



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106687462 A

(43)申请公布日 2017.05.17

(21)申请号 201580034662.3

(22)申请日 2015.04.29

(30)优先权数据

61/986,738 2014.04.30 US

61/986,789 2014.04.30 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.12.26

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2015/028224 2015.04.29

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/168246 EN 2015.11.05

(71)申请人 因赛特公司

地址 美国特拉华州

(72)发明人 J·周 P·刘 S·陈 Y·吴

D·王 Z·贾 L·乔 W·弗里策

M·夏 戴应瑞

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 封新琴

(51)Int.Cl.

C07D 495/14(2006.01)

C07D 309/14(2006.01)

C07D 495/04(2006.01)

A61P 37/02(2006.01)

A61P 37/06(2006.01)

A61P 29/00(2006.01)

A61P 19/02(2006.01)

A61P 17/06(2006.01)

A61P 3/10(2006.01)

A61P 1/00(2006.01)

A61P 21/04(2006.01)

A61P 13/12(2006.01)

A61P 9/00(2006.01)

A61P 5/14(2006.01)

A61P 11/00(2006.01)

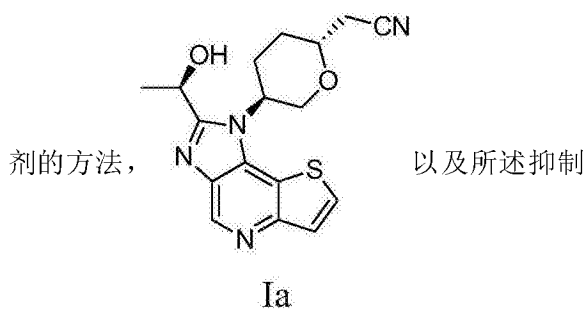
权利要求书12页 说明书64页 附图14页

(54)发明名称

JAK1抑制剂的制备方法及其新形式

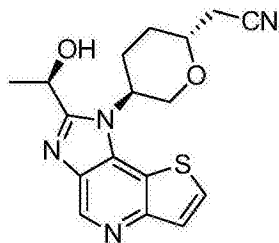
(57)摘要

本发明涉及用于制备具有式Ia的JAK1抑制



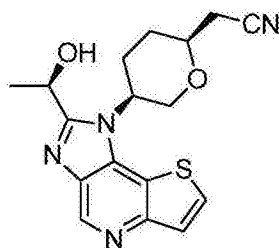
剂的新形式。

1. 一种制备式Ia化合物的方法：



Ia

其包括使式Ib化合物：



Ib

与第一强碱在第一溶剂组分存在下进行反应。

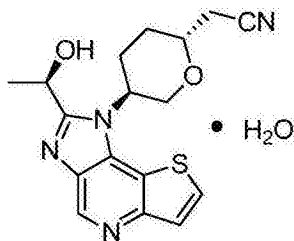
2. 如权利要求1所述的方法，其中所述第一强碱为醇盐碱。

3. 如权利要求1所述的方法，其中所述第一强碱为碱金属C₁₋₆醇盐。

4. 如权利要求1所述的方法，其中所述第一强碱为叔丁醇钾。

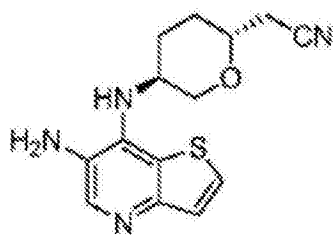
5. 如权利要求1至4中任一项所述的方法，其中所述式Ib化合物在使所述式Ib化合物与
所述强碱进行所述反应之前即存在于包含所述式Ib化合物和所述式Ia化合物的组合物中。

6. 如权利要求1至5中任一项所述的方法，其中所述式Ia化合物是制备为式II化合物：

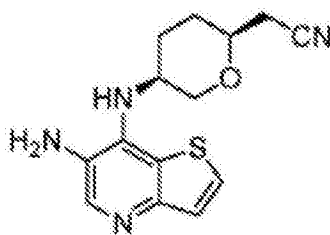


II。

7. 如权利要求5所述的方法，其中所述包含式Ia化合物和式Ib化合物的组合物是通过
如下方法制备，所述方法包括使包含式IIIa化合物和式IIIb化合物的组合物：

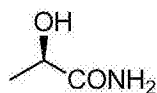


IIIa



IIIb

与式IV化合物:



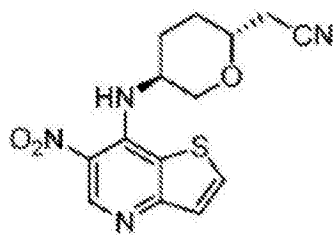
IV

在C₁₋₆烷基氧鎓试剂和第二溶剂组分存在下进行反应。

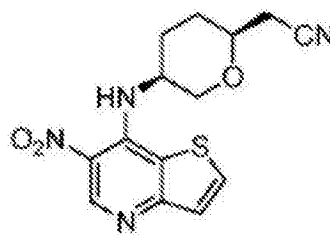
8. 如权利要求7所述的方法,其中在使包含式IIIa化合物和式IIIb化合物的组合物进行反应之前,使所述式IV化合物与所述C₁₋₆烷基氧鎓试剂在所述第二溶剂组分中进行反应。

9. 如权利要求7至8中任一项所述的方法,其中所述C₁₋₆烷基氧鎓试剂为三乙基氧鎓四氟硼酸盐。

10. 如权利要求7至9中任一项所述的方法,其中所述包含式IIIa化合物和式IIIb化合物的组合物是通过如下方法制备,所述方法包括使包含式Va化合物和式Vb化合物的组合物:



Va

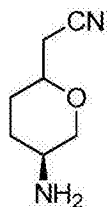


Vb

与氢气在氢化催化剂和第三溶剂组分存在下进行反应。

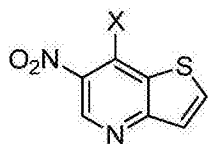
11. 如权利要求10所述的方法,其中所述氢化催化剂为钯/碳。

12. 如权利要求10至11中任一项所述的方法,其中所述包含式Va化合物和式Vb化合物的组合物是通过如下方法制备,所述方法包括使式VI化合物:



VI

或其盐与式VII化合物:

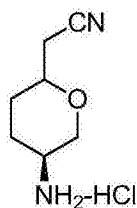


VII

在第一叔胺碱和第四溶剂组分存在下进行反应,其中:

X为卤基。

13. 如权利要求12所述的方法,其中所述式VI化合物或其盐为式VIa的盐:

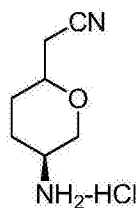


VIa.

14. 如权利要求12至13中任一项所述的方法,其中X为氯基。

15. 如权利要求12至14中任一项所述的方法,其中所述第一叔胺碱为N-乙基-N-异丙基丙-2-胺。

16. 如权利要求12至15中任一项所述的方法,其中所述式VI化合物或其盐为式VIa的盐:



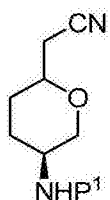
VIa;

所述第四溶剂组分包含N,N-二甲基甲酰胺;

所述第一叔胺碱为N-乙基-N-异丙基丙-2-胺;且

X为氯基。

17. 如权利要求12至16中任一项所述的方法,其中所述式VI化合物或其盐是通过如下方法制备,所述方法包括使式VIII化合物:



VIII

在去保护条件下进行反应,以形成式VI化合物或其盐;

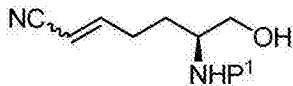
其中P¹为胺保护基。

18. 如权利要求17所述的方法,其中所述去保护条件包括使式VIII化合物与第一强酸反应。

19. 如权利要求17至18中任一项所述的方法,其中所述第一强酸为HCl。

20. 如权利要求17至19中任一项所述的方法,其中P¹为叔丁氧基羰基。

21. 如权利要求17至20中任一项所述的方法,其中所述式VIII化合物是通过如下方法制备,所述方法包括使式IX化合物:



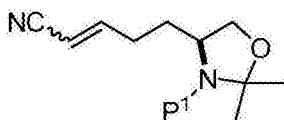
IX

在第二强碱和第五溶剂组分存在下进行反应,其中 \sim 指示顺式键或反式键。

22. 如权利要求21所述的方法,其中所述第二强碱为C₁₋₆醇盐碱。

23. 如权利要求22所述的方法,其中所述醇盐碱为甲醇钠。

24. 如权利要求21至23中任一项所述的方法,其中所述式IX化合物是通过如下方法制备,所述方法包括使式X化合物:



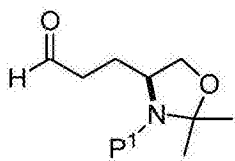
X

在第二强酸和第六溶剂组分存在下进行反应,其中 \sim 指示顺式键或反式键。

25. 如权利要求24所述的方法,其中所述第二强酸为对甲苯磺酸。

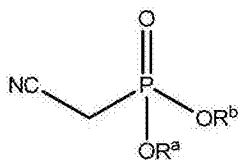
26. 如权利要求24至25中任一项所述的方法,其中所述式X化合物是通过如下方法制备,所述方法包括:

(i) 使式XII化合物:



XII

与Wittig试剂在第七溶剂组分存在下进行反应,其中所述Wittig试剂是通过如下方法制备,所述方法包括使式XXI化合物:



XXI

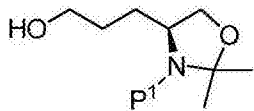
在第三强碱存在下进行反应,其中R^a和R^b各自独立地为C₁₋₆烷基。

27. 如权利要求26所述的方法,其中在(i)之前,使所述式XXI化合物与所述第三强碱在所述第七溶剂组分中进行反应。

28. 如权利要求26至27中任一项所述的方法,其中R^a和R^b各自为乙基。

29. 如权利要求27至28中任一项所述的方法,其中所述第三强碱为叔丁醇钾。

30. 如权利要求26至29中任一项所述的方法,其中所述式XII化合物是通过如下方法制备,所述方法包括使式XIII化合物氧化:



XIII.

31. 如权利要求30所述的方法,其中所述氧化包括向式XIII化合物中添加第一氧化剂以形成第一混合物。

32. 如权利要求31所述的方法,其中所述第一氧化剂为2,2,6,6-四甲基-1-哌啶基氧基自由基(TEMPO)。

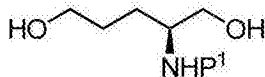
33. 如权利要求31至32中任一项所述的方法,其中所述添加所述第一氧化剂是在四-N-丁基氯化铵存在下进行。

34. 如权利要求30至33中任一项所述的方法,其中所述氧化还包括向所述第一混合物中添加碱和第二氧化剂。

35. 如权利要求34所述的方法,其中所述第二氧化剂为N-卤丁二酰亚胺化合物。

36. 如权利要求34所述的方法,其中所述第二氧化剂为N-氯丁二酰亚胺。

37. 如权利要求30至36中任一项所述的方法,其中所述式XIII化合物是通过如下方法制备,所述方法包括使式XV化合物:



XV

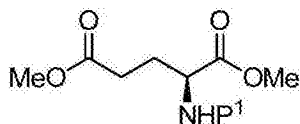
与式XIV化合物:



XIV

在三氟化硼乙醚合物和第八溶剂组分存在下进行反应。

38. 如权利要求37所述的方法,其中所述式XV化合物是通过如下方法制备,所述方法包括使式XVI化合物:

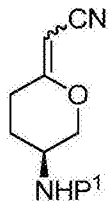


XVI

在第一还原剂和第九溶剂组分存在下进行反应。

39. 如权利要求38所述的方法,其中所述第一还原剂为硼氢化锂。

40. 如权利要求17至20中任一项所述的方法,其中所述式VIII化合物是通过如下方法制备,所述方法包括使式XVII化合物:



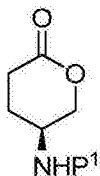
XVII

与氢气在氢化催化剂和第十溶剂组分存在下进行反应。

41. 如权利要求40所述的方法,其中所述氢化催化剂为钯/碳。

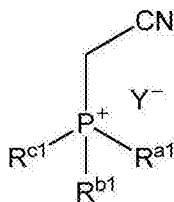
42. 如权利要求40至41中任一项所述的方法,其中所述式XVII化合物是通过以下方式制备:

(i) 使式XVIII化合物:



XVIII

与Wittig试剂在第十一溶剂组分存在下进行反应,其中所述Wittig试剂是通过如下方法制备,所述方法包括使式XXII化合物:



XXII

与第四强碱进行反应,其中:

R^{a1} 、 R^{b1} 和 R^{c1} 各自独立地为 C_{1-6} 烷基;

Y^- 为卤离子。

43. 如权利要求42所述的方法,其中 Y^- 为 Cl^- 。

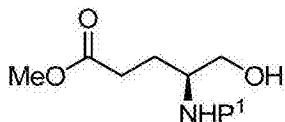
44. 如权利要求42至43中任一项所述的方法,其中 R^{a1} 、 R^{b1} 和 R^{c1} 各自为甲基。

45. 如权利要求42至43中任一项所述的方法,其中 R^{a1} 、 R^{b1} 和 R^{c1} 各自为正丁基。

46. 如权利要求42至45中任一项所述的方法,其中所述第四强碱为叔丁醇钾。

47. 如权利要求42至45中任一项所述的方法,其中所述第四强碱为六甲基二硅叠氮化锂。

48. 如权利要求42至47中任一项所述的方法,其中所述式XVIII化合物是由如下方法形成,所述方法包括使式XIX化合物:



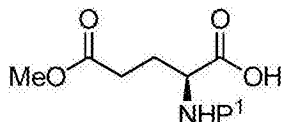
XIX

在弱有机酸和第十二溶剂组分存在下进行反应。

49. 如权利要求48所述的方法,其中所述弱有机酸为乙酸。

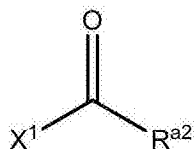
50. 如权利要求48至49中任一项所述的方法,其中所述式XIX化合物是由如下方法形成,所述方法包括:

(1) 使式XX化合物:



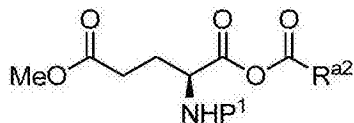
XX

与式XXIII化合物:



XXIII

在第二叔胺碱和第十三溶剂组分存在下进行反应,以形成式XXIV化合物:



XXIV

其中

R^{a2} 为 C_{1-4} 烷氧基;

X^1 为卤基。

51. 如权利要求50所述的方法,其中所述式XXIII化合物为氯甲酸乙酯。

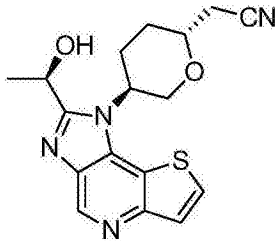
52. 如权利要求50至51中任一项所述的方法,其中所述第二叔胺碱为N-甲基吗啉。

53. 如权利要求50至52中任一项所述的方法,其还包括用第二还原剂还原所述式XXIV

化合物。

54. 如权利要求53所述的方法,其中所述第二还原剂为硼氢化钠。

55. 一种式Ia化合物的无水形式:

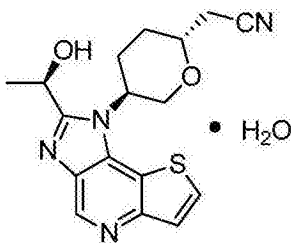


Ia.

56. 如权利要求55所述的形式,其中所述无水形式为结晶的。

57. 一种形成如权利要求55所述的式Ia化合物的无水形式的方法,其包括:

(i) 将正庚烷添加至第一混合物中,所述第一混合物包含式II化合物:



II

和第一溶剂组分,其中所述第一溶剂组分包含乙酸乙酯。

58. 如权利要求57所述的方法,其中所述第一溶剂组分还包含甲醇。

59. 如权利要求58所述的方法,其还包括在(i)之前:

(ii) 将所述式II化合物溶解于甲醇中以形成第二混合物,所述第二混合物包含式Ia化合物和第二溶剂组分,所述第二溶剂组分包含甲醇;

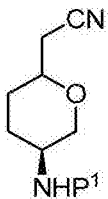
(iii) 对所述第二混合物进行精过滤;和

(iv) 向所述第二混合物中添加乙酸乙酯以形成所述第一混合物。

60. 如权利要求58至59中任一项所述的方法,其还包括将所述第一混合物加热至约60°C至约75°C的温度。

61. 如权利要求58至60中任一项所述的方法,其包括经由蒸馏移除至少一部分乙酸乙酯和甲醇,以形成所述第一混合物。

62. 一种式VIII化合物:

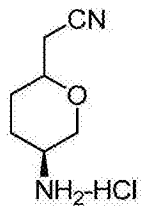


VIII

其中P¹为胺保护基。

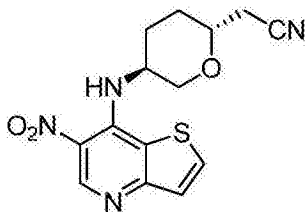
63. 如权利要求62所述的化合物,其中P¹为叔丁氧基羰基。

64. 一种式VIa的盐:



VIa。

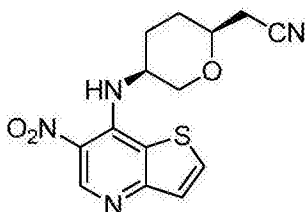
65. 一种式Va化合物:



Va

或其盐。

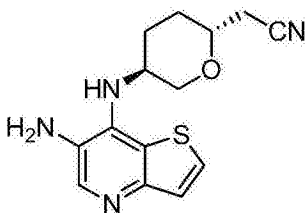
66. 一种式Vb化合物:



Vb

或其盐。

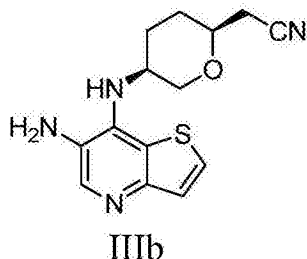
67. 一种式IIIa化合物:



IIIa

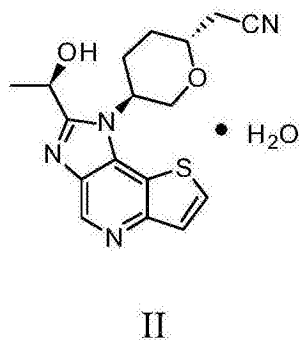
或其盐。

68. 一种式IIIb化合物:



或其盐。

69. 一种用于制备式II化合物的方法：

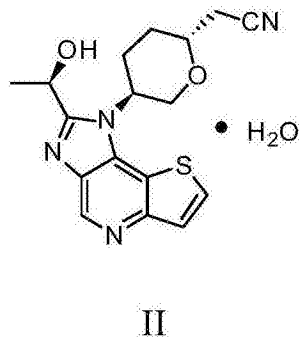


其包括使2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的无水形式悬浮于包含水的溶剂组分中。

70. 如权利要求69所述的方法,其中所述悬浮是在约室温下进行。

71. 如权利要求69所述的方法,其中所述溶剂组分为水。

72. 一种制备式II化合物的方法：



其包括从包含2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈和包含异丙醇和水的溶剂组分的第一混合物中分离所述式II化合物。

73. 如权利要求72所述的方法,其还包括在所述分离之前进行以下步骤：

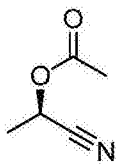
(a) 将2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈溶解于包含异丙醇的溶剂组分中,以形成第二混合物;和

(b) 向所述第二混合物中添加水以形成所述第一混合物,其中所述溶剂组分包含异丙醇和水。

74. 如权利要求73所述的方法,其还包括在所述分离之前从所述第一混合物中移除至少一部分所述溶剂组分。

75. 如权利要求73所述的方法,其中(a)和(b)是在约40°C至约60°C的温度下进行。

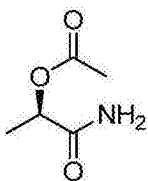
80. 如权利要求79所述的方法,其中所述(R)-2-羟基丙亚胺酸乙酯是通过使(R)-乙酸-1-氰基乙酯:



与乙醇在强酸存在下进行反应来制备。

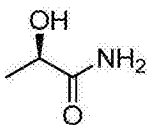
81. 如权利要求80所述的方法,其中(R)-乙酸-1-氰基乙酯与乙醇的所述反应中所使用的所述强酸为氯化氢。

82. 如权利要求80至81中任一项所述的方法,其中所述(R)-乙酸-1-氰基乙酯是通过使(R)-乙酸-1-氨基-1-氧代丙-2-基酯:



与氰尿酸氯反应而形成。

83. 如权利要求82所述的方法,其中所述(R)-乙酸-1-氨基-1-氧代丙-2-基酯是通过在第三叔胺碱存在下用乙酰氯保护(R)-2-羟基丙酰胺:



而制备。

84. 如权利要求83所述的方法,其中所述第三叔胺碱为4-甲基吗啉。

JAK1抑制剂的制备方法以及其新形式

[0001] 本申请要求2014年4月30日提交的序列号61/986,738和2014年4月30日提交的序列号61/986,789的权益和优先权,它们各自以整体引用的方式并入本文中。

技术领域

[0002] 本发明涉及用于制备JAK1抑制剂的方法以及所述抑制剂的新形式。

[0003] 发明背景

[0004] 蛋白激酶(PK)调控多种生物过程,尤其包括细胞生长、存活、分化、器官形成、形态发生、新血管形成、组织修复和再生。蛋白激酶还在许多人类疾病(包括癌症)中起特殊作用。细胞因子、低分子量多肽或糖蛋白调控许多涉及对脓毒病的宿主炎性反应的途径。细胞因子影响细胞分化、增殖和活化,且可调节促发炎性和消炎性反应,从而允许宿主对病原体作出适当反应。许多细胞因子的信号传导涉及蛋白酪氨酸激酶的Janus激酶家族(JAK)和信号转导与转录活化蛋白(STAT)。存在四种已知的哺乳动物JAK:JAK1(Janus激酶-1)、JAK2、JAK3(也称为白细胞Janus激酶;JAKL;和L-JAK)和TYK2(蛋白酪氨酸激酶2)。

[0005] 细胞因子刺激的免疫和发炎反应促进疾病发病:诸如重症联合免疫缺陷病(SCID)的发病起因于对免疫系统的抑制,而过度活性或不当免疫/发炎反应促进自体免疫性疾病(例如哮喘、系统性红斑狼疮、甲状腺炎、心肌炎)和诸如硬皮病和骨关节炎的疾病发病(Ortmann,R.A.,T.Cheng等人,(2000)Arthritis Res 2(1):16-32)。

[0006] JAK表达缺乏与许多疾病状态相关。举例而言,Jak1^{-/-}小鼠在出生时发育不良,无法养育且在围产期死亡(Rodig,S.J.,M.A.Meraz等人,(1998)Cell 93(3):373-83)。Jak2^{-/-}小鼠胚胎为贫血的且由于不存在定向红细胞生成而在交配后第12.5天左右死亡。

[0007] 认为JAK/STAT途径且尤其是所有四种JAK在哮喘反应、慢性阻塞性肺病、支气管炎和下呼吸道的其它相关发炎性疾病的致病机制中起作用。通过JAK传导信号的多种细胞因子与上呼吸道的发炎性疾病/病状相关,诸如影响鼻和鼻窦的疾病/病状(例如鼻炎和鼻窦炎),无论是否为经典过敏反应。JAK/STAT途径还牵涉眼部发炎性疾病/病状和慢性过敏反应。

[0008] JAK/STAT在癌症中活化可通过细胞因子刺激(例如IL-6或GM-CSF)或通过诸如SOCS(抑制因子或细胞因子信号传导)或PIAS(活化STAT的蛋白抑制剂)的内源性JAK信号传导抑制因子减少来发生(Boudny,V.和Kovarik,J.,Neoplasms.49:349-355,2002)。STAT信号传导的活化以及其它JAK下游途径(例如Akt)与许多癌症类型中的不良预后相关(Bowman,T.等人,Oncogene 19:2474-2488,2000)。通过JAK/STAT进行信号传导的循环细胞因子的含量升高在恶病质和/或慢性疲劳中起病因性作用。因此,出于超出潜在抗肿瘤活性以外的原因,JAK抑制可能有益于癌症患者。

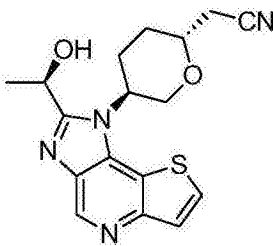
[0009] JAK2酪氨酸激酶可有益于患有骨髓增生性病症的患者,例如真性红细胞增多症(PV)、原发性血小板增多症(ET)、髓样组织化生伴随骨髓纤维化(MMM)(Levin等人,Cancer Cell,第7卷,2005:387-397)。对JAK2V617F激酶的抑制减少造血细胞增殖,表明JAK2为在患有PV、ET和MMM的患者中进行药理学抑制的潜在靶标。

[0010] 对JAK的抑制可有益于罹患诸如银屑病和皮肤敏感化的皮肤免疫病症的患者。认为银屑病的维持依赖于许多发炎性细胞因子以及各种趋化因子和生长因子(JCI, 113: 1664-1675), 其中许多种通过JAK进行信号传导(Adv Pharmacol. 2000; 47: 113-74)。

[0011] 因此, 持续需要可抑制诸如JAK的激酶的新的或改进的药剂, 以便开发旨在增强或抑制免疫性和发炎性途径(诸如用于器官移植的免疫抑制剂)的新的且更有效的药物, 以及用于预防和/或治疗自体免疫性疾病、涉及过度活性发炎性反应的疾病(例如湿疹)、过敏、癌症(例如前列腺癌、白血病、多发性骨髓瘤)和由其它疗法所致的一些免疫反应(例如皮疹或接触性皮炎或腹泻)的药剂。本文中所描述的本发明化合物以及其组合物和方法是针对这些需要和其它目的。

发明概要

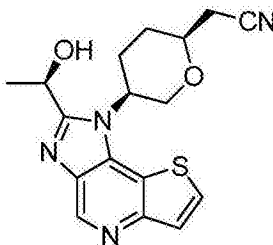
[0012] 本发明提供制备式Ia化合物的方法:



[0013]

Ia

[0014] 所述方法包括在第一溶剂组分存在下使式Ib化合物:



[0015]

Ib

[0016] 与强碱反应。

[0017] 本申请提供2-((2R, 5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4, 5-d]噻吩并[3, 2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的无水形式。

[0018] 本申请还提供2-((2R, 5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4, 5-d]噻吩并[3, 2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的一水合物形式。

[0019] 本申请还提供可用于合成式Ia化合物的各种中间体。

[0020] 附图简述

[0021] 图1显示实施例9的化合物的DSC温谱图特征。

[0022] 图2显示实施例9的化合物的TGA温谱图特征。

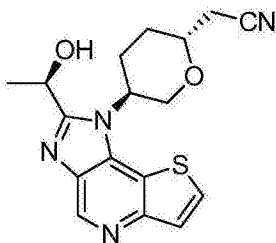
[0023] 图3显示实施例9的化合物的XRPD图谱特征。

[0024] 图4显示实施例10的化合物的DSC温谱图特征。

- [0025] 图5显示实施例10的化合物的TGA温谱图特征。
- [0026] 图6显示实施例10的化合物的XRPD图谱特征。
- [0027] 图7显示实施例9的化合物的气相吸附/脱附等温线(第1循环)特征。
- [0028] 图8显示实施例9的化合物的气相吸附/脱附等温线(第4循环)特征。
- [0029] 图9显示实施例9的化合物在动态气相吸附(DVS)研究前后的XRPD图谱叠加。
- [0030] 图10显示实施例9的化合物在设在75%相对湿度和40℃的湿度室中5天之后的XRPD图谱特征。
- [0031] 图11显示实施例9的化合物在设在75%相对湿度和40℃的湿度室中5天之后的TGA温谱图特征。
- [0032] 图12显示实施例9的化合物在设在75%相对湿度和40℃的湿度室中5天之后的DSC温谱图特征。
- [0033] 图13显示实施例9的化合物在设在90%相对湿度和30℃的湿度室中7天之后的XRPD图谱特征。
- [0034] 图14显示实施例9的化合物在设在90%相对湿度和30℃的湿度室中7天之后的TGA温谱图特征。
- [0035] 图15显示实施例9的化合物在设在90%相对湿度和30℃的湿度室中7天之后的DSC温谱图特征。

[0036] 发明详述

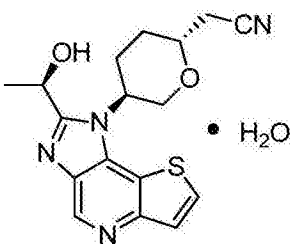
[0037] 本发明尤其提供用于制备以下化合物的方法和中间体:2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈,其为式Ia化合物:



[0038]

Ia

[0039] 以及式Ia化合物的新形式。式Ia化合物包括所述化合物的无水形式和水合形式。举例而言,本申请提供式Ia化合物的新无水形式和新一水合物形式。一水合物形式具有式II:



[0040]

II.

[0041] 本申请提供2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的无水形式。

[0042] 在一些实施方案中,所述无水形式基本上经分离。在一些实施方案中,所述无水形式为结晶的。

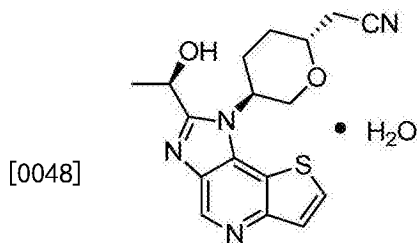
[0043] 在一些实施方案中,所述无水形式的特征在于具有在约185°C开始的吸热峰的差示扫描量热法温谱图。在一些实施方案中,所述无水形式的特征在于在约190°C处具有吸热峰的差示扫描量热法(DSC)温谱图。在一些实施方案中,所述无水形式具有基本上如图1中所示的DSC温谱图。

[0044] 在一些实施方案中,所述无水形式的特征在于直至200°C具有约1.25%重量损失的热解重量分析(TGA)温谱图。在一些实施方案中,所述无水形式具有基本上如图2中所示的TGA温谱图。

[0045] 在一些实施方案中,就选自约8.8°、约10.5°、约16.3°、约17.5°、约19.1°、约21.2°、约24.0°和约26.4°的2θ而言,所述无水形式具有至少一个XRPD峰。在一些实施方案中,就选自约8.8°、约10.5°、约16.3°、约17.5°、约19.1°、约21.2°、约24.0°和约26.4°的2θ而言,所述无水形式具有至少两个XRPD峰。在一些实施方案中,就选自约8.8°、约10.5°、约16.3°、约17.5°、约19.1°、约21.2°、约24.0°和约26.4°的2θ而言,所述无水形式具有至少三个XRPD峰。在一些实施方案中,就选自约8.8°、约10.5°、约16.3°、约17.5°、约19.1°、约21.2°、约24.0°和约26.4°的2θ而言,所述无水形式具有至少四个XRPD峰。在一些实施方案中,就选自约8.8°、约16.3°、约19.1°、约24.0°和约26.4°的2θ而言,所述无水形式具有至少四个XRPD峰。

[0046] 在一些实施方案中,所述无水形式具有基本上如图3中所示的XRPD图谱。在一些实施方案中,所述无水形式具有基本上如图7中所示的气相吸附/脱附等温线。在一些实施方案中,所述无水形式具有基本上如图8中所示的气相吸附/脱附等温线。

[0047] 本申请还提供2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈一水合物的一水合物形式,其为式II化合物:



II.

[0049] 在一些实施方案中,所述一水合物形式具有约5%的水含量。在一些实施方案中,所述一水合物形式基本上经分离。在一些实施方案中,所述一水合物形式为结晶的。

[0050] 在一些实施方案中,所述一水合物形式的特征在于具有在约69°C开始的吸热峰的DSC温谱图。在一些实施方案中,所述一水合物形式的特征在于在约106°C处具有吸热峰的DSC温谱图。

[0051] 在一些实施方案中,所述一水合物形式的特征在于具有在约131°C开始的吸热峰的DSC温谱图。在一些实施方案中,所述一水合物形式的特征在于在约140°C处具有吸热峰

的DSC温谱图。在一些实施方案中,所述一水合物形式具有基本上如图4中所示的DSC温谱图。

[0052] 在一些实施方案中,所述一水合物形式的特征在于直至150°C具有约5%重量损失的TGA温谱图。在一些实施方案中,所述一水合物形式具有基本上如图5中所示的TGA温谱图。

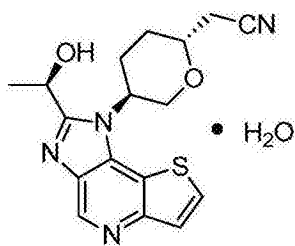
[0053] 在一些实施方案中,就选自约8.5°、约8.7°、约14.6°、约15.1°、约19.4°、约25.1°和约26.5°的 2θ 而言,所述一水合物形式具有至少一个XRPD峰。在一些实施方案中,就选自约8.5°、约8.7°、约14.6°、约15.1°、约19.4°、约25.1°和约26.5°的 2θ 而言,所述一水合物形式具有至少两个XRPD峰。在一些实施方案中,就选自约8.5°、约8.7°、约14.6°、约15.1°、约19.4°、约25.1°和约26.5°的 2θ 而言,所述一水合物形式具有至少三个XRPD峰。在一些实施方案中,就选自约8.5°、约8.7°、约14.6°、约15.1°、约19.4°、约25.1°和约26.5°的 2θ 而言,所述一水合物形式具有至少四个XRPD峰。在一些实施方案中,所述一水合物形式具有基本上如图6中所示的XRPD图谱。

[0054] 典型地认为反射(峰)的XRPD图谱为特定结晶形式的指纹。众所周知,XRPD峰的相对强度可广泛变化,尤其取决于样品制备技术、晶体尺寸分布、所使用的各种过滤器、样品固定程序和所使用的特定仪器。在一些情况下,可观察到新峰,或现有峰可能消失,此取决于仪器类型或设定。如本文中所使用,术语“峰”是指相对高度/强度为最大峰高度/强度的至少约4%的反射。此外,仪器变化和其它因素可能影响 2θ 值。因而,诸如本文中所报告的峰指定可能变化 $\pm 0.2^\circ$ (2θ),且如本文中的XRPD内容中所使用的术语“基本上”和“约”意欲涵盖上述变化。

[0055] 同样,与DSC、TGA或其它热实验相关的温度读数可变化约 $\pm 3^\circ\text{C}$,此取决于仪器、特定设定、样品制备等。因此,本文中所报告的具有“基本上”如任何图中所示的DSC温谱图的结晶形式或术语“约”应理解为包括此种变化。

[0056] 本申请还提供形成2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的无水形式的方法,所述方法包括:

[0057] (i) 将正庚烷添加至第一混合物中,所述第一混合物包含式II化合物:



[0058]

II

[0059] 和第一溶剂组分,其中所述第一溶剂组分包含乙酸乙酯。

[0060] 在一些实施方案中,所述第一溶剂组分还包含甲醇。

[0061] 在一些实施方案中,所述方法还包括在(i)之前:

[0062] (ii) 将所述式II化合物溶解于甲醇中以形成第二混合物,所述第二混合物包含式Ia化合物和第二溶剂组分,所述第二溶剂组分包含甲醇;

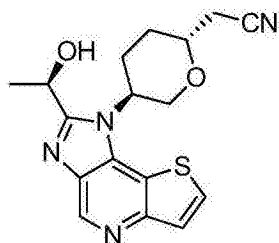
[0063] (iii) 对所述第二混合物进行精过滤;和

[0064] (iv) 向所述第二混合物中添加乙酸乙酯以形成所述第一混合物。

[0065] 在一些实施方案中,所述方法还包括将所述第一混合物加热至约60°C至约75°C的温度。

[0066] 在一些实施方案中,所述方法还包括经由蒸馏移除至少一部分乙酸乙酯和甲醇,以形成所述第一混合物。

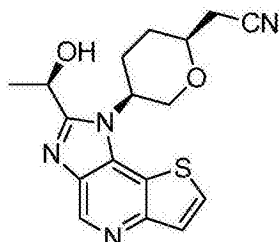
[0067] 本申请还提供制备式Ia化合物的方法:



[0068]

Ia

[0069] 所述方法包括使式Ib化合物:



[0070]

Ib

[0071] 与强碱在第一溶剂组分存在下进行反应。

[0072] 在一些实施方案中,所述强碱为醇盐碱。

[0073] 在一些实施方案中,所述强碱为碱金属C₁₋₆醇盐。

[0074] 在一些实施方案中,所述强碱为叔丁醇钾。

[0075] 在一些实施方案中,所述第一溶剂组分包含异丙醇。

[0076] 在一些实施方案中,所述第一溶剂组分包含异丙醇和四氢呋喃。

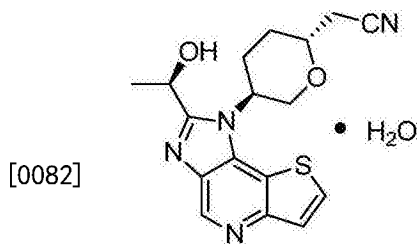
[0077] 在一些实施方案中,组合物与强碱的反应是在约室温的温度下进行。

[0078] 在一些实施方案中,其中以1当量式Ib化合物计,使用约0.05至约0.15当量强碱。

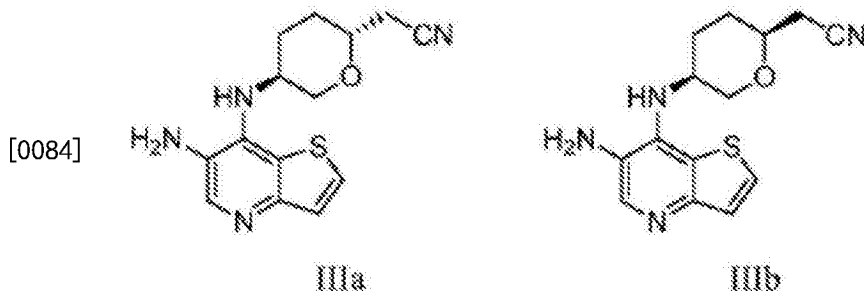
[0079] 在一些实施方案中,式Ib化合物在所述式Ib化合物与所述强碱的所述反应之前即存在于包含式Ib化合物和式Ia化合物的组合物中。

[0080] 在一些实施方案中,与式Ib化合物反应的强碱称为第一强碱。

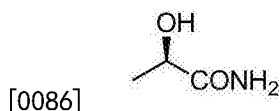
[0081] 在一些实施方案中,式Ia化合物制备为式II化合物:



[0083] 在一些实施方案中,包含式Ia化合物和式Ib化合物的组合物是通过如下方法制备,所述方法包括使包含式IIIa化合物和式IIIb化合物的组合物:



[0085] 与式IV化合物:



IV

[0087] 在C₁₋₆烷基氧鎓试剂和第二溶剂组分存在下进行反应。

[0088] 在一些实施方案中,在反应之前,使所述式IV化合物与所述C₁₋₆烷基氧鎓在所述第二溶剂组分中反应。

[0089] 在一些实施方案中,所述反应步骤称为包含式IIIa化合物和式IIIb化合物的组合物的反应。

[0090] 在一些实施方案中,所述C₁₋₆烷基氧鎓试剂为三乙基氧鎓四氟硼酸盐。

[0091] 在一些实施方案中,所述第二溶剂组分包含乙醇。

[0092] 在一些实施方案中,所述第二溶剂组分包含四氢呋喃。

[0093] 在一些实施方案中,所述第二溶剂组分包含乙醇和四氢呋喃。

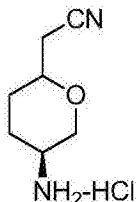
[0094] 在一些实施方案中,式IIIa化合物和式IIIb化合物的组合物与式IV化合物的反应是在回流温度下进行。

[0095] 在一些实施方案中,以1当量组合量的式IIIa化合物和式IIIb化合物计,使用约2至约4当量的式IV化合物。

[0096] 在一些实施方案中,以1当量组合量的式IIIa化合物和式IIIb化合物计,使用约2至约4当量的烷基氧鎓试剂。

[0097] 在一些实施方案中,包含式IIIa化合物和式IIIb化合物的组合物是通过如下方法制备,所述方法包括使包含式Va化合物和式Vb化合物的组合物:

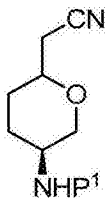
- [0113] 在一些实施方案中,X为氯基。
- [0114] 在一些实施方案中,所述叔胺碱为N-乙基-N-异丙基丙-2-胺。
- [0115] 在一些实施方案中,式VI化合物的反应中所存在的叔胺碱称为第一叔胺碱。
- [0116] 在一些实施方案中,所述第四溶剂组分包含N,N-二甲基甲酰胺。
- [0117] 在一些实施方案中,所述反应是在约65°C至约75°C的温度下进行。
- [0118] 在一些实施方案中,所述反应步骤称为式VI化合物的反应。
- [0119] 在一些实施方案中,式VI化合物或其盐为式VIa的盐:



[0120]

VIa;

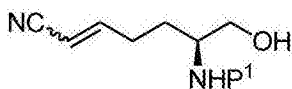
- [0121] 所述第四溶剂组分包含N,N-二甲基甲酰胺;
- [0122] 所述叔胺碱为N-乙基-N-异丙基丙-2-胺;且
- [0123] X为氯基。
- [0124] 本申请还提供制备式VI化合物的方法,所述方法包括使式VIII化合物:



[0125]


VIII

- [0126] 在去保护条件下反应,以形成式VI化合物或其盐;
- [0127] 其中P¹为胺保护基。
- [0128] 在一些实施方案中,P¹为叔丁氧基羰基。
- [0129] 在一些实施方案中,去保护条件包括使式VIII化合物与强酸反应。
- [0130] 在一些实施方案中,所述强酸为HCl。
- [0131] 在一些实施方案中,与式VIII化合物反应的强酸称为第一强酸。
- [0132] 在一些实施方案中,所述反应是在约0°C至约40°C的温度下进行。
- [0133] 在一些实施方案中,所述反应步骤称为式VIII化合物的反应。
- [0134] 在一些实施方案中,式VIII化合物是通过如下方法制备,所述方法包括使式IX化合物:

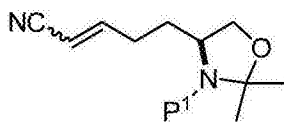


[0135]

IX

- [0136] 在强碱和第五溶剂组分存在下进行反应,其中  指示顺式键或反式键;且P¹为胺保护基。在一些实施方案中,P¹为叔丁氧基羰基。

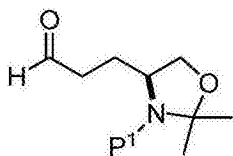
- [0138] 在一些实施方案中,所述强碱为C₁₋₆醇盐碱。
- [0139] 在一些实施方案中,所述醇盐碱为碱金属C₁₋₆醇盐。
- [0140] 在一些实施方案中,所述醇盐碱为甲醇钠。
- [0141] 在一些实施方案中,所述强碱是以催化量存在。
- [0142] 在一些实施方案中,以1当量式IX化合物计,催化量包括约0.010至约0.020当量强碱。
- [0143] 在一些实施方案中,式IX化合物的反应中所存在的强碱称为第二强碱。
- [0144] 在一些实施方案中,所述第五溶剂组分包含四氢呋喃。
- [0145] 在一些实施方案中,所述反应是在约0°C至5°C的温度下进行。
- [0146] 在一些实施方案中,所述反应步骤称为式IX化合物的反应。
- [0147] 在一些实施方案中,式IX化合物是通过如下方法制备,所述方法包括使式X化合物:



[0148]

X

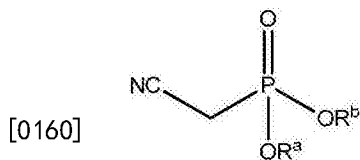
- [0149] 在强酸和第六溶剂组分存在下进行反应,其中 \sim 指示顺式键或反式键;且P¹为胺保护基。在一些实施方案中,P¹为叔丁氧基羰基。
- [0150] 在一些实施方案中,所述强酸为对甲苯磺酸。
- [0151] 在一些实施方案中,所述强酸是以催化量存在。
- [0152] 在一些实施方案中,以1当量式X化合物计,催化量包括约0.005至约0.015当量强酸。
- [0153] 在一些实施方案中,式X化合物的反应中所存在的强酸称为第二强酸。
- [0154] 在一些实施方案中,所述第六溶剂组分包含甲醇。
- [0155] 在一些实施方案中,所述式X化合物在强酸存在下的反应是在约室温的温度下进行。
- [0156] 在一些实施方案中,式X化合物是通过以下方法制备,所述方法包括:
- [0157] (i) 使式XII化合物:



[0158]

XII

- [0159] 与Wittig试剂在第七溶剂组分存在下进行反应,其中所述Wittig试剂是通过如下方法制备,所述方法包括使式XXI化合物:



XXI

[0161] 在强碱存在下进行反应,其中R^a和R^b各自独立地为C₁₋₆烷基;且

[0162] P¹为胺保护基。在一些实施方案中,P¹为叔丁氧基羰基。

[0163] 在一些实施方案中,在(i)之前,使式XXI化合物与所述强碱在所述第二溶剂组分中进行反应。

[0164] 在一些实施方案中,R^a和R^b各自为乙基。

[0165] 在一些实施方案中,所述强碱为叔丁醇钾。

[0166] 在一些实施方案中,式XXI化合物的反应中所存在的强碱称为碱。

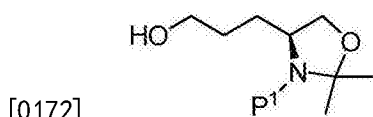
[0167] 在一些实施方案中,所述第七溶剂组分包含四氢呋喃。

[0168] 在一些实施方案中,所述反应是在约0℃至约5℃的温度下进行。

[0169] 在一些实施方案中,所述反应步骤称为式XII化合物的反应。

[0170] 在一些实施方案中,以1当量式XII化合物计,使用约1.0至约2.0当量式XXI化合物。

[0171] 在一些实施方案中,式XII化合物是通过如下方法制备,所述方法包括对式XIII化合物进行氧化:



XIII

[0173] 其中P¹为胺保护基。在一些实施方案中,P¹为叔丁氧基羰基。

[0174] 在一些实施方案中,所述氧化包括向式XIII化合物中添加第一氧化剂以形成第一混合物。

[0175] 在一些实施方案中,所述第一氧化剂为2,2,6,6-四甲基-1-哌啶基氧基自由基(TEMPO)。

[0176] 在一些实施方案中,添加所述第一氧化剂是在四-N-丁基氯化铵存在下进行。

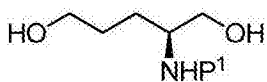
[0177] 在一些实施方案中,添加所述第一氧化剂是在约室温的温度下进行。

[0178] 在一些实施方案中,所述氧化还包括向所述第一混合物中添加碱和第二氧化剂。

[0179] 在一些实施方案中,所述第二氧化剂为N-卤丁二酰亚胺化合物。

[0180] 在一些实施方案中,所述第二氧化剂为N-氯丁二酰亚胺。

[0181] 在一些实施方案中,式XIII化合物是通过如下方法制备,所述方法包括使式XV化合物:



[0182]

XV

[0183] 与式XIV化合物:



[0184]

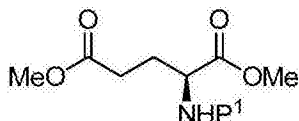
XIV

[0185] 在三氟化硼乙醚合物和第八溶剂组分存在下进行反应,其中P¹为胺保护基。在一些实施方案中,P¹为叔丁氧基羰基。

[0186] 在一些实施方案中,所述第八溶剂组分包含丙酮。

[0187] 在一些实施方案中,所述反应是在约室温的温度下进行。

[0188] 在一些实施方案中,式XV化合物是通过如下方法制备,所述方法包括使式XVI化合物:



[0189]

XVI

[0191] 在还原剂和第九溶剂组分存在下进行反应,其中P¹为胺保护基。在一些实施方案中,P¹为叔丁氧基羰基。

[0192] 在一些实施方案中,所述还原剂为硼氢化锂。

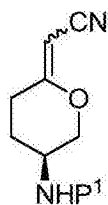
[0193] 在一些实施方案中,式XVI化合物的反应中所存在的还原剂称为第一还原剂。

[0194] 在一些实施方案中,所述第九溶剂组分包含四氢呋喃。

[0195] 在一些实施方案中,所述反应是在约0°C至约40°C的温度下进行。

[0196] 在一些实施方案中,所述反应步骤称为式XVI化合物的反应。

[0197] 在一些实施方案中,式VIII化合物是通过如下方法制备,所述方法包括使式XVII化合物:




[0198]

XVII

[0199] 与氢气在氢化催化剂和第十溶剂组分存在下进行反应;

[0200] 其中P¹为胺保护基。

[0201] 式XVII中的  基团指示CN基团相对于吡喃环中的氧可为E或Z。在一些实施方案中,P¹为叔丁氧基羰基。

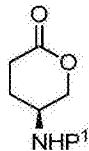
[0202] 在一些实施方案中,所述氢化催化剂为钨/碳。

[0203] 在一些实施方案中,以式XVII化合物的总质量计,使用约5重量%至约15重量%的氢化催化剂。

[0204] 在一些实施方案中,所述第十溶剂组分包含甲醇。

[0205] 在一些实施方案中,式XVII化合物是通过以下方式制备:

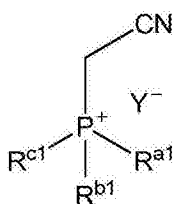
[0206] (i) 使式XVIII化合物:



[0207]

XVIII

[0208] 与Wittig试剂在第十一溶剂组分存在下进行反应,其中所述Wittig试剂是通过如下方法制备,所述方法包括使式XXII化合物:



[0209]

XXII

[0210] 与强碱进行反应,其中:

[0211] R^{a1}、R^{b1}和R^{c1}各自独立地为C₁-6烷基;

[0212] Y⁻为卤离子;且

[0213] P¹为胺保护基。

[0214] 在一些实施方案中,P¹为叔丁氧基羰基。

[0215] 在一些实施方案中,Y⁻为Cl⁻。

[0216] 在一些实施方案中,R^{a1}、R^{b1}和R^{c1}各自为甲基。

[0217] 在一些实施方案中,R^{a1}、R^{b1}和R^{c1}各自为正丁基。

[0218] 在一些实施方案中,所述强碱为叔丁醇钾。

[0219] 在一些实施方案中,所述强碱为六甲基二硅叠氮化锂。

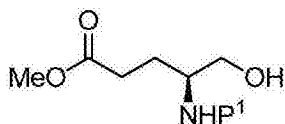
[0220] 在一些实施方案中,与式XXII化合物反应的强碱称为第四强碱。

[0221] 在一些实施方案中,所述第十一溶剂组分包含四氢呋喃。

[0222] 在一些实施方案中,所述第十一溶剂组分包含N,N-二甲基乙酰胺。

[0223] 在一些实施方案中,所述第十一溶剂组分包含四氢呋喃和N,N-二甲基乙酰胺。

[0224] 在一些实施方案中,式XVIII化合物是由如下方法形成,所述方法包括使式XIX化合物:



[0225]

XIX

[0226] 在弱有机酸和第十二溶剂组分存在下进行反应,其中P¹为胺保护基。在一些实施方案中,P¹为叔丁氧基羰基。

[0227] 在一些实施方案中,所述弱有机酸为乙酸。

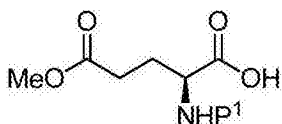
[0228] 在一些实施方案中,所述第十二溶剂组分包含甲苯。

[0229] 在一些实施方案中,所述反应是在回流温度下进行。

[0230] 在一些实施方案中,所述反应步骤称为式XIX化合物的反应。

[0231] 在一些实施方案中,式XIX化合物是由以下方法形成,所述方法包括:

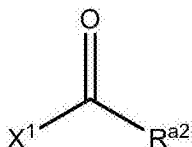
[0232] (i) 使式XX化合物:



[0233]

XX

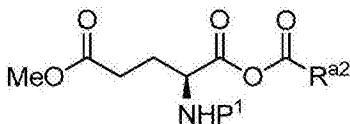
[0234] 与式XXIII化合物:



[0235]

XXIII

[0236] 在胺碱和第十三溶剂组分存在下进行反应,以形成式XXIV化合物:



[0237]

XXIV

[0238] 其中

[0239] R^{a2}为C₁₋₄烷氧基;

[0240] X¹为卤基;且

[0241] P¹为胺保护基。

[0242] 在一些实施方案中,P¹为叔丁氧基羰基。

[0243] 在一些实施方案中,式XXIII化合物为氯甲酸乙酯。

[0244] 在一些实施方案中,胺碱为N-甲基吗啉。

[0245] 在一些实施方案中,式XX化合物的反应中所存在的胺碱称为第二叔胺碱。

[0246] 在一些实施方案中,所述第十三溶剂组分包含四氢呋喃。

[0287] 在一些实施方案中,以1当量(R)-2-羟基丙亚胺酸乙酯计,使用约2.9至约3.1当量乙醇。

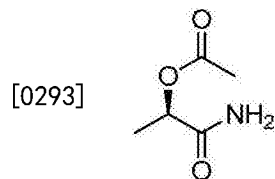
[0288] 在一些实施方案中,将(R)-乙酸-1-氰基乙酯与乙醇合并以形成乙醇混合物。

[0289] 在一些实施方案中,将所述强酸添加至所述乙醇混合物中以形成另一混合物。

[0290] 在一些实施方案中,在约-45°C至约-35°C的温度下添加所述强酸。

[0291] 在一些实施方案中,将所述强酸添加至所述乙醇混合物中以形成另一混合物还包括将所述另一混合物加热至室温。

[0292] 在一些实施方案中,所述(R)-乙酸-1-氰基乙酯是通过使(R)-乙酸-1-氨基-1-氧代丙-2-基酯:



[0294] 与氰尿酸氯反应而形成。

[0295] 在一些实施方案中,以1当量(R)-乙酸-1-氨基-1-氧代丙-2-基酯计,使用约0.4至约0.5当量氰尿酸氯。

[0296] 在一些实施方案中,在(R)-乙酸-1-氨基-1-氧代丙-2-基酯的所述反应之前,将(R)-乙酸-1-氨基-1-氧代丙-2-基酯与第十九溶剂组分混合。

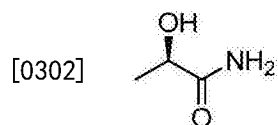
[0297] 在一些实施方案中,所述第十九溶剂组分包含N,N-二甲基甲酰胺。

[0298] 在一些实施方案中,在(R)-乙酸-1-氨基-1-氧代丙-2-基酯的所述反应之前,将氰尿酸氯溶解于第二十溶剂组分中。

[0299] 在一些实施方案中,所述第二十溶剂组分包含2-甲氧基-2-甲基丙烷。

[0300] 在一些实施方案中,(R)-乙酸-1-氨基-1-氧代丙-2-基酯的所述反应是在约室温下进行。

[0301] 在一些实施方案中,所述(R)-乙酸-1-氨基-1-氧代丙-2-基酯是通过在第三叔胺碱存在下用乙酰氯保护(R)-2-羟基丙酰胺:



[0303] 而制备。

[0304] 在一些实施方案中,所述第三叔胺碱为4-甲基吗啉。

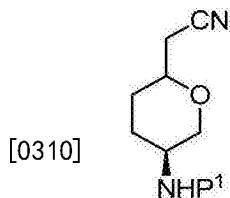
[0305] 在一些实施方案中,以1当量(R)-2-羟基丙酰胺计,使用约1至约1.1当量乙酰氯。

[0306] 在一些实施方案中,所述保护是在第二十一溶剂组分存在下进行。

[0307] 在一些实施方案中,所述第二十一溶剂组分包含四氢呋喃。

[0308] 本申请还提供可用于制备式Ia化合物的中间体。

[0309] 因此,本申请提供式VIII化合物:

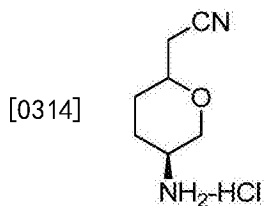


VIII

[0311] 其中P¹为胺保护基。

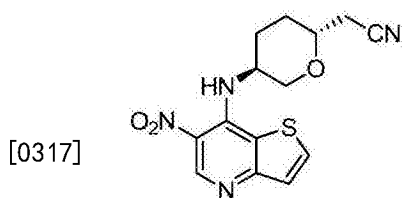
[0312] 在一些实施方案中,P¹为叔丁氧基羰基。

[0313] 本申请还提供式VIa的盐:



[0315] VIa。

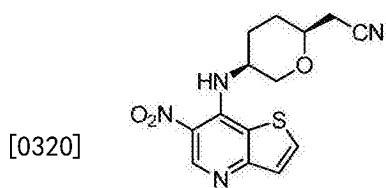
[0316] 本申请还提供式Va化合物:



Va

[0318] 或其盐。

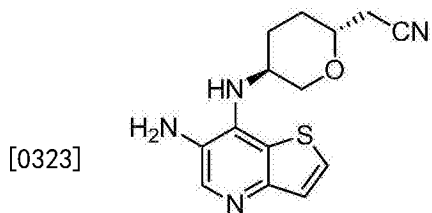
[0319] 本申请还提供式Vb化合物:



Vb

[0321] 或其盐。

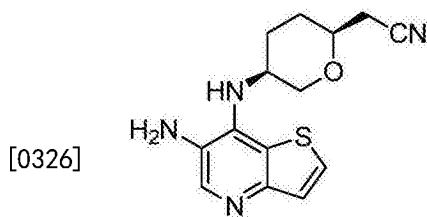
[0322] 本申请还提供式IIIa化合物:



IIIa

[0324] 或其盐。

[0325] 本申请还提供式IIIb化合物：



IIIb

[0327] 或其盐。

[0328] 应了解,个别实施方案的内容中出于明确性目的而描述的某些本发明特征也可以组合形式提供于单一实施方案中(同时意欲所述实施方案可如同多个附属形式中所书写一般加以组合)。相反,单一实施方案的内容中出于简便目的而描述的各种本发明特征也可单独或以任何适合的子组合形式提供。

[0329] 在本说明书中各处,在群组或范围中公开本发明化合物的取代基。尤其意欲本发明包括此类群组和范围的成员的各个和每个个别子组合。举例而言,术语“C₁₋₆烷基”尤其意欲个别地公开甲基、乙基、C₃烷基、C₄烷基、C₅烷基和C₆烷基。

[0330] 如本文中所使用,术语“Wittig试剂”是指由式P(=O)(C₁₋₆烷氧基)₂(C₁₋₆烷基-CN)的膦酸酯化合物在强碱(例如叔丁醇钾)存在下的反应形成的内鎓盐,其中烷氧基和烷基各自具有1至6个碳。在一些实施方案中,术语“Wittig试剂”是指由膦盐(例如氰基甲基(三甲基)氯化磷或三丁基(氰基甲基)氯化磷)在强碱(例如叔丁醇钾)存在下的反应形成的内鎓盐。

[0331] 如本文中所使用,单独或与其它术语组合使用的术语“C_{n-m}烷基”是指饱和烃基,其可为直链或分支链,具有n至m个碳原子。在一些实施方案中,烷基含有1至6个、1至4个或1至3个碳原子。烷基部分的实例包括但不限于诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、2-甲基-1-丁基、3-戊基、正己基、1,2,2-三甲基丙基以及类似基团的化学基团。

[0332] 如本文中所使用,单独或与其它术语组合使用的术语“C₁₋₆烷氧基”是指具有式-O-烷基的基团,其中烷基具有1至6个碳。实例烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基(例如正丙氧基和异丙氧基)、丁氧基(例如正丁氧基、叔丁氧基)以及类似基团。

[0333] 如本文中所使用,术语“C₁₋₆烷基氧鎓试剂”是指具有式(C₁₋₆烷基)₃O⁺的阳离子基团的试剂,其中所述C₁₋₆烷基是指具有1至6个碳的直链或分支链烷基。实例C₁₋₆烷基氧鎓试剂包括三甲基氧鎓四氟硼酸盐、三乙基氧鎓四氟硼酸盐(米尔文试剂)、三乙基氧鎓六氟磷酸盐、三乙基氧鎓六氯锑酸盐以及类似物。抗衡离子包括但不限于四氟硼酸根、六氟磷酸根和六氯锑酸根。

[0334] 如本文中本文中所使用,术语“氨基”是指式-NH₂的基团。

[0335] 如本文中所使用,术语“胺碱”是指单取代的胺基团(即,一级胺碱)、二取代的胺基团(即,二级胺碱)或三取代的胺基团(即,叔胺碱)。实例单取代的胺碱包括甲胺、乙胺、丙胺、丁胺以及类似物。实例二取代的胺碱包括二甲胺、二乙胺、二丙胺、二丁胺、吡咯烷、哌

啶、氮杂环庚烷、吗啉以及类似物。在一些实施方案中，叔胺具有式 $N(R')_3$ ，其中各 R' 独立地为 C_{1-6} 烷基、3至10元环烷基、4至10元杂环烷基、1至10元杂芳基和5至10元芳基，其中所述3至10元环烷基、4至10元杂环烷基、1至10元杂芳基和5至10元芳基任选由1、2、3、4、5或6个 C_{1-6} 烷基取代。实例叔胺碱包括三甲胺、三乙胺、三丙胺、三异丙胺、三丁胺、三叔丁胺、 N,N -二甲基乙胺、 N -乙基- N -甲基丙-2-胺、 N -乙基- N -异丙基丙-2-胺、 N -甲基吗啉以及类似物。在一些实施方案中，术语“叔胺碱”是指式 $N(R)_3$ 的基团，其中各 R 独立地为直链或分支链 C_{1-6} 烷基。

[0336] 如本文中所使用，单独或与其它术语组合使用的术语“环烷基”是指非芳族环烃部分，其可任选含有一个或多个亚烯基作为环结构的一部分。在一些实施方案中，环烷基为3至10元环烷基，其为单环或双环。在一些实施方案中，环烷基为3至6元或3至7元单环环烷基。例示性环烷基包括1,2,3,4-四氢-萘、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环戊烯基、环己烯基、环己二烯基、环庚三烯基、降冰片基、降蒎基、降萘基、金刚烷基以及类似基团。在一些实施方案中，环烷基为环丙基、环丁基、环戊基或环己基。

[0337] 如本文中所使用，单独或与其它术语组合使用的术语“芳基”是指单环或多环（例如具有2、3或4个稠合环）芳族烃，诸如但不限于苯基、1-萘基、2-萘基、蒽基、菲基以及类似基团。在一些实施方案中，芳基为 C_{6-10} 芳基。在一些实施方案中，芳基为萘环或苯基环。在一些实施方案中，芳基为苯基。

[0338] 如本文中所使用，单独或与其它术语组合的术语“杂芳基”是指单环或多环（例如2、3或4个稠合环）芳族烃部分，其具有一个或多个选自氮、硫和氧的杂原子环成员。在一些实施方案中，杂芳基为5至10元杂芳基，其为单环或双环，包含1至9个碳原子和1、2、3或4个独立地选自氮、硫和氧的杂原子环成员。实例杂芳基包括但不限于吡啶、嘧啶、吡嗪、哒嗪、吡咯、吡唑、唑基、噁唑、噻唑、咪唑、呋喃、噻吩、喹啉、异喹啉、吡啶、苯并噻吩、苯并呋喃、苯并异噻唑、咪唑并[1,2-b]噻唑、嘌呤或其类似基团。

[0339] 如本文中所使用，单独或与其它术语组合使用的术语“杂环烷基”是指非芳族环系统，其可任选含有一个或多个亚烯基或亚炔基作为环结构的一部分，且其具有至少一个独立地选自氮、硫和氧的杂原子环成员。当杂环烷基含有多于一个杂原子时，杂原子可相同或不同。杂环烷基可包括单环或多环（例如具有2、3或4个稠合的、螺环的或桥接的环）环系统。在一些实施方案中，杂环烷基为5至10元杂环烷基，其为单环或双环，包含2至9个碳原子和1、2、3或4个独立地选自氮、硫和氧的杂原子环成员。杂环烷基的实例包括1,2,3,4-四氢-喹啉、氮杂环丁烷、氮杂环庚烷、吡咯烷、哌啶、哌嗪、吗啉、硫代吗啉、吡喃和2-氧代-1,3-噁唑烷环。

[0340] 如本文中所使用，术语“碱金属”包括锂、钠和钾。

[0341] 如本文中所使用，单独或与其它术语组合使用的“卤基”或“卤素”包括氟、氯、溴和碘。

[0342] 实例“ N -卤丁二酰亚胺化合物”包括但不限于 N -氯丁二酰亚胺、 N -溴丁二酰亚胺和 N -碘丁二酰亚胺。

[0343] 如本文中所使用，术语“醇盐碱”是指具有式 $(C_{1-6}\text{烷基})O^-$ 的基团的碱，其中所述 C_{1-6} 烷基是指具有1至6个碳的直链或分支链烷基。实例醇盐碱包括但不限于甲醇盐、乙醇盐、丙醇盐、异丙醇盐、正丁醇盐、异丁醇盐、叔丁醇盐以及类似物。

[0344] 如本文中所使用,术语“碱金属醇盐”是指式M(O-C₁₋₆烷基)的基团,其中M是指碱金属(例如锂、钠或钾),且C₁₋₆烷基是指具有1至6个碳的直链或分直链烷基。实例碱金属醇盐包括但不限于甲醇钠、乙醇钠、异丙醇钠、叔丁醇钠、甲醇锂、乙醇锂、甲醇钾、乙醇钾、叔丁醇钾以及类似物。

[0345] 如本文中所使用,术语“氢化催化剂”是指适合于催化氢化反应(即,化合物与氢气的反应)的金属(例如钯、镍或铑)催化剂。实例氢化催化剂包括但不限于钯/碳、林德拉催化剂(沉积于碳酸钙或硫酸钡上的钯)、威尔金森催化剂、HRuCl(PPh₃)₃、RhCl(PPh₃)₃、[Rh(COD)Cl]₂、[Ir(COD)(PMePh₂)₂]⁺、[Rh(1,5-环辛二烯)(PPh₃)₂]⁺、PtO₂(亚当氏催化剂)、钯/碳、钯黑、林德拉催化剂(沉积于碳酸钙或硫酸钡上且经铅处理的钯)以及类似物。在一些实施方案中,氢化催化剂为Nishimura, Heterogeneous Catalytic Hydrogenation for Organic Synthesis, 第1版, Wiley (2001年4月17日) 或Chaloner, Homogeneous Hydrogenation, 第1版, Springer Netherlands (2010年12月6日) 中所发现的氢化催化剂, 这两个文献各自以全文引用的方式并入本文中。

[0346] 适当P¹保护基包括但不限于Wuts和Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, 第4版, John Wiley&Sons: New Jersey, 第696-887页(且具体地, 第872-887页)(2007)中所描绘的用于胺的保护基, 该文献以全文引用的方式并入本文中。实例胺保护基包括但不限于苯甲氧基羰基(Cbz)、2,2,2-三氯乙氧基羰基(Troc)、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基羰基(Teoc)、2-(4-三氟甲基苯基磺酰基)乙氧基羰基(Tsc)、叔丁氧基羰基(BOC)、1-金刚烷氧基羰基(Adoc)、2-金刚烷氧基羰基(2-Adoc)、2,4-二甲基戊-3-基氧基羰基(Doc)、环己基氧基羰基(Hoc)、1,1-二甲基-2,2,2-三氯乙氧基羰基(TcBOC)、乙烯基、2-氯乙基、2-苯基磺酰基乙基、烯丙基、苯甲基、2-硝基苯甲基、4-硝基苯甲基、联苯-4-吡啶基甲基、N',N'-二甲基胍基、甲氧基甲基、叔丁氧基甲基(Bum)、苯甲氧基甲基(BOM)或2-四氢吡喃基(THP)、三(C₁₋₄烷基)甲硅烷基(例如三(异丙基)甲硅烷基)、1,1-二乙氧基甲基或N-三甲基乙酰氧基甲基(POM)。

[0347] 实例氧化剂包括戴斯-马丁氧化剂、2,2,6,6-四甲基-1-哌啶基氧基自由基(TEMPO)、N-卤丁二酰亚胺(例如N-溴丁二酰亚胺、N-氯丁二酰亚胺、N-碘丁二酰亚胺)以及类似物。

[0348] 实例还原剂包括碱金属氢硼化物(例如硼氢化锂、硼氢化钠、硼氢化钾等)、碱金属铝氢化物(例如氢化锂铝、氢化钠铝)、氢气(例如H₂/Pd/碳)以及类似物。

[0349] 实例酸可为无机酸或有机酸,且包括但不限于强酸和弱酸。一些实例酸包括盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、对甲苯磺酸、4-硝基苯甲酸、甲烷磺酸、苯磺酸、三氟乙酸和硝酸。一些弱酸包括但不限于乙酸、丙酸、丁酸、苯甲酸、酒石酸、戊酸、己酸、庚酸、辛酸、壬酸和癸酸。

[0350] 一些实例强碱包括但不限于氢氧化物、醇盐、金属氮化物、金属氢化物、金属二烷基氮化物和芳基胺,其中醇盐包括甲基、乙基和叔丁基氧化物的锂、钠和钾盐;金属氮化物包括氮化钠、氮化钾和氮化锂;金属氢化物包括氢化钠、氢化钾和氢化锂;且金属二烷基氮化物包括经甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、三甲基甲硅烷基和环己基取代的酰胺的锂、钠和钾盐。

[0351] 所有化合物以及药物学上可接受的盐(例如水合物和溶剂合物)可被发现与诸如水和溶剂的其它物质在一起,或可为经分离的。

[0352] 在一些实施方案中,本发明化合物或其盐基本上经分离。“基本上经分离”意谓化合物至少部分地或基本上与形成或检测到其的环境分离。部分分离可包括例如本发明化合物中富含的组合物。基本分离可包括以重量计含有至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约97%或至少约99%本发明化合物或其盐的组合物。用于分离化合物及其盐的方法为本领域中的常规方法。

[0353] 如本文中所使用,术语“反应”是如本领域中已知加以使用且大体上是指使化学试剂以允许其分子层面上的相互作用从而达成化学或物理转化的方式在一起。在一些实施方案中,反应涉及两种试剂,其中相对于第一试剂使用一当量或多当量第二试剂。本文中所描述的方法的反应步骤可历经一定时间且在适合于制备所鉴别的产物的条件下来进行。

[0354] 本文中所描述的方法的反应可在适合的溶剂中进行,所述溶剂可由有机合成领域技术人员容易地选择。适合的溶剂在进行反应的温度下,例如在可介于溶剂的凝固温度至溶剂的沸腾温度范围内的温度下,可实质上不与起始物质(反应物)、中间体或产物反应。指定反应可在一种溶剂或多于一种溶剂的混合物中进行。取决于特定反应步骤,可选择适用于特定反应步骤的溶剂。在一些实施方案中,可在不存在溶剂的情况下,诸如当至少一种试剂为液体或气体时进行反应。

[0355] “溶剂组分”可为一种溶剂或者两种或两种以上溶剂的混合物。

[0356] 如本文中所使用,作为词组“溶剂组分”的前缀的“第二”、“第三”、“第四”等是用于区分溶剂组分与先前或稍后的方法步骤中所使用的其它溶剂组分,而非指示必须存在多种溶剂。

[0357] 适合的溶剂可包括卤化溶剂,诸如四氯化碳、溴二氯甲烷、二溴氯甲烷、三溴甲烷、三氯甲烷、溴氯甲烷、二溴甲烷、氯丁烷、二氯甲烷、四氯乙烯、三氯乙烯、1,1,1-三氯乙烷、1,1,2-三氯乙烷、1,1-二氯乙烷、2-氯丙烷、 α,α,α -三氟丁烯、1,2-二氯乙烷、1,2-二溴乙烷、六氟苯、1,2,4-三氯苯、1,2-二氯苯、氯苯、氟苯、其混合物以及类似物。

[0358] 适合的醚溶剂包括:二甲氧基甲烷、四氢呋喃、1,3-二噁烷、1,4-二噁烷、呋喃、乙醚、乙二醇二甲醚、乙二醇二乙醚、二乙二醇二甲醚(二甘醇二甲醚)、二乙二醇二乙醚、三乙二醇二甲醚、苯甲醚、叔丁基甲醚、其混合物以及类似物。

[0359] 适合的质子性溶剂可包括例如但不限于水、甲醇、乙醇、2-硝基乙醇、2-氟乙醇、2,2,2-三氟乙醇、乙二醇、1-丙醇、2-丙醇、2-甲氧基乙醇、1-丁醇、2-丁醇、异丁醇、叔丁醇、2-乙氧基乙醇、二乙二醇、1-戊醇、2-戊醇或3-戊醇、新戊醇、第三戊醇、二乙二醇单甲醚、二乙二醇单乙醚、环己醇、苯甲醇、苯酚或甘油。

[0360] 适合的非质子性溶剂可包括例如但不限于四氢呋喃(THF)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、1,3-二甲基-3,4,5,6-四氢-2(1H)-嘧啶酮(DMPU)、1,3-二甲基-2-咪唑烷酮(DMI)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、甲酰胺、N-甲基乙酰胺、N-甲基甲酰胺、乙腈、二甲亚砜、丙腈、甲酸乙酯、乙酸甲酯、六氯丙酮、丙酮、乙基甲基酮、乙酸乙酯、环丁砜、N,N-二甲基丙酰胺、四甲基脒、硝基甲烷、硝基苯或六甲基磷酰胺。

[0361] 适合的烃溶剂包括苯、环己烷、戊烷、己烷、甲苯、环庚烷、甲基环己烷、庚烷、乙苯、间二甲苯、邻二甲苯或对二甲苯、辛烷、茚烷、壬烷或萘。

[0362] 本文中所描述的方法的反应可在空气中或在惰性氛围下进行。典型地,含有基本上可与空气反应的试剂或产物的反应可使用本领域技术人员所熟知的空气敏感性合成技

术进行。

[0363] 在一些实施方案中,化合物的制备可包括添加酸或碱以影响例如对诸如酸加成盐的盐形式的所要反应或形成的催化作用。

[0364] 实例酸可为无机酸或有机酸。无机酸包括盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸和硝酸。有机酸包括甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、苯甲酸、4-硝基苯甲酸、甲烷磺酸、对甲苯磺酸、苯磺酸、酒石酸、三氟乙酸、丙炔酸、丁酸、2-丁炔酸、乙烯基乙酸、戊酸、己酸、庚酸、辛酸、壬酸和癸酸。

[0365] 实例碱包括氢氧化锂、氢氧化钠、氢氧化钾、碳酸锂、碳酸钠、碳酸钾和碳酸氢钠。一些实例强碱包括但不限于氢氧化物、醇盐、金属氨化物、金属氢化物、金属二烷基氨化物和芳基胺,其中醇盐包括甲基、乙基和叔丁基氧化物的锂、钠和钾盐;金属氨化物包括氨化钠、氨化钾和氨化锂;金属氢化物包括氢化钠、氢化钾和氢化锂;且金属二烷基氨化物包括经甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、三甲基甲硅烷基和环己基取代的酰胺的锂、钠和钾盐。

[0366] 在根据本文中所描述的方法制备化合物后,可使用诸如浓缩、过滤、萃取、固相萃取、再结晶、色谱以及类似操作的通常分离和纯化操作来分离所要产物。

[0367] 如本文中所使用的表述“室温”在本领域中应能理解且大体上是指约为进行反应的室内的温度的温度(例如反应温度),例如约20℃至约30℃的温度。

[0368] 本文中所描述的方法的反应可在适当温度下进行,该温度可由本领域技术人员容易地确定。反应温度将取决于例如以下因素:试剂和溶剂(如果存在时)的熔点和沸点;反应热力学(例如剧烈放热反应可能需要在降温下进行);和反应动力学(例如高活化能障壁可能需要高温)。

[0369] 本文中所描述的化合物的制备可包括对各种化学基团进行保护和去保护(例如胺基团的保护和去保护)。对保护和去保护的需要以及适当保护基的选择可由本领域技术人员容易地确定。保护基的化学性质可见于例如Wuts和Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第4版, John Wiley&Sons:New Jersey, (2007)中,该文献以全文引用的方式并入本文中。对本文中所描述的保护基以及形成和裂解方法的调整可在必要时根据不同取代基进行调整。

[0370] 如本文中所使用,术语“去保护条件”是指适合于使胺保护基裂解的条件。在一些实施方案中,去保护条件可包括在强酸存在下、在强碱存在下、在还原剂存在下或在氧化剂存在下使保护基裂解。胺保护基的去保护可通过本领域中已知的用于移除胺的特定保护基的方法来实现,诸如Wuts和Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第4版, John Wiley&Sons:New Jersey, 第696-887页(且具体地,第872-887页)(2007)中的方法,该文献以全文引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,处理包括使经保护的化合物在酸性条件(例如盐酸或三氟乙酸)下进行反应。在一些实施方案中,温度为约室温、约15℃至约40℃的温度或约15℃至约30℃的温度。

[0371] 可根据本领域中已知的任何适合的方法监测反应。举例而言,可通过诸如核磁共振光谱法(例如¹H或¹³C)、红外光谱法、分光亮度法(例如UV-可见光)、质谱法的光谱手段或通过诸如高效液相色谱法(HPLC)或薄层色谱法(TLC)的色谱方法监测产物形成。

[0372] 本文中采用词组“药物学上可接受”来指化合物、材料、组合物和/或剂型在合理医学判断范围内适合与人和动物的组织接触使用而无过度毒性、刺激、过敏反应或其它问题

或并发症,与合理效益/风险比相称。

[0373] 本发明还包括本文中所描述的化合物的药物学上可接受的盐。如本文中所使用,“药物学上可接受的盐”是指所公开的化合物的衍生物,其中通过将现有酸或碱部分转化成其盐形式对母体化合物进行修饰。药物学上可接受的盐的实例包括但不限于碱性残基(诸如胺)的矿物盐或有机酸盐;酸性残基(诸如羧酸)的碱金属盐或有机盐;以及类似物。本发明的药物学上可接受的盐包括母体化合物的例如由无毒无机酸或有机酸形成的无毒盐。本发明的药物学上可接受的盐可通过常规化学方法由含有碱性或酸性部分的母体化合物合成。一般而言,此类盐可通过使这些化合物的游离酸或碱形式与化学计算量的适当碱或酸在水中或在有机溶剂中或在两者的混合物中反应来制备;一般而言,如醚、乙酸乙酯、醇(例如甲醇、乙醇、异丙醇或丁醇)或乙腈(ACN)的非水性介质较优选。适合的盐的清单可见于Remington's Pharmaceutical Sciences,第17版,Mack Publishing Company,Easton, Pa.,1985,第1418页和Journal of Pharmaceutical Science,66,2(1977)中,这些文献各自以全文引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,本文中所描述的化合物包括N-氧化物形式。

[0374] 方法

[0375] 式Ia化合物2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈为选择性JAK1抑制剂。相对于JAK2,式Ia化合物优先抑制JAK1(例如JAK1/JAK2IC₅₀比>10)。

[0376] JAK1在许多细胞因子和生长因子信号传导路径中起重要作用,信号传导路径在失调时可导致或造成疾病状态。举例而言,在类风湿性关节炎中,IL-6含量升高,已表明其在该疾病中具有不利影响(Fonesca, J.E.等人,Autoimmunity Reviews,8:538-42,2009)。由于IL-6至少部分通过JAK1进行信号传导,故预期通过JAK1抑制来直接或间接地拮抗IL-6将提供临床效益(Guschin, D., N.等人,Embo J14:1421,1995;Smolen, J.S.等人,Lancet 371:987,2008)。此外,在一些癌症中,JAK1突变,从而导致不理想的组成性肿瘤细胞生长和存活(Mullighan CG, Proc Natl Acad Sci U S A.106:9414-8,2009;Flex E.等人,J Exp Med.205:751-8,2008)。在其它自体免疫性疾病和癌症中,活化JAK1的发炎性细胞因子的全身含量升高还可造成所述疾病和/或相关症状。因此,患有此类疾病的患者可受益于JAK1抑制。JAK1的选择性抑制剂可为有效的,同时避免不必要且可能不理想的抑制其它JAK激酶的作用。

[0377] JAK1的选择性抑制剂(相对于其它JAK激酶)与较弱相比可具有多种治疗优势。就对JAK2的选择性而言,许多重要的细胞因子和生长因子通过JAK2进行信号传导,包括例如红细胞生成素(Epo)和血小板生成素(Tpo)(Parganas E等人,Cell.93:385-95,1998)。Epo为红细胞产生的关键生长因子;因此缺乏Epo依赖性信号传导可导致红细胞数目减少和贫血(Kaushansky K, NEJM 354:2034-45,2006)。JAK2依赖性生长因子的另一实例Tpo在控制巨核细胞(即,产生血小板的细胞)的增殖和成熟方面起重要作用(Kaushansky K, NEJM 354:2034-45,2006)。因此,Tpo信号传导减少将减少巨核细胞数目(巨核细胞减少症)且降低循环血小板计数(血小板减少症)。由此可导致不理想和/或不可控制的出血。减少对诸如JAK3和Tyk2的其它JAK的抑制还可能为理想的,因为缺乏这些激酶的功能型式的人已显示受许多疾病困扰,诸如严重合并性免疫缺失或高免疫球蛋白E综合征(Minegishi, Y等人,

Immunity 25:745-55, 2006; Macchi P等人, Nature. 377:65-8, 1995)。因此,就减少副作用(包括免疫抑制、贫血和血小板减少症)而言,对其它JAK具有降低的亲力的JAK1抑制剂与较弱选择性抑制剂相比将具有显著优势。

[0378] 本发明的另一方面涉及治疗个体(例如患者)的JAK相关疾病或病症的方法,所述方法是通过向需要此种治疗的个体施用治疗有效量或剂量的本发明化合物或其药物组合物。JAK相关疾病可包括直接或间接与JAK的表达或活性(包括过度表达和/或异常活性水平)相关的任何疾病、病症或病状。JAK相关疾病还可包括可通过调节JAK活性加以预防、改善或治愈的任何疾病、病症或病状。

[0379] JAK抑制剂可用于治疗各种JAK相关疾病或病症。JAK相关疾病的实例包括涉及免疫系统的疾病,包括例如器官移植排斥(例如同种异体移植物排斥和移植物对抗宿主疾病)。JAK相关疾病的其它实例包括自体免疫性疾病,例如多发性硬化、类风湿性关节炎、青少年关节炎、银屑病性关节炎、I型糖尿病、狼疮、银屑病、发炎性肠病、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病、重症肌无力、免疫球蛋白肾病、心肌炎、自体免疫性甲状腺病症、慢性阻塞性肺病(COPD)以及类似疾病。在一些实施方案中,自体免疫性疾病为自体免疫性大疱性皮肤病,诸如寻常天疱疮(PV)或大疱性类天疱疮(BP)。

[0380] JAK相关疾病的其它实例包括过敏性病状,诸如哮喘、食物过敏、湿疹性皮炎、接触性皮炎、特应性皮炎(特应性湿疹)和鼻炎。JAK相关疾病的其它实例包括病毒性疾病,诸如埃-巴二氏病毒(EBV)、乙型肝炎、丙型肝炎、HIV、HTLV 1、水痘-带状疱疹病毒(VZV)和人乳头状瘤病毒(HPV)。

[0381] JAK相关疾病的其它实例包括与软骨翻转相关的疾病,例如痛风性关节炎、败血性或感染性关节炎、反应性关节炎、反射性交感神经营养不良、骨痛退化症、提策综合征(Tietze syndrome)、肋关节病、地方性变形性骨关节炎、Mseleni病、Handigodu病、由纤维肌痛症引起的退化、系统性红斑狼疮、硬皮病或强直性脊椎炎。

[0382] JAK相关疾病的其它实例包括先天性软骨畸形,包括遗传性软骨溶解、软骨发育不良和假性软骨发育不良(例如小耳症、无耳症和干骺端软骨发育不良)。

[0383] JAK相关疾病或病状的其它实例包括皮肤病症,诸如银屑病(例如寻常银屑病)、特应性皮炎、皮疹、皮肤刺激、皮肤敏感(例如接触性皮炎或过敏性接触性皮炎)。举例而言,某些物质(包括一些药物)在局部施用时可能导致皮肤敏感。在一些实施方案中,共同施用或连续施用至少一种本发明JAK抑制剂与引起不需要的敏感的药剂可有助于治疗此种不需要的敏感或皮炎。在一些实施方案中,通过局部施用至少一种本发明JAK抑制剂来治疗皮肤病症。

[0384] JAK相关疾病或病状的其它实例包括以实性肿瘤为特征的疾病或病状(例如前列腺癌、肾癌、肝癌、胰癌、胃癌、乳癌、肺癌、头颈癌、甲状腺癌、恶性胶质瘤、卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、卡斯特曼氏病(Castleman's disease)、子宫平滑肌肉瘤、黑素瘤等)、血液学癌症(例如淋巴瘤、诸如急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)的白血病或多发性骨髓瘤)和皮肤癌,诸如皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL)和皮肤B细胞淋巴瘤。实例CTCL包括塞扎里综合征(Sezary syndrome)和蕈样真菌病。JAK相关疾病或病状的其它实例包括肺动脉高压。

[0385] JAK相关疾病或病状的其它实例包括炎症相关的癌症。在一些实施方案中,癌症与

发炎性肠病相关。在一些实施方案中,发炎性肠病为溃疡性结肠炎。在一些实施方案中,发炎性肠病为克罗恩氏病。在一些实施方案中,炎症相关的癌症为结肠炎相关的癌症。在一些实施方案中,炎症相关的癌症为结肠癌或结肠直肠癌。在一些实施方案中,癌症为胃癌、胃肠道类癌肿瘤、胃肠基质肿瘤(GIST)、腺癌、小肠癌或直肠癌。

[0386] JAK相关疾病或病状的其它实例包括以下各项的表达为特征的疾病或病状: JAK2突变体,诸如在假激酶域中具有至少一个突变的JAK2突变体(例如JAK2V617F);在假激酶域外具有至少一个突变的JAK2突变体;JAK1突变体;JAK3突变体;红细胞生成素受体(EPOR)突变体;或CRLF2表达失调。

[0387] JAK相关疾病可还包括骨髓增生性疾病(MPD),诸如真性红细胞增多症(PV)、原发性血小板增多症(ET)、骨髓纤维化伴随骨髓组织化生(MMM)、原发性骨髓纤维化(PMF)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性单核细胞性白血病(CMML)、嗜酸性粒细胞增多综合征(HES)、系统性肥大细胞病(SMCD)以及类似疾病。在一些实施方案中,骨髓增生性疾病为骨髓纤维化(例如原发性骨髓纤维化(PMF)或真性红细胞增多症/原发性血小板增多症后骨髓纤维化(PV后/ET后MF))。在一些实施方案中,骨髓增生性疾病为原发性血小板增多症后骨髓纤维化(ET后MF)。在一些实施方案中,骨髓增生性疾病为真性红细胞增多症后骨髓纤维化(PV后MF)。

[0388] JAK相关疾病还包括骨髓发育不良综合征(MDS)。

[0389] 如本文中所使用,骨髓发育不良综合征意欲涵盖以一个或多个主要骨髓细胞系上的无效造血为特征的异质性和克隆性造血障碍。骨髓发育不良综合征与骨髓衰竭、周围血液细胞减少症和发展急性骨髓性白血病(AML)的倾向相关。此外,可在约50%患有MDS的病例中检测到克隆性细胞遗传学异常。1997年,世界卫生组织(The World Health Organization,WHO)联合血液病理学学会(Society for Hematopathology,SH)和欧洲血液病理学学会(European Association of Hematopathology,EAHP)对造血系统肿瘤提出新分类(Harris等人,J Clin Oncol 1999;17:3835-3849;Vardiman等人,Blood 2002;100:2292-2302)。对于MDS,WHO不仅利用French-American-British(FAB)分类的形态标准,而且并入可获得的基因、生物和临床特征来定义MDS的子集(Bennett等人,Br J Haematol 1982;51:189-199)。2008年,对MDS的WHO分类(表1)进行进一步精化以允许通过并入新临床和科学信息对单谱系发育不良进行精确且与预后相关的再分类(Vardiman等人,Blood 2009;114:937-951;Swerdlow等人,WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.第4版.Lyon France:IARC Press;2008:88-103;Bunn和Germing,“Myelodysplastic syndromes/neoplasms”第5章,Swerdlow等人编,WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.(第4版):Lyon,France:IARC Press;2008:88-103)。

[0390] 表1. 2008WHO骨髓发育不良综合征重新分类

| 亚型 | 血液 | 骨髓 |
|-------------------------|---|--|
| 单系发育不良性难治性血细胞减少症 (RCUD) | 单或双血细胞减少症 | 1 个细胞系的 $\geq 10\%$ 、 $< 5\%$ 母细胞发育不良 |
| 环形铁粒幼细胞性难治性贫血 (RARS) | 贫血, 无母细胞 | $\geq 15\%$ 红细胞前驱体 w/ 环形铁粒幼细胞, 仅红细胞发育不良, $< 5\%$ 母细胞 |
| 多系发育不良性难治性血细胞减少症 | 血细胞减少症, $< 1 \times 10^9/L$ 单核细胞 | ≥ 2 个造血系中 $\geq 10\%$ 细胞发育不良, $\pm 15\%$ 环形铁粒幼细胞, $< 5\%$ 母细胞 |
| 原始细胞过多性难治性贫血-1 (RAEB-1) | 血细胞减少症, $\leq 2\%$ 至 4% 母细胞, $< 1 \times 10^9/L$ 单核细胞 | 单系或多系发育不良, 无奥氏小体, 5% 至 9% 母细胞 |
| 原始细胞过多性难治性贫血-2 (RAEB-2) | 血细胞减少症, $\leq 5\%$ 至 19% 母细胞, $< 1 \times 10^9/L$ 单核细胞 | 单系或多系发育不良, \pm 奥氏小体, 10% 至 19% 母细胞 |
| 未分类骨髓发育不良综合征 (MDS-U) | 血细胞减少症, | 单系或多系发育不良, 但特征性 MDS 细胞遗传学, $< 5\%$ 母细胞 |
| 与孤立 del(5q) 相关的 MDS | 贫血, 血小板正常或增加 | 单系红细胞, 孤立 del(5q), $< 5\%$ 母细胞 |

[0391] 在一些实施方案中, 本申请提供一种在需要治疗的患者中治疗骨髓发育不良综合征 (MDS) 的方法, 其包括向所述患者施用式 Ia 化合物或其药物学上可接受的盐, 其中所述 MDS 选自单系发育不良性难治性血细胞减少症 (RCUD)、环形铁粒幼细胞性难治性贫血 (RARS)、多系发育不良性难治性血细胞减少症、原始细胞过多性难治性贫血-1 (RAEB-1)、原始细胞过多性难治性贫血-2 (RAEB-2)、未分类骨髓发育不良综合征 (MDS-U) 和与孤立 del(5q) 相关的 MDS。

[0392] 在一些实施方案中, 骨髓发育不良综合征为单系发育不良性难治性血细胞减少症 (RCUD)。

[0393] 在一些实施方案中, 骨髓发育不良综合征为环形铁粒幼细胞性难治性贫血 (RARS)。

[0394] 在一些实施方案中, 骨髓发育不良综合征为多系发育不良性难治性血细胞减少症。

[0395] 在一些实施方案中, 骨髓发育不良综合征为原始细胞过多性难治性贫血-1 (RAEB-

1)。

[0397] 在一些实施方案中,脊髓发育不良综合征为原始细胞过多性难治性贫血-2 (RAEB-2)。

[0398] 在一些实施方案中,脊髓发育不良综合征为未分类脊髓发育不良综合征 (MDS-U)。

[0399] 在一些实施方案中,脊髓发育不良综合征为与孤立de1 (5q) 相关的脊髓发育不良综合征。

[0400] 在一些实施方案中,脊髓发育不良综合征为红细胞生成刺激剂难治愈的。

[0401] JAK相关疾病或病状的其它实例包括通过施用本发明化合物改善其它药物的皮肤学副作用。举例而言,许多药剂造成不需要的过敏反应,其可体现为痤疮样皮疹或相关皮炎。具有此类不理想副作用的药剂的实例包括抗癌药,诸如吉非替尼、西妥昔单抗、埃罗替尼以及类似物。本发明化合物可与具有不理想皮肤学副作用的药剂组合(例如同时或依序)施用全身或局部(例如位于皮炎附近)。在一些实施方案中,本发明化合物可与一种或多种其它药物一起施用局部,其中其它药物在不存在本发明化合物的情况下局部施用时会导致接触性皮炎、过敏性接触性敏化或类似皮肤病症。因此,本发明的组合物包括含有本发明化合物和可能导致皮炎、皮肤病症或相关副作用的另一药剂的局部配制物。

[0402] 其它JAK相关疾病包括炎症和发炎性疾病。实例发炎性疾病包括结节病、发炎性眼病(例如虹膜炎、葡萄膜炎、巩膜炎、结膜炎或相关疾病)、发炎性呼吸道疾病(例如上呼吸道,包括鼻和鼻窦,诸如鼻炎或鼻窦炎;或下呼吸道,包括支气管炎、慢性阻塞性肺病以及类似疾病)、发炎性肌病(诸如心肌炎)和其它发炎性疾病。在一些实施方案中,炎症性眼病为睑炎。

[0403] 其它JAK相关疾病包括局部缺血再灌注损伤或与发炎性缺血性事件相关的疾病或病状(诸如中风或心跳骤停)、内毒素驱动的疾病状态(例如旁路手术后并发症或造成慢性心脏衰竭的慢性内毒素状态)、厌食症、恶病质、疲劳(诸如由癌症引起或与其相关的疲劳)、再狭窄、硬化性皮炎、纤维化、与低血氧或星形细胞胶质化相关的病状(诸如糖尿病性视网膜病、癌症或神经退化)和其它发炎性疾病,诸如全身性发炎性反应综合征(SIRS)和脓毒性休克。

[0404] 其它JAK相关疾病包括痛风和前列腺大小由于例如良性前列腺肥大或良性前列腺增生而增大以及骨吸收病,诸如骨质疏松症或骨关节炎、与以下各项相关的骨吸收病:激素不平衡和/或激素疗法、自体免疫性疾病(例如骨结节病)或癌症(例如骨髓瘤)。

[0405] 其它JAK相关疾病包括干眼症。如本文中所使用,“干眼症”意欲涵盖Dry Eye Workshop (DEWS)的最近官方报导中所汇总的疾病状态,其将干眼症定义为“导致不适、视力障碍和泪膜不稳定伴随潜在眼表损伤的症状的多因素性泪液和眼表疾病”。其伴随有泪膜渗透压增加和眼表炎症。Lemp, “The Definition and Classification of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop”, *The Ocular Surface*, 5 (2), 75-92, 2007年4月,该文献以全文引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,干眼症选自泪液缺乏型干眼症(ADDE)或蒸发过强型干眼症或其适当组合。在一些实施方案中,干眼症为休格伦氏综合征干眼症(SSDE)。在一些实施方案中,干眼症为非休格伦氏综合征干眼症(NSSDE)。

[0406] 其它JAK相关疾病包括结膜炎、葡萄膜炎(包括慢性葡萄膜炎)、脉络膜炎、视网膜

炎、睫状体炎、巩膜炎、表层巩膜炎或虹膜炎。其它JAK相关疾病包括与病毒感染相关的呼吸功能障碍或衰竭,诸如流感和SARS。

[0407] 组合疗法

[0408] 一种或多种附加药剂,诸如化学治疗剂、消炎剂、类固醇、免疫抑制剂以及PI3K δ 、mTor、Bcr-Abl、Flt-3、RAF和FAK激酶抑制剂,诸如以全文引用的方式并入本文中的WO 2006/056399中所描述者,或其它药剂,可与本文中所描述的化合物组合使用,用于治疗JAK相关疾病、病症或病状。所述一种或多种附加药剂可同时或依序施用患者。

[0409] 实例化学治疗剂包括蛋白体抑制剂(例如硼替佐米)、沙利度胺、雷利度胺和DNA损伤剂,诸如美法仑、阿霉素、环磷酰胺、长春新碱、依托泊苷、亚硝脲氮芥以及类似物。

[0410] 实例类固醇包括皮质类固醇,诸如地塞米松或强的松。

[0411] 实例Bcr-Abl抑制剂包括属于美国专利第5,521,184号、WO 04/005281和美国序列号60/578,491中所公开的类别和种类的化合物以及药物学上可接受的盐,这些文献均以全文引用的方式并入本文中。

[0412] 实例适合Flt-3抑制剂包括如WO 03/037347、WO 03/099771和WO 04/046120中所公开的化合物以及药物学上可接受的盐,这些文献均以全文引用的方式并入本文中。

[0413] 实例适合RAF抑制剂包括如WO 00/09495和WO 05/028444中所公开的化合物以及药物学上可接受的盐,所述两文献均以全文引用的方式并入本文中。

[0414] 实例适合FAK抑制剂包括如WO 04/080980、WO 04/056786、WO 03/024967、WO 01/064655、WO 00/053595和WO 01/014402中所公开的化合物以及药物学上可接受的盐,这些文献均以全文引用的方式并入本文中。

[0415] 在一些实施方案中,附加药剂选自IMiD、抗IL-6药剂、抗TNF- α 药剂、低甲基化药剂和生物反应调节剂(BRM)。

[0416] 一般而言,BRM为由活生物体制备用于治疗疾病的物质,其可能天然存在于体内或可在实验室中制备。BRM的实例包括IL-2、干扰素、各种类型群落刺激因子(CSF、GM-CSF、G-CSF)、单株抗体,诸如阿昔单抗、依那西普、英利昔单抗、利妥昔单抗、曲妥珠单抗和高剂量抗坏血酸。

[0417] 在一些实施方案,抗TNF- α 药剂为英利昔单抗和依那西普。

[0418] 在一些实施方案中,低甲基化药剂为DNA甲基转移酶抑制剂。在一些实施方案中,DNA甲基转移酶抑制剂选自5-氮杂胞苷和地西他滨。

[0419] 一般而言,IMiD为免疫调节剂。在一些实施方案中,IMiD选自沙利度胺、来那度胺、泊马度胺、CC-11006和CC-10015。

[0420] 在一些实施方案中,附加药剂选自抗胸腺细胞球蛋白、重组人粒细胞群落刺激因子(G-CSF)、粒细胞-单核细胞CSF(GM-CSF)、红细胞生成刺激剂(ESA)和环孢霉素。

[0421] 在一些实施方案中,附加药剂为附加JAK抑制剂。在一些实施方案中,附加JAK抑制剂为托法替尼或鲁索替尼。

[0422] 在一些实施方案中,一种或多种本发明化合物可与一种或多种其它激酶抑制剂组合使用,包括伊马替尼,尤其是用于治疗对伊马替尼或其它激酶抑制剂具有抗性的患者。

[0423] 在一些实施方案中,适合的化学治疗剂可选自抗代谢物剂、拓扑异构酶1抑制剂、铂类似物、紫杉烷、蒽环类和EGFR抑制剂以及其组合。

- [0424] 在一些实施方案中,抗代谢物剂包括卡培他滨、吉西他滨和氟尿嘧啶(5-FU)。
- [0425] 在一些实施方案中,紫杉烷包括太平洋紫杉醇、**Abraxane®**(可注射悬浮液用太平洋紫杉醇蛋白结合粒子)和**Taxotere®**(多烯紫杉醇)。
- [0426] 在一些实施方案中,铂类似物包括奥沙利铂、顺铂和卡铂。
- [0427] 在一些实施方案中,拓扑异构酶1抑制剂包括伊立替康和拓扑替康。
- [0428] 在一些实施方案中,葱环类包括阿霉素或阿霉素的脂质体制剂。
- [0429] 在一些实施方案中,化学治疗剂为FOLFIRINOX(5-FU、甲酰四氢叶酸、伊立替康和奥沙利铂)。在一些实施方案中,化学治疗剂为吉西他滨和**Abraxane®**(可注射悬浮液用太平洋紫杉醇蛋白结合粒子)。
- [0430] 在一些实施方案中,本发明的一种或多种JAK抑制剂可与化学治疗剂组合使用,用于治疗癌症,诸如多发性骨髓瘤,且与对单独化学治疗剂的反应相比,可在不加重其毒性效应的情况下改善治疗反应。举例而言,用于治疗多发性骨髓瘤的附加药剂的实例可包括而不仅限于美法仑、美法仑加强的松[MP]、阿霉素、地塞米松和Velcade(硼替佐米)。用于治疗多发性骨髓瘤的其它附加药剂包括Bcr-Ab1、Flt-3、RAF和FAK激酶抑制剂。加和或协同效应为组合本发明的JAK抑制剂与附加药剂的理想结果。此外,多发性骨髓瘤细胞对诸如地塞米松的药剂的抗性在用本发明的JAK抑制剂治疗后为可逆转的。所述药剂可与本发明化合物组合于单一或连续剂型中,或所述药剂可作为单独剂型同时或依序施用。
- [0431] 在一些实施方案中,向患者施用诸如地塞米松的皮质类固醇与至少一种JAK抑制剂的组合,其中与连续施用相反,地塞米松是间歇性地施用。
- [0432] 在一些其它实施方案中,本发明的一种或多种JAK抑制剂与其它治疗剂的组合可在骨髓移植或干细胞之前、期间和/或之后施用患者。
- [0433] 在一些实施方案中,附加治疗剂为醋酸氟轻松(**Retisert®**)或双甲丙酰龙(AL-2178, Vexol, Alcon)。
- [0434] 在一些实施方案中,附加治疗剂为环孢霉素(**Restasis®**)。
- [0435] 在一些实施方案中,附加治疗剂为皮质类固醇。在一些实施方案中,皮质类固醇为曲安西龙、地塞米松、氟轻松、可体松、泼尼松龙或氟米龙。
- [0436] 在一些实施方案中,附加治疗剂选自Dehydrex™(Hollis Labs)、Civamide(Opko)、透明质酸钠(Vismed, Lantibio/TRB Chemedia)、环孢霉素(ST-603, Sirion Therapeutics)、ARG101(T)(睾丸酮, Argentis)、AGR1012(P)(Argentis)、依卡倍特钠(Senju-Ista)、吉法酯(Santen)、15-(s)-羟基二十碳四烯酸(15(S)-HETE)、西维美林、强力霉素(ALT-0501, Alacrity)、米诺环素、iDestrin™(NP50301, Nascent Pharmaceuticals)、环孢霉素A(Nova22007, Novagali)、土霉素(耐久霉素, MOLI1901, Lantibio)、CF101((2S, 3S, 4R, 5R)-3,4-二羟基-5-[6-[(3-碘苯基)甲基氨基]嘌呤-9-基]-N-甲基-环氧丁烷-2-氨基甲酰, Can-Fite Biopharma)、沃克洛林(voclosporin)(LX212或LX214, Lux Biosciences)、ARG103(Agentis)、RX-10045(合成消退素类似物, Resolvix)、DYN15(Dyanmis Therapeutics)、来格列酮(DE011, Daiichi Sanko)、TB4(RegeneRx)、OPH-01(Ophthalmis Monaco)、PCS101(Pericor Science)、REV1-31(Evolutec)、Lacritin(Senju)、瑞巴匹特(Otsuka-Novartis)、OT-551(Othera)、PAI-2(University of Pennsylvania and Temple University)、毛果芸香碱、他克莫司、吡美莫司(AMS981, Novartis)、依碳氯替泼

诺、利妥昔单抗、地夸磷索四钠 (INS365, Inspire)、KLS-0611 (Kissei Pharmaceuticals)、脱氢表雄固酮、阿那白滞素、依法珠单抗、霉酚酸钠、依那西普 (Embrel®)、羟氯奎、NGX267 (TorreyPines Therapeutics)、托珠单抗、吉西他滨、奥沙利铂、L-天冬酰胺或沙利度胺。

[0437] 在一些实施方案中,附加治疗剂为抗血管生成剂、胆碱能激动剂、TRP-1受体调节剂、钙离子通道阻断剂、粘蛋白促分泌剂、MUC1刺激剂、钙调磷酸酶抑制剂、皮质类固醇、P2Y2受体激动剂、毒蕈碱受体激动剂、mTOR抑制剂、另一JAK抑制剂、Bcr-Abl激酶抑制剂、Flt-3激酶抑制剂、RAF激酶抑制剂和FAK激酶抑制剂,诸如WO2006/056399中所描述者,该文献以全文引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,附加治疗剂为四环素衍生物(例如米诺环素或强力霉素)。在一些实施方案中,附加治疗剂结合FKBP12。

[0438] 在一些实施方案中,附加治疗剂为烷基化剂或DNA交联剂;抗代谢物/脱甲基剂(例如5-氟尿嘧啶、卡培他滨或阿扎胞苷);抗激素疗法(例如激素受体拮抗剂、SERM或芳香酶抑制剂);有丝分裂抑制剂(例如长春新碱或太平洋紫杉醇);拓扑异构酶(I或II)抑制剂(例如米托蒽醌和伊立替康);细胞凋亡诱导剂(例如ABT-737);核酸疗法(例如反义或RNAi);核受体配体(例如激动剂和/或拮抗剂:全反式视黄酸或贝沙罗汀);后生靶向剂,诸如组蛋白乙酰酶抑制剂(例如伏立诺他)、低甲基化剂(例如地西他滨);蛋白质稳定性调节剂,诸如Hsp90抑制剂、泛素和/或泛素样结合或解离分子;或EGFR抑制剂(埃罗替尼)。

[0439] 在一些实施方案中,附加治疗剂为润眼滴剂(也称为“人造泪液”),其包括但不限于含有聚乙烯醇、羟丙基甲基纤维素、甘油、聚乙二醇(例如PEG400)或羧甲基纤维素的组合物。人造泪液可通过补偿泪膜的润湿和润滑能力下降而辅助治疗干眼症。在一些实施方案中,附加治疗剂为粘液溶解药,诸如N-乙酰基半胱氨酸,其可与粘蛋白相互作用且因此降低泪膜的粘性。

[0440] 在一些实施方案中,附加治疗剂包括抗生素、抗病毒剂、抗真菌剂、麻醉剂、消炎剂(包括类固醇消炎剂和非类固醇消炎剂)和抗过敏剂。适合的药剂的实例包括氨基糖苷,诸如阿米卡星、正大霉素、托普霉素、链霉素、奈替米星和卡那霉素;氟喹诺酮,诸如环丙沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、曲伐沙星、洛美沙星、左氧氟沙星和依诺沙星;萘啶;磺酰胺;多粘菌素;氯霉素;新霉素;巴母霉素;甲磺酸粘菌素;杆菌肽;万古霉素;四环素;利福平以及衍生物(“利福平类”);环丝氨酸; β -内酰胺;头孢菌素;两性霉素;氟康唑;5-氟胞嘧啶;游霉素;霉康唑;酮康唑;皮质类固醇;双氯芬酸;氟比洛芬;酮咯酸;舒洛芬;色甘酸;洛度沙胺;左卡巴司丁;萘唑啉;安他唑啉;非尼腊明;或氮杂内酯类抗生素。

[0441] 药物配制物和剂型

[0442] 当用作药物时,本发明化合物可呈药物组合物形式施用。这些组合物可用药物技术中所熟知的方式制备,且可通过各种途径施用,此取决于需要局部治疗或全身治疗和欲治疗的区域。施用可为局部(包括经皮、经表皮、经眼和粘膜,包括鼻内、阴道和直肠递送)、经肺(例如通过吸入或吹入粉剂或气雾剂,包括通过喷雾器;气管内或鼻内)、经口或非经肠。非经肠施用包括静脉内、动脉内、皮下、腹膜内、肌肉内或注射或输注;或颅内,例如鞘内或心室内施用。非经肠施用可呈单次团注剂型,或可例如通过连续灌注泵。用于局部施用的药物组合物和配制物可包括经皮贴片、软膏、洗液、乳膏、凝胶、滴剂、栓剂、喷雾、液体和粉剂。常规药物载体、水性、粉状或油性基质、增稠剂以及类似物可能为必需的或理想的。

[0443] 本发明还包括药物组合物,其含有作为活性成分的本发明化合物或其药物学上可

接受的盐与一种或多种药物学上可接受的载体(赋形剂)的组合。在一些实施方案中,所述组合物适合于局部施用。在制备本发明的组合物时,典型地将活性成分与赋形剂混合,通过赋形剂稀释或包装在呈例如胶囊、香囊、纸张或其它容器形式的此种载体内。当赋形剂充当稀释剂时,其可为充当活性成分的媒介物、载体或介质的固体、半固体或液体材料。因而,所述组合物可呈片剂、丸剂、粉剂、口含锭、香囊、扁囊、酏剂、悬浮液、乳液、溶液、糖浆、气雾剂(呈固体形式或处于液体介质中)、含有例如至多10重量%活性化合物的软膏、软明胶胶囊和硬明胶胶囊、栓剂、无菌可注射溶液和无菌包装粉剂形式。

[0444] 在制备配制物时,活性化合物在与其它成分组合之前可经研磨以获得适当粒度。如果活性化合物基本上不溶,则其可研磨至小于200目的粒度。如果活性化合物基本上可溶于水,则可通过研磨来调节粒度以获得在配制物中基本上均匀分布,例如约40目。

[0445] 本发明化合物可使用已知研磨程序进行研磨,诸如湿磨,以获得适合于片剂形成且适合于其它配制物类型的粒度。本发明化合物的细粉状(纳米粒子)制剂可通过本领域中已知的方法来制备,例如参见国际申请第W0 2002/000196号。

[0446] 适合的赋形剂的一些实例包括乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、淀粉、阿拉伯树胶、磷酸钙、海藻酸盐、黄芪胶、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、糖浆和甲基纤维素。配制物可另外包含:润滑剂,诸如滑石、硬脂酸镁和矿物油;润湿剂;乳化剂和悬浮剂;防腐剂,诸如羟基苯甲酸甲酯和羟基苯甲酸丙酯;甜味剂;和调味剂。本发明的组合物可经配制以便在通过使用本领域中已知的程序施用患者之后获得活性成分的快速、持续或延迟释放。

[0447] 在一些实施方案中,药物组合物包含硅化微晶纤维素(SMCC)和至少一种本文中所述的化合物或其药物学上可接受的盐。在一些实施方案中,硅化微晶纤维素包含约98%微晶纤维素和约2%二氧化硅w/w。

[0448] 在一些实施方案中,所述组合物为包含至少一种本文中所述的化合物或其药物学上可接受的盐和至少一种药物学上可接受的载体的持续释放组合物。在一些实施方案中,所述组合物包含至少一种本文中所述的化合物或其药物学上可接受的盐和至少一种选自微晶纤维素、乳糖一水合物、羟丙基甲基纤维素和聚环氧乙烷的组分。在一些实施方案中,所述组合物包含至少一种本文中所述的化合物或其药物学上可接受的盐和微晶纤维素、乳糖一水合物和羟丙基甲基纤维素。在一些实施方案中,所述组合物包含至少一种本文中所述的化合物或其药物学上可接受的盐和微晶纤维素、乳糖一水合物和聚环氧乙烷。在一些实施方案中,所述组合物还包含硬脂酸镁或二氧化硅。在一些实施方案中,微晶纤维素为Avicel PH102™。在一些实施方案中,乳糖一水合物为Fast-flo 316™。在一些实施方案中,羟丙基甲基纤维素为羟丙基甲基纤维素2208K4M(例如Methocel K4 M Premier™)和/或羟丙基甲基纤维素2208 K100LV(例如Methocel K00LV™)。在一些实施方案中,聚环氧乙烷为聚环氧乙烷WSR 1105(例如Polyox WSR 1105™)。

[0449] 在一些实施方案中,使用湿式粒化法来产生所述组合物。在一些实施方案中,使用干式粒化法来产生所述组合物。

[0450] 所述组合物可配制成单位剂型,各剂量含有约5至约1,000mg(1g),更通常约100mg至约500mg活性成分。在一些实施方案中,各剂量含有约10mg活性成分。在一些实施方案中,各剂量含有约50mg活性成分。在一些实施方案中,各剂量含有约25mg活性成分。术语“单位

剂型”是指适合作为整体剂量用于人类个体和其它哺乳动物的物理离散单元,各单位含有经计算可产生所要疗效且与适合的药物赋形剂缔合的预定量的活性物质。

[0451] 在一些实施方案中,本发明的组合物含有约5mg至约50mg活性成分。本领域技术人员应了解,此包括包含约5mg至约10mg、约10mg至约15mg、约15mg至约20mg、约20mg至约25mg、约25mg至约30mg、约30mg至约35mg、约35mg至约40mg、约40mg至约45mg或约45mg至约50mg活性成分的化合物或组合物。

[0452] 在一些实施方案中,本发明的组合物含有约50mg至约500mg活性成分。本领域技术人员应了解,此包括含有约50mg至约100mg、约100mg至约150mg、约150mg至约200mg、约200mg至约250mg、约250mg至约300mg、约350mg至约400mg或约450mg至约500mg活性成分的化合物或组合物。

[0453] 在一些实施方案中,本发明的组合物含有约500mg至约1,000mg活性成分。本领域技术人员应了解,此包括含有约500mg至约550mg、约550mg至约600mg、约600mg至约650mg、约650mg至约700mg、约700mg至约750mg、约750mg至约800mg、约800mg至约850mg、约850mg至约900mg、约900mg至约950mg或约950mg至约1,000mg活性成分的化合物或组合物。

[0454] 活性化合物可在较宽剂量范围内有效且一般以药理学有效量施用。然而,应理解,实际施用的化合物的量通常将由医师根据相关情形决定,包括欲治疗的病状、所选施用途径、所施用的实际化合物、个别患者的年龄、体重和反应、患者症状的严重程度以及类似因素。

[0455] 为了制备诸如片剂的固体组合物,将主要活性成分与药物赋形剂混合以形成含有本发明化合物的均质混合物的固体预配制组合物。当这些预配制组合物称为均质时,活性成分典型地均匀分散于整个组合物中,使得所述组合物可容易地再分成相等有效单位剂型,诸如片剂、丸剂和胶囊剂。随后将此固体预配制物再分成含有例如约0.1至约1000mg本发明活性成分的上述类型的单位剂型。

[0456] 本发明的片剂或丸剂可经包衣或混配以获得可提供延长作用时间的优势的剂型。举例而言,片剂或丸剂可包含内部剂量和外部剂量组分,后者呈处于前者上的包膜形式。两种组分可由肠衣层隔开,肠衣层用于抵抗在胃中崩解且允许内部组分完整进入十二指肠或延迟释放。多种物质可用于此类肠衣层或包衣,此类材料包括许多聚合酸和聚合酸与诸如虫胶、鲸蜡醇和乙酸钠纤维素的材料的混合物。

[0457] 可并入本发明的化合物和组合物以用于经口或通过注射施用的液体形式包括水溶液、经适当调味的糖浆、水或油悬浮液和与可食用油(诸如棉籽油、芝麻油、椰子油或花生油)的调味乳液以及酞剂和类似药物媒介物。

[0458] 用于吸入或吹入的组合物包括处于药理学上可接受的水性或有机溶剂或其混合物中的溶液和悬浮液和粉剂。液体或固体组合物可含有如上文所描述的适合的药理学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中,组合物是通过口或鼻呼吸途径施用以获得局部或全身效应。组合物可通过使用惰性气体而雾化。雾化溶液可由雾化装置直接呼吸,或可将雾化装置连接于面罩帐或间歇性正压呼吸机。溶液、悬浮液或粉末组合物可以适当方式由递送配制物的装置经口或鼻施用。

[0459] 局部配制物可含有一种或多种常规载体。在一些实施方案中,软膏可含有水和一种或多种选自例如液体石蜡、聚氧乙烯烷基醚、丙二醇、白凡士林以及类似物的疏水性载

体。乳膏的载体组合物可基于水与甘油和一种或多种其它组分(例如单硬脂酸甘油酯、PEG-单硬脂酸甘油酯和鲸蜡基硬脂醇)的组合。凝胶可使用异丙醇和水与其它组分(诸如甘油、羟乙基纤维素以及类似物)的适合组合进行配制。在一些实施方案中,局部配制物含有至少约0.1wt%、至少约0.25wt%、至少约0.5wt%、至少约1wt%、至少约2wt%或至少约5wt%的本发明化合物。局部配制物可适当地包装于例如100g的管内,任选附带有治疗所选适应症(例如银屑病或其它皮肤病状)的说明书。

[0460] 施用患者的化合物或组合物的量将取决于施用何物、施用目的(诸如预防或治疗)、患者状态、施用方式以及类似因素而变化。在治疗应用中,组合物可以足以治愈或至少部分阻滞疾病以及并发症的症状的量施用已罹患所述疾病的患者。有效剂量将取决于所治疗的疾病病状以及主治临床医师依据诸如疾病严重程度、患者年龄、体重和一般状况等因素而作出的判断。

[0461] 施用患者的组合物可呈上述药物组合物形式。这些组合物可通过常规灭菌技术进行灭菌,或可进行无菌过滤。水溶液可经包装以便依原样使用,或经冻干,在施用之前将冻干制剂与无菌水性载体组合。化合物制剂的pH值典型地将在3与11之间,优选为5至9且最优选为7至8。应理解,使用某些前述赋形剂、载体或稳定剂将形成药物盐。

[0462] 本发明化合物的治疗剂量可根据例如进行治疗的特定用途、化合物的施用方式、患者的健康状况和处方医师的判断而变化。本发明化合物在药物组合物中的比例或浓度可依据许多因素而变化,包括剂量、化学特征(例如疏水性)和施用途径。举例而言,本发明化合物可以含有约0.1%至约10%w/v所述化合物的水性生理学缓冲溶液形式提供以用于非经肠施用。一些典型剂量范围为每天约1 μ g/kg至约1g/kg体重。在一些实施方案中,剂量范围为每天约0.01mg/kg至约100mg/kg体重。剂量有可能依据诸如疾病或病症的类型和进展程度、特定患者的总体健康状况、所选化合物的相对生物学效力、赋形剂配方以及施用途径的变量而变化。有效剂量可由得自于体外或动物模型测试系统的剂量反应曲线外推。

[0463] 本发明的组合物可还包含一种或多种附加药物剂,诸如化学治疗剂、类固醇、消炎化合物或免疫抑制剂,其实例于上文中列出。

[0464] 在一些实施方案中,化合物或其药物学上可接受的盐是作为眼用组合物施用。因此,在一些实施方案中,所述方法包括施用所述化合物或其药物学上可接受的盐和眼用可接受的载体。在一些实施方案中,眼用组合物为液体组合物、半固体组合物、插入物、膜、微粒或纳米粒子。

[0465] 在一些实施方案中,眼用组合物为液体组合物。在一些实施方案中,眼用组合物为半固体组合物。在一些实施方案中,眼用组合物为局部组合物。局部组合物包括但不限于液体和半固体组合物。在一些实施方案中,眼用组合物为局部组合物。在一些实施方案中,局部组合物包括水溶液、水性悬浮液、软膏或凝胶。在一些实施方案中,眼用组合物是局部施用于眼前部、上眼皮下、下眼脸上和结膜囊中。在一些实施方案中,眼用组合物经灭菌。灭菌可通过已知技术来实现,如对溶液进行灭菌过滤或通过安瓿中加热溶液以备使用。本发明的眼用组合物还可含有适合于制备眼用配制物的药物赋形剂。此类赋形剂的实例为防腐剂、缓冲剂、螯合剂、抗氧化剂和用于调节渗透压的盐。

[0466] 如本文中所使用,术语“眼用可接受的载体”是指可含有和释放化合物或其药物学上可接受的盐且与眼睛相容的任何物质。在一些实施方案中,眼用可接受的载体为水或水

性溶液或悬浮液,但还包括油诸如用于制备软膏的那些以及诸如用于眼部插入物的聚合物基质。在一些实施方案中,组合物可为包含化合物或其药理学上可接受的盐的水性悬浮液。液体眼用组合物,包括软膏和悬浮液,可具有适合于所选施用途径的粘度。在一些实施方案中,眼用组合物的粘度在约1,000至约30,000厘泊范围内。

[0467] 在一些实施方案中,眼用组合物可还包含以下各项中的一项或多项:界面活性剂、佐剂、缓冲剂、抗氧化剂、张力调节剂、防腐剂(例如EDTA、BAK(苯扎氯铵)、亚氯酸钠、过硼酸钠、聚季铵盐-1)、增稠剂或粘度调节剂(例如羧甲基纤维素、羟甲基纤维素、聚乙烯醇、聚乙二醇、乙二醇400、丙二醇羟甲基纤维素、羟丙基瓜耳胶、透明质酸和羟丙基纤维素)以及类似物。配制物中的添加剂可包括但不限于氯化钠、碳酸氢钠、山梨酸、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、氯己定、蓖麻油和过硼酸钠。

[0468] 水性眼用组合物(溶液或悬浮液)一般不含生理学上或眼用有害的组分。在一些实施方案中,将经纯化的水或去离子水用于组合物中。可通过添加任何生理学上和眼用可接受的pH值调节酸、碱或缓冲剂将pH值调节至约5.0至8.5范围内。酸的眼用可接受的实例包括乙酸、硼酸、柠檬酸、乳酸、磷酸、盐酸以及类似酸,且碱的实例包括氢氧化钠、磷酸钠、硼酸钠、柠檬酸钠、乙酸钠、乳酸钠、氨丁三醇、三羟甲基氨基甲烷以及类似物。盐和缓冲剂包括柠檬酸盐/葡萄糖、碳酸氢钠、氯化铵和上述酸与碱的混合物。

[0469] 在一些实施方案中,所述方法包括形成或提供与眼睛外表面接触的治疗剂贮库。贮库是指不会由泪液或其它眼部清除机制快速移除的治疗剂源。由此通过单次施用允许眼睛外表面上的流体中继续、持续存在高浓度的治疗剂。不希望受任何理论束缚,认为吸收和渗透可取决于溶解的药物浓度和外部组织与含药物的流体的接触持续时间。在药物通过眼部流体清除和/或吸收至眼组织中而移除时,再提供药物,例如从贮库溶解于补充的眼部流体中。因此,使用贮库可能更容易促进眼部组织负载更多不溶性治疗剂。在一些实施方案中,贮库可保持多达八小时或更久。在一些实施方案中,眼用贮库形式包括但不限于水性聚合物悬浮液、软膏和固体插入物。

[0470] 在一些实施方案中,眼用组合物为软膏或凝胶。在一些实施方案中,眼用组合物为基于油的递送媒介物。在一些实施方案中,所述组合物包含石蜡油或羊毛脂基质,其中添加有活性成分(通常0.1%至2%)和赋形剂。常用基质可包括但不限于矿物油、石蜡油及其组合。在一些实施方案中,软膏呈带状施用于下眼脸上。

[0471] 在一些实施方案中,眼用组合物为眼用插入物。在一些实施方案中,眼用插入物为生物学惰性的、软的、生物可消化的、粘弹性的、在暴露于治疗剂之后对灭菌稳定的、抗气载细菌感染的、生物可消化的、生物相容的和/或粘弹性的。在一些实施方案中,插入物包含眼用可接受的基质,例如聚合物基质。基质典型地为聚合物,且治疗剂一般分散于其中或与聚合物基质键结。在一些实施方案中,治疗剂可通过溶解或共价键水解而从基质中缓慢释放。在一些实施方案中,聚合物为生物可消化的(可溶的)且其溶解速率可控制分散于其中的治疗剂的释放速率。在另一形式中,聚合物基质为诸如通过水解而分解,从而释放与其键结或分散于其中的治疗剂的生物可降解聚合物。在其它实施方案中,基质和治疗剂可环绕有附加聚合物包衣以进一步控制释放。在一些实施方案中,插入物包含生物可降解聚合物,诸如聚己内酯(PCL)、乙烯/乙酸乙烯酯共聚物(EVA)、聚氰基丙烯酸烷基酯、聚氨酯、尼龙或聚(dl-乳交酯-乙交酯)共聚物(PLGA)或这些物质中任一种的共聚物。在一些实施方案中,治

疗剂是分散于基质材料中,或分散于聚合之前的用于制备基质材料的单体组合物中。在一些实施方案中,治疗剂的量为约0.1%至约50%或约2%至约20%。在其它实施方案中,使用生物可降解或生物可消化的聚合物基质,使得无须移除用过的插入物。在生物可降解或生物可消化聚合物降解或溶解时,释放治疗剂。

[0472] 在其它实施方案中,眼用插入物包含聚合物,包括但不限于Wagh等人,“Polymers used in ocular dosage form and drug delivery systems”,Asian J.Pharm.,第12-17页(2008年1月)中所描述的聚合物,该文献以全文引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,插入物包含选自聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、丙烯酸酯或甲基丙烯酸酯聚合物或共聚物(例如得自Rohm或Degussa的Eudragit®家族聚合物)、羟甲基纤维素、聚丙烯酸、聚(酰胺基胺)枝状物、聚(二甲基硅氧烷)、聚环氧乙烷、聚(丙交酯-乙交酯)共聚物、聚(甲基丙烯酸2-羟基乙酯)、聚(乙烯醇)或聚(富马酸亚丙酯)的聚合物。在一些实施方案中,插入物包含Gelfoam®R。在一些实施方案中,插入物为450kDa聚丙烯酸-半胱氨酸缀合物。

[0473] 在一些实施方案中,眼用组合物为眼用膜。适合于此类膜的聚合物包括但不限于Wagh等人(如上)中所描述的聚合物。在一些实施方案中,膜为软接触式透镜,诸如由N,N-二乙基丙烯酰胺与跟乙二醇二甲基丙烯酸酯交联的甲基丙烯酸的共聚物制成的软接触式透镜。

[0474] 在一些实施方案中,眼用组合物包含微球体或纳米粒子。在一些实施方案中,微球体包含明胶。在一些实施方案中,将微球体经玻璃体内或视网膜下注入眼后部、脉络膜空间、巩膜。在一些实施方案中,微球体或纳米粒子包含聚合物,包括但不限于Wagh等人(如上)中所描述的聚合物,该文献以全文引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,聚合物为壳聚糖、诸如聚丙烯酸的聚羧酸、白蛋白粒子、透明质酸酯、聚衣康酸、聚(丁基)氰基丙烯酸酯、聚己内酯、聚(异丁基)己内酯、聚(乳酸-羟基乙酸)共聚物或聚(乳酸)。在一些实施方案中,微球体或纳米粒子包含固体脂质粒子。

[0475] 在一些实施方案中,眼用组合物包含离子交换树脂。在一些实施方案中,离子交换树脂为无机沸石或合成有机树脂。在一些实施方案中,离子交换树脂包括但不限于Wagh等人(如上)中所描述的离子交换树脂,该文献以全文引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,离子交换树脂为经部分中和的聚丙烯酸。

[0476] 在一些实施方案中,眼用组合物为水性聚合物悬浮液。在一些实施方案中,治疗剂或聚合物悬浮剂是悬浮于水性介质中。在一些实施方案中,水性聚合物悬浮液可经配制以使其在眼中的粘度与其在施用眼中之前所具有的粘度相同或基本上相同。在一些实施方案中,其可经配制以使得与泪液接触后凝胶化增加。

[0477] 经标记化合物和检定方法

[0478] 本发明的另一方面涉及经标记的本发明化合物(经放射标记、经荧光标记等),其不仅可用于成像技术,而且可用于体外和体内检定,用于对组织样品(包括人类)中的JAK进行定位和定量,以及用于通过抑制经标记化合物的结合来识别JAK配体。因此,本发明包含有此类经标记化合物的JAK检定。

[0479] 本发明还包括经同位素标记的本发明化合物。‘经同位素’或‘放射标记’的化合物为一个或多个原子由原子质量或质量数不同于自然界中通常发现(即,天然存在)的原子质量或质量数不同的原子置换或取代的本发明化合物。可并入本发明化合物中的适合放射性

核素包括但不限于³H(氚也写作T)、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹³N、¹⁵N、¹⁵O、¹⁷O、¹⁸O、¹⁸F、³⁵S、³⁶Cl、⁸²Br、⁷⁵Br、⁷⁶Br、⁷⁷Br、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I和¹³¹I。并入本发明的经放射标记化合物中的放射性核素将取决于该经放射标记化合物的特定应用。举例而言,对于体外JAK标记和竞争检定,并入³H、¹⁴C、⁸²Br、¹²⁵I、¹³¹I、³⁵S或的化合物一般将最适用。对于放射成像应用,¹¹C、¹⁸F、¹²⁵I、¹²³I、¹²⁴I、¹³¹I、⁷⁵Br、⁷⁶Br或⁷⁷Br一般将最适用。

[0480] 应理解,“经放射标记”或“经标记的化合物”为并入至少一种放射性核素的化合物。在一些实施方案中,放射性核素选自自由³H、¹⁴C、¹²⁵I、³⁵S和⁸²Br组成的组。在一些实施方案中,化合物并入1、2或3个氘原子。

[0481] 本发明可还包括用于将放射性同位素并入本发明化合物中的合成方法。用于将放射性同位素并入有机化合物中的合成方法在本领域中为熟知的,且本领域技术人员将容易识别可用于本发明化合物的方法。

[0482] 经标记的本发明化合物可用于筛选检定以鉴别/评估化合物。举例而言,可通过追踪标记以监测经标记的新合成或鉴别的化合物(即,测试化合物)与JAK接触时的浓度变化来评估其结合JAK的能力。举例而言,可评估测试化合物(经标记)减少已知可结合JAK的另一化合物(即,标准化合物)的结合的能力。因此,测试化合物与标准化合物竞争结合JAK的能力直接与其结合亲和力相关。相反,在一些其它筛选检定中,标准化合物经标记且测试化合物未经标记。因此,监测经标记的标准化合物的浓度以评估标准化合物与测试化合物之间的竞争,且由此确定测试化合物的相对结合亲和力。

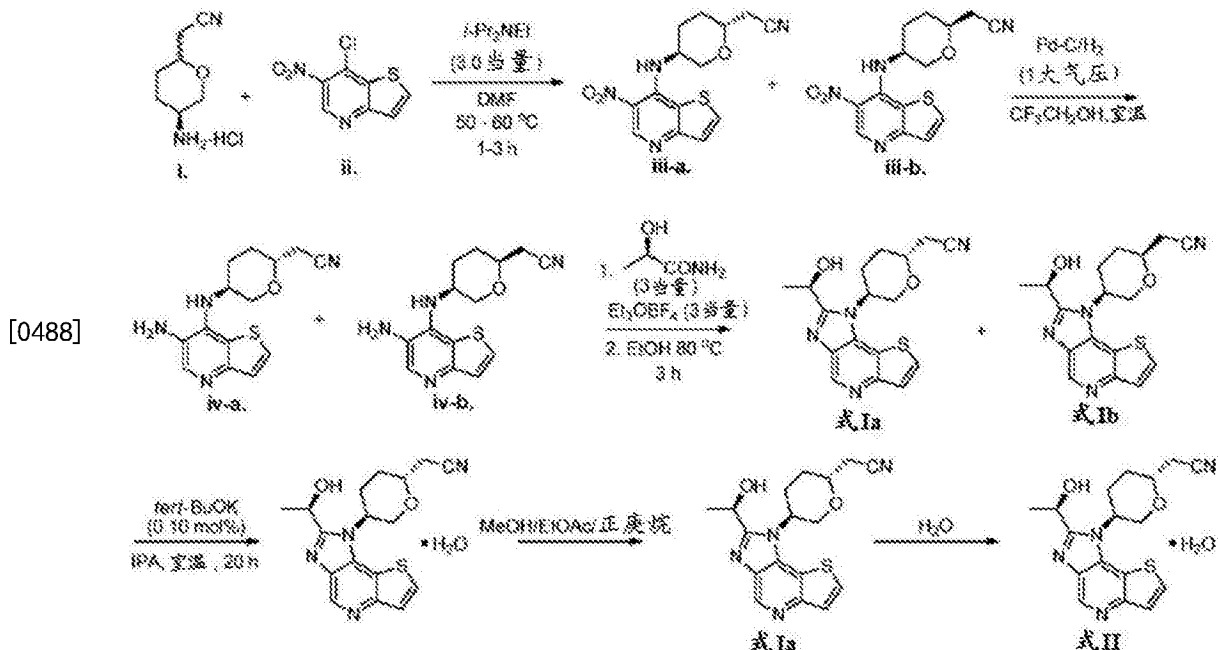
[0483] 试剂盒

[0484] 本发明还包括可用于例如治疗或预防JAK相关疾病或病症(诸如癌症)的药物试剂盒,其包括一个或多个含有包含治疗有效量的本发明化合物的药物组合物的容器。如本领域技术人员应了解,此类试剂盒可视需要还包括多种常规药物试剂盒组件中的一种或多种,诸如含一种或多种药物学上可接受的载体的容器、附加容器等。试剂盒中还可包括呈插页形式或呈标签形式的说明书,指示欲施用的组分的量、关于投药的指导和/或关于混合组分的指导。

[0485] 合成

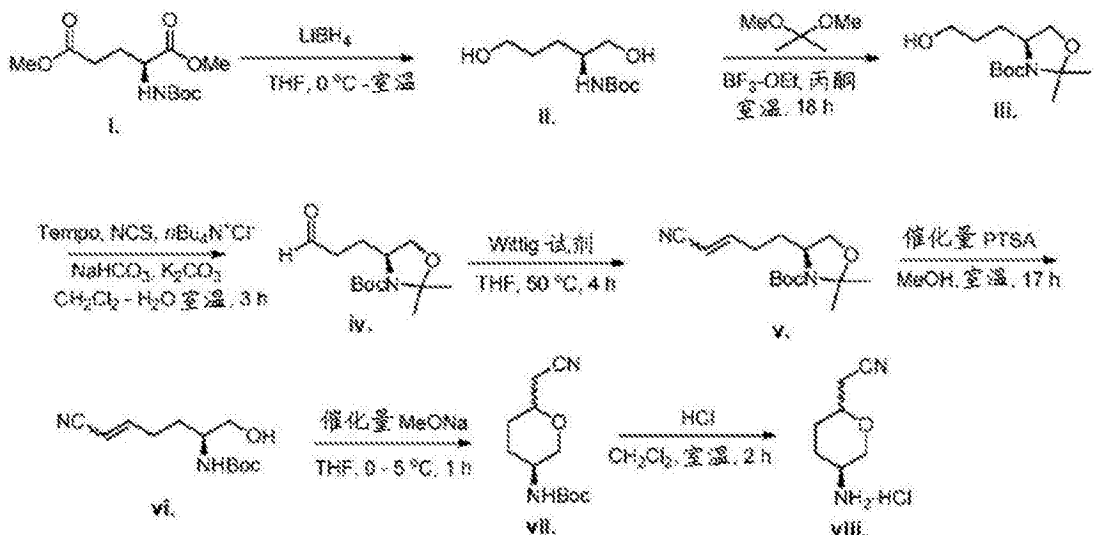
[0486] 可根据以上实施方案且如以下流程I至III进一步说明来合成式Ia化合物。在流程I中,(i)与(ii)在胺碱(例如N,N-二异丙基乙胺)存在下进行亲核性偶合,获得化合物(iii-a)与化合物(iii-b)的异构混合物。随后在氢化条件下(例如在氢气和氢催化剂(例如钯/碳)存在下)还原硝基,获得化合物(iv-a)与化合物(iv-b)的异构混合物。(iv-a)和(iv-b)与(R)-(+) - 乳酰胺在烷基氧鎓试剂(例如三乙基氧鎓四氟硼酸盐)存在下偶合且随后环化,获得具有式Ia和式Ib的稠合三环化合物的混合物。随后在反消旋条件下(例如在强碱(例如叔丁醇钾)存在下)反应,产生式Ia化合物的单一异构体2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈,其可任选水合以形成式II的一水合物化合物。

[0487] 流程I



[0489] 在流程II中,可通过使(i)在还原剂(例如硼氢化锂)存在下反应来获得经胺保护的二醇(ii),在2,2-二甲氧基丙烷和三氟化硼乙醚合物存在下进行不对称保护以形成噁唑烷(iii),从而产生式VI化合物。游离醇(iii)在氧化条件下反应,获得醛(iv),随后在改进型Wittig-Horner条件下(例如在(氰基甲基)膦酸二乙酯和叔丁醇钾存在下)反应,以形成顺式异构体与反式异构体的混合物(v)。在强酸(例如对甲苯磺酸)存在下对(v)进行去保护,获得化合物(vi),在强碱(例如甲醇钠)存在下进行环化,以形成经胺保护的吡喃化合物(vii)。在标准条件下(例如在强酸存在下)进行去保护,获得胺盐(viii)。

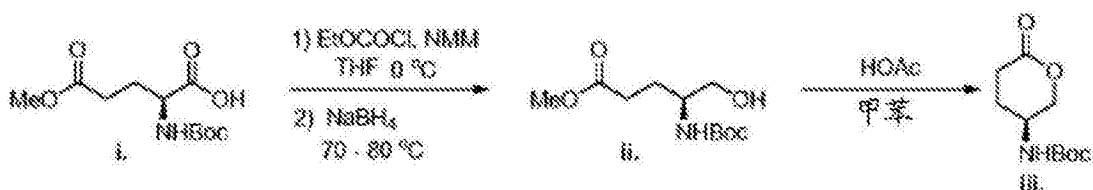
[0490] 流程II



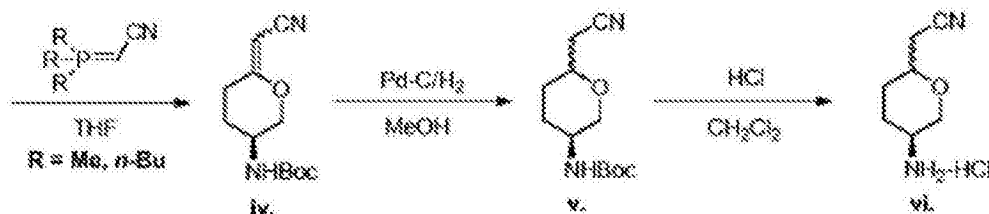
[0492] 在流程III中,可产生式VI化合物。因此,对羧酸(i)进行不对称羰基还原,获得羟基酯化合物(ii),随后在弱有机酸(例如乙酸)存在下进行环化,以形成氨基内酯(iii)。使(iii)在改进的Wittig条件下(例如在氰基甲基(三甲基)氯化磷和叔丁醇钾存在下或者在三丁基(氰基甲基)氯化磷和叔丁醇钾存在下)反应,获得(iv)的顺式异构体与反式异构体的混合物。在氢气和氢化催化剂(例如钯/碳)存在下对烯烃(iv)进行还原,获得(v)的R异构体

与S异构体的混合物。在标准条件下(例如在强酸存在下)对胺进行去保护,获得胺盐(vi)。

[0493] 流程III

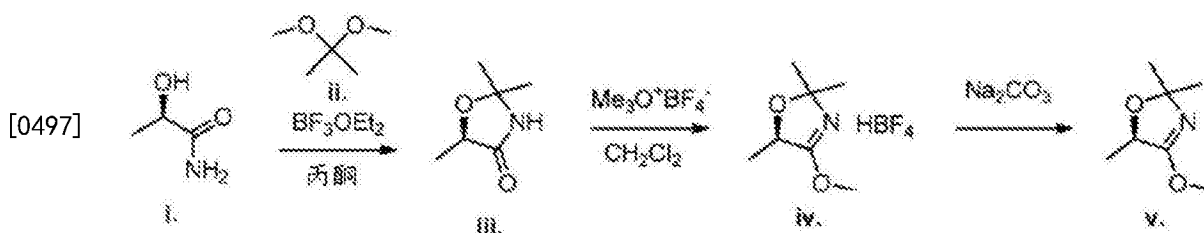


[0494]



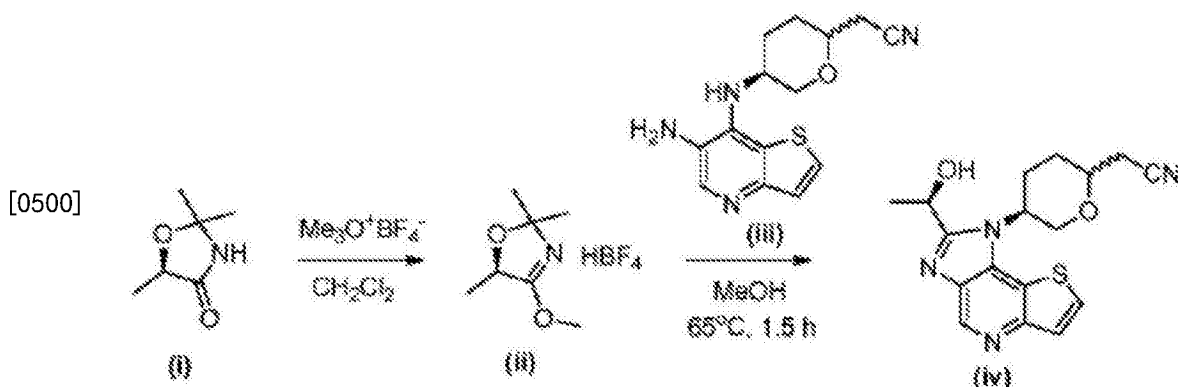
[0495] 举例而言,可根据流程IV中所示的方法制备中间体(R)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氢噁唑。举例而言,(R)-2-羟基丙酰胺(i)与2,2-二甲氧基丙烷(ii)在三卤化硼乙醚合物(例如BF₃OEt₂)存在下反应,获得(R)-2,2,5-三甲基噁唑烷-4-酮(iii)。使化合物(iii)与甲基化剂(例如Me₃O⁺BF₄⁻)反应,且随后在碱(例如碳酸钠)存在下进行反应,获得(R)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氢噁唑(v)。

[0496] 流程IV



[0498] 还可例如根据流程V中所示的方法制备式Ia化合物与式Ib化合物的混合物。首先使(R)-2,2,5-三甲基噁唑烷-4-酮(i)与甲基化剂(例如Me₃O⁺BF₄⁻)反应,以形成(R)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氢噁唑(ii),随后与2-((2R,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈和2-((2S,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的混合物(iii)反应,获得式Ia化合物与式Ib化合物的混合物(iv)。

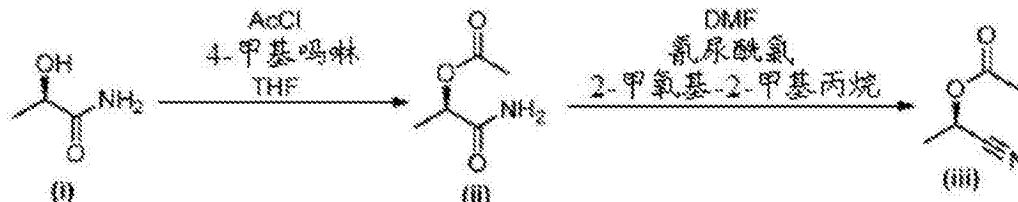
[0499] 流程V



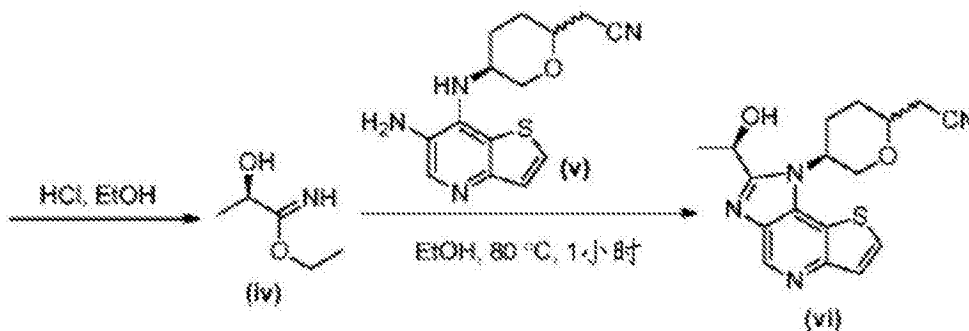
[0501] 还可例如根据流程VI中所示的方法制备式Ia化合物与式Ib化合物的混合物。首先

在标准醇保护条件(例如与乙酰氯反应)下保护(R)-2-羟基丙酰胺(i),以形成(R)-乙酸-1-氨基-1-氧代-丙-2-基酯(ii),随后与氰尿酸氯反应,以形成(R)-乙酸-1-氰基乙酯(iii)。随后在酸催化剂(例如氯化氢)存在下使(iii)与乙醇反应,获得(R)-2-羟基丙亚胺酸乙酯(iv),随后与2-((2R,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈与2-((2S,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的混合物(v)反应,形成式Ia化合物与式Ib化合物的混合物(vi)。

[0502] 流程VI



[0503]



实施例

[0504] 将通过特定实施例更详细地描述本发明。以下实施例是出于说明的目的而提供且不意欲以任何方式限制本发明。本领域技术人员应容易地认识到可改变或变更以产生本质上相同的结果的各种不重要参数。

[0505] 在Waters质量导向型分馏系统上对所制备的一些化合物进行开放取用制备型LC-MS纯化。用于操作这些系统的基本设备设定、方案和控制软件已详细描述于文献中。参见例如“Two-Pump At Column Dilution Configuration for Preparative LC-MS”, K.Blom, J.Combi.Chem., 4, 295 (2002); “Optimizing Preparative LC-MS Configurations and Methods for Parallel Synthesis Purification”, K.Blom, R.Sparks, J.Doughty, G.Everlof, T.Haque, A.Combs, J.Combi.Chem., 5, 670 (2003); 和“Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization”, K.Blom, B.Glass, R.Sparks, A.Combs, J.Combi.Chem., 6, 874-883 (2004)。典型地以下条件下对所分离的化合物进行分析型液相色谱质谱(LCMS)以获得纯度: 仪器: Agilent 1100系列, LC/MSD, 柱: Waters Sunfire™C₁₈ 5μm, 2.1×5.0mm, 缓冲液: 移动相A: 0.025% TFA/水和移动相B: 0.025% TFA/乙腈; 在3分钟内梯度2%至80%B, 流速1.5mL/min。

[0506] 使用差示扫描量热法(DSC)来分析所制备的一些化合物。典型DSC条件如下:

[0507] TA仪器差示扫描量热仪, Q200型, 具有自动取样器。温度范围: 30°C至350°C; 温升速率: 10°C/min; Tzero铝样品盘和盖; 氮气流50mL/min。

[0508] 使用热解重量分析(TGA)来分析所制备的一些化合物。典型TGA条件如下:

[0509] TA仪器热解重量分析仪, Q500型。温度范围: 20℃至600℃; 温升速率: 20℃/min; 氮气吹扫流: 40mL/min; 平衡吹扫流: 60mL/min; 样品吹扫流; 铂样品盘。

[0510] PerkinElmer热解重量分析仪, Pyris 1型。温度范围: 25℃至300℃; 温升速率: 10℃/min; 氮气吹扫气流: 60mL/min; TGA陶瓷坩埚样品夹。

[0511] 使用X射线粉末衍射(XRPD)来分析所制备的一些化合物。典型XRPD条件如下:

[0512] Bruker D2PHASER X射线粉末衍射仪; X射线辐射波长: 1.05406 Å CuK α 1; X射线功率: 30KV、10mA; 样品粉末: 分散于零背景样品夹上; 一般测量条件: 起始角度-5度; 终止角度-60度; 取样-0.015度; 扫描速度-2度/分钟。

[0513] Rigaku MiniFlex X射线粉末衍射仪; X射线辐射来自于铜Cu1.054056 Å, 具有K β 滤光片; X射线功率: 30KV、15mA; 样品粉末: 分散于零背景样品夹上。一般测量条件: 起始角度-3度; 终止角度-45度; 取样-0.02度; 扫描速度-2度/分钟。

[0514] 使用动态气相吸附(DVS)来分析所制备的一些化合物。典型DVS条件如下:

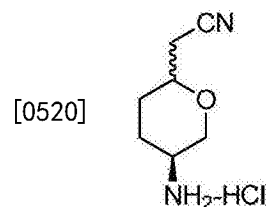
[0515] SGA-100对称气相吸附分析仪得自VTI公司。在四个循环中以10%相对湿度(RH)增量完成湿气吸收概况分析, 其中第一吸附从25%至95%RH, 随后以10%增量从95%至5%RH进行解吸。平衡标准为5分钟内0.0050wt%, 其中最大平衡时间为180分钟; 数据记录间隔: 2.00min或0.0100wt%。所有吸附和解吸均在室温(25℃)下进行。未进行预干燥步骤。

[0516] 在湿度室中处理之后分析所制备的一些化合物。典型湿度室条件如下:

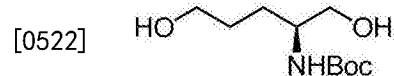
[0517] 温度: 40℃; 相对湿度: 75%; 时间: 5天。

[0518] 温度: 30℃; 相对湿度: 90%; 时间: 7天。

[0519] 实施例1. 2-((2R, 5S)-5-氨基四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈盐酸盐和2-((2S, 5S)-5-氨基四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈盐酸盐(程序1)



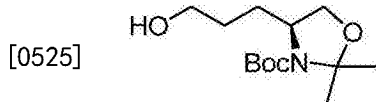
[0521] 步骤1. (S)-1,5-二羟基戊-2-基氨基甲酸叔丁酯



[0523] 在室温下, 在配备顶置式机械搅拌器、热电偶、回流冷凝器、加料漏斗和氮气入口的五颈5-L圆底烧瓶中置放硼氢化锂(29.9g, 1.37mol, 2.0当量)。将四氢呋喃(THF, 1.12L)装入烧瓶中, 同时维持内部温度低于40℃。随后将所得溶液冷却至0℃至5℃, 随后经多于50分钟的时段经由加料漏斗添加(S)-2-(叔丁氧基羰基氨基)戊二酸二甲酯(189g, 0.687mol)于THF(0.60L)中的溶液。使所得反应混合物逐渐升温至室温且在室温下搅拌17h, 且随后冷却至15℃。随后经3h向反应混合物中逐滴添加甲醇(MeOH, 415mL)以淬灭残余硼氢化锂。在添加甲醇期间, 观察到剧烈气体逸出。随后在减压下对经淬灭的反应混合物进行浓缩以移除大部分溶剂, 且用乙酸乙酯(EtOAc, 350mL)和水(300mL)处理残余物。在室温下将所得悬浮液搅拌15分钟, 随后经由烧结漏斗进行过滤。分离滤液的两个相且用EtOAc(100mL)萃取水相。用盐水(150mL)洗涤所合并的有机相, 经无水硫酸钠干燥, 且在减压下浓缩, 获得呈白

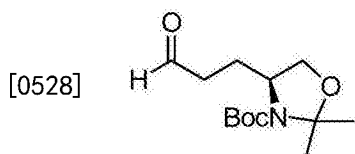
色固体状的粗制(S)-1,5-二羟基戊-2-基氨基甲酸叔丁酯(135g,89.7%),其不经进一步纯化即用于随后的反应中。 ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 6.42(d,J=8.5Hz,1H),4.52(t,J=5.5Hz,1H),4.33(t,J=5.1Hz,1H),3.42-3.21(m,4H),3.18(dt,J=10.5,6.1Hz,1H),1.54-1.44(m,1H),1.41-1.28(m,11H),1.22-1.16(m,1H)ppm。

[0524] 步骤2.(S)-4-(3-羟基丙基)-2,2-二甲基噁唑烷-3-甲酸叔丁酯



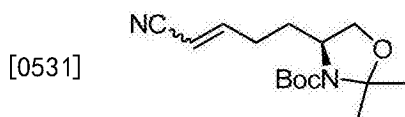
[0526] 在室温下,在配备顶置式机械搅拌器、热电偶、加料漏斗和氮气入口的五颈5-L圆底烧瓶中置放(S)-1,5-二羟基戊-2-基氨基甲酸叔丁酯(105g,0.479mol)和丙酮(4.0L)。随后在室温下依序用2,2-二甲氧基丙烷(64.8g,0.622mol,1.3当量)和三氟化硼乙醚合物($\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$,6.1mL,0.048mol,0.10当量)处理该溶液。在室温下将所得反应混合物搅拌18h,随后添加三乙胺(TEA,40.0mL,0.287mol,0.60当量)。随后在减压下浓缩所得混合物以移除大部分溶剂,且用EtOAc(1000mL)和水(200mL)处理残余物。分离两相且用盐水(200mL)洗涤有机相,经硫酸钠干燥,且在减压下浓缩。通过柱色谱法(SiO_2 ,用0至50%乙酸乙酯/己烷进行梯度洗脱)纯化残余物,获得呈无色油状的(S)-4-(3-羟基丙基)-2,2-二甲基噁唑烷-3-甲酸叔丁酯(95.0g,76.5%)。 ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 4.39(t,J=5.1Hz,1H),3.85(dd,J=8.7,5.7Hz,1H),3.72(s,1H),3.66(dd,J=8.8,1.3Hz,1H),3.42-3.32(m,2H),1.61-1.54(m,1H),1.51-1.24(m,18H)ppm。

[0527] 步骤3.(S)-2,2-二甲基-4-(3-氧代丙基)噁唑烷-3-甲酸叔丁酯



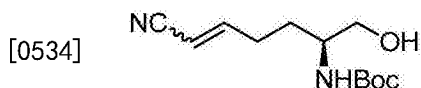
[0529] 在室温下,在配备顶置式机械搅拌器、热电偶、加料漏斗和氮气入口的五颈5-L圆底烧瓶中置放(S)-4-(3-羟基丙基)-2,2-二甲基噁唑烷-3-甲酸叔丁酯(110.0g,0.424mol)和二氯甲烷(DCM,1200mL)。随后在室温下用2,2,6,6-四甲基-1-哌啶基氧基自由基(TEMPO,6.6g,0.042mol,0.10当量)和四正丁基氯化铵(11.8g,0.042mol,0.10当量)处理所得溶液,随后在室温下向反应混合物中依序添加碳酸氢钠水溶液(174g,2.08mol,5.0当量)和碳酸钾水溶液(28.7g,0.208mol,0.50当量)。在剧烈搅拌所得混合物的同时,在室温下添加N-氯丁二酰亚胺(69.1g,0.518mol,1.22当量)。随后在室温下将所得反应混合物再搅拌3h,随后转移至分离漏斗。分离滤液的两相且用DCM(250mL)萃取水相。用盐水(2 \times 300mL)洗涤所合并的有机层,经无水硫酸钠干燥,在减压下浓缩,且在真空下干燥,获得呈浅橘色油状的粗制(S)-2,2-二甲基-4-(3-氧代丙基)噁唑烷-3-甲酸叔丁酯(109.1g,100%),其不经进一步纯化即用于随后的反应中。 ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ 9.64(s,1H),4.01-3.60(m,3H),2.39(dd,J=10.9,4.0Hz,2H),1.84-1.64(m,2H),1.47-1.38(m,15H)ppm。

[0530] 步骤4.(S)-4-(4-氰基丁-3-烯基)-2,2-二甲基噁唑烷-3-甲酸叔丁酯



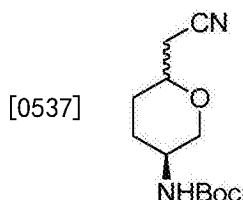
[0532] 在室温下,在氮气氛围下,在配备顶置式机械搅拌器、热电偶和加料漏斗的三颈3-L圆底烧瓶中置放叔丁醇钾(1M THF溶液,1000mL,1.00mol,1.11当量)和四氢呋喃(THF,700mL)。将溶液冷却至0℃至5℃,且经由加料漏斗逐滴添加氰基甲基膦酸二乙酯(177.2g,1.00mol,1.11当量),同时维持内部温度在10℃以下。随后在室温下将所得反应混合物搅拌2h,且标记为溶液A以供用于随后的反应。在室温下,在配备顶置式机械搅拌器、热电偶、加料漏斗和氮气入口的单独五颈12-L圆底烧瓶中置放(S)-2,2-二甲基-4-(3-氧代丙基)噁唑烷-3-甲酸叔丁酯(232.0g,0.901mol)和THF(3500mL)。将所得溶液冷却至0℃至5℃,且标记为溶液B。随后将溶液A逐滴添加至溶液B中,同时维持内部温度在5℃以下。使所得反应混合物逐渐升温至室温且在室温下搅拌1h。向反应混合物中加入水(500mL)且分离两相。随后用EtOAc(2×100mL)萃取水相。用盐水(2×100mL)洗涤所合并的有机相,经无水硫酸镁干燥,且在减压下浓缩。通过柱色谱法(SiO₂,用0至30%乙酸乙酯/己烷进行梯度洗脱)纯化残余物,获得呈无色油状的(S)-4-(4-氰基丁-3-烯基)-2,2-二甲基噁唑烷-3-甲酸叔丁酯(179.0g,70.8%)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ6.84(dt,J=16.4,6.8Hz,0.5H),6.66(dt,J=10.9,7.7Hz,0.5H),5.83-5.51(m,1H),3.92-3.49(m,3H),2.35-2.05(m,2H),1.73-1.52(m,2H),1.45-1.38(m,15H)。

[0533] 步骤5.(S)-6-氰基-1-羟基己-5-烯-2-基氨基甲酸叔丁酯



[0535] 在室温下,在配备顶置式机械搅拌器、热电偶、加料漏斗和氮气入口的五颈5-L圆底烧瓶中置放(S)-4-(4-氰基丁-3-烯基)-2,2-二甲基噁唑烷-3-甲酸叔丁酯(179.0g,0.638mol)和甲醇(2000mL)。将所得无色溶液冷却至0℃至5℃,随后用催化量的对甲苯磺酸(PTSA,12.1g,0.064mol,0.10当量)进行处理。使所得反应混合物逐渐升温至室温且在室温下再搅拌17h。随后在室温下向反应混合物中添加碳酸氢钠水溶液(100mL),且在减压下将所得混合物浓缩至约500mL。随后用乙酸乙酯(2×500mL)萃取残余物。用盐水(2×100mL)洗涤所合并的有机相,经无水硫酸镁干燥,在减压下浓缩,且在真空下干燥,获得呈淡粉色油状的粗制(S)-6-氰基-1-羟基己-5-烯-2-基氨基甲酸叔丁酯(144.2g,94%),其不经进一步纯化即用于随后的反应中。¹H NMR(300MHz,CDCl₃) δ6.72(dt,J=16.3,6.9Hz,0.5H),6.53(dt,J=10.9,7.6Hz,0.5H),5.51-5.08(m,1H),4.73(s,1H),3.83-3.34(m,3H),2.49(dt,J=11.3,5.9Hz,1H),2.31(q,J=7.0Hz,1H),1.74-1.57(m,3H),1.44(s,9H)。

[0536] 步骤6.(S)-6-(氰基甲基)四氢-2H-吡喃-3-基氨基甲酸叔丁酯(顺式异构体与反式异构体的混合物)



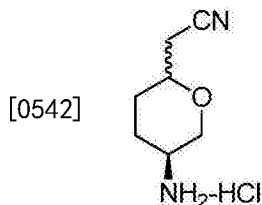
[0538] 在室温下,在配备顶置式机械搅拌器、热电偶、加料漏斗和氮气入口的五颈5-L圆底烧瓶中置放(S)-6-氰基-1-羟基己-5-烯-2-基氨基甲酸叔丁酯(173.0g,0.720mol)和四氢呋喃(1700mL)。将溶液冷却至0℃至5℃,随后经由加料漏斗逐滴添加甲醇钠(0.5M甲醇溶液,21.30mL,0.011mol,0.015当量)于THF(90mL)中的溶液,同时维持内部温度在5℃以下。

在5℃以下将所得反应混合物再搅拌1h,随后依序向反应混合物中添加盐水(500mL)和叔丁基甲醚(TBME,400mL)。分离两相且用TBME(250mL)萃取水相。用盐水(250mL)洗涤所合并的有机相,经无水硫酸镁干燥,在减压下浓缩,且在真空下干燥,获得呈粘度固体状的粗制(S)-6-(氰基甲基)四氢-2H-吡喃-3-基氨基甲酸叔丁酯(173.0g,100%)。所获得的呈顺式异构体与反式异构体的混合物形式的粗产物不经进一步纯化即用于随后的反应中。¹H NMR(400MHz,CDC1₃) δ5.13(s,0.5H),4.25(s,0.5H),4.10(ddd,J=10.9,4.7,2.2Hz,0.5H),3.89(d,J=12.1Hz,0.5H),3.72(s,0.5H),3.66-3.57(m,1.5H),3.56-3.49(m,0.5H),3.03(t,J=10.8Hz,0.5H),2.54(dd,J=6.0,2.5Hz,2H),2.19-2.08(m,0.5H),2.00(d,J=13.2Hz,0.5H),1.87(d,J=13.1Hz,0.5H),1.65-1.62(m,2H),1.44(d,J=6.5Hz,9H),1.38-1.24(m,0.5H)。

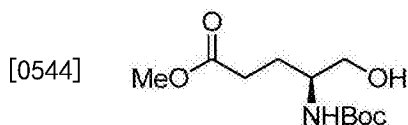
[0539] 步骤7. 2-((2R,5S)-5-氨基四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈盐酸盐和2-((2S,5S)-5-氨基四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈盐酸盐(反式异构体与顺式异构体的混合物)

[0540] 在室温下,在配备顶置式机械搅拌器、热电偶、加料漏斗和氮气入口的五颈5-L圆底烧瓶中置放(S)-6-(氰基甲基)四氢-2H-吡喃-3-基氨基甲酸叔丁酯(顺式异构体与反式异构体的混合物,173.0g,0.720mol)和二氯甲烷(1730mL)。随后经由加料漏斗用4.0M氯化氢(HCl)于1,4-二噁烷中的溶液(720mL,2.880mol,4.0当量)处理所得溶液。在室温下将所得反应混合物搅拌2h,随后添加叔丁基甲醚(TBME,1000mL)。在室温下将所得悬浮液搅拌30分钟。通过过滤收集所形成的白色固体,用TBME(280mL)洗涤且在真空烘箱中在50℃下利用氮气吹扫进行干燥,获得呈反式异构体与顺式异构体的混合物形式的2-((2R,5S)-5-氨基四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈盐酸盐和2-((2S,5S)-5-氨基四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈盐酸盐(114.0g,89.6%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ8.31(s,3H),4.03(ddd,J=10.8,4.5,2.2Hz,0.5H),3.92(d,J=12.6Hz,0.5H),3.71-3.58(m,1H),3.51(ddp,J=8.8,4.4,2.1Hz,0.5H),3.36(s,0.5H),3.25(s,0.5H),3.04(s,0.5H),2.87-2.56(m,2H),2.08(d,J=12.7Hz,0.5H),1.98-1.72(m,1.5H),1.70-1.46(m,1.5H),1.36(qd,J=13.2,3.9Hz,0.5H) ppm; ¹³C NMR(101MHz,DMSO-d₆) δ118.48(118.33),72.52(72.07),67.75(67.56),45.53(44.36),28.59(24.33),26.78(24.06),23.42(23.14) ppm;对于C₇H₁₂N₂O,LCMS计算值:140.2(游离胺),实测值:141(M⁺+H);盐比率(HCl对游离胺):1.00。

[0541] 实施例2. 2-((2R,5S)-5-氨基四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈盐酸盐和2-((2S,5S)-5-氨基四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈盐酸盐(程序2)



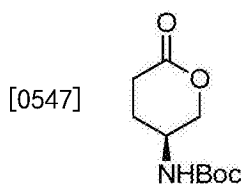
[0543] 步骤1. (4S)-4-[(叔丁氧基羰基)氨基]-5-羟基戊酸甲酯



[0545] 在室温下用4-甲基吗啉(17g,168.1mmol,1.1当量)处理(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-5-甲氧基-5-氧代戊酸(40.00g,153.1mmol)于四氢呋喃(600mL)中的溶液。将所得混

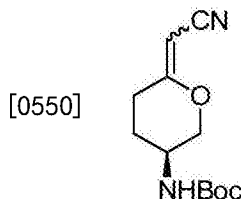
合物冷却至0℃,随后用氯甲酸乙酯(18g,165.9mmol,1.08当量)逐滴处理。在0℃下将所得反应混合物再搅拌20分钟,随后经硅藻土进行过滤。用THF(50mL)洗涤硅藻土床,且将澄清滤液溶液冷却至0℃。随后用固体NaBH₄(3.00g,79.3mmol,0.52当量)和NaBH₄(2.9g,76.1mmol,0.50当量)于二甘醇二甲醚(40mL)中的溶液来处理经冷却的溶液。在室温下将所得反应混合物搅拌3h,随后用1.0M HCl水溶液(100mL)处理。随后在室温下将混合物搅拌10分钟。滤出无机固体且用EtOAc(100mL)冲洗。随后将乙酸乙酯(1100mL)添加至滤液中,且在减压下浓缩所合并的滤液溶液以移除溶剂(1200mL)。随后用饱和碳酸氢钠水溶液(50mL)和水(2×50mL)洗涤剩余混合物。随后在减压下浓缩有机相,获得粗制(4S)-4-[(叔丁氧基羰基)氨基]-5-羟基戊酸甲酯(37.9g),其不经进一步纯化即用于随后的反应中。

[0546] 步骤2. (S)-(6-氧代四氢-2H-吡喃-3-基)氨基甲酸叔丁酯



[0548] 将粗制(4S)-4-[(叔丁氧基羰基)氨基]-5-羟基戊酸甲酯(37.9g,153.1mmol)于甲苯(600mL)和乙酸(200mL)中的溶液加热至回流后维持60分钟。随后通过在大气压下共沸蒸馏来移除溶剂。在共沸蒸馏期间,引入附加量的甲苯(600mL)且移除总计1200mL混合溶剂。随后经3h将残余混合物冷却至室温且在室温下搅拌2h。通过过滤收集固体,用正庚烷(100mL)洗涤,且在减压下在40℃以下干燥,获得所要[(3S)-6-氧代四氢-2H-吡喃-3-基]氨基甲酸叔丁酯(25g,两个步骤的总产率75%)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ4.39(dd,J=11.5,5.4Hz,1H),4.18(dd,J=11.4,4Hz,1H),4.00(s,1H),2.69-2.54(m,2H),2.22(dq,J=13.2,6.6Hz,1H),1.86(dq,J=14.6,7.3Hz,1H),1.43(s,9H);对于C₁₀H₁₇N₁O₄,GCMS计算值:215.25;实测值:215.1。

[0549] 步骤3. [(3S,6Z)-6-(氰基亚甲基)四氢-2H-吡喃-3-基]氨基甲酸叔丁酯和[(3S,6E)-6-(氰基亚甲基)四氢-2H-吡喃-3-基]氨基甲酸叔丁酯



[0551] 方法A.

[0552] 对氰基甲基(三甲基)氯化磷(8.8g,58.06mmol,1.25当量)于N,N-二甲基乙酰胺(DMAC,50mL)中的溶液进行脱气且冷却至0℃。随后在0℃下用1.0M六甲基二硅叠氮化锂的THF溶液(LHMDS,53.4mL,53.4mmol,1.15当量)处理经冷却的溶液。在0℃下将所得混合物搅拌60分钟,随后在0℃下用[(3S)-6-氧代四氢-2H-吡喃-3-基]氨基甲酸叔丁酯(10g,46.46mmol)于THF(40mL)中的溶液处理。在0℃下将反应混合物搅拌2h,随后在室温下搅拌隔夜。随后用水(100mL)淬灭反应混合物且分离两相。用叔丁基甲醚(TBME,2×150mL)萃取水相。用水(2×150mL)洗涤所合并的有机相,随后在减压下浓缩,获得呈[(3S,6Z)-6-(氰基亚甲基)四氢-2H-吡喃-3-基]氨基甲酸叔丁酯与[(3S,6E)-6-(氰基亚甲基)四氢-2H-吡喃-

3-基]氨基甲酸叔丁酯的混合物形式的粗制所要产物(11g,99%),其不经进一步纯化和分离即用于随后的反应中。通过硅胶柱色谱法(SiO_2 ,用0至30%叔丁基甲醚(MTBE)/庚烷进行梯度洗脱)获得个别异构体的分析样品。

[0553] 对于(3S,6E)-异构体: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 4.82(s,1H),4.67(s,1H),4.12(dd,1H),3.93(m,1H),3.81(dd,1H),2.79(dt,1H),2.58(m,1H),2.12(dt,1H),1.69(dt,1H),1.40(s,9H);对于 $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$,GCMS计算值:238.28;实测值:238.1。

[0554] 对于(3S,6Z)-异构体: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 4.81(s,1H),4.48(s,1H),4.19(dt,1H),3.95(m,2H),2.48(m,2H),2.09(m,1H),1.58(m,1H),1.40(s,9H);对于 $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$,GCMS计算值:238.28;实测值:238.1。

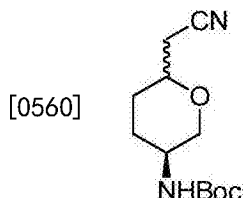
[0555] 方法B.

[0556] 在0°C下经5分钟用固体叔丁醇钾(220g,1.97mol)逐份处理三丁基(氰基甲基)氯化磷(593g,2.14mol)于THF(5.9L)中的混合物。经4h使所得混合物逐渐升温至室温。随后在室温下用呈固体状的(S)-(6-氧代四氢-2H-吡喃-3-基)氨基甲酸叔丁酯(184g,0.855mol)处理所得内鎊盐溶液,且在70°C下加热所得反应混合物并且在70°C下搅拌16h。当NMR分析指示起始物质耗尽时,将反应混合物逐渐冷却至室温。将所得浆液倾入含有饱和碳酸氢钠水溶液(5L)和冰(1000g)的50-L分离漏斗中。添加乙酸乙酯(6L)且将混合物搅拌10分钟。分离两层且用EtOAc(3L)萃取水层。用饱和氯化钠水溶液(3×4L)洗涤所合并的有机层,经硫酸钠干燥,且在减压下浓缩。将所得深色油溶解于DCM(500mL)中且通过柱色谱法(SiO_2 ,用20%至40%乙酸乙酯/庚烷进行梯度洗脱)加以纯化,获得呈[(3S,6Z)-6-(氰基亚甲基)四氢-2H-吡喃-3-基]氨基甲酸叔丁酯与[(3S,6E)-6-(氰基亚甲基)四氢-2H-吡喃-3-基]氨基甲酸叔丁酯的混合物形式的所要产物(177g,产率87%),其不经进一步纯化和分离即用于随后的反应中。通过硅胶柱色谱法(SiO_2 ,用0至30%叔丁基甲醚(TBME)/庚烷进行梯度洗脱)获得两种异构体的分析样品。

[0557] 对于(3S,6E)-异构体: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 4.82(s,1H),4.67(s,1H),4.12(dd,1H),3.93(m,1H),3.81(dd,1H),2.79(dt,1H),2.58(m,1H),2.12(dt,1H),1.69(dt,1H),1.40(s,9H);对于 $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$,GCMS计算值:238.28;实测值:238.1。

[0558] 对于(3S,6Z)-异构体: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 4.81(s,1H),4.48(s,1H),4.19(dt,1H),3.95(m,2H),2.48(m,2H),2.09(m,1H),1.58(m,1H),1.40(s,9H);对于 $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$,GCMS计算值:238.28;实测值:238.1。

[0559] 步骤4. [(3S,6S)-6-(氰基甲基)四氢-2H-吡喃-3-基]氨基甲酸叔丁酯和[(3S,6R)-6-(氰基甲基)四氢-2H-吡喃-3-基]氨基甲酸叔丁酯



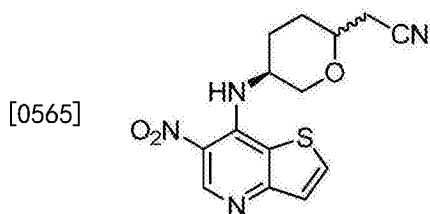
[0561] 在20psi下对[(3S,6Z)-6-(氰基亚甲基)四氢-2H-吡喃-3-基]氨基甲酸叔丁酯和[(3S,6E)-6-(氰基亚甲基)四氢-2H-吡喃-3-基]氨基甲酸叔丁酯(110g,0.462mol)和钯/碳(10wt%Pd-C,50%湿润,14g)于甲醇(1.1L)中的混合物进行氢化,直至氢气吸收停止(4至12h)。使反应混合物经硅藻土(100g)进行过滤,且用甲醇(500mL)洗涤硅藻土床。在减压下

浓缩所合并的滤液,获得呈灰白色固体状的粗还原产物。通过与甲苯(2×500mL)和正庚烷(2×500mL)一起在减压下进行共沸蒸馏来进一步干燥粗产物,以移除残余甲醇和水,获得呈非对映异构体混合物形式的[(3S,6S)-6-(氰基甲基)四氢-2H-吡喃-3-基]氨基甲酸叔丁酯和[(3S,6R)-6-(氰基甲基)四氢-2H-吡喃-3-基]氨基甲酸叔丁酯(111g,几乎为定量产率),其不经进一步纯化和分离即直接用于随后的反应中。¹H NMR(300MHz,CDC1₃,呈两种非对映异构体的混合物形式)δ5.15(br s,1H),4.29(br s,1H),4.14-4.07(m,1H),3.94-3.87(m,1H),3.77-3.44(m,5H),3.09-3.01(m,1H),2.58-2.49(m,4H),2.18-2.09(m,1H),2.05-1.95(m,1H),1.92-1.81(m,1H),1.76-1.51(m,5H),1.46(s,9H),1.44(s,9H);对于C₁₂H₂₀N₂O₃,GCMS计算值:240.30;实测值:240.1。

[0562] 步骤5. 2-((2S,5S)-5-氨基四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈盐酸盐和2-((2R,5S)-5-氨基四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈盐酸盐

[0563] 经30分钟用4M HCl于1,4-二噁烷中的溶液(1L,3.99mol,4.0当量)逐滴处理[(3S,6S)-6-(氰基甲基)四氢-2H-吡喃-3-基]氨基甲酸叔丁酯和[(3S,6R)-6-(氰基甲基)四氢-2H-吡喃-3-基]氨基甲酸叔丁酯(240g,0.999mol)于二氯甲烷(2.44L)中的溶液,同时将内部温度保持在25℃以下。在室温下将所得反应混合物搅拌3h。当经过滤样品的¹H NMR分析指示反应完毕时,向反应混合物中添加叔丁基甲醚(TBME,675mL)且在室温下将所得混合物搅拌30分钟。通过在氮气层下过滤来收集所形成的白色固体,用TBME(600mL)洗涤且在真空烘箱中在氮气层下进一步干燥16h,获得呈顺式异构体与反式异构体的混合物形式的2-((2S,5S)-5-氨基四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈盐酸盐和2-((2R,5S)-5-氨基四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈盐酸盐(151.7g,产率86%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)(顺式异构体与反式异构体的混合物)δ8.31(s,3H),4.03(ddd,J=10.8,4.5,2.2Hz,0.5H),3.92(d,J=12.6Hz,0.5H),3.71-3.58(m,1H),3.51(ddp,J=8.8,4.4,2.1Hz,0.5H),3.36(s,0.5H),3.25(s,0.5H),3.04(s,0.5H),2.87-2.56(m,2H),2.08(d,J=12.7Hz,0.5H),1.98-1.72(m,1.5H),1.70-1.46(m,1.5H),1.36(qd,J=13.2,3.9Hz,0.5H)ppm;¹³C NMR(101MHz,DMSO-d₆)δ118.48(118.33),72.52(72.07),67.75(67.56),45.53(44.36),28.59(24.33),26.78(24.06),23.42(23.14)ppm;对于C₇H₁₂N₂O,LCMS计算值:140.2(游离胺),实测值:141(M⁺+H);盐比率(HCl对游离胺):1.00。

[0564] 实施例3. 2-((2R,5S)-5-(6-硝基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈和2-((2S,5S)-5-(6-硝基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈



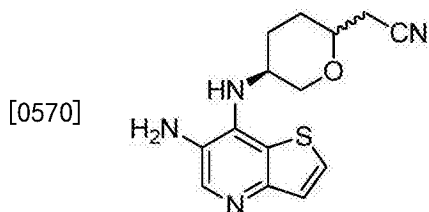
[0566] 在室温下用二异丙基乙胺(DIPEA,4897g,46.13mol,3.84当量)处理2-((2S,5S)-5-氨基四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈盐酸盐和2-((2R,5S)-5-氨基四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈盐酸盐(2464g,13.95mol,1.16当量)和7-氯-6-硝基噻吩并[3,2-b]吡啶(2581g,12.02mol)于N,N-二甲基甲酰胺(DMF,12.3L)中的混合物。将所得反应混合物加热至65℃至75℃后维持2

至6h,直至HPLC显示反应完毕。在55℃以上向反应混合物中添加水(36.9L)以使粗所要产物沉淀,且使所得混合物逐渐冷却至15℃至30℃,并且在15℃至30℃下搅拌1至2h。通过过滤收集黄色固体,用水(36.9L)和正庚烷(30.8L)洗涤,且在真空烘箱中在45℃至50℃下干燥至恒定重量,获得呈2-((2R,5S)-5-(6-硝基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈与2-((2S,5S)-5-(6-硝基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的混合物形式的粗所要产物(3550g,92.8%),其不经进一步纯化和分离即用于随后的反应中。通过柱色谱法分离(SiO₂,用0至50%乙酸乙酯/庚烷进行梯度洗脱)获得顺式异构体和反式异构体的分析样品。

[0567] 对于(2R,5S)-异构体:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ9.09(s,1H),8.87(d,J=9.1Hz,1H),8.35(d,J=5.5Hz,1H),7.53(d,J=5.5Hz,1H),4.32(ddq,J=14.4,10.1,4.3Hz,1H),4.17(ddd,J=10.9,4.5,2.2Hz,1H),3.66(ddd,J=9.2,6.8,4.5Hz,1H),3.52(t,J=10.6Hz,1H),2.85(dd,J=17.0,4.4Hz,1H),2.76(dd,J=17.0,6.8Hz,1H),2.28-2.23(m,1H),191-1.81(m,2H),1.61-1.43(m,1H)ppm;¹³C NMR(101MHz,DMSO-d₆) δ159.30,147.11,145.78,136.17,125.59,125.47,118.47,116.54,71.79,70.18,50.25,29.95,29.18,23.14ppm;C₁₄H₁₄N₄O₃S(MW 318.3),LCMS(EI)m/e 319(M⁺+H)。

[0568] 对于(2S,5S)-异构体:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ9.69(d,J=8.5Hz,1H),9.14(s,1H),8.37(d,J=5.5Hz,1H),7.54(d,J=5.5Hz,1H),4.49(d,J=8.6Hz,1H),4.03(d,J=11.9Hz,1H),3.89(d,J=10.4Hz,1H),3.75(dd,J=7.1,3.6Hz,1H),2.84(dd,J=17.1,4.3Hz,1H),2.71(dd,J=17.1,7.0Hz,1H),2.07-2.04(m,2H),1.75-1.40(m,2H)ppm;¹³C NMR(101MHz,DMSO-d₆) δ159.15,147.26,145.49,136.22,125.56,125.28,118.16,116.77,72.53,70.31,47.99,27.84,25.08,23.65ppm;C₁₄H₁₄N₄O₃S(MW 318.3),LCMS(EI)m/e 319(M⁺+H)。

[0569] 实施例4. 2-((2R,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈和2-((2S,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈



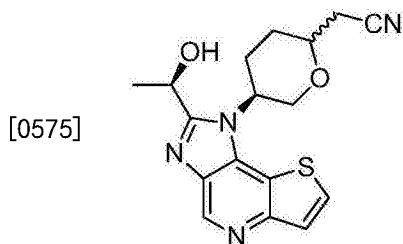
[0571] 在室温下用钯/碳(10wt%Pd-C,50%湿润,200g)处理2-((2R,5S)-5-(6-硝基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈和2-((2S,5S)-5-(6-硝基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈(2000g,6.28mol)于2,2,2-三氟乙醇(8.1L)中的溶液。对所得反应混合物进行脱气,且用氮气再填充三次,随后用氢气再填充三次。氢化反应在20℃至35℃与50psi氢气压力下进行。当HPLC显示反应完毕时,将压力降至大气压,随后进行脱气且用氮气再填充三次。随后使混合物经硅藻土(667g)进行过滤,且用甲醇(8L)冲洗硅藻土床。随后在50℃以下在减压下浓缩滤液,获得呈2-((2R,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈与2-((2S,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的混合物形式的所要粗产物(2242g)。此

混合物是呈含有残余溶剂的发泡体形式获得,不可在硅胶柱上分离且不经进一步纯化即用于随后的反应中。

[0572] 对于(2R,5S)-异构体:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ7.93(s,1H),7.55(d,J=5.6Hz,1H),7.20(d,J=5.6Hz,1H),4.91(d,J=9.7Hz,1H),4.82(s,2H),4.06-3.77(m,2H),3.55(dtt,J=8.7,4.5,2.1Hz,1H),3.24(t,J=10.3Hz,1H),2.92-2.62(m,2H),2.20-1.97(m,1H),1.88-1.70(m,1H),1.66-1.51(m,1H),1.50-1.37(m,1H)ppm;¹³C NMR(101MHz,DMSO-d₆) δ150.28,136.88,134.86,128.10,124.86,124.82,118.55,117.95,72.14,71.70,49.30,30.79,29.74,23.32ppm;C₁₄H₁₆N₄O(S MW 288.3),LCMS(EI)m/e 289(M⁺H)。

[0573] 对于(2S,5S)-异构体:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ8.01(s,1H),7.59(d,J=5.5Hz,1H),7.22(d,J=5.5Hz,1H),5.09(d,J=9.6Hz,1H),4.76(s,2H),3.99(d,J=9.6Hz,1H),3.87(d,J=11.7Hz,1H),3.75(dd,J=11.7,2.2Hz,1H),3.66(dddd,J=10.3,7.2,4.4,2.6Hz,1H),2.85-2.62(m,2H),1.86-1.69(m,2H),1.63(qd,J=12.7,12.2,4.4Hz,1H),1.52-1.44(m,1H)ppm;¹³C NMR(101MHz,DMSO-d₆) δ150.81,137.91,135.84,128.17,125.36,124.83,118.71,118.61,72.37,70.23,46.81,27.08,24.94,23.44ppm;C₁₄H₁₆N₄O(S MW 288.3),LCMS(EI)m/e 289(M⁺H)。

[0574] 实施例5. 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈和2-((2S,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈



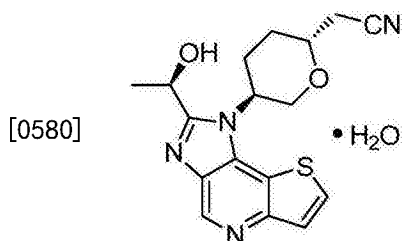
[0576] 在反应器A中,在-10℃至0℃下用Et₃O-BF₄(4405g,22.96mol,3.0当量)处理(R)-(+)-乳酰胺的悬浮液(2045g,22.96mol,3.0当量)于THF(10.1L)中的悬浮液。随后在10℃以下搅拌反应器A中的所得混合物,直至形成澄清溶液。在反应器B中,将2-((2R,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈与2-((2S,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈(2207g,7.65mol)于乙醇(66.2L)中的混合物加热至回流,以获得澄清溶液。随后将反应器A中的溶液逐渐添加至反应器B中的混合物中,同时将反应器B中的混合物维持在回流下。将反应器B中的所得反应混合物维持在回流下,直至HPLC显示反应完毕。随后使反应器B中的反应混合物冷却至10℃至30℃,随后逐渐添加碳酸氢钠水溶液(664g,7.4L)。在添加碳酸氢钠水溶液以调节至pH 8-9期间,将内部温度控制在35℃以下。随后在室温下将所得混合物再搅拌30分钟,随后经硅藻土(1kg)进行过滤。在过滤之后,用乙醇(5.0L)冲洗硅藻土床。在减压下在60℃以下浓缩所合并的滤液,且添加二氯甲烷(17.7L)以溶解残余物。随后用1N HCl水溶液(19.0L)处理所得DCM溶液,以便将水相调节至pH 1。随后在室温下将混合物搅拌30分钟。分离两相且丢弃DCM相。随后用DCM(8.6L)洗涤酸性水相。分离两相且丢弃DCM相。随后依序用乙酸乙酯(30.6L)和固体碳酸钠(540g)处理酸性水相。在室温下搅拌所得混合物,直至水相达到pH 9-10。随后将正庚烷(60.0L)添加至混合物中,且在室温下将所得混合物搅拌至少1h。通过过滤收集固体且

用水 (8.6L) 和正庚烷 (8.6L) 洗涤, 随后溶解于甲醇与DCM的混合物中。随后使所得MeOH与DCM溶液经硅胶床进行过滤, 且用MeOH与DCM混合物 (以体积计1:9) 洗涤硅胶床。在减压下浓缩所合并的溶液, 获得呈白色发泡体状的第一批所要产物 (1450g), 即2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈与2-((2S,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的混合物。随后分离滤液的两相且用DCM (2×25.0L) 萃取水相。在减压下浓缩所合并的有机萃取物, 且通过硅胶柱色谱法 (SiO₂, 用0.5%至7.5% MeOH/DCM进行梯度洗脱), 获得呈白色发泡体状的第二批所要产物 (515g; 总计1965g, 75%), 还呈2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈与2-((2S,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的混合物形式。两种非对映异构体的混合物不可通过硅胶柱色谱法加以分离, 且不经进一步分离即用于随后的反应中。

[0577] 对于 (2R,5S)-异构体: ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 9.00 (s, 1H), 8.03 (d, J=5.5Hz, 1H), 7.69 (d, J=5.5Hz, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.22 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.31 (t, J=11.0Hz, 1H), 4.22-4.08 (m, 1H), 4.02 (s, 1H), 2.96 (dd, J=17.0, 4.2Hz, 1H), 2.84 (dd, J=17.0, 6.6Hz, 1H), 2.65 (qd, J=12.7, 4.3Hz, 1H), 2.19 (d, J=10.0Hz, 1H), 2.06 (d, J=13.4Hz, 1H), 1.72 (dd, J=12.6, 3.7Hz, 1H), 1.66 (d, J=6.5Hz, 3H) ppm; ¹³C NMR (101MHz, DMSO-d₆) δ 157.95, 152.11, 141.57, 136.18, 135.24, 127.98, 126.79, 119.08, 116.12, 72.42, 68.87, 62.95, 51.67, 30.39, 28.44, 24.09, 22.36 ppm; C₁₇H₁₈N₄O₂S (MW 342.4), LCMS (EI) m/e 343 (M⁺+H)。

[0578] 对于 (2S,5S)-异构体: ¹H NMR (400MHz, CD₃CN) δ 8.93 (s, 1H), 7.80 (d, J=5.5Hz, 1H), 7.63 (d, J=5.5Hz, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.00 (dq, J=9.4, 4.7Hz, 1H), 4.43 (dd, J=11.8, 9.3Hz, 1H), 4.26 (dd, J=8.6, 3.7Hz, 1H), 4.16 (s, 1H), 4.03-3.89 (m, 1H), 3.17 (dd, J=17.1, 8.6Hz, 1H), 2.87 (dd, J=17.2, 5.4Hz, 1H), 2.57 (dtd, J=14.8, 10.8, 4.2Hz, 1H), 2.20-1.99 (m, 2H), 1.88-1.82 (m, 1H), 1.73 (d, J=6.4Hz, 3H) ppm; ¹³C NMR (101MHz, CD₃CN) δ 158.04, 152.88, 142.12, 136.81, 136.46, 127.44, 127.14, 119.04, 116.97, 70.00, 64.83, 64.03, 54.55, 28.06, 25.73, 22.46, 21.94 ppm; C₁₇H₁₈N₄O₂S (MW 342.4), LCMS (EI) m/e 343 (M⁺+H)。

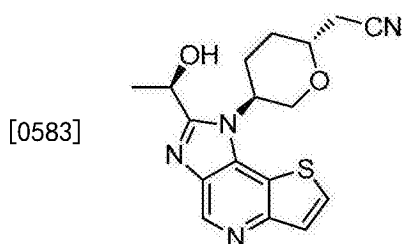
[0579] 实施例6. 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈一水合物 (粗产物)



[0581] 在室温下用1.0M叔丁醇钾的THF溶液 (234mL, 0.234mol, 0.10当量) 处理2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈与2-((2S,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈 (800g, 2.34mol) 于2-丙醇 (IPA, 16L) 中的混合物。在

室温下将所得反应混合物搅拌20h。当HPLC显示碱促进的外消旋反应完毕时,用0.1M HCl水溶液(约2.4L)处理反应混合物以调节至pH 6-7。随后在减压下在50℃以下浓缩混合物,以部分移除IPA(约9.6L),且在室温下用水(10.5L)处理残余物。随后在室温下将所得混合物搅拌2h。通过过滤收集固体,用IPA与水的混合物(2.4L,以体积计1:2)洗涤,且在减压下在50℃以下干燥至恒定重量,获得呈白色固体状的粗制2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈一水合物(657g,78%)。¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆) δ9.00(s,1H),8.03(d,J=5.5Hz,1H),7.69(d,J=5.5Hz,1H),5.96(s,1H),5.22(s,1H),5.11(s,1H),4.31(t,J=11.0Hz,1H),4.22-4.08(m,1H),4.02(s,1H),2.96(dd,J=17.0,4.2Hz,1H),2.84(dd,J=17.0,6.6Hz,1H),2.65(qd,J=12.7,4.3Hz,1H),2.19(d,J=10.0Hz,1H),2.06(d,J=13.4Hz,1H),1.72(dd,J=12.6,3.7Hz,1H),1.66(d,J=6.5Hz,3H)ppm;¹³C NMR(101MHz,DMSO-d₆) δ157.95,152.11,141.57,136.18,135.24,127.98,126.79,119.08,116.12,72.42,68.87,62.95,51.67,30.39,28.44,24.09,22.36ppm;C₁₇H₁₈N₄O₂S(MW342.4),LCMS(EI)m/e 343(M⁺+H);水含量(通过KF):5.15%。

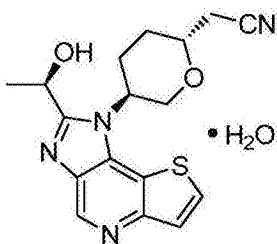
[0582] 实施例7. 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈(无水结晶游离碱)



[0584] 对2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈一水合物(650g,1.80mol)于甲醇(7L)中的溶液进行精过滤,随后在大气压下浓缩以移除甲醇(5L)。随后用乙酸乙酯(8.5L)处理所得经浓缩的溶液,且继续进行大气压蒸馏以移除溶剂(5.3L)。随后在60℃至75℃下将正庚烷(7.8L)逐渐添加至残余混合物中,并且使所得混合物逐渐冷却降至室温且在室温下搅拌至少1.5h。通过过滤收集固体,用正庚烷(2.0L)洗涤,且在真空中在50℃以下干燥至恒定重量,获得呈白色固体状的无水结晶2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈(586g,95%)。¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆) δ9.00(s,1H),8.03(d,J=5.5Hz,1H),7.69(d,J=5.5Hz,1H),5.96(s,1H),5.22(s,1H),5.11(s,1H),4.31(t,J=11.0Hz,1H),4.22-4.08(m,1H),4.02(s,1H),2.96(dd,J=17.0,4.2Hz,1H),2.84(dd,J=17.0,6.6Hz,1H),2.65(qd,J=12.7,4.3Hz,1H),2.19(d,J=10.0Hz,1H),2.06(d,J=13.4Hz,1H),1.72(dd,J=12.6,3.7Hz,1H),1.66(d,J=6.5Hz,3H)ppm;¹³C NMR(101MHz,DMSO-d₆) δ157.95,152.11,141.57,136.18,135.24,127.98,126.79,119.08,116.12,72.42,68.87,62.95,51.67,30.39,28.44,24.09,22.36ppm;C₁₇H₁₈N₄O₂S(MW342.4),LCMS(EI)m/e 343(M⁺+H)。

[0585] 实施例8. 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈一水合物

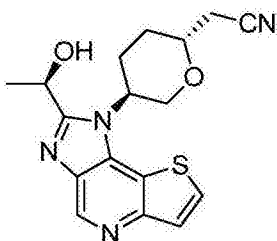
[0586]



[0587] 在室温下将无水结晶2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈(585g,1.71mol)于水(5.9L)中的悬浮液搅拌2h。当XRPD证实无水结晶形式完全转化成一水合物结晶形式时,通过过滤收集固体且用水(2.9L)洗涤。在20℃至50℃下在真空烘箱中或通过从过滤器抽真空来干燥湿滤饼,直至通过KF所分析的水含量为 $5 \pm 0.3\%$,获得呈白色固体状的结晶2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈一水合物(602g,98%)。 ^1H NMR(500MHz,DMSO- d_6) δ 9.00(s,1H),8.03(d,J=5.5Hz,1H),7.69(d,J=5.5Hz,1H),5.96(s,1H),5.22(s,1H),5.11(s,1H),4.31(t,J=11.0Hz,1H),4.22-4.08(m,1H),4.02(s,1H),2.96(dd,J=17.0,4.2Hz,1H),2.84(dd,J=17.0,6.6Hz,1H),2.65(qd,J=12.7,4.3Hz,1H),2.19(d,J=10.0Hz,1H),2.06(d,J=13.4Hz,1H),1.72(dd,J=12.6,3.7Hz,1H),1.66(d,J=6.5Hz,3H)ppm; ^{13}C NMR(101MHz,DMSO- d_6) δ 157.95,152.11,141.57,136.18,135.24,127.98,126.79,119.08,116.12,72.42,68.87,62.95,51.67,30.39,28.44,24.09,22.36ppm;对于 $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$,LCMS计算值:342.4,实测值:343(M^+H);水含量:5.15%。

[0588] 实施例9. 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈(无水结晶游离碱)

[0589]



[0590] 对非晶((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基}四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈(84.5g,247mmol)于甲醇(MeOH,800mL)中的溶液进行精过滤且转移至配备回流冷凝器的五颈5L圆底烧瓶中。使用额外的200mL甲醇洗涤过滤漏斗。向所得甲醇溶液中添加乙酸乙酯(2000mL)并且经30分钟将所得澄清溶液加热至70℃。随后在大气压下蒸馏甲醇与乙酸乙酯的混合物。当所收集的溶剂混合物达到1700mL时再添加2000mL乙酸乙酯且继续进行大气压蒸馏。当所收集的总溶剂混合物达到4000mL时(在约8h内),烧瓶中的剩余溶液变浑浊且逐渐形成固体。继续进行大气压蒸馏,直至所收集的总溶剂混合物达到4250mL,且烧瓶中的剩余溶剂混合物(主要为乙酸乙酯)为约750mL。随后在约70℃下将正庚烷(1150mL)缓慢添加至烧瓶中(EtOAc:正庚烷为约1:1.5),且使所得混合物逐渐冷却至室温。在室温下将混合物再搅拌2至3h以引发结晶。通过过滤收集固体,用正庚烷(2×300mL)洗涤,且在真空烘箱中在50℃下用 N_2 吹扫进行干燥,获得呈白色无水结晶粉末状的((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基}

四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈(78.1g,92.4%)。

[0591] $C_{17}H_{18}N_4O_2S$ (MW 342.42), LCMS (EI) m/e 343 ($M^+ + H$); 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9.00 (s, 1H), 8.03 (d, $J=5.5$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J=5.5$ Hz, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.22 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.30 (t, $J=11.0$ Hz, 1H), 4.17 (s, 1H), 4.02 (s, 1H), 2.96 (dd, $J=17.0, 4.2$ Hz, 1H), 2.86 (dd, $J=17.0, 6.6$ Hz, 1H), 2.76-2.56 (m, 1H), 2.19 (d, $J=10.6$ Hz, 1H), 2.06 (d, $J=13.2$ Hz, 1H), 1.72 (dd, $J=12.6, 3.7$ Hz, 1H), 1.66 (d, $J=6.5$ Hz, 3H) ppm; ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) δ 157.95, 152.11, 141.57, 136.18, 135.24, 127.98, 126.79, 119.08, 116.12, 72.42, 68.87, 62.95, 51.67, 30.39, 28.44, 24.09, 22.36 ppm.; 水含量(通过KF): 1.15重量%。图1中所示的DSC温谱图显示在185.05 $^{\circ}C$ 下开始且在189.71 $^{\circ}C$ 下达到峰值的一个吸热事件,其与化合物熔融有关。在约260 $^{\circ}C$ 下的吸热事件与化合物分解相关。图2中所示的TGA温谱图显示直至200 $^{\circ}C$ 的重量损失为1.25%。在200 $^{\circ}C$ 以上的温度下,由于化合物分解,观察到显著重量损失。测定标题化合物的XRPD图谱且示于图3中。以下表2中提供2 θ 峰的清单。

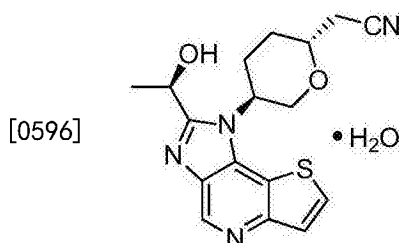
[0592] 表2

| 2 θ | d (A) | 净强度 | 总强度 | 相对强度(%) |
|------------|---------|-------|-------|---------|
| 6.608 | 13.3654 | 608 | 931 | 2.7 |
| 8.802 | 10.0379 | 8330 | 8970 | 37.6 |
| 9.699 | 9.1114 | 1560 | 2280 | 7.0 |
| 10.016 | 8.8244 | 2260 | 3010 | 10.2 |
| 10.574 | 8.3595 | 6020 | 6800 | 27.2 |
| 13.207 | 6.6983 | 2970 | 3870 | 13.4 |
| 14.509 | 6.1000 | 1490 | 2560 | 6.7 |
| 15.092 | 5.8659 | 3980 | 5180 | 18.0 |
| 16.329 | 5.4241 | 21900 | 23300 | 98.8 |
| 16.889 | 5.2454 | 1350 | 2870 | 6.1 |
| 17.554 | 5.0482 | 5510 | 7120 | 24.9 |
| 18.017 | 4.9194 | 4010 | 5680 | 18.1 |
| 19.081 | 4.6474 | 11000 | 12800 | 49.6 |
| 19.726 | 4.4971 | 3490 | 5320 | 15.8 |
| 21.174 | 4.1927 | 7880 | 9770 | 35.6 |
| 21.648 | 4.1018 | 2740 | 4640 | 12.4 |
| 22.466 | 3.9544 | 1080 | 2980 | 4.9 |
| 23.387 | 3.8007 | 3290 | 5160 | 14.9 |
| 24.037 | 3.6993 | 12100 | 13900 | 54.7 |
| 25.096 | 3.5456 | 626 | 2370 | 2.8 |
| 26.204 | 3.3980 | 5000 | 6720 | 22.6 |
| 26.420 | 3.3708 | 6510 | 8220 | 29.4 |
| 26.858 | 3.3169 | 1190 | 2880 | 5.4 |

[0593]

| | | | | | |
|--------|--------|--------|------|------|-----|
| | 27.681 | 3.2201 | 1320 | 2970 | 6.0 |
| | 27.933 | 3.1916 | 1200 | 2830 | 5.4 |
| | 29.318 | 3.0439 | 1060 | 2600 | 4.8 |
| | 31.169 | 2.8672 | 1510 | 2870 | 6.8 |
| | 31.300 | 2.8555 | 1560 | 2910 | 7.1 |
| [0594] | 33.466 | 2.6755 | 607 | 1730 | 2.7 |
| | 35.550 | 2.5233 | 826 | 1820 | 3.7 |
| | 40.831 | 2.2083 | 501 | 1450 | 2.3 |
| | 41.961 | 2.1514 | 966 | 1920 | 4.4 |
| | 44.759 | 2.0232 | 618 | 1520 | 2.8 |
| | 51.694 | 1.7669 | 229 | 1020 | 1.0 |

[0595] 实施例10. 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈一水合物



[0597] 在配备回流冷凝器、热电偶和磁性搅拌棒的2-L圆底烧瓶中加入非晶2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈(93.0g,272mmol)和异丙醇(IPA,1116mL)。将所得悬浮液加热至50℃至55℃以获得澄清溶液。在50℃下通过过滤漏斗对溶液进行精过滤。使用额外量的异丙醇(IPA,47mL)洗涤过滤漏斗。经30分钟向所合并的溶液中添加水(930mL),同时将内部温度维持在45℃至50℃下。在添加水后逐渐出现白色沉淀物。通过在真空下用50℃水浴进行旋转蒸发来移除IPA。在蒸馏期间,添加额外量的水(1209mL)以便将混合物的总体积保持在约1500mL。在真空蒸馏之后,使所得混合物逐渐冷却至室温且在室温下搅拌1至2h。通过过滤收集固体,用水(186mL)洗涤,且在室温下在过滤漏斗上用外罩真空干燥16h,获得呈白色结晶粉末状的2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈一水合物(91.6g,94%)。¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆) δ9.00(s,1H),8.03(d,J=5.5Hz,1H),7.69(d,J=5.5Hz,1H),5.96(s,1H),5.22(s,1H),5.11(s,1H),4.31(t,J=11.0Hz,1H),4.22-4.08(m,1H),4.02(s,1H),2.96(dd,J=17.0,4.2Hz,1H),2.84(dd,J=17.0,6.6Hz,1H),2.65(qd,J=12.7,4.3Hz,1H),2.19(d,J=10.0Hz,1H),2.06(d,J=13.4Hz,1H),1.72(dd,J=12.6,3.7Hz,1H),1.66(d,J=6.5Hz,3H)ppm;¹³C NMR(101MHz,DMSO-d₆) δ157.95,152.11,141.57,136.18,135.24,127.98,126.79,119.08,116.12,72.42,68.87,62.95,51.67,30.39,28.44,24.09,22.36ppm;C₁₇H₁₈N₄O₂S(MW342.42),LCMS(EI)m/e 343(M⁺+H)。水含量(通过KF):5.15重量%。通过DSC测定熔融/分解范围且示于图4中。DSC温谱图显示在69.37℃开始且在106.41℃达到峰值的一个脱水吸热事件,随后为在131.01℃开始且在139.99℃达到峰值的熔融。TGA温谱图(图5)显示直至150℃的重量损失为4.9%,该值对应于一水合物的水含量。在200℃之后,所述化合物开始分解。测定标题化

合物的XRPD图谱且示于图6中。2 θ 峰的清单提供于以下表3中。

[0598] 表3

[0599]

| 2 θ | d (Å) | 净强度 | 总强度 | 相对强度(%) |
|------------|---------|-------|-------|---------|
| 8.477 | 10.4224 | 28200 | 28700 | 91.9 |
| 8.678 | 10.1819 | 14500 | 15000 | 47.3 |
| 11.368 | 7.7776 | 2600 | 3320 | 8.5 |
| 13.150 | 6.7274 | 564 | 1320 | 1.8 |
| 13.568 | 6.5211 | 162 | 922 | 0.5 |
| 14.592 | 6.0656 | 23400 | 24300 | 76.1 |
| 15.064 | 5.8765 | 21200 | 22100 | 69.0 |
| 15.789 | 5.6082 | 9180 | 10100 | 29.9 |
| 16.917 | 5.2369 | 6130 | 7140 | 19.9 |
| 17.427 | 5.0846 | 3000 | 4020 | 9.8 |
| 18.599 | 4.7668 | 7670 | 8720 | 25.0 |
| 19.388 | 4.5747 | 20300 | 21400 | 66.2 |
| 20.160 | 4.4011 | 4640 | 5700 | 15.1 |
| 21.091 | 4.2089 | 6690 | 7710 | 21.8 |
| 21.463 | 4.1368 | 839 | 1840 | 2.7 |
| 22.460 | 3.9554 | 3070 | 4150 | 10.0 |
| 22.871 | 3.8853 | 1370 | 2510 | 4.5 |

| | | | | | |
|--------|--------|--------|-------|-------|------|
| | 23.366 | 3.8040 | 6710 | 7900 | 21.8 |
| | 23.503 | 3.7822 | 8550 | 9750 | 27.8 |
| | 24.518 | 3.6279 | 706 | 2000 | 2.3 |
| | 25.065 | 3.5499 | 29900 | 31200 | 97.3 |
| | 25.674 | 3.4670 | 3830 | 5200 | 12.4 |
| | 25.878 | 3.4401 | 11100 | 12500 | 36.2 |
| | 26.306 | 3.3857 | 12500 | 13900 | 40.7 |
| | 26.547 | 3.3549 | 18100 | 19500 | 58.9 |
| | 27.574 | 3.2323 | 6810 | 8210 | 22.2 |
| | 28.299 | 3.1511 | 717 | 2100 | 2.3 |
| | 28.625 | 3.1160 | 3130 | 4490 | 10.2 |
| | 29.200 | 3.0559 | 1670 | 3000 | 5.4 |
| | 29.828 | 2.9930 | 1100 | 2370 | 3.6 |
| | 30.451 | 2.9332 | 3810 | 5010 | 12.4 |
| | 30.715 | 2.9085 | 5430 | 6600 | 17.7 |
| | 31.001 | 2.8823 | 1830 | 2960 | 6.0 |
| | 31.335 | 2.8524 | 1820 | 2910 | 5.9 |
| | 32.496 | 2.7531 | 420 | 1420 | 1.4 |
| | 33.388 | 2.6815 | 4050 | 5030 | 13.2 |
| | 34.026 | 2.6327 | 1220 | 2180 | 4.0 |
| [0600] | 34.291 | 2.6130 | 861 | 1800 | 2.8 |
| | 35.285 | 2.5416 | 724 | 1630 | 2.4 |
| | 35.729 | 2.5111 | 1990 | 2900 | 6.5 |
| | 36.639 | 2.4507 | 684 | 1590 | 2.2 |
| | 36.931 | 2.4320 | 744 | 1640 | 2.4 |
| | 37.470 | 2.3983 | 2760 | 3630 | 9.0 |
| | 37.686 | 2.3850 | 1160 | 2020 | 3.8 |
| | 39.059 | 2.3043 | 567 | 1430 | 1.8 |
| | 39.713 | 2.2678 | 767 | 1680 | 2.5 |
| | 40.791 | 2.2103 | 908 | 1870 | 3.0 |
| | 41.862 | 2.1563 | 2100 | 3070 | 6.8 |
| | 42.406 | 2.1298 | 511 | 1470 | 1.7 |
| | 43.684 | 2.0704 | 531 | 1430 | 1.7 |
| | 44.647 | 2.0280 | 1760 | 2680 | 5.7 |
| | 45.207 | 2.0042 | 462 | 1430 | 1.5 |
| | 45.857 | 1.9773 | 428 | 1430 | 1.4 |
| | 47.419 | 1.9157 | 1510 | 2540 | 4.9 |
| | 47.976 | 1.8947 | 1750 | 2780 | 5.7 |
| | 48.744 | 1.8667 | 896 | 1890 | 2.9 |
| | 49.480 | 1.8406 | 470 | 1420 | 1.5 |
| | 51.479 | 1.7737 | 811 | 1630 | 2.6 |
| | 52.307 | 1.7476 | 452 | 1270 | 1.5 |
| [0601] | 53.685 | 1.7060 | 321 | 1130 | 1.0 |

[0602] 实施例11.动态气相吸附

[0603] 对实施例9的化合物进行动态气相吸附 (DVS) 研究以监测吸水性、水合物形成和脱水以及固体形式转化。在四个循环中以10%相对湿度 (RH) 增量完成湿气吸收概况分析, 其中第一吸附从25%至95%RH, 随后以10%增量从95%至5%RH进行解吸。平衡标准如下: 5分钟内0.0050wt%, 其中最大平衡时间为180分钟。所有吸附和解吸均在室温 (25°C) 下进行。未对样品进行预干燥步骤。无水形式的水吸附在85%RH以下较缓慢且在85%RH以上较快速。XRPD图谱在DVS前后的变化表明固体形式变化。在DVS循环4之后, 无水形式完全转化成水合形式。在环境储存条件下, 无水形式将缓慢吸收水且转化成水合形式。从水合物形成无水形式的脱水过程非常缓慢, 即使在5%RH下。水合形式在较宽湿度条件范围内具有物理稳定性。气相吸附/解吸等温线示于图7和图8中。DVS前后的XRPD图谱叠加示于图9中。

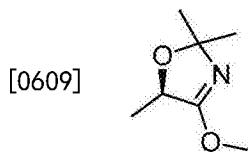
[0604] 实施例12. 湿度室研究A

[0605] 将实施例9的化合物在设定在40°C和75%相对湿度的湿度室中置放5天。通过XRPD、TGA和DSC分析所得样品, 如图10至图12中所示。基于XRPD数据, 无水结晶游离碱转化成结晶水合物形式。水含量 (通过KF) 为4.6%且通过TGA观测到的重量损失为5.01%。

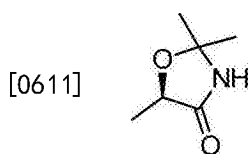
[0606] 实施例13. 湿度室研究B

[0607] 将实施例9的化合物在设定在30°C和90%相对湿度 (RH) 的湿度室中置放7天。通过XRPD、TGA和DSC分析所得样品, 如图13至图15中所示。基于XRPD, 无水结晶游离碱转化成结晶水合物形式。30°C/90%RH样品的XRPD图谱对应于获自无水结晶游离碱原料药的水性悬浮液的水合物形式。水含量 (通过KF) 为4.72%且通过TGA观测到的重量损失为5.05%。

[0608] 实施例14. (R)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氢噁唑



[0610] 步骤1. (R)-2,2,5-三甲基噁唑烷-4-酮

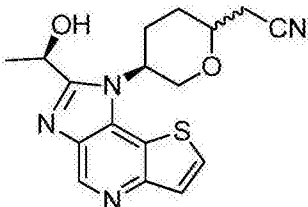


[0612] 在室温下向 (2R)-2-羟基丙酰胺 (30g, 337mmol) 于丙酮中的溶液中添加2,2-二甲氧基丙烷 (51.8mL, 421mmol, 1.25当量) 和三氟化硼乙醚合物 (BF₃-Et₂O, 92.13mL, 16.8mmol, 0.05当量)。随后在室温下将所得反应混合物搅拌隔夜。当TLC指示反应完毕时, 在减压下在35°C以下移除溶剂并且将残余物添加至甲基叔丁基醚 (MTBE, 350mL) 中。用饱和碳酸氢钠 (NaHCO₃) 水溶液 (15mL)、固体碳酸氢钠 (NaHCO₃, 4g) 和固体硫酸钠 (Na₂SO₄, 30g) 处理该溶液且在室温下将所得混合物搅拌30分钟。滤出固体且用甲基叔丁基醚 (MTBE, 50mL) 洗涤。分离所合并的滤液的两相, 并且用水 (30mL) 洗涤有机相且用硫酸钠 (Na₂SO₄, 20g) 干燥。在移除干燥剂之后, 在减压下浓缩滤液且将溶剂换成正己烷以获得所要产物。通过过滤收集固体, 用正己烷洗涤并且干燥, 得到呈白色结晶固体状的所要产物 (R)-2,2,5-三甲基噁唑烷-4-酮 (42g, 97%)。¹H NMR (400MHz, CD₂Cl₂) δ 7.66 (s, 1H), 4.37 (q, J=6.7Hz, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.44 (s, 3H), 1.36 (d, J=6.7Hz, 3H) ppm; ¹³C NMR (101MHz, CD₂Cl₂) δ 175.58 (s), 90.70 (s), 73.76 (s), 29.97 (s), 28.52 (s), 18.60 (s) ppm。

[0613] 步骤2. (R)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氢噁唑

[0614] 在室温下向 (R)-2,2,5-三甲基噁唑烷-4-酮 (20g, 155mmol) 于二氯甲烷 (DCM, 200mL) 中的溶液中添加三甲氧鎇四氟化物 ($\text{Me}_3\text{O}^+\text{BF}_4^-$, 24.1g, 155mmol, 1.0当量)。在室温下将所得反应混合物搅拌6小时。当 $^1\text{H-NMR}$ 指示反应完毕时,将反应混合物添加至二氯甲烷 (DCM, 100mL) 中且冷却至 0°C 至 5°C 。随后用2M碳酸钠水溶液 (Na_2CO_3 , 230mL) 处理所得溶液,同时将内部温度维持在 0°C 至 5°C 。分离两相且用水 ($2 \times 100\text{mL}$) 洗涤有机相,经硫酸钠 (Na_2SO_4 , 50g) 干燥且在减压下浓缩,得到呈黄色油状的粗制所要产物 (R)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氢噁唑 (19g, 87%), 其不经进一步纯化即可直接用于随后的反应中。通过真空蒸馏获得呈无色油状的纯所要产物 (12g; 在50mba下的沸点为 50°C)。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CD_2Cl_2) δ 4.58 (q, $J=6.6\text{Hz}$, 1H), 3.80 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.29 (d, $J=6.6\text{Hz}$, 3H) ppm; $^{13}\text{C NMR}$ (101MHz, CD_2Cl_2) δ 169.80 (s), 103.90 (s), 75.08 (s), 56.46 (s), 30.50 (s), 28.69 (s), 20.07 (s) ppm。

[0615] 实施例15. 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈和2-((2S,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的替代制备



[0616]

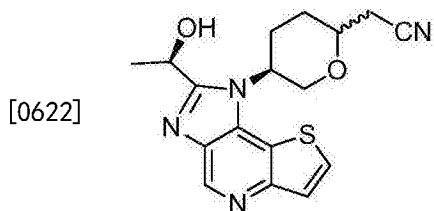
[0617] 在室温下向烧瓶中添加 (R)-2,2,5-三甲基噁唑烷-4-酮 (6.7g, 52mmol)、三甲氧鎇四氟硼酸盐 ($\text{Me}_3\text{O}^+\text{BF}_4^-$, 7.7g, 52mmol) 和无水二氯甲烷 (DCM, 50mL)。随后在室温下将所得混合物搅拌2小时。当 $^1\text{H NMR}$ 显示 (R)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氢噁唑的形成已完毕时,在室温下向反应混合物中加入2-((2R,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈与2-((2S,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的混合物(实施例4, 5.0g, 17.3mmol)。随后通过向反应混合物中添加甲醇并且蒸馏以移除二氯甲烷而将溶剂换成甲醇 (80mL)。随后将所得反应混合物加热至 65°C 后维持1.5小时。当HPLC显示反应完毕时,在减压下移除溶剂且用二氯甲烷 (80mL) 处理残余物。随后依序用饱和碳酸氢钠水溶液 (NaHCO_3 , 10mL) 和固体 NaHCO_3 (11.6g, 139mmol) 处理所得混合物,随后在室温下搅拌30min。使混合物经 Na_2SO_4 干燥且过滤液体。通过过滤移除固体且分离滤液的两相。用水 ($2 \times 25\text{mL}$) 洗涤有机相,经 Na_2SO_4 干燥并浓缩。随后将残余物溶解于0.1M盐酸 (HCl) 水溶液中,且用二氯甲烷 ($2 \times 20\text{mL}$) 洗涤所得酸性水溶液。随后用 NaHCO_3 中和酸性水溶液,以使粗制所要产物沉淀。通过过滤收集固体,用水洗涤并且干燥,得到呈2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈与2-((2S,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的混合物形式的所要产物 (5.0g, 产率84%)。

[0618] 两种对映异构体的混合物不可通过硅胶柱色谱法分离,且不经进一步分离即直接用于随后的反应中(参见例如实施例6)。

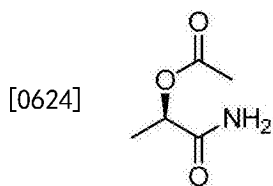
[0619] 对于(2R,5S)-异构体:¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆) δ9.00(s,1H),8.03(d,J=5.5Hz,1H),7.69(d,J=5.5Hz,1H),5.96(s,1H),5.22(s,1H),5.11(s,1H),4.31(t,J=11.0Hz,1H),4.22-4.08(m,1H),4.02(s,1H),2.96(dd,J=17.0,4.2Hz,1H),2.84(dd,J=17.0,6.6Hz,1H),2.65(qd,J=12.7,4.3Hz,1H),2.19(d,J=10.0Hz,1H),2.06(d,J=13.4Hz,1H),1.72(dd,J=12.6,3.7Hz,1H),1.66(d,J=6.5Hz,3H) ppm;¹³C NMR(101MHz,DMSO-d₆) δ 157.95,152.11,141.57,136.18,135.24,127.98,126.79,119.08,116.12,72.42,68.87,62.95,51.67,30.39,28.44,24.09,22.36ppm;C₁₇H₁₈N₄O₂S(MW 342.4),LCMS(EI)m/e 343(M⁺+H)。

[0620] 对于(2S,5S)-异构体:¹H NMR(400MHz,CD₃CN) δ8.93(s,1H),7.80(d,J=5.5Hz,1H),7.63(d,J=5.5Hz,1H),5.38(s,1H),5.00(dq,J=9.4,4.7Hz,1H),4.43(dd,J=11.8,9.3Hz,1H),4.26(dd,J=8.6,3.7Hz,1H),4.16(s,1H),4.03-3.89(m,1H),3.17(dd,J=17.1,8.6Hz,1H),2.87(dd,J=17.2,5.4Hz,1H),2.57(dtd,J=14.8,10.8,4.2Hz,1H),2.20-1.99(m,2H),1.88-1.82(m,1H),1.73(d,J=6.4Hz,3H) ppm;¹³C NMR(101MHz,CD₃CN) δ 158.04,152.88,142.12,136.81,136.46,127.44,127.14,119.04,116.97,70.00,64.83,64.03,54.55,28.06,25.73,22.46,21.94ppm;C₁₇H₁₈N₄O₂S(MW 342.4),LCMS(EI)m/e 343(M⁺+H)。

[0621] 实施例16. 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈和2-((2S,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的替代制备



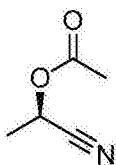
[0623] 步骤1. (R)-乙酸-1-氨基-1-氧代丙-2-基酯



[0625] 在室温下,在氮气下向配备回流冷凝器、氮气入口、热电偶和磁性搅拌棒的1-L三颈圆底烧瓶中加入(R)-2-羟基丙酰胺(49.95g,543.8mmol)和四氢呋喃(THF,300mL)。通过冰-水浴将所得黄色溶液冷却至0℃至5℃,随后加入乙酰氯(40.60mL,571.0mmol,1.05当量),同时将内部温度维持在20℃以下。在内部温度降回5℃以下之后,加入4-甲基吗啉(59.2mL,538.0mmol,0.99当量),同时将内部温度维持在10℃以下。随后在室温下将所得反应混合物搅拌4小时,随后过滤混合物以移除固体。用THF(60mL)洗涤固体且在减压下浓缩滤液,获得呈白色至灰白色固体状的粗制所要产物(R)-乙酸-1-氨基-1-氧代丙-2-基酯(75.0g,105.2%),其不经进一步纯化即直接用于下一反应中。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 7.42(s,1H),7.14(s,1H),4.84(q,J=7.6Hz,1H),2.03(s,3H),1.29(d,J=7.6Hz,3H) ppm。

[0626] 步骤2. (R)-乙酸-1-氰基乙酯

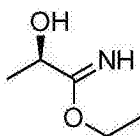
[0627]



[0628] 在氮气下向配备回流冷凝器、氮气入口、热电偶和磁性搅拌棒的3-L三颈圆底烧瓶中加入粗制(R)-乙酸-1-氨基-1-氧代丙-2-基酯(70.0g, 533.8mmol)和N,N-二甲基甲酰胺(DMF, 280mL)。随后在室温下用含氰尿酸氯(44.0g, 240.0mmol)的2-甲氧基-2-甲基丙烷(TBME, 600mL)处理所得淡黄色溶液。在室温下将反应混合物搅拌16小时。过滤白色固体且用TBME(800mL)洗涤。依序用饱和碳酸氢钠水溶液(NaHCO₃, 200mL)、水(4×200mL)和盐水(100mL)洗涤所合并的有机滤液。随后用无水MgSO₄(15g)干燥所得有机相,且在减压下浓缩,获得呈无色至淡黄色油状的粗制所要产物(R)-乙酸-1-氰基乙酯(42.03g, 69.6%),其不经进一步纯化即直接用于随后的反应中。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ5.46(q, J=7.6Hz, 1H), 2.09(s, 3H), 1.53(d, J=7.6Hz, 3H) ppm。

[0629] 步骤3. (R)-2-羟基丙亚胺酸乙酯

[0630]



[0631] 在室温下向配备磁性搅拌棒的100mL圆底烧瓶中加入粗制(R)-乙酸-1-氰基乙酯(1.021g, 8.665mmol)和乙醇(EtOH, 1.518mL, 26.0mmol)。随后将所得溶液冷却至-40℃,随后在氯化氢(HCl)气体中鼓泡45秒。随后使反应混合物逐渐升温至室温。在16小时之后,使反应混合物冷却至0℃,随后依序加入四氢呋喃(THF, 2.0mL, 25mmol)和4-甲基吗啉(0.865mL, 7.87mmol)。通过过滤移除固体且处于滤液中的粗制所要产物(R)-2-羟基丙亚胺酸乙酯不经进一步纯化即直接用于随后的反应中。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ11.14(s, 1H), 4.52-4.40(m, 3H), 1.36-1.31(m, 6H) ppm。

[0632] 步骤4. 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈和2-((2S,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈

[0633] 在室温下,在氮气下向配备氮气入口、热电偶和磁性搅拌棒的三颈100-mL圆底烧瓶中加入含2-((2R,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈与2-((2S,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基氨基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的混合物(实施例4, 0.30g, 1.04mmol)的乙醇(EtOH, 4.0mL)。随后将混合物加热至80℃以获得澄清溶液,随后在80℃下向乙醇溶液中添加先前步骤中所产生的粗制(R)-2-羟基丙亚胺酸乙酯于THF中的溶液。当如HPLC所指示,1小时之后反应完毕时,使反应混合物冷却至室温。过滤经冷却的反应混合物且在减压下浓缩滤液,获得呈2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈与2-((2S,5S)-5-(2-((R)-1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氢-2H-吡喃-2-基)乙腈的混合物形式的粗制所要产物(0.3g, 产率84%),其不可通过硅胶柱色谱法分离且不经进一步分离即直接用于随后的反应中(参见例如实施例6)。

[0634] 对于(2R,5S)-异构体:¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ9.00(s, 1H), 8.03(d, J=5.5Hz,

1H), 7.69 (d, J=5.5Hz, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.22 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.31 (t, J=11.0Hz, 1H), 4.22-4.08 (m, 1H), 4.02 (s, 1H), 2.96 (dd, J=17.0, 4.2Hz, 1H), 2.84 (dd, J=17.0, 6.6Hz, 1H), 2.65 (qd, J=12.7, 4.3Hz, 1H), 2.19 (d, J=10.0Hz, 1H), 2.06 (d, J=13.4Hz, 1H), 1.72 (dd, J=12.6, 3.7Hz, 1H), 1.66 (d, J=6.5Hz, 3H) ppm; ¹³C NMR (101MHz, DMSO-d₆) δ 157.95, 152.11, 141.57, 136.18, 135.24, 127.98, 126.79, 119.08, 116.12, 72.42, 68.87, 62.95, 51.67, 30.39, 28.44, 24.09, 22.36 ppm; C₁₇H₁₈N₄O₂S (MW 342.4), LCMS (EI) m/e 343 (M⁺+H)。

[0635] 对于(2S,5S)-异构体:¹H NMR (400MHz, CD₃CN) δ 8.93 (s, 1H), 7.80 (d, J=5.5Hz, 1H), 7.63 (d, J=5.5Hz, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.00 (dq, J=9.4, 4.7Hz, 1H), 4.43 (dd, J=11.8, 9.3Hz, 1H), 4.26 (dd, J=8.6, 3.7Hz, 1H), 4.16 (s, 1H), 4.03-3.89 (m, 1H), 3.17 (dd, J=17.1, 8.6Hz, 1H), 2.87 (dd, J=17.2, 5.4Hz, 1H), 2.57 (dtd, J=14.8, 10.8, 4.2Hz, 1H), 2.20-1.99 (m, 2H), 1.88-1.82 (m, 1H), 1.73 (d, J=6.4Hz, 3H) ppm; ¹³C NMR (101MHz, CD₃CN) δ 158.04, 152.88, 142.12, 136.81, 136.46, 127.44, 127.14, 119.04, 116.97, 70.00, 64.83, 64.03, 54.55, 28.06, 25.73, 22.46, 21.94 ppm; C₁₇H₁₈N₄O₂S (MW 342.4), LCMS (EI) m/e 343 (M⁺+H)。

[0636] 实施例A:体外JAK激酶检定

[0637] 根据Park等人, *Analytical Biochemistry* 1999, 269, 94-104中所描述的以下体外检定测试本文中的化合物对JAK靶标的抑制活性。使用杆状病毒在昆虫细胞中表达人JAK1的催化域(a.a.837-1142)、JAK2的催化域(a.a.828-1132)和JAK3的催化域(a.a.781-1124)并且纯化。通过测量生物素标记肽的磷酸化来检定JAK1、JAK2或JAK3的催化活性。通过均相时间分辨荧光(HTRF)来检测磷酸化肽。针对各激酶,在含有处于含100mM NaCl、5mM DTT和0.1mg/mL(0.01%)BSA的50mM Tris(pH 7.8)缓冲液中的所述酶、ATP和500nM肽的40μL反应物中测量化合物的IC₅₀。对于1mM IC₅₀测量,反应物中的ATP浓度为1mM。在室温下进行反应1小时,且随后用20μL含45mM EDTA、300nM SA-APC、6nM Eu-Py20的检定缓冲液(Perkin Elmer, Boston, MA)终止。与经销标记的抗体结合40分钟,且在PHERA星形培养盘读数器(BMG, Cary, NC)上测量HTRF信号。在实施例A检定中在1mM ATP下测试式Ia化合物,且发现其在JAK1下的IC₅₀≤100nM且在JAK2下的IC₅₀≤1000nM,其中JAK2/JAK1比率>10。

[0638] 实施例B:细胞检定

[0639] 可将依赖于细胞因子且因此依赖于JAK/STAT信号转导以便生长的癌细胞系以6000个细胞/孔(96孔培养盘形式)铺涂于RPMI 1640、10%FBS和1nG/mL适当细胞因子中。可将化合物添加至DMSO/培养基(最终浓度0.2%DMSO)中的细胞中,且在37°C、5%CO₂下培育72小时。依序使用CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay(Promega)和TopCount(Perkin Elmer, Boston, MA)定量来评定化合物对细胞活力的效应。使用具有相同检定读出值的非JAK驱动细胞系来平行测量化合物的潜在脱靶效应。典型地,所有实验均以一式两份进行。

[0640] 还可使用以上细胞系来检查化合物对JAK激酶或潜在下游底物(诸如STAT蛋白、Akt、Shp2或Erk)的磷酸化的效应。可在隔夜细胞因子饥饿之后进行这些实验,随后与化合物一起短暂预培育(2小时或更短),且进行细胞因子刺激约1小时或更短。随后从细胞中提取蛋白质,并且使用可区分磷酸化蛋白与总蛋白的抗体,通过本领域技术人员所熟知的技

术加以分析,包括蛋白质印迹法或ELISA。这些实验可利用正常细胞或癌细胞来研究化合物对肿瘤细胞存活生物学或炎症性疾病介体的活性。举例而言,关于后者,可使用诸如IL-6、IL-12、IL-23或IFN的细胞因子刺激JAK活化,从而引起STAT蛋白磷酸化且可能引起转录谱(通过阵列或qPCR技术加以评定)或蛋白质(诸如IL-17)的产生和/或分泌。可使用本领域技术人员常用的技术来测量化合物抑制这些细胞因子介导的效应的能力。为了评定化合物对JAK2的效应,可用诸如GM-CSF或Tpo的JAK2依赖性生长因子刺激初代细胞或细胞系,从细胞中提取蛋白质,且使用可区分磷酸化蛋白与总蛋白的抗体,通过本领域技术人员所熟知的技术(包括蛋白质印迹法或ELISA)加以分析。

[0641] 还可在设计用于评估本文中的化合物对突变JAK(例如脊髓增生性病症中发现的JAK2V617F突变)的效力和活性的细胞模型中对其进行测试。这些实验通常利用异位表达野生型或突变JAK激酶的血液学谱系细胞因子依赖性细胞(例如BaF/3)(James, C.等人, Nature 434:1144-1148; Staerk, J.等人 JBC 280:41893-41899)。终点包括化合物对细胞存活、增殖和磷酸化JAK、STAT、Akt或Erk蛋白的效应。

[0642] 可评估本文中的某些化合物抑制T细胞增殖的活性。此种检定可被视为第二细胞因子(即JAK)驱动增殖检定且还为免疫抑制或免疫活化抑制的简单检定。以下为可以何种方式进行此类实验的简要陈述。使用Ficoll Hypaque分离法由人全血样品制备周围血液单核细胞(PBMC),且可通过淘析由PBMC获得T细胞(2000级分)。可在37°C下将新分离的人T细胞以 2×10^6 个细胞/ml的密度在培养基(补充有10%胎牛血清、100U/ml青霉素、100 μ g/ml链霉素的RPMI 1640)中维持多达2天。对于IL-2刺激的细胞增殖分析,首先用植物细胞凝集素(PHA)以10 μ g/ml的最终浓度将T细胞处理72小时。在用PBS洗涤一次之后,以6000个细胞/孔铺涂于96孔培养盘中且在100U/ml人IL-2(ProSpec-Tany TechnoGene; Rehovot, Israel)存在下在培养基中用化合物以不同的浓度进行处理。在37°C下将培养盘培育72h且使用CellTiter-Glo Luminescent试剂,按照制造商建议的方案(Promega; Madison, WI)评定增殖指数。

[0643] 实施例C:体内抗肿瘤效力

[0644] 可在人肿瘤异种移植模型中在免疫受损小鼠中评估本文中的化合物。举例而言,可使用INA-6浆细胞瘤细胞系的致瘤性变体经皮下接种SCID小鼠(Burger, R.等人, Hematol J. 2:42-53, 2001)。随后可将携带肿瘤的动物随机分入药物处理组或媒介物处理组,且可通过许多通常途径(包括经口、经腹膜内或使用可植入泵连续输注)中的任一种施用不同剂量的化合物。使用测径规追踪一定时间内的肿瘤生长。此外,可在开始处理之后的任何时间收集肿瘤样品以便如上文所描述(实施例B)加以分析,从而评估化合物对JAK活性和下游信号传导途径的效应。另外,可使用由其它已知激酶驱动(例如Bcr-Ab1)的异种移植肿瘤模型(诸如K562肿瘤模型)来评定化合物的选择性。

[0645] 实施例D:鼠类皮肤接触延迟型过敏性反应测试

[0646] 还可在T细胞驱动的鼠类延迟型过敏性测试模型中测试本文中的化合物(抑制JAK靶标)的效力。鼠类皮肤接触延迟型过敏性(DTH)反应被视为临床接触性皮炎和其它T淋巴细胞介导的皮肤免疫病症(诸如银屑病)的有效模型(Immunol Today. 1998年1月; 19(1): 37-44)。鼠类DTH与银屑病共有多种特征,包括免疫浸润、伴随炎症性细胞因子增加和角质细胞过度增殖。此外,在临床治疗银屑病方面有效的许多类别药剂也是小鼠中的DTH反应的

有效抑制剂 (Agents Actions.1993年1月;38 (1-2):116-21)。

[0647] 在第0天和第1天,通过向Balb/c小鼠的经剃刮腹部局部施用抗原2,4-二硝基-氟苯 (DNFB) 对其进行致敏。在第5天,使用工程师用测微计测量耳部的厚度。记录此测量值且用作基线。随后通过局部施用总计20 μ L (内耳壳上10 μ L和外耳壳上10 μ L) 的DNFB (浓度0.2%) 对动物双耳进行攻击。在攻击之后24至72小时,再次测量耳部。在致敏和攻击阶段中 (第-1天至第7天) 或在攻击阶段之前或攻击阶段中 (通常在第4天至第7天午后) 用测试化合物进行处理。全身或局部 (向耳部局部施用处理) 施用测试化合物处理 (以不同的浓度)。与未经处理的情况相比,耳部肿胀减轻指示测试化合物的效力。引起20%或更大程度的减轻的化合物被视为有效的。在一些实验中,对小鼠进行攻击而非致敏 (阴性对照)。

[0648] 可通过免疫组织化学分析来证实测试化合物的抑制效应 (抑制JAK-STAT途径活化)。JAK-STAT途径活化引起功能转录因子的形成和移位。此外,免疫细胞流入和角质细胞增殖增加还将在耳部提供可研究和定量的独特表达谱。使用与磷酸化STAT3 (克隆58E12, Cell Signaling Technologies) 特异性相互作用的抗体对经福尔马林固定且经石蜡包埋的耳部切片 (在DTH模型中的攻击阶段之后收集) 进行免疫组织化学分析。在比较用DTH模型中,用测试化合物、媒介物或地塞米松 (临床上有效的银屑病治疗) 处理小鼠耳部或不进行任何处理。测试化合物和地塞米松均可定性且定量地产生相似转录变化,且测试化合物和地塞米松均可减少浸润细胞数目。全身和局部施用测试化合物均可产生抑制效应,即,减少浸润细胞数目和抑制转录变化。

[0649] 实施例E: 体内消炎活性

[0650] 可在设计用于复制单一或复杂炎症反应的啮齿动物或非啮齿动物模型中评估本文中的化合物。举例而言,可使用关节炎的啮齿动物模型来评估预防性或治疗性给与的化合物的治疗潜力。这些模型包括但不限于小鼠或大鼠胶原蛋白诱导型关节炎、大鼠佐剂诱导型关节炎和胶原蛋白抗体诱导型关节炎。自体免疫性疾病,包括但不限于多发性硬化、I型糖尿病、葡萄膜炎、甲状腺炎、重症肌无力、免疫球蛋白肾病、心肌炎、气管敏化 (哮喘)、狼疮或结肠炎,还可用于评估本文中的化合物的治疗潜力。这些模型在研究学会中已充分确立且为本领域技术人员所熟知 (Current Protocols in Immunology, 第3卷, Coligan, J.E. 等人, Wiley Press; Methods in Molecular Biology: 第225卷, Inflammation Protocols., Winyard, P.G. 和 Willoughby, D.A., Humana Press, 2003)。

[0651] 实施例F: 用于治疗干眼症、葡萄膜炎和结膜炎的动物模型

[0652] 可在本领域技术人员已知的一个或多个干眼症临床前模型中评估药剂,包括但不限于兔刀豆凝集素A (ConA) 泪腺模型、东莨菪碱小鼠模型 (皮下或经皮)、肉毒菌小鼠泪腺模型或引起眼部腺体功能障碍的许多自发性啮齿动物自体免疫性模型 (例如NOD-SCID、MRL/lpr或NZB/NZW) 中的任一种 (Barabino等人, Experimental Eye Research 2004, 79, 613-621; 和 Schrader 等人, Developmental Ophthalmology, Karger 2008, 41, 298-312, 各文献以全文引用的方式并入本文中)。这些模型中的终点可包括眼部腺体和眼部 (角膜等) 的组织病理学和可能包括测量泪液产生的经典Schirmer测试或其改进型式 (Barabino等人)。可通过经由多种施用途径 (例如全身或局部) 给药来评定活性, 此举可在可测量的疾病存在前后开始。

[0653] 可在本领域技术人员已知的一个或多个临床前葡萄膜炎模型中评估药剂。这些包

包括但不限于实验自体免疫性葡萄膜炎 (EAU) 和内毒素诱导型葡萄膜炎 (EIU) 模型。EAU 实验可在兔、大鼠或小鼠中进行且可包括被动或主动免疫。举例而言,任何数目的视网膜抗原均可用于使动物对相关免疫原敏感,此后可用同一抗原对动物进行眼部攻击。EIU 模型更严重且包括局部或全身施用亚致死剂量的脂多糖。EIU 和 EAU 模型两者的终点可尤其包括眼底检查、组织病理学。Smith 等人已综述这些模型 (Immunology and Cell Biology 1998, 76, 497-512, 该文献以全文引用的方式并入本文中)。可通过经由多种施用途径 (例如全身或局部) 给药来评定活性,此举可在可测量的疾病存在前后开始。以上列出的一些模型还可发展巩膜炎/巩膜表层炎、脉络膜炎、睫状体炎或虹膜炎,且因此可用于研究化合物用于对这些疾病进行治疗性治疗的潜在活性。

[0654] 还可在本领域技术人员已知的一个或多个临床前结膜炎模型中评估药剂。这些包括但不限于利用豚鼠、大鼠或小鼠的啮齿动物模型。豚鼠模型包括利用以诸如卵清蛋白的抗原或豚草进行的主动或被动免疫和/或免疫攻击方案的模型 (综述于 Groneberg, D. A. 等人, Allergy 2003, 58, 1101-1113 中, 该文献以全文引用的方式并入本文中)。大鼠和小鼠模型与豚鼠模型 (还由 Groneberg 综述) 大体上相似。可通过经由多种施用途径 (例如全身或局部) 给药来评定活性,此举可在可测量的疾病存在前后开始。此类研究的终点可包括例如对诸如结膜的眼部组织的组织学、免疫学、生物化学或分子分析。

[0655] 实施例 G: 体内骨保护

[0656] 可在本领域技术人员已知的各种骨量减少症、骨质疏松症或骨吸收临床前模型中评估化合物。举例来说,可使用切除卵巢的啮齿动物来评估化合物影响骨重建和/或密度的标识和标记物的能力 (W. S. S. Jee 和 W. Yao, J. Musculoskel. Nueron. Interact., 2001, 1 (3), 193-207, 该文献以全文引用的方式并入本文中)。或者,可在疗法 (例如糖皮质激素) 诱导型骨量减少症模型中的对照或经化合物处理的啮齿动物中评估骨密度和结构 (Yao 等人, Arthritis and Rheumatism, 2008, 58 (6), 3485-3497; 和 id. 58 (11), 1674-1686, 所述两文献以全文引用的方式并入本文中)。另外,可在上述啮齿动物关节炎模型 (实施例 E) 中评估化合物对骨吸收和密度的效应。所有这些模型的终点可能变化,但通常包括组织学和放射性评定以及骨重建的免疫组织学和适当生物化学标记物。

[0657] 实施例 H: S100A9 转基因小鼠模型

[0658] 先前已证明 S100A9 转基因小鼠显示 MDSC 骨髓累积伴随发展渐进性多谱系血细胞减少症和细胞学发育不良,与 MDS 相似。此外,通过全反式视黄酸治疗或活性携带基于免疫受体酪氨酸的活化基序 (携带 ITAM) 的连接蛋白 (DAP12) 干扰 CD33 信号传导达成 MDSC 早期强制成熟来挽救血液学表型且缓解该疾病。此系统可可用于在临床前模型中测试 JAK1 抑制对类 MDS 疾病的效应。J. Clin. Invest., 123 (11): 4595-4611 (2013)。因此,通过经口管饲给与 JAK1 选择性抑制剂。监测化合物减轻 S100A9 转基因小鼠中所观察到的血细胞减少症和细胞学发育不良的能力。

[0659] 根据先前描述,对本发明的各种修改以及本文中所描述的修改对于本领域技术人员将显而易见。此类修改还意欲属于所附权利要求书的范围内。2013 年 10 月 31 日提交的美国序列号 14/068,796 以全文引用的方式并入本文中。本申请中所引用的各参考文献,包括所有专利、专利申请和公开案均以全文引用的方式并入本文中。

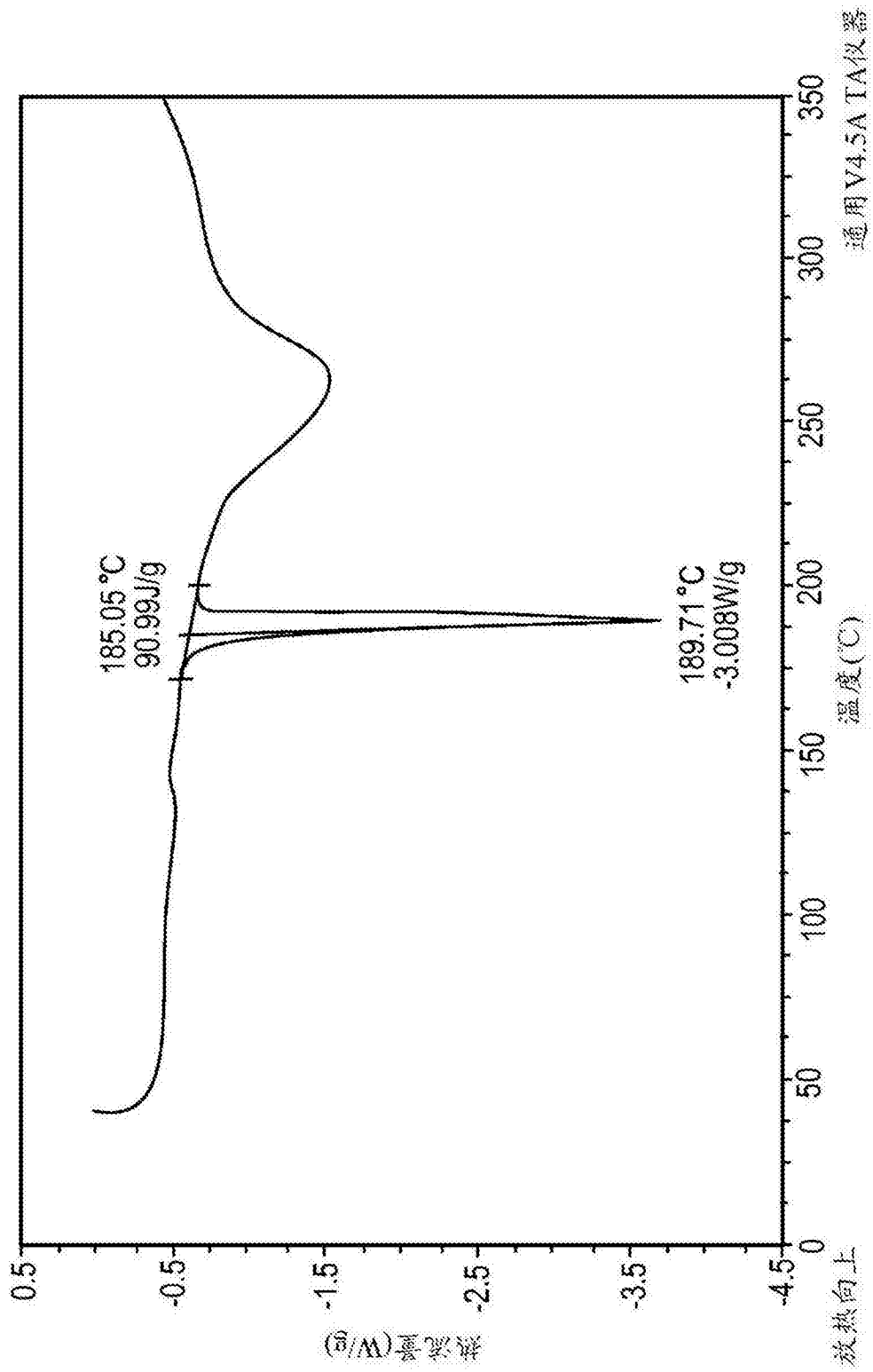


图1

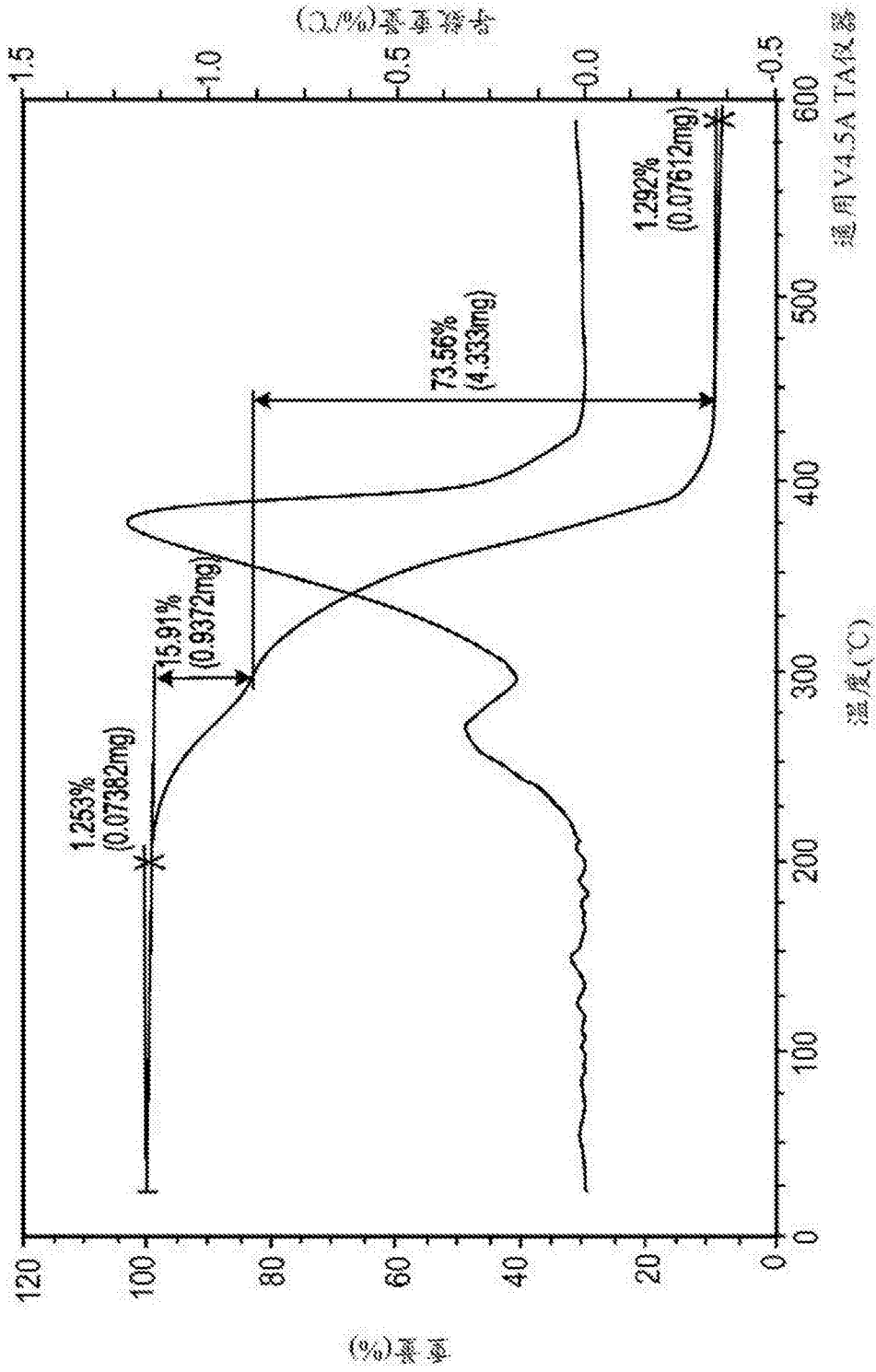


图2

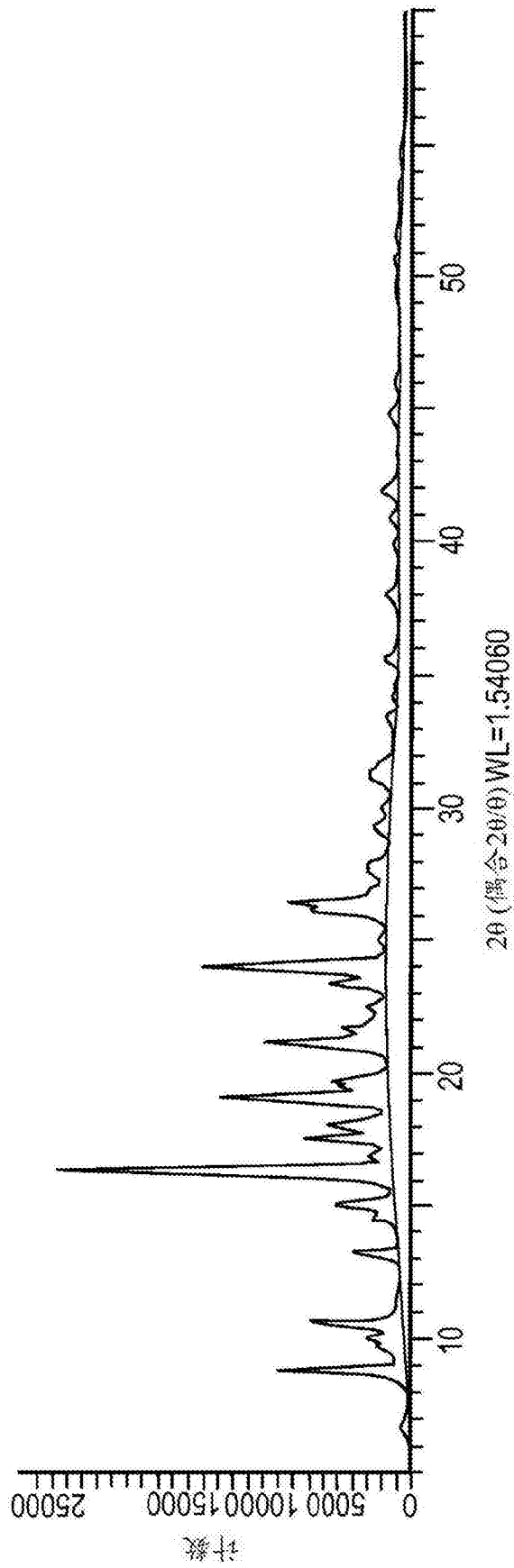


图3

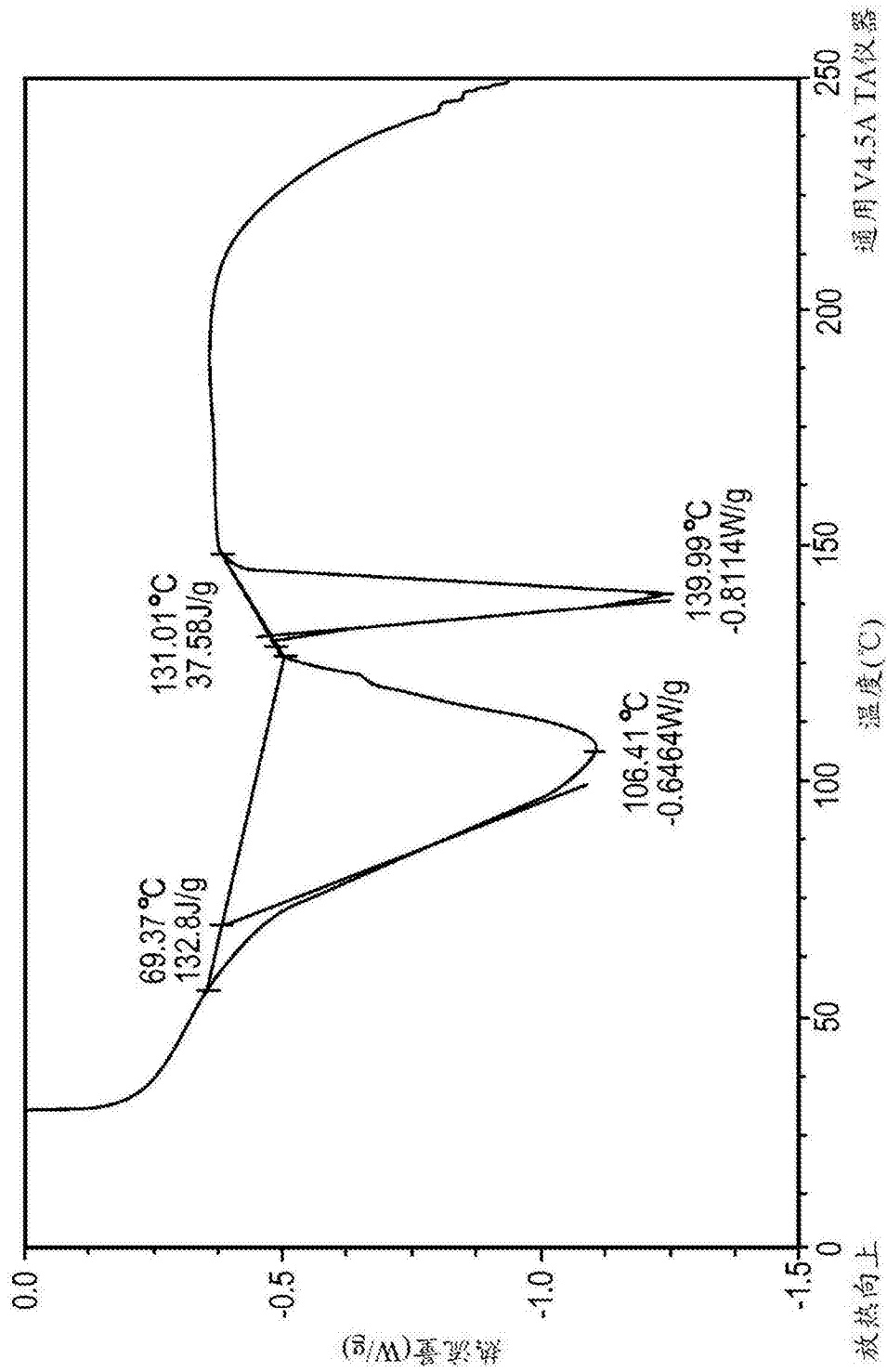


图4

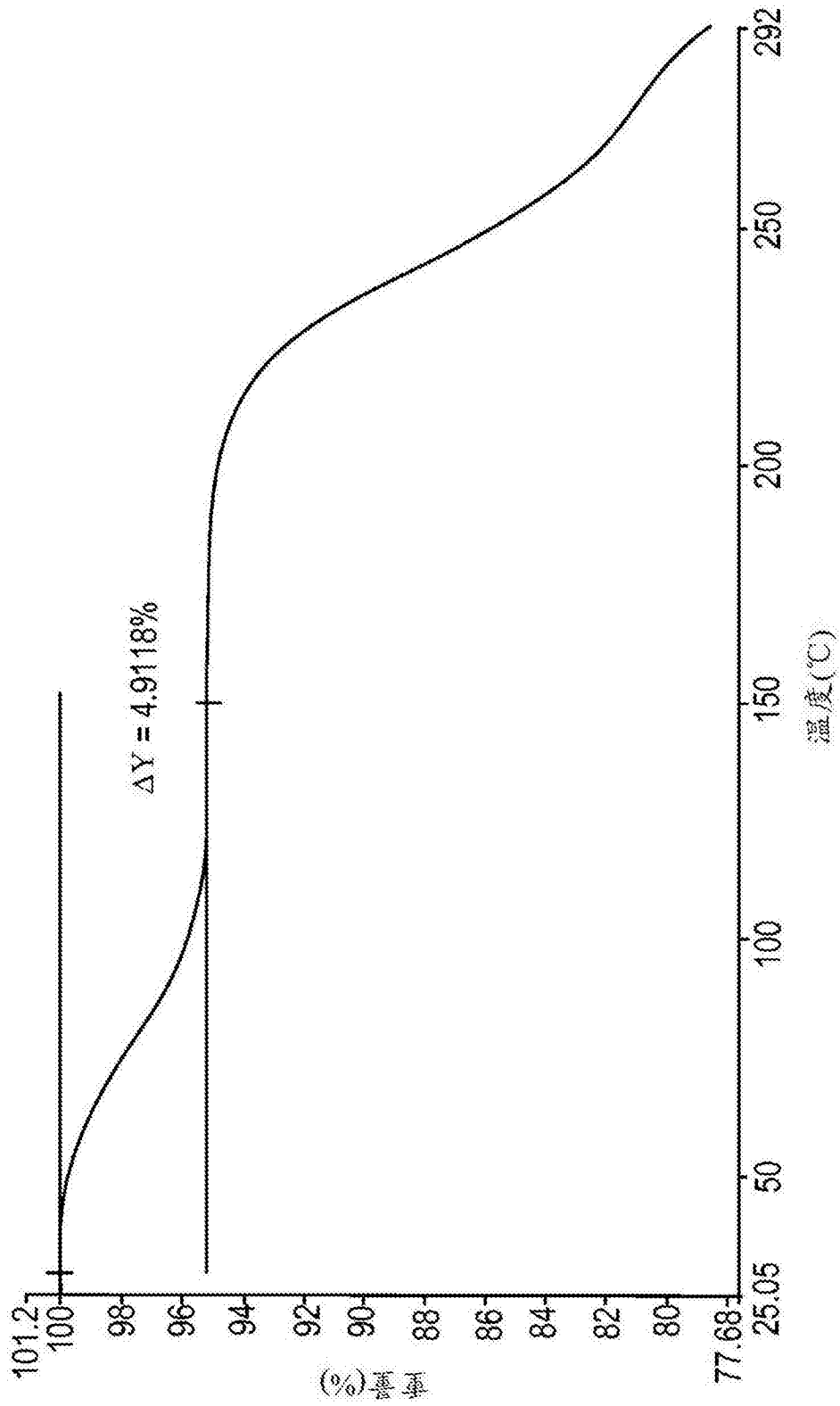


图5

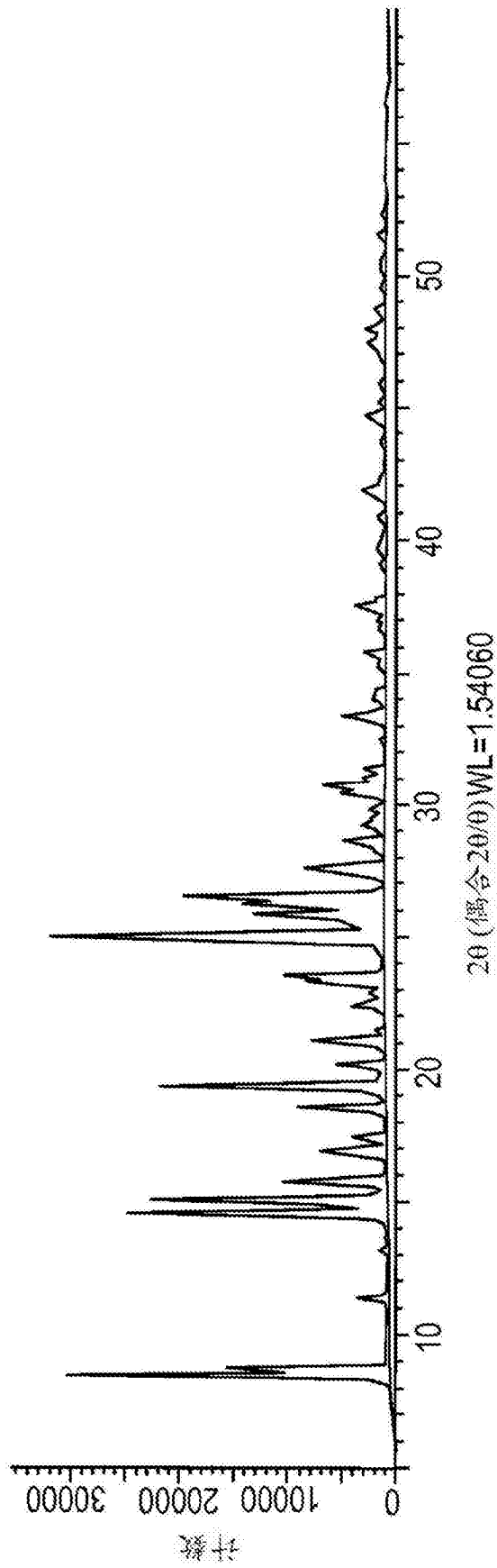


图6

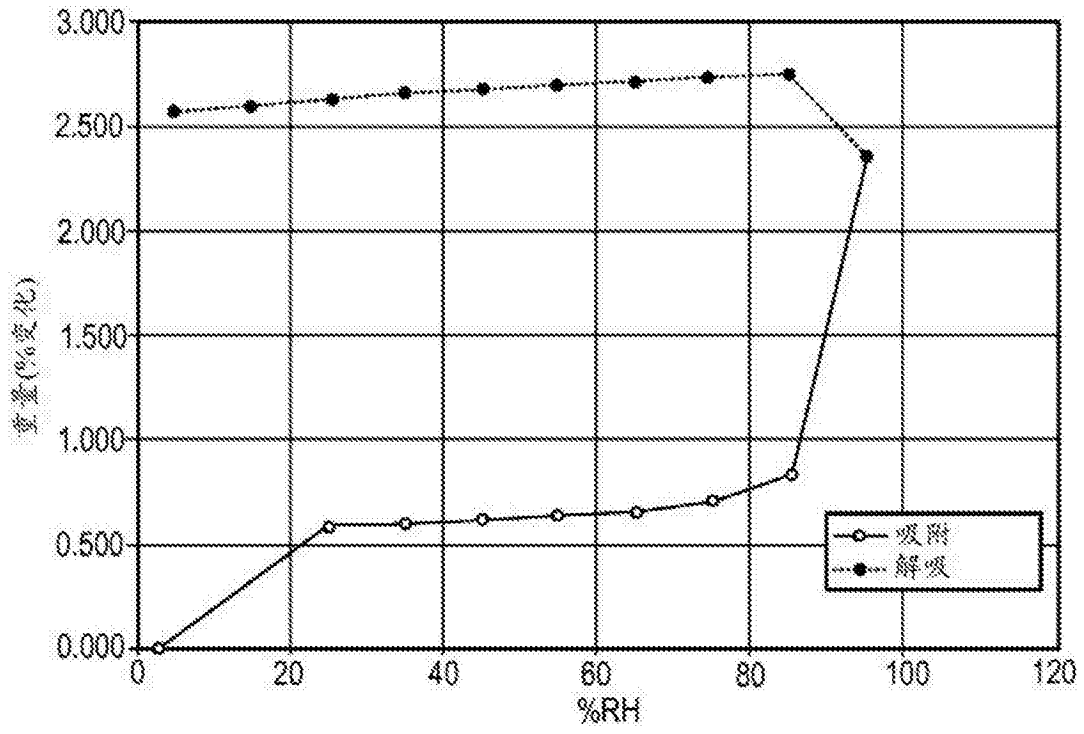


图7

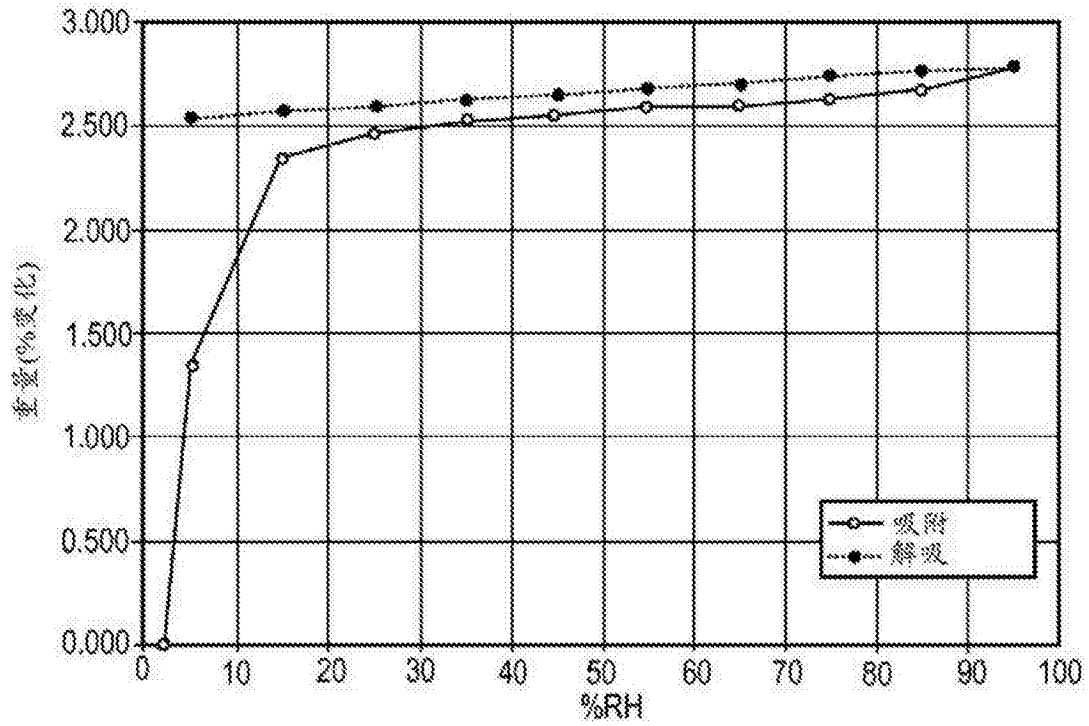


图8

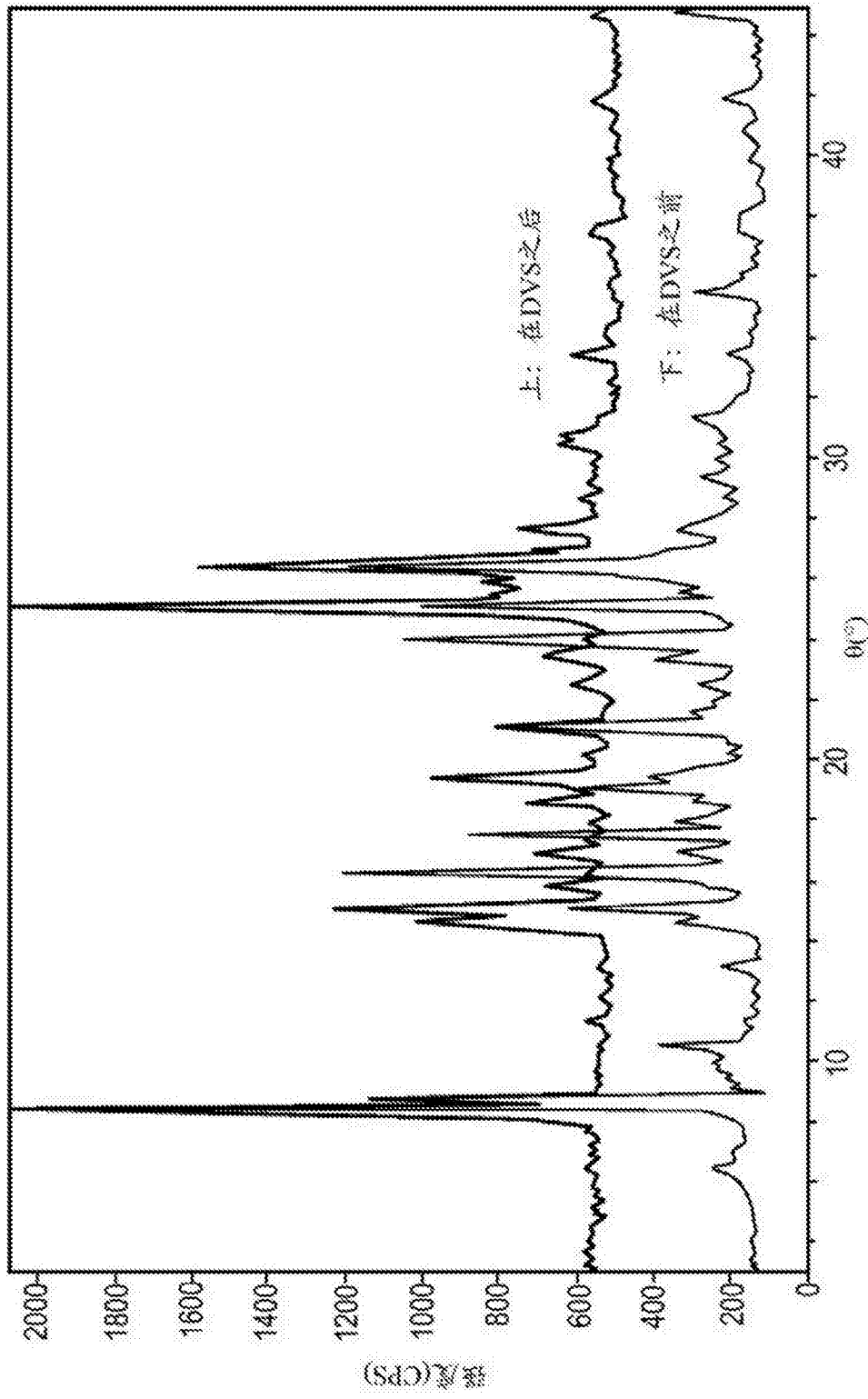


图9

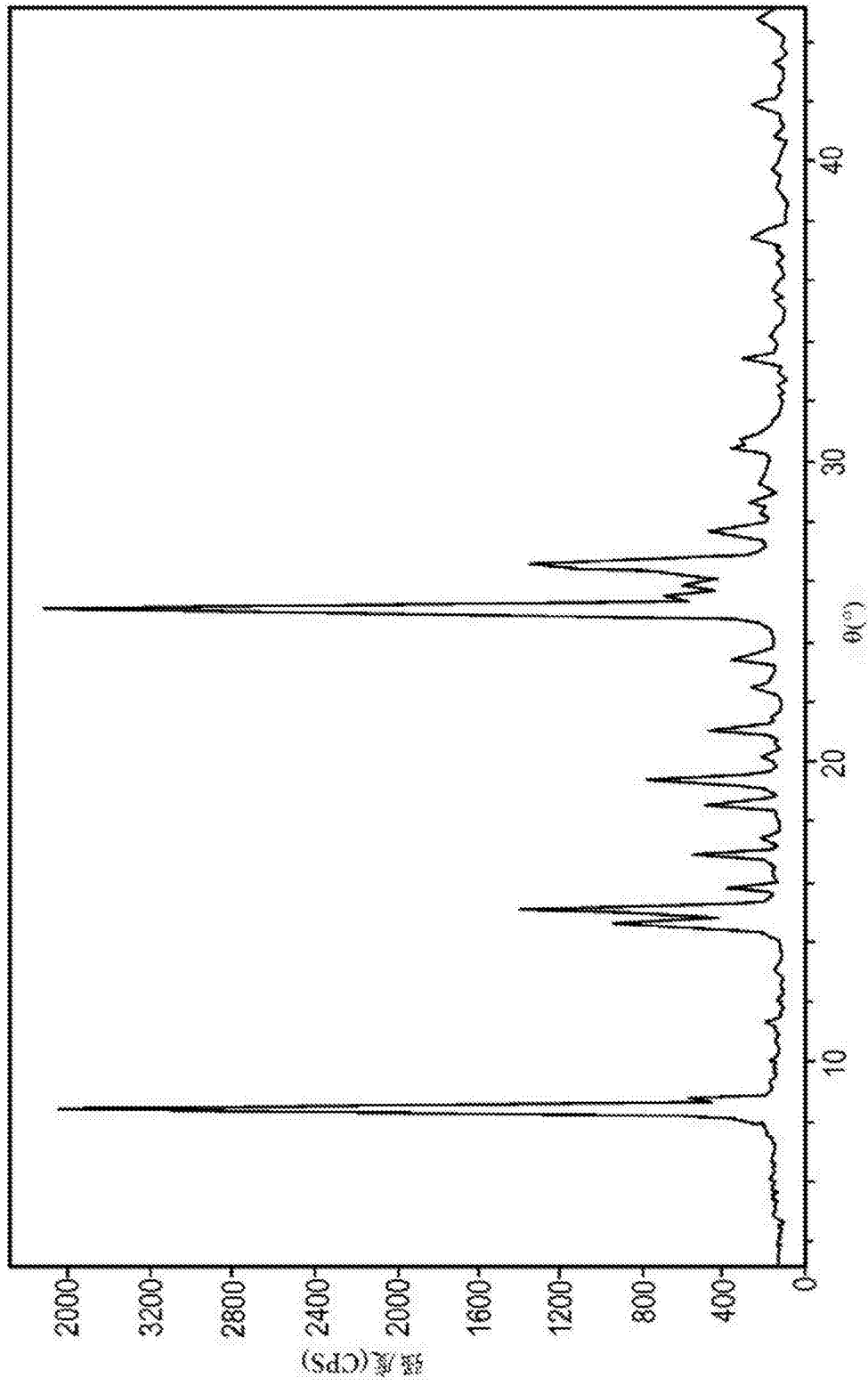


图10

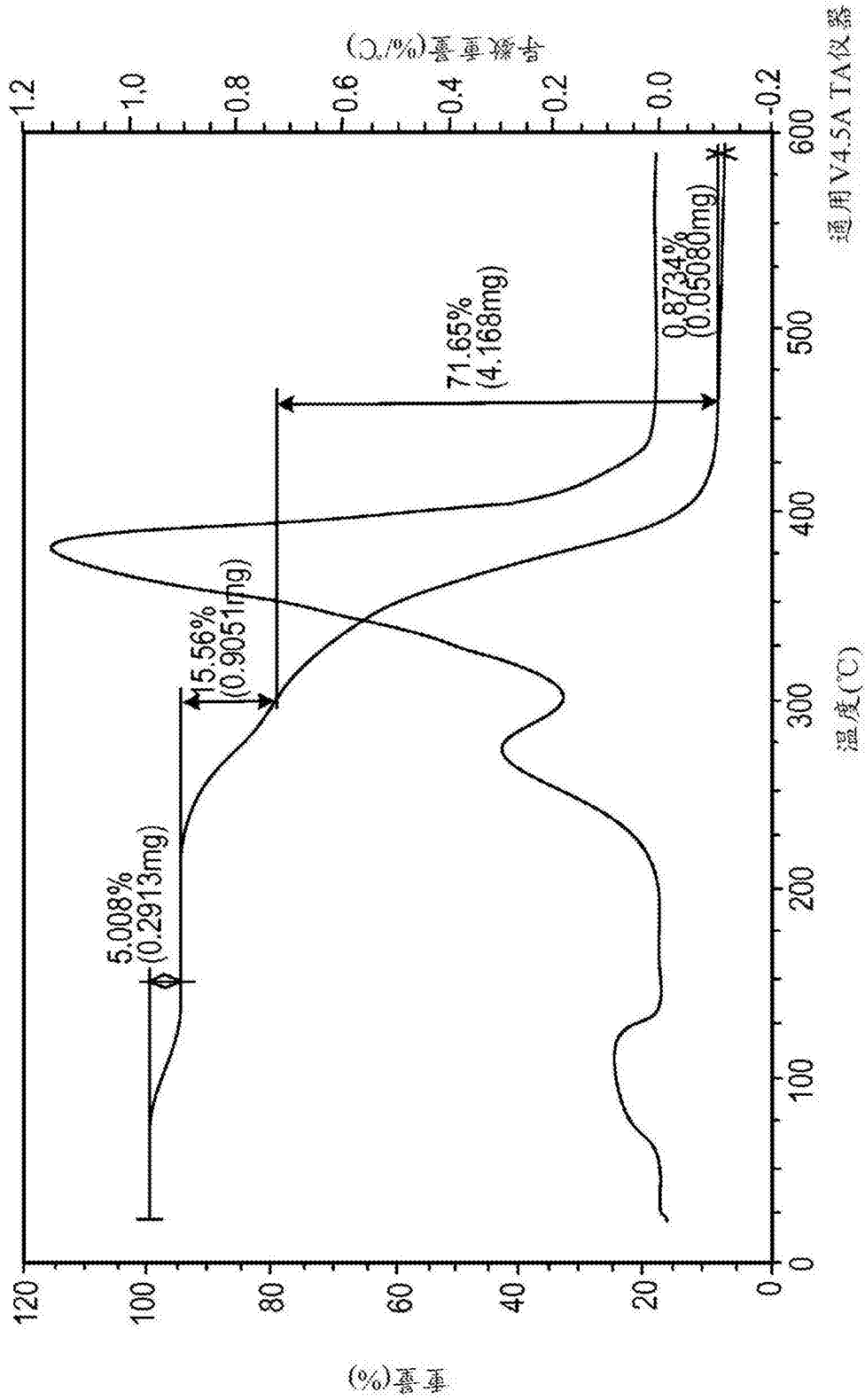


图11

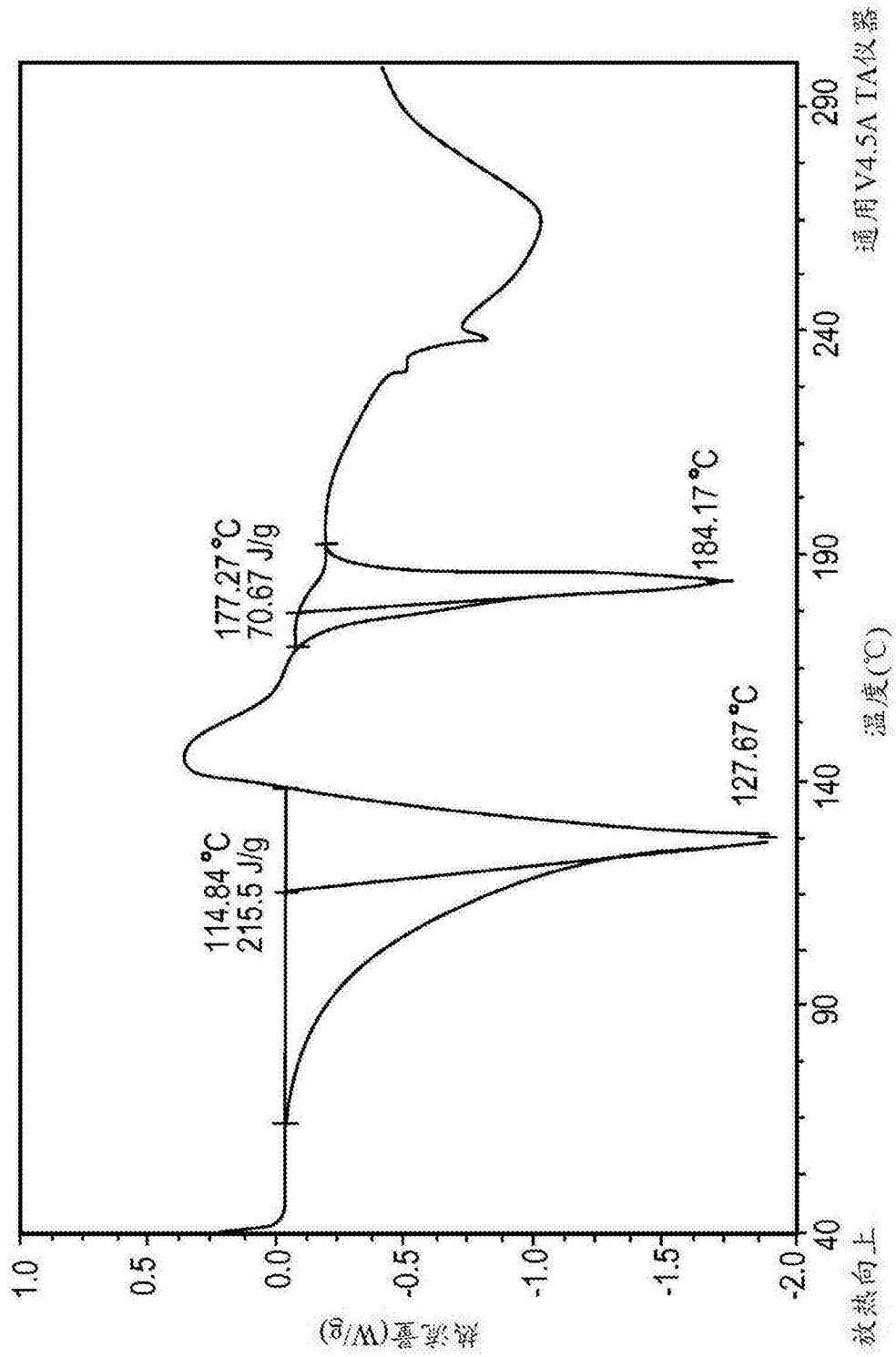


图12

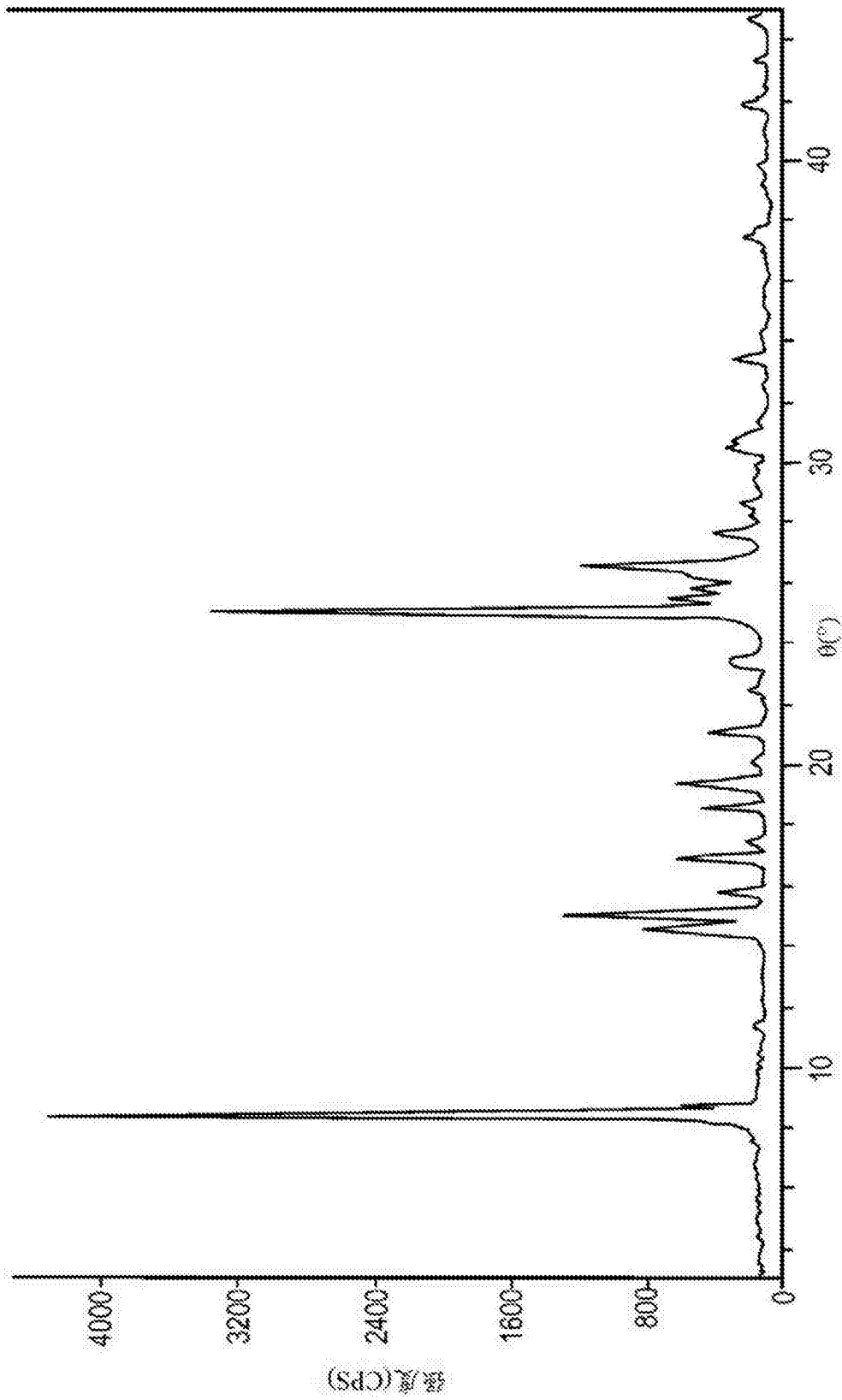


图13

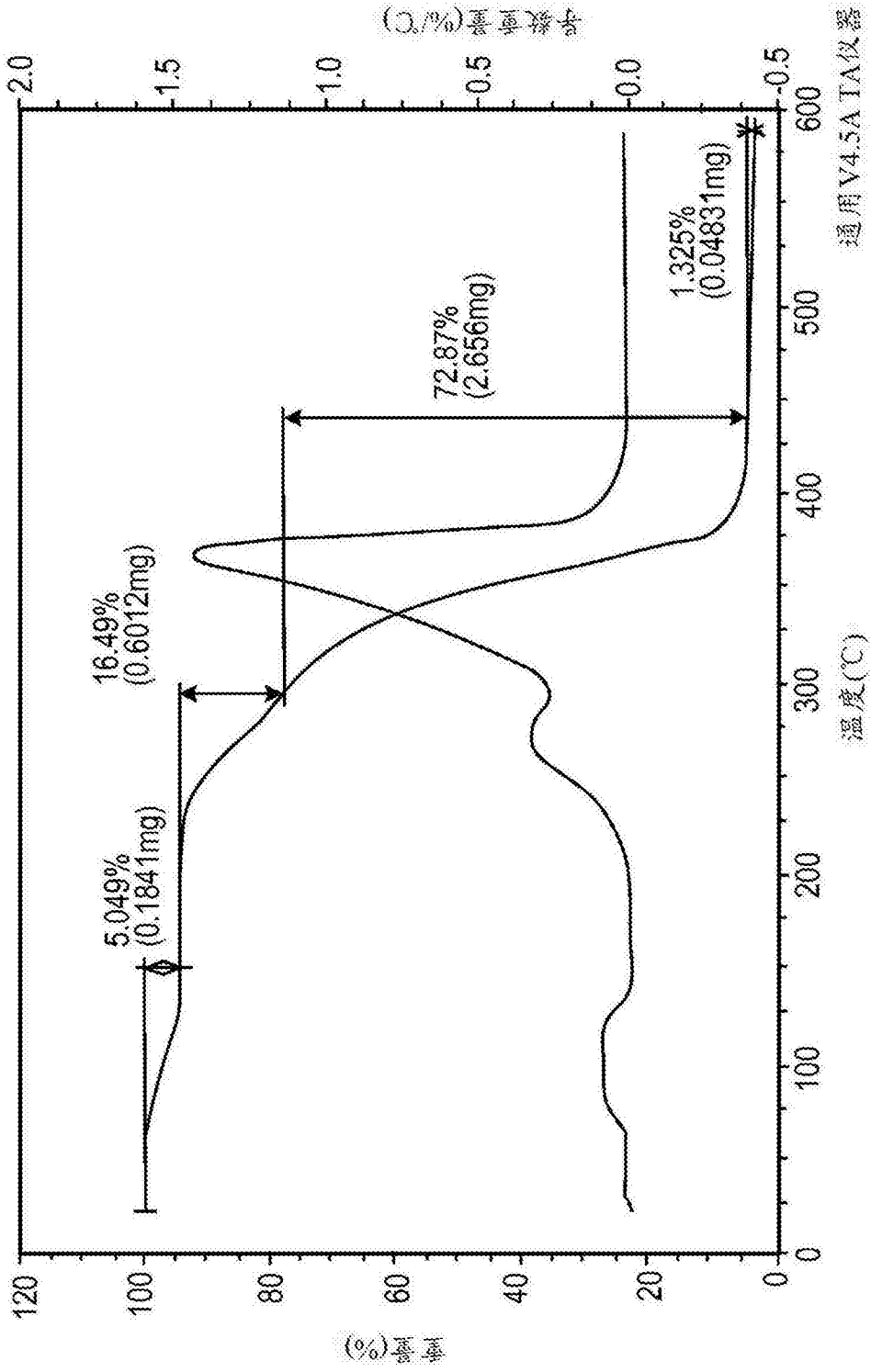


图14

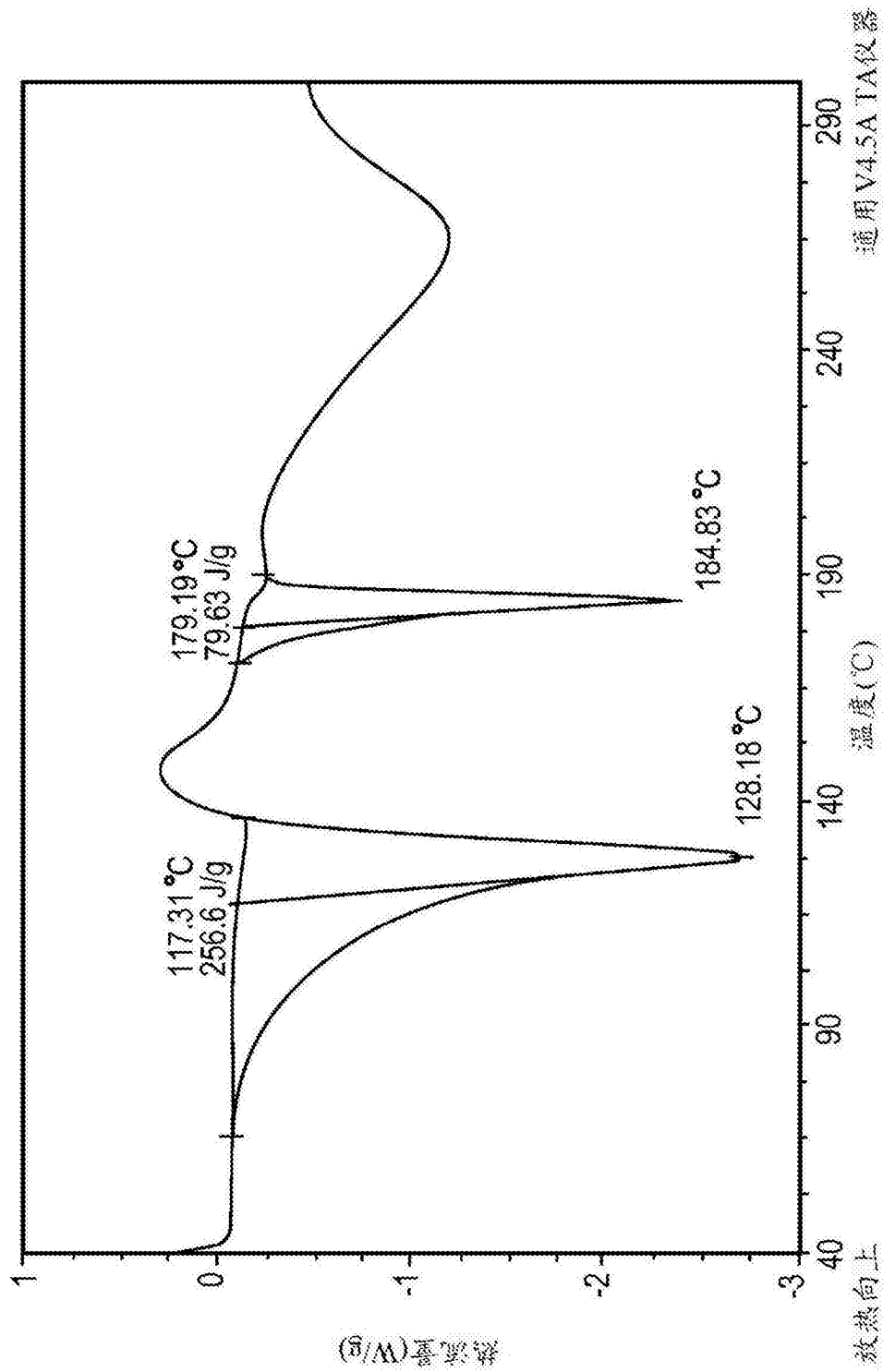


图15