



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107750251 B

(45)授权公告日 2020.09.01

(21)申请号 201680035439.5

(74)专利代理机构 北京市立方律师事务所  
11330

(22)申请日 2016.04.20

代理人 李娜

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 107750251 A

(51)Int.Cl.

(43)申请公布日 2018.03.02

G07D 471/04(2006.01)

(30)优先权数据

A61K 31/5377(2006.01)

1506660.8 2015.04.20 GB

A61K 31/437(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2017.12.15

A61K 31/541(2006.01)

A61K 31/4545(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据  
PCT/GB2016/051087 2016.04.20

(56)对比文件

EP 1460067 A1,2004.09.22

CN 102203101 A,2011.09.28

(87)PCT国际申请的公布数据  
W02016/170323 EN 2016.10.27

WO 2015002754 A2,2015.01.08

WO 2015022332 A1,2015.02.19

(73)专利权人 塞尔森瑞科有限责任公司  
地址 英国剑桥郡

DUNCAN A.HAY等.Discovery and

Optimization of Small-Molecule Ligands for the CBP/p300 Bromodomains.《J. Am. Chem. Soc.》.2014,第136卷(第26期),第9308-9319页.

(72)发明人 尼尔·安东尼·佩奇  
戴维·米歇尔·阿德里安·塔代伊  
理查德·布朗

审查员 徐赤

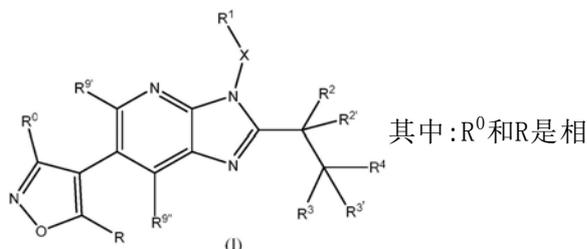
权利要求书4页 说明书38页

(54)发明名称

异噁唑基取代的咪唑并吡啶

(57)摘要

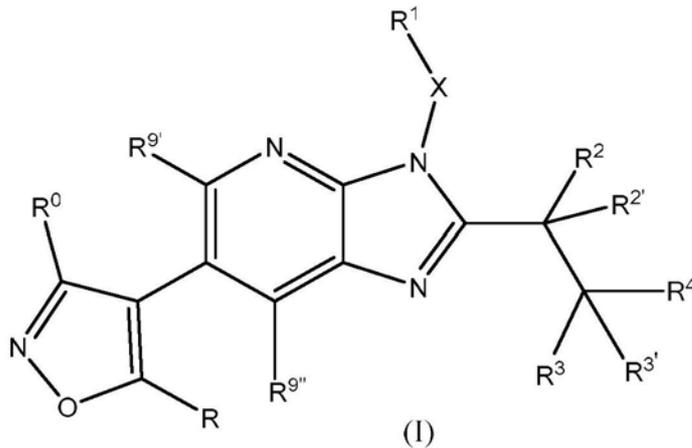
一种化合物或其药学上可接受的盐,所述化合物是式(I)的异噁唑基咪唑并吡啶:



同或不同的,各自是H或C<sub>1-6</sub>烷基;R<sup>9'</sup>和R<sup>9''</sup>是相同或不同的,各自是H或F;X是-(alk)<sub>n</sub>-,-alk-C(=O)-NR-,-alk-NR-C(=O)-或-alk-C(=O)-;R<sup>1</sup>选自-S(=O)<sub>2</sub>R'和未取代或取代的4-至7-元杂环

基团;R<sup>2</sup>和R<sup>2'</sup>是相同或不同的,各自是H或C<sub>1-6</sub>烷基;或R<sup>2</sup>和R<sup>2'</sup>与它们所连接的C原子一起形成C<sub>3-6</sub>环烷基基团;R<sup>3</sup>和R<sup>3'</sup>是相同或不同的,各自是H、C<sub>1-6</sub>烷基、OH或F;R<sup>4</sup>是苯基或5元至12元含氮杂芳基基团并且是未取代或取代的;alk是C<sub>1-6</sub>亚烷基;R'是C<sub>1-6</sub>烷基;和n是0或1.所述化合物在调节p300和/或CBP的活性上具有活性,并且被用于治疗癌症。

1. 一种化合物或其药学上可接受的盐,所述化合物是式(I)的异噁唑基咪唑并吡啶:



其中:

R<sup>0</sup>和R是相同或不同的,各自是H或C<sub>1-6</sub>烷基;

R<sup>9'</sup>和R<sup>9''</sup>是相同或不同的,各自是H或F;

X是-(alk)<sub>n</sub>-、-alk-C(=O)-NR-、-alk-NR-C(=O)-或-alk-C(=O)-;

R<sup>1</sup>选自吗啉基、硫代吗啉基、哌啶基、吡咯烷基、四氢吡喃基、氧杂环丁烷基或四氢呋喃基,其是未取代的或是被选自C<sub>1-6</sub>烷基、-OH和二氧化基的基团取代的;

R<sup>2</sup>和R<sup>2'</sup>是相同或不同的,各自是H或C<sub>1-6</sub>烷基;或R<sup>2</sup>和R<sup>2'</sup>与它们所连接的C原子一起形成C<sub>3-6</sub>环烷基基团;

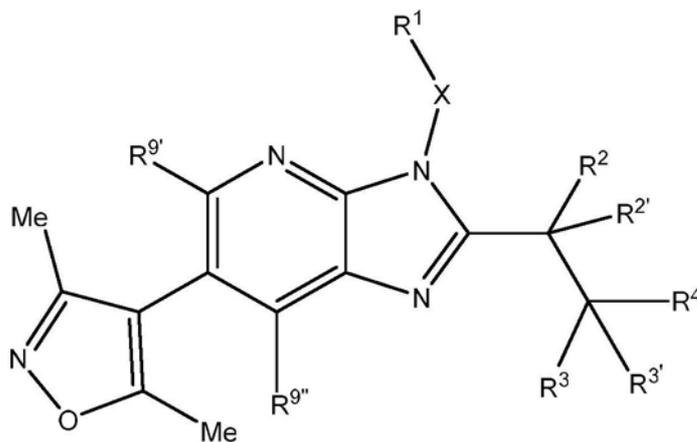
R<sup>3</sup>和R<sup>3'</sup>是相同或不同的,各自是H、C<sub>1-6</sub>烷基、OH或F;

R<sup>4</sup>是苯基或吡啶基,并且是未取代的或是被选自卤素和C<sub>1-6</sub>烷氧基的基团取代的;

alk是C<sub>1-6</sub>亚烷基;并且

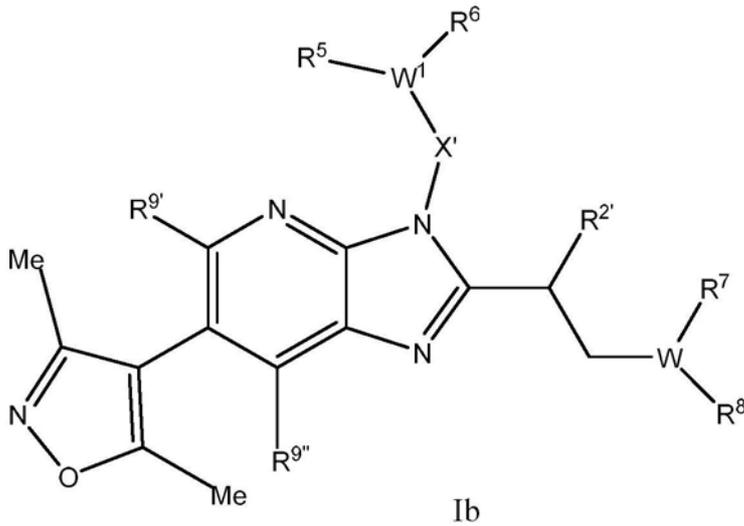
n是0或1。

2. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述异噁唑基咪唑并吡啶具有下述式(Ia):



其中R<sup>9'</sup>、R<sup>9''</sup>、X、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>2'</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>3'</sup>和R<sup>4</sup>各自是权利要求1中对于式(I)所定义的。

3. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述异噁唑基咪唑并吡啶具有下述式(Ib):



其中：

$R^{9'}$  和  $R^{9''}$  是上述对于式 (I) 所定义的；

W 是 N 或 C；

$W^1$  是 N 或 CH；

$X'$  是  $C_{1-3}$  亚烷基或  $-(CH_2)-C(=O)-NH-$ ；

$R^{2'}$  是 H、Me 或 Et；

$R^5$  和  $R^6$  与它们所连接的  $W^1$  原子一起形成杂环基团，所述杂环基团选自吡咯烷基、吡喃基和哌啶基，所述杂环基团是未取代的或是被选自  $C_{1-6}$  烷基、-OH 和二氧化基的基团取代的；并且

$R^7$  和  $R^8$  与它们所连接的 C 原子一起形成苯基，所述苯基是未取代的或是被选自卤素和  $C_{1-6}$  烷氧基的基团取代的。

4. 根据权利要求 1 所述的化合物，其选自：

4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(1-(3-氟-4-甲氧基苯基)丙烷-2-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉二盐酸盐；

4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉；

4-(2-(4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基)-3,5-二甲基异噁唑；

4-(2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基)-3,5-二甲基异噁唑；

4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)硫代吗啉 1,1-二氧化物；

2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-N-(四氢呋喃-3-基)乙酰胺；

4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(1-苯基丙烷-2-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉二盐酸盐；

2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1-(4-羟基哌啶-1-基)乙-1-酮；

2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-N-(氧杂环丁烷-3-基)乙酰胺;

2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1-吗啉代乙-1-酮;

4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)硫代吗啉1,1-二氧化物;

4-(2-(2-(2-(1H-吡唑-1-基)乙基)-6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉二盐酸盐;

2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-N-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙酰胺;

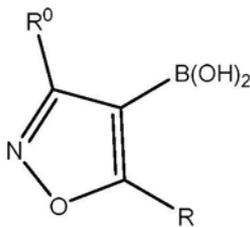
(2S,6R)-4-(1-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)丙烷-2-基)-2,6-二甲基吗啉;

2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1-(3-羟基吡咯烷-1-基)乙-1-酮;

及它们药学上可接受的盐。

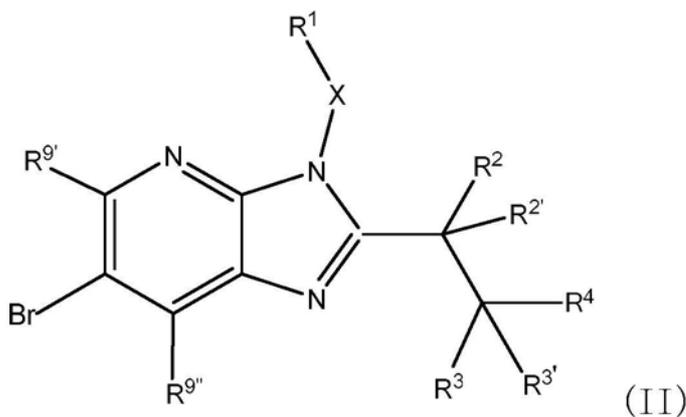
5. 一种权利要求1所述的化合物的制备方法,所述制备方法包括:

在乙醇水溶液中,在Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>和Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>的存在下,用式(III)的硼酸处理式(II)的化合物,



(III)

其中R<sup>0</sup>和R各自是权利要求1中对于式(I)所定义的:



(II)

其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>2'</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>3'</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>9'</sup>和R<sup>9''</sup>各自是权利要求1中对于式(I)所定义的。

6. 根据权利要求5所述的制备方法,其进一步包括将所得式(I)的异噁唑基咪唑并吡啶转化为其药学上可接受的盐。

7. 一种药学组合物,其包括药学上可接受的载体或稀释剂和作为活性成分的权利要求

1-4中任一项所述的化合物。

8. 权利要求1-4中任一项所述的化合物在制造用作p300和/或CBP活性的调节剂的药物中的用途。

## 异噁唑基取代的咪唑并吡啶

### 发明领域

[0001] 本发明涉及一系列新型的异噁唑基咪唑并吡啶及其作为p300和/或CBP活性的调节剂的用途。

### [0002] 发明背景

[0003] 遗传和后天修饰对肿瘤疾病进展的所有阶段而言是至关重要的,并且已经显示表观遗传沉默(epigenetic silencing)在涉及所有癌症特征的基因的误调节中是重要的(Jones,P.A.和Baylin,S.B.(2007)“The epigenomics of cancer”,Cell,Vol.128,pp.683-692)。介导调控的潜在的表观遗传修饰包括DNA甲基化和翻译后组蛋白修饰。后者包括甲基化、乙酰化和泛素化。DNA去甲基化试剂和组蛋白去乙酰化酶抑制剂已经显示抗肿瘤活性,并且许多试剂已经被批准应用于血液学恶性肿瘤的治疗。调节组蛋白修饰的酶(包括组蛋白乙酰转移酶(HAT),其乙酰化组蛋白和非组蛋白蛋白质)代表一波用于小分子药物干预的第二代靶标。

[0004] 前列腺癌是最常见的恶性肿瘤,并且是男性中癌症死亡率的第二主要原因。临床局部疾病的治疗通常是手术或放射疗法。对于在确定性治疗后全身性复发的患者或呈现出局部区域或者转移性疾病的患者,长期的疾病控制才是主要目标。一般地,由于前列腺癌非常依赖于生存与进展的雄激素受体(AR)功能,长期的疾病控制需要一系列抑制AR信号传导的激素疗法。尽管AR靶向疗法抑制肿瘤生长,但是疾病难以根除并且通过恢复后的AR功能获得对疗法的抗性。进展到这种‘去势难治性(castration resistant)’前列腺癌(CRPC)表现出该疾病的致死表型。据估计,50-60%之间的发展转移性疾病的患者具有CRPC。最近,几种新的治疗剂已经被批准用于CRPC的治疗。然而,这些治疗剂提供了有限的临床功效并且仅用来延迟疾病进展。因此,新型的可耐受性药剂是必须的,以在CRPC的治疗中获得进一步进展。

[0005] 多种细胞机制导致CRPC的进展。在全部病例中,CRPC表现型的获得是通过AR途径的重新激活被介导的。乙酰转移酶p300直接地调节前列腺癌细胞中的AR水平和AR信号活性(Zhong等人,‘p300acetyltransferase regulates androgen-receptor degradation and PTEN-deficient prostate tumorigenesis,’Cancer Res.,Vol.74,pp.1870-1880,2014)。因此,p300活性的治疗调节将面向所有已知的导致CRPC发展的适应性机制。已批准的疗法和临床研究中的那些疗法主要面向这些细胞机制中的一种或另一种。p300活性的调节直接地提供了比目前和其它实验疗法策略更广泛地调节CRPC中的AR活性的机会。此外,最近批准的药剂的耐药机制已经显示出了AR-依赖性(Cai,C.等人,(2011)‘Intratatumoral de novo steroid synthesis activates androgen receptor in castration resistant prostate cancer and is up-regulated by treatment with Cyp17A1 inhibitors,’Cancer Res.,Vol.71,pp.6503-6513)。因此,p300的调节应当抑制对目前疗法的耐药性,并且有潜力提供改善的持续功效和更高的临床效用。

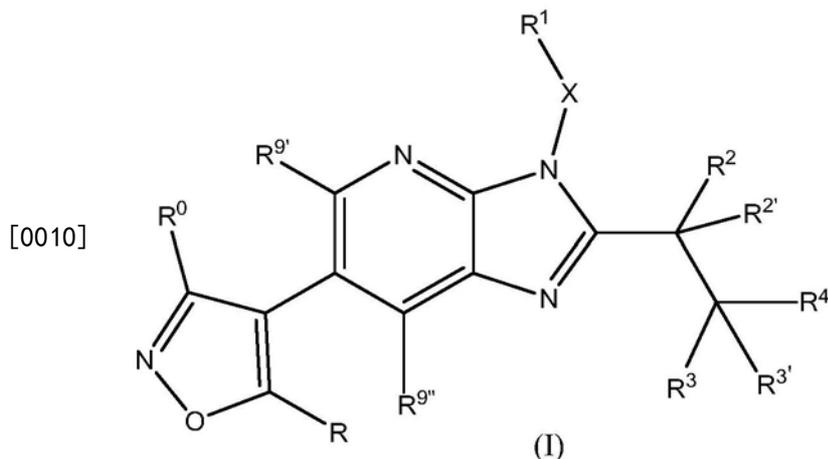
[0006] 与p300一样,CREB(环腺苷酸反应元件结合蛋白)结合蛋白(CBP)是人类细胞中作为转录辅激活因子的乙酰转移酶。CBP和p300皆具备单一布罗莫结构域(BRD)和赖氨酸乙酰

转移酶 (KAT) 结构域,其涉及组蛋白和非组蛋白蛋白质的翻译后修饰和募集。在保守功能结构域中在CBP和p300之间存在高序列相似性(参见Duncan A.Hay等人,JACS 2014,135,9308-9319)。因此,CBP活性的调节为某些癌症的治疗提供一个有希望的途径。因此,可调节(例如抑制)p300和/或CBP活性的化合物在癌症疗法中受到关注。

[0007] 发明概述

[0008] 现在,已经发现一系列新型化合物具有在调节p300和/或CBP活性中的活性。因此,所述化合物在治疗癌症,特别是前列腺癌方面有潜在效用。

[0009] 因此,本发明提供一种化合物或其药学上可接受的盐,所述化合物是式(I)的异噁唑基咪唑并吡啶:



[0011] 其中

[0012]  $R^0$ 和 $R$ 是相同或不同的,各自是H或 $C_{1-6}$ 烷基;

[0013]  $R^{9'}$ 和 $R^{9''}$ 是相同或不同的,各自是H或F;

[0014] X是 $-(alk)_n-$ 、 $-alk-C(=O)-NR-$ 、 $-alk-NR-C(=O)-$ 或 $-alk-C(=O)-$ ;

[0015]  $R^1$ 选自 $-S(=O)_2R'$ 和未取代或取代的4-至7-元杂环基团;

[0016]  $R^2$ 和 $R^{2'}$ 是相同或不同的,各自是H或 $C_{1-6}$ 烷基;或 $R^2$ 和 $R^{2'}$ 与它们所连接的C原子一起形成 $C_{3-6}$ 环烷基基团;

[0017]  $R^3$ 和 $R^{3'}$ 是相同或不同的,各自是H、 $C_{1-6}$ 烷基、OH或F;

[0018]  $R^4$ 是苯基或5元至12元含氮杂芳基基团并且是未取代或取代的;

[0019] alk是 $C_{1-6}$ 亚烷基;

[0020]  $R'$ 是 $C_{1-6}$ 烷基;和

[0021] n是0或1。

[0022] 在另一方面,本发明提供药学组合物,其包括如以上限定的式(I)的异噁唑基咪唑并吡啶或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体。所述药学组合物可进一步包括一种化疗药物或更多种额外的化疗药物,比如如下面提出的化疗药物。

[0023] 在另一方面,本发明提供如以上限定的式(I)的异噁唑基咪唑并吡啶或其药学上可接受的盐,以用作p300活性的调节剂。

[0024] 发明详述

[0025] 术语“取代的”包括取代符合被取代原子和取代基的允许价态的隐性规定和该取代会产生稳定化合物(即一种稳定化合物不会自发经历诸如重排环合的转换或者消除反

应)的隐性规定。在某些实施方式中,单原子可被不止一个取代基取代,只要这样的取代是与被允许的化合价一致。在某些实施方式中,被取代的基团可被一个取代基基团取代或其可在多个碳原子上被多取代。当本文定义的任何基团被取代时,它通常被如下限定的 $R^{10}$ 取代。基团可比如是被如下限定的基团 $R^{10}$ 一取代、二取代或者三取代。

[0026] 在某些式(I)的异噁唑基咪唑并吡啶中,取决于取代基的性质,可存在手性碳原子,并且因此化合物可作为立体异构体存在。本发明延伸至所有光学异构体,如式(I)化合物的立体异构形式,包括对映体、非对映体及其混合物,如外消旋物。不同的立体异构形式可通过常规方法被分离或彼此拆分,或可通过常规立体有择合成或立体定向(stereospecific)合成获得任何给定的异构体。

[0027] 本发明化合物可以以各种互变异构形式存在,并且应了解的是本发明包括所有这种互变异构形式。

[0028] 应理解,本发明的某些化合物既包含酸性基团又包含碱性基团,并且因此可在某些pH值下作为两性离子存在。

[0029] 如本文使用的,术语“对……进行治疗(treat)”和“治疗(treatment)”指的是疗法治疗和防御或预防措施二者,其中目标是防止或减慢(减少)不希望的生理改变或紊乱,如癌症的发展和扩散。“治疗(treatment)”也意味着与不接受治疗的预计存活期(survival)相比延长存活期。需要治疗的人包括已经具有症状或失调的人以及倾向具有症状或失调的人和其中症状或失调待被预防的人。

[0030] 术语“药学上可接受的”表示该物质或组合物必须与包含配方的其它成分和/或者患者正在治疗使用的其它成分在化学上和/或毒理学上相容。

[0031]  $C_{1-6}$ 烷基基团或部分为直链的或者分支的。 $C_{1-6}$ 烷基基团典型地是 $C_{1-4}$ 烷基基团或 $C_{1-2}$ 烷基基团。 $C_{1-6}$ 烷基基团和部分的实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基(即3-甲基丁-1-基)、叔戊基(即2-甲基丁-2-基)、新戊基(即2,2-二甲基丙烷-1-基)、正己基、异己基(即4-甲基戊烷-1-基)、叔己基(即3-甲基戊烷-3-基)和新戊基(即3,3-二甲基丁烷-1-基)。典型地, $C_{1-6}$ 烷基基团是甲基(Me)。为避免疑义,在两个烷基部分存在于基团中的情况中,烷基部分可以是相同或不同的。 $C_{1-6}$ 烷基基团是未取代的或取代的,典型地被一个或多个如下限定的基团 $R^{10}$ 取代。例如, $C_{1-6}$ 烷基基团是未取代的或是被1、2或3个如下限定的基团 $R^{10}$ 取代的。

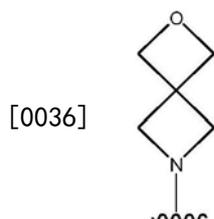
[0032]  $C_{1-6}$ 亚烷基基团或部分为未取代的或取代的、直链的或者分支的、包含1-6个碳原子的饱和二价脂肪族烃基团或部分。典型地,其是 $C_{1-3}$ 亚烷基基团或部分。实例包括亚甲基、亚乙基、正亚丙基和异亚丙基基团和部分。更典型的,其是亚甲基或亚乙基。当亚烷基基团被取代时,其通常被如下限定的基团 $R^{10}$ 取代。

[0033]  $C_{3-6}$ 环烷基基团或部分是具有3至6个碳原子的饱和单价烃环。因此,其是仅包含饱和键的3元、4元、5元或6元碳环。环烷基基团的实例包括环丙基、环丁基、环戊基和环己基。在一个实施方式中,环烷基基团是环丙基。

[0034] 5元至12元含氮杂芳基基团或部分为包含1、2、3或4个氮原子(通常为1或2个氮原子)的单价5元至12元芳香族杂环基团。其通过其环C或N原子之一连接,并且是单环的或双环的。在一个实施方式中,其是C连接的。在另一实施方式中,其是N连接。其可以,例如,是5元至7元含N单环杂芳基基团,比如,5元或6元含氮杂芳基基团。5元至12元、C连接、含氮杂芳

基基团的实例包括吡咯基、咪唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、喹啉基、异喹啉基、喹唑啉基、喹喔啉基、吲哚基、异吲哚基、吲唑基、吡咯并吡啶基 (pyrrolopyridinyl) 和吡咯并嘧啶基 (pyrrolopyrimidinyl) 基团。当有取代基时,5元至12元含氮杂芳基基团通常被一个或多个(例如1、2或3个)选自未取代的C<sub>1-4</sub>烷基和如下限定的基团R<sup>11</sup>的基团取代。在一个实施方式中,5元至12元含氮杂芳基基团未被取代。

[0035] 4元至7元杂环基团是包含至少一个选自O、N和S的杂原子的饱和的、单价的4元、5元、6元或7元杂环。其可以是,比如,4元至6元杂环基团。其通过它的环C原子或通过环杂原子连接。在一个实施方式中,它是C连接的。在另一实施方式中,它是N连接的。4元至7元杂环基团的实例包括氧杂环丁烷、硫杂环丁烷(thietane)、氮杂环丁烷、吡咯烷、哌啶、哌嗪、四氢吡喃、四氢噻吩(tetrahydrothiophene)、吗啉和下面的N连接的螺环基团(spiro group):



[0037] 4-至7-元杂环基团是未被取代的,或是典型地被如下限定的基团R<sup>10</sup>取代的。当原子的价态允许时,可在环碳原子上或环杂原子上取代。

[0038] 卤素或卤基团(halo group)是F、Cl、Br或I。典型地,它是F、Cl或Br,更典型地是F。

[0039] C<sub>1-6</sub>烷氧基基团是直链的或者分支的。通常地,其是C<sub>1-4</sub>烷氧基基团,例如甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、正丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基或叔丁氧基基团。C<sub>1-6</sub>烷氧基基团是未取代的或是通常被一个或多个如下限定的基团R<sup>10</sup>取代的。

[0040] 当在式(I)中n=0时,部分-(alk)<sub>n</sub>-是不存在的,并且因而X是直接键合(direct bond)。X通常选自直接键合、-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-C(=O)-NMe-、-CH<sub>2</sub>-C(=O)-NH-和-CH<sub>2</sub>-C(=O)-。

[0041] 当R<sup>1</sup>是4-至7-元杂环基团时,它典型地是吗啉基、硫代吗啉基、哌啶基、哌嗪基、吡咯烷基、四氢吡喃基、氧杂环丁烷基(oxethanyl)、四氢噻喃基或四氢呋喃基基团或具有如上显示的结构N连接的螺环基团。其是未取代的或是比如被如下限定的基团R<sup>10</sup>取代的。

[0042] 当R<sup>4</sup>是5元至12元含氮杂芳基基团时,其典型地选自吡咯基、咪唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、喹啉基、异喹啉基、喹唑啉基、喹喔啉基、吲哚基、异吲哚基、吲唑基、吡咯并吡啶基和吡咯并嘧啶基。更典型地,其选自吡啶基、嘧啶基、喹啉基、异喹啉基、喹喔啉基、吡咯并吡啶基和吲哚基。

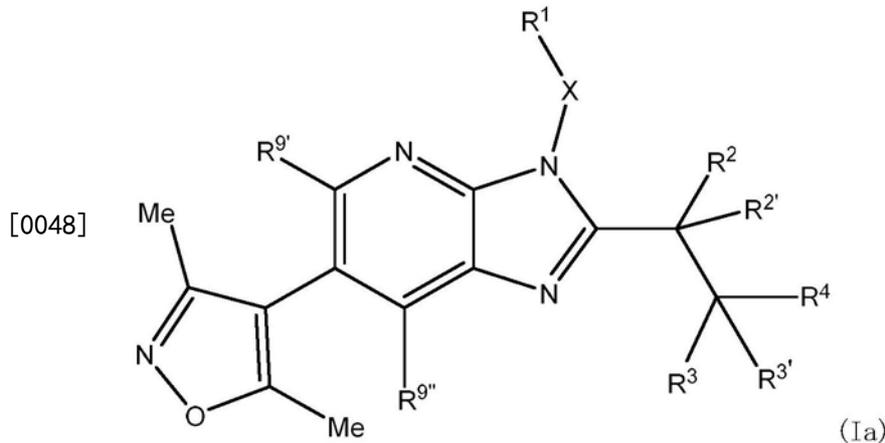
[0043] R<sup>4</sup>是未取代的或取代的。当被取代时,它可以是比如被如下限定的基团R<sup>11</sup>单、二或三取代的。

[0044] R<sup>9</sup>和R<sup>9'</sup>各自是H或F。典型地,R<sup>9</sup>是H,并且R<sup>9'</sup>是H或F,更优选地是H。

[0045] R<sup>10</sup>选自未取代的C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>3-6</sub>环烷基、卤素(halo)、OH、C<sub>1-6</sub>烷氧基、-C(O)R<sup>''</sup>、-C(O)<sub>2</sub>R<sup>''</sup>、-C(O)NR<sup>''2</sup>、氧代基(=O)、二氧代基(dioxo)、-CH<sub>2</sub>OR<sup>''</sup>、-S(O)<sub>m</sub>R<sup>''</sup>、-NR<sup>''</sup>C(O)R<sup>''</sup>、-S(O)<sub>m</sub>NR<sup>''2</sup>和CF<sub>3</sub>,其中m是1或2并且每个R<sup>''</sup>独立地选自H和未取代的C<sub>1-6</sub>烷基。典型地,R<sup>10</sup>选自未取代的C<sub>1-6</sub>烷基、卤素、OH、C<sub>1-6</sub>烷氧基、-C(O)R<sup>''</sup>、-C(O)NR<sup>''2</sup>、氧代基(=O)和二氧代基(dioxo)。

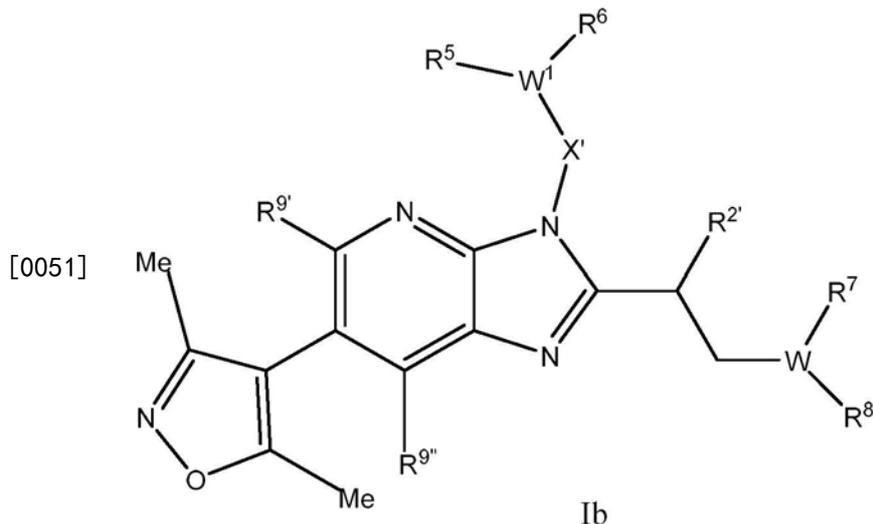
[0046]  $R^{11}$ 选自未取代的 $C_{1-6}$ 烷基、卤素、 $-OH$ 、 $C_{1-6}$ 烷氧基、 $-CN$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCF_3$ 、 $-C(O)R''$ 、 $-C(O)_2R''$ 、 $-C(O)NR''_2$ 、 $-CH_2OR''$ 、 $-S(O)_mR''$ 和 $-S(O)_mNR''_2$ ，其中 $m$ 和 $R''$ 是如上所限定的。

[0047] 在一个优选实施方式中，本发明的异噁唑基咪唑并吡啶具有下式 (Ia)：



[0049] 其中 $R^{9'}$ 、 $R^{9''}$ 、 $X$ 、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^{2'}$ 、 $R^3$ 、 $R^{3'}$ 和 $R^4$ 各自是如上对于式 (I) 所定义的。

[0050] 在本发明的另一优选实施方式中，异噁唑基咪唑并吡啶具有下式 (Ib)：



[0052] 其中：

[0053]  $R^{9'}$ 和 $R^{9''}$ 是如上对于式 (I) 所定义的；

[0054]  $W^1$ 是N或C；

[0055]  $W^1$ 是N或CH；

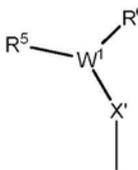
[0056]  $X'$ 是 $C_{1-3}$ 亚烷基或 $-(CH_2)-C(=O)-NH-$ ；

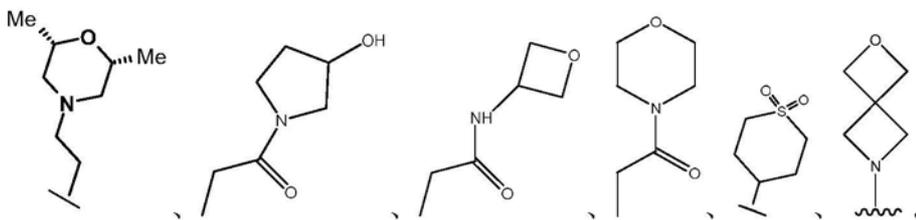
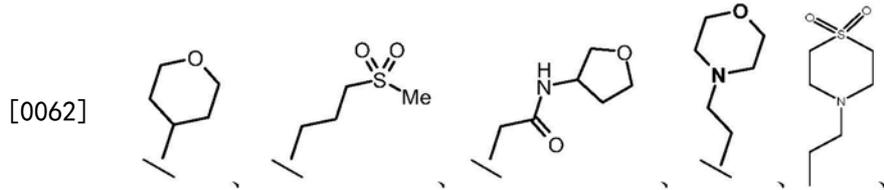
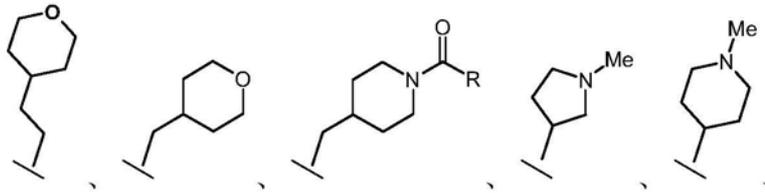
[0057]  $R^{2'}$ 是H、Me或Et；

[0058]  $R^5$ 是H并且 $R^6$ 是 $-S(=O)_2Me$ ，或 $R^5$ 和 $R^6$ 连同它们所连接的 $W^1$ 原子一起形成杂环基团，该杂环基团选自吡咯烷基、噻喃基、吡喃基和哌啶基，该基团是未取代的或取代的；并且

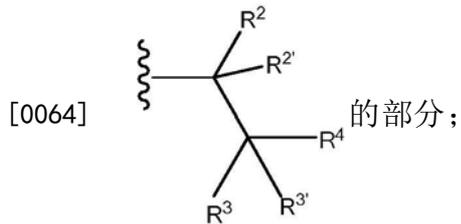
[0059]  $R^7$ 和 $R^8$ 与它们所连接的C或N原子一起形成选自苯基、吡啶基、嘧啶基、喹啉基、异喹啉基、吡咯并吡啶基和喹喔啉基的基团，该基团是未取代的或取代的。

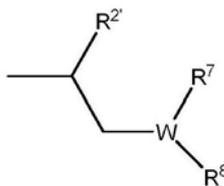
[0060] 在本发明的一个方面，在式 (I) 和 (Ia) 中表示为 $-X-R^1$ 和在式 (Ib) 表示为

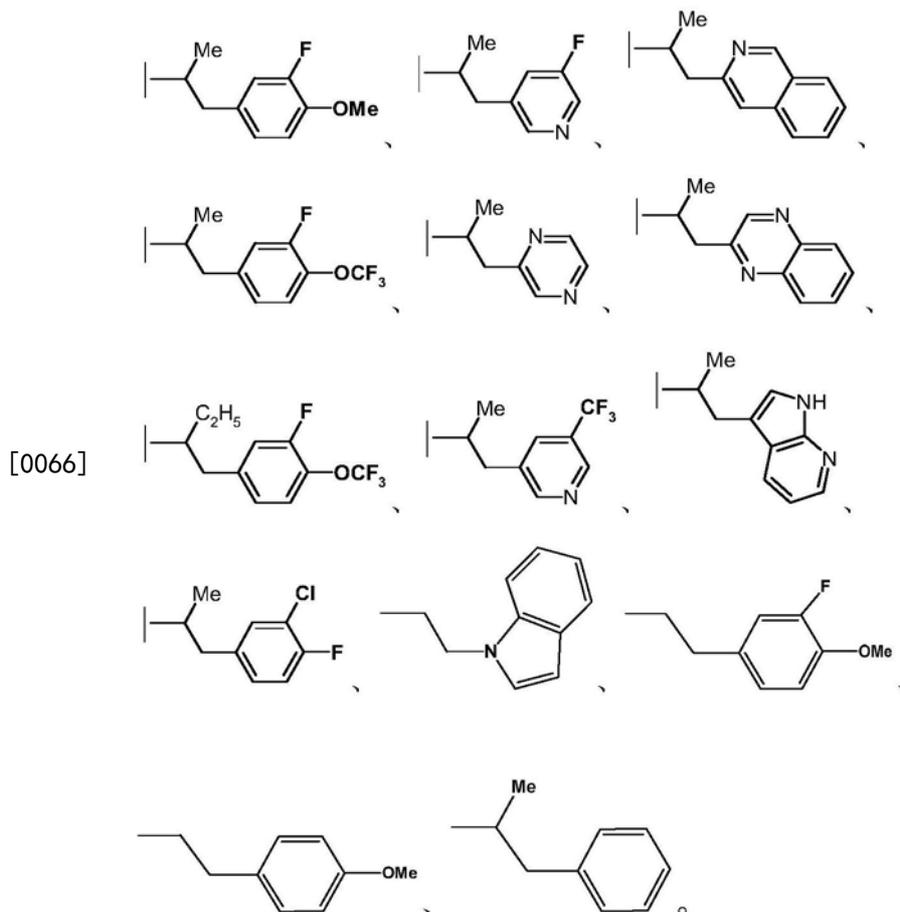
[0061]  的部分选自下述结构:



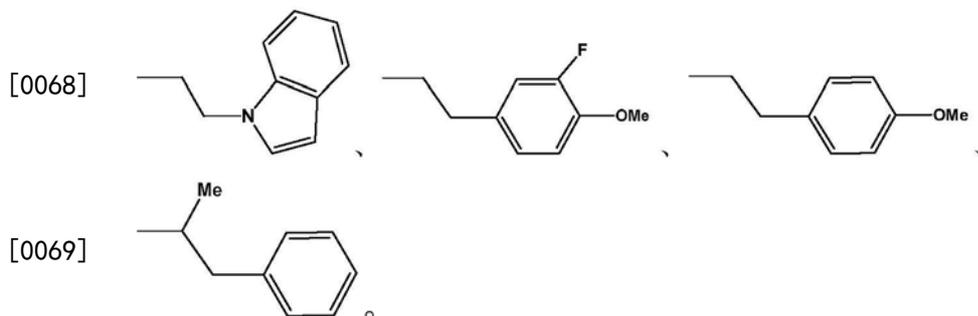
[0063] 在本发明的另一方面,在式 (I) 和 (Ia) 表示为



[0065] 和在式 (Ib) 表示为  的部分由下述结构之一表示:



[0067] 更典型地,其是由下述结构之一表示:



[0070] 在如上所限定的式(I)中, $R^0$ 和R各自独立地是H或 $C_{1-6}$ 烷基。因此,比如, $R^0$ 是H和R是 $C_{1-6}$ 烷基;R是H和 $R^0$ 是 $C_{1-6}$ 烷基; $R^0$ 和R各自是H;或 $R^0$ 和R各自是 $C_{1-6}$ 烷基。在这些变体中的每个中, $C_{1-6}$ 烷基典型地是甲基或乙基,优选是甲基。

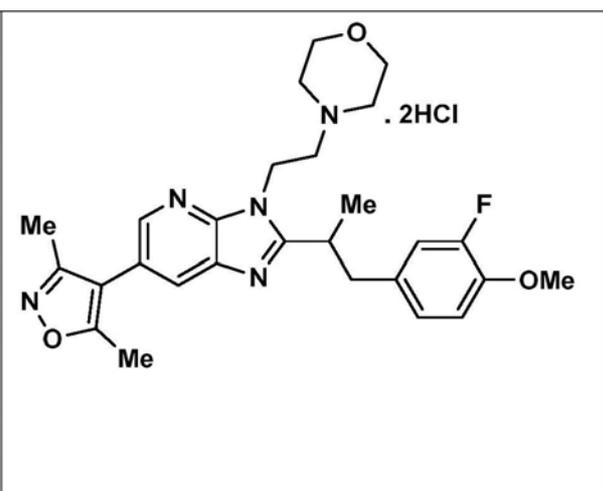
[0071] 在如上所限定的式(I)和(Ia), $R^2$ 和 $R^{2'}$ 各自独立是H或 $C_{1-6}$ 烷基。比如, $R^2$ 是H和 $R^{2'}$ 是 $C_{1-6}$ 烷基; $R^{2'}$ 是H和 $R^2$ 是 $C_{1-6}$ 烷基; $R^2$ 和 $R^{2'}$ 都是H;或 $R^2$ 和 $R^{2'}$ 都是 $C_{1-6}$ 烷基。在这些变体的每个中, $C_{1-6}$ 烷基典型地是甲基或乙基,优选是甲基。可选地, $R^2$ 和 $R^{2'}$ 与它们所连接的C原子一起形成 $C_{3-6}$ 环烷基基团,如环丙基。

[0072] 在如上所限定的式(I)、(Ia)和(Ib)的一个变体中, $R^9$ 和 $R^{9'}$ 各自是H。在另一变体中, $R^9$ 和 $R^{9'}$ 中的一个F并且另一个是H。在第三变体中, $R^9$ 和 $R^{9'}$ 各自是F。

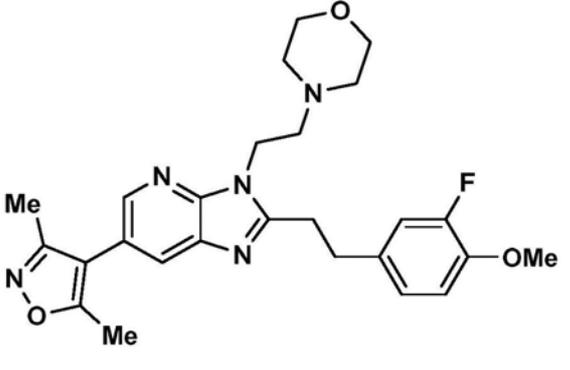
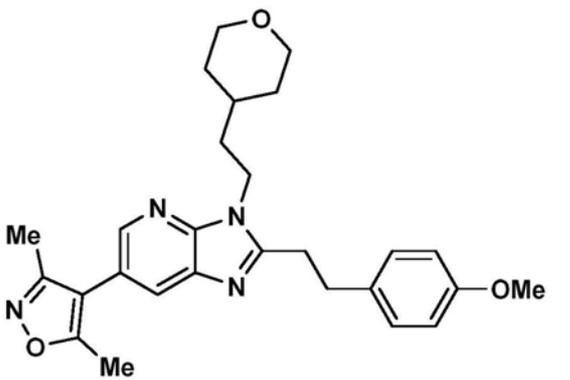
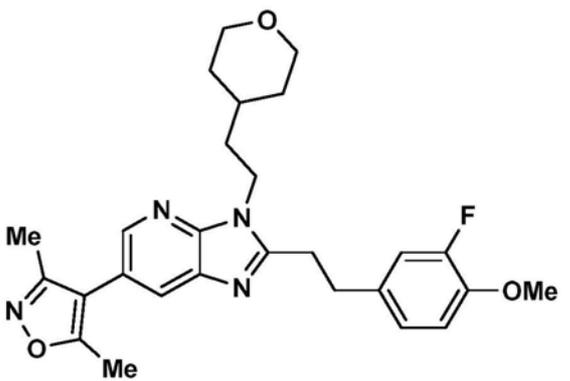
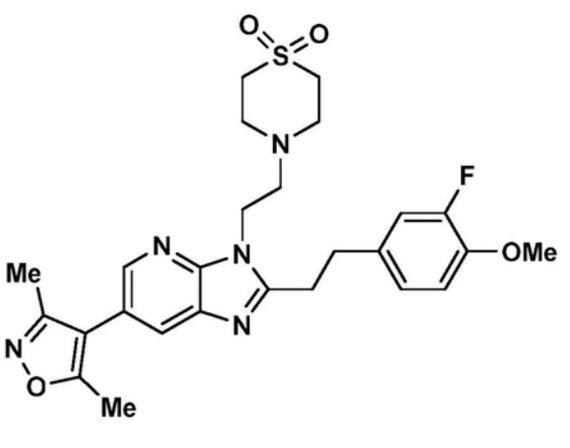
[0073] 本发明化合物可包含不对称或手性中心,并且因此以不同的立体异构形式存在。以上结构式包括本发明化合物的所有立体异构形式,包括非对映体、对映体和外消旋混合

物。非对映体和对映体可通过立体有择合成(比如对映体合成)策略获得。

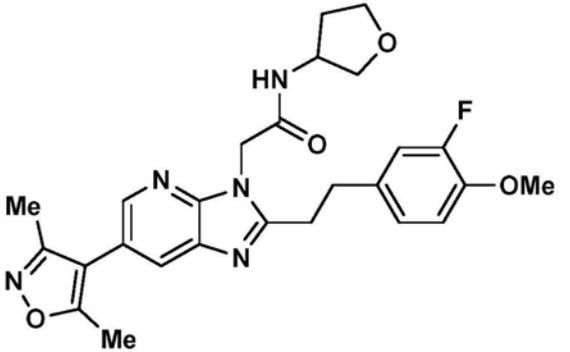
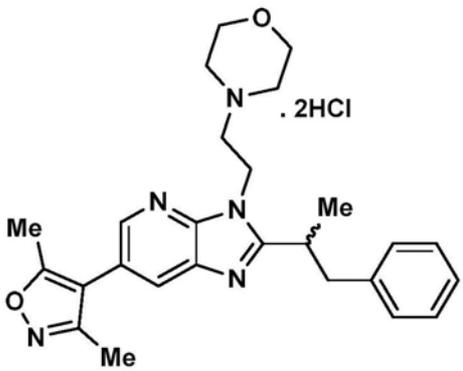
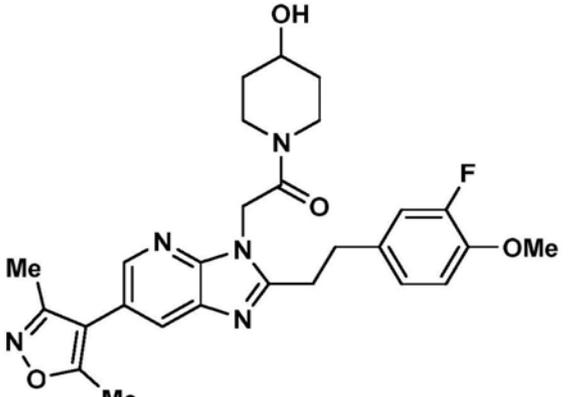
[0074] 本发明化合物的具体实例包括下表中列举的那些:

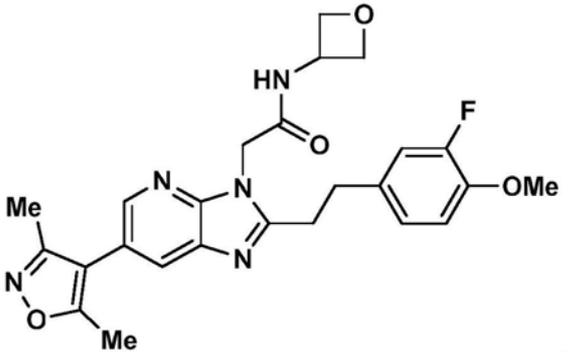
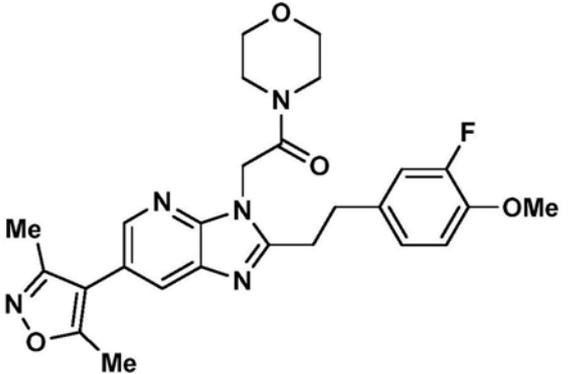
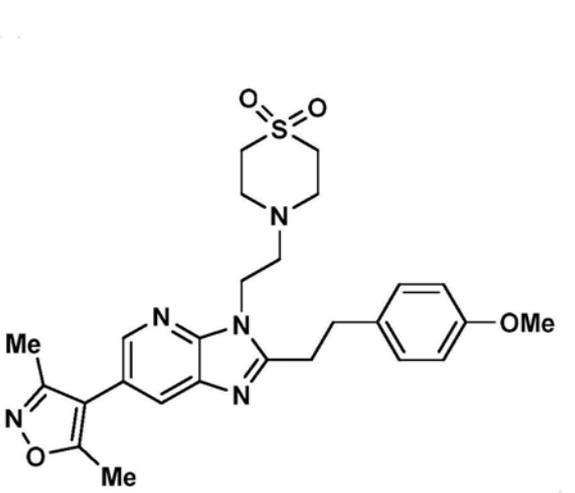
[0075]	<p>1</p> 	4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(1-(3-氟-4-甲氧基苯基)丙烷-2-基)-3 <i>H</i> 咪唑并[4,5- <i>b</i> ]吡啶-3-基)乙基)吗啉二盐酸盐
--------	--	---

[0076]

2		4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3 <i>H</i> 咪唑并[4,5- <i>b</i> ]吡啶-3-基)乙基)吗啉
3		4-(2-(4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2 <i>H</i> -吡喃-4-基)乙基)-3 <i>H</i> 咪唑并[4,5- <i>b</i> ]吡啶-6-基)-3,5-二甲基异噁唑
4		4-(2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2 <i>H</i> -吡喃-4-基)乙基)-3 <i>H</i> 咪唑并[4,5- <i>b</i> ]吡啶-6-基)-3,5-二甲基异噁唑
5		4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3 <i>H</i> 咪唑并[4,5- <i>b</i> ]吡啶-3-基)乙基)硫代吗啉 1,1-二氧化物

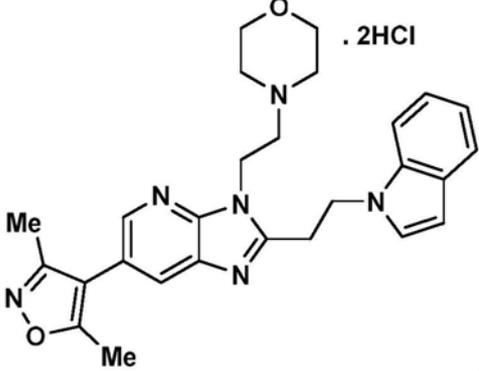
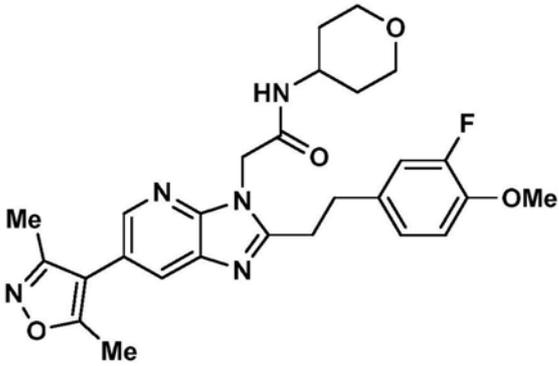
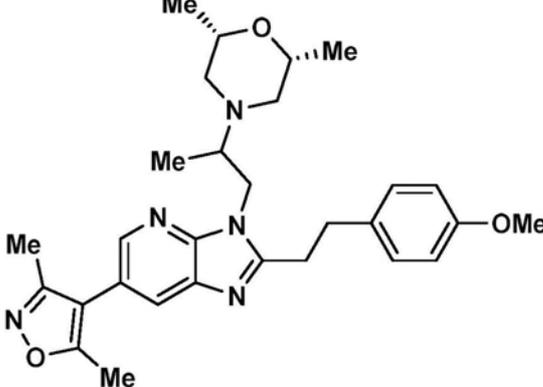
[0077]

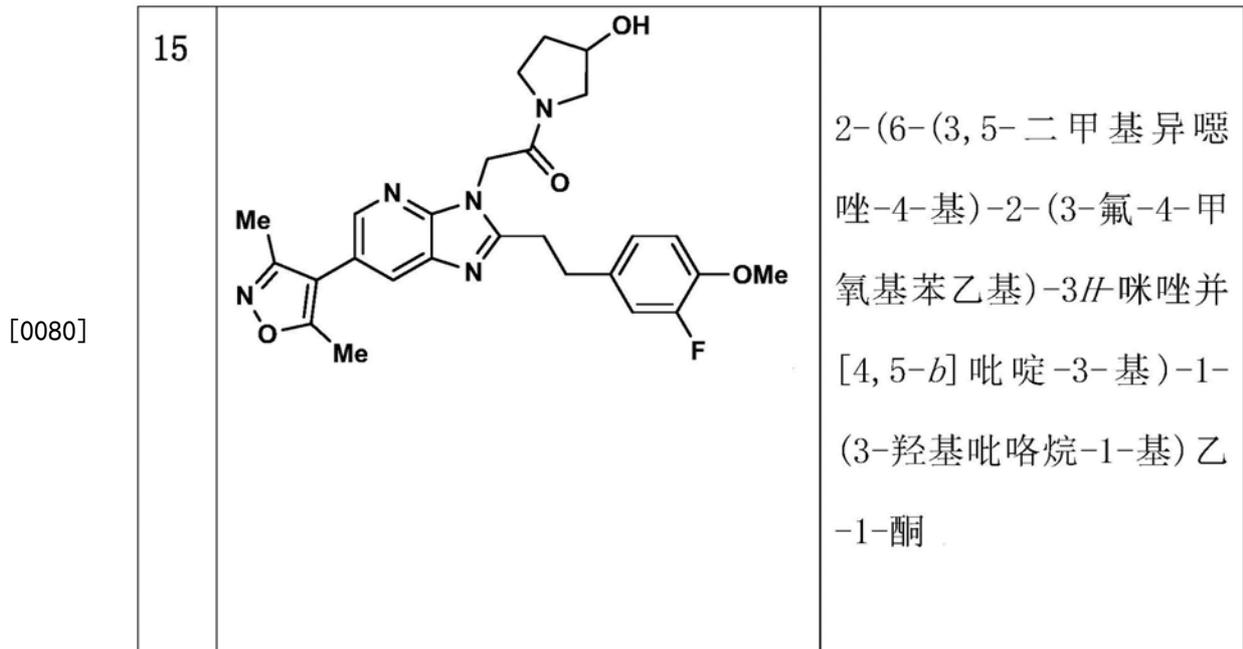
6		2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3 <i>H</i> 咪唑并[4,5- <i>b</i> ]吡啶-3-基)- <i>N</i> -(4-羟基哌啶-1-基)乙酰胺
7		4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(1-苯基丙烷-2-基)-3 <i>H</i> 咪唑并[4,5- <i>b</i> ]吡啶-3-基)乙基)吗啉二盐酸盐
8		2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3 <i>H</i> 咪唑并[4,5- <i>b</i> ]吡啶-3-基)-1-(4-羟基哌啶-1-基)乙-1-酮

9		2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-N-(氧杂环丁烷-3-基)乙酰胺
10		2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1-吗啉代乙-1-酮
11		4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)硫代吗啉 1,1-二氧化物

[0078]

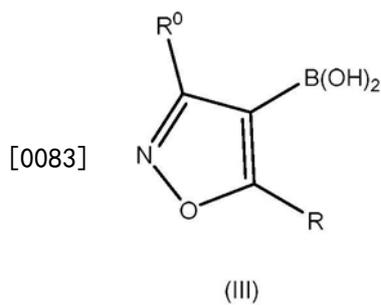
[0079]

12		4-(2-(2-(2-(1H-咪唑-1-基)乙基)-6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-3H-咪唑并[4,5- <i>b</i> ]吡啶-3-基)乙基)吗啉二盐酸盐
13		2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5- <i>b</i> ]吡啶-3-基)-N-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙酰胺
14		(2 <i>S</i> ,6 <i>R</i> )-4-(1-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5- <i>b</i> ]吡啶-3-基)丙烷-2-基)-2,6-二甲基吗啉

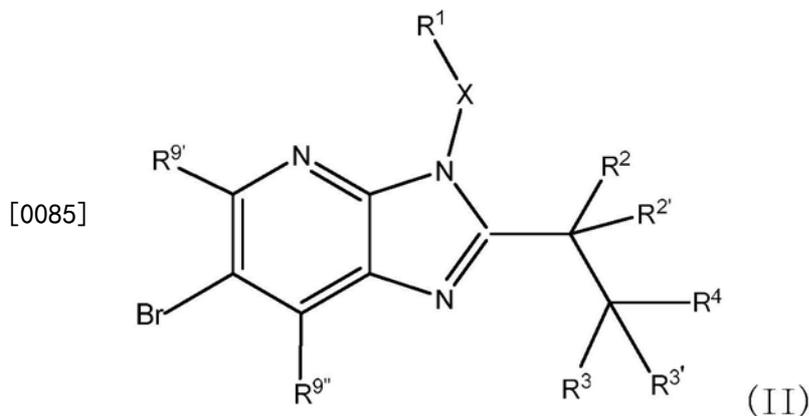


[0081] 和药学上可接受的盐。

[0082] 本发明化合物可通过下述制备方法制备,所述制备方法包括:在乙醇水溶液中,在Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>和Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>的存在下,用式(III)的硼酸处理式(II)化合物。

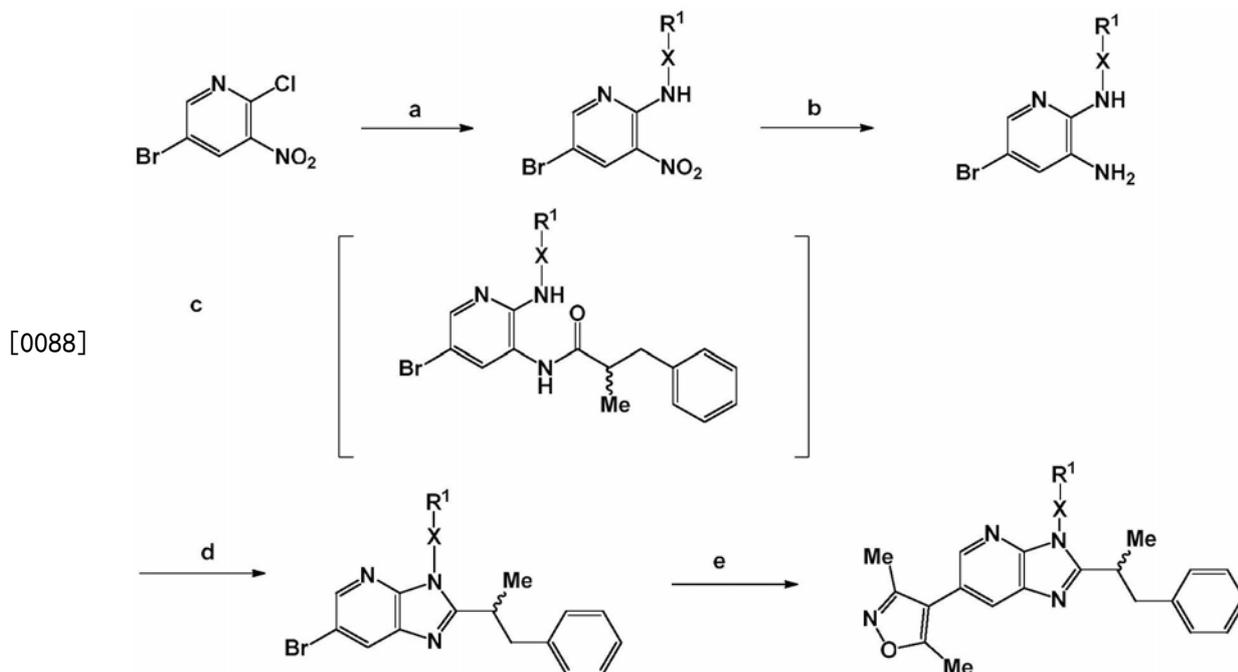


[0084] 其中R<sup>0</sup>和R各自如上对于式(I)所定义的:



[0086] 其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>2'</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>3'</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>9'</sup>和R<sup>9''</sup>各自是如上对于式(I)所定义的。乙醇水溶液典型地是30-70%EtOH/水。

[0087] 如下所示的反应图示说明了具体合成策略,通过所述策略可产生本发明化合物。



[0089] a. R<sub>1</sub>-NH<sub>2</sub>、TEA、THF、rt或R<sub>1</sub>-NH<sub>2</sub>·HCl、TEA、DMF, 70-90°C -60-90%

[0090] b. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>、THF/H<sub>2</sub>O、NH<sub>4</sub>OH或Fe、AcOH或Fe、NH<sub>4</sub>Cl、EtOH/H<sub>2</sub>O, 80°C -30-80%

[0091] c. HATU、氢化肉桂酸、TEA、DCM或DMF -50-90% (经提纯或者使用粗品)

[0092] d. AcOH, 60-100°C或HCl/1,4-二噁烷 -20-90%

[0093] e. 二甲基异噁唑硼酸、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>、EtOH/水 -30-70%

[0094] 在上述方案中使用的缩写的略语表(key)在以下实施例部分中提供。

[0095] 式(I)的异噁唑基咪唑并吡啶可转换成药学上可接受的盐,并且采用常规方法盐可以转化为单体化合物(free compound)。药学上可接受的盐包括:下述无机酸的盐:如盐酸、氢溴酸和硫酸;和下述有机酸的盐,如乙酸、草酸、苹果酸、甲磺酸、三氟乙酸、苯甲酸、柠檬酸和酒石酸。在具有游离羧基取代基的化合物的情况下,盐包括上述酸加成盐和钠、钾、钙和铵的盐。后者通过用相应的金属碱或氨处理单体式(I)苯并咪唑基异噁唑或其酸加成盐来制备。

[0096] 式(I)的异噁唑基咪唑并吡啶或其药学上可接受的盐以下称为本发明化合物。已经发现本发明化合物在生物试验中结合至组蛋白乙酰转移酶(HAT), p300,如以下实施例16所述的。

[0097] p300是涉及调节多种生物过程(增殖、凋亡、细胞周期调节和DNA损伤反应)的转录辅激活因子。p300主要用作若干肿瘤蛋白包括Jun、Fos和E2F的转录辅因子。另外,它作为组蛋白乙酰转移酶并且也可乙酰化多种非组蛋白蛋白质(例如p53、p73和Rb)。已经报告,取决于癌症的性质,p300作为肿瘤抑制因子或作为肿瘤蛋白。多个研究已经显示p300表达与疾病进展和存活率降低相关。

[0098] p300在人类前列腺癌进展中是上调的,并且已证实为AR辅激活因子(Debes, J.D.等人,(2003) 'p300 in prostate cancer proliferation and progression,' Cancer Res., Vol.63, pp.7638-7640;和Linja, M.J.等人,(2004) 'Expression of androgen receptor coregulators in prostate cancer,' Clin.Cancer Res., Vol.10, pp.1032-

1040)。

[0099] 最近,已显示p300直接调控AR蛋白降解(Zhong等人,2014)。p300介导的AR乙酰化作用被显示抑制AR泛素化和随后的AR蛋白酶体降解(Zhong等人,2014,以上引用)。因此,p300活性的直接抑制将促进AR降解。

[0100] 考虑到前列腺癌的高分子异质性,合适的生物标记物的识别对于有效的定位和评估靶向小分子疗法是至关重要的。有人提出通过AR复苏CRPC表现型的发展标记物用于p300调节剂的评估的患者分层(patient stratification)。这些标记物包括PSA和循环肿瘤细胞(CTC)计数。鉴于生物标记物能够监测p300活性的调节,直接读取包括:AR和AR剪接变体水平的确定;通过评估AR响应基因(包括PSA、TMPRSS2和KLK2)的水平调节AR活性。AR功能活性的其它替代标记物包括p21、c-Myc和p53。考虑到批准用于CRPC的调节AR活性的多种治疗剂,评估p300靶向和随后的AR调节的作用的生物标记物已经广泛可得并用于临床环境中。

[0101] 已显示各种癌症类型表达AR。除了前列腺癌之外,这些癌症还包括乳腺癌和膀胱癌。可预计,p300活性的调节在治疗这种癌症和其它表达AR的适应症中有治疗效用。另外,p300调节其它核激素受体的水平,从而进一步扩大p300靶向剂的临床效用是可行的。

[0102] 本发明化合物具有作为p300和/或CBP活性的调节剂的活性。因此,其可用于治疗癌症,或表达AR的另外临床病症。可以治疗的癌症是表达AR或以其他方式与AR相关的那些。这些癌症包括前列腺癌、乳腺癌和膀胱癌。前列腺癌可以,比如,去势难治性前列腺癌(CRPC)。患有癌症的人类或动物患者可因此通过向其给药本发明化合物的方法被治疗。患者的病症因此可被改善或变好。

[0103] 本发明化合物可因此与放射疗法或另一种用于治疗癌症的化疗药物一起被给药至人类或动物患者。因此,本发明进一步提供一种联合治疗,其中本发明化合物或包含本发明化合物的药物组合物与放射疗法同时地或相继地给药;或与另一种化疗药物(一种或多种)同时地、相继地或作为联合制剂给药,以用于治疗癌症。

[0104] 这种或每种其它化疗药物将是常规用于被治疗的癌症类型的试剂。与本发明化合物通常联合用于治疗前列腺癌的化疗药物的类别包括雄激素受体拮抗物,例如恩杂鲁胺(Enzalutamide),和CYP17A1的抑制剂(17 $\alpha$ -氢化酶/C17,20裂解酶),比如阿比特龙(Abiraterone)。与本发明化合物一起在联合疗法中给药的其他化疗药物包括多西他赛。

[0105] 本文使用的术语“联合”指同时、单独或顺序给药。在给药是顺序的或单独的情况下,给药第二组分的延迟不应失去联合的有益效果。

[0106] 本发明进一步提供一种产品,其包括:

[0107] (a) 如上限定的本发明化合物;和

[0108] (b) 化疗药物;

[0109] 用于在预防或疗法治疗癌症中单独、同时或相继给药,比如上述的癌症的具体类型。化疗药物可以是,比如,雄激素受体拮抗物或CYP17A1的抑制剂。更具体地,化疗药物可以是恩杂鲁胺或阿比特龙。

[0110] 本发明化合物可以以各种剂型被给药,例如口服,如以片剂、胶囊、糖或膜包覆的片剂、液体溶液或悬浮液,或肠道外,例如肌内地、静脉注射地或皮下地。因此,该化合物可通过注射或灌输(infusion)。

[0111] 剂量取决于多种因素,包括患者的年龄、重量和状态及给药途径。每日剂量可以在

宽范围内变化,并且将调整为每个具体情况中的个别要求。但是,典型地,当化合物被仅仅给药至成年人类时,对于每个给药途径所采用的剂量是0.0001至50mg/kg,最通常在0.001至10mg/kg体重范围内,比如0.01至1mg/kg。这样的剂量可例如每天1到5次给予。对于静脉注射,合适的每日剂量是0.0001至1mg/kg体重,更优选地是0.0001至0.1mg/kg体重。可作为单剂量或依照分开的给药计划给药每日剂量。

[0112] 本发明化合物按配方制造作为人用药物组合物或兽药组合物,其同样包括药学上或兽医上可接受的载体或稀释剂。所述组合物典型地根据常规方法被制备并且以药学上或兽医上合适的形式被给药。所述化合物可以以任何常规形式被给药,比如如下:

[0113] A) 口服,例如,片剂、包衣片、糖衣丸(dragee)、药片、锭剂、水性或油性悬浮液、液体溶液、可分散粉末或颗粒、乳液、硬或软胶囊、或糖浆或酞剂。预期用于口服使用的组合物可根据本领域已知的用于制造药学组合物的任何方法来制备,并且这种组合物可包含一种或多种选自甜味剂、增香剂、着色剂和防腐剂组成的组的试剂,得到药学上极好的和可口的制剂。

[0114] 片剂包含与适用于片剂制造的非毒性药学上可接受的赋形剂混合在一起的活性成分。这些赋形剂可以是例如,惰性稀释剂,如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、葡萄糖、蔗糖、纤维素、玉米淀粉、马铃薯淀粉、磷酸钙或磷酸钠;成粒剂和分裂剂,例如,玉蜀黍淀粉、藻酸、藻酸盐或淀粉乙醇酸钠;粘结剂,例如淀粉、明胶或阿拉伯胶;润滑剂,例如二氧化硅、硬脂酸镁或硬脂酸钙或滑石;泡腾混合物;染料,甜味料,润湿剂如卵磷脂、聚山梨醇酯或十二烷基硫酸盐。片剂可以是未涂覆的或它们可通过已知技术被涂覆,以延迟在胃肠道中的分解和吸附,从而在更长的时期内提供持续的作用。例如,时间延迟材料,如可采用硬脂酸单甘油酯或甘油二硬脂酸酯。可以以已知方式制造这种制剂,例如通过混合、粒化、片化、糖衣或薄膜包衣制备方法。

[0115] 用于口服使用的制剂也可作为硬明胶胶囊存在,其中活性成分与惰性固体稀释剂例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土混合,或可作为软明胶胶囊存在,其中活性成分以此存在,或与水或油介质例如花生油、液体石蜡或橄榄油混合。

[0116] 水性悬浮液包含与适于制造水性悬浮液的赋形剂混合在一起的活性成分。这种赋形剂是悬浮剂(suspending agent),例如,羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮黄芪胶和阿拉伯树胶;分散剂或湿润剂可以是天然存在的磷脂例如卵磷脂,或氧化烯与脂肪酸的缩合产物例如聚氧乙烯硬脂酸酯,或环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物例如十七碳亚乙基氧基鲸蜡醇(heptadecaethyleneoxycetanol),或环氧乙烷与偏酯衍生形式的脂肪酸和己糖醇的缩合产物例如聚氧乙烯山梨醇单油酸酯,或环氧乙烷与偏酯衍生形式脂肪酸和己糖醇的缩合产物例如聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯。

[0117] 所述水性悬浮液也可以包含一种或多种防腐剂,例如,乙基或正丙基对羟基苯甲酸酯,一种或更多着色剂,例如蔗糖或糖精。

[0118] 含油悬浮液可通过将活性成分悬浮在植物油例如花生油(arachis oil)、橄榄油、芝麻油或椰子油,或在矿物油例如液体石蜡中制备。含油悬浮液可包含增稠剂,例如蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。

[0119] 可添加甜味剂,如上所述的那些,和增香剂,得到可接受的口服制剂。这些组合物可通过添加抗氧化剂抗坏血酸保存。适于通过添加水制备水性悬浮液的可分散粉末和颗粒

提供与分散剂或润湿剂、悬浮剂和一种或多种防腐剂混合在一起的活性成分。合适的分散剂或润湿剂以及悬浮剂是通过以上已经提到的那些示例的。也可存在另外的赋形剂,例如甜味剂、增香剂和着色剂。

[0120] 本发明的药学组合物也可以是以水包油乳液的形式。油相可以是植物油例如橄榄油或花生油,或矿物油例如液体石蜡或这些的混合物。合适的乳化剂可以是天然存在的胶例如阿拉伯树胶或黄芪胶、天然存在的磷脂例如大豆卵磷脂、和酯或偏酯衍生的脂肪酸、己糖醇酐例如脱水山梨糖醇单油酸酯、和所述偏酯与环氧乙烷的缩合产物例如聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯。所述乳液也可包含甜味剂和增香剂。糖浆和酞剂也可与甜味剂例如甘油、山梨醇或蔗糖一起制剂。具体的,用于糖尿病患者的糖浆可以作为载体包含仅产品例如山梨醇,其不会代谢为葡萄糖或其仅非常少量地代谢为葡萄糖。

[0121] 这种制剂也可包含缓和剂、防腐剂和增香剂以及着色剂。

[0122] B) 肠道外给药,以无菌可注射含水或含油悬浮液的形式的皮下、静脉注射、肌内、胸骨内给药或通过输液技术的给药。该悬浮液可根据使用以上已提及的润湿剂和悬浮剂的那些合适分散的已知技术被制剂。无菌可注射制剂也可以是在无毒肠道外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液,例如作为在1,3-丁二醇中的溶液。

[0123] 可采用的可接受的赋形剂和溶剂是水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。另外,无菌、不挥发性油被常规用作溶剂或悬浮介质。为此,可采用任何温和的不挥发性油,包括合成的甘油单酯或甘油二酯。另外,诸如油酸等脂肪酸也适用于制备注射剂。

[0124] C) 吸入给药,以气雾剂或喷雾器的溶液的形式。

[0125] D) 直肠给药,以通过将药物与合适的非刺激的赋形剂混合制备的栓剂的形式,所述赋形剂在常温下是固体但是在直肠温度下是液体,并且因此将在直肠中溶化以释放药物。这种材料是可可油和聚乙二醇。

[0126] E) 外敷,以霜剂,软膏、凝胶剂、洗眼液、溶液或悬浮液的形式。

[0127] 本发明将以下面的实施例进一步描述:

## 实施例

[0128]	缩写	
[0129]	AcOH	冰醋酸
[0130]	aq	水溶液
[0131]	Ac	乙酰基
[0132]	Boc	叔丁氧羰基
[0133]	br	宽 (broad)
[0134]	CatCart®	催化筒 (catalytic cartridge)
[0135]	CDI	1,1-羰基二咪唑
[0136]	d	双重峰 (doublet)
[0137]	DCM	二氯甲烷
[0138]	DIPEA	N,N-二异丙基乙胺
[0139]	DMF	N,N-二甲基甲酰胺
[0140]	DMSO	二甲亚砜

[0141]	(ES <sup>+</sup> )	电喷雾离子化,正离子模式
[0142]	Et	乙基
[0143]	EtOAc	乙酸乙酯
[0144]	FCS	胎牛血清(foetal calf serum)
[0145]	HOBt	1-羟基苯并三唑
[0146]	hr	小时
[0147]	(M+H) <sup>+</sup>	质子化的分子离子
[0148]	Me	甲基
[0149]	MeCN	乙腈
[0150]	MeOH	甲醇
[0151]	MHz	兆赫
[0152]	min	分钟
[0153]	m/z:	质荷比
[0154]	NMP	1-甲基吡咯烷-2-酮(N-甲基-2-吡咯烷酮)
[0155]	NMR	核磁共振(波谱)
[0156]	Ph	苯基
[0157]	PBS	磷酸盐缓冲盐水
[0158]	PPh <sub>3</sub>	三苯基膦
[0159]	q	四重峰(quartet)
[0160]	RT	室温
[0161]	RP HPLC	反向高效液相色谱
[0162]	s	单重峰(singlet)
[0163]	SCX	固体支持的阳离子交换(树脂)
[0164]	S <sub>N</sub> Ar	亲核芳香族取代
[0165]	t	三重峰(triplet)
[0166]	TBAF	四丁基氟化铵
[0167]	TEA	三乙胺
[0168]	TFA	三氟乙酸
[0169]	THF	四氢呋喃
[0170]	TIPS-Cl	三异丙基氯硅烷
[0171]	TMB	3,3',5,5'-四甲基联苯胺
[0172]	XantPhos	4,5-双(三苯基膦基)-9,9-二甲基氧杂蒽
[0173]	HATU	N-[(二甲氨基)-1H-1,2,3-三唑并-[4,5-b]吡啶-1-基亚甲基]-

N-甲基甲铵六氟磷酸盐N-氧化物

[0174] 一般程序

[0175] 所有原料和溶剂或是获得自商业来源或是根据文献引用制备。除非另外指出的,搅拌所有反应。有机溶剂在无水硫酸镁上常规干燥。在所述条件下,在Thales H-cube流动反应器(Thales H-cube flow reactor)上进行氢化作用。

[0176] 使用指定量在预填二氧化硅(pre-packed silica)(230-400筛目,40-63μm)筒上

进行柱色谱。SCX购自Supelco并且在使用前以1M盐酸处理。除非另外陈述的,待被纯化的反应混合物首先用MeOH稀释并且用几滴AcOH使得其呈酸性。该溶液被直接上柱在SCX上并且用MeOH清洗。然后,所需的材料通过用1%NH<sub>3</sub>的MeOH溶液洗脱。

[0177] 分析方法

[0178] 反向高效液相色谱:

[0179] 分析型HPLC使用Waters Xselect CSH C18, 2.5 $\mu$ m, 4.6x30mm色谱柱执行,采用0.1%甲酸MeCN溶液的0.1%甲酸水溶液梯度洗脱;用Waters Xbridge BEH C18, 2.5 $\mu$ m, 4.6x30mm柱执行,采用MeCN的10mM碳酸氢铵水溶液梯度洗脱。使用二极管阵列或可变波长检测器在Agilent 1100系统上测量洗脱峰的UV光谱。

[0180] 使用Waters Xselect CSH C18, 2.5 $\mu$ m, 4.6x30mm色谱柱进行分析型LCMS,采用0.1%甲酸MeCN溶液的0.1%甲酸水溶液梯度洗脱(方法1);使用Waters Xbridge BEH C18, 2.5 $\mu$ m, 4.6x30mm色谱柱进行分析型LCMS,采用MeCN的10mM碳酸氢铵水溶液梯度洗脱(方法2)。使用在Agilent 1200或Agilent Infinity 1260LCMS上的可变波长检测器测量洗脱峰的UV和质谱,所述Agilent Infinity 1260LCMS具有带正和负离子电喷雾的6120单四极杆质谱仪。

[0181] 制备型HPLC使用Waters Xselect CSH C18, 5 $\mu$ m, 19x50mm柱进行,采用0.1%甲酸MeCN溶液的0.1%甲酸水溶液或者MeCN的10mM碳酸氢铵水溶液进行梯度洗脱;或者,利用Waters Xbridge BEH C18, 5 $\mu$ m, 19x50mm的色谱柱进行制备型HPLC,采用MeCN的10mM碳酸氢铵水溶液进行梯度洗脱。进行检测,然后收集级分,其中,该检测利用单波长的UV光谱进行,该单波长的UV光谱由Gilson 215制备型HPLC或Varian Prepstar制备型HPLC上的可变波长检测器测量;或者该检测利用质谱和单波长的UV光谱进行,质谱和单波长的UV光谱通过ZQ单四极杆质谱仪(带有正负离子电喷雾)和Waters FractionLynx LCMS上的双波长检测器测量。

[0182] <sup>1</sup>H NMR波谱分析:在Bruker Avance III光谱仪上以400MHz获得<sup>1</sup>H NMR波谱。氯仿-d<sub>3</sub>、二甲亚砜-d<sub>6</sub>的中心峰或四甲基硅烷的内标峰用作参比。

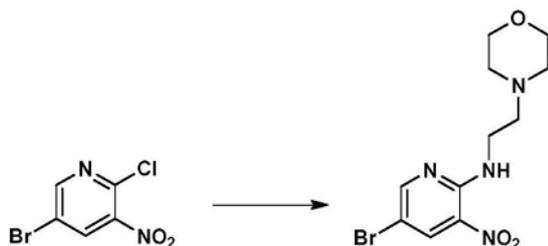
[0183] <sup>1</sup>H NMR光谱分析:

[0184] 使用残留的非氘化溶剂(residual undeuterated solvent)作为参比,在Bruker Avance III光谱仪上以400MHz获得<sup>1</sup>H NMR波谱。

[0185] 实施例1: 4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(1-(3-氟-4-甲氧基苯基)丙烷-2-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉二盐酸盐

[0186] 5-溴-N-(2-吗啉代乙基)-3-硝基吡啶-2-胺

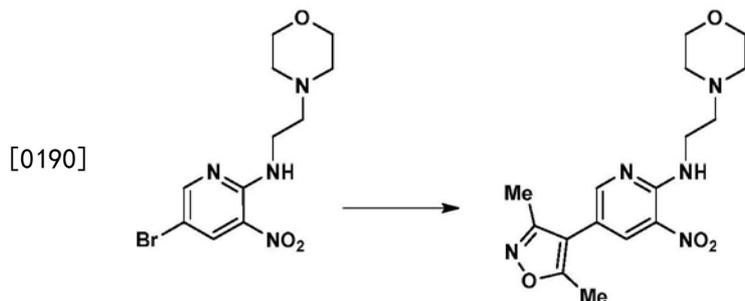
[0187]



[0188] 在冰水浴中,将THF (25mL) 中的2-吗啉代乙胺 (16.58ml, 126mmol) 添加至THF (50mL) 中的5-溴-2-氯-3-硝基吡啶 (10g, 42.1mmol) 中,并且所得混合物在室温下搅拌19小

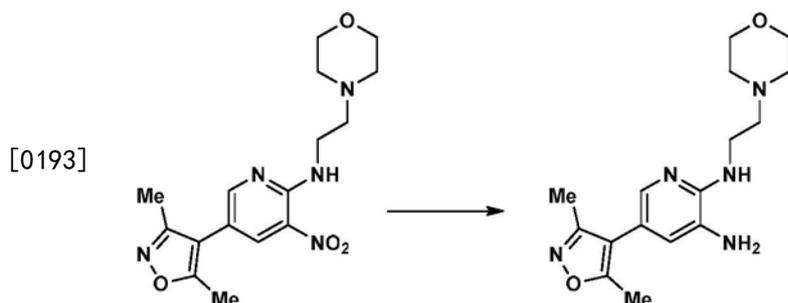
时。将所述混合物倾倒在冰水(400mL)上,并且将黄色沉淀物滤掉,用水(100mL)清洗并在真空烘箱中干燥,得到5-溴-N-(2-吗啉代乙基)-3-硝基吡啶-2-胺(10.85g,76%),为黄色产品; $m/z$  331/333 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>)。

[0189] 5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-N-(2-吗啉代乙基)-3-硝基吡啶-2-胺



[0191] 在氮气下,将四(三苯基膦)钯(0)(1.745g,1.510mmol)添加至1,4-二噁烷/水(3:1,100mL)中的碳酸钠(4.80g,45.3mmol)、5-溴-N-(2-吗啉代乙基)-3-硝基吡啶-2-胺(5g,15.10mmol)和(3,5-二甲基异噁唑-4-基)硼酸(3.83g,27.2mmol)的搅拌浆中,所述搅拌浆之前已经被超声并且用氮气脱气(degassed)。在氮气下,在进一步超声处理10分钟后,将稠混合物在100℃在氮气下搅拌16小时。将混合物冷却并且在盐水(200mL)和EtOAc(200mL)之间萃取。将有机层进一步用盐水(200mL)清洗并且干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)。通过快速色谱(120g,0至100%乙酸乙酯的异己烷溶液)得到5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-N-(2-吗啉代乙基)-3-硝基吡啶-2-胺(4.55g,84%),为鲜橙色油性固体; $m/z$  348 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>)。

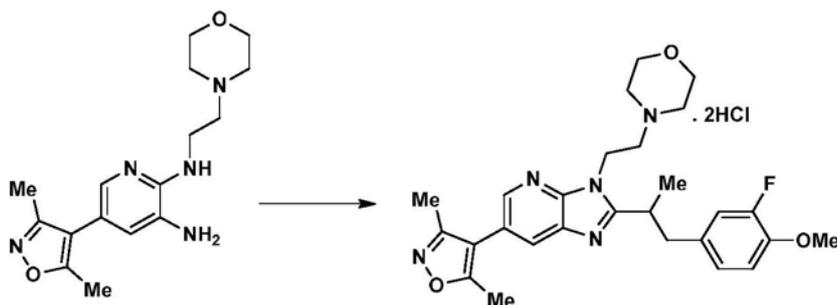
[0192] 5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-N<sup>2</sup>-(2-吗啉代乙基)吡啶-2,3-二胺



[0194] 将5%钯碳(paladium on activated Carbon)型87L糊状物(500mg)添加至乙醇(100mL)中的5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-N-(2-吗啉代乙基)-3-硝基吡啶-2-胺。将混合物在5bar压力下氢化过夜。LC-MS显示仍22%原料存在,因此氢化另一4小时。将混合物过滤并且在真空下蒸发。将粗产品通过Companion色谱(120g柱,0-10%MeOH的DCM溶液)纯化,得到5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-N<sup>2</sup>-(2-吗啉代乙基)吡啶-2,3-二胺(mg,%),为黑绿色胶; $m/z$  318 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>)。

[0195] 4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(1-(3-氟-4-甲氧基苯基)丙烷-2-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉二盐酸盐

[0196]

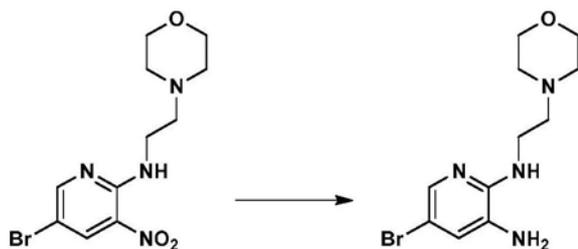


[0197] 将DIPEA (0.220ml, 1.260mmol) 逐滴添加至DMF (10mL) 中的5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-N<sup>2</sup>-(2-吗啉代乙基)吡啶-2,3-二胺 (0.2g, 0.630mmol)、3-(3-氟-4-甲氧基苯基)-2-甲基丙酸 (0.134g, 0.630mmol) 和HATU (0.359g, 0.945mmol) 的搅拌溶液中,并将所得棕色溶液在室温下搅拌16小时。混合物以2M NaOH (30mL) 处理,并且用水稀释并用二乙醚 (2x 150mL) 萃取。将有机层干燥 (MgSO<sub>4</sub>)、过滤并且在减压下蒸发,得到中间体,为棕色油。将所述油溶解在乙酸 (2mL) 中,并加热至100℃过夜。将混合物蒸发至干燥。将粗产品通过Companion色谱 (40g柱, 0-100%乙酸乙酯的异己烷溶液) 纯化。用1M HCl的乙酸乙酯溶液将游离碱转化为盐酸盐,得到4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(1-(3-氟-4-甲氧基苯基)丙烷-2-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉二盐酸盐1 (160mg, 44%), 为霜状固体; Rt 1.53min; m/z 494 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>); <sup>1</sup>H NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) δ: 11.82 (s, 1H), 8.37 (d, 1H), 8.15 (d, 1H), 7.23 (d, 1H), 7.10-7.00 (m, 2H), 4.79 (t, 2H), 4.09-3.92 (m, 2H), 3.91-3.80 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.77-3.71 (m, 1H), 3.69-3.59 (m, 1H), 3.59-3.45 (m, 1H), 3.41-3.29 (m, 1H), 3.27-3.13 (m, 3H), 3.17 (dd, 1H), 2.93 (dd, 1H), 2.42 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 1.32 (d, 3H)。

[0198] 实施例2 4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉

[0199] 5-溴-N<sup>2</sup>-(2-吗啉代乙基)吡啶-2,3-二胺

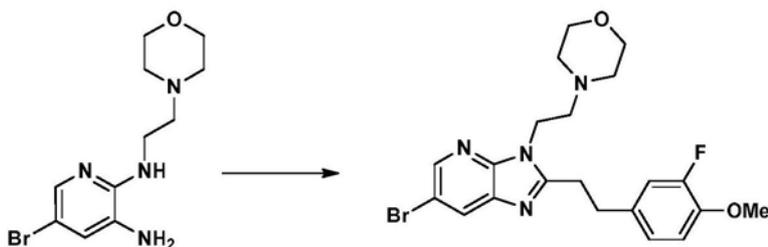
[0200]



[0201] 将浓缩的氢氧化铵水溶液 (1.5ml, 38.5mmol) 随后连二亚硫酸钠 (4.64g, 22.65mmol) 添加至THF/水 (120mL) 中的5-溴-N-(2-吗啉代乙基)-3-硝基吡啶-2-胺 (0.75g, 2.265mmol)。将混合物搅拌30mn, 然后萃取至EtOAc (100mL) 中。将有机层用盐水 (100mL) 清洗、干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并在真空中蒸发, 得到5-溴-N<sup>2</sup>-(2-吗啉代乙基)吡啶-2,3-二胺 (500mg, 1.577mmol, 69.6%产率), 为粉色油; m/z 301/303 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>)。

[0202] 4-(2-(6-溴-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉

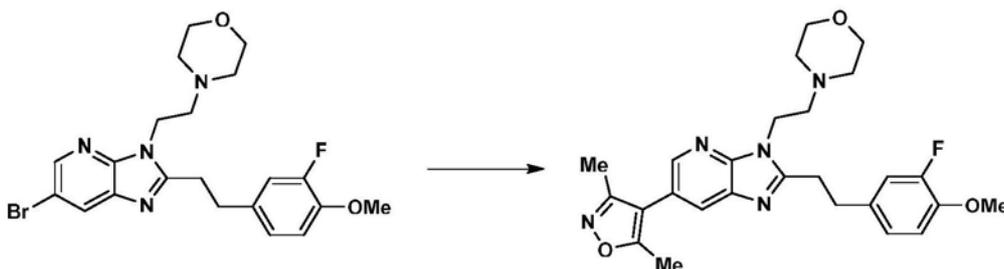
[0203]



[0204] 将EtOAc中的2,4,6-三丙基-1,3,5,2,4,6-三氧杂三膦烷(trioxatriphosphinane)2,4,6-三氧化物(4.89ml,8.30mmol)添加至EtOAc(2mL)中的5-溴-N2-(2-吗啉代乙基)吡啶-2,3-二胺(0.5g,1.660mmol)、DIPEA(0.313ml,1.793mmol)和3-(3-氟-4-甲氧基苯基)丙酸(0.355g,1.793mmol)。将所得混合物在80℃下搅拌4.5小时,然后在100℃下过夜。将混合物以NaHCO<sub>3</sub>(25mL)、DCM(25mL)处理,并且通过相分离器分离层。添加乙酸(20mL),并且在100℃搅拌混合物2.5天。将混合物在真空中蒸发,并以2N氢氧化钠(15mL)和DCM(20mL)处理。将有机层通过相分离器回收,并且在真空中蒸发,为红色油。将粗产品在通过硅胶快速色谱(40g柱,0-4%MeOH的DCM溶液)纯化,得到4-(2-(6-溴-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉(479mg,59%),为淡棕色油:m/z 463/465(M+H)<sup>+</sup>(ES<sup>+</sup>)。

[0205] 4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉

[0206]

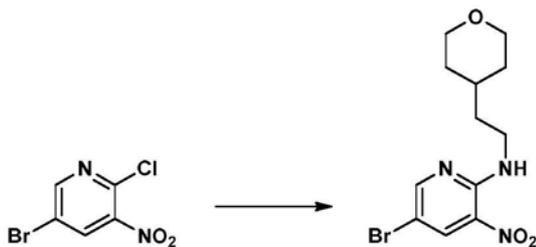


[0207] 在氮气下,将四(三苯基膦)钯(0)(37.4mg,0.032mmol)添加至3:1的1,4-二噁烷/水(5mL)中的钠(103mg,0.971mmol)、4-(2-(6-溴-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉(150mg,0.324mmol)和(3,5-二甲基异噁唑-4-基)硼酸(82mg,0.583mmol)的搅拌浆中,所述搅拌浆之前已经被超声并且用氮气脱气。在氮气下,在进一步超声处理10分钟后,在100℃在氮气下搅拌稠混合物3小时。将混合物冷却至室温,在DCM(15mL)和盐水(15mL)之间分配并且通过相分离器回收有机层,并在真空中蒸发。通过快速色谱(12g,0-3%MeOH的DCM)得到4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉2(122mg,77%),为淡黄色油;Rt 1.88min(方法1);m/z 480(M+H)<sup>+</sup>(ES<sup>+</sup>);<sup>1</sup>H NMR(d<sub>6</sub>-DMSO)δ:8.28(d,1H),8.04(d,1H),7.27-7.19(m,1H),7.12-7.05(m,2H),4.36(t,2H),3.81(s,3H),3.49(t,4H),3.31-3.25(m,2H),3.21-3.13(m,2H),2.64(t,2H),2.45(t,4H),2.43(s,3H),2.25(s,3H)。

[0208] 实施例3 4-(2-(4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基)-3,5-二甲基异噁唑

[0209] 5-溴-3-硝基-N-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)吡啶-2-胺

[0210]



[0211] 在氮气下,将5-溴-2-氯-3-硝基吡啶(5.73g,24.15mmol)溶解在干燥THF(50ml,610mmol)和TEA(10.10ml,72.4mmol)中,添加2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙胺盐酸盐(5g,30.2mmol),并且所得悬浮液在RT下搅拌整个周末。将反应混合物倾倒在冰/水(100ml)上,将所得黄色沉淀物过滤,用冰冷的水(25ml)清洗,在真空中干燥,得到(7.49g,92%),为亮黄色固体; $m/z$  330/332 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>)。

[0212] 5-溴-N<sup>2</sup>-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)吡啶-2,3-二胺

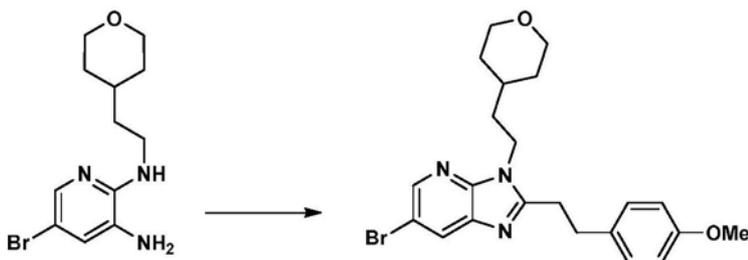
[0213]



[0214] 将5-溴-3-硝基-N-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)吡啶-2-胺(3.5g,10.60mmol)溶解在EtOH(150ml,2569mmol)中,添加Pt-199(29型)(350mg,10.60mmol),并将反应混合物放置在氢化容器中。将反应混合物在H<sub>2</sub>(2巴)下放置过夜,容器再充气两次至2巴。反应混合物通过硅藻土床过滤,以EtOH冲洗,将滤液在真空中浓缩,得到(3.19g,95%),为灰色固体; $m/z$ 300/302 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>)。

[0215] 6-溴-2-(4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶

[0216]

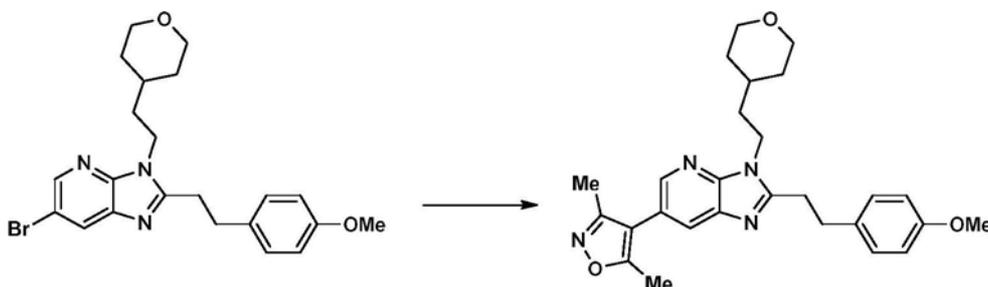


[0217] 在氮气下,将5-溴-N<sup>2</sup>-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)吡啶-2,3-二胺(2g,6.33mmol)、3-(4-甲氧基苯基)丙酸(1.369g,7.60mmol)和HATU(2.89g,7.60mmol)溶解在干燥DMF(40ml,517mmol)中。添加DIPEA(2.211ml,12.66mmol),并且反应混合物在RT下搅拌过夜。将反应混合物在真空中浓缩,残留物溶解在EtOAc(250ml)中,用水(50ml)、饱和的NaHCO<sub>3</sub>(50ml)、水(50ml)、盐水(50ml)清洗,将有机物在MgSO<sub>4</sub>上干燥、过滤并且在真空中浓缩,得到酰胺中间体,其溶解在冰AcOH(45ml,786mmol)中,并加热至100℃过夜,然后在RT下整个周末。将反应混合物在真空中浓缩,残留物提取在EtOAc(200ml)中,用NaHCO<sub>3</sub>(50ml)、水(50ml)、盐水(50ml)清洗,在MgSO<sub>4</sub>上干燥,过滤并且在真空中浓缩,得到稠的棕色油,其通过Companion色谱(80g Grace柱,0-10%MeCN的EtOAc溶液,干法上样)被纯化,得到6-溴-

2-(4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶 (2.05g, 38%), 为红色油;  $m/z$  444/446 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>)。

[0218] 4-(2-(4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基)-3,5-二甲基异噁唑

[0219]

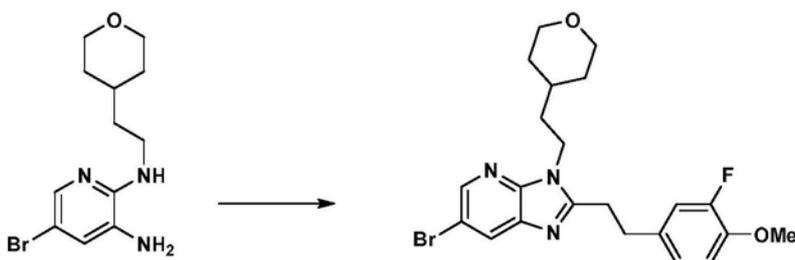


[0220] 将四(三苯基膦)钯(0) (65.0mg, 0.056mmol) 添加至3:1 1,4-二噁烷/水(4mL) 中的碳酸钠(179mg, 1.688mmol)、6-溴-2-(4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶(250mg, 0.563mmol) 和(3,5-二甲基异噁唑-4-基)硼酸(119mg, 0.844mmol) 的浆液中, 所述浆液之前已经被超声并且用氮气脱气。在氮气下, 将反应混合物在100℃搅拌1小时。在冷却至rt后, 将反应混合物在乙酸乙酯(30ml) 和水(10ml) 之间分配。将有机相用盐水(2x 10ml) 清洗, 收集并且吸附至二氧化硅上。将粗材料通过色谱(4g 二氧化硅, 0-10% 甲醇的DCM溶液, 梯度洗脱) 纯化, 得到4-(2-(4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基)-3,5-二甲基异噁唑(27mg, 10%), 为粘的米白色固体;  $R_t$  2.06min;  $m/z$  461 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>); <sup>1</sup>H NMR (d<sub>6</sub>-DMSO)  $\delta$ : 8.28 (d, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.22 (d, 2H), 6.85 (d, 2H), 4.23 (t, 2H), 3.82 (dd, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.28-3.22 (m, 2H), 3.22-3.17 (m, 2H), 3.16-3.10 (m, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 1.65 (d, 2H), 1.62-1.55 (m, 2H), 1.55-1.46 (m, 1H), 1.20 (dd, 1H), 1.18 (dd, 1H)。

[0221] 实施例4 4-(2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基)-3,5-二甲基异噁唑

[0222] 6-溴-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶

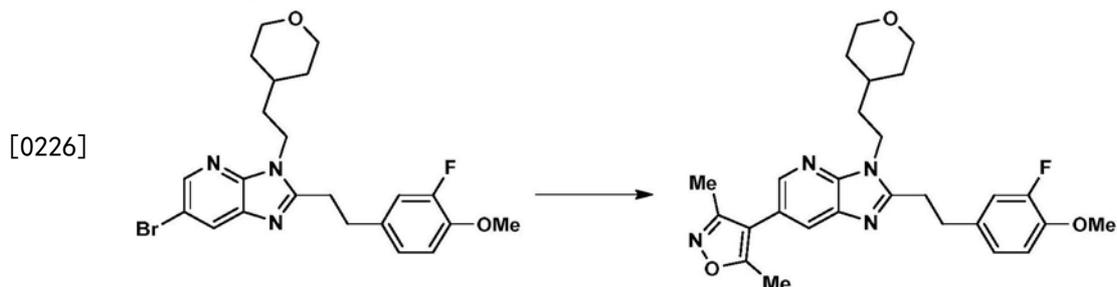
[0223]



[0224] 在氮气下, 将5-溴-N<sup>2</sup>-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)吡啶-2,3-二胺(0.6g, 1.899mmol)、3-(3-氟-4-甲氧基苯基)丙酸(0.452g, 2.279mmol) 和HATU(0.866g, 2.279mmol) 溶解在干燥DMF(12ml, 155mmol) 中。添加DIPEA(0.663ml, 3.80mmol), 并且将反应混合物在RT搅拌过夜。将反应混合物在真空中浓缩, 残留物溶解在EtOAc(125ml) 中, 用水(25ml)、饱和的NaHCO<sub>3</sub>(25ml)、水(25ml)、盐水(25ml) 清洗, 将有机物在MgSO<sub>4</sub>上干燥, 过滤并在真空中浓缩, 得到酰胺中间体, 其溶解在AcOH(25ml, 437mmol) 中, 并加热至100℃过夜, 然后在RT整个周末。将反应混合物在真空中浓缩, 残留物提取在EtOAc(100ml) 中, 用NaHCO<sub>3</sub>

(25ml)、水(25ml)、盐水(25ml)清洗,在MgSO<sub>4</sub>上干燥,过滤并在真空中浓缩,得到棕色油,990mg。LCMS显示这为~95%产物。将粗产品通过Companion色谱(40g柱,0-5%MeCN的EtOAc溶液,干法上样)纯化,得到6-溴-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶(562mg,57%),为粉色油;m/z 462/464 (M+H)<sup>+</sup>(ES<sup>+</sup>)。

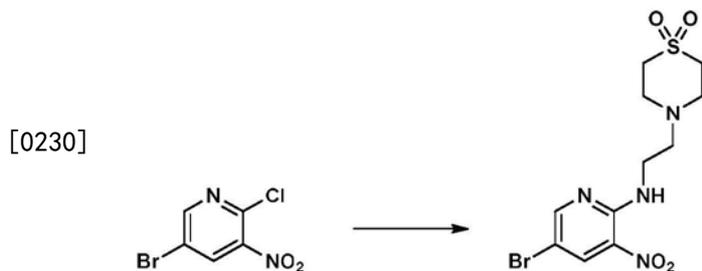
[0225] 4-(2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基)-3,5-二甲基异噁唑



[0227] 在氮气下,将四(三苯基膦)钯(0)(62.5mg,0.054mmol)添加至1,4-二噁烷/水(3:1,4mL)中的碳酸钠(172mg,1.622mmol)、6-溴-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶(250mg,0.541mmol)和(3,5-二甲基异噁唑-4-基)硼酸(114mg,0.811mmol)的浆液中,所述浆液之前已经被超声并且用氮气脱气。在氮气下,将反应混合物在100℃搅拌1小时。在冷却至rt之后,将反应混合物在乙酸乙酯(30ml)和水(10ml)之间分配。将有机相用盐水(2x 10ml)清洗,收集并吸附在二氧化硅上。将粗材料通过色谱(4g二氧化硅,0-10%甲醇的DCM溶液,梯度洗脱),随后通过SCX色谱纯化,得到4-(2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3-(2-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-6-基)-3,5-二甲基异噁唑(34mg,13%),为胶黏的米白色固体;Rt 2.11min(方法1);m/z 479 (M+H)<sup>+</sup>(ES<sup>+</sup>);<sup>1</sup>H NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) δ:8.28 (d,1H),8.04 (d,1H),7.21 (d,1H),7.10-7.03 (m,2H),4.25 (t,2H),3.84 (dd,2H),3.79 (s,3H),3.29-3.19 (m,4H),3.19-3.11 (m,2H),2.42 (s,3H),2.24 (s,3H),1.66 (d,2H),1.62-1.57 (m,2H),1.56-1.47 (m,1H),1.21 (dd,1H),1.17 (dd,1H)。

[0228] 实施例5 4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)硫代吗啉-1,1-二氧化物

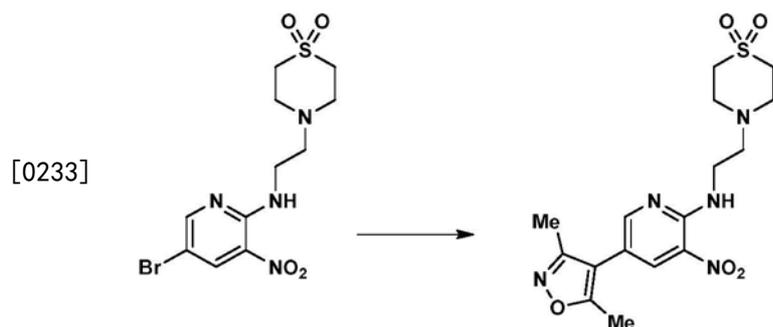
[0229] 4-(2-((5-溴-3-硝基吡啶-2-基)氨基)乙基)硫代吗啉1,1-二氧化物



[0231] 在冰水浴中,将THF(25mL)中的4-(2-氨基乙基)硫代吗啉1,1-二氧化物(1.051g,5.90mmol)逐滴添加至THF(50mL)中的5-溴-2-氯-3-硝基吡啶(1.4g,5.90mmol)和TEA(1.644ml,11.79mmol)中,并且将所得混合物在室温下搅拌19小时。将所述混合物倾倒在冰水(400mL)上并将黄色沉淀物过滤,用水100mL清洗并在真空烘箱中干燥,得到产物,为黄

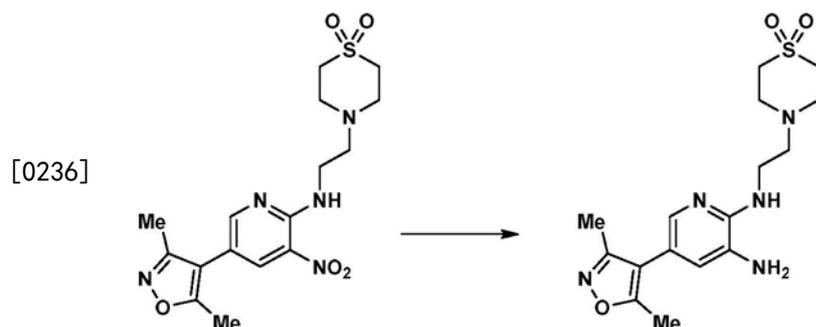
色固体。酸/碱萃取去除原料,得到4-(2-((5-溴-3-硝基吡啶-2-基)氨基)乙基)硫代吗啉1,1-二氧化物(1.01g,45%),为结晶黄色固体; $m/z$  379/381 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>)。

[0232] 4-(2-((5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-3-硝基吡啶-2-基)氨基)乙基)硫代吗啉1,1-二氧化物



[0234] 在氮气下,将四(三苯基膦)钯(0)(0.308g,0.266mmol)添加至1,4-二噁烷/水(3:1,40mL)中的碳酸钠(0.847g,7.99mmol)、4-(2-((5-溴-3-硝基吡啶-2-基)氨基)乙基)硫代吗啉-1,1-二氧化物(1.01g,2.66mmol)和(3,5-二甲基异噁唑-4-基)硼酸(0.676g,4.79mmol)的搅拌浆中,所述搅拌浆之前已经被超声并且用氮气脱气。在氮气下,在进一步超声处理10分钟后,将稠混合物在100℃在氮气下搅拌3小时。将混合物冷却并用1M HCl酸化,用乙酸乙酯(100mL)萃取。将水层用2M NaOH再碱化并用EtOAc(200mL)萃取。将有机层进一步用盐水(200mL)清洗,并干燥(MgSO<sub>4</sub>),得到4-(2-((5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-3-硝基吡啶-2-基)氨基)乙基)硫代吗啉1,1-二氧化物(1.03g,88%),为棕色粘性固体; $m/z$  396 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>)。

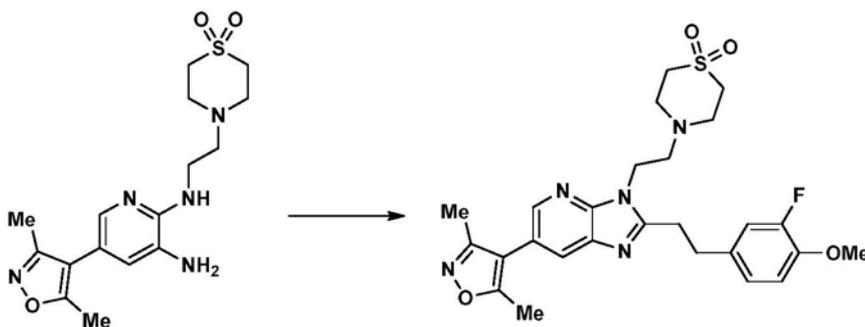
[0235] 4-(2-((3-氨基-5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)吡啶-2-基)氨基)乙基)硫代吗啉1,1-二氧化物



[0237] 将5%钯碳型87L糊状物(100mg)添加至乙醇(50mL)中的4-(2-((5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-3-硝基吡啶-2-基)氨基)乙基)硫代吗啉1,1-二氧化物(1.03g,2.60mmol)中,在5巴的压力下将容器充以H<sub>2</sub>过夜,然后将混合物通过硅藻土过滤,并在真空中蒸发。将粗产品通过Companion色谱(40g柱,0-10%MeOH的DCM溶液)纯化,得到4-(2-((3-氨基-5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)吡啶-2-基)氨基)乙基)硫代吗啉1,1-二氧化物(0.44g,42%),为棕色胶; $m/z$  366 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>)。

[0238] 4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)硫代吗啉-1,1-二氧化物

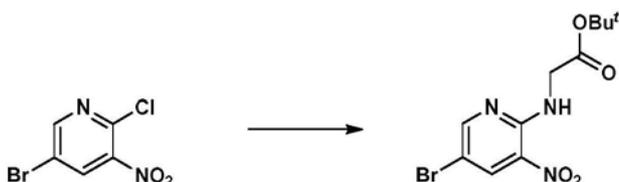
[0239]



[0240] 将DIPEA (0.201ml, 1.149mmol) 逐滴添加至DMF (10mL) 中的4-(2-((3-氨基-5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)吡啶-2-基)氨基)乙基)硫代吗啉1,1-二氧化物 (0.21g, 0.575mmol) 3-(3-氟-4-甲氧基苯基)丙酸 (0.114g, 0.575mmol) 和HATU (0.328g, 0.862mmol) 的搅拌溶液中, 并将所得棕色溶液在室温搅拌16小时。将混合物以2M NaOH (30mL) 处理并且用水稀释和用二乙醚萃取 (2x 150mL) (X2)。将有机层干燥 (MgSO<sub>4</sub>)、过滤并且在减压下蒸发, 得到酰胺中间体, 其溶解在乙酸 (2mL) 中, 并加热至100℃过夜。将混合物蒸发至干燥, 并将残留物通过Companion快速色谱 (40g柱, 0-10% MeOH的DCM溶液) 来纯化, 得到粗产物。通过快速色谱 (0-100% 乙酸乙酯的异己烷溶液) 的进一步纯化得到4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)硫代吗啉1,1-二氧化物 (114mg, 36%), 为米白色固体; Rt 1.89min (方法1); m/z 528 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>); <sup>1</sup>HNMR (d<sub>6</sub>-DMSO) δ: 8.27 (d, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.27-7.20 (m, 1H), 7.12-7.04 (m, 2H), 4.36 (t, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.31-3.24 (m, 2H), 3.19-3.12 (m, 2H), 2.98 (s, 8H), 2.86 (t, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.24 (s, 3H)。

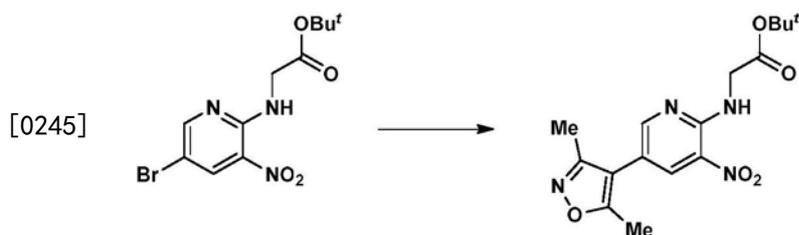
[0241] 实施例6 2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-N-(四氢呋喃-3-基)乙酰胺叔丁基2-((5-溴-3-硝基吡啶-2-基)氨基)乙酸酯

[0242]



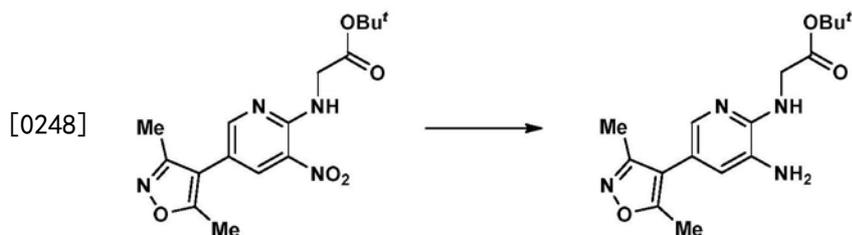
[0243] 向在水浴中冷却的THF (50mL) 中的5-溴-2-氯-3-硝基吡啶 (10g, 42.1mmol) 和叔丁基2-氨基乙酸酯盐酸盐 (21.18g, 126mmol) 中逐滴添加THF (15mL) 中的TEA (29.4ml, 211mmol)。将所得橙色混合物在室温搅拌24小时, 然后添加冰-水 (250mL)。将黄色沉淀物萃取至EtOAc (300mL) 中, 并将有机层用盐水 (300mL) 清洗, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并在真空中蒸发, 得到叔丁基2-((5-溴-3-硝基吡啶-2-基)氨基)乙酸酯 (11.85g, 83%), 为棕色油; m/z 290/292 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>)。

[0244] 叔丁基2-((5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-3-硝基吡啶-2-基)氨基)乙酸酯



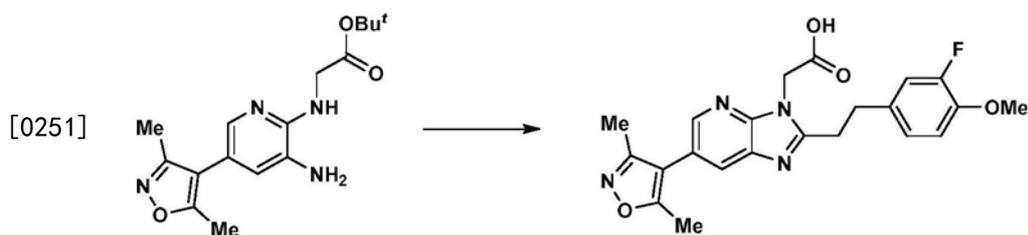
[0246] 在氮气下,将四(三苯基膦)钯(0) (2.73g, 2.363mmol) 添加至1,4-二噁烷/水(3:1, 100mL) 中的碳酸钠(7.51g, 70.9mmol)、叔丁基2-((5-溴-3-硝基吡啶-2-基)氨基)乙酸酯(7.85g, 23.63mmol) 和(3,5-二甲基异噁唑-4-基)硼酸(6.00g, 42.5mmol) 的搅拌浆中,所述搅拌浆之前已经被超声并且用氮气脱气。在氮气下,在进一步超声处理10分钟后,将稠混合物在100°C在氮气下搅拌16小时。将混合物冷却并用水(200mL) 稀释,并用EtOAc(200mL) 萃取。将有机层进一步用盐水(200mL) 清洗,干燥(MgSO<sub>4</sub>), 过滤并在真空中蒸发。将粗产品通过硅胶色谱(220g柱, 0-100%DCM的异己烷溶液) 纯化,得到叔丁基2-((5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-3-硝基吡啶-2-基)氨基)乙酸酯(4.28g, 47%), 为橙色固体;m/z 349 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>)。

[0247] 叔丁基2-((3-氨基-5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)吡啶-2-基)氨基)乙酸酯



[0249] 将5%钯碳型87L糊状物(400mg) 添加至乙醇(50mL) 中的叔丁基2-((5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-3-硝基吡啶-2-基)氨基)乙酸酯(4.14g, 11.88mmol) 中。将容器在1巴的压力下充以H<sub>2</sub> 44h。将混合物过滤并且在真空下蒸发,得到叔丁基2-((3-氨基-5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)吡啶-2-基)氨基)乙酸酯(3.32g, 86%), 为深棕色油;m/z 319 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>)。

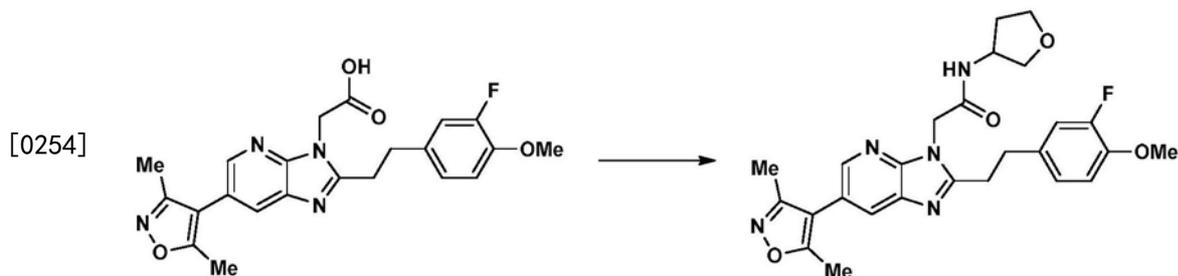
[0250] 2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙酸



[0252] 将DIPEA(1.317ml, 7.54mmol) 逐滴添加至DMF(5mL) 中的叔丁基2-((3-氨基-5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)吡啶-2-基)氨基)乙酸酯(1.2g, 3.77mmol)、3-(3-氟-4-甲氧基苯基)丙酸(0.747g, 3.77mmol) 和HATU(2.150g, 5.65mmol) 的搅拌溶液中,并将所得棕色溶解在室温搅拌16小时。将混合物以2M NaOH(30mL) 处理和用水稀释,并用二乙醚(2x 150mL) (X2) 萃取。将有机层干燥(MgSO<sub>4</sub>)、过滤并且在减压下蒸发,得到中间体,为棕色油。将所述油溶解在乙酸(5mL) 中,并加热至100°C过夜。将混合物蒸发至干燥,并将残留物通过

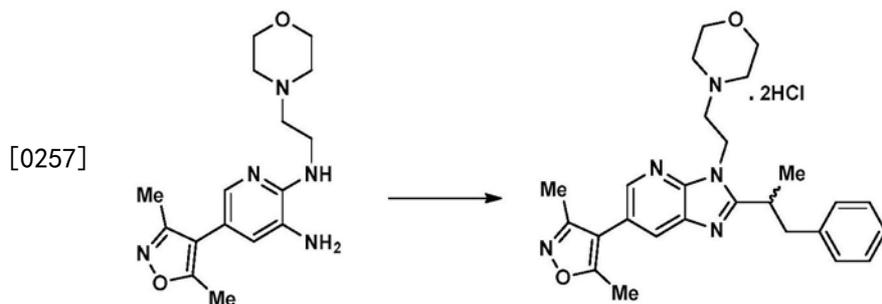
Companion色谱(40g柱,0-10%MeOH的DCM溶液)纯化,得到2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙酸(0.675g,21%),为深绿色固体; $m/z$  425 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>)。

[0253] 2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-N-(四氢呋喃-3-基)乙酰胺



[0255] 将DIPEA(0.062ml,0.353mmol)逐滴添加至DMF(5mL)中的2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙酸(0.075g,0.177mmol)、四氢呋喃-3-胺(0.018g,0.212mmol)和HATU(0.101g,0.265mmol)的搅拌溶液中,并将所得棕色溶液在室温搅拌16小时。将混合物在减压下蒸发并且残留物通过制备型HPLC(水,酸性的(0.1%甲酸),酸性的,Waters X-Select Prep-C18,5 $\mu$ m,19x50mm柱,20-50%MeCN的水溶液)纯化,得到2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-N-(四氢呋喃-3-基)乙酰胺6(25mg,28%),为浅粉色固体;酸性的,Rt 1.74min(方法1); $m/z$  494 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>);<sup>1</sup>H NMR(d<sub>6</sub>-DMSO)  $\delta$ :8.73(d,1H),8.27(d,1H),8.06(d,1H),7.26-7.18(m,1H),7.12-7.04(m,2H),4.98(s,2H),4.31-4.21(m,1H),3.86-3.81(m,1H),3.81(s,3H),3.74(dd,1H),3.71-3.65(m,1H),3.51(dd,1H),3.18-3.09(m,4H),2.42(s,3H),2.25(s,3H),2.20-2.05(m,1H),1.84-1.69(m,1H)。

[0256] 7 4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(1-苯基丙烷-2-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉二盐酸盐



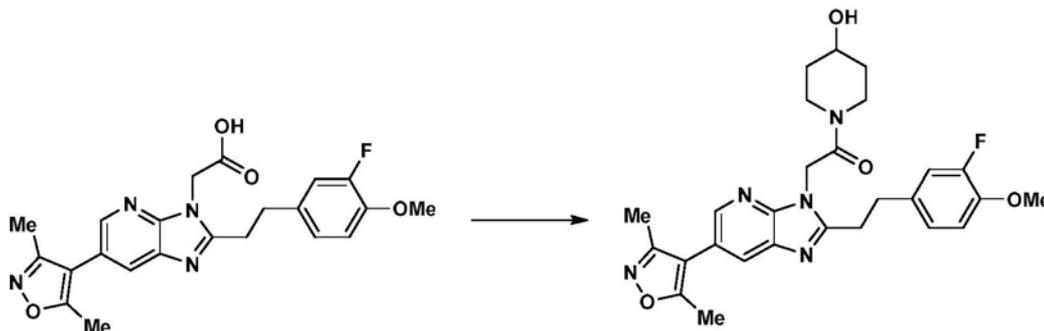
[0258] 将EtOAc(3151 $\mu$ l,0.630mmol)中的5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-N2-(2-吗啉代乙基)吡啶-2,3-二胺(200mg,0.630mmol)、2-甲基-3-苯基丙酸(103mg,0.630mmol)、T3P(EtOAc中的50%wt)(938 $\mu$ l,3.15mmol)、DIPEA(121 $\mu$ l,0.693mmol)的混合物在70 $^{\circ}$ C添加,过夜。将所述混合物用饱和的NaHCO<sub>3</sub>水溶液(10mL)稀释,用乙酸乙酯(15mL)萃取,干燥(MgSO<sub>4</sub>),并蒸发至干燥。将油再溶解在冰醋酸(3mL)中并在100 $^{\circ}$ C加热16小时。将混合物冷却至RT,并将挥发物在真空中去除。将粗产品通过Companion色谱(12g柱,0-10%MeOH的DCM溶液,随后0-100%乙酸乙酯的异己烷溶液)纯化。将1M HCl的乙酸乙酯溶液添加至乙酸乙酯中的粗产物中,得到4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(1-苯基丙烷-2-基)-3H-咪

唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉二盐酸盐(0.047g,14%),为霜状固体;Rt 1.32min(方法1);m/z 442(M+H)<sup>+</sup>(ES<sup>+</sup>);<sup>1</sup>H NMR(d6-DMSO)δ:11.63(s,1H),8.35(d,1H),8.16(d,1H),7.32-7.24(m,4H),7.23-7.17(m,1H),4.71(t,2H),4.55(s,2H),4.04-3.93(m,2H),3.90-3.78(m,2H),3.57(dd,2H),3.49-3.38(m,1H),3.28-3.11(m,3H),3.00(dd,1H),2.43(s,3H),2.25(s,3H),1.36(d,3H)。

[0259] 实施例8 2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1-(4-羟基哌啶-1-基)乙-1-酮

[0260] 2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1-(4-羟基哌啶-1-基)乙-1-酮

[0261]

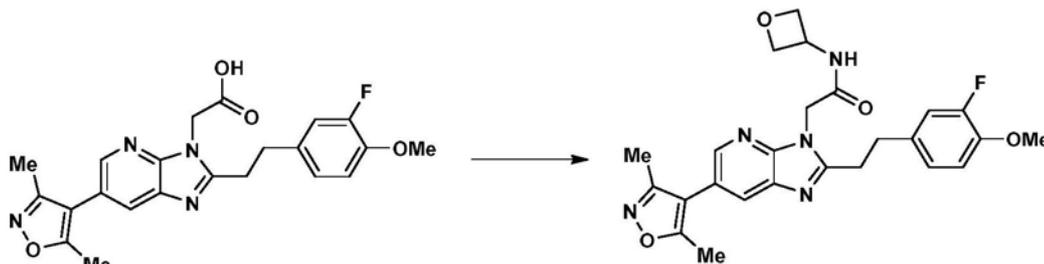


[0262] 将DIPEA(0.062ml,0.353mmol)逐滴添加至DMF(5mL)中的2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙酸(0.075g,0.177mmol)、哌啶-4-醇(0.021g,0.212mmol)和HATU(0.101g,0.265mmol)的搅拌溶液中,并将所得棕色溶液在室温搅拌16小时。在减压下蒸发混合物。将粗残留物通过制备型HPLC(Waters,酸性的(0.1%甲酸),酸性的,Waters X-Select Prep-C18,5μm,19x50mm柱,20-50%MeCN的水溶液),然后通过硅胶色谱(12g柱,0-10%MeOH的DCM溶液)纯化,得到2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1-(4-羟基哌啶-1-基)乙酮(15mg,17%),为淡黄色固体;Rt 1.71min(方法1),m/z 508(M+H)<sup>+</sup>(ES<sup>+</sup>);<sup>1</sup>H NMR(d6-DMSO)δ:8.25(d,1H),8.06(d,1H),7.21(dd,1H),7.12-7.04(m,2H),5.29(d,2H),4.83(d,1H),3.86(dt,2H),3.81(s,3H),3.79-3.71(m,1H),3.40-3.31(m,2H),3.12-3.05(m,4H),2.42(s,3H),2.25(s,3H),1.93-1.82(m,1H),1.77-1.66(m,1H),1.56-1.44(m,1H),1.35-1.23(m,1H)。

[0263] 实施例9 2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-N-(氧杂环丁烷-3-基)乙酰胺

[0264] 2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-N-(氧杂环丁烷-3-基)乙酰胺

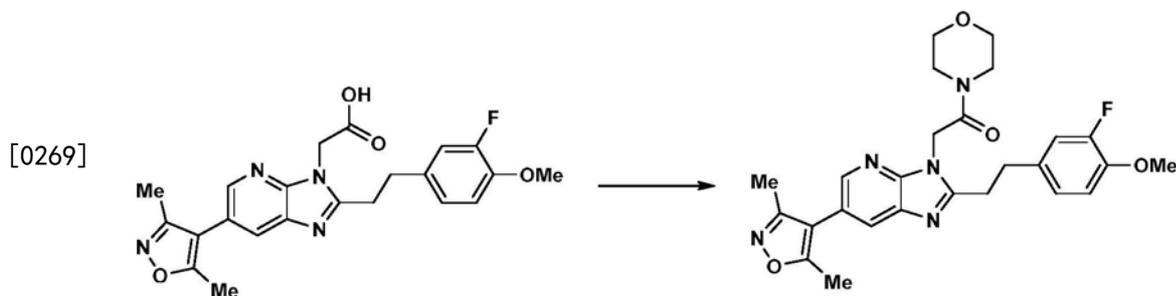
[0265]



[0266] 将DIPEA (0.107ml, 0.613mmol) 逐滴添加至DMF (5mL) 中的2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基) 乙酸 (0.130g, 0.306mmol)、氧杂环丁-3-胺 (0.022g, 0.306mmol) 和HATU (0.175g, 0.459mmol) 的搅拌溶液中, 并且将所得棕色溶液在室温搅拌16小时。在减压下蒸发混合物, 并将残留物通过制备型HPLC (Waters, 酸性的 (0.1% 甲酸), 酸性的, Waters X-Select Prep-C18, 5 $\mu$ m, 19x50mm柱, 20-50% MeCN的水溶液) 纯化, 得到2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-N-(氧杂环丁烷-3-基) 乙酰胺 (0.057g, 37%), 为浅灰色固体; Rt 1.74min (方法1); m/z 480 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>); <sup>1</sup>H NMR (d6-DMSO)  $\delta$ : 9.23 (d, 1H), 8.26 (d, 1H), 8.06 (d, 1H), 7.21 (dd, 1H), 7.12-7.03 (m, 2H), 5.01 (s, 2H), 4.87-4.77 (m, 1H), 4.73 (t, 2H), 4.46 (t, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.19-3.06 (m, 4H), 2.42 (s, 3H), 2.24 (s, 3H)。

[0267] 实施例10 2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1-吗啉代乙-1-酮

[0268] 2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1-吗啉代乙-1-酮

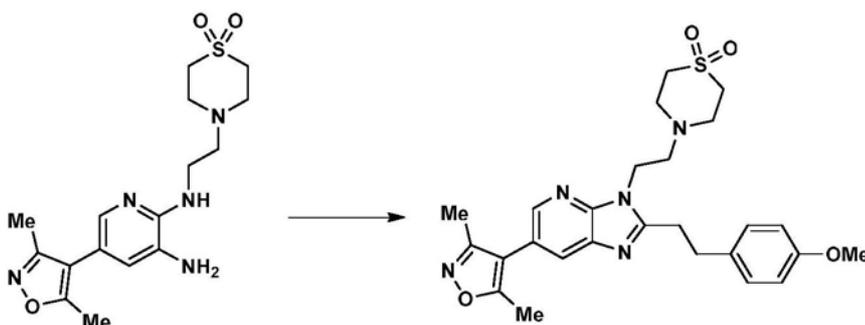


[0270] 将DIPEA (0.107ml, 0.613mmol) 逐滴添加至DMF (5mL) 中的HATU (0.175g, 0.459mmol)、吗啉 (0.027g, 0.306mmol) 和2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基) 乙酸 (0.130g, 0.306mmol) 的搅拌溶液中, 并且将所得棕色溶液在室温搅拌16小时。在减压下蒸发混合物, 并将残留物通过制备型HPLC (Waters, 酸性的 (0.1% 甲酸), 酸性的, Waters X-Select Prep-C18, 5 $\mu$ m, 19x50mm柱, 35-65% MeCN的水溶液) 纯化, 得到2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1-吗啉代乙酮 (53mg, 4.4%), 为浅粉色固体; 酸性的, Rt 1.86min (方法); m/z 494 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>); <sup>1</sup>H NMR (d6-DMSO)  $\delta$ : 8.24 (d, 1H), 8.05 (d, 1H), 7.20 (dd, 1H), 7.12-7.04 (m, 2H), 5.30 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.75-3.68 (m, 2H), 3.68-3.63 (m, 2H), 3.63-3.55 (m, 2H), 3.50-3.41 (m, 2H), 3.15-3.05 (m, 4H), 2.42 (s, 3H), 2.24 (s, 3H)。

[0271] 实施例11 4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基) 乙基) 硫代吗啉1,1-二氧化物

[0272] 4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基) 乙基) 硫代吗啉1,1-二氧化物

[0273]

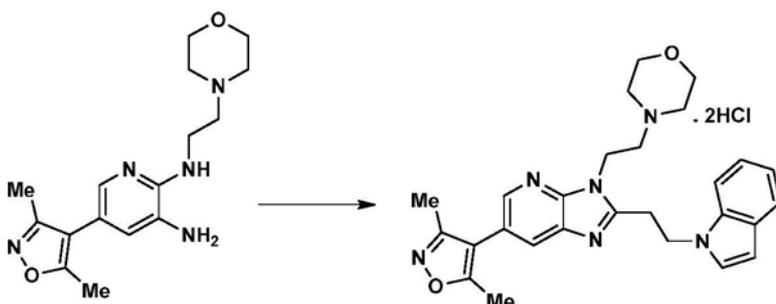


[0274] 将DIPEA (0.201ml, 1.149mmol) 逐滴添加至DMF (10mL) 中的4-(2-((3-氨基-5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)吡啶-2-基)氨基)乙基)硫代吗啉1,1-二氧化物 (0.21g, 0.575mmol)、3-(4-甲氧基苯基)丙酸 (0.104g, 0.575mmol) 和HATU (0.328g, 0.862mmol) 的搅拌溶液中,并将所得棕色溶液在室温搅拌16小时。将混合物以2M NaOH (30mL) 处理,并且用水稀释和用二乙醚萃取 (2x150mL)。将有机层干燥 (MgSO<sub>4</sub>)、过滤并且在减压下蒸发,得到中间体,为棕色油。将所述油溶解在乙酸 (2mL) 中,并加热至100℃过夜。将混合物蒸发至干燥,并将残留物通过Companion色谱 (40g柱, 0-10% MeOH的DCM溶液) 纯化,随后通过快速色谱进一步纯化,得到4-(2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)硫代吗啉1,1-二氧化物 (142mg, 48%), 为米白色固体; Rt 1.83min (方法1); m/z 510 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>); <sup>1</sup>H NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) δ: 8.27 (d, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.24 (d, 2H), 6.86 (d, 2H), 4.33 (t, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.30-3.21 (m, 2H), 3.19-3.11 (m, 2H), 2.97 (s, 8H), 2.84 (t, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.24 (s, 3H)。

[0275] 实施例12 4-(2-(2-(2-(1H-吡啶-1-基)乙基)-6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉二盐酸盐

[0276] 4-(2-(2-(2-(1H-吡啶-1-基)乙基)-6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉二盐酸盐

[0277]

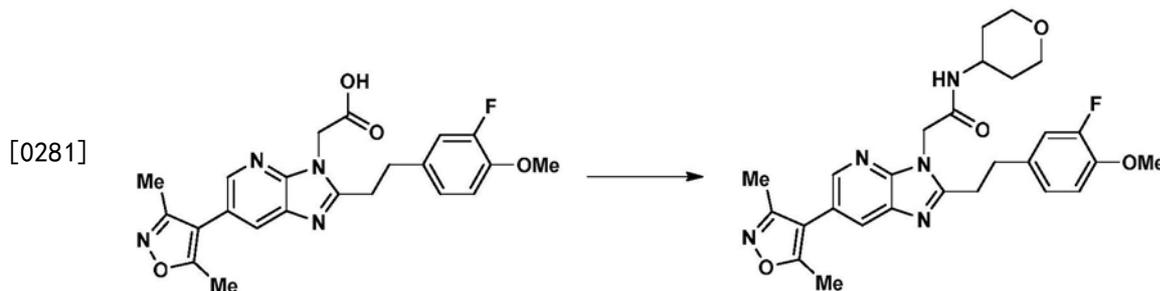


[0278] 将DIPEA (0.220ml, 1.260mmol) 逐滴添加至DMF (10mL) 中的5-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-N<sup>2</sup>-(2-吗啉代乙基)吡啶-2,3-二胺 (0.2g, 0.630mmol)、3-(1H-吡啶-1-基)丙酸 (0.119g, 0.630mmol) 和HATU (0.359g, 0.945mmol) 的搅拌溶液中,并将所得棕色溶液在室温搅拌16小时。将混合物以2M NaOH (30mL) 处理,并且用水稀释和用二乙醚 (2x 150mL) 萃取。将有机层干燥 (MgSO<sub>4</sub>)、过滤并且在减压下蒸发,得到中间体,为棕色油。将所述油溶解在乙酸 (2mL) 中,并加热至100℃过夜。将混合物蒸发至干燥,并且将残留物通过Companion色谱 (40g柱, 0-10% MeOH的DCM溶液) 纯化。将粗产物用1M HCl的乙酸乙酯溶液转化为HCl盐,得到4-(2-(2-(2-(1H-吡啶-1-基)乙基)-6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙基)吗啉二盐酸盐 (142mg, 41%), 为褐色胶; 将产物通过LCMS (Agilent, X-

Select, Waters X-Select C18, 2.5 $\mu$ m, 4.6x30mm, 酸性的 (0.1% 甲酸) 4min 方法, 5-95% MeCN/水) 分析: Rt 1.44min (方法1); m/z 471 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>); <sup>1</sup>H NMR (d6-DMSO)  $\delta$ : 11.28 (s, 1H), 8.36 (d, 1H), 8.18 (d, 1H), 7.59-7.54 (m, 2H), 7.50 (d, 1H), 7.14 (ddd, 1H), 7.04 (ddd, 1H), 6.46 (dd, 1H), 4.81 (t, 2H), 4.65 (t, 2H), 3.97 (d, 2H), 3.75 (t, 2H), 3.59 (t, 2H), 3.52 (d, 2H), 3.43 (t, 2H), 3.10 (s, 2H), 2.44 (s, 3H), 2.26 (s, 3H).

[0279] 实施例13 2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-N-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙酰胺

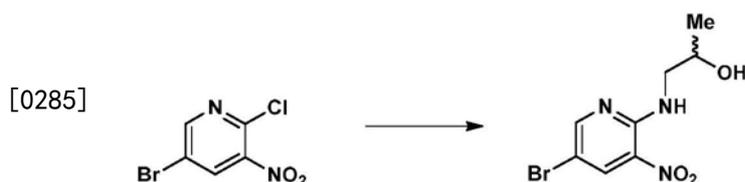
[0280] 2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-N-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙酰胺



[0282] 将DIPEA (0.107ml, 0.613mmol) 逐滴添加至DMF (5mL) 中的2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙酸 (0.130g, 0.306mmol)、四氢-2H-吡喃-4-胺 (0.031g, 0.306mmol) 和HATU (0.175g, 0.459mmol) 的搅拌溶液中, 并将所得棕色溶液在室温搅拌16小时。在减压下蒸发混合物, 并且将残留物通过制备型HPLC (Waters, 酸性的 (0.1% 甲酸), 酸性的, Waters X-Select Prep-C18, 5 $\mu$ m, 19x50mm 柱, 20-50% MeCN的水溶液) 纯化, 得到2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-N-(四氢-2H-吡喃-4-基)乙酰胺 (21mg, 13%), 为淡粉色固体; Rt 1.78min (方法1); m/z 508 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>); <sup>1</sup>H NMR (d6-DMSO)  $\delta$ : 8.49 (d, 1H), 8.28 (d, 1H), 8.07 (d, 1H), 7.24-7.17 (m, 1H), 7.12-7.04 (m, 2H), 4.99 (s, 2H), 3.86-3.81 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.80-3.73 (m, 1H), 3.34 (td, 2H), 3.20-3.07 (m, 4H), 2.42 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 1.72 (dd, 2H), 1.50-1.37 (m, 2H)。

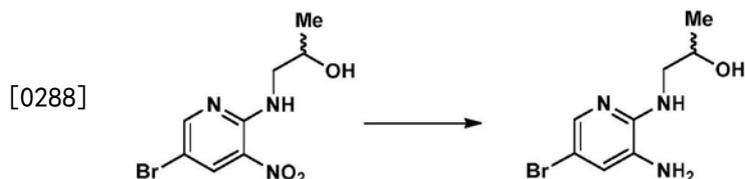
[0283] 实施例14 (2S,6R)-4-(1-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)丙烷-2-基)-2,6-二甲基吗啉

[0284] 1-((5-溴-3-硝基吡啶-2-基)氨基)丙烷-2-醇



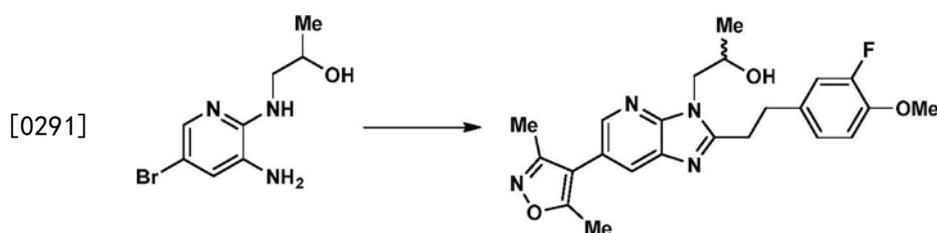
[0286] 将THF (10mL) 中的1-氨基丙烷-2-醇 (3.25ml, 42.1mmol) 添加至在冰-水 (50mL) 中冷却的THF (50mL) 中的5-溴-2-氯-3-硝基吡啶 (5g, 21.06mmol), 以获得黄色溶液, 然后在室温16小时。将橙色溶液倾倒在冰-水 (300mL) 上, 并且搅拌沉淀物15min, 过滤以在干燥后得到1-((5-溴-3-硝基吡啶-2-基)氨基)丙烷-2-醇 (5.81g, 100%), 为亮橙色固体; m/z 277/279 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>)。

[0287] 1-((3-氨基-5-溴吡啶-2-基)氨基)丙烷-2-醇



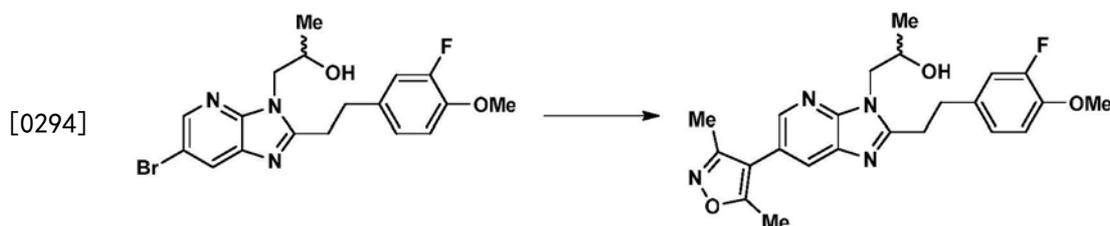
[0289] 将浓缩的氨水溶液 (0.494ml, 12.68mmol) 随后连二亚硫酸钠 (26.0g, 127mmol) 添加至THF/水 (12mL) 中的1-((5-溴-3-硝基吡啶-2-基)氨基)丙烷-2-醇 (3.5g, 12.68mmol) 中。将混合物在RT搅拌16小时,然后在真空下蒸发至干燥。固体在乙酸乙酯 (300ml) 中成浆 (slurried) 30分钟,然后过滤。此处理被重复一次,得到1-((3-氨基-5-溴吡啶-2-基)氨基)丙烷-2-醇 (1.68g, 6.35mmol, 50.1% 产率), 为霜状蜡色固体 (cream waxy solid); m/z 247/249 (M+H) + (ES+)。

[0290] 1-(6-溴-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)丙烷-2-醇



[0292] 将DIPEA (2.271ml, 13.00mmol) 逐滴添加至DMF (25mL) 中的1-((3-氨基-5-溴吡啶-2-基)氨基)丙烷-2-醇 (1.6g, 6.50mmol)、3-(4-甲氧基苯基)丙酸 (1.757g, 9.75mmol) 和 HATU (3.71g, 9.75mmol) 的搅拌溶液中,并将所得棕色溶液在室温搅拌72小时,然后进一步加入3-(4-甲氧基苯基)丙酸 (1.757g, 9.75mmol)、HATU (3.71g, 9.75mmol) 和DIPEA (2.271ml, 13.00mmol),并在RT持续搅拌过夜。将混合物以2M NaOH (30mL) 处理,并且用水稀释和用二乙醚 (2x 150mL) 萃取。将有机层干燥 (MgSO<sub>4</sub>)、过滤并且在减压下蒸发,得到粗酰胺中间体,其在冰醋酸 (20ml, 5.51mmol) 中被再次溶解,并在100°C在氮气下加热20小时。将混合物冷却并蒸发至干燥。将混合物用DCM (100mL) 稀释,并用饱和碳酸氢钠溶液 (100mL) 清洗。将有机层分离,干燥 (MgSO<sub>4</sub>),过滤并蒸发,得到中间体。将中间体溶解在甲醇 (30mL) 中,并用碳酸钾 (3.81g, 27.6mmol) 处理,然后在RT搅拌30分钟。将混合物蒸发至干燥并再次溶解在乙酸乙酯 (100mL) 中,用水 (100mL) 清洗,干燥 (MgSO<sub>4</sub>),过滤并蒸发至干燥,并用二乙醚研磨 (trituated),得到1-(6-溴-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)丙烷-2-醇 (1.635g, 33%), 为淡紫色固体; m/z 390/392 (M+H) + (ES+)。

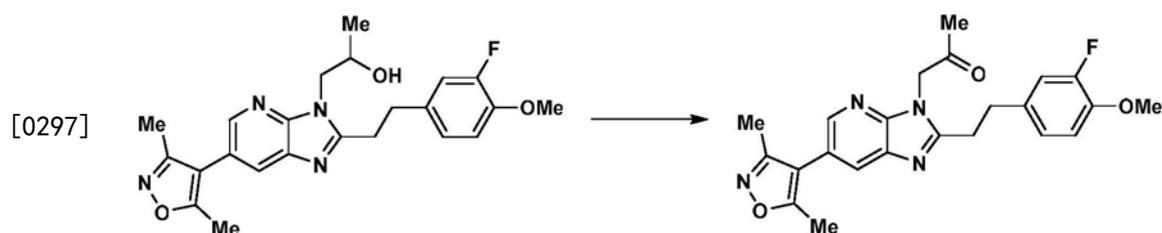
[0293] 1-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)丙烷-2-醇



[0295] 在氮气下,将四(三苯基膦)钯 (0) (0.484g, 0.419mmol) 添加至1,4-二噁烷/水 (4:

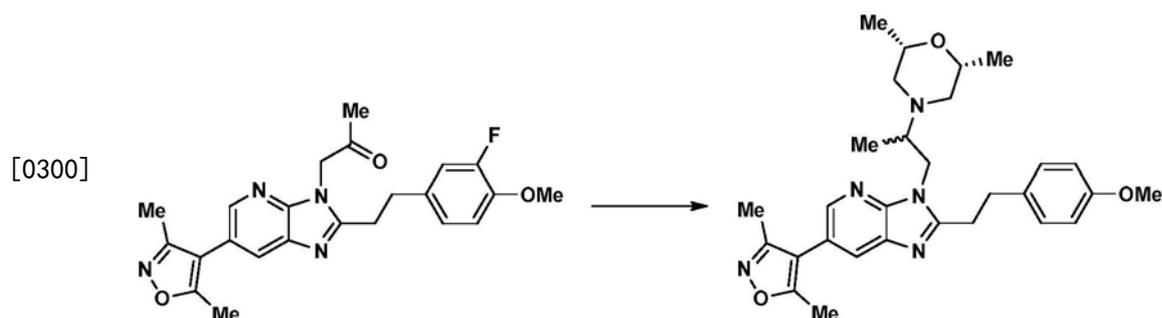
1,40mL)中的碳酸钠(1.332g,12.57mmol)、1-(6-溴-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)丙烷-2-醇(1.635g,4.19mmol)和(3,5-二甲基异噁唑-4-基)硼酸(1.063g,7.54mmol)的搅拌浆中,所述搅拌浆之前已经被超声并且用氮气脱气。在氮气下,在进一步超声处理10分钟后,将稠混合物在90°C在氮气下搅拌16小时。将混合物冷却并且在盐水(20mL)和EtOAc(20mL)之间萃取。将有机层进一步用盐水(20mL)清洗并干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)并在真空中蒸发。将粗产品在Companion通过色谱(80g柱,0至100%乙酸乙酯的异己烷溶液)纯化,得到1-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)丙烷-2-醇(1.32g,68%),为霜状固体;m/z 407.1 (M+H)<sup>+</sup>(ES<sup>+</sup>)。

[0296] 1-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)丙烷-2-酮



[0298] 将DCM(40ml,8.00mmol)中的1-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)丙烷-2-醇(1.32g,3.25mmol)和DMP(4.13g,9.74mmol)的混合物在室温搅拌72小时。添加另外的DMP(0.5molar当量),并将混合物搅拌16小时。添加2M NaHCO<sub>3</sub>水溶液,直至沸腾停止。分离层,并将水层用DCM(3x 100mL)萃取。将合并的有机层用盐水(100mL)清洗,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并在真空中浓缩(reduced),得到黄色固体,其通过Companion色谱(80g柱,0-100%乙酸乙酯的异己烷溶液)被纯化,得到1-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)丙烷-2-酮(1.3g,79%),为白色固体;m/z 405 (M+H)<sup>+</sup>(ES<sup>+</sup>)。

[0299] (2S,6R)-4-(1-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)丙烷-2-基)-2,6-二甲基吗啉

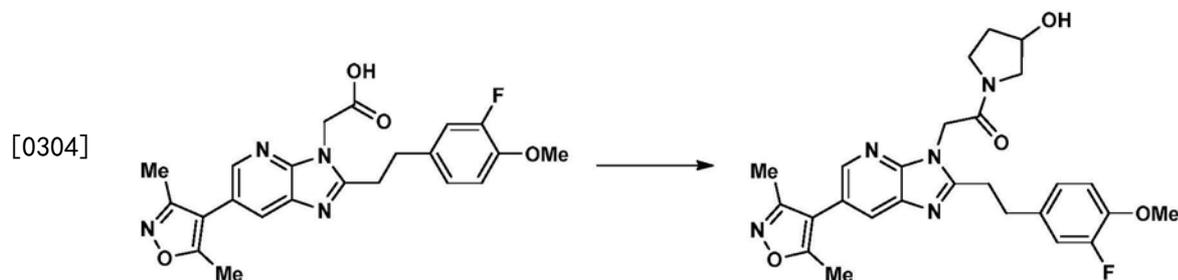


[0301] 将1,2-二氯乙烷(5ml)中的1-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)丙烷-2-酮(150mg,0.371mmol)、(2S,6R)-2,6-二甲基吗啉(128mg,1.113mmol)和异丙氧基钛(329μl,1.113mmol)的溶液加热至80°C进行16h。将混合物以异丙氧基钛(329μl,1.113mmol)处理,并加热另外的4h。在冷却至RT之后,添加三乙酰氧基硼氢化钠(236mg,1.113mmol),并将反应混合物在RT搅拌16h。添加饱和的NaHCO<sub>3</sub>水溶液(10ml),并将混合物搅拌10分钟,然后通过PhaseSep柱(PhaseSep cartridge)收集有机相。添加二氧化硅,并将溶剂在真空中去除。将粗材料通过色谱(12g二氧化硅,0-10%甲

醇的DCM溶液,梯度洗脱),然后通过制备型HPLC(Varian,酸性的(0.1%甲酸),酸性的,Waters X-Select Prep-C18,5 $\mu$ m,19x50mm柱,15-35%MeCN的水溶液)纯化。将分离的级分在真空中蒸发,并将固体溶解在1M HCl的乙酸乙酯溶液中,得到(2R,6S)-4-(1-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)丙烷-2-基)-2,6-二甲基吗啉二盐酸盐(28mg,12%),为淡棕色固体;Rt 1.73min(方法1);m/z 504(M+H)<sup>+</sup>(ES<sup>+</sup>);<sup>1</sup>H NMR(d6-DMSO)  $\delta$ :8.29(d,1H),8.02(d,1H),7.28(d,2H),6.87(d,2H),4.80(dd,1H),4.54(dd,1H),4.03(s,2H),3.83-3.76(m,1H),3.75(s,3H),3.37-3.28(m,3H),3.24-3.16(m,3H),2.75(t,1H),2.71-2.62(m,1H),2.42(s,3H),2.24(s,3H),1.19(d,3H),1.18(d,3H),1.16(d,3H)。

[0302] 实施例15 2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1-(3-羟基吡咯烷-1-基)乙-1-酮

[0303] 2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1-(3-羟基吡咯烷-1-基)乙-1-酮



[0305] 将DIPEA(0.107ml,0.613mmol)逐滴添加至DMF(5mL)中的2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)乙酸(0.130g,0.306mmol)、吡咯烷-3-醇(0.027g,0.306mmol)和HATU(0.175g,0.459mmol)的搅拌溶液中,并将所得棕色溶液在室温搅拌16小时。在减压下蒸发混合物,并将残留物通过制备型HPLC(Waters,酸性的(0.1%甲酸),酸性的,Waters X-Select Prep-C18,5 $\mu$ m,19x50mm柱,20-50%MeCN的水溶液)纯化,得到2-(6-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)-2-(3-氟-4-甲氧基苯乙基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1-(3-羟基吡咯烷-1-基)乙酮(45mg,28%),为淡蓝色固体;Rt 1.64min(方法1);m/z 494(M+H)<sup>+</sup>(ES<sup>+</sup>);<sup>1</sup>H NMR(d6-DMSO)  $\delta$ :8.24(dd,1H),8.06(d,1H),7.21(d,1H),7.11-7.05(m,2H),5.77(s,1H),5.26-5.01(m,3H),4.44(s,0.5H),4.30(s,0.5H),3.81(s,3H),3.79-3.69(m,2H),3.55-3.42(m,1H),3.12(s,4H),2.42(s,3H),2.25(s,3H),2.09-1.75(m,2H)。

[0306] 实施例16:生物测试

[0307] 结合至EP300和BRD4 BD1的表面等离子共振(BIAcore)分析

[0308] 使用T200 BIAcore仪器在4 $^{\circ}$ C获得结合至EP300和BRD4的化合物的BIAcore数据。将His标记的EP300布罗莫结构域(1046-1163)和BRD4布罗莫结构域1(49-170)蛋白质通过结合捕获和胺类偶联方法捕获在NTA芯片上。NTA基团首先与30mM氯化镍螯合,然后以0.2M N-乙基-N'-(二乙氨基丙基)-碳化二亚胺(EDC)和0.05M N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)活化。

[0309] 在PBS中将布罗莫结构域蛋白质稀释至9.6 $\mu$ M,以10 $\mu$ l/min注入0.05%Tween-20并共价结合。进行乙醇胺注入,以封闭(cap)表面上的未反应位点,并去除未偶联的蛋白质。典型的固定化会将2-4kRU的蛋白质固定在表面上。

[0310] 将测试化合物以工作缓冲液 (running buffer) (PBS, 具有 0.005% Tween-20, 0.1% DMSO) 逐级稀释成 1、10、100、1000 和 10000 nM 溶液。全程均使用 90  $\mu$ L/min 的流速。化合物注入浓度不断上升, 进行测试, 穿插着缓冲液空白检测 (buffer blank run), 该空白检测包括工作缓冲液的 5 次重复注入。

[0311] 使用 1:1 相互作用模型以 BIA 评估 (GE Healthcare) 分析传感图, 以产生  $k_a$  和  $k_d$  值, 从而描述结合的动力学。 $K_D$  值由  $k_d$  和  $k_a$  的商 (quotient) 得来。针对 EP300 和 BRD4 布罗莫结构域表面, 对所有化合物分别检测两次, 以获得动力学和亲和性参数的几何平均数 (geometric means)。测试的所有化合物得出在 0.5–10,000 nM 范围内的  $K_D$  值。

[0312] 细胞活力检测

[0313] 22Rv1 细胞系获得自 ATCC (UK) 并且根据供应商的建议培养。代表性化合物的细胞生长抑制活性使用 CellTiter-Glo<sup>®</sup> 发光法细胞活力检测试剂盒 (Promega, USA) 来确定。

[0314] 22Rv1 细胞在包含 10% 胎牛血清、2 mM 谷氨酰胺、1 mM 丙酮酸钠和 100 单位的青霉素–100  $\mu$ g 的链霉素的 RPMI 1640 培养基中保持。将细胞在 37°C 在具有 95% O<sub>2</sub> 和 5% CO<sub>2</sub> 的加湿氛围中培养。在 50 L 的生长培养基中, 在多聚-D-赖氨酸 (PDL) 包被 96 孔黑色透明底培养板 (VWR, UK) 中, 每孔接种 2000 个细胞。在 48 小时后, 培养基被去除, 以包含稀释的测试化合物的生长培养基替换。在 10 mM 的最大浓度下, 通过在半对数间隔 DMSO 储备液中逐级稀释的方式进行化合物稀释, 总计 7 次稀释。将每个稀释点的 1  $\mu$ L 测定用量添加至 99  $\mu$ L 的生长培养基中并且将 50  $\mu$ L 添加至含细胞的每个孔, 提供在最大浓度点 (1% DMSO) 的 100  $\mu$ M 化合物。将 1% DMSO 处理的细胞用作高对照 (high control)。

[0315] 将细胞在 37°C 培养另外 7.2 小时, 并且根据制造商的说明书使用 CellTiter-Glo<sup>®</sup> 发光法细胞活力检测确定细胞活力。简言之, 将等于生长培养基的体积的 CellTiter-Glo<sup>®</sup> 试剂的体积加入每个孔。振荡板大约 2 分钟并在室温 (22°C) 培养 10 分钟。使用 Envision 读板仪以 1 秒每孔的积分时间测量发光信号。

[0316] 所有数据标准化至 6 个高对照的平均值。使用 Dotmatics 软件 (UK) 由数据的 4-参数增加曲线拟合 (4-parameter logistic curve fit) 计算半最大抑制剂浓度 (IC<sub>50</sub>)。所有测试的化合物得到在 100 nM–100  $\mu$ M 范围内的 IC<sub>50</sub> 值, 典型地在 100 nM–30  $\mu$ M 范围内的 IC<sub>50</sub> 值。

[0317] 基于细胞的检测可能由于系统的复杂性显示一些变化性, 并且应理解, 这些检测结果可随着检测条件的变化而变化。一些水平的细胞生长抑制表示在指定的细胞中具有一些抑制活性的化合物, 而没有在测试的最高浓度以下的抑制不一定指示化合物对细胞没有抑制活性。

[0318] 实施例 17: 片剂组合物

[0319] 如下制造每个重 0.15g 并且包含 25mg 本发明化合物的片剂:

[0320] 对于 10,000 个片剂的组合物

[0321] 本发明化合物 (250g)

[0322] 乳糖 (800g)

[0323] 玉米淀粉 (415g)

[0324] 滑石粉末 (30g)

[0325] 硬脂酸镁 (5g)

[0326] 将本发明化合物、乳糖和半份玉米淀粉混合。然后使得混合物通过0.5mm目的筛子。将玉米淀粉(10g)悬浮在温水(90ml)中。将所得糊状物用于粒化粉末。将粒料干燥并且在1.4mm目的筛子上分解为小碎片(fragment)。添加剩余量的淀粉、滑石和镁,仔细混合并且加工成片剂。

[0327] 实施例18:可注射制剂

[0328] 本发明化合物 200mg

盐酸溶液 0.1M 或

[0329] 氢氧化钠溶液 0.1M 适量 至 pH 4.0 至 7.0

无菌水适量至 10 mL

[0330] 将本发明化合物溶解在大部分水(35°-40°C)中,并视情况用盐酸或氢氧化钠将pH调节至4.0和7.0之间。然后,将该批料(batch)用水定容,并通过无菌微孔过滤器过滤至无菌10mL琥珀色玻璃瓶(类型1)中,用无菌瓶塞密封,然后外盖密封。

[0331] 实施例19:肌肉注射剂

本发明化合物 200 mg

苜醇 0.10 g

[0332] Glycofurol 75 1.45 g

用于注射剂的水适量至 3.00 mL

[0333] 将本发明化合物溶解在glycofurol中。然后,添加苜醇并且溶解,并添加水至3ml。然后,将混合物通过无菌微孔过滤器过滤,并在无菌3ml玻璃瓶(类型1)中密封。

[0334] 实施例20:糖浆制剂

本发明化合物 250 mg

山梨醇溶液 1.50 g

甘油 2.00 g

[0335] 苯甲酸钠 0.005 g

调味剂(Flavour) 0.0125 mL

纯净水适量至 5.00 mL

[0336] 将本发明化合物溶解在甘油和大部分纯净水的混合物中。然后,将苯甲酸钠的水溶液添加至该溶液,随后添加山梨醇溶液,最后是调味剂。用纯净水定容,并且混合均匀。