



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108349965 B

(45) 授权公告日 2021. 10. 26

(21) 申请号 201680067210.X

J.W.M. 尼辛克 P.A. 劳波

(22) 申请日 2016.11.30

P.D. 史密斯 A. 拜利

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108349965 A

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

(43) 申请公布日 2018.07.31

代理人 梁谋 鲁炜

(30) 优先权数据
62/260784 2015.11.30 US

(51) Int.Cl.
C07D 417/14 (2006.01)
A61K 31/433 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2018.05.17

(56) 对比文件

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2016/079253 2016.11.30

CN 104936954 A, 2015.09.23
CN 104220070 A, 2014.12.17

(87) PCT国际申请的公布数据
W02017/093301 EN 2017.06.08

Ajit G. Thomas et al.. Small molecule glutaminase inhibitors block glutamate release from stimulated microglia. 《Biochemical and Biophysical Research Communications》. 2013, 第443卷

(73) 专利权人 阿斯利康(瑞典)有限公司
地址 瑞典南泰利耶
专利权人 癌症研究科技有限公司

审查员 杜姣

(72) 发明人 M.R.V. 芬莱 D.R. 珀金斯

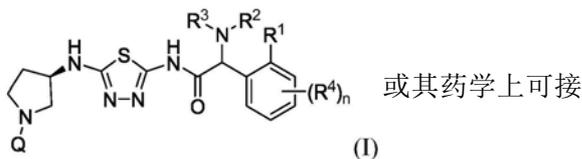
权利要求书3页 说明书41页

(54) 发明名称

1,3,4-噻二唑化合物及其在治疗癌症中的用途

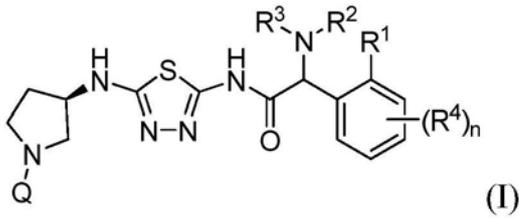
(57) 摘要

描述了一种具有式(I)的化合物:



或其药学上可接受的盐。Q可以是咪唑-3-基、6-氟咪唑-3-基;R¹可以是H;R²和R³各自可以独立地是C1-C6烷基,或R²和R³合起来是-(CH₂)₃-;或R¹和R²合起来可以是-(CH₂)₂-并且R³可以是-CH₃;R⁴是卤素、-CH₃、-OCH₃、-OCHF₂、-OCF₃、或-CN;并且n可以是0、1、或2。该具有式(I)的化合物可以抑制谷氨酰胺酶,例如GLS1。

1. 一种具有式 (I) 的化合物:



或其药学上可接受的盐,其中:

Q是哒嗪-3-基、6-氟哒嗪-3-基;

R¹是H;

R²和R³各自独立地是C1-C6烷基,或R²和R³合起来是-(CH₂)₃-;

或R¹和R²合起来是-(CH₂)₂-并且R³是-CH₃;

R⁴是卤素、-CH₃、-OCH₃、-OCHF₂、-OCF₃、或-CN;并且

n是0、1、或2。

2. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中Q是哒嗪-3-基。

3. 如权利要求1-2中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中n是0。

4. 如权利要求1-2中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中n是1并且R⁴是甲基、甲氧基、二氟甲氧基、三氟甲氧基、和氰基,并且R⁴是在3-位上。

5. 如权利要求1-2中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中n是1并且R⁴选自下组,该组由氟和甲基组成并且R⁴是在4-位上。

6. 如权利要求1-2中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中n是2,R⁴的一个例子是三氟甲氧基并且是在3-位上,并且R⁴的另一个例子是氟并且是在4-位上。

7. 如权利要求1-2中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中R²和R³各自独立地是甲基。

8. 如权利要求1-2中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中R²和R³合起来是-(CH₂)₃-。

9. 如权利要求1-2中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中R¹是H。

10. 如权利要求1-2中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中R¹和R²合起来是-(CH₂)₂-并且R³是-CH₃。

11. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中该化合物选自下组,该组由以下组成:

(2S)-2-(二甲基氨基)-2-苯基-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

(2R)-2-(二甲基氨基)-2-苯基-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-(二甲基氨基)-2-(4-氟苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

(2R)-2-(二甲基氨基)-2-(4-氟苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-

3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

(2R)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;

(2R)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;

(2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

(2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-甲氧基苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

(2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-甲氧基苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;

(2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;

(1S)-2-甲基-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-3,4-二氢-1H-异喹啉-1-甲酰胺;

(1R)-2-甲基-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-3,4-二氢-1H-异喹啉-1-甲酰胺;

(2S)-2-(二甲基氨基)-2-(对-甲苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-(二甲基氨基)-2-(间-甲苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

(2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[(3R)-1-(6-氟哒嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;

(2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[(3R)-1-(6-氟哒嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;以及

(2S)-2-(3-氰基苯基)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺。

12. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中该化合物选自下组,该组由以下组成:

(2S)-2-(二甲基氨基)-2-苯基-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-(二甲基氨基)-2-(4-氟苯基)-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酰胺;

(2R)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;

(2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-甲氧基苯基)-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;

(1S)-2-甲基-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]-3,4-二氢-1H-异喹啉-1-甲酰胺;

(2S)-2-(二甲基氨基)-2-(对-甲苯基)-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-(二甲基氨基)-2-(间-甲苯基)-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酰胺;

(2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[(3R)-1-(6-氟吡嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;

(2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[(3R)-1-(6-氟吡嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;以及

(2S)-2-(3-氰基苯基)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酰胺。

13. 一种药物组合物,该药物组合物包含如权利要求1-12中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、和至少一种药学上可接受的稀释剂或载体。

14. 如权利要求1-2中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,用于治疗癌症。

15. 如权利要求1-12中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在生产用于治疗癌症的药物中的用途。

16. 根据权利要求14所述的化合物或根据权利要求15所述的用途,其中该癌症是乳腺癌、肺癌、胰腺癌、肾癌或肝细胞癌。

1,3,4-噻二唑化合物及其在治疗癌症中的用途

技术领域

[0001] 本说明书总体上涉及经取代的1,3,4-噻二唑化合物及其药学上可接受的盐。这些化合物作用于谷氨酰胺酶1酶(“GLS1”),并且因此本说明书还涉及此类化合物及其盐治疗或预防GLS1介导的疾病(包括癌症)的用途。本说明书还涉及包含此类化合物和盐的药物组合物;包含此类化合物和盐的试剂盒;生产此类化合物和盐的方法;在此类化合物和盐的生产中有用的中间体;并且涉及使用此类化合物和盐治疗GLS1介导的疾病包括癌症的方法。

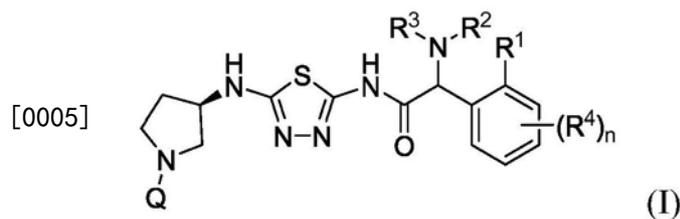
背景技术

[0002] 谷氨酰胺是最丰富的血浆氨基酸并且参与许多生长促进途径。特别地,谷氨酰胺参与TCA循环中的氧化和维持细胞氧化还原平衡,并且还提供氮用于核苷酸和氨基酸合成(Curi等,Front.Biosc.[生物科学前沿]2007,12,344-57;DeBerardinis和Cheng,Oncogene[癌基因]2010,313-324,每者通过引用以其整体结合在此)。许多癌细胞依赖于谷氨酰胺代谢作为细胞代谢变化的结果,包括瓦尔堡效应(Warburgeffect),其中糖酵解丙酮酸转化为乳酸而不是用于产生乙酰辅酶A(Koppenol等人,NatureReviews[自然综述]2011,11,325-337,每者通过引用以其整体结合在此)。由于这种依赖于谷氨酰胺代谢的结果,这样的癌细胞对外源谷氨酰胺水平的变化敏感。此外,现有证据表明谷氨酰胺分解在某些癌症类型中起关键作用(Hensley等人,J.Clin.Invest.[临床研究期刊]2013,123,3678-3684,每者通过引用以其整体结合在此),并且与已知的致癌驱动因子例如Myc相关(Dang,CancerRes.[癌症研究]2010,70,859-863,每者通过引用以其整体结合在此)。

[0003] 谷氨酰胺分解代谢为谷氨酸的第一步由谷氨酰胺酶催化,谷氨酰胺酶以GLS1和GLS2这两种亚型存在,这两种亚型最初鉴定为分别在肾和肝中表达。已知肾谷氨酰胺酶(GLS1)比肝谷氨酰胺酶(GLS2)更普遍地表达,并且具有2种剪接变体,KGA和较短的GAC亚型,两者都位于线粒体中(Elgadi等人,Physiol.Genomics[生理与基因组学]1999,1,51-62;Cassago等人,Proc.Natl.Acad.Sci.[美国科学院院刊]2012,109,1092-1097,每者通过引用以其整体结合在此)。GLS1表达与许多疾病类型中的肿瘤生长和恶性肿瘤相关(Wang等人,CancerCell[癌症细胞]2010,18,207-219;vander Heuval等人,CancerBio.Ther.[癌症生物学与治疗]2012,13,1185-1194,每者通过引用以其整体结合在此)。因此,预期GLS1的抑制剂可用于治疗癌症,作为单一疗法或与其他抗癌剂组合。

发明内容

[0004] 在一个方面,提供了具有式(I)的化合物:



[0006] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0007] Q是哒嗪-3-基、6-氟哒嗪-3-基;

[0008] R¹是H;

[0009] R²和R³各自独立地是C1-C6烷基,或R²和R³合起来是-(CH₂)₃-;

[0010] 或R¹和R²合起来是-(CH₂)₂-并且R³是-CH₃;

[0011] R⁴是卤素、-CH₃、-OCH₃、-OCHF₂、-OCF₃、或-CN;并且

[0012] n是0、1、或2。

[0013] 在另一方面,药物组合物包括具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐和至少一种药学上可接受的稀释剂或载体。

[0014] 在另一个方面中,具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,用于在癌症的治疗中的使用。

[0015] 另一方面,具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐在生产用于治疗癌症的药物中的用途。

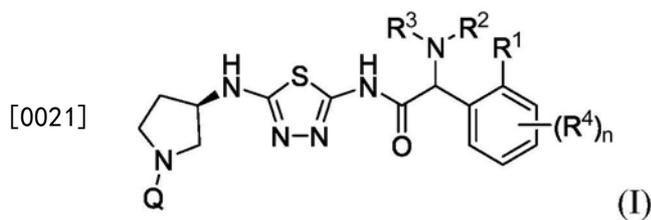
[0016] 在另一方面,用于在需要这种治疗的温血动物中治疗癌症的方法包括给予温血动物治疗有效量的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐。

[0017] 从本说明书和权利要求书,其他方面将变得明显。

[0018] 详细说明

[0019] 许多实施例在整个说明书中详细描述,并且对于本领域有技术的读者而言将是明显的。本发明不被解释为受限于其任何具体的一个或多个实施例。

[0020] 提供具有式(I)的化合物:



[0022] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0023] Q是哒嗪-3-基、6-氟哒嗪-3-基;

[0024] R¹是H;

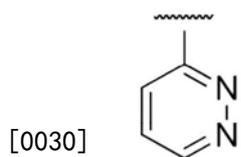
[0025] R²和R³各自独立地是C1-C6烷基,或R²和R³合起来是-(CH₂)₃-;

[0026] 或R¹和R²合起来是-(CH₂)₂-并且R³是-CH₃;

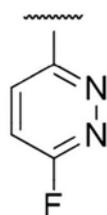
[0027] R⁴是卤素、-CH₃、-OCH₃、-OCHF₂、-OCF₃、或-CN;并且

[0028] n是0、1、或2。

[0029] 哒嗪-3-基和6-氟哒嗪-3-基环具有如下结构:

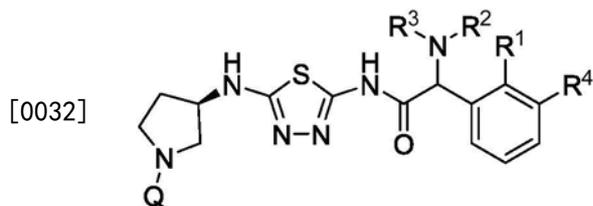


哒嗪-3-基

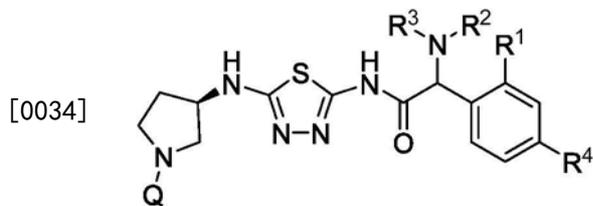


6-氟哒嗪-3-基

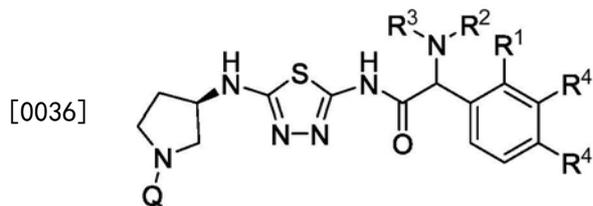
[0031] 在一些实施例中,当n是1时,则R⁴可以是在3-位上,即:



[0033] 在一些实施例中,当n是1时,则R⁴可以是在4-位上,即:



[0035] 在一些实施例中,当n是2时,则R⁴的一个例子可以是在3-位上,并且R⁴的另一个例子是可以在4-位上,即:



[0037] 术语“药学上可接受的”用于指明物体(例如盐,剂型,稀释剂或载体)适合用于患者。药学上可接受的盐的实例列表可以发现于:Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use [药用盐手册:性质、选择和使用], P.H.Stahl和C.G.Wermuth编辑, Weinheim/Zürich:Wiley-VCH出版社/VHCA, 2002, 将其通过引用以其整体结合在此。具有式(I)的化合物的适合的药学上可接受的盐例如是酸加成盐。在技术人员已知的条件下,具有式(I)的化合物的酸加成盐可以通过使该化合物与适合的无机酸或有机酸接触来形成。酸加成盐可以使用例如无机酸如盐酸、氢溴酸、硫酸和磷酸形成。例如,也可以使用有机酸(例如三氟乙酸、甲磺酸、或苯磺酸)形成酸加成盐。

[0038] 因此,在一个实施例中,提供具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中该药学上可接受的盐是盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、三氟乙酸盐、甲磺酸盐或苯磺酸盐。

[0039] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中该药学上可接受的盐是盐酸盐或氢溴酸盐。

[0040] 具有式(I)化合物的其他合适的药学上可接受的盐是碱-加成盐。具有式(I)的化合物的碱加成盐可以通过使该化合物与合适的无机碱或有机碱在本领域技术人员已知的条件下接触而形成。碱加成盐可以使用例如无机碱如碱金属氢氧化物(例如氢氧化钠、氢氧化钾或氢氧化锂)或碱土金属氢氧化物(例如氢氧化钙或氢氧化镁)形成。碱加成盐也可以使用例如有机碱如甲胺、二甲胺、三甲胺、吡啶、吗啉或三-(2-羟乙基)胺来形成。

[0041] 因此,在一个实施例中,提供具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中该药学上可接受的盐是氢氧化钠盐、氢氧化钾盐、氢氧化锂盐、氢氧化钙盐、氢氧化镁盐、甲胺

盐、二甲胺盐、三甲胺盐、哌啶盐、吗啉盐或三-(2-羟乙基)胺盐。

[0042] 在一个实施例中,提供具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中该药学上可接受的盐是盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、三氟乙酸盐、甲磺酸盐、苯磺酸盐、氢氧化钠盐、氢氧化钾盐、氢氧化锂盐、氢氧化钙盐、氢氧化镁盐、甲胺盐、二甲胺盐、三甲胺盐、哌啶盐、吗啉盐或三-(2-羟乙基)胺盐。

[0043] 另一个实施例提供了在此定义的任何实施例(例如权利要求1的实施例),其条件是选自实例1(a)、1(b)、2(a)、2(b)、3(a)、3(b)、4(a)、4(b)、5(a)、5(b)、6(a)、6(b)、7(a)、7(b)、8(a)、8(b)、9、10、11(a)、11(b)、12(a)、12(b)、13、14、15、16、17、和18组成的组中的一个或多个具体的实例(例如一个、两个或三个具体的实例,或可替代地一个具体的实例)单独地被放弃。

[0044] 式(I)中的可变基团的一些值如下。这些值可以与任何定义、权利要求(例如权利要求1)、或本文所定义的实施例组合使用以提供另外的实施例。

[0045] Q可以是哒嗪-3-基。

[0046] Q可以是6-氟哒嗪-3-基。

[0047] n可以是0。

[0048] n可以是1。

[0049] n可以是2。

[0050] R¹可以是H。

[0051] R¹可以是H,n可以是1,并且R⁴可以是在3-位上。

[0052] R¹可以是H,n可以是1,并且R⁴可以是3-甲基、3-甲氧基、3-二氟甲氧基、3-三氟甲氧基、或3-氰基。

[0053] R¹可以是H,n可以是1,并且R⁴可以是在4-位上。

[0054] R¹可以是H,n可以是1,并且R⁴可以是4-氟或4-甲基。

[0055] R¹可以是H,n可以是2,R⁴的一个例子可以是在3-位上,并且R⁴的另一个例子可以是在4-位上。

[0056] R¹可以是H,n可以是2,R⁴的一个例子是3-三氟甲氧基,并且R⁴的另一个例子是4-氟。

[0057] R²和R³各自独立地可以是C1-C6烷基。

[0058] R²和R³各自独立地可以是甲基。

[0059] R²和R³合起来可以是-(CH₂)₃-。

[0060] R¹可以是H。

[0061] R¹和R²合起来可以是-(CH₂)₂-并且R³可以是-CH₃。

[0062] R⁴可以是H。

[0063] R⁴可以是卤素。

[0064] R⁴可以是氟。

[0065] R⁴可以是-CH₃。

[0066] R⁴可以是-OCH₃。

[0067] R⁴可以是-OCHF₂。

[0068] R⁴可以是-OCF₃。

- [0069] R⁴可以是-CN。
- [0070] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中:
- [0071] Q是哒嗪-3-基或6-氟哒嗪-3-基;
- [0072] R¹是H;
- [0073] R²和R³各自独立地是C1-C6烷基,或R²和R³合起来是-(CH₂)₃-;
- [0074] R⁴是卤素、-CH₃、-OCH₃、-OCHF₂、-OCF₃、或-CN;并且
- [0075] n是0、1、或2。
- [0076] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中:
- [0077] Q是哒嗪-3-基或6-氟哒嗪-3-基;
- [0078] R¹是H;
- [0079] R²和R³各自独立地是C1-C6烷基,或R²和R³合起来是-(CH₂)₃-;
- [0080] R⁴是卤素、-CH₃、-OCH₃、-OCHF₂、-OCF₃、或-CN;并且
- [0081] n是1。
- [0082] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中:
- [0083] Q是哒嗪-3-基或6-氟哒嗪-3-基;
- [0084] R¹是H;
- [0085] R²和R³各自独立地是C1-C6烷基,或R²和R³合起来是-(CH₂)₃-;
- [0086] R⁴是卤素、-CH₃、-OCH₃、-OCHF₂、-OCF₃、或-CN;并且
- [0087] n是1,其中R⁴是在3-位上。
- [0088] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中:
- [0089] Q是哒嗪-3-基或6-氟哒嗪-3-基;
- [0090] R¹是H;
- [0091] R²和R³各自独立地是C1-C6烷基;
- [0092] R⁴是卤素、-CH₃、-OCH₃、-OCHF₂、-OCF₃、或-CN;并且
- [0093] n是0、1、或2。
- [0094] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中:
- [0095] Q是哒嗪-3-基或6-氟哒嗪-3-基;
- [0096] R¹是H;
- [0097] R²和R³各自独立地是C1-C6烷基;
- [0098] R⁴是卤素、-CH₃、-OCH₃、-OCHF₂、-OCF₃、或-CN;并且
- [0099] n是1,其中R⁴是在3-位上。
- [0100] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中:
- [0101] Q是哒嗪-3-基或6-氟哒嗪-3-基;
- [0102] R¹是H;
- [0103] R²和R³合起来是-(CH₂)₃-;
- [0104] R⁴是卤素、-CH₃、-OCH₃、-OCHF₂、-OCF₃、或-CN;并且
- [0105] n是0、1、或2。
- [0106] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中:
- [0107] Q是哒嗪-3-基或6-氟哒嗪-3-基;

- [0108] R¹是H;
- [0109] R²和R³合起来是-(CH₂)₃-;
- [0110] R⁴是卤素、-CH₃、-OCH₃、-OCHF₂、-OCF₃、或-CN;并且
- [0111] n是1,其中R⁴是在3-位上。
- [0112] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中:
- [0113] Q是哒嗪-3-基或6-氟哒嗪-3-基;
- [0114] R¹和R²合起来是-(CH₂)₂-并且R³是-CH₃;
- [0115] R⁴是卤素、-CH₃、-OCH₃、-OCHF₂、-OCF₃、或-CN;并且
- [0116] n是0、1、或2。
- [0117] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中该化合物选自下组,该组由以下组成:
- [0118] (2S)-2-(二甲基氨基)-2-苯基-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0119] (2R)-2-(二甲基氨基)-2-苯基-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0120] (2S)-2-(二甲基氨基)-2-(4-氟苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0121] (2R)-2-(二甲基氨基)-2-(4-氟苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0122] (2S)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0123] (2R)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0124] (2S)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;
- [0125] (2R)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;
- [0126] (2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0127] (2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0128] (2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-甲氧基苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0129] (2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-甲氧基苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0130] (2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;
- [0131] (2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;

- [0132] (1S)-2-甲基-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-3,4-二氢-1H-异喹啉-1-甲酰胺;
- [0133] (1R)-2-甲基-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-3,4-二氢-1H-异喹啉-1-甲酰胺;
- [0134] (2S)-2-(二甲基氨基)-2-(对-甲苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0135] (2S)-2-(二甲基氨基)-2-(间-甲苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0136] (2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0137] (2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0138] (2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[(3R)-1-(6-氟哒嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;
- [0139] (2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[(3R)-1-(6-氟哒嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;以及
- [0140] (2S)-2-(3-氰基苯基)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺。
- [0141] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中该化合物选自下组,该组由以下组成:
- [0142] (2S)-2-(二甲基氨基)-2-苯基-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0143] (2S)-2-(二甲基氨基)-2-(4-氟苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0144] (2R)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0145] (2S)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0146] (2S)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;
- [0147] (2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0148] (2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-甲氧基苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;
- [0149] (2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;
- [0150] (1S)-2-甲基-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-3,4-二氢-1H-异喹啉-1-甲酰胺;
- [0151] (2S)-2-(二甲基氨基)-2-(对-甲苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]

氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

[0152] (2S)-2-(二甲基氨基)-2-(间-甲苯基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

[0153] (2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺;

[0154] (2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[(3R)-1-(6-氟哒嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;

[0155] (2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[(3R)-1-(6-氟哒嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺;以及

[0156] (2S)-2-(3-氰基苯基)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺。

[0157] 本说明书中描述的化合物和盐能以溶剂化形式和非溶剂化形式存在。例如,溶剂化形式可以是水合形式,如半水合物、一水合物、二水合物、三水合物或其可替代的数量。本发明包括所有这些溶剂化和非溶剂化形式的具有式(I)的化合物。

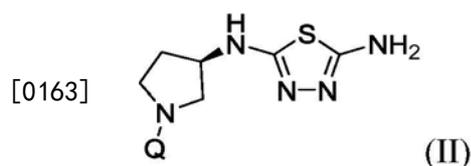
[0158] 本说明书中描述的化合物和盐的原子能以不同的同位素形式存在。本发明包括具有式(I)的化合物的所有同位素形式,包括¹¹C或¹³C碳和¹H、²H(氘)或³H(氚)氢。

[0159] 本说明书中所描述的化合物和盐可以按互变异构体的混合物存在。“互变异构体”是结构异构体,其存在于由氢原子的迁移产生的平衡中。本发明包括具有式(I)的化合物的所有互变异构体。

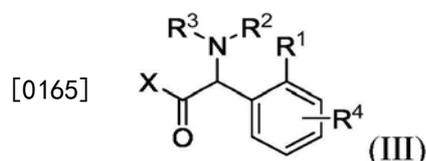
[0160] 具有式(I)的化合物能以不同的非对映异构体形式制备。本发明包括具有式(I)的化合物的所有非对映异构体形式。

[0161] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物,或其药学上可接受的盐,其为 $\geq 95\%$, $\geq 98\%$ 或 $\geq 99\%$ 的非对映异构体过量(%de)的单一非对映异构体。在一个实施例中,单一非对映异构体以 $\geq 99\%$ 的非对映异构体过量(%de)存在。

[0162] 具有式(I)的化合物可以例如通过具有式(II)的化合物:



[0164] (其中Q是以上所定义的)与具有式(III)的化合物:



[0166] (其中R¹、R²、R³、和R⁴是以上所定义的并且X是离去基团(例如卤素原子(如氯原子)或羟基基团)反应制备。在适合的温度下,该反应在适合的溶剂中(例如N,N-二甲基甲酰胺或N,N-二甲基乙酰胺)和在碱的存在下(例如二异丙基乙胺)方便地进行。适合的温度包括但不限于室温(从约20°C至约30°C)、降低的温度(例如从约-77°C至约0°C)、或升高的温度(例如在约80°C和120°C之间)。当X是羟基基团时,可以用合适的偶联试剂(例如HATU)

来形成酰胺键。

[0167] 因此具有式 (III) 的化合物及其盐在具有式 (I) 的化合物的制备中作为中间体是有用的, 并且提供了另一个实施例。

[0168] 具有式 (II) 和式 (III) 的化合物可以通过类似于实例部分示出的那些方法来制备。

[0169] 具有式 (III) 的化合物的适合的盐是碱加成盐。在技术人员已知的条件下, 具有式 (III) 的化合物的碱加成盐可以通过使该化合物与适合的无机碱或有机碱接触来形成。这类碱基不需要产生药学上可接受的盐。可以使用例如无机碱 (例如碱金属氢氧化物 (例如氢氧化钠、氢氧化钾、或氢氧化锂) 或碱土金属氢氧化物 (例如氢氧化钙或氢氧化镁) 形成碱加成盐。也可以使用有机碱 (例如甲胺、二甲胺、三甲胺、哌啶、吗啉、或三-(2-羟乙基) 胺) 形成碱加成盐。

[0170] 因此, 在一个实施例中, 提供了具有式 (III) 的化合物或其盐, 其中该盐是氢氧化钠盐、氢氧化钾盐、氢氧化锂盐、氢氧化钙盐、氢氧化镁盐、甲胺盐、二甲胺盐、三甲胺盐、哌啶盐、吗啉盐、或三-(2-羟乙基) 胺盐。

[0171] 化合物被认为抑制GLS1, 即, 具有式 (I) 的化合物, 和其药学上可接受的盐预期在疗法中 (例如在至少部分由GLS1介导的疾病或医学病状 (包括癌症) 的治疗中) 是有用的。

[0172] 在提及“癌症”的情况下, 这包括非转移性癌症和转移性癌症两者, 使得治疗癌症涉及治疗原发性肿瘤和肿瘤转移两者。

[0173] 在一个实施例中, 该癌症是转移性癌症。

[0174] 在一个实施例中, 该癌症是非转移性癌症。

[0175] “GLS1抑制活性”是指相对于在不存在具有式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐的情况下的GLS1的活性而言, 作为对具有式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐的存在的直接或间接反应, GLS1的活性降低。这种活性的降低可以是由于具有式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐与GLS1的直接相互作用, 或者由于具有式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐与转而影响GLS1活性的一种或多种其他因素的相互作用。例如, 具有式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐可以通过直接结合GLS1、通过 (直接或间接地) 引起另一种因子降低GLS1活性、或通过 (直接或间接地) 降低细胞或生物体中存在的GLS1的量而降低GLS1。

[0176] 术语“疗法”旨在具有其正常的含义: 治疗疾病或矫正或补偿基础病理。术语“疗法”还包括“预防”, 除非有相反的具体指示。术语“治疗的”和“治疗地”应以相应的方式被解释。

[0177] 术语“治疗有效量”是指如本文任何实施例中所述的具有式 (I) 的化合物的量, 该量在受试者中有效提供“治疗”。在癌症的情况下, 如在以上“疗法”、“治疗”和“预防”的定义中所述的, 治疗有效量可以在受试者中引起任何可观察的或可测量的变化。例如, 该有效量可以降低癌或肿瘤细胞的数量; 降低总体肿瘤大小; 抑制或停止肿瘤细胞浸润至外周器官, 例如包括软组织和骨; 抑制和停止肿瘤转移; 抑制和停止肿瘤生长; 在某种程度上减轻与癌症相关的症状中的一种或多种; 降低发病率和死亡率; 提高生命质量; 或这些作用的组合。有效量可以是足以减少响应于GLS1活性抑制的疾病的症状的量。对于癌症疗法, 例如可以通过评估存活期、疾病进展时间 (TTP)、应答率 (RR)、响应期、和/或生命质量来测定体内疗效。如由本领域技术人员所认可的, 有效量可以取决于给予途径、赋形剂的使用、以及与其

他药剂共同使用而改变。例如,在使用联合疗法的情况下,在动物患者中,对于治疗靶向的失调,当联合时,本说明书中描述的具有式(I)的化合物或药学上可接受的盐的量和其他一种或多种药学上有活性的药剂的量是共同有效的。在本上下文中,如果当联合时,这些组合量足以降低对如上所述的GLS1活性的抑制有反应的疾病的症状,则这些组合量为“治疗有效量”。通常,这样的量可以由本领域技术人员通过例如从本说明书中描述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐的剂量范围开始来确定或从其他一种或多种药学活性化合物的批准的或公开的一个或多个剂量范围来确定。术语“预防”旨在具有其正常含义,并包括防止疾病发展的初级预防和继发性预防,其中该疾病已经发展并且患者被暂时或永久保护对抗疾病的加重或恶化。

[0178] 术语“治疗”(treatment)与“疗法”(therapy)同义地使用。类似地,术语“治疗”可以被认为是应用疗法,其中“疗法”如本文所定义。

[0179] 在一个实施例中,提供了包含具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、以及至少一种药学上可接受的稀释剂或载体的药物组合物。在一个实施例中,该药物组合物包括呈游离碱的具有式(I)的化合物。在另一个实施例中,该药物组合物包括具有式(I)的化合物的药学上可接受的盐。

[0180] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物,或其药学上可接受的盐,用于在疗法中使用。

[0181] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物,或其药学上可接受的盐,用于治疗癌症。

[0182] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐用于生产用于治疗癌症的药物的用途。

[0183] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,用于治疗由GLS1介导的疾病。在一个实施例中,由GLS1介导的疾病是癌症。在一些实施例中,该癌症可以是乳腺癌(例如三阴性乳腺癌)、肺癌(例如非小细胞肺癌)、胰腺癌、肾癌、或肝细胞癌。

[0184] “三阴性乳腺癌”是不表达或低表达雌激素受体,孕酮受体和Her2/neu的基因的任何乳腺癌。

[0185] 在一个实施例中,提供具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗由GLS1介导的疾病的药物中的用途。在一个实施例中,由GLS1介导的疾病是癌症。在一些实施例中,该癌症可以是乳腺癌(例如三阴性乳腺癌)、肺癌(例如非小细胞肺癌)、胰腺癌、肾癌、或肝细胞癌。

[0186] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐用于生产用于治疗癌症的药物的用途。

[0187] 在一个实施例中,提供了抑制GLS1的方法,该方法包括给予具有式(I)的化合物。

[0188] 在一个实施例中,提供了用于治疗其中GLS1的抑制在需要这种治疗的温血动物中是有益的疾病的方法,该方法包括向该温血动物给予治疗有效量的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐。

[0189] “温血动物”包括例如人。

[0190] 在一个实施例中,提供了用于在需要这种治疗的温血动物中治疗癌症的方法,该方法包括向该温血动物给予治疗有效量的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐。在

一些实施例中,该癌症可以是乳腺癌(例如三阴性乳腺癌)、肺癌(例如非小细胞肺癌)、胰腺癌、肾癌、或肝细胞癌。

[0191] 在本说明书中所描述的癌症治疗可以作为单一疗法是有用的,或者除了给予具有式(I)的化合物以外,还可以包括常规手术、放射疗法或化学疗法;或此类另外的疗法的组合。这种常规手术、放射疗法或化学疗法可以与具有式(I)的化合物同时地、顺序地或分开地给予,以进行治疗。

[0192] 因此,在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、以及至少一种另外的抗肿瘤物质,用于在癌症的治疗中使用。

[0193] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、以及至少一种另外的抗肿瘤物质,用于在癌症的治疗中同时地、分开地或顺序地使用。

[0194] 在一个实施例中,提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,用于在癌症的治疗中使用,其中具有式(I)的化合物与至少一种另外的抗肿瘤物质被同时地、分开地或顺序地给予。

[0195] 在一个实施例中,提供了在需要这种治疗的温血动物中治疗癌症的方法,该方法包括向该温血动物给予具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐以及至少一种另外的抗肿瘤物质,其中具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、以及另外的抗肿瘤物质的量在产生抗癌作用方面是共同有效的。

[0196] 在一个实施例中,提供了在需要这种治疗的温血动物中治疗癌症的方法,该方法包括向所述温血动物给予具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,并且向所述温血动物同时地、分开地或顺序地给予至少一种另外的抗肿瘤物质,其中具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、以及另外的抗肿瘤物质的量在产生抗癌作用方面是共同有效的。

[0197] 在任何实施例中,该另外的抗肿瘤物质是紫杉烷。在一个实施例中,紫杉烷是紫杉醇。在一个实施例中,紫杉烷是多西他赛。

[0198] 在任何实施例中,另外的抗肿瘤物质是铂疗。在一个实施例中,铂疗是顺铂、奥沙利铂、或卡铂。

[0199] 根据另一个实施例,提供了试剂盒,其包含:

[0200] a) 处于第一单位剂型的、具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐;

[0201] b) 处于第二单位剂型的第二抗肿瘤物质;

[0202] c) 用于容纳该第一和第二单位剂型的容器;以及任选地,

[0203] d) 使用说明书。

[0204] 具有式(I)的化合物及其药学上可接受的盐可以作为药物组合物被给予,这些药物组合物包含一种或多种药学上可接受的稀释剂或载体。因此,在一个实施例中,提供了包含具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、以及至少一种药学上可接受的稀释剂或载体的药物组合物。

[0205] 这些组合物可处于适合于以下的形式:口服使用(例如作为片剂、锭剂、硬或软胶囊剂、水性或油性悬浮液、乳剂、可分散粉剂或颗粒剂、糖浆剂或酞剂),局部使用(例如作为乳膏剂、软膏剂、凝胶剂、或者水性或油性溶液或悬浮液),通过吸入给予(例如作为细碎粉末或液体气雾剂),通过吹入给予(例如作为细碎粉末),或肠胃外给予(例如作为用于静脉内、皮下、肌内给药的无菌水性或油性溶液),或作为栓剂。可以通过常规程序使用常规药物

赋形剂来获得这些组合物。因此,旨在口服使用的组合物可以含有例如一种或多种着色剂、甜味剂、调味剂和/或防腐剂。

[0206] 在一个实施例中,提供了包含具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、以及至少一种药学上可接受的稀释剂或载体的药物组合物,用于在疗法中使用。

[0207] 在一个实施例中,提供了包含具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、以及至少一种药学上可接受的稀释剂或载体的药物组合物,用于在癌症的治疗中使用。在一些实施例中,癌症可以是乳腺癌(例如三阴性乳腺癌)、肺癌(例如非小细胞肺癌)、胰腺癌、肾癌或肝细胞癌。

[0208] 具有式(I)的化合物通常以 $5\text{mg}/\text{m}^2$ 至 $5000\text{mg}/\text{m}^2$ 动物体面积,即约 $0.1\text{mg}/\text{kg}$ 至 $100\text{mg}/\text{kg}$ 的单位剂量给予温血-动物,并且这通常提供治疗有效-剂量。单位剂型如片剂或胶囊剂通常含有例如 1mg 至 250mg 的活性成分。每日剂量将必然取决于所治疗的宿主、具体的给予途径、共给予的任何疗法、以及正在治疗的疾病的严重性而变化。因此,治疗任何具体病人的执业医师可以确定最佳剂量。

[0209] 实例

[0210] 通过以下实例阐明多个实施例。本发明不被解释为受限于这些实例。

[0211] 在实例的制备期间,通常:

[0212] a) 除非另行说明,否则在环境温度(即在约 17°C 至 30°C 的范围内)和在惰性气体(如氮气)的气氛进行操作;

[0213] b) 通过旋转蒸发或使用Genevac真空设备进行蒸发,并且在通过过滤去除残余固体之后进行后处理程序;

[0214] c) 使用Grace Resolve预填充的二氧化硅柱在自动Isco Combiflash Companion上并且在使用RediSep Gold C18柱的(反相闪蒸)Isco Combiflash Rf上进行快速色谱纯化;

[0215] d) 产率,在存在的情况下,不必是可达到的最大值;

[0216] e) 具有式(I)的终产物的结构通过核磁共振(NMR)光谱法证实,伴随在 δ 规模上测量的NMR化学位移值。使用Bruker Avance 700(700MHz)、Bruker Avance 500(500MHz)、Bruker 400(400MHz)或Bruker300(300MHz)仪器测定质子核磁共振谱;在282MHz或376MHz处测定 ^{19}F NMR;在75MHz或100MHz处测定 ^{13}C NMR;除非另外指明,在大约 20°C 至 30°C 进行测量;使用以下缩写:s,单峰;d,二重峰;t,三重峰;q,四重峰;m,多重峰;dd,双二重峰;ddd,双二重峰的双重峰;dt,双三重峰;bs,宽信号;

[0217] f) 还使用基于具有2996PDA和2000amu ZQ单四极杆质谱仪的沃特斯(Waters) 2790/95LC系统的HPLC系统,在液相色谱(LCMS)之后,通过质谱法表征具有式(I)的终产物。所用溶剂为A=水,B=乙腈,C=50:50乙腈:水0.1%甲酸并且D=50:50乙腈:水0.1%氢氧化铵。在 $1.1\text{mL}/\text{min}$ 的流速下,将 $5\mu\text{L}$ 样品注射到 $50\times 2.15\mu\text{m}$ Phenomenex Gemini NX柱上。梯度从95%A到95%B持续4.0min,恒定5%C输注(用于酸分析,D用于碱分析)。在返回开始条件之前,将流动保持在95%B下0.5min。在质谱仪上在正模式和负模式下在从150amu至850amu并且在PDA上的220nm至320nm获得数据。还在使用具有样品管理器、Acquity PDA和SQD质谱仪的沃特斯Acquity二元泵的UPLC系统上进行LCMS。所用溶剂为A1=0.1%甲酸(水溶液),B10.1%甲酸的乙腈溶液,A2=0.1%氢氧化铵(水溶液)并且B20.1%氢氧化铵的乙

睛溶液。在1mL/min的流速下,将1 μ L样品注射到50 \times 2.11.7 μ m沃特斯BEH柱(在40 $^{\circ}$ C)。梯度经1.30min从97%A1至97%B1,然后保持0.2min并返回到开始条件(用A1和B1代替A2和B2用于碱分析)。在质谱仪上在正模式和负模式下在从150amu至1000amu并且在PDA上的245amu至320amu获得数据;

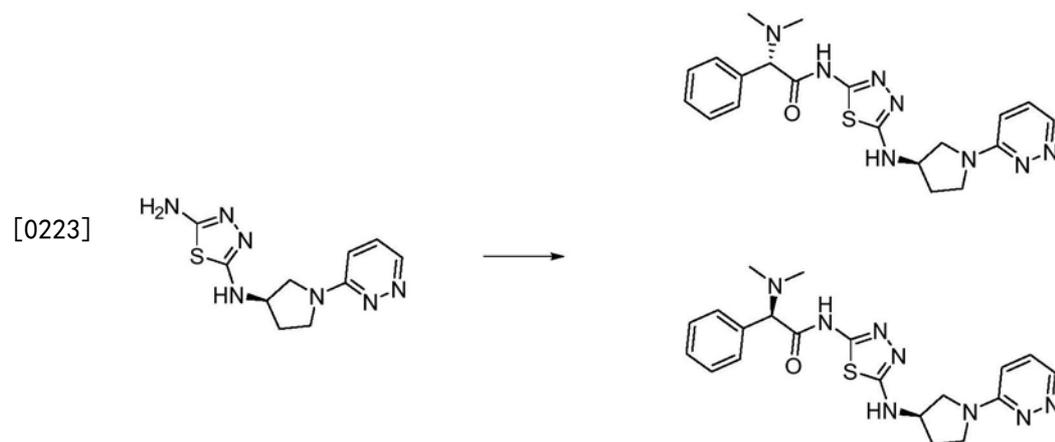
[0218] g) 中间体通常没有完全表征,并且通过薄层色谱、质谱、HPLC和/或NMR分析评估纯度;

[0219] h) 使用以下缩写:h=小时;r.t.=室温(约17 $^{\circ}$ C至30 $^{\circ}$ C);conc.=浓缩的;FCC=使用二氧化硅的快速柱色谱法;AIBN=偶氮二异丁腈;DCM=二氯甲烷;DIPEA=二异丙基乙胺;DMA=N,N-二甲基乙酰胺;DMF=N,N-二甲基甲酰胺;DMSO=二甲基亚砷;EDC=1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺;Et₂O=二乙醚;EtOAc=乙酸乙酯;EtOH=乙醇;HATU=1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸酯;HOBT=羟基苯并三唑;K₂CO₃=碳酸钾;MeOH=甲醇;MeCN=乙腈;MgSO₄=无水硫酸镁;Na₂SO₄=无水硫酸钠;NBS=N-溴琥珀酰亚胺;TFA=三氟乙酸;THF=四氢呋喃;sat.=饱和水性溶液。

[0220] 在下面的许多实例中,描述了化合物的非对映异构体对。例如,实例1(a)和实例1(b)的化合物表示化合物的非对映异构体对,其在单一反应的产物中形成混合物,随后分离。在这样的实例中,立体化学的任何指定不是绝对的。作为说明,实例1(a)和1(b)涉及所述化合物的(2S,3R)和(2R,3R)非对映异构体;然而,并不意味着实例1(a)被确定地指定为(2S,3R)非对映异构体并且实例1(b)被确定为(2R,3R)非对映异构体。

[0221] 实例1(a)和1(b)

[0222] (2S)-2-(二甲基氨基)-2-苯基-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酰胺和(2R)-2-(二甲基氨基)-2-苯基-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酰胺



[0224] 在0 $^{\circ}$ C,将HATU(866mg,2.28mmol)添加至2-(二甲基氨基)-2-苯基-乙酸盐酸盐(410mg,1.90mmol)、N'-[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]-1,3,4-噁二唑-2,5-二胺(中间体1,500mg,1.90mmol)、和DIPEA(0.992mL,5.70mmol)在DMF(6mL)中。然后将所得溶液在环境温度搅拌2小时。将该反应混合物用甲醇(5mL)稀释并且穿过20gSCX筒用甲醇洗脱以去除非碱性杂质,随后添加氨在甲醇中的3.5N溶液以获得产物。将含甲醇/氨洗涤物的产物在减压下蒸发。将该粗产物通过快速二氧化硅层析(在二氯甲烷中的0%到9%(7NNH₃/甲醇)的洗脱梯度)来纯化。将包含产物的级分蒸发以产生粗材料。将残余物在2-甲基四氢呋喃和盐

水之间进行分段,在被干燥 (MgSO_4) 之前将有机层用盐水洗涤两次,过滤并且在减压下蒸发以产生呈胶状和非对映异构体的混合物的产物 (350mg, 43.4%)。

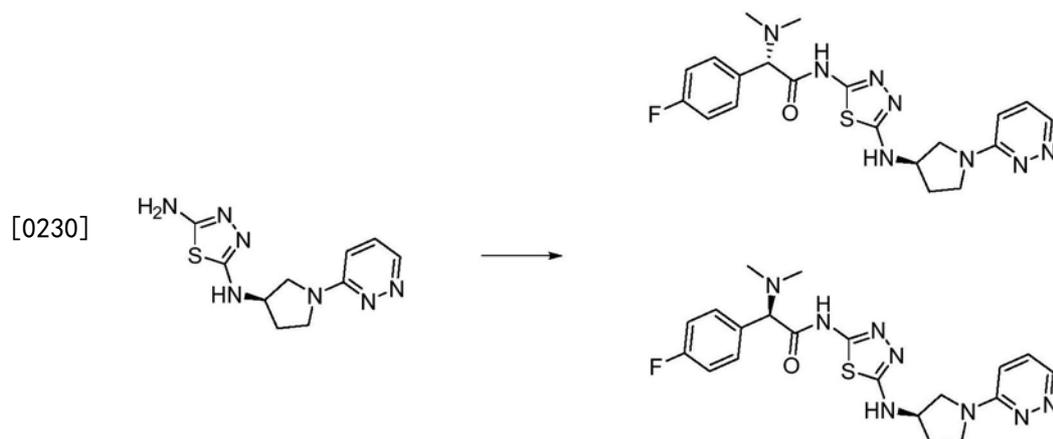
[0225] 将该混合物通过手性HPLC (C4柱, 20微米二氧化硅, 4.6mm直径, 250mm长度, 庚烷/EtOH-MeOH60/40) 分离。将包含希望的化合物的级分蒸发至干燥以提供:

[0226] 实例1 (a), 为第一洗脱异构体 (固体, 128mg, 37%)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO, 27°C) δ 1.99-2.09 (1H, m), 2.13 (6H, s), 2.21-2.33 (1H, m), 3.44-3.6 (3H, m), 3.73 (1H, dd), 4.06 (1H, s), 4.31-4.4 (1H, m), 6.85 (1H, dd), 7.25-7.38 (4H, m), 7.45 (2H, dd), 7.64 (1H, d), 8.47 (1H, dd), 12.13 (1H, s); m/z : $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ 425$ 。

[0227] 实例1 (b), 为第二洗脱异构体 (固体, 137mg, 39%)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO, 27°C) δ 2.1 (1H, m), 2.13 (6H, s), 2.22-2.32 (1H, m), 3.43-3.6 (3H, m), 3.73 (1H, dd), 4.06 (1H, s), 4.31-4.41 (1H, m), 6.84 (1H, dd), 7.27-7.38 (4H, m), 7.45 (2H, d), 7.64 (1H, d), 8.46 (1H, dd), 12.14 (1H, s); m/z : $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ 425$ 。

[0228] 实例2 (a) 和2 (b)

[0229] (2S)-2-(二甲基氨基)-2-(4-氟苯基)-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺和(2R)-2-(二甲基氨基)-2-(4-氟苯基)-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺



[0231] 在0°C, 将HATU (433mg, 1.14mmol) 添加至在DMF (3mL) 中的2-(二甲基氨基)-2-(4-氟苯基)乙酸盐 (222mg, 0.95mmol)、N'-[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]-1,3,4-噻二唑-2,5-二胺 (中间体1, 250mg, 0.95mmol)、和DIPEA (0.496mL, 2.85mmol) 里。然后将所得溶液在环境温度搅拌2小时。将该反应混合物用甲醇 (5mL) 稀释并且穿过20gSCX筒用甲醇洗脱以去除非碱性杂质, 随后添加氨在甲醇中的3.5N溶液以获得产物。将含甲醇/氨洗涤物的产物在减压下蒸发。将该粗产物通过快速二氧化硅层析, 在二氯甲烷中的0%到9% (7 NH_3 /甲醇) 的洗脱梯度来纯化。将包含产物的级分蒸发以产生产物。将残余物在2-甲基四氢呋喃和盐水之间进行分段, 在被干燥 (MgSO_4) 之前将有机层用盐水洗涤两次, 过滤并且在减压下蒸发以产生粗产物 (为非对映异构体的混合物)。

[0232] 将该混合物通过手性HPLC (安捷伦 (Agilent) 1100, IB柱, 20微米二氧化硅, 4.6mm直径, 250mm长度, 庚烷/EtOH-MeOH60/40作为洗脱液) 分离。将包含希望的化合物的级分蒸发至干燥以提供:

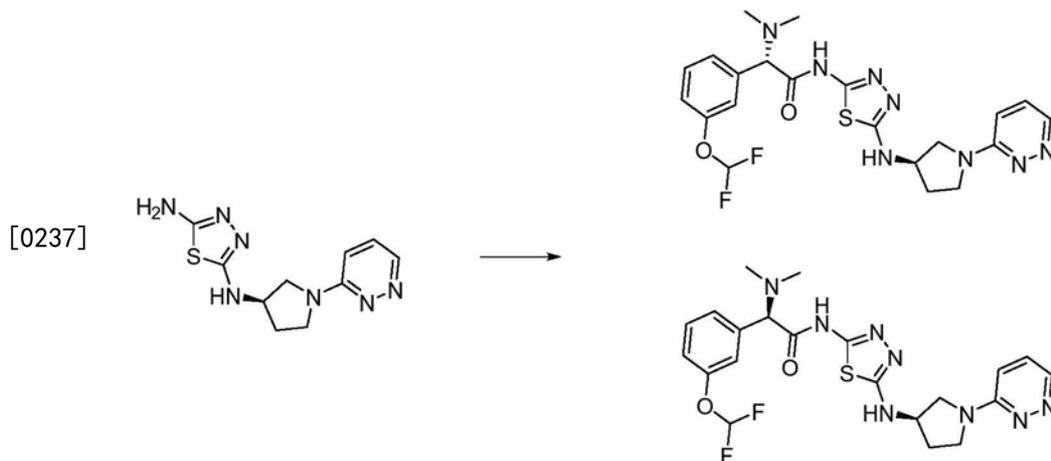
[0233] 实例2 (a), 为第一洗脱异构体 (固体, 98mg, 33%)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO, 27°C) δ

2.01-2.1 (1H,m), 2.12 (6H,s), 2.21-2.34 (1H,m), 3.47 (1H,dd), 3.52-3.59 (2H,m), 3.73 (1H,dd), 4.07 (1H,s), 4.37 (1H,dq), 6.85 (1H,dd), 7.14-7.23 (2H,m), 7.31 (1H,dd), 7.44-7.51 (2H,m), 7.66 (1H,d), 8.46 (1H,dd), 12.18 (1H,s); m/z:ES⁺[M+H]⁺443。

[0234] 实例2 (b), 为第二洗脱异构体 (固体, 100mg, 33%)。¹H NMR (400MHz, DMSO, 27°C) δ 2-2.1 (1H,m), 2.12 (6H,s), 2.21-2.33 (1H,m), 3.46-3.58 (3H,m), 3.74 (1H,dd), 4.07 (1H,s), 4.31-4.41 (1H,m), 6.85 (1H,dd), 7.15-7.22 (2H,m), 7.32 (1H,dd), 7.48 (2H,ddd), 7.66 (1H,d), 8.47 (1H,dd), 12.17 (1H,s); m/z:ES⁺[M+H]⁺443。

[0235] 实例3 (a) 和3 (b)

[0236] (2S)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-咪嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺和(2R)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-咪嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺



[0238] 在21°C在氮气下, 将HATU (416mg, 1.09mmol) 添加至在DMF (8mL) 中的N'-[(3R)-1-咪嗪-3-基吡咯烷-3-基]-1,3,4-噻二唑-2,5-二胺 (中间体1, 240mg, 0.91mmol)、2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-2-(二甲基氨基)乙酸 (中间体9, 246mg, 1.00mmol) 和DIPEA (0.159mL, 0.91mmol) 里。将所得的溶液在21°C搅拌1小时。将该粗产物通过离子交换层析, 使用SCX柱进行纯化。将所希望的产物使用1MNH₃/MeOH从该柱进行洗脱, 并且将纯的级分吸附在二氧化硅上。

[0239] 将该粗产物通过快速二氧化硅层析 (在DCM中的0%到7%MeOH的洗脱梯度) 纯化。将纯的级分蒸发至干燥以提供呈黄色胶状和非对映异构体的混合物的产物。

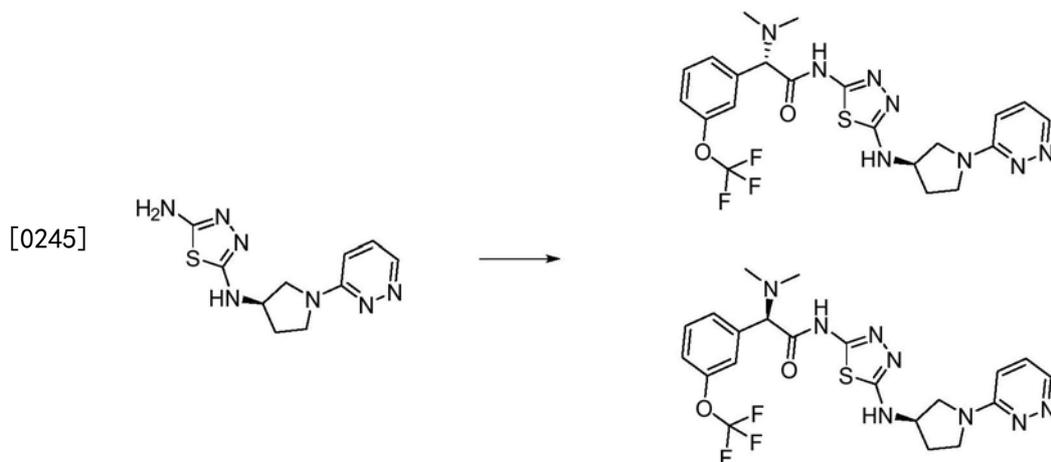
[0240] 将该混合物通过HPLC (安捷伦1100, 0J柱, 20微米μm二氧化硅, 50mm直径, 250mm长度, MeCN/MeOH90/10作为洗脱液) 分离。将包含希望的化合物的级分蒸发至干燥以提供:

[0241] 实例3 (a), 为第一洗脱异构体 (固体, 50mg, 11%)。¹H NMR (400MHz, DMSO, 30°C) δ 2.08 (1H,m), 2.27 (1H,m), 2.49 (6H,s), 3.39-3.61 (3H,m), 3.75 (1H,m), 4.37 (1H,m), 6.95 (1H,d), 7.13-7.22 (1H,d), 7.29 (1H,s), 7.33-7.42 (4H,m), 7.48 (1H,d), 7.77 (1H,m), 8.48 (1H,d), 12.20 (1H,s); m/z:ES⁺[M+H]⁺491。

[0242] 实例3 (b), 为第二洗脱异构体 (固体, 57mg, ¹H NMR (400MHz, DMSO, 30°C) δ 2.08 (1H,m), 2.27 (1H,m), 2.49 (6H,s), 3.39-3.61 (3H,m), 3.75 (1H,m), 4.37 (1H,m), 6.95 (1H,d), 7.13-7.22 (1H,d), 7.29 (1H,s), 7.33-7.42 (4H,m), 7.48 (1H,d), 7.77 (1H,m), 8.48 (1H,d), 12.19 (s, 1H); m/z:ES⁺[M+H]⁺491。

[0243] 实例4(a)和4(b)

[0244] (2S)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺和(2R)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺



[0246] 在21℃在氮气下,将HATU (3.00g, 7.88mmol) 添加至在DMF (30mL) 中的N'-[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]-1,3,4-噻二唑-2,5-二胺(中间体1, 1.73g, 6.57mmol)、2-(二甲基氨基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸(中间体11, 2.248g, 8.54mmol)、DIPEA (3.43mL, 19.71mmol) 里。将所得的溶液在60℃搅拌1小时。将该粗产物通过离子交换层析,使用SCX柱进行纯化。将所希望的产物使用1MNH₃/MeOH从该柱进行洗脱,并且将纯的级分吸附在二氧化硅上。将该粗产物通过快速二氧化硅层析(在DCM中的0%到10%1MNH₃/MeOH的洗脱梯度)纯化。将纯的级分蒸发至干燥以提供呈非对映异构体的混合物的棕色固体。

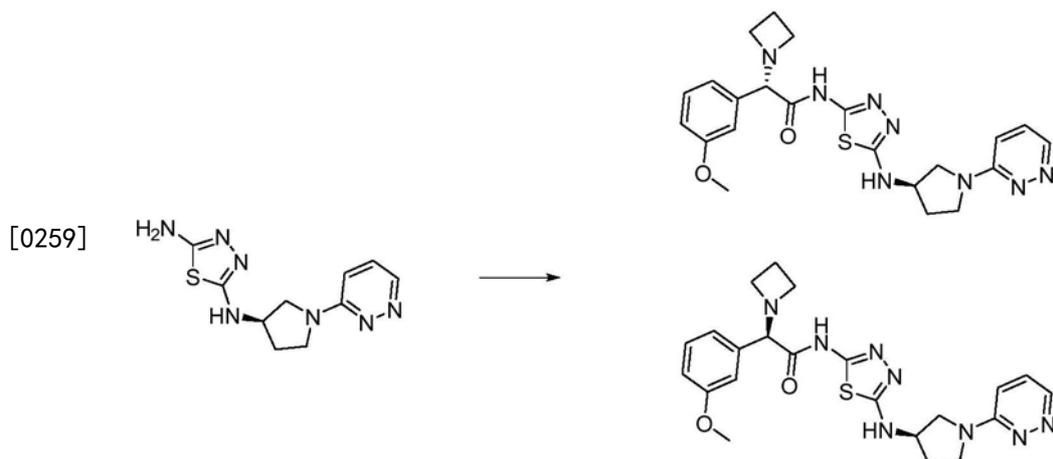
[0247] 将该混合物通过HPLC (Chiral Technologies OD柱, 20μm二氧化硅, 100mm直径, 250mm长度, 50/50的庚烷/EtOH混合物作为洗脱液, 流速450mL/min) 分离。将包含希望的化合物的级分蒸发至干燥以提供:

[0248] 实例4(a), 为第一洗脱异构体(固体, 250mg, 7%)。¹H NMR (400MHz, DMSO, 30℃) δ 1.78-1.87 (1H, m), 1.91 (6H, s), 2-2.13 (1H, m), 3.14-3.41 (3H, m), 3.51 (1H, m), 3.91 (1H, s), 4.12 (2H, m), 6.62 (1H, dd), 7.09 (2H, dd), 7.17-7.35 (3H, m), 7.40 (1H, d), 8.24 (1H, dd); m/z: ES⁺[M+H]⁺509。

[0249] 实例4(b), 为第二洗脱异构体(固体, 285mg, 9%)。¹H NMR (400MHz, DMSO, 30℃) δ 2.08 (1H, m), 2.27 (1H, m), 2.49 (6H, s), 3.39-3.61 (3H, m), 3.75 (1H, m), 4.37 (1H, m), 6.95 (1H, d), 7.13-7.22 (1H, d), 7.29 (1H, s), 7.33-7.42 (4H, m), 7.48 (1H, d), 7.77 (1H, m), 8.48 (1H, d); m/z: ES⁺[M+H]⁺509。

[0250] 实例5(a)和5(b)

[0251] (2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺和(2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺



[0260] 在室温,将HATU(413mg,1.09mmol)添加至在N-甲基-2-吡咯烷酮(15mL)中的2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-甲氧基苯基)乙酸(中间体17,185mg,0.84mmol)、N'-[(3R)-1-吡啶-3-基吡咯烷-3-基]-1,3,4-噁二唑-2,5-二胺(中间体1,220mg,0.84mmol)和DIPEA(0.438mL,2.51mmol)里。将所得的溶液在室温搅拌45分钟。将此溶液用甲醇(15mL)稀释并且穿过20gSCX-2筒,用甲醇冲洗以去除杂质,随后穿过氨在甲醇中的1N溶液以获得产物。将溶剂在减压下蒸发以产生粗产物。将粗产物溶解于甲醇/二氯甲烷中并且蒸发至硅胶上。将残余物通过快速二氧化硅层析(在二氯甲烷中的0%至12%甲醇洗脱梯度)纯化。将纯的级分蒸发至干燥以提供呈固体和非对映异构体的混合物的产物。

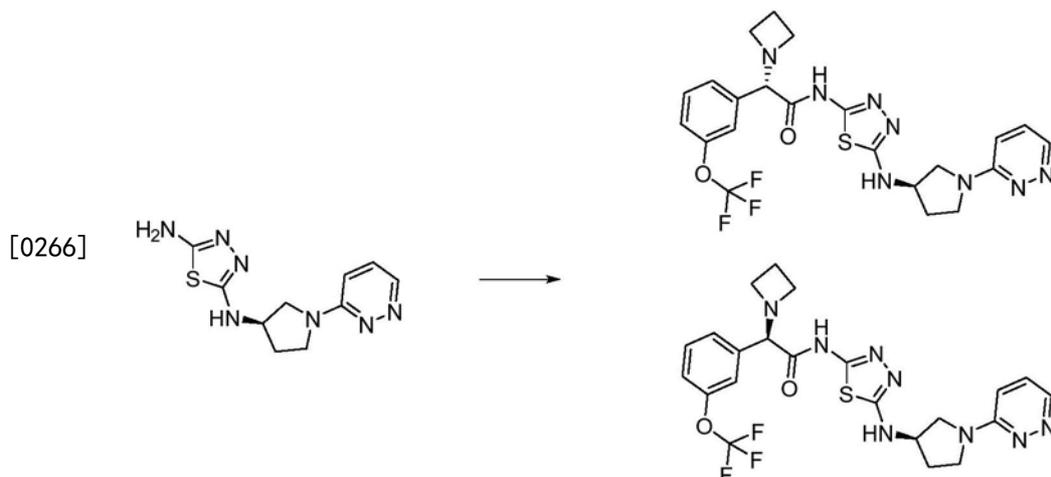
[0261] 将该混合物通过HPLC(Phenomenex Lux IE柱,20 μ m二氧化硅,50mm直径,250mm长度,EtOH洗脱液,在120mL/min)分离。将包含希望的化合物的级分蒸发至干燥以提供:

[0262] 实例6(a),为第一洗脱异构体(固体,137mg,39%)。¹H NMR(400MHz,DMSO,30 $^{\circ}$ C) δ 1.95-2.11(3H,m),2.22-2.32(1H,m),3.11(4H,dq),3.44-3.59(3H,m),3.71-3.77(4H,m),4.14(1H,s),4.36(1H,dt),6.82-6.88(2H,m),7.03(1H,d),7.06(1H,d),7.24(1H,t),7.31(1H,dd),7.61(1H,d),8.47(1H,dd),11.86(1H,s);m/z:ES⁺[M+H]⁺467。

[0263] 实例6(b),为第二洗脱异构体(固体,67mg,19%)。¹H NMR(400MHz,DMSO,30 $^{\circ}$ C) δ 1.95-2.09(3H,m),2.22-2.31(1H,m),3.04-3.17(4H,m),3.45-3.59(3H,m),3.71-3.78(4H,m),4.14(1H,s),4.33-4.4(1H,m),6.83-6.88(2H,m),7.03(1H,d),7.06(1H,s),7.25(1H,t),7.31(1H,dd),7.61(1H,d),8.47(1H,d),11.88(1H,s);m/z:ES⁺[M+H]⁺467。

[0264] 实例7(a)和7(b)

[0265] (2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[[(3R)-1-吡啶-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺和(2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[[(3R)-1-吡啶-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺



[0267] 在室温,将HATU(225mg,0.59mmol)添加至在N-甲基-2-吡咯烷酮(4mL)中的2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸(中间体20,125mg,0.46mmol)、N'-[(3R)-1-吡啶-3-基吡咯烷-3-基]-1,3,4-噁二唑-2,5-二胺(中间体1,120mg,0.46mmol)和DIPEA(0.239mL,1.37mmol)里。将所得的溶液在室温搅拌45分钟。将此溶液用甲醇(15mL)稀释并且穿过20gSCX-2筒,用甲醇冲洗以去除杂质,随后穿过氨在甲醇中的1N溶液以获得产物。将溶剂在减压下蒸发以产生粗产物。将粗产物溶解于甲醇/二氯甲烷中并且蒸发至硅胶上。将残余物通过快速二氧化硅层析(在二氯甲烷中的0%至7%甲醇洗脱梯度)纯化。将纯的级分蒸发至干燥以提供呈胶状和非对映异构体的混合物的产物。

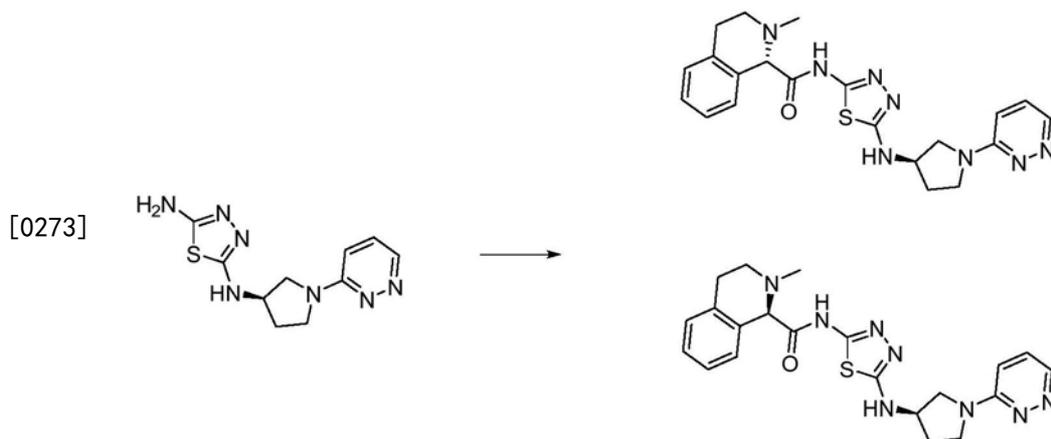
[0268] 将该混合物通过HPLC(Chiral Technologies IA柱,20 μ m二氧化硅,50mm直径,250mm长度,使用90/10MeCN/MeOH的混合物作为洗脱液,流速120mL/min)分离。将包含希望的化合物的级分蒸发至干燥以提供:

[0269] 实例7(a),为第一洗脱异构体(固体,72mg,38%)。¹H NMR(400MHz,DMSO,30 $^{\circ}$ C) δ 1.95-2.09(3H,m),2.26(1H,dt),3.11(4H,dq),3.48(1H,dd),3.51-3.58(2H,m),3.74(1H,dd),4.26(1H,s),4.36(1H,dt),6.85(1H,dd),7.28-7.34(2H,m),7.45-7.51(3H,m),7.64(1H,d),8.47(1H,dd),12.09(1H,s);m/z:ES⁺[M+H]⁺521。

[0270] 实例7(b),为第二洗脱异构体(固体,79mg,42%)。¹H NMR(400MHz,DMSO,30 $^{\circ}$ C) δ 1.96-2.11(3H,m),2.23-2.32(1H,m),3.05-3.16(4H,m),3.47(1H,dd),3.51-3.59(2H,m),3.73(1H,dd),4.26(1H,s),4.36(1H,dq),6.84(1H,dd),7.27-7.33(2H,m),7.44-7.5(3H,m),7.63(1H,d),8.46(1H,dd),12.07(1H,s);m/z:ES⁺[M+H]⁺521。

[0271] 实例8(a)和8(b)

[0272] (1S)-2-甲基-N-[5-[[(3R)-1-吡啶-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]-3,4-二氢-1H-异喹啉-1-甲酰胺和(1R)-2-甲基-N-[5-[[(3R)-1-吡啶-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]-3,4-二氢-1H-异喹啉-1-甲酰胺



[0274] 在室温,将HATU (238mg,0.63mmol)添加至在N-甲基-2-吡咯烷酮(2mL)和DMF(3mL)中的2-甲基-3,4-二氢-1H-异喹啉-1-甲酸.HCl(中间体24,110mg,0.48mmol)、N'-[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]-1,3,4-噁二唑-2,5-二胺(中间体1,127mg,0.48mmol)和DIPEA(0.295mL,1.69mmol)里。将所得的溶液在室温搅拌45分钟。将此溶液用甲醇(15mL)稀释并且穿过20gSCX-2筒,用甲醇冲洗以去除杂质,随后穿过氨在甲醇中的1N溶液以获得产物。将溶剂在减压下蒸发以产生粗产物。将该粗产物通过快速二氧化硅层析(在二氯甲烷中0%到6%甲醇的洗脱梯度)纯化。将纯的级分蒸发至干燥以提供呈胶状和非对映异构体的混合物的产物。

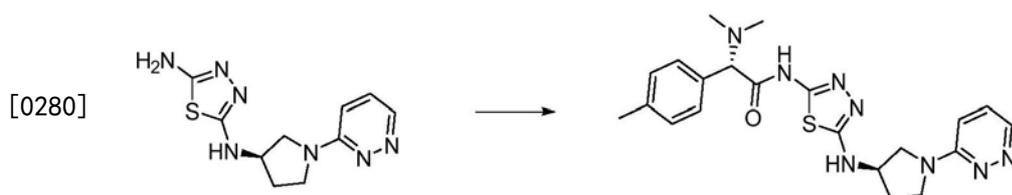
[0275] 将该混合物通过HPLC(Phenomenex LuxC2柱,20 μ m二氧化硅,50mm直径,250mm长度,使用EtOH作为洗脱液在120mL/min)分离。将包含希望的化合物的级分蒸发至干燥以提供:

[0276] 实例8(a),为第一洗脱异构体(固体,49mg,43%)。¹H NMR(400MHz,DMSO,30 $^{\circ}$ C) δ 2.02-2.11(1H,m),2.23-2.31(1H,m),2.37(3H,s),2.54-2.61(1H,m),2.78(1H,dt),2.95(1H,dt),3.18-3.25(1H,m),3.47-3.59(3H,m),3.75(1H,dd),4.35(1H,s),4.36-4.42(1H,m),6.85(1H,dd),7.11-7.19(4H,m),7.32(1H,dd),7.65(1H,d),8.47(1H,dd),11.95(1H,s);m/z:ES⁺[M+H]⁺437。

[0277] 实例8(b),为第二洗脱异构体(固体,52mg,46%)。¹H NMR(400MHz,DMSO,30 $^{\circ}$ C) δ 2.03-2.11(1H,m),2.23-2.32(1H,m),2.37(3H,s),2.54-2.62(1H,m),2.79(1H,dt),2.94(1H,dt),3.18-3.26(1H,m),3.42-3.59(3H,m),3.74(1H,dd),4.35(1H,s),4.37-4.42(1H,m),6.85(1H,dd),7.11-7.19(4H,m),7.31(1H,dd),7.65(1H,d),8.47(1H,dd),11.97(1H,s);m/z:ES⁺[M+H]⁺437。

[0278] 实例9

[0279] (2S)-2-(二甲基氨基)-2-(4-甲基苯基)-N-[5-[[(3R)-1-吡嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酰胺

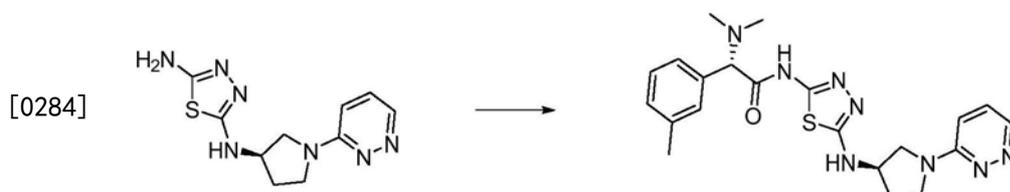


[0281] 在21 $^{\circ}$ C在氮气下,将HATU(347mg,0.91mmol)添加至在DMA(7mL)中的(2S)-2-(二甲

基氨基)-2-(对-甲基苯基)乙酸(中间体26,161mg,0.84mmol)、N'-[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]-1,3,4-噻二唑-2,5-二胺(中间体1,200mg,0.76mmol)和DIPEA(0.133mL,0.76mmol)里。将所得到的溶液在0℃搅拌45分钟。将该粗产物通过离子交换层析,使用SCX柱进行纯化。将所希望的产物使用1MNH₃/MeOH从柱中洗脱并且将纯的级分蒸发至干燥,以提供呈胶状物的粗产物。将该粗产物通过快速二氧化硅层析(在DCM中的0%到10%MeOH的洗脱梯度)纯化。将纯级分蒸发至干燥,用DCM/乙醚研磨,并且过滤以提供呈膏状固体的(2S)-2-(二甲基氨基)-2-(4-甲基苯基)-N-[5-[[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺(109mg,33%);¹H NMR(400MHz,DMSO,30℃)δ1.25(1H,m),2.08(1H,dt),2.19(6H,s),2.24-2.36(4H,m),3.48(1H,dd),3.54-3.65(2H,m),3.75(1H,dd),4.34-4.5(1H,m),6.86(1H,dd),7.18(2H,d),7.28-7.44(3H,m),7.66(1H,d),8.48(1H,dd),12.12(1H,s);m/z:ES⁺[M+H]⁺439。

[0282] 实例10

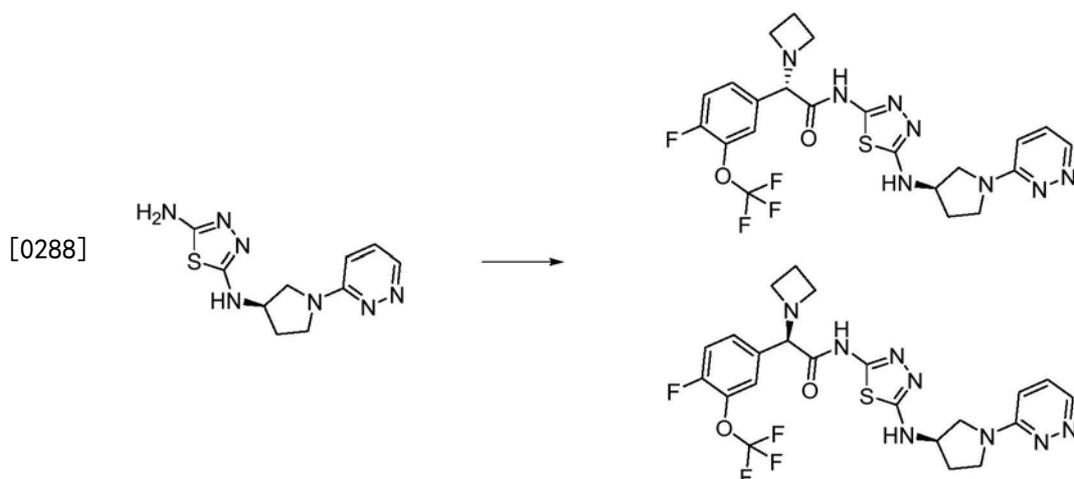
[0283] (2S)-2-(二甲基氨基)-2-(3-甲基苯基)-N-[5-[[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺



[0285] 在21℃在氮气下,将HATU(416mg,1.09mmol)添加至在DMF(12mL)中的(2S)-2-(二甲基氨基)-2-(间-甲基苯基)乙酸(中间体27,194mg,1.00mmol)、N'-[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]-1,3,4-噻二唑-2,5-二胺(中间体1,240mg,0.91mmol)、DIPEA(0.159mL,0.91mmol)里。将所得到的溶液在0℃搅拌持续30分钟。将该粗产物通过离子交换层析,使用SCX柱进行纯化。将所希望的产物使用1MNH₃/MeOH从柱中洗脱并且将纯的级分蒸发至干燥,以提供胶状物。将该粗产物通过快速二氧化硅层析(在DCM中的0%到10%甲醇的洗脱梯度)纯化。将纯级分蒸发至干燥,用DCM/乙醚研磨,并且过滤以提供呈膏状固体的(2S)-2-(二甲基氨基)-2-(间-甲基苯基)-N-[5-[[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺(91mg,23%);¹H NMR(400MHz,DMSO,30℃)δ1.25(1H,m),2.08(1H,dq),2.19-2.42(10H,m),3.49(1H,dd),3.57(2H,td),3.75(1H,dd),4.29-4.46(1H,m),6.88(1H,dd),7.19(1H,s),7.26-7.41(4H,m),7.71(1H,s),8.48(1H,dd),12.30(1H,s);m/z:ES⁺[M+H]⁺439。

[0286] 实例11(a)和11(b)

[0287] (2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺和(2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]-N-[5-[[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺



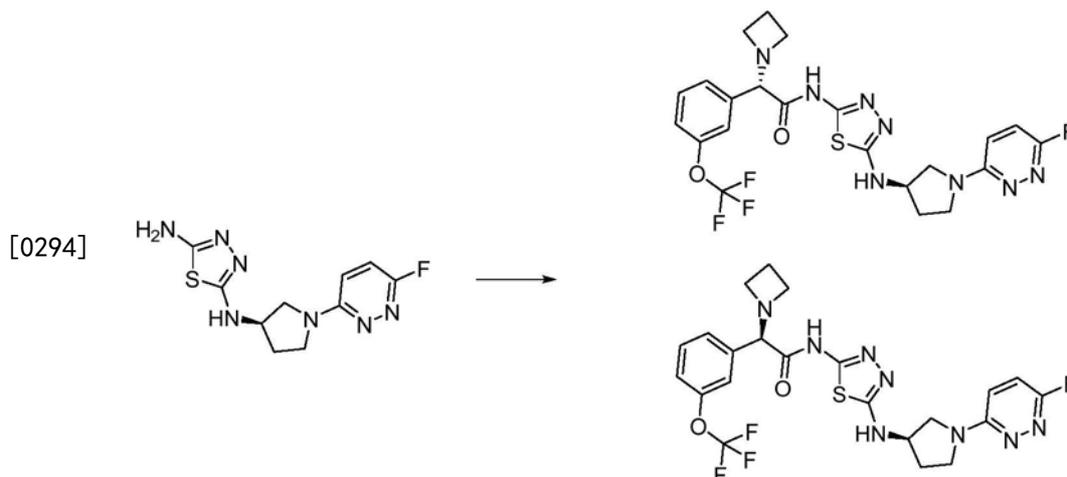
[0289] 在 N_2 下在室温,将N2-[(3R) -1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]-1,3,4-噻二唑-2,5-二胺(中间体28,0.09g,0.30mmol)溶解于DMF(2mL)中。添加[2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰基]氧基锂(中间体1,0.09g,0.307mmol),随后添加DIPEA(0.08mL,0.46mmol)。在添加HATU(139.9mg,0.36mmol)之前将该混合物搅拌5min,并且然后在室温搅拌2h。将该反应混合物用MeOH(1mL)稀释并且穿过5gSCX筒,用MeOH洗涤然后用在MeOH中的2MNH₃洗脱。将碱性级分蒸发,并且将残余物通过制备型HPLC纯化(SunFireC18柱,5 μ m,50mmx19mm,流速25mL/min)。将极性比率递减的含有0.1%甲酸的水和MeCN用作流动相。将纯级分合并,蒸发并且吸附在1gSCX筒上,将其用MeOH洗涤然后用在MeOH中的2MNH₃洗脱以给出呈灰白色固体的2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]-N-[[(3R) -1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺(88mg,53%)。将该非对映异构体通过手性制备HPLC(ChiralPak IA柱,20 μ m二氧化硅,50mm直径,250mm长度),MeCN/MeOH90/10在120mL/min分离。将含有所需化合物的级分蒸发至干燥以给出:

[0290] 实例11(a),为第一洗脱异构体(35.4mg,21%)。¹H NMR(400MHz,DMSO,30 $^{\circ}$ C) 1.97-2.1(3H,m),2.23-2.32(1H,m),3.06-3.17(4H,m),3.49(1H,dd),3.53-3.59(2H,m),3.75(1H,dd),4.26(1H,s),4.34-4.42(1H,m),6.86(1H,d),7.32(1H,dd),7.47-7.58(2H,m),7.64(2H,dd),8.48(1H,d);m/z:ES⁺[M+H]⁺539。

[0291] 实例11(b),为第二洗脱异构体(26.9mg,16%)。¹H NMR(400MHz,DMSO,30 $^{\circ}$ C) 1.96-2.11(3H,m),2.23-2.34(1H,m),3.07-3.17(4H,m),3.48(1H,dd),3.53-3.6(2H,m),3.75(1H,dd),4.26(1H,s),4.33-4.42(1H,m),6.85(1H,dd),7.32(1H,dd),7.47-7.57(2H,m),7.64(2H,dd),8.48(1H,dd);m/z:ES⁺[M+H]⁺539。

[0292] 实例12(a)和12(b)

[0293] (2S)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[[5-[[(3R) -1-(6-氟哒嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺和(2R)-2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[[5-[[(3R) -1-(6-氟哒嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺



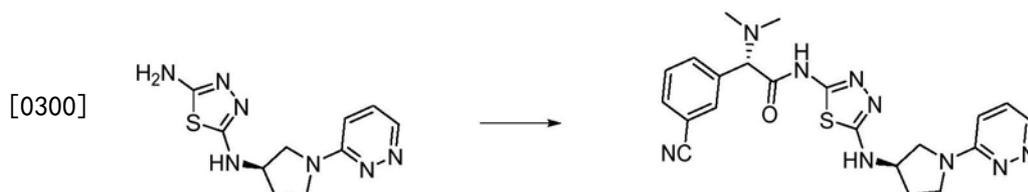
[0295] 在室温在 N_2 下,将N2-[(3R) -1- (6-氟哒嗪-3-基) 吡咯烷-3-基] -1,3,4-噻二唑-2,5-二胺(中间体6,0.11g,0.38mmol)和[2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺]氧基锂(中间体21,0.13g,0.46mmol)溶解于DMF(2mL)中。在添加DIPEA(0.34mL,1.943mmol)和HATU(0.4mL,0.389mmol)之前将该混合物搅拌5min然后在室温搅拌2h。将该粗混合物吸附在5gSCX柱上,将其用MeOH洗涤然后用在MeOH中的 $2MNH_3$ 洗脱。蒸发碱性级分,得到橙色胶状物。将碱性级分蒸发,并且将残余物通过制备型HPLC纯化(SunFireC18柱,5 μ m,50mmx19mm,流速25mL/min)。将极性比率递减的含有0.1%甲酸的水和MeCN用作流动相。将纯级分合并,蒸发并且吸附在1gSCX筒上,将其用MeOH洗涤然后用在MeOH中的 $2MNH_3$ 洗脱,以给出呈灰白色固体的2-(氮杂环丁烷-1-基)-N-[5-[[(3R) -1- (6-氟哒嗪-3-基) 吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺。将该非对映异构体通过手性制备HPLC(Chiralpak IC柱,20 μ m二氧化硅,50mm直径,250mm长度),庚烷/EtOAc20/80(+0.2%TEA)在120ml/min分离。将含有所需化合物的级分蒸发至干燥以给出:

[0296] 实例12(a),为第一洗脱异构体(28.60mg,13%)。 1H NMR(400MHz,DMSO,30 $^\circ C$) 2.04-2.18(3H,m),2.34(1H,dt),3.20(4H,dq),3.54(1H,dd),3.58-3.67(2H,m),3.81(1H,dd),4.35(1H,s),4.4-4.48(1H,m),7.23(1H,dd),7.35-7.4(1H,m),7.42(1H,dd),7.53-7.55(1H,m),7.57(2H,d),7.71(1H,d),12.07(1H,s);m/z:ES $^+$ [M+H] $^+$ 539。

[0297] 实例12(b),为第二洗脱异构体(13.5mg,6%)。 1H NMR(400MHz,DMSO,30 $^\circ C$) 1.96-2.1(3H,m),2.28(1H,dt),3.13(4H,dq),3.46(1H,dd),3.51-3.59(2H,m),3.74(1H,dd),4.28(1H,s),4.34-4.41(1H,m),7.16(1H,dd),7.29-7.32(1H,m),7.34(1H,dd),7.47-7.49(1H,m),7.50(2H,d),7.64(1H,d),12.00(1H,s);m/z:ES $^+$ [M+H] $^+$ 539。

[0298] 实例13

[0299] (2S)-2-(3-氰基苯基)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R) -1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺



[0301] 在 N_2 下在室温,将N2-[(3R) -1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基] -1,3,4-噻二唑-2,5-二胺

(中间体1, 0.09g, 0.30mmol) 溶解于DMF (2mL) 中。添加 (2S)-2-(3-氰基苯基)-2-(二甲基氨基) 乙酸 (中间体32, 0.06g, 0.307mmol), 随后添加DIPEA (0.08mL, 0.46mmol)。在添加HATU (139.9mg, 0.368mmol) 之前将该混合物搅拌5min, 并且然后允许在室温搅拌90min。将该反应混合物用MeOH (1mL) 稀释并且穿过5gSCX筒, 用MeOH洗涤然后用在MeOH中的2MNH₃洗脱。将碱性级分蒸发并且通过制备型HPLC (XBridge OBD C18柱, 5 μ m, 50mmx19mm, 流速25mL/min, 将极性比率递减的含有0.3mL/LNH₄OH的水和MeCN用作流动相) 纯化。将纯级分合并并且蒸发以给出呈米色固体的 (2S)-2-(3-氰基苯基)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺 (43mg, 31%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 2.09-2.02 (1H, m), 2.14 (6H, d), 2.32-2.24 (1H, m), 3.60-3.43 (3H, m), 3.74 (1H, dd), 4.17 (1H, s), 4.38 (1H, q), 6.87 (1H, ddd), 7.33 (1H, ddd), 7.60 (1H, td), 7.71 (1H, d), 7.80 (2H, ddq), 7.87 (1H, t), 8.48 (1H, dt), 12.30 (1H, s); m/z: ES⁺[M+H]⁺ 450。

[0302] 实例14

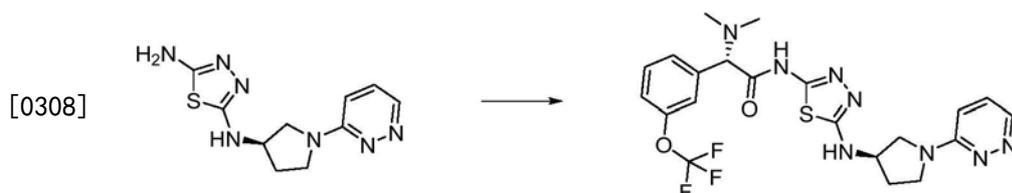
[0303] (2R)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺



[0305] 在25 $^{\circ}$ C, 将DIPEA (0.199mL, 1.14mmol) 添加至在DMF (4mL) 中的N2-[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]-1,3,4-噻二唑-2,5-二胺 (中间体1, 150mg, 0.57mmol)、(2R)-2-(二甲基氨基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸 (中间体38, 150mg, 0.57mmol)、EDC (218mg, 1.14mmol) 和HOBT (87mg, 0.57mmol) 里。将所得混合物在25 $^{\circ}$ C 搅拌16小时。将粗产物通过制备型HPLC (沃特斯XBridgePrepC180BD柱, 5 μ m 二氧化硅, 50mm直径, 150mm长度), 使用水与MeCN的极性递减混合物作为洗脱剂来纯化。将包含所希望的化合物的级分蒸发至干燥以提供呈棕色固体的 (2R)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺 (15mg, 5%)。¹H NMR (300MHz, CD₃OD, 30 $^{\circ}$ C) δ 2.27-2.35 (m, 1H), 2.44-2.56 (m, 1H), 2.88 (s, 6H), 3.72-3.84 (m, 3H), 3.97-4.03 (m, 1H), 4.54-4.59 (m, 1H), 5.16 (s, 1H), 7.50-7.73 (m, 5H), 7.84-7.88 (m, 1H), 8.53 (s, 1H); m/z: ES⁻[M-H]⁻ 507。

[0306] 实例18

[0307] (2S)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺



[0309] 在25 $^{\circ}$ C, 将DIPEA (0.199mL, 1.14mmol) 添加至在DMF (4mL) 中的N2-[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]-1,3,4-噻二唑-2,5-二胺 (中间体1, 150mg, 0.57mmol)、(2S)-2-(二甲基

氨基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸(中间体39,150mg,0.57mmol)、EDC(218mg,1.14mmol)和HOBT(87mg,0.57mmol)里。将所得混合物在25℃搅拌16小时。将粗产物通过制备型HPLC(沃特斯XBridge PrepC180BD柱,5 μ m二氧化硅,50mm直径,150mm长度),使用水与MeCN的极性递减混合物作为洗脱剂来纯化。将包含所希望的化合物的级分蒸发至干燥以提供呈棕色固体的(2S)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺(15mg,5%)。¹HNMR(300MHz,CD₃OD,30℃) δ 2.28-2.35(m,1H),2.45-2.59(m,1H),2.86(s,6H),3.69-3.77(m,1H),3.77-3.84(m,2H),3.95-4.01(m,1H),4.56-4.58(m,1H),5.12(s,1H),7.49-7.69(m,5H),7.79-7.84(m,1H),8.51(d,1H);m/z:ES⁻[M-H]⁻507。

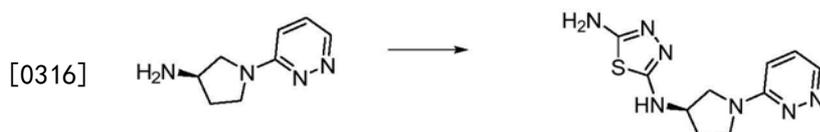
[0310] 另外的实例

[0311] 与上述实例类似的方式制备以下实例的化合物。

实例编号	名称	MS 数据
[0312] 14	(2R)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺	m/z (ES ⁺), [M-H] ⁻ = 507
15	(2R)-2-(二甲基氨基)-2-(4-甲氧基苯基)-N-[5-[[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺	m/z (ES ⁺), [M+H] ⁺ = 455
16	(2S)-2-(二甲基氨基)-2-(4-甲氧基苯基)-N-[5-[[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-	m/z (ES ⁺), [M+H] ⁺ = 455
	噻二唑-2-基]乙酰胺	
[0313] 17	(2S)-2-(二甲基氨基)-2-(邻-甲苯基)-N-[5-[[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]乙酰胺	m/z (ES ⁺), [M+H] ⁺ = 439
18	(2S)-2-(二甲基氨基)-N-[5-[[[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基]-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰胺	m/z (ES ⁺), [M-H] ⁻ = 507

[0314] 中间体1

[0315] N'-[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]-1,3,4-噻二唑-2,5-二胺



[0317] 向1L圆底烧瓶中放置(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-胺二盐酸盐(中间体2,10.5g,44.29mmol)在DMF(400mL)、5-溴-1,3,4-噻二唑-2-胺(7.94g,44.10mmol)和DIPEA(17.07g,132.08mmol)中的溶液。在80℃,将溶液搅拌4h。将所得混合物在真空下浓缩。粗产物通过从乙醇/EtOAc重结晶纯化,得到呈浅黄色固体的N'-[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]-1,3,4-噻二唑-2,5-二胺(11g,94%)。¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆,30℃) δ 2.04(1H,td),2.22-2.31

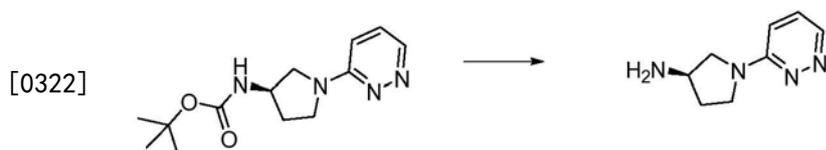
(1H,m), 3.43-3.62 (3H,m), 3.72 (1H,dd), 4.28 (1H,dq), 6.27 (2H,s), 6.86 (1H,dd), 7.07 (1H,d), 7.33 (1H,dd), 8.48 (1H,dd)。m/z:ES⁺[M+H]⁺264.28。

[0318] 还根据以下替代程序大规模制备中间体1:

[0319] 在45℃,将(R)-1-(哒嗪-3-基)吡咯烷-3-胺(中间体3,游离碱形式,25.5g,150.63mmol)和5-溴-1,3,4-噁二唑-2-胺(29.8g,165.70mmol)与DIPEA(39.4mL,225.95mmol)作为在MeOH(200mL)中的浆料搅拌。将该浆液冷却至20℃并且将该固体通过真空过滤分离。使用50mL MeOH作为滤饼的置换洗涤液,然后将其在40℃的真空烘箱中干燥过夜。获得呈自由流动的米色粉末的中间体1(32.9g,83%)。

[0320] 中间体2

[0321] (3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-胺二盐酸盐



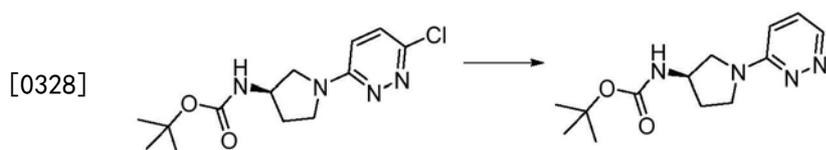
[0323] 向1L圆底烧瓶中加入叔丁基N-[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基甲酸酯(中间体4,20g,75.66mmol)在二噁烷(200mL)和浓HCl(100mL)中的溶液。将溶液在室温搅拌30分钟。将所得混合物在真空下浓缩。将粗产物从MeOH/EtOAc以1:2的比例重结晶。这产生呈灰白色固体(13.4g,75%)的(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-胺二盐酸盐。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆,26℃)δ2.25-2.43(2H,m),3.66-3.74(1H,m),3.78-3.90(3H,m),4.02-4.10(1H,m),7.75(1H,d),7.94(1H,dd),8.66(1H,d),8.77-8.98(3H,brm)。m/z:ES⁺[M+H]⁺165。

[0324] 还根据以下程序制备中间体3(游离碱形式):

[0325] 将在吡啶(400mL)中的叔丁基N-[(3R)-1-(6-氯哒嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基甲酸酯(中间体5,20g,107.38mmol)与氢氧化钯碳(皮尔曼催化剂(Pearlman's Catalyst),27.5g,25.84mmol)和在MeOH(1375mL)中的1-甲基-1,4-环己二烯(31.0mL,276.13mmol)混合。然后将反应混合物加热至65℃持续90分钟。观察到完全转化后,将反应冷却至环境温度,通过过滤除去催化剂。然后将3MHCl的MeOH溶液(184mL,552.27mmol)加入到反应混合物中,将溶液加热至65℃持续1小时。观察到完全转化后,将反应溶液冷却至环境温度,并通过已用MeOH预洗脱的10×50gSCX柱。使用1MNH₃的MeOH溶液从SCX释放化合物。将所得溶液用甲苯(1L)稀释,并通过旋转蒸发浓缩至干,得到自由流动的固体。(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-胺以97%w/w的强度作为游离碱分离。

[0326] 中间体4

[0327] 叔丁基N-[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基甲酸酯

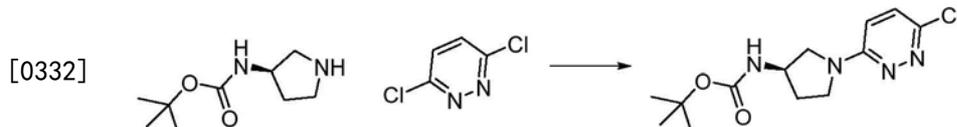


[0329] 向2L圆底烧瓶中加入在MeOH(800mL)中的叔丁基N-[(3R)-1-(6-氯哒嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基甲酸酯(中间体5,23g,76.98mmol)和钯碳(2g)。将系统净化并用氢气保持。将所得溶液在室温搅拌4小时。将固体过滤出。将所得混合物在真空下浓缩,以给出为黄色固体的叔丁基N-[(3R)-1-哒嗪-3-基吡咯烷-3-基]氨基甲酸酯(20g,84%)。¹H NMR

(300MHz, CDCl_3 , 24°C) δ 1.44 (9H, s), 2.25-2.35 (2H, m), 3.48-3.56 (1H, m), 3.70-4.10 (3H, m), 4.35-4.42 (1H, m), 7.26-7.32 (1H, m), 7.70-7.75 (1H, m), 8.53-8.55 (1H, m)。m/z: $\text{ES}^+[\text{M}+\text{H}]^+$ 265。

[0330] 中间体5

[0331] 叔丁基N-[(3R)-1-(6-氯吡嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基甲酸酯

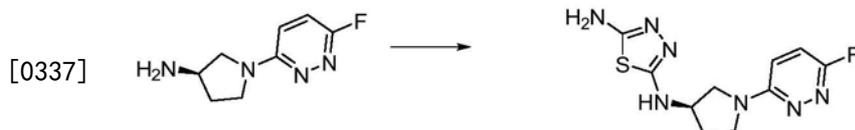


[0333] 向1L圆底烧瓶中加入叔丁基N-[(3R)-吡咯烷-3-基]氨基甲酸酯(20g, 107.38mmol)在吡啶(400mL)和3,6-二氯吡嗪(16g, 107.40mmol)中的溶液。将所得溶液加热至回流过夜。将所得混合物在真空下浓缩。将粗产物通过从乙醇/ Et_2O 以1:3的比例重结晶而纯化,以给出呈黄色固体的叔丁基N-[(3R)-1-(6-氯吡嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基甲酸酯(23g, 72%)。

[0334] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3 , 30°C) δ 1.45 (9H, s), 2.02 (1H, dq), 2.31 (1H, td), 3.41 (1H, dd), 3.54-3.70 (2H, m), 3.78 (1H, dd), 4.37 (1H, s), 4.76 (1H, s), 6.61 (1H, d), 7.17 (1H, d)。m/z: $\text{ES}^+[\text{M}+\text{H}]^+$ 299。

[0335] 中间体6

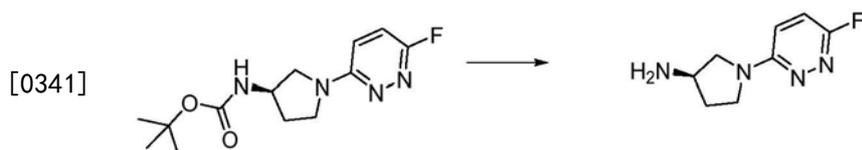
[0336] N2-[(3R)-1-(6-氟吡嗪-3-基)吡咯烷-3-基]-1,3,4-噻二唑-2,5-二胺



[0338] 在室温,将DIPEA(3.48mL, 19.96mmol)添加到无水DMF(40mL)中的5-溴-1,3,4-噻二唑-2-胺(1.797g, 9.98mmol)和(3R)-1-(6-氟吡嗪-3-基)吡咯烷-3-胺(中间体7, 2g, 10.98mmol)中。将所得溶液在80°C搅拌4小时。将粗产物通过离子交换色谱法使用SCX柱进行纯化。使用1M NH_3 的MeOH溶液从柱上洗脱所需产物,并且将纯级分蒸发至干,得到呈棕色固体的N2-[(3R)-1-(6-氟吡嗪-3-基)吡咯烷-3-基]-1,3,4-噻二唑-2,5-二胺(2.9g, 103%)。 ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 30°C) δ 1.90-2.12 (1H, m), 2.23 (1H, dtd), 3.42 (1H, dd), 3.47-3.61 (2H, m), 3.69 (1H, dd), 4.25 (1H, dq), 6.25 (2H, s), 7.04 (1H, d), 7.14 (1H, dd), 7.33 (1H, dd)。m/z: $\text{ES}^+[\text{M}+\text{H}]^+$ 282。

[0339] 中间体7

[0340] (3R)-1-(6-氟吡嗪-3-基)吡咯烷-3-胺

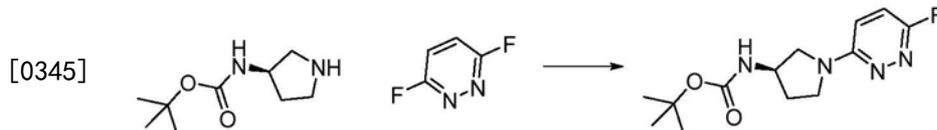


[0342] 在25°C,将叔丁基N-[(3R)-1-(6-氟吡嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基甲酸酯(中间体8, 6g, 21.25mmol)添加至DCM(70mL)和TFA(14.00mL)中。将所得溶液在25°C搅拌4h。将该粗产物通过离子交换层析,使用SCX柱进行纯化。使用1M NH_3 的MeOH溶液将所需产物从柱上洗脱,将纯级分蒸发至干燥,得到呈浅黄色胶状固体的(3R)-1-(6-氟吡嗪-3-基)吡咯烷-3-胺

(2.0g, 52%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆, 30°C) δ 1.55-1.83 (1H, m), 1.98-2.13 (1H, m), 2.89-3.14 (1H, m), 3.29-3.43 (1H, m), 3.54 (3H, ddt), 7.06 (1H, dd), 7.30 (1H, dd)。m/z: ES⁺[M+H]⁺ 183。

[0343] 中间体8

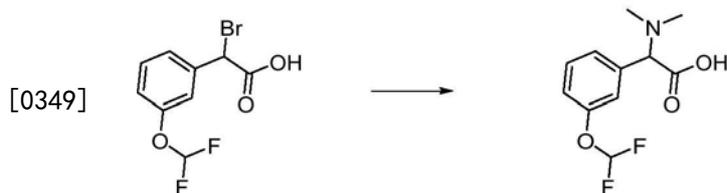
[0344] 叔丁基N-[(3R)-1-(6-氟吡嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基甲酸酯



[0346] 将3,6-二氟吡嗪 (6.06g, 52.21mmol)、叔丁基N-[(3R)-吡咯烷-3-基]氨基甲酸酯 (9.72g, 52.21mmol)、DIPEA (22.80mL, 130.53mmol) 和正丁醇 (140mL) 的混合物在130°C搅拌10小时。将反应混合物用EtOAc (750mL) 稀释, 并用水 (150mL) 洗涤两次。将有机层用Na₂SO₄干燥, 过滤并蒸发, 得到粗产物。然后将其溶于DCM中, 粗产物通过FCC (SiO₂, 30%-65%EtOAc的庚烷溶液) 纯化。将纯级分蒸发至干, 得到呈膏状固体的叔丁基N-[(3R)-1-(6-氟吡嗪-3-基)吡咯烷-3-基]氨基甲酸酯 (15g, 102%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃, 30°C) δ 1.46 (9H, s), 1.91-2.13 (1H, m), 2.32 (1H, dq), 3.40 (1H, dd), 3.56-3.72 (2H, m), 3.78 (1H, dd), 4.37 (1H, s), 4.70 (1H, s), 6.78 (1H, dd), 6.98 (1H, dd)。m/z: ES⁺[M+H]⁺ 283。

[0347] 中间体9

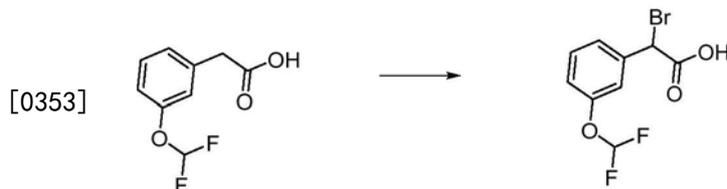
[0348] 2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-2-(二甲基氨基)乙酸



[0350] 在21°C在氮气下, 将在THF (0.623mL, 1.25mmol) 中的2M二甲基胺添加至在MeCN (8mL) 中的2-溴-2-(3-(二氟甲氧基)苯基)乙酸 (中间体10, 350mg, 1.25mmol) 和DIPEA (0.665mL, 3.74mmol) 里。将所得混合物在环境温度搅拌2小时。然后将反应蒸发以给出呈棕色胶状的粗2-[3-(二氟甲氧基)苯基]-2-(二甲基氨基)乙酸, 将其粗品用于随后的步骤; m/z: ES⁺[M+H]⁺ 246。

[0351] 中间体10

[0352] 2-溴-2-(3-(二氟甲氧基)苯基)乙酸

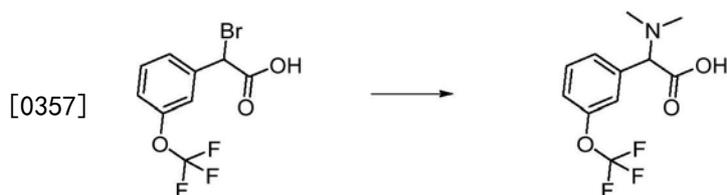


[0354] 将2-(3-(二氟甲氧基)苯基)乙酸 (263mg, 1.30mmol) 和NBS (255mg, 1.43mmol) 溶解于氯仿 (10mL) 中并且在80°C加热。向此中添加(E)-2,2'-(二氮烯-1,2-二基)双(2-甲基丙腈) (10.68mg, 0.07mmol) 并且将反应在80°C搅拌3小时。然后添加另外的NBS (120mg) 并且将反应放置回流持续另外的1.5小时。然后将反应在环境温度下放置过夜。然后添加另外的NBS (60mg) 并且将反应在80°C加热另外的1小时。将该反应冷却至室温并且在减压下去除氯

仿留下粗的2-溴-2-(3-(二氟甲氧基)苯基)乙酸,在随后的反应中使用其粗品。 $m/z:ES^-[M-H]^-279$ 。

[0355] 中间体11

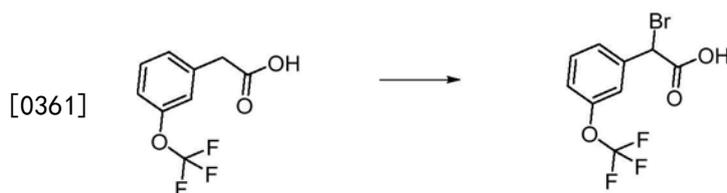
[0356] 2-(二甲基氨基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸



[0358] 在21℃,将在THF(7.94mL,15.88mmol)中的2M二甲基胺添加至在MeCN(75mL)中的2-溴-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸(中间体12,4.75g,15.88mmol)和DIPEA(8.48mL,47.65mmol)里,放出少量热量。将所得混合物在环境温度搅拌2小时。然后将该反应蒸发以给出呈棕色胶状的2-(二甲基氨基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸,在下一个步骤中使用其粗品。 $m/z:ES^+[M+H]^+264$ 。

[0359] 中间体12

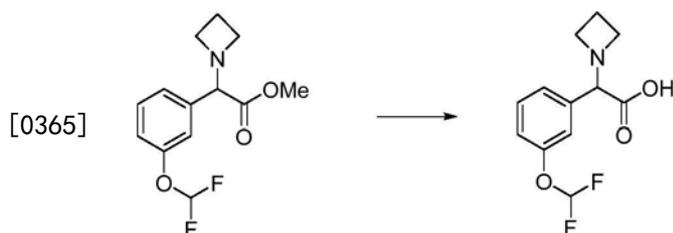
[0360] 2-溴-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸



[0362] 将2-(3-(三氟甲氧基)苯基)乙酸(3.5g,15.90mmol)和NBS(3.11g,17.49mmol)溶解于氯仿(100mL)中并且在80℃加热。向此中添加(E)-2,2'-(二氮烯-1,2-二基)双(2-甲基丙腈)(0.131g,0.79mmol)并且将反应在80℃搅拌6小时。然后将反应在环境温度下放置过周末。然后将溶剂蒸发以给出粗2-溴-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸,将其使用而未经任何另外的纯化。 $m/z:ES^+[M+H]^+297$ 。

[0363] 中间体13

[0364] 2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]乙酸

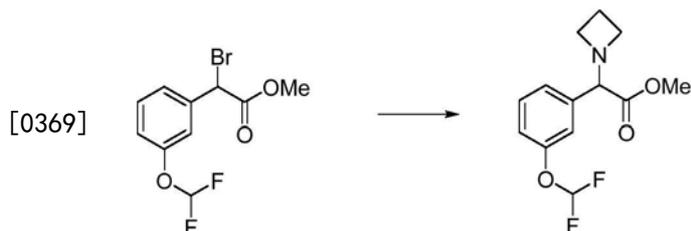


[0366] 将氢氧化锂一水合物(96mg,2.29mmol)在(3mL)中的溶液添加至甲基2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-(二氟甲氧基)苯基)乙酸酯(中间体14,310mg,1.14mmol)在甲醇(6mL)中的溶液并且将该混合物在室温搅拌18小时。然后将该反应混合物调节至pH4(通过添加另外的2M HCl水溶液)。将该溶液穿过20g SCX-2筒用甲醇洗脱,随后穿过氨在甲醇中的1N溶液以获得产物。将溶剂在减压下蒸发以产生呈胶状的2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(二氟甲氧基)苯基]乙酸(290mg,99%); 1H NMR(400MHz,DMSO,30℃) δ 2.18(2H,p),3.56(2H,q),3.75(2H,q),4.44(1H,s),7.12(1H,dd),7.17(1H,s),7.20(1H,t),7.23(1H,d),7.38-7.43(1H,m); m/z

z:ES⁺[M+H]⁺258。

[0367] 中间体14

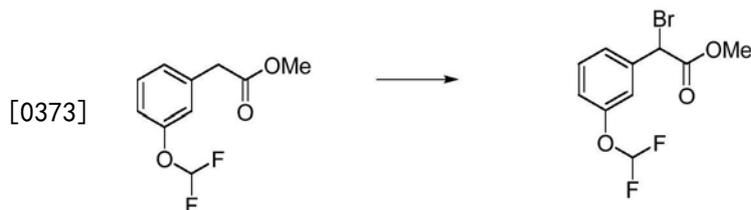
[0368] 甲基2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-(二氟甲氧基)苯基)乙酸酯



[0370] 在0℃,将三乙胺(263μl,1.89mmol)和氮杂环丁烷(98mg,1.72mmol)在MeCN(2mL)中的溶液逐滴添加至甲基2-溴-2-(3-(二氟甲氧基)苯基)乙酸酯(中间体15,507mg,1.72mmol)在MeCN(5mL)中的溶液里。将混合物在室温搅拌2h,并且然后在减压下浓缩。将残余物在盐水和乙酸乙酯之间进行分段,将有机层干燥(MgSO₄),过滤并且在减压下蒸发以给出呈液体的甲基2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-(二氟甲氧基)苯基)乙酸酯(310mg,67%);¹H NMR(400MHz,CDCl₃,30℃)δ2.12(2H,p),3.17(2H,q),3.28(2H,q),3.68(3H,s),4.02(1H,s),6.52(1H,t),7.04-7.08(1H,m),7.20(1H,d),7.25-7.28(1H,m),7.33(1H,t);m/z:ES⁺[M+H]⁺272。

[0371] 中间体15

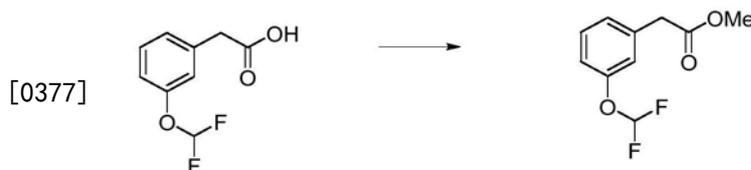
[0372] 甲基2-溴-2-(3-(二氟甲氧基)苯基)乙酸酯



[0374] 将甲基2-(3-(二氟甲氧基)苯基)乙酸酯(中间体16,1.1g,5.09mmol)和NBS(0.951g,5.34mmol)和(E)-2,2'-(二氮烯-1,2-二基)双(2-甲基丙腈)(0.042g,0.25mmol)在四氯化碳(20mL)中的混合物加热至回流持续4小时并且然后冷却至室温。将固体过滤出并且丢弃,并且将溶剂在减压下蒸发。通过快速二氧化硅层析,(在庚烷中0%-5%乙酸乙酯的洗脱梯度)纯化。将包含产物的级分在减压下蒸发以产生呈液体的甲基2-溴-2-(3-(二氟甲氧基)苯基)乙酸酯(0.830g,55%)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃,30℃)δ3.80(3H,s),5.32(1H,s),6.52(1H,t),7.11(1H,dt),7.32-7.4(3H,m)。m/z:GCEIM+293.9701。

[0375] 中间体16

[0376] 甲基2-(3-(二氟甲氧基)苯基)乙酸酯

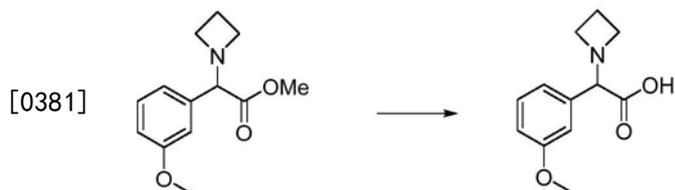


[0378] 将2-(3-(二氟甲氧基)苯基)乙酸(1g,4.95mmol)和硫酸(10.87μl,0.20mmol)在甲醇(30mL)中的溶液回流持续2小时并且然后冷却至室温。将溶剂在减压下蒸发并且将残余物在乙酸乙酯和无水碳酸氢钠之间进行分段。将有机层干燥(MgSO₄),过滤并且在减压下蒸

发以产生呈油的甲基2-(3-(二氟甲氧基)苯基)乙酸酯(1.1g,103%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃,30°C) δ3.63(2H,s),3.70(3H,s),6.50(1H,t),7.01-7.07(2H,m),7.11-7.15(1H,m),7.31(1H,t)。m/z:GCEIM+216.0593。

[0379] 中间体17

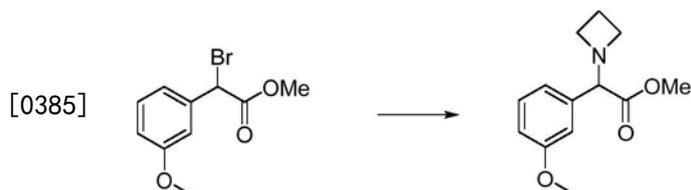
[0380] 2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-甲氧基苯基)乙酸



[0382] 将氢氧化锂(64.1mg,2.68mmol)在水(3mL)中的溶液添加至甲基2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-甲氧基苯基)乙酸酯(中间体18,420mg,1.79mmol)在甲醇(6mL)中的溶液并且将该混合物在室温搅拌18小时。然后将该反应混合物调节至pH4(通过添加另外的2MHC1水溶液)。将该溶液穿过20gSCX-2筒用甲醇洗脱,随后穿过氨在甲醇中的1N溶液以获得产物。将溶剂在减压下蒸发以产生呈固体的2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-甲氧基苯基)乙酸(380mg,96%);¹H NMR(400MHz,DMSO,30°C) δ2.14-2.24(2H,m),3.58(2H,q),3.74(3H,s),3.79(2H,q),4.40(1H,s),6.85-6.89(1H,m),6.91-6.95(2H,m),7.25(1H,t);m/z:ES⁺[M+H]⁺222。

[0383] 中间体18

[0384] 甲基2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-甲氧基苯基)乙酸酯



[0386] 在0°C,将三乙胺(284μl,2.04mmol)和氮杂环丁烷(106mg,1.85mmol)在乙腈(2mL)中的溶液逐滴添加至甲基2-溴-2-(3-甲氧基苯基)乙酸酯(中间体19,480mg,1.85mmol)在MeCN(5mL)中的溶液里。将混合物在室温搅拌2h,并且然后在减压下浓缩。将残余物在盐水和乙酸乙酯之间进行分段,将有机层干燥(MgSO₄),过滤并且在减压下蒸发以产生呈液体的甲基2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-甲氧基苯基)乙酸酯(420mg,96%);¹H NMR(400MHz, CDCl₃,30°C) δ2.11(2H,p),3.16(2H,q),3.30(2H,q),3.67(3H,s),3.81(3H,s),3.99(1H,s),6.82-6.86(1H,m),6.96-7(2H,m),7.23(1H,t);m/z:ES⁺[M+H]⁺236。

[0387] 中间体19

[0388] 甲基2-溴-2-(3-甲氧基苯基)乙酸酯

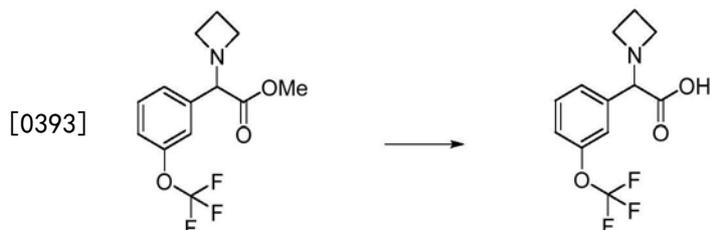


[0390] 将甲基2-(3-甲氧基苯基)乙酸酯(550mg,3.05mmol)和NBS(570mg,3.20mmol)和(E)-2,2'-(二氮烯-1,2-二基)双(2-甲基丙腈)(25.06mg,0.15mmol)在四氯化碳(15mL)中

的混合物加热至回流持续4小时并且然后冷却至室温。将固体过滤出并且丢弃,并且将溶剂在减压下蒸发。通过快速二氧化硅层析,(在庚烷中0%-10%乙酸乙酯的洗脱梯度)纯化。将包含产物的级分在减压下蒸发以产生呈液体的甲基2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯(490mg,62%)。¹H NMR (400MHz,CDCl₃,30°C) δ3.79 (3H,s),3.82 (3H,s),5.33 (1H,s),6.88 (1H,ddd),7.07-7.12 (2H,m),7.23-7.29 (1H,m)。m/z:GCEIM+257.9882。

[0391] 中间体20

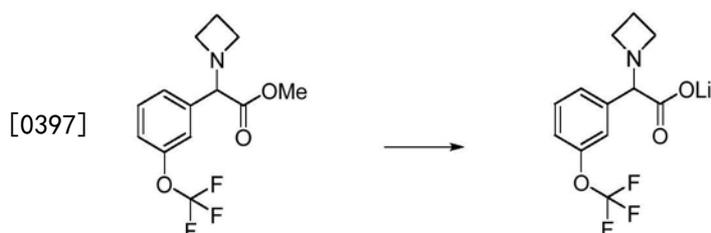
[0392] 2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸



[0394] 将氢氧化锂一水合物(116mg,2.77mmol)在水(3mL)中的溶液添加至甲基2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯(中间体22,400mg,1.38mmol)在甲醇(6mL)中的溶液里并且将该混合物在室温搅拌18小时。然后将该反应混合物调节至pH4(通过添加另外的2M HCl水溶液)。将该溶液穿过20g SCX-2筒用甲醇洗脱,随后穿过氨在甲醇中的1N溶液以获得产物。将溶剂在减压下蒸发至呈胶体的2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸(380mg,100%)。¹H NMR (400MHz,DMSO,30°C) δ2.19 (2H,p),3.5-3.6 (2H,m),3.75 (2H,q),4.49 (1H,s),7.31 (1H,d),7.35 (1H,s),7.39 (1H,d),7.50 (1H,t);m/z:ES⁺[M+H]⁺276。

[0395] 中间体21

[0396] [2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰基]氧基锂

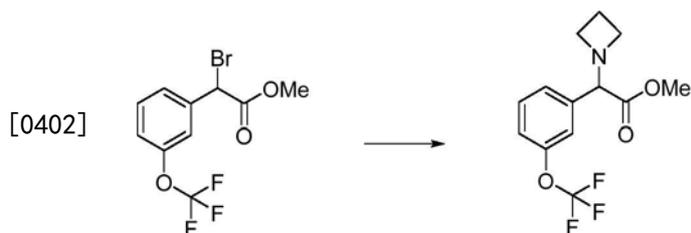


[0398] 将甲基2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯(中间体22,0.94g,3.25mmol)和氢氧化锂一水合物(0.27g,6.5mmol)溶解于甲醇(10mL)和水(5mL)的混合物中。将反应物在室温搅拌3小时。将该反应混合物蒸发,并且在真空中干燥以给出呈淡黄色固体的[2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰基]氧基锂(944mg,103%)。

[0399] ¹H NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ1.79 (p,J=6.9Hz,2H) 2.87 (2H,q),3.01 (2H,q),3.52 (1H,s),7.02 (1H,ddt),7.30-7.20 (3H,m)。m/z:ES⁻[M+H]⁻275。

[0400] 中间体22

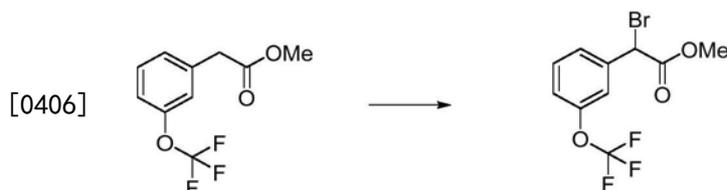
[0401] 甲基2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯



[0403] 在N₂下,将新鲜的氮杂环丁烷(0.22mL,3.19mmol)和三乙胺(0.49mL,3.51mmol)在MeCN(4mL)中的溶液逐滴添加至在冰浴中冷却的MeCN(10mL)中的甲基2-溴-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯(中间体23,1.0g,3.19mmol)。允许该混合物加热至室温并且搅拌5小时。将该反应混合物蒸发至干燥并且将残余物在EtOAc和盐水(各自75mL)之间进行分段。将有机物干燥(MgSO₄)并且蒸发以给出呈橙色油的甲基2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯(940mg,101%)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ2.13(2H,q),3.17(2H,td),3.34-3.24(2H,m),3.69(3H,s),4.04(1H,s),7.16(1H,m),7.31(1H,dq),7.40-7.33(2H,m)。m/z:ES⁺[M+H]⁺290。

[0404] 中间体23

[0405] 甲基2-溴-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯



[0407] 将甲基2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯(3.6g,15.37mmol)、N-溴琥珀酰亚胺(2.87g,16.14mmol)和AIBN(0.13g,0.76mmol)在四氯化碳(50mL)中的混合物加热至回流持续3h。允许其冷却至室温,并且穿过硅藻土通过过滤将沉淀物去除。将滤液蒸发到二氧化硅上,并且通过快速柱色谱法纯化(SiO₂,100%环己烷逐渐升高至在环己烷中的10%乙酸乙酯的梯度洗脱)。将纯级分蒸发以给出呈淡黄色油的甲基2-溴-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯(3.97g,82%)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ3.81(3H,s),5.33(1H,s),7.22(1H,ddq),7.51-7.37(3H,m)。

[0408] 中间体24

[0409] 2-甲基-3,4-二氢-1H-异喹啉-1-甲酸,HCl



[0411] 向1,2,3,4-四氢异喹啉-1-甲酸(中间体25,2.63g,14.84mmol)在MeOH(150mL)中的悬浮液里添加乙酸(20mL)、盐酸6N(2.474mL,14.84mmol),随后添加钨碳10%(350mg,3.29mmol)和甲醛(1.506g,18.55mmol)。将所得混合物在室温在氢气气氛(气囊)下搅拌18小时。将催化剂过滤掉并且将溶剂在减压下蒸发以产生呈固体盐酸盐的2-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉-1-甲酸(3.15g,93%)。¹H NMR(400MHz,DMSO,30°C) δ2.89(3H,s),3.13(2H,t),3.42-3.49(1H,m),3.76-3.85(1H,m),5.33(1H,s),7.27-7.38(3H,m),7.41-7.45(1H,m);m/z:ES⁺[M+H]⁺192。

[0412] 中间体25

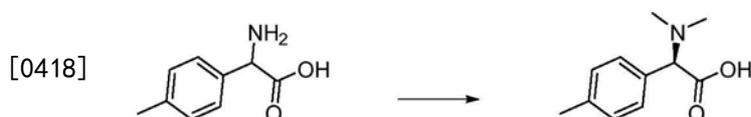
[0413] 1,2,3,4-四氢异喹啉-1-甲酸



[0415] 将300mL钢制反应釜用异喹啉-1-甲酸(3g,17.32mmol)、乙酸(100mL)和铂(IV)氧化物(0.2g,0.88mmol)填充。将所得混合物在7巴压力下氢化持续18小时,伴随机械搅拌。将其用MeOH(80mL)稀释,穿过硅藻土过滤并且用MeOH和乙酸冲洗。将滤液浓缩至干燥以给出淡灰色固体。用MeOH研磨给出呈淡灰色固体的1,2,3,4-四氢异喹啉-1-甲酸(2.63g,86%),将其未经任何另外的纯化而使用。

[0416] 中间体26

[0417] (2S)-2-(二甲基氨基)-2-(4-甲基苯基)乙酸



[0419] 将1-L圆底烧瓶净化并用氮气惰性气体保持,向其中放置2-氨基-2-(对-甲苯基)乙酸(36g,217.93mmol,1.00当量)、氯化氢(120mL,1N,3.95mol,18.10当量)、甲醇(120mL,2.96mol,13.60当量)、多聚甲醛(37%,在H₂O中,120mL)和钯碳(36g,338.28mmol,1.60当量)。将所得溶液在室温在氢气气氛(气囊)下搅拌48h。过滤出固体,并且在真空下浓缩滤液。将所得溶液用1500mL的甲醇稀释。将溶液的pH值用MeONa调节至6。过滤出固体,并且将所得滤液在真空下浓缩。将粗产物通过制备型SFC(柱,CHIRALPAKAD-HSFC,5x25cm,5μm;流动相,CO₂(55%),MEOH(0.2%DEA)(45%);检测器,UV220nm)纯化。这导致呈白色固体的(2S)-2-(二甲基氨基)-2-(对-甲苯基)乙酸(10g,24%);¹H NMR(300MHz,CD₃OD,25°C) δ 2.32(3H,s),2.60(6H,s),7.19-7.21(2H,d),4.22(1H,s),7.37-7.40(2H,d);m/z:ES⁺[M+H]⁺194。

[0420] 中间体27

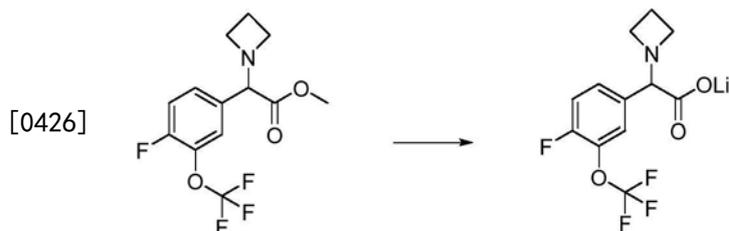
[0421] (2S)-2-(二甲基氨基)-2-(3-甲基苯基)乙酸



[0423] 将1-L圆底烧瓶净化并用氮气惰性气体保持,向其中放置2-氨基-2-(4-甲基苯基)乙酸(36g,217.93mmol,1.00当量)、氯化氢(120mL,1N,2.60mol,12.00当量)、甲醇(120mL,2.96mol,13.60当量)、多聚甲醛(37%,在H₂O中,120mL)和钯碳(36g,338.28mmol,1.60当量)。将所得溶液在室温在氢气气氛(气囊)下搅拌48h。过滤出固体,并且在真空下浓缩滤液。将所得溶液用甲醇(1500mL)稀释。将溶液的pH值用MeONa调节至6。过滤出固体,并且将所得滤液在真空下浓缩。将粗产物通过制备型SFC(柱,CHIRALPAKAD-HSFC,5x25cm,5μm;流动相,CO₂(60%),MEOH(0.2%DEA)(40%);检测器,UV220nm)纯化。这导致呈白色固体的(2S)-2-(二甲基氨基)-2-(3-甲基苯基)乙酸(10g,24%);¹H NMR(300MHz,CD₃OD,27°C) δ 2.37(3H,s),2.62(6H,s),4.20(1H,s),7.21-7.38(4H,m);m/z:ES⁺[M+H]⁺194。

[0424] 中间体28

[0425] [2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰基]氧基锂

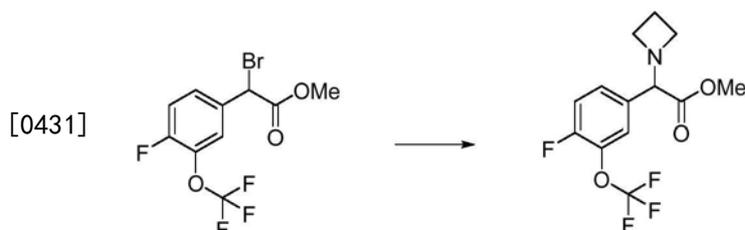


[0427] 将甲基2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-(3-甲氧基苯基)乙酸酯(中间体29,0.76g,3.25mmol)和氢氧化锂一水合物(0.1g,2.49mmol)溶解于甲醇(5mL)和水(2mL)的混合物中。将该反应在室温搅拌2h然后在减压下蒸发并且在真空中干燥经周末,以给出呈淡黄色固体的[2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]乙酰基]氧基锂(0.48g,97%)。

[0428] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 1.72 (2H, p), 2.80 (2H, q), 2.93 (2H, q), 3.44 (1H, s), 7.16 (1H, dd), 7.24 (1H, ddd), 7.34 (1H, dt)。m/z: ES $^-$ [M-H] $^-$ 294。

[0429] 中间体29

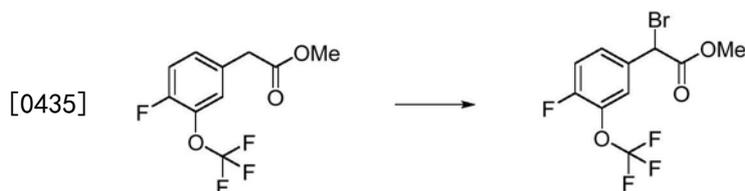
[0430] 甲基2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯



[0432] 在 N_2 下,将新鲜的氮杂环丁烷(0.12mL,1.81mmol)和三乙胺(0.28mL,1.99mmol)在MeCN(5mL)中的溶液逐滴添加至在冰浴中冷却的MeCN(12mL)中的甲基2-溴-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯(中间体30,0.6g,1.812mmol)里。允许该混合物加温至室温并且搅拌2小时。将该反应混合物蒸发至干燥并且将残余物在EtOAc和盐水(各自100mL)之间进行分段。将有机层干燥(MgSO_4),并且蒸发以给出呈黄色胶体的甲基2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯(0.51g,93%)。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 2.14 (2H, q), 3.17 (2H, td), 3.27 (2H, td), 3.69 (3H, s), 4.00 (1H, s), 7.20-7.14 (1H, m), 7.35 (1H, dddd), 7.43 (1H, ddd)。m/z: ES $^+$ [M+H] $^+$ 308。

[0433] 中间体30

[0434] 甲基2-溴-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯



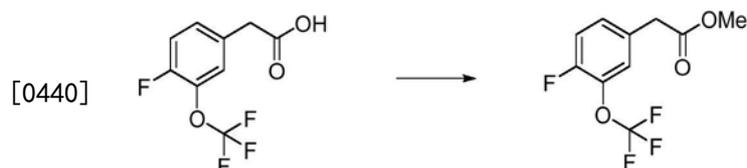
[0436] 将甲基2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯(中间体31,0.65g,2.578mmol)和N-溴琥珀酰亚胺(4.08g,22.919mmol)称重至圆底烧瓶中,并且添加在四氯化碳(6mL)中的2,2-偶氮双(2-甲基丙腈)(AIBN,0.02g,0.129mmol)。将反应加热至回流4小时,并且使其冷却至室温。滤出沉淀,将溶液用二氧化硅处理,减压蒸发,并且通过快速柱色谱纯化(用100%环己烷逐渐增加至环己烷中的30%EtOAc进行洗脱)。在减压下蒸发适当的级分,得到呈浅

黄色油状物 (1.1g, 129%) 的甲基 2-溴-2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯。

[0437] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3 , 25°C) δ 3.81 (3H, s), 5.29 (1H, s), 7.17-7.24 (1H, m), 7.46-7.52 (1H, m), 7.53-7.59 (1H, m)。

[0438] 中间体31

[0439] 甲基 2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯



[0441] 将 4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基乙酸 (1.0g, 4.199mmol) 悬浮于甲醇 (10mL) 中, 并且用硫酸 (0.07mL, 0.84mmol) 处理, 并且在 45°C 下加热 2 小时。使反应混合物冷却至室温, 并在减压下除去甲醇。将残余物用盐水 (20mL) 稀释, 然后用 EtOAc (3 × 20mL) 萃取。将合并的 EtOAc 萃取物用盐水 (30mL) 洗涤、经 MgSO_4 干燥, 过滤并且在减压下将溶剂去除以产生甲基 2-[4-氟-3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸酯 (0.65g, 61%)。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 3.63 (3H, s), 3.78 (2H, s), 7.33-7.39 (1H, m), 7.42-7.53 (2H, m)。 m/z : $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ 253$ 。

[0442] 中间体32

[0443] (2S)-2-(3-氰基苯基)-2-(二甲基氨基)乙酸



[0445] 向 500-mL 3-颈圆底烧瓶内放置乙基 (2S)-2-(3-氰基苯基)-2-(二甲基氨基)乙酸酯 (中间体 33, 18g, 77.49mmol, 1.00 当量) 在四氢呋喃 (200mL) 中的溶液和 LiOH (3.56g, 148.66mmol, 2.00 当量) 在水 (100mL) 中的溶液。在 25°C, 将所得溶液搅拌 3h。将所得溶液用 2 × 100mL 二氯甲烷萃取, 并且将有机层合并。将溶液的 pH 值用无水氯化氢 (1mol/L) 调整至 3 至 4。将所得混合物在真空下浓缩。将所得的混合物用 2 × 100mL 的丙酮洗涤。这导致呈白色固体的 15g (95%) 的 (2S)-2-(3-氰基苯基)-2-(二甲基氨基)乙酸。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 2.46 (6H, s), 4.28 (1H, s), 7.61-7.58 (1H, t), 7.77-7.75 (1H, d), 7.86-7.81 (2H, t)。 m/z : $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ 205$ 。

[0446] 中间体33

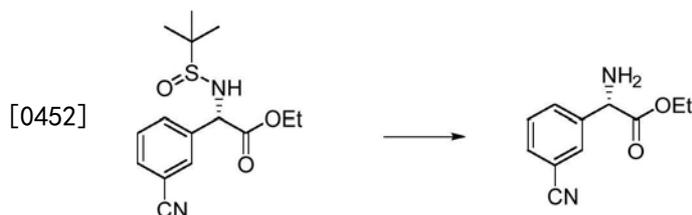
[0447] 乙基 (2S)-2-(3-氰基苯基)-2-(二甲基氨基)乙酸酯



[0449] 向 1000-mL 3-颈圆底烧瓶内放置乙基 (2S)-2-氨基-2-(3-氰基苯基)乙酸酯 (中间体 34, 20g, 97.93mmol, 1.00 当量) 在甲醇 (200mL) 中的溶液、甲醛 (44.1g, 1.47mol, 6.00 当量) 在水和 NaBH_3CN (18.2g, 289.62mmol, 3.00 当量) 中的溶液。在 25°C, 将所得溶液搅拌过夜。将所得混合物在真空下浓缩。将该残余物施加到使用乙酸乙酯/石油醚 (1/1) 的硅胶柱上。这导致呈白色固体的 18g (79%) 的乙基 (2S)-2-(3-氰基苯基)-2-(二甲基氨基)乙酸酯。

[0450] 中间体34

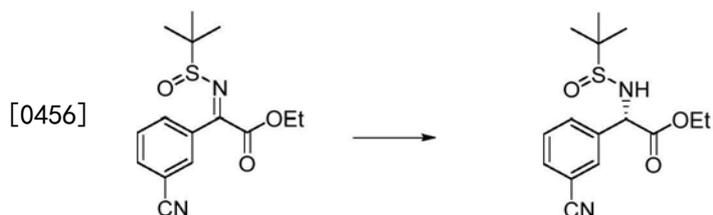
[0451] 乙基 (2S) -2-氨基-2-(3-氰基苯基) 乙酸酯



[0453] 向1000-mL3-颈圆底烧瓶内,放置乙基 (2S) -2-(3-氰基苯基) -2-[(2-甲基丙烷-2-亚磺酰基)氨基]乙酸酯(中间体35,40.00g,129.70mmol,1.00当量)在1,4-二噁烷(100mL)中的溶液和氯化氢(g)在1,4-二噁烷(200mL)中的溶液。在25℃,将所得溶液搅拌过夜。将所得混合物在真空下浓缩。将所得混合物用1x100mL的MTBE洗涤。这导致呈淡黄色固体的20g(76%)的乙基 (2S) -2-氨基-2-(3-氰基苯基) 乙酸酯。

[0454] 中间体35

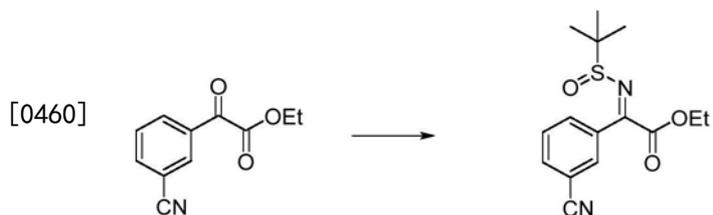
[0455] (2S) -2-(3-氰基苯基) -2-[(2-甲基丙烷-2-亚磺酰基)氨基]乙酸酯



[0457] 向2000-mL4-颈圆底烧瓶内,放置乙基 (2Z) -2-(3-氰基苯基) -2-[[(S) -2-甲基丙烷-2-亚磺酰基]亚氨]乙酸酯(中间体36,50g,163.20mmol,1.00当量)在四氢呋喃(1000mL)中的溶液。这是在逐滴添加三仲丁基硼氢化锂(196mL,917.61mmol,1.20当量)(伴随在-78℃搅拌)之后。在-78℃,将所得溶液搅拌5h。然后通过添加500mL水性NH₄Cl将该反应淬灭。将所得溶液用3x350mL的乙酸乙酯萃取并且将有机层合并。将所得混合物用1x200mL的盐水洗涤。将该混合物经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩。这导致呈黄色油的40g(79%)的乙基 (2S) -2-(3-氰基苯基) -2-[(2-甲基丙烷-2-亚磺酰基)氨基]乙酸酯。

[0458] 中间体36

[0459] 乙基 (2Z) -2-(3-氰基苯基) -2-[[(S) -2-甲基丙烷-2-亚磺酰基]亚氨]乙酸酯

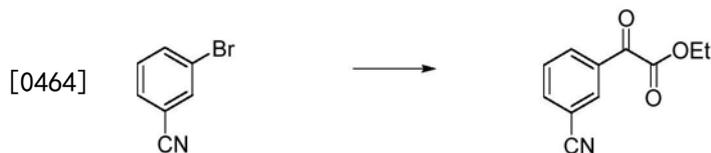


[0461] 向3000-mL4-颈圆底烧瓶内,放置乙基2-(3-氰基苯基) -2-氧代乙酸酯(中间体37,80g,393.71mmol,1.00当量)在四氢呋喃(800mL)中的溶液、(S) -2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(52.5g,433.16mmol,1.10当量)和四乙氧基钛(134.7g,590.51mmol,1.50当量)。在65℃,将所得溶液搅拌过夜。然后通过添加200mL的NaCl(水性)将该反应淬灭。将固体过滤出。将所得溶液用3x250mL的乙酸乙酯萃取并且将有机层合并。将所得混合物用1x200mL的盐水洗涤。将该混合物经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩。将该残余物施加到硅胶柱上并用乙酸

乙酯/石油醚(1/2)进行洗脱。这导致呈黄色油的50g(41%)的乙基(2Z)-2-(3-氰基苯基)-2-[[(S)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰基]亚氨]乙酸酯。

[0462] 中间体37

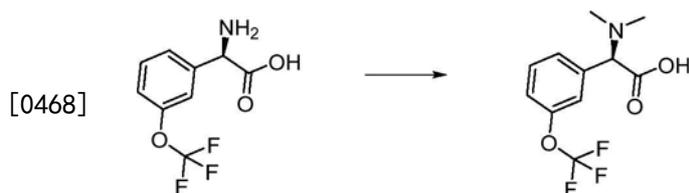
[0463] 乙基2-(3-氰基苯基)-2-氧代乙酸酯



[0465] 将5000-mL4-颈圆底烧瓶净化并用氮气惰性气体保持,向其中放置3-溴苄腈(200g,1.10mol,1.00当量)在四氢呋喃(1000mL)中的溶液。在0℃,这之后伴随搅拌逐滴添加i-PrMgCl(663mL,5.38mol,1.20当量)。在0℃,将所得溶液搅拌2h。在-40℃,伴随搅拌向此中逐滴添加二乙基草酸(193.6g,1.32mol,1.20当量)。在-40℃,将所得溶液搅拌1h。然后通过添加800mL的HCl将该反应淬灭。将所得混合物在真空下浓缩。将溶液的pH值用碳酸氢钠调节至8至9。将所得溶液用3x500mL的乙酸乙酯萃取并且将有机层合并并且经无水硫酸钠干燥并且在真空下浓缩。将该残余物施加到硅胶柱上(用乙酸乙酯/石油醚(1/1)进行洗脱)。这导致呈黄色油的80g(36%)的乙基2-(3-氰基苯基)-2-氧代乙酸酯。

[0466] 中间体38

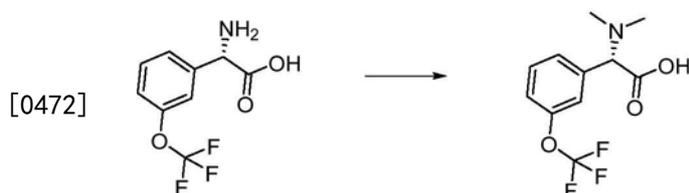
[0467] (2R)-2-(二甲基氨基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸



[0469] 在40℃,在氢气的气氛压力下,将在MeOH(30mL)和盐酸,(1N)(2mL)中的(2R)-2-氨基-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸(1g,4.25mmol)、甲醛(1.277g,42.52mmol)和Pd-C(0.045g,0.43mmol)搅拌16小时。将该反应混合物通过硅藻土过滤。将固体用MeOH(20mL)洗涤。将滤液合并并且蒸发以提供呈白色固体的(2S)-2-(二甲基氨基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸(1g,89%);m/z:ES⁺[M+H]⁺264。

[0470] 中间体39

[0471] (2S)-2-(二甲基氨基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸



[0473] 在40℃,在氢气的气氛压力下,将在MeOH(30mL)和盐酸,(1N)(2mL)中的(2S)-2-氨基-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸(1g,4.25mmol)、甲醛(1.277g,42.52mmol)和Pd-C(0.045g,0.43mmol)搅拌16小时。将该反应混合物通过硅藻土过滤。将该固体用MeOH(20mL)洗涤。将滤液合并并且蒸发以提供呈白色固体的(2R)-2-(二甲基氨基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯基]乙酸(1g,89%);m/z:ES⁺[M+H]⁺264。

[0474] 生物测定

[0475] 使用以下测定来测量在此描述的这些化合物的效果:a) GLS酶效力测定;b) GLS细胞效力测定;c) GLS细胞增殖测定。在测定的描述中,通常:

[0476] i. 使用以下缩写:CO₂=二氧化碳;DMEM=杜氏改良的伊格尔氏培养基;DMSO=二甲基亚砜;EDTA=乙二胺四乙酸;EGTA=乙二醇四乙酸;FCS=胎牛血清;h=小时;NBS=非结合面;SDS=十二烷基硫酸钠;TRIS=三(羟基甲基)氨基甲烷。

[0477] ii. 使用Genedata智能拟合模型计算IC₅₀值。IC₅₀值是抑制50%生物活性的测试化合物的浓度。

[0478] 测定a):GLS酶效力测定

[0479] 使用谷氨酸氧化酶/AmplexRed偶联测定来测量化合物在体外结合并抑制GLS1活性的能力。纯化在大肠杆菌中表达的6His标记的GLS蛋白(氨基酸63-669),并以等分试样保存在-80℃。将GLS1稀释至2x工作浓度,并在室温孵育以允许四聚体/二聚体形式达到稳定状态。测定测量在包含50mM TRIS (pH7.8)、100mM NaPO₄ (pH7.8)、0.001%v/v Tween20的缓冲液中进行。将纯化的重组GLS1蛋白在测定缓冲液中稀释至12nM,并在室温预孵育30分钟。通过在100%DMSO中稀释以制备用于12点浓度响应的正确剂量范围并且使用LabcyteEcho555声学分配器将适当体积(2.5nl至60nl)分配到384孔微量测定板(Greiner产品代码784900)中来制备测试化合物。通过用DMSO溶液回填来将DMSO浓度维持在2%。然后使用BioRaptr自动分配器(Beckman-Coulter)将3μL稀释的GLS1蛋白(12nM)分配到每个孔中,并在室温孵育15分钟。然后添加3μL的在测定缓冲液中稀释的100mM谷氨酰胺,并将反应在室温孵育60分钟。然后通过添加在100mM TRIS (pH7.5)中的45μM(2-溴乙炔基)-2,3-二甲基-喹唑啉-4-酮、75μM Amplex Red、0.375单位/mL辣根过氧化物酶、0.12单位/mL谷氨酸氧化酶来终止反应。在黑暗中在室温30分钟后,使用535/590nm光学滤波器在Perkin Elmer EnVision上读取平板,并且使用Genedata分析原始数据以产生IC₅₀值。其中用测定缓冲液替换6His标记的GLS蛋白和谷氨酰胺的测定的人工制品版本也用于排除对测定组分的非特异性影响。

[0480] 测定b):GLS细胞效力测定

[0481] 针对化合物在抑制细胞GLS活性方面的潜力对它们进行评估,通过使用测量细胞谷氨酸盐损耗的PC3耦合测定。通过在100%DMSO中稀释以制备用于12点浓度响应的正确剂量范围并且使用Labcyte Echo 555声学分配器将适当体积(5nl至120nl)分配到384孔微量测定板(科宁(Corning)产品代码3712)中来制备测试化合物。通过用DMSO溶液回填来将DMSO浓度维持在0.3%。PC3细胞在不含苯酚的DMEM、10%透析的FCS、2mM谷氨酰胺中生长,并通过胰蛋白酶消化分散,以每孔 5.6×10^3 个细胞在40μl生长培养基中直接接种到含有分配的化合物的384孔测定板中。在37℃孵育6小时后,吸出5%CO₂生长培养基,并且细胞在含有10mM TRIS pH7.4、100mM NaCl、1mM EDTA、1mM EGTA、1mM NaF、20mM Na₄P₂O₇、2mM Na₃VO₄、1%Triton X-100、10%甘油、0.1%SDS和0.5%脱氧胆酸盐的15μl缓冲液中裂解。然后将4μl细胞裂解物转移到384孔NBS板(科宁产品编号3575)中,并添加35μl的27.5μM Amplex Red、0.1375U/mL辣根过氧化物酶、0.044U/mL谷氨酸氧化酶、100mM TRIS pH7.5。在黑暗中在室温30分钟后,使用535/590nm光学滤波器在Perkin Elmer En Vision上读取平板,并且使用专有软件分析原始数据以产生IC₅₀值。

[0482] 测定c):GLS细胞增殖测定

[0483] 使用384孔板NCI-H1703细胞增殖测定法测量化合物抑制细胞生长的能力。将NCI-H1703细胞在不含酚红的RPMI1640、10%FCS和2mM谷氨酰胺中生长,并在40 μ l生长培养基中以每孔750个细胞的密度接种进入澄清底384孔测定板(科宁产品代码3712)中,并在37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂下孵育24小时。通过在100%DMSO中稀释以制备用于12点浓度响应的正确剂量范围并将适当体积(5n1至120n1)直接分配到含有铺板细胞的测定板中来制备测试化合物。通过用DMSO溶液回填来将DMSO浓度维持在0.3%。将板在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂孵育5天,添加Sytox Green和皂苷至终浓度分别为2 μ M和0.25%,并孵育6小时,然后分析。在Acumen eX3 (TTPLabtech公司)上使用488nm激发和FITC滤光片组(500nm至530nm)针对发射读取平板。通过使用GeneData软件分析将曲线拟合至第零天生长的最大抑制来计算IC₅₀值。

[0484] 测定a)-c)的结果显示在表1中。

[0485] 表1.测定数据

[0486]

化合物实例#	测定 a) 酶 IC ₅₀ μ M	测定 b) GLS 细胞 MOA 平均 IC ₅₀ μ M	测定 c) 增殖 平均 IC ₅₀ μ M
1(a)	1.72	0.0334	0.0686
1(b)	0.0826	0.00408	0.0547
2(a)	0.0746	0.00344	0.0896
2(b)	1.24	0.0128	0.0979
3(a)	0.261	0.0112	0.0127
3(b)	0.0524	0.000295	0.00825
4(a)	0.0564	0.000405	0.00841

[0487]

4(b)	0.522	0.00191	0.00252
5(a)	0.981	0.022	0.0293
5(b)	0.0772	0.00192	0.0132
6(a)	0.981	0.022	0.0293
6(b)	0.944	0.0297	0.0808
7(a)	1.33	0.00861	0.00624
7(b)	0.102	0.000985	0.00245
8(a)	0.053	0.00191	0.00881
8(b)	0.194	0.0209	0.0851
9	0.132	0.00281	0.0448
10	0.0592	0.00212	0.0212
11(a)	0.952	0.0308-	0.0191
11(b)	0.132	0.00177-	0.0301
12(a)	2.51	0.0153	0.0116
12(b)	0.246	0.00141	0.0129
13	0.226	0.0113	0.0768
14	2.26	0.0102	0.00523
15	3.75	0.0222	0.152
16	0.198	0.00476	0.131
17	0.187	0.0107	0.163
18	0.182	0.0011	0.00351