



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111386273 B

(45) 授权公告日 2024. 06. 14

(21) 申请号 201880073539.6

(22) 申请日 2018.09.26

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111386273 A

(43) 申请公布日 2020.07.07

(30) 优先权数据
62/564,070 2017.09.27 US
62/714,196 2018.08.03 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.05.13

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/052925 2018.09.26

(87) PCT国际申请的公布数据
W02019/067594 EN 2019.04.04

(73) 专利权人 因赛特公司

地址 美国特拉华州

(72) 发明人 Z·贾 Y·吴 Y·潘 J·周
Q·李

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴

(51) Int.Cl.
C07D 487/04 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01)

(56) 对比文件
WO 2017172596 A1, 2017.10.05
审查员 朱芳

权利要求书4页 说明书62页
序列表1页 附图34页

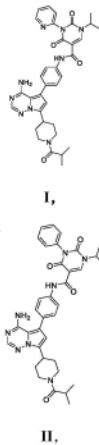
(54) 发明名称

可用作TAM抑制剂的吡咯并三嗪衍生物的盐

(57) 摘要

本申请提供了N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺(I)和N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺(II)的盐形式,所述盐形式可用作TAM激酶的抑

制剂;以及其相关方法和中间物。



1. 一种盐,所述盐是N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐。

2. 如权利要求1所述的盐,所述盐是1:1化学计量比的N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺与马来酸。

3. 如权利要求1所述的盐,所述盐是结晶盐。

4. 如权利要求1所述的盐,所述盐在以重量计含有至少95%所述盐的组合物中。

5. 如权利要求1所述的盐,所述盐以在 $211 \pm 3^\circ\text{C}$ 处具有吸热峰的DSC热分析图其特征。

6. 如权利要求1所述的盐,所述盐具有基本上如图2所示的DSC热分析图。

7. 如权利要求1所述的盐,所述盐具有基本上如图3所示的TGA热分析图。

8. 如权利要求1所述的盐,所述盐就 2θ 而言包括以下XRPD峰: $4.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $8.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $12.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $13.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $18.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 。

9. 如权利要求1所述的盐,所述盐具有基本上如图1所示的XRPD分布。

10. 一种盐,所述盐是N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺半硫酸盐。

11. 如权利要求10所述的盐,所述盐是1:0.5化学计量比的N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺与硫酸。

12. 如权利要求10所述的盐,所述盐是结晶盐。

13. 如权利要求10所述的盐,所述盐在以重量计含有至少95%所述盐的组合物中。

14. 如权利要求10所述的盐,所述盐以在 $289.4 \pm 3^\circ\text{C}$ 处具有吸热峰的DSC热分析图其特征。

15. 如权利要求10所述的盐,所述盐具有基本上如图11所示的DSC热分析图。

16. 如权利要求10所述的盐,所述盐具有基本上如图12所示的TGA热分析图。

17. 如权利要求10所述的盐,所述盐就 2θ 而言包括以下XRPD峰: $5.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $8.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $15.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $20.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $24.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 。

18. 如权利要求10所述的盐,所述盐具有基本上如图10所示的XRPD分布。

19. 一种盐,所述盐选自:

N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺磷酸盐;

N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐;

N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺盐酸盐;

N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺水杨酸盐;

N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-

1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺甲磺酸盐;以及

N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺乙磺酸盐。

20. 一种药物组合物,所述药物组合物包含如权利要求1至19中任一项所述的盐和药学上可接受的载体。

21. 如权利要求1至19中任一项所述的盐在制备用于抑制TAM激酶的药物中的用途。

22. 如权利要求1至19中任一项所述的盐在制备用于抑制AXL和MER激酶的药物中的用途。

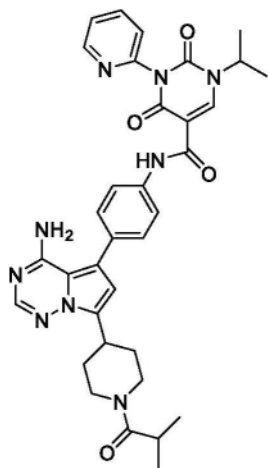
23. 如权利要求1至19中任一项所述的盐在制备用于治疗患者的癌症的药物中的用途。

24. 如权利要求23所述的用途,其中所述癌症选自膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、胃癌、头颈癌、肾癌、肝癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌、食道癌、胆囊癌、胰腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、白血病、多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤或非霍奇金氏淋巴瘤、华氏巨球蛋白血症、毛细胞性淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、成胶质细胞瘤、黑色素瘤和横纹肌肉瘤。

25. 如权利要求23所述的用途,其中所述癌症选自成人T细胞白血病、急性骨髓性白血病和肝细胞癌。

26. 如权利要求23所述的用途,其中所述癌症是肺癌、前列腺癌、结肠癌、乳腺癌、黑色素瘤、肾细胞癌、多发性骨髓瘤、胃癌或横纹肌肉瘤。

27. 一种制备如权利要求1所述的盐的方法,所述方法包括使式I化合物:



I

与马来酸反应,以形成所述盐。

28. 如权利要求27所述的方法,其中基于1当量所述式I化合物使用1当量马来酸。

29. 如权利要求27所述的方法,其中所述使所述式I化合物与马来酸反应是在存在溶剂组分的情况下进行。

30. 如权利要求29所述的方法,其中所述溶剂组分包含甲醇。

31. 如权利要求29所述的方法,其中所述溶剂组分包含二氯甲烷。

32. 如权利要求29所述的方法,其中所述溶剂组分包含甲醇和二氯甲烷。

33. 如权利要求32所述的方法,其中所述方法还包括去除大部分所述二氯甲烷以使所

述盐沉淀。

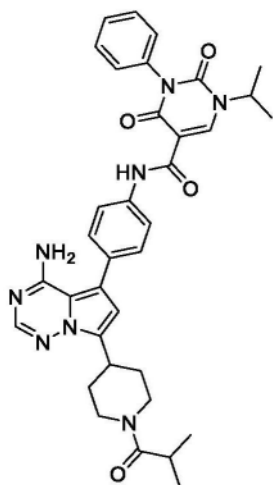
34. 如权利要求29至33中任一项所述的方法,其中所述方法还包括在所述反应前形成所述式I化合物在溶剂组分中的溶液。

35. 如权利要求34所述的方法,其中通过将所述式I化合物在所述溶剂组分中的浆液加热至45℃至55℃的温度而形成所述溶液。

36. 如权利要求35所述的方法,其中所述方法还包括在所述使所述式I化合物与马来酸反应前搅拌所述溶液;以及过滤所述溶液以形成滤液。

37. 如权利要求36所述的方法,其中所述方法还包括在所述将所述浆液加热至45℃至55℃的温度以形成溶液的步骤之后并且在所述搅拌所述溶液的步骤之前向所述溶液中加入活性碳和硅胶。

38. 一种制备如权利要求10所述的盐的方法,所述方法包括使式II化合物:



II,

与硫酸反应,以形成所述盐。

39. 如权利要求38所述的方法,其中基于1当量所述式II化合物使用0.6当量硫酸。

40. 如权利要求38或39所述的方法,其中所述方法包括:

向溶剂组分中加入所述式II化合物以形成溶液;

在室温下向所述溶液中加入硫酸;

浓缩所述溶液以形成浆液;

在60℃至70℃的温度下搅拌所述浆液;以及

将所述浆液冷却至15℃至25℃的温度以使所述盐沉淀。

41. 如权利要求40所述的方法,其中所述溶剂组分包含甲醇。

42. 如权利要求40所述的方法,其中所述溶剂组分包含二氯甲烷。

43. 如权利要求40所述的方法,其中所述溶剂组分包含甲醇和二氯甲烷。

44. 如权利要求40所述的方法,其中所述硫酸是1M水溶液。

45. 如权利要求38所述的方法,其中所述方法包括制备N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧代-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺硫酸盐。

46. 如权利要求45所述的方法,其中制备呈N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺硫酸盐形式的盐的方法包括使式II化合物与基于1当量所述式II化合物计1当量的硫酸反应。

47. 如权利要求45或46所述的方法,其中所述用于制备N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺硫酸盐的方法包括:

在室温下向第一溶剂组分中加入所述式II化合物以形成溶液;

将所述溶液加热至50°C至60°C的温度;

向所述溶液中加入硫酸;以及

去除溶剂以使所述硫酸盐沉淀。

48. 如权利要求47所述的方法,其中所述第一溶剂包含甲醇。

49. 如权利要求47所述的方法,其中所述硫酸呈水溶液形式加入。

50. 如权利要求45或46所述的方法,所述方法还包括以下步骤:

向第二溶剂组分中加入所述N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺硫酸盐以形成浆液;

将所述浆液加热至30°C至40°C的温度;

搅拌所述浆液;以及

收集所得半硫酸盐。

51. 如权利要求50所述的方法,其中所述第二溶剂组分包含水。

52. 如权利要求50所述的方法,其还包括制备所述半硫酸盐的非晶态形式,其中所述制备所述半硫酸盐的非晶态形式包括以下步骤:

在室温下向第三溶剂组分中加入所述半硫酸盐以形成溶液;

过滤所述溶液;

浓缩滤液;以及

干燥所得固体,从而获得所述非晶态半硫酸盐。

53. 如权利要求52所述的方法,其中所述第三溶剂组分包含丙酮和甲醇。

可用作TAM抑制剂的吡咯并三嗪衍生物的盐

技术领域

[0001] 本公开提供了N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺和N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺的盐形式,所述盐形式可用作TAM激酶的抑制剂;以及其相关方法和中间物。

背景技术

[0002] 受体酪氨酸激酶(RTK)是从细胞外环境向细胞质和细胞核传递信号以调控诸如存活、生长、增殖、分化、粘着和移行等细胞事件的细胞表面蛋白。

[0003] TAM亚家族由三种RTK,包括Tyro3、AXL和Mer组成(Graham等,2014,Nature Reviews Cancer 14,769-785;Linger等,2008,Advances in Cancer Research 100,35-83)。TAM激酶的特征在于由两个免疫球蛋白样结构域和两个III型纤网蛋白结构域组成的细胞外配体结合结构域。已经鉴定了TAM激酶的两配体,即,生长停滞特异性蛋白6(GAS6)和蛋白S(PROS1)。GAS6可结合至所有三种TAM激酶并将其激活,而PROS1是Mer和Tyro3的配体(Graham等,2014,Nature Reviews Cancer 14,769-785)。

[0004] AXL(也称为UFO、ARK、JTK11和TYRO7)最初被鉴定为来自慢性骨髓性白血病患者的DNA的转化基因(O'Bryan等,1991,Mol Cell Biol 11,5016-5031;Graham等,2014,Nature Reviews Cancer 14,769-785;Linger等,2008,Advances in Cancer Research 100,35-83)。GAS6结合至AXL并诱导后续的自磷酸化和AXL酪氨酸激酶激活。AXL激活若干下游信号传导途径,包括PI3K-Akt、Raf-MAPK、PLC-PKC(Feneyrolles等,2014,Molecular Cancer Therapeutics 13,2141-2148;Linger等,2008,Advances in Cancer Research 100,35-83)。

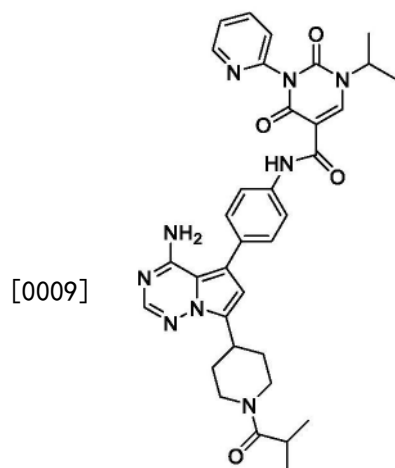
[0005] MER(也称为MERTK、EYK、RYK、RP38、NYK和TYRO12)最初被鉴定为来自成淋巴细胞样表达库的磷酸化蛋白(Graham等,1995,Oncogene 10,2349-2359;Graham等,2014,Nature Reviews Cancer 14,769-785;Linger等,2008,Advances in Cancer Research 100,35-83)。GAS6与PROS1两者皆可结合至Mer并诱导Mer激酶磷酸化和激活(Lew等,2014)。如同AXL,MER激活也传递下游信号传导途径,包括PI3K-Akt和Raf-MAPK(Linger等,2008,Advances in Cancer Research 100,35-83)。

[0006] TYRO3(也称为DTK、SKY、RSE、BRT、TIF、ETK2)最初通过基于PCR的克隆研究而被鉴定(Lai等,Neuron 6,691-70,1991;Graham等,2014,Nature Reviews Cancer 14,769-785;Linger等,2008,Advances in Cancer Research 100,35-83)。两种配体,GAS6与PROS1,皆可结合至TYRO3并将其激活。尽管在TAM RTK中很少研究TYRO3激活下游的信号传导途径,但看似涉及PI3K-Akt与Raf-MAPK途径两者(Linger等,2008,Advances in Cancer Research 100,35-83)。发现AXL、MER和TYRO3在癌细胞中过度表达。

[0007] 因此,需要用于调节TAM激酶从而治疗癌症的化合物及其使用方法。

发明内容

[0008] 本申请提供了式I化合物的盐：



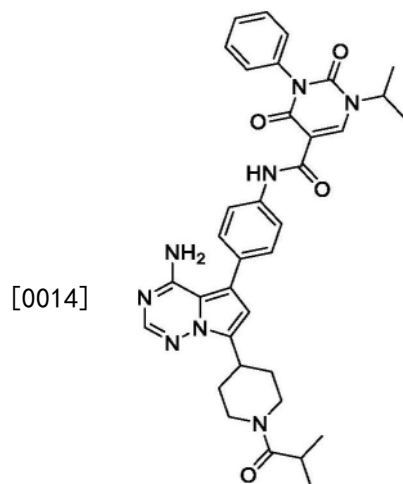
I,

[0010] 所述式I化合物可用作TAM抑制剂。

[0011] 本申请还提供了式I化合物的马来酸盐。

[0012] 本申请还提供了制备式I化合物的盐的方法。

[0013] 本申请提供了式II化合物的盐：



II,

[0015] 所述式II化合物可用作TAM抑制剂。

[0016] 本申请还提供了式II化合物的半硫酸盐。

[0017] 本申请还提供了式II化合物的磷酸盐。

[0018] 本申请还提供了式II化合物的马来酸盐。

[0019] 本申请还提供了式II化合物的盐酸盐。

[0020] 本申请还提供了式II化合物的水杨酸盐。

[0021] 本申请还提供了式II化合物的甲烷磺酸盐(即,甲磺酸盐)。

[0022] 本申请还提供了式II化合物的乙烷磺酸盐(即,乙磺酸盐)。

- [0023] 本申请还提供了制备式II化合物的盐的方法。
- [0024] 本申请还提供了包含式I化合物的盐和式II化合物的盐中的任一种的药物组合
- 物。
- [0025] 本申请还提供了抑制TAM激酶的方法,其中所述方法包括使所述TAM激酶与式I化合物的盐和式II化合物的盐中的任一种接触。
- [0026] 本申请还提供了抑制AXL和MER激酶的方法,其中所述方法包括使所述AXL或MER激酶与式I化合物的盐和式II化合物的盐中的任一种接触。
- [0027] 本申请还提供了治疗患者的癌症的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的式I化合物的盐和式II化合物的盐中的任一种。

附图说明

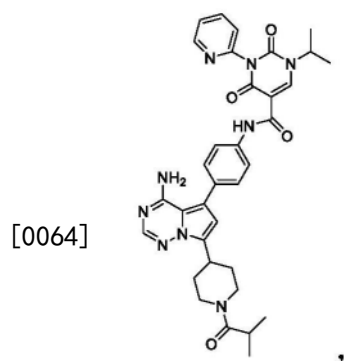
- [0028] 图1示出了代表化合物I马来酸盐形式I的XRPD图案。
- [0029] 图2示出了代表化合物I马来酸形式I的DSC热分析图。
- [0030] 图3示出了代表化合物I马来酸盐形式I的TGA数据。
- [0031] 图4示出了代表化合物II磷酸盐的XRPD图案。
- [0032] 图5示出了代表化合物II磷酸盐的DSC热分析图。
- [0033] 图6示出了代表化合物II磷酸盐的TGA数据。
- [0034] 图7示出了代表化合物II马来酸盐的XRPD图案。
- [0035] 图8示出了代表化合物II马来酸盐的DSC热分析图。
- [0036] 图9示出了代表化合物II马来酸盐的TGA数据。
- [0037] 图10示出了代表化合物II半硫酸盐的XRPD图案。
- [0038] 图11示出了代表化合物II半硫酸盐的DSC热分析图。
- [0039] 图12示出了代表化合物II半硫酸盐的TGA数据。
- [0040] 图13示出了代表化合物II盐酸盐的XRPD图案。
- [0041] 图14示出了代表化合物II盐酸盐的DSC热分析图。
- [0042] 图15示出了代表化合物II盐酸盐的TGA数据。
- [0043] 图16示出了代表化合物II水杨酸盐的XRPD图案。
- [0044] 图17示出了代表化合物II水杨酸盐的DSC热分析图。
- [0045] 图18示出了代表化合物II水杨酸盐的TGA数据。
- [0046] 图19示出了代表化合物II甲磺酸盐的XRPD图案。
- [0047] 图20示出了代表化合物II甲磺酸盐的DSC热分析图。
- [0048] 图21示出了代表化合物II甲磺酸盐的TGA数据。
- [0049] 图22示出了代表化合物II乙磺酸盐的XRPD图案。
- [0050] 图23示出了代表化合物II乙磺酸盐的DSC热分析图。
- [0051] 图24示出了代表化合物II乙磺酸盐的TGA数据。
- [0052] 图25示出了代表化合物I马来酸盐形式II的XRPD图案。
- [0053] 图26示出了代表化合物I马来酸盐形式III的XRPD图案。
- [0054] 图27示出了代表化合物I马来酸形式III的DSC热分析图。
- [0055] 图28示出了代表化合物I马来酸盐形式III的TGA数据。

- [0056] 图29示出了代表化合物I马来酸盐形式IV的XRPD图案。
[0057] 图30示出了代表化合物I马来酸盐形式IV的DSC热分析图。
[0058] 图31示出了代表化合物I马来酸盐形式IV的TGA数据。
[0059] 图32示出了代表化合物I马来酸盐形式V的XRPD图案。
[0060] 图33示出了代表化合物I马来酸盐形式V的DSC热分析图。
[0061] 图34示出了代表化合物I马来酸盐形式V的TGA数据。

具体实施方式

[0062] 化合物和盐

[0063] 本申请提供了式I化合物的盐：



I

- [0065] 或其药学上可接受的水合物和溶剂合物，它们可用作TAM抑制剂。
- [0066] 因此，在一些实施方案中，本申请提供了N- (4- (4-氨基-7- (1-异丁酰基哌啶-4-基) 吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基) 苯基) -1-异丙基-2,4-二氧化-3- (吡啶-2-基) -1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐 (本文中也称为式I化合物的马来酸盐、化合物I的马来酸盐、化合物I马来酸盐或其任何变化形式)。
- [0067] 在一些实施方案中，所述盐是1:1化学计量比的N- (4- (4-氨基-7- (1-异丁酰基哌啶-4-基) 吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基) 苯基) -1-异丙基-2,4-二氧化-3- (吡啶-2-基) -1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺与马来酸。
- [0068] 关于例如吸湿性、溶解度、稳定性等等，相同物质的不同形式具有不同的整体性质。具有高熔点的形式通常具有良好的热力学稳定性，从而有利于延长含有所述固体形式的药物制剂的货架寿命。具有较低熔点的形式通常在热力学上不太稳定，但优点在于其具有增高的水溶解度，从而转化为药物生物利用率增高。具有弱吸湿性的形式因其热稳定性和湿气稳定性而为期望的，并且在长期存储期间抗降解。
- [0069] 本文描述的固体形式 (例如结晶形式) 可能具有某些优点，例如它们可能具有期望的性质，诸如易处理性、易加工性、存储稳定性和易纯化性。此外，结晶形式可用于改良药物产品的性能特征，诸如溶解分布、货架寿命和生物利用率。
- [0070] 在一些实施方案中，本文提供的式I化合物的马来酸盐是结晶的。如本文所使用，“结晶”或“结晶形式”意在指结晶物质的某一晶格配置。相同物质的不同结晶形式典型地具有不同的晶格 (例如单位晶胞)，这些可归因于各结晶形式特有的不同物理性质。在一些情

况下,不同的晶格配置具有不同的水或溶剂含量。

[0071] 可以通过固态表征方法,诸如通过X射线粉末衍射(XRPD)来鉴定不同的盐形式。其他表征方法,诸如差示扫描量热法(DSC)、热解重量分析(TGA)、动态气相吸附(DVS)等等,更有助于鉴定所述形式以及有助于确定稳定性和溶剂/水含量。

[0072] 反射(峰)的XRPD图案典型地被视为特定结晶形式的指纹。众所周知,XRPD峰的相对强度可以尤其取决于样品制备技术、晶体大小分布、所使用的各种滤光器、样品固定程度和所采用的特定仪器而广泛变化。在一些情况下,可能观察到新的峰,或现有的峰可能消失,取决于仪器类型或设定而定。如本文所使用,术语“峰”是指相对高度/强度占最大峰高度/强度的至少约4%的反射。此外,仪器偏差和其他因素可能影响 2θ 值。因此,峰指定,诸如本文报告的那些,可以变化加或减约 0.2° (2θ),并且如本文在XRPD的情况下使用的术语“基本上”和“约”意在涵盖以上提到的偏差。

[0073] 同样,与DSC、TGA或其他热实验相关的温度读数可以变化约 $\pm 3^\circ\text{C}$,取决于仪器、特定设定、样品制备等而定。因此,本文报告的具有“基本上”如任何附图所示的DSC热分析图的结晶形式或术语“约”应理解为包括此种偏差。

[0074] 在一些实施方案中,本文描述的盐和化合物(例如式I化合物或式I化合物的马来酸盐)是基本上分离的。“基本上分离的”意指所述盐或化合物至少部分或基本上与形成或检测到它的环境分离。部分分离可以包括例如富含本文描述的盐的组合物。基本分离可以包括以重量计含有至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约97%或至少约99%本文描述的盐或其盐的组合物。用于分离化合物及其盐的方法在本领域中是常规的。

[0075] 式I化合物的马来酸盐可以制备成各种结晶形式,包括例如形式I、形式II、形式III、形式IV或形式V。

[0076] 式I化合物马来酸盐形式I:

[0077] 本文提供了以下实施例1和实施例7中描述的式I化合物的结晶形式的实施方案(i)至实施方案(x),称为形式I。

[0078] (i) 在一些实施方案中,式I化合物的马来酸盐就 2θ 而言具有选自约 4.3° 、约 8.4° 、约 12.6° 、约 13.2° 和约 18.5° 的至少一个XRPD峰。

[0079] (ii) 在一些实施方案中,式I化合物的马来酸盐就 2θ 而言具有选自约 4.3° 、约 8.4° 、约 12.6° 、约 13.2° 和约 18.5° 的至少两个XRPD峰。

[0080] (iii) 在一些实施方案中,式I化合物的马来酸盐就 2θ 而言具有选自约 4.3° 、约 8.4° 、约 12.6° 、约 13.2° 和约 18.5° 的至少三个XRPD峰。

[0081] (iv) 在一些实施方案中,式I化合物的马来酸盐就 2θ 而言具有选自约 4.3° 、约 8.4° 、约 12.6° 、约 13.2° 和约 18.5° 的至少四个XRPD峰。

[0082] (v) 在一些实施方案中,式I化合物的马来酸盐就 2θ 而言包括以下XRPD峰:约 4.3° 、约 8.4° 、约 12.6° 、约 13.2° 和约 18.5° 。

[0083] (vi) 在一些实施方案中,式I化合物的马来酸盐就 2θ 而言包括以下XRPD峰:约 4.3° 、约 8.4° 和约 13.2° 。

[0084] (vii) 在一些实施方案中,式I化合物的马来酸盐具有基本上如图1所示的XRPD分布。

[0085] (viii) 在一些实施方案中,式I化合物的马来酸盐具有在约211℃存在吸热峰的DSC热分析图。

[0086] (ix) 在一些实施方案中,式I化合物的马来酸盐具有基本上如图2所示的DSC热分析图。

[0087] (x) 在一些实施方案中,式I化合物的马来酸盐具有基本上如图3所示的TGA热分析图。

[0088] 式I化合物马来酸盐形式II:

[0089] 本文提供了以下实施例16和实施例17描述的式I化合物的结晶形式,称为形式II。

[0090] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式II就 2θ 而言具有选自约 3.8° 、约 7.8° 、约 23.5° 和约 26.0° 的至少一个XRPD峰。

[0091] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式II就 2θ 而言具有选自约 3.8° 、约 7.8° 、约 23.5° 和约 26.0° 的至少两个XRPD峰。

[0092] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式II就 2θ 而言具有选自约 3.8° 、约 7.8° 、约 23.5° 和约 26.0° 的至少三个XRPD峰。

[0093] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式II具有就 2θ 而言包括以下XRPD峰:约 3.8° 、约 7.8° 、约 23.5° 和约 26.0° 。

[0094] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式II具有就 2θ 而言包括以下XRPD峰:约 3.8° 、约 7.8° 和约 23.5° 。

[0095] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式II具有基本上如图25中所示的XRPD分布。

[0096] 式I化合物马来酸盐形式III:

[0097] 本文提供了以下实施例16和实施例18描述的式I化合物的结晶形式,称为形式III。

[0098] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式III就 2θ 而言具有选自约 3.8° 、约 7.7° 、约 12.1° 、约 18.9° 和约 20.6° 的至少一个XRPD峰。

[0099] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式III就 2θ 而言具有选自约 3.8° 、约 7.7° 、约 12.1° 、约 18.9° 和约 20.6° 的至少两个XRPD峰。

[0100] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式III就 2θ 而言具有选自约 3.8° 、约 7.7° 、约 12.1° 、约 18.9° 和约 20.6° 的至少三个XRPD峰。

[0101] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式III就 2θ 而言具有选自约 3.8° 、约 7.7° 、约 12.1° 、约 18.9° 和约 20.6° 的至少四个XRPD峰。

[0102] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式III就 2θ 而言包括以下XRPD峰:约 3.8° 、约 7.7° 、约 12.1° 、约 18.9° 和约 20.6° 。

[0103] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式III就 2θ 而言包括以下XRPD峰:约 3.8° 、约 7.7° 、约 12.1° 和约 18.9° 。

[0104] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式III具有基本上如图26中所示的XRPD分布。

[0105] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式III具有在约 165.4°C 和约 195.4°C 存在吸热峰的DSC热分析图。在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式III具有在约 165.4

℃存在吸热峰的DSC热分析图。在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式III具有在约195.4℃存在吸热峰的DSC热分析图。

[0106] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式III具有基本上如图27所示的DSC热分析图。

[0107] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式III具有基本上如图28所示的TGA热分析图。

[0108] 式I化合物马来酸盐形式IV:

[0109] 本文提供了以下实施例16和实施例19描述的式I化合物的结晶形式,称为形式IV。

[0110] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式IV就2 θ 而言具有选自约3.9°、约4.6°、约7.8°、约9.1°和约22.8°的至少一个XRPD峰。

[0111] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式IV就2 θ 而言具有选自约3.9°、约4.6°、约7.8°、约9.1°和约22.8°的至少两个XRPD峰。

[0112] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式IV就2 θ 而言具有选自约3.9°、约4.6°、约7.8°、约9.1°和约22.8°的至少三个XRPD峰。

[0113] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式IV就2 θ 而言具有选自约3.9°、约4.6°、约7.8°、约9.1°和约22.8°的至少四个XRPD峰。

[0114] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式IV就2 θ 而言包括以下XRPD峰:约3.9°、约4.6°、约7.8°、约9.1°和约22.8°。

[0115] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式IV就2 θ 而言包括以下XRPD峰:约3.9°、约4.6°、约7.8°和约9.1°。

[0116] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式IV具有基本上如图29中所示的XRPD分布。

[0117] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式IV具有在约152.1℃和202.6℃存在吸热峰的DSC热分析图。在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式IV具有在约152.1℃存在吸热峰的DSC热分析图。在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式IV具有在约202.6℃存在吸热峰的DSC热分析图。

[0118] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式IV具有基本上如图30所示的DSC热分析图。

[0119] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式IV具有基本上如图31所示的TGA热分析图。

[0120] 式I化合物马来酸盐形式V:

[0121] 本文提供了以下实施例16和实施例20描述的式I化合物的结晶形式,称为形式V。

[0122] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式V就2 θ 而言具有选自约4.1°、约8.3°、约8.8°、约18.0°和约27.3°的至少一个XRPD峰。

[0123] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式V就2 θ 而言具有选自约4.1°、约8.3°、约8.8°、约18.0°和约27.3°的至少两个XRPD峰。

[0124] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式V就2 θ 而言具有选自约4.1°、约8.3°、约8.8°、约18.0°和约27.3°的至少三个XRPD峰。

[0125] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式V就2 θ 而言具有选自约4.1°、约8.3°、

约8.8°、约18.0°和约27.3°的至少四个XRPD峰。

[0126] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式V就20而言包括以下XRPD峰:约4.1°、约8.3°、约8.8°、约18.0°和约27.3°。

[0127] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式V就20而言包括以下XRPD峰:约4.1°、约8.3°、约8.8°和约27.3°。

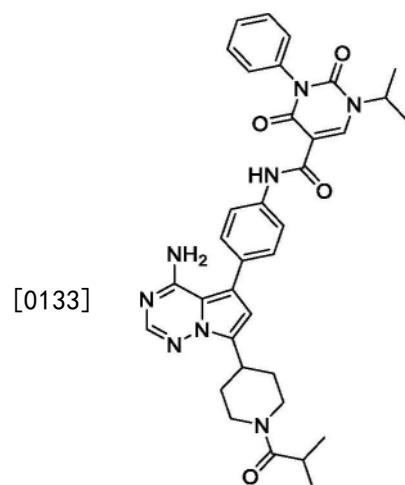
[0128] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式V具有基本上如图32中所示的XRPD分布。

[0129] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式V具有在约200.1℃存在吸热峰的DSC热分析图。

[0130] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式V具有基本上如图33所示的DSC热分析图。

[0131] 在一些实施方案中,式I化合物马来酸盐形式V具有基本上如图34所示的TGA热分析图。

[0132] 本申请还提供了式II化合物的盐:



II,

[0134] 或其药学上可接受的水合物和溶剂合物,它们可用作TAM抑制剂。

[0135] 因此,在一些实施方案中,本申请提供了选自以下的盐:

[0136] N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺磷酸盐;

[0137] N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐;

[0138] N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺半硫酸盐;

[0139] N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺盐酸盐;

[0140] N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺水杨酸盐;

[0141] N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺甲磺酸盐;以及

[0142] N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺乙磺酸盐,

[0143] 或其药学上可接受的溶剂合物和水合物。

[0144] 在一些实施方案中,本申请提供了N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺磷酸盐(本文中也称为式II化合物的磷酸盐、化合物II的磷酸盐、化合物II磷酸盐或其任何变化形式)。

[0145] 在一些实施方案中,所述盐是1:1化学计量比的N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺与磷酸。

[0146] 在一些实施方案中,式II化合物的磷酸盐是结晶的。

[0147] 在一些实施方案中,式II化合物的磷酸盐是基本上分离的。

[0148] 在一些实施方案中,式II化合物的磷酸盐就2 θ 而言具有选自约5.3°、约9.1°、约14.9°、约15.8°和约19.3°的至少一个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的磷酸盐就2 θ 而言具有选自约5.3°、约9.1°、约14.9°、约15.8°和约19.3°的至少两个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的磷酸盐就2 θ 而言具有选自约5.3°、约9.1°、约14.9°、约15.8°和约19.3°的至少三个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的磷酸盐就2 θ 而言具有选自约5.3°、约9.1°、约14.9°、约15.8°和约19.3°的至少四个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的磷酸盐就2 θ 而言包括以下XRPD峰:5.3°、约9.1°、约14.9°、约15.8°和约19.3°。

[0149] 在一些实施方案中,式II化合物的磷酸盐具有基本上如图4中所示的XRPD分布。

[0150] 在一些实施方案中,式II化合物的磷酸盐具有在约257.2°C存在吸热峰的DSC热分析图。在一些实施方案中,式II化合物的磷酸盐具有基本上如图5所示的DSC热分析图。在一些实施方案中,式II化合物的磷酸盐具有基本上如图6所示的TGA热分析图。

[0151] 在一些实施方案中,本申请提供了N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐(本文中也称为式II化合物的马来酸盐、化合物II的马来酸盐、化合物II马来酸盐或其任何变化形式)。

[0152] 在一些实施方案中,所述盐是1:1化学计量比的N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺与马来酸。

[0153] 在一些实施方案中,式II化合物的马来酸盐是结晶的。

[0154] 在一些实施方案中,式II化合物的马来酸盐是基本上分离的。

[0155] 在一些实施方案中,式II化合物的马来酸盐就2 θ 而言具有选自约4.5°、约6.5°、约14.1°、约24.0°和约28.2°的至少一个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的马来酸盐就2 θ 而言具有选自约4.5°、约6.5°、约14.1°、约24.0°和约28.2°的至少两个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的马来酸盐就2 θ 而言具有选自约4.5°、约6.5°、约14.1°、约24.0°和约28.2°的至少三个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的马来酸盐就2 θ 而言具有选

自约4.5°、约6.5°、约14.1°、约24.0°和约28.2°的至少四个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的马来酸盐就20而言包括以下XRPD峰:约4.5°、约6.5°、约14.1°、约24.0°和约28.2°。

[0156] 在一些实施方案中,式II化合物的马来酸盐具有基本上如图7所示的XRPD分布。

[0157] 在一些实施方案中,式II化合物的马来酸盐具有在约194.8°C和/或约239.7°C存在吸热峰的DSC热分析图。在一些实施方案中,式II化合物的马来酸盐具有基本上如图8中所示的DSC热分析图。在一些实施方案中,式II化合物的马来酸盐具有基本上如图9中所示的TGA热分析图。

[0158] 在一些实施方案中,本申请提供了N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺半硫酸盐(本文中也称为式II化合物的半硫酸盐、化合物II的半硫酸盐、化合物II半硫酸盐或其任何变化形式)。

[0159] 在一些实施方案中,所述盐是1:0.5(即,2:1)化学计量比的N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺与硫酸。

[0160] 在一些实施方案中,式II化合物的半硫酸盐是结晶的。

[0161] 在一些实施方案中,式II化合物的半硫酸盐是基本上分离的。

[0162] 在一些实施方案中,式II化合物的半硫酸盐就20而言具有选自约5.3°、约8.5°、约15.3°、约20.1°和约24.9°的至少一个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的半硫酸盐就20而言具有选自约5.3°、约8.5°、约15.3°、约20.1°和约24.9°的至少两个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的半硫酸盐就20而言具有选自约5.3°、约8.5°、约15.3°、约20.1°和约24.9°的至少三个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的半硫酸盐就20而言具有选自约5.3°、约8.5°、约15.3°、约20.1°和约24.9°的至少四个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的半硫酸盐就20而言包括以下XRPD峰:约5.3°、约8.5°、约15.3°、约20.1°和约24.9°。

[0163] 在一些实施方案中,式II化合物的半硫酸盐具有基本上如图10中所示的XRPD分布。

[0164] 在一些实施方案中,式II化合物的半硫酸盐具有在约289.4°C存在吸热峰的DSC热分析图。在一些实施方案中,式II化合物的半硫酸盐具有基本上如图11中所示的DSC热分析图。在一些实施方案中,式II化合物的半硫酸盐具有基本上如图12中所示的TGA热分析图。

[0165] 在一些实施方案中,本申请提供了N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺盐酸盐(本文中也称为式II化合物的盐酸盐、化合物II的盐酸盐、化合物II盐酸盐或其任何变化形式)。

[0166] 在一些实施方案中,所述盐是1:1化学计量比的N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺与盐酸。

[0167] 在一些实施方案中,式II化合物的盐酸盐是结晶的。

[0168] 在一些实施方案中,式II化合物的盐酸盐是基本上分离的。

[0169] 在一些实施方案中,式II化合物的盐酸盐就20而言具有选自约6.5°、约9.7°、约14.9°、约21.5°和约23.9°的至少一个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的盐酸盐就20而言具有选自约6.5°、约9.7°、约14.9°、约21.5°和约23.9°的至少两个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的盐酸盐就20而言具有选自约6.5°、约9.7°、约14.9°、约21.5°和约23.9°的至少三个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的盐酸盐就20而言具有选自约6.5°、约9.7°、约14.9°、约21.5°和约23.9°的至少四个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的盐酸盐就20而言包括以下XRPD峰:约6.5°、约9.7°、约14.9°、约21.5°和约23.9°。

[0170] 在一些实施方案中,式II化合物的盐酸盐具有基本上如图13中所示的XRPD分布。

[0171] 在一些实施方案中,式II化合物的盐酸盐具有在约190°C存在吸热峰的DSC热分析图。在一些实施方案中,式II化合物的盐酸盐具有基本上如图14中所示的DSC热分析图。在一些实施方案中,式II化合物的盐酸盐具有基本上如图15中所示的TGA热分析图。

[0172] 在一些实施方案中,本申请提供了N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺水杨酸盐(本文中也称为式II化合物的水杨酸盐、化合物II的水杨酸盐、化合物II水杨酸盐或其任何变化形式)。

[0173] 在一些实施方案中,所述盐是N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺与水杨酸的1:1化学计量比。

[0174] 在一些实施方案中,式II化合物的水杨酸盐是结晶的。

[0175] 在一些实施方案中,式II化合物的水杨酸盐是基本上分离的。

[0176] 在一些实施方案中,式II化合物的水杨酸盐就20而言具有选自约7.3°、约14.4°、约15.7°、约19.9°和约21.9°的至少一个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的水杨酸盐就20而言具有选自约7.3°、约14.4°、约15.7°、约19.9°和约21.9°的至少两个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的水杨酸盐就20而言具有选自约7.3°、约14.4°、约15.7°、约19.9°和约21.9°的至少三个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的水杨酸盐就20而言具有选自约7.3°、约14.4°、约15.7°、约19.9°和约21.9°的至少四个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的水杨酸盐就20而言包括以下XRPD峰:约7.3°、约14.4°、约15.7°、约19.9°和约21.9°。

[0177] 在一些实施方案中,式II化合物的水杨酸盐具有基本上如图16中所示的XRPD分布。

[0178] 在一些实施方案中,式II化合物的水杨酸盐具有在约181.7°C、约224.9°C和/或264.5°C存在吸热峰的DSC热分析图。在一些实施方案中,式II化合物的水杨酸盐具有基本上如图17中所示的DSC热分析图。在一些实施方案中,式II化合物的水杨酸盐具有基本上如图18中所示的TGA热分析图。

[0179] 在一些实施方案中,本申请提供了N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺甲磺酸盐(本文中也称为式II化合物的甲磺酸盐、化合物II的甲磺酸盐、化合物II甲磺酸盐或其任何变化形式)。

[0180] 在一些实施方案中,所述盐是1:1化学计量比的N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌

啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺与甲磺酸。

[0181] 在一些实施方案中,式II化合物的甲磺酸盐是结晶的。

[0182] 在一些实施方案中,式II化合物的甲磺酸盐是基本上分离的。

[0183] 在一些实施方案中,式II化合物的甲磺酸盐就20而言具有选自约5.0°、约8.2°、约13.2°和约16.9°的至少一个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的甲磺酸盐就20而言具有选自约5.0°、约8.2°、约13.2°和约16.9°的至少两个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的甲磺酸盐就20而言具有选自约5.0°、约8.2°、约13.2°和约16.9°的至少三个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的甲磺酸盐就20而言包括以下XRPD峰:约5.0°、约8.2°、约13.2°和约16.9°。

[0184] 在一些实施方案中,式II化合物的甲磺酸盐具有基本上如图19中所示的XRPD分布。

[0185] 在一些实施方案中,式II化合物的甲磺酸盐具有在约174.8°C存在吸热峰的DSC热分析图。在一些实施方案中,式II化合物的甲磺酸盐具有基本上如图20中所示的DSC热分析图。在一些实施方案中,式II化合物的甲磺酸盐具有基本上如图21中所示的TGA热分析图。

[0186] 在一些实施方案中,本申请提供了N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺乙磺酸盐(本文中也称为式II化合物的乙磺酸盐、化合物II的乙磺酸盐、化合物II乙磺酸盐或其任何变化形式)。

[0187] 在一些实施方案中,所述盐是1:1化学计量比的N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺与乙磺酸。

[0188] 在一些实施方案中,式II化合物的乙磺酸盐是结晶的。

[0189] 在一些实施方案中,式II化合物的乙磺酸盐是基本上分离的。

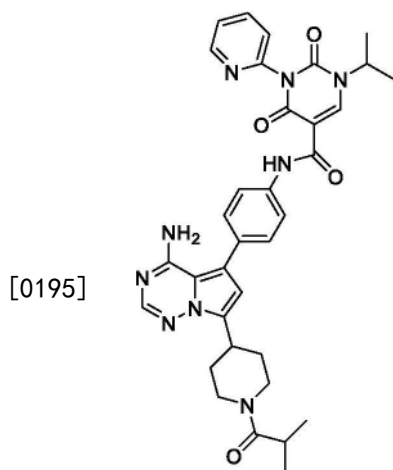
[0190] 在一些实施方案中,式II化合物的乙磺酸盐就20而言具有选自约4.9°、约7.6°、约15.4°、约16.8°和约17.5°的至少一个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的乙磺酸盐就20而言具有选自约4.9°、约7.6°、约15.4°、约16.8°和约17.5°的至少两个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的乙磺酸盐就20而言具有选自约4.9°、约7.6°、约15.4°、约16.8°和约17.5°的至少三个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的乙磺酸盐就20而言具有选自约4.9°、约7.6°、约15.4°、约16.8°和约17.5°的至少四个XRPD峰。在一些实施方案中,式II化合物的乙磺酸盐就20而言包括以下XRPD峰:约4.9°、约7.6°、约15.4°、约16.8°和约17.5°。在一些实施方案中,式II化合物的乙磺酸盐就20而言包括以下XRPD峰:约4.9°、约7.6°、约15.4°和约17.5°。

[0191] 在一些实施方案中,式II化合物的乙磺酸盐具有基本上如图22中所示的XRPD分布。

[0192] 在一些实施方案中,式II化合物的乙磺酸盐具有在约187.7°C存在吸热峰的DSC热分析图。在一些实施方案中,式II化合物的乙磺酸盐具有基本上如图23中所示的DSC热分析图。在一些实施方案中,式II化合物的乙磺酸盐具有基本上如图24中所示的TGA热分析图。

[0193] 方法

[0194] 本申请还提供了一种制备式I的盐的方法：



I。

[0196] 因此,本文提供了一种制备盐N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧代-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐的方法,所述方法包括使式I化合物与马来酸反应以形成所述盐。制备式I化合物的马来酸盐的方法示出在流程1中且描述于实施例1中。

[0197] 在一些实施方案中,基于1当量式I化合物使用约1当量马来酸。

[0198] 在一些实施方案中,使式I化合物与马来酸反应是在溶剂组分的存在下进行。

[0199] 在一些实施方案中,所述溶剂组分包含甲醇。

[0200] 在一些实施方案中,所述溶剂组分包含二氯甲烷。

[0201] 在一些实施方案中,所述溶剂组分包含甲醇和二氯甲烷。

[0202] 在一些实施方案中,所述方法还包括去除大部分二氯甲烷以使所述盐沉淀。

[0203] 在一些实施方案中,所述方法还包括去除大部分二氯甲烷以使所述盐沉淀。

[0204] 在一些实施方案中,所述方法还包括在所述反应之前形成式I化合物在溶剂组分中的溶液。

[0205] 在另一个实施方案中,所述溶液是通过将式I化合物在溶剂组分中的浆液加热至约45℃至约55℃的温度而形成。

[0206] 在另一个实施方案中,所述方法还包括在使式I化合物与马来酸反应之前搅拌所述溶液;以及过滤所述溶液以形成滤液。

[0207] 在另一个实施方案中,所述方法还包括在将所述浆液加热至约45℃至约55℃的温度以形成溶液的步骤之后并且在搅拌所述溶液的步骤之前向所述溶液中加入活性碳和硅胶。

[0208] 在一些实施方案中,制备N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧代-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐的方法包括:

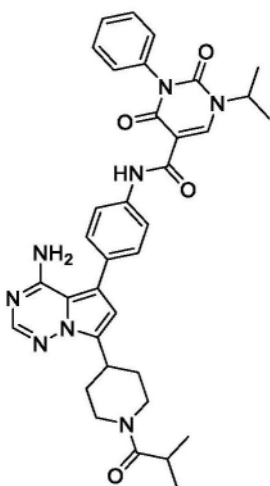
[0209] 在室温下向溶剂组分中加入式I化合物以形成浆液;

[0210] 将所述浆液加热至约45℃至约55℃的温度以形成溶液;

[0211] 搅拌所述溶液;

- [0212] 过滤所述溶液以产生滤液；
- [0213] 向所述滤液中加入马来酸；以及
- [0214] 自所述滤液中去除溶剂以使所述盐沉淀。
- [0215] 在一些实施方案中，所述溶剂组分包含甲醇。
- [0216] 在一些实施方案中，所述溶剂组分包含二氯甲烷。
- [0217] 在一些实施方案中，所述溶剂组分包含甲醇和二氯甲烷。
- [0218] 在一些实施方案中，所述方法还包括在将所述浆液加热至约45℃至约55℃的温度以形成溶液的步骤之后且在搅拌所述溶液的步骤之前向所述溶液中加入活性碳。
- [0219] 在一些实施方案中，所述方法还包括在将所述浆液加热至约45℃至约55℃的温度以形成溶液的步骤之后且在搅拌所述溶液的步骤之前向所述溶液中加入硅胶。
- [0220] 在一些实施方案中，所述方法还包括在将所述浆液加热至约45℃至约55℃的温度以形成溶液的步骤之后且在搅拌所述溶液的步骤之前向所述溶液中加入活性碳和硅胶。
- [0221] 本文提供了一种制备N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧代-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐形式II的方法，所述方法包括在 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 下使化合物I马来酸盐在三氯甲烷中的饱和溶液蒸发。制备式I化合物马来酸盐形式II的方法见于实施例16、表10中。
- [0222] 本文提供了一种制备N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧代-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐形式III的方法，所述方法包括在 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 下使化合物I马来酸盐在1,4-二噁烷中的饱和溶液蒸发。制备式I化合物马来酸盐形式III的方法见于实施例16、表10中。
- [0223] 本文提供了一种制备N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧代-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐形式IV的方法，所述方法包括在 $50\pm 1^{\circ}\text{C}$ 下使化合物I马来酸盐在n-BuOH中的饱和溶液蒸发。制备式I化合物马来酸盐形式IV的方法见于实施例16、表10中。
- [0224] 本文提供了一种制备N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧代-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐形式V的方法，所述方法包括向庚烷中加入化合物I马来酸盐在二氯甲烷中的饱和溶液并且搅拌。制备式I化合物马来酸盐形式V的方法见于实施例16、表10中。
- [0225] 本申请还提供了一种制备式II的盐的方法：

[0226]



II。

[0227] 因此,本文提供了一种制备盐N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧代-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺半硫酸盐的方法,所述方法包括使式II化合物与硫酸反应以形成所述盐。制备式II化合物的半硫酸盐的方法见于实施例2和实施例8、表2中。

[0228] 在一些实施方案中,基于1当量式II化合物使用约0.6当量硫酸。

[0229] 在一些实施方案中,所述方法包括:

[0230] 向溶剂组分中加入式II化合物以形成溶液;

[0231] 在室温下向所述溶液中加入硫酸;

[0232] 浓缩所述溶液以形成浆液;

[0233] 在约60℃至约70℃的温度下搅拌所述浆液;以及

[0234] 将所述浆液冷却至约15℃至约25℃的温度以使所述盐沉淀。

[0235] 在一些实施方案中,所述溶剂组分包含甲醇。

[0236] 在一些实施方案中,所述溶剂组分包含二氯甲烷。

[0237] 在一些实施方案中,所述溶剂组分包含甲醇和二氯甲烷。

[0238] 在一些实施方案中,所述硫酸是约1M水溶液。

[0239] 在一些实施方案中,所述方法还包括制备N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧代-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺硫酸盐。制备式II化合物的硫酸盐的方法示出在流程2中且描述于实施例2中。

[0240] 在一些实施方案中,制备盐N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧代-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺硫酸盐的方法包括基于1当量式II化合物使式II化合物与约1当量硫酸反应。

[0241] 在一些实施方案中,制备N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧代-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺硫酸盐的方法包括:

[0242] 在室温下向第一溶剂组分中加入式II化合物以形成溶液;

- [0243] 将所述溶液加热至约50℃至约60℃的温度；
- [0244] 向所述溶液中加入硫酸；以及
- [0245] 去除溶剂以使所述硫酸盐沉淀。
- [0246] 在一些实施方案中，所述第一溶剂包含甲醇。
- [0247] 在一些实施方案中，所述硫酸呈水溶液形式加入。
- [0248] 在一些实施方案中，以上制备N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺半硫酸盐的方法包括以下步骤：
- [0249] 向第二溶剂组分中加入N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺硫酸盐以形成浆液；
- [0250] 将所述浆液加热至约30℃至约40℃的温度；
- [0251] 搅拌所述浆液；以及
- [0252] 收集所得半硫酸盐。
- [0253] 在一些实施方案中，所述第二溶剂组分包含水。
- [0254] 本文提供了一种制备N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺半硫酸盐的非晶态形式的方法。制备式II化合物的半硫酸盐的非晶态形式的方法示出在流程1中且描述于实施例2中。
- [0255] 在一些实施方案中，制备N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺半硫酸盐的非晶态形式的方法包括以下步骤：
- [0256] 在室温下向第三溶剂组分中加入N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺半硫酸盐以形成溶液；
- [0257] 过滤所述溶液；
- [0258] 浓缩滤液；以及
- [0259] 干燥所得固体，从而获得非晶态半硫酸盐。
- [0260] 在一些实施方案中，所述第三溶剂组分包含丙酮和甲醇。
- [0261] 本文提供了一种制备盐N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺磷酸盐的方法，所述方法包括使式II化合物与磷酸反应以形成所述盐。制备式II化合物的磷酸盐的方法见于实施例8、表2中。在一些实施方案中，基于1当量式II化合物使用约1.2当量磷酸。
- [0262] 本文提供了一种制备盐N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐的方法，所述方法包括使式II化合物与马来酸反应以形成所述盐。制备式II化合物的马来酸盐的方法见于实施例8、表2中。在一些实施方案中，基于1当量式II化合物使用约1.5当量马来酸。

[0263] 本文提供了一种制备盐N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺盐酸盐的方法,所述方法包括使式II化合物与盐酸反应以形成所述盐。制备式II化合物的盐酸盐的方法见于实施例8、表2中。在一些实施方案中,基于1当量式II化合物使用约1.2当量盐酸。

[0264] 本文提供了一种制备盐N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺水杨酸盐的方法,所述方法包括使式II化合物与水杨酸反应以形成所述盐。制备式II化合物的水杨酸盐的方法见于实施例8、表2中。在一些实施方案中,基于1当量式II化合物使用约1.2当量水杨酸。

[0265] 本文提供了一种制备盐N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺甲磺酸盐的方法,所述方法包括使式II化合物与甲磺酸反应以形成所述盐。制备式II化合物的甲磺酸盐的方法见于实施例8、表2中。在一些实施方案中,基于1当量式II化合物使用约1当量甲磺酸。

[0266] 本文提供了一种制备盐N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺乙磺酸盐的方法,所述方法包括使式II化合物与乙磺酸反应以形成所述盐。制备式II化合物的乙磺酸盐的方法见于实施例8、表2中。在一些实施方案中,基于1当量式II化合物使用约1当量乙磺酸。

[0267] 应了解,个别实施方案的内容中出于清楚性目的而描述的某些本发明特征还可以组合提供于单个实施方案中(在所述实施方案意在组合为如同以多重依赖性形式书写时)。相反,单个实施方案的内容中出于简便性目的而描述的各种本发明特征还可以个别地或以任何合适的子组合形式提供。

[0268] 本发明的盐和化合物还可以包括中间物或者最终盐或化合物中存在的原子的所有同位素。同位素包括具有相同原子序数但不同质量数的那些原子。举例来说,氢的同位素包括氕和氘。

[0269] 在一些实施方案中,可以发现所述化合物和盐与诸如水和溶剂等其他物质在一起(例如水合物和溶剂合物),或者可以分离。

[0270] 在一些实施方案中,本文描述的化合物或其盐(例如式I化合物的马来酸盐或式II化合物的半硫酸盐)是基本上分离的。

[0271] 短语“药学上可接受”在本文中用于指在合理医学判断的范围内、适合用于与人类和动物的组织接触而无过度毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症、与合理的效益/风险比相称的那些化合物、物质、组合物和/或剂型。

[0272] 如应当了解,本文提供的化合物,包括其盐,可以使用已知的有机合成技术来制备,并且可以根据许多可能的合成途径中的任一种来合成。可以根据本领域中已知的任何合适的方法来监控本文描述的方法。举例来说,可以通过光谱手段来监控产物形成,诸如核磁共振光谱法(例如¹H或¹³C)、红外光谱法或分光光度法(例如UV-可见光);或通过色谱法,诸如高效液相色谱法(HPLC)或薄层色谱法(TLC)或其他相关技术。

[0273] 如本文所使用,术语“反应”如本领域中已知的加以使用,并且一般是指以允许化学试剂在分子水平上相互作用从而实现化学或物理转化的方式使其在一起。在一些实施方案中,反应涉及至少两种试剂,其中相对于第一试剂使用一当量或多当量第二试剂。本文描述的方法的反应步骤可在一定时间内且在适于制备所鉴定的产物的条件下进行。

[0274] 本文描述的方法的反应可以在合适的溶剂中进行,所述溶剂可以由有机合成领域技术人员容易地选择。合适的溶剂在进行反应的温度,例如可能在溶剂的冰点温度至溶剂的沸点温度范围内的温度下可能与起始物质(反应物)、中间物或产物基本上没有反应性。指定反应可以在一种溶剂或多于一种溶剂的混合物中进行。取决于特定反应步骤,可以选择适合用于特定反应步骤的溶剂(或其混合物)。

[0275] 合适的溶剂可以包括卤化溶剂,诸如四氯化碳、溴二氯甲烷、二溴氯甲烷、三溴甲烷、三氯甲烷、溴氯甲烷、二溴甲烷、氯丁烷、二氯甲烷、四氯乙烯、三氯乙烯、1,1,1-三氯乙烷、1,1,2-三氯乙烷、1,1-二氯乙烷、2-氯丙烷、1,2-二氯乙烷、1,2-二溴乙烷、六氟苯、1,2,4-三氯苯、1,2-二氯苯、氯苯、氟苯、其混合物等等。

[0276] 合适的醚溶剂包括:二甲氧基甲烷、四氢呋喃、1,3-二噁烷、1,4-二噁烷、呋喃、乙醚、乙二醇二甲醚、乙二醇二乙醚、二乙二醇二甲醚、二乙二醇二乙醚、三乙二醇二甲醚、苯甲醚、叔丁基甲醚、其混合物等等。

[0277] 合适的质子性溶剂可以包括例如但不限于水、甲醇、乙醇、2-硝基乙醇、2-氟乙醇、2,2,2-三氟乙醇、乙二醇、1-丙醇、2-丙醇、2-甲氧基乙醇、1-丁醇、2-丁醇、异丁醇、叔丁醇、2-乙氧基乙醇、二乙二醇、1-戊醇、2-戊醇或3-戊醇、新戊醇、第三戊醇、二乙二醇单甲醚、二乙二醇单乙醚、环己醇、苯甲醇、苯酚或甘油。

[0278] 合适的非质子性溶剂可以包括例如但不限于四氢呋喃(THF)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、1,3-二甲基-3,4,5,6-四氢-2(1H)-嘧啶酮(DMPU)、1,3-二甲基-2-咪唑啉酮(DMI)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、甲酰胺、N-甲基乙酰胺、N-甲基甲酰胺、乙腈、二甲亚砜、丙腈、甲酸乙酯、乙酸甲酯、六氯丙酮、丙酮、乙基甲基酮、乙酸乙酯、环丁砜、N,N-二甲基丙酰胺、四甲基脲、硝基甲烷、硝基苯或六甲基磷酰胺。

[0279] 合适的烃溶剂包括苯、环己烷、戊烷、己烷、甲苯、环庚烷、甲基环己烷、庚烷、乙苯、间二甲苯、邻二甲苯或对二甲苯、辛烷、茚烷、壬烷或萘。

[0280] 本文描述的方法的反应可以在适当温度下进行,所述温度可以由本领域技术人员容易地确定。反应温度将取决于例如以下因素:试剂和溶剂(如果存在)的熔点和沸点;反应热力学(例如,剧烈放热反应可能需要在低温下进行);以及反应动力学(例如,高激活能屏障可能需要高温)。

[0281] 本领域中应理解如本文使用的表达“环境温度”和“室温”,并且它们总体上是指约为进行反应的室内温度的温度,例如反应温度,例如约20°C至约30°C的温度。

[0282] 本文描述的方法的反应可以在空气中或在惰性气氛下进行。典型地,含有基本上与空气有反应性的试剂或产物的反应可以使用本领域技术人员众所周知的空气敏感性合成技术来进行。

[0283] 使用方法

[0284] 本发明的盐(例如式I化合物的盐和式II化合物的盐)可以调节或抑制TAM激酶的活性。举例来说,本发明化合物可以用于通过向需要抑制TAM激酶的细胞、个体或患者施用

抑制量的本发明化合物来抑制所述激酶在所述细胞中或者在所述个体或患者中的活性。

[0285] 在一些实施方案中,本发明的盐对TAM激酶的选择性超过一种或多种其他激酶。在一些实施方案中,本发明的化合物对TAM激酶的选择性超过其他激酶。在一些实施方案中,所述选择性是2倍以上、3倍以上、5倍以上、10倍以上、25倍以上、50倍以上,或者100倍以上。

[0286] 本发明的盐可以抑制AXL、MER和TYRO3中的一个或多个。在一些实施方案中,所述盐对一种TAM激酶的选择性超过另一种。“选择性”意指与参考酶,诸如另一种TAM激酶相比,化合物分别以更大的亲和力或效力结合或抑制TAM激酶。举例来说,所述盐可能对AXL的选择性超过MER和TYRO3、对MER的选择性超过AXL和TYRO3,或者对AXL和MER的选择性超过TYRO3。在一些实施方案中,所述盐抑制所有TAM家族成员(例如,AXL、MER和TYRO3)。在一些实施方案中,所述盐可能对AXL和MER的选择性超过TYRO3和其他激酶。在一些实施方案中,本文提供了一种抑制AXL和MER激酶的方法,所述方法包括使所述AXL和MER激酶与本文提供的盐或其药学上可接受的盐接触。

[0287] 作为TAM激酶抑制剂,本发明化合物可用于治疗与TAM激酶异常表达或活性相关的各种疾病。抑制TAM激酶的(式I和式II)化合物的盐将可用于提供预防肿瘤生长或诱导肿瘤细胞凋亡的手段,具体来说,通过抑制血管生成。因此,预期所述盐将被证明可用于治疗或预防增殖性病症,诸如癌症。具体来说,存在受体酪氨酸激酶激活突变体或受体酪氨酸激酶上调的肿瘤可能对所述抑制剂尤其敏感。

[0288] 在某些实施方案中,本发明提供了一种治疗有需要的患者的由TAM激酶介导的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述患者施用本文提供的盐(例如,式I化合物的盐和式II化合物的盐)或其药学上可接受的组合物的步骤。

[0289] 举例来说,本发明的盐可用于治疗癌症。实例癌症包括膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、结肠直肠癌、小肠癌、结肠癌、直肠癌、肛门癌、子宫内膜癌、胃癌、头颈癌(例如喉癌、下咽癌、鼻咽癌、口咽癌、唇癌和口癌)、肾癌、肝癌(例如,肝细胞癌、胆管细胞癌)、肺癌(例如,腺癌、小细胞肺癌和非小细胞肺癌、小细胞癌和非小细胞癌、支气管肺癌、支气管腺瘤、胸膜肺胚细胞瘤)、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、子宫癌、食道癌、胆囊癌、胰腺癌(例如外分泌胰腺癌)、胃癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、皮肤癌(例如鳞状细胞癌、卡波西肉瘤(Kaposi sarcoma)、麦克尔细胞皮肤癌(Merkel cell skin cancer))和脑癌(例如星形细胞瘤、髓母细胞瘤、室管膜瘤、神经外胚层肿瘤、松果体瘤)。

[0290] 用本发明化合物可治疗的其他癌症包括骨癌、眼内癌、妇科癌、内分泌系统癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、垂体癌、三阴性乳腺癌(TNBC)和环境诱导的癌症,包括由石棉诱导的那些癌症。

[0291] 其他实例癌症包括造血系恶性病,诸如白血病或淋巴瘤、多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性淋巴瘤、成人T细胞白血病、B细胞淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、急性骨髓性白血病、霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)或非霍奇金氏淋巴瘤、骨髓增生性赘瘤(例如真性红细胞增多症、原发性血小板增多症和原发性骨髓纤维化)、华氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's Macroglobulinemia)、毛细胞性淋巴瘤、慢性骨髓性淋巴瘤、急性成淋巴细胞性淋巴瘤、AIDS相关淋巴瘤和伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)。

[0292] 可用本发明化合物治疗的其他癌症包括眼肿瘤、成胶质细胞瘤、黑色素瘤、横纹肌肉瘤、淋巴肉瘤和骨肉瘤。

[0293] 本发明的盐还可用于抑制肿瘤转移。

[0294] 在一些实施方案中,使用本发明化合物可治疗的疾病和适应症包括但不限于血液学癌症、肉瘤、肺癌、胃肠癌、生殖泌尿道癌、肝癌、骨癌、神经系统癌症、妇科癌和皮肤癌。

[0295] 示例性血液学癌症包括淋巴瘤和白血病,诸如急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、急性前骨髓细胞性白血病(APL)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、扩散性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、边缘区淋巴瘤(MZL)、非霍奇金氏淋巴瘤(包括复发性或难治性NHL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、霍奇金氏淋巴瘤、成淋巴细胞性淋巴瘤、骨髓增殖性疾病(例如原发性骨髓纤维化(PMF)、真性红细胞增多症(PV)、原发性血小板增多症(ET))、脊髓发育不良综合征(MDS)、T细胞急性成淋巴细胞性淋巴瘤(T-ALL)、多发性骨髓瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、周围T细胞淋巴瘤、华氏巨球蛋白血症、毛细胞性淋巴瘤、慢性骨髓性淋巴瘤和伯基特氏淋巴瘤。

[0296] 示例性肉瘤包括软骨肉瘤、尤因氏肉瘤(Ewing's sarcoma)、骨肉瘤、横纹肌肉瘤、血管肉瘤、纤维肉瘤、脂肪肉瘤、粘液瘤、横纹肌瘤、横纹肌肉瘤、纤维瘤、脂肪瘤、错构瘤和畸胎瘤。

[0297] 示例性肺癌包括非小细胞肺癌(NSCLC)、小细胞肺癌、支气管癌(鳞状细胞、未分化小细胞、未分化大细胞、腺癌)、肺泡(小支气管)癌、支气管腺瘤、软骨瘤型错构瘤和间皮瘤。

[0298] 示例性胃肠癌包括食道癌(鳞状细胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤)、胃癌(癌瘤、淋巴瘤、平滑肌肉瘤)、胰腺癌(导管腺癌、胰岛瘤、升糖素瘤、胃泌素瘤、类癌肿瘤、血管活性肠肽瘤)、小肠癌(腺癌、淋巴瘤、类癌肿瘤、卡波西肉瘤、平滑肌瘤、血管瘤、脂肪瘤、神经纤维瘤、纤维瘤)、大肠癌(腺癌、管状腺瘤、绒毛状腺瘤、错构瘤、平滑肌瘤)、结肠直肠癌和胆管癌。

[0299] 示例性泌尿生殖道癌包括肾癌(腺癌、维尔姆斯瘤[成肾细胞瘤]、肾细胞癌)、膀胱癌和尿路癌(鳞状细胞癌、移行细胞癌、腺癌、尿路上皮癌)、前列腺癌(腺癌、肉瘤)和睾丸癌(精原细胞瘤、畸胎瘤、胚胎癌、畸胎瘤、绒毛膜癌、肉瘤、间质细胞癌、纤维瘤、纤维腺瘤、腺瘤样瘤、脂肪瘤)。

[0300] 示例性肝癌包括肝细胞瘤(肝细胞癌)、胆管型肝癌、成肝细胞瘤、血管肉瘤、肝细胞腺瘤和血管瘤。

[0301] 示例性骨癌包括例如骨原性肉瘤(骨肉瘤)、纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、软骨肉瘤、尤因氏肉瘤、恶性淋巴瘤(网状细胞肉瘤)、多发性骨髓瘤、恶性巨细胞瘤脊索瘤、骨软骨纤维瘤(骨软骨性外生骨疣)、良性软骨瘤、成软骨细胞瘤、软骨粘液样纤维瘤、骨样骨瘤和巨细胞瘤。

[0302] 示例性神经系统癌症包括颅骨癌(骨瘤、血管瘤、肉芽肿、黄瘤、变形性骨炎)、脑膜癌(脑膜瘤、脑膜肉瘤、神经胶质瘤病)、脑癌(星细胞瘤、神经管细胞瘤、神经胶质瘤、室管膜瘤、胚组织瘤(松果体瘤)、成胶质细胞瘤、多型性成胶质细胞瘤、寡突胶质瘤、许旺氏细胞瘤(schwannoma)、成视网膜细胞瘤、先天性肿瘤)和脊髓癌(神经纤维瘤、脑膜瘤、神经胶质瘤、肉瘤)以及成神经细胞瘤、赖尔米特-杜克洛氏病(Lhermitte-Duclos disease)、中枢神经系统(CNS)赘瘤、原发性CNS淋巴瘤和脊髓肿瘤。

[0303] 示例性妇科癌症包括子宫癌(子宫内膜癌)、宫颈癌(宫颈癌、肿瘤前子宫颈发育异常)、卵巢癌(卵巢癌瘤(浆液性囊腺瘤、粘液性囊腺瘤、未分类癌瘤)、粒层-泡膜细胞肿瘤、

塞氏细胞-莱氏细胞肿瘤 (Sertoli-Leydig cell tumor)、无性细胞瘤、恶性畸胎瘤)、外阴癌(鳞状细胞癌、上皮内癌、腺癌、纤维肉瘤、黑色素瘤)、阴道癌(透明细胞癌、鳞状细胞癌、葡萄样肉瘤(胚胎性横纹肌肉瘤)和输卵管癌(癌瘤)。

[0304] 示例性皮肤癌包括黑色素瘤、基底细胞癌、鳞状细胞癌、卡波西肉瘤、麦克尔细胞皮肤癌、胎块发育不良痣、脂肪瘤、血管瘤、皮肤纤维瘤和瘢痕瘤。

[0305] 示例性头颈癌包括成胶质细胞瘤、黑色素瘤、横纹肌肉瘤、淋巴肉瘤、骨肉瘤、鳞状细胞癌、腺癌、口腔癌、喉癌、鼻咽癌、鼻癌和副鼻癌、甲状腺癌和甲状旁腺癌。

[0306] 在一些实施方案中,本发明提供了一种治疗有需要的患者的肝细胞癌的方法,所述方法包括向所述患者施用式I化合物的盐或式II化合物的盐或者包含式I化合物的盐或式II化合物的盐的组合物的步骤。

[0307] 在一些实施方案中,本发明提供了一种治疗有需要的患者的横纹肌肉瘤、食道癌、乳腺癌或头颈癌的方法,所述方法包括向所述患者施用式I化合物的盐或式II化合物的盐或者包含式I化合物的盐或式II化合物的盐的组合物的步骤。

[0308] 在一些实施方案中,本发明提供了一种治疗癌症的方法,其中所述癌症选自肝细胞癌、乳腺癌、膀胱癌、结肠直肠癌、黑色素瘤、间皮瘤、肺癌、前列腺癌、胰腺癌、睾丸癌、甲状腺癌、鳞状细胞癌、成胶质细胞瘤、神经母细胞瘤、子宫癌和横纹肌肉瘤。

[0309] 靶向TAM受体酪氨酸激酶可以提供治疗病毒性疾病的治疗方法(T Shibata等,The Journal of Immunology,2014,192,3569-3581)。本发明提供了一种治疗感染,诸如病毒感染的方法。所述方法包括向有需要的患者施用治疗有效量的式I化合物的盐或式II化合物的盐或者包含式I化合物的盐或式II化合物的盐的组合物。

[0310] 引起可以通过本发明方法治疗的感染的病毒的实例包括但不限于人免疫缺陷病毒、人乳头状瘤病毒、流感、A型、B型、C型或D型肝炎病毒、腺病毒、痘病毒、单纯疱疹病毒、人巨细胞病毒、严重急性呼吸道综合征病毒、埃博拉病毒(ebolavirus)、马伯格氏病毒(Marburg virus)和麻疹病毒。在一些实施方案中,引起可以通过本发明方法治疗的感染的病毒包括但不限于肝炎(A型、B型或C型)病毒、疱疹病毒(例如VZV、HSV-1、HAV-6、HSV-II和CMV、埃巴二氏病毒(Epstein Barr virus))、腺病毒、流感病毒、黄热病病毒(例如:西尼罗河病毒、登革热病毒、壁虱传染性脑炎病毒、黄热病病毒、寨卡病毒(Zika))、埃可病毒(echovirus)、鼻病毒、柯萨奇病毒(coxsackievirus)、冠状病毒、呼吸道合胞病毒、腮腺炎病毒、轮状病毒、麻疹病毒、风疹病毒、细小病毒、牛痘病毒、HTLV病毒、登革热病毒、乳头状瘤病毒、软疣病毒、脊髓灰质炎病毒、狂犬病病毒、JC病毒和虫媒病毒性脑炎病毒。

[0311] 在一些实施方案中,本发明提供了一种治疗血栓形成的方法(J.M.E.M.Cosemans等,J.of Thrombosis and Haemostasis 2010,8,1797-1808;以及A.Angelillo-Scherrer等,J.Clin.Invest.2008,118,583-596)。

[0312] 组合法

[0313] 一种或多种其他药物剂或治疗方法,诸如抗病毒剂、化疗剂或其他抗癌剂、免疫增强剂、免疫抑制剂、放射、抗肿瘤和抗病毒疫苗、细胞因子疗法(例如,IL2、GM-CSF等)和/或酪氨酸激酶抑制剂可以与式(I)化合物或如本文描述的化合物组合用于治疗TAM相关的疾病、病症或病状。所述剂可以与本发明盐(例如,式I化合物的盐和式II化合物的盐)组合在单个剂型中,或者所述剂可以作为单独的剂型同时或顺序施用。

[0314] 设想与本发明的盐组合使用的合适抗病毒剂可以包含核苷和核苷酸逆转录酶抑制剂(NRTI)、非核苷逆转录酶抑制剂(NNRTI)、蛋白酶抑制剂和其他抗病毒药物。

[0315] 实例合适NRTI包括齐多夫定(zidovudine) (AZT);地达诺新(didanosine) (ddl);扎西他滨(zalcitabine) (ddC);司坦夫定(stavudine) (d4T);拉米夫定(lamivudine) (3TC);阿巴卡韦(abacavir) (1592U89);阿德福韦酯(adeфовir dipivoxil) [双(POM)-PMEA];洛布卡韦(lobucavir) (BMS-180194);BCH-10652;恩曲他滨(emitricitabine) [(-)-FTC]; β -L-FD4(也称为 β -L-D4C且名为 β -L-2',3'-二去氧-5-氟-胞苷);DAPD((-)- β -D-2,6,-二氨基-嘌呤二氧杂环戊烷);以及洛德诺新(lodenosine) (FddA)。典型的合适NNRTI包括奈韦拉平(nevirapine) (BI-RG-587);地拉韦定(delaviradine) (BHAP,U-90152);依非韦仑(efavirenz) (DMP-266);PNU-142721;AG-1549;MKC-442(1-(乙氧基-甲基)-5-(1-甲基乙基)-6-(苯基甲基)-(2,4(1H,3H)-嘧啶二酮);以及(+)-胡桐内酯A(NSC-675451)和B。典型的合适蛋白酶抑制剂包括沙奎那韦(saquinavir) (Ro 31-8959);利托那韦(ritonavir) (ABT-538);茛地那韦(indinavir) (MK-639);奈非那韦(nelfnavir) (AG-1343);安普那韦(amprenavir) (141W94);拉西那韦(lasinaвir) (BMS-234475);DMP-450;BMS-2322623;ABT-378;和AG-1549。其他抗病毒剂包括羟基脲、利巴韦林(ribavirin)、IL-2、IL-12、喷他夫西(pentafuside)和伊萨姆计划第11607号。

[0316] 适合用于与本申请的盐组合用于治疗癌症的剂包括化疗剂、靶向性癌症疗法、免疫疗法或放射疗法。本发明的盐可能在与抗激素剂组合用于治疗乳腺癌和其他肿瘤方面有效。合适的实例为抗雌激素剂,包括但不限于他莫西芬(tamoxifen)和托瑞米芬(toremifene);芳香酶抑制剂,包括但不限于来曲唑(letrozole)、阿那曲唑(anastrozole)和依西美坦(exemestane);肾上腺类固醇(例如培尼皮质酮(prednisone))、孕酮(例如醋酸甲地孕酮)和雌激素受体拮抗剂(例如氟维司群(fulvestrant))。适合用于治疗前列腺癌和其他癌症的抗激素剂也可以与本发明化合物组合。这些包括抗雄性素剂,包括但不限于氟他米特(flutamide)、比卡米特(bicalutamide)和尼鲁米特(nilutamide);促黄体激素释放激素(LHRH)类似物,包括亮丙瑞林(leuprolide)、奥舍瑞林(oserelin)、曲普瑞林(triptorelin)和组胺瑞林(histrelin);LHRH拮抗剂(例如地加瑞克(degarelix));雄激素受体阻断剂(例如恩扎鲁胺(enzalutamide));以及抑制雄性素产生的剂(例如阿比特龙(abiraterone))。

[0317] 本发明的盐可以与其他针对膜受体激酶的剂组合或按顺序尤其用于已经对靶向性疗法发展出原发性或获得性抗性的患者。这些治疗剂包括针对EGFR、Her2、VEGFR、c-Met、Ret、IGFR1、PDGFR、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、TrkA、TrkB、TrkC、ROS、c-Kit或Flt-3以及针对诸如Bcr-Abl和EML4-Alk的癌症相关融合蛋白激酶的抑制剂或抗体。针对EGFR的抑制剂包括吉非替尼(gefitinib)和埃罗替尼(erlotinib),且针对EGFR/Her2的抑制剂包括但不限于达克替尼(dacomitinib)、阿法替尼(afatinib)、拉帕替尼(lapatinib)和来那替尼(neratinib)。针对EGFR的抗体包括但不限于西妥昔单抗(cetuximab)、帕尼单抗(panitumumab)和奈昔木单抗(necitumumab)。c-Met抑制剂可以与TAM抑制剂组合使用。这些包括奥纳妥珠单抗(onartumzumab)、替万替尼(tivantnib)和INC-280。针对FGFR的剂包括但不限于AZD4547、BAY1187982、ARQ087、BGJ398、BIBF1120、TKI258、德立替尼(lucitanib)、多韦替尼(dovitinib)、TAS-120、JNJ-42756493和Debio1347。针对Trk的剂包

括但不限于LOX0-101和RXDX-101。针对Abl (或Bcr-Abl) 的剂包括伊马替尼(imatinib)、达沙替尼(dasatinib)、尼罗替尼(nilotinib)和普纳替尼(ponatinib),以及针对Alk (或EML4-ALK) 的那些剂,包括克唑替尼(crizotinib)。

[0318] 血管生成抑制剂与TAM抑制剂的组合可能在一些肿瘤中有效。这些包括针对VEGF或VEGFR的抗体或VEGFR激酶抑制剂。针对VEGF的抗体或其他治疗蛋白质包括贝伐珠单抗(bevacizumab)和阿柏西普(aflibercept)。VEGFR激酶抑制剂和其他抗血管生成抑制剂包括但不限于舒尼替尼(sunitinib)、索拉非尼(sorafenib)、阿西替尼(axitinib)、西地尼布(cediranib)、帕唑帕尼(pazopanib)、瑞戈非尼(regorafenib)、布立尼布(brivanib)和凡德他尼(vandetanib)。

[0319] 细胞内信号传导途径激活频繁见于癌症中,并且靶向这些途径的组分的剂已经与受体靶向剂组合以增强效力并降低抗性。可以与本发明化合物组合的剂的实例包括PI3K-AKT-mTOR途径抑制剂、Raf-MAPK途径抑制剂、JAK-STAT途径抑制剂、Pim激酶抑制剂以及蛋白伴侣和细胞周期进展抑制剂。

[0320] 针对PI3激酶的剂包括但不限于匹拉昔布(pilaralisib)、伊德昔布(idelalisib)、布帕昔布(buparlisib)和IPI-549。在一些实施方案中,PI3K抑制剂对PI3K α 、PI3K β 、PI3K γ 或PI3K δ 具有选择性。mTOR抑制剂,诸如雷帕霉素(rapamycin)、西罗莫司(sirolimus)、替西罗莫司(temsirolimus)和依维莫司(everolimus)可以与TAM激酶抑制剂组合。其他合适的实例包括但不限于维罗非尼(vemurafenib)和达拉非尼(dabrafenib)(Raf抑制剂)以及曲美替尼(trametinib)、司美替尼(selumetinib)和GDC-0973(MEK抑制剂)。一种或多种JAK抑制剂(例如鲁索替尼(ruxolitinib)、巴瑞克替尼(baricitinib)、托法替尼(tofacitinib))、Hsp90抑制剂(例如坦螺旋霉素(tanespimycin))、周期素依赖性激酶抑制剂(例如帕博西尼(palbociclib))、PARP抑制剂(例如奥拉帕尼(olaparib)) and 蛋白酶体抑制剂(例如硼替佐米(bortezomib)、卡非佐米(carfilzomib))也可以与本发明化合物组合。在一些实施方案中,JAK抑制剂对JAK1的选择性超过JAK2和JAK3。针对Pim激酶的剂包括但不限于LGH447、INCB053914和SGI-1776。

[0321] 其他适合与本发明的盐组合使用的剂包括化疗组合,诸如用于肺癌和其他实体肿瘤的铂基双药疗法(顺铂(cisplatin)或卡铂(carboplatin)加吉西他滨(gemcitabine);顺铂或卡铂加多西他赛(docetaxel);顺铂或卡铂加紫杉醇(paclitaxel);顺铂或卡铂加培美曲塞(pemetrexed));或吉西他滨加紫杉醇结合的粒子(Abraxane®)。

[0322] 合适的化疗剂或其他抗癌剂包括例如烷基化剂(包括但不限于氮芥类、乙烯亚胺衍生物、烷基磺酸盐、亚硝基脲和三氮烯),诸如尿嘧啶氮芥、氮芥、环磷酰胺(Cytosan™)、依弗酰胺(ifosfamide)、美法仑(melphalan)、氮芥苯丁酸(chlorambucil)、哌泊溴烷(pipobroman)、三乙烯-三聚氰胺、三乙烯硫代磷胺、白消安(busulfan)、卡莫司汀(carmustine)、洛莫司汀(lomustine)、链脲霉素、达卡巴嗪(dacarbazine)和替莫唑胺(temozolomide)。

[0323] 其他适合用于与本发明的盐组合的剂包括:达卡巴嗪(DTIC),任选地连同:其他化疗药物,诸如卡莫司汀(BCNU)和顺铂;“达特茅斯方案(Dartmouth regimen)”,它由DTIC、BCNU、顺铂和他莫西芬组成;顺铂、长春花碱(vinblastine)和DTIC的组合;或替莫唑胺。本文提供的化合物还可以与免疫疗法药物组合,包括细胞因子,诸如干扰素 α 、白介素2和肿瘤

坏死因子 (TNF) 抑制剂。

[0324] 合适的化疗剂或其他抗癌剂包括例如抗代谢物 (包括但不限于叶酸拮抗剂、嘧啶类似物、嘌呤类似物和腺苷脱氨酶抑制剂), 诸如氨甲喋呤、5-氟尿嘧啶、氟尿苷、阿糖胞苷、6-巯基嘌呤、6-巯鸟嘌呤、磷酸氟达拉滨 (fludarabine phosphate)、喷司他汀 (pentostatin) 和吉西他滨。

[0325] 合适的化疗剂或其他抗癌剂还包括例如某些天然产物及其衍生物 (例如长春花生物碱、抗肿瘤抗生素、酶、淋巴因子和表鬼臼毒素), 诸如长春花碱 (vinblastine)、长春新碱 (vincristine)、长春地辛 (vindesine)、博来霉素 (bleomycin)、更生霉素 (dactinomycin)、道诺霉素 (daunorubicin)、多柔比星 (doxorubicin)、表柔比星 (epirubicin)、伊达比星 (idarubicin)、阿糖胞苷 (ara-C)、紫杉醇 (TAXOLTM)、光辉霉素 (mithramycin)、脱氧柯福霉素 (deoxycoformycin)、丝裂霉素C (mitomycin-C)、L-天冬酰胺酶、干扰素 (尤其 IFN- α)、伊托泊苷 (etoposide) 和替尼泊苷 (teniposide)。

[0326] 其他细胞毒性剂包括纳维本 (navelbene)、CPT-11、阿那曲唑、来曲唑、卡培他滨 (capecitabine)、雷洛萨芬 (reloxafine)、环磷酰胺、异环磷酰胺 (ifosamide) 和屈洛昔芬 (droloxafine)。

[0327] 合适的还有细胞毒性剂, 诸如表鬼臼毒素; 抗赘生酶; 拓扑异构酶抑制剂; 丙卡巴肼 (procarbazine); 米托蒽醌 (mitoxantrone); 铂配位复合物, 诸如顺铂和卡铂; 生物应答调节剂; 生长抑制剂; 抗激素治疗剂; 甲酰四氢叶酸; 替加氟 (tegafur); 以及造血生长因子。

[0328] 其他抗癌剂包括抗体治疗剂, 诸如曲妥珠单抗 (trastuzumab) (Herceptin); 针对诸如CTLA-4、4-1BB和PD-1的共刺激分子的抗体; 或针对细胞因子 (IL-10、TGF- β 等) 的抗体。

[0329] 其他抗癌剂包括CSF1R抑制剂 (PLX3397、LY3022855等) 和CSF1R抗体 (IMC-CS4、RG7155等)。

[0330] 其他抗癌剂包括BET抑制剂 (INCB054329、OTX015、CPI-0610等)、LSD1抑制剂 (GSK2979552、INCB059872等)、HDAC抑制剂 (帕比司他 (panobinostat)、伏立诺他 (vorinostat) 等)、DNA甲基转移酶抑制剂 (阿扎胞苷 (azacitidine) 和地西他滨 (decitabine)) 以及其他表观基因调节剂。

[0331] 其他抗癌剂包括Bcl2抑制剂ABT-199和其他Bcl-2家族蛋白抑制剂。

[0332] 其他抗癌剂包括TGF β 受体激酶抑制剂, 诸如LY2157299。

[0333] 其他抗癌剂包括BTK抑制剂, 诸如依鲁替尼 (ibrutinib)。

[0334] 其他抗癌剂包括 β 连环蛋白途径抑制剂、notch途径抑制剂和刺猬途径抑制剂。

[0335] 其他抗癌剂包括细胞增殖性病症相关激酶的抑制剂。这些激酶包括但不限于极光激酶 (Aurora) - A、CDK1、CDK2、CDK3、CDK5、CDK7、CDK8、CDK9、肝配蛋白 (ephrin) 受体激酶、CHK1、CHK2、SRC、Yes、Fyn、Lck、Fer、Fes、Syk、Itk、Bmx、GSK3、JNK、PAK1、PAK2、PAK3、PAK4、PDK1、PKA、PKC、Rsk和SGK。

[0336] 其他抗癌剂还包括阻断免疫细胞迁移的那些抗癌剂, 诸如针对趋化因子受体, 包括CCR2和CCR4的拮抗剂。

[0337] 其他抗癌剂还包括强化免疫系统的那些抗癌剂, 诸如佐剂或过继T细胞转移。

[0338] 抗癌疫苗包括树突状细胞、合成肽、DNA疫苗和重组病毒。

[0339] 一种或多种其他免疫检查点抑制剂可以与如本文描述的盐组合用于治疗TAM相关

的疾病、病症或病状。示例性免疫检查点抑制剂包括针对诸如CD20、CD27、CD28、CD40、CD122、CD96、CD73、CD47、OX40、GITR、CSF1R、JAK、PI3K δ 、PI3K γ 、TAM、精氨酸酶、CD137(也称为4-1BB)、ICOS、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、LAG3、TIM3、VISTA、CD96、TIGIT、PD-1、PD-L1和PD-L2的免疫检查点分子的抑制剂。在一些实施方案中,免疫检查点分子是选自CD27、CD28、CD40、ICOS、OX40、GITR和CD137的刺激检查点分子。在一些实施方案中,免疫检查点分子是选自A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、IDO、KIR、LAG3、PD-1、TIM3、CD96、TIGIT和VISTA的抑制性检查点分子。在一些实施方案中,本文中所提供的盐可以与选自KIR抑制剂、TIGIT抑制剂、LAIR1抑制剂、CD160抑制剂、2B4抑制剂和TGF β 抑制剂的一种或多种剂组合使用。

[0340] 在一些实施方案中,免疫检查点分子抑制剂是抗PD1抗体、抗PD-L1抗体或抗CTLA-4抗体。

[0341] 在一些实施方案中,免疫检查点分子抑制剂是PD-1抑制剂,例如抗PD-1单克隆抗体。在一些实施方案中,抗PD-1单克隆抗体是纳武单抗(nivolumab)、派姆单抗(pembrolizumab)(也称为MK-3475)、皮地珠单抗(pidilizumab)、SHR-1210、PDR001或AMP-224。在一些实施方案中,抗PD-1单克隆抗体是纳武单抗、派姆单抗或PDR001。在一些实施方案中,抗PD1抗体是派姆单抗。

[0342] 在一些实施方案中,免疫检查点分子抑制剂是PD-L1抑制剂,例如抗PD-L1单克隆抗体。在一些实施方案中,抗PD-L1单克隆抗体是BMS-935559、MEDI4736、MPDL3280A(也称为RG7446)或MSB0010718C。在一些实施方案中,抗PD-L1单克隆抗体是MPDL3280A(阿特殊单抗(atezolizumab))或MEDI4736(德瓦鲁单抗(durvalumab))。

[0343] 在一些实施方案中,免疫检查点分子抑制剂是CTLA-4抑制剂,例如抗CTLA-4抗体。在一些实施方案中,抗CTLA-4抗体是伊匹单抗(ipilimumab)或曲美木单抗(tremelimumab)。

[0344] 在一些实施方案中,免疫检查点分子抑制剂是LAG3抑制剂,例如抗LAG3抗体。在一些实施方案中,抗LAG3抗体是BMS-986016或LAG525。

[0345] 在一些实施方案中,免疫检查点分子抑制剂是GITR抑制剂,例如抗GITR抗体。在一些实施方案中,抗GITR抗体是TRX518、MK-4166、INCAGN01876或MK-1248。

[0346] 在一些实施方案中,免疫检查点分子抑制剂是OX40抑制剂,例如抗OX40抗体或OX40L融合蛋白。在一些实施方案中,抗OX40抗体是MEDI0562、INCAGN01949、GSK2831781、GSK-3174998、MOXR-0916、PF-04518600或LAG525。在一些实施方案中,OX40L融合蛋白是MEDI6383。

[0347] 在一些实施方案中,免疫检查点分子抑制剂是CD20抑制剂,例如抗CD20抗体。在一些实施方案中,抗CD20抗体是奥滨尤妥珠单抗(obinutuzumab)或利妥昔单抗(rituximab)。

[0348] 本发明的盐可以与双特异性抗体组合使用。在一些实施方案中,双特异性抗体的结构域之一靶向PD-1、PD-L1、CTLA-4、GITR、OX40、TIM3、LAG3、CD137、ICOS、CD3或TGF β 受体。

[0349] 本发明的盐可以与用于治疗诸如癌症等疾病的一种或多种剂组合使用。在一些实施方案中,所述剂是烷基化剂、蛋白酶体抑制剂、皮质类固醇或免疫调节剂。烷基化剂的实例包括环磷酰胺(CY)、美法仑(MEL)和苯达莫司汀(bendamustine)。在一些实施方案中,蛋白酶体抑制剂是卡非佐米(carfilzomib)。在一些实施方案中,皮质类固醇是地塞米松

(dexamethasone) (DEX)。在一些实施方案中,免疫调节剂是来那度胺(lenalidomide) (LEN) 或泊马度胺(pomalidomide) (POM)。

[0350] 本发明的盐可以与另一种免疫原性剂,诸如癌细胞、纯化的肿瘤抗原(包括重组蛋白质、肽和碳水化合物分子)、细胞和用编码免疫刺激细胞因子的基因转染过的细胞组合。可以使用的肿瘤疫苗的非限制性实例包括黑色素瘤抗原的肽,诸如gp100、MAGE抗原、Trp-2、MARTI和/或酪氨酸酶的肽,或者经过转染以表达细胞因子GM-CSF的肿瘤细胞。

[0351] 本发明的盐可以与疫苗接种方案组合用于治疗癌症。在一些实施方案中,肿瘤细胞经过转导以表达GM-CSF。在一些实施方案中,肿瘤疫苗包括来自人类癌症所牵涉的病毒,诸如人乳头状瘤病毒(HPV)、肝炎病毒(HBV和HCV)和卡波西疱疹肉瘤病毒(KHSV)的蛋白质。在一些实施方案中,本发明的盐可以与肿瘤特异性抗原,诸如从肿瘤组织本身分离的热休克蛋白组合使用。在一些实施方案中,本发明的盐可以与树突状细胞免疫组合以激活有效抗肿瘤应答。

[0352] 本发明的盐可以与使表达Fc α 或Fc γ 受体的效应细胞靶向肿瘤细胞的双特异性大环肽组合。本发明的盐还可以与激活宿主免疫应答的大环肽组合。

[0353] 本发明的盐可以与精氨酸酶抑制剂,例如CB-1158组合使用。

[0354] 本发明的盐可以与一种或多种代谢酶抑制剂组合使用。在一些实施方案中,代谢酶抑制剂是IDO1抑制剂、TDO抑制剂或精氨酸酶抑制剂。IDO1抑制剂的实例包括依卡多他(epacadostat)和NGL919。

[0355] 本发明的盐可以与骨髓移植组合用于治疗多种造血源性肿瘤。

[0356] 本发明的盐可以用作抗凝剂,呈单剂形式或与其他抗凝剂,包括但不限于阿哌沙班(apixaban)、达比加群(dabigatran)、依度沙班(edoxaban)、磺达肝癸(fondaparinux)、肝素、利伐沙班(rivaroxaban)和华法林(warfarin)组合。

[0357] 安全且有效地施用这些化疗剂中的大部分的方法对本领域技术人员为已知的。另外,它们的施用描述于标准文献中。举例来说,化疗剂中的许多种的施用描述于“Physicians’ Desk Reference”(PDR,例如1996版,Medical Economics Company, Montvale,NJ)中,它的公开内容以引用的方式并入本文中,如同对其全文加以阐述。

[0358] 药物制剂和剂型

[0359] 当用作药物时,本文提供的盐可以呈药物组合物形式施用,这是指本文提供的化合物或其药学上可接受的盐与至少一种药学上可接受的载体的组合。这些组合物可以用制药技术中众所周知的方式制备,并且可以通过多种途径施用,取决于需要局部治疗还是全身治疗以及欲治疗的区域。施用可以是局部(包括眼部和施用至粘膜,包括鼻内、阴道和直肠递送)、肺(例如通过吸入或吹入粉剂或气雾剂,包括通过喷雾器;气管内、鼻内、表皮和经皮)、眼、口服或肠胃外。眼部递送的方法可以包括局部施用(滴眼剂)、结膜下、眼周或玻璃体内注射,或者通过手术放入在结膜囊中的球囊导管或眼插入物引入。肠胃外施用包括静脉内、动脉内、皮下、腹膜内或肌肉内注射或输注;或颅内(例如鞘内)或心室内施用。肠胃外施用可以呈单次团注剂量形式,或者可以例如通过连续灌注泵。用于局部施用的药物组合物和制剂可以包括经皮贴片、软膏、洗剂、乳膏、凝胶、滴剂、栓剂、喷雾、液体和粉剂。常规药物载体、水溶液、粉剂或油性基质、增稠剂等等可能是必需的或期望的。

[0360] 本申请还包括诸多药物组合物,所述药物组合物含有作为活性成分的一种或多种

本文提供的盐(例如式I化合物的盐和式II化合物的盐)与一种或多种药学上可接受的载体的组合。在制造本发明的组合物时,典型地将活性成分与赋形剂混合,通过赋形剂稀释或囊封在呈例如胶囊、香囊、纸张或其他容器形式的此类载体内。当赋形剂充当稀释剂时,它可以是固体、半固体或液体材料,由此充当活性成分的媒介物、载体或介质。因此,所述组合物可以呈锭剂、丸剂、粉剂、糖锭、香囊、扁囊、酏剂、混悬液、乳液、溶液、糖浆、气雾剂(呈固体形式或在液体介质中)、含有例如多达10重量%活性化合物的软膏、软胶囊和硬胶囊、栓剂、无菌可注射溶液以及无菌包装粉剂的形式。

[0361] 在制备制剂时,可以研磨活性化合物(或本发明的盐形式)以提供适当的粒度,然后与其他成分组合。如果活性化合物基本上不可溶,则可以将它研磨至小于200目的粒度。如果活性化合物基本上可溶于水,则可以通过研磨来调节粒度,以便在制剂中提供基本上均匀的分布,例如约40目。

[0362] 合适的赋形剂的一些实例包括乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、淀粉、阿拉伯树胶、磷酸钙、海藻酸盐、黄芪胶、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、糖浆和甲基纤维素。所述制剂可以另外包括:润滑剂,诸如滑石、硬脂酸镁和矿物油;润湿剂;乳化剂和悬浮剂;防腐剂,诸如苯甲酸甲酯和羟基苯甲酸丙酯;以及甜味剂和调味剂。可以配制本发明的组合物以便在通过使用本领域中已知的程序施用至患者后提供活性成分的快速、持续或延迟释放。

[0363] 所述组合物可以经配制而呈单位剂量形式,每一个剂量含有约5至约100mg,更通常约10至约30mg的活性成分。术语“单位剂量形式”是指适合呈单位剂量形式用于人类受试者和其他哺乳动物的物理离散单元,每一个单元含有经计算能与合适的药物赋形剂联合产生所期望的治疗效果的预定量的活性材料。

[0364] 活性化合物可以在较宽剂量范围内有效且一般以治疗有效量施用。然而,应当理解,化合物的实际施用量通常将由医师根据相关情形(包括欲治疗的病状、所选择的施用途径、所施用的实际化合物、个别患者的年龄、体重和应答、患者症状的严重程度等等)来决定。

[0365] 为了制备诸如锭剂等固体组合物,将主要活性成分与药物赋形剂混合,以形成含有本发明化合物的均质混合物的固体预配制组合物。当提到这些预配制组合物是均质的时,活性成分典型地均匀分散在整个组合物中,使得所述组合物可以容易地再分成同样有效的单位剂型,诸如锭剂、丸剂和胶囊。然后将这种固体预制剂再分成含有例如约0.1至约500mg本发明活性成分的属于以上描述的类型单位剂型。

[0366] 本发明的锭剂或丸剂可以经过涂布或者以其他方式混配以提供能获得延长作用时间优点的剂型。举例来说,锭剂或丸剂可以包含内部剂量和外部剂量组分,后者呈在前者上的封套形式。所述两种组分可以由肠衣层隔开,所述肠衣层用于在胃中抵抗崩解且允许内部组分完整地进入十二指肠或延迟释放。多种材料可以用于此类肠衣层或包衣层,此类材料包括许多聚合酸和聚合酸与诸如虫胶、鲸蜡醇和醋酸纤维素等材料的混合物。

[0367] 可以并入本发明的盐和组合物中以供口服或通过注射施用的液体形式包括水溶液、适当调味的糖浆、水或油混悬液和含诸如棉籽油、芝麻油、椰子油或花生油等可食用油的调味乳液,以及酏剂和类似的药物媒介物。

[0368] 用于吸入或吹入的组合物包括处于药学上可接受的水性溶剂或有机溶剂或其混

合物中的溶液和混悬液,以及粉剂。液体或固体组合物可以含有如上文描述的合适的药学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中,所述组合物通过口服或经鼻呼吸途径施用以实现局部或全身效应。组合物可以利用惰性气体进行雾化。雾化的溶液可以从雾化装置直接呼吸,或者雾化装置可以连接至面罩或间歇性正压呼吸机。溶液、混悬液或粉剂组合物可以从以适当方式递送制剂的装置口服或经鼻施用。

[0369] 施用至患者的盐(例如式I化合物的盐和式II化合物的盐)或组合物的量将取决于施用何物、施用目的(诸如预防或治疗)、患者状态、施用方式等等而定。在治疗性应用中,可以施用至已罹患疾病的患者的组合物的量足以治愈或至少部分阻遏所述疾病及其并发症的症状。有效剂量将取决于所治疗的疾病病状以及由护理医师根据诸如疾病严重程度、患者的年龄、体重和一般状况等因素而作出的判断等等而定。

[0370] 施用至患者的组合物可以呈以上所描述的药物组合物形式。这些组合物可以通过常规灭菌技术进行灭菌,或者可以进行无菌过滤。水溶液可以经过封装以供依原样使用,或经冻干,冻干制剂可以在施用前与无菌水性载体组合。化合物制剂的pH典型地将介于3与11之间,更优选为5至9且最优选为7至8。应当理解,使用某些前述赋形剂、载体或稳定剂将形成药物盐。

[0371] 本发明化合物或盐的治疗剂量可以根据例如进行治疗的特定用途、化合物的施用方式、患者的健康状况和处方医师的判断而变化。本文提供的化合物或盐在药物组合物中的比例或浓度可以取决于许多因素而变化,包括剂量、化学特征(例如疏水性)和施用途径。举例来说,本文提供的化合物或盐可以呈含有约0.1%至约10%w/v化合物或盐的水性生理学缓冲溶液形式提供以供肠胃外施用。一些典型剂量范围为每日约1 μ g/kg至约1g/kg体重。在一些实施方案中,剂量范围为每日约0.01mg/kg至约100mg/kg体重。剂量有可能取决于诸如疾病或病症的类型和进展程度、特定患者的总体健康状态、所选化合物的相对生物学效力、赋形剂的配方及其施用途径等变量而定。有效剂量可以由得自活体外或动物模型测试系统的剂量应答曲线外推。

[0372] 本文提供的化合物或盐还可以与一种或多种其他活性成分组合配制,所述活性成分可以包括任何药物剂,诸如抗病毒剂、疫苗、抗体、免疫增强剂、免疫抑制剂、消炎剂等等。

[0373] 药盒

[0374] 本发明还包括可用于例如治疗或预防TAM相关疾病或病症、肥胖、糖尿病和本文提到的其他疾病的药盒,所述药盒包括一个或多个含有包含治疗有效量的本文提供的盐(例如,式I化合物的盐和式II化合物的盐)的药物组合物的容器。如本领域技术人员应当显而易见,所述药盒还可以根据需要包括多种常规药盒组件中的一种或多种,例如像含一种或多种药学上可接受的载体的容器、附加容器等。药盒中还可以包括呈插页形式或呈标签形式的说明书,指示欲施用的组分的量、关于施用的指导和/或关于混合组分的指导。

[0375] 实施例

[0376] 将通过具体实施例更详细地描述本发明。以下实施例出于说明目的而提供,并且不希望以任何方式限制本发明。本领域技术人员应当容易地识别可以改变或修改以产生基本上相同的结果的多个非重要参数。发现实施例的化合物是如以下描述的TAM激酶抑制剂。

[0377] 一般方法

[0378] 在Waters质量指导型分馏系统上对所制备的一些化合物进行制备型LC-MS纯化。

文献中已详细描述了用于操作这些系统的基本设备设定、方案和控制软件。参见例如“Two-Pump At Column Dilution Configuration for Preparative LC-MS”, K.Blom, J.Combi.Chem., 4, 295 (2002); “Optimizing Preparative LC-MS Configurations and Methods for Parallel Synthesis Purification”, K.Blom, R.Sparks, J.Doughty, G.Everlof, T.Haque, A.Combs, J.Combi.Chem., 5, 670 (2003); 以及“Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization”, K.Blom, B.Glass, R.Sparks, A.Combs, J.Combi.Chem., 6, 874-883 (2004)。典型地在以下条件下对所分离的化合物进行分析型液相色谱质谱 (LCMS) 以进行纯度检验: 仪器: Agilent 1100 系列, LC/MSD; 柱: Waters Sunfire™ C₁₈ 5μm 粒度, 2.1×5.0mm; 缓冲液: 流动相A: 0.025% TFA/水, 和流动相B: 乙腈; 梯度: 2% 至 80% B, 3 分钟, 流速 2.0mL/min。

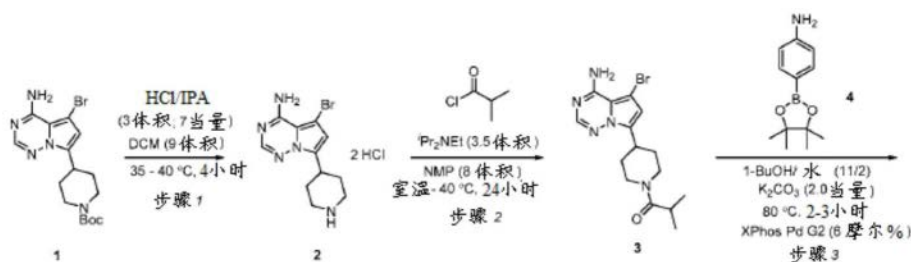
[0379] 还如实施例中所指出通过利用MS检测器的逆相高效液相色谱法 (RP-HPLC) 或快速色谱法 (硅胶) 以制备规模分离一些所制备的化合物。典型的制备型逆相高效液相色谱法 (RP-HPLC) 柱条件如下:

[0380] pH=2 纯化: Waters Sunfire™ C₁₈ 5μm 粒度, 19×100mm 柱, 用流动相A: 0.1% TFA (三氟乙酸)/水和流动相B: 乙腈来进行洗脱; 流速是 30mL/min, 使用如文献中描述的化合物特异性方法优化方案 (Compound Specific Method Optimization protocol) 对各化合物的分离梯度进行优化 [参见“Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization”, K.Blom, B.Glass, R.Sparks, A.Combs, J.Comb.Chem., 6, 874-883 (2004)]。典型地, 用于 30×100mm 柱的流速是 60mL/min。

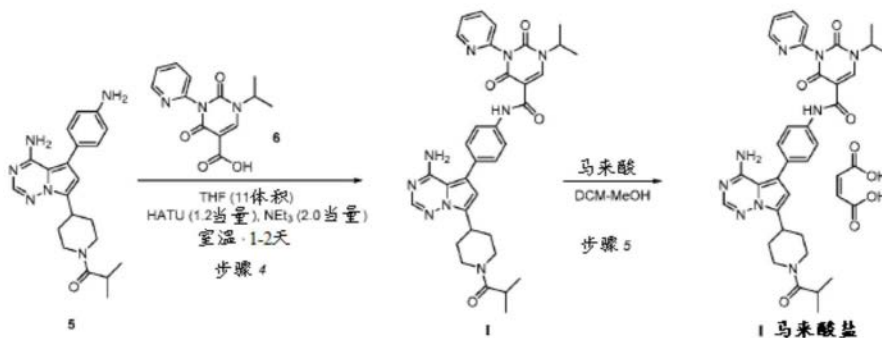
[0381] pH=10 纯化: Waters XBridge C₁₈ 5μm 粒度, 19×100mm 柱, 用流动相A: 0.15% NH₄OH/水和流动相B: 乙腈进行洗脱; 流速是 30mL/min, 使用如文献中描述的化合物特异性方法优化方案对各化合物的分离梯度进行优化 [参见“Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization”, K.Blom, B.Glass, R.Sparks, A.Combs, J.Comb.Chem., 6, 874-883 (2004)]。典型地, 用于 30×100mm 柱的流速是 60mL/min。

[0382] 实施例1. N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐 (化合物I 马来酸盐, 形式I) 的合成

[0383] 流程1.



[0384]



[0385] 步骤1.5-溴-7-(吡啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-4-胺二盐酸盐(化合物2)

[0386] 在室温下,在配备机械搅拌器、加热套、热电偶、回流冷凝器、氮气入口和氮气出口的5颈22L圆底烧瓶中放入含4-(4-氨基-5-溴吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)吡啶-1-甲酸叔丁酯(化合物1,880g,2.221mol)的二氯甲烷(DCM,8.0L)。向悬浮液中加入含盐酸的2-丙醇(5.8N,2.7L,15.66mol,7.05当量)。将混合物加热至35℃。4小时后,用叔丁基甲醚(TBME,4.5L)稀释反应混合物。将所得混合物冷却至室温,过滤并且用TBME(2.0L)洗涤。在过滤器上,在室内真空下将滤饼干燥24小时,获得呈淡棕色固体状的5-溴-7-(吡啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-4-胺二盐酸盐(化合物2,848g,103%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ9.53-9.29(m,3H),8.23(s,1H),6.91(s,1H),3.38(tt,J=11.8,3.6Hz,1H),3.30(d,J=12.4Hz,2H),3.00(dtd,J=12.8,10.1,2.6Hz,2H),2.07(dd,J=14.1,3.8Hz,2H),1.97-1.87(m,2H)ppm;¹³C NMR(101MHz,DMSO-d₆) δ150.34,139.32,138.92,113.24,109.67,95.70,43.06,30.57,26.89ppm;C₁₁H₁₄BrN₅(MW 295.0),LCMS(EI)m/e 296.0(M⁺+H)。

[0387] 步骤2.1-(4-(4-氨基-5-溴吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)吡啶-1-基)-2-甲基丙-1-酮(化合物3)。

[0388] 在室温下,在配备机械搅拌器、热电偶、回流冷凝器、氮气入口和氮气出口的5颈22L圆底烧瓶中放入含5-溴-7-(吡啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-4-胺二盐酸盐(化合物2,1300g,3.522mol)的N-甲基吡啶酮(NMP,10L)。向悬浮液中加入N,N-二异丙基乙胺(1593g,12.3mol)。将混合物冷却至10℃,然后装入异丁酰氯(388g,3.645mol)。在室温下搅拌反应物,并且通过HPLC进行监控。加入额外的异丁酰氯(22.5g,0.211mol)以耗尽所有起始物质。一旦反应完毕后,便将反应混合物滤过硅藻土垫。将所得滤液冷却至10℃,逐渐加入水(26L)以使产物沉淀析出。通过过滤来收集固体,并且以水(12L)洗涤。在过滤器上,在室内真空下将滤饼干燥48小时,获得呈淡棕色固体状的1-(4-(4-氨基-5-溴吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)吡啶-1-基)-2-甲基丙-1-酮(化合物3,1095g,85%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ7.86(s,1H),6.64(s,1H),4.51(d,J=12.6Hz,1H),4.01(d,J=13.2Hz,1H),3.35-3.30(m,1H),3.12(t,J=12.3Hz,1H),2.91-2.84(m,1H),2.64(t,J=12.1Hz,1H),

2.02-1.93(m, 2H), 1.55-1.42(m, 2H), 1.02(d, J=6.5Hz, 3H), 1.00(d, J=6.5Hz, 3H) ppm; ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ 174.50, 155.68, 148.37, 135.22, 111.36, 110.65, 87.27, 45.34, 41.67, 32.91, 31.30, 30.33, 29.49, 20.03, 19.87 ppm; $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{BrN}_5\text{O}$ (MW 365.09), LCMS (EI) m/e 366.1 (M^+H)。

[0389] 步骤3.1- (4- (4-氨基-5- (4-氨基苯基) 吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基) 哌啶-1-基) -2-甲基丙-1-酮(化合物5)。

[0390] 在室温下, 将配备机械搅拌器、加热套、热电偶、回流冷凝器、氮气入口和氮气出口的5颈22L圆底烧瓶装入含1- (4- (4-氨基-5-溴吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基) 哌啶-1-基) -2-甲基丙-1-酮(化合物3, 700g, 1.911mol)、4- (4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊环-2-基) 苯胺(化合物4, 502g, 2.293mol) 和碳酸钾(528g, 3.822mol) 的1-丁醇(7.7L) 和水(1.4L)。在室温下向混合物中加入氯(2-二环己基膦基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)[2- (2'-氨基-1,1'-联苯)] 钯(II) (XPhos Pd G2, 90g, 115mmol)。对反应混合物进行脱气且用氮气再填充, 然后加热升至80℃。在80℃下两小时之后, 向反应混合物中加入正庚烷(8L)。将所得浆液冷却至室温。通过过滤来收集固体, 并且用水(6L) 洗涤。在过滤器上, 在室内真空下将滤饼干燥72小时, 获得呈棕色固体状的1- (4- (4-氨基-5- (4-氨基苯基) 吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基) 哌啶-1-基) -2-甲基丙-1-酮(化合物5, 648g, 90%)。 ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 7.85(s, 1H), 7.09(d, J=8.4Hz, 2H), 6.65(d, J=8.4Hz, 2H), 6.43(s, 1H), 5.24(s, 2H), 4.53(d, J=12.6Hz, 1H), 4.04(d, J=13.1Hz, 1H), 3.38(ddd, J=11.8, 8.2, 3.8Hz, 1H), 3.16(t, J=12.7Hz, 1H), 2.87(p, J=6.7Hz, 1H), 2.71-2.66(m, 1H), 2.08-2.00(m, 2H), 1.61-1.58(m, 2H), 1.02(d, J=6.5Hz, 3H), 1.00(d, J=6.5Hz, 3H) ppm; ^{13}C NMR (126MHz, DMSO- d_6) δ 174.51, 156.31, 148.51, 147.65, 133.98, 130.35, 122.57, 119.37, 114.57, 109.67, 108.85, 45.48, 41.81, 32.97, 31.50, 30.56, 29.50, 20.06, 19.89 ppm; $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}$ (MW 378.48), LCMS (EI) m/e 379.2 (M^+H)。

[0391] 步骤4.N- (4- (4-氨基-7- (1-异丁酰基哌啶-4-基) 吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基) 苯基) -1-异丙基-2,4-二氧代-3- (吡啶-2-基) -1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺(化合物I)。

[0392] 在室温下, 在配备机械搅拌器、热电偶、氮气入口和氮气出口的5颈22L圆底烧瓶中放入含1- (4- (4-氨基-5- (4-氨基苯基) 吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基) 哌啶-1-基) -2-甲基丙-1-酮(化合物5, 944g, 2.494mol) 和1-异丙基-2,4-二氧代-3- (吡啶-2-基) -1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酸盐(化合物6, 801g, 2.569mol) 的四氢呋喃(THF, 10L)。向反应混合物中加入三乙胺(NEt_3 , 0.695L, 4.988mol)。在反应完毕后, 将反应混合物均分到两个22L圆底烧瓶中。在室温下向各个烧瓶中装入水(8L)。通过过滤来收集固体。将所得湿滤饼放回22L圆底烧瓶中。向烧瓶中装入THF(3.2L) 和水(10.5L)。将浆液加热至55℃, 并且在55℃下搅拌两小时。在30℃下通过过滤来收集固体, 并且用水(8L) 洗涤。在过滤器上, 在室内真空下将滤饼干燥72小时, 获得呈淡棕色固体状的N- (4- (4-氨基-7- (1-异丁酰基哌啶-4-基) 吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基) 苯基) -1-异丙基-2,4-二氧代-3- (吡啶-2-基) -1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺(化合物I, 1425g, 90%)。 ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 10.82(s, 1H), 8.71(s, 1H), 8.64(ddd, J=4.8, 1.8, 0.8Hz, 1H), 8.06(td, J=7.7, 1.9Hz, 1H), 7.91(s, 1H), 7.77(d, J=8.6Hz, 2H), 7.60-7.53(m, 2H), 7.43(d, J=8.6Hz, 2H), 6.58(s, 1H), 4.78(hept, J=

6.8Hz, 1H), 4.54 (d, J=12.3Hz, 1H), 4.06 (d, J=12.5Hz, 1H), 3.40 (tt, J=11.7, 3.5Hz, 1H), 3.20 (t, J=12.3Hz, 1H), 2.91 (hept, J=6.7Hz, 1H), 2.69 (t, J=12.3Hz, 1H), 2.06 (dd, J=27.7, 12.3Hz, 2H), 1.61 (q, J=11.8Hz, 1H), 1.55-1.47 (m, 1H), 1.44 (d, J=6.8Hz, 6H), 1.02 (d, J=6.8Hz, 3H), 1.00 (d, J=6.8Hz, 3H) ppm; ^{13}C NMR (126MHz, DMSO- d_6) δ 174.51, 163.02, 160.31, 156.20, 150.18, 149.98, 149.18, 148.08, 147.79, 139.55, 137.51, 134.45, 131.24, 130.23, 125.09, 124.57, 120.46, 117.98, 109.90, 109.35, 105.27, 51.17, 45.46, 41.79, 32.97, 31.48, 30.54, 29.49, 21.09 (2-CH₃), 20.07, 19.89ppm; C₃₄H₃₇N₉O₄ (MW 635.73), LCMS(EI)m/e 636.3(M⁺+H)。

[0393] 步骤5.N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐(化合物I马来酸盐,形式I)。

[0394] 在室温下,在配备机械搅拌器、加热夹套、热电偶、回流冷凝器、氮气入口和氮气出口的50L反应器中放入含N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺(化合物I, 1401g, 2.204mol)的甲醇(MeOH, 10L)和二氯甲烷(DCM, 20L)。将浆液加热至50℃以获得溶液。向溶液中加入活性碳(70g)和硅胶(70g)。在50℃下搅拌2小时后,将混合物滤过硅藻土垫。向滤液中加入马来酸(269g, 2.314mol)。在大气压下蒸馏出大部分DCM。固体逐渐沉淀析出。在18℃下通过过滤来收集固体,并且用MeOH(3L)洗涤。在过滤器上,在室内真空下将滤饼干燥72小时,获得呈灰白色固体状的N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐(化合物I马来酸盐, 1425g, 86%)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 10.83 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.65-8.63 (m, 1H), 8.06 (td, J=7.8, 1.9Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.77 (d, J=8.6Hz, 2H), 7.58-7.55 (m, 2H), 7.44 (d, J=8.5Hz, 2H), 6.62 (s, 1H), 6.25 (s, 2H), 4.78 (hept, J=6.7Hz, 1H), 4.54 (d, J=12.3Hz, 1H), 4.06 (d, J=12.5Hz, 1H), 3.40 (tt, J=11.6, 3.2Hz, 1H), 3.20 (t, J=12.3Hz, 1H), 2.90 (hept, J=6.6Hz, 1H), 2.69 (t, J=12.1Hz, 1H), 2.09-2.01 (m, 2H), 1.65-1.57 (m, 1H), 1.56-1.49 (m, 1H), 1.44 (d, J=6.8Hz, 6H), 1.02 (d, J=5.5Hz, 3H), 1.00 (d, J=5.5Hz, 3H) ppm; ^{13}C NMR (101MHz, DMSO) δ 174.52, 167.21, 163.03, 160.33, 155.20, 150.18, 149.99, 149.18, 148.07, 146.26, 139.55, 137.67, 135.32, 131.34, 130.87, 130.22, 125.09, 124.57, 120.49, 119.30, 109.80, 109.47, 105.26, 51.17, 45.43, 41.76, 32.97, 31.45, 30.53, 29.50, 21.09 (2-CH₃), 20.06, 19.89ppm; C₃₄H₃₇N₉O₄ (游离碱, MW 635.73), LCMS(EI)m/e 636.3(M⁺+H)。

[0395] 实施例2.N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺半硫酸盐(非晶态)(化合物II半硫酸盐)的合成

[0396] 流程2



[0401] 在室温下,将配备机械搅拌器、热电偶、回流冷凝器、氮气入口和氮气出口的5颈22L圆底烧瓶装入含5-溴-7-(哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-4-胺二盐酸盐(化合

物2,1300g,3.522mol)的N-甲基哌啶酮(NMP,10L)。向悬浮液中加入N,N-二异丙基乙胺(1593g,12.3mol)。将混合物冷却至10℃,并且用异丁酰氯(388g,3.645mol)处理。搅拌反应混合物,同时升温至室温,并且通过HPLC进行监控。加入额外的异丁酰氯(22.5g,0.211mol)以耗尽所有起始物质。一旦反应完毕后,便将反应混合物滤过硅藻土垫。将所得滤液冷却至10℃并且逐渐加入水(26L)以使产物沉淀析出。通过过滤来收集固体,并且以水(12L)洗涤。在过滤器上,在真空下将滤饼干燥48小时,获得呈淡棕色固体状的1-(4-(4-氨基-5-溴吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)哌啶-1-基)-2-甲基丙-1-酮(化合物3,1095g,85%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ7.86(s,1H),6.64(s,1H),4.51(d,J=12.6Hz,1H),4.01(d,J=13.2Hz,1H),3.35-3.30(m,1H),3.12(t,J=12.3Hz,1H),2.91-2.84(m,1H),2.64(t,J=12.1Hz,1H),2.02-1.93(m,2H),1.55-1.42(m,2H),1.02(d,J=6.5Hz,3H),1.00(d,J=6.5Hz,3H) ppm;¹³C NMR(101MHz,DMSO-d₆) δ174.50,155.68,148.37,135.22,111.36,110.65,87.27,45.34,41.67,32.91,31.30,30.33,29.49,20.03,19.87ppm;C₁₅H₂₀BrN₅O(MW 365.09),LCMS(EI)m/e 366.1(M⁺H)。

[0402] 步骤3.1-(4-(4-氨基-5-(4-氨基苯基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)哌啶-1-基)-2-甲基丙-1-酮(化合物5)。

[0403] 在室温下,将配备机械搅拌器、加热套、热电偶、回流冷凝器、氮气入口和氮气出口的5颈22L圆底烧瓶装入含1-(4-(4-氨基-5-溴吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)哌啶-1-基)-2-甲基丙-1-酮(化合物3,700g,1.911mol)、4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊环-2-基)苯胺(化合物4,502g,2.293mol)和碳酸钾(528g,3.822mol)的1-丁醇(7.7L)和水(1.4L)。在室温下用氯(2-二环己基膦基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)[2-(2'-氨基-1,1'-联苯)]钯(II)(XPhos Pd G2,90g,115mmol)处理混合物。对反应混合物进行脱气并且用氮气再填充,然后加热升至80℃。在80℃下两小时后,用正庚烷(8L)稀释反应混合物。将所得浆液冷却至室温。通过过滤来收集固体,并且用水(6L)洗涤。在过滤器上,在真空下将滤饼干燥72小时,获得呈棕色固体状的1-(4-(4-氨基-5-(4-氨基苯基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)哌啶-1-基)-2-甲基丙-1-酮(化合物5,648g,90%)。¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆) δ7.85(s,1H),7.09(d,J=8.4Hz,2H),6.65(d,J=8.4Hz,2H),6.43(s,1H),5.24(s,2H),4.53(d,J=12.6Hz,1H),4.04(d,J=13.1Hz,1H),3.38(ddd,J=11.8,8.2,3.8Hz,1H),3.16(t,J=12.7Hz,1H),2.87(p,J=6.7Hz,1H),2.71-2.66(m,1H),2.08-2.00(m,2H),1.61-1.58(m,2H),1.02(d,J=6.5Hz,3H),1.00(d,J=6.5Hz,3H) ppm;¹³C NMR(126MHz,DMSO-d₆) δ174.51,156.31,148.51,147.65,133.98,130.35,122.57,119.37,114.57,109.67,108.85,45.48,41.81,32.97,31.50,30.56,29.50,20.06,19.89ppm;C₂₁H₂₆N₆O(MW 378.48),LCMS(EI)m/e 379.2(M⁺H)。

[0404] 步骤4.N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺(化合物II)。

[0405] 在室温下,将配备机械搅拌器、热电偶、氮气入口和氮气出口的5颈22L圆底烧瓶装入含1-(4-(4-氨基-5-(4-氨基苯基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)哌啶-1-基)-2-甲基丙-1-酮(化合物5,450g,1.189mol)和1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酸(化合物7,342g,1.248mol)的四氢呋喃(THF,5L)。用三乙胺(NEt₃,241g,2.378mol),然后用2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲六氟磷

酸盐(V) (HATU, 565g, 1.486mol) 顺序处理反应混合物。反应完毕后, 在室温下向反应混合物中加入水(8L)。通过过滤来收集固体。将所得湿滤饼放回22L圆底烧瓶中, 并且与THF(2.7L)和水(5.4L)一起形成浆液。将浆液加热至55℃, 并且在55℃下搅拌两小时。冷却至30℃后通过过滤来收集固体, 并且用水(8L)洗涤。在过滤器上, 在真空下将滤饼干燥2天, 获得呈淡棕色固体状的N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺(化合物II, 717g, 95%)。 ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 11.03 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.82 (d, J=8.6Hz, 2H), 7.55-7.46 (m, 5H), 7.38-7.36 (m, 2H), 6.85 (s, 1H), 4.79 (hept, J=6.8Hz, 1H), 4.55 (d, J=12.3Hz, 1H), 4.08 (d, J=12.9Hz, 1H), 3.43 (tt, J=11.8, 3.5Hz, 1H), 3.21 (t, J=12.4Hz, 1H), 2.90 (hept, J=6.7Hz, 1H), 2.70 (t, J=12.2Hz, 1H), 2.02 (dd, J=23.0, 13.5Hz, 2H), 1.66 (q, J=11.8, 11.3Hz, 1H), 1.53 (q, J=12.2, 11.7Hz, 1H), 1.44 (d, J=6.8Hz, 6H), 1.03 (d, J=7.0Hz, 3H), 1.01 (d, J=7.0Hz, 3H) ppm; ¹³C NMR (126MHz, DMSO-d₆) δ 174.55, 163.26, 160.65, 152.60, 150.48, 147.46, 142.27, 138.14, 137.56, 135.87, 130.21, 129.89, 129.50, 129.12, 129.05, 122.72, 120.55, 111.00, 108.35, 105.10, 50.94, 45.35, 41.67, 32.98, 31.40, 30.50, 29.49, 21.19 (2-CH₃), 20.06, 19.89 ppm; C₃₅H₃₈N₈O₄ (MW 634.74), LCMS (EI) m/e 635.3 (M⁺+H)。

[0406] 步骤5. N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺硫酸盐(化合物II硫酸盐)。

[0407] 在室温下, 将配备机械搅拌器、热电偶、氮气入口和氮气出口的5颈22L圆底烧瓶装入含N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺(化合物II, 713g, 1.123mol)的甲醇(MeOH, 5.6L)。将混合物加热至55℃并且用硫酸(H₂SO₄, 116g, 1.179mol)在水(1L)中的溶液进行处理。在55℃下搅拌30分钟后, 在减压下蒸馏出2.8L溶剂。将反应混合物冷却至室温。通过过滤来收集所得固体, 并且用MeOH(0.7L)洗涤。在过滤器上, 在真空下将滤饼干燥2天, 获得呈黄色固体状的N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺硫酸盐(化合物II硫酸盐, 744g, 90%)。

[0408] 步骤6. N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺半硫酸盐(化合物II半硫酸盐)。

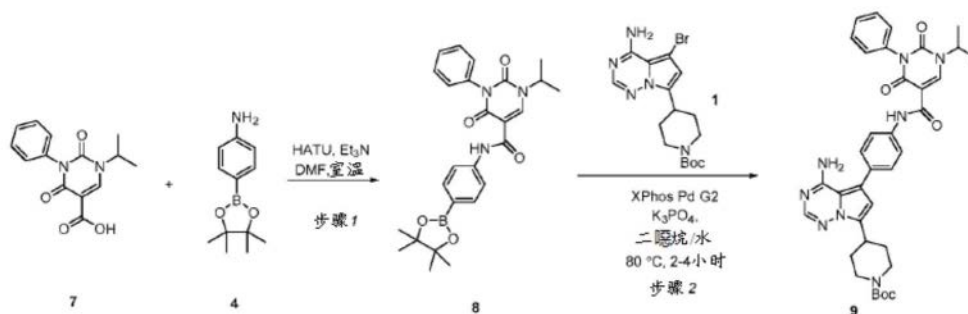
[0409] 在室温下, 将配备机械搅拌器、热电偶、氮气入口和氮气出口的5颈22L圆底烧瓶装入含N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺硫酸盐(化合物II的硫酸盐, 729g, 0.995mol)的水(16L)。将浆液加热至35℃, 并且搅拌3天。通过过滤来收集固体, 并且用水(10L)洗涤。在过滤器上, 在真空下对湿滤饼进行干燥, 获得呈灰白色固体状的N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺半硫酸盐(化合物II半硫酸盐, 644g, 95%)。

[0410] 步骤7.N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺半硫酸盐,非晶态.

[0411] 在室温下,将2-L圆底烧瓶装入含N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺半硫酸盐(化合物II半硫酸盐,40g,58.5mmol)的丙酮(500mL)和甲醇(500mL)。将溶液经滤纸过滤至3L单颈圆底烧瓶中。在减压下浓缩滤液以去除大部分溶剂。在真空烘箱中,在50℃下、在室内真空下、在氮气吹扫下对所得泡沫状固体进行干燥,获得呈淡黄色固体状的N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺半硫酸盐(化合物II的非晶态半硫酸盐,38g,95%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ11.01 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.80 (d, J=8.6Hz, 2H), 7.55-7.45 (m, 5H), 7.38-7.36 (m, 2H), 6.74 (s, 1H), 4.79 (hept, J=6.8Hz, 1H), 4.55 (d, J=12.3Hz, 1H), 4.07 (d, J=13.0Hz, 1H), 3.42 (tt, J=11.8, 3.3Hz, 1H), 3.24-3.18 (m, 1H), 2.91 (hept, J=6.7Hz, 1H), 2.70 (t, J=12.0Hz, 1H), 2.07-1.99 (m, 2H), 1.68-1.51 (m, 2H), 1.44 (d, J=6.8Hz, 6H), 1.03 (d, J=7.0Hz, 3H), 1.01 (d, J=7.0Hz, 3H) ppm; ¹³C NMR (101MHz, DMSO-d₆) δ174.55, 163.26, 160.65, 152.60, 150.48, 147.46, 142.28, 138.14, 137.56, 135.87, 130.21, 129.89, 129.50, 129.12, 129.05, 122.72, 120.55, 111.00, 108.35, 105.10, 50.94, 45.35, 41.67, 32.98, 31.40, 30.50, 29.49, 21.19 (2-CH₃), 20.06, 19.89 ppm; C₃₅H₃₈N₈O₄ (MW 634.74), LCMS (EI) m/e 635.3 (M⁺+H); 酸滴定, 硫酸:游离碱=0.50; 针对硫的元素分析, 计算值2.34%, 观测值2.29%。

[0412] 实施例3.N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺(化合物II)的替代合成

[0413] 流程3



[0414]



[0415] 步骤1.1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-N-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼

戊环-2-基)苯基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺(化合物8)。

[0416] 在室温下,将配备机械搅拌器、热电偶、氮气入口和氮气出口的5L 4颈圆底烧瓶装入含1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酸(化合物7,202g,0.736mol)和4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊环-2-基)苯胺(169g,0.773mol)的N,N-二甲基甲酰胺(DMF,1.2L)。在室温下向混合物中加入2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲六氟磷酸盐(V)(HATU,336g,0.884mmol)。在冷却至15℃以下的内部温度后向混合物中加入三乙胺(NEt₃,97g,0.957mol)。然后在15-25℃下将反应混合物搅拌4小时。缓慢加入水(1.2L)以使产物沉淀析出。通过过滤来收集固体,并且用水(3×0.6L)洗涤。在真空烘箱中,在50℃下、在轻缓氮气吹扫下对滤饼进行干燥,获得呈白色固体状的1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-N-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊环-2-基)苯基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺(化合物8,363g,104%)。¹H NMR(600MHz,DMSO-d₆) δ10.99(s,1H),8.65(s,1H),7.68-7.63(m,4H),7.53-7.51(m,2H),7.48-7.45(m,1H),7.36(dd,J=8.2,1.2Hz,2H),4.78(hept,J=6.8Hz,1H),1.43(d,J=6.8Hz,6H),1.29(s,12H) ppm;¹³C NMR(150MHz,DMSO-d₆) δ163.24,160.69,150.46,147.50,141.32,135.96,135.83,129.47,129.09,129.03,124.09,119.19,105.10,83.98,50.89,25.14,21.18 ppm;C₂₆H₃₀BN₃O₅(MW475.35),LCMS(EI)m/e 476.3(M⁺H)。

[0417] 步骤2.4-(4-氨基-5-(4-(1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺基)苯基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(化合物9)

[0418] 在室温下,将配备机械搅拌器、回流冷凝器、热电偶、加热套、氮气入口和氮气出口的22L 5颈圆底烧瓶装入含4-(4-氨基-5-溴吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(化合物1,557g,1.406mol)、1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-N-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊环-2-基)苯基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺(化合物8,735g,1.546mol)和磷酸三钾(K₃PO₄,597g,2.811mol)的1,4-二噁烷(6.0L)和水(1.1L)。将混合物脱气且用氮气气氛再填充。向反应混合物中加入氯(2-二环己基膦基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)[2-(2'-氨基-1,1'-联苯)]钯(II)(XPhos Pd G2,77g,98mmol)。对反应混合物进行脱气,用氮气气氛再填充且加热至80℃。在80℃下搅拌3小时后,在一小时内向反应物中加入水(6.0L)。通过在20℃下过滤来收集所得固体,并且用水(2×3.0L)和正庚烷(2×2.0L)洗涤。将滤饼转移回22L圆底烧瓶并且在室温下在乙酸乙酯(EtOAc,6.0L)和甲基叔丁基醚(MTBE,2.2L)中形成浆液。将悬浮液加热至55℃,并且搅拌2小时。将混合物冷却至20℃后,通过过滤来收集固体,并且用MTBE(2×1.0L)洗涤。在过滤漏斗上,在真空下将滤饼干燥2天,获得呈淡棕色固体状的4-(4-氨基-5-(4-(1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺基)苯基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(化合物9,827g,85%)。¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆) δ10.97(s,1H),8.67(s,1H),7.90(s,1H),7.78(d,J=8.6Hz,2H),7.54(t,J=7.5Hz,2H),7.48-7.46(m,1H),7.43(d,J=8.6Hz,2H),7.38-7.36(m,2H),6.58(s,1H),4.79(hept,J=6.7Hz,1H),4.08-4.03(m,2H),3.34-3.28(m,1H),2.89(s,2H),1.99(d,J=11.4Hz,2H),1.56(qd,J=12.7,4.1Hz,2H),1.44(d,J=6.8Hz,6H),1.42(s,9H) ppm;¹³C NMR(126MHz,DMSO-d₆) δ163.25,160.57,156.20,154.33,150.49,147.78,147.40,135.56,135.89,134.56,131.20,130.24,129.49,129.12,129.03,120.42,117.99,109.88,109.35,105.16,79.08,50.91,43.90,32.71,30.54,28.59,21.11 ppm;

$C_{36}H_{40}N_8O_5$ (MW 664.76), LCMS (EI) m/e 665.3 (M^+H)。

[0419] 步骤3. N-(4-(4-氨基-7-(哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺二盐酸盐(化合物10)

[0420] 在室温下,将配备机械搅拌器、回流冷凝器、热电偶、加热套、氮气入口和氮气出口的22L 5颈圆底烧瓶装入含4-(4-氨基-5-(4-(1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺基)苯基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(化合物9, 737g, 1.053mol)的二氯甲烷(DCM, 4.5L)。向悬浮液中加入含盐酸的2-丙醇(5.8N, 在IPA中, 1.474L, 8.549mol, 8.12当量)。将混合物加热至35-40℃。在35-40℃下3小时后,将反应混合物冷却至15℃。加入水(0.4L),并且在15℃下将混合物搅拌1小时。用DCM(9.0L)稀释混合物。通过过滤来收集固体,并且用DCM(2×0.2L)洗涤。在过滤漏斗上,在真空下将滤饼干燥2天,获得呈针状固体状的N-(4-(4-氨基-7-(哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺二盐酸盐(630g, 94%)。 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 11.03 (s, 1H), 9.31-9.21 (m, 3H), 8.68 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 7.83 (d, J=8.7Hz, 2H), 7.55-7.46 (m, 5H), 7.38-7.37 (m, 2H), 6.80 (s, 1H), 4.83 (hept, J=6.8Hz, 1H), 3.50 (tt, J=11.7, 3.4Hz, 1H), 3.35 (d, J=12.4Hz, 2H), 3.08 (q, J=12.5Hz, 2H), 2.18-2.15 (m, 2H), 1.99-1.96 (m, 2H), 1.44 (d, J=6.8Hz, 6H) ppm; ^{13}C NMR (126MHz, DMSO- d_6) δ 163.26, 160.70, 150.47, 150.38, 147.52, 138.68, 138.59, 138.06, 135.86, 130.21, 129.50, 129.12, 129.05, 128.76, 126.12, 120.66, 111.81, 107.49, 105.09, 50.96, 43.19, 30.65, 27.07, 21.19 ppm; $C_{31}H_{32}N_8O_3$ (MW 564.64), LCMS (EI) m/e 565.3 (M^+H)。

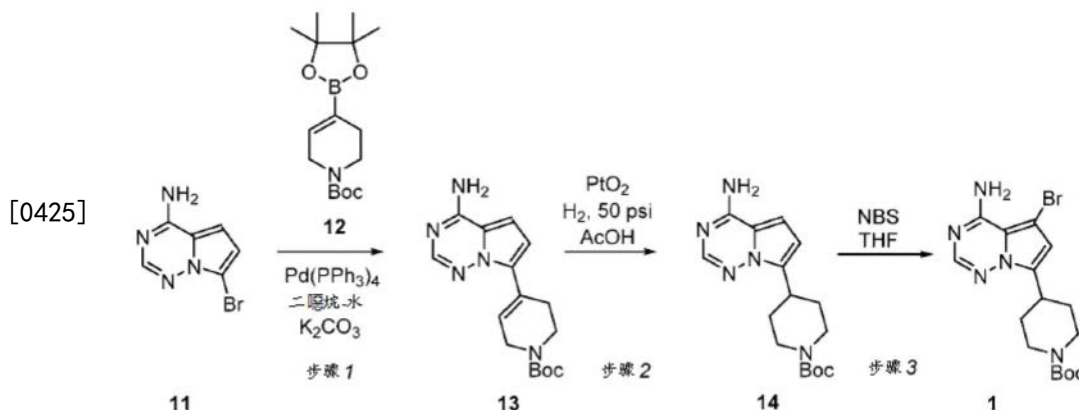
[0421] 步骤4. N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺(化合物II)。

[0422] 在室温下,将配备机械搅拌器、热电偶、氮气入口和氮气出口的22L 5颈圆底烧瓶装入含N-(4-(4-氨基-7-(哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺二盐酸盐(608g, 0.954mol)的二氯甲烷(DCM, 17.6L)。向悬浮液中加入氢氧化钠水溶液(NaOH, 1N, 3.815L, 3.815mol)。在室温下搅拌1小时后,将混合物冷却至0-5℃,并且用异丁酰氯(107g, 1.001mol)处理。在室温下将反应混合物搅拌24小时。在反应完毕后,将混合物滤过硅藻土垫。分离有机相,用水(2×2.5L)洗涤,并且在减压下浓缩。向残余物中加入DCM(2.4L)和甲基叔丁基醚(MTBE, 9.7L)。将混合物加热至50℃,并且搅拌1小时。冷却至室温后,通过过滤来收集所得固体。在过滤器上、在真空下将滤饼干燥24小时,获得呈淡黄色固体状的N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺(化合物II, 548g, 91%)。 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 11.03 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.82 (d, J=8.6Hz, 2H), 7.55-7.46 (m, 5H), 7.38-7.36 (m, 2H), 6.85 (s, 1H), 4.79 (hept, J=6.8Hz, 1H), 4.55 (d, J=12.3Hz, 1H), 4.08 (d, J=12.9Hz, 1H), 3.43 (tt, J=11.8, 3.5Hz, 1H), 3.21 (t, J=12.4Hz, 1H), 2.90 (hept, J=6.7Hz, 1H), 2.70 (t, J=12.2Hz, 1H), 2.02 (dd, J=23.0, 13.5Hz, 2H), 1.66 (q, J=11.8, 11.3Hz, 1H), 1.53 (q, J=12.2, 11.7Hz, 1H), 1.44 (d, J=6.8Hz, 6H), 1.03 (d, J=7.0Hz, 3H), 1.01 (d, J=7.0Hz, 3H) ppm; ^{13}C NMR (126MHz, DMSO- d_6) δ 174.55, 163.26, 160.65, 152.60, 150.48, 147.46, 142.27, 138.14, 137.56, 135.87, 130.21, 129.89, 129.50, 129.12, 129.05, 122.72, 120.55, 111.00,

108.35, 105.10, 50.94, 45.35, 41.67, 32.98, 31.40, 30.50, 29.49, 21.19 (2-CH₃), 20.06, 19.89 ppm; C₃₅H₃₈N₈O₄ (MW 634.74), LCMS (EI) m/e 635.3 (M⁺+H)。

[0423] 实施例4.4- (4-氨基-5-溴吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 (流程1和流程2的化合物1)的合成

[0424] 流程4



[0426] 步骤1.4- (4-氨基吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基) -5,6-二氢吡啶-1(2H) -甲酸叔丁酯 (化合物13)

[0427] 在室温下,将配备机械搅拌器、加热套、热电偶、回流冷凝器、氮气入口和氮气出口的3L圆底烧瓶装入含7-溴吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-4-胺 (化合物11,100g,469mmol)和4- (4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊环-2-基) -5,6-二氢吡啶-1(2H) -甲酸叔丁酯 (化合物12,174g,563mmol)的1,4-二噁烷 (876mL)。向反应烧瓶中顺序加入碳酸钾 (130g,939mmol)和水 (218g)。通过暴露于真空对反应混合物进行脱气,并且用氮气气氛再填充,持续三次。加入四 (三苯基膦) 钯 (0) (Pd (PPh₃)₄,13.56g,11.7mmol)后,在室温下对反应混合物进行脱气并且用氮气再填充,持续三次。然后将反应混合物加热至85-90℃,并且在所述温度下搅拌16小时。反应完毕后,在内部温度在50℃以上的同时在30分钟内加入水 (900mL)。将混合物冷却至室温。固体逐渐沉淀析出。通过在18℃下过滤来收集固体,并且用水 (2×250mL)和甲基叔丁基醚 (MTBE,3×200mL)洗涤。将湿滤饼放回反应烧瓶中,并且在50℃下在MTBE (750mL)中搅拌1小时。在室温下通过过滤来收集固体。在真空烘箱中,在50℃下、在真空下、在氮气吹扫下将滤饼干燥72小时,获得呈棕色固体状的4- (4-氨基吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基) -5,6-二氢吡啶-1(2H) -甲酸叔丁酯 (化合物13,123.7g,84%)。¹H NMR (500MHz,DMSO-d₆) δ7.89(s,1H),7.69(s,2H),7.00(s,1H),6.91(d,J=4.6Hz,1H),6.69(d,J=4.5Hz,1H),4.06(s,2H),3.55(t,J=5.5Hz,2H),2.59-2.52(m,2H),1.43(s,9H) ppm; C₁₆H₂₁N₅O₂ (MW 315.37), LCMS (EI) m/e 316.1 (M⁺+H)。

[0428] 步骤2.4- (4-氨基吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 (化合物14)

[0429] 在室温下,将2L烧瓶装入含4- (4-氨基吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基) -5,6-二氢吡啶-1(2H) -甲酸叔丁酯 (化合物13,50.0g,159mmol)和氧化铂(IV) (10.0g,44mmol)的乙酸 (1000mL)。在50psi氢气下将烧瓶放在帕尔振荡器 (Parr Shaker) 上。16小时后,将反应混合物滤过硅藻土垫 (50g),并且用甲醇 (500mL)洗涤。在减压下浓缩滤液。在室温下向残余物中加入甲基叔丁基醚 (MTBE,600mL)。将碳酸钾 (约50g) 在水 (1200mL) 中的溶液加入至MTBE

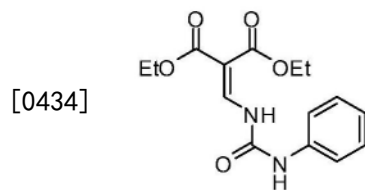
溶液中以便将pH值调节至6-7。通过过滤来收集固体,并且用水(2×300mL)和正庚烷(2×300mL)洗涤。在真空烘箱中,在50℃下、在真空下、在氮气吹扫下将滤饼干燥16小时,获得呈淡棕色固体状的4-(4-氨基吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(化合物14,49.3g,98%)。¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆) δ7.82(s,1H),7.59(s,2H),6.81(d,J=4.4Hz,1H),6.44(d,J=4.3Hz,1H),4.05(d,J=11.3Hz,2H),3.25(tt,J=11.8,3.3Hz,1H),2.88(s,2H),1.95(d,J=11.9Hz,2H),1.51(qd,J=12.6,4.0Hz,2H),1.42(s,9H) ppm;C₁₆H₂₃N₅O₂(MW 317.39),LCMS(EI)m/e 318.1(M⁺H)。

[0430] 步骤3.4-(4-氨基-5-溴吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(化合物1)

[0431] 在室温下,将配备机械搅拌器、热电偶、回流冷凝器、氮气入口和氮气出口的5颈22L圆底烧瓶装入含4-(4-氨基吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(化合物14,730g,2.30mol)的四氢呋喃(THF,14.0L)。将混合物冷却至0-5℃。在维持内部温度在15℃以下的同时在5分钟内向反应混合物中加入N-溴琥珀酰亚胺(NBS,409g,2.30mol)。在10℃以下搅拌1小时后,在减压下去除一些溶剂(9.0L)。在5分钟内向残余溶液中加入碳酸氢钠(140g,1.67mol)在水(14.0L)中的溶液。固体沉淀析出。通过过滤来收集固体,并且用水(7.0L)和正庚烷(4L)洗涤。在过滤器上,在室内真空下将湿滤饼干燥48小时,获得呈棕色固体状的4-(4-氨基-5-溴吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-7-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(化合物1,886g,97%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ7.86(s,1H),6.66(s,1H),4.04(d,J=11.0Hz,2H),3.30-3.23(m,1H),2.86(br.s,2H),1.92(d,J=12.4Hz,2H),1.50(qd,J=12.8,4.1Hz,2H),1.41(s,9H) ppm;¹³C NMR(101MHz,DMSO-d₆) δ155.68,154.29,148.35,135.37,111.31,110.68,87.29,79.10,43.97,32.63,30.37,28.58 ppm;C₁₆H₂₂BrN₅O₂(MW 395.10),LCMS(EI)m/e 396.1(M⁺H)。

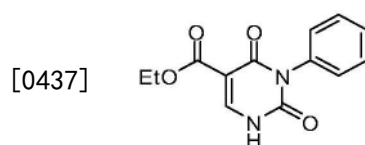
[0432] 实施例5.1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酸(流程2和流程3的化合物7)的合成

[0433] 步骤1:2-((3-苯基脲基)亚甲基)丙二酸二乙酯



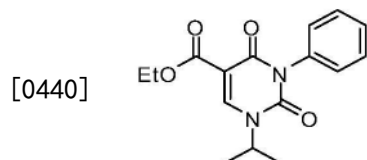
[0435] 在室温下向(氨基亚甲基)丙二酸二乙酯(6.0g,32mmol)和异氰酸苯酯(3.8mL,35mmol)在1,2-二氯乙烷(20mL)中的混合物中加入N,N-二异丙基乙胺(7.2mL,42mmol)。然后在70℃下将反应混合物搅拌过夜,冷却至室温,加入Et₂O(50mL),并且再搅拌30分钟。通过过滤来收集所得固体,用醚洗涤并干燥,得到呈白色固体状的产物(4.88g,50%)。LCMS C₁₅H₁₉N₂O₅(M+H)⁺计算值:m/z=307.1。实验值:307.2。

[0436] 步骤2:2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酸乙酯



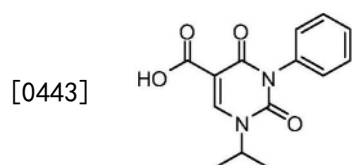
[0438] 在室温下将来自前一步骤的2-((3-苯基脲基)亚甲基)丙二酸二乙酯(4.88g, 15.9mmol)和含2.5M NaOEt的EtOH(13mL, 32mmol)在EtOH(20mL)中的混合物搅拌1小时。用EtOAc稀释所得混合物,用1N柠檬酸洗涤/酸化,用水、盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并浓缩,获得呈白色固体状的粗产物,直接用于下一步骤(4.1g, 99%)。LCMS C₁₃H₁₃N₂O₄ (M+H)⁺计算值:m/z=261.1。实验值:261.1。

[0439] 步骤3:1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酸乙酯



[0441] 在50℃下将来自前一步骤的2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酸乙酯(1.50g, 5.76mmol)、碘化异丙烷(1.2mL, 12mmol)和Cs₂CO₃(5.6g, 17mmol)在DMF(20mL)中的混合物搅拌5小时。然后将反应混合物冷却至室温,用EtOAc稀释,用水、盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并浓缩,获得粗产物,直接用于下一步骤。LCMS C₁₆H₁₉N₂O₄ (M+H)⁺计算值:m/z=303.1。实验值:303.1。

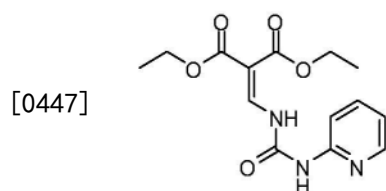
[0442] 步骤4:1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酸



[0444] 在60℃下将来自前一步骤的1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酸乙酯(1.70g, 5.62mmol)在4.0M HCl/1,4-二噁烷(9.8mL, 39mmol)和水(2.1mL)中的混合物搅拌4小时,冷却至室温,并且加入水。然后通过过滤来收集所得固体(用水洗涤),得到呈白色固体状的产物(1.1g, 71%)。LCMS C₁₄H₁₅N₂O₄ (M+H)⁺计算值:m/z=275.1。实验值:275.1。

[0445] 实施例6.1-异丙基-2,4-二氧化-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酸(流程1的化合物6)的合成

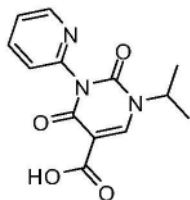
[0446] 步骤1:2-((3-吡啶-2-基脲基)亚甲基)丙二酸二乙酯



[0448] 在室温下向2-(氨基亚甲基)丙二酸二乙酯(3.0g, 16.0mmol)和2-异氰酸基吡啶(2.02g, 16.8mmol)在1,2-二氯乙烷(9.0mL)中的混合物中加入N,N-二异丙基乙胺(3.6mL, 20.8mmol)。然后在70℃下将反应混合物搅拌过夜,冷却至室温,并且直接经由柱色谱(0%至15% MeOH/CH₂Cl₂)进行纯化,得到产物(3.18g, 65%)。LCMS C₁₄H₁₈N₃O₅ (M+H)⁺计算值:m/z=308.1。实验值:308.1。

[0449] 步骤2:1-异丙基-2,4-二氧化-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酸

[0450]



[0451] 在室温下将2-((3-(吡啶-2-基)脲基)亚甲基)丙二酸二乙酯(3.18g, 10.4mmol)和2.5M NaOEt/EtOH(6.2mL, 15.5mmol)在EtOH(25mL)中的混合物搅拌3小时。用EtOAc稀释所得混合物,并且用1N柠檬酸溶液(30mL)洗涤/酸化。分离有机层,并且用3:1CHCl₃/异丙醇(30mL×3)进一步萃取水层。使所合并的有机层经Na₂SO₄干燥并浓缩,获得粗产物2,4-二氧代-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酸乙酯,直接用于下一步骤。LCMS C₁₂H₁₂N₃O₄ (M+H)⁺计算值:m/z=262.1。实验值:262.2。

[0452] 在70℃下将来自前一步骤的粗2,4-二氧代-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酸乙酯、2-碘丙烷(2.06mL, 20.7mmol)和Cs₂CO₃(10.1g, 31.0mmol)在DMF(35mL)中的混合物搅拌3小时。然后将反应混合物冷却至室温,用3:1CHCl₃/异丙醇(75mL)稀释,用水、盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并浓缩,得到粗产物1-异丙基-2,4-二氧代-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酸乙酯,直接用于下一步骤。LCMS C₁₅H₁₈N₃O₄ (M+H)⁺计算值:m/z=304.1。实验值:304.1。

[0453] 在80℃下将来自前一步骤的粗1-异丙基-2,4-二氧代-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酸乙酯于4M HCl/1,4-二噁烷(20mL, 82mmol)和水(5.0mL)中的混合物搅拌5小时,冷却至室温并浓缩。然后经由柱色谱(0%至15%MeOH/CH₂Cl₂)对所得物质进行纯化,得到呈微黄色固体状的产物(1.50g,三个步骤47%)。LCMS C₁₃H₁₄N₃O₄ (M+H)⁺计算值:m/z=276.1。实验值:276.1。

[0454] 实施例7.N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧代-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐(化合物I马来酸盐,形式I)的固态表征

[0455] 化合物I马来酸盐的X射线粉末衍射(XRPD)

[0456] 由Rigaku MiniFlex X射线粉末衍射仪(XRPD)获得X射线粉末衍射(XRPD)。用于XRPD的一般实验程序为:(1)铜的X射线辐射,1.054056 Å,利用K_β滤光器;(2)X射线功率30KV,15mA;以及(3)使样品粉末分散在零背景样品容器上。用于XRPD的一般测量条件为:起始角度3°;终止角度45°;取样0.02°;以及扫描速度2°/min。XRPD图案示出在图1中且XRPD数据提供于表1中。

[0457] 表1.XRPD数据:式I化合物的马来酸盐(形式I)

[0458]

2θ (°)	高度	H%
4.3	5452	89.8
5.8	63	1.0
8.4	6068	100
12.6	177	2.9
13.2	331	5.5
15.8	120	2.0

17.1	132	2.2
18.5	230	3.8
20.3	136	2.2
20.9	89	1.5
23.1	114	1.9
24.0	118	1.9
25.2	137	2.3
28.4	45	0.7
29.7	44	0.7
31.5	59	1.0
35.7	102	1.7
42.6	40	0.7

[0459] 化合物I马来酸盐(形式I)的差示扫描量热法(DSC)

[0460] 由具有自动取样器的TA Instruments差示扫描量热仪型号Q200获得DSC。DSC仪器条件如下:30-300℃,10℃/min;T0铝质样品皿和盖子;以及氮气流速50mL/min。DSC热分析图示出在图2中。DSC热分析图显示起始温度为202.9℃且峰值温度为211.0℃的主要吸热事件,认为这是化合物的熔融与分解温度。

[0461] 化合物I马来酸盐(形式I)的热解重量分析(TGA)

[0462] 由TA Instrument热解重量分析仪型号Q500获得TGA。用于TGA的一般实验条件为:以20℃/min从20℃升至600℃;氮气吹扫,气体流速40mL/min,然后吹扫流速达到平衡;样品吹扫流速60mL/min;铂样品皿。TGA热分析图示出在图3中。观测到直至150℃的重量损失为约0.7%,并且认为与湿气和残余溶剂的损失相关。化合物在200℃以上开始显著分解。

[0463] 化合物I马来酸盐(形式I)的溶解度

[0464] 测量化合物I马来酸盐在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 下和在 $50 \pm 1^\circ\text{C}$ 下的溶解度。用于测试在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 下的溶解度的一般程序如下:1)将3mL表1A中所列出的各个溶剂加入到个别小瓶;2)在 25°C 下加入化合物I马来酸盐以形成混浊溶液;3)再加入15-20mg化合物I马来酸盐;4)在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 下将混合物搅拌48小时;5)使用注射器式过滤器来过滤上清液;以及6)用MeOH稀释饱和溶液并且通过HPLC进行分析。用于测试在 $50 \pm 1^\circ\text{C}$ 下的溶解度的一般程序如下:1)将3mL表1A中所列出的各个溶剂加入至个别小瓶;2)在 50°C 下加入化合物I马来酸盐以形成混浊溶液;3)再加入20-25mg化合物I马来酸盐;4)在 $50 \pm 1^\circ\text{C}$ 下将混合物搅拌24小时;5)在 $50 \pm 1^\circ\text{C}$ 下使用经升温的注射器式过滤器来过滤上清液;以及6)用MeOH稀释饱和溶液并且通过HPLC进行分析。结果概述在表1A中。

[0465] 表1A.

[0466]

条目	溶剂	在 25℃下的溶解度 (mg/mL)	在 50℃下的溶解度 (mg/mL)
1	MeCN	0.28	0.68
2	三氯甲烷	6.12	13.74
3	二氯甲烷	24.35	33.70
4	DMF	>50	>50
5	1,4-二噁烷	2.31	4.62

[0467]

条目	溶剂	在 25℃下的溶解度 (mg/mL)	在 50℃下的溶解度 (mg/mL)
6	甲醇	1.64	3.09
7	2-甲氧基乙醇	5.96	14.75
8	MIBK	0.43	0.74
9	甲苯	0.18	0.20
10	己烷	0.00	0.00
11	THF	0.92	1.63
12	丙酮	1.68	3.05
13	<i>n</i> -BuOH	0.21	1.10
14	MTBE	0.08	0.1
15	DMSO	>50	>50
16	EtOH	0.65	1.93
17	EtOAc	0.18	0.40
18	甲酸乙酯	0.68	0.99
19	庚烷	0.00	0.00
20	IPAc	0.27	0.33
21	1-丙醇	0.44	1.31
22	IPA	0.16	0.68
23	水	0.02	0.04
24	MEK	0.28	2.19
25	2%DCM/ 98%MeOH (V/V)	1.46	N/A
26	10%DCM/ 90%MeOH (V/V)	1.88	N/A
27	DCM/MeOH(2/1)	>50	N/A

[0468] 其他结晶盐

[0469] 已经发现并制备了式I化合物的其他结晶盐,诸如盐酸盐、单硫酸盐、半硫酸盐、甲磺酸盐和苯磺酸盐。

[0470] 实施例8:N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-苯基-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺的盐(化合物II

的盐)的制备

[0471] 根据以下表2中的程序来制备化合物II的盐。通过XRPD、DSC和TGA来分析这些盐(参见实施例9至实施例15)。

[0472] 表2.

[0473]

盐	程序
磷酸盐	将 60.94 mg 化合物 II 游离碱与 2.4 mL 甲醇/DCM (1:2)混合物合并, 并且搅拌, 得到澄清溶液。加入磷酸的 IPA 溶液(0.115 mL, 0.115 mmol, 1.20 当量), 并且在室温下将溶液搅拌 5 小时。将溶剂浓缩至约 1.0 mL 的总体积以得到浆液, 在 65°C 下搅拌 120 分钟。将浆液冷却至室温(20-21°C)并搅拌 2 小时。过滤浆液并且用 MTBE 洗涤。在 43-45°C 下、在真空下将固体干燥过夜。重量: 58.2 mg (82.7%)。通过元素分析和依据 HPLC 的 wt%确定化合物 II 游离碱与磷酸之间的盐的化学计量比为 1:1。XRPD (参见实施例 9, 图 4)、DSC (实施例 9, 图 5)和 TGA (实施例 9, 图 6)
马来酸盐	将 51.74 mg 化合物 II 游离碱与 1.5 mL DCM 和 0.5 mL MeOH 合并, 并且搅拌, 得到澄清溶液。加入马来酸(14.19 mg, 0.12 mmol, 1.50 当量), 并且在室温下将溶液搅拌 2 小时。在 43-44°C 下将溶剂浓缩至约 0.5 mL 的总体积。将混合物冷却至室温且搅拌 2 小时。加入 1.5 mL IPA 并且将浆液搅拌 2-3 分钟。过滤浆液且用 MTBE 洗涤。在 43-45°C 下、在真空下将固体干燥过夜。重量: 56 mg (91.5%)。 通过 ¹ H NMR 确定化合物 II 游离碱与马来酸之间的盐的化学计量比为 1:1。 XRPD (参见实施例 10, 图 7)、DSC (参见实施例 10, 图 8)和 TGA (参见实施例 10, 图 9)

[0474]

半硫酸盐	<p>将 87.70 mg 化合物 II 游离碱与 2.4 mL MeOH 和 1.2 mL DCM 合并，并且搅拌 20 分钟，得到几乎澄清的溶液。加入硫酸水溶液(0.083 mL, 0.083 mmol, 1 M 水溶液, 0.6 当量)并且在室温下将溶液搅拌 2 分钟，得到澄清溶液。将溶液再搅拌 30 分钟，然后将溶剂浓缩至约 1.1 mL 的体积，得到浆液。将混合物在 70℃下再搅拌 1.0 小时并且在 65℃下再搅拌 1.0 小时。将浆液冷却至室温(19-20℃)并搅拌 1 小时。过滤浆液并且用 MTBE 洗涤。在 43-45℃下、在真空下将固体干燥过夜。重量：75.74 mg (80.2%)。</p> <p>通过元素分析确定化合物 II 游离碱与硫酸之间的盐的化学计量比为 2:1。</p> <p>XRPD (参见实施例 11, 图 10)、DSC (参见实施例 11, 图 11)和 TGA (参见实施例 11, 图 12)</p>
盐酸盐	<p>将 76.25 mg 化合物 II 游离碱与 2.0 mL 甲醇/DCM (1:2)混合物合并，并且搅拌，得到澄清溶液。加入盐酸的 IPA 溶液(0.14 mL, 0.14 mmol, 1.17 当量)，并且在室温下将溶液搅拌 3 小时。加入 1.5 mL IPA，然后在 67-68℃下将溶剂浓缩至约 1.4 mL 的体积，得到浆液。加入 0.8 mL 乙醇且在 76-78℃下将浆液搅拌 2 小时。将浆液冷却至室温(19-20℃)并搅拌 1 小时。过滤浆液并且用 MTBE 洗涤。在 43-45℃下、在真空下将固体干燥过夜。重量：72 mg (89.30%)。通过依据 HPLC 的 wt%和元素分析确定化合物 II 游离碱与盐酸之间的盐的化学计量比为 1:1。XRPD (参见实施例 12, 图 13)、DSC (参见实施例 12, 图 14)和 TGA (参见实施例 12, 图 15)</p>

	<p>将 60.94 mg 化合物 II 游离碱与 2.4 mL 甲醇/DCM (1:2)混合物合并, 并且搅拌, 得到澄清溶液。加入水杨酸(16.3 mg, 0.115 mmol, 1.20 当量), 并且在室温下将溶液搅拌 2 小时。将溶剂浓缩至约 1.0 mL 的体积。加入 0.8 mL IPA 并且在 65°C 下将浆液搅拌 120 分钟。将浆液冷却至室温(19-20°C)并搅拌 2 小时。过滤浆液并且用 MTBE 洗涤。在 43-45°C 下、在真空下将固体干燥过夜。重量: 55.7 mg (79.4%)。</p> <p>通过 ¹H NMR 确定化合物 II 游离碱与水杨酸之间的盐的化学计量比为 1:1。</p> <p>XRPD (参见实施例 13, 图 16)、DSC (参见实施例 13, 图 17)和 TGA (参见实施例 13, 图 18)</p>
[0475]	<p>水杨酸盐</p>
	<p>用于制备化合物 II 的甲磺酸盐的程序与用于制备磷酸盐的程序类似。将 1.2 mL 化合物 II 游离碱 (0.04 M, 30.47 mg, 0.048 mmol, 1.0 当量)的 DCM/MeOH (2:1)溶液与甲磺酸(0.05 mL, 1 M IPA 溶液, 1.04 当量)合并。</p> <p>通过 ¹H NMR 确定化合物 II 游离碱与甲磺酸之间的盐的化学计量比为 1:1。</p> <p>XRPD (参见实施例 14, 图 19)、DSC (参见实施例 14, 图 20)和 TGA (参见实施例 14, 图 21)</p>
	<p>甲磺酸盐</p>
	<p>用于制备化合物 II 的甲磺酸盐的程序与用于制备磷酸盐的程序类似。将 1.2 mL 化合物 II 游离碱 (0.04 M, 30.47 mg, 0.048 mmol, 1.0 当量)的 DCM/MeOH (2:1)溶液与乙磺酸(0.10 mL, 0.5 M IPA 溶液, 1.04 当量)合并。</p> <p>通过 ¹H NMR 确定化合物 II 游离碱与乙磺酸之间的盐的化学计量比为 1:1。</p> <p>XRPD (参见实施例 15, 图 22)、DSC (参见实施例 15, 图 23)和 TGA (参见实施例 15, 图 24)</p>
	<p>乙磺酸盐</p>

[0476] 实施例9. 化合物II磷酸盐的固态表征

[0477] 化合物II磷酸盐的X射线粉末衍射 (XRPD) 研究

[0478] 通过XRPD表征化合物II的磷酸盐。从Rigaku MiniFlex X射线粉末衍射仪 (XRPD) 获得XRPD。用于XRPD的一般实验程序为: (1) 铜的X射线辐射, 1.054056 Å, 利用K_β滤光器; (2) X射线功率30KV, 15mA; 以及 (3) 使样品粉末分散在零背景样品容器上。用于XRPD的一般测量条件为: 起始角度3°; 终止角度45°; 取样0.02°; 以及扫描速度2°/min。

[0479] 化合物II磷酸盐的XRPD图案示出在图4中且XRPD数据提供于表3中。

[0480] 表3.

[0481]	2 θ (°)	高度	H%
	3.8	87	21.8
	5.3	194	48.6
	6.5	69	17.3
	9.1	203	50.9
	11.2	79	19.8
	12.3	135	33.8
	12.9	102	25.6
	14.9	399	100
	15.8	394	98.7
	17.5	194	48.6
	19.3	290	72.7
	21.1	98	24.6
	21.4	111	27.8
	22.4	163	40.9
	23.9	68	17
	24.4	144	36.1
	25.6	86	21.6
	28.3	39	9.8
	32.7	33	8.3
	33.9	68	17
	40.3	42	10.5
	43.4	50	12.5

[0482] 化合物II磷酸盐的差示扫描量热法 (DSC) 研究

[0483] 通过DSC表征化合物II的磷酸盐。从具有自动取样器的TA Instruments差示扫描量热仪型号Q200获得DSC。DSC仪器条件如下:30-350°C,10°C/min;T0铝质样品皿和盖子;以及氮气流速50mL/min。

[0484] 化合物II磷酸盐的DSC热分析图示出在图5中。DSC热分析图显示起始温度为252.6°C且峰值温度为257.2°C的主要吸热事件,认为这是化合物熔融/分解。

[0485] 化合物II磷酸盐的热解重量分析 (TGA) 研究

[0486] 通过TGA表征化合物II的磷酸盐。由TA Instrument热解重量分析仪型号Q500获得TGA。用于TGA的一般实验条件为:以20°C/min从20°C升至600°C;氮气吹扫,气体流速40mL/min,然后吹扫流速达到平衡;样品吹扫流速60mL/min;铂样品皿。

[0487] 化合物II磷酸盐的TGA热分析图示出在图6中。观测到直至200°C的重量损失为约1.8%,并且认为与湿气或残余溶剂的损失相关。观测到在230°C以上存在显著重量损失,并且认为与化合物分解相关。

[0488] 实施例10. 化合物II马来酸盐的固态表征

[0489] 化合物II马来酸盐的X射线粉末衍射 (XRPD) 研究

[0490] 通过XRPD表征化合物II的马来酸盐。从Rigaku MiniFlex X射线粉末衍射仪 (XRPD) 获得XRPD。用于XRPD的一般实验程序为：(1) 铜的X射线辐射, 1.054056 Å, 利用K_β滤光器；(2) X射线功率30KV, 15mA；以及 (3) 使样品粉末分散在零背景样品容器上。用于XRPD的一般测量条件为：起始角度3°；终止角度45°；取样0.02°；以及扫描速度2°/min。

[0491] 化合物II马来酸盐的XRPD图案示出在图7中且XRPD数据提供于表4中。

[0492] 表4.

[0493]

2θ (°)	高度	H%
4.5	366	19.9
6.5	836	45.4
8.9	185	10
10.1	339	18.4
10.5	30	1.6
13.3	214	11.6
14.1	505	27.4
14.9	49	2.7
16.3	73	4
16.7	77	4.2
17.6	40	2.2
18.3	61	3.3
19.9	86	4.7
21.6	109	5.9
22.0	288	15.6
24.0	607	32.9
27.5	87	4.7
28.2	1843	100

[0494]

[0495] 化合物II马来酸盐的差示扫描量热法 (DSC) 研究

[0496] 通过DSC表征化合物II的马来酸盐。从具有自动取样器的TA Instruments差示扫描量热仪型号Q200获得DSC。DSC仪器条件如下：30-300°C, 10°C/min；T0铝质样品皿和盖子；以及氮气流速50mL/min。

[0497] 化合物II马来酸盐的DSC热分析图示出在图8中。DSC热分析图示出了两个主要吸热事件，其中第一事件的起始温度为183.4°C且峰值温度为194.8°C，之后的第二事件的起始温度为233.4°C且峰值温度为239.7°C。

[0498] 化合物II马来酸盐的热解重量分析 (TGA) 研究

[0499] 通过TGA表征化合物II的马来酸盐。从TA Instrument热解重量分析仪型号Q500获得TGA。用于TGA的一般实验条件为：以20°C/min从20°C升至600°C；氮气吹扫，气体流速40mL/min，然后吹扫流速达到平衡；样品吹扫流速60mL/min；铂样品皿。

[0500] 化合物II马来酸盐的TGA热分析图示出在图9中。观测到直至125°C的重量损失为约1.8%，并且认为与湿气或残余溶剂的损失相关。观测到在175°C以上存在显著重量损失，并且认为与化合物分解相关。

[0501] 实施例11. 化合物II半硫酸盐的固态表征

[0502] 化合物II半硫酸盐的X射线粉末衍射 (XRPD) 研究

[0503] 通过XRPD表征化合物II的半硫酸盐。从Rigaku MiniFlex X射线粉末衍射仪 (XRPD) 获得XRPD。用于XRPD的一般实验程序为：(1) 铜的X射线辐射, 1.054056 \AA , 利用 K_{β} 滤光器；(2) X射线功率30KV, 15mA；以及 (3) 使样品粉末分散在零背景样品容器上。用于XRPD的一般测量条件为：起始角度 3° ；终止角度 45° ；取样 0.02° ；以及扫描速度 $2^{\circ}/\text{min}$ 。

[0504] 化合物II半硫酸盐的XRPD图案示出在图10中且XRPD数据提供于表5中。

[0505] 表5.

2 θ ($^{\circ}$)	高度	H%
5.3	348	100
8.5	335	96.3
10.4	78	22.4
13.0	51	14.7
13.4	73	21
15.3	128	36.8
16.4	50	14.4
18.6	65	18.7
19.0	48	13.8
20.1	90	25.9
21.2	41	11.8
21.9	67	19.3
22.9	50	14.4
23.4	51	14.7
24.9	89	25.6
26.7	41	11.8

[0507] 化合物II半硫酸盐的差示扫描量热法 (DSC) 研究

[0508] 通过DSC表征化合物II的半硫酸盐。从具有自动取样器的TA Instruments差示扫描量热仪型号Q200获得DSC。DSC仪器条件如下：30-350 $^{\circ}\text{C}$, $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ；T0铝质样品皿和盖子；以及氮气流速50mL/min。

[0509] 化合物II半硫酸盐的DSC热分析图示出在图11中。DSC热分析图显示起始温度为283.8 $^{\circ}\text{C}$ 且峰值温度为289.4 $^{\circ}\text{C}$ 的主要吸热事件, 认为这是化合物熔融/分解。

[0510] 化合物II半硫酸盐的热解重量分析 (TGA) 研究

[0511] 通过TGA表征化合物II的半硫酸盐。从TA Instrument热解重量分析仪型号Q500获得TGA。用于TGA的一般实验条件为：以 $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 从20 $^{\circ}\text{C}$ 升至600 $^{\circ}\text{C}$ ；氮气吹扫, 气体流速40mL/min, 然后吹扫流速达到平衡；样品吹扫流速60mL/min；铂样品皿。

[0512] 化合物II半硫酸盐的TGA热分析图示出在图12中。观测到直至100 $^{\circ}\text{C}$ 的重量损失为约1.5%, 并且认为与湿气或残余溶剂的损失相关。在多个步骤中观测到在200 $^{\circ}\text{C}$ 以上存在显著重量损失, 并且认为与化合物分解相关。

[0513] 实施例12. 化合物II盐酸盐的固态表征

[0514] 化合物II盐酸盐的X射线粉末衍射 (XRPD) 研究

[0515] 通过XRPD表征化合物II的盐酸盐。从Rigaku MiniFlex X射线粉末衍射仪(XRPD)获得XRPD。用于XRPD的一般实验程序为：(1)铜的X射线辐射, 1.054056 \AA , 利用 K_{β} 滤光器；(2)X射线功率30KV, 15mA；以及(3)使样品粉末分散在零背景样品容器上。用于XRPD的一般测量条件为：起始角度 3° ；终止角度 45° ；取样 0.02° ；以及扫描速度 $2^{\circ}/\text{min}$ 。

[0516] 化合物II盐酸盐的XRPD图案示出在图13中且XRPD数据提供于表6中。

[0517] 表6.

2 θ ($^{\circ}$)	高度	H%
4.4	56	11.2
6.5	502	100
9.7	141	28.1
10.3	99	19.7
13.1	37	7.4
13.9	78	15.5
14.9	96	19.1
16.5	84	16.7
17.0	40	8
18.9	83	16.5
19.7	73	14.5
20.9	54	10.8
21.5	169	33.7
21.8	114	22.7
23.9	130	25.9
25.1	37	7.4
25.7	38	7.6
27.4	50	10
29.1	44	8.8

[0519] 化合物II盐酸盐的差示扫描量热法(DSC)研究

[0520] 通过DSC表征化合物II的盐酸盐。从具有自动取样器的TA Instruments差示扫描量热仪型号Q200获得DSC。DSC仪器条件如下：30-300 $^{\circ}\text{C}$, $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ；T0铝质样品皿和盖子；以及氮气流速50mL/min。

[0521] 化合物II盐酸盐的DSC热分析图示出在图14中。DSC热分析图显示起始温度为183.5 $^{\circ}\text{C}$ 且峰值温度为190.0 $^{\circ}\text{C}$ 的主要吸热事件, 认为这是化合物熔融/分解。

[0522] 化合物II盐酸盐的热解重量分析(TGA)研究

[0523] 通过TGA表征化合物II的盐酸盐。从TA Instrument热解重量分析仪型号Q500获得TGA。用于TGA的一般实验条件为：以 $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 从20 $^{\circ}\text{C}$ 升至600 $^{\circ}\text{C}$ ；氮气吹扫, 气体流速40mL/min, 然后吹扫流速达到平衡；样品吹扫流速60mL/min；铂样品皿。

[0524] 化合物II盐酸盐的TGA热分析图示出在图15中。观测到直至200 $^{\circ}\text{C}$ 的重量损失为约5.9%, 并且认为与湿气或残余溶剂的损失相关。观测到在200 $^{\circ}\text{C}$ 以上存在显著重量损失, 并

且认为与化合物分解相关。

[0525] 实施例13. 化合物II水杨酸盐的固态表征

[0526] 化合物II水杨酸盐的X射线粉末衍射 (XRPD) 研究

[0527] 通过XRPD表征化合物II的水杨酸盐。由Rigaku MiniFlex X射线粉末衍射仪 (XRPD) 获得XRPD。用于XRPD的一般实验程序为：(1) 铜的X射线辐射, 1.054056 \AA , 利用 K_{β} 滤光器；(2) X射线功率30KV, 15mA；以及 (3) 使样品粉末分散在零背景样品容器上。用于XRPD的一般测量条件为：起始角度 3° ；终止角度 45° ；取样 0.02° ；以及扫描速度 $2^{\circ}/\text{min}$ 。

[0528] 化合物II水杨酸盐的XRPD图案示出在图16中且XRPD数据提供于表7中。

[0529] 表7.

[0530]

2 θ ($^{\circ}$)	高度	H%
7.3	1345	100
10.1	111	8.3
11.8	80	5.9
12.2	91	6.8
13.3	300	22.3
14.4	514	38.2
15.1	370	27.5
15.7	382	28.4
17.6	135	10
18.3	55	4.1

18.9	222	16.5
19.9	492	36.6
21.9	444	33
22.7	289	21.5
23.6	220	16.4
24.2	63	4.7
25.3	325	24.2
25.9	139	10.3
27.3	133	9.9
28.5	96	7.1
29.9	128	9.5
31.9	78	5.8
32.5	79	5.9
34.4	56	4.2
35.6	61	4.5

[0531] 化合物II水杨酸盐的差示扫描量热法 (DSC) 研究

[0532] 通过DSC表征化合物II的水杨酸盐。从具有自动取样器的TA Instruments差示扫描量热仪型号Q200获得DSC。DSC仪器条件如下：30-300 $^{\circ}\text{C}$, 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ；T0铝质样品皿和盖子；以及氮气流速50mL/min。

[0533] 化合物II水杨酸盐的DSC热分析图示出在图17中。DSC热分析图示出了3个主要吸热事件：第一个起始温度为176.0℃且峰值温度为181.7℃，第二个起始温度为209.9℃且峰值温度为224.9℃，并且第三个起始温度为254.7℃且峰值温度为264.5℃。

[0534] 化合物II水杨酸盐的热解重量分析 (TGA) 研究

[0535] 通过TGA表征化合物II的水杨酸盐。从TA Instrument热解重量分析仪型号Q500获得TGA。用于TGA的一般实验条件为：以20℃/min从20℃升至600℃；氮气吹扫，气体流速40mL/min，然后吹扫流速达到平衡；样品吹扫流速60mL/min；铂样品皿。

[0536] 化合物II水杨酸盐的TGA热分析图示出在图18中。在第一步骤中观测到直至250℃的重量损失为约8.1%。观测到在300℃以上存在显著重量损失，并且认为与化合物分解相关。

[0537] 实施例14. 化合物II甲磺酸盐的固态表征

[0538] 化合物II甲磺酸盐的X射线粉末衍射 (XRPD) 研究

[0539] 通过XRPD表征化合物II的甲磺酸盐。从Rigaku MiniFlex X射线粉末衍射仪(XRPD)获得XRPD。用于XRPD的一般实验程序为：(1) 铜的X射线辐射，1.054056 Å，利用K_β滤光器；(2) X射线功率30KV, 15mA；以及(3) 使样品粉末分散在零背景样品容器上。用于XRPD的一般测量条件为：起始角度3°；终止角度45°；取样0.02°；以及扫描速度2°/min。

[0540] 化合物II甲磺酸盐的XRPD图案示出在图19中且XRPD数据提供于表8中。

[0541] 表8.

[0542]

2θ (°)	高度	H%
5.0	106	23.7
8.2	447	100
13.2	76	17
16.9	141	31.5

[0543] 化合物II甲磺酸盐的差示扫描量热法 (DSC) 研究

[0544] 通过DSC表征化合物II的甲磺酸盐。从具有自动取样器的TA Instruments差示扫描量热仪型号Q200获得DSC。DSC仪器条件如下：30-300℃，10℃/min；T0铝质样品皿和盖子；以及氮气流速50mL/min。

[0545] 化合物II甲磺酸盐的DSC热分析图示出在图20中。DSC热分析图显示在起始温度166.3℃与峰值温度174.8℃存在主要吸热事件，认为这是化合物熔融/分解。

[0546] 化合物II甲磺酸盐的热解重量分析 (TGA) 研究

[0547] 通过TGA表征化合物II的甲磺酸盐。由TA Instrument热解重量分析仪型号Q500获得TGA。用于TGA的一般实验条件为：以20℃/min从20℃升至600℃；氮气吹扫，气体流速40mL/min，然后吹扫流速达到平衡；样品吹扫流速60mL/min；铂样品皿。

[0548] 化合物II甲磺酸盐的TGA热分析图示出在图21中。观测到直至100℃的重量损失为约2.3%，并且认为与湿气或残余溶剂的损失相关。观测到在200℃以上存在显著重量损失，并且认为与化合物分解相关。

[0549] 实施例15. 化合物II乙磺酸盐的固态表征

[0550] 化合物II乙磺酸盐的X射线粉末衍射 (XRPD) 研究

[0551] 通过XRPD表征化合物II的乙磺酸盐。从Rigaku MiniFlex X射线粉末衍射仪(XRPD)获得XRPD。用于XRPD的一般实验程序为：(1)铜的X射线辐射,1.054056 Å,利用K_β滤光器；(2)X射线功率30KV,15mA；以及(3)使样品粉末分散在零背景样品容器上。用于XRPD的一般测量条件为：起始角度3°；终止角度45°；取样0.02°；以及扫描速度2°/min。

[0552] 化合物II乙磺酸盐的XRPD图案示出在图22中且XRPD数据提供于表9中。

[0553] 表9.

2θ (°)	高度	H%
4.9	168	12.1
7.6	1386	100
12.5	49	3.5
15.4	453	32.7
16.8	59	4.3
17.5	94	6.8
23.4	48	3.5

[0555] 化合物II乙磺酸盐的差示扫描量热法(DSC)研究

[0556] 通过DSC表征化合物II的乙磺酸盐。从具有自动取样器的TA Instruments差示扫描量热仪型号Q200获得DSC。DSC仪器条件如下：30-300℃,10℃/min；T0铝质样品皿和盖子；以及氮气流速50mL/min。

[0557] 化合物II乙磺酸盐的DSC热分析图示出在图23中。DSC热分析图显示起始温度为180.4℃且峰值温度为187.7℃的主要吸热事件,认为这是化合物熔融/分解。

[0558] 化合物II乙磺酸盐的热解重量分析(TGA)研究

[0559] 通过TGA表征化合物II的乙磺酸盐。从TA Instrument热解重量分析仪型号Q500获得TGA。用于TGA的一般实验条件为：以20℃/min从20℃升至600℃；氮气吹扫,气体流速40mL/min,然后吹扫流速达到平衡；样品吹扫流速60mL/min；铂样品皿。

[0560] 化合物II乙磺酸盐的TGA热分析图示出在图24中。观测到直至100℃的重量损失为约1.6%,并且认为与湿气或残余溶剂的损失相关。观测到在200℃以上存在显著重量损失,并且认为与化合物分解相关。

[0561] 实施例16.N-(4-(4-氨基-7-(1-异丁酰基哌啶-4-基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-5-基)苯基)-1-异丙基-2,4-二氧化-3-(吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲酰胺马来酸盐的其他结晶形式(化合物I马来酸盐,形式II-V)的制备

[0562] 用于形成化合物I马来酸盐形式II、III、IV和V的实验程序概述在表10中。

[0563] 表10.用于形成化合物I马来酸盐固体形式的结晶程序

	程序	在 45-46℃下在真空下干燥 8 小时后的固态形式
	在 25±1℃下、在空气下、在不搅拌的情况下蒸发化合物 I 马来酸盐在三氯甲烷中的约 3.5 mL 饱和溶液, 并且通过 XRPD 分析所获得的固体是形式 II。XRPD (参见实施例 17, 图 25)。	形式 II
[0564]	在 25±1℃下、在空气下、在不搅拌的情况下蒸发化合物 I 马来酸盐在 1,4-二噁烷中的约 4.0 mL 饱和溶液, 并且通过 XRPD 分析所获得的固体是形式 III。XRPD (参见实施例 18, 图 26)、DSC (参见实施例 18, 图 27) 和 TGA (参见实施例 18, 图 28)	形式 III
	在 50±1℃下、在空气下、在不搅拌的情况下蒸发化合物 I 马来酸盐在 <i>n</i> -BuOH 中的约 10 mL 饱和溶液, 并且通过 XRPD 分析所获得的固体是形式 IV。XRPD (参见实施例 19, 图 29)、DSC (参见实施例 19, 图 30) 和 TGA (参见实施例 19, 图 31)	形式 IV
	从 DCM/己烷中进行可逆加成: 向 3.0 mL 庚烷中加入所制备的化合物 I 马来酸盐在二氯甲烷中的 1 mL 饱和溶液, 继而搅拌, 得到固体, 通过 XRPD 分析所述固体是形式 V。XRPD (参见实施例 20, 图 32)、DSC (参见实施例 20, 图 33) 和 TGA (参见实施例 20, 图 34)	形式 V

[0565] 实施例17. 化合物I马来酸盐形式II的固态表征

[0566] 化合物I马来酸盐形式II的X射线粉末衍射 (XRPD)

[0567] 从Rigaku MiniFlex X射线粉末衍射仪 (XRPD) 获得X射线粉末衍射 (XRPD)。用于XRPD的一般实验程序为: (1) 铜的X射线辐射, 1.054056 Å, 利用K_β滤光器; (2) X射线功率 30KV, 15mA; 以及 (3) 使样品粉末分散在零背景样品容器上。用于XRPD的一般测量条件为: 起始角度3°; 终止角度45°; 取样0.02°; 以及扫描速度2°/min。

[0568] 化合物I马来酸盐形式II的XRPD图案示出在图25中且XRPD数据提供于表11中。

[0569] 表11.

[0570]	2 θ (°)	高度	H%
	3.8	500	100
	7.8	268	53.6
	12.3	65	13
	19.7	70	14
	23.5	128	25.6
	26.0	90	18
	26.7	52	10.4

[0571] 实施例18. 化合物I马来酸盐形式III的固态表征

[0572] 从Rigaku MiniFlex X射线粉末衍射仪 (XRPD) 获得X射线粉末衍射 (XRPD)。用于XRPD的一般实验程序为：(1) 铜的X射线辐射， 1.054056 \AA ，利用 K_{β} 滤光器；(2) X射线功率30KV, 15mA；以及(3) 使样品粉末分散在零背景样品容器上。用于XRPD的一般测量条件为：起始角度 3° ；终止角度 45° ；取样 0.02° ；以及扫描速度 $2^{\circ}/\text{min}$ 。

[0573] 化合物I马来酸盐形式III的XRPD图案示出在图26中且XRPD数据提供于表12中。

[0574] 表12.

	2θ (°)	高度	H%
[0575]	3.8	719	100
	7.7	654	91

[0576]

	8.5	61	8.5
	10.8	50	7
	11.5	44	6.1
	12.1	320	44.5
	13.8	84	11.7
	14.9	57	7.9
	15.4	88	12.2
	16.2	57	7.9
	16.9	93	12.9
	18.3	75	10.4
	18.9	335	46.6
	19.6	60	8.3
	20.6	196	27.3
	21.6	71	9.9
	23.1	192	26.7
	25.3	139	19.3
	25.8	162	22.5
	29.1	58	8.1
	30.4	42	5.8
	37.0	39	5.4

[0577] 化合物I马来酸盐形式III的差示扫描量热法 (DSC) 研究

[0578] 通过DSC表征化合物I马来酸盐形式III。从具有自动取样器的TA Instruments差示扫描量热仪型号Q200获得DSC。DSC仪器条件如下:30-300℃,10℃/min;T0铝质样品皿和盖子;以及氮气流速50mL/min。

[0579] 化合物I马来酸盐形式III的DSC热分析图示出在图27中。DSC热分析图显示两个吸热事件:第一个起始温度为143.9℃且峰值温度为165.4℃,并且第二个起始温度为186.3℃且峰值温度为195.4℃。

[0580] 化合物I马来酸盐形式III的热解重量分析 (TGA) 研究

[0581] 通过TGA表征化合物I马来酸盐形式III。从TA Instrument热解重量分析仪型号Q500获得TGA。用于TGA的一般实验条件为:以20℃/min从20℃升至600℃;氮气吹扫,气体流速40mL/min,然后吹扫流速达到平衡;样品吹扫流速60mL/min;铂样品皿。

[0582] 化合物I马来酸盐形式III的TGA热分析图示出在图28中。

[0583] 实施例19. 化合物I马来酸盐形式IV的固态表征

[0584] 从Rigaku MiniFlex X射线粉末衍射仪 (XRPD) 获得X射线粉末衍射 (XRPD)。用于XRPD的一般实验程序为:(1) 铜的X射线辐射, 1.054056 \AA , 利用 K_{β} 滤光器;(2) X射线功率30KV,15mA;以及(3) 使样品粉末分散在零背景样品容器上。用于XRPD的一般测量条件为:起始角度3°;终止角度45°;取样0.02°;以及扫描速度2°/min。

[0585] 化合物I马来酸盐形式IV的XRPD图案示出在图29中且XRPD数据提供于表13中。

[0586] 表13.

[0587]

2θ (°)	高度	H%
3.9	1181	100
4.6	276	23.4
6.2	109	9.2
7.8	699	59.2
8.5	81	6.9
9.1	237	20.1
10.1	31	2.6
11.6	61	5.2
12.2	96	8.1
13.6	106	9
16.1	63	5.3
16.6	34	2.9
18.2	30	2.5
18.7	61	5.2
19.3	65	5.5
20.2	37	3.1
20.5	42	3.6
21.8	87	7.4
22.8	188	15.9
23.3	77	6.5
25.6	43	3.6
26.8	29	2.5
27.4	46	3.9
36.8	29	2.5

[0588] 化合物I马来酸盐形式IV的差示扫描量热法 (DSC) 研究

[0589] 通过DSC表征化合物I马来酸盐形式IV。从具有自动取样器的TA Instruments差示扫描量热仪型号Q200获得DSC。DSC仪器条件如下:30-300℃,10℃/min;T0铝质样品皿和盖子;以及氮气流速50mL/min。

[0590] 化合物I马来酸盐形式IV的DSC热分析图示出在图30中。DSC热分析图显示两个吸热事件:第一个起始温度为145.7℃且峰值温度为152.1℃,并且第二个起始温度为188.3℃且峰值温度为202.6℃。

[0591] 化合物I马来酸盐形式IV的热解重量分析 (TGA) 研究

[0592] 通过TGA表征化合物I马来酸盐形式IV。从TA Instrument热解重量分析仪型号Q500获得TGA。用于TGA的一般实验条件为:以20℃/min从20℃升至600℃;氮气吹扫,气体流速40mL/min,然后吹扫流速达到平衡;样品吹扫流速60mL/min;铂样品皿。

[0593] 化合物I马来酸盐形式IV的TGA热分析图示出在图31中。

[0594] 实施例20. 化合物I马来酸盐形式V的固态表征

[0595] 从Rigaku MiniFlex X射线粉末衍射仪 (XRPD) 获得X射线粉末衍射 (XRPD)。用于

XRPD的一般实验程序为：(1) 铜的X射线辐射， 1.054056 \AA ，利用 K_{β} 滤光器；(2) X射线功率30KV, 15mA；以及(3) 使样品粉末分散在零背景样品容器上。用于XRPD的一般测量条件为：起始角度 3° ；终止角度 45° ；取样 0.02° ；以及扫描速度 $2^{\circ}/\text{min}$ 。

[0596] 化合物I马来酸盐形式V的XRPD图案示出在图32中且XRPD数据提供于表14中。

[0597] 表14.

2 θ ($^{\circ}$)	高度	H%
4.1	423	95.3
8.3	444	100
8.8	140	31.5
10.7	43	9.7
12.5	35	7.9
13.0	34	7.7
15.6	44	9.9
18.0	130	29.3
20.5	41	9.2
23.1	53	11.9
23.5	122	27.5
24.1	38	8.6
27.3	150	33.8
28.4	42	9.5
29.4	36	8.1
31.4	43	9.7
35.5	49	11

[0599] 化合物I马来酸盐形式V的差示扫描量热法 (DSC) 研究

[0600] 通过DSC表征化合物I马来酸盐形式V。从具有自动取样器的TA Instruments差示扫描量热仪型号Q200获得DSC。DSC仪器条件如下：30-300 $^{\circ}\text{C}$ ，10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ；T0铝质样品皿和盖子；以及氮气流速50mL/min。

[0601] 化合物I马来酸盐形式V的DSC热分析图示出在图33中。DSC热分析图显示起始温度为189.1 $^{\circ}\text{C}$ 且峰值温度为200.1 $^{\circ}\text{C}$ 的吸热事件。

[0602] 化合物I马来酸盐形式V的热解重量分析 (TGA) 研究

[0603] 通过TGA表征化合物I马来酸盐形式V。从TA Instrument热解重量分析仪型号Q500获得TGA。用于TGA的一般实验条件为：以20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 从20 $^{\circ}\text{C}$ 升至600 $^{\circ}\text{C}$ ；氮气吹扫，气体流速40mL/min，然后吹扫流速达到平衡；样品吹扫流速60mL/min；铂样品皿。

[0604] 化合物I马来酸盐形式V的TGA热分析图示出在图34中。

[0605] 实施例A

[0606] Ax1自磷酸化测定

[0607] 通过在室温下在含有50mM Tris pH 7.5、0.2mg/ml Ax1、5mM ATP、20mM MgCl_2 和2mM DTT的缓冲液中将重组Ax1蛋白 (Life Technologies, PV4275) 孵育1小时来进行Ax1自

磷酸化。

[0608] TAM酶测定

[0609] 激酶测定缓冲液含有50mM HEPES pH 7.5、10mM MgCl₂、1mM EGTA、0.01%NP-40和2mM DTT。将溶解在DMSO中的0.1μl测试化合物从化合物平板转移至白色384孔测定平板(Greiner LUMITRAC平板)。DMSO的最终浓度是1.25%。在测定缓冲液中制备5.1nM磷酸化-Axl或0.0625nM c-Mer(Carna Biosciences,08-108)或0.366nM Tyro3(Life Technologies,PR7480A)的酶溶液。在含有2000μM ATP的测定缓冲液中将肽底物生物素-EQEDEPEGDYFEWLE-酰胺SEQ ID NO:1(Quality Controlled Biochemicals,MA)溶解在DMSO中的1mM储备溶液稀释至1μM。将4μl酶溶液(或用于酶空白的测定缓冲液)加入到各个平板中的适当孔中,然后加入4μl/孔底物溶液以引发反应。将平板避光保存并且在室温下孵育60分钟。通过加入含有50mM Tris-HCl pH 7.8、150mM NaCl、0.05%BSA、45mM EDTA、180nM SA-APC(Perkin Elmer,CR130-100)和3nM Eu-W1024抗磷酸化酪氨酸PY20(Perkin Elmer,AD0067)的4μl检测溶液来终止反应。在室温下将平板孵育1小时,并且在PHERAstar FS平板读取器(BMG labtech)上测量HTRF(均质时间分辨荧光)信号。计算各个浓度的抑制百分比并且利用GraphPad Prism软件由曲线拟合产生IC₅₀值。

[0610] 发现式I化合物和式II化合物是AXL、MER和TYRO3中的一个或多个的抑制剂。式I化合物和式II化合物的三氟乙酸盐的IC₅₀数据公开在美国申请No.15/469,975中并且提供在以下表15中。符号“†”表示IC₅₀≤5nM,“††”表示IC₅₀>5nM但≤10nM,而“†††”表示IC₅₀>10nM但≤100nM。

[0611] 表15

[0612]	化合物	Axl IC ₅₀ (nM)	Mer IC ₅₀ (nM)	Tyro3 IC ₅₀ (nM)
	化合物 I 三氟乙酸盐	†	†	†††
	化合物 I 马来酸盐	†	†	†††
	化合物 II 三氟乙酸盐	†	†	†††
	化合物 II 半硫酸盐	†	†	†††

[0613] 实施例B.BAF3-AXL、BAF3-MER和BAF3-TYRO3细胞的产生以及细胞增殖测定

[0614] 将与二聚序列和HA标签融合的AXL、MER或TYRO3的胞质域克隆到具有嘌呤霉素抗性标记物的pMSCV载体中,以产生三种构建体(pMSCV-AXL、pMSCV-MER和pMSCV-TYRO3)。用所述三种构建体通过电穿孔逐一对BAF3细胞进行转染。选择与IL3无关且具有嘌呤霉素抗性的单个克隆并且加以表征。选择稳定表达AXL、MER或TYRO3的细胞,并且命名为BAF3-AXL细胞、BAF3-MER细胞和BAF3-TYRO3细胞。

[0615] 将BAF3、BAF3-AXL、BAF3-MER或BAF3-TYRO3细胞系维持在含10%FBS的RPMI1640(Gibco/Life Technologies,Carlsbad,CA)中。为了测量测试化合物对细胞活力的影响,将1000个细胞/孔接种到384孔组织培养平板中含化合物的连续稀释或单独DMSO的生长培养基中,在37℃与5%CO₂下维持48小时,通过ATP测定(CellTiter-Glo Assay,Promega),根据

制造商的程序来测量细胞活力。将数据转化成相对于DMSO对照物的抑制百分比,并且使用GraphPad Prism软件来拟合IC₅₀曲线。

[0616] 实施例C. BaF3-AXL ELISA和BaF3-MER ELISA

[0617] 将BaF3-AXL或BaF3-MER细胞维持在含10%FBS和嘌呤霉素(1μg/ml, Gibco/Life Technologies, Carlsbad, CA)的培养基RPMI中。为了测量测试化合物对磷酸化-AXL或磷酸化-MER的影响,在存在或不存在稀释在培养基中的测试化合物的情况下将细胞接种(5×10⁴个细胞/孔)在V形底聚丙烯平板(Greiner bio-one)中,并且在37℃与5%CO₂下孵育1小时。通过离心来收集细胞,并且溶解在110μl含蛋白酶和磷酸酶抑制剂(Halts PI, Thermo Fisher)的冰溶解缓冲液(Cell Signaling)中,在冰上维持30分钟。将细胞溶解物存储在-80℃下以供用于ELISA。通过在室温下将Costar平板与抗HA抗体(1μg/ml)一起孵育1小时来制备ELISA平板。洗涤平板并且用含3%BSA的PBS阻断。将细胞溶解物负载到ELISA平板上,并且在4℃下孵育过夜。洗涤平板并且与LANCE Eu-W1024抗磷酸化酪氨酸抗体(PY-20) (Perkin Elmer)一起在DELFI A测定缓冲液(Perkin Elmer)中孵育1小时,并且在Pherastar (BMG Labtech)上读取。将数据转化成相对于DMSO对照物的抑制百分比,并且通过使用GraphPad Prism拟合抑制百分比曲线相对于抑制剂浓度的对数来进行IC₅₀测定。

[0618] 实施例D. H1299磷酸化-AXL ELISA

[0619] 将存在Ax1表达的人非小细胞肺癌细胞系H1299细胞(ATCC)维持在含10%FBS的培养基RPMI (Gibco/Life Technologies, Carlsbad, CA)中。为了测量测试化合物对磷酸化-AXL的影响,将细胞接种(30000个细胞/孔)在96孔组织培养平板(Costar)中并且在37℃与5%CO₂下孵育过夜。加入适当浓度的化合物并且在37℃与5%CO₂下孵育1小时。向各个孔中加入rhGas6(R&D Systems, 6μg/ml)。在37℃与5%CO₂下将平板孵育15分钟。收集细胞并且溶解在110μL含蛋白酶和磷酸酶抑制剂(Halts PI, Thermo Fisher)的冰溶解缓冲液(Cell Signaling)中。在冰上将溶解物孵育1小时并且存储在-80℃下以供用于ELISA。通过在室温下将Costar平板与抗HA抗体(1μg/ml)一起孵育1小时来制备ELISA平板。洗涤平板,并且用含3%BSA的PBS加以阻断。将细胞溶解物负载至ELISA平板上并且在4℃下孵育过夜。洗涤平板且与LANCE Eu-W1024抗磷酸化酪氨酸抗体(PY-20) (Perkin Elmer)一起在DELFI A测定缓冲液(Perkin Elmer)中孵育1小时,并且在Pherastar (BMG Labtech)上读取。将数据转化成相对于DMSO对照物的抑制百分比,并且通过使用GraphPad Prism拟合抑制百分比曲线相对于抑制剂浓度的对数来进行IC₅₀测定。

[0620] 实施例E. 全血H1299磷酸化-AXL ELISA

[0621] 将H1299细胞(ATCC)维持在含10%FBS的培养基RPMI (Gibco/Life Technologies, Carlsbad, CA)中。为了测量测试化合物对全血中的磷酸化-AXL的影响,将细胞接种(30000个细胞/孔)在96孔组织培养平板(Costar)中并且在37℃与5%CO₂下孵育过夜。将获自正常供体的血液与测试化合物混合1小时。从H1299细胞去除培养基,并且向各个孔加入含化合物的血液。在37℃与5%CO₂下孵育1小时后,向各个孔加入rh-Gas6(4μg/ml, R&D Systems)。在37℃与5%CO₂下将平板孵育15分钟。用PBS洗涤细胞,并且溶解在110uL含蛋白酶和磷酸酶抑制剂(Halts PI, Thermo Fisher)的冰溶解缓冲液(Cell Signaling)中,在冰上维持1小时。将平板存储在-80℃下以供用于ELISA。通过在室温下将Costar平板与抗HA抗体(1ug/ml)一起孵育1小时来制备ELISA平板。洗涤平板,并且用含3%BSA的PBS加以阻断。将

细胞溶解物负载至ELISA平板上并且在4℃下孵育过夜。洗涤平板,并且与LANCE Eu-W1024抗磷酸化酪氨酸抗体(PY-20)(Perkin Elmer)一起在DELFI A测定缓冲液(Perkin Elmer)中孵育1小时,并且在Pherastar(BMG Labtech)上读取。将数据转化成相对于DMSO对照物的抑制百分比,并且通过使用GraphPad Prism拟合抑制百分比曲线相对于抑制剂浓度的对数来进行IC₅₀测定。

[0622] 实施例F.G361磷酸化-Akt Cell Insight ELISA

[0623] 将表达Mer的人恶性黑色素瘤细胞系G361细胞(ATCC)维持在含10%FBS的培养基RPMI(Gibco/Life Technologies,Carlsbad,CA)中。为了测量测试化合物对MER信号传导途径的影响,将细胞以 2×10^4 个细胞/孔以100μL体积接种在96孔CellBind平板(Corning)中,并且在37℃与5%CO₂下孵育过夜。将20μL测试化合物以适当浓度加入细胞并且孵育1小时。向各个孔加入rhGas6(4μg/ml,R&D Systems),并且孵育20分钟。在室温下通过加入50uL含4%聚甲醛(Electron Microscopy Sciences)的PBS(Corning)将细胞固定30分钟。洗涤平板,并且在室温下与50uL含0.2%triton X-100(Sigma)的PBS一起孵育10分钟。洗涤平板,并且与100uL阻断缓冲液(含0.1%BSA的PBS)一起孵育30分钟。洗涤平板,并且在4℃下与稀释在0.1%BSA中(1:300稀释)的磷酸化-AKT(Ser473)(D9E)兔mAb(Cell Signaling)一起孵育过夜。洗涤平板,并且在室温下与50uL含山羊抗兔IgG(H+L)的Alexaflour 488F(ab')₂片段(Molecular Probes,1:1000稀释)和Hoechst 33342(Thermo Fisher,1:2000稀释)的PBS一起孵育2小时。用PBS洗涤平板,并且在Cell Insight CX5(Thermo Fisher)上读取。

[0624] 根据先前描述,除了本文描述的那些修改以外对本发明进行的各种修改对本领域技术人员也应当显而易见。此类修改还希望属于所附权利要求书的范围内。本申请引用的各个参考文献,包括所有专利、专利申请和公布,以引用的方式整体并入本文中。

[0001]	序列表
[0002]	<110> 因赛特公司(Incyte Corporation)
[0003]	<120> 可用作TAM抑制剂的吡咯并三嗪衍生物的盐
[0004]	<130> 20443-0522W01
[0005]	<150> 62/564,070
[0006]	<151> 2017-09-27
[0007]	<150> 62/714,196
[0008]	<151> 2018-08-03
[0009]	<160> 1
[0010]	<170> PatentIn version 3.5
[0011]	<210> 1
[0012]	<211> 15
[0013]	<212> PRT
[0014]	<213> 人工(Artificial)
[0015]	<220>
[0016]	<223> 合成多肽
[0017]	<400> 1
[0018]	Glu Gln Glu Asp Glu Pro Glu Gly Asp Tyr Phe Glu Trp Leu Glu
[0019]	1 5 10 15

XRPD: 化合物I马来酸盐, 形式I

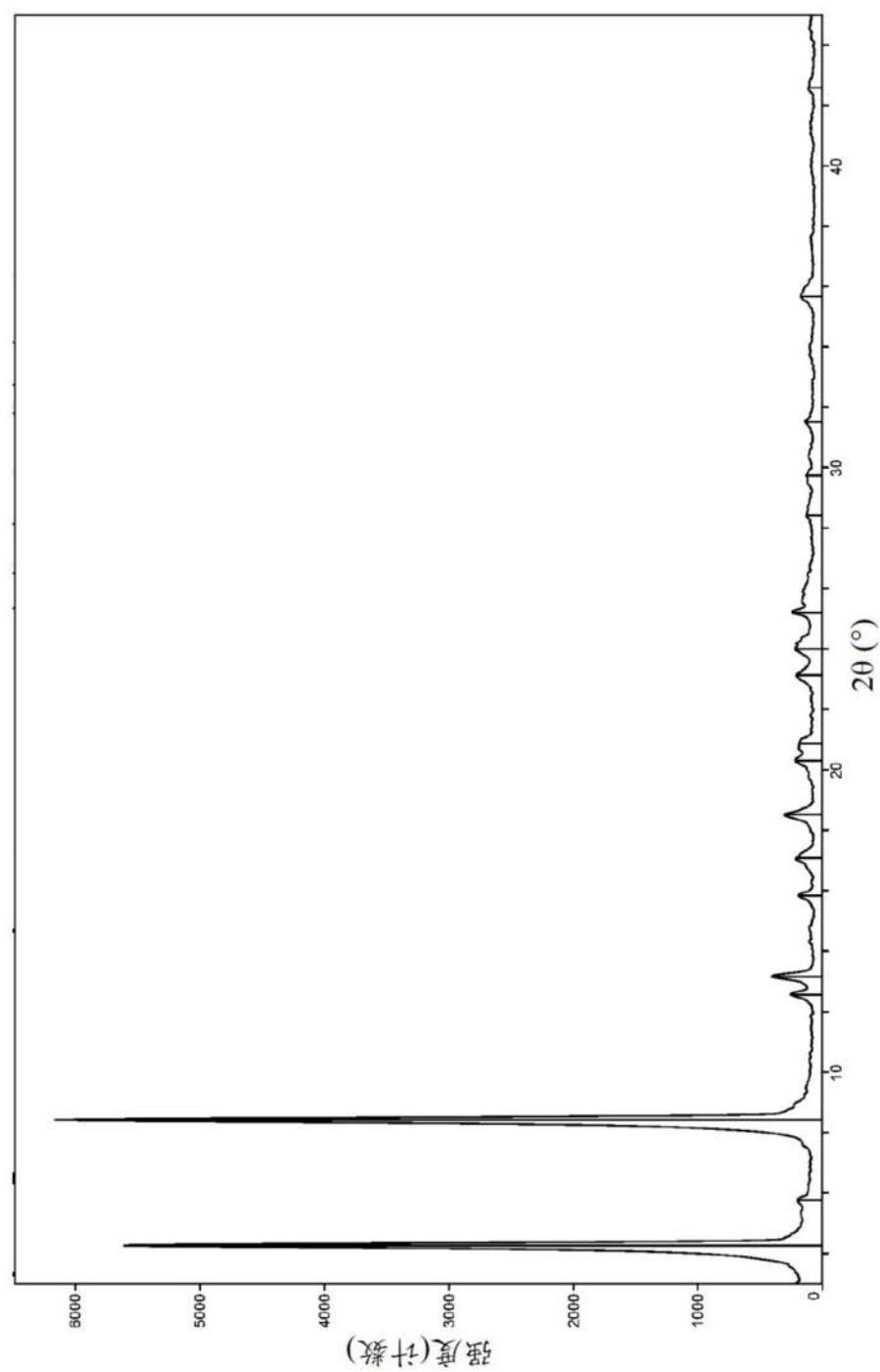


图1

DSC: 化合物I马来酸盐, 形式I

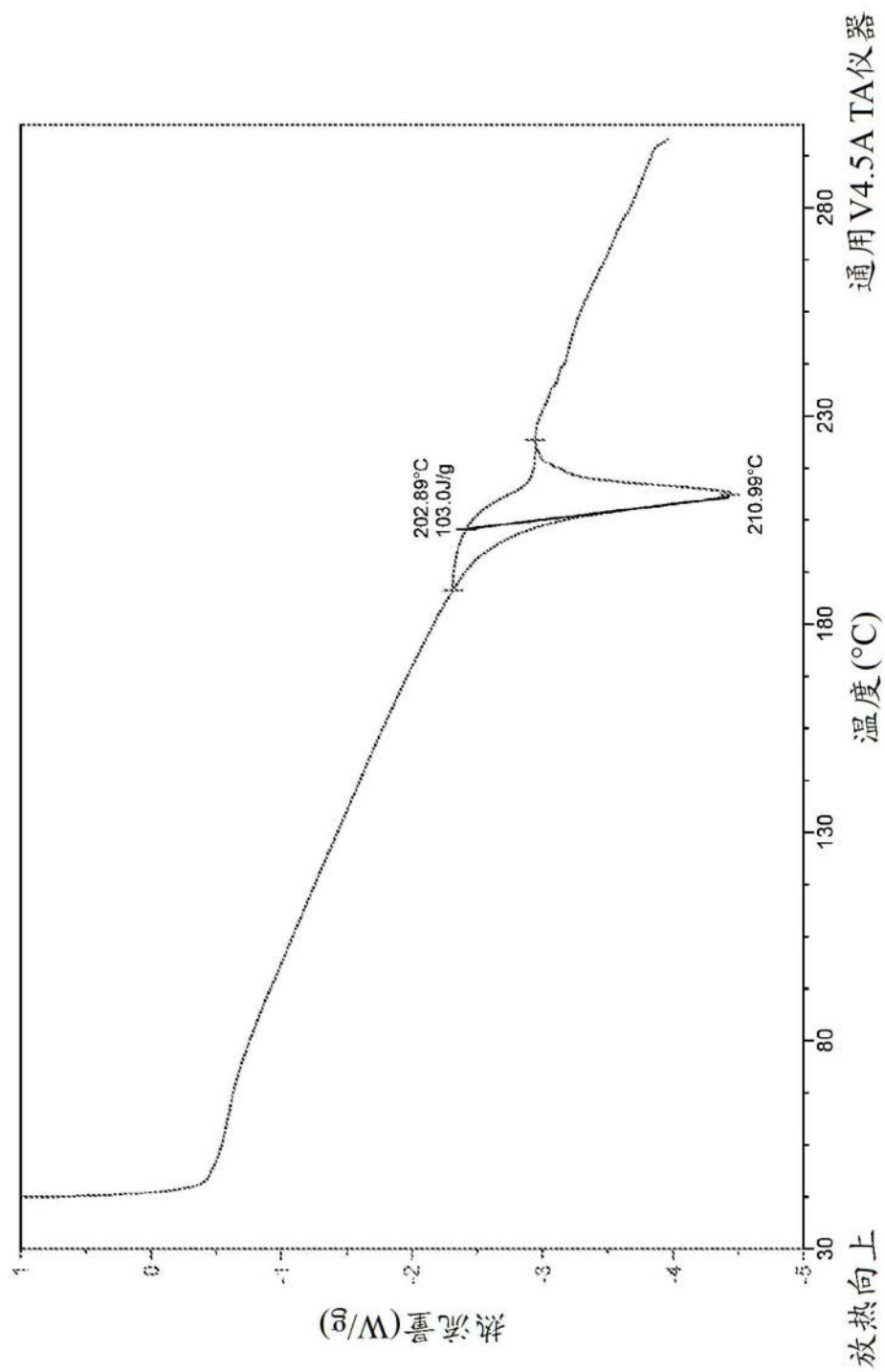


图2

TGA: 化合物I马来酸盐, 形式I

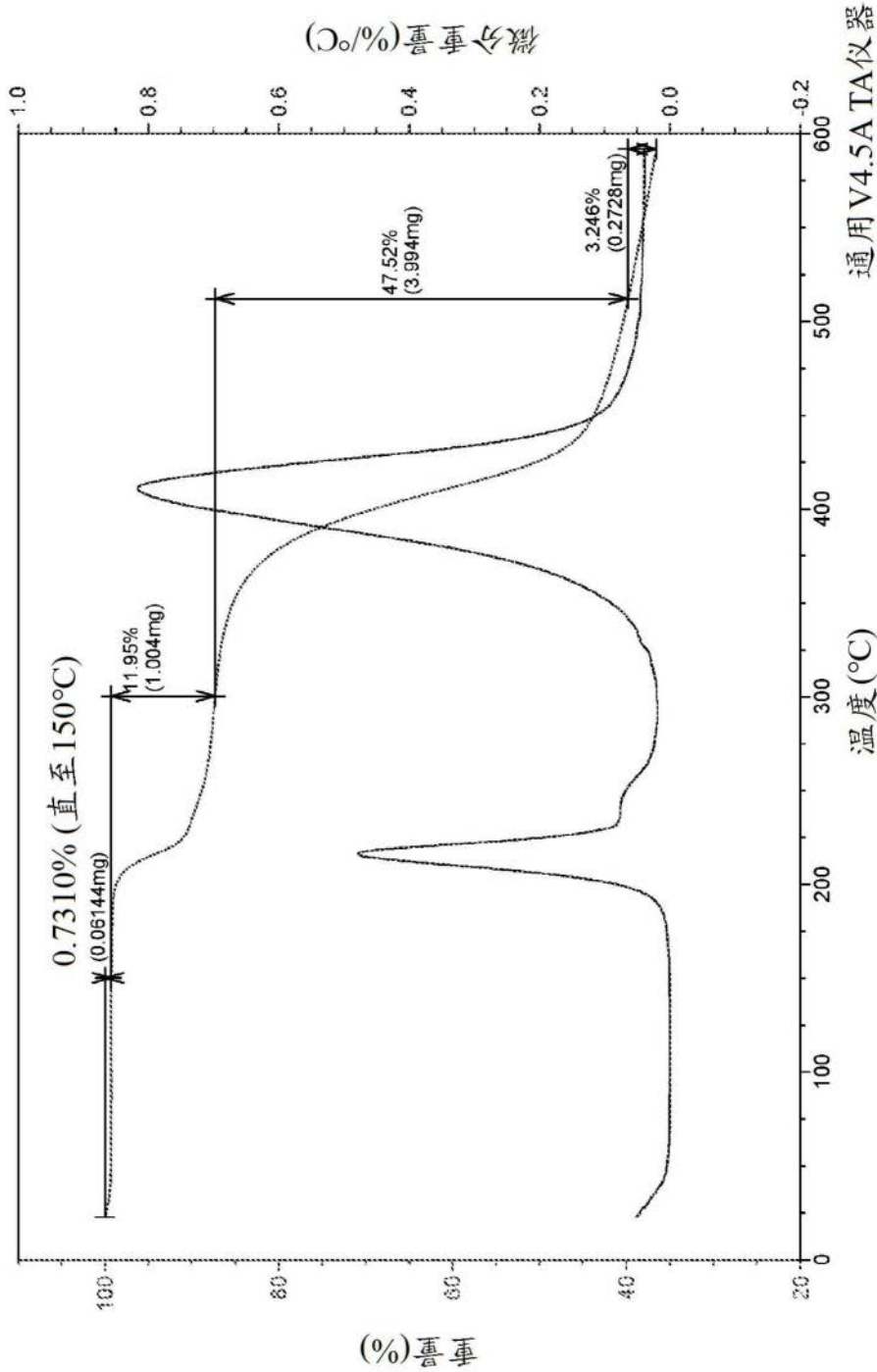


图3

XRPD: 化合物II磷酸盐

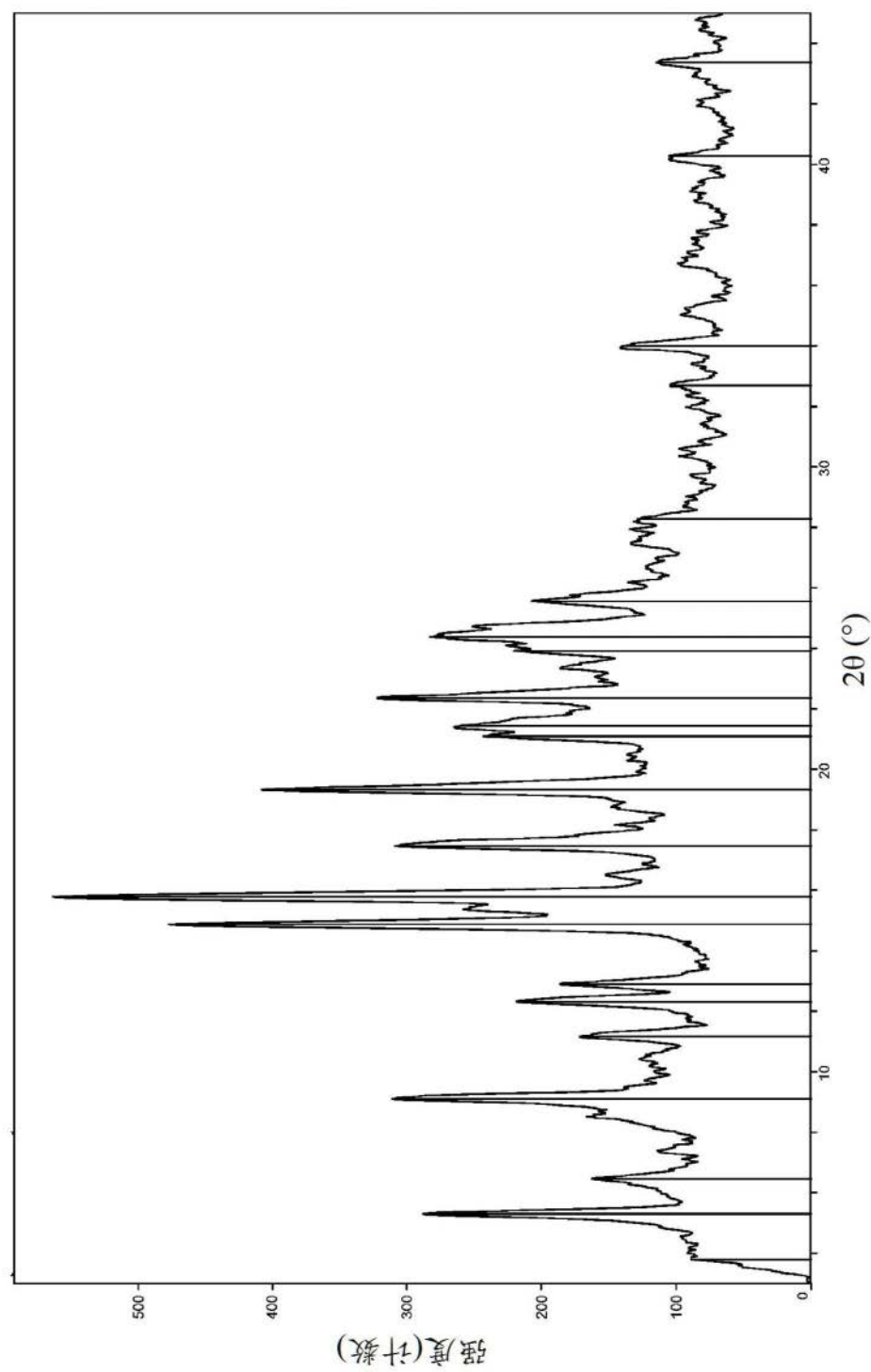


图4

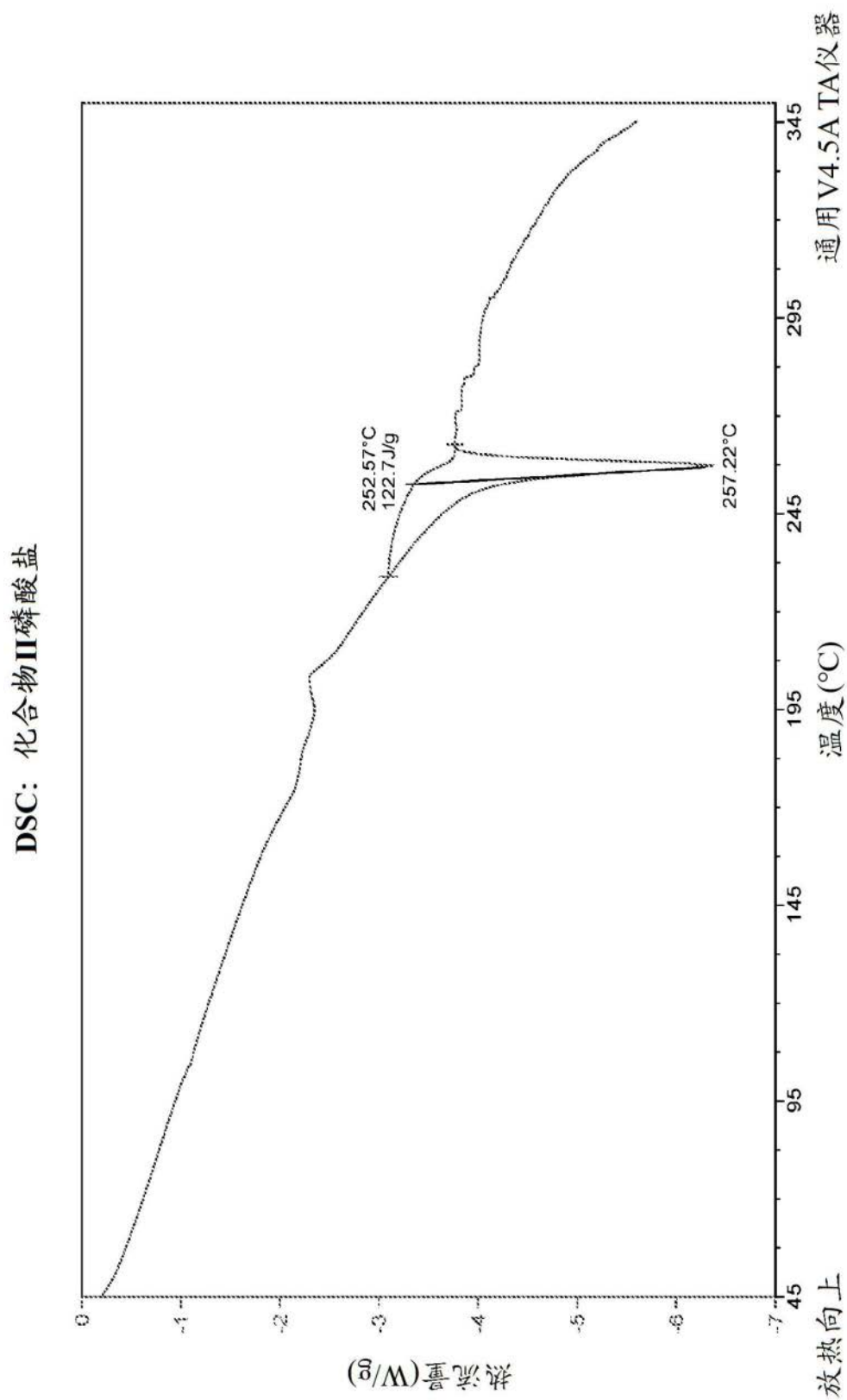


图5

TGA: 化合物II磷酸盐

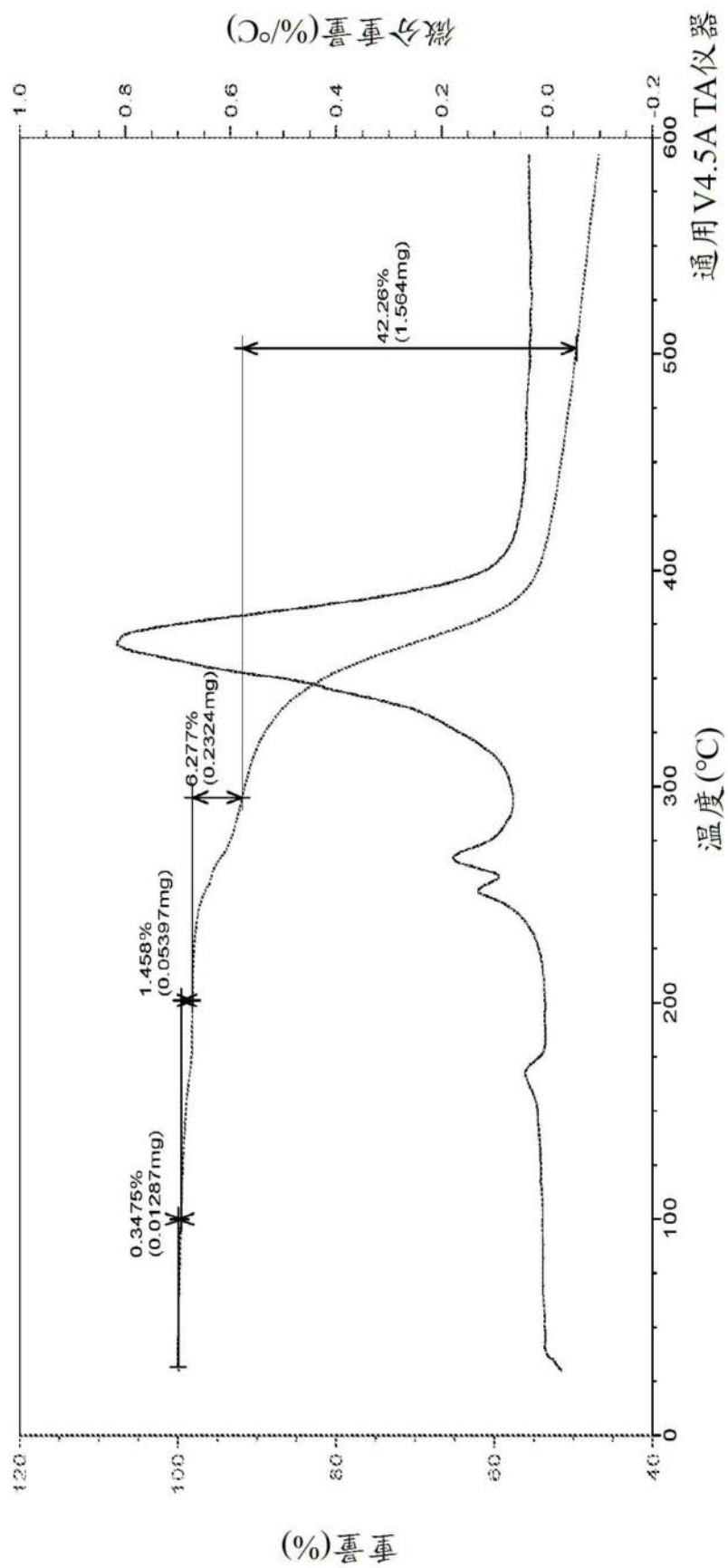


图6

XRPD: 化合物II马来酸盐

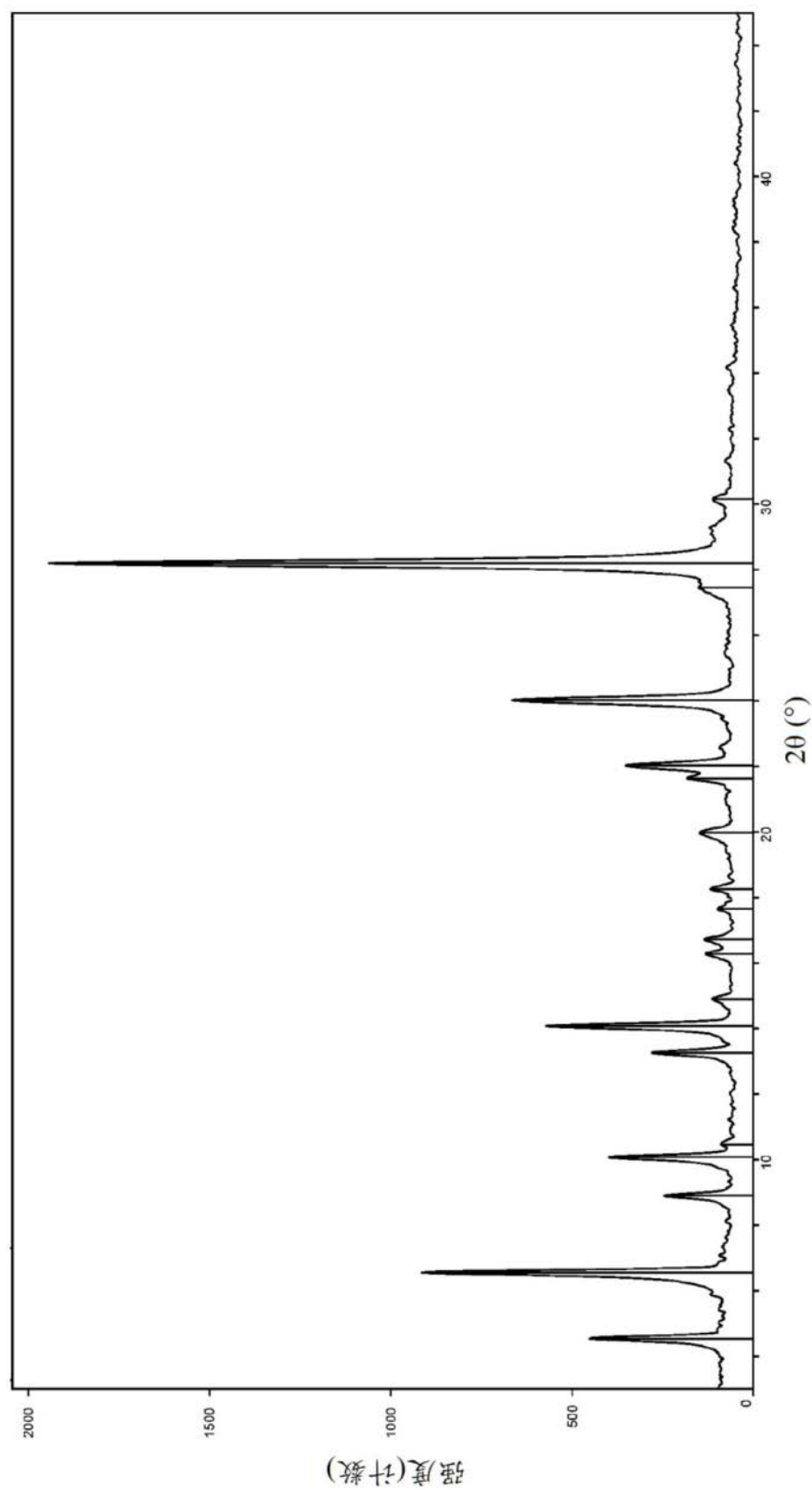


图7

DSC: 化合物II马来酸盐

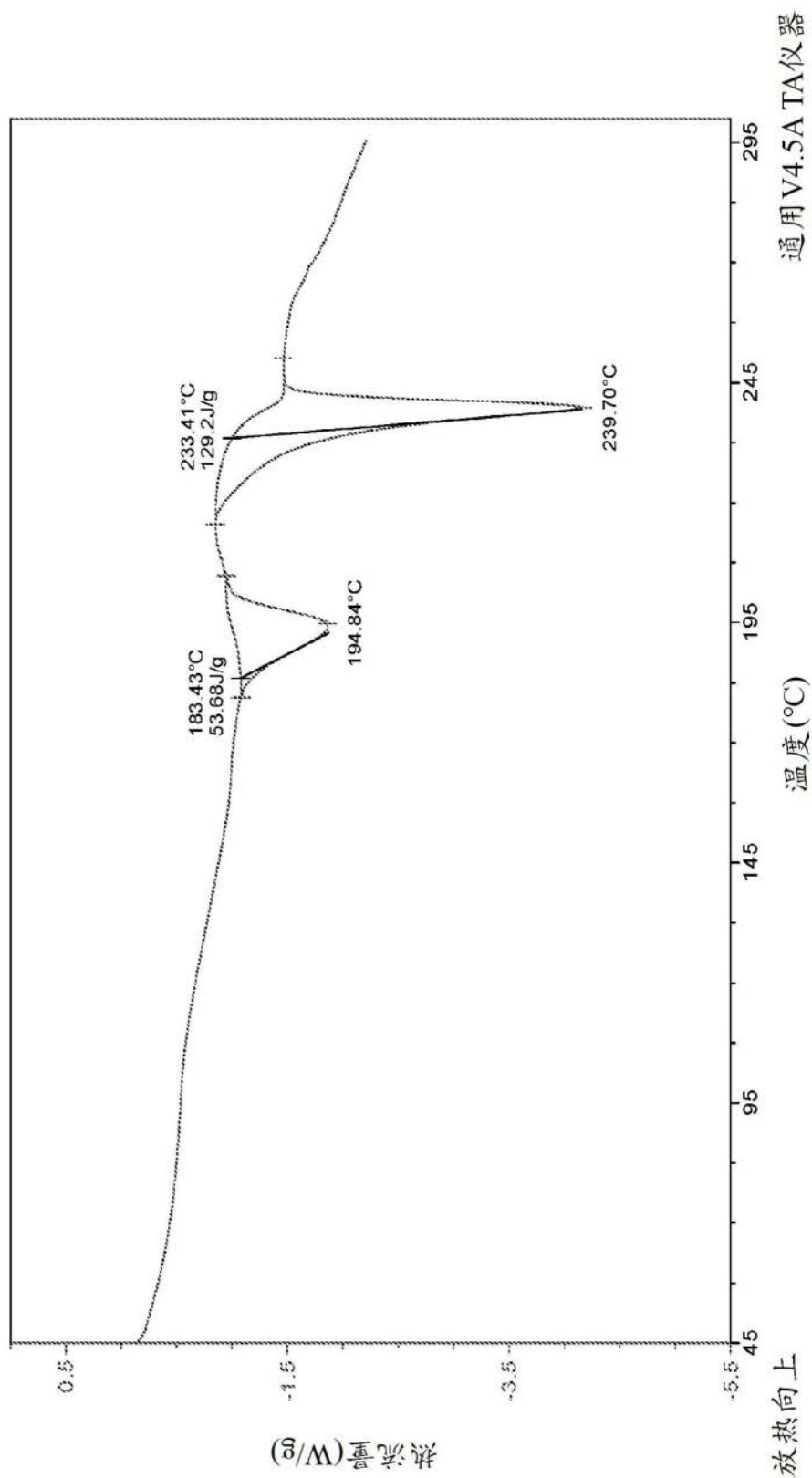


图8

TGA: 化合物II马来酸盐

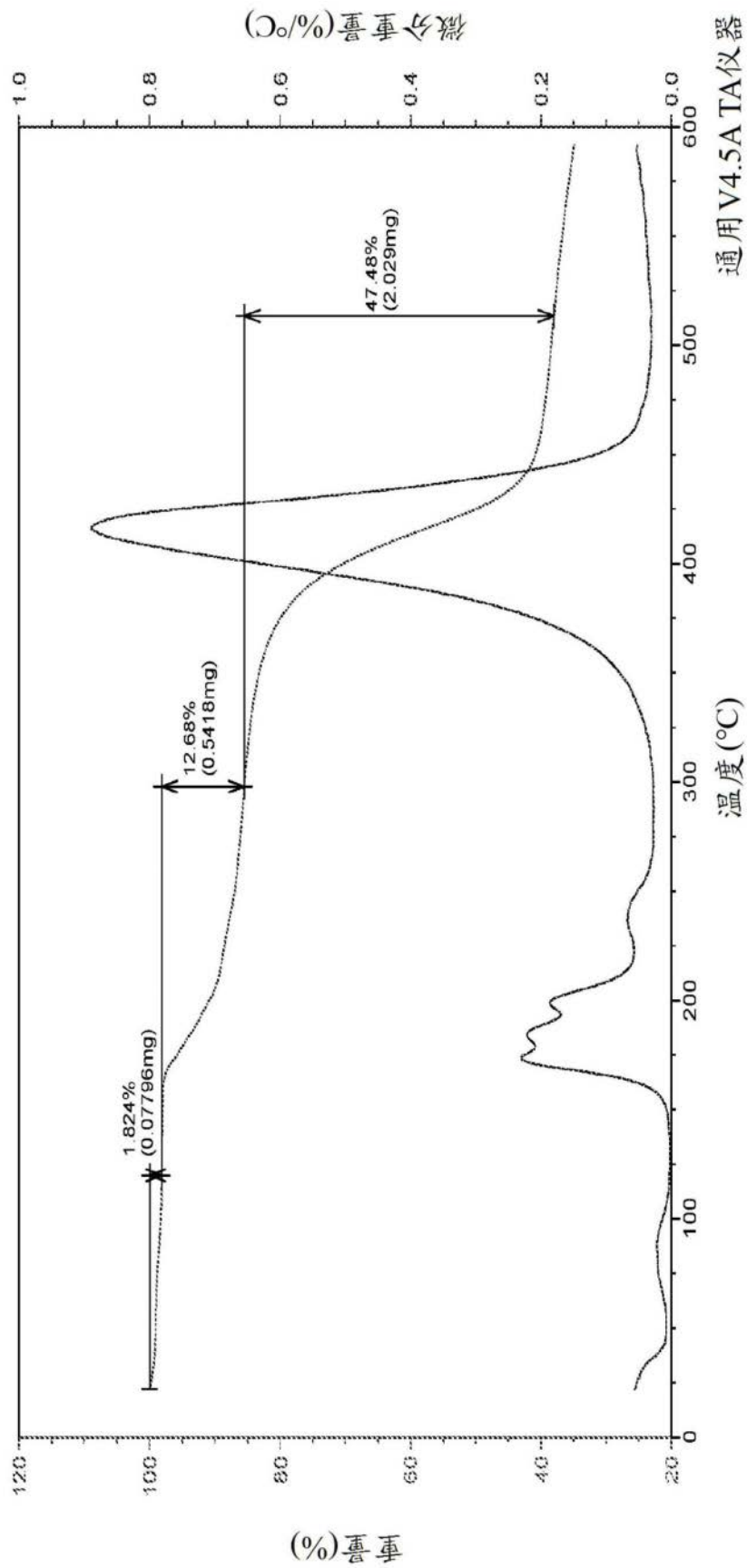


图9

XRPD: 化合物II半硫酸盐

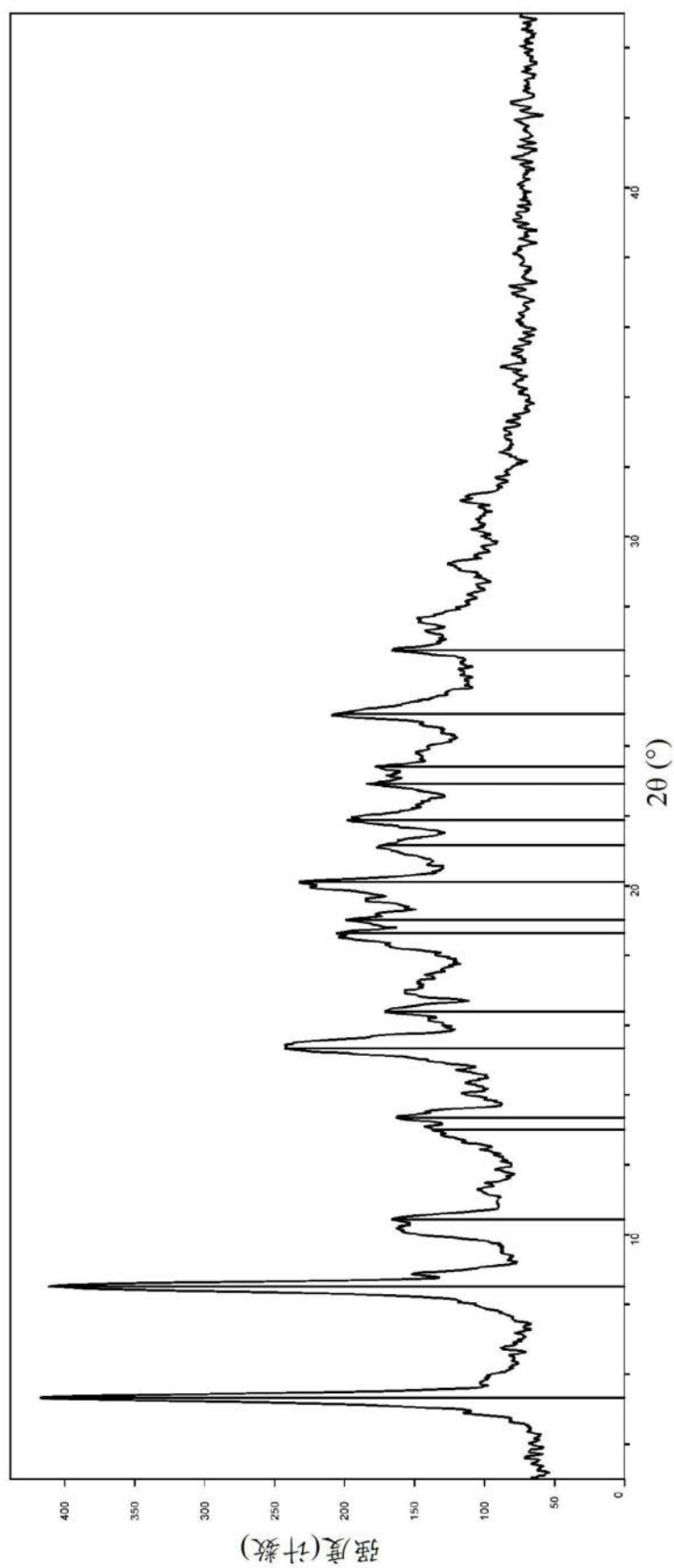


图10

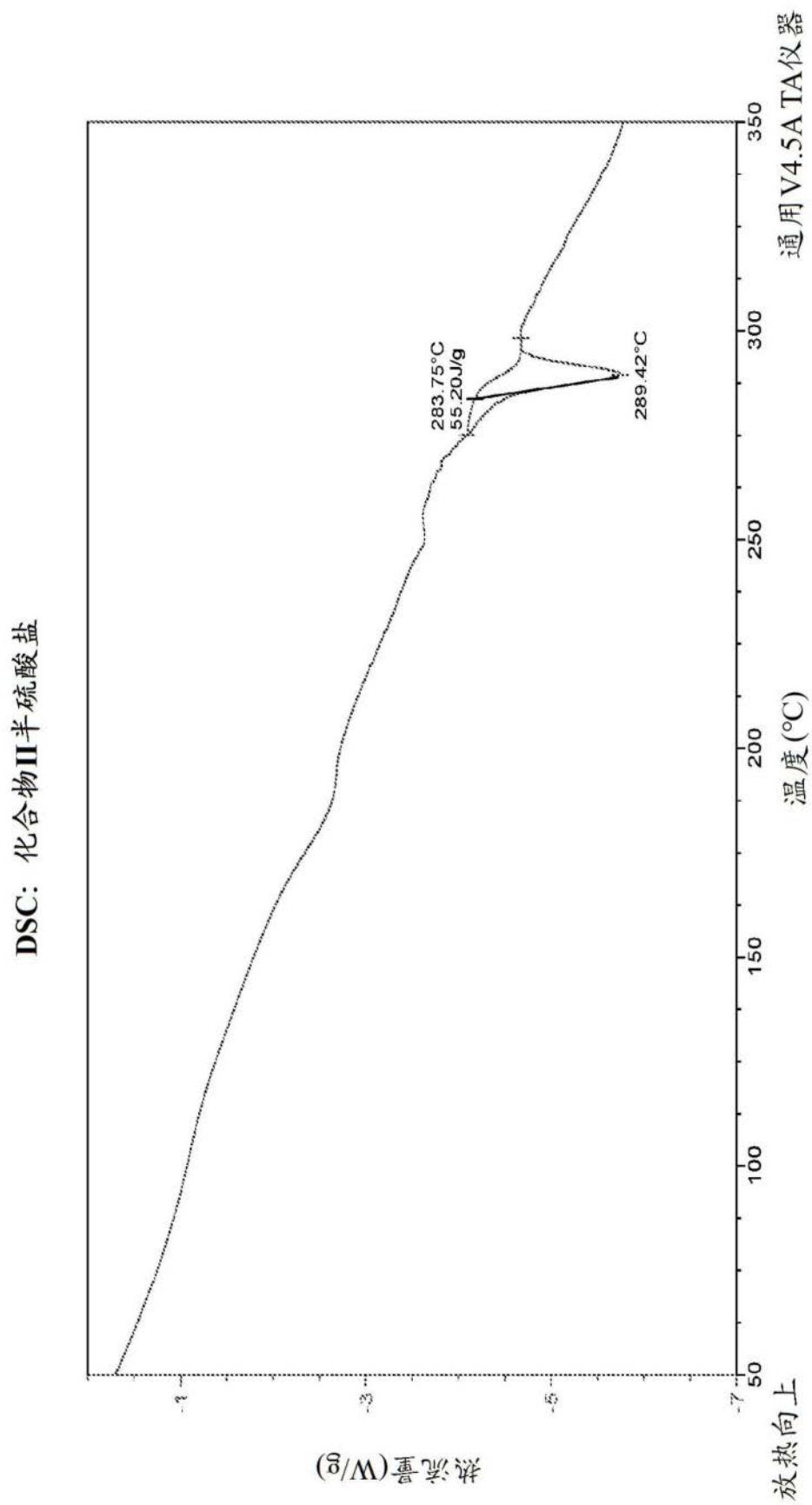


图11

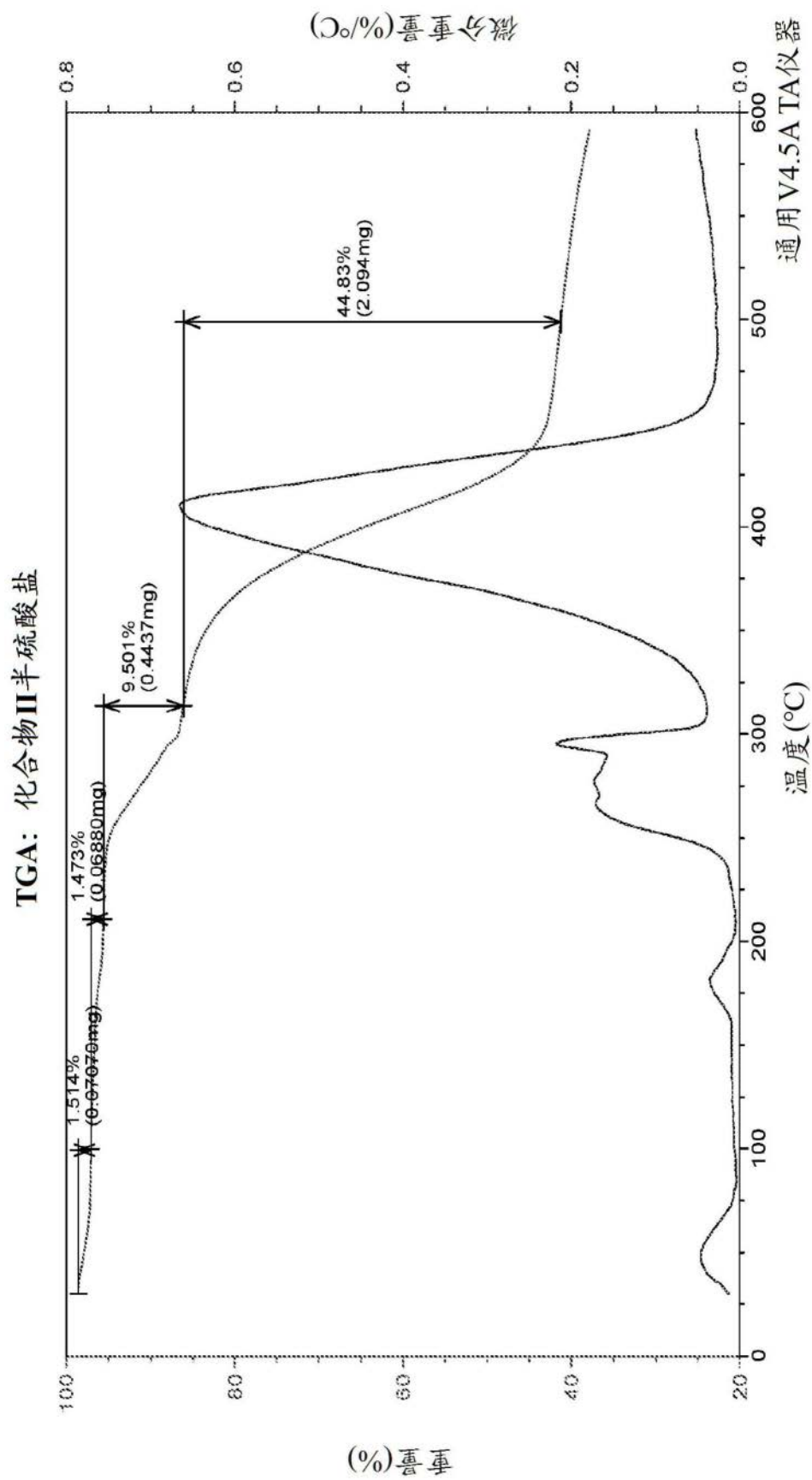


图12

XRPD: 化合物II盐酸盐

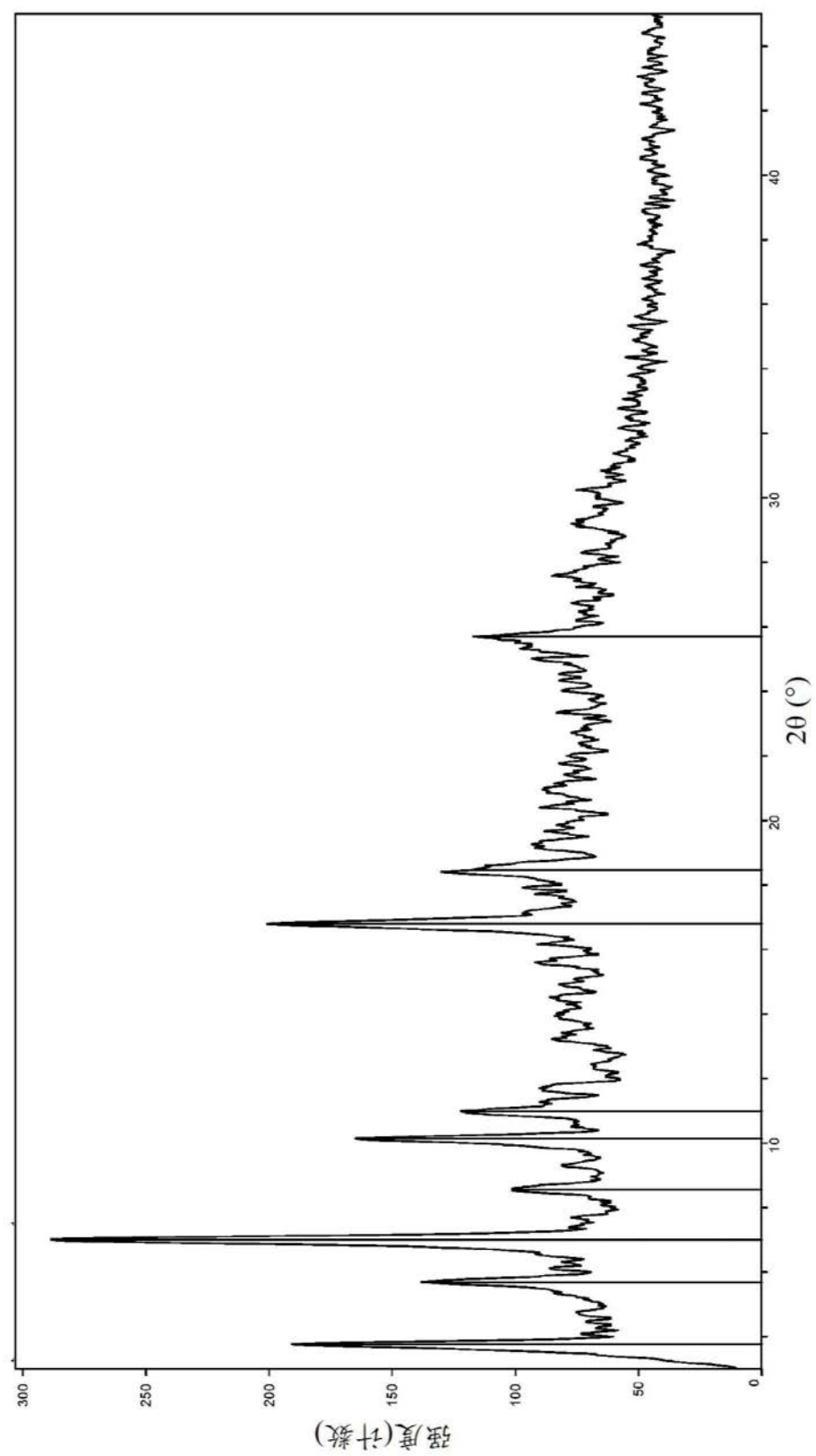


图13

DSC: 化合物II盐酸盐

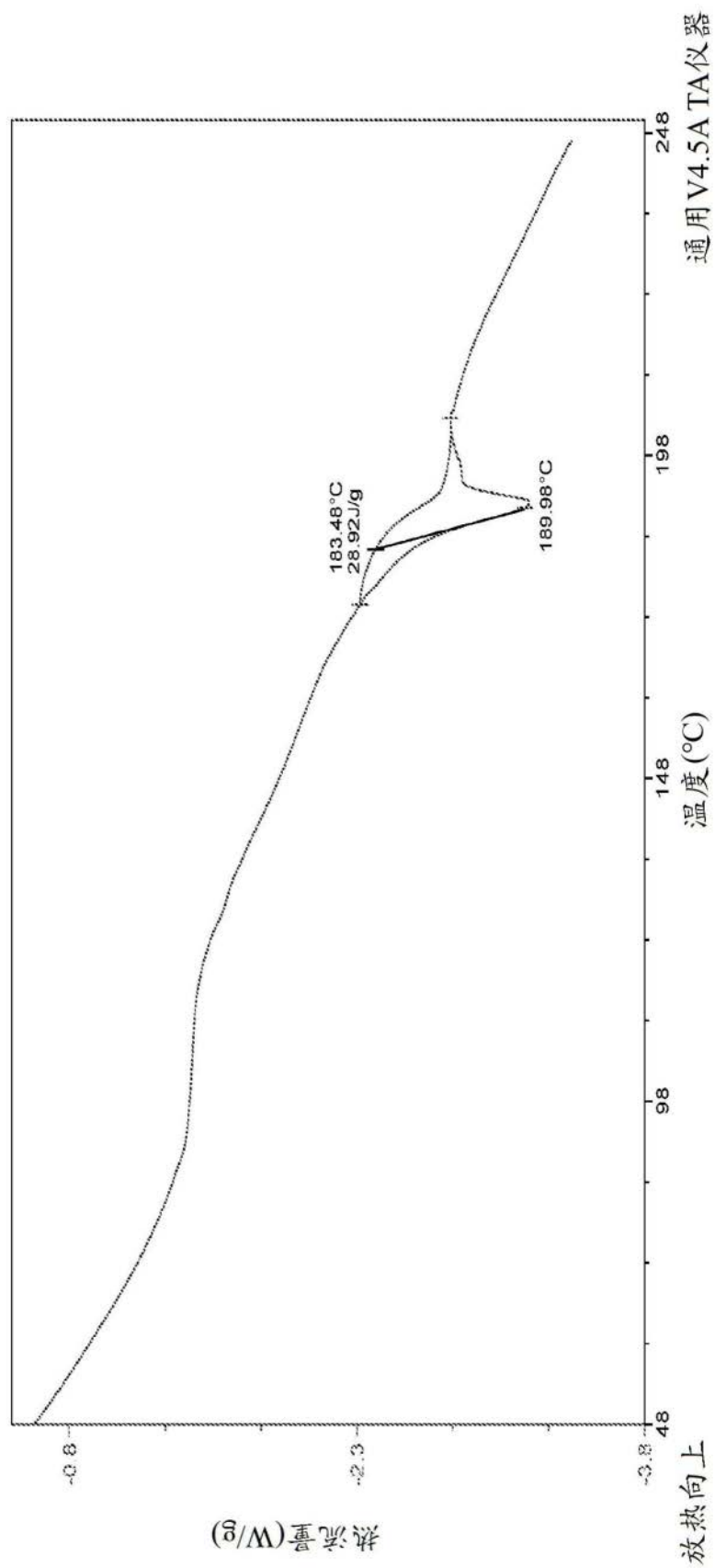


图14

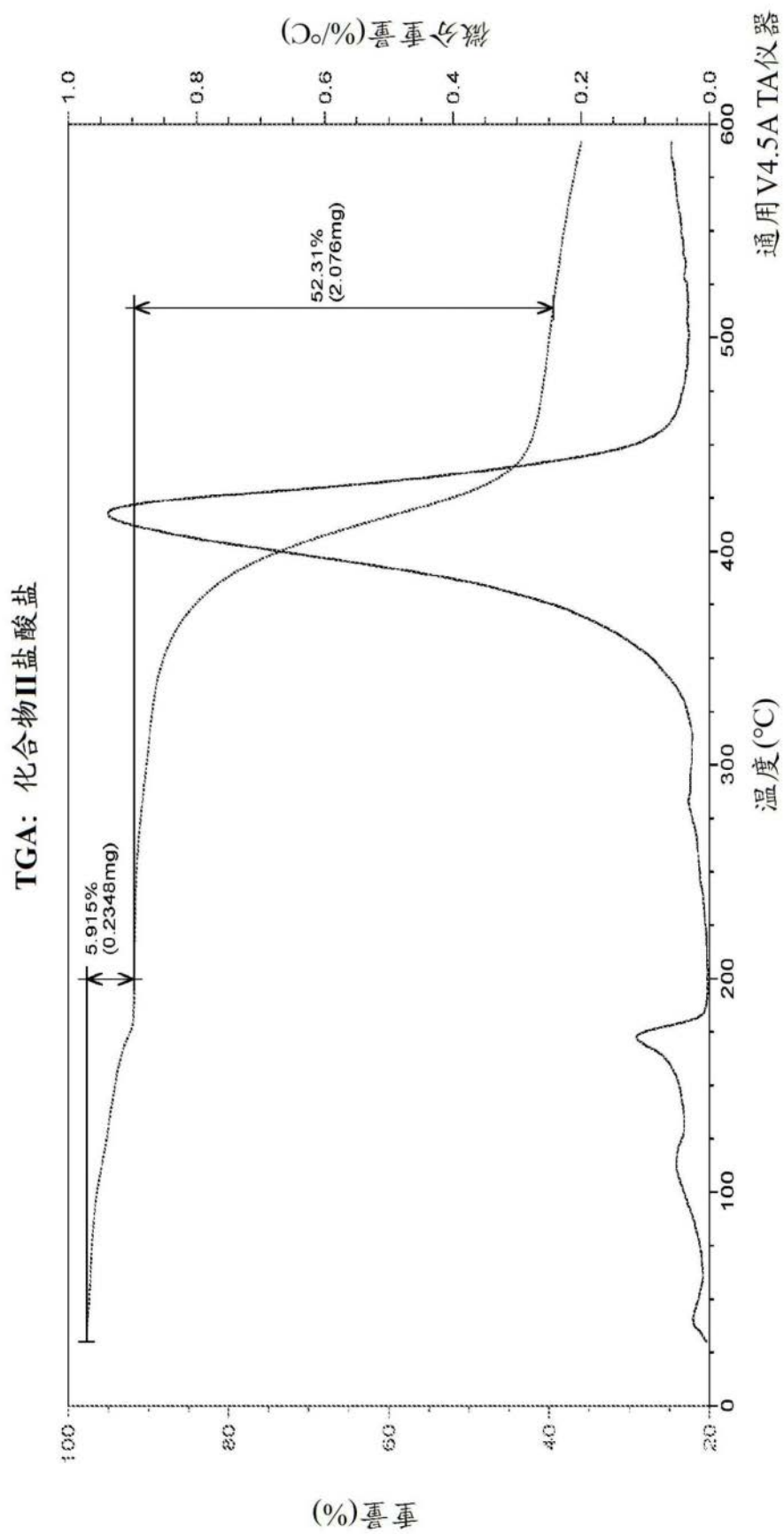


图15

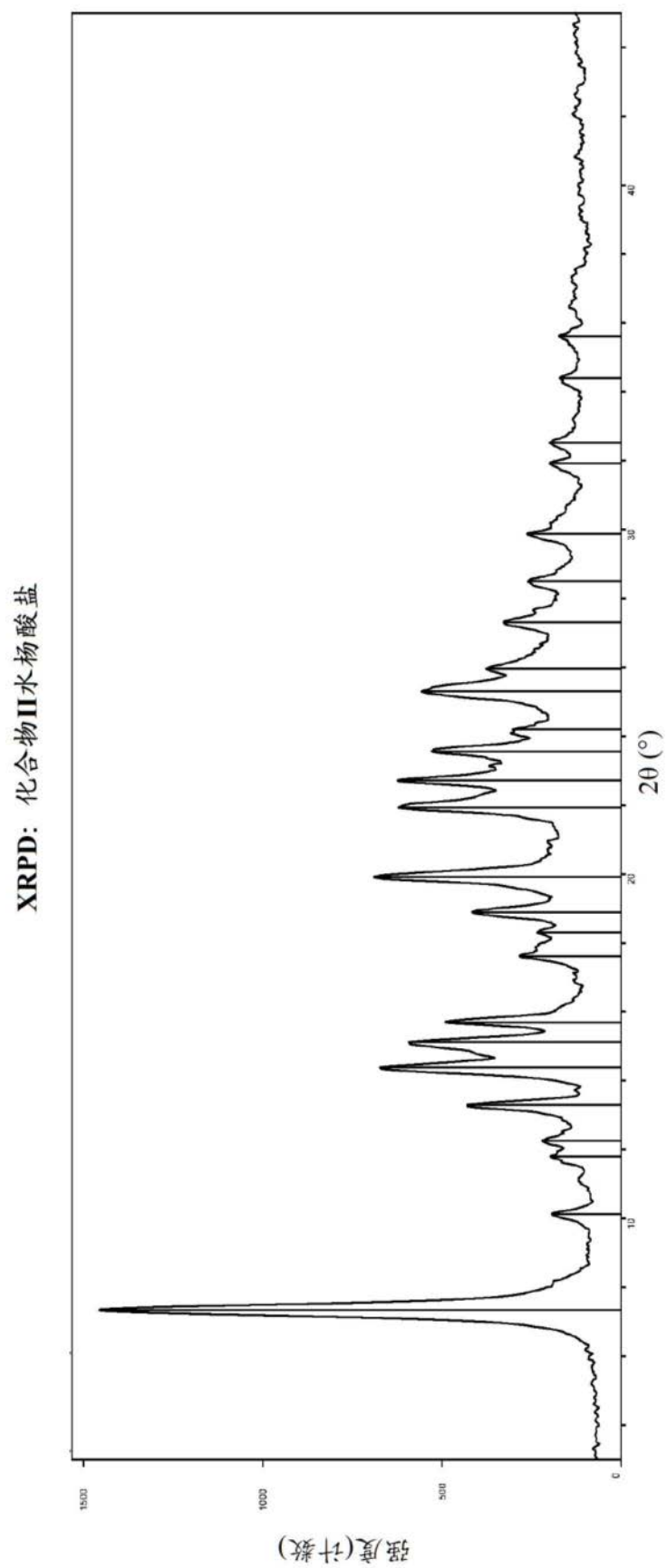


图16

DSC: 化合物II水杨酸盐

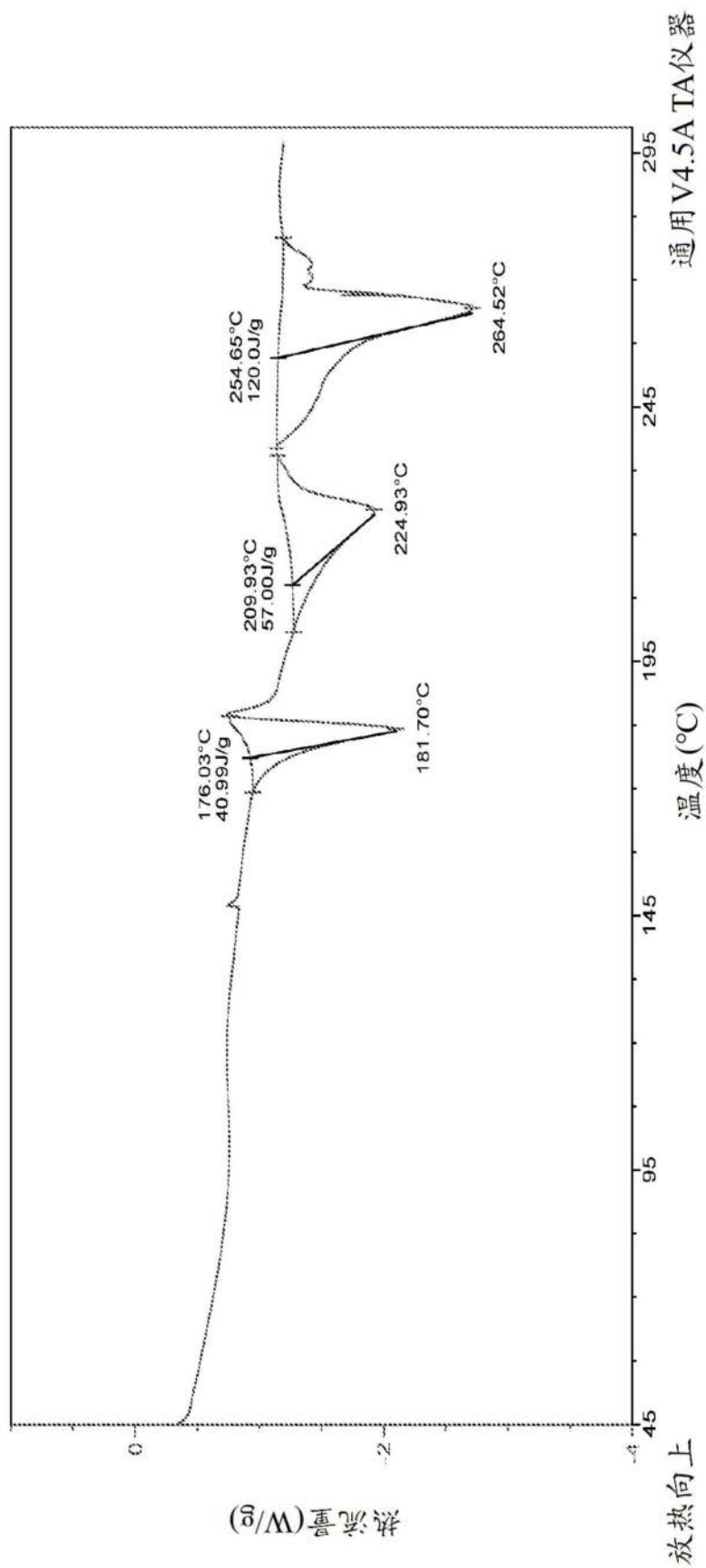


图17

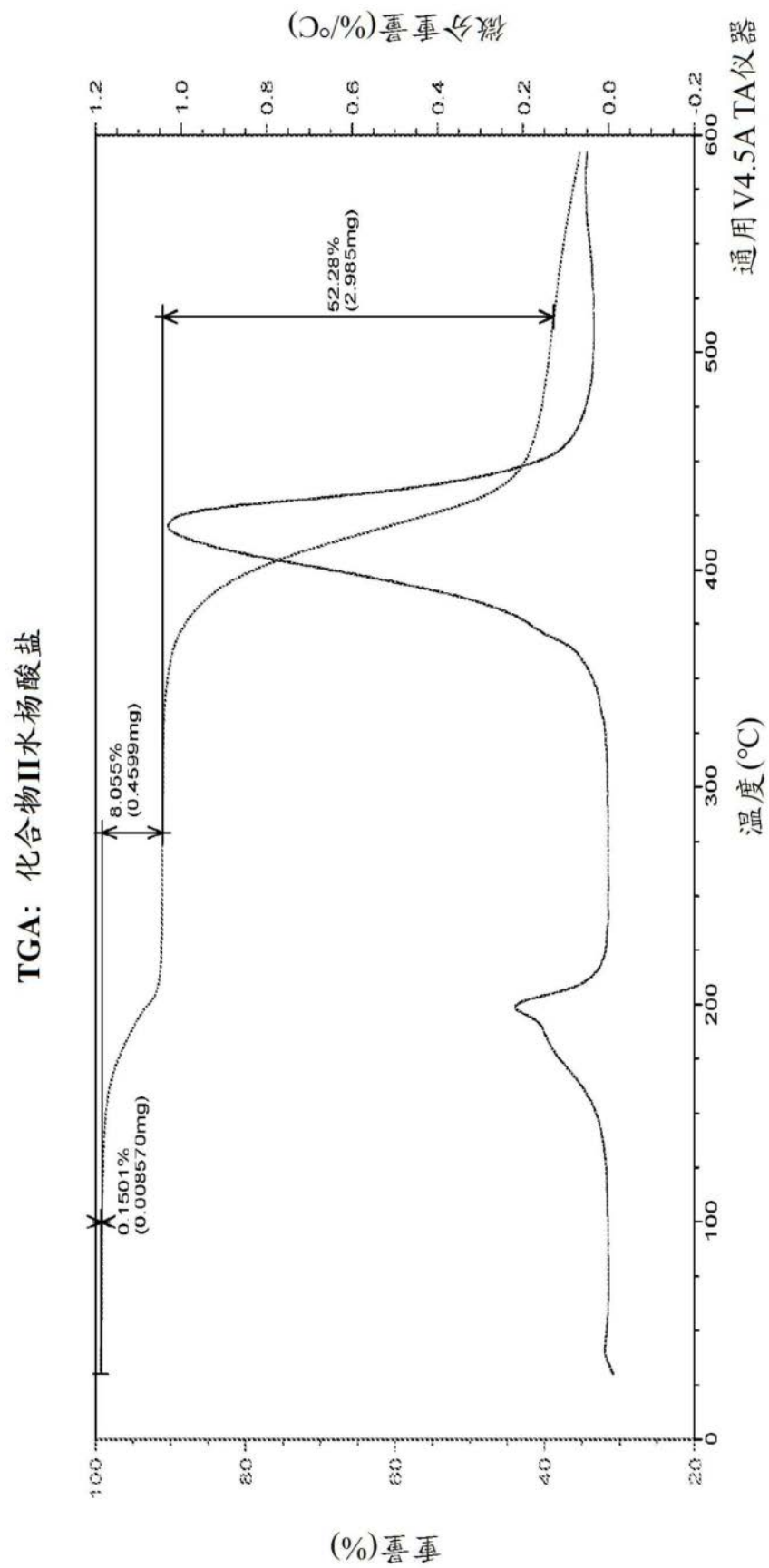


图18

XRPD: 化合物II甲磺酸盐

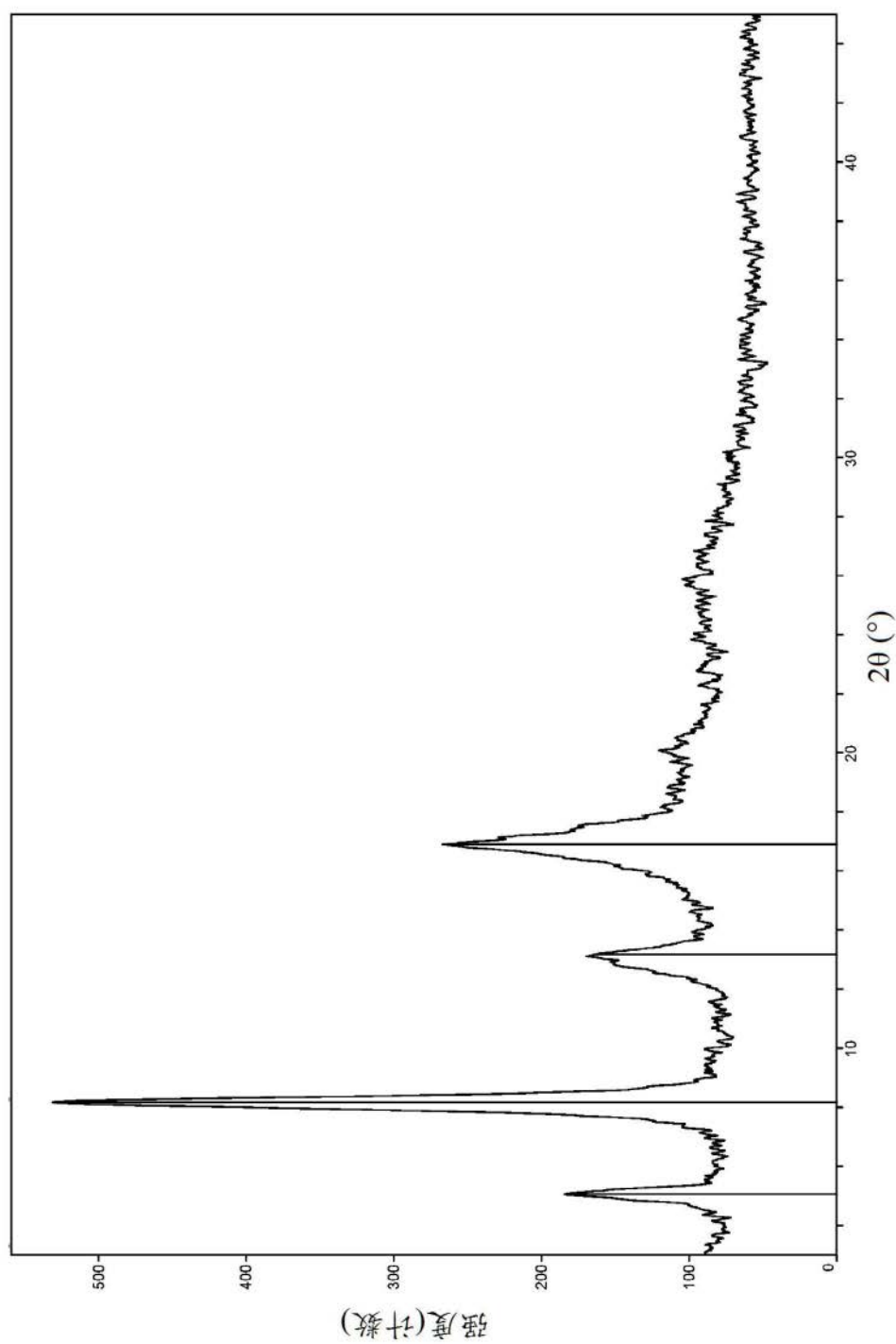


图19

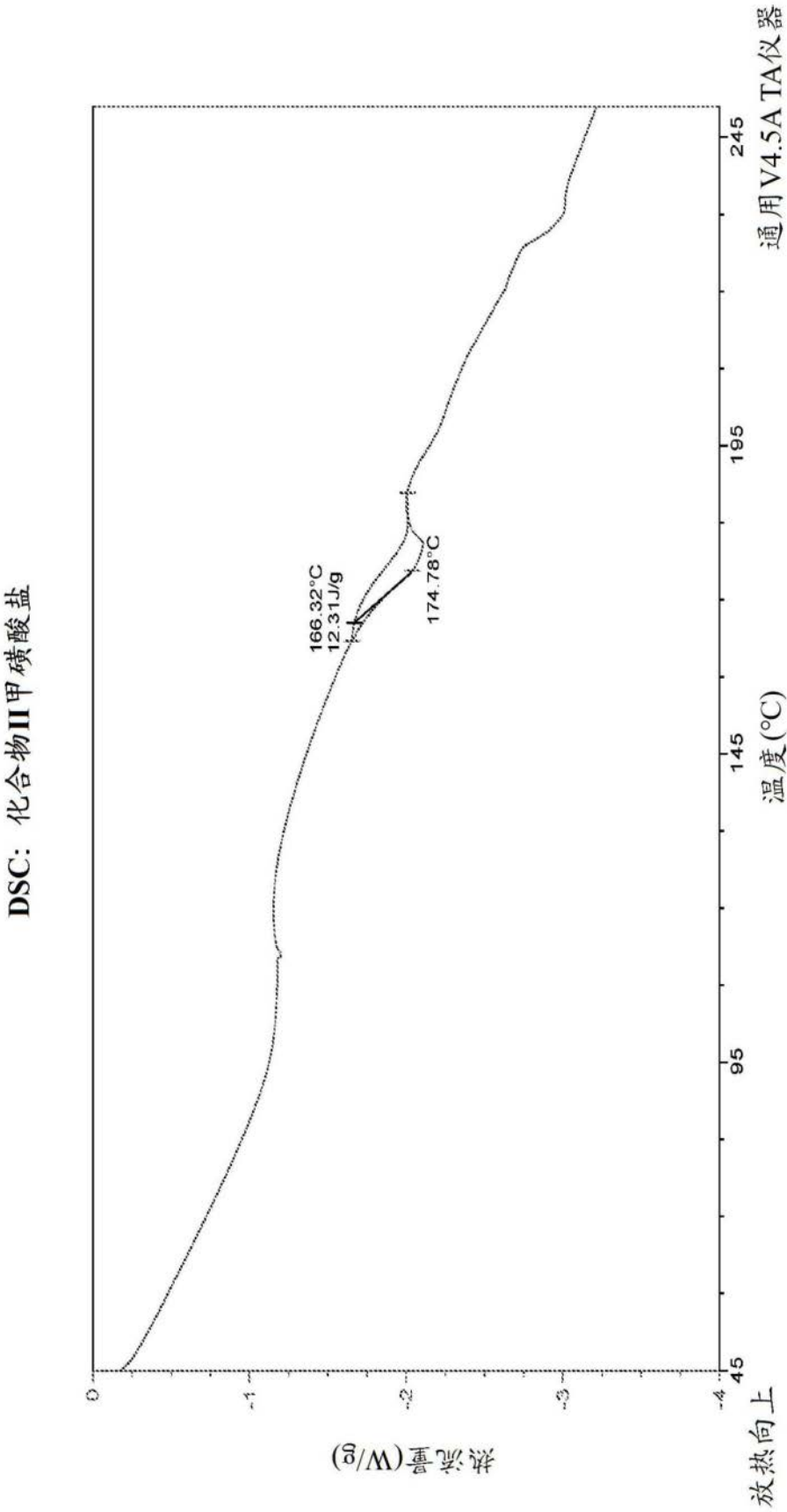


图20

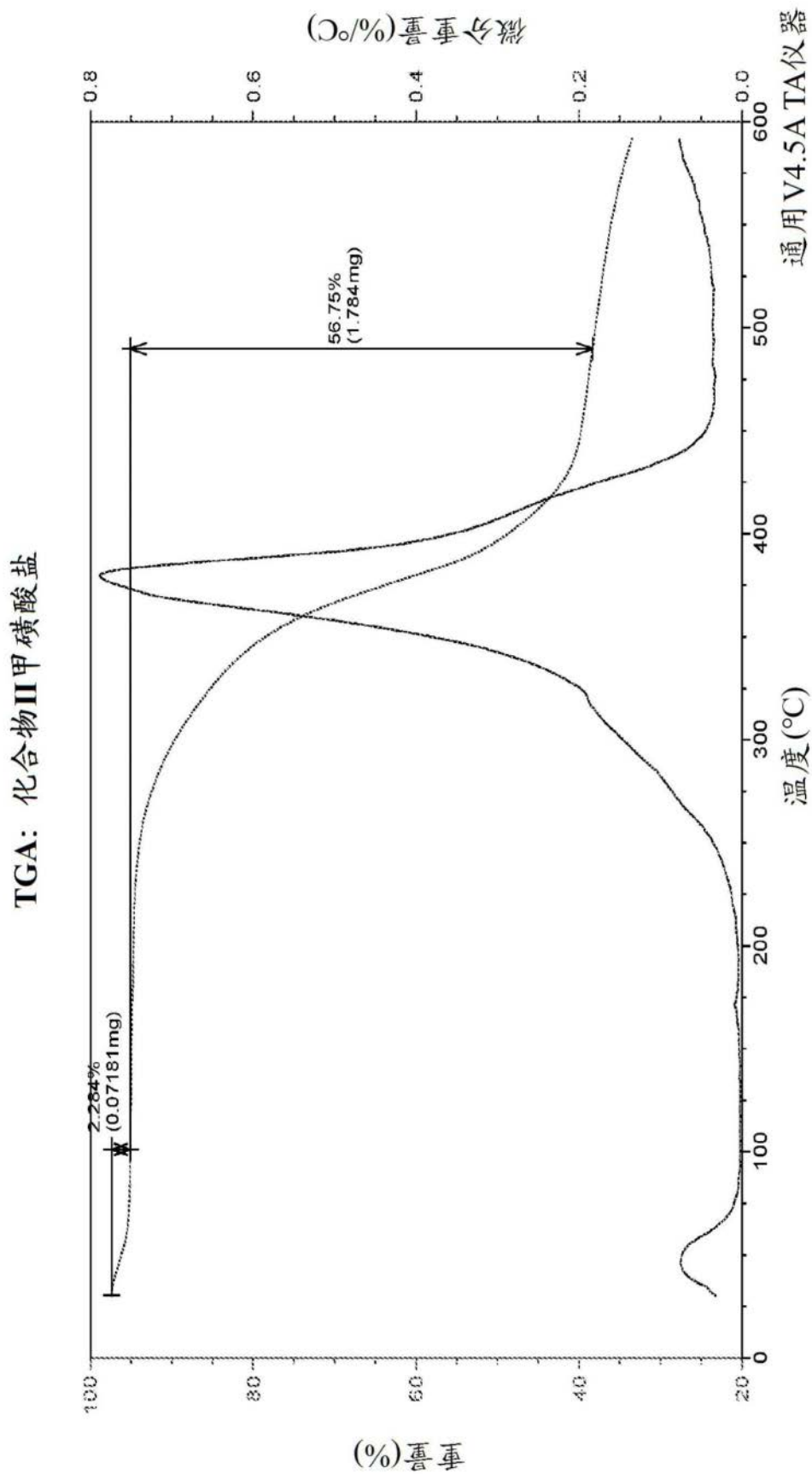


图21

XRPD: 化合物II乙磺酸盐

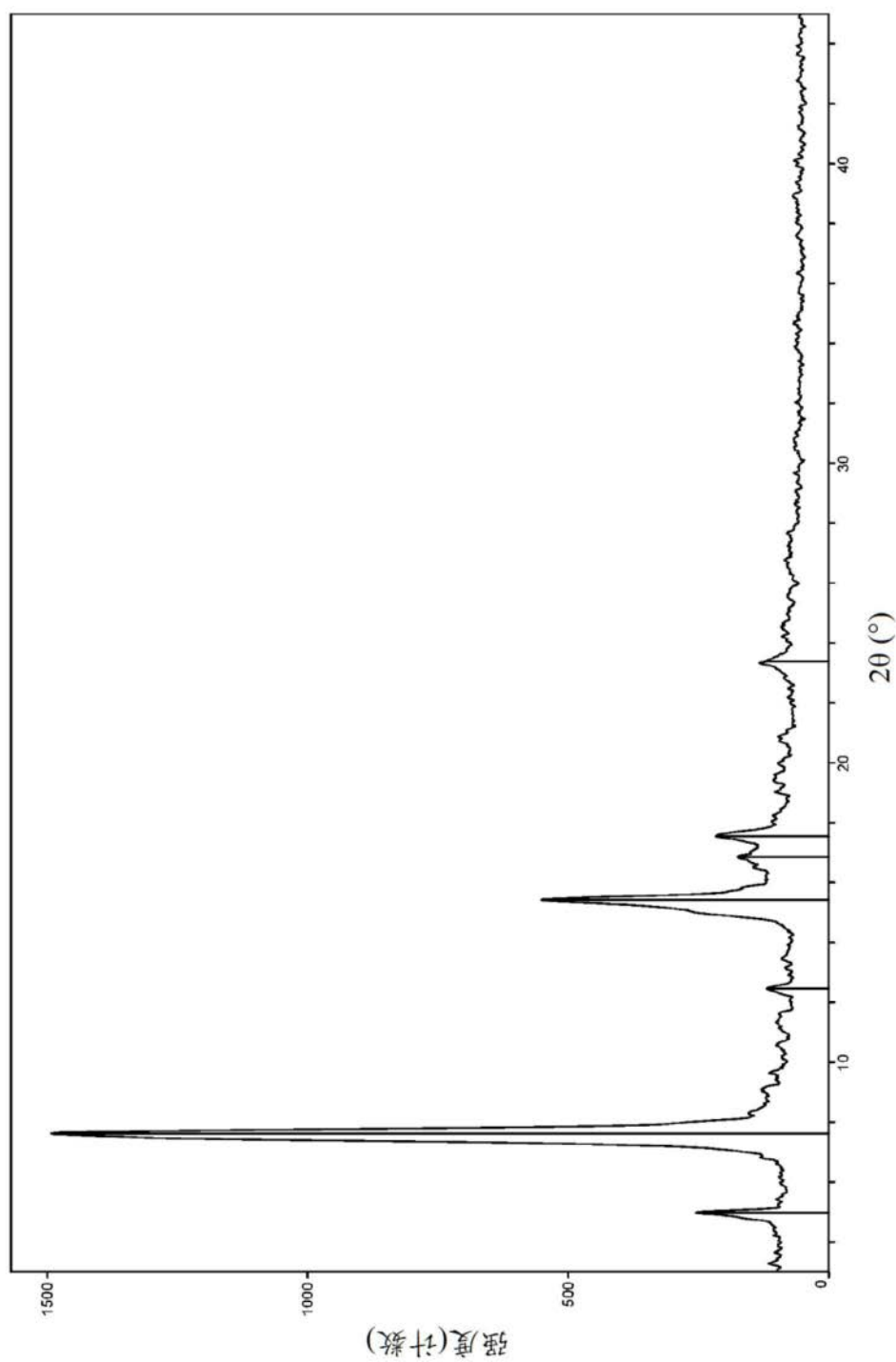


图22

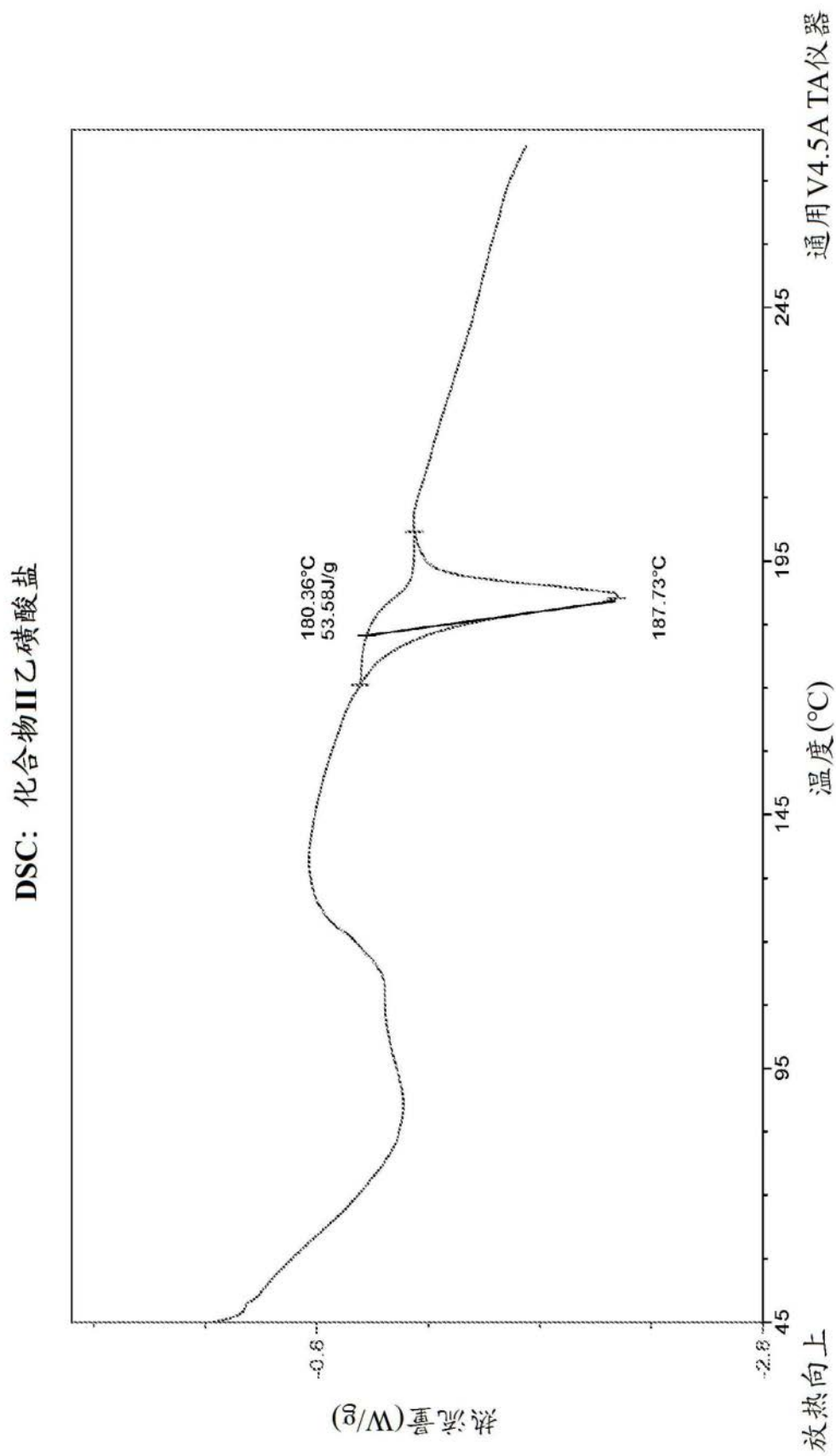


图23

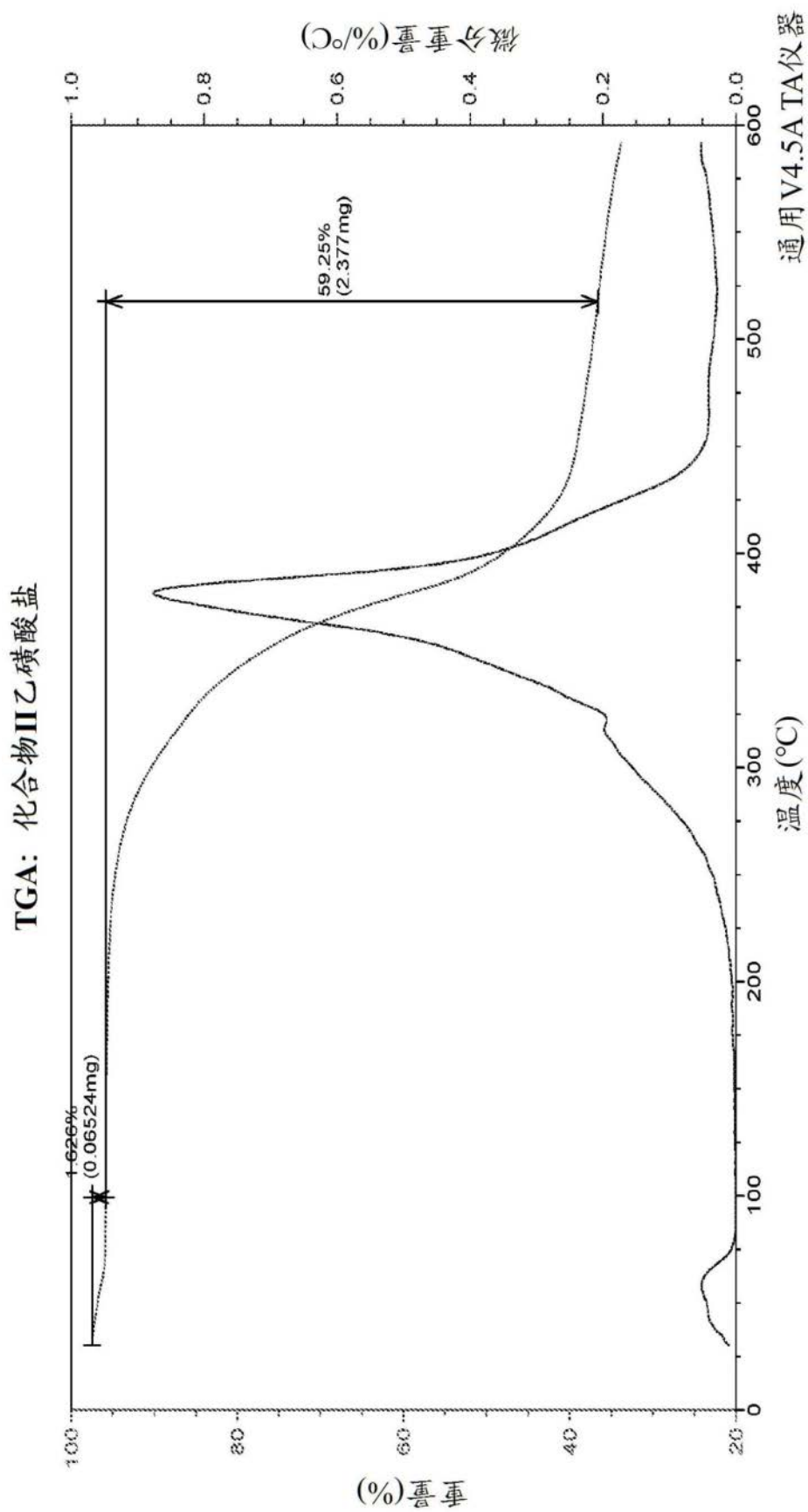


图24

XRPD: 化合物I马来酸盐, 形式II

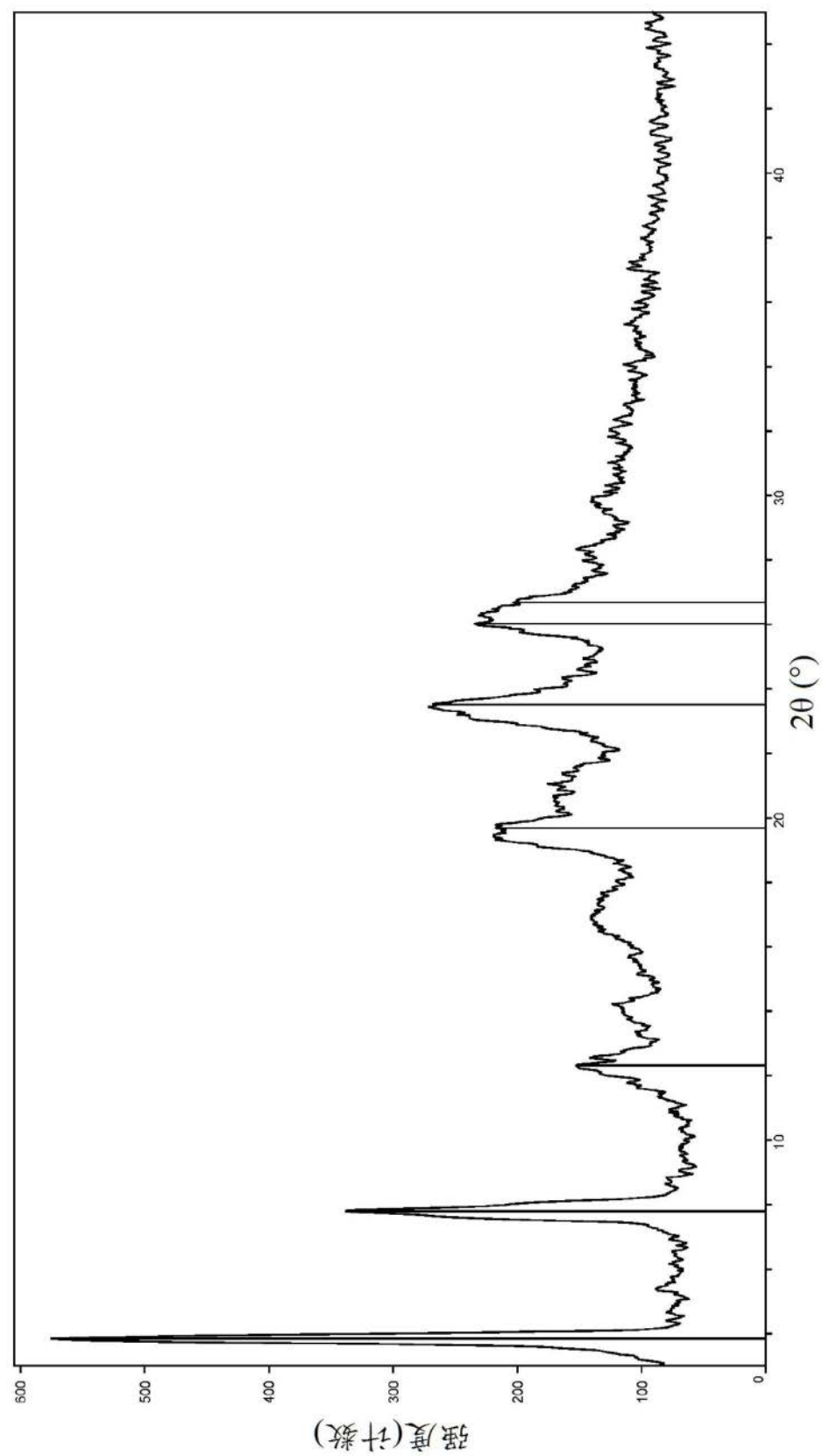


图25

XRPD: 化合物I马来酸盐, 形式III

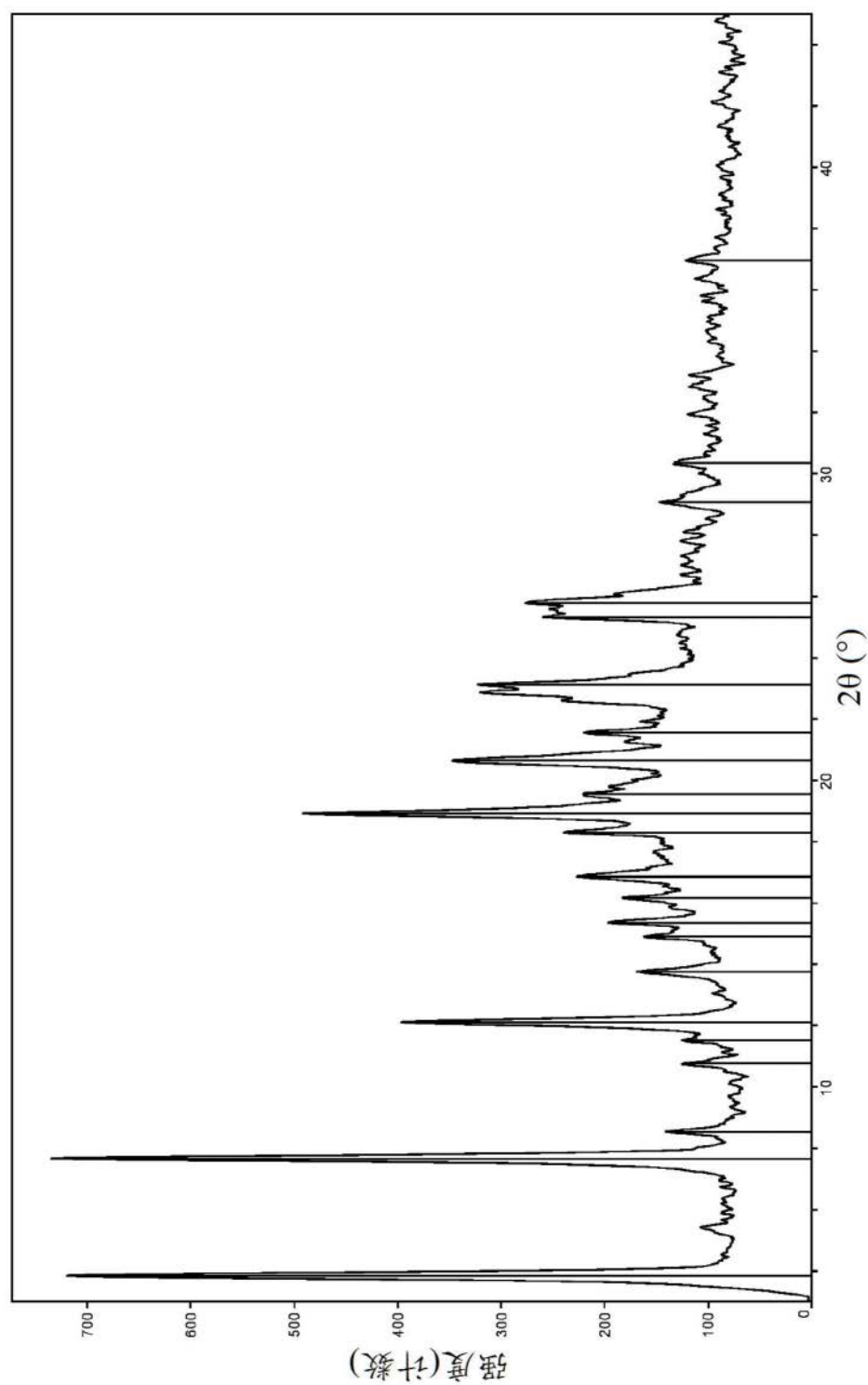


图26

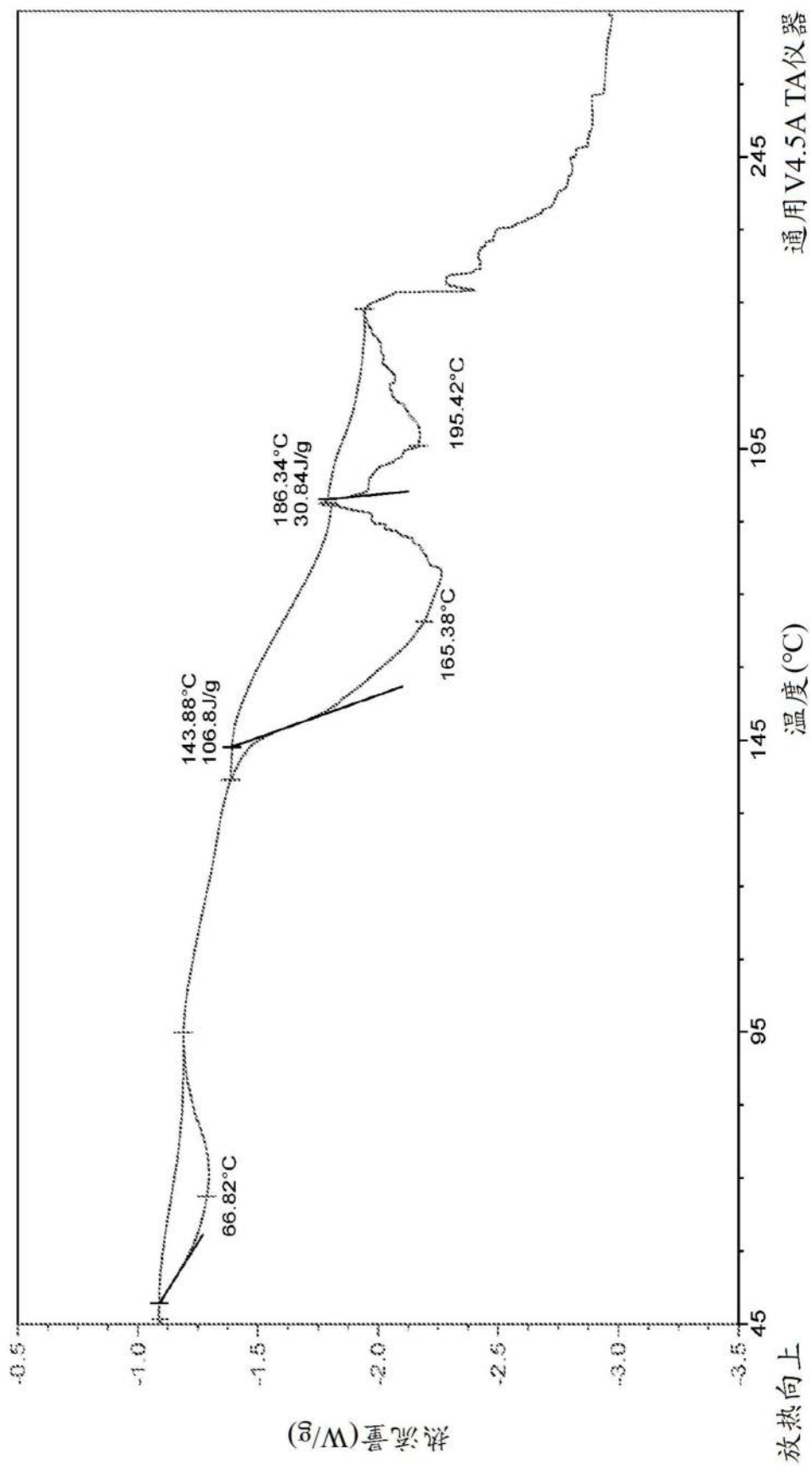
DSC: 化合物I马来酸盐, 形式III

图27

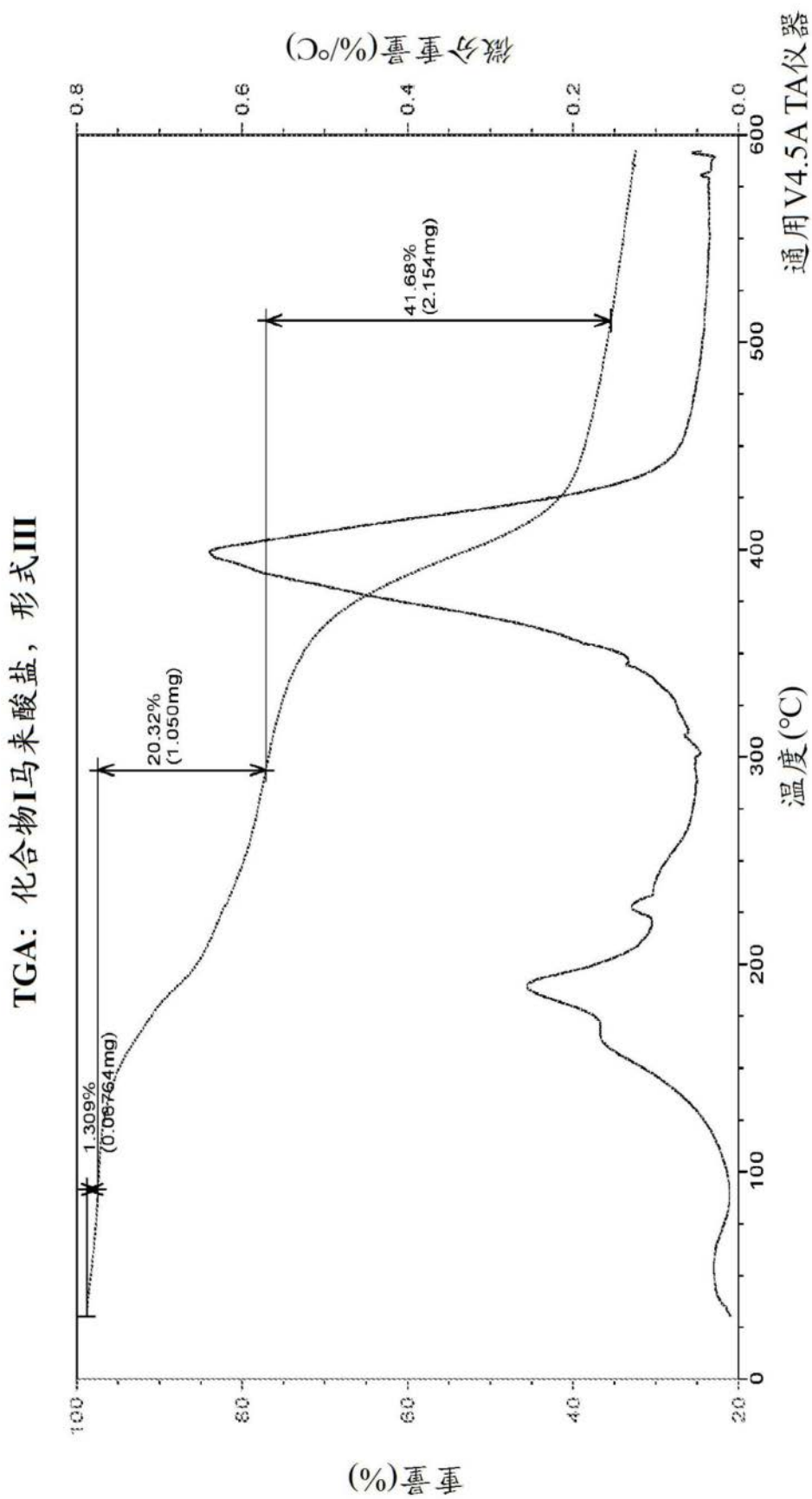


图28

XRPD: 化合物I马来酸盐, 形式IV

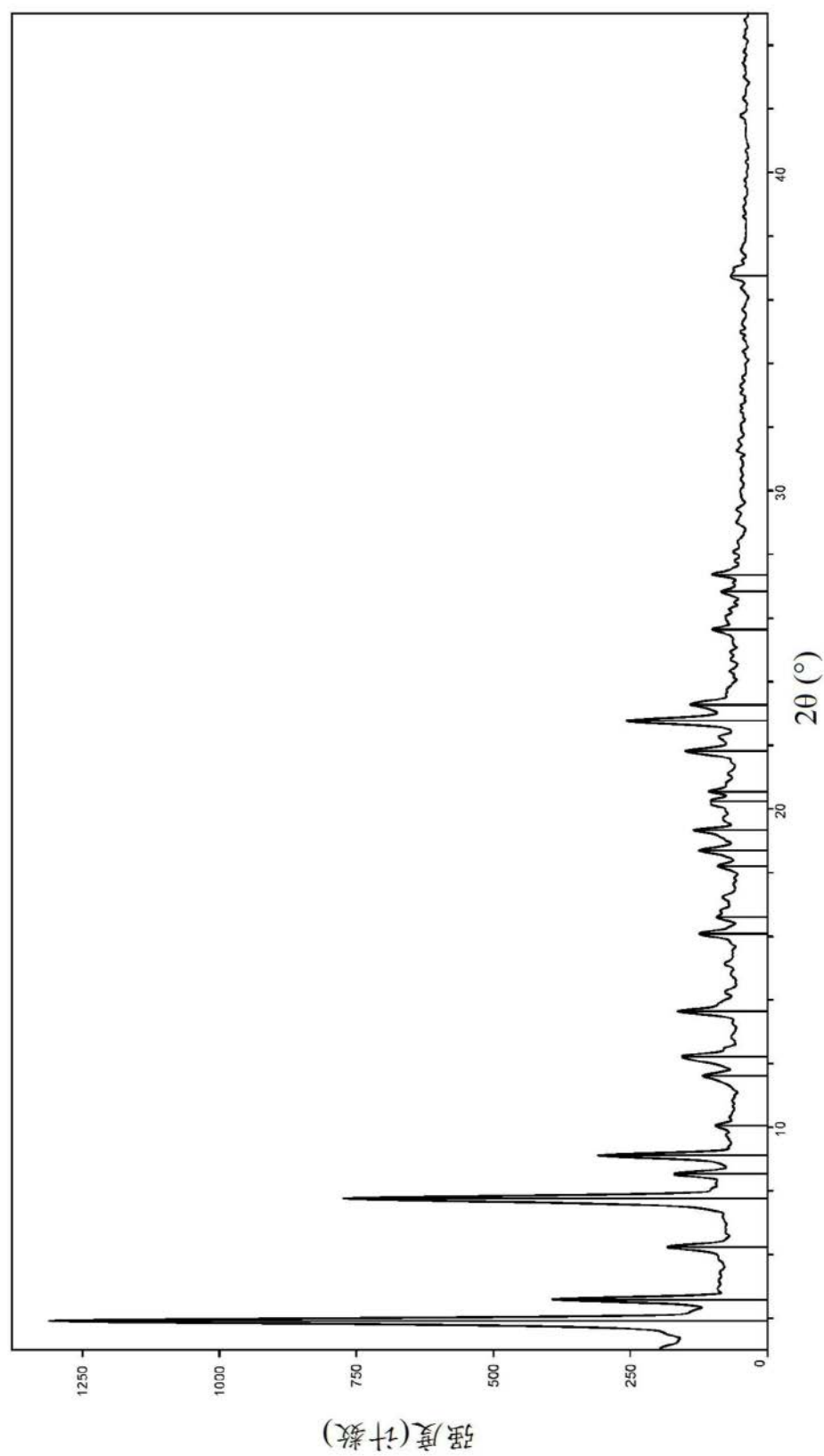


图29

DSC: 化合物I马来酸盐, 形式IV

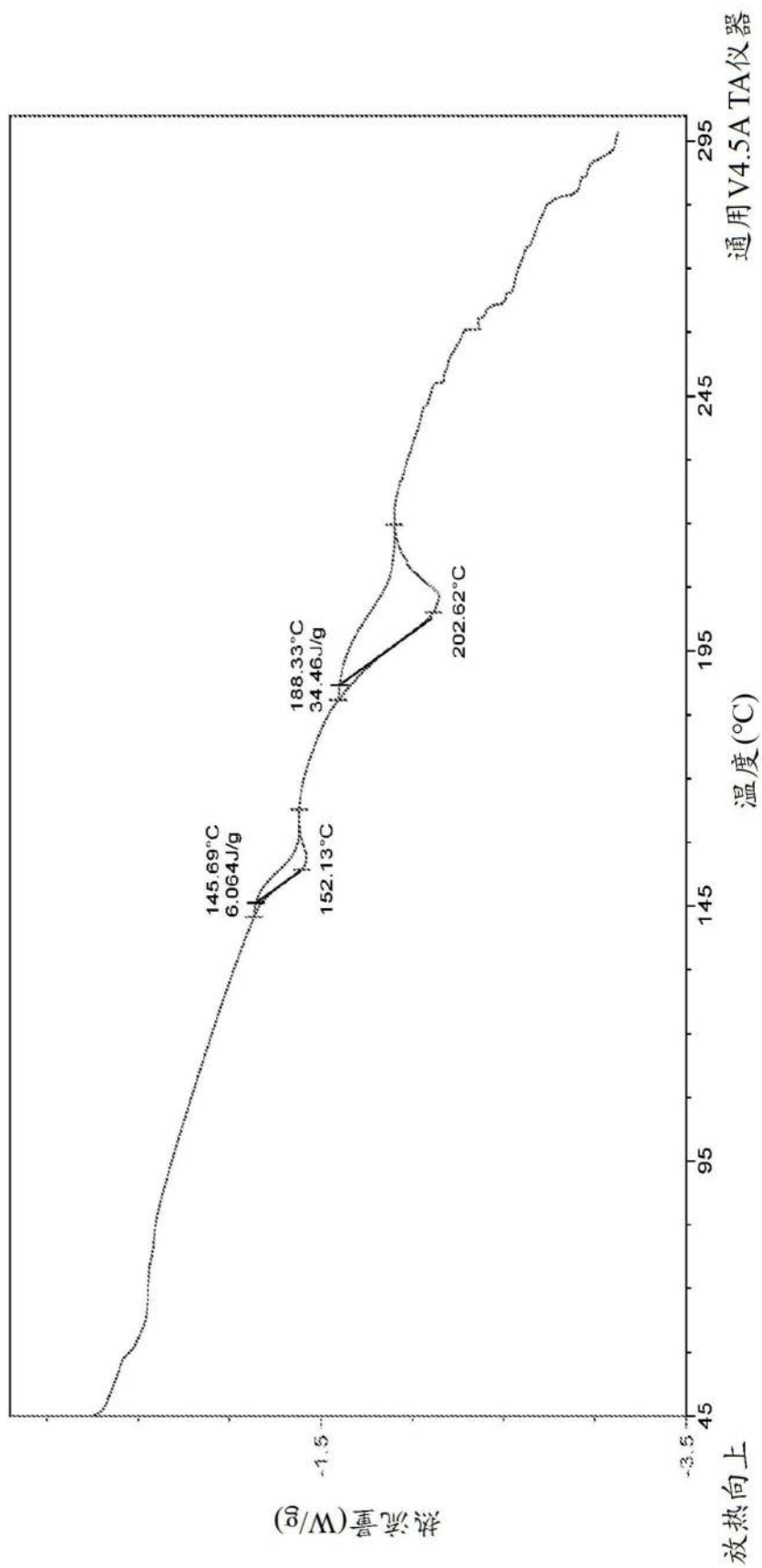


图30

TGA: 化合物I马来酸盐, 形式IV

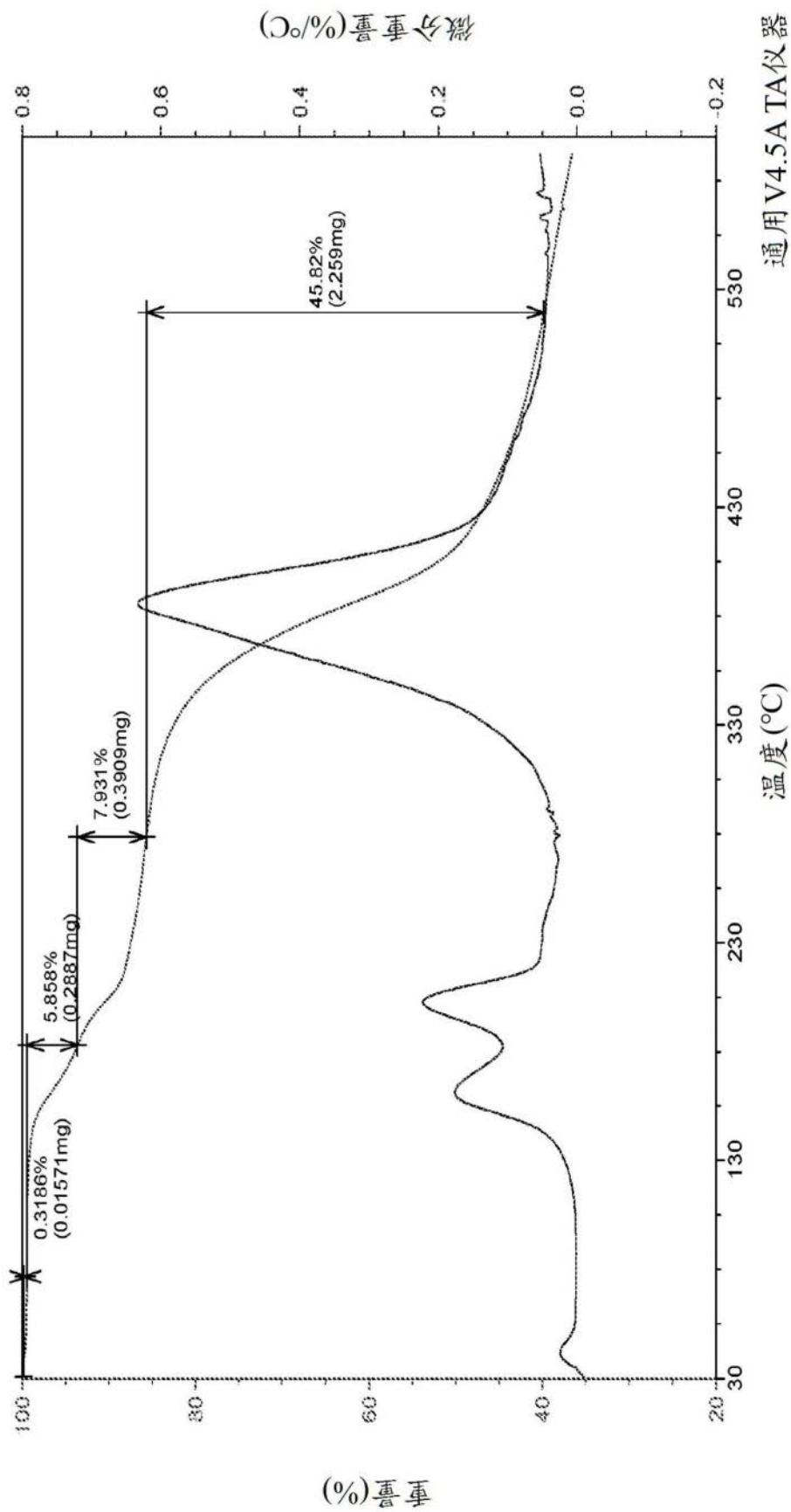


图31

XRPD: 化合物I马来酸盐, 形式V

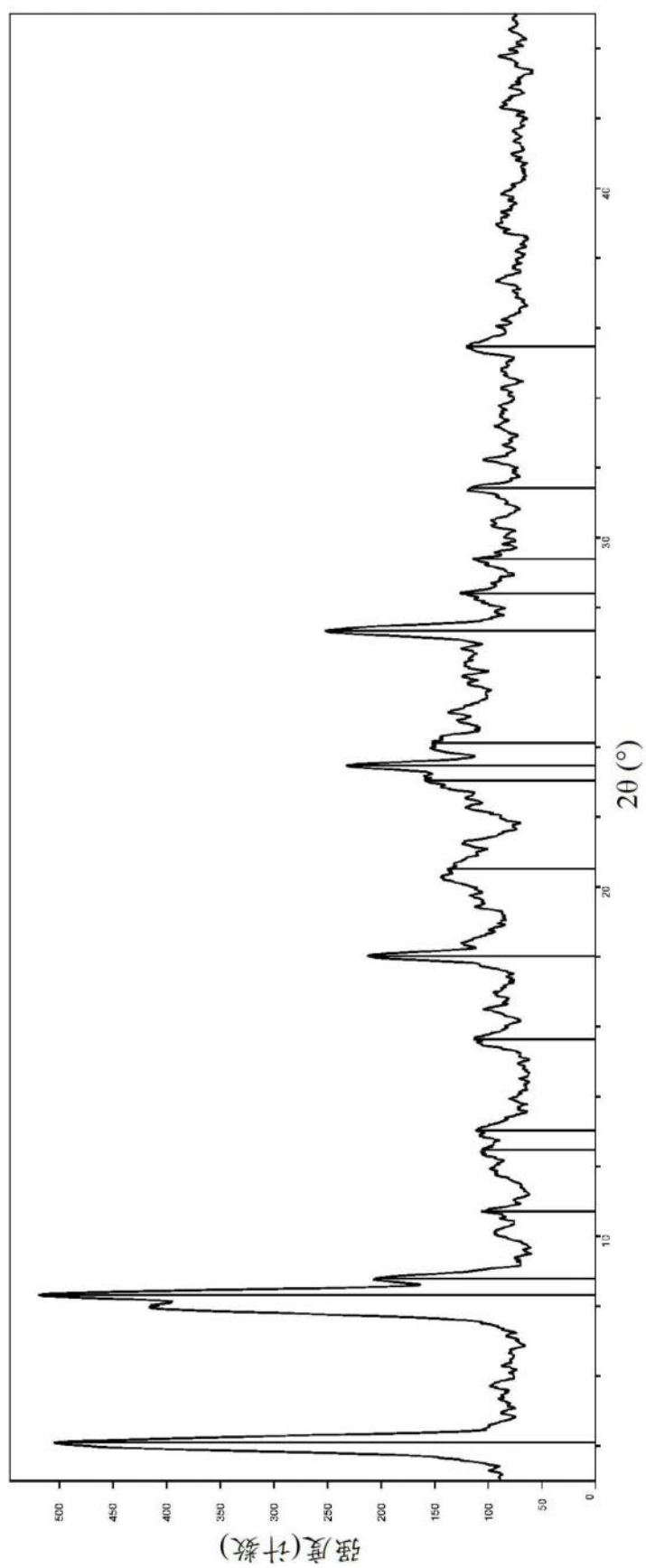


图32

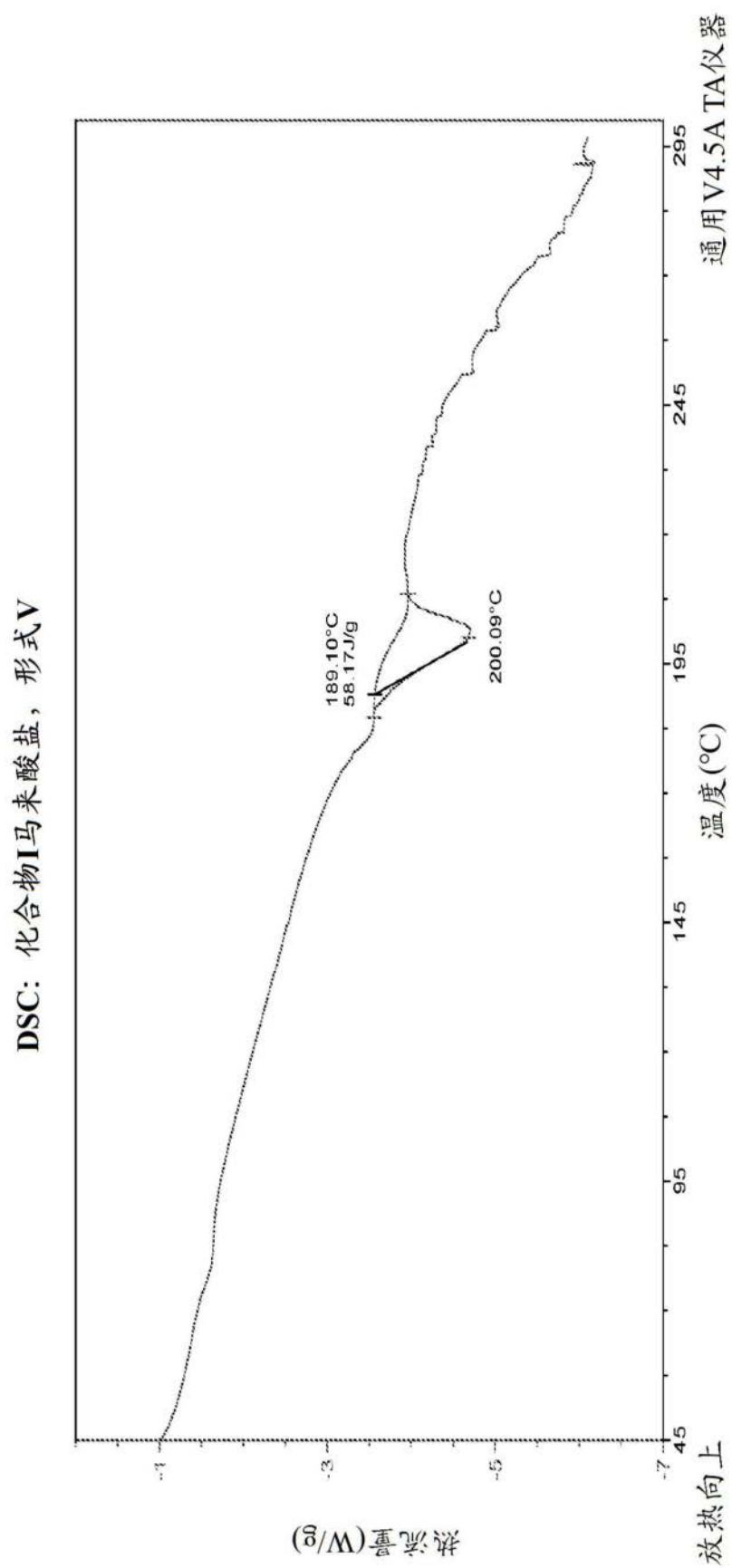


图33

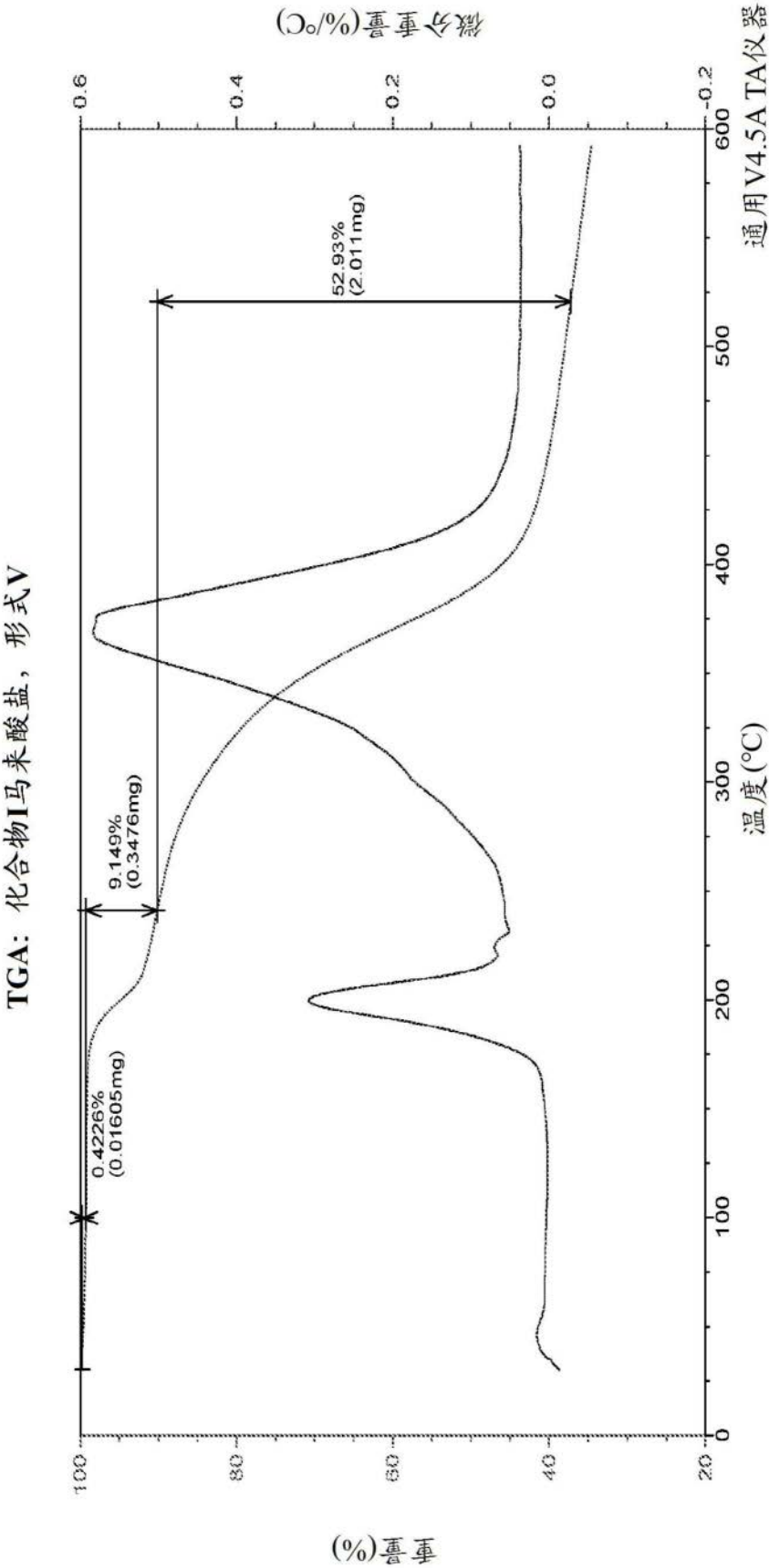


图34