(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119923398 A
(43)申请公布日 2025.05.02

(21)申请号 202380064528.2
(22)申请日 2023.07.21
(30)优先权数据
63/391,548 2022.07.22 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2025.03.07
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2023/070683 2023.07.21
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2024/020534 EN 2024.01.25
(71)申请人 薛定谔公司
地址 美国纽约
(72)发明人 谢尔比·埃勒里 冯书路 郭佳叶
戈兰·克里洛夫 安娜·内格里
聂喆 罗伯特·佩尔蒂埃
安德鲁·普拉兹切克
曼兹·斯文森 迈克尔·特佐斯
(74)专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理有限责任公司 11204
专利代理师 王达佐 何可
(51)Int.Cl.
C07D 487/04(2006.01)
A61K 31/519(2006.01)

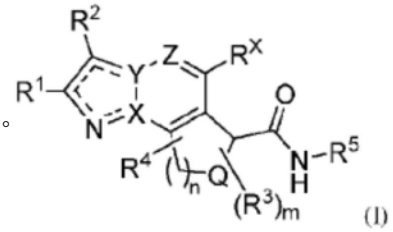
权利要求书6页 说明书228页
序列表（电子公布）

(54)发明名称

环状化合物和其使用方法

(57)摘要

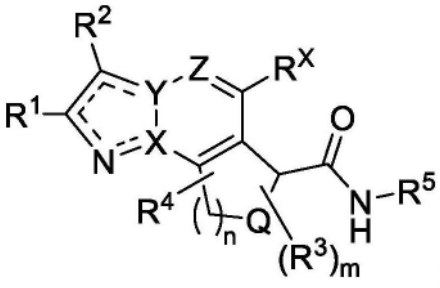
本申请涉及如本文所定义的式(I)化合物和其药学上可接受的盐。本申请还描述了包含式(I)化合物和其药学上可接受的盐的药物组合物,以及使用所述化合物和组合物用于治疗诸如癌症、自身免疫性病症和炎性病症的疾病的方法。



(I)

CN 119923398 A

1.一种式(I)化合物或其药学上可接受的盐：



(I)

其中：

每个 ---- 为单键或双键；

Q为-CH_2-、O或NH；

X为N或C；

Y为N或C；

Z为N或CR^6；

其中当X和Y中的一者为N时，X和Y中的另一者为C；

n为1、2或3；

R^X为氢或卤素；

R^1为氢、卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基、-NR^AR^B、或任选地被1-3个选自羟基和C1-C3烷氧基的取代基取代的C1-C3烷基；

R^2为氢、卤素、氨基或C1-C3烷基；

每个R^3独立地为氘、卤素、C3-C6环烷基、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基或C1-C3卤代烷基；

m为0、1、2或3；

R^4为任选地被一至三个取代基取代的5至10元杂芳基，每个取代基独立地选自R^7；

R^5为苯基或5至9元杂芳基，其中每个R^5基团任选地被1-3个独立地选自R^8的取代基取代；

R^6为氢、卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基、-NR^CR^D和C1-C3烷基；

每个R^7独立地选自由卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基、氧杂环丁基、-NR^CR^D、任选地被一个环丙基取代的C1-C3烷基组成的组；以及任选地被一个C1-C3烷基取代的C3-C7环烷基；

每个R^8独立地选自卤素；氰基；氨基；-N＝(S＝O)(C1-C3烷基)$_2$；-S(＝O)$_p$(C1-C3烷基)；1-亚氨基-1-λ^6-噻吩基1-氧化物、-(C＝O)NR^ER^F；C1-C3烷氧基；任选地被羟基取代的C1-C3卤代烷基；C1-C3卤代烷氧基；任选地被以下取代的5至6元杂芳基：卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、氨基、C1-C3卤代烷基、4至6元杂环基或任选地被羟基或-NR^ER^F取代的C1-C3烷基；C1-C4烷基，其任选地被羟基、-NR^ER^F或C1-C3烷氧基取代；3至8元杂环基；以及C3-C6环烷氧基；

p为1或2；以及

R^A、R^B、R^C、R^D、R^E和R^F独立地为氢、C1-C3烷基、C3-C6环烷基，或者R^A和R^B、或R^C和R^D、或R^E和

R^F与它们所连接的氮原子一起结合在一起以形成任选地被1-2个卤素取代的4至6元杂环基。

2.根据权利要求1所述的化合物,其中X为N并且Y为C。

3.根据权利要求1或2所述的化合物,其中Z为N。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中R^X为氢。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的化合物,其中Q为$-CH_2-$。

6.根据权利要求1至5中任一项所述的化合物,其中R^1为卤素。

7.根据权利要求1至6中任一项所述的化合物,其中R^2为氢。

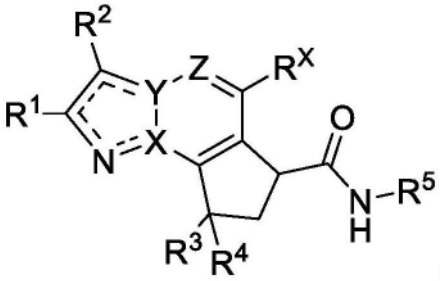
8.根据权利要求1至7中任一项所述的化合物,其中n为1。

9.根据权利要求1至8中任一项所述的化合物,其中m为1。

10.根据权利要求1至9中任一项所述的化合物,其中每个R^3独立地为卤素、C3-C6环烷基、C1-C3烷基、C1-C3卤代烷基、C1-C3烷氧基或C1-C3卤代烷氧基。

11.根据权利要求1至10中任一项所述的化合物,其中m为1,并且R^3为甲基或三氟甲基。

12.根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,其是根据式(Ic)的化合物或其药学上可接受的盐



(Ic)。

13.根据权利要求1至12中任一项所述的化合物,其中R^4是任选地被一至三个各自独立地选自R^7的取代基取代的5元或6元杂芳基。

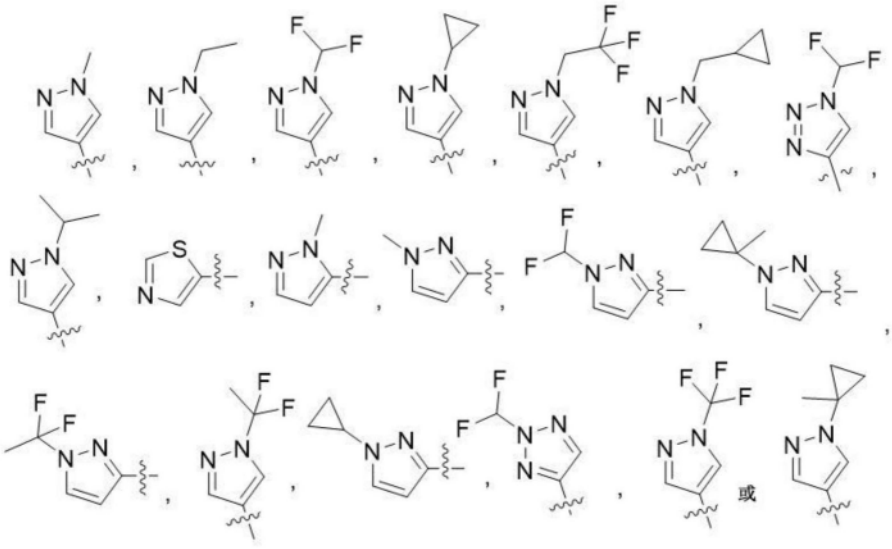
14.根据权利要求1至13中任一项所述的化合物,其中R^4是任选地被一至三个各自独立地选自R^7的取代基取代的6元杂芳基。

15.根据权利要求1至13中任一项所述的化合物,其中R^4是任选地被一至三个各自独立地选自R^7的取代基取代的5元杂芳基。

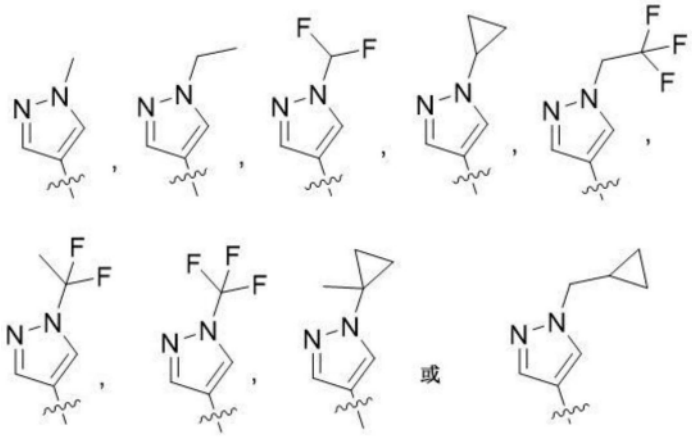
16.根据权利要求1至13和15中任一项所述的化合物,其中R^4是任选地被一至三个各自独立地选自R^7的取代基取代的4H-吡唑基、3H-吡唑基、三唑基或噻唑基。

17.根据权利要求1至16中任一项所述的化合物,其中每个R^7独立地选自由C1-C3卤代烷基、任选地被一个环丙基取代的C1-C3烷基和任选地被一个C1-C3烷基取代的C3-C7环烷基组成的组。

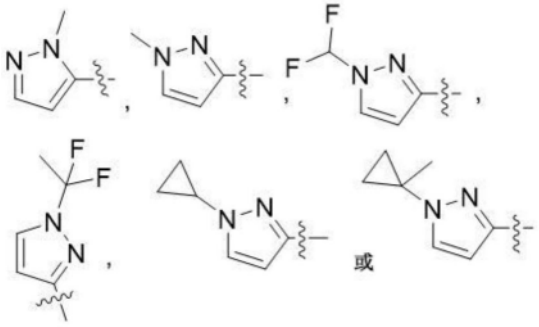
18.根据权利要求1至13和15至17中任一项所述的化合物,其中R^4为:



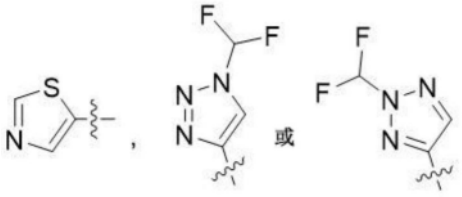
19.根据权利要求1至13和15至18中任一项所述的化合物,其中R^4为:



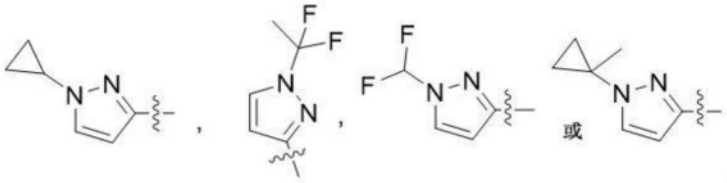
20.根据权利要求1至13和15至18中任一项所述的化合物,其中R^4为:



21.根据权利要求1至13和15至18中任一项所述的化合物,其中R^4为:



22.根据权利要求1至13、15至18和20中任一项所述的化合物,其中R^4为:



23.根据权利要求1至22中任一项所述的化合物,其中R^5任选地被1至3个独立选择的R^8取代的苯基。

24.根据权利要求1至22中任一项所述的化合物,其中R^5为任选地被1-3个独立选择的R^8取代的5至9元杂芳基。

25.根据权利要求1至22和24中任一项所述的化合物,其中R^5为被1至3个独立选择的R^8取代的5至6元杂芳基。

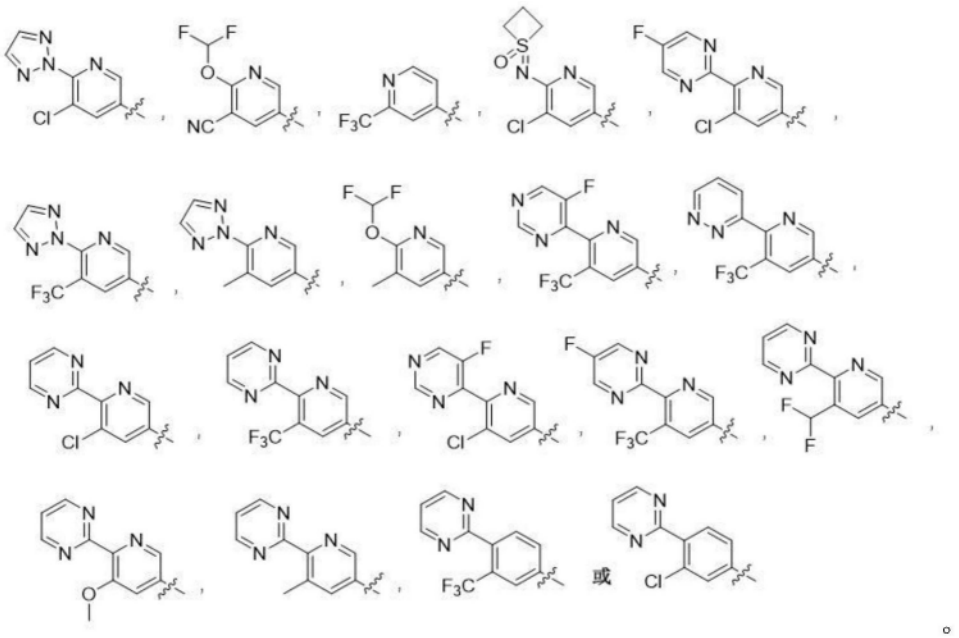
26.根据权利要求1至22、24和25中任一项所述的化合物,其中R^5是任选地被1-3个独立选择的R^8取代的3-吡啶基或4-吡啶基。

27.根据权利要求1至26中任一项所述的化合物,其中R^8中的至少一个为卤素。

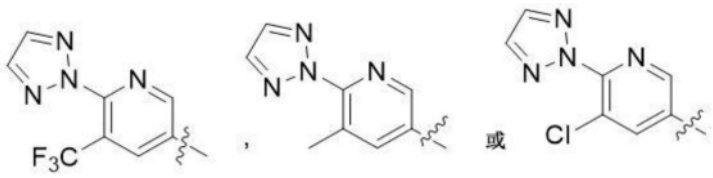
28.根据权利要求1至27中任一项所述的化合物,其中R^8中的至少一个是任选地被以下取代的5至6元杂芳基:卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、任选地被羟基或-NR^ER^F取代的C1-C3烷基、氨基或C1-C3卤代烷基。

29.根据权利要求1至28中任一项所述的化合物,其中R^8中的至少一个是任选地被以下取代的5元杂芳基:卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、任选地被羟基或-NR^ER^F取代的C1-C3烷基、氨基或C1-C3卤代烷基。

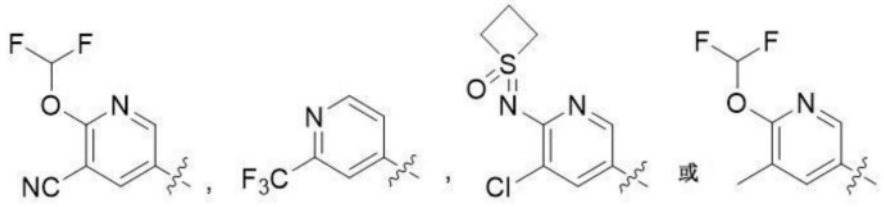
30.根据权利要求1至26中任一项所述的化合物,其中R^5为:



31.根据权利要求1至26和30中任一项所述的化合物,其中R^5为:



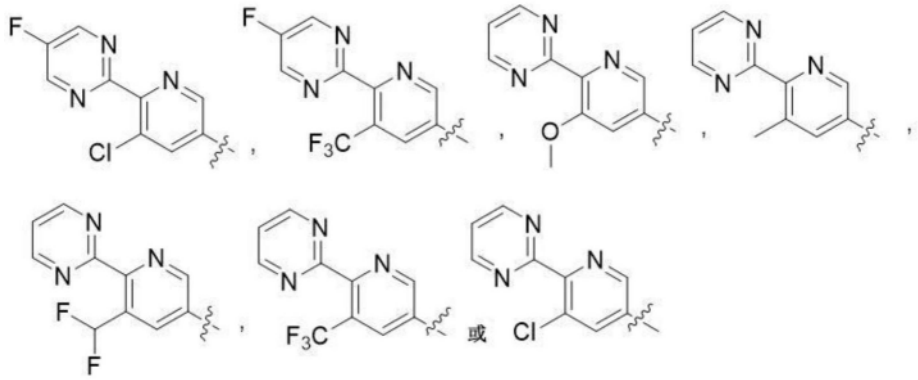
32.根据权利要求1至26和30中任一项所述的化合物,其中R^5为:



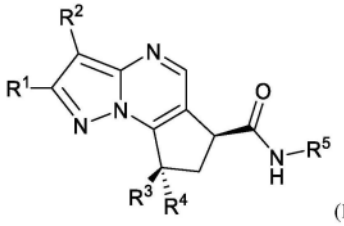
33.根据权利要求1至26和30中任一项所述的化合物,其中R^5为:



34.根据权利要求1至26和30中任一项所述的化合物,其中R^5为:

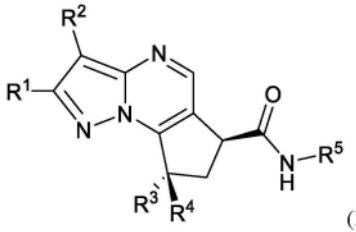


35.根据权利要求1至34中任一项所述的化合物,其是根据式(Id)的化合物或其药学上可接受的盐



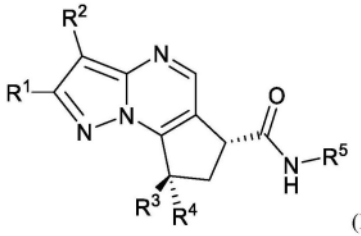
(Id)。

36.根据权利要求1至34中任一项所述的化合物,其是根据式(Ie)的化合物或其药学上可接受的盐



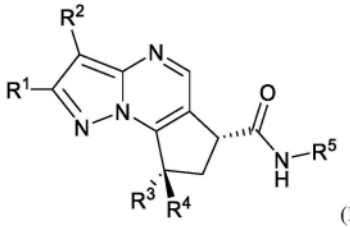
(Ie)。

37.根据权利要求1至34中任一项所述的化合物,其是根据式(If)的化合物或其药学上可接受的盐



(If)。

38.根据权利要求1至34中任一项所述的化合物,其是根据式(Ig)的化合物或其药学上可接受的盐



(Ig)。

39.根据权利要求1所述的化合物,其选自表1或其药学上可接受的盐。

40.一种药物组合物,其包含根据权利要求1至39中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,结合一种或多种药学上可接受的赋形剂。

41.一种用于治疗有此需要的受试者的癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的根据权利要求1至39中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或根据权利要求40所述的药物组合物。

42.根据权利要求41所述的方法,其中所述癌症为MALT1相关癌症。

43.根据权利要求41或42所述的方法,其中所述癌症为淋巴瘤。

44.根据权利要求43的方法,其中所述淋巴瘤为非霍奇金淋巴瘤、DLBCL、难治性DLBCL、DLBCL的(ABC)亚型、套细胞淋巴瘤(MCL)或边缘区淋巴瘤(MZL)。

45.根据权利要求41或42所述的方法,其中所述癌症为白血病。

46.根据权利要求45所述的方法,其中所述白血病为慢性淋巴细胞白血病(CLL)。

47.根据权利要求41或42所述的方法,其中所述癌症为实体瘤。

48.一种用于治疗有此需要的受试者的自身免疫性病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的根据权利要求1至39中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或根据权利要求40所述的药物组合物。

49.根据权利要求48的方法,其中所述自身免疫性病症为慢性移植物抗宿主病。

50.根据权利要求41至49中任一项所述的方法,其进一步包括向所述受试者施用另外的疗法或治疗剂。

环状化合物和其使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2022年7月22日提交的美国临时专利申请第63/391,548号的权益，该美国临时专利申请通过引用以其整体并入本文。

技术领域

[0003] 本申请涉及三环化合物，其可用于治疗诸如癌症的增殖性病症，以及自身免疫性病症和炎性病症。

背景技术

[0004] MALT1(粘膜相关淋巴组织淋巴瘤易位蛋白1)是一种细胞内蛋白，其通过NF-κB的上游信号传导参与淋巴细胞增殖，以控制淋巴细胞的活化、存活、增殖和分化。与CARMA或CARD支架蛋白(例如，CARD11(胱天蛋白酶募集结构域家族成员11，也被称为CARMA1)、CARD14(胱天蛋白酶募集结构域家族成员14，也被称为CARMA2)、CARD10(胱天蛋白酶募集结构域家族成员10，也被称为CARMA3)或CARD9(胱天蛋白酶募集结构域家族成员9))和BCL10(B细胞CLL/淋巴瘤10)一起，MALT1是在细胞表面抗原受体活化时形成的CBM复合物的三个亚基之一。参见Jaworski等人，Cell Mol Life Science 2016,73,459-473以及Juilland和Thome.Frontiers in Immunology 2018,9,1927。已知MALT1通过至少两种机制介导NF-κB信号传导：首先，MALT1充当支架蛋白，招募NF-κB信号传导蛋白，诸如TRAF6、TAB(例如TAB1、TAB2、TAB3)、TAK1和NEMO-IKKβ；其次，充当半胱氨酸蛋白酶，它裂解并使NF-κB信号传导的负调节因子(诸如RelB、A20或CYLD)失活。参见Rosebeck等人，Science,2011,331,468-472。

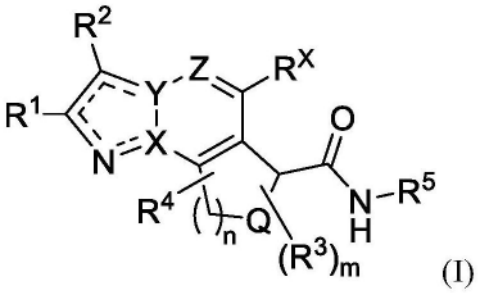
[0005] MALT1的蛋白酶活性已成为潜在的治疗靶标，尤其是在NF-κB和相关通路被认为发挥重要作用的情况下。活化的B细胞样弥漫性大B细胞淋巴瘤(ABC-DLBCL)是侵袭性淋巴瘤，其通常以NF-κB过度活化为特征，并且研究表明，MALT1蛋白酶抑制可以显著抑制高度侵袭性ABC型DLBCL的生长并促进其细胞凋亡。参见Ferch U等人，J Exp Med 2009,206,2313-2320；还参见Hailfinger S等人，Proc Natl Acad Sci USA 2009,106,19946-19951。MALT1或融合蛋白API2-MALT1的已知肽底物包括A20、CYLD、BCL10、RelB、regnase-1、roquin-1、NIK和LIMA 1a。参见Rebeaud等人，Nat Immunol 2008,9,272-281；还参见Coornaert等人，Nat Immunol 20008,9,263-271；Staal等人，EMBO J 2011,30,1742-1752；Hailfinger等人，PNAS2011,108,14596-14601；Jeltsch等人，Nat Immunol2014,15,1079-1089；Uehata等人，Cell 2013,153,1036-1049；Nie等人，Nat Commun 2015,6,5908；以及Baens等人，PLoS ONE 2014,9,e103774。MALT1底物的一种一般概况描述于以下文献中：Kasperkiewicz等人Scientific Reports 8.1(2018):1-10。

[0006] 另外地，已在ABC-DLBCL中鉴定出几种导致生成组成型活性MALT1的染色体易位，并且关于MALT1融合蛋白API2-MALT1/IgH-MALT1导致独立于上游刺激的NF-κB活化的鉴定进一步突出了这种蛋白质在癌症和各种疾病中的重要性。参见Farinha等人，J Clinical Oncology 2005,23,6370-6378。进一步地，MALT1已被证明与几种不同类型的癌症有关，例

如血液恶性肿瘤(如套细胞淋巴瘤)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)和实体瘤(如肺腺癌、乳腺癌、胰腺癌和胶质母细胞瘤)。参见Jiang等人,Cancer Research 2011,71,2183-2192;还参见Pan等人,Mol Cancer Res 2016,14,93-102,Penas等人,Blood 2010,115,2214-2219和J Cell Mol Med.2020年7月;24(13):7550-7562。MALT1作为一种免疫调节蛋白,也参与先天性和适应性免疫,并且可能对若干种炎性病症产生影响,例如,牛皮癣、多发性硬化症、类风湿性关节炎、干燥综合征、溃疡性结肠炎和由慢性炎症引起的不同类型的过敏性病症。参见Afofina等人,FEBS Journal 2015,DOI:10.1111/febs.13325;还参见Lowes等人,Ann Review Immunology 2014,32,227-255;Jabara等人,J Allergy Clin Immunology 2013,132,151-158;Streubel等人,Clin Cancer Research 2004,10,476-480;以及Liu等人,Oncotarget 2016,1-14。最近,研究结果还表明了MALT1在控制调节性T细胞(Treg)功能和体内平衡中的重要性。正在进行研究以确认MALT1抑制剂单独或与免疫检查点机制联合治疗实体瘤患者的潜力。然而,目前尚无MALT1抑制剂被批准用于治疗用途。

发明内容

[0007] 因此,本文提供了一种式(I)化合物:

[0008] 

(I)

[0009] 或其药学上可接受的盐,其中X、Y、Z、Q、n、R^X、R^1、R^2、R^3、m、R^4和R^5如本文所定义。

[0010] 本文还提供了一种药物组合物,其包括式(I)化合物或其药学上可接受的盐以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0011] 还提供了用于治疗有此需要的受试者的CBM复合物通路相关癌症的方法,所述方法包括向所述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如本文所描述的药物组合物。

[0012] 还提供了用于治疗有此需要的受试者的癌症的方法,所述方法包括:

[0013] (a)将所述癌症鉴定为CBM复合物通路相关癌症;以及

[0014] (b)向所述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如本文所描述的药物组合物。

[0015] 还提供了用于治疗有此需要的受试者的癌症的方法,所述方法包括:

[0016] 向被鉴定为患有CBM复合物通路相关癌症的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如本文所描述的药物组合物。

[0017] 还提供了用于治疗受试者的MALT1相关癌症的方法,所述方法包括向被鉴定或诊断为患有MALT1相关癌症的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如本文所描述的药物组合物。

[0018] 还提供了用于治疗有此需要的受试者的癌症的方法,所述方法包括:

[0019] (a)确定所述癌症与MALT1基因、MALT1蛋白酶或其中任一者的表达或活性或水平的失调相关;以及

[0020] (b)向所述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如本文所描述的药物组合物。

[0021] 还提供了用于抑制受试者的转移的方法,所述受试者需要此类治疗,所述方法包括向所述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如本文所描述的药物组合物。

[0022] 还提供了用于治疗有此需要的受试者的自身免疫性病症的方法,所述方法包括向所述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如本文所描述的药物组合物。

[0023] 还提供了用于治疗有此需要的受试者的CBM复合物通路相关疾病或病症的方法,所述方法包括向所述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如本文所描述的药物组合物。

[0024] 还提供了用于治疗有此需要的受试者的疾病或病症的方法,所述方法包括:

[0025] (a)将所述疾病或病症鉴定为CBM复合物通路相关疾病或病症;以及

[0026] (b)向所述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如本文所描述的药物组合物。

[0027] 还提供了用于治疗有此需要的受试者的疾病或病症的方法,所述方法包括:

[0028] 向所述受试者向被鉴定为患有CBM复合物通路相关疾病或病症的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如本文所描述的药物组合物。

[0029] 还提供了用于治疗受试者的MALT1相关自身免疫性病症的方法,所述方法包括向被鉴定或诊断为患有MALT1相关自身免疫性病症的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如本文所描述的药物组合物。

[0030] 还提供了用于治疗受试者的MALT1相关自身免疫性病症的方法,所述方法包括向被鉴定或诊断为患有MALT1相关自身免疫性病症的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如本文所描述的药物组合物。

[0031] 还提供了用于治疗有此需要的受试者的自身免疫性病症的方法,所述方法包括:

[0032] (a)确定所述自身免疫性病症与MALT1基因、MALT1蛋白酶或其中任一者的表达或活性或水平的失调相关;以及

[0033] (b)向所述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如本文所描述的药物组合物。

[0034] 还提供了用于治疗受试者的MALT1相关自身免疫性病症的方法,所述方法包括向被确定为患有MALT1相关自身免疫性病症的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如本文所描述的药物组合物。

[0035] 还提供了用于治疗有此需要的受试者的炎性病症的方法,所述方法包括向所述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如本文所描述的药物组合物。

[0036] 还提供了用于治疗受试者的MALT1相关炎性病症的方法,所述方法包括向被鉴定或诊断为患有MALT1相关炎性病症的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如本文所描述的药物组合物。

[0037] 还提供了用于治疗受试者的MALT1相关炎性病症的方法,所述方法包括向被鉴定或诊断为患有MALT1相关炎性病症的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如本文所描述的药物组合物。

[0038] 还提供了用于治疗有此需要的受试者的炎性病症的方法,所述方法包括:

[0039] (a)确定所述炎性病症与MALT1基因、MALT1蛋白酶或其中任一者的表达或活性或水平的失调相关;以及

[0040] (b)向所述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如本文所描述的药物组合物。

[0041] 还提供了用于治疗有此需要的受试者的MALT1相关炎性病症的方法,所述方法包括向被确定为患有MALT1相关炎性病症的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如本文所描述的药物组合物。

[0042] 还提供了用于抑制哺乳动物细胞的CBM复合物通路活性的方法,所述方法包括使所述哺乳动物细胞与式(I)化合物或其药学上可接受的盐接触。

[0043] 还提供了用于抑制哺乳动物细胞的MALT1蛋白酶活性的方法,所述方法包括使所述哺乳动物细胞与式(I)化合物或其药学上可接受的盐接触。

[0044] 还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐用于治疗CBM复合物通路相关疾病或病症的用途。

[0045] 还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其用于制备用于治疗CBM复合物通路相关疾病或病症的药物。

[0046] 还提供了治疗患有MALT1相关癌症的个体的方法,所述方法包含在施用其它抗癌药(例如,第一MALT1抑制剂或另一种MALT1抑制剂)之前、期间或之后,施用式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0047] 本文还提供了一种用于制备式(I)化合物或其药学上可接受的盐的工艺。

[0048] 本文还提供了一种通过如本文所定义的制备化合物的工艺获得的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0049] 除非另外定义,否则本文所使用的所有技术及科学术语均具有与本公开所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。本文描述了用于在本公开中使用的方法和材料;也可以使用本领域中已知的其它合适的方法和材料。这些材料、方法和示例仅是说明性的并且不旨在是限制性的。本文所提及的所有出版物、专利申请、专利、序列、数据库条目和其它参考文献均通过引用整体并入。在发生冲突的情况下,应以本说明书(包含定义)为准。

[0050] 本公开的其它特征以及优点通过以下详细描述以及权利要求将会变得显而易见。

具体实施方式

[0051] 如本文所使用的,术语“化合物”旨在包含所描绘结构的所有立体异构体、几何异构体、互变异构体和同位素富集的变体。除非另外说明,否则本文按名称或结构确定为一种特定互变异构形式的化合物旨在包含其它互变异构形式。

[0052] 如本文所使用的,术语“互变异构体”是指其结构在原子排列上明显不同,但是以容易且快速的平衡存在的化合物,并且应理解,本文提供的化合物可以描绘为不同的互变

异构体,并且当化合物具有互变异构体形式时,所有互变异构体形式都意图在本公开的范围内,并且化合物的命名不排除任何互变异构体。以下是包含的互变异构形式的实例:

[0053] 

[0054] 应当理解,本文提供的某些化合物可以含有一个或多个不对称中心,并且因此可以以异构体的混合物(如外消旋混合物)或对映异构体纯的形式进行制备和分离。

[0055] 术语“卤代或卤素”是指元素周期表第17族的卤素之一。具体地,此术语是指氟、氯、溴和碘。优选地,此术语是指氟或氯。

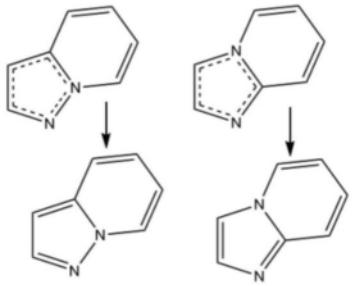
[0056] 术语“C1-C6烷基”是指含有1个、2个、3个、4个、5个或6个碳原子的直链或支链烃链,例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基和正己基。类似地,C1-C3烷基是含有1个、2个或3个碳原子的直链或支链烃链。

[0057] 术语“C1-C6卤代烷基”是指被至少一个在每次出现时独立选择的卤素原子(例如氟、氯、溴和碘)取代的烃链。卤素原子可以存在于烃链上的任何位置。类似地,C1-C3卤代烷基是含有被至少一个卤素原子取代的1个、2个或3个碳原子的直链或支链烃链。例如,C1-C3卤代烷基可以指氯甲基、氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、氯乙基(例如1-氯乙基和2-氯乙基)、三氯乙基(例如1,2,2-三氯乙基、2,2,2-三氯乙基)、氟乙基(例如1-氟甲基和2-氟乙基)、三氟乙基(例如1,2,2-三氟乙基和2,2,2-三氟乙基)、氯丙基、三氯丙基、氟丙基、三氟丙基。

[0058] 术语“C1-C3烷氧基”是指通过氧与分子连接的C1-C3烷基基团。这包括其中烷基部分可以是直链或支链的部分,诸如甲氧基、乙氧基、正丙氧基和异丙氧基。

[0059] 术语“C1-C3卤代烷氧基”是指C1-C3烷基基团,其通过氧与分子连接并且其中烷基基团的至少一个氢原子被卤素替换。这包含烷基部分可以是直链或支链的部分,如氟甲氧基、二氟甲氧基、三氟甲氧基、2,2,2-三氟乙氧基或三氟丙氧基。

[0060] 在化合价允许时,表示单键或双键。例如,

[0061] 

[0062] 如本文所使用的,术语“氰基”是指-CN基团。

[0063] 如本文所使用的,术语“羟基”是指-OH基团。

[0064] 如本文所使用的,术语“氨基”是指-NH_2基团。

[0065] 如本文所使用的,术语“芳基”是指6-10个全碳单环或双环基团,其中系统中的至少一个环是芳香族的。芳基的非限制性实例包含苯基、萘基、四氢萘基。在其中只有一个环是芳香族的双环系统中,非芳香族环可以是如本文所定义的环烷基基团。

[0066] 如本文所使用的,术语“杂芳基”是指5至10元或5至9元单环或双环基团,其中系统中的至少一个环是芳香族的;其中系统中的至少一个环中的一个或多个碳原子被独立地选自N、O和S的杂原子替换。杂芳基基团包括其中一个或多个原子被氧化的环(例如,碳、氮和

硫),诸如吡啶酮部分。杂芳基基团的非限制性实例包括吡啶、嘧啶、哒嗪、嘧啶酮、吡咯、吡唑、咪唑、三唑、噻唑和吲哚。在其中只有一个环是芳香族的双环系统中,非芳香族环可以是如本文所定义的环烷基或杂环基基团。

[0067] 如本文所使用的,术语“环烷基”是指饱和或部分不饱和的3-10或3-7单环或双环烃基团,或3-6元单环烃基团;其中双环系统包括稠环系统、螺环系统(任选地称为“螺环烷基”基团)和桥环系统。环烷基的非限制性实例包含环丙基、环己基、螺[2.3]己基和双环[1.1.1]戊基。

[0068] 术语“杂环基”是指饱和或部分不饱和的3至12元、3至8元或4至6元烃单环或双环系统,其不是芳香族的,在环内具有至少一个选自N、O和S的杂原子。双环杂环基基团包含稠环系统、螺环系统(任选地被称为“螺杂环基”基团)和桥环系统。杂环基环系统可以在一个或多个C、N或S环成员处包含氧基取代。杂环基可以表示为例如“5至10元杂环基”,其是含有5个、6个、7个、8个、9个或10个原子的环系统,其中至少一个原子是杂原子。例如,可以存在1个、2个或3个杂原子,任选地1个或2个。杂环基可以通过任何碳原子或通过如氮等杂原子与分子的其余部分键合。示例性杂环基包含但不限于哌啶基、哌嗪基、吗啉基、四氢吡喃基、氮杂环丁烷基、氧杂环丁基、2-氮杂螺[3.3]庚烷基、吡咯烷-2-酮、环丁砜、异噻唑啉S,S-二氧化物和十氢萘基。

[0069] 如本文所使用的,术语“氧基”是指连接至碳原子的“=O”基团。

[0070] 如本文所使用的,符号 描绘了原子或部分与分子的其余部分中的指定原子或基团的连接点。

[0071] 应当理解,式(I)化合物中包括原子X、Y和Z的环不包含多于两个相邻的氮原子。

[0072] 式(I)化合物包含其药学上可接受的盐。另外,式(I)化合物还包含此类化合物的其它盐,其不一定是药学上可接受的盐,并且可以用作用于制备和/或纯化式(I)化合物和/或用于分离式(I)化合物的对映异构体的中间体。式(I)化合物的药学上可接受的盐的非限制性实例包含三氟乙酸盐和盐酸盐。

[0073] 将进一步理解,可以以溶剂化物的形式分离式(I)化合物或其盐,并且因此任何此类溶剂化物都包含在本公开的范围内。例如,式(I)化合物及其盐可以与药学上可接受的溶剂(如水、乙醇等)一起以未溶剂化形式和溶剂化形式存在。

[0074] 在一些实施例中,式(I)化合物包含实例1-196的化合物及其立体异构体和药学上可接受的盐。在一些实施例中,式(I)化合物包含实例1-196的化合物及其药学上可接受的盐。在一些实施例中,实例1-196的化合物呈游离碱形式。在一些实施例中,实例1-196的化合物呈药学上可接受的盐的形式。

[0075] 术语“药学上可接受的”表示此化合物或其盐或组合物在化学和/或毒理学上与构成调配物的其它成分和/或用所述调配物治疗的受试者相容。

[0076] 保护基团可以是保护潜在反应性官能团免受不期望的化学转化影响的临时取代基。所使用的特定保护基团的选择完全在本领域普通技术人员的技能范围内。许多考虑因素可以决定保护基团的选择,包含但不限于被保护的官能团、分子中存在的其它官能团、合成序列每个步骤的反应条件、分子中存在的其它保护基团、官能团对去除保护基团所需的条件的耐受性,以及本文提供的化合物热分解的反应条件。保护基团化学的领域已经有综述(Greene,T.W.和Wuts,P.G.M.Protective Groups in Organic Synthesis,2.sup.编辑

Wiley:New York,1991)。

[0077] 氮保护基团可以是保护胺部分免受不期望的化学转化影响的任何临时取代基。当此类保护基团与胺键合时形成的部分的实例包括但不限于烯丙胺、苄胺(例如,苄胺、对-甲氧基苄胺、2,4-二甲氧基苄胺和三苯甲胺)、乙酰胺、三氯乙酰胺、三氟乙酰胺、戊-4-烯酰胺、邻苯二甲酰亚胺、氨基甲酸酯(例如,氨基甲酸甲酯、氨基甲酸叔丁酯、氨基甲酸苄酯、氨基甲酸烯丙酯、氨基甲酸2,2,2-三氯乙基酯和氨基甲酸9-芴基甲酯)、亚胺和磺酰胺(例如,苯磺酰胺、对甲苯磺酰胺和对硝基苯磺酰胺)。

[0078] 氧保护基团可以是保护羟基部分免受不期望的化学转化影响的任何临时取代基。当此类保护基团与羟基键合时形成的部分的实例包括但不限于酯(例如,乙酰基、叔丁基羰基和苯甲酰基)、苄基(例如,苄基、对甲氧基苄基和2,4-二甲氧基苄基和三苯甲基)、碳酸酯(例如,碳酸甲酯、碳酸烯丙酯、碳酸2,2,2-三氯乙酯和碳酸苄酯)缩酮、和缩醛以及醚。

[0079] 本文提供的化合物还可以在构成此类化合物的一个或多个原子上含有非天然比例的原子同位素。也就是说,原子(尤其是当关于式(I)化合物提及时)包括此原子的所有同位素和同位素混合物,这些同位素或同位素混合物是天然存在的或合成产生的,具有天然丰度或呈同位素富集的形式。例如,当提及氢时,应理解为是指^{1}H、^{2}H、^{3}H或其混合物;当提及碳时,应理解为是指^{11}C、^{12}C、^{13}C、^{14}C或其混合物;当提及氮时,应理解为是指^{13}N、^{14}N、^{15}N或其混合物;当提到氧时,应理解为是指^{14}O、^{15}O、^{16}O、^{17}O、^{18}O或其混合物;当提及氟时,应理解为是指^{18}F、^{19}F或其混合物;除非另有明确说明。例如,在氘烷基和氘烷氧基基团中,其中一个或多个氢原子被氘(^{2}H)特异性地替换。由于一些上述同位素是放射性的,因此本文提供的化合物还包括具有一个或多个原子的一个或多个同位素及其混合物的化合物,包含放射性化合物,其中一个或多个非放射性原子已被其富放射性同位素之一替换。放射性标记的化合物可用作治疗剂,例如癌症治疗剂、研究试剂(例如,测定试剂)和诊断剂(例如,体内成像剂)。本文提供的化合物的所有同位素变化,不论是放射性的还是非放射性的,均旨在涵盖在本公开的范围内。

[0080] 出于说明性目的,本文提供了用于制备化合物的一般方法以及关键中间体。关于各个反应步骤的更详细说明,请参见下文实例部分。本领域技术人员将理解,可以使用其它合成途径来合成本发明的化合物。尽管在方案中描述了特定的起始材料和试剂,并在下文进行了讨论,但也可以轻松取代其它起始材料和试剂,以提供多种衍生物和/或反应条件。另外,根据本公开,可以使用本领域技术人员熟知的常规化学方法进一步修饰通过下述方法制备的许多化合物。

[0081] 所选的化合物充当MALT1抑制剂的能力可以通过本文所述的生物学测定法来证明。IC_{50}值在表A中示出。

[0082] 式(I)化合物或其药学上可接受的盐可用于治疗可以用MALT1抑制剂治疗的疾病和病症,如MALT1相关癌症,包含血液癌症和实体瘤、MALT1相关自身免疫性病症以及MALT1相关炎性病症。

[0083] 如本文所使用的,术语“治疗(treat或treatment)”是指治疗性或减缓性措施。有益或期望的临床结果包含但不限于完全或部分地缓解与疾病或病症或病状相关的症状、减轻疾病程度、稳定疾病状态(即,不恶化)、延迟或减慢疾病的进展、改善或减轻疾病状态(例如,一种或多种疾病症状)以及缓解(无论是部分还是全部),无论是可检测的还是不可检测

的。“治疗”还可以意味着与未接受治疗的情况下的预期生存期相比,生存期延长。

[0084] 如本文所使用的,术语“受试者”是指任何动物,包含哺乳动物,如人。在一些实施例中,受试者是人。在一些实施例中,受试者已经经历和/或表现出待治疗和/或预防的疾病或病症的至少一种症状。

[0085] 如本文所使用的,术语“儿科受试者”是指在诊断或治疗时未满21岁的受试者。术语“儿科”可以进一步被分为不同的亚群,包括:新生儿(从出生到生命的第一个月);婴儿(1个月直至2岁);儿童(2岁直至12岁);以及青少年(12岁到21岁(直至但不包括二十二岁生日))。Berhman RE、Kliegman R、Arvin AM、Nelson WE.Nelson Textbook of Pediatrics,第15版Philadelphia:W.B.Saunders Company,1996;Rudolph AM等人Rudolph's Pediatrics,第21版New York:McGraw-Hill,2002;以及Avery MD,FirstLR.Pediatric Medicine,第2版Baltimore:Williams&Wilkins;1994。在一些实施例中,儿科受试者的年龄为从出生到生命的前28天、从29天到两岁以下、从两岁到12岁以下或从12岁到21岁(至多但不包含二十二岁生日)。在一些实施例中,儿科受试者的年龄为从出生到生命的前28天、从29天到1岁以下、从一个月到四个月以下、从三个月到七个月以下、从六个月到1岁以下、从1岁到2岁以下、从2岁到3岁以下、从2岁到七岁以下、从3岁到5岁以下、从5岁到10岁以下、从6岁到13岁以下、从10岁到15岁以下或从15岁到22岁以下。

[0086] 在某些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐可用于预防本文所定义的疾病和病症(例如,自身免疫性病症、炎性病症和癌症)。如本文所使用的,术语“预防”是指完全或部分地预防本文所述的疾病或病状的发作、复发或扩散或其症状。

[0087] 术语“监管机构”是指国家的机构,用于批准此国家药剂的医疗用途。例如,管理机构的非限制性实例是美国食品和药物管理局(FDA)。

[0088] 通过NF-κB通路的信号传导与许多癌症有关。参见例如,Staudt,Cold Spring Harbor Perspectives in Biology 2.6(2010):a000109,Xia等人Cancer Immunol.Res.2.9(2014):823-830,Xia等人OncoTargets and Therapy 11(2018):2063。NF-κB是一个转录因子家族,包含p50、p52、p65(RelA)、RelB和c-Rel,其可以作为各种同源和异源二聚体与kB增强子元件结合以诱导许多基因的转录。在某些细胞表面受体(例如,CD28、BCR、HER1(也被称为EGFR(表皮生长因子受体)和ERBB1)或HER2(也被称为HER2/neu或ERBB2))活化后,通过CARD或CARMA蛋白,可能是通过蛋白激酶C(例如,蛋白激酶Cβ或蛋白激酶Cθ)的磷酸化以及BCL10-MALT1复合物的募集形成CBM复合物。参见例如,Xia等人OncoTargets and Therapy 11(2018):2063,Shi和Sun.Mol.Immunol.68.2(2015):546-557,Xia等人Cancer Immunol.Res.2.9(2014):823-830,以及Pan,Mol.Cancer Res.14.1(2016):93-102。

[0089] 如上文所述,CBM复合物可以作为支架蛋白在NF-κB通路的活化中发挥作用。形成后,CBM复合物可以活化IKK复合物(例如,IKKγ(也被称为NEMO)、IKKα和IKKβ),可能是通过MALT1的泛素化(例如,K63连接的泛素化),其引起IKKγ的募集、泛素化(例如,K63连接的泛素化)和降解,从而释放IKKα和IKKβ以使IκB磷酸化,从而引起IκB的泛素化(例如,K48连接的泛素化)和降解,从而将NF-κB转录因子(通常是NF-κB1亚型:p50-RelA和p50-cRel)释放到细胞核。此级联反应可能由泛素连接酶TRAF6(肿瘤坏死因子受体(TNFR)相关因子6)介导。CBM复合物还可能通过另外的蛋白质复合物来影响NF-κB信号传导,如TAB1/2-TAK和线

性泛素链组装复合物(LUBAC)。参见例如,Israël,Cold Spring Harbor Perspectives in Biology 2.3(2010):a000158,Xia等人OncoTargets and Therapy 11(2018):2063,Juilland,Front.Immunol.9(2018):1927。MALT1还可以活化JNK通路(也被称为JNK/AP-1通路),尽管对此领域的研究工作较少。参见例如,Juilland,Front.Immunol.9(2018):1927,以及Wang等人,Oncogenesis 6.7(2017):e365-e365。

[0090] 此外,MALT1具有半胱氨酸蛋白酶活性。野生型MALT1底物的非限制性实例包含BCL10、A20、CYLD、RelB、Regnase 1、roquin-1和HOIL1。此外,API2-MALT1(也称为cIAP2;凋亡抑制剂2的氨基末端)融合蛋白也已经被证明可切割NIK和LIMA1α。MALT1对BCL10的切割被认为会导致BCL10非依赖性NF-κB活化。通过切割A20(TNFα诱导蛋白3),MALT1可以减少NF-κB通路的负调节,因为A20是一种去泛素化酶,其已被建议减少MALT1的泛素化,从而减少IKK复合物的募集和活化。CYLD(CYLD赖氨酸63去泛素酶)是一种去泛素化酶,并且通过切割此酶,据信MALT1通过NF-κB通路和/或JNK通路增加信号传导。RelB的切割通常会缓解NF-κB通路的负调节,因为RelB与RelA和c-Rel形成转录无活性的复合物。通过切割HOIL1(也被称为RBCK1),据信NF-κB的负调节得到缓解,因为HOIL1被认为可以减少线性泛素化。MALT1还可以自动加工,通过一种尚未完全了解的机制促进通过NF-κB通路的信号传导。通过切割NIK(NF-κB诱导激酶),API2-MALT1蛋白酶生成NIK的c端片段,所述片段对蛋白酶体降解具有抗性,从而增加非经典NF-κB信号传导。通过切割LIMA1α(LIM结构域和肌动蛋白结合蛋白1),此蛋白的肿瘤抑制性质减轻,并且据信剩余的片段具有致癌性质并增强细胞增殖、集落形成和细胞粘附。Regnase 1(调节性RNase 1,也被称为MCPIP-1或Zc3h12a)和roquin-1(也被称为RC3H1)的切割被认为会导致mRNA的稳定,包含细胞因子、趋化因子和共刺激蛋白(如ICOS、OX40和TNF)的mRNA的稳定。这种活性可能独立于NF-κB和JNK通路中的MALT1活性。参见例如,Afonina等人FEBS J.282.17(2015):3286-3297Klein等人Nat.Comm.6.1(2015):1-17,Baens等人PloS one 9.8(2014):e103774,以及Juilland,Front.Immunol.9(2018):1927。MALT1还参与依鲁替尼反应细胞系和活检样品中的致癌BCR信号传导,由MYD88、TLR9和BCR形成的多蛋白超复合物(以下称为My-T-BCR超复合物)协调。My-T-BCR超复合物与mTOR共定位在内溶酶体上,在此处,其驱动促生存的NF-κB和mTOR信号传导。参见Phelan等人,Nature,2018年8月;560(7718):387-391。

[0091] 因此,MALT1的抑制可以为与NF-κB通路或JNK通路中的异常信号传导相关的许多类型的病症提供有益效果。例如,抑制MALT1可以减少通过NF-κB或JNK通路的通量,所述通量由以下一项或多项引起:

[0092] (1)灭活的肿瘤抑制基因。可以被灭活的肿瘤抑制基因的非限制性实例包含BRCA1和p53(例如,p53 H61L或I123T)。参见例如,Sau等人Cell Stem Cell 19.1(2016):52-65,Xia等人Cancer Immunol.Res.2.9(2014):823-830,Johansson等人Oncotarget 7.38(2016):62627。

[0093] (2)失调的细胞表面受体。细胞表面受体的非限制性实例包含HER1和HER2。参见例如,Xia等人Cancer Immunol.Res.2.9(2014):823-830,以及Pan,Mol.Cancer Res.14.1(2016):93-102。

[0094] (3)CBM复合物的一种或多种组分的失调。CBM复合物的组分的非限制性实例包含MALT1、CARD11、CARD14、CARD10、CARD9和BCL10。

[0095] (4)一种或多种MALT1蛋白酶底物的失调(例如,野生型MALT1蛋白酶或失调的MALT1蛋白酶)。MALT1蛋白酶底物的非限制性实例包含BCL10、A20、CYLD、RelB、Regnase 1、roquin-1、HOIL1、NIK和LIMA1α。

[0096] (5)CBM复合物下游的NF-κB通路的一种或多种组分的失调。CBM复合物下游的NF-κB通路的组分的非限制性实例包含TRAF6、IKKα、IKKβ、IKKγ(也被称为NEMO)、IkBα、p50、p52、p65(RelA)、RelB和c-Rel。

[0097] (6)CBM复合物下游的JNK通路的一种或多种组分的失调。CBM复合物下游的JNK通路的组分的非限制性实例包含JNK1(丝裂原活化的蛋白激酶8)、JNK2(丝裂原活化的蛋白激酶9)、JNK3(丝裂原活化的蛋白激酶10)或AP-1转录因子(例如,c-Fos、c-Jun、ATF或JDP家族中任一种的异二聚体)。

[0098] (7)MALT1基因染色体易位引起的一种或多种融合蛋白的失调。非限制性实例包含cIAP-MALT1融合蛋白。

[0099] (8)My-T-BCR超复合物的一种或多种组分的失调。My-T-BCR超复合物的组分的非限制性实例包含MYD88、TLR9和mTOR。

[0100] 如本文相关的术语“CBM复合物通路”包含信号传导通路中的基因、转录物和蛋白质,所述信号传导通路包含CBM。例如,NF-κB通路的许多方面都是CBM复合物通路的一部分。CBM复合物通路可以包含,例如,细胞表面受体(例如,CD28、BCR、HER1和HER2)、细胞表面受体与CBM复合物(例如,蛋白激酶Cβ或蛋白激酶Cθ)之间的信号转导器、CBM复合物的组分(例如,MALT1、CARD11、CARD14、CARD10、CARD9或BCL10)、MALT1蛋白酶的底物(例如,BCL10、A20、CYLD、RelB、Regnase 1、roquin-1、HOIL1、NIK和LIMA1α)、CBM复合物下游的NF-κB通路的组分(例如,TAK1、TRAF6、TAB1、TAB2、TAB3、MKK7、IKKα、IKKβ、IKKγ、IkBα、p50、p65(RelA)或c-Rel)、CBM复合物下游的JNK通路的组分(例如,JNK1、JNK2、JNK3或AP-1转录因子)或My-T-BCR超复合物的组分(例如,MYD88、TLR9或mTOR)。

[0101] 如本文所使用的,术语“CBM复合物通路相关疾病或病症”是指与CBM复合物通路中的基因、CBM复合物通路中的蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,如本文所述,CBM复合物通路中的基因、CBM复合物通路中的蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的疾病或病症。CBM复合物通路相关疾病或病症的非限制性实例包括,例如,CBM相关原发性免疫缺陷疾病、自身免疫性病症、多发性硬化症、结肠炎、牛皮癣和癌症。参见例如,McGuire等人J.Neuroinflamm.11.1(2014):1-12,Lu等人,Front.Immunol.9(2018):2078,Jaworski等人,EMBO J.33.23(2014):2765-2781。CBM复合物通路相关疾病或病症的非限制性实例包含MALT1相关疾病或病症,如MALT1相关癌症、MALT1相关自身免疫性病症和MALT1相关炎性病症。

[0102] 如本文所使用的,术语“CBM复合物通路相关自身免疫性病症”是指与CBM复合物通路基因、CBM复合物通路蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的CBM复合物通路基因、CBM复合物通路蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的自身免疫性病症。本文描述了CBM复合物通路相关自身免疫性病症的非限制性实例。

[0103] 如本文所使用的,术语“CBM复合物通路相关炎性病症”是指与CBM复合物通路基因、CBM复合物通路蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关联或

具有失调(例如,本文所述的CBM复合物通路基因、CBM复合物通路蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的炎性病症。本文描述了CBM复合物通路相关炎性病症的非限制性实例。

[0104] 在一些实施例中,CBM复合物通路相关疾病或病症是CBM复合物通路相关癌症,如CBM复合物通路细胞表面受体相关癌症(例如,CD28相关癌症、BCR相关癌症、HER1相关癌症或HER2相关癌症),与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导器相关的癌症(例如,蛋白激酶Cβ(PKCβ)相关癌症或蛋白激酶Cθ(PCKθ)相关癌症)、CBM复合物相关癌症的组分(例如,MALT1相关癌症、CARD11相关癌症、CARD14相关癌症、CARD10相关癌症、CARD9相关癌症或BCL10相关癌症)、MALT1蛋白酶底物相关癌症(例如,BCL10相关癌症、A20相关癌症、CYLD相关癌症、RelB相关癌症、Regnase1相关癌症、roquin-1相关癌症、HOIL1相关癌症、NIK相关癌症或LIMA1α相关癌症)、与CBM复合物下游的NF-κB通路的组分相关的癌症(例如,TAK1相关癌症、TRAF6相关癌症、TAB1相关癌症、TAB2相关癌症、TAB3相关癌症、MKK7相关癌症、IKKα相关癌症、IKKβ相关癌症、IKK γ 相关癌症、IkBα相关癌症、p50相关癌症、p65(RelA)相关癌症或c-Rel相关癌症)、与CBM复合物下游的JNK通路的组分相关的癌症(例如,JNK1相关癌症、JNK2相关癌症、JNK3相关癌症或AP-1转录因子相关癌症)、MYD88相关癌症或其组合。

[0105] 如本文所使用的,术语“CBM复合物通路相关癌症”是指与CBM复合物通路中的基因、CBM复合物通路中的蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,如本文所述,CBM复合物通路中的基因、CBM复合物通路中的蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)(例如,在诊断后或对先前疗法产生抗性后)的癌症。本文描述了CBM复合物通路相关癌症的非限制性实例。在一些实施例中,CBM复合物通路相关癌症可以是CBM复合物通路细胞表面受体相关癌症(例如,CD28相关癌症、BCR相关癌症、HER1相关癌症或HER2相关癌症),与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导器相关的癌症(例如,蛋白激酶Cβ(PKCβ)相关癌症或蛋白激酶Cθ(PCKθ)相关癌症)、CBM复合物相关癌症的组分(例如,MALT1相关癌症、CARD11相关癌症、CARD14相关癌症、CARD10相关癌症、CARD9相关癌症或BCL10相关癌症)、MALT1蛋白酶底物相关癌症(例如,BCL10相关癌症、A20相关癌症、CYLD相关癌症、RelB相关癌症、Regnase 1相关癌症、roquin-1相关癌症、HOIL1相关癌症、NIK相关癌症或LIMA1α相关癌症)、与CBM复合物下游的NF-κB通路的组分相关的癌症(例如,TAK1相关癌症、TRAF6相关癌症、TAB1相关癌症、TAB2相关癌症、TAB3相关癌症、MKK7相关癌症、IKKα相关癌症、IKKβ相关癌症、IKK γ 相关癌症、IkBα相关癌症、p50相关癌症、p65(RelA)相关癌症或c-Rel相关癌症)、与CBM复合物下游的JNK通路的组分相关的癌症(例如,JNK1相关癌症、JNK2相关癌症、JNK3相关癌症或AP-1转录因子相关癌症)或其组合。

[0106] 在一些实施例中,失调可以是导致基因、蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平异常活化的失调。活化可以通过任何适当的机制进行,包含但不限于基因扩增、活化突变、活化易位、转录活化、表观遗传改变和/或癌基因的蛋白质产物的过表达。在一些实施例中,失调可以是导致基因、蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平异常失活的失调。失活可以通过任何适当的机制进行,包含但不限于基因缺失、失活突变、失活易位、转录沉默、表观遗传改变和基因的mRNA和/或蛋白质产物的降解。通常,如本文所使用的,失调(无论是活化还是失活)是导致通过NF-κB或JNK信号传导通路的信号传导增加的失调。

[0107] 术语“野生型”描述在不患有与核酸或蛋白质(例如,MALT1基因、MALT1 mRNA或MALT1蛋白)相关的疾病或病症(并且任选地也不具有患与核酸或蛋白质相关的疾病或病症的增加风险和/或未被怀疑患有与基因或蛋白质相关的疾病或病症)的受试者中发现,或在来自不患有与基因或蛋白质相关的疾病或病症(例如,MALT1相关癌症、自身免疫性病症或炎性病症)(并且任选地也不具有患与核酸或蛋白质相关的疾病或病症的增加风险和/或未被怀疑患有与核酸或蛋白质相关的疾病或病症)的受试者的细胞或组织中发现的核酸(例如,MALT1基因或MALT1 mRNA)或蛋白质(例如,MALT1蛋白)。

[0108] 在一些实施例中,受试者已被鉴定或诊断为患有具有CBM复合物通路相关基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物通路相关蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调的癌症(CBM复合物通路相关癌症)(例如,如使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定或试剂盒所确定的)。在一些实施例中,受试者患有对一种或多种先前疗法具有抗性的癌症。在一些实施例中,受试者患有针对CBM复合物通路相关基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物通路相关蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调呈阳性的肿瘤(例如,如使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定或试剂盒所确定的)。所述受试者可以是具有针对CBM复合物通路相关基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物通路相关蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调呈阳性的肿瘤的受试者(例如,使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定或试剂盒鉴定为阳性)。所述受试者可以是其肿瘤具有CBM复合物通路相关基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物通路相关蛋白质(例如,MALT1蛋白)或二者的表达或活性或水平的失调的受试者(例如,在使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定或试剂盒鉴定肿瘤的情况下)。在一些实施例中,受试者患有对一种或多种先前疗法具有抗性的肿瘤。在一些实施例中,受试者疑似患有CBM复合物通路相关癌症。在一些实施例中,受试者患有疑似对一种或多种先前疗法具有抗性的肿瘤。在一些实施例中,受试者具有临床记录,所述临床记录表明所述受试者患有肿瘤,所述肿瘤具有CBM复合物通路相关基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物通路相关蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调(并且任选地,所述临床记录表明应该用本文提供的任何组合物治疗所述受试者)。在一些实施例中,受试者是儿科受试者。在一些实施例中,受试者具有临床记录,所述临床记录表明所述受试者患有对一种或多种先前疗法具有抗性的肿瘤。在一些实施例中,受试者已被鉴定或诊断为患有癌症,所述癌症基于组织学检查被确定为与CBM复合物通路相关基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物通路相关蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调相关联(CBM复合物通路相关癌症)。

[0109] 在一些实施例中,受试者已被鉴定或诊断为患有具有CBM复合物通路相关基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物通路相关蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调的自身免疫性病症(CBM复合物通路相关自身免疫性病症)(例如,如使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定或试剂盒所确定的)。在一些实施例中,受试者患有针对CBM复合物通路相关基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物通路相关蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调呈阳性的肿瘤(例如,如使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定或试剂盒所确定的)。在一些实施例中,受试者疑似患有CBM复合物通路相关自身免疫性病症。在一些实施例中,受试者具有临床记录,所述临床记录表明所述受试者患有肿瘤,所述肿瘤具有CBM复合物通路相关基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物通路相

关蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调(并且任选地,所述临床记录表明应该用本文提供的任何组合物治疗所述受试者)。在一些实施例中,受试者是儿科受试者。在一些实施例中,受试者已被鉴定或诊断为患有自身免疫性病症,所述自身免疫性病症基于组织学检查被确定为与CBM复合物通路相关基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物通路相关蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调相关联(CBM复合物通路相关自身免疫性病症)。

[0110] 在一些实施例中,受试者已被鉴定或诊断为患有具有CBM复合物通路相关基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物通路相关蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调的炎性病症(CBM复合物通路相关炎性病症)(例如,如使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定或试剂盒所确定的)。在一些实施例中,受试者患有针对CBM复合物通路相关基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物通路相关蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调呈阳性的肿瘤(例如,如使用监管机构批准(例如,FDA批准)的测定或试剂盒所确定的)。在一些实施例中,受试者疑似患有CBM复合物通路相关炎性病症。在一些实施例中,受试者具有临床记录,所述临床记录表明所述受试者患有肿瘤,所述肿瘤具有CBM复合物通路相关基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物通路相关蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调(并且任选地,所述临床记录表明应该用本文提供的任何组合物治疗所述受试者)。在一些实施例中,受试者是儿科受试者。在一些实施例中,受试者已被鉴定或诊断为患有炎性病症,所述炎性病症基于组织学检查被确定为与CBM复合物通路相关基因(例如,MALT1基因)、CBM复合物通路相关蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调相关联(CBM复合物通路相关炎性病症)。

[0111] 如本文所使用的,术语“CBM复合物通路细胞表面受体相关癌症”是指与基因、蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关联或具有失调的癌症,所述失调与CBM复合物通路细胞表面受体相关。在一些实施例中,CBM复合物通路细胞表面受体相关癌症选自由以下组成的组:CD28相关癌症、BCR相关癌症、HER1相关癌症、HER2相关癌症及其组合。

[0112] 如本文所使用的,术语“*相关癌症”是指与*基因、*蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关联或具有失调(例如,本文所述的*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症,其中“*”指本文所述的特定CBM复合物通路基因或蛋白质。在一些实施例中,*相关癌症选自由以下组成的组:CD28相关癌症、BCR相关癌症、HER1相关癌症、HER2相关癌症、PKCβ相关癌症、PKCθ相关癌症、MALT1相关癌症、CARD11相关癌症、CARD14相关癌症、A20相关癌症、CYLD相关癌症、RelB相关癌症、HOIL1相关癌症、NIK相关癌症、Regnase1相关癌症、LIMA1α相关癌症、roquin-1相关癌症、TRAF6相关癌症、TAK1相关癌症、TAB1相关癌症、TAB2相关癌症、TAB3相关癌症、MKK7相关癌症、IKKα相关癌症、IKKβ相关癌症、IKKγ相关癌症、IkBα相关癌症、p50相关癌症、p65相关癌症、c-Rel相关癌症、JNK1相关癌症、JNK2相关癌症、JNK3相关癌症、MYD88转录因子相关癌症和AP-1转录因子相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是CD28相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是BCR相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是HER1相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是HER2相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是PKCβ相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是PKCθ相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是MALT1相关癌症。在一些实

施例中,*相关癌症是CARD11相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是CARD14相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是A20相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是CYLD相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是RelB相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是HOIL1相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是NIK相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是Regnase 1相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是LIMA1α相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是roquin-1相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是TRAF6相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是TAK1相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是TAB1相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是TAB2相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是TAB3相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是MKK7相关癌症和IKKα相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是IKKβ相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是IKK γ 相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是IkBα相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是p50相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是p65相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是c-Rel相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是JNK1相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是JNK2相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是JNK3相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是AP-1转录因子相关癌症。在一些实施例中,*相关癌症是MYD88转录因子相关癌症。

[0113] 短语“*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的失调”(其中*是本文所述的特定CBM复合物通路基因或蛋白质)是指(例如,与对照非癌细胞相比)哺乳动物细胞中野生型*蛋白质的基因突变(例如,染色体易位,其引起包含*结构域和融合伴侣的融合蛋白的表达;*基因中的突变,其引起与野生型*蛋白质相比包含至少一个氨基酸缺失的*蛋白质的表达;*基因中的突变,其引起与野生型*蛋白质相比具有一个或多个点突变的*蛋白质的表达;*基因中的突变,其引起与野生型*蛋白质相比具有至少一个插入的氨基酸的*蛋白质的表达;基因重复,其引起细胞中*蛋白质水平升高;或调节序列(例如,启动子和/或增强子)中的突变,其引起细胞中*蛋白质水平升高);*mRNA的替代剪接形式,其引起与野生型*蛋白质相比在*蛋白质中具有至少一个氨基酸缺失的*蛋白质;或表达增加(例如,水平升高),这是由于异常的细胞信号传导和/或失调的自分泌/旁分泌信号传导而引起的。作为另外的实例,增加的*基因拷贝数可以引起*蛋白质的过表达。例如,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是基因或染色体易位的结果,所述基因或染色体易位引起融合蛋白的表达,所述融合蛋白含有*的第一部分和伴侣蛋白(即,并非*)的第二部分。在一些实例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是一个*基因与另一个非*基因的基因易位的结果。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平选自由以下组成的组:CD28、BCR、HER1、HER2、PKCβ、PKCθ、MALT1、CARD11、CARD14、A20、CYLD、RelB、HOIL1、NIK、Regnase 1、LIMA1α、roquin-1、TRAF6、TAK1、TAB1、TAB2、TAB3、MKK7、IKKα、IKKβ、IKK γ 、IkBα、p50、p65、c-Rel、JNK1、JNK2、JNK3、MYD88和AP-1转录因子。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是CD28。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是BCR。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是HER1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是HER2。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是PKCβ。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是PKCθ。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是MALT1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是CARD11。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是CARD14。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是A20。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是CYLD。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是RelB。在一些实施例

中,*基因或*蛋白质是HOIL1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是NIK。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是Regnase 1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是LIMA1α。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是roquin-1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是TRAF6。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是TAK1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是TAB1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是TAB2。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是TAB3。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是MKK7。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是IKKα。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是IKKβ。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是IKKγ。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是IkBα。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是p50。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是p65。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是c-Rel。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是JNK1。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是JNK2。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是JNK3。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是MYD88转录因子。在一些实施例中,*基因或*蛋白质是AP-1转录因子。

[0114] 在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是编码*蛋白质的*基因中的突变,所述*蛋白质是组成型活性的或与由不包含突变的*基因编码的蛋白质相比具有增加的活性。在一些实施例中,增加的*基因拷贝数可以引起*蛋白质的过表达。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平是CD28。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平是BCR。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平是HER1。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平是HER2。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平是PKCβ。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平是PKCθ。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平是CARD14。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平是CARD9。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平是CARD10。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平是CARD11。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平是MALT1。

[0115] 作为另一个实例,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是编码*蛋白质的*基因中的突变,所述*蛋白质是组成型失活的或与由不包含突变的*基因编码的蛋白质相比具有降低的活性。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平是A20。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平是CYLD。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平RelB。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平是HOIL1。在一些实施例中,*基因、*蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平是NIK。

[0116] 与本文所述的特定基因或蛋白质“相关”的疾病或病症是指与特定基因、特定蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的特定基因、特定蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的疾病或病症。本文描述了此类疾病或病症的非限制性实例。同样,与本文所述的特定基因或蛋白质“相关”的癌症是指与特定基因、特定蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的特定基因、特定蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述了此类癌症的非限制性实例。

[0117] 本文所描述的蛋白质的示例性序列如下所示。

[0118] 人CD28的示例性序列如下所示：

[0119] SEQ ID NO:1(UniParc登录号UPI0000043F4D)

[0120] MLRLLLALNLFPSIQVTGNKILVKQSPMLVAYDNAVNLSCKYSYNLFSREFRASLHKGLDSAVEVCVVY
GNYSQQLQVYSKTGFNCDGKLGNESVTFYLQNLYVNQTDIYFCKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLF
PGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS

[0121] CD28基因或CD28蛋白的失调的非限制性实例可以在例如Rohr等人,Leukemia 30.5(2016):1062-1070,Yoo等人,Haematologica 101.6(2016):757-763,以及Lee等人,Haematologica 100.12(2015):e505中找到。

[0122] 人BCR的示例性序列如下所示：

[0123] SEQ ID NO:2(UniParc登录号UPI000016A088)

[0124] MVDPVGFAEAWKAQFPDSEPPRMELRSVGDIEQELERCKASIRRLEQEVNQERFRMIYLQTLLAKEKKS
YDRQRWGFRRAAQAPDGASEPRASASRPQPAPADGADPPPAEEPEARPDGEGSPGKARPGTARRPGAAASGERDDRG
PPASVAALRSNFERIRKGHGQPGADAEKPFYVNVEFHHERGLVKVNDKEVSDRISSLGSQAMQMERKKSQHGAGSSV
GDASRPPYRGRSSESSCGVDGDYEDAELNPRFLKDNLIDANGGSRPPWPPLEYQPYQSIYVGGMMEGEGKGPLLRSQ
STSEQEKRLTWPRRSYSPRSFEDCGGGYTPDCSSNENLTSSEEDFSSGQSSRVSPSPTTYRMFRDKSRSPSQNSQQS
FDSSSPPTPQCHKRHRHCPVVVSEATIVGVRKTGQIWPNDGEGAFHGDADGSFGTPPGYGCAADRAEEQRRHQDGLP
YIDDSPSSSPHLSSKGRGSRDALVSGALESTKASELDLEKGLEMRKWVLSGILASEETYLSHLEALLLPMKPLKAAA
TTSQPVLTSQQIETIFFKVPELYEIHKEFYDGLFPRVQQWSHQQRVGDLFQKLASQLGVYRAFVDNYGVAMEMAEKC
CQANAQFAEISENLRARSNKDAKDPTTKNSLETLLYKPVDRVTRSTLVLHDLLKHTPASHPDHPLLQDALRISQNFL
SSINEEITPRRQSMTVKKGEHRQLLKDSFMVELVEGARKLRHVFLFTDLLLCTKLKKQSGGKTQQYDCKWYIPLTDL
SFQMVDELEAVPNIPLVPDEELDALKIKISQIKNDIQREKRANKGSKATERLKKKLSEQESLLLLMSPSMAFRVHSR
NGKSYTFLISSDYERAEWRENIREQQKKCFRSFSLTSVELQMLTNSCVKLQTVHSIPLTINKEDDESPGLYGFLNVI
VHSATGFKQSSNLYCTLEVDSFGYFVNKAKTRVYRDTAEPNWNEEFEIELEGSQTLRILCYEKCYNKTKIPKEDGES
TDRLMGKGQVQLDPQALQDRDWQRTVIAMNGIEVKLSVKFNSREFSLKRMPSRKQTGVFGVKIAVVTKRERSKVPYI
VRQCVEEIERRGMEEVGIYRVSGVATDIQALKAAFDVNNKDVSVMMSEMDVNAIAGTLKLYFRELPEPLFTDEFYPN
FAEGIALSDPVAKESCMLNLLLSLPEANLLTFLFLLDHLKRVAEKEAVNKMSLHNLATVFGPTLLRPSEKESKLPAN
PSQPITMTDSWSLEVMSQVQVLLYFLQLEAIPAPDSKRQSILFSTEV

[0125] BCR基因或BCR蛋白(例如,BCR-ABL融合体)失调的非限制性实例可以参见例如Yang和Fu,Crit.Rev.Oncol./Hematol.93.3(2015):277-292,Weisber等人Nat.Rev.Cancer7.5(2007):345-356,以及Jabbour等人Cancer 117.9(2011):1800-1811。

[0126] 人HER1的示例性序列如下所示：

[0127] SEQ ID NO:3(UniParc登录号UPI000003E750)

[0128] MRPSGTAGAALLALLAALCPASRALEEKKVCQGTSNKLTQLGTFEDHFLSLQRMFNNCEVVLGNLEITY
VQRNYDLSFLKTIQEVAGYVLIALNTVERIPLENLQIIRGNMYYENSYALAVLSNYDANKTGLKELPMRNLQEILHG
AVRFSNNPALCNVESIQWRDIVSSDFLSNMSMDFQNHLGSCQKCDPSCPNGSCWGAGEENCQKLTKIICAQQCSGRC
RGKSPSDCCHNQCAAGCTGPRESDCLVCRKFRDEATCKDTCPPLMLYNPTTYQMDVNPEGKYSFGATCVKKCPRNYV
VTDHGSCVRACGADSYEMEEDGVRKCKKCEGPCRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSISGDLHILPVAFR
GDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLK

EISDGDVIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSR
GRECVDKCNLLEGEPREFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVW
KYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPTNGPKIPSIATGMVGALLLLLVVALGIGLFMRRRHIVRKRTLRRLLQE
RELVEPLTPSGEAPNQALLRILKETEFKKIKVLGSGAFGTVYKGLWIPEGEKVKIPVAIKELREATSPKANKEILDE
AYVMASVDNPHVCRLLGICLTSTVQLITQLMPFGCLLDYVREHKDNIGSQYLLNWCVQIAKGMNYLEDRRLVHRDLA
ARNVLVKTPQHVKITDFGLAKLLGAEEKEYHAEGGKVPIKWMALESILHRIYTHQSDVWSYGVTVWELMTFGSKPYD
GIPASEISSILEKGERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDADSRPKFRELIIEFSKMARDPQRYLVIQGDERMHLPSPT
DSNFYRALMDEEDMDDVVDADEYLIPQQGFFSSPSTSRTPLLSSLSATSNNSTVACIDRNGLQSCPIKEDSFLQRYS
SDPTGALTEDSIDDTFLPVPEYINQSVPKRPAGSVQNPVYHNQPLNPAPSRDPHYQDPHSTAVGNPEYLNTVQPTCV
NSTFDSPAHWAQKGSHQISLDNPDYQQDFFPKEAKPNGIFKGSTAENAEYLRVAPQSSEFIGA

[0129] HER1基因或HER1蛋白的失调的非限制性实例可以在例如Zhang等人,Oncotarget7.48(2016):78985,Ellison等人,Journal of Clinical Pathology 66.2(2013):79-89,Midha等人,American Journal of Cancer Research 5.9(2015):2892,以及Yamamoto等人,Lung Cancer 63.3(2009):315-321中找到。

[0130] 人HER2的示例性序列如下所示:

[0131] SEQ ID NO:4(UniParc登录号UPI000003F55F)

[0132] MELAALCRWGLLLALLPPGAASTQVCTGTDMKLRLPASPETHLDMLRHLYQGCQVVQGNLELTYLPTNA
SLSFLQDIQEVQGYVLIAHNQVRQVPLQRLRIVRGTQLFEDNYALAVLDNGDPLNNTTPVTGASPGGLRELQLRSLT
EILKGGVLIQRNPQLCYQDTILWKDIFHKNNQLALTLIDTNRSRACHPCSPMCKGSRCWGESSEDCQSLTRTVCAGG
CARCKGPLPTDCCHEQCAAGCTGPKHSDCLACLHFNHSGICELHCPALVTYNTDTFESMPNPEGRYTFGASCVTACP
YNYLSTDVGSCTLVCPLHNQEVTAEDGTQRCEKCSKPCARVCYGLGMEHLREVRAVTSANIQEFAGCKKIFGSLAFL
PESFDGDPASNTAPLQPEQLQVFETLEEITGYLYISAWPDSLPDLSVFQNLQVIRGRILHNGAYSLTLQGLGISWLG
LRSLRELGSGLALIHHNTHLCFVHTVPWDQLFRNPHQALLHTANRPEDECVGEGLACHQLCARGHCWGPGPTQCVNC
SQFLRGQECVEECRVLQGLPREYVNARHCLPCHPECQPQNGSVTCFGPEADQCVACAHYKDPPFCVARCPSGVKPDL
SYMPIWKFPDEEGACQPCPINCTHSCVDLDDKGCPAEQRASPLTSIISAVVGILLVVVLGVVFGILIKRRQQKIRKY
TMRRLLQETELVEPLTPSGAMPNQAQMRILKETELRKVKVLGSGAFGTVYKGIWIPDGENVKIPVAIKVLRENTSPK
ANKEILDEAYVMAGVGSPYVSRLLGICLTSTVQLVTQLMPYGCLLDHVRENRGRLGSQDLLNWCMQIAKGMSYLEDV
RLVHRDLAARNVLVKSPNHVKITDFGLARLLDIDETEYHADGGKVPIKWMALESILRRRFTHQSDVWSYGVTVWELM
TFGAKPYDGIPAREIPDLLEKGERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDSECRPRFRELVSEFSRMARDPQRFVVIQNED
LGPASPLDSTFYRSLLEDDDMGDLVDAEEYLVPQQGFFCPDPAPGAGGMVHHRHRSSSTRSGGGDLTLGLEPSEEEA
PRSPLAPSEGAGSDVFDGDLGMGAAKGLQSLPTHDPSPLQRYSEDPTVPLPSETDGYVAPLTCSPQPEYVNQPDVRP
QPPSPREGPLPAARPAGATLERPKTLSPGKNGVVKDVFAFGGAVENPEYLTPQGGAAPQPHPPPAFSPAFDNLYYWD
QDPPERGAPPSTFKGTPTAENPEYLGLDVPV

[0133] HER2基因或HER2蛋白的失调的非限制性实例可以在例如Petrelli,Fausto等人,Breast Cancer Research and Treatment 166.2(2017):339-349,Yan等人,Cancer and Metastasis Reviews 34.1(2015):157-164,Koshkin等人,Bladder Cancer 5.1(2019):1-12,以及Connell等人,ESMO Open 2.5(2017)中找到。

[0134] 如本文所使用的,术语“与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导器相关的癌症”是指与基因、蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有

失调的癌症,所述失调与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导器相关。在一些实施例中,与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导器相关的癌症选自由PKCβ相关癌症、PCKθ相关癌症及其组合组成的组。与本段中描述的特定基因或蛋白质"相关"的癌症是指与特定基因、特定蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的特定基因、特定蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述了此类癌症的非限制性实例。

[0135] 人PKCβ的示例性序列如下所示:

[0136] SEQ ID NO:5(UniParc登录号UPI000012DF67)

[0137] MADPAAGPPPSEGEESTVRFARKGALRQKNVHEVKNHKFTARFFKQPTFCSHCTDFIWGFGKQGFQCQV
CCFVVHKRCHEFVTFSCPGADKGPASDDPRSKHKFKIHTYSSPTFCDHCGSLLYGLIHQGMKCDTCMMNVHKRCVMN
VPSLCGTDHTERRGRIYIQAHIDRDVLIVLVRDAKNLVPMDPNGLSDPYVKLKLIPDPKSESKQKTKTIKCSLNPEW
NETFRFQLKESDKDRRLSVEIWDWDLTSRNDFMGSLSFGISELQKASVDGWFKLLSQEEGEYFNVPVPPEGSEANEE
LRQKFERAKISQGTKVPEEKTTNTVSKFDNNGNRDRMKLTDFNFLMVLGKGSFGKVMLSERKGTDELYAVKILKKDV
VIQDDDVECTMVEKRVLALPGKPPFLTQLHSCFQTMDRLYFVMEYVNGGDLMYHIQQVGRFKEPHAVFYAAEIAIGL
FFLQSKGIIYRDLKLDNVMLDSEGHIKIADFGMCKENIWDGVTTKTFCGTPDYIAPEIIAYQPYGKSVDWWAFGVLL
YEMLAGQAPFEGEDEDELFQSIMEHNVAYPKSMSKEAVAICKGLMTKHPGKRLGCGPEGERDIKEHAFFRYIDWEKL
ERKEIQPPYKPKARDKRDTSNFDKEFTRQPVELTPTDKLFIMNLDQNEFAGFSYTNPEFVINV

[0138] 人PKCθ的示例性序列如下所示:

[0139] SEQ ID NO:6(UniParc登录号UPI000012DF74)

[0140] MSPFLRIGLSNFDCGSCQSCQGEAVNPYCAVLVKEYVESENGQMYIQKKPTMYPPWDSTFDAHINKGRV
MQIIVKGKNVDLISETTVELYSLAERCRKNNGKTEIWLELKPQGRMLMNARYFLEMSDTKDMNEFETEGFFALHQRR
GAIKQAKVHHVKCHEFTATFFPQPTFCSVCHEFVWGLNKQGYQCRQCNAAIHKKCIDKVIAKCTGSAINSRETMFHK
ERFKIDMPHRFKVYNYKSPTFCEHCGTLLWGLARQGLKCDACGMNVHHRCQTKVANLCGINQKLMAEALAMIESTQQ
ARCLRDTEQIFREGPVEIGLPCSIKNEARPPCLPTPGKREPQGISWESPLDEVDKMCHLPEPELNKERPSLQIKLKI
EDFILHKMLGKGSFGKVFLAEFKKTNQFFAIKALKKDVVLMDDDVECTMVEKRVLSLAWEHPFLTHMFCTFQTKENL
FFVMEYLNGGDLMYHIQSCHKFDLSRATFYAAEIILGLQFLHSKGIVYRDLKLDNILLDKDGHIKIADFGMCKENML
GDAKTNTFCGTPDYIAPEILLGQKYNHSVDWWSFGVLLYEMLIGQSPFHGQDEEELFHSIRMDNPFYPRWLEKEAKD
LLVKLFVREPEKRLGVRGDIRQHPLFREINWEELERKEIDPPFRPKVKSPFDCSNFDKEFLNEKPRLSFADRALINS
MDQNMFRNFSFMNPGMERLIS

[0141] 如本文所使用的,术语"CBM复合物相关癌症的组分"是指与基因、蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调的癌症,所述失调与CBM复合物的组分相关。在一些实施例中,CBM复合物相关癌症的组分选自由以下组成的组:MALT1相关癌症、CARD11相关癌症、CARD14相关癌症、CARD10相关癌症、CARD9相关癌症、BCL10相关癌症和其组合。在一些实施例中,CBM复合物相关癌症选自由以下组成的组:MALT1相关癌症、CARD11相关癌症、BCL10相关癌症和其组合。与本段中描述的特定基因或蛋白质"相关"的癌症是指与特定基因、特定蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的特定基因、特定蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述了此类癌症的非限制性实例。

[0142] 如本文所使用的,术语"MALT1相关自身免疫性病症"是指与MALT1基因、MALT1蛋白

(在本文中也被称为MALT1蛋白酶蛋白或MALT1蛋白酶)或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的MALT1基因、MALT1蛋白酶、MALT1蛋白酶结构域或三者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的自身免疫性病症。本文描述了MALT1相关自身免疫性病症的非限制性实例。

[0143] 如本文所使用的,术语"MALT1相关炎性病症"是指与MALT1基因、MALT1蛋白(在本文中也被称为MALT1蛋白酶蛋白或MALT1蛋白酶)或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的MALT1基因、MALT1蛋白酶、MALT1蛋白酶结构域或三者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的炎性病症。本文描述了MALT1相关炎性病症的非限制性实例。

[0144] 如本文所使用的,术语"MALT1相关癌症"是指与MALT1基因、MALT1蛋白(在本文中也被称为MALT1蛋白酶蛋白或MALT1蛋白酶)或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的MALT1基因、MALT1蛋白、MALT1蛋白酶结构域或三者中任一个的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述MALT1相关癌症的非限制性实例。

[0145] 短语"MALT1基因、MALT1蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调"是指(例如,与对照非癌细胞相比)哺乳动物细胞中野生型MALT1蛋白的基因突变(例如,染色体易位,其引起包含MALT1蛋白酶结构域和融合伴侣的融合蛋白的表达;MALT1基因中的突变,其引起与野生型MALT1蛋白相比包含至少一个氨基酸缺失的MALT1蛋白的表达;MALT1基因中的突变,其引起与野生型MALT1蛋白相比具有一个或多个点突变的MALT1蛋白的表达;MALT1基因中的突变,其引起与野生型MALT1蛋白相比具有至少一个插入的氨基酸的MALT1蛋白的表达;基因重复,其引起细胞中MALT1蛋白水平升高;或调节序列(例如,启动子和/或增强子)中的突变,其引起细胞中MALT1蛋白水平升高);MALT1 mRNA的替代剪接形式,其引起与野生型MALT1蛋白相比在MALT1蛋白中具有至少一个氨基酸缺失的MALT1蛋白;或表达增加(例如,水平升高),这是由于异常的细胞信号传导和/或失调的自分泌/旁分泌信号传导而引起的。作为另一个实例,MALT1基因、MALT1蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是编码MALT1蛋白的MALT1基因中的突变,所述MALT1蛋白是组成型活性的或与由不包含突变的MALT1基因编码的蛋白质相比具有增加的活性。作为另外的实例,增加的MALT1基因拷贝数可以引起MALT1蛋白酶的过表达。例如,MALT1基因、MALT1蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是基因或染色体易位的结果,所述基因或染色体易位引起融合蛋白的表达,所述融合蛋白含有MALT1的第一部分(此部分包含功能性蛋白酶结构域)和伴侣蛋白(即,并非MALT1)的第二部分。在一些实例中,MALT1基因、MALT1蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是一个MALT1基因与另一个非MALT1基因的基因易位的结果。

[0146] 人MALT1的示例性序列如下所示:

[0147] SEQ ID NO:7(UniParc登录号UPI000004D05E)

[0148] MSLLGDPLQALPPSAAPTGPLLAPPAGATLNRLREPLLRRLSELLDQAPEGRGWRRLAELAGSRGRLRL
SCLDLEQCSLKVLEPEGSPSLCLLKLMGEKGCTVTELSDFLQAMEHTEVLQLLSPPGIKITVNPESKAVLAGQFVKL
CCRATGHPFVQYQWFKMNKEIPNGNTSELIFNAVHVKDAGFYVCRVNNNFTFEFSQWSQLDVCDIPESFQRSVDGVS
ESKLQICVEPTSQKLMPGSTLVLQCVAVGSPIPHYQWFKNELPLTHETKKLYMVPYVDLEHQGTYWCHVYNDRDSQD

SKKVEIIIGRTDEAVECTEDELNNLGHPDNKEQTTDQPLAKDKVALLIGNMNYREHPKLKAPLVDVYELTNLLRQLD
FKVVSLLDLTEYEMRNAVDEFLLLLDKGVYGLLYYAGHGYENFGNSFMVPVDAPNPYRSENCLCVQNILKLMQEKET
GLNVFLLDMCRKRNDYDDTIPILDALKVTANIVFGYATCQGAEAFEIQHSGLANGIFMKFLKDRLLEDKKITVLLDE
VAEDMGKCHLTKGKQALEIRSSLSEKRALTDPIQGTEYSAESLVRNLQWAKAHELPESMCLKFDCGVQIQLGFAAEF
SNVMIIYTSIVYKPPEIIMCDAYVTDFPLDLDIDPKDANKGTPEETGSYLVSKDLPKHCLYTRLSSLQKLKEHLVFT
VCLSYQYSGLEDTVEDKQEVNVGKPLIAKLDMHRGLGRKTCFQTCLMSNGPYQSSAATSGGAGHYHSLQDPFHGVYH
SHPGNPSNVTPADSCHCSRTPDAFISSFAHHASCHFSRSNVPVETTDEIPFSFSDRLRISEK

[0149] MALT1基因或MALT1蛋白失调的非限制性实例示出在下表B1中。

[0150] 表B1.

[0151]

MALT1 蛋白氨基酸取代/插入/缺失		
氨基酸位置	**非限制性示例性突变**	**非限制性示例性 MALT1 相关癌症**
717	M717I[4]	
MALT 融合伴侣		
融合伴侣		**非限制性示例性 MALT1 相关癌症**
BIRC3（也称为 IAP2；CIAP2；和 API2）[1]		弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)[1]；结外低度恶性 MALT 淋巴瘤 [2]
IGH		ABC-DLBCL[2]
SEC11C		乳腺癌 [3]

[0152] [1]美国专利US 10,711,036

[0153] [2]美国专利申请公开US20190160045A1

[0154] [3]美国专利申请公开US20130096021A1

[0155] [4]美国专利申请公开US20150320754A1

[0156] 如本文所使用的,术语“CARD11相关自身免疫性病症”是指与CARD11基因、CARD11蛋白或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的CARD11基因、CARD11蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的自身免疫性病症。

[0157] 如本文所使用的,术语“CARD11相关炎性病症”是指与CARD11基因、CARD11蛋白或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的CARD11基因、CARD11蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的炎性病症。

[0158] 如本文所使用的,术语“CARD11相关癌症”是指与CARD11基因、CARD11蛋白或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的CARD11基因、CARD11蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述了CARD11相关癌症的非限制性实例。

[0159] 短语“CARD11基因、CARD11蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调”是指(例如,与对照非癌细胞相比)哺乳动物细胞中野生型CARD11蛋白的基因突变(例如,染色体易位,其引起包含CARD11结构域和融合伴侣的融合蛋白的表达;CARD11基因中的突变,其引起与野生型CARD11蛋白相比包含至少一个氨基酸缺失的CARD11蛋白的表达;CARD11基因中的突变,其引起与野生型CARD11蛋白相比具有一个或多个点突变的CARD11蛋白的表达;

CARD11基因中的突变,其引起与野生型CARD11蛋白相比具有至少一个插入的氨基酸的CARD11蛋白的表达;基因重复,其引起细胞中CARD11蛋白水平升高;或调节序列(例如,启动子和/或增强子)中的突变,其引起细胞中CARD11蛋白水平升高);CARD11 mRNA的替代剪接形式,其引起与野生型CARD11蛋白相比在CARD11蛋白中具有至少一个氨基酸缺失的CARD11蛋白;或表达增加(例如,水平升高),这是由于异常的细胞信号传导和/或失调的自分泌/旁分泌信号传导而引起的。作为另一个实例,CARD11基因、CARD11蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是编码CARD11蛋白的CARD11基因中的突变,所述CARD11蛋白是组成型活性的或与由不包含突变的CARD11基因编码的蛋白质相比具有增加的活性。作为另外的实例,增加的CARD11基因拷贝数可以引起CARD11蛋白的过表达。例如,CARD11基因、CARD11蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是基因或染色体易位的结果,所述基因或染色体易位引起融合蛋白的表达,所述融合蛋白含有CARD11的第一部分和伴侣蛋白(即,并非CARD11)的第二部分。在一些实例中,CARD11基因、CARD11蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是一个CARD11基因与另一个非CARD11基因的基因易位的结果。

[0160] 人CARD11的示例性序列如下所示:

[0161] SEQ ID NO:8(UniParc登录号UPI00003FED38)

[0162] MPGGGPEMDDYMETLKDEEDALWENVECNRHMLSRYINPAKLTPYLRQCKVIDEQDEDEVLNAPMLPSK
INRAGRLLDILHTKGQRGYVVFLESLEFYYPELYKLVTGKEPTRRFSTIVVEEGHEGLTHFLMNEVIKLQQQMKAKD
LQRCELLARLRQLEDEKKQMTLTRVELLTFQERYYKMKEERDSYNDELVKVKDDNYNLAMRYAQLSEEKNMAVMRSR
DLQLEIDQLKHRLNKMEEECKLERNQSLKLKNDIENRPKKEQVLELERENEMLKTKNQELQSIIQAGKRSLPDSDKA
ILDILEHDRKEALEDRQELVNRIYNLQEEARQAEELRDKYLEEKEDLELKCSTLGKDCEMYKHRMNTVMLQLEEVER
ERDQAFHSRDEAQTQYSQCLIEKDKYRKQIRELEEKNDEMRIEMVRREACIVNLESKLRRLSKDSNNLDQSLPRNLP
VTIISQDFGDASPRTNGQEADDSSTSEESPEDSKYFLPYHPPQRRMNLKGIQLQRAKSPISLKRTSDFQAKGHEEEG
TDASPSSCGSLPITNSFTKMQPPRSRSSIMSITAEPPGNDSIVRRYKEDAPHRSTVEEDNDSGGFDALDLDDDSHER
YSFGPSSIHSSSSSHQSEGLDAYDLEQVNLMFRKFSLERPFRPSVTSVGHVRGPGPSVQHTTLNGDSLTSQLTLLGG
NARGSFVHSVKPGSLAEKAGLREGHQLLLLEGCIRGERQSVPLDTCTKEEAHWTIQRCSGPVTLHYKVNHEGYRKLV
KDMEDGLITSGDSFYIRLNLNISSQLDACTMSLKCDDVVHVRDTMYQDRHEWLCARVDPFTDHDLDMGTIPSYSRAQ
QLLLVKLQRLMHRGSREEVDGTHHTLRALRNTLQPEEALSTSDPRVSPRLSRASFLFGQLLQFVSRSENKYKRMNSN
ERVRIISGSPLGSLARSSLDATKLLTEKQEELDPESELGKNLSLIPYSLVRAFYCERRRPVLFTPTVLAKTLVQRLL
NSGGAMEFTICKSDIVTRDEFLRRQKTETIIYSREKNPNAFECIAPANIEAVAAKNKHCLLEAGIGCTRDLIKSNIY
PIVLFIRVCEKNIKRFRKLLPRPETEEEFLRVCRLKEKELEALPCLYATVEPDMWGSVEELLRVVKDKIGEEQRKTI
WVDEDQL

[0163] CARD11基因或CARD11蛋白失调的非限制性实例示出在下表B2中。

[0164] 表B2.

[0165]

CARD11 蛋白氨基酸取代/插入/缺失		
氨基酸位置	非限制性示例性突变	非限制性示例性 CARD11 相关癌症
47	R47C[2]	皮肤鳞状细胞癌 [2]
123	G123S[1]	淋巴瘤 [1]
126	G126D[1]	淋巴瘤 [1]
130	F130V[2]	皮肤鳞状细胞癌 [2]
167	T167M[2]	皮肤鳞状细胞癌 [2]
215	K215M、K215N[1]	淋巴瘤 [1]
230	D230N[1]	淋巴瘤 [1]
357	D357E[1]	淋巴瘤 [1]
360	M360V[1]	淋巴瘤 [1]
361	Y361C[1]	淋巴瘤 [1]
368	V368I[2]	皮肤鳞状细胞癌 [2]
737	H737L[2]	皮肤鳞状细胞癌 [2]
750	H750R[2]	皮肤鳞状细胞癌 [2]
833	P833L[2]	皮肤鳞状细胞癌 [2]
900	L900F[2]	皮肤鳞状细胞癌 [2]
1015	L1015F[2]	皮肤鳞状细胞癌 [2]
1016	R1016L[2]	皮肤鳞状细胞癌 [2]
1085	R1085S[2]	皮肤鳞状细胞癌 [2]
1086	F1086S[2]	皮肤鳞状细胞癌 [2]

[0166] [1]Wu等人,Oncotarget 7.25(2016):38180。

[0167] [2]Watt等人The American Journal of Pathology 185.9(2015):2354-2363。

[0168] 如本文所使用的,术语“CARD14相关自身免疫性病症”是指与CARD14基因、CARD14蛋白或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的CARD14基因、CARD14蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的自身免疫性病症。

[0169] 如本文所使用的,术语“CARD14相关炎性病症”是指与CARD14基因、CARD14蛋白或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的CARD14基因、CARD14蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的炎性病症。

[0170] 如本文所使用的,术语“CARD14相关癌症”是指与CARD14基因、CARD14蛋白或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的CARD14基因、CARD14蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。

[0171] 人CARD14的示例性序列如下所示:

[0172] SEQ ID NO:9(UniParc登录号UPI000013D81B)

[0173] MGELCRRDSALTALDEETLWEMMESHRHRIVRCICPSRLTPYLRQAKVLCQLDEEEVLHSPRLTNSAMRAGHLLDLLKTRGKNGAIAFLESLKFHNPDVYTLVTGLQPDVDFSNFSGLMETSKLTECLAGAIGSLQEELNQEKGQKEVLLRRCQQLQEHLGLAETRAEGLHQLEADHSRMKREVSAHFHEVLRLKDEMLSLSLHYSNALQEKELAASRCRSLQEELYLLKQELQRANMVSSCELELQEQSLRTASDQESGDEELNRLKEENEKLRSLTFSLAEKDILEQSLDEARGSRQELVERIHSLRERAVAAERQREQYWEEKEQTLLQFQKSKMACQLYREKVNALQAQVCELQKERDQAYSARDSAQREISQ

SLVEKDSLRRQVFELTDQVCELRTQLRQLQAEPPGVLKQEARTREPCPREKQRLVRMHAICPRDDSDCSLVSSTESQ
LLSDLSATSSRELVDSFRSSSPAPPSQQSLYKRVAEDFGEEPWSFSSCLEIPEGDPGALPGAKAGDPHLDYELLDTA
DLPQLESSLQPVSPGRLDVSESGVLMRRRPARRILSQVTMLAFQGDALLEQISVIGGNLTGIFIHRVTPGSAADQMA
LRPGTQIVMVDYEASEPLFKAVLEDTTLEEAVGLLRRVDGFCCLSVKVNTDGYKRLLQDLEAKVATSGDSFYIRVNL
AMEGRAKGELQVHCNEVLHVTDTMFQGCGCWHAHRVNSYTMKDTAAHGTIPNYSRAQQQLIALIQDMTQQCTVTRKP
SSGGPQKLVRIVSMDKAKASPLRLSFDRGQLDPSRMEGSSTCFWAESCLTLVPYTLVRPHRPARPRPVLLVPRAVGK
ILSEKLCLLQGFKKCLAEYLSQEEYEAWSQRGDIIQEGEVSGGRCWVTRHAVESLMEKNTHALLDVQLDSVCTLHRM
DIFPIVIHVSVNEKMAKKLKKGLQRLGTSEEQLLEAARQEEGDLDRAPCLYSSLAPDGWSDLDGLLSCVRQAIADEQ
KKVVWTEQSPR

[0174] 如本文所使用的,术语“CARD10相关自身免疫性病症”是指与CARD10基因、CARD10蛋白或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的CARD10基因、CARD10蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的自身免疫性病症。

[0175] 如本文所使用的,术语“CARD10相关炎性病症”是指与CARD10基因、CARD10蛋白或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的CARD10基因、CARD10蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的炎性病症。

[0176] 如本文所使用的,术语“CARD10相关癌症”是指与CARD10基因、CARD10蛋白或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的CARD10基因、CARD10蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。

[0177] 短语“CARD10基因、CARD10蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调”是指(例如,与对照非癌细胞相比)哺乳动物细胞中野生型CARD10蛋白的基因突变(例如,染色体易位,其引起包含CARD10结构域和融合伴侣的融合蛋白的表达;CARD10基因中的突变,其引起与野生型CARD10蛋白相比包含至少一个氨基酸缺失的CARD10蛋白的表达;CARD10基因中的突变,其引起与野生型CARD10蛋白相比具有一个或多个点突变的CARD10蛋白的表达;CARD10基因中的突变,其引起与野生型CARD10蛋白相比具有至少一个插入的氨基酸的CARD10蛋白的表达;基因重复,其引起细胞中CARD10蛋白水平升高;或调节序列(例如,启动子和/或增强子)中的突变,其引起细胞中CARD10蛋白水平升高);CARD10 mRNA的替代剪接形式,其引起与野生型CARD10蛋白相比在CARD10蛋白中具有至少一个氨基酸缺失的CARD10蛋白;或表达增加(例如,水平升高),这是由于异常的细胞信号传导和/或失调的自分泌/旁分泌信号传导而引起的。作为另一个实例,CARD10基因、CARD10蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是编码CARD10蛋白的CARD10基因中的突变,所述CARD10蛋白是组成型活性的或与由不包含突变的CARD10基因编码的蛋白质相比具有增加的活性。作为另外的实例,增加的CARD10基因拷贝数可以引起CARD10蛋白的过表达。例如,CARD10基因、CARD10蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是基因或染色体易位的结果,所述基因或染色体易位引起融合蛋白的表达,所述融合蛋白含有CARD10的第一部分和伴侣蛋白(即,并非CARD10)的第二部分。在一些实例中,CARD10基因、CARD10蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是一个CARD10基因与另一个非CARD10基因的基因易位的结果。

[0178] 人CARD10的示例性序列如下所示:

[0179] SEQ ID NO:10(UniParc登录号UPI0000044645)

[0180] MPGRAEAGEAEEEAGAGSGSEAEEDALWERIEGVRHRLARALNPAKLTPYLRQCRVIDEQDEEEVLST
YRFPCRVNRTGRLMDILRCRGKRGYEAFLEALEFYYPEHFTLLTGQEPAQRCSMILDEEGPEGLTQFLMTEVRRLR
EARKSQLQREQQLQARGRVLEEERAGLEQRLRDQQQAQERCQRLREDWEAGSLELLRLKDENYMIAMRLAQLSEEK
NSAVLRSRDLQLAVDQLKLKVSRLEEECALLRRARGPPPGAEEKEKEKEKEKEPDNVDLVSELRAENQRLTASLRE
LQEGLQQEASRPGAPGSERILLDILEHDWREAQDSRQELCQKLHAVQGELQWAEELRDQYLQEMEDLRLKHRTLQK
DCDLYKHRMATVLAQLEEIEKERDQAIQSRDRIQLQYSQSLIEKDQYRKQVRGLEAERDELLTTLTSLEGTKALLE
VQLQRAQGGTCLKACASSHSLCSNLSSTWSLSEFPSPLGGPEATGEAAVMGGPEPHNSEEATDSEKEINRLS ILP
FPPSAGSILRRQREEDPAPPKRSFSSMSDITGSVTLKPWSPGLSSSSSSDSVWPLGKPEGLLARGCGLDFLNRSLAI
RVSGRSPPGGPEPQDKGPDGLSFYGDRWSGAVVRRVLSGPGSARMEPREQRVEAAGLEGACLEAEAQQRTLLWNQGS
TLPSLMDSKACQSFHEALEAWAKGPGAEPFYIRANLTLPERADPHALCVKAQEILRLVDSAYKRRQEWFCTRVDPLT
LRDLDRGTVPNYQRAQQLLEVQEKCLPSSRHRGPRSNLKKRALDQLRLVRPKPVGAPAGDSPDQLLLEPCAEPERSL
RPYSLVRPLLVSALRPVVLLPECLAPRLIRNLLDLPSSRLDFQVCPAESLSGEELCPSSAPGAPKAQPATPGLGSRI
RAIQESVGKKHCLLELGARGVRELVQNEIYPIVIHVEVTEKNVREVRGLLGRPGWRDSELLRQCRGSEQVLWGLPCS
WVQVPAHEWGHAEELAKVVRGRILQEQARLVWVECGSSRGCPSSSEA

[0181] 如本文所使用的,术语“CARD9相关自身免疫性病症”是指与CARD9基因、CARD9蛋白或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的CARD9基因、CARD9蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的自身免疫性病症。

[0182] 如本文所使用的,术语“CARD9相关炎性病症”是指与CARD9基因、CARD9蛋白或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的CARD9基因、CARD9蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的炎性病症。

[0183] 如本文所使用的,术语“CARD9相关癌症”是指与CARD9基因、CARD9蛋白或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的CARD9基因、CARD9蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。

[0184] 短语“CARD9基因、CARD9蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调”是指(例如,与对照非癌细胞相比)哺乳动物细胞中野生型CARD9蛋白的基因突变(例如,染色体易位,其引起包含CARD9结构域和融合伴侣的融合蛋白的表达;CARD9基因中的突变,其引起与野生型CARD9蛋白相比包含至少一个氨基酸缺失的CARD9蛋白的表达;CARD9基因中的突变,其引起与野生型CARD9蛋白相比具有一个或多个点突变的CARD9蛋白的表达;CARD9基因中的突变,其引起与野生型CARD9蛋白相比具有至少一个插入的氨基酸的CARD9蛋白的表达;基因重复,其引起细胞中CARD9蛋白水平升高;或调节序列(例如,启动子和/或增强子)中的突变,其引起细胞中CARD9蛋白水平升高);CARD9 mRNA的替代剪接形式,其引起与野生型CARD9蛋白相比在CARD9蛋白中具有至少一个氨基酸缺失的CARD9蛋白;或表达增加(例如,水平升高),这是由于异常的细胞信号传导和/或失调的自分泌/旁分泌信号传导而引起的。作为另一个实例,CARD9基因、CARD9蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是编码CARD9蛋白的CARD9基因中的突变,所述CARD9蛋白是组成型活性的或与由不包含突变的CARD9基因编码的蛋白质相比具有增加的活性。作为另外的实例,增加的CARD9基因拷贝数可以引起CARD9蛋白的过表达。例如,CARD9基因、CARD9蛋白或其中任一者的表达或活性

或水平的失调可以是基因或染色体易位的结果,所述基因或染色体易位引起融合蛋白的表达,所述融合蛋白含有CARD9的第一部分和伴侣蛋白(即,并非CARD9)的第二部分。在一些实例中,CARD9基因、CARD9蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是一个CARD9基因与另一个非CARD9基因的基因易位的结果。

[0185] 人CARD9的示例性序列如下所示:

[0186] SEQ ID NO:11(UniParc登录号UPI000013E4EB)

[0187] MSDYENDDECWSVLEGFRVTLTSVIDPSRITPYLRQCKVLNPDDEEQVLSDPNLVIRKRKVGVLLDILQRTGHKGYVAFLESLELYYPQLYKKVTGKEPARVFSMIIDASGESGLTQLLMTEVMKLQKKVQDLTALLSSKDDFIKELRVKDSLLRKHQERVQRLKEECEAGSRELKRCKEENYDLAMRLAHQSEEKGAALMRNRDLQLEIDQLKHSLMKAEDDCKVERKHTLKLRHAMEQRPSQELLWELQQEKALLQARVQELEASVQEGKLDRSSPYIQVLEEDWRQALRDHQEQANTIFSLRKDLRQGEARRLRCMEEKEMFELQCLALRKDSKMYKDRIEAILLQMEEVAIERDQAIATREELHAQHARGLQEKDALRKQVRELGEKADELQLQVFQCEAQLLAVEGRLRRQQLETLVLSSDLEDGSPRRSQELSLPQDLEDTQLSDKGCLAGGGSPKQPFAALHQEQVLRNPHDAGLSSGEPPEKERRRLKESFENYRRKRALRKMQKGWRQGEEDRENTTGSDNTDTEGS

[0188] 如本文所使用的,术语“BCL10相关自身免疫性病症”是指与BCL10基因、BCL10蛋白或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的BCL10基因、BCL10蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的自身免疫性病症。

[0189] 如本文所使用的,术语“BCL10相关炎性病症”是指与BCL10基因、BCL10蛋白或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的BCL10基因、BCL10蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的炎性病症。

[0190] 如本文所使用的,术语“BCL10相关癌症”是指与BCL10基因、BCL10蛋白或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的BCL10基因、BCL10蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。

[0191] 短语“BCL10基因、BCL10蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调”是指(例如,与对照非癌细胞相比)哺乳动物细胞中野生型BCL10蛋白的基因突变(例如,染色体易位,其引起包含BCL10结构域和融合伴侣的融合蛋白的表达;BCL10基因中的突变,其引起与野生型BCL10蛋白相比包含至少一个氨基酸缺失的BCL10蛋白的表达;BCL10基因中的突变,其引起与野生型BCL10蛋白相比具有一个或多个点突变的BCL10蛋白的表达;BCL10基因中的突变,其引起与野生型BCL10蛋白相比具有至少一个插入的氨基酸的BCL10蛋白的表达;基因重复,其引起细胞中BCL10蛋白水平升高;或调节序列(例如,启动子和/或增强子)中的突变,其引起细胞中BCL10蛋白水平升高);BCL10mRNA的替代剪接形式,其引起与野生型BCL10蛋白相比在BCL10蛋白中具有至少一个氨基酸缺失的BCL10蛋白;或表达增加(例如,水平升高),这是由于异常的细胞信号传导和/或失调的自分泌/旁分泌信号传导而引起的。例如,BCL10基因、BCL10蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是基因或染色体易位的结果,所述基因或染色体易位引起融合蛋白的表达,所述融合蛋白含有BCL10的第一部分和伴侣蛋白(即,并非BCL10)的第二部分。在一些实例中,BCL10基因、BCL10蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以是一个BCL10基因与另一个非BCL10基因的基因易位的结果。

[0192] 人BCL10的示例性序列如下所示：

[0193] SEQ ID NO:12(UniParc登录号UPI000012682F)

[0194] MEPTAPSLTEEDLTEVKKDALENLRVYLCEKIIAERHFDHLRAKKILSREDTEEISCRTSSRKRAGKLLDYLQENPKGLDTLVESIRREKTQNFLIQKITDEVLKLRNIKLEHLKGLKCSSCEPFPDGATNNLSRSNSDESNFSEKLRASTVMYHPEGESSTTPFFSTNSSLNLPVLEVGRTENTIFSSTTLPRPGDPGAPPLPPDLQLEEEGTCANSSEMFLPLRSRTVSRQ

[0195] BCL10基因或BCL10蛋白失调的非限制性实例示出在下表B3中。

[0196] 表B3.

[0197]

BCL10 蛋白氨基酸取代/插入/缺失		
氨基酸位置	**非限制性示例性突变**	**非限制性示例性 BCL10 相关癌症**
5	A5S[2]	淋巴瘤 [2]
16	V16E[2]	淋巴瘤 [2]
20	A20T[1]	生殖细胞肿瘤 [1]

[0198]

BCL10 蛋白氨基酸取代/插入/缺失		
氨基酸位置	**非限制性示例性突变**	**非限制性示例性 BCL10 相关癌症**
31	K31E	淋巴瘤 [2]
32	I32V[1]	淋巴瘤 [1]
43	A43*[2]	淋巴瘤 [2]
46	I46*[1]	T-ALL[1]、结肠癌 [1]
49	R49G[1]	淋巴瘤 [1]
52	T52I[1]	间皮瘤 [1]
55	I55*[1]	淋巴瘤 [1]
57	C57R[2]	淋巴瘤 [2]
58	R58G[1]、R58*[1]	生殖细胞肿瘤 [1]
64	R64K[2]	淋巴瘤 [2]
77	K77*[1]	淋巴瘤 [1]
80	D80N	淋巴瘤 [1]
91	T91*[1]	生殖细胞肿瘤 [1]
100	T100S[1]	淋巴瘤 [1]
101	D101E[2]	淋巴瘤 [2]
115	K115*[1]	淋巴瘤 [1]
116-126	剪接突变 [1]	淋巴瘤 [1]
116-121	剪接突变 [2]	淋巴瘤 [2]
116-120	剪接突变 [1]	间皮瘤 [1]
133	L133*[1]	淋巴瘤 [1]
134	S134P[2]	淋巴瘤 [2]
137	N137*[1]	淋巴瘤 [1]
143	F143*[1]	淋巴瘤 [1]
152	V152*[2]	淋巴瘤 [2]
165	F165*[2]	淋巴瘤 [2]
167	S167*[1]	淋巴瘤 [1]
168	T168A[2]	淋巴瘤 [2]
170-180	del S170-G180[1]	淋巴瘤 [1]
175-181	del P175-G180[1]	淋巴瘤 [1]
210	del 210[1]	淋巴瘤 [1]
213	G213E	淋巴瘤 [2]
218	S218F[1]	生殖细胞肿瘤 [1]
230	V230I[2]	淋巴瘤 [2]
终止	终止->R	淋巴瘤 [2]

[0199] [1]Willis等人Cell 96.1(1999):35-45。

[0200] [2]Zhang等人Nature Genetics 22.1(1999):63-68。

[0201] 如本文所使用的,术语“MALT1蛋白酶底物相关癌症”是指与基因、蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调的癌症,所述失调与MALT1蛋白酶底物相关。在一些实施例中,MALT1蛋白酶底物相关癌症选自由以下组成的组:BCL10相关癌症、A20相关癌症、CYLD相关癌症、RelB相关癌症、Regnase 1相关癌症、roquin-1相关癌症、HOIL1相关癌症、NIK相关癌症、LIMA1α相关癌症及其组合。在一些实施例中,MALT1蛋白酶底物相关癌症选自由以下组成的组:BCL10相关癌症、A20相关癌症、CYLD相关癌症及其组合。与本段中描述的特定基因或蛋白质“相关”的癌症是指与特定基因、特定蛋白质或其中

任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的特定基因、特定蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述了此类癌症的非限制性实例。

[0202] 人A20的示例性序列如下所示:

[0203] SEQ ID NO:13(UniParc登录号UPI000000D92D)

[0204] MAEQVLPQALYLSNMRKAVKIRERTPEDIFKPTNGIIHHFKTMHRYTLEMFRTCQFCPQFREIIHKALI
DRNIQATLESQKKLNWCREVRKLVALKTNGDGNCLMHATSQYMWGVQDTDLVLRKALFSTLKETDTRNFKFRWQLES
LKSQEFVETGLCYDTRNWNDEWDNLIKMASTDTPMARSGLQYNSLEEIHIFVLCNILRRPIIVISDKMLRSLESGSN
FAPLKVGGIYLPLHWPAQECYRYPIVLGYDSHHFVPLVTLKDSGPEIRAVPLVNRDRGRFEDLKVHFLTDPENEMKE
KLLKEYLMVIEIPVQGWDHGTTHLINAAKLDEANLPKEINLVDDYFELVQHEYKKWQENSEQGRREGHAQNPMEPSV
PQLSLMDVKCETPNCPFFMSVNTQPLCHECSERRQKNQNKLPKLNSKPGPEGLPGMALGASRGEAYEPLAWNPEEST
GGPHSAPPTAPSPFLFSETTAMKCRSPGCPFTLNVQHNGFCERCHNARQLHASHAPDHTRHLDPGKCQACLQDVTRT
FNGICSTCFKRTTAEASSSLSTSLPPSCHQRSKSDPSRLVRSPSPHSCHRAGNDAPAGCLSQAARTPGDRTGTSKCR
KAGCVYFGTPENKGFCTLCFIEYRENKHFAAASGKVSPTASRFQNTIPCLGRECGTLGSTMFEGYCQKCFIEAQNQR
FHEAKRTEEQLRSSQRRDVPRTTQSTSRPKCARASCKNILACRSEELCMECQHPNQRMGPGAHRGEPAPEDPPKQRC
RAPACDHFGNAKCNGYCNECFQFKQMYG

[0205] A20基因或A20蛋白失调的非限制性实例示出在下表B4中。

[0206] 表B4.

[0207]

A20 蛋白氨基酸取代/插入/缺失		
氨基酸位置	**非限制性示例性突变**	**非限制性示例性 A20 相关癌症**
100	D100*[2]	结外边缘区淋巴瘤 [2]
162	R162*[2]	淋巴结边缘区淋巴瘤 [2]
183	R183X[1]	淋巴瘤 [1]
271	R271X[1]	淋巴瘤 [1]
278	R278*[2]	淋巴结边缘区淋巴瘤 [2]
288	V288*[2]	脾边缘区淋巴瘤 [2]
491	H491*[2]	淋巴结边缘区淋巴瘤 [2]
633	E633*[2]	结外边缘区淋巴瘤 [2]

[0208] [1]Johansson等人Oncotarget 7.38(2016):62627。

[0209] [2]Novak等人Blood 113.20(2009):4918-4921。

[0210] 人CYLD的示例性序列如下所示:

[0211] SEQ ID NO:14(UniParc登录号UPI0000073A15)

[0212] MSSGLWSQEKVTSPYWEERIFYLLLQECSVTDKQTQKLLKVPKGSIGQYIQDRSVGHSRIPSAKGKKNQ
IGLKILEQPHAVLFVDEKDVVEINEKFTELLLAITNCEERFSLFKNRNRLSKGLQIDVGCPVKVQLRSGEEKFPGVV
RFRGPLLAERTVSGIFFGVELLEEGRGQGFTDGVYQGKQLFQCDEDCGVFVALDKLELIEDDDTALESDYAGPGDTM
QVELPPLEINSRVSLKVGETIESGTVIFCDVLPGKESLGYFVGVDMDNPIGNWDGRFDGVQLCSFACVESTILLHIN
DIIPALSESVTQERRPPKLAFMSRGVGDKGSSSHNKPKATGSTSDPGNRNRSELFYTLNGSSVDSQPQSKSKNTWYI
DEVAEDPAKSLTEISTDFDRSSPPLQPPPVNSLTTENRFHSLPFSLTKMPNTNGSIGHSPLSLSAQSVMEELNTAPV
QESPPLAMPPGNSHGLEVGSLAEVKENPPFYGVIRWIGQPPGLNEVLAGLELEDECAGCTDGTFRGTRYFTCALKKA
LFVKLKSCRPDSRFASLQPVSNQIERCNSLAFGGYLSEVVEENTPPKMEKEGLEIMIGKKKGIQGHYNSCYLDSTLF

CLFAFSSVLDTVLLRPKEKNDVEYYSETQELLRTEIVNPLRIYGYVCATKIMKLRKILEKVEAASGFTSEEKDPEEF
LNILFHHILRVEPLLKIRSAGQKVQDCYFYQIFMEKNEKVGVPTIQQLLEWSFINSNLKFAEAPSCLIIQMPRFGKD
FKLFKKIFPSLELNITDLLEDTPRQCRICGGLAMYECRECYDDPDISAGKIKQFCKTCNTQVHLHPKRLNHKYNPVS
LPKDLPDWDWRHGCIPCQNMELFAVLCIETSHYVAFVKYGKDDSAWLFFDSMADRDGGQNGFNIPQVTPCPEVGEYL
KMSLEDLHSLDSRRIQGCARRLLCDAYMCMYQSPTMSLYK

[0213] CYLD基因或CYLD蛋白的失调的非限制性实例可以在例如Massoumi,Future Oncology 7.2(2011):285-297,Alameda,J.P等人,Oncogene 29.50(2010):6522-6532,Williams等人,Modern Pathology(2020):1-13以及Courtois和Gilmore.Oncogene 25.51(2006):6831-6843中找到。

[0214] 人RelB的示例性序列如下所示:

[0215] SEQ ID NO:15(UniParc登录号UPI00000012B7)

[0216] MLRSGPASGPSVPTGRAMPSRRVARPPAAPELGALGSPDLSSLSLAVSRSTDELEIIDEYIKENGFGLD
GGQPGPGEGLPRLVSRGAASLSTVTLGPVAPPATPPPWGCPLGRLVSPAPGPGPQPHLVITEQPKQRGMRFRYECEG
RSAGSILGESSTEASKTLPAIELRDCGGLREVEVTACLVWKDWPHRVHPHSLVGKDCTDGICRVRLRPHVSPRHSFN
NLGIQCVRKKEIEAAIERKIQLGIDPYNAGSLKNHQEVDMNVVRICFQASYRDQQGQMRRMDPVLSEPVYDKKSTNT
SELRICRINKESGPCTGGEELYLLCDKVQKEDISVVFSRASWEGRADFSQADVHRQIAIVFKTPPYEDLEIVEPVTV
NVFLQRLTDGVCSEPLPFTYLPRDHDSYGVDKKRKRGMPDVLGELNSSDPHGIESKRRKKKPAILDHFLPNHGSGPF
LPPSALLPDPDFFSGTVSLPGLEPPGGPDLLDDGFAYDPTAPTLFTMLDLLPPAPPHASAVVCSGGAGAVVGETPGP
EPLTLDSYQAPGPGDGGTASLVGSNMFPNHYREAAFGGGLLSPGPEAT

[0217] 人Regnase 1的示例性序列如下所示:

[0218] SEQ ID NO:16(UniParc登录号UPI000004D30E)

[0219] MSGPCGEKPVLEASPTMSLWEFEDSHSRQGTPRPGQELAAEEASALELQMKVDFFRKLGYSSTEIHSVL
QKLGVQADTNTVLGELVKHGTATERERQTSPDPCPQLPLVPRGGGTPKAPNLEPPLPEEEKEGSDLRPVVIDGSNVA
MSHGNKEVFSCRGILLAVNWFLERGHTDITVFVPSWRKEQPRPDVPITDQHILRELEKKKILVFTPSRRVGGKRVVC
YDDRFIVKLAYESDGIVVSNDTYRDLQGERQEWKRFIEERLLMYSFVNDKFMPPDDPLGRHGPSLDNFLRKKPLTLE
HRKQPCPYGRKCTYGIKCRFFHPERPSCPQRSVADELRANALLSPPRAPSKDKNGRRPSPSSQSSSLLTESEQCSLD
GKKLGAQASPGSRQEGLTQTYAPSGRSLAPSGGSGSSFGPTDWLPQTLDSLPYVSQDCLDSGIGSLESQMSELWGVR
GGGPGEPGPPRAPYTGYSPYGSELPATAAFSAFGRAMGAGHFSVPADYPPAPPAFPPREYWSEPYPLPPPTSVLQEP
PVQSPGAGRSPWGRAGSLAKEQASVYTKLCGVFPPHLVEAVMGRFPQLLDPQQLAAEILSYKSQHPSE

[0220] 人roquin-1的示例性序列如下所示:

[0221] SEQ ID NO:17(UniParc登录号UPI00001D7DA8)

[0222] MPVQAPQWTDFLSCPICTQTFDETIRKPISLGCGHTVCKMCLNKLHRKACPFDQTTINTDIELLPVNSA
LLQLVGAQVPEQQPITLCSGVEDTKHYEEAKKCVEELALYLKPLSSARGVGLNSTTQSVLSRPMQRKLVTLVHCQLV
EEEGRIRAMRAARSLGERTVTELILQHQNPQQLSSNLWAAVRARGCQFLGPAMQEEALKLVLLALEDGSALSRKVLV
LFVVQRLEPRFPQASKTSIGHVVQLLYRASCFKVTKRDEDSSLMQLKEEFRTYEALRREHDSQIVQIAMEAGLRIAP
DQWSSLLYGDQSHKSHMQSIIDKLQTPASFAQSVQELTIALQRTGDPANLNRLRPHLELLANIDPSPDAPPPTWEQL
ENGLVAVRTVVHGLVDYIQNHSKKGADQQQPPQHSKYKTYMCRDMKQRGGCPRGASCTFAHSQEELEKFRKMNKRLV
PRRPLSASLGQLNEVGLPSAAILPDEGAVDLPSRKPPALPNGIVSTGNTVTQLIPRGTDPSYDSSLKPGKIDHLSSS
APGSPPDLLESVPKSISALPVNPHSIPPRGPADLPPMPVTKPLQMVPRGSQLYPAQQTDVYYQDPRGAAPPFEPAPY

QQGMYYTPPPQCVSRFVRPPPSAPEPAPPYLDHYPPYLQERVVNSQYGTQPQQYPPIYPSHYDGRRVYPAPSYTREE
IFRESPIPIEIPPAAVPSYVPESRERYQQIESYYPVAPHPTQIRPSYLREPPYSRLPPPPQPHPSLDELHRRRKEIM
AQLEERKVISPPPFAPSPTLPPTFHPEEFLDEDLKVAGKYKGNDYSQYSPWSCDTIGSYIGTKDAKPKDVVAAGSVE
MMNVESKGMRDQRLDLQRRAAETSDDDLIPFGDRPTVSRFGAISRTSKTIYQGAGPMQAMAPQGAPTKSINISDYSP
YGTHGGWGASPYSPHQNIPSQGHFSERERISMSEVASHGKPLPSAEREQLRLELQQLNHQISQQTQLRGLEAVSNRL
VLQREANTLAGQSQPPPPPPPKWPGMISSEQLSLELHQVEREIGKRTRELSMENQCSLDMKSKLNTSKQAENGQPEP
QNKVPAEDLTLTFSDVPNGSALTQENISLLSNKTSSLNLSEDPEGGGDNNDSQRSGVTPSSAP

[0223] 人HOIL1的示例性序列如下所示：

[0224] SEQ ID NO:18(UniParc登录号UPI000006F045)

[0225] MDEKTKKAEEMALSLTRAVAGGDEQVAMKCAIWLAEQRVPLSVQLKPEVSPTQDIRLWVSVEDAQMHTV
TIWLTVRPDMTVASLKDMVFLDYGFPPVLQQWVIGQRLARDQETLHSHGVRQNGDSAYLYLLSARNTSLNPQELQRE
RQLRMLEDLGFKDLTLQPRGPLEPGPPKPGVPQEPGRGQPDAVPEPPPVGWQCPGCTFINKPTRPGCEMCCRARPEA
YQVPASYQPDEEERARLAGEEEALRQYQQRKQQQQEGNYLQHVQLDQRSLVLNTEPAECPVCYSVLAPGEAVVLREC
LHTFCRECLQGTIRNSQEAEVSCPFIDNTYSCSGKLLEREIKALLTPEDYQRFLDLGISIAENRSAFSYHCKTPDCK
GWCFFEDDVNEFTCPVCFHVNCLLCKAIHEQMNCKEYQEDLALRAQNDVAARQTTEMLKVMLQQGEAMRCPQCQIVV
QKKDGCDWIRCTVCHTEICWVTKGPRWGPGGPGDTSGGCRCRVNGIPCHPSCQNCH

[0226] 人NIK的示例性序列如下所示：

[0227] SEQ ID NO:19(UniParc登录号UPI0000074220)

[0228] MAVMEMACPGAPGSAVGQQKELPKAKEKTPPLGKKQSSVYKLEAVEKSPVFCGKWEILNDVITKGTAKE
GSEAGPAAISIIAQAECENSQEFSPTFSERIFIAGSKQYSQSESLDQIPNNVAHATEGKMARVCWKGKRRSKARKKR
KKKSSKSLAHAGVALAKPLPRTPEQESCTIPVQEDESPLGAPYVRNTPQFTKPLKEPGLGQLCFKQLGEGLRPALPR
SELHKLISPLQCLNHVWKLHHPQDGGPLPLPTHPFPYSRLPHPFPFHPLQPWKPHPLESFLGKLACVDSQKPLPDPH
LSKLACVDSPKPLPGPHLEPSCLSRGAHEKFSVEEYLVHALQGSVSSGQAHSLTSLAKTWAARGSRSREPSPKTEDN
EGVLLTEKLKPVDYEYREEVHWATHQLRLGRGSFGEVHRMEDKQTGFQCAVKKVRLEVFRAEELMACAGLTSPRIVP
LYGAVREGPWVNIFMELLEGGSLGQLVKEQGCLPEDRALYYLGQALEGLEYLHSRRILHGDVKADNVLLSSDGSHAA
LCDFGHAVCLQPDGLGKSLLTGDYIPGTETHMAPEVVLGRSCDAKVDVWSSCCMMLHMLNGCHPWTQFFRGPLCLKI
ASEPPPVREIPPSCAPLTAQAIQEGLRKEPIHRVSAAELGGKVNRALQQVGGLKSPWRGEYKEPRHPPPNQANYHQT
LHAQPRELSPRAPGPRPAEETTGRAPKLQPPLPPEPPEPNKSPPLTLSKEESGMWEPLPLSSLEPAPARNPSSPERK
ATVPEQELQQLEIELFLNSLSQPFSLEEQEQILSCLSIDSLSLSDDSEKNPSKASQSSRDTLSSGVHSWSSQAEARS
SSWNMVLARGRPTDTPSYFNGVKVQIQSLNGEHLHIREFHRVKVGDIATGISSQIPAAAFSLVTKDGQPVRYDMEVP
DSGIDLQCTLAPDGSFAWSWRVKHGQLENRP

[0229] 人LIMA1α的示例性序列如下所示：

[0230] SEQ ID NO:20(UniParc登录号UPI000002A906)

[0231] MENCLGESRHEVEKSEISENTDASGKIEKYNVPLNRLKMMFEKGEPTQTKILRAQSRSASGRKISENSY
SLDDLEIGPGQLSSSTFDSEKNESRRNLELPRLSETSIKDRMAKYQAAVSKQSSSTNYTNELKASGGEIKIHKMEQK
ENVPPGPEVCITHQEGEKISANENSLAVRSTPAEDDSRDSQVKSEVQQPVHPKPLSPDSRASSLSESSPPKAMKKFQ
APARETCVECQKTVYPMERLLANQQVFHISCFRCSYCNNKLSLGTYASLHGRIYCKPHFNQLFKSKGNYDEGFGHRP
HKDLWASKNENEEILERPAQLANARETPHSPGVEDAPIAKVGVLAASMEAKASSQQEKEDKPAETKKLRIAWPPPTE
LGSSGSALEEGIKMSKPKWPPEDEISKPEVPEDVDLDLKKLRRSSSLKERSRPFTVAASFQSTSVKSPKTVSPPIRK

GWSMSEQSEESVGGRVAERKQVENAKASKKNGNVGKTTWQNKESKGETGKRSKEGHSLEMENENLVENGADSDEDDN
SFLKQQSPQEPKSLNWSSFVDNTFAEEFTTQNQKSQDVELWEGEVVKELSVEEQIKRNRYYDEDEDEE

[0232] 如本文所使用的,术语“与CBM复合物下游的NF-κB通路的组分相关的癌症”是指与基因、蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调的癌症,所述失调与CBM复合物下游的NF-κB通路的组分相关。在一些实施例中,与CBM复合物下游的NF-κB通路的组分相关的癌症选自由以下组成的组:TAK1相关癌症、TRAF6相关癌症、TAB1相关癌症、TAB2相关癌症、TAB3相关癌症、MKK7相关癌症、IKKα相关癌症、IKKβ相关癌症、IKKγ相关癌症、IkBα相关癌症、p50相关癌症、p65(RelA)相关癌症、c-Rel相关癌症及其组合。在一些实施例中,与CBM复合物下游的NF-κB通路的组分相关的癌症是IKKγ相关癌症。与本段中描述的特定基因或蛋白质“相关”的癌症是指与特定基因、特定蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的特定基因、特定蛋白质或其中任一者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述了此类癌症的非限制性实例。

[0233] 人TAK1的示例性序列如下所示:

[0234] SEQ ID NO:21(UniParc登录号UPI000012EAD6)MSTASAASSSSSSSAGEMIEAPSQVLNF
EEIDYKEIEVEEVVGRGAFGVVCKAKWRAKDVAIKQIESESERKAFIVELRQLSRVNHPNIVKLYGACLNPVCLVME
YAEGGSLYNVLHGAEPLPYYTAAHAMSWCLQCSQGVAYLHSMQPKALIHRDLKPPNLLLVAGGTVLKICDFGTACDI
QTHMTNNKGSAAWMAPEVFEGSNYSEKCDVFSWGIILWEVITRRKPFDEIGGPAFRIMWAVHNGTRPPLIKNLPKPI
ESLMTRCWSKDPSQRPSMEEIVKIMTHLMRYFPGADEPLQYPCQYSDEGQSNSATSTGSFMDIASTNTSNKSDTNME
QVPATNDTIKRLESKLLKNQAKQQSESGRLSLGASRGSSVESLPPTSEGKRMSADMSEIEARIAATTAYSKPKRGHR
KTASFGNILDVPEIVISGNGQPRRRSIQDLTVTGTEPGQVSSRSSSPSVRMITTSGPTSEKPTRSHPWTPDDSTDTN
GSDNSIPMAYLTLDHQLQPLAPCPNSKESMAVFEQHCKMAQEYMKVQTEIALLLQRKQELVAELDQDEKDQQNTSRL
VQEHKKLLDENKSLSTYYQQCKKQLEVIRSQQQKRQGTS

[0235] 人TRAF6的示例性序列如下所示:

[0236] SEQ ID NO:22(UniParc登录号UPI000000D924)MSLLNCENSCGSSQSESDCCVAMASSCS
AVTKDDSVGGTASTGNLSSSFMEEIQGYDVEFDPPLESKYECPICLMALREAVQTPCGHRFCKACIIKSIRDAGHKC
PVDNEILLENQLFPDNFAKREILSLMVKCPNEGCLHKMELRHLEDHQAHCEFALMDCPQCQRPFQKFHINIHILKDC
PRRQVSCDNCAASMAFEDKEIHDQNCPLANVICEYCNTILIREQMPNHYDLDCPTAPIPCTFSTFGCHEKMQRNHLA
RHLQENTQSHMRMLAQAVHSLSVIPDSGYISEVRNFQETIHQLEGRLVRQDHQIRELTAKMETQSMYVSELKRTIRT
LEDKVAEIEAQQCNGIYIWKIGNFGMHLKCQEEEKPVVIHSPGFYTGKPGYKLCMRLHLQLPTAQRCANYISLFVHT
MQGEYDSHLPWPFQGTIRLTILDQSEAPVRQNHEEIMDAKPELLAFQRPTIPRNPKGFGYVTFMHLEALRQRTFIKD
DTLLVRCEVSTRFDMGSLRREGFQPRSTDAGV

[0237] 人TAB1的示例性序列如下所示:

[0238] SEQ ID NO:23(UniParc登录号UPI0000136861)

[0239] MAAQRRSLLQSEQQPSWTDDLPLCHLSGVGSASNRSYSADGKGTESHPPEDSWLKFRSENNCFLYGVFN
GYDGNRVTNFVAQRLSAELLLGQLNAEHAEADVRRVLLQAFDVVERSFLESIDDALAEKASLQSQLPEGVPQHQLPP
QYQKILERLKTLEREISGGAMAVVAVLLNNKLYVANVGTNRALLCKSTVDGLQVTQLNVDHTTENEDELFRLSQLGL
DAGKIKQVGIICGQESTRRIGDYKVKYGYTDIDLLSAAKSKPIIAEPEIHGAQPLDGVTGFLVLMSEGLYKALEAAH
GPGQANQEIAAMIDTEFAKQTSLDAVAQAVVDRVKRIHSDTFASGGERARFCPRHEDMTLLVRNFGYPLGEMSQPTP

SPAPAAGGRVYPVSVPYSSAQSTSKTSVTLSLVMPSQGQMVNGAHSASTLDEATPTLTNQSPTLTLQSTNTHTQSSS
SSSDGGLFRSRPAHSLPPGEDGRVEPYVDFAEFYRLWSVDHGEQSVVTAP

[0240] 人TAB2的示例性序列如下所示：

[0241] SEQ ID NO:24(UniParc登录号UPI0000073C75)

[0242] MAQGSHQIDFQVLHDLRQKFPEVPEVVVSRCMLQNNNNLDACCAVLSQESTRYLYGEGDLNFSDDSGIS
GLRNHMTSLNLDLQSQNIYHHGREGSRMNGSRTLTHSISDGQLQGGQSNSELFQQEPQTAPAQVPQGFNVFGMSSSS
GASNSAPHLGFHLGSKGTSSLSQQTPRFNPIMVTLAPNIQTGRNTPTSLHIHGVPPPVLNSPQGNSIYIRPYITTPG
GTTRQTQQHSGWVSQFNPMNPQQVYQPSQPGPWTTCPASNPLSHTSSQQPNQQGHQTSHVYMPISSPTTSQPPTIHS
SGSSQSSAHSQYNIQNISTGPRKNQIEIKLEPPQRNNSSKLRSSGPRTSSTSSSVNSQTLNRNQPTVYIAASPPNTD
ELMSRSQPKVYISANAATGDEQVMRNQPTLFISTNSGASAASRNMSGQVSMGPAFIHHHPPKSRAIGNNSATSPRVV
VTQPNTKYTFKITVSPNKPPAVSPGVVSPTFELTNLLNHPDHYVETENIQHLTDPTLAHVDRISETRKLSMGSDDAA
YTQALLVHQKARMERLQRELEIQKKKLDKLKSEVNEMENNLTRRRLKRSNSISQIPSLEEMQQLRSCNRQLQIDIDC
LTKEIDLFQARGPHFNPSAIHNFYDNIGFVGPVPPKPKDQRSIIKTPKTQDTEDDEGAQWNCTACTFLNHPALIRCE
QCEMPRHF

[0243] 人TAB3的示例性序列如下所示：

[0244] SEQ ID NO:25(UniParc登录号UPI0000071648)

[0245] MAQSSPQLDIQVLHDLRQRFPEIPEGVVSQCMLQNNNNLEACCRALSQESSKYLYMEYHSPDDNRMNR
NRLLHINLGIHSPSSYHPGDGAQLNGGRTLVHSSSDGHIDPQHAAGKQLICLVQEPHSAPAVVAATPNYNPFFMNE
QNRSAATPPSQPPQQPSSMQTGMNPSAMQGPSPPPPPPSYMHIPRYSTNPITVTVSQNLPSGQTVPRALQILPQIP
SNLYGSPGS IYIRQTSQSSSGRQTPQSTPWQSSPQGPVPHYSQRPLPVYPHQQNYQPSQYSPKQQQIPQSAYHSP
PPSQCPSPFSSPQHQVQPSQLGHIFMPPSPSTTPPHPYQQGPPSYQKQGSHSVAYLPYTASSLSKGSMKKIEITVEP
SQRPGTAINRSPSPISNQPSPRNQHSLYTATTPPSSSPSRGISSQPKPPFSVNPVYITYTQPTGPSCTPSPSPRVIP
NPTTVFKITVGRATTENLLNLVDQEERSAAPEPIQPISVIPGSGGEKGSHKYQRSSSSGSDDYAYTQALLLHQRARM
ERLAKQLKLEKEELERLKSEVNGMEHDLMQRRLRRVSCTTAIPTPEEMTRLRSMNRQLQINVDCTLKEVDLLQSRGN
FDPKAMNNFYDNIEPGPVVPPKPSKKDSSDPCTIERKARRISVTSKVQADIHDTQAAAADEHRTGSTQSPRTQPRDE
DYEGAPWNCDSCTFLNHPALNRCEQCEMPRYT

[0246] 人MKK7的示例性序列如下所示：

[0247] SEQ ID NO:26(UniParc登录号UPI000012F494)

[0248] MAASSLEQKLSRLEAKLKQENREARRRIDLNLDISPQRPRPTLQLPLANDGGSRSPSSESSPQHPTPPA
RPRHMLGLPSTLFTPRSMESIEIDQKLQEIMKQTGYLTIGGQRYQAEINDLENLGEMGSGTCGQVWKMRFRKTGHVI
AVKQMRRSGNKEENKRILMDLDVVLKSHDCPYIVQCFGTFITNTDVFIAMELMGTCAEKLKKRMQGPIPERILGKMT
VAIVKALYYLKEKHGVIHRDVKPSNILLDERGQIKLCDFGISGRLVDSKAKTRSAGCAAYMAPERIDPPDPTKPDYD
IRADVWSLGISLVELATGQFPYKNCKTDFEVLTKVLQEEPPLLPGHMGFSGDFQSFVKDCLTKDHRKRPKYNKLLEH
SFIKRYETLEVDVASWFKDVMAKTESPRTSGVLSQPHLPFFR

[0249] 人IKKα的示例性序列如下所示：

[0250] SEQ ID NO:27(UniParc登录号UPI000013D6C7)

[0251] MERPPGLRPGAGGPWEMRERLGTGGFGNVCLYQHRELDLKIAIKSCRLELSTKNRERWCHEIQIMKKLN
HANVVKACDVPEELNILIHDVPLLAMEYCSGGDLRKLLNKPENCCGLKESQILSLLSDIGSGIRYLHENKIIHRDLK
PENIVLQDVGGKIIHKIIDLGYAKDVDQGSLCTSFVGTLQYLAPELFENKPYTATVDYWSFGTMVFECIAGYRPFLH

HLQPFTWHEKIKKKDPKCIFACEEMSGEVRFSSHLPQPNSLCSLVVEPMENWLQLMLNWDPQQRGGPVDLTLKQPRC
FVLMDHILNLKIVHILNMTSAKIISFLLPPDESLHSLQSRIERETGINTGSQELLSETGISLDPRKPASQCVLDGVR
GCDSYMVYLFDKSKTVYEGPFASRSLSDCVNYIVQDSKIQLPIIQLRKVWAEAVHYVSGLKEDYSRLFQGQRAAMLS
LLRYNANLTKMKNTLISASQQLKAKLEFFHKSIQLDLERYSEQMTYGISSEKMLKAWKEMEEKAIHYAEVGVIGYLE
DQIMSLHAEIMELQKSPYGRRQGDLMESLEQRAIDLYKQLKHRPSDHSYSDSTEMVKIIVHTVQSQDRVLKELFGHL
SKLLGCKQKIIDLLPKVEVALSNIKEADNTVMFMQGKRQKEIWHLLKIACTQSSARSLVGSSLEGAVTPQTSAWLPP
TSAEHDHSLSCVVTPQDGETSAQMIEENLNCLGHLSTIIHEANEEQGNSMMNLDWSWLTE

[0252] 人IKKβ的示例性序列如下所示：

[0253] SEQ ID NO:28(UniParc登录号UPI0000033729)

[0254] MSWSPSLTTQTCGAWEMKERLGTGGFGNVIRWHNQETGEQIAIKQCRQELSPRNRERWCLEIQIMRRLT
HPNVVAARDVPEGMQNLAPNDLPLLAMEYCQGGDLRKYLNQFENCCGLREGAILTLLSDIASALRYLHENRIIHRDL
KPENIVLQQGEQRLIHKIIDLGYAKELDQGSLCTSFVGTLQYLAPELLEQQKYTVTVDYWSFGTLAFECITGFRPFL
PNWQPVQWHSKVRQKSEVDIVVSEDLNGTVKFSSSLPYPNNLNSVLAERLEKWLQLMLMWHPRQRGTDPTYGPNGCF
KALDDILNLKLVHILNMVTGTIHTYPVTEDESLQSLKARIQQDTGIPEEDQELLQEAGLALIPDKPATQCISDGKLN
EGHTLDMDLVFLFDNSKITYETQISPRPQPESVSCILQEPKRNLAFFQLRKVWGQVWHSIQTLKEDCNRLQQGQRAA
MMNLLRNNSCLSKMKNSMASMSQQLKAKLDFFKTSIQIDLEKYSEQTEFGITSDKLLLAWREMEQAVELCGRENEVK
LLVERMMALQTDIVDLQRSPMGRKQGGTLDDLEEQARELYRRLREKPRDQRTEGDSQEMVRLLLQAIQSFEKKVRVI
YTQLSKTVVCKQKALELLPKVEEVVSLMNEDEKTVVRLQEKRQKELWNLLKIACSKVRGPVSGSPDSMNASRLSQPG
QLMSQPSTASNSLPEPAKKSEELVAEAHNLCTLLENAIQDTVREQDQSFTALDWSWLQTEEEEHSCLEQAS

[0255] 人IKKγ的示例性序列如下所示：

[0256] SEQ ID NO:29(UniParc登录号UPI000000OCC4)

[0257] MNRHLWKSQLCEMVQPSGGPAADQDVLGEESPLGKPAMLHLPSEQGAPETLQRCLEENQELRDAIRQSN
QILRERCEELLHFQASQREEKEFLMCKFQEARKLVERLGLEKLDLKRQKEQALREVEHLKRCQQQMAEDKASVKAQV
TSLLGELQESQSRLEAATKECQALEGRARAASEQARQLESEREALQQQHSVQVDQLRMQGQSVEAALRMERQAASEE
KRKLAQLQVAYHQLFQEYDNHIKSSVVGSERKRGMQLEDLKQQLQQAEEALVAKQEVIDKLKEEAEQHKIVMETVPV
LKAQADIYKADFQAERQAREKLAEKKELLQEQLEQLQREYSKLKASCQESARIEDMRKRHVEVSQAPLPPAPAYLSS
PLALPSQRRSPPEEPPDFCCPKCQYQAPDMDTLQIHVMECIE

[0258] IKKγ基因或IKKγ蛋白的失调的非限制性实例在例如Courtois和Gilmore, Oncogene25.51(2006):6831-6843中描述。

[0259] 人IkBα的示例性序列如下所示：

[0260] SEQ ID NO:30(UniParc登录号UPI000004F0A9)MFQAAERPQEWAMEGPRDGLKKERLLDD
RHDSGLDSMKDEEYEQMVKELQEIRLEPQEVPRGSEPWKQQLTEDGDSFLHLAIIHEEKALTMEVIRQVKGDLAFLN
FQNNLQQTPLHLAVITNQPEIAEALLGAGCDPELRDFRGNTPLHLACEQGCLASVGVLTQSCTTPHLHSILKATNYN
GHTCLHLASIHGYLGIVELLVSLGADVNAQEPCNGRTALHLAVDLQNPDLVSLLLKCGADVNRVTYQGYSPYQLTWG
RPSTRIQQQLGQLTLENLQMLPESEDEESYDTESEFTEFTEDELPYDDCVFGGQRLTL

[0261] 被加工成p50的人p105的示例性序列如下所示：

[0262] SEQ ID NO:31(UniParc登录号UPI000000D917)

[0263] MAEDDPYLGRPEQMFHLDPSLTHTIFNPEVFQPQMALPTDGPYLQILEQPKQRGFRFRYVCEGPSHGGL
PGASSEKNKKSYPQVKICNYVGPAKVIVQLVTNGKNIHLHAHSLVGKHCEDGICTVTAGPKDMVVGFANLGILHVTK

KKVFETLEARMTEACIRGYNPGLLVHPDLAYLQAEGGGDRQLGDREKELIRQAALQQTKEMDLSVVRLMFTAFLPDS
TGSFTRRLEPVVSDAIYDSKAPNASNLKIVRMDRTAGCVTGGEEIYLLCDKVQKDDIQIRFYEEEENGGVWEGFGDF
SPTDVHRQFAIVFKTPKYKDINITKPASVFVQLRRKSDLETSEPKPFLYYPEIKDKEEVQRKRQKLMPNFSDSFGGG
SGAGAGGGGMFGSGGGGGGTGSTGPGYSFPHYGFPTYGGITFHPGTTKSNAGMKHGTMDTESKKDPEGCDKSDDKNT
VNLFGKVIETTEQDQEPSEATVGNGEVTLTYATGTKEESAGVQDNLFLEKAMQLAKRHANALFDYAVTGDVKMLLAV
QRHLTAVQDENGDSVLHLAIIHLHSQLVRDLLEVTSGLISDDIINMRNDLYQTPLHLAVITKQEDVVEDLLRAGADL
SLLDRLGNSVLHLAAKEGHDKVLSILLKHKKAALLLDHPNGDGLNAIHLAMMSNSLPCLLLLVAAGADVNAQEQKSG
RTALHLAVEHDNISLAGCLLLEGDAHVDSTTYDGTTPLHIAAGRGSTRLAALLKAAGADPLVENFEPLYDLDDSWEN
AGEDEGVVPGTTPLDMATSWQVFDILNGKPYEPEFTSDDLLAQGDMKQLAEDVKLQLYKLLEIPDPDKNWATLAQKL
GLGILNNAFRLSPAPSKTLMDNYEVSGGTVRELVEALRQMGYTEAIEVIQAASSPVKTTSQAHSLPLSPASTRQQID
ELRDSDSVCDSGVETSFRKLSFTESLTSGASLLTLNKMPHDYGQEGPLEGKI

[0264] 人p65的示例性序列如下所示：

[0265] SEQ ID NO:32(UniParc登录号UPI000013ED68)

[0266] MDELFPLIFPAEPAQASGPYVEIIEQPKQRGMRFRYKCEGRSAGSIPGERSTDTTKTHPTIKINGYTGP
GTVRISLVTKDPPHRPHPHELVGKDCRDGFYEAELCPDRCIHSFQNLGIQCVKKRDLEQAISQRIQTNNNPFQVPIE
EQRGDYDLNAVRLCFQVTVRDPSGRPLRLPPVLSHPIFDNRAPNTAELKICRVNRNSGSCLGGDEIFLLCDKVQKED
IEVYFTGPGWEARGSFSQADVHRQVAIVFRTPPYADPSLQAPVRVSMQLRRPSDRELSEPMEFQYLPDTDDRHRIEE
KRKRTYETFKSIMKKSPFSGPTDPRPPPRRIAVPSRSSASVPKPAPQPYPFTSSLSTINYDEFPTMVFPSGQISQAS
ALAPAPPQVLPQAPAPAPAPAMVSALAQAPAPVPVLAPGPPQAVAPPAPKPTQAGEGTLSEALLQLQFDDEDLGALL
GNSTDPAVFTDLASVDNSEFQQLLNQGIPVAPHTTEPMLMEYPEAITRLVTGAQRPPDPAPAPLGAPGLPNGLLSGD
EDFSSIADMDFSALLSQISS

[0267] 人c-Rel的示例性序列如下所示：

[0268] SEQ ID NO:33(UniParc登录号UPI000013367B)

[0269] MASGAYNPYIEIIEQPRQRGMRFRYKCEGRSAGS IPGEHSTDNNRTYPS IQIMNYYGKGKVRITLV
TKNDPYKPHPHDLVGKDCRDGYYEAEFGQERRPLFFQNLGIRCVKKKEVKEAIITRIKAGINPFNVPEKQLNDIEDC
DLNVVRLCFQVFLPDEHGNLTTALPPVVSNPIYDNRAPNTAELRICRVNKNCGSVRGGDEIFLLCDKVQKDDIEVRF
VLNDWEAKGIFSQADVHRQVAIVFKTPPYCKAITEPVTVKMQLRRPSDQEVSESMDFRYLPDEKDTYGNKAKKQKTT
LLFQKLCQDHVETGFRHVDQDGLELLTSGDPPTLASQSAGITVNFPERPRPGLLGSIGEGRYFKKEPNLFSHDAVVR
EMPTGVSSQAESYYPSPGPISSGLSHHASMAPLPSSSWSSVAHPTPRSGNTNPLSSFSTRTLPSNSQGIPPFLRIPV
GNDLNASNACIYNNADDIVGMEASSMPSADLYGISDPNMLSNCSVNMMTTSSDSMGETDNPRLLSMNLENPSCNSVL
DPRDLRQLHQMSSSSMSAGANSNTTVFVSQSDAFEGSDFSCADNSMINESGPSNSTNPNSHGFVQDSQYSGIGSMQN
EQLSDSFPYEFFQV

[0270] 如本文所使用的,术语“与CBM复合物下游的JNK通路的组分相关的癌症”是指与基因、蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调的癌症,所述失调与CBM复合物下游的JNK通路的组分相关。在一些实施例中,与CBM复合物下游的JNK通路的组分相关的癌症选自由以下组成的组:JNK1相关癌症、JNK2相关癌症、JNK3相关癌症、MYD88转录因子相关癌症、AP-1转录因子相关癌症及其组合。与本段中描述的特定基因或蛋白质“相关”的癌症是指与特定基因、特定蛋白质或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平相关或具有失调(例如,本文所述的特定基因、特定蛋白质或其中任一

者的表达或活性或水平的任何类型的失调)的癌症。本文描述了此类癌症的非限制性实例。

[0271] 人JNK1的示例性序列如下所示：

[0272] SEQ ID NO:34(UniParc登录号UPI000012F17A)

[0273] MSRSKRDNNFYSVEIGDSTFTVLKRYQNLKPIGSGAQGIVCAAYDAILERNVAIKKLSRPFQNQTHAKR AYRELVLMKCVNHKNIIGLLNVFTPQKSLEEFQDVYIVMELMDANLCQVIQMELDHERMSYLLYQMLCGIKHLHSAG IIHRDLKPSNIVVKSDCTLKILDFGLARTAGTSFMMTPYVVTRYYRAPEVILGMGYKENVDLWSVGCIMGEMVCHKI LFPGRDYIDQWNKVIEQLGTPCPEFMKKLQPTVRTYVENRPKYAGYSFEKLFPDVLFPADSEHNKLKASQARDLLSK MLVIDASKRISVDEALQHPYINVWYDPSEAEAPPPKIPDKQLDEREHTIEEWKELIYKEVMDLEERTKNGVIRGQPS PLGAAVINGSQHPSSSSSVNDVSSMSTDPTLASDTDSSLEAAAGPLGCCR

[0274] 人JNK2的示例性序列如下所示：

[0275] SEQ ID NO:35(UniParc登录号UPI000006E3AD)

[0276] MSDSKCDSQFYSVQVADSTFTVLKRYQQLKPIGSGAQGIVCAAFDTVLGINVAVKKLSRPFQNQTHAKR AYRELVLLKCVNHKNIISLLNVFTPQKTLEEFQDVYLVMELMDANLCQVIHMELDHERMSYLLYQMLCGIKHLHSAG IIHRDLKPSNIVVKSDCTLKILDFGLARTACTNFMMTPYVVTRYYRAPEVILGMGYKENVDIWSVGCIMGELVKGCV IFQGTDHIDQWNKVIEQLGTPSAEFMKKLQPTVRNYVENRPKYPGIKFEELFPDWIFPSESERDKIKTSQARDLLSK MLVIDPDKRISVDEALRHPYITVWYDPAEAEAPPPQIYDAQLEEREHAIEEWKELIYKEVMDWEERSKNGVVKDQPS DAAVSSNATPSQSSSSINDISSMSTEQTLASDTDSSLDASTGPLEGCR

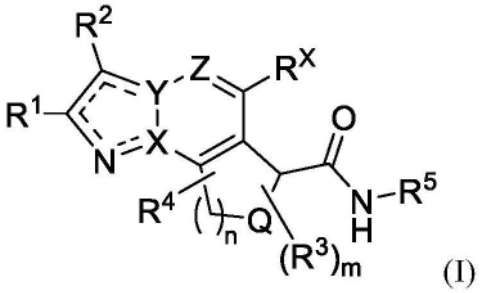
[0277] 人JNK3的示例性序列如下所示：

[0278] SEQ ID NO:36(UniParc登录号UPI0000049042)

[0279] MSLHFLYYCSEPTLDVKIAFCQGFDKQVDVSYIAKHYNMSKSKVDNQFYSVEVGDSTFTVLKRYQNLKP IGSGAQGIVCAAYDAVLDRNVAIKKLSRPFQNQTHAKRAYRELVLMKCVNHKNIISLLNVFTPQKTLEEFQDVYLVM ELMDANLCQVIQMELDHERMSYLLYQMLCGIKHLHSAGIIHRDLKPSNIVVKSDCTLKILDFGLARTAGTSFMMTPY VVTRYYRAPEVILGMGYKENVDIWSVGCIMGEMVRHKILFPGRDYIDQWNKVIEQLGTPCPEFMKKLQPTVRNYVEN RPKYAGLTFPKLFPDSLFPADSEHNKLKASQARDLLSKMLVIDPAKRISVDDALQHPYINVWYDPAEVEAPPPQIYD KQLDEREHTIEEWKELIYKEVMNSEEKTKNGVVKGQPSPSGAAVNSSESLPPSSSVNDISSMSTDQTLASDTDSSLE ASAGPLGCCR

[0280] 式(I)化合物

[0281] 本文提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐：

[0282] 

(I)

[0283] 其中：

[0284] 每个 为单键或双键；

[0285] Q为-CH_2-、O或NH；

[0286] X为N或C；

[0287] Y为N或C；

[0288] Z为N或CR^6；

[0289] 其中当X和Y中的一者为N时，X和Y中的另一者为C；

[0290] n为1、2或3；

[0291] R^X为氢或卤素；

[0292] R^1为氢、卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基、$-NR^AR^B$、或任选地被1-3个选自羟基和C1-C3烷氧基的取代基取代的C1-C3烷基；

[0293] R^2为氢、卤素、氨基或C1-C3烷基；

[0294] 每个R^3独立地为氘、卤素、C3-C6环烷基、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基或C1-C3卤代烷基；

[0295] m为0、1、2或3；

[0296] R^4为任选地被一至三个取代基取代的5至10元杂芳基，每个取代基独立地选自R^7；

[0297] R^5为苯基或5至9元杂芳基，其中每个R^5基团任选地被1-3个独立地选自R^8的取代基取代；

[0298] R^6为氢、卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基、$-NR^CR^D$和C1-C3烷基；

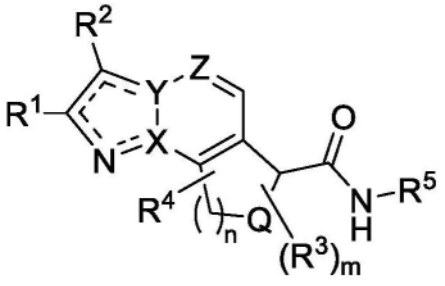
[0299] 每个R^7独立地选自由卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基、氧杂环丁基、$-NR^CR^D$、任选地被一个环丙基取代的C1-C3烷基组成的组；以及任选地被一个C1-C3烷基取代的C3-C7环烷基；

[0300] 每个R^8独立地选自卤素；氰基；氨基；$-N=(S=O)(C1-C3烷基)_2$；$-S(=O)_p(C1-C3烷基)$；1-亚氨基-1-λ^6-噻吩基1-氧化物、$(C=O)NR^ER^F$；C1-C3烷氧基；任选地被羟基取代的C1-C3卤代烷基；C1-C3卤代烷氧基；任选地被以下取代的5至6元杂芳基：卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、氨基、C1-C3卤代烷基、4至6元杂环基或任选地被羟基或$-NR^ER^F$取代的C1-C3烷基；C1-C4烷基，其任选地被羟基、$-NR^ER^F$或C1-C3烷氧基取代；3至8元杂环基；以及C3-C6环烷氧基；

[0301] p为1或2；并且

[0302] R^A、R^B、R^C、R^D、R^E和R^F独立地为氢、C1-C3烷基、C3-C6环烷基，或者R^A和R^B、或R^C和R^D、或R^E和R^F与它们所连接的氮原子一起结合在一起以形成任选地被1-2个卤素取代的4至6元杂环基。

[0303] 在一些实施例中，式(I)化合物或其药学上可接受的盐具有以下结构：

[0304] 

(Ia)。

[0305] 在一些实施例中，Q为$-CH_2-$。在一些实施例中，Q为O。在一些实施例中，Q为NH。

[0306] 在一些实施例中，部分由X和Y形成的五元含氮环为杂芳环。

[0307] 在一些实施例中,X为C并且Y为C。

[0308] 在一些实施例中,X为N并且Y为C。

[0309] 在一些实施例中,X为C并且Y为N。

[0310] 在一些实施例中,Z为N。在一些实施例中,Z为CR^6。在一些实施例中,Z为CR^6,其中R^6为氢。

[0311] 在一些实施例中,X为C;Y为C;并且Z为CR^6。在一些实施例中,X为N;Y为C;并且Z为CR^6。在一些实施例中,X为C;Y为N;并且Z为CR^6。在一些实施例中,X为C;Y为N;并且Z为CR^6,其中R^6为氢。在一些实施例中,X为C;Y为C;并且Z为N。在一些实施例中,X为N;Y为C;并且Z为N。在一些实施例中,X为C;Y为N;并且Z为N。

[0312] 在一些实施例中,R^6为氢。

[0313] 在一些实施例中,R^6为卤素。例如,R^6为氟。例如,R^6为氯。在一些实施例中,R^6为氰基。在一些实施例中,R^6为羟基。

[0314] 在一些实施例中,R^6为C1-C3烷氧基。在一些实施例中,R^6为甲氧基或乙氧基。

[0315] 在一些实施例中,R^6为C1-C3卤代烷氧基。在一些实施例中,R^6为三氟甲氧基、二氟甲氧基或氟甲氧基。

[0316] 在一些实施例中,R^6为C1-C3卤代烷基。在一些实施例中,R^6为三氟甲基或2,2,2-三氟乙基。

[0317] 在一些实施例中,R^1为卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷基、$-NR^AR^B$或任选地被1-3个选自羟基和C1-C3烷氧基的取代基取代的C1-C3烷基。

[0318] 在一些实施例中,R^1为卤素或氰基。在一些实施例中,R^1为氯或氰基。在一些实施例中,R^1为氢。在一些实施例中,R^1为卤素。在一些实施例中,R^1为氟或氯。在一些实施例中,R^1为氟。在一些实施例中,R^1是氯。在一些实施例中,R^1为氰基。在一些实施例中,R^1为羟基。

[0319] 在一些实施例中,R^1为C1-C3烷氧基。在一些实施例中,R^1为甲氧基或乙氧基。

[0320] 在一些实施例中,R^1为C1-C3卤代烷氧基。在一些实施例中,R^1为三氟甲氧基、二氟甲氧基或氟甲氧基。

[0321] 在一些实施例中,R^1为C1-C3卤代烷基。在一些实施例中,R^1为二氟甲基、三氟甲基或2,2,2-三氟乙基。

[0322] 在一些实施例中,R^1为任选地被1-3个选自羟基和C1-C3烷氧基的取代基取代的C1-C3烷基。

[0323] 在一些实施例中,R^2为氢。在一些实施例中,R^2为卤素。在一些实施例中,R^2为氟。在一些实施例中,R^2为氯。在一些实施例中,R^2为氨基。在一些实施例中,R^2为C1-C3烷基,诸如甲基。

[0324] 在一些实施例中,n为1、2或3。在一些实施例中,n为1或2。在一些实施例中,n为2或3。在一些实施例中,n为1或3。在一些实施例中,n为1。在一些实施例中,n为2。在一些实施例中,n为3。

[0325] 在一些实施例中,m为0、1、2或3。在一些实施例中,m为0、1或2。在一些实施例中,m为1、2或3。在一些实施例中,m为0、2或3。在一些实施例中,m为0、1或3。在一些实施例中,m为0或1。在一些实施例中,m为0或2。在一些实施例中,m为0或3。在一些实施例中,m为1或2。在一些实施例中,m为1或3。在一些实施例中,m为2或3。在一些实施例中,m为0。在一些实施例

中,m为1。在一些实施例中,m为2。在一些实施例中,m为3。

[0326] 在一些实施例中,每个R^3独立地为氘、卤素、羟基、C3-C6环烷基、C1-C3烷基、C1-C3卤代烷基、C1-C3烷氧基或C1-C3卤代烷氧基。

[0327] 在一些实施例中,每个R^3独立地为卤素。在一些实施例中,R^3为氟。在一些实施例中,R^3为氯。在一些实施例中,每个R^3独立地为羟基。

[0328] 在一些实施例中,每个R^3独立地为C3-C6环烷基、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基或C1-C3卤代烷基。

[0329] 在一些实施例中,每个R^3独立地为C1-C3烷基。例如,R^3为甲基或乙基。在一些实施例中,每个R^3独立地为C1-C3烷氧基。例如,R^3为甲氧基或乙氧基。在一些实施例中,每个R^3独立地为C1-C3卤代烷氧基。例如,R^3为三氟甲氧基、二氟甲氧基或氟甲氧基。在一些实施例中,每个R^3独立地为C1-C3卤代烷基。例如,每个R^3为三氟甲基或2,2,2-三氟乙基。

[0330] 在一些实施例中,m为1,并且R^3为甲基或三氟甲基。

[0331] 在一些实施例中,R^4为任选地被一至三个各自独立地选自R^7的取代基取代的5元或6元杂芳基。

[0332] 在一些实施例中,R^4为任选地被一至三个各自独立地选自R^7的取代基取代的6元杂芳基。

[0333] 在一些实施例中,R^4为任选地被一至三个各自独立地选自R^7的取代基取代的5元杂芳基。

[0334] 在一些实施例中,R^4为任选地被一至三个各自独立地选自R^7的取代基取代的4H-吡唑基、3H-吡唑基或噻唑基。

[0335] 在一些实施例中,R^4是未被取代的。例如,R^4是未取代的4H-吡唑基、3H-吡唑基或噻唑基。

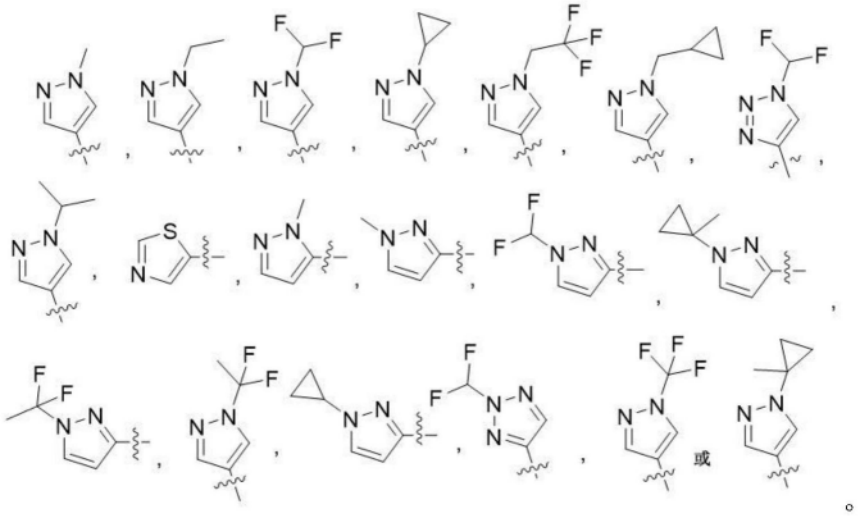
[0336] 在一些实施例中,R^4为被一至三个各自独立地选自R^7的取代基取代的5元或6元杂芳基。在其它实施例中,R^4为被一个选自R^7的取代基取代的5元或6元杂芳基。

[0337] 在一些实施例中,每个R^7独立地选自由C1-C3卤代烷基、C1-C3烷基和环烷基组成的组。在一些实施例中,R^7为甲基、乙基、环丙基或二氟甲基。

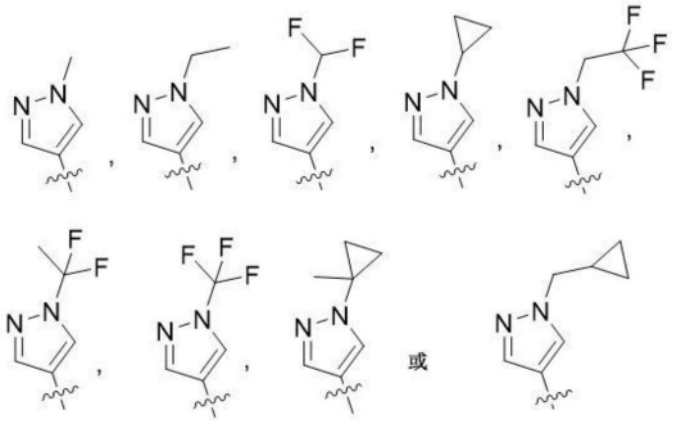
[0338] 在一些实施例中,每个R^7独立地选自由任选地被一个环丙基取代的C1-C3烷基组成的组。

[0339] 在一些实施例中,每个R^7独立地选自由任选地被一个C1-C3烷基取代的C3-C7环烷基组成的组。在一些实施例中,C3-C7烷基为环丙基。

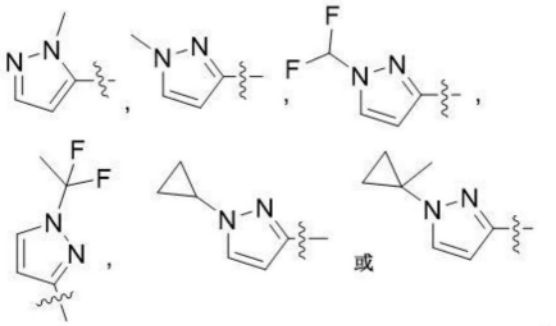
[0340] 在一些实施例中,R^4为:

[0341] 

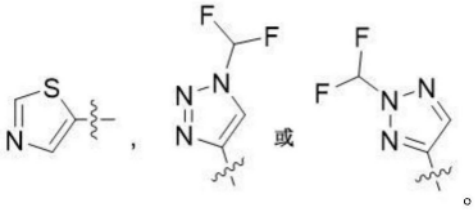
[0342] 在一些实施例中,R^4为:

[0343] 

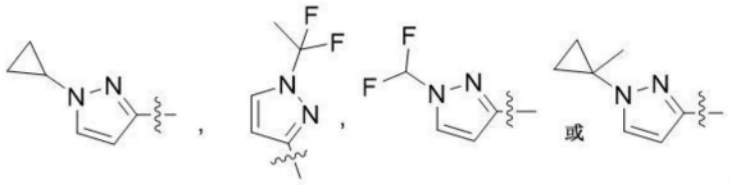
[0344] 在一些实施例中,R^4为:

[0345] 

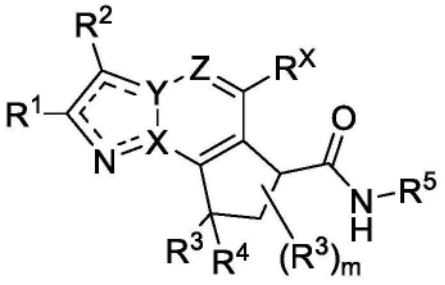
[0346] 在一些实施例中,R^4为:

[0347] 

[0348] 在一些实施例中,R^4为:

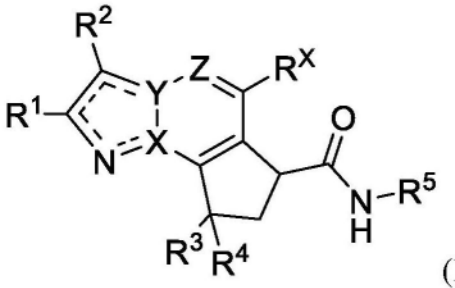
[0349] 

[0350] 在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐具有以下结构:

[0351] 

(Ib)。

[0352] 在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐具有以下结构:

[0353] 

(Ic)。

[0354] 在一些实施例中,R^5为苯基或5至6元杂芳基;其中每个R^5基团任选地被1-2个独立选择的R^8取代。在一些实施例中,R^5为苯基或5至6元杂芳基;其中每个R^5基团任选地被2-3个独立选择的R^8取代。在一些实施例中,R^5为苯基或5至6元杂芳基;其中每个R^5基团任选地被1至3个独立选择的R^8取代。在一些实施例中,R^5为苯基或5至6元杂芳基;其中每个R^5基团任选地被1个R^8取代。在一些实施例中,R^5为苯基或5至6元杂芳基;其中每个R^8基团任选地被2个独立选择的R^8取代。在一些实施例中,R^5为苯基或5至6元杂芳基;其中每个R^5基团任选地被3个独立选择的R^8取代。

[0355] 在一些实施例中,R^5为苯基或5元杂芳基;其中每个R^5基团任选地被1-3个独立地选自R^8的取代基取代。在一些实施例中,R^5为苯基或6元杂芳基;其中每个R^5基团任选地被1-3个独立地选自R^8的取代基取代。

[0356] 在一些实施例中,R^5为任选地被1-3个独立选择的R^8取代的苯基。在某些实施例中,R^5为任选地被1个R^8取代的苯基。在某些实施例中,R^5为任选地被2个独立选择的R^8取代的苯基。在某些实施例中,R^5为任选地被3个独立选择的R^8取代的苯基。

[0357] 在一些实施例中,R^5为未经取代的苯基。

[0358] 在一些实施例中,R^5为任选地被1-3个(例如,2个)独立地选自R^8的取代基取代的5至6元杂芳基。在一些实施例中,R^5为任选地被1-3个(例如,2个)独立地选自R^8的取代基取代的6元杂芳基。

[0359] 在一些实施例中,R^5为未经取代的5至6元杂芳基。

[0360] 在一些实施例中,R^5为被1-3个独立地选自R^8的取代基取代的5至6元杂芳基。

[0361] 在一些实施例中,R^5为未经取代的5至6元杂芳基。在一些实施例中,R^8中的至少一

个为卤素。在一些实施例中,R^8中的至少一个为氟。在一些实施例中,R^8中的至少一个为氯。在一些实施例中,R^8中的一个为卤素。在一些实施例中,R^8中的一个为氟。在一些实施例中,R^8中的一个为氯。在一些实施例中,R^8中的两个为卤素。在一些实施例中,R^8中的两个为氟。在一些实施例中,R^8中的两个为氯。在一些实施例中,R^8中的三个为卤素。在一些实施例中,R^8中的三个为氟。在一些实施例中,R^8中的三个为氯。在一些实施例中,R^8中的至少一个为氰基。在一些实施例中,R^8中的至少一个为氨基。

[0362] 在一些实施例中,R^8中的至少一个为C1-C3烷氧基。在一些实施例中,R^8中的至少一个为甲氧基或乙氧基。

[0363] 在一些实施例中,R^8中的至少一个为任选地被羟基取代的C1-C3卤代烷基。在一些实施例中,R^8中的至少一个为未经取代的C1-C3卤代烷基。在一些实施例中,R^8中的至少一个为被羟基取代的C1-C3卤代烷基。在一些实施例中,R^8中的至少一个为三氟甲基、2,2-二氟乙基或2,2,2-三氟乙基。在一些实施例中,R^8中的至少一个为1-羟基-2,2-二氟乙基。

[0364] 在一些实施例中,R^8中的至少一个为C1-C3卤代烷氧基。在一些实施例中,R^8中的至少一个为三氟甲氧基。

[0365] 在一些实施例中,R^8中的至少一个为任选地被以下取代的5至6元杂芳基:卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、氨基、C1-C3卤代烷基、4至6元杂环基或任选地被羟基或-NR^ER^F取代的C1-C3烷基。在一些实施例中,R^8中的至少一个为任选地被以下取代的5至6元杂芳基:卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、任选地被羟基或-NR^ER^F取代的C1-C3烷基、氨基或C1-C3卤代烷基。在一些实施例中,R^8为任选地被C1-C3烷基取代的5至6元杂芳基,所述C1-C3烷基任选地被羟基或-NR^ER^F取代。在一些实施例中,R^8中的至少一个为任选地被以下取代的5至6元杂芳基:卤素、C1-C3卤代烷基或任选地被羟基或-NR^ER^F取代的C1-C3烷基。在一些实施例中,R^8为被C1-C3烷基取代的5至6元杂芳基,所述C1-C3烷基被羟基或-NR^ER^F取代。在一些实施例中,R^8为被以下取代的5至6元杂芳基:羟甲基、氨基甲基、羟乙基、氨基乙基、丙-2-醇或丙-2-胺。在一些实施例中,R^8中的至少一个为任选地被4至6元杂环基取代的5至6元杂芳基。

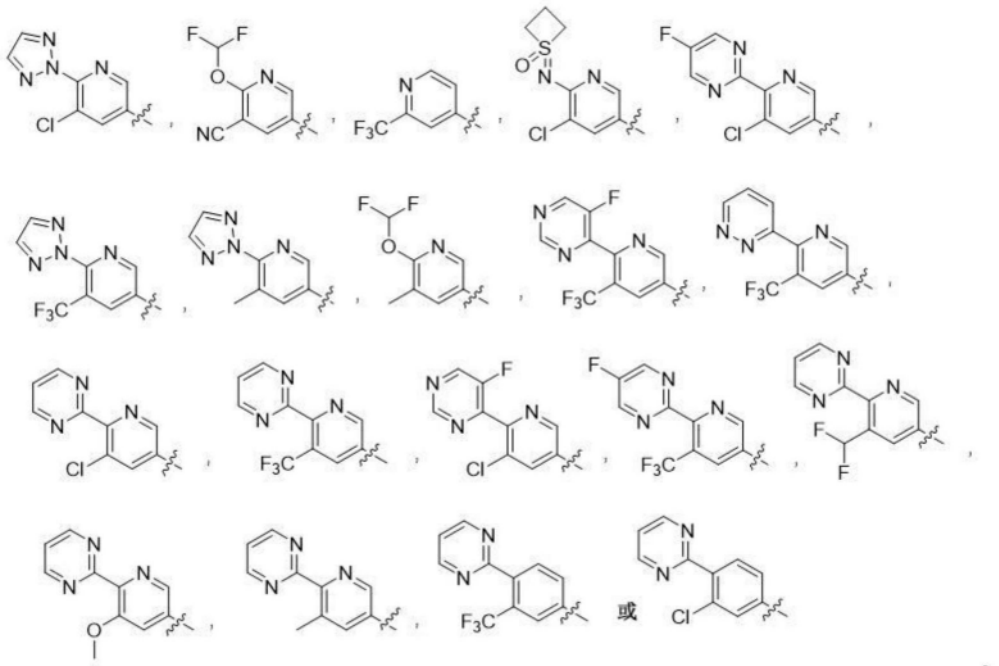
[0366] 在一些实施例中,R^5为吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、吡咯基或咪唑基;其中每个基团被两个R^8取代:一个R^8为三唑基、咪唑基、噁唑基、吡唑基或吡咯烷基;并且另一个R^8为甲基、甲氧基、三氟甲基、三氟甲氧基、氯或氰基。在一些实施例中,R^5为吡啶基、嘧啶基或吡嗪基;其中每个基团被两个R^8取代:一个R^8为三唑基、咪唑基、噁唑基、吡唑基或吡咯烷基;并且另一个R^8为甲基、甲氧基、三氟甲基、三氟甲氧基、氯或氰基。在一些实施例中,R^5为被两个R^8取代的吡啶基,一个R^8为三唑基、咪唑基或噁唑基;并且另一个R^8为甲基、甲氧基、三氟甲基、三氟甲氧基、氯或氰基。

[0367] 在一些实施例中,R^5为被1-3个独立选择的R^8取代的3-吡啶基或4-吡啶基。

[0368] 在一些实施例中,R^5被两个R^8取代,其中一个R^8选自由以下组成的组:氰基、氟、氯、甲基、乙基、甲氧基、三氟甲基,并且且另一个R8选自由以下组成的组:1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-2-基、4-甲基-1,2,3-三唑-1-基、4-氨基-1,2,3-三唑-2-基、5-氰基-1,2,3-三唑-1-基、1,2,3-三唑-1-基、3-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-甲基-1,2,4-三唑-1-基、5-氨基-1,2,4-三唑-1-基、1-甲基-5-氨基-1,2,4-三唑-3-基、1,2,4-三唑-4-酮-2-基、四唑-5-基、2-甲基-四唑-5-基、1-甲基-四唑-5-基、咪唑-1-基、1-甲基-咪唑-3-基、1-甲基-

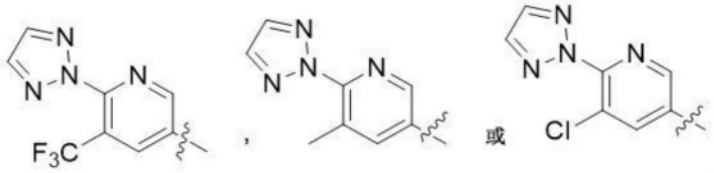
5-氨基-咪唑-3-基、3-甲基咪唑-2-酮-1-基、1-甲基-吡唑-3-基、1-甲基-吡唑-4-基、1-甲基-吡唑-5-基、吡咯-1-基、噻唑-2-基、异噻唑烷-2-基-1,1-二氧化物、吡咯烷-2-酮-1-基、噁唑-2-基、噁二唑-2-基、2-氨基-嘧啶-4-基、-(C=O)4-甲基哌嗪-1-基、2-氧代氮杂环丁烷-1-基、氮杂环丁烷-1-基、-(C=O)$N(CH_3)_2$、-(C=O)$NHCH_3$、-(C=O)$NHCH_2CH_3$、-(C=O)NH环丙基、-(C=O)(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)、2-羟基丙-2-基、1-羟基乙基、二甲基(氧代)λ^6-亚硫基、甲氧基、乙氧基、二氟甲氧基、甲基、氰基。

[0369] 在一些实施例中,R^5为:

[0370] 

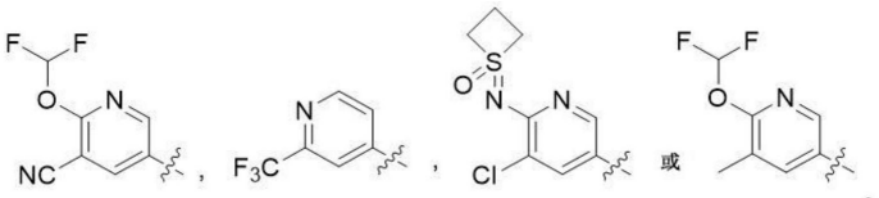
。

[0371] 在一些实施例中,R^5为:

[0372] 

。

[0373] 在一些实施例中,R^5为:

[0374] 

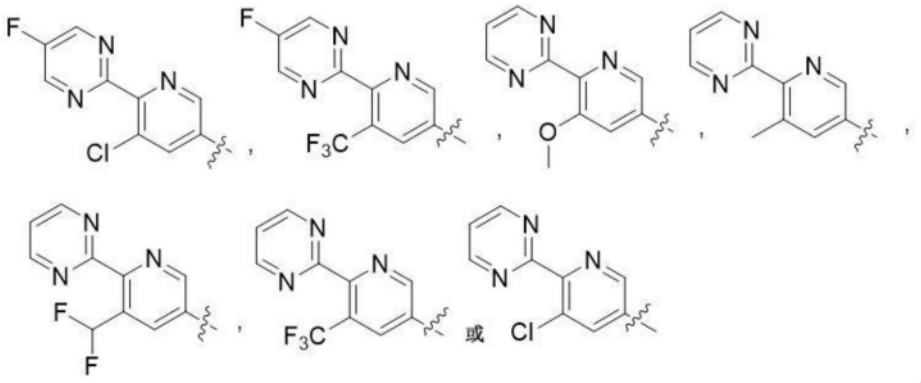
。

[0375] 在一些实施例中,R^5为:

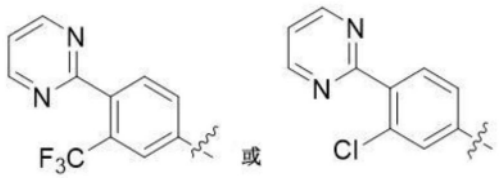
[0376] 

。

[0377] 在一些实施例中,R^5为:

[0378] 

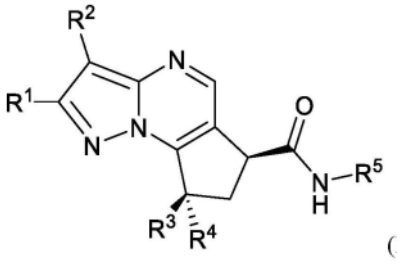
[0379] 在一些实施例中,R^5为:

[0380] 

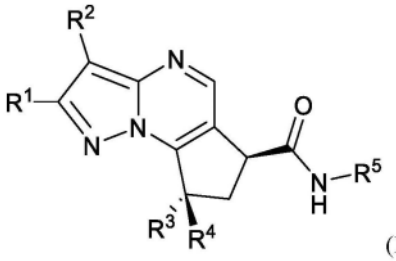
[0381] 在一些实施例中,R^X为氢。在一些实施例中,R^X为卤素。在一些实施例中,R^X为氟。在一些实施例中,R^X为氯。

[0382] 在一些实施例中,R^A、R^B、R^C、R^D、R^E和R^F独立地为氢或C1-C3烷基。

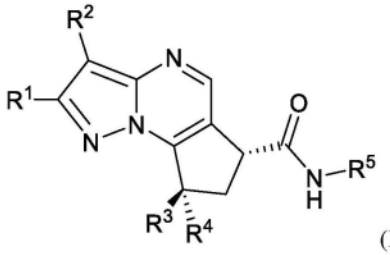
[0383] 在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐具有以下结构:

[0384] 
(Id)。

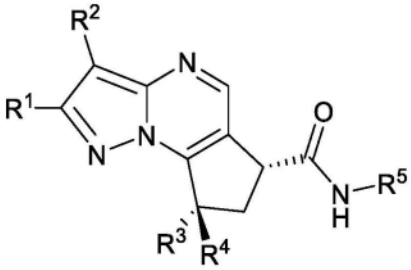
[0385] 在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐具有以下结构:

[0386] 
(Ie)。

[0387] 在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐具有以下结构:

[0388] 
(If)。

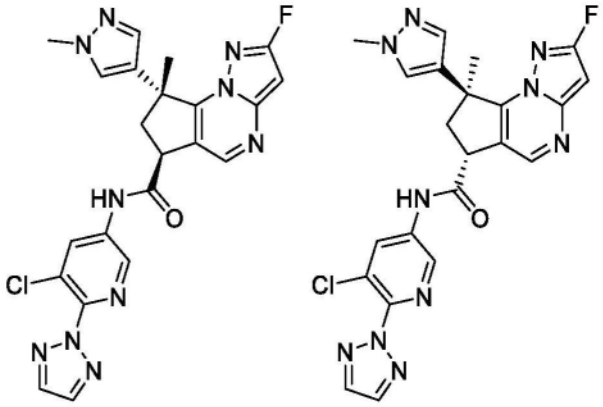
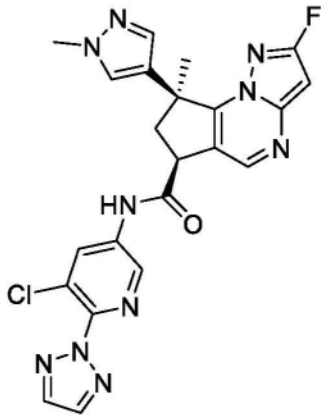
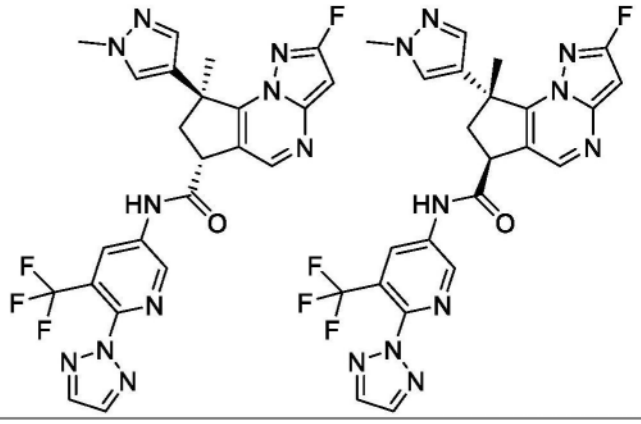
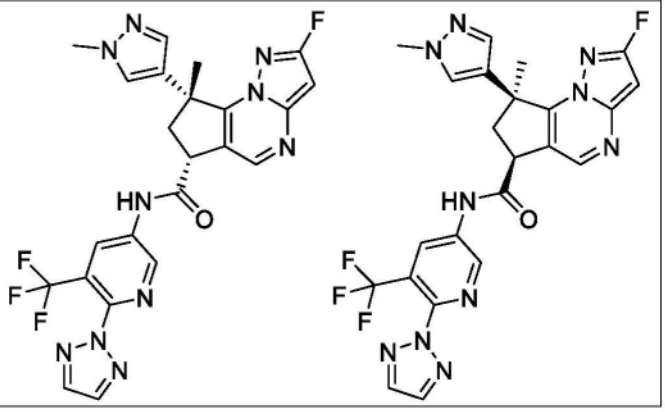
[0389] 在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐具有以下结构:

[0390] 

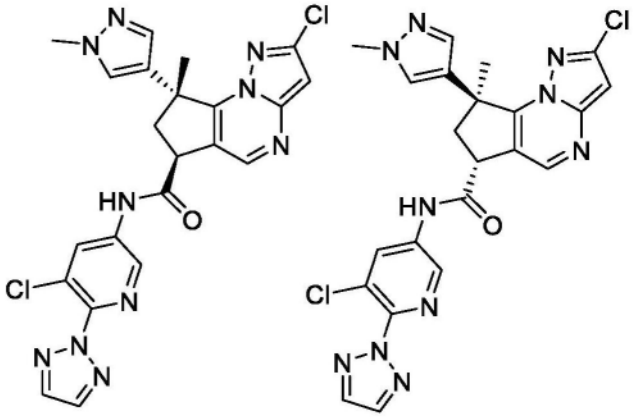
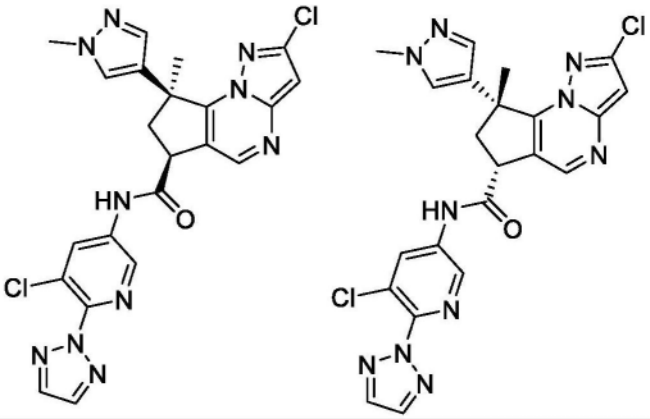
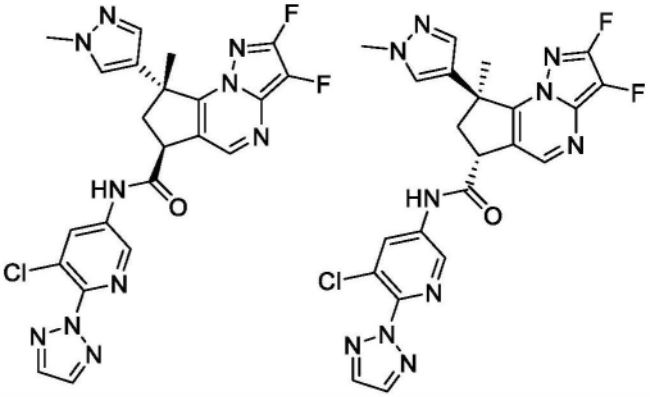
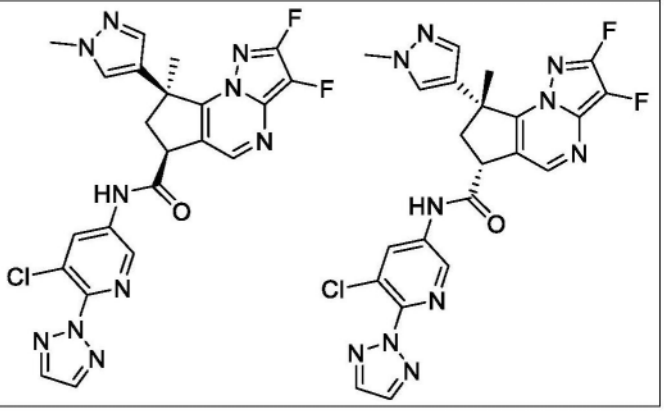
(Ig)。

[0391] 表1.代表性的实例包括以下：

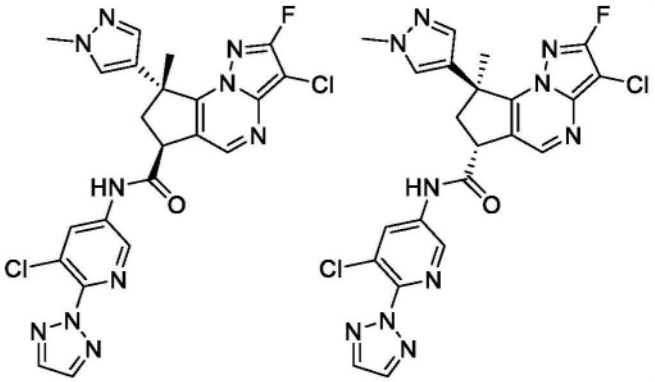
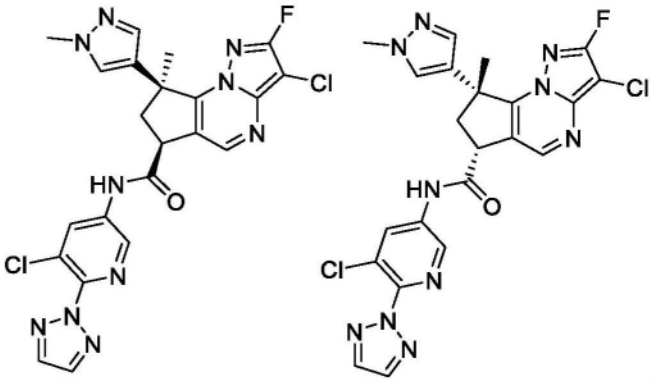
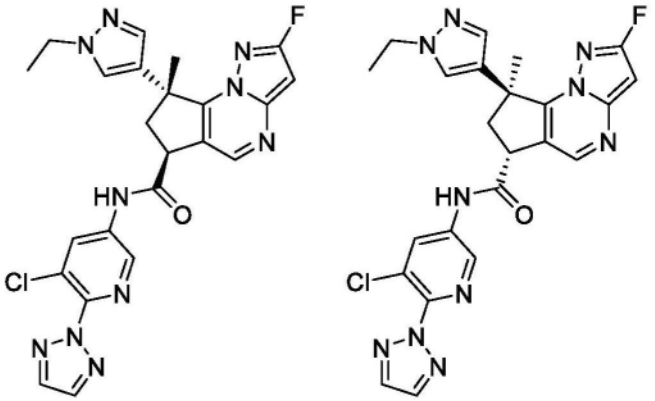
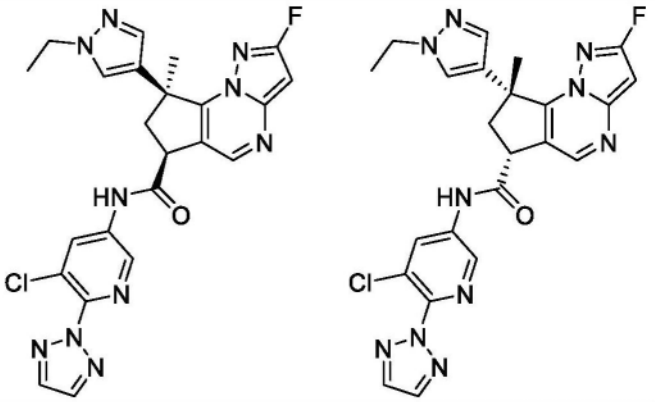
[0392]

实例编号	结构
1（第一洗脱异构体）* **2**（第二洗脱异构体）*	
3	
4（第一洗脱异构体）* **5**（第二洗脱异构体）*	
6（第一洗脱异构体）* **7**（第二洗脱异构体）*	

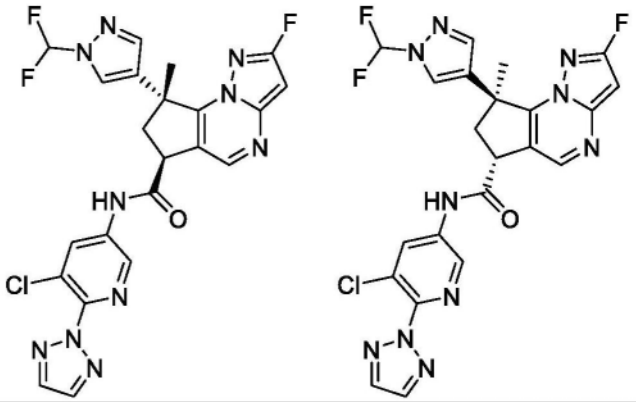
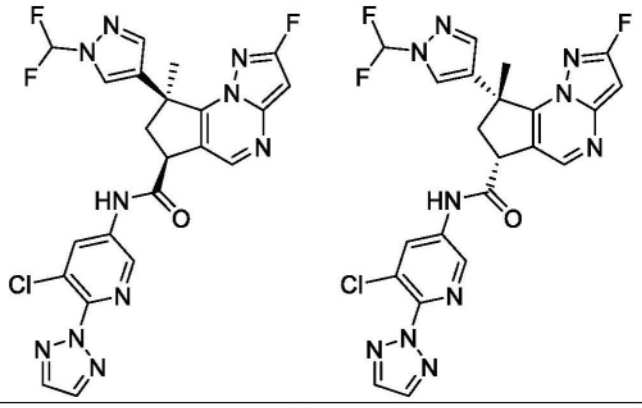
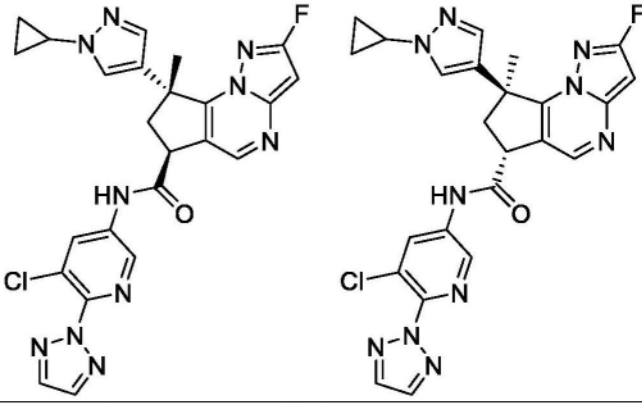
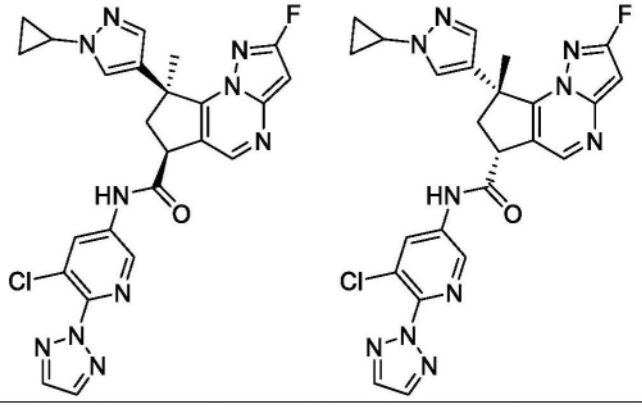
[0393]

实例编号	结构
8（第二洗脱异构体）* **9**（第一洗脱异构体）*	
10（第一洗脱异构体）* **11**（第二洗脱异构体）*	
12（第二洗脱异构体）* **13**（第一洗脱异构体）*	
14（第二洗脱异构体）* **15**（第一洗脱异构体）*	

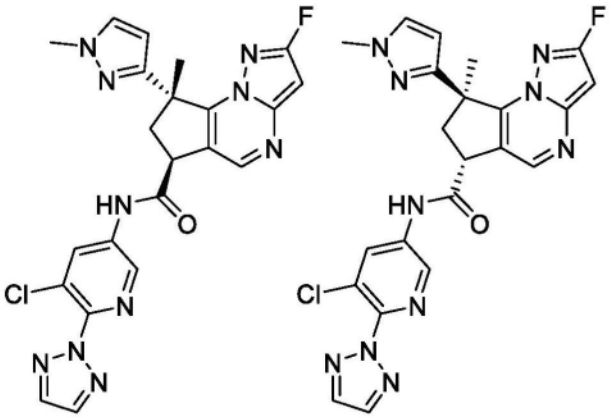
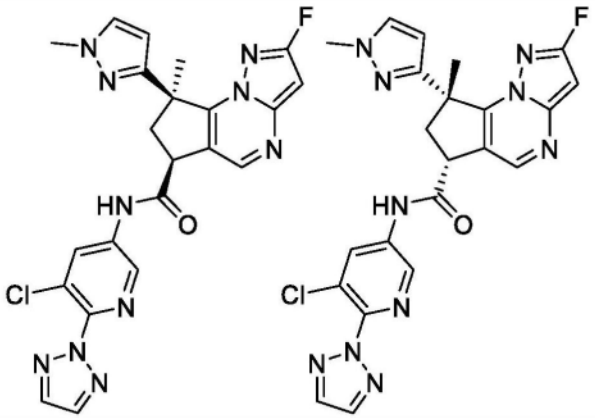
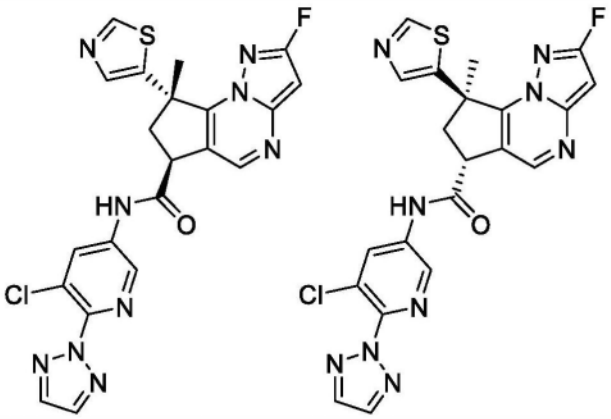
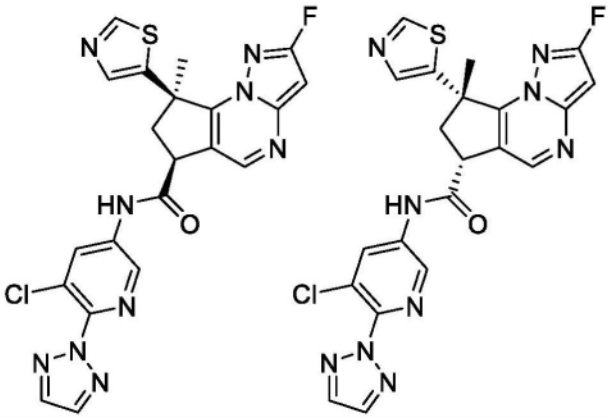
[0394]

实例编号	结构
16（第二洗脱异构体）* **17**（第一洗脱异构体）*	
18（第一洗脱异构体）* **19**（第二洗脱异构体）*	
20（第二洗脱异构体）* **21**（第一洗脱异构体）*	
22（第二洗脱异构体）* **23**（第一洗脱异构体）*	

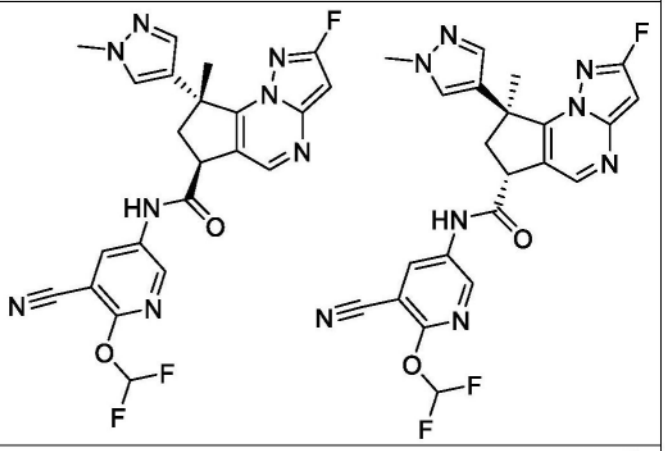
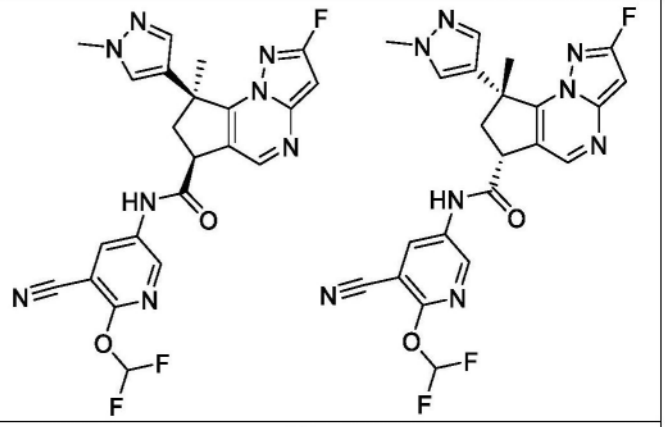
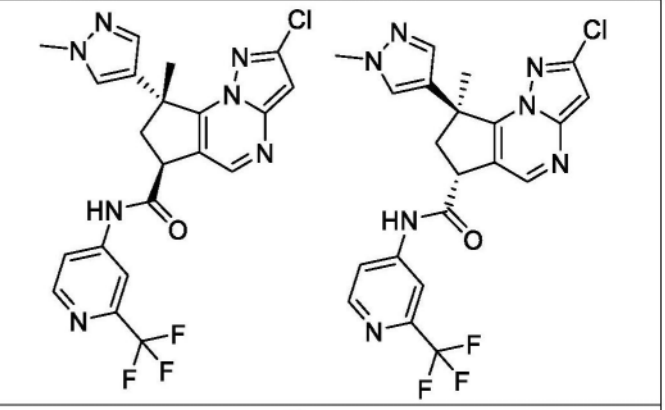
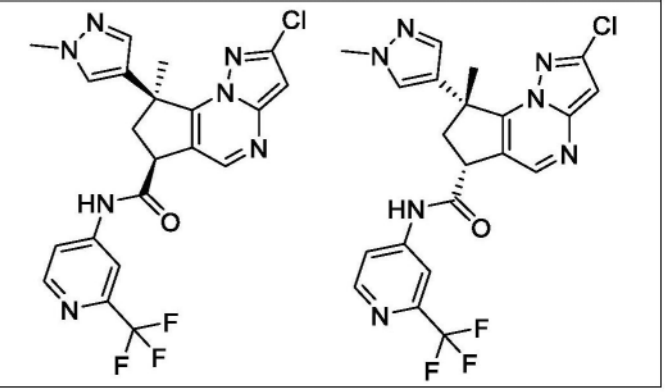
[0395]

实例编号	结构
24（第二洗脱异构体）* **25**（第一洗脱异构体）*	
26（第二洗脱异构体）* **27**（第一洗脱异构体）*	
28（第二洗脱异构体）* **29**（第一洗脱异构体）*	
30（第二洗脱异构体）* **31**（第一洗脱异构体）*	

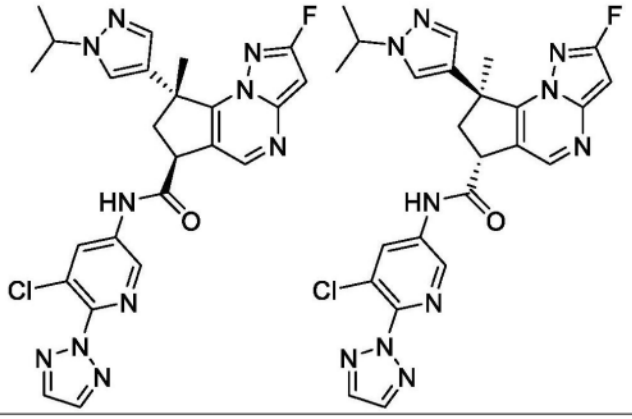
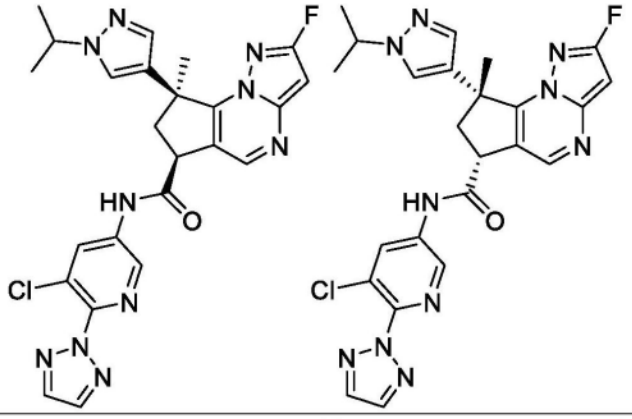
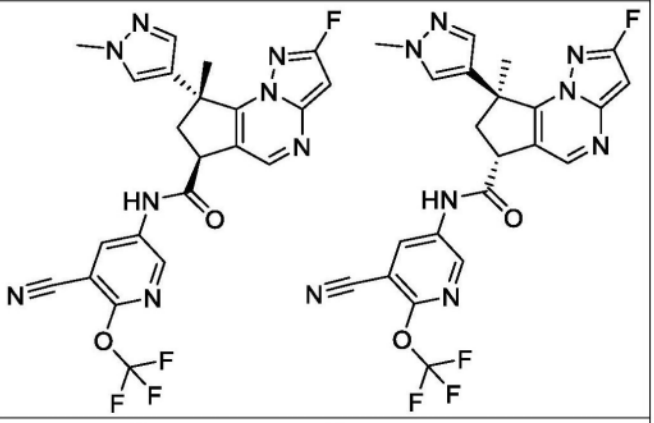
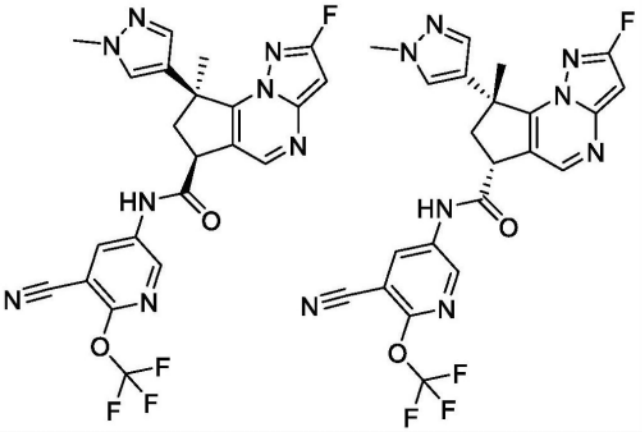
[0396]

实例编号	结构
32（第二洗脱异构体）* **33**（第一洗脱异构体）*	
34（第一洗脱异构体）* **35**（第二洗脱异构体）*	
36（第二洗脱异构体）* **37**（第一洗脱异构体）*	
38（第一洗脱异构体）* **39**（第二洗脱异构体）*	

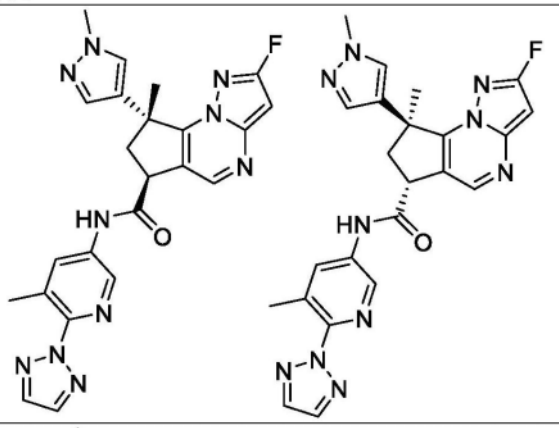
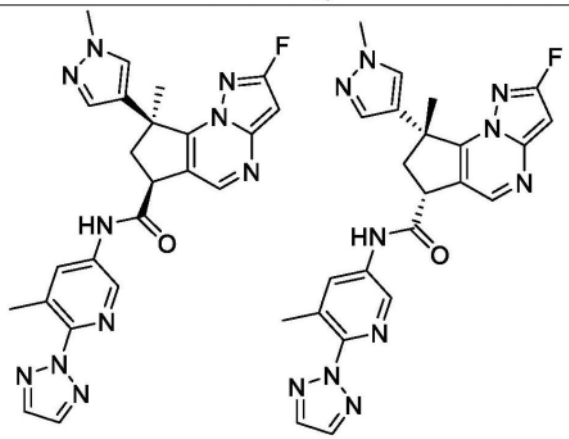
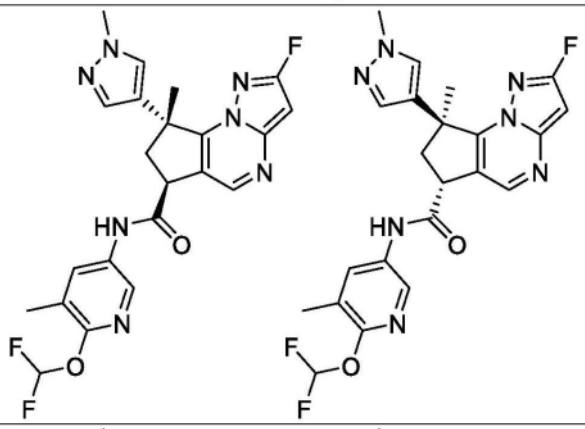
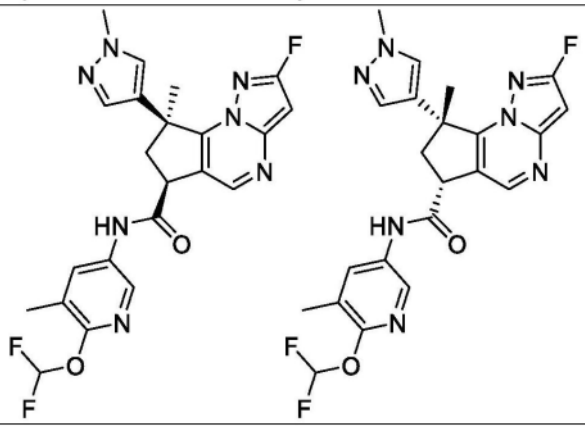
[0397]

实例编号	结构
40（第二洗脱异构体）* **41**（第一洗脱异构体）*	
42（第二洗脱异构体）* **43**（第一洗脱异构体）*	
44（第二洗脱异构体）* **45**（第一洗脱异构体）*	
46（第一洗脱异构体）* **47**（第二洗脱异构体）*	

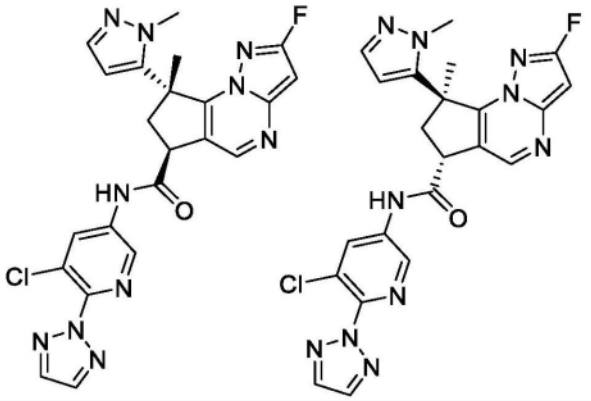
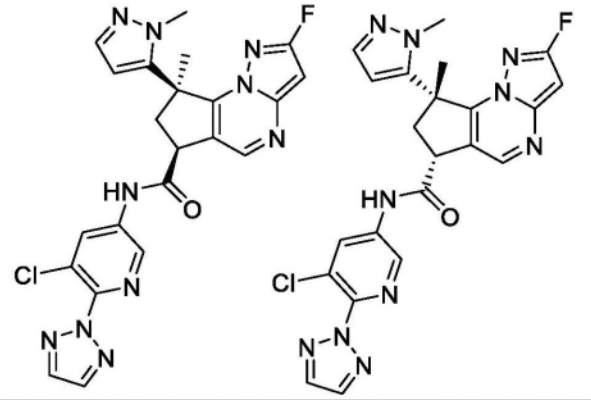
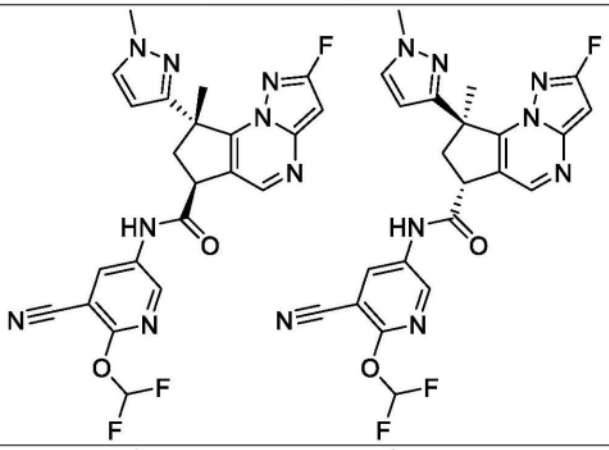
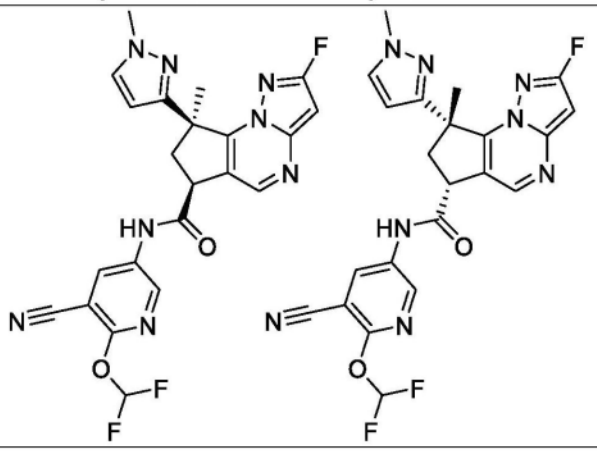
[0398]

实例编号	结构
48（第二洗脱异构体）* **49**（第一洗脱异构体）*	
50（第二洗脱异构体）* **51**（第一洗脱异构体）*	
52（第二洗脱异构体）* **53**（第一洗脱异构体）*	
54（第二洗脱异构体）* **55**（第一洗脱异构体）*	

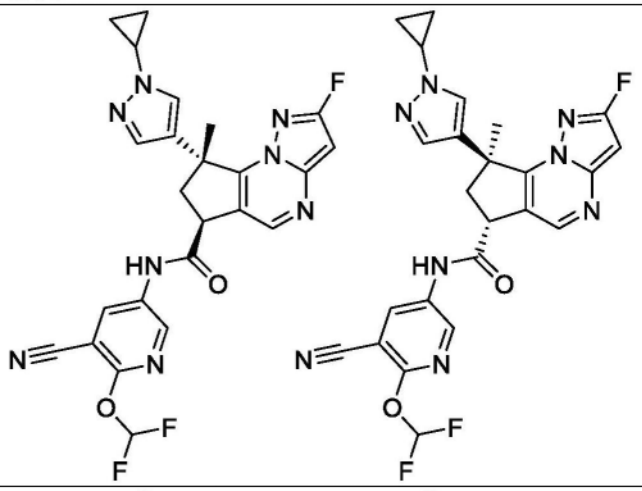
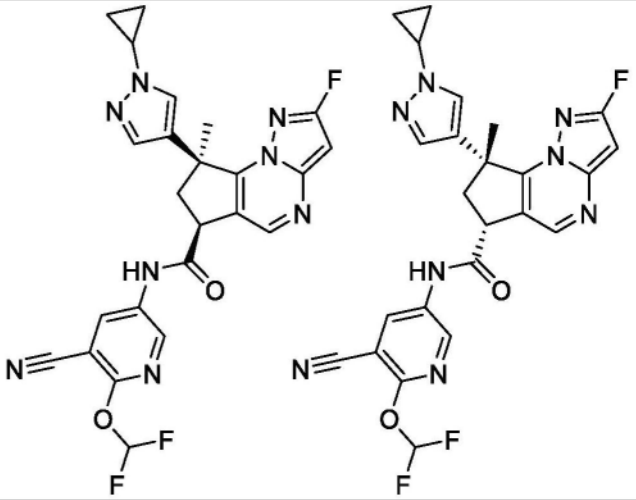
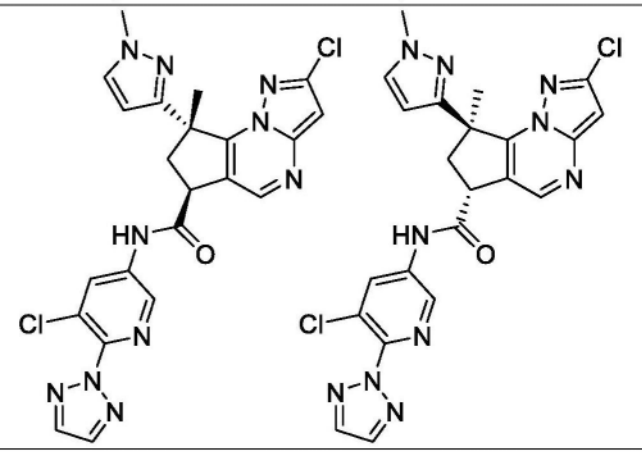
[0399]

实例编号	结构
56（第二洗脱异构体）* **57**（第一洗脱异构体）*	
58（第二洗脱异构体）* **59**（第一洗脱异构体）*	
60（第二洗脱异构体）* **61**（第一洗脱异构体）*	
62（第一洗脱异构体）* **63**（第二洗脱异构体）*	

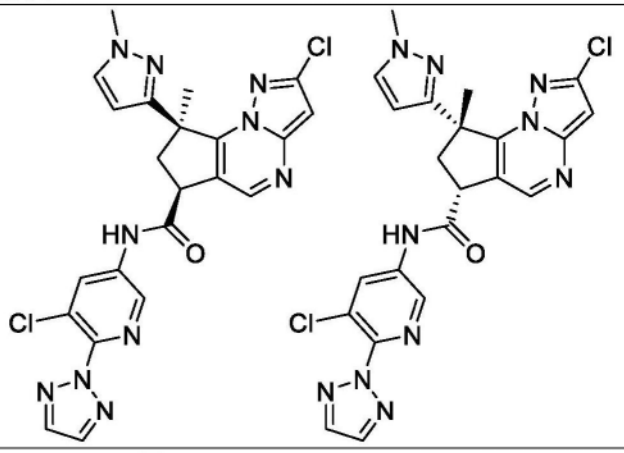
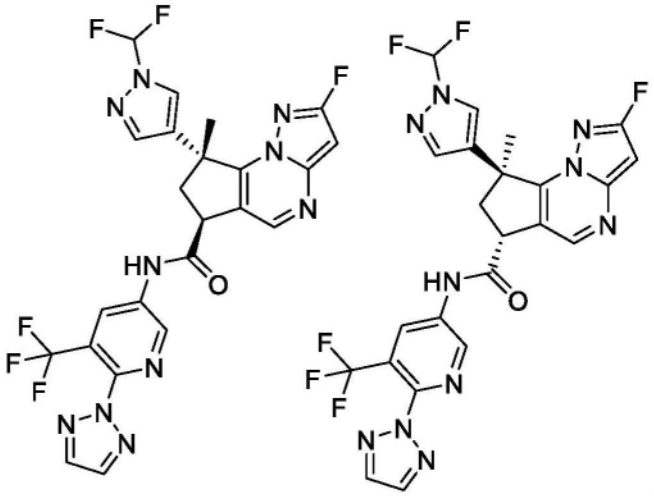
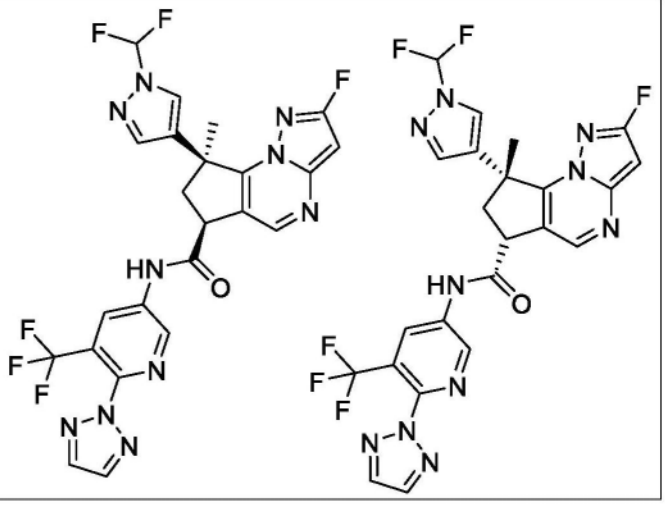
[0400]

实例编号	结构
64（第二洗脱异构体）* **65**（第一洗脱异构体）*	
66（第二洗脱异构体）* **67**（第一洗脱异构体）*	
68（第二洗脱异构体）* **69**（第一洗脱异构体）*	
70（第二洗脱异构体）* **71**（第一洗脱异构体）*	

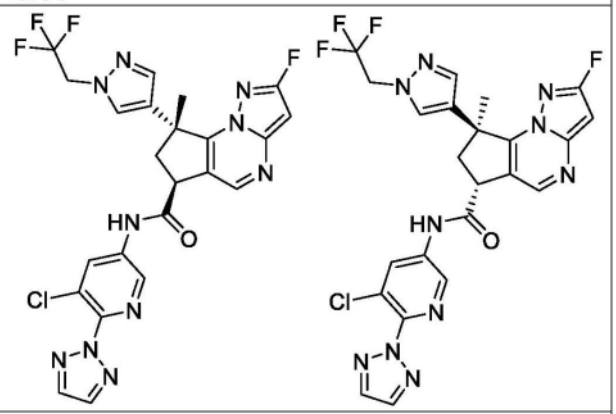
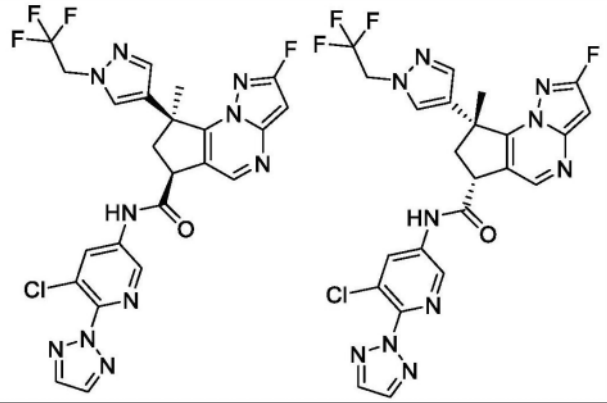
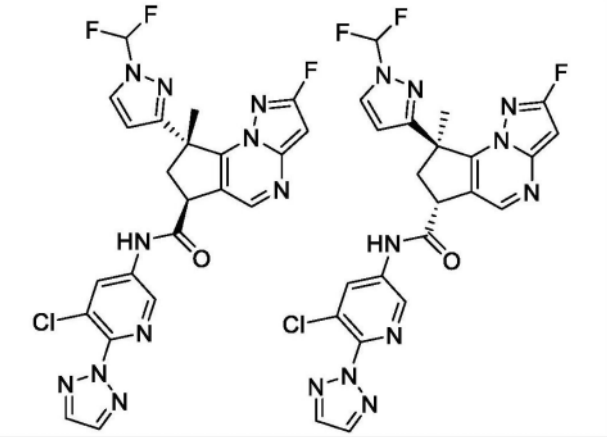
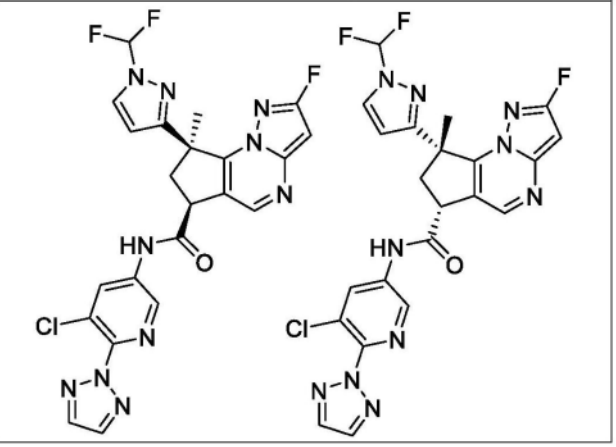
[0401]

实例编号	结构
72（第二洗脱异构体）* **73**（第一洗脱异构体）*	
74（第一洗脱异构体）* **75**（第二洗脱异构体）*	
76（第二洗脱异构体）* **77**（第一洗脱异构体）*	

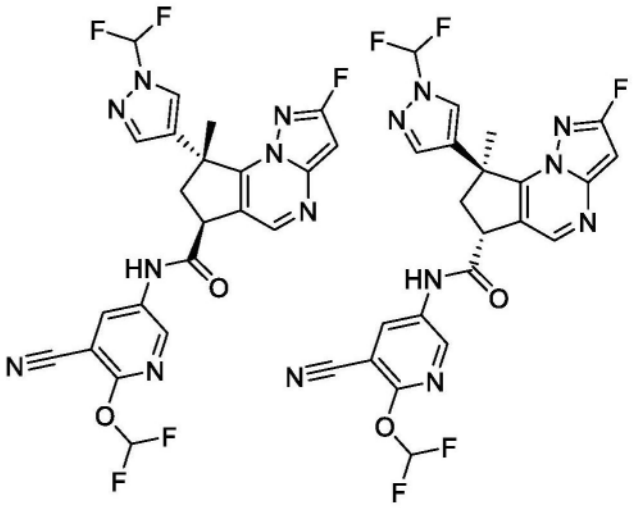
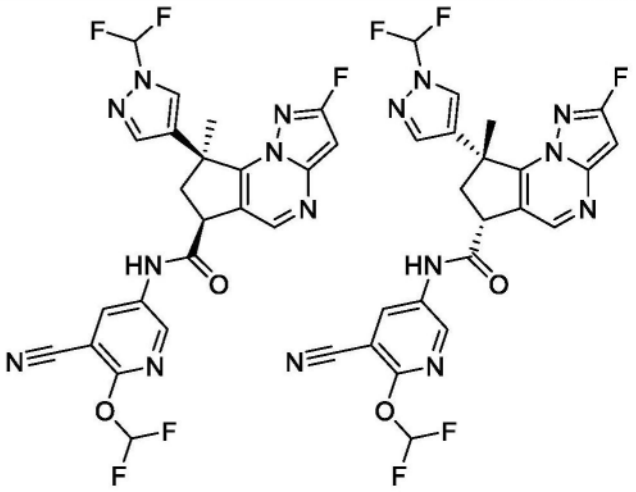
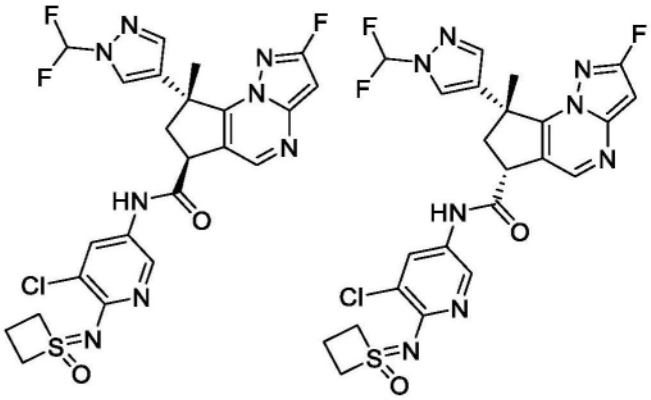
[0402]

实例编号	结构
78（第一洗脱异构体）* **79**（第二洗脱异构体）*	
80（第二洗脱异构体）* **81**（第一洗脱异构体）*	
82（第二洗脱异构体）* **83**（第一洗脱异构体）*	

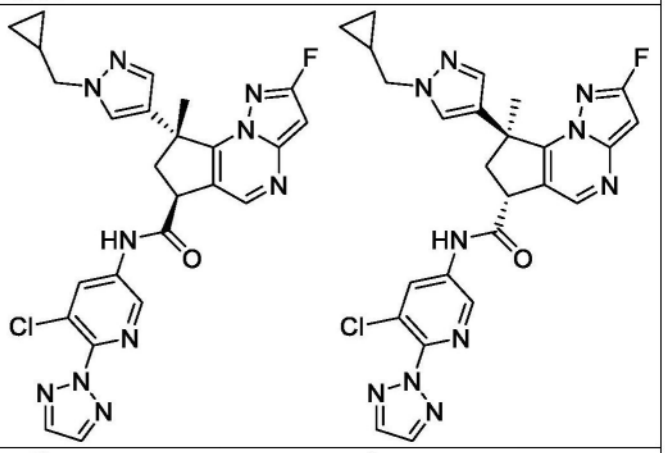
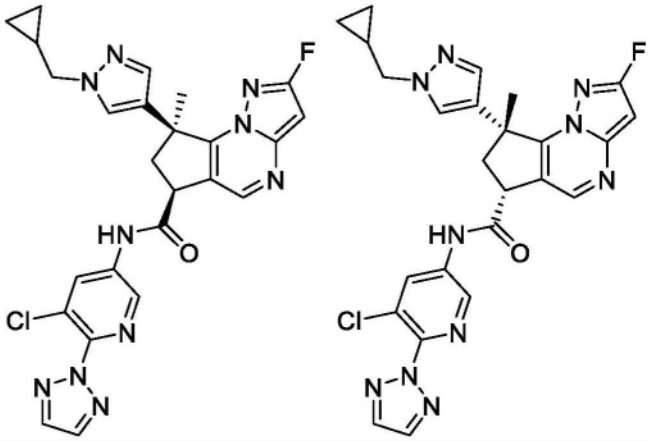
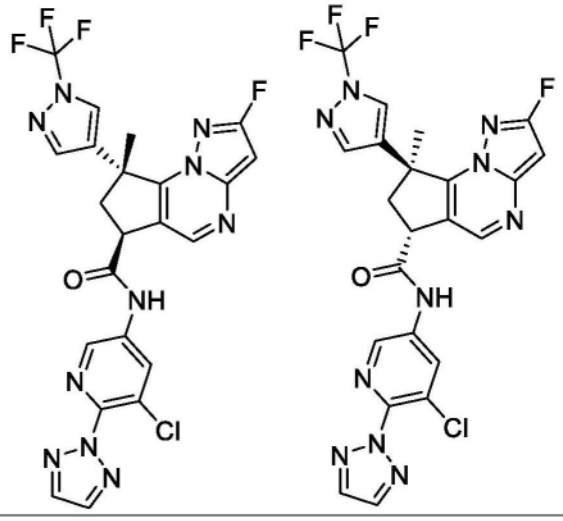
[0403]

实例编号	结构
84（第二洗脱异构体）* **85**（第一洗脱异构体）*	
86（第二洗脱异构体）* **87**（第一洗脱异构体）*	
88（第二洗脱异构体）* **89**（第一洗脱异构体）*	
90（第二洗脱异构体）* **91**（第一洗脱异构体）*	

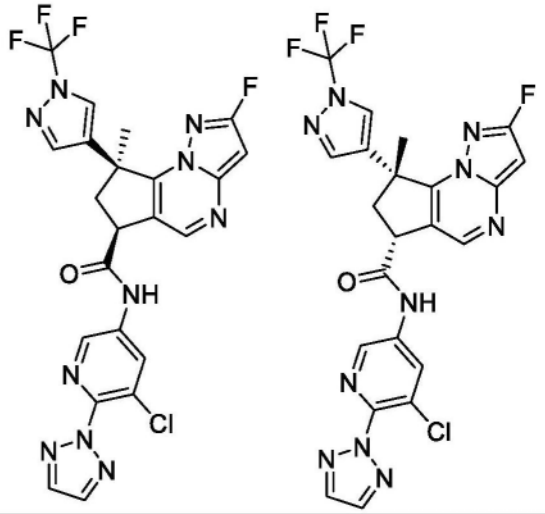
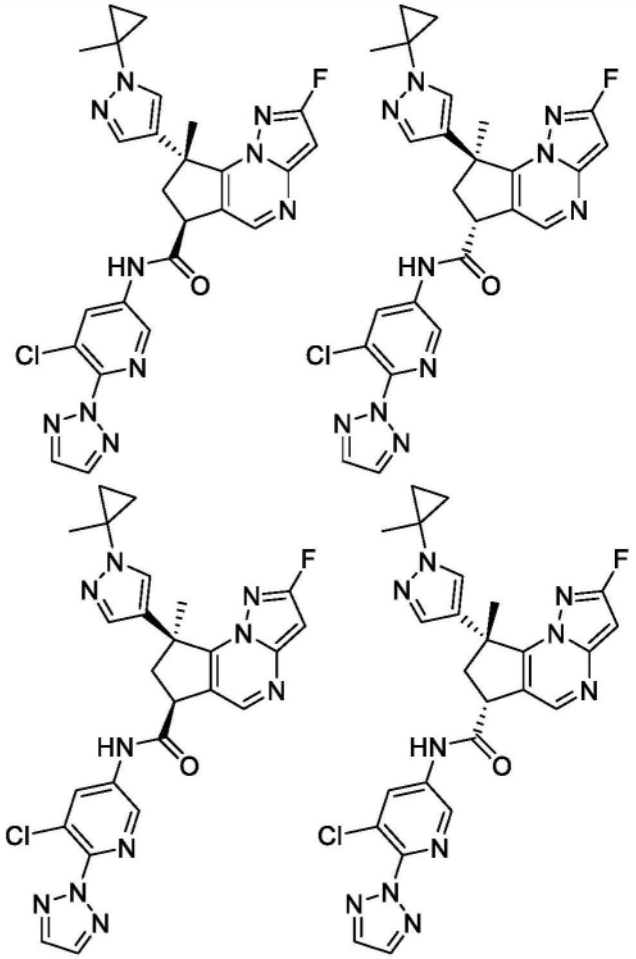
[0404]

实例编号	结构
92（第二洗脱异构体）* **93**（第一洗脱异构体）*	
94（第二洗脱异构体）* **95**（第一洗脱异构体）*	
96 以及 **97**	

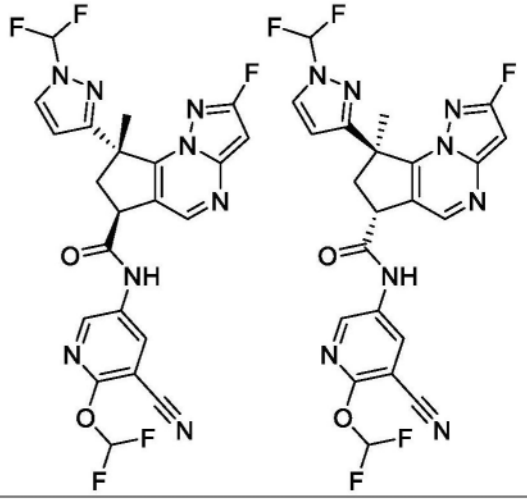
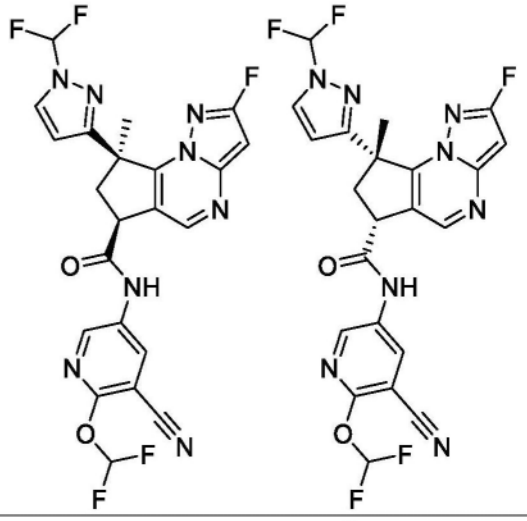
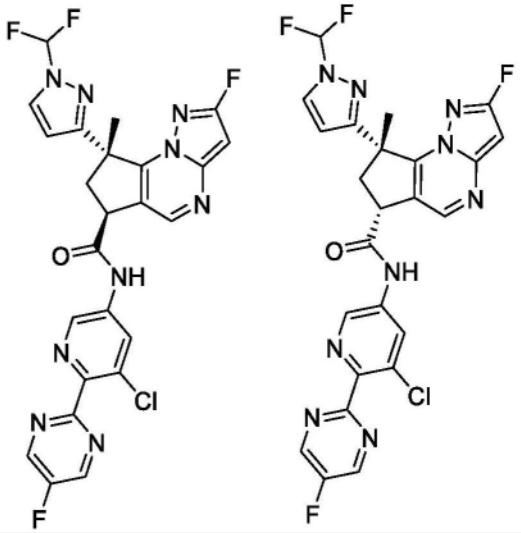
[0405]

实例编号	结构
98（第二洗脱异构体）* **99**（第一洗脱异构体）*	
100（第二洗脱异构体）* **101**（第一洗脱异构体）*	
102（第二洗脱异构体）* **103**（第一洗脱异构体）*	

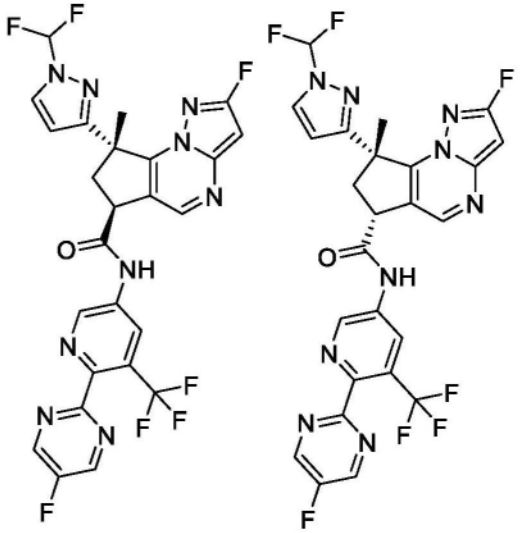
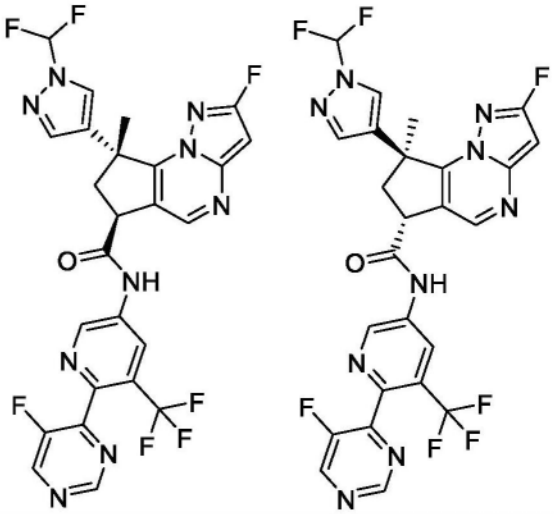
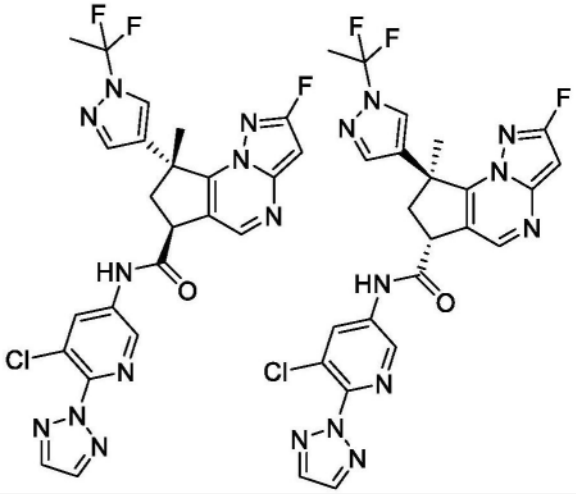
[0406]

实例编号	结构
104（第二洗脱异构体）* **105**（第一洗脱异构体）*	
106，107，108以及**109**（多种分离方法）*	

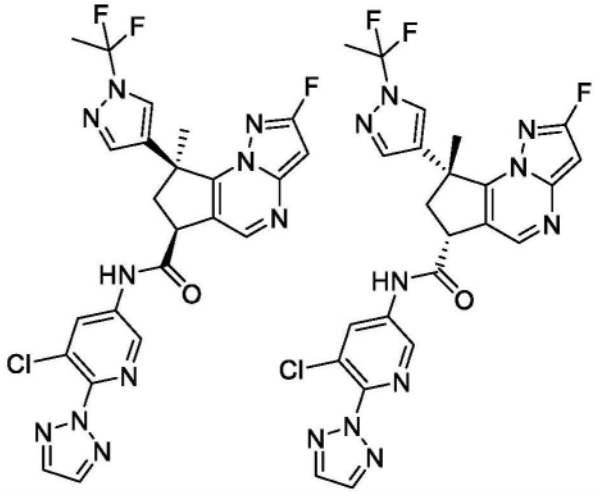
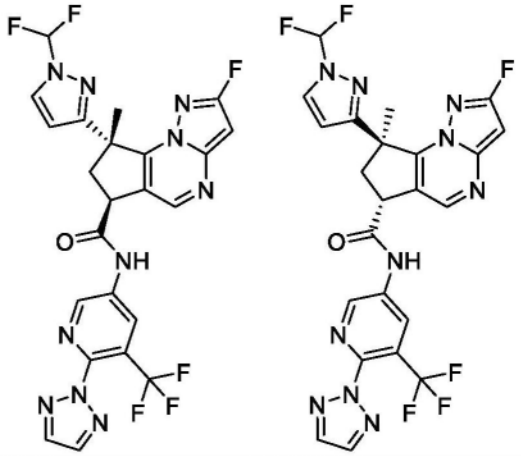
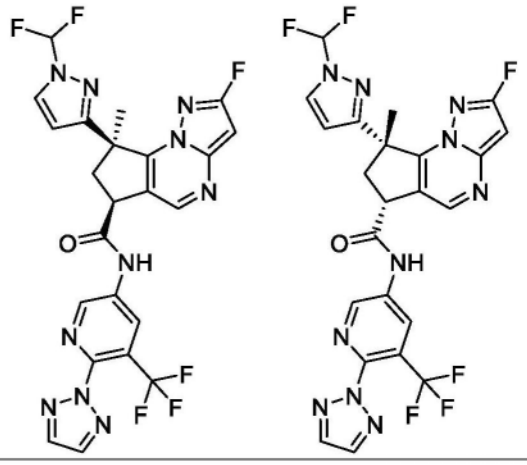
[0407]

实例编号	结构
110（第二洗脱异构体）* **111**（第一洗脱异构体）*	
112（第二洗脱异构体）* **113**（第一洗脱异构体）*	
114 以及 **115**	

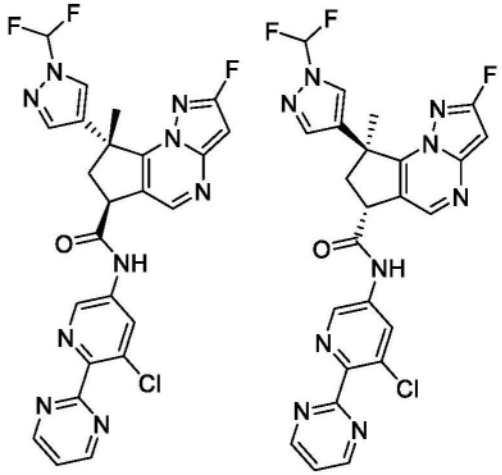
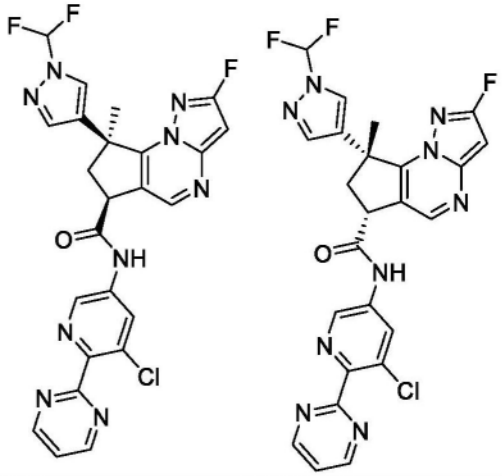
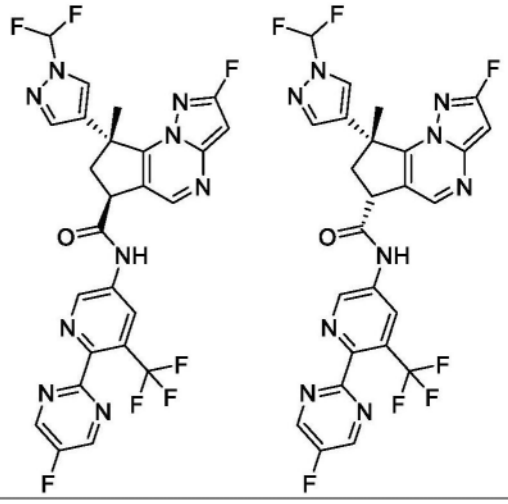
[0408]

实例编号	结构
116 以及 **117**	
118 （第一洗脱异构体）* **119** （第二洗脱异构体）*	
120 （第一洗脱异构体）* **121** （第二洗脱异构体）*	

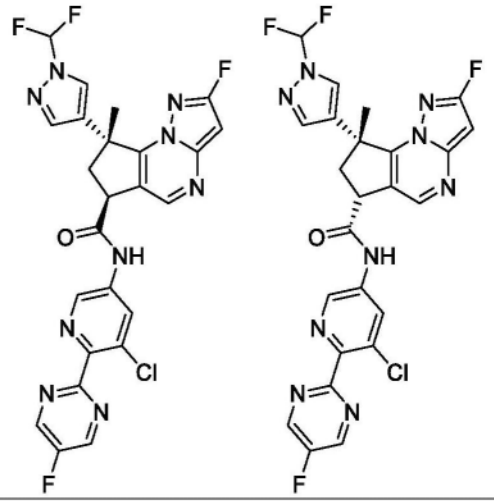
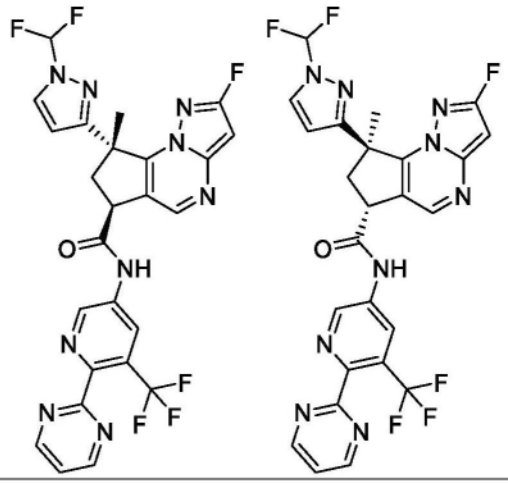
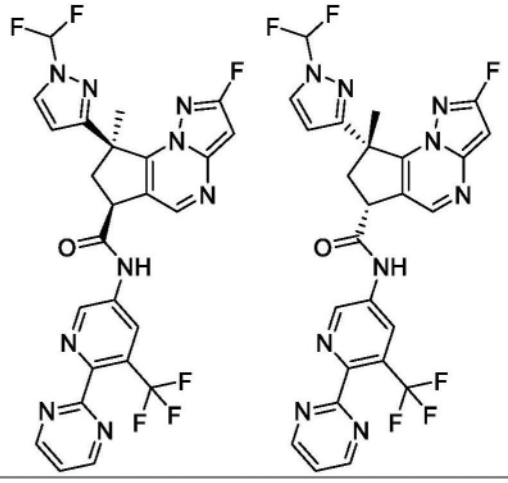
[0409]

实例编号	结构
122（第一洗脱异构体）* **123**（第二洗脱异构体）*	
124（第一洗脱异构体）* **125**（第二洗脱异构体）*	
126（第二洗脱异构体）* **127**（第一洗脱异构体）*	

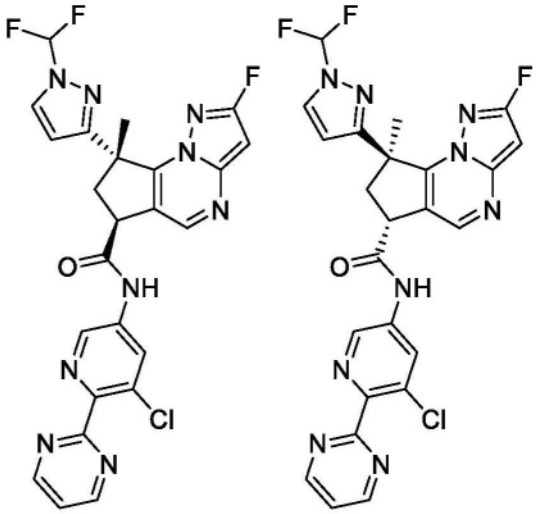
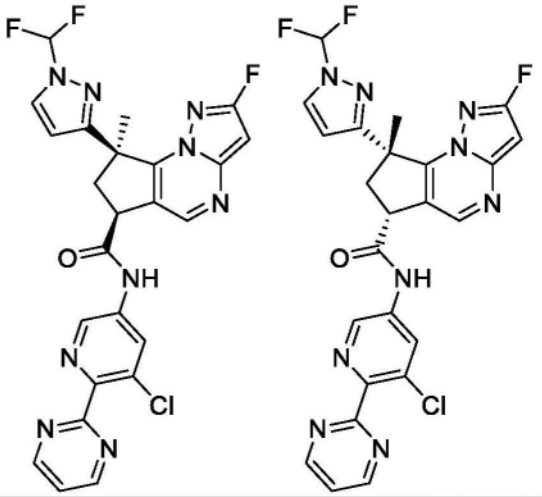
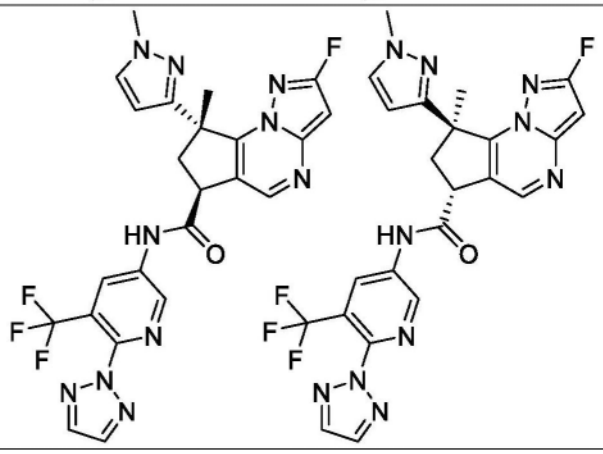
[0410]

实例编号	结构
128（第二洗脱异构体）* **129**（第一洗脱异构体）*	
130（第一洗脱异构体）* **131**（第二洗脱异构体）*	
132以及 **133**	

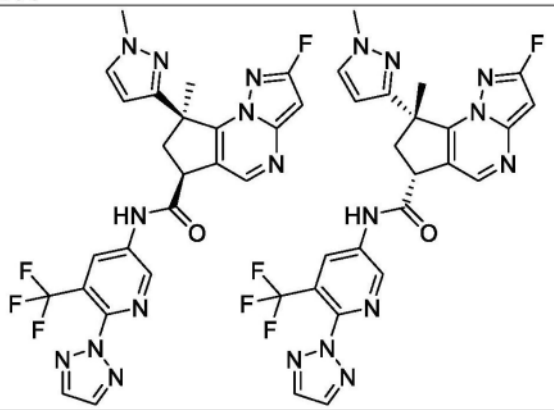
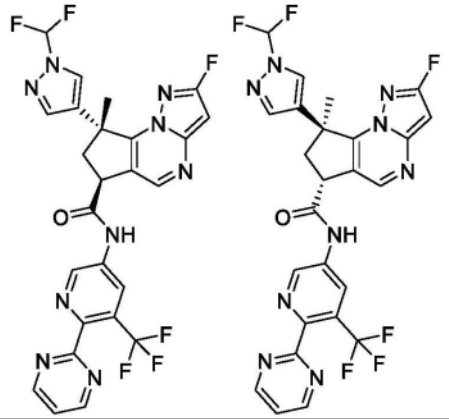
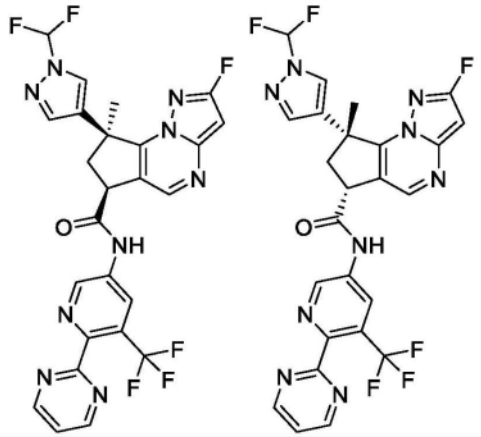
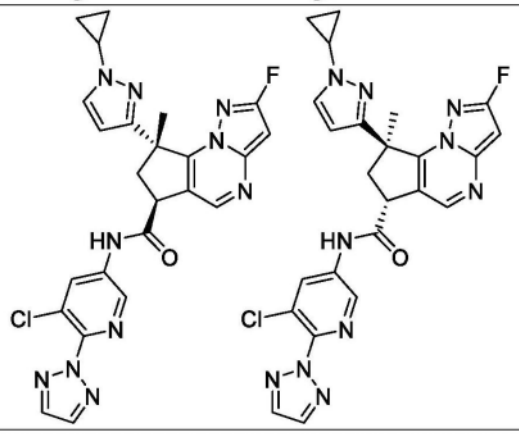
[0411]

实例编号	结构
134 以及 **135**	
136 （第二洗脱异构体）* **137** （第一洗脱异构体）*	
138 （第一洗脱异构体）* **139** （第二洗脱异构体）*	

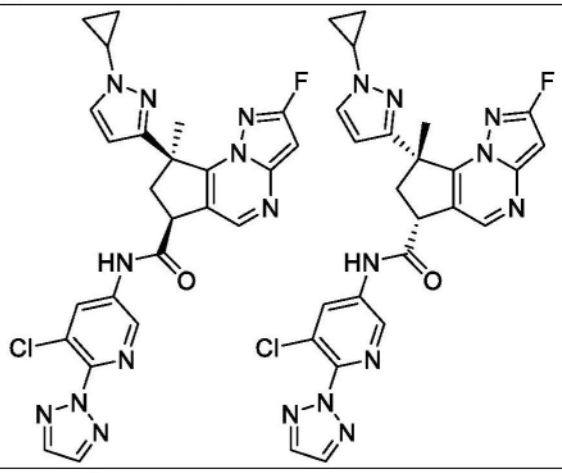
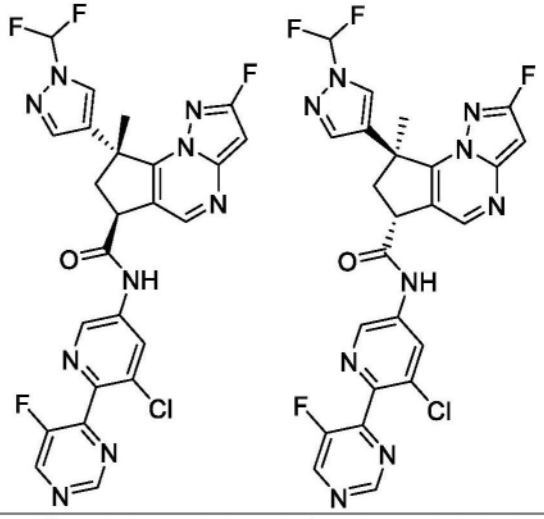
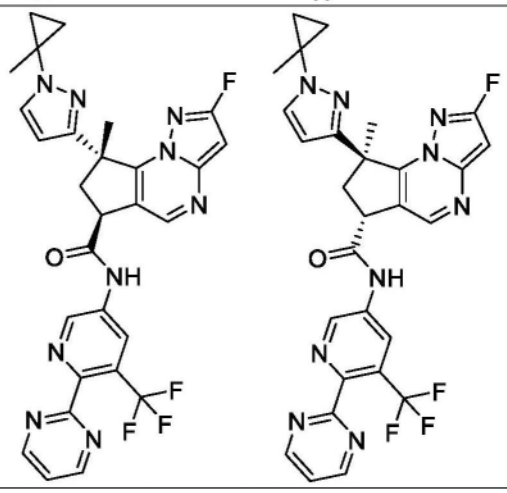
[0412]

实例编号	结构
140（第二洗脱异构体）* **141**（第一洗脱异构体）*	
142（第二洗脱异构体）* **143**（第一洗脱异构体）*	
144（第二洗脱异构体）* **145**（第一洗脱异构体）*	

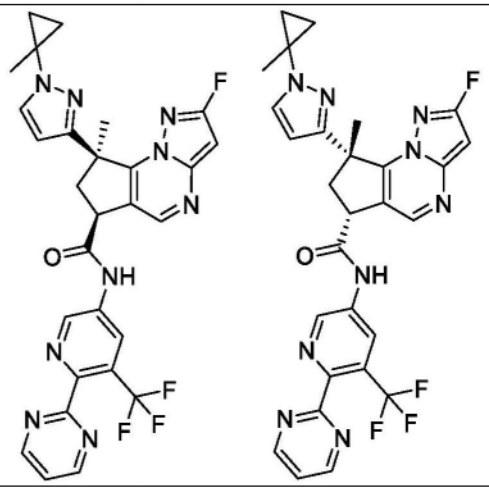
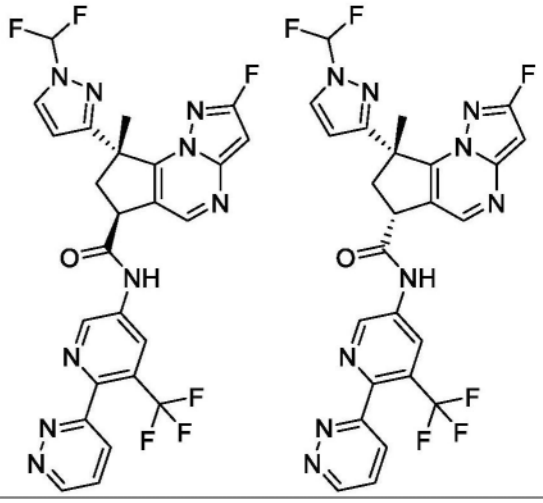
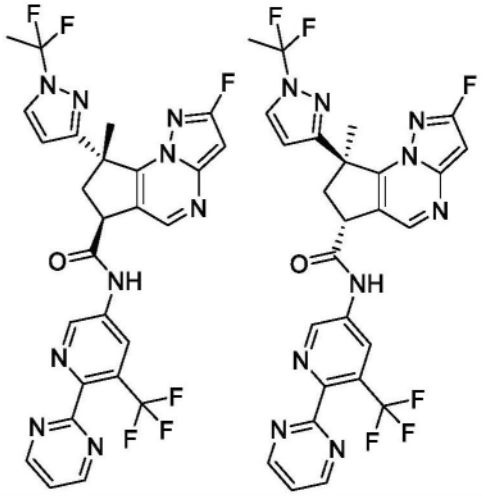
[0413]

实例编号	结构
146（第一洗脱异构体）* **147**（第二洗脱异构体）*	
148（第二洗脱异构体）* **149**（第一洗脱异构体）*	
150（第一洗脱异构体）* **151**（第二洗脱异构体）*	
152（第二洗脱异构体）* **153**（第一洗脱异构体）*	

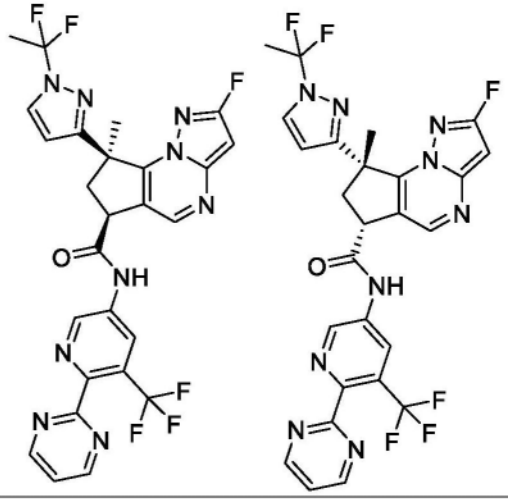
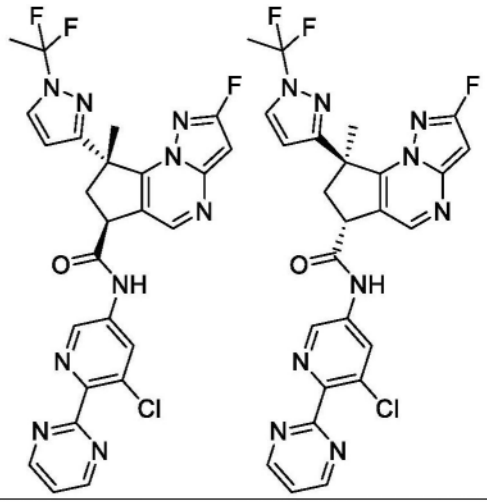
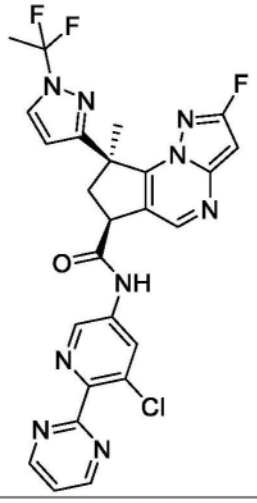
[0414]

实例编号	结构
154（第一洗脱异构体）* **155**（第二洗脱异构体）*	
156（第二洗脱异构体）* **157**（第一洗脱异构体）*	
158（第二洗脱异构体）* **159**（第一洗脱异构体）*	

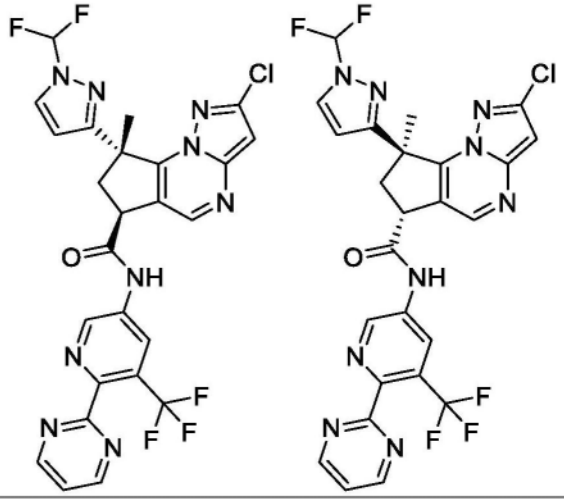
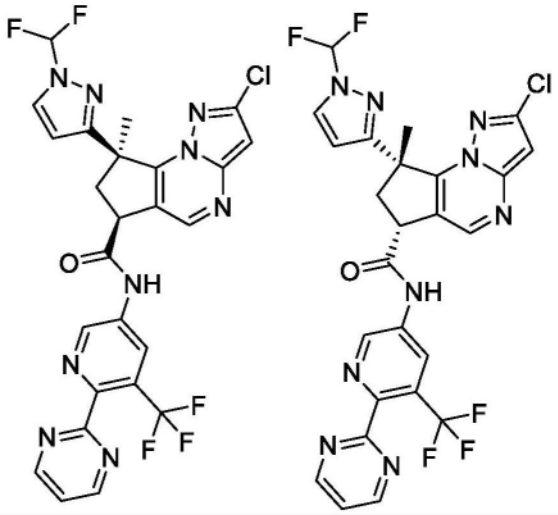
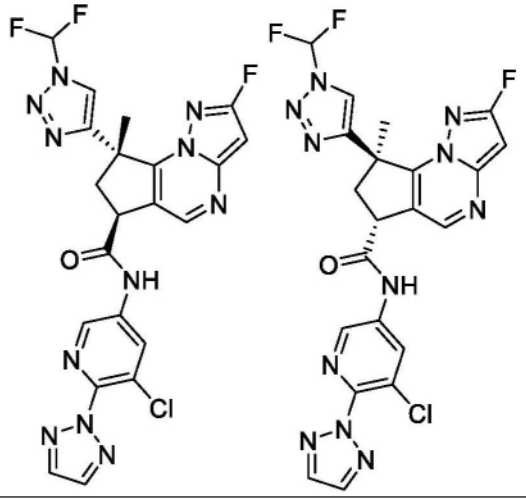
[0415]

实例编号	结构
160（第一洗脱异构体）* **161**（第二洗脱异构体）*	
162 以及 **163**	
164（第二洗脱异构体）* **165**（第一洗脱异构体）*	

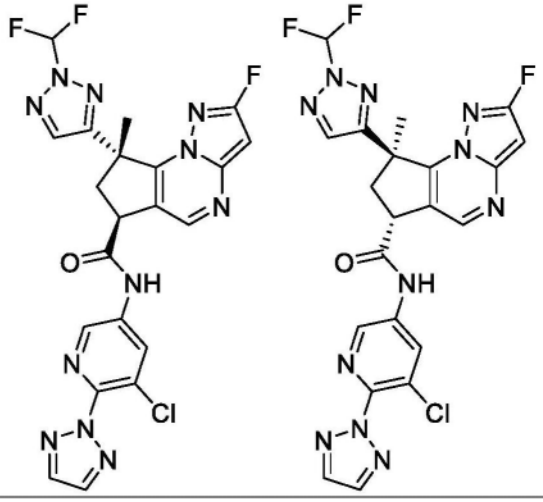
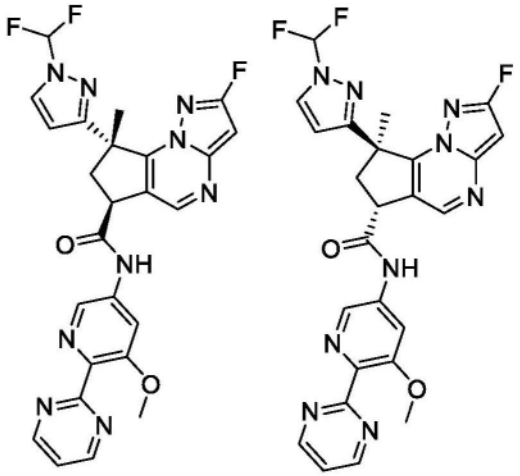
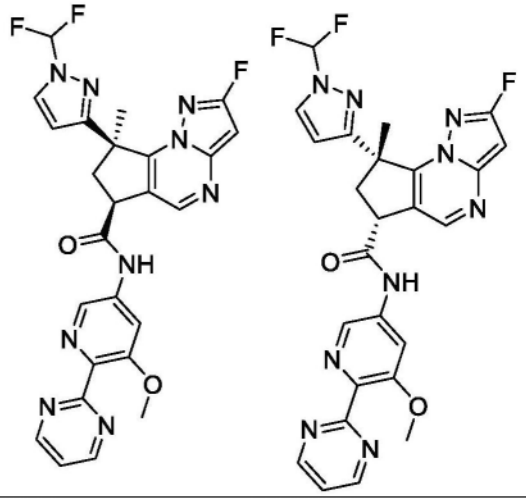
[0416]

实例编号	结构
166（第二洗脱异构体）* **167**（第一洗脱异构体）*	
168（第二洗脱异构体）* **169**（第一洗脱异构体）*	
170	

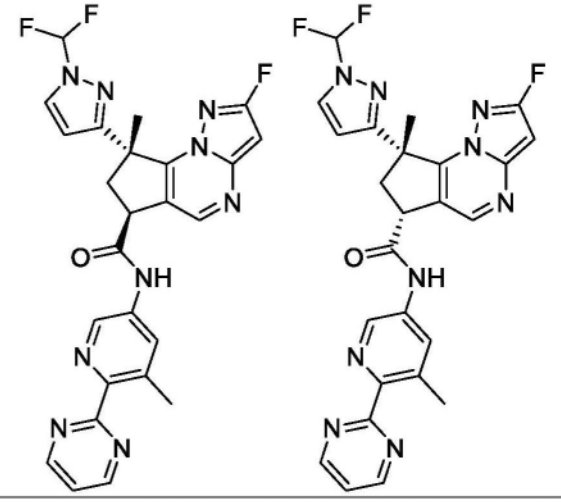
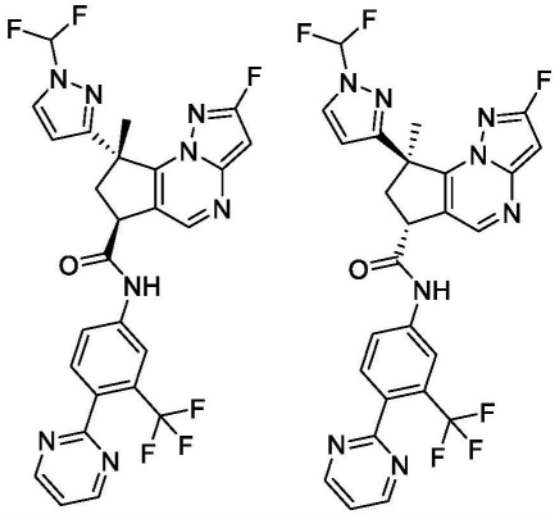
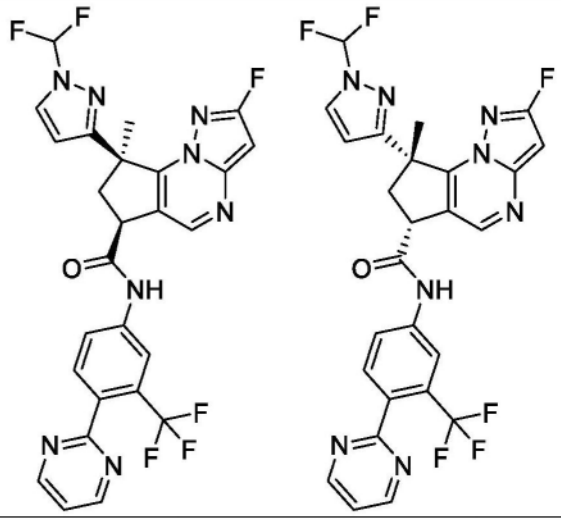
[0417]

实例编号	结构
171（第二洗脱异构体）* **172**（第一洗脱异构体）*	
173（第二洗脱异构体）* **174**（第一洗脱异构体）*	
175（第二洗脱异构体）* **176**（第一洗脱异构体）*	

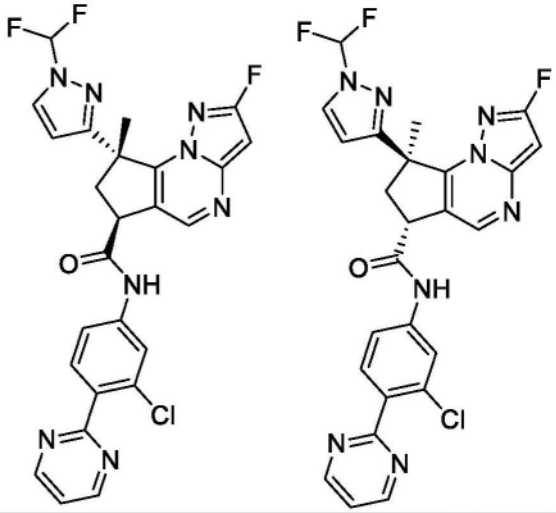
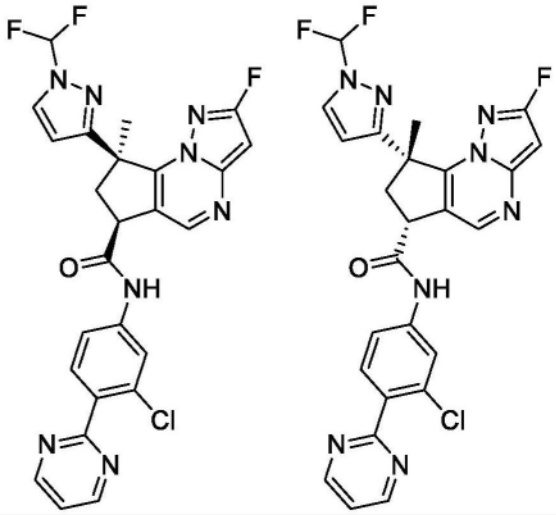
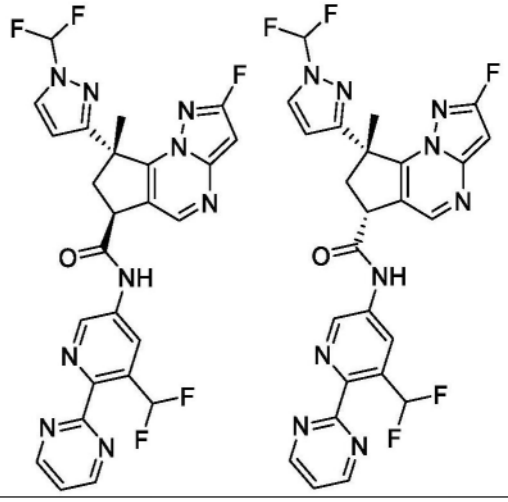
[0418]

实例编号	结构
177（第二洗脱异构体）* **178**（第一洗脱异构体）*	
179（第一洗脱异构体）* **180**（第二洗脱异构体）*	
181（第一洗脱异构体）* **182**（第二洗脱异构体）*	

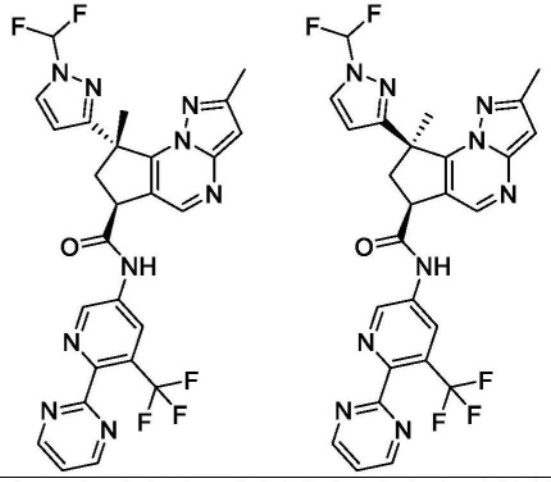
[0419]

实例编号	结构
183 以及 **184**	
185 （第二洗脱异构体）* **186** （第一洗脱异构体）*	
187 （第二洗脱异构体）* **188** （第一洗脱异构体）*	

[0420]

实例编号	结构
189（第二洗脱异构体）* **190**（第一洗脱异构体）*	
191（第一洗脱异构体）* **192**（第二洗脱异构体）*	
193 以及 **194**	

[0421]

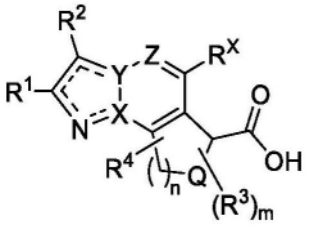
实例编号	结构
195 以及 **196**	

[0422] *有关异构体分离的详细信息,请参见实验程序。未测定每种分离异构体的绝对立体化学。

[0423] 制备过程

[0424] 本文提供了制备式(I)化合物(例如,本文所描述的任何化合物)的方法,所述方法包括:

[0425] 使式(Ih)化合物

[0426]  (Ih)

[0427] 与R^5-NH_2反应;

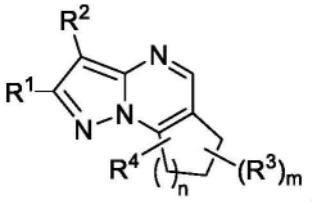
[0428] 以形成式(I)化合物。

[0429] 在一些实施例中,使式(Ih)化合物与R^5-NH_2(例如,5-氯-6-(三唑基)吡啶-3-胺)反应在存在$POCl_3$和吡啶的情况下进行。

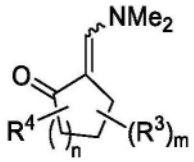
[0430] 在一些实施例中,使式(Ih)化合物与R^5-NH_2反应在存在六氟磷酸N,N,N',N'-四甲基氯甲脒酯(TCFH)的情况下进行。

[0431] 在一些实施例中,使式(Ih)化合物与R^5-NH_2反应在存在N-甲基咪唑(NMI)的情况下进行。

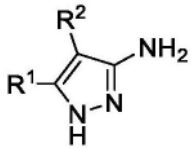
[0432] 在一些实施例中,式(Ih)化合物是由式(Ih-N)化合物制备的:

[0433] 。

[0434] 在一些实施例中(当式(Ih)化合物由式(Ih-N)化合物制备时),所述工艺包括使式(Ih-N-i)化合物

[0435] 

[0436] 与式(Ih-N-ii)化合物反应

[0437] 

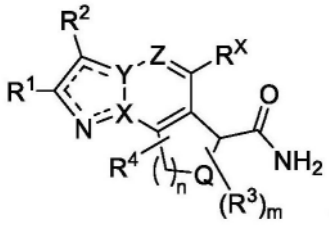
[0438] 以形成式(Ih-N)化合物。

[0439] 在某些实施例中,使式(Ih-N-i)化合物与式(Ih-N-ii)化合物反应在存在酸的情况下进行。

[0440] 在这些实施例中的某些实施例中,所述酸选自由盐酸和乙酸组成的组。

[0441] 本文提供了制备式(I)化合物(例如,本文所描述的任何化合物)的方法,所述方法包括:

[0442] 使式(Ij)化合物

[0443] ;

[0444] 与R^5-Hal反应,其中Hal选自由Cl、Br、I和OSO_2CF_3组成的组;

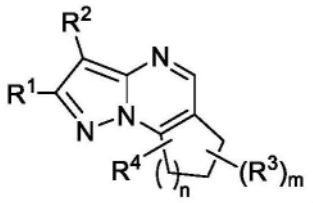
[0445] 以形成式(I)化合物。

[0446] 在一些实施例中,使式(Ij)化合物与R^5-Hal反应在存在催化剂和配体的情况下进行。

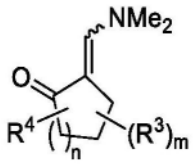
[0447] 在一些实施例中(当使式(Ij)化合物与R^5-Hal反应在存在催化剂和配体的情况下进行时),所述催化剂为三(二亚苄基丙酮)二钯(0)。

[0448] 在一些实施例中(当使式(Ij)化合物与R^5-Hal反应在存在催化剂和配体的情况下进行时),所述配体为4,5-双(二苯基膦)-9,9-二甲基氧杂蒽。

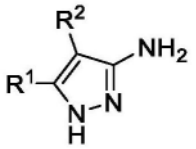
[0449] 在一些实施例中,式(Ij)化合物是由式(Ih-N)化合物制备的:

[0450] 。

[0451] 在一些实施例中,所述工艺包括使式(Ih-N-i)化合物

[0452] 

[0453] 与式(Ih-N-ii)化合物反应

[0454] 

[0455] 以形成式(Ih-N)化合物。

[0456] 在一些实施例中,使式(Ih-N-i)化合物与式(Ih-N-ii)化合物反应在存在酸的情况下进行。

[0457] 在一些实施例中(当使式(Ih-N-i)化合物与式(Ih-N-ii)化合物反应在存在酸的情况下进行时),所述酸选自由盐酸和乙酸组成的组。

[0458] 治疗方法

[0459] 一些实施例提供了一种治疗需要此类治疗的受试者的自身免疫性病症(例如,MALT1相关自身免疫性病症)的方法,所述方法包括向所述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其药物组合物。在一些实施例中,所述自身免疫性病症是类风湿性关节炎、多发性硬化或系统性红斑狼疮(SLE)。

[0460] 一些实施例提供了一种治疗需要此类治疗的受试者的炎性病症(例如,MALT1相关炎性病症)的方法,所述方法包括向所述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其药物组合物。在一些实施例中,所述炎性病症是慢性移植物抗宿主病(cGVHD)。

[0461] 一些实施例提供了一种治疗需要此类治疗的受试者的癌症(例如,MALT1相关癌症)的方法,所述方法包括向所述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其药物组合物。例如,本文提供了用于治疗需要此类治疗的受试者的MALT1相关癌症的方法,所述方法包括:a)在来自所述受试者的样品中检测MALT1基因、MALT1蛋白酶或其中任一者的表达或活性或水平的失调;以及b)施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,MALT1基因、MALT1蛋白酶或其中任一者的表达或活性或水平的失调包含一个或多个融合蛋白。

[0462] 在本文描述的任何方法或用途的一些实施例中,所述癌症(例如,MALT1相关癌症)是血液癌症。在本文描述的任何方法或用途的一些实施例中,所述癌症(例如,MALT1相关癌症)是实体瘤。在本文描述的任何方法或用途的一些实施例中,所述癌症(例如,MALT1相关癌症)是肺癌(例如,小细胞肺癌或非小细胞肺癌)、甲状腺癌(例如,乳头状甲状腺癌、甲状腺髓样癌(例如,散发性甲状腺髓样癌或遗传性甲状腺髓样癌)、分化型甲状腺癌、复发性甲状腺癌或难治性分化型甲状腺癌)、甲状腺腺瘤、内分泌腺肿瘤、肺腺癌、细支气管肺癌、2A或2B型多发性内分泌肿瘤(分别为MEN2A或MEN2B)、嗜铬细胞瘤、甲状旁腺增生、乳腺癌、乳腺癌、乳腺瘤、乳腺肿瘤、结直肠癌(例如,转移性结直肠癌)、乳头状肾细胞癌、胃肠粘膜神经节神经瘤病、炎性肌纤维母细胞瘤或子宫颈癌。在本文描述的任何方法或用途的一些实施例中,所述癌症(例如,MALT1相关癌症)选自由以下组成的组:急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓细胞性白血病(AML)、青少年癌症、肾上腺皮质癌、肛门癌、阑尾癌、星形细胞瘤、非典型畸形瘤/横纹肌样瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脑干神经胶质瘤、脑瘤、乳腺癌、支气管肿瘤、伯基特淋巴瘤(Burkitt lymphoma)、类癌瘤、未知的原发性癌、心脏肿瘤、子宫颈癌、儿童期癌症、脊索瘤、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、

慢性骨髓增生性肿瘤、按部位分布的肿瘤、肿瘤、结肠癌、结直肠癌、颅咽管瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、皮肤血管肉瘤、胆管癌、原位导管癌、胚胎肿瘤、子宫内膜癌、室管膜瘤、食道癌、嗅神经母细胞瘤、尤文肉瘤(Ewing sarcoma)、颅外生殖细胞肿瘤、性腺外生殖细胞肿瘤、肝外胆管癌、眼癌、输卵管癌、骨纤维组织细胞瘤、胆囊癌、胃癌、胃肠道类癌、胃肠道间质瘤(GIST)、生殖细胞瘤、妊娠滋养细胞疾病、胶质瘤、毛细胞瘤、毛细胞白血病、头颈癌、胸腔肿瘤、头颈肿瘤、CNS肿瘤、原发性CNS肿瘤、心脏病、肝细胞癌、组织细胞增生、霍奇金淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)、下咽癌、眼内黑色素瘤、胰岛细胞瘤、胰腺神经内分泌肿瘤、卡波济肉瘤(Kaposi sarcoma)、肾癌、朗格汉斯细胞组织细胞增多症(Langerhans cell histiocytosis)、喉癌、白血病、嘴唇和口腔癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、巨球蛋白血症、骨恶性纤维组织细胞瘤、骨癌、黑色素瘤、默克尔细胞癌(Merkel cell carcinoma)、间皮瘤、转移性鳞状颈癌、中线癌、口腔癌、多发性内分泌肿瘤综合征、多发性骨髓瘤、蕈样肉芽肿、骨髓增生异常综合征、骨髓增生异常/骨髓增生性肿瘤、按部位分布的肿瘤、肿瘤、骨髓性白血病、髓样白血病、多发性骨髓瘤、骨髓增生性肿瘤、鼻腔和鼻窦癌、鼻咽癌、成神经细胞瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小细胞肺癌、肺肿瘤、肺癌、肺部肿瘤、呼吸道肿瘤、支气管癌、支气管肿瘤、口癌、口腔癌、唇癌、口咽癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、乳头状瘤病、副神经节瘤、鼻窦和鼻腔癌、甲状旁腺癌、阴茎癌、咽癌、嗜铬细胞瘤、垂体癌、浆细胞瘤、胸膜肺母细胞瘤、与妊娠有关的乳腺癌、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性腹膜癌、前列腺癌、直肠癌、结肠癌、结肠肿瘤、肾细胞癌、横纹肌肉瘤、唾液腺癌、肉瘤、塞扎里综合征(Sezary syndrome)、皮肤癌、斯皮茨瘤(Spitz tumor)、小细胞肺癌、小肠癌、软组织肉瘤、鳞状细胞癌、鳞状颈癌、胃癌、T细胞淋巴瘤、睾丸癌、喉癌、胸腺瘤和胸腺癌、甲状腺癌、肾盂的移行细胞癌、未知的原发性癌、尿道癌、子宫癌、子宫肉瘤、阴道癌、外阴癌和维尔姆斯氏瘤(Wilms'tumor)。

[0463] 在一些实施例中,所述癌症是血液癌症,如白血病或淋巴瘤。在一些实施例中,血液癌症(例如,作为MALT1相关癌症的血液癌症)选自由以下组成的组:白血病、淋巴瘤(非霍奇金淋巴瘤)、霍奇金病(也被称为霍奇金淋巴瘤)和骨髓瘤,例如,急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓细胞性白血病(AML)、急性早幼粒细胞性白血病(APL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性粒细胞性白血病(CML)、慢性粒细胞性白血病(CMML)、慢性中性粒细胞性白血病(CNL)、急性未分化的白血病(AUL)、间变性大细胞淋巴瘤(ALCL)、淋巴细胞性白血病(PML)、青少年骨髓单核细胞白血病(JMML)、成人T细胞ALL、伴有三系骨髓增生异常的AML(AML/TMDS)、混合谱系白血病(MLL)、骨髓增生异常综合征(MDS)、骨髓增生异常(MPD)和多发性骨髓瘤(MM)。血液癌症的另外的实例包含骨髓增生异常(MPD),如真性红细胞增多症(PV)、原发性血小板减少症(ET)和特发性原发性骨髓纤维化(IMF/IPF/PMF)。在一些实施例中,血液癌症(例如,作为MALT1相关癌症的血液癌症)是AML或CMML。

[0464] 在一些实施例中,所述癌症是胶质母细胞瘤、慢性粒细胞白血病、粒细胞白血病或非霍奇金淋巴瘤。

[0465] 在一些实施例中,癌症是非霍奇金淋巴瘤。在其它实施例中,癌症为弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)。在其它实施例中,癌症为活化的B细胞弥漫性大B细胞淋巴瘤(ABC-DLBCL)。在其它实施例中,癌症为套细胞淋巴瘤(MCL)。在其它实施例中,癌症为边缘区淋巴瘤(MZL)。在其它实施例中,癌症为慢性淋巴白血病(CLL)。在其它实施例中,癌症为成熟B细胞肿瘤。

[0466] 在一些实施例中,癌症为T细胞急性淋巴细胞白血病。

[0467] 在一些实施例中,所述癌症(例如,MALT1相关癌症)是实体瘤。实体瘤(例如,作为MALT1相关癌症的实体瘤)的实例包含例如,肺癌(例如,肺腺癌、小细胞肺癌)、胰腺癌、胰腺导管癌、乳腺癌、结肠癌、结直肠癌、前列腺癌、肾细胞癌、成神经细胞瘤和黑色素瘤。参见例如,Jiang等人,Cancer Research 2011,71,2183-2192;还参见Pan等人,Mol Cancer Res 2016,14,93-102以及Penas等人,Blood 2010,115,2214-2219。

[0468] 在一些实施例中,受试者是人。

[0469] 式(I)化合物和其药学上可接受的盐也可用于治疗MALT1相关癌症。式(I)化合物和其药学上可接受的盐也可用于治疗MALT1相关自身免疫性病症。式(I)化合物和其药学上可接受的盐也可用于治疗MALT1相关炎性病症。

[0470] 因此,本文还提供了一种用于治疗被诊断为患有或鉴定为患有MALT1相关癌症(例如,本文所公开的任何示例性MALT1相关癌症)的受试者的方法,所述方法包括向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其药物组合物。

[0471] 在本文所提供的方法中的任一种的一些实施例中,式(I)化合物选自实例1-196。

[0472] MALT1蛋白酶、MALT1基因或其中任一者(例如,一者或多者)的表达或活性或水平的失调可以有助于肿瘤发生。例如,与野生型MALT1蛋白相比,融合蛋白可以具有增加的蛋白酶活性,由于异常的细胞信号传导和/或失调的自分泌/旁分泌信号传导,野生型MALT1蛋白酶在哺乳动物细胞中的表达增加(例如,水平增加)(例如,与对照非癌细胞相比),MALT1 mRNA剪接变体也可能引起MALT1失调。

[0473] 在一些方面,本文提供了一种用于治疗有此需要的受试者的癌症的方法,所述方法包含向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。本文还提供了一种用于治疗有此需要的受试者的CBM复合物通路相关癌症(如本文所公开的任何癌症)的方法,所述方法包含向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。还提供了一种用于治疗有此需要的受试者的癌症的方法,包括(a)将癌症鉴定为CBM复合物通路相关癌症;以及(b)向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0474] 将受试者的癌症鉴定为CBM复合物通路相关癌症可以通过任何适当的方法进行。在一些实施例中,将受试者的癌症鉴定为CBM复合物通路相关癌症的步骤包含执行测定以在来自受试者的样品中检测CBM复合物通路相关基因、CBM复合物通路相关蛋白酶蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,所述方法进一步包含从受试者获得样品(例如,活检样品)。所述测定可以是任何适当的测定。在一些实施例中,所述测定选自由测序(例如,焦磷酸测序或下一代测序)、免疫组织化学、酶联免疫吸附测定和荧光原位杂交(FISH)组成的组。

[0475] 此外,本文提供了一种用于治疗有此需要的受试者的癌症的方法,所述方法包含向所述受试者向被鉴定为患有CBM复合物通路相关癌症的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0476] 本文还提供了一种治疗受试者的MALT1相关癌症的方法,所述方法包含向被鉴定或诊断为患有MALT1相关癌症的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。本文还提供了一种用于治疗有此需要的受试者的癌症的方法,包括:(a)确定所述癌症与MALT1基因、MALT1蛋白酶或其中任一者的表达或活性或水平的失调相关;以及(b)向所述受

试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0477] 确定所述癌症与MALT1基因、MALT1蛋白酶或其中任一者的表达或活性或水平的失调有关可以使用任何适当的方法进行。在一些实施例中,确定所述受试者的癌症是MALT1相关癌症的步骤包含执行测定以在来自受试者的样品中检测MALT1基因、MALT1蛋白酶蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,所述方法进一步包含从受试者获得样品(例如,活检样品)。所述测定可以是任何适当的测定。在一些实施例中,所述测定选自由测序(例如,焦磷酸测序或下一代测序)、免疫组织化学、酶联免疫吸附测定和荧光原位杂交(FISH)组成的组。

[0478] 如本文所描述的,CBM复合物通路相关癌症可以是任何适当的CBM复合物通路相关癌症(如本文所描述的任何癌症)。在一些实施例中,CBM复合物通路相关癌症选自由以下组成的组:CBM复合物通路细胞表面受体相关癌症、与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导器相关的癌症、CBM复合物相关癌症的组分、MALT1蛋白酶底物相关癌症、与CBM复合物下游的NF-κB通路的组分相关的癌症、与CBM复合物下游的JNK通路的组分相关的癌症和其组合。在一些实施例中,所述CBM复合物通路细胞表面受体相关癌症选自由以下组成的组:CD28相关癌症、BCR相关癌症、HER1相关癌症、HER2相关癌症和其组合。在一些实施例中,与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导器相关的癌症是蛋白激酶Cβ(PKCβ)相关癌症、蛋白激酶Cθ(PCKθ)相关癌症或其组合。在一些实施例中,CBM复合物相关癌症的组分选自由以下组成的组:MALT1相关癌症、CARD11相关癌症、CARD14相关癌症、CARD10相关癌症、CARD9相关癌症、BCL10相关癌症和其组合。在一些实施例中,CBM复合物相关癌症的组分选自由以下组成的组:MALT1相关癌症、CARD11相关癌症、BCL10相关癌症和其组合。有关MALT1、CARD11和BCL10中的示例性失调,参见例如表B1、B2和B3。在一些实施例中,MALT1蛋白酶底物相关癌症选自由以下组成的组:BCL10相关癌症、A20相关癌症、CYLD相关癌症、RelB相关癌症、Regnase 1相关癌症、roquin-1相关癌症、HOIL1相关癌症、NIK相关癌症、LIMA1α相关癌症和其组合。在一些实施例中,MALT1蛋白酶底物相关癌症选自由以下组成的组:BCL10相关癌症、A20相关癌症、CYLD相关癌症和其组合。有关BCL10和A20中的示例性失调,参见例如表B3和B4。在一些实施例中,与CBM复合物下游的NF-κB通路的组分相关的癌症选自由以下组成的组:TAK1相关癌症、TRAF6相关癌症、TAB1相关癌症、TAB2相关癌症、TAB3相关癌症、MKK7相关癌症、IKKα相关癌症、IKKβ相关癌症、IKKγ相关癌症、IkBα相关癌症、p50相关癌症、p65(RelA)相关癌症、c-Rel相关癌症和其组合。在一些实施例中,与CBM复合物下游的NF-κB通路的组分相关的癌症是IKKγ相关癌症。在一些实施例中,与CBM复合物下游的JNK通路的组分相关的癌症选自由以下组成的组:JNK1相关癌症、JNK2相关癌症、JNK3相关癌症、MYD88转录因子相关癌症、AP-1转录因子相关癌症和其组合。

[0479] 在一些实施例中,CBM复合物通路相关癌症是MALT1相关癌症。MALT1相关癌症可以具有任何适当的失调,如本文所描述的失调中的任一种。在一些实施例中,MALT1相关癌症包括IAP2-MALT1融合物。在一些实施例中,MALT1相关癌症包括IGH-MALT1融合物。

[0480] 本文还提供了治疗CBM复合物通路相关疾病或病症、自身免疫性病症和炎性病症的方法。因此,本文提供了一种用于治疗有此需要的受试者的自身免疫性病症的方法,所述方法包含向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。本文还提供了一种治疗受试者的MALT1相关自身免疫性病症的方法,所述方法包含向被鉴定或诊断为患

有MALT1相关自身免疫性病症的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些情况下,本文提供了一种用于治疗有此需要的受试者的自身免疫性病症的方法,包括:(a)确定所述自身免疫性病症与MALT1基因、MALT1蛋白酶或其中任一者的表达或活性或水平的失调相关;以及(b)向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。本文还提供了一种治疗受试者的MALT1相关自身免疫性病症的方法,所述方法包含向被确定为患有MALT1相关自身免疫性病症的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。此外,本文提供了一种用于治疗有此需要的受试者的炎性病症的方法,所述方法包含向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些情况下,本文提供了一种治疗受试者的MALT1相关炎性病症的方法,所述方法包含向被鉴定或诊断为患有MALT1相关炎性病症的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。本文还提供了一种用于治疗有此需要的受试者的炎性病症的方法,包括:(a)确定所述炎性病症与MALT1基因、MALT1蛋白酶或其中任一者的表达或活性或水平的失调相关;以及(b)向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。本文还提供了一种治疗受试者的MALT1相关炎性病症的方法,所述方法包含向被确定为患有MALT1相关炎性病症的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐

[0481] 本文另外提供了一种用治疗有此需要的受试者的CBM复合物通路相关疾病或病症的方法,所述方法包含向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。还提供了一种治疗有此需要的受试者的疾病或病症的方法,包括:(a)将所述癌症鉴定为CBM复合物通路相关疾病或病症;以及(b)向所述受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。此外,本文提供了一种用于治疗有此需要的受试者的疾病或病症的方法,所述方法包含向所述受试者向被鉴定为患有CBM复合物通路相关疾病或病症的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0482] CBM复合物通路相关疾病或病症可以是任何适当的CBM复合物通路相关疾病或病症,如本文所描述的任何疾病或病症。在一些实施例中,CBM复合物通路相关疾病或病症是自身免疫性疾病。在一些实施例中,CBM复合物通路相关疾病或病症是炎性病症。在一些实施例中,所述CBM复合物通路相关癌症选自由以下组成的组:CBM复合物通路细胞表面受体相关癌症、与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导器相关的疾病或病症、CBM复合物相关癌症的组分、MALT1蛋白酶底物相关癌症、与CBM复合物下游的NF-κB通路的组分相关的疾病或病症、与CBM复合物下游的JNK通路的组分相关的疾病或病症及其组合。在一些实施例中,CBM复合物通路相关疾病或病症是MALT1相关疾病或病症。

[0483] 在一些情况下,式(I)化合物或其药学上可接受的盐可以用于抑制细胞过程,如抑制细胞增殖。因此,本文提供了一种用于抑制哺乳动物细胞增殖的方法,所述方法包含使所述哺乳动物细胞与式(I)化合物或其药学上可接受的盐接触。本文还提供了一种用于抑制哺乳动物细胞的CBM复合物通路活性的方法,所述方法包含使所述哺乳动物细胞与式(I)化合物或其药学上可接受的盐接触。本文还提供了一种抑制哺乳动物细胞的MALT1蛋白酶活性的方法,所述方法包含使所述哺乳动物细胞与式(I)化合物或其药学上可接受的盐接触。在一些实施例中,接触是在体内发生的。在一些实施例中,接触是在体外发生的。哺乳动物细胞可以是任何适当的细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物免疫细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细

胞是哺乳动物CBM复合物通路相关癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是哺乳动物MALT1相关癌细胞。在一些实施例中,哺乳动物细胞具有MALT1基因、MALT1蛋白酶蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,MALT1基因、MALT1蛋白酶蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调是IAP2-MALT1融合、IGH-MALT1融合或其组合。

[0484] 式(I)化合物或其药学上可接受的盐也可以用于制备药物。因此,本文提供了一种式(I)化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗CBM复合物通路相关疾病或病症的药物中的用途。CBM复合物通路相关疾病或病症可以是任何适当的CBM复合物通路相关疾病或病症,如本文所描述的疾病或病症。在一些实施例中,所述CBM复合物通路相关疾病或病症选自由以下组成的组:CBM复合物通路细胞表面受体相关癌症、与细胞表面受体和CBM复合物之间的信号转导器相关的疾病或病症、CBM复合物相关癌症的组分、MALT1蛋白酶底物相关癌症、与CBM复合物下游的NF-κB通路的组分相关的疾病或病症、与CBM复合物下游的JNK通路的组分相关的疾病或病症和其组合。在一些实施例中,CBM复合物通路相关疾病或病症是CBM复合物通路相关自身免疫性病症。在一些实施例中,CBM复合物通路相关疾病或病症是CBM复合物通路相关炎性病症。在一些实施例中,CBM复合物通路相关疾病或病症是CBM复合物通路相关癌症。在一些实施例中,CBM复合物通路相关疾病或病症是MALT1相关疾病或病症。在一些实施例中,MALT1相关疾病或病症包括MALT1基因、MALT1蛋白酶蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,MALT1基因、MALT1蛋白酶蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调是IAP2-MALT1融合、IGH-MALT1融合或其组合。

[0485] 在一些实施例中,本文所提供的化合物表现出脑和/或中枢神经系统(CNS)渗透性。此类化合物能够穿过血脑屏障并抑制脑和/或其它CNS结构中的MALT1蛋白酶。在一些实施例中,本文提供的化合物能够以有效量穿过血脑屏障。例如,对患有癌症(例如,MALT1相关癌症,如MALT1相关脑癌或CNS癌症)的受试者的治疗可以包含向所述受试者施用(例如,口服施用)化合物。在一些此类实施例中,本文所提供的化合物可用于治疗原发性脑肿瘤或转移性脑肿瘤。例如,所述化合物可以用于治疗一种或多种神经胶质瘤,如胶质母细胞瘤(也被称为多形胶质母细胞瘤)、星形细胞瘤、少突胶质细胞瘤、室管膜瘤和混合性胶质瘤、脑膜瘤、髓母细胞瘤、颅内节细胞胶质瘤、神经鞘瘤(schwannomas/neurilemmomas)和颅咽管瘤(参见例如以下文献中列出的肿瘤:Louis,D.N.等人Acta Neuropathol 131(6),803-820(2016年6月))。在一些实施例中,脑肿瘤是原发性脑肿瘤。在一些实施例中,先前已经用另一种抗癌剂,例如,另一种蛋白酶抑制剂(例如,并非式(I)化合物的化合物)对受试者进行了治疗。在一些实施例中,脑肿瘤是转移性脑肿瘤。在一些实施例中,先前已经用另一种抗癌剂,例如,另一种蛋白酶抑制剂(例如,并非式(I)化合物的化合物)对受试者进行了治疗。

[0486] 在本文描述的方法或用途中的任一种的一些实施例中,用于使用来自受试者的样品确定受试者是否具有基因(例如,MALT1基因)、或蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调的测定可以包含例如下一代测序、免疫组织化学、荧光显微镜、FISH分离分析、Southern印迹、蛋白质印迹、FACS分析、Northern印迹和基于PCR的扩增(例如,RT-PCR和定量实时RT-PCR)。如本领域众所周知的,通常用例如至少一个标记的核酸探针或至少一个标记的抗体或其抗原结合片段来进行所述测定。测定可以利用本领域已知的其它检测方法来检测基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表

达或活性或水平的失调。在一些实施例中,样品是来自受试者的生物样品或活检样品(例如,石蜡包埋的活检样品)。在一些实施例中,受试者是怀疑患有MALT1相关癌症的受试者、具有MALT1相关癌症的一种或多种症状的受试者和/或患MALT1相关癌症的风险增加的受试者)。

[0487] 在一些实施例中,可以使用液体活检(不同地被称为液体活检或液体相活检)来鉴定基因(例如,MALT1基因)、MALT1蛋白(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调。液体活检方法可以用于检测总的肿瘤负荷和/或基因(例如,MALT1蛋白)、MALT1蛋白(例如,MALT 1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调。可以对(例如,通过简单的抽血)相对容易从受试者获得的生物样品进行液体活检,并且与用于检测肿瘤负荷和/或基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调的传统方法相比,所述液体活检侵入性较小。在一些实施例中,与传统方法相比,可以在更早的阶段使用液体活检来检测是否存在基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,用于液体活检的生物样品可以包含血液、血浆、尿液、脑脊髓液、唾液、痰、支气管肺泡灌洗液、胆汁、淋巴液、囊肿液、粪便、腹水和其组合。在一些实施例中,液体活检可以用于检测循环性肿瘤细胞(CTC)。在一些实施例中,液体活检可以用于检测无细胞DNA。在一些实施例中,使用液体活检检测到的无细胞DNA是循环性肿瘤DNA(ctDNA),其源自肿瘤细胞。对ctDNA的分析(例如,使用敏感的检测技术,如但不限于下一代测序(NGS)、传统PCR、数字PCR或微阵列分析)可以用于鉴定基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调。

[0488] 在一些实施例中,可以使用液体活检来检测源自单个基因的ctDNA。在一些实施例中,可以使用液体活检来检测源自多个基因(例如,2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、15个、20个、25个、30个、35个、40个、45个、50个、55个、60个、65个、70个、75个、80个、85个、90个、95个、100个或更多个基因,或者在这些数目之间的任何数目的基因)的ctDNA。在一些实施例中,可以使用多种市售测试面板(例如,被设计成检测基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调的市售测试面板)中的任何一种测试面板来检测源自多个基因的ctDNA。液体活检可以用于检测基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调,包含但不限于点突变或单核苷酸变体(SNV)、拷贝数变体(CNV)、基因融合(例如,易位或重排)、插入、缺失或其任何组合。在一些实施例中,液体活检可以用于检测种系突变。在一些实施例中,液体活检可以用于检测体细胞突变。在一些实施例中,液体活检可以用于检测原发性基因突变(例如,与疾病例如,癌症)的初始发展相关的原发性突变或原发性融合)。在一些实施例中,在受试者中存在的癌细胞中(例如,在肿瘤中)也存在使用液体活检鉴定的基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,可以使用液体活检来检测本文所描述的基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,通过液体活检鉴定的基因突变可以用于将受试者鉴定为特定治疗的候选者。例如,在受试者中检测到基因(例如,MALT1基因)、蛋白质(例如,MALT1蛋白)或其中任一者的表达或活性或水平的失调可以表明受试者将对包含施用式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有应答。

[0489] 可以在诊断过程、监测过程和/或治疗过程期间多次进行液体活检,以确定一个或多个临床相关参数,所述临床相关参数包含但不限于疾病的进展和/或治疗的功效。例如,在诊断过程、监测过程和/或治疗过程期间,可以在第一时间点进行第一次液体活检,并且可以在第二时间点进行第二次液体活检。在一些实施例中,第一时间点可以是在诊断患有疾病的受试者之前的时间点(例如,当受试者健康时),而第二时间点可以是受试者患有疾病之后的时间点(例如,第二时间点可以用于诊断患有该疾病的受试者)。在一些实施例中,第一时间点可以是在诊断患有疾病的受试者之前的时间点(例如,当受试者健康时),之后对此受试者进行监视,而第二时间点可以是在监视受试者之后的时间点。在一些实施例中,第一时间点可以是在诊断患有疾病的受试者之后的时间点,之后向该受试者施用治疗,而第二时间点可以是在施用治疗之后的时间点;在此类情况下,第二时间点可以用于评估治疗的功效(例如,如果在第一时间点检测到的基因突变丰度减少或检测不到)。在一些实施例中,要向受试者施用的治疗可以包含式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0490] 在一些实施例中,可以通过评估在不同时间点从受试者获得的cfDNA(例如,在第一时间点从受试者获得的cfDNA和在第二时间点从受试者获得的cfDNA)中基因(例如,MALT1基因)失调的等位基因频率来确定式(I)化合物或其药学上可接受的盐的功效,其中在第一时间点和第二时间点之间向受试者施用至少一个剂量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。这些方法的一些实施例可以进一步包含在第一时间点和第二时间点之间向受试者施用至少一个剂量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。例如,与在第一时间点从受试者获得的cfDNA中基因(例如,MALT1基因)失调的等位基因频率(AF)相比,在第二时间点从受试者获得的cfDNA中基因(例如,MALT1基因)失调的等位基因频率(AF)减少(例如,减少1%至约99%、减少1%至约95%、减少1%至约90%、减少1%至约85%、减少1%至约80%、减少1%至约75%、减少1%至减少约70%、减少1%至减少约65%、减少1%至减少约60%、减少1%至减少约55%、减少1%至减少约50%、减少1%至减少约45%、减少1%至减少约40%、减少1%至减少约35%、减少1%至减少约30%、减少1%至减少约25%、减少1%至减少约20%、减少1%至减少约15%、减少1%至减少约10%、减少1%至减少约5%、减少约5%至约99%、减少约10%至约99%、减少约15%至约99%、减少约20%至约99%、减少约25%至约99%、减少约30%至约99%、减少约35%至约99%、减少约40%至约99%、减少约45%至约99%、减少约50%至约99%、减少约55%至约99%、减少约60%至约99%、减少约65%至约99%、减少约70%至约99%、减少约75%至约95%、减少约80%至约99%、减少约90%至约99%、减少约95%至约99%、减少约5%至约10%、减少约5%至约25%、减少约10%至约30%、减少约20%至约40%、减少约25%至约50%、减少约35%至约55%、减少约40%至约60%、减少约50%至约75%、减少约60%至约80%或减少约65%至约85%),这表明式(I)化合物或其药学上可接受的盐对受试者有效。在一些实施例中,减小AF,使得水平低于仪器的检测极限。可替代地,与在第一时间点从受试者获得的cfDNA中基因(例如,MALT1基因)失调的等位基因频率(AF)相比,在第二时间点从受试者获得的cfDNA中基因(例如,MALT1基因)失调的等位基因频率(AF)增加,这表明式(I)化合物或其药学上可接受的盐对受试者无效。这些方法的一些实施例可以进一步包含向其中式(I)化合物或其药学上可接受的盐被确定为有效的受试者施用另外剂量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。这些方法的一些实施例可以进一步包含向其中式(I)化合物或其药学上可接受的盐被确定为无效的受试

者施用不同的治疗(例如,不包含作为单一疗法施用式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗)。

[0491] 在这些方法的一些实例中,第一时间点和第二时间点之间的时间差可以为约1天至约1年、约1天至约11个月、约1天至约10个月、约1天至约9个月、约1天至约8个月、约1天至约7个月、约1天至约6个月、约1天至约5个月、约1天至约4个月、约1天至约3个月、约1天至约10周、约1天至约2个月、约1天至约6周、约1天至约1个月、约1天至约25天、约1天至约20天、约1天至约15天、约1天至约10天、约1天至约5天、约2天至约1年、约5天至约1年、约10天至约1年、约15天至约1年、约20天至约1年、约25天至约1年、约1个月至约1年、约6周至约1年、约2个月至约1年、约3个月至约1年、约4个月至约1年、约5个月至约1年、约6个月至约1年、约7个月至约1年、约8个月至约1年、约9个月至约1年、约10个月至约1年、约11个月至约1年、约1天至约7天、约1天至约14天、约5天至约10天、约5天至约20天、约10天至约20天、约15天至约1个月、约15天至约2个月、约1周至约1个月、约2周至约1个月、约1个月至约3个月、约3个月至约6个月、约4个月至约6个月、约5个月至约8个月或约7个月至约9个月。在这些方法的一些实施例中,受试者可以事先被鉴定为患有具有失调的基因(例如,本文所述的失调的基因的任何实例)(例如,MALT1基因)的癌症。在这些方法的一些实施例中,受试者可以事先被诊断患有本文所描述的任何类型的癌症。在这些方法的一些实施例中,受试者可以具有一种或多种转移(例如,一种或多种脑转移)。

[0492] 在上述实施例中的一些实施例中,cfDNA包括ctDNA,如MALT1相关ctDNA。例如,cfDNA是ctDNA,如MALT1相关ctDNA。在一些实施例中,确定cfDNA的至少一部分是MALT1相关ctDNA,例如,确定测序和/或定量的量的总cfDNA具有MALT1融合和/或MALT1的过表达。

[0493] 尽管在不同类型的癌症之间肿瘤发生的遗传基础可能有所不同,但对于所有实体瘤类型而言,转移所需的细胞和分子机制似乎是相似的。在转移性级联过程中,癌细胞失去生长抑制反应,发生粘附性改变,并产生可以降解细胞外基质成分的酶。这导致肿瘤细胞与原始肿瘤分离,通过新形成的脉管系统渗透到循环系统中,肿瘤细胞在可能形成菌落的有利的远端位点处发生迁移和外渗。

[0494] 因此,本文还提供了一种用于抑制、预防、帮助预防或减轻有此需要的受试者的癌症的转移症状的方法,所述方法包括向所述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其药物组合物。此类方法可以用于治疗本文所描述的一种或多种癌症。参见例如,美国公开号2013/0029925;国际公开号WO 2014/083567;和美国专利号8,568,998。还参见例如,Hezam K等人,Rev Neurosci 2018年1月26日;29:93-98;Gao L等人,Pancreas 2015年1月;44:134-143;Ding K等人,J Biol Chem 2014年6月6日;289:16057-71;以及Amit M等人,Oncogene 2017年6月8日;36:3232-3239。在一些实施例中,所述癌症是MALT1相关癌症。在一些实施例中,如本文所描述的,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与另外的疗法或另一种治疗剂组合使用。例如,第一或第二MALT1蛋白酶抑制剂。

[0495] 术语“转移”是本领域已知的术语,并且是指在受试者中远离原发性肿瘤的位点处形成另外的肿瘤(例如,实体瘤),其中另外的肿瘤包含与原发性肿瘤相同或相似的癌细胞。

[0496] 还提供了一种降低患有MALT1相关癌症的受试者发生转移或另外的转移的风险的方法,所述方法包含:选择、鉴定或诊断患有MALT1相关癌症的受试者,并向经选择、鉴定或诊断为患有MALT1相关癌症的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。还

提供了降低患有MALT1相关癌症的受试者发生转移或另外的转移的风险的方法,所述方法包含向患有MALT1相关癌症的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。可以将患有MALT1相关癌症的受试者发生转移或另外的转移的风险的降低与治疗前受试者发生转移或另外的转移的风险进行比较,或者与尚未接受任何治疗或接受不同治疗的患有相似或相同的MALT1相关癌症的受试者或受试者群体进行比较。

[0497] 短语“发生转移的风险”意指患有原发性肿瘤的受试者在设定的时间段内在远离受试者中的原发性肿瘤的位点处出现另外的肿瘤(例如,实体瘤)的风险,其中所述另外的肿瘤包含与原发性肿瘤相同或相似的癌细胞。本文描述了用于降低患有癌症的受试者发生转移的风险的方法。

[0498] 短语“发生另外的转移的风险”意指患有原发性肿瘤并在远离原发性肿瘤的位点处患有一种或多种另外的肿瘤(其中所述一种或多种另外的肿瘤包含与原发性肿瘤相同或相似的癌细胞)的受试者将出现远离原发性肿瘤的一种或多种另外的肿瘤的风险,其中所述另外的肿瘤包含与原发性肿瘤相同或相似的癌细胞。本文描述了降低发生另外的转移的风险的方法。

[0499] 本文所描述的一些实施例提供了治疗如类风湿性关节炎、多发性硬化症和SLE等自身免疫性病症(例如,MALT1相关自身免疫性病症)的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0500] 本文所描述的一些实施例提供了治疗如慢性移植物抗宿主病等炎性病症(例如,MALT1相关自身免疫性病症)的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0501] 还提供了一种用于抑制哺乳动物细胞的MALT1蛋白酶活性的方法,所述方法包括使所述哺乳动物细胞与式(I)化合物接触。在一些实施例中,接触是在体外进行的。在一些实施例中,接触是在体内进行的。在一些实施例中,接触是在体内进行的,其中所述方法包括向具有具有MALT1蛋白酶活性的哺乳动物细胞的受试者施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物免疫细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是本文所描述的任何癌症。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是MALT1相关哺乳动物癌细胞。

[0502] 还提供了一种用于抑制哺乳动物哺乳动物细胞的MALT1蛋白酶活性的方法,所述方法包括使所述哺乳动物细胞与式(I)化合物接触。在一些实施例中,接触是在体外进行的。在一些实施例中,接触是在体内进行的。在一些实施例中,接触是在体内进行的,其中所述方法包括向具有具有MALT1蛋白酶活性的哺乳动物细胞的哺乳动物施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物免疫细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是本文所描述的任何癌症。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是MALT1相关哺乳动物癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是胃肠道哺乳动物细胞。

[0503] 如本文所使用的,术语“接触”是指使体外系统或体内系统中的指示部分在一起。例如,使MALT1蛋白酶与本文提供的化合物“接触”包含向具有MALT1蛋白酶的受试者(如人)施用本文提供的化合物,以及例如将本文提供的化合物引入到含有哺乳动物细胞或纯化制剂的样品中,所述制剂含有MALT1蛋白酶。

[0504] 本文还提供了一种在体外或体内抑制哺乳动物细胞增殖的方法,所述方法包括使哺乳动物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其药物组合物接触。

[0505] 如本文所定义的,“MALT1蛋白酶抑制剂”包含表现出MALT1抑制活性的任何化合物。在一些实施例中,MALT1蛋白酶抑制剂对MALT1蛋白酶具有选择性。示例性的MALT1蛋白酶抑制剂可以针对MALT1蛋白酶表现出小于约1000nM、小于约500nM、小于约200nM、小于约100nM、小于约50nM、小于约25nM、小于约10nM或小于约1nM的抑制活性(IC_{50}),如在本文所描述的测定中所测量的。在一些实施例中,MALT1蛋白酶抑制剂可以针对MALT1蛋白酶表现出小于约25nM、小于约10nM、小于约5nM或小于约1nM的抑制活性(IC_{50}),如在本文提供的测定中所测量的。

[0506] 如本文所使用的,“第一MALT1蛋白酶抑制剂”或“第一MALT1抑制剂”是如本文所定义的MALT1蛋白酶抑制剂,但其不包含如本文所定义的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。如本文所使用的,“第二MALT1蛋白酶抑制剂”或“第二MALT1抑制剂”是如本文所定义的MALT1蛋白酶抑制剂,但其不包含如本文所定义的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。当本文提供的方法中同时存在第一和第二MALT1抑制剂时,第一和第二MALT1蛋白酶抑制剂是不同的。

[0507] 本文描述了示例性第一和第二MALT1蛋白酶抑制剂。在一些实施例中,第一或第二MALT1蛋白酶抑制剂可以是例如JNJ-67856633或CTX-177(ONO-7018)

[0508] 短语“有效量”是指当施用于需要此类治疗的受试者时足以(i)治疗MALT1相关疾病或病症(如MALT1相关癌症);(ii)减轻、改善或消除特定疾病、病状或病症的一种或多种症状;或(iii)延迟本文所述特定疾病、病状或病症的一种或多种症状的发作的化合物的量。对应于所述量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐的量将根据如具体化合物、疾病状况及其严重程度、需要治疗的受试者的身份(例如,体重)等因素而变化,但仍然可以由本领域技术人员常规确定。

[0509] 另一个实施例的特征在于式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用作药物。

[0510] 另一个实施例的特征在于式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在抑制受试者的MALT1的方法中使用。

[0511] 另一个实施例的特征在于式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗癌症、自身免疫性病症或炎性病症的方法中使用。

[0512] 其它实施例提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗受试者的自身免疫性病症(例如,MALT1相关自身免疫性病症)的方法中使用。在一些实施例中,所述自身免疫性病症是类风湿性关节炎、多发性硬化或系统性红斑狼疮(SLE)。

[0513] 一些实施例提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗受试者的炎性病症(例如,MALT1相关炎性病症)的方法中使用。在一些实施例中,所述炎性病症是慢性移植物抗宿主病(cGVHD)。

[0514] 一些实施例提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗受试者的癌症(例如,MALT1相关癌症)的方法中使用。在一些实施例中,MALT1基因、MALT1蛋白酶或其中任一者的表达或活性或水平的失调包含一个或多个融合蛋白。

[0515] 因此,本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗被诊断患有或被鉴定为患有MALT1相关癌症(例如,本文公开的示例性MALT1相关癌症中的任一种)的受试者的方法中使用。

[0516] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、活化的B细胞弥漫性大B细胞淋巴瘤(ABC-DLBCL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、边缘区淋巴瘤(MZL)、慢性淋巴白血病(CLL)或成熟B细胞肿瘤的方法中使用。

[0517] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗T细胞急性淋巴细胞白血病的方法中使用。

[0518] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗受试者的CBM复合物通路相关癌症(诸如本文公开的那些癌症中的任一种)的方法中使用。

[0519] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗被鉴定为患有CBM复合物通路相关癌症的受试者的癌症的方法中使用。

[0520] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗受试者的MALT1相关癌症的方法中使用。

[0521] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗受试者的CBM复合物通路相关疾病或病症、自身免疫性病症和炎性病症的方法中使用。

[0522] 因此,本文提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗受试者的自身免疫性病症的方法中使用。本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗受试者的MALT1相关自身免疫性病症的方法中使用。本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗受试者的MALT1相关自身免疫性病症的方法中使用。

[0523] 另外,本文提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗受试者的炎性病症的方法中使用。在一些情况下,本文提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗被鉴定或诊断为患有MALT1相关炎性病症的受试者的MALT1相关炎性病症的方法中使用。本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗被确定为患有MALT1相关炎性病症的受试者的MALT1相关炎性病症的方法中使用。

[0524] 本文另外提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗受试者的CBM复合物通路相关疾病或病症的方法中使用。另外,本文提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗被鉴定为患有CBM复合物通路相关疾病或病症的受试者的疾病或病症的方法中使用。

[0525] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在抑制哺乳动物细胞增殖的方法中使用。本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在抑制哺乳动物细胞中的CBM复合物通路活性的方法中使用。本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在抑制哺乳动物细胞中的MALT1蛋白酶活性的方法中使用。哺乳动物细胞可以是任何适当的细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物免疫细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是哺乳动物CBM复合物通路相关癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是哺乳动物MALT1相关癌细胞。在一些实施例中,哺乳

动物细胞具有MALT1基因、MALT1蛋白酶蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,MALT1基因、MALT1蛋白酶蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调是IAP2-MALT1融合、IGH-MALT1融合或其组合。

[0526] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在抑制、预防、帮助预防或减轻受试者的癌症转移的症状的方法中使用。此类方法可以用于治疗本文所描述的一种或多种癌症。参见例如,美国公开号2013/0029925;国际公开号WO 2014/083567;和美国专利号8,568,998。还参见例如,Hezam K等人,Rev Neurosci 2018年1月26日;29:93-98;Gao L等人,Pancreas 2015年1月;44:134-143;Ding K等人,J Biol Chem 2014年6月6日;289:16057-71;以及Amit M等人,Oncogene 2017年6月8日;36:3232-3239。在一些实施例中,所述癌症是MALT1相关癌症。在一些实施例中,如本文所描述的,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与另外的疗法或另一种治疗剂组合使用。例如,第一或第二MALT1蛋白酶抑制剂。

[0527] 还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在降低在患有MALT1相关癌症的受试者中发生转移或另外的转移的风险的方法中使用。可以将患有MALT1相关癌症的受试者发生转移或另外的转移的风险的降低与治疗前受试者发生转移或另外的转移的风险进行比较,或者与尚未接受任何治疗或接受不同治疗的患有相似或相同的MALT1相关癌症的受试者或受试者群体进行比较。

[0528] 本文所描述的一些实施例提供了式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗受试者的自身免疫性病症(例如,MALT1相关自身免疫性病症),诸如类风湿性关节炎、多发性硬化症和SLE的方法中使用。

[0529] 本文所描述的一些实施例提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在治疗受试者的炎性病症(例如,MALT1相关自身免疫性病症),诸如慢性移植物抗宿主病的方法中使用。

[0530] 还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在抑制哺乳动物细胞中的MALT1蛋白酶活性的方法中使用。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物免疫细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是本文所描述的任何癌症。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是MALT1相关哺乳动物癌细胞。

[0531] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在抑制哺乳动物细胞增殖的方法中使用。

[0532] 在另一个方面中,本发明的特征在于式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其用于在其中用一种或多种另外的治疗剂治疗受试者的方法中使用,所述治疗剂在用有效量的化合物、药学上可接受的盐或药物组合物治疗的同时、之前或之后施用。

[0533] 在另一个方面中,本发明提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物用于制造药物的用途。

[0534] 在另一个方面中,本发明提供了式(I)化合物、其药学上可接受的盐或其药物组合物用于制造用于在抑制受试者的MALT1中使用的药物中的用途。

[0535] 在另一个方面中,本发明提供了式(I)化合物、其药学上可接受的盐或其药物组合物用于制造用于在治疗受试者的癌症、自身免疫性病症或炎性病症中使用的药物中的用

途。

[0536] 一些实施例提供了式(I)化合物、其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗受试者的自身免疫性病症(例如,MALT1相关自身免疫性病症)中使用的药物中的用途。在一些实施例中,所述自身免疫性病症是类风湿性关节炎、多发性硬化或系统性红斑狼疮(SLE)。

[0537] 一些实施例提供了式(I)化合物、其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗受试者的炎性病症(例如,MALT1相关炎性病症)中使用的药物中的用途。在一些实施例中,所述炎性病症是慢性移植物抗宿主病(cGVHD)。

[0538] 一些实施例提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗受试者的癌症(例如,MALT1相关癌症)中使用的药物中的用途。在一些实施例中,MALT1基因、MALT1蛋白酶或其中任一者的表达或活性或水平的失调包含一个或多个融合蛋白。

[0539] 因此,本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗被诊断为或被鉴定为患有MALT1相关癌症(例如,本文公开的示例性MALT1相关癌症中的任一种)的受试者中使用的药物中的用途。

[0540] 因此,本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗患有弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、活化的B细胞弥漫性大B细胞淋巴瘤(ABC-DLBCL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、边缘区淋巴瘤(MZL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)或成熟B细胞肿瘤的受试者中使用的药物中的用途。

[0541] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗患有T细胞急性淋巴细胞白血病的受试者中使用的药物中的用途

[0542] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗受试者的CBM复合物通路相关癌症(诸如本文公开的那些癌症中的任一种)中使用的药物中的用途。

[0543] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗被鉴定为患有CBM复合物通路相关癌症的受试者的癌症中使用的药物中的用途。

[0544] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗受试者的MALT1相关癌症中使用的药物中的用途。

[0545] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗受试者的CBM复合物通路相关疾病或病症、自身免疫性病症和炎性病症中使用的药物中的用途。因此,本文提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗受试者的自身免疫性病症中使用的药物中的用途。本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗受试者的MALT1相关自身免疫性病症中使用的药物中的用途。本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗受试者的MALT1相关自身免疫性病症中使用的药物中的用途。此外,本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗受试者的炎性病症中使用的药物中的用途。在一些情况下,本文提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗被鉴定为或被诊断为患有MALT1相关炎性病症的受试者的MALT1相关炎性病症中使用的药物中的用途。本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受

的盐或药物组合物在制造用于在治疗被确定患有MALT1相关炎性病症的受试者的MALT1相关炎性病症中使用的药物中的用途。

[0546] 本文另外提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗受试者的CBM复合物通路相关疾病或病症中使用的药物中的用途。此外,本文提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗被鉴定为患有CBM复合物通路相关疾病或病症的受试者的疾病或病症中使用的药物中的用途。

[0547] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在抑制哺乳动物细胞增殖中使用的药物中的用途。本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在抑制哺乳动物细胞中的CBM复合物通路活性中使用的药物中的用途。本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在抑制哺乳动物细胞中的MALT1蛋白酶活性中使用的药物中的用途。哺乳动物细胞可以是任何适当的细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物免疫细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是哺乳动物CBM复合物通路相关癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是哺乳动物MALT1相关癌细胞。在一些实施例中,哺乳动物细胞具有MALT1基因、MALT1蛋白酶蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调。在一些实施例中,MALT1基因、MALT1蛋白酶蛋白或其中任一者的表达或活性或水平的失调是IAP2-MALT1融合、IGH-MALT1融合或其组合。

[0548] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在抑制、预防、帮助预防或减轻受试者的癌症的转移症状中使用的药物中的用途。在一些实施例中,所述癌症是MALT1相关癌症。在一些实施例中,如本文所描述的,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与另外的疗法或另一种治疗剂组合使用。例如,第一或第二MALT1蛋白酶抑制剂。

[0549] 还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在降低患有MALT1相关癌症的受试者中发生转移或另外的转移的风险中使用的药物中的用途。可以将患有MALT1相关癌症的受试者发生转移或另外的转移的风险的降低与治疗前受试者发生转移或另外的转移的风险进行比较,或者与尚未接受任何治疗或接受不同治疗的患有相似或相同的MALT1相关癌症的受试者或受试者群体进行比较。

[0550] 本文所描述的一些实施例提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗受试者的自身免疫性病症(例如,MALT1相关自身免疫性病症),诸如类风湿性关节炎、多发性硬化症和SLE中使用的药物中的用途。

[0551] 本文所描述的一些实施例提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在治疗受试者的炎性病症(例如,MALT1相关自身免疫性病症),诸如慢性移植物抗宿主病中使用的药物中的用途。

[0552] 还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在抑制哺乳动物细胞中的MALT1蛋白酶活性中使用的药物中的用途。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物免疫细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物细胞是哺乳动物癌细胞。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是本文所描述的任何癌症。在一些实施例中,所述哺乳动物癌细胞是MALT1相关哺乳动物癌细胞。

[0553] 本文还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于在抑

制哺乳动物细胞增殖中使用的药物中的用途。

[0554] 在又另一方面中,本发明提供了式(I)化合物、其药学上可接受的盐或其药物组合物用于制造与一种或多种另外的治疗剂组合使用的药物中的用途,所述另外的治疗剂在用所述化合物或药物组合物治疗的同时、之前或之后施用。

[0555] 在医学肿瘤学领域,通常的实践是使用不同形式的治疗的组合来治疗每个患有癌症的受试者。在医学肿瘤学中,除本文提供的组合物外,此类联合治疗或疗法的一种或多种其它组分还可以是例如外科手术、放射疗法和化学治疗剂,如其它蛋白酶抑制剂、激酶抑制剂、信号转导抑制剂和/或单克隆抗体。

[0556] 例如,外科手术可以是开放手术或微创手术。因此,式(I)化合物或其药学上可接受的盐也可以用作癌症治疗的佐剂,即,其可以与一种或多种另外的疗法或治疗剂(例如,通过相同或不同的作用机理起作用的化学治疗剂)组合使用。在一些实施例中,可以在施用另外的治疗剂或另外的疗法之前施用式(I)化合物或其药学上可接受的盐。例如,可以在一段时间内向有此需要的受试者施用一个或多个剂量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,并且然后至少部分地切除肿瘤。在一些实施例中,在至少部分地切除肿瘤之前,用一个或多个剂量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐进行治疗可减少肿瘤的大小(例如,肿瘤负荷)。在一些实施例中,可以在一段时间内并在一轮或多轮放射疗法下向有此需要的受试者施用一个或多个剂量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,在进行一轮或多轮放射疗法之前,用一个或多个剂量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐进行治疗可减少肿瘤的大小(例如,肿瘤负荷)。

[0557] 在一些实施例中,受试者患有难治的或对标准疗法(例如,施用化学治疗剂),如第一MALT1抑制剂、激酶抑制剂、免疫疗法、细胞或基因疗法或放射法(例如,放射性碘)不耐受的癌症(例如,局部晚期或转移性肿瘤)。在一些实施例中,受试者患有难治的或对先前疗法(例如,施用化学治疗剂,如第一MALT1抑制剂或另一种蛋白酶抑制剂、免疫疗法、细胞或基因疗法或放射法(例如,放射性碘)不耐受的癌症(例如,局部晚期或转移性肿瘤)。在一些实施例中,受试者患有没有标准疗法的癌症(例如,局部晚期或转移性肿瘤)。在一些实施例中,受试者未使用过MALT1蛋白酶抑制剂。例如,受试者未用选择性MALT1蛋白酶抑制剂进行过治疗。在一些实施例中,受试者使用过MALT1蛋白酶抑制剂。

[0558] 在本文所描述的方法中的任一种的一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与有效量的至少一种另外的治疗剂组合施用,所述至少一种另外的治疗剂选自一种或多种另外的疗法或治疗剂(例如,化学疗法或免疫调节剂)。另外的疗法或治疗剂可以是任何适当的另外的疗法或治疗剂,如本文所描述的任何另外的疗法或治疗剂。

[0559] 另外的治疗剂的非限制性实例包括:其它MALT1靶向治疗剂(即,第一或第二MALT1蛋白酶抑制剂,例如JNJ-67856633或CTX-177(ONO-7018))、其它蛋白酶抑制剂、激酶抑制剂(例如,受体酪氨酸激酶靶向治疗剂,诸如BTK或EGFR抑制剂)、信号转导通路抑制剂、检查点抑制剂、细胞凋亡通路的调节剂(例如,维奈托克(venetoclax)或奥巴克拉(obataclax));细胞毒性化学治疗剂、血管生成靶向疗法、免疫靶向剂(包括抗体和基于细胞的免疫疗法,以及抗体-药物缀合物)和放射疗法。

[0560] 在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐以及另外的治疗剂以单独剂量同时施用。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐以及另外的治疗剂以

单独剂量按任何顺序依次施用。

[0561] 在一些实施例中,其它MALT1靶向治疗剂是表现出MALT1抑制活性的另一种蛋白酶抑制剂。在一些实施例中,其它MALT1靶向治疗剂对MALT1蛋白酶具有选择性。示例性的MALT1蛋白酶抑制剂可以针对MALT1蛋白酶表现出小于约1000nM、小于约500nM、小于约200nM、小于约100nM、小于约50nM、小于约25nM、小于约10nM或小于约1nM的抑制活性(IC_{50}),如在本文所描述的测定中所测量的。在一些实施例中,MALT1蛋白酶抑制剂可以针对MALT1蛋白酶表现出小于约25nM、小于约10nM、小于约5nM或小于约1nM的抑制活性(IC_{50}),如在如本文提供的测定中所测量的。

[0562] 蛋白酶靶向治疗剂(例如,第一MALT1抑制剂或第二MALT1抑制剂)的非限制性实例包括JNJ-67856633和CTX-177(ONO-7018)。

[0563] 多激酶抑制剂的非限制性实例包括埃克替尼(9-乙基-6,6-二甲基-8-[4-(吗啉-4-基)哌啶-1-基]-11-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[b]咔唑-3-甲腈);阿姆伐替尼(MP470,HPK56)(N-(1,3-苯并间二氧杂环己烷-5-基甲基)-4-([1]苯并呋喃并[3,2-d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-硫代甲酰胺);阿帕替尼(YN968D1)(N-[4-(1-氰基环戊基)苯基-2-(4-吡啶甲基)氨基-3-烟酰胺甲磺酸盐);卡博替尼(Cometriq XL-184)(N-(4-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-N'-(4-氟苯基)环丙烷-1,1-二甲酰胺);多韦替尼(TKI258;GFKI-258;CHIR-258)((3Z)-4-氨基-5-氟-3-[5-(4-甲基哌嗪-1-基)-1,3-二氢苯并咪唑-2-亚基]喹啉-2-酮);法米替尼(5-[2-(二乙基氨基)乙基]-2-[(Z)-(5-氟-2-氧代-1H-吲哚-3-亚基)甲基]-3-甲基-6,7-二氢-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-4-酮);菲卓替尼(SAR302503、TG101348)(N-(2-甲基-2-丙基)-3-{[5-甲基-2-({4-[2-(1-吡咯烷基)乙氧基]苯基}氨基)-4-嘧啶基]氨基}苯磺酰胺);福瑞替尼(XL880、EXEL-2880、GSK1363089、GSK089)(N1'-[3-氟-4-[[6-甲氧基-7-(3-吗啉代丙氧基)-4-喹啉基]氧基]苯基]-N1-(4-氟苯基)环丙烷-1,1-二甲酰胺);fostamantinib(R788)(2H-吡啶并[3,2-b]-1,4-噁嗪-3(4H)-酮,6-[[5-氟-2-[(3,4,5-三甲氧基苯基)氨基]-4-嘧啶基]氨基]-2,2-二甲基-4-[(膦酰氧基)甲基]-,钠盐(1:2));伊洛沙替尼(ABT-348)(1-(4-(4-氨基-7-(1-(2-羟乙基)-1H-吡唑-4-基)噻吩并[3,2-c]吡啶-3-基)苯基)-3-(3-氟苯基)脲);仑伐替尼(E7080,Lenvima)(4-[3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基]-7-甲氧基-6-喹啉甲酰胺);莫特沙尼(AMG 706)(N-(3,3-二甲基-2,3-二氢-1H-吲哚-6-基)-2-[(吡啶-4-基甲基)氨基]吡啶-3-甲酰胺);尼达尼布(3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-氨基)-苯胺基)-1-苯基-亚甲基]-6-甲氧基羰基-2-吲哚酮);普纳替尼(AP24534)(3-(2-咪唑并[1,2-b]哒嗪-3-基乙炔基)-4-甲基-N-[4-[(4-甲基哌嗪-1-基)甲基]-3-(三氟甲基)苯基]苯甲酰胺);PP242(torkinib)(2-[4-氨基-1-(1-甲基乙基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-3-基]-1H-吲哚-5-醇);奎扎替尼(1-(5-(叔丁基)异噁唑-3-基)-3-(4-(7-(2-吗啉代乙氧基)苯并[d]咪唑并[2,1-b]噻唑-2-基)苯基)脲);瑞戈非尼(BAY 73-4506,stivarga)(4-[4-({[4-氯-3-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基}氨基)-3-氟苯氧基]-N-甲基吡啶-2-甲酰胺水合物);RXDX-105(CEP-32496,阿戈拉非尼)(1-(3-((6,7-二甲氧基喹唑啉-4-基)氧基)苯基)-3-(5-(1,1,1-三氟-2-甲基丙烷-2-基)异噁唑-3-基)脲);司马沙尼(SU5416)((3Z)-3-[(3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基]-1,3-二氢-2H-吲哚-2-酮);司曲替尼(MGCD516,MG516)(N-(3-氟-4-{[2-(5-{[(2-甲氧基乙基)氨基]甲基}-2-吡啶基)噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基]氧基}苯基)-N'-(4-氟苯基)-1,1-环

丙烷二甲酰胺);索拉非尼(BAY 43-9006)(4-[4-[[[[4-氯-3-(三氟甲基)苯基]氨基]羰基]氨基]苯氧基]-N-甲基-2-吡啶甲酰胺);凡德他尼(N-(4-溴-2-氟苯基)-6-甲氧基-7-[(1-甲基哌啶-4-基)甲氧基]喹唑啉-4-胺);瓦他拉尼(PTK787,PTK/ZK,ZK222584)(N-(4-氯苯基)-4-(吡啶-4-基甲基)酞嗪-1-胺);AD-57(N-[4-[4-氨基-1-(1-甲基乙基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-3-基]苯基]-N'-[3-(三氟甲基)苯基]-脲);AD-80(1-[4-(4-氨基-1-丙-2-基吡唑并[3,4-d]嘧啶-3-基)苯基]-3-[2-氟-5-(三氟甲基)苯基]脲);AD-81(1-(4-(4-氨基-1-异丙基-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-3-基)苯基)-3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲);ALW-II-41-27(N-(5-((4-((4-乙基哌嗪-1-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯基)氨基甲酰基)-2-甲基苯基)-5-(噻吩-2-基)烟酰胺);BPR1K871(1-(3-氯苯基)-3-(5-(2-((7-(3-(二甲基氨基)丙氧基)喹唑啉-4-基)氨基)乙基)噻唑-2-基)脲);CLM3(1-苯乙基-N-(1-苯乙基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺);EBI-907(N-(2-氯-3-(1-环丙基-8-甲氧基-3H-吡唑并[3,4-c]异喹啉-7-基)-4-氟苯基)-3-氟丙烷-1-磺酰胺);NVP-AST-487(N-[4-[(4-乙基-1-哌嗪基)甲基]-3-(三氟甲基)苯基]-N'-[4-[[6-(甲基氨基)-4-嘧啶基]氧基]苯基]-脲);NVP-BBT594(BBT594)(5-((6-乙酰氨基嘧啶-4-基)氧基)-N-(4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯基)二氢吲哚-1-甲酰胺);PD173955(6-(2,6-二氯苯基)-8-甲基-2-(3-甲硫基苯胺基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-酮);PP2(4-氨基-5-(4-氯苯基)-7-(二甲基乙基)吡唑并[3,4-d]嘧啶);PZ-1(N-(5-(叔丁基)异噁唑-3-基)-2-(4-(5-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-1H苯并[d]咪唑-1-基)苯基)乙酰胺);RPI-1(1,3-二氢-5,6-二甲氧基-3-[(4-羟基苯基)亚甲基]-H-吲哚-2-酮;(3E)-3-[(4-羟基苯基)亚甲基]-5,6-二甲氧基-1H-吲哚-2-酮);SGI-7079(3-[2-[[3-氟-4-(4-甲基-1-哌嗪基)苯基]氨基]-5-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基]-苯乙腈);SPP86(1-异丙基-3-(苯基乙炔基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺);SU4984(4-[4-[(E)-(2-氧代-1H-吲哚-3-亚基)甲基]苯基]哌嗪-1-甲醛);舒尼替尼(SU11248)(N-(2-二乙基氨基乙基)-5-[(Z)-(5-氟-2-氧代-1H-吲哚-3-亚基)甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺);TG101209(N-叔丁基-3-(5-甲基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯磺酰胺);醉茄素A((4β,5β,6β,22R)-4,27-二羟基-5,6:22,26-二环氧麦角甾-2,24-二烯-1,26-二酮);XL-999((Z)-5-((1-乙基哌啶-4-基)氨基)-3-((3-氟苯基)(5-甲基-1H-咪唑-2-基)亚甲基)吲哚啉-2-酮);BPR1J373(5-苯基噻唑-2-基胺-嘧啶衍生物);CG-806(CG'806);DCC-2157;GTX-186;HG-6-63-01((E)-3-(2-(4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)乙烯基)-N-(4-((4-乙基哌嗪-1-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯基)-4-甲基苯甲酰胺);SW-01(盐酸环苯扎林);XMD15-44(N-(4-((4-乙基哌嗪-1-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯基)-4-甲基-3-(吡啶-3-基乙炔基)苯甲酰胺(由结构生成));ITRI-305(D0N5TB,DIB003599);BLU-667((1S,4R)-N-((S)-1-(6-(4-氟-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)乙基)-1-甲氧基-4-(4-甲基-6-((5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-2-基)环己烷-1-甲酰胺);BLU6864;DS-5010;GSK3179106;GSK3352589;NMS-E668;TAS0286/HM05;TPX0046;以及N-(3-(2-(二甲基氨基)乙氧基)-5-(三氟甲基)苯基)-2-(4-(4-乙氧基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-基)-2-氟苯基)乙酰胺。

[0564] 受体酪氨酸激酶(例如,Trk)靶向治疗剂的非限制性实例包含阿法替尼(afatinib)、卡博替尼、西妥昔单抗(cetuximab)、克唑替尼(crizotinib)、达拉非尼(dabrafenib)、恩曲替尼(entrectinib)、厄洛替尼(erlotinib)、吉非替尼(gefitinib)、伊

马替尼(imatinib)、拉帕替尼(lapatinib)、来他替尼(lestaurtinib)、尼洛替尼(nilotinib)、帕唑帕尼(pazopanib)、帕尼单抗(panitumumab)、帕妥珠单抗(pertuzumab)、舒尼替尼、曲妥珠单抗(trastuzumab)、1-((3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基嘧啶-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲、AG 879、AR-772、AR-786、AR-256、AR-618、AZ-23、AZ623、DS-6051、Gö6976、GNF-5837、GTx-186、GW 441756、LOXO-101、MGCD516、PLX7486、RXDX101、VM-902A、TPX-0005、TSR-011、GNF-4256、N-[3-[[2,3-二氢-2-氧代-3-(1H-吡咯-2-基亚甲基)-1H-吲哚-6-基]氨基]-4-甲基苯基]-N'-[2-氟-5-(三氟甲基)苯基]-脲、AZ623、AZ64、(S)-5-氯-N2-(1-(5-氟吡啶-2-基)乙基)-N4-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-2,4-二胺、AZD7451、CEP-751、CT327、舒尼替尼、GNF-8625以及(R)-1-(6-(6-(2-(3-氟苯基)吡咯烷-1-基)咪唑并[1,2-b]哒嗪-3-基)-[2,4'-二吡啶]-2'-基)哌啶-4-醇。

[0565] 在一些实施例中,另外的治疗剂是BRAF抑制剂。BRAF抑制剂的非限制性实例包含:达拉非尼、威罗非尼(vemurafenib)(也被称为RG7204或PLX4032)、对甲苯磺酸索拉非尼(sorafenib tosylate)、PLX-4720、GDC-0879、BMS-908662(Bristol-Meyers Squibb)、LGX818(Novartis)、PLX3603(Hofmann-LaRoche)、RAF265(Novartis)、RO5185426(Hofmann-LaRoche)和GSK2118436(GlaxoSmithKline)。BRAF抑制剂的另外的实例是本领域已知的。

[0566] 在一些实施例中,另外的治疗剂是表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR)。例如,EGFR抑制剂可以包含奥希替尼(osimertinib)(merelectinib,Tagrisso)、厄洛替尼(Tarceva)、吉非替尼(Iressa)、西妥昔单抗(Erbitux)、耐昔妥珠单抗(necitumumab)(Portrazza)、来那替尼(neratinib)(Nerlynx)、拉帕替尼(Tykerb)、帕尼单抗(Vectibix)和凡德他尼(Caprelsa)。

[0567] 在一些实施例中,另外的治疗剂是Ras-Raf-MEK-ERK通路抑制剂(例如,比美替尼(binimetinib)、司美替尼(selumetinib)、康奈非尼(encorafenib)、索拉非尼、曲美替尼(trametinib)和威罗非尼)、PI3K-Akt-mTOR-S6K通路抑制剂(例如,依维莫司(everolimus)、雷帕霉素(rapamycin)、哌立福新(perifosine)、替西罗莫司(temsirolimus))和其它激酶抑制剂,如巴瑞替尼(baricitinib)、布加替尼(brigatinib)、卡马替尼(capmatinib)、达鲁色替(danusertib)、依鲁替尼(ibrutinib)、密西尼(milciclib)、槲皮素(quercetin)、瑞戈非尼、鲁索替尼(ruxolitinib)、司马沙尼、AP32788、BLU285、BLU554、INCB39110、INCB40093、INCB50465、INCB52793、INCB54828、MGCD265、NMS-088、NMS-1286937、PF 477736((R)-氨基-N-[5,6-二氢-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-氧代-1H吡咯并[4,3,2-ef][2,3]苯并二氮杂-8-基]-环己烷乙酰胺)、PLX3397、PLX7486、PLX8394、PLX9486、PRN1008、PRN1371、RXDX103、RXDX106、RXDX108和TG101209(N-叔丁基-3-(5-甲基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯磺酰胺)。

[0568] 在一些实施例中,另外的治疗剂是BTK抑制剂。BTK抑制剂的非限制性实例包括依鲁替尼(ibrutinib)、阿卡替尼(acalabrutinib)、泽布替尼(zanubrutinib)、吡托布鲁替尼(pirtobrutinib)、和NX-2127。

[0569] 在一些实施例中,另外的治疗剂是Bcl-2抑制剂。Bcl-2抑制剂的非限制性实例包含维奈托克、纳维托克(navitoclax)、奥利默森(oblimersen)、奥贝托克和AT-101。

[0570] 在一些实施例中,另外的治疗剂是PI3K抑制剂。PI3K抑制剂的非限制性实例包含

艾德拉尼(idelalisib)、库潘尼西(copanlisib)、杜韦利西布(duvelisib)、阿培利司(alpelisib)、塔西利司(taselisib)、布帕尼西(buparlisib)、厄布利塞(umbralisib)和库潘尼西。

[0571] 在一些实施例中,另外的治疗剂是mTOR抑制剂。mTOR抑制剂的非限制性实例包含依维莫司、替西罗莫司和瑞达莫司(ridaforolimus)。

[0572] 在一些实施例中,另外的治疗剂是HDAC抑制剂。HDAC抑制剂的非限制性实例包含伏立诺他(vorinostat)、罗米地辛(romidepsin)、贝立司他(belinostat)、西达本胺(chidamide)、帕比司他(panobinostat)、CXD101和艾贝司他(abexinostat)。

[0573] 在一些实施例中,另外的治疗剂是检查点抑制剂。检查点抑制剂的非限制性实例包含伊匹木单抗(ipilimumab)、曲美木单抗(tremelimumab)、纳武单抗(nivolumab)、匹地利珠单抗(pidilizumab)、MPDL3208A、MEDI4736、MSB0010718C、BMS-936559、BMS-956559、BMS-935559(MDX-1105)、AMP-224和派姆单抗(pembrolizumab)。

[0574] 在一些实施例中,另外的治疗剂是细胞毒性化学疗法。在一些实施例中,细胞毒性化学疗法包含三氧化二砷(arsenic trioxide)、博来霉素(bleomycin)、苯达莫司汀(bendamustine)、卡巴他赛(cabazitaxel)、卡培他滨(capecitabine)、卡铂(carboplatin)、顺铂(cisplatin)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、阿糖胞苷(cytarabine)、达卡巴嗪(dacarbazine)、柔红霉素(daunorubicin)、多西他赛(docetaxel)、多柔比星(doxorubicin)、依托泊苷(etoposide)、氟尿嘧啶(fluorouracil)、吉西他滨、伊立替康(irinotecan)、洛莫司丁(lomustine)、甲氨蝶呤(methotrexate)、丝裂霉素C(mitomycin C)、奥沙利铂(oxaliplatin)、紫杉醇(paclitaxel)、培美曲塞(pemetrexed)、替莫唑胺(temozolomide)和长春新碱(vincristine)。

[0575] 在一些实施例中,另外的治疗剂是血管生成靶向治疗剂。靶向血管生成的疗法的非限制性实例包含来那度胺(lenalidomide)、恩扎妥林(enzastaurine)、阿柏西普(aflibercept)和贝伐单抗(bevacizumab)。

[0576] 在一些实施例中,另外的疗法或治疗剂可以包含组氨酰-tRNA合成酶(HRS)多肽或编码HRS多肽的可表达核苷酸。

[0577] 术语“免疫疗法”是指调节免疫系统的药剂。在一些实施例中,免疫疗法可以增加免疫系统调节剂的表达和/或活性。在一些实施例中,免疫疗法可以降低免疫系统调节剂的表达和/或活性。在一些实施例中,免疫疗法可以募集和/或增强免疫细胞的活性。

[0578] 在一些实施例中,免疫疗法是细胞免疫疗法(例如,过继性T细胞疗法、树突细胞疗法、自然杀伤细胞疗法)。在一些实施例中,细胞免疫疗法是西普鲁塞-T(sipuleucel-T)(APC8015;Provenge™;Plosker(2011)Drugs 71(1):101-108)。在一些实施例中,细胞免疫疗法包含表达嵌合抗原受体(CAR)的细胞。在一些实施例中,细胞免疫疗法是CAR-T细胞疗法。在一些实施例中,CAR-T细胞疗法是替沙仑赛(tisagenlecleucel)(Kymria)。在一些实施例中,CAR-T细胞疗法是阿基仑赛(axicabtagene ciloleucel)(Yescarta)。在一些实施例中,CAR-T细胞疗法是布瑞基奥仑赛(brexucabtagene autoleucel)(Tecartus)。在一些实施例中,CAR-T细胞疗法是瑞基奥仑赛(relmacabtagene autoleucel)。在一些实施例中,CAR-T细胞疗法是ALLO-501。

[0579] 在一些实施例中,免疫疗法是抗体疗法(例如,单克隆抗体、缀合抗体或双特异性

抗体)。在一些实施例中,抗体疗法是贝伐单抗(Mvasti™,Avastin®)、曲妥珠单抗(Herceptin®)、阿维单抗(avelumab)(Bavencio®)、利妥昔单抗(rituximab)(MabThera™,Rituxan®)、含有人透明质酸酶的利妥昔单抗(Rituxan Hycela™)、依决洛单抗(edrecolomab)(Panorex)、达雷妥尤单抗(daratumuab)(Darzalex®)、奥拉单抗(olaratumab)(Lartruvo™)、奥法木单抗(ofatumumab)(Arzerra®)、阿仑单抗(alemtuzumab)(Campath®)、西妥昔单抗(Erbitux®)、奥戈伏单抗(oregovomab)、派姆单抗(Keytruda®)、地努妥昔单抗(dinutiximab)(Unituxin®)、阿托珠单抗(obinutuzumab)(Gazyva®)、曲美木单抗(CP-675、206)、雷莫芦单抗(ramucirumab)(Cyramza®)、乌利妥昔单抗(ublituximab)(TG-1101)、帕尼单抗(Vectibix®)、依洛珠单抗(elotuzumab)(Empliciti™)、阿维单抗(avelumab)(Bavencio®)、耐昔妥珠单抗(Portrazza™)、西妥珠单抗(cirmtuzumab)(UC-961)、伊布单抗(ibritumomab)(Zevalin®)、伊沙妥昔单抗(isatuximab)(SAR650984)、尼妥珠单抗(nimotuzumab)、非苏木单抗(fresolimumab)(GC1008)、利瑞鲁单抗(lirilumab)(INN)、莫格利珠单抗(mogamulizumab)(Poteligeo®)、非克拉珠单抗(ficlatuzumab)(AV-299)、地舒单抗(denosumab)(Xgeva®)、仑兹鲁单抗(lenzilumab)、阿维单抗、斯巴达珠单抗(spartalizumab)、派姆单抗、乌托鲁单抗(utomilumab)、乌利妥昔单抗、博纳吐单抗(blinatumomab)、盖尼塔单抗(ganitumab)、乌瑞芦单抗(urelumab)、匹地利珠单抗、阿麦妥单抗(amatuximab)、莫舒尼妥珠单抗(mosunetuzumab)(BTCT4465A)、CD20-TCB、RO7082859、XmAb13676、格菲妥单抗(glofitamab)、CD20-TDB、奥尼妥单抗(odronextamab)(REGN1979)、IGM-2323、BTCT4465A、AMG-562或TTI-621。

[0580] 在一些实施例中,免疫疗法是抗体-药物缀合物。在一些实施例中,抗体-药物缀合物是吉妥珠单抗奥佐米星(gemtuzumab ozogamicin)(Mylotarg™)、奥英妥珠单抗奥佐米星(inotuzumab ozogamicin)(Besponsa®)、本妥昔单抗瑞他汀(brentuximab vedotin)(Adcetris®)、恩美曲妥珠单抗(ado-trastuzumab emtansine)(TDM-1;Kadcyla®)、索星-米妥昔单抗(mirvetuximab soravtansine)(IMGN853)、雷星-阿奈妥单抗(anetumab ravtansine)、维泊妥珠单抗(polatuzumab vedotine)、泰朗妥昔单抗(loncastuximab tesirine)(ADCT-402)、特西林卡利尤单抗(camidanlumab tesirine)(ADCT-301)或恩星-那妥昔单抗(naratuximab emtansine)(Debio 1562)。

[0581] 在一些实施例中,免疫疗法包含博纳吐单抗(AMG103;Blincyto®)或米哚妥林(midostaurin)(Rydapt)。

[0582] 在一些实施例中,免疫疗法包含毒素。在一些实施例中,免疫疗法是地尼白介素(denileukin diftitox)(Ontak®)。

[0583] 在一些实施例中,免疫疗法是细胞因子疗法。在一些实施例中,细胞因子疗法是白介素2(IL-2)疗法、干扰素α(IFNα)疗法、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)疗法、白介素12(IL-12)疗法、白介素疗法15(IL-15)疗法、白介素7(IL-7)疗法或促红细胞生成素α(EPO)疗法。

在一些实施例中,IL-2疗法是阿地白介素(aldesleukin)(Proleukin®)。在一些实施例中,IFNα疗法是IntronA® (Roferon-A®)。在一些实施例中,G-CSF疗法是非格司亭(filgrastim)(Neupogen®)。

[0584] 在一些实施例中,免疫疗法是免疫检查点抑制剂。在一些实施例中,免疫疗法包含一种或多种免疫检查点抑制剂。在一些实施例中,免疫检查点抑制剂是CTLA-4抑制剂、PD-1抑制剂或PD-L1抑制剂。在一些实施例中,CTLA-4抑制剂是伊匹木单抗(Yervoy®)或曲美木单抗(CP-675、206)。在一些实施例中,PD-1抑制剂是派姆单抗(Keytruda®)或纳武单抗(Opdivo®)。在一些实施例中,PD-L1抑制剂是阿妥珠单抗(atezolizumab)(Tecentriq®)、阿维单抗(Bavencio®)或德瓦鲁单抗(durvalumab)(Imfinzi™)。

[0585] 在一些实施例中,免疫疗法是基于mRNA的免疫疗法。在一些实施例中,基于mRNA的免疫疗法是CV9104(参见例如,Rausch等人(2014)Human Vaccin Immunother 10(11):3146-52;以及Kubler等人(2015)J.Immunother Cancer 3:26)。

[0586] 在一些实施例中,免疫疗法是卡介苗芽孢杆菌(bacillus Calmette-Guerin,BCG)疗法。

[0587] 在一些实施例中,免疫疗法是溶瘤病毒疗法。在一些实施例中,溶瘤病毒疗法是拉他莫基(talimogene alherparepvec)(T-VEC;Imlygic®)。

[0588] 在一些实施例中,免疫疗法是癌症疫苗。在一些实施例中,癌症疫苗是人乳头瘤病毒(HPV)疫苗。在一些实施例中,HPV疫苗是Gardasil®、Gardasil9®或Cervarix®。在一些实施例中,癌症疫苗是乙型肝炎病毒(HBV)疫苗。在一些实施例中,HBV疫苗是Engerix-B®、Recombivax HB®或GI-13020(Tarmogen®)。在一些实施例中,癌症疫苗是Twinrix®或Pediarix®。在一些实施例中,癌症疫苗是BiovaxID®、Oncophage®、GVAX、ADXS11-001、ALVAC-CEA、PROSTVAC®、Rindopepimut®、CimaVax-EGF、lapuleucel-T(APC8024;Neuvenge™)、GRNVAC1、GRNVAC2、GRN-1201、hepcortespenlisimut-L(Hepko-V5)、DCVAX®、SCIB1、BMT CTN 1401、PrCa VBIR、PANVAC、ProstAtak®、DPX-Survivac或viagenpumatucel-L(HS-110)。

[0589] 在一些实施例中,免疫疗法是肽疫苗。在一些实施例中,肽疫苗是nelipepimut-S(E75)(NeuVax™)、IMA901或SurVaxM(SVN53-67)。在一些实施例中,癌症疫苗是免疫原性的个人新抗原疫苗(参见例如,Ott等人(2017)Nature 547:217-221;Sahin等人(2017)Nature 547:222-226)。在一些实施例中,癌症疫苗是RGSH4K或NEO-PV-01。在一些实施例中,癌症疫苗是基于DNA的疫苗。在一些实施例中,基于DNA的疫苗是乳球蛋白-A DNA疫苗(参见例如,Kim等人(2016)OncoImmunology 5(2):e1069940)。

[0590] 在一些实施例中,免疫靶向剂选自阿地白介素、干扰素α-2b、伊匹木单抗、兰洛利珠单抗(lambrolizumab)、纳武单抗、泼尼松(prednisone)和sipuleucel-T。

[0591] 在一些实施例中,另外的疗法是放射疗法。放射疗法的非限制性实例包含放射性碘疗法、外束放射和镭223疗法。

[0592] 在一些实施例中,另外的治疗剂是GSK-3368715、PF-06821497、ceralasertib;

AZD6738、BI-894999、MAK-683、AZD-6738、塔米纳登特(taminadenant)、TAK-981、MIK-665或danvatirsen。

[0593] 另外的激酶抑制剂包含在以下专利中描述的那些:例如,美国专利号7,514,446;7,863,289;8,026,247;8,501,756;8,552,002;8,815,901;8,912,204;9,260,437;9,273,051;美国公开号US2015/0018336;国际公开号WO 2007/002325;WO 2007/002433;WO 2008/080001;WO 2008/079906;WO 2008/079903;WO 2008/079909;WO 2008/080015;WO 2009/007748;WO 2009/012283;WO 2009/143018;WO 2009/143024;WO 2009/014637;2009/152083;WO 2010/111527;WO 2012/109075;WO 2014/194127;WO 2015/112806;WO 2007/110344;WO 2009/071480;WO 2009/118411;WO 2010/031816;WO 2010/145998;WO 2011/092120;WO 2012/101032;WO 2012/139930;WO 2012/143248;WO 2012/152763;WO 2013/014039;WO 2013/102059;WO 2013/050448;WO 2013/050446;WO 2014/019908;WO 2014/072220;WO 2014/184069;WO 2016/075224;WO 2016/081450;WO 2016/022569;WO 2016/011141;WO 2016/011144;WO 2016/011147;WO 2015/191667;WO 2012/101029;WO 2012/113774;WO 2015/191666;WO 2015/161277;WO 2015/161274;WO 2015/108992;WO 2015/061572;WO 2015/058129;WO 2015/057873;WO 2015/017528;WO/2015/017533;WO 2014/160521;以及WO 2014/011900,这些专利中的每一个据此通过引用以其全文并入。

[0594] 在一些实施例中,受试者先前被施用一种或多种针对淋巴瘤的标准护理疗法。在一些实施例中,先前施用的标准护理疗法是维汀-泊洛妥珠单抗、塞利尼索、阿基仑赛(Yescarta)、替沙仑赛(Kymriah)、苯达莫司汀与利妥昔单抗和维汀-泊洛妥珠单抗的组合、坦昔妥单抗与来那度胺的组合或利妥昔单抗与人透明质酸酶(Rituxan Hycela)的组合。

[0595] 在一些实施例中,受试者同时接受针对淋巴瘤的标准护理疗法。在一些实施例中,标准护理疗法是维汀-泊洛妥珠单抗、塞利尼索、阿基仑赛(Yescarta)、替沙仑赛(Kymriah)、苯达莫司汀与利妥昔单抗和维汀-泊洛妥珠单抗的组合、坦昔妥单抗与来那度胺的组合或利妥昔单抗与人透明质酸酶(Rituxan Hycela)的组合。

[0596] 药物组合物

[0597] 当用作药物时,式(I)化合物(包含其药学上可接受的盐)可以以药物组合物的形式施用。这些组合物可以按制药领域中熟知的方式制备,并且可以通过多种途径施用,取决于希望局部治疗还是全身性治疗并且取决于有待治疗的部位。施用可以是局部施用(包括经皮、表皮、眼科和粘膜施用,包括鼻内、阴道和直肠递送)、肺部施用(例如,通过吸入或吹入粉末或气雾剂,包括通过雾化器;气管内或鼻内)、口服或肠胃外。口服施用可以包含被调配用于每天一次或每天两次(BID)施用的剂型。肠胃外施用包含静脉内、动脉内、皮下、腹膜内肌内或注射或输注;或颅内施用,例如鞘内或心室内施用。肠胃外施用可以呈单次团注剂量的形式,或者可以例如通过连续的灌注泵进行。用于局部施用的药物组合物和调配物可以包含透皮贴剂、软膏、乳液、霜剂、凝胶、滴剂、栓剂、喷雾剂、液体和粉剂。常规的药物载体、水性、粉末或油性基质、增稠剂等可能是必要的或期望的。

[0598] 本文还提供了药物组合物,所述药物组合物含有作为活性成分的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,以及一种或多种药学上可接受的赋形剂。例如,使用式(I)化合物或其药学上可接受的盐制备的药物组合物。在一些实施例中,所述组合物适合用于口服施用。在制备本文提供的组合物时,通常将活性成分与赋形剂混合、用赋形剂稀释或封装在此类

载体之内,所述载体呈例如胶囊、药袋、纸或其它容器的形式。当赋形剂作为稀释剂时,其可以是固态、半固态或液态材料,所述材料可以作为活性成分的媒剂、载体或介质而起作用。因此,组合物可以呈片剂、丸剂、粉剂、锭剂、药袋、扁囊剂、酏剂、悬浮液、乳液、溶液、糖浆剂、气溶胶(作为固体或在液体介质中)、含有例如至多10重量%的活性化合物的软膏、软明胶胶囊和硬明胶胶囊、栓剂、无菌可注射溶液以及无菌包装粉剂的形式。在一些实施例中,组合物被调配成用于口服施用。在一些实施例中,组合物是固体口服调配物。在一些实施例中,组合物被调配成片剂或胶囊。

[0599] 本文进一步提供了含有式(I)化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体的药物组合物。可以通过根据常规药物混合技术将式(I)化合物或其药学上可接受的盐与药物载体充分混合来制备含有式(I)化合物或其药学上可接受的盐作为活性成分的药物组合物。取决于期望的施用途径(例如,口服、肠胃外),载体可以采取各种形式。在一些实施例中,组合物是固体口服组合物。

[0600] 合适的药学上可接受的载体是本领域众所周知的。这些药学上可接受的载体中的一些载体的描述可以在The Handbook of Pharmaceutical Excipients中找到,此手册由美国药学会和英国药学会出版。

[0601] 配制药物组合物的方法已经在许多出版物中描述,诸如由Lieberman等人编辑的Pharmaceutical Dosage Forms:Tablets,第二版,Revised and Expanded,第1-3卷;由Avis等人编辑的Pharmaceutical Dosage Forms:Parenteral Medications,第1-2卷;以及由Lieberman等人编辑的Pharmaceutical Dosage Forms:Disperse Systems,第1-2卷;由Marcel Dekker,Inc.出版。

[0602] 在制备呈口服剂型的组合物时,可以使用任何常规药物介质。因此,对于液体口服制剂(诸如悬浮液、酏剂和溶液),合适的载体和添加剂包括水、二醇、油、醇、调味剂、防腐剂、稳定剂、着色剂等;对于固体口服制剂(诸如粉末、胶囊和片剂),合适的载体和添加剂包括淀粉、糖、稀释剂、造粒剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂等。合适的粘合剂包含但不限于淀粉、明胶、天然糖(如葡萄糖或β-乳糖)、玉米甜味剂、天然和合成的树胶(如阿拉伯胶、黄蓍胶或油酸钠)、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠等。崩解剂包含但不限于淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土、黄原胶等。固体口服制剂也可以用如糖等物质进行包衣或肠溶衣,从而调节吸收的主要位点。对于肠胃外施用,载体通常将由无菌水组成,并且可以添加其它成分以增加溶解性或保存性。也可以利用水性载体和适当的添加剂来制备可注射的混悬液或溶液。本文的药物组合物在每个剂量单位(例如,片剂、胶囊、粉末、注射剂、一茶匙等)中将含有递送如本文所述的有效剂量所必需的一定量的活性成分。

[0603] 可以将包括式(I)化合物或其药学上可接受的盐的组合物配制成单位剂型,每个剂量含有约5至约1,000mg(1g)的活性成分,更通常为约100mg至约500mg的活性成分。术语“单位剂型”是指适合作为人类受试者和其它受试者的单位剂量的物理上离散的单位,每个单位含有预定量的活性材料(即,式(I)化合物或其药学上可接受的盐),该预定量的活性材料经计算可产生所需的治疗效果,并与合适的药物赋形剂结合。

[0604] 在一些实施例中,本文提供的组合物含有约5mg至约50mg的活性成分。本领域普通技术人员将理解,这体现了含有约5mg至约10mg、约10mg至约15mg、约15mg至约20mg、约20mg至约25mg、约25mg至约30mg、约30mg至约35mg、约35mg至约40mg、约40mg至约45mg或约45mg

至约50mg活性成分的化合物或组合物。

[0605] 在一些实施例中,本文提供的组合物含有约50mg至约500mg的活性成分。本领域普通技术人员将理解,这体现了含有约50mg至约100mg、约100mg至约150mg、约150mg至约200mg、约200mg至约250mg、约250mg至约300mg、约350mg至约400mg或约450mg至约500mg活性成分的化合物或组合物。在一些实施例中,本文提供的组合物含有约10mg、约20mg、约80mg或约160mg的活性成分。

[0606] 在一些实施例中,本文提供的组合物含有约500mg至约1,000mg的活性成分。本领域普通技术人员将理解,这体现了含有约500mg至约550mg、约550mg至约600mg、约600mg至约650mg、约650mg至约700mg、约700mg至约750mg、约750mg至约800mg、约800mg至约850mg、约850mg至约900mg、约900mg至约950mg或约950mg至约1,000mg活性成分的化合物或组合物。

[0607] 式(I)化合物或其药学上可接受的盐的日剂量可以在每成人每天1.0至10,000mg或更高的宽范围内或其中的任何范围内变化。对于口服施用,优选地以片剂形式提供组合物,所述片剂含有0.01、0.05、0.1、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、25.0、50.0、100、150、160、200、250和500毫克的活性成分,用于对待治疗受试者的剂量进行对症调整。通常以每天约0.1mg/kg至约1000mg/kg体重(或其中的任何范围)的剂量水平提供有效量的药物。优选地,所述范围为每天约0.5至约500mg/kg体重,或其中的任何范围。更优选地,所述范围为每天约1.0至约250mg/kg体重,或其中的任何范围。更优选地,所述范围为每天约0.1至约100mg/kg体重,或其中的任何范围。在一实例中,所述范围可以为每天约0.1至约50.0mg/kg体重,或其中的任何量或范围。在另一个实例中,所述范围可以为每天约0.1至约15.0mg/kg体重,或其中的任何范围。在又一个实例中,所述范围可以为每天约0.5至约7.5mg/kg体重,或其中的任何范围。可以按照每天1至4次的方案或以单个日剂量施用含有式(I)化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0608] 活性化合物可以在宽的剂量范围内有效,并且通常以药学有效量施用。本领域技术人员可以容易地确定待施用的最佳剂量。因此,应该理解,实际施用的化合物的量通常将由医生确定,并且将根据相关情况而变化,包含施用方式、实际施用的化合物、制剂的强度、待治疗的病状以及疾病状况的进展。另外,与正在治疗的特定受试者相关的因素,包含受试者反应、年龄、体重、饮食、施用时间和受试者症状的严重程度,将导致需要调整剂量。

[0609] 在一些实施例中,可以以约1mg/kg至约100mg/kg范围内的量施用本文提供的化合物。在一些实施例中,可以以约1mg/kg至约20mg/kg、约5mg/kg至约50mg/kg、约10mg/kg至约40mg/kg、约15mg/kg至约45mg/kg、约20mg/kg至约60mg/kg或约40mg/kg至约70mg/kg的量施用本文提供的化合物。例如,约5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约35mg/kg、约40mg/kg、约45mg/kg、约50mg/kg、约55mg/kg、约60mg/kg、约65mg/kg、约70mg/kg、约75mg/kg、约80mg/kg、约85mg/kg、约90mg/kg、约95mg/kg或约100mg/kg。

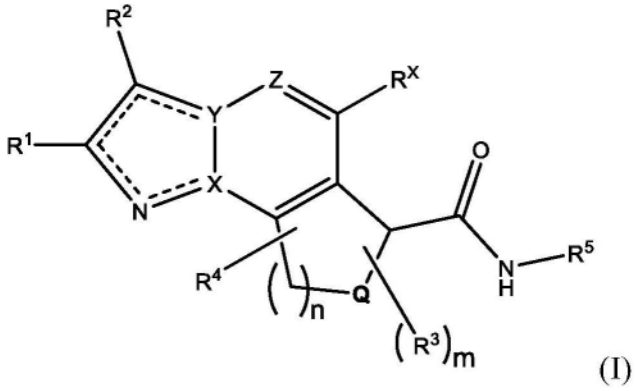
[0610] 本领域技术人员将认识到,使用合适的、已知的和普遍接受的细胞和/或动物模型的体内和体外试验两者均预示了测试化合物治疗或预防给定病症的能力。

[0611] 本领域的技术人员将进一步认识到,可以根据临床和医学领域中已知的方法完成在健康受试者和/或患有给定病症的受试者中的人类临床试验,包含首次人类试验、剂量范围试验和功效试验。

[0612] 本文提供了可用于例如治疗MALT1相关疾病或病症(如癌症)的药物试剂盒,所述药物试剂盒包含一个或多个容器,所述一个或多个容器含有包括有效量的本文提供的化合物的药物组合物。如将对本领域的技术人员显而易见的是,如果需要,此类试剂盒可以进一步包含各种常规药物试剂盒组件中的一个或多个,例如具有一种或多种药学上可接受的载体的容器、另外的容器等。试剂盒中还可以包含指示待施用的组分的量的说明书(作为插入物或作为标签)、施用指南和/或用于混合组分的指南。

[0613] 另外的实施例

[0614] 实施例1.一种式(I)化合物或其药学上可接受的盐:

[0615] 

(I)

[0616] 其中:

[0617] 每个 为单键或双键;

[0618] Q为-CH_2-、O或NH;

[0619] X为N或C;

[0620] Y为N或C;

[0621] Z为N或CR^6;

[0622] 其中当X和Y中的一者为N时,X和Y中的另一者为C;

[0623] n为1、2或3;

[0624] R^X为氢或卤素;

[0625] R^1为氢、卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基、-NR^AR^B、或任选地被1-3个选自羟基和C1-C3烷氧基的取代基取代的C1-C3烷基;

[0626] R^2为氢、卤素、氨基或C1-C3烷基;

[0627] 每个R^3独立地为氘、卤素、羟基、C3-C6环烷基、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基或C1-C3卤代烷基;

[0628] m为0、1、2或3;

[0629] R^4为任选地被一至三个取代基取代的5至10元杂芳基,每个取代基独立地选自R^7;

[0630] R^5为苯基或5至9元杂芳基,其中每个R^5基团任选地被1-3个独立地选自R^8的取代基取代;

[0631] R^6为氢、卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基、-NR^CR^D和C1-C3烷基;

[0632] 每个R^7独立地选自由卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、C1-C3卤代烷基、氧杂环丁基、-NR^CR^D、C1-C3烷基和C3-C7环烷基组成的组;

[0633] 每个R^8独立地选自卤素;氰基;氨基;-N=(S=O)(C1-C3烷基)$_2$;-S(=O)$_p$(C1-C3烷基);-(C=O)NR^ER^F;C1-C3烷氧基;任选地被羟基取代的C1-C3卤代烷基;C1-C3卤代烷氧基;任选地被以下取代的5至6元杂芳基:卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、氨基、C1-C3卤代烷基、4至6元杂环基或任选地被羟基或-NR^ER^F取代的C1-C3烷基取代;C1-C4烷基,其任选地被羟基、-NR^ER^F或C1-C3烷氧基取代;3至8元杂环基;以及C3-C6环烷氧基;

[0634] p为1或2;并且

[0635] R^A、R^B、R^C、R^D、R^E和R^F独立地为氢、C1-C3烷基、C3-C6环烷基,或者R^A和R^B、或R^C和R^D、或R^E和R^F与它们所连接的氮原子一起结合在一起以形成任选地被1-2个卤素取代的4至6元杂环基。

[0636] 实施例2.根据实施例1所述的化合物,其中X为N并且Y为C。

[0637] 实施例3.根据实施例1或2所述的化合物,其中Z为N。

[0638] 实施例4.根据实施例1至3中任一项所述的化合物,其中R^X为氢。

[0639] 实施例5.根据实施例1至4中任一项所述的化合物,其中Q为-CH_2-。

[0640] 实施例6.根据实施例1至5中任一项所述的化合物,其中R^1为氢。

[0641] 实施例7.根据实施例1至5中任一项所述的化合物,其中R^1为卤素。

[0642] 实施例8.根据实施例1至7中任一项所述的化合物,其中R^2为氢。

[0643] 实施例9.根据实施例1至7中任一项所述的化合物,其中R^2为卤素。

[0644] 实施例10.根据实施例1至9中任一项所述的化合物,其中n为1。

[0645] 实施例11.根据实施例1至10中任一项所述的化合物,其中m为1。

[0646] 实施例12.根据实施例1至11中任一项所述的化合物,其中每个R^3独立地为氘、卤素、羟基、C3-C6环烷基、C1-C3烷基、C1-C3卤代烷基、C1-C3烷氧基或C1-C3卤代烷氧基。

[0647] 实施例13.根据实施例1至12中任一项所述的化合物,其中m为1,并且R^3为甲基或三氟甲基。

[0648] 实施例14.根据实施例1至13中任一项所述的化合物,其中R^4为任选地被一至三个各自独立地选自R^7的取代基取代的5元或6元杂芳基。

[0649] 实施例15.根据实施例1至13中任一项所述的化合物,其中R^4为任选地被一至三个各自独立地选自R^7的取代基取代的6元杂芳基。

[0650] 实施例16.根据实施例1至13中任一项所述的化合物,其中R^4为任选地被一至三个各自独立地选自R^7的取代基取代的5元杂芳基。

[0651] 实施例17.根据实施例1至13中任一项所述的化合物,其中R^4为任选地被一至三个各自独立地选自R^7的取代基取代的4H-吡唑基、3H-吡唑基或噻唑基。

[0652] 实施例18.根据实施例1至13中任一项所述的化合物,其中R^4为未经取代的。

[0653] 实施例19.根据实施例1至13中任一项所述的化合物,其中每个R^7独立地选自由C1-C3卤代烷基、C1-C3烷基和环烷基组成的组。

[0654] 实施例20.根据实施例1至19中任一项所述的化合物,其中R^5为任选地被1-3个独立选择的R^8取代的5至9元杂芳基。

[0655] 实施例21.根据实施例1至19中任一项所述的化合物,其中R^5为任选地被1-3个独立选择的R^8取代的5至6元杂芳基。

[0656] 实施例22.根据实施例1至21中任一项所述的化合物,其中R^5为任选地被1-3个独

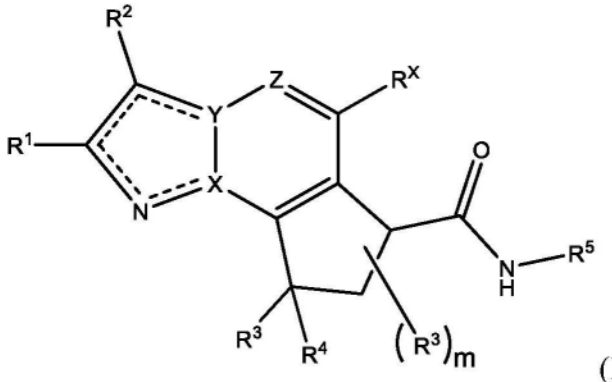
立选择的R^8取代的3-吡啶基或4-吡啶基。

[0657] 实施例23.根据实施例1至21中任一项所述的化合物,其中R^8中的至少一个为卤素。

[0658] 实施例24.根据实施例1至21中任一项所述的化合物,其中R^8中的至少一个是任选地被以下取代的5至6元杂芳基:卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、任选地被羟基或-NR^ER^F取代的C1-C3烷基、氨基或C1-C3卤代烷基。

[0659] 实施例25.根据实施例1至21中任一项所述的化合物,其中R^8中的至少一个是任选地被以下取代的5元杂芳基:卤素、氰基、羟基、C1-C3烷氧基、C1-C3卤代烷氧基、任选地被羟基或-NR^ER^F取代的C1-C3烷基、氨基或C1-C3卤代烷基。

[0660] 实施例26.根据实施例1至25中任一项所述的化合物,其是根据式(Ib)的化合物或其药学上可接受的盐

[0661] 

(Ib)。

[0662] 实施例27.一种药物组合物,其包含根据实施例1至26中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,结合一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0663] 实施例28.一种用于治疗有此需要的受试者的癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的根据实施例1至26中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或根据实施例27所述的药物组合物。

[0664] 实施例29.根据实施例28所述的方法,其中所述癌症为MALT1相关癌症。

[0665] 实施例30.根据实施例28或29所述的方法,其中所述癌症为淋巴瘤。

[0666] 实施例31.根据实施例30所述的方法,其中所述淋巴瘤为非霍奇金淋巴瘤、DLBCL、难治性DLBCL、DLBCL的(ABC)亚型、套细胞淋巴瘤(MCL)或边缘区淋巴瘤(MZL)。

[0667] 实施例32.根据实施例28或29所述的方法,其中所述癌症为白血病。

[0668] 实施例33.根据实施例32所述的方法,其中所述白血病为慢性淋巴细胞白血病(CLL)。

[0669] 实施例34.根据实施例28或29所述的方法,其中所述癌症为实体瘤。

[0670] 实施例35.一种用于治疗有此需要的受试者的自身免疫性病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的根据实施例1至26中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或根据实施例27所述的药物组合物。

[0671] 实施例36.根据实施例35所述的方法,其中所述自身免疫性病症是慢性移植物抗宿主疾病。

[0672] 实施例37.根据实施例30至36中任一项所述的方法,其进一步包括向所述受试者

施用另外的疗法或治疗剂。

[0673] 实例

[0674] 材料与方法

[0675] 本文提供的化合物(包含其盐)可以使用已知的有机合成技术制备并且可以根据多种可能的合成途径中的任一种途径合成。

[0676] 用于制备本文提供的化合物的反应可以在合适的溶剂中进行,所述合适的溶剂可以由有机合成领域中的技术人员容易地选择。合适的溶剂可以在进行反应的温度(例如,范围可以为从溶剂的冻结温度到溶剂的沸腾温度的温度)下与起始材料(反应物)、中间体或产物基本上无反应性。给定的反应可以在一种溶剂或多于一种溶剂的混合物中进行。取决于特定的反应步骤,特定反应步骤的合适溶剂可以由技术人员选择。

[0677] 本文提供的化合物的制备可以涉及各种化学基团的保护和脱保护。本领域技术人员可以容易地确定保护和脱保护的需要以及适当保护基团的选择。保护基团的化学可以在例如Protecting Group Chemistry,第1版,Oxford University Press,2000;March's Advanced Organic Chemistry:Reactions,Mechanisms,and Structure,第5版,Wiley-Interscience Publication,2001;以及Peturssion,S.等人,"Protecting Groups in Carbohydrate Chemistry,"J.Chem.Educ.,74(11),1297(1997)中找到。

[0678] 对水分或空气敏感的反应在氮气或氩气下使用无水溶剂和试剂进行。通过通常用Sanpont预涂TLC板、硅胶GF-254、层厚0.25mm进行的分析薄层色谱(TLC)或液相色谱法-质谱法(LC-MS)确定反应进程。

[0679] 通常,所使用的分析型LC-MS系统由Shimadzu LCMS-2020组成,带正离子检测模式的电喷雾电离,配备有20ADXR泵、SIL-20ACXR自动进样器、CTO-20AC柱温箱、M20A PDA检测器和LCMS2020MS检测器。色谱柱通常是HALO a C18 30*5.0mm,2.7μm。流动相A是含有0.05% TFA的水,并且流动相B是含有0.05% TFA的乙腈。梯度是在2.0min内从5%流动相B到100%,保持0.7min,然后在0.05min内恢复到5%流动相B,并保持0.25min。柱温箱(CTO-20AC)在40.0℃的温度下操作。流速为1.5mL/min,并且进样体积为1μl。PDA(SPD-M20A)检测范围为190-400nm。MS检测器,其配置有电喷雾电离作为可电离源;采集方式:扫描;雾化气体流量:1.5L/min;干燥气体流量:15L/min;检测器电压:调谐电压±0.2kv;DL温度:250℃;加热块温度:250℃;扫描范围:90.00-900.00m/z。ELSD(Alltech 3300)检测器参数:漂移管温度:60℃±5℃;N_2流速:1.8±0.2L/min。流动相梯度针对单个化合物进行了优化。

[0680] GC-MS系统通常使用带有FID和MS检测器的Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra进行。采集模式的MS检测器:开始时间:2.00min;结束时间:9.00min;ACQ模式:扫描;事件时间:0.30sec;扫描速度:2000;开始m/z:50.00;结束m/z:550.00;离子源温度:200.00℃;界面温度:250.00℃;溶剂切割时间:2.00min。

[0681] 制备型HPLC纯化通常使用配备有2489UV检测器的Waters Auto纯化系统(2545-2767)进行。柱为Waters C18,19x150 mm,5μm。流动相由乙腈(5-95%)在含有0.1%FA的水中的混合物组成。流速保持在25mL/min,进样体积为1200μL,并且UV检测器使用254nm和220nm两个通道。流动相梯度针对单个化合物进行了优化。

[0682] 在Chiralpak AS、AD、Chiralcel OD、OJ Chiralpak IA、IB、IC、ID、IE、IF、IG、IH柱(Daicel Chemical Industries,Ltd.);(R,R)-Whelk-O1、(S,S)-Whelk-O1柱(Regis

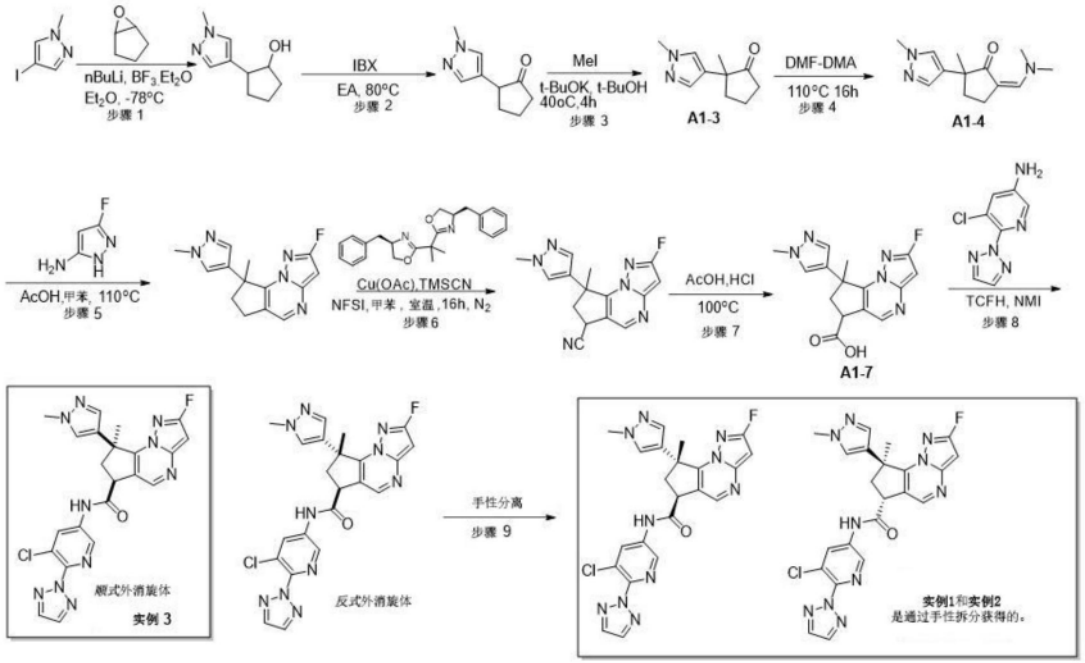
technologies,Inc.);CHIRAL Cellulose-SB、SC、SA柱(YMC Co.,Ltd.)之一上以不同的柱尺寸(50x4.6mm、100x4.6mm、150x4.6mm、250x4.6mm、50x3.0 mm、100x3.0mm)以已烷中的乙醇(%Et/Hex)或已烷中的异丙醇(%IPA/Hex)的记录的百分比作为等度溶剂系统进行手性分析色谱法。

[0683] 使用微波照射进行的反应通常使用由Biotage制造的引发剂(Initiator)进行。在旋转蒸发仪上在减压下浓缩溶液。快速柱色谱法通常使用拜泰齐快速色谱法设备(Dyax Corp.)在硅胶(40-60μM,60 Å孔径)上在所述尺寸的预装盒中进行。除非另有说明,否则^{1}H NMR光谱在DMSO-d_6溶液中以400MHz光谱仪获得。化学位移以百万分率(ppm)为单位报告。在DMSO-d_6溶液中使用四甲基硅烷(TMS)作为内部参考,并且在CD_3OD溶液中使用残留的CH_3OH峰或TMS作为内部参考。耦合常数(J)以赫兹(Hz)为单位报告。手性分析色谱法在Chiralpak AS、Chiralpak AD、Chiralcel OD、Chiralcel IA或Chiralcel OJ柱(250x4.6mm)(Daicel Chemical Industries,Ltd.)之一上进行,其中乙醇/已烷(%Et/Hex)或异丙醇/庚烷(%IPA/Hep)的标注百分比作为等度溶剂系统。在Chiralpak AS、AD、Chiralcel OD、OJ、Chiralpak IA、IB、IC、ID、IE、IF、IG、IH柱(Daicel Chemical Industries,Ltd.);(R,R)-Whelk-O1、(S,S)-Whelk-O1柱(Regis technologies,Inc.);CHIRAL Cellulose-SB、SC、SA柱(YMC Co.,Ltd.)之一上以不同的柱尺寸(250x20mm、250x30mm、250x50mm)进行手性制备色谱法,其中在手性分析色谱法上确定所需的等度溶剂系统。

[0684] 本文使用的缩写包括:-C(O)CH_3(Ac);乙酸(AcOH);-OC(O)CH_3(OAc);水性(aq);Cbz(苄氧基羰基);N,N-二异丙基乙胺(DIEA);N;N-二甲基甲酰胺(DMF);1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDCI);EtOAc(EtOAc);二乙醚(醚或Et_2O);PE(PE);克(g);小时(h或hr);2-丙醇(IPA);质谱(ms或MS);微升(μL);毫克(mg);毫升(mL);毫摩尔(mmol);分钟(min);甲基叔丁基醚(MTBE);(苯并三唑-1-基氧基)三吡咯烷基-六氟磷酸鏻(PyBOP);保留时间(R_t);室温(rt或RT);饱和氯化钠水溶液(盐水);三氟乙酸(TFA);四氢呋喃(THF);快速色谱法(FC);液相色谱法(LC);液相色谱-质谱(LCMS或LC-MS);超临界流体色谱法(SFC);叔丁氧基羰基(Boc或BOC);二乙基氨基三氟化硫(DAST);DCM(DCM);二甲基乙酰胺(DMA;DMAC);二甲基亚砜(DMSO);1,3-双(二苯基膦)丙烷(DPPP);乙酸(HOAc);3-氯过氧苯甲酸(m-CPBA);甲基(Me);甲醇(MeOH);N,N,N',N'-四甲基氯甲脒六氟磷酸盐(TCFH);N-甲基咪唑(NMI);N-溴代琥珀酰胺(NBS);薄层色谱法(TLC)。

[0685] 以下是用于制备以下实例中使用的化合物的代表性程序,或者其可以替代以下实例中使用的可能无法商购的化合物。

[0686] 方法A1

[0687] 

[0688] 实例1、2:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0689] 实例3:(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0690] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[0691] 步骤1:2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-醇

[0692] 在-78℃下,向4-碘-1-甲基-吡唑(48g,231.8mmol)在Et_2O(2L)中的溶液中添加正丁基锂(14.8g,231.8mmol,2.5M在己烷中)。在氮气下,将反应混合物在-78℃下搅拌30min。向上述混合物中添加6-氧杂双环[3.1.0]己烷(15g,178.3mmol)和三氟化硼乙醚(32.9g,231.8mmol)。将反应混合物在-78℃下在氮气下搅拌30min。用饱和氯化铵水溶液(500mL)淬灭反应混合物。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 500mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用DCM/MeOH(10:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(8g,21%产率)。1H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.37(s,1H),7.24(s,1H),3.99-4.07(m,1H),3.87(s,3H),2.79-2.88(m,1H),2.00-2.21(m,2H),1.56-1.92(m,4H)。LC-MS:m/z 167[M+H]$^+$。

[0693] 步骤2:2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮

[0694] 向2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-醇(5g,30mmol)在乙酸乙酯(250mL)中的搅拌的溶液中添加IBX(27.4g,45.1mmol,纯度46%)。将所得的混合物在80℃下搅拌16h。将混合物冷却至25℃。用饱和$NaHSO_3$水溶液(200mL)淬灭反应。将所得的混合物用乙酸乙酯(3x 200mL)萃取。将合并的有机层用饱和碳酸氢钠水溶液(200mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC纯化,以得到呈黄色油状物的标题化合物(1.6g,32%产率)。LC-MS:m/z 165[M+H]$^+$。

[0695] 步骤3:2-甲基-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(A1-3)

[0696] 在25℃下,向2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(3.9g,23.7mmol)在t-BuOH(60mL)中的搅拌的溶液中分批添加2-甲基丙-2-醇钾(2.9g,26.1mmol)。将所得的混合物在40℃下搅拌0.5h。在40℃下逐滴添加碘甲烷(3.4g,23.7mmol),并将所得的混合物在40℃下搅拌2h。用水(200mL)淬灭反应,并用乙酸乙酯(3x 200mL)萃取混合物。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用THF/PE(1:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(A1-3,3.9g,82%产率)。LC-MS:m/z 179[M+H]$^+$。

[0697] 步骤4:5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(A1-4)

[0698] 将2-甲基-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(5.5g,30.8mmol)在1,1-二甲氧基-N,N-二甲基甲胺(70mL)中的溶液在100℃下搅拌24h。允许混合物冷却至25℃,并且然后在减压下浓缩,以得到呈红色油状物的粗标题化合物(A1-4,5.5g)。LC-MS:m/z 234[M+H]$^+$。

[0699] 步骤5:2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶

[0700] 向5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(2g,8.5mmol)在甲苯(20mL)中的搅拌的溶液中添加3-氟-1H-吡嗪-5-胺(1g,10.3mmol)和AcOH(2mL)。将所得的混合物在110℃下搅拌16h。允许混合物冷却至25℃。将反应混合物在减压下浓缩。将残余物用水(100mL)稀释。将所得溶液用乙酸乙酯(3x 100mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到呈淡黄色固体的标题化合物(2g,60%产率)。1H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ 8.60(s,1H),7.63(s,1H),7.39(s,1H),6.47(d,J=5.1Hz,1H),3.75(s,3H),2.97-3.21(m,2H),2.39-2.57(m,1H),2.28-2.32(m,1H),1.88(s,3H)。LC-MS:m/z 272[M+H]$^+$。

[0701] 步骤6:2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈

[0702] 向2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(2g,7.4mmol)在甲苯(80mL)中的搅拌的溶液中添加(4R)-4-苄基-2-[1-[(4R)-4-苄基-4,5-二氢噁唑-2-基]-1-甲基-乙基]-4,5-二氢噁唑(641mg,1.8mmol)、乙酰氧基铜(181mg,1.5mmol)、N-氟苯磺酰亚胺(3.4g,11.1mmol)和TMSCN(3.7g,36.9mmol)。将反应在氮气下在25℃下搅拌16h。在减压下除去溶剂,并将残余物施加在硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到粗产物。将粗产物通过制备型HPLC进一步纯化,以得到呈黄色油状物的标题化合物(100mg,4%产率)。LC-MS(ES,m/z):297[M+H]$^+$。

[0703] 步骤7:2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A1-7)

[0704] 将2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6甲腈(130mg,0.44mmol)在AcOH(2mL)和HCl(12M,2mL)中的溶液在100℃下搅拌2h。允许混合物冷却至25℃。将混合物在减压下浓缩并将残余物用水(50ml)稀释。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 50mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩,以得到呈黄色油状物的标题化合物(A1-7,130mg,90%产率)。LC-MS:m/z 316[M+H]$^+$。

[0705] 步骤8:实例3和反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0706] 向2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(165mg,523μmol)和5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(123mg,628μmol)在ACN(10mL)中的搅拌的溶液中添加TCFH(587mg,2.1mmol)和NMI(215mg,2.6mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌1h。将反应混合物在减压下浓缩。将残余物用水(100mL)稀释。所得混合物用乙酸乙酯(3x100 mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加在硅胶柱上并用DCM/MeOH(10:1)洗脱,以得到粗产物。将粗产物通过制备型HPLC进一步纯化,以得到呈白色固体的实例3(顺式外消旋混合物,80mg,29%产率)以及呈白色固体的反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺(120mg,44%产率)的外消旋混合物。

[0707] 实例3:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ11.10(s,1H),8.73(d,J=2.4Hz,1H),8.71(s,1H),8.57(d,J=2.4Hz,1H),8.18(s,2H),7.62(s,1H),7.35(s,1H),6.55(d,J=5.1Hz,1H),4.51-4.56(m,1H),3.76(s,3H),2.68-2.84(m,2H),1.88(s,3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]$^{+}$。

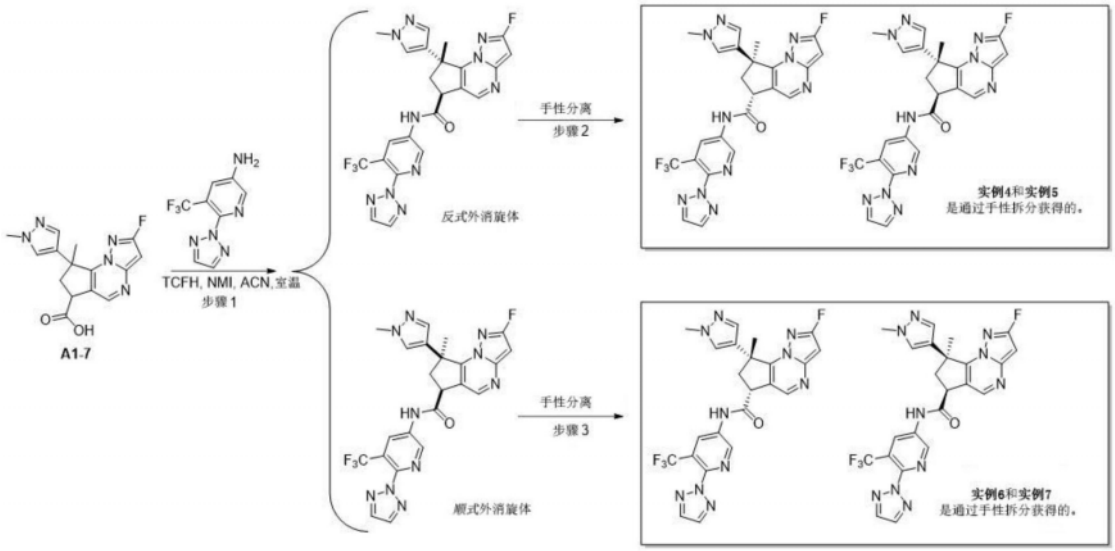
[0708] 步骤9:分离对映体,以获得实例1和实例2

[0709] 使120mg的反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Cellulose-SA,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20mL/min;等度:在25min内50% B;波长:220/254nm;RT1(min):10.008;RT2(min):19.257;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.5mL;运行次数:3)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例1(40.7mg,33%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例2(33.9mg,28%产率)。

[0710] 实例1:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ11.07(s,1H),8.73(d,J=2.4Hz,1H),8.67(s,1H),8.61(d,J=2.4Hz,1H),8.18(s,2H),7.65(s,1H),7.43(s,1H),6.58(d,J=5.1Hz,1H),4.54(t,J=8.4Hz,1H),3.76(s,3H),2.85-2.98(m,1H),2.50-2.56(m,1H),1.97(s,3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]$^{+}$。

[0711] 实例2:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ11.07(s,1H),8.73(d,J=2.4Hz,1H),8.67(s,1H),8.61(d,J=2.4Hz,1H),8.18(s,2H),7.65(s,1H),7.43(s,1H),6.58(d,J=5.1Hz,1H),4.54(t,J=8.4Hz,1H),3.76(s,3H),2.85-2.98(m,1H),2.50-2.56(m,1H),1.97(s,3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]$^{+}$。

[0712] 方法A2

[0713] 

[0714] 实例4、5:(6R,8S)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6S,8R)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0715] 实例6、7:(6R,8R)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6S,8S)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0716] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[0717] 步骤1:反式-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0718] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A1-7,128mg,405.9μmol)和6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(93mg,405.9μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(65mg,30%产率),LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(60mg,28%产率),LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$。

[0719] 步骤2:分离对映体,以获得实例4和实例5

[0720] 使65mg的反式-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Amylose-SA,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1%FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20mL/min;等度:在20min内50% B;波长:220/254nm;RT1(min):7.514;RT2(min):19.166;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2mL;运行次数:2)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例4(17mg,26%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例5(24.6mg,37%产率)。

[0721] 实例4:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:11.21(s,1H),9.02(d,J=2.4Hz,1H),8.83(d,J

＝2.4Hz,1H),8.69(s,1H),8.20(s,2H),7.65(s,1H),7.42(s,1H),6.58(d,J＝4.8Hz,1H),4.53-4.58(m,1H),3.76(s,3H),2.88-2.99(m,1H),2.51-2.58(m,1H),1.97(s,3H)。LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$。

[0722] 实例5:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:11.21(s,1H),9.02(d,J＝2.1Hz,1H),8.83(d,J＝2.4Hz,1H),8.69(s,1H),8.20(s,2H),7.65(s,1H),7.43(s,1H),6.58(d,J＝4.8Hz,1H),4.53-4.58(m,1H),3.76(s,3H),2.88-2.95(m,1H),2.50-2.58(m,1H),1.97(s,3H)。LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$。

[0723] 步骤3:分离对映体,以获得实例6和实例7

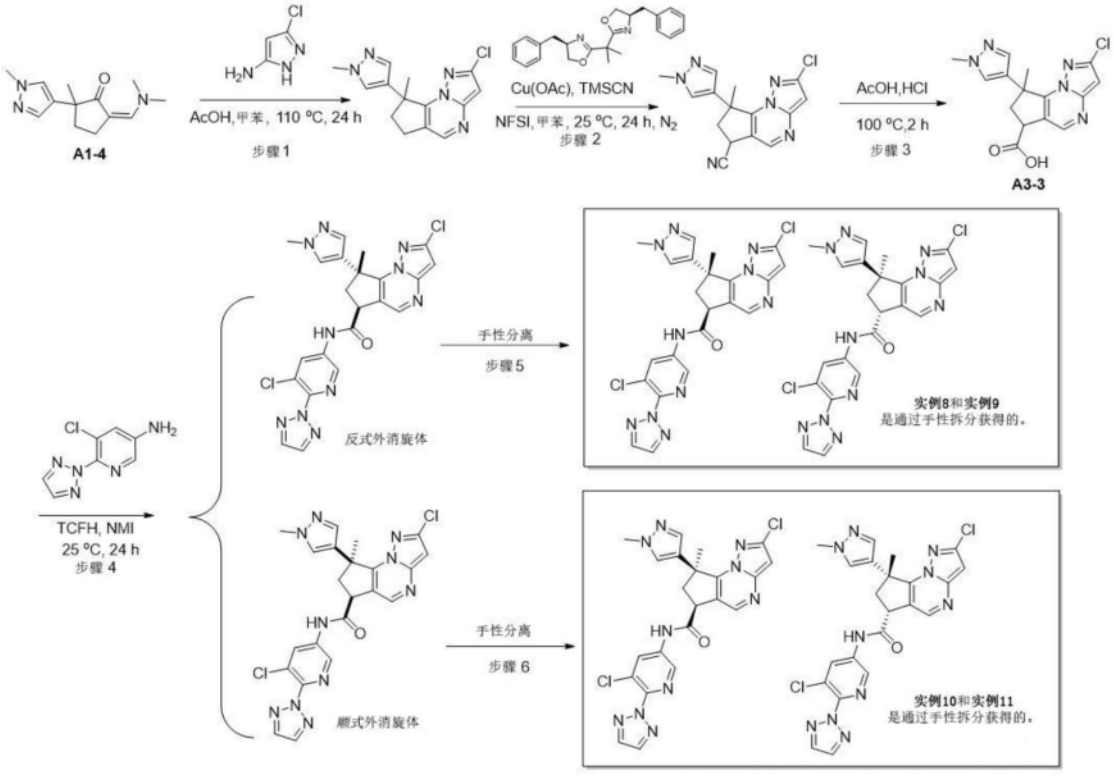
[0724] 使60mg的顺式-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Amylose-SA,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1%FA)--HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20mL/min;等度:在13min内25% B;波长:220/254nm;RT1(min):8.968;RT2(min):11.575;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.5mL;运行次数:8)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例6(23mg,38%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例7(24.6mg,41%产率)。

[0725] 实例6:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:11.20(s,1H),9.03(d,J＝2.1Hz,1H),8.79(d,J＝2.4Hz,1H),8.72(s,1H),8.19(s,2H),7.62(s,1H),7.35(s,1H),6.55(d,J＝4.8Hz,1H),4.54-4.57(m,1H),3.74(s,3H),2.69-2.88(m,2H),1.87(s,3H)。LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$。

[0726] 实例7:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:11.21(s,1H),9.03(d,J＝2.4Hz,1H),8.79(d,J＝2.4Hz,1H),8.72(s,1H),8.19(s,2H),7.62(s,1H),7.34(s,1H),6.55(d,J＝5.1Hz,1H),4.54-4.57(m,1H),3.75(s,3H),2.69-2.88(m,2H),1.87(s,3H)。LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$。

[0727] 方法A3

[0728]



[0729] 实例8、9:(6S,8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0730] 实例10、11:(6S,8S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0731] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[0732] 步骤1:2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶

[0733] 在室温下向5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(A1-4,2.2g,9.43mmol)在甲苯(15mL)中的搅拌的溶液中添加3-氯-1H-吡唑-5-胺(1.3g,11.3mmol)和AcOH(1.5mL)。将所得的混合物在110℃下搅拌24h。允许混合物冷却至25℃。在减压下浓缩反应混合物,并将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(10:1)洗脱,以得到呈淡黄色固体的2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(1.5g,44%产率)。LC-MS:m/z 288[M+H]$^+$。

[0734] 步骤2:2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈

[0735] 向2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(1.1g,3.82mmol)在甲苯(40mL)中的搅拌的溶液中添加(4R)-4-苄基-2-[1-[(4R)-4-苄基-4,5-二氢噁唑-2-基]-1-甲基-乙基]-4,5-二氢噁唑(1.4g,3.8mmol)、乙酰氧基铜(94mg,764μmol)、N-氟苯磺酰亚胺(1.8g,5.7mmol)和TMSCN(1.9g,19.1mmol)。将反应在氮气下在25℃下搅拌24h。在减压下去除溶剂。将残余物用水(100mL)稀释。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 100mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上,并用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到粗产物,该粗产物通过HPLC进一步纯化,以得到呈黄色油状物的标题化合物(240mg,17%产率)。LC-MS(ES,m/z):313[M+H]$^+$。

[0736] 步骤3:2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A3-3)

[0737] 类似于方法A1步骤7,但使用2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈(240mg,0.77mmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(A3-3,235mg,94%产率)。LC-MS:m/z 332[M+H]$^+$。

[0738] 步骤4:反式-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0739] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(120mg,362μmol)和5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(141mg,723μmol)并在25℃下搅拌24h,获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体

的反式异构体(25mg,13%产率),LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(15mg,8%产率),LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$。

[0740] 步骤5:分离对映体,以获得实例8和实例9

[0741] 使25mg的反式-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):13.764;RT2(min):19.041;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例8(8.9mg,43%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例9(8.4mg,40%产率)。

[0742] 实例8:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ11.10(s,1H),8.72(d,J=2.1Hz,1H),8.68(s,1H),8.61(d,J=2.1Hz,1H),8.18(s,2H),7.63(s,1H),7.41(s,1H),6.96(s,1H),4.51-4.57(m,1H),3.76(s,3H),2.86-2.93(m,1H),2.50-2.51(m,1H),1.99(s,3H)。LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$。

[0743] 实例9:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ11.10(s,1H),8.72(d,J=2.1Hz,1H),8.68(s,1H),8.61(d,J=2.1Hz,1H),8.18(s,2H),7.63(s,1H),7.41(s,1H),6.96(s,1H),4.50-4.54(m,1H),3.76(s,3H),2.86-2.93(m,1H),2.50-2.51(m,1H),1.99(s,3H)。LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$。

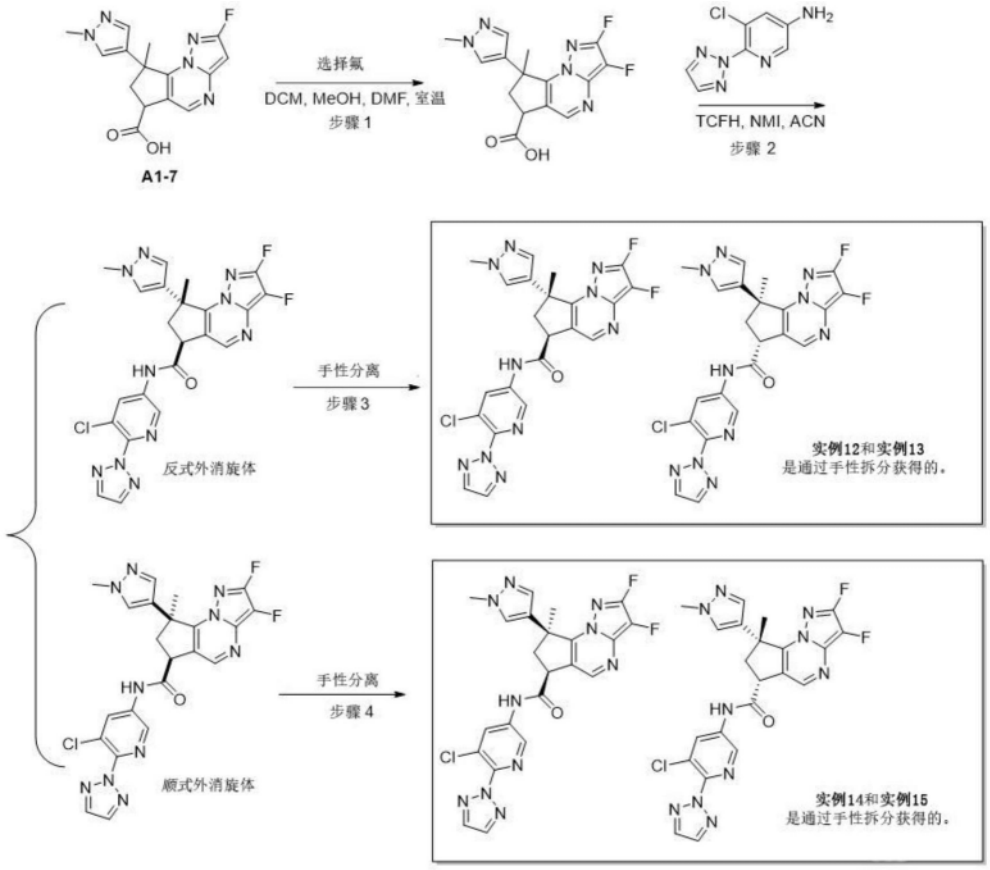
[0744] 步骤6:分离对映体,以获得实例10和实例11

[0745] 使15mg的顺式-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):14.519;RT2(min):26.523;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2mL;运行次数:2)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例10(2.4mg,15%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例11(1.7mg,11%产率)。

[0746] 实例10:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ11.09(s,1H),8.70-8.72(m,2H),8.57(d,J=2.4Hz,1H),8.17(s,2H),7.61(s,1H),7.34(s,1H),6.94(s,1H),4.51-4.56(m,1H),3.75(s,3H),2.66-2.88(m,2H),1.89(s,3H)。LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$。

[0747] 实例11:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ11.09(s,1H),8.70-8.72(m,2H),8.57(d,J=2.4Hz,1H),8.17(s,2H),7.61(s,1H),7.34(s,1H),6.94(s,1H),4.51-4.56(m,1H),3.75(s,3H),2.67-2.88(m,2H),1.89(s,3H)。LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$。

[0748] 方法A4

[0749] 

[0750] 实例12、13:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0751] 实例14、15:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0752] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[0753] 步骤1:2,3-二氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[0754] 向2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A1-7,592mg,1.88mmol)在DCM(18mL)和MeOH(18mL)中的溶液中添加在DMF(6mL)中的Selectfluor氟化试剂(2.0g,5.63mmol)。将反应在氮气下在25℃下搅拌16h。将溶剂在减压下浓缩,并且将残余物用水(50ml)稀释。将所得溶液用乙酸乙酯(3x 50mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。通过制备型HPLC纯化粗产物,以得到呈黄色油状物的标题化合物(130mg,12%产率)。LC-MS:m/z 334$[M+H]^+$。

[0755] 步骤2:反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡

唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0756] 类似于方法A1步骤8,但使用2,3-二氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(124mg,372μmol)和5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(109mg,557μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(50mg,25%产率),LC-MS:m/z 511[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(25mg,13%产率),LC-MS:m/z 511[M+H]$^+$。

[0757] 步骤3:分离对映体,以获得实例12和实例13

[0758] 使50mg的反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Amylose-SA,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):9.925;RT2(min):16.35;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1mL;运行次数:6)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例12(22.5mg,43%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例13(11.6mg,23%产率)。

[0759] 实例12:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.08(s,1H),8.72(d,J=2.4Hz,1H),8.71(s,1H),8.61(d,J=2.4Hz,1H),8.18(s,2H),7.64(s,1H),7.42(s,1H),4.53(t,J=8.4Hz,1H),3.74(s,3H),2.87-2.93(m,1H),2.50-2.56(m,1H),1.93(s,3H)。LC-MS:m/z 511[M+H]$^+$。

[0760] 实例13:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.08(s,1H),8.72(d,J=2.4Hz,1H),8.71(s,1H),8.61(d,J=2.4Hz,1H),8.18(s,2H),7.64(s,1H),7.42(s,1H),4.53(t,J=8.4Hz,1H),3.74(s,3H),2.87-2.93(m,1H),2.50-2.56(m,1H),1.93(s,3H)。LC-MS:m/z 511[M+H]$^+$。

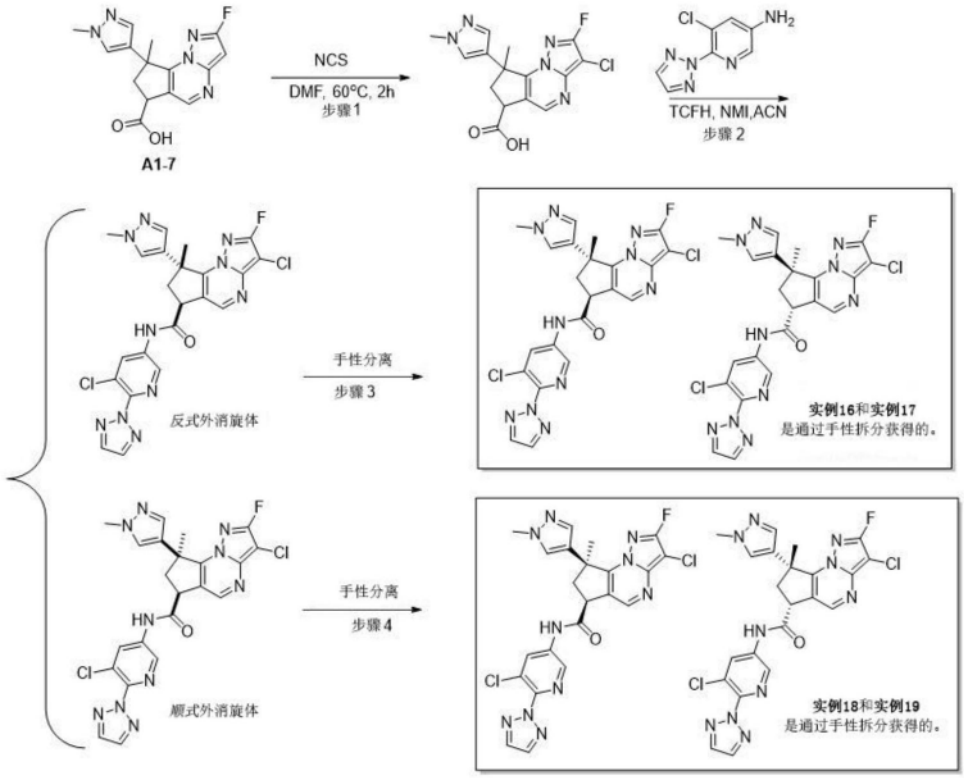
[0761] 步骤4:分离对映体,以获得实例14和实例15

[0762] 使25mg的顺式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2,3-二氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Amylose-SA,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):9.465;RT2(min):13.025;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1mL;运行次数:4)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例14(9.8mg,38%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例15(6.4mg,25%产率)。

[0763] 实例14:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.09(s,1H),8.74(s,1H),8.72(d,J=2.4Hz,1H),8.56(d,J=2.4Hz,1H),8.17(s,2H),7.62(s,1H),7.34(s,1H),4.52-4.56(m,1H),3.74(s,3H),2.81-2.87(m,1H),2.66-2.71(m,1H),1.86(s,3H)。LC-MS:m/z 511[M+H]$^+$。

[0764] 实例15:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.08(s,1H),8.74(s,1H),8.72(d,J=2.4Hz,1H),8.56(d,J=2.4Hz,1H),8.17(s,2H),7.62(s,1H),7.34(s,1H),4.52-4.56(m,1H),3.74(s,3H),2.81-2.87(m,1H),2.66-2.71(m,1H),1.86(s,3H)。LC-MS:m/z 511[M+H]$^+$。

[0765] 方法A5

[0766] 

[0767] 实例16、17:(6S,8R)-3-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-3-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0768] 实例18、19:(6S,8S)-3-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-3-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0769] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[0770] 步骤1:3-氯-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[0771] 向2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A1-7,100mg,317μmol)在DMF(10mL)中的溶液中添加NCS(85mg,634μmol)。将反应在氮气下在60℃下搅拌2h。允许反应冷却至25℃。用水(50ml)稀释反应,并将所得的混合物用乙酸乙酯(3x 50mL)萃取。将合并的有机层用盐水(3x 50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在减压下浓缩。通过HPLC纯化残余物,以得到呈黄色油状物的标题化合物(100mg,81%产率)。LC-MS:m/z 350$[M+H]^+$。

[0772] 步骤2:反式-3-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-3-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0773] 类似于方法A1步骤8,但使用3-氯-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-

二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(130mg,372μmol)和5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(110mg,556μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(35mg,17%产率),LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(25mg,12%产率),LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$。

[0774] 步骤3:分离对映体,以获得实例16和实例17

[0775] 使35mg的反式-3-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度40%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):12.633;RT2(min):17.731;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.5mL;运行次数:6)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例16(7.1mg,19%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例17(11.5mg,31%产率)。

[0776] 实例16:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.17(s,1H),8.77(s,1H),8.73(d,J=2.0Hz,1H),8.62(d,J=2.0Hz,1H),8.18(s,2H),7.64(s,1H),7.44(s,1H),4.56(t,J=8.4Hz,1H),3.75(s,3H),2.90-2.95(m,1H),2.50-2.56(m,1H),1.95(s,3H)。LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$。

[0777] 实例17:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.22(s,1H),8.77(s,1H),8.73(d,J=2.0Hz,1H),8.62(d,J=2.0Hz,1H),8.18(s,2H),7.64(s,1H),7.44(s,1H),4.55(t,J=8.4Hz,1H),3.75(s,3H),2.90-2.95(m,1H),2.50-2.56(m,1H),1.95(s,3H)。LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$。

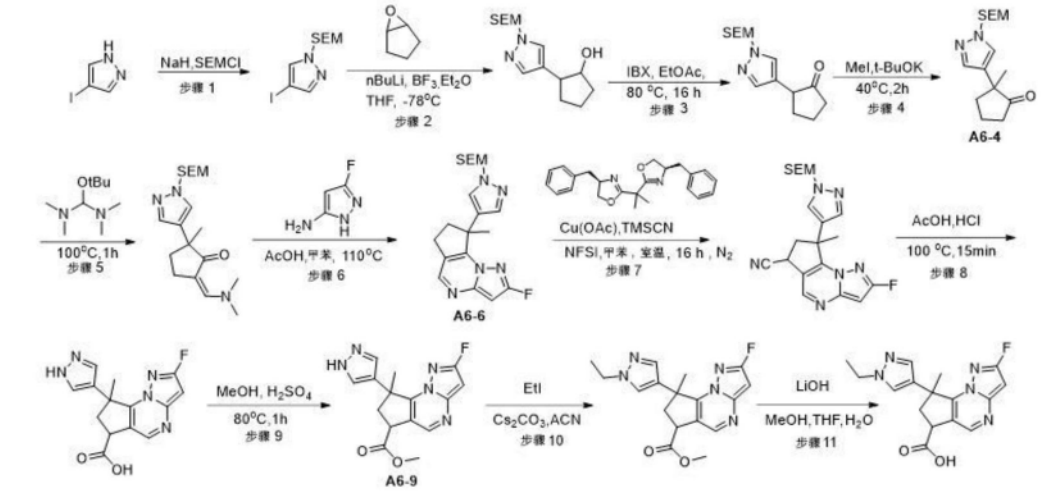
[0778] 步骤4:分离对映体,以获得实例18和实例19

[0779] 使25mg的顺式-3-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Amylose-SA,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):8.045;RT2(min):9.61;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.5mL;运行次数:6)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例18(4.1mg,15%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例19(5.5mg,21%产率)。

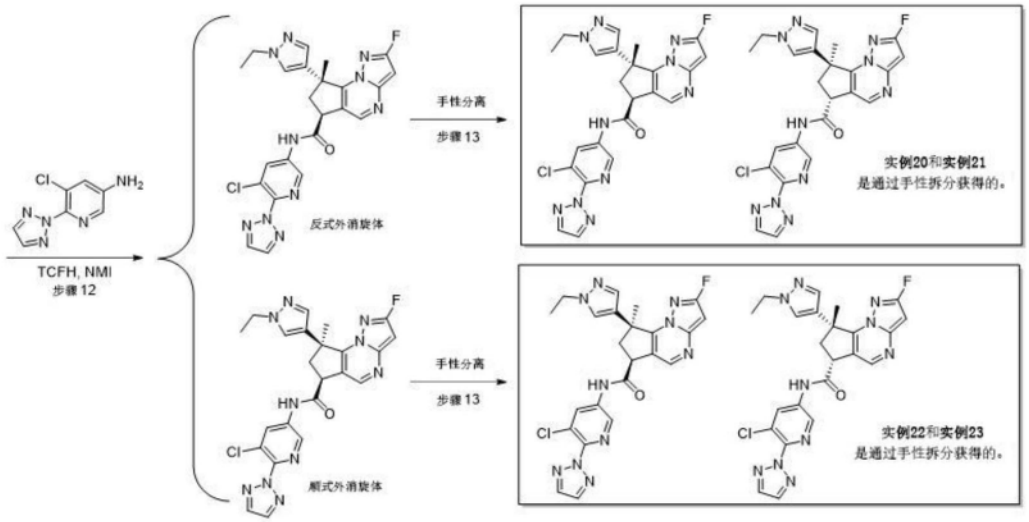
[0780] 实例18:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.11(s,1H),8.81(s,1H),8.73(d,J=2.0Hz,1H),8.56(d,J=2.0Hz,1H),8.18(s,2H),7.62(s,1H),7.35(s,1H),4.52-4.58(m,1H),3.74(s,3H),2.82-2.94(m,1H),2.67-2.72(m,1H),1.86(s,3H)。LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$。

[0781] 实例19:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.11(s,1H),8.81(s,1H),8.73(d,J=2.0Hz,1H),8.56(d,J=2.0Hz,1H),8.18(s,2H),7.62(s,1H),7.35(s,1H),4.53-4.58(m,1H),3.74(s,3H),2.82-2.94(m,1H),2.67-2.72(m,1H),1.86(s,3H)。LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$。

[0782] 方法A6



[0783]



[0784] 实例20、21:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-乙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-乙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0785] 实例22、23:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-乙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺,(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-乙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0786] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[0787] 步骤1:4-碘-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑

[0788] 在0℃下,向4-碘-1H-吡唑(100g,515.5mmol)在THF(1.2L)中的搅拌的溶液中添加NaH(30.9g,773.3mmol,60%在矿物油中)。将混合物在0℃下搅拌30min。在0℃下逐滴添加2-(氯甲氧基)乙基-三甲基-硅烷(128.9g,773.3mmol),并将混合物在25℃下搅拌2h。将反应混合物倒入冰水(2500mL)中并用乙酸乙酯(3x 2500mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:3)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(130g,73%产率)。LC-MS:m/z 325[M+H]$^+$。

[0789] 步骤2:2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-醇

[0790] 在-90℃下在氮气下,向4-碘-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑(50.1g,154.6mmol)在Et_2O(800mL)中的搅拌的混合物中添加正丁基锂(61.8mL,2.5M在己烷中)。将反应混合物在-90℃下在氮气下搅拌1h。在-90℃下添加6-氧杂双环[3.1.0]己烷(10g,118.9mmol)和三氟化硼乙醚(21.9g,154.6mmol),并将混合物在-78℃下在氮气下搅拌1h。用饱和氯化铵水溶液(100mL)猝灭反应,并将所得的混合物用乙酸乙酯(3x200mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(2:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(9.6g,25%产率)。LC-MS:m/z 283 $[M+H]^+$。

[0791] 步骤3:2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮

[0792] 类似于方法A1步骤2,但使用2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-醇(9.6g,34.0mmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(6.5g,61%产率)。LC-MS:m/z 281$[M+H]^+$。

[0793] 步骤4:2-甲基-2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(A6-4)

[0794] 类似于方法A1步骤3,但使用2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(6.5g,23.2mmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(A6-4,3.4g,44%产率)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ7.73(s,1H),7.43(s,1H),5.33(s,2H),3.43-3.55(m,2H),2.24-2.34(m,3H),1.76-2.01(m,3H),1.25(s,3H),0.78-0.83(m,2H),-0.06(s,9H)。LC-MS:m/z 295$[M+H]^+$。

[0795] 步骤5:5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮

[0796] 类似于方法A1步骤4,但使用在1-叔丁氧基-N,N,N',N'-四甲基-甲烷二胺(4.63mL,22.4mmol)中的2-甲基-2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(3.3g,11.2mmol)并在100℃下搅拌1h,获得呈棕色油状物的粗标题化合物(4.5g),并且被用于下一步骤而无需进一步纯化。LC-MS:m/z 350$[M+H]^+$。

[0797] 步骤6:2-氟-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(A6-6)

[0798] 向5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(3.9g,8.9mmol)在甲苯(60mL)中的搅拌的溶液中添加3-氟-1H-吡唑-5-胺(1.8g,17.9mmol)和AcOH(6mL)。将所得的混合物在90℃下搅拌16h。允许混合物冷却至25℃并在减压下浓缩。将残余物用水(200mL)稀释。将所得混合物用乙酸乙酯(2x 200mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:1)洗脱。将获得的产物通过制备型HPLC进一步纯化,以得到呈黄色油状物的标题化合物(A6-6),3g,79%产率)。^1H NMR(300MHz,氯仿-d)δ8.44(s,1H),7.60(s,1H),7.50(s,1H),6.20(d,J=6.0Hz,1H),5.31(s,2H),3.50-3.55(m,2H),3.04-3.21(m,2H),2.61-2.69(m,1H),2.34-2.44(m,1H),1.99(s,3H),0.84-0.90(m,2H),0.05(s,9H)。LC-MS:m/z 388$[M+H]^+$。

[0799] 步骤7:2-氟-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈

[0800] 向2-氟-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(4g,10.3mmol)在甲苯(20mL)中的搅拌的溶液中添加(4R)-4-苄基-2-[1-[(4R)-4-苄基-4,5-二氢噁唑-2-基]-1-甲基-乙基]-4,5-二氢噁唑(449mg,1.2mmol)、乙酰氧基铜(255mg,2.1mmol)、N-氟苯磺酰亚胺(4.9g,15.5mmol)和TMSCN(5.1g,51.6mmol)。将混合物在氮气下在25℃下搅拌16h。通过添加水(100mL)猝灭反应,并将所得的混合物用乙酸乙酯(2x 100mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。通过制备型HPLC纯化残余物,以得到呈黄色油状物的标题化合物(1.5g,26%产率)。LC-MS:m/z 413[M+H]$^+$。

[0801] 步骤8:2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[0802] 将2-氟-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈(400mg,969μmol)在AcOH(3mL)和HCl(12M,3mL)中的溶液在90℃下搅拌15min。允许混合物冷却至25℃。通过小心添加2N氢氧化钠将pH调节至约6。然后通过反相快速色谱法直接纯化混合物,以得到呈黄色油状的标题化合物(300mg,77%产率)。LC-MS:m/z 302[M+H]$^+$。

[0803] 步骤9:2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(A6-9)

[0804] 向2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(600mg,1.9mmol)在MeOH(10mL)中的搅拌的溶液中添加两滴浓H_2SO_4。将混合物在80℃下搅拌1h。将反应用水(100mL)淬灭,并将所得的混合物用乙酸乙酯(3x 100mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩,以得到呈黄色油状物的标题化合物(A6-9,400mg,51%产率)。LC-MS:m/z 316[M+H]$^+$。

[0805] 步骤10:8-(1-乙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[0806] 向2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(200mg,634μmol)在ACN(5mL)中的搅拌的溶液中添加碳酸铯(1.0g,3.2mmol)和碘乙烷(495mg,3.2mmol)。将混合物在25℃下搅拌1h。将反应用水(20mL)淬灭,并将所得的混合物用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(120mg,49%产率)。LC-MS:m/z 344[M+H]$^+$。

[0807] 步骤11:8-(1-乙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[0808] 向8-(1-乙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(120mg,349μmol)在MeOH(2mL)和THF(2mL)中的搅拌溶液中添加在水(2mL)中的LiOH(42mg,1.8mmol)。将混合物在25℃下搅拌1h。用2M HCl将pH调节至约5。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩,以得到呈黄色油状物的粗标题化合物(100mg,78%产率)。LC-MS:m/z330[M+H]$^+$。

[0809] 步骤12:(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-乙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺

式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-乙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0810] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-乙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(100mg,304μmol)和5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(57mg,293μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(60mg,37%产率),LC-MS:m/z 507[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(40mg,24%产率),LC-MS:m/z 507[M+H]$^+$。

[0811] 步骤13:分离对映体,以获得实例20和实例21

[0812] 使60mg的(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-乙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化。(柱:CHIRALPAK IA,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度40%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):10.081;RT2(min):18.654;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.5mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例20(25.7mg,42%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例21(22.6mg,37%产率)。

[0813] 实例20:^{1}H NMR(300MHz,氯仿-d)δ9.07(br,1H),9.73(s,1H),8.61(s,1H),8.53(s,1H),7.89-7.94(m,3H),7.76(s,1H),6.29(d,J=5.1Hz,1H),4.42-4.58(m,1H),4.20-4.28(m,2H),3.06-3.22(m,1H),2.58-2.69(m,1H),2.09(s,3H),1.52(t,J=6.9Hz,3H)。LC-MS:m/z 507[M+H]$^+$。

[0814] 实例21:^{1}H NMR(300MHz,氯仿-d)δ9.08(br,1H),8.73(s,1H),8.61(s,1H),8.54(s,1H),7.90-7.94(m,3H),7.77(s,1H),6.29(d,J=4.8Hz,1H),4.43-4.58(m,1H),4.20-4.28(m,2H),3.05-3.22(m,1H),2.58-2.69(m,1H),2.09(s,3H),1.52(t,J=6.9Hz,3H)。LC-MS:m/z 507[M+H]$^+$。

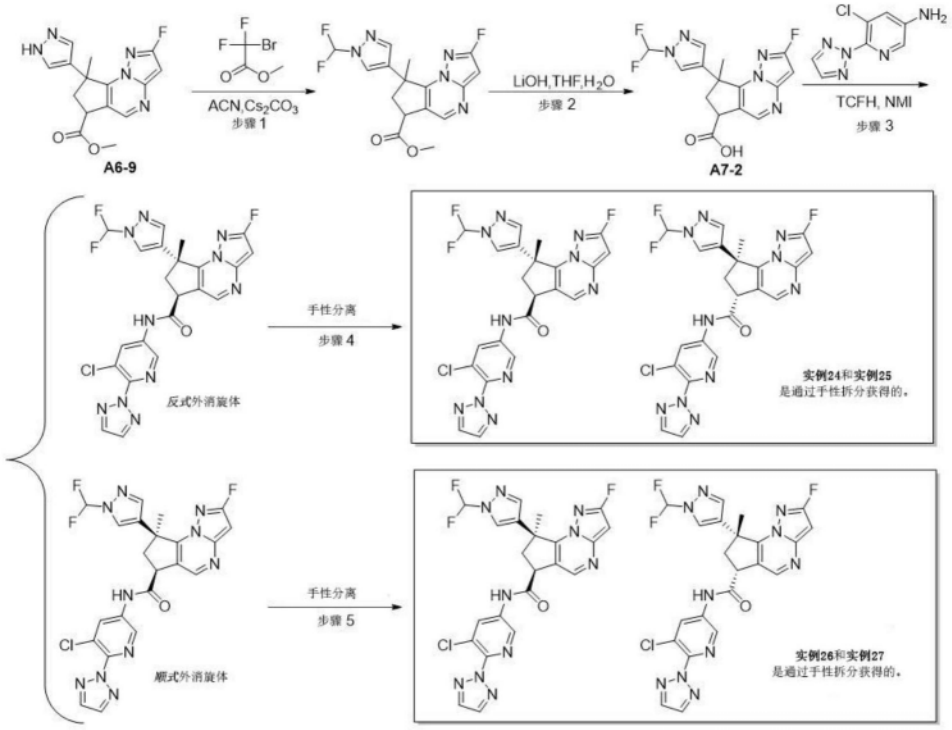
[0815] 步骤14:分离对映体,以获得实例22和实例23

[0816] 使40mg的(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-乙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK ID,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度40%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):13.051;RT2(min):20.088;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例22(14.1mg,35%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例23(15.7mg,39%产率)。

[0817] 实例22:^{1}H NMR(300MHz,氯仿-d)δ8.58(s,1H),8.47(s,1H),8.30(s,1H),7.93(s,2H),7.82(s,1H),7.60(s,1H),7.48(s,1H),6.30(d,J=5.1Hz,1H),4.34-4.42(m,1H),4.08-4.17(m,2H),2.83-3.03(m,2H),2.00(s,3H),1.43(t,J=6.9Hz,3H)。LC-MS:m/z 507[M+H]$^+$。

[0818] 实例23:^{1}H NMR(300MHz,氯仿-d)δ8.58(s,1H),8.48(s,1H),8.34(s,1H),8.05(s,1H),7.92(s,2H),7.64(s,1H),7.52(s,1H),6.29(d,J=5.1Hz,1H),4.37-4.43(m,1H),4.08-4.18(m,2H),2.83-3.03(m,2H),1.99(s,3H),1.44(t,J=6.9Hz,3H)。LC-MS:m/z 507[M+H]$^+$。

[0819] 方法A7

[0820] 

[0821] 实例24、25:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0822] 实例26、27:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0823] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[0824] 步骤1:8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[0825] 在0℃下,向2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(A6-9,200mg,634μmol)在ACN(6mL)中的搅拌的溶液中添加碳酸铯(620mg,1.9mmol)。将混合物在0℃下搅拌20min,并添加2-溴-2,2-二氟-乙酸甲酯(599.3mg,3.2mmol)在ACN(0.5mL)中的溶液。将混合物在25℃下搅拌16h。用水(20mL)猝灭反应。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(120mg,46%产率)。LC-MS(ES,m/z):366[M+H]$^+$。

[0826] 步骤2:8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A7-2)

[0827] 向8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(120mg,328μmol)在MeOH(2mL)和THF(2mL)中的搅拌的溶液中

添加在水(2mL)中的LiOH(39mg,1.6mmol)。将混合物在25℃下搅拌1h。用1M HCl将pH调节至约4。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩,以得到呈黄色油状物的粗标题化合物(A7-2,100mg,78%产率)。LC-MS(ES,m/z):352[M+H]$^+$。

[0828] 步骤3:(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0829] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(100mg,285μmol)和5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(210mg,1.1mmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(50mg,31%产率),LC-MS(ES,m/z):529[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(50mg,31%产率),LC-MS(ES,m/z):529[M+H]$^+$。

[0830] 步骤4:分离对映体,以获得实例24和实例25

[0831] 使50mg的(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK ID,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度40%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):9.29;RT2(min):13.952;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.2mL;运行次数:3)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例24(17.3mg,34%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例25(14.5mg,29%产率)。

[0832] 实例24:^{1}H NMR(300MHz,氯仿-d)δ8.56-8.70(m,4H),7.93(s,2H),7.86(s,1H),7.68(s,1H),7.12(t,J=60.6Hz,1H),6.33(d,J=5.1Hz,1H),4.39-4.48(m,1H),3.02-3.06(m,1H),2.73-2.79(m,1H),2.13(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):529[M+H]$^+$。

[0833] 实例25:^{1}H NMR(300MHz,氯仿-d)δ8.69(s,1H),8.46-8.62(m,2H),8.14(s,1H),7.94(s,2H),7.83(s,1H),7.66(s,1H),7.13(t,J=60.6Hz,1H),6.32(d,J=5.1Hz,1H),4.32-4.42(m,1H),3.00-3.05(m,1H),2.73-2.77(m,1H),2.13(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):529[M+H]$^+$。

[0834] 步骤5:分离对映体,以获得实例26和实例27

[0835] 使50mg的(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IA,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度40%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):9.026;RT2(min):15.277;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.5mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例26(10.6mg,21%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例27(13.6mg,27%产率)。

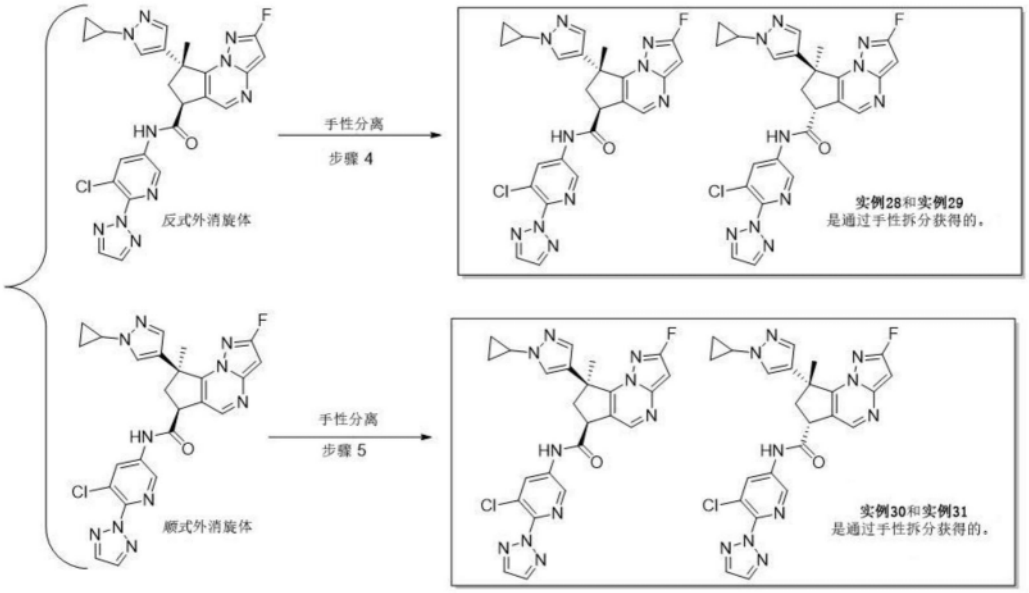
[0836] 实例26:^{1}H NMR(300MHz,氯仿-d)δ8.60(s,2H),8.42(s,1H),8.08(s,1H),7.95(s,1H),7.93(s,2H),7.78(s,1H),7.13(t,J=60.3Hz,1H),6.31(d,J=5.1Hz,1H),4.37-4.42(m,1H),2.97-3.03(m,1H),2.82-2.90(m,1H),2.00(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):529[M+H]$^+$。

[0837] 实例27:^{1}H NMR(300MHz,氯仿-d)δ8.61(s,2H),8.42(s,1H),7.89-7.93(m,4H),7.78(s,1H),7.13(t,J=60.6Hz,1H),6.32(d,J=4.8Hz,1H),4.36-4.42(m,1H),2.98-3.03(m,1H),2.84-2.91(m,1H),2.01(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):529[M+H]$^+$。

[0838] 方法A8



[0839]



[0840] 实例28、29:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0841] 实例30、31:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0842] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[0843] 步骤1:8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[0844] 向2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(A6-9,250mg,793μmol)在二噁烷(10mL)中的搅拌的溶液中添加环丙基硼酸(136mg,1.6mmol)、DMAP(387mg,3.2mmol)、乙酰氧基铜(158mg,793μmol)和碳酸铯(646mg,2.0mmol)。将混合物在90℃下在氧气气氛下搅拌1h。将反应用水(30mL)淬灭,并将所得的混合物用乙酸乙酯(3x 30mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(120mg,36%产率)。LC-MS:m/z 356[M+H]$^+$。

[0845] 步骤2:8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A8-2)

[0846] 类似于方法A7步骤2,但使用8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(120mg,338μmol),获得呈黄色油状物的粗标题化合物(A8-2,100mg)。LC-MS:m/z 342[M+H]$^+$。

[0847] 步骤3:(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0848] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(100mg,293μmol)和5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(57mg,293μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(20mg,13%产率),LC-MS:m/z 519[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(13mg,8%产率),LC-MS:m/z 519[M+H]$^+$。

[0849] 步骤4:分离对映体,以获得实例28和实例29

[0850] 使20mg的(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化。(柱:CHIRAL ART Amylose-SA,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:19mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):7.427;RT2(min):13.024;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2.5mL;运行次数:1)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例28(4.7mg,23%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例29(5.5mg,27%产率)。

[0851] 实例28:^{1}H NMR(300MHz,氯仿-d)δ9.13(br,1H),8.71(s,1H),8.61(s,1H),8.53(s,1H),7.93(s,2H),7.73(s,1H),6.29(d,J=5.1Hz,1H),4.45-4.50(m,1H),3.52-3.60(m,1H),3.09-3.16(m,1H),2.63-2.76(m,1H),2.08(s,3H),1.00-1.11(m,4H)。LC-MS:m/z 519[M+H]$^+$。

[0852] 实例29:^{1}H NMR(300MHz,氯仿-d)δ9.11(br,1H),8.71(s,1H),8.60(s,1H),8.52(s,1H),7.93(s,2H),7.61-7.71(m,2H),6.29(d,J=4.8Hz,1H),4.43-4.49(m,1H),3.51-3.57(m,1H),3.07-3.14(m,1H),2.63-2.70(m,1H),2.08(s,3H),1.00-1.10(m,4H)。LC-MS:m/z519[M+H]$^+$。

[0853] 步骤5:分离对映体,以获得实例30和实例31

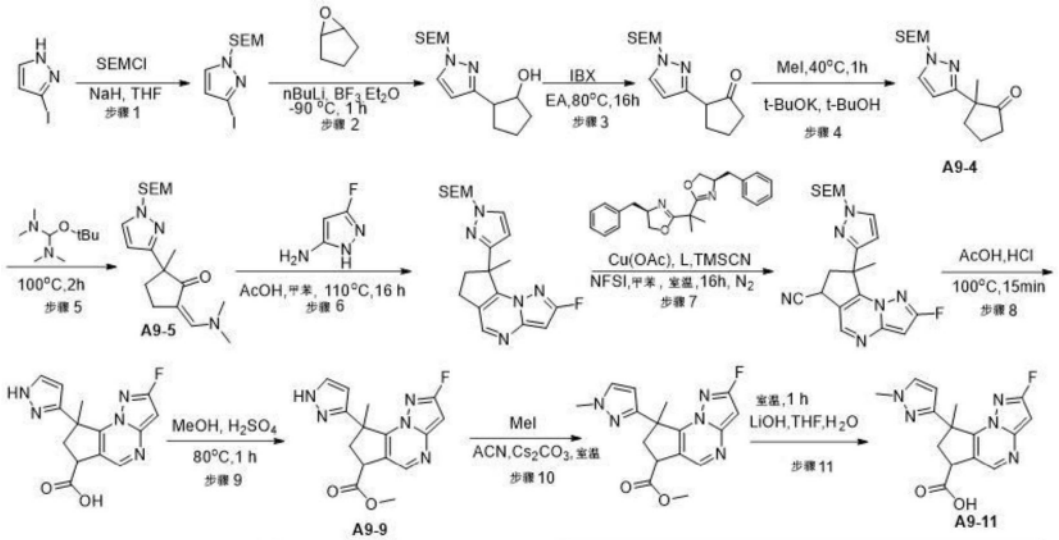
[0854] 使13mg的(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化。(柱:CHIRAL ART Amylose-SA,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:19mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):5.137;RT2(min):8.122;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.8mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例30(2.1mg,16%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例31(2.5mg,18%产率)。

[0855] 实例30:^{1}H NMR(300MHz,氯仿-d)δ8.59(s,1H),8.51(s,1H),8.30-8.42(m,2H),

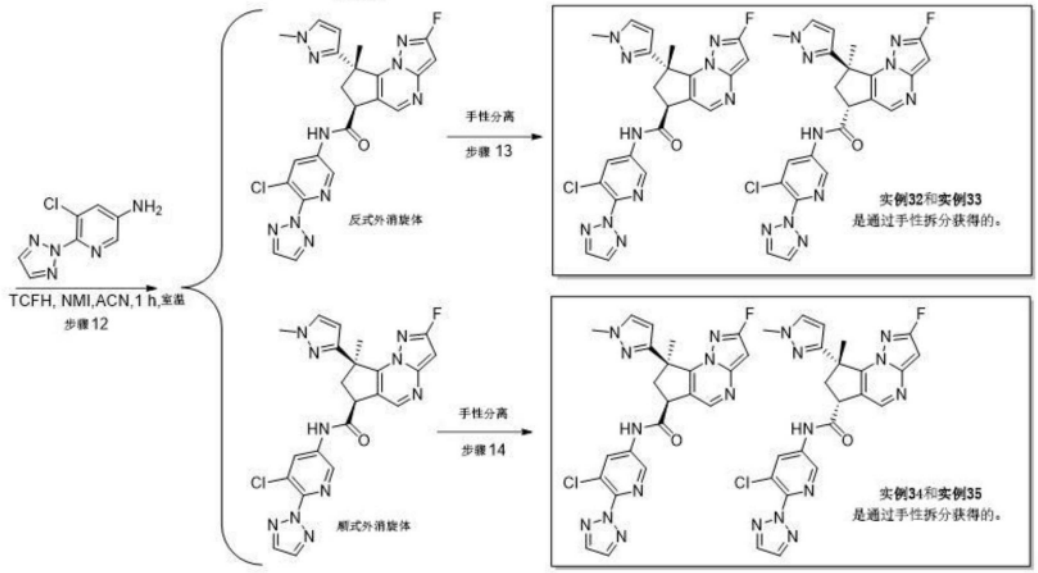
7.92(s,2H),7.59-7.66(m,2H),6.28(d,J＝5.1Hz,1H),4.39-4.45(m,1H),3.52-3.58(m,1H),2.82-3.03(m,2H),2.01(s,3H),0.99-1.12(m,4H)。LC-MS:m/z 519[M+H]$^+$。

[0856] 实例31:^{1}H NMR(300MHz,氯仿-d)δ8.59(s,1H),8.50(s,1H),8.39(s,1H),8.13(s,1H),7.93(s,2H),7.56-7.64(m,2H),6.30(d,J＝5.1Hz,1H),4.38-4.45(m,1H),3.51-3.56(m,1H),2.85-3.02(m,2H),2.01(s,3H),0.93-1.09(m,4H)。LC-MS:m/z 519[M+H]$^+$。

[0857] 方法A9



[0858]



[0859] 实例32、33:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0860] 实例34、35:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0861] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[0862] 步骤1:3-碘-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑

[0863] 类似于方法A6步骤1,但使用3-碘-1H-吡唑(100g,515.5mmol),获得呈白色固体的标题化合物(130g,74%产率)。LC-MS:m/z 325[M+H]$^+$。

[0864] 步骤2:2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-醇

[0865] 在-90℃下在氮气下,向3-碘-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑(231.3g,713.3mmol)在Et_2O(4.5L)中的搅拌的混合物中添加正丁基锂(310mL,2.5M在己烷中)。将反应混合物在-90℃下在氮气下搅拌30min。在-90℃下添加6-氧杂双环[3.1.0]己烷(50g,594.4mmol)和三氟化硼乙醚合物(109g,772.7mmol)。将反应混合物在-90℃下在氮气下搅拌1h。将反应混合物用饱和氯化铵水溶液(1000mL)猝灭,并将所得的混合物用乙酸乙酯(3x 2.0L)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(60g,35%产率)。LC-MS:m/z 283[M+H]$^+$。

[0866] 步骤3:2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮

[0867] 类似于方法A1步骤2,但使用2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-醇(60g,212.4mmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(30g,31%纯度)。LC-MS:m/z 281[M+H]$^+$。

[0868] 步骤4:2-甲基-2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮(A9-4)

[0869] 类似于方法A1步骤3,但使用2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(23g,49.2mmol)并且在通过制备型HPLC纯化产物之后,获得呈黄色油状物的标题化合物(A9-4,4.7g,32%产率)。LC-MS:m/z 295[M+H]$^+$。

[0870] 步骤5:5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮(A9-5)

[0871] 类似于方法A1步骤4,但使用在1-叔丁氧基-N,N,N',N'-四甲基-甲烷二胺(8.3g,47.7mmol)中的2-甲基-2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮(4.7g,15.9mmol)并在100℃下搅拌2h,获得呈黄色油状物的粗标题化合物(A9-5,4.7g),并且被用于下一步骤而无需进一步纯化。LC-MS:m/z 350[M+H]$^+$。

[0872] 步骤6:2-氟-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶

[0873] 类似于方法A6步骤6,但使用5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮(4g,11.4mmol)并在110℃下搅拌16h,获得呈黄色油状物的标题化合物(2g,45%产率)。LC-MS:m/z 388[M+H]$^+$。

[0874] 步骤7:2-氟-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈

[0875] 类似于方法A6步骤7,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(2g,5.1mmol)并在25℃下搅拌24h,获得呈黄色油状物的标题化合物(420mg,11%产率)。LC-MS:m/z 413[M+H]$^+$。

[0876] 步骤8:2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[0877] 将2-氟-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈(700mg,1.7mmol)在AcOH(2.5mL)和HCl(12M,2.5mL)中的溶液在100℃下搅拌15min。允许混合物冷却至25℃。将反应混合物用水(10mL)稀释并用饱和碳酸氢钠水溶液将pH调节至约7。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 15mL)萃取。将合并的有机层用盐水(30mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在减压下浓缩。将混合物通过制备型HPLC纯化,以得到呈黄色油状物的标题化合物(160mg,26%产率)。LC-MS:m/z 302[M+H]$^+$。

[0878] 步骤9:2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(A9-9)

[0879] 类似于方法A6步骤9,但使用2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(330mg,33.2mmol),获得呈黄色油状物的粗标题化合物(A9-9,100mg)。LC-MS:m/z 316[M+H]$^+$。

[0880] 步骤10:2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[0881] 类似于方法A6步骤10,但使用粗2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(80mg)并且无需最终纯化,获得呈黄色油状物的粗标题化合物(50mg)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.67(s,1H),7.55(d,J=2.4Hz,1H),6.52(d,J=5.2Hz,1H),6.14(d,J=2.0Hz,1H),4.30-4.46(m,1H),3.68(s,3H),3.67(s,3H),2.83-2.88(m,1H),2.60-2.66(m,1H),1.86(s,3H)。LC-MS:m/z 330[M+H]$^+$。

[0882] 步骤11:2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A9-11)

[0883] 类似于方法A6步骤11,但使用粗2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(50mg,142μmol),获得呈黄色油状物的粗标题化合物(A9-11,40mg)。LC-MS:m/z 316[M+H]$^+$。

[0884] 步骤12:(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0885] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A9-11,40mg,127μmol)和5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(24mg,127μmmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(23mg,37%产率),LC-MS:m/z 493[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(14mg,22%产率),LC-MS:m/z 493[M+H]$^+$。

[0886] 步骤13:分离对映体,以获得实例32和实例33

[0887] 使23mg的(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化。(柱:CHIRAL ART Amylose-SA,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:25mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):28.444;RT2(min):33.535;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.5mL;运行次数:12)。将第二

洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例32(4mg,20%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例33(2.9mg,14%产率)。

[0888] 实例32:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.14(s,1H),8.76(d,J=2.0Hz,1H),8.68(s,1H),8.61(d,J=2.0Hz,1H),8.18(s,2H),7.62(d,J=2.0Hz,1H),6.55(d,J=5.2Hz,1H),6.28(d,J=2.0Hz,1H),4.51-4.56(m,1H),3.73(s,3H),3.00-3.33(m,1H),2.50-2.51(m,1H),2.00(s,3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]$^+$。

[0889] 实例33:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.14(br),8.75(d,J=2.4Hz,1H),8.68(s,1H),8.61(d,J=2.0Hz,1H),8.18(s,2H),7.62(d,J=2.0Hz,1H),6.55(d,J=4.8Hz,1H),6.28(d,J=2.0Hz,1H),4.52-4.56(m,1H),3.73(s,3H),3.00-3.33(m,1H),2.47-2.50(m,1H),2.00(s,3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]$^+$。

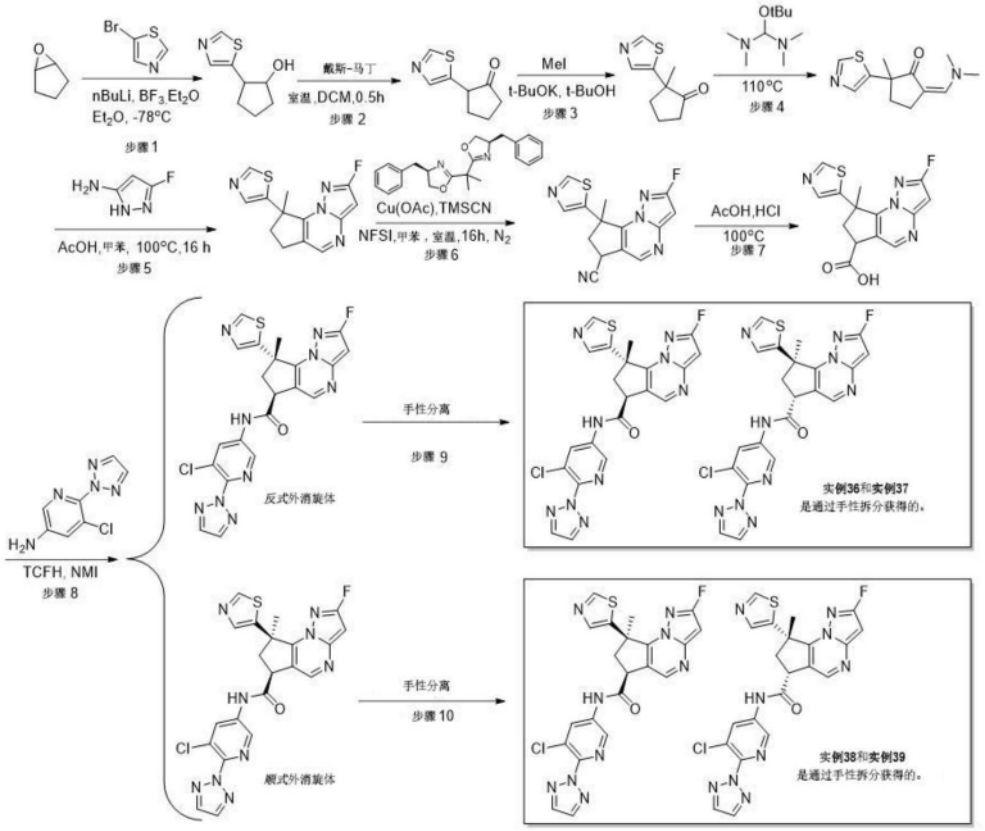
[0890] 步骤14:分离对映体,以获得实例34和实例35

[0891] 使14mg的(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化。(柱:CHIRALPAK AS-H,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):9.135;RT2(min):20.036;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.6mL;运行次数:2)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例34(2.0mg,14%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例35(1.7mg,12%产率)。

[0892] 实例34:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.04(s,1H),8.73(d,J=2.4Hz,1H),8.69(s,1H),8.57(d,J=2.4Hz,1H),8.18(s,2H),7.56(d,J=2.4Hz,1H),6.54(d,J=4.8Hz,1H),6.17(d,J=2.4Hz,1H),4.51-4.55(m,1H),3.69(s,3H),2.88-2.92(m,1H),2.74-2.79(m,1H),1.87(s,3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]$^+$。

[0893] 实例35:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.02(s,1H),8.72(d,J=2.0Hz,1H),8.69(s,1H),8.57(d,J=2.4Hz,1H),8.18(s,2H),7.56(d,J=2.4Hz,1H),6.54(d,J=4.8Hz,1H),6.17(d,J=2.0Hz,1H),4.51-4.55(m,1H),3.69(s,3H),2.88-2.93(m,1H),2.74-2.79(m,1H),1.87(s,3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]$^+$。

[0894] 方法A10

[0895] 

[0896] 实例36、37:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(噻唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(噻唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0897] 实例38、39:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(噻唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(噻唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0898] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[0899] 步骤1:2-(噻唑-5-基)环戊烷-1-醇

[0900] 类似于方法A1步骤1,但使用5-溴噻唑(11.65g,71mmol),获得呈棕色油状物的标题化合物(2g,20%产率)。LC-MS:m/z 170$[M+H]^+$。

[0901] 步骤2:2-(噻唑-5-基)环戊烷-1-酮

[0902] 在25℃下,向2-(噻唑-5-基)环戊烷-1-醇(1g,5.9mmol)在DCM(100mL)中的搅拌的溶液中添加戴斯-马丁高碘烷(3.76g,8.8mmol)。将所得的混合物在25℃下搅拌0.5h。用饱和$NaHSO_3$水溶液(200mL)猝灭反应,并将所得的混合物用DCM(3x 100mL)萃取。将合并的有机层用饱和碳酸氢钠水溶液(200mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩,以得到呈黄色油状物的粗标题化合物(1g)。LC-MS:m/z 168$[M+H]^+$。

[0903] 步骤3:2-甲基-2-(噻唑-5-基)环戊烷-1-酮

[0904] 类似于方法A1步骤3,但使用2-(噻唑-5-基)环戊烷-1-酮(1.5g,5.3mmol)并通过硅胶柱色谱法纯化产物,用PE/EA(1:1)洗脱,获得呈黄色油状物的标题化合物(270mg,28%

产率)。LC-MS:m/z 182[M+H]$^+$。

[0905] 步骤4:5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(噻唑-5-基)环戊烷-1-酮

[0906] 类似于方法A1步骤4,但使用在1-叔丁氧基-N,N,N',N'-四甲基-甲烷二胺(8mL)中的2-甲基-2-(噻唑-5-基)环戊烷-1-酮(530mg,2.9mmol)并在110℃下搅拌1.5h,获得呈黄色油状物的粗标题化合物(230mg,粗品)。LC-MS:m/z 237[M+H]$^+$。

[0907] 步骤5:5-(2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-8-基)噻唑

[0908] 在室温下,向5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(噻唑-5-基)环戊烷-1-酮(520mg,2.2mmol)在甲苯(10mL)中的搅拌的溶液中添加5-氟-1H-吡唑-3-胺(445mg,4.4mmol)和AcOH(1mL)。将所得的混合物在100℃下搅拌16h。允许混合物冷却至25℃。将反应混合物在减压下浓缩,并将残余物用水(50mL)稀释。用饱和碳酸氢钠水溶液将pH调节至约7。将所得混合物用乙酸乙酯(2x 60mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EA/PE(3:7)洗脱,以得到呈黄色固体的标题化合物(430mg,71%产率)。LC-MS:m/z 275[M+H]$^+$。

[0909] 步骤6:2-氟-8-甲基-8-(噻唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈

[0910] 类似于方法A1步骤6,但使用5-(2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-8-基)噻唑(430mg,1.6mmol),获得呈白色固体的标题化合物(70mg,15%产率)。LC-MS:m/z 300[M+H]$^+$。

[0911] 步骤7:2-氟-8-甲基-8-(噻唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[0912] 类似于方法A1步骤7,但使用2-氟-8-甲基-8-(噻唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈(70mg,234umol)并在90℃下搅拌1h,获得呈白色固体的标题化合物(55mg,74%产率)。LC-MS:m/z 319[M+H]$^+$。

[0913] 步骤8:(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(噻唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(噻唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0914] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(噻唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(50mg,157μmol)和5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(31mg,157μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈灰白色固体的反式异构体(35mg,44%产率),LC-MS:m/z 496[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(25mg,产率31%),LC-MS:m/z 496[M+H]$^+$。

[0915] 步骤9:分离对映体,以获得实例36和实例37

[0916] 使35mg的(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(噻唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化。(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):19.03;RT2(min):41.07;样品溶剂:Hex(0.1% FA)--HPLC;注入体积:1.1mL;运行次数:20)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例36(5mg,28%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻

干,以得到呈白色固体的实例37(6.7mg,38%产率)。

[0917] 实例36:^{1}HNMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:11.19(br,1H),9.03(s,1H),8.75(s,1H),8.73(d,J=2.1Hz,1H),8.61(d,J=2.1Hz,1H),8.18(s,2H),7.84(s,1H),6.63(d,J=5.1Hz,1H),4.58-4.65(m,1H),2.96-3.01(m,1H),2.68-2.80(m,1H),2.12(s,3H)。LC-MS:m/z 496 $[M+H]^+$。

[0918] 实例37:^{1}HNMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:11.20(br,1H),9.03(s,1H),8.75(s,1H),8.73(d,J=2.1Hz,1H),8.61(d,J=2.1Hz,1H),8.18(s,2H),7.84(s,1H),6.63(d,J=5.1Hz,1H),4.58-4.65(m,1H),2.96-3.01(m,1H),2.68-2.78(m,1H),2.12(s,3H)。LC-MS:m/z 496 $[M+H]^+$。

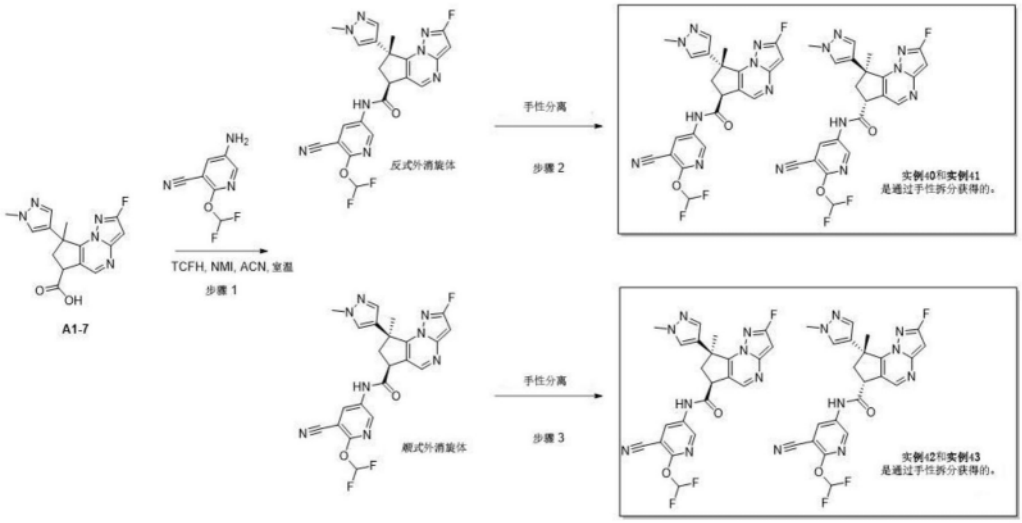
[0919] 步骤10:分离对映体,以获得实例38和实例39

[0920] 使25mg的(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(噻唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化。(柱:CHIRAL ART Amylose-SA,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):10.14;RT2(min):12.47;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.4mL;运行次数:3)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例38(4.2mg,33%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例39(4.7mg,37%产率)。

[0921] 实例38:^{1}HNMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:11.22(br,1H),8.99(s,1H),8.77(s,1H),8.73(d,J=2.1Hz,1H),8.58(d,J=2.1Hz,1H),8.18(s,2H),7.82(s,1H),6.61(d,J=4.8Hz,1H),4.58-4.64(m,1H),2.95-3.02(m,1H),2.74-2.81(m,1H),2.03(s,3H)。LC-MS:m/z 496 $[M+H]^+$。

[0922] 实例39:^{1}HNMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:11.22(br,1H),8.99(s,1H),8.78(s,1H),8.73(d,J=2.4Hz,1H),8.57(d,J=2.4Hz,1H),8.17(s,2H),7.82(s,1H),6.61(d,J=5.1Hz,1H),4.58-4.64(m,1H),2.95-3.01(m,1H),2.74-2.82(m,1H),2.03(s,3H)。LC-MS:m/z 496 $[M+H]^+$。

[0923] 方法A11

[0924] 

[0925] 实例40、41:(6S,8R)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,

8S)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0926] 实例42、43:(6S,8S)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0927] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[0928] 步骤1:反式-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0929] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(90mg,285μmol)和5-氨基-2-(二氟甲氧基)烟腈(53mg,285μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(18mg,13%产率),LC-MS:m/z 483[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(12.4mg,9%产率),LC-MS:m/z 483[M+H]$^+$。

[0930] 步骤2:分离对映体,以获得实例40和实例41

[0931] 使18mg的反式-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度40%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):10.614;RT2(min):20.977;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:3mL;运行次数:1)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例40(4.7mg,26%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例41(2.8mg 15%产率)。

[0932] 实例40:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:10.89(s,1H),8.69(d,J=2.7Hz,1H),8.63-8.65(m,2H),7.75(t,J=71.7Hz,1H),7.64(s,1H),7.41(d,J=0.6Hz,1H),6.57(d,J=4.8Hz,1H),4.49-4.52(m,1H),3.75(s,3H),2.84-2.86(m,1H),2.47-2.53(m,1H),1.96(s,3H)。LC-MS:m/z 483[M+H]$^+$。

[0933] 实例41:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:10.89(s,1H),8.69(d,J=2.7Hz,1H),8.63-8.64(m,2H),7.75(t,J=71.7Hz,1H),7.64(s,1H),7.41(d,J=0.6Hz,1H),6.58(d,J=5.1Hz,1H),4.46-4.52(m,1H),3.75(s,3H),2.84-2.91(m,1H),2.47-2.53(m,1H),1.96(s,3H)。LC-MS:m/z 483[M+H]$^+$。

[0934] 步骤3:分离对映体,以获得实例42和实例43

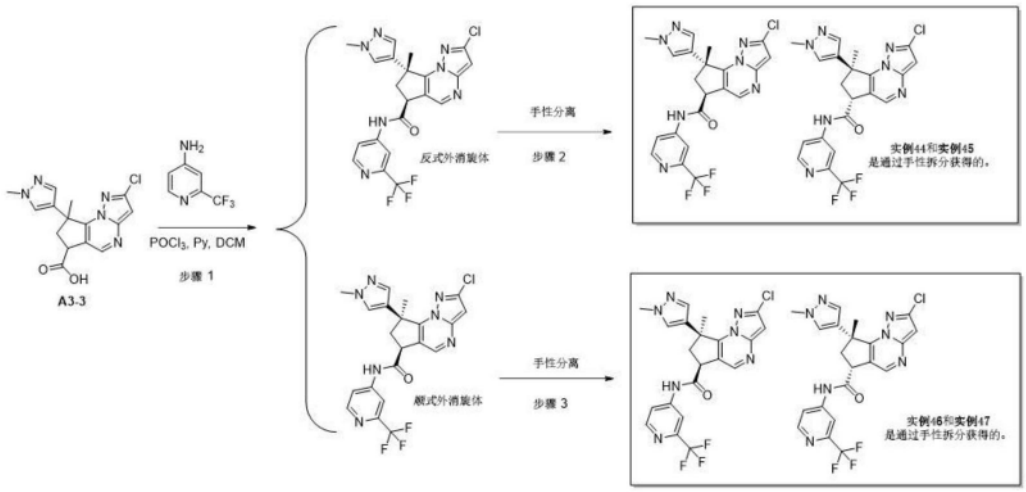
[0935] 使12.4mg的顺式-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):9.371;RT2(min):18.431;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2.5mL;运行次数:1)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例42(5.4mg,28产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,

以得到呈白色固体的实例43(2.6mg,13产率)。

[0936] 实例42:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:10.86(s,1H),8.68(d,J=2.7Hz,1H),8.67(s,1H),8.61(d,J=2.7Hz,1H),7.75(t,J=71.4Hz,1H),7.62(s,1H),7.33(d,J=0.6Hz,1H),6.54(d,J=5.1Hz,1H),4.46-4.51(m,1H),3.75(s,3H),2.66-2.80(m,2H),1.86(s,3H)。LC-MS:m/z 483[M+H]$^+$。

[0937] 实例43:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:10.89(s,1H),8.68(d,J=2.4Hz,1H),8.67(s,1H),8.61(d,J=2.7Hz,1H),7.75(t,J=71.4Hz,1H),7.62(s,1H),7.33(d,J=0.9Hz,1H),6.54(d,J=5.1Hz,1H),4.46-4.49(m,1H),3.75(s,3H),2.69-2.79(m,2H),1.86(s,3H)。LC-MS:m/z 483[M+H]$^+$。

[0938] 方法A12

[0939] 

[0940] 实例44、45:(6S,8R)-2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0941] 实例46、47:(6S,8S)-2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0942] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[0943] 步骤1:反式-2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0944] 在氮气气氛下,向2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A3-3,90mg,211μmol)在DCM(15mL)中的搅拌的溶液中添加吡啶(139mg,1.7mmol)和三氯化磷(178mg,1.2mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌1h。添加2-(三氟甲基)吡啶-4-胺(69mg,423μmol),并将混合物在0℃下搅拌3h。将反应混合物在减压下浓缩,并将残余物用水(10mL)稀释。将所得混合物用乙酸乙酯(3x10mL)萃取。将合并的

有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加在硅胶柱上并用DCM/MeOH(10:1)洗脱以得到粗产物,将该粗产物通过制备型HPLC进一步纯化以得到标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(19mg 14%产率),LC-MS:m/z 476[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(11mg,8%产率),LC-MS:m/z 476[M+H]$^+$。

[0945] 步骤2:分离对映体,以获得实例44和实例45

[0946] 使10mg的反式-2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Cellulose-SC,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):9.391;RT2(min):12.872;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1mL;运行次数:5)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例44(3.7mg,36%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例45(3.1mg,30%产率)。

[0947] 实例44:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:11.12(s,1H),8.67(d,J=6.3Hz,1H),8.65(s,1H),8.19(d,J=1.8Hz,1H),7.80-7.83(m,1H),7.61(s,1H),7.40(s,1H),6.96(s,1H),4.49-4.55(m,1H),3.76(s,3H),2.85-2.92(m,1H),2.47-2.52(m,1H),1.98(s,3H)。LC-MS:m/z 476[M+H]$^+$。

[0948] 实例45:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:11.11(s,1H),8.67(d,J=6.0Hz,1H),8.65(s,1H),8.19(d,J=2.0Hz,1H),7.80-7.83(m,1H),7.61(s,1H),7.40(s,1H),6.96(s,1H),4.49-4.52(m,1H),3.76(s,3H),2.85-2.92(m,1H),2.48-2.54(m,1H),1.98(s,3H)。LC-MS:m/z 476[M+H]$^+$。

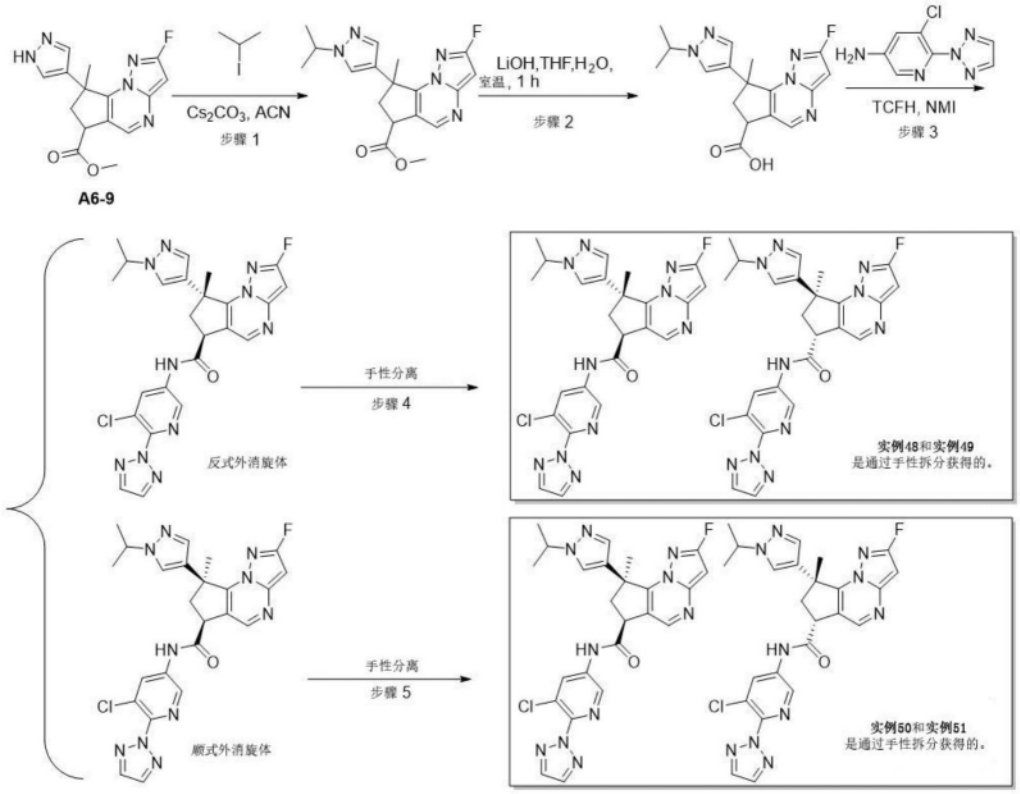
[0949] 步骤10:分离对映体,以获得实例46和实例47

[0950] 使10mg的顺式-2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IG,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度20%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):6.723;RT2(min):10.474;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1mL;运行次数:5)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例46(3.7mg,36%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例47(4.5mg,44%产率)。

[0951] 实例46:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:11.12(s,1H),8.70(s,1H),8.65(d,J=5.4Hz,1H),8.15(d,J=1.5Hz,1H),7.82-7.84(m,1H),7.59(s,1H),7.31(d,J=0.9Hz,1H),6.93(s,1H),4.49-4.56(m,1H),3.74(s,3H),2.80-2.87(m,1H),2.62-2.69(m,1H),1.89(s,3H)。LC-MS:m/z 476[M+H]$^+$。

[0952] 实例47:^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:11.14(s,1H),8.70(s,1H),8.65(d,J=5.4Hz,1H),8.15(d,J=1.5Hz,1H),7.81-7.84(m,1H),7.59(s,1H),7.31(d,J=0.9Hz,1H),6.93(s,1H),4.51-4.53(m,1H),3.74(s,3H),2.80-2.84(m,1H),2.62-2.69(m,1H),1.89(s,3H)。LC-MS:m/z 476[M+H]$^+$。

[0953] 方法A13

[0954] 

[0955] 实例48、49:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-(1-异丙基-1H-吡唑-4-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-(1-异丙基-1H-吡唑-4-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0956] 实例50、51:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-(1-异丙基-1H-吡唑-4-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-(1-异丙基-1H-吡唑-4-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0957] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[0958] 步骤1:2-氟-8-(1-异丙基-1H-吡唑-4-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[0959] 在0℃下,向2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(A6-9,180mg,571μmol)在ACN(5mL)中的搅拌的溶液中添加碳酸铯(372mg,1.1mmol)。将混合物在0℃下搅拌20min。添加在ACN(0.5mL)中的2-碘丙烷(1.9g,11.4mmol),并将混合物在25℃下搅拌5h。用水(20mL)猝灭反应。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加在硅胶柱上并用DCM/MeOH(10:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(80mg,27%产率)。LC-MS(ES,m/z):358[M+H]$^+$。

[0960] 步骤2:2-氟-8-(1-异丙基-1H-吡唑-4-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[0961] 类似于方法A6步骤11,但使用2-氟-8-(1-异丙基-1H-吡唑-4-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(75mg,210μmol),获得呈黄色油状物的

粗标题化合物(80mg,70％产率)。LC-MS(ES,m/z):344[M+H]$^+$。

[0962] 步骤3:反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-(1-异丙基-1H-吡唑-4-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-(1-异丙基-1H-吡唑-4-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0963] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氟-8-(1-异丙基-1H-吡唑-4-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(75mg,218μmol)和5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(64mg,328μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(13.9mg,11％产率),LC-MS(ES,m/z):521[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(6.7mg,5％产率),LC-MS(ES,m/z):521[M+H]$^+$。

[0964] 步骤4:分离对映体,以获得实例48和实例49

[0965] 使12.8mg的反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-(1-异丙基-1H-吡唑-4-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1％ FA)--HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度50％流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):11.401;RT2(min):17.85;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例48(2.6mg,20％产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例49(2.0mg,15％产率)。

[0966] 实例48:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.55-8.77(m,4H),7.94-8.00(m,3H),7.83(s,1H),6.32(d,J＝5.2Hz,1H),4.48-4.68(m,2H),3.20-3.33(m,1H),2.60-2.72(m,1H),2.12(s,3H),1.56-1.59(m,6H)。LC-MS(ES,m/z):521[M+H]$^+$。

[0967] 实例49:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.64-8.86(m,2H),8.52-8.67(m,2H),7.96(s,2H),7.67-7.90(m,2H),6.31(d,J＝5.2Hz,1H),4.43-4.64(m,2H),3.15-3.28(m,1H),2.59-2.74(m,1H),2.12(s,3H),1.51-1.61(m,6H)。LC-MS(ES,m/z):521[M+H]$^+$。

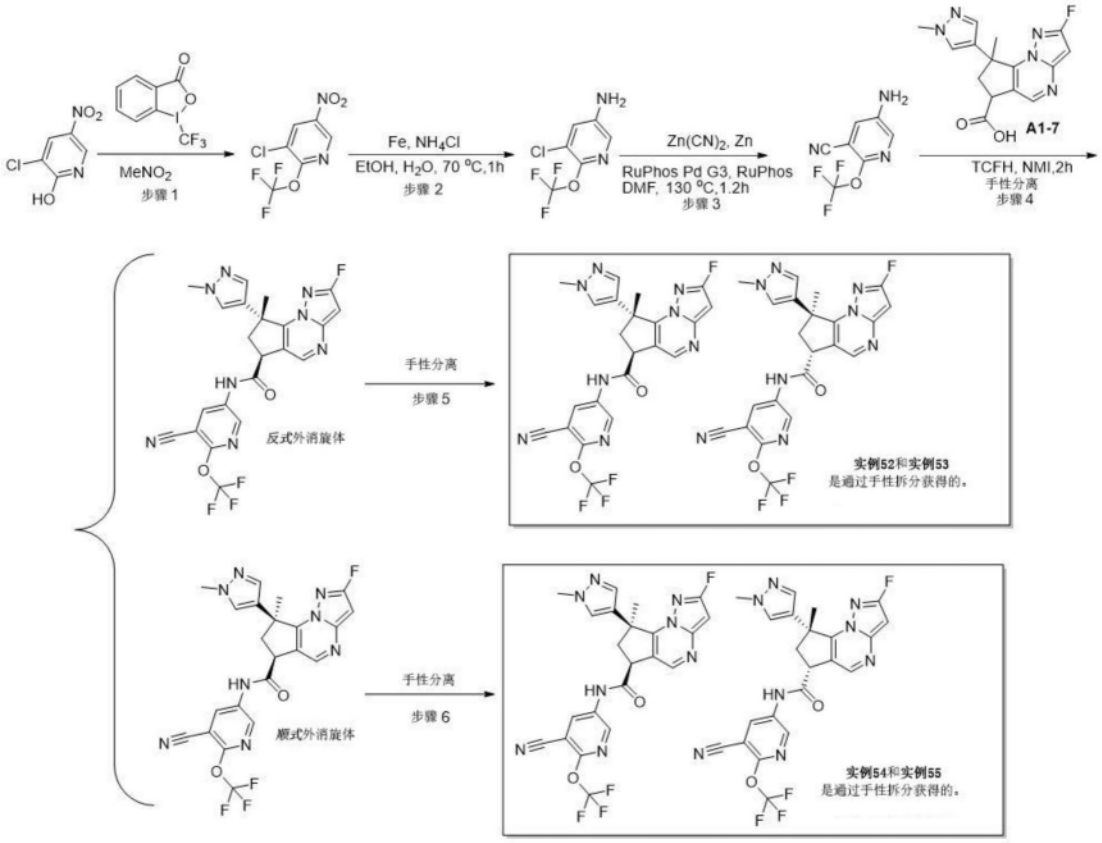
[0968] 步骤5:分离对映体,以获得实例50和实例51

[0969] 使5.6mg的顺式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-(1-异丙基-1H-吡唑-4-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1％ FA)--HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度50％流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):7.898;RT2(min):14.194;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1mL;运行次数:1)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例50(1.0mg,17％产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例51(1.9mg,31％产率)。

[0970] 实例50:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.46-8.71(m,3H),7.72-7.99(m,4H),6.32(d,J＝5.2Hz,1H),4.51-4.74(m,2H),2.83-3.10(m,2H),2.01(s,3H),1.53-1.56(m,6H)。LC-MS(ES,m/z):521[M+H]$^+$。

[0971] 实例51:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.29-9.05(m,4H),7.64-7.99(m,4H),6.31(d,J＝5.2Hz,1H),4.49-4.70(m,2H),2.85-3.08(m,2H),2.01(s,3H),1.51-1.57(m,6H)。LC-MS(ES,m/z):521[M+H]$^+$。

[0972] 方法A14

[0973] 

[0974] 实例52、53:(6S,8R)-N-(5-氰基-6-(三氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氰基-6-(三氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0975] 实例54、55:(6S,8S)-N-(5-氰基-6-(三氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氰基-6-(三氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0976] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[0977] 步骤1:3-氯-5-硝基-2-(三氟甲氧基)吡啶

[0978] 在100℃下,向3-氯-5-硝基吡啶-2-醇(3g,17.2mmol)在$MeNO_2$(30mL)中的混合物中分批添加1-(三氟甲基)-1l3-苯并[d][1,2]碘代酰基-3(1H)-酮(10.9g,34.4mmol)。将混合物在100℃下搅拌1h。将混合物冷却至室温并且然后倒入水(200mL)中。将混合物用EtOAc(3x 200mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:15)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(1.3g,26%产率)。LC-MS:m/z 243$[M+H]^+$。

[0979] 步骤2:5-氯-6-(三氟甲氧基)吡啶-3-胺

[0980] 向3-氯-5-硝基-2-(三氟甲氧基)吡啶(900mg,3.7mmol)在EtOH/H_2O(3:1,20mL)中的搅拌的溶液中添加铁(1.04g,18.5mmol)和NH_4Cl(6.35g,118.7mmol)。将所得的混合物在70℃下搅拌1h。将混合物过滤,并将滤液用水(100mL)稀释,并将所得的混合物用乙酸乙酯(3x 100mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在减压下浓缩,以得到呈黄色固体

的粗标题化合物(330mg,41％产率)。LC-MS:m/z 213[M+H]$^+$。

[0981] 步骤3:5-氨基-2-(三氟甲氧基)烟腈

[0982] 向5-氯-6-(三氟甲氧基)吡啶-3-胺(200mg,0.9mmol)在DMF(8mL)中的搅拌的溶液中添加Zn(CN)$_2$(221mg,1.9mmol)、Zn(6.1mg,94μmol)、RuPhos-Pd G3(43.9mg,94μmol)和RuPhos(76.8mg,94μmol)。将所得混合物在130℃下在氮气下搅拌1.2h。将混合物冷却至25℃并添加水(100mL)。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 100mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:3)洗脱,以得到呈黄色固体的标题化合物(110mg,57％产率)。LC-MS:m/z204[M+H]$^+$。

[0983] 步骤4:反式-N-(5-氰基-6-(三氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(5-氰基-6-(三氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0984] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A1-7,72.4mg,229μmol)和5-氨基-2-(三氟甲氧基)烟腈(56mg,275μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈灰白色固体的反式异构体(25mg,21％产率),LC-MS:m/z 501[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(25mg,21％产率),LC-MS:m/z 501[M+H]$^+$。

[0985] 步骤5:分离对映体,以获得实例52和实例53

[0986] 使20mg的反式-N-(5-氰基-6-(三氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1％ FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度40％流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):6.674;RT2(min):18.161;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例52(12.6mg,62％产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例53(5.7mg,28％产率)。

[0987] 实例52:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d$_6$)δ:11.06(s,1H),8.74-8.76(m,2H),8.62s,1H),7.64(s,1H),7.41(s,1H),6.56(d,J＝4.0Hz,1H),4.48-4.52(m,1H),3.75(s,3H),2.84-2.89(m,1H),2.48-2.49(m,1H),1.95(s,3H)。LC-MS:m/z 501[M+H]$^+$。

[0988] 实例53:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d$_6$)δ:11.07(s,1H),8.75-8.76(m,2H),8.62s,1H),7.64(s,1H),7.41(s,1H),6.56(d,J＝4.0Hz,1H),4.48-4.53(m,1H),3.75(s,3H),2.84-2.89(m,1H),2.48-2.49(m,1H),1.95(s,3H)。LC-MS:m/z 501[M+H]$^+$。

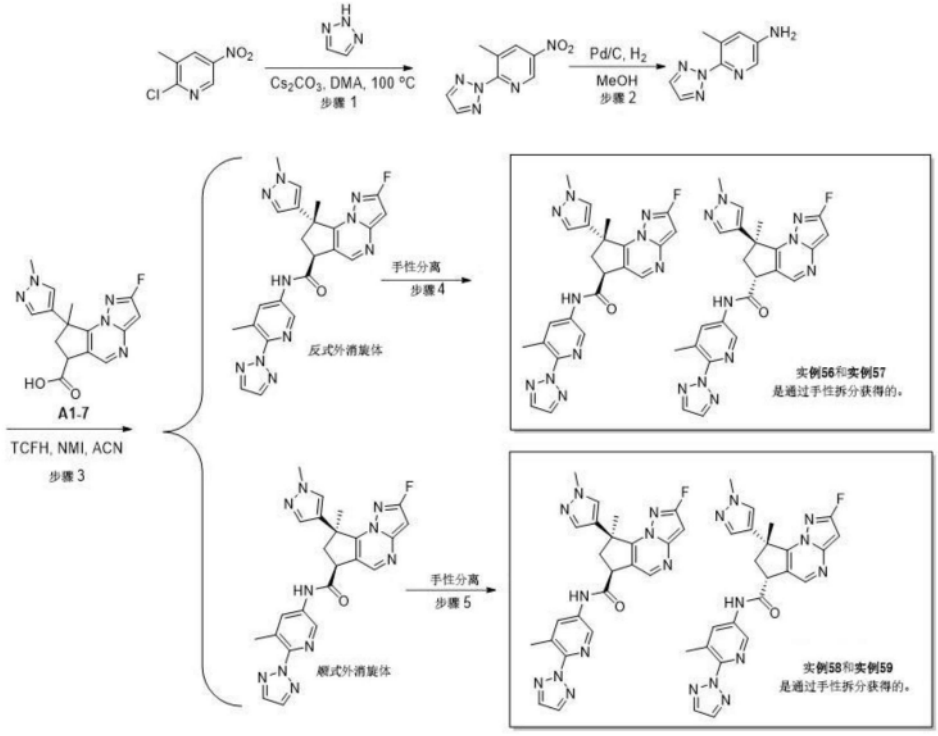
[0989] 步骤6:分离对映体,以获得实例54和实例55

[0990] 使20mg的顺式-N-(5-氰基-6-(三氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1％ FA)--HPLC,流动相B:EtOH-HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度50％流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):4.92;RT2(min):11.085;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1mL;运行次数:3)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例54(2.3mg,11％产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例55(2.9mg,14％产率)。

[0991] 实例54:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.08(s,1H),8.72-8.76(m,2H),8.67s,1H),7.61(s,1H),7.32(s,1H),6.54(d,J=4.8Hz,1H),4.48-4.52(m,1H),3.75(s,3H),2.77-2.83(m,1H),2.64-2.69(m,1H),1.85(s,3H)。LC-MS:m/z 501[M+H]$^+$。

[0992] 实例55:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.03(s,1H),8.71-8.75(m,2H),8.67s,1H),7.61(s,1H),7.32(s,1H),6.54(d,J=4.8Hz,1H),4.48-4.51(m,1H),3.75(s,3H),2.78-2.84(m,1H),2.65-2.70(m,1H),1.85(s,3H)。LC-MS:m/z 501[M+H]$^+$。

[0993] 方法A15

[0994] 

[0995] 实例56、57:(6S,8R)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0996] 实例58、59:(6S,8S)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[0997] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[0998] 步骤1:3-甲基-5-硝基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶

[0999] 向2-氯-3-甲基-5-硝基吡啶(10.0g,57.9mmol)和2H-1,2,3-三唑(4.8g,69.5mmol)在乙腈(100mL)中的搅拌的混合物中添加K_2CO_3(16.0g,115.9mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌24h。将所得的混合物在减压下浓缩。添加水(100mL),并将所得的混合物用乙酸乙酯(3x 100mL)萃取。将合并的有机层用盐水(3x 100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(5:1)洗脱,以得到呈黄色固体的标题化合物(10.0g,84%产率)。LC-MS:m/z 206[M+H]$^+$。

[1000] 步骤2:5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺

[1001] 向3-甲基-5-硝基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶(10.0g,48.7mmol)在甲醇(50mL)中的搅拌的溶液中添加Pd/C(11.8g,97.4mmol)。将反应混合物脱气,并且然后在氢气下在25℃下搅拌72h。将反应混合物过滤,并且将滤液在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(4.0g,46%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.00(s,2H),7.71(d,J=2.8Hz,1H),6.95(d,J=2.8,1H),5.75(s,2H),1.96(s,3H)。LC-MS:m/z 176[M+H]$^+$。

[1002] 步骤3:反式-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1003] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A1-7,80mg,254μmol)和5-甲基-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(44mg,254μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(26mg,16%产率),LC-MS:m/z 473[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(22mg,15%产率),LC-MS:m/z 473[M+H]$^+$。

[1004] 步骤4:分离对映体,以获得实例56和实例57

[1005] 使26mg的反式-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:MtBE(0.5%2M NH3-MeOH)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:17mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):9.155;RT2(min):17.671;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2mL;运行次数:1)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例56(6.4mg,24%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例57(6.7mg,25.5%产率)。

[1006] 实例56:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ10.82(s,1H),8.65(s,2H),8.27(d,J=2.4Hz,1H),8.12(s,2H),7.65(s,1H),7.43(s,1H),6.57(d,J=4.8Hz,1H),4.53(t,J=8.4Hz,1H),3.76(s,3H),2.88-2.93(m,1H),2.50-2.52(m,1H),2.21(s,3H),1.96(s,3H)。LC-MS:m/z473[M+H]$^+$。

[1007] 实例57:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ10.82(s,1H),8.65(s,2H),8.27(d,J=2.4Hz,1H),8.12(s,2H),7.65(s,1H),7.43(s,1H),6.57(d,J=4.8Hz,1H),4.53(t,J=8.4Hz,1H),3.76(s,3H),2.88-2.93(m,1H),2.50-2.52(m,1H),2.21(s,3H),1.96(s,3H)。LC-MS:m/z473[M+H]$^+$。

[1008] 步骤5:分离对映体,以获得实例58和实例59

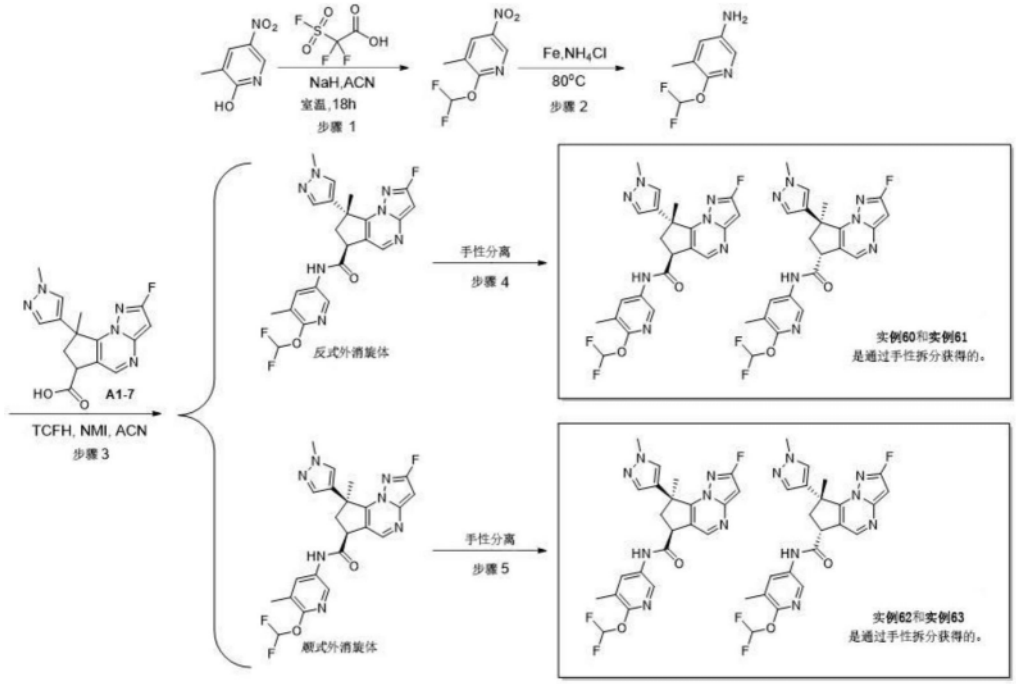
[1009] 使22mg的顺式-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-N-(5-甲基-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:MtBE(0.5%2M NH3-MeOH)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:17mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):7.783;RT2(min):16.654;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2mL;运行次数:1)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例58(5.0mg,22%产率)。将第一洗脱异构体浓

缩并冻干,以得到呈白色固体的实例59(3.2mg,14%产率)。

[1010] 实例58:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ10.83(s,1H),8.69(s,1H),8.63(d,J=2.4Hz,1H),8.24(d,J=2.4Hz,1H),8.11(s,2H),7.62(s,1H),7.34(s,1H),6.57(d,J=4.9Hz,1H),4.49-4.53(m,1H),3.75(s,3H),2.79-2.85(m,1H),2.66-2.71(m,1H),2.20(s,3H),1.87(s,3H)。LC-MS:m/z 473[M+H]$^+$。

[1011] 实例59:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ10.82(s,1H),8.69(s,1H),8.63(d,J=2.4Hz,1H),8.24(d,J=2.4Hz,1H),8.11(s,2H),7.62(s,1H),7.34(s,1H),6.57(d,J=4.9Hz,1H),4.49-4.53(m,1H),3.75(s,3H),2.79-2.85(m,1H),2.66-2.71(m,1H),2.20(s,3H),1.87(s,3H)。LC-MS:m/z 473[M+H]$^+$。

[1012] 方法A16

[1013] 

[1014] 实例60、61:(6S,8R)-N-(6-(二氟甲氧基)-5-甲基吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(6-(二氟甲氧基)-5-甲基吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1015] 实例62、63:(6S,8S)-N-(6-(二氟甲氧基)-5-甲基吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(6-(二氟甲氧基)-5-甲基吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1016] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1017] 步骤1:2-(二氟甲氧基)-3-甲基-5-硝基吡啶

[1018] 在0℃下,向3-甲基-5-硝基吡啶-2-醇(1g,6.5mmol)在ACN(20mL)中的搅拌的溶液中分批添加NaH(700mg,17.5mmol,60%在矿物油中)。将混合物在25℃下搅拌1h。在0℃下,逐滴添加2,2-二氟-2-(氟磺酰基)乙酸(2.1g,11.7mmol),并将所得的混合物在25℃下搅拌18h。用水(20mL)猝灭反应,并将所得的混合物用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将合并的有机层

用盐水(60mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:5)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(800mg,60%产率)。^{1}H NMR(300MHz,氯仿-d)δ8.92(d,J=2.7Hz,1H),8.36-8.34(m,1H),7.55(t,J=71.7Hz,1H),2.39(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):205[M+H]$^+$。

[1019] 步骤2:6-(二氟甲氧基)-5-甲基吡啶-3-胺

[1020] 向2-(二氟甲氧基)-3-甲基-5-硝基吡啶(700mg,3.4mmol)在EtOH(15mL)和水(5mL)中的搅拌的溶液中添加Fe(1.2g,20.6mmol)和NH_4Cl(366.9mg,6.9mmol)。将反应混合物在80℃下搅拌2h。过滤反应混合物,并在减压下浓缩滤液。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:3)洗脱以得到呈黄色油状物的标题化合物(500mg,83%产率)。LC-MS:m/z 175[M+H]$^+$。

[1021] 步骤3:反式-N-(6-(二氟甲氧基)-5-甲基吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(6-(二氟甲氧基)-5-甲基吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1022] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A1-7,70mg,222μmol)和6-(二氟甲氧基)-5-甲基吡啶-3-胺(58mg,333μmol)并在25℃下搅拌4h,获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(45mg,42%产率),LC-MS:m/z 472[M+H]$^+$;呈浅粉色固体的顺式异构体(25mg,23%产率),LC-MS:m/z 472[M+H]$^+$。

[1023] 步骤4:分离对映体,以获得实例60和实例61

[1024] 使30mg的反式-N-(6-(二氟甲氧基)-5-甲基吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Cellulose-SC,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度10%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):5.792;RT2(min):8.757;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.6mL;运行次数:3)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例60(7.1mg,23%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例61(9.0mg,29%产率)。

[1025] 实例60:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.51(s,1H),8.59(s,1H),8.30(d,J=2.4Hz,1H),8.03(d,J=2.0Hz,1H),7.66(t,J=73.2Hz,1H),7.63(s,1H),7.41(s,1H),6.55(d,J=4.8Hz,1H),4.43-4.48(m,1H),3.75(s,3H),2.83-2.89(m,1H),2.44-2.52(m,1H),2.22(s,3H),1.95(s,3H)。LC-MS:m/z 472[M+H]$^+$。

[1026] 实例61:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.51(s,1H),8.59(s,1H),8.30(d,J=2.4Hz,1H),8.03(d,J=2.0Hz,1H),7.66(t,J=73.2Hz,1H),7.63(s,1H),7.41(s,1H),6.55(d,J=4.8Hz,1H),4.43-4.48(m,1H),3.75(s,3H),2.83-2.89(m,1H),2.44-2.52(m,1H),2.22(s,3H),1.95(s,3H)。LC-MS:m/z 472[M+H]$^+$。

[1027] 步骤5:分离对映体,以获得实例62和实例63

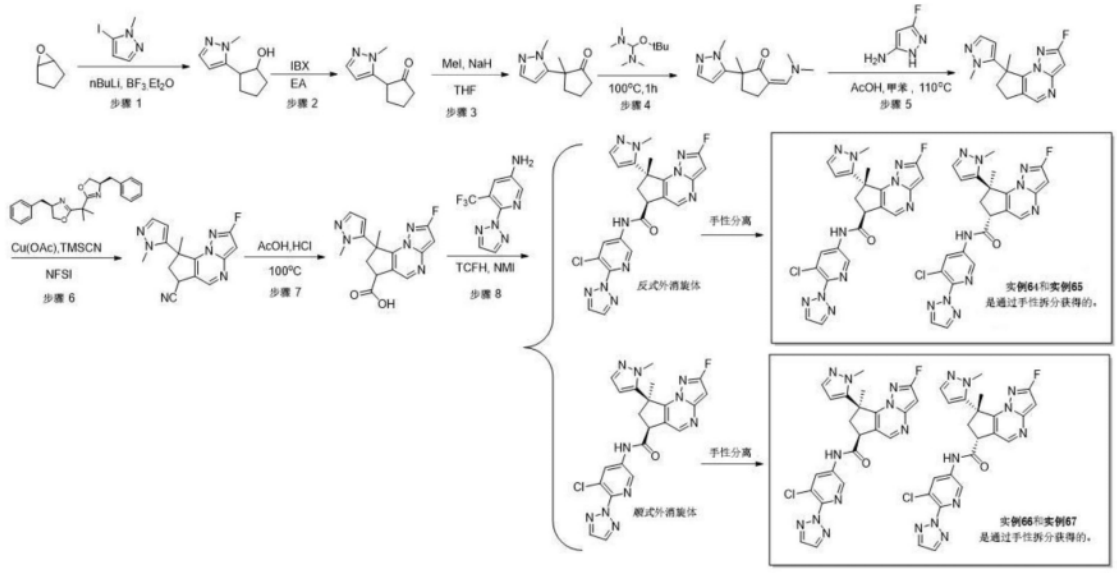
[1028] 使20mg的顺式-N-(6-(二氟甲氧基)-5-甲基吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IG,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.5%2M NH3-MeOH)--HPLC,

流动相B:EtOH--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度10%流动相B;波长:220/254nm;RT1(min):9.608;RT2(min):11.131;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.3mL;运行次数:4)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例62(2.8mg,13%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例63(2.6mg,12%产率)。

[1029] 实例62:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.51(s,1H),8.65(s,1H),8.28(d,J=2.4Hz,1H),8.01(d,J=2.0Hz,1H),7.65(t,J=73.2Hz,1H),7.61(s,1H),7.33(s,1H),6.53(d,J=4.8Hz,1H),4.42-4.47(m,1H),3.75(s,3H),2.75-2.81(m,1H),2.63-2.68(m,1H),2.21(s,3H),1.85(s,3H)。LC-MS:m/z 472[M+H]$^+$。

[1030] 实例63:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.51(s,1H),8.65(s,1H),8.28(d,J=2.4Hz,1H),8.01(d,J=2.0Hz,1H),7.65(t,J=73.2Hz,1H),7.61(s,1H),7.33(s,1H),6.53(d,J=4.8Hz,1H),4.42-4.47(m,1H),3.75(s,3H),2.75-2.81(m,1H),2.63-2.68(m,1H),2.21(s,3H),1.85(s,3H)。LC-MS:m/z 472[M+H]$^+$。

[1031] 方法A17

[1032] 

[1033] 实例64、65:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1034] 实例66、67:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1035] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1036] 步骤1:2-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)环戊烷-1-醇

[1037] 类似于方法A6步骤2,但使用5-碘-1-甲基-1H-吡唑(10g,48.0mmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(3.7g,46%产率)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.38(d,J=2.0Hz,1H),6.03(d,J=2.0Hz,1H),4.23(q,J=6.4Hz,1H),3.85(s,3H),3.02(m,1H),2.27(m,2H),1.94-1.59(m,4H)。LC-MS:m/z 167[M+H]$^+$。

[1038] 步骤2:2-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)环戊烷-1-酮

[1039] 类似于方法A10步骤2,但使用2-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)环戊烷-1-醇(7.5g,45.1mmol),搅拌16h并通过硅胶柱色谱法纯化产物,用EtOAc/PE(3:2)洗脱,获得呈黄色油状物的标题化合物(6g,80%产率)。LC-MS:m/z 165[M+H]$^+$。

[1040] 步骤3:2-甲基-2-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)环戊烷-1-酮

[1041] 在0℃下向2-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)环戊烷-1-酮(4.6g,28.0mmol)在THF(20mL)中的搅拌的溶液中分批添加NaH(1.3g,56.0mmol,60%在矿物油中)。将混合物在0℃下搅拌10min。在0℃下逐滴添加碘甲烷(2.7g,19.6mmol),并将所得的混合物在80℃下搅拌16h。用水(50mL)猝灭反应,并将所得的混合物用乙酸乙酯(3x 50mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(3:2)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(4g,80%产率)。LC-MS:m/z 179[M+H]$^+$。

[1042] 步骤4:5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)环戊烷-1-酮

[1043] 类似于方法A1步骤4,但使用在1-叔丁氧基-N,N,N',N'-四甲基-甲烷二胺(8.8g,50.5mmol)中的2-甲基-2-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)环戊烷-1-酮(4.5g,25.2mmol)并在100℃下搅拌16h,获得呈红色油状物的粗标题化合物(5.5g,93%产率)。LC-MS:m/z 234[M+H]$^+$。

[1044] 步骤5:2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶

[1045] 类似于方法A1步骤5,但使用5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)环戊烷-1-酮(5.5g,23.5mmol),获得呈黄色固体的标题化合物(1.8g,28%产率)。LC-MS:m/z 272[M+H]$^+$。

[1046] 步骤6:2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈

[1047] 类似于方法A1步骤6,但使用在氯苯(150mL)中的2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑[1,5-a]嘧啶(1.5g,5.5mmol),获得呈黄色固体的标题化合物(1.5g,91%产率)。LC-MS:m/z 297[M+H]$^+$。

[1048] 步骤7:2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[1049] 类似于方法A1步骤7,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈(1.5g,5.0mmol),在100℃下搅拌3h并通过制备型HPLC纯化产物,获得呈黄色固体的标题化合物(380mg,23%产率)。LC-MS:m/z 316[M+H]$^+$。

[1050] 步骤8:反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1051] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(200mg,634μmol)和5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(124mg,634μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(50mg,31%产率),LC-MS:m/z 493[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(70mg,44%产率),LC-MS:m/z

493[M+H]$^+$。

[1052] 步骤9:分离对映体,以获得实例64和实例65

[1053] 使50mg的反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:254/220nm;RT1(min):7.592;RT2(min):11.79;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.5mL;运行次数:4)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例64(21.2mg,83%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例65(17.0mg,66%产率)。

[1054] 实例64:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.18(s,1H),8.79(s,1H),8.73(d,J=2.0Hz,1H),8.58(d,J=2.0Hz,1H),8.17(s,2H),7.32(d,J=2.0Hz,1H),6.63(d,J=4.8Hz,1H),6.04(d,J=2.0Hz,1H),4.56-4.60(m,1H),3.46(s,3H),2.93-2.99(m,1H),2.62-2.67(m,1H),2.00(s,3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]$^+$。

[1055] 实例65:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.16(s,1H),8.79(s,1H),8.73(d,J=2.0Hz,1H),8.58(d,J=2.0Hz,1H),8.17(s,2H),7.32(d,J=2.0Hz,1H),6.63(d,J=4.8Hz,1H),6.04(d,J=2.0Hz,1H),4.56-4.60(m,1H),3.46(s,3H),2.93-2.99(m,1H),2.62-2.67(m,1H),2.00(s,3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]$^+$。

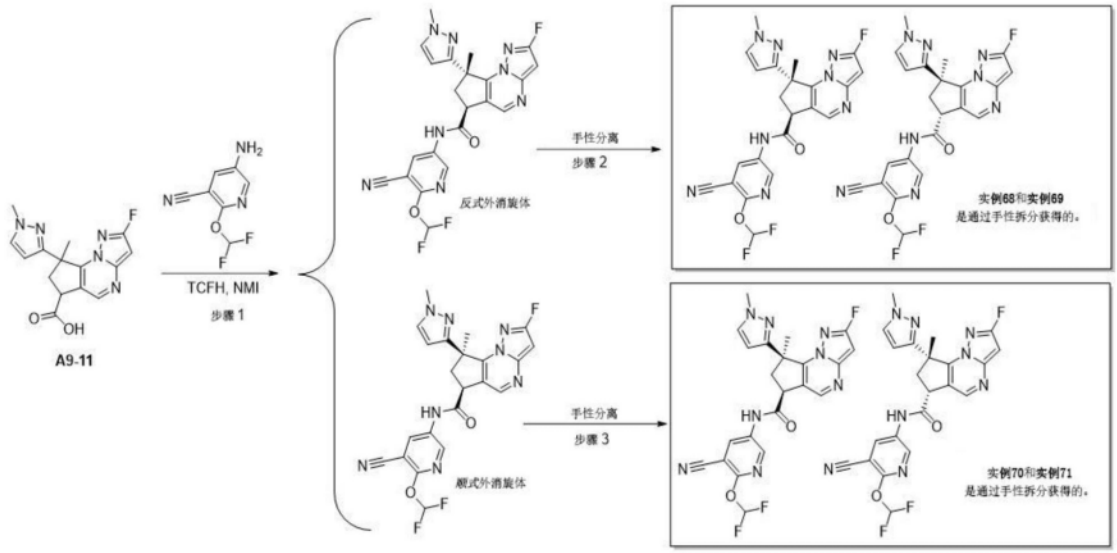
[1056] 步骤10:分离对映体,以获得实例66和实例67

[1057] 使70mg的顺式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF 2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:254/220nm;RT1(min):6.883;RT2(min):9.78;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1mL;运行次数:5)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例66(20.7mg,59%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例67(15.8mg,45%产率)。

[1058] 实例66:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.22(s,1H),8.76(s,1H),8.73(d,J=2.4Hz,1H),8.62(d,J=2.4Hz,1H),8.17(s,2H),7.38(d,J=2.0Hz,1H),6.61(d,J=4.8Hz,1H),6.38(d,J=2.0Hz,1H),4.63(t,J=8.4Hz,1H),3.23(s,3H),2.72-2.81(m,2H),1.89(s,3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]$^+$。

[1059] 实例67:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.22(s,1H),8.76(s,1H),8.73(d,J=2.4Hz,1H),8.62(d,J=2.4Hz,1H),8.17(s,2H),7.38(d,J=2.0Hz,1H),6.61(d,J=4.8Hz,1H),6.38(d,J=2.0Hz,1H),4.63(t,J=8.4Hz,1H),3.23(s,3H),2.72-2.81(m,2H),1.89(s,3H)。LC-MS:m/z 493[M+H]$^+$。

[1060] 方法A18

[1061] 

[1062] 实例68、69:(6S,8S)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1063] 实例70、71:(6S,8R)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1064] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1065] 步骤1:反式-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1066] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A9-11,80mg,254μmol)和5-氨基-2-(二氟甲氧基)吡啶-3-甲腈(94mg,507μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(15mg,11%产率),LC-MS:m/z 483$[M+H]^+$;呈白色固体的顺式异构体(40mg,32%产率),LC-MS:m/z 483$[M+H]^+$。

[1067] 步骤2:分离对映体,以获得实例68和实例69

[1068] 使40mg的反式-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IE 2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=1:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度10%流动相B;波长:254/220nm;RT1(min):5.063;RT2(min):6.557;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.5mL;运行次数:4)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例68(8.0mg,19%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例69(10.7mg,26%产率)。

[1069] 实例68:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.59(d,J=2.4Hz,1H),8.54-8.51(m,2H),8.35

(s,1H),7.45(t,J＝71Hz,1H),7.32(d,J＝2.4Hz,1H),6.64(d,J＝1.6Hz,1H),6.25(d,J＝5.2Hz,1H),4.61(t,J＝8.4Hz,1H),3.89(s,3H),3.44-3.49(m,1H),2.48-2.54(m,1H),2.11(s,3H)。LC-MS:m/z 483[M+H]$^+$。

[1070] 实例69:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.60(d,J＝2.4Hz,1H),8.54-8.51(m,2H),8.39(s,1H),7.45(t,J＝72Hz,1H),7.33(d,J＝2Hz,1H),6.65(d,J＝2Hz,1H),6.25(d,J＝5.2Hz,1H),4.63(t,J＝8.4Hz,1H),3.90(s,3H),3.45-3.50(m,1H),2.48-2.54(m,1H),2.09(s,3H)。LC-MS:m/z 483[M+H]$^+$。

[1071] 步骤3:分离对映体,以获得实例70和实例71

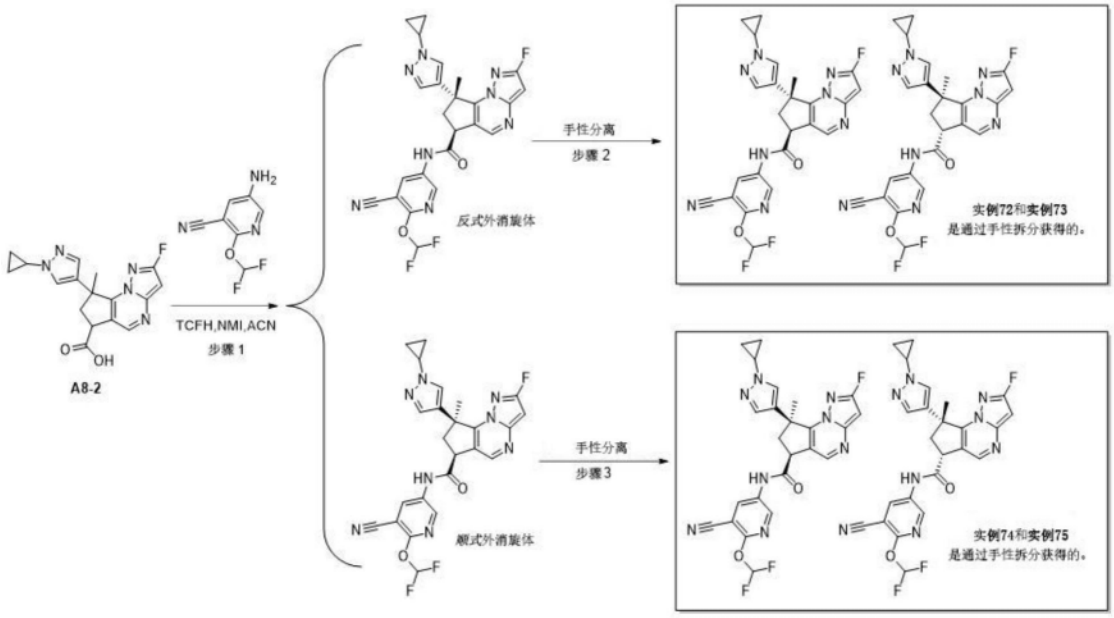
[1072] 使15mg的顺式-(6S,8R)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Cellulose-SC 2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM＝3:1(0.1%FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度20%流动相B;波长:254/220nm;RT1(min):8.977;RT2(min):14.167;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1mL;运行次数:4)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例70(4.7mg,31%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例71(3.9mg,25%产率)。

[1073] 实例70:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ10.65(s,1H),8.57(s,1H),8.47(s,2H),7.42(t,72Hz,1H),7.41(s,1H),6.73(d,J＝2Hz,1H),6.26(d,J＝5.2Hz,1H),4.47-4.51(m,1H),3.83(s,3H),3.16-3.21(m,1H),2.81-2.87(m,1H),2.07(s,3H)。LC-MS:m/z 483[M+H]$^+$。

[1074] 实例71:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ10.65(s,1H),8.57(s,1H),8.48(s,2H),7.43(t,J＝68Hz,1H),7.42(s,1H),6.74(d,J＝2.4Hz,1H),6.27(d,J＝4.8Hz,1H),4.48-4.51(m,1H),3.84(s,3H),3.16-3.20(m,1H),2.82-2.88(m,1H),2.07(s,3H)。LC-MS:m/z 483[M+H]$^+$。

[1075] 方法A19

[1076]



[1077] 实例72、73:(6S,8R)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-

7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1078] 实例74、75:(6S,8S)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1079] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1080] 步骤1:反式-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1081] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A8-2,50mg,146μmol)和5-氨基-2-(二氟甲氧基)吡啶-3-甲腈(27mg,146μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(20mg,26%产率),LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(10mg,13%产率),LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$。

[1082] 步骤2:分离对映体,以获得实例72和实例73

[1083] 使20mg的反式-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2x25 cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=1:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度10%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):4.331;RT2(min):5.782;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2.0mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例72(9.3mg,37%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例73(11.4mg,45%产率)。

[1084] 实例72:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ9.61(s,1H),8.62-8.67(m,2H),8.53(s,1H),8.14(s,1H),7.92(s,1H),7.41(t,J=71.6Hz,1H),6.29(d,J=4.8Hz,1H),4.57-4.59(m,1H),3.62-3.63(m,1H),3.29-3.30(m,1H),2.58-2.64(m,1H),2.08(s,3H),1.14-1.17(m,4H)。LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$。

[1085] 实例73:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ9.32(s,1H),8.60-8.64(m,2H),8.52(s,1H),7.94(s,1H),7.83(s,1H),7.42(t,J=71.6Hz,1H),6.29(d,J=4.8Hz,1H),4.52-4.54(m,1H),3.57-3.59(m,1H),3.18-3.20(m,1H),2.60-2.65(m,1H),2.07(s,3H),1.09-1.13(m,4H)。LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$。

[1086] 步骤3:分离对映体,以获得实例74和实例75

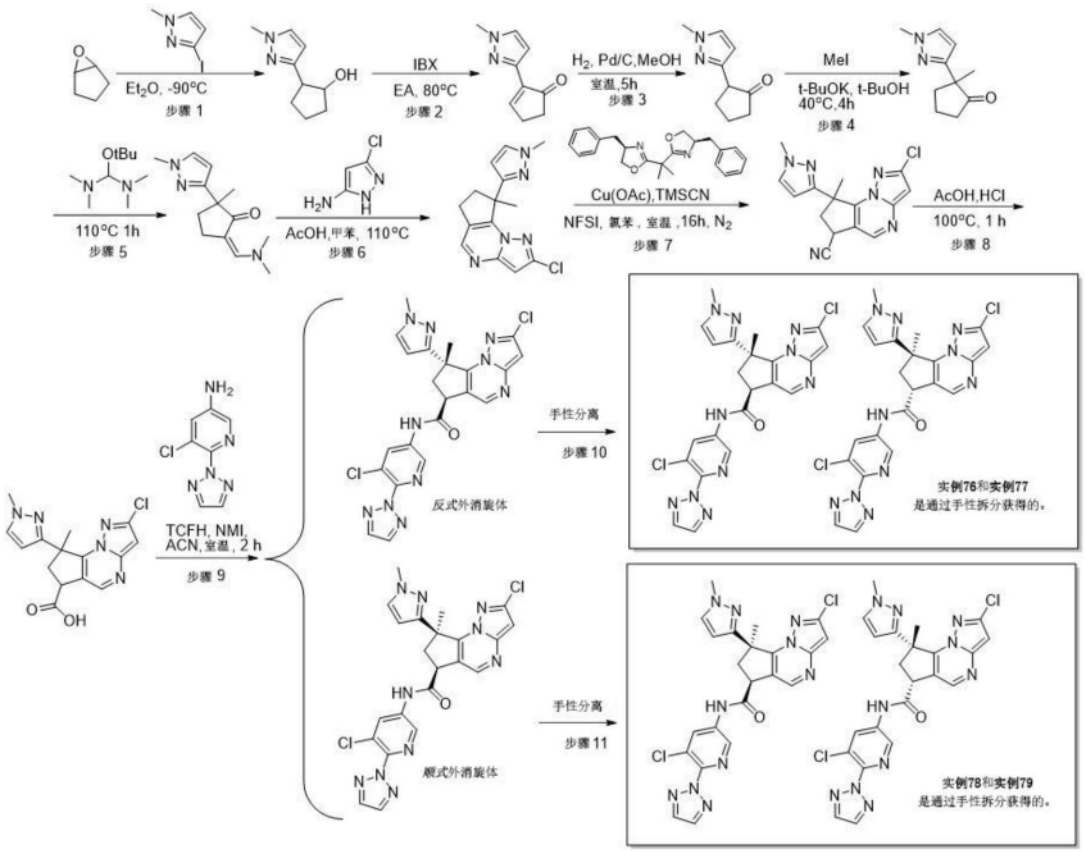
[1087] 使10mg的顺式-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25c,5μm;流动相A:Hex:DCM=1:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度10%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):6.881;RT2(min):16.445;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2.0mL;运行次数:2)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例74(3.2mg,31%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例75(2.3mg,22%产率)。

[1088] 实例74:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.57(s,1H),8.37(s,1H),8.28(s,1H),8.00(s,1H),7.60-7.64(m,2H),7.40(t,J=71.6Hz,1H),6.28(d,J=5.2Hz,1H),4.40-4.42(m,1H),3.53-3.56(m,1H),2.95-2.98(m,1H),2.82-2.88(m,1H),2.06(s,3H),1.00-1.11(m,4H)。LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$。

[1089] 实例75:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.62(s,1H),8.55(s,1H),8.38-8.42(m,2H),7.70-7.74(m,2H),7.39(t,J=71.6Hz,1H),6.27(d,J=4.8Hz,1H),4.48-4.50(m,1H),3.59-3.60(m,1H),2.86-2.99(m,2H),1.98(s,3H),1.08-1.12(m,4H)。LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$。

[1090] 方法A20

[1091]



[1092] 实例76、77:(6S,8S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1093] 实例78、79:(6S,8R)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1094] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1095] 步骤1:2-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-醇

[1096] 在-90℃下在氮气下向3-碘-1-甲基-1H-吡唑(16.07g,77.27mmol)在Et_2O(500mL)中的搅拌的溶液中逐滴添加正丁基锂(2.5M,30.9mL)。将反应混合物在-90℃下在氮气下搅拌1h。在-90℃下在氮气下逐滴添加6-氧杂双环[3.1.0]己烷(5g,59.44mmol),并将混合物

在-90℃下搅拌0.5h。在-90℃下逐滴添加三氟化硼乙醚(10.97g,77.27mmol),并将反应混合物在-90℃下在氮气下搅拌2h。用饱和氯化铵水溶液(500mL)淬灭反应混合物。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 500mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(6g,61%产率)。LC-MS:m/z 167[M+H]$^+$。

[1097] 步骤2:2-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)环戊-2-烯-1-酮

[1098] 类似于方法A1步骤2,但使用2-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-醇(15g,53.1mmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(6g,36%产率)。LC-MS:m/z 163[M+H]$^+$。

[1099] 步骤3:2-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮

[1100] 向2-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)环戊-2-烯-1-酮(6g,36.9mmol)在MeOH(300mL)中的搅拌的溶液中添加Pd/C(3.0g,2.5mmol,10%)。将混合物脱气,并且然后在氢气气氛下在25℃下搅拌5h。过滤混合物,并且在减压下浓缩滤液,以得到呈黄色油状物的粗标题化合物(6g)。LC-MS:m/z 165[M+H]$^+$。

[1101] 步骤4:2-甲基-2-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮

[1102] 类似于方法A1步骤3,但使用2-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮(5.9g,25.2mmol)并且在通过制备型HPLC纯化产物之后,获得呈黄色油状物的标题化合物(3.3g,62%产率)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.28(d,J=2.1Hz,1H),6.18(d,J=2.3Hz,1H),3.87(s,3H),2.55-2.66(m,1H),2.29-2.49(m,2H),1.86-2.08(m,3H),1.40(s,3H)。LC-MS:m/z179[M+H]$^+$。

[1103] 步骤5:5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮

[1104] 类似于方法A1步骤4,但使用在1-叔丁氧基-N,N,N',N'-四甲基-甲烷二胺(6.6g,38.2mmol)中的2-甲基-2-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮(3.4g,19.1mmol)并在110℃下搅拌1h,获得呈黄色油状物的粗标题化合物(4.2g)。LC-MS:m/z 234[M+H]$^+$。

[1105] 步骤6:2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶

[1106] 类似于方法A1步骤5,但使用5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮(5.9g,25.3mmol)和3-氯-1H-吡唑-5-胺(3.6g,30.4mmol),并在通过制备型HPLC纯化产物之后,获得呈黄色固体的标题化合物(2.5g,33%产率)。LC-MS:m/z 288[M+H]$^+$。

[1107] 步骤7:2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈

[1108] 类似于方法A1步骤6,但使用在氯苯(250mL)中的2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(1.5g,5.2mmol),获得呈黄色固体的标题化合物(800mg,49%产率)。LC-MS:m/z 313[M+H]$^+$。

[1109] 步骤8:2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-羧酸

[1110] 类似于方法A1步骤7,但使用2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈(1.1g,3.5mmol),并在通过制备型HPLC纯化产物

之后,获得呈黄色固体的标题化合物(800mg,68%产率)。LC-MS:m/z 332[M+H]$^+$。

[1111] 步骤9:反式-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1112] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氯-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(100mg,301μmol)和5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(59mg,301μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(30.5mg,83%产率),LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(9.9mg,6%产率),LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$。

[1113] 步骤10:分离对映体,以获得实例76和实例77

[1114] 使29mg的反式-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=1:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度10%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):7.935;RT2(min):12.65;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2.0mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例76(8.3mg,28%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例77(8.4mg,28%产率)。

[1115] 实例76:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.77(s,1H),8.70(d,J=2Hz,1H),8.57-8.60(m,2H),7.94(s,2H),7.36(d,J=2Hz,1H),6.73(s,1H),6.68(s,1H),4.69-4.73(m,1H),3.95(s,3H),3.50-3.59(m,1H),2.52-2.58(m,1H),2.14(s,3H)。LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$。

[1116] 实例77:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.70(d,J=2Hz,1H),8.49-8.54(m,3H),7.94(s,2H),7.29(d,J=2.4Hz,1H),6.66(s,1H),6.59(d,J=2.4Hz,1H),4.60-4.64(m,1H),3.85(s,3H),3.43-3.48(m,1H),2.51-2.56(m,1H),2.14(s,3H)。LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$。

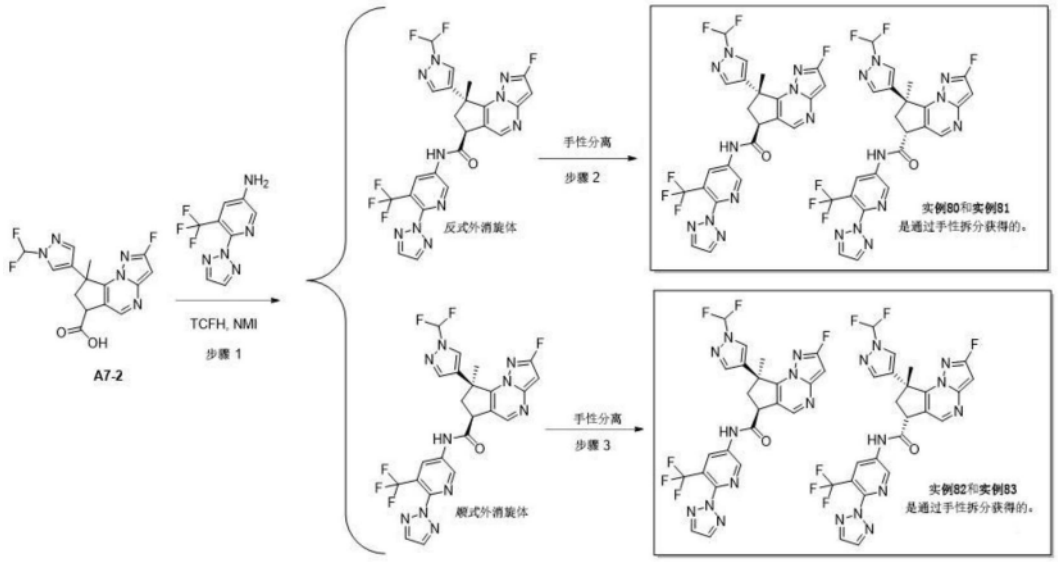
[1117] 步骤11:c实例78和实例79

[1118] 使9mg的顺式-2-氯-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=1:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度7%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):7.355;RT2(min):9.769;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.0mL;运行次数:3)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例78(1.8mg,19%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例79(2.1mg,23%产率)。

[1119] 实例78:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ10.70(s,1H),8.55-8.62(m,3H),7.92(s,2H),7.40(d,J=1.6Hz,1H),6.75(d,J=2.4Hz,1H),6.68(s,1H),4.51-4.54(m,1H),3.86(s,3H),3.26-3.30(m,1H),2.83-2.89(m,1H),2.11(s,3H)。LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$。

[1120] 实例79:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ10.71(s,1H),8.73(s,1H),8.62-8.67(m,2H),7.91(s,2H),7.48(s,1H),6.77(d,J=2.4Hz,1H),6.70(s,1H),4.54-4.56(m,1H),3.95(s,3H),3.21-3.27(m,1H),2.89-2.94(m,1H),2.08(s,3H)。LC-MS:m/z 509[M+H]$^+$。

[1121] 方法A21

[1122] 

[1123] 实例80、81:(6S,8R)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1124] 实例82、83:(6S,8S)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1125] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1126] 步骤1:反式-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1127] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A7-2,230mg,655μmol)和6-(三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(225mg,982μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈黄色固体的反式异构体(180mg,48%产率),LC-MS:m/z 563[M+H]$^+$;呈黄色固体的顺式异构体(120mg,32%产率),LC-MS:m/z 563[M+H]$^+$。

[1128] 步骤2:分离对映体,以获得实例80和实例81

[1129] 使180mg的反式-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.2%TFA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度10%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):8.605;RT2(min):13.295;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.4mL;运行次数:5)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈淡黄色固体的实例80

(35.9mg,19%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例81(18.4mg,10%产率)。

[1130] 实例80:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.22(s,1H),9.02(d,J=2Hz,1H),8.83(d,J=2.4Hz,1H),8.72(s,1H),8.21(s,1H),8.19(s,2H),7.84(s,1H),7.73(t,J=59.2Hz,1H),6.60(d,J=4.8Hz,1H),4.58(t,J=8Hz,1H),2.92-2.95(m,1H),2.58-2.63(m,1H),2.00(s,3H)。LC-MS:m/z 563[M+H]$^+$。

[1131] 实例81:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.22(s,1H),9.02(d,J=2.4Hz,1H),8.83(d,J=2Hz,1H),8.72(s,1H),8.21(s,1H),8.19(s,2H),7.84(s,1H),7.73(t,J=59.2Hz,1H),6.60(d,J=4.8Hz,1H),4.58(t,J=8Hz,1H),2.92-2.95(m,1H),2.58-2.63(m,1H),2.00(s,3H)。LC-MS:m/z 563[M+H]$^+$。

[1132] 步骤3:分离对映体,以获得实例82和实例83

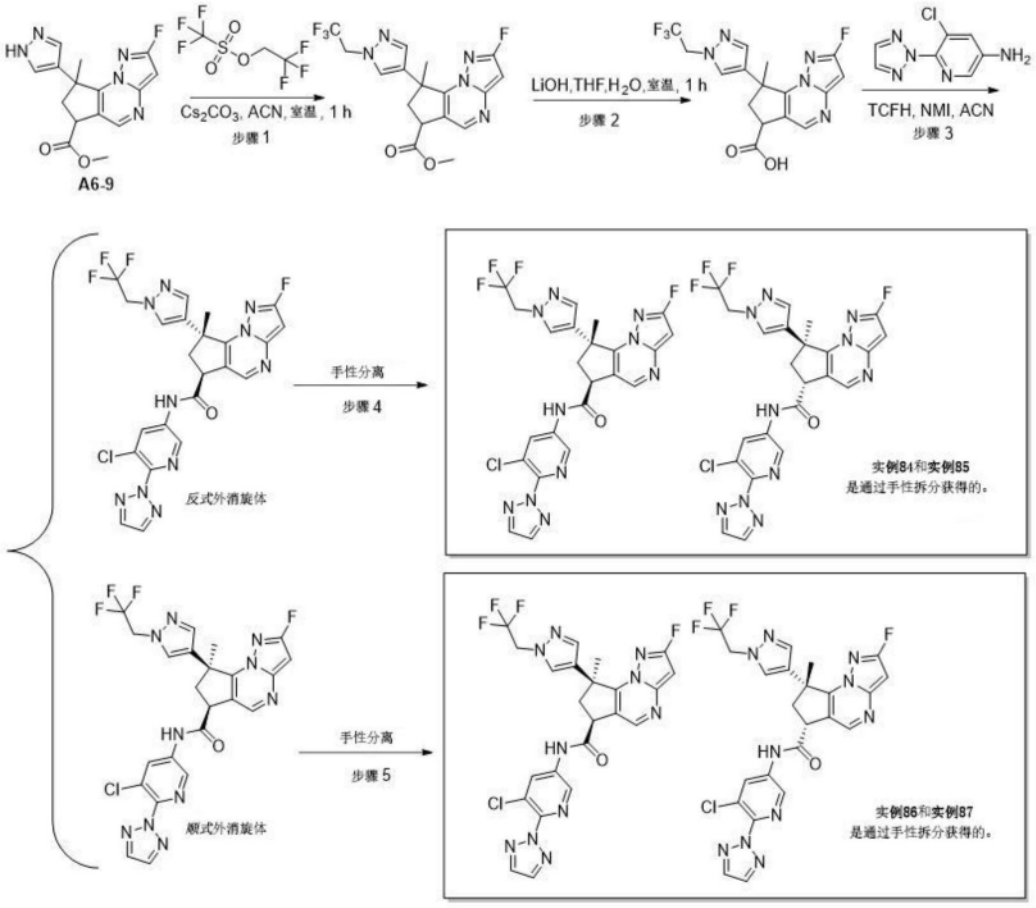
[1133] 使120mg的顺式-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IG 2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1%FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度10%流动相B;波长:254/220NM nm;RT1(min):9.392;RT2(min):10.063;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.4mL;运行次数:5)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例82(21.4mg,17%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例83(12.9mg,10%产率)。

[1134] 实例82:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.21(s,1H),9.01(d,J=2.4Hz,1H),8.76-8.79(m,2H),8.18-8.19(m,3H),7.77(s,1H),7.72(t,J=59.2Hz,1H),6.58(d,J=4.8Hz,1H),4.59-4.61(m,1H),2.84-2.90(m,1H),2.74-2.80(m,1H),1.91(s,3H)。LC-MS:m/z563[M+H]$^+$。

[1135] 实例83:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ:11.20(s,1H),9.01(d,J=2Hz,1H),8.76-8.79(m,2H),8.18-8.19(m,3H),7.77(s,1H),7.72(t,J=59.2Hz,1H),6.58(d,J=5.2Hz,1H),4.56-4.60(m,1H),2.84-2.90(m,1H),2.74-2.80(m,1H),1.91(s,3H)。LC-MS:m/z 563[M+H]$^+$。

[1136] 方法A22

[1137]



[1138] 实例84、85:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1139] 实例86、87:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1140] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1141] 步骤1:2-氟-8-甲基-8-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[1142] 向2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(A6-9,225mg,711μmol)在ACN(10mL)中的搅拌的溶液中添加碳酸铯(1g,3.0mmol)和三氟甲磺酸2,2,2-三氟乙酯(330mg,1.4mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌1h。将反应用水(20mL)淬灭,并将所得的混合物用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物使用90% DCM和10% MeOH作为洗脱剂通过硅胶柱色谱法纯化,以得到呈黄色油状物的标题化合物(170mg,54%产率)。LC-MS:m/z 398[M+H]$^+$。

[1143] 步骤2:2-氟-8-甲基-8-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[1144] 向2-氟-8-甲基-8-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(170mg,428μmol)在THF(1.5mL)中的搅拌的溶液中添加在水(0.5mL)中的LiOH(103mg,4.3mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌1h。用1M HCl将pH调节至约6,并将所得的混合物用乙酸乙酯(3x10 mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物使用90% DCM和10% MeOH作为洗脱剂通过硅胶柱色谱法纯化,以得到呈黄色油状物的标题化合物(140mg,68%产率)。LC-MS:m/z384[M+H]$^+$。

[1145] 步骤3:反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1146] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(130mg,339μmol)和5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(80mg,407μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(57mg,29%产率),LC-MS:m/z 561[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(37mg,19%产率),LC-MS:m/z 561[M+H]$^+$。

[1147] 步骤4:分离对映体,以获得实例84和实例85

[1148] 使50mg的反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Amylose-SA 2x25 cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1%FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度10%流动相B;波长:254/220NM nm;RT1(min):10.463;RT2(min):15.53;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:3mL;运行次数:5)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例84(8.1mg,16%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例85(8.6mg,17%产率)。

[1149] 实例84:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ9.45(s,1H),8.94(s,1H),8.67-8.70(m,2H),7.91(s,2H),7.68-7.72(m,2H),6.40(d,J=4.4Hz,1H),4.64-4.70(m,3H),3.08-3.12(m,1H),2.83-2.88(m,1H),2.14(s,3H)。LC-MS:m/z 561[M+H]$^+$。

[1150] 实例85:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ9.46(s,1H),8.94(s,1H),8.67-8.74(m,2H),7.92(s,2H),7.68-7.72(m,2H),6.42(d,J=4.4Hz,1H),4.66-4.71(m,3H),3.08-3.11(m,1H),2.83-2.90(m,1H),2.15(s,3H)。LC-MS:m/z 561[M+H]$^+$。

[1151] 步骤5:分离对映体,以获得实例86和实例87

[1152] 使30mg的顺式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Amylose-SA 2x25 cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1%FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度10%流动相B;波长:254/220NM nm;RT1(min):7.245;RT2(min):8.763;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2.5mL;运行次数:5)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例86

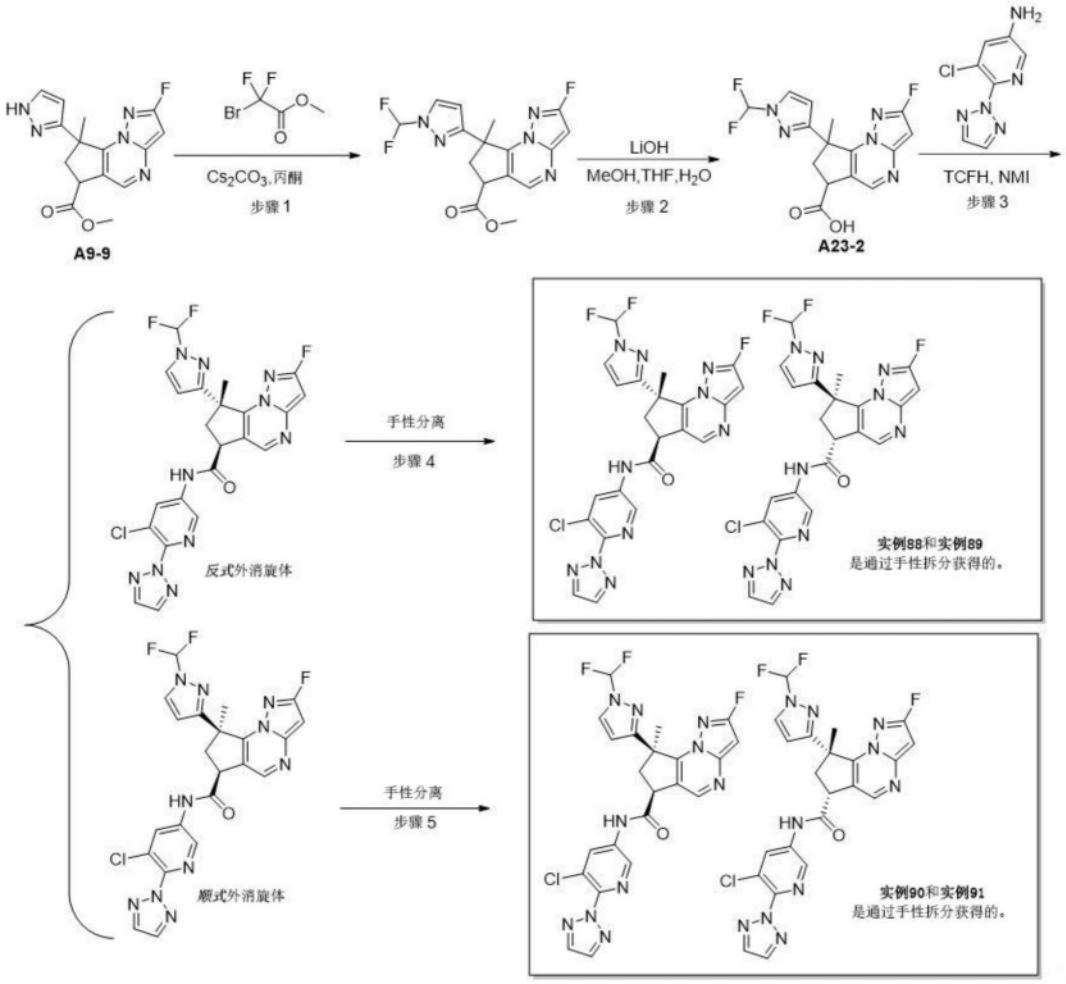
(4.8mg,15%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例87(4.2mg,13%产率)。

[1153] 实例86:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ9.06-9.19(m,2H),8.60-8.68(m,2H),7.90(s,2H),7.78-7.82(m,2H),6.43(d,J=5.2Hz,1H),4.63-4.70(m,3H),3.14-3.21(m,1H),2.82-2.92(m,1H),2.02(s,3H)。LC-MS:m/z 561[M+H]$^+$。

[1154] 实例87:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.90(s,1H),8.63(s,1H),8.56(s,1H),7.91(s,2H),7.73-7.75(m,2H),6.38(d,J=5.2Hz,1H),4.63-4.69(m,2H),4.50-4.54(m,1H),3.10-3.14(m,1H),2.85-2.90(m,1H),2.01(s,3H)。LC-MS:m/z 561[M+H]$^+$。

[1155] 方法A23

[1156]



[1157] 实例88、89:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1158] 实例90、91:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1159] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1160] 步骤1:8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[1161] 向2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(A9-9,500mg,1.6mmol)在丙酮(15mL)中的搅拌的溶液中添加碳酸铯(1.6g,4.7mmol)和2-溴-2,2-二氟乙酸甲酯(1.5g,7.9mmol)。将混合物在40℃下搅拌16h。用水(40mL)猝灭反应。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 40mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(90mg,13%产率)。LC-MS:m/z 366[M+H]$^+$。

[1162] 步骤2:8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A23-2)

[1163] 类似于方法A7步骤2,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(90mg,246μmol),获得呈黄色油状物的粗标题化合物(A23-2,50mg,46%产率)。LC-MS:m/z 352[M+H]$^+$。

[1164] 步骤3:反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1165] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(150mg,427μmol)和5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(100mg,512μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(120mg,53%产率),LC-MS:m/z 529[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(40mg,18%产率),LC-MS:m/z 529[M+H]$^+$。

[1166] 步骤4:分离对映体,以获得实例88和实例89

[1167] 使120mg的反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):5.826;RT2(min):9.373;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.2mL;运行次数:5)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例88(21.4mg,35%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例89(20.9mg,34%产率)。

[1168] 实例88:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.74(s,1H),8.66(s,1H),8.57(s,1H),8.21(s,1H),7.96(s,2H),7.76(d,J=2.4Hz,1H),7.06(t,J=60.8Hz,1H),6.79(d,J=2.8Hz,1H),6.33(d,J=5.2Hz,1H),4.58(t,J=8.2Hz,1H),3.41-3.46(m,1H),2.67-2.61(m,1H),2.17(s,3H)。LC-MS:m/z 529[M+H]$^+$。

[1169] 实例89:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.74(d,J=1.6Hz,2H),8.61(s,1H),8.39(s,1H),7.96(s,2H),7.76(d,J=2.8Hz,1H),7.06(t,J=60.8Hz,1H),6.78(d,J=2.4Hz,1H),6.35(d,J=3.9Hz,1H),4.61(d,J=8Hz,1H),3.40-3.45(m,1H),2.66-2.71(m,1H),2.18(s,3H)。LC-MS:m/z 529[M+H]$^+$。

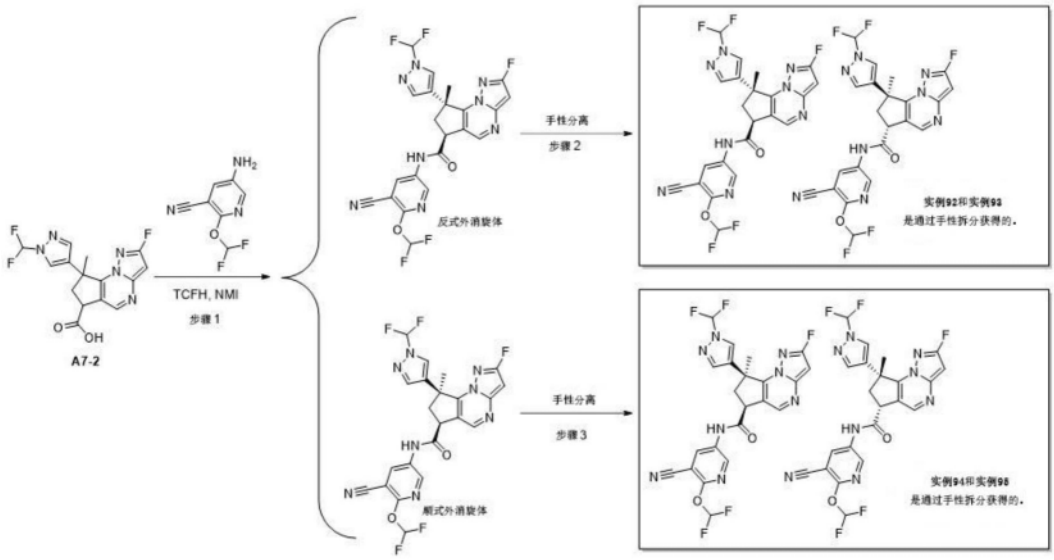
[1170] 步骤5:分离对映体,以获得实例90和实例91

[1171] 使40mg的顺式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IG,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:IPA--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度20%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):8.144;RT2(min):13.369;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.5mL;运行次数:3)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例90(14.2mg,71%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例91(8.9mg,44%产率)。

[1172] 实例90:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ9.43(s,1H),8.66(s,1H),8.50-8.52(m,1H),8.47(s,1H),7.94(s,2H),7.83(d,J=2.4Hz,1H),6.84-7.15(m,2H),6.32(d,J=5.2Hz,1H),4.54-4.58(m,1H),3.36-3.41(m,1H),2.86-2.93(m,1H),2.15(s,3H)。LC-MS:m/z 529 $[M+H]^+$。

[1173] 实例91:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ9.41(s,1H),8.75(s,1H),8.52-8.67(m,2H),7.95(s,2H),7.83(d,J=2.4Hz,1H),6.84-7.15(m,2H),6.32(d,J=4.4Hz,1H),4.54-4.57(m,1H),3.36-3.41(m,1H),2.86-2.92(m,1H),2.16(s,3H)。LC-MS:m/z 529$[M+H]^+$。

[1174] 方法A24

[1175] 

[1176] 实例92、93:(6S,8R)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1177] 实例94、95:(6S,8S)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1178] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1179] 步骤1:反式-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,

8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1180] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A7-2,240mg,683μmol)和5-氨基-2-(二氟甲氧基)吡啶-3-甲腈(190mg,1.0mmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(60mg,16%产率),LC-MS:m/z 519[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(40mg,11%产率),LC-MS:m/z 519[M+H]$^+$。

[1181] 步骤2:分离对映体,以获得实例92和实例93

[1182] 使60mg的反式-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2x25 cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):4.269;RT2(min):7.473;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.5mL;运行次数:3)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例92(15.0mg,24%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例93(19.4mg,32%产率)。

[1183] 实例92:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.88(s,1H),8.63-8.68(m,3H),8.20(s,1H),7.57-7.93(m,3H),6.59(d,J=4.8Hz,1H),4.48-4.52(m,1H),2.87-2.90(m,1H),2.57-2.60(m,1H),1.98(s,3H)。LC-MS:m/z 519[M+H]$^+$。

[1184] 实例93:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.89(s,1H),8.63-8.68(m,3H),8.20(s,1H),7.57-7.93(m,3H),6.59(d,J=4.8Hz,1H),4.48-4.52(m,1H),2.85-2.92(m,1H),2.54-2.60(m,1H),1.98(s,3H)。LC-MS:m/z 519[M+H]$^+$。

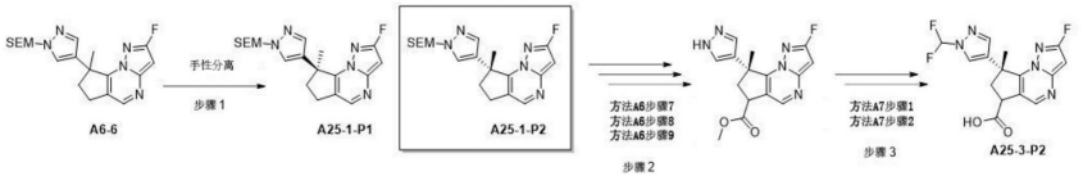
[1185] 步骤3:分离对映体,以获得实例94和实例95

[1186] 使40mg的顺式-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2x25 cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):4.168;RT2(min):5.831;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.9mL;运行次数:5)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例94(10.1mg,25%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例95(12.1mg,26%产率)。

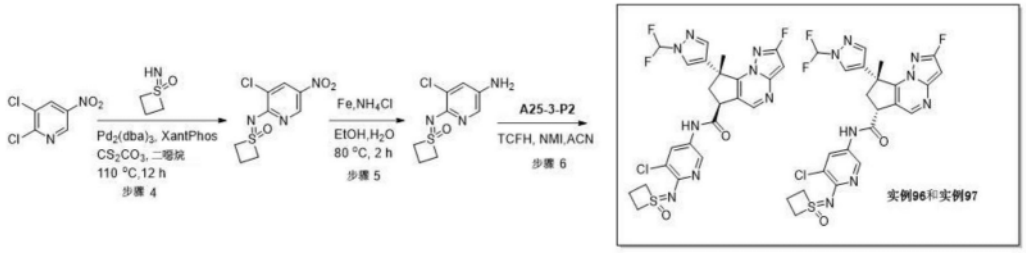
[1187] 实例94:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.88(s,1H),8.71(s,1H),8.66(d,J=2.4Hz,1H),8.59(d,J=2.8Hz,1H),8.18(s,1H),7.56-7.92(m,3H),6.57(d,J=5.2Hz,1H),4.49-4.52(m,1H),2.80-2.85(m,1H),2.66-2.72(m,1H),1.89(s,3H)。LC-MS:m/z519[M+H]$^+$。

[1188] 实例95:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.88(s,1H),8.71(s,1H),8.66(d,J=2.8Hz,1H),8.59(d,J=2.4Hz,1H),8.18(s,1H),7.56-7.92(m,3H),6.57(d,J=5.2Hz,1H),4.49-4.51(m,1H),2.80-2.85(m,1H),2.68-2.72(m,1H),1.89(s,3H)。LC-MS:m/z519[M+H]$^+$。

[1189] 方法A25



[1190]



[1191] 实例96、97:(6S,8R)-N-(5-氯-6-((1-氧化-1λ^6-硫杂环丁烷-1-亚基)氨基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-((1-氧化-1λ^6-硫杂环丁烷-1-亚基)氨基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1192] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1193] 步骤1:(S)-2-氟-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(A25-1-P1)和(R)-2-氟-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(A25-1-P2)

[1194] 使3g的2-氟-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(A6-6)经受手性HPLC纯化(柱:daicel chiral pakia,250*50mm,10um;流动相A:CO2,流动相B:IPA(0.1% NH3H2O);流速:200g/min;梯度:等度25%流动相B;波长:220nm;柱温度(℃):40;系统背压:100巴。RT1(min):3.68;RT2(min):6.71,样品溶剂:IPA---制备型;注入体积:8.5mL。运行次数:6)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈淡黄色油状物的A25-1-P1(1.3g),LC-Ms:m/z388[M+H]$^+$。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈淡黄色油状物的A25-1-P2(1.32g),LC-Ms:m/z 388[M+H]$^+$。

[1195] 步骤2:(8R)-2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[1196] 使用(R)-2-氟-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(A25-1-P2),并且依次按照方法A6步骤7、步骤8和步骤9中描述的反应条件,获得呈黄色油状物的标题化合物。

[1197] 步骤3:(8R)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A25-3-P2)

[1198] 使用(8R)-2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯,并且依次按照方法A7步骤1和步骤2中描述的反应条件,获得呈黄色油状物的标题化合物(A25-3-P2)。

[1199] 步骤4:1-((3-氯-5-硝基吡啶-2-基)亚氨基)-1λ^6-硫杂环丁烷1-氧化物

[1200] 在氮气气氛下,向2,3-二氯-5-硝基吡啶(200mg,1.0mmol)和1-亚氨基-1λ^6-硫杂环丁烷1-氧化物(109mg,1.0mmol)在二噁烷(6mL)中的搅拌的溶液中添加$Pd_2(dba)_3$(95mg,104μmol)、XantPhos(120mg,207μmol)和Cs_2CO_3(1.0g,3.1mmol)。将所得的混合物在110℃下搅拌12h。将混合物冷却至25℃。通过添加水(20mL)猝灭反应混合物。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱液通过硅胶柱色谱法纯化,以得到呈黄色油状物的标题化合物(140mg,51%产率)。LC-MS:m/z 262[M+H]$^+$。

[1201] 步骤5:1-((5-氨基-3-氯吡啶-2-基)亚氨基)-1λ^6-硫杂环丁烷1-氧化物

[1202] 向1-((3-氯-5-硝基吡啶-2-基)亚氨基)-1λ^6-硫杂环丁烷1-氧化物(120mg,459μmol)在乙醇(7mL)和水(2mL)中的溶液中添加Fe(128mg,2.3mmol)和NH_4Cl(123mg,2.3mmol)。将所得的混合物在80℃下搅拌2h。滤出固体。将滤液用水(10mL)稀释并用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥,并在减压下浓缩,以得到呈棕色固体的标题化合物(75mg,70%产率)。LC-MS:m/z 232[M+H]$^+$。

[1203] 步骤6:实例96和实例97

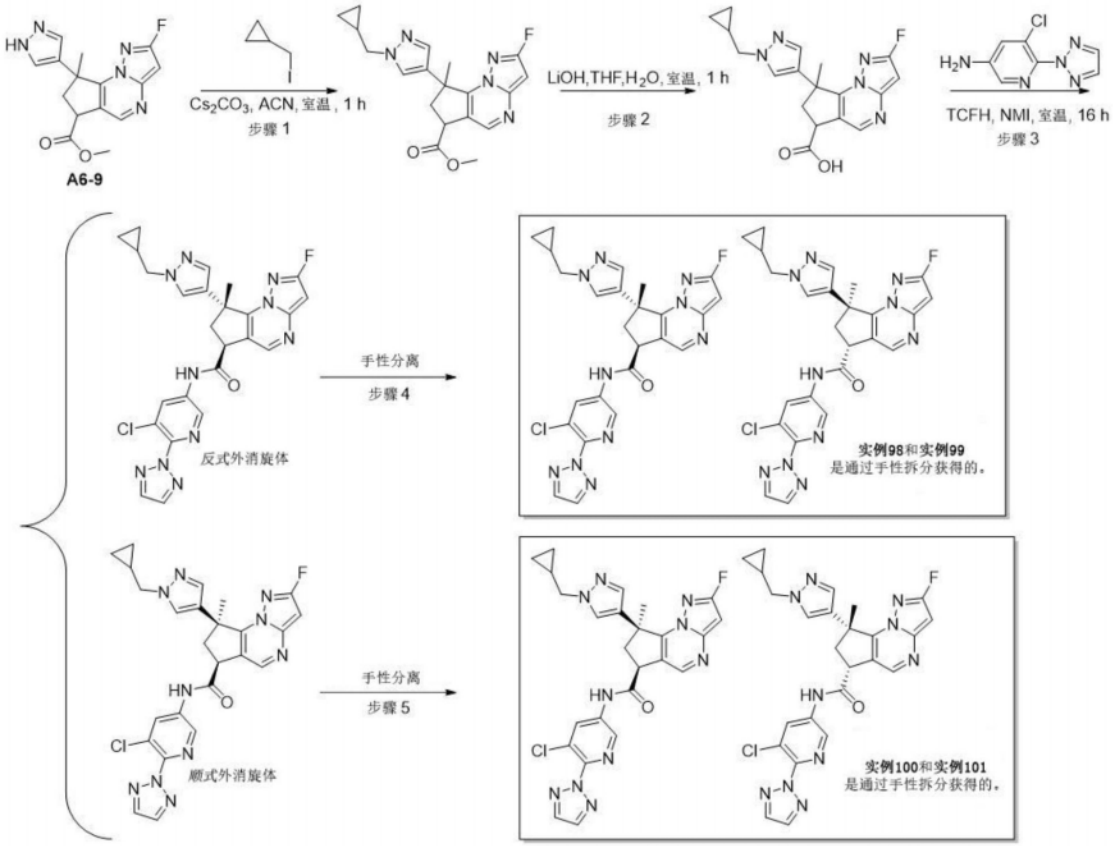
[1204] 类似于方法A1步骤8,但使用(8R)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A25-3-P2,75.8mg,215.8μmol)和1-((5-氨基-3-氯吡啶-2-基)亚氨基)-1λ^6-硫杂环丁烷1-氧化物(50mg,215.8μmol),获得非对映异构体标题化合物:呈灰白色固体的反式异构体实例96(3.1mg,2.5%产率)和呈白色固体的顺式-异构体实例97(3.4mg,2.8%产率)。

[1205] 实例96:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:10.45(s,1H),8.63(s,1H),8.25(d,J=2.4Hz,1H),8.19(s,1H),8.14(d,J=2.4Hz,1H),7.82(s,1H),7.72(t,J=58.8Hz,1H),6.58(d,J=4.8Hz,1H),4.28-4.46(m,5H),2.85-2.88(m,1H),2.50-2.55(m,1H),2.23-2.39(m,2H),1.98(s,3H)。LC-MS:m/z 565[M+H]$^+$。

[1206] 实例97:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:10.44(s,1H),8.69(s,1H),8.23(d,J=2.4Hz,1H),8.18(s,1H),8.09(d,J=2.4Hz,1H),7.75(s,1H),7.73(t,J=58.8Hz,1H),6.56(d,J=5.2Hz,1H),4.31-4.47(m,5H),2.77-2.83(m,1H),2.65-2.70(m,1H),2.23-2.35(m,2H),1.98(s,3H)。LC-MS:m/z 565[M+H]$^+$。

[1207] 方法A26

[1208]



[1209] 实例98、99:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(环丙基甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(环丙基甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1210] 实例100、101:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(环丙基甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(环丙基甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1211] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1212] 步骤1:8-(1-(环丙基甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[1213] 类似于方法A6步骤10,但使用2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(A6-9,225mg,711μmol),获得呈黄色固体的标题化合物(135mg,36%产率)。LC-MS(ES,m/z):370[M+H]$^+$。

[1214] 步骤2:8-(1-(环丙基甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[1215] 类似于方法A7步骤2,但使用8-(1-(环丙基甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(170mg,460μmol),获得呈黄色油状物的粗标题化合物(100mg,57%产率)。LC-MS(ES,m/z):356[M+H]$^+$。

[1216] 步骤3:(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(环丙基甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

和(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(环丙基甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1217] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(环丙基甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(100mg,281μmol)和5-氯-6-(三唑-2-基)吡啶-3-胺(55mg,281μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(48mg,30%产率),LC-MS(ES,m/z):533[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(37mg,23%产率),LC-MS(ES,m/z):533[M+H]$^+$。

[1218] 步骤4:分离对映体,以获得实例98和实例99

[1219] 使40mg的(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(环丙基甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:MtBE(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:14mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):7.463;RT2(min):12.304;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2.5mL;运行次数:3)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例98(8.0mg,19%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例99(8.2mg,19%产率)。

[1220] 实例98:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.74(d,J=1.2Hz,1H),8.70(s,1H),8.57(s,1H),7.88-8.23(m,2H),7.96(s,2H),6.31(d,J=4.8Hz,1H),4.56-4.66(m,1H),4.04-4.19(m,2H),3.22-3.43(m,1H),2.61-2.71(m,1H),2.13(s,3H),1.30-1.37(m,1H),0.70-0.76(m,2H),0.44-0.49(m,2H)。LC-MS(ES,m/z):533[M+H]$^+$。

[1221] 实例99:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.74(s,1H),8.70(s,1H),8.57(s,1H),7.90-8.26(m,2H),7.96(s,2H),6.31(d,J=5.2Hz,1H),4.55-4.70(m,1H),4.04-4.20(m,2H),3.28-3.40(m,1H),2.61-2.71(m,1H),2.13(s,3H),1.30-1.39(m,1H),0.70-0.76(m,2H),0.45-0.49(m,2H)。LC-MS(ES,m/z):533[M+H]$^+$。

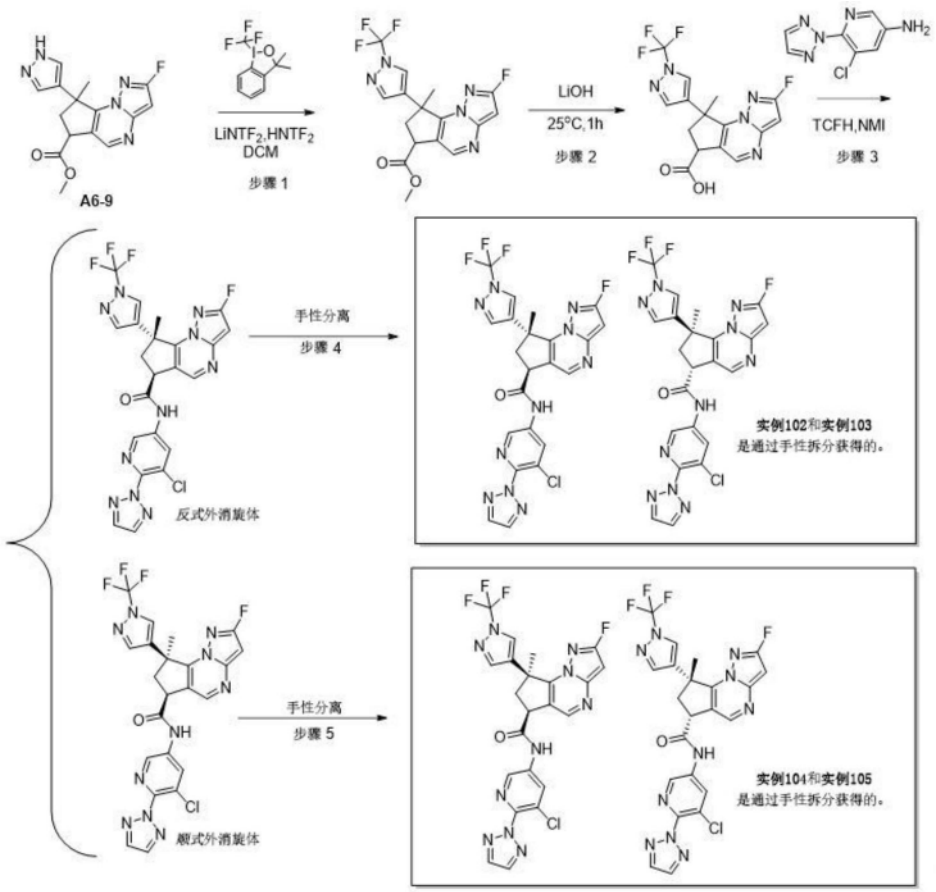
[1222] 步骤5:分离对映体,以获得实例100和实例101

[1223] 使30mg的(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(环丙基甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:MtBE(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:14mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):6.303;RT2(min):12.389;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2.0mL;运行次数:4)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例100(4.1mg,13%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例101(4.2mg,13%产率)。

[1224] 实例100:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.62(s,1H),8.53(s,1H),8.37-8.48(m,2H),7.94(s,2H),7.75(s,1H),7.73(s,1H),6.29(d,J=5.2Hz,1H),4.45-4.52(m,1H),3.93-4.08(m,2H),2.99-3.07(m,1H),2.85-2.95(m,1H),2.02(s,3H),1.20-1.30(m,1H),0.58-0.68(m,2H),0.32-0.41(m,2H)。LC-MS(ES,m/z):533[M+H]$^+$。

[1225] 实例101:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.80(s,1H),8.65(s,1H),8.46-8.56(m,2H),7.94(s,2H),7.81-7.86(m,2H),6.31(d,J=4.8Hz,1H),4.53-4.58(m,1H),4.03-4.10(m,2H),2.87-3.07(m,2H),2.02(s,3H),1.28(s,1H),0.63-0.70(m,2H),0.37-0.43(m,2H)。LC-MS(ES,m/z):533[M+H]$^+$。

[1226] 方法A27

[1227] 

[1228] 实例102、103:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1229] 实例104、105:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1230] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1231] 步骤1:2-氟-8-甲基-8-(1-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[1232] 向2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(1.0g,3.2mmol)在DCM(20mL)的搅拌的溶液中添加双((三氟甲基)磺酰基)酰胺锂(91mg,317μmol)和1,1,1-三氟-N-((三氟甲基)磺酰基)甲磺酰胺(892mg,3.2mmol),随后分批添加3,3-二甲基-1-(三氟甲基)-1,3-二氢-1λ^3-苯并[d][1,2]碘代吲哚(1.1g,3.2mmol)。将反应混合物在40℃下搅拌2h。用水(20mL)淬灭反应。将所得混合物用DCM(3x 20mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加在硅胶柱上并用EtOAc/PE(1:1)洗脱,以得到呈黄色固体的标题化合物(200mg,16%产率)。LC-MS:m/z 384[M+H]$^+$。

[1233] 步骤2:2-氟-8-甲基-8-(1-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[1234] 类似于方法A7步骤2,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(210mg,547.8μmol),获得呈黄色油状物的粗标题化合物(90mg),呈黄色固体。LC-MS:m/z 370[M+H]$^+$。

[1235] 步骤3:(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1236] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(90mg,244μmol)和5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(48mg,244μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈灰白色固体的反式异构体(13.5mg,10%产率),LC-MS:m/z 547[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(9.9mg,7.4%产率),LC-MS:m/z 547[M+H]$^+$。

[1237] 步骤4:分离对映体,以获得实例102和实例103

[1238] 使13mg的(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Amylose-SA,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1%FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):4.891;RT2(min):6.658;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.0mL;运行次数:2)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例103(3.0mg,23%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例102(2.4mg,18%产率)。

[1239] 实例102:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.12(s,1H),8.73(d,J=2.4Hz,1H),8.72(s,1H),8.60(d,J=2.4Hz,1H),8.49(s,1H),8.17(s,2H),8.00(s,1H),6.60(d,J=4.8Hz,1H),4.55-4.59(m,1H),2.90-2.96(m,1H),2.58-2.63(m,1H),2.00(s,3H)。LC-MS:m/z 547[M+H]$^+$。

[1240] 实例103:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.11(s,1H),8.73(d,J=2.0Hz,1H),8.72(s,1H),8.60(d,J=2.0Hz,1H),8.49(s,1H),8.17(s,2H),8.00(s,1H),6.60(d,J=4.8Hz,1H),4.55-4.59(m,1H),2.90-2.96(m,1H),2.58-2.63(m,1H),2.00(s,3H)。LC-MS:m/z 547[M+H]$^+$。

[1241] 步骤5:分离对映体,以获得实例104和实例105

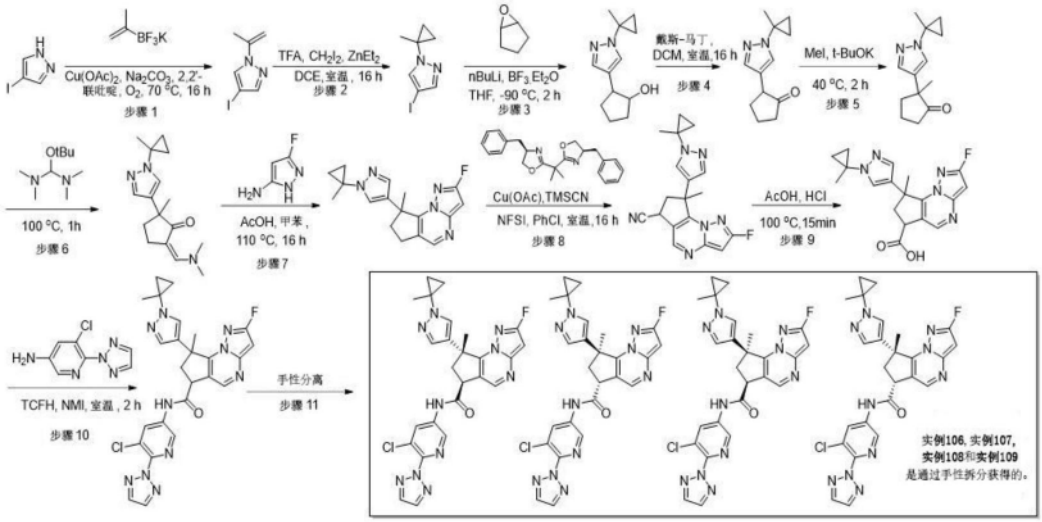
[1242] 使9mg的(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Amylose-SA,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1%FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度20%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):4.175;RT2(min):4.838;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.0mL;运行次数:2)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例105(1.1mg,12%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例104(2.9mg,32%产率)。

[1243] 实例104:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.09(s,1H),8.76(s,1H),8.73(d,J=2.0Hz,

1H),8.56(d,J＝2.0Hz,1H),8.47(s,1H),8.17(s,2H),7.92(s,1H),6.57(d,J＝4.8Hz,1H),4.55-4.59(m,1H),2.83-2.88(m,1H),2.72-2.77(m,1H),1.91(s,3H)。LC-MS:m/z 547[M+H]$^+$。

[1244] 实例105:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.09(s,1H),8.76(s,1H),8.73(d,J＝2.0Hz,1H),8.56(d,J＝2.0Hz,1H),8.47(s,1H),8.17(s,2H),7.92(s,1H),6.57(d,J＝4.8Hz,1H),4.55-4.58(m,1H),2.83-2.88(m,1H),2.72-2.77(m,1H),1.91(s,3H)。LC-MS:m/z 547[M+H]$^+$。

[1245] 方法A28

[1246] 

[1247] 实例106、107、108、109:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1248] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1249] 步骤1:4-碘-1-(丙-1-烯-2-基)-1H-吡唑

[1250] 向4-碘-1H-吡唑(20g,103.1mmol)在DCE(70mL)中的搅拌的溶液中添加二乙酰氧基铜(18.73g,103.1mmol)、2,2'-联吡啶(32.2g,206.2mmol)、碳酸钠(21.9g,206.2mmol)和三氟(丙-1-烯-2-基)硼酸钾(30.5g,206.2mmol)。将混合物在70℃下在氧气气氛下搅拌2h。用水(350mL)淬灭反应。将所得溶液用DCM(2x 350mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加在硅胶柱上并用PE/EtOAc(3:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(16.6g,61％产率)。LC-MS(ES,m/z):235[M+H]$^+$。

[1251] 步骤2:4-碘-1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑

[1252] 在0℃下在氮气下,向2,2,2-三氟乙酸(36.5g,320.4mmol)在DCE(200mL)中的溶液中添加二乙基锌(1M,320mL)的溶液。将混合物在0℃下搅拌20min。添加二碘甲烷(85.8g,320.4mmol)在DCE(200mL)中的溶液,并将混合物在氮气下在0℃下搅拌20min。添加4-碘-1-(丙-1-烯-2-基)-1H-吡唑(15g,64.1mmol)在DCE(200mL)中的溶液,并将混合物在25℃下在氮气下搅拌16h。用水(50mL)淬灭反应。将所得的混合物用DCM(2x 30mL)萃取。将合并的有

机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加在硅胶柱上并用PE/EtOAc(3:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(7.5g,47%产率)。LC-MS(ES,m/z):249[M+H]$^+$。

[1253] 步骤3:2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-醇

[1254] 类似于方法A6步骤2,但使用4-碘-1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑(7.9g,31.8mmol),获得呈黄色油状物的呈黄色油状物的标题化合物(0.9g,13%产率)。LC-MS:m/z 207[M+H]$^+$。

[1255] 步骤4:2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮

[1256] 类似于方法A10步骤2,但使用2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-醇(1.8g,8.7mmol),通过制备型HPLC纯化产物,获得呈黄色油状物的标题化合物(880mg,49%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:7.61(s,1H),7.28(s,1H),3.20-3.25(m,1H),2.13-2.38(m,3H),1.78-2.01(m,3H),1.52(s,3H),1.10-1.14(m,2H),0.82-0.88(m,2H)。LC-MS:m/z 205[M+H]$^+$。

[1257] 步骤5:2-甲基-2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮

[1258] 类似于方法A1步骤3,但使用2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(830mg,4.1mmol),并通过硅胶柱色谱法纯化产物,用PE/EA(1:1)洗脱,获得呈黄色油状物的标题化合物(500mg,39%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:7.61(s,1H),7.29(s,1H),2.19-2.35(m,3H),1.79-2.01(m,3H),1.51(s,3H),1.22(s,3H),1.08-1.16(m,2H),0.81-0.87(m,2H)。LC-MS:m/z 219[M+H]$^+$。

[1259] 步骤6:5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮

[1260] 类似于方法A1步骤4,但使用在1-叔丁氧基-N,N,N',N'-四甲基-甲烷二胺(719mg,4.2mmol)中的2-甲基-2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(450mg,2.1mmol),并在100℃下搅拌1,获得呈黄色油状物的粗标题化合物(500mg,88%产率),其被用于下一步骤而无需进一步纯化。LC-MS:m/z 274[M+H]$^+$。

[1261] 步骤7:2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶

[1262] 类似于方法A1步骤5,但使用5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(500mg,1.8mmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(480mg,84%产率)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.28(s,1H),7.40(s,1H),7.34(s,1H),6.12(d,J=4.8Hz,1H),2.89-3.02(m,2H),2.47-2.61(m,1H),2.19-2.33(m,1H),1.65(s,3H),1.57(s,3H),1.16-1.25(m,2H),0.82-0.90(m,2H)。LC-MS:m/z 312[M+H]$^+$。

[1263] 步骤8:2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈

[1264] 类似于方法A1步骤6,但使用在氯苯(50mL)中的2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(520mg,1.7mmol),获得呈黄色固体的标题化合物(150mg,17%产率)。LC-MS:m/z 337[M+H]$^+$。

[1265] 步骤9:2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[1266] 类似于方法A9步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈(90mg,268μmol),获得呈黄色固

体的标题化合物(80mg,84％产率)。LC-MS:m/z 356[M+H]$^+$。

[1267] 步骤10:N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1268] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(60mg,169μmol)和5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(40mg,203μmol),获得呈白色固体的标题化合物的所有立体异构体的混合物(27mg,30％产率)。LC-MS:m/z 533[M+H]$^+$。

[1269] 步骤11:分离对映体,以获得实例106、实例107、实例108和实例109

[1270] 使27mg的N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM＝3:1(0.1％ FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度50％流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):5.153;RT2(min):7.491;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.5mL;运行次数:3)。将第四洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例106(7.1mg,26％产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例109(1.2mg,4％产率)。将第三洗脱异构体和第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到混合物,使该混合物经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK ID,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1％ FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM＝1:1--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度70％流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):4.131;RT2(min):5.522;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.5mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例107(4.7mg,17％产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例108(1.2mg,4％产率)。

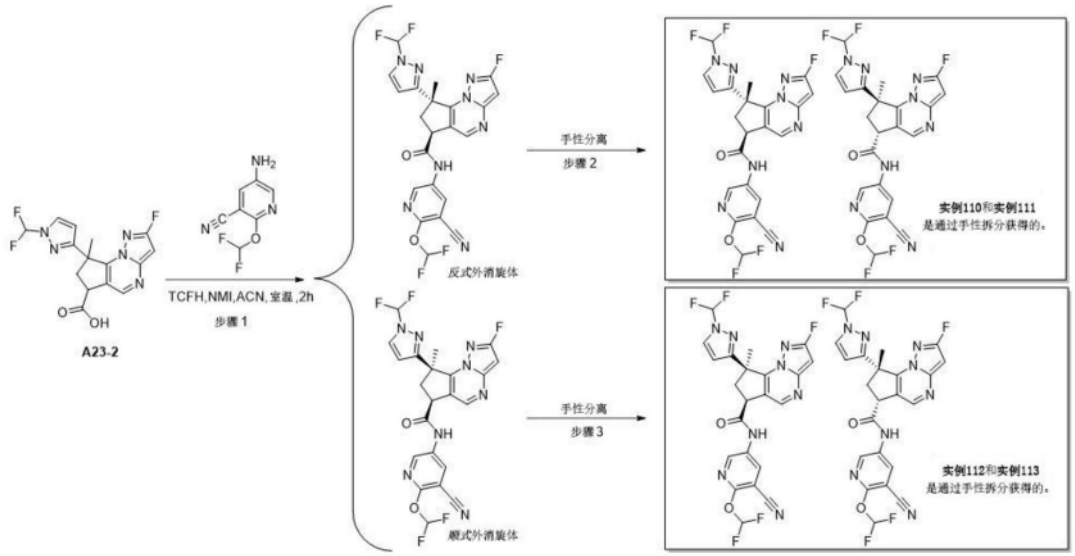
[1271] 实例106:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:8.84(s,1H),8.75(s,1H),8.58(s,1H),8.18(s,1H),7.95(s,2H),6.32(d,J＝5.2Hz,1H),4.69-4.84(m,1H),3.38-3.66(m,1H),2.52-2.63(m,1H),2.10(s,3H),1.74(s,3H),1.35-1.39(m,2H),1.10-1.25(m,2H)。LC-MS(ES,m/z):533[M+H]$^+$。

[1272] 实例107:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:9.05(s,1H),8.68(s,1H),8.50-8.56(m,2H),7.95(s,2H),7.63(s,1H),7.44(s,1H),6.29(d,J＝4.8Hz,1H),4.38-4.43(m,1H),3.00-3.04(m,1H),2.65-2.72(m,1H),2.08(s,3H),1.55(s,3H),1.12-1.23(m,2H),0.82-0.94(m,2H)。LC-MS(ES,m/z):533[M+H]$^+$。

[1273] 实例108:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:8.35-8.67(m,4H),7.94(s,2H),7.69-7.81(m,2H),6.31(d,J＝4.0Hz,1H),4.50-4.56(m,1H),2.74-3.21(m,2H),2.02(s,3H),1.60(s,3H),1.25-1.30(m,2H),0.90-0.98(m,2H)。LC-MS(ES,m/z):533[M+H]$^+$。

[1274] 实例109:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ:8.66(s,1H),8.52-8.56(m,2H),7.79-7.99(m,3H),7.75(s,1H),6.32(d,J＝4.8Hz,1H),4.50-4.56(m,1H),2.82-3.06(m,2H),1.99(s,3H),1.61(s,3H),1.20-1.33(m,2H),0.94-1.01(m,2H)。LC-MS(ES,m/z):533[M+H]$^+$。

[1275] 方法A29

[1276] 

[1277] 实例110、111:从含有以下物质的外消旋混合物获得的单一对映体:(6S,8S)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1278] 实例112、113:从含有以下物质的外消旋混合物获得的单一对映体:(6S,8R)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1279] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1280] 步骤1:(反式)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1281] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(110mg,313μmol)和5-氨基-2-(二氟甲氧基)烟腈(116mg,626mmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(35mg,21%产率),LC-MS(ES,m/z):519[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(20mg,10%产率),LC-MS(ES,m/z):519[M+H]$^+$。

[1282] 步骤2:分离对映体,以获得实例110和实例111

[1283] 使35mg的(反式)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):3.654;RT2(min):4.387;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.5mL;运行次数:4)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例110(11.4mg,37%产率)。将第一

洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例111(14.9mg,47%产率)。

[1284] 实例110:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.59-8.62(m,2H),8.54(s,1H),7.85(s,1H),7.75(d,J=2.4Hz,1H),7.47(t,J=71.6Hz,1H),7.05(t,J=60.8Hz,1H),6.78(d,J=2.8Hz,1H),6.31(d,J=4.8Hz,1H),4.50-4.56(m,1H),3.39-3.44(m,1H),2.58-2.63(m,1H),2.16(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):519[M+H]$^+$。

[1285] 实例111:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.61(d,J=2.4Hz,1H),8.57(s,1H),8.53(d,J=2.4Hz,1H),7.83(s,1H),7.75(d,J=2.8Hz,1H),7.47(t,J=71.6Hz,1H),7.05(t,J=60.8Hz,1H),6.78(d,J=2.8Hz,1H),6.30(d,J=5.2Hz,1H),4.48-4.53(m,1H),3.39-3.45(m,1H),2.57-2.62(m 1H),2.16(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):519[M+H]$^+$。

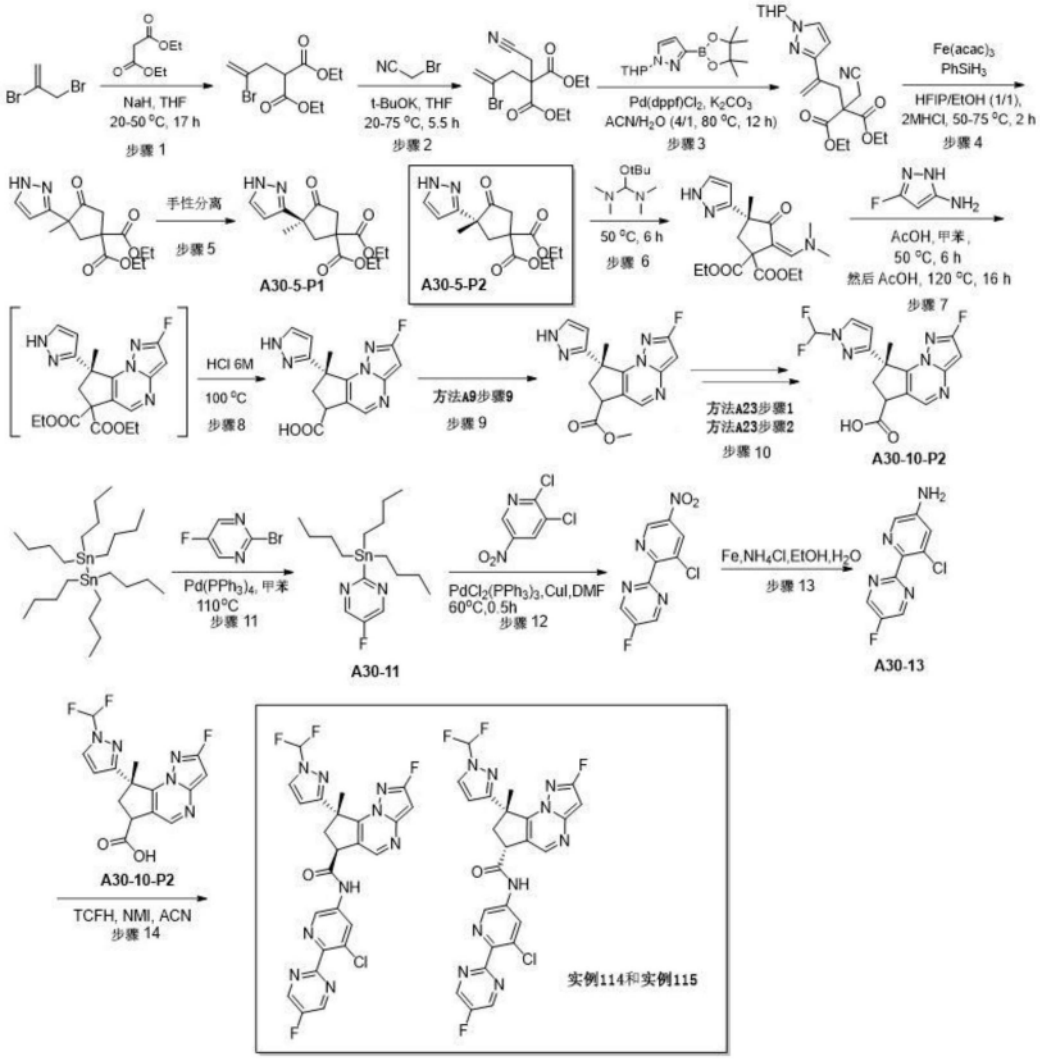
[1286] 步骤3:分离对映体,以获得实例112和实例113

[1287] 使20mg的(顺式)-N-(5-氰基-6-(二氟甲氧基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IG,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):4.302;RT2(min):5.481;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.6mL;运行次数:3)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例112(6.7mg,33%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例113(6.2mg,30%产率)。

[1288] 实例112:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ9.52(s,1H),8.63(s,1H),8.39-8.40(m,1H),8.35-8.36(m,1H),7.80(d,J=2.8Hz,1H),7.46(t,J=71.6Hz,1H),7.00(d,J=2.8Hz,1H),6.96(t,J=60.4Hz,1H),6.31(d,J=4.8Hz,1H),4.52-4.55(m,1H),3.33-3.38(m,1H),2.84-2.90(m,1H),2.15(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):519[M+H]$^+$。

[1289] 实例113:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ9.52(s,1H),8.63(s,1H),8.39-8.40(m,1H),8.35-8.36(m,1H),7.80(d,J=2.8Hz,1H),7.46(t,J=71.6Hz,1H),7.00(d,J=2.8Hz,1H),6.96(t,J=60.4Hz,1H),6.31(d,J=4.8Hz,1H),4.52-4.55(m,1H),3.33-3.38(m,1H),2.84-2.90(m,1H),2.15(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):519[M+H]$^+$。

[1290] 方法A30

[1291] 

[1292] 实例114、115:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(5-氟嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(5-氟嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1293] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1294] 步骤1:2-(2-溴烯丙基)丙二酸二乙酯

[1295] 在20℃下,向NaH(1.25g,32.5mmol,60%在矿物油中)在THF(35.0mL)中的混合物中添加丙二酸二乙酯(6.0g,37.5mmol),并将该混合物在20℃下搅拌1小时。将混合物冷却至0℃并添加2,3-二溴丙-1-烯(5.0g,25.0mmol)。将混合物在50℃下搅拌16h。将混合物倒入饱和NH_4Cl(50mL)中,并将其用EtOAc(2x 30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至10/1)纯化,以得到呈无色油状物的标题化合物(2.00g,7.17mmol)。

[1296] 步骤2:2-(2-溴烯丙基)-2-(氰甲基)丙二酸二乙酯

[1297] 在20℃下,向2-(2-溴烯丙基)丙二酸二乙酯(10.0g,35.8mmol)在THF(70.0mL)中的溶液中添加t-BuOK(4.82g,42.9mmol)并将混合物在20℃下搅拌0.5h。添加2-溴乙腈(5.16g,42.9mmol)并将混合物在75℃下搅拌5h。将混合物倒入H_2O(100mL)中,并将其用

EtOAc(2x 50mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至5/1)纯化,以得到呈无色油状物的标题化合物(8.90g,27.9mmol)。

[1298] 步骤3:2-(氰基甲基)-2-[2-(1-四氢吡喃-2-基吡唑-3-基)烯丙基]丙二酸二乙酯

[1299] 在N_2下,向2-(2-溴烯丙基)-2-(氰基甲基)丙二酸二乙酯(10.0g,31.4mmol)和1-四氢吡喃-2-基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)吡唑(17.4g,62.8mmol)在二噁烷(80.0mL)和H_2O(20.0mL)中的混合物中添加Pd(dppf)Cl_2(2.30g,3.14mmol)和K_2CO_3(8.69g,62.8mmol)。将混合物在N_2下在100℃下搅拌16h。将混合物倒入H_2O(100mL)中,并将其用EtOAc(2x 100mL)萃取。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO2,石油醚/乙酸乙酯=30/1至1/1)纯化,以获得呈无色油状物的标题化合物(2.30g,5.91mmol,18.7%产率)。LC-MS:m/z 390$[M+H]^+$。

[1300] 步骤4:3-甲基-4-氧代-3-(1H-吡唑-3-基)环戊烷-1,1-二甲酸二乙酯

[1301] 在N_2下,将$PhSiH_3$(3.75g,34.6mmol)在HFIP(22.5mL)和EtOH(22.5mL)中的溶液添加到含有2-(氰基甲基)-2-(2-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-3-基)烯丙基)丙二酸二乙酯(4.50g,11.5mmol)和Fe(acac)$_3$(2.04g,5.78mmol)的烧瓶中。将反应混合物在50℃下在N_2下搅拌1h。添加HCl(2M,45mL),并将反应混合物在75℃下在N_2下搅拌1h。将反应混合物倒入H_2O(10mL)中,并将其用EtOAc(2x 30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,并在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至0/1)纯化,以获得呈黄色油状物的标题化合物的外消旋混合物(1.20g)。LC-MS:m/z 309$[M+H]^+$。

[1302] 步骤5:分离对映体,以获得(S)-3-甲基-4-氧代-3-(1H-吡唑-3-基)环戊烷-1,1-二甲酸二乙酯(A30-5-P1)和(R)-3-甲基-4-氧代-3-(1H-吡唑-3-基)环戊烷-1,1-二甲酸二乙酯(A30-5-P2)

[1303] 使3-甲基-4-氧代-3-(1H-吡唑-3-基)环戊烷-1,1-二甲酸二乙酯(1.20g)经受手性SFC(柱:DAICEL CHIRALCEL OJ(250mm*30mm,10um);流动相:对于CO_2为A,并且对于IPA为B(0.1%NH_3H_2O);梯度:等度25%流动相B;流速:54g/min;波长:220nm;柱温度:35℃,系统背压:100巴。RT1(min)3.7;RT2(min)5.3。样品溶剂:IPA-制备型;注入体积:2mL;运行次数:40)。将第一洗脱异构体冻干,以得到呈黄色油状物的A30-5-P1(430mg),LC-MS:m/z 309$[M+H]^+$。将第二洗脱异构体冻干,以得到呈黄色油状物的A30-5-P2(440mg),LC-MS:m/z 309$[M+H]^+$。

[1304] 步骤6:(R)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(1H-吡唑-3-基)环戊烷-1,1-二甲酸二乙酯

[1305] 将在1-叔丁氧基-N,N,N',N'-四甲基甲烷二胺(6.44g,36.9mmol)中的(R)-3-甲基-4-氧代-3-(1H-吡唑-3-基)环戊烷-1,1-二甲酸二乙酯(A30-5-P2,3.80g,12.3mmol)在50℃下搅拌6h。将反应混合物在减压下浓缩,以得到粗标题化合物(4.60g),其被用于下一步骤而无需进一步纯化。LC-MS:m/z 364$[M+H]^+$。

[1306] 步骤7:(S)-2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6,6-二甲酸二乙酯

[1307] 向在AcOH(5mL)和甲苯(50mL)中的(R)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-甲基-3-氧代-4-(1H-吡唑-3-基)环戊烷-1,1-二甲酸二乙酯(4.60g,12.6mmol)中的溶液中添加3-氟-1H-吡唑-5-胺(1.54g,15.1mmol)。将混合物在50℃下搅拌6h。添加冰水(50mL),并将其用EtOAc(2x 30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,并在减压下浓缩。添加AcOH(50mL),并在120℃下搅拌16h。将反应混合物在减压下浓缩直到剩余体积的AcOH为大约5mL。将在AcOH(约5mL)中的标题化合物的该粗溶液直接用于下一步骤。LC-MS:m/z 402$[M+H]^+$。

[1308] 步骤8:(8S)-2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[1309] 在25℃下,向从先前步骤7获得的(S)-2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6,6-二羧酸二乙基酯在AcOH(约5mL)中的溶液中添加HCl(6M,50mL)。将反应混合物在100℃下搅拌3h。将混合物冷却并在减压下浓缩,以得到呈黄色油状物的粗标题化合物(3.30g),其被用于下一步骤而无需进一步纯化。LC-MS:m/z 302$[M+H]^+$。

[1310] 步骤9:(8S)-2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[1311] 使用粗品(8S)-2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(3.30g),并按照方法A9步骤9中描述的反应条件,获得呈黄色油状物的粗标题化合物(3.00g),其被用于下一步骤而无需进一步纯化。LC-MS:m/z 316$[M+H]^+$。

[1312] 步骤10:(8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-

[1313] 7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(A30-10-P2)

[1314] 使用(8S)-2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯,并依次按照方法A23步骤1和步骤2中描述的反应条件,获得呈黄色油状物的标题化合物(A30-10-P2)。LC-MS:m/z 352$[M+H]^+$。

[1315] 步骤11:5-氟-2-(三丁基锡烷基)嘧啶(A30-11)

[1316] 向2-溴-5-氟嘧啶(4.9g,27.6mmol)在甲苯(85mL)中的搅拌的溶液中添加1,1,1,2,2,2-六丁基二锡烷(32g,55.2mmol)和$Pd(PPh_3)_4$(3.2g,2.8mmol)。将所得的混合物在110℃下搅拌24h。用水(50mL)猝灭反应。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 50mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。使用85%石油醚和15%乙酸乙酯作为洗脱剂通过硅胶柱色谱法纯化残余物,以得到呈黄色固体的标题化合物(A30-11,4.6g,35%产率)。LC-MS:m/z 389$[M+H]^+$。

[1317] 步骤12:2-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-5-氟嘧啶

[1318] 向5-氟-2-(三丁基锡烷基)嘧啶(1.7g,4.4mmol)在DMF(16mL)中的搅拌的溶液中添加2,3-二氯-5-硝基吡啶(932mg,4.8mmol)、$PdCl_2(PPh_3)_2$(616mg,878μmol)和CuI(167mg,878μmol)。将所得的混合物在60℃下在氮气气氛下搅拌0.5h。允许混合物冷却至25℃并用水(30mL)淬灭。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 30mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物使用50%石油醚和50%乙酸乙酯作为洗脱剂通过硅胶柱色谱法纯化,以得到呈黄色固体的标题化合物(340mg,24%产率)。LC-MS:m/z 255$[M+H]^+$。

[1319] 步骤13:5-氯-6-(5-氟嘧啶-2-基)吡啶-3-胺(A30-13)

[1320] 向2-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-5-氟嘧啶(300mg,1.2mmol)在EtOH(5mL)和水(1mL)中的搅拌的混合物中添加Fe(197mg,3.5mmol)和NH_4Cl(315mg,5.9mmol)。将所得的混合物在80℃下搅拌1h。滤出固体。将滤液用水(20mL)稀释并用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。通过反相快速色谱法纯化残余物,以得到呈黄色固体的标题化合物(A30-13,80mg,28%产率)。LC-MS:m/z 225[M+H]$^+$。

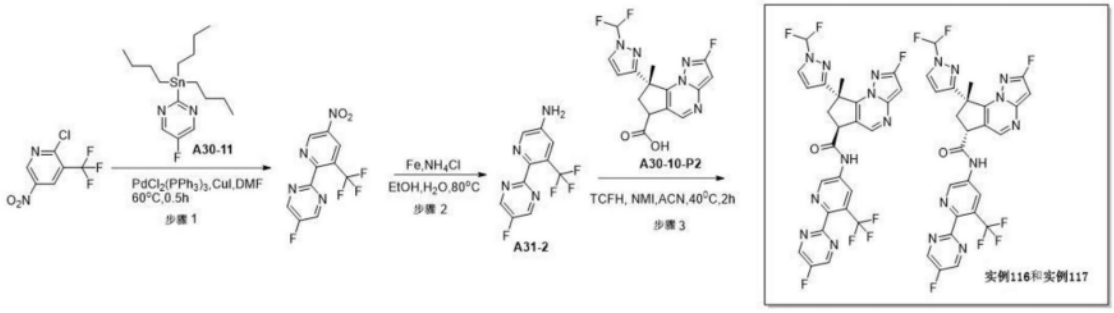
[1321] 步骤14:实例114和实例115

[1322] 类似于方法A1步骤8,但使用(8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A30-10-P2,41mg,116μmol)和5-氯-6-(5-氟嘧啶-2-基)吡啶-3-胺(39mg,174μmol),获得非对映异构体标题化合物:呈白色固体的反式异构体实例114(2.8mg,4%产率)和呈白色固体的顺式异构体实例115(1.1mg,2%产率)。

[1323] 实例114:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.01(s,1H),9.08(s,2H),8.80(s,1H),8.72(s,1H),8.47(s,1H),8.21(d,J=2.8Hz,1H),7.70(t,J=59.2Hz,1H),6.63(d,J=2.8Hz,1H),6.58(d,J=4.8Hz,1H),4.48-4.54(m,1H),3.00-3.07(m,1H),2.49-2.60(m,1H),2.04(s,3H)。LC-MS:m/z 558[M+H]$^+$。

[1324] 实例115:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.93(s,1H),9.08(s,2H),8.78(s,1H),8.73(s,1H),8.42(s,1H),8.15(s,1H),7.71(t,J=59.2Hz,1H),6.59(d,J=4.4Hz,1H),6.48(s,1H),4.55-4.59(m,1H),2.82-2.87(m,2H),1.92(s,3H)。LC-MS:m/z 558[M+H]$^+$。

[1325] 方法A31

[1326] 

[1327] 实例116、117:(6S,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-N-(6-(5-氟嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-N-(6-(5-氟嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1328] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1329] 步骤1:5-氟-2-(5-硝基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)嘧啶

[1330] 类似于方法A30步骤12,但使用2-氯-5-硝基-3-(三氟甲基)吡啶(966mg,4.3mmol),获得呈黄色固体的标题化合物(451mg,34%产率)。LC-MS:m/z 289[M+H]$^+$。

[1331] 步骤2:6-(5-氟嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(A31-2)

[1332] 类似于方法A30步骤13,但使用5-氟-2-(5-硝基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)嘧啶(190mg,659μmol),获得呈黄色固体的标题化合物(A31-2,95mg,53%产率)。LC-MS:m/z259[M+H]$^+$。

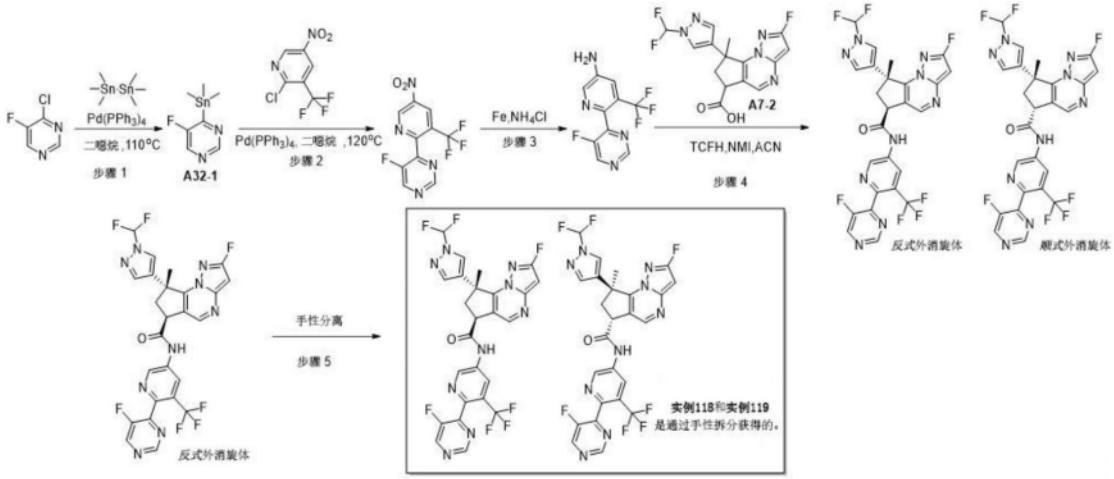
[1333] 步骤3:实例116和实例117

[1334] 类似于方法A1步骤8,但使用(8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A30-10-P2,40mg,114μmol)和6-(5-氟嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(35mg,136μmol),获得非对映异构体标题化合物:呈白色固体的反式异构体实例116(7.6mg,11%产率)和呈白色固体的顺式异构体实例117(5.2mg,8%产率)。

[1335] 实例116:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.14(s,1H),9.08(s,2H),9.07(s,1H),8.75(s,1H),8.72(d,J=2.4Hz,1H),8.21(d,J=2.8Hz,1H),7.70(t,J=59.2Hz,1H),6.63(d,J=2.8Hz,1H),6.59(d,J=4.8Hz,1H),4.51-4.56(t,J=8.1Hz,1H),3.00-3.08(m,1H),2.57-2.63(m,1H),2.04(s,3H)。LC-MS:m/z 592[M+H]$^+$。

[1336] 实例117:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.05(s,1H),9.08(s,2H),9.05(s,1H),8.75(s,1H),8.67(d,J=2.4Hz,1H),8.14(d,J=2.4Hz,1H),7.69(t,J=59.2Hz,1H),6.57(d,J=4.8Hz,1H),6.49(d,J=2.8Hz,1H),4.59(t,J=7.7Hz,1H),2.90-2.95(m,1H),2.81-2.86(m,1H),1.93(s,3H)。LC-MS:m/z 592[M+H]$^+$。

[1337] 方法A32

[1338] 

[1339] 实例118、119:(6S,8R)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-N-(6-(5-氟嘧啶-4-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-N-(6-(5-氟嘧啶-4-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1340] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1341] 步骤1:5-氟-4-(三甲基甲锡烷基)嘧啶(A32-1)

[1342] 向4-氯-5-氟-嘧啶(1g,7.6mmol)在二噁烷(15mL)中的搅拌的混合物中添加Pd(PPh$_3$)$_4$(875mg,757μmol)和1,1,1,2,2,2-六甲基二锡烷(3.7g,11.3mmol)。将所得的混合物在氮气气氛下在110℃下搅拌2h。允许混合物冷却至25℃。滤出固体,并在减压下浓缩滤液,以得到粗标题化合物(A32-1,1g)。LC-MS:m/z 263[M+H]$^+$。

[1343] 步骤2:5-氟-4-(5-硝基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)嘧啶

[1344] 向2-氯-5-硝基-3-(三氟甲基)吡啶(2g,8.8mmol)在二噁烷(10mL)中的搅拌的混合物中添加5-氟-4-(三甲基锡烷基)嘧啶(1g,3.8mmol)、PdCl$_2$(PPh$_3$)$_2$(532mg,758μmol)和CuI(144mg,756μmol)。将所得的混合物在氮气气氛下在110℃下搅拌1h。允许混合物冷却至25℃。将固体滤出。用水(20mL)淬灭反应。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将合并

的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物使用80％石油醚和20％乙酸乙酯作为洗脱剂通过硅胶柱色谱法纯化,以得到呈黄色固体的标题化合物(400mg,31％产率)。LC-MS:m/z 289[M+H]$^+$。

[1345] 步骤3:6-(5-氟嘧啶-4-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺

[1346] 类似于方法A30步骤13,但使用5-氟-4-(5-硝基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)嘧啶(0.2g,694μmol),获得呈黄色固体的标题化合物(150mg,77％产率)。LC-MS:m/z 259[M+H]$^+$。

[1347] 步骤4:(反式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-N-(6-(5-氟嘧啶-4-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-N-(6-(5-氟嘧啶-4-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1348] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A7-2,100mg,285μmol)和6-(5-氟嘧啶-4-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(88mg,341μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(13.6mg,8％产率),LC-MS:m/z 592[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(6.9mg,4％产率),LC-MS:m/z 592[M+H]$^+$。

[1349] 步骤5:分离对映体,以获得实例118和实例119

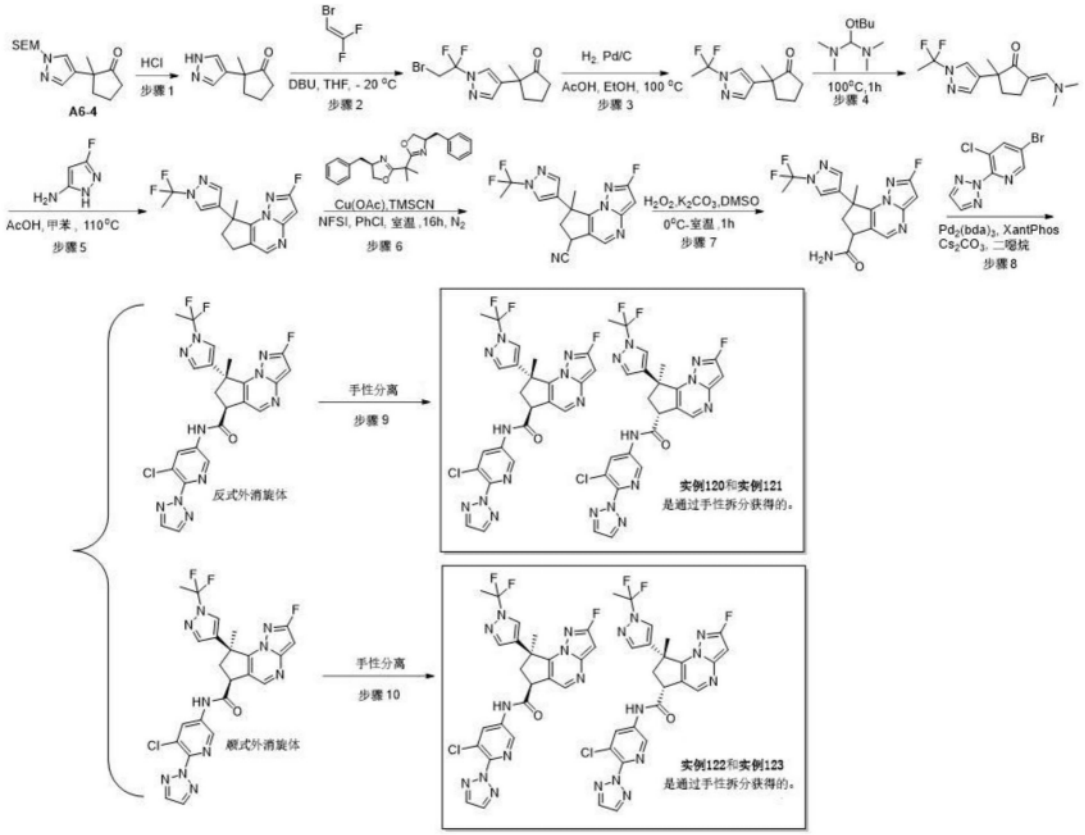
[1350] 使13mg的(反式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-N-(6-(5-氟嘧啶-4-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Cellulose-SB,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1％FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM＝1:1--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度50％流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):3.421;RT2(min):6.738;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.2mL;运行次数:1)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例118(2.7mg,22％产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例119(3.8mg,32％产率)。

[1351] 实例118:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.23(s,1H),9.22(d,J＝2.8Hz,1H),9.16(d,J＝2.0Hz,1H),9.13(d,J＝2.4Hz,1H),8.78(d,J＝2.4Hz,1H),8.75(s,1H),8.21(d,J＝2.4Hz,1H),7.71(t,J＝58.8Hz,1H),6.64(d,J＝2.8Hz,1H),6.59(d,J＝4.8Hz,1H),4.54(t,J＝8.1Hz,1H),3.04(dd,J＝12.8,8.4Hz,1H),2.60(dd,J＝12.8,7.6Hz,1H),2.04(s,3H)。LC-MS:m/z 592[M+H]$^+$。

[1352] 实例119:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.23(s,1H),9.22(d,J＝2.8Hz,1H),9.16(d,J＝1.6Hz,1H),9.13(d,J＝2.0Hz,1H),8.78(d,J＝2.4Hz,1H),8.75(s,1H),8.21(d,J＝2.4Hz,1H),7.71(t,J＝58.8Hz,1H),6.64(d,J＝2.8Hz,1H),6.59(d,J＝4.8Hz,1H),4.54(t,J＝8.1Hz,1H),3.04(dd,J＝13.0,8.4Hz,1H),2.60(dd,J＝13.0,7.9Hz,1H),2.04(s,3H)。LC-MS:m/z 592[M+H]$^+$。

[1353] 方法A33

[1354]



[1355] 实例120、121:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1356] 实例122、123:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1357] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1358] 步骤1:2-甲基-2-(1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮

[1359] 将2-甲基-2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(A6-4,2g,6.8mmol)在HCl(200mL,4M在MeOH中)中的溶液在80℃下搅拌1h。将混合物冷却至室温,并用饱和碳酸氢钠水溶液将pH调节至7-8。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩,以得到呈黄色油状物的标题化合物(1g,6.1mmol)。LC-MS:m/z 165[M+H]$^+$。

[1360] 步骤2:2-(1-(2-溴-1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-甲基环戊烷-1-酮

[1361] 在-20℃下,向2-甲基-2-(1H-吡唑-4-基)环戊烷-1-酮(2g,12.2mmol)和2,3,4,6,7,8,9,10-八氢嘧啶并[1,2-a]氮杂䓬(1.9g,12.2mmol)在THF(200mL)中的搅拌的溶液中缓慢添加2-溴-1,1-二氟乙烯(1.7g,12.2mmol)。将反应混合物在-20℃下搅拌3h。用水(200mL)终止反应。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 200mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加在硅胶柱上并用EtOAc/PE(4:1)洗脱,以得到呈无色

油状物的标题化合物(900mg,24%产率)。LC-MS:m/z 307[M+H]$^+$。

[1362] 步骤3:2-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-甲基环戊烷-1-酮

[1363] 向2-(1-(2-溴-1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-甲基环戊烷-1-酮(900mg,2.9mmol)在EtOH(20mL)和AcOH(1mL)中的溶液中添加Pd/C(125mg,10%)。将反应混合物脱气,并且然后在氢气气氛下在100℃下搅拌16h。将固体滤出并将滤液在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化残余物,以得到呈黄色油状物的标题化合物(600mg,89%产率)。LC-MS:m/z 229[M+H]$^+$。

[1364] 步骤4:2-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基环戊烷-1-酮

[1365] 类似于方法A1步骤4,但使用在1-叔丁氧基-N,N,N',N'-四甲基-甲烷二胺(1.4g,7.9mmol)中的2-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-甲基环戊烷-1-酮(600mg,2.6mmol),并在100℃搅拌1,获得呈红色油状物的粗标题化合物(600mg)。LC-MS:m/z 284[M+H]$^+$。

[1366] 步骤5:8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶

[1367] 类似于方法A1步骤5,但使用2-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基环戊-1-酮(600mg,2.1mmol),获得呈黄色固体的标题化合物(600mg,75%产率)。LC-MS:m/z 322[M+H]$^+$。

[1368] 步骤6:8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈

[1369] 类似于方法A1步骤6,但使用在氯苯(60mL)中的8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(600mg,1.9mmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(320mg,44%产率)。LC-MS:m/z 347[M+H]$^+$。

[1370] 步骤7:8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1371] 在25℃下向8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈(300mg,866μmol)和K_2CO_3(359mg,2.6mmol)在DMSO(7mL)中的搅拌的溶液中逐滴添加H_2O_2(7mL,在水中30%)。将混合物在25℃下搅拌30min。将反应用饱和硫代硫酸钠溶液(10mL)猝灭并用水(30mL)稀释。将所得混合物用乙酸乙酯(2x30mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过反向色谱法进行纯化并将收集的级分在减压下浓缩,以得到呈黄色油状物的标题化合物(180mg,48%产率)。LC-MS:m/z 365[M+H]$^+$。

[1372] 步骤8:(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1373] 向8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺(170mg,467μmol)在二噁烷(20mL)中的搅拌的溶液中添加5-溴-3-氯-2-(三唑-2-基)吡啶(121mg,467μmol)、$Pd_2(dba)_3$(48mg,47μmol)、Xantphos(54mg,

93μmol)和Cs_2CO_3(456mg,1.4mmol)。将混合物在110℃下在氮气气氛下搅拌1h。用水(100mL)淬灭反应。将所得混合物用乙酸乙酯(2x 100mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过反相柱色谱法纯化。将获得的产物通过制备型非手性SFC进一步纯化,以得到标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(50mg,18%产率),LC-MS:m/z 543[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(30mg,11%产率),LC-MS:m/z 543[M+H]$^+$。

[1374] 步骤9:分离对映体,以获得实例120和实例121

[1375] 使反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺(50mg,92μmol)经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Cellulose-SB,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):8.436;RT2(min):18.731;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2.0mL;运行次数:2)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例120(18.4mg,36%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例121(21.1mg,42%产率)。

[1376] 实例120:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.70(s,1H),8.61(s,1H),8.55(s,1H),8.18(s,1H),7.96(s,2H),7.83(s,1H),7.65(s,1H),6.34(d,J=4.4Hz,1H),4.40-4.45(m,1H),3.01-3.06(m,1H),2.73-2.78(m,1H),2.26(t,J=16.0Hz,3H),2.15(s,3H)。LC-MS:m/z543[M+H]$^+$。

[1377] 实例121:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.71(s,1H),8.67(s,1H),8.58(s,1H),8.34(s,1H),7.95(s,2H),7.85(s,1H),7.66(s,1H),6.35(d,J=4.8Hz,1H),4.43-4.49(m,1H),3.01-3.08(m,1H),2.74-2.82(m,1H),2.25(t,J=16.0Hz,3H),2.15(s,3H)。LC-MS:m/z543[M+H]$^+$。

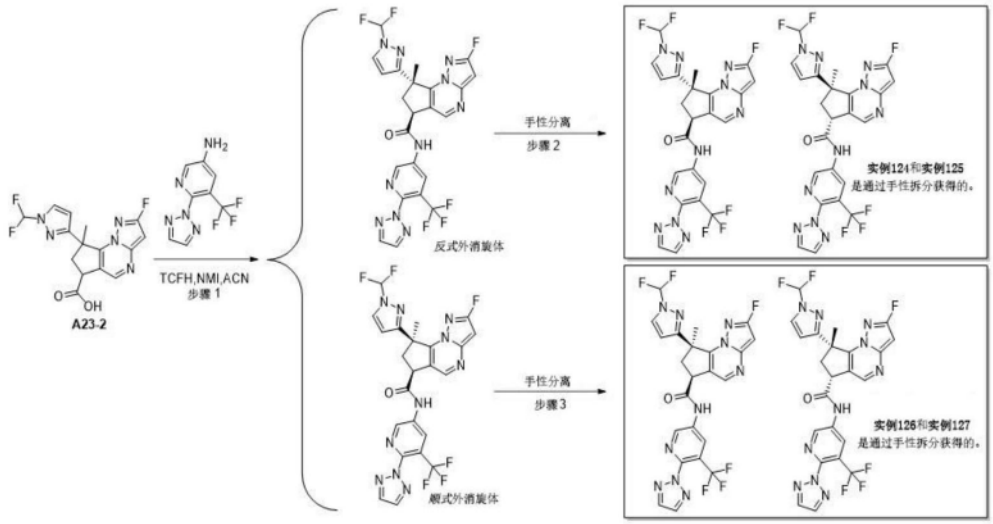
[1378] 步骤10:分离对映体,以获得实例122和实例123

[1379] 使顺式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺(30mg,55μmol)经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Cellulose-SB,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):8.855;RT2(min):11.409;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.2mL;运行次数:2)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例122(14.3mg,46%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例123(11.8mg,39%产率)。

[1380] 实例122:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.72(s,1H),8.59(s,1H),8.46(s,1H),7.94-7.98(m,4H),7.75(s,1H),6.37(d,J=5.2Hz,1H),4.43-4.47(m,1H),3.04-3.08(m,1H),2.88-2.94(m,1H),2.25(t,J=16.0Hz,3H),2.04(s,3H)。LC-MS:m/z 543[M+H]$^+$。

[1381] 实例123:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.68(s,1H),8.59(s,1H),8.44(s,1H),7.90-7.96(m,4H),7.75(s,1H),6.35(d,J=4.8Hz,1H),4.40-4.46(m,1H),3.02-3.08(m,1H),2.87-2.94(m,1H),2.25(t,J=16.0Hz,3H),2.03(s,3H)。LC-MS:m/z 543[M+H]$^+$。

[1382] 方法A34

[1383] 

[1384] 实例124、125:(6S,8S)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1385] 实例126、127:(6S,8R)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6S,8R)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1386] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1387] 步骤1:(反式)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1388] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A23-2,70mg,199μmol)和6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(68.5mg,299mmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(30mg,26%产率),LC-MS(ES,m/z):563[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(20mg,16%产率),LC-MS(ES,m/z):563[M+H]$^+$。

[1389] 步骤2:分离对映体,以获得实例124和实例125

[1390] 使30mg的(反式)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Cellulose-SB,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):5.954;RT2(min):13.761;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2.0mL;运行次数:2)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的

实例124(10.0mg,33%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例125(12.6mg,40%产率)。

[1391] 实例124:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.28(s,1H),9.03(d,J=2.4Hz,1H),8.83(d,J=2.8Hz,1H),8.74(s,1H),8.20(d,J=2.8Hz,2H),8.19(s,2H),7.70(t,J=59.2Hz,1H),6.63(d,J=2.8Hz,1H),6.59(d,J=5.2Hz,1H),4.54(t,J=8.4Hz,1H),3.02-3.07(m,1H),2.57-2.62(m,1H),2.04(s,3H)。LC-MS:m/z 563[M+H]$^{+}$。

[1392] 实例125:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.28(s,1H),9.03(d,J=2.4Hz,1H),8.84(d,J=2.8Hz,1H),8.74(s,1H),8.20(d,J=2.8Hz,3H),8.19(s,2H),7.70(t,J=59.2Hz,1H),6.63(d,J=2.8Hz,1H),6.59(d,J=5.2Hz,1H),4.54(t,J=8.4Hz,1H),3.02-3.07(m,1H),2.57-2.62(m,1H),2.04(s,3H)。LC-MS:m/z 563[M+H]$^{+}$。

[1393] 步骤3:分离对映体,以获得实例126和实例127

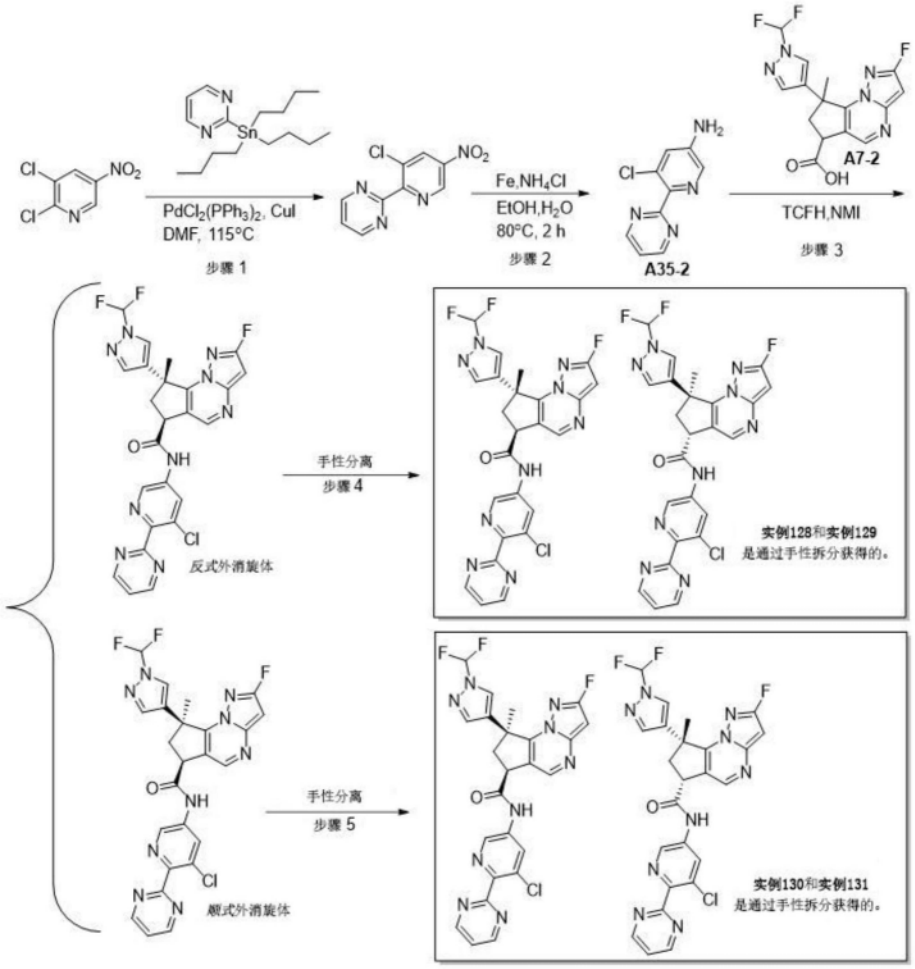
[1394] 使20mg的(顺式)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Cellulose-SB,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:MeOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度20%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):7.056;RT2(min):8.952;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.0mL;运行次数:3)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例126(4.7mg,23%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例127(6.2mg,30%产率)。

[1395] 实例126:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.18(s,1H),9.00(d,J=2.4Hz,1H),8.79(d,J=2.4Hz,1H),8.74(s,1H),8.19(s,2H),8.14(d,J=2.8Hz,1H),7.68(t,J=59.2Hz,1H),6.57(d,J=4.8Hz,1H),6.50(d,J=2.8Hz,1H),4.58-4.62(m,1H),2.91-2.96(m,1H),2.80-2.86(m,1H),1.92(s,3H)。LC-MS:m/z 563[M+H]$^{+}$。

[1396] 实例127:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.18(s,1H),9.00(d,J=2.4Hz,1H),8.79(d,J=2.4Hz,1H),8.74(s,1H),8.19(s,2H),8.14(d,J=2.8Hz,1H),7.68(t,J=59.2Hz,1H),6.57(d,J=4.8Hz,1H),6.50(d,J=2.8Hz,1H),4.58-4.62(m,1H),2.91-2.96(m,1H),2.80-2.86(m,1H),1.92(s,3H)。LC-MS:m/z 563[M+H]$^{+}$。

[1397] 方法A35

[1398]



[1399] 实例128、129:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1400] 实例130、131:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1401] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1402] 步骤1:2-(3-氯-5-硝基-2-吡啶基)嘧啶

[1403] 向2,3-二氯-5-硝基-吡啶(600mg,3.1mmol)和三丁基(嘧啶-2-基)锡烷(1.3g,3.4mmol)在DMF(10mL)中的搅拌的混合物中添加碘代铜(118mg,622μmol)和双(三苯基膦)氯化钯(II)(436mg,622μmol)。将所得的混合物在120℃下在氮气气氛下搅拌16h。将反应混合物在减压下浓缩。通过反相色谱法纯化残余物,以得到呈黄色固体的标题化合物(410mg,55%产率)。LC-MS:m/z 237[M+H]$^+$。

[1404] 步骤2:5-氯-6-嘧啶-2-基-吡啶-3-胺(A35-2)

[1405] 类似于方法A30步骤13,但使用2-(3-氯-5-硝基-2-吡啶基)嘧啶(390mg,1.6mmol),获得呈黄色固体的标题化合物(A35-2,100mg,29%产率)。LC-MS:m/z 207[M+H]$^+$。

[1406] 步骤3:反式-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1407] 类似于方法A1步骤8,但使用5-氯-6-嘧啶-2-基-吡啶-3-胺(A35-2,80mg,387μmol)和8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A7-2,136mg,387μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(20mg,16%产率),LC-MS:m/z 540[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(20mg,16%产率),LC-MS:m/z 540[M+H]$^+$。

[1408] 步骤4:分离对映体,以获得实例128和实例129

[1409] 使反式-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺(20mg,37μmol)经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK ID,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):5.83;RT2(min):9.43;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.5mL;运行次数:1)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例128(6.0mg,29%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例129(4.3mg,21%产率)。

[1410] 实例128:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.96(s,1H),8.98(d,J=5.2Hz,2H),8.79(d,J=2.0Hz,1H),8.71(s,1H),8.46(d,J=2.4Hz,1H),8.21(s,1H),7.84(s,1H),7.73(t,J=58.8Hz,1H),7.62(t,J=5.2Hz,1H),6.60(d,J=4.8Hz,1H),4.56(t,J=8.4Hz,1H),2.92-2.98(m,1H),2.55-2.60(m,1H),2.00(s,3H)。LC-MS:m/z 540[M+H]$^+$。

[1411] 实例129:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.94(s,1H),8.98(d,J=5.2Hz,2H),8.79(d,J=2.0Hz,1H),8.71(s,1H),8.46(d,J=2.0Hz,1H),8.21(s,1H),7.84(s,1H),7.73(t,J=58.8Hz,1H),7.62(t,J=4.8Hz,1H),6.60(d,J=4.8Hz,1H),4.55(t,J=8.4Hz,1H),2.92-2.98(m,1H),2.55-2.60(m,1H),2.00(s,3H)。LC-MS:m/z 540[M+H]$^+$。

[1412] 步骤5:分离对映体,以获得实例130和实例131

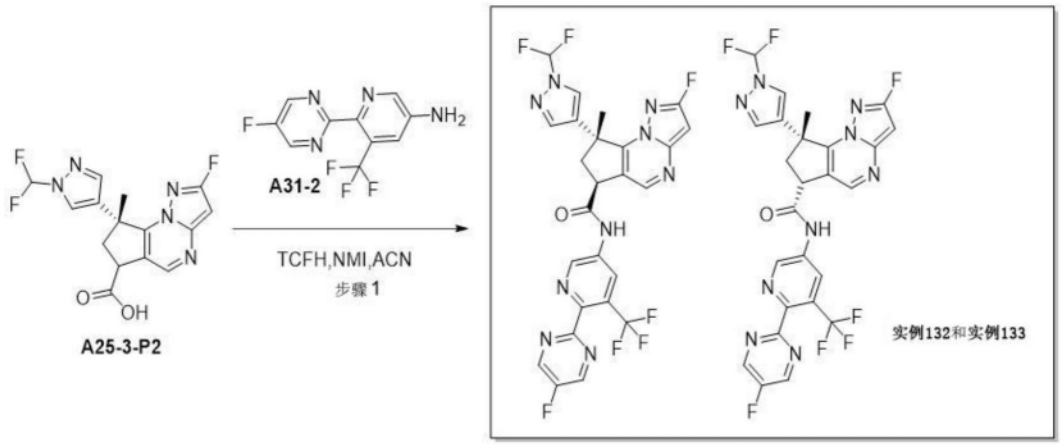
[1413] 使顺式-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺(20mg,37μmol)经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Cellulose-SC,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):9.18;RT2(min):19.56;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.8mL;运行次数:1)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例130(2.0mg,10%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例131(2.0mg,10%产率)。

[1414] 实例130:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.98(s,1H),8.98(d,J=5.2Hz,2H),8.78(d,J=2.0Hz,1H),8.75(s,1H),8.42(d,J=2.0Hz,1H),8.19(s,1H),7.77(s,1H),7.74(t,J=58.8Hz,1H),7.61(t,J=4.8Hz,1H),6.58(d,J=4.8Hz,1H),4.53-4.58(m,1H),2.82-2.90(m,1H),2.71-2.78(m,1H),1.91(s,3H)。LC-MS:m/z 540[M+H]$^+$。

[1415] 实例131:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.94(s,1H),8.98(d,J=5.2Hz,2H),8.78(d,J=2.0Hz,1H),8.75(s,1H),8.42(d,J=2.0Hz,1H),8.19(s,1H),7.77(s,1H),7.74(t,J

＝58.8Hz,1H),7.60(t,J＝4.8Hz,1H),6.58(d,J＝4.8Hz,1H),4.53-4.58(m,1H),2.82-2.90(m,1H),2.71-2.78(m,1H),1.91(s,3H)。LC-MS:m/z 540[M+H]$^+$。

[1416] 方法A36

[1417] 

[1418] 实例132、133:(6S,8R)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-N-(6-(5-氟嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-N-(6-(5-氟嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1419] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

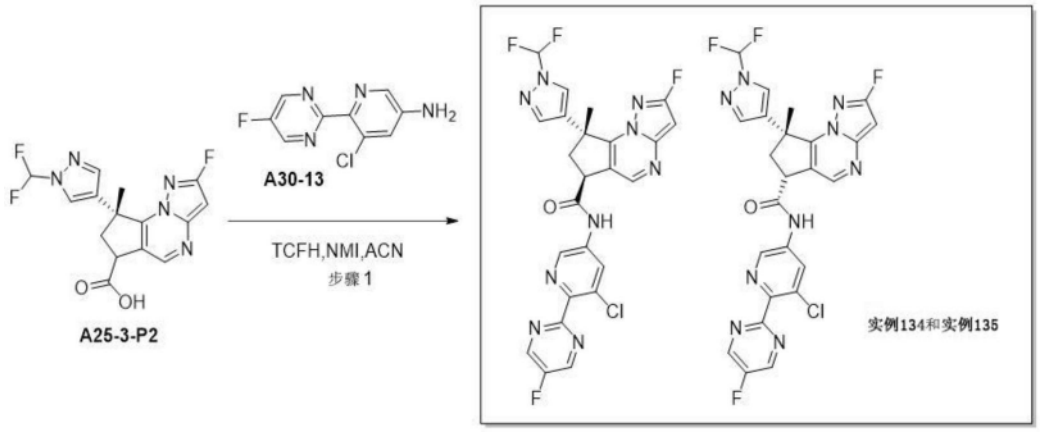
[1420] 步骤1:实例132和实例133

[1421] 类似于方法A1步骤8,但使用6-(5-氟嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(A31-2,80mg,310μmol)和(8R)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A25-3-P2,91mg,259μmol),获得非对映异构体标题化合物:呈白色固体的反式异构体实例132(11.5mg,7%产率)和呈白色固体的顺式异构体实例133(15.7mg,10%产率)。

[1422] 实例132:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.11(s,1H),9.08(s,3H),8.71-8.73(m,2H),8.21(s,1H),7.84(s,1H),7.73(t,J＝58.8Hz,1H),6.59(d,J＝5.2Hz,1H),4.58(t,J＝8.2Hz,1H),2.92-2.98(m,1H),2.58-2.63(m,1H),2.01(s,3H)。LC-MS:m/z 592[M+H]$^+$。

[1423] 实例133:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.10(s,1H),9.08(s,3H),8.77(s,1H),8.66(s,1H),8.18(s,1H),7.78(s,1H),7.73(t,J＝58.8Hz,1H),6.59(d,J＝4.8Hz,1H),4.58(t,J＝8.2Hz,1H),2.84-2.90(m,1H),2.75-2.80(m,1H),1.92(s,3H)。LC-MS:m/z 592[M+H]$^+$。

[1424] 方法A37

[1425] 

[1426] 实例134、135:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(5-氟嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺,(6R,8R)-N-(5-氯-6-(5-氟嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1427] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1428] 步骤1:实例134和实例135

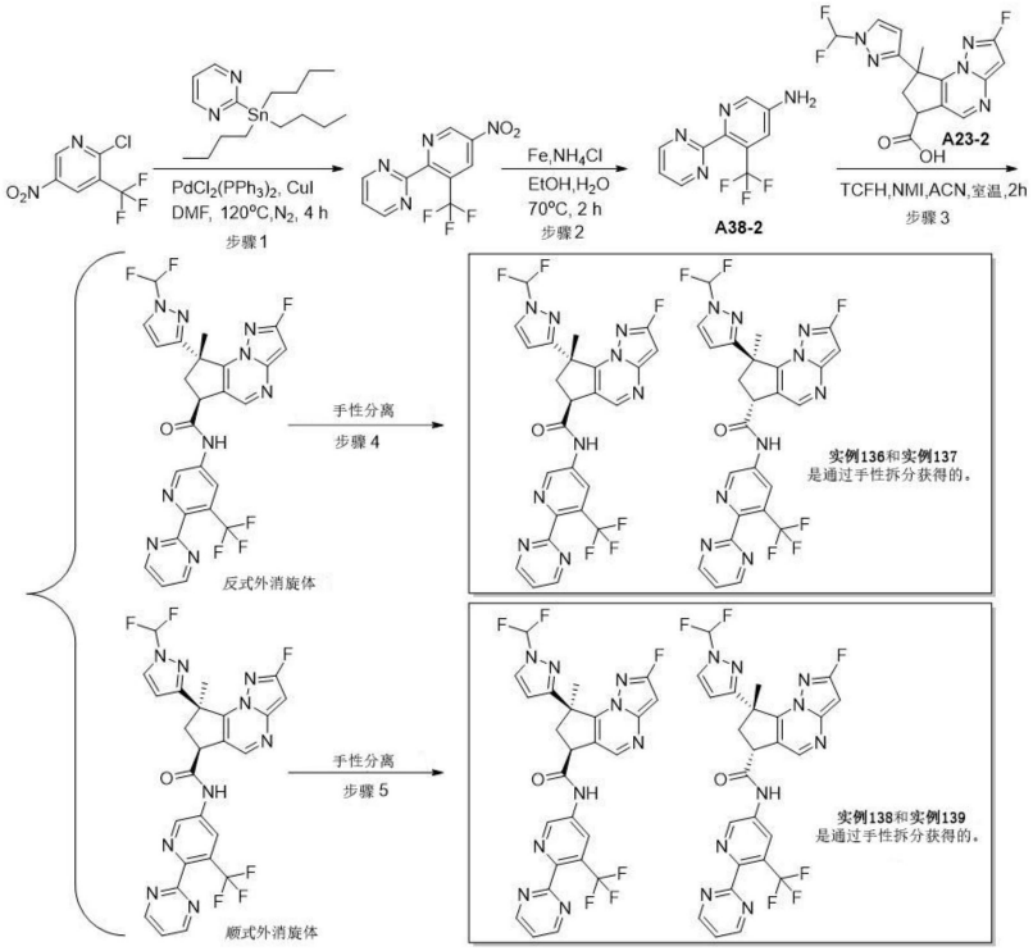
[1429] 类似于方法A1步骤8,但使用5-氯-6-(5-氟嘧啶-2-基)吡啶-3-胺(A30-13,90mg,401μmol)和(8R)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A25-3-P2,94mg,267μmol),获得非对映异构体标题化合物:呈灰白色固体的反式异构体实例134(5.9mg,4%产率)和呈灰白色固体的顺式异构体实例135(4.8mg,3%产率)。

[1430] 实例134:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)10.98(s,1H),9.08(s,2H),8.79(d,J=2.4Hz,1H),8.75(s,1H),8.43(d,J=2.4Hz,1H),8.19(s,1H),7.77(s,1H),7.74(t,J=59.2Hz,1H),6.58(d,J=4.8Hz,1H),4.57(t,J=8.2Hz,1H),2.83-2.89(m,1H),2.72-2.78(m,1H),1.91(s,3H)。LC-MS:m/z558[M+H]$^+$。

[1431] 实例135:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.05(s,1H),9.08(s,2H),8.80(d,J=2.0Hz,1H),8.70(s,1H),8.48(d,J=2.4Hz,1H),8.22(s,1H),7.84(s,1H),7.73(t,J=59.2Hz,1H),6.59(d,J=4.8Hz,1H),4.57(t,J=8.2Hz,1H),2.91-2.98(m,1H),2.55-2.61(m,1H),2.00(s,3H)。LC-MS:m/z 558[M+H]$^+$。

[1432] 方法A38

[1433]



[1434] 实例136、137:(6S,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺,(6R,8R)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1435] 实例138、139:(6S,8R)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺,(6R,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1436] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1437] 步骤1:2-(5-硝基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)嘧啶

[1438] 类似于方法A35步骤1,但使用2-氯-5-硝基-3-(三氟甲基)吡啶(1.2g,5.2mmol)并在120℃下搅拌3h,获得呈黄色固体的标题化合物(740mg,47%产率)。LC-MS(ES,m/z):271 $[M+H]^+$。

[1439] 步骤2:6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(A38-2)

[1440] 向2-(5-硝基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)嘧啶(900mg,3.3mmol)在EtOH(45mL)和水(45mL)中的混合物的搅拌的溶液中添加Fe(744mg,13.3mmol)和NH_4Cl(713mg,13.3mmol)。将反应混合物在70℃下搅拌2h。过滤反应混合物并在减压下浓缩滤液。通过制备型HPLC纯化残余物,以得到呈黄色固体的标题化合物(A38-2,580mg,71%产率)。LC-MS:m/z 241 $[M+H]^+$。

[1441] 步骤3:(反式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1442] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A23-2,150mg,427μmol)和6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(A38-2,123mg,512mmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(30mg,11%产率),LC-MS(ES,m/z):574[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(20mg,7%产率),LC-MS(ES,m/z):574[M+H]$^+$。

[1443] 步骤4:分离对映体,以获得实例136和实例137

[1444] 使30mg的(反式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK ID,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度70%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):4.369;RT2(min):6.209;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.9mL;运行次数:3)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例136(10.2mg,32%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例137(13.3mg,42%产率)。

[1445] 实例136:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ9.20(s,1H),9.05(s,1H),8.96(d,J=4.8Hz,2H),8.65(s,1H),7.74(d,J=2.4Hz,1H),7.44(t,J=4.8Hz,1H),7.06(t,J=60.8Hz,1H),6.75(d,J=2.4Hz,1H),6.29(d,J=5.2Hz,1H),4.64(t,J=7.2Hz,1H),3.41-3.46(m,1H),2.64-2.69(m,1H),2.17(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):574[M+H]$^+$。

[1446] 实例137:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ9.00(s,1H),8.95(d,J=5.2Hz,2H),8.85(s,1H),8.59(s,1H),8.26(s,1H),7.75(d,J=2.4Hz,1H),7.43(t,J=4.8Hz,1H),7.06(t,J=60.8Hz,1H),6.78(d,J=2.4Hz,1H),6.29(d,J=5.2Hz,1H),4.56(t,J=8.4Hz,1H),3.42-3.47(m,1H),2.60-2.66(m,1H),2.16(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):574[M+H]$^+$。

[1447] 步骤5:分离对映体,以获得实例138和实例139

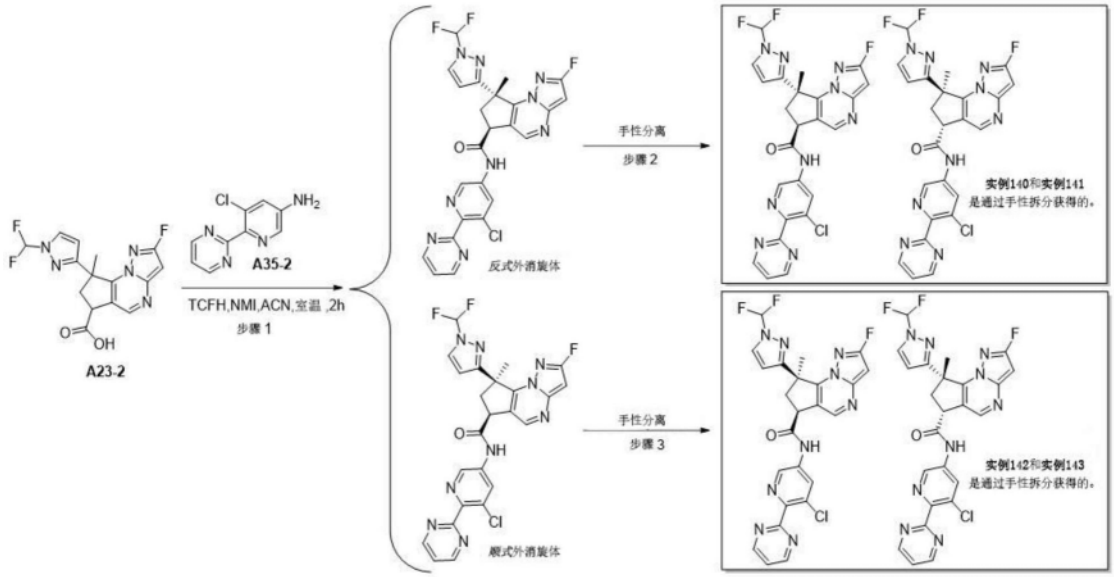
[1448] 使20mg的(顺式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Cellulose-SC,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1%FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度40%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):11.491;RT2(min):16.05;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.8mL;运行次数:3)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例138(5.5mg,27%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例139(4.7mg,23%产率)。

[1449] 实例138:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ9.62(s,1H),9.01(s,1H),8.94(d,J=4.8Hz,2H),8.68(s,1H),8.61(s,1H),7.81(d,J=2.4Hz,1H),7.41(t,J=4.8Hz,1H),6.99(t,J=60.8Hz,1H),6.96(d,J=2.8Hz,1H),6.31(d,J=5.2Hz,1H),4.58-4.61(m,1H),3.38-3.43(m,1H),2.87-2.94(m,1H),2.15(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):574[M+H]$^+$。

[1450] 实例139:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ10.09(s,1H),9.18(s,1H),8.96(d,J=4.8Hz,

2H),8.82(s,1H),8.70(s,1H),7.80(d,J＝2.8Hz,1H),7.44(t,J＝4.4Hz,1H),7.00(t,J＝60.4Hz,1H),6.90(d,J＝2.8Hz,1H),6.31(d,J＝5.2Hz,1H),4.62-4.66(m,1H),3.38-3.42(m,1H),2.88-2.94(m,1H),2.12(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):574[M+H]$^+$。

[1451] 方法A39

[1452] 

[1453] 实例140、141:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1454] 实例142、143:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1455] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1456] 步骤1:(反式)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1457] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A23-2,150mg,427μmol)和6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(A35-2,132mg,640mmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(45mg,19%产率),LC-MS(ES,m/z):540[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(10mg,4%产率),LC-MS(ES,m/z):540[M+H]$^+$。

[1458] 步骤2:分离对映体,以获得实例140和实例141

[1459] 使45mg的(反式)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Amylose-SA,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动

相B:EtOH-HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度60％流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):4.274;RT2(min):6.805;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.8mL;运行次数:5)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例140(8.2mg,17％产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例141(10.1mg,20％产率)。

[1460] 实例140:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.97(d,J＝5.2Hz,2H),8.76(s,1H),8.71(s,1H),8.58(s,1H),8.29(s,1H),7.74(d,J＝2.8Hz,1H),7.40(t,J＝4.8Hz,1H),7.06(t,J＝60.8Hz,1H),6.77(d,J＝2.8Hz,1H),6.28(d,J＝5.2Hz,1H),4.55(t,J＝8.4Hz,1H),3.44-3.45(m,1H),2.59-2.64(m,1H),2.16(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):540[M+H]$^+$。

[1461] 实例141:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.97(d,J＝4.8Hz,2H),8.77(s,1H),8.73(s,1H),8.59(s,1H),8.26(s,1H),7.74(d,J＝2.8Hz,1H),7.40(t,J＝4.8Hz,1H),7.06(t,J＝60.8Hz,1H),6.77(d,J＝2.8Hz,1H),6.28(d,J＝4.8Hz,1H),4.56(t,J＝8.4Hz,1H),3.40-3.46(m,1H),2.59-2.65(m,1H),2.16(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):540[M+H]$^+$。

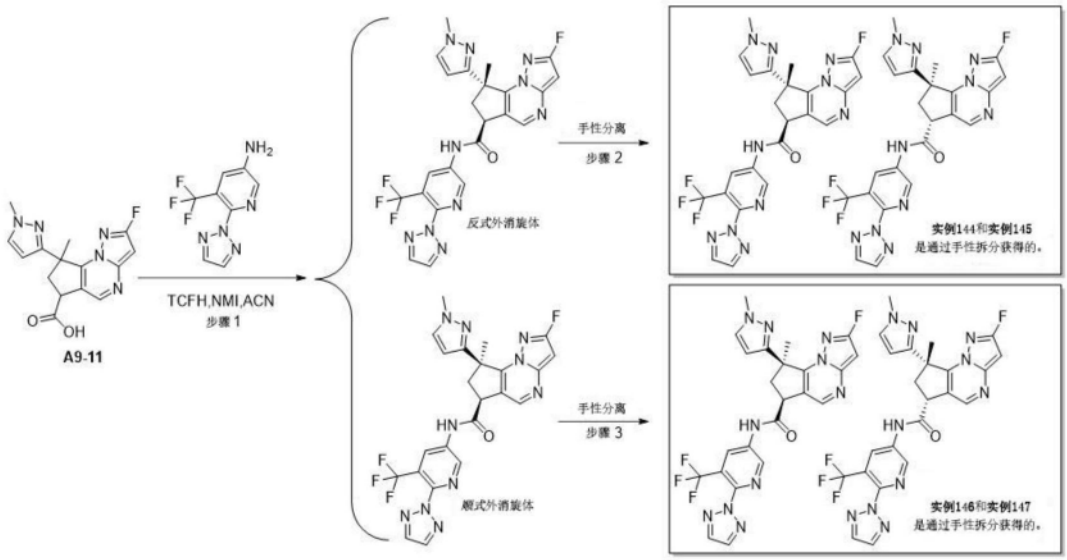
[1462] 步骤3:分离对映体,以获得实例142和实例143

[1463] 使20mg的(顺式)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IG,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1％ FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM＝1:1--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度50％流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):8.321;RT2(min):10.659;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.0mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例142(2.8mg,27％产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例143(2.4mg,23％产率)。

[1464] 实例142:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ9.57(s,1H),8.96(d,J＝4.8Hz,2H),8.69(s,1H),8.66(s,1H),8.53(s,1H),7.81(d,J＝2.8Hz,1H),7.39(t,J＝4.8Hz,1H),7.01(t,J＝60.8Hz,1H),6.93(d,J＝2.4Hz,1H),6.30(d,J＝5.2Hz,1H),4.54-4.60(m,1H),3.35-3.40(m,1H),2.86-2.92(m,1H),2.13(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):540[M+H]$^+$。

[1465] 实例143:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ10.23(s,1H),8.92-8.99(m,3H),8.78(s,1H),8.67(s,1H),7.79(d,J＝2.4Hz,1H),7.42(t,J＝4.8Hz,1H),7.02(t,J＝60.8Hz,1H),6.85(d,J＝2.8Hz,1H),6.29(d,J＝5.2Hz,1H),4.59-4.66(m,1H),3.34-3.38(m,1H),2.88-2.94(m,1H),2.10(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):540[M+H]$^+$。

[1466] 方法A40

[1467] 

[1468] 实例144、145:(6S,8S)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺,(6R,8R)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1469] 实例146、147:(6S,8R)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1470] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1471] 步骤1:反式-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1472] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A9-11,85mg,270μmol)和6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(124mg,539μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(20mg,14%产率),LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(6mg,4%产率),LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$。

[1473] 步骤2:分离对映体,以获得实例144和实例145

[1474] 使20mg的反式-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1%FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):5.22;RT2(min):7.789;样品溶剂:EtOH--HPLC;样品浓度:mg/mL;注入体积:2.0mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例144(7.6mg,38%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例145(6.6mg,33%产率)。

[1475] 实例144:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.90(d,J=2.4Hz,1H),8.88(d,J=2.4Hz,1H),8.57(s,1H),8.29(s,1H),7.97(s,2H),7.31(d,J=2.4Hz,1H),6.60(d,J=2.4Hz,1H),6.28(d,J=5.2Hz,1H),4.65(t,J=8.6Hz,1H),3.87(s,3H),3.47-3.52(m,1H),2.54-2.59(m,1H),2.14(s,3H)。LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$。

[1476] 实例145:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.90(d,J=2.4Hz,1H),8.88(d,J=2.4Hz,1H),8.57(s,1H),8.30(s,1H),7.97(s,2H),7.32(d,J=2.4Hz,1H),6.61(d,J=2.4Hz,1H),6.28(d,J=5.2Hz,1H),4.64-4.68(m,1H),3.88(s,3H),3.47-3.52(m,1H),2.54-2.69(m,1H),2.14(s,3H)。LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$。

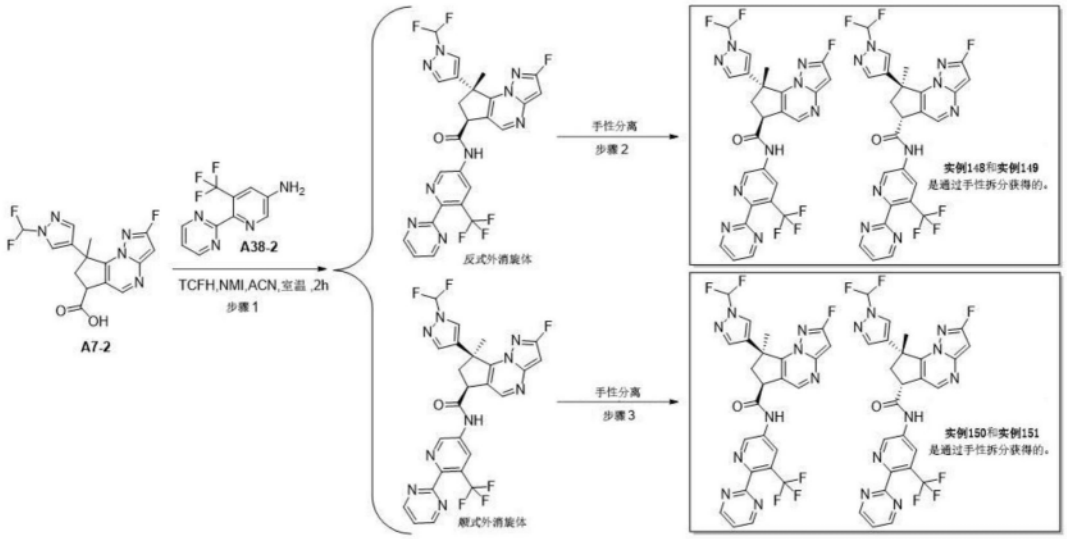
[1477] 步骤3:分离对映体,以获得实例146和实例147

[1478] 使6mg的顺式-N-(6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-8-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度10%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):8.881;RT2(min):11.324;样品溶剂:EtOH--HPLC;样品浓度:mg/mL;注入体积:2.0mL;运行次数:2)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例146(2.4mg,39%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例147(2.1mg,35%产率)。

[1479] 实例146:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ10.80(s,1H),8.88(d,J=2.0Hz,1H),8.73(d,J=2.4Hz,1H),8.63(s,1H),7.94(s,2H),7.40(d,J=2.0Hz,1H),6.75(d,J=2.4Hz,1H),6.29(d,J=5.2Hz,1H),4.55-4.58(m,1H),3.85(s,3H),3.27-3.32(m,1H),2.85-2.91(m,1H),2.13(s,3H)。LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$。

[1480] 实例147:^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ10.80(s,1H),8.87(d,J=2Hz,1H),8.73(d,J=2Hz,1H),8.63(s,1H),7.94(s,2H),7.39(d,J=2Hz,1H),6.75(d,J=2.4Hz,1H),6.29(d,J=4.8Hz,1H),4.55-4.58(m,1H),3.84(s,3H),3.28-3.30(m,1H),2.84-2.91(m,1H),2.13(s,3H)。LC-MS:m/z 527[M+H]$^+$。

[1481] 方法A41

[1482] 

[1483] 实例148、149:(6S,8R)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-

(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1484] 实例150、151:(6S,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1485] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1486] 步骤1:反式-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1487] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A7-2,120mg,342μmol)和6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(A38-2,123mg,512μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈灰白色固体的反式异构体(20mg,10%产率),LC-MS:m/z 574$[M+H]^+$;呈灰白色固体的顺式异构体(18mg,9%产率),LC-MS:m/z 574$[M+H]^+$。

[1488] 步骤2:分离对映体,以获得实例148和实例149

[1489] 使17mg的反式-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK ID,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):8.34;RT2(min):14.14;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.55mL;运行次数:1)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体实例148(2.6mg,15%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例149(2.0mg,11%产率)。

[1490] 实例148:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.12(s,1H),9.07(d,J=2.4Hz,1H),8.97(d,J=4.8Hz,2H),8.73(s,1H),8.71(d,J=2.4Hz,1H),8.22(s,1H),7.84(s,1H),7.73(t,J=59.2Hz,1H),7.64(t,J=5.2Hz,1H),6.60(d,J=4.8Hz,1H),4.58(t,J=8.2Hz,1H),2.96(dd,J=13.2,8.0Hz,1H),2.61(dd,J=13.2,8.0Hz,1H),2.00(s,3H)。LC-MS:m/z 574$[M+H]^+$。

[1491] 实例149:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.16(s,1H),9.07(d,J=2.3Hz,1H),8.97(d,J=5.2Hz,2H),8.73(s,1H),8.71(d,J=2.4Hz,1H),8.22(s,1H),7.85(s,1H),7.73(t,J=59.2Hz,1H),7.64(t,J=5.2Hz,1H),6.60(d,J=4.8Hz,1H),4.59(t,J=8.0Hz,1H),2.96(dd,J=13.2,8.0Hz,1H),2.61(dd,J=13.2,8.0Hz,1H),2.01(s,3H)。LC-MS:m/z 574$[M+H]^+$。

[1492] 步骤3:分离对映体,以获得实例150和实例151

[1493] 使18mg的顺式-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Cellulose-SC,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1%FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):5.44;RT2(min):10.21;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:

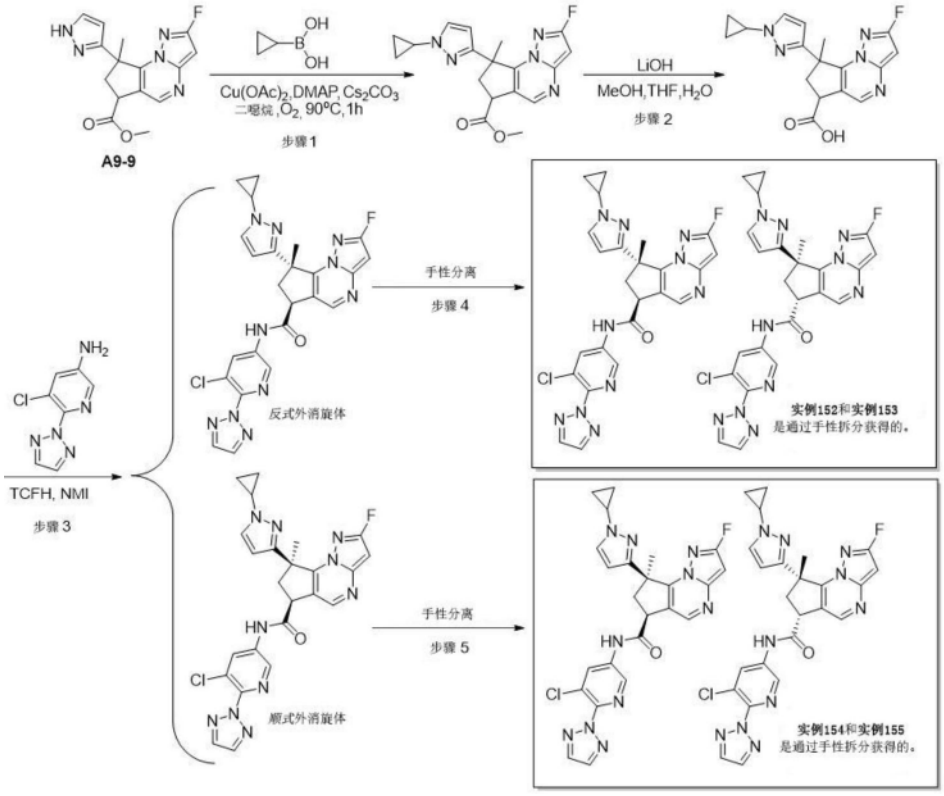
0.9mL;运行次数:2)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例150(2.2mg,12%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体实例151(2.3mg,12%产率)。

[1494] 实例150:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.09(s,1H),9.06(d,J=2.3Hz,1H),8.97(d,J=4.8Hz,2H),8.77(s,1H),8.67(d,J=2.3Hz,1H),8.19(s,1H),7.78(s,1H),7.73(t,J=59.2Hz,1H),7.64(t,J=4.8Hz,1H),6.59(d,J=4.4Hz,1H),4.55-4.60(m,1H),2.84-2.90(m,1H),2.74-2.80(m,1H),1.92(s,3H)。LC-MS:m/z 574[M+H]$^+$。

[1495] 实例151:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.09(s,1H),9.06(d,J=2.3Hz,1H),8.97(d,J=5.2Hz,2H),8.77(s,1H),8.66(d,J=2.3Hz,1H),8.19(s,1H),7.79(s,1H),7.73(t,J=59.2Hz,1H),7.64(t,J=4.8Hz,1H),6.58(d,J=4.8Hz,1H),4.56-4.60(m,1H),2.84-2.88(m,1H),2.74-2.80(m,1H),1.92(s,3H)。LC-MS:m/z 574[M+H]$^+$。

[1496] 方法A42

[1497]



[1498] 实例152、153:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1499] 实例154、155:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1500] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1501] 步骤1:8-(1-环丙基-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[1502] 类似于方法A8步骤1,但使用2-氟-8-甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(A9-9,280mg,622μmol),获得呈白色固体的标题化合物(90mg,41%产率)。LC-MS:m/z 356[M+H]$^+$。

[1503] 步骤2:8-(1-环丙基-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[1504] 类似于方法A7步骤2,但使用8-(1-环丙基-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(90mg,253μmol),获得呈白色固体的粗标题化合物(75mg,86%产率)。LC-MS:m/z 342[M+H]$^+$。

[1505] 步骤3:反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1506] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-环丙基-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(75mg,131.8mmol)和5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-胺(31mg,158μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(40mg,58%产率),LC-MS:m/z 519[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(20mg,29%产率),LC-MS:m/z 519[M+H]$^+$。

[1507] 步骤4:分离对映体,以获得实例152和实例153

[1508] 使40mg的反式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:18ML/MIN mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):7.56;RT2(min):12.048;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.5mL;运行次数:3)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例152(17.2mg,43%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例153(17.3mg,43%产率)。

[1509] 实例152:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.13(s,1H),8.75(d,J=2.0Hz,1H),8.68(s,1H),8.61(d,J=2.0Hz,1H),8.17(s,2H),7.67(d,J=2.4Hz,1H),6.55(d,J=4.8Hz,1H),6.27(d,J=2.4Hz,1H),4.50-4.54(m,1H),3.52-3.62(m,1H),3.01-3.10(m,1H),2.43-2.51(m,1H),1.98(s,3H),0.82-0.97(m,4H)。LC-MS:m/z 519[M+H]$^+$。

[1510] 实例153:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.13(s,1H),8.75(d,J=2.4Hz,1H),8.68(s,1H),8.61(d,J=2.4Hz,1H),8.18(s,2H),7.67(d,J=2.4Hz,1H),6.55(d,J=4.8Hz,1H),6.27(d,J=2.4Hz,1H),4.48-4.57(m,1H),3.52-3.62(m,1H),3.00-3.11(m,1H),2.43-2.52(m,1H),1.99(s,3H),0.82-0.97(m,4H)。LC-MS:m/z 519[M+H]$^+$。

[1511] 步骤5:分离对映体,以获得实例154和实例155

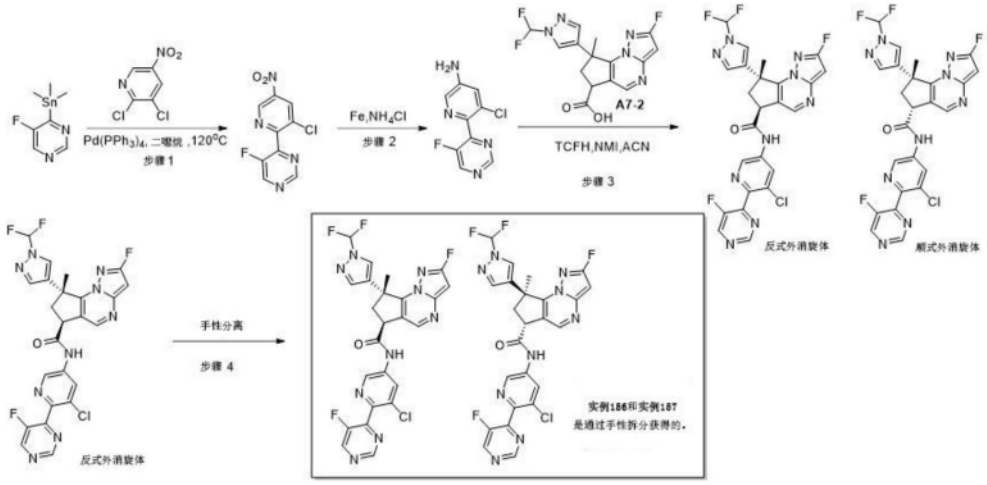
[1512] 使20mg的顺式-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-环丙基-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex:DCM=3:1(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度40%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):8.556;RT2(min):10.156;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.7mL;运行次数:

5)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例154(5.8mg,29%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例155(4.5mg,22%产率)。

[1513] 实例154:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.96(s,1H),8.73(d,J=2.0Hz,1H),8.67(s,1H),8.58(d,J=2.4Hz,1H),8.17(s,2H),7.62(d,J=2.4Hz,1H),6.54(d,J=4.8Hz,1H),6.20(d,J=2.0Hz,1H),4.51-4.55(m,1H),3.47-3.57(m,1H),2.95-3.05(m,1H),2.70-2.80(m,1H),1.88(s,3H),0.72-0.88(m,4H)。LC-MS:m/z 519[M+H]$^+$。

[1514] 实例155:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:10.96(s,1H),8.73(d,J=2.4Hz,1H),8.67(s,1H),8.58(d,J=2.0Hz,1H),8.17(s,2H),7.62(d,J=2.4Hz,1H),6.54(d,J=5.2Hz,1H),6.20(d,J=2.4Hz,1H),4.49-4.57(m,1H),3.47-3.58(m,1H),2.95-3.04(m,1H),2.70-2.80(m,1H),1.88(s,3H),0.72-0.89(m,4H)。LC-MS:m/z 519[M+H]$^+$。

[1515] 方法A43

[1516] 

[1517] 实例156、157:(6S,8R)-N-(5-氯-6-(5-氟嘧啶-4-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(5-氯-6-(5-氟嘧啶-4-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1518] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1519] 步骤1:4-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-5-氟嘧啶

[1520] 类似于方法A32步骤2,但使用在二噁烷(20mL)中的2,3-二氯-5-硝基吡啶(3.4g,17.6mmol)和5-氟-4-(三甲基锡烷基)嘧啶(A32-1,2g,7.7mmol),获得呈黄色固体的标题化合物(1.3g,61%产率)。LC-MS:m/z 255[M+H]$^+$。

[1521] 步骤2:5-氯-6-(5-氟嘧啶-4-基)吡啶-3-胺

[1522] 类似于方法A30步骤13,但使用4-(3-氯-5-硝基吡啶-2-基)-5-氟嘧啶(0.2g,785μmol),获得呈黄色固体的标题化合物(150mg,79%产率)。LC-MS:m/z 225[M+H]$^+$。

[1523] 步骤3:反式-N-(5-氯-6-(5-氟嘧啶-4-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和顺式-N-(5-氯-6-(5-氟嘧啶-4-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1524] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,

8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A7-2,90mg,256μmol)和5-氯-6-(5-氟嘧啶-4-基)吡啶-3-胺(69mg,307μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(8.5mg,5%产率),LC-MS:m/z 558[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(2.8mg,2%产率),LC-MS:m/z 558[M+H]$^+$。

[1525] 步骤4:分离对映体,以获得实例156和实例157

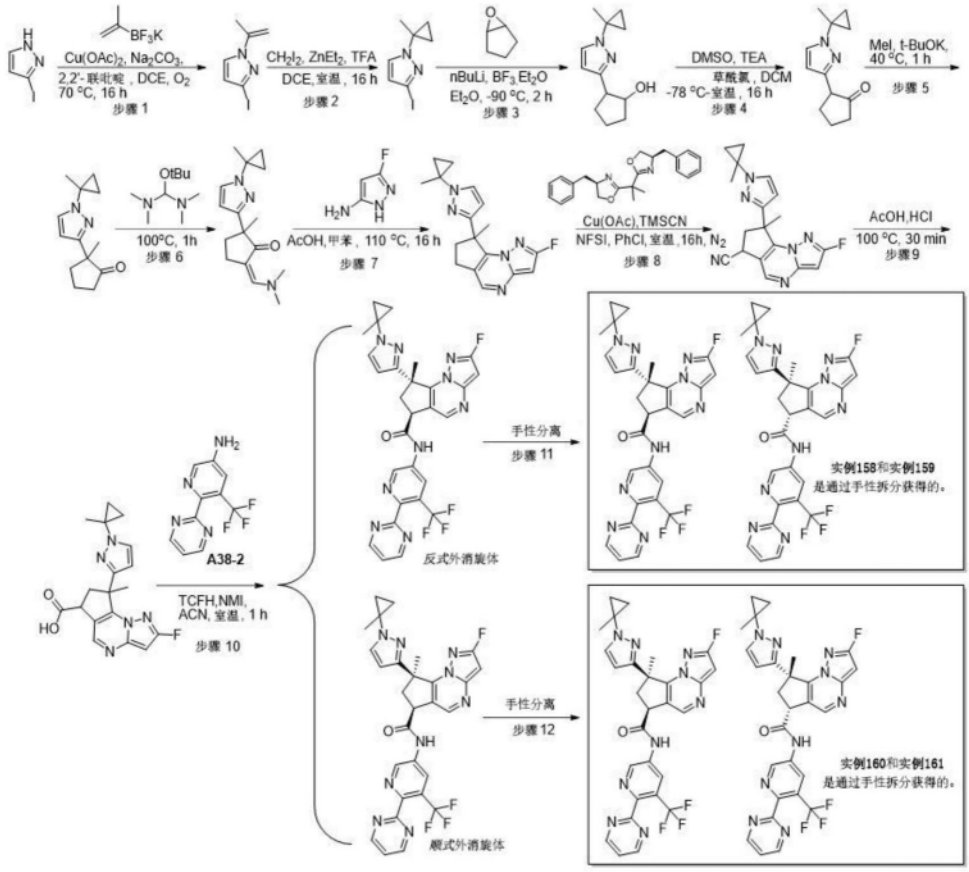
[1526] 使7mg的反式-N-(5-氯-6-(5-氟嘧啶-4-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IG,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):8.17;RT2(min):9.948;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.4mL;运行次数:1)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例156(2.5mg,33%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例157(2.2mg,31%产率)。

[1527] 实例156:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.09(s,1H),9.24(d,J=2.8Hz,1H),9.13(d,J=1.8Hz,1H),8.86(d,J=2.1Hz,1H),8.72(s,1H),8.53(d,J=2.1Hz,1H),8.21(d,J=2.7Hz,1H),7.70(t,J=59.1Hz,1H),6.63(d,J=2.8Hz,1H),6.59(d,J=4.9Hz,1H),4.52(t,J=8.1Hz,1H),3.00-3.06(m,1H),2.55-2.60(m,1H),2.04(s,3H)。LC-MS:m/z 558[M+H]$^+$。

[1528] 实例157:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.09(s,1H),9.24(d,J=2.9Hz,1H),9.13(d,J=1.8Hz,1H),8.86(d,J=2.1Hz,1H),8.72(s,1H),8.53(d,J=2.1Hz,1H),8.21(d,J=2.7Hz,1H),7.70(t,J=59.1Hz,1H),6.63(d,J=2.8Hz,1H),6.59(d,J=4.9Hz,1H),4.52(t,J=8.1Hz,1H),3.00-3.06(m,1H),2.55-2.61(m,1H),2.04(s,3H)。LC-MS:m/z 558[M+H]$^+$。

[1529] 方法A44

[1530]



[1531] 实例158、159:(6S,8S)-2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1532] 实例160、161:(6S,8R)-2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1533] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1534] 步骤1:3-碘-1-(丙-1-烯-2-基)-1H-吡唑

[1535] 类似于方法A28步骤1,但使用3-碘-1H-吡唑(20g,103.1mmol)并在70℃下搅拌16h,获得呈黄色油状物的标题化合物(7.3g,30%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ:8.02(d,J=2.8Hz,1H),6.64(d,J=2.4Hz,1H),5.37(s,1H),4.71-4.76(m,1H),2.18-2.23(m,3H)。LC-MS(ES,m/z):235[M+H]$^+$。

[1536] 步骤2:3-碘-1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑

[1537] 类似于方法A28步骤2,但使用3-碘-1-(丙-1-烯-2-基)-1H-吡唑(7.3g,31.2mmol),获得呈黄色固体的标题化合物(4.3g,55%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ:7.71(d,J=1.6Hz,1H),6.42(d,J=1.6Hz,1H),1.53(s,3H),1.12-1.17(m,2H),0.86-0.91(m,2H)。LC-MS(ES,m/z):249[M+H]$^+$。

[1538] 步骤3:2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-醇

[1539] 类似于方法A6步骤2,但使用3-碘-1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑(4.3g,17.3mmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(0.6g,18%产率)。LC-MS:m/z 207[M+H]$^+$。

[1540] 步骤4:2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮

[1541] 在-78℃下在氮气下,向草酰氯(2.1g,17.0mmol)在DCM(15mL)中的搅拌的溶液中添加在DCM(15mL)中的DMSO(2.6g,33.9mmol)。将所得的混合物在-78℃下搅拌0.5h。在-78℃下在氮气下,缓慢添加2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-醇(1.8g,8.5mmol)在DCM(15mL)中的溶液,并将其在-78℃下搅拌30min。在-78℃下在氮气下,逐滴添加三乙胺(4.3g,42.4mmol)。允许混合物温热至25℃并搅拌16h。用水(30mL)猝灭反应,并将所得的混合物用DCM(3x 30mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩,以得到呈黄色油状物的粗标题化合物(1.8g),其被用于下一步骤而无需进一步纯化。LC-MS:m/z 205[M+H]$^+$。

[1542] 步骤5:2-甲基-2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮

[1543] 类似于方法A1步骤3,但使用2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮(370mg,1.8mmol)并通过反相柱色谱法纯化产物,获得呈黄色油状物的标题化合物(220mg,55%产率)。LC-MS:m/z 219[M+H]$^+$。

[1544] 步骤6:5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮

[1545] 类似于方法A1步骤4,但使用在1-叔丁氧基-N,N,N',N'-四甲基-甲烷二胺(1.9g,11.0mmol)中的2-甲基-2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮(1.2g,5.5mmol)并在100℃下搅拌1,获得呈黄色油状物的粗标题化合物(1.2g,79%产率),其被用于下一步骤而无需进一步纯化。LC-MS:m/z 274[M+H]$^+$。

[1546] 步骤7:2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶

[1547] 类似于方法A1步骤5,但使用5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮(1.2g,4.4mmol),获得呈黄色固体的标题化合物(1g,73%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ:8.59(s,1H),7.64(d,J=2.4Hz,1H),6.45(d,J=4.8Hz,1H),6.14(d,J=2.4Hz,1H),3.01-3.10(m,2H),2.58-2.69(m,1H),2.20-2.32(m,1H),1.86(s,3H),1.44(s,3H),1.01-1.06(m,2H),0.75-0.83(m,2H)。LC-MS:m/z 312[M+H]$^+$。

[1548] 步骤8:2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈

[1549] 类似于方法A1步骤6,但使用在氯苯(125mL)中的2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(1.2g,3.8mmol),获得呈黄色固体的标题化合物(340mg,13%产率)。LC-MS:m/z 337[M+H]$^+$。

[1550] 步骤9:2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[1551] 类似于方法A9步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈(340mg,505μmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(160mg,82%产率)。LC-MS:m/z 356[M+H]$^+$。

[1552] 步骤10:(反式)-2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)-N-(6-(嘧

啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1553] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(150mg,422μmol)和6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(A38-2,112mg,464μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈灰白色固体的反式异构体(75mg,30%产率),LC-MS:m/z 578[M+H]$^+$;呈灰白色固体的顺式异构体(30mg,12%产率),LC-MS:m/z 578[M+H]$^+$。

[1554] 步骤11:分离对映体,以获得实例158和实例159

[1555] 使27mg的(反式)-2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度60%流动相B;波长:254/220nm;RT1(min):4.753;RT2(min):7.829;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.2mL;运行次数:3)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例158(22.5mg,29%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例159(30.2mg,40%产率)。

[1556] 实例158:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.11(s,1H),9.09(d,J=2.0Hz,1H),8.98(d,J=4.8Hz,2H),8.73(d,J=2.0Hz,1H),8.71(s,1H),7.71(d,J=2.0Hz,1H),7.64(t,J=4.8Hz,1H),6.56(d,J=4.8Hz,1H),6.26(d,J=2.0Hz,1H),4.53(t,J=8.4Hz,1H),3.11(dd,J=12.4,8.0Hz,1H),2.52-2.55(m,1H),1.99(s,3H),1.47(s,3H),1.01-1.12(m,2H),0.78-0.88(m,2H)。LC-MS(ES,m/z):578[M+H]$^+$。

[1557] 实例159:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.11(s,1H),9.10(d,J=2.0Hz,1H),8.98(d,J=5.2Hz,2H),8.73(d,J=2.4Hz,1H),8.71(s,1H),7.71(d,J=2.4Hz,1H),7.64(t,J=4.8Hz,1H),6.56(d,J=5.2Hz,1H),6.26(d,J=2.4Hz,1H),4.53(t,J=8.0Hz,1H),3.11(dd,J=12.4,8.0Hz,1H),2.52-2.55(m,1H),1.99(s,3H),1.47(s,3H),1.01-1.12(m,2H),0.78-0.88(m,2H)。LC-MS(ES,m/z):578[M+H]$^+$。

[1558] 步骤12:分离对映体,以获得实例160和实例161

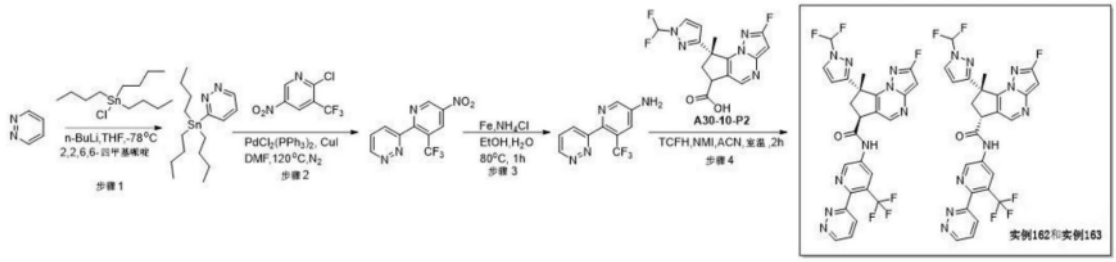
[1559] 使30mg的(顺式)-2-氟-8-甲基-8-(1-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-3-基)-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Cellulose-SZ,3*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:MeOH:DCM=1:1--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度40%流动相B;波长:254/220nm;RT1(min):9.733;RT2(min):14.084;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2.0mL;运行次数:2)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例160(11.7mg,38%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例161(6.8mg,22%产率)。

[1560] 实例160:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:10.93(s,1H),9.07(d,J=1.6Hz,1H),8.97(d,J=5.2Hz,2H),8.72(d,J=2.4Hz,1H),8.69(s,1H),7.62-7.65(m,2H),6.54(d,J=4.8Hz,1H),6.24(d,J=2.0Hz,1H),4.54(dd,J=9.2,4.8Hz,1H),3.13(dd,J=13.2,5.2Hz,1H),2.76(dd,J=13.2,9.6Hz,1H),1.89(s,3H),1.35(s,3H),0.88-1.01(m,2H),0.58-0.70

(m,2H)。LC-MS(ES,m/z):578[M+H]$^+$。

[1561] 实例161:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:10.94(s,1H),9.07(s,1H),8.98(d,J=4.8Hz,2H),8.72(s,1H),8.69(s,1H),7.60-7.67(m,2H),6.54(d,J=4.8Hz,1H),6.24(d,J=2.0Hz,1H),4.54(dd,J=9.2,5.2Hz,1H),3.13(dd,J=12.8,4.8Hz,1H),2.76(dd,J=13.2,9.6Hz,1H),1.89(s,3H),1.35(s,3H),0.88-1.01(m,2H),0.58-0.70(m,2H)。LC-MS(ES,m/z):578[M+H]$^+$。

[1562] 方法A45

[1563] 

[1564] 实例162、163:(6S,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(哒嗪-3-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(哒嗪-3-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1565] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1566] 步骤1:3-(三丁基锡烷基)哒嗪

[1567] 在-30℃下,向2,2,6,6-四甲基哌啶(1.94g,13.7mmol,2.32mL)在THF(80mL)中的溶液中添加正丁基锂(5.5mL,2.5M在己烷中)。将混合物在0℃下搅拌30min。在-78℃下同时添加哒嗪(1g,12.5mmol)在THF(20mL)中的溶液和三丁基氯锡烷(4.1g,12.5mmol)在THF(20mL)中的溶液,并将混合物在-78℃下搅拌4h。允许混合物温热至25℃并用饱和氯化铵水溶液(20ml)淬灭。将混合物用水(200mL)稀释并且用DCM(3x200mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加在硅胶柱上并用EA/PE(1:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(2.1g,45%产率)。LC-MS(ES,m/z):371[M+H]$^+$。

[1568] 步骤2:3-(5-硝基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)哒嗪

[1569] 类似于方法A30步骤12,但使用3-(三丁基锡烷基)哒嗪(1g,2.7mmol)和2-氯-5-硝基-3-(三氟甲基)吡啶(614mg,2.7mmol)并在120℃下搅拌1h,获得呈黄色油状物的标题化合物(120mg,16%产率)。LC-MS(ES,m/z):271[M+H]$^+$。

[1570] 步骤3:6-(哒嗪-3-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺

[1571] 类似于方法A30步骤13,但使用3-(5-硝基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)哒嗪(110mg,407μmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(45mg,46%产率)。LC-MS(ES,m/z):241[M+H]$^+$。

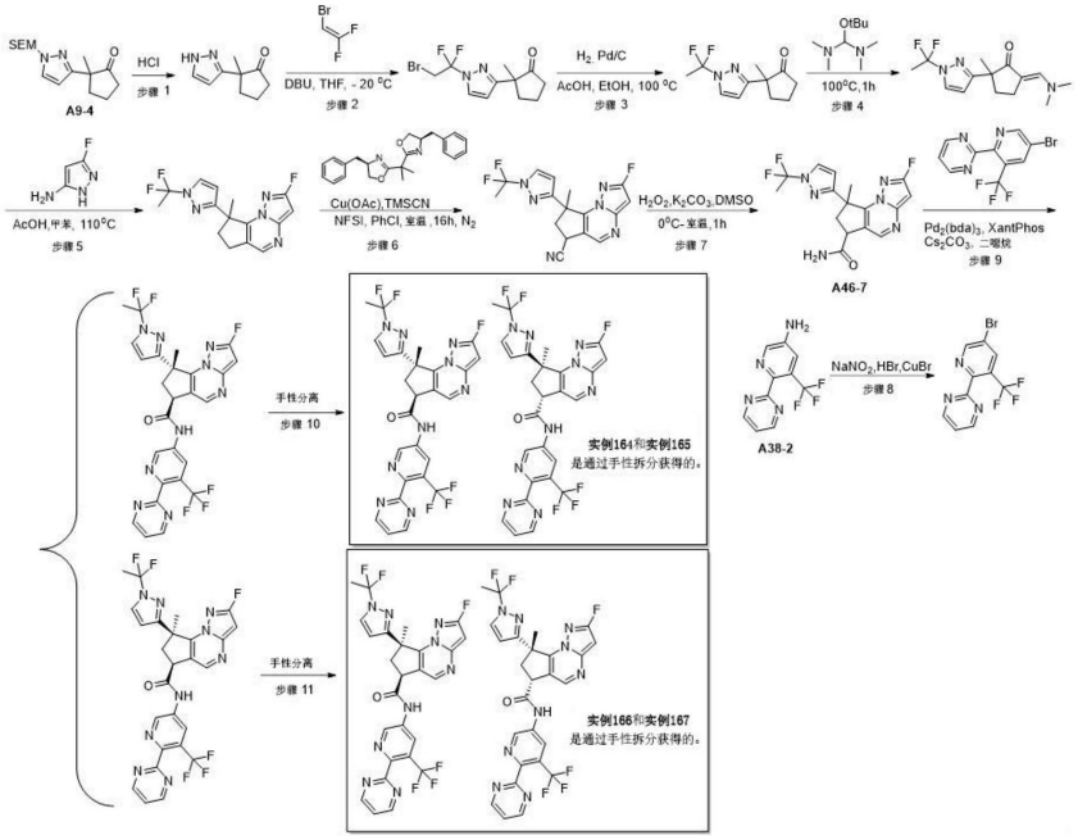
[1572] 步骤4:实例162和实例163

[1573] 类似于方法A1步骤8,但使用(8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A30-10-P2,44mg,125μmol)和6-(哒嗪-3-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(30mg,125μmol),获得非对映异构体标题化合物:呈白色固体的反式异构体实例162(14.0mg,19%产率)和呈白色固体的顺式异构体实例163(6.0mg,8%产率)。

[1574] 实例162:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.17(s,1H),9.31-9.37(m,1H),9.14(d,J=2.0Hz,1H),8.77(d,J=2.4Hz,1H),8.75(s,1H),8.21(d,J=2.8Hz,1H),8.02-8.06(m,1H),7.86-7.92(m,1H),7.71(t,J=59.2Hz,1H),6.64(d,J=2.8Hz,1H),6.59(d,J=4.8Hz,1H),4.50-4.58(m,J=8.0Hz,1H),3.00-3.09(m,1H),2.55-2.65(m,1H),2.04(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):574[M+H]$^+$。

[1575] 实例163:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.07(s,1H),9.31-9.37(m,1H),9.11(d,J=2.0Hz,1H),8.75(s,1H),8.72(d,J=2.4Hz,2H),8.14(d,J=2.8Hz,1H),8.00-8.06(m,1H),7.86-7.93(m,1H),7.70(t,J=59.2Hz,1H),6.57(d,J=4.8Hz,1H),6.49(d,J=2.8Hz,1H),4.54-4.63(m,1H),2.79-2.96(m,2H),1.93(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):574[M+H]$^+$。

[1576] 方法A46

[1577] 

[1578] 实例164、165:(6S,8S)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1579] 实例166、167:(6S,8R)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1580] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1581] 步骤1:2-甲基-2-(1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮

[1582] 类似于方法A33步骤1,但使用2-甲基-2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲

基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮(A9-4,31.0g,105mmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(9.0g,52%产率)。LC-MS:m/z 165[M+H]$^+$。

[1583] 步骤2:2-(1-(2-溴-1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-甲基环戊烷-1-酮

[1584] 在-40℃下,向2-甲基-2-(1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮(4.5g,27mmol)在THF(200mL)中的搅拌的溶液中添加DBU(8.3g,54mmol)和2-溴-1,1-二氟乙烯(50.0g,349mmol)。将反应混合物温热至50℃并搅拌16h。用水(100mL)猝灭反应。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 100mL)萃取。将合并的有机层用盐水(100ml)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并在减压下浓缩。通过反相柱纯化残余物,以得到呈黄色油状物的标题化合物(2.3g,27%产率)。LC-MS:m/z 307[M+H]$^+$。

[1585] 步骤3:2-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-甲基环戊烷-1-酮

[1586] 向2-(1-(2-溴-1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-甲基环戊烷-1-酮(4.5g,14mmol)在EtOH(200mL)中的溶液添加Pd(OH)$_2$/C(4.1g,1mmol,10%)和Pd/C(3.5g,1mmol,10%)。将混合物脱气,并且然后在氢气压力[30atm]下在120℃下搅拌48h。将固体滤出并将滤液在减压下浓缩。将残余物施加在硅胶柱上并用PE/EtOAc(10:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(1.8g,37%产率)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.75(d,J=2.8Hz,1H),6.36(d,J=2.8Hz,1H),2.67-2.76(m,1H),2.34-2.44(m,1H),2.26(t,J=16.0Hz,3H),1.92-2.12(m,4H),1.43(s,3H)。LC-MS:m/z 229[M+H]$^+$。

[1587] 步骤4:2-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基环戊烷-1-酮

[1588] 类似于方法A1步骤4,但使用在1-叔丁氧基-N,N,N',N'-四甲基-甲烷二胺(382mg,2.2mmol)中的2-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-甲基环戊烷-1-酮(100mg,440μmol)并在100℃下搅拌1h,获得呈红色油状物的粗标题化合物(100mg)。LC-MS:m/z 284[M+H]$^+$。

[1589] 步骤5:8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶

[1590] 类似于方法A1步骤5,但使用在EtOH(5mL)和HCl(0.5mL,4M在二噁烷中)中的2-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基环戊烷-1-酮(100mg,353μmol)和3-氟-1H-吡唑-5-胺(36mg,353μmol)并在100℃下搅拌1h,获得呈黄色固体的标题化合物(50mg,44%产率)。LC-MS:m/z 322[M+H]$^+$。

[1591] 步骤6:8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈

[1592] 类似于方法A1步骤6,但使用在氯苯(40mL)中的8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(400mg,1.2mmol),获得呈黄色固体的标题化合物(200mg,23%产率)。LC-MS:m/z 347[M+H]$^+$。

[1593] 步骤7:8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺(A46-7)

[1594] 类似于方法A33步骤7,但使用8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈(65mg,187μmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(A46-7,30mg,44%产率)。LC-MS:m/z 365[M+H]$^+$。

[1595] 步骤8:2-(5-溴-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)嘧啶

[1596] 在0℃下,向6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(A38-2,260mg,1.1mmol)在HBr(2mL,33%在乙酸中)中的搅拌的混合物中逐滴添加$NaNO_2$(224mg,3.3mmol)在水(2mL)中的溶液,并将其在0℃下搅拌30min。在0℃下添加CuBr(202mg,1.4mmol),并将反应混合物在0℃下搅拌1h。用水(20mL)稀释混合物,并用DCM(3x 20mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物施加在硅胶柱上并用PE/EtOAc(3:1)洗脱,以得到呈黄色固体的标题化合物(210mg,64%产率)。LC-MS:m/z304$[M+H]^+$。

[1597] 步骤9:(反式)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1598] 类似于方法A33步骤8,但使用8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺(30mg,82μmol)和2-(5-溴-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)嘧啶(30mg,98μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(12mg,21%产率),LC-MS:m/z 588$[M+H]^+$;呈白色固体的顺式异构体(6mg,10%产率),LC-MS:m/z 588$[M+H]^+$。

[1599] 步骤10:分离对映体,以获得实例164和实例165

[1600] 使25mg的(反式)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化。(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):5.47;RT2(min):10.61;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.3mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈灰白色固体的实例164(5.4mg,21%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈淡黄色固体的实例165(11.6mg,44%产率)。

[1601] 实例164:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.13(s,1H),9.08(d,J=2.4Hz,1H),8.97(d,J=4.8Hz,2H),8.74(s,1H),8.72(d,J=2.4Hz,1H),8.18(d,J=2.8Hz,1H),7.64(t,J=4.8Hz,1H),6.57-6.59(m,2H),4.55(t,J=8.4Hz,1H),3.05-3.11(m,1H),2.56-2.61(m,1H),2.20(t,J=16.4Hz,3H),2.03(s,3H)。LC-MS:m/z 588$[M+H]^+$。

[1602] 实例165:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.10(s,1H),9.08(d,J=2.4Hz,1H),8.97(d,J=4.8Hz,2H),8.74(s,1H),8.72(d,J=2.4Hz,1H),8.18(d,J=2.8Hz,1H),7.64(t,J=4.8Hz,1H),6.57-6.59(m,2H),4.55(t,J=8.4Hz,1H),3.05-3.11(m,1H),2.56-2.61(m,1H),2.21(t,J=16.4Hz,3H),2.03(s,3H)。LC-MS:m/z 588$[M+H]^+$。

[1603] 步骤11:分离对映体,以获得实例166和实例167

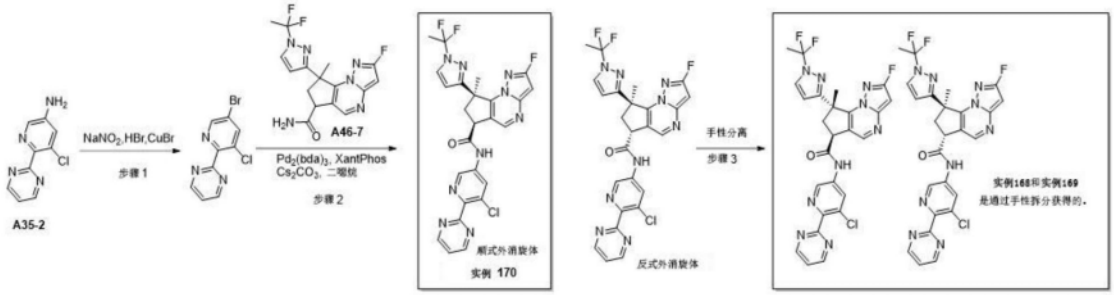
[1604] 使23mg的(顺式)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化。(柱:CHIRALPAK IG,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度40%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):7.17;RT2(min):10.41;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.6mL;运行次数:4)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例166(2.7mg,11%产率)。

将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例167(1.3mg,5%产率)。

[1605] 实例166:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.00(s,1H),9.05(d,J=2.0Hz,1H),8.96(d,J=4.8Hz,2H),8.73(s,1H),8.67(d,J=2.0Hz,1H),8.11(d,J=2.4Hz,1H),7.63(t,J=4.8Hz,1H),6.57(d,J=5.2Hz,1H),6.48(d,J=2.8Hz,1H),4.56-4.60(m,1H),2.99-3.03(m,1H),2.78-2.85(m,1H),2.09(t,J=16.4Hz,3H),1.93(s,3H)。LC-MS:m/z588[M+H]$^+$。

[1606] 实例167:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.01(s,1H),9.05(d,J=2.4Hz,1H),8.96(d,J=4.8Hz,2H),8.73(s,1H),8.67(d,J=2.0Hz,1H),8.11(d,J=2.4Hz,1H),7.63(t,J=4.8Hz,1H),6.57(d,J=4.8Hz,1H),6.48(d,J=2.8Hz,1H),4.56-4.60(m,1H),2.99-3.03(m,1H),2.78-2.85(m,1H),2.09(t,J=16.4Hz,3H),1.93(s,3H)。LC-MS:m/z588[M+H]$^+$。

[1607] 方法A47

[1608] 

[1609] 实例168、169:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺,(6R,8R)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1610] 实例170:(顺式)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1611] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1612] 步骤1:2-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)嘧啶

[1613] 类似于方法A46步骤8,但使用5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-胺(A35-2,120mg,581μmol),获得呈黄色固体的标题化合物(110mg,70%产率)。LC-MS:m/z 270[M+H]$^+$。

[1614] 步骤2:(反式)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和实例170

[1615] 类似于方法A33步骤8,但使用8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺(A46-7,30mg,82μmol)和2-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)嘧啶(26.7mg,98μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(1.3mg,2%产率),LC-MS:m/z 554[M+H]$^+$;呈白色固体的实例170(1.2mg,2%产率)。

[1616] 实例170:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:10.89(s,1H),8.97(d,J=4.8Hz,2H),8.77(d,J=2.0Hz,1H),8.72(s,1H),8.41(d,J=2.0Hz,1H),8.11(d,J=2.8Hz,1H),7.61(t,J=4.8Hz,1H),6.56(d,J=4.8Hz,1H),6.46(d,J=2.8Hz,1H),4.54-4.58(m,1H),2.93-2.98(m,1H),2.78-2.84(m,1H),2.12(t,J=16.4Hz,3H),1.92(s,3H)。LC-MS:m/z 554[M+H]$^+$。

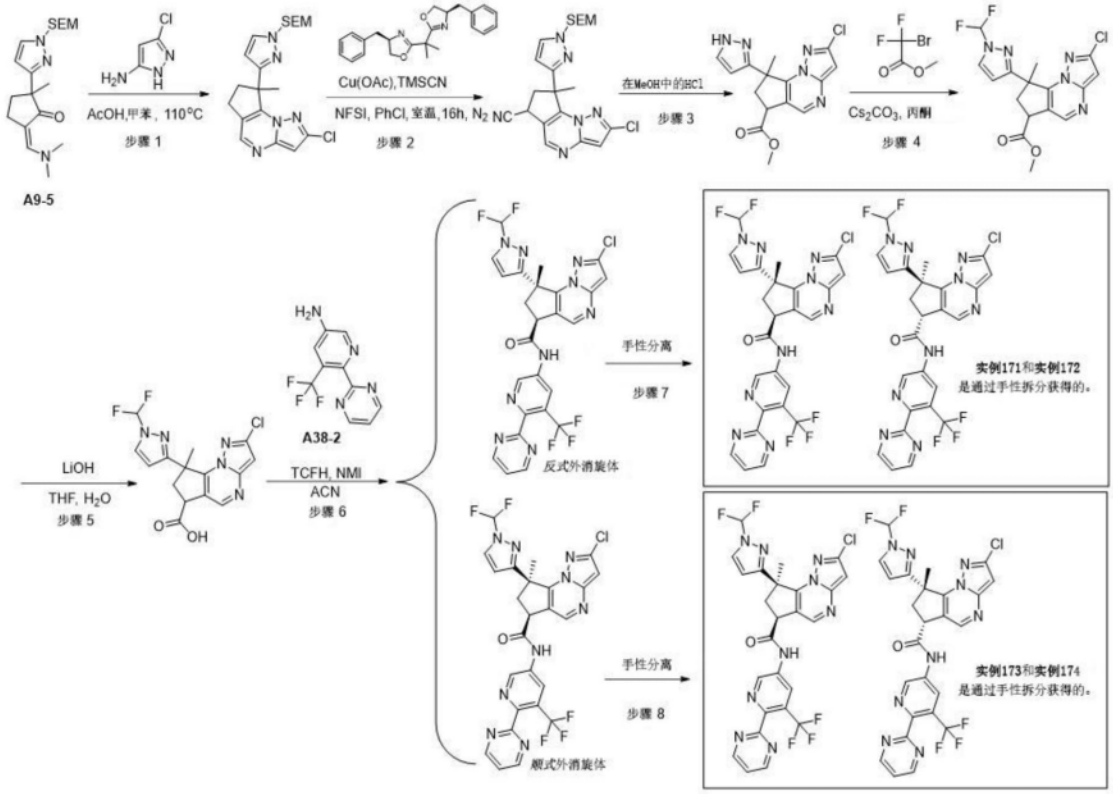
[1617] 步骤3:分离对映体,以获得实例168和实例169

[1618] 使5.8mg的(反式)-N-(5-氯-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(1,1-二氟乙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化。(柱:CHIRALPAK IG,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度60%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):6.138;RT2(min):12.152;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.5mL;运行次数:1)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈灰白色固体的实例168(1.8mg,31%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例169(1.3mg,22%产率)。

[1619] 实例168:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:10.97(s,1H),8.98(d,J=4.8Hz,2H),8.80(d,J=2.0Hz,1H),8.72(s,1H),8.46(d,J=2.0Hz,1H),8.18(d,J=2.8Hz,1H),7.61(t,J=4.8Hz,1H),6.56-6.59(m,2H),4.51-4.55(m,1H),3.05-3.10(m,1H),2.56-2.67(m,1H),2.20(t,J=16.4Hz,3H),2.03(s,3H)。LC-MS:m/z 554[M+H]$^+$。

[1620] 实例169:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:10.97(s,1H),8.98(d,J=4.8Hz,2H),8.80(d,J=2.0Hz,1H),8.72(s,1H),8.46(d,J=1.6Hz,1H),8.18(d,J=2.4Hz,1H),7.62(t,J=4.8Hz,1H),6.56-6.59(m,2H),4.51-4.55(m,1H),3.04-3.10(m,1H),2.56-2.67(m,1H),2.20(t,J=16.4Hz,3H),2.03(s,3H)。LC-MS:m/z 554[M+H]$^+$。

[1621] 方法A48

[1622] 

[1623] 实例171、172:(6S,8S)-2-氯-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-2-氯-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1624] 实例173、174:(6S,8R)-2-氯-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-8-甲基-N-(6-

(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-2-氯-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1625] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1626] 步骤1:2-氯-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶

[1627] 类似于方法A6步骤6,但使用5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮(6g,17mmol)和3-氯-1H-吡唑-5-胺(2g,17mmol),在110℃下搅拌1h,获得呈红色固体的标题化合物(2.9g,41%产率)。LC-MS:m/z 404[M+H]$^+$。

[1628] 步骤2:2-氯-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈

[1629] 类似于方法A6步骤7,但使用在氯苯(20mL)中的2-氯-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(1.1g,3mmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(200mg,17%产率),呈黄色油状物。LC-MS:m/z 429[M+H]$^+$。

[1630] 步骤3:2-氯-8-甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[1631] 将2-氯-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈(400mg,932μmol)在HCl(10mL,4M在MeOH中)中的溶液在80℃下搅拌2h。将混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色油状物的标题化合物(200mg,65%产率),其被直接用于下一步骤。LC-MS:m/z 332[M+H]$^+$。

[1632] 步骤4:2-氯-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[1633] 类似于方法A23步骤1,但使用2-氯-8-甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(200mg,602μmol)并在60℃下搅拌16h,获得呈黄色油状物的标题化合物(200mg,87%产率)。LC-MS:m/z 382[M+H]$^+$。

[1634] 步骤5:2-氯-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[1635] 类似于方法A7步骤2,但使用在THF(10mL)中的2-氯-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(200mg,524μmol),并通过反相柱色谱法纯化产物,获得呈黄色油状物的标题化合物(130mg,67%产率)。LC-MS:m/z 368[M+H]$^+$。

[1636] 步骤6:(反式)-2-氯-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-2-氯-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1637] 类似于方法A1步骤8,但使用2-氯-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(120mg,326μmol)和6-(嘧啶-2-基)-5-

(三氟甲基)吡啶-3-胺(A38-2,78mg,326μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈粉红色固体的反式异构体(24mg,25%产率),LC-MS:m/z 590[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(19mg,19%产率),LC-MS:m/z 590[M+H]$^+$。

[1638] 步骤7:分离对映体,以获得实例171和实例172

[1639] 使(反式)-2-氯-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺(24mg,40μmol)经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IG,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):5.732;RT2(min):13.43;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.0mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈粉红色固体的实例171(5mg,40%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈黄色固体的实例172(9mg,72%产率)。

[1640] 实例171:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.13(s,1H),9.07(d,J=2.4Hz,1H),8.98(d,J=4.8Hz,2H),8.76(s,1H),8.72(d,J=2.4Hz,1H),8.22(d,J=2.8Hz,1H),7.71(t,J=59.2Hz,1H),7.64(t,J=4.8Hz,1H),6.97(s,1H),6.63(d,J=2.8Hz,1H),4.51-4.56(m,1H),3.01-3.08(m,1H),2.55-2.63(m,1H),2.07(s,3H)。LC-MS:m/z 590[M+H]$^+$。

[1641] 实例172:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.12(s,1H),9.07(d,J=2.0Hz,1H),8.98(d,J=4.8Hz,2H),8.76(s,1H),8.72(d,J=2.4Hz,1H),8.22(d,J=2.8Hz,1H),7.71(t,J=59.2Hz,1H),7.64(t,J=4.8Hz,1H),6.97(s,1H),6.63(d,J=2.8Hz,1H),4.51-4.57(m,1H),3.00-3.08(m,1H),2.55-2.63(m,1H),2.07(s,3H)。LC-MS:m/z 590[M+H]$^+$。

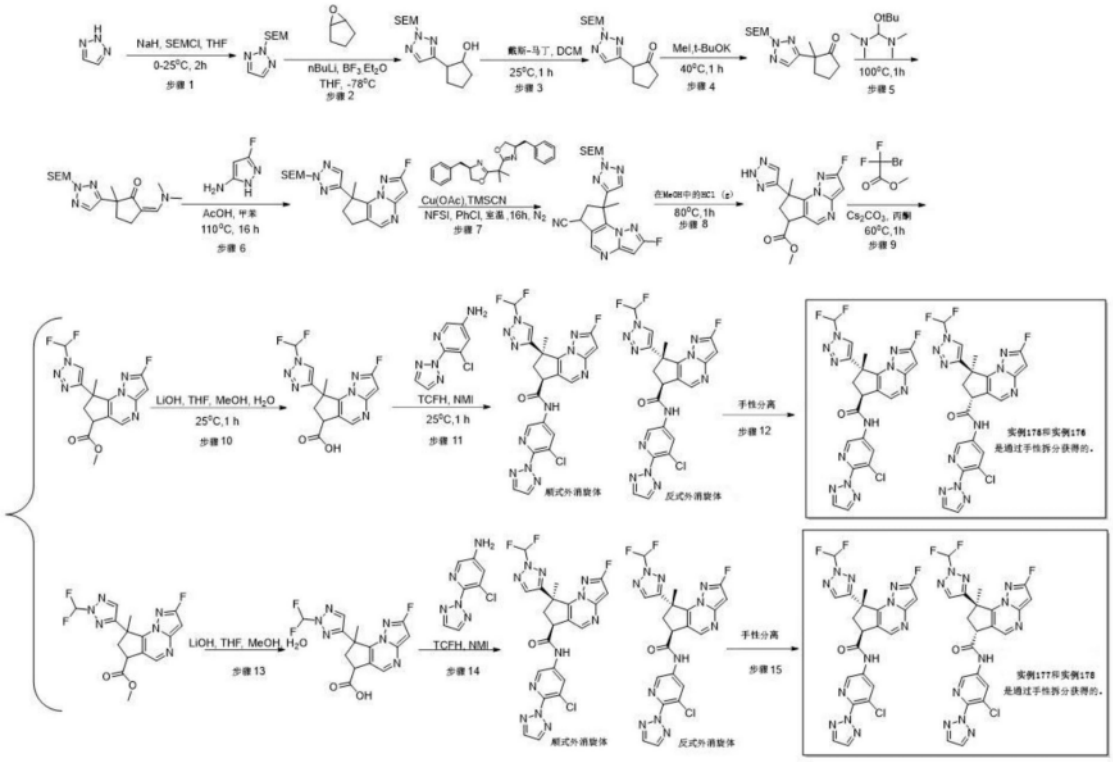
[1642] 步骤8:分离对映体,以获得实例173和实例174

[1643] 使(顺式)-2-氯-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-8-甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺(19mg,32μmol)经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IG,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):12.948;RT2(min):18.039;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.2mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例173(6mg,63%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例174(5mg,8μmol,52%产率)。

[1644] 实例173:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.03(s,1H),9.04(d,J=2.0Hz,1H),8.97(d,J=4.8Hz,2H),8.77(s,1H),8.66(d,J=2.0Hz,1H),8.14(d,J=2.8Hz,1H),7.69(t,J=59.2Hz,1H),7.64(t,J=4.8Hz,1H),6.95(s,1H),6.48(d,J=2.8Hz,1H),4.56-4.62(m,1H),2.81-2.97(m,2H),1.95(s,3H)。LC-MS:m/z 590[M+H]$^+$。

[1645] 实例174:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.02(s,1H),9.04(d,J=2.0Hz,1H),8.97(d,J=4.8Hz,2H),8.77(s,1H),8.66(d,J=2.4Hz,1H),8.14(d,J=2.8Hz,1H),7.70(t,J=59.2Hz,1H),7.64(t,J=4.8Hz,1H),6.95(s,1H),6.48(d,J=2.8Hz,1H),4.57-4.62(m,1H),2.81-2.95(m,2H),1.95(s,3H)。LC-MS:m/z 590[M+H]$^+$。

[1646] 方法A49

[1647] 

[1648] 实例175、176:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1649] 实例177、178:(6S,8S)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(2-(二氟甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(2-(二氟甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1650] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1651] 步骤1:2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2H-1,2,3-三唑

[1652] 类似于方法A6步骤1,但使用2H-三唑(30g,434.4mmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(46g,45%产率)。LC-MS:m/z 200[M+H]$^+$。

[1653] 步骤2:2-(2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)环戊烷-1-醇

[1654] 类似于方法A1步骤1,但使用2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2H-1,2,3-三唑(50g,250.9mmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(33.5g,42%产率)。LC-MS:m/z 284[M+H]$^+$。

[1655] 步骤3:2-(2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)环戊烷-1-酮

[1656] 类似于方法A10步骤2,但使用2-(2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)环戊烷-1-醇(15g,52.9mmol),并在通过反相柱色谱法纯化之后,得到呈黄

色油状物的标题化合物(15g,90%产率)。LC-MS:m/z 282[M+H]$^+$。

[1657] 步骤4:2-甲基-2-(2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)环戊烷-1-酮

[1658] 类似于方法A1步骤3,但使用2-(2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)环戊烷-1-酮(10g,35.5mmol),获得呈无色油状物的标题化合物(4.1g,36%产率)。LC-MS:m/z 296[M+H]$^+$。

[1659] 步骤5:5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)环戊烷-1-酮

[1660] 类似于方法A1步骤4,但使用在1-叔丁氧基-N,N,N',N'-四甲基甲烷二胺(4.6g,26.4mmol)中的2-甲基-2-(2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)环戊烷-1-酮(3.9g,13.2mmol)并在100℃下搅拌1h,获得呈棕色油状物的粗标题化合物(4.2g),并且被用于下一步骤而无需进一步纯化。LC-MS:m/z 351[M+H]$^+$。

[1661] 步骤6:2-氟-8-甲基-8-(2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶

[1662] 类似于方法A1步骤5,但使用5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)环戊烷-1-酮(1g,2.9mmol)并在通过反相柱色谱法纯化之后,获得呈黄色油状物的标题化合物(250mg,23%产率)。LC-MS:m/z 389[M+H]$^+$。

[1663] 步骤7:2-氟-8-甲基-8-(2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈

[1664] 类似于方法A6步骤7,但使用在氯苯(20mL)中的2-氟-8-甲基-8-(2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(1g,2.6mmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(90mg,8%产率)。LC-MS:m/z 414[M+H]$^+$。

[1665] 步骤8:2-氟-8-甲基-8-(2H-1,2,3-三唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[1666] 类似于方法A48步骤3,但使用2-氟-8-甲基-8-(2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈(90mg,185μmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(50mg,85%产率)。LC-MS:m/z 317[M+H]$^+$。

[1667] 步骤9:8-(1-(二氟甲基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯和8-(2-(二氟甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[1668] 类似于方法A23步骤1,但使用2-氟-8-甲基-8-(2H-1,2,3-三唑-4-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸酯(50mg,158μmol)并在60℃下搅拌1h,并且在通过制备型HPLC纯化之后,获得呈白色固体的8-(1-(二氟甲基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(35mg,60%产率),LC-MS:m/z 367[M+H]$^+$和8-(2-(二氟甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(20mg,35%产率),LC-MS:m/z 367[M+H]$^+$。

[1669] 步骤10:8-(1-(二氟甲基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环

戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[1670] 类似于方法A7步骤2,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸酯(33mg,90.1μmol),获得呈黄色油状物的粗标题化合物(28mg,88%产率)。LC-MS:m/z 353[M+H]$^+$。

[1671] 步骤11:(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1672] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(26mg,74μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(10.4mg,26%产率);呈白色固体的顺式异构体(5.6mg,14%产率)。

[1673] 顺式异构体:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.08(s,1H),8.79(s,1H),8.77(s,1H),8.72(d,J=2.0Hz,1H),8.57(d,J=2.0Hz,1H),8.25(t,J=58.0Hz,1H),8.18(s,2H),6.58(d,J=4.8Hz,1H),4.61(t,J=8.0Hz,1H),2.82-2.97(m,2H),1.95(s,3H)。LC-MS:m/z 530[M+H]$^+$。

[1674] 步骤12:分离对映体,以获得实例175和实例176

[1675] 使9mg的(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺(9mg,17μmol)经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IF,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度40%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):9.704;RT2(min):12.258;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:0.6mL;运行次数:3)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈灰白色固体的实例175(2.8mg,31%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈灰白色固体的实例176(3.9mg,43%产率)。

[1676] 实例175:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.27(s,1H),8.88(s,1H),8.78(s,1H),8.76(d,J=2.4Hz,1H),8.61(d,J=2.4Hz,1H),8.23(t,J=58.0,1H),8.18(s,2H),6.60(d,J=4.8Hz,1H),4.68(t,J=8.0Hz,1H),3.01-3.09(m,1H),2.64-2.69(m,1H),2.07(s,3H)。LC-MS:m/z 530[M+H]$^+$。

[1677] 实例176:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.20(s,1H),8.88(s,1H),8.77(s,1H),8.75(d,J=2.4Hz,1H),8.61(d,J=2.4Hz,1H),8.23(t,J=58.0,1H),8.18(s,2H),6.60(d,J=4.8Hz,1H),4.67(t,J=8.0Hz,1H),3.00-3.10(m,1H),2.61-2.69(m,1H),2.07(s,3H)。LC-MS:m/z 530[M+H]$^+$。

[1678] 步骤13:8-(2-(二氟甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[1679] 类似于方法A7步骤2,但使用8-(2-(二氟甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(30mg,82μmol),获得呈黄色油状物的粗标题化合物(20mg,69%产率)。LC-MS(ES,m/z):353[M+H]$^+$。

[1680] 步骤14:(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(2-(二氟甲

基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(2-(二氟甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1681] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(2-(二氟甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(15mg,43μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(7mg,31%产率);呈白色固体的顺式异构体(3mg,13%产率)。

[1682] 顺式异构体:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.15(br,1H),8.79(s,1H),8.72(d,J=1.6Hz,1H),8.56(d,J=1.6Hz,1H),8.23(s,1H),8.18(s,2H),8.07(t,J=57.6Hz,1H),6.60(d,J=4.8Hz,1H),4.63(t,J=7.6Hz,1H),2.83-2.93(m,2H),1.97(s,3H)。LC-MS:m/z 530 $[M+H]^+$。

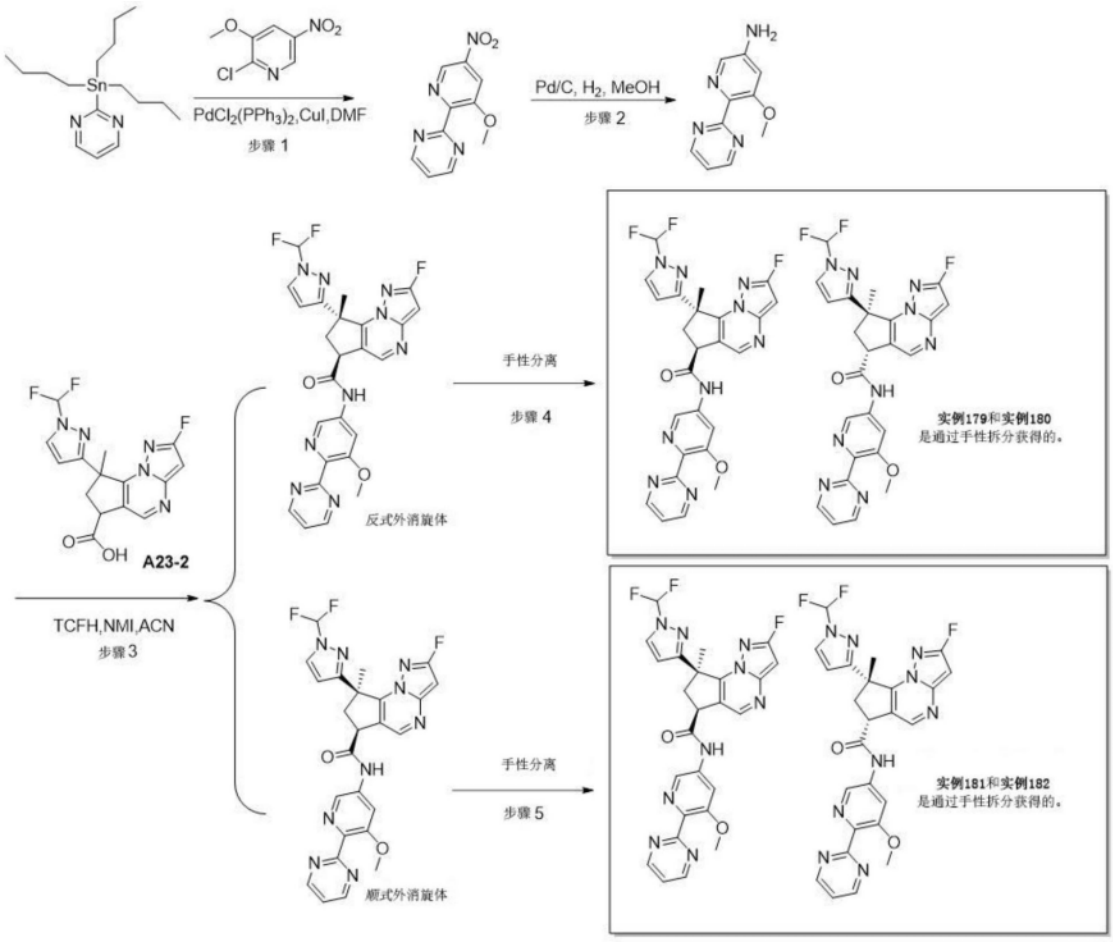
[1683] 步骤15:分离对映体,以获得实例177和实例178

[1684] 使(反式)-N-(5-氯-6-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-3-基)-8-(2-(二氟甲基)-2H-1,2,3-三唑-4-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺(7mg,13μmol)经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IG,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1%FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):6.412;RT2(min):10.459;注入体积:2mL;运行次数:1)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例177(2.2mg,31%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例178(2.8mg,37%产率)。

[1685] 实例177:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.17(s,1H),8.78(s,1H),8.74(d,J=2.0Hz,1H),8.60(d,J=2.0Hz,1H),8.33(s,1H),8.18(s,2H),8.07(t,J=57.2Hz,1H),6.61(d,J=4.8Hz,1H),4.54-4.63(m,1H),2.97-3.06(m,1H),2.66-2.72(m,1H),2.09(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):530$[M+H]^+$。

[1686] 实例178:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.17(s,1H),8.78(s,1H),8.74(d,J=2.0Hz,1H),8.60(d,J=2.0Hz,1H),8.33(s,1H),8.18(s,2H),8.07(t,J=57.2Hz,1H),6.61(d,J=5.2Hz,1H),4.51-4.64(m,1H),2.97-3.10(m,1H),2.66-2.72(m,1H),2.09(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):530$[M+H]^+$。

[1687] 方法A50

[1688] 

[1689] 实例179、180:(6S,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-N-(5-甲氧基-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-N-(5-甲氧基-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1690] 实例181、182:(6S,8R)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-N-(5-甲氧基-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-N-(5-甲氧基-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1691] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1692] 步骤1:2-(3-甲氧基-5-硝基吡啶-2-基)嘧啶

[1693] 类似于方法A35步骤1,但使用2-氯-3-甲氧基-5-硝基-吡啶(1g,5.3mmol),获得呈黄色固体的标题化合物(520mg,42%产率)。LC-MS:m/z 233$[M+H]^+$。

[1694] 步骤2:5-甲氧基-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-胺

[1695] 类似于方法A15步骤2,但使用2-(3-甲氧基-5-硝基吡啶-2-基)嘧啶(150mg,581μmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(83mg,71%产率)。LC-MS:m/z 203$[M+H]^+$。

[1696] 步骤3:(反式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-N-(5-甲氧基-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-N-(5-甲氧基-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1697] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(55mg,157μmol)和5-甲氧基-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-胺(38mg,188μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈灰白色固体的反式异构体(23mg,26%产率),LC-MS:m/z 536[M+H]$^+$;呈灰白色固体的顺式异构体(15mg,17%产率),LC-MS:m/z 536[M+H]$^+$。

[1698] 步骤4:分离对映体,以获得实例179和实例180

[1699] 使23mg的(反式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-N-(5-甲氧基-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IG,2*25cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度70%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):5.344;RT2(min):10.928;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2.0mL;运行次数:1)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈灰白色固体的实例179(6.1mg,26%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈灰白色固体的实例180(4.8mg,21%产率)。

[1700] 实例179:^{1}HNMR(400MHz,CDCL3)δ:8.94(d,J=4.8Hz,2H),8.73(br,1H),8.60(s,1H),8.57(s,1H),8.46(s,1H),7.74(d,J=2.8Hz,1H),7.33(d,J=4.8Hz,1H),7.08(t,J=60.8Hz,1H),6.75(d,J=2.8Hz,1H),6.27(d,J=4.8Hz,1H),4.60(t,J=8.0Hz,1H),4.00(s,3H),3.37-3.47(m,1H),2.59-2.69(m,1H),2.16(s,3H)。LC-MS:m/z 536[M+H]$^+$。

[1701] 实例180:^{1}HNMR(400MHz,CDCL3)δ:8.94(d,J=4.8Hz,2H),8.65(br,1H),8.60(s,1H),8.55(s,1H),8.44(s,1H),7.74(d,J=2.4Hz,1H),7.33(d,J=4.8Hz,1H),7.08(t,J=60.8Hz,1H),6.75(d,J=2.8Hz,1H),6.28(d,J=4.8Hz,1H),4.59(t,J=8.0Hz,1H),4.00(s,3H),3.38-3.47(m,1H),2.60-2.66(m,1H),2.16(s,3H)。LC-MS:m/z 536[M+H]$^+$。

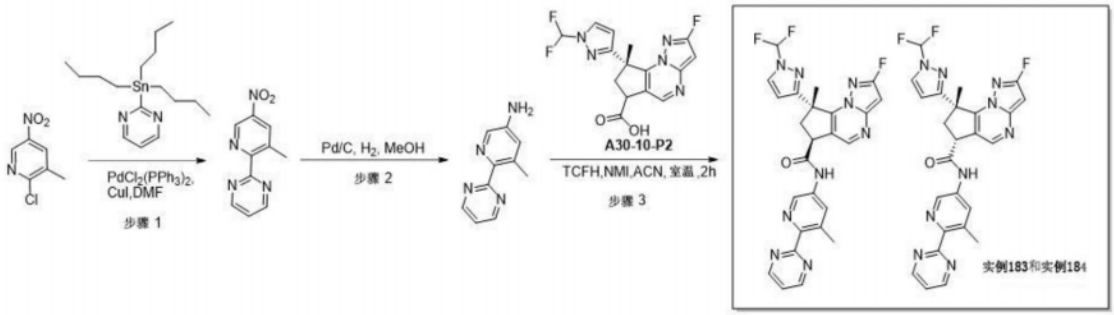
[1702] 步骤5:分离对映体,以获得实例181和实例182

[1703] 使15mg的(顺式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-N-(5-甲氧基-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRAL ART Cellulose-SC,2*25cm,5μm;流动相A:Hex--HPLC,流动相B:IPA:DCM=1:1--HPLC;流速:20ML/MIN mL/min;梯度:等度80%流动相B;波长:254/220nm nm;RT1(min):7.973;RT2(min):11.305;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.0mL;运行次数:2)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈浅粉色固体的实例181(3.5mg,24%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈灰白色固体的实例182(2.6mg,18%产率)。

[1704] 实例181:^{1}HNMR(400MHz,CDCL3)δ:9.47(s,1H),8.94(d,J=4.8Hz,2H),8.68(s,1H),8.32(s,1H),8.27(s,1H),7.81(d,J=2.8Hz,1H),7.32(d,J=4.8Hz,1H),7.02(t,J=60.4Hz,1H),6.92(d,J=2.8Hz,1H),6.30(d,J=5.1Hz,1H),4.52-4.60(m,1H),3.97(s,3H),3.35-3.45(m,1H),2.84-2.94(m,1H),2.12(s,3H)。LC-MS:m/z 536[M+H]$^+$。

[1705] 实例182:^{1}HNMR(400MHz,CDCL3)δ:9.86(s,1H),8.95(d,J=4.8Hz,2H),8.68(s,1H),8.42-8.46(m,2H),7.80(d,J=2.8Hz,1H),7.33(d,J=4.8Hz,1H),7.03(t,J=60.4Hz,1H),6.88(d,J=2.8Hz,1H),6.29(d,J=5.1Hz,1H),4.58-4.65(m,1H),3.99(s,3H),3.35-3.45(m,1H),2.85-2.96(m,1H),2.11(s,3H)。LC-MS:m/z 536[M+H]$^+$。

[1706] 方法A51

[1707] 

[1708] 实例183、实例184:(6S,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(5-甲基-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(5-甲基-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1709] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1710] 步骤1:2-(3-甲基-5-硝基吡啶-2-基)嘧啶

[1711] 类似于方法A30步骤12,但使用2-(三丁基锡烷基)嘧啶(2.6g,6.9mmol)和2-氯-3-甲基-5-硝基吡啶(1g,5.8mmol)并在120℃下搅拌1h,获得呈白色固体的标题化合物(600mg,45%产率)。LC-MS:m/z 217[M+H]$^+$。

[1712] 步骤2:5-甲基-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-胺

[1713] 类似于方法A15步骤2,但使用2-(3-甲基-5-硝基吡啶-2-基)嘧啶(500mg,2.3mmol)并且无需进一步纯化,获得呈棕色固体的粗标题化合物(435mg)。LC-MS:m/z 187[M+H]$^+$。

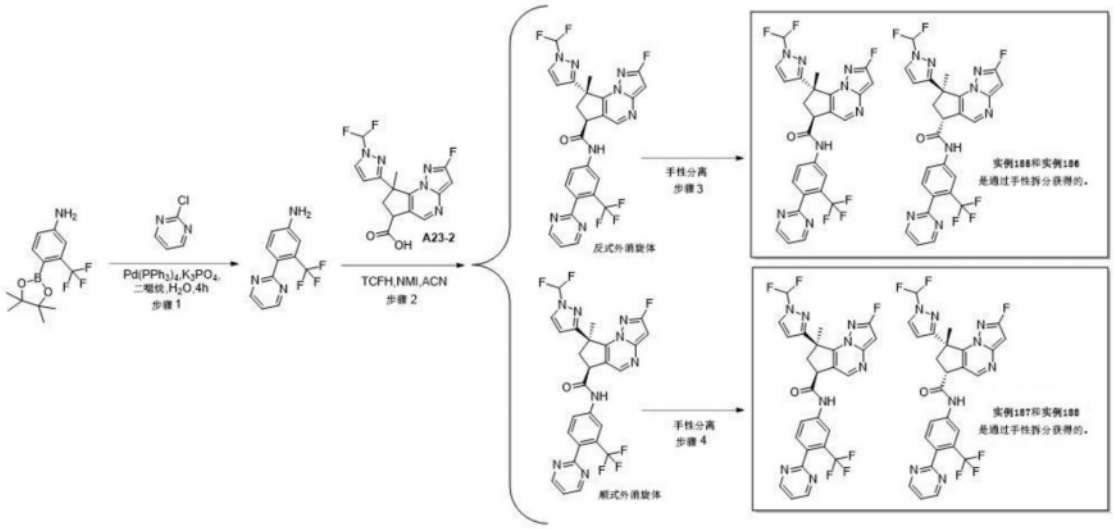
[1714] 步骤3:实例183和实例184

[1715] 类似于方法A1步骤8,但使用(8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A30-10-P2,50mg,142μmol)和5-甲基-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-胺(32mg,169.7μmol),获得非对映异构体标题化合物:呈浅粉色固体的反式异构体实例183(16.5mg,41%产率)和呈浅粉色固体的顺式异构体实例184(10.2mg,24%产率)。

[1716] 实例183:^{1}HNMR(400MHz,CDCL3)δ:9.00(br,1H),8.93(d,J=4.8Hz,2H),8.90(s,1H),8.62(s,1H),8.60(s,1H),7.73(d,J=2.8Hz,1H),7.34(t,J=4.8Hz,1H),7.08(t,J=60.8Hz,1H),6.73(d,J=2.4Hz,1H),6.26(d,J=4.8Hz,1H),4.63(t,J=8.0Hz,1H),3.35-3.45(m,1H),2.71(s,3H),2.63-2.68(m,1H),2.16(s,3H)。LC-MS:m/z 520[M+H]$^+$。

[1717] 实例184:^{1}HNMR(400MHz,CDCL3)δ:9.38(s,1H),8.93(d,J=4.8Hz,2H),8.68(s,1H),8.65(s,1H),8.21(s,1H),7.81(d,J=2.4Hz,1H),7.33(t,J=4.8Hz,1H),7.01(t,J=60.4Hz,1H),6.92(d,J=2.4Hz,1H),6.30(d,J=4.8Hz,1H),4.54-4.58(m,1H),3.34-3.42(m,1H),2.84-2.92(m,1H),2.62(s,3H),2.12(s,3H)。LC-MS:m/z 520[M+H]$^+$。

[1718] 方法A52

[1719] 

[1720] 实例185、186:(6S,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(4-(嘧啶-2-基)-3-(三氟甲基)苯基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(4-(嘧啶-2-基)-3-(三氟甲基)苯基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1721] 实例187、188:(6S,8R)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(4-(嘧啶-2-基)-3-(三氟甲基)苯基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(4-(嘧啶-2-基)-3-(三氟甲基)苯基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1722] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1723] 步骤1:4-(嘧啶-2-基)-3-(三氟甲基)苯胺

[1724] 在25℃下在氮气氛下,向4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-3-(三氟甲基)苯胺(220mg,766μmol)在1.4-二噁烷(10mL)和水(2mL)中的搅拌的溶液中添加2-氯嘧啶(105mg,919μmol)、$Pd(PPh_3)_4$(88mg,77μmol)和磷酸三钾(487mg,2.3mmol)。将所得的混合物在氮气气氛下在80℃下搅拌4h。允许混合物冷却至25℃,用水(50mL)淬灭,并将所得的混合物用乙酸乙酯(3x 50mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。通过反相柱纯化残余物,以得到呈黄色固体的标题化合物(150mg,75%产率)。LC-MS(ES,m/z):240$[M+H]^+$。

[1725] 步骤2:(反式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(4-(嘧啶-2-基)-3-(三氟甲基)苯基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(4-(嘧啶-2-基)-3-(三氟甲基)苯基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1726] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A23-2,50mg,142μmol)和4-(嘧啶-2-基)-3-(三氟甲基)苯胺(37mg,156μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(25mg,29%产率),LC-MS(ES,m/z):573$[M+H]^+$;呈白色固体的顺式异构体(15mg,17%产率),LC-MS(ES,m/z):573$[M+H]^+$。

[1727] 步骤3:分离对映体,以获得实例185和实例186

[1728] 使25mg的(反式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(4-(嘧啶-2-基)-3-(三氟甲基)苯基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IG,2x25 cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1-HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度50%流动相B;波长:254/220nm;RT1(min):3.573;RT2(min):6.164;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.1mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈灰白色固体的实例185(8.5mg,32%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例186(12.1mg,46%产率)。

[1729] 实例185:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ10.87(s,1H),8.93(d,J=4.8Hz,2H),8.71(s,1H),8.28(d,J=2.4Hz,1H),8.20(d,J=2.8Hz,1H),7.98-8.01(m,1H),7.80(d,J=8.4Hz,1H),7.70(t,J=59.2Hz,1H),7.53-7.56(m,1H),6.62(d,J=2.8Hz,1H),6.58(d,J=5.1Hz,1H),4.49(t,J=8.4Hz,1H),2.99-3.05(m,1H),2.53-2.58(m,1H),2.03(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):573[M+H]$^+$。

[1730] 实例186:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ10.88(s,1H),8.93(d,J=4.8Hz,2H),8.71(s,1H),8.28(d,J=2.0Hz,1H),8.20(d,J=2.8Hz,1H),7.98-8.02(m,1H),7.80(d,J=8.4Hz,1H),7.70(t,J=59.2Hz,1H),7.53-7.56(m,1H),6.62(d,J=2.4Hz,1H),6.58(d,J=5.1Hz,1H),4.49(t,J=8.0Hz,1H),2.99-3.06(m,1H),2.53-2.59(m,1H),2.03(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):573[M+H]$^+$。

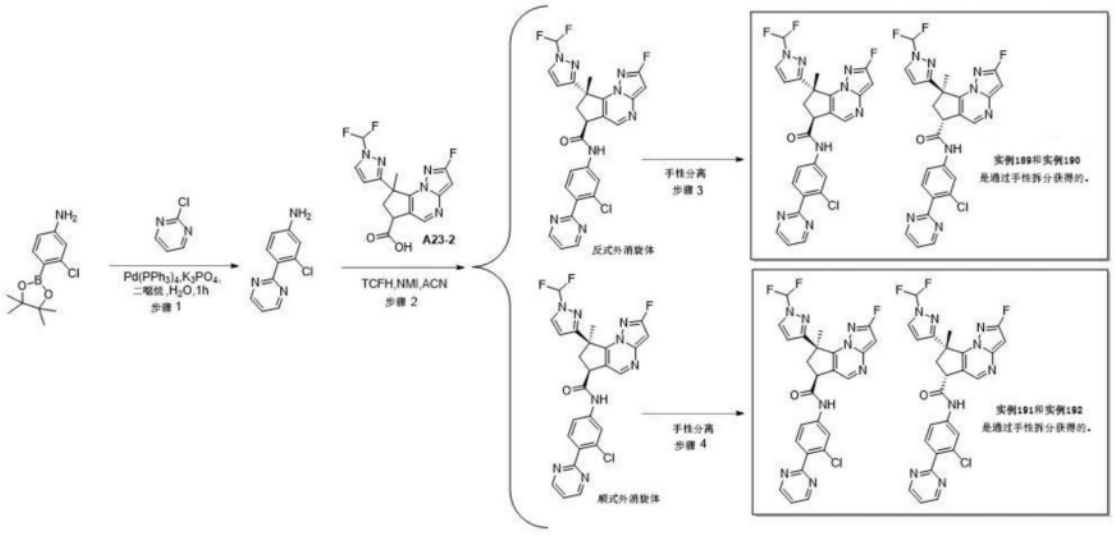
[1731] 步骤4:分离对映体,以获得实例187和实例188

[1732] 使15mg的(顺式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-N-(4-(嘧啶-2-基)-3-(三氟甲基)苯基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IG,2x25 cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度30%流动相B;波长:254/220nm;RT1(min):7.104;RT2(min):9.999;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:1.4mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例187(4.4mg,29%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例188(4.0mg,25%产率)。

[1733] 实例187:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ10.81(s,1H),8.93(d,J=4.8Hz,2H),8.72(s,1H),8.24(d,J=2.0Hz,1H),8.14(d,J=2.4Hz,1H),7.96-7.99(m,1H),7.78(d,J=8.4Hz,1H),7.71(t,J=59.2Hz,1H),7.53(t,J=4.8Hz,1H),6.55(d,J=5.1Hz,1H),6.47(d,J=2.8Hz,1H),4.55(t,J=8.0Hz,1H),2.83(d,J=8.0Hz,2H),1.91(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):573[M+H]$^+$。

[1734] 实例188:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ10.81(s,1H),8.93(d,J=4.8Hz,2H),8.72(s,1H),8.24(d,J=2.0Hz,1H),8.14(d,J=2.4Hz,1H),7.96-7.98(m,1H),7.78(d,J=8.4Hz,1H),7.71(t,J=59.2Hz,1H),7.53(t,J=4.8Hz,1H),6.55(d,J=5.1Hz,1H),6.47(d,J=2.8Hz,1H),4.55(t,J=8.0Hz,1H),2.83(d,J=8.0Hz,2H),1.91(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):573[M+H]$^+$。

[1735] 方法A53

[1736] 

[1737] 实例189、190:(6S,8S)-N-(3-氯-4-(嘧啶-2-基)苯基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8R)-N-(3-氯-4-(嘧啶-2-基)苯基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1738] 实例191、192:(6S,8R)-N-(3-氯-4-(嘧啶-2-基)苯基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-N-(3-氯-4-(嘧啶-2-基)苯基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1739] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1740] 步骤1:3-氯-4-(嘧啶-2-基)苯胺

[1741] 类似于方法A52步骤1,但使用3-氯-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)苯胺(520mg,2.1mmol),获得呈黄色固体的标题化合物(290mg,64%产率)。LC-MS(ES,m/z):206[M+H]$^+$。

[1742] 步骤2:(反式)-N-(3-氯-4-(嘧啶-2-基)苯基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺和(顺式)-N-(3-氯-4-(嘧啶-2-基)苯基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1743] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A23-2,50mg,142μmol)和3-氯-4-(嘧啶-2-基)苯胺(32mg,156μmol),获得标题化合物的外消旋混合物:呈白色固体的反式异构体(35mg,43%产率),LC-MS(ES,m/z):539[M+H]$^+$;呈白色固体的顺式异构体(20mg,24%产率),LC-MS(ES,m/z):539[M+H]$^+$。

[1744] 步骤3:分离对映体,以获得实例189和实例190

[1745] 使30mg的(反式)-N-(3-氯-4-(嘧啶-2-基)苯基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IG,2x25 cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1-HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度60%流动相B;波长:254/220nm;RT1(min):3.846;RT2

(min):6.992;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:3.0mL;运行次数:2)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例189(10.5mg,33%产率)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈灰白色固体的实例190(15.2mg,48%产率)。

[1746] 实例189:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ10.74(s,1H),8.95(d,J=4.8Hz,2H),8.69(s,1H),8.21(d,J=2.8Hz,1H),8.01(d,J=2.0Hz,1H),7.79(d,J=8.4Hz,1H),7.70(t,J=59.2Hz,1H),7.67-7.70(m,1H),7.52(t,J=4.8Hz,1H),6.62(d,J=2.8Hz,1H),6.58(d,J=4.8Hz,1H),4.48(t,J=8.0Hz,1H),2.97-3.04(m,1H),2.52-2.61(m,1H),2.04(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):539[M+H]$^+$。

[1747] 实例190:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ10.74(s,1H),8.95(d,J=4.8Hz,2H),8.69(s,1H),8.21(d,J=2.4Hz,1H),8.01(d,J=2.0Hz,1H),7.79(d,J=8.4Hz,1H),7.70(t,J=59.2Hz,1H),7.67-7.70(m,1H),7.52(t,J=4.8Hz,1H),6.62(d,J=2.4Hz,1H),6.58(d,J=4.8Hz,1H),4.48(t,J=8.0Hz,1H),2.97-3.05(m,1H),2.51-2.61(m,1H),2.04(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):539[M+H]$^+$。

[1748] 步骤4:分离对映体,以获得实例191和实例192

[1749] 使20mg的(顺式)-N-(3-氯-4-(嘧啶-2-基)苯基)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺经受手性HPLC纯化(柱:CHIRALPAK IG,2x25 cm,5μm;流动相A:Hex(0.1% FA)--HPLC,流动相B:EtOH:DCM=1:1--HPLC;流速:20mL/min;梯度:等度40%流动相B;波长:254/220nm;RT1(min):6.883;RT2(min):9.731;样品溶剂:EtOH--HPLC;注入体积:2.0mL;运行次数:2)。将第一洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例191(5.2mg,26%产率)。将第二洗脱异构体浓缩并冻干,以得到呈白色固体的实例192(5.0mg,24%产率)。

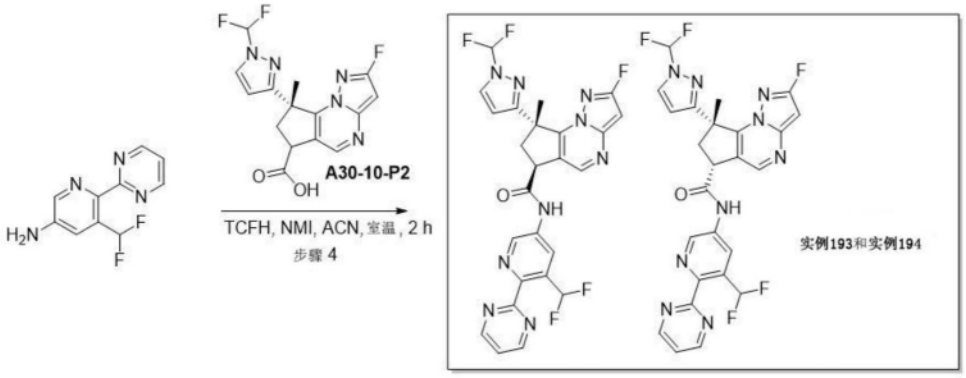
[1750] 实例191:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ10.68(s,1H),8.94(d,J=4.8Hz,2H),8.71(s,1H),8.15(d,J=2.8Hz,1H),7.98(d,J=2.0Hz,1H),7.78(d,J=8.4Hz,1H),7.72(t,J=59.2Hz,1H),7.64-7.68(m,1H),7.51(t,J=4.8Hz,1H),6.55(d,J=5.1Hz,1H),6.46(d,J=2.8Hz,1H),4.54(t,J=8.0Hz,1H),2.79-2.84(m,2H),1.91(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):539[M+H]$^+$。

[1751] 实例192:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ10.68(s,1H),8.94(d,J=4.8Hz,2H),8.71(s,1H),8.15(d,J=2.4Hz,1H),7.98(d,J=2.0Hz,1H),7.78(d,J=8.4Hz,1H),7.72(t,J=59.2Hz,1H),7.64-7.69(m,1H),7.51(t,J=4.8Hz,1H),6.55(d,J=4.8Hz,1H),6.46(d,J=2.8Hz,1H),4.54(t,J=8.0Hz,1H),2.79-2.84(m,2H),1.91(s,3H)。LC-MS(ES,m/z):539[M+H]$^+$。

[1752] 方法A54



[1753]



[1754] 实例193、194:(6S,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-N-(5-(二氟甲基)-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(6R,8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-N-(5-(二氟甲基)-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1755] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1756] 步骤1:N-(6-氯-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-1,1-二苯基甲亚胺

[1757] 向5-溴-2-氯-3-(二氟甲基)吡啶(1g,4.1mmol)在1,4-二噁烷(10mL)中的溶液中添加二苯基甲亚胺(822mg,4.5mmol)、碳酸铯(2.7g,8.3mmol)、Xantphos(477mg,825μmol)和$Pd_2(dba)_3$(755mg,825μmol)。将反应在氮气下在100℃下搅拌2h。将反应冷却至25℃并用水(10mL)稀释。将所得混合物用乙酸乙酯(2x 10mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化,用PE:EA(9:1)洗脱,以得到呈黄色油状物的标题化合物(420mg,28%产率)。LC-MS:m/z 343[M+H]$^+$。

[1758] 步骤2:N-(5-(二氟甲基)-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-1,1-二苯基甲亚胺

[1759] 类似于方法A32步骤2,但使用N-(6-氯-5-(二氟甲基)吡啶-3-基)-1,1-二苯基甲亚胺(400mg,1.2mmol)和2-(三丁基锡烷基)嘧啶(2.2g,5.8mmol)并在120℃下搅拌16h,获得呈黄色油状物的标题化合物(130mg,28%产率)。LC-MS:m/z 387[M+H]$^+$。

[1760] 步骤3:5-(二氟甲基)-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-胺

[1761] 向N-(5-(二氟甲基)-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-基)-1,1-二苯基甲亚胺(120mg,311μmol)在MeOH(10mL)中的溶液中添加盐酸羟胺(108mg,1.6mmol)和乙酸钠(127mg,1.6mmol)。将反应在25℃下搅拌2h。将反应混合物在减压下浓缩。通过反相柱纯化残余物,以得到呈黄色固体的标题化合物(25mg,36%产率)。LC-MS:m/z 223[M+H]$^+$。

[1762] 步骤4:实例193和实例194

[1763] 类似于方法A1步骤8,但使用(8S)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2-氟-8-甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(A30-10-P2,71mg,202.5μmol)和5-(二氟甲基)-6-(嘧啶-2-基)吡啶-3-胺(45mg,202μmol),获得非对映异构体标题化合物:呈白色固体的反式异构体实例193(6.1mg,5%产率),呈白色固体的顺式异构体实例194

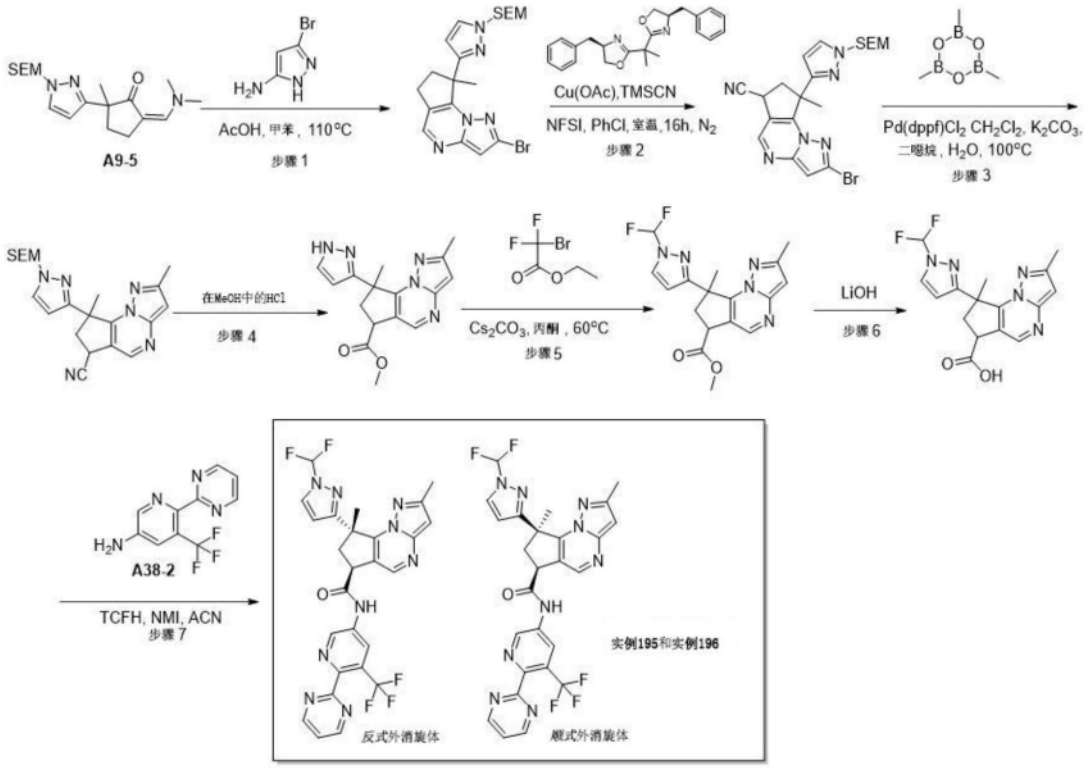
(13.2mg,11%产率)。

[1764] 实例193:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:11.03(s,1H),9.05(s,1H),8.99(d,J=4.8Hz,2H),8.74(s,1H),8.63(s,1H),8.21(d,J=2.8Hz,1H),7.44-7.88(m,3H),6.63(d,J=2.4Hz,1H),6.59(d,J=4.8Hz,1H),4.53(t,J=8.4Hz,1H),3.00-3.08(m,1H),2.54-2.62(m,1H),2.04(s,3H)。LC-MS:m/z 556[M+H]$^+$。

[1765] 实例194:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ:10.95(s,1H),9.03(s,1H),8.99(d,J=4.8Hz,2H),8.75(s,1H),8.59(s,1H),8.15(d,J=2.4Hz,1H),7.44-7.87(m,3H),6.56(d,J=4.8Hz,1H),6.48(d,J=2.4Hz,1H),4.59(t,J=8.0Hz,1H),2.79-2.93(m,2H),1.92(s,3H)。LC-MS:m/z 556[M+H]$^+$。

[1766] 方法A55

[1767]



[1768] 实例195、196:(反式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2,8-二甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺;(顺式)-8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2,8-二甲基-N-(6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酰胺

[1769] 每个实例的相对和绝对立体化学未确定。

[1770] 步骤1:2-溴-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶

[1771] 类似于方法A6步骤6,但使用5-((二甲基氨基)亚甲基)-2-甲基-2-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)环戊烷-1-酮(5.5g,15.7mmol)和3-溴-1H-吡唑-5-胺(2.6g,15.7mmol)并在110℃下搅拌16h,获得呈棕色油状物的标题化合物(4.2g,45%产率)。LC-MS:m/z 448[M+H]$^+$。

[1772] 步骤2:2-溴-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-

基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈

[1773] 类似于方法A1步骤6,但使用在氯苯(400mL)中的2-溴-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶(4.2g,9.4mmol),获得呈浅黄色油状物的标题化合物(2.6g,35%产率)。LC-MS:m/z 473[M+H]$^+$。

[1774] 步骤3:2,8-二甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈

[1775] 向2-溴-8-甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈(2.5g,5.3mmol)在二噁烷(80mL)和水(20mL)中的搅拌溶的液添加2,4,6-三甲基-1,3,5,2,4,6-三氧杂三硼杂己环(994mg,7.9mmol)、Pd(dppf)Cl_2.CH_2Cl_2(431mg,528μmol)和碳酸钾(2.2g,15.8mmol)。将反应混合物在100℃下在氮气气氛下搅拌4h。将混合物冷却到25℃,并在减压下浓缩。将残余物用水(100mL)稀释并将其用乙酸乙酯(3x 100mL)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。通过反相柱纯化残余物,以得到呈棕色油状物的标题化合物(1.1g,37%产率)。LC-MS:m/z 409[M+H]$^+$。

[1776] 步骤4:2,8-二甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[1777] 类似于方法A48步骤3,但使用2,8-二甲基-8-(1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲腈(1.1g,2.6mmol)并通过反相柱色谱法纯化产物,获得呈黄色油状物的标题化合物(250mg,26%产率)。LC-MS:m/z 312[M+H]$^+$。

[1778] 步骤5:8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2,8-二甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯

[1779] 类似于方法A23步骤1,但使用2,8-二甲基-8-(1H-吡唑-3-基)-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(230mg,739μmol)并在60℃下搅拌2h,获得呈黄色油状物的标题化合物(80mg,24%产率)。LC-MS:m/z 362[M+H]$^+$。

[1780] 步骤6:8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2,8-二甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸

[1781] 类似于方法A22步骤2,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2,8-二甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸甲酯(80mg,221μmol),获得呈黄色油状物的标题化合物(40mg,41%产率)。LC-MS:m/z 348[M+H]$^+$。

[1782] 步骤7:实例195和实例196

[1783] 类似于方法A1步骤8,但使用8-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2,8-二甲基-7,8-二氢-6H-环戊并[e]吡唑并[1,5-a]嘧啶-6-甲酸(40mg,115μmol)和6-(嘧啶-2-基)-5-(三氟甲基)吡啶-3-胺(A38-2,33mg,138μmol),获得呈外消旋混合物的标题化合物:呈灰白色固体的反式异构体实例195(3.2mg,21%产率)和呈灰白色固体的顺式异构体实例196(1.6mg,10.4%产率)。

[1784] 实例195:^{1}HNMR(400MHz,$CDCl_3$)δ:9.20(s,1H),8.95(d,J=4.8Hz,2H),8.84-8.92(m,2H),7.74(s,1H),7.42(t,J=4.8Hz,1H),7.08(t,J=60.4Hz,1H),6.76(s,1H),6.67(s,

1H),4.70-4.79(m,1H),3.36-3.46(m,1H),2.78-2.86(m,1H),2.55(s,3H),2.26(s,3H)。LCMS(ES,m/z):570[M+H]$^+$。

[1785] 实例196:^{1}HNMR(400MHz,$CDCl_3$)δ:9.40(s,1H),8.88-8.96(m,3H),8.58(s,1H),8.54(s,1H),7.79(d,J=2.8Hz,1H),7.39-7.42(m,1H),7.03(d,J=2.4Hz,1H),6.98(t,J=60.8Hz,1H),6.58(s,1H),4.52-4.58(m,1H),3.38-3.45(m,1H),2.83-2.93(m,1H),2.51(s,3H),2.19(s,3H)。LCMS(ES,m/z):570[M+H]$^+$。

[1786] 生物测定

[1787] MALT1蛋白酶测定

[1788] 使用四肽作为底物和从杆状病毒感染的昆虫细胞中纯化的全长MALT1蛋白His-MALT1(1-824)在体外测定中评估MALT1蛋白酶活性。四肽底物是Ac-LRSR-AMC(SM Biochemicals),其中测得的K_m为约25μM。

[1789] 最终测定缓冲液包含1nM的MALT1全长蛋白、25μM Ac-LRSR-AMC底物、50mM Tris pH 7.5、600mM柠檬酸钠、1mM DTT、1mM EDTA和0.05% BSA,使用黑色微量滴定方形孔板(Optiplate 384-F,Perkin Elmer),采用384孔板格式。

[1790] 将测试化合物以10mM的原液溶解在100% DMSO中,其中最终DMSO浓度为0.1%。将测试化合物与MALT1蛋白一起在室温下预温育2h。预温育后添加底物,并在室温下温育8小时后,使用Envision在355nm激发和460nm发射处测量荧光信号。在此期间测定信号的增加是线性的并且与酶含量的增加成正比。

[1791] 利用以下公式,通过使用高对照(HC,来自含有MALT1蛋白、底物和DMSO的孔的荧光信号的中值)和低对照(LC,来自仅含有底物的孔的荧光信号的中值)将荧光单位转换为剩余活性的百分比:

[1792] $$\text{剩余活性\%} = 100\% \times \frac{\text{信号}_{\text{样品}} - \text{信号}_{\text{LC}}}{\text{信号}_{\text{HC}} - \text{信号}_{\text{LC}}}$$

[1793] 使用Graph Pad Prism(Graph Pad software,Inc,USA)和非线性回归分析获得IC_{50}和希尔系数。本文所描述的某些化合物的MALT1抑制IC_{50}值提供于下表A和B中。

[1794] 人IL10分泌测定

[1795] IL10是经由活化NF-kB信号传导进行调节的细胞因子之一。例如,在ABC-DLBCL细胞系中,活化的NF-kB信号传导导致IL10分泌增加。已显示,NF-kB信号传导的抑制导致IL10分泌减少。

[1796] 在96孔V型底细胞培养板(corning,3894)中以每孔4.8x10^{5}个细胞/160μL将OCI-LY10细胞接种在补充有20%胎牛血清的IMEM中,从4mM开始,用120nL的3倍系列化合物稀释液进行处理。所有孔中的最终媒剂浓度为0.075% DMSO。温育24h后,将人IL-10预包被板(Meso Scale Discovery)用PBST洗涤3次,将50μL培养基吸入MSD板中,并在4℃下温育过夜。然后弃去上清液并用PBST将孔洗涤3次。根据中尺度方案(Meso Scale Protocol)将SULFO-TAG抗人IL-10抗体(50倍)稀释50倍,然后添加25μL的SULFO-TAG抗人IL-10抗体(1倍)。在室温下温育2h后,弃去上清液并用PBST将孔洗涤3次。添加2倍读取缓冲液,并在MSD Sector S600上读取信号。相对于DMSO的影响,示出了特定化合物对IL10分泌的影响;设置为100%。使用4参数曲线拟合确定IC_{50}值(nM)。

[1797] 使用上文描述的测定的某些化合物的生物活性显示在表A和B中。MALT1 IC_{50}和IL10分泌细胞测定IC_{50}范围如下:A表示IC_{50}<10nM;B表示10nM≤IC_{50}<100nM;C表示100nM≤IC_{50}<1000nM;D表示IC_{50}≥1000nM。NA表示此测定未确定特定化合物的值。

[1798] 表A.选定的式(I)化合物的IC_{50}值

[1799]

实例编号	MALT1 IC_{50} [nM]	IL-10 分泌 IC_{50} [nM]
1	A	C
2	D	不适用
3	C	不适用
4	D	不适用
5	A	B
6	C	不适用
7	C	不适用
8	A	B
9	D	不适用
10	C	不适用
11	C	不适用
12	A	C
13	D	不适用
14	C	不适用
15	C	不适用
16	C	不适用
17	D	不适用
18	D	不适用

[1800]

实例编号	MALT1 IC_{50} [nM]	IL-10 分泌 IC_{50} [nM]
19	D	不适用
20	A	B
21	D	不适用
22	B	不适用
23	C	不适用
24	A	B
25	D	不适用
26	B	不适用
27	D	不适用
28	A	B
29	D	不适用
30	B	不适用
31	D	不适用
32	A	C
33	D	不适用
34	C	不适用
35	C	不适用
36	A	不适用
37	D	不适用
38	B	不适用
39	B	不适用
40	A	B
41	D	不适用
42	C	不适用
43	C	不适用
44	B	不适用
45	D	不适用
46	C	不适用
47	D	不适用
48	A	不适用
49	D	不适用
50	B	不适用
51	C	不适用
52	B	不适用
53	D	不适用
54	C	不适用
55	C	不适用
56	B	不适用
57	D	不适用
58	D	不适用
59	D	不适用
60	B	不适用
61	D	不适用

[1801]

实例编号	MALT1 IC_{50} [nM]	IL-10 分泌 IC_{50} [nM]
62	D	不适用
63	D	不适用
64	B	不适用
65	D	不适用
66	C	不适用
67	D	不适用
68	A	C
69	D	不适用
70	C	不适用
71	D	不适用
72	A	不适用
73	D	不适用
74	B	不适用
75	C	不适用
76	A	不适用
77	D	不适用
78	C	不适用
79	C	不适用
80	A	不适用
81	D	不适用
82	B	不适用
83	C	不适用
84	A	不适用
85	D	不适用
86	B	不适用
87	C	不适用
88	A	B
89	D	不适用
90	B	不适用
91	C	不适用
92	A	C
93	D	不适用
94	B	不适用
95	C	不适用
96	B	不适用
97	D	不适用
98	A	不适用
99	D	不适用
100	B	不适用
101	C	不适用
102	B	不适用
103	D	不适用

[1802]

实例编号	MALT1 IC_{50} [nM]	IL-10 分泌 IC_{50} [nM]
104	C	不适用
105	C	不适用
106	A	B
107	D	不适用
108	C	不适用
109	C	不适用
110	A	B
111	D	不适用
112	C	不适用
113	C	不适用
114	B	不适用
115	C	不适用
116	A	C
117	C	不适用
118	B	不适用
119	D	不适用
120	A	B
121	D	不适用
122	C	不适用
123	C	不适用
124	A	B
125	D	不适用
126	B	不适用
127	B	不适用
128	B	不适用
129	D	不适用
130	C	不适用
131	D	不适用
132	B	不适用
133	C	不适用
134	B	不适用
135	C	不适用
136	A	B
137	D	不适用
138	C	不适用
139	C	不适用
140	A	B
141	D	不适用
142	D	不适用
143	D	不适用
144	A	C
145	D	不适用
146	C	不适用

[1803]

实例编号	MALT1 IC_{50} [nM]	IL-10 分泌 IC_{50} [nM]
147	C	不适用
148	B	C
149	D	不适用
150	C	不适用
151	C	不适用
152	A	不适用
153	D	不适用
154	C	不适用
155	D	不适用
156	B	不适用
157	D	不适用
158	B	不适用
159	D	不适用
160	C	不适用
161	D	不适用
162	B	不适用
163	D	不适用
164	A	不适用
165	D	不适用
166	C	不适用
167	C	不适用
168	B	不适用
169	D	不适用
170	C	不适用
171	A	不适用
172	D	不适用
173	B	不适用
174	C	不适用
175	B	不适用
176	D	不适用
177	A	不适用
178	C	不适用
179	D	不适用
180	C	不适用
181	D	不适用
182	D	不适用
183	B	不适用
184	D	不适用
185	A	不适用
186	D	不适用
187	B	不适用
188	C	不适用

[1804]

实例编号	MALT1 IC_{50} [nM]	IL-10 分泌 IC_{50} [nM]
189	B	不适用
190	D	不适用
191	D	不适用
192	C	不适用
193	B	不适用
194	D	不适用
195	B	不适用
196	C	不适用