

(19) 国家知识产权局



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 117069743 A

(43) 申请公布日 2023. 11. 17

(21) 申请号 202210505406.X

(22) 申请日 2022.05.10

(71) 申请人 北京盛诺基医药科技股份有限公司

地址 102206 北京市昌平区生命科学园路
26号院

(72) 发明人 孟坤 王虎庭 王永钢 默董亮
王骏 金明吉 彭勇

(51) Int.Cl.

C07D 519/00 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

权利要求书2页 说明书20页

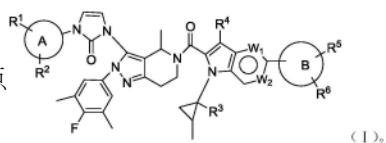
(54) 发明名称

一种GLP-1受体激动剂

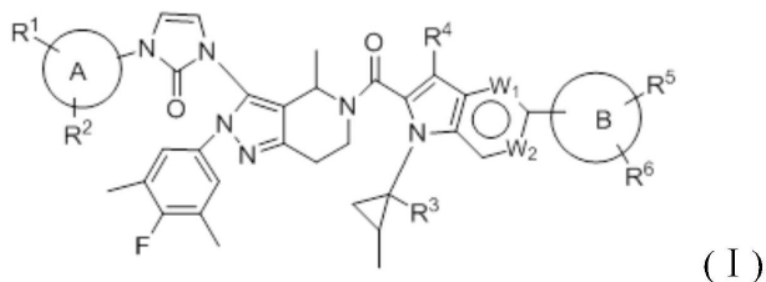
(57) 摘要

本发明提供了一种GLP-1抑制剂,该抑制剂具有如下是所示结构:该化合物具有活性好、毒

性低的优点

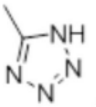
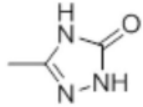
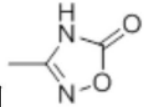


1. 一种GLP-1受体激动剂或其药学上可接受的盐,该激动剂具有如下结构:



其中,A选自芳香基、杂芳基、杂芳环并芳香基、芳香环并杂芳基、杂芳环并杂芳基、脂肪环并芳香基和脂肪环并杂芳香基中的一种;

R^1 和 R^2 各自独立地选自-H、-F或- CH_3 ;

R^3 选自-CN、 $-C(=O)NH-S(=O)_2-R'$ 、、和中的一种;

R' 选自异丙基、甲基或环丙基;

R^4 选自-H、- CH_3 或-F;

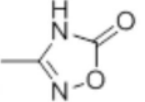
W_1 和 W_2 各自独立地选自-CH-或者-N-,并且 W_1 、 W_2 至少有一个为-N-;

B选自5-7元饱和脂肪环或杂脂肪环,其上的一个或多个碳上的H原子可以被 R^5 和 R^6 取代;所述的杂脂肪环为脂肪环上的一或两个C原子被N或者O取代;

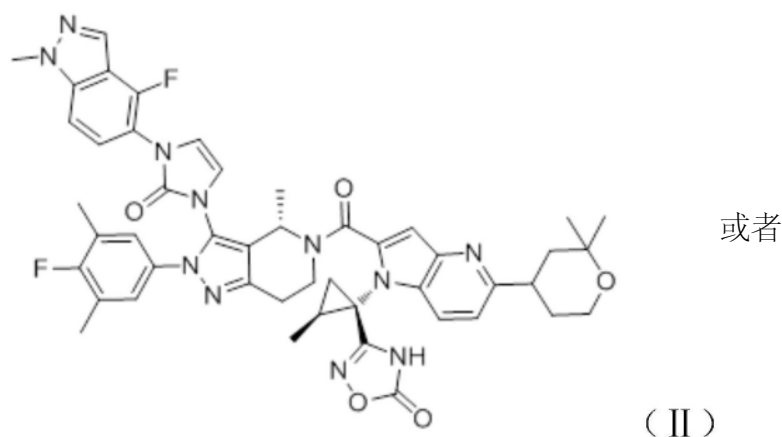
R^5 和 R^6 各自独立地选自-H、-F、- CH_3 ,或者 R^5 、 R^6 及它们共同连接的碳原子组成环丙烷。

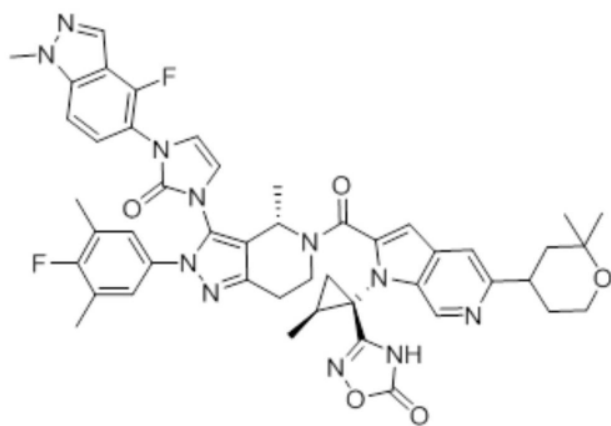
2. 根据权利要求1所述的激动剂,其中所述的A选自苯基、吡啶基、咪唑基、氮杂吡啶基、氮杂咪唑基或苯并噻吩基。

3. 根据权利要求1所述的激动剂,其中B选自四氢吡喃、吗啉或哌嗪。

4. 根据权利要求1所述的激动剂,其中所述的 R^3 为.

5. 根据权利要求1所述的激动剂,其中所述的激动剂具有如下式所示的结构:





(III)。

6. 根据权利要求5所示的激动剂, 式(II)或式(III)化合物包括其光学异构体及光学异构体的混合物。

7. 权利要求1或2所述的激动剂或其药学上可接受的盐在制备用于治疗糖尿病或肝炎的药物中的用途。

8.一种药物组合物,其中含有权利要求1或2所述GLP-1受体的激动剂或其药学上可接受的盐。

一种GLP-1受体激动剂

技术领域

[0001] 本发明涉及一种GLP-1受体激动剂或其药学上可接受的盐,以及含有该激动剂的药物组合物,属于医药领域。

背景技术

[0002] 胰高血糖素样肽 (GLP-1) 是一种肠促激素,通过激动GLP-1受体促进胰岛素分泌,摄食抑制。GLP-1类似物已经用于糖尿病治疗,有良好的降低血糖及控制体重的效果,具有良好的心血管收益。但目前的GLP-1类似物多通过注射进行给药。

[0003] 本发明在于提供与GLP-1类似物具有同样效果的小分子GLP-1受体激动剂。可以通过口服给药的方式,降低血糖并控制体重。从而作为糖尿病、肥胖症及非酒精性肝炎等的治疗。

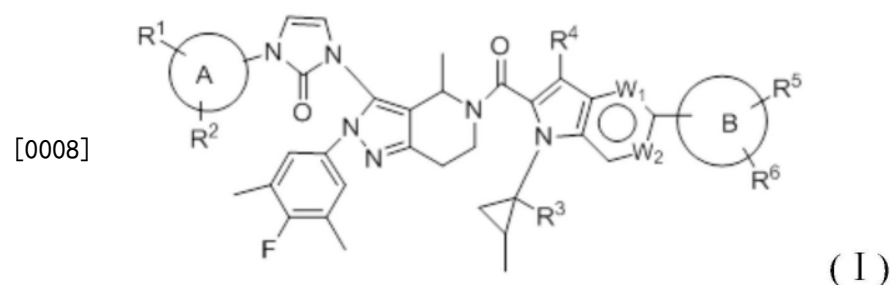
发明内容

[0004] 本发明的一个目的是提供一种GLP-1受体激动剂或其药学上可接受的盐。

[0005] 本发明的另一个目的是提供本发明的受体激动剂或其药学上可接受的盐在制备用于治疗糖尿病、肝炎药物中的用途。

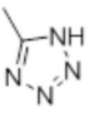
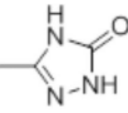
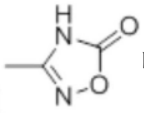
[0006] 本发明的再一个目的是提供一种药物组合物,其中含有本发明的GLP抑制剂的激动剂。

[0007] 本发明一方面提供了一种GLP受体激动剂或其药学上可接受的盐,该激动剂具有如下结构:



[0009] 其中,A选自芳香基、杂芳基、杂芳环并芳香基、芳香环并杂芳基、杂芳环并杂芳基、脂肪环并芳香环基和脂肪环并杂芳香环基中的一种;

[0010] R^1 和 R^2 各自独立地选自-H、-F或- CH_3 ;

[0011] R^3 选自- CN 、 $-C(=O)-NH-S(=O)_2-R'$ 、、和中的一种;

[0012] R' 选自异丙基、甲基和环丙基中的一种或几种;

[0013] R^4 选自-H、- CH_3 或-F;

[0014] W_1 和 W_2 各自独立地选自-CH-或者-N-,并且 W_1 、 W_2 至少有一个为-N-;

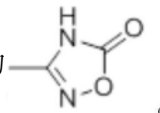
[0015] B选自5-7元饱和脂肪环或杂脂肪环,其上的一或多个碳上的H原子可以被 R^5 和 R^6 取

代;所述的杂脂肪环为脂肪环上的一或两个C原子被N或者O取代;

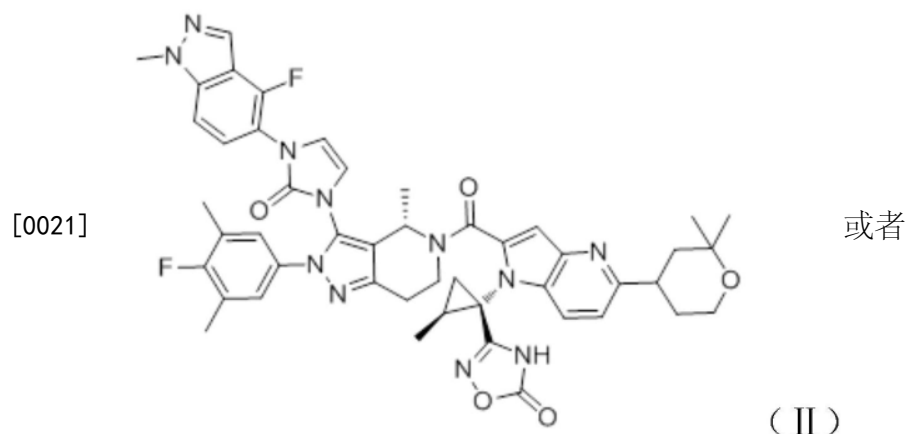
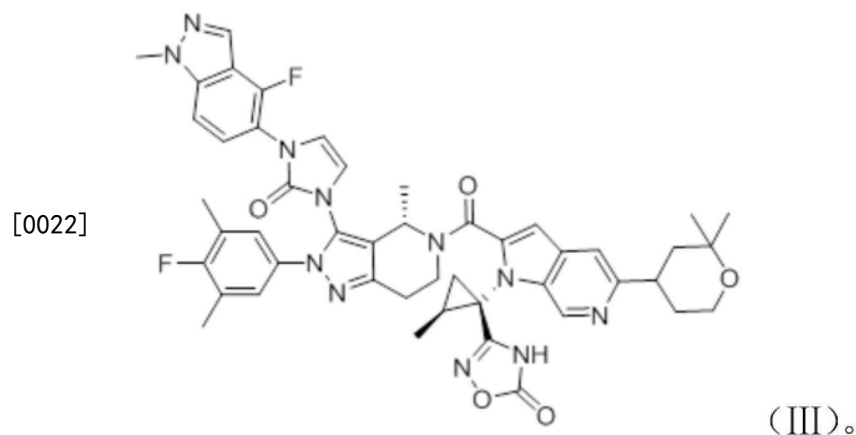
[0016] R^5 和 R^6 各自独立地选自-H、-F、-CH₃,或者 R^5 、 R^6 及它们共同连接的碳原子组成环丙烷。

[0017] 优选地,所述的A选自苯基、吡唑基、咪唑基、氮杂吡唑基、氮杂咪唑基或苯并噻吩基。

[0018] 优选地,其中B选自四氢吡喃、吗啉或哌嗪。

[0019] 优选地,其中所述的R₃为。

[0020] 优选地,其中所述的激动剂具有如下式所示的结构:



[0023] 优选地,所述的式(II)或式(III)化合物包括其光学异构体或其混合物。

[0024] 优选地,所述的激动剂或其药学上可接受的盐在制备用于治疗糖尿病或肝炎的药物中的用途。

[0025] 本发明另一方面还提供了一种药物组合物,其中含有本发明所述GLP-1受体的激动剂或其药学上可接受的盐。

[0026] 本发明提供的GLP-1受体激动剂具有毒性小,治疗效果好的优点。

[0027] 具体的实施方式

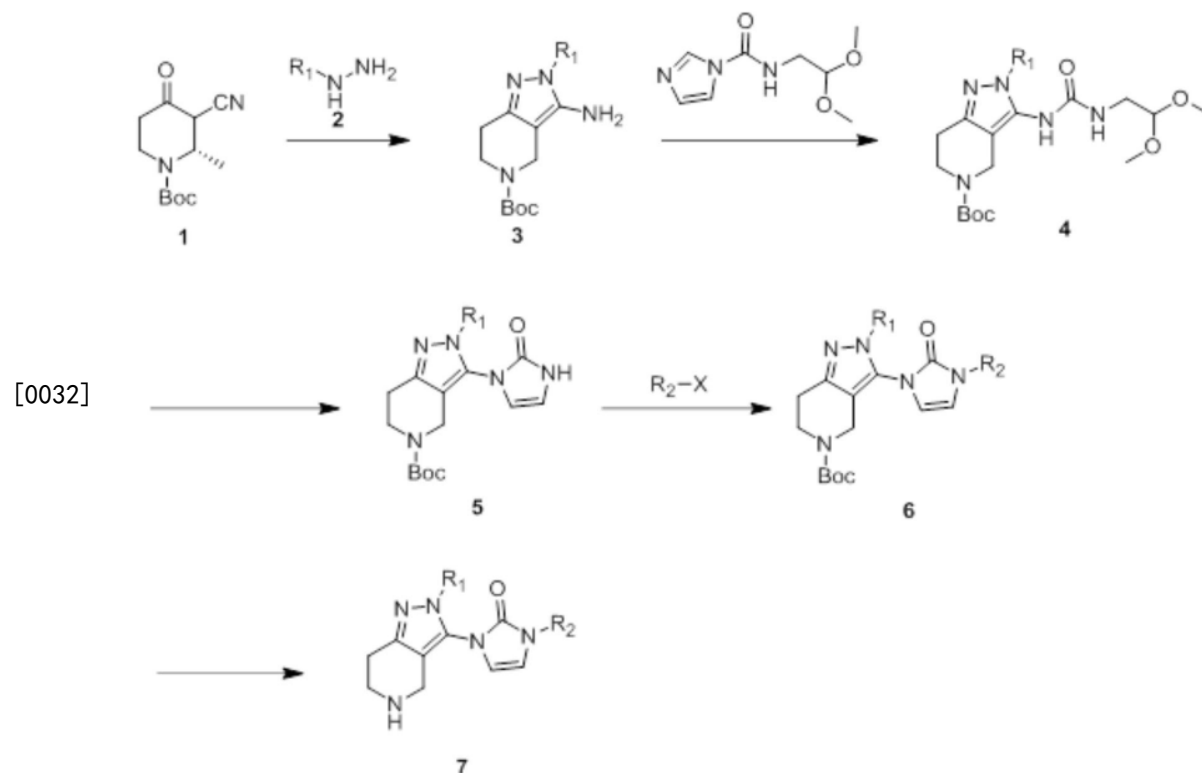
[0028] 以下结合实施例示例性阐述本发明的化合物及其制备方法和用途。在本发明保护范围内所做的修改、变化都在本发明的保护范围内。对于本领域技术人员,本公开不只局限于前述说明性实施例,在不脱离其必要属性的情况下能以其它特定形式体现。因此期望认

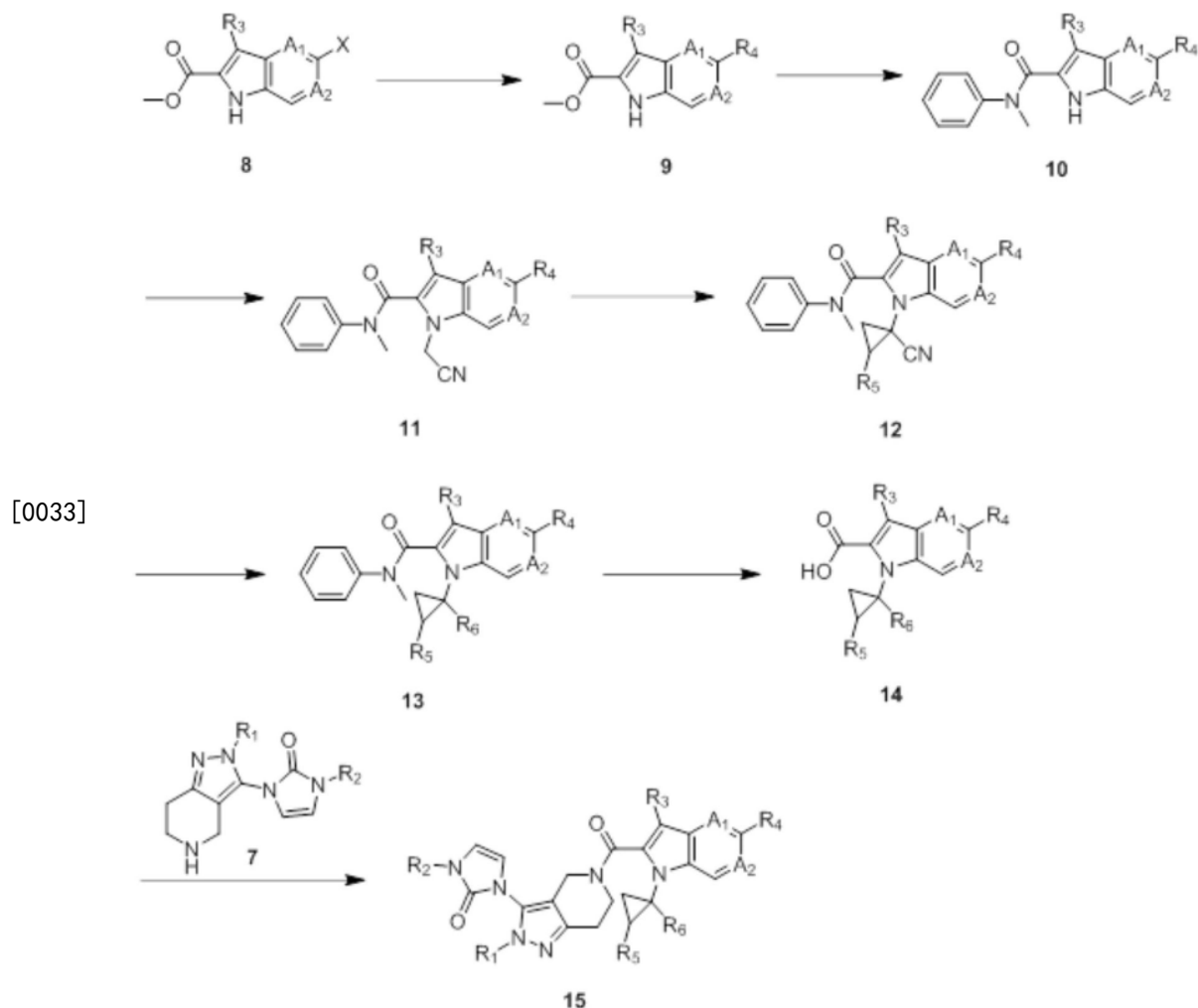
为,所有方面均作为说明性而不是限制性、对所附权利要求进行参考的实施例而不是前述实施例,引用文献只是针对附加的权利要求而不是上述的实例,以及落入权利要求等效性的含义和范围之内所有变化因此预期包含于此。

[0029] 本说明书中列举的所有专利、专利申请和文献参考均在此以其全部内容引入作为参考。在不一致的情况下,包括定义的本公开将是有说服力的。

[0030] 合成方法

[0031] 流程1





[0034] 可按照流程1中所述路线制备本发明所示化合物。流程1及流程2中反应所得的每一个产物可以通过传统分离技术来得到,这种传统技术包括但不限于过滤、蒸馏、结晶、色谱分离等。起始原料可以通过自己合成或从商业机构(例如,但不限于,Adrich或Sigma)购买获得。这些原料可以使用常规手段进行表征,比如物理常数和光谱数据。本发明所描述的化合物可以使用合成方法得到单一的异构体或者是异构体的混合物。

[0035] 在流程1中,以原料1和2合环得到中间体3。中间体3与N-(2,2-二甲氧基乙基)-1H-咪唑-1-甲酰胺在碱性条件下反应得到中间体4。中间体4在酸性条件下关环,又在碱性条件下重新上保护得到中间体5。5与芳卤在适当的催化剂与碱的条件下偶联得到中间体6。6在酸性条件下脱保护得到中间体7。化合物8与硼酸、硼酸酯或锌试剂在适当的催化剂及碱的条件下反应得到中间体9。9与N-甲基苄胺在碱性条件下反应得到中间体10。10与溴乙腈在碱性条件下反应得到中间体11。11与硫酸乙烯酯合环得到中间体12。12经官能团变换得到化合物13。13在碱性条件下脱掉保护基得到14,与中间体7缩合得到产品15。

[0036] 除非另外说明,本文中的术语“GLP-1”是由胰高血糖素原基因表达,在胰岛 α 细胞中,胰高血糖素原基因的主要表达产物是胰高血糖素,而在肠粘膜的L细胞中,前激素转换酶(PC1)将胰高血糖素原剪切为其羧基端的肽链序列,即GLP-1。研究已证实,肠促胰素以葡萄糖浓度依赖性方式促进胰岛 β 细胞分泌胰岛素,并减少胰岛 α 细胞分泌胰高血糖素(glucagon),从而降低血糖。正常人在进餐后,促胰素开始分泌,进而促进胰岛素分泌,以减

少餐后血糖的波动。但对于2型糖尿病患者,其“肠促胰素效应”受损,主要表现为进餐后GLP-1浓度升高幅度较正常人有所减小,其促进胰岛素分泌以及降血糖的作用并无明显受损,此GLP-1及其类似物可以作为2型糖尿病治疗的一个重要靶点。

[0037] 除非另外说明,本文中式(II)化合物的光学异构体指的是:式(II)的化合物的2,2-二甲基四氢-2H-吡喃的4位碳和与相连的基团及原子之间形成的旋光性不同的两种化合物,其中一种为S-旋光体,另外一种为R-旋光体。

[0038] 除非另外说明,本文中式(III)化合物光学异构体的定义参照式(II)化合物。

[0039] 除非另外说明,本文中的术语“光学异构体的混合物”指的式(II)或(III)化合物的S-旋光体和R-旋光体以不同的比例进行混合得到的混合物。

[0040] 除非另有说明,温度是摄氏温度。试剂购自国药集团化学试剂北京有限公司,阿法埃莎(Alfa Aesar),或北京百灵威科技有限公司等商业供应商,并且这些试剂可直接使用无需进一步纯化,除非另有说明。

[0041] 除非另有说明,下列反应在室温、无水溶剂中、氮气或氩气的正压下或使用干燥管进行;反应瓶上装有橡胶隔膜,以便通过注射器加入底物和试剂;玻璃器皿烘干和/或加热干燥。

[0042] 除非另有说明,柱色谱纯化使用青岛海洋化工厂的200-300目硅胶;制备薄层色谱使用烟台市化学工业研究所生产的薄层色谱硅胶预制板(HSGF254);MS的测定用Thermo LCQ Fleet型(ESI)液相色谱-质谱联用仪;旋光测定使用SGW-3自动旋光仪,上海申光仪器仪表有限公司。

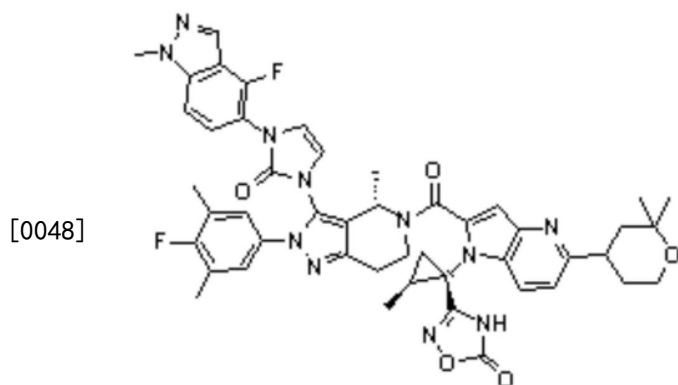
[0043] 核磁数据(¹H NMR)使用Varian设备于400MHz运行。核磁数据使用的溶剂有CDCl₃、CD₃OD、D₂O、DMSO-d₆等,以四甲基硅烷(0.00ppm)为基准或以残留溶剂为基准(CDCl₃: 7.26ppm;CD₃OD:3.31ppm;D₂O:4.79ppm;d₆-DMSO:2.50ppm)。当标明峰形多样性时,以下简写表示不同峰形:s(单峰)、d(双重峰)、t(三重峰)、q(四重峰)、m(多重峰)、br(宽峰)、dd(双双重峰)、dt(双三重峰)。如果给出了耦合常数,则以Hertz(Hz)为单位。

[0044] 缩略语:

[0045]	DMSO	二甲基亚砷
	HPLC	高效液相色谱
	MS	质谱
	N2	氮气
	NBS	N-溴代琥珀酰亚胺
	Boc	叔丁氧羰基
	CDCl3	氕代氯仿
	LC-MS	液质联用色谱
	MeOD	氕代甲醇

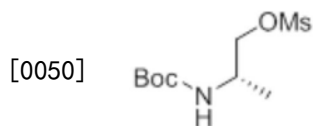
[0046] 实施例1

[0047] 3-((2S)-1-(5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-2-((S)-3-(3-(4-氟-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-酮-2,3-二氢-1H-咪唑-1-基)-2-(4-氟-3,5-二甲基苯基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢-2H-吡啶[4,3-c]并吡啶-5-羰基)-1H-吡咯[3,2-b]并吡啶-1-基)-2-甲基环丙基)-1,2,4-恶二唑-5(4H)-酮(化合物II)



(II)

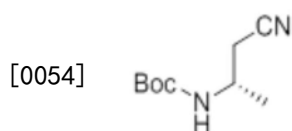
[0049] 步骤1: (S)-2-((叔丁氧羰基)氨基)丙基甲磺酸酯



[0051] 在1L三口瓶中依次加入(S)-2-氨基丙烷-1-醇(28.2g)、乙酸乙酯(200.0mL),搅拌溶解。在0℃下,缓慢滴加二碳酸二叔丁酯(86.1g)的乙酸乙酯(200.0mL)溶液,在0℃下反应约0.5小时。然后在0℃下,向反应液中缓慢滴加四甲基乙二胺(45.8g)的乙酸乙酯(50.0mL)溶液。滴毕,继续向反应液中缓慢甲磺酰氯(45.2g)。滴毕,在0℃下反应约3.0小时。过滤,在0℃下滤饼用正己烷搅拌打浆2.0小时。过滤干燥得白色固体化合物(75.0g)。直接用于下一步。

[0052] LC-MS, (ES, m/z): [M+H]⁺=183。

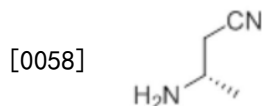
[0053] 步骤2: (S)-(1-氰基丙烷-2-基)氨基甲酸叔丁酯



[0055] 在1L单口瓶中加入氰化钠(18.6g)及N,N-二甲基甲酰胺(500.0mL),搅拌溶解。向反应液中加入四丁基溴化铵(9.4g)。加入完毕后,升温至35℃反应2.0小时。向反应液中加入化合物(S)-2-((叔丁氧羰基)氨基)丙基甲磺酸酯(74.0g),在35℃反应48.0小时。反应液用水稀释,用乙酸乙酯(1.0L)萃取3次,有机相用饱和食盐水洗涤3次,硫酸钠干燥。有机相减压浓缩得到白色固体化合物(44.0g)。直接用于下一步。

[0056] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ4.61 (s, 1H), 3.88 (d, J=6.1Hz, 1H), 2.66 (dd, J=14.9, 10.8Hz, 1H), 1.36 (d, J=11.2Hz, 10H), 1.24 (dd, J=11.8, 6.0Hz, 3H)。

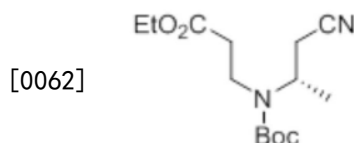
[0057] 步骤3: (S)-3-氨基丁腈



[0059] 在1L单口瓶中加入(S)-(1-氰基丙烷-2-基)氨基甲酸叔丁酯(43.0g)及四氢呋喃(500.0mL),搅拌溶解。在0℃下,缓慢加入甲磺酸(56.1g)。加入完毕后,升至65℃搅拌3.0小时。将温度降至室温,过滤。滤饼用二氯甲烷(500.0mL)稀释,用6mol/L的氢氧化钠溶液调节pH=13。水相用二氯甲烷(300.0mL)萃取3次。合并有机相,硫酸钠干燥。有机相减压浓缩得黄色粘稠状化合物(11.0g)。

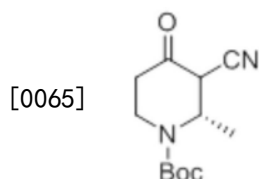
[0060] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 3.34-3.17(m, 1H), 2.33(qd, $J=16.5, 5.9\text{Hz}$, 2H), 1.38(d, $J=13.7\text{Hz}$, 2H), 1.17(d, $J=6.4\text{Hz}$, 3H)。

[0061] 步骤4: (S)-3-((叔丁氧羰基)(1-氰基丙烷-2-基)氨基)丙酸乙酯



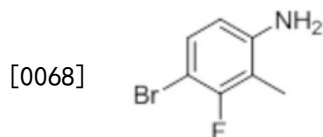
[0063] 在250mL三口瓶中加入化合物(S)-3-氨基丁腈(10.1g)和乙醇(60.0mL),使之溶清,向反应液中加入三乙胺(14.6g)和丙烯酸乙酯(14.4g),加毕,升温至70℃搅拌3.0小时。冷却至室温,向反应液中加入二碳酸二叔丁酯(31.4g)和甲基哌嗪(3.6g)。室温搅拌过夜。向反应液中加入水(100.0mL),用乙酸乙酯(100.0mL x 3)萃取3次。合并有机相,硫酸钠干燥。有机相减压浓缩得黄色粘稠状化合物(34.4g)。

[0064] 步骤5: (2S)-3-氰基-2-甲基-4-酮哌啶-1-甲酸叔丁酯



[0066] 在1L单口瓶中依次加入化合物(S)-3-((叔丁氧羰基)(1-氰基丙烷-2-基)氨基)丙酸乙酯(34.1g)及四氢呋喃(500.0mL),使之溶清。在室温下,向上述反应液中缓慢加入叔丁醇钾(13.5g),加入完毕后反应液在室温下搅拌反应2.0小时。向上述反应液中加入2mol/L盐酸溶液(90.0mL),室温搅拌0.5小时。向反应液中加入水(500.0mL),用乙酸乙酯(500.0mL x 3)萃取3次。合并有机相,无水硫酸钠干燥。有机相减压浓缩得粗品。粗品用柱层析分离纯化(硅胶,石油醚/乙酸乙酯=20:1)得到淡黄色固体化合物(9.2g)。

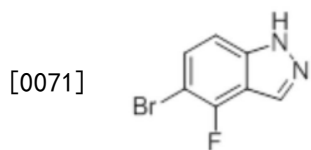
[0067] 步骤6: 4-溴-3-氟-2-甲基苯胺



[0069] 在3L三口瓶中依次加入原料3-氟-2-甲基苯胺(98.0g)、乙腈(2.0L),搅拌溶解。在0℃下,分批缓慢加入NBS(153.5g)。升至室温,在室温下反应约1.0小时。TLC跟踪反应完成。向反应液中加入饱和的硫代硫酸钠溶液,用乙酸乙酯(1.0L x 3)萃取3次。合并有机相,有机相依次用水,饱和食盐水洗涤,硫酸钠干燥。有机相减压浓缩得黄色固体化合物

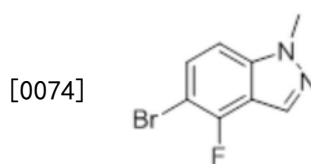
(120.0g)。粗品直接用于下一步。

[0070] 步骤7:5-溴-4-氟-1H-吡唑



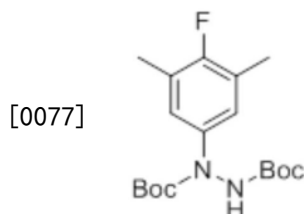
[0072] 在5L三口瓶中加入4-溴-3-氟-2-甲基苯胺(120.0g)及冰醋酸(2.5L),搅拌溶解。在0℃下,分批缓慢加入NaNO₂(48.7g)。加入完毕后,升温至40℃反应4.0小时。缓慢加入50%的氢氧化钠溶液调节pH为7-8,用乙酸乙酯(2.0L x 3)萃取3次。合并有机相,有机相依次用水,饱和食盐水洗涤,硫酸钠干燥。有机相减压浓缩得粗品。粗品用柱层析分离纯化(硅胶,二氯甲烷/乙酸乙酯=10:1)得到黄色固体化合物(58.0g)。

[0073] 步骤8:5-溴-4-氟-1-甲基-1H-吡唑



[0075] 在1L三口瓶中加入5-溴-4-氟-1H-吡唑(57.0g)及N,N-二甲基甲酰胺(500.0mL),搅拌溶解。在0℃下,缓慢加入叔丁醇钾(29.8g)。加入完毕后,升至室温搅拌1.0小时。将温度降至0℃,在0℃下,缓慢滴加碘甲烷(45.4g)。升至室温搅拌过夜。再向上述混合液中加入饱和氯化铵溶液淬灭反应,用乙酸乙酯(1.5L x 3)萃取3次。合并有机相,有机相依次用饱和氯化铵溶液、水、饱和食盐水洗涤,硫酸钠干燥。有机相减压浓缩得粗品。粗品用柱层析分离纯化(硅胶,石油醚/乙酸乙酯=3:1)得到黄色固体化合物(34.0g)。

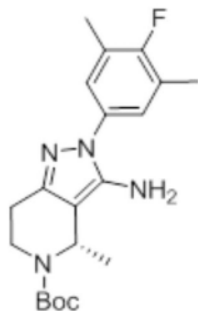
[0076] 步骤9:1-(4-氟-3,5-二甲基苯基)联氨-1,2-二甲酸叔丁酯



[0078] 在250mL三口瓶中加入化合物5-溴-2-氟-1,3-二甲基苯(10.0g)和四氢呋喃(150.0mL)。降温至-78℃,向反应液中缓慢滴加正丁基锂溶液(2.5M,19.7mL),加毕,在-78℃搅拌1.0小时。向反应液中加入偶氮二甲酸二叔丁酯(11.3g)。加入完毕后反应液升温至-40℃搅拌反应0.5小时。升至室温,继续搅拌2.0小时。反应液用饱和氯化铵淬灭,用乙酸乙酯(500.0mL x 3)萃取3次。合并有机相,无水硫酸钠干燥。有机相减压浓缩得粗品。粗品用柱层析分离纯化(硅胶,石油醚/乙酸乙酯=10:1)得到淡黄色粘稠状化合物(10.0g)。

[0079] 步骤10:(S)-3-氨基-2-(4-氟-3,5-二甲基苯基)-4-甲基-2,4,6,7-四氢-5H-吡唑[4,3-c]并吡啶-5-甲酸叔丁酯

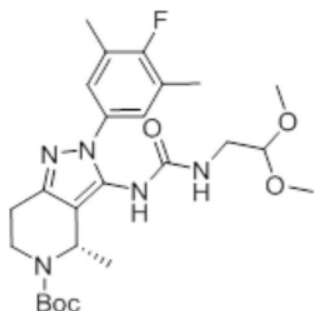
[0080]



[0081] 在250mL三口瓶中加入化合物1-(4-氟-3,5-二甲基苯基)联氨-1,2-二甲酸叔丁酯(9.4g)和N-甲基吡咯烷酮(80.0mL),使之溶清,向反应液中加入甲磺酸(5.1g,53.0mmol),加毕,升温至80℃搅拌12.0小时。冷却至室温,将反应液倾倒入甲苯(80.0mL)中。用饱和碳酸钾溶液调节pH为9。分出有机相,用无水硫酸钠干燥,过滤。向上述有机相中加入化合物(2S)-3-氰基-2-甲基-4-酮哌啶-1-甲酸叔丁酯(6.3g)和吡啶盐酸盐(312.0mg)。升温至90℃搅拌1.0小时。冷却至室温,将反应液倾倒入水(200.0mL)中。用1mol/L氢氧化钠溶液调节pH为9。用乙酸乙酯(200.0mL x 3)萃取3次。合并有机相,硫酸钠干燥。有机相减压浓缩得粗品。粗品用柱层析分离纯化(硅胶,石油醚/乙酸乙酯=4:1)得到棕色油状粘稠物(7.7g)。LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 375.2$ 。

[0082] 步骤11: (S)-(3-(3-(2,2-二甲氧基乙基)脲基)-2-(4-氟-3,5-二甲基苯基)-4-甲基-2,4,6,7-四氢-5H-吡唑[4,3-c]并吡啶-5-甲酸叔丁酯

[0083]

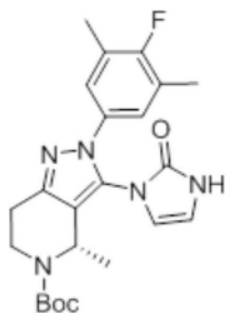


[0084] 在250mL三口瓶中依次加入化合物(S)-3-氨基-2-(4-氟-3,5-二甲基苯基)-4-甲基-2,4,6,7-四氢-5H-吡唑[4,3-c]并吡啶-5-甲酸叔丁酯(7.7g)、化合物N-(2,2-二甲氧基乙基)-1H-咪唑-1-甲酰胺(4.9g)及N,N-二甲基乙酰胺(100.0mL),使之溶清。在室温下,向上述反应液中缓慢加入叔丁醇钾(4.6g),加入完毕后反应液在室温下搅拌反应4.0小时。将反应液倾倒入水(300.0mL)中,用乙酸乙酯(300.0mL x 3)萃取3次。合并有机相,有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥。有机相减压浓缩得粗品。粗品用柱层析分离纯化(硅胶,二氯甲烷/乙酸乙酯=3:1)得到黄色固体化合物(4.6g)。

[0085] LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 506.3$ 。

[0086] 步骤12: (S)-2-(4-氟-3,5-二甲基苯基)-4-甲基-3-(2-酮-2,3-二氢-1H-咪唑-1-基)-2,4,6,7-四氢-5H-吡唑[4,3-c]并吡啶-5-甲酸叔丁酯

[0087]

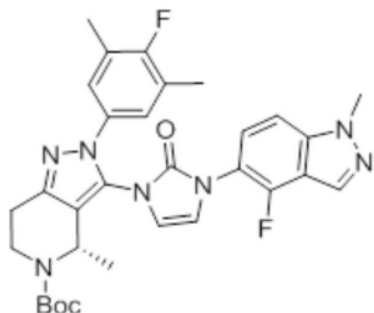


[0088] 在250mL三口瓶中加入化合物(S) - (3- (3- (2,2-二甲氧基乙基) 脲基) -2- (4-氟-3,5-二甲基苯基) -4-甲基-2,4,6,7-四氢-5H-吡唑[4,3-c]并吡啶-5-甲酸叔丁酯(4.5g)和四氢呋喃(100.0mL)。向反应液中加入甲磺酸(684.0mg),加毕,升温至60℃搅拌2.0小时。降至室温,用饱和磷酸钾溶液调节pH为9左右。向反应液中加入二碳酸二叔丁酯(776.0mg)。加入完毕后反应液在室温下搅拌反应1.0小时。将反应液倾倒入水(200.0mL)中,用乙酸乙酯(200.0mL x 3)萃取3次。合并有机相,有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥。有机相减压浓缩得粗品。粗品用柱层析分离纯化(硅胶,二氯甲烷/乙酸乙酯=3:1)得到黄色粘稠状化合物(2.7g)。

[0089] LC-MS, (ES, m/z) : $[M+H]^+ = 442.2$ 。

[0090] 步骤13: (S) - 3- (3- (4-氟-1-甲基-1H-吡唑-5-基) -2-酮-2,3-二氢-1H-咪唑-1-基) -2- (4-氟-3,5-二甲基苯基) -4-甲基-2,4,6,7-四氢-5H-吡唑[4,3-c]并吡啶-5-甲酸叔丁酯

[0091]



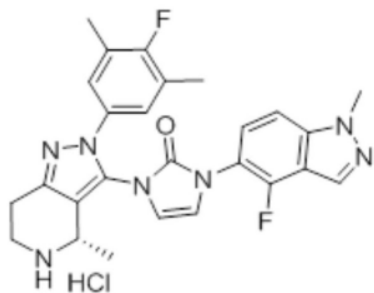
[0092] 在100mL反应瓶中依次加入化合物(S) -2- (4-氟-3,5-二甲基苯基) -4-甲基-3- (2-酮-2,3-二氢-1H-咪唑-1-基) -2,4,6,7-四氢-5H-吡唑[4,3-c]并吡啶-5-甲酸叔丁酯(2.6g)、化合物5-溴-4-氟-1-甲基-1H-吡唑(2.7g)、(1R,2R) -N¹,N²-二甲基环己烷-1,2-二胺(419.0mg)、碳酸钾(2.4g)、碘化亚铜(224.0mg)及N-甲基吡咯烷酮(60.0mL),在氮气氛围下搅拌,升温至130℃反应3.0小时。搅拌12.0小时。降至室温,将反应液倾倒入水(100.0mL)中,用乙酸乙酯(100.0mL x 3)萃取3次。合并有机相,有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥。有机相减压浓缩得粗品。粗品用柱层析分离纯化(硅胶,二氯甲烷/乙酸乙酯=3:1)得到棕色固体化合物(2.8g)。LC-MS, (ES, m/z) : $[M+H]^+ = 590.3$ 。

[0093] ¹H NMR (400MHz, DMSO) : δ 8.29 (s, 1H), 7.62 (d, J=8.9Hz, 1H), 7.47-7.37 (m, 1H), 7.13 (d, J=6.3Hz, 2H), 7.04 (d, J=3.1Hz, 1H), 6.93 (s, 1H), 5.14 (s, 1H), 4.37-4.15 (m, 1H), 4.11 (s, 3H), 3.15 (s, 1H), 2.77-2.61 (m, 2H), 2.23 (d, J=1.6Hz, 6H), 1.44 (s, 9H), 1.27-1.19 (m, 3H)。

[0094] 步骤14: (S) -1- (4-氟-1-甲基-1H-吡唑-5-基) -3- (2- (4-氟-3,5-二甲基苯基) -4-

甲基-4,5,6,7-四氢-2H-吡唑[4,3-c]并吡啶-3基)-1,3-二氢-2H-咪唑-2-酮盐酸盐

[0095]



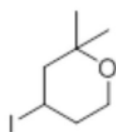
[0096] 在100mL反应瓶中依次加入化合物(S)-3-(3-(4-氟-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-酮-2,3-二氢-1H-咪唑-1-基)-2-(4-氟-3,5-二甲基苯基)-4-甲基-2,4,6,7-四氢-5H-吡唑[4,3-c]并吡啶-5-甲酸叔丁酯(2.7g, 4.6mmol)及二氯甲烷(20.0mL)。搅拌,向上述溶液中加入4.0mol/L的盐酸1,4-二氧六环溶液。反应液在室温下反应2.0小时。将反应液减压浓缩至干得到棕色固体化合物(2.5g)。

[0097] LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 490.2$ 。

[0098] ^1H NMR (400MHz, DMSO): δ 9.83 (s, 1H), 9.26 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.63 (d, J = 8.9Hz, 1H), 7.41 (dd, J = 8.8, 7.1Hz, 1H), 7.16 (d, J = 6.3Hz, 2H), 7.07 (d, J = 3.1Hz, 1H), 6.85 (d, J = 3.1Hz, 1H), 4.59 (s, 1H), 4.17-4.07 (m, 3H), 3.48-3.39 (m, 1H), 3.36 (s, 1H), 3.10-2.91 (m, 2H), 2.25 (d, J = 1.5Hz, 6H), 1.41 (d, J = 6.7Hz, 3H)。

[0099] 步骤15: 4-碘-2,2-二甲基四氢-2H-吡喃

[0100]

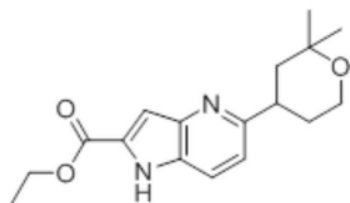


[0101] 在装有机械搅拌的2L三口瓶中依次加入丁基-3-烯-1-醇(42.0g)、丙酮(33.8g)、碘化钠(87.6g)及干燥的乙腈(1.00L)。搅拌下于室温慢慢滴加三甲基氯硅烷(63.4g), 约1.5小时滴加完毕。TLC(石油醚/乙酸乙酯=10/1, R_f =0.90)跟踪反应完成, 将反应液过滤除去不溶物, 滤液减压浓缩得粗品。粗品用柱层析分离纯化(硅胶, 石油醚/乙酸乙酯40:1到10:1)得到无色油状物(44.0g)。

[0102] ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 4.53-4.39 (m, 1H), 3.72-3.55 (m, 2H), 2.28-2.11 (m, 4H), 1.21 (s, 6H)。

[0103] 步骤16: 5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡咯[3,2-b]并吡啶-2-甲酸乙酯

[0104]



[0105] 在50mL三口瓶中加入活化后的锌粉(650mg)及无水氯化锂(420mg), 氩气置换三次, 保持无水无氧环境。氩气保护下用注射器小心加入干燥的N,N-二甲基甲酰胺(40.0mL), 加毕, 开动搅拌, 油浴缓缓升温至40℃。氩气保护下再用注射器向上述混合液加入三甲基氯

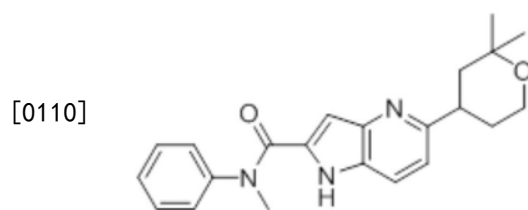
硅烷 (86.0mg) 及 1,2-二溴乙烷 (150mg), 加毕保温搅拌半小时。随后升温至 50℃, 小心加入 4-碘-2,2-二甲基四氢-2H-吡喃 (1.20g)。加毕, 将反应液缓缓降温至 25℃, 并于此温下继续搅拌 1.5 小时。随后停止搅拌, 静置待用。

[0106] 另取一只 50mL 三口瓶, 依次加入 5-溴-1H-吡咯[3,2-b]并吡啶-2-甲酸乙酯 (269mg) 及干燥的四氢呋喃 (40.0mL), 使之溶清, 氩气置换三次。氩气保护下, 依次向上述溶液加入醋酸钨 (11.0mg) 及 (4-(N,N-二甲氨基)苯基)二-叔丁基膦 (27.0mg), 加毕, 油浴缓缓升温至 50℃, 保温搅拌半小时后, 缓慢滴入上述制备的上清液。加毕, 继续保温搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完成, 停止反应。将反应液降至室温, 向反应液中加入饱和氯化铵水溶液淬灭反应。过滤, 滤渣用乙酸乙酯洗涤, 滤液用乙酸乙酯萃取, 有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤及浓缩得粗品。粗品用柱层析分离纯化 (硅胶, 石油醚/乙酸乙酯=1:4) 得到黄色固体化合物 (260mg)。

[0107] LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 303.1$ 。

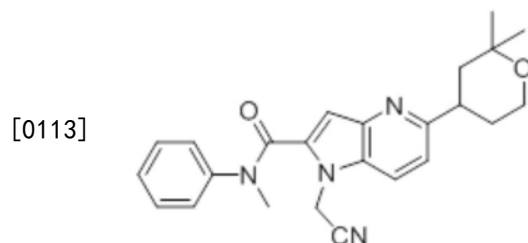
[0108] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 12.01 (s, 1H), 7.76 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.21 (d, J=8.6Hz, 1H), 7.13 (d, J=1.4Hz, 1H), 4.37 (q, J=7.1Hz, 2H), 3.71 (dd, J=8.2, 2.3Hz, 2H), 3.22-3.14 (m, 1H), 1.78-1.60 (m, 4H), 1.35 (t, J=7.1Hz, 3H), 1.27 (s, 3H), 1.18 (s, 3H)。

[0109] 步骤 17: 5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-N-苯基-1H-吡咯[3,2-b]并吡啶-2-甲酰胺



[0111] 在 50mL 三口瓶中加入 N-甲基苯胺 (849mg) 及干燥的四氢呋喃 (10.0mL), 使之溶清, 置于冰水浴中, 同时氮气置换三次。氮气保护下小心滴加六甲基二硅基胺基锂 (1M 四氢呋喃溶液), 滴毕继续保温搅拌半小时。再向上述混合液中加入化合物 5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡咯[3,2-b]并吡啶-2-甲酸乙酯 (1.20g) 的四氢呋喃 (5.00mL) 溶液, 滴毕继续保温搅拌一小时, 停止反应。向反应液中加入饱和氯化铵水溶液淬灭反应, 用二氯甲烷/甲醇 (V/V 8/1) 萃取数次。合并有机相, 依次用水及饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤及浓缩得棕色油状物 (1.00g)。

[0112] 步骤 18: 1-(氰基甲基)-5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-N-苯基-1H-吡咯[3,2-b]并吡啶-2-甲酰胺



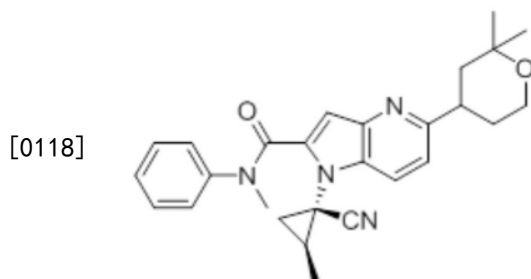
[0114] 在 50mL 茄性瓶中加入化合物 5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-N-苯基-1H-吡咯[3,2-b]并吡啶-2-甲酰胺 (70.0mg) 及 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮 (4.00mL), 使之溶清, 在冰水浴下小心加入氢化钠 (w/w%, 60%, 15.0mg), 加毕, 继续保温搅拌一小时, 再加

入氯乙腈 (22.0mg), 继续保温搅拌一小时, 停止反应。向反应液中加入饱和氯化铵水溶液淬灭反应, 用乙酸乙酯萃取数次, 合并有机相, 依次用水及饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤及浓缩得粗品。粗品用柱层析分离纯化 (硅胶, 石油醚/乙酸乙酯=1:4) 得到棕色油状物 (40.0mg)。

[0115] LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 403.3$ 。

[0116] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.03 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 7.38 (d, $J=4.2\text{Hz}$, 4H), 7.32-7.27 (m, 1H), 7.25 (d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 6.04 (s, 1H), 5.66 (s, 2H), 3.67 (d, $J=7.0\text{Hz}$, 2H), 3.44 (s, 3H), 3.15-3.08 (m, 1H), 1.73-1.47 (m, 4H), 1.22 (s, 3H), 1.14 (s, 3H)。

[0117] 步骤19: 1-((1S,2S)-1-氰基-2-甲基环丙基)-5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-N-苯基-1H-吡咯[3,2-b]并吡啶-2-甲酰胺

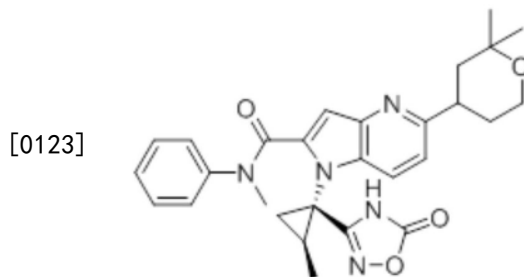


[0119] 在25mL三口瓶中依次加入化合物1-(氰基甲基)-5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-N-苯基-1H-吡咯[3,2-b]并吡啶-2-甲酰胺 (100mg)、(R)-4-甲基-1,3,2-二氧杂四氢噻吩-2,2-二氧化物 (69.0mg) 及N,N-二甲基丙基脒 (1.00mL), 使之溶清, 将反应液用冰水浴冷却。氩气置换三次, 氩气保护下, 小心滴加入六甲基二硅基胺基锂 (1.25ml, 1M的四氢呋喃溶液), 滴毕继续保温搅拌1小时, 停止反应。向反应液中加入饱和氯化铵水溶液淬灭反应, 用二氯甲烷/甲醇 (V/V 8/1) 萃取数次。合并有机相, 依次用水及饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤及浓缩得粗品。粗品用柱层析分离纯化 (硅胶, 石油醚/乙酸乙酯=1:1) 得到无色油状物 (含有未除尽的N,N-二甲基丙基脒), 将油状物小心滴入水中, 此时逐渐析出白色沉淀, 收集此固体, 用水洗涤数次, 真空干燥得米白色固体 (34mg)。

[0120] LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 443.2$ 。

[0121] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 7.89 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 7.50-7.17 (m, 7H), 3.68 (d, $J=6.7\text{Hz}$, 2H), 3.45 (s, 3H), 3.21-3.16 (m, 1H), 2.06-1.94 (m, 1H), 1.94-1.84 (m, 1H), 1.82-1.73 (m, 1H), 1.70-1.41 (m, 7H), 1.24 (s, 4H), 1.15 (s, 3H)。

[0122] 步骤20: 5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-1-((1S,2S)-2-甲基-1-(5-酮-4,5-二氢-1,2,4-恶二唑-3-基)环丙基)-N-苯基-1H-吡咯[3,2-b]并吡啶-2-甲酰胺

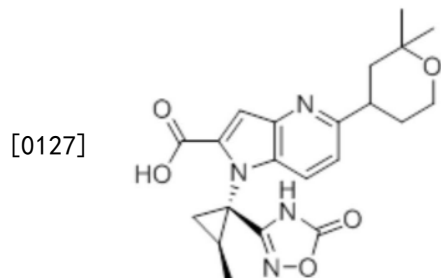


[0124] 在25mL茄性瓶中依次加入化合物1-((1S,2S)-1-氰基-2-甲基环丙基)-5-(2,2-二

甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-N-苯基-1H-吡咯[3,2-b]并吡啶-2-甲酰胺(22.0mg)、盐酸羟胺(35.0mg)及二甲亚砜(1.00mL),使之溶清,再向上述反应液中加入碳酸氢钠(42.0mg),将反应液置于60℃油浴搅拌1.5小时。LCMS检测到中间体,停止反应。将反应液降至室温,加入水,并用乙酸乙酯萃取数次。合并有机相,依次用水及饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤及浓缩得无色油状物。将上述无色油状物溶于二甲亚砜(1.00mL),依次加入N,N'-羰基二咪唑(16.0mg)及1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯(19.0mg)。将反应混合物室温搅拌一小时。将反应液用反相柱(乙腈/水含0.05%甲酸=50%)纯化得浅黄色固体(12mg)。

[0125] LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 502.2$ 。

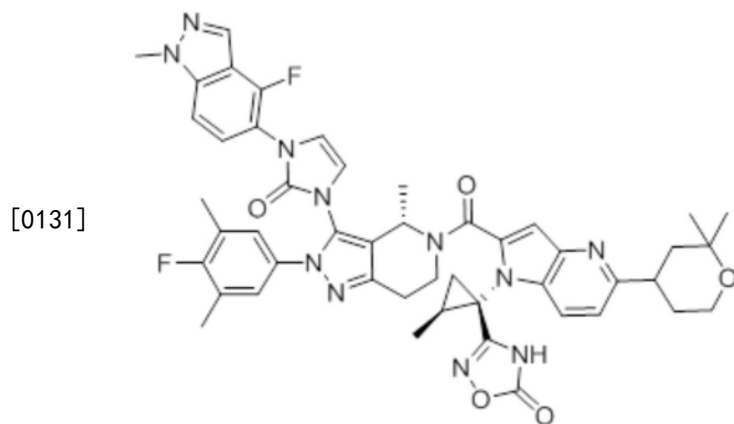
[0126] 步骤21: 5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1-((1S,2S)-2-甲基-1-(5-酮-4,5-二氢-1,2,4-恶二唑-3-基)环丙基)-1H-吡咯[3,2-b]并吡啶-2-甲酸



[0128] 在50mL单口瓶中依次加入化合物5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-1-((1S,2S)-2-甲基-1-(5-酮-4,5-二氢-1,2,4-恶二唑-3-基)环丙基)-N-苯基-1H-吡咯[3,2-b]并吡啶-2-甲酰胺(76.0mg)、氢氧化钾(17.0mg,0.304mmol)及乙二醇二甲醚(1.00mL),将反应液置于100℃油浴回流搅拌4小时,补加氢氧化钾(17.0mg,0.304mmol),继续100℃油浴回流搅拌2小时,停止反应。将反应液降至室温,减压浓缩,残留物复溶于水中,冰水浴冷却。缓缓滴加1N稀盐酸直至pH达5左右。减压蒸除水得固体粗品,再加入二氯甲烷/甲醇(V/V 4/1),超声助溶。过滤除去不溶物,滤液减压浓缩得黄色固体(60.0mg,)。

[0129] LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 413.2$ 。

[0130] 步骤22: 3-((2S)-1-(5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-2-((S)-3-(3-(4-氟-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-酮-2,3-二氢-1H-咪唑-1-基)-2-(4-氟-3,5-二甲基苯基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢-2H-吡啶[4,3-c]并吡啶-5-羰基)-1H-吡咯[3,2-b]并吡啶-1-基)-2-甲基环丙基)-1,2,4-恶二唑-5(4H)-酮



[0132] 在25mL茄型瓶中依次加入化合物5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1-((1S,2S)-2-甲基-1-(5-酮-4,5-二氢-1,2,4-恶二唑-3-基)环丙基)-1H-吡咯[3,2-b]并吡啶-2-甲酸(10.0mg)、(S)-1-(4-氟-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-3-(2-(4-氟-3,5-二甲基苯基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢-2H-吡唑[4,3-c]并吡啶-3-基)-1,3-二氢-2H-咪唑-2-酮盐酸盐(12.0mg)、1-羟基苯并三唑(4.00mg)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(5.60mg)及N,N-二甲基甲酰胺(1.00mL),开动搅拌,再加入三乙胺(7.00mg,0.0726mmol),继续室温搅拌12小时。LCMS显示反应完成,停止反应。向反应液中加入水,用乙酸乙酯萃取数次。合并有机相,依次用水及饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤及浓缩得粗品。粗品再用prep-HPLC(乙腈/水含0.05%碳酸氢铵)纯化得苍白色固体(14.9mg)。

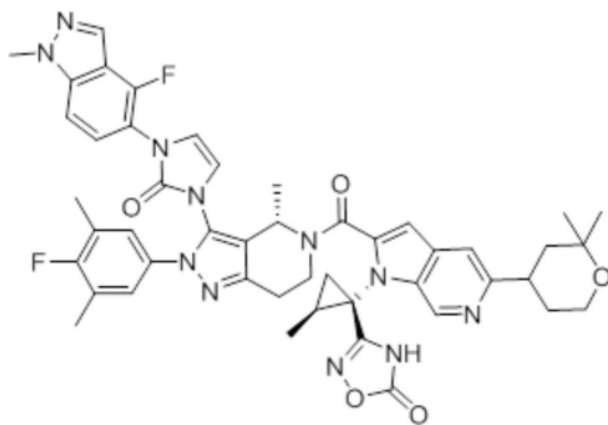
[0133] LC-MS, (ES, m/z): [M+H]⁺=884.3。

[0134] ¹H NMR (400MHz, MeOD) δ 8.36-8.29 (m, 0.5H), 8.19 (s, 0.5H), 8.10-8.03 (m, 0.5H), 7.98 (d, J=8.3Hz, 0.5H), 7.95-7.87 (m, 0.5H), 7.54-7.49 (m, 0.5H), 7.49-7.41 (m, 0.5H), 7.33 (d, J=8.9Hz, 0.5H), 7.18 (d, J=6.0Hz, 1H), 7.15-7.07 (m, 0.5H), 7.00-6.85 (m, 2H), 6.81-6.70 (m, 1H), 6.56-6.50 (m, 0.5H), 5.86-5.72 (m, 1H), 5.41-5.28 (m, 1H), 4.49-4.35 (m, 1H), 4.17-4.04 (m, 3H), 3.94-3.79 (m, 2H), 3.51-3.45 (m, 0.5H), 3.16-3.10 (m, 0.5H), 3.06-2.91 (m, 2H), 2.34-2.23 (m, 5H), 1.91-1.59 (m, 8H), 1.58-1.48 (m, 2H), 1.45-1.20 (m, 9H), 1.11-1.05 (m, 1H)。

[0135] 实施例2

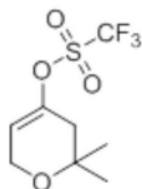
[0136] 3-((2S)-1-(5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-2-((S)-3-(3-(4-氟-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-酮-2,3-二氢-1H-咪唑-1-基)-2-(4-氟-3,5-二甲基苯基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢-2H-吡唑[4,3-c]并吡啶-5-羰基)-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-1-基)-2-甲基环丙基)-1,2,4-恶二唑-5(4H)-酮

[0137]



[0138] 步骤1:2,2-二甲基-3,6-二氢-2H-吡喃-4-基三氟甲磺酸酯

[0139]

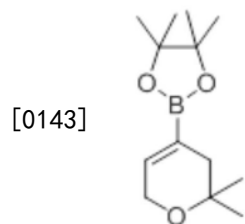


[0140] 将2,2-二甲基四氢-4H-吡喃-4-酮(1.00g)溶于无水四氢呋喃(10.0mL),于氮气保护-78℃下缓慢滴加二异丙基氨基锂(3.80mL),搅拌20分钟,然后滴加三氟-N-苯基-N-(三

氟甲基)磺酰)甲磺酰胺(3.07g)的四氢呋喃(10.0mL)溶液。缓慢升温到室温搅拌16小时。向反应液中加入饱和碳酸氢钠水溶液淬灭反应。加入乙酸乙酯萃取,合并有机相,机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤及浓缩得粗品。粗品用柱层析分离纯化(硅胶,石油醚/乙酸乙酯=1:20)得到产品和6,6-二甲基-3,6-二氢-2H-吡喃-4-基三氟甲磺酸酯的混合物(1.05g)。

[0141] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) 5.83-5.80 (m, 1H), 4.27 (q, $J=2.8\text{Hz}$, 2H), 2.30 (dd, $J=4.2, 2.8\text{Hz}$, 2H), 1.29 (s, 6H)。

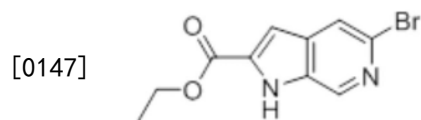
[0142] 步骤2: 2-(2,2-二甲基-3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷



[0144] 将化合物2,2-二甲基-3,6-二氢-2H-吡喃-4-基三氟甲磺酸酯及6,6-二甲基-3,6-二氢-2H-吡喃-4-基三氟甲磺酸酯(950mg)溶于二氧六环(10.0mL)和水(2.00mL)的混合溶剂中,氩气保护下依次加入乙酸钾(873mg)、联硼酸频哪醇酯(972mg)、1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(266mg), 80℃下搅拌16小时。将反应液降至室温,向反应液中加入水,用乙酸乙酯萃取三次,有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤及浓缩得粗品。粗品用柱层析分离纯化(硅胶,石油醚/乙酸乙酯=1:10)得到黄色油状产品和2-(6,6-二甲基-3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷的混合产物(623mg)。

[0145] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 6.53 (d, $J=2.2\text{Hz}$, 1H), 4.21 (dd, $J=5.4, 2.7\text{Hz}$, 2H), 2.13-2.10 (m, 2H), 1.27 (s, 9H), 1.20 (s, 6H)。

[0146] 步骤3: 5-溴-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酸乙酯



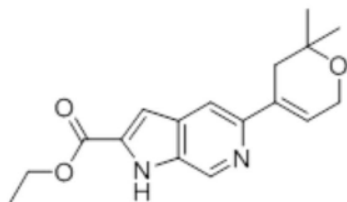
[0148] 氩气保护下,向化合物2-溴-4-甲基-5-硝基吡啶(3.60g, 16.6mmol)的草酸二乙酯(11.3mL)溶液中加入1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯(11.3mL),室温搅拌16小时后,再加入冰乙酸(88.0mL),油浴缓慢升温至80℃,在此温度下,分批加入铁粉(1.86g, 33.2mmol),保温搅拌4小时后,将反应液降至室温,搅拌下小心倾入冰水中,此时逐渐析出灰褐色固体,收集此固体,用冰水润洗数次,经真空干燥得到灰褐色固体(3.80g)。

[0149] LC-MS, (ES, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+=269.1/270.9$ 。

[0150] ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.61 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.16 (d, $J=1.4\text{Hz}$, 1H), 4.39 (q, $J=7.1\text{Hz}$, 2H), 1.36 (t, $J=7.1\text{Hz}$, 3H)。

[0151] 步骤4: 5-(2,2-二甲基-3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酸乙酯

[0152]

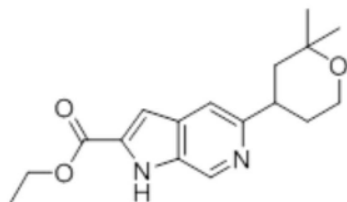


[0153] 将化合物5-溴-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酸乙酯(623mg)溶于二氧六环(10.0mL)和水(2.00mL)的混合溶剂中,氩气保护下加入碳酸钠(873mg)、2-(2,2-二甲基-3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷的混合物(623mg)、1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(169mg),100℃下搅拌16小时。将反应液降至室温,向反应液中加入水,用乙酸乙酯萃取三次,有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤及浓缩得粗品。粗品用柱层析分离纯化(硅胶,石油醚/乙酸乙酯=1:10)得到黄色油状产品与5-(6,6-二甲基-3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酸乙酯混合物(190mg)。

[0154] LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 301.0$ 。

[0155] 步骤5: 5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酸乙酯

[0156]

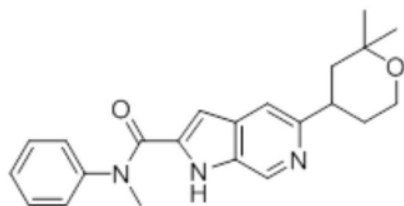


[0157] 将5-(2,2-二甲基-3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酸乙酯的混合物(2.60g)溶于甲醇(30.0mL)中,加入10%钯碳(260mg)氢气氛围下于室温搅拌反应20小时,LCMS显示反应完成,停止反应。过滤,滤饼用甲醇洗涤,合并滤液浓缩得到棕色油状物(1.20g)。

[0158] LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 303.0$ 。

[0159] 步骤6: 5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-N-苯基-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酰胺

[0160]

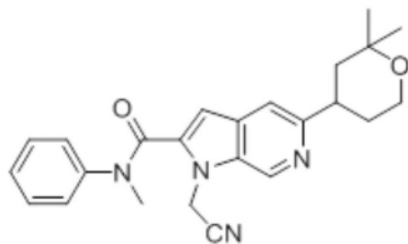


[0161] 按实施例1步骤17类似方法,由5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酸乙酯(850mg),得到产品(1.0g)。

[0162] LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 364.2$ 。

[0163] 步骤7: 1-(氰基甲基)-5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-N-苯基-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酰胺

[0164]



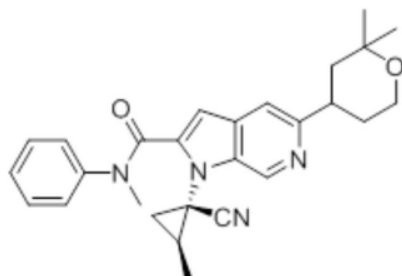
[0165] 按实施例1步骤18类似方法,由5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-N-苯基-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酰胺(1.0g),得到产品(500mg)。

[0166] LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 403.3$ 。

[0167] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.98 (s, 1H), 7.39-7.32 (m, 4H), 7.30-7.24 (m, 2H), 6.02 (s, 1H), 5.74 (s, 2H), 3.70-3.65 (m, 2H), 3.45 (s, 3H), 3.13-3.04 (m, 1H), 1.71-1.49 (m, 4H), 1.23 (s, 3H), 1.14 (s, 3H)。

[0168] 步骤8: 1-((1S,2S)-1-氰基-2-甲基环丙基)-5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-N-苯基-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酰胺

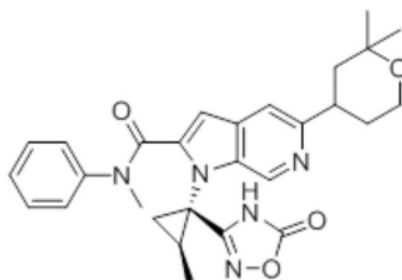
[0169]



[0170] 按实施例1步骤19类似方法,由1-(氰基甲基)-5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-N-苯基-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酰胺(450mg),得到产品(280mg)。LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 443.2$ 。

[0171] 步骤9: 5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-1-((1S,2S)-2-甲基-1-(5-酮-4,5-二氢-1,2,4-恶二唑-3-基)环丙基)-N-苯基-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酰胺

[0172]



[0173] 按实施例1步骤20类似方法,由1-((1S,2S)-1-氰基-2-甲基环丙基)-5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-N-苯基-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酰胺(280mg),得到产品(140mg)。

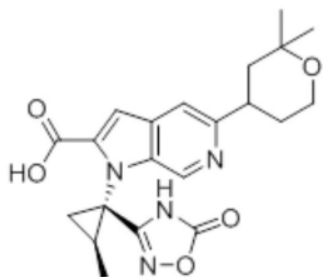
[0174] LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 502.2$ 。

[0175] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.71 (s, 1H), 8.28-8.17 (m, 2H), 7.40-7.16 (m, 5H), 6.11 (br, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.68-3.67 (m, 2H), 3.09-3.03 (m, 1H), 1.90-1.48 (m, 7H), 1.28 (d, $J=5.1$ Hz, 3H), 1.24 (s, 3H), 1.15 (s, 3H)。

[0176] 步骤10: 5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1-((1S,2S)-2-甲基-1-(5-酮-4,5-

二氢-1,2,4-恶二唑-3-基)环丙基)-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酸

[0177]

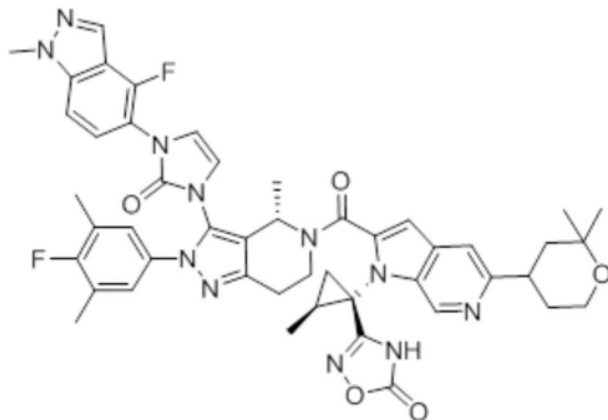


[0178] 按实施例1步骤21类似方法,由5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-N-甲基-1-((1S,2S)-2-甲基-1-(5-酮-4,5-二氢-1,2,4-恶二唑-3-基)环丙基)-N-苯基-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酰胺(140mg),得到产品(110mg)。

[0179] LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 413.3$ 。

[0180] 步骤11:3-((2S)-1-(5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-2-((S)-3-(3-(4-氟-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-酮-2,3-二氢-1H-咪唑-1-基)-2-(4-氟-3,5-二甲基苯基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢-2H-吡啶[4,3-c]并吡啶-5-羰基)-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-1-基)-2-甲基环丙基)-1,2,4-恶二唑-5(4H)-酮

[0181]



[0182] 按实施例1步骤22类似方法,由5-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1-((1S,2S)-2-甲基-1-(5-酮-4,5-二氢-1,2,4-恶二唑-3-基)环丙基)-1H-吡咯[2,3-c]并吡啶-2-甲酸(110mg)和(S)-1-(4-氟-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-3-(2-(4-氟-3,5-二甲基苯基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢-2H-吡啶[4,3-c]并吡啶-3基)-1,3-二氢-2H-咪唑-2-酮盐酸盐(137mg),得到产品(35mg)。

[0183] LC-MS, (ES, m/z): $[M+H]^+ = 884.3$ 。

[0184] ^1H NMR (400MHz, MeOD) δ 8.94-8.86 (m, 0.5H), 8.84-8.74 (m, 0.5H), 8.22-8.17 (m, 0.5H), 8.16-8.07 (m, 0.5H), 7.91-7.72 (m, 1H), 7.56-7.51 (m, 0.5H), 7.49-7.42 (m, 0.5H), 7.41-7.34 (m, 0.5H), 7.30-7.22 (m, 0.5H), 7.19 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 1H), 7.11 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 0.5H), 7.07-6.97 (m, 1H), 6.91 (d, $J=2.8\text{Hz}$, 0.5H), 6.81-6.68 (m, 1H), 6.65-6.50 (m, 0.5H), 5.88-5.78 (m, 0.5H), 5.31-5.20 (m, 0.5H), 4.43-4.28 (m, 0.5H), 4.17-4.03 (m, 3H), 3.97-3.80 (m, 2H), 3.22 (q, $J=7.3\text{Hz}$, 3H), 3.11-2.96 (m, 1H), 2.29 (s, 6H), 1.96-1.53 (m, 8H), 1.39 (s, 3H), 1.36-1.24 (m, 8H), 1.10 (d, $J=6.1\text{Hz}$, 1H)。

[0185] 实施例3

[0186] 生物活性实验

[0187] 1化合物的体外活性测定:

[0188] 首先构建了稳定表达人GLP-1R的细胞系,具体步骤如下:将人GLP-1R基因克隆到pCDNA3.1载体中,用该表达载体转染HEK293T细胞,经潮霉素B筛选后挑取单克隆,鉴定阳性克隆后扩增培养得到人GLP-1R稳定表达细胞系。

[0189] 用赛斯博奥公司(cisbio)的cAMP检测试剂盒(商品号:62AM4PEB)建立了GLP-1R激动剂的筛选方法。其基本原理是:细胞膜上的GLP-1R被激活后通过一系列下游信号通路将细胞内的ATP催化生成cAMP,细胞中生成的cAMP与试剂盒中提供的cAMP-d2竞争与anti-cAMP抗体结合,只有cAMP-d2与anti-cAMP结合后才能检测到荧光信号,而细胞中产生的cAMP与anti-cAMP抗体结合后并不能检测到荧光信号,因此可以通过荧光信号的强弱来反应细胞中产生cAMP的多少,进而检测GLP-1R的激活程度。

[0190] 具体操作如下:取500个细胞(GLP-1R稳定表达细胞系)稀释在5 μ L培养基中,加入384孔板,向其中加入5 μ L待测化合物,混匀后37度孵育0.5h,0.5h后加入5 μ L cAMP-d2和5 μ L anti-cAMP Cryptate,混匀后室温孵育1h,置于酶标仪中检测荧光信号。通过数据分析软件Prism处理数据并得到该化合物的EC50值,化合物II、化合物III和专利对照药(TW201827426的化合物67)同时进行检测,对照药按照TW201827426公开的方法自行合成。

[0191]

化合物编号	EC50 (nM)
II	0.75
III	0.50
对照药	1.2

[0192] 以上的结果表明本发明的化合物对于GLP-1受体具有较强的激动作用效果。