



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111138412 B

(45) 授权公告日 2023.09.15

(21) 申请号 201910705880.5

A61K 31/4985 (2006.01)

(22) 申请日 2019.08.01

A61K 31/519 (2006.01)

A61K 31/497 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 111138412 A

(43) 申请公布日 2020.05.12

(66) 本国优先权数据

201811314910.1 2018.11.06 CN

(73) 专利权人 上海奕拓医药科技有限责任公司

地址 200120 上海市浦东新区自由实验贸

易区芳春路400号1幢3层

(72) 发明人 郑乾刚

(74) 专利代理机构 北京市君合律师事务所

11517

专利代理师 吴瑜 何箐

(51) Int. Cl.

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 401/04 (2006.01)

C07D 471/10 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

C07D 519/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 112166110 A, 2021.01.01

CN 108570048 A, 2018.09.25

CN 111153901 A, 2020.05.15

CN 110143949 A, 2019.08.20

CN 111704611 A, 2020.09.25

WO 2018172984 A1, 2018.09.27

CN 105899491 A, 2016.08.24

WO 2018136264 A1, 2018.07.26

CN 110431134 A, 2019.11.08

CN 110446709 A, 2019.11.12

WO 2018136265 A1, 2018.07.26

WO 2017211303 A1, 2017.12.14

WO 2016203405 A1, 2016.12.22

WO 2016203404 A1, 2016.12.22

CN 101048397 A, 2007.10.03

STN. STN. 《STN》. 2022,

审查员 王颖

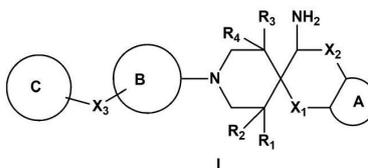
权利要求书4页 说明书60页

(54) 发明名称

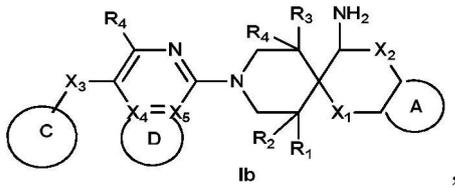
一种螺芳环化合物及其应用

(57) 摘要

本发明提供了一种螺芳环化合物及其应用，一类具有SHP2抑制活性的化合物、其制备方法及应用，具体地，本发明提供了一种式I所示的化合物，或其药学上可接受的盐，或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、同位素取代物、多晶型物、前药或代谢产物，其中，各基团的定义如说明书中所述。所述的化合物对SHP2具有较高的抑制活性，因此可以用于预防或治疗与SHP2相关的疾病。



1. 一种式Ib所示的化合物,或其药学上可接受的盐,或其对映异构体、非对映异构体或互变异构体:



其中,

X1为CRaRb;

X2为无;

X3选自无、S或O;

Ra和Rb分别选自H和未取代的C1-C6烷基;

环A选自取代或未取代的苯基、或者取代或未取代的5-6元杂芳基;其中,所述杂芳基包含1-3个选自下组的杂原子:N、O或S,所述“取代”指基团上的一个或多个氢原子被选自下组的取代基取代:卤素、-OH、-CN、未取代或卤代的C1-C6烷基、未取代或卤代的C1-C8烷氧基;

X4和X5分别独立的选自C、N,且不同时为N;

环D为取代或未取代的5元杂芳基;其中,所述的5元杂芳基包含1-3个N原子,所述“取代”指基团上的一个或多个氢原子被卤素取代;

R₁、R₂、R₃分别选自H和未取代的C1-C6烷基;

R₄选自H、卤素、未取代的氨基和未取代的C1-C6烷基;

环C为 , 其中,X4、X5、X6、X7和X8分别独立的选自N或CRd,且X4、X5、X6、X7和X8

中的1个为N;

R₆选自:H、氨基、-CN、-OH、卤素、未取代或卤代的C1-C6烷基;且R₆的个数为1-3个;

上述的Rd选自H、卤素、未取代或卤代的C1-C6烷基、未取代或卤代的C1-C6烷氧基。

2. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,X3为S。

3. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,环A选自取代或未取代的苯基、吡啶基、吡嗪基或噻唑基。

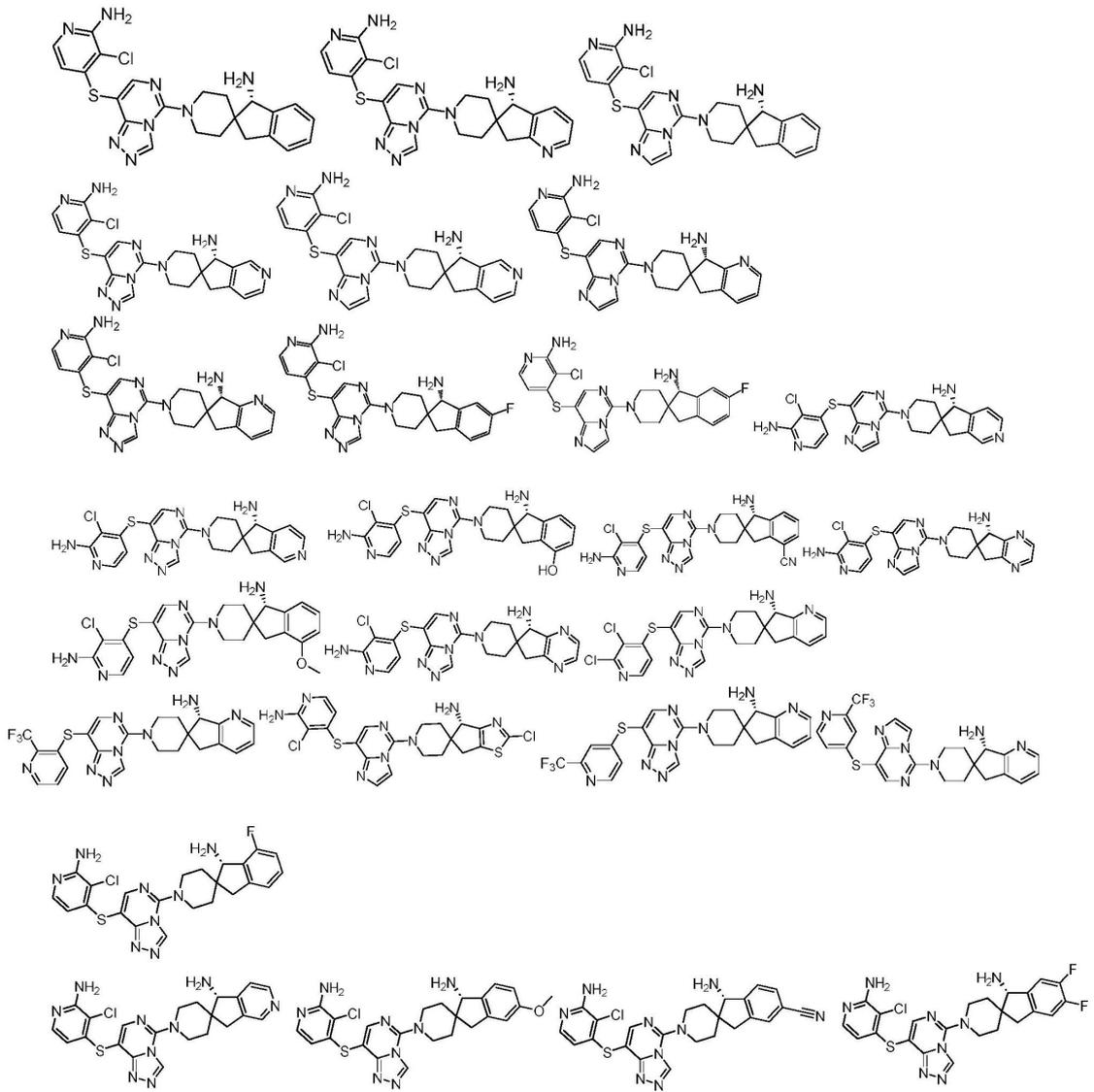
4. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,X4为C,X5为N。

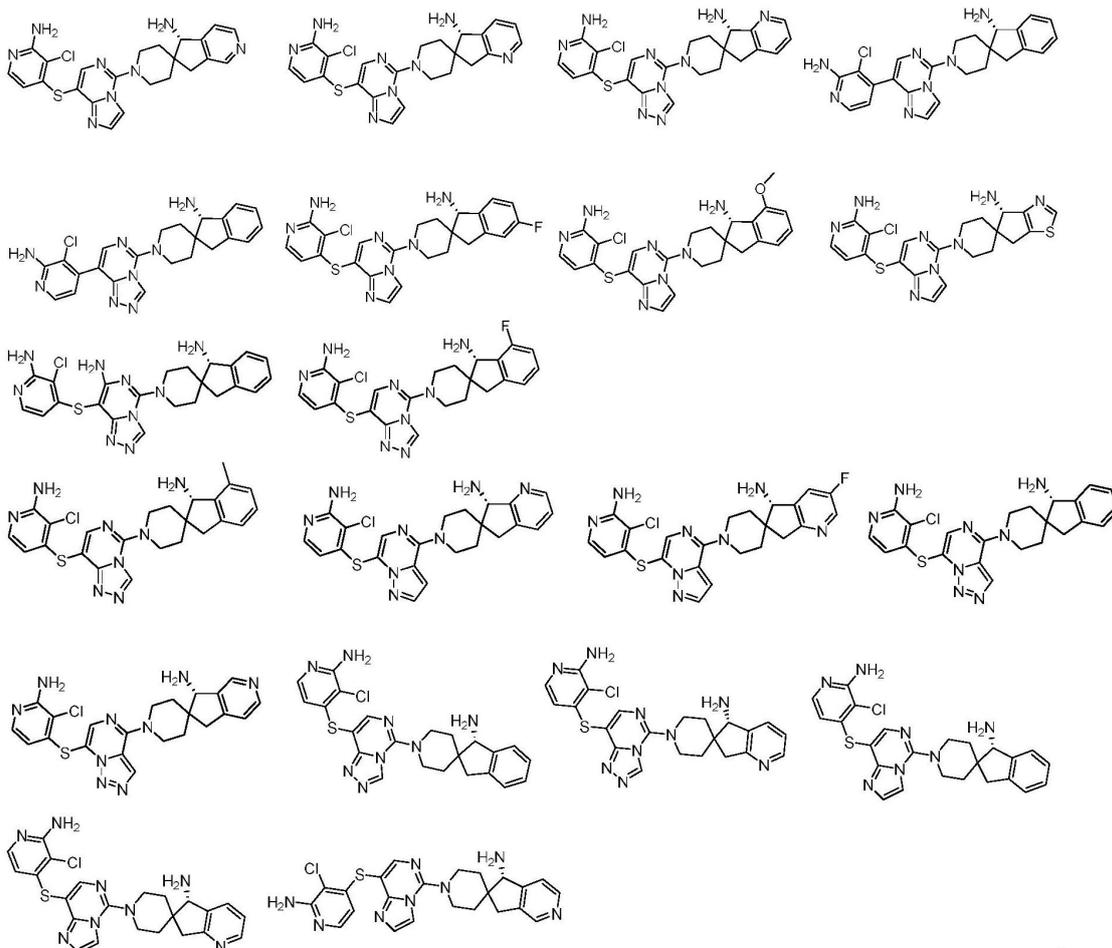
5. 如权利要求3所述的化合物,其特征在于,环D为取代或未取代的三唑基或咪唑基。

6. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,在环C中,X4、X5、X7和X8为CRd,且X6为N。

7. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,在环C中,X4、X6、X7和X8为CRd,且X5为N。

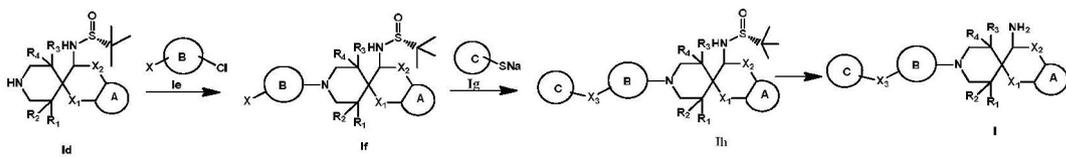
8. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,所述的化合物选自如下:



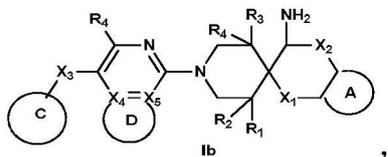


9. 一种制备式I化合物的方法,其特征在于,所述方法包括:

式Id与式Ie发生亲核取代反应得到式If;接着式If与式Ig发生取代反应得到式Ih;然后式Ih用酸脱除保护得到式I化合物:



其中所述式I化合物为式Ib所示的化合物:



其中,

X1为CRaRb;

X2为无;

X3选自无、S或O;

Ra和Rb分别选自H和未取代的C1-C6烷基;

环A选自取代或未取代的苯基、或者取代或未取代的5-6元杂芳基;其中,所述杂芳基包含1-3个选自下组的杂原子:N、O或S,所述“取代”指基团上的一个或多个氢原子被选自下组

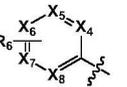
的取代基取代:卤素、-OH、-CN、未取代或卤代的C1-C6烷基、未取代或卤代的C1-C8烷氧基;

X₄和X₅分别独立的选自C、N,且不同时为N;

环D为取代或未取代的5元杂芳基;其中,所述的5元杂芳基包含1-3个N原子,所述“取代”指基团上的一个或多个氢原子被卤素取代;

R₁、R₂、R₃分别选自H和未取代的C1-C6烷基;

R₄选自H、卤素、未取代的氨基和未取代的C1-C6烷基;

环C为  , 其中,X₄、X₅、X₆、X₇和X₈分别独立的选自N或CR_d,且X₄、X₅、X₆、X₇和X₈

中的1个为N;

R₆选自:H、氨基、-CN、-OH、卤素、未取代或卤代的C1-C6烷基;且R₆的个数为1-3个;

上述的R_d选自H、卤素、未取代或卤代的C1-C6烷基、未取代或卤代的C1-C6烷氧基。

10. 如权利要求1所述的式Ib化合物的用途,其特征在于,用于:

- (a) 制备预防或治疗与SHP2活性异常相关的疾病或病症的药物;
- (b) 制备预防或治疗SHP2-介导的疾病或病症的药物
- (c) 制备抑制SHP2活性的抑制剂药物;
- (d) 体外非治疗性的抑制SHP2活性;和/或
- (e) 体外非治疗性的抑制肿瘤细胞增殖。

11. 如权利要求10所述的用途,其特征在于,所述的疾病为癌症,包括但不限于努南综合症、豹综合症、青少年髓单核细胞白血病、成神经细胞瘤、黑色素瘤、急性髓性白血病、乳腺癌、食道癌、肺癌、结肠癌、头癌、成神经细胞瘤、头颈的鳞状细胞癌、胃癌、间变性大细胞淋巴瘤或成胶质细胞瘤。

12. 一种药物组合物,其特征在于,所述的药物组合物包括:

(i) 有效量的如权利要求1所述的式Ib化合物,或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或互变异构体;和

(ii) 药学上可接受的载体。

13. 如权利要求12所述的药物组合物在制备用于抑制SHP2活性的药物中的用途,其中所述抑制包括对抑制对象施用抑制有效量的所述药物。

一种螺芳环化合物及其应用

技术领域

[0001] 本发明公开了一种螺芳环化合物、其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、同位素取代物、前药或代谢产物。本发明也提供了该类化合物的制备方法、含有该类化合物的药物组合物以及该类化合物用于制备治疗与SHP2活性异常相关疾病或病症的药物的用途。

背景技术

[0002] 蛋白酪氨酸磷酸酶SHP2,在细胞信号传导过程中占据及其重要的位置,是开发治疗糖尿病、自身免疫疾病和癌症等重大疾病的靶点。SHP2是在多种疾病中突变或者高表达,如努南综合征(N Noonan Syndrome)、豹综合征(Leopard Syndrome)、青少年髓单核细胞白血病、成神经细胞瘤、黑色素瘤、急性髓性白血病、乳腺癌、食道癌、肺癌、结肠癌、头癌、成神经细胞瘤、头颈的鳞状细胞癌、胃癌、间变性大细胞淋巴瘤和成胶质细胞瘤等等。分子生物学研究表明,SHP2参与多个肿瘤细胞信号传导通路,如MAPK、JAK/STAT和PI3K/Akt等。同时,SHP2也负责PD1-PDL1免疫抑制通路的信号传导。因此,抑制SHP2的活性能够在逆转肿瘤微环境中的免疫抑制。

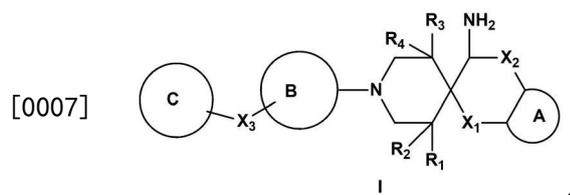
[0003] SHP2由两个N-末端Src同源2结构域(N-SH2和C-SH2)和一个蛋白酪氨酸磷酸酶催化结构域(PTP)构成。在自抑制状态下,N-SH2与PTP结合形成一个环状结构,从而阻碍PTP与底物的结合,使得酶催化活性被抑制;当上游受体蛋白的酪氨酸被磷酸化后,N-SH2与之相结合,PTP催化域得到释放从而发挥出磷酸酶活性。

[0004] 目前针对SHP2抑制剂的开发,主要以非催化区的变构抑制剂为主,比如W02015107493A1,W02016203404A1,W02016203406A1,W02017216706A1,W02017211303A1,CN201710062495,W02018136265A1W02018057884等中公开的一些化合物。今年的研究表明SHP2作为一个新颖的可成药靶点,引起了越来越多的关注。因此,本领域急需开发结构新颖、生物活性好,成药性高的SHP2抑制剂。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种式I所示的化合物或其药学上可接受的盐,含有该化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物,以及该化合物或其药物组合物在预防和治疗与SHP2异常相关的疾病或病症中的应用。

[0006] 本发明的第一方面,提供了一种式I所示的化合物,或其药学上可接受的盐,或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、同位素取代物、多晶型物、前药或代谢产物,



[0008] 其中，

[0009] X_1 和 X_2 分别选自无、CRaRb或NRc，且 X_1 、 X_2 的个数为0-3；

[0010] X_3 选自无、CRaRb、NRc、S或O，且 X_3 的个数为1-3；且Ra、Rb和Rc分别选自H、卤素、取代或未取代的C1-C6烷基、取代或未取代的C1-C6烷氧基；

[0011] 环A为取代或未取代的4-8元环；

[0012] 环B为取代或未取代5-10元芳杂环；

[0013] 环C为取代或未取代5-10元环；

[0014] R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 分别选自H、-OH、-卤素、取代或未取代的氨基、取代或未取代的C1-C6烷基、取代或未取代的C1-C6烷氧基；且不能同时为-OH、-NH₂；

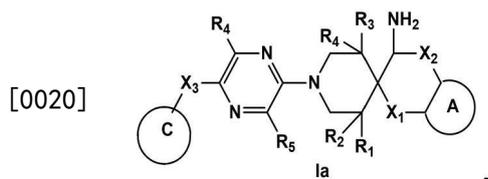
[0015] 上述的环A选自取代或未取代的4-8元杂环基、取代或未取代的4-8元碳环基、取代或未取代的C5-10芳基、取代或未取代的5-10元杂芳基；其中，所述的杂环基或杂芳基包含1-3个选自下组的杂原子：N、O、S或P；

[0016] 上述的环B选自取代或未取代的5-10元杂芳基，所述的杂芳基包含2-4个选自下组的杂原子：N、O、S或P；

[0017] 上述的环C选自取代或未取代的5-10元杂环基、取代或未取代的5-10元碳环基、取代或未取代的5-10元杂芳基，取代或未取代的5-10元芳基，所述的杂环基或杂芳基包含1-4个选自下组的杂原子：N、O、S或P；

[0018] 上述的任一“取代”指基团上的一个或多个氢原子被选自下组的取代基取代：-D、卤素、-OH、-NO₂、-NH₂、-N(未取代或卤代的C1-C6烷基)₂、-CN、未取代或卤代的C1-C8烷基、未取代或卤代的C1-C8烷氧基、未取代或卤代的C1-C8烷氧基-C1-C8烷基、未取代或卤代的C3-C8环烷基、未取代或卤代的C3-C8环烷基-C1-C8烷基、未取代或卤代的C1-C6烷基羰基、未取代或卤代的C1-C6烷氧基羰基、异羟肟酸基、未取代或卤代的C1-C6烷基巯基、-S(O)₂N(未取代或卤代的C1-C6烷基)₂、-S(O)₂未取代或卤代的C1-C6烷基、-N(未取代或卤代的C1-C6烷基)S(O)₂N(未取代或卤代的C1-C6烷基)₂、-S(O)N(未取代或卤代的C1-C6烷基)₂、-S(O)(未取代或卤代的C1-C6烷基)、-N(未取代或卤代的C1-C6烷基)S(O)N(未取代或卤代的C1-C6烷基)₂、-N(未取代或卤代的C1-C6烷基)S(O)(未取代或卤代的C1-C6烷基)、未取代或卤代的5~8元芳基、未取代或卤代的5~8元杂芳基、未取代或卤代的4~8元饱和杂环或碳环；其中，所述的杂芳基包含1-4个选自下组的杂原子：N、O或S，所述的杂环包含1-4个选自下组的杂原子：N、O或S。

[0019] 作为一种优选的实施方式，本发明所述的化合物，或其药学上可接受的盐，或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、同位素取代物、多晶型物、前药或代谢产物具有如下使Ia所示的结构：



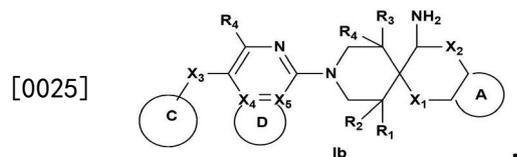
[0021] 其中，

[0022] R_4 和 R_5 分别独立的选自H、D、-CN、卤素、-OH、-(取代或未取代的C1-C6烷基)羟基、取代或未取代的氨基、取代或未取代的C1-C6烷基、取代或未取代的C1-C6烷氧基、取代或未取

代的C3-C8环烷基、取代或未取代的C4-C8环烯基、取代或未取代的C2-C6炔基、取代或未取代的C1-C6烷氧基羰基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的5-10元杂环基、取代或未取代的5-10元杂芳环基,所述的杂环基或杂芳基包含1-4个选自下组的杂原子:N、O、S或P;

[0023] 上述的任一“取代”指基团上的一个或多个氢原子被选自下组的取代基取代:-D、卤素、-OH、-NO₂、-NH₂、-N(未取代的C1-C6烷基)₂、-CN、未取代或卤代的C1-C8烷基、未取代或卤代的C1-C8烷氧基、未取代或卤代的C1-C8烷氧基-C1-C8烷基、未取代或卤代的C3-C8环烷基、未取代或卤代的C3-C8环烷基-C1-C8烷基、未取代或卤代的C1-C6烷基羰基、未取代或卤代的C1-C6烷氧基羰基、异羟肟酸基、未取代或卤代的C1-C6烷基巯基、-S(O)₂N(未取代或卤代的C1-C6烷基)₂、-S(O)₂未取代或卤代的C1-C6烷基、-N(未取代或卤代的C1-C6烷基)S(O)₂N(未取代或卤代的C1-C6烷基)₂、-S(O)N(未取代或卤代的C1-C6烷基)₂、-S(O)(未取代或卤代的C1-C6烷基)、-N(未取代或卤代的C1-C6烷基)S(O)N(未取代或卤代的C1-C6烷基)₂、-N(未取代或卤代的C1-C6烷基)S(O)(未取代或卤代的C1-C6烷基)、未取代或卤代的5~6元芳基、未取代或卤代的5~6元杂芳基、未取代或卤代的4~6元饱和杂环或碳环;其中,所述的杂芳基包含1-3个选自下组的杂原子:N、O或S,所述的杂环包含1-3个选自下组的杂原子:N、O或S。

[0024] 作为另一种优选的实施方式,本发明所述的化合物,或其药学上可接受的盐,或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、同位素取代物、多晶型物、前药或代谢产物具有如下使Ib所示的结构:



[0026] 其中,

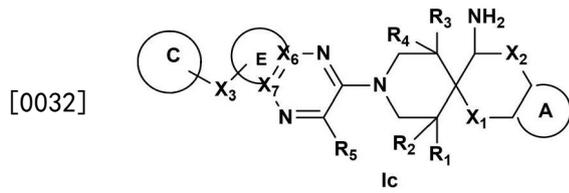
[0027] R₄选自H、D、-CN、卤素、-OH、-(取代或未取代的C1-C6烷基)羟基、取代或未取代的氨基、取代或未取代的C1-C6烷基、取代或未取代的C1-C6烷氧基、取代或未取代的C3-C8环烷基、取代或未取代的C4-C8环烯基、取代或未取代的C2-C6炔基、取代或未取代的C1-C6烷氧基羰基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的5-10元杂环基、取代或未取代的5-10元杂芳环基,所述的杂环基或杂芳基包含1-4个选自下组的杂原子:N、O、S或P;

[0028] X₄和X₅分别独立的选自C、N,且不同时为N;

[0029] 环D选自取代或未取代的4-8元杂环基、取代或未取代的4-8元碳环基、取代或未取代的5-10元芳基、取代或未取代的5-10元杂芳基;其中,所述的杂环基或杂芳基包含1-3个选自下组的杂原子:N、O、S或P;

[0030] 上述的任一“取代”的定义如上文中所述。

[0031] 作为另一种优选的实施方式,本发明所述的化合物,或其药学上可接受的盐,或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、同位素取代物、多晶型物、前药或代谢产物具有如下使Ic所示的结构:



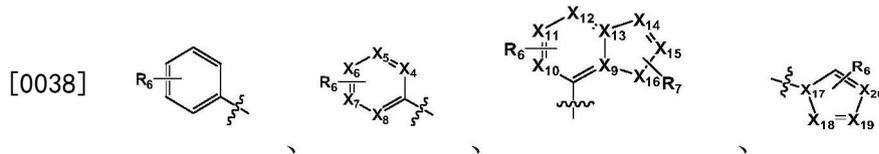
[0033] 其中,

[0034] R_5 选自H、D、-CN、卤素、-OH、-(取代或未取代的C1-C6烷基)羟基、取代或未取代的氨基、取代或未取代的C1-C6烷基、取代或未取代的C1-C6烷氧基、取代或未取代的C3-C8环烷基、取代或未取代的C4-C8环烯基、取代或未取代的C2-C6炔基、取代或未取代的C1-C6烷氧基羰基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的5-10元杂环基、取代或未取代的5-10元杂芳环基,所述的杂环基或杂芳基包含1-4个选自下组的杂原子:N、O、S或P;

[0035] 环E选自取代或未取代的4-8元杂环基、取代或未取代的4-8元碳环基、取代或未取代的C5-10芳基、取代或未取代的5-10元杂芳基;其中,所述的杂环基或杂芳基包含1-3个选自下组的杂原子:N、O、S或P;

[0036] 上述的任一“取代”的定义如上文中所述。

[0037] 作为一种优选的实施方式,所述的环C选自下组中的任意一个:



[0039] 其中, X_4 、 X_5 、 X_6 、 X_7 和 X_8 分别独立的选自N或CRd;且至多同时3个为N;

[0040] X_9 、 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 、 X_{15} 、 X_{16} 分别独立的选自N或CRd;且至多同时5个为N;

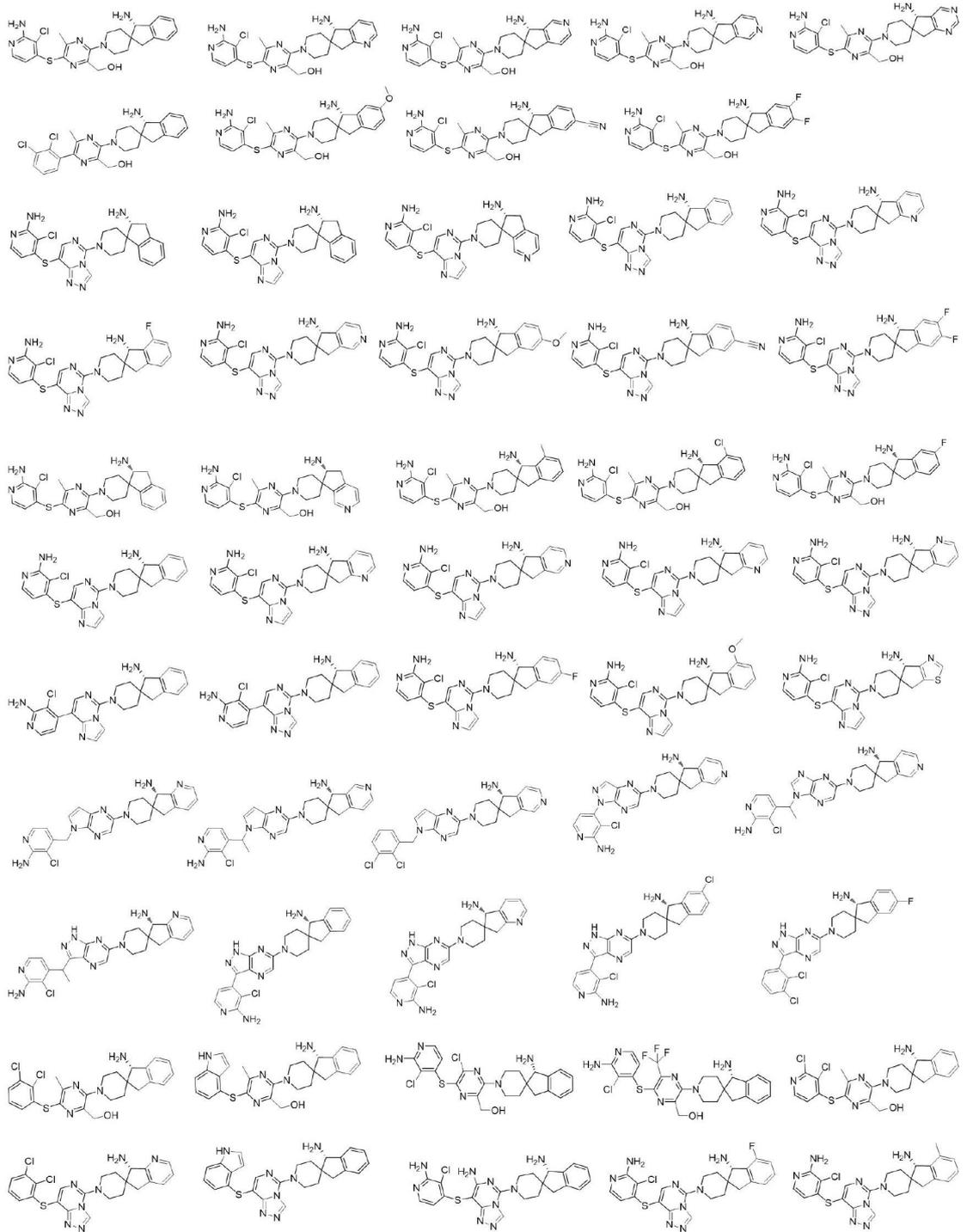
[0041] X_{17} 、 X_{18} 、 X_{19} 和 X_{20} 分别独立的选自N或CRd,且至多同时3个为N;

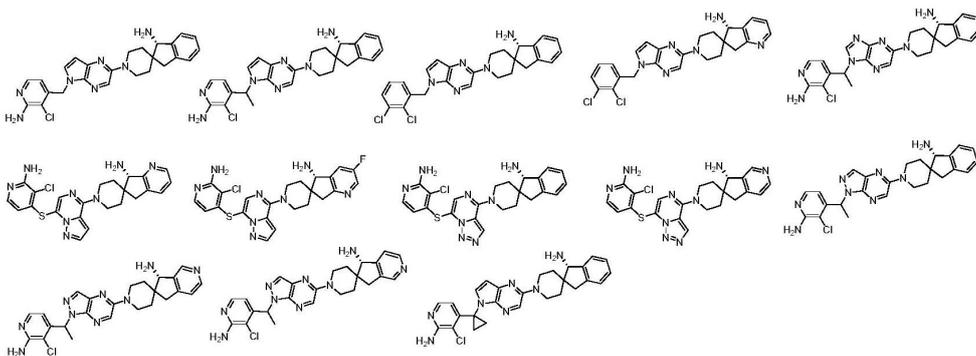
[0042] R_6 、 R_7 分别独立的选自:H、氨基、-CN、-OH、C1-C6烷基羰基、-NO₂、卤素、未取代或卤代的C1-C6烷基、未取代或卤代的C1-C6烷氧基;且 R_6 的个数为1-3个, R_7 的个数为1-2个;

[0043] 上述的Rd选自H、卤素、未取代或卤代的C1-C6烷基、未取代或卤代的C1-C6烷氧基。

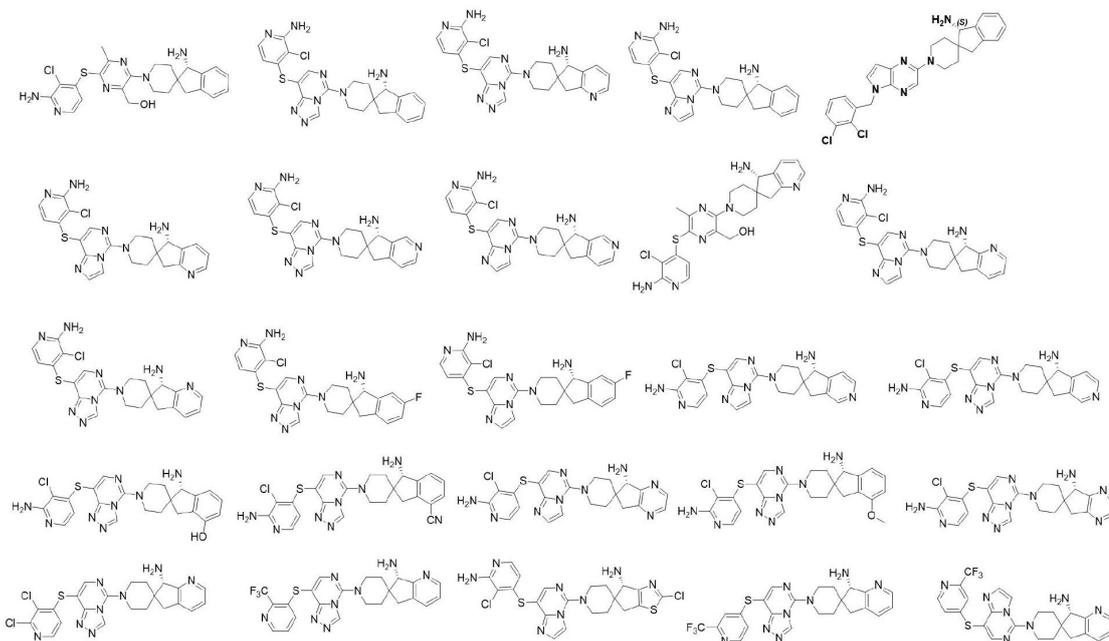
[0044] 作为进一步的优选实施方式,所述的化合物选自如下结构:

[0045]





[0046]



[0047] 作为进一步的优选实施方式,所述的化合物选自如下:

[0048] (S) - (3 - (1 - 氨基 - 1,3 - 二氢螺[茛-2,4' - 哌啶] - 1' - 基) - 6 - ((2 - 氨基 - 3 氯吡啶 - 4 - 基) 硫代) - 5 - 甲基吡嗪 - 2 - 基甲醇)

[0049] (S) - 1' - (8 - ((2 - 氨基 - 3 - 氯吡啶 - 4 - 基) 硫代) - [1,2,4] 三氮唑[4,3 - c] 嘧啶 - 5 - 基) - 1,3 - 二氢螺[茛-2,4' - 哌啶] - 1 - 胺

[0050] (S) - 1' - (8 - ((2 - 氨基 - 3 - 氯吡啶 - 4 - 基) 硫代) - [1,2,4] 三氮唑[4,3 - c] 嘧啶 - 5 - 基) - 5,7 - 二氢螺[环戊二烯[b]吡啶 - 6,4' - 哌啶] - 5 - 胺

[0051] (S) - 1' - (8 - ((2 - 氨基 - 3 - 氯吡啶 - 4 - 基) 硫代) 咪唑[1,2 - c] 嘧啶 - 5 - 基) - 1,3 - 二氢螺[茛-2,4' - 哌啶] - 1 - 胺

[0052] (S) - 1' - (5 - (2,3 - 二氯苯基) - 5 - 氢 - 吡咯[2,3 - b] 吡嗪 - 2 - 基) - 1,3 - 二氢螺[茛-2,4' - 哌啶] - 1 - 胺

[0053] (S) - 1' - (8 - ((2 - 氨基 - 3 - 氯吡啶 - 4 - 基) 硫代) 咪唑并[1,2 - c] 嘧啶 - 5 - 基) - 5,7 - 二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶 - 6,4' - 哌啶] - 5 - 胺

[0054] (S) - 1' - (8 - ((2 - 氨基 - 3 - 氯吡啶 - 4 - 基) 硫代) - [1,2,4] 三唑并[4,3 - c] 嘧啶 - 5 -

基)-5-,7-二氢螺[环戊二烯并[c]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺

[0055] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊[c]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺

[0056] (S)-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-3-(5-氨基-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-1'-基)-5-甲基吡嗪-2-基)甲醇

[0057] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺

[0058] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5-,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺

[0059] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-6-氟-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺

[0060] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑[1,2-c]嘧啶-5-基)-6-氟-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺

[0061] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊[c]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺的合成

[0062] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5-,7-二氢螺[环戊二烯并[c]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺

[0063] (S)-1-氨基-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-4-醇

[0064] (S)-1-氨基-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-4-腈

[0065] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺

[0066] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-甲氧基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺

[0067] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5-,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺

[0068] (S)-1'-(8-(2,3-二氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]-三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺

[0069] (S)-1'-(8-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)-[1,2,4]-三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺

[0070] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,5-c]嘧啶-5-基)-2-氯-4,6-二氢螺[环戊二烯并[d]噻唑-5,4'-哌啶]-4-胺

[0071] (S)-1'-(8-((2-(三氟甲基)吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]-三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺

[0072] (S)-1'-(8-((2-(三氟甲基)吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺

[0073] 作为一种优选的实施方式,本发明所述化合物的同位素取代物,其同位素取代选自下组:氢、碳、氮、氧、磷、氟、氯和碘;优选为²H、³H、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸F、³¹P、³²P、³⁵S、³⁶Cl或

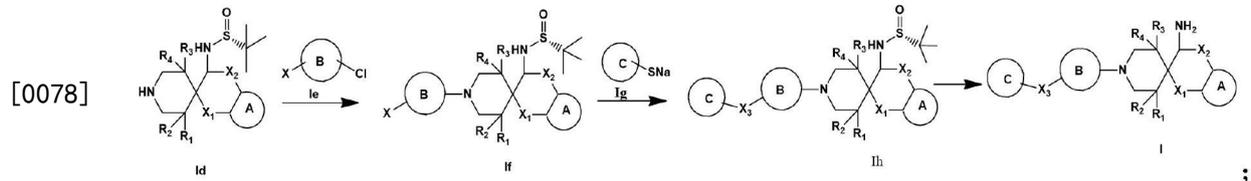
¹²⁵I。

[0074] 本发明的第二方面,提供了一种制备本发明所述的式I化合物的方法,其特征在于,所述方法包括如下步骤:

[0075] i) 式Id与式Ie发生亲核取代反应得到式If;

[0076] ii) 式If与式Ig发生取代反应得到式Ih;

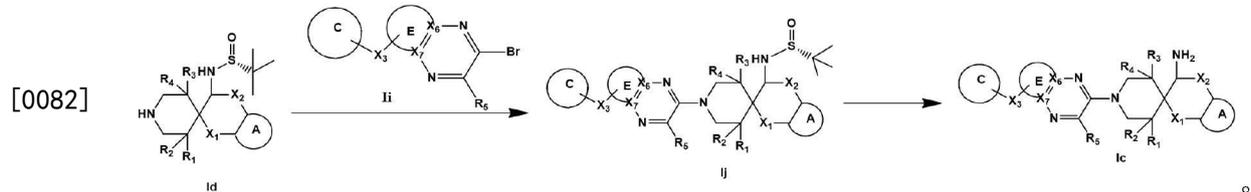
[0077] iii) 式Ih用酸脱除保护得到式I化合物:



[0079] 作为一种优选的实施方式,提供了一种制备本发明所述的式Ic化合物的方法,其特征在于,所述方法包括如下步骤:

[0080] i) 式Id与式Ii发生亲核取代反应得到式Ij;

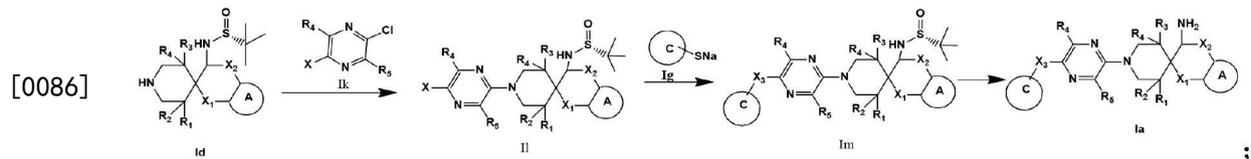
[0081] ii) 式Ij用酸脱除保护得到式Ic化合物:



[0083] 作为一种优选的实施方式,提供了一种制备本发明所述的式Ia化合物的方法,其特征在于,所述方法包括如下步骤:

[0084] i) 式Id与式Ik发生亲核取代反应得到式Il;

[0085] ii) 式Il与式Ig发生取代反应得到式Im;然后式Im用酸脱除保护得到式Ia化合物:



性大细胞淋巴瘤或成胶质细胞瘤。

[0096] 本发明的第四方面,提供了一种药物组合物,所述的药物组合物包括:

[0097] (i) 有效量的式I化合物,或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、同位素取代物、前药或代谢产物;和

[0098] (ii) 药学上可接受的载体。

[0099] 本发明的第五方面,提供了一种抑制SHP2活性的方法,所述的方法包括如下步骤:对抑制对象施用抑制有效量的如本发明第一方面所述的式I化合物或其药学上可接受的盐,或对抑制对象施用有效量的如本发明第三方面所述的药物组合物。

[0100] 应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

具体实施方式

[0101] 本发明人经过长期而深入的研究,制备了一类具有式I所示的新颖的变构抑制剂化合物,其能够通过和SHP2非催化区域的结合并“锁”住SHP2活性很弱的自抑制状态,从而达到抑制其活性的目的。本发明所述的化合物表现出很好的生物活性及可成药性,具有很好的药物开发前景,其在极低浓度(可低至 $\leq 100\text{nM/L}$)下,即对SHP2产生抑制作用,抑制活性相当优异,因而可以用于治疗与SHP2相关的疾病或病症,如肿瘤。基于上述发现,发明人完成了本发明。

[0102] 术语

[0103] 除非另有定义,否则本文所有科技术语具有的涵义与权利要求主题所属领域技术人员通常理解的涵义相同。除非另有说明,本文全文引用的所有专利、专利申请、公开材料通过引用方式整体并入本文。

[0104] 应理解,上述简述和下文的详述为示例性且仅用于解释,而不对本发明主题作任何限制。在本申请中,除非另有具体说明,否则使用单数时也包括复数。必须注意,除非文中另有清楚的说明,否则在本说明书和权利要求书中所用的单数形式包括所指事物的复数形式。还应注意,除非另有说明,否则所用“或”、“或者”表示“和/或”。此外,所用术语“包括”以及其它形式,例如“包含”、“含”和“含有”并非限制性,其可以是开放式、半封闭式和封闭式的。换言之,所述术语也包括“基本上由...构成”、或“由...构成”之义。

[0105] 可在参考文献(包括Carey and Sundberg“ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY 4TH ED.”Vols.A(2000)and B(2001),Plenum Press,New York)中找到对标准化学术语的定义。除非另有说明,否则采用本领域技术范围内的常规方法,如质谱、NMR、IR和UV/VIS光谱法和药理学方法。除非提出具体定义,否则本文在分析化学、有机合成化学以及药物和药物化学的有关描述中采用的术语是本领域已知的。可在化学合成、化学分析、药物制备、制剂和递送,以及对患者的治疗中使用标准技术。例如,可利用厂商对试剂盒的使用说明,或者按照本领域公知的方式或本发明的说明来实施反应和进行纯化。通常可根据本说明书中引用和讨论的多个概要性和较具体的文献中的描述,按照本领域熟知的常规方法实施上述技术和方法。在本说明书中,可由本领域技术人员选择基团及其取代基以提供稳定的结构部分和化合物。

[0106] 当通过从左向右书写的常规化学式描述取代基时,该取代基也同样包括从右向左书写结构式时所得到的在化学上等价的取代基。举例而言, $-\text{CH}_2\text{O}-$ 等同于 $-\text{OCH}_2-$ 。

[0107] 本文所用的章节标题仅用于组织文章的目的,而不应被解释为对所述主题的限制。本申请中引用的所有文献或文献部分包括但不限于专利、专利申请、文章、书籍、操作手册和论文,均通过引用方式整体并入本文。

[0108] 在本文中定义的某些化学基团前面通过简化符号来表示该基团中存在的碳原子总数。例如,C1-C6烷基是指具有总共1至6个碳原子的如下文所定义的烷基。简化符号中的碳原子总数不包括可能存在于所述基团的取代基中的碳。

[0109] 除前述以外,当用于本申请的说明书及权利要求书中时,除非另外特别指明,否则以下术语具有如下所示的含义。

[0110] 在本申请中,术语“卤素”是指氟、氯、溴或碘。

[0111] “羟基”是指-OH基团。

[0112] “羟基烷基”是指被羟基(-OH)取代的如下文所定义的烷基。

[0113] “羰基”是指-C(=O)-基团。

[0114] “硝基”是指-NO₂。

[0115] “氰基”是指-CN。

[0116] “氨基”是指-NH₂。

[0117] “取代的氨基”是指被一个或两个如下文所定义的烷基、烷基羰基、芳烷基、杂芳烷基取代的氨基,例如,单烷基氨基、二烷基氨基、烷基酰氨基、芳烷基氨基、杂芳烷基氨基。

[0118] “羧基”是指-COOH。

[0119] 在本申请中,作为基团或是其它基团的一部分(例如用在卤素取代的烷基等基团中),术语“烷基”是指完全饱和的直链或支链的烃链基,仅由碳原子和氢原子组成、具有例如1至12个(优选为1至8个,更优选为1至6个)碳原子,且通过单键与分子的其余部分连接,例如包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、2-甲基丁基、2,2-二甲基丙基、正己基、庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、辛基、壬基和癸基等。就本发明而言,术语“烷基”指含有1至8个碳原子的烷基。

[0120] 在本申请中,作为基团或是其它基团的一部分,术语“烯基”意指仅由碳原子和氢原子组成、含有至少一个双键、具有例如2至20个(优选为2至10个,更优选为2至6个)碳原子且通过单键与分子的其余部分连接的直链或支链的烃链基团,例如但不限于乙烯基、丙烯基、烯丙基、丁-1-烯基、丁-2-烯基、戊-1-烯基、戊-1,4-二烯基等。

[0121] 在本申请中,作为基团或是其它基团的一部分,术语“环烷基”意指仅由碳原子和氢原子组成的稳定的非芳香族单环或多环烷基,其可包括稠合环体系、桥环体系或螺环体系,具有3至15个碳原子,优选具有3至10个碳原子,更优选具有3至8个碳原子,且其为饱和或不饱和并可经由任何适宜的碳原子通过单键与分子的其余部分连接。除非本说明书中另外特别指明,环烷基中的碳原子可以任选地被氧化。环烷基的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基、环庚基、环辛基、1H-茛基、2,3-二氢化茛基、1,2,3,4-四氢-萘基、5,6,7,8-四氢-萘基、8,9-二氢-7H-苯并环庚烯-6-基、6,7,8,9-四氢-5H-苯并环庚烯基、5,6,7,8,9,10-六氢-苯并环辛烯基、茛基、二环[2.2.1]庚基、7,7-二甲基-二环[2.2.1]庚基、二环[2.2.1]庚烯基、二环[2.2.2]辛基、二环[3.1.1]庚基、

二环[3.2.1]辛基、二环[2.2.2]辛烯基、二环[3.2.1]辛烯基、金刚烷基、八氢-4,7-亚甲基-1H-茛基和八氢-2,5-亚甲基-并环戊二烯基等。

[0122] 在本申请中,作为基团或是其它基团的一部分,术语“杂环基”意指由2至14个碳原子以及1至6个选自氮、磷、氧和硫的杂原子组成的稳定的3元至20元非芳香族环状基团。除非本说明书中另外特别指明,否则杂环基可以为单环、双环、三环或更多环的环体系,其可包括稠合环体系、桥环体系或螺环体系;其杂环基中的氮、碳或硫原子可任选地被氧化;氮原子可任选地被季铵化;且杂环基可为部分或完全饱和。杂环基可以经由碳原子或者杂原子并通过单键与分子其余部分连接。在包含稠环的杂环基中,一个或多个环可以是下文所定义的芳基或杂芳基,条件是分子其余部分的连接点为非芳香族环原子。就本发明的目的而言,杂环基优选为包含1至3个选自氮、氧和硫的杂原子的稳定的4元至11元非芳香性单环、双环、桥环或螺环基团,更优选为包含1至3个选自氮、氧和硫的杂原子的稳定的4元至8元非芳香性单环、双环、桥环或螺环基团。杂环基的实例包括但不限于:吡咯烷基、吗啉基、哌嗪基、高哌嗪基、哌啶基、硫代吗啉基、2,7-二氮杂-螺[3.5]壬烷-7-基、2-氧杂-6-氮杂-螺[3.3]庚烷-6-基、2,5-二氮杂-双环[2.2.1]庚烷-2-基、氮杂环丁烷基、吡喃基、四氢吡喃基、噻喃基、四氢呋喃基、噁嗪基、二氧环戊基、四氢异喹啉基、十氢异喹啉基、咪唑啉基、咪唑烷基、喹啉基、噻唑烷基、异噻唑烷基、异噁唑烷基、二氢吡啶基、八氢吡啶基、八氢异吡啶基、吡咯烷基、吡唑烷基、邻苯二甲酰亚氨基等。

[0123] 在本申请中,作为基团或是其它基团的一部分,术语“芳基”意指具有6至18个碳原子(优选具有6至10个碳原子)的共轭烃环体系基团。就本发明的目的而言,芳基可以为单环、双环、三环或更多环的环体系,还可以与上文所定义的环境基或杂环基稠合,条件是芳基经由芳香环上的原子通过单键与分子的其余部分连接。芳基的实例包括但不限于苯基、萘基、蒽基、菲基、芴基、2,3-二氢-1H-异吡啶基、2-苯并噁唑啉酮、2H-1,4-苯并噁嗪-3(4H)-酮-7-基等。

[0124] 在本申请中,术语“芳基烷基”是指被上文所定义的芳基所取代的上文所定义的烷基。

[0125] 在本申请中,作为基团或是其它基团的一部分,术语“杂芳基”意指环内具有1至15个碳原子(优选具有1至10个碳原子)和1至6个选自氮、氧和硫的杂原子的5元至16元共轭环系基团。除非本说明书中另外特别指明,否则杂芳基可为单环、双环、三环或更多环的环体系,还可以与上文所定义的环境基或杂环基稠合,条件是杂芳基经由芳香环上的原子通过单键与分子的其余部分连接。杂芳基中的氮、碳或硫原子可任选地被氧化;氮原子可任选地被季铵化。就本发明的目的而言,杂芳基优选为包含1至5个选自氮、氧和硫的杂原子的稳定的5元至12元芳香性基团,更优选为包含1至4个选自氮、氧和硫的杂原子的稳定的5元至10元芳香性基团或者包含1至3个选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元芳香性基团。杂芳基的实例包括但不限于噻吩基、咪唑基、吡唑基、噻唑基、噁唑基、噁二唑基、异噁唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、苯并咪唑基、苯并吡唑基、吡啶基、咪唑基、三唑基、四唑基、三嗪基、吡嗪基、异吡啶基、吡啶基、异吡啶基、嘌呤基、喹啉基、异喹啉基、二氮萘基、萘啶基、喹啉基、蝶啶基、吡啶基、吡嗪基、菲啶基、菲咯啉基、吡啶基、吩嗪基、异噻唑基、苯并噻唑基、苯并噻吩基、噁三唑基、噁唑基、喹啉基、苯硫基、中氮茛基、邻二氮杂菲基、异噁唑基、吩噁嗪基、吩噻嗪基、4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩基、萘并吡啶基、[1,2,4]三唑并

[4,3-b]哒嗪、[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡嗪、[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶、[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡啶、咪唑并[1,2-a]吡啶、咪唑并[1,2-b]哒嗪、咪唑并[1,2-a]吡嗪等。

[0126] 在本申请中,术语“杂芳基烷基”是指被上文所定义的杂芳基所取代的上文所定义的烷基。

[0127] 在本申请中,“任选地”或“任择地”表示随后描述的事件或状况可能发生也可能不发生,且该描述同时包括该事件或状况发生和不发生的情况。例如,“任选地被取代的芳基”表示芳基被取代或未被取代,且该描述同时包括被取代的芳基与未被取代的芳基。本发明专利要求书和说明书部分所述的“任选地”的取代基选自烷基、烯基、炔基、卤素、卤代烷基、卤代烯基、卤代炔基、氰基、硝基、任择取代的芳基、任择取代的杂芳基、任择取代的环烷基、任择取代的杂环烷基。

[0128] “SHP2”指“Src Homolgy-2磷酸酶”,还叫SH-PTP2、SH-PT3、Syp、PTP1D、PTP2C、SAP-2或PTPN11。

[0129] 本文所用术语“部分”、“结构部分”、“化学部分”、“基团”、“化学基团”是指分子中的特定片段或官能团。化学部分通常被认为是嵌入或附加到分子上的化学实体。

[0130] “立体异构体”是指由相同原子组成,通过相同的键键合,但具有不同三维结构的化合物。本发明将涵盖各种立体异构体及其混合物。

[0131] 当本发明的化合物中含有烯双键时,除非另有说明,否则本发明的化合物旨在包含E-和Z-几何异构体。

[0132] “互变异构体”是指质子从分子的一个原子转移至相同分子的另一个原子而形成的异构体。本发明的化合物的所有互变异构形式也将包含在本发明的范围内。

[0133] 本发明的化合物或其药学上可接受的盐可能含有一个或多个手性碳原子,且因此可产生对映异构体、非对映异构体及其它立体异构形式。每个手性碳原子可以基于立体化学而被定义为(R)-或(S)-。本发明旨在包括所有可能的异构体,以及其外消旋体和光学纯形式。本发明的化合物的制备可以选择外消旋体、非对映异构体或对映异构体作为原料或中间体。光学活性的异构体可以使用手性合成子或手性试剂来制备,或者使用常规技术进行拆分,例如采用结晶以及手性色谱等方法。

[0134] 制备/分离个别异构体的常规技术包括由合适的光学纯前体的手性合成,或者使用例如手性高效液相色谱法拆分外消旋体(或盐或衍生物的外消旋体),例如可参见Gerald Gübitz and Martin G.Schmid(Eds.),Chiral Separations,Methods and Protocols,Methods in Molecular Biology,Vol.243,2004;A.M.Stalcup,Chiral Separations,Annu.Rev.Anal.Chem.3:341-63,2010;Fumiss et al.(eds.),VOGEL'S ENCYCLOPEDIA OF PRACTICAL ORGANIC CHEMISTRY 5.sup.TH ED.,Longman Scientific and Technical Ltd.,Essex,1991,809-816;Heller,Acc.Chem.Res.1990,23,128。

[0135] 本发明还包括本发明所述的化合物或其药学上可接受的盐的所有适宜的同位素变体。本发明的化合物或其药学上可接受的盐的同位素变体被定义为其中至少一个原子被具有相同原子数、但原子质量与自然界经常发现的原子质量不同的原子所替换的那些。可以掺入到本发明的化合物及其药学上可接受的盐中的同位素包括但不限于H、C、N和O的同位素,例如²H、³H、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁷O、¹⁸O、³⁵S、¹⁸F、³⁶Cl和¹²⁵I。本发明所述化合物或其药学上可接受的盐的同位素变体可以通过常规技术、采用适宜试剂的适当同位素变体来制备。

[0136] 在本申请中,术语“药学上可接受的盐”包括药学上可接受的酸加成盐和药学上可接受的碱加成盐。

[0137] “药学上可接受的酸加成盐”是指能够保留游离碱的生物有效性而无其它副作用的,与无机酸或有机酸所形成的盐。无机酸盐包括但不限于盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、硝酸盐、磷酸盐等;有机酸盐包括但不限于甲酸盐、乙酸盐、2,2-二氯乙酸盐、三氟乙酸盐、丙酸盐、己酸盐、辛酸盐、癸酸盐、十一碳烯酸盐、乙醇酸盐、葡糖酸盐、乳酸盐、癸二酸盐、己二酸盐、戊二酸盐、丙二酸盐、草酸盐、马来酸盐、琥珀酸盐、富马酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、油酸盐、肉桂酸盐、月桂酸盐、苹果酸盐、谷氨酸盐、焦谷氨酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐、海藻酸盐、抗坏血酸盐、水杨酸盐、4-氨基水杨酸盐、萘二磺酸盐等。这些盐可通过本专业已知的方法制备。

[0138] “药学上可接受的碱加成盐”是指能够保持游离酸的生物有效性而无其它副作用的、与无机碱或有机碱所形成的盐。衍生自无机碱的盐包括但不限于钠盐、钾盐、锂盐、铵盐、钙盐、镁盐、铁盐、锌盐、铜盐、锰盐、铝盐等。优选的无机盐为铵盐、钠盐、钾盐、钙盐及镁盐。衍生自有机碱的盐包括但不限于以下的盐:伯胺类、仲胺类及叔胺类,被取代的胺类,包括天然的被取代胺类、环状胺类及碱性离子交换树脂,例如氨、异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、二甲基乙醇胺、2-二甲氨基乙醇、2-二乙氨基乙醇、二环己胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡萄糖胺、甲基葡萄糖胺、可可碱、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶、聚胺树脂等。优选的有机碱包括异丙胺、二乙胺、乙醇胺、三甲胺、二环己基胺、胆碱及咖啡因。这些盐可通过本专业已知的方法制备。

[0139] 在本申请中,“药物组合物”是指本发明化合物与本领域通常接受的用于将生物活性化合物输送至哺乳动物(例如人)的介质的制剂。该介质包括药学上可接受的载体。药物组合物的目的是促进生物体的给药,利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

[0140] 本文所用术语“药学上可接受的”是指不影响本发明化合物的生物活性或性质的物质(如载体或稀释剂),并且相对无毒,即该物质可施用于个体而不造成不良的生物反应或以不良方式与组合物中包含的任意组分相互作用。

[0141] 在本申请中,“药学上可接受的赋形剂”包括但不限于任何被相关的政府管理部门许可为可接受供人类或家畜使用的佐剂、载体、赋形剂、助流剂、增甜剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、矫味剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、助悬剂、稳定剂、等渗剂、溶剂或乳化剂。

[0142] 本发明所述“肿瘤”包括但不限于努南综合症、豹综合症、青少年髓单核细胞白血病、成神经细胞瘤、肉瘤、黑色素瘤、关节软骨瘤、胆管瘤、白血病、乳腺癌、胃肠间质瘤、组织细胞性淋巴瘤、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、食道癌、胰腺癌、肺鳞癌、肺腺癌、乳腺癌、前列腺癌、肝癌、皮肤癌、上皮细胞癌、宫颈癌、卵巢癌、肠癌、鼻咽癌、脑癌、骨癌、肾癌、口腔癌/头癌、成神经细胞瘤、头颈的鳞状细胞癌、间变性大细胞淋巴瘤或成胶质细胞瘤等疾病。

[0143] 本文所用术语“预防的”、“预防”和“防止”包括使病患减少疾病或病症的发生或恶化的可能性。

[0144] 本文所用的术语“治疗”和其它类似的同义词包括以下含义:

[0145] (i) 预防疾病或病症在哺乳动物中出现,特别是当这类哺乳动物易患有该疾病或病症,但尚未被诊断为已患有该疾病或病症时;

[0146] (ii)抑制疾病或病症,即遏制其发展;

[0147] (iii)缓解疾病或病症,即,使该疾病或病症的状态消退;或者

[0148] (iv)减轻该疾病或病症所造成的症状。

[0149] 本文所使用术语“有效量”、“治疗有效量”或“药学有效量”是指服用后足以在某种程度上缓解所治疗的疾病或病症的一个或多个症状的至少一种药剂或化合物的量。其结果可以为迹象、症状或病因的消滅和/或缓解,或生物系统的任何其它所需变化。例如,用于治疗“有效量”是在临床上提供显著的病症缓解效果所需的包含本文公开化合物的组合物的量。可使用诸如剂量递增试验的技术测定适合于任意个体病例中的有效量。

[0150] 本文所用术语“服用”、“施用”、“给药”等是指能够将化合物或组合物递送到进行生物作用的所需位点的方法。这些方法包括但不限于口服途径、经十二指肠途径、胃肠外注射(包括静脉内、皮下、腹膜内、肌内、动脉内注射或输注)、局部给药和经直肠给药。本领域技术人员熟知可用于本文所述化合物和方法的施用技术,例如在Goodman and Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics, current ed.; Pergamon; and Remington's, Pharmaceutical Sciences (current edition), Mack Publishing Co., Easton, Pa中讨论的那些。在优选的实施方案中,本文讨论的化合物和组合物通过口服施用。

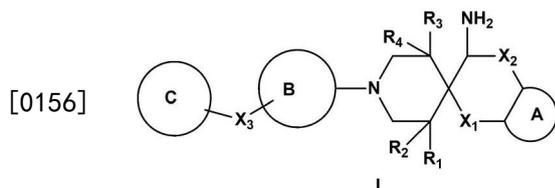
[0151] 本文所使用术语“药物组合”、“药物联用”、“联合用药”、“施用其它治疗”、“施用其它治疗剂”等是指通过混合或组合不止一种活性成分而获得的药物治疗,其包括活性成分的固定和不固定组合。术语“固定组合”是指以单个实体或单个剂型的形式向患者同时施用至少一种本文所述的化合物和至少一种协同药剂。术语“不固定组合”是指以单独实体的形式向患者同时施用、合用或以可变的间隔时间顺次施用至少一种本文所述的化合物和至少一种协同制剂。这些也应用到鸡尾酒疗法中,例如施用三种或更多种活性成分。

[0152] 本领域技术人员还应当理解,在下文所述的方法中,中间体化合物官能团可能需要由适当的保护基保护。这样的官能团包括羟基、氨基、巯基及羧酸。合适的羟基保护基包括三烷基甲硅烷基或二芳基烷基甲硅烷基(例如叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基或三甲基甲硅烷基)、四氢吡喃基、苄基等。合适的氨基、脒基及胍基的保护基包括叔丁氧羰基、苄氧羰基等。合适的巯基保护基包括-C(O)-R”(其中R”为烷基、芳基或芳烷基)、对甲氧基苄基、三苯甲基等。合适的羧基保护基包括烷基、芳基或芳烷基酯类。

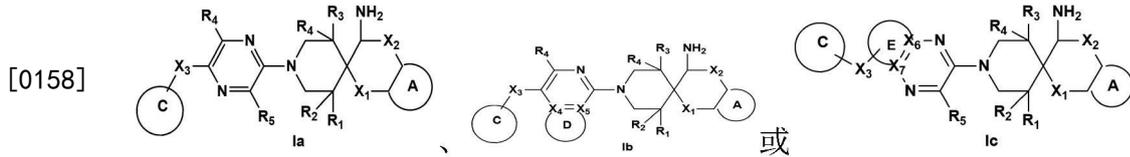
[0153] 保护基可根据本领域技术人员已知的和如本文所述的标准技术来引入和除去。保护基的使用详述于Greene, T.W. 与P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, (1999), 4th Ed., Wiley中。保护基还可为聚合物树脂。

[0154] 式I化合物

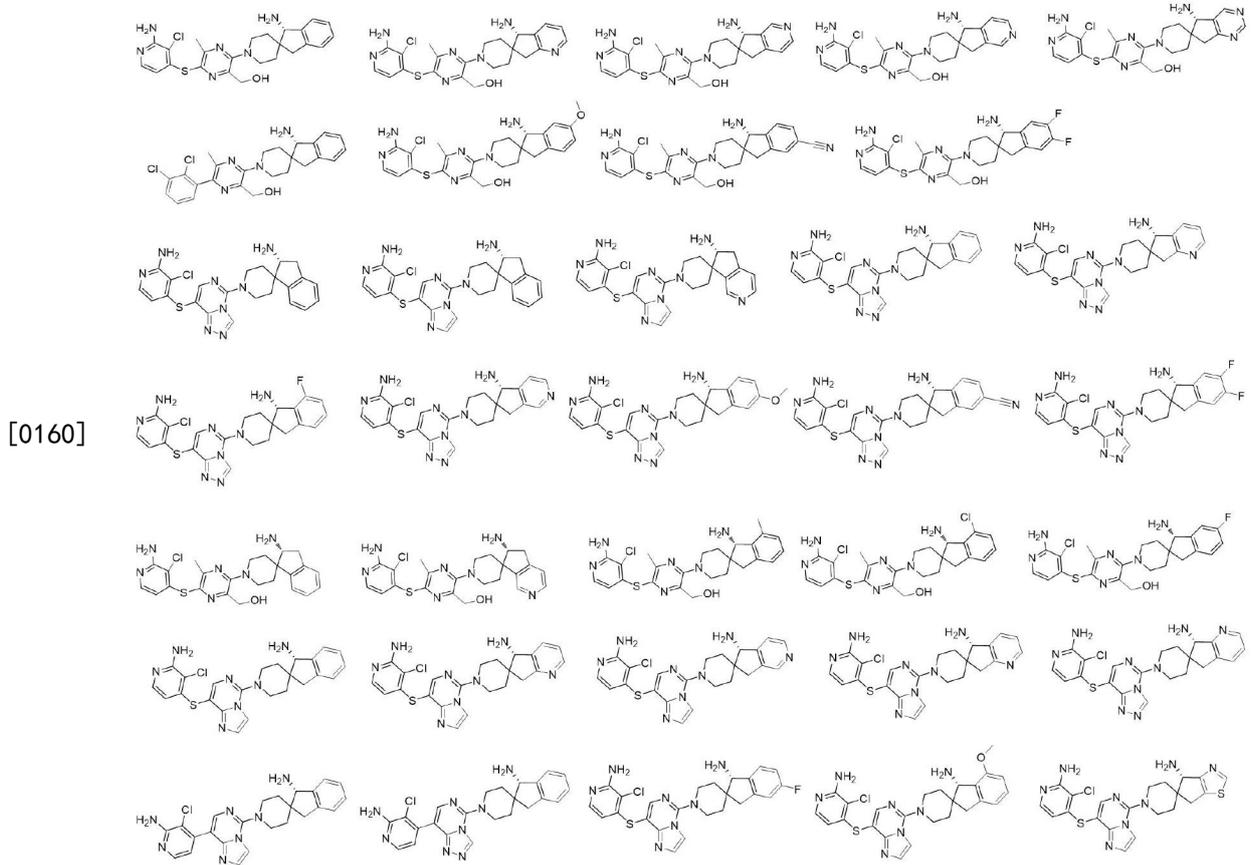
[0155] 本发明提供了一种式I所示的化合物,或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、同位素取代物、多晶型物、前药或代谢产物,

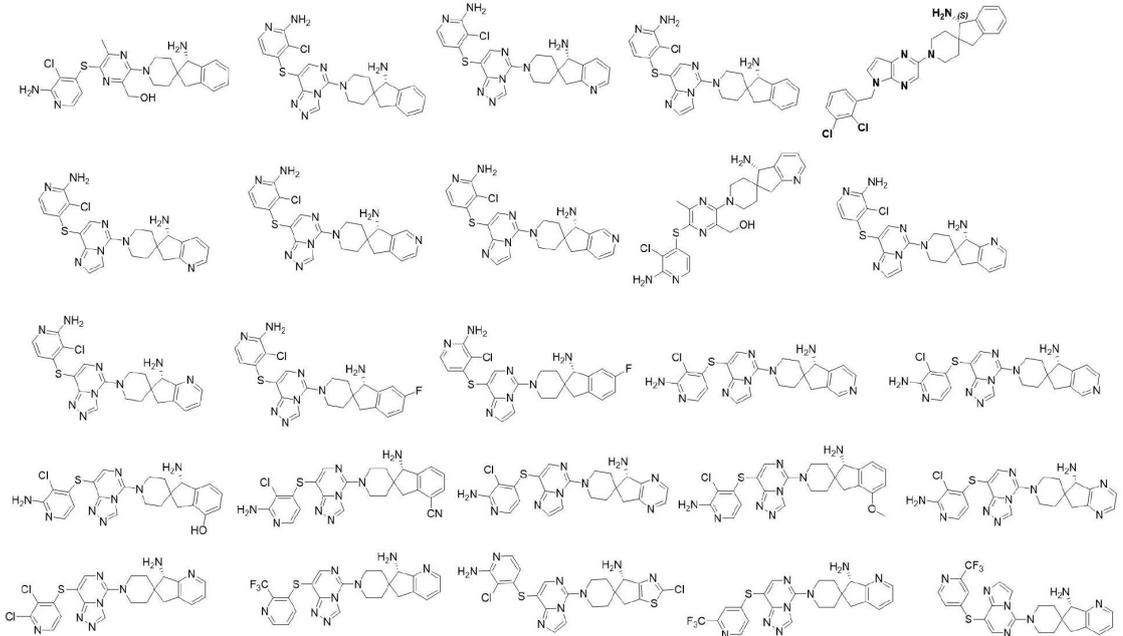
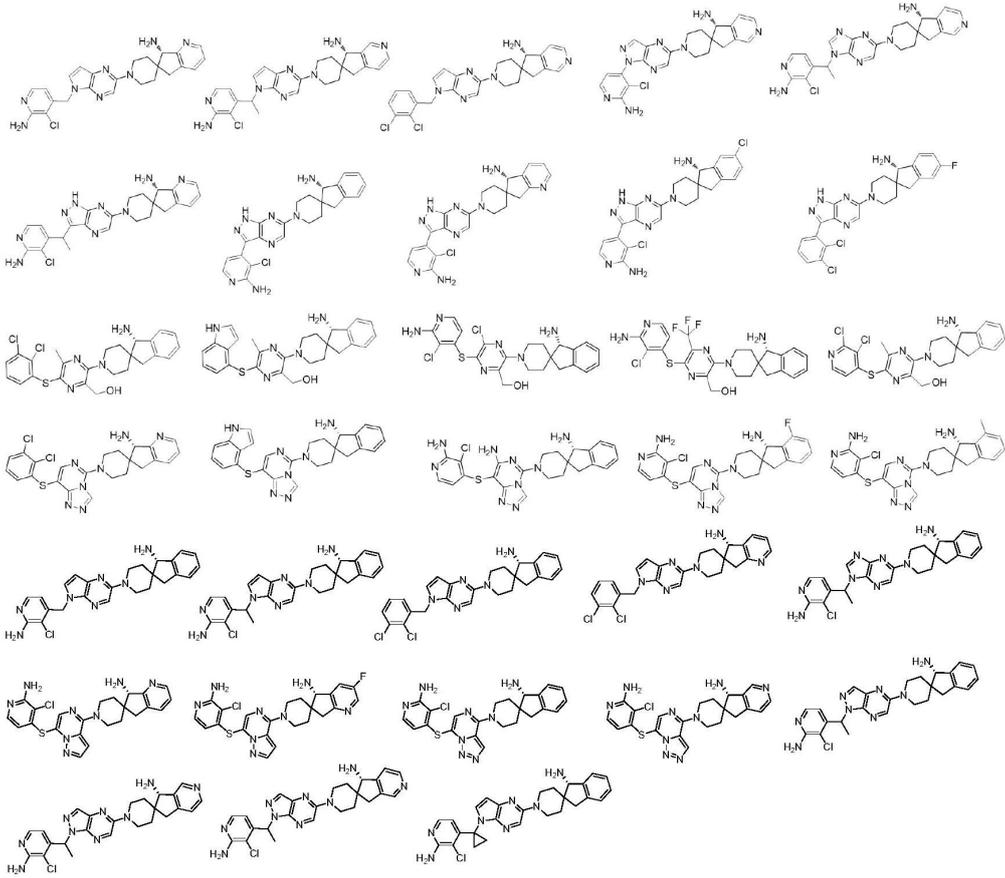


[0157] 在一些优选实施方式中,所述的式I化合物为如下结构:



[0159] 在另一优选实施方式中,所述的X1、X2、X3、X4、X5、X6、X7、R1、R2、R3、R4、R5,环A、环B、环C、环D、环E各自独立的为如下化合物所对应的基团:





[0162] 在另一优选实施方式中,所述的化合物选自如下:

[0163] (S) - (3 - (1-氨基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-基) -6 - ((2-氨基-3氯吡啶-4-基) 硫代) -5-甲基吡嗪-2-基甲醇)

- [0164] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三氮唑[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺
- [0165] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三氮唑[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺
- [0166] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺
- [0167] (S)-1'-(5-(2,3-二氯苯基)-5-氢-吡咯[2,3-b]吡嗪-2-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺
- [0168] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺
- [0169] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5-,7-二氢螺[环戊二烯并[c]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺
- [0170] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊[c]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺
- [0171] (S)-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-3-(5-氨基-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-1'-基)-5-甲基吡嗪-2-基)甲醇
- [0172] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺
- [0173] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5-,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺
- [0174] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-6-氟-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺
- [0175] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑[1,2-c]嘧啶-5-基)-6-氟-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺
- [0176] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊[c]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺的合成
- [0177] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5-,7-二氢螺[环戊二烯并[c]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺
- [0178] (S)-1-氨基-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-4-醇
- [0179] (S)-1-氨基-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-4-腈
- [0180] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪-6,4'-哌啶]-5-胺
- [0181] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-甲氧基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺
- [0182] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5-,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪-6,4'-哌啶]-5-胺
- [0183] (S)-1'-(8-(2,3-二氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]-三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,

7-二氢螺[环戊[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺

[0184] (S)-1'- (8-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)-[1,2,4]-三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺

[0185] (S)-1'- (8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,5-c]嘧啶-5-基)-2-氯-4,6-二氢螺[环戊二烯并[d]噻唑-5,4'-哌啶]-4-胺

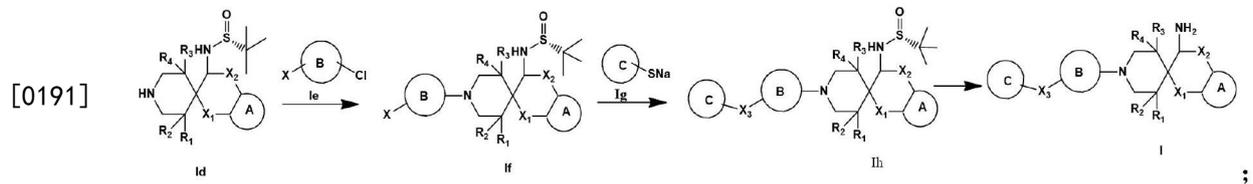
[0186] (S)-1'- (8-((2-(三氟甲基)吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]-三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺

[0187] (S)-1'- (8-((2-(三氟甲基)吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺

[0188] 式I化合物的制备

[0189] 本发明提供的所述的式I化合物,可通过如下的方法制备:

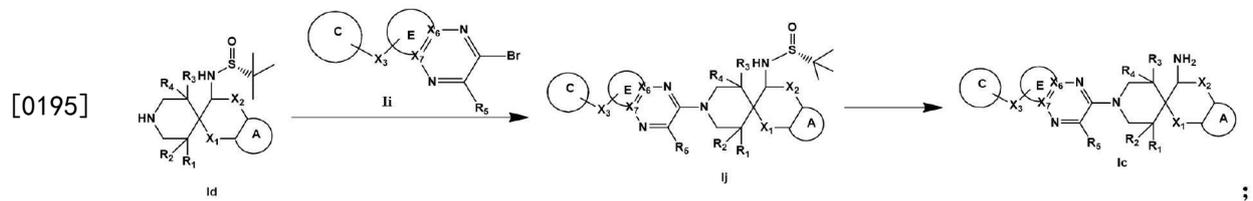
[0190] (a) 式Id与式Ie发生亲核取代反应得到式If;接着式If与式Ig发生取代反应得到式Ih;然后式Ih用酸脱除保护得到式I化合物:



[0192] 式中,各基团的定义如上文中所述;

[0193] 或者

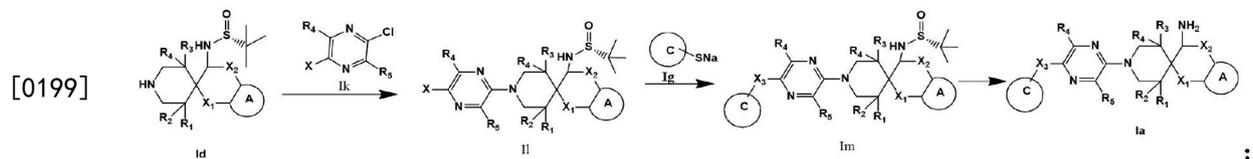
[0194] (b) 式Id与式Ii发生亲核取代反应得到式Ij;接着式Ij用酸脱除保护得到式Ic化合物:



[0196] 式中,各基团的定义如上文中所述。

[0197] 或者

[0198] (c) 式Id与式Ik发生亲核取代反应得到式Il;接着式Il与式Ig发生取代反应得到式Im;然后式Im用酸脱除保护得到式Ia化合物:



[0200] 式中,各基团的定义如上文中所述。

[0201] 药理学和用途

[0202] Src Homology-2磷酸酶(SHP2)是PTPN11基因所编码的蛋白酪氨酸磷酸酶,其促进多种细胞功能,包括增殖、分化、细胞周期维持和迁移。SHP2牵涉在经由Ras-有丝分裂原-激活的蛋白激酶、JAK-STAT或磷酸肌醇3-激酶-AKT途径的信号传导中。SHP2介导受体酪氨酸

激酶如ErbB1、ErbB2和c-Met的Erk1和Erk2MAP激酶的激活。

[0203] SHP2具有两个N-末端Src homology2结构域(N-SH2和C-SH2)、催化结构域(PTP)和C-末端尾。所述两个SH2结构域控制SHP2的亚细胞定位和功能调控。该分子以无活性构象存在,经由牵涉来自N-SH2和PTP结构域的残基的结合网络来抑制其自身活性。响应于生长因子的刺激,SHP2经由其SH2结构域结合停靠蛋白上的特定酪氨酸-磷酸化位点如Gab1和Gab2。这引起了构象变化,导致SHP2激活。

[0204] 已经在多种人类疾病中识别到了PTPN11中的突变,所述疾病例如有努南综合征、豹斑综合征、幼年型粒-单核细胞白血病、成神经细胞瘤、黑素瘤、急性髓样白血病以及乳房、肺和结肠的癌症。SHP2是多种受体酪氨酸激酶、包括血小板衍生生长因子(PDGF-R)、成纤维细胞生长因子(FGF-R)和表皮生长因子(EGF-R)的受体的重要下游信号分子。SHP2还是激活促分裂原活化蛋白(MAP)激酶途径的重要下游信号分子,其可导致细胞转化(癌发展的必要条件)。SHP2的敲减显著抑制了具有SHP2突变或EML4/ALK易位的肺癌细胞系以及EGFR扩增乳癌和食管癌的细胞生长。SHP2还是胃癌、间变型大细胞淋巴瘤和成胶质细胞瘤的癌基因的激活下游。

[0205] 努南综合征(NS)和豹斑综合征(LS)-PTPN11突变引起LS(多发性色素斑样痣综合征,心电图传导异常,两眼距离过远,肺动脉瓣狭窄,异常生殖器,生长迟缓,感音神经性耳聋)和NS(包括心脏缺陷、颅面骨畸形和身材矮小的先天异常)。这两种障碍是RAS/RAF/MEK/ERK有丝分裂原活化蛋白激酶途径(正常细胞生长和分化所需)的组分中的种系突变引起的常染色体显性综合征家族的一部分。该途径的异常调控具有深远的影响,特别是对心脏发育具有深远的影响,导致多种异常,包括瓣膜中隔缺陷(valvuloseptal defects)和/或肥厚型心肌病(HCM)。已经确定MAPK信号传导途径的扰动对于这些障碍而言是重要的,已经在人中识别出沿循该途径的一些候选基因,包括KRAS、NRAS、SOS1、RAF1、BRAF、MEK1、MEK2、SHOC2和CBL中的突变。在NS和LS中最常突变的基因是PTPN11。在~50%的NS病例中和几乎所有的具有NS的某些特征的LS患者中发现了PTPN11(SHP2)的种系突变。对于NS,蛋白质中的Y62D和Y63C是最常见的突变。这两种突变影响SHP2的无催化活性的构象,而不干扰磷酸酶与其磷酸化信号配偶体的结合。

[0206] 幼年型粒-单核细胞白血病(JMML)——在约35%的JMML(一种儿童期骨髓增生病(MPD))患者中发生PTPN11(SHP2)中的体细胞突变。这些功能获得性突变通常是N-SH2结构域或磷酸酶结构域中的点突变,其阻止催化结构域和N-SH2结构域之间的自我抑制,产生SHP2活性。

[0207] 急性髓样白血病——已经在~10%的儿科急性白血病如骨髓发育不良综合征(MDS)、~7%的B细胞急性淋巴母细胞白血病(B-ALL)和~4%的急性髓样白血病(AML)中识别出PTPN11突变。

[0208] NS和白血病突变引起位于由自身抑制SHP2构象中的N-SH2和PTP结构域所形成的界面处的氨基酸的变化,破坏抑制性分子内相互作用,导致催化结构域活动过度。

[0209] SHP2在受体酪氨酸激酶(RTK)信号传导中充当正调节剂。含有RTK改变(EGFR^{amp}, Her2^{amp}, FGFR^{amp}, Met^{amp}, 易位/活化的RTK,即ALK, BCR/ABL)的癌症包括食管癌、乳癌、肺癌、结肠癌、胃癌、神经胶质瘤、头颈癌。

[0210] 食管癌(或食道癌)是食管的恶性病。存在多种亚型,主要是鳞状细胞癌(<50%)和

腺癌。在食管腺癌和鳞状细胞癌中有高比率的RTK表达。因此,本发明的SHP2抑制剂可用于创新的治疗策略。

[0211] 乳癌是一种重要类型的癌症,并且是女性的主要死因,其中患者对现有药物出现抗性。存在四种主要的乳癌亚型,包括luminal A、luminal B、Her2lik和三阴/Basal-like。三阴乳癌(TNBC)是缺少特定靶向治疗的侵袭性乳癌。表皮生长因子受体I(EGFR)已经显现为TNBC中的有前景的靶标。Her2以及EGFR经由SHP2的抑制可以是乳癌的有前景的治疗。

[0212] 肺癌——NSCLC目前是癌症相关死亡率的重要原因。占约85%的肺癌(主要是腺癌和鳞状细胞癌)。虽然细胞毒性化学治疗仍然是治疗的重要部分,但是基于肿瘤中遗传改变如EGFR和ALK的靶向治疗更可能得益于靶向治疗。

[0213] 结肠癌——已知约30%至50%的结肠直肠肿瘤具有突变(异常)的KRAS,BRAF突变发生在10至15%的结肠直肠癌中。对于其结肠直肠肿瘤已经被证明过表达EGFR的患者亚群而言,这些患者呈现出对抗-EGFR疗法的有利的临床响应。

[0214] 胃癌是最流行的癌症类型之一。酪氨酸激酶的异常表达(如通过胃癌细胞中的异常酪氨酸磷酸化所反映的那样)是本领域已知的。在胃癌中经常扩增三种受体酪氨酸激酶,即c-met(HGF受体)、FGF受体2和erbB2/neu。因此,不同信号途径的破坏可促进不同胃癌类型的进程。

[0215] 成神经细胞瘤是发育中的交感神经系统的儿科肿瘤,占约8%的儿童癌症。间变性淋巴瘤激酶(ALK)基因的基因组改变已经被提出促进成神经细胞瘤发病机制。

[0216] 头和颈鳞状细胞癌(SCCHN)——高水平的EGFR表达与多种癌症、最常见是头和颈鳞状细胞癌(SCCHN)中的预后不良和对放射治疗的抗性相关。EGFR信号阻断导致抑制受体刺激、细胞增殖、侵袭和转移下降。因此,在SCCHN中,EGFR是新抗癌疗法的最佳靶标。

[0217] 本发明涉及能够抑制SHP2活性的化合物。本发明还提供了本发明的化合物的制备方法和包含该化合物的药物制剂。本发明的另一方面涉及治疗与SHP2-介导的疾病或病症的方法,该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的如本发明所述的式I化合物的步骤。

[0218] 在一些实施方式中,本发明涉及如上所述的方法,其中所述的SHP2-介导的疾病或病症是选自但不限于如下的癌症:JMML,AML,MDS,B-ALL,成神经细胞瘤,食管癌,乳癌,肺癌,结肠癌,胃癌,头颈癌。

[0219] 本发明所述的化合物还可用于治疗与SHP2异常活性相关的其它疾病或病症。因此,作为优选的实施方式,本发明涉及治疗选自如下的疾病或病症的方法:NS,LS,JMML,AML,MDS,B-ALL,成神经细胞瘤,食管癌,乳癌,肺癌,结肠癌,胃癌,头颈癌。

[0220] 本发明所述的SHP2抑制剂可以与其它具有药理活性的化合物或与两种或更多种其它具有药理活性的化合物组合,尤其是在治疗癌症中。例如,本发明所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐可以与一种或多种选自如下的物质组合地同时、依次或分别施用:化疗剂,比如有丝分裂抑制剂,如紫杉烷、长春花生物碱、紫杉醇、多西他赛、长春花新碱、长春花碱、长春瑞滨或长春氟宁,其它抗癌剂如顺铂、5-氟尿嘧啶或5-氟-2-4(1H,3H)-嘧啶二酮(5FU)、氟他胺或吉西他滨。

[0221] 一些组合在疗法中可以提供显著的优点,包括协同活性。

[0222] 在一些实施方式中,本发明涉及如上所述的方法,其中所述化合物经胃肠外施用。

[0223] 在一些实施方式中,本发明涉及如上所述的方法,其中所述化合物经肌内、静脉

内、皮下、口服、经肺、鞘内、局部或经鼻内施用。

[0224] 在一些实施方式中,本发明涉及如上所述的方法,其中所述化合物经全身施用。

[0225] 在一些实施方式中,本发明涉及如上所述的方法,其中所述患者是哺乳动物。

[0226] 在一些实施方式中,本发明涉及如上所述的方法,其中所述患者是灵长类动物。

[0227] 在一些实施方式中,本发明涉及如上所述的方法,其中所述患者是人。

[0228] 在一些实施方式中,本发明涉及治疗SHP2-介导的疾病或病症的方法,该方法包括如下步骤:给需要其的患者施用治疗有效量的化疗剂与如治疗有效量的本发明所述的式I化合物的组合。

[0229] 本发明的主要优点包括:

[0230] 1. 提供了一种如式I所示的化合物。

[0231] 2. 提供了一种结构新颖的SHP2抑制剂及其制备和应用,所述的抑制剂对SHP2具有较高的抑制活性。

[0232] 3. 提供了一类治疗与SHP2相关疾病或病症的药物组合物。

[0233] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明,否则百分比和份数按重量计算。

[0234] 下述实施例中所用的起始物可由化学品销售商如Aldrich、TCI、Alfa Aesar、毕得、安耐吉等处购得,或者可通过已知的方法来合成。

[0235] 下述实施例中,冰浴是指 -5°C 至 0°C ,室温是指 10°C 至 30°C ,回流温度一般是指溶剂在常压下的回流温度。反应过夜一般是指时间为8-15小时。下述实施例中,未限定具体操作温度的,均在室温下进行。

[0236] 下述实施例中,中间体和最终产物的分离提纯是通过正相或反相色谱柱分离或者其它合适的方法。正相快速色谱柱是用乙酸乙酯和正己烷或甲醇和二氯甲烷等作为流动相。反相制备性高压液相色谱(HPLC)是用C18柱并用UV 214nm和254nm来检测,其流动相为A(水和0.1%甲酸)、B(乙腈)或者流动相A(水和0.1%碳酸氢铵)、B(乙腈)。

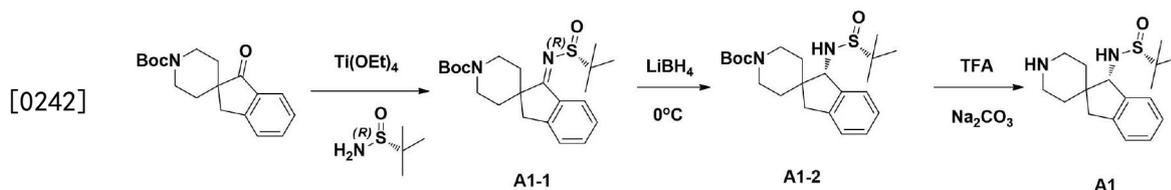
[0237] 各实施例中:LCMS仪器:Pump Agilent 1260UV检测器:Agilent 1260DAD Mass Spectrometer API 3000

[0238] 层析柱:Waters sunfire C18, $4.6 \times 50\text{mm}$, $5\mu\text{m}$

[0239] 流动相:A-H₂O(0.1% HCOOH); B-乙腈NMR

[0240] 仪器:Bruker Ascend 400M(1H NMR:400MHz;13C NMR:100MHz)。

[0241] 中间体A1的合成:(R)-N-((S)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺胺



[0243] 步骤一:在干燥的100mL单口瓶中依次加入1-氧代-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯(1.51g,5mmol),四乙氧基钛(6.84g,30mmol),(R)-(+)-叔丁基亚磺酰胺(2.41g,,20mmol)在加热回流下搅拌反应15小时。冷却到室温后,向反应残存物中加入饱和

食盐水 (60mL), 之后将得到的混合物搅拌15分钟然后通过硅藻土过滤。将含水的混合物用乙酸乙酯 (3x80mL) 萃取。将有机相用NaSO₄干燥, 过滤, 并在减压下除去挥发物。将得到的残留物通过硅胶色谱法纯化 (0至30%梯度的乙酸乙酯: 石油醚) 得到白色固体叔丁基 (R, Z) - 1 - ((叔丁基亚磺酰基) 氨基) - 1, 3 - 二氢螺 [茛 - 2, 4' - 哌啶] - 1' - 羧酸酯 A1 - 1 (1.61g, 收率: 80%)。

[0244] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.34 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.48-7.39 (m, 1H), 7.35-7.28 (m, 2H), 4.21-3.92 (m, 2H), 3.00 (s, 2H), 2.88 (t, J=11.9Hz, 2H), 2.00-1.80 (m, 2H), 1.48-1.30 (m, 11H), 1.24 (d, J=13.1Hz, 9H);

[0245] LCMS: m/z 405.1 [M+H]⁺。

[0246] 步骤二: 在干燥的100mL单口瓶中依次加入 A1 - 1 (0.802g, 2mmol), THF (10mL), 冷却到 0°C 后, 加随后加入硼氢化锂 (0.066g, 3mmol)。将得到的混合物继续搅拌反应1小时。将甲醇缓慢加入以淬灭过量的硼氢化物, 过滤, 浓缩, 并在减压下除去挥发物。将得到的残留物通过硅胶色谱法纯化 (0至50%梯度的乙酸乙酯: 石油醚) 得到淡黄色固体 1 - ((R) - 叔丁基亚磺酰基) 氨基 - 1, 3 - 二氢螺 [叔茛 - 2, 4' - 哌啶] - 1' - 羧酸叔丁酯 A1 - 2 (0.63g, 收率: 78%)。

[0247] ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 7.30-7.15 (m, 4H), 5.64 (d, J=10.5Hz, 1H), 4.38 (d, J=10.5Hz, 1H), 3.86 (s, 2H), 3.05 (d, J=15.8Hz, 1H), 2.87 (s, 2H), 2.62 (d, J=15.8Hz, 1H), 1.89 (s, 1H), 1.61-1.35 (m, 12H), 1.27-1.10 (m, 11H);

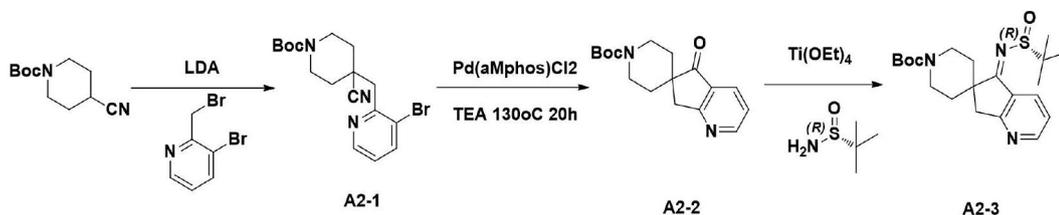
[0248] LCMS: m/z 407.1 [M+H]⁺。

[0249] 步骤三: 在干燥的50mL单口瓶中依次加入 A1 - 2 (0.406g, 1mmol), 二氯甲烷 (5mL), 三氟乙酸 (1mL) 将得到的混合物在室温下搅拌反应1小时。加入 Na₂CO₃ 饱和水溶液直到 pH 7, 并将含水的混合物用 DCM (3x30mL) 萃取。将合并的有机相用盐水洗涤, 用 Na₂SO₄ 干燥, 过滤, 并在减压下除去挥发物。冷却得到无色油状物 (R) - N - ((S) - 1, 3 - 二氢螺 [茛 - 2, 4' - 哌啶] - 1 - 基) - 2 - 甲基丙烷 - 2 - 亚磺酰胺 A1 (0.183g, 收率: 70%)。

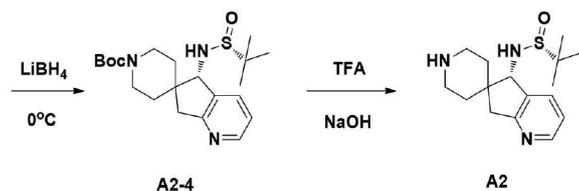
[0250] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.26-7.11 (m, 5H), 4.45 (d, J=10.1Hz, 1H), 3.77 (s, 1H), 3.18 (s, 2H), 3.04 (d, J=15.9Hz, 3H), 2.67 (d, J=15.8Hz, 1H), 2.20 (td, J=12.7, 3.5Hz, 1H), 1.82 (t, J=11.1Hz, 1H), 1.61 (d, J=12.9Hz, 1H), 1.34-1.11 (m, 10H);

[0251] LCMS: m/z 307.1 [M+H]⁺。

[0252] 中间体 A2 的合成: R - N - ((S) - 5, 7 - 二氢螺 [环戊烷 [b] 吡啶 - 6, 4' - 哌啶] - 5 - 基) - 2 - 甲基丙烷 - 2 - 亚磺胺



[0253]



[0254] 步骤一: 向干燥的100mL烧瓶中依次加入 4 - 氰基哌啶 - 1 - 羧酸叔丁酯 (1.05g,

5mmol) 和THF (20mL)。在氮气条件下,将混合物降温-78℃,然后向反应混合物中缓慢加入2M LDA (0.65g, 6.5mmol)。让反应混合物反应1小时,然后向其中加入3-溴-2-(溴甲基)吡啶 (1.24g, 5mmol),然后让反应混合物继续反应2小时。反应完毕后,向其中加入饱和氯化铵溶液 (15mL) 猝灭反应,并使用乙酸乙酯 (3×30mL) 萃取,饱和食盐水洗涤并混合有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤并在减压浓缩得到的残留物通过硅胶色谱法纯化 (0至30%梯度的乙酸乙酯/石油醚),得到白色固体A2-1 (1.40g, 收率:75%)

[0255] 步骤二:在氮气保护下,向干燥的25mL单口烧瓶中依次加入4-((3-溴吡啶-2-基)甲基)-4-氰基哌啶-1-羧酸叔丁酯 (379mg, 1mmol)、三乙胺 (404mg, 4mmol)、二氯二叔丁基-(4-二甲基氨基苯基)磷钼 (II) (71mg, 0.1mmol) 和DMA:H₂O=10:1 (6mL),然后在130℃下搅拌反应18小时。反应完毕后,将获得的残留物过滤并在减压浓缩得到的残留物通过硅胶色谱法纯化 (0至50%梯度的乙酸乙酯:石油醚),得到黄色固体5-氧代-5,7-二氢螺[环戊基[b]吡啶-6,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯A2-2 (180mg, 收率:60%)。

[0256] LCMS:m/z 303.1[M+H]⁺。

[0257] 步骤三:在干燥的100mL单口瓶中依次加入A2-2 (0.302g, 1mmol), 四乙氧基钛 (1.37g, 6mmol), (R)-(+)-叔丁基亚磺酰胺 (0.480g, 4mmol) 在加热回流下搅拌反应15小时。冷却到室温后,向反应残存物中加入饱和食盐水 (15mL),之后将得到的混合物搅拌15分钟然后通过硅藻土过滤。将含水的混合物用乙酸乙酯 (3x300mL) 萃取。将有机相用NaSO₄干燥,过滤,并在减压下除去挥发物。将得到的残留物通过硅胶色谱法纯化 (0至50%梯度的乙酸乙酯:石油醚) 得到黄色固体叔丁基 (R,Z)-5-((叔丁基亚磺酰基)亚氨基)-5,7-二氢螺[环戊烷[b]吡啶-6,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯A2-3 (0.333g, 收率:82%)。

[0258] LCMS:m/z 406.1[M+H]⁺。

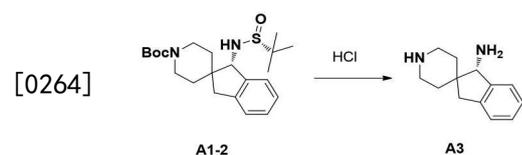
[0259] 步骤四:在干燥的100mL单口瓶中依次加入A2-3 (0.20g, 0.491mmol), THF (50mL), 冷却到℃后,加随后加入硼氢化锂 (0.018g, 0.737mmol)。将得到的混合物继续搅拌反应1小时。将甲醇缓慢加入以淬灭过量的硼氢化物,过滤,浓缩,并在减压下除去挥发物。将得到的残留物通过硅胶色谱法纯化 (0至80%梯度的乙酸乙酯:石油醚) 得到白色固体S)-叔丁基-5-((R)-二甲基乙基亚磺酰氨基)-5,7-二氢螺[环戊烷[b]吡啶-6,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯A2-4 (0.130g, 收率:65%)。

[0260] LCMS:m/z 408.1[M+H]⁺。

[0261] 步骤五:在干燥的50mL单口瓶中依次加入A2-4 (0.100g, 0.245mmol), 二氯甲烷 (5mL), 三氟乙酸 (1mL) 将得到的混合物在室温下搅拌反应1小时。加入Na₂CO₃饱和水溶液直到pH 7,并将含水的混合物用DCM (3x30mL) 萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,用Na₂SO₄干燥,过滤,并在减压下除去挥发物。冷得到无色油状物R-N-((S)-5,7-二氢螺[环戊烷[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺胺A2 (0.056g, 收率:75%)。

[0262] LCMS:m/z 308.1[M+H]⁺。

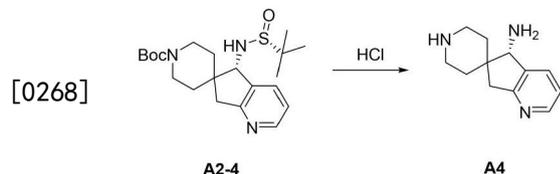
[0263] 中间体A3的合成:(S)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



[0265] 步骤:向干燥的100mL圆底烧瓶中依次加入甲醇(1mL),二氯甲烷(1mL)和A1-2(540mg,1.33mmol,1.0eq)。室温下,滴加HCl/1,4-dioxane(3.3mL,4M),有白色固体析出,加热到50℃,搅拌两小时。反应完毕后,减压浓缩得到白色固体A3(373mg,收率:97.1%,HCl salt)。

[0266] LCMS:m/z 203.1[M+H]⁺。

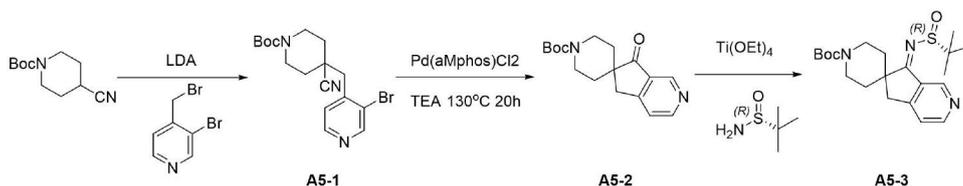
[0267] 中间体A4的合成:(S)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺



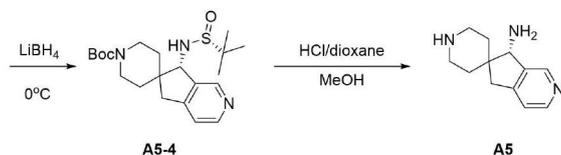
[0269] 参照中间体A3的合成方法,使用中间体A2-4代替中间体A1-2,得到中间体A4。

[0270] LCMS:m/z 204.1[M+H]⁺。

[0271] 中间体A5的合成:(S)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[c]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺

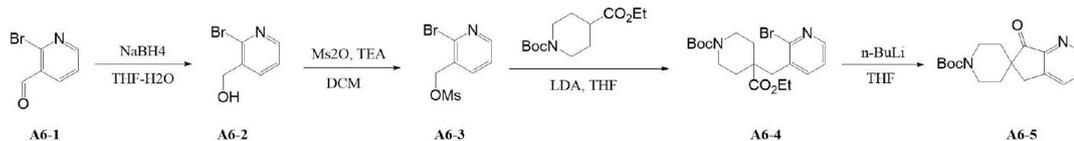


[0272]

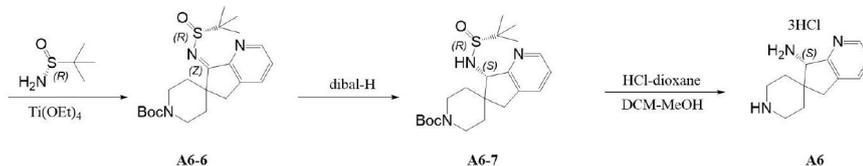


[0273] 参考中间体A2,A3的合成方法合成A5.LCMS:m/z 204.1[M+H]⁺。

[0274] 中间体A6的合成:(S)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺



[0275]



[0276] 步骤一:向含300mL THF和60mL H₂O的1L烧瓶中依次加入A6-1(11.1g,60mmol)和NaBH₄(2.51g,66mmol)并在20℃下反应2小时。点板检测原料反应完后,用饱和NH₄Cl溶液淬灭,用水稀释,并用乙酸乙酯萃取,合并有机相用饱和NaCl溶液洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并在减压浓缩得到白色固体A6-2(11.20g,收率:100%)

[0277] 步骤二:向含120mL二氯甲烷的干燥的250mL单口烧瓶中依次加入A6-2(6.73g,36mmol)和Ms₂O(404mg,4mmol)后冷却至0℃,再慢慢加入TEA(5.45g,54mmol)升温至室温后搅拌3小时,反应完后反应液用水萃洗,有机相用无水硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩,得到的

残留物通过硅胶色谱法纯化(0至10%梯度的乙酸乙酯/二氯甲烷),得到无色油状物A6-3(8.02g,收率:84%)。

[0278] 步骤三:向干燥的500mL三口烧瓶中依次加入4-氰基哌啶-1-羧酸叔丁酯(9.3g, 36.2mmol)和THF(133mL)。在氮气条件下,将混合物降温-70℃,然后向反应混合物中缓慢加入2M LDA(21.1mL,42.3mmol)。让反应混合物反应1小时,然后向其中加入溶解于65mL THF中的A6-3(8.0g,30.2mmol),然后让反应混合物继续反应0.5小时之后缓慢升温至室温并搅拌1小时。反应完毕后,向其中加入饱和食盐水淬灭,并使用乙酸乙酯萃取,合并有机相用饱和食盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并再减压浓缩得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(8至12%梯度的乙酸乙酯/二氯甲烷),得到无色油状物A6-4(10.5g,收率:81%)

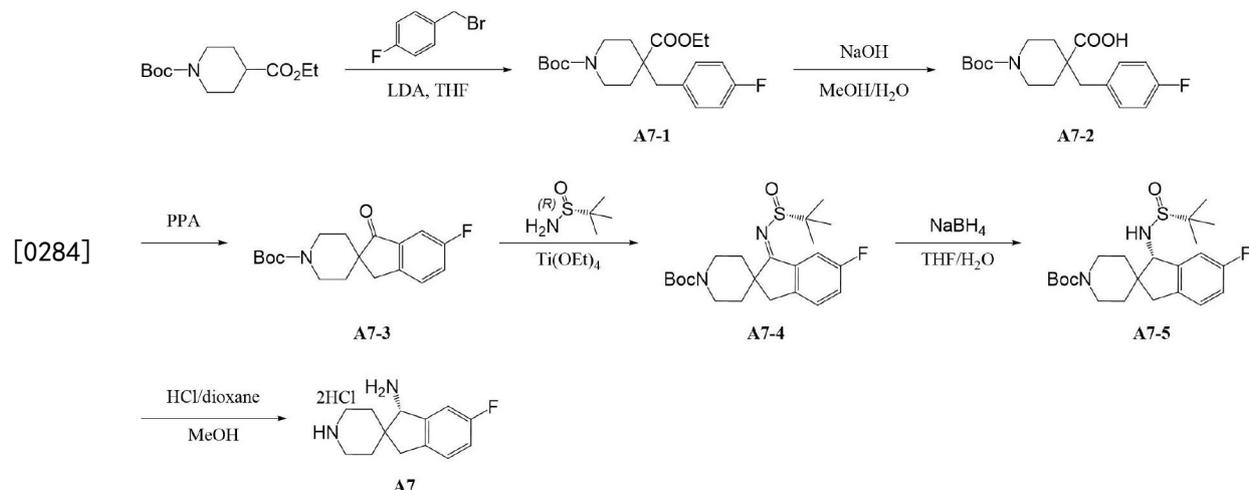
[0279] 步骤四:向干燥的250mL三口烧瓶中依次加入A6-4(7.85g,18.43mmol)和THF(120mL)。在氮气条件下,将混合物降温-70℃,然后向反应混合物中缓慢加入2.5M正丁基锂(11mL,27.64mmol)。让反应混合物反应1.5小时。反应完毕后,向其中加入饱和氯化铵水溶液淬灭,之后加入饱和食盐水稀释并分液,水相用乙酸乙酯萃取,合并有机相用饱和食盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并再减压浓缩得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(0至60%梯度的乙酸乙酯/石油醚),得到浅棕色固体A6-5(1.4g,收率:25%)

[0280] 步骤五:参照中间体A2-3的合成方法,使用中间体A6-5代替中间体A2-2,得到中间体A6-6(1.46g,收率:68%)。

[0281] 步骤六:在干燥的50mL三口瓶中依次加入A6-6(530mg,1.31mmol),THF(10mL),氮气保护下冷却至-70℃,然后向反应混合物中缓慢加入1.5M二异丁基氢化铝的甲苯溶液(1.3mL,1.70mmol)。让反应混合物反应0.5小时后缓慢升温至室温,用饱和酒石酸钾钠水溶液淬灭后并搅拌0.5小时。用乙酸乙酯萃取,合并有机相用饱和食盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并再减压浓缩得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(0至5%梯度的甲醇/二氯甲烷),得到浅黄色泡沫固体A6-7(466mg,收率:87%)

[0282] 步骤七:在干燥的25mL单口瓶中依次加入A6-7(312mg,0.766mmol),MeOH(5mL),4M的HCl/1,4-dioxane溶液(3.83mL,15.32mmol),然后升温至50℃反应8小时,得到白色悬浊液,减压浓缩得到白色固体A6(232mg,收率:97%)HCl盐。LCMS:m/z204.1[M+H]⁺。

[0283] 中间体A7的合成:(S)-6-氟-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



[0285] 步骤一:参照中间体A2的合成方法,使用原料4-氟苄溴代替原料3-溴-2-(溴甲基)

吡啶,得到中间体A7-1。

[0286] 步骤二:向含20mL甲醇和20mL水的100mL单口烧瓶中依次加入化合物A7-1 (3.40g, 9.30mmol) 和氢氧化钠(1.86g, 46.5mmol)。反应液在70℃下反应17小时。冷却至室温后,减压浓缩除去挥发物。得到的残留物加水(50mL)稀释,用乙酸乙酯(80mL)萃取3次。合并的有机相用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、减压浓缩得到黄色固体A7-2(3.0g,粗品)。

[0287] 步骤三:向干燥的50mL单口烧瓶中依次加入化合物A7-2(2.0g, 5.93mmol) 和PPA(15mL)。反应液在120℃下反应2小时。将反应液趁热倒入到冰水混合物(50mL)中,用NaOH固体调节到pH=10。然后向得到的混合物中加入Boc20(1.94g, 8.90mmol),并在20℃下搅拌1小时。反应液用乙酸乙酯(80mL)萃取3次。合并的有机相用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、减压浓缩。得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(石油醚/乙酸乙酯=5:1),得到黄色固体A7-3(1.20g, 收率:63.5%)。

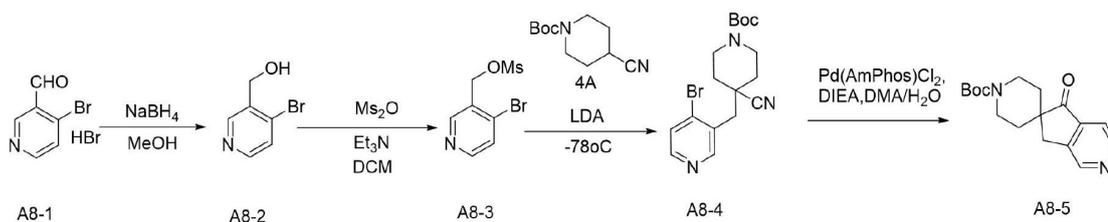
[0288] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDC13) δ 7.46-7.38 (m, 2H), 7.37-7.30 (m, 1H), 4.20-4.06 (m, 2H), 3.07-2.95 (m, 4H), 1.96-1.85 (m, 2H), 1.48 (s, 9H), 1.44-1.35 (m, 2H)。

[0289] 步骤四:参照中间体A2的合成方法,使用中间体A7-3代替中间体A2-2,得到中间体A7-4。

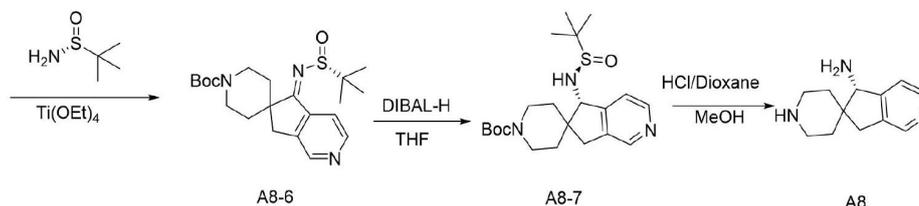
[0290] 步骤五:在-50℃下向圆底烧瓶中依次加入化合物A7-4(1.59g, 3.76mmol), 四氢喹啉/水(98:2, 32mL) 和硼氢化钠(427mg, 11.3mmol), 反应液在搅拌下3小时升温至20℃。TLC点板反应完全。反应液加水(30mL)稀释,用乙酸乙酯(30mL)萃取3次。合并的有机相用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、减压浓缩。得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(石油醚/乙酸乙酯=2:1),得到白色固体A7-5(850mg, 收率:53.1%)。

[0291] 步骤六:参照中间体A3的合成方法,使用中间体A7-5代替中间体A1-2,得到中间体A7。LCMS:m/z 220.1 [M+H]⁺。

[0292] 中间体A8:(S)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[c]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺



[0293]



[0294] 步骤一:将4-溴烟醛氢溴酸盐(1, 2.5g, 9.36mmol)溶于甲醇(50mL)中,冰浴下分批加入硼氢化钠(0.72g, 18.93mmol, 2.0eq), 0度反应1小时, 反应完毕。冰浴下,加入饱和氯化铵(50mL)淬灭反应,加入乙酸乙酯萃取(100mLx2)。有机相合并后用饱和氯化钠水洗,有机相分离后用无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩得到白色固体(4-溴吡啶-3-基)甲醇(A8-2, 1.7g, 收率:100%)。LCMS:m/z 190.3 [M+H]⁺

[0295] 步骤二:将(4-溴吡啶-3-基)甲醇(A8-2, 1.7g, 9.04mmol)溶于二氯甲烷(100mL)

中,冰浴下加入三乙胺(2.30g,22.73mmol)。氮气保护下分批次加入甲磺酸酐(1.95g,11.19mmol),0度反应2小时后,反应完毕。冰浴下,加入饱和氯化钠(50mL)淬灭反应,分离有机相并用饱和氯化钠水洗。有机相用无水硫酸钠干燥,过滤浓缩得到红棕色固体甲基磺酸(4-溴吡啶-3-基)甲酯3(1.7g,收率:70.7%)。LCMS:m/z 266.2[M+H]⁺

[0296] 步骤三:将4-氰基哌啶-1-羧酸叔丁酯(A8-3,1.61g,7.67mmol)溶于无水四氢呋喃(60mL)中,干冰丙酮浴(-78度)氮气保护下,缓慢滴入LDA(4.6mL,9.2mmol),保温反应0.5小时,反应液有大量白色固体析出。-78度缓慢滴入甲基磺酸(4-溴吡啶-3-基)甲酯(3,1.7g,6.39mmol)的无水四氢呋喃(50mL)溶液,继续保温反应2小时,反应完毕。加入饱和氯化氨(100mL)淬灭反应,加入乙酸乙酯萃取(100mLx3)。合并有机相并用饱和氯化钠水洗,有机相用无水硫酸钠干燥,过滤浓缩残留物通过硅胶色谱法纯化(0至50%梯度的二氯甲烷/石油醚)得到白色固体4-((4-溴吡啶-3-基)甲基)-4-氰基哌啶-1-羧酸叔丁酯4(1.58g,收率:54%)。

[0297] LCMS:m/z 326.0[M+H-56]⁺

[0298] 步骤四:将4-((4-溴吡啶-3-基)甲基)-4-氰基哌啶-1-羧酸叔丁酯(A8-4,1.5g,3.95mmol)溶于DMAC/H₂O(100mL/10mL)中,加入DIEA(1.34g,15.79mmol)和Pd(AmPhos)Cl₂(142mg,0.20mmol),氮气置换三次,130度反应2小时,反应完毕。加入水(50mL),用乙酸乙酯萃取(100mLx3),合并有机相并用饱和氯化钠水洗,有机相用无水硫酸钠干燥,过滤浓缩残留物通过硅胶色谱法纯化得到固体5-氧代-5,7-二氢螺[叔戊基[c]吡啶-6,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯5(750mg,收率:62%)。LCMS:m/z 303.3[M+H]⁺

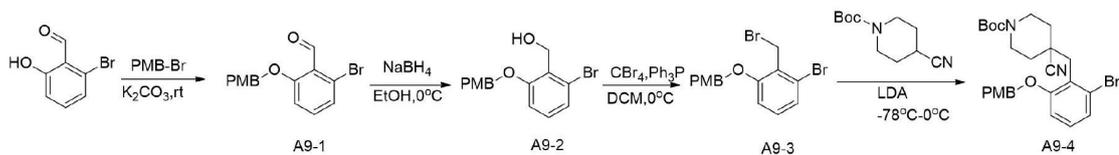
[0299] 步骤五:将化合物A8-5(750mg,2.48mmol)溶于THF(10mL)中,加入(R)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(390mg,3.22mmol)与钛酸四乙酯(10mL)。氮气保护加热至90度回流反应18小时。反应完毕,冷却至室温加入乙酸乙酯(50mL)稀释,加入饱和食盐水(10mL),有白色固体析出。将混合物过滤,滤饼用乙酸乙酯洗涤。滤液用饱和食盐水洗,有机相分液后用无水硫酸钠干燥,过滤浓缩。粗品通过硅胶色谱法纯化得到白色固体叔丁基(R,Z)-5-((叔丁基亚磺酰基)氨基)-5,7-二氢螺[环戊[c]吡啶-6,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯7(800mg,收率:80%)。LCMS:m/z 406.2[M+H]⁺

[0300] 步骤六:将叔丁基(R,Z)-5-((叔丁基亚磺酰基)氨基)-5,7-二氢螺[环戊[c]吡啶-6,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯A8-6(800mg,1.98mmol)溶于THF(50mL)中,氮气保护下冷却至-78度。反应液缓慢滴入1.5M的DIBAL-H(2mL,2.97mmol),滴加完毕,-78度反应1小时,反应完毕。加水淬灭反应,加入饱和酒石酸钾钠溶液(20mL),用乙酸乙酯萃取(100mLx2),有机相用饱和氯化钠水溶液洗一次,有机相分液后用无水硫酸钠干燥,过滤浓缩。粗品通过硅胶色谱法纯化得到白色固体(S)-5-(((R)-叔丁基亚磺酰基)氨基)-5,7-二氢螺[环戊[c]吡啶-6,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯(680mg,收率:84%)。LCMS:m/z 408.3[M+H]⁺

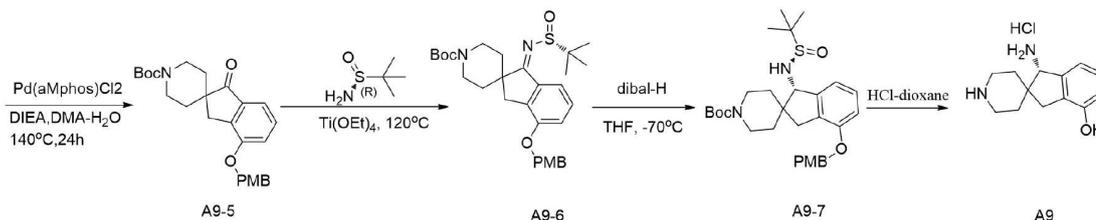
[0301] 步骤七:将(S)-5-(((R)-叔丁基亚磺酰基)氨基)-5,7-二氢螺[环戊[c]吡啶-6,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯8(680mg,1.67mmol)溶于MeOH(50mL)中,冷却至0度,滴入4M盐酸二氧六环溶液(10mL,40mmol),室温反应3小时,反应完毕。反应液浓缩得到白色固体(S)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[c]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺盐酸盐A8(400mg,收率:99%)。

[0302] LCMS:m/z 204.1[M+H]⁺

[0303] 中间体A9:(S)-1-氨基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-4-醇



[0304]



[0305] 步骤一:将2-溴-6-羟基苯甲醛1(5g,24.9mmol)溶于DMF(100mL)中,加入无水碳酸钾(6.88g,49.8mmol)与苄溴(5.26g,26.1mmol),氮气保护下室温反应18小时,反应完毕。将反应液倒入冰水,用乙酸乙酯萃取(250mL)两次。有机相合并用饱和食盐水洗,有机相分液后用无水硫酸钠干燥,过滤浓缩。粗品通过硅胶色谱法纯化得到浅黄色固体2-溴-6-((4-甲氧基苄基)氧基)苯甲醛2(8g,收率100%)。LCMS:m/z 343.0[M+Na]⁺

[0306] 步骤二:将2-溴-6-((4-甲氧基苄基)氧基)苯甲醛2(8g,24.9mmol)溶于乙醇(100mL)中,冰浴下冷却至0度。小心分多批次加入硼氢化钠(942mg,24.9mmol)。0度反应0.5小时,反应完毕。反应液倒入冰水中用乙酸乙酯萃取(200mL)两次。合并有机相用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩得到固体(2-溴-6-((4-甲氧基苄基)氧基)苄基)甲醇3(7.3g,收率:90%)。LCMS:m/z 345.0[M+Na]⁺

[0307] 步骤三:将(2-溴-6-((4-甲氧基苄基)氧基)苄基)甲醇3(7.3g,22.6mmol)溶于二氯甲烷(200mL)中,冰浴下冷却至0度。氮气保护下加入四溴化碳(11.2g,33.9mmol)和三苯基磷(8.88g,33.9mmol)。0度反应5小时,反应完毕。反应液倒入冰水中用乙酸乙酯萃取(200mL)两次。合并有机相用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。粗品通过硅胶色谱法纯化得到固体1-溴-2-(溴甲基)-3-((4-甲氧基苄基)氧基)苄4(4g,收率:46%)。

[0308] ¹H NMR(400MHz,CDC1₃) δ7.40(t,J=4.4Hz,2H),7.17-7.20(m,1H),7.11(t,J=8.2Hz,1H),6.92-6.95(m,2H),6.87-6.89(m,1H),5.30(s,2H),4.76(s,2H),3.83(s,3H);

[0309] 步骤四:将4-氰基哌啶-1-羧酸叔丁酯(2.6g,12.4mmol)溶于无水THF(60mL)中,冷却至-78度。缓慢滴入2M LDA(7.5mL,14.88mmol)。-78度反应0.5小时,继续滴加1-溴-2-(溴甲基)-3-((4-甲氧基苄基)氧基)苄4(4g,10.4mmol)的无水THF(40mL)溶液。-78度反应2小时,缓慢升温至0度。反应完毕。反应液倒入冰水中用乙酸乙酯萃取(200mL)两次。合并有机相用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。粗品通过硅胶色谱法纯化得到固体4-(2-溴-6-((4-甲氧基苄基)氧基)苄基)-4-氰基哌啶-1-羧酸叔丁酯5(2.8g,收率:44%)。LCMS:m/z 537.0[M+Na]⁺

[0310] 步骤五:将4-(2-溴-6-((4-甲氧基苄基)氧基)苄基)-4-氰基哌啶-1-羧酸叔丁酯5(2.6g,5.0mmol)溶于DMA(100mL)中,加入H₂O(10mL),DIEA(3.225g,25.0mmol)和PdCl₂(AmPhos)2(354mg,0.5mmol)。氮气保护下130度反应18小时,反应完毕。冷却至室温将反应液倒入冰水中用乙酸乙酯萃取(300mL)两次。合并有机相用水及饱和食盐水洗一次,无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。粗品通过硅胶色谱法纯化得到固体4-((4-甲氧基苄基)氧基)-1-氧代-1,3-二氢螺[叔茛-2,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯6(1.8g,收率:82%)。LCMS:m/z 382.2

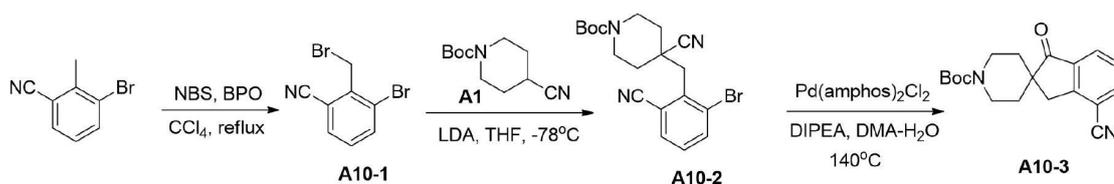
[M-56]⁺

[0311] 步骤六:将4-((4-甲氧基苄基)氧基)-1-氧代-1,3-二氢螺[叔茛-2,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯6 (1.8g, 4.12mmol) 溶于THF (20mL) 中,加入(R)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺6 (748mg, 6.18mmol) 与钛酸四乙酯 (50mL)。氮气保护加热至100度回流反应18小时。反应完毕,冷却至室温加入乙酸乙酯 (200mL) 稀释,加入饱和食盐水 (50mL),有白色固体析出。将混合物过滤,滤饼用乙酸乙酯洗涤。滤液用饱和食盐水洗,有机相分液后用无水硫酸钠干燥,过滤浓缩。粗品通过硅胶色谱法纯化得到白色固体叔丁基(R,Z)-1-((叔丁基亚磺酰基)氨基)-4-((4-甲氧基苄基)氧基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-羧酸7 (1.7g, 收率:76%)。LCMS:m/z 541.3[M+H]⁺

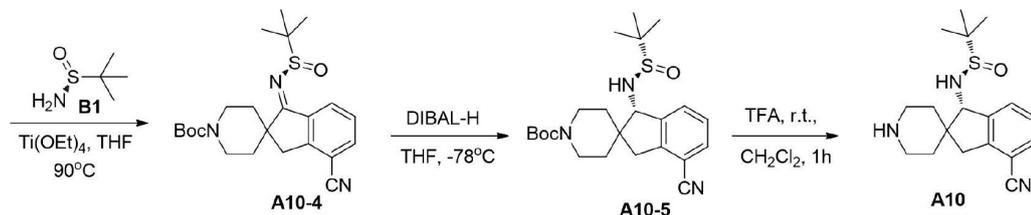
[0312] 步骤七:将叔丁基(R,Z)-1-((叔丁基亚磺酰基)氨基)-4-((4-甲氧基苄基)氧基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-羧酸7 (1.7g, 3.15mmol) 溶于THF (100mL) 中,氮气保护下冷却至-78度。反应液缓慢滴入1.5M的DIBAL-H (3.15mL, 4.7mmol),滴加完毕,-78度反应1小时,反应完毕。加水淬灭反应,加入饱和酒石酸钾钠溶液 (50mL),用乙酸乙酯萃取 (200mLx2),有机相用饱和氯化钠水溶液洗一次,有机相分液后用无水硫酸钠干燥,过滤浓缩。粗品通过硅胶色谱法纯化得到白色固体叔丁基(S)-1-((R)-叔丁基亚磺酰基)氨基)-4-((4-甲氧基苄基)氧基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-甲酸8 (1.5g, 收率:88%)。LCMS:m/z 543.3[M+H]⁺

[0313] 步骤八:将(S)-1-((R)-叔丁基亚磺酰基)氨基)-4-((4-甲氧基苄基)氧基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-甲酸8 (1.5g, 2.77mmol) 溶于MeOH (50mL) 中,冷却至0度,滴入4M盐酸二氧六环溶液 (10mL, 40mmol),室温反应3小时,反应完毕。反应液浓缩得到白色固体(S)-1-氨基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-4-醇盐酸盐9 (600mg, 收率:85%)。LCMS:m/z 219.2[M+H]⁺

[0314] 中间体A10:(S)-1-((R)-叔丁基亚磺酰基)氨基)-4-氰基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]



[0315]



[0316] 步骤一:向100mL的圆底烧瓶中依次加入2-甲基-3-氰基溴苯 (3.0g, 15.3mmol, 1.0eq), N-溴代琥珀酰亚胺 (2.72g, 15.3mmol, 1.0eq), 过氧化二苯甲酰 (371mg, 1.53mmol, 0.1eq) 和四氯化碳 (40mL), 80°C 搅拌16小时,反应液减压浓缩后得到的残留物,将残留物溶于乙酸乙酯 (200mL),用2N NaOH水溶液 (50mL*2) 洗涤两次,饱和食盐水 (50mL) 洗涤一次,无水硫酸钠干燥,过滤。滤液减压浓缩得粗产品,粗品通过硅胶色谱法纯化得到白色固体1-溴-2-(溴甲基)-3-氰基苯 (A10-1, 2.0g, 收率:47.5%)。

[0317] 步骤二:向100mL的圆底烧瓶中依次加入四氢呋喃(30mL)和N-Boc-4-氰基哌啶(A10-1,1.84g,8.73mmol,1.2eq),降温到-78℃,然后加入2.0M LDA(5.1mL,10.2mmol,1.4eq),-78℃下搅拌一小时。然后加入1-溴-2-(溴甲基)-3-氰基苯(6-1,2.0g,7.27mmol,1.0eq)的四氢呋喃(15mL)溶液,-78℃下搅拌0.5小时。然后撤去低温浴,让其自然回复至室温,继续搅拌一小时。TLC检测原料消耗完毕后,加入饱和食盐水(30mL)淬灭,然后用乙酸乙酯(100mL*2)萃取。合并的有机相用饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤。滤液减压浓缩得粗产品,粗品通过硅胶色谱法纯化得到淡黄色油状物N-Boc-4-(2-溴-6-氰基苄基)-4-氰基哌啶(A10-2,1.5g,收率:51.0%)。LC-MS:m/z 404.1,406.1[M+H]⁺。

[0318] 步骤三:向干燥的100mL的圆底三口烧瓶中依次加入N-Boc-4-(2-溴-6-氰基苄基)-4-氰基哌啶(A10-2,1.5g,3.71mmol,1.0eq),Pd(AmPhos)Cl₂(262mg,0.37mmol,0.1eq),二异丙基乙基胺(2.4g,18.55mmol,5.0eq),N,N-二甲基乙酰胺(30mL)和水(4mL)。在搅拌的情况下,用氮气置换三次,然后加热到140℃,反应16小时。反应完毕后,反应液冷却至室温,用乙酸乙酯(100mL)稀释并减压抽滤,滤饼用乙酸乙酯(20mL)洗涤,将得到的滤液用饱和食盐水(30mL*3)洗涤3次,无水硫酸钠干燥,过滤。滤液减压浓缩得粗产品,粗品通过硅胶色谱法纯化得到白色固体N-Boc-4-氰基-1-氧代-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶](A10-3,0.90g,收率:74.3%)。LC-MS:m/z 327.2[M+H]⁺。

[0319] 步骤四:在干燥的100mL单口瓶中依次加入N-Boc-4-氰基-1-氧代-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶](A10-3,900mg,2.76mmol),四乙氧基钛(3.78g,16.56mmol),(R)-(+)-叔丁基亚磺酰胺(B1,401mg,3.31mmol)和四氢呋喃(20mL)在加热回流下搅拌反应16小时。冷却到室温后,向反应残存物中加入饱和食盐水(60mL),之后将得到的混合物搅拌15分钟然后通过硅藻土过滤。将含水的混合物用乙酸乙酯(3x80mL)萃取。将有机相用无水硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩。将得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(0至30%梯度的乙酸乙酯:石油醚)得到白色固体N-Boc-(R,Z)-1-((叔丁基亚磺酰)亚胺)-4-氰基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶](A10-4,980mg,收率:82.7%)。LC-MS:m/z430.2[M+H]⁺。

[0320] 步骤五:向干燥的50mL三口烧瓶中依次加入四氢呋喃(15mL)和N-Boc-(R,Z)-1-((叔丁基亚磺酰)亚胺)-4-氰基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶](A10-4,980mg,2.28mmol,1.0eq)。在-78℃,氮气保护条件下,滴加二异丁基氢化铝(6.84mL,1.5M in toluene,10.26mmol,4.5eq),继续搅拌半小时。然后升至0℃,继续搅拌半小时。反应完毕后,用酒石酸钾钠(4g溶解在20mL水中)淬灭,搅拌半小时,用乙酸乙酯(30mL*3)萃取,得到的有机相用饱和食盐水(30mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩,残留物通过硅胶色谱法纯化(0至70%梯度的乙酸乙酯:石油醚)得到黄色固体N-Boc-(S)-1-(((R)-叔丁基亚磺酰)氨基)-4-氰基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶](A10-5,800mg,收率:81.3%)。LC-MS:m/z 432.2[M+H]⁺。

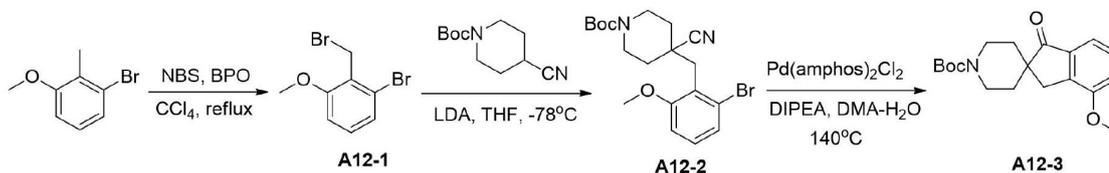
[0321] 步骤六:在干燥的50mL单口瓶中依次加入N-Boc-(S)-1-(((R)-叔丁基亚磺酰)氨基)-4-氰基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶](A10-5,800mg,1.85mmol),二氯甲烷(15mL),三氟乙酸(5mL)将得到的混合物在室温下搅拌反应1小时。加入Na₂CO₃饱和水溶液直到pH 7,并将含水的混合物用二氯甲烷(3x50mL)萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩,残留物通过硅胶色谱法纯化(0至70%梯度的乙酸乙酯:石油醚)得到黄色固体(S)-1-(((R)-叔丁基亚磺酰)氨基)-4-氰基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶](A10,

980mg, 8.091mmol) 与钛酸四乙酯 (21.794g, 95.55mmol)。氮气保护加热至80度回流反应10小时。反应完毕。冷却至室温, 倒入到400mL冰水中, 加入300mL乙酸乙酯萃取3次(水相含大量白色絮状固体, 有机相几乎没有固体), 有机相在用200mL水和200mL饱和盐水各洗一次, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 过柱, 得淡橙色泡沫状固体叔丁基(R,Z)-5-((叔丁基亚磺酰基)氨基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪-6,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯(A11-6, 2.379g, 收率: 79.62%)。LCMS: m/z 407.1[M+H]⁺

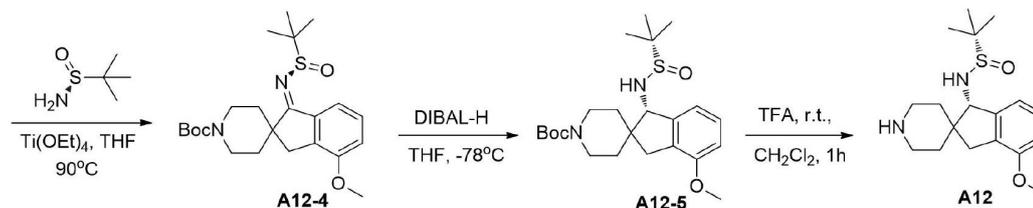
[0330] 步骤六: 将叔丁基(R,Z)-5-((叔丁基亚磺酰基)氨基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪-6,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯(A11-6, 2.379g, 5.852mmol) 溶于280mL四氢呋喃中, 氮气保护下, 干冰丙酮浴降温至-65度。缓慢滴入1.5M的DIBAL-H(5.07mL, 7.607mmol), 继续保温2小时, 反应完毕。将反应液倒至300mL饱和酒石酸钾钠水溶液中, 乙酸乙酯萃取3次, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩干, 得金黄色泡沫状固体(S)-5-(((R)-叔丁基亚磺酰基)氨基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪-6,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯粗品(A11-7, 2.483g, 收率: 103.86%)。LCMS: m/z 309.3[M+H-100]⁺

[0331] 步骤七: 将(S)-5-(((R)-叔丁基亚磺酰基)氨基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪-6,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯粗品(A11-7, 2.483g, 5.852mmol) 溶于120mL甲醇中, 氮气保护下, 冰水降温至0度左右, 滴入4M盐酸二氧六环溶液(18mL, 72mmol), 室温反应2小时, 反应完毕。将反应液浓缩干, 加入无水乙腈打浆, 氮气保护下过滤, 得墨绿色固体粉末(极易吸潮成墨绿色油滴)(S)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪-6,4'-哌啶]-5-胺盐酸盐(A11, 1.772g, 收率: 99%), 氮气下保存。LCMS: m/z 205.3[M+H]⁺

[0332] 中间体A12: (S)-1-(((R)-叔丁基亚磺酰基)氨基)-4-甲氧基-1,3-二氢螺[茚-2,4'-哌啶]



[0333]



[0334] 步骤一: 向100mL的圆底烧瓶中依次加入2-甲基-3-甲氧基溴苯(2.0g, 9.95mmol, 1.0eq), N-溴代琥珀酰亚胺(1.77g, 9.95mmol, 1.0eq), 过氧化二苯甲酰(241mg, 0.995mmol, 0.1eq) 和四氯化碳(40mL), 80°C搅拌16小时, 反应液减压浓缩后得到残留物, 将残留物溶于乙酸乙酯(200mL), 用2N NaOH水溶液(50mL*2)洗涤两次, 饱和食盐水(50mL)洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液减压浓缩得粗产品, 粗品通过硅胶色谱法纯化得到白色固体1-溴-2-(溴甲基)-3-甲氧基苯(A12-1, 2.0g, 收率: 71.8%)。

[0335] 步骤二: 向100mL的圆底烧瓶中依次加入四氢呋喃(30mL) 和N-Boc-4-氰基哌啶(A12-1, 1.8g, 8.57mmol, 1.2eq), 降温到-78°C, 然后加入2.0M LDA(5mL, 10mmol, 1.4eq), -78°C下搅拌一小时。然后加入1-溴-2-(溴甲基)-3-甲氧基苯(9-1, 2.0g, 7.14mmol, 1.0eq)

的四氢呋喃 (15mL) 溶液, -78°C 下搅拌 0.5 小时。然后撤去低温浴, 让其自然回复至室温, 继续搅拌一小时。TLC 检测原料消耗完毕后, 加入饱和食盐水 (30mL) 淬灭, 然后用乙酸乙酯 (100mL*2) 萃取。合并的有机相用饱和食盐水 (50mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液减压浓缩得粗产品, 粗品通过硅胶色谱法纯化得到淡黄色油状物 N-Boc-4-(2-溴-6-甲氧基苄基)-4-氰基哌啶 (A12-2, 1.5g, 收率: 51.3%)。LC-MS: m/z 409.1, 411.1 [M+H]⁺。

[0336] 步骤三: 向干燥的 100mL 的圆底三口烧瓶中依次加入 N-Boc-4-(2-溴-6-甲氧基苄基)-4-氰基哌啶 (A12-2, 1.5g, 3.66mmol, 1.0eq), Pd (AmPhos) Cl₂ (259mg, 0.37mmol, 0.1eq), 二异丙基乙基胺 (2.37g, 18.32mmol, 5.0eq), N,N-二甲基乙酰胺 (30mL) 和水 (4mL)。在搅拌的情况下, 用氮气置换三次, 然后加热到 140°C , 反应 16 小时。反应完毕后, 反应液冷却至室温, 用乙酸乙酯 (100mL) 稀释并减压抽滤, 滤饼用乙酸乙酯 (20mL) 洗涤, 将得到的滤液用饱和食盐水 (30mL*3) 洗涤 3 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液减压浓缩得粗产品, 粗品通过硅胶色谱法纯化得到白色固体 N-Boc-4-甲氧基-1-氧代-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶] (A12-3, 0.90g, 收率: 74.1%)。

[0337] LC-MS: m/z 332.2 [M+H]⁺。

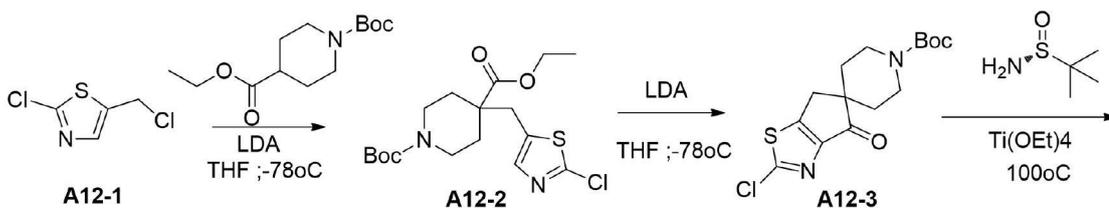
[0338] 步骤四: 在干燥的 100mL 单口瓶中依次加入 N-Boc-4-甲氧基-1-氧代-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶] (A12-3, 900mg, 2.72mmol), 四乙氧基钛 (3.72g, 16.32mmol), (R)-(+)-叔丁基亚磺酰胺 (395mg, 3.26mmol) 和四氢呋喃 (20mL) 在加热回流下搅拌反应 16 小时。冷却到室温后, 向反应残存物中加入饱和食盐水 (60mL), 之后将得到的混合物搅拌 15 分钟然后通过硅藻土过滤。将含水的混合物用乙酸乙酯 (3x80mL) 萃取。将有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将得到的残留物通过硅胶色谱法纯化 (0 至 30% 梯度的乙酸乙酯: 石油醚) 得到白色固体 N-Boc-(R,Z)-1-((叔丁基亚磺酰)亚胺)-4-甲氧基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶] (A12-4, 800mg, 收率: 67.8%)。

[0339] LC-MS: m/z 435.2 [M+H]⁺。

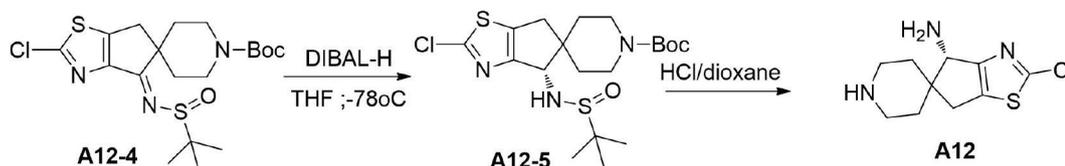
[0340] 步骤五: 向干燥的 50mL 三口烧瓶中依次加入四氢呋喃 (15mL) 和 N-Boc-(R,Z)-1-((叔丁基亚磺酰)亚胺)-4-甲氧基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶] (A12-4, 800mg, 1.84mmol, 1.0eq)。在 -78°C 下, 氮气保护条件下, 滴加二异丁基氢化铝 (5.52mL, 1.5M in toluene, 8.28mmol, 4.5eq), 继续搅拌半小时。然后升至 0°C , 继续搅拌半小时。反应完毕后, 用酒石酸钾钠 (4g 溶解在 20mL 水中) 淬灭, 搅拌半小时, 用乙酸乙酯 (30mL*3) 萃取, 得到的有机相用饱和食盐水 (30mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩, 残留物通过硅胶色谱法纯化 (0 至 70% 梯度的乙酸乙酯: 石油醚) 得到黄色固体 N-Boc-(S)-1-(((R)-叔丁基亚磺酰)氨基)-4-甲氧基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶] (A12-5, 720mg, 收率: 89.6%)。LC-MS: m/z 437.2 [M+H]⁺。

[0341] 步骤六: 在干燥的 50mL 单口瓶中依次加入 N-Boc-(S)-1-(((R)-叔丁基亚磺酰)氨基)-4-甲氧基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶] (A12-5, 720mg, 1.65mmol), 二氯甲烷 (15mL), 三氟乙酸 (5mL) 将得到的混合物在室温下搅拌反应 1 小时。加入 Na₂CO₃ 饱和水溶液直到 pH 7, 并将含水的混合物用二氯甲烷 (3x50mL) 萃取。将合并的有机相用盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 并在减压下浓缩, 残留物通过硅胶色谱法纯化 (0 至 70% 梯度的乙酸乙酯: 石油醚) 得到黄色固体 (S)-1-(((R)-叔丁基亚磺酰)氨基)-4-甲氧基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶] (A12, 520mg, 收率: 93.7%)。LC-MS: m/z 337.2 [M+H]⁺。

[0342] 中间体A12: (S)-2-氯-4,6-二氢螺[环戊二烯并[d]噻唑-5,4'-哌啶]-4-胺



[0343]



[0344] 步骤一:将4-叔丁基4-乙基哌啶-1,4-二甲酸酯(10.7g,41.64mmol,1.2eq)溶于THF(50mL)中,-78℃下滴加LDA(2M,9.8ml,19.64mmol,1.1eq),此温度下搅拌反应2h,再将2-氯-5-(氯甲基)噻唑(A12-1,3g,34.7mmol,1.0eq)溶于THF(10ml)后滴加体系中。加毕继续此温度反应1.5h.TLC检测少许未反应。加水淬灭,乙酸乙酯(100mLx2)萃取,有机相合并后用饱和氯化钠水洗,有机相分离后用无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩,拌样过柱(PE:EA:DCM=4:1:1)得黄色油状物4-(4-氯噻唑-5-基)甲基哌啶-1,4-二羧酸1-叔丁基-4-乙酯(A12-2,2.4g,收率35%)。

[0345] 步骤二:将4-(4-氯噻唑-5-基)甲基哌啶-1,4-二羧酸1-叔丁基-4-乙酯(A12-2,4g,10.31mmol)溶于THF(100mL)中,-78℃滴加LDA(2M,8.5ml,16.6mmol)。反应1h,反应完全。加入饱和氯化氨(100mL)淬灭反应,加入乙酸乙酯萃取(100mLx3)。合并有机相并用饱和氯化钠水洗,有机相用无水硫酸钠干燥,过滤浓缩滤液通过硅胶色谱法纯化得到黄色油状物A12-3(2-氯-4-氧代-4,6-二氢螺[叔戊基[d]噻唑-5,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯)(1.9g,收率54%)LCMS:m/z 343[M+H]⁺

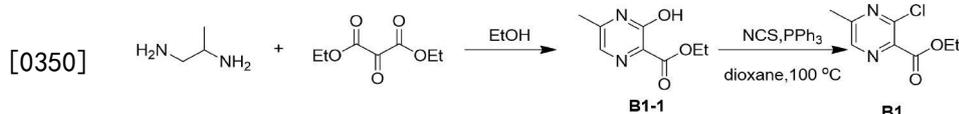
[0346] 步骤三:将2-氯-4-氧代-4,6-二氢螺[叔戊基[d]噻唑-5,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯(A12-3,710mg,2.07mmol)和Ti(OEt)₄以及(R)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(276mg,2.28mmol)加到反应瓶中,氮气保护下加热到100℃反应5h。反应完毕,冷却至室温加入乙酸乙酯(50mL)稀释,加入饱和食盐水(15mL),有白色固体析出。将混合物过滤,滤饼用乙酸乙酯洗涤。滤液用饱和食盐水洗,有机相分液后用无水硫酸钠干燥,过滤浓缩。粗品通过硅胶色谱法纯化得到浅黄固体(Z)-2-氯-4-(新戊酰亚氨基)-4,6-二氢螺[环戊二烯并[d]噻唑-5,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯A12-4(600mg,收率:68%)。LCMS:m/z 426[M+H]⁺

[0347] 步骤四:将(Z)-2-氯-4-(新戊酰亚氨基)-4,6-二氢螺[环戊二烯并[d]噻唑-5,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯(A12-4,200mg,0.47mmol)溶于THF(10mL)中,氮气保护下冷却至-78度。反应液缓慢滴入1.5M的DIBAL-H(0.5mL,0.75mmol),滴加完毕,-78度反应1小时,反应完毕。加水淬灭反应,加入饱和酒石酸钾钠溶液(20mL),用乙酸乙酯萃取(50mLx2),有机相用饱和氯化钠水溶液洗一次,有机相分液后用无水硫酸钠干燥,过滤浓缩。粗品通过硅胶色谱法纯化得到浅黄固体(S)-2-氯-4-((S)-1,1-二甲基乙基亚磺酰胺基)-4,6-二氢螺[环戊二烯并[d]噻唑-5,4'-哌啶]-1'-羧酸叔丁酯A12-5(155mg,收率:76%)。LCMS:m/z 448[M+H]⁺

[0348] 步骤七:将(S)-2-氯-4-((S)-1,1-二甲基乙基亚磺酰胺基)-4,6-二氢螺[环戊二

烯并[d]噻唑-5,4'-吡啶]-1'-羧酸叔丁酯(A12-5,155mg,0.35mmol)溶于4M盐酸二氧六环溶液(5mL,20mmol)中,室温反应3小时,反应完毕。反应液浓缩得到浅黄色油,(S)-2-氯-4,6-二氢螺[环戊二烯并[d]噻唑-5,4'-吡啶]-4-胺(A12,145mg,salt)。LCMS:m/z 244[M+H]⁺

[0349] 中间体B1的合成:3-氯-5-甲基吡嗪-2-甲酸乙酯



[0351] 步骤一:向干燥的1L三口圆底烧瓶中加入乙醇(216mL)和丙烷-1,2-二胺(9.71g,131mmol,1.01eq)。然后降温到0℃,缓慢滴加2-氧代丙二酸二乙酯(22.6g,130mmol,1.0eq),有白色固体生成,室温下搅拌12小时。然后升温到90℃,继续搅拌24小时(白色固体会逐渐消失)。反应完毕后,减压浓缩,得到的油状物通过硅胶色谱法纯化(50至65%梯度的乙酸乙酯:石油醚),得到黄色固体B1-1(6.8g,收率:27.4%)。

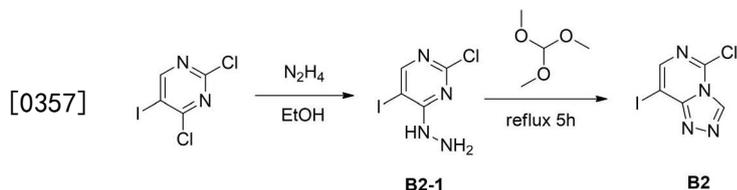
[0352] ¹H NMR(400MHz,DMSO) δ12.87(s,1H),7.33(s,1H),4.26(q,J=7.1Hz,2H),2.25(s,3H),1.26(dt,J=6.9,5.1Hz,3H);

[0353] LCMS:m/z 183.1[M+H]⁺。

[0354] 步骤二:室温下,向干燥的100mL圆底烧瓶中依次加入B1-1(910mg,5.0mmol,1.0eq),甲苯(10mL)和氯化亚砷(654mg,5.5mmol,1.1eq)。然后滴加一滴DMF,得到的黄色悬浊液搅拌下在110℃反应6小时。反应完毕后,减压浓缩,得到的油状物通过硅胶色谱法纯化(0至11.8%梯度的乙酸乙酯:石油醚),得到黄色固体B1(480mg,收率:45.6%)。

[0355] LCMS:m/z 201.1[M+H]⁺。

[0356] 中间体B2的合成:5-氯-8-碘-[1,2,4]三氮唑并[4,3-c]嘧啶



[0358] 步骤一:向干燥的100mL烧瓶中加入2,4-二氯-5-碘嘧啶(1.096g,4mmol)和20mL无水乙醇。在0℃氮气条件下,向其中缓慢加入80%水合肼(601mg,12mmol)混合物继续搅拌反应1小时。反应完毕后,将混合物过滤并用无水乙醇洗涤得到得到2-氯-4-肼基-5-碘嘧啶B2-1(850mg,产率78.7%)。

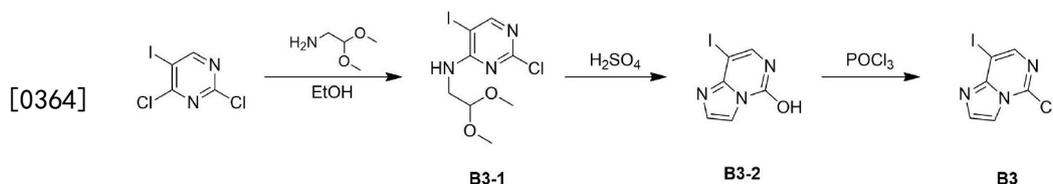
[0359] ¹H NMR(400MHz,CDC13) δ8.29(s,1H),6.67(s,1H),4.08(s,2H);

[0360] LCMS:m/z 271.1[M+H]⁺。

[0361] 步骤二:向干燥的100mL烧瓶中依次加入2-氯-4-肼基-5-碘嘧啶(810mg,3mmol)和原甲酸三甲酯(10mL)。在氮气条件下,将混合物加热至85℃搅拌反应5小时。反应完毕后,将获得的残留物倒入饱和NaCl溶液(50mL),并使用乙酸乙酯(3×30mL)萃取,饱和食盐水洗涤并混合有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤并在减压浓缩得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(0至50%梯度的乙酸乙酯/石油醚),得到淡黄色固体5-氯-8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶B2(420mg,收率:50%)。

[0362] LCMS:m/z 280.9[M+H]⁺。

[0363] 中间体B3的合成:5-氯-8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶



[0365] 步骤一:向干燥的100mL烧瓶中依次加入2,4-二氯-5-碘嘧啶(1.37g,5mmol)和2,2-二甲氧基乙胺(8.4g,10mmol)和无水乙醇(50mL)。然后在0℃氮气条件下,向反应混合物中缓慢滴加三乙胺(1.01g,10mmol)之后将混合物在室温下搅拌反应10小时。反应完毕后,真空浓缩,得到的浓缩物加入15mL的水,并使用二氯甲烷(3×50mL)萃取,饱和食盐水洗涤并混合有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩得到白色固体2-氯-N-(2,2-二甲氧基乙基)-5-碘嘧啶-4-胺B3-1(1.46g,收率:85%)。

[0366] LC-MS:m/z 344.2[M+H]⁺。

[0367] 步骤二:向干燥的100mL烧瓶中依次加入2-氯-N-(2,2-二甲氧基乙基)-5-碘嘧啶-4-胺(1.03g,3mmol)和10mL浓硫酸。在氮气条件下,将混合物加热至65℃搅拌反应2小时。反应完毕后,反应液冷却至室温,将混合物缓慢倒入冰水中,然后用4M的NaOH溶液调节pH约到6-7,过滤得到灰白色固体8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-醇B3-2(0.407g,产率52%)。

[0368] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ11.81(s,1H),7.93(d,J=1.4Hz,1H),7.60(s,1H),7.40(d,J=1.4Hz,1H);

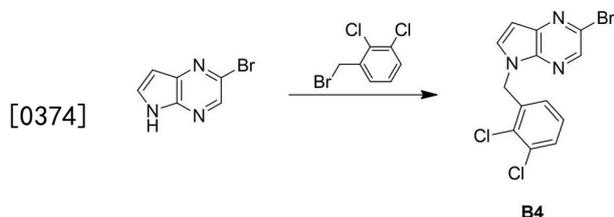
[0369] LC-MS:m/z 262.2[M+H]⁺。

[0370] 步骤三:向干燥的50mL单口烧瓶中依次加入8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-醇(0.522g,2mmol)和三氯氧磷(8mL),在氮气的保护下,缓慢滴加N,N-二异丙基乙胺(1mL),之后将混合物加热至120℃搅拌5小时。反应完毕后,反应液冷却至室温并将真空浓缩,然后加入饱和碳酸氢钠溶液淬灭,使用乙酸乙酯(3×40mL)萃取,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩,将得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(0至30%梯度的乙酸乙酯:石油醚)得到淡黄色固体5-氯-8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶B3(0.360g,收率:55%)。

[0371] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ8.24(s,1H),8.20(d,J=1.4Hz,1H),7.81(d,J=1.4Hz,1H);

[0372] LC-MS:m/z 280.1[M+H]⁺。

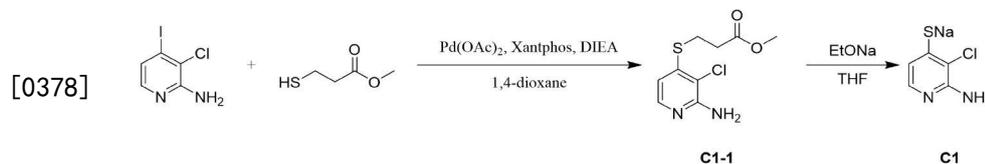
[0373] 中间体B4的合成:2-溴-5-(2,3-二氯苄基)-5H-吡咯[2,3-b]吡嗪



[0375] 步骤:向100mL的三口烧瓶中依次加入DMF(10mL)和2-溴-5H-吡咯并[2,3-b]吡嗪(1g,5.0mmol,1.0eq),降温到0℃,搅拌下加入NaH(240mg,6.0mmol,1.2eq),继续搅拌半小时,然后加入1-(溴甲基)-2,3-二氯苯(1.3g,5.5mmol,1.1eq),升至室温,搅拌10小时。反应完毕后,加入饱和氯化钠溶液(50mL)淬灭,然后用乙酸乙酯(25mL*3)萃取。有机相再用食盐水(40mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤。滤液减压浓缩后得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(0至1.8%梯度的乙酸乙酯:石油醚)得到黄色固体B4(1.2g,收率:56.7%)。

[0376] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.40 (s, 1H), 8.06 (d, $J=3.7\text{Hz}$, 1H), 7.62-7.56 (m, 1H), 7.27 (t, $J=7.9\text{Hz}$, 1H), 6.76 (dd, $J=4.2, 2.5\text{Hz}$, 2H), 5.63 (s, 2H)。

[0377] 中间体C1的合成:2-氨基-3-氯吡啶-4-硫钠

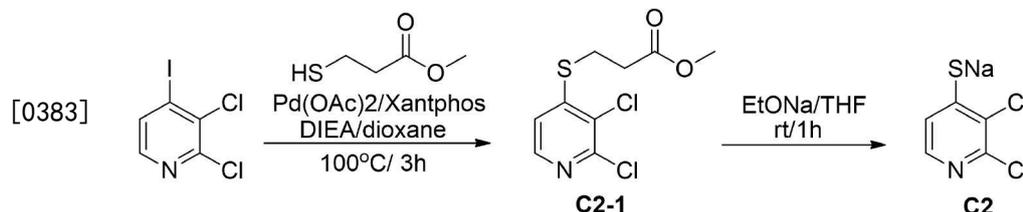


[0379] 步骤一:向干燥的100mL的圆底三口烧瓶中依次加入3-氯-4-碘吡啶-2-胺(2.5g, 9.82mmol, 1.0eq), Xantphos(341mg, 0.59mmol, 0.06eq), 醋酸钯(110mg, 0.49mmol, 0.05eq), DIPEA(3.25mL, 19.6mmol, 2.0q), 3-巯基丙酸甲酯(1.19mL, 10.8mmol, 1.1eq)和1,4-二氧六环(32.5mL)。在搅拌的情况下,用氮气置换三次,然后加热到100℃,反应3小时。反应完毕后,反应液冷却至室温,用乙酸乙酯(50mL)稀释并减压抽滤,滤饼用乙酸乙酯(25mL)洗涤,将得到的滤液真空浓缩,将得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(0至30%梯度的乙酸乙酯:石油醚)得到黄色固体C1-1(2.0g, 收率:78%)。

[0380] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.89 (d, $J=5.4\text{Hz}$, 1H), 6.53 (d, $J=5.5\text{Hz}$, 1H), 4.87 (s, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.24 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 2.75 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 2H)。

[0381] 步骤二:在干燥的100mL的圆底三口烧瓶中,将C1-1(2g, 8.11mmol, 1.0eq)溶解在四氢呋喃(28mL)里,氮气保护的情况下,室温下向反应液中滴加乙醇钠(2.9g, 8.51mmol, 1.05eq, 20%wt),然后搅拌一小时。反应完毕后,用二氯甲烷(60mL)稀释并超声5分钟,减压抽滤,滤饼真空烘干得到黄色固体C1(1.4g, 收率:89%)

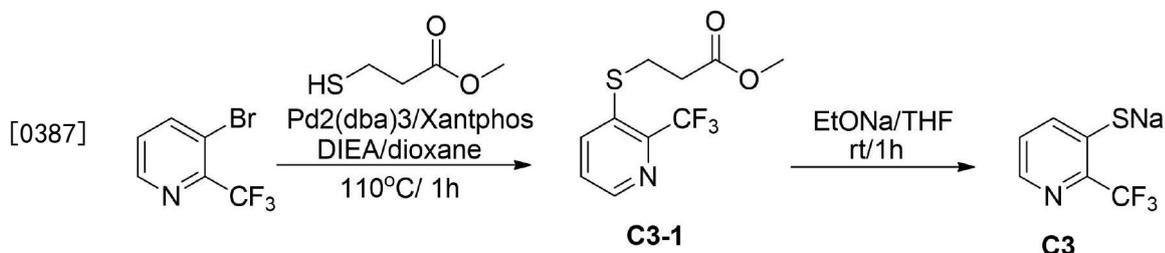
[0382] 中间体C2的合成:2,3-二氯吡啶-4-硫醇钠3



[0384] 步骤一:将2,3-二氯-4-碘吡啶(1.0g, 3.65mmol, 1.0eq), 3-巯基丙酸甲酯(480mg, 4.02mmol, 1.1eq)和N,N-二异丙基乙胺(950mg, 7.3mmol)溶于1,4-二氧六环(15mL)中,置换三次氩气,在氩气保护下加入醋酸钯(82mg, 0.37mmol, 0.1eq)和Xantphos(211mg, 0.37mmol, 0.1eq)加完升温到100度,反应3小时,反应完毕。加入乙酸乙酯萃取(100mL),通过硅藻土过滤并浓缩高效液相色谱制备得到类白色固体(3-((2,3-二氯吡啶-4-基)硫代)丙酸甲酯C2-1(550mg, 收率:56.5%)。LCMS: m/z 266.0[M+H] $^+$

[0385] 步骤二:将3-((2,3-二氯吡啶-4-基)硫代)丙酸甲酯(C2-1, 100mg, 0.37mmol, 1.0eq)溶于四氢呋喃(10mL)和乙醇(0.5mL)中。氮气保护下加入乙醇钠(27mg, 0.39mmol, 1.05eq),室温反应3小时,反应未完成,补加乙醇钠(27mg, 0.39mmol, 1.05eq),室温反应3小时,反应完毕。加入纯净水冷冻干燥得到粗品浅黄色固体2,3-二氯吡啶-4-硫醇钠C2(150mg, 收率:100%)。LCMS: m/z 180.0[M+H] $^+$

[0386] 中间体C3的合成:2-(三氟甲基)吡啶-3-硫醇钠

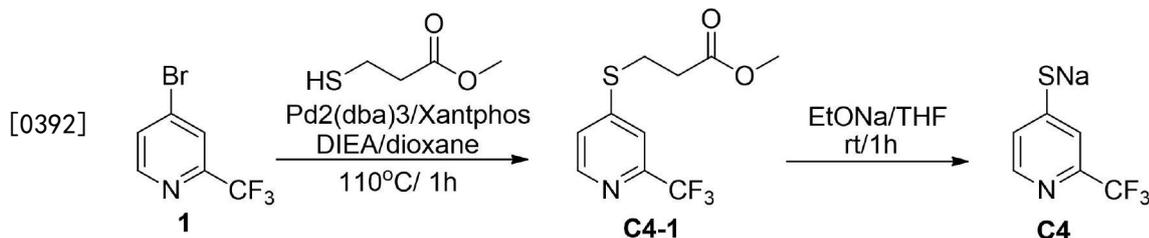


[0388] 步骤一:将3-溴-2-三氟甲基吡啶(400mg,1.77mmol,1.0eq),3-巯基丙酸甲酯(235mg,1.95mmol,1.1eq)和N,N-二异丙基乙胺(460mg,3.54mmol,2.0eq)溶于1,4-二氧六环(15mL)中,置换三次氩气,在氩气保护下加入Pd₂(dba)₃(160mg,0.18mmol,0.1eq)和Xantphos(205mg,0.36mmol,0.2eq)加完升温到110度,反应1小时,反应完毕。加入乙酸乙酯萃取(100mL),通过硅藻土过滤并浓缩过柱(PE:EA=8/1~6/1)得到浅黄色油状物(3-((2-(三氟甲基)吡啶3-基)硫代)丙酸甲酯2(450mg,收率:95.7%)。

[0389] LCMS:m/z 266.1[M+H]⁺

[0390] 步骤二:将(3-((2-(三氟甲基)吡啶3-基)硫代)丙酸甲酯(C3-1,300mg,1.13mmol,1.0eq)溶于四氢呋喃(10mL)和乙醇(0.5mL)中。氮气保护下加入乙醇钠(84mg,1.23mmol,1.1eq),室温反应3小时,反应未完成,补加乙醇钠(83mg,1.23mmol,1.1eq),室温反应3小时,反应完毕。室温减压除掉四氢呋喃后加入纯净水冷冻干燥得到粗品浅黄色固体2-(三氟甲基)吡啶-3-硫醇钠C3(500mg,收率:超过100%)。LCMS:m/z 179.9[M+H]⁺

[0391] 中间体C4的合成:2-(三氟甲基)吡啶-4-硫醇钠3

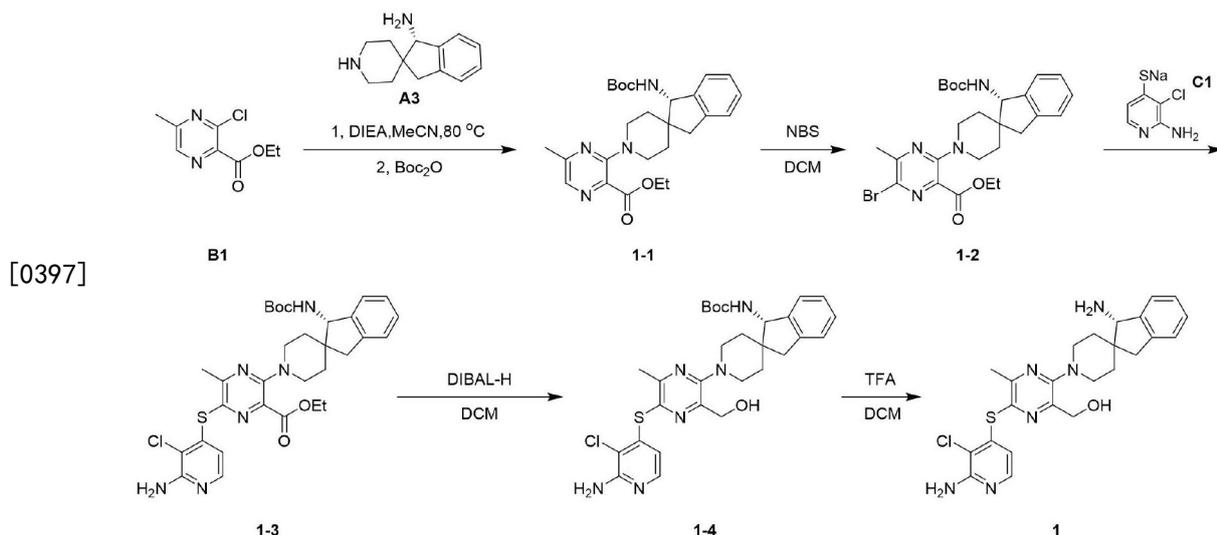


[0393] 步骤一:将4-溴-2-三氟甲基吡啶(1.0g,4.4mmol,1.0eq),3-巯基丙酸甲酯(760mg,6.3mmol,1.4eq)和N,N-二异丙基乙胺(2.17g,16.8mmol,3.8eq)溶于1,4-二氧六环(25mL)中,置换三次氩气,在氩气保护下加入Pd₂(dba)₃(200mg,0.22mmol,0.05eq)和Xantphos(124mg,0.22mmol,0.05eq)加完升温到110度,反应1小时,反应完毕。加入乙酸乙酯萃取(100mL),通过硅藻土过滤并浓缩过柱(PE:EA=5/1)得到浅黄色油状物(3-((2-(三氟甲基)吡啶4-基)硫代)丙酸甲酯2(1.08g,收率:97%)。LCMS:m/z 266.2[M+H]⁺

[0394] 步骤二:将(3-((2-(三氟甲基)吡啶4-基)硫代)丙酸甲酯(C4-1,230mg,0.85mmol,1.0eq)溶于四氢呋喃(10mL)和乙醇(0.5mL)中。氮气保护下加入乙醇钠(294mg,0.87mmol,1.02eq),室温反应1小时,反应完毕。室温减压除掉四氢呋喃后加入纯净水冷冻干燥得到粗品浅黄色固体2-(三氟甲基)吡啶-4-硫醇钠C4(150mg,LCMS:m/z 180.0[M+H]⁺

[0395] 实施例一:化合物1的合成

[0396] (S)-(3-(1-氨基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-基)-6-((2-氨基-3氯吡啶-4-基)硫代)-5-甲基吡啶-2-基甲醇)



[0398] 步骤一：向100mL的圆底烧瓶中依次加入B1 (189mg, 0.94mmol, 1.0eq), A3 (260mg, 0.94mmol, 1.0eq), DIEA (622 μ L, 3.77mmol, 4.0eq) 和乙腈 (5mL), 80 $^{\circ}$ C 搅拌2小时, 降温到40 $^{\circ}$ C, 然后加入Boc₂O (307mg, 1.41mmol, 1.5eq), 继续搅拌2小时。反应完毕后, 反应液减压浓缩后得到的残留物通过硅胶色谱法纯化 (0至30.5%梯度的乙酸乙酯: 石油醚) 得到黄色固体1-1 (240mg, 收率: 51.8%)。

[0399] LC-MS: m/z 467.1 [M+H]⁺。

[0400] 步骤二：向100mL的圆底烧瓶中依次加入二氯甲烷 (5mL) 和1-1 (230mg, 0.49mmol, 1.0eq), 降温到0 $^{\circ}$ C, 然后加入NBS (131mg, 0.74mmol, 1.5eq), 室温下搅拌一小时。反应完毕后, 加入10%的亚硫酸钠溶液 (20mL) 淬灭, 然后用二氯甲烷 (10mL*3) 萃取。有机相用盐水 (15mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液减压浓缩得到黄色固体1-2 (300mg, 粗品直接用于下一步)。

[0401] LC-MS: m/z 547.0 [M+H]⁺。

[0402] 步骤三：向干燥的100mL的圆底三口烧瓶中依次加入中间体1-2 (240mg, 0.44mmol, 1.0eq), Xantphos (52mg, 0.09mmol, 0.2eq), Pd₂(dba)₃ (41mg, 0.04mmol, 0.1eq), DIPEA (156 μ L, 0.88mmol, 2.0eq), 2-氨基-3-氯嘧啶-4-硫钠C1 (85mg, 0.88mmol, 1.05eq) 和1,4-二氧六环 (3mL)。在搅拌的情况下, 用氮气置换三次, 然后加热到105 $^{\circ}$ C, 反应6小时。反应完毕后, 反应液冷却至室温, 用乙酸乙酯 (50mL) 稀释并减压抽滤, 滤饼用乙酸乙酯 (25mL) 洗涤, 将得到的滤液真空浓缩, 将得到的残留物通过硅胶色谱法纯化 (0至50%梯度的乙酸乙酯: 石油醚) 得到黄色固体1-3 (170mg, 收率: 58.7%)。

[0403] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 7.67 (d, J=5.4Hz, 1H), 7.32-7.16 (m, 5H), 6.40 (s, 2H), 5.76 (d, J=5.3Hz, 1H), 4.84 (d, J=9.9Hz, 1H), 4.31 (q, J=7.0Hz, 2H), 3.78 (d, J=13.6Hz, 2H), 3.31 (d, J=3.5Hz, 2H), 3.09 (d, J=15.8Hz, 1H), 2.75 (d, J=15.8Hz, 1H), 2.42 (s, 3H), 1.79-1.57 (m, 3H), 1.41 (s, 9H), 1.30 (t, J=7.1Hz, 3H);

[0404] LC-MS: m/z 625.1 [M+H]⁺。

[0405] 步骤四：向干燥的50mL三口烧瓶中依次加入二氯甲烷 (1mL) 和1-3 (170mg, 0.27mmol, 1.0eq)。在-70 $^{\circ}$ C, 氮气保护条件下, 滴加DIBAL-H (0.48mL, 1.5M in toluene, 0.72mmol, 4.5eq), 继续搅拌半小时。然后升至0 $^{\circ}$ C, 继续搅拌半小时。反应完毕后, 用酒石酸

钾钠(2g溶解在10mL水中)淬灭,搅拌半小时,减压抽滤,滤饼用二氯甲烷淋洗(10mL*3),得到的二氯甲烷相减压浓缩,残留物通过硅胶色谱法纯化(0至70%梯度的乙酸乙酯:石油醚)得到黄色固体1-4(44mg,收率:44.9%)。

[0406] LC-MS:m/z 583.1[M+H]⁺。

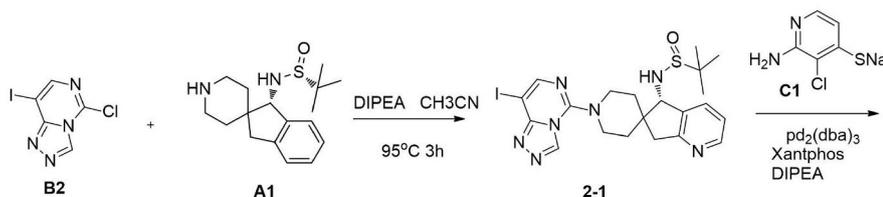
[0407] 步骤五:向干燥的50mL单口烧瓶中依次加入二氯甲烷(0.9mL),1-4(44mg,0.075mmol,1.0eq)和TFA(0.3mL)。室温下搅拌2小时。反应完毕后,用固体碳酸氢钠调节pH到8,减压抽滤,滤液通过制备薄层板(二氯甲烷/甲醇=10/1)分离得到白色固体1(10mg,收率:26.9%)。

[0408] ¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.67(d,J=5.5Hz,1H),7.40-7.34(m,1H),7.25-7.17(m,3H),5.93(d,J=5.5Hz,1H),5.08(s,2H),4.65(s,2H),4.05(s,1H),3.65(t,J=11.5Hz,2H),3.48(s,1H),3.22-3.13(m,2H),3.10(d,J=15.8Hz,1H),2.76(d,J=15.7Hz,1H),2.52(s,3H),1.99-1.82(m,2H),1.62(d,J=13.1Hz,1H),1.46(d,J=13.1Hz,1H),1.38-1.26(m,2H);

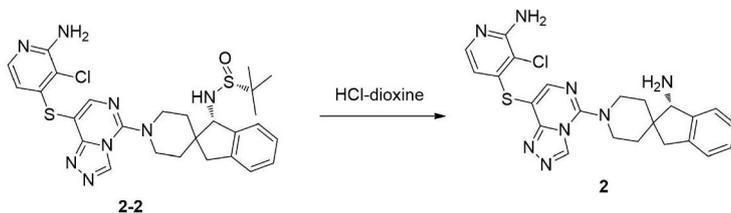
[0409] LC-MS:m/z 483.0[M+H]⁺。

[0410] 实施例二:化合物2的合成

[0411] (S)-1'-((8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



[0412]



[0413] 步骤一:在氮气保护下,向干燥的25mL单口烧瓶中依次加入5-氯-8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶(B2,80mg,0.285mmol)、((R)-N-((S)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(A1,105mg,0.342mmol)、DIEA(55mg,0.428mmol)和CH₃CN(5mL),然后在95°C下搅拌反应3小时。反应完毕后,将获得的残留物过滤并在减压浓缩得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(0至10%梯度的甲醇/乙酸乙酯),得到黄色固体((R)-N-((S)-1'-((8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2-,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(2-1,101mg,收率:65%)。

[0414] LCMS:m/z 551.1[M+H]⁺。

[0415] 步骤二:在氮气保护下向5mL的微波反应瓶中依次加入((R)-N-((S)-1'-((8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2-,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(3-1,100mg,0.18mmol)、2-氨基-3-氯吡啶-4-硫醇钠(49mg,0.27mmol)、Pd₂(dba)₃(16mg,0.018mmol)、Xantphos(21mg,0.036mmol)、DIPEA(58mg,0.45mmol)和1,4-二氧六环

溶液(10mL),该混合物在氮气保护下微波加热100℃搅拌反应3小时。反应完毕后,冷却至室温,过滤并在减压浓缩得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(0至10%梯度的乙酸乙酯/甲醇),得到(R)-N-((R)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(2-2,65mg,收率:63%)。

[0416] LC-MS:m/z 532.2[M+H]⁺。

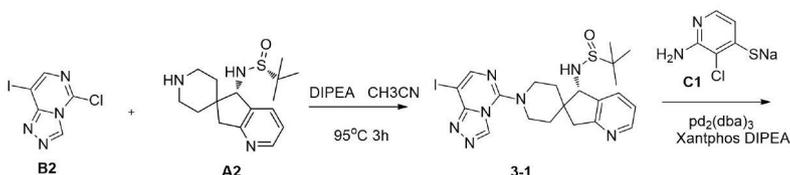
[0417] 步骤三:在氮气保下向50mL的单口烧瓶中依次加入(R)-N-((R)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(3-2,60mg,0.10mmol)和甲醇(0.6mL),在室温下滴加盐酸1,4-二氧六环溶液(0.06mL,4M),该混合物在室温下搅拌反应1小时。反应完毕后,冷却至室温,过滤并在减压浓缩得到的残留物通过高效液相制备色谱纯化得到(S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺(化合物2,20mg,收率:42%)。

[0418] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ9.38(s,1H),7.98(s,1H),7.58(d,J=5.4Hz,1H),7.36(d,J=4.9Hz,1H),7.22(dt,J=8.2,3.9Hz,3H),6.33(s,2H),5.96(d,J=5.4Hz,1H),4.22-4.07(m,2H),4.00(s,1H),3.49(dd,J=22.5,11.2Hz,2H),3.12(d,J=15.8Hz,1H),2.75(d,J=15.6Hz,1H),2.03-1.86(m,2H),1.63(d,J=13.4Hz,1H),1.39-1.29(m,1H);

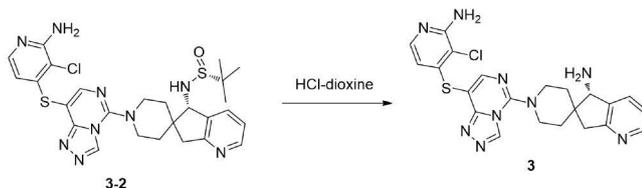
[0419] LC-MS:m/z 479.1[M+H]⁺。

[0420] 实施例三:化合物3的合成。

[0421] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三氮唑[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺



[0422]



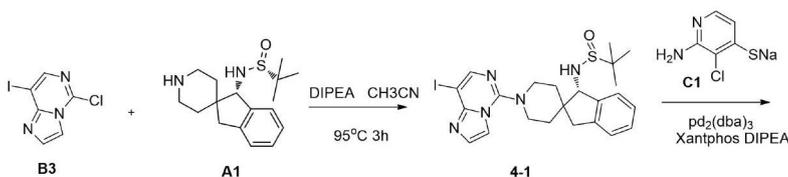
[0423] 参照化合物2的合成方法,使用中间体A2代替中间体A1,进行三步反应得到化合物3。

[0424] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ9.40(s,1H),8.35(d,J=4.3Hz,1H),7.99(s,1H),7.71(d,J=7.4Hz,1H),7.58(d,J=5.4Hz,1H),7.21(dd,J=7.4,5.0Hz,1H),6.36(s,2H),5.96(d,J=5.4Hz,1H),4.23-4.08(m,2H),4.02(s,1H),3.51(dd,J=23.3,11.6Hz,2H),3.16(d,J=16.3Hz,1H),2.84(d,J=16.3Hz,1H),2.04-1.91(m,2H),1.65(d,J=13.4Hz,1H),1.32(d,J=14.8Hz,1H);

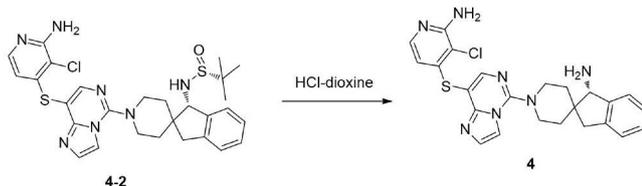
[0425] LC-MS:m/z 480.1[M+H]⁺。

[0426] 实施例四:化合物4的合成。

[0427] (S)-1'- (8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



[0428]



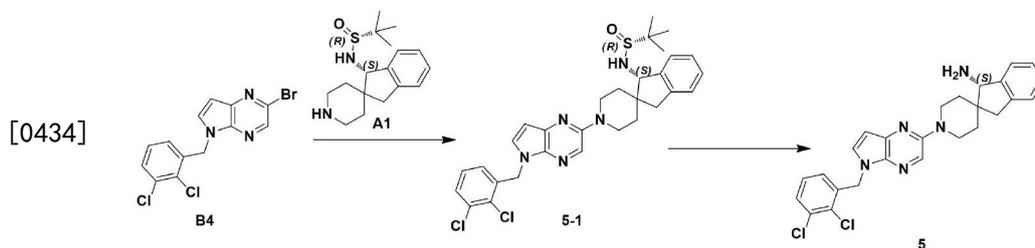
[0429] 参照化合物2的合成方法,使用中间体B3代替中间体B2,进行三步反应得到化合物4。(甲酸盐,白色固体)。

[0430] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.03 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.64-7.49 (m, 2H), 7.43 (s, 1H), 7.30-7.17 (m, 3H), 6.33 (s, 2H), 5.79 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 4.12 (s, 1H), 3.95 (d, $J=12.8\text{Hz}$, 2H), 3.33 (dd, $J=20.0, 10.8\text{Hz}$, 2H), 3.14 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 2.82 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 1.98 (d, $J=9.6\text{Hz}$, 2H), 1.61 (d, $J=12.8\text{Hz}$, 1H), 1.42 (d, $J=12.8\text{Hz}$, 1H), 1.23 (s, 2H);

[0431] LC-MS: m/z 478.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0432] 实施例五:化合物5的合成。

[0433] (S)-1'- (5-(2,3-二氯苯基)-5-氢-吡咯[2,3-b]吡嗪-2-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



[0435] 步骤一:在氮气保护下,向干燥的10mL单口烧瓶中依次加入2-溴-5-(2,3-二氯苯基)-5H-吡咯并[2,3-b]吡嗪(B4, 78mg, 0.22mmol)、((R)-N-((S)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(A1, 67.3mg, 0.22mmol)、RuPhos-Pd-G2 (5.1mg, 0.03eq), RuPhos (3mg, 0.03eq), $t\text{-BuONa}$ (42.2mg, 0.44mmol) 和1,4-二氧六环(2mL),然后在氮气100°C下搅拌反应11小时。反应完毕后过滤,除去溶剂并将减压浓缩得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(0至50%梯度的乙酸乙酯/石油醚),得到黄色固体(R)-N-((S)-1'- (5-(2,3-二氯苯基)-5H-吡咯并[2,3-b]吡嗪-2-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(5-1, 20mg, 收率:15%)。

[0436] LCMS: m/z 582.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0437] 步骤二:在干燥的10mL单口瓶中依次加入5-1 (20mg), 二氯甲烷 (0.5mL), 甲醇 (0.5mL) 和4.0M HCl-dioxane (0.20mL, 0.8mmol), 将得到的混合物在50°C搅拌反应4小时。加入NaHCO₃饱和水溶液直到pH 8, 并将含水的混合物用DCM (2x20mL) 萃取。将合并的有机相

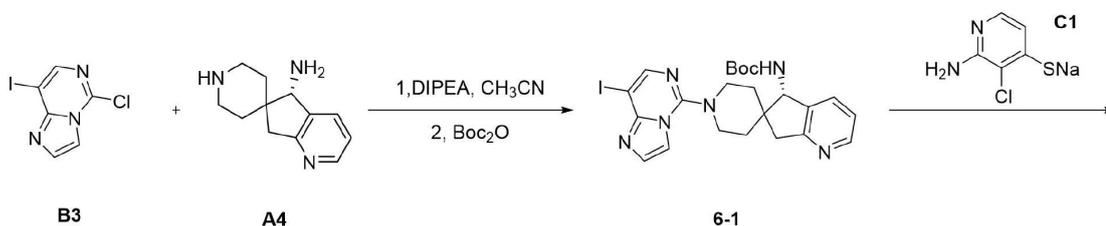
用Na₂SO₄干燥,过滤,并在减压下除去挥发物。得到的残留物用制备硅胶板纯化(二氯甲烷/甲醇=10:1,体积比)得到浅绿色固体(S)-1'- (5-(2,3-二氯苄基)-5H-吡咯并[2,3-b]吡嗪-2-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-胺5(5.2mg,收率:33%)。

[0438] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.95 (d, J=3.5Hz, 1H), 7.45-7.35 (m, 2H), 7.32 (d, J=3.5Hz, 1H), 7.25-7.19 (m, 3H), 7.06 (t, J=7.9Hz, 1H), 6.64 (d, J=7.7Hz, 1H), 6.50 (d, J=3.5Hz, 1H), 5.52 (s, 2H), 4.05 (d, J=13.4Hz, 3H), 3.71 (d, J=4.9Hz, 0H), 3.11 (d, J=15.9Hz, 3H), 2.78 (d, J=15.8Hz, 1H), 2.02 (d, J=17.5Hz, 1H), 1.94-1.80 (m, 2H), 1.62 (d, J=13.3Hz, 1H), 1.49 (d, J=13.1Hz, 1H), 1.33-1.29 (m, 1H);

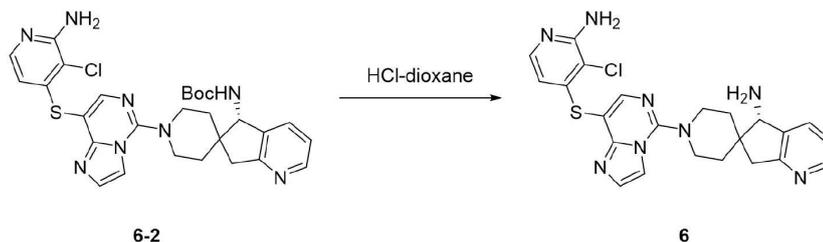
[0439] LCMS: m/z 478.1 [M+H]⁺。

[0440] 实施例六: 化合物6的合成。

[0441] (S)-1'- (8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺



[0442]



[0443] 步骤一: 向含3mL乙腈的25mL单口烧瓶中依次加入B3(1.37g, 4.9mmol)、A4(1.35g, 4.9mmol)、DIEA(4.86mL, 29.41mmol), 然后在80℃下搅拌反应2小时。反应完毕后冷却至室温, 然后加入Boc₂O(1.6g, 7.35mmol, 1.5eq), 升温至50℃反应, 直至反应完全, 将反应液减压浓缩得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(0至100%梯度的乙酸乙酯/石油醚), 得到黄色固体6-1(1.7g, 收率:63.4%)。

[0444] LC-MS: m/z=547.0 [M+H]⁺

[0445] 步骤二: 在氮气保下向5mL的微波反应瓶中依次加入(6-1, 1.7g, 3.11mmol)、2-氨基-3-氯吡啶-4-硫醇钠(49mg, 0.27mmol)、Pd₂(dba)₃(285mg, 0.311mmol)、Xantphos(360mg, 0.622mmol)、DIPEA(804mg, 6.22mmol)和1,4-二氧六环溶液(30mL), 该混合物在氮气保护下微波加热100℃搅拌反应3小时。反应完毕后, 冷却至室温, 过滤并在减压浓缩得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(0至10%梯度的乙酸乙酯/甲醇), 得到(R)-N-((R)-1'- (8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(6-2, 1.2g, 收率:66.6%)。

[0446] 参照化合物1第五步的合成方法, 使用三氟乙酸脱除N保护基叔丁基氧羰基, 得到化合物6。

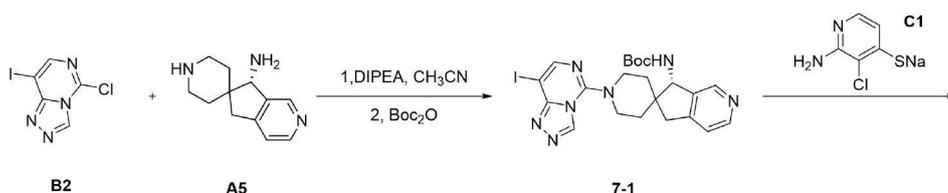
[0447] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ8.35 (d, J=4.0Hz, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.83 (d, J=

1.2Hz, 1H), 7.72 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.56 (dd, J=10.4, 3.4Hz, 2H), 7.20 (dd, J=7.6, 5.2Hz, 1H), 6.33 (s, 2H), 5.80 (d, J=5.4Hz, 1H), 4.02 (s, 1H), 3.95 (dd, J=11.6, 7.6Hz, 2H), 3.31 (d, J=13.6Hz, 2H), 3.15 (d, J=16.4Hz, 1H), 2.83 (d, J=16.4Hz, 1H), 2.00 (tt, J=12.4, 6.4Hz, 2H), 1.64 (d, J=13.2Hz, 1H), 1.48 (dd, J=13.6, 6.4Hz, 1H), 1.34-1.29 (m, 2H);

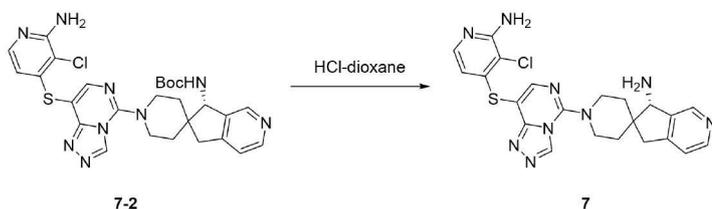
[0448] LCMS:m/z 479.0[M+H]⁺.

[0449] 实施例七:化合物7的合成。

[0450] (S)-1'-((8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[c]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺



[0451]



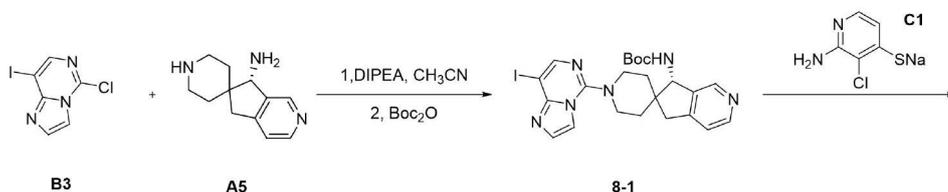
[0452] 参照化合物2的合成方法,使用中间体A5代替中间体A1,进行三步反应得到化合物7。

[0453] ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ8.51 (s, 2H), 8.38 (d, J=4.8Hz, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.57 (d, J=5.6Hz, 1H), 7.28 (d, J=4.8Hz, 1H), 6.36 (s, 2H), 5.88 (d, J=5.6Hz, 1H), 4.92 (t, J=13.6Hz, 2H), 4.03 (s, 1H), 3.61 (dd, J=26.8, 12.0Hz, 2H), 3.16 (d, J=16.8Hz, 1H), 2.78 (s, 1H), 1.92 (td, J=11.2, 4.0Hz, 2H), 1.63 (d, J=13.2Hz, 1H), 1.33-1.24 (m, 1H).

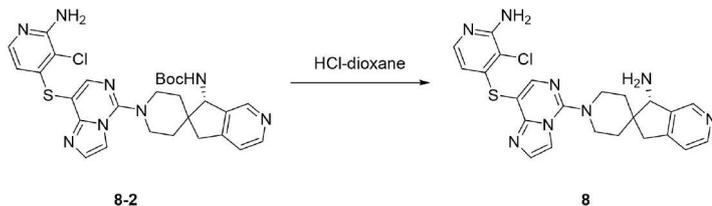
[0454] LCMS:m/z 480.1[M+H]⁺.

[0455] 实施例八:化合物8的合成。

[0456] (S)-1'-((8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[c]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺



[0457]



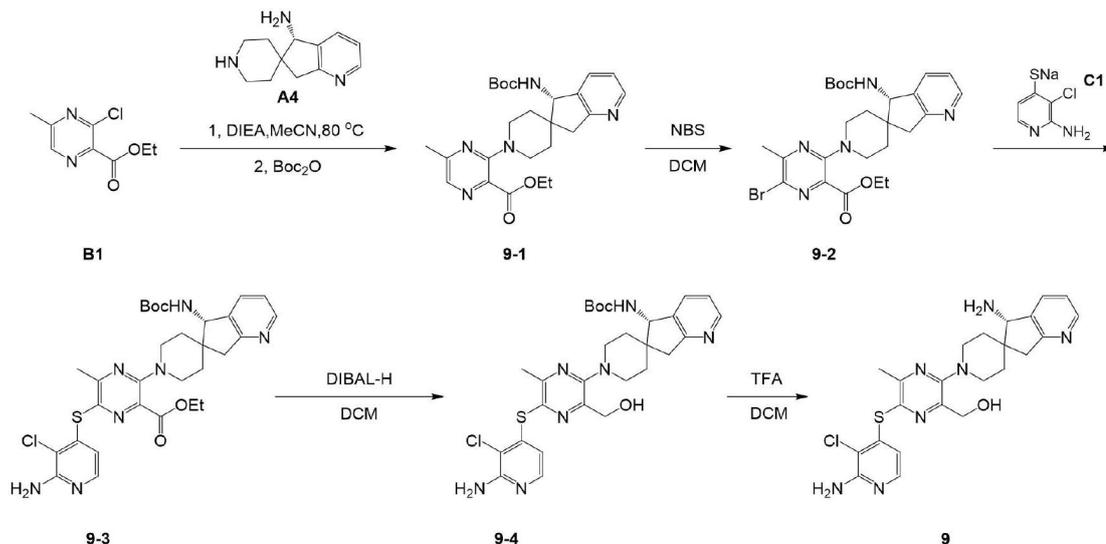
[0458] 参照化合物7的合成方法,使用中间体B3代替中间体B2,进行三步反应得到化合物8。

[0459] ^1H NMR (400MHz, DMSO) δ 8.53 (s, 1H), 8.39 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.84 (d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.58 (d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.56 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 7.28 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 6.34 (s, 2H), 5.80 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 4.07 (s, 1H), 3.93 (d, $J=4.0\text{Hz}$, 2H), 3.37 (dd, $J=19.6, 8.0\text{Hz}$, 2H), 3.13 (d, $J=16.4\text{Hz}$, 1H), 2.76 (d, $J=16.4\text{Hz}$, 1H), 1.98 (d, $J=11.6\text{Hz}$, 2H), 1.62 (d, $J=13.6\text{Hz}$, 1H), 1.30 (s, 1H).

[0460] LCMS: m/z 479.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0461] 实施例九: 化合物9的合成。

[0462] (S)-6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-3-(5-氨基-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-1'-基)-5-甲基吡嗪-2-基)甲醇

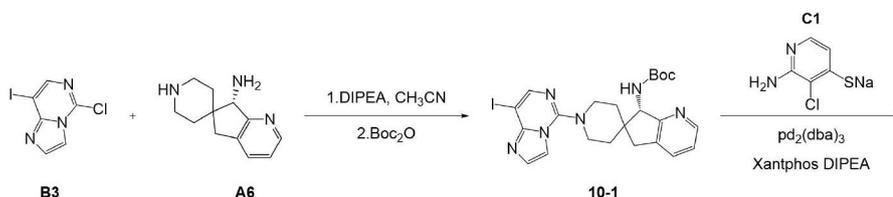


[0464] 参照化合物1的合成方法,使用中间体A4代替中间体A3,进行五步反应得到化合物9。 ^1H NMR (400MHz, DMSO) δ 8.37 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 7.77 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.65 (d, $J=5.4\text{Hz}$, 1H), 7.21 (dd, $J=7.5, 5.1\text{Hz}$, 1H), 6.37 (s, 2H), 5.74 (d, $J=5.4\text{Hz}$, 1H), 5.47 (s, 2H), 4.49 (s, 2H), 4.07 (s, 1H), 4.02-3.84 (m, 2H), 3.26-3.06 (m, 3H), 2.83 (d, $J=16.6\text{Hz}$, 1H), 2.41 (s, 3H), 1.96-1.77 (m, 2H), 1.56 (d, $J=13.1\text{Hz}$, 1H), 1.27 (dd, $J=29.2, 10.9\text{Hz}$, 3H).

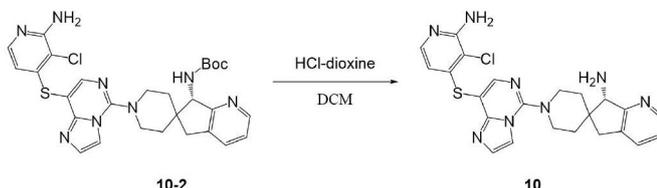
[0465] LC-MS: m/z 484.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0466] 实施例十: 化合物10的合成。

[0467] (S)-1'-((8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶]-6,4'-哌啶)-7-胺



[0468]



[0469] 步骤一：向含3mL乙腈的25mL单口烧瓶中依次加入B3 (50mg, 0.18mmol)、A6 (56mg, 0.18mmol)、DIEA (185mg, 1.14mmol)，然后在80℃下搅拌反应2小时。反应完毕后冷却至室温，然后加入Boc₂O (63mg, 0.29mmol)，升温至50℃反应，直至反应完全，将反应液减压浓缩得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(0至100%梯度的乙酸乙酯/石油醚)，得到黄色固体10-1 (50mg, 收率:51%)。

[0470] LC-MS:m/z=547.0[M+H⁺]

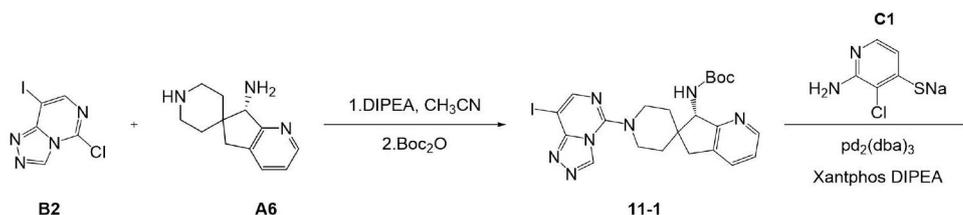
[0471] 其余步骤参照化合物2的合成方法，使用中间体10-1代替中间体2-1，进行两步反应得到化合物10。(甲酸盐，白色固体)。

[0472] ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 8.38 (d, J=4.3Hz, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.84 (d, J=1.4Hz, 1H), 7.65 (d, J=7.4Hz, 1H), 7.56 (dd, J=9.1, 3.4Hz, 2H), 7.29-7.13 (m, 1H), 6.33 (s, 2H), 5.80 (d, J=5.4Hz, 1H), 4.01 (s, 1H), 3.95-3.86 (m, 2H), 3.38 (dd, J=23.6, 11.2Hz, 3H), 3.11 (d, J=16.0Hz, 1H), 2.75 (d, J=16.0Hz, 1H), 2.05-1.91 (m, 2H), 1.69 (d, J=13.6Hz, 1H), 1.31 (d, J=14.0Hz, 2H)。

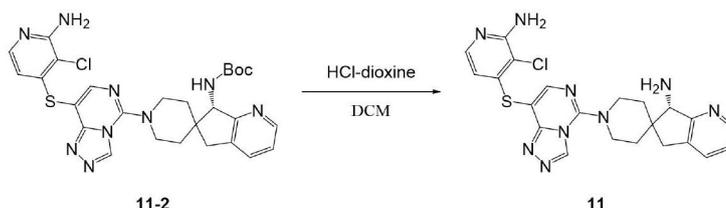
[0473] LC-MS:m/z=478.0[M+H⁺]

[0474] 实施例十一：化合物11的合成

[0475] (S)-1'-((8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺



[0476]



[0477] 参照化合物10的合成方法，使用中间体B2代替中间体B3，进行三步反应得到化合

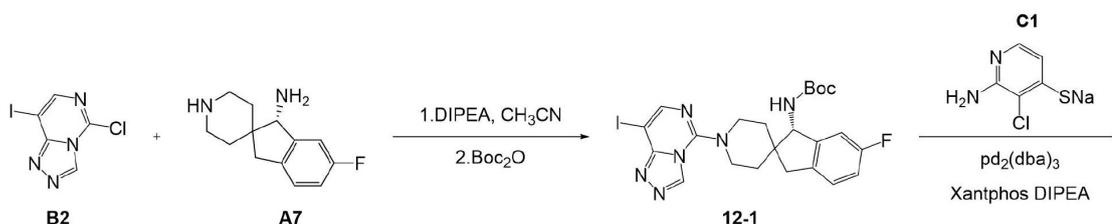
物11。(甲酸盐,白色固体)。

[0478] ^1H NMR (400MHz, DMSO) δ 9.40 (s, 1H), 8.48 (d, $J=4.5\text{Hz}$, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.76 (d, $J=7.3\text{Hz}$, 1H), 7.58 (d, $J=5.4\text{Hz}$, 1H), 7.33 (dd, $J=7.5, 5.0\text{Hz}$, 1H), 6.35 (s, 2H), 5.94 (d, $J=5.4\text{Hz}$, 1H), 4.31 (s, 1H), 4.26-4.09 (m, 2H), 3.53 (dd, $J=27.1, 12.0\text{Hz}$, 2H), 3.24 (d, $J=16.4\text{Hz}$, 1H), 2.92 (d, $J=16.3\text{Hz}$, 1H), 2.09 (s, 1H), 1.92 (s, 1H), 1.76 (d, $J=13.2\text{Hz}$, 1H), 1.42 (d, $J=13.2\text{Hz}$, 1H)。

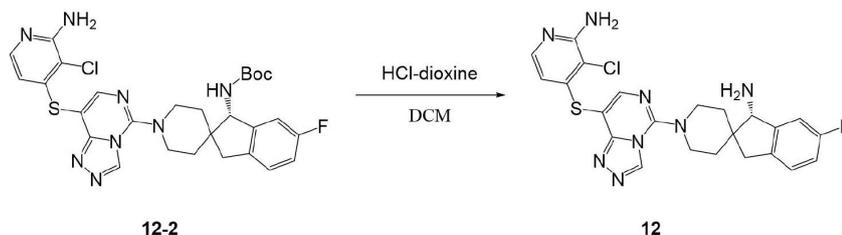
[0479] LC-MS: $m/z=479.0$ $[\text{M}+\text{H}^+]$ 。

[0480] 实施例十二: 化合物12的合成。

[0481] (S)-1'-((8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-6-氟-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



[0482]



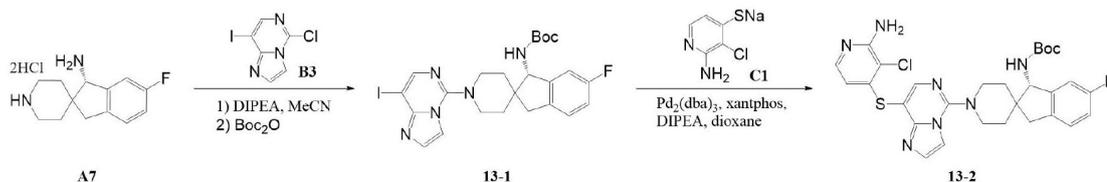
[0483] 参照化合物10的合成方法,使用中间体A7代替中间体A6,进行三步反应得到化合物12。(甲酸盐,白色固体)。

[0484] ^1H NMR (400MHz, DMSO) δ 9.38 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.57 (d, $J=5.4\text{Hz}$, 1H), 7.31-7.20 (m, 1H), 7.16 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 7.01 (t, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 6.34 (s, 2H), 5.95 (d, $J=5.4\text{Hz}$, 1H), 4.14 (t, $J=12.0\text{Hz}$, 2H), 4.00 (s, 1H), 3.47 (dd, $J=25.4, 12.0\text{Hz}$, 3H), 3.10 (d, $J=15.5\text{Hz}$, 1H), 2.71 (d, $J=15.5\text{Hz}$, 1H), 2.08-1.85 (m, 2H), 1.64 (d, $J=13.3\text{Hz}$, 1H), 1.30 (d, $J=13.5\text{Hz}$, 1H)。

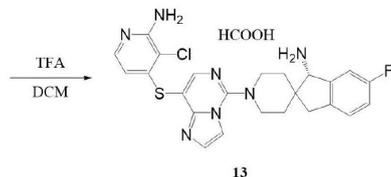
[0485] LC-MS: $m/z=495.0$ $[\text{M}+\text{H}^+]$ 。

[0486] 实施例十三: 化合物13的合成

[0487] (S)-1'-((8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑[1,2-c]嘧啶-5-基)-6-氟-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



[0488]



[0489] 参照化合物6的合成方法,使用中间体A7代替中间体A4,进行两步反应得到化合物13-2。

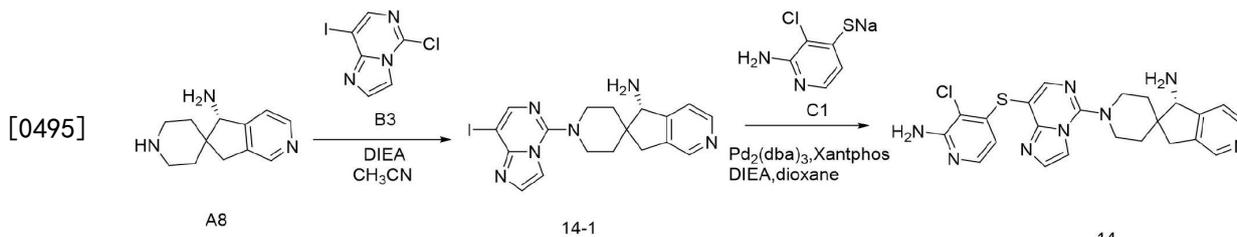
[0490] 步骤三:向干燥的单口烧瓶中依次加入化合物13-2 (60mg, 0.101mmol), 二氯甲烷 (1mL) 和三氟乙酸 (0.2mL)。反应液在20℃下搅拌1小时。反应液减压浓缩。得到的残留物反应液用饱和碳酸氢钠溶液调至pH=8,用DCM/MeOH (10:1)的混合溶剂 (10mL) 萃取3次,合并的有机相减压浓缩。得到的残留物通过HPLC制备纯化得到无白色固体13 (32mg, 甲酸盐, 收率:58.2%)。

[0491] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.15 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.83 (d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.58 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 7.55 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 7.32-7.26 (m, 1H), 7.23-7.18 (m, 1H), 7.12-7.02 (m, 1H), 6.32 (s, 2H), 5.80 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 4.14 (s, 1H), 4.00-3.90 (m, 2H), 3.40-3.30 (m, 2H), 3.15-3.05 (m, 1H), 2.85-2.75 (m, 1H), 2.05-1.85 (m, 2H), 1.70-1.55 (m, 1H), 1.45-1.36 (m, 1H);

[0492] LC-MS: m/z 496.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0493] 实施例十四:化合物14的合成

[0494] (S)-1'- (8- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代) 咪唑并[1,2-c] 嘧啶-5-基) -5,7-二氢螺[环戊[c] 吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺的合成



[0496] 步骤一:将(S)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[c] 吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺盐酸盐(A8, 200mg, 0.83mmol)溶于乙腈(20mL)中,加入DIEA(1.07g, 8.3mmol)与5-氯-8-碘咪唑并[1,2-c] 嘧啶(B3, 208mg, 0.75mmol), 氮气保护下加热至90度回流反应5小时,反应完毕。冷却至室温,将反应液倒入饱和碳酸氢钠水溶液,用二氯甲烷萃取(50mL)两次。有机相合并用饱和食盐水洗,有机相分液后用无水硫酸钠干燥,过滤浓缩。粗品通过硅胶色谱法纯化得到浅黄色固体1'- (8-碘咪唑并[1,2-c] 嘧啶-5-基) -5,7-二氢螺[环戊二烯并[c] 吡啶-6,4'-哌啶]-4-胺(14-1, 250mg, 收率74%)。LCMS: m/z 447.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0497] 步骤九:将1'- (8-碘咪唑并[1,2-c] 嘧啶-5-基) -5,7-二氢螺[环戊二烯并[c] 吡啶-6,4'-哌啶]-4-胺11 (50.0mg, 0.11mmol)溶于1,4-二氧六环(10mL)中,加入DIEA

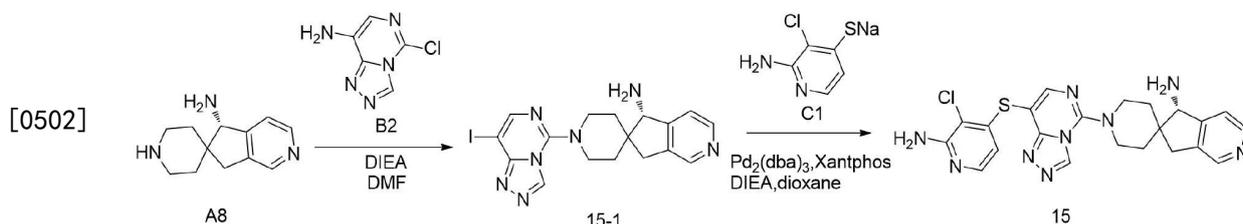
(36.2mg, 0.28mmol) 与 2-氨基-3-氯吡啶-4-硫醇钠 12 (30.7mg, 0.17mmol)。氮气保护下加入 Xantphos (13.0mg, 0.02mmol), Pd₂(dba)₃ (10.3mg, 0.01mmol)。氮气置换三次后 100 度反应 3 小时, 反应完毕。反应液浓缩用高效液相色谱纯化得到浅黄色固体化合物 14, (S)-1'- (8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代) 咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊[c]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺 (12mg, 收率: 22.4%)。

[0498] LCMS: m/z 479.2 [M+H]⁺

[0499] ¹H NMR (400MHz, MeOD) δ 8.64 (s, 1H), 8.56 (d, J=4.4Hz, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.62-7.60 (m, 2H), 7.60-7.50 (m, 1H), 5.953-5.938 (m, 1H), 4.64 (s, 1H), 4.22-4.07 (m, 2H), 3.6 (s, 2H), 3.6-3.49 (m, 2H), 2.20-2.10 (m, 2H), 2.10-2.00 (m, 1H), 1.85-1.63 (m, 2H)。

[0500] 实施例十五: 化合物 15 的合成

[0501] (S)-1'- (8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[c]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺

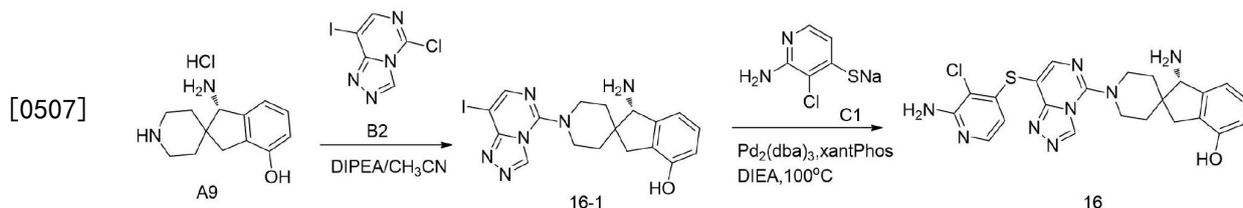


[0503] 参照化合物 14 的合成方法, 使用中间体 B2 代替中间体 B3, 进行两步反应得到化合物 15。LCMS: m/z 480.0 [M+H]⁺

[0504] ¹H NMR (400MHz, MeOD) δ 9.31 (s, 1H), 8.43-8.46 (m, 2H), 8.02 (s, 1H), 7.49-7.54 (m, 2H), 6.05 (d, J=5.6MHz, 1H), 4.17-4.29 (m, 3H), 3.48-3.60 (m, 3H), 2.96 (d, J=16.0MHz, 1H), 1.98-2.15 (m, 2H), 1.76-1.79 (m, 1H), 1.22-1.25 (m, 1H)。

[0505] 实施例十六: 化合物 16 的合成

[0506] (S)-1-氨基-1'- (8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-4-醇



[0508] 步骤一: 将 (S)-1-氨基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-4-醇盐酸盐 (A9, 200mg, 0.79mmol) 溶于乙腈 (40mL) 中, 加入 DIEA (1.07g, 8.3mmol) 与 5-氯-8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶 (B2, 208mg, 0.75mmol), 氮气保护下室温反应 18 小时, 反应完毕。冷却至室温, 将反应液倒入饱和碳酸氢钠水溶液, 用二氯甲烷萃取 (100mL) 两次。有机相合并用饱和食盐水洗, 有机相分液后用无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。粗品通过硅胶色谱法纯化得到浅黄色固体 (S)-1-氨基-1'- (8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-4-醇 11 (220mg, 收率 63%)。LCMS: m/z 463.0 [M+H]⁺

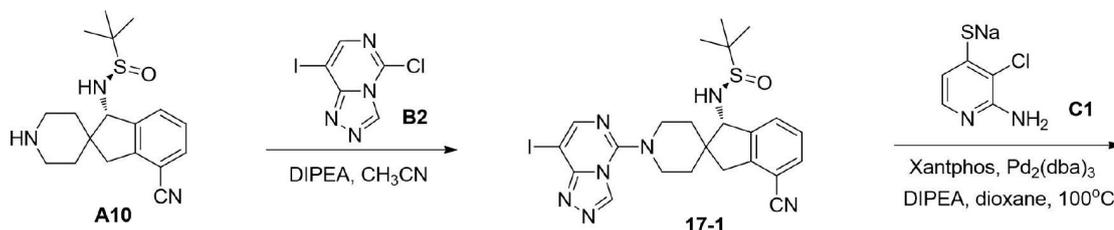
[0509] 步骤二: 将 (S)-1-氨基-1'- (8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-4-醇 (16-1, 200mg, 0.43mmol) 溶于 1,4-二氧六环 (30mL) 中, 加入 DIEA

(111mg, 0.86mmol) 与 2-氨基-3-氯吡啶-4-硫醇钠(C1, 118mg, 0.65mmol)。氮气保护下加入 Xantphos (52.0mg, 0.08mmol), Pd₂(dba)₃ (41mg, 0.04mmol)。氮气置换三次后 100 度反应 3 小时, 反应完毕。反应液浓缩用高效液相色谱纯化得到白色固体 (S)-1-氨基-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-4-醇 (100mg, 收率: 47%)。LCMS: m/z 495.3 [M+H]⁺

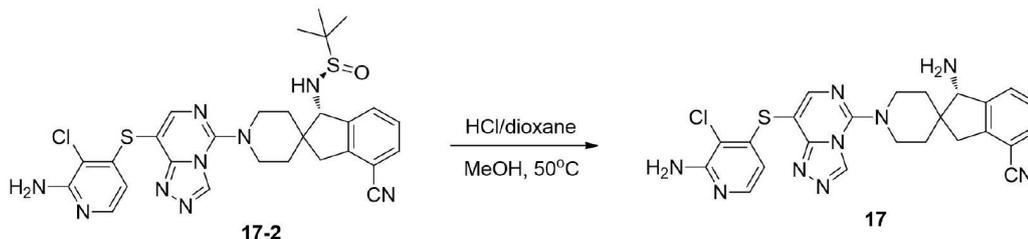
[0510] ¹H NMR (400MHz, MeOD) δ 9.32 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.53 (d, J=5.6MHz, 1H), 7.04 (t, J=7.6MHz, 1H), 6.84 (d, J=5.6MHz, 1H), 6.64 (d, J=8.0MHz, 1H), 6.06 (d, J=5.6MHz, 1H), 4.20-4.24 (m, 2H), 3.95 (s, 1H), 3.54-3.62 (m, 2H), 3.13 (d, J=15.6MHz, 1H), 2.74 (d, J=15.6MHz, 1H), 1.93-2.06 (m, 2H), 1.70 (d, J=12.8MHz, 1H), 1.55 (d, J=12.8MHz, 1H)。

[0511] 实施例十七: 化合物 17 的合成

[0512] 化合物 (S)-1-氨基-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-4-腈



[0513]



[0514] 步骤一: 将 (S)-1-(((R)-叔丁基亚磺酰)氨基)-4-氰基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶] (A10, 490mg, 1.48mmol) 溶于乙腈 (20mL) 中, 加入二异丙基乙基胺 (1.91g, 14.8mmol) 与 5-氯-8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶 (B2, 415mg, 1.48mmol), 氮气保护下于 85°C 反应 3 小时, 反应完毕。减压浓缩得到的残留物通过硅胶色谱法纯化 (0 至 10% 梯度的甲醇/乙酸乙酯), 得到黄色固体 (R)-N-((S)-1'-(8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-氰基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-叔丁基磺酰胺 (17-1, 360mg, 收率: 42.3%)。LC-MS: m/z 576.1 [M+H]⁺。

[0515] 步骤二: 将 (R)-N-((S)-1'-(8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-氰基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-叔丁基磺酰胺 (17-1, 360mg, 0.63mmol) 溶于 1,4-二氧六环 (10mL) 中, 加入二异丙基乙基胺 (202mg, 1.56mmol) 与 2-氨基-3-氯吡啶-4-硫醇钠 (C1, 171mg, 0.94mmol)。氮气保护下加入 4,5-双(二苯基膦基)-9,9-二甲基氧杂蒽 (73mg, 0.126mmol), 三(二亚苄基丙酮)二钯 (57.7mg, 0.063mmol)。氮气置换三次后 100°C 反应 3 小时, 反应完毕。反应液浓缩用硅胶色谱法纯化得到白色固体 (R)-N-((S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-氰基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-叔丁基磺酰胺 (17-2, 130mg, 收率: 34.2%)。LC-MS: m/z 608.2 [M+H]⁺。

[0516] 步骤三: 在氮气保下向 50mL 的单口烧瓶中依次加入 (R)-N-((S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-氰基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-

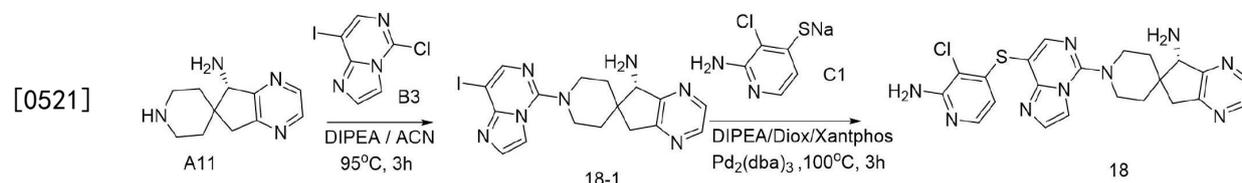
哌啶]-1-基)-2-叔丁基磺酰胺(17-2,130mg,0.21mmol)和甲醇(6mL),在室温下滴加盐酸1,4-二氧六环溶液(2mL,4M),该混合物在室温下搅拌反应1小时。反应完毕后,冷却至室温,过滤并在减压浓缩得到的残留物通过高效液相制备色谱纯化得到化合物17,(S)-1-氨基-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茚-2,4'-哌啶]-4-腈(10mg,收率:9.3%)。

[0517] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 9.32 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.71 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.59 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.53 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 7.43 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 6.06 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 4.23 (d, $J=10.8\text{Hz}$, 2H), 4.12 (s, 1H), 3.60 (m, 2H), 3.37 (m, 1H), 3.03 (d, $J=16.4\text{Hz}$, 1H), 2.06 (m, 2H), 1.74 (t, 2H), 1.57 (d, $J=19.2\text{Hz}$, 2H), 1.52 (s, 2H)。

[0518] LCMS: m/z 504.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0519] 实施例十八:化合物18的合成

[0520] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪-6,4'-哌啶]-5-胺



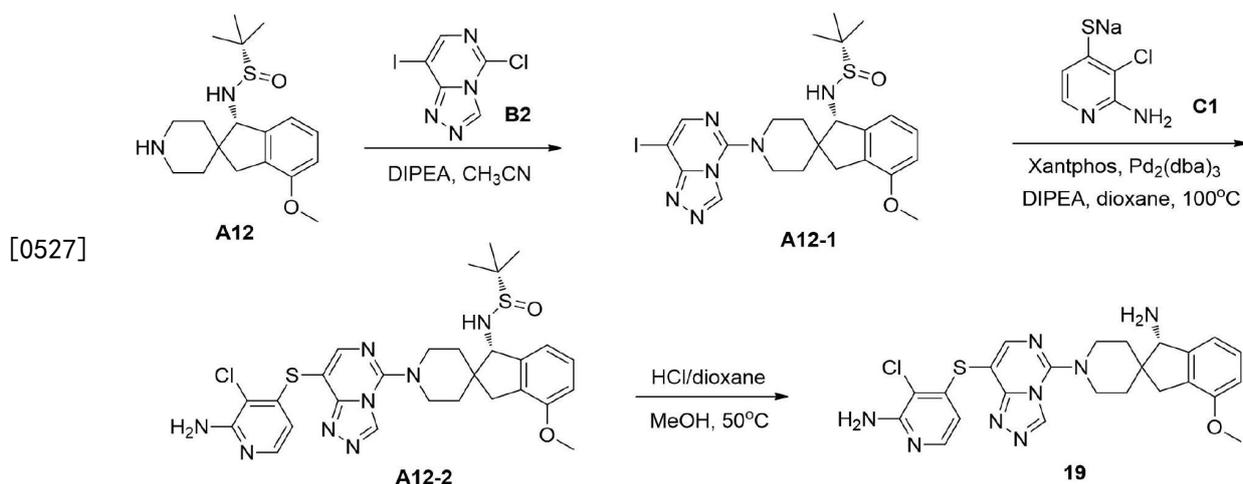
[0522] 步骤一:将(S)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪-6,4'-哌啶]-5-胺盐酸盐(A11, 1.50g, 4.953mmol)溶于150mL乙腈中,加入DIEA(5.682g, 44.046mmol)与5-氯-8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶(B3, 1.283g, 4.590mmol),氮气保护下加热至95度回流反应3小时,反应完毕。降至室温,过滤,滤液浓缩干,拌硅胶过柱,得米黄色粉末(S)-1'-(8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪-6,4'-哌啶]-5-胺(18-1, 2.053g, 收率:92.67%)。LCMS: m/z 448.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0523] 步骤二:在350mL玻璃封管中,将(S)-1'-(8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪-6,4'-哌啶]-5-胺(18-1, 2.053g, 4.590mmol)溶于120mL 1,4-二氧六环,依次加入DIPEA(1.776g, 13.77mmol), 2-氨基-3-氯吡啶-4-硫醇钠(1.257g, 6.884mmol), Xantphos(797mg, 1.377mmol)和 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (630mg, 0.688mmol),氩气鼓泡30秒,氩气氛围下加热至100度,保温3小时,反应完全。降至室温,加入二氯甲烷稀释,抽滤,滤液旋干,过柱,所得纯点旋干后,用二氯甲烷/正己烷(1/1)打浆过夜,过滤,干燥得化合物18纯品(S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪-6,4'-哌啶]-5-胺(18, 440mg, 收率:19.97%)。LCMS: m/z 480.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0524] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, MeOD) : δ 8.436-8.392 (m, 2H), 8.052 (s, 1H), 7.853 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 7.558 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 7.492 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 5.890 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 4.142 (s, 1H), 4.063-4.016 (m, 2H), 3.491-3.404 (m, 2H), 3.330 (s, 1H), 3.010 (d, $J=16.8\text{Hz}$, 1H), 2.237-2.099 (m, 2H), 1.819 (d, $J=13.2\text{Hz}$, 1H), 1.498 (d, $J=13.6\text{Hz}$, 1H)。

[0525] 实施例十九:化合物19的合成

[0526] (S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-甲氧基-1,3-二氢螺[茚-2,4'-哌啶]-1-胺



步骤七:将(S)-1-(((R)-叔丁基亚磺酰)氨基)-4-甲氧基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶](9-6,520mg,1.55mmol)溶于乙腈(20mL)中,加入二异丙基乙基胺(2.0g,15.5mmol)与5-氯-8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶(C1,435mg,1.55mmol),氮气保护下于85°C反应3小时,反应完毕。减压浓缩得到的残留物通过硅胶色谱法纯化(0至10%梯度的甲醇/乙酸乙酯),得到黄色固体(R)-N-((S)-1'-(8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-甲氧基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-叔丁基磺酰胺(9-7,420mg,收率:46.8%)。

[0529] LC-MS:m/z 581.1[M+H]⁺。

步骤八:将(R)-N-((S)-1'-(8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-甲氧基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-叔丁基磺酰胺(9-7,420mg,0.72mmol)溶于1,4-二氧六环(10mL)中,加入二异丙基乙基胺(234mg,1.81mmol)与2-氨基-3-氯吡啶-4-硫醇钠(D1,198mg,1.09mmol)。氮气保护下加入4,5-双(二苯基膦基)-9,9-二甲基氧杂蒽(83mg,0.144mmol),三(二亚苄基丙酮)二钯(66mg,0.072mmol)。氮气置换三次后100°C反应3小时,反应完毕。反应液浓缩用硅胶色谱法纯化得到白色固体(R)-N-((S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-甲氧基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-叔丁基磺酰胺(9-8,310mg,收率:69.9%)。

[0531] LC-MS:m/z 613.2[M+H]⁺。

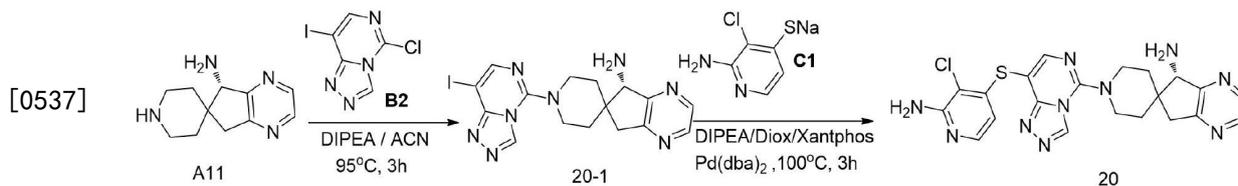
步骤九:在氮气保下向50mL的单口烧瓶中依次加入(R)-N-((S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-甲氧基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-叔丁基磺酰胺(9-8,310mg,0.51mmol)和甲醇(6mL),在室温下滴加盐酸1,4-二氧六环溶液(2mL,4M),该混合物在室温下搅拌反应1小时。反应完毕后,冷却至室温,过滤并在减压浓缩得到的残留物通过高效液相制备色谱纯化得到化合物19,(S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-甲氧基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺(,114mg,收率:44.3%)。

[0533] ¹H NMR(400MHz,CDC1₃) δ8.80(s,1H),7.95(s,1H),7.65(d,J=5.6Hz,1H),7.26(t,2H),6.96(d,J=7.6Hz,1H),6.77(d,J=8.4Hz,1H),6.02(d,J=5.6Hz,1H),4.89(s,2H),4.13-4.04(m,4H),3.86(s,3H),3.53-3.48(m,2H),3.11(d,J=16Hz,1H),2.70(d,J=16Hz,1H),2.08-2.01(m,3H),1.76(d,J=14Hz,1H),1.53(d,J=14Hz,2H)。

[0534] LCMS:m/z 509.2[M+H]⁺。

[0535] 实施例二十:化合物20的合成

[0536] (S)-1'- (8- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代) - [1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基) -5-,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪-6,4'-哌啶]-5-胺



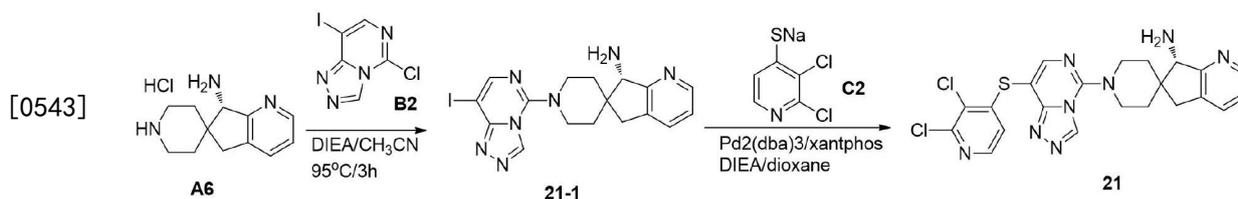
[0538] 步骤一:将(S)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪-6,4'-哌啶]-5-胺盐酸盐(A11, 89mg, 0.290mmol)溶于20mL乙腈中,加入DIEA(212mg, 1.643mmol)与5-氯-8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶(1,77mg, 0.275mmol),氮气保护下加热至95度回流反应3小时,反应完毕。降至室温,过滤,滤液浓缩干,拌硅胶过柱,得(S)-1'- (8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基) -5-,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪6,4'-哌啶]-5-胺(20-1, 65mg, 收率:52.72%)。LCMS:m/z 449.2[M+H]⁺

[0539] 步骤二:在5mL微波管中,将(S)-1'- (8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基) -5-,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪6,4'-哌啶]-5-胺(20-1, 65mg, 0.145mmol)溶于5mL 1,4-二氧六环,依次加入DIPEA(56mg, 0.434mmol), 2-氨基-3-氯吡啶-4-硫醇钠(3, 40mg, 0.219mmol), Xantphos(34mg, 0.0588mmol)和Pd₂(dba)₃(27mg, 0.0294mmol),氩气鼓泡30秒,氩气氛围下加热至100度,保温3小时,反应完全。降至室温,加入二氯甲烷稀释,抽滤,滤液旋干,用制备硅胶板纯化,所得纯点送制备,得纯品(S)-1'- (8- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代) - [1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基) -5-,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡嗪-6,4'-哌啶]-5-胺(20, 19.4mg, 收率:27.82%)。LCMS:m/z 481.2[M+H]⁺

[0540] ¹H NMR (400MHz, MeOD) δ 9.354 (s, 1H), 8.590-8.567 (m, 2H), 8.114 (s, 1H), 7.528 (d, J=6.8Hz, 1H), 6.372 (d, J=6.4Hz, 1H), 4.654 (s, 1H), 4.367-4.347 (m, 2H), 3.688-3.624 (m, 2H), 3.466 (d, J=17.2Hz, 1H), 3.264 (s, 1H), 2.314-2.229 (m, 1H), 2.073-1.965 (m, 2H), 1.684 (d, J=11.6Hz, 1H) .

[0541] 实施例二十一:化合物21的合成

[0542] (S)-1'- (8- (2,3-二氯吡啶-4-基) 硫代) - [1,2,4] -三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基) -5-,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺



[0544] 步骤一:将(S)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺盐酸盐(A6, 200mg, 1.28mmol)溶于乙腈(20mL)中,加入DIEA(1.6mL, 9.68mmol)与5-氯-8-碘-[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶(B2, 180mg, 0.64mmol),氮气保护下加热至90度回流反应3小时,反应完毕。冷却至室温,将反应液倒入饱和碳酸氢钠水溶液,用二氯甲烷萃取(80mL)两次。有机相合并用饱和食盐水洗,有机相分液后用无水硫酸钠干燥,过滤浓缩。粗品通过硅胶色谱法纯化(DCM:MeOH=20/1)得到浅黄色固体(S)-1'- (8-碘[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基) -5-,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺(21-1, 260mg, 收率90%)。LCMS:m/z

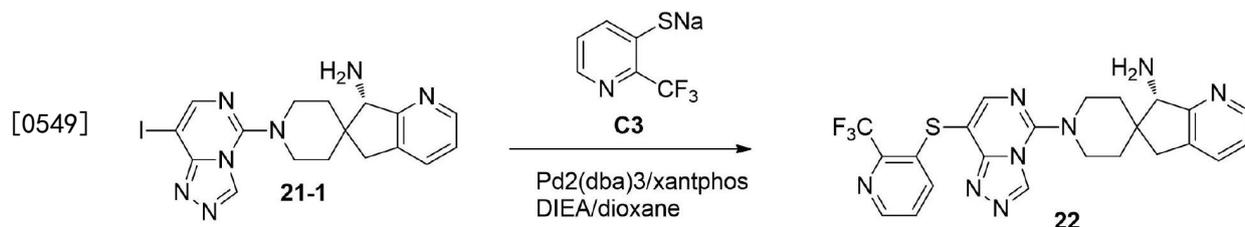
448.2[M+H]⁺

[0545] 步骤二:将(S)-1'- (8-碘[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺(21-1,55mg,0.12mmol)溶于1,4-二氧六环(3mL)中,加入DIEA(35mg,0.27mmol)与2,3-二氯吡啶-4-硫醇钠3(100mg,粗品)。氮气保护下加入Xantphos(30mg,0.05mmol),Pd₂(dba)₃(17mg,0.02mmol)。氮气置换三次后100度反应3小时,反应完毕。反应液浓缩高效液相色谱纯化得到化合物21,浅黄色固体,(S)-1'- (8-(2,3-二氯吡啶-4-基)硫代-[1,2,4]-三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺TFA盐(27mg,收率:40%)。LCMS:m/z499.1[M+H]⁺

[0546] ¹H NMR(400MHz,MeOD) δ9.35(s,1H),8.56(d,J=4.8Hz,1H),8.14(s,1H),7.95(d,J=5.2Hz,1H),7.84(d,J=7.6Hz,1H),7.44-7.41(m,1H),6.80(d,J=5.2Hz,1H),4.53(s,1H),4.36-4.32(m,2H),3.69-3.60(m,2H),3.40(d,J=16.4Hz,1H),3.19(d,J=16.4Hz,1H),2.26-2.19(m,1H),2.05-1.93(m,2H),1.73-1.70(m,1H)。

[0547] 实施例二十二:化合物22的合成

[0548] (S)-1'- (8-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)-[1,2,4]-三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺

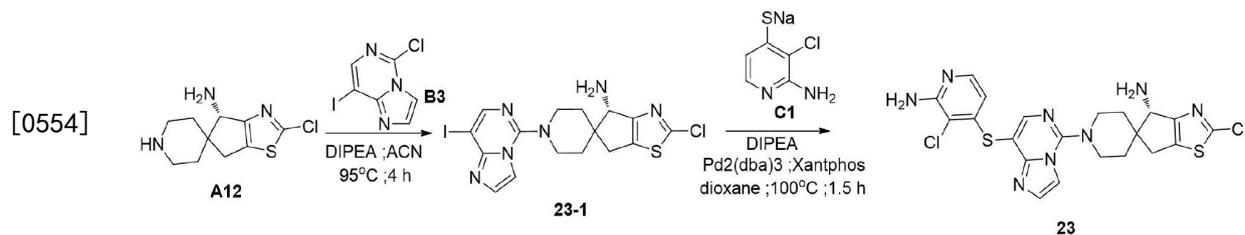


[0550] 将(S)-1'- (8-碘[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺21-1(100mg,0.22mmol)溶于1,4-二氧六环(12mL)中,加入DIEA(300mg,2.32mmol)与2-(三氟甲基)吡啶-3-硫醇钠C3(200mg,粗品)。氮气保护下加入Xantphos(100mg,0.17mmol),Pd₂(dba)₃(100mg,0.11mmol)。氮气置换三次后100度反应3小时,反应完毕。反应液浓缩过柱(EA:MeOH=5/1,0.5%氨水)得到白色固体(S)-1'- (8-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)-[1,2,4]-三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺ET-11(35mg,收率:31%)。LCMS:m/z499.1[M+H]⁺

[0551] ¹H NMR(400MHz,MeOD) δ9.32(s,1H),8.41-8.37(m,2H),8.03(s,1H),7.72(d,J=7.6Hz,1H),7.60(d,J=8.4Hz,1H),7.38-7.35(m,1H),7.28-7.25(m,1H),4.18-4.14(m,2H),4.04(s,1H),3.62-3.59(m,2H),3.23(d,J=16.4Hz,1H),2.90(d,J=16.4Hz,1H),2.11-2.06(m,2H),1.79-1.75(m,1H),1.56-1.53(m,1H)。

[0552] 实施例二十三:化合物23的合成

[0553] (S)-1'- (8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,5-c]嘧啶-5-基)-2-氯-4,6-二氢螺[环戊二烯并[d]噻唑-5,4'-哌啶]-4-胺



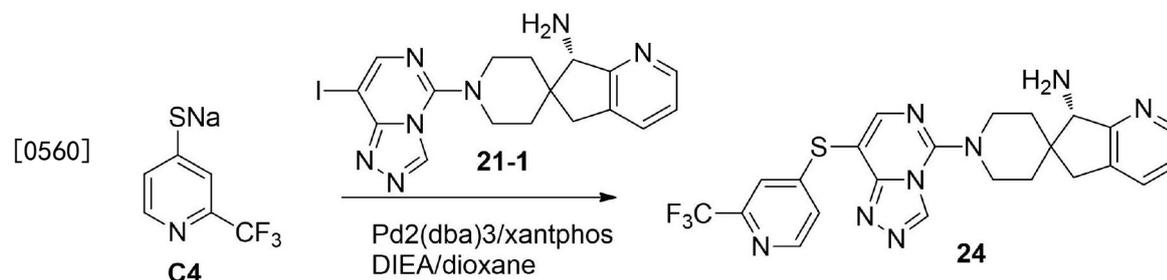
[0555] 步骤一:将(S)-2-氯-4,6-二氢螺[环戊二烯并[d]噻唑-5,4'-哌啶]-4-胺盐酸盐A12(155mg,0.35mmol)溶于乙腈(10mL)中,加入DIEA(450mg,3.5mmol)与5-氯-8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶(108mg,0.39mmol),氮气保护下加热至100℃回流反应5小时,反应完毕。冷却至室温,将反应液倒入饱和碳酸氢钠水溶液,用二氯甲烷萃取(50mLx2)。有机相合并用饱和食盐水洗,有机相分液后用无水硫酸钠干燥,过滤浓缩。粗品通过硅胶色谱法纯化得到浅黄色固体(S)-2-氯-1'-(8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4,6-二氢螺[环戊二烯并[d]噻唑-5,4'-哌啶]-4-胺(23-1,72mg,收率43%)。LCMS:m/z 487[M+H]⁺

[0556] 步骤二:将(S)-2-氯-1'-(8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4,6-二氢螺[环戊二烯并[d]噻唑-5,4'-哌啶]-4-胺(50mg,0.1mmol)溶于1,4-二氧六环(5mL)中,加入DIEA(30mg,0.25mmol)与2-氨基-3-氯吡啶-4-硫醇钠(30mg,0.15mmol)。氮气保护下加入Xantphos(13.0mg,0.02mmol),Pd₂(dba)₃(20.3mg,0.02mmol)。氮气置换三次后100度反应3小时。反应液浓缩用高效液相色谱纯化得到浅黄色固体,化合物23,(S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-2-氯-4,6-二氢螺[环戊二烯并[d]噻唑-5,4'-哌啶]-4-胺(3mg,收率:5%)。LCMS:m/z 519[M+H]⁺

[0557] ¹H NMR(400MHz,MeOD) δ8.064(s,1H),7.848(s,1H),7.574(s,1H),7.503-7.489(d,1H),5.885-5.872(d,1H),4.152(s,1H),4.068-3.986(dd,2H),3.529-3.390(m,4H),3.109-3.091(d,2H),2.206-2.035(m,4H)

[0558] 实施例二十四:化合物24的合成

[0559] (S)-1'-(8-((2-(三氟甲基)吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]-三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺



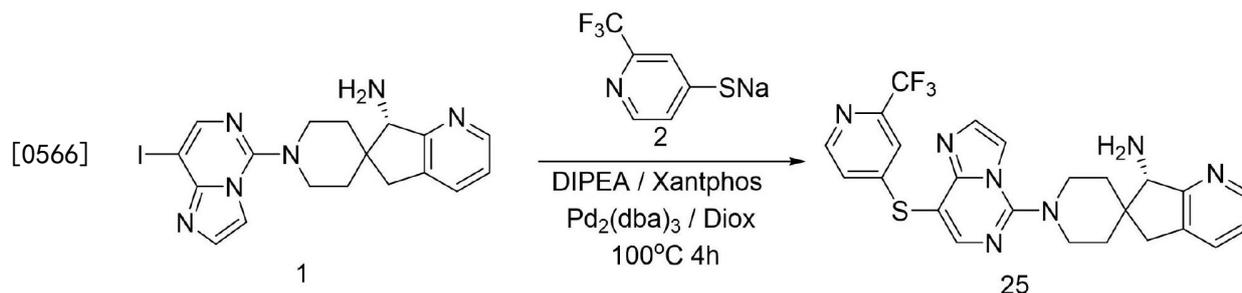
[0561] 将(S)-1'-(8-碘[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺(C4,100mg,0.22mmol)溶于1,4-二氧六环(5mL)中,加入DIEA(85mg,0.66mmol)与2-(三氟甲基)吡啶-3-硫醇钠3(100mg,粗品)。氮气保护下加入Xantphos(30mg,0.05mmol),Pd₂(dba)₃(20mg,0.022mmol)。氮气置换三次后100度反应3小时,反应完毕。反应液浓缩过柱(EA:MeOH=5/1,0.5%氨水)和Prep-TLC得到白色固体,化合物24,(S)-1'-(8-((2-(三氟甲基)吡啶-4-基)硫代)-[1,2,4]-三唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺,(25mg,收率:22%)。

[0562] LCMS:m/z 499.1[M+H]⁺

[0563] ¹H NMR(400MHz,MeOD) δ9.34(s,1H),8.41(d,J=5.2Hz,2H),8.10(s,1H),7.75(d,J=7.6Hz,1H),7.62(s,1H),7.32-7.28(m,2H),4.25-4.20(m,2H),4.13(s,1H),3.67-3.60(m,2H),3.26(d,J=16.0Hz,1H),2.95(d,J=16.0Hz,1H),2.17-2.04(m,2H),1.83-1.79(m,1H),1.59-1.56(m,1H)。

[0564] 实施例二十五:化合物25的合成

[0565] (S)-1'- (8- ((2- (三氟甲基)吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺



[0567] 步骤一:在微波管中,将(S)-1'- (8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺(1,147mg,0.3294mmol)溶于5mL 1,4-二氧六环,依次加入DIPEA (128mg,0.9922mmol),2- (三氟甲基)吡啶-4-硫醇钠(2,100mg,0.4973mmol),Xantphos (30mg,0.0518mmol)和Pd₂(dba)₃ (30mg,0.0328mmol),氩气鼓泡30秒,氩气氛围下加热至100度,保温4小时,反应完全。降至室温,加入二氯甲烷稀释,抽滤,滤液旋干,过柱,所得纯点再次爬大板,得纯品(S)-1'- (8- ((2- (三氟甲基)吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-7-胺(ET-22,14.8mg,收率:9.03%)。LCMS:m/z 498.1[M+H]⁺

[0568] ¹H NMR (400MHz, MeOD) δ8.403-8.369 (m, 2H), 8.131 (s, 1H), 7.872 (s, 1H), 7.763 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.552 (d, J=18.0Hz, 2H), 7.327-7.315 (m, 1H), 7.214 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.150 (s, 1H), 4.103-4.032 (m, 2H), 3.513-3.425 (m, 2H), 3.260 (s, 1H), 2.944 (d, J=16.4Hz, 1H), 2.215-2.152 (m, 1H), 2.122-2.051 (m, 1H), 2.009 (s, 1H), 1.817 (d, J=13.2Hz, 1H), 1.544 (d, J=12.8Hz, 1H)。

[0569] 本发明公开化合物的生物学功能在酶活性以及细胞水平的测试中得到了证明。比如在SHP2酶活性抑制试验中,本发明公开的化合物能够与达到很强的抑制活性(IC₅₀可达<10nM)。在细胞水平上,本发明公开化合物不仅可以抑制下游通路激酶ERK的磷酸化水平而且表现出很好的抑制癌细胞的增殖的活性。与SHP099 (6- (4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)-3- (2,3-二氯苯基)吡嗪-2-胺)对比,本发明专利的化合物无论在酶学水平上还是在细胞水平上,都体现出了优越的活性。

[0570] 测试例一:SHP2酶活测试方法

[0571] SHP2酶活测试方法:

[0572] 化合物粉末溶于DMSO中制成母液。实验时,化合物存贮液用DMSO进行3-倍梯度稀释,同一化合物设置10个不同的测试浓度。取1μL各浓度点的化合物至检测板(Corning, Costar 3915)孔内,每个浓度点设置2个平行重复。以6,8-二氟-4-甲基-7-羟基香豆素磷酸酯(DiFMUP)作为底物,SHP2E72A催化其水解产生6,8-二氟-4-甲基-7-羟基香豆素(DiFMU),通过PE Enspire多功能读数仪,以358nm为激发波长来检测455nm处的荧光值,确定SHP2的酶活。

[0573] 反应用的SHP2缓冲液

[0574] 组成为60mmol/L Hepes, PH7.2, 75mmol/L NaCl, 75mmol/L KCl, 1mmol/L EDTA, 5mmol/L DTT. 筛选体系组成为:SHP2缓冲液、酶SHP2E76A蛋白、底物DiFMUP和待测化合物。

[0575] IC₅₀测试方法:

[0576] 96孔筛选板中50ng SHP2E76A蛋白分别与待测化合物在SHP2缓冲液中反应20min, 然后与10uM DiFMUP室温共同孵育20min, 用PE Enspire多功能读数仪以358nm为激发光, 读取455nm处的光强度。以化合物处理组测出的荧光值比DMSO对照孔的值计算样品对酶活性的抑制率。化合物的IC₅₀值由Graphpad公司的Prism软件, 以抑制率对抑制剂的浓度非线性拟合计算得到。通过 $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\text{LogIC}_{50} - X) * \text{HillSlope}))}$ 方程拟合出酶活性随化合物浓度变化的曲线。求得各化合物的IC₅₀值。下表显示了本发明部分化合物的IC₅₀值。其中, 字母A代表IC₅₀小于50nM; 字母B代表IC₅₀为50nM至500nM; 字母C代表IC₅₀大于500nM。

化合物编号	酶活性 (nM)
SHP099	263
化合物 1	A
化合物 2	A
化合物 3	A
化合物 4	A
化合物 6	A
化合物 7	A
化合物 8	A
化合物 9	A
化合物 10	A
化合物 11	A
化合物 12	A
化合物 13	A
化合物 14	A
化合物 15	A
化合物 16	A
化合物 17	A
化合物 18	A
化合物 19	A
化合物 20	A
化合物 21	A
化合物 22	A
化合物 23	A
化合物 24	B
化合物 25	B

[0579] 测试例二:磷酸化蛋白激酶(p-ERK)细胞实验

[0580] 通过AlphaLISA方法检测化合物抑制细胞内蛋白激酶(ERK)的磷酸化水平。

[0581] 第一步化合物处理细胞。待测化合物先用100%DMSO进行3-倍稀释,共设置9个不同的浓度梯度;接着以每孔30000个细胞密度接种MOLM13细胞到96孔板,每孔体积100 μ L;随后每孔分别加入0.5 μ L的DMSO或者不同浓度的待测化合物,每个浓度设置2个重复,DMSO的终浓度控制在0.5%。

[0582] 第二步裂解细胞。细胞处理2小时之后,除去培养基,磷酸缓冲盐溶液洗涤细胞3次,每孔加入50 μ l新鲜配置的裂解缓冲液,震荡并室温放置10分钟。

[0583] 第三步AlphaLISA® SureFire®UltraTMp-ERK 1/2 (Thr202/Tyr204) 试剂盒(Perkin Elmer,ALSU-PERK-A10K)检测磷酸化的细胞外信号调节激酶(p-ERK)。取10 μ l的上述裂解液至384孔板(Perkin Elmer,6005350),根据产品说明书检测样品的细胞外信号调节激酶的磷酸化水平。使用Spectra max i3(Molecular Devices)上的AlphaScreen检测器读取信号。抑制百分率(%)通过以下公式计算获得:

[0584] 抑制百分率(%) = (1 - 化合物处理细胞的p-ERK信号/DMSO处理细胞的p-ERK信号) * 100。其中,字母A代表IC₅₀小于100nM;字母B代表IC₅₀为100nM至500nM;字母C代表IC₅₀大于500nM。

[0585]

化合物编号	活性 (nM)
SHP099	235
化合物 1	A
化合物 2	A
化合物 3	A
化合物 4	A
化合物 6	A
化合物 7	A

[0586]	化合物 8	A
	化合物 9	A
	化合物 10	A
	化合物 11	A
	化合物 12	A
	化合物 13	A
	化合物 14	A
	化合物 15	A
	化合物 16	A
	化合物 17	A
	化合物 18	A
	化合物 19	A
	化合物 20	A
	化合物 21	A
	化合物 22	A
化合物 23	A	
化合物 24	B	
化合物 25	B	

[0587] 测试例三：细胞增殖抑制实验

[0588] 通过CellTiter-Glo® 发光法细胞活力检测试剂盒对细胞内ATP进行定量测定来检测培养物中活细胞数目。

[0589] 第一步在96孔板接种MV411细胞,以每孔2500个细胞密度接种细胞到96孔板,每孔体积100 μ L。置于37 $^{\circ}$ C5%二氧化碳培养箱培养过夜。

[0590] 第二步化合物处理细胞。待测化合物进行3倍稀释,共设置8个浓度梯度;每孔分别加入一定体积的DMSO或者待测化合物,每个浓度设置2个重复,DMSO的终浓度控制在0.5%。置于37 $^{\circ}$ C5%二氧化碳培养箱培养72h。

[0591] 第三步CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay试剂盒(Promega, G7570)检测对照组和处理组细胞活力。每孔加入50 μ l CellTiter-Glo,混匀,室温孵育10min。使用EnSpire(Perkin Elmer)读取信号。抑制百分率(%)通过以下公式计算获得:

[0592] 抑制百分率(%) = (1-化合物处理组信号值/DMSO处理组信号值)*100。

[0593] 其中,字母A代表IC₅₀小于100nM;字母B代表IC₅₀为100nM至1000nM;字母C代表IC₅₀大于1000nM。

[0594]	化合物编号	细胞增殖抑制活性 (nM)
	SHP099	1200
	化合物 1	A
	化合物 2	A

[0595]	化合物 3	A
	化合物 4	A
	化合物 6	A
	化合物 7	A
	化合物 8	A
	化合物 9	A
	化合物 10	A
	化合物 11	A
	化合物 12	A
	化合物 13	A
	化合物 14	A
	化合物 15	A
	化合物 16	A
	化合物 17	A
	化合物 18	A
	化合物 19	A
	化合物 20	A
	化合物 21	A
	化合物 22	A
	化合物 23	A
	化合物 24	B
	化合物 25	B

[0596] 测试例四:化合物药代动力学实验

[0597] 本发明化合物对药代动力学测定。本申请采用以下方法测定本申请的化合物药代动力学参数。

[0598] 研究使用的健康雄性成年大鼠/小鼠,每组动物单次灌胃给药5-100mg/Kg。禁食从给药前10小时至给药后4小时。给药后不同时间点后采血,并测定化合物血浆含量(LC-MS/MS)。血浆浓度---时间关系用专业软件分析(winnonlin),计算化合物的药代动力学参数。结果显示,本发明化合物有着优异的药代动力学性质。

[0599] 在本发明中提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。