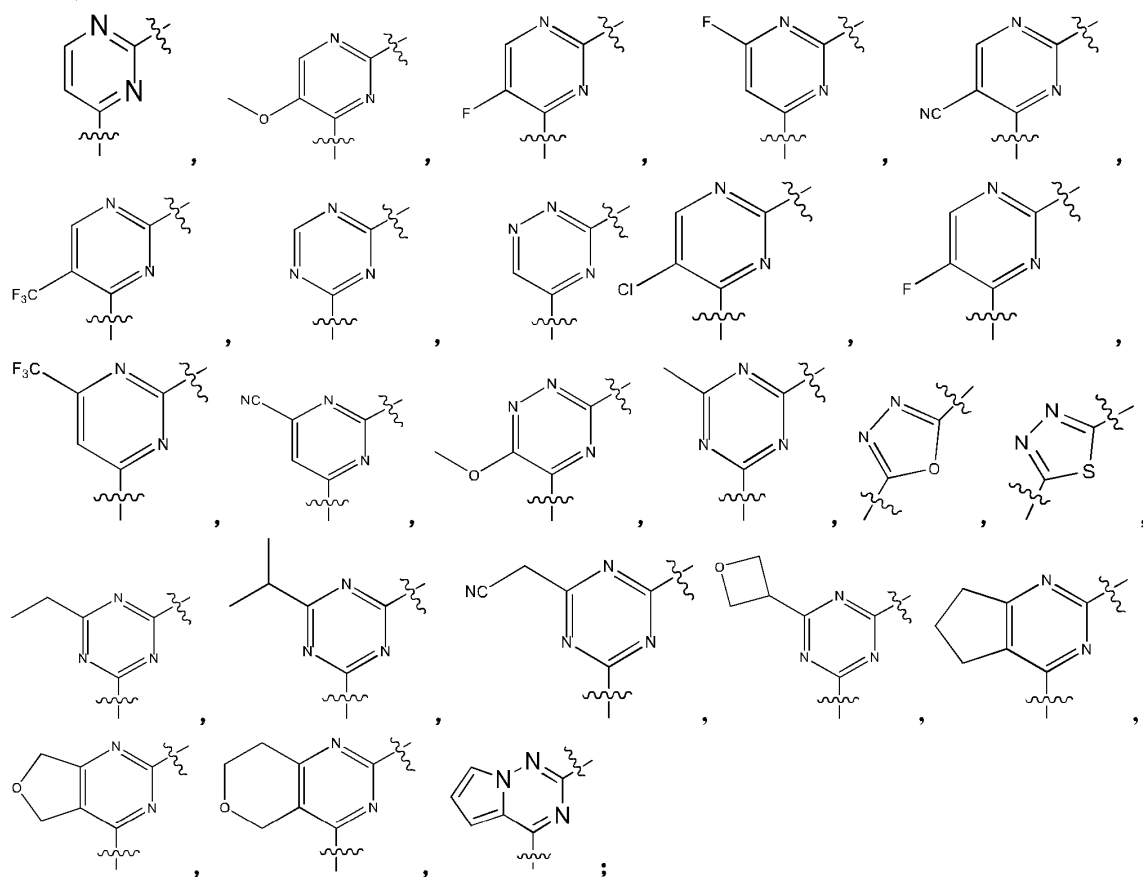


根据本发明的实施方案，所述环 D 为无取代或任选被一个、两个或更多个 Re 取代的如下基团：



其中，所述 Re 如前文所定义。

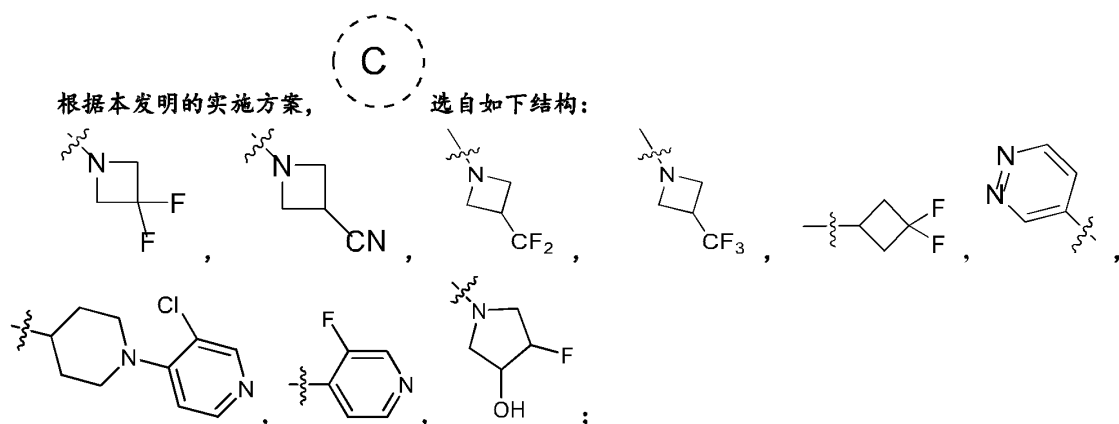
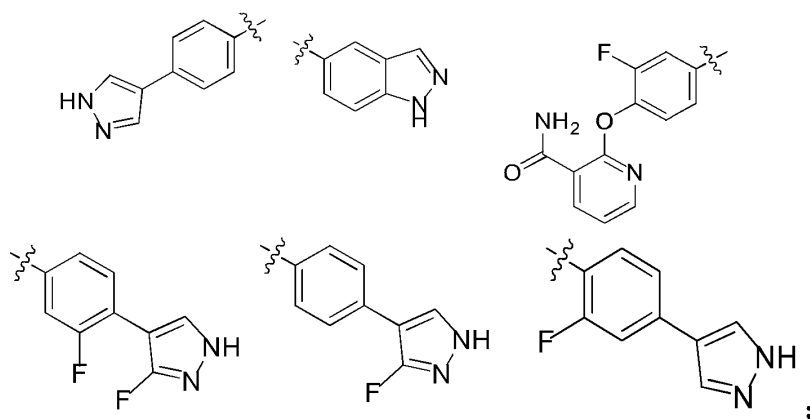
所述环 D 可进一步选自：



根据本发明的实施方案，所述 Z 为 -NH-；

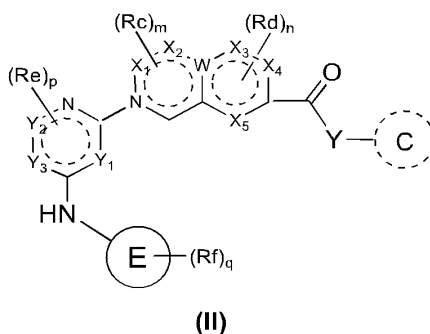
根据本发明的实施方案，

所述环 E 为



根据本发明的实施方案, 所述 Re 选自卤素, CF_3 , CN, 甲氧基, 乙氧基, 丙氧基, 丁氧基, 甲基, 乙基, 丙基, 丁基, CHF_2 , $-\text{CNCH}_2-$, 环氧丙烷, 氧杂环丁烷, 氧杂环戊烷; 或者, 当环 D 上至少有两个 Re 取代时, 相邻的两个 Re 与其所键链的 D 环原子共同形成 C_{5-6} 环烷基或 5-6 元杂环基或 5-6 元杂芳基, 例如形成环戊烷基, 氧杂环戊烷基, 氧杂环己烷基, 吡咯基;

在一些实施方案中, 本发明提供下式 (II) 所示的化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、溶剂化物、多晶型物、代谢产物、酯、药学上可接受的盐或前药:



其中, W 选自 N 或 C;

包括实线和虚线的双重线表示单键或者双键;

$\text{X}_1, \text{X}_3, \text{X}_5$ 各自独立地选自 N 或 C, 且 $\text{X}_1, \text{X}_3, \text{X}_5$ 三者不同时为 N;

X_2 、 X_4 选自 C 或化学键；

X_3 选自 N 或 C；

Y_1 选自 N、O 或 S；

Y_2 选自 C、N 或化学键；

Y_3 为选自 N 或 C；

Y_2 和 Y_3 不同时为 N；

m 为 0,1,2,3 或 4；

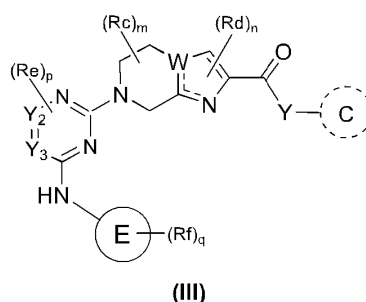
n 为 0,1,2 或 3；

p 为 0,1,2,3 或 4；

q 为 0,1,2,3 或 4；

其余各基团如上文所定义。

在一些实施方案中，本发明提供下式 (III) 所示的化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、溶剂化物、多晶型物、代谢产物、酯、药学上可接受的盐或前药：



其中，W 选自 N 或 C；

包括实线和虚线的双重线表示单键或者双键；

Y_2 、 Y_3 各自独立地为 C 或者 N，且 Y_2 和 Y_3 不同时为 N；

m 为 0,1,2,3 或 4；

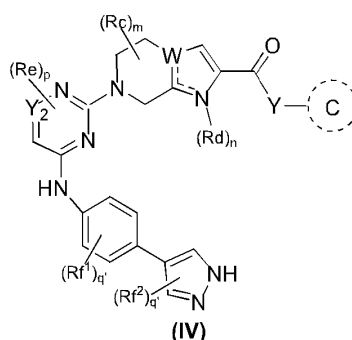
n 为 0,1,2 或 3；

p 为 0,1,2,3 或 4；

q 为 0,1,2,3 或 4；

其余各基团如上文所定义。

在一些实施方案中，本发明提供下式 (IV) 所示的化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、溶剂化物、多晶型物、代谢产物、酯、药学上可接受的盐或前药：



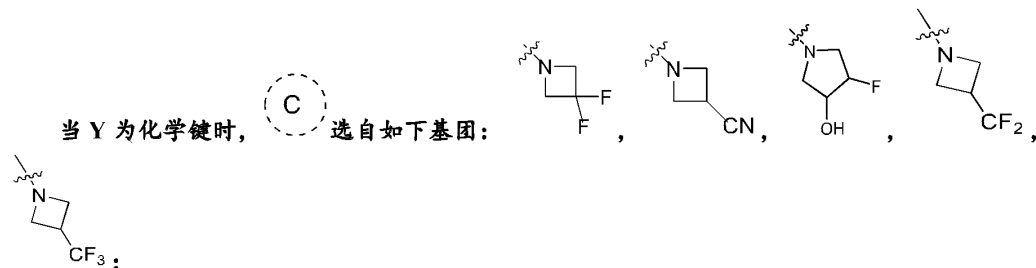
其中，W 选自 N 或 C；

Y_2 选自 N 或 C；

包括实线和虚线的双重线表示单键或者双键；

Y 为化学键、-NH-或-N(C₁₋₆烷基)-、-NH(C₁₋₆烷基)；

所述“-N(C₁₋₆烷基)-、-NH(C₁₋₆烷基)”中的 C₁₋₆烷基为无取代或任选被一个、两个或更多个卤素取代；



当 Y 为-N(C₁₋₆烷基)-时， 不存在；

所述 R_c, R_d 相同或不同，彼此独立地选自 C₁₋₆烷基；

所述 R_e 选自卤素，CN，OH，无取代或任选被一个、两个或更多个 R_s 取代的如下基团：C₁₋₆烷基，C₃₋₆环烷基、C₁₋₆烷氧基，C₆₋₁₂芳基，3-6 元杂环基或 5-12 元杂芳基；

或者，当至少有两个 R_e 时，相邻的两个 R_e 与其所键链的环原子共同形成 C₃₋₆环烷基或 3-6 元杂环基或 5-12 元杂芳基；

所述 R_s 选自卤素，CN，OH，C₁₋₆烷基，C₁₋₆烷氧基，C₆₋₁₂芳基或 5-12 元杂芳基。

R¹、R² 相同或不同，彼此独立地选自如前文所定义的 R_f，优选的，彼此独立地选自卤素、CN、OH；

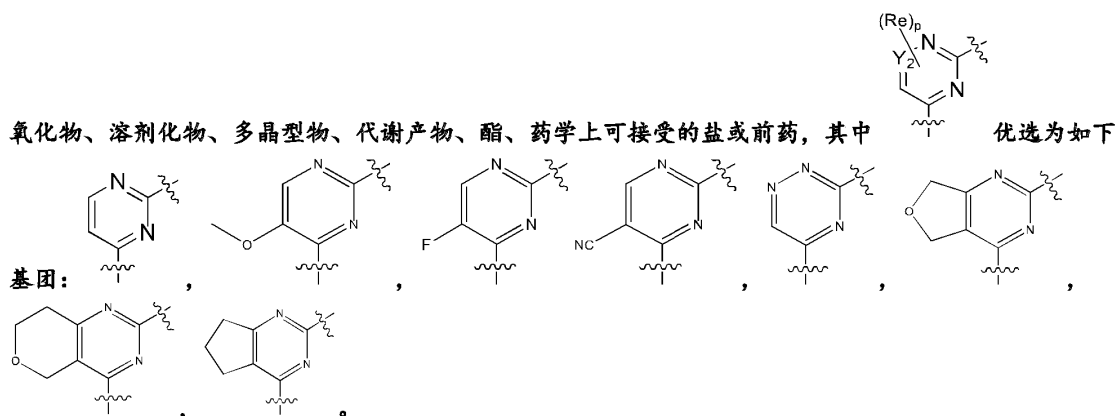
m 为 0, 1 或 2；

n 为 0, 1 或 2；

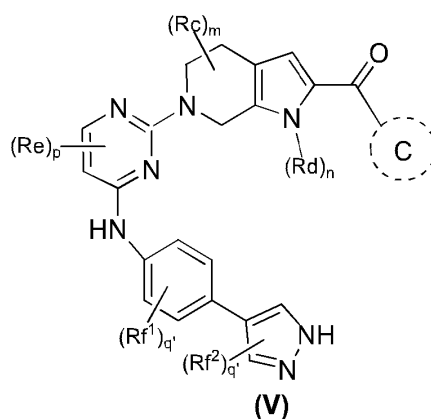
p 为 0, 1 或 2；

q' 在每次出现时各自独立地为 0, 1 或 2。

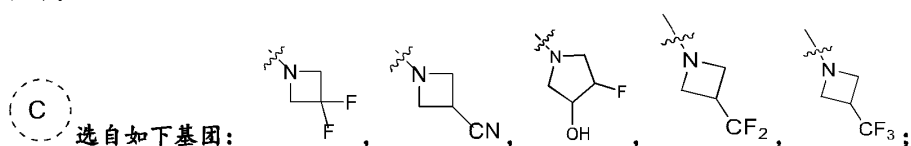
在一些实施方案中，本发明提供化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、同位素标记物、氮



在一些实施方案中，本发明提供下式 (V) 所示的化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、溶剂化物、多晶型物、代谢产物、酯、药学上可接受的盐或前药：



其中,



Rc, Rd 相同或不同, 彼此独立地选自 C₁₋₆ 烷基;

所述 Re 选自卤素, CN, OH, 无取代或任选被一个、两个或更多个 Rs 取代的如下基团: C₁₋₆ 烷基, C₃₋₆ 环烷基、C₁₋₆ 烷氧基, C₆₋₁₂ 芳基, 3-6 元杂环基或 5-12 元杂芳基;

或者当至少有两个 Re 时, 相邻的两个 Re 与其所键链的环原子共同形成 C₃₋₆ 环烷基或 3-6 元杂环基或 5-12 元杂芳基;

所述 Rs 选自卤素, CN, OH, C₁₋₆ 烷基, C₁₋₆ 烷氧基, C₆₋₁₂ 芳基或 5-12 元杂芳基。

Rf¹、Rf² 相同或不同, 彼此独立地选自如前文所定义的 Rf, 优选的, 彼此独立地选自卤素、CN、OH;

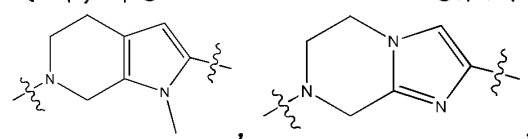
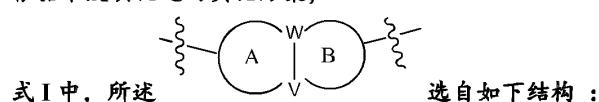
m 为 0, 1 或 2;

n 为 0, 1 或 2;

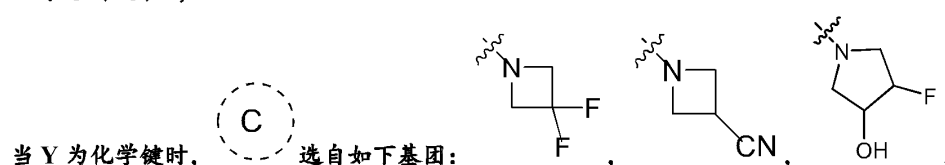
p 为 0, 1 或 2;

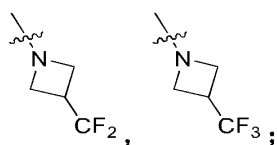
q' 在每次出现时各自独立地为 0, 1 或 2。

根据本发明优选的实施方案,

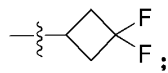


当 Y 为化学键时,



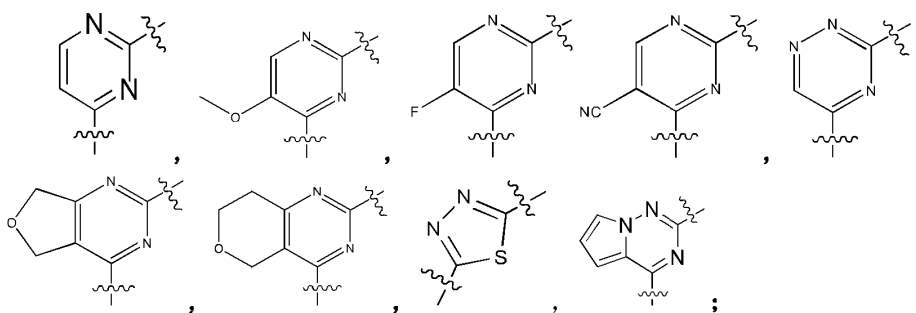


当 Y 为 -NH- 或 -N(C₁₋₂₀ 烷基)- 时, 选自如下基团:



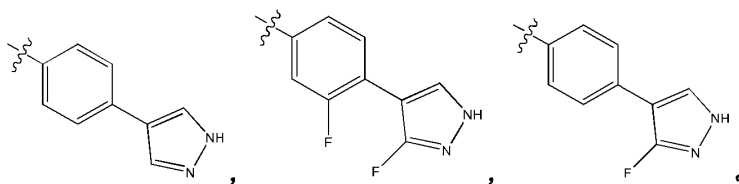
或当 --- 不存在时, Y 为 $\text{-NH-CH}_2\text{CF}_3$;

环 D 选自如下结构:



Z 为-NH-;

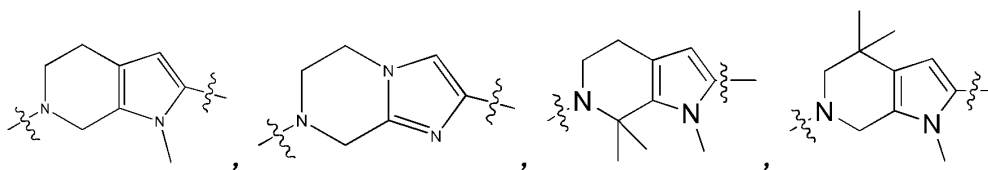
环 E 选自如下结构:



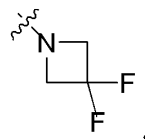
根据本发明优选的实施方案,



式 I 中, 所述 选自如下结构:

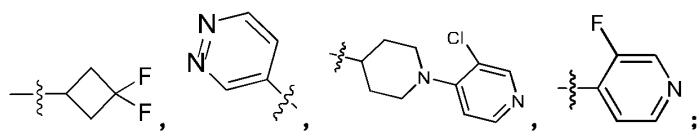


X 为-C (=O) -;



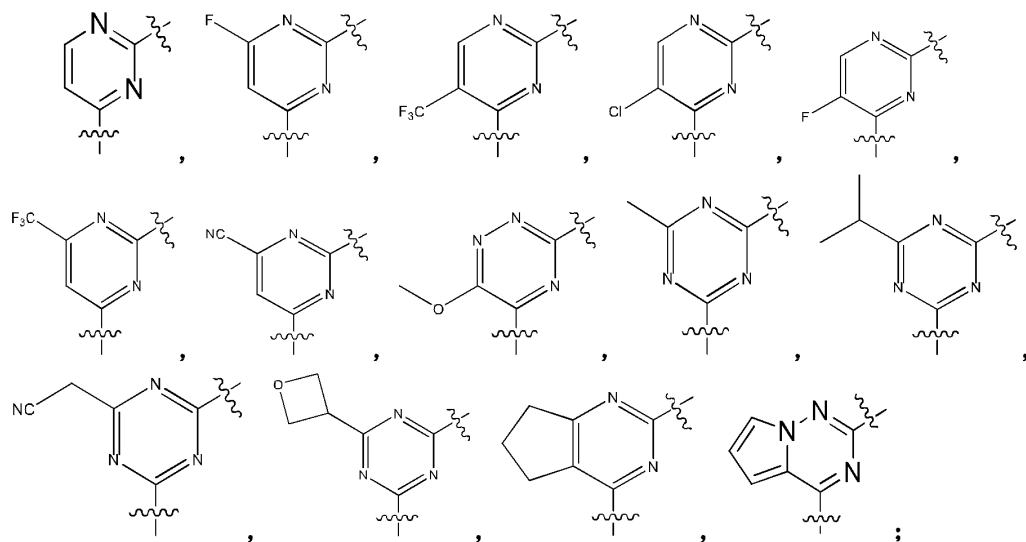
当 Y 为化学键时， 选自如下基团：

当 Y 为 -NH- 或 -N(C₁₋₂₀ 烷基)- 时, 选自如下基团:



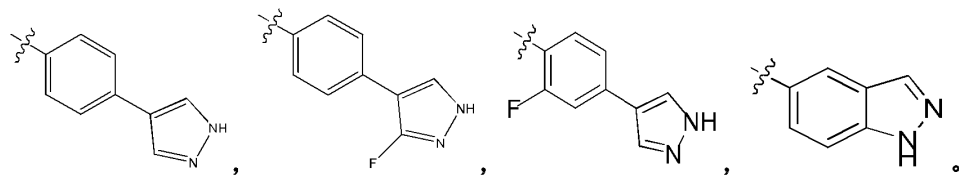
或当  不存在时, Y 为 -OCH₂CF₃;

环 D 选自如下结构:

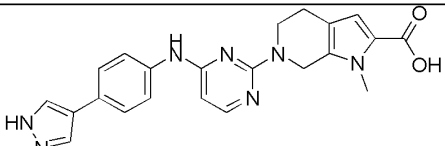


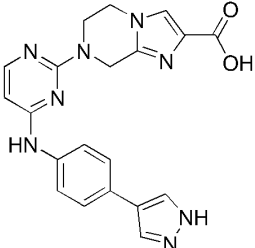
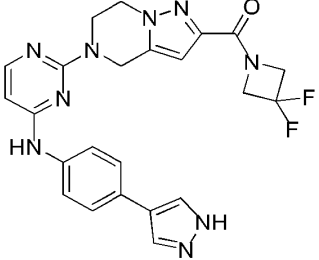
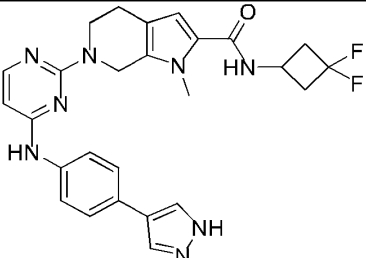
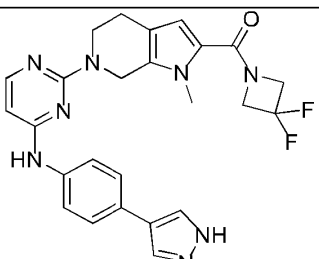
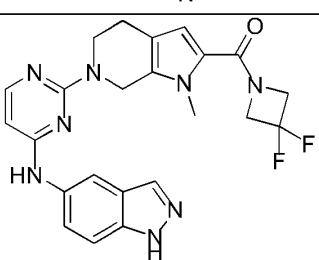
Z 为 -NH-;

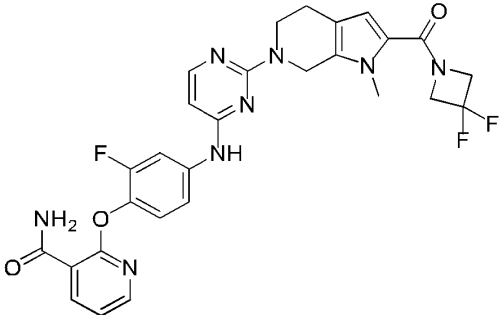
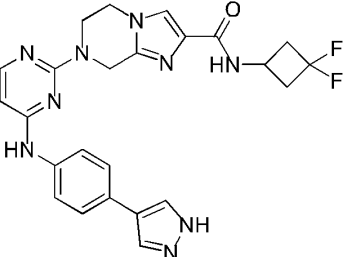
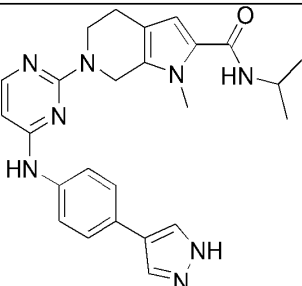
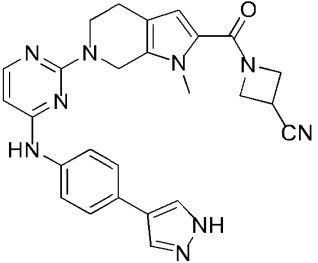
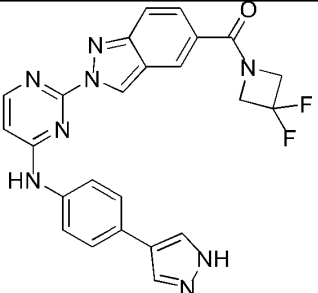
环 E 选自如下结构:

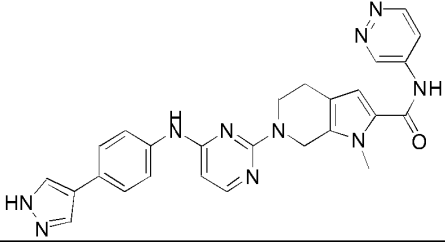
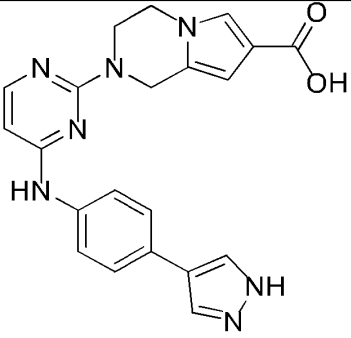
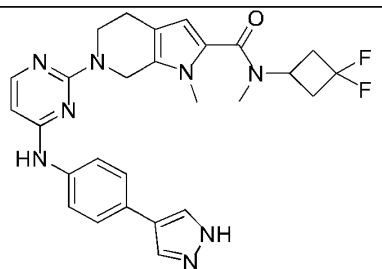
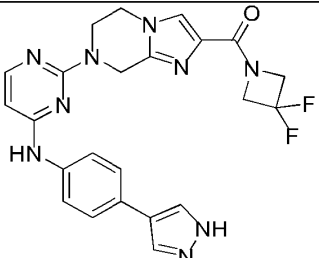
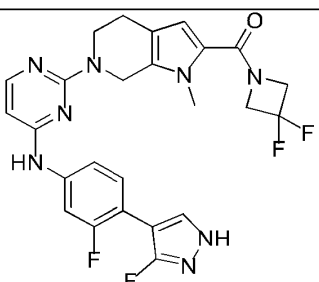


作为实例, 所述式 (I) 所示的化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、同位素标记物、氘氧化物、溶剂化物、多晶型物、代谢产物、酯、药学上可接受的盐或前药中, 式 (I) 化合物可以选自如下结构:

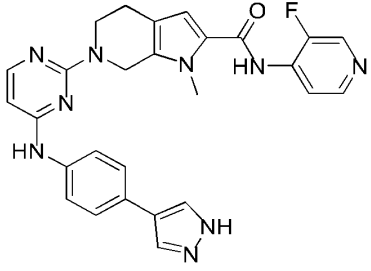
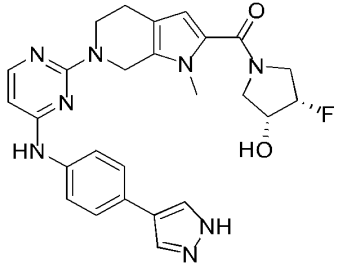
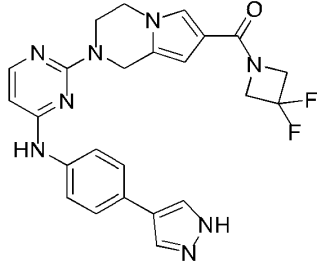
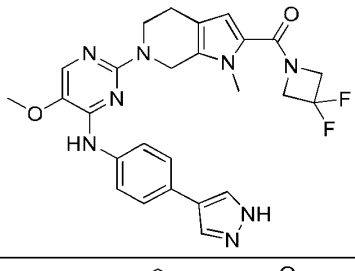
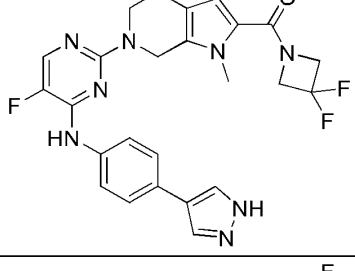
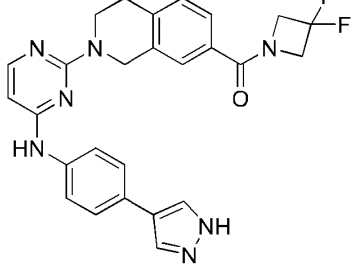
实施例编号	化合物编号	结构式
1	L001	

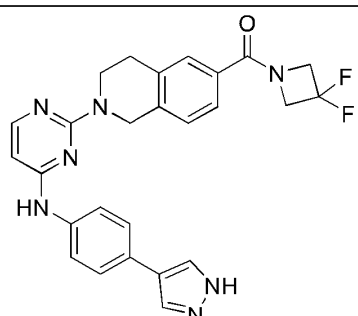
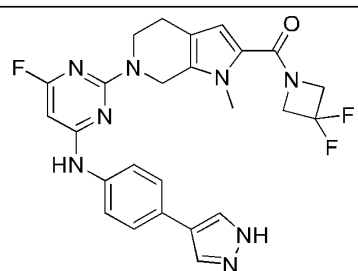
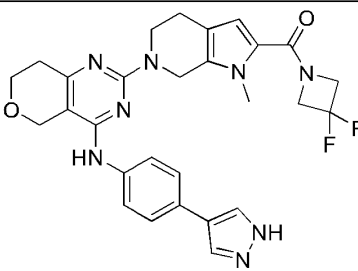
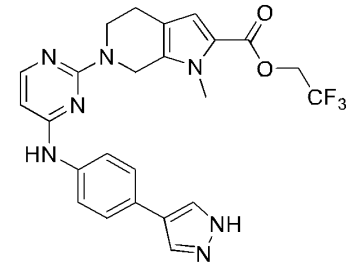
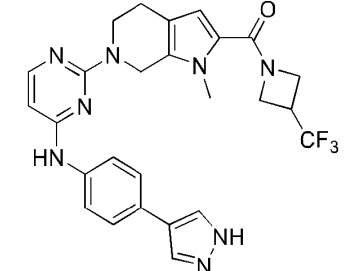
2	L002	
3	L003	
4	L004	
5	L005	
6	L006	

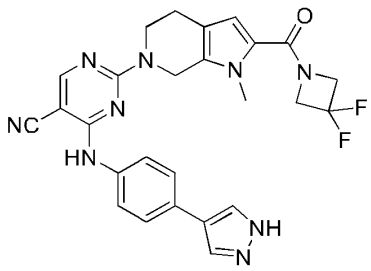
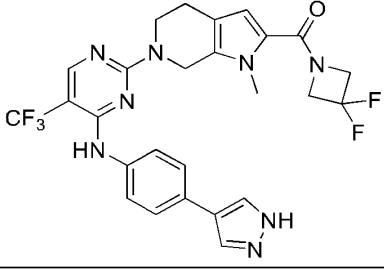
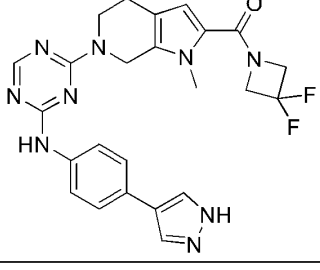
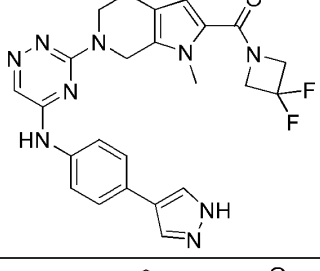
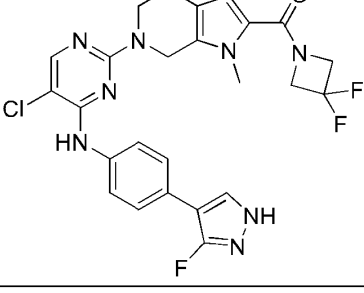
7	L007	
8	L008	
9	L009	
10	L010	
11	L011	

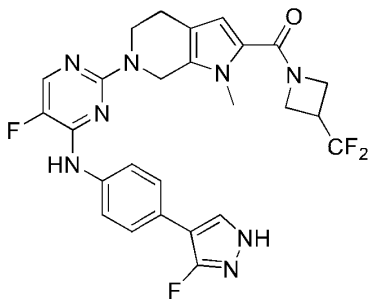
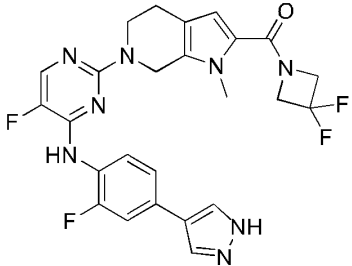
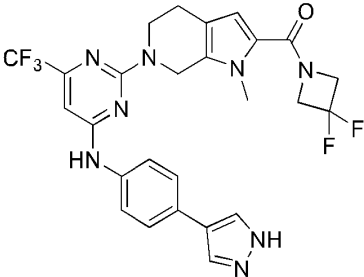
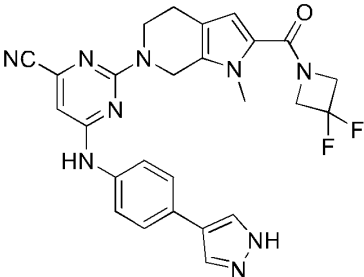
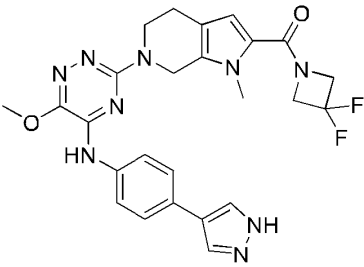
12	L012	
13	L013	
14	L014	
15	L015	
16	L016	

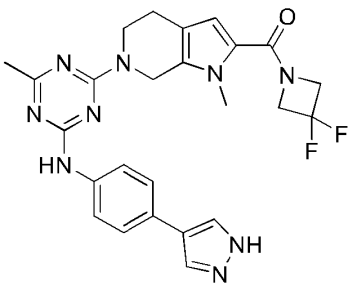
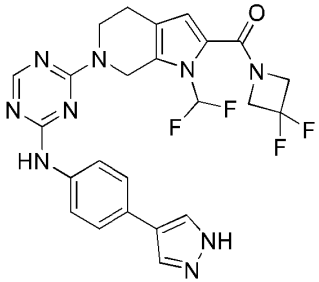
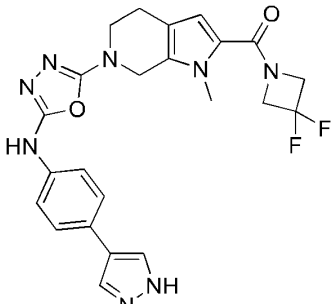
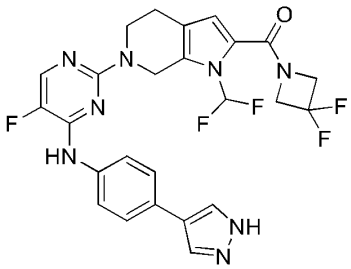
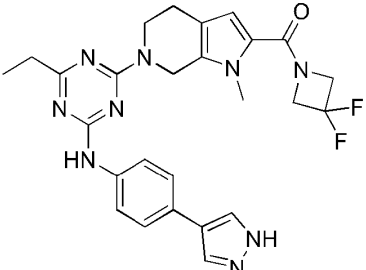
17	L017	
18	L018	
19	L019	
20	L020	
21	L021	
22	L022	

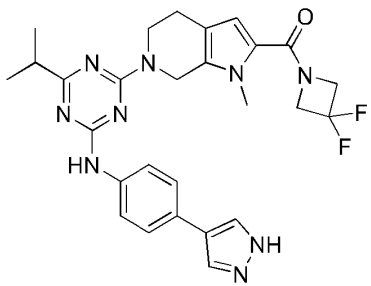
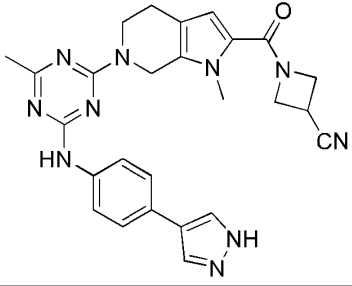
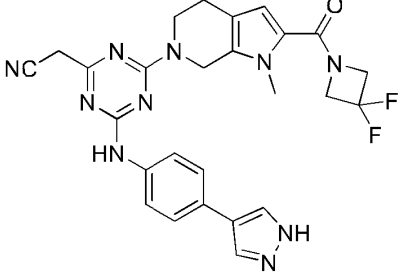
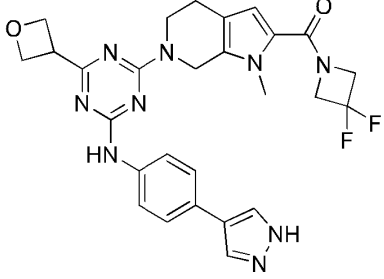
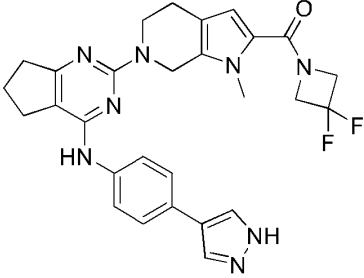
23	L023	
24	L024	
25	L025	
26	L026	
27	L027	
28	L028	

29	L029	
30	L030	
31	L031	
32	L032	
33	L033	

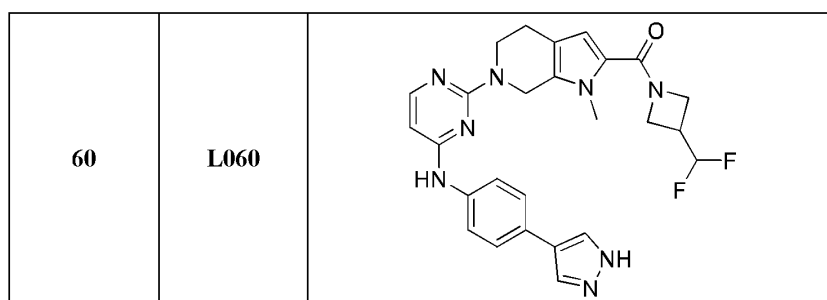
34	L034	
35	L035	
36	L036	
37	L037	
38	L038	

39	L039	
40	L040	
41	L041	
42	L042	
43	L043	

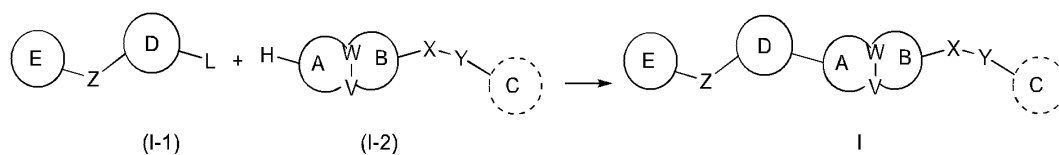
44	L044	
45	L045	
46	L046	
47	L047	
48	L048	

49	L049	
50	L050	
51	L051	
52	L052	
53	L053	

54	L054	
55	L055	
56	L056	
57	L057	
58	L058	
59	L059	



本发明还提供式 (I) 所示化合物的制备方法, 包括如下方案中的至少一种:



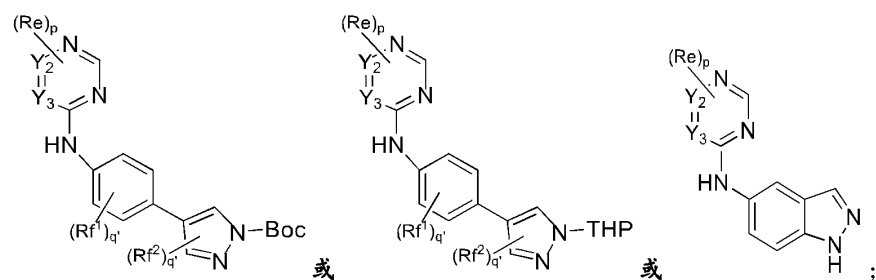
式 (I-1) 所示化合物与式 (I-2) 所示化合物反应得到式 (I) 所示化合物;

其中, 环 A, 环 B, 环 D, , 环 E, W, V, X, Y, Z 具有如上所述定义;

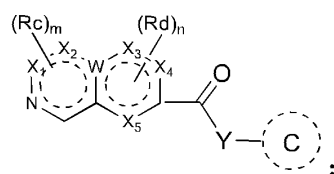
L 选自离去基团, 例如卤素。

本发明进一步提供制备本发明式 (I) 所示化合物的中间体化合物, 包括式 I-1, 式 I-2 等。

在优选实施方案中, 式 (I-1) 选自如下结构:

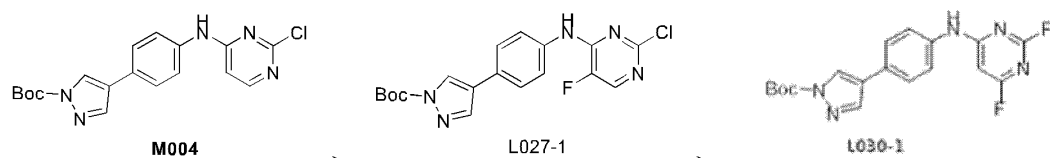


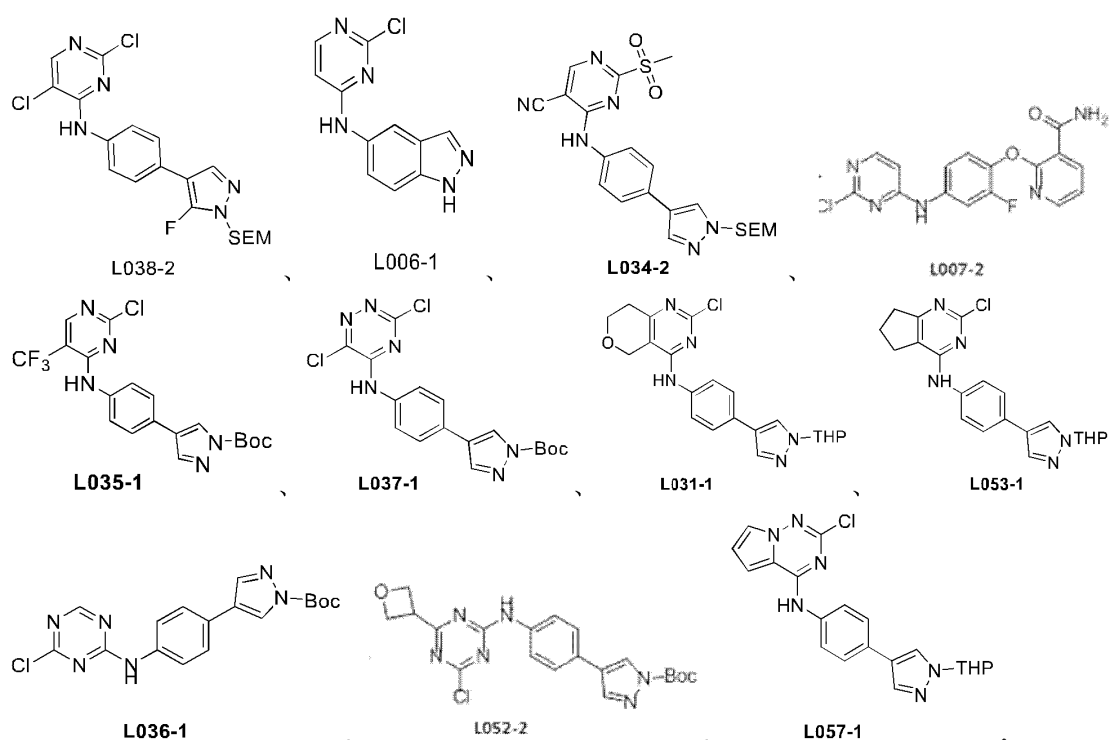
式 (I-2) 选自如下结构:



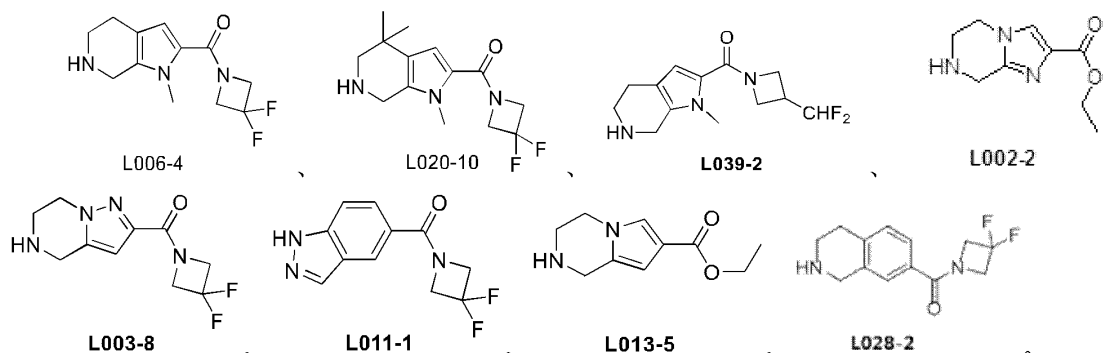
其中, 各基团如上文所定义。

进一步优选地, 所述式 (I-1) 选自如下结构为:

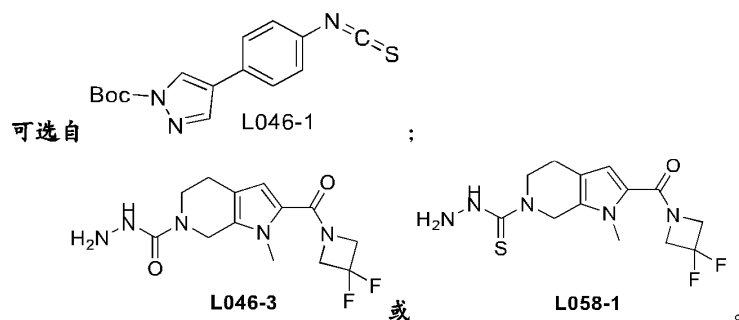




进一步优选地, 所述式 (I-2) 可选自如下结构:



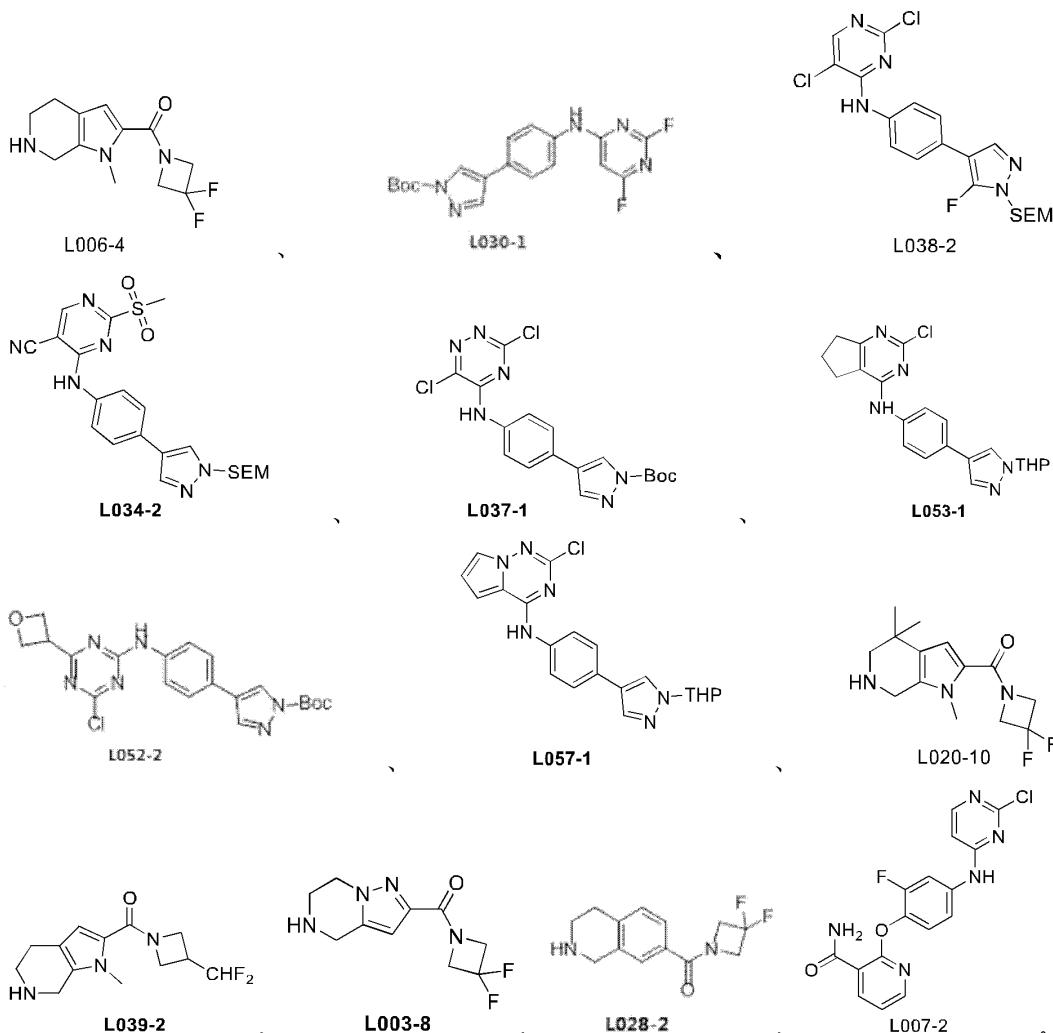
在一些实施方案中, 本发明进一步提供制备本发明式 (I) 所示化合物的中间体化合物, 所述中间体



本领域技术人员应当理解, 式 (I) 所示的化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、氮氧化物、同位素标记物可以作为原料或中间体, 制备式 (I) 所示的化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、

氮氧化物、同位素标记物的前药或药学上可接受的盐。为此，本发明还提供式(I)所示的化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、氮氧化物、同位素标记物在制备式(I)所示的化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、氮氧化物、同位素标记物的前药或药学上可接受的盐中的用途。

本发明还提供如下化合物：



本发明还提供式(I)所示的化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、氮氧化物、同位素标记物、溶剂化物、多晶型物、代谢产物、酯、药学上可接受的盐或前药中的至少一种在制备药物中的用途，所述药物为蛋白质激酶的抑制剂。

特别地，所述的药物具有调节 Rho-激酶的功能。

所述药物可用于预防或治疗一种或多种 ROCK 的高表达或 ROCK 的过度激活导致的疾病，如心脑血管疾病、神经系统疾病、纤维化疾病、眼疾病、肿瘤、动脉血栓形成病症、辐射损伤、呼吸系统疾病、以及自身免疫性疾病等，包括动脉粥样硬化、急性冠脉综合征、高血压、脑血管痉挛、脑缺血、缺血性脑卒中、再狭窄、心脏病、心脏衰竭、心肌肥厚、心肌缺血再灌注损伤、糖尿病、糖尿病肾病、癌症、神经元变性(外周的或中枢的)、神经损伤性疾病、脊髓损伤、勃起功能障碍、血小板凝聚、白细胞聚集、青光眼、眼部高血压、哮喘、骨质疏松症、肺纤维化(如特发性肺纤维化)、肝纤维化、肾脏纤维化、COPD、肾透析(上皮稳定性)、肾小球硬化症以及神经元变性炎症等。

本发明还提供一种药物组合物，其包含治疗有效量的式(I)所示的化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、氮氧化物、同位素标记物、溶剂化物、多晶型物、代谢产物、酯、药学上可接受的盐或前药中的至少一种。

优选地，所述药物组合物还可任选包含药学上可接受的辅料，例如载体、赋形剂。作为实例，所述辅料可以为选自下列中的至少一种：崩解剂、助流剂、润滑剂、稀释剂或填充剂、粘合剂、着色剂。

本发明的药物组合物具有调节 Rho-激酶的功能。所述药物组合物可用于预防或治疗一种或多种 ROCK 的高表达或 ROCK 的过度激活导致的疾病，如心脑血管疾病、神经系统疾病、纤维化疾病、眼疾病、肿瘤、动脉血栓形成病症、辐射损伤、呼吸系统疾病、以及自身免疫性疾病，包括动脉粥样硬化、急性冠脉综合征、高血压、脑血管痉挛、脑缺血、缺血性脑卒中、再狭窄、心脏病、心脏衰竭、心肌肥厚、心肌缺血再灌注损伤、糖尿病、糖尿病肾病、癌症、神经元变性(外周的或中枢的)、神经损伤性疾病、脊髓损伤、勃起功能障碍、血小板凝聚、白细胞聚集、青光眼、眼部高血压、哮喘、骨质疏松症、肺纤维化(如特发性肺纤维化)、肝纤维化、肾脏纤维化、COPD、肾透析(上皮稳定性)、肾小球硬化症以及神经元变性炎症等。

本发明还提供一种调节 Rho-激酶功能的方法，包括向有此需要的个体给予有效量的所述式(I)所示的化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、氮氧化物、同位素标记物、溶剂化物、多晶型物、代谢产物、酯、药学上可接受的盐或前药或所述药物组合物。所述方法可用于预防或治疗一种或多种 ROCK 的高表达或 ROCK 的过度激活导致的疾病。

本发明还提供一种预防或治疗一种或多种 ROCK 的高表达或 ROCK 的过度激活导致的疾病的方法，包括向有此需要的个体给予有效量的所述式(I)所示的化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、氮氧化物、同位素标记物、溶剂化物、多晶型物、代谢产物、酯、药学上可接受的盐或前药或所述药物组合物。所述疾病例如为心脑血管疾病、神经系统疾病、纤维化疾病、眼疾病、肿瘤、动脉血栓形成病症、辐射损伤、呼吸系统疾病、以及自身免疫性疾病，包括动脉粥样硬化、急性冠脉综合征、高血压、脑血管痉挛、脑缺血、缺血性脑卒中、再狭窄、心脏病、心脏衰竭、心肌肥厚、心肌缺血再灌注损伤、糖尿病、糖尿病肾病、癌症、神经元变性(外周的或中枢的)、神经损伤性疾病、脊髓损伤、勃起功能障碍、血小板凝聚、白细胞聚集、青光眼、眼部高血压、哮喘、骨质疏松症、肺纤维化(如特发性肺纤维化)、肝纤维化、肾脏纤维化、COPD、肾透析(上皮稳定性)、肾小球硬化症以及神经元变性炎症等。

在另一个方面，本文提供式(I)的化合物，其用于调节 Rho-激酶功能，包括向有此需要的个体给予有效量的一种或更多种本发明的化合物，或者包含所述化合物的药物组合物。

在又一个方面，本文提供式(I)的化合物，其用于预防或治疗一种或多种 ROCK 的高表达或 ROCK 的过度激活导致的疾病的方法，包括向有此需要的个体给予有效量的所述式(I)所示的化合物、其消旋体、立体异构体、互变异构体、氮氧化物、同位素标记物、溶剂化物、多晶型物、代谢产物、酯、药学上可接受的盐或前药或所述药物组合物。所述疾病例如为心脑血管疾病、神经系统疾病、纤维化疾病、眼疾病、肿瘤、动脉血栓形成病症、辐射损伤、呼吸系统疾病、以及自身免疫性疾病，包括动脉粥样硬化、急性冠脉综合征、高血压、脑血管痉挛、脑缺血、缺血性脑卒中、再狭窄、心脏病、心脏衰竭、心肌肥厚、心肌缺血再灌注损伤、糖尿病、糖尿病肾病、癌症、神经元变性(外周的或中枢的)、神经损伤性疾病、脊髓损伤、勃起功能障碍、血小板凝聚、白细胞聚集、青光眼、眼部高血压、哮喘、骨质疏松症、肺纤维化(如特发性肺纤维化)、肝纤维化、肾脏纤维化、COPD、肾透析(上皮稳定性)、肾小球硬化症以及神经元变性炎症等。

术语定义和说明

除非另有说明，本申请说明书和权利要求书中记载的基团和术语定义，包括其作为实例的定义、示例性的定义、优选的定义、表格中记载的定义、实施例具体化合物的定义等，可以彼此之间任意组合和结合。这样的组合和结合后的基团定义及化合物结构，应当属于本申请说明书记载的范围内。

本申请说明书和权利要求书中若标识“”，则该处表示连接位点。

本申请说明书和权利要求书中“更多个”表示三个或三个以上。术语“卤素”指 F、Cl、Br 和 I。换言之，F、Cl、Br 和 I 在本说明书中可描述为“卤素”。

术语“C₁₋₂₀ 烷基”应理解为表示具有 1~20 个碳原子的直链或支链饱和一价烃基，优选为 C₁₋₆ 烷基。“C₁₋₁₂ 烷基”应理解为优选表示具有 1、2、3、4、5、6 个碳原子的直链或支链饱和一价烃基。所述烷基是例如甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、异丙基、异丁基、仲丁基、叔丁基、异戊基、2-甲基丁基、1-甲基丁基、1-乙基丙基、1,2-二甲基丙基、新戊基、1,1-二甲基丙基、4-甲基戊基、3-甲基戊基、2-甲基戊基、1-甲基戊基、2-乙基丁基、1-乙基丁基、3,3-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,1-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基或 1,2-二甲基丁基等或它们的异构体。

术语“C₁₋₂₀ 烷氧基”表示“-O-C₁₋₂₀ 烷基”其中 C₁₋₂₀ 烷基具有如上所述定义。其优选为“C₁₋₆ 烷氧基”。

术语“C₃₋₂₀ 环烷基”应理解为表示饱和的一价单环或双环烃环，其具有 3~20 个碳原子，优选“C₃₋₆ 环烷基”。术语“C₃₋₆ 环烷基”应理解为表示饱和的一价单环或双环烃环，其具有 3、4、5、6 个碳原子。所述 C₃₋₆ 环烷基可以是单环烃基，如环丙基、环丁基、环戊基、环己基。

术语“3-20 元杂环基”意指饱和的一价单环或双环烃环，其包含 1-5 个独立选自 N、O 和 S 的杂原子，优选“3-6 元杂环基”。术语“3-6 元杂环基”意指饱和的一价单环或双环烃环，其包含 1-5 个，优选 1-3 个选自 N、O 和 S 的杂原子。所述杂环基可以通过所述碳原子中的任一个或氮原子（如果存在的话）与分子的其余部分连接。特别地，所述杂环基可以包括但不限于：4 元环，如氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基；5 元环，如四氢呋喃基、二氧杂环戊烯基、吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、吡啶基；或 6 元环，如四氢吡喃基、哌啶基、吗啉基、二噻烷基、硫代吗啉基、哌嗪基或三噻烷基。根据本发明，所述杂环基是无芳香性的。

术语“C₆₋₂₀ 芳基”应理解为表示具有 6~20 个碳原子的一价芳香性或部分芳香性的单环、双环或三环烃环，优选“C₆₋₁₂ 芳基”。术语“C₆₋₁₂ 芳基”应理解为优选表示具有 6、7、8、9、10、11、12 个碳原子的一价芳香性或部分芳香性的单环、双环或三环烃环（“C₆₋₁₂ 芳基”），特别是具有 6 个碳原子的环（“C₆ 芳基”），例如苯基；或联苯基，或者是具有 9 个碳原子的环（“C₉ 芳基”），例如茚满基或茚基，或者是具有 10 个碳原子的环（“C₁₀ 芳基”），例如四氢化萘基、二氢萘基或萘基。

术语“5-20 元杂芳基”应理解为包括这样的一价单环、双环或三环芳族环系：其具有 5~20 个环原子且包含 1-5 个独立选自 N、O 和 S 的杂原子，例如“5-12 元杂芳基”。术语“5-12 元杂芳基”应理解为包括这样的一价单环、双环或三环芳族环系：其具有 5、6、7、8、9、10、11、12 个环原子，特别是 5 或 6 或 9 或 10 个碳原子，且其包含 1-5 个，优选 1-3 个独立选自 N、O 和 S 的杂原子并且，另外在每一种情况下可为苯并稠合的。特别地，杂芳基选自噻吩基、呋喃基、吡咯基、噁唑基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、异噁唑基、异噻唑基、噁二唑基、三唑基、噻二唑基、噻-4H-吡唑基等以及它们的苯并衍生物，例如苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、苯并异噁唑基、苯并咪唑基、苯并三唑基、吲唑基、吲哚基、异吲哚基等；或吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基等，以及它们的苯并衍生物，例如噻啉基、噻唑啉基、异噻啉基等；或吡辛因基、吡嗪基、嘌呤基等以及它们的苯并衍生物；或喹啉基、酞嗪基、喹唑啉基、喹喔啉基、茶啉基、蝶啶基、卟啉基、吡啶基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噁嗪基等。

除非另有说明，杂环基、杂芳基或亚杂芳基包括其所有可能的异构形式，例如其位置异构体。因此，对于一些说明性的非限制性实例，吡啶基或亚吡啶基包括吡啶-2-基、亚吡啶-2-基、吡啶-3-基、亚吡啶-3-基、吡啶-4-基和亚吡啶-4-基；噻吩基或亚噻吩基包括噻吩-2-基、亚噻吩-2-基、噻吩-3-基和亚噻吩-3-基。

需要说明的是，如上基团定义中涉及数值范围的，例如 C₁₋₂₀，3-20，C₆₋₂₀ 或 5-20 等中的数值范围表示该数值范围端点及两端点中的任意整数。而不限定于仅包括两端点。

除非另外指明，否则本文所用的术语“离去基团”应意指在取代或置换反应过程中脱离的带电或不带电的原子或基团。合适的例子包括但不限于 H、F、Br、Cl、I、甲磺酸酯基、甲磺酸酯基等。

在任何用于制备本发明化合物的方法中，可能必需和/或期望保护任何有关分子上的敏感或反应性基

团。这可通过常规的保护基来实现，如本领域教科书或工具书描述的保护基。可使用本领域已知的方法在方便的后续阶段移除保护基团。本领域技术人员将认识到，取决于具体的保护基团，可将其他试剂用于该去保护步骤，包括但不限于 Pd/C、Pd(OH)₂、PdCl₂、Pd(OAc)₂/Et₃SiH、兰尼镍、适当选择的酸、适当选择的碱、氟化物等等。

可以根据已知的方法，例如通过萃取、过滤或柱层析来分离目标化合物。

根据其分子结构，本发明的化合物可以是手性的，因此可能存在各种对映异构体形式。因而这些化合物可以以消旋体形式或光学活性形式存在。本发明的化合物或其中间体可以通过本领域技术人员公知的化学或物理方法分离为对映异构体化合物，或者以此形式用于合成。在外消旋的胺的情况下，通过与光学活性的拆分试剂反应，从混合物制得非对映异构体。适当的拆分试剂的示例是光学活性的酸，例如 R 和 S 形式的酒石酸、二乙酰酒石酸、二苯甲酰酒石酸、扁桃酸、苹果酸、乳酸、适当的 N-保护的氨基酸(例如 N-苯甲酰脯氨酸或 N-苯磺酰基脯氨酸)或各种光学活性的樟脑磺酸。借助光学活性的拆分试剂(例如固定在硅胶上的二硝基苯甲酰基苯基甘氨酸、三乙酸纤维素或其它碳水化合物衍生物或手性衍生化的异丁烯酸酯聚合物)，也可有利地进行色谱对映体拆分。用于此目的的适当的洗脱剂是含水或含醇的溶剂混合物，例如，己烷/异丙醇/乙腈。

本领域技术人员将理解，由于氮需要具有可用的孤对电子用于被氧化为氧化物，因此并非所有的含氮杂环都可以形成 N-氧化物；本领域技术人员将识别能够形成 N-氧化物的含氮杂环。本领域技术人员还将认识到叔胺能够形成 N-氧化物。制备杂环和叔胺的 N-氧化物的合成方法对于本领域技术人员而言是熟知的，所述合成方法包括用过氧酸如过氧乙酸和间氯过氧苯甲酸(MCPBA)、过氧化氢、烷基氢过氧化物如叔丁基氢过氧化物、过硼酸钠和双环氧乙烷(dioxirane)如二甲基双环氧乙烷氧化杂环和叔胺。这些制备 N-氧化物的方法已在文献中广泛地描述和综述。

药理学上可接受的盐可以是例如在链或环中具有氮原子的具有足够碱性的本发明的化合物的酸加成盐，例如与如下无机酸形成的酸加成盐：例如盐酸、氢氟酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、焦硫酸、磷酸或硝酸，或硫酸氢盐、或者与如下有机酸形成的酸加成盐：例如甲酸、乙酸、乙酰乙酸、丙酮酸、三氟乙酸、丙酸、丁酸、己酸、庚酸、十一烷酸、月桂酸、苯甲酸、水杨酸、2-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、樟脑酸、肉桂酸、环戊烷丙酸、二葡萄糖酸、3-羟基-2-萘甲酸、烟酸、扑酸、果胶酯酸、过硫酸、3-苯基丙酸、苦味酸、特戊酸、2-羟基乙磺酸、衣康酸、氨基磺酸、三氟甲磺酸、十二烷基硫酸、乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、甲磺酸、2-萘磺酸、萘二磺酸、樟脑磺酸、柠檬酸、酒石酸、硬脂酸、乳酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、苹果酸、己二酸、藻酸、马来酸、富马酸、D-葡萄糖酸、扁桃酸、抗坏血酸、葡庚酸、甘油磷酸、天冬氨酸、磺基水杨酸、半硫酸或硫氰酸。

另外，具有足够酸性的本发明的化合物的另一种适合的药理学上可接受的盐是碱金属盐(例如钠盐或钾盐)、碱土金属盐(例如钙盐或镁盐)、铵盐，或与提供生理学可接受的阳离子的有机碱形成的盐，例如与如下物质形成的盐：钠离子、钾离子、N-甲基葡萄糖胺、二甲基葡萄糖胺、乙基葡萄糖胺、赖氨酸、二环己基胺、1,6-己二胺、乙醇胺、葡萄糖胺、葡甲胺、肌氨酸、丝氨酸、三羟基甲基氨基甲烷、氨基丙二醇、1-氨基-2,3,4-丁三醇。作为实例，所述药理学上可接受的盐包括基团-COOH 与如下物质形成的盐：钠离子、钾离子、钙离子、镁离子、N-甲基葡萄糖胺、二甲基葡萄糖胺、乙基葡萄糖胺、赖氨酸、二环己基胺、1,6-己二胺、乙醇胺、葡萄糖胺、葡甲胺、肌氨酸、丝氨酸、三羟基甲基氨基甲烷、氨基丙二醇、1-氨基-2,3,4-丁三醇。

另外，碱性含氮基团可用如下试剂季铵化：低级烷基卤化物，例如甲基、乙基、丙基和丁基氯化物、溴化物和碘化物；硫酸二烷基酯，例如硫酸二甲酯、硫酸二乙酯、硫酸二丁酯和硫酸二戊酯；长链卤化物，例如癸基、月桂基、肉豆蔻基和硬脂基氯化物、溴化物和碘化物；芳烷基卤化物如苄基和苯乙基溴化物等。作为实例，药理学上可接受的盐包括盐酸盐、硫酸盐、硝酸盐、硫酸氢盐、氢溴酸盐、醋酸盐、草酸盐、柠檬酸盐、甲磺酸盐、甲酸盐或葡甲胺盐等。

由于本发明的化合物可存在多个成盐位点，所述“药理学上可接受的盐”不仅包括本发明化合物其中 1 个成盐位点上形成的盐，而且还包括其中 2、3 或全部成盐位点上形成的盐。为此，所述“药理学上可接受的盐”中式(I)化合物与成盐所需的酸的根离子(阴离子)或碱的阳离子摩尔比可以在较大的范围内变

化,例如可以是4:1~1:4,如3:1、2:1、1:1、1:2、1:3等。

根据本发明,药学上可接受的阴离子包括选自由无机酸或有机酸电离生成的阴离子。所述“无机酸”包括但不限于盐酸、氢氟酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、焦硫酸、磷酸或硝酸。所述“有机酸”包括但不限于甲酸、乙酸、乙酰乙酸、丙酮酸、三氟乙酸、丙酸、丁酸、己酸、庚酸、十一烷酸、月桂酸、苯甲酸、水杨酸、2-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、樟脑酸、肉桂酸、环戊烷丙酸、二葡萄糖酸、3-羟基-2-萘甲酸、烟酸、扑酸、果胶酯酸、过硫酸、3-苯基丙酸、苦味酸、特戊酸、2-羟基乙磺酸、衣康酸、氨基磺酸、三氟甲磺酸、十二烷基硫酸、乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、甲磺酸、2-萘磺酸、萘二磺酸、樟脑磺酸、柠檬酸、酒石酸、硬脂酸、乳酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、苹果酸、己二酸、藻酸、马来酸、富马酸、D-葡萄糖酸、扁桃酸、抗坏血酸、葡庚酸、甘油磷酸、天冬氨酸、磺基水杨酸、半硫酸或硫氨酸。

术语“互变异构体”是指因分子中某一原子在两个位置迅速移动而产生的官能团异构体。本发明化合物可表现出互变异构现象。互变异构的化合物可以存在两种或多种可相互转化的种类。质子移变互变异构体来自两个原子之间共价键合的氢原子的迁移。互变异构体一般以平衡形式存在,尝试分离单一互变异构体时通常产生一种混合物,其理化性质与化合物的混合物是一致的。平衡的位置取决于分子内的化学特性。例如,在很多脂族醛和酮如乙醛中,酮型占优势;而在酚中,烯醇型占优势。本发明包含化合物的所有互变异构形式。

术语“有效量”或者“治疗有效量”是指足以实现预期应用(包括但不限于如下定义的疾病治疗)的本发明所述化合物的量。治疗有效量可以取决于以下因素而改变:预期应用(体外或者体内),或者所治疗的受试者和疾病病症如受试者的重量和年龄、疾病病症的严重性和给药方式等,其可以由本领域普通技术人员容易地确定。具体剂量将取决于以下因素而改变:所选择的特定化合物、所依据的给药方案、是否与其它化合物组合给药、给药的时间安排、所给药的组织和所承载的物理递送系统。

术语“辅料”是指可药用惰性成分。赋形剂种类的实例非限制性地包括粘合剂、崩解剂、润滑剂、助流剂、稳定剂、填充剂和稀释剂等。赋形剂能增强药物制剂的操作特性,即通过增加流动性和/或粘着性使制剂更适于直接压缩。适用于上述制剂的典型的药学上可接受的载体的实例为:糖类,例如乳糖、蔗糖、甘露醇和山梨醇;淀粉类,例如玉米淀粉、木薯淀粉和土豆淀粉;纤维素及其衍生物,例如羧甲基纤维素钠,乙基纤维素和甲基纤维素;磷酸钙类,例如磷酸二钙和磷酸三钙;硫酸钠;硫酸钙;聚乙烯吡咯烷酮;聚乙烯醇;硬脂酸;硬脂酸碱土金属盐,例如硬脂酸镁和硬脂酸钙;硬脂酸;植物油类,例如花生油、棉籽油、芝麻油、橄榄油和玉米油;非离子、阳离子和阴离子表面活性剂;乙二醇聚合物;脂肪醇类;和谷物水解固形物以及其它无毒的可相容的填充剂、粘合剂、崩解剂、缓冲剂、防腐剂、抗氧化剂、润滑剂、着色剂等。在药物制剂中常用到的辅料。

本发明的有益效果包括:

本发明提供的化合物具有优异的 ROCK 抑制活性。尤其表现为对 ROCK2 激酶有较好的选择性抑制,此外,本发明化合物具有较好的安全性和代谢稳定性,生物利用度高。最后本发明的化合物制备方法简单、易于提纯,因此具有良好的应用前景。

具体实施方式

下文将结合具体实施例对本发明的通式化合物及其制备方法和应用做更进一步的详细说明。下列实施例仅为示例性地说明和解释本发明,而不应被解释为对本发明保护范围的限制。凡基于本发明上述内容所实现的技术均涵盖在本发明旨在保护的范围内。

除非另有说明,以下实施例中使用的原料和试剂均为市售商品,或者可以通过已知方法制备。

名词及代表试剂

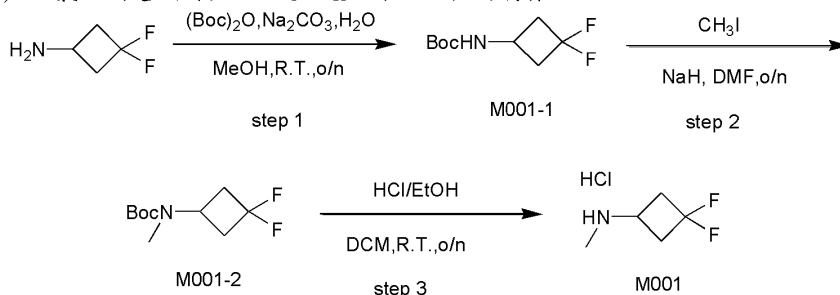
在以下具体实验描述中使用的名词分别代表(除非另有说明)以下试剂:

DMF: N,N-二甲基甲酰胺; DCM: 二氯甲烷; TEA: 三乙胺; DMAP: 4-二甲氨基吡啶; DIEA: N,N-二异丙基乙胺; THF: 四氢呋喃; DME: 乙二醇二甲醚; CDI: N,N'-羰基二咪唑; MsCl: 甲基磺酰氯; DIPEA: N,N-二异丙基乙胺; HATU: 2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯; DMSO: 二甲基亚砜; EA: 乙酸乙酯; MeOH: 甲醇; EtOH: 乙醇; MeCN: 乙腈; NCS: N-氯代丁

二酰亚胺; n-BuOH: 正丁醇; DCE:1,2-二氯乙烷; NMAC:N,N-二甲基乙酰胺; EDCI:1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐; IPA:异丙醇; mCPBA:间氯过氧苯甲酸; nBuLi:正丁基锂; NMP:N-甲基吡咯烷酮; TFA:三氟乙酸; t-BuOK:叔丁基钾; t-BuOMe:甲基叔丁基醚; xantphos:5-双(二苯基膦)-9,9-二甲基氧杂蒽; DHP : 3,4-二氢-2H-吡喃。

<制备实施例>

中间体 1 3,3-二氟-N-甲基环丁烷-1-胺盐酸盐 (M001) 的制备



(1) 化合物 (3,3-二氟环丁烷)氨基甲酸叔丁酯 (M001-1) 的制备

将 3,3-二氟环丁烷-1-胺 (1.00 g, 9.34 mmol) 溶于甲醇 (10 mL) 和饱和碳酸钠水溶液 (10 mL) 的混合溶剂, 室温下向体系中加入二碳酸二叔丁酯 (2.45 g, 11.20 mmol)。反应体系室温搅拌过夜。产物从体系中析出。过滤, 取滤饼旋干, 得到粗品白色固体产物(3,3-二氟环丁烷)氨基甲酸叔丁酯 1.35 g, 产率 70.2%。

$^1\text{H NMR}$ (301 MHz, CD_3OD) δ 3.89 (m, 1H), 2.93 – 2.74 (m, 2H), 2.58 – 2.38 (m, 2H), 1.42 (s, 9H)。

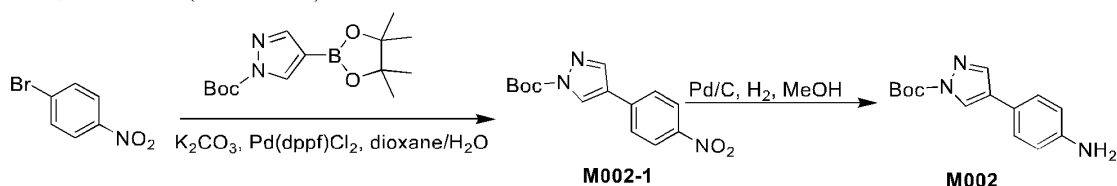
(2) 化合物 (3,3-二氟环丁烷)(甲基)氨基甲酸叔丁酯 (M001-2) 的制备

氮气保护, 将(3,3-二氟环丁烷)氨基甲酸叔丁酯 (900 mg, 4.34 mmol) 溶于无水 N,N-二甲基乙酰胺 (10 mL), 降温至 0°C , 分批加入氢氧化钠 (60%, 208 mg, 5.21 mmol) 后, 温度搅拌 0.5 小时, 冰水浴, 滴加碘甲烷 (1.23 g, 8.69 mmol), 室温反应搅拌过夜。缓慢加水 (30 mL) 淬灭, 乙酸乙酯 (30 mL*3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 得到淡黄色固体产物 (3,3-二氟环丁烷)(甲基)氨基甲酸叔丁酯 1.10 g, 粗品。

$^1\text{H NMR}$ (301 MHz, CD_3OD) δ 4.35 – 4.27 (m, 1H), 2.82 (s, 3H), 2.75 (dt, $J = 15.5, 8.5$ Hz, 4H), 1.45 (s, 9H)。

将(3,3-二氟环丁烷)(甲基)氨基甲酸叔丁酯 (1.10 g, 粗品) 溶于二氯甲烷 (10 mL) 中, 滴加氯化氢的乙醇溶液 (33%, 3 mL), 室温搅拌过夜。减压浓缩, 得到 800mg 棕黄色固体, 产物为 3,3-二氟-N-甲基环丁烷-1-胺盐酸盐, 粗品超重。LC-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$: 122.1。

中间体 2 4-(4-氨基苯基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯 (M002) 制备



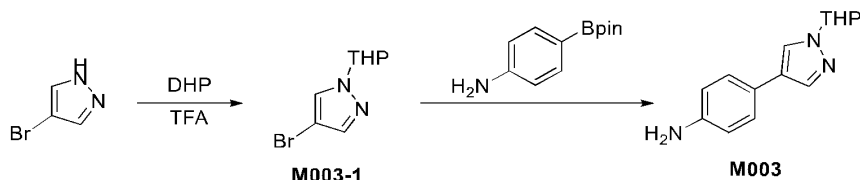
1) 4-(4-硝基苯基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯 (M002-1) 的制备

将(4-(4,4,5-三甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)吡唑-1-基)甲酸叔丁酯 (58.8 g, 0.2 mol), 1-溴-4-硝基苯 (20 g, 0.1 mol), 无水碳酸钾 (41.5 g, 0.3 mol) 和 (1,1'-双(二苯基膦)二茂铁)二氯化钯 (7.3 g, 10 mmol) 加入到 1,4-二氧六环:水=30:1 (207 mL) 中, 氮气置换 3 次。油浴 100°C 搅拌 5h。TLC 检测反应结束, 停止反应, 减压过滤, 滤液浓缩经柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯=4:1)得到黄色固体 16g, 产率 46%, $\text{MS}(\text{M}+1-100)^+=190.05$, 质谱显示为产物 M002-1。

2) 4-(4-氨基苯基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯 (M002) 制备

将 4-(4-硝基苯基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯(16 g, 55.3 mol), 溶于甲醇(160 mL)中, 加入钯碳(3.2 g), 装好氢气球, 置换氢气, 45°C反应 16h, TLC 检测反应完全后, 加硅藻土减压抽滤, 滤液浓缩, 得到黄色粗产物柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯=3:1)得到浅白色固体 9.6g, 产率 60%, MS(M+1)⁺=260.15。

中间体 3 4-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯胺(M003)



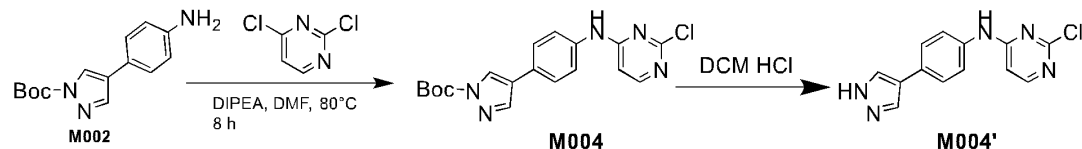
1) 4-溴-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑 (M003-1) 制备

将 3-溴吡唑 (5g, 34.02 mmol) 溶于 25ml 的 3,4-二氢-2H-吡喃中, 缓慢滴加三氟乙酸 387.9mg (3.4mmol), 滴加完毕之后, 升温至 80°C反应过夜。取样, 送 LCMS 监控, 原料生成大量产物。后处理: 加入饱和 NaHCO₃ 水溶液调节 pH 至 8 左右后, 加入 20ml 的 EA 萃取三次, 合并有机相后饱和食盐水洗涤, 干燥, 过滤, 浓缩得到黄色油状物直接投入下一步反应。LC-MS [M+H]⁺=233.00。

2) 4-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯胺(M003)制备

将 4-溴-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑 7.86 g, 34.01 mmol), 4-硝基硼酸酯 (8.94g, 40.81mmol), 碳酸钾 (9.4g, 68.02mmol), Pd (dppf) Cl₂ (2.49g, 3.4mmol) 溶于二氧六环/水 (70 ML/10ML) 中, 80°C氮气保护过夜。取样, 送 LCMS, 原料反应完毕。反应结束后, 加入氯化铵溶液 (50 mL), 乙酸乙酯 (50 mL*3) 萃取, 饱和食盐水(30 mL*2)洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩后, 粗品硅胶柱层析分离, 得到墨绿色固体 5g, 收率 60 %。LC-MS [M+H]⁺=244.15。

中间体 4 叔-丁基 4-(4-((2-氯嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 (M004)、N-(4-(1H-吡唑-4-基)苯基)-2-氯嘧啶-4-胺 (M004') 的制备



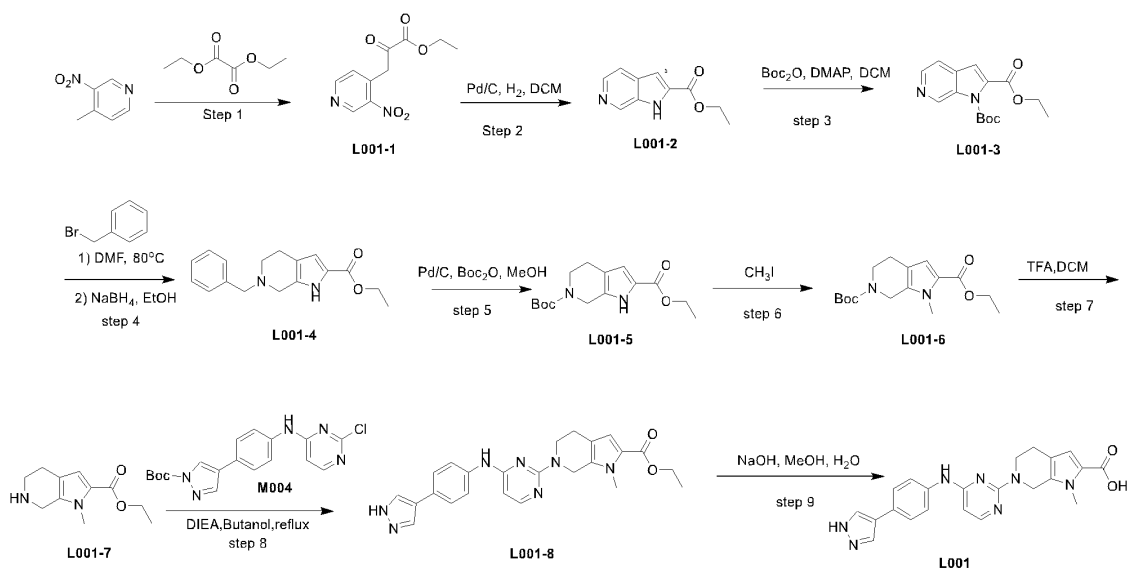
1) 化合物叔-丁基 4-(4-((2-氯嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 (M004) 的制备:

将叔-丁基 4-(4-氨基苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 (5.64 g, 21.69 mmol)和 2,4-二氯嘧啶(4.85 g, 1.44 mmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(90 mL)中, 加入 N,N-二异丙基乙胺(8.39 g, 65.07 mmol), 氮气保护, 80°C反应 8 个小时。将反应液倒入水(200 mL)中, 乙酸乙酯(100 mL *2)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(80 mL*3)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 粗品硅胶柱层析分离(二氯甲烷/乙酸乙酯=50: 1-5: 1), 得到淡黄色固体 4.40 g, 收率 54 %。LC-MS [M+H]⁺: 371.7。

2) N-(4-(1H-吡唑-4-基)苯基)-2-氯嘧啶-4-胺 (M004') 的制备

将叔-丁基 4-(4-((2-氯嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯溶于无水二氯甲烷中, 加入氯化氢的乙醇溶液(33%), 室温搅拌 2h。减压浓缩, 得到 N-(4-(1H-吡唑-4-基)苯基)-2-氯嘧啶-4-胺, MS (M+1)⁺=272.4。

实施例 1、化合物 1 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸 (L001) 的制备



1.1 化合物 3-(3-硝基吡啶-4-基)-2-羧基丙酸乙酯 (L001-1) 的制备

氮气保护, 4-甲基-3-硝基吡啶(10.0g, 72.0mmol)溶于草酸二乙酯(50mL)中, 向反应液中加入 DBU(12.7g, 83.0mmol), 室温搅拌过夜。向反应体系中加入冰水(30.0g)淬灭, 用 1N 的稀盐酸调节 pH 至 4-5, 过滤, 滤饼用乙酸乙酯(100ml*2)洗涤, 烘箱干燥之后得到 18.0g 红色固体, 粗品直接投下一步。LC-MS $[M+H]^+$: 239.1。

1.2 化合物 1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯 (L001-2) 的制备

氮气保护, 将 3-(3-硝基吡啶-4-基)-2-羧基丙酸乙酯(17.0g, 70.0mmol) 溶解于无水二氯甲烷 (200mL) 中, 向反应液中加入钯碳 (3.4g), 室温过夜。过滤, 滤液减压浓缩, 浓缩之后硅胶柱层析分离 (PE/EA=1/1), 得到 6.0g 黄色油状液体, 两步收率为 43.8%。LC-MS $[M+H]^+$: 191.1。

1.3 化合物 1-叔丁氧羰基-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯 (L001-3) 的制备

氮气保护, 将 1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯(6.0g, 31.5mmol)溶解于无水二氯甲烷(50mL)中, 向反应液中加入 Boc 酸酐(7.6g, 34.7mmol)和 DMAP(384mg, 3.2mmol), 室温搅拌过夜。减压浓缩, 粗品硅胶柱层析分离 (PE/EA=3/1), 得到 7.5g 黄色油状液体。收率为 82.4%, LC-MS $[M+H]^+$: 291.0。

1.4 化合物 6-苄基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯 (L001-4) 的制备

氮气保护, 将 1-叔丁氧羰基-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯(7.2g, 24.7mmol)溶于无水 DMF(50mL)中, 加入溴化苄 (4.2g, 24.7mmol), 80°C 反应 4 小时, 减压浓缩, 浓缩所得固体溶于乙醇(50mL)中, 向反应液中加入硼氢化钠(934mg, 24.7mmol), 室温反应 3 小时。用水(100mL)淬灭, 乙酸乙酯萃取(100mL x3), 饱和食盐水(100 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 粗品硅胶柱层析分离 (PE/EA=3/1), 得到 3.5g 黄色油状液体, 收率 49.8%。LC-MS $[M+H]^+$: 285.1。

1.5 化合物 6-叔丁氧羰基-4,5,7-三氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯 (L001-5) 的制备

将 6-苄基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯 (3.5g, 12.3mmol) 溶于甲醇 (40mL) 中, 加入 Boc 酸酐(4.0g, 18.5mmol)和钯碳(700mg), 氮气气氛下室温过夜。过滤浓缩, 硅胶柱层析分离 (PE/EA=5/1)得到 1.8g 黄色油状液体, 收率为 50.0%。MS $[M/2+H]^+$ =295.1。

1.6 化合物 6-叔丁氧羰基-1-甲基-4,5,7-三氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯 (L001-6) 的制备

氮气保护, 将 6-叔丁氧羰基-4,5,7-三氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯(1.8g, 6.1mmol)溶于四氢呋喃(20mL)中, 降温至 0°C, 向反应体系中加入氢化钠(364mg, 9.1mmol, 60%), 此温度下搅拌 30 分钟, 滴加碘甲烷(1.7g, 12.2mmol)后, 室温反应 2 小时。饱和氯化铵(20mL)淬灭, 乙酸乙酯(30mL x3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(50mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 得到 1.8g 黄色油状液体(粗品), LC-MS $[M+H]^+$: 308.9。

1.7 化合物 1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯 (L001-7) 的制备

将 6-叔丁氧羰基-4,5,7-三氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯(1.8g,5.8mmol)溶于无水二氯甲烷(20mL)中,加入三氟乙酸(5mL),室温反应 3 小时。减压浓缩后,缓慢滴加饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 8-9,二氯甲烷(20mL*3)萃取,饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤浓缩,粗品硅胶柱层析(DCM/MeOH=15/1)得到 900mg 黄色油状液体。两步收率为 71%, LC-MS $[M+H]^+$: 209.1。

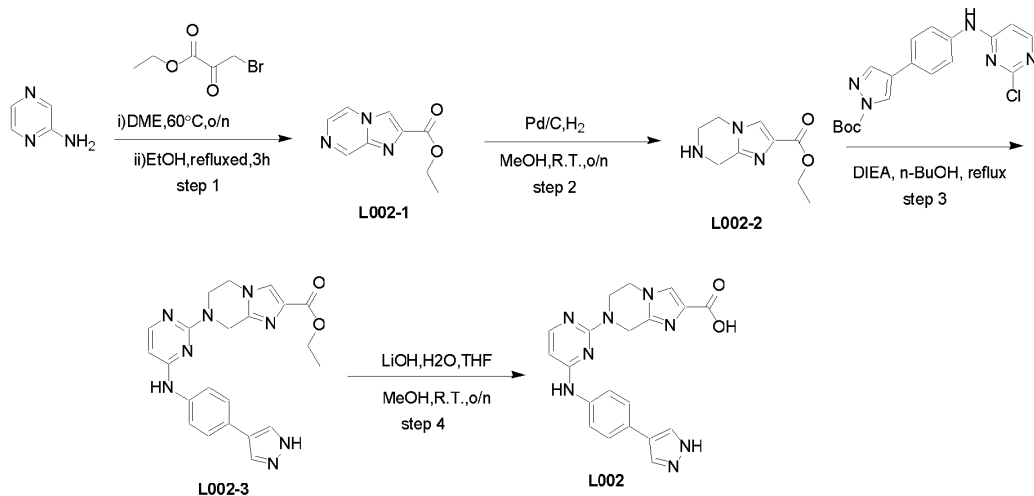
1.8 化合物 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯 (L001-8) 的制备

将叔-丁基 4-((2-氯嘧啶-4-基)氨基)苯基-1H-吡唑-1-羧酸酯 (1342mg, 3.6mmol)溶解于正丁醇(10mL)中,向反应液中加入乙基-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸酯(500mg,2.4mmol)和 DIEA(930mg,7.2mmol),升温至 120°C,反应过夜。用水(40mL)淬灭,乙酸乙酯萃取(30mL x3),合并有机相,饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤浓缩。粗品硅胶柱层析分离(PE/EA=1/1),得到 900mg 黄色油状液体,收率为 84.5%。LC-MS $[M+H]^+$:444.1。

1.9 化合物 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸 (L001) 的制备

将 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯(800mg,1.5mmol)溶于四氢呋喃/甲醇/水(3/1/1,共 10mL)中,加入氢氧化钠(292mg,7.3mmol),升温至 50°C 反应 1 小时。减压浓缩后,用 1N 稀盐酸调节 pH 至 5-6,减压浓缩得到 1.0g 白色固体,粗品,含有氯化钠。LC-MS $[M+H]^+$:416.0。

实施例 2、化合物 7-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-羧酸 (L002) 的制备



2.1 化合物咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-羧酸乙酯 (L002-1) 的制备

将吡嗪-2-胺(3.5 g, 36.82 mmol)和 3-溴-2-氧基丙酸乙酯(7.0 g, 44.18 mmol)溶于乙二醇二甲醚(60 mL), 60°C加热过夜。冷却至室温,过滤收集滤饼,加入乙醇(40 mL), 80°C加热 3 小时。减压浓缩后加入饱和碳酸氢钠溶液(30 mL),乙酸乙酯(30 mL*3)萃取,合并有机相,无水硫酸钠干燥,减压浓缩。粗品硅胶柱纯化(二氯甲烷:乙酸乙酯=1:1),得到 1.15 g 黄色油状产物,产率 16.4%。LC-MS $[M+H]^+$: 192.0。

2.2 化合物 5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-羧酸乙酯 (L002-2) 的制备

将咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-羧酸乙酯(1.1 g, 5.75 mmol)溶于无水甲醇(30 mL),加入钨催化剂(10%, 600 mg),通入氢气,室温搅拌过夜。过滤后滤液旋干,得到棕黄油状产物乙基-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-羧酸酯 800 mg,收率 71.2%。LC-MS $[M+H]^+$: 196.0。

2.3 化合物 7-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-羧酸乙酯

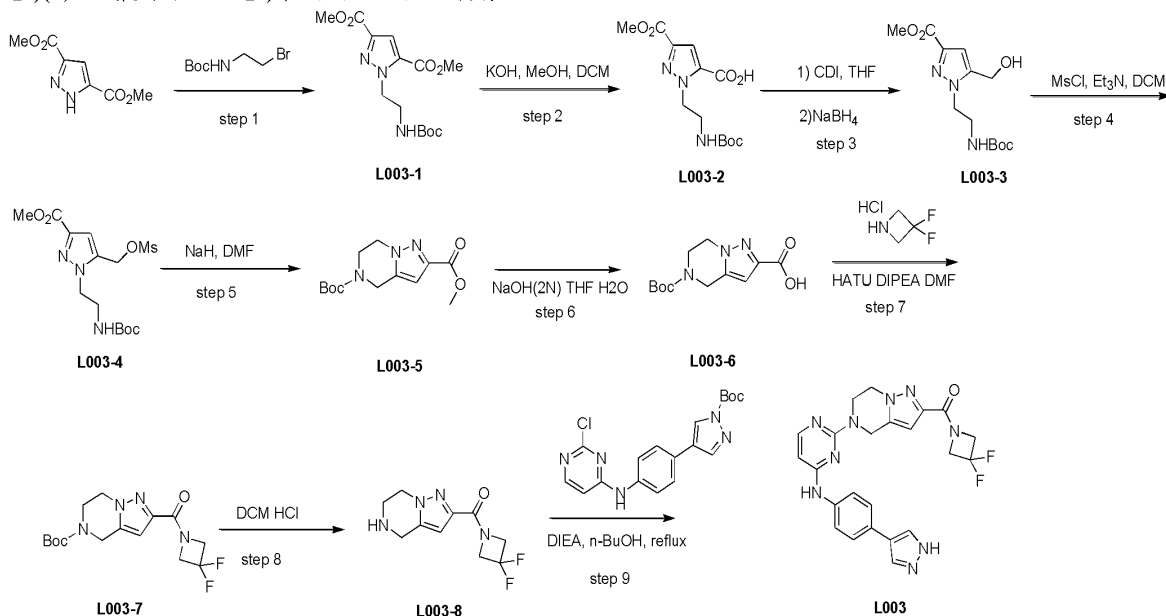
(L002-3) 的制备

将 5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-羧酸乙酯 (310 mg, 1.59 mmol), 4-(4-((2-氯嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯 (589 mg, 1.59 mmol) 及 N, N-二异丙基乙胺 (570 mg, 4.42 mmol) 溶于正丁醇 (5 mL), 反应 120°C 搅拌 5 小时。加水 (20 mL) 稀释, 乙酸乙酯 (15 mL*3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。粗品硅胶柱纯化 (二氯甲烷: 甲醇=5: 1), 得到 430 mg 棕色油状粗品产物 7-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-羧酸乙酯。收率 62.9%。LC-MS $[M+H]^+$: 431.1。

2.4 化合物 7-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-羧酸 (L002) 的制备

将 7-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-羧酸乙酯 (430 mg, 1.00 mmol) 溶于四氢呋喃 (3 mL), 甲醇 (1 mL) 和水 (1 mL) 中, 加入一水合氢氧化锂 (126 mg, 3.00 mmol), 反应室温搅拌过夜。用 1N 盐酸调至 pH=2, 乙酸乙酯 (15 mL*3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。得到灰色固体产物 7-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-羧酸 350 mg, 收率 87.1%, 粗品。LC-MS $[M+H]^+$: 403.0。

实施例 3、化合物 5-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基(3,3-二氟吡丁啉-1-基)甲酮 (L003) 的制备



3.1 化合物 1-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙基)-1H-吡唑-3,5-二羧酸二甲酯 (L003-1) 的制备

将 1H-吡唑-3,5-二羧酸二甲酯 (5.00 g, 27.10 mmol) 加入无水 N,N-二甲基甲酰胺 (60 mL) 中, 加入碳酸钾 (5.61 g, 40.60 mmol), 冰水浴, 氮气保护, 再向其中加入 (2-溴乙基) 氨基甲酸叔丁酯 (6.64 g, 29.80 mmol), 室温搅拌 3h。加入水 (100 mL) 稀释, 有大量固体析出, 抽滤, 滤饼用水 (50 mL) 洗涤。收集固体, 干燥后得到 8.70 g 粗品, 纯度 70%, 白色固体, 产率 68%。MS $[M+H]^+$ = 350.2。

3.2 化合物 1-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙基)-3-(甲氧羰基)-1H-吡唑-5-羧酸 (L003-2) 的制备

将 1-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙基)-1H-吡唑-3,5-二羧酸二甲酯 (5.60 g, 17.10 mmol) 溶于二氯甲烷 (30 mL) 和甲醇 (30 mL) 中, 滴加氢氧化钾甲醇溶液 (2.2M, 5.4 mL, 11.9 mmol), 室温反应 1h。加水 (60 mL) 稀释, 二氯甲烷 (50 mL*2) 反萃, 水相用稀盐酸 (1N) 调至 pH=3, 二氯甲烷 (50 mL*3) 萃取, 合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩后得到产物 4.20 g, 为白色固体, 产率 78%, 粗品。MS $[M+H]^+$ = 336.2。

3.3 化合物 1-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙基)-5-(羟甲基)-1H-吡唑-3-羧酸甲酯 (L003-3) 的制备

将 1-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙基)-3-(甲氧羰基)-1H-吡唑-5-羧酸(2.00 g, 6.30 mmol)溶于无水四氢呋喃(30 mL)中, 加入 N,N'-羰基二咪唑(2.04 g, 12.6 mmol) (CDI) 在 45°C 搅拌 1h 后, 加入硼氢化钠(957mg, 25.20mmol), 室温搅拌过夜。用饱和氯化铵溶液(20 mL)淬灭, 加水(20 mL)稀释, 乙酸乙酯(20 mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 粗品硅胶柱纯化(石油醚: 乙酸乙酯= 3: 1)纯化得到 400 mg 无色透明油状液体, 产率 21%, MS [M+H]⁺= 322.1。

3.4 化合物 1-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙基)-5-(((甲磺酰)氧代)甲基)-1H-吡唑-3-羧酸甲酯 (L003-4) 的制备

将 1-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙基)-5-(羟甲基)-1H-吡唑-3-羧酸甲酯(400 mg, 1.33mmol)溶于无水二氯甲烷(5mL)中, 加入三乙胺(201 mg, 2.00mmol), 并在 0°C 下滴加甲基磺酰氯(182mg, 1.59mmol), 室温搅拌 1.5h。加入饱和碳酸氢钠(5mL)淬灭, 加水(10mL)稀释, 乙酸乙酯(10 mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 得到 420 mg 无色透明油状液体, 粗品, 产率 83%, MS (M-99)⁺= 278.1。

3.5 化合物 5-叔丁氧羰基-6,7-二氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2,5(4H)-2-羧酸甲酯 (L003-5) 的制备

将 1-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙基)-5-(((甲磺酰)氧代)甲基)-1H-吡唑-3-羧酸甲酯(420 mg, 1.11 mmol)溶于无水 N,N-二甲基甲酰胺(10mL)中, 氮气保护, 在 0°C 下加入氢化钠(76mg, 1.89mmol, 60%), 室温搅拌 1.5h。反应结束后, 加入饱和氯化铵(10 mL)淬灭, 加水(10mL)稀释, 乙酸乙酯(10 mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(30 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩后, 经硅胶柱层析(石油醚: 乙酸乙酯= 1: 1)纯化, 得到 200 mg 无色透明油状液体, 产率 64%, MS [M+H]⁺= 282.2。

3.6 化合物 5-(叔丁氧羰基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-羧酸 (L003-6) 的制备

将 5-叔丁氧羰基-6,7-二氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2,5(4H)-2-羧酸甲酯(200mg, 0.71 mmol)溶于四氢呋喃(3mL)和水(1mL)中, 滴加氢氧化钠水溶液(2N, 1.4mL, 2.80 mmol), 室温反应 1h。加水(5mL)稀释, 乙酸乙酯(5 mL*2)反萃, 水相用稀盐酸(1N)调至 pH=3, 乙酸乙酯(5 mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩后得到产物 130mg 粗品, 为白色固体, 产率 68%。MS(M+1)⁺= 268.2。

3.7 化合物 2-(3,3-二氟吡啶-1-羧基)-6,7-二氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-5(4H)-羧酸叔丁酯 (L003-7) 的制备

将 5-(叔丁氧羰基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-羧酸(130mg, 0.49 mmol)溶于无水 N,N-二甲基甲酰胺(3mL)中, 加入 2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基胍六氟磷酸酯(205mg, 0.54mmol), N,N-二异丙基乙胺(255mg, 1.96mmol) 和 3,3-二氟三甲叉胺盐酸盐(70mg, 0.54mmol), 室温搅拌 2h。加水(10 mL)稀释, 乙酸乙酯(10 mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 粗品硅胶柱纯化(石油醚: 乙酸乙酯= 3: 1)纯化得到 110 mg 白色固体, 产率 65%, MS (M+1)⁺= 343.2。

3.8 化合物(3,3-二氟吡啶-1-基)(4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基)甲酮 (L003-8) 的制备

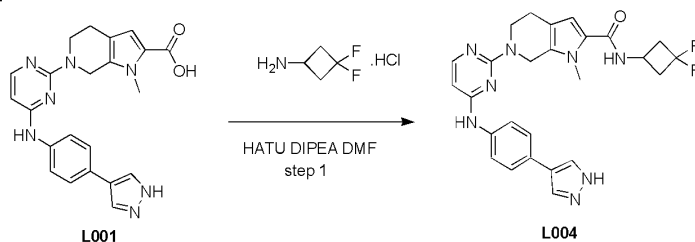
将 2-(3,3-二氟吡啶-1-羧基)-6,7-二氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-5(4H)-羧酸叔丁酯(110 mg, 0.32mmol)溶于无水二氯甲烷(3mL)中, 加入氯化氢的乙醇溶液(33%, 1mL), 室温搅拌 2h。减压浓缩, 得到粗品 90 mg, 白色固体, MS (M+1)⁺= 242.9。

3.9 化合物(5-(4-((1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基)(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮 (L003) 的制备

将(3,3-二氟吡啶-1-基)(4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基)甲酮盐酸盐(90mg, 0.32mmol)溶于正丁醇(3mL)中, 加入 4-(4-((2-氯嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯(119mg, 0.32mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(255mg, 1.96mmol), 回流搅拌过夜, 加水(10 mL)稀释, 乙酸乙酯(10 mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 经制备纯化得到 19.6 mg 白色固体, 两步收率 12%, MS (M+1)⁺= 478.2。

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.91 (brs, 1H), 9.42 (s, 1H), 8.08-7.96 (m, 3H), 7.63-7.58(m, 4H), 6.68 (s, 1H), 6.15 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.85 (t, J = 12.4 Hz, 2H), 4.44 (t, J = 12.4 Hz, 2H), 4.25 (s, 4H)。

实施例 4、化合物 6-((4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-N-(3,3-二氟环丁基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺 (L004) 的制备

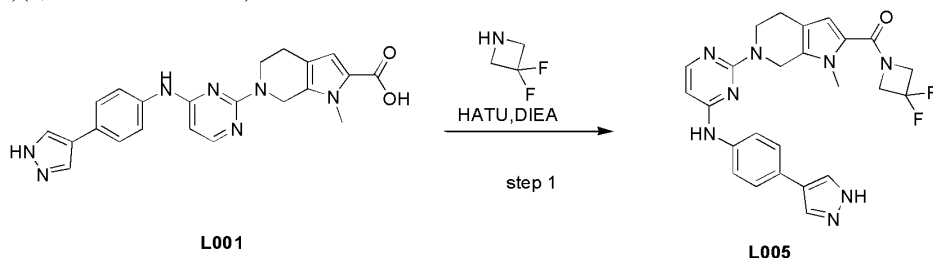


4.1 化合物 6-((4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-N-(3,3-二氟环丁基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺 (L004) 的制备

将 6-((4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-N-(3,3-二氟环丁基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸 (L001) (150 mg, 0.36 mmol) 溶于无水 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 加入 N,N-二异丙基乙胺 (185 mg, 1.44 mmol), 3,3-二氟环丁烷-1-胺盐酸盐 (57 mg, 0.40 mmol) 和 2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (150 mg, 0.40 mmol), 氮气保护, 室温反应 4 小时。反应结束后, 加入水 (15 mL) 淬灭, 乙酸乙酯萃取 (10 mL*3), 合并有机相, 饱和食盐水洗涤 (20 mL), 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。粗品硅胶柱纯化, 洗脱剂为二氯甲烷: 甲醇 (20: 1), 得到 40.8 mg 白色固体, 收率 22%。MS [M+H]⁺=504.9。

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.93 (brs, 2H), 7.88 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.55 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.63 (s, 1H), 6.09 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.77 (s, 2H), 4.28-4.22 (m, 1H), 4.02-3.96 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 2.95-2.87 (m, 2H), 2.65-2.62 (m, 4H)。

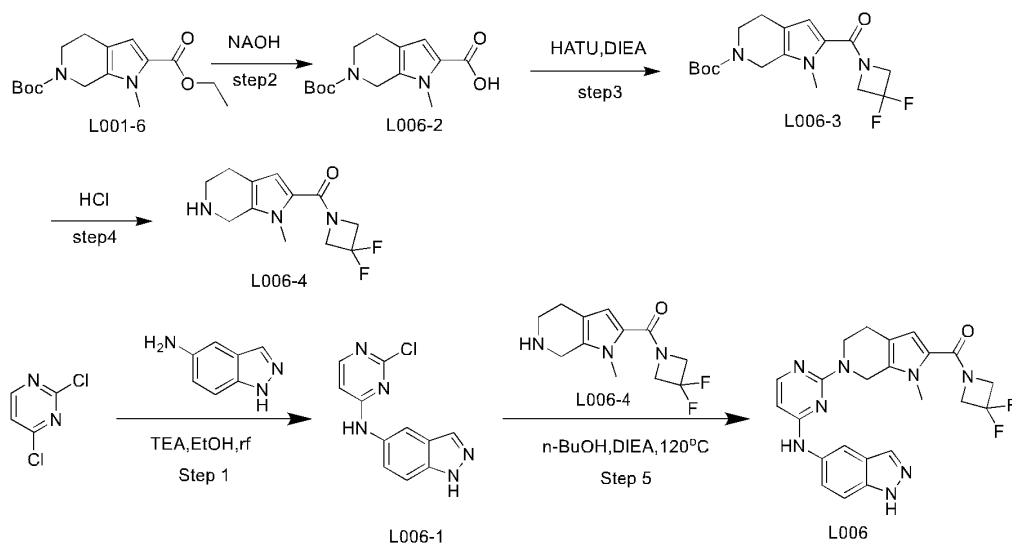
实施例 5、化合物 6-((4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-N-(3,3-二氟吡丁啉-1-基)甲酮 (L005) 的制备



将 3,3-二氟吡丁啉 (67mg, 0.7mmol) 溶于 DMF (10mL) 中, 加入 6-((4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-N-(3,3-二氟环丁基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸 (L001) (200mg, 0.5mmol), HATU (547mg, 1.4mmol), DIEA (186mg, 1.4mmol), 室温反应 2 小时。用水 (30mL) 淬灭, 用乙酸乙酯萃取 (30mL x3), 饱和食盐水 (30 mL) 洗涤有机相, 有机相用无水硫酸钠干燥, 浓缩之后制备分离得到 60mg 白色固体。LC-MS [M+H]⁺: 490.7。

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.96 (s, 2H), 7.90 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 7.64 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.59 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.48 (s, 1H), 6.15 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 4.82 (s, 2H), 4.64-4.52 (m, 4H), 4.03 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 2.69 (t, J = 5.5 Hz, 2H)。

实施例 6、化合物 6-((4-((4-(1H-吡唑-5-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-N-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L006) 的制备



6.1 化合物 N-(2-氯嘧啶-4-基)-1H-吲唑-5-胺 (L006-1) 的制备

氮气保护下，将 2,4-二氯嘧啶 (1.48 g, 10.0 mmol) 和 1H-吲唑-5-胺 (1.33 g, 10.0 mmol) 溶于无水乙醇 (10 mL)，加入三乙胺 (1.01 g, 10.0 mmol)，加热回流，反应 16 小时。反应结束后减压浓缩，加入 20 mL 水稀释，乙酸乙酯 (20 mL*3) 萃取，合并有机相，无水硫酸钠干燥，有机相过滤并旋干，得到粉红色固体为 N-(2-氯嘧啶-4-基)-1H-吲唑-5-胺 1.30 g (收率 53%)。MS $[M+H]^+$ = 246.0。

6.2 化合物 6-(叔-丁氧基羰基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸 (L006-2) 的制备

将 6-(叔-丁氧基羰基)-1-甲基-4,5,6,7-三氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯 (4.0 g, 12.9 mmol) 溶于甲醇 (40 mL) 中，加入氢氧化钠溶液 (38.7 mL, 1N)，50°C 反应 2 小时。稀盐酸 (1N) 调节 pH 至 5-6，乙酸乙酯 (50 mL*3) 萃取，饱和食盐水 (50 mL) 洗涤，无水硫酸钠干燥，减压旋蒸，得到 3.2 g 紫色油状液体。LC-MS $[M+H]^+$ = 281.1。

6.3 化合物叔-丁基 2-(3,3-二氟吡啶-1-基)-1-甲基-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6(7H)-羧酸酯 (L006-3) 的制备：

将 6-(叔-丁氧基羰基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸 (2.4 g, 8.5 mmol) 溶于无水 DMF (20 mL) 中，加入 3,3-二氟吡啶盐酸 (1.2 g, 12.8 mmol)，HATU (4.9 g, 12.8 mmol)，DIEA (3.3 g, 25.6 mmol)，室温反应 1 小时。水 (30 mL) 淬灭，乙酸乙酯 (30 mL*3) 萃取，饱和食盐水 (50 mL) 洗涤，无水硫酸钠干燥，减压旋蒸，浓缩之后硅胶柱层析 (PE/EA=3/1) 得到 2.5 g 黄色油状液体。收率为 83.3%，LC-MS $[M+H]^+$ = 355.8。

6.4 化合物 (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基) (1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基) 甲酮 (L006-4) 的制备：

将叔-丁基 2-(3,3-二氟吡啶-1-基)-1-甲基-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6(7H)-羧酸酯 (1.8 g, 5.8 mmol) 溶于无水乙醇 (20 mL) 中，加入盐酸乙醇 (5 mL, 质量分数 33%)，室温反应 3 小时。减压旋蒸，浓缩之后得到 2.0 g 黄色固体。LC-MS $[M+H]^+$ = 256.0。

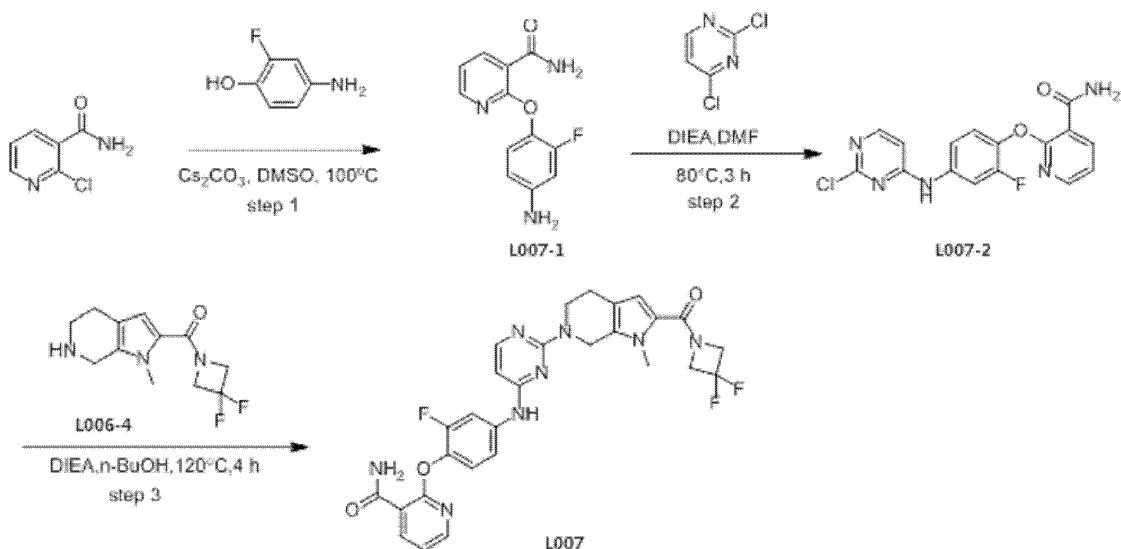
6.5 化合物 (6-(4-((1H-吲唑-5-基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基) (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基) 甲酮 (L006) 的制备

将 (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基) (1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基) 甲酮 (50 mg, 0.20 mmol) 和 N-(2-氯嘧啶-4-基)-1H-吲唑-5-胺 (73.7 mg, 0.30 mmol) 溶于正丁醇 (1.0 mL) 中，加入二异丙基乙胺 (53 mg, 0.41 mmol)，120°C 反应 15 小时。反应结束后降至室温，减压旋干，通过薄层色谱法纯化 (石油醚：乙酸乙酯=1:5)，得到 20 mg 白色固体，收率 22%。MS $[M+H]^+$ = 485.0。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.97 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.94 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.44 (dd, J = 8.9, 1.6 Hz, 1H), 6.46 (s, 1H), 6.06 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 4.80 (s, 2H),

4.62-4.48 (m, 4H), 3.97 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 2.56 (t, J = 5.5 Hz, 2H)。

实施例7、化合物2-(4-((2-(2-(3,3-二氟吡啶-1-基)-1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-基)嘧啶-4-基)氨基)-2-氟苯氧基)尼克酰胺 (L007) 的制备



7.1 化合物 2-(4-氨基-2-氟苯氧基)尼克酰胺 (L007-1) 的制备:

将 2-氯尼克酰胺 (3.00 g, 19.16 mmol) 和 4-氨基-2-氟苯酚 (2.43 g, 19.16 mmol) 溶入无水二甲基亚砜 (50 mL) 中, 加入碳酸铯 (18.68 g, 57.48 mmol), 100°C 搅拌 12h。反应完成后加水 (100 mL), 乙酸乙酯 (100 mL*8) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤旋干。粗品经硅胶柱纯化 (二氯甲烷: 甲醇=10: 1) 得到棕色固体产物 2-(4-氨基-2-氟苯氧基)尼克酰胺 1.60 g, 产率 34%。LC-MS [M+H]⁺: 248.1。

7.2 化合物 2-(4-((2-氯嘧啶-4-基)氨基)-2-氟苯氧基)尼克酰胺 (L007-2) 的制备:

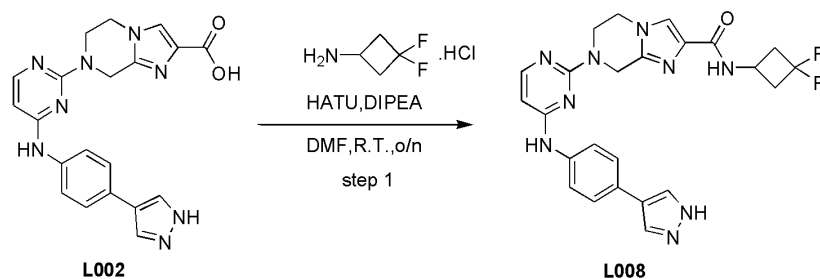
将 2-(4-氨基-2-氟苯氧基)尼克酰胺 (300 mg, 1.21 mmol) 溶入无水 N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL), 加入 2,4-二氯嘧啶 (180 mg, 1.21 mmol) 及 N,N-二异丙基乙基胺 (470 mg, 3.63 mmol)。体系升温至 80°C 反应 3 小时。加水 (30 mL) 淬灭, 乙酸乙酯 (30 mL*3) 萃取, 合并有机相, 饱和食盐水 (30 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤旋干。粗品经硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷: 乙酸乙酯=1: 1), 得到淡黄色固体产物 2-(4-((2-氯嘧啶-4-基)氨基)-2-氟苯氧基)尼克酰胺 150 mg, 收率 31%。

7.3 化合物 2-(4-((2-(2-(3,3-二氟吡啶-1-基)-1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-基)嘧啶-4-基)氨基)-2-氟苯氧基)尼克酰胺 (L007) 的制备:

将 2-(4-((2-氯嘧啶-4-基)氨基)-2-氟苯氧基)尼克酰胺 (85 mg, 0.24 mmol) 溶于正丁醇 (3 mL), 向体系中加入 (3,3-二氟吡啶-1-基)(1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮盐酸盐 (60 mg, 0.24 mmol) 及 N,N-二异丙基乙基胺 (155 mg, 1.20 mmol), 体系升温至 120°C 搅拌 4h。检测反应完成后加水 (10 mL) 淬灭, 乙酸乙酯 (10 mL*3) 萃取, 合并有机相, 饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤旋干, 粗品经硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷: 甲醇=10: 1), 得到白色固体产物 2-(4-((2-(2-(3,3-二氟吡啶-1-基)-1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-基)嘧啶-4-基)氨基)-2-氟苯氧基)尼克酰胺 12.1 mg, 收率 8.8%。LC-MS [M+H]⁺: 579.0。

¹H NMR (301 MHz, DMSO) δ 9.58 (s, 1H), 8.23 – 8.13 (m, 2H), 8.05 – 7.98 (m, 1H), 7.92 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 7.82 (s, 2H), 7.38 – 7.29 (m, 2H), 7.26 – 7.20 (m, 1H), 6.44 (s, 1H), 6.09 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 4.78 (s, 2H), 4.53 (t, J = 7.1 Hz, 4H), 3.99-3.92 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 2.58-2.50 (m, 2H)。

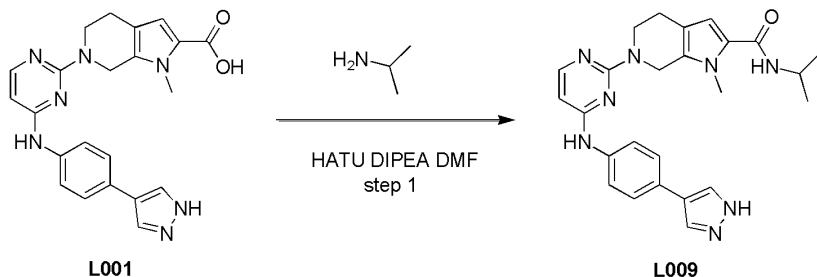
实施例 8、化合物 7-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-N-(3,3-二氟环丁基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-甲酰胺 (L008) 的制备



将 7-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-羧酸 (L002) (100 mg, 0.25 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL)，加入 HATU (140 mg, 0.37 mmol)，3,3-二氟环丁烷-1-胺盐酸盐 (53 mg, 0.37 mmol) 及 N,N-二异丙基乙胺 (160 mg, 1.25 mmol)，氮气保护，室温搅拌过夜。加水 (15 mL) 淬灭，乙酸乙酯 (15 mL*3) 萃取，合并有机相，饱和食盐水 (15 mL*3) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤浓缩。粗品硅胶柱纯化 (二氯甲烷: 甲醇=10: 1)，收集产物，浓缩后冻干，得到 24.7 mg 白色固体产物 7-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-N-(3,3-二氟环丁基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-甲酰胺，收率 20.1%。LC-MS $[M+H]^+$: 492.0。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.87 (s, 1H), 9.41 (s, 1H), 8.49 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 8.20 – 7.85 (m, 3H), 7.66 – 7.56 (m, 5H), 6.14 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 4.91 (s, 2H), 4.30 – 4.25 (m, 1H), 4.20 – 4.08 (m, 4H), 2.87 – 2.77 (m, 4H)。

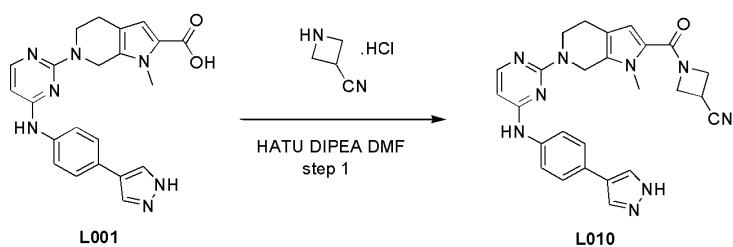
实施例 9、化合物 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-N-异丙基-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺 (L009) 的制备



将 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸 (L001) (150 mg, 0.36 mmol) 溶于无水 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中，加入 N,N-二异丙基乙胺 (185 mg, 1.44 mmol)，异丙胺 (57 mg, 0.40 mmol) 和 2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (24 mg, 0.40 mmol)，氮气保护，室温反应 4 小时。反应结束后，加入水 (15 mL) 淬灭，乙酸乙酯萃取 (10 mL*3)，合并有机相，饱和食盐水洗涤 (20 mL)，无水硫酸钠干燥，过滤浓缩，粗品经纯化得到 30.7 mg 白色固体，收率 18%。MS $[M+H]^+$ = 457.2。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.82 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 8.01 (s, 2H), 7.96 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.58 – 7.55 (m, 3H), 6.62 (s, 1H), 6.07 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.05 – 3.98 (m, 3H), 3.78 (s, 3H), 2.54 – 2.52 (m, 2H), 1.10 (d, J = 6.6 Hz, 6H)。

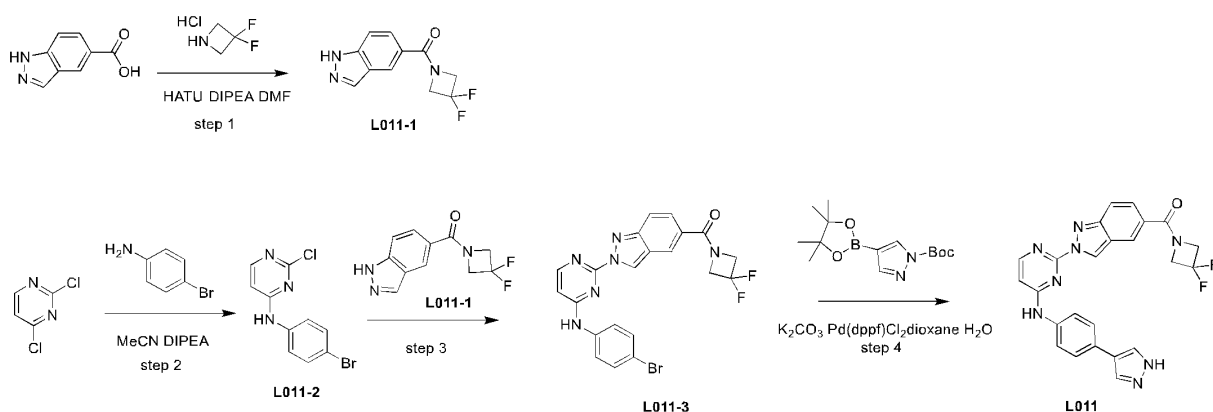
实施例 10、化合物 1-(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧基)吡啶-3-甲腈 (L010) 的制备



将 6-((4-((1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸 (L001) (150 mg, 0.36 mmol) 溶于无水 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 加入 N,N-二异丙基乙胺 (185 mg, 1.44 mmol), 3-氰基-氮杂环丁烷盐酸盐 (47 mg, 0.40 mmol) 和 2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯 (150 mg, 0.40 mmol), 氮气保护, 室温反应 4 小时。反应结束后, 加入水 (15 mL) 淬灭, 乙酸乙酯萃取 (10 mL * 3), 合并有机相, 饱和食盐水洗涤 (20 mL), 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。粗品硅胶柱纯化, 洗脱剂为二氯甲烷: 甲醇 (20: 1), 得到 58.6 mg 白色固体, 收率 34%。MS $[M+H]^+$ = 479.9。

^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.92 (brs, 2H), 7.87 (d, J = 6.0, 1H), 7.61 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.54 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.38 (s, 1H), 6.09 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.60 - 4.28 (m, 4H), 4.00 - 3.96 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.75 - 3.68 (m, 1H), 2.66 - 2.60 (m, 2H)。

实施例 11、化合物 2-(4-((4-((1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-2H-吡唑-5-基)(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮 (L011) 的制备



11.1 化合物 3,3-二氟吡啶-1-基(1H-吡唑-5-基)甲酮 (L011-1) 的制备

将 1H-吡唑-5-羧酸 (1.50 g, 9.26 mmol) 溶于无水 N,N-二甲基甲酰胺 (30 mL) 中, 加入 3,3-二氟三甲叉亚胺盐酸盐 (1.31 g, 10.18 mmol), 2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯 (3.86 g, 10.18 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (4.78 g, 37.04 mmol), 室温搅拌 4h。加入水 (50 mL) 稀释, 乙酸乙酯萃取 (30 mL * 2), 合并有机相, 饱和食盐水 (30 mL * 3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩后, 粗品硅胶柱层析纯化 (EA) 得到 1.40 g 白色固体, 收率 63%。LC-MS $[M+H]^+$: 237.9。

11.2 化合物 N-(4-溴苯基)-2-氯嘧啶-4-胺 (L011-2) 的制备

将 2,4-二氯嘧啶 (500 mg, 3.38 mmol) 溶解于乙腈 (5 mL) 中, 加入 4-溴苯胺 (577 mg, 3.38 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (872 mg, 6.76 mmol), 加热回流反应 24 小时。减压浓缩后粗品经硅胶柱层析分离 (PE/EA=2/1), 得到 800 mg 白色固体, 收率为 83%。LC-MS $[M+H]^+$: 283.9。

11.3 化合物 2-(4-((4-溴苯基)氨基)嘧啶-2-基)-2H-吡唑-5-基(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮 (L011-3) 的制备

将 N-(4-溴苯基)-2-氯嘧啶-4-胺 (800 mg, 2.82 mmol) 溶解于乙腈 (5 mL) 中, 加入 3,3-二氟吡啶-1-基(1H-吡唑-5-基)甲酮 (735 mg, 3.10 mmol) 和醋酸 (0.1 mL), 微波 140°C 搅拌 1h。用水 (20 mL) 淬灭, 乙酸

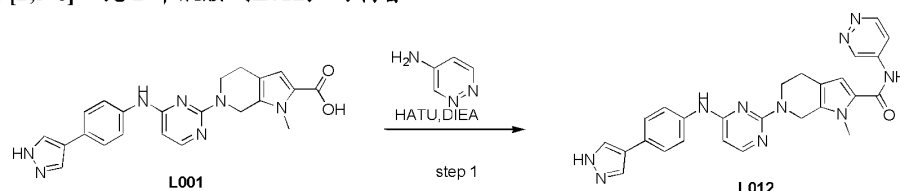
乙酯萃取(20 mL *3), 合并有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 粗品经硅胶柱层析分离(EA), 得到 250 mg 无色油状液体为化合物 L011-3, 收率 18%。LC-MS $[M+H]^+$: 484.8。

11.4 化合物(2-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-2H-吡唑-5-基)(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮(L011)的制备

氮气保护, 将(2-(4-((4-溴苯基)氨基)嘧啶-2-基)-2H-吡唑-5-基)(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮(250 mg, 0.51 mmol)溶于二氧六环(6 mL)和水(1 mL)中, 加入叔-丁基 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼戊环-2-基)-1H-吡唑-1-羧酸酯(180 mg, 0.61 mmol), 碳酸钾(140 mg, 10.2 mmol)和 1,1'-二(二苯膦基)二茂铁二氯化钯(II)(37 mg, 0.051 mmol), 80°C 搅拌 3h。恢复至室温, 用水(20mL)淬灭, 乙酸乙酯萃取(10mL *3), 合并有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 制备分离得到 23mg 白色固体。收率为 10%。LC-MS $[M+H]^+$: =472.8。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.93 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 8.41 (d, $J = 5.9$ Hz, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.83-7.76 (m, 3H), 7.68 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.63 (dd, $J = 9.2, 1.5$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 5.9$ Hz, 1H), 4.72 (brs, 4H)。

实施例 12、化合物 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-N-(吡嗪-4-基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺(L012)的制备

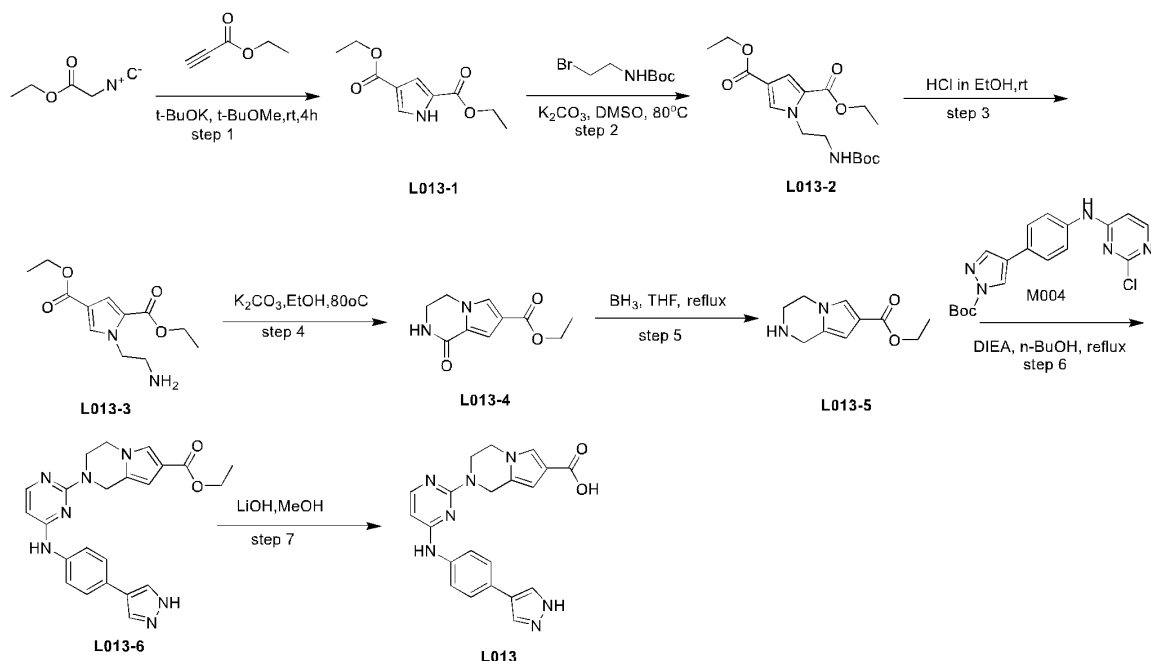


将吡嗪-4-胺(34 mg, 0.36 mmol)溶于 DMF(4 mL)中, 加入 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸(L001)(100 mg, 0.24 mmol), HATU(137 mg, 0.36 mmol), DIEA(93 mg, 0.72 mmol), 氮气保护, 室温反应 2 小时。用水(15 mL)淬灭, 乙酸乙酯萃取(10 mL *3), 合并有机相, 饱和食盐水(15 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。粗品制备分离纯化, 得到 2mg 白色固体。

LC-MS $[M+H]^+$: 492.7。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.98 (s, 1H), 10.23 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 9.35 (s, 1H), 8.99 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.08 - 7.94 (m, 3H), 7.66 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.58 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.04 (s, 1H), 6.09 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 4.85 (s, 2H), 4.05 - 3.97 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.54 - 3.46 (m, 2H)。

实施例 13、化合物 2-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1,2,3,4-四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-7-羧酸(L013)的制备



13.1 化合物 1H-吡咯-2,4-二羧酸二乙酯 (L013-1) 的制备

氮气保护, 将乙基 2-异氰基乙酸酯(5.0 g, 44.2 mmol)溶于甲基叔丁基醚(50 mL)中, 向反应液中加入丙炔酸乙酯(4.3g, 44.2mmol), 冰盐浴下向反应体系中加入叔丁醇钾(6.9 g, 61.9mmol), 之后升至室温, 搅拌 2 小时。用水(50mL)淬灭, 甲基叔丁基醚(50mL*2)萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤后减压浓缩, 粗品硅胶柱层析纯化(PE/EA=3/1)得到 2.5g 黄色油状液体, 收率为 26.9%。LC-MS $[M+H]^+$: 212.0。

13.2 化合物 1-(2-((叔-丁氧基羰基)氨基)乙基)-1H-吡咯-2,4-二羧酸二乙酯 (L013-2) 的制备

氮气保护, 将 1H-吡咯-2,4-二羧酸二乙酯 (2.5 g, 11.8 mmol) 溶解于无水 DMSO (20mL)中, 加入 (2-溴乙基)氨基甲酸叔丁酯(7.9g, 35.4mmol), 碳酸钾(4.9 g, 35.4 mmol), 80°C 搅拌过夜。用水(50mL)淬灭, 乙酸乙酯(30mL)萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤后减压浓缩, 粗品硅胶柱层析分离 (PE/EA=5/1), 得到 2.0 g 黄色油状液体, 收率为 47.9%。LC-MS $[M+Na]^+$: 376.9。

13.3 化合物 1-(2-氨基乙基)-1H-吡咯-2,4-二羧酸二乙酯 (L013-3) 的制备

氮气保护, 将 1-(2-((叔-丁氧基羰基)氨基)乙基)-1H-吡咯-2,4-二羧酸二乙酯(2.0g, 5.6mmol)溶解于无水乙醇(10 mL)中, 加入 33%的氯化氢乙醇溶液(5 mL), 室温搅拌 2 小时。浓缩之后得到 2.2g 黄色油状液体, 粗品直接用于下一步反应。LC-MS $[M+H]^+$: 255.1。

13.4 化合物 1-羧基-1,2,3,4-四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-7-羧酸乙酯 (L013-4) 的制备

氮气保护, 将 1-(2-氨基乙基)-1H-吡咯-2,4-二羧酸二乙酯(1.5g, 5.9mmol)溶于无水乙醇(15mL)中, 加入碳酸钾 (4.1g, 29.5mmol), 回流反应 12 小时。用水(50mL)淬灭, 乙酸乙酯萃取(20mL *3), 合并有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩之后柱层析分离 (PE/EA=1/1), 得到 600mg 无色油状液体, 收率 48.9%。LC-MS $[M+H]^+$: 209.1。

13.5 化合物 1,2,3,4-四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-7-羧酸乙酯 (L013-5) 的制备

氮气保护, 将 1-羧基-1,2,3,4-四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-7-羧酸乙酯(600mg, 3.1mmol) 溶于无水四氢呋喃 (10mL) 中, 加入硼烷(12.4mL, 12.4mmol), 80°C 搅拌 3 小时。恢复至室温, 缓慢滴加甲醇 (2 mL) 淬灭, 搅拌 20 分钟后, 缓慢滴加 1N 的稀盐酸(20mL), 搅拌 20 分钟, 加入水(10mL), 乙酸乙酯(20mL)萃取后, 水相用 1N 的 NaOH 溶液调节 PH 为 9, 乙酸乙酯萃取 (20mL*3), 合并有机相, 饱和食盐水 (15mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤后减压浓缩, 粗品硅胶柱层析分离(DCM/MeOH=10/1)得到 200mg 无色油状物。收率为 33.1%, MS $[M/2+H]^+$ =195.1。

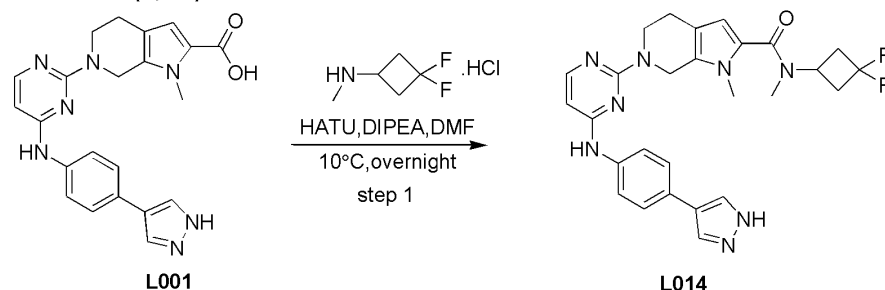
13.6 化合物 2-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1,2,3,4-四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-7-羧酸乙酯 (L013-6) 的制备

氮气保护, 将 1,2,3,4-四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-7-羧酸乙酯(200mg, 1.0mmol)溶于正丁醇(5mL)中, 加入 4-(4-((2-氯嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯 (408mg, 1.1mmol), DIEA(400mg, 3.1mmol), 120°C 搅拌 12 小时。水(20mL)淬灭, 乙酸乙酯(20mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(30mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤后减压旋蒸, 粗品硅胶柱纯化 (DCM/MeOH=20/1) 得到 200mg 浅黄色固体, 收率为 46.5%, LC-MS $[M+H]^+$: 430.1。

13.7 化合物 2-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1,2,3,4-四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-7-羧酸 (L013) 的制备

将 2-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1,2,3,4-四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-7-羧酸乙酯(200mg, 0.5mmol)溶于甲醇/水/四氢呋喃(1/1/3=10mL)中, 加入氢氧化锂 (100mg, 2.5mmol), 室温反应过夜。减压浓缩后, 用 1N 的稀盐酸调节 pH 至 5-6, 减压浓缩得到 400mg 黄色固体, 粗品。LC-MS $[M+H]^+$: 402.0。

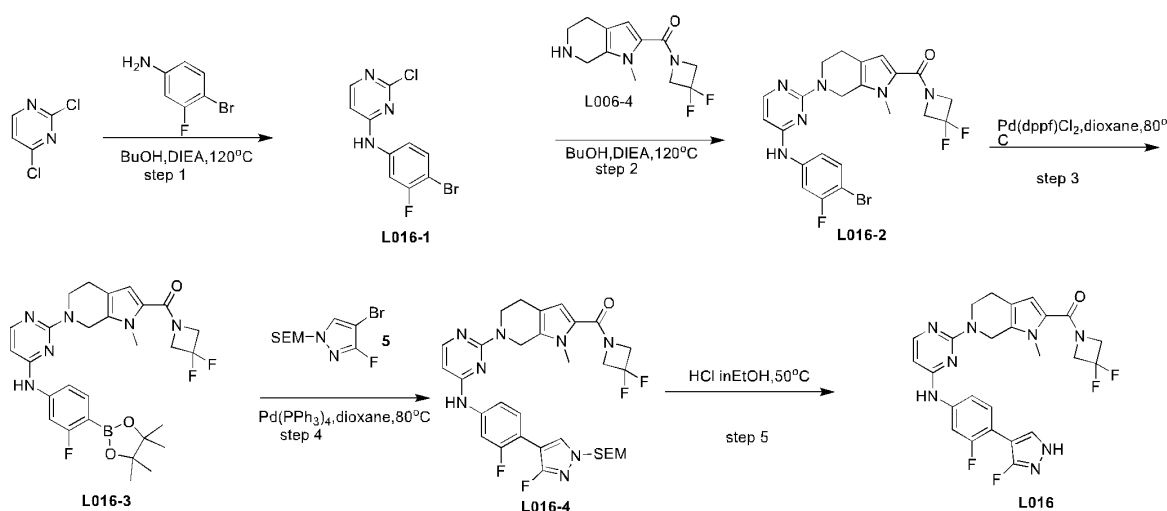
实施例 14、化合物 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-N-(3,3-二氟环丁基)-N,1-二甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺 (L014) 的制备



将 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸 (L001) (200 mg, 0.71 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (6 mL), 加入 HATU (274 mg, 0.72 mmol), 3,3-二氟-N-甲基环丁烷-1-胺盐酸盐 (M001) (87 mg, 0.72 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (248 mg, 1.92 mmol), 室温搅拌过夜。加水 (20 mL) 淬灭, 乙酸乙酯 (10 mL*3) 萃取, 合并有机相, 饱和食盐水 (10 mL*3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。粗品硅胶柱纯化 (二氯甲烷: 乙酸乙酯=1: 1), 收集产品冻干, 得到白色固体产物 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-N-(3,3-二氟环丁基)-N,1-二甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺 24.4 mg, 收率 9.8%。LC-MS $[M+H]^+$: 519.1。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.85 (brs, 1H), 10.20 (brs, 1H), 8.05 (s, 2H), 7.94 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H), 7.64 (s, 4H), 6.28 – 6.24 (m, 2H), 4.83 (s, 2H), 4.70 – 4.60 (m, 1H), 4.02 – 3.96 (m, 2H), 3.58 (s, 3H), 3.00 (s, 3H), 2.95 – 2.80 (m, 4H), 2.66 – 2.60 (m, 2H)。

实施例 16、化合物(3,3-二氟吡丁啉-1-基)(6-(4-((3-氟-4-(3-氟-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮的制备



16.1 化合物 N-(4-溴-3-氟苯基)-2-氯嘧啶-4-胺 (L016-1) 的制备:

氮气保护, 将 2,4-二氯嘧啶(1000mg, 6.7 mmol)溶于正丁醇(5mL)中, 加入 4-溴-3-氟苯胺(1274mg, 6.7 mmol), DIEA(2601mg, 20.1mmol), 升温至 120°C, 反应 8 小时。用水(20 mL)淬灭, 乙酸乙酯(20 mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(20mL*2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。粗品硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=5/1)分离, 得到 600mg 黄色固体, 收率为 29.6%, LC-MS $[M+H]^+$: 301.9/303.9。

16.2 化合物 (6-(4-((4-溴-3-氟苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮 (L016-2) 的制备:

将 N-(4-溴-3-氟苯基)-2-氯嘧啶-4-胺(500mg, 1.6mmol) 溶解于正丁醇(5mL)中, 加入(3,3-二氟吡啶-1-基)(1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮(421mg,1.6mmol), DIEA(639mg,4.9mmol), 升温至 120°C, 反应 8 小时。用水(20 mL)淬灭, 乙酸乙酯(20 mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(20mL*2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。粗品硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=2/1)分离, 得到 450mg 黄色固体。LC-MS $[M+H]^+$: 520.7。

16.3 化合物 (3,3-二氟吡啶-1-基)(6-(4-((3-氟-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼戊环-2-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (L016-3) 的制备:

将 (6-(4-((4-溴-3-氟苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮(500mg, 0.9mmol) 溶于 1,4-二氧六环(10 mL)中, 加入叔-丁基 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼戊环-2-基)-1H-吡啶-1-羧酸酯(366mg, 1.4 mmol), Pd(dppf)Cl₂(70 mg, 0.09 mmol)和醋酸钾(282mg, 2.9 mmol), 氮气保护, 80°C反应 12 小时。用水(10 mL)稀释, 乙酸乙酯(20 mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 粗品湿法硅胶柱层析(PE/EA=5/1)分离, 得到 500mg 棕色油状液体。MS $[M+H]^+$ =569.2。

16.4 化合物 (3,3-二氟吡啶-1-基)(6-(4-((3-氟-4-(3-氟-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (L016-4) 的制备:

将 (3,3-二氟吡啶-1-基)(6-(4-((3-氟-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼戊环-2-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮(500mg, 0.9 mmol) 溶于 1,4-二氧六环 (8 mL) 和水 (2 mL) 中, 加入 4-溴-5-氟-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡啶-4-基(426mg, 1.4 mmol), Pd(PPh₃)₄ (111mg, 0.09 mmol)和碳酸钾(398mg, 2.9 mmol), 氮气保护, 90°C反应 4 小时。用水(20 mL)稀释, 乙酸乙酯(20 mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 粗品硅胶柱层析 (PE/EA=1/1)分离, 得到 100mg 黄色油状液体。MS $[M+H]^+$ =657.0。

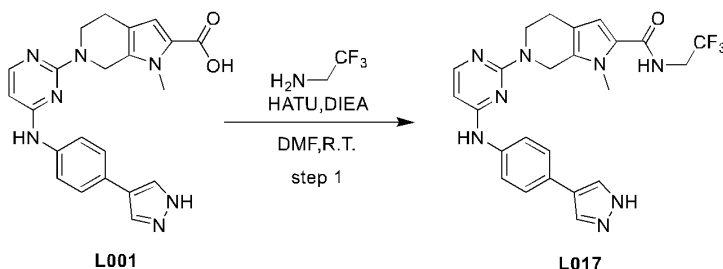
16.5 化合物 (3,3-二氟吡啶-1-基)(6-(4-((3-氟-4-(3-氟-1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (L016-5) 的制备:

将 (3,3-二氟吡啶-1-基)(6-(4-((3-氟-4-(3-氟-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡啶-4-基)苯基)

氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮(150mg, 0.2mmol) 溶于乙醇 (5 mL) 中, 加入盐酸乙醇溶液(2mL, 质量分数 33%), 氮气保护, 室温反应 2 小时。减压浓缩, 浓缩之后制备分离得 7.6mg 白色固体。MS $[M+H]^+=527.0$ 。

MS $[M+H]^+=527.0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.68 (s, 1H), 9.63 (s, 1H), 8.03 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 7.99 – 7.91 (m, 2H), 7.51 (t, J = 8.6 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 6.12 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 4.81 (s, 2H), 4.65–4.65 (m, 4H), 3.99 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 2.61–2.55 (m, 2H)。

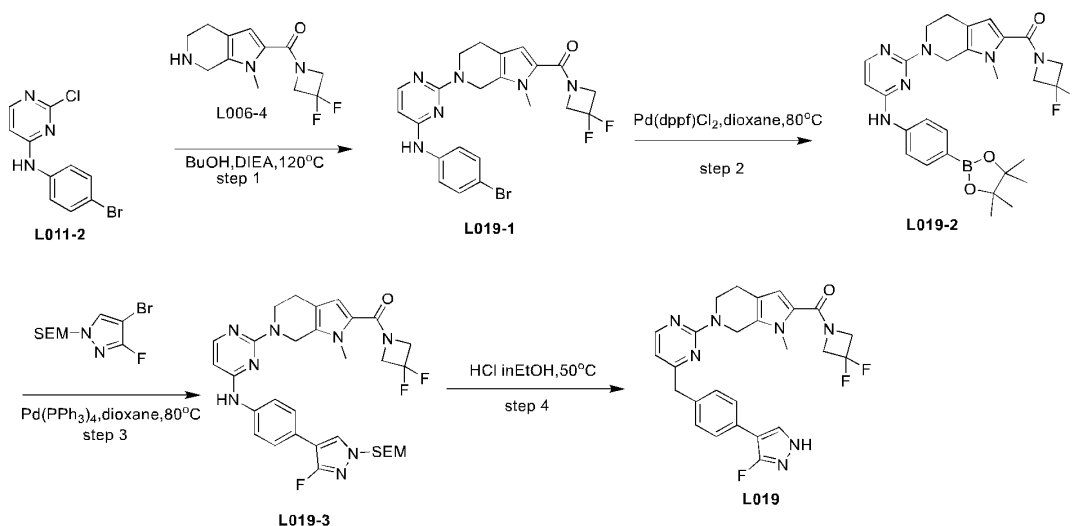
实施例 17、化合物 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-N-(2,2,2-三氟乙基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺 (L017) 制备



将 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸 (70 mg, 0.17 mmol) 溶于氮, 氮-二甲基甲酰胺 (5 mL), 依次加入 2,2,2-三氟乙烷-1-胺 (25 mg, 0.25 mmol), 2-(7-偶氮苯并三唑)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯 (96 mg, 0.25 mmol) 及氮, 氮-二异丙基乙胺 (110 mg, 0.84 mmol), 室温搅拌反应过夜。反应完成后加水 (20 mL) 淬灭, 乙酸乙酯 (15 mL*3) 萃取, 合并有机相, 饱和食盐水 (30 mL*3) 洗涤, 有机相合并用无水硫酸钠干燥, 过滤旋干, 粗品硅胶柱纯化 (4 g, 二氯甲烷: 甲醇=20: 1) 后冻干得到白色固体产物 7-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-N-(3,3-二氟环丁基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-甲酰胺 6.7 mg, 产率 5.39%。LC-MS $[M+H]^+$: 497.0。

1H NMR (301 MHz, CD3OD) δ 8.00 (s, 2H), 7.92 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 7.74 – 7.56 (m, 4H), 6.72 (s, 1H), 6.20 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 4.85 (s, 2H), 4.03 (dd, J = 18.8, 9.1 Hz, 4H), 3.88 (s, 3H), 2.72 (s, 2H)。

实施例 19、化合物(3,3-二氟吡啶-1-基)(6-(4-(4-(3-氟-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (L019) 制备



19.1 化合物(6-(4-((4-溴苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二

氟吡啶丁啶-1-基)甲酮 (L019-1) 的制备:

将 N-(4-溴苯基)-2-氯嘧啶-4-胺(150mg, 0.5mmol) 溶解于正丁醇(5mL)中, 加入(3,3-二氟吡啶丁啶-1-基)(1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮(127mg, 0.5mmol),DIEA(129mg,1mmol), 升温至 120°C, 反应 8 小时。用水(20 mL)淬灭, 乙酸乙酯(20 mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(20mL*2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。粗品硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=5/1)分离, 得到 500mg 黄色固体。LC-MS [M+H]⁺: 503.0。

19.2 化合物(3,3-二氟吡啶丁啶-1-基)(1-甲基-6-(4-((4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼戊环-2-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (L019-2) 的制备:

将(6-(4-((4-溴苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡啶丁啶-1-基)甲酮(200mg, 0.4 mmol) 溶于 1,4-二氧六环(10 mL)中, 加入叔丁基 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼戊环-2-基)-1H-吡啶-1-羧酸酯(152mg, 0.6 mmol), Pd(dppf)Cl₂(29 mg, 0.04 mmol)和醋酸钾(78mg, 0.8 mmol), 氮气保护, 80°C反应 12 小时。用水(10 mL)稀释, 乙酸乙酯(20 mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 粗品湿法硅胶柱层析(PE/EA=5/1)分离, 得到 200mg 棕色油状液体。MS [M+H]⁺=551.2。

19.3 化合物(3,3-二氟吡啶丁啶-1-基)(6-(4-((4-(3-氟-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (L019-3) 的制备:

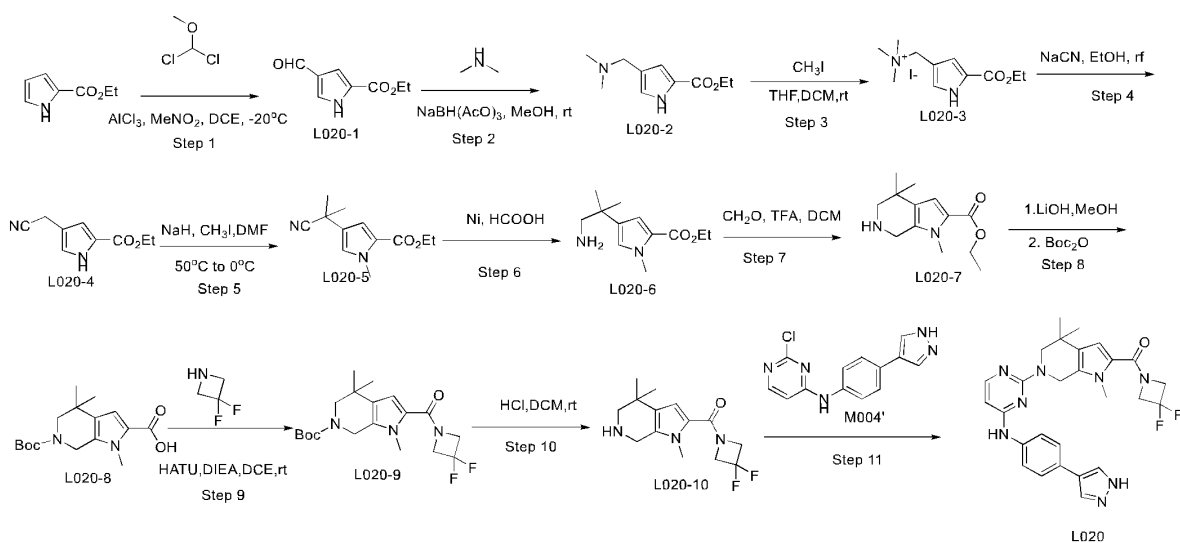
将(3,3-二氟吡啶丁啶-1-基)(1-甲基-6-(4-((4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼戊环-2-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮(200mg, 0.4 mmol) 溶于 1,4-二氧六环 (8 mL) 和水 (2 mL) 中, 加入 4-溴-5-氟-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡啶(177mg, 0.6 mmol), Pd(PPh₃)₄ (46mg, 0.04 mmol)和碳酸钾(110mg, 0.8 mmol), 氮气保护, 90°C反应 4 小时。用水(20 mL)稀释, 乙酸乙酯(20 mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 粗品硅胶柱层析 (PE/EA=5/1)分离, 得到 100mg 黄色油状液体。MS [M+H]⁺=639.0。

19.4 化合物(3,3-二氟吡啶丁啶-1-基)(6-(4-(4-(3-氟-1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (L019) 的制备:

将(3,3-二氟吡啶丁啶-1-基)(6-(4-((4-(3-氟-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮(100mg, 0.2mmol) 溶于乙醇 (5 mL) 中, 加入盐酸乙醇溶液(2mL, 质量分数 33%), 氮气保护, 室温反应 2 小时。减压浓缩, 浓缩之后制备分离得 3.5mg 白色固体。MS [M+H]⁺=509.0。

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.95 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.81 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 7.64 (s, 4H), 6.49 (s, 1H), 6.34 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 4.84 (s, 1H), 4.65-4.48 (m, 4H), 4.06-3.98 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 2.75 (t, J = 5.5 Hz, 2H)。

实施例 20、化合物(6-(4-((4-(1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1,4,4-三甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L020) 制备



20.1 化合物乙基 4-甲酰基-1H-吡咯-2-羧酸酯 (L020-1) 的制备:

将吡咯-2-羧酸乙酯 (6.9 g, 49.6mmol) 和三氯化铝 (13.2 g, 99.2 mmol) 加入到 1,2-二氯乙烷-硝基甲烷 (1:1, 100 mL) 中,降低温度到-20°C,滴加二氯(甲氧基)甲烷 (11.4 g, 99.2 mmol),继续搅拌1小时,在-20°C静置过夜。将反应液倒入100 mL冰水中,分离有机相,水层用DCM (3x100mL)萃取,用氨水 (200mL)洗涤,硫酸钠干燥,减压浓缩,粗品用硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯=1:1)得到5.0 g黄色固体乙基 4-甲酰基-1H-吡咯-2-羧酸酯,收率54%。MS:[M+H]⁺=168.0。

20.2 化合物 4-((二甲氨基)甲基)-1H-吡咯-2-羧酸乙酯 (L020-2) 的制备:

在室温下,将4-甲酰基-1H-吡咯-2-羧酸酯 (5.0 g, 29.9 mmol) 和二甲胺 (2N, 在THF中, 0.45ml) 加入到 MeOH (3mL) 中,分批添加三乙酰氧基硼氢化钠 (381.5 mg, 1.8 mmol) 搅拌16小时,减压浓缩,加水 (100 mL) 洗涤,用DCM (3x50 mL) 萃取,用Na₂CO₃调节PH=12,用DCM (3x50mL) 萃取,得到4.3 g无色油状液体4-((二甲氨基)甲基)-1H-吡咯-2-羧酸乙酯。MS:[M+H]⁺=197.1。

20.3 化合物 1-(5-(乙氧羰基)-1H-吡咯-3-基)-N,N,N-三甲基甲酰胺 (L020-3) 的制备:

室温下,将乙基 4-((二甲氨基)甲基)-1H-吡咯-2-羧酸酯 (4.3 g, 21.9mmol) 溶于80ml (THF:DCM=1:1) 溶剂中,加入碘甲烷 (15.5 g, 11.0 mmol),搅拌15小时,减压浓缩,再加入乙酸乙酯搅拌1小时,抽滤得到4.7 g白色固体,1-(5-(乙氧羰基)-1H-吡咯-3-基)-N,N,N-三甲基甲酰胺,收率63%。MS:[M+H]⁺=211.0。

20.4 化合物 4-(氰基甲基)-1H-吡咯-2-羧酸乙酯 (L020-4) 的制备:

将1-(5-(乙氧羰基)-1H-吡咯-3-基)-N,N,N-三甲基甲酰胺 (4.67g, 13.8mmol) 加入乙醇 (30mL) 中,加入NaCN (2.6 g, 53.1mmol),将混合物加热至78°C,回流15h,减压浓缩,用水 (20mL) 洗涤,乙酸乙酯 (3x20mL) 萃取,浓缩有机相,粗品用硅胶柱层析(二氯甲烷:甲醇=20:1),得到2.0 g 4-(氰基甲基)-1H-吡咯-2-羧酸乙酯,无色油状液体,收率81%。MS:[M+H]⁺=179.0。

20.5 化合物 4-(2-氰基丙烷-2-基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸乙酯 (L020-5) 的制备:

在氮气保护下,将4-(氰基甲基)-1H-吡咯-2-羧酸乙酯 (300 mg, 1.68 mmol) 加入到N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中,降温到-50°C,加入氢化钠 (336.0 g, 8.4 mmol),滴加碘甲烷 (1.19 g, 8.4 mmol),搅拌0.5小时后,将反应升温至-5°C,搅拌3小时。加入饱和NH₄Cl (20 mL),用乙酸乙酯 (3x20 mL) 萃取,浓缩,将粗品经硅胶柱 (PE:EtOAc=10:1) 层析,得到250 mg无色油状液体4-(2-氰基丙烷-2-基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸乙酯,收率67%。MS:[M+H]⁺=221.0。

20.6 化合物 4-(1-氨基-2-甲基丙烷-2-基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸乙酯 (L020-6) 的制备:

将4-(1-氰基-1-甲基乙基)-1-甲基吡咯-2-羧酸乙酯 (50mg, 0.23mmol) 加入到甲酸 (2mL) 中,加入Ni (0.3mL),加热至100°C,搅拌2h。待恢复到室温,过滤,滤液减压浓缩,得到50 mg无色油状液体,4-(1-氨基-2-甲基丙烷-2-基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸乙酯。MS:[M+H]⁺=225.0。

20.7 化合物 1,4,4-三甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯 (L020-7) 的制备:

室温下, 将 4-(1-氨基-2-甲基丙烷-2-基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸乙酯 (50 mg, 0.22 mmol) 和三氟乙酸 (50.17 mg, 0.44 mmol) 加入到二氯甲烷中 (1 mL), 加入甲醛水溶液 (13mg, 0.45mmol), 搅拌 4h, 减压浓缩, 得到 50 mg 无色油状液体 1,4,4-三甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯 MS:[M+H]⁺=237.0。

20.8 化合物 6-(叔丁氧羰基)-1,4,4-三甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸 (L020-8) 的制备:

室温下, 将 1,4,4-三甲基-5H, 6H, 7H 吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯 (50 mg, 0.21mmol) 溶于甲醇 (2 mL), 加入 5ml 氢氧化锂 (1N, 溶解于水中), 搅拌 20 小时。减压浓缩, 加入 Boc2O (137.5 mg, 0.63 mmol) 搅拌 12 小时, 用乙酸乙酯 (2x2 mL) 萃取, 将混合物用盐酸调节至 PH=5, 用 DCM (3x5mL) 萃取, 减压浓缩, 得到 70 mg 6-(叔丁氧羰基)-1,4,4-三甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸, 无色油状液体。MS:[M+Na]⁺=331.0。

20.9 化合物 2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羰基)-1,4,4-三甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-羧酸叔丁酯 (L020-9) 的制备:

室温下, 将 6-(叔丁基-1'-{3}-氧基)-1,4,4-三甲基-5H, 7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸 (70 mg, 0.23 mmol), 3,3-二氟氮杂环丁烷 (44.50mg, 0.345mmol) 和 HATU (131.2) 加入到 1, 2 二氯乙烷 (3mL), 加入 DIEA (89.2 mg, 0.7 mmol), 搅拌 15 小时, 待反应完成后, 加水 (5mL) 洗涤, 用乙酸乙酯 (3x5mL) 萃取, 减压浓缩, 经薄层色谱法 (石油醚/乙酸乙酯) = (1:1) 纯化, 得到 35 mg 2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羰基)-1,4,4-三甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-羧酸叔丁酯, 无色油状液体, 收率 49%。MS:[M+H]⁺=384.0。

20.10 化合物 (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基) (1,4,4-三甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基) 甲酮 (L020-10) 的制备:

室温下, 将 2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羰基)-1,4,4-三甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-羧酸叔丁酯 (35mg, 0.09mmol) 溶于二氯甲烷 (3mL) 中, 加入 1mL HCl (4N, 溶于 1, 4 二氧六环中), 搅拌 1 小时, 减压浓缩, 得到 30 mg (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基) (1,4,4-三甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基) 甲酮, 白色固体。MS:[M+H]⁺=284.0。

20.11 (6-(4-(4-(1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1,4,4-三甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基) (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基) 甲酮 (L020) 的制备:

在氮气保护下, 将 (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基) (1,4,4-三甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基) 甲酮 (30 mg, 0.11 mmol) 和 N-(4-(1H-吡啶-4-基)苯基)-2-氯嘧啶-4-胺 (61.52 mg, 0.165 mmol) 溶于正丁醇 (0.5 mL) 中, 加入 DIEA (71.08 mg, 0.55 mmol), 加热至 120°C, 搅拌 5 小时, 减压浓缩, 经高效液相色谱法纯化, 得到产物 6.5 mg (6-(4-(4-(1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1,4,4-三甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基) (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基) 甲酮, 白色固体, 收率 12%。MS: [M+H]⁺=519.31。

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.32 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.02 (s, 2H), 7.69 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.56 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.60 (s, 1H), 6.07 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 4.74 (s, 2H), 4.58 (s, 4H), 3.76 (d, J = 3.4 Hz, 5H), 1.18 (s, 6H)。

化合物 L015、化合物 L022 的制备参考上述实施例 2 和实施例 8 记载的方法。

化合物 L018 的制备参考上述实施例 20 记载的方法。

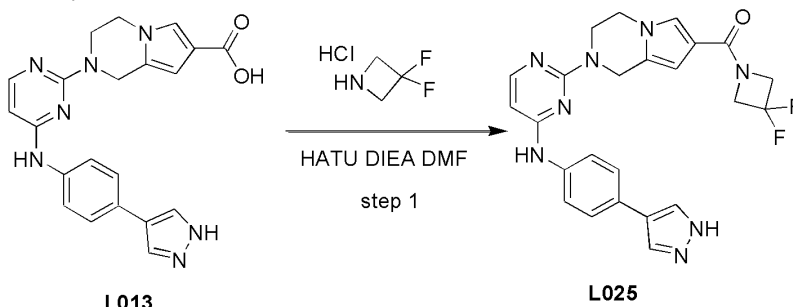
化合物 L021、化合物 L023、化合物 L024 的制备参考上述实施例 1、实施例 4、实施例 5、实施例 9、实施例 10、实施例 12、实施例 14 记载的方法。

各化合物的表征数据如下表所示:

实施例编号	化合物编号	LC-MS: [M+H] ⁺
实施例 15	L015	478.1

实施例 18	L018	519.1
实施例 21	L021	609.3
实施例 22	L022	506.3
实施例 23	L023	510.3
实施例 24	L024	503.3

实施例 25、化合物(2-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1,2,3,4-四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-7-基)(3,3-二氟吡丁啉-1-基)甲酮 (L025) 的制备

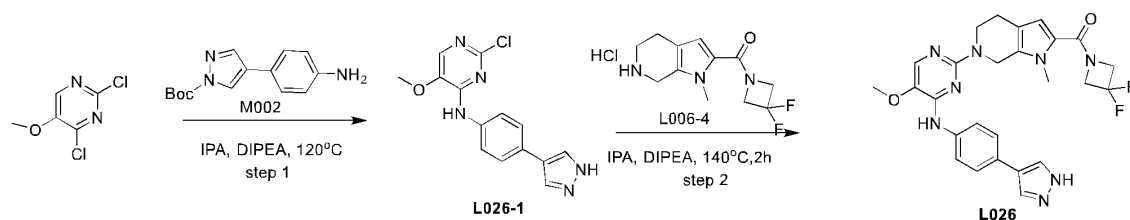


氮气保护，将粗品 2-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1,2,3,4-四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-7-羧酸 (L013) (200mg) 溶于 DMF(10mL)，加入 3,3-二氟三甲叉胺盐酸盐(39mg, 0.3mmol)，HATU(114mg, 0.3mmol)，DIEA(129mg, 1.0mmol)，室温反应 2 小时。用水 (20mL) 淬灭，乙酸乙酯萃取 (20mL *3)，合并有机相，饱和食盐水 (30mL) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后浓缩，粗品用柱层析分离 (DCM/MeOH=10/1)，得到 15mg 白色固体。

LC-MS $[M+H]^+$: 476.9。

1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.86 (s, 1H), 8.04 (brs, 2H), 7.96 (d, J = 6.3 Hz, 1H), 7.75-7.57 (m, 4H), 7.32 (s, 1H), 6.30 (s, 1H), 6.24 (s, 1H), 4.86 (s, 2H), 4.71-4.41 (m, 4H), 4.17-4.05 (m, 4H)。

实施例 26、化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-5-甲氧基嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡丁啉-1-基)甲酮 (L026) 的制备



26.1 化合物 N-(4-(1H-吡唑-4-基)苯基)-2-氯-5-甲氧基嘧啶-4-胺 (L026-1) 的制备

将 2,4-二氯-5-甲氧基嘧啶(300 mg, 1.68 mmol)溶于异丙醇(5 mL)中，加入叔-丁基 4-(4-氨基苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯(436 mg, 1.68 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(1.30 g, 10.08 mmol)，氮气保护下，在 120°C 搅拌 16h。反应结束后，加入水(10 mL)稀释，乙酸乙酯萃取(10 mL *2)，合并有机相，饱和食盐水(20 mL)洗涤，无水硫酸钠干燥，浓缩后用硅胶柱层析分离 (DCM/MeOH=20/1)，得到 450 mg 白色固体，收率为 88%。LC-MS $[M+H]^+$: 301.9。

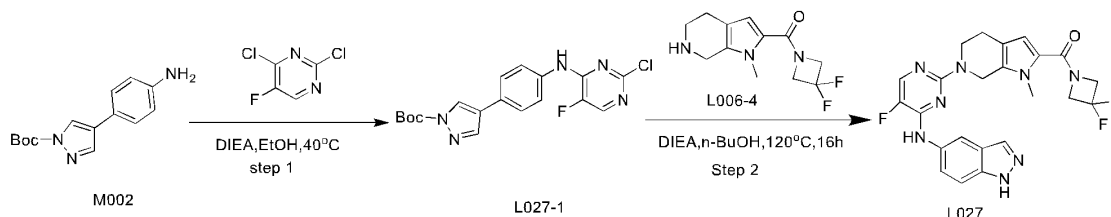
26.2 化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-5-甲氧基嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡丁啉-1-基)甲酮的制备

将 N-(4-(1H-吡唑-4-基)苯基)-2-氯-5-甲氧基嘧啶-4-胺(100 mg, 0.33 mmol)溶解于异丙醇 (0.5 mL)中，加入(3,3-二氟吡丁啉-1-基)(1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮盐酸盐(116 mg, 0.40 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(155 mg, 1.20 mmol)，氮气保护下，微波升温至 140°C 反应 2 小时。反应结束后，加

入水(5 mL)稀释, 乙酸乙酯萃取(5 mL *3), 合并有机相, 饱和食盐水(10 mL*2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 经制备得到 26.2 mg 白色固体, 收率为 15%。LC-MS $[M+H]^+$: 520.9。

1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.88 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.83-7.78 (m, 3H), 7.56 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.45 (s, 1H), 4.71 (s, 2H), 4.65-4.48 (m, 4H), 3.89 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 2.58-2.52 (m, 2H)。

实施例 27、化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-5-氟嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮 (L027) 的制备



27.1 化合物叔丁基 4-(4-((2-氯-5-氟嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 (L027-1) 的制备:

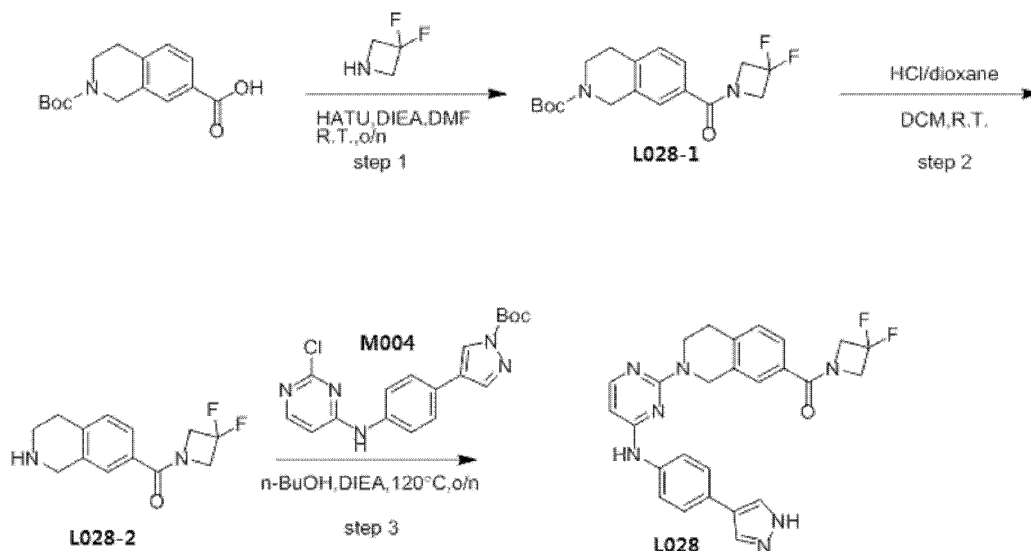
将叔丁基 4-(4-氨基苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 (M002) (1.8g, 6.9 mmol)溶于乙醇(20 mL), 依次加入 2,4-二氯-5-氟嘧啶(2.3g, 13.8mmol), DIEA(3.6g, 27.6mmol), 40°C搅拌反应 2 小时。反应完成后冷却至室温, 加水(20 mL)淬灭, 乙酸乙酯(15 mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(30 mL*2)洗涤, 有机相合并并用无水硫酸钠干燥, 过滤旋干, 粗品硅胶柱纯化(PE/EA=3/1)后得到棕色固体产物 2.3g, 产率 85.2%。LC-MS $[M+H]^+$: 389.9

27.2 化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-5-氟嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮 (L027) 的制备:

叔丁基 4-(4-((2-氯-5-氟嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯(1.6g, 12.3mmol)溶于正丁醇(16 mL), 向体系中加入(3,3-二氟吡啶-1-基)(1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮盐酸盐(784 mg, 3.1 mmol), DIEA(1.2g, 3.1 mmol), 120°C搅拌过夜。反应完成冷却至室温后加水(20 mL)淬灭, 乙酸乙酯(20 mL*3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(20 mL*3)洗涤, 有机相合并并用无水硫酸钠干燥, 过滤旋干, 粗品硅胶柱层析(DCM/MeOH=20/1)后冻干得到白色固体 600mg。LC-MS $[M+H]^+$: 508.7

1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.90 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.06 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.76 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.59 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.46 (s, 1H), 4.73 (s, 2H), 4.56 (s, 4H), 3.92 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 3.74 (s, 3H), 2.55 (t, J = 5.2 Hz, 2H)。

实施例 28、化合物(2-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-7-基)(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮 (L028) 的制备



28.1 化合物叔丁基 7-(3,3-二氟吡啶-1-基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸酯 (L028-1) 的制备

将 2-(叔-丁氧基羰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-7-羧酸 (300 mg, 1.08 mmol) 溶于氮, 氮-二甲基甲酰胺 (10 mL), 依次加入 3,3-二氟吡啶 (210 mg, 1.62 mmol), 2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (615 mg, 1.62 mmol) 及氮, 氮-二异丙基乙胺 (557 mg, 4.32 mmol), 室温搅拌反应过夜。反应完成后加水 (20 mL) 淬灭, 乙酸乙酯 (15 mL*3) 萃取, 合并有机相, 饱和食盐水 (30 mL*3) 洗涤, 有机相合并并用无水硫酸钠干燥, 过滤旋干, 粗品硅胶柱纯化 (4 g, 石油醚: 乙酸乙酯=3: 1) 后得到白色固体产物叔-丁基 7-(3,3-二氟吡啶-1-基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸酯 350 mg, 产率 91.80%。LC-MS $[M+H]^+$: 375.0。

28.2 化合物(3,3-二氟吡啶-1-基)(1,2,3,4-四氢异喹啉-7-基)甲酮盐酸盐 (L028-2) 的制备

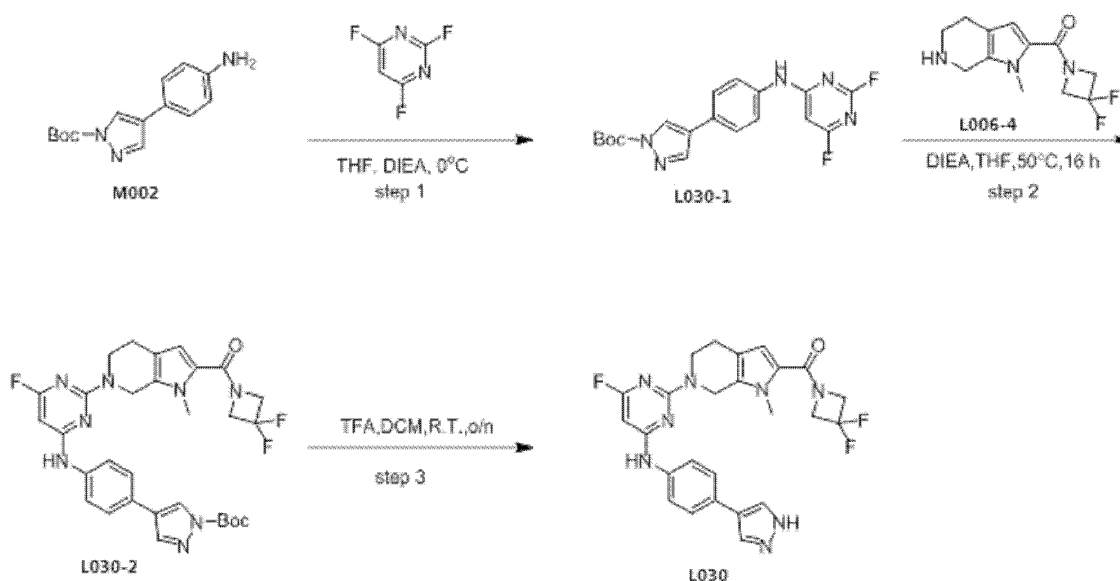
叔-丁基 7-(3,3-二氟吡啶-1-基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸酯 (300 mg, 0.85 mmol) 溶于二氯甲烷 (3 mL), 向体系中加入盐酸/二氧六环溶液 (33%, 1 mL), 室温搅拌 3 小时。检测反应完成后旋干得到粗品棕色固体产物(3,3-二氟吡啶-1-基)(1,2,3,4-四氢异喹啉-7-基)甲酮盐酸盐 270 mg, 粗品直接用于下一步反应。LC-MS $[M+H]^+$: 253.0。

28.3 化合物(2-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-7-基)(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮 (L028) 的制备

将(3,3-二氟吡啶-1-基)(1,2,3,4-四氢异喹啉-7-基)甲酮盐酸盐 (100 mg, 0.27 mmol) 溶于正丁醇 (5 mL), 加入叔-丁基 4-(4-((2-氯嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 (81 mg, 0.32 mmol) 及氮, 氮-二异丙基乙胺 (105 mg, 0.81 mmol), 室温 120°C 反应过夜。反应完成后加水 (20 mL) 淬灭, 乙酸乙酯 (15 mL*3) 萃取, 合并有机相, 饱和食盐水 (30 mL*3) 洗涤, 有机相合并并用无水硫酸钠干燥, 过滤旋干, 粗品硅胶柱纯化 (4 g, 二氯甲烷: 甲醇=20: 1) 后冻干得到白色固体产物(2-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-7-基)(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮 32.6 mg, 产率 24.74%。LC-MS $[M+H]^+$: 488.0。

^1H NMR (301 MHz, DMSO) δ 12.84 (s, 1H), 9.38 (s, 1H), 8.16 – 7.91 (m, 3H), 7.66 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.62 – 7.52 (m, 3H), 7.49 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 6.07 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 4.90 (s, 2H), 4.78 (s, 2H), 4.47 (s, 2H), 3.98 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.92 (t, J = 5.4 Hz, 2H)。

实施例 30、化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-氯嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮 (L030) 的制备



30.1 化合物叔丁基 4-((2,6-二氟嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡啶-1-羧酸酯 (L030-1) 的制备

将叔丁基 4-((4-氨基苯基)-1H-吡啶-1-羧酸酯 (500 mg, 1.93 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (10 mL), 依次加入 2,4,6-三氟嘧啶 (258 mg, 1.93 mmol), 氮, 氮-二异丙基乙胺 (747 mg, 5.79 mmol), 0°C 搅拌反应过夜。反应完成后加水 (20 mL) 淬灭, 乙酸乙酯 (15 mL*3) 萃取, 合并有机相, 饱和食盐水 (30 mL*3) 洗涤, 有机相合并用无水硫酸钠干燥, 过滤旋干, 粗品硅胶柱纯化 (4 g, 石油醚: 乙酸乙酯=3: 1) 后得到白色固体产物叔丁基 4-((2,6-二氟嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡啶-1-羧酸酯 200 mg, 产率 27.70%。LC-MS $[M+H]^+$: 374.0。

30.2 化合物叔丁基 4-((2-(2-(3,3-二氟吡啶-1-基)-1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-基)-6-氟嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡啶-1-羧酸酯 (L030-2) 的制备

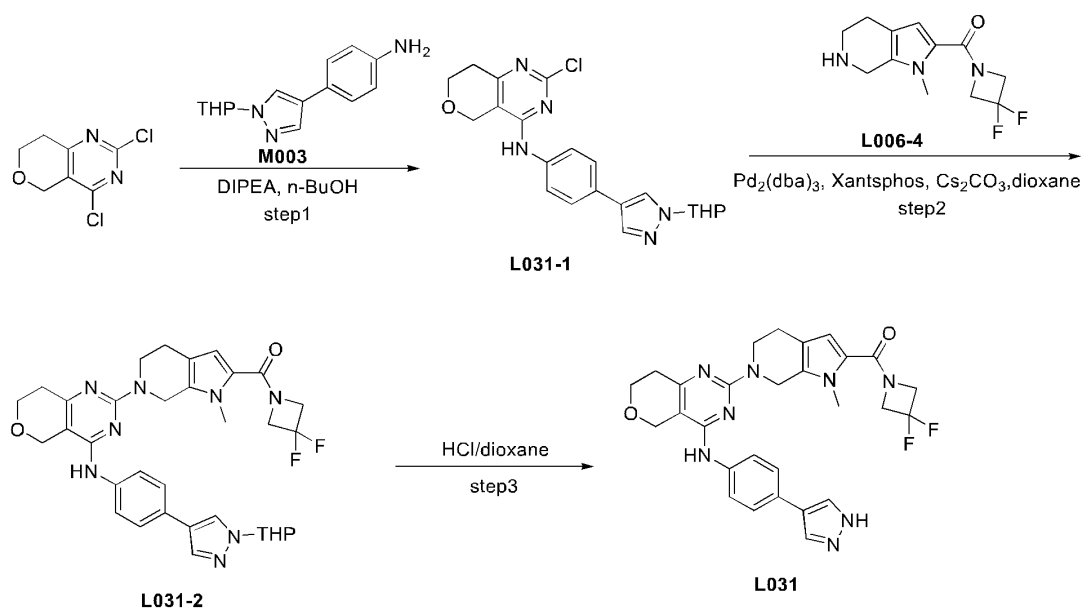
叔丁基 4-((2,6-二氟嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡啶-1-羧酸酯 (120 mg, 0.32 mmol) 溶于乙腈 (5 mL), 向体系中加入 (3,3-二氟吡啶-1-基)(1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮盐酸盐 (140 mg, 0.48 mmol), 氮, 氮-二异丙基乙胺 (156 mg, 1.21 mmol), 50°C 搅拌过夜。反应完成后加水 (10 mL) 淬灭, 乙酸乙酯 (10 mL*3) 萃取, 合并有机相, 饱和食盐水 (20 mL*3) 洗涤, 有机相合并用无水硫酸钠干燥, 过滤旋干, 粗品硅胶柱纯化 (4 g, 二氯甲烷: 甲醇=20: 1) 后冻干得到白色固体产物叔丁基 4-((2-(2-(3,3-二氟吡啶-1-基)-1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-基)-6-氟嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡啶-1-羧酸酯 130 mg, 产率 66.71%。LC-MS $[M+H]^+$: 609.0。

30.3 化合物(6-(4-((4-(1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)-6-氟嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮 (L030) 的制备

叔丁基 4-((2-(2-(3,3-二氟吡啶-1-基)-1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-基)-6-氟嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡啶-1-羧酸酯 (130 mg, 0.21 mmol) 溶于二氯甲烷 (3 mL), 向体系中加入三氟乙酸 (1 mL), 室温搅拌过夜。反应完成后体系旋干, 粗品经制备 (色谱柱: Gemini-C18 150 x 21.2 mm, 5μm 流动相: ACN-H₂O(0.1%FA), 梯度: 20-35) 纯化后冻干得到白色固体产物(6-(4-((4-(1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)-6-氟嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮 81.9 mg, 产率 76.19%。LC-MS $[M+H]^+$: 509.0。

¹H NMR (301 MHz, DMSO) δ 9.58 (s, 1H), 8.01 (s, 2H), 7.57 (s, 4H), 6.46 (s, 1H), 5.62 (s, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.55 (t, J = 11.6 Hz, 4H), 3.94 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 2.56 (s, 2H)。

实施例 31、化合物(6-(4-((4-(1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)-7,8-二氢-5H-吡咯并[4,3-d]嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-yl)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L031) 制备



31.1 化合物 2-氯-N-(4-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯基)-7,8-二氢-5H-吡喃并[4,3-d]嘧啶-4-胺 (L031-1) 的制备:

依次将 2,4-二氯-7,8-二氢-5H-吡喃并[4,3-D]嘧啶 (150 mg, 0.732 mmol), 4-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯胺 (178 mg, 0.732 mmol) 溶于正丁醇 (10 mL) 中, 加入 DIPEA (189 mg, 1.464 mmol), 置换 N₂ 三次, 反应在 110°C 条件下搅拌反应 48 h。LCMS 显示反应完毕, 将反应液冷却至室温, 减压浓缩得粗品, 柱层析分离纯化 (PE/EA=3:1~1:3) 得到 140mg 棕褐色固体。LC-MS: [M+H]⁺=412.15。

31.2 化合物(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)(1-甲基-6-(4-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-7,8-二氢-5H-吡喃并[4,3-d]嘧啶-2-基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (L031-2) 的制备:

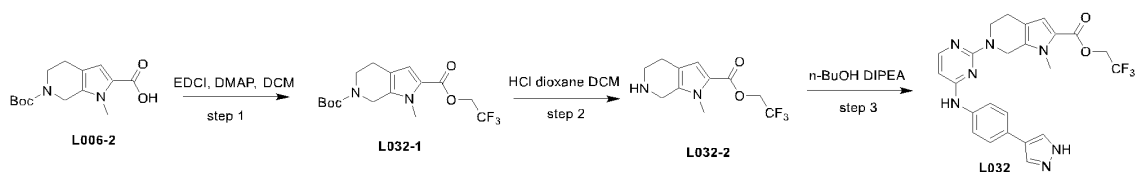
分别称取 L031-1 (140 mg, 0.341 mmol)、(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)(1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (104 mg, 0.409 mmol)、Pd₂(dba)₃ (31 mg, 0.034 mmol), Xantsphos (39 mg, 0.068 mmol), Cs₂CO₃ (222 mg, 0.682 mmol), 加入 1,4-二氧六环, 置换 N₂, 反应在 90 °C 条件下反应过夜。LCMS 显示反应完毕, 将反应液冷却至室温, 旋干 1,4-二氧六环。用 H₂O (30 mL) 稀释后, 用 EA (50 mL) 萃取 3 次。合并 EA 相, 用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品。粗品经硅胶柱 (DCM/MeOH=20:1) 分离纯化, 得到 44 mg 黄色固体产物。LC-MS: [M+H]⁺=631.25。

31.3 化合物(6-(4-(1-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-7,8-二氢-5H-吡咯并[4,3-d]嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (L031) 的制备:

称取 L031-2 (39 mg, 0.063 mmol)、酸性树脂 (40 mg) 于 25mL 圆底烧瓶中, 加入甲醇 (8 mL)、4 M HCl/dioxane (0.4 mL), 于室温条件下反应 1 h。LCMS 显示反应完后, 用三乙胺调 pH 为 8, 减压浓缩得粗品, 粗品经 prep-HPLC 制备分离, 冻干后得到白色固体产物 (2.0 mg, 纯度 95.573%)。LC-MS: [M+H]⁺=547.25。

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.05 (s, 1H), 7.60 (d, J = 9.4 Hz, 2H), 6.46 (s, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.56 (d, J = 10.3 Hz, 3H), 3.91 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 3.70 (s, 1H), 2.71 (s, 1H), 2.57 (s, 1H)。

实施例 32、化合物 2,2,2-三氟乙基 6-(4-(1-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸酯 (L032) 的制备



32.1 化合物 6-(叔-丁基 2-(2,2,2-三氟乙基) 1-甲基-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2,6(7H)-二羧酸酯 (L032-1) 的制备

将 6-(叔-丁氧基羰基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸(90 mg,0.32 mmol)溶于无水二氯甲烷(5 mL)中,加入 2,2,2-三氟乙醇(38 mg,0.38 mmol), 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(73 mg,0.38 mmol)和 4-二甲氨基吡啶(47 mg,0.38 mmol), 氮气保护, 室温搅拌 4h, 加入水(10mL)稀释, 二氯甲烷萃取(5 mL *2), 合并有机相, 用稀盐酸(1N)洗涤(5 mL*2), 饱和碳酸氢钠洗涤(5 mL*2), 再用饱和食盐水(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后用硅胶柱层析分离(PE/EA=20/1), 得到 90 mg 无色油状液体, 收率为 77%。LC-MS $[M+H]^+$: 362.9。

32.2 化合物 2,2,2-三氟乙基 1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸酯 (L032-2) 的制备

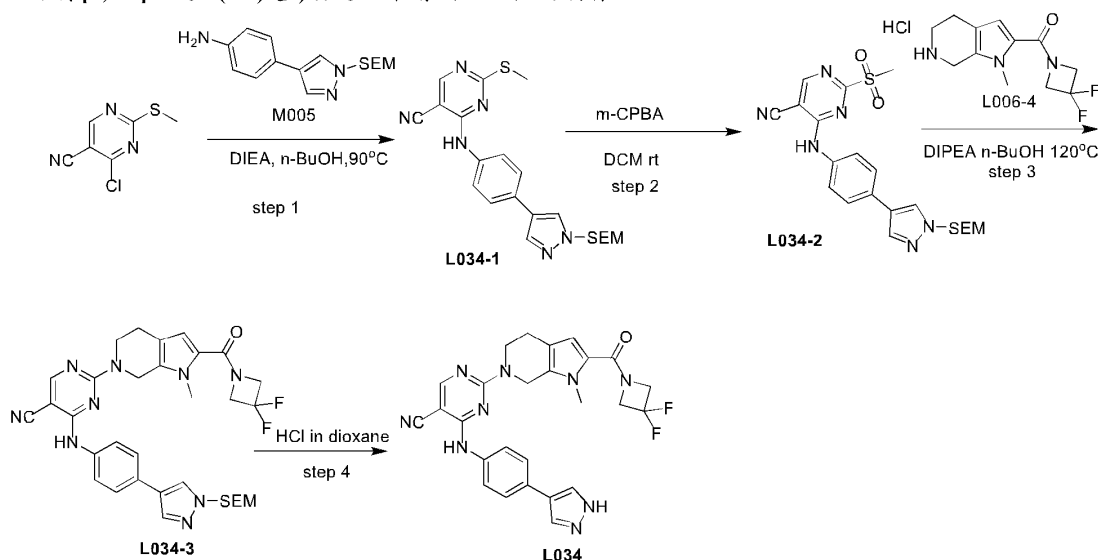
将 6-(叔-丁基 2-(2,2,2-三氟乙基) 1-甲基-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2,6(7H)-二羧酸酯(90 mg,0.25 mmol)溶解于无水二氯甲烷(3 mL)中,加入 盐酸二氧六环(1 mL), 氮气保护, 室温反应 2 小时。反应结束后, 浓缩得到粗品 80 mg 淡黄色固体。LC-MS $[M+H]^+$: 262.8。

32.3 化合物 2,2,2-三氟乙基 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸酯 (L032) 的制备

将粗品 2,2,2-三氟乙基 1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸酯盐酸盐(80 mg,0.25 mmol)溶解于正丁醇 (2 mL)中,加入 N,N-二异丙基乙胺(97 mg,0.75 mmol)和 N-(4-(1H-吡唑-4-基)苯基)-2-氯嘧啶-4-胺(94 mg, 0.33 mmol), 氮气保护, 升温至 120°C 反应 4 小时。反应结束后, 加入水(5 mL)稀释, 乙酸乙酯萃取(5 mL *2),合并有机相, 饱和食盐水(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后经制备, 得到 47.9mg 白色固体, 两步收率为 38%。LC-MS $[M+H]^+$: 497.8。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 10.54 (s, 1H), 8.08 (s, 2H), 7.96 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 7.72-7.60 (m, 4H), 6.85 (s, 1H), 6.34 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 4.95-4.82 (m, 4H), 4.03-3.93 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 2.72-2.63 (m, 2H)。

实施例 34、化合物 4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-2-(2-(3,3-二氟吡丁-1-羧基)-1-甲基-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6(7H)-基)嘧啶-5-甲腈 (L034) 的制备



34.1 化合物 2-(甲磺酰)-4-((4-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-5-甲腈 (L034-1) 的制备

将 4-氯-2-(甲磺酰)嘧啶-5-甲腈(300 mg, 1.62 mmol)溶于正丁醇(4 mL)中, 加入 4-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯胺(468 mg, 1.62 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(418 mg, 3.24 mmol), 氮气保护, 在 90°C 下反应 4h。反应结束后, 加入水(10 mL)稀释, 乙酸乙酯萃取(10 mL *2), 合并有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后用硅胶柱层析分离(PE/EA=5/1), 得到 540 mg 白色固体, 收率为 76%。LC-MS $[M+H]^+$: 438.9。

其中, 4-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯胺 (M005) 的制备参考下述实施例 38 中记载的 L038-1 的制备方法。

34.2 化合物 2-(甲磺酰)-4-((4-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-5-甲腈 (L034-2) 的制备

将 2-(甲磺酰)-4-((4-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-5-甲腈(200 mg, 0.46 mmol)溶解于无水二氯甲烷 (5 mL)中, 加入 间氯过氧苯甲酸(280 mg, 1.38 mmol), 氮气保护, 室温反应 2 小时。反应结束后, 加入饱和碳酸氢钠溶液(10 mL)淬灭至水相 PH 值为 10 左右, 二氯甲烷萃取(10 mL *2), 合并有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后用硅胶柱层析分离(PE/EA=3/1), 得到 110 mg 白色固体, 收率为 51%。LC-MS $[M+H]^+$: 471.2。

34.3 化合物 2-(2-(3,3-二氟吡啶-1-羧基)-1-甲基-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6(7H)-基)-4-((4-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-5-甲腈 (L034-3) 的制备

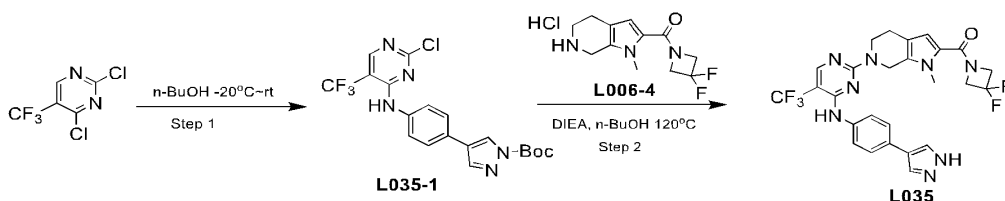
将 2-(甲磺酰)-4-((4-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-5-甲腈(110 mg, 0.23 mmol)溶解于正丁醇(3 mL)中加入(3,3-二氟吡啶-1-基)(1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮盐酸盐(80 mg, 0.28 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(89 mg, 0.69 mmol), 氮气保护下, 在 120°C 反应 4 小时, 反应结束后, 用水(10 mL)稀释, 乙酸乙酯(10 mL *2)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后用硅胶柱层析分离(PE/EA=5/1), 得到 100 mg 黄色固体, 收率为 65%。LC-MS $[M+H]^+$: 645.8。

34.4 化合物 4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-2-(2-(3,3-二氟吡啶-1-羧基)-1-甲基-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6(7H)-基)嘧啶-5-甲腈 (L034) 的制备

将 2-(2-(3,3-二氟吡啶-1-羧基)-1-甲基-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6(7H)-基)-4-((4-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-5-甲腈 (100 mg, 0.15 mmol)溶解于二氯甲烷(3 mL)中加入盐酸 1,4-二氧六环溶液(1 mL), 氮气保护下, 在室温反应 2 小时, 反应结束后, 用水(5 mL)稀释, 二氯甲烷(5 mL *2)萃取, 水相用氢氧化钠(2N)将 PH 值调至 10 左右, 二氯甲烷(5 mL *2)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后经制备, 得到 43 mg 白色固体, 收率为 55%。LC-MS $[M+H]^+$: 515.8。

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO) δ 9.01 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.92 (s, 2H), 7.60 – 7.49 (m, 4H), 6.39 (s, 1H), 4.79 (s, 2H), 4.50 (t, J = 12.5 Hz, 4H), 3.99 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 3.69 (s, 3H), 2.56 (t, J = 5.6 Hz, 2H)。

实施例 35、化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡啶-1-基)甲酮 (L035) 的制备



35.1 化合物叔-丁基 4-((2-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 (L035-1) 的制

备

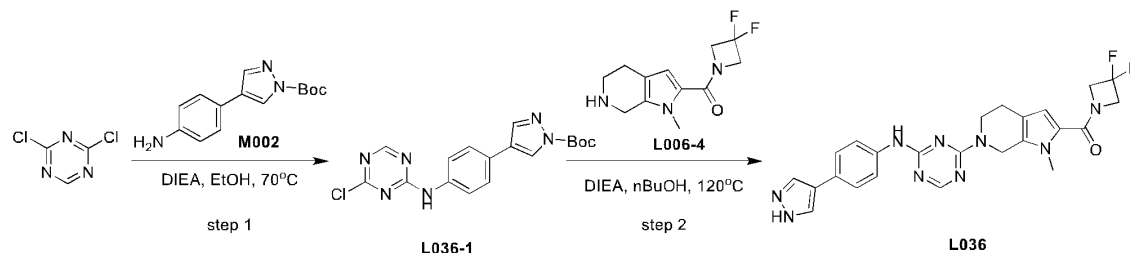
将 2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶(100 mg, 0.46 mmol)溶于正丁醇(2 mL)中, 加入 N,N-二异丙基乙胺(118 mg, 0.92 mmol), 氮气保护, 将温度降至-20°C, 向反应液缓慢加入叔-丁基 4-(4-氨基苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯(143 mg, 0.55 mmol), 搅拌 1h, 升至室温搅拌 5h。反应结束后, 加入水(5 mL)稀释, 乙酸乙酯萃取(5 mL *2), 合并有机相, 饱和食盐水(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后用硅胶柱层析分离(PE/EA=8/1), 得到 120 mg 白色固体(含有异构体)。LC-MS $[M+H]^+$: 439.8。

35.2 化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮(L035)的制备

将叔-丁基 4-(4-((2-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯(含异构体)(120 mg, 0.27 mmol)溶解于正丁醇(2 mL)中, 加入 N,N-二异丙基乙胺(106 mg, 0.82 mmol)和(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)(1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮碳酸盐(94 mg, 0.33 mmol), 氮气保护, 升温至 120°C 反应 4 小时。反应结束后, 加入水(5 mL)稀释, 乙酸乙酯萃取(5 mL *2), 合并有机相, 饱和食盐水(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后经制备, 得到 30.2 mg 白色固体, 两步收率为 20%。LC-MS $[M+H]^+$: 558.9。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.93 (s, 1H), 8.61 (d, $J = 29.9$ Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.61 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.51 (s, 2H), 6.45 (s, 1H), 4.90-4.65 (m, 2H), 4.60-4.42 (m, 4H), 4.12-3.80 (m, 2H), 3.76-3.50 (m, 3H), 2.56-2.52 (m, 2H)。

实施例 36、化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并(2,3-c)吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮(L036)的制备



36.1 化合物 4-(4-(((4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯(L036-1)的制备:

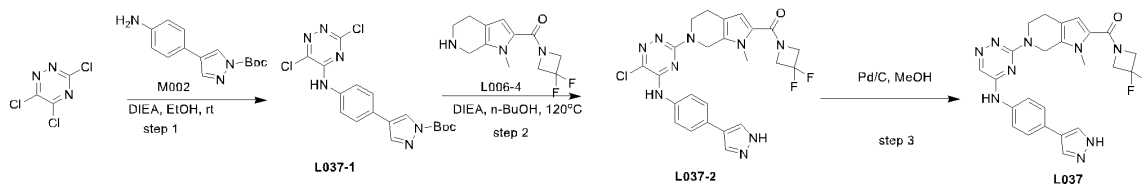
将 2,4-二氯-1,3,5-三嗪(120 mg, 0.80 mmol)和 4-(4-氨基苯基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯(219 mg, 0.84 mmol)加入到乙醇(3 mL)中后加二异丙基乙胺(517 mg, 4.0 mmol), 70°C 搅拌 5h。经液质检测反应完全后抽滤, 得到 4-(4-(((4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯)白色固体 100 mg, 产率 31.43%。MS($M+H$) $^+$ =372.7。

36.2 化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并(2,3-c)吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮(L036)的制备:

将 4-(4-(((4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯(50 mg, 0.13 mmol)和 3,3-二氟-1-((1-甲基-4H, 5H, 6H, 7H-吡咯并(2,3-c)吡啶-2-基)羰基)氮杂环丁烷(34 mg, 0.13 mmol)加入到正丁醇(2 mL)中后加二异丙基乙胺(86 mg, 0.7 mmol), 120°C 搅拌 5h。经液质检测反应完全后经制备, 得到(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并(2,3-c)吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮白色固体 24.2 mg, 产率 36.55%。MS($M+H$) $^+$ =492.2。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.89 (s, 1H), 9.74 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.76-7.67 (m, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.61-7.51 (m, 2H), 6.49 (s, 1H), 4.86 (s, 2H), 4.57 (s, 4H), 4.03 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.82-3.71 (m, $J = 14.8$ Hz, 3H), 2.63-2.56 (m, 2H)。

实施例 37、化合物(6-(5-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并(2,3-c)吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮(L037)的制备



37.1 化合物 4-((3,6-二氯-1,2,4-三嗪-5-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯 (L037-1) 的制备:

将 3,5,6-三氯-1,2,4-三嗪(205 mg, 1.4 mmol) 和 4-(4-氨基苯基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯(353 mg, 1.4 mmol)加入到乙醇 (5 mL)中后加二异丙基乙基胺(350 mg, 2.7 mmol), 室温搅拌 1h。经液质检测反应完全后浓缩, 得到 4-((3,6-二氯-1,2,4-三嗪-5-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯 600 mg, 粗品。
MS(M+H)⁺=406.8。

37.2 化合物(6-(5-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-氯-1,2,4-三嗪-3-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并(2,3-c)吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L037-2) 的制备:

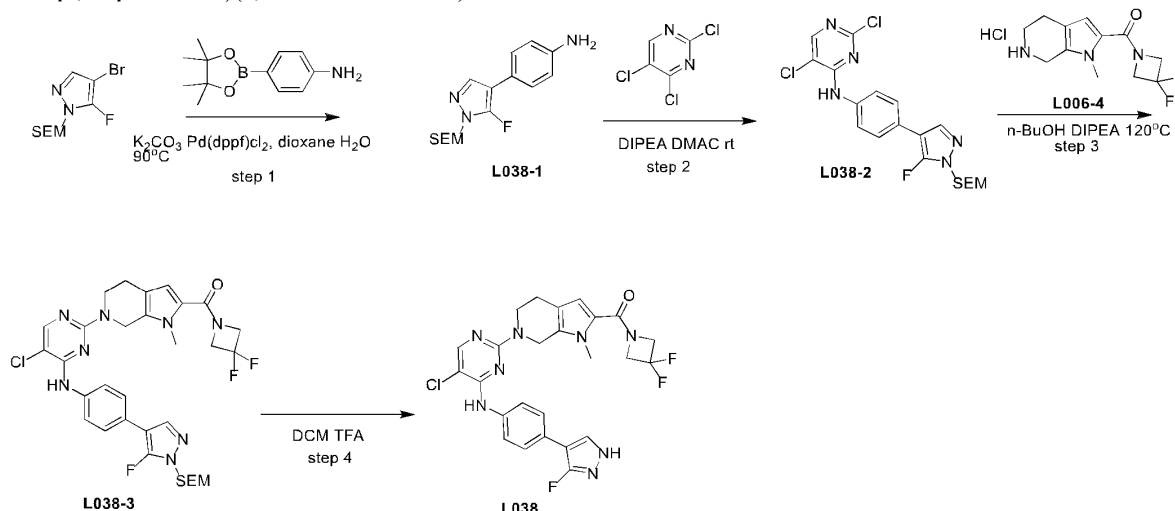
将 4-((3,6-二氯-1,2,4-三嗪-5-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯(400 mg, 0.98 mmol) 和 3,3-二氟-1-((1-甲基-4H, 5H, 6H, 7H-吡咯并(2,3-c)吡啶-2-基)羰基)氮杂环丁烷(286 mg, 0.98 mmol)加入到正丁醇 (10 mL)中后加二异丙基乙基胺(633 mg, 4.9 mmol), 120°C搅拌 2h。经液质检测反应完全后取一部分制备, 得到(6-(5-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-氯-1,2,4-三嗪-3-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并(2,3-c)吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮白色固体 127.7 mg。MS(M+H)⁺=526.0。

37.3 化合物(6-(5-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并(2,3-c)吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L037) 的制备:

(6-(5-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-氯-1,2,4-三嗪-3-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并(2,3-c)吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮(上步产物), 溶于甲醇(10 mL)中, 加入钯碳(50 mg)搅拌均匀后加入三乙胺(1 mL), 装好氢气球, 置换氢气, 室温搅拌 10 小时, 检测反应完全后, 抽滤, 滤液浓缩, 经制备得到白色固体(6-(5-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并(2,3-c)吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 36.6 mg, MS(M+H)⁺=491.8。

¹HNMR (400 MHz,) δ 12.88 (s, 1H), 9.96 (s, 1H), 8.22 – 7.87 (m, 3H), 7.71 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.64 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.48 (s, 1H), 4.86 (s, 2H), 4.57 (s, 4H), 4.01 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 2.60 (t, J = 5.4 Hz, 2H)。

实施例 38、化合物(6-(5-氯-4-((3-氟-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并(2,3-c)吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L038) 的制备



38.1 化合物 4-(5-氯-1-((2-(三甲基硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯胺 (L038-1) 的制备:

将 4-溴-5-氟-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑(500 mg, 1.70 mmol)溶于二氧六环(5 mL)和水(1 mL)中, 加入 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼戊环-2-基)苯胺(446 mg, 2.04 mmol), 碳酸钾 (73 mg, 0.38 mmol)和:[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钨 (124 mg, 0.17 mmol), 氮气保护, 升温至 90°C 搅拌 4h, 过滤, 加入水(10 mL)稀释, 乙酸乙酯萃取(10 mL *2), 合并有机相, 再用饱和食盐水(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后用硅胶柱层析分离(PE/EA=5/1), 得到 300 mg 白色固体, 收率为 57%。LC-MS [M+H]⁺: 307.8。

38.2 化合物 2,5-二氯-N-(4-(5-氟-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯基)嘧啶-4-胺 (L038-2) 的制备:

将 4-(5-氟-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯胺(70 mg, 0.23 mmol)溶解于 N,N-二甲基甲酰胺(3 mL)中, 加入 2,4,5-三氯嘧啶(63 mg, 0.34 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(89 mg, 0.69 mmol), 氮气保护, 室温反应 5 小时。加入水(10 mL)稀释, 乙酸乙酯萃取(10 mL *2), 合并有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后用硅胶柱层析分离(PE/EA=4/1), 得到 90 mg 黄色固体, 收率为 86%。LC-MS [M+H]⁺: 453.8。

38.3 化合物(6-(5-氯-4-((4-(5-氟-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡丁啉-1-基)甲酮 (L038-3) 的制备:

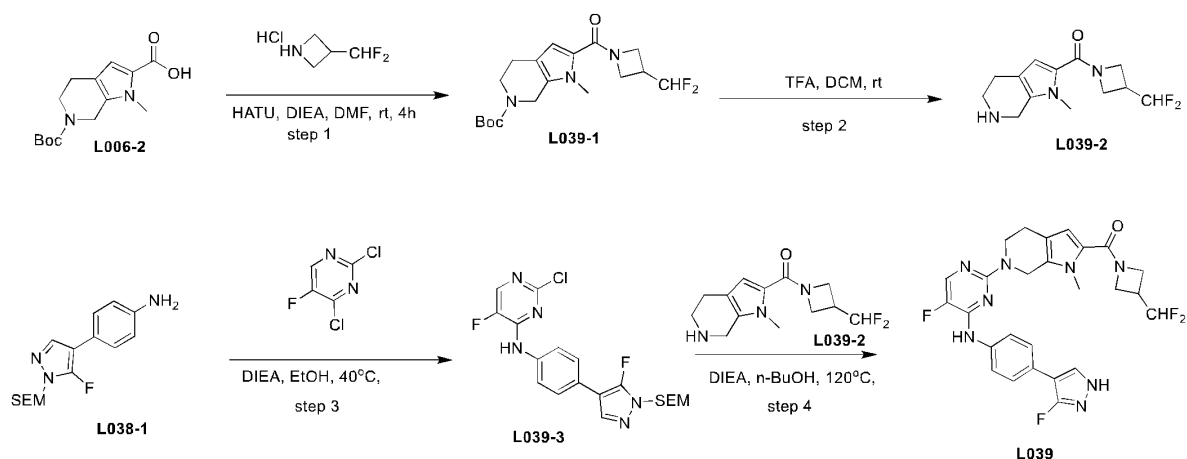
将 2,5-二氯-N-(4-(5-氟-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯基)嘧啶-4-胺(90 mg, 0.19 mmol)溶解于正丁醇 (2 mL)中, 加入 N,N-二异丙基乙胺(73 mg, 0.57 mmol)和(3,3-二氟吡丁啉-1-基)(1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮盐酸盐(66 mg, 0.23 mmol), 氮气保护, 升温至 120°C 反应 4 小时。反应结束后, 加入水(5 mL)稀释, 乙酸乙酯萃取(5 mL *2), 合并有机相, 饱和食盐水(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后用硅胶柱层析分离(PE/EA=2/1), 得到 110 mg 白色固体, 收率为 86%。LC-MS [M+H]⁺: 672.8。

38.4 化合物(6-(5-氯-4-((4-(3-氟-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡丁啉-1-基)甲酮 (L038) 的制备:

将(6-(5-氯-4-((4-(5-氟-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡丁啉-1-基)甲酮(110 mg, 0.16 mmol)溶于无水二氯甲烷(3 mL), 向反应液中加入三氟乙酸(1 mL), 氮气保护, 室温反应 2 小时。反应结束后, 加入水(5 mL)稀释, 二氯甲烷萃取(5 mL *2), 水相用氢氧化钠水溶液(2N)调至 pH 值为 10 左右, 用二氯甲烷萃取(5 mL *2), 合并有机相, 饱和食盐水(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩经制备得到 45.3 mg 白色固体, 收率为 52%。LC-MS [M+H]⁺: 542.8。

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.65 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.15 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.71 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.55 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.45 (s, 1H), 4.72 (s, 2H), 4.68-4.48 (s, 4H), 3.98-3.90 (m, 2H), 3.71 (s, 3H), 2.55-2.53 (m, 2H)。

实施例 39、化合物(3-(二氟甲基)吡丁啉-1-基)(6-(5-氯-4-((4-(3-氟-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (L039) 的制备



39.1 化合物叔-丁基 2-(3-(二氟甲基)吡啶-1-基)-1-甲基-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6(7H)-羧酸酯 (L039-1) 的制备:

将 6-(叔-丁氧基羰基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸(300 mg, 1.07 mmol) 溶于无水 N,N-二甲基甲酰胺(5 mL)中, 加入 3-(二氟甲基)吡啶盐酸盐(183 mg, 1.28 mmol), 2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯(487 mg, 1.28 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(414 mg, 3.21 mmol), 氮气保护, 室温搅拌 4h, 加入水(10 mL)稀释, 乙酸乙酯萃取(10 mL *2), 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后用硅胶柱层析分离(PE/EA=3/1), 得到 280 mg 无色油状液体, 收率为 71%。LC-MS [M+H]⁺: 369.9。

39.2 化合物(3-(二氟甲基)吡啶-1-基)(1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (L039-2) 的制备:

将叔-丁基 2-(3-(二氟甲基)吡啶-1-基)-1-甲基-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6(7H)-羧酸酯(280 mg, 0.75 mmol)溶解于无水二氯甲烷(6 mL)中, 加入三氟乙酸(2 mL), 氮气保护, 室温反应 2 小时。反应结束后, 加水稀释(10 mL), 二氯甲烷萃取(10 mL *2), 水相用氢氧化钠水溶液(2N)调至 PH 值为 10 左右, 二氯甲烷萃取(10 mL *2), 合并有机相, 浓缩后得到粗品 160 mg 黄色固体。LC-MS [M+H]⁺: 269.8。

39.3 化合物 2-氯-5-氟-N-(4-(5-氟-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯基)嘧啶-4-胺 (L039-3) 的制备:

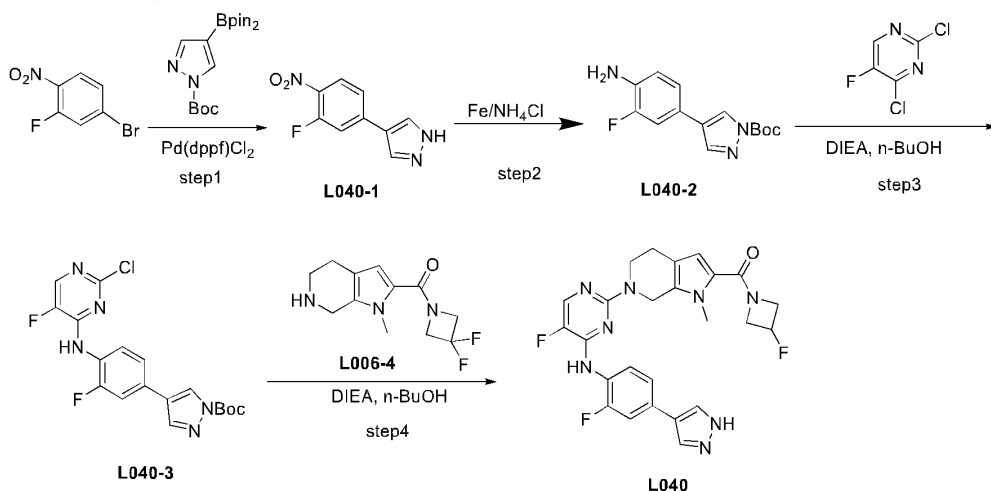
将 4-(5-氟-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯胺(80 mg, 0.26 mmol)溶解于无水乙醇(3 mL)中, 加入 N,N-二异丙基乙胺(100 mg, 0.78 mmol)和 2,4-二氯-5-氟嘧啶(86 mg, 0.52 mmol), 氮气保护, 升温至 40°C 反应 2 小时。反应结束后, 加入水(10 mL)稀释, 乙酸乙酯萃取(10 mL *2), 合并有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后用硅胶柱层析分离(PE/EA=3/1), 得到 100 mg 白色固体, 收率为 88%。LC-MS [M+H]⁺: 438.2。

39.4 化合物(3-(二氟甲基)吡啶-1-基)(6-(5-氟-4-((4-(3-氟-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (L039) 的制备:

将 2-氯-5-氟-N-(4-(5-氟-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)苯基)嘧啶-4-胺(100 mg, 0.22 mmol)溶于正丁醇中(3 mL), 向反应液中加入 N,N-二异丙基乙胺(85 mg, 0.66 mmol)和(3-(二氟甲基)吡啶-1-基)(1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮(71 mg, 0.26 mmol), 氮气保护, 升温至 120°C 反应 12 小时。反应结束后, 加入水(10 mL)稀释, 乙酸乙酯萃取(10 mL *2), 合并有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后经制备, 得到 10.9 mg 白色固体, 收率为 10%。LC-MS [M+H]⁺: 541.2。

NMR (400 MHz,) DMSO δ 12.51 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.10 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 8.03 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 1.9 Hz, 2H), 7.50 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.44 (d, J = 4.4 Hz, 0.25H), 6.33 (s, 1H), 6.29 (d, J = 4.3 Hz, 0.5H), 6.15 (d, J = 4.4 Hz, 0.25H), 4.68 (s, 2H), 4.35 – 4.00 (m, 4H), 3.87 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 3.69 (s, 3H), 3.15 – 3.04 (m, 1H), 2.53 – 2.46 (m, 2H)。

实施例 40、化合物(6-(5-氟-4-((2-氟-4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3-氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L040) 制备



40.1 化合物 4-(3-氟-4-硝基苯基)-1H-吡唑 (L040-1) 的制备:

分别称取 4-溴-2-氟-5-硝基苯 (4.0 g, 18.18 mmol), (4-(4,4,5-三甲基-1,3,2-二氧杂硼硼烷-2-基)吡唑-1-基)甲酸叔丁酯 (8.02 g, 27.27 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (1.99 g, 2.732 mmol), K₂CO₃ (7.54 g, 54.55 mmol) 加入 1, 4-二氧六环 (90 mL) 和水 (9 mL) 中, 进行氮气置换, 加热至 100°C 反应 3 小时。TLC 检测反应完全, 将反应液冷却过滤, 旋干溶剂, 进行硅胶柱层析纯化 (PE/EA=20/1~3/1)。得到黄色固体粉末 2.3 g。

40.2 化合物 4-(4-氨基-3-氟苯基)-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯 (L040-2) 的制备:

分别称取 L040-1 (500 mg, 2.41 mmol), Pd/C (150 mg), 加入 5 mL 甲醇中, 进行氢气置换, 加热至 40°C 反应 2 小时, LCMS 显示反应完毕。过滤, 旋干溶剂, 得到黄色油状液体 320 mg。LC-MS: [M+H]⁺=278.30。

40.3 化合物叔丁基 4-(4-((2-氟-5-氟嘧啶-4-基)氨基)-3-氟苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 (L040-3) 的制备:

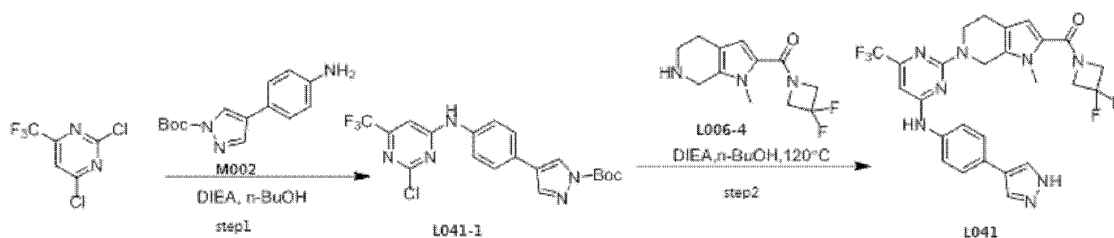
称取 2,4-二氟-5-氟嘧啶 (390 mg, 2.37 mmol), L040-2 (540 mg, 1.95 mmol) 于 50 mL 茄形瓶中, 加正丁醇溶解后加 DIEA (1.01 g, 7.8 mmol), 加热至 120°C 反应 3 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液减压浓缩, 进行硅胶柱层析纯化 (PE/EA=20/1~5/1), 再进行刮大板纯化 (纯 DCM), 得到 70 mg 黄色固体产物。LC-MS: [M+H]⁺=308.04。

40.4 化合物(6-(5-氟-4-((2-氟-4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3-氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L040) 的制备:

称取 L040-3 (70 mg, 0.23 mmol), (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基) (1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基) 甲酮 (70 mg, 0.27 mmol) 于 35 mL 封管中, 加正丁醇 (2 mL) 溶解, 加入 DIEA (119 mg, 0.92 mmol), 于 120°C 反应过夜。LCMS 显示反应完毕。减压浓缩得到粗品。粗品用 H₂O/ACN 体系经 prep-HPLC 制备分离, 冻干后得到白色固体产物 (7.2 mg, 纯度 95.736%)。LC-MS: [M+H]⁺=527.10。

¹H-NMR (400 MHz, dmso) δ 8.97 (d, J = 0.6 Hz, 1H), 8.60 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 8.31 (d, J = 0.6 Hz, 1H), 7.52 (dd, J = 12.8, 1.8 Hz, 1H), 7.34 (dd, J = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 6.79 (dd, J = 9.5, 8.3 Hz, 1H), 6.48 (s, 1H), 5.25 (s, 2H), 4.83 (s, 2H), 4.54 (t, J = 11.8 Hz, 4H), 4.06 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 2.60 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 2.05 (s, 1H)。

实施例 41、化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L041) 的制备



41.1 化合物叔丁基 4-(4-((2-氯-6-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 (L041-1) 的制备:

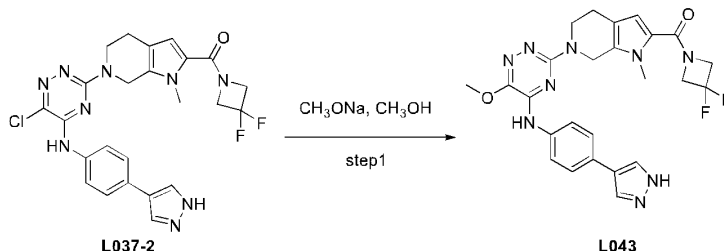
分别称取 2,4-二氯-6-三氟甲基嘧啶 (100 mg, 0.46 mmol), 4-(4-氨基苯基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯 (119.52 mg, 0.46 mmol) 于 5 mL 样品瓶中, 加 1ml 正丁醇溶解后加 DIEA (297.8 mg, 1.15 mmol), 于 70°C 条件下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩, 用 EA/H₂O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩得到 233 mg 粗品, 为淡黄色固体产物。LC-MS: [M+H]⁺=440.10。

41.2 化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-(三氟甲基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L041) 的制备:

分别称取 L041-1 (200 mg, 0.454 mmol), (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)(1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (116 mg, 0.454 mmol) 于 25 mL 茄形瓶中, 加 5ml 正丁醇溶解后加 DIEA (294 mg, 2.27 mmol), 于 120°C 条件下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩, 用 EA/H₂O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩得到粗品, 粗品制备、冻干后得到白色固体产物 (56.1 mg, 纯度 96.192%)。LC-MS: [M+H]⁺=559.15。

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.86 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 8.33 – 7.81 (m, 1H), 7.64 (dd, *J* = 28.2, 8.0 Hz, 2H), 6.48 (s, 1H), 6.43 (s, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.56 (s, 2H), 4.01 (t, *J* = 5.0 Hz, 1H), 3.77 (s, 2H), 2.59 (s, 1H)。

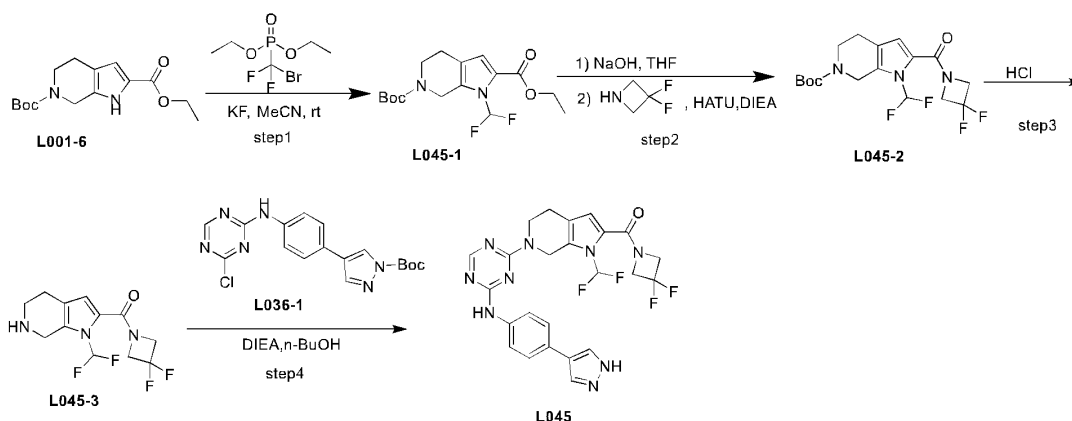
实施例 43、化合物(6-(5-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-甲氧基-1,2,4-三嗪-3-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮(L043)制备



称取(6-(5-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-氯-1,2,4-三嗪-3-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (300 mg, 0.570 mmol) 于 35mL 封管中, 加甲醇 (10 ml) 溶解, 加入甲醇钠 (308 mg, 5.703 mmol), 于 100°C 反应 11 h。LCMS 显示反应完毕。减压浓缩得到粗品。粗品用 H₂O/ACN 体系经 prep-HPLC 制备分离, 冻干后得到白色固体产物 (15.0 mg, 纯度 97.816%)。LC-MS: [M+H]⁺=522.20。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.46 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 8.05 (s, 2H), 7.84 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.63 (dd, *J* = 8.6, 1.7 Hz, 2H), 6.46 (s, 1H), 4.72 (s, 2H), 4.56 (t, *J* = 11.8 Hz, 4H), 4.01 (s, 3H), 3.89 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 2.58 (s, 2H)。

实施例 45、化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)-1-(二氟甲基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L045) 制备



45.1 化合物 6-(叔丁基) 2-乙基 1-(二氟甲基)-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2,6-二羧酸 (L045-1) 的制备:

称取 6-(叔丁基) 2-乙基 1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2,6-二羧酸 (2.0 g, 6.8 mmol), 溴氟甲基膦酸二乙酯 (2.7 g, 10.2 mmol) 于 100 mL 茄形瓶中, 加入乙腈 (20 mL) 溶解后, 加入 KF (1.2 g, 20.4 mmol), 在室温下反应 16h。TLC 检测反应完全, 停止反应, 减压过滤, 滤液浓缩得到粗品经硅胶柱层析分离 (PE:EA=10:1:4:1) 得到 800mg 类白色固体产物。LC-MS: $[2M+H]^+=689.30$ 。

45.2 化合物 2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羧基)-1-(二氟甲基)-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-羧酸叔丁酯 (L045-2) 的制备:

称取 L045-1 (720 mg, 2.0 mmol) 于 50 mL 茄形瓶中, 加入 THF (20 mL) 和水 (4 mL) 溶解, 加入 NaOH 固体 (0.4 g, 10 mmol), 加完后于室温条件下反应 4h。LCMS 显示反应完毕, 冰浴下利用乙酸调节 PH 至 5-6, 过滤固体, 滤液旋干得产物。产物加入 DCM (20 mL) 溶解, 加入 DIEA (1 mL, 6.0 mmol), HATU (1.5 g, 4.0 mmol) 和 3,3-二氟氮杂环丁烷 (389 mg, 3.0 mmol), 在室温下反应 3h, LCMS 检测原料反应完全, 可停止反应, 减压过滤, 滤液浓缩得到粗品经硅胶柱层析分离 (PE:EA=4:1) 得到 900mg 浅黄色固体产物。

LC-MS: $[M+H-56]^+=336.05$ 。

45.3 化合物 (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)(1-(二氟甲基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (L045-3) 的制备:

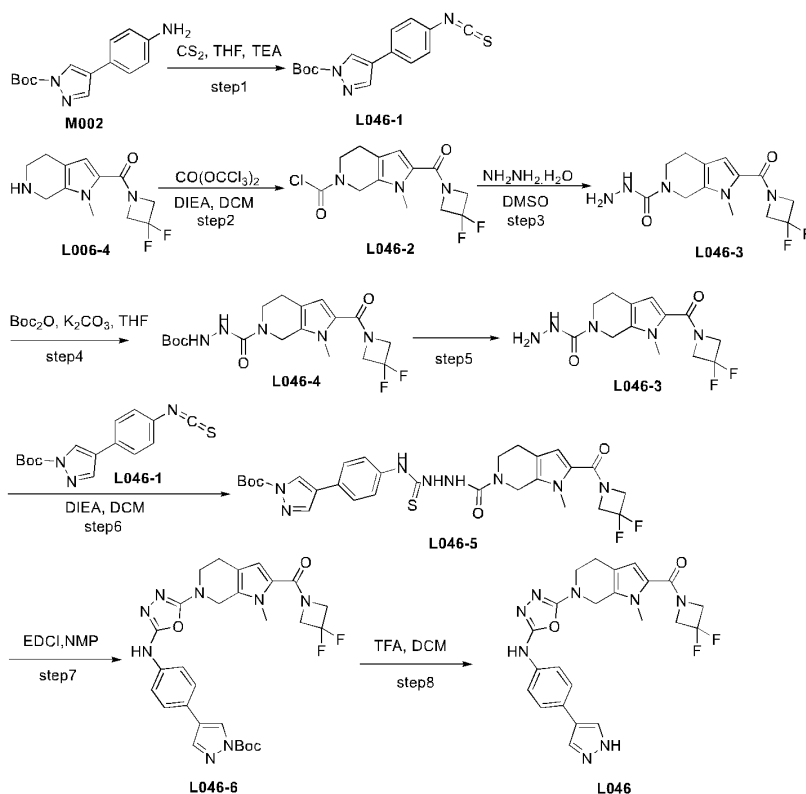
称取 L045-2 (900 mg, 2.3 mmol) 于 50 mL 茄形瓶中, 加入甲醇 (20 mL) 溶解, 然后加入 20 mL 4M HCl 的 1,4-二氧六环溶液, 在室温下反应 5h, LCMS 显示反应完毕, 旋干溶剂, 利用 DCM 带除 HCl, 得到 700 mg L045-3 的盐酸盐, 为黄色固体产物。LC-MS: $[M+H]^+=292.05$ 。

45.4 化合物 6-(4-(((4-(1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)-1-(二氟甲基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L045) 的制备:

分别称取 4-(4-(((4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)-1H-吡啶-1-基)甲酸叔丁酯 (100 mg, 0.268 mmol), L045-03 (78 mg, 0.268 mmol) 于 25 mL 茄形瓶中, 加 2 mL 正丁醇溶解后加 DIEA (173 mg, 1.34 mmol), 于 120°C 条件下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩, 用 EA/H₂O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩得到粗品, 粗品制备、冻干后得到白色固体产物 (70.4 mg, 纯度 98.524%)。LC-MS: $[M+H]^+=528.15$ 。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.84 (s, 1H), 9.74 (s, 1H), 8.40 – 7.74 (m, 2H), 7.68 (s, 1H), 7.52 (dd, J = 31.2, 7.6 Hz, 1H), 6.72 (s, 1H), 5.06 (s, 1H), 4.62 (s, 2H), 4.06 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 2.60 (s, 1H)。

实施例 46、化合物 (6-(5-(((4-(1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)-1,3,4-恶二唑-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L046) 制备



46.1 化合物 4-(4-异硫氰酸根合苯基)-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯 (L046-1) 制备

称取 4-(4-氨基苯基)-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯 (M002) (520 mg, 2.005 mmol), 加四氢呋喃 (10 mL) 溶解后, 再分别加入 CS_2 (1.522 g, 20.050 mmol) 和 NaH (200 mg, 5.013 mmol) 于 50°C 条件下反应过夜。LCMS 显示原料反应完毕, 向反应体系中加入 Boc_2O (437 mg, 2.005 mmol) 和 DMAP (25 mg, 0.205 mmol), 于室温条件下反应 5 小时。LCMS 显示反应完毕, 加适量水稀释, EA 萃取 (50 mL $\times$ 3), 合并有机相, 无水硫酸钠干燥后减压浓缩得粗品, 粗品经硅胶柱层析分离 (PE:EA=8:1) 得到 650 mg 4-(4-异硫氰酸根合苯基)-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯, 为淡黄色固体产物。LC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+=302.05$ 。

46.2 化合物 2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羰基)-1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-羧基肼 (L046-2) 制备

称取 (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基) (1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基) 甲酮 (500 mg, 1.961 mmol), DIEA (2.529 g, 19.610 mmol) 于 50 mL 茄形瓶中, 加 DCM (10 mL) 溶解后, 室温搅拌 10 分钟, 冰浴条件下滴加固体三光气 (1.741 g, 5.883 mmol) 的 DCM 溶液, 滴完后于室温条件下反应 5 小时。LCMS 显示反应完毕, 加水稀释后 DCM (50 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得到 1 g 粗品, 为棕褐色油状产物。LC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+=318.00$ 。

46.3 化合物 2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羰基)-1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-碳酰肼 (L046-3) 的 DMSO 溶液制备

称取 L046-2 (1.0 g, 3.147 mmol) 于 50 mL 茄形瓶中, 加入 DMSO (10 mL) 溶解, 冰浴条件下缓慢加水合肼 (1.6 g, 31.474 mmol), 滴加完后于室温条件下反应过夜。LCMS 显示反应完毕。得到 10 mL 的 L046-3 DMSO 溶液, 溶液为淡黄色。LC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+=314.10$ 。

46.4 化合物叔丁基 2-(2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羰基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-羧基)肼-1-羧酸酯 (L046-4) 制备

往上一步所得的 10 mL DMSO 溶液中加入 10 mL 水、THF (10 mL)、 K_2CO_3 (2 g)、 Boc_2O (5 mL), 于室温条件下反应过夜。LCMS 显示反应完毕。加适量水稀释, EA 萃取 (50 mL $\times$ 3), 合并有

机相，无水硫酸钠干燥后减压浓缩得粗品，粗品经硅胶柱层析分离（PE:EA=1:2）得到 380 mg 类白色固体产物。LC-MS: $[M+H]^+=414.20$ 。

46.5 化合物 2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羰基)-1-甲基-4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-碳酸酐肼 (L046-3) 制备

称取 L046-4 (380 mg, 0.921 mmol) 于 50 mL 茄形瓶中，加入 DCM (4 mL) 溶解，加入三氟乙酸 (2 mL)，于室温条件下反应 1 小时。LCMS 显示反应完毕。减压浓缩得 380 mg 粗品，为淡黄色油状产物。LC-MS: $[M+H]^+=314.15$ 。

46.6 化合物叔丁基 4-(4-(2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羰基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-羰基)肼-1-硫代氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸盐 (L046-5) 制备

称取 L046-3 粗品 (300 mg, 0.958 mmol) 于 50 mL 茄形瓶中，加入 DIEA (248 mg, 1.916 mmol)，加二氯甲烷 (10 mL) 溶解后于室温条件下搅拌 10 分钟，滴加 L046-1 (288 mg, 0.958 mmol) 的二氯甲烷溶液，滴完后于室温条件下反应过夜。LCMS 显示反应完毕。将反应液减压浓缩粗品，粗品经硅胶柱层析分离（DCM:MeOH=1:1-1:3）得到 360 mg 淡黄色固体产物。LC-MS: $[M+H]^+=615.15$ 。

46.7 化合物叔丁基 4-(4-((5-(2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羰基)-1-甲基-4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-基)-1,3,4-恶二唑-2-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 (L046-6) 制备

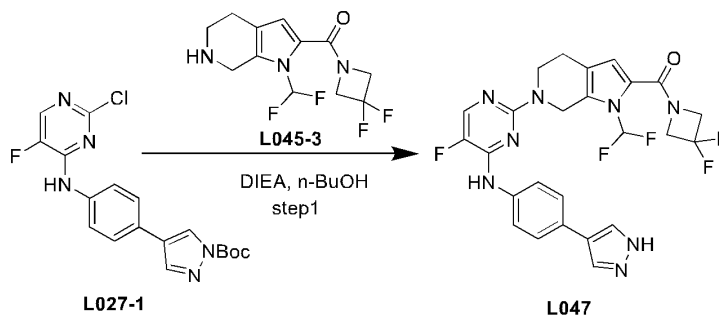
称取 L046-5 (360 mg, 0.586 mmol) 于 50 mL 茄形瓶中，加入 EDCI (1.122 g, 5.856 mmol)，加 NMP (20 mL) 溶解后于 60°C 条件下搅拌反应 5 小时。LCMS 显示反应完毕。加适量水稀释，EA 萃取 (50 mL x 3)，合并有机相，无水硫酸钠干燥后减压浓缩得粗品，粗品经硅胶柱层析分离（DCM:MeOH=20:1-10:1）得到 280 mg 淡黄色固体产物。

46.8 化合物(6-(5-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-1,3,4-恶二唑-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L046) 制备

称取 L046-6 (260 mg, 0.448 mmol) 于 50 mL 茄形瓶中，加 DCM (16 mL) 溶解后，加入三氟乙酸 (4 mL)，于室温条件下反应 2 h。LCMS 显示反应完毕。减压浓缩溶剂，加水稀释残余物，用饱和 NaHCO_3 调 pH=9，用 EA 萃取 (50 mL x 3)，收集有机相得粗品，粗品经 prep-HPLC 制备分离，冻干后得到白色固体 (28.0 mg, 纯度 98.641%)。LC-MS: $[M+H]^+=481.15$ 。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.07 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.52 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 4.55 (s, 1H), 4.47 (s, 1H), 3.70 (s, 1H), 3.59 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 2.62 (t, $J=5.5$ Hz, 1H)。

实施例 47、化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-5-氟嘧啶-2-基)-1-(二氟甲基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L047) 的制备

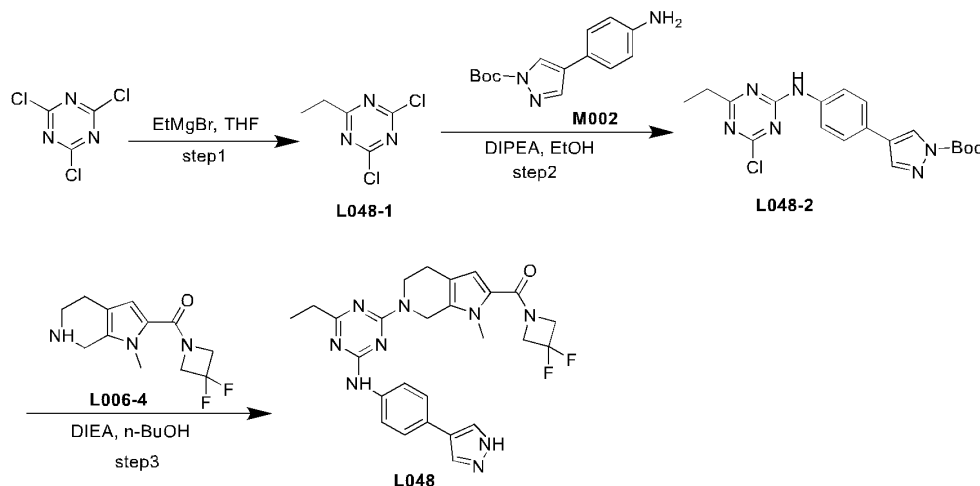


称取叔丁基 4-(4-((2-氯-5-氟嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 (190 mg, 0.49 mmol) 于 50 mL 茄形瓶中，加入 n-BuOH (10 mL) 溶解后，加入 DIEA (0.40 mL, 2.45 mmol) 和 L045-3 的盐酸盐 (192 mg, 0.59 mmol) 于 120°C 条件下反应 16 h。TLC 检测显示反应完毕，停止反应。减压浓缩溶剂，加水 (50 mL x 3) 洗涤后，用 EA 萃取 (50 mL x 3)，收集有机相得粗品，粗品经 prep-HPLC 制备分离，冻干后得到白色固体产物 (38.0 mg, 纯度 98.251%)。LC-MS: $[M+H]^+=545.15$ 。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, dmsO) δ 12.83 (s, 1H), 9.33 (s, 1H), 8.36 (s, 0H), 8.21 (s, 1H), 8.04 (t, $J=13.2$ Hz, 3H), 7.75 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 6.69 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.62 (s, 4H), 3.94 (t, $J=5.6$ Hz, 2H),

2.58 (t, $J = 5.1$ Hz, 2H)。

实施例 48、化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-乙基-1,3,5-三嗪-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-yl)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L048) 制备



48.1 化合物 2,4-二氯-6-乙基-1,3,5-三嗪 (L048-1) 的制备:

取 2,4,6-三氯-1,3,5-三嗪 (1.84 g, 10.0 mmol) 溶于 20 mL DCM 中, 用干冰/乙腈浴降温至 -10°C , 滴加 11.0 mmol 的乙基溴化镁溶液, 加完低温反应 0.5h, 自然升温至室温后氯化铵淬灭反应, 用 EA/水体系萃取后, 无水硫酸钠干燥后, 旋干得到产物 1.4g, 为黄色固体, 直接用于下一步反应。LC-MS: $[M+H]^+ = 178.00$ 。

48.2 化合物叔丁基 4-(4-((4-氯-6-乙基-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 (L048-2) 的制备:

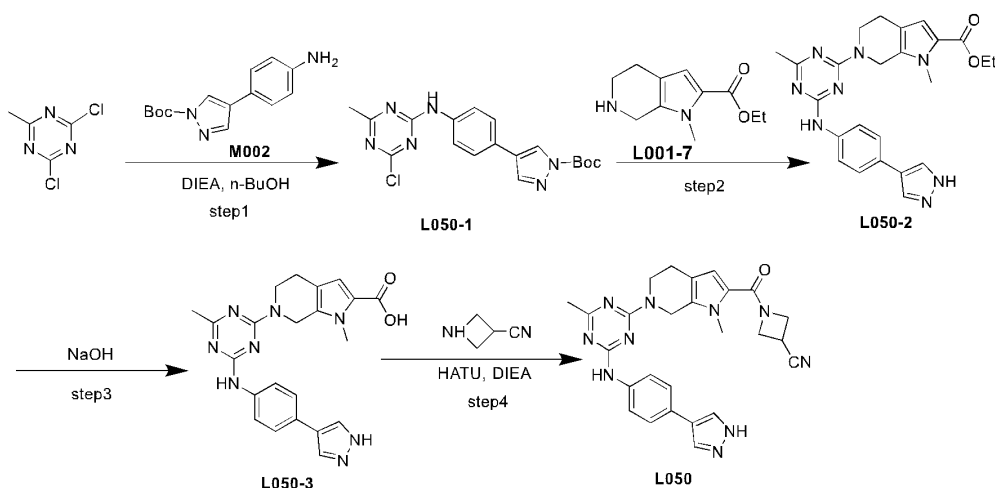
分别称取 2,4-二氯-6-乙基-1,3,5-三嗪 (534mg, 3.0 mmol), 4-(4-氨基苯基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯 (932 mg, 3.6 mmol) 于 50 mL 茄形瓶中, 加 30ml 乙醇溶解后加入 DIEA (1.5 ml, 9.0mmol), 于 60°C 条件下搅拌过夜, TLC 显示反应完毕, 可停止反应。将反应液减压浓缩后, 用 EA/水体系萃取, 得到粗品经硅胶柱层析 (PE:EA=4:1) 得到 1.4g, 为黄色固体产物。LC-MS: $[M+H]^+ = 401.10$ 。

48.3 化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-乙基-1,3,5-三嗪-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-yl)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L048) 的制备:

分别称取 L048-2 (400.87 mg, 1 mmol), 3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基 (1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基) 甲酮 (255.27 mg, 1 mmol) 于 25 mL 单口瓶中, 加 5ml 正丁醇溶解后加 DIEA (646.2 mg, 5 mmol), 于 120°C 条件下搅拌 3 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩, 用 EA/ H_2O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩得到粗品, 粗品制备、冻干后得到白色固体产物 (135 mg, 纯度 97.309%)。LC-MS: $[M+H]^+ = 520.20$ 。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.87 (s, 1H), 9.62 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.74 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.48 (s, 1H), 4.86 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 4.56 (t, $J = 11.3$ Hz, 2H), 4.04 (s, 1H), 3.77 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 2.64 – 2.52 (m, 2H), 1.23 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H)。

实施例 50、化合物 1-(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-甲基-1,3,5-三嗪-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧基) 氮杂环丁烷-3-甲腈 (L050) 制备



50.1 化合物叔丁基 4-(4-((4-氯-6-甲基-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 (L050-1) 的制备

分别称取 2,4-二氯-6-甲基-1,3,5-三嗪 (150 mg, 0.915 mmol), 4-(4-氨基苯基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯 (237 mg, 0.915 mmol) 于 25mL 单口瓶中, 加 5ml 正丁醇溶解后加 DIEA (591 mg, 4.573 mmol), 70°C 条件下搅拌 3 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩, 用 EA/H₂O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩得到 350mg 粗品, 为淡黄色固体。LC-MS: [M+H]⁺=387.10。

50.2 化合物乙基 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-甲基-1,3,5-三嗪-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸盐 (L050-2) 的制备

分别称取 L050-1 (300 mg, 0.776 mmol), 1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯 (162 mg, 0.776 mmol) 于 25mL 单口瓶中, 加 5ml 正丁醇溶解后加 DIEA (502 mg, 3.88 mmol), 130°C 条件下搅拌 6 小时, LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩, 用 EA/H₂O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩得到 1.46g 粗品, 为淡黄色固体。LC-MS: [M+H]⁺=459.20。

50.3 化合物 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-甲基-1,3,5-三嗪-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸 (L050-3) 的制备

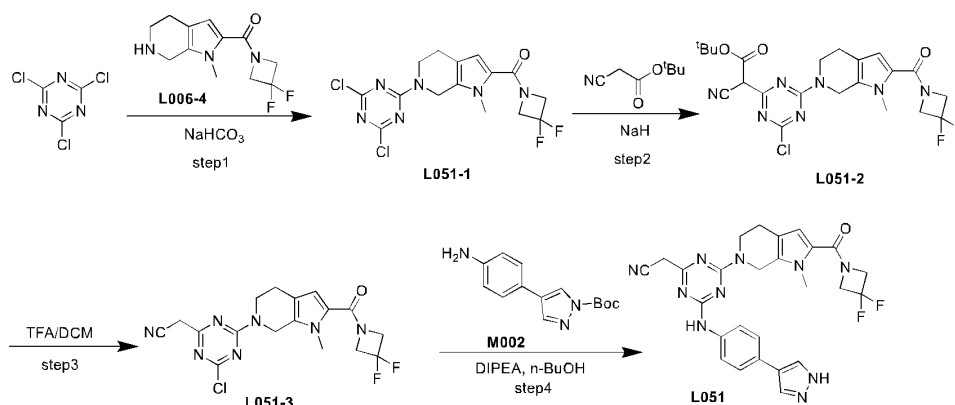
分别称取 L050-2 (1.36g, 2.966 mmol), NaOH (356 mg, 8.898 mmol), MeOH/H₂O (12ml/3ml) 于 50 mL 茄形瓶中, 于 55°C 条件下搅拌 12 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩, 用 EA/H₂O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩得到 600g 粗品, 为淡黄色固体。LC-MS: [M+H]⁺=387.15。

50.4 化合物 1-(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-甲基-1,3,5-三嗪-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧基)氮杂环丁烷-3-甲腈 (L050) 的制备

分别称取 L050-3 (200 mg, 0.465 mmol), 3-乙腈环丁胺盐酸盐 (83 mg, 0.697 mmol), HATU (354 mg, 0.93 mmol) 于 25 mL 茄形瓶中, 加 3ml DCM 溶解后加 DIEA (181 mg, 1.395 mmol), 于室温条件下搅拌 12 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液用 DCM/H₂O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩得到粗品, 粗品制备、冻干后得到白色固体 (15.8 mg, 纯度 98.055%)。LC-MS: [M+H]⁺=495.15。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.81 (s, 1H), 9.63 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.72 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.39 (s, 1H), 4.84 (s, 1H), 4.35 (d, J = 40.3 Hz, 2H), 4.02 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 3.85 – 3.78 (m, 1H), 3.75 (d, J = 10.7 Hz, 1H), 2.57 (s, 1H), 2.27 (s, 1H)。

实施例 51、化合物 2-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-(2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羧基)-1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-基)-1,3,5-三嗪-2-基)乙腈 (L051) 制备



51.1 化合物(6-(4,6-二氯-1,3,5-三嗪-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L051-1) 的制备:

取 2,4,6-三氯-1,3,5-三嗪 (184 mg, 1.0 mmol) 于 4 mL 丙酮中, 加入碳酸氢钠 248mg (3.0 mmol), 冰分批加入 (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基) (1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基) 甲酮盐酸盐 292mg (1.0 mmol), 加完室温反应 3h。LCMS 显示有产物为主峰。将反应液用 EA/水体系萃取, 干燥旋干后得 400mg 黄色固体, 直接投下一步。LC-MS: $[M+H]^+ = 403.05$

51.2 化合物叔丁基 2-(4-氯-6-(2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羰基)-1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-2-氧基乙酸酯 (L051-2) 的制备:

在 25mL 应瓶中加入 L051-1 (320 mg, 0.8 mmol), 3mL 四氢呋喃, 室温搅拌。在另一个 25mL 反应瓶中加入氧基乙酸叔丁酯 (128mg, 0.88mmol), 3mL 四氢呋喃, 冰浴, 分批加入 NaH 40mg, 加完室温反应 30min。将该混合液滴加到 L051-1 的四氢呋喃溶液中。加完室温反应 4.0h。LCMS 显示反应完毕。用氯化铵淬灭反应, 用 EA/水体系萃取, 干燥旋干, 得到 400 mg 粗品, 为黄色固体产物, 直接投下一步。LC-MS: $[M+H]^+ = 508.15$ 。

51.3 化合物 2-(4-氯-6-(2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羰基)-1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-基)-1,3,5-三嗪-2-基)乙腈 (L051-3) 的制备:

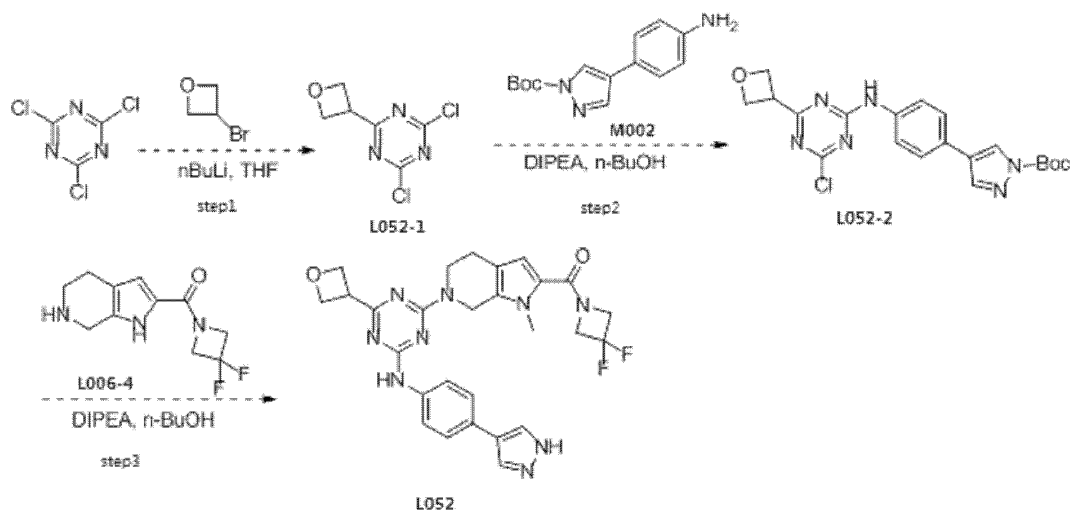
称取 L051-2 (400 mg, 0.79 mmol), 加入 4mL 二氯甲烷溶解后再加入 1mL 三氟乙酸, 加完室温反应 2h, LCMS 显示反应完毕。处理: 加入 20mL 二氯甲烷稀释反应, 用碳酸氢钠中和后, 用二氯甲烷/水体系萃取, 干燥浓缩后过柱纯化, 得 200mg 白色固体产物。LC-MS: $[M+H]^+ = 408.10$ 。

51.4 化合物 2-(4-((4-(1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)-6-(2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羰基)-1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-基)-1,3,5-三嗪-2-基)乙腈 (L051) 的制备:

称取 L051-3 (180 mg, 0.44 mmol), 4-(4-氨基苯基)-1H-吡啶-1-甲酸叔丁酯 (148mg, 0.57 mmol), KF (38mg, 0.66mmol), DIEA (170mg, 1.32mmol) 于反应瓶中, 加入正丁醇 (3 ml) 溶解, 于 90°C 反应过夜。LCMS 显示反应完毕。减压浓缩后用 EA/水体系萃取, 旋干浓缩得到粗品。粗品制备冻干后得到白色固体产物 (68.0 mg, 纯度 98.924%)。LC-MS: $[M+H]^+ = 531.25$ 。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.85 (s, 1H), 9.85 (s, 1H), 7.98 (d, $J = 88.1$ Hz, 2H), 7.71 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.53 (s, 2H), 6.46 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 4.85 (d, $J = 10.2$ Hz, 2H), 4.53 (s, 4H), 4.02 (s, 4H), 3.73 (d, $J = 19.2$ Hz, 3H), 2.55 (s, 2H)。

实施例 52、化合物(6-(4-((4-(1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)-6-(氧杂环丁烷-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L052) 制备



52.1 化合物 2,4-二氯-6-(氧杂环丁烷-3-基)-1,3,5-三嗪 (L052-1) 的制备:

取 3-溴氧杂环丁烷 (411 mg, 3.0 mmol) 于 4 mL 四氢呋喃中, 用干冰/乙酸乙酯浴降温至 -78°C , 滴加 3.0 mmol 的正丁基锂溶液, 加完低温反应半小时。

在另一反应瓶中称取 2,4,6-三氯-1,3,5-三嗪 (607 mg, 3.3 mmol), 加入 6.0 mL 四氢呋喃, 用干冰/乙酸乙酯浴降温至 -78°C , 滴加入上述 3-溴氧杂环丁烷溶液, 加完低温反应半小时, 自然升至室温条件下搅拌 1 小时。LCMS 显示有 50% 左右产物。将反应液用氯化铵淬灭后用 EA/水体系萃取, 干燥旋干后得 500mg 黄色固体, 直接投下一步。LC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^{+}=206.00$ 。

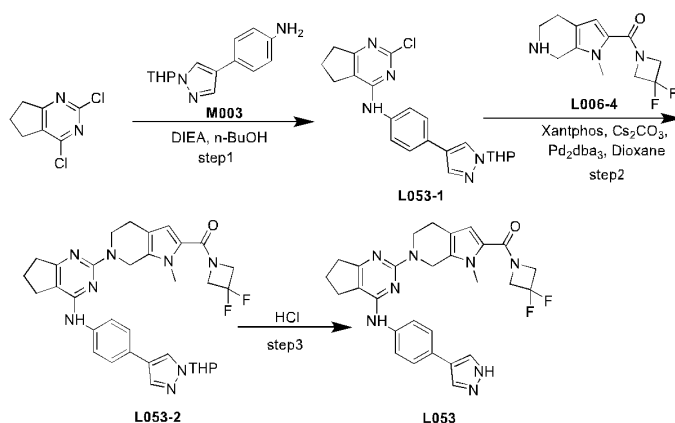
52.2 化合物叔丁基 4-(4-((4-氯-6-(氧杂环丁烷-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 (L052-2) 的制备:

分别称取 2,4-二氯-6-(氧杂环丁烷-3-基)-1,3,5-三嗪 (206 mg, 1.0 mmol), M002 (260 mg, 1.0 mmol) 于 50 mL 茄形瓶中, 加乙醇溶解后加 DIEA (390 mg, 3.0 mmol), 于 50°C 条件下搅拌过夜。LCMS 显示反应完毕。将反应液减压浓缩后, 用 EA/水体系萃取, 得到 400 mg 粗品, 为黄色固体产物, 直接投下一步。LC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^{+}=429.15$ 。

52.3 化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6-(氧杂环丁烷-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L052) 的制备:

称取叔丁基 4-(4-((4-氯-6-(氧杂环丁烷-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 (400 mg, 0.93 mmol), L006-4 盐酸盐 (298mg, 1.02 mmol), DIEA (360mg, 2.79mmol) 于反应瓶中, 加入正丁醇 (5 ml) 溶解, 于 100°C 反应过夜。LCMS 显示反应完毕。减压浓缩后用 EA/水体系萃取, 旋干浓缩得到粗品。粗品制备冻干后得到白色固体产物 (68.0 mg, 纯度 96.727%)。LC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^{+}=548.20$ 。

实施例 53、化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6,7-二氢-5H-环戊二烯[d]嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L053) 制备



53.1 化合物 2-氯-N-(4-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯基)-6,7-二氢-5H-环戊[d]噻啉-4-胺 (L053-1) 的制备:

分别称取 2,4-二氯-6,7-二氢-5H-环戊二[d]噻啉 (189.04 mg, 1 mmol), 4-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯胺 (243.31 mg, 1 mmol) 于 25 mL 茄形瓶中, 加 5 mL 正丁醇溶解后加 DIEA (646.2 mg, 5 mmol), 于 100°C 条件下搅拌 12 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩, 用 EA/H₂O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩, 浓缩之后硅胶柱层析分离(PE/EA=4/1), 得到 176mg 淡黄色固体。LC-MS: [M+H]⁺=396.15。

53.2 化合物(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)(1-甲基-6-(4-((4-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6,7-二氢-5H-环戊基[d]噻啉-2-基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (L053-2) 的制备:

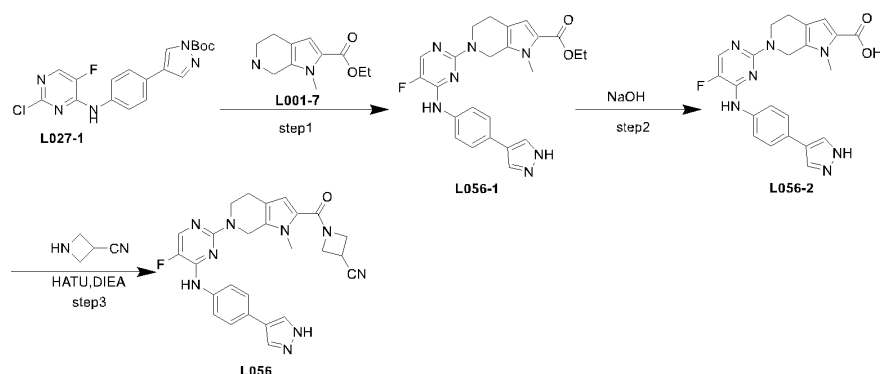
分别称取 L053-1 (150 mg, 0.379 mmol), (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)(1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (110 mg, 0.379 mmol), Pd₂dba₃ (69.4 mg, 0.0758 mmol), xantphos (43.8 mg, 0.0758 mmol), Cs₂CO₃ (246 mg, 0.758 mmol) 于 25 mL 单口瓶中, 加 5 mL 二氧六环溶解、氮气置换 3 次后 100°C 搅拌 12 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩, 用 EA/H₂O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩, 浓缩之后硅胶柱层析分离(PE/EA=3/1), 得到 100mg 淡黄色固体产物。LC-MS: [M+H]⁺=615.25。

53.3 化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-6,7-二氢-5H-环戊二烯[d]噻啉-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L053) 的制备:

分别称取 L053-2 (100 mg, 0.163 mmol), 酸性树脂 (20 mg), HCl/Dioxane 溶液 (0.4 mL) 于 25 mL 茄形瓶中, 加 3 mL 甲醇溶解后室温条件下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液过滤、浓缩得到粗品, 粗品制备、冻干后得到白色固体产物 (5 mg, 纯度 98.148%)。LC-MS: [M+H]⁺=531.20。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.85 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.72 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.55 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.45 (s, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.55 (t, *J* = 11.8 Hz, 4H), 3.94 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 2.75 – 2.67 (m, 4H), 2.54 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H), 2.01 – 1.96 (m, 2H)。

实施例 56、化合物 1-(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-5-氟噻啉-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)氮杂环丁烷-3-腈 (L056) 制备



56.1 化合物乙基 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-5-氟嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸酯 (L056-1) 的制备:

分别称取叔丁基 4-(4-((2-氯-5-氟嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯 450 mg, 1.154 mmol), 1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸乙酯 (240 mg, 1.154 mmol) 于 50 mL 单口瓶中, 加 6ml 正丁醇溶解后加 DIEA (746 mg, 5.770 mmol), 于 140°C 条件下搅拌 4 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩, 用 EA/H₂O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩, 浓缩之后硅胶柱层析分离(PE/EA=5/1), 得到 406mg 淡黄色固体。LC-MS: [M+H]⁺=462.15。

56.2 化合物 6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-5-氟嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧酸 (L056-2) 的制备:

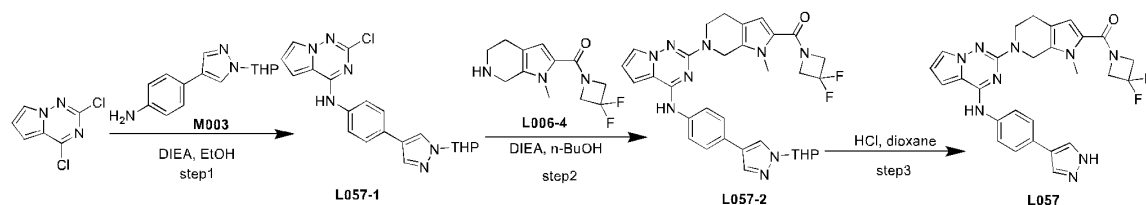
分别称取 L056-1 (406 mg, 0.880 mmol), NaOH (352mg, 8.80mmol), MeOH/H₂O (5ml/5ml) 于 50 mL 单口瓶中, 155°C 搅拌 12 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩, 用 EA/H₂O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩得到 140mg 粗品, 为淡黄色固体。LC-MS: [M+H]⁺=434.15。

56.3 化合物 1-(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-5-氟嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-羧基)氮杂环丁烷-3-腈 (L056) 的制备:

分别称取 L056-2 (140 mg, 0.323 mmol), 3-乙腈环丁胺盐酸盐 (58 mg, 0.484 mmol), HATU (246 mg, 0.646 mmol) 于 25 mL 茄形瓶中, 加 3ml DCM 溶解后加 DIEA (126 mg, 0.969 mmol), 于室温条件下搅拌 12 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液用 DCM/H₂O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩得到粗品, 粗品制备、冻干后得到白色固体产物 (22.4 mg, 纯度 99.220%)。LC-MS: [M+H]⁺=498.25。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.83 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 8.05 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 7.79 – 7.72 (m, 1H), 7.61 – 7.55 (m, 1H), 6.37 (s, 1H), 4.72 (s, 1H), 4.34 (d, *J* = 41.2 Hz, 2H), 3.91 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 3.80 (tt, *J* = 9.2, 6.1 Hz, 1H), 3.73 (s, 1H), 2.55 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H)。

实施例 57、化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L057) 制备



57.1 化合物 2-氯-N-(4-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯基)吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-4-胺 (L057-1) 的制备:

分别称取 2,4-二氯吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪 (400 mg, 2.128 mmol), 4-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯胺 (518 mg, 2.128 mmol) 于 50 mL 茄形瓶中, 加 10ml 正丁醇溶解后加 DIEA (1375 mg, 10.64 mmol), 于 40°C 条件下搅拌 12 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩, 用 EA/H₂O 萃取两

次, 分离有机相、干燥、浓缩, 浓缩之后硅胶柱层析分离(PE/EA=4/1), 得到 579mg 淡黄色固体。LC-MS: $[M+H]^+=395.15$ 。

57.2 化合物(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)(1-甲基-6-(4-((4-(1-(4-氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-2-基)-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮 (L057-2) 的制备:

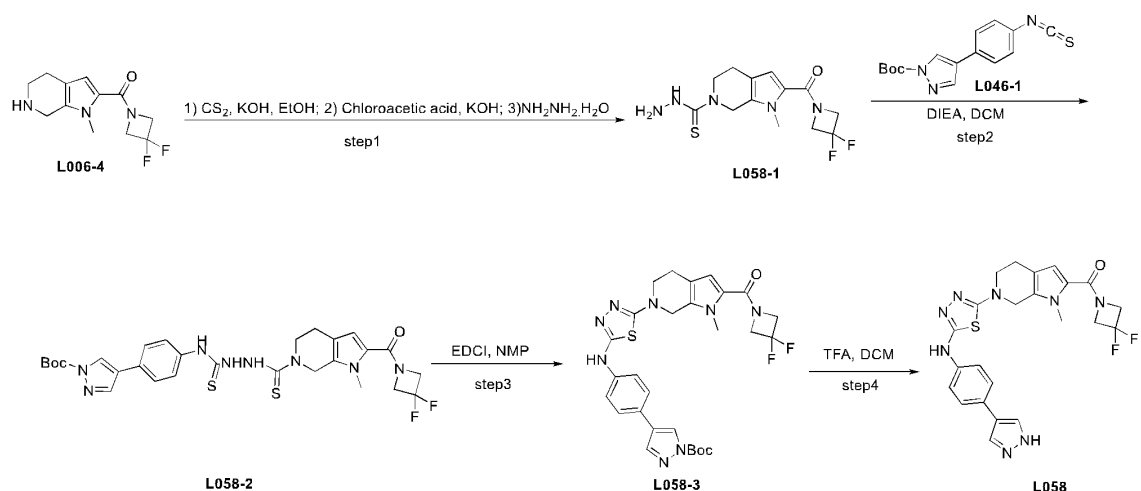
分别称取 L057-1 (360 mg, 0.912 mmol), (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基) (1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基) 甲酮 (265 mg, 0.912 mmol), Pd_2dba_3 (168 mg, 0.1824 mmol), dit-Bu-xphos (78 mg, 0.1824 mmol), t-BuONa (176 mg, 1.824 mmol) 于 50 mL 单口瓶中, 加 10ml 二氧六环溶解、氮气置换 3 次后 100°C 搅拌 18 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩, 用 EA/H₂O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩, 浓缩之后硅胶柱层析分离(PE/EA=3/1), 得到淡黄色固体 83.6mg。LC-MS: $[M+H]^+=614.25$ 。

57.3 化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L057) 的制备:

分别称取 L057-2 (80 mg, 0.130 mmol), 酸性树脂 (100 mg), HCl/Dioxane 溶液 (0.1ml) 于 25 mL 茄形瓶中, 加 3ml 甲醇溶解后室温条件下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液过滤、浓缩得到粗品, 粗品制备、冻干后得到白色固体 (3 mg, 纯度 98.796%)。LC-MS: $[M+H]^+=530.15$ 。

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*) δ 12.91 (s, 1H), 9.70 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.82 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.65 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J* = 2.3, 1.7 Hz, 1H), 7.02 (dd, *J* = 4.4, 1.5 Hz, 1H), 6.51 (dd, *J* = 4.4, 2.5 Hz, 1H), 6.46 (s, 1H), 4.67 (s, 1H), 4.63 – 4.45 (m, 2H), 3.88 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 3.76 (s, 1H), 2.59 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H)。

实施例 58、化合物(6-(5-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L058) 的制备



58.1 化合物 2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)-1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-碳硫酰肼 (L058-1) 的制备

分别称取 (3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基) (1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基) 甲酮 (400 mg, 1.568 mmol), KOH (176 mg, 3.137 mmol) 于 100 mL 茄形瓶中, 加乙醇溶解后, 冰浴条件下滴加 CS₂ (238 mg, 3.137 mmol) 的乙醇溶液, 滴完后于 10°C 以下反应 5 小时。加入氯乙酸 (298 mg, 3.137 mmol) 和 KOH (176 mg, 3.137 mmol) 的乙醇混合溶液, 加完后于室温条件下反应过夜。LCMS 监测原料反应完后, 向反应液中加入水合肼 (784 mg, 15.683 mmol), 于 65°C 条件下反应 4 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液减压浓缩, 加水稀释后乙酸乙酯 (50 mL x 3) 萃取, 收集有机相得到粗品, 粗品经硅胶柱层析分离 (DCM/MeOH=50:1-20:1) 得到 350 mg 类白色固体产物。LC-MS: $[M+H]^+=330.05$ 。

58.2 化合物叔丁基 4-(4-(2-(2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羰基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-碳硫酰基)肼-1-碳硫酰基)苯基)-1H-吡啶-1-羧酸盐 (L058-2) 的制备

称取 L058-1 (330 mg, 1.001 mmol) 于 100 mL 茄形瓶中, 加入 DIEA (258 mg, 2.002 mmol), 加二氯甲烷 (10 mL) 溶解后于室温条件下搅拌 10 分钟, 滴加 L046-1 (241 mg, 0.801 mmol) 的二氯甲烷溶液, 滴完后于室温条件下反应过夜。LCMS 显示反应完毕。将反应液减压浓缩粗品, 粗品经硅胶柱层析分离 (DCM:MeOH=20:1) 得到 150 mg 黄色固体产物。LC-MS: $[M+H]^+=631.15$ 。

58.3 化合物叔丁基 4-(4-((5-(2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羰基)-1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-基)-1,3,4-噻二唑-2-基)氨基)苯基)-1H-吡啶-1-羧酸酯 (L058-3) 的制备

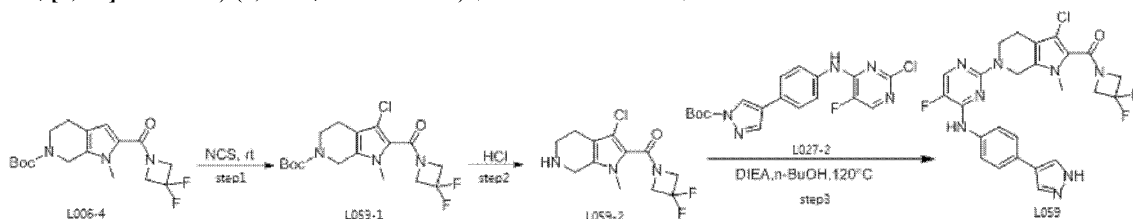
称取 L058-2 (100 mg, 0.156 mmol) 于 50 mL 茄形瓶中, 加入 EDCI (303 mg, 1.561 mmol), 加 NMP (10 mL) 溶解后于 50°C 条件下搅拌反应 5 小时。LCMS 显示反应完毕。加适量水稀释, EA 萃取 (30 mL x 3), 合并有机相, 无水硫酸钠干燥后减压浓缩得粗品, 粗品经硅胶柱层析分离 (DCM:MeOH=50:1-20:1) 得到 80 mg 黄色油状产物。LC-MS: $[M+H]^+=597.20$ 。

58.4 化合物(6-(5-((4-(1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L058) 的制备

称取 L058-3 (80 mg, 0.134 mmol) 于 25 mL 茄形瓶中, 加 DCM (6 mL) 溶解后, 加入三氟乙酸 (2 mL), 于室温条件下反应 1 h。LCMS 显示反应完毕。减压浓缩溶剂, 加水稀释残余物, 用饱和 NaHCO_3 调 pH=9, 用 EA 萃取 (20 mL x 3), 收集有机相得粗品, 粗品经 prep-HPLC 制备分离, 冻干后得到白色固体 (11.0 mg, 纯度 98.435%)。LC-MS: $[M+H]^+=497.10$ 。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.83 (s, 1H), 9.81 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.50 (td, $J=8.9, 2.2$ Hz, 2H), 6.48 (s, 1H), 4.54 (d, $J=13.2$ Hz, 2H), 3.73 (s, 1H), 3.61 (t, $J=5.7$ Hz, 1H), 2.65 (dt, $J=11.1, 3.7$ Hz, 1H)。

实施例 59、化合物(6-(4-((4-(1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)-5-氟嘧啶-2-基)-3-氯-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡咯烷-1-基)甲酮 (L059) 的制备



59.1 化合物 3-氯-2-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-羰基)-1-甲基-1,4,5,7-四氢-6H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-羧酸叔丁酯 (L059-1) 的制备:

分别称取叔丁基 2-(3,3-二氟吡咯烷-1-羰基)-1-甲基-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6(7H)-羧酸酯 (810 mg, 2.279 mmol), NCS (304 mg, 2.279 mmol) 于 50 mL 单口瓶中, 加 10 mL MeCN 室温搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完毕, 产物占比为 20%。将反应液浓缩, 用 EA/ H_2O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩, 浓缩之后硅胶柱层析分离 (PE/EA=4/1), 得到 200 mg 淡黄色固体。LC-MS: $[M+H]^+=390.10$ 。

59.2 化合物(3-氯-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲酮 (L059-2) 的制备:

分别称取 L059-1 (200 mg, 0.513 mmol), HCl/dioxane 溶液 (5 mL), DCM (2 mL) 于 50 mL 单口瓶中, 室温搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完毕, 产物占比为 20%。将反应液浓缩, 用 EA/ H_2O 萃取两次, 分离有机相、干燥、浓缩得到 177.6 mg 粗品, 为淡黄色固体。LC-MS: $[M+H]^+=290.05$ 。

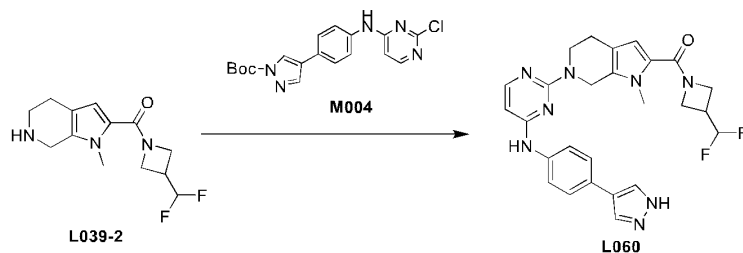
59.3 化合物(6-(4-((4-(1H-吡啶-4-基)苯基)氨基)-5-氟嘧啶-2-基)-3-氯-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3,3-二氟吡咯烷-1-基)甲酮 (L059) 的制备:

分别称取 L059-2 (145 mg, 0.445 mmol), 叔丁基 4-(4-((2-氯-5-氟嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡啶-1-羧酸酯 (174 mg, 0.445 mmol) 于 25 mL 茄形瓶中, 加 3 mL 正丁醇溶解后加 DIEA (288 mg, 2.225 mmol), 于 120°C 条件下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩, 用 EA/ H_2O 萃取两次, 分离有机相、

干燥、浓缩得到粗品，粗品制备、冻干后得到白色固体（33 mg，纯度 97.663%）。LC-MS: $[M+H]^+=543.15$ 。

^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*) δ 12.89 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.06 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.77 – 7.72 (m, 1H), 7.62 – 7.57 (m, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.52 (t, $J = 11.9$ Hz, 2H), 3.93 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 3.59 (s, 2H), 2.52 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H)。

实施例 60、化合物(6-(4-((4-(1H-吡唑-4-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)-1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)(3-(二氟甲基)吡丁啉-1-基)甲酮 (L060) 的制备



将 (3-(二氟甲基)吡丁啉-1-基)(1-甲基-4,5,6,7-四氢-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-基)甲酮(55 mg, 0.20 mmol) 溶解于正丁醇 (2 mL) 中，加入 N,N-二异丙基乙胺(77 mg, 0.60 mmol)和叔-丁基 4-(4-((2-氯嘧啶-4-基)氨基)苯基)-1H-吡唑-1-羧酸酯(89 mg, 0.24 mmol)，氮气保护，升温至 120°C 反应 4 小时。反应结束后，加入水(5 mL)稀释，乙酸乙酯萃取(5 mL * 2)，合并有机相，饱和食盐水(10 mL)洗涤，无水硫酸钠干燥，浓缩后经制备，得到 44.5mg 白色固体，两步收率为 36%。LC-MS $[M+H]^+$: 504.9。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.84 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 8.01 (s, 2H), 7.96 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 7.65 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.56 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.48 (d, $J = 4.3$ Hz, 0.25H), 6.38 (s, 1H), 6.34 (d, $J = 4.3$ Hz, 0.5H), 6.20 (d, $J = 4.4$ Hz, 0.25H), 6.07 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 4.79 (s, 2H), 4.65–4.05(m, 4H), 3.98 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.19 – 3.09 (m, 1H), 2.55 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H)。

化合物 L029 的制备参考上述实施例 28 记载的方法。

化合物 L033 的制备参考上述实施例 39 记载的方法。

化合物 L042 的制备参考上述实施例 41 记载的方法。

化合物 L044 的制备参考上述实施例 36 记载的方法。

化合物 L049 的制备参考上述实施例 48 记载的方法。

化合物 L054 的制备参考上述实施例 53 记载的方法。

化合物 L055 的制备参考上述实施例 11 记载的方法。

参照上述实施例的相应合成方法，合成的各化合物的表征数据如下表所示：

化合物编号	LC-MS: $[M+H]^+$
L029	488.0
L033	522.5
L042	516.1
L044	506.2
L049	534.2
L054	523.2
L055	472.8

<生物学活性测试试验>

在一些实施方案中，通过本领域常规的方法进行试验，发现本发明的化合物在体外和/或体内引起激

酶抑制，特别是 ROCK1 和/或 ROCK2 激酶的抑制。同时还发现，本发明的化合物具备较低的细胞毒性和较好的药代动力学性质，实验还表明本发明的化合物具有较合适的代谢稳定性，具备开发成药的前景。

1.体外 ROCK2 激酶活性评价

ROCK2 活性筛选。用 96 孔 (Cisbio) 时间分辨荧光测定法来检测 ROCK2 活性。ROCK2 测定是在以下测定缓冲液中运行：5mM MgCl₂ (Sigma)，1mM DTT (Sigma) 和 1X 激酶缓冲液。采用激酶缓冲液稀释，先加入 7.5μL 的 ROCK2 激酶 (Invitrogen, PV3759) 于 96 微孔板，使终浓度为 0.4ng/μL，再加入 0.25μL 的待测化合物，DMSO 含量 1% (体积分数)，室温下孵育 0.5h。为了启动反应，使用激酶缓冲液，将 ATP (阿拉丁) 和底物 STK-底物 2-生物素一起混合后，加入 7.5μL 混合液于微孔板使终浓度分别为 6.739μM 和 1μM，继续室温孵育 2h。使用 5mL 检测缓冲液与 STK 抗体-Cryptate 进行混合，然后取适当体积与链霉亲和素-XL665 等体积混合，向微孔板中加入 10μL 该混合物来终止反应。继续孵育约 1h 后，在 Molecular Devices Spectra Max i3x 多功能酶标仪上读板。其中，激酶缓冲液、STK-底物 2-生物素、检测缓冲液、STK 抗体-Cryptate、链霉亲和素-XL665 均来自 HTRF KinEASE-STK kit (Cisbio, 1000tests, 61GSTXLA)。

2.体外 ROCK1 激酶选择性评价

用 96 孔 (Cisbio) 时间分辨荧光测定法来检测 ROCK1 活性。ROCK1 测定是在以下测定缓冲液中运行：5mM MgCl₂ (Sigma)，1mM DTT (Sigma) 和 1X 激酶缓冲液。采用激酶缓冲液稀释，先加入 7.5μL 的 ROCK1 激酶 (Invitrogen) 于 96 微孔板，使终浓度为 0.4ng/μL，再加入 0.25μL 的待测化合物，DMSO 含量 1%，室温下孵育 0.5h。为了启动反应，也使用激酶缓冲液，将 ATP (阿拉丁) 和底物 STK-底物 2-生物素一起混合后，加入 7.5μL 混合液于微孔板使终浓度分别为 3.53μM 和 1μM，继续室温孵育 2h。使用 5mL 检测缓冲液与 STK 抗体-Cryptate 进行混合，然后取适当体积与链霉亲和素-XL665 等体积混合，加入 10μL 混合物来终止反应。继续孵育约 1h 后，在 Molecular Devices SpectraMax i3x 多功能酶标仪上读板。其中，激酶缓冲液、STK-底物 2-生物素、检测缓冲液、STK 抗体-Cryptate、链霉亲和素-XL665 均来自 HTRF KinEASE-STK kit (Cisbio, 1000tests, 61GSTXLA)。

实施例 61

对本发明实施例化合物进行上述体外激酶活性评价实验，确定各化合物对 ROCK1/2 的抑制活性，发现本发明化合物均具有较好活性，一些化合物对于两种激酶的 IC₅₀ 低于 10μM，一些化合物对于两种激酶的 IC₅₀ ≤ 50nM (活性水平 A)，一些化合物对于两种激酶的 IC₅₀ > 50nM 且 ≤ 500nM (活性水平 B)，一些化合物对于两种激酶的 IC₅₀ > 500nM 且 ≤ 4.5μM (活性水平 C)，一些化合物对于两种激酶的 IC₅₀ > 4.5μM (活性水平 D)。

其中代表性化合物 IC₅₀ 的值报告于下表 1 中：注：(A: ≤ 50nM; B: > 50nM 且 ≤ 500nM; C: > 500nM 且 ≤ 4.5μM; D: > 4.5μM; ND: 未检测)

表 1: 本发明化合物对 ROCK1 及 ROCK2 的抑制

化合物	对 ROCK1 的 IC ₅₀	对 ROCK2 的 IC ₅₀
L001	ND	D
L002	ND	D
L003	ND	D
L004	C	B
L005	D	A
L006	C	B
L007	ND	C
L008	D	A
L009	ND	C
L010	D	A

L011	ND	C
L012	B	B
L013	ND	D
L014	ND	D
L015	D	B
L016	D	A
L017	D	A
L018	D	B
L019	D	A
L020	D	B
L021	D	B
L022	ND	C
L023	C	B
L024	C	A
L025	ND	D
L026	D	A
L027	D	A
L028	D	C
L029	D	C
L030	D	B
L031	D	A
L032	D	B
L033	D	A
L034	D	A
L035	D	B
L036	D	B
L037	D	A
L038	D	B
L039	D	B
L040	D	B
L041	D	B
L042	D	B
L043	ND	B
L044	ND	B
L045	D	D
L046	D	D
L047	D	D
L048	D	C
L049	D	B
L050	D	B
L051	D	B
L052	D	B
L053	D	B
L054	D	A
L055	D	C
L056	D	A
L057	D	B
L060	D	A

实施例 62 本发明化合物的体外细胞毒性测试

对本发明中化合物的体外细胞毒性测试在 HepG2 细胞中利用 CCK-8 法进行测定。收集对数期的 HepG2 细胞（北纳生物），调整细胞悬液浓度，以 50000cells/well 在 96 孔细胞培养板中铺板，将细胞置于 5%，37°C 的细胞培养箱中孵育过夜，待板中细胞融合度达到 80-90% 后，换液加入各浓度梯度的待测化合物或溶媒（DMSO），在 5%，37°C 的细胞培养箱中孵育 48 小时。处理结束后，弃去板内培养基，用 PBS 洗涤 2 遍，每孔加入 100 μ L CCK-8 工作液（碧云天生物技术），37°C 避光孵育 1.5 小时，酶标仪上检测 OD_{450nm} 处各孔的吸光值，分析计算各化合物的 CC₅₀。

针对本发明的实施例化合物进行上述实验，结果发现本发明的化合物均具有较好的安全性，CC₅₀ 范围均 >10 μ M，一些优选的化合物 CC₅₀ >30 μ M，更优选 CC₅₀ >50 μ M。代表性化合物的 CC₅₀ 示于下表 2 中。

表 2. 各化合物所获得的 CC₅₀

化合物	HepG2 CC ₅₀ (μ M)
L005	>100
L017	33.38
L026	>100
L027	>100
L030	>100
L031	33.38
L032	28.43
L033	>100
L036	>100
L037	>100
L042	27.95
L043	>100
L044	58.12
L045	>100
L047	>100
L048	100.3
L050	>100
L051	>100
L056	>100
L057	>100
L060	>100

实施例 63 本发明化合物的体外代谢稳定性试验

本发明中化合物的体外代谢稳定性利用各种属肝微粒体温孵法进行测定。在肝微粒体反应体系中 (1mg/mL 肝微粒体蛋白, 25U/mL 6-磷酸葡萄糖脱氢酶, 1mM NADP, 6mM D-6-磷酸葡萄糖, 5 mM MgCl₂) 加入适量供试化合物, 放入 37°C 水浴锅温孵启动反应, 于各时间点取 100μL 反应液加入至含 400μL 0°C 预冷的内标工作液 (含 200ng/mL 地塞米松、双氯酚酸、甲苯磺丁脲、拉贝洛尔的乙腈溶液) 于离心管中, 终止反应, 4°C 离心机 10000g 离心 10min, 取上清液进 LC-MS 进行分析检测, 获得供试化合物在各种属肝微粒体中的体外代谢半衰期。使用上述方法获得的 T_{1/2} 示于表 3 中。

表 3. 各化合物在肝微粒体蛋白中代谢半衰期

化合物	人肝微粒体 T _{1/2} min	大鼠肝微粒体 T _{1/2} min	豚鼠肝微粒体 T _{1/2} min
L005	175.32	103.38	64.83
L017	186.38	72.53	45.03
KD-025	91.31	17.22	96.37
L026	237.27	61.23	28.36
L027	57.35	126.78	617.17
L030	207.36	158.15	58.16
L032	80.97	42.51	33.77
L033	93.24	68.28	50.20
L036	177.97	94.36	75.16
L037	156.72	33.24	60.00
L042	438.19	344.77	348.71
L043	111.96	80.41	85.20
L044	438.91	209.67	169.51
L050	258.93	61.70	64.16
L051	289.46	65.04	50.38
L056	60.38	52.75	42.07
L057	190.15	45.53	131.03
L060	95.32	69.82	58.16

针对本发明的实施例化合物进行了上述实验, 发现本发明的化合物在人、大鼠、小鼠中均具有较好的代谢稳定性, 优选在人肝微粒体中 T_{1/2}>30 min, 更优选在人肝微粒体中 T_{1/2}>90 min。发明人还对进入临床阶段的 ROCK 抑制剂 KD-025 进行了对比实验, 发现本发明优选化合物的体外稳定性优于 KD-025。

实施例 29 本发明化合物的小鼠体内药代动力学研究

SPF 级小鼠 (北京斯贝福生物技术有限公司) 在适应性驯养后禁食过夜 (不禁水), 分别通过灌胃

和尾静脉推注的方式给予 3mg/kg 本发明化合物。给药后特定时间点采集小鼠血浆，通过 LC-MS/MS (AB SCIEX Qtrap4500) 检测血浆中化合物浓度，统计分析、计算各化合物的 PK 参数 (WinNonlin V5.2, Pharsight)，体现本发明化合物的小鼠体内药代动力学性质。

针对本发明实施例化合物进行上述实验，结果表明本发明的化合物均具有较好小鼠体内药代动力学性质，在较低剂量时即可获得较高的体内暴露量以及较高的口服生物利用度，一些化合物口服生物利用度 > 30%，一些化合物的口服生物利用度 > 50%。下述表 4 为代表性化合物的实验数据。

表 4：本发明化合物对小鼠的 PK 实验

化合物	给药剂量 mg/kg	给药方式	C _{max} (ng/mL)	AUC _{last} (ng/mL*hr)	口服生物利用度 (%)
L005	1	Po (禁食)	37.2	71.8	59.7
	1	Iv	155	120	/
L017	1	Po (禁食)	41.3	106.0	12.2
	1	Iv	2570	872	/
L027	1	Po (禁食)	116	341	82.7
	1	Iv	517	412	/
L044	1	Po (禁食)	109	431	54.8
	1	Iv	594	787	/
L036	1	Po (禁食)	98.7	209	59.9
	1	Iv	473	349	/
L030	1	Po (禁食)	60	225	30.6
	1	Iv	1121	726	/
L060	1	Po (禁食)	64.5	144	54.0
	1	Iv	463	266	/

在本说明书的描述中，参考术语“一个实施例”、“一些实施例”、“示例”、“具体示例”、或“一些示例”等的描述意指结合该实施例或示例描述的具体特征、结构、材料或者特点包含于本发明的至少一个实施例或示例中。在本说明书中，对上述术语的示意性表述不必须针对的是相同的实施例或示例。而且，描述的具体特征、结构、材料或者特点可以在任一个或多个实施例或示例中以合适的方式结合。此外，在不相互矛盾的情况下，本领域的技术人员可以将本说明书中描述的不同实施例或示例以及不同实施例或示例的特征进行结合和组合。

尽管上面已经示出和描述了本发明的实施例，可以理解的是，上述实施例是示例性的，不能理解为对本发明的限制，本领域的普通技术人员在本发明的范围内可以对上述实施例进行变化、修改、替换和变型。