



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109983009 A

(43)申请公布日 2019.07.05

(21)申请号 201780063693.0

(22)申请日 2017.08.16

(30)优先权数据

2,939,286 2016.08.17 CA

2,959,055 2017.02.27 CA

2,965,813 2017.05.02 CA

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.04.15

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/CA2017/050970 2017.08.16

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/032104 EN 2018.02.22

(71)申请人 GB005股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 A·劳伦特 S·J·莫里斯

(74)专利代理机构 北京市铸成律师事务所

11313

代理人 王珺 徐瑞红

(51)Int.Cl.

C07D 409/14(2006.01)

A61K 31/4184(2006.01)

A61K 31/422(2006.01)

A61K 31/4245(2006.01)

A61K 31/427(2006.01)

A61K 31/437(2006.01)

A61K 31/4439(2006.01)

A61K 31/497(2006.01)

A61K 31/501(2006.01)

A61K 31/506(2006.01)

A61K 49/00(2006.01)

A61K 51/04(2006.01)

C07D 401/14(2006.01)

C07D 403/06(2006.01)

C07D 413/14(2006.01)

C07D 417/14(2006.01)

C07D 471/04(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

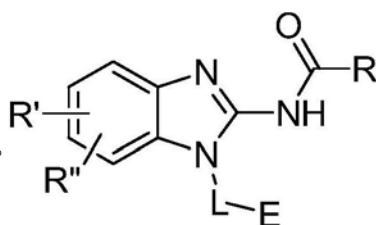
权利要求书25页 说明书104页 附图1页

## (54)发明名称

含有螺环的化合物及其药物用途

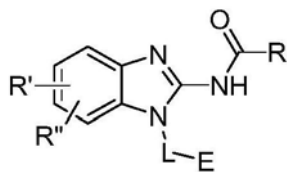
## (57)摘要

本发明涉及一种新的共价激酶抑制剂家族，已发现该类化合物对TEC激酶家族成员(特别是ITK和/或TXK、BTK、TEC和/或其组合)具有抑制活性。本发明涉及式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢



式 I

1. 式I的化合物:

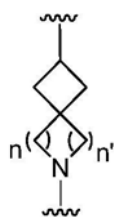


式 I

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物,其中

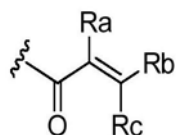
R选自取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基;

L选自



其中n是1至3的整数;n' 是1至3的整数;

E选自下列基团:



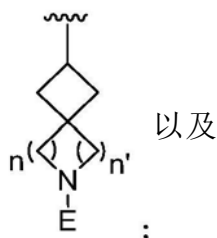
其中Ra、Rb和Rc独立地选自氢、卤素、-CN、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基或取代或未取代的杂环基;或

Ra和Rb与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元取代或未取代的杂环,并且如上所述选择Rc;或

Rb和Rc与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元杂环,并且如上所述选择Ra;或

Ra和Rb与它们所连接的碳原子一起形成三键,并且如上所述选择Rc;

条件是L-E是



R' 和R''独立地选自-X-Y,其中

X选自亚烷基、-(亚烷基)-NR<sup>1</sup>-、-(亚烷基)-NR<sup>2</sup>-、-(亚烷基)-O-、-O-、-S-、-S(O)<sub>m</sub>-、-NR<sup>1</sup>-、-NR<sup>2</sup>-、-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NR<sup>1</sup>-、-C(O)ONR<sup>1</sup>-或-S(O)<sub>m</sub>NR<sup>1</sup>-;

其中

R<sup>1</sup>选自氢、低级烷基或低级环烷基;

$R^2$ 选自  $-C(O)R^3$ 、 $-C(O)OR^3$  或  $-S(O)_mR^3$ ;

$R^3$ 选自低级烷基或低级环烷基;

$m$ 是1至2的整数;或

$X$ 是键;以及

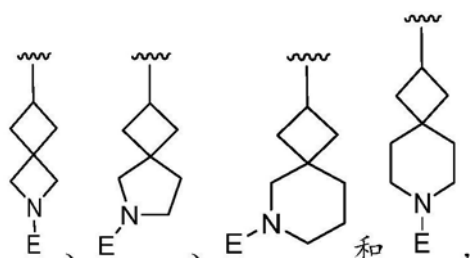
$Y$ 选自氢、卤素、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、取代的或未取代的芳烷基、或取代或未取代的杂芳烷基;或

其中 $R'$ 和 $R''$ 与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环、或3-至8-元取代或未取代的杂环基环。

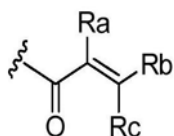
2. 根据权利要求1所述的化合物,其中 $R$ 是取代或未取代的芳基。

3. 根据权利要求1所述的化合物,其中 $R$ 是取代或未取代的杂芳基。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中 $L-E$ 选自由下列组成的组:



其中 $E$ 选自下列基团



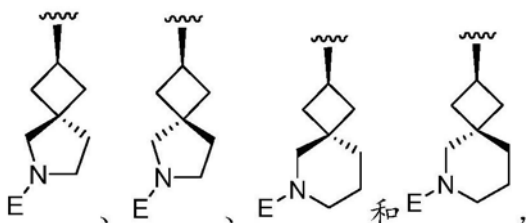
其中 $R_a$ 、 $R_b$ 和 $R_c$ 独立地选自氢、卤素、 $-CN$ 、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基或取代或未取代的杂环基;或

$R_a$ 和 $R_b$ 与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元取代或未取代的杂环,并且如上所述选择 $R_c$ ;或

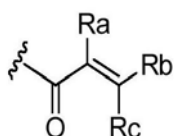
$R_b$ 和 $R_c$ 与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元杂环,并且如上所述选择 $R_a$ ;或

$R_a$ 和 $R_b$ 与它们所连接的碳原子一起形成三键,并且如上所述选择 $R_c$ 。

5. 根据权利要求1所述的化合物,其中 $L-E$ 选自由下列组成的组:



其中 $E$ 选自下列基团:



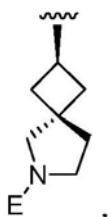
其中Ra、Rb和Rc独立地选自氢、卤素、-CN、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基或取代或未取代的杂环基；或

Ra和Rb与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元取代或未取代的杂环，并且如上所述选择Rc；或

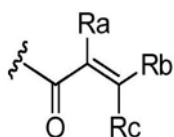
Rb和Rc与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元杂环，并且如上所述选择Ra；或

Ra和Rb与它们所连接的碳原子一起形成三键，并且如上所述选择Rc。

6. 根据权利要求1所述的化合物，其中L-E选自：



其中E选自下列基团：



其中Ra、Rb和Rc独立地选自氢、卤素、-CN、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基或取代或未取代的杂环基；或

Ra和Rb与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元取代或未取代的杂环，并且如上所述选择Rc；或

Rb和Rc与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元杂环，并且如上所述选择Ra；或

Ra和Rb与它们所连接的碳原子一起形成三键，并且如上所述选择Rc。

7. 根据权利要求4、5和6中任一项所述的化合物，其中E是

8. 根据权利要求1所述的化合物，其中R' 选自-CH<sub>2</sub>-NH-Y，其中Y选自氢、卤素、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、取代的或未取代的芳烷基或取代或未取代的杂芳烷基以及；

R'' 是氢。

9. 根据权利要求1所述的化合物，其中R' 选自-NR<sup>1</sup>C(O)Y，其中Y选自氢、卤素、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、取代的或未取代的芳烷基或取代或未取代的杂芳烷基；

R<sup>1</sup>选自氢、低级烷基或低级环烷基以及；

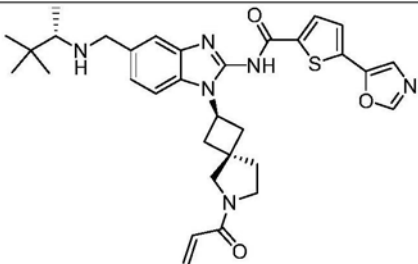
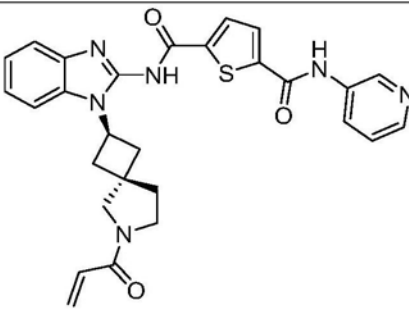
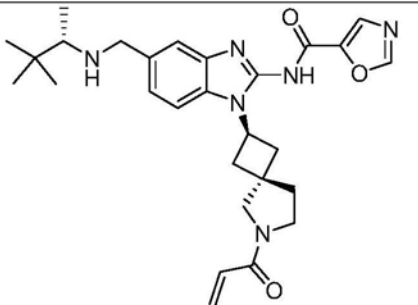
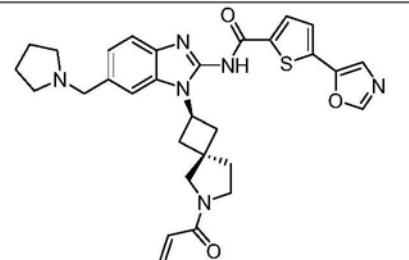
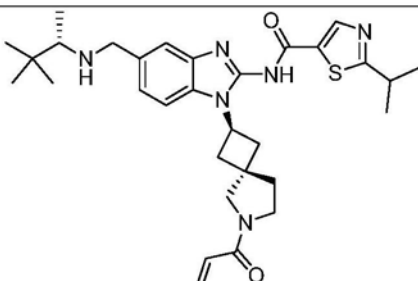
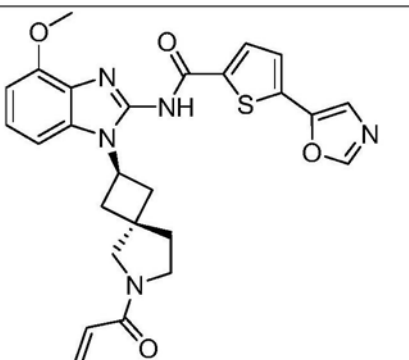
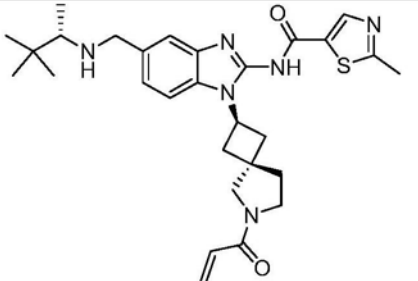
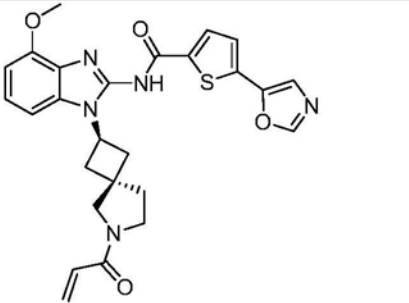
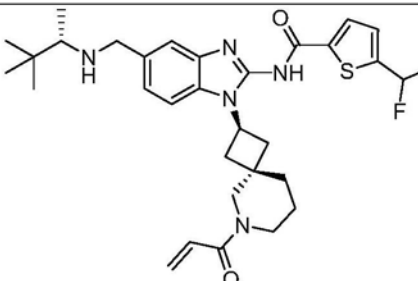
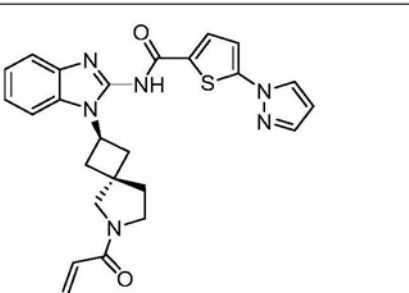
R'' 是氢。

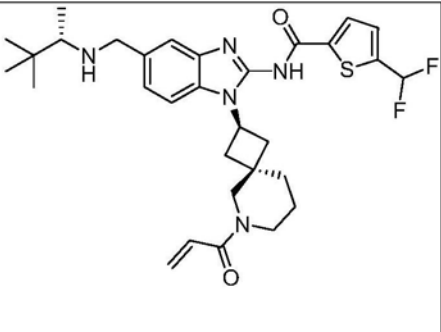
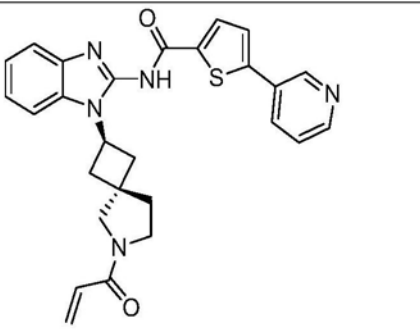
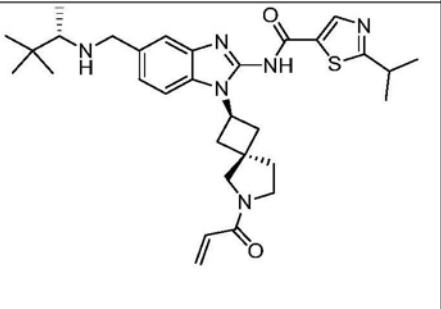
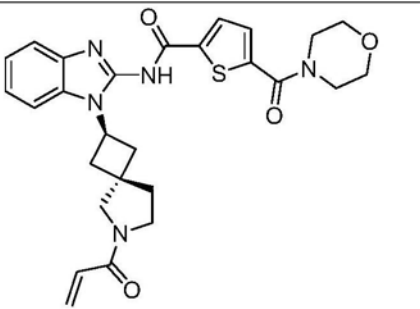
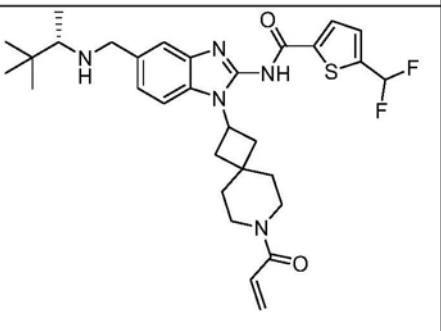
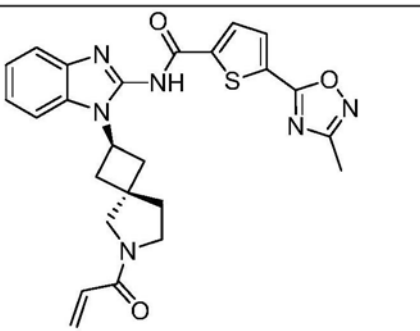
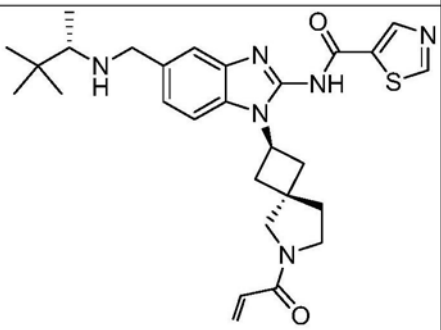
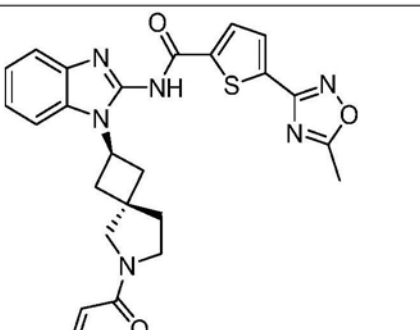
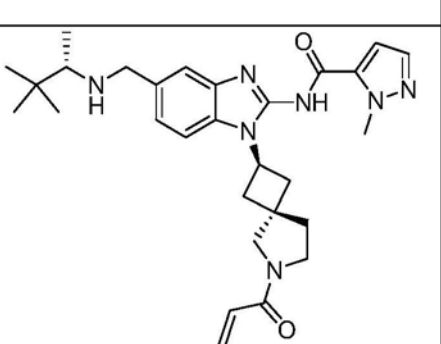
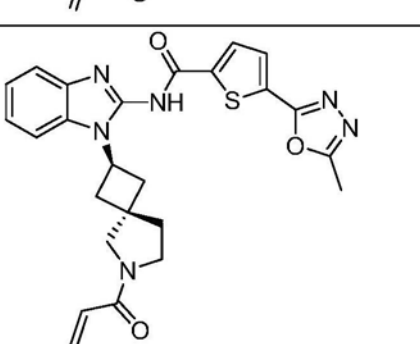
10. 根据权利要求1所述的化合物，其中R' 选自卤素且R'' 是氢。

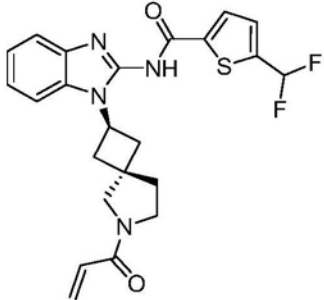
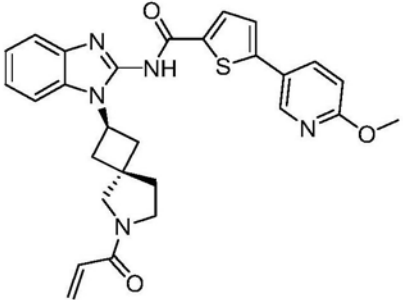
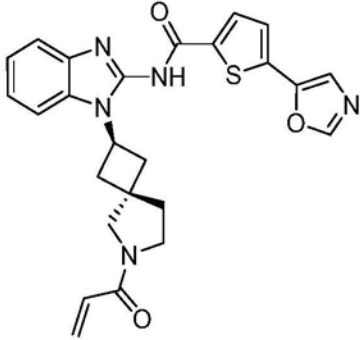
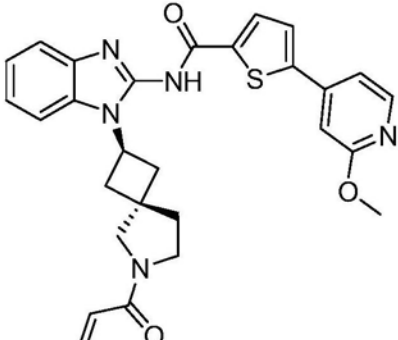
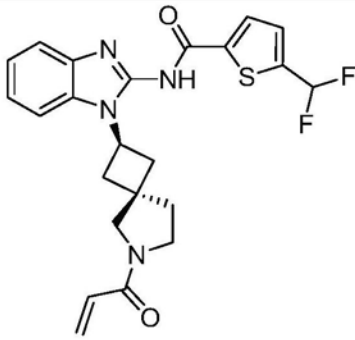
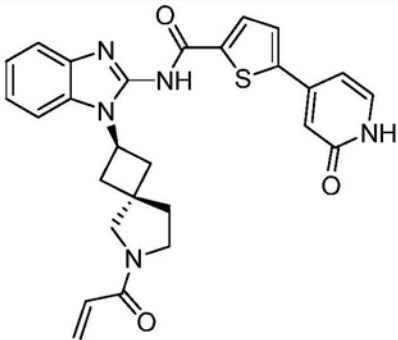
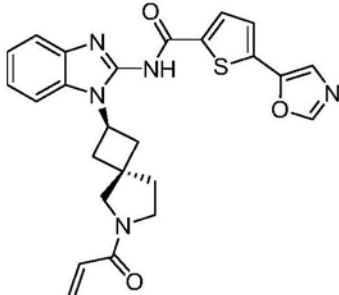
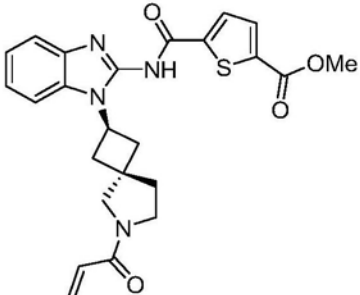
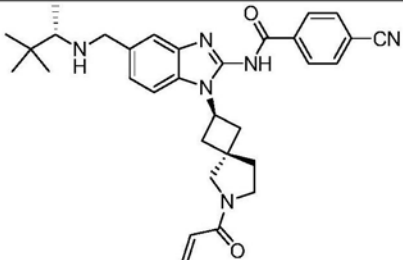
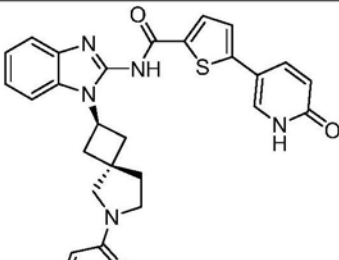
11. 根据权利要求1所述的化合物,其中R' 和R'' 都是氢。

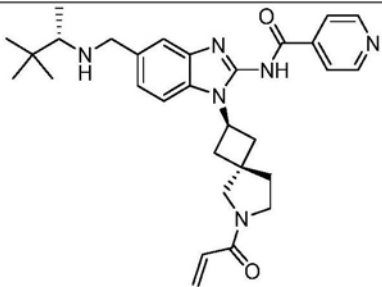
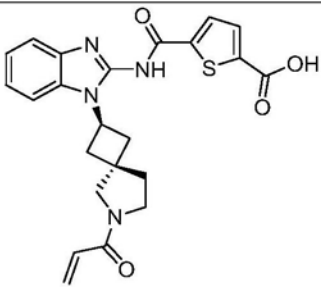
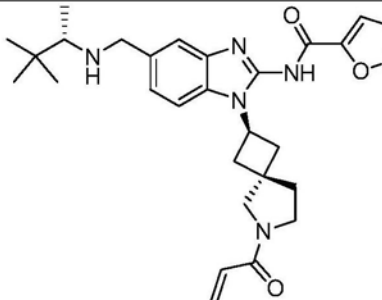
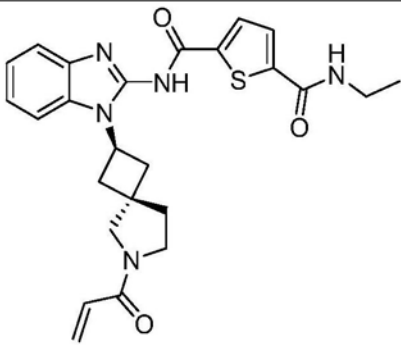
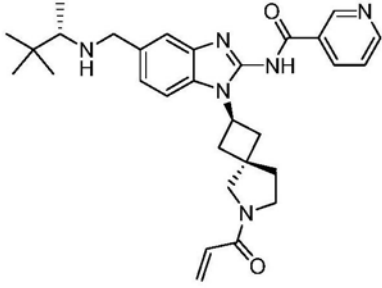
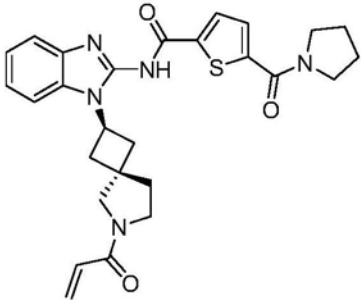
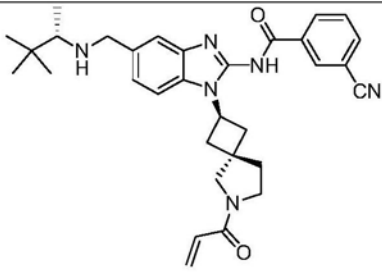
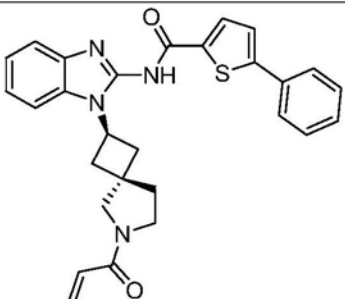
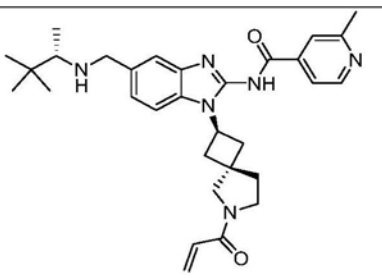
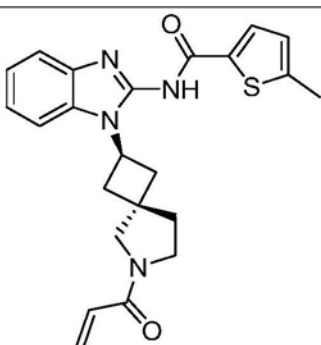
12. 化合物,其选自由下列组成的组:

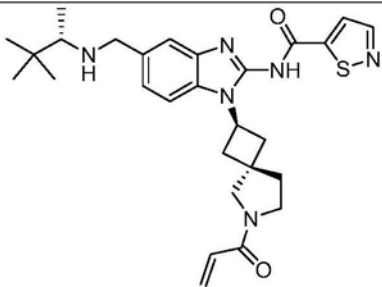
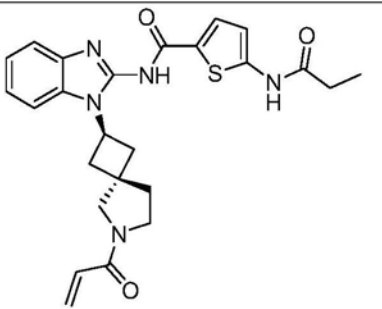
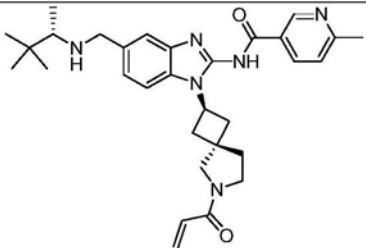
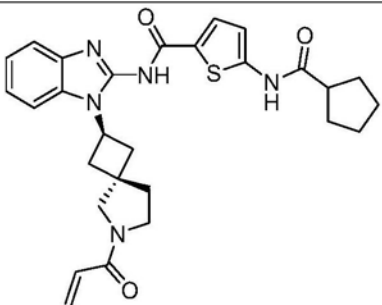
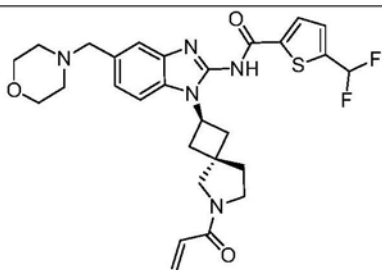
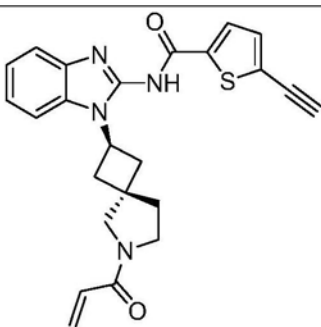
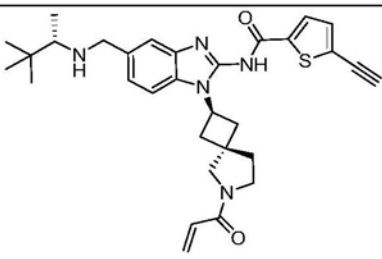
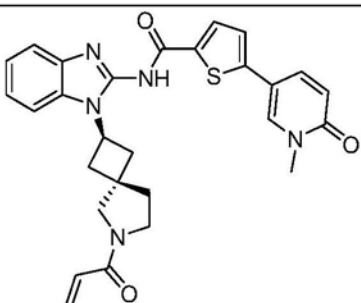
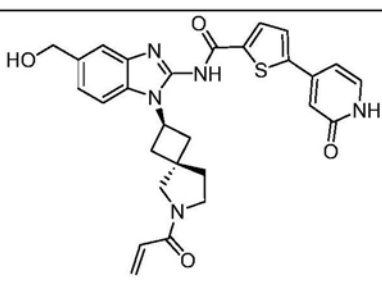
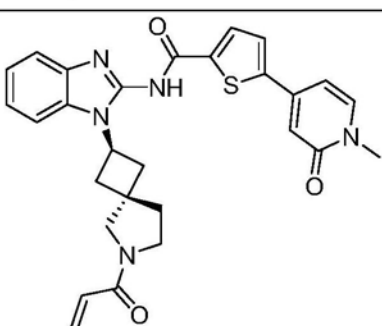
| 化合物 | 结构 | 化合物 | 结构 |
|-----|----|-----|----|
| 1   |    | 81  |    |
| 2   |    | 82  |    |
| 3   |    | 83  |    |
| 4   |    | 84  |    |

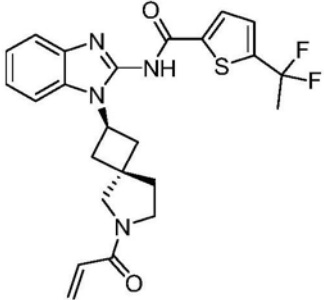
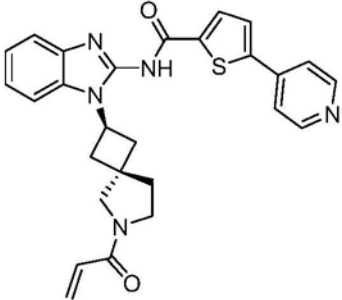
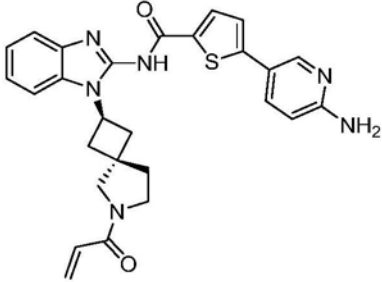
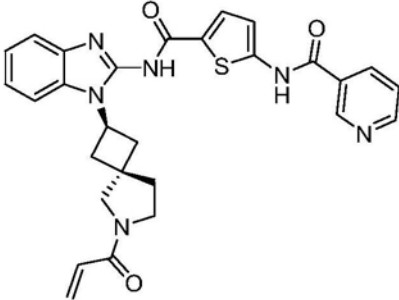
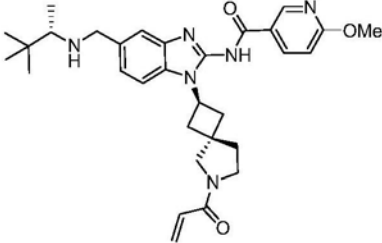
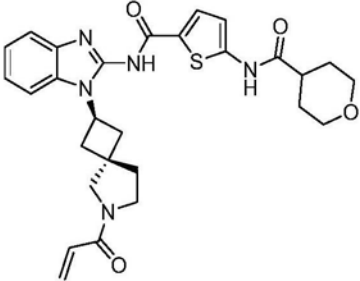
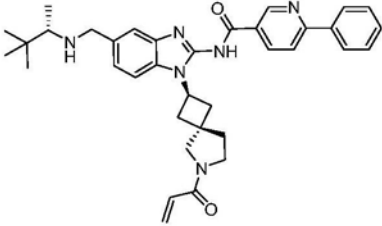
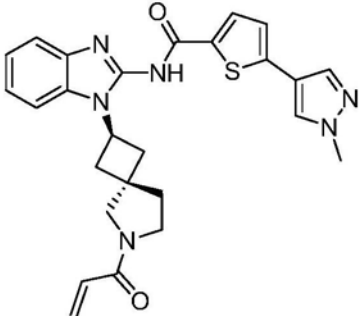
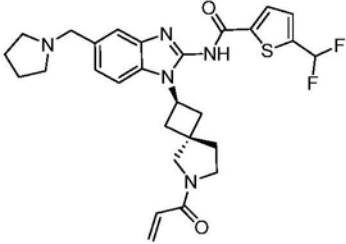
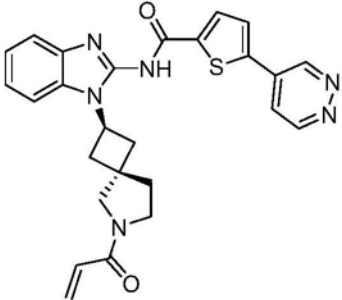
|   |                                                                                     |    |                                                                                      |
|---|-------------------------------------------------------------------------------------|----|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 5 |    | 85 |    |
| 6 |    | 86 |    |
| 7 |   | 87 |   |
| 8 |  | 88 |  |
| 9 |  | 89 |  |

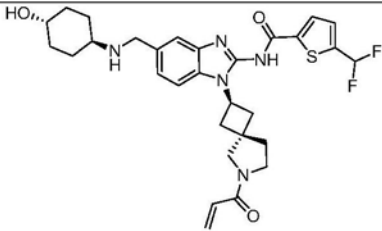
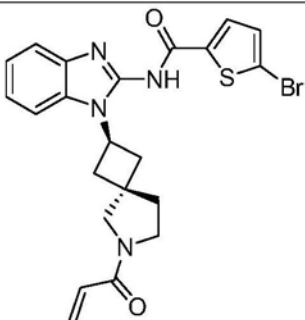
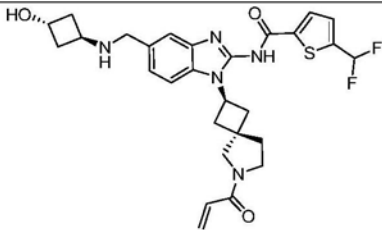
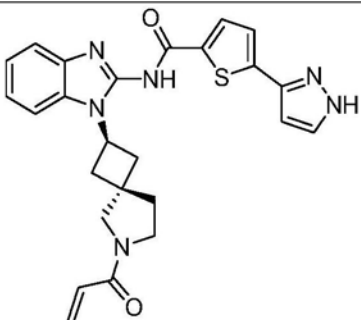
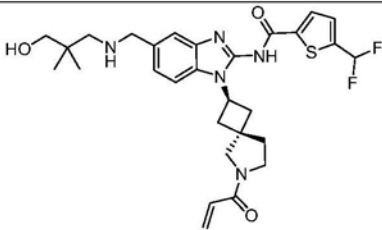
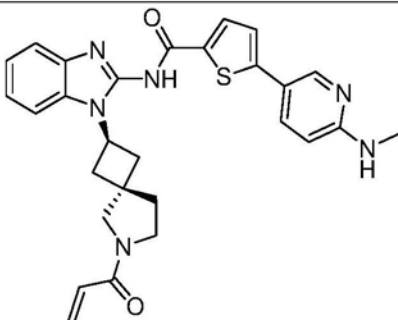
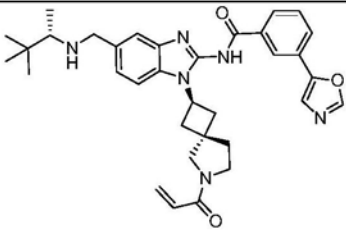
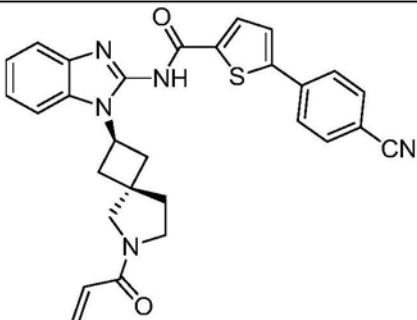
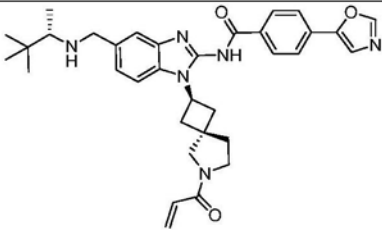
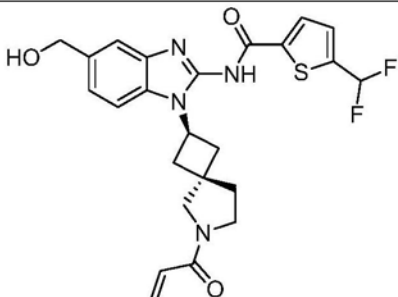
|    |                                                                                     |    |                                                                                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|----|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 10 |    | 90 |    |
| 11 |    | 91 |    |
| 12 |   | 92 |   |
| 13 |  | 93 |  |
| 14 |  | 94 |  |

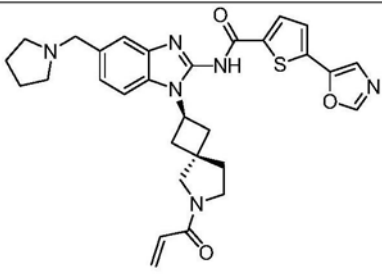
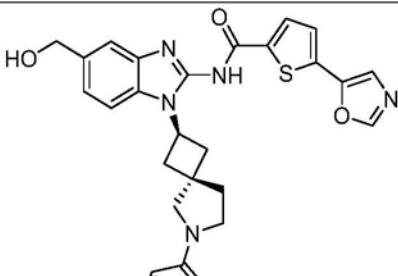
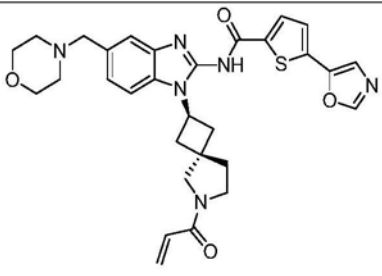
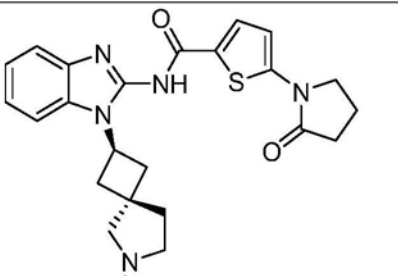
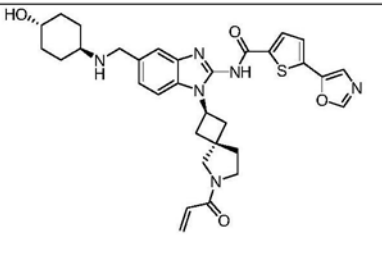
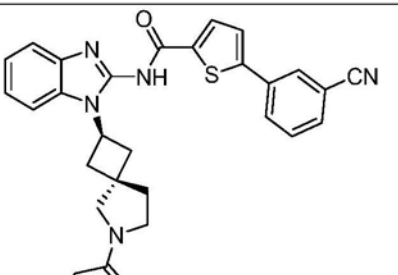
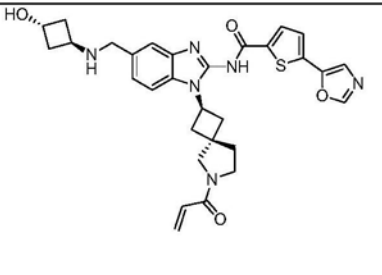
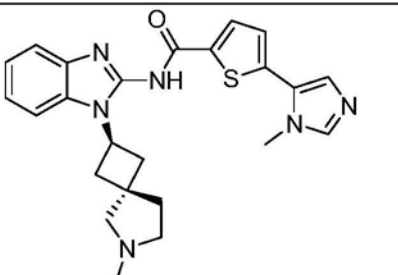
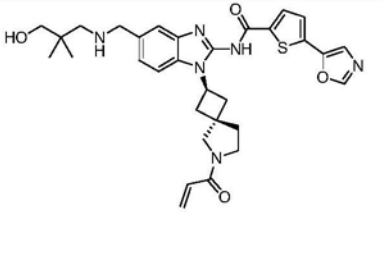
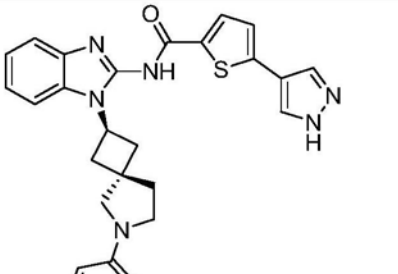
|    |                                                                                     |    |                                                                                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|----|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 15 |    | 95 |    |
| 16 |    | 96 |    |
| 17 |   | 97 |   |
| 18 |  | 98 |  |
| 19 |  | 99 |  |

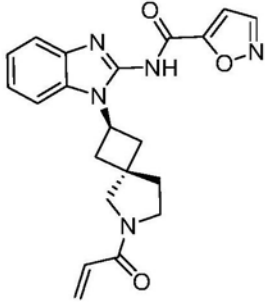
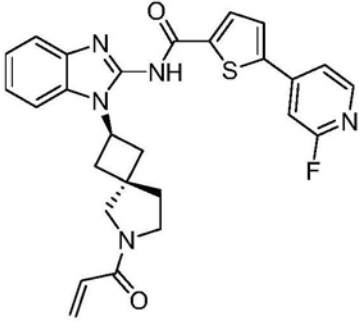
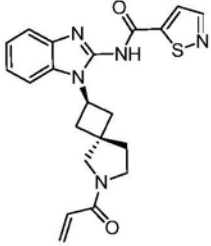
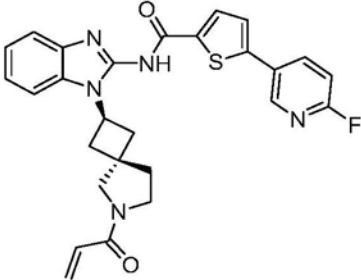
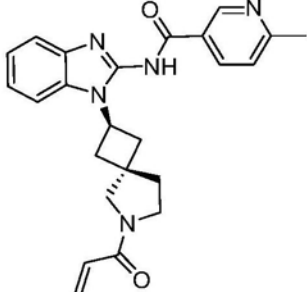
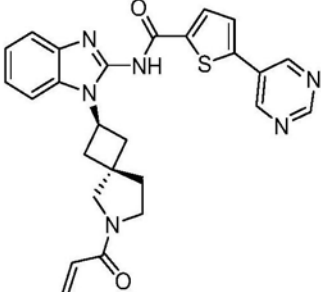
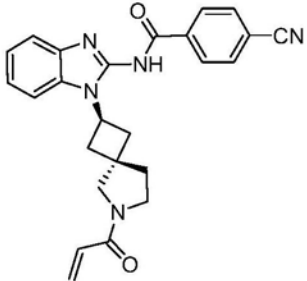
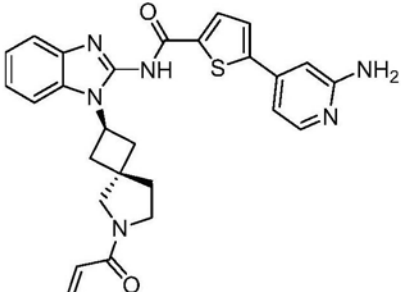
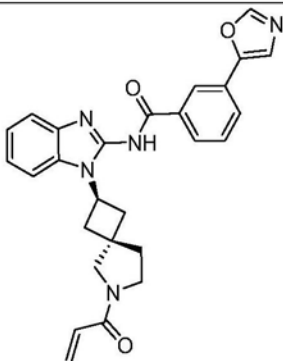
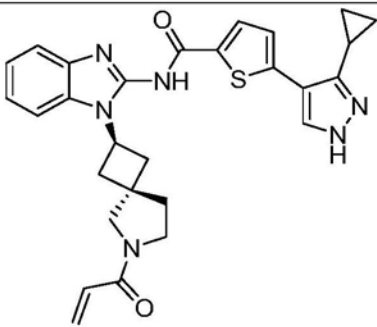
|    |                                                                                     |     |                                                                                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 20 |    | 100 |    |
| 21 |    | 101 |    |
| 22 |   | 102 |   |
| 23 |  | 103 |  |
| 24 |  | 104 |  |

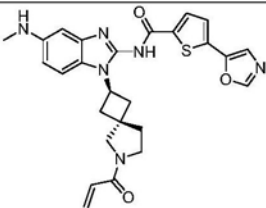
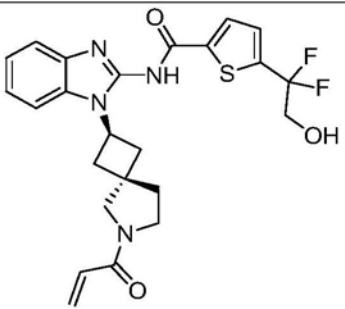
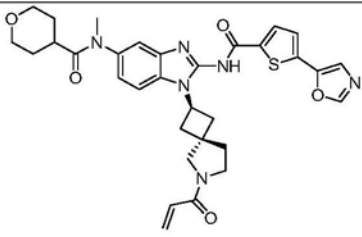
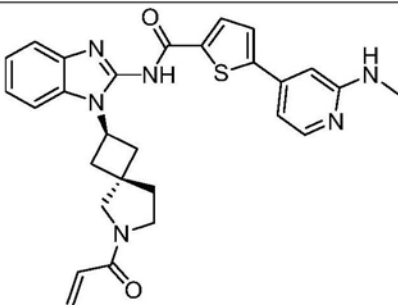
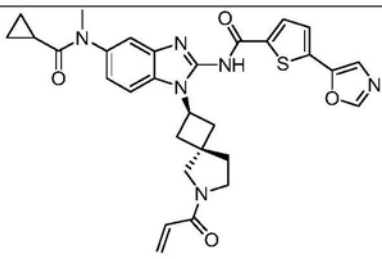
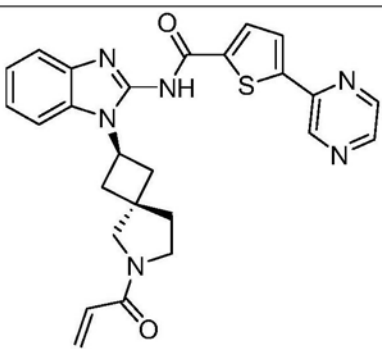
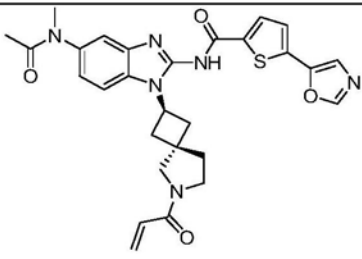
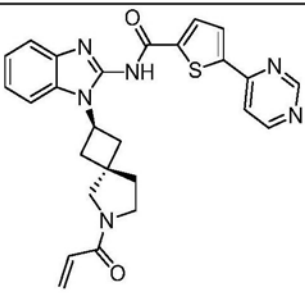
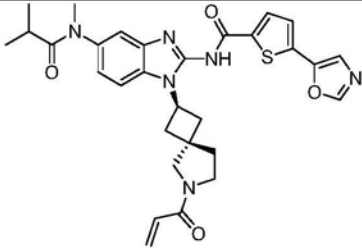
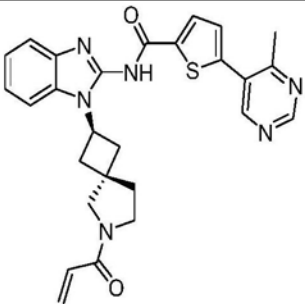
|    |                                                                                     |     |                                                                                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 25 |    | 105 |    |
| 26 |    | 106 |    |
| 27 |   | 107 |   |
| 28 |  | 108 |  |
| 29 |  | 109 |  |

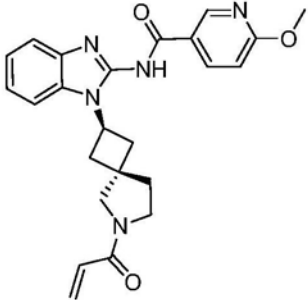
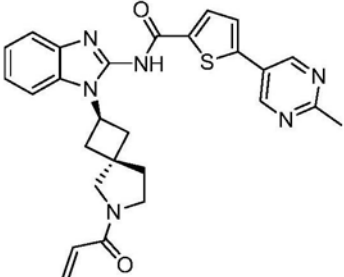
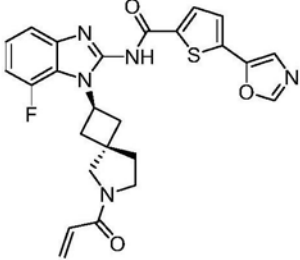
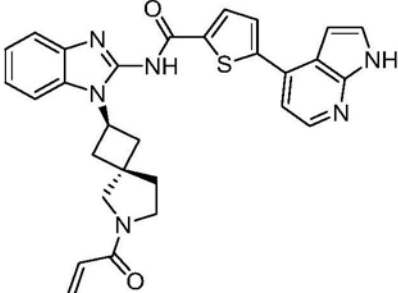
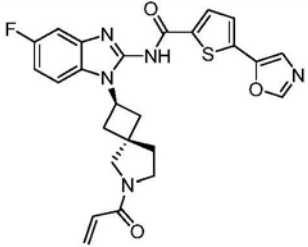
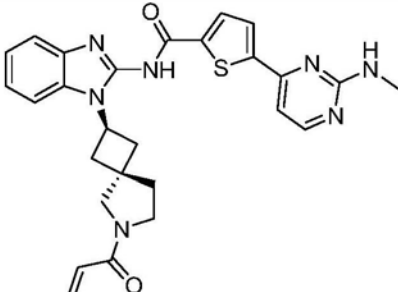
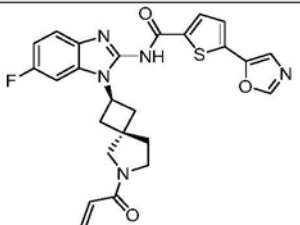
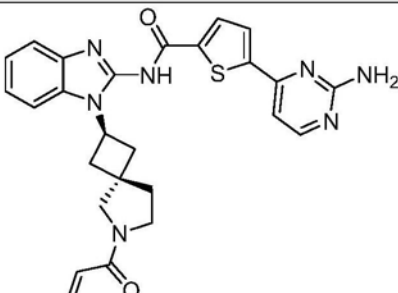
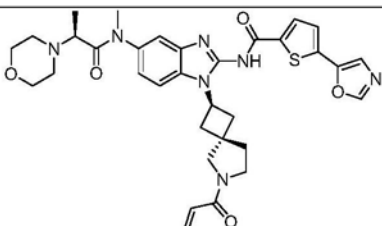
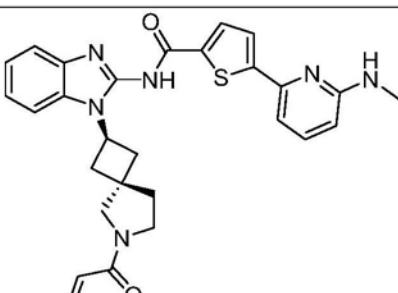
|    |                                                                                     |     |                                                                                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 30 |    | 110 |    |
| 31 |    | 111 |    |
| 32 |   | 112 |   |
| 33 |  | 113 |  |
| 34 |  | 114 |  |

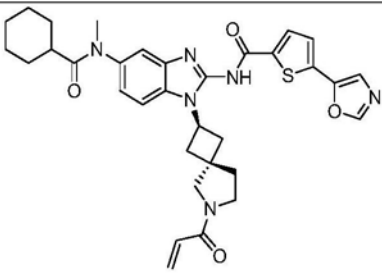
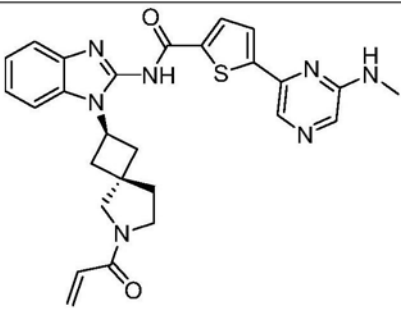
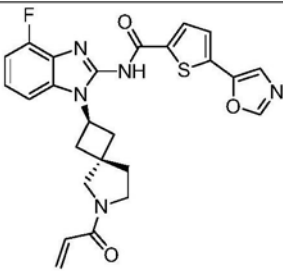
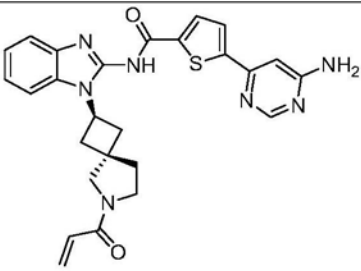
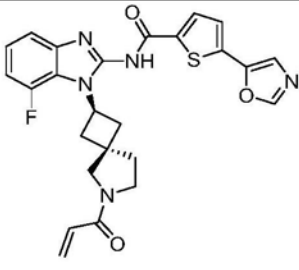
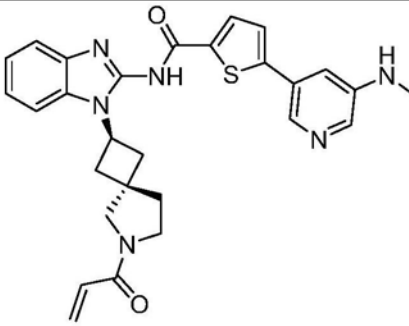
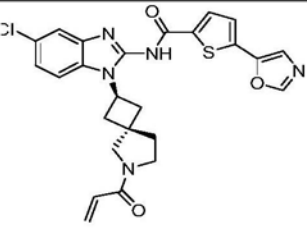
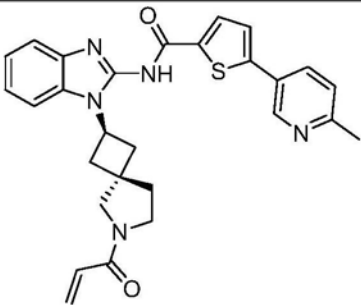
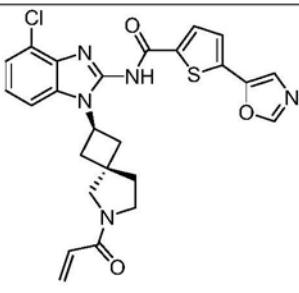
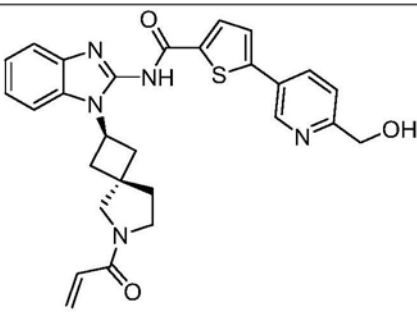
|    |                                                                                     |     |                                                                                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 35 |    | 115 |    |
| 36 |    | 116 |    |
| 37 |   | 117 |   |
| 38 |  | 118 |  |
| 39 |  | 119 |  |

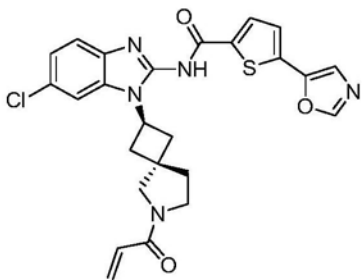
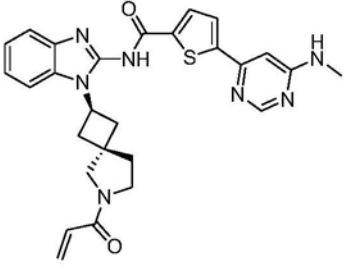
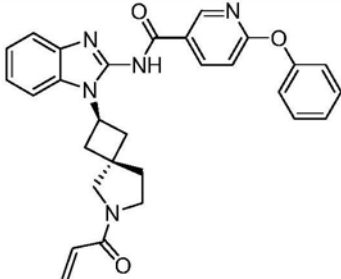
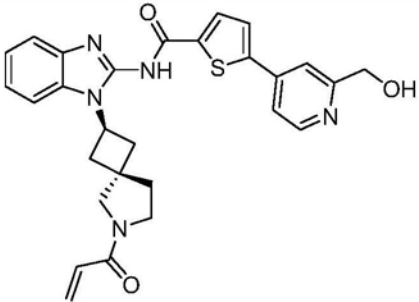
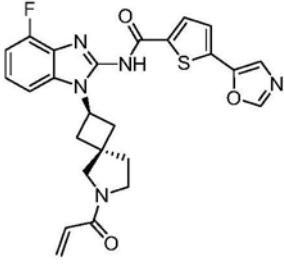
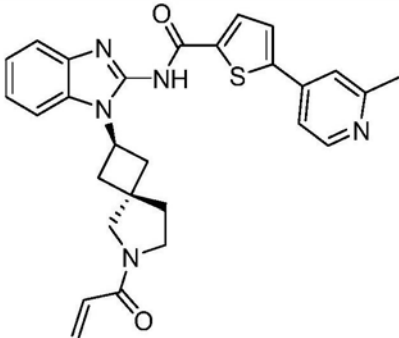
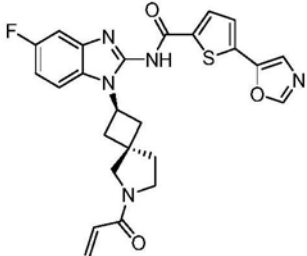
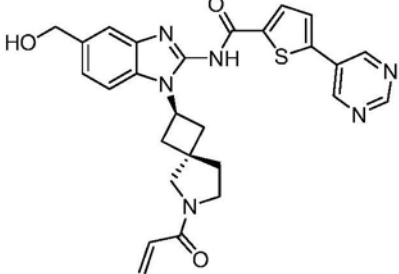
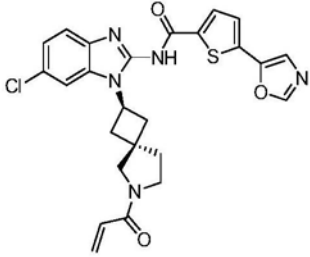
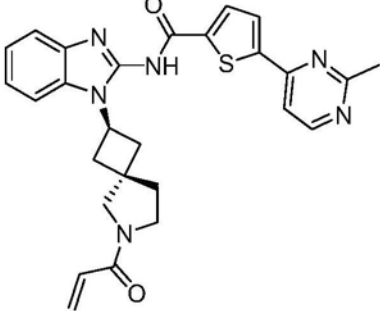
|    |                                                                                     |     |                                                                                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 40 |    | 120 |    |
| 41 |    | 121 |    |
| 42 |   | 122 |   |
| 43 |  | 123 |  |
| 44 |  | 124 |  |

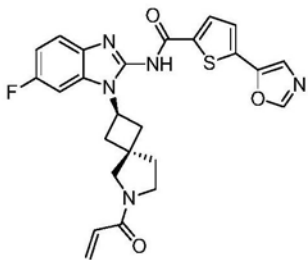
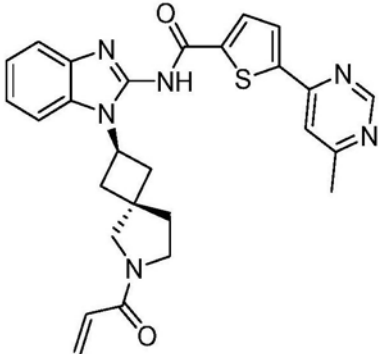
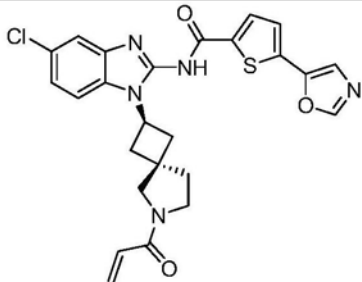
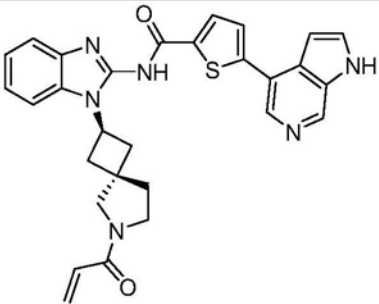
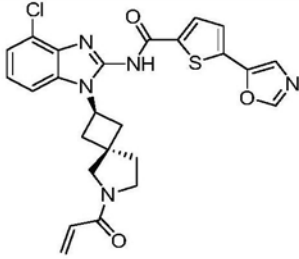
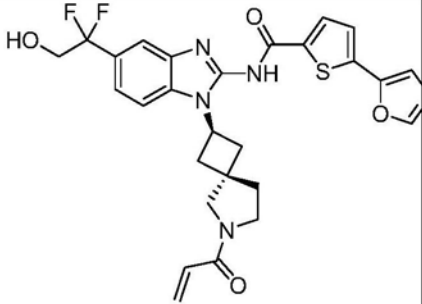
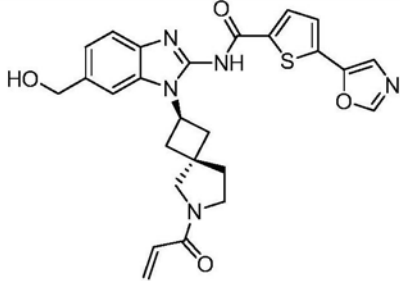
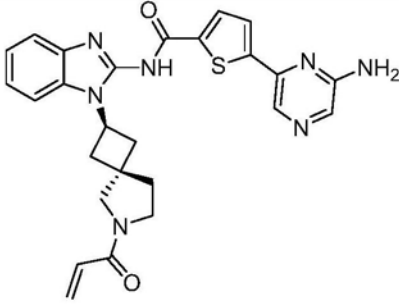
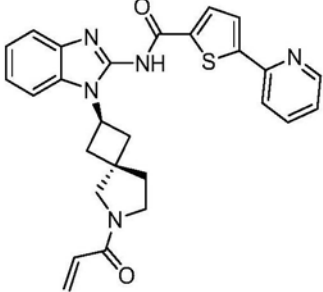
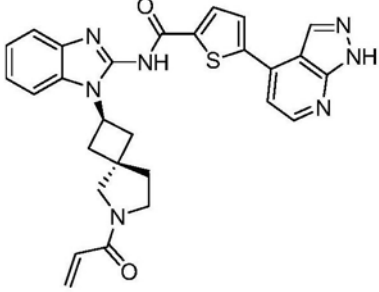
|    |                                                                                     |     |                                                                                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 45 |    | 125 |    |
| 46 |    | 126 |    |
| 47 |   | 127 |   |
| 48 |  | 128 |  |
| 49 |  | 129 |  |

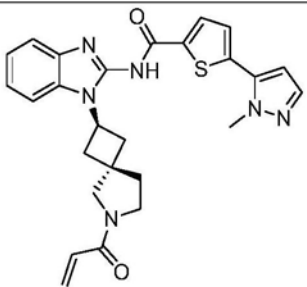
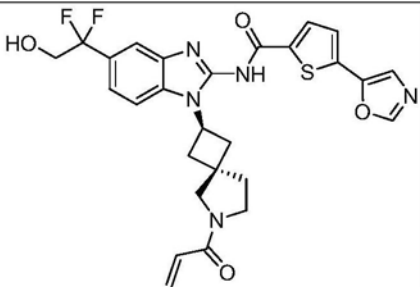
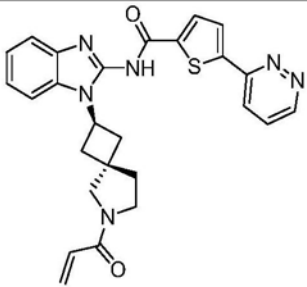
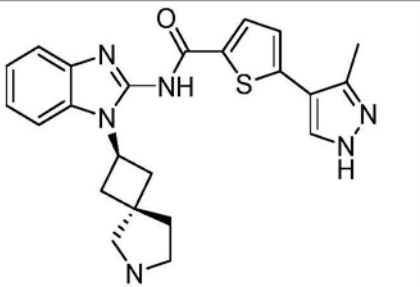
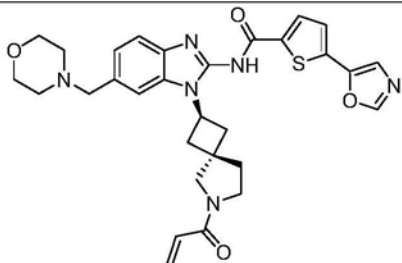
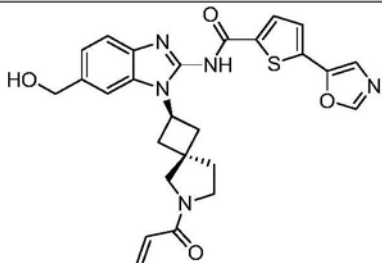
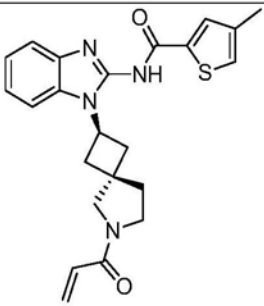
|    |                                                                                     |     |                                                                                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 50 |    | 130 |    |
| 51 |    | 131 |    |
| 52 |   | 132 |   |
| 53 |  | 133 |  |
| 54 |  | 134 |  |

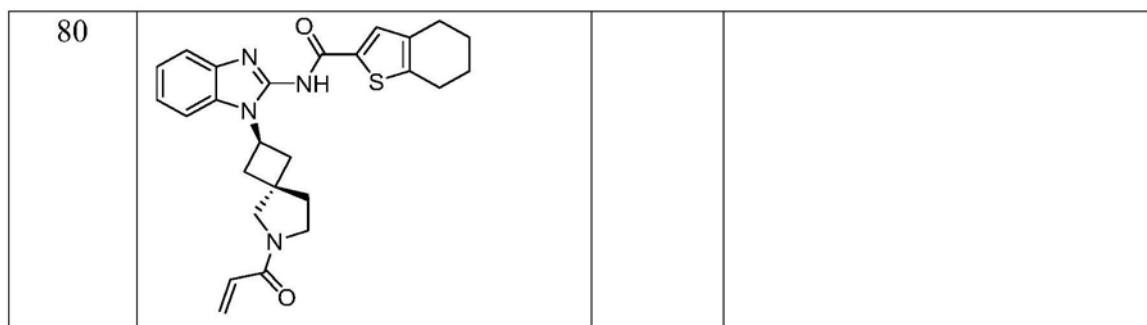
|    |                                                                                     |     |                                                                                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 55 |    | 135 |    |
| 56 |    | 136 |    |
| 57 |   | 137 |   |
| 58 |  | 138 |  |
| 59 |  | 139 |  |

|    |                                                                                     |     |                                                                                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 60 |    | 140 |    |
| 61 |    | 141 |    |
| 62 |   | 142 |   |
| 63 |  | 143 |  |
| 64 |  | 144 |  |

|    |                                                                                     |     |                                                                                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 65 |    | 145 |    |
| 66 |    | 146 |    |
| 67 |   | 147 |   |
| 68 |  | 148 |  |
| 69 |  | 149 |  |

|    |                                                                                     |     |                                                                                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 70 |    | 150 |    |
| 71 |    | 151 |    |
| 72 |   | 152 |   |
| 73 |  | 153 |  |
| 74 |  | 154 |  |

|    |                                                                                     |     |                                                                                    |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|------------------------------------------------------------------------------------|
| 75 |    | 155 |  |
| 76 |    | 156 |  |
| 77 |   |     |                                                                                    |
| 78 |  |     |                                                                                    |
| 79 |  |     |                                                                                    |



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物。

13. 根据权利要求1至12中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物，用于治疗。

14. 根据权利要求1至12中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物，用于预防或治疗癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、神经疾病、炎症疾病或病毒感染。

15. 权利要求1至12中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物，用于制备抑制受试者中蛋白激酶的药物。

16. 药物组合物，包括权利要求1至12中任一项所述的化合物、和/或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物、和至少一种药学上可接受的载体或赋形剂。

17. 根据权利要求16所述的药物组合物，用于治疗患有涉及蛋白激酶活性的疾病、失调或病症的受试者。

18. 根据权利要求17所述的药物组合物，其中蛋白激酶介导的疾病、失调或病症是涉及TEC激酶家族成员活性的疾病、失调或病症。

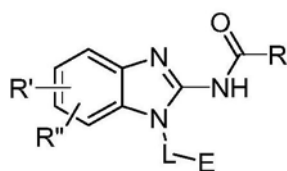
19. 根据权利要求18所述的药物组合物，其中蛋白激酶介导的疾病、失调或病症是涉及ITK、TXK、TEC、BTK或其组合的疾病、失调或病症。

20. 药物组合物，包括权利要求1至12中任一项的所述的化合物、或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物、以及至少一种药学上可接受的载体或赋形剂，用于治疗。

21. 根据权利要求20所述的药物组合物，其包括权利要求1至12中任一项所述的化合物，所述药物组合物在治疗中用于与至少一种用于治疗癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎症疾病、神经疾病或病毒感染的另外的活性药物成分一起使用，其中：所述另外的活性药物成分适合于正治疗的疾病；且所述另外的活性药物成分与所述组合物一起作为单一剂型施用或与所述组合物分开作为多剂型的一部分施用。

22. 根据权利要求20所述的药物组合物，其中所述药物组合物可以是常规药物形式，适于口服施用，选自片剂、胶囊、颗粒、粉末和糖浆；肠胃外施用，如：静脉注射、肌肉注射或皮下注射；滴注制剂、吸入剂、洗眼剂、局部施用、软膏或栓剂。

23. 治疗患有通过蛋白激酶介导的蛋白激酶介导的疾病、失调或病症的受试者的方法，所述方法包括给需要其的受试者施用根据式I的化合物：

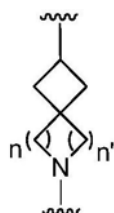


式I

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物,其中:

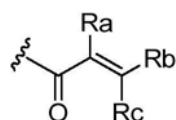
R选自取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基;

L选自



其中n是1至3的整数;并且n' 是1至3的整数;

E选自下列基团:



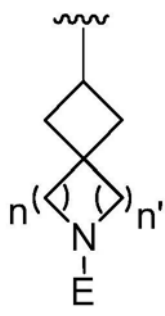
其中Ra、Rb和Rc独立地选自氢、卤素、-CN、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、或取代或未取代的杂环基;或

Ra和Rb与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元取代或未取代的杂环,并且如上所述选择Rc;或

Rb和Rc与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元杂环,并且如上所述选择Ra;或

Ra和Rb与它们所连接的碳原子一起形成三键,并且如上所述选择Rc;

条件是L-E是



以及

;

R' 和R'' 独立地选自-X-Y, 其中

X选自亚烷基、-(亚烷基)-NR<sup>1</sup>-、-(亚烷基)-NR<sup>2</sup>-、-(亚烷基)-O-、-O-、-S-、-S(O)<sub>m</sub>-、-NR<sup>1</sup>-、-NR<sup>2</sup>-、-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NR<sup>1</sup>-、-C(O)ONR<sup>1</sup>-或-S(O)<sub>m</sub>NR<sup>1</sup>-;

其中

R<sup>1</sup>选自氢、低级烷基或低级环烷基;

$R^2$ 选自  $-C(O)R^3$ 、 $-C(O)OR^3$  或  $-S(O)_mR^3$ ;

$R^3$ 选自低级烷基或低级环烷基;

$m$ 是1至2的整数;或

$X$ 是键;以及

$Y$ 选自氢、卤素、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、取代的或未取代的芳烷基或取代或未取代的杂芳烷基;或

其中 $R'$ 和 $R''$ 与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或3-至8-元取代或未取代的杂环基环。

24. 根据权利要求23所述的方法,其中所述疾病、失调或病症与所述TEC激酶家族的激酶成员的活性相关。

25. 根据权利要求23所述的方法,其中所述疾病、失调或病症与选自ITK、TXK、BTK、TEC或其组合的激酶的活性相关。

26. 根据权利要求23的所述的方法,包括给所述受试者施用治疗有效量的权利要求1至12中任一项所述的化合物、或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物连同至少一种药学上可接受的载体或赋形剂,其中药物组合物有效治疗与TEC激酶家族成员相关的疾病、失调或病症。

27. 根据权利要求26所述的方法,其中所述药物组合物可以是常规药物形式,其适于口服施用,选自片剂、胶囊、颗粒、粉末和糖浆;肠胃外施用,如:静脉注射、肌肉注射或皮下注射;滴注制剂、吸入剂、洗眼剂、局部给药、软膏或栓剂。

28. 根据权利要求23至27中任一项所述的方法,进一步包括向患有蛋白激酶介导的疾病或病症的受试者单独施用治疗有效量的式I化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或与一种或多种用于治疗与TEC激酶家族成员相关的疾病、失调或病症的另外的活性药物成分组合施用治疗有效量的式I化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

29. 调节受试者中激酶活性的方法,包括施用治疗有效量的权利要求1至12中任一项所述的化合物、或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物。

30. 抑制细胞或组织中的蛋白激酶的方法,包括使所述细胞或组织与权利要求1至12中任一项所述的化合物、或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物接触。

31. 抑制受试者中蛋白激酶活性的方法,包括施用治疗有效量的权利要求1至12中任一项的所述的化合物、或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物。

32. 根据权利要求29至31中任一项所述的方法,其中所述靶激酶活性与TEC激酶家族相关。

33. 根据权利要求32所述的方法,其中所述靶激酶选自ITK、TXK、BTK、TEC或其组合。

34. 治疗患有癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎性疾病、神经疾病、病毒感染或其组合的受试者的方法,其中ITK、TXK、BTK、TEC或其组合的酶活性通过给受试者施用治疗有效量的权利要求1至12中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化

物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物而降低。

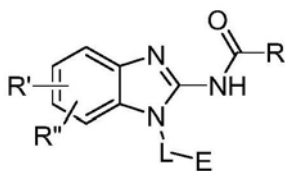
35. 根据权利要求34所述的方法, 其中所述疾病选自: 肺部炎症、过敏性哮喘、肺炎、银屑病、特应性皮炎、葡萄膜炎、干眼症、关节炎、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、银屑病关节炎、斯蒂尔病、幼年型关节炎、I型糖尿病、炎性肠病、重症肌无力、桥本甲状腺炎、奥德甲状腺炎、巴塞多氏病、干燥综合征、多发性硬化症、格-巴二氏综合征、急性播散性脑脊髓炎、阿狄森病、视性眼阵挛-肌阵挛综合征、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征、再生障碍性贫血、自身免疫性肝炎、乳糜泻、古德曼综合征、特发性血小板减少性紫癜、视神经炎、硬皮病、原发性胆汁性肝硬化、莱特尔病、大动脉炎、颞动脉炎、温热自身免疫性溶血性贫血、韦格纳肉芽肿、全身脱毛、Burchett病、慢性疲劳综合征、自主神经功能异常、子宫内膜异位症、间质性膀胱炎、肌强直、外阴痛、天疱疮、过敏、过敏性反应、过敏性结膜炎、过敏性鼻炎、特应性皮炎、哮喘、阑尾炎、睑缘炎、细支气管炎、支气管炎、粘液囊炎、宫颈炎、胆管炎、胆囊炎、结肠炎、结膜炎、膀胱炎、泪腺炎、皮炎、皮肤炎、脑炎、心内膜炎、子宫内膜炎、肠炎、上颌炎、附睾炎、筋膜炎、纤维炎、胃炎、肠胃炎、肝炎、化脓性汗腺炎、炎症性肠病、喉炎、乳腺炎、脑膜炎、脊髓炎、心肌炎、肌炎、肾炎、卵巢炎、睾丸炎、骨炎、骨关节炎、胰腺炎、腮腺炎、心包炎、腹膜炎、咽炎、胸膜炎、静脉炎、肺炎、直肠炎、前列腺炎、肾盂肾炎、鼻炎、输卵管炎、鼻窦炎、口腔炎、滑膜炎、肌腱炎、扁桃体炎、葡萄膜炎、阴道炎、血管炎、外阴炎、中风、阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病、肌萎缩性侧索硬化、HIV/AIDS、流感、实体瘤、非霍奇金淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、T细胞白血病、外周T细胞淋巴瘤、塞泽里综合征/皮肤T细胞淋巴瘤、急性淋巴细胞白血病、成人T细胞白血病/淋巴瘤、NK/T细胞淋巴瘤、鼻型或侵袭性NK细胞白血病、B细胞、小胶质细胞及其组合。

36. 根据权利要求23至35中任一项所述的方法, 进一步包括施用治疗有效量的至少一种用于在组合治疗中治疗癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎性疾病、神经疾病、神经变性或病毒感染的另外的活性药物成分。

37. 根据权利要求36所述的方法, 其中所述另外的活性药物成分选自类固醇、白三烯拮抗剂、钠通道阻滞剂、谷氨酸盐拮抗剂、抗组胺剂、抗癌剂、抗病毒剂、抗生素剂、蛋白激酶抑制剂和其组合。

38. 根据权利要求34所述的方法, 其中蛋白激酶的酶活性在受试者的B细胞、T细胞、NK/T细胞、小胶质细胞和/或肥大细胞中被抑制或调节。

39. 调节靶激酶功能的方法, 其中所述调节包括抑制所述靶激酶功能, 所述方法包括给需要这种调节的受试者施用根据式I的化合物:

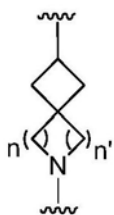


式I

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物, 其中

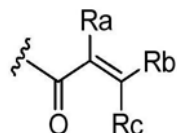
R选自取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基;

L选自



其中 $n$ 是1至3的整数；并且 $n'$ 是1至3的整数；

E选自下列基团：



其中 $R_a$ 、 $R_b$ 和 $R_c$ 独立地选自氢、卤素、-CN、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、或取代或未取代的杂环基；或

$R_a$ 和 $R_b$ 与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元取代或未取代的杂环，并且如上所述选择 $R_c$ ；或

$R_b$ 和 $R_c$ 与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元杂环，并且如上所述选择 $R_a$ ；或

$R_a$ 和 $R_b$ 与它们所连接的碳原子一起形成三键，并且如上所述选择 $R_c$ ；

条件是L-E是



以及

；

$R'$  和 $R''$ 独立地选自-X-Y，其中

X选自亚烷基、-(亚烷基)- $NR^1$ -、-(亚烷基)- $NR^2$ -、-(亚烷基)-O-、-O-、-S-、-S(O) $_m$ -、- $NR^1$ -、- $NR^2$ -、-C(O)-、-C(O)O-、-C(O) $NR^1$ -、-C(O) $ONR^1$ -或-S(O) $_mNR^1$ -；

$R^1$ 选自氢、低级烷基或低级环烷基；

$R^2$ 选自-C(O) $R^3$ 、-C(O) $OR^3$ 或-S(O) $_mR^3$ ；

$R^3$ 选自低级烷基或低级环烷基；

$m$ 是1至2的整数；或

X是键；以及

Y选自氢、卤素、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、取代的或未取代的芳烷基或取代或未取代的杂芳烷基；或

其中 $R'$  和 $R''$ 与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或3-至8-元取代或未取代的杂环基环。

40. 探针，其包含权利要求1至12中任一项所述的化合物，其与所述化合物的可检测标

记或亲和标记物共价缀合。

41. 根据权利要求40所述的探针,其中所述可检测标记选自:荧光部分、化学发光部分、顺磁性造影剂、金属螯合物、含放射性同位素的部分和生物素。

## 含有螺环的化合物及其药物用途

### 发明领域

[0001] 本发明涉及一种新的蛋白激酶抑制剂家族,它们药学上可接受的盐,包含它们的药学组合物,和它们治疗或预防与激酶功能有关的疾病、失调和病症的的抑制剂用途。

### 背景技术

[0002] 蛋白激酶是真核细胞中的一大组细胞内和跨膜信号传导蛋白(Manning G.等,(2002) Science, 298:1912-1934)。靶蛋白中特定氨基酸残基通过蛋白激酶的磷酸化可以调节它们的活性,导致细胞信号传导和代谢的深刻变化。激酶在细胞增殖、存活、分化和功能的调节中起关键作用。许多激酶与疾病有关,因此是有吸引力的治疗靶。

[0003] 激酶中的Tec-激酶家族由在肝细胞癌(TEC)中表达的酪氨酸激酶、白细胞介素-2诱导的T-细胞激酶(ITK,也称为Tsk和Emt)、静息淋巴细胞激酶(RLK,对于酪氨酸蛋白激酶来说也称为TXK)、布鲁顿(Bruton)酪氨酸激酶(BTK)、X-染色体上的骨髓激酶(BMX,也称为Etk)组成(Bradshaw JM Cell Signal. 2010; 22 (8): 1175-84)。这些细胞内激酶在淋巴细胞和骨髓细胞的发育和功能中起重要作用(Horwood等Int. Rev. Immunol. 2012; 31 (2): 87-103, Felices M等Adv. Immunol. 2007; 93: 145-84)。此外,选定的Tec家族成员如ITK、TEC和BMX在癌细胞中表达,其中它们可以在癌细胞存活和恶性肿瘤中起作用(Carson CC等Clin Cancer Res. 2015; 21 (9): 2167-76, Mano H.等Oncogene. 1990; 5 (12): 1781-6, Cenni B等Int. Rev. Immunol. 2012; 31 (2): 166-73)。

[0004] ITK是T细胞信号传导功能和分化的重要成分。ITK在刺激T细胞受体后被激活,并启动信号级联反应,这导致细胞活化、细胞因子释放和快速增殖。ITK在包括Th1、Th2、Th9、Th17的T辅助(Th)细胞的发育和功能中是重要的(Fowell DJ等1999 Immunity 11: 399-409; Gomez-Rodriguez J.等2014 J. Exp. Med 211: 529-543, Gomez-Rodriguez J.等2016 Nat Commun. 2016; 7: 10857)。例如,ITK<sup>-/-</sup>CD4<sup>+</sup>T细胞显示在Th1和Th17细胞因子的产生中显著减少,且展现偏斜的T效应子/Treg细胞比率,向FoxP3<sup>+</sup>Treg偏移(Kannan A等2015. J Neurosci. 35: 221-233, Gomez-Rodriguez J.等2014 J. Exp. Med. 211: 529-543)。此外,等位基因敏感的ITK突变体的特异性抑制显示ITK在Th1、Th2、Th17和iNKT细胞的细胞因子产生中是重要的(Kannan A等Eur. J. Immunol. 2015. 45: 2276-2285)。因此,ITK对于预防或治疗涉及Th细胞因子的或其中期望调节免疫抑制性Treg细胞的疾病来说或是有希望的靶。此外,ITK启动子中增加人类ITK表达的多态性与哮喘发病率增加有关(Lee, S.H.等2011 Ann Hum Genet 75: 359-369)且在过敏性哮喘的模型中ITK优先调节Th2细胞因子IL-5和IL-13的分泌,表明ITK抑制剂在治疗哮喘中可能是有用的(Muller C等2003 J Immunol. 170: 5056-63)。此外,ITK在来自患有过敏性接触性皮炎、特应性皮炎和银屑病的患者的受损皮肤中被上调(von Bonin A等2010. Exp. Derm; 20, 41-47)。

[0005] TXK (RLK) 是另一个在T细胞中表达的Tec激酶家族成员(Hu Q等1995 J. Biol Chem. 270: 1928-1934)。TXK (RLK) 和ITK分别通过它们在Th1和Th2细胞中差异表达调节Th细

胞介导的反应(Sahu N等J.Immunol.2008,181:6125-6131)。此外,虽然ITK<sup>-/-</sup>小鼠在NKT细胞产生中已经损害,这种缺陷在缺乏TXK和ITK两者的情况下会加剧(Felices M.等2008,J Immunol.180:3007-3018)。据报道,患有贝切特氏病(Behcet's disease)的患者中TXK的表达增加,贝切特氏病是与炎症增加和Th1细胞因子产生相关的炎性疾病(Suzuki N等2006Clin.Med.Res.4:147-151)。敲除ITK和TXK两者与单独敲除任一激酶相比对T细胞功能产生更强的影响(Schaeffer等1999Science 284:638-641;Felices等2008J.Immunol.180:3007-3018)。

[0006] 在已知相关激酶的家族后,TEC激酶首先显示在肝细胞癌中表达(Mano等1990Oncogene.5:1781-6)。TEC激酶也在正常B细胞和T细胞中表达,且在Th1和Th2细胞中T细胞活化后上调(Tomlinson MG等2004Mol.Cell.Biol.,24:2455-2466)。TEC可能与ITK或TXK具有不同的作用。与ITK和TXK相比,TEC具有独特的亚细胞分布差异蛋白质相互作用(Tomlinson MG等2004Mol.Cell.Biol.,24:2455-2466),且TEC,而不是TXK或ITK,是c-Maf的酪氨酸激酶,其导致c-Maf依赖性IL-4启动因子活性的增强(Liu CC等2015PLoS One.10:e0127617)。最后,TEC控制参与真菌败血症的非经典caspase 8炎性体的组装,且TEC缺陷型小鼠对念珠菌病具有高度抗性(Zwolaneck F等2014PLoS Pathog 10,e1004525)。

[0007] BTK在B细胞受体信号传导和B细胞发育和活化的调节中是重要的(W.N.Khan等Immunity,1995,3:283-299和Satterthwaite AB等Immunol.Rev.2000,175:120-127)。人类中编码BTK的基因的突变导致X连锁无丙种球蛋白血症,其特征是免疫功能降低,包括B细胞的成熟受损、免疫球蛋白和外周B细胞的水平降低、T细胞独立免疫应答减弱(Rosen FS等,N Engl.J.Med.,1995,333:431-440;and Lindvall JM等Immunol.Rev.2005,203:200-215)。BTK被Src家族激酶激活并磷酸化PLC  $\gamma$ ,这导致对B细胞的功能和存活的影响。此外,BTK对肥大细胞、巨噬细胞和中性粒细胞的细胞功能很重要,这表明BTK抑制将有效治疗由这些细胞和相关细胞介导的疾病,包括炎症、骨骼疾病和过敏性疾病(Kawakami Y.等,J Leukoc Biol.1999;65(3):286-90)。BTK抑制在淋巴瘤细胞的存活中也是重要的(Herman SEM.Blood,2011,117:6287-6289),这表明BTK的抑制可用于治疗淋巴瘤和其它癌症(Uckun FM,Int Rev Immunol.2008;27(1-2):43-69)。因此,BTK和相关激酶的抑制剂作为抗炎剂和抗癌剂具有重要意义。BTK对血小板功能和血栓形成也很重要,这表明BTK选择性抑制剂可以被证明为有用的抗血栓形成剂(Liu J.Blood,2006,108:2596-603)。此外,BTK是炎性体激活所必需的(Ito M.等Nat Commun.2015Jun 10;6:7360)且BTK的抑制可用于治疗炎性体相关疾病,包括中风、痛风、2型糖尿病、肥胖诱导的胰岛素抵抗、动脉粥样硬化、肌萎缩性侧索硬化、帕金森氏症和Muckle-Wells综合症。在中风模型中,BTK在CNS小胶质细胞中表达且在浸润性巨噬细胞和中性粒细胞中被激活,且BTK的抑制在中风的小鼠模型中抑制神经损伤(Ito M.等Nat Commun.2015Jun 10;6:7360)。此外,BTK在HIV感染的T细胞中表达,并用BTK抑制剂治疗使感染的细胞对凋亡性死亡敏感化并且导致病毒产生减少(Guendel I等J Neurovirol.2015;21:257-75)。因此,BTK抑制剂可用于治疗HIV-AIDS和其它病毒感染。

[0008] 使用Tec激酶家族缺失动物的实验数据支持激酶抑制在人类疾病中的治疗益处。ITK调节由于实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)(多发性硬化症(MS)的动物模型)引起的神经炎症。ITK<sup>-/-</sup>小鼠表现出疾病严重程度降低,并将ITK<sup>-/-</sup>CD4<sup>+</sup>T细胞转移到T细胞缺陷小鼠导致较低EAE疾病严重程度(Kannan Ak等J.Neurosci,2015;35:221-233)。ITK<sup>-/-</sup>小鼠在

接触性超敏反应模型中表现降低的炎症反应 (Von Bonin等Experimental Dermatology, 2010;20,41-47), 且ITK-/-小鼠的过敏性哮喘模型中Th2细胞因子IL-5和IL-13的分泌减少 (Mueller C等J Immunol.2003;170(10):5056-63)。

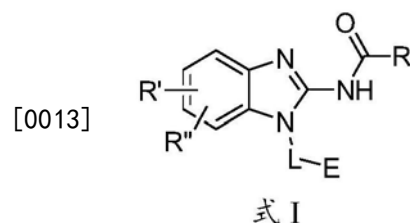
[0009] 用选定的Tec激酶家族成员的抑制剂获得的数据表明这些激酶的抑制剂可用于治疗疾病。ITK、TXK和其它Tec激酶家族成员的抑制剂可用于预防或治疗T细胞相关疾病,如多发性硬化症、哮喘、特应性皮炎、银屑病和炎症肠病以及病毒感染。例如,ITK和TXK的小分子抑制剂已显示出在结肠炎的小鼠过继性T细胞转移模型中的功效 (Cho H-S等2015; J.Immunol.195:4822-31)。

[0010] 此外,选择性ITK抑制剂在哮喘大鼠模型中阻断卵清蛋白激发后的白细胞肺浸润 (Lin TA等2004Biochemistry.43:11056-11062)。另外,ITK抑制剂在皮肤接触性超敏反应的小鼠模型中是有效的 (von Bonin A等2010.Exp.Derm;20,41-47)。此外,ITK抑制剂可以在病毒生命周期的各个阶段改变HIV复制,包括病毒进入、gp120诱导的肌动蛋白重组、病毒长末端重复序列 (LTR) 的转录和T细胞的病毒粒子装配释放 (Readinger JA等Proc Natl Acad Sci U S A.2008;105(18):6684-9)。类似地,ITK抑制减轻了与柯萨奇病毒CVB3感染相关的T细胞活化和小鼠心肌炎症 (He F等Mol Immunol.2014;59(1):30-8) 并且ITK是感染的T细胞中流感病毒的有效复制所必需的 (Fan K等J Gen Virol.2012;93(Pt5):987-97)。这些数据表明Tec-激酶家族的抑制剂可用于治疗各种人和动物疾病。

## 发明内容

[0011] 本发明涉及一种新的共价激酶抑制剂家族。已发现该类化合物具有针对Tec激酶家族成员 (特别是ITK和/或RLK (TXK) 和/或TEC) 的抑制活性。

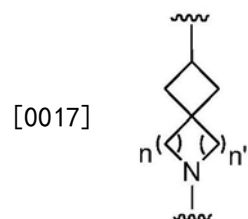
[0012] 本发明的一个方面涉及式I的化合物:



[0014] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物,其中

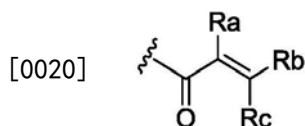
[0015] R选自取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基;

[0016] L选自



[0018] 其中n是1至3的整数;n' 是1至3的整数;

[0019] E选自下列基团:

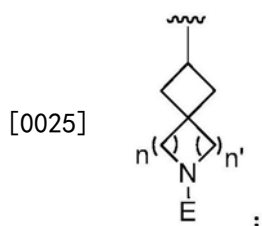


[0021] 其中Ra、Rb和Rc独立地选自氢、卤素、-CN、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、或取代或未取代的杂环基；或

[0022] Ra和Rb与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元取代或未取代的杂环，并且如上所述选择Rc；或

[0023] Rb和Rc与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元杂环，并且如上所述选择Ra；或

[0024] Ra和Rb与它们所连接的碳原子一起形成三键，并且如上所述选择Rc；条件是L-E是



[0026] R' 和R''独立地选自-X-Y，其中

[0027] X选自亚烷基、-(亚烷基)-NR<sup>1</sup>-、-(亚烷基)-NR<sup>2</sup>-、-(亚烷基)-O-、-O-、-S-、-S(O)<sub>m</sub>-、-NR<sup>1</sup>-、-NR<sup>2</sup>-、-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NR<sup>1</sup>-、-C(O)ONR<sup>1</sup>-或-S(O)<sub>m</sub>NR<sup>1</sup>-；

[0028] R<sup>1</sup>选自氢、低级烷基或低级环烷基；

[0029] R<sup>2</sup>选自-C(O)R<sup>3</sup>、-C(O)OR<sup>3</sup>或-S(O)<sub>m</sub>R<sup>3</sup>；

[0030] R<sup>3</sup>选自低级烷基或低级环烷基；

[0031] m是1至2的整数；或

[0032] X是键；以及

[0033] Y选自氢、卤素、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、取代的或未取代的芳烷基或取代或未取代的杂芳烷基；

[0034] R' 和R''与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环，或3-至8-元取代或未取代的杂环基环。

[0035] 在另一个方面本文提供了药物组合物，其包含本文公开的式I化合物，和/或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物；以及至少一种药学上可接受的载体或赋形剂。

[0036] 本发明的药物组合物，其包含适于用于治疗 of 的式I化合物，和/或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物，优选地其中受试者患有其中涉及一种或多种Tec激酶家族成员活性的疾病、失调或病症并且可以通过激酶抑制来治疗。

[0037] 在另一个方面，本发明涉及如本文所定义的式I化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物在制备用于在受试者中预防或治疗蛋白激酶介导的疾病或病症的药物中的用途，所述蛋白激酶介导的疾病或病症选自癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎症性疾病、移植抗宿主病、血栓栓塞性疾病、神经失调、病毒感染、骨相关疾病、中风、阿尔茨海默病、亨廷顿

氏病、肌萎缩性侧索硬化及其。

[0038] 在另一个方面,本发明提供药物组合,其包含本文公开的式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物,以及至少一种用于在组合治疗中治疗或预防癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎性疾病或病毒感染的另外的活性药物成分。

[0039] 本发明的另一个方面提供药物组合,其包含本文公开的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物,所述药物组合在治疗中用于与至少一种用于治疗癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎性疾病或病毒感染的另外的活性药物成分一起使用,其中:所述另外的活性药物成分适合于正治疗的疾病;并且所述另外的活性药物成分与所述组合物一起作为单一剂型施用或与所述组合物分别作为多剂型的一部分施用。

[0040] 在另一个方面,本发明提供药物组合,其包含本文公开的式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物,以及至少一种用于在组合治疗中治疗或预防癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎性疾病或病毒感染的另外的活性药物成分。

[0041] 本发明的另一个方面提供了用于制备本发明的式I化合物的合成方法,但不意欲是限制性的。

[0042] 本发明的另一个方面提供治疗患有蛋白激酶介导的疾病或病症(优选地由蛋白激酶介导)的受试者的方法,包括给受试者施用治疗有效量的本文公开的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物,连同至少一种药学上可接受的载体。

[0043] 在又一个方面,本文提供了预防或治疗通过抑制患者的ITK可治疗的疾病的方法,该方法包括给患者施用由治疗有效量的本文公开的化合物和或其药学上可接受的盐和一种或多种药学上可接受的赋形剂组成的药物组合物。在该方面的一个实施方案中,患者患有可通过激酶抑制治疗的疾病或失调。本文公开的化合物和/或其药学上可接受的盐可以抑制一种或多种激酶,包括但不限于ITK、RLK(也称为TXK)、BMX、BTK和/或TEC。

[0044] 本发明的另一个方面提供调节受试者中激酶活性的方法,包括施用治疗有效量的本文公开的化合物,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物。

[0045] 本发明的另一个方面提供抑制细胞或组织中蛋白激酶的方法,包括使细胞或组织与本文公开的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物接触。

[0046] 本发明的另一个方面提供在受试者中抑制蛋白激酶活性和/或调节靶激酶功能的方法,包括施用治疗有效量的本文公开的化合物,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性物(biologically active)。

[0047] 本发明的另一个实施方案提供治疗患有癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎性疾病、神经疾病、病毒感染或其组合的受试者的方法,其中ITK、TXK、TEC、BTK或其组合的酶活性通过给受试者施用治疗有效量的本文公开的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、

盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物来降低。在本发明的一个方面，蛋白激酶的酶活性在受试者的B细胞、T细胞、NK/T细胞、小胶质细胞和/或肥大细胞中被抑制或调节。

[0048] 在一个实施方案中，本发明提供一种治疗方法，其中还包括施用治疗有效量的至少一种用于在组合治疗中治疗癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎症疾病、神经疾病或病毒感染的另外的活性药物成分。另外的活性药物成分与式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物一起作为单一剂型一起施用或分别作为多剂型的一部分施用。另外的活性药物成分选自包括下列的组：类固醇、白三烯拮抗剂、抗组胺剂、抗癌剂、抗病毒剂、抗生素剂、钠通道阻滞剂、谷氨酸盐拮抗剂、蛋白激酶抑制剂或其组合。

[0049] 本发明的另一个方面提供了一种探针，其包含本文公开的式I化合物，其与所述化合物的可检测标记或亲和标记物共价缀合。探针，其中可检测标记选自由下列组成的组：荧光部分、化学发光部分、顺磁性造影剂、金属螯合物、含放射性同位素的部分和生物素。

[0050] 本发明化合物的施用可以通过本领域已知的任何适当方式进行，包括全身施用和局部施用。在施用之前，可以将化合物配制成适合于药物或临床用途的组合物。此类组合物可包含合适的载体或赋形剂，例如用于局部、吸入或全身施用的那些。本发明的化合物可以单独施用或与一种或多种药学上可接受的用于治疗或预防蛋白激酶介导的病症的活性物质组合施用。

[0051] 本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其它参考文献均以其全部内容引入作参考。

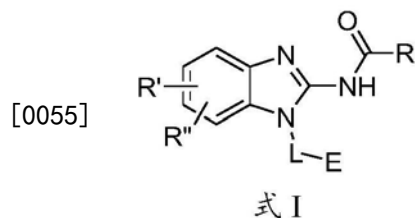
[0052] 根据说明书和附图以及权利要求，本文公开的发明的其它特征、目的和优点是显而易见的。

## 附图说明

[0053] 图1表示在实验性自身免疫性脑脊髓炎 (EAE) (多发性硬化的小鼠模型) 中评估的化合物16的功效。

## 具体实施方式

[0054] 本发明涉及新的式I共价激酶抑制剂

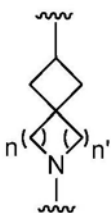


[0056] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物，其中

[0057] R选自取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基；

[0058] L选自

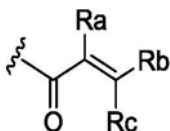
[0059]



[0060] 其中n是1至3的整数;n' 是1至3的整数;

[0061] E选自下列基团:

[0062]



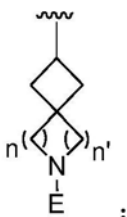
[0063] 其中Ra、Rb和Rc独立地选自氢、卤素、-CN、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、或取代或未取代的杂环基;或

[0064] Ra和Rb与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元取代或未取代的杂环,并且如上所述选择Rc;或

[0065] Rb和Rc与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环或形成3-至8-元杂环,并且如上所述选择Ra;或

[0066] Ra和Rb与它们所连接的碳原子一起形成三键,并且如上所述选择Rc;条件是L-E是

[0067]



[0068] R' 和R'' 独立地选自-X-Y,其中

[0069] X选自亚烷基、-(亚烷基)-NR<sup>1</sup>-、-(亚烷基)-NR<sup>2</sup>-、-(亚烷基)-O-、-O-、-S-、-S(O)<sub>m</sub>-、-NR<sup>1</sup>-、-NR<sup>2</sup>-、-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NR<sup>1</sup>-、-C(O)ONR<sup>1</sup>-或-S(O)<sub>m</sub>NR<sup>1</sup>-;其中[0070] R<sup>1</sup>选自氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或3-至8-元环烷基环;[0071] R<sup>2</sup>选自-C(O)R<sup>3</sup>、-C(O)OR<sup>3</sup>或-S(O)<sub>m</sub>R<sup>3</sup>;[0072] R<sup>3</sup>选自C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或3-至8-元环烷基环;

[0073] m是1至2的整数;或

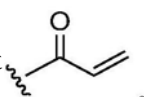
[0074] X是键以及;

[0075] Y选自氢、卤素、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、取代的或未

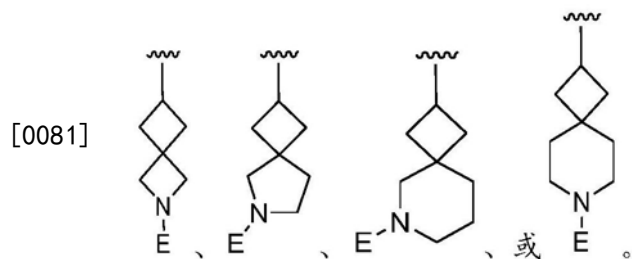
[0076] 取代的芳烷基或取代或未取代的杂芳烷基;

[0077] R' 和R'' 与它们所连接的碳原子一起形成3-至8-元取代或未取代的环烷基环,或3-至8-元取代或未取代的杂环基环。

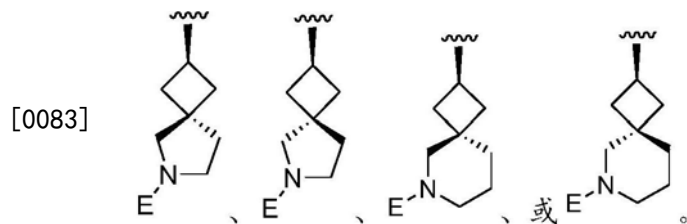
[0078] 一个实施方案包括式I的化合物,其中Ra、Rb和Rc独立地选自由氢、-CN、卤素和C<sub>1</sub>至C<sub>3</sub>取代或未取代的烷基组成的组。

[0079] 一个实施方案包括式I的化合物,其中E是 。

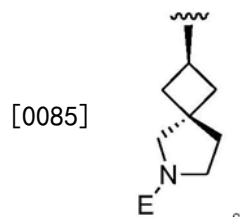
[0080] 一个实施方案包括式I的化合物,其中L-E选自



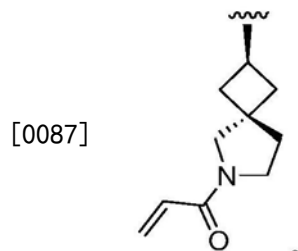
[0082] 一个实施方案包括式I的化合物,其中L-E选自



[0084] 一个实施方案包括式I的化合物,其中L-E是



[0086] 一个可选的实施方案包括式I的化合物,其中L-E是



[0088] 一个实施方案包括式I的化合物,其中R是取代或未取代的芳基。

[0089] 一个实施方案包括式I的化合物,其中R是取代或未取代的杂芳基。

[0090] 一个实施方案包括式I的化合物,其中R' 选自 -CH<sub>2</sub>-NH-Y, 其中Y如上所定义且R'' 是氢。

[0091] 一个实施方案包括式I的化合物,其中R' 选自 -CH<sub>2</sub>-Y, 其中Y如上所定义且R'' 是氢。

[0092] 一个实施方案包括式I的化合物,其中X-Y选自 -NR<sup>2</sup>C(O)-Y, 其中R<sup>2</sup>和Y如上所定义且R'' 是氢。

[0093] 一个实施方案包括式I的化合物,其中R' 和R'' 都是氢。

[0094] 一个实施方案包括式I的化合物,其中R' 是卤素且R'' 是氢。

[0095] 一个实施方案包括式I的化合物,其中n=1。

[0096] 一个实施方案包括式I的化合物,其中n=2。

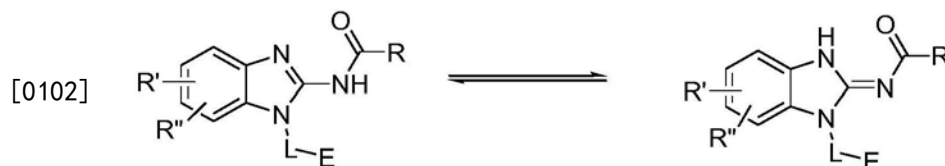
[0097] 一个实施方案包括式I的化合物,其中 $n=3$ 。

[0098] 一个实施方案包括式I的化合物,其中 $n'=1$ 。

[0099] 一个实施方案包括式I的化合物,其中 $n'=2$ 。

[0100] 一个实施方案包括式I的化合物,其中 $n'=3$ ;

[0101] 式I化合物可以作为互变异构体存在。例如,式I化合物可以以下列互变异构形式存在:



[0103] 其中R、R'、R''、L和E如本文所定义。

[0104] 本发明化合物可具有作为包括酪氨酸蛋白激酶的蛋白激酶的抑制剂的活性。更具体地,本发明化合物可以抑制ITK酶和ITK依赖性细胞功能。

[0105] 在本发明的一个实施方案中,式I化合物可以配制成药物组合物,其包含药学有效量的式I或其药学上可接受的盐或溶剂化物与至少一种药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体的组合。

[0106] 根据本发明提供了药物组合物,其包含式I化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物与至少一种药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体的组合。

[0107] 药物组合物可以是适于口服施用(例如,片剂、胶囊、颗粒、粉末和糖浆)、肠胃外施用(例如,注射(静脉内的、肌肉内的或皮下的))、滴注制剂、吸入、洗眼剂、局部施用(例如,软膏)、或栓剂的常规药物形式。无论选择何种施用途径,通过本领域技术人员已知的常规方法可将化合物配制成药学上可接受的剂型。

[0108] 术语“化合物”还指其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物。

[0109] 术语“药学上有效量”是指有效预防或治疗与蛋白激酶活性相关的疾病或病症的用于预防和治疗人的组合物的任何量。

[0110] 术语“药学上可接受的”在本文中用于指在合理的医学判断范围内,适合用于与人类和动物的组织接触而没有过量的毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症,与合理的益处/风险比率相符的那些配体、材料、组合物和/或剂型。

[0111] 本文所用的术语“药学上可接受的载体”是指药学上可接受的材料、组合物或载体,例如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或封装材料。从与制剂的其它成分(包括活性成分)相容并且对患者无伤害或损害的意义讲,每种载体必须是可接受的。可用作药学上可接受的载体的材料的一些实例包括:(1)糖,例如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2)淀粉,例如玉米淀粉、马铃薯淀粉和取代或未取代的 $\beta$ -环糊精;(3)纤维素及其衍生物,例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素;(4)粉末黄蓍胶;(5)麦芽;(6)明胶;(7)滑石;(8)赋形剂,例如可可脂和栓剂蜡;(9)油,例如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和豆油;(10)二醇,如丙二醇;(11)多元醇,例如甘油、山梨糖醇、甘露醇和聚乙二醇;(12)酯类,例如油酸乙酯和月桂酸乙酯;(13)琼脂;(14)缓冲剂,例如氢氧化镁和氢氧化铝;(15)海藻酸;(16)无热原水;(17)等渗盐水;(18)林格溶液(Ringer's solution);(19)乙醇;(20)磷

酸盐缓冲溶液；(21) 其它应用于药物制剂的无毒相容物质。对于口服制剂，“药学上可接受的载体”诸如纤维素、硅酸钙、玉米淀粉、乳糖、蔗糖、右旋糖、磷酸钙、硬脂酸、硬脂酸镁、硬脂酸钙、明胶、滑石、表面活性剂、悬浮剂、乳化剂、稀释剂等等可以被使用。对于可注射的制剂，“药学上可接受的载体”诸如水、盐水、葡萄糖溶液、葡萄糖溶液类似物、醇、二醇、醚（例如，聚乙二醇400）、油、脂肪酸、脂肪酸酯、甘油酯、表面活性剂、悬浮剂、乳化剂等等可以被使用。

[0112] 术语“药学上可接受的盐”是指化合物的相对无毒的、无机和有机酸加成盐。这些盐可以在化合物的最终分离和纯化过程中原位制备，或者通过单独使纯化的化合物以其游离碱形式与合适的有机或无机酸反应，并分离由此形成的盐来制备。代表性的盐包括氢溴酸盐、盐酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、硝酸盐、乙酸盐、戊酸盐、油酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、月桂酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、磷酸盐、甲苯磺酸盐、柠檬酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、萘二甲酸盐、甲磺酸盐、葡庚糖酸盐、乳糖醛酸盐、月桂基磺酸盐和氨基酸盐等（参见，例如，Berge等（1977）“Pharmaceutical Salts”，J.Pharm.Sci.66:1-19）。

[0113] 在其它情况下，本发明的化合物可含有一个或多个酸性官能团，因此能够与药学上可接受的碱形成药学上可接受的盐。在这些情况下，术语“药学上可接受的盐”是指化合物的相对无毒的、无机和有机碱加成盐。这些盐同样可以在化合物的最终分离和纯化过程中原位制备，或者通过单独使纯化的化合物以其游离酸形式与药学上可接受的金属阳离子的合适的碱诸如氢氧化物、碳酸盐或碳酸氢盐、与氨、或与药学上可接受的有机伯、仲或叔胺反应来制备。代表性的碱金属或碱土金属盐包括锂盐、钠盐、钾盐、钙盐、镁盐和铝盐等。可用于形成碱加成盐的代表性有机胺包括乙胺、二乙胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪等（参见，例如，Berge等，同上）。

[0114] 如本文所用，术语“螺环”是指仅通过一个原子连接的双环系统。环可以是不同的或相同的。连接原子，也称为螺原子，优选地是季碳。螺环可任选地被一个或多个如本文所定义的取代基取代。

[0115] 如本文所用，术语“烷基”是指饱和烃链。烷基链可以是直链或支链的。烷基链可任选地被一个或多个如本文所定义的取代基取代。代表性的烷基包括甲基、乙基、丙基（正丙基和异丙基）、丁基（正丁基、叔丁基和异丁基）、戊基（正戊基和异戊基）、己基等。在某些优选的实施方案中，烷基取代基是低级烷基，例如具有1至6个碳原子或1至3个碳原子。

[0116] 如本文所用，术语“烯基”是指与上述“烷基”在长度和可能的取代方面类似的，但含有至少一个双键的不饱和烃链。代表性的烯基包括乙烯基、丙烯-2-基、巴豆基、异戊烯-2-基、1,3-丁二烯-2-基、2,4-戊二烯基和1,4-戊二烯-3-基。在某些优选的实施方案中，烯基取代基是低级烯基，例如具有2-6个碳原子。

[0117] 如本文所用，术语“炔基”是指与上述“烷基在长度和”可能的取代方面类似的，但含有至少一个三键的不饱和烃链。代表性的炔基包括乙炔基、1-和3-丙炔基和3-丁炔基。在某些优选的实施方案中，炔基取代基是低级烷基，例如具有2-6个碳原子。

[0118] 如本文所用，术语“亚烷基”是指具有两个开放化合价的烷基。

[0119] 如本文所用，术语“杂烷基”是指含有一至四个选自O、N和S的杂原子的饱和或部分饱和的链，并且其中氮原子和硫原子可任选地被氧化且氮原子可任选地被季铵化。杂烷基链可以是直链或支链的。杂烷基链可任选地被一个或多个如本文所定义的取代基取代。杂

原子O、N和S可以位于杂烷基的任何内部位置。多达两个杂原子可以是连续的。

[0120] 术语“环烷基”，“碳环”或“碳环基”还包括具有两个或更多个环的多环系统，其中两个或更多个碳对于两个相邻的环是共有的，其中至少一个环是环烷基，例如另一个环状环可以是芳基、杂芳基和/或杂环基。代表性的环烷基环包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、1-环己烯基、3-环己烯-1-基、环庚基、四氢萘基、茚满基、金刚烷基及其组合。环烷基环可任选地被一个或多个如本文所定义的取代基取代。在某些优选的实施方案中，环烷基取代基是低级环烷基，例如，是指3-至8-元环，其中环的每个原子是碳或；是指螺环，其中每个环是饱和或部分饱和的烃环并且螺原子是碳。

[0121] 如本文所用，术语“杂环基”或“杂环”是指非芳族环结构，更优选地3-至8-元环，其环结构包括1-4个杂原子或；是指螺环，其中双环系统含有1至4个杂原子。杂环基环可任选地被一个或多个如本文所定义的取代基取代。术语“杂环基”或“杂环”还包括具有两个或更多个环的多环系统，其中两个或更多个碳对于两个相邻的环是共用的，其中至少一个环是杂环的，例如，其它环可以是环烷基、芳基和/或杂芳基。杂环基包括，例如，四氢呋喃、哌啶、哌嗪、吡咯烷、吗啉、内酯、内酰胺及其组合。

[0122] 如本文所用，术语“芳基”是指5-、6-和7-元芳环，其中环的每个原子是碳。芳基环可任选地被一个或多个如本文所定义的取代基取代。术语“芳基”还包括具有两个或更多个环的多环系统，其中两个或更多个碳对于两个相邻的环是共用的，其中至少一个环是芳基，例如，其它环可以是环烷基、杂芳基、和/或杂环基。芳基包括，例如，苯、萘、菲、蒽及其组合。

[0123] 如本文所用，术语“杂芳基”或Het是指5-、6-和7-元芳环，其环结构包括1-4个杂原子。杂芳基环可任选地被一个或多个如本文所定义的取代基取代。术语“杂芳基”还包括具有两个或更多个环的多环系统，其中两个或更多个碳对于两个相邻的环是共用的，其中至少一个环是杂芳基，例如，其它环可以是环烷基、芳基和/或杂环基。杂芳基包括，例如，吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、异噻唑、噻唑、三唑、吡唑、吡啶、吡嗪、哒嗪和嘧啶以及其组合。

[0124] 如本文所用，术语“多环基”或“多环”是指两个或更多个环（例如，环烷基、芳基、杂芳基和/或杂环基），其中两个或更多个碳对于两个相邻的环是共用的，例如，环是“稠环”。多环基环可任选地被一个或多个如本文所定义的取代基取代。

[0125] 如本文所用，术语“芳烷基”是指被芳基取代的烷基，例如 $-(CH_2)_p-Ar$ 且p是1至8的整数。芳烷基可以进一步被 $C_1-C_3$ 烷基取代。

[0126] 如本文所用，术语“杂芳烷基”是指被杂芳基取代的烷基，例如 $-(CH_2)_p-Het$ 且p是1至8的整数。杂芳烷基可以进一步被 $C_1-C_3$ 烷基取代。

[0127] 如本文所用，术语“烷氧基”是指烷基醚取代基，其中术语烷基如其中所定义。代表性的烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、叔丁氧基及其组合。

[0128] 如本文所用，术语“醚”是指桥连在碳原子上连接的两个部分的氧基。

[0129] 如本文所用，术语“烷氧基烷基”是指被烷氧基取代的烷基，从而形成醚。

[0130] 如本文所用，术语“卤代”或“卤素”是指氟、氯、溴和碘。

[0131] 如本文所用，术语“杂原子”是指除碳或氢之外的任何元素的原子。优选的杂原子是氮、氧和硫。

[0132] 如本文所用，术语“烃”是指完全由碳和氢组成的基团。

[0133] 如本文所用，术语“卤代烷基”是指其中一个或多个氢被卤素取代的烷基取代基。

[0134] 如本文所用,术语“羰基”当单独时包括甲酰基-CH(O)且当组合时是-C(O)基团。

[0135] 如本文所用,术语“羧基(carboxyl)”或“羧基(carboxy)”是指-C(O)OH或相应的“羧酸根”阴离子,例如在羧酸盐中。

[0136] 如本文所用,术语“酰基”是指-C(O)R,其中R是如本文所定义的烷基、杂烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基。代表性的酰基包括乙酰基、三氟乙酰基、苯甲酰基及其组合。

[0137] 如本文所用,术语“烷氧基羰基”是指-C(O)OR,其中R是如本文所定义的烷基。代表性的烷氧基羰基包括甲氧基羰基、乙氧基羰基及其组合。

[0138] 如本文所用,术语“烷硫基”是指硫醚-SR,其中R是如本文所定义的烷基。代表性的烷硫基包括甲硫基、乙硫基及其组合。

[0139] 如本文所用,术语“磺酸根(sulfonate)”是指磺酸的盐或酯-OSO<sub>2</sub>R,其中R是如本文所定义的烷基、杂烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基。代表性的磺酸根基团包括甲磺酸根、苯磺酸根、甲苯磺酸根及其组合。

[0140] 如本文所用,术语“磺酰基”是指-SO<sub>2</sub>R,其中R是如本文所定义的烷基、杂烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基。代表性的磺酸盐基团包括甲基磺酰基、乙基磺酰基及其组合。

[0141] 如本文所用,术语“氨磺酰基”是指-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>。

[0142] 如本文所用,术语“亚磺酰氨基(sulfonamido)”是指-S(O)<sub>2</sub>NRR',其中R和R'独立地选自如上定义的烷基、杂烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基。R和R'可以结合形成杂环基环。

[0143] 如本文所用,术语“氨基”是指-NRR',其中R和R'独立地选自如本文所定义的氢、烷基、杂烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基。R和R'可以结合形成杂环基环。

[0144] 如本文所用,术语“酰氨基”或“酰胺”是指-C(O)NRR',其中R和R'独立地选自如本文所定义的氢、烷基、杂烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基。R和R'可以结合形成杂环基环。

[0145] 术语“取代的”是指具有取代骨架的一个或多个原子上的氢的取代基的部分。可以理解,“取代”或“被.....取代”包括隐含的限制条件,即这种取代是符合被取代原子和取代基的允许化合价,并且该取代产生稳定的化合物,例如,其不会自发地如通过重排、环化、消除等进行转换。如本文所用,术语“取代的”预期包括有机化合物的所有允许的取代基。对于合适的有机化合物,允许的取代基可以是一个或多个并且相同或不同。为了本发明的目的,杂原子如氮可以具有氢取代基和/或本文所述的有机化合物的任何允许的取代基,其满足杂原子的化合价。

[0146] 如本文所用,取代基选自烷基、烯基、炔基、卤代烷基、杂烷基、环烷基、3至8元杂环基、芳基、杂芳基、卤素、羟基、羰基、羧基、烷氧基羰基、甲酰基或酰基、硫代羰基(如硫代酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、磷酰基、磷酸酯、膦酸酯、亚膦酸酯、氨基、酰氨基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸根、磺酸根(sulfonate)、氨磺酰基、亚磺酰氨基、磺酰基、芳烷基或芳香族或杂芳香族部分;且其中:

[0147] 烷基代表C<sub>1-6</sub>烷基;

[0148] 烯基代表C<sub>2-6</sub>烯基;

[0149] 炔基代表C<sub>2-6</sub>炔基;及

[0150] 芳基包括5-、6-和7-元取代或未取代的单环芳族基团,其中环的每个原子是碳;或者具有两个或更多个环的多环体系,其中两个或更多个碳对于两个相邻的环是共用的,其中环中至少一个环是芳香族的;

[0151] 碳环基包括非芳族取代或未取代的环,其中环的每个原子是碳;或者具有两个或更多个环的多环系统,其中两个或更多个碳对于两个相邻的环是共用的,其中环中至少一个环是碳环的;

[0152] 杂芳基包括取代或未取代的芳族5-至7-元环结构,其环结构包括1-4个杂原子;或者具有两个或多个环的多环系统,其中两个或更多个碳对于两个相邻的环是共用的,其中环中至少一个环是杂芳族的;

[0153] 杂环基包括取代或未取代的非芳族3-至10-元环结构,其环结构包括1-4个杂原子;或者具有两个或多个环的多环系统,其中两个或更多个碳对于两个相邻的环是共用的,其中环中至少一个环是杂环的;或

[0154] 其药学上可接受的盐。

[0155] 本领域技术人员可以理解,如果合适,取代基本身可以被取代。

[0156] 在任何指定的取代基可能与本文所述的合成方法不相容的程度上,取代基可以用对这些方法中使用的反应条件稳定的合适的保护基(PG)保护。通过官能团的化学修饰将保护基团(protecting group)或“保护基(Protective Group)”引入分子中,以在随后的化学反应中获得化学选择性。常用的保护基团是:醇保护基团、胺保护基团、羰基保护基团、羧酸保护基团、磷酸酯保护基团和末端炔烃保护基团。在该方法的反应顺序中的合适点可以除去不同的保护基团PG<sub>1</sub>、PG<sub>2</sub>、PG<sub>3</sub>和PG<sub>4</sub>,以提供所需的中间体或目标化合物。合适的保护基团和使用这种合适的保护基团保护和去保护不同取代基的方法是本领域技术人员公知的,其实例可见于T.Greene和P.Wuts,Protecting Groups in Chemical Synthesis(第3版),JohnWiley&Sons,NY(1999)。全文中使用的保护基团的实例包括但不限于Fmoc、Bn、Boc、CBz和COCF<sub>3</sub>。在某些情况下,取代基可以特别地选择为在本发明方法中使用的反应条件下具有反应性。在这些情况下,反应条件将所选择的取代基转化为另一种取代基,所述另一种取代基可用于本发明方法中的中间体化合物或是目标化合物中的所需取代基。

[0157] 如本文所用,术语“探针”是指用可检测标记或亲和标记物标记的并且能够共价或非共价结合蛋白激酶结构域的本发明化合物。例如,当探针非共价结合时,它可被测试化合物置换。例如,当探针共价结合时,它可以用于形成交联的加合物,其可以被测试化合物定量和抑制。如本文所用,术语“亲和标记物”是指与本发明化合物或蛋白激酶结构域连接的配体或基团,其允许从溶液中提取缀合物。

[0158] 术语“前药”表示作为药物前体的化合物,其在施用于受试者后在体内转化为式I的化合物。式I化合物的前药或其药学上可接受的盐或溶剂化物在本发明的范围内。

[0159] 术语“受试者”或“患者”是指用于预防或治疗的人或动物受试者。

[0160] 在一个实施方案中,用途是离体的,例如体外,例如体外测定。

[0161] 本发明含义内的术语“组合”包括组分或活性药物成分的同时、顺序或单独使用。

[0162] 本发明化合物还包括中间体和/或最终化合物中存在的原子的所有同位素。同位素包括具有相同原子序数但不同质量数的那些原子。例如,式I化合物包括其中氢被氘、氚

及其组合取代的那些。

[0163] 治疗用途和应用

[0164] 本发明的化合物可具有作为蛋白激酶活性抑制剂的潜在用途,并且适用于治疗。

[0165] 本发明的一个方面提供抑制细胞中蛋白激酶活性的方法,该方法包括给所述细胞施用如本文所定义的式I化合物,或如本文所定义的其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物。

[0166] 在另一方面,本发明提供体外或体内抑制蛋白激酶的方法,所述方法包括使细胞与有效量的如本文所定义的式I化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物接触。

[0167] 本发明的另一方面提供抑制人或动物受试者中蛋白激酶活性以治疗或预防蛋白激酶介导的疾病的方法,该方法包括给所述受试者施用有效量的如本文所定义的式I化合物,或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0168] 本文使用的术语“蛋白激酶介导的疾病”与由蛋白激酶介导的事件触发或维持的异常或不期望的细胞反应相关。此外,各种蛋白激酶的异常激活、突变或过度表达涉及多种疾病和失调的机理。这些疾病包括但不限于癌症、自身免疫疾病、炎症、病毒感染和神经疾病。

[0169] 在一个实施方案中,通过本发明的化合物抑制的蛋白激酶是单独或组合的ITK、TXK、BTK或TEC。

[0170] 本发明的化合物可适用于治疗或预防涉及ITK、TXK、BTK或TEC的疾病,即涉及T细胞、B细胞、小胶质细胞和/或NK细胞的疾病,例如,癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎症疾病、神经变性、病毒感染及其组合。

[0171] 在一个实施方案中,将本文公开的化合物和/或其药学上可接受的盐施用给需要其的或其认识到需要其的患者以预防或治疗炎性病症。在另一个实施方案中,将本文公开的化合物和/或其药学上可接受的盐施用给需要其的或其认识到需要其的患者以预防或治疗以过量或不期望的细胞因子活性或产生为特征的炎性病症。在另一个实施方案中,将化合物和/或其药学上可接受的盐施用给需要其的或其认识到需要其的患者以预防或治疗肺部炎症、过敏性哮喘、肺炎、银屑病、特应性皮炎或其组合。在另一个实施方案中,将化合物和/或其药学上可接受的盐施用给需要其的或其认识到需要其的患者以预防或治疗葡萄膜炎或干眼症。

[0172] 本发明中的自身免疫疾病的实例包括关节炎、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、银屑病、银屑病关节炎、斯蒂尔病(Still's disease)、幼年型关节炎、I型糖尿病、炎性肠病、重症肌无力、桥本甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、奥德甲状腺炎(Ord's thyroiditis)、巴塞多氏病(Basedow's disease)、干燥综合征(Sjogren's syndrome)、多发性硬化症、格-巴二氏综合征(Guillain-Barre syndrome)、急性播散性脑脊髓炎、阿狄森病(Addison disease)、视性眼阵挛-肌阵挛综合征、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征、再生障碍性贫血、自身免疫性肝炎、乳糜泻、古德曼综合征(Goodpasture syndrome)、特发性血小板减少性紫癜、视神经炎、硬皮病、原发性胆汁性肝硬化、莱特尔病(Reiter's disease)、大动脉炎、颞动脉炎、温特自身免疫性溶血性贫血、韦格纳肉芽肿(Wegener granuloma)、全身脱毛、Burchett病、慢性疲劳综合征、自主神经功能异常、子宫内膜异位症、间质性膀胱炎、肌强直、外阴痛、天疱疮及其组合。

[0173] 本发明中的过敏性疾病的实例包括过敏、过敏性反应、过敏性结膜炎、过敏性鼻炎、过敏性皮炎及其组合。

[0174] 本发明中的炎性疾病的实例包括哮喘、阑尾炎、睑缘炎、细支气管炎、支气管炎、粘液囊炎、宫颈炎、胆管炎、胆囊炎、结肠炎、结膜炎、膀胱炎、泪腺炎、皮炎、皮肤炎、脑炎、心内膜炎、子宫内膜炎、肠炎、上颌炎、附睾炎、筋膜炎、纤维炎、胃炎、肠胃炎、肝炎、化脓性汗腺炎、炎症性肠病、喉炎、乳腺炎、脑膜炎、脊髓炎、心肌炎、肌炎、肾炎、卵巢炎、睾丸炎、骨炎、骨关节炎、胰腺炎、腮腺炎、心包炎、腹膜炎、咽炎、胸膜炎、静脉炎、肺炎、直肠炎、前列腺炎、肾盂肾炎、鼻炎、输卵管炎、鼻窦炎、口腔炎、滑膜炎、肌腱炎、扁桃体炎、葡萄膜炎、阴道炎、血管炎、外阴炎及其组合。

[0175] 病毒感染的实例包括HIV/AIDS、流感及其组合。

[0176] 神经变性疾病的实例包括多发性硬化症、阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病和肌萎缩性侧索硬化。

[0177] 本发明中的癌症的实例包括T细胞淋巴瘤和T细胞白血病,包括外周T细胞淋巴瘤、塞泽里综合征(Seazry syndrome)/皮肤T细胞淋巴瘤、实体瘤、非霍奇金淋巴瘤、急性淋巴细胞白血病和成人T细胞白血病/淋巴瘤。另外的实例包括NK/T细胞淋巴瘤、鼻型和侵袭性NK细胞白血病以及黑素瘤和肝细胞癌。

[0178] 在一个实施方案中,式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物通过抑制一种或多种涉及细胞增殖、细胞存活、病毒复制、自身免疫、炎性疾病或感染性疾病的宿主细胞激酶起作用。

[0179] 在本发明的另一方面,式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物,作为抗炎剂、自身免疫调节剂或抗癌剂充当细胞激酶的抑制剂。

[0180] 在本发明的另一方面,式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物通过抑制一种或多种涉及T细胞功能增殖或极化的宿主细胞激酶起作用。

[0181] 本发明的式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物和药学上可接受的组合物可以用于组合治疗,化合物和药学上可接受的组合物可以具有与其它治疗组合用于治疗癌症、病毒感染、免疫、炎症、神经疾病、增殖性和过敏性疾病的潜在用途。实例包括但不限于同时施用类固醇、白三烯拮抗剂、抗组胺剂、抗癌剂、抗病毒剂、抗生素剂或其它蛋白激酶抑制剂。抗癌剂可选自由下列组成的组:细胞信号转导抑制剂、有丝分裂抑制剂、烷化剂、抗代谢物、嵌入抗癌剂、拓扑异构酶抑制剂、免疫治疗剂、抗激素剂及其混合物。组合使用的另外的活性药物成分适合于所治疗的疾病,并且所述另外的活性药物成分与式I化合物一起作为单一剂型施用或分开作为多剂型的一部分施用。

[0182] 本发明的另一方面提供了本发明的化合物可以通过适合于待治疗病症的任何方式施用,这可取决于对位点特异性治疗的需要或待递送的药物的量。局部施用通常优选用于皮肤相关疾病,并且系统治疗优选用于癌症或癌前病症,尽管也考虑其它递送方式。例如,化合物可以口服递送,例如以片剂、胶囊、颗粒、粉末或包括糖浆在内的液体制剂的形

式；局部递送，例如以溶液、悬浮液、凝胶、乳膏或软膏的形式；舌下递送；经口递送；肠胃外递送，例如通过皮下、静脉内、肌肉内或胸骨内注射或输注技术（例如，作为无菌可注射水性或非水性溶液或悬浮液）；鼻内递送，例如通过吸入喷雾；直肠递送例如以栓剂的形式；或脂质体递送。可以施用含有无毒的、药学上可接受的载体或稀释剂的剂量单位制剂。化合物可以以适于立即释放、延长释放、延迟释放或控制释放的形式施用。立即释放或延长释放可以用合适的药物组合物实现或者，特别是在延长释放的情况下，用诸如皮下植入物或渗透泵的装置实现。化合物可以以适合于靶向递送的形式施用，其中药物仅在身体的目标区域（例如，在癌组织中）具有活性，以及以持续释放制剂的形式施用，其中药物在一段时间内以控制的方式从制剂中释放。

[0183] 在上述病症的治疗性和/或预防性治疗中都需要本发明的化合物。对于上述治疗性和/或预防性用途，施用剂量可随所用化合物、受试者、施用方式、所需治疗和所示病症而变化。每日剂量可以是每天受治疗者体重的约0.01mg/kg至约100mg/kg、且优选地约1mg/kg至约25mg/kg，一天一次或多次，以获得期望的治疗效果。

[0184] 式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物可适用于制备用于在受试者中抑制选自ITK、TXK、BTK、TEC或其组合的蛋白激酶活性的药物。

[0185] 本发明的药学上可接受的组合物可以通过常规方法使用本领域熟知的常规药物赋形剂获得。其通常可包含药学上可接受的添加剂、载体或赋形剂。本发明的药物组合物可以按照常规方法配制，并且可以以口服制剂诸如片剂、丸剂、粉剂、胶囊剂、糖浆剂、乳剂、微乳液等、或者肠胃外制剂诸如肌肉内、静脉内或皮下施用的形式制备。

[0186] 对于口服制剂，可以使用载体或添加剂，诸如纤维素、硅酸钙、玉米淀粉、乳糖、蔗糖、右旋糖、磷酸钙、硬脂酸、硬脂酸镁、硬脂酸钙、明胶、滑石、表面活性剂、悬浮剂、乳化剂、稀释剂等。用于口服施用的固体剂型包括胶囊、片剂、丸剂、粉剂和颗粒剂。用于口服施用的液体剂型包括但不限于药学上可接受的乳液、微乳液、溶液、悬浮液、糖浆和酏剂。液体剂型可含有惰性稀释剂，并且还可包括佐剂诸如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、调味剂和芳香剂。

[0187] 对于可注射制剂，无菌可注射水性或油性悬浮液可以根据已知技术使用合适的分散剂或湿润剂和悬浮剂配制。无菌可注射制剂还可以是在无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液、悬浮液或乳液，例如，作为在1,3-丁二醇中的溶液。在可接受的载体和溶剂中可以使用水、林格溶液、U.S.P. 和等渗氯化钠溶液。另外，无菌的固定油通常用作溶剂或悬浮介质。为此目的，可以使用包括合成的甘油单酯或甘油二酯的任何温和的固定油。此外，脂肪酸如油酸用于制备注射剂。

[0188] 本发明的另一方面提供药物组合物，其包含式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物，以及至少一种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0189] 本发明的药物组合物用于预防或治疗癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎症性疾病、移植物抗宿主病、血栓栓塞性疾病、神经疾病、病毒感染、骨相关疾病或其组合。

[0190] 在本发明的一个实施方案中，式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物适用于治疗，

其中受试者患有涉及一种或多种蛋白激酶家族成员活性的疾病、失调或病症。在一个实施方案中,蛋白激酶选自ITK、TXK、BTK、TEC或其组合。

[0191] 在本发明的一个实施方案中,式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物,用于在组合治疗中治疗或预防癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎性疾病、神经疾病或病毒感染。癌症可包括B细胞恶性肿瘤、B细胞淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病、非霍奇金淋巴瘤例如ABC-DLBCL、套细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病B细胞非霍奇金淋巴瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、多发性骨髓瘤、骨癌、骨转移或实体瘤。

[0192] 在本发明的一个实施方案中,式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物用于治疗,其还包含至少一种用于在组合治疗中治疗或预防癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎性疾病、神经疾病或病毒感染的另外的活性药物成分。另外的活性药物成分选自由下列组成的组:类固醇、白三烯拮抗剂、抗组胺剂、抗癌剂、抗病毒剂、抗生素剂、蛋白激酶抑制剂、免疫调节剂、关卡抑制剂及其组合,并且其中另外的活性药物成分与式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物一起作为单一剂型施用,或分开作为多剂型的一部分施用。

[0193] 另一方面,本发明涉及如本文所定义的本发明化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或如本文所定义的药物组合物,其用于治疗或预防蛋白激酶介导的疾病。

[0194] 在任何方面或实施方案中,本发明化合物可用于在组合治疗中治疗或预防癌症、自身免疫疾病,选自:类风湿性关节炎、幼年类风湿性关节炎、骨关节炎、强直性脊柱炎、银屑病关节炎、寻常性银屑病、寻常性天疱疮、大疱性类天疱疮、干燥综合征、系统性红斑狼疮、盘状SLE、狼疮性肾炎、抗磷脂病、惠普尔病(Whipple)、皮炎、多发性肌炎、自身免疫性血小板减少症、特发性血小板减少性紫癜、血栓性血小板减少性紫癜、自身免疫性(冷)凝集素疾病、自身免疫性溶血性贫血、冷球蛋白血症、自身免疫性血管炎、ANCA相关性血管炎、硬皮病、系统性硬化症、多发性硬化症、慢性局灶性脑炎、格-巴二氏综合征、慢性疲劳综合征、单核细胞增多症、视神经脊髓炎、自身免疫性葡萄膜炎、格雷夫斯病(Grave's disease)、甲状腺相关性眼病、肉芽肿伴显微镜下多血管炎、韦格纳肉芽肿、特发性肺纤维化、结节病、特发性膜性肾病、IgA肾病、肾小球硬化、胰腺炎、I型糖尿病或II型糖尿病、过敏性疾病、炎性疾病、神经疾病或病毒感染。

[0195] 另一方面,本发明涉及如本文所定义的本发明化合物,或其药学上可接受的盐或其溶剂化物,或如本文所定义的药物组合物,用于治疗患有蛋白激酶介导的疾病或病症的受试者。在一个实施方案中,蛋白激酶选自ITK、TXK、TEC或其组合。

[0196] 本发明实施方案的另一方面提供式I化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物作为蛋白激酶抑制剂的用途,蛋白激酶选自ITK、TXK、TEC或其组合。在一个实施方案中,该用途是离体的,例如体外,诸如体外测定。

[0197] 另一方面,本发明涉及如本文所定义的本发明化合物,或其药学上可接受的盐或其溶剂化物在制备用于治疗或预防蛋白激酶介导的疾病或病症的受试者的药物中的用途,其用于治疗癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎性疾病、移植物抗宿主病、血栓栓塞性疾

病、神经疾病、病毒感染、骨相关疾病或其组合。在一个实施方案中，蛋白激酶选自ITK、TXK、BTK、TEC或其组合。

[0198] 在另一方面，本发明涉及治疗或预防与蛋白激酶活性有关的疾病或病症的方法，所述方法包括给予受试者治疗有效量的如本文所定义的本发明化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或如本文所定义的药物组合物。在一个实施方案中，蛋白激酶选自ITK、TXK、BTK、TEC或其组合。

[0199] 本发明的另一方面提供如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或药物组合物，其用于治疗或预防涉及ITK、BTK、TXK和/或其它TEC激酶的疾病，即涉及B细胞、小胶质细胞、T细胞和/或肥大细胞的疾病，例如癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎性疾病、移植物抗宿主病、血栓栓塞性疾病、骨相关疾病等。

[0200] 本发明的另一方面提供化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物在制备用于治疗或预防涉及ITK、BTK、TXK和/或其它TEC激酶的疾病中的用途，即涉及B细胞、小胶质细胞、T细胞和肥大细胞的疾病，例如癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎性疾病、移植物抗宿主病、血栓栓塞性疾病、骨相关疾病等。

[0201] 另一方面，本发明提供治疗或预防疾病或病症的方法，所述方法包括给受试者施用治疗有效量的如本文所定义的式I化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或药物组合物。在一个具体实施方案中，所述疾病或病症包括过敏性疾病、自身免疫疾病、炎性疾病、血栓栓塞性疾病、骨相关疾病、癌症、移植物抗宿主病等。

[0202] 本发明的另一方面提供调节激酶功能的方法，该方法包括使细胞与本发明化合物接触，其量足以调节ITK、TXK和/或其它TEC激酶的酶活性，从而调节激酶功能。该方法可以离体，例如体外。

[0203] 本发明的另一方面提供了体外或体内抑制细胞增殖或存活的方法，所述方法包括使细胞与有效量的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物接触。

[0204] 在一个实施方案中，本发明提供了在细胞或组织中产生蛋白激酶抑制作用的方法，所述方法包括使细胞或组织与有效量的式I化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物接触。

[0205] 在其它实施方案中，本发明提供了体内产生蛋白激酶抑制作用的方法，所述方法包括给受试者施用有效量的式I化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0206] 本发明的另一方面提供了调节靶激酶功能的方法，包括：

[0207] a) 使细胞或蛋白激酶与本发明化合物接触，其量足以使式I化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物调节靶激酶功能，从而；

[0208] b) 调节靶激酶活性和信号传导。

[0209] 在另一个方面，本文提供了治疗通过抑制患者中的蛋白激酶可治疗疾病的方法，该方法包括给患者施用药物组合物，其包含治疗有效量的本文公开的式I化合物和/或其药学上可接受的盐和一种或多种药学上可接受的赋形剂。在该方面的一个实施方案中，患者患有可通过激酶抑制治疗的疾病或病症。本文公开的式I化合物或其药学上可接受的盐可以抑制非受体蛋白激酶的Tec家族的一种或多种激酶成员，包括但不限于ITK、TXK、TEC或其组合。

[0210] 在另一方面，本发明提供药物组合，其包含本发明化合物和至少一种用于在组合

治疗中治疗或预防癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎性疾病或病毒感染的另外的活性药物成分。

[0211] 在一个实施方案中,本发明提供治疗方法,其中进一步包括给予治疗有效量的至少一种用于在组合治疗中治疗癌症、自身免疫疾病、过敏性疾病、炎性疾病、神经疾病或病毒感染另外的活性药物成分。另外的活性药物成分与式I化合物一起作为单一剂型施用或分开作为多剂型的一部分施用。另外的活性药物成分选自包括下列的组:类固醇、白三烯拮抗剂、抗组胺剂、抗癌剂、抗病毒剂、抗生素剂、蛋白激酶抑制剂或其组合。

[0212] 本发明化合物的施用可以通过本领域已知的任何适当方式进行,包括全身施用和局部施用。在施用之前,可以将化合物配制成适合于药物或临床应用的组合物。此类组合物可包含合适的载体或赋形剂,例如用于局部、吸入或全身施用的那些。本发明化合物可以单独施用或与一种或多种药学上可接受的活性物(active)组合施用,用于治疗或预防蛋白激酶介导的病症。

[0213] 本发明的化合物物质(compounds object)可以一天1至4次施用给哺乳动物。可以在0.01-100mg/kg体重/天之间的剂量的本发明化合物物质可以施用给接受这些组合物的患者。剂量可以在很宽的范围内变化,并且适合于每种情况下的个体病症。对于上述用途,适合的剂量可以根据施用方式、待治疗的具体病症和所期望的效果而变化。优选地,可以使用1至50mg/kg体重/天的剂量。

[0214] 在本发明的一个实施方案中,受试者(例如人)的合适剂量率为约10mg至3g/天,口服一次或分剂量,例如一天2至4次,或以持续释放的形式。对于局部递送,取决于皮肤的渗透性、疾病的类型和严重程度并且取决于制剂的类型和施用频率,药物中不同浓度的活性化合物可足以通过局部施用引发治疗效果。优选地,根据本发明的药物中的活性化合物、其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物的浓度在1 $\mu$ mol/L和100mmol/L的范围内。

[0215] 在本发明的另一方面,式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、盐的溶剂化物、立体异构体、互变异构体、同位素、前药、络合物或生物活性代谢物作为抗炎剂、抗癌剂、抗病毒剂和抗血栓剂充当细胞激酶的抑制剂。

[0216] 本发明的化合物和/或药学上可接受的盐可以与一种或多种其它药物组合施用,用于治疗本公开化合物或其它药物可能具有效用的疾病或病症,其中药物组合在一起比任何一种药物单独使用更安全或更有效。这样的其它药物可以通过其通常使用的途径和量,与本公开的化合物同时或依次施用。当本公开的化合物和/或药学上可接受的盐与一种或多种其它药物同时使用时,优选含有此类其它药物和本公开的化合物和/或药学上可接受的盐的单位剂型的药物组合物。然而,组合治疗还可以包括其中本公开的化合物和/或药学上可接受的盐和一种或多种其它药物以不同的重叠方案(overlapping schedule)施用的治疗。还预期当与一种或多种其它活性成分组合使用时,本公开的化合物和/或药学上可接受的盐和其它活性成分可以比每一种单独使用时使用更低的剂量。因此,除了本公开的化合物和/或药学上可接受的盐之外,本公开的药物组合物还包括含有一种或多种其它活性成分的那些。

[0217] 上述组合不仅包括本公开化合物与一种其它活性化合物的组合、还包括本公开化合物与两种或更多种其它活性化合物的组合。同样地,本公开的化合物和/或药学上可接受

的盐可以与用于预防、治疗、控制、改善本公开的化合物有用的疾病或病症或降低本公开的化合物有用的疾病或病症的风险的其它药物组合使用。这些其它药物可以通过本领域技术人员通常使用的途径和量,与本公开的化合物和/或药学上可接受的盐同时或依次施用。当本公开的化合物和/或药学上可接受的盐与一种或多种其它药物同时使用时,优选除了本公开的化合物和/或药学上可接受的盐之外还含有此类其它药物的药物组合物。因此,本公开的药物组合物还包括除了本公开的化合物和/或药学上可接受的盐之外还含有一种或多种其它活性成分的那些。本公开的化合物和/或药学上可接受的盐与第二活性成分的重量比可以变化,并且可以取决于每种成分的有效剂量。通常,可以使用各自的有效剂量。

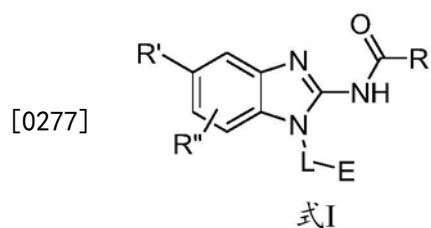
[0218] 本发明进一步提供合成如本文所定义的本发明化合物的方法。

[0219] 本发明的另一方面提供探针,该探针包含用可检测标记或亲和标记物标记的本发明化合物。换句话说,探针包含与可检测标记共价缀合的式I化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物的残基。此类可检测标记包括但不限于荧光部分、化学发光部分、顺磁性造影剂、金属螯合物、含放射性同位素的部分和生物素。

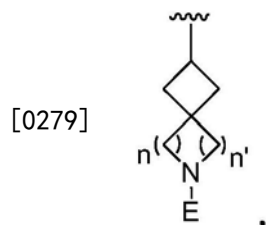
[0220] 所用的特定缩写

|        |                                 |                                                    |
|--------|---------------------------------|----------------------------------------------------|
| [0221] | AcOH                            | 醋酸                                                 |
| [0222] | AIDS                            | 获得性免疫缺陷综合征                                         |
| [0223] | ATP                             | 三磷酸腺苷                                              |
| [0224] | Blk                             | B淋巴细胞激酶                                            |
| [0225] | BMX                             | 骨髓表达激酶                                             |
| [0226] | BrCN                            | 溴化氰                                                |
| [0227] | BTK                             | 布鲁顿酪氨酸激酶 (Bruton's Tyrosine Kinase)                |
| [0228] | CbzCl                           | 氯甲酸苄酯                                              |
| [0229] | CuI                             | 碘化亚铜(I)                                            |
| [0230] | Cu <sub>2</sub> O               | 氧化亚铜(I)                                            |
| [0231] | Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 碳酸铯                                                |
| [0232] | CsF                             | 氟化铯                                                |
| [0233] | DCM                             | 二氯甲烷                                               |
| [0234] | DIPEA                           | 二异丙基乙胺                                             |
| [0235] | DMF                             | 二甲基甲酰胺                                             |
| [0236] | DMSO                            | 二甲基亚砷                                              |
| [0237] | EDTA                            | 乙二胺四乙酸                                             |
| [0238] | EtOAc                           | 乙酸乙酯                                               |
| [0239] | EtOH                            | 乙醇                                                 |
| [0240] | FCS                             | 胎牛血清                                               |
| [0241] | HATU                            | (1-[双(二甲氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑[4,5-b]吡啶<br>3-氧化六氟磷酸盐) |
| [0242] | HIV                             | 人体免疫缺陷病毒                                           |
| [0243] | HBr                             | 溴化氢                                                |
| [0244] | HCl                             | 氯化氢                                                |

|        |                                                                                              |                                                         |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| [0245] | Jak3                                                                                         | 贾纳斯激酶3 (Janus Kinase 3)                                 |
| [0246] | ITK                                                                                          | 白细胞介素-2诱导的T细胞激酶                                         |
| [0247] | K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>                                                               | 碳酸钾                                                     |
| [0248] | LiOH                                                                                         | 氢氧化锂                                                    |
| [0249] | LDA                                                                                          | 二异丙基氨基锂                                                 |
| [0250] | LG                                                                                           | 离去基团                                                    |
| [0251] | MeOH                                                                                         | 甲醇                                                      |
| [0252] | MgSO <sub>4</sub>                                                                            | 硫酸镁                                                     |
| [0253] | μl                                                                                           | 微升                                                      |
| [0254] | ml                                                                                           | 毫升                                                      |
| [0255] | mmol                                                                                         | 毫摩尔                                                     |
| [0256] | MS                                                                                           | 质谱分析法                                                   |
| [0257] | NaHCO <sub>3</sub>                                                                           | 碳酸氢钠                                                    |
| [0258] | NK/T-细胞                                                                                      | 自然杀伤T细胞                                                 |
| [0259] | NaOH                                                                                         | 氢氧化钠                                                    |
| [0260] | NaBH(OAc) 3                                                                                  | 三乙酰氧基硼氢化钠                                               |
| [0261] | NMP                                                                                          | N-甲基-2-吡咯烷酮                                             |
| [0262] | PBMC                                                                                         | 外周血单核细胞                                                 |
| [0263] | PBS                                                                                          | 磷酸盐缓冲盐水                                                 |
| [0264] | PG                                                                                           | 保护基团                                                    |
| [0265] | RLK/TKK                                                                                      | 静息淋巴细胞激酶                                                |
| [0266] | RPMI                                                                                         | 罗斯威尔公园纪念研究所培养基 (Roswell Park Memorial Institute medium) |
| [0267] | s-Phos                                                                                       | 2-二环己基膦基-2',6'-二甲氧基联苯                                   |
| [0268] | TEA                                                                                          | 三乙胺                                                     |
| [0269] | TEC                                                                                          | 在癌中表达的酪氨酸激酶                                             |
| [0270] | Tec-家族激酶                                                                                     | Tec蛋白酪氨酸激酶家族 (TEC、ITK、RLK、BMX、BTK)                      |
| [0271] | THF                                                                                          | 四氢呋喃                                                    |
| [0272] | Zn                                                                                           | 锌粉                                                      |
| [0273] | 一般合成方法                                                                                       |                                                         |
| [0274] | 在下面描述的合成方法和用于制备起始原料的参考合成方法的描述中,应当理解所有提出的包括溶剂的选择、反应气氛、反应温度、实验的持续时间和后处理程序在内的反应条件都可以由本领域技术人员选择。 |                                                         |
| [0275] | 以下部分描述了可用于制备本发明化合物的一般合成方法。                                                                   |                                                         |
| [0276] | 式I化合物                                                                                        |                                                         |



[0278] 其中L-E选自



[0280] R' 选自  $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{Y}$  且 R'' 是氢, 如下所述制备:

[0281] 中间体A3通过使商业上可得到的中间体A1与式A2的胺反应获得, 其中n和n'如本文所定义且PG<sup>1</sup>是合适的保护基团。用式YNH<sub>2</sub>的胺还原胺化中间体A3提供中间体A4, 其中Y如此处所定义。用合适的保护基PG<sup>2</sup>保护烷基氨基提供中间体A5。硝基的还原提供中间体A6, 然后将其环化成相应的氨基苯并咪唑中间体A7。中间体A7与式RCO<sub>2</sub>H的酸在标准偶联条件下或与式RC(O)LG的活化酸偶联提供中间体A8, 其中R如上所定义且LG为离去基团。去除PG<sup>1</sup>

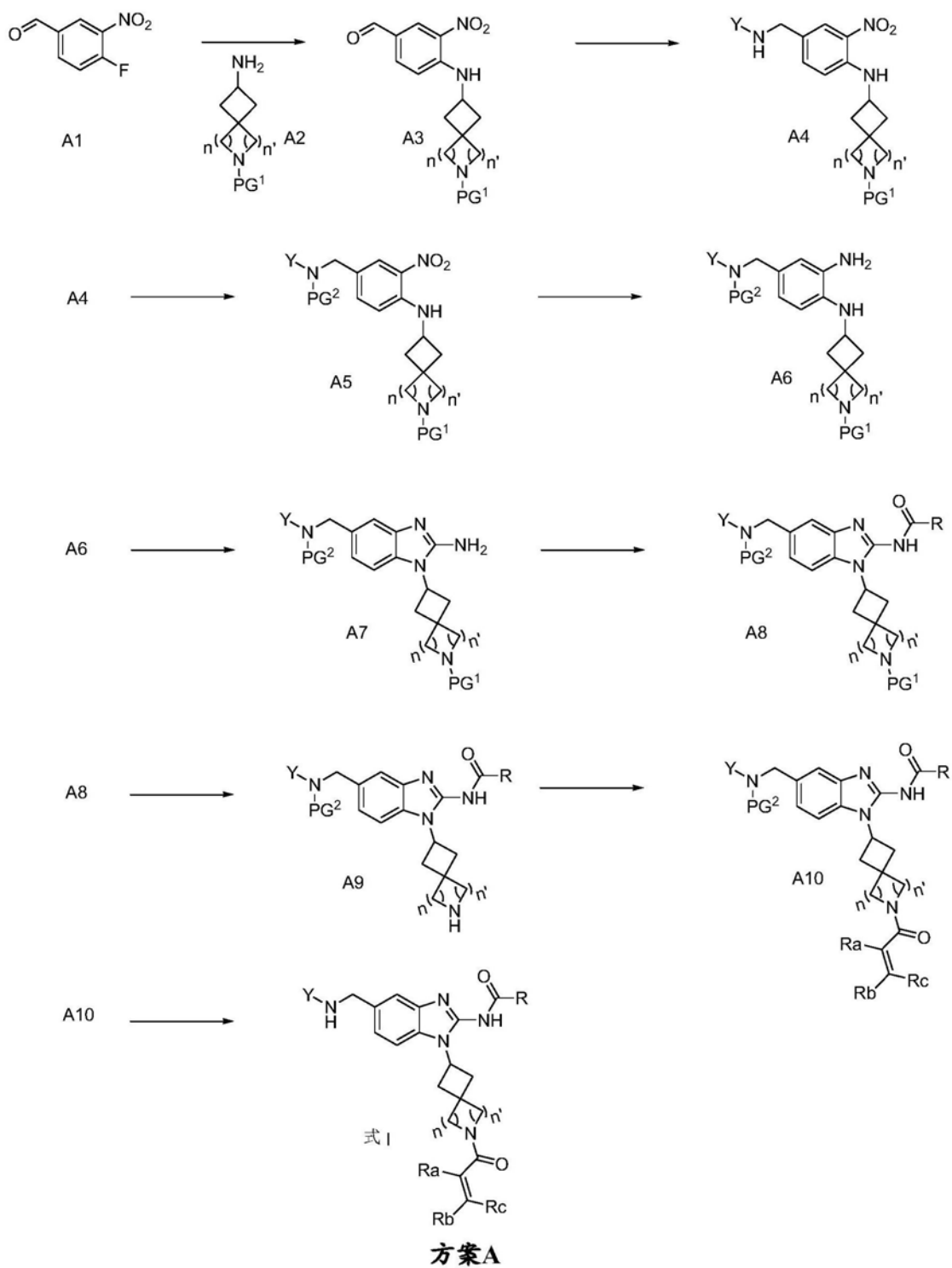
保护基团提供中间体A9。然后通过首先将中间体9与式

的酸在标准偶联条件下

或与式

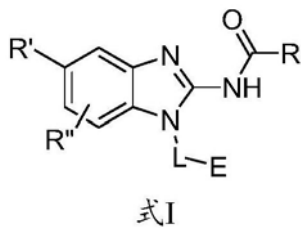
的活化酸偶联, 其中R<sup>a</sup>、R<sup>b</sup>、和R<sup>c</sup>如上所定义且LG是离去基团, 之后除去与PG<sup>1</sup>不同的PG<sup>2</sup>保护基团 (参见方案A), 从中间体A9获得式I的化合物。

[0282]



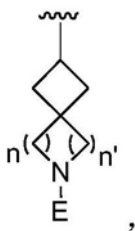
[0283] 在一个可替换的方法中,式I化合物

[0284]



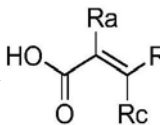
[0285] 其中L-E选自

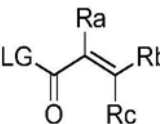
[0286]



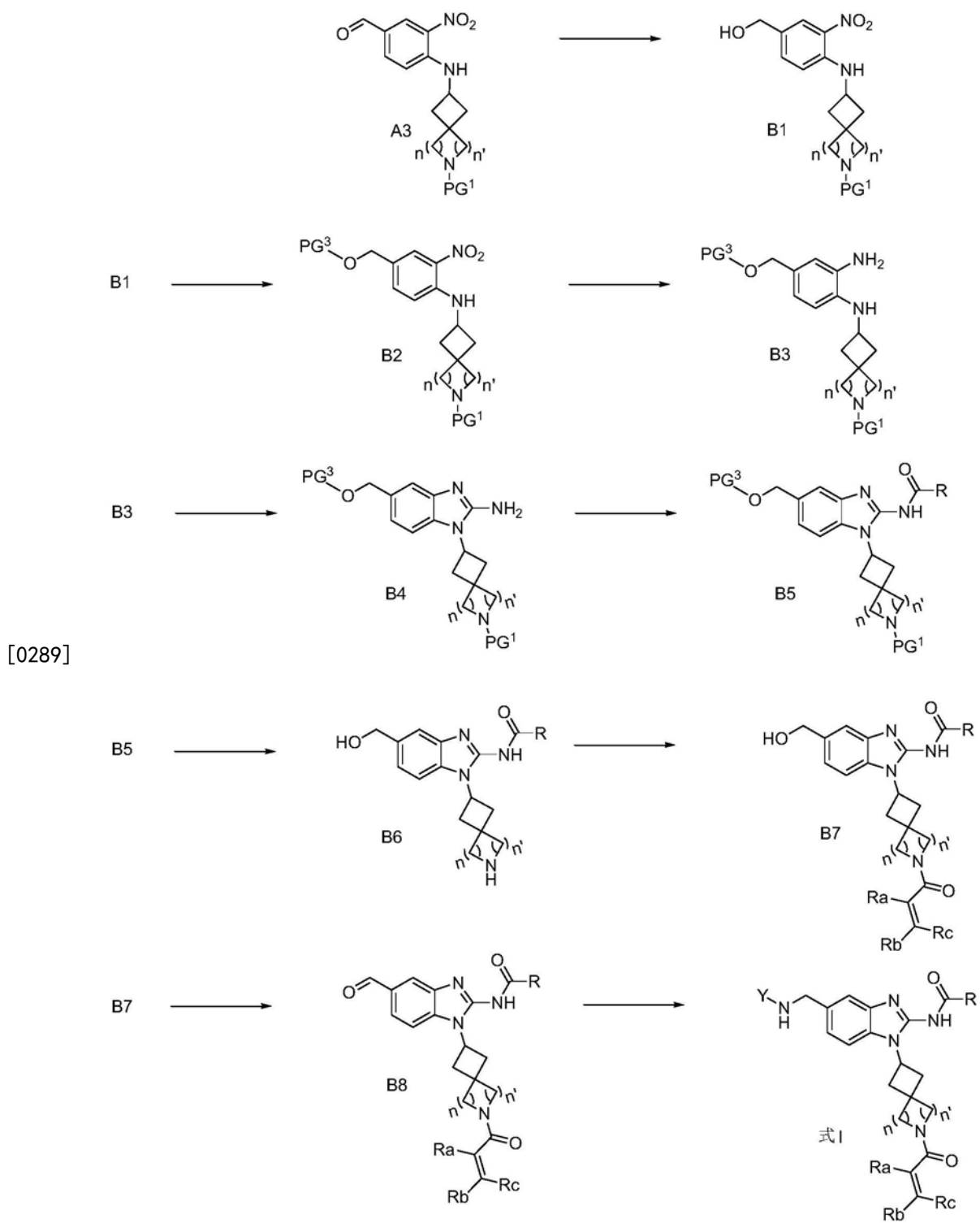
[0287] R' 选自  $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{Y}$  且 R'' 是氢, 如下所述制备 (参见方案B):

[0288] 还原中间体A3提供中间体B1。用合适的保护基团PG<sup>3</sup>保护醇基团提供中间体B2。还原硝基提供中间体B3, 然后将其环化成相应的氨基苯并咪唑中间体B4。中间体B4与式RCO<sub>2</sub>H的酸在标准偶联条件下或与式RC(O)LG的活化酸偶联提供中间体B5, 其中R如上所定义且LG

为离去基团。除去PG<sup>1</sup>和PG<sup>3</sup>保护基团提供中间体B6。中间体B6与式  的酸在标准

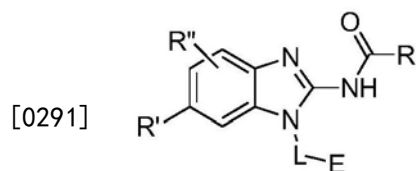
偶联条件下或与式  的活化酸偶联提供中中间体B7, 其氧化提供中间体B8, 其中

Ra、Rb、和Rc如上所定义且LG是离去基团。用式Y-NH<sub>2</sub>的胺还原胺化中间体B8, 其中Y如上所定义, 提供式I的化合物。



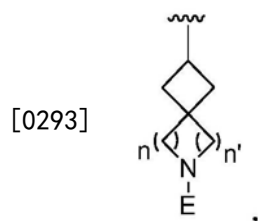
## 方案B

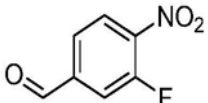
[0290] 式I化合物

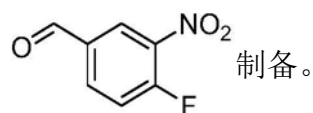


式I

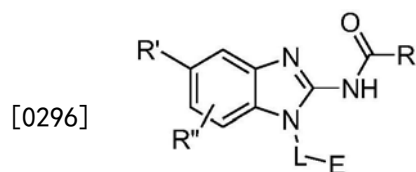
[0292] 其中L-E选自



[0294] R' 选自  $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{Y}$  且 R'' 是氢, 以相似的方式通过用  置换

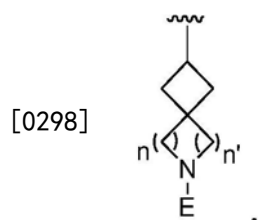


[0295] 式I化合物



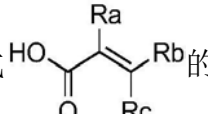
式I

[0297] 其中L-E选自

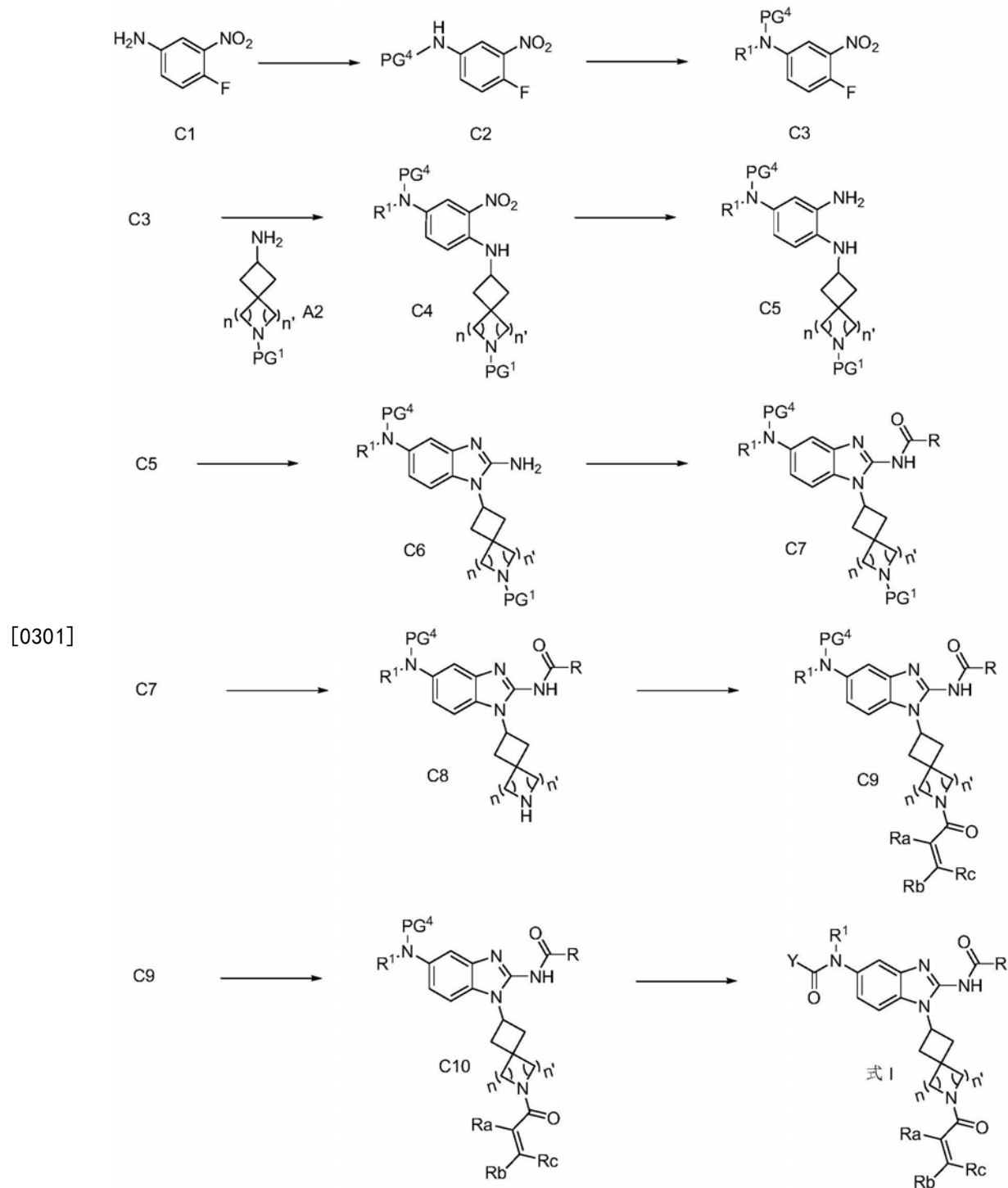


[0299] R' 选自  $-\text{NR}^1\text{C}(\text{O})\text{Y}$  和 R'' 是氢, 如下所述制备:

[0300] 用合适的保护基团保护商业上可得到的中间体C1提供中间体C2。中间体C2用式  $\text{R}^1\text{LG}$  中间体烷基化提供中间体C3, 其中  $\text{R}^1$  如上所定义且  $\text{LG}$  为离去基团。中间体C4通过使中间体C3与式A2的胺反应获得, 其中  $n$  和  $n'$  如上所定义且  $\text{PG}^1$  是合适的保护基团。还原硝基提供中间体C5, 然后将其环化成相应的氨基苯并咪唑中间体C6。中间体C6与式  $\text{RCO}_2\text{H}$  的酸在标准偶联条件下或与式  $\text{RC}(\text{O})\text{LG}$  的活化酸偶联提供中间体C7, 其中  $\text{R}$  如上所定义且  $\text{LG}$  为离去基团。

去除  $\text{PG}^1$  保护基团得到中间体C8。通过使中间体C8与式  的酸在标准偶联条

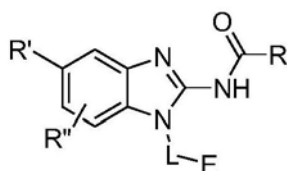
件下或与式LG-C(=O)-C(R<sup>a</sup>)=C(R<sup>b</sup>)-R<sup>c</sup>的活化酸偶联提供中间体C9,其中R<sup>a</sup>、R<sup>b</sup>、和R<sup>c</sup>如上所定义且LG是离去基团。除去PG<sup>4</sup>保护基团提供中间体C10。中间体C10与式YC(=O)OH的酸在标准偶联条件下或与式YC(=O)LG的活化酸偶联提供式I的化合物,其中Y如上所定义且LG为离去基团。



### 方案C

[0302] 在一个可替换的方法中,式I化合物

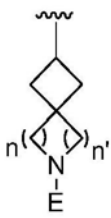
[0303]



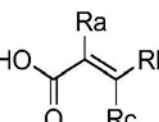
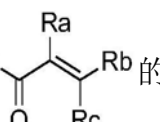
式I

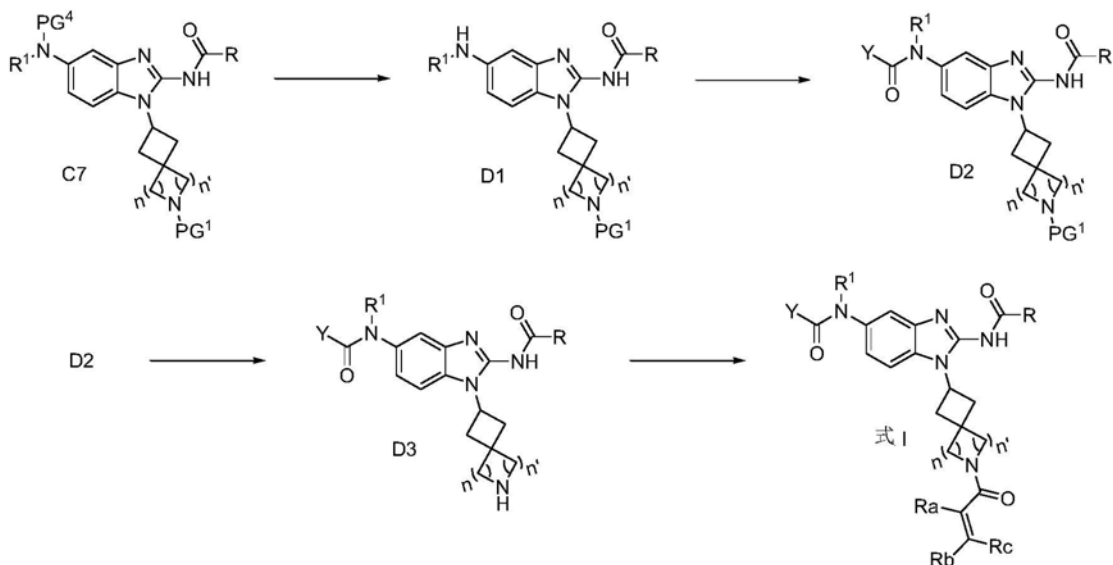
[0304] 其中L-E选自

[0305]

[0306] R' 选自 -NR<sup>1</sup>C(O)Y 且 R'' 是氢, 如下所述制备:

[0307] 中间体D2是从中间体C7按照2步骤顺序获得: 首先除去PG<sup>4</sup>保护基团以提供中间体D1, 然后使中间体D1与式YC(O)H的酸在标准偶联条件下或与式YC(O)LG的活化酸反应以提供中间体D2, 其中Y如上所定义且LG是离去基团。去除PG<sup>1</sup>保护基团提供中间体D3。然后通过使

中间体D3与式  的酸在标准偶联条件下或与式  的活化酸偶联从中间体D3中获得式I化合物, 其中R<sup>a</sup>、R<sup>b</sup>、和R<sup>c</sup>如上所定义且LG是离去基团。

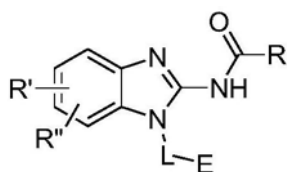


[0308]

## 方案D

[0309] 式I化合物

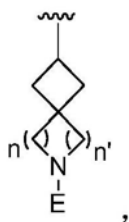
[0310]



式I

[0311] 其中L-E选自

[0312]

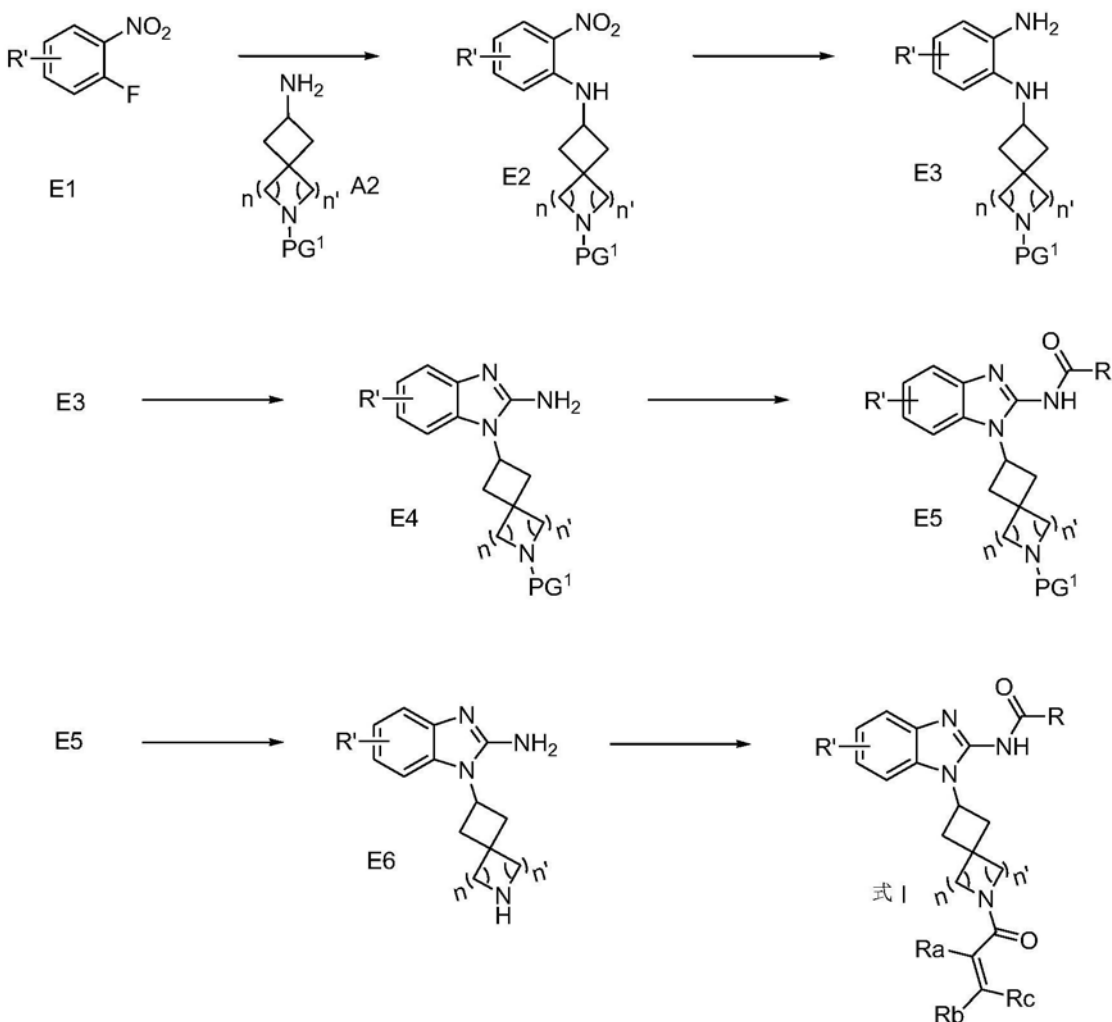


[0313] R' 选自氢、卤素、-OMe且R''是氢,如下所述制备:

[0314] 中间体E2通过使商业上可得到中间体E1与式A2的胺反应获得,其中n和n'如其中所定义且PG<sup>1</sup>是合适的保护基团。还原硝基提供中间体E3,然后将其环化成相应的氨基苯并咪唑中间体E4。中间体E4与式RCO<sub>2</sub>H的酸在标准偶联条件下或与式RC(O)LG的活化酸偶联提供中间体E5,其中R如上所定义且LG为离去基团。除去PG<sup>1</sup>保护基团提供中间体E6。然后通过

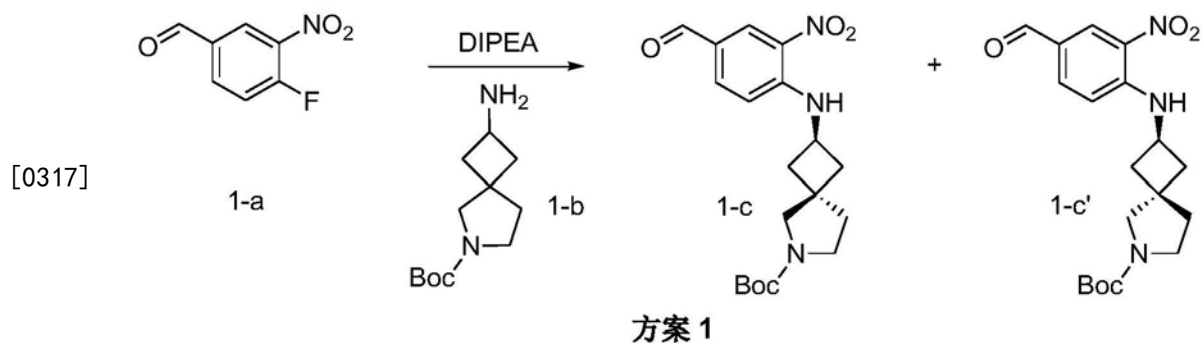
使中间体E6与式 的酸在标准偶联条件下或与式 的活化酸偶联从中间体E6获得式I化合物,其中R<sup>a</sup>、R<sup>b</sup>、和R<sup>c</sup>如上所定义且LG是离去基团。

[0315]



## 方案E

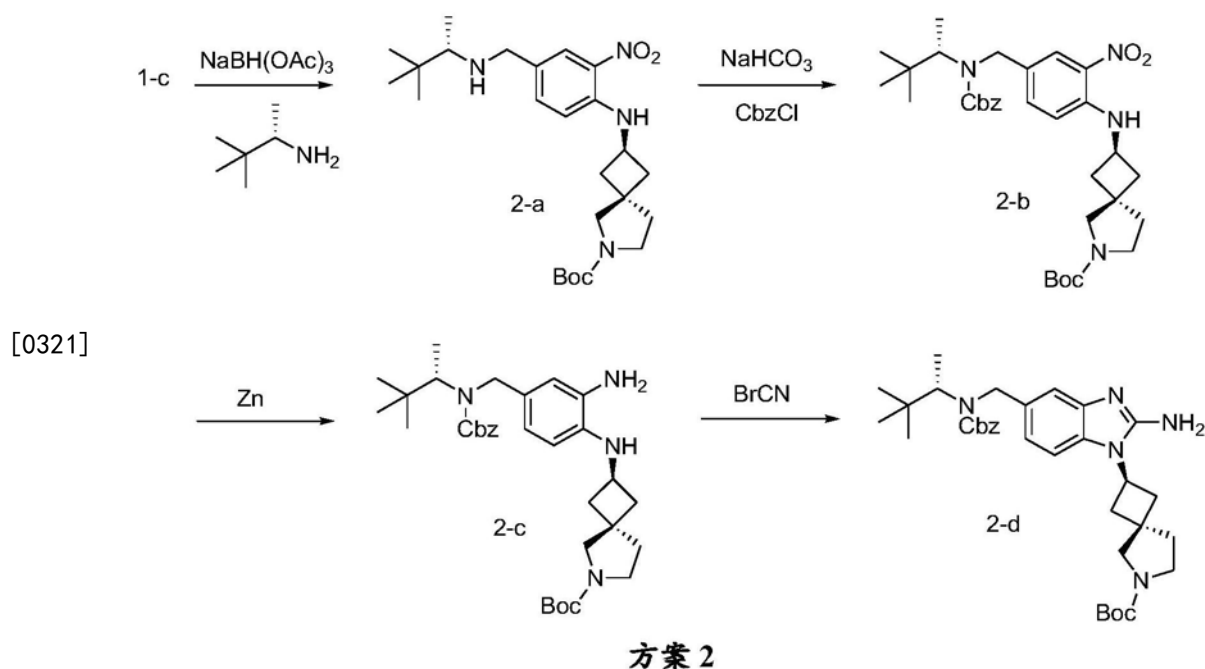
[0316] 中间体1-c和1-c'的合成



[0318] 步骤1: 中间体1-c和1-c'

[0319] 向4-氟-3-硝基苯甲醛1-a (1.0g, 6.2mmol) 和DIPEA (3.2ml, 18.7mmol) 的乙腈溶液中添加中间体1-b (1.5g, 6.5mmol) 的乙腈溶液。添加完成后, 将反应在室温下搅拌过夜。在减压下除去挥发物。向残余物中添加饱和氯化铵水溶液和二氯甲烷, 分离有机层, 并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过用乙酸乙酯/己烷梯度洗脱的硅胶色谱法分离, 提供黄色固体的中间体异构体1-c和黄色固体的1-c'。

[0320] 中间体2-d的合成:



[0322] 步骤1: 中间体2-a

[0323] 向中间体1-c (400mg, 1.0mmol) 和(S)-3,3-二甲基丁-2-胺 (119mg, 1.2mmol) 的1,2-二氯乙烷溶液中添加三乙酰氧硼氢化钠 (339mg, 1.6mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和的NaHCO<sub>3</sub>水溶液和二氯甲烷, 分离有机层, 并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供黄色固体的中间体2-a。

[0324] 步骤2: 中间体2-b

[0325] 向中间体2-a (490mg, 1.1mmol) 的二氯甲烷 (9.0ml) 溶液中依次添加饱和碳酸氢钠水溶液 (9.0ml) 和氯甲酸苄酯 (170μl, 1.2mmol) 并将反应在室温下搅拌2小时。分离有机层,

并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供黄色固体的中间体2-b。

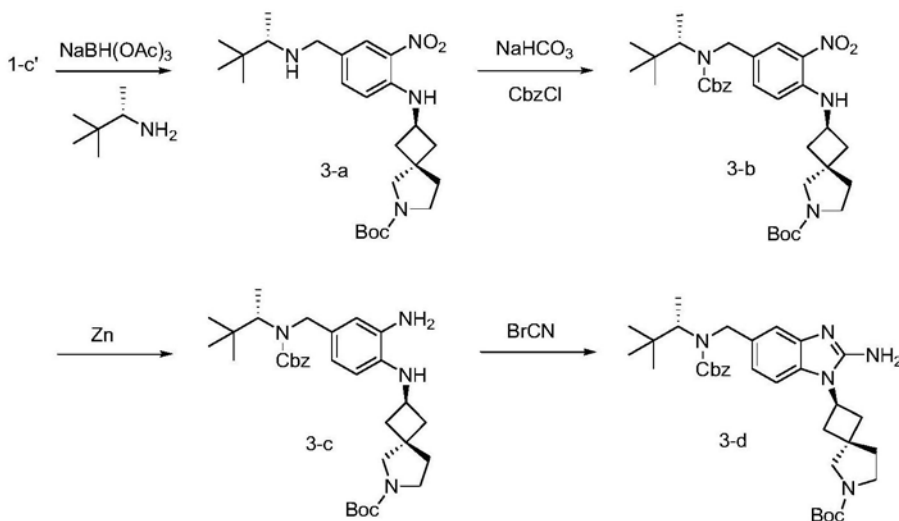
[0326] 步骤3:中间体2-c

[0327] 向中间体2-b (600mg, 1.0mmol) 的MeOH (9.7ml) 溶液中依次添加氯化铵 (1.6g) 和锌粉 (330mg, 5.0mmol)。将反应在室温下搅拌至完成,然后在C盐 (celite) 上过滤。滤液在减压下浓缩。向残余物中添加饱和的NaHCO<sub>3</sub>水溶液和乙酸乙酯,分离有机层,用盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体2-c。

[0328] 步骤4:中间体2-d

[0329] 向中间体2-c (570mg, 1.0mmol) 的EtOH (10ml) 溶液中添加溴化氰 (107mg, 1.0mmol), 并且将反应在室温下搅拌至完成。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯,分离有机层,并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩以提供紫色固体的中间体2-d。

[0330] 中间体3-d的合成:



### 方案 3

[0332] 步骤1:中间体3-a

[0333] 向中间体1-c' (680mg, 1.8mmol) 和 (S)-3,3-二甲基丁-2-胺 (202mg, 1.9mmol) 在1,2-二氯乙烷中的溶液中添加三乙酰氧硼氢化钠 (580mg, 2.7mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和的NaHCO<sub>3</sub>水溶液和二氯甲烷,分离有机层,并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩以提供黄色固体的中间体3-a。

[0334] 步骤2:中间体3-b

[0335] 向中间体3-a (834mg, 1.8mmol) 的二氯甲烷 (9.0ml) 溶液中依次添加饱和碳酸氢钠水溶液 (9.0ml) 和氯甲酸苄酯 (638μl, 4.5mmol), 然后将反应在室温下搅拌至完成。分离有机层,并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供黄色固体的中间体3-b。

[0336] 步骤3:中间体3-c

[0337] 向中间体3-b (700mg, 1.2mmol) 的MeOH (9.7ml) 溶液中添加氯化铵 (1.8g, 36.0mmol) 和锌粉 (385mg, 5.9mmol)。将反应在室温下搅拌至完成,然后在C盐上过滤。在减

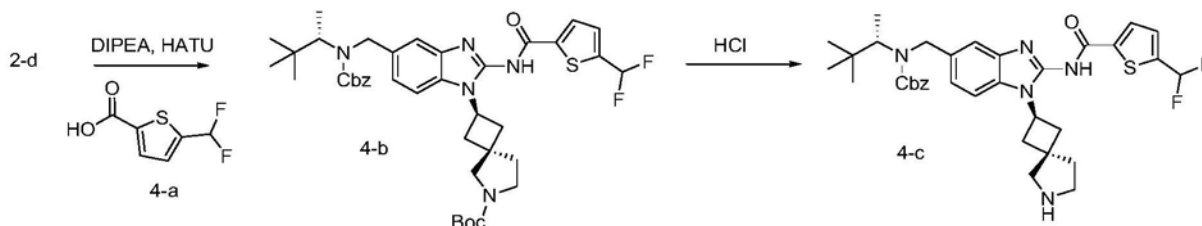
压下浓缩滤液。向残余物中添加饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液和乙酸乙酯,分离有机层,用盐水洗涤,经 $\text{MgSO}_4$ 干燥,过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体3-c。

[0338] 步骤4:中间体3-d

[0339] 向中间体3-c (650mg, 1.2mmol) 的EtOH (24ml) 溶液中添加溴化氰 (146mg, 1.4mmol), 并且将反应在室温下搅拌至完成。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供紫色固体的中间体3-d。

[0340] 中间体4-c的合成:

[0341]



方案 4

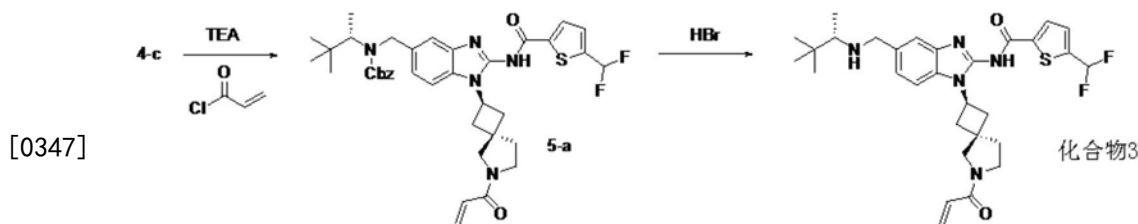
[0342] 步骤1:中间体4-b

[0343] 向5-(二氟甲基)噻吩-2-甲酸4-a (42mg, 0.23mmol) 的DMF (3.5ml) 溶液中添加HATU (105mg, 0.28mmol), 并且在搅拌30分钟后, 添加中间体2-d (125mg, 0.21mmol) 和DIPEA (111 $\mu$ l, 0.64mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌至完成。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体4-b。

[0344] 步骤2:中间体4-c

[0345] 向中间体4-b (110mg, 0.15mmol) 的MeOH (1.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (5ml, 20.0mmol) 溶液。将反应在室温下搅拌1小时。减压除去挥发物以提供米色固体的中间体4-c  $\cdot$  HCl。

[0346] 化合物3的合成:



[0347]

方案 5

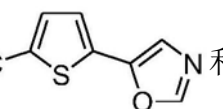
[0348] 步骤1:中间体5-a

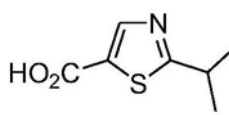
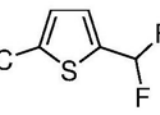
[0349] 向冷却至0 $^{\circ}\text{C}$ 的中间体4-c HCl (91mg, 0.14mmol) 的THF (2ml) 溶液中依次添加DIPEA (122 $\mu$ l, 0.7mmol) 和丙烯酰氯 (14 $\mu$ l, 0.17mmol) 并将溶液在0 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌30分钟。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体5-a。

[0350] 步骤2:化合物3

[0351] 向冷却至0 $^{\circ}\text{C}$ 的中间体5-a (99mg, 0.14mmol) 的二氯甲烷 (1.5ml) 溶液中添加33%

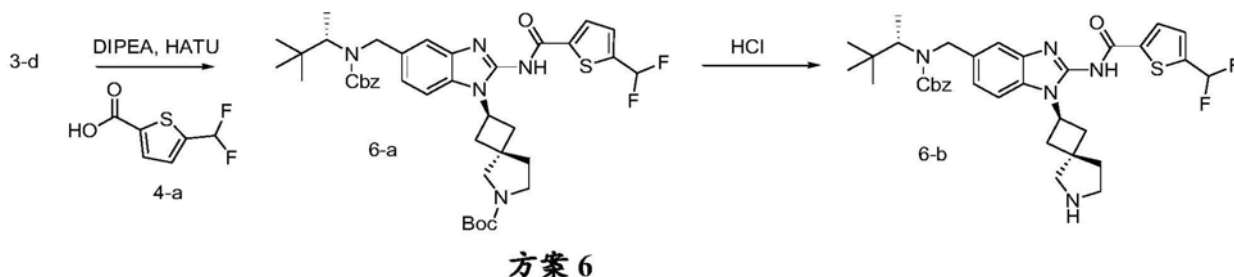
HBr的AcOH (1.0ml) 溶液,然后将溶液在0℃下搅拌至完成。添加乙醚,形成沉淀并通过过滤收集,用乙醚洗涤并在真空下干燥。通过硅胶色谱法纯化提供白色固体的化合物3。

[0352] 从中间体2-d开始,以与化合物3相似的方式,通过分别用  $\text{HO}_2\text{C}$ - 和

 置换用于合成中间体4-b的  $\text{HO}_2\text{C}$ -, 制备化合物5和11。

[0353] 中间体6-b的合成:

[0354]



[0355] 步骤1: 中间体6-a

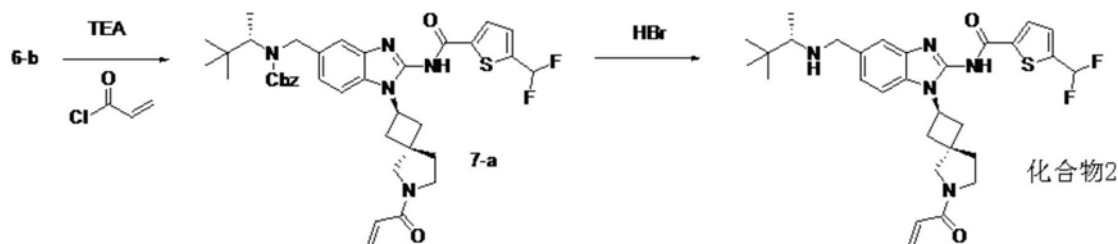
[0356] 向中间体5-(二氟甲基)噻吩-2-甲酸4-a (58mg, 0.33mmol) 的DMF (3.5ml) 溶液中添加HATU (147mg, 0.9mmol), 并且在搅拌30分钟后, 添加中间体3-d (175mg, 0.3mmol) 和DIPEA (155μl, 0.9mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌至完成。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体6-a。

[0357] 步骤2: 中间体6-b

[0358] 向中间体6-a (170mg, 0.23mmol) 的MeOH (1ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (5ml, 20.0mmol) 溶液。将反应在室温下搅拌1小时。在减压下除去挥发物以提供米色固体的中间体6-b · HCl。

[0359] 化合物2的合成:

[0360]



### 方案 7

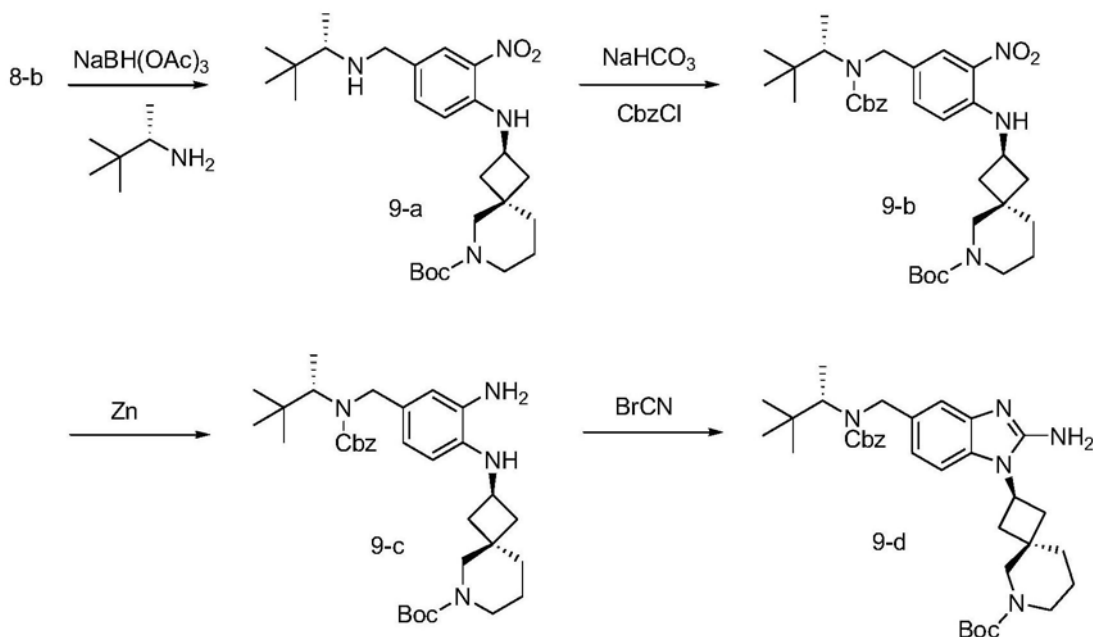
[0361] 步骤1: 中间体7-a

[0362] 向冷却至0℃的中间体6-b · HCl (155mg, 0.24mmol) 的THF (2ml) 溶液中依次添加DIPEA (122μl, 0.7mmol) 和丙烯酰氯 (24μl, 0.30mmol), 并且将溶液在0℃下搅拌30分钟。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并



b和黄色固体的8-b'。

[0371] 中间体9-d的合成:



### 方案 9

[0373] 步骤1: 中间体9-a

[0374] 向中间体8-b (900mg, 2.3mmol) 和 (S)-3,3-二甲基丁-2-胺 (380mg, 2.8mmol) 的1,2-二氯乙烷溶液中添加三乙酰氧硼氢化钠 (735mg, 3.5mmol), 并且将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液和二氯甲烷, 分离有机层, 并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供黄色固体的中间体9-a。

[0375] 步骤2: 中间体9-b

[0376] 向中间体9-a (1.1g, 2.3mmol) 的二氯甲烷 (9.0ml) 溶液中依次添加饱和碳酸氢钠水溶液 (9.0ml) 和氯甲酸苄酯 (364 $\mu$ l, 2.5mmol), 然后将反应在室温下搅拌至完成。分离有机层, 并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供黄色固体的中间体9-b。

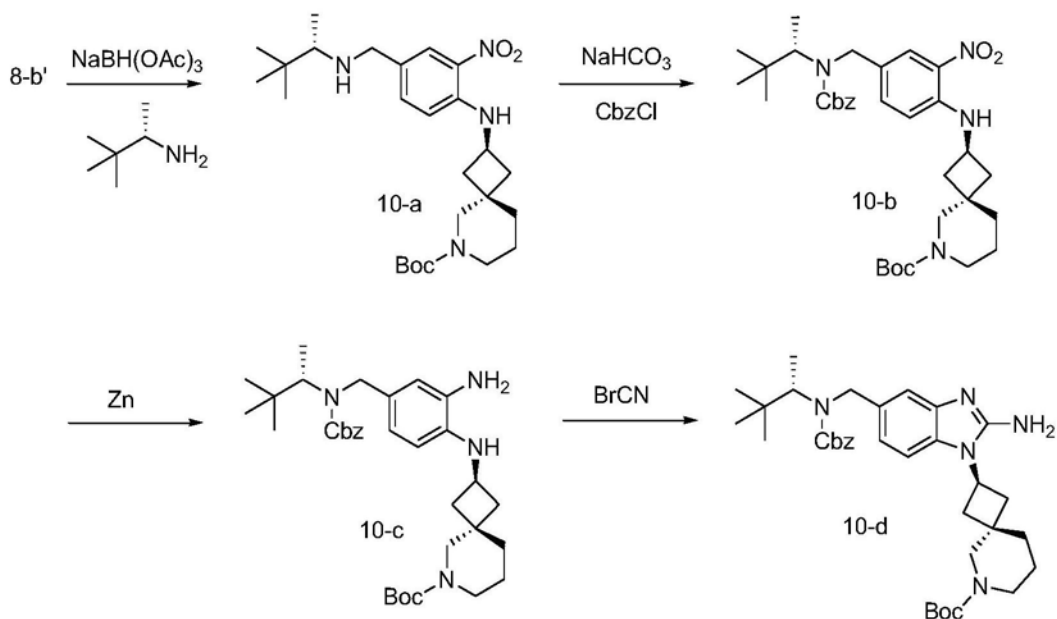
[0377] 步骤3: 中间体9-c

[0378] 向中间体9-b (610mg, 1.0mmol) 的溶液中添加氯化铵 (1.6g, 30.0mmol) 和锌粉 (328mg, 5.0mmol)。然后将反应在室温下搅拌至完成, 然后通过C盐过滤。在减压下浓缩滤液。向残余物中添加饱和的 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用盐水洗涤, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体9-c。

[0379] 步骤4: 中间体9-d

[0380] 向中间体9-c (475mg, 0.8mmol) 的EtOH (10.0ml) 溶液中添加溴化氰 (109mg, 1.0mmol), 并且将反应在室温下搅拌至完成。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供紫色固体的中间体9-d。

[0381] 中间体10-d的合成:



方案 10

[0383] 步骤1: 中间体10-a

[0384] 向中间体8-b' (450mg, 1.2mmol) 和 (S)-3,3-二甲基丁-2-胺2-a (140mg, 1.4mmol) 的1,2-二氯乙烷溶液中添加三乙酰氧硼氢化钠 (367mg, 1.7mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液和二氯甲烷, 分离有机层, 并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供黄色固体的中间体10-a。

[0385] 步骤2: 中间体10-b

[0386] 向中间体10-a (550mg, 1.2mmol) 的二氯甲烷 (9.0ml) 溶液中依次添加饱和碳酸氢钠水溶液 (9.0ml) 和氯甲酸苄酯 (182 $\mu$ l, 1.3mmol), 然后将反应在室温下搅拌至完成。分离有机层, 并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供黄色固体的中间体10-b。

[0387] 步骤3: 中间体10-c

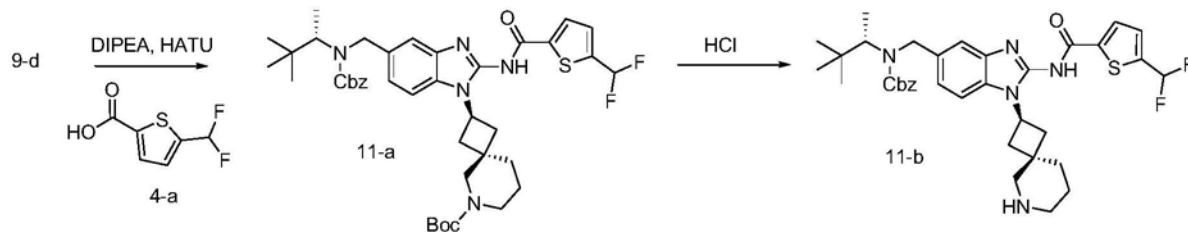
[0388] 向中间体10-b (500mg, 0.8mmol) 的溶液中依次添加氯化铵 (1.3g, 25.0mmol) 和锌粉 (270mg, 4.1mmol)。然后将反应在室温下搅拌至完成, 然后通过C盐过滤。在减压下浓缩滤液。将乙酸乙酯和饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液添加到残余物中, 分离有机层, 用盐水洗涤, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色泡沫的中间体10-c。

[0389] 步骤4: 中间体10-d

[0390] 向中间体10-c (1.3g, 2.4mmol) 的EtOH (10.0ml) 溶液中添加溴化氰 (302mg, 2.8mmol) 并将反应在室温下搅拌至完成。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供紫色固体的中间体10-d。

[0391] 中间体11-b的合成

[0392]



## 方案 11

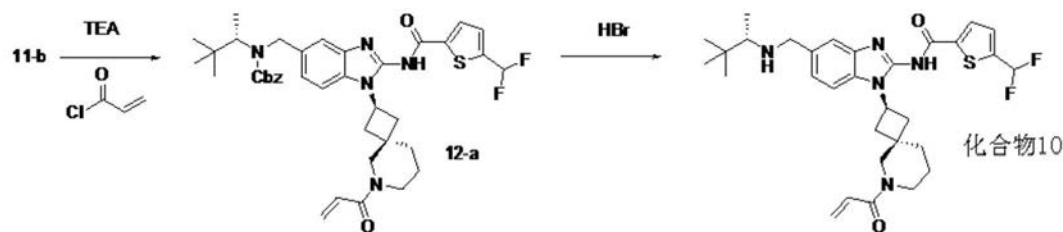
[0393] 步骤1: 中间体11-a

[0394] 向5-(二氟甲基)噻吩-2-甲酸4-a (49mg, 0.27mmol) 的DMF (3.5ml) 溶液中添加HATU (123mg, 0.323mmol), 并且在搅拌30分钟后, 添加中间体9-d (150mg, 0.25mmol) 和DIPEA (130  $\mu$ l, 0.74mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌至完成。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体11-a。

[0395] 步骤2: 中间体11-b

[0396] 向中间体11-a (150mg, 0.2mmol) 的MeOH (1ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (5.0ml, 20.0mmol) 溶液。将反应搅拌1小时。在减压下除去挥发物以提供米色固体的中间体11-b  $\cdot$  HCl。

[0397] 化合物10的合成:



[0398]

## 方案 12

[0399] 步骤1: 中间体12-a

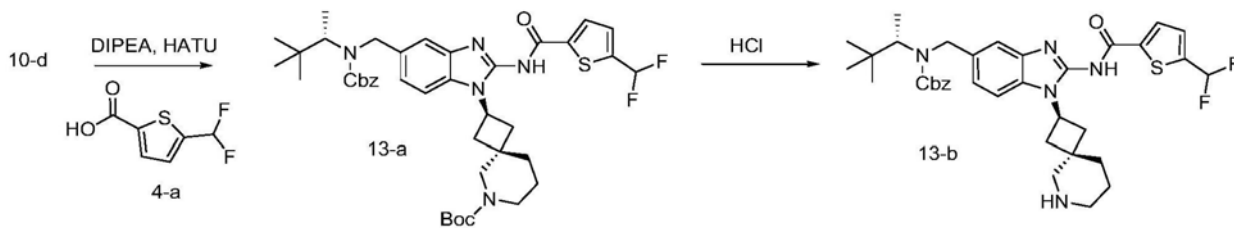
[0400] 向冷却至0℃的中间体11-b  $\cdot$  HCl (100mg, 0.14mmol) 的THF (2ml) 溶液中依次添加DIPEA (122  $\mu$ l, 0.7mmol) 和丙烯酰氯 (14  $\mu$ l, 0.17mmol), 并且将溶液在0℃下搅拌30分钟。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供白色泡沫的中间体12-a。

[0401] 步骤2: 化合物10

[0402] 向冷却至0℃的中间体12-a (100mg, 0.14mmol) 的二氯甲烷 (1.5ml) 溶液中添加33% HBr的AcOH (2ml) 溶液, 然后将溶液在0℃搅拌至完成。添加乙醚, 形成沉淀, 并通过过滤收集, 用乙醚洗涤并在真空下干燥。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物10。

[0403] 中间体13-b的合成:

[0404]

**方案 13**

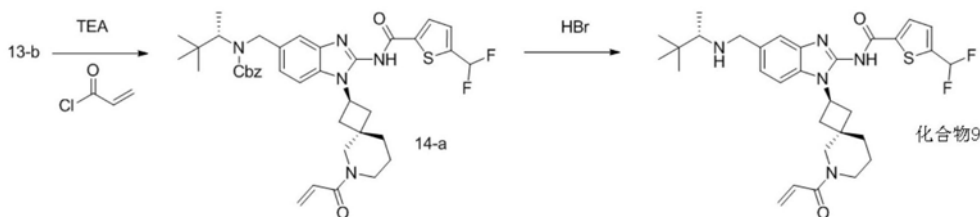
[0405] 步骤1: 中间体13-a

[0406] 向5-(二氟甲基)噻吩-2-甲酸4-a (49mg, 0.27mmol) 的DMF (3.5ml) 的溶液中添加HATU (123mg, 0.32mmol), 在搅拌30分钟后添加中间体10-d (150mg, 0.25mmol) 和DIPEA (130μl, 0.74mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌至完成。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体13-a。

[0407] 步骤2: 中间体13-b

[0408] 向中间体13-a (110mg, 0.14mmol) 的MeOH (1ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (5.0ml, 20.0mmol) 溶液。将反应搅拌1小时。在减压下除去挥发物以提供白色固体的中间体13-b · HCl。

[0409] 化合物9的合成:



[0410]

**方案 14**

[0411] 步骤1: 中间体14-a

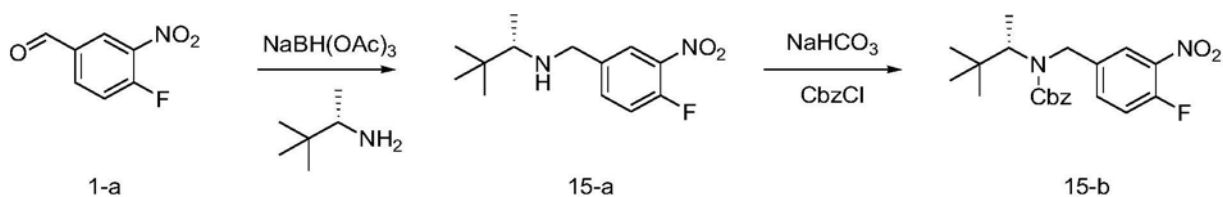
[0412] 向冷却至0℃的中间体13-b · HCl (100mg, 0.14mmol) 的THF (2ml) 溶液中依次添加DIPEA (122μl, 0.7mmol) 和丙烯酰氯 (14μl, 0.17mmol), 并且将溶液在0℃下搅拌15分钟。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色泡沫的中间体14-a。

[0413] 步骤2: 化合物9

[0414] 向冷却至0℃的中间体14-a (100mg, 0.14mmol) 的二氯甲烷 (1.5ml) 溶液中添加33% HBr的AcOH (2ml) 溶液, 然后将溶液在0℃下搅拌至完成。添加乙醚, 形成沉淀并通过过滤收集, 用乙醚洗涤并在真空下干燥。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物9。

[0415] 中间体15-b的合成:

[0416]

**方案 15**

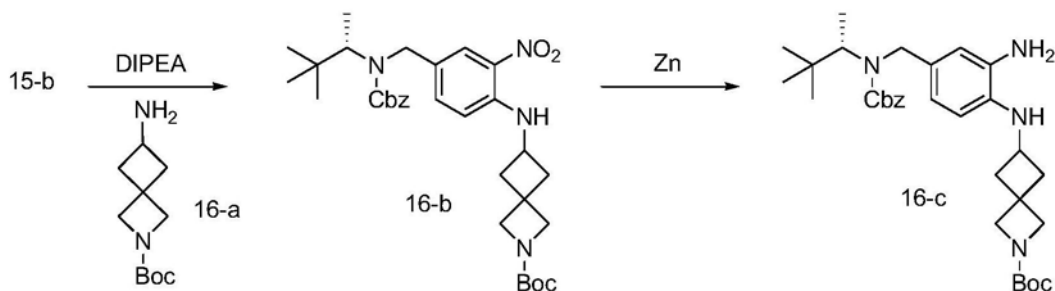
[0417] 步骤1: 中间体15-a

[0418] 向中间体1-a (1.0g, 5.9mmol) 和 (S)-3,3-二甲基丁-2-胺 (600mg, 5.9mmol) 的1,2-二氯乙烷的溶液中添加三乙酰氧硼氢化钠 (1.8g, 8.9mmol), 并且将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和的NaHCO<sub>3</sub>水溶液和二氯甲烷, 分离有机层, 并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供黄色固体的中间体15-a。

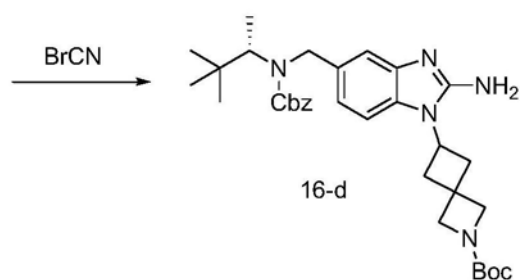
[0419] 步骤2: 中间体15-b

[0420] 向中间体15-a (1.46g, 5.74mmol) 的二氯甲烷 (15.0ml) 溶液中依次添加饱和碳酸氢钠水溶液 (8.0ml) 和氯甲酸苄酯 (1.2ml, 8.6mmol), 然后将反应搅拌至完成。分离有机层, 并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供黄色固体的中间体15-b。

[0421] 中间体16-d的合成:



[0422]

**方案 16**

[0423] 步骤1: 中间体16-b

[0424] 向中间体15-b (1.24g, 3.2mmol) 和DIPEA (2.0g, 16.0mmol) 的乙腈 (20ml) 溶液中添加中间体16-a (680mg, 3.2mmol) 的乙腈 (10ml) 溶液。添加完成后, 将反应回流48小时而后冷却至室温。在减压下除去挥发物。向残余物中添加饱和氯化铵水溶液和二氯甲烷, 分离有机层, 并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供黄色固体的中间体16-b。

[0425] 步骤2: 中间体16-c

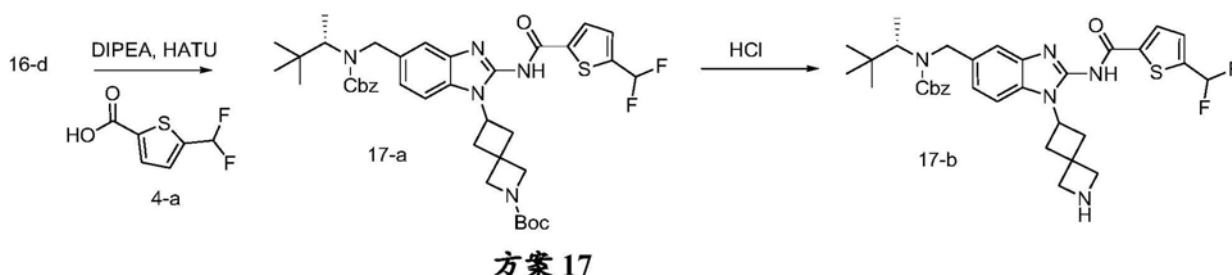
[0426] 向中间体16-b (860mg, 1.5mmol) 的MeOH溶液中依次添加氯化铵 (1.3g, 25.0mmol) 和锌粉 (484mg, 7.4mmol)。然后将反应在室温下搅拌至完成, 然后在C盐上过滤。在减压下浓缩滤液。向残余物中添加饱和的NaHCO<sub>3</sub>水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色泡沫的中间体16-c。

[0427] 步骤3: 中间体16-d

[0428] 向中间体16-c (718mg, 1.3mmol) 的EtOH (10ml) 溶液中添加溴化氰 (166mg, 1.6mmol) 并将反应在室温下搅拌至完成。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供紫色固体的中间体16-d。

[0429] 中间体17-b的合成:

[0430]



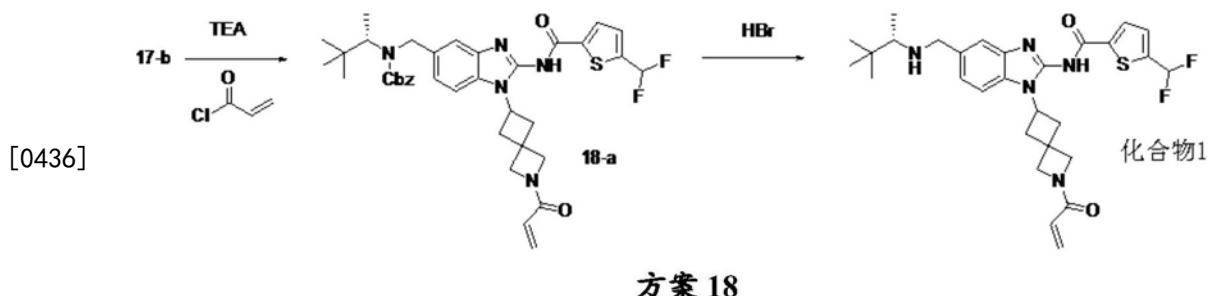
[0431] 步骤1: 中间体17-a

[0432] 向5-(二氟甲基)噻吩-2-甲酸4-a (267mg, 1.5mmol) 的DMF (3.5ml) 溶液中添加HATU (618mg, 1.6mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体16-d (720mg, 1.25mmol) 的溶液 and DIPEA (655μl, 3.0mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌至完成。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体17-a。

[0433] 步骤2: 中间体17-b

[0434] 向中间体17-a (910mg, 1.25mmol) 的MeOH (1ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (5.0ml, 20.0mmol) 溶液。将反应搅拌1小时。在减压下除去挥发物以提供白色固体的中间体17-b · HCl。

[0435] 化合物1的合成:



[0437] 步骤1: 中间体18-a

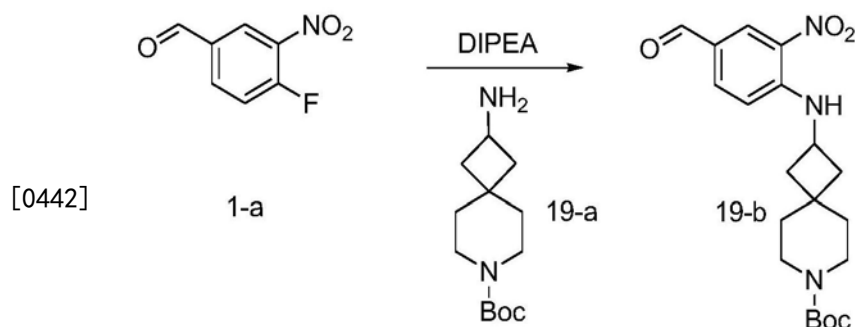
[0438] 向冷却至0℃的中间体17-b · HCl (937mg, 1.4mmol) 的THF (14ml) 溶液中依次添加 TEA (2.0ml, 14.7mmol) 和丙烯酰氯 (179μL, 2.2mmol) 并将溶液在0℃下搅拌15分钟。然后添

加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯,分离有机层,并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩以提供米色泡沫的中间体18-a。

[0439] 步骤2:化合物1

[0440] 向冷却至0℃的中间体18-a (940mg, 1.4mmol) 的二氯甲烷 (3ml) 溶液中添加33% HBr的AcOH (5ml) 溶液,然后将溶液在0℃下搅拌至完成。添加乙醚,形成沉淀并通过过滤收集,用乙醚洗涤并在真空下干燥。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物1。

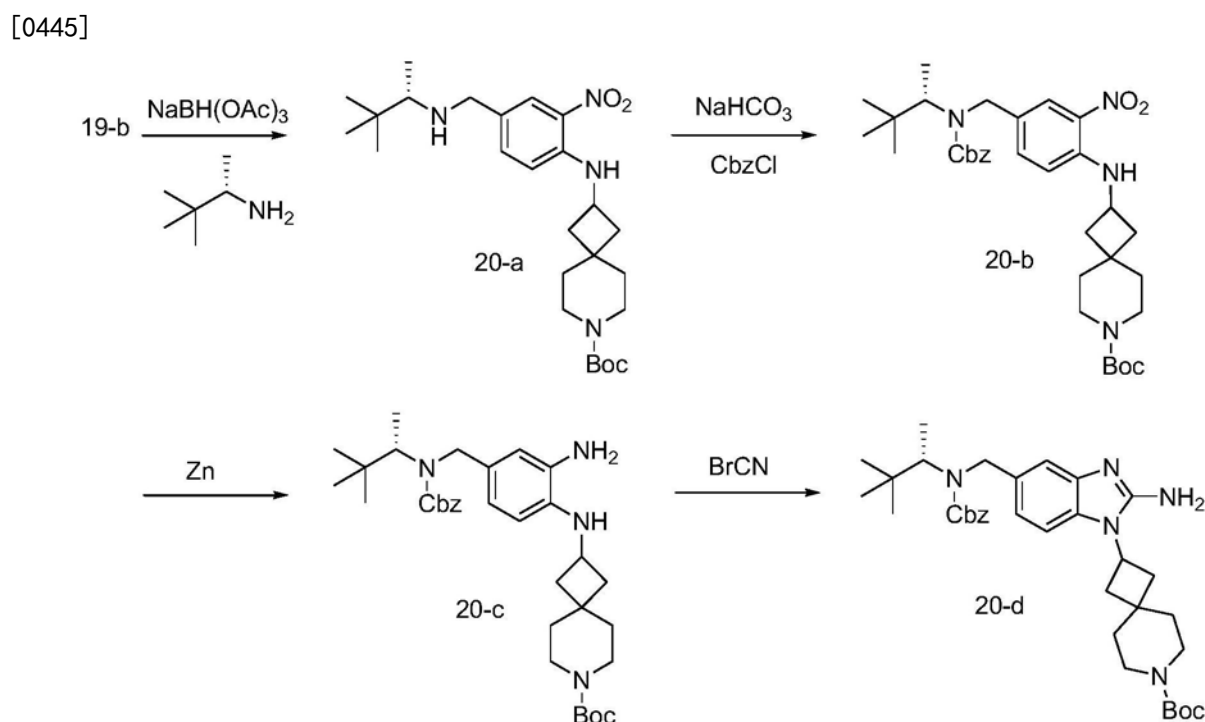
[0441] 中间体19-b的合成:



### 方案 19

[0443] 向4-氟-3-硝基苯甲醛1-a (600mg, 3.6mmol) 和DIPEA (2.5ml, 14.4mmol) 的乙腈溶液中添加19-a (700g, 2.9mmol) 的乙腈溶液。添加完成后,将反应在室温下搅拌过夜。在减压下除去挥发物。向残余物中添加饱和氯化铵水溶液和二氯甲烷,分离有机层,并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供黄色固体的中间体19-b。

[0444] 中间体20-d的合成:



### 方案 20

[0446] 步骤1:中间体20-a

[0447] 向中间体19-b (700mg, 1.8mmol) 和 (S)-3,3-二甲基丁-2-胺 (220mg, 2.2mmol) 的1,2-二氯乙烷溶液中添加三乙酰氧硼氢化钠 (570mg, 2.7mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和的NaHCO<sub>3</sub>水溶液和二氯甲烷, 分离有机层, 并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供黄色固体的中间体20-a。

[0448] 步骤2: 中间体20-b

[0449] 向中间体20-a (850mg, 1.8mmol) 的二氯甲烷 (10ml) 溶液中依次添加饱和碳酸氢钠水溶液 (10ml) 和氯甲酸苄酯 (280μl, 2.0mmol), 然后将反应在室温下搅拌至完成。分离有机层, 并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供黄色固体的中间体20-b。

[0450] 步骤3: 中间体20-c

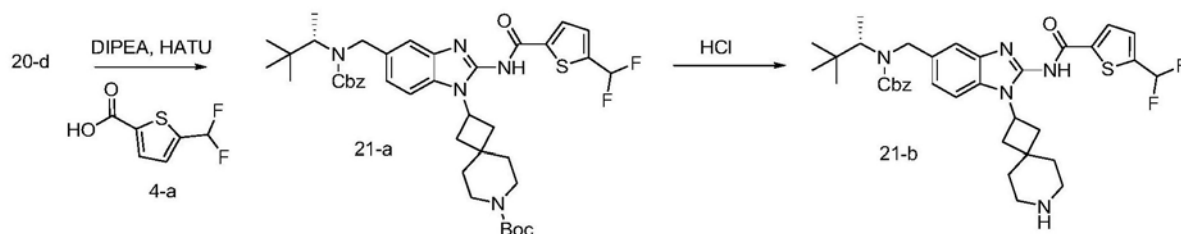
[0451] 向中间体20-b (900mg, 1.5mmol) 的MeOH溶液中依次添加氯化铵 (2.4g, 44.4mmol) 和锌粉 (484mg, 7.4mmol)。将反应在室温下搅拌至完成, 然后用C盐过滤。在减压下浓缩滤液。向残余物中添加饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色泡沫的中间体20-c。

[0452] 步骤4: 中间体20-d

[0453] 向中间体20-c (850mg, 1.5mmol) 的EtOH (10ml) 溶液中添加溴化氰 (1.9mg, 1.8mmol) 并将反应在室温下搅拌至完成。然后添加饱和碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供紫色固体的中间体20-d。

[0454] 中间体21-b的合成:

[0455]



方案 21

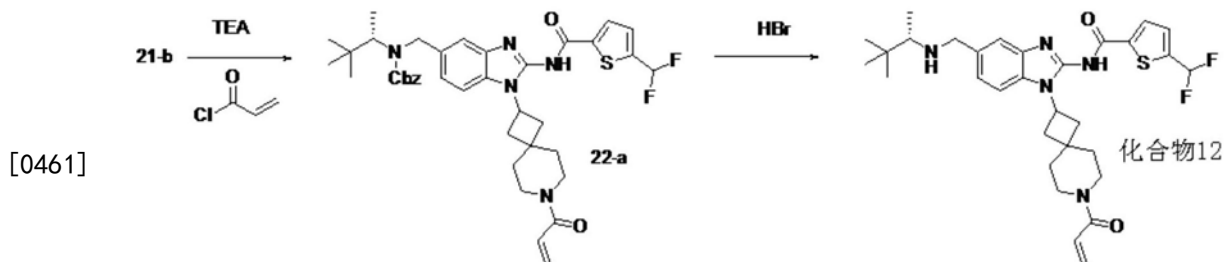
[0456] 步骤1: 中间体21-a

[0457] 向5-(二氟甲基)噻吩-2-甲酸4-a (50mg, 0.27mmol) 的DMF (1.5ml) 溶液中添加HATU (123mg, 0.323mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体20-d (150mg, 0.25mmol) 和DIPEA (130μl, 0.75mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌至完成。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体21-a。

[0458] 步骤2: 中间体21-b

[0459] 向中间体21-a (155mg, 0.20mmol) 的MeOH (1ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (5.0ml, 20.0mmol) 溶液。将反应搅拌1小时。在减压下除去挥发物以提供白色固体的中间体21-b • HCl。

[0460] 化合物12的合成:



## 方案 22

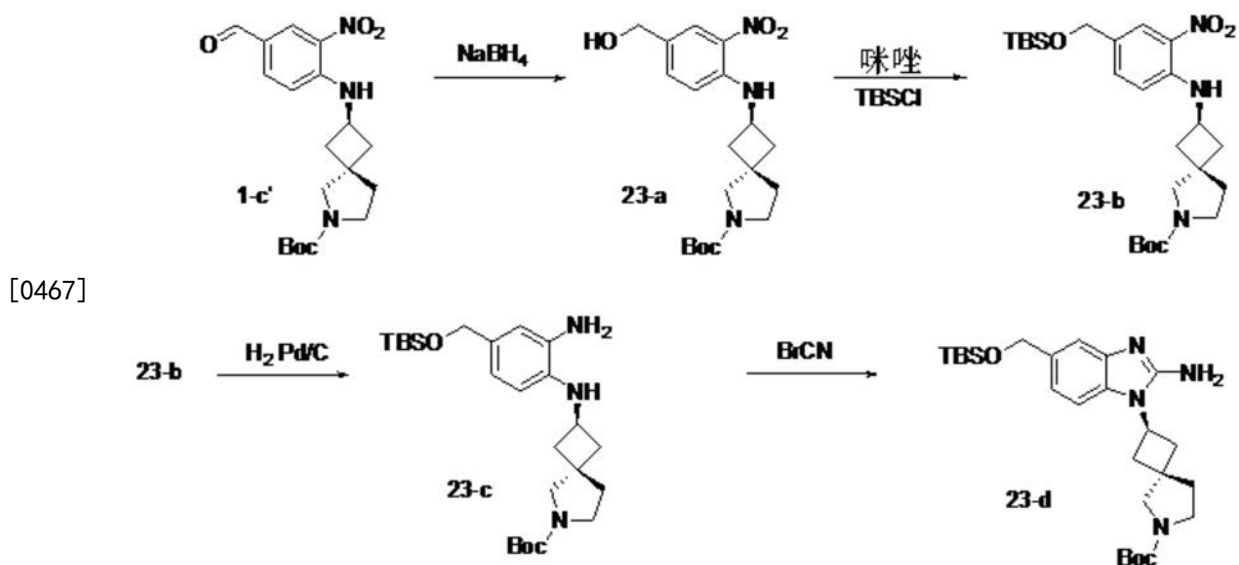
[0462] 步骤1: 中间体22-a

[0463] 向冷却至0℃的中间体21-b·HCl (133mg, 0.2mmol) 的THF (2ml) 溶液中依次添加DIPEA (170μl, 1.0mmol) 和丙烯酰氯 (19μl, 0.24mmol), 并且将溶液在0℃下搅拌15分钟。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色泡沫的中间体22-a。

[0464] 步骤2: 化合物12

[0465] 向冷却至0℃的中间体22-a (144mg, 0.20mmol) 的二氯甲烷 (1.5ml) 溶液中添加33% HBr的AcOH (2ml) 溶液, 然后将溶液在0℃下搅拌至完成。添加乙醚, 形成沉淀并通过过滤收集, 用乙醚洗涤并在真空下干燥。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物12。

[0466] 中间体23-d的合成:



## 方案 23

[0468]

[0469] 步骤1: 中间体23-a

[0470] 向中间体1-c' (2.0g, 5.3mmol) 的乙醇 (200ml) 溶液中添加硼氢化钠 (302mg, 8.0mmol) 并将反应在室温下搅拌1小时。缓慢添加饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液, 并且在搅拌15分钟后在减压下除去挥发物。添加乙酸乙酯, 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色泡沫的中间体23-a。

[0471] 步骤2: 中间体23-b

[0472] 向冷却至0℃的中间体23-a (2.0g, 5.3mmol) 的二氯甲烷 (26ml) 溶液中依次添加咪唑 (433mg, 6.4mmol) 和叔丁基氯二甲基硅烷 (879mg, 5.8mmol)。然后将反应升温至室温并搅

拌过夜。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯,分离有机层,用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩以提供米色油状物的中间体23-b。

[0473] 步骤3:中间体23-c

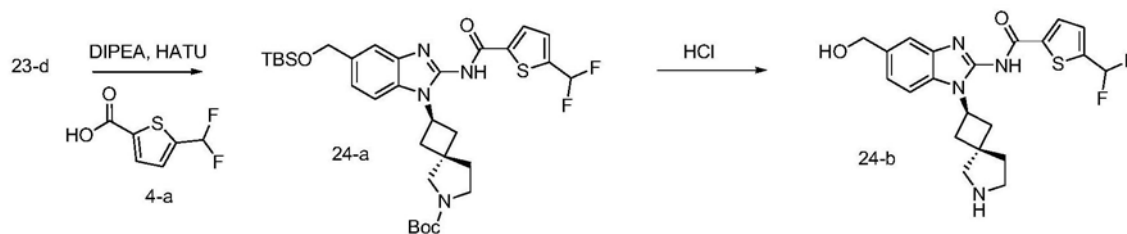
[0474] 向在氮气下搅拌的中间体23-b (2.6g, 5.3mmol) 的甲醇溶液中添加10% Pd/C (1.1g, 0.6mmol)。用H<sub>2</sub>吹扫反应混合物并在H<sub>2</sub>下搅拌24小时。然后将反应通过C盐过滤,并将滤液在减压下浓缩以提供米色固体的中间体23-c。

[0475] 步骤4:中间体23-d

[0476] 向中间体23-c (850mg, 1.8mmol) 的EtOH (19ml) 溶液中添加溴化氰 (244mg, 2.3mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。在减压下除去挥发物。然后将饱和碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯添加到残余物中,分离有机层,用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体23-d。

[0477] 中间体24-b的合成:

[0478]



#### 方案 24

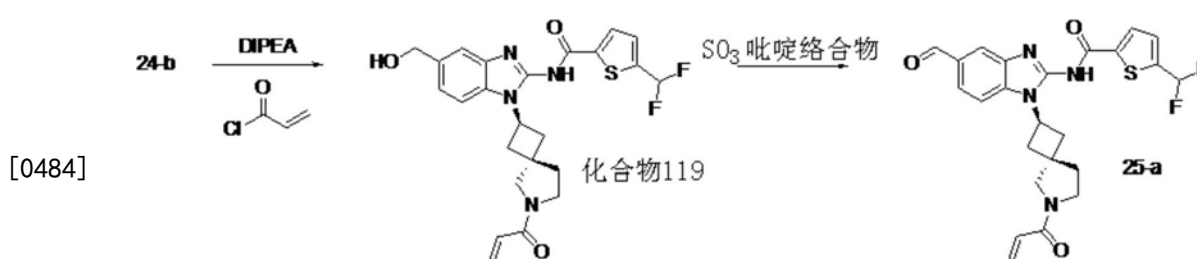
[0479] 步骤1:中间体24-a

[0480] 向冷却至0℃的5-(二氟甲基)噻吩-2-甲酸4-a (143mg, 0.8mmol) 的DMF (3.0ml) 溶液中添加HATU (328mg, 0.8mmol), 并在搅拌30分钟后添加中间体23-d (300mg, 0.6mmol) 和DIPEA (323μl, 1.8mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯,分离有机层,用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供紫色固体的中间体24-a。

[0481] 步骤2:中间体24-b

[0482] 向中间体24-a (207mg, 0.3mmol) 的MeOH (1ml) 溶液中添加4N HCl的1,4-二噁烷 (5.0ml, 20.0mmol) 溶液并将溶液在室温下搅拌过夜。在减压下除去挥发物,向残余物中添加乙醚。形成沉淀并通过过滤收集,在真空下干燥以提供紫色固体的中间体24-b · HCl。

[0483] 中间体25-a的合成:



[0484]

#### 方案 25

[0485] 步骤1:化合物119

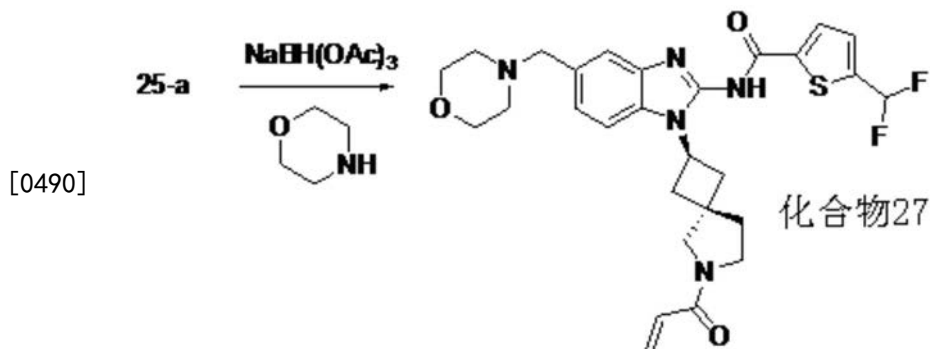
[0486] 向冷却至-78℃的中间体24-b · HCl (150mg, 0.3mmol) 的四氢呋喃 (2.0ml) 溶液中

依次添加DIPEA (279 $\mu$ l, 1.6mmol) 和丙烯酰氯 (26 $\mu$ l, 0.3mmol), 并且将反应在-78 $^{\circ}$ C下搅拌15分钟。添加水 (20mL) 和乙酸乙酯 (20mL); 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物119。

[0487] 步骤2: 中间体25-a

[0488] 向冷却至0 $^{\circ}$ C的化合物119 (150mg, 0.3mmol) 的THF (3.1mL) 和DMSO (219 $\mu$ l) 溶液中依次添加DIPEA (215 $\mu$ l, 1.2mmol) 和SO<sub>3</sub>吡啶络合物 (147mg, 0.9mmol) 的DMSO (1.0mL) 溶液。将混合物在0 $^{\circ}$ C下搅拌直至完成。在减压下除去挥发物, 添加水, 形成沉淀并通过过滤收集, 用水洗涤并在真空下干燥以提供米色固体的中间体25-a。

[0489] 化合物27的合成:

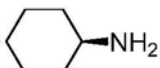
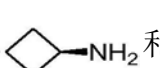
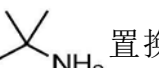
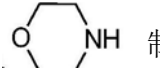


[0491]

#### 方案 26

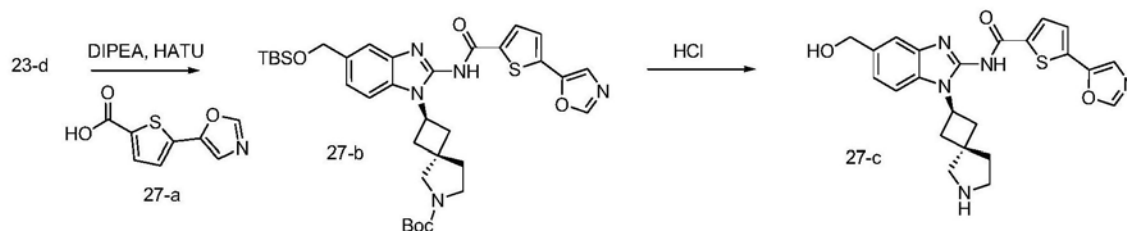
[0492] 向中间体25-a (250mg, 0.5mmol) 和吗啉 (45 $\mu$ l, 0.5mmol) 的THF (2.0mL) 溶液中依次添加醋酸 (15 $\mu$ l, 0.2mmol) 和三乙酰氧硼氢化钠 (164mg, 0.7mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。在减压下除去挥发物。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物27。

[0493] 从中间体25-a开始, 以与化合物27相似的方式, 通过分别用

HO-, HO-和HO-置换, 制备化合物34、35、36和37。

[0494] 中间体27-c的合成:

[0495]



#### 方案 27

[0496] 步骤1: 中间体27-b

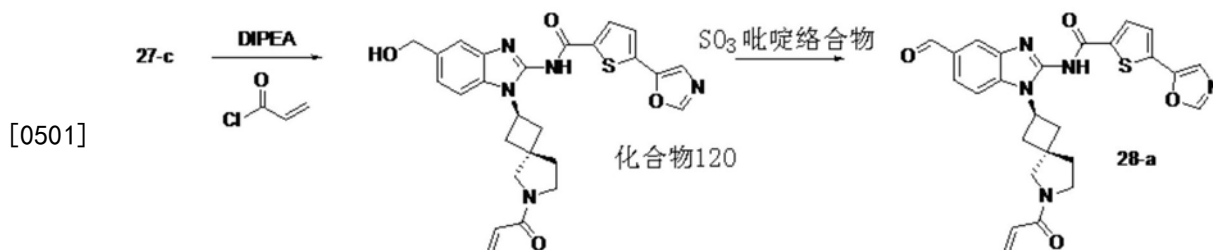
[0497] 向冷却至0 $^{\circ}$ C的5-(噁唑-5-基)噻吩-2-甲酸27-a (385mg, 1.9mmol) 的DMF (3.0mL) 溶液中添加HATU (975mg, 2.5mmol), 并在搅拌30分钟后添加中间体23-d (960mg, 2.0mmol) 和DIPEA (1.0mL, 5.9mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和氯化铵水

溶液和乙酸乙酯,分离有机层,用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液和盐水洗涤,经 $\text{MgSO}_4$ 干燥,过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体27-b。

[0498] 步骤2:中间体27-c

[0499] 向中间体27-b (470mg, 0.7mmol) 的MeOH (1ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (5.0ml, 20mmol) 溶液。将反应搅拌1小时。在减压下除去挥发物以提供米色固体的中间体27-c  $\cdot$  2HCl。

[0500] 中间体28-a的合成:



[0502]

### 方案 28

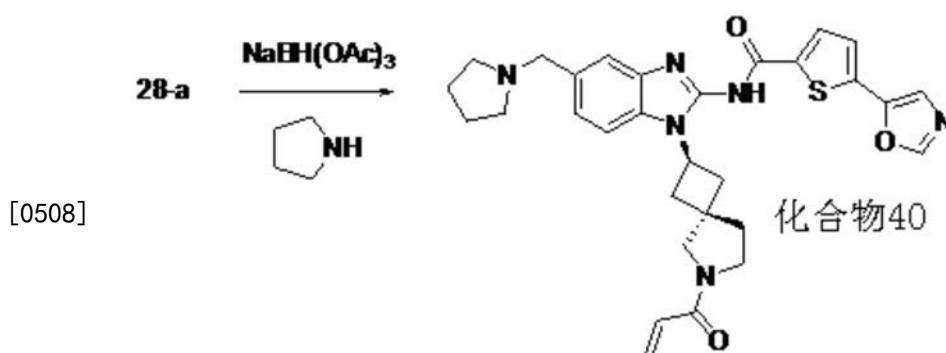
[0503] 步骤1:化合物120

[0504] 向冷却至 $-78^\circ\text{C}$ 的中间体27-c  $\cdot$  2HCl (393mg, 0.7mmol) 的四氢呋喃 (10.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (655 $\mu\text{l}$ , 3.8mmol) 和丙烯酰氯 (611, 0.7mmol) 并将反应在 $-78^\circ\text{C}$ 下搅拌15分钟。添加水 (20mL) 和乙酸乙酯 (20mL); 分离有机层,用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液和盐水洗涤,经无水 $\text{MgSO}_4$ 干燥,过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物120。

[0505] 步骤2:中间体28-a

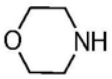
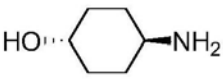
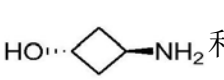
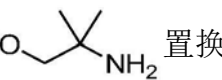
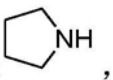
[0506] 向冷却至 $0^\circ\text{C}$ 的化合物120 (380mg, 0.7mmol) 的THF (7.5ml) 和DMSO (536 $\mu\text{l}$ ) 溶液中依次添加DIPEA (526 $\mu\text{l}$ , 3.0mmol) 和 $\text{SO}_3$ 吡啶络合物 (360mg, 2.2mmol) 的DMSO溶液 (1.0mL)。将混合物在 $0^\circ\text{C}$ 下搅拌至完成。在减压下除去挥发物,向残余物中添加水和乙酸乙酯,分离有机层,用盐水洗涤,经无水 $\text{MgSO}_4$ 干燥,过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体28-a。

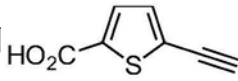
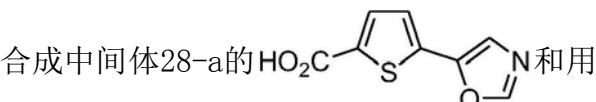
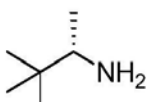
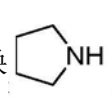
[0507] 化合物40的合成:



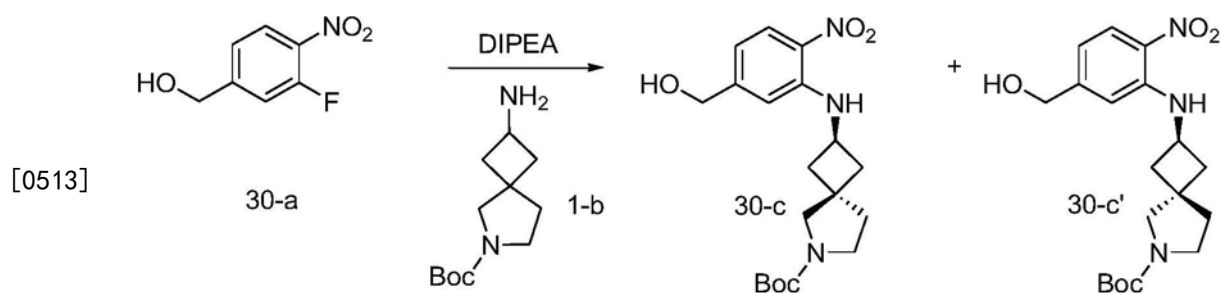
### 方案 29

[0509] 向中间体28-a (100mg, 0.2mmol) 和吡咯烷 (16 $\mu\text{l}$ , 0.2mmol) 的乙腈 (5.0ml) 溶液中依次添加醋酸 (1 $\mu\text{l}$ , 0.02mmol) 和三乙酰氧硼氢化钠 (63mg, 0.3mmol), 并且将反应在室温下搅拌过夜。在减压下除去挥发物。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物40。

[0510] 从中间体28-a开始, 以与化合物40相似的方式, 通过分别用 、  
、 和  置换 , 制备化合物41、42、43和44。

[0511] 从中间体23-d开始, 以与化合物40相似的方式, 通过用  置换用于  
 合成中间体28-a的  和用  置换 , 制备化合物28。

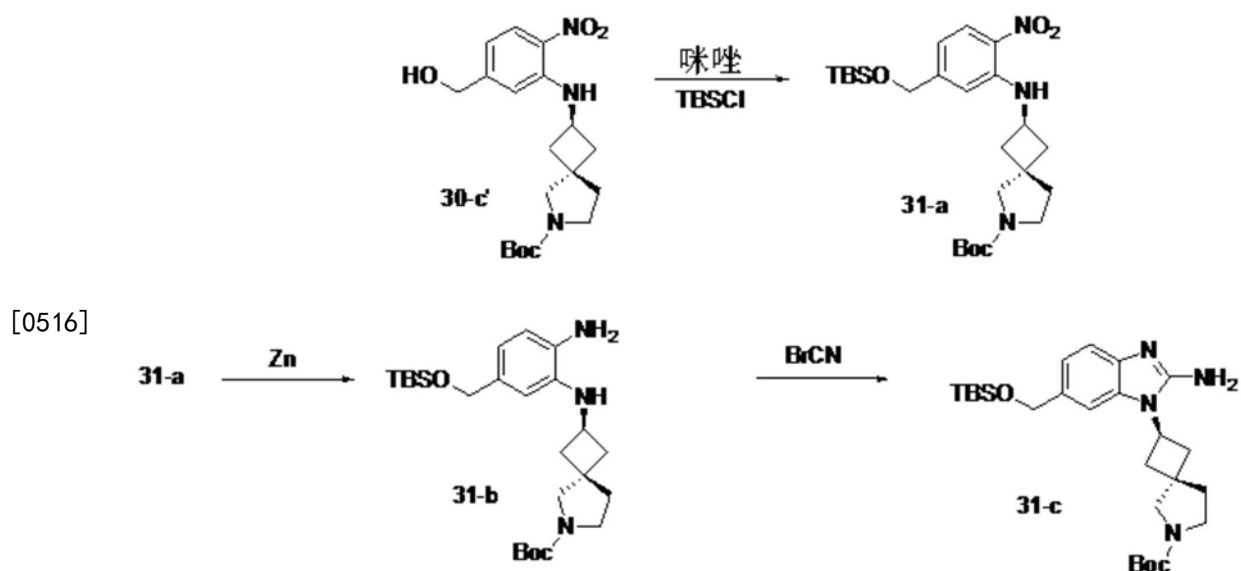
[0512] 中间体30-c和30-c'的合成:



#### 方案 30

[0514] 向中间体30-a (380mg, 2.2mmol) 和DIPEA (1.2ml, 6.7mmol) 的DMSO溶液中添加中间体1-b (700mg, 2.4mmol)。将反应在110℃下搅拌过夜, 然后冷却至室温。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过用乙酸乙酯/己烷梯度洗脱的硅胶色谱法分离, 提供黄色固体的中间体异构体30-c和黄色固体的30-c'。

[0515] 中间体31-c的合成:



#### 方案 31

[0517] 步骤1: 中间体31-a

[0518] 向冷却至0℃的中间体30-c' (300mg, 0.8mmol) 的二氯甲烷 (4.0ml) 溶液中依次添

加咪唑 (114mg, 1.7mmol) 和叔丁基氯二甲基硅烷 (240mg, 1.6mmol)。然后将反应升温至室温并搅拌过夜。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体31-a。

[0519] 步骤2: 中间体31-b

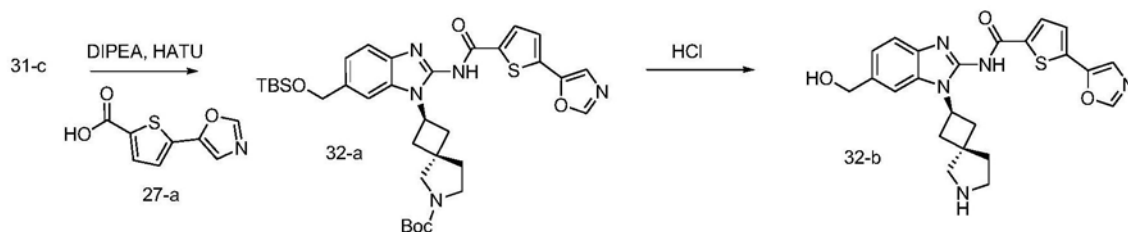
[0520] 向中间体31-a (400mg, 0.8mmol) 的甲醇 (5.4ml) 和水 (1ml) 溶液中依次添加氯化铵 (1.3g) 和锌粉 (266mg, 4.1mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。在减压下除去挥发物。向残余物中添加饱和碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体31-b。

[0521] 步骤3: 中间体31-c

[0522] 向中间体31-b (360mg, 0.8mmol) 的EtOH (8.0ml) 溶液中添加溴化氰 (103mg, 1.0mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。在减压下除去挥发物。然后向残余物中添加饱和碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体31-c。

[0523] 中间体32-b的合成:

[0524]



方案 32

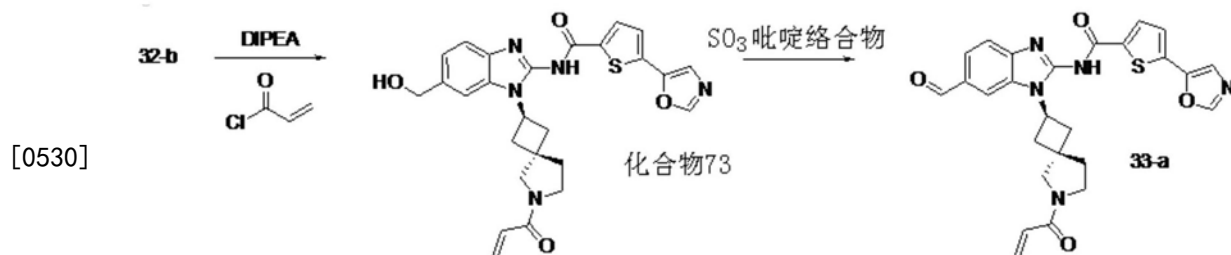
[0525] 步骤1: 中间体32-a

[0526] 向冷却至0℃的5-(噁唑-5-基)噻吩-2-甲酸27-a (229mg, 1.2mmol) 的DMF (4.0ml) 溶液中添加HATU (445mg, 1.2mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体31-c (380mg, 0.8mmol) 和DIPEA (409μl, 2.3mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体32-a。

[0527] 步骤2: 中间体32-b

[0528] 向中间体32-a (445mg, 0.7mmol) 的MeOH (3.3ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (5.0ml, 20.0mmol) 溶液。将反应搅拌1小时。在减压下除去挥发物以提供米色固体的中间体32-b • 2HCl。

[0529] 中间体33-a的合成:



## 方案 33

[0531] 步骤1: 化合物73

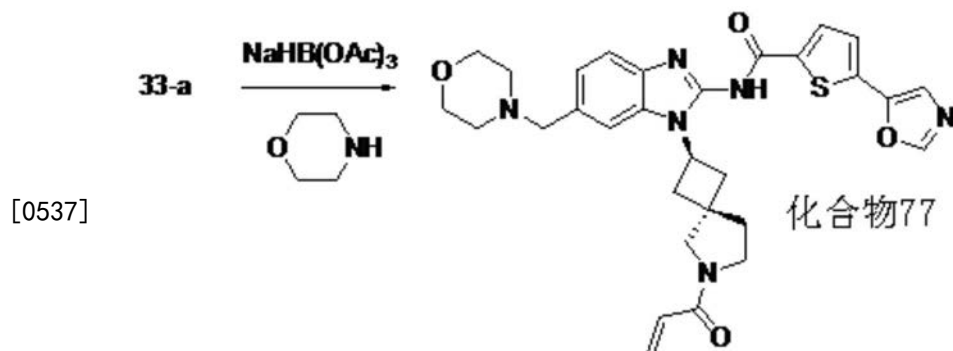
[0532] 向冷却至 $-78^\circ\text{C}$ 的中间体32-b  $\cdot 2\text{HCl}$  (250mg, 0.5mmol) 的四氢呋喃 (5.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (251 $\mu\text{l}$ , 1.4mmol) 和丙烯酰氯 (39 $\mu\text{l}$ , 0.5mmol) 并将反应在 $-78^\circ\text{C}$ 下搅拌30分钟。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯; 分离有机层, 用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液和盐水洗涤, 经无水 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供米色固体化合物73。

[0533] 从中间体30-c开始, 以与化合物73类似的方式, 制备化合物78。

[0534] 步骤2: 中间体33-a

[0535] 向冷却至 $0^\circ\text{C}$ 的化合物73 (150mg, 0.3mmol) 的THF (2.0ml) 和DMSO (1.0ml) 溶液中依次添加TEA (166 $\mu\text{l}$ , 1.2mmol) 和 $\text{SO}_3$ 吡啶络合物 (142mg, 0.9mmol) 的DMSO (1.0mL) 溶液。将混合物在 $0^\circ\text{C}$ 下搅拌至完成。在减压下除去挥发物, 添加水。形成沉淀并通过过滤收集, 用水洗涤并在真空下干燥以提供米色固体的中间体33-a。

[0536] 化合物77的合成:



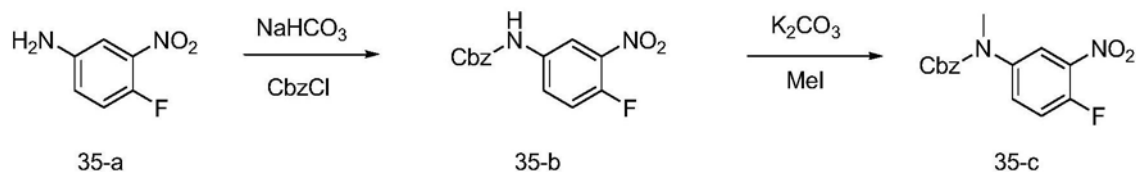
## 方案 34

[0538] 向中间体33-a (55mg, 0.1mmol) 和吗啉 (9mg, 0.1mmol) 的乙腈 (1.0ml) 和二氯乙烷 (1.0ml) 溶液中添加三乙酰氧硼氢化钠 (35mg, 0.2mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。在减压下除去挥发物。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物77。

[0539] 以与化合物77相似的方式, 通过用  NH 替换  NH, 从化合物78制备化合物86。

[0540] 中间体35-c的合成:

[0541]

**方案 35**

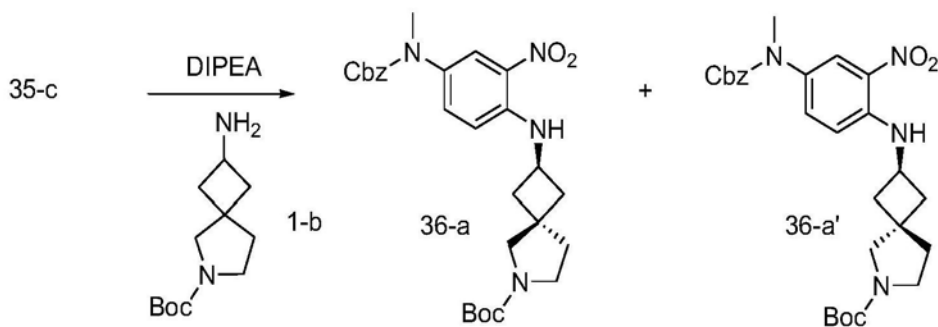
[0542] 步骤1: 中间体35-b

[0543] 向4-氟-3-硝基苯胺 (5.0g, 32.0mmol) 的二氯甲烷 (64ml) 溶液中依次添加饱和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (64.1ml) 和氯甲酸苄酯 (5.5ml, 38.4mmol) 并将反应在室温下搅拌2小时。分离有机层, 用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体 35-b。

[0544] 步骤2: 中间体35-c

[0545] 向中间体35-b (6.0g, 20.7mmol) 的乙腈 (60ml) 溶液中依次添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (8.6g, 62.0mmol) 和碘甲烷 (6.5ml, 103.0mmol)。将反应在室温下搅拌过夜, 然后过滤。在减压下浓缩滤液, 然后向残余物中添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供黄色固体的中间体35-c。

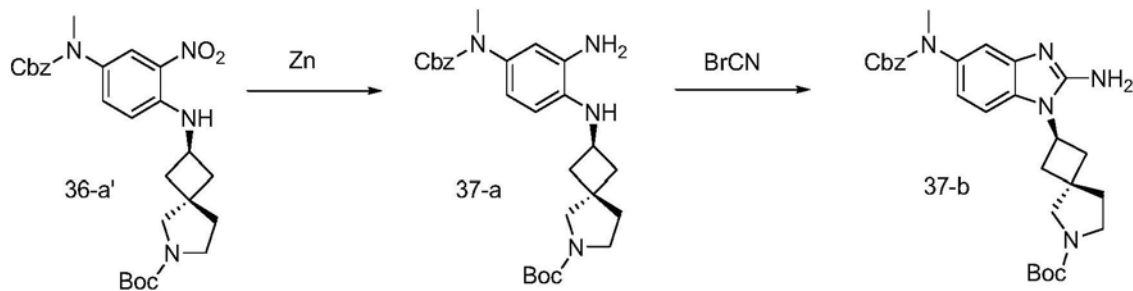
[0546] 中间体36-a和36-a'的合成:

**方案 36**

[0548] 向中间体35-c (850mg, 2.8mmol) 和DIPEA (1.5ml, 8.4mmol) 的DMSO溶液中添加中间体1-b • AcOH (880mg, 3.1mmol)。将反应在110℃下搅拌3小时, 然后冷却至室温。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过用乙酸乙酯/己烷梯度洗脱的硅胶色谱法分离, 提供黄色固体的中间体异构体36-a和黄色固体的36-a'。

[0549] 中间体37-b的合成:

[0550]



方案 37

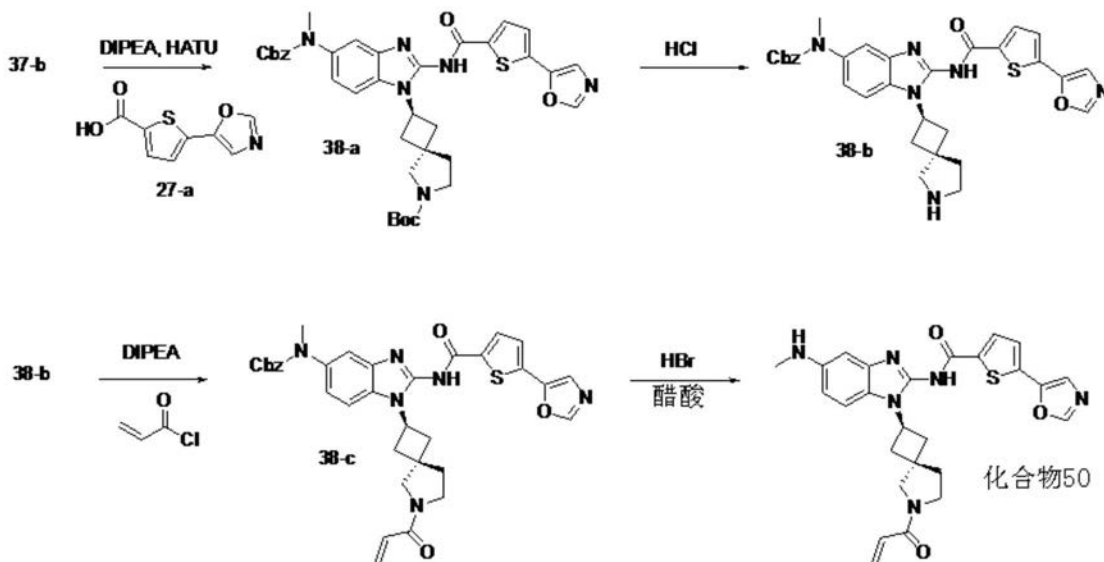
[0551] 步骤1: 中间体37-a

[0552] 向中间体36-a' (510mg, 1.0mmol) 的甲醇 (6.7ml) 和水 (1ml) 溶液中依次添加氯化铵 (1.6g) 和锌粉 (327mg, 5.0mmol) 并将反应在室温下搅拌1小时。在减压下除去挥发物。向残余物中添加饱和碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体37-a。

[0553] 步骤2: 中间体37-b

[0554] 向中间体37-a (400mg, 0.8mmol) 的EtOH (8.0ml) 溶液中添加溴化氰 (110mg, 1.0mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。在减压下除去挥发物。然后将饱和碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯添加到残余物中, 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体37-b。

[0555] 化合物50的合成:



方案 38

[0557] 步骤1: 中间体38-a

[0558] 向冷却至0℃的5-(噁唑-5-基)噻吩-2-甲酸27-a (229mg, 1.2mmol) 的DMF (4.0ml) 溶液中添加HATU (445mg, 1.2mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体37-b (540mg, 1.1mmol) 和DIPEA (560μl, 3.2mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在

减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体38-a。

[0559] 步骤2: 中间体38-b

[0560] 向中间体38-a (600mg, 0.9mmol) 的MeOH (5.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (5.0ml, 20.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物以提供米色固体的中间体38-b • 2HCl。

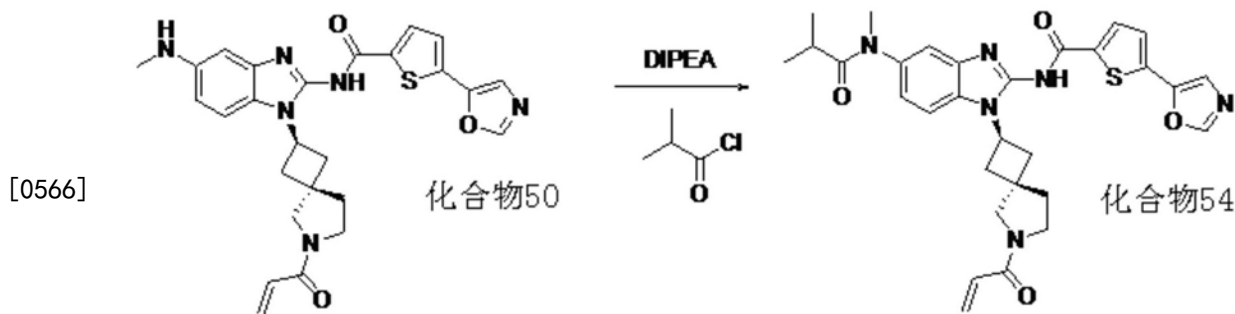
[0561] 步骤3: 中间体38-c

[0562] 向冷却至-78℃的中间体38-b • 2HCl (600mg, 1.0mmol) 的四氢呋喃 (2.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (897μl, 5.1mmol) 和丙烯酰氯 (92μl, 1.1mmol), 并将反应在-78℃下搅拌30分钟。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯; 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体38-c。

[0563] 步骤4: 化合物50

[0564] 向冷却至0℃的中间体38-c (650mg, 1.0mmol) 的二氯甲烷 (5ml) 溶液中添加33% HBr的醋酸 (5ml, 1.0mmol) 溶液并将反应搅拌1小时。添加水, 形成沉淀并通过过滤收集。通过反相色谱法纯化提供米色固体的化合物50。

[0565] 化合物54的合成:



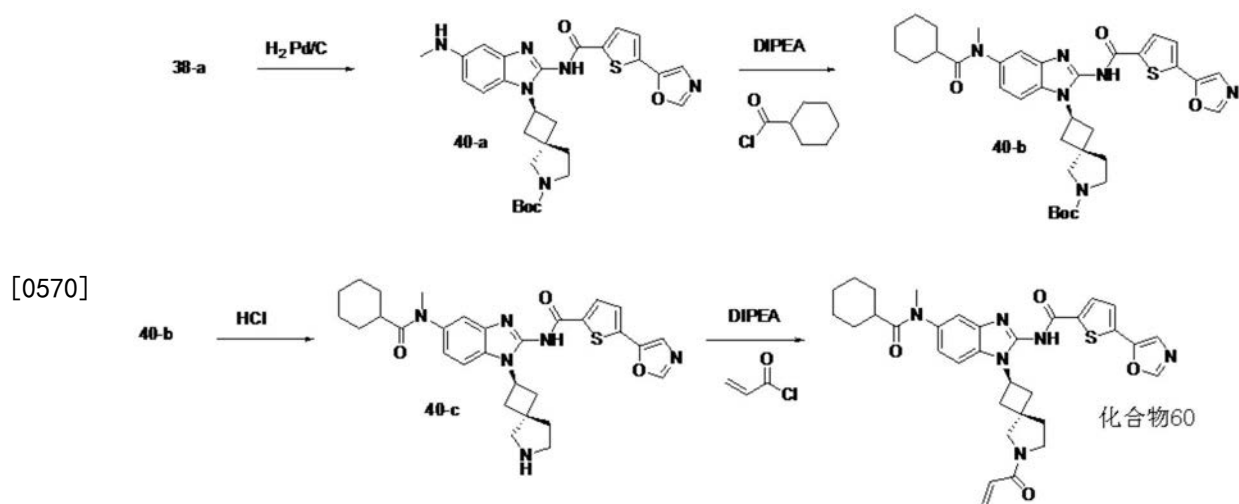
#### 方案 39

[0567] 向冷却至0℃的化合物50 (20mg, 0.04mmol) 的二氯甲烷 (1.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (21μl, 0.1mmol) 和异丁酰氯 (4mg, 0.04mmol) 并将反应在在0℃搅拌30分钟。添加饱和氯化铵水溶液和二氯甲烷; 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供米色固体的化合物54。

[0568] 从化合物50开始, 以与化合物54相似的方式, 通过分别用

和 置换 制备化合物51、52、53。

[0569] 化合物60的合成:



## 方案 40

[0571] 步骤1: 中间体40-a

[0572] 向在氮气下搅拌的中间体38-a (670mg, 1.0mmol) 的甲醇 (5ml) 溶液中添加10% Pd/C (209mg, 0.1mmol)。用H<sub>2</sub>吹扫反应混合物并在H<sub>2</sub>下搅拌24小时。然后将反应通过C盐过滤, 将滤液在减压下浓缩以提供米色固体的中间体40-a。

[0573] 步骤2: 中间体40-b

[0574] 向冷却至0℃的中间体40-a (75mg, 0.13mmol) 的二氯甲烷 (1.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (72μl, 0.4mmol) 和环己烷碳酰氯 (22mg, 0.15mmol), 并将反应在室温下搅拌过夜。添加饱和氯化铵水溶液和二氯甲烷; 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体40-b。

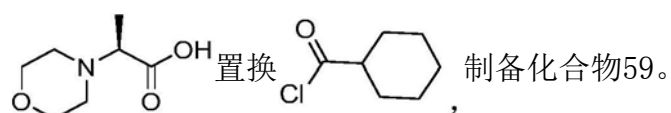
[0575] 步骤3: 中间体40-c

[0576] 向中间体40-b (110mg, 0.2mmol) 的MeOH (5.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (3.0ml, 12.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物以提供米色固体的中间体40-c · 2HCl。

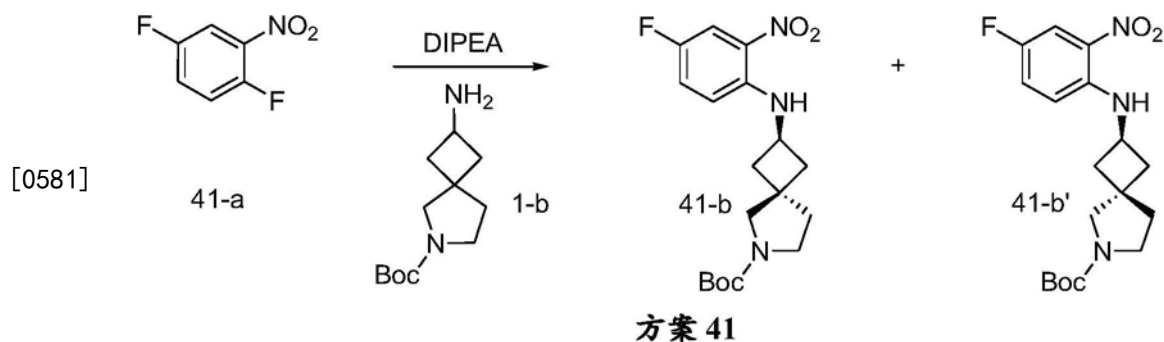
[0577] 步骤4: 化合物60

[0578] 向冷却至-78℃的中间体40-c · 2HCl (95mg, 0.2mmol) 的DMF (5.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (89μl, 0.5mmol) 和丙烯酰氯 (17μl, 0.2mmol) 并将反应在0℃下搅拌30分钟。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯; 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供米色固体的化合物60。

[0579] 从中间体40-a开始, 以与化合物60相似的方式, 在HATU和DIPEA存在下通过用

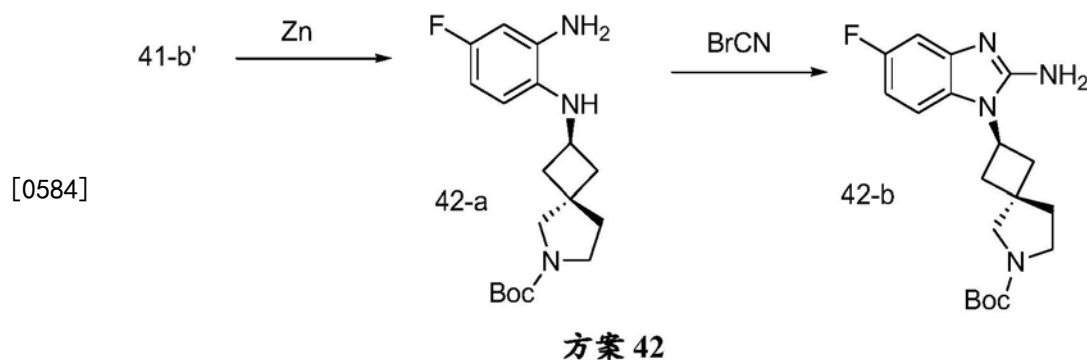


[0580] 中间体41-b和41-b'的合成:



[0582] 向中间体41-a (500mg, 3.1mmol) 和DIPEA (1.6ml, 9.4mmol) 的DMSO溶液中添加中间体1-b • AcOH (990mg, 3.5mmol)。将反应在110℃下搅拌3小时, 然后冷却至室温。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过用乙酸乙酯/己烷梯度洗脱的硅胶色谱法分离, 提供黄色固体的中间体异构体41-b和黄色固体的41-b'。

[0583] 中间体42-b的合成:



[0585] 步骤1: 中间体42-a

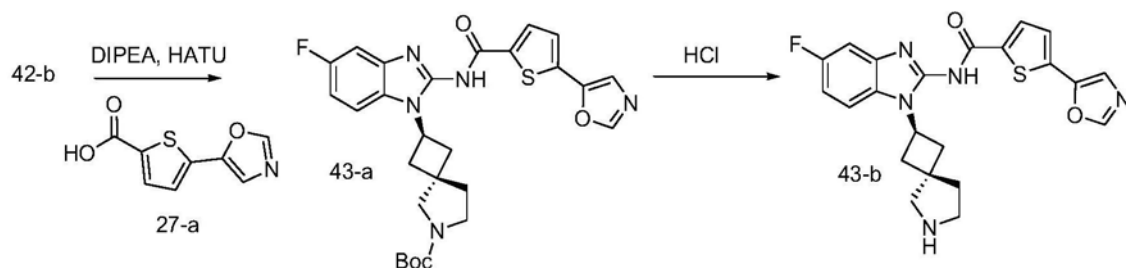
[0586] 向中间体41-b' (440mg, 1.2mmol) 的甲醇 (8.0ml) 和水 (1ml) 溶液中依次添加氯化铵 (1.9g) 和锌粉 (394mg, 6.0mmol) 并将反应在室温下搅拌1小时。在减压下除去挥发物。向残余物中添加饱和碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体42-a。

[0587] 步骤2: 中间体42-b

[0588] 向中间体42-a (400mg, 1.2mmol) 的EtOH (12.0ml) 溶液中添加溴化氰 (158mg, 1.5mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。在减压下除去挥发物。然后将饱和碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯添加到残余物中, 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供紫色固体的中间体42-b。

[0589] 中间体43-b的合成:

[0590]



## 方案 43

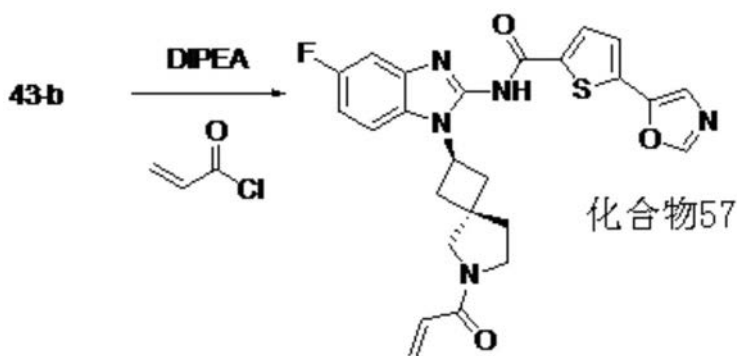
[0591] 步骤1: 中间体43-a

[0592] 向冷却至0℃的5-(噻唑-5-基)噻吩-2-甲酸27-a (341mg, 1.8mmol) 的DMF (6.0ml) 溶液中添加HATU (665mg, 1.8mmol), 并且在搅拌30分钟后, 添加中间体42-b (420mg, 1.2mmol) 和DIPEA (611μl, 3.5mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体43-a。

[0593] 步骤2: 中间体43-b

[0594] 向中间体43-a (340mg, 0.6mmol) 的MeOH (1.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (3.0ml, 12.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物以提供米色固体的中间体43-b • 2HCl。

[0595] 化合物57的合成:



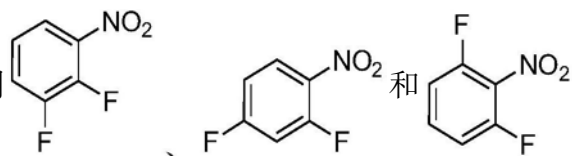
[0596]

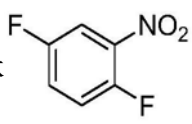
## 方案 44

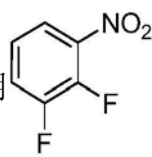
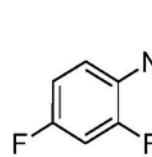
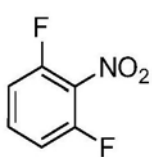
[0597] 向冷却至0℃的中间体43-b • 2HCl (300mg, 0.6mmol) 的DMF (5.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (1.0ml, 1.5mmol) 和丙烯酰氯 (62μl, 0.8mmol), 并将反应在0℃下搅拌30分钟。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯; 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供米色固体的化合物57。

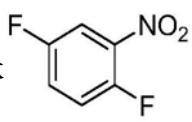
[0598] 以与化合物57相似的方式, 从中间体41-b开始, 制备化合物68。

[0599] 以与化合物57相似的方式, 通过分别用

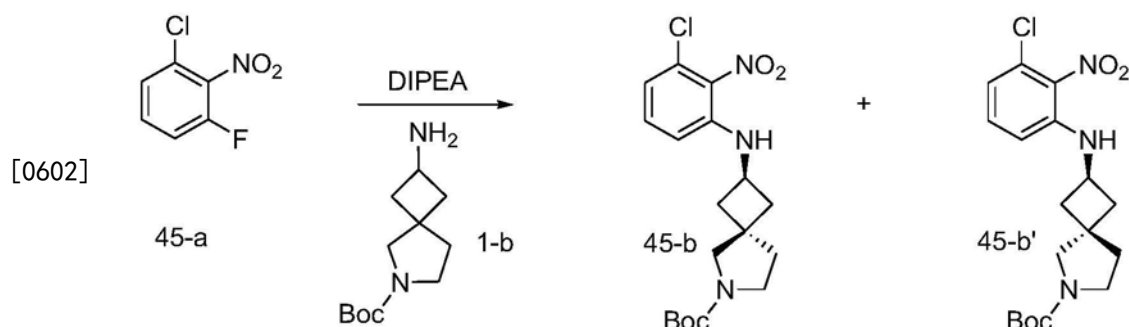


置换中间体  , 制备化合物56、58和61。

[0600] 以与化合物68相似的方式,通过分别用  、  和 

置换中间体  , 制备化合物62、70和67。

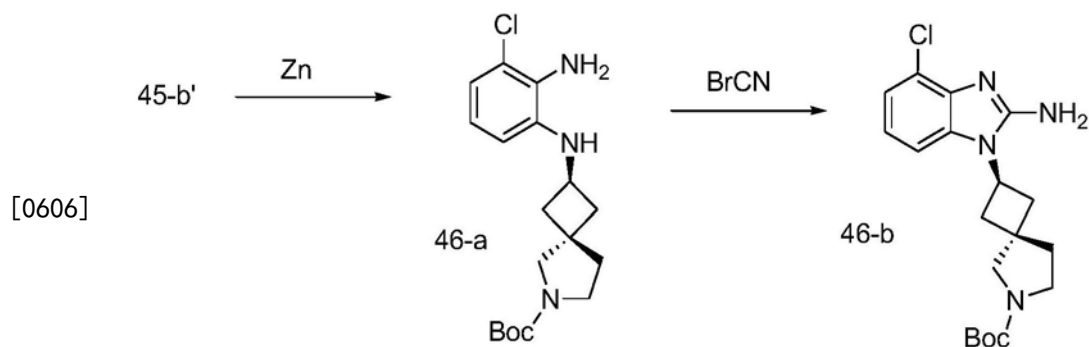
[0601] 中间体45-b和45-b'的合成:



[0603] **方案 45**

[0604] 向中间体45-a (500mg, 2.8mmol) 和DIPEA (1.5ml, 8.5mmol) 的DMSO溶液中添加中间体1-b • AcOH (709mg, 3.1mmol)。将反应在110℃下搅拌3小时,然后冷却至室温。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯,分离有机层,并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩。通过用乙酸乙酯/己烷梯度洗脱的硅胶色谱法分离,提供黄色固体的中间体异构体45-b和黄色固体的45-b'。

[0605] 中间体46-b的合成:



**方案 46**

[0607] 步骤1: 中间体46-a

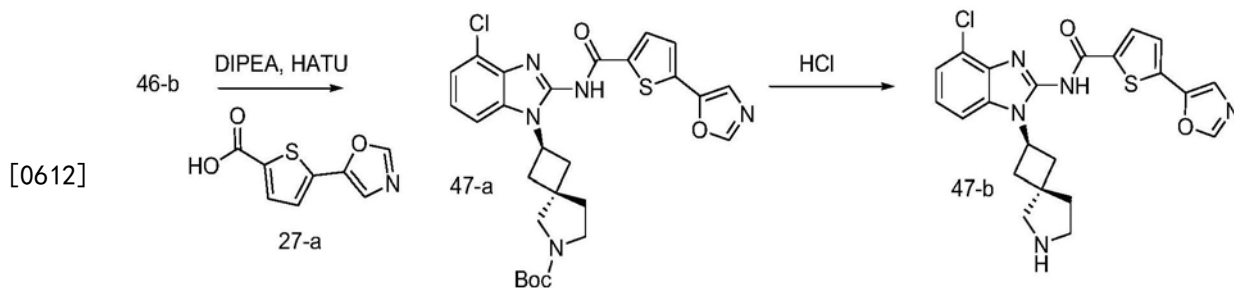
[0608] 向中间体45-b' (460mg, 1.2mmol) 的甲醇 (8.0ml) 和水 (1ml) 溶液中依次添加氯化铵 (1.9g) 和锌粉 (394mg, 6.0mmol) 并将反应在室温下搅拌1小时。在减压下除去挥发物。向残余物中添加饱和碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯,分离有机层,并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下

浓缩以提供米色固体的中间体46-a。

[0609] 步骤2: 中间体46-b

[0610] 向中间体46-a (420mg, 1.2mmol) 的EtOH (12.0ml) 溶液中添加溴化氰 (158mg, 1.5mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。在减压下除去挥发物。然后将饱和碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯添加到残余物中, 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供紫色固体的中间体46-b。

[0611] 中间体47-b的合成:



方案 47

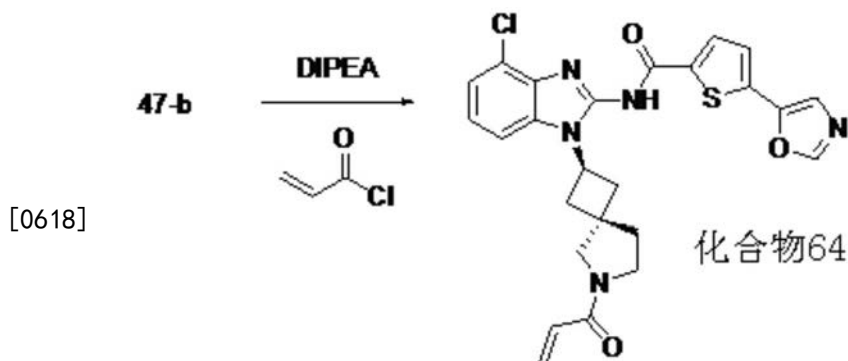
[0613] 步骤1: 中间体47-a

[0614] 向5-(噁唑-5-基) 噻吩-2-甲酸27-a (233mg, 1.2mmol) 的DMF (4.0ml) 溶液中添加HATU (454mg, 1.2mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体46-b (300mg, 0.8mmol) 和DIPEA (417μl, 2.4mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体47-a。

[0615] 步骤2: 中间体47-b

[0616] 向中间体47-a (500mg, 0.9mmol) 的MeOH (1.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (3.0ml, 12.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物以提供米色固体的中间体47-b · 2HCl。

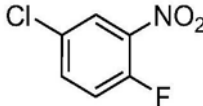
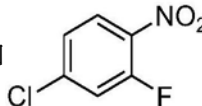
[0617] 化合物64的合成:

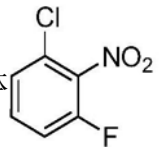


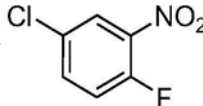
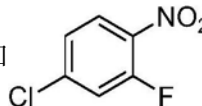
方案 48

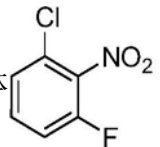
[0619] 向冷却至0℃的中间体47-b · 2HCl (250mg, 0.5mmol) 的DMF (5.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (267μl, 1.5mmol) 和丙烯酰氯 (50μl, 0.6mmol) 并将反应在0℃下搅拌30分钟。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯; 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供米色固体的化合物64。

[0620] 以与化合物64类似的方式,从中间体45-b开始制备化合物72。

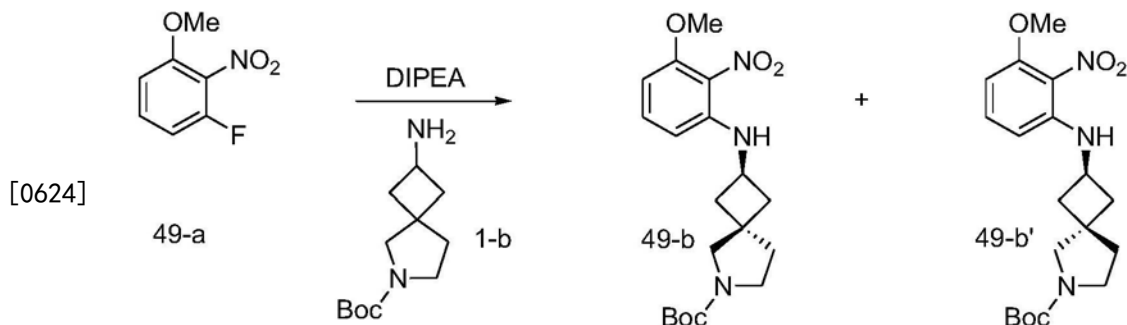
[0621] 以与化合物64类似的方式,通过分别用  和  置换中间

体  , 制备化合物63和65。

[0622] 以与化合物72类似的方式,通过分别用  和  置换中间

体  , 制备化合物71和69。

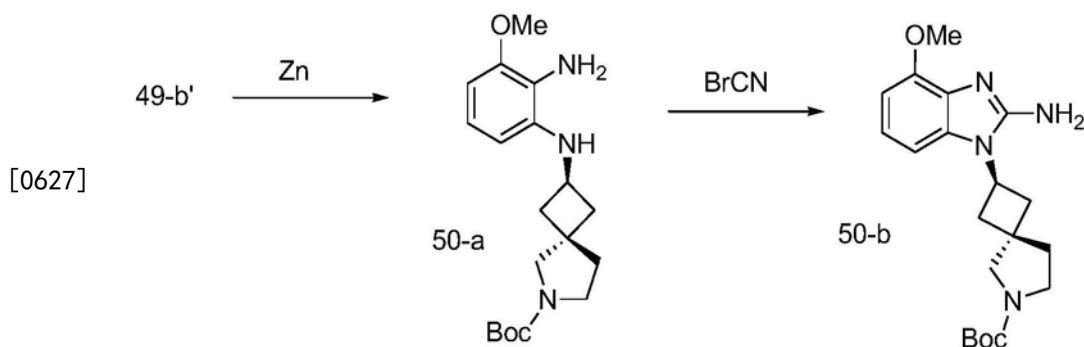
[0623] 中间体49-b和49-b'的合成:



#### 方案 49

[0625] 向中间体49-a (500mg, 2.9mmol) 和DIPEA (1.5ml, 8.7mmol) 的DMSO溶液中添加中间体1-b • AcOH (727mg, 3.2mmol)。将反应在110℃下搅拌3小时,然后冷却至室温。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯,分离有机层,并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩。通过用乙酸乙酯/己烷梯度洗脱的硅胶色谱法分离,提供黄色固体的中间体异构体49-b和黄色固体的49-b'。

[0626] 中间体50-b的合成:



#### 方案 50

[0628]

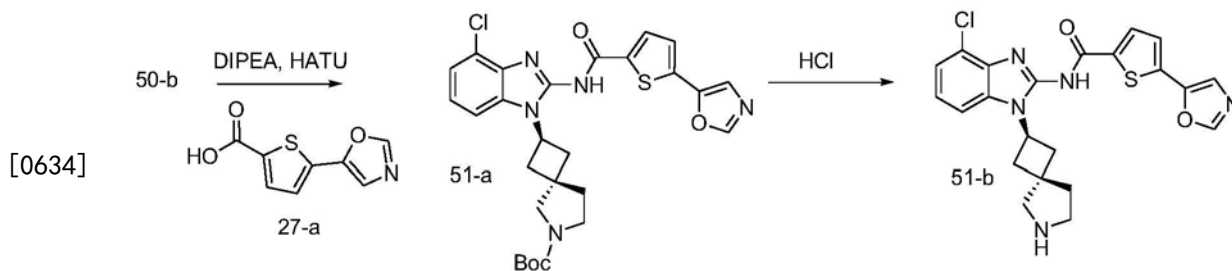
[0629] 步骤1: 中间体50-a

[0630] 向中间体49-b' (400mg, 1.1mmol) 的甲醇 (7.0ml) 和水 (1ml) 溶液中依次添加氯化铵 (1.7g) 和锌粉 (346mg, 5.3mmol) 并将反应在室温下搅拌1小时。在减压下除去挥发物。向残余物中添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用饱和碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供紫色固体的中间体50-a。

[0631] 步骤2: 中间体50-b

[0632] 向中间体50-a (370mg, 1.1mmol) 的EtOH (10.0ml) 溶液中添加溴化氰 (141mg, 1.3mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。在减压下除去挥发物。然后将饱和碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯添加到残余物中, 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体50-b。

[0633] 中间体51-b的合成:



方案 51

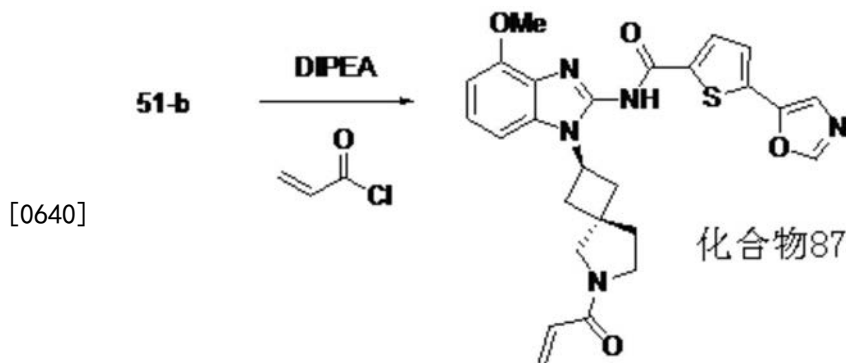
[0635] 步骤1: 中间体51-a

[0636] 向5-(噁唑-5-基) 噻吩-2-甲酸27-a (207mg, 1.1mmol) 的DMF (4.0ml) 溶液中添加HATU (310mg, 0.8mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体50-b (370mg, 0.8mmol) 和DIPEA (428μl, 2.4mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体51-a。

[0637] 步骤2: 中间体51-b

[0638] 向中间体51-a (450mg, 0.8mmol) 的MeOH (1.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (3.0ml, 12.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物, 添加乙醚, 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体51-b • 2HCl。

[0639] 化合物87的合成:



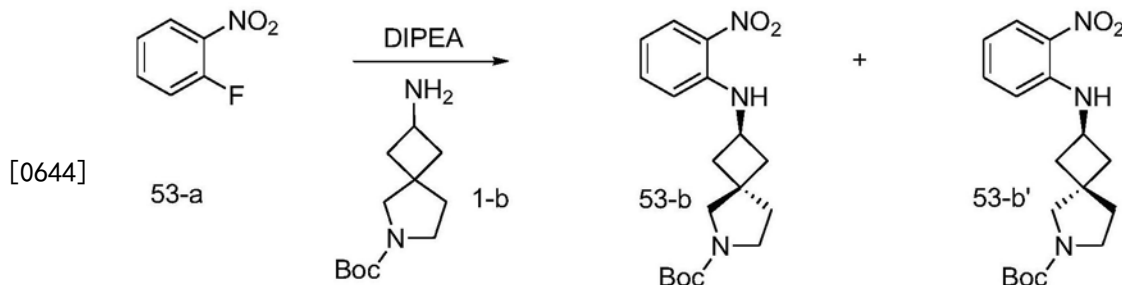
方案 52

[0641] 向冷却至0℃的中间体51-b • 2HCl (400mg, 0.9mmol) 的DMF (5.0ml) 溶液中依次添

加DIPEA (466 $\mu$ l, 2.6mmol) 和丙烯酰氯 (87 $\mu$ l, 1.1mmol) 并将反应在0℃下搅拌30分钟。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯;分离有机层,用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤,经无水MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物87。

[0642] 以与化合物87类似的方式,从中间体49-b开始制备化合物88。

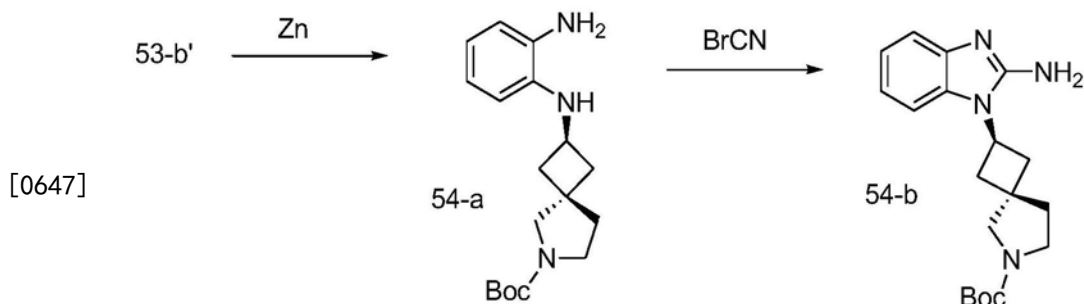
[0643] 中间体53-b和53-b'的合成:



#### 方案 53

[0645] 向中间体53-a (405mg, 2.9mmol) 和DIPEA (2.5ml, 14.4mmol) 的乙腈溶液中添加中间体1-b (650mg, 2.9mmol)。将反应在70℃下搅拌过夜,然后冷却至室温。在减压下除去挥发物,向残余物中添加饱和氯化铵水溶液和二氯甲烷,分离有机层,并且水相用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩。通过用乙酸乙酯/己烷梯度洗脱的硅胶色谱法分离,提供黄色固体的中间体异构体53-b和黄色固体的53-b'。

[0646] 中间体54-b的合成:



#### 方案 54

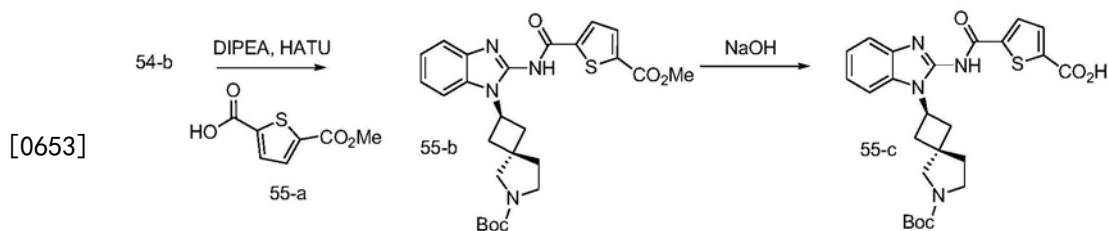
[0648] 步骤1: 中间体54-a

[0649] 向在氮气下搅拌的中间体53-b' (430mg, 1.2mmol) 的甲醇溶液中添加10%Pd/C (263mg, 0.1mmol)。将反应混合物用H<sub>2</sub>吹扫并在H<sub>2</sub>下搅拌24小时。然后将反应通过C盐过滤,并将滤液在减压下浓缩以提供米色固体的中间体54-a。

[0650] 步骤2: 中间体54-b

[0651] 向中间体54-a (400mg, 1.3mmol) 的EtOH (12.0ml) 溶液中添加溴化氰 (167mg, 1.6mmol), 并将反应在室温下搅拌过夜。在减压下除去挥发物。然后向残余物中添加饱和碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯,分离有机层,用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩以提供紫色固体的中间体54-b。

[0652] 中间体55-c的合成:



## 方案 55

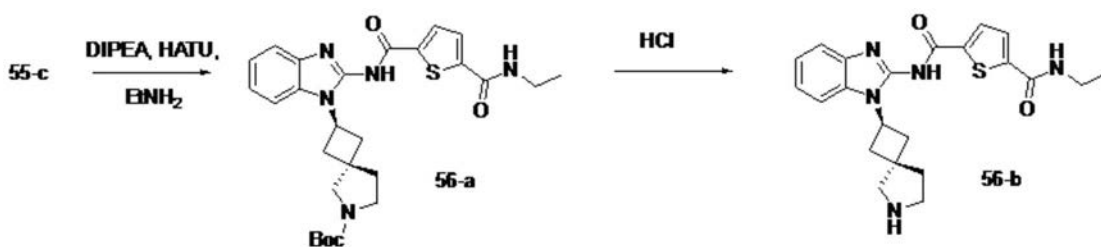
[0654] 步骤1: 中间体55-b

[0655] 向中间体55-a (371mg, 2.0mmol) 的DMF (9.0ml) 溶液中添加HATU (1.0g, 2.7mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体54-b (620mg, 1.8mmol) 和DIPEA (949 $\mu$ l, 5.4mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体55-b。

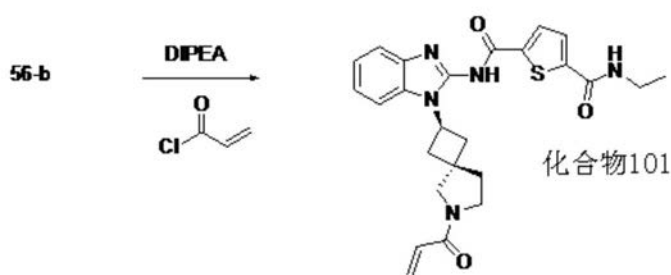
[0656] 步骤2: 中间体55-c

[0657] 向中间体55-b (533mg, 1.0mmol) 的1,4-二噁烷 (5ml) 溶液中添加1N NaOH水溶液 (2.0ml, 2mmol), 将反应在室温下搅拌过夜, 然后用1N的HCl水溶液酸化。形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供黄色固体的中间体55-c。

[0658] 化合物101的合成:



[0659]



## 方案 56

[0660] 步骤1: 中间体56-a

[0661] 向中间体55-c (80mg, 0.2mmol) 的DMF (1ml) 溶液中添加HATU (92mg, 0.2mmol), 并且在搅拌30分钟后添加DIPEA (84 $\mu$ l, 0.5mmol) 和乙胺 (97 $\mu$ l, 0.2mmol)。然后将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体56-a。

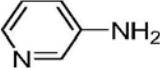
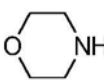
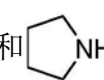
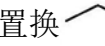
[0662] 步骤2: 中间体56-b

[0663] 向中间体56-a (82mg, 0.2mmol) 的MeOH (1.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (3.0ml, 12.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物, 添加乙醚, 形成沉淀并通

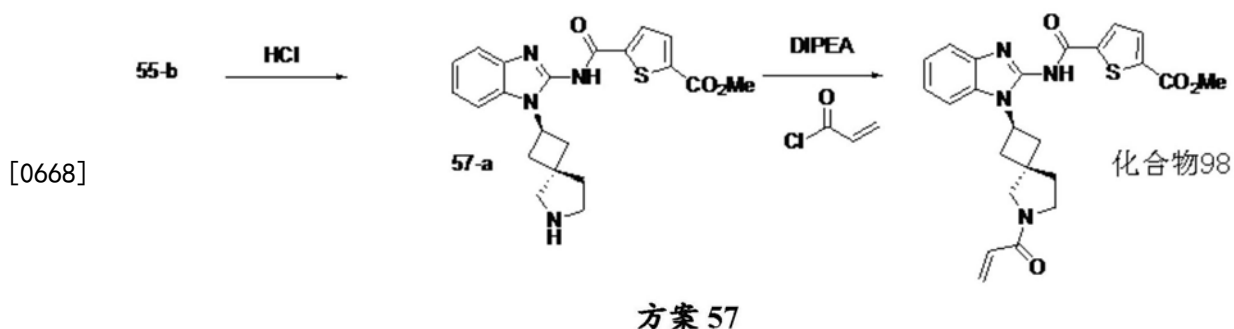
过过滤收集,在真空下干燥以提供米色固体的中间体56-b·HCl。

[0664] 步骤3:化合物101

[0665] 向冷却至0℃的中间体56-b·HCl (70mg, 0.1mmol) 在DMF (3.0ml) 中的溶液中依次添加DIPEA (80μl, 0.5mmol) 和丙烯酰氯 (15μl, 0.2mmol) 并将反应在0℃下搅拌30分钟。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯;分离有机层,用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤,经无水MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供灰白色固体的化合物101。

[0666] 以与化合物101相似的方式,从中间体55-c开始,通过分别用 、 和  置换 , 制备化合物85、91和102。

[0667] 化合物98的合成:



[0669] 步骤1:中间体57-a

[0670] 向中间体55-b (100mg, 0.2mmol) 的MeOH (1.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (3.0ml, 12.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物,添加乙醚,形成沉淀并通过过滤收集,在真空下干燥以提供米色固体的中间体57-a·HCl。

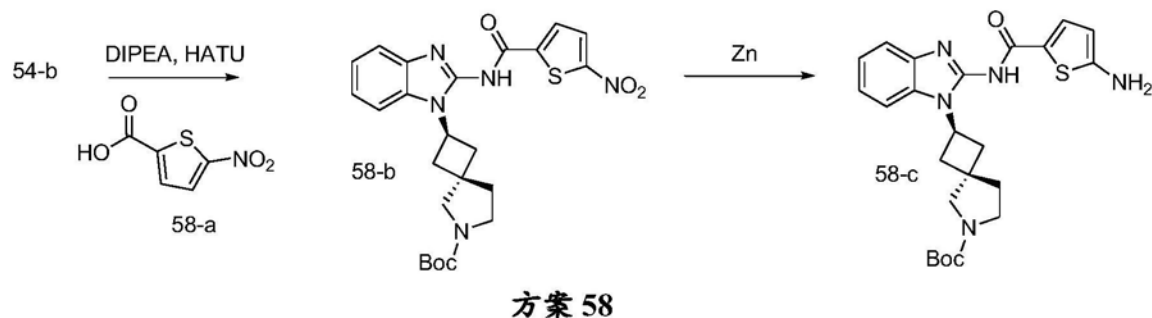
[0671] 步骤2:化合物98

[0672] 向冷却至0℃的中间体57-a·HCl (88mg, 0.2mmol) 在DMF (3.0ml) 中的溶液中依次添加DIPEA (103μl, 0.6mmol) 和丙烯酰氯 (19μl, 0.2mmol) 并将反应在0℃下搅拌30分钟。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯;分离有机层,用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤,经无水MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供米色固体的化合物98。

[0673] 从中间体55-c开始,以与化合物98类似的方式,制备化合物100。

[0674] 中间体58-c的合成:

[0675]



[0676] 步骤1:中间体58-b

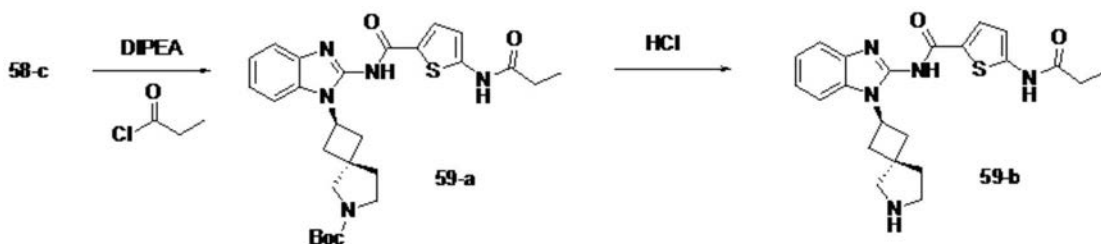
[0677] 向中间体58-a (445mg, 2.6mmol) 的DMF (5.0ml) 溶液中添加HATU (1.3g, 3.5mmol),

并且在搅拌30分钟后添加中间体54-b (800mg, 2.4mmol) 和DIPEA (1.2ml, 7.0mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体58-b。

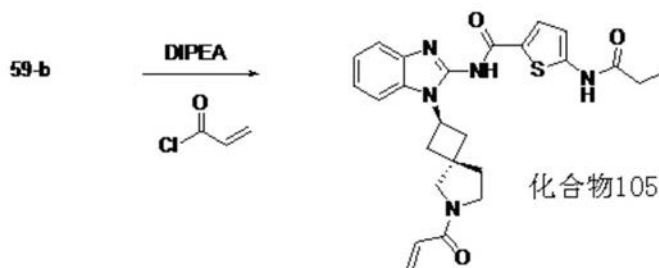
[0678] 步骤2: 中间体58-c

[0679] 向中间体58-b (1.1g, 2.3mmol) 的甲醇 (10.0ml) 和水 (1ml) 溶液中依次添加氯化铵 (1.2g) 和锌粉 (453mg, 6.9mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。在减压下除去挥发物。向残余物中添加饱和碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体58-c。

[0680] 化合物105的合成:



[0681]



方案 59

[0682] 步骤1: 中间体59-a

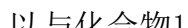
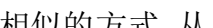
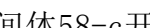
[0683] 向冷却至0℃的中间体58-c (150mg, 0.3mmol) 的二氯甲烷 (4.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (103μl, 0.6mmol) 和丙酰氯 (34μl, 0.4mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯; 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体59-a。

[0684] 步骤2: 中间体59-b

[0685] 向中间体59-a (149mg, 0.3mmol) 的MeOH (1.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (2.0ml, 8.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物, 添加乙醚, 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体59-b · HCl。

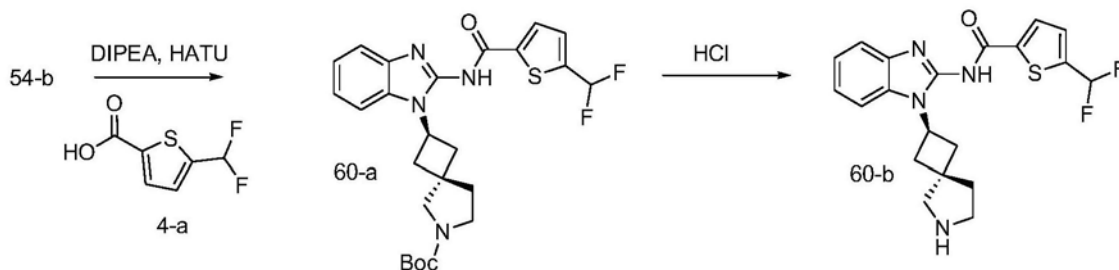
[0686] 步骤3: 化合物105

[0687] 向冷却至-78℃的中间体59-b · HCl (121mg, 0.3mmol) 的DMF (3.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (138μl, 0.8mmol) 和丙烯酰氯 (26μl, 0.3mmol)。将反应在0℃下搅拌30分钟。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯; 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物105。

[0688] 以与化合物105相似的方式,从中间体58-c开始,通过分别用  在HATU存在下的  和  置换  制备化合物106、111和112。

[0689] 中间体60-b的合成:

[0690]



### 方案 60

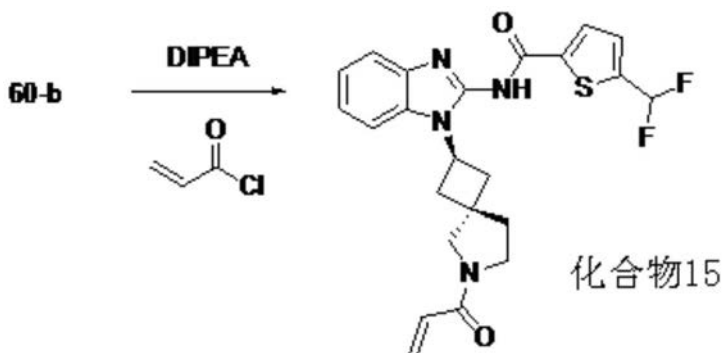
[0691] 步骤1: 中间体60-a

[0692] 向中间体4-a (109mg, 0.6mmol) 的DMF (3.0ml) 溶液中添加HATU (274mg, 0.7mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体54-b的溶液 (190mg, 0.5mmol) 和DIPEA (291μl, 1.6mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。然后添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体60-a。

[0693] 步骤2: 中间体60-b

[0694] 向中间体60-a (170mg, 0.3mmol) 的MeOH (1.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (5.0ml, 20.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物, 添加乙醚, 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体60-b · HCl。

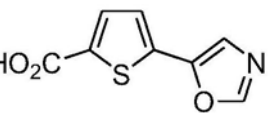
[0695] 化合物15的合成:

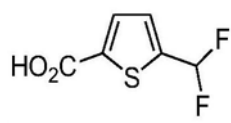


### 方案 61

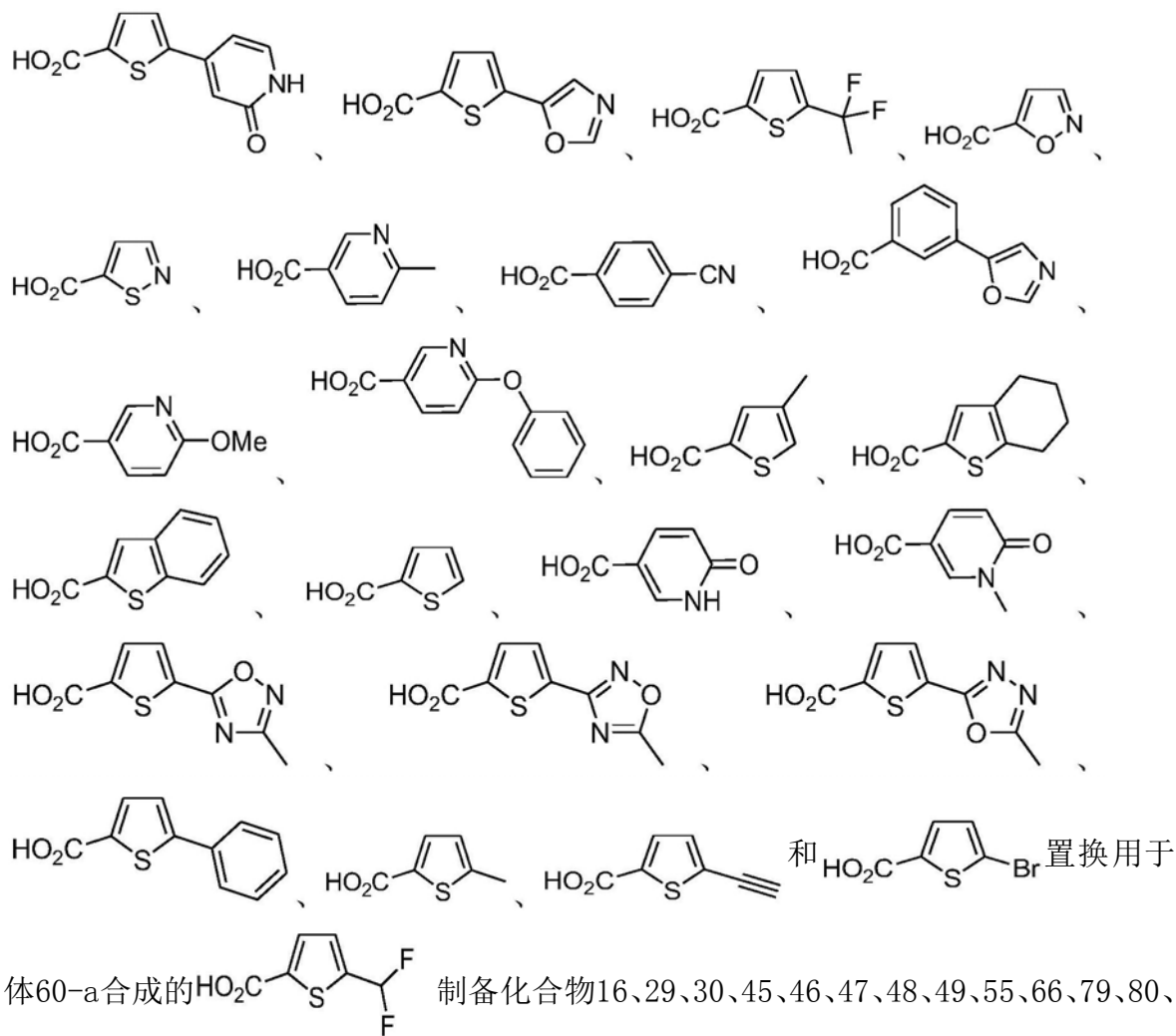
[0697] 向冷却至0℃的中间体60-b·HCl (136mg, 0.3mmol) 的DMF (2.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (294μl, 1.7mmol) 和丙烯酰氯 (33μl, 0.4mmol), 并且将反应在0℃下搅拌30分钟。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯; 分离有机层, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物15。

[0698] 以与化合物15相似的方式,从中间体53-b开始,制备化合物15。

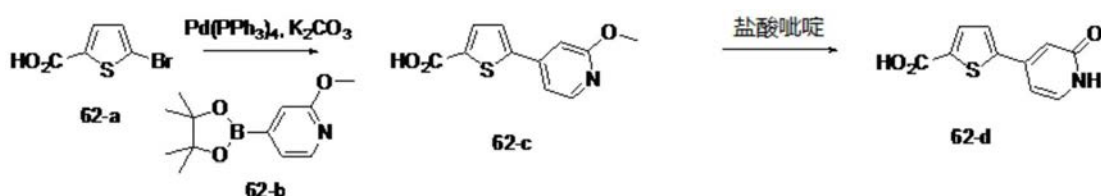
[0699] 以与化合物17相似的方式,从中间体53-b开始,通过用  置换

 , 制备化合物18。

[0700] 以与化合物15相似的方式,从中间体54-b开始,通过分别用



[0701]



## 方案 62

[0702] 步骤1: 中间体62-c

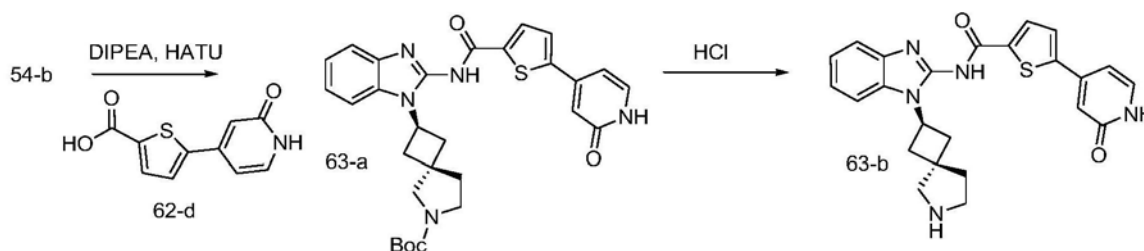
[0703] 向中间体62-a (1.0g, 4.8mmol)、中间体62-b (1.2g, 5.1mmol) 和碳酸钾 (6.7g, 48.3mmol) 的1,4-二噁烷 (40.2ml) 和水 (8.0ml) 的脱气溶液中添加Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (279mg, 0.2mmol) 并将反应在80℃下加热过夜, 然后冷却至室温。添加二氯甲烷, 分离有机层, 用6N HCl将水相酸化至PH 3-4。形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体62-c。

[0704] 步骤2: 中间体62-d

[0705] 向中间体62-c (790mg, 3.4mmol) 的DMSO (2.0ml) 溶液中添加盐酸吡啶 (1.9g, 16.8mmol) 并将反应在160℃下搅拌15分钟, 然后冷却至室温。添加水; 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体62-d。

[0706] 中间体63-b的合成:

[0707]



方案 63

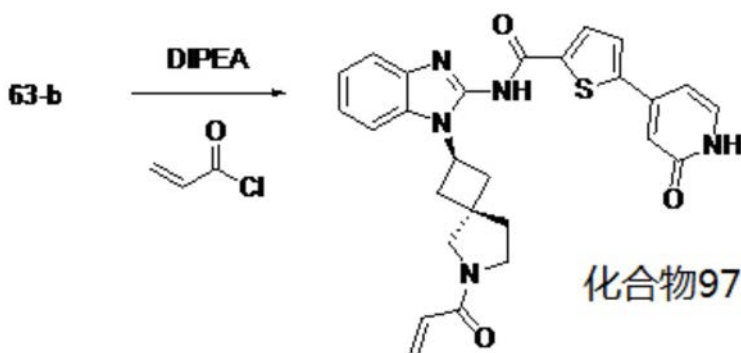
[0708] 步骤1: 中间体63-a

[0709] 向中间体62-d (194mg, 0.9mmol) 的DMF (1.0ml) 溶液中添加HATU (333mg, 0.9mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体54-b (200mg, 0.6mmol) 和DIPEA (408μl, 2.3mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。添加水, 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体63-a。

[0710] 步骤2: 中间体63-b

[0711] 向中间体63-a (319mg, 0.6mmol) 的MeOH (2.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (3.5ml, 14.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物, 添加乙醚, 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体63-b • HCl。

[0712] 化合物97的合成:

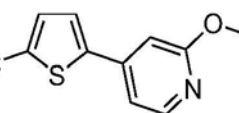


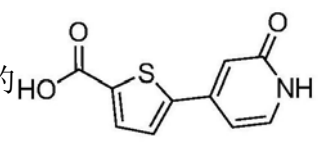
[0713]

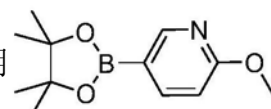
方案 64

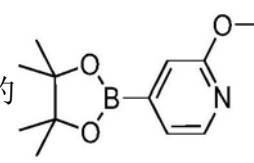
[0714] 向冷却至0℃的中间体63-b • HCl (281mg, 0.6mmol) 的DMF (2.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (306μl, 1.7mmol) 和丙烯酰氯 (57μl, 0.7mmol) 并将反应在0℃下搅拌2小时。添加水;

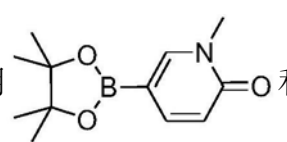
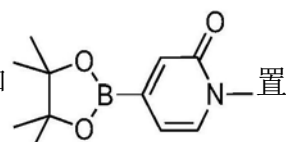
形成沉淀并通过过滤收集。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物97。

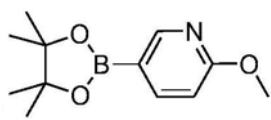
[0715] 以与化合物97相似的方式,通过用  置换用于合成中间体

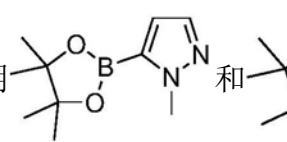
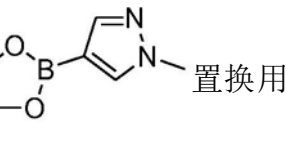
63-a的  制备化合物96。

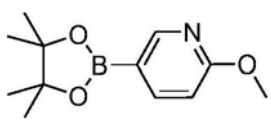
[0716] 以与化合物96和97相似的方式,通过用  置换用于合成中间体

62-c和62-d的  制备化合物95和99。

[0717] 以与化合物95相似的方式,通过分别用  和  置

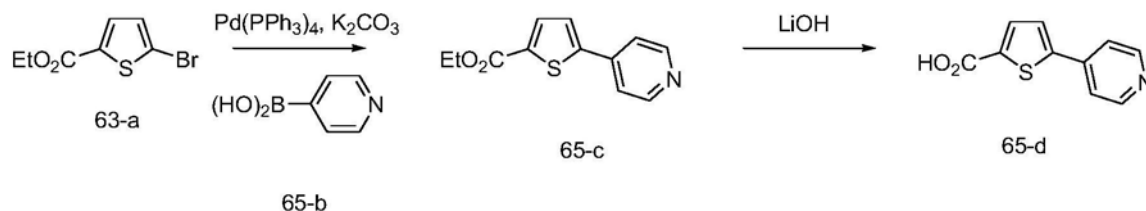
换用于合成中间体62-c的  制备化合物108和109。

[0718] 以与化合物95相似的方式,通过分别用  和  置换用

于合成中间体62-c的  制备化合物75和113。

[0719] 中间体65-d的合成:

[0720]



### 方案 65

[0721] 步骤1: 中间体65-c

[0722] 向中间体63-a (1.0g, 4.2mmol)、中间体65-b (575mg, 4.7mmol) 和碳酸钾 (1.2g, 8.5mmol) 的1,4-二噁烷 (35.4ml) 和水 (7.1ml) 的脱气溶液中添加Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (246mg, 0.2mmol), 将反应在80℃下加热过夜, 然后冷却至室温。添加水和乙酸乙酯, 分离有机层, 水相用乙酸乙酯萃取, 合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓

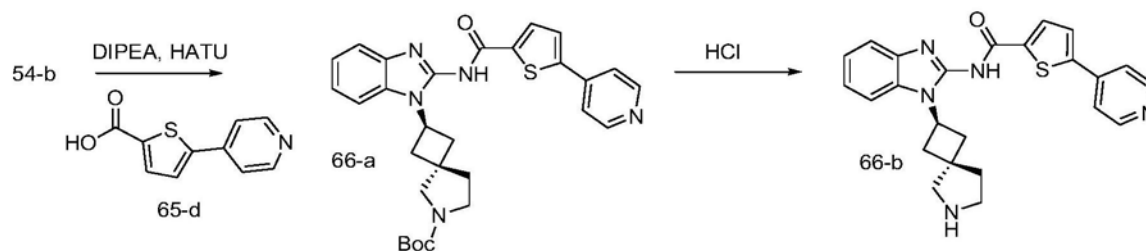
缩以提供米色固体的中间体65-c。

[0723] 步骤2: 中间体65-d

[0724] 向中间体65-c (991mg, 4.2mmol) 的THF (10.6ml) 和水 (10.6ml) 溶液中添加LiOH (509mg, 21.2mmol), 并且将反应在室温下搅拌过夜。添加水和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用6N HCl酸化至PH 3-4。形成沉淀并通过过滤收集, 用水和乙醚洗涤, 在真空下干燥以提供白色固体的中间体65-d。

[0725] 中间体66-b的合成:

[0726]



方案 66

[0727] 步骤1: 中间体66-a

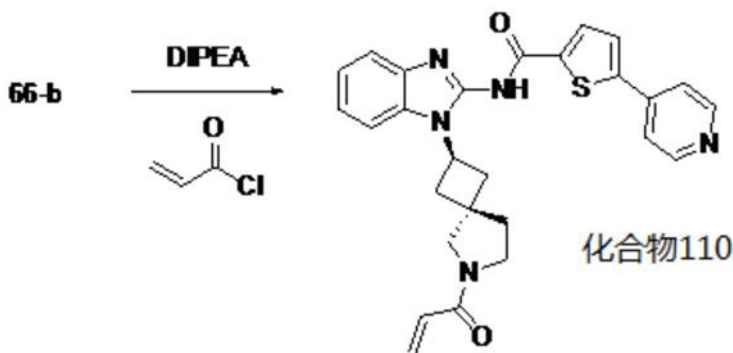
[0728] 向中间体65-d (180mg, 0.9mmol) 的DMF (1.0ml) 溶液中添加HATU (333mg, 0.9mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体54-b (200mg, 0.6mmol) 和DIPEA (408μl, 2.3mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。添加水, 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体66-a。

[0729] 步骤2: 中间体66-b

[0730] 向中间体66-a (309mg, 0.6mmol) 的MeOH (2.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (3.5ml, 14.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物, 添加乙醚, 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体66-b • 2HCl。

[0731] 化合物110的合成:

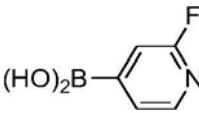
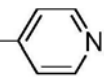
[0732]

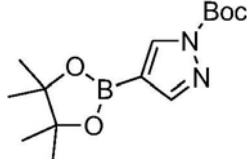
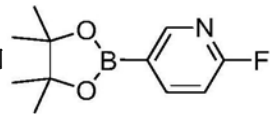


方案 67

[0733] 向冷却至0℃的中间体66-b • 2HCl (272mg, 0.6mmol) 的DMF (4.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (306μl, 1.7mmol) 和丙烯酰氯 (57μl, 0.7mmol) 并将反应在0℃下搅拌2小时。添加水; 形成沉淀并通过过滤收集。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物110。

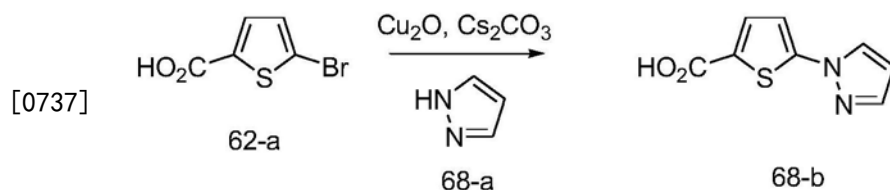
[0734] 以与化合物110相似的方式, 通过分别用  $(\text{HO})_2\text{B}-\text{C}_5\text{H}_4\text{N}$ 、 $(\text{HO})_2\text{B}-\text{C}_5\text{H}_3\text{N}_2$  和

(HO)<sub>2</sub>B- 置换用于合成中间体66-a的 (HO)<sub>2</sub>B-, 制备化合物74、90和125。

[0735] 以与化合物110相似的方式,通过分别用  和 

置换用于合成中间体66-a的 (HO)<sub>2</sub>B-, 制备化合物124和126。

[0736] 中间体68-b的合成:

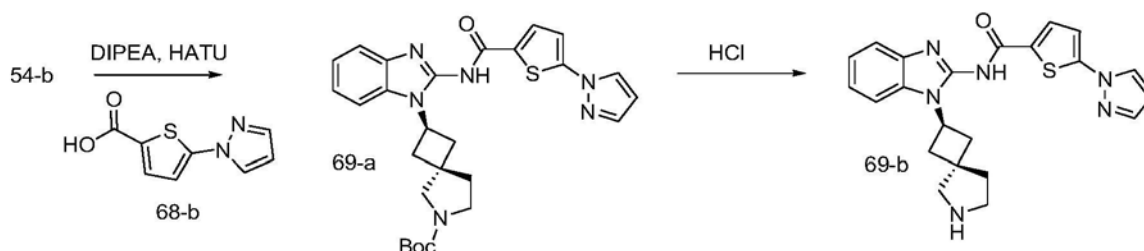


[0738] 方案 68

[0739] 向中间体62-a (500mg, 2.4mmol)、Cu<sub>2</sub>O (23mg, 0.2mmol)、碳酸铯 (1.6g, 4.8mmol) 的DMF脱气溶液中添加中间体68-a (110mg, 1.6mmol), 并且将反应在110℃下加热过夜, 然后冷却至室温。添加饱和氯化铵水溶液; 形成沉淀并通过过滤收集以提供米色固体的中间体68-b。

[0740] 中间体69-b的合成:

[0741]



### 方案 69

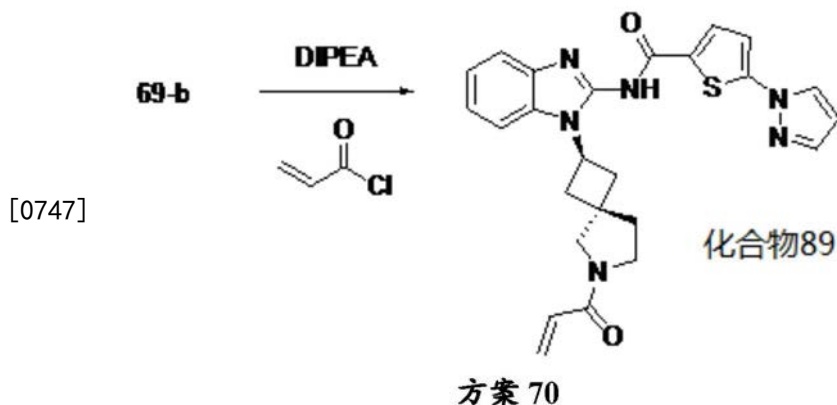
[0742] 步骤1: 中间体69-a

[0743] 向中间体68-b (138mg, 0.7mmol) 的DMF (2.0ml) 溶液中添加HATU (269mg, 0.7mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体54-b (200mg, 0.5mmol) 和DIPEA (248μl, 1.4mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。添加水, 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体69-a。

[0744] 步骤2: 中间体69-b

[0745] 向中间体69-a (90mg, 0.2mmol) 的MeOH (1.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (3.0ml, 12.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物, 添加乙醚, 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体69-b • 2HCl。

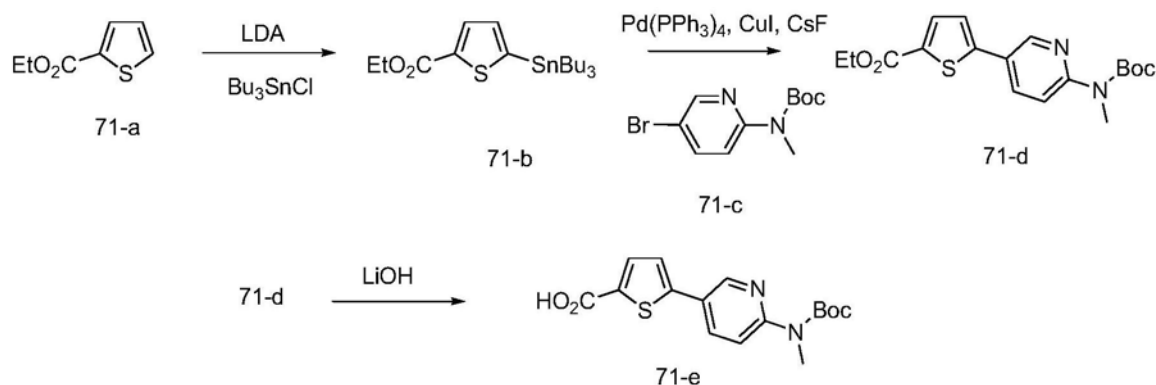
[0746] 化合物89的合成:



[0748] 向冷却至0℃的中间体69-b·2HCl (90mg, 0.2mmol) 的DMF (5.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (113μl, 0.6mmol) 和丙烯酰氯 (21μl, 0.2mmol) 并将反应在0℃下搅拌2小时。添加水和乙酸乙酯, 分离有机层, 水相用乙酸乙酯萃取, 合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物89。

[0749] 中间体71-d的合成:

[0750]



[0751] 步骤1: 中间体71-b

[0752] 向冷却至-78℃的噻吩-2-羧酸乙酯71-a (2.0g, 12.8mmol) 的THF (13.0ml) 溶液中添加LDA (7.0ml, 14.1mmol), 并且在搅拌1小时后逐滴添加Bu<sub>3</sub>SnCl (4.4g, 13.5mmol) 的THF溶液。将反应在-70℃下搅拌1小时并在室温下搅拌过夜。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供无色油状物的中间体71-b。

[0753] 步骤2: 中间体71-d

[0754] 向中间体71-b (500mg, 1.1mmol) 的DMF (4.0ml) 溶液中依次添加中间体71-c (269mg, 0.9mmol)、碘化铜(I) (36mg, 0.2mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (108mg, 0.1mmol) 和CsF (284mg, 1.9mmol), 将反应在120℃搅拌过夜, 然后冷却至室温。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供白色固体的中间体71-d。

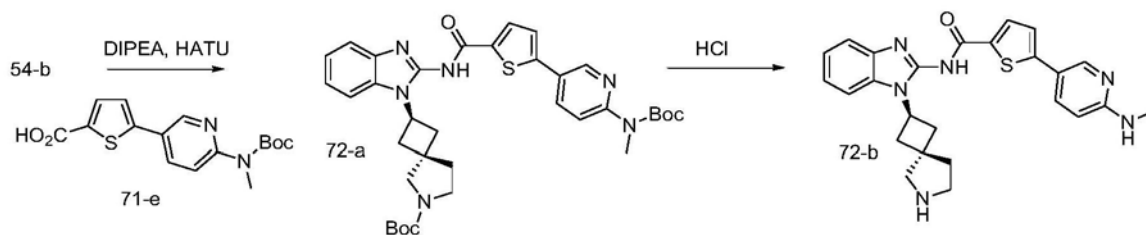
[0755] 步骤3: 中间体71-e

[0756] 向中间体71-d (200mg, 0.8mmol) 的THF: 水1:1 (8.0ml) 溶液中添加LiOH (91mg, 3.8mmol), 将反应在60℃搅拌过夜, 然后冷却至室温。添加乙醚; 分离水相, 用2N·HCl酸化

至PH~3。沉淀形成并通过过滤收集,在真空下干燥以提供黄色固体的中间体71-e。

[0757] 中间体72-b的合成:

[0758]



方案 72

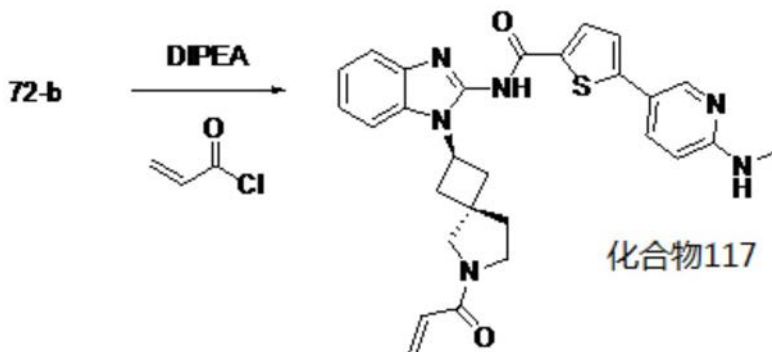
[0759] 步骤1:中间体72-a

[0760] 向冷却至0℃的中间体71-e (166mg, 0.7mmol) 的DMF (2.0ml) 溶液中添加HATU (290mg, 0.8mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体54-b (187mg, 0.5mmol) 和DIPEA (286μl, 1.6mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化以提供米色固体的中间体72-a。

[0761] 步骤2:中间体72-b

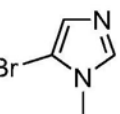
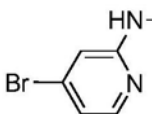
[0762] 向中间体72-a (135mg, 0.2mmol) 的MeOH (1.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (4.0ml, 16.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物, 添加乙醚, 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体72-b • 2HCl。

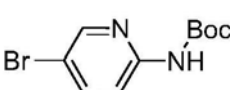
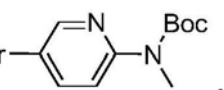
[0763] 化合物117的合成:



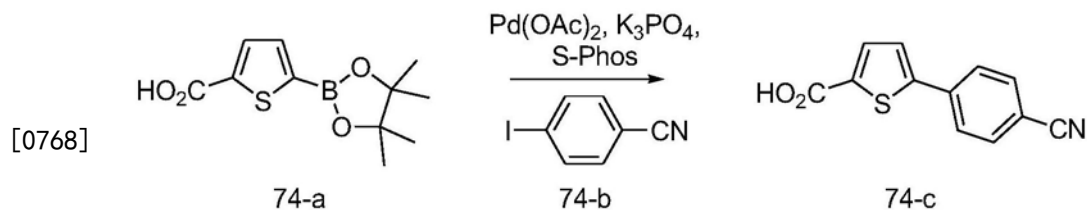
方案 73

[0765] 向冷却至-78℃的中间体72-b • 2HCl (120mg, 0.2mmol) 的DMF (5.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (127μl, 0.7mmol) 和丙烯酰氯 (24μl, 0.3mmol), 并将反应在-78℃下搅拌15分钟。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 水相用乙酸乙酯萃取, 合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物117。

[0766] 以与化合物117相似的方式, 通过分别用 Br- 和 Br- 和

Br- 置换用于合成中间体71-e的 Br- , 制备化合物123、128和31。

[0767] 中间体74-c的合成:

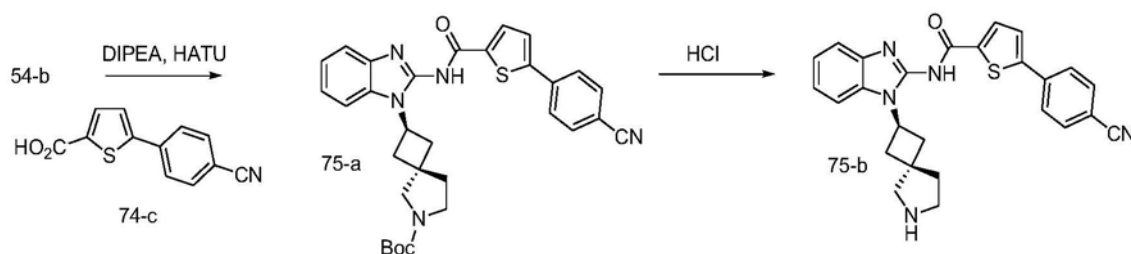


#### 方案 74

[0769] 向中间体74-a (500mg, 1.9mmol)、中间体74-b (239mg, 1.3mmol) 和磷酸钾 (557mg, 2.6mmol) 的1,4-二噁烷:水的5:1混合物 (5.0ml) 的脱气溶液中添加Pd(OAc)<sub>2</sub> (15mg, 0.06mmol)、S-Phos (54mg, 0.1mmol), 并将反应在100℃下加热过夜, 然后冷却至室温。添加水和乙酸乙酯, 分离有机层。将水相酸化至pH~1, 用乙酸乙酯萃取两次, 将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体74-c。

[0770] 中间体75-b的合成:

[0771]



#### 方案 75

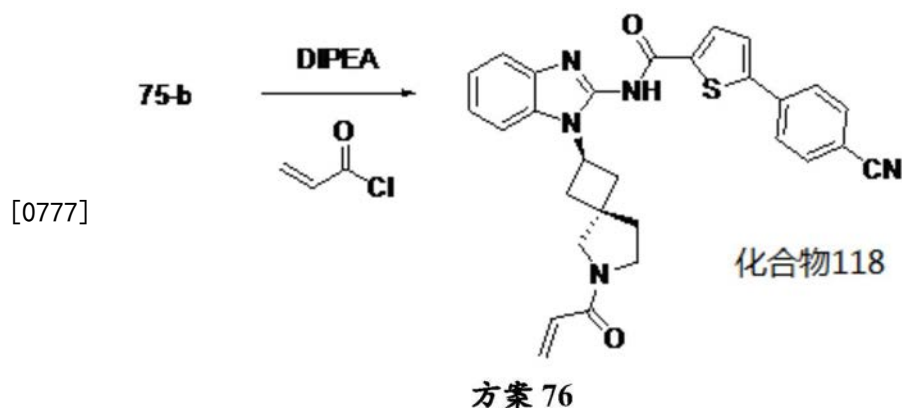
[0772] 步骤1: 中间体75-a

[0773] 向中间体74-c (130mg, 0.6mmol) 的DMF (2.0ml) 溶液中添加HATU (232mg, 0.6mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体54-b (149mg, 0.4mmol) 和DIPEA (229μl, 1.3mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体75-a。

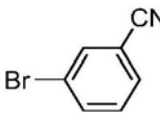
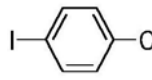
[0774] 步骤2: 中间体75-b

[0775] 向中间体75-a (135mg, 0.2mmol) 的MeOH (1.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (4.0ml, 16.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物, 添加乙醚, 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体75-b·HCl。

[0776] 化合物118合成:

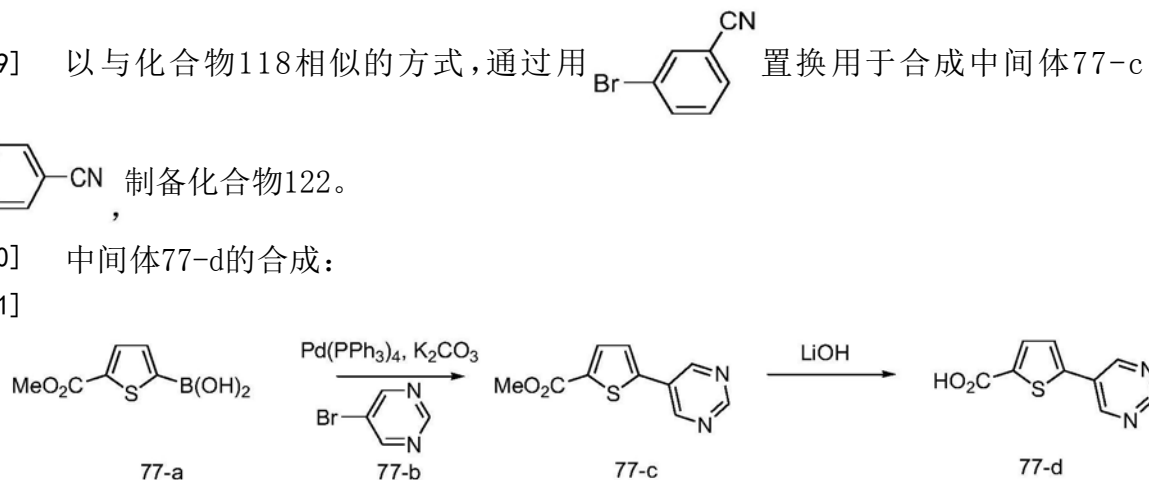


[0778] 向冷却至0℃的中间体75-b·HCl (119mg, 0.2mmol) 的DMF (5.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (137μl, 0.8mmol) 和丙烯酰氯 (26μl, 0.3mmol), 并将反应在0℃下搅拌15分钟。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 水相用乙酸乙酯萃取, 合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物118。

[0779] 以与化合物118相似的方式, 通过用  置换用于合成中间体77-c的 , 制备化合物122。

[0780] 中间体77-d的合成:

[0781]



#### 方案 77

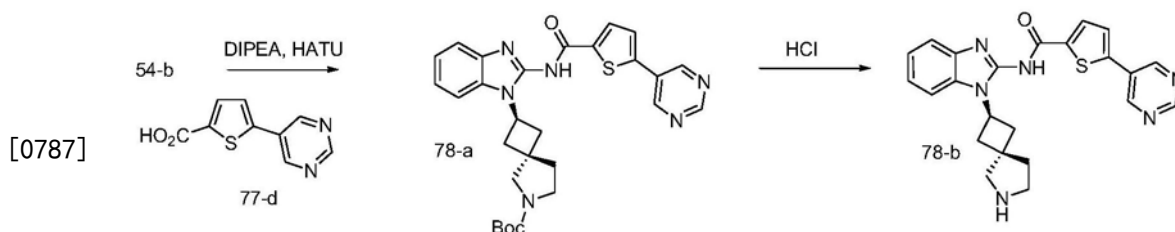
[0782] 步骤1: 中间体77-c

[0783] 向中间体77-a (200mg, 1.1mmol)、中间体77-b (155mg, 1.0mmol) 和碳酸钾 (270mg, 1.9mmol) 的1,4-二噁烷 (8.1ml) 和水 (1.6ml) 的脱气溶液中添加Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (56mg, 0.05mmol), 将反应在80℃加热3小时, 然后冷却至室温。添加水和乙酸乙酯, 分离有机层, 水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体77-c。

[0784] 步骤2: 中间体77-d

[0785] 向中间体77-c (215mg, 1.0mmol) 的THF:水1:1 (5.0ml) 溶液中添加LiOH (117mg, 4.9mmol), 并将反应在室温下搅拌3小时。添加水和乙酸乙酯。分离水相, 用6N HCl酸化至PH~1, 并且用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机萃取物经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供白色固体的中间体77-d。

[0786] 中间体78-b的合成:



#### 方案 78

[0788] 步骤1: 中间体78-a

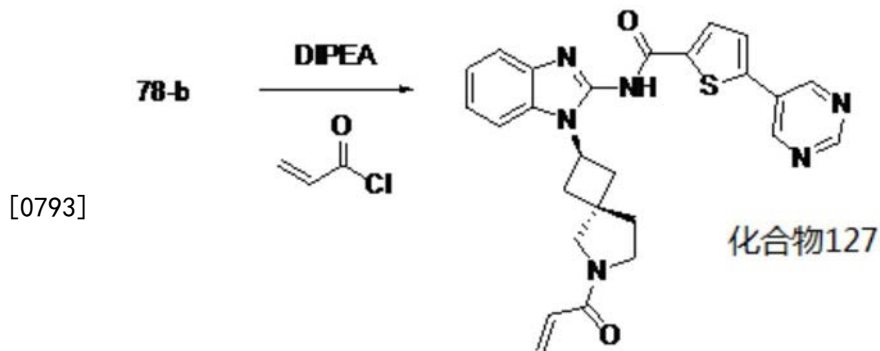
[0789] 向中间体77-d (180mg, 0.9mmol) 的DMF (2.0ml) 溶液中添加HATU (453mg, 1.2mmol) 并在搅拌30分钟后, 添加中间体54-b (272mg, 0.8mmol) 和DIPEA (416μl, 2.4mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。添加水, 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提

供米色固体的中间体78-a。

[0790] 步骤2: 中间体78-b

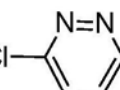
[0791] 向中间体78-a (420mg, 0.8mmol) 的MeOH (2.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (4.75ml, 19.0mmol) 溶液。将反应搅拌1小时。在减压下除去挥发物, 添加乙醚, 形成沉淀并过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体78-b • 2HCl。

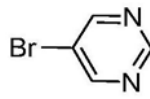
[0792] 化合物127的合成:



#### 方案 79

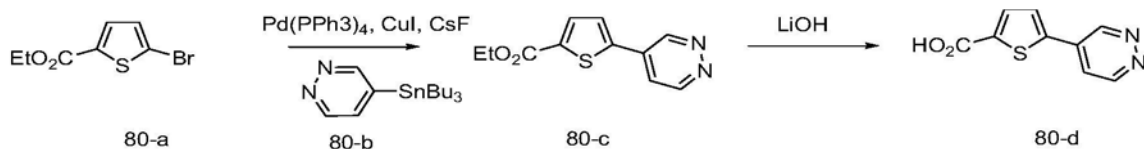
[0794] 向冷却至0℃的中间体78-b • 2HCl (370mg, 0.8mmol) 的DMF (5.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (415μl, 2.4mmol) 和丙烯酰氯 (71μl, 0.9mmol) 并将反应在0℃下搅拌1小时。添加水; 形成沉淀并过滤收集。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物127。

[0795] 以与化合物127相似的方式, 通过用  置换用于合成中间体77-d的

, 制备化合物76。

[0796] 中间体80-d的合成:

[0797]



#### 方案 80

[0798] 步骤1: 中间体80-c

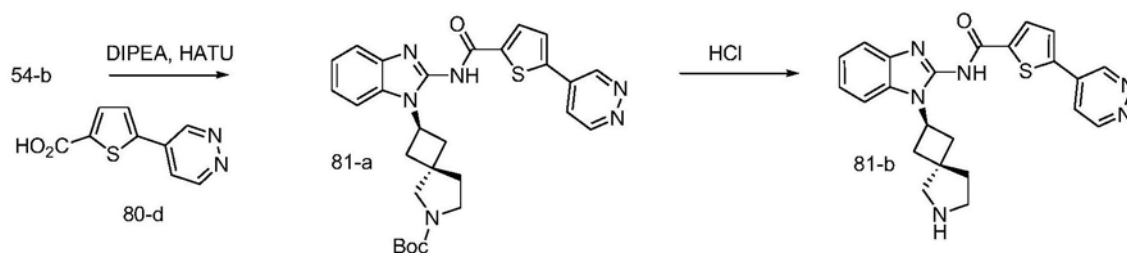
[0799] 向中间体80-a (232mg, 1.0mmol) 的DMF (4.0ml) 溶液中依次添加中间体80-d (400mg, 1.1mmol)、碘化亚铜(I) (38mg, 0.2mmol)、Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (114mg, 0.1mmol) 和CsF (284mg, 1.9mmol), 将反应混合物在80℃下搅拌2小时, 然后冷却至室温。添加饱和氯化铵水溶液和二氯甲烷, 分离有机层, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。将乙醚添加到残余物中; 形成沉淀并过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体80-c。

[0800] 步骤2: 中间体80-d

[0801] 向中间体80-c (230mg, 1.0mmol) 的THF: 水1:1 (10.0ml) 溶液中添加LiOH (71mg, 3.8mmol), 并将反应在室温下搅拌过夜。通过减压除去挥发物。沉淀形成并过滤收集, 在真空下干燥以提供白色固体的中间体80-d。

[0802] 中间体81-b的合成:

[0803]



### 方案 81

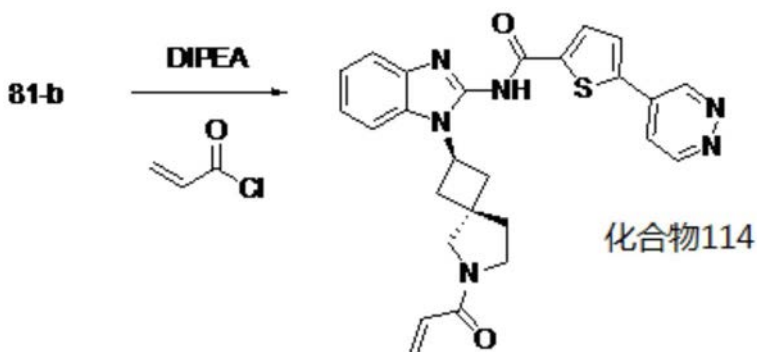
[0804] 步骤1: 中间体81-a

[0805] 向中间体80-d (106mg, 0.4mmol) 的DMF (2.0ml) 溶液中添加HATU (250mg, 0.6mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体54-b (150mg, 0.4mmol) 和DIPEA (230 $\mu$ l, 1.3mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供米色固体的中间体81-a。

[0806] 步骤2: 中间体81-b

[0807] 向中间体81-a (200mg, 0.4mmol) 的MeOH (1.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (3.0ml, 12.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物, 添加乙醚, 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体81-b  $\cdot$  2HCl。

[0808] 化合物114的合成:



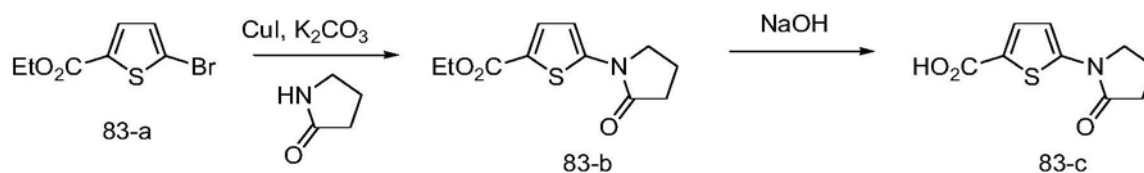
[0809]

### 方案 82

[0810] 向冷却至0 $^{\circ}$ C的中间体81-b  $\cdot$  2HCl (200mg, 0.4mmol) 的DMF (5.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (69 $\mu$ l, 0.4mmol) 和丙烯酰氯 (33 $\mu$ l, 0.4mmol), 并将反应在0 $^{\circ}$ C下搅拌15分钟。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 水相用乙酸乙酯萃取, 合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供黄色固体的化合物114。

[0811] 中间体83-c的合成:

[0812]



### 方案 83

[0813] 步骤1: 中间体83-b

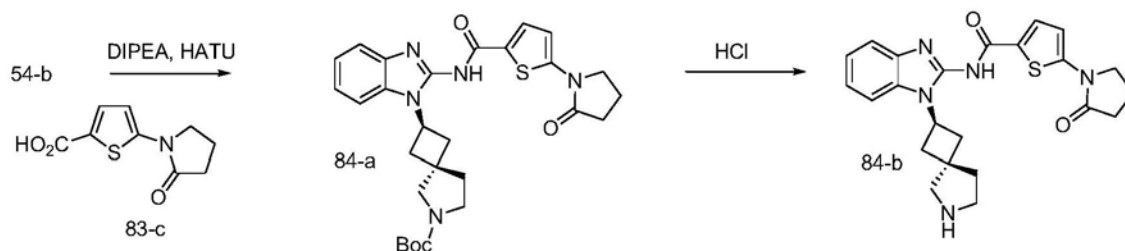
[0814] 向中间体83-a (500mg, 2.1mmol) 的1,4-二噁烷 (10.0ml) 溶液中依次添加吡咯烷-2-酮 (217mg, 2.6mmol)、碘化亚铜 (I) (81mg, 0.4mmol)、N1,N2-二甲基乙烷-1,2-二胺 (94mg, 1.1mmol) 和碳酸钾 (882mg, 6.4mmol) 并将反应在120℃搅拌过夜, 然后冷却至室温。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供白色固体的中间体83-b。

[0815] 步骤2: 中间体83-c

[0816] 向中间体83-b (440mg, 1.8mmol) 的1,4-二噁烷 (5.0ml) 和MeOH (1.0ml) 溶液中添加1.0N NaOH水溶液 (3.7ml, 3.7mmol) 并将反应在室温下搅拌过夜。添加10%柠檬酸水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体83-c。

[0817] 中间体84-b的合成:

[0818]



方案 84

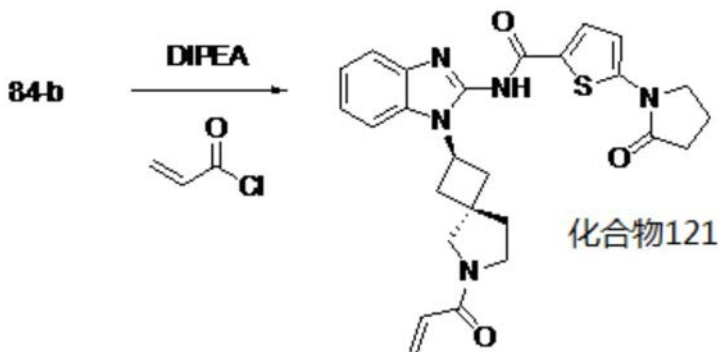
[0819] 步骤1: 中间体84-a

[0820] 向中间体83-c (100mg, 0.5mmol) 的DMF (2.0ml) 溶液中添加HATU (195mg, 0.5mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体54-b (135mg, 0.4mmol) 和DIPEA (207μl, 1.2mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供白色固体的中间体84-a。

[0821] 步骤2: 中间体84-b

[0822] 向中间体84-a (110mg, 0.2mmol) 的MeOH (1.0ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (3.0ml, 12.0mmol) 溶液。将反应搅拌2小时。在减压下除去挥发物, 添加乙醚, 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供黄色固体的中间体84-b · HCl。

[0823] 化合物121的合成:

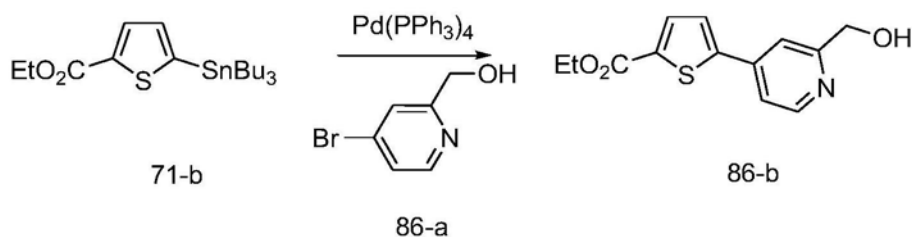


[0824]

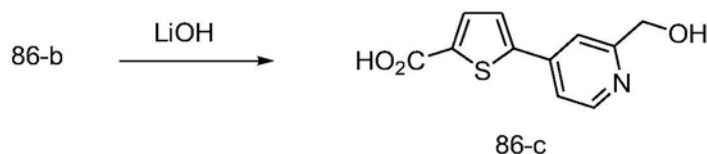
方案 85

[0825] 向冷却至0℃的中间体84-b·HCl (66mg, 0.1mmol) 的DMF (3.0ml) 溶液中依次添加DIPEA (98μl, 0.6mmol) 和丙烯酰氯 (14μl, 0.1mmol) 并将反应在0℃下搅拌15分钟。在减压下除去挥发物。通过反相色谱法纯化提供黄色固体的化合物121。

[0826] 中间体86-c的合成:



[0827]



### 方案 86

[0828] 步骤1: 中间体86-b

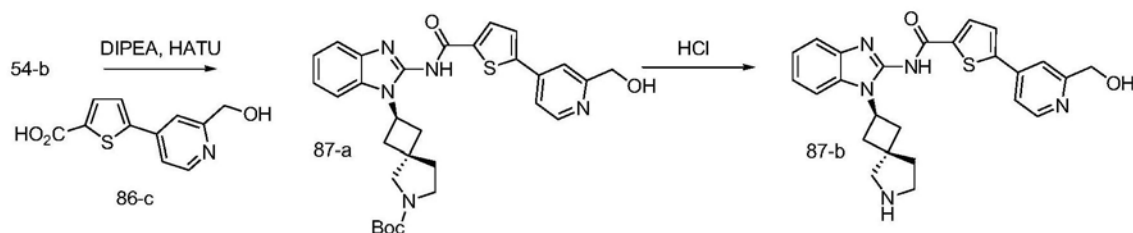
[0829] 向中间体71-b (600mg, 1.4mmol) 的DMF (5.0ml) 溶液中依次添加中间体86-a (241mg, 1.3mmol) 和Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (108mg, 0.1mmol) (148mg, 0.1mmol) 并将反应在120℃搅拌过夜, 然后冷却至室温。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供米色固体的中间体86-b。

[0830] 步骤2: 中间体86-c

[0831] 向中间体86-b (280mg, 1.1mmol) 的THF: 水1:1 (6.2ml) 溶液中添加LiOH (102mg, 4.2mmol) 并将反应在室温下搅拌1小时。添加乙酸乙酯; 分离水相, 用2N HCl酸化至PH~3。形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体86-c。

[0832] 中间体87-b的合成:

[0833]



### 方案 87

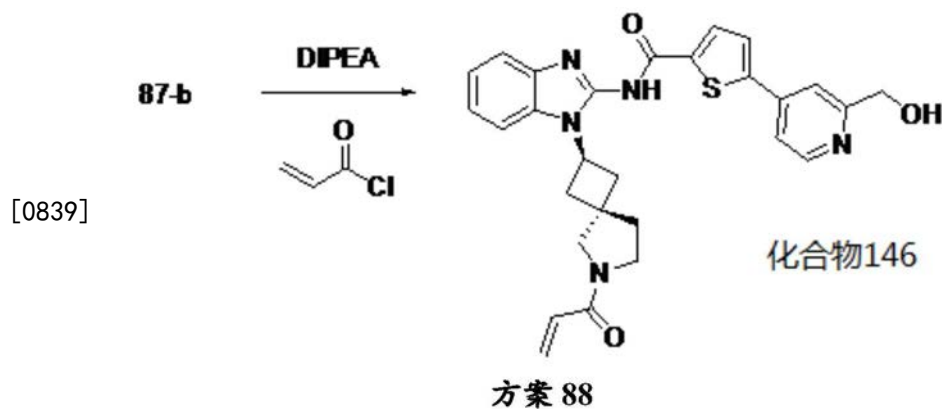
[0834] 步骤1: 中间体87-a

[0835] 向冷却至0℃的中间体86-c (103mg, 0.4mmol) 的DMF (1.0ml) 溶液中添加HATU (250mg, 0.7mmol), 并且在搅拌30分钟后添加中间体54-b (150mg, 0.4mmol) 和DIPEA (230μl, 1.3mmol) 的DMF溶液。然后将反应在室温下搅拌过夜。添加饱和氯化铵水溶液, 形成沉淀并通过过滤收集, 用水洗涤并在真空下干燥以提供米色固体的中间体87-a。

[0836] 步骤2: 中间体87-b

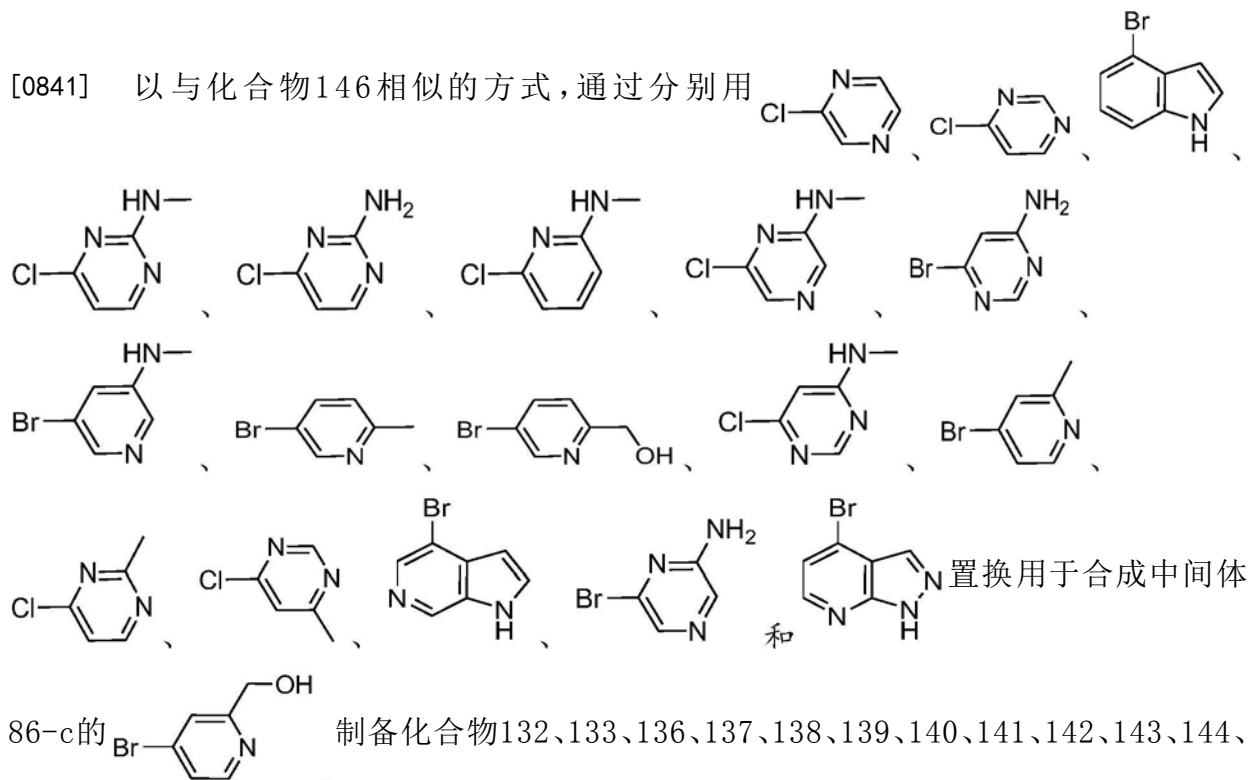
[0837] 向中间体87-a (52mg, 0.1mmol) 的MeOH (0.3ml) 溶液中添加4N氯化氢的1,4-二噁烷 (557 $\mu$ l, 2.2mmol) 溶液。将反应搅拌1小时。在减压下除去挥发物, 添加乙醚, 形成沉淀并通过过滤收集, 在真空下干燥以提供米色固体的中间体87-b  $\cdot$  2HCl。

[0838] 化合物146的合成:



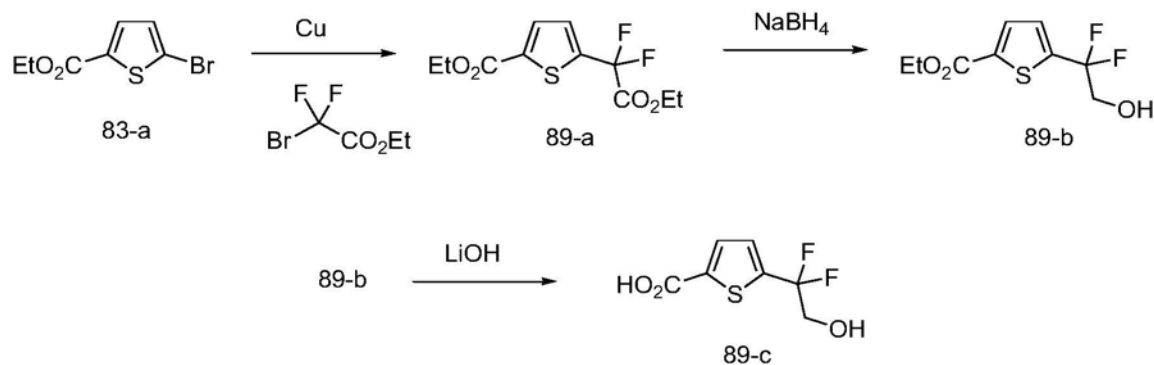
[0840] 向冷却至0℃的中间体87-b  $\cdot$  2HCl (50mg, 0.1mmol) 的DMF (0.6ml) 溶液中依次添加DIPEA (53 $\mu$ l, 0.3mmol) 和丙烯酰氯 (9 $\mu$ l, 0.1mmol) 并将反应在0℃下搅拌30分钟。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化提供白色固体的化合物146。

[0841] 以与化合物146相似的方式, 通过分别用



[0842] 中间体89-c的合成:

[0843]



## 方案 89

[0844] 步骤1: 中间体89-a

[0845] 将铜(1.1g, 17.0mmol)和2-溴-2,2-二氟乙酸乙酯(1.7g, 8.5mmol)的DMSO悬浮液在室温下搅拌1小时, 添加中间体83-a(1.0g, 4.2mmol), 然后将反应在室温下搅拌过夜。添加饱和氯化铵水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 水相用乙酸乙酯萃取, 合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法纯化提供无色油状物的中间体89-a。

[0846] 步骤2: 中间体89-b

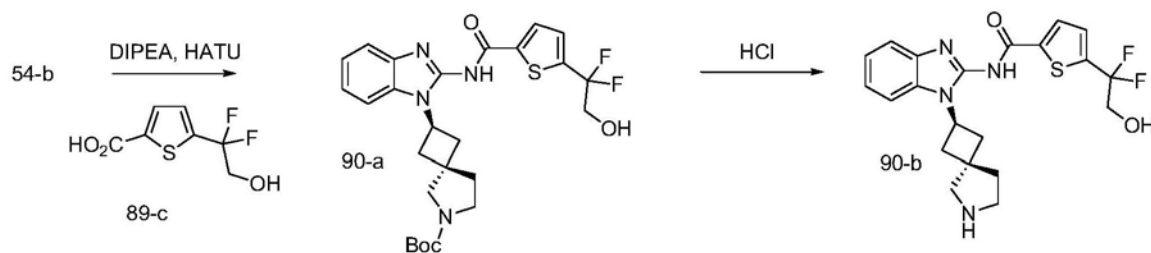
[0847] 向冷却至0℃的中间体89-a(1.0g, 3.6mmol)的MeOH(5.0ml)溶液中添加硼氢化钠(68mg, 1.8mmol), 然后将反应在室温下搅拌2.5小时。添加饱和的NaHCO<sub>3</sub>水溶液和乙酸乙酯, 分离有机层, 水相用乙酸乙酯萃取, 合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物溶于THF(5ml)和水(0.1ml)中, 将溶液冷却至0℃并添加硼氢化钠(18mg, 0.5mmol)。在室温下搅拌2.5小时后, 添加饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和乙酸乙酯, 在减压下除去挥发物, 添加乙酸乙酯, 分离有机层, 并且水相用乙酸乙酯萃取两次, 将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供无色油状物的中间体89-b。

[0848] 步骤3: 中间体89-c

[0849] 向中间体89-b(250mg, 1.1mmol)的1,4-二噁烷(8.0ml)溶液中添加LiOH 1.0M(2.1ml, 2.1mmol)水溶液, 并将反应在室温下搅拌过夜。添加乙醚; 分离水相并用2N HCl酸化至PH~3, 然后用二氯甲烷萃取两次。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经无水MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供白色固体的中间体89-c。

[0850] 中间体90-b的合成:

[0851]



## 方案 90



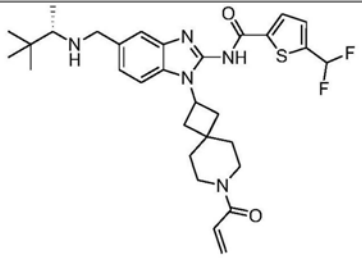
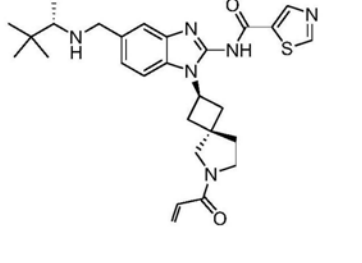
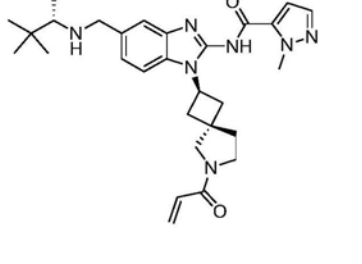
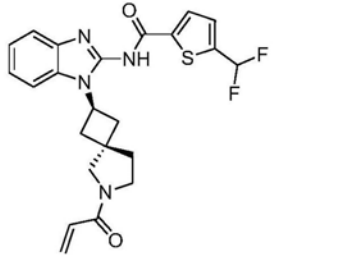
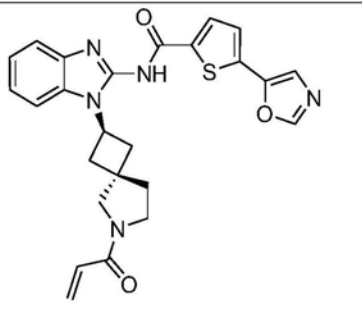
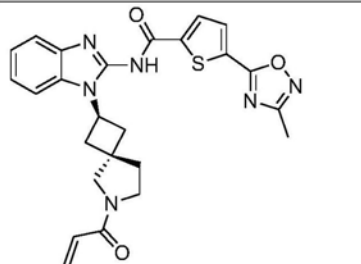
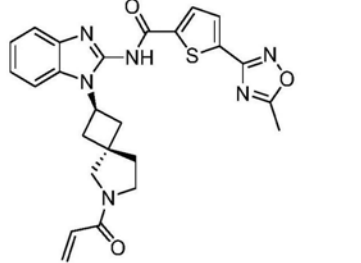
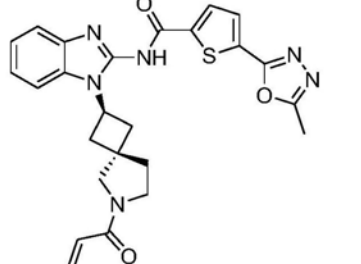
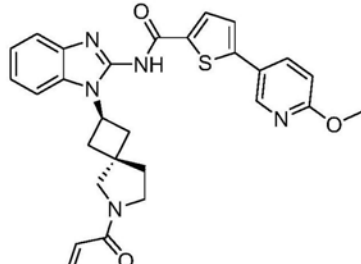
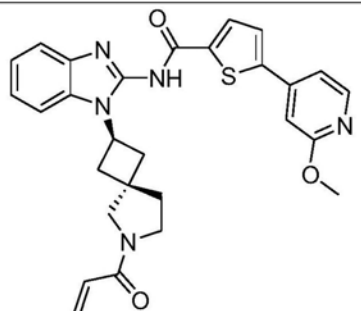
[0861]

| 化合物 | 结构 | MS (m/z)                      | 化合物 | 结构 | MS (m/z)                      |
|-----|----|-------------------------------|-----|----|-------------------------------|
| 1   |    | [M+H] <sup>+</sup> =<br>556.4 | 81  |    | [M+H] <sup>+</sup> =457.<br>0 |
| 2   |    | [M+H] <sup>+</sup> =<br>570.3 | 82  |    | [M+H] <sup>+</sup> =407.<br>0 |
| 3   |    | [M+H] <sup>+</sup> =570.<br>4 | 83  |    | [M+H] <sup>+</sup> =418.<br>2 |
| 4   |    | [M+H] <sup>+</sup> =587.<br>3 | 84  |    | [M+H] <sup>+</sup> =432.<br>2 |
| 5   |    | [M+H] <sup>+</sup> =587.<br>3 | 85  |    | [M+H] <sup>+</sup> =527.<br>2 |

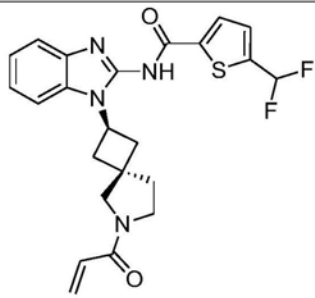
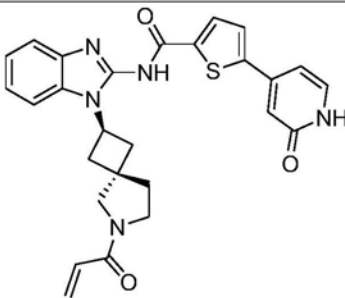
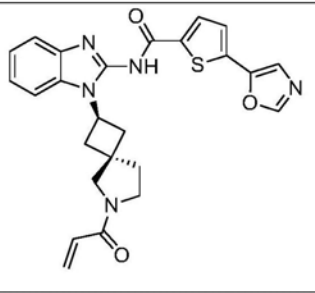
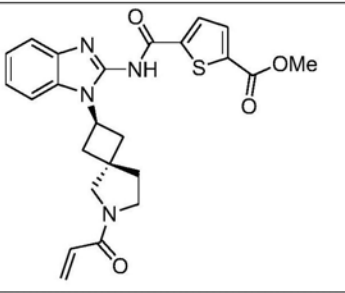
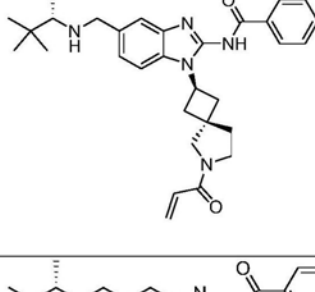
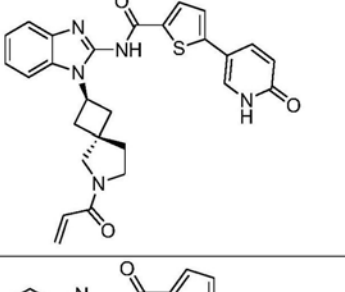
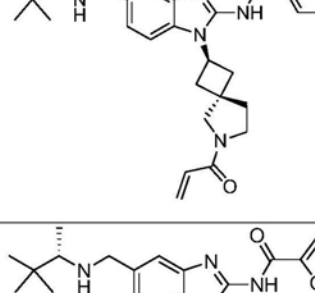
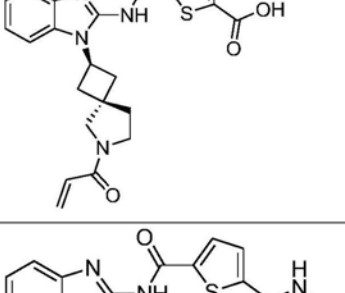
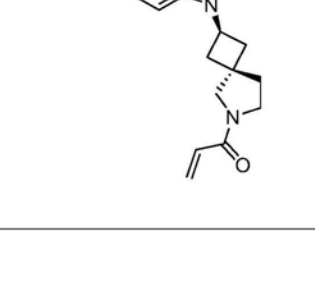
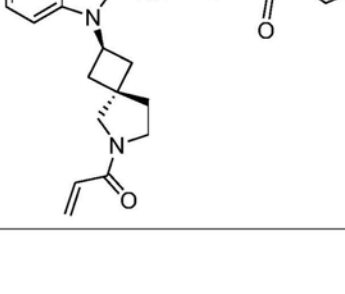
[0862]

|    |  |                                       |    |  |                      |
|----|--|---------------------------------------|----|--|----------------------|
| 6  |  | [M+H]<br>] <sup>+</sup><br>=505.<br>3 | 86 |  | [M+H]<br>+=557.<br>0 |
| 7  |  | [M+H]<br>] <sup>+</sup><br>=563<br>.4 | 87 |  | [M+H]<br>+=504.<br>0 |
| 8  |  | [M+H]<br>] <sup>+</sup><br>=535<br>.4 | 88 |  | [M+H]<br>+=504.<br>0 |
| 9  |  | [M+H]<br>] <sup>+</sup><br>=584<br>.4 | 89 |  | [M+H]<br>+=473.<br>0 |
| 10 |  | [M+H]<br>] <sup>+</sup><br>=584<br>.4 | 90 |  | [M+H]<br>+=484.<br>5 |
| 11 |  | [M+H]<br>] <sup>+</sup><br>=563<br>.3 | 91 |  | [M+H]<br>+=          |

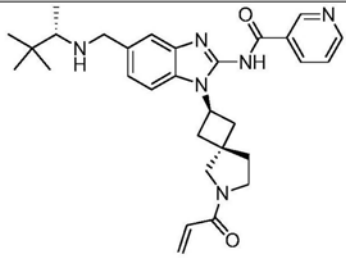
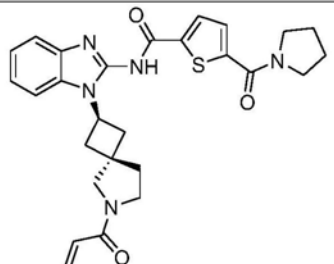
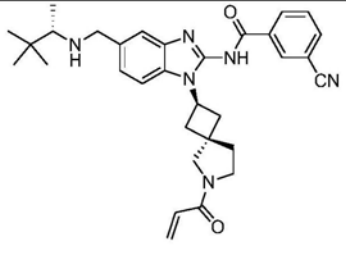
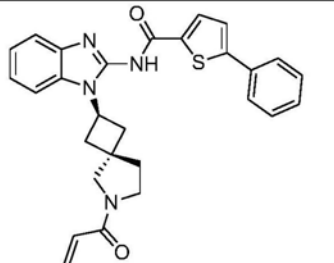
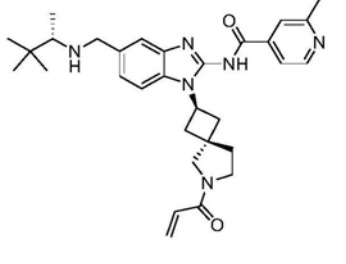
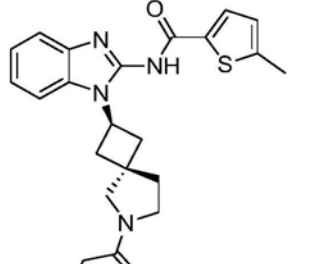
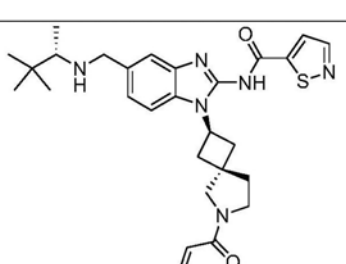
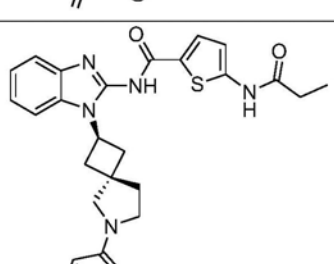
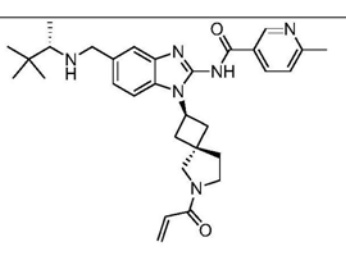
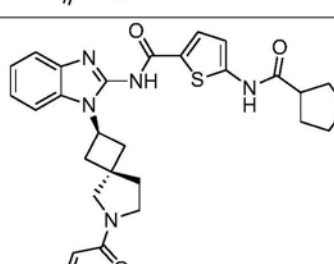
[0863]

|    |                                                                                      |                                       |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| 12 |     | [M+H]<br>J <sup>+</sup><br>=584<br>.4 |
| 13 |     | [M+H]<br>J <sup>+</sup> =52<br>1.3    |
| 14 |    | [M+H]<br>J <sup>+</sup> =51<br>8.4    |
| 15 |   | [M+H]<br>J <sup>+</sup> =45<br>7.2    |
| 16 |   | [M+H]<br>J <sup>+</sup> =47<br>4.0    |
| 92 |    | [M+H]<br>+=489<br>.0                  |
| 93 |    | [M+H]<br>+=489<br>.0                  |
| 94 |   | [M+H]<br>+=489<br>.0                  |
| 95 |  | [M+H]<br>+=514<br>.4                  |
| 96 |  | [M+H]<br>+=514.<br>0                  |

[0864]

|    |                                                                                     |                       |     |                                                                                      |                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| 17 |    | $[M+H]^+ = 45$<br>7.2 | 97  |    | $[M+H]^+ = 500$<br>2 |
| 18 |    | $[M+H]^+ = 47$<br>4.2 | 98  |    | $[M+H]^+ = 465$<br>2 |
| 19 |   | $[M+H]^+ = 53$<br>8.8 | 99  |   | $[M+H]^+ = 500$<br>4 |
| 20 |  | $[M+H]^+ = 51$<br>5.2 | 100 |  | $[M+H]^+ = 451$<br>2 |
| 21 |  | $[M+H]^+ = 50$<br>5.2 | 101 |  | $[M+H]^+ = 478$<br>4 |

[0865]

|    |                                                                                     |                       |     |                                                                                      |                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| 22 |    | $[M+H]^+ = 51$<br>5.4 | 102 |    | $[M+H]^+ = 504$<br>2 |
| 23 |    | $[M+H]^+ = 58$<br>8.8 | 103 |    | $[M+H]^+ = 483$<br>0 |
| 24 |   | $[M+H]^+ = 5$<br>29.2 | 104 |   | $[M+H]^+ = 421$<br>0 |
| 25 |  | $[M+H]^+ = 5$<br>20.8 | 105 |  | $[M+H]^+ = 478$<br>2 |
| 26 |  | $[M+H]^+ = 5$<br>28.8 | 106 |  | $[M+H]^+ = 518$<br>4 |

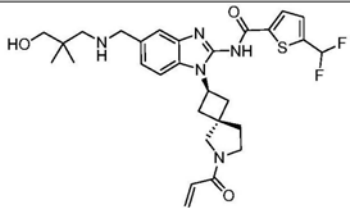
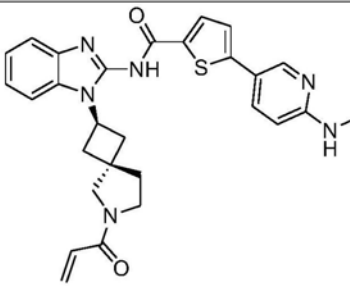
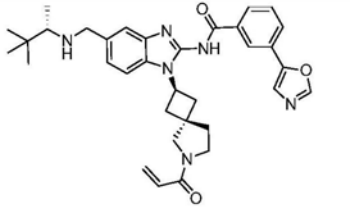
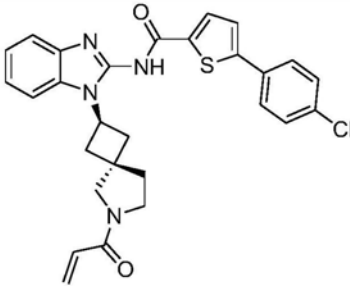
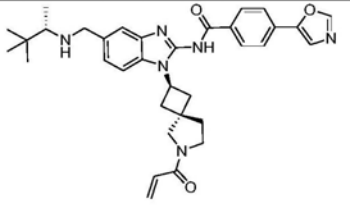
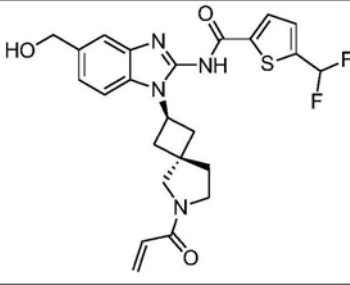
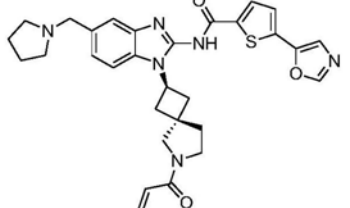
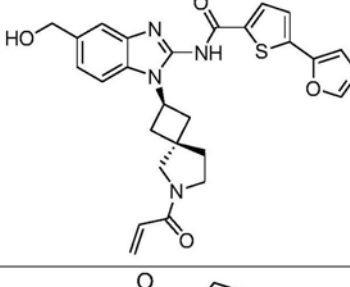
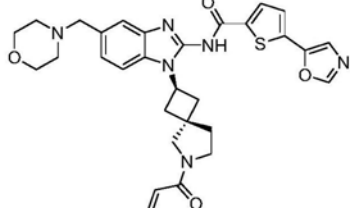
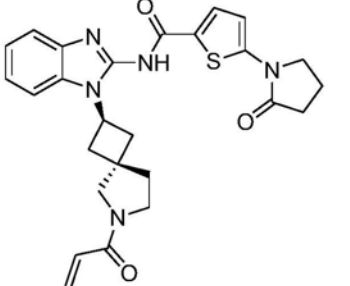
[0866]

|    |  |                           |     |  |                      |
|----|--|---------------------------|-----|--|----------------------|
| 27 |  | [M+H]<br>J+=5<br>56.0     | 107 |  | [M+H]<br>+=431.<br>0 |
| 28 |  | [M+H]<br>J+=5<br>44.2     | 108 |  | [M+H]<br>+=          |
| 29 |  | [M+H]<br>J+=5<br>30.6     | 109 |  | [M+H]<br>+=          |
| 30 |  | [M+H]<br>J+=<br>471.<br>0 | 110 |  | [M+H]<br>+=          |
| 31 |  | [M+H]<br>J+=<br>499.<br>2 | 111 |  | [M+H]<br>+=527.<br>4 |

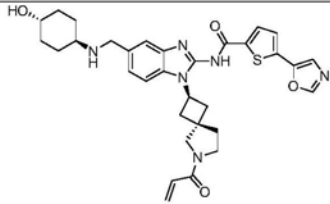
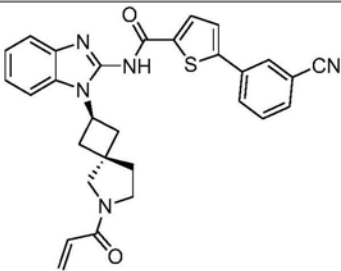
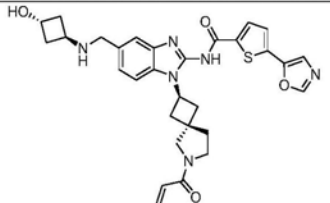
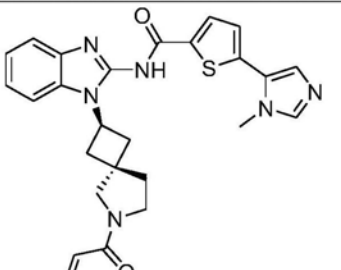
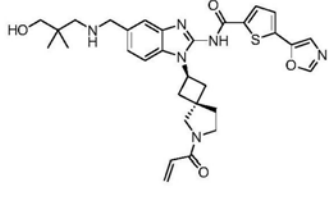
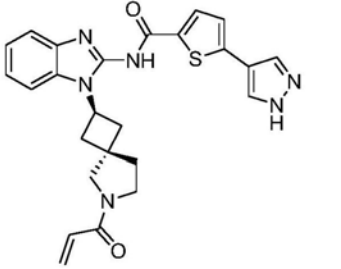
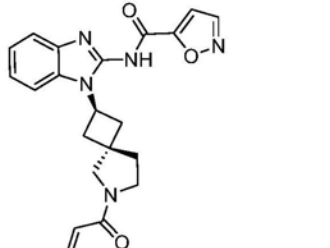
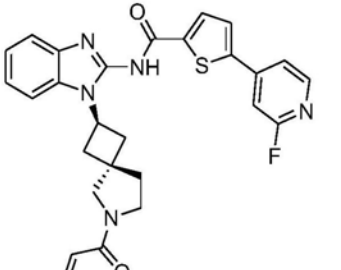
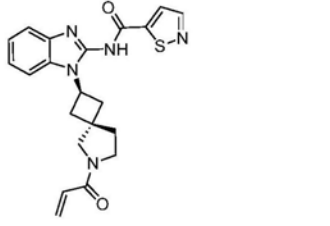
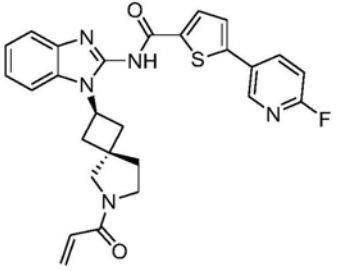
[0867]

|    |  |                       |     |  |                      |
|----|--|-----------------------|-----|--|----------------------|
| 32 |  | [M+H]<br>J+=5<br>45.0 | 112 |  | [M+H]<br>+=534.<br>4 |
| 33 |  | [M+H]<br>J+=5<br>91.0 | 113 |  | [M+H]<br>+=487.<br>2 |
| 34 |  | [M+H]<br>J+=5<br>40.2 | 114 |  | [M+H]<br>+=485.<br>1 |
| 35 |  | [M+H]<br>J+=5<br>84.0 | 115 |  | [M+H]<br>+=486.<br>0 |
| 36 |  | [M+H]<br>J+=5<br>56.2 | 116 |  | [M+H]<br>+=473.<br>0 |

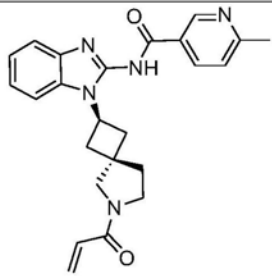
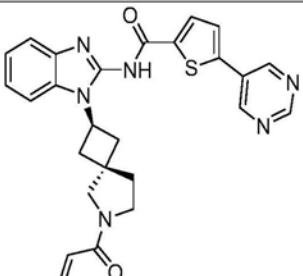
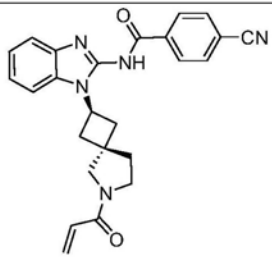
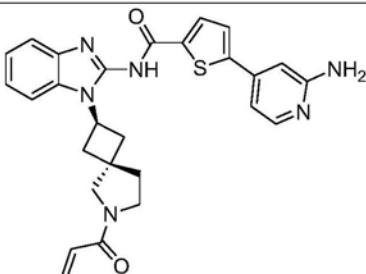
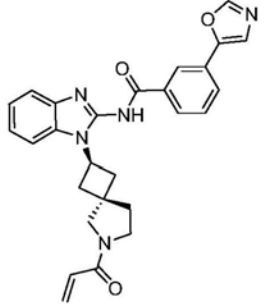
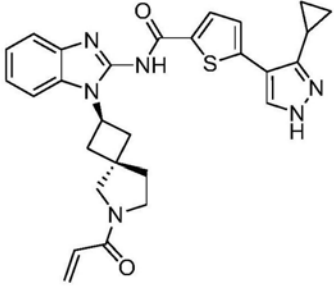
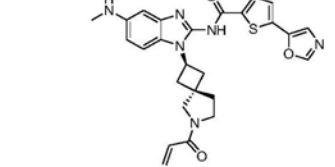
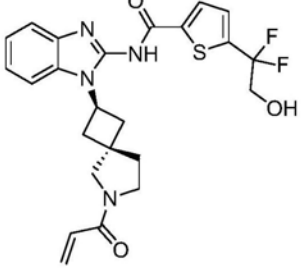
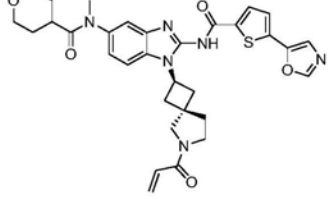
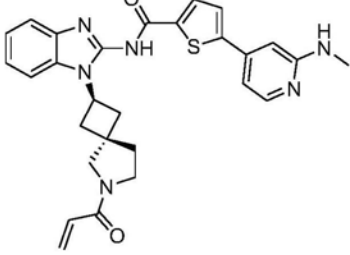
[0868]

|    |                                                                                     |                       |     |                                                                                      |                       |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| 37 |    | [M+H]<br>]+=5<br>72.0 | 117 |    | [M+H]<br>]+=513.4     |
| 38 |    | [M+H]<br>]+=5<br>81.0 | 118 |    | [M+H]<br>]+=508.6     |
| 39 |    | [M+H]<br>]+=58<br>1.0 | 119 |   | [M+H]<br>]+=486.2     |
| 40 |  | [M+H]<br>]+=55<br>7.2 | 120 |  | [M+H]<br>]+=503.2     |
| 41 |  | [M+H]<br>]+=5<br>73.2 | 121 |  | [M+H]<br>]+=490.<br>4 |

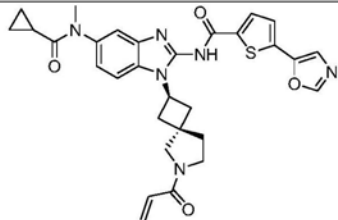
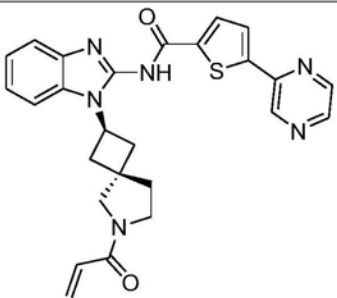
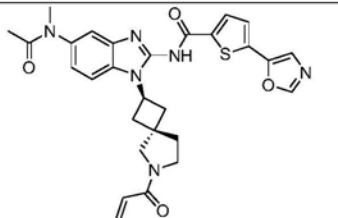
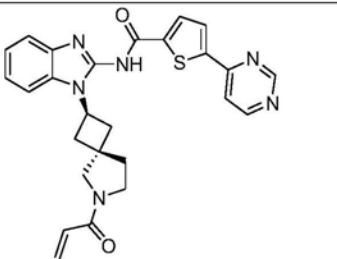
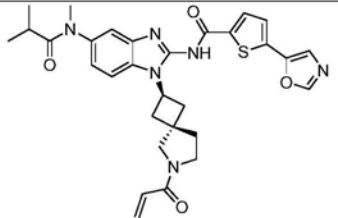
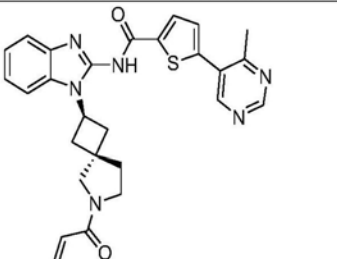
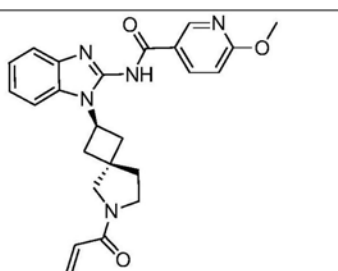
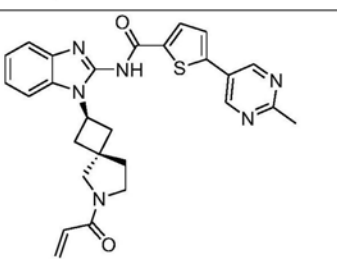
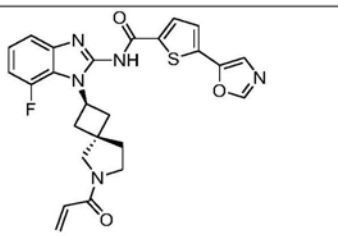
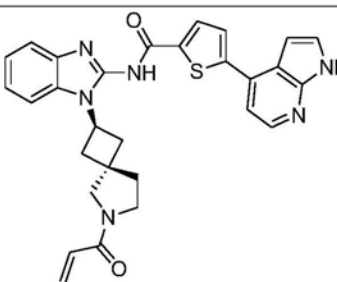
[0869]

|    |                                                                                     |                       |     |                                                                                      |                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| 42 |    | [M+H]<br>J+=6<br>01.2 | 122 |    | [M+H]<br>+=508.<br>2 |
| 43 |    | [M+H]<br>J+=5<br>73.2 | 123 |    | [M+H]<br>+=487.<br>4 |
| 44 |    | [M+H]<br>J+=5<br>89.2 | 124 |   | [M+H]<br>+=473.<br>0 |
| 45 |  | [M+H]<br>J+=<br>392.0 | 125 |  | [M+H]<br>+=502.<br>2 |
| 46 |  | [M+H]<br>J+=4<br>07.8 | 126 |  | [M+H]<br>+=502.<br>4 |

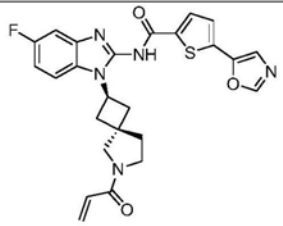
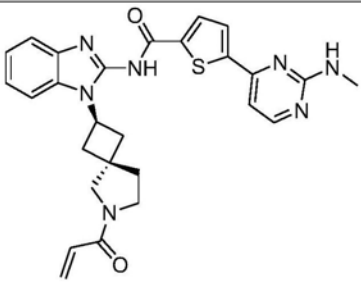
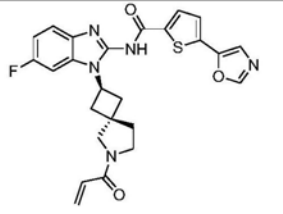
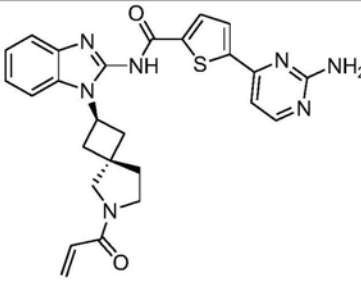
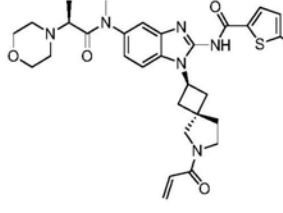
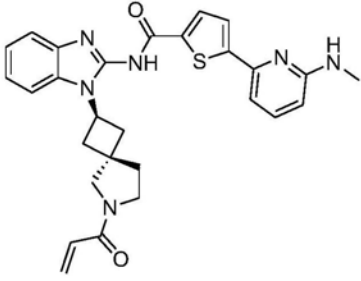
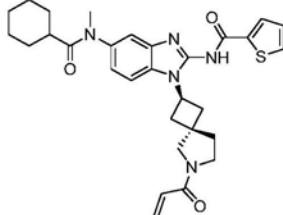
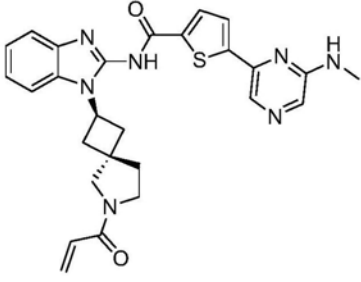
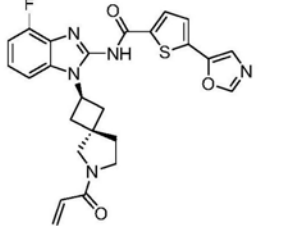
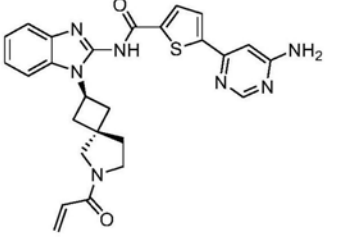
[0870]

|    |                                                                                     |                       |     |                                                                                      |                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| 47 |    | [M+H]<br>]+=41<br>6.0 | 127 |    | [M+H]<br>+=484.<br>2 |
| 48 |    | [M+H]<br>]+=42<br>6.2 | 128 |    | [M+H]<br>+=499.<br>4 |
| 49 |   | [M+H]<br>]+=46<br>8.2 | 129 |   | [M+H]<br>+=513.<br>4 |
| 50 |  | [M+H]<br>]+=50<br>8.2 | 130 |  | [M+H]<br>+=487.<br>0 |
| 51 |  | [M+H]<br>]+=6<br>15.0 | 131 |  | [M+H]<br>+=513.<br>0 |

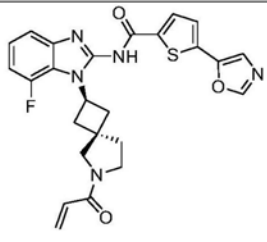
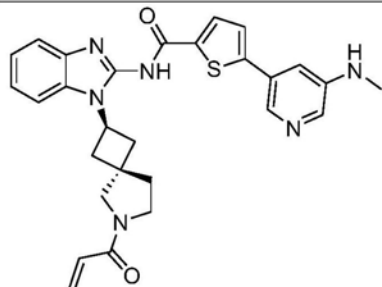
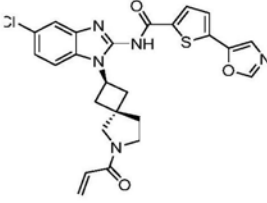
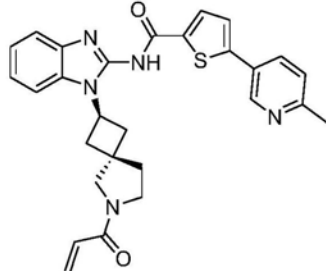
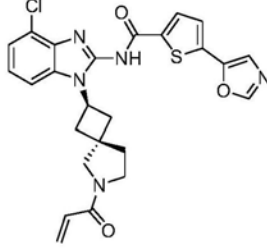
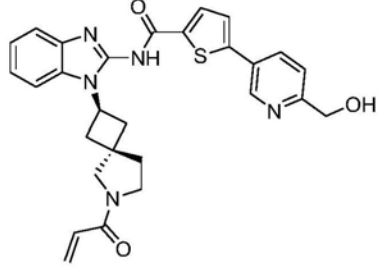
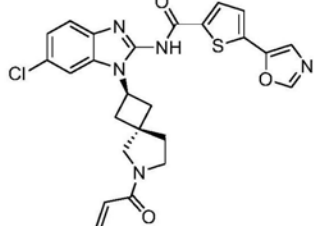
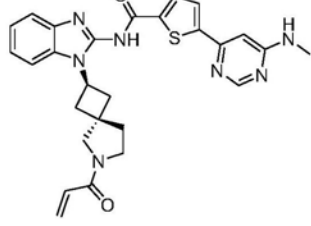
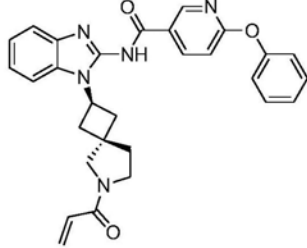
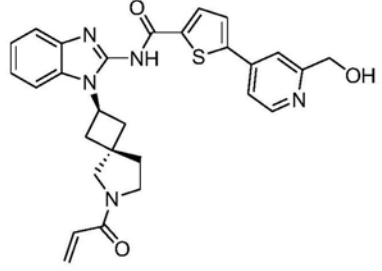
[0871]

|    |                                                                                     |                       |     |                                                                                      |                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| 52 |    | [M+H]<br>J+=5<br>71.2 | 132 |    | [M+H]<br>+=485.<br>2 |
| 53 |    | [M+H]<br>J+=5<br>45.2 | 133 |    | [M+H]<br>+=485.<br>2 |
| 54 |    | [M+H]<br>J+=5<br>73.0 | 134 |   | [M+H]<br>+=499.<br>4 |
| 55 |  | [M+H]<br>J+=4<br>32.0 | 135 |  | [M+H]<br>+=499.<br>4 |
| 56 |  | [M+H]<br>J+=4<br>92.0 | 136 |  | [M+H]<br>+=533.<br>4 |

[0872]

|    |                                                                                     |                       |     |                                                                                      |                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| 57 |    | [M+H]<br>J+=4<br>92.0 | 137 |    | [M+H]<br>+=514.<br>6 |
| 58 |    | [M+H]<br>J+=4<br>92.0 | 138 |    | [M+H]<br>+=500.<br>2 |
| 59 |    | [M+H]<br>J+=6<br>43.8 | 139 |   | [M+H]<br>+=513.<br>4 |
| 60 |  | [M+H]<br>J+=6<br>13.0 | 140 |  | [M+H]<br>+=514.<br>6 |
| 61 |  | [M+H]<br>J+=4<br>91.8 | 141 |  | [M+H]<br>+=500.<br>2 |

[0873]

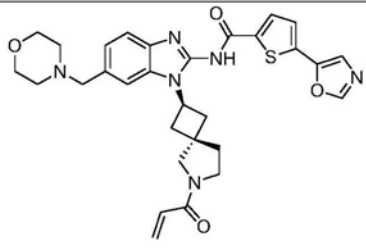
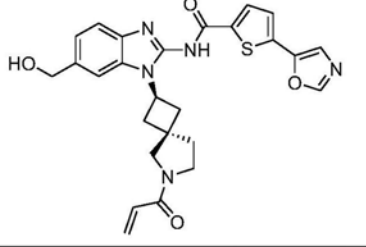
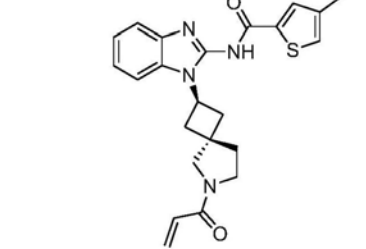
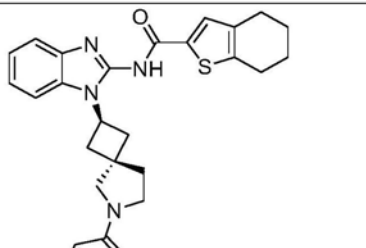
|    |                                                                                     |                       |     |                                                                                      |                      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| 62 |    | [M+H]<br>J+=4<br>92.0 | 142 |    | [M+H]<br>+=513.<br>4 |
| 63 |    | [M+H]<br>J+=50<br>8.0 | 143 |    | [M+H]<br>+=498.<br>4 |
| 64 |   | [M+H]<br>J+=5<br>08.0 | 144 |   | [M+H]<br>+=514.<br>4 |
| 65 |  | [M+H]<br>J+=5<br>08.0 | 145 |  | [M+H]<br>+=514.<br>4 |
| 66 |  | [M+H]<br>J+=4<br>94.0 | 146 |  | [M+H]<br>+=514.<br>4 |

[0874]

|    |  |                      |     |  |                      |
|----|--|----------------------|-----|--|----------------------|
| 67 |  | [M+H]<br>]+4<br>92.2 | 147 |  | [M+H]<br>+=498.<br>6 |
| 68 |  | [M+H]<br>]+4<br>92.2 | 148 |  | [M+H]<br>+=515.<br>6 |
| 69 |  | [M+H]<br>]+5<br>07.6 | 149 |  | [M+H]<br>+=499.<br>4 |
| 70 |  | [M+H]<br>]+4<br>91.4 | 150 |  | [M+H]<br>+=523.<br>2 |
| 71 |  | [M+H]<br>]+5<br>08.0 | 151 |  | [M+H]<br>+=554.<br>2 |

[0875]

|    |  |                       |     |  |                              |
|----|--|-----------------------|-----|--|------------------------------|
| 72 |  | [M+H]<br>J+=5<br>08.0 | 152 |  | [M+H]<br>+=500.<br>4         |
| 73 |  | [M+H]<br>J+=5<br>04.0 | 153 |  | [M+H]<br>+=524.<br>2         |
| 74 |  | [M+H]<br>J+=4<br>84.0 | 154 |  | [M+H]<br>+=554.<br>2         |
| 75 |  | [M+H]<br>J+=4<br>87.0 | 155 |  | [M+H]<br>+=523.<br>2         |
| 76 |  | [M+H]<br>J+=4<br>85.0 | 156 |  | [M+H] <sup>+</sup><br>=487.2 |

|        |    |                                                                                    |                       |  |  |  |
|--------|----|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|--|--|--|
| [0876] | 77 |   | [M+H]<br>]+=5<br>73.0 |  |  |  |
|        | 78 |   | [M+H]<br>]+=5<br>04.0 |  |  |  |
|        | 79 |   | [M+H]<br>]+=4<br>21.0 |  |  |  |
|        | 80 |  | [M+H]<br>]+=46<br>1.0 |  |  |  |

[0877] 实施例1:CD3/CD28介导的PBMC增殖测定

[0878] 通过用抗CD3和抗CD28抗体刺激后测量在T细胞A中具有ITK依赖活性的PBMC的增殖来评估细胞激酶的抑制 (Michel F.等Immunity;2001,15:935-945)。

[0879] 将96孔组织培养板的各孔在4℃下涂覆50μL的5μg/mL的抗CD3 (OKT3, eBiosciences) 过夜。将人类血液收集在含有EDTA的真空管 (vacutainer tubes) 中。以400×g离心后,在Histopaque 1077 (Sigma) 上分离PBMC。通过在PBS中重悬浮和以250×g离心,洗涤细胞3次,并以最终浓度2×10<sup>6</sup>细胞/mL重悬浮于培养基 (RPMI, 谷氨酰胺, 10%热灭活的FCS) 中。将细胞 (2×10<sup>5</sup>) 添加至洗涤的抗CD3涂覆的板上,并将可溶性抗-CD28 (CD28.2eBiosciences) 以最终浓度为2μg/mL添加到各孔中。最后,将化合物以各种浓度添加到各孔中。将细胞置于加湿的37℃培养箱中72小时。对照仅包括未受刺激的细胞和培养基。

[0880] 表2:CD3/CD28测定PBMC增殖测定的结果

[0881]

| 化合物 | CD3/CD28<br>PMBC 增殖 | 化合物 | CD3/CD28<br>PMBC 增殖 | 化合物 | CD3/CD28<br>PMBC 增殖 |
|-----|---------------------|-----|---------------------|-----|---------------------|
| 编号  | IC50 (nM)           | 编号  | IC50 (nM)           | 编号  | IC50 (nM)           |
| 1   | >300                | 51  | 0.5                 | 100 | >300                |
| 2   | 3                   | 52  | 0.7                 | 101 | >300                |
| 3   | 35.6                | 53  | 0.8                 | 102 | >300                |
| 4   | 1.3                 | 54  | 0.8                 | 103 | 177.8               |
| 5   | 7.1                 | 55  | 125.9               | 104 | 37.2                |
| 6   | 23.4                | 56  | 2.1                 | 105 | >300                |
| 7   | 227.3               | 57  | 4.2                 | 106 | >300                |
| 8   | 26.3                | 58  | 4.2                 | 107 | 20.9                |
| 9   | 2.7                 | 59  | 1.2                 | 108 | 95.5                |
| 10  | 30.2                | 60  | 1.2                 | 109 | 242.7               |
| 11  | >300                | 61  | 43.6                | 110 | 6.4                 |
| 12  | >300                | 62  | 63.1                | 111 | >300                |
| 13  | 16.2                | 63  | 7.6                 | 112 | >300                |
| 14  | 166                 | 64  | 100                 | 113 | 17.8                |
| 15  | 6.3                 | 65  | 6.4                 | 114 | 3.5                 |
| 16  | 1.5                 | 66  | 100                 | 115 | 7                   |
| 17  | 151.4               | 67  | 300                 | 116 | 89.1                |
| 18  | 91.2                | 68  | 65.3                | 117 | 91.2                |
| 19  | 4.1                 | 69  | 72.4                | 118 | >300                |
| 20  | 6.3                 | 70  | 28.8                | 119 | 3                   |
| 21  | 3.7                 | 71  | 154.9               | 120 | 0.5                 |
| 22  | 4                   | 72  | >300                | 121 | 24.6                |
| 23  | 7.3                 | 73  | 0.6                 | 122 | 239.9               |
| 24  | 13                  | 74  | 120.3               | 123 | 15.1                |
| 25  | 3.4                 | 75  | 23.1                | 124 | 1.6                 |
| 26  | 2.8                 | 76  | 17.4                | 125 | 8.6                 |
| 27  | 3                   | 77  | 0.8                 | 126 | 47.9                |
| 28  | 6.1                 | 78  | 5.4                 | 127 | 7.6                 |
| 29  | 15.1                | 79  | >100                | 128 | 1.9                 |
| 30  | 2.6                 | 80  | >300                | 129 | 6.7                 |
| 31  | 38.9                | 81  | >300                | 130 | 2.3                 |
| 32  | 4.5                 | 82  | >100                | 131 | 4.2                 |
| 33  | >300                | 83  | >300                | 132 | 24.6                |
| 34  | 3                   | 84  | >300                | 133 | 7                   |
| 35  | 1.4                 | 85  | 81.3                | 134 | 24.6                |
| 36  | 1.2                 | 86  | 4.7                 | 135 | 24.6                |

[0882]

| 化合物 | CD3/CD28<br>PMBC 增殖 | 化合物 | CD3/CD28<br>PMBC 增殖 | 化合物 | CD3/CD28<br>PMBC 增殖 |
|-----|---------------------|-----|---------------------|-----|---------------------|
| 编号  | IC50 (nM)           | 编号  | IC50 (nM)           | 编号  | IC50 (nM)           |
| 37  | 1                   | 87  | >100                | 136 | 3.2                 |
| 38  | 19.5                | 88  | >300                | 137 | 7.6                 |
| 39  | 64.6                | 89  | 42.7                | 138 | 2.8                 |
| 40  | 3.2                 | 90  | 8.6                 | 139 | 95.5                |
| 41  | 4.7                 | 91  | 150.5               | 140 | 8.6                 |
| 42  | 3.5                 | 92  | >100                | 141 | 8.7                 |
| 43  | 3.1                 | 93  | >100                | 142 | 7                   |
| 44  | 1.6                 | 94  | 21.4                | 143 | 64.5                |
| 45  | 60.3                | 95  | >300                | 144 | 22.2                |
| 46  | 37.2                | 96  | 28.6                | 145 | 9.4                 |
| 47  | 20                  | 97  | 11.5                | 146 | 8.6                 |
| 48  | 64.6                | 98  | 23.4                | 147 | 7.9                 |
| 49  | 70.8                | 99  | >100                | 148 | 6.1                 |
| 50  | 1.4                 |     |                     | 149 | 4.7                 |
|     |                     |     |                     | 150 | 25                  |
|     |                     |     |                     | 151 | 220                 |
|     |                     |     |                     | 152 | 74.1                |
|     |                     |     |                     | 153 | 23.4                |
|     |                     |     |                     | 154 | 19                  |
|     |                     |     |                     | 155 | 135                 |
|     |                     |     |                     | 156 | 8.6                 |

[0883] a-EC<sub>50</sub><1nM, b-1nM<EC<sub>50</sub><10nM, c-EC<sub>50</sub>>10nM

[0884] 实施例2: 激酶抑制测定

[0885] 使用微流体检测技术在Nanosyn (Santa Clara, CA) 中进行体外激酶测定。将测试化合物在DMSO中连续预稀释, 并通过声学分配 (Labcyte® 550) 直接向384孔测定板中添加到10μL具有酶 (ITK、TXK、BTK或TEC) 的缓冲液中, 所述缓冲液包含: 100mM HEPES, pH7.5, 5mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1%的牛血清白蛋白, 1mM DTT, 0.01% Triton X-100和所述酶。在所有样品 (包括对照) 中的最终DMSO浓度维持在1%。通过添加ATP (1mM最终浓度) 和荧光标记的肽底物至最终浓度1μM引发反应, 并在25℃温育3小时。温育后, 通过添加40μL终止缓冲液 (100mM HEPES, pH7.5, 0.01% Triton X-100, 50mM EDTA) 淬灭反应。使用Caliper LabChip® 3000微流体电泳仪器 (Caliper Life Sciences/Perkin Elmer) 分析终止的板。肽底物的酶促修饰 (磷酸化) 导致净电荷的变化, 使得产物能够与底物电泳分离。当通过电泳分离底物和产物时, 观察到两个荧光峰。底物和产物峰的相对荧光强度的变化是测量的参数, 反映了酶活性。在存在抑制剂的情况下, 产物和底物之间的比例改变: 产物的信号降低, 而底物的信号增加。每个测试样品中的活性被测定为产物与总和比 (PSR): P/(S+P), 其中P是产物的峰高, S是FAM-cAMP底物的峰高。对于每种化合物, 在间隔了3x稀释间隔的12个浓度测量酶活性。阴性对照样品 (0%-不存在抑制剂、仅仅DMSO的抑制) 和阳性对照样品 (100%-不存在酶或存在对照抑制剂的抑制) 以4个副本组合, 并用于在化合物存在下计算%-抑制值。使用以下等式确定抑制百分比 (P<sub>inh</sub>):  $P_{inh} = (PSR_{0\%} - PSR_{inh}) / (PSR_{0\%} - PSR_{100\%}) * 100$ , 其中PSR<sub>inh</sub>是在抑制剂存在下的产物总和比, PSR<sub>0%</sub>是在不存在抑制剂下的产物总和比, PSR<sub>100%</sub>是100%-抑制

对照样品下的产物总和比。为了确定IC<sub>50</sub>值,使用XLfit软件(IDBS)通过4参数S型剂量-响应模型拟合抑制曲线(P<sub>inh</sub>对抑制剂浓度)。

[0886] 表3:激酶抑制结果

[0887]

| 化合物 | ITK                   | TXK                   | BTK                   | TEC                   | ITK/TXK |
|-----|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---------|
| 编号  | IC <sub>50</sub> (nM) | IC <sub>50</sub> (nM) | IC <sub>50</sub> (nM) | IC <sub>50</sub> (nM) | 比       |
| 1   | 26.2                  | 52.6                  | 378                   | -                     | 0.5     |
| 2   | 0.85                  | 0.37                  | 1.01                  | 2.36                  | 2.3     |
| 3   | 3.47                  | 2.50                  | 26.8                  | 49.3                  | 1.4     |
| 4   | 0.34                  | 0.18                  | 0.64                  | 1.65                  | 1.9     |
| 5   | 0.29                  | 0.34                  | -                     | 3.24                  | 0.9     |
| 6   | 25.6                  | 2.86                  | 4.28                  | 29.6                  | 9.0     |
| 7   | 8.26                  | 0.60                  | 2.20                  | 6.03                  | 13.9    |
| 8   | 9.11                  | 0.67                  | 2.36                  | 6.03                  | 13.6    |
| 9   | 0.69                  | 0.20                  | -                     | -                     | 3.4     |
| 10  | 2.04                  | 0.84                  | -                     | -                     | 2.4     |
| 11  | -                     | -                     | -                     | -                     | -       |
| 12  | -                     | -                     | -                     | -                     | -       |
| 13  | 10.1                  | 0.76                  | 1.80                  | 4.50                  | 13.3    |
| 14  | 84.7                  | 3.90                  | 23.4                  | 53.1                  | 21.7    |
| 15  | 3.23                  | 0.55                  | 4.40                  | 1.78                  | 5.9     |
| 16  | 0.81                  | 0.21                  | 0.94                  | 0.62                  | 3.8     |
| 17  | 54.3                  | 11.0                  | -                     | 41.0                  | 4.9     |
| 18  | 7.70                  | 3.75                  | -                     | 5.15                  | 2.1     |
| 19  | 1.50                  | 0.47                  | 1.34                  | 4.32                  | 3.2     |
| 20  | 6.19                  | 1.84                  | 4.52                  | 21.7                  | 3.4     |
| 21  | 5.71                  | 1.22                  | 1.54                  | 10.7                  | 4.7     |
| 22  | 4.57                  | 1.71                  | 4.79                  | 18.0                  | 2.7     |
| 23  | 1.14                  | 0.52                  | 2.45                  | 5.49                  | 2.2     |
| 24  | 5.01                  | 0.99                  | 5.47                  | 14.8                  | 5.1     |

[0888]

| 化合物 | ITK       | TXK       | BTK       | TEC       | ITK/TXK |
|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|
| 编号  | IC50 (nM) | IC50 (nM) | IC50 (nM) | IC50 (nM) | 比       |
| 25  | 1.62      | 0.59      | 0.70      | 3.16      | 2.7     |
| 26  | 2.41      | 0.99      | 2.84      | 10.9      | 2.4     |
| 27  | 1.52      | 0.67      | 2.59      | 2.27      | 2.3     |
| 28  | 0.75      | 0.63      | 1.70      | 4.30      | 1.2     |
| 29  | 0.64      | 0.27      | 0.84      | -         | 2.4     |
| 30  | 2.17      | 0.29      | 2.11      | 0.98      | 7.6     |
| 31  | 3.08      | 1.03      | 5.38      | 1.25      | 3.0     |
| 32  | 2.99      | 0.70      | 5.45      | 15.6      | 4.3     |
| 33  | 18.9      | 0.32      | 0.78      | 2.67      | 58.7    |
| 34  | 1.72      | 0.45      | 1.39      | 10.6      | 3.8     |
| 35  | 1.45      | 0.46      | 1.04      | 6.01      | 3.1     |
| 36  | 2.07      | 0.63      | 1.14      | 9.70      | 3.3     |
| 37  | 0.87      | 0.39      | 0.95      | 3.13      | 2.3     |
| 38  | 1.23      | 0.67      | 4.08      | 5.92      | 1.8     |
| 39  | 2.10      | 0.97      | 5.67      | 7.88      | 2.2     |
| 40  | 1.44      | 0.72      | 1.16      | 4.37      | 2.0     |
| 41  | 1.90      | 0.92      | 1.81      | 2.82      | 2.1     |
| 42  | 0.64      | 0.32      | 0.53      | 2.00      | 2.0     |
| 43  | 0.73      | 0.32      | 0.53      | 1.71      | 2.3     |
| 44  | 0.70      | 0.42      | 0.66      | 1.96      | 1.7     |
| 445 | 83.9      | 3.13      | 3.61      | 5.26      | 26.8    |
| 46  | 33.3      | 1.10      | 1.44      | 2.00      | 30.3    |
| 47  | 24.5      | 2.69      | 11.3      | 7.73      | 9.1     |
| 48  | 58.1      | 1.16      | 4.37      | 3.37      | 50.1    |
| 49  | 4.87      | 1.39      | 13.7      | 4.10      | 3.5     |
| 50  | 0.72      | 0.25      | 0.62      | 0.67      | 2.9     |
| 51  | 0.90      | 0.44      | 0.73      | 1.41      | 2.0     |
| 52  | 0.79      | 0.39      | 0.58      | 1.13      | 2.0     |
| 53  | 0.97      | 0.39      | 0.64      | 1.26      | 2.5     |
| 54  | 0.51      | 0.30      | 0.56      | 0.87      | 1.7     |
| 55  | 70.1      | 3.41      | 27.4      | 7.73      | 20.6    |
| 56  | 1.09      | 0.26      | 1.56      | 0.78      | 4.2     |
| 57  | 0.99      | 0.22      | 1.09      | 0.74      | 4.4     |
| 58  | 1.30      | 0.29      | 1.32      | 1.02      | 4.6     |
| 59  | 1.03      | 0.44      | 1.64      | 1.49      | 2.3     |
| 60  | 1.00      | 0.40      | 1.15      | 1.33      | 2.5     |

[0889]

| 化合物 | ITK       | TXK       | BTK       | TEC       | ITK/TXK |
|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|
| 编号  | IC50 (nM) | IC50 (nM) | IC50 (nM) | IC50 (nM) | 比       |
| 61  | 3.72      | 0.49      | 6.77      | 1.43      | 7.6     |
| 62  | 5.63      | 1.58      | 10.5      | 2.48      | 3.6     |
| 63  | 1.68      | 0.37      | 1.29      | 1.10      | 4.6     |
| 64  | 194       | 39.7      | 124       | 53.1      | 4.9     |
| 65  | 2.03      | 0.42      | 1.99      | 1.42      | 4.8     |
| 66  | 403       | 4.34      | 11.20     | 13.3      | 92.9    |
| 67  | 66.0      | 19.7      | 99.2      | 35.2      | 3.4     |
| 68  | 7.48      | 6.71      | 41.9      | 4.72      | 1.1     |
| 69  | 21.7      | 7.71      | -         | -         | 2.8     |
| 70  | 8.99      | 3.58      | -         | -         | 2.5     |
| 71  | 25.6      | 17.90     | -         | -         | 1.4     |
| 72  | -         | -         | -         | -         | -       |
| 73  | 1.02      | 0.26      | -         | -         | 3.9     |
| 74  | 8.25      | 1.62      | 25.8      | 1.73      | 5.1     |
| 75  | 1.12      | 0.12      | 1.03      | -         | 9.2     |
| 76  | 5.59      | 2.80      | 22.6      | 4.01      | 2.0     |
| 77  | 0.82      | 0.37      | 0.78      | -         | 2.2     |
| 78  | 4.70      | 2.34      | 11.7      | -         | 2.0     |
| 79  | 444       | 17.0      | 251       | 60.9      | 26.1    |
| 80  | -         | -         | -         | -         | -       |
| 81  |           | -         | -         | -         | -       |
| 82  | 98.1      | 3.33      | 33.2      | 7.20      | 29.5    |
| 83  | 933       | 1.98      | 7.55      | -         | 471.2   |
| 84  | 521       | 19.8      | 65.3      | -         | 26.3    |
| 85  | 39.2      | 3.15      |           | -         | 12.4    |
| 86  | 1.60      | 2.24      | 8.41      | -         | 0.7     |
| 87  | 52.9      | 5.72      | -         | -         | 9.2     |
| 88  | -         | -         | -         |           | -       |
| 89  | 12.0      | 3.17      | 23.7      | -         | 3.8     |
| 90  | 2.07      | 0.51      | 5.23      | 0.64      | 4.0     |
| 91  | 239       | 17.6      | -         | -         | 13.6    |
| 92  | 520       | 64.3      | -         | -         | 8.1     |
| 93  | 42.6      | 9.88      | -         |           | 4.3     |
| 94  | 2.64      | 0.82      | 1.38      | -         | 3.2     |
| 95  | 24.3      | 9.12      | 19.4      | 4.97      | 2.7     |
| 96  | 1.71      | 0.35      | 1.55      | 0.15      | 4.9     |

[0890]

| 化合物 | ITK       | TXK       | BTK       | TEC       | ITK/TXK |
|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|
| 编号  | IC50 (nM) | IC50 (nM) | IC50 (nM) | IC50 (nM) | 比       |
| 97  | 0.53      | 0.14      | 0.33      | 0.09      | 3.9     |
| 98  | 4.96      | 0.31      | -         | -         | 16.0    |
| 99  | 2.95      | 1.01      | 10.2      | 1.27      | 2.9     |
| 100 | -         | -         | -         | -         | -       |
| 101 | 62.8      | 0.93      | 9.24      | -         | 67.8    |
| 102 | 47.2      | 5.63      |           | -         | 8.4     |
| 103 | 7.50      | 0.93      | 6.12      | 2.32      | 8.1     |
| 104 | 17.6      | 2.16      | 26.2      | 10.4      | 8.1     |
| 105 | 128       | 23.2      | 112       | -         | 5.5     |
| 106 | 514       | 30.1      | -         | -         | 17.1    |
| 107 | 18.7      | 5.25      | 21.1      | 8.16      | 3.6     |
| 108 | 5.19      | 1.02      | 10.4      | 1.32      | 5.1     |
| 109 | 24.1      | 14.0      | 43.5      | 8.33      | 1.7     |
| 110 | 1.16      | 0.18      | 1.11      | 0.19      | 6.4     |
| 111 | 502       | 64.1      | -         | 166.0     | 7.8     |
| 112 | -         | -         | -         | -         | -       |
| 113 | 2.10      | 1.32      | 4.63      | -         | 1.6     |
| 114 | 1.28      | 0.22      | 3.31      | 0.23      | 5.9     |
| 115 | 11.7      | 1.94      | 12.90     | 5.17      | 6.0     |
| 116 | 25.7      | 3.08      | 15.70     | -         | 8.3     |
| 117 | 9.50      | 4.90      | 7.43      | 1.74      | 1.9     |
| 118 | 17.90     | 7.31      | -         | -         | 2.4     |
| 119 | 3.83      | 0.66      | 2.44      | 1.57      | 5.8     |
| 120 | 1.20      | 0.28      | -         | -         | 4.3     |
| 121 | 11.6      | 5.48      | -         |           | 2.1     |
| 122 | 9.60      | 1.22      | -         | -         | 7.9     |
| 123 | 1.65      | 0.49      | 5.33      | -         | 3.4     |
| 124 | 0.99      | 0.34      | 1.43      | -         | 2.9     |
| 125 | 1.05      | 0.24      | 1.06      | 0.23      | 4.4     |
| 126 | 3.14      | 0.80      | 9.21      | 1.42      | 3.9     |
| 127 | 3.38      | 1.13      | 15.9      | 1.59      | 3.0     |
| 128 | 0.67      | 0.20      | 0.63      | 0.20      | 3.4     |
| 129 | 0.59      | 0.21      | 0.84      | -         | 2.9     |
| 130 | 0.51      | -         | 1.06      | 1.31      | -       |
| 131 | 0.41      | 0.18      | 0.46      | 0.16      | 2.3     |
| 132 | 4.90      | 1.99      | 10.30     | 1.59      | 2.5     |

[0891]

| 化合物 | ITK       | TXK       | BTK       | TEC       | ITK/TXK |
|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|
| 编号  | IC50 (nM) | IC50 (nM) | IC50 (nM) | IC50 (nM) | 比       |
| 133 | 1.92      | 0.37      | 3.27      | 0.28      | 5.3     |
| 134 | 5.88      | 1.01      | 8.36      | 2.35      | 5.8     |
| 135 | 15.7      | 8.67      | 12.7      | 7.41      | 1.8     |
| 136 | 0.89      | 0.16      | 0.20      | 0.08      | 5.5     |
| 137 | 1.37      | 0.76      | 0.98      | 0.37      | 1.8     |
| 138 | 0.92      | 0.16      | 0.41      | 0.10      | 5.7     |
| 139 | 3.95      | 0.75      | 1.54      | 0.38      | 5.2     |
| 140 | 1.60      | 0.20      | 0.54      | 0.19      | 8.1     |
| 141 | 1.57      | 0.29      | 1.83      | 0.26      | 5.4     |
| 142 | 1.17      | 0.48      | 0.62      | 0.35      | 2.4     |
| 143 | 17.3      | 9.08      | 7.92      | 6.99      | 1.9     |
| 144 | 2.29      | 1.51      | 3.45      | 1.72      | 1.5     |
| 145 | 1.28      | 0.20      | 0.49      | 0.18      | 6.5     |
| 146 | 0.88      | 0.22      | 0.57      | 0.16      | 3.9     |
| 147 | 0.79      | 0.21      | 0.41      | 0.12      | 3.8     |
| 148 | 3.19      | 0.69      | -         | -         | 4.7     |
| 149 | 0.58      | 0.14      | 0.68      | 0.11      | 4.1     |
| 150 | 3.62      | 0.45      | 2.32      | 0.61      | 8.1     |
| 151 | 6.49      | 0.46      | 1.51      | -         | 14.1    |
| 152 | 8.17      | 2.11      | 9.50      | -         | 3.9     |
| 153 | 2.95      | 2.72      | 9.75      | -         | 1.1     |
| 154 | 1.10      | 0.33      | 1.21      | -         | 3.4     |
| 155 | 11.7      | 8.17      | 43.9      | -         | 1.4     |
| 156 | 0.78      | 0.24      | 0.70      | -         | 3.3     |

[0892] a-EC<sub>50</sub><1nM, b-1nM<EC<sub>50</sub><10nM, c-EC<sub>50</sub>>10nM

[0893] 实施例3:多发性硬化的实验性自身免疫性脑脊髓炎模型的功效

[0894] TEC激酶在多发性硬化症的免疫细胞和致病小胶质细胞中起重要作用。在实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)——多发性硬化的小鼠模型中评价化合物16的功效。根据Hooke Laboratories提供的方案和试剂(Lawrence, MA, USA: Kit EK-2110)在小鼠中诱导EAE。简单地说,用完全弗氏佐剂(CFA)中的MOG<sub>35-55</sub>肽乳液使雌性C57BL/6小鼠免疫,然后在免疫当天首先施用在PBS中的百日咳毒素(PTX),然后在第二天再次施用。观察小鼠的麻痹迹象,并在症状出现时参加到该研究中。招募两组10只小鼠并在症状发作后用在聚乙二醇400(PEG)中配制的化合物16或仅用PEG进行治疗。保留一组10只幼小C57BL/6小鼠作为阴性对照。在症状发作后第1、4、6、8、10和12天监测疾病症状。根据Hooke Laboratories方案对疾病进行评分;简单地说如下:0-与未免疫小鼠相比,运动功能没有明显变化。0.5-尾巴尖端无力。1.0-尾巴无力。1.5-无力的尾巴且后腿阻滞(inhibition)。2.0-无力尾巴且后腿虚弱。2.5-无力尾巴且后腿拖行。3.0-无力的尾巴且后腿完全麻痹。3.5-无力的尾巴且后腿完全麻痹且难以复原(正位, righting)或其它运动缺陷。4.0-无力尾巴,后腿完全麻痹和前腿部分麻痹。

4.5-后腿完全麻痹和前腿部分麻痹,无绕笼运动。小鼠没有警觉。5.0-死亡或导致安乐死的严重麻痹。

[0895] 数据(参见图1)表明,当以30mg/kg的剂量每日一次通过口服管饲法施用,化合物16大大减轻了疾病的严重程度。化合物16治疗的小鼠具有最小的神经缺陷症状,而载体治疗的动物的神经缺陷症状快速进展。

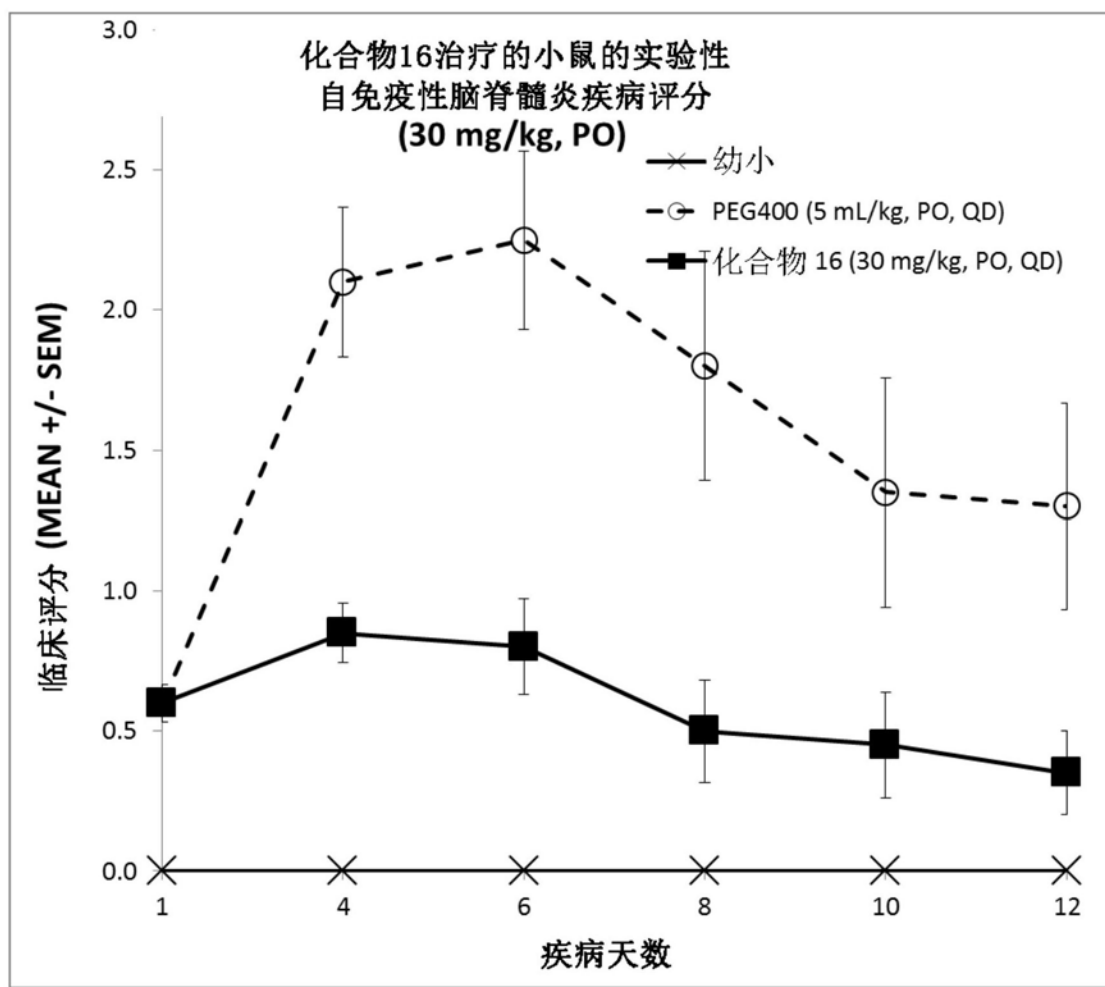


图1. 小鼠EAE中化合物16的功效