

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780021715.3

[51] Int. Cl.

*C07D 217/02 (2006.01)*

*A61K 31/435 (2006.01)*

*A61P 35/00 (2006.01)*

*A61P 31/18 (2006.01)*

[43] 公开日 2009 年 6 月 24 日

[11] 公开号 CN 101466683A

[22] 申请日 2007.6.12

[21] 申请号 200780021715.3

[30] 优先权

[32] 2006. 6. 20 [33] US [31] 60/805,260

[32] 2007. 1. 19 [33] US [31] 60/885,765

[86] 国际申请 PCT/US2007/070945 2007.6.12

[87] 国际公布 WO2007/149730 英 2007.12.27

[85] 进入国家阶段日期 2008.12.11

[71] 申请人 伊莱利利公司

地址 美国印第安纳州

[72] 发明人 S·约瑟夫 李仁华

M·R·迈尔斯 A·阿布鲁布

J·P·戴 C·R·施密德

[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

代理人 黄革生 林柏楠

权利要求书 2 页 说明书 24 页

[54] 发明名称

AKT(蛋白激酶 B) 抑制剂

[57] 摘要

本发明涉及作为 Akt 抑制剂的 4 - [5 - (2 - 氨基 - 乙磺酰基) - 异喹啉 - 7 - 基] - 苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物, 其是抗肿瘤药和/或抗病毒药, 本发明还涉及包含这些化合物的组合物以及应用这些化合物的方法。

1. 化合物, 其是 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物。

2. 权利要求 1 的化合物, 其是 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐。

3. 权利要求 1 的化合物, 其是 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物。

4. 权利要求 1 至 3 中任意一项的化合物, 其用作药物。

5. 权利要求 1 至 3 中任意一项的化合物在制备用于治疗多发性骨髓瘤、非小细胞肺癌、成胶质细胞瘤、神经母细胞瘤、黑素瘤或前列腺肿瘤、乳腺肿瘤、卵巢肿瘤、原发性胃肿瘤、肠型肿瘤、子宫内膜肿瘤、甲状腺肿瘤、胰腺肿瘤、肺肿瘤或膀胱肿瘤的药物中的用途。

6. 权利要求 1 至 3 中任意一项的化合物在制备用于治疗多发性骨髓瘤、非小细胞肺癌、成胶质细胞瘤或前列腺肿瘤、乳腺肿瘤或卵巢肿瘤的药物中的用途。

7. 权利要求 1 至 3 中任意一项的化合物在制备用于治疗非小细胞肺癌或成胶质细胞瘤的药物中的用途。

8. 权利要求 1 至 3 中任意一项的化合物在制备用于治疗丙型肝炎、风疹、人类免疫缺陷病毒(HIV)、乙型肝炎或人类巨细胞病毒(HCMV)的药物中的用途。

9. 在需要的患者中治疗多发性骨髓瘤、非小细胞肺癌、成胶质细胞瘤、神经母细胞瘤、黑素瘤或前列腺肿瘤、乳腺肿瘤、卵巢肿瘤、原发性胃肿瘤、肠型肿瘤、子宫内膜肿瘤、甲状腺肿瘤、胰腺肿瘤、肺肿瘤或膀胱肿瘤的方法, 该方法包括施用有效量的权利要求 1 至 3 中任意一项的化合物。

10. 在需要的患者中治疗多发性骨髓瘤、非小细胞肺癌、成胶质细胞瘤或前列腺肿瘤、乳腺肿瘤或卵巢肿瘤的方法, 该方法包括施用有效量的权利要求 1 至 3 中任意一项的化合物。

11. 在需要的患者中治疗非小细胞肺癌或成胶质细胞瘤的方法, 该方

法包括施用有效量的权利要求 1 至 3 中任意一项的化合物。

12. 在需要的患者中治疗丙型肝炎、风疹、人类免疫缺陷病毒(HIV)、乙型肝炎或人类巨细胞病毒(HCMV)的方法，该方法包括施用有效量的权利要求 1 至 3 中任意一项的化合物。

13. 药物组合物，该药物组合物包含权利要求 1 至 3 中任意一项的化合物以及可药用载体、稀释剂或赋形剂。

14. 冻干的药物组合物，该药物组合物包含权利要求 1 至 3 中任意一项的化合物以及可药用载体、稀释剂或赋形剂，其中当用水稀释剂稀释时所述组合物的 pH 小于 4.2 并且大于 2.0。

15. 权利要求 14 的冻干的药物组合物，其中 pH 小于 3.2 并且大于 2.0。

16. 权利要求 15 的冻干的药物组合物，其中 pH 小于 2.8 并且大于 2.0。

17. 在溶液中的药物组合物，该药物组合物包含权利要求 1 至 3 中任意一项的化合物以及可药用载体、稀释剂或赋形剂，其中所述组合物的 pH 小于 4.2 并且大于 2.0。

18. 权利要求 17 的药物组合物，其中所述组合物的 pH 小于 3.2 并且大于 2.0。

19. 权利要求 18 的药物组合物，其中所述组合物的 pH 小于 2.8 并且大于 2.0。

20. 结晶形状的 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物，其具有强峰在  $2\theta=4.9$ 、14.8 和 10.2 处的 X-射线粉末衍射图。

## AKT(蛋白激酶 B)抑制剂

本发明提供了作为 Akt 抑制剂的化合物、包含这些化合物的组合物以及应用这些化合物的方法。

### 发明背景

蛋白激酶参与信号转导途径，在正常和病理条件下把生长因子、激素和其它细胞调节分子与细胞生长、存活和代谢联系起来。一种此类蛋白激酶(蛋白激酶 B(也称为 Akt))是丝氨酸/苏氨酸激酶，其在促进广泛的细胞类型的增殖和存活，从而保护细胞免于凋亡(编程性细胞死亡)中具有重要作用。

许多蛋白激酶和磷酸酶调节 Akt 活性。例如，Akt 的活化由磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3-K)介导，引发第二信使磷脂与 Akt 的血小板白细胞 C 激酶底物同系(PH)结合域的结合。该结合将 Akt 锚定至质膜并且引起酶的磷酸化和活化。PI3-K 的催化亚单位 p110 $\alpha$ 的扩增或者 PI3-K 调节亚单位 p85 $\alpha$ 的突变在多种类型的人类癌症中引起 Akt 的活化。最近的研究也已经证明 PI3-K/AKT 途径在多种病毒的生命循环中的作用。

WO 01/91754 关于蛋白激酶抑制剂。WO 2005/011697 涉及蛋白激酶 A 和 B 抑制剂。WO 2005/054202 关于 AKT 抑制剂。

由于在细胞存活的调节中的重要作用，Akt 为有效治疗多种障碍、特别是癌症和病毒感染提供了新的治疗靶标。但是，此类治疗需要开发有效的、选择性的、生物可利用的 Akt 抑制剂。选择性 Akt 抑制剂成为了需要。因此，本发明提供了具有增加的有效性、选择性和/或生物可利用性的新的 Akt 抑制剂，包含这些化合物的组合物以及应用这些化合物的方法。

另外，包含新的 Akt 抑制剂的药物组合物当必须稀释或在溶液中时，其必须没有沉淀以使其传递至患者。本发明提供了在没有此类沉淀的特别 pH 范围内的包含新的 Akt 抑制剂的药物组合物。

### 发明概述

本发明提供了 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物。

本发明还提供了 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐。

本发明进一步提供了 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物。

本发明还提供了用作药物的 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物,包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物。

另外,本发明提供了 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物、包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物在制备用于治疗多发性骨髓瘤、非小细胞肺癌、成胶质细胞瘤、神经母细胞瘤、黑素瘤或前列腺肿瘤、乳腺肿瘤、卵巢肿瘤、原发性胃肿瘤、肠型肿瘤、子宫内膜肿瘤、甲状腺肿瘤、胰腺肿瘤、肺肿瘤或膀胱肿瘤的药物中的用途。

本发明还提供了 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物、包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物在制备用于治疗多发性骨髓瘤、非小细胞肺癌、成胶质细胞瘤或前列腺肿瘤、乳腺肿瘤或卵巢肿瘤的药物中的用途。

本发明还提供了 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物、包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物在制备用于治疗非小细胞肺癌或成胶质细胞瘤的药物中的用途。

本发明进一步提供了 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物、包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物在制备用于治疗丙型肝炎、风疹、人类免疫缺陷病毒(HIV)、乙型

肝炎或人类巨细胞病毒(HCMV)的药物中的用途。

另外,本发明提供了 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物、包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物,其用于治疗多发性骨髓瘤、非小细胞肺癌、成胶质细胞瘤、神经母细胞瘤、黑素瘤或前列腺肿瘤、乳腺肿瘤、卵巢肿瘤、原发性胃肿瘤、肠型肿瘤、子宫内膜肿瘤、甲状腺肿瘤、胰腺肿瘤、肺肿瘤或膀胱肿瘤。

本发明还提供了 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物、包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物,其用于治疗多发性骨髓瘤、非小细胞肺癌、成胶质细胞瘤或前列腺肿瘤、乳腺肿瘤或卵巢肿瘤。

本发明还提供了 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物、包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物,其用于治疗非小细胞肺癌或成胶质细胞瘤。

本发明进一步提供了 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物、包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物,其用于治疗丙型肝炎、风疹、人类免疫缺陷病毒(HIV)、乙型肝炎或人类巨细胞病毒(HCMV)。

本发明还提供了在需要的患者中治疗多发性骨髓瘤、非小细胞肺癌、成胶质细胞瘤、神经母细胞瘤、黑素瘤或前列腺肿瘤、乳腺肿瘤、卵巢肿瘤、原发性胃肿瘤、肠型肿瘤、子宫内膜肿瘤、甲状腺肿瘤、胰腺肿瘤、肺肿瘤或膀胱肿瘤的方法,该方法包括施用有效量的 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物、包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物。

本发明还提供了在需要的患者中治疗多发性骨髓瘤、非小细胞肺癌、

成胶质细胞瘤或前列腺肿瘤、乳腺肿瘤或卵巢肿瘤的方法，该方法包括施用有效量的 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物、包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物。

本发明还提供了在需要的患者中治疗非小细胞肺癌或成胶质细胞瘤的方法，该方法包括施用有效量的 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物、包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物。

本发明进一步提供了在需要的患者中治疗丙型肝炎、风疹、人类免疫缺陷病毒(HIV)、乙型肝炎或人类巨细胞病毒(HCMV)的方法，该方法包括施用有效量的 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物、包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物。

本发明还提供了药物组合物，该药物组合物包含 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物、包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物以及可药用载体、稀释剂或赋形剂。

本发明还提供了冻干的药物组合物，该药物组合物包含 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物、包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物以及可药用载体、稀释剂或赋形剂，其中当用水稀释剂稀释时所述组合物的 pH 小于 4.2 并且大于 2.0、小于 3.2 并且大于 2.0 或者小于 2.8 并且大于 2.0。

本发明还提供了在溶液中的药物组合物，该药物组合物包含 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或者化合物或其盐的水合物、包括 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐或 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物以及可药用载体、稀释

剂或赋形剂，其中所述组合物的 pH 小于 4.2 并且大于 2.0、小于 3.2 并且大于 2.0 或者小于 2.8 并且大于 2.0。

本发明进一步提供了结晶形状的 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物，其具有强峰在  $2\theta=4.9$ 、14.8 和 10.2 处的 X-射线粉末衍射图。

本发明还提供了 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或其水合物。

#### 发明详述

本发明化合物是 Akt 抑制剂并且被相信用于治疗与 Akt 活性有关的障碍。因此，本发明化合物是抗肿瘤药或抗病毒药。

本发明化合物用于治疗表现 PTEN 缺陷的肿瘤、具有失调的 PI3 激酶活性的肿瘤或表现 Akt 活性升高的肿瘤。Akt 抑制剂被相信用于治疗多发性骨髓瘤(Hsu 等人, *Blood*(2001) 98(9) 2853-2855); 非小细胞肺癌(Balsara, *Carcinogenesis*(2004) 25(11) 2053-2059); 成胶质细胞瘤(Koul 等人, *Mol. Cancer Ther.*(2006) 5: 637-644); 神经母细胞瘤(Li 等人, *Cancer Res.*(2005) 65(6), 2070-2075); 黑素瘤(Dai 等人, *J. of Clin. Oncology*(2005) 23(7), 1473-1482)和前列腺肿瘤(Majumder 等人, *Oncogene*(2005) 24, 7465-7474); 乳腺肿瘤(Tokunaga 等人, *J. of Clin. Oncology*(会议摘要)(2005) 23(16S), 9500); 卵巢肿瘤(Cheung 等人, *PNAS*(1992) 89, 9267-9271; Yuan 等人(2000); Hu 等人(2000)); 原发性胃肿瘤或肠型肿瘤(Ang 等人, *Cancer Lett.*(2005) 225(1), 53-59); 子宫内膜肿瘤(Jin 等人, *British J. of Cancer*(2004) 91 1808-1812); 甲状腺肿瘤(Ringel 等人, *Cancer Res.*(2001) 61(16), 6105-6111; De Vita 等人, *Cancer Res.*(2000) 60, 3916-3920); 胰腺肿瘤(Schliemen 等人, *Brit. J. of Cancer*(2003) 89, 2110-2115); 肺肿瘤(Massion 等人, *Am. J. Resp. Crit. Care Med.*(2004) 170, 1088-1094); 或膀胱肿瘤(Rieger-Christ 等人, *Oncogene*(2004) 23(27), 4745-4753)。Akt 抑制剂还被相信用于治疗病毒，例如丙型肝炎和丙型肝炎的 NS5A(Mannova 等人, *J. Virol.*(2005) 79(14), 8742-8749; He 等人(2002)); 风疹(Cooray 等人, *Virology J.*(2005) 2(1), 1-12); 人类免疫缺陷病毒(HIV)的 Tat 蛋白(Borgatti 等人



(1997)); 乙型肝炎的蛋白 X(Lee 等人(2001)), 或人类巨细胞病毒(HCMV)(Johnson 等人(2001))。

4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚形成可药用酸加成盐, 例如通常用于药物化学中的生理学上可接受的盐。此类盐也是本发明的部分。可药用盐和制备它们的通用方法是本领域众所周知的。参见例如 P. Stahl 等人, *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*(药用盐手册: 性质、筛选和应用),(VCHA/Wiley-VCH, 2002); S.M. Berge 等人, “Pharmaceutical Salts(药用盐)” *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 第 66 卷, 第 1 期 1977 年 1 月。

4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚的优选盐包括一盐酸盐和二盐酸盐。

本文描述的中间体可以形成盐。

除了盐, 本发明化合物和本文描述的中间体可以形成水合物和可药用盐的水合物。

优选的化合物是 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚。另一个优选的化合物是 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐。更优选的化合物是 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物。

本文所用的术语“患者”指的是患有的一种或多种与 Akt 活性升高有关的障碍的哺乳动物。应当理解的是, 最优选的患者是人类。还应当理解的是, 本发明特别涉及哺乳动物 Akt/PKB 的抑制。

术语“治疗”指的是包括以下作用: 例如降低和/或抑制肿瘤生长, Akt1、Akt2 和/或 Akt3 的扩增和/或过表达, 细胞增殖和存活和/或病毒复制。

本文所用的术语“有效量”指的是将 Akt 抑制到提供药理作用的程度的量。

本发明还提供了药物组合物, 该药物组合物包含 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚或其可药用盐或其水合物以及可药用载体、稀释剂或赋形剂。本发明的药物组合物包括稀释前的形式(例如冻干形式)和稀释后的形式(例如准备施用于患者的形式)。这些药物组合物的 pH 为小于约 4.2 至大于约 2.0。更优选的是, pH 为小于约 3.2 至大于约 2.0。最优选的

pH 为小于约 2.8 至大于约 2.0。“可药用载体、稀释剂或赋形剂”是本领域通常接受的用于将生物活性剂传递至患者、例如哺乳动物、优选人类的介质。此类载体、稀释剂或赋形剂通常是是根据在本领域普通技术人员确定或说明的范围内的多种因素配制的。这些包括但不限于：配制的活性剂的类型和性质；被施用包含试剂的组合物的个体；组合物预期的施用途径和靶向的治疗适应证。可药用载体和赋形剂包括水和非水液体介质以及多种固体和半固体剂型。此类载体、稀释剂或赋形剂除了活性剂外还可以包括本领域的多种不同的成分和添加剂，制剂中包含此种添加成分是由于多种原因，例如稳定活性试剂，这是本领域普通技术人员众所周知的。适合的可药用载体、稀释剂或赋形剂和在选择中涉及的因素的描述可以在多种容易获得的来源中找到，参见例如 Remington: The Science and Practice of Pharmacy(雷明顿：药学科学和实践)(A. Gennaro 等人编，第 19 版，Mack Publishing Co., 1995)。

本发明化合物可以以包含常规的无毒可药用载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物的剂量单位制剂全身施用，例如静脉内(例如通过大丸剂或输液)施用。

对于 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚的药物组合物，活性成分通常是以基于组合物总重量的约 0.5 至 95%重量的量存在。可以应用适合的包衣以提高适口性或延缓吸收。

用于在患者中治疗本文描述的障碍的本发明化合物的治疗有效量可以通过本领域的普通技术人员已知的多种方式确定。但是，应当理解的是，任何特别患者的特别剂量水平将取决于多种因素，包括所应用的特别化合物的活性、年龄、体重、一般健康、性别、饮食、施用时间、施用途径和排泄速率、药物组合以及特别疾病的严重程度。剂量的频率也可以取决于所应用的化合物和治疗的特别疾病而不同。例如，典型的日剂量可以包含约 1 mg 至 1 g 的活性成分。

除了文献中已知的或在试验过程中示例的其它标准制备外，也可以应用本文提供的信息制备本发明化合物。

除非另外指出，本文中应用的术语和缩略语具有它们常规的含义。例

如“LC”指的是液相色谱;“dppb”指的是双(二苯基膦基)丁烷;Pd(OAc)<sub>2</sub>指的是乙酸钯;“DMF”指的是N,N-二甲基甲酰胺;“DMSO”指的是二甲亚砜;“Et<sub>2</sub>O”指的是乙醚,“EtOAc”指的是乙酸乙酯;“TFA”指的是三氟乙酸;MeOH指的是甲醇。

### 制备

#### 制备 1

##### 2-[7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-磺酰基]-乙基胺二盐酸盐

将{2-[7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-磺酰基]-乙基}-氨基甲酸叔丁酯(11.00 g, 24.85 mmol)的无水 MeOH(150 mL)浆液用在二噁烷(350 mL)中的 4 N HCl 处理。将产生的反应混合物在室温下搅拌过夜,然后真空浓缩至 1/2 体积并且用过量的 EtOAc 处理,引起黄色固体沉淀。通过在 N<sub>2</sub> 气氛下真空过滤回收产生的固体;用 EtOAc 洗涤并且真空干燥(在 N<sub>2</sub> 气氛下)得到标题化合物(10.23 g, 99% 产率),为黄色固体:MS(ES): m/z 343.0(M<sup>+</sup>+H)。

#### 制备 2

##### 7-溴-异喹啉-5-磺酸

将发烟 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(2,000 mL, 21.33 mol; 26-29.5% 游离 SO<sub>3</sub>)加入至安装有机械搅拌器、回流冷凝器、N<sub>2</sub> 管和温度计的 5 L 圆底烧瓶中。将发烟 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>用冰/丙酮浴冷却至~10℃,然后分批加入 7-溴异喹啉 HCl(500.00 g, 2.04 mol),保持反应混合物的温度低于~15-20℃。7-溴异喹啉 HCl 加入完成后,将产生的反应混合物在~100℃下加热过夜。将反应混合物冷却至室温,然后缓慢倾倒入搅拌的冰 H<sub>2</sub>O 溶液中。将产生的沉淀通过真空过滤回收,用 H<sub>2</sub>O 然后用 Et<sub>2</sub>O 洗涤,并且真空过滤干燥,然后在~35℃下在干燥箱中减压干燥,得到标题化合物(501.42 g, 85% 产率),为类白色固体:TOF-MS [ES<sup>+</sup>; m/z] 287.9331/287.9330。

#### 制备 3

##### 7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-磺酸

将 7-溴-异喹啉-5-磺酸(150.00 g, 0.520 mol)和 4-甲氧基苯基硼酸(90.87 g, 0.598 mol)的 DMF(1,400 mL)和 MeOH(375 mL)溶液用 2 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 水

溶液(652 mL)处理。将产生的浆液 3×用  $N_2$  脱氧, 然后加入  $Pd(OAc)_2$ (2.33 g, 0.0104 mol)和  $dppb$ (5.54 g, 0.0130 mol)。将产生的反应混合物在 $\sim 70^\circ C$ 下加热 3 小时, 然后冷却至室温过夜。将反应混合物用  $H_2O$ (4,000 mL)稀释并且用 5 N HCl 水溶液将 pH 调至 $\sim pH$  2。将产生的浆液在室温下搅拌 30 分钟, 然后通过真空过滤回收棕色固体, 用  $H_2O$  洗涤并且真空过滤干燥。将棕色固体溶于 DMF(1,000 mL)和 2 M  $Na_2CO_3$  水溶液(650 mL)中并且将产生的溶液通过硅藻土垫过滤, 用 DMF(400 mL)/ $H_2O$ (400 mL)洗涤。将滤液用 5 N HCl 水溶液处理以将 pH 调至 $\sim pH$  2。将产生的浆液在室温下搅拌 30 分钟, 然后通过真空过滤回收固体, 用  $H_2O$  洗涤并且真空过滤干燥过夜。将固体再溶于 DMF(1,000 mL)和 2 M  $Na_2CO_3$  水溶液(1,000 mL)中并且将产生的溶液用硅藻土处理以得到浆液。将产生的浆液在室温下搅拌 30 分钟, 然后通过硅藻土垫过滤, 用  $H_2O$  洗涤。将滤液用 5 N HCl 水溶液处理以将 pH 调至 $\sim pH$  2。将产生的浆液在室温下搅拌 30 分钟, 然后通过真空过滤回收固体, 用  $H_2O$  洗涤并且真空过滤干燥过夜。将固体粉碎, 然后用 EtOAc 洗涤, 真空过滤干燥过夜, 然后在 $\sim 35^\circ C$ 下在干燥箱中减压干燥, 得到标题化合物(136.79 g, 83%产率), 为黄色固体: TOF-MS [ES<sup>+</sup>; m/z] 316.0624/316.0643。C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub>S 的分析计算值为: C 60.94; H 4.15; N 4.44; S 10.16。实测值为 C 60.76; H 4.13; N 4.50; S 9.90。

#### 制备 4

##### 7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-磺酰氯

在 7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-磺酸(12.13 g, 38.5 mmol)的 1,2-二氯乙烷(200 mL)和 DMF(2.99 mL, 38.5 mmol)浆液中滴加草酰氯(26.8 mL, 308 mmol)。将浆液在氮气气氛下机械搅拌, 同时在 60-65 $^\circ C$ 下加热 4 小时。将浆液冷却至 $-10^\circ C$ 。等待 30 分钟然后过滤。将黄色固体用 20%醚/二氯甲烷洗涤并且在氮气气氛下干燥, 得到标题化合物(14.8 g), 为黄色粉末。

#### 制备 5

##### 7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-硫醇钠盐

A. 在 7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-磺酰氯(4.0 g, 12 mmol)的二噁烷(40 mL)浆液中加入三羧基乙基膦盐酸盐(13.73 g, 48 mmol)和水(10 mL)。将

混合物加热至 100℃并且搅拌 3 小时。将混合物在冰浴中冷却，并且通过移液管缓慢加入 NaOH(5 N, 60 mL)。将淡黄色沉淀过滤并且空气干燥，得到标题化合物(3.2 g, 95%)。质谱(LCMS) $m/z=266.2(M-Na^+)$ 。

可选择的是，标题化合物可以制备如下：

B. (i) 将 7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-磺酸(100.00 g, 0.317 mol)的无水甲苯(2,500 mL)3×溶液用  $N_2$  脱氧，然后用  $Ph_3P$ (332.58 g, 1.268 mol)、 $I_2$ (80.46 g, 0.317 mol)和  $Bu_3N$ (152.00 mL, 0.638 mol)处理。将产生的反应混合物在  $N_2$  下回流 1 小时，然后冷却至室温过夜，同时向反应混合物中鼓入空气。将反应混合物用 1 N NaOH 水溶液(500 mL)处理，然后将产生的反应混合物在室温下搅拌过夜，同时向反应混合物中鼓入空气。将产生的黄褐色沉淀通过真空过滤回收。用 THF/ $Et_2O$  的 1/1 溶液洗涤，然后真空过滤干燥，得到双-(7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5)-二硫化物(72.50 g, 86% 产率)，为淡黄褐色固体： $^1H$  NMR(400 MHz, DMSO)  $\delta$  9.39(s, 2H), 8.51(d, 2H), 8.41(s, 2H), 8.11(d, 2H), 8.00(d, 2H), 7.53(d, 4H), 6.94(d, 4H), 3.78(s, 6H)。

B. (ii) 将双-(7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5)-二硫化物的无水 THF(850 mL)浆液用  $NaBH_4$ (2.84 g, 75.07 mmol)处理。将产生的反应混合物在  $N_2$ 、 $\sim 35^\circ C$  下加热 $\sim 1$  小时，然后在  $N_2$ 、 $\sim 45^\circ C$  下加热 1 小时。

#### 制备 6

##### 7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-亚磺酸钠

将  $Na_2SO_3$ (1.01 g, 8 mmol)和  $NaHCO_3$ (1.01 g, 12 mmol)加入至在水(10 mL)中的 7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-磺酰氯(1.48 g, 4 mmol)中。将混合物加热至 100℃并且搅拌 1 小时。将反应混合物冷却至室温，并且减压除去水。将甲醇(40 mL)加入至残留物中，搅拌 10 分钟。将白色固体过滤，用甲醇洗涤，并且合并滤液。浓缩得到标题化合物(1.1 g)。

#### 制备 7

##### (3,5-二氯-亚苄基)-(2,2-二乙氧基-乙基)-胺

将 2,2-二乙氧基-乙基胺(1852.5 g; 1.00 当量; 13.63 mol)、3,5-二氯-苯甲醛(2453 g; 1.00 当量; 13.60 mol)和甲苯(12 L)加入至安装有迪安-斯达

克榻分水器、冷凝器、氮气入口、顶置式搅拌器和热电偶的 22 L 烧瓶中。将淡黄色反应物温至回流。溶剂在 88℃ 下开始蒸馏。总共收集到~650 mL 馏出液(~240 mL 的水)。在蒸馏过程中温度升高至 114℃。回流 2 小时后的 NMR 显示有产物。2.5 小时后停止加热。将溶液用带凹槽的滤纸重力过滤至坛中以除去少量颗粒(包括小部分玻璃管, 其最可能来自 3,5-二氯-苯甲醛)。将过滤的溶液在设置为 45℃ 的水浴中用 Buchi 烧瓶浓缩。当溶剂停止出来时, 将温度在完全真空下升至 70℃ 并且保持~1.5 小时以除去任何残留的甲苯。(3,5-二氯-亚苄基)-(2,2-二乙氧基-乙基)-胺的重量为 4059.3 g(理论为 102.9%)。质谱(LCMS) $m/z=291.2(M+H^+)$ 。

## 制备 8

### 5,7-二氯-异喹啉盐酸盐

将三氟甲磺酸(2.97 L; 33.52 mol; 5.03 kg)加入至安装有迪安-斯达克榻分水器、顶置式搅拌器、冷凝器、氮气入口、3 L 加料漏斗(通过冷凝器缓冲于烧瓶)和热电偶的 12 L 烧瓶中。将三氟甲磺酸加热至 120℃。将(3,5-二氯-亚苄基)-(2,2-二乙氧基-乙基)-胺(1350.5 g; 1.00 当量; 4.65 mol)用二氯甲烷(1350 mL)稀释并且加入至加料漏斗中。温度在 119℃ 时开始加入。历经 90 分钟完成加入, 保持温度在 120℃。在加入过程中收集约 1500 mL 馏出液。加入完成后 45 分钟的 HPLC 面积%并且显示 94.14% 产物和 4.86%(3,5-二氯-亚苄基)-(2,2-二乙氧基-乙基)-胺。1.5 小时后停止加热。将反应冷却至~80℃。此时将烧瓶置于冰水浴中并且进一步冷却。反应在 9℃ 下加入甲醇(2.7 L)。历经 60 分钟加入完成。最高温度是 27℃。在甲醇加入过程中形成了一些固体。将该浆液分批转移至 2 L 加料漏斗中并且加入至在 22 L 烧瓶中的氢氧化铵(5.1 L; 36.67 mol; 4.59 kg)和水(5.1 L)溶液中, 在冰水中冷却至<2℃。加料漏斗具有 Teflon®管延长部分以防止物质流到烧瓶的边上, 从而引起更多的油状固体附着到烧瓶壁上。将物质以小块加入以防止加料漏斗由于固体堵塞。包括甲醇(900 mL)冲洗烧瓶和加料漏斗, 加入历经 35 分钟完成。最高温度是 26℃。形成棕色固体。将浆液冷却至 14℃。将固体过滤至聚丙烯垫上。将固体用 2×4 L 和 1×2 L 水洗涤。然后将固体用 2 L 庚烷洗涤以帮助干燥。将固体在 50℃ 下真空干燥至重量为

999.0 g(理论为 108.4%)。将 5,7-二氯-异喹啉(997 g; 1.00 当量; 5.03 mol)和乙醇(14.97 L)加入至安装有加料漏斗、氮气入口、顶置式搅拌器和热电偶的 22 L 烧瓶中。将棕色浆液在环境温度(22℃)下搅拌。将乙酰氯(1180 mL; 16.58 mol; 1.30 kg)加入至加料漏斗中。将其滴加至烧瓶中。棕色浆液变深。通过加入 100-200 mL 乙酰氯固体大部分溶解。没有形成完全的溶液。继续加入固体再出现。历经 45 分钟加入完成。最高温度是 43℃, 该温度在加入约一半时达到并且用冷却水浴保持。加入~3/4 乙酰氯后将反应样品取出进行 NMR。一旦该样品出现盐, 就可能不需要过量的乙酰氯。将浆液搅拌并且冷却。40 分钟后, 温度是 30℃。将浆液冷却至<2℃并且在冰水浴中保持 1.5 小时。将浆液过滤。将固体用 2×1.3 L 冷却的乙醇洗涤。湿滤饼重量为 811.4 g。将固体在 50℃下真空干燥。干燥重量为 648.4 g。这表示 61.0%产率。质谱(LCMS)m/z=199.05(M+H<sup>+</sup>)。

### 制备 9

#### [2-(7-氯-异喹啉-5-基硫烷基)-乙基]-氨基甲酸叔丁酯

将碳酸钾(1952 g; 14.12 mol)加入至安装有顶置式搅拌器、加料漏斗、氮气入口和热电偶的 22 L 烧瓶中。加入二甲基甲酰胺(4 L)。将 5,7-二氯-异喹啉盐酸盐(646.1 g; 1.00 当量; 2.76 mol)和 DMF(330 mL)分批加入。将 Boc-半胱胺(514 g; 1.05 当量; 2.90 mol)溶于二甲基甲酰胺(1520 mL)中并且加入至加料漏斗中。将混合物温至 60℃。将氮气通过顶空吹扫 15 分钟, 同时将混合物温热。历经 2 小时 15 分钟, 在 60℃下加入 Boc-半胱胺溶液。加入后 1 小时 20 分钟的 HPLC 显示 28.1%原料、67.26%产物、4.22%异构体和 0.25%双。将反应温至 75℃。表 A 中的 HPLC 数据是在 75℃下收集的。

在 75℃下 的时间	%5,7- 二 氯 - 异喹 啉 HCl	%[2-(7- 氯 - 异喹啉 -5-基硫烷基)-乙基]- 氨基甲酸叔丁酯	%异构体	%双取代的
30 分钟	2.75	90.27	5.54	1.44
1 小时	0.93	91.39	5.52	2.16
1.5 小时	0.20	91.25	5.32	3.23

表 A. 制备[2-(7-氯-异喹啉-5-基硫烷基)-乙基]-氨基甲酸叔丁酯的反应 HPLC 数据。

1.5 小时后，将罩用冷却浴代替。将反应冷却至 20-25℃。将固体过滤并且用 DMF(2×810 mL)洗涤。将 DMF 溶液用 MTBE(5.15 L)和 5%LiCl(5.15 L)稀释。在 50 L 底部出口的烧瓶中搅拌后，将各层分离。将水层用 MTBE(2.9 L)萃取。将 MTBE 层合并并且用 5%LiCl(2×2.9 L)洗涤。将 MTBE 层通过带凹槽的滤纸重力过滤并且在设置为 35℃的水浴中用 Buchi 烧瓶浓缩，得到 892.7 g[2-(7-氯-异喹啉-5-基硫烷基)-乙基]-氨基甲酸叔丁酯(理论为 95.6%，未校正)。质谱(LCMS)m/z=339.85(M+H<sup>+</sup>)。

### 制备 10

#### [2-(7-氯-异喹啉-5-磺酰基)-乙基]-氨基甲酸叔丁酯

通过在水浴设置为 50℃的 BuChi 烧瓶中旋转将[2-(7-氯-异喹啉-5-基硫烷基)-乙基]-氨基甲酸叔丁酯(700 g; 1.00 当量; 2.07 mol)溶于异丙醇(10.53 L)中。将对甲氧酚(12.29 g; 98.01 mmol; 12.29 g)、二水合钨酸钠(31.4 g; 95.20 mmol)、[2-(7-氯-异喹啉-5-基硫烷基)-乙基]-氨基甲酸叔丁酯溶液、异丙醇(2.77 L)、水(3.38 L)和乙酸(123 mL; 2.15 mol; 128.90 g)加入至安装有冷凝器、氮气入口、顶置式搅拌器、加料漏斗和热电偶的 22 L 烧瓶中。水的加入引起棕色溶液变为轻微的乳状样。用热水浴将反应温至 50℃。历经 1 小时加入过氧化氢(607 mL; 5.94 mol; 673.77 g)。在加入过程中，通过过氧化氢的加入速率并且根据需在水浴中加入冷或温水使温度保持在 50-55℃。反应仍然是乳状棕色。反应温度在加入末期是 54℃并且用温水浴保持在 53-57℃。加入后 10 分钟的 HPLC 显示在 2.89 分钟处 24.69%峰、65.57%产物、5.03%异构体、4.33%双和在 3.05 分钟处 0.18%峰。加入后 2 小时的 HPLC 显示 0.06%亚砷、在 3.046 分钟处 1.27%峰、88.10%产物、4.61%异构体和 5.79%双。将水浴排出并且用冰水代替以冷却反应。当反应温度达到 27℃时，通过加入 9%的亚硫酸氢钠溶液(250 mL)将过氧化物猝灭。没有观察到温度的升高。过氧化物试验带和淀粉碘化物试纸显示没有过氧化物存在。历经 15-20 分钟加入水(5.64 L)。在加入过程中温度从 18℃升至 24℃。将混合物在环境温度下搅拌过夜。将浆液在冰水浴中冷却至



<5℃并且保持。上清液随时间的定量 HPLC 显示在<5℃下结晶在 1.5 小时后完成。将固体过滤并且用水(2×2 L)洗涤。湿滤饼的重量为 831 g。将固体在 50℃下真空干燥。干燥的[2-(7-氯-异喹啉-5-磺酰基)-乙基]-氨基甲酸叔丁酯的重量为 531 g(理论为 69.31%，未校正)。质谱(LCMS)m/z=371.85(M+H<sup>+</sup>)。

### 制备 11

(2-{7-[4-(四氢-吡喃-2-基氧基)-苯基]-异喹啉-5-磺酰基}-乙基)-氨基甲酸叔丁酯

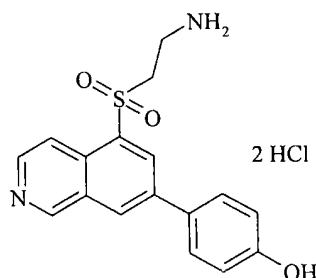
在氮气吹扫下，将 PEPPSI™(Pyridine-Enhanced Precatalyst Preparation Stabilization and Initiation; 51.0 g; 74.9 mmol)、[2-(7-氯-异喹啉-5-磺酰基)-乙基]-氨基甲酸叔丁酯(1.383 kg; 3.729 mol)、苯基硼酸(895 g; 4.03 mol)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.039 kg; 7.518 mol)和乙醇(15 L)加入至 60 L 的反应器中。开始将 12 L 乙醇加入至反应器中并且剩余的 3 L 在其它加入中用于冲洗。将反应温至回流(78℃)。HPLC 显示 1/2 小时后反应完成。将反应应用 Huber®循环器冷却至 59℃。历经 18 分钟将水(8.7 L)加入至反应中。在水加入的过程中，温度从 59℃降低至 42℃。历经 1 小时将反应用 Huber®循环器从 42℃冷却至 0℃。将浆液在 0℃下保持 1 小时。将固体用聚丙烯垫过滤并且用 1:1 的乙醇:水(3.7 L; 冷却的)洗涤。将固体在过滤器上干燥过夜。然后将固体在 60℃下真空干燥 22 小时。固体的干燥重量为 2.171 kg。在粗 2-{7-[4-(四氢-吡喃-2-基氧基)-苯基]-异喹啉-5-磺酰基}-乙基)-氨基甲酸叔丁酯中 Pd 的水平是 2196 mcg/g 并且通过 KF 固体包含 6.9%的水。将二氯甲烷(4 L)加入至 50 L 底部出口的烧瓶中。将粗 2-{7-[4-(四氢-吡喃-2-基氧基)-苯基]-异喹啉-5-磺酰基}-乙基)-氨基甲酸叔丁酯加入至 50 L 烧瓶中并且用二氯甲烷(1 L)冲洗。将 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(1.9 kg)加入并且用二氯甲烷(0.1 L)冲洗。将 Darco G-60®(3.8 kg)加入至 20 L 的 Büchi 烧瓶中并且在二氯甲烷(12 L)中制成浆液。将该浆液转移至 50 L 烧瓶中并且用二氯甲烷(4.9 L)冲洗。将混合物在环境温度下搅拌 2 小时。50 cm 的不锈钢过滤器装有聚丙烯垫并且装有 Hyflo Super Cel®(1.7 kg)。将 Hyflo Super Cel®垫用二氯甲烷(2 L)冲洗。将 50 L 烧瓶中的内容物过滤至 Hyflo Super Cel®垫上。将烧瓶和滤

饼用二氯甲烷(22 L)冲洗。将滤液通过 0.45 微米的柱过滤器加入至 60 L 的反应器中。将反应器中的内容物温热并且通过在轻微的真空下(~640 mm Hg)蒸馏浓缩。在 35-37℃下, 历经 2 小时收集了约 33 L 馏出液。加入乙醇(10 L)。将真空缓慢调节至 280 mmHg, 同时继续蒸馏。一旦真空达到, 将温度升高以保持蒸馏。一旦反应器中的体积达到~10 L, 加入乙醇(6.5 L), 速率为保持反应器中的体积同时蒸馏出溶剂。当所有的乙醇加入后停止蒸馏。最终的体积是~10 L。蒸馏末期的温度是 56℃。将溶剂交换中形成的浆液冷却至 20℃并且保持过夜。将浆液过滤。将固体用 1:1 的乙醇:水(1.8 L)洗涤。湿滤饼重量为 1.878 kg。将固体在 50℃下真空干燥, 得到 1.2306 kg(64.36%产率)(2-{7-[4-(四氢-吡喃-2-基氧基)-苯基]-异喹啉-5-磺酰基}-乙基)-氨基甲酸叔丁酯。质谱(LCMS) $m/z=513.62(M+H)$ 。

## 实施例

### 实施例 1

#### 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐



#### A. {2-[7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-基硫烷基]-乙基}-氨基甲酸叔丁酯

将(2-溴-乙基)-氨基甲酸叔丁酯(0.22 g, 1 mmol)和碳酸钾(0.14 g, 1 mmol)加入至在丙酮(10 mL)中的 7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-硫醇钠盐(0.29 g, 1 mmol)中。将混合物在室温下搅拌 4 小时, 然后上样至硅胶柱上, 并且用在己烷中的 65%乙酸乙酯洗脱, 得到标题化合物(0.35 g, 86%)。质谱(LCMS) $m/z=355.2(M+H^+)$ 。

#### B. {2-[7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-磺酰基]-乙基}-氨基甲酸叔丁酯

将水(2 mL)加入至{2-[7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-基硫烷基]-乙基}-氨基甲酸叔丁酯(0.35 g, 0.85 mmol)的乙酸(8 mL)溶液中。将混合物在冰浴中冷却至 0℃。历经 5 分钟滴加入  $KMnO_4$ (0.27 g, 1.7 mmol)的水(2 mL)溶液。

加入后，将反应混合物在 0℃下搅拌 30 分钟。滴加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(30%在水中)直至棕色消失。将混合物在乙酸乙酯(50 mL)和饱和的碳酸氢钠(40 mL)之间分配。将有机层分离，经硫酸钠干燥；过滤并且浓缩。将残留物在硅胶柱上用在己烷中的 66%乙酸乙酯进行色谱，得到标题化合物(0.245 g)，为白色固体。质谱(LCMS)m/z=433.2(M+H<sup>+</sup>)。

#### C. 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐

在-20℃下，将 BBr<sub>3</sub>(1.0 M 在二氯甲烷中，3.0 mL)加入至在二氯乙烷(10 mL)中的{2-[7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-磺酰基]-乙基}-氨基甲酸叔丁酯(0.22 g, 0.51 mmol)中。加入后，将反应混合物在-20℃下搅拌 2 小时，缓慢温至室温并且在室温下搅拌 2 小时。加入甲醇(5 mL)以猝灭过量的 BBr<sub>3</sub>。将溶剂减压蒸发，并且将残留物通过反相 HPLC(0-100%乙腈:水，含 0.01%TFA)纯化，得到 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚，为 TFA 盐(0.18 g)。然后，通过在 TFA 盐中加入 2 mL 饱和的碳酸氢钠水溶液将 0.12 g TFA 盐转化为二盐酸盐并且搅拌过夜以便将 TFA 盐转化为游离碱。将游离碱过滤。将游离碱先用水，然后用乙醚洗涤。将固体干燥。然后，将固体悬浮于 MeOH 中。加入 0.2 mL 浓 HCl 水溶液并且搅拌 1 小时。将溶剂减压浓缩，得到二盐酸盐(0.10 g)。质谱(LCMS)m/z=329.0(M+H<sup>+</sup>)。

#### 实施例 2

##### 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚

在 0℃下，在剧烈的顶置式搅拌下，历经 40 分钟将 BBr<sub>3</sub>(1.0 M 在二氯甲烷中，200 mL, 200 mmol)加入至在二氯甲烷(1 L)中的{2-[7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-磺酰基]-乙基}-氨基甲酸叔丁酯(25.00 g, 56.49 mmol)中。将冷却浴除去并且在室温下搅拌过夜。冷却至 0℃并且历经 1 小时滴加入甲醇(500 mL)。将产生的浆液过滤，将烧瓶用二氯甲烷(100 mL)冲洗并且将固体用冲洗液洗涤。将固体用另外的二氯甲烷(150 mL)洗涤并且真空过滤干燥。在搅拌下将固体在甲醇(400 mL)中制成浆液，然后真空浓缩成稀糊状物。加入另外的甲醇(400 mL)并且在搅拌下进一步将固体制成浆液。将浆液真空浓缩至干，并且将固体真空干燥过夜。将固体粉碎成粉末并且在甲醇(1 L)中制成浆液。加入 Amberlyst® A-21 树脂(75 g)并且搅拌直至粉

末溶解。过滤树脂，将过滤的树脂在甲醇(220 mL)中制成浆液并且再过滤树脂，合并滤液。将过滤的树脂用甲醇(100 mL)洗涤并且将该洗涤液加入至滤液中。将滤液和乙醇(200 mL)合并并且将混合物真空浓缩至体积约 200 mL 以得到浆液。加入乙醇(400 mL)，将浆液温至 50℃ 约 15 分钟，然后真空浓缩至体积约 200 mL。将浆液冷却至室温，过滤并且将滤饼用乙醇(2×15 mL)冲洗，然后真空干燥，得到标题化合物(10.22 g, 55%)，为黄褐色固体。质谱(LCMS) $m/z=329.0(M+H^+)$ 。

### 实施例 3

#### 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚

将 2-[7-(4-甲氧基-苯基)-异喹啉-5-磺酰基]-乙基胺二盐酸盐(9.5504 g, 22.99 mmol)的无水  $CH_2Cl_2$ (400 mL)浆液在冰/ $H_2O$  浴中冷却至~5℃，然后将冷浆液用滴加的 1.0 M  $BBr_3$  的  $CH_2Cl_2$  溶液(92.00 mL, 92.00 mmol)处理。 $BBr_3$  加入完成后，将冷却浴除去并且将产生的反应混合物在  $N_2$ 、室温下搅拌过夜。将产生的反应混合物用 MeOH 猝灭，然后真空浓缩得到残留物。将产生的残留物溶于 MeOH(200 mL)中并且真空浓缩得到残留物。将上述操作重复 3 次，然后将残留物在  $Et_2O$ (300 mL)中制成浆液并且用饱和的  $NaHCO_3$  水溶液处理直至达到~pH 7。将产生的固体通过真空过滤回收，然后溶于 3/1 的  $CHCl_3$ /MeOH 溶液中。将滤液用 NaCl 饱和，然后用 3/1 的  $CHCl_3$ /MeOH 溶液(每次 2×400 mL)萃取。将合并的有机物经  $MgSO_4$  干燥，过滤，然后真空浓缩得到固体/残留物。将固体/残留物在少量的 MeOH(20 mL)和过量的己烷中制成浆液，然后将产生的固体通过真空过滤回收，用己烷洗涤并且真空过滤干燥，得到淡黄色固体(7.60 g)。将淡黄色固体(7.60 g)在无水  $CH_2Cl_2$ (400 mL)中制成浆液并且用冰/ $H_2O$  浴冷却至~5℃，然后用滴加 1.0 M  $BBr_3$  的  $CH_2Cl_2$  溶液(70.00 mL, 70.00 mmol)处理。 $BBr_3$  加入完成后，将冷却浴除去并且将产生的反应混合物在  $N_2$ 、室温下搅拌 4 小时。将另外量的在  $CH_2Cl_2$  中的 1.0 M  $BBr_3$ (70.00 mL, 70.00 mmol)滴加至反应混合物中，然后将产生的反应混合物在  $N_2$ 、室温下搅拌过夜。将反应在~40℃下加热~1 小时，然后用滴加另外的在  $CH_2Cl_2$  中的 1.0 M  $BBr_3$ (23.00 mL, 23.00 mmol)处理。将产生的反应混合物在~40℃下加热~2

小时,然后用 MeOH 猝灭并且真空浓缩得到残留物。将产生的残留物溶于 MeOH(200 mL)中并且真空浓缩得到黄色残留物。将上述操作重复 3 次。将黄色残留物用饱和的  $\text{NaHCO}_3$  处理以将 pH 调至~7,然后将产生的固体通过真空过滤回收。将固体预先吸附到硅胶上,然后通过柱色谱(ISCO 330 g 硅胶,纯  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  至 5%在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中的 2 N  $\text{NH}_4/\text{MeOH}$  至 10%在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中的 2 N  $\text{NH}_4/\text{MeOH}$ )半纯化得到固体。将固体预先吸附到硅胶上,然后通过柱色谱(ISCO 330 g 硅胶,纯  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  至 5%在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中的 2 N  $\text{NH}_4/\text{MeOH}$  至 10%在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中的 2 N  $\text{NH}_4/\text{MeOH}$ )再纯化得到固体。将固体预先吸附到硅胶上,然后通过柱色谱(ISCO 330 g 硅胶,纯  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  至 5%在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中的 2 N  $\text{NH}_4/\text{MeOH}$  至 10%在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中的 2 N  $\text{NH}_4/\text{MeOH}$  至 15%在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中的 2 N  $\text{NH}_4/\text{MeOH}$ )再纯化得到固体。将固体预先吸附到硅胶上,然后通过柱色谱(ISCO 330 g 硅胶,5%在  $\text{CHCl}_3$  中的 MeOH 至 10%在  $\text{CHCl}_3$  中的 MeOH 至 20%在  $\text{CHCl}_3$  中的 MeOH 至 30%在  $\text{CHCl}_3$  中的 MeOH)再纯化得到标题化合物(6.85 g, 90.8%产率),为黄色固体: MS( $\text{ES}^+$ , m/z): 329.0(M+1)。

#### 实施例 4

4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐,未知水合状态

将 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚(171.8 mg)和 15 mL 95%EtOH 置于小瓶中。将小瓶置于设置为 80℃的热板上,同时搅拌溶液以溶解化合物。当很少或几乎没有溶解发生时,加入一摩尔当量的 HCl(0.52 mL 在水中的 1 N HCl)以溶解固体并且产生亮黄色溶液。加入 HCl 后不到一分钟,开始形成固体并且随时间增加。在 80℃下~2 小时后,将样品从热源移走并且在室温下搅拌过夜。将固体通过滤纸用真空过滤收集。空气干燥过夜后,回收 107.8 mg 标题化合物(63%产率)。X-射线粉末衍射:角, 2 $\theta$ (%强度): 11.8(100.0); 16.6(52.9); 8.2(43.4)。

#### 实施例 5

4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物

A. 晶种物质的制备。将 HCl 水溶液(1 M, 0.765 mL, 0.765 mmol)加入至 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚(0.2509 g, 0.764 mmol)的乙

醇(5 mL)浆液中。将产生的混合物加热至回流过夜。冷却至室温并且真空过滤浆液。将固体用乙醇冲洗,并且真空过滤干燥,得到 0.1842 g 黄色固体。

B. 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物。将 HCl 水溶液(1 M, 5.33 mL, 5.33 mmol)加入至 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚(1.75 g, 5.33 mmol)的乙醇(35 mL)浆液中。将混合物加热至回流并且加入水(2.5 mL)以获得溶液。将溶液冷却至 60℃并且加入约 2 mg 从上述 A 中获得的黄色固体晶种以获得浆液。冷却至室温并且搅拌过夜。将浆液真空过滤并且将滤饼用乙醇冲洗,然后真空过滤干燥,得到 1.331 g(67%)标题化合物,为黄色固体。质谱(LCMS) $m/z=329.0(M+H^+)$ 。卡尔·费歇尔法: 3.00%。X-射线粉末衍射: 角, 2 $\theta$ (%强度): 4.9(47.3); 14.8(55.8); 10.2(45.5)。

#### 实施例 6

##### 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐

将 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚(16.57 g, 50.45 mmol)在甲醇(500 mL)中制成浆液。通过将乙酰氯(12.60 mL, 177.05 mmol)加入至甲醇(165 mL)中单独制备 HCl 的甲醇溶液。历经 30 分钟,将 HCl 的甲醇溶液在室温下滴加至 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚的甲醇浆液中。搅拌 30 分钟,然后历经 1 小时滴加入乙酸乙酯(600 mL)。搅拌 30 分钟,然后将固体过滤并且用乙酸乙酯(2 $\times$ 100 mL)洗涤。将固体在 50℃下真空干燥,然后进一步在室温下缓慢通入氮气真空干燥,得到标题化合物(18.3 g, 90%)。质谱(LCMS) $m/z=329.0(M+H^+)$ 。

#### 实施例 7

##### 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐

将乙醇(24 L)和(2-{7-[4-(四氢-吡喃-2-基氧基)-苯基]-异喹啉-5-磺酰基}-乙基)-氨基甲酸叔丁酯(2.652 kg; 5.173 mol)加入至 60 L 反应器中。将(2-{7-[4-(四氢-吡喃-2-基氧基)-苯基]-异喹啉-5-磺酰基}-乙基)-氨基甲酸叔丁酯用乙醇(2.6 L)冲洗。将盐酸溶液(31.9%; 1780 g; 15.6 mol)用水(1.42 L)稀释。将 HCl 溶液加入至反应器中并且用水(0.2 L)冲洗。将反应温至 70

℃。在约 30℃下形成黄色溶液并且在接近 70℃下形成黄色浆液。将反应在 70℃下保持 1/2 小时，然后温至回流(78℃)。HPLC 显示在回流 1.5 小时后反应完成。历经 13 分钟将水(14.5 L)加入至反应中。温度降低至 69℃。将反应加热至回流(80℃)并且形成溶液。将反应冷却至 68℃并且开始形成固体。将反应在 68℃下保持 1/2 小时，然后历经 1.5 小时冷却至 2℃。将浆液在 1-2℃下保持 1 小时。将固体过滤并且用乙醇(4.6 L)洗涤。湿滤饼的重量为 3.236 kg。将固体在 50℃下真空干燥，得到 2.106 kg(理论为 101.4%)4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐。质谱(LCMS)m/z=402.31(M+H)。

### 实施例 8

#### 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物

该实施例中应用的乙醇和氢氧化钠溶液通过 0.22 微米的柱过滤器过滤。应用的水是内毒素控制的纯化水。

将乙醇(8 L)和 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐(841.6 g; 2.097 mol)加入至安装有顶置式搅拌器、冷凝器、氮气入口、加热套、热电偶和加料漏斗的 22 L 烧瓶中。将 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚二盐酸盐用乙醇(3.28 L)冲洗。将反应温至 55℃。历经 7 分钟将氢氧化钠溶液(1100 mL; 1.91 N; 2.10 mol)加入至反应中，在此过程中温度升高至 62℃。将反应加热至回流(78℃)并且保持 1 小时。将水(1.96 L)立即加入至反应中。温度降低至 68℃。将反应加热至回流(79℃)并且形成溶液。将 Darco G-60®(438 g)加入至反应中。将反应在回流下保持 1.25 小时。将热的 Darco G-60®浆液通过 GFF 纸过滤至另一个 22 L 的烧瓶中。产生淡黄色溶液。将原来的烧瓶和 Darco G-60®滤饼用热乙醇(2.5 L)冲洗。在冲洗过程中，滤液中开始形成固体。将包含滤液和洗涤液的 22 L 烧瓶安装上顶置式搅拌器、氮气入口和热电偶。将浆液搅拌并且冷却至环境温度。将固体过滤并且用乙醇(2 L)洗涤。湿滤饼的重量为 672 g。将固体在 50℃下真空干燥，得到 540 g(68.9%产率)4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物。质谱(LCMS)m/z=329.3(M+H<sup>+</sup>)。

该示例性化合物是 Akt 活性抑制剂。这些化合物的抑制活性可以通过

以下方法证明。

### Akt1 磷酸化试验

试验通过竞争性荧光偏振免疫分析(FPIA)测定 PKC  $\alpha$ -假底物肽的磷酸化。试验通过测定当被磷酸肽产物从磷酸特异性抗体置换出时荧光标记的示踪肽发射出的偏振光的强度变化直接测定反应中形成的磷酸肽产物的浓度。用标准曲线校准得到定量结果。

### 酶和底物

从 Sf9 昆虫细胞纯化的活性人重组 Akt1(全长)从 Upstate Biotechnology, Inc 获得。肽底物(M. W. 1561)是购买的。

### 标准试验溶液

溶液(A): 20%DMSO(二甲亚砜)或在 20%DMSO 中的化合物或 500 mM EDTA; 溶液(B): 试验缓冲混合物: 75  $\mu$ M 肽底物、38 mM  $MgCl_2$ 、70 mM HEPES(pH 7.4)、0.01% Triton X-100®和 50  $\mu$ M ATP(腺苷三磷酸); 溶液(C): Akt 激酶混合物: 70 mM HEPES(pH 7.4)、1 mM DTT(二硫苏糖醇)、0.01% Triton X-100®和 Akt1 酶。

### FPIA 方法

首先将 5  $\mu$ L 溶液(A)与 10  $\mu$ L 溶液(B)混合。通过在混合物中加入 10  $\mu$ L 溶液(C)引发酶反应。(在 25  $\mu$ L 反应混合物中的最终浓度或量: 4%DMSO(最小抑制孔)或在 4%DMSO 中的多种化合物浓度或 100 mM EDTA(最大抑制孔); 30  $\mu$ M 肽底物; 15 mM  $MgCl_2$ ; 70 mM HEPES(pH 7.4); 20  $\mu$ M ATP; 0.4 mM DTT; 0.01% Triton X-100®)。反应在黑色半面平底 96 孔微量滴定板上进行。

在室温下 60 分钟后, 通过加入包含 260 mM EDTA、3.4 nM 荧光素示踪剂和 7.5 nM 抗磷酸丝氨酸抗体的 25  $\mu$ L 猝灭/检测混合物将反应终止。将板在室温下避光培养超过 3 小时, 然后应用 Tecan Ultra 读板仪读取荧光偏振(在  $\lambda_{ex}=485$  nm,  $\lambda_{ex}=530$  nm)。每孔中磷酸化产物的浓度是从微偏振(mP)单位计算得到的, 应用制备的肽竞争剂稀释系列作为标准曲线。本发明的示例性化合物抑制 Akt1 磷酸化的  $IC_{50}$  为 1  $\mu$ M 或更低。在本试验中实施例 1 的化合物抑制 Akt1 磷酸化的  $IC_{50}$  为 45 $\pm$ 17 nM(n=3)。



### 用于测定磷酸-GSK3b(pGSK3b)的基于细胞的 ELISA(cELISA):

#### 细胞中 Akt 的靶标

将指数生长的衍生自人类成胶质细胞瘤的 U87MG 细胞接种于 96 孔板上并且在 37℃、5%CO<sub>2</sub> 下培养过夜。通过将 4 mM 储备液(在 100%DMSO 中)1:2 系列稀释至培养基中制备 10 个浓度的实施例 1 化合物。将等体积的每个系列稀释液直接加入至细胞中。2 小时后停止处理。在处理末期, 将培养基除去, 并且将细胞用冰冷的磷酸缓冲盐(PBS)洗涤一次。根据 vendor 的方法将细胞固定在 PREFER 中, 然后用 PBS/0.1%SDS 和 PBS/0.1%TritonX-100®冲洗, 然后在 SEA Block 封闭缓冲液中培养过夜。封闭步骤后将细胞与兔抗 pGSK3b/Ser9 抗体, 然后与羊抗兔 IgG 培养过夜。按照 vendor 的方法通过超信号 ELISA Femto 检测 pGSK3b。在本试验中实施例 1 的化合物抑制 pGSK3b 的 IC<sub>50</sub> 为 2.04+/-0.68(n=8)μM。

#### 体内靶标抑制研究

##### 通过单静脉内注射的体内靶标抑制

将指数生长的衍生自人类成胶质细胞瘤的 U87MG 细胞皮下植入至裸小鼠的后肋腹。当肿瘤的尺寸达到 200-250 mm<sup>3</sup> 时, 在剂量-响应研究或时间-过程研究中将化合物通过单静脉内注射施用于动物。在每次处理的末期, 将动物用 CO<sub>2</sub> 窒息。通过外科切除得到肿瘤, 将其迅速冻至液氮中并且在 -80℃ 下贮存直至分析。血清通过心脏穿刺从心脏血制备并且在 -80℃ 下贮存直至分析。

##### 样品分析

Akt 抑制剂是用乙腈/甲醇从血清中提取的并且与内标一起通过 LC/MS/MS 分析。将肿瘤用 Powergen 125 匀浆器在包含 25 mM Tris(pH 7.5)、Roche 完全蛋白酶抑制剂和 1 mM 钒酸盐的 2 体积裂解缓冲液中匀浆, 然后依次通过 18 号计量注射针和 23 号计量注射针。将裂解物在 20,000×g 离心 30 分钟, 然后从上清液级分收集可溶的细胞质提取液。用 BCA 试剂盒测定细胞质提取液中的蛋白质浓度。用 ELISA 试剂盒分析可溶性提取液中的磷酸-GSK3b(pGSK3b)。

对于本试验中的成胶质细胞瘤, 应用单静脉内注射 25 mg/kg, 实施例

1 的化合物在 1 小时抑制了 76% 的 pGSK3b。

#### 体内肿瘤生长抑制研究

将指数生长的衍生自人类成胶质细胞瘤的 U87MG 细胞或衍生自人类非小细胞肺癌的 H1155 细胞皮下植入至裸小鼠的后肋腹。肿瘤细胞植入三天后，进行显微外科手术以插入导管用于通过颈静脉连续输注。然后第二天将配制于 D5W(在水中 5%葡萄糖)中的多种浓度的实施例 1 以 40  $\mu\text{L}$ /小时给小鼠输注 4 天。每周测量两次肿瘤直至研究结束，通常是开始植入后的 24 天。通过用治疗组的平均肿瘤体积除以载体治疗组的平均肿瘤体积计算肿瘤生长抑制。

对于成胶质细胞瘤，在试验末期测定时，实施例 1 的化合物用 27 mg/kg/天连续输注抑制了 50% 的肿瘤生长。

对于非小细胞肺癌，在试验末期测定时，实施例 1 的化合物用 24 mg/kg/天连续输注抑制了 63% 的肿瘤生长。

#### 药物组合物研究

4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物的药物组合物包含非还原糖和 pH 调节剂。溶解性研究显示甘露醇不影响 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物的溶解性。但是，半水合物的溶解性是 pH 依赖的并且在  $\text{pH} \leq 3.91$  时  $>19 \text{ mg/mL}$ 。同样，沉淀发生的速率也是 pH 依赖的。

表 1: 起始溶液 pH 对沉淀(ppt)速率的影响。所有溶液起始都是以约 15 mg 4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚一盐酸盐半水合物/mL 制备的并且在室温下贮存。

介质	pH(起始)	沉淀(ppt)
0.05 N HCl/3%甘露醇	1.68	直至 96 小时没有 ppt
0.01 N HCl/3%甘露醇	3.19	直至 96 小时没有 ppt
0.005 N HCl/3%甘露醇	3.58	48 小时后有 ppt
0.0025 N HCl/3%甘露醇	3.91	36 小时后有 ppt
0.001 N HCl/3%甘露醇	4.20	24 小时后有 ppt

重新溶解的沉淀的 LC/MS 分析显示它是由两个 4-[5-(2-氨基-乙磺酰

基)-异喹啉-7-基]-苯酚分子(4-[5-(2-氨基-乙磺酰基)-异喹啉-7-基]-苯酚的质谱(LCMS) $m/z=329.1(M+H^+)$ )失去氨后形成的“二聚体样”分子(质谱(LCMS) $m/z=640.2(M+H^+)$ )。另外,由于转化为溶解性更小的固体状态形式沉淀没有出现。