

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480012626.9

[51] Int. Cl.

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61P 11/06 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

[43] 公开日 2006 年 6 月 7 日

[11] 公开号 CN 1784403A

[22] 申请日 2004.5.6

[21] 申请号 200480012626.9

[30] 优先权

[32] 2003.5.9 [33] SE [31] 0301372-9

[86] 国际申请 PCT/SE2004/000696 2004.5.6

[87] 国际公布 WO2004/099205 英 2004.11.18

[85] 进入国家阶段日期 2005.11.9

[71] 申请人 阿斯利康(瑞典)有限公司

地址 瑞典南泰利耶

[72] 发明人 劳伦特·戴维 彼得·汉森

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 张平元 赵仁临

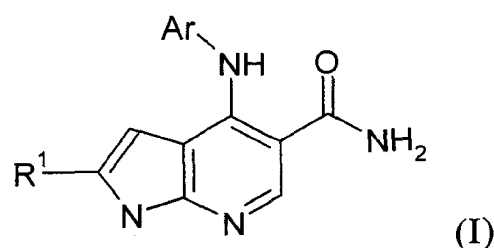
权利要求书 3 页 说明书 26 页

[54] 发明名称

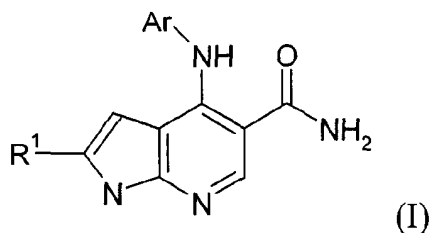
作为激酶抑制剂的吡啶啉化合物

[57] 摘要

本发明涉及激酶抑制剂的新的吡啶啉类化合物、制备它们的中间体的方法和含有它们的药物组合物。



1. 式(I)的化合物及其药学上可接受的盐:



5 其中:

Ar 是苯基、 $\text{CH}_2\text{-R}^2$ 、 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{OC}_{1-6}$ 烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_8$ 烷基- $\text{NR}^3\text{-R}^4$, 其中所述苯基可任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氰基、 $\text{C}_1\text{-C}_8$ 烷基(其本身任选地被一个或多个羟基或氰基或氟原子取代)的基团所取代;

R^2 是含有 1 或 2 个选自氮、氧和硫的杂原子的 5-7 员饱和环, 芳基或
10 含有 1-3 个选自氮、氧和硫的杂原子的 5-至 7-员杂芳基, 每个 R^2 可任选被一个或多个选自羟基或羟甲基的取代基所取代;

R^3 是氢或 C_{1-6} 烷基并且 R^4 是任选被一个或多个选自羟基或苯基的基团所取代的 C_{1-6} 烷基;

n 是 1-4;

15 R^1 是氢或任选被卤素、 $\text{C}_1\text{-C}_8$ 烷氧基、 $\text{C}_1\text{-C}_8$ 硫代烷基或 $\text{C}_1\text{-C}_8$ 烷基取代的苯基。

2. 根据权利要求 1 的化合物, 其中 R^1 是氢或任选被卤素、特别是氟或溴取代的苯基。

3. 根据权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 Ar 是苯基或基团 CH_2R^2 , 其中
20 R^2 是吡咯烷、吗啉或咪唑, 每个 R^2 如权利要求 1 所定义的任选被取代。

4. 根据权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 Ar 是基团 CH_2R^2 , 其中 R^2 是任选被羟基或羟甲基所取代吡咯烷、吗啉或咪唑, $\text{CH}_2\text{NR}^3\text{-R}^4$, 其中 R^3 是氢或甲基, 并且 R^4 是 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2(\text{苯基})\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OH})\text{苯基}$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$ 或 $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{OH}$ 或者 Ar
25 是任选被一个或多个乙基或羟甲基取代的苯基。

5. 根据权利要求 1-3 中任一项的化合物, 其中 Ar 基团被 $\text{C}_1\text{-C}_8$ 烷基取代并且该 $\text{C}_1\text{-C}_8$ 烷基被羟基更优选被羟甲基取代。

6. 根据权利要求 1 的化合物, 其为:

- 4-(2-乙基-苯基氨基)-2-(4-氟苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 4-(2-乙基-3-羟基甲基-苯基氨基)-2-(4-氟苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 4-{2-乙基-3-[(2-羟基-乙基氨基)-甲基]-苯基氨基}-2-(4-氟-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 5 4-(2-乙基-3-[(2-羟基-乙基)-甲基-氨基]-甲基}-苯基氨基)-2-(4-氟-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 4-{2-乙基-3-[(2-羟基-1-甲基-乙基氨基)-甲基]-苯基氨基}-2-(4-氟-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 10 4-{2-乙基-3-[(S)-(2-羟基-1-苯基-乙基氨基)-甲基]-苯基氨基}-2-(4-氟-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 4-{2-乙基-3-[(2-羟基-2-苯基-乙基氨基)-甲基]-苯基氨基}-2-(4-氟-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 4-(2-乙基-3-吗啉-4-基甲基-苯基氨基)-2-(4-氟-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 15 4-[2-乙基-3-(3-羟基-吡咯烷-1-基甲基)-苯基氨基]-2-(4-氟-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 4-[2-乙基-3-((R)-2-羟基甲基-吡咯烷-1-基甲基)-苯基氨基]-2-(4-氟-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 20 4-{3-[(2,3-二羟基-丙基氨基)-甲基]-2-乙基-苯基氨基}-2-(4-氟-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 4-(2-乙基-3-咪唑-1-基甲基-苯基氨基)-2-(4-氟-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 4-[3-(2-乙氧基-乙氧基甲基)-2-乙基-苯基氨基]-2-(4-氟-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 25 2-(4-溴-苯基)-4-(2-乙基-苯基氨基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 4-(2-乙基-苯基氨基)-2-苯基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 4-(2-乙基-3-羟基甲基-苯基氨基)-2-苯基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
- 30 2-(4-氟-苯基)-4-(2-乙基-3-羟基甲基-苯基氨基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺

2-(4-氯-苯基)-4-(2-乙基-3-咪唑-1-基甲基-苯基氨基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺

4-(2-乙基-苯基氨基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺
或其药学上可接受的盐。

5 7. 用于治疗的方法根据权利要求 1-6 中任一项定义的式(I)化合物。

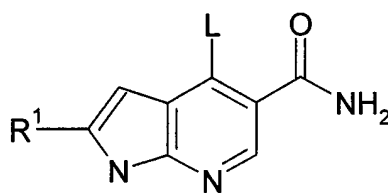
8. 药物组合物, 其含有式(I)化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体。

9. 治疗 JAK3 介导的疾病或病症的方法, 该方法包括对需要该治疗的患者给药权利要求 1-6 中定义的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

10 10. 根据权利要求 9 的方法, 其中该疾病或病症是哮喘、宿主抗移植物排斥/移植或类风湿性关节炎。

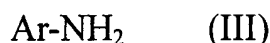
11. 制备式(I)化合物的方法, 该方法包括:

式(II)化合物:



(II)

其中 R¹ 如式(I)中所定义或是其被保护的衍生物且 L 是离去基团, 与式(III)化合物反应:



其中 Ar 如式(I)中所定义或是其被保护的衍生物,

并此后任选地:

- 除去任何保护基
- 使式(I)化合物转化为另一种式(I)化合物
- 形成药学上可接受的盐。

作为激酶抑制剂的吡啶啉化合物

5 本发明涉及新的吡啶啉类化合物，它们是 JAK3 激酶抑制剂、它们的制备方法、中间体和含有它们的药物组合物。

Janus 激酶 3(JAK3)是蛋白激酶的 Janus 家族的一员。尽管该家族的其他成员基本上通过所有组织表达，但 JAK3 的表达局限在造血细胞内。这与其经过 IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-13 和 IL-15 的受体通过非共价缔合 JAK3
10 和这些多链受体所共有的 γ 链发信号的本质作用相吻合。这些细胞因子均具有共同的功能，其中它们参与淋巴细胞的分化和增殖。XSCID 患者群体已被鉴定出 JAK3 蛋白质的水平严重降低或者存在共有 γ 链的遗传缺陷，这表明免疫抑制作用应当是由阻断经过 JAK3 途径的信号作用所引起的。动物研究已表明 JAK3 不但在 B-和 T-淋巴细胞成熟中起关键作用，而且为了维持 T
15 - 细胞功能基本上需要 JAK3。利用这种新机理进行的免疫活性的调节可以表明适合于治疗 T-细胞增殖性障碍，例如移植排斥和自身免疫性疾病。

JAK3 在肥大细胞中的作用已经在剔除小鼠中加以说明。因此，IgE/抗原诱导的脱粒和介质释放在由 JAK3 缺乏小鼠产生的肥大细胞中大量减少。JAK3 缺乏不影响肥大细胞体外增殖，而且还显示 IgE 受体水平和介质含量
20 与 JAK3^{-/-}和 JAK3^{+/+}肥大细胞中的相同。所以，JAK3 似乎是 IgE 刺激的肥大细胞的完全响应所必需的。肥大细胞活化中的 JAK3 作用已在鼠科体系中充分建立，然而，至今未公开过在 AR-SCID 患者中有关肥大细胞功能的数据。靶向 JAK3 为肥大细胞介导的变应性反应的新的和有效的治疗提供了基础。

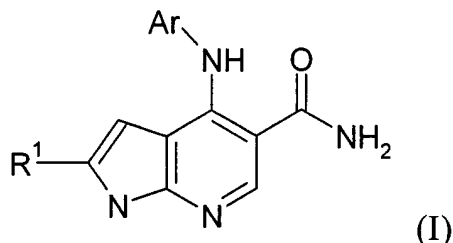
25 迄今为止已经公开了数种 JAK3 抑制剂，在它们之中有喹啉类(Sudbeck, E. A.等 Clinical Cancer Res. 5(1999)1569-82, WO 00/0202)和吡咯并[2,3-d]嘧啶类(Blumenkopf, T. A.等 WO 99/65909)。

在本申请的化合物中，4-苯胺喹啉-3-甲酰胺类化合物，被主张是 JAK3 抑制剂。结构上相关的化合物先前已被描述为激酶抑制剂，例如 WO
30 00/18761 和 WO 98/43960 公开了取代的喹啉-3-腈衍生物。在最新的文献中(Boschelli, D.H.等 J. Med. Chem. 44(2001)822-33)本发明的一种化合物已经

被证实对于蛋白酪氨酸激酶 Src 的活性没有任何抑制性能。上述任何文献例中均没有提及过 JAK3。

WO 02/092571 公开了用于治疗 JAK3 介导的疾病的一系列喹啉衍生物。

- 5 这需要具有上述活性的其它化合物，并且所以本发明提供了式(I)的化合物及其药学上可接受的盐：



其中：

- 10 R^1 是氢或任选被卤素、 C_1 - C_8 烷氧基、 C_1 - C_8 硫代烷基(thioalkyl)或 C_1 - C_8 烷基取代的苯基；

Ar 是可任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氰基、 C_1 - C_8 烷基(其本身任选地被一个或多个羟基或氰基或氟原子取代)的基团所取代的苯基；
 CH_2-R^2 、 $CH_2O(CH_2)_nOC_{1-6}$ 烷基、 C_1 - C_8 烷基- NR^3-R^4 ；

- 15 R^2 是含有 1 或 2 个选自氮、氧和硫的杂原子的 5-7 员饱和环，芳基或含有 1-3 个选自氮、氧和硫的杂原子的 5-至 7-员杂芳基，每个 R^2 可任选被一个或多个选自羟基或羟甲基的取代基所取代；

R^3 是氢或 C_{1-6} 烷基并且 R^4 是任选被一个或多个选自羟基或苯基的基团所取代的 C_{1-6} 烷基；

n 是 1-4。

- 20 单独或者作为另一基团如烷氧基的一部分的术语“烷基”，是指任何直链或支链烷基。术语芳基包括苯基和萘基。本发明的化合物包括所有立体异构体、纯的和混和的外消旋体，和它们的混和物。式(I)化合物的互变异构体还构成本发明的一个方面。

优选 R^1 是氢或任选被卤素特别是氟或溴取代的苯基。

- 25 当 R^2 是 5 至 7 员含有 1 或 2 个选自氮、氧和硫的杂原子的饱和环时，适当的实例包括吗啉、硫代吗啉、氮杂环丁烷、咪唑烷、吡咯烷、哌啶和哌嗪。

当 R^2 是含有 1-3 个选自氮、氧和硫的杂原子的 5-至 7-员杂芳基时，

其实例包括噻吩基、呋喃基、吡咯基、咪唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、三嗪基、噁唑基、噻唑基、异噁唑基、吡唑基、噁二唑基、噻二唑基、三唑基、咪唑基和四唑基。

5 优选 Ar 是基团 CH_2R^2 , 其中 R^2 是吡咯烷、吗啉或咪唑, 每个 R^2 任选被羟基或羟甲基所取代, 或 Ar 是基团 $\text{CH}_2\text{NR}^3\text{-R}^4$, 其中 R^3 是氢或甲基并且 R^4 是 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2(\text{苯基})\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OH})\text{苯基}$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$ 或 $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{OH}$ 。

或者 Ar 是任选被一个或多个乙基或羟甲基取代的苯基。

10 取代基可以存在于 Ar 基团的适当位置上。可以存在一个以上的取代基, 并且这些取代基可以相同或不同。优选存在一个或两个取代基。

尤其优选本发明的化合物包括本文例举的那些化合物, 它们可以是游离碱形式或作为药学上可接受的盐。

因此本发明提供选自下列的式(I)化合物:

4-(2-乙基-苯基氨基)-2-(4-氟苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

15 4-(2-乙基-3-羟基甲基-苯基氨基)-2-(4-氟苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

4-{2-乙基-3-[(2-羟基-乙基氨基)-甲基]-苯基氨基}-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

20 4-(2-乙基-3-[(2-羟基-乙基)-甲基-氨基]-甲基}-苯基氨基)-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

4-{2-乙基-3-[(2-羟基-1-甲基-乙基氨基)-甲基]-苯基氨基}-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

4-{2-乙基-3-[(*S*)-(2-羟基-1-苯基-乙基氨基)-甲基]-苯基氨基}-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

25 4-{2-乙基-3-[(2-羟基-2-苯基-乙基氨基)-甲基]-苯基氨基}-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

4-(2-乙基-3-吗啉-4-基甲基-苯基氨基)-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

30 4-[2-乙基-3-(3-羟基-吡咯烷-1-基甲基)-苯基氨基]-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

4-[2-乙基-3-((*R*)-2-羟基甲基-吡咯烷-1-基甲基)-苯基氨基]-2-(4-氟-苯

基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

4-{3-[(2,3-二羟基-丙基氨基)-甲基]-2-乙基-苯基氨基}-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

4-(2-乙基-3-咪唑-1-基甲基-苯基氨基)-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

4-[3-(2-乙氧基-乙氧基甲基)-2-乙基-苯基氨基]-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

2-(4-溴-苯基)-4-(2-乙基-苯基氨基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

4-(2-乙基-苯基氨基)-2-苯基-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

4-(2-乙基-3-羟基甲基-苯基氨基)-2-苯基-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

2-(4-氟-苯基)-4-(2-乙基-3-羟基甲基-苯基氨基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

2-(4-氟-苯基)-4-(2-乙基-3-咪唑-1-基甲基-苯基氨基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

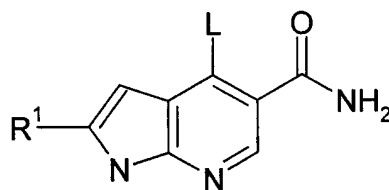
4-(2-乙基-苯基氨基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺,
及其药学上可接受的盐。

本发明的化合物可以形成药学上可接受的溶剂合物和盐。式(I)的化合物可以与酸形成酸加成盐,例如常规的药学上可接受的酸,例如马来酸、盐酸、氢溴酸、磷酸、乙酸、富马酸、水杨酸、柠檬酸、乳酸、扁桃酸、酒石酸、三氟乙酸和甲磺酸。

本发明还提供一种治疗或预防 JAK3 介导的疾病的方法,所述方法包括对哺乳动物给药上述定义的式(I)化合物。

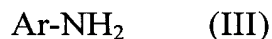
在另一方面本发明提供一种制备式(I)化合物的方法,所述方法包括:

式(II)化合物:



(II)

其中 R^1 如式(I)中所定义或是其被保护的衍生物且 L 是离去基团,
与式(III)化合物的反应:

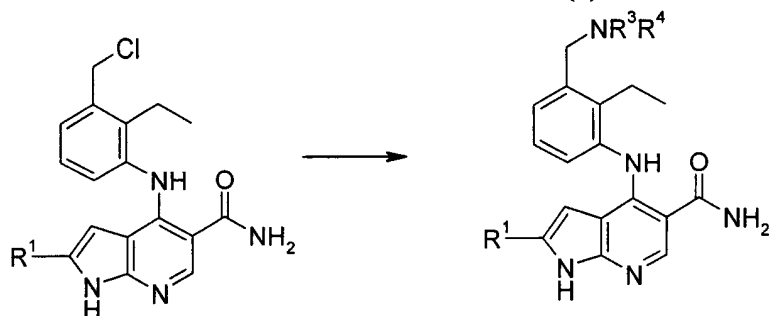


其中 Ar 如式(I)中所定义或是其被保护的衍生物,
并且随后任选地:

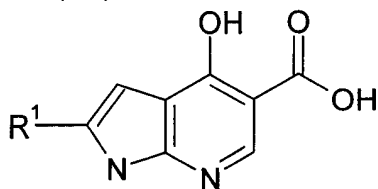
- 除去任何保护基
- 5 • 使式(I)化合物转化为另一种式(I)化合物
- 形成药学上可接受的盐。

在上述方法中基团 L 是离去基团例如卤素, 特别是氯。该反应可以在
惰性溶剂如 NMP 中, 在高温下例如约 160°C, 优选在密闭容器内进行。

- 10 利用标准化学可以将式(I)的化合物转化为其它的式(I)化合物。例如其
中 Ar 是被甲基取代的苯基的式(I)化合物可以用试剂例如亚硫酸氯氯化, 并
且所得化合物用适当的胺处理生成下式的另一种式(I)化合物:



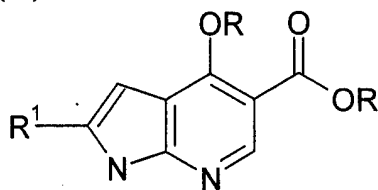
式(II)化合物可以通过使式(VI)化合物:



- 15 (VI)

其中 R¹ 如式(II)中所定义, 与氯化试剂如 POCl₃ 在密封容器中加热反应, 并
将所得的二氯化合物与氨水反应来制备。

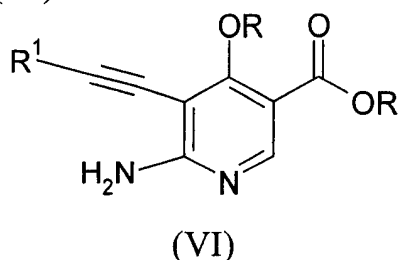
式(VI)化合物可以由式(V)化合物:



- 20 (V)

其中 R¹ 如式(II)中所定义并且 R 基团是 C₁₋₆ 烷基、优选甲基, 通过用氢溴酸
水溶液在高温下密闭容器中处理来制备。

式(V)化合物可以由式(VI)化合物:



其中 R^1 和 R 定义如上, 通过用强碱如 KH 或 KOBU^t 在适当溶剂如干燥的 NMPat 中、于环境温度或高温下处理来制备。

式(VI)化合物利用标准化学制备。

应理解, 某些官能团可以需要利用标准保护基加以保护。官能团的保护和脱保护例如, 公开在 ‘Protective Groups in Organic Chemistry’, J. W. F. McOmie 编辑, Plenum Press (1973), 和 ‘Protective Groups in Organic Synthesis’, 第 3 版, T. W. Greene & P. G. M. Wuts, Wiley-Interscience (1999)。

JAK3 介导的疾病包括炎症、免疫和支气管肺病。

本发明还涉及在哺乳动物 (包括人) 中用于(a)治疗或预防选自器官移植排斥、狼疮、多发性硬化症、类风湿性关节炎、牛皮癣、I 型糖尿病和得自糖尿病的并发症、癌症、哮喘、鼻炎、特应性皮炎、自身免疫性甲状腺障碍、溃疡性结肠炎、克隆(氏)病、阿耳茨海默氏病、白血病和其它自身免疫性疾病的疾病或病症或(b)抑制蛋白酪氨酸激酶或 Janus 激酶 3(JAK3)的药物组合物, 该组合物含有对所述疾病或病症有效的量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐, 以及药学上可接受的载体。

优选本发明的化合物用于治疗哮喘、类风湿性关节炎和宿主抗移植排斥/移植。

本发明还涉及在哺乳动物 (包括人) 中用于(a)治疗或预防选自器官移植排斥、狼疮、多发性硬化症、类风湿性关节炎、牛皮癣、I 型糖尿病和得自糖尿病的并发症、癌症、哮喘、鼻炎、特应性皮炎、自身免疫性甲状腺障碍、溃疡性结肠炎、克隆(氏)病、阿耳茨海默氏病、白血病和其它自身免疫性疾病的疾病或病症或(b)抑制蛋白酪氨酸激酶或 Janus 激酶 3(JAK3)的药物组合物, 该组合物含有对所述疾病或病症有效量的单独或与 T-细胞免疫抑制剂或抗炎剂联合使用的式 I 化合物或其药学上可接受的盐, 以及药学上可接受载体。

本发明还涉及一种在包括人在内的哺乳动物中抑制蛋白酪氨酸激酶或

Janus 激酶 3(JAK3)的方法,该方法包括给该哺乳动物施用有效量的式 I 的化合物或其药学上可接受的盐。

本发明的另一方面提供式(IA)的化合物作为治疗剂的用途。

所述化合物的施用剂量应依赖于有关适应症,患者的年龄、体重和性别,并且可以由主治医师来决定。该剂量优选在 0.1mg/kg - 100mg/kg 的范围内。

所述的化合物可以采取以溶液、混悬液、HFA 气雾剂或干粉制剂的形式局部给药,例如至肺部和/或气道,所述制剂例如存在于称作 Turbuhaler®吸入器装置内的制剂;或者全身性给药,例如以片剂、丸剂、胶囊剂、糖浆剂、粉剂或颗粒剂的形式通过口服给药,或者例如以灭菌肠胃外溶液剂或混悬剂的形式通过肠胃外给药,或者例如以栓剂的形式通过直肠给药。

本发明的化合物本身可以给药或作为含有本发明化合物和药学上可接受的稀释剂、辅剂或载体的药物组合物给药。特别优选该组合物不含有能引起副作用如变应性反应的物质。

本发明的化合物的干粉制剂和加压 HFA 气雾剂可以通过口服或鼻腔吸入来给药。对于吸入,希望将所述化合物微粉化。微粉化(finely divided)的化合物适宜具有小于 10 μ m 的质量中位直径,并且可以借助于分散剂悬浮在喷射剂混和物中,例如 C₈-C₂₀脂肪酸或其盐、(例如油酸)、胆汁盐、磷脂、烷基糖类、全氟化或聚乙氧基化表面活性剂、或其它药学上可接受的分散剂。

本发明的化合物还可以通过干粉吸入器的工具来给药。所述吸入器可以是单剂量或多剂量吸入器,并且可以是呼吸驱动的干粉吸入器。

一种可能性是将微粉化的化合物与载体物质例如一-、二-或多糖,糖醇或其它多元醇混和。适当的载体是糖,例如乳糖、葡萄糖、棉子糖、松三糖、乳糖醇(lactitol)、麦芽糖醇、海藻糖、蔗糖、甘露糖醇;和淀粉。或者,该微粉化化合物可以用另一物质包衣。粉末混合物还可以分配在硬明胶胶囊中,各胶囊含有所需剂量的活性化合物。

另一可能性是将微粉化粉末加工为在吸入过程中破碎的球形。该球形化粉末可以填充到多剂量吸入器的药库(drug reservoir)中,例如称作 Turbuhaler®的吸入器,其中剂量单位计量出所需剂量,该所需剂量随后被患者吸入。利用这样的系统,具有或不具有载体物质的活性化合物被施用给

患者。

对于口服给药,所述活性化合物可以与辅剂或载体,例如乳糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖醇;淀粉,例如土豆淀粉、玉米淀粉或支链淀粉;纤维素衍生物;粘合剂,例如明胶或聚乙烯吡咯烷酮,和/或润滑剂,例如硬脂酸镁、硬脂酸钙、聚乙二醇、蜡、石蜡等混和,并且随后压制成片剂。如果需要包衣片剂,按照上述方法制备的片芯可以用浓糖溶液包衣,该溶液可以含有例如阿拉伯胶、明胶、滑石粉、二氧化钛等。或者,该片剂可以用溶解在易挥发有机溶剂中的合适聚合物包衣。

为了制备软明胶胶囊,所述化合物可以与例如植物油或聚乙二醇混和。硬明胶胶囊可以使用上述片剂提及的赋形剂含有所述化合物的颗粒。另外所述药物的液体或半固体制剂可以填充到硬明胶胶囊中。

口服应用的液体制剂可以是糖浆剂和混悬剂的形式,例如含有所述化合物的溶液,余量为糖以及乙醇、水、甘油和丙二醇的混和物。任选地,所述液体制剂可以含有着色剂、调味剂、糖精和/或羧甲基纤维素作为增稠剂或本领域技术人员已知的其它赋形剂。

本发明的化合物还可以与用于治疗上述病症的其它化合物联合给药。

在此使用的术语‘医学疗法’是指包括对人体或其它哺乳动物进行的体内或离体预防性、诊断性和治疗性方案。

药物组合物可以以溶液剂、混悬剂、七氟烷烃气雾剂和干燥粉末制剂的形式局部给药(例如向肺和/或气道或向皮肤给药);或者全身性给药,例如以片剂、胶囊剂、糖浆剂、粉剂或颗粒剂的形式通过口服给药,或者以溶液剂或混悬剂的形式通过肠胃外给药,或者以栓剂的形式通过直肠给药,或者经皮给药。本发明化合物优选口服给药。

本发明还涉及联合疗法,其中本发明的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂合物,或含有式(1)化合物的药物组合物或制剂与用于治疗哮喘、过敏性鼻炎、癌症、COPD、类风湿性关节炎、牛皮癣、炎症性肠病、骨关节炎或骨质疏松中的任意一种疾病的疗法和/或药剂同时或者顺序施用。

特别地,为了治疗炎症性疾病、类风湿性关节炎、牛皮癣、炎症性肠病、COPD、哮喘和过敏性鼻炎,本发明化合物可以与其它药物联合使用,例如 TNF- α 抑制剂如抗-TNF 单克隆抗体(例如 Remicade、CDP-870 和 D₂E₇)和 TNF 受体免疫球蛋白分子(例如 Enbrel[®]),非选择性的 COX-1/COX-2 抑制剂(例如

吡罗昔康、双氯芬酸, 丙酸类如萘普生、氟苯布洛芬(flubiprofen)、苯氧布洛芬钙(fenoprofen)、酮基布洛芬和布洛芬, 灭酸酯类(fenamate)如甲灭酸、吲哚美辛、舒林酸、阿扎丙宗, 吡唑啉酮类(pyrazolones)如保泰松, 水杨酸酯类(salicylate)例如乙酰水杨酸), COX-2 抑制剂(例如美洛昔康、塞来昔布、洛芬昔布、伐地考昔(valdecoxib)和艾托考昔(eticoxib)), 低剂量氨甲蝶呤, 来氟米特(lefunomide), 环索奈德(ciclesonide), 羟氯喹, d-青霉胺, 金诺芬(auranofin)或肠胃外或口服金制剂(oral gold)。

本发明进一步还涉及本发明化合物与下述药物的联用: 白细胞三烯生物合成抑制剂、5-脂肪氧合酶(5-LO)抑制剂或 5-脂肪氧合酶活化蛋白(FLAP)拮抗剂如齐留通, ABT-761, 芬留顿, 替泊沙林, Abbott-79175, Abbott-85761, N-(5-取代的)-噻吩-2-烷基磺酰胺, 2,6-二-叔-丁基苯酚胺甲氧基四氢吡喃如 Zeneca ZD-2138, 化合物 SB-210661, 吡啶基-取代的-2-氨基萘化合物如 L-739,010, 2-氨基喹啉化合物如 L-746,530, 吲哚或喹啉化合物如 MK-591、MK-886 和 BAY x 1005;

本发明进一步还涉及本发明化合物与白三烯 LTB₄、LTC₄、LTD₄ 和 LTE₄ 的受体拮抗剂的联用, 所述拮抗剂选自吩噻嗪-3-酮类例如 L-651,392; 脒化合物例如 CGS-25019c; benzoxalamine 类例如昂唑司特(ontazolast); 苯碳二亚胺类(benzenecarboximidamides)例如 BIIL 284/260; 以及化合物例如扎鲁司特(zafirlukast)、阿鲁司特(ablukast)、孟鲁司特(montelukast)、普仑司特(pranlukast)、维鲁司特(verlukast)(MK-679)、RG-12525、Ro-245913、伊拉司特(iralukast)(CGP 45715A)以及 BAY x 7195。

本发明进一步还涉及本发明化合物与 PDE4 抑制剂包括异构体(isoform) PDE4D 的抑制剂的联用。

本发明进一步还涉及本发明化合物与抗组胺的 H₂ 受体拮抗剂的联用(combination), 例如西替利嗪、氯雷他定、地氯雷他定(desloratadine)、非索非那定、阿司咪唑、氯萘司丁和氯苯那敏。

本发明进一步还涉及本发明化合物与胃保护性 H₂ 受体拮抗剂的联用。

本发明进一步还涉及本发明化合物与 α_1 -和 α_2 -肾上腺素受体激动剂、血管收缩剂、拟交感神经药物的联用, 例如丙己君、苯肾上腺素、苯丙醇胺、伪麻黄碱、盐酸萘甲唑啉、盐酸氧甲唑啉、盐酸四氢唑啉、盐酸赛洛唑啉和盐酸乙基去甲肾上腺素。

本发明进一步还涉及本发明化合物与抗胆碱能药物的联用,例如异丙托溴铵(ipratropium bromide)、噻托溴铵(tiotropium bromide)、氧托溴铵、哌仑西平和替仑西平(telenzepine)。

5 本发明进一步还涉及本发明化合物与 β_1 -至 β_4 -肾上腺素受体激动剂的联用,例如间羟异丙肾上腺素、异丙肾上腺素、喘息定、舒喘宁(albuterol)、沙丁胺醇(salbutamol)、福莫特罗、沙美特罗、特布他林、奥西那林、甲磺酸比托特罗(bitolterol mesylate)和吡布特罗;或者甲基黄嘌呤类包括茶碱和氨茶碱;色甘酸钠;或毒蕈碱受体(M1、M2和M3)拮抗剂。

10 本发明进一步还涉及本发明化合物与胰岛素样生长因子 I 型(IGF-1)模拟物的联用。

本发明进一步还涉及本发明化合物与具有降低的全身副作用的吸入糖皮质激素的联用,例如强的松、氢化泼尼松、氟尼缩松、曲安奈德、二丙酸氯地米松、布地奈德、丙酸氟替卡松和糠酸莫米他松。

15 本发明进一步还涉及本发明化合物与基质金属蛋白酶(MMPs)抑制剂的联用,即溶基质素(stromelysin),胶原酶,和明胶酶以及聚集蛋白聚糖酶(aggrecanase);尤其是胶原酶-1(MMP-1)、胶原酶-2(MMP-8)、胶原酶-3(MMP-13)、溶基质素-1(MMP-3)、溶基质素-2(MMP-10)和溶基质素-3(MMP-11)和MMP-12。

20 本发明进一步还涉及本发明化合物与趋化因子受体功能的其它调节剂的联用,例如CCR1、CCR2、CCR2A、CCR2B、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10以及CCR11(对C-C家族而言),CXCR1、CXCR3、CXCR4和CXCR5(对C-X-C家族而言)以及对C-X₃-C家族而言的CX₃CR1。

本发明进一步还涉及本发明化合物与抗病毒剂的联用,例如Viracept、AZT、阿昔洛韦和泛昔洛韦以及抗菌化合物例如Valant。

25 本发明进一步还涉及本发明化合物与心血管药物的联用,例如钙通道阻断剂、降脂质剂例如他汀类、贝特类(fibrates)、 β -阻断剂、Ace抑制剂、血管紧张素-2受体拮抗剂以及血小板聚集抑制剂。

30 本发明进一步还涉及本发明化合物与CNS药物的联用,例如抗抑郁药(例如舍曲林)、抗帕金森氏病药物(例如盐酸司来吉兰、L-多巴、罗匹尼罗、普拉克索(Mirapex),MAOB抑制剂例如司来吉兰(selegine)和雷沙吉兰,comP抑制剂例如托卡朋(Tasmar),A-2抑制剂,多巴胺重吸收抑制剂,NMDA拮

抗剂, 烟碱激动剂, 多巴胺激动剂和神经元一氧化氮合成酶抑制剂), 以及抗阿耳茨海默氏病药物例如多奈哌齐(donepezil)、他克林(tacrine), COX-2 抑制剂, 丙戊茶碱(propentofylline)或美曲磷酯(metryfonate)。

本发明进一步还涉及本发明化合物与下述药物的联用: (i) 类胰蛋白酶抑制剂; (ii) 血小板活化因子(PAF)拮抗剂; (iii) 白细胞介素转换酶(ICE)抑制剂; (iv) IMPDH 抑制剂; (v) 粘附分子抑制剂包括 VLA-4 拮抗剂; (vi) 组织蛋白酶; (vii) MAP 激酶抑制剂; (viii) 葡萄糖-6 磷酸脱氢酶抑制剂; (ix) 激肽-B₁-和 B₂-受体拮抗剂; (x) 抗痛风药物(anti-gout agent), 例如秋水仙碱; (xi) 黄嘌呤氧化酶抑制剂, 例如别嘌呤醇; (xii) 促尿酸排泄药物, 例如丙磺舒、苯磺唑酮(sulfinpyrazone)和苯溴马隆; (xiii) 生长激素促分泌剂; (xiv) 转化生长因子(TGFβ); (xv) 血小板衍生的生长因子(PDGF); (xvi) 成纤维细胞生长因子, 例如碱性成纤维细胞生长因子(bFGF); (xvii) 粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF); (xviii) 辣椒素乳油(capsaicin cream); (xix) 速激肽 NK₁ 和 NK₃ 受体拮抗剂, 选自 NKP-608C、SB-233412 (他奈坦(talnetant)) 和 D-4418; (xx) 弹性蛋白酶抑制剂, 选自 UT-77 和 ZD-0892; (xxi) TNFα 转化酶抑制剂(TACE); (xxii) 诱导的一氧化氮合酶抑制剂(iNOS)或(xxiii) TH2 细胞上表达的化学引诱物受体同源分子(CRTH2 拮抗剂)。

本发明化合物也可以与骨质疏松症药物, 例如罗咯昔芬(roloxifene)、屈洛昔芬、拉索昔芬或 fosomax 以及免疫抑制剂例如 FK-506、瑞帕霉素、环孢菌素、硫唑嘌呤和甲氨蝶呤联合。

本发明化合物还可以与用于治疗骨关节炎的现有治疗药物联用。可联用的适宜药物包括常见的非甾类抗炎药(后文称作 NSAID)例如吡罗昔康、双氯芬酸, 丙酸类例如萘普生、氟苯布洛芬、苯氧布洛芬钙、酮基布洛芬和布洛芬, 灭酸酯类如甲灭酸、吲哚美辛、舒林酸、阿扎丙宗, 吡唑啉酮类如保泰松, 水杨酸酯类如乙酰水杨酸, COX-2 抑制剂如塞来昔布(celecoxib)、伐地考昔(valdecoxib)、罗非克西和艾托考昔(eticoxib), 止痛剂和关节内治疗药物例如皮质类固醇(corticosteroid)和透明质酸如海尔根(hyalgan)和 synvisc 以及 P2X7 受体拮抗剂。

本发明化合物还可以与用于治疗癌症的现有治疗药物联用。可联用的适宜药物包括:

(i) 医药肿瘤学上使用的抗增殖/抗肿瘤药物及其联用, 例如烷基化剂(例

如顺铂、卡铂、环磷酰胺、氮芥、美法仑、苯丁酸氮芥、白消安和亚硝脲); 抗代谢剂(例如抗叶酸类如氟代嘧啶类如 5-氟尿嘧啶和替加氟、雷替曲塞、甲氨蝶呤、阿糖胞苷、羟基脲、吉西他滨和紫杉醇(Taxol®); 抗肿瘤抗生素(例如蒽环类抗生素(anthracycline)如阿霉素、博来霉素、多柔比星、柔红霉素、表柔比星、伊达比星、丝裂霉素-C、放线菌素 D 和普卡霉素); 抗有丝分裂剂(例如长春花生物碱如长春新碱、长春碱、长春地辛和长春瑞滨以及紫杉烷类(taxoid)如紫杉醇和泰索帝(taxotere); 以及拓扑异构酶抑制剂(例如鬼臼乙叉甙如依托泊苷和替尼泊苷、安吡啶、托泊替康(topotecan)和喜树碱);

(ii) 细胞(生长)抑制剂, 例如抗雌激素药(例如他莫昔芬、托瑞米芬、雷洛昔芬、屈洛昔芬和 iodoxyfene), 乙烯雌酚(oestrogen)受体向下调节剂(例如氟维司群(fulvestrant)), 抗雄激素类(例如比卡鲁胺、氟他胺、尼鲁米特和环丙孕酮), LHRH 拮抗剂或 LHRH 激动剂(例如戈舍瑞林、亮丙瑞林和布舍瑞林), 孕激素类(例如甲地孕酮), 芳香酶抑制剂(例如阿那曲唑、来曲唑、伏氯唑(vorazole)和依西美坦)以及 5 α -还原酶抑制剂例如非那雄胺;

(iii) 抑制癌细胞入侵的药物(例如金属蛋白酶抑制剂如马立马司他以及尿激酶纤溶酶原激活物受体功能抑制剂);

(iv) 生长因子功能的抑制剂, 例如包括生产因子抗体的抑制剂、生长因子受体抗体的抑制剂(例如抗 erbb2 抗体司徒曼布[Herceptin™]和抗 erbb1 抗体西妥昔单抗(cetuximab)[C225]), 法尼基转移酶抑制剂, 酪氨酸激酶抑制剂和丝氨酸/苏氨酸激酶抑制剂, 例如表皮生长因子家族的抑制剂(例如 EGFR 家族酪氨酸激酶抑制剂如 N-(3-氯-4-氟苯基)-7-甲氧基-6-(3-吗啉代基丙氧基)喹唑啉-4-胺(gefitinib, AZD1839)、N-(3-乙炔基苯基)-6,7-双(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉-4-胺(erlotinib, OSI-774)和 6-丙烯酰胺基-N-(3-氯-4-氟苯基)-7-(3-吗啉代基丙氧基)喹唑啉-4-胺(CI 1033)), 例如血小板衍生化生长因子家族的抑制剂以及例如肝细胞生长因子家族的抑制剂;

(v) 抗血管生成剂, 例如抑制血管内皮生长因子活性的药物(例如抗血管内皮细胞生长因子抗体贝伐单抗(bevacizumab)[Avastin™]、描述在例如国际专利申请 WO 97/22596、WO 97/30035、WO 97/32856 和 WO 98/13354 中的化合物)以及通过其它机理发挥作用的化合物(例如罗喹美克、整联蛋白(integrin) α v β 3 功能抑制剂和 angistatin);

(vi) 血管损伤剂, 例如考布他汀(Combretastatin) A4 以及公开在国际专利

申请 WO 99/02166、WO00/40529、WO 00/41669、WO01/92224、WO02/04434 和 WO02/08213 中的化合物;

(vii) 抗敏治疗剂(antisense therapies), 例如直接作用于前面所述靶的治疗剂, 如 anti-ras 抗敏剂 ISIS 2503;

- 5 (viii) 基因治疗途径, 包括例如替代异常基因如异常 p53 或异常 BRCA1 或 BRCA2 的途径, GDEPT (基因定向酶前药疗法)途径例如利用胞嘧啶脱氨酶、胸苷激酶或细菌性硝基还原酶的途径以及提高患者对化学疗法或放射疗法耐受性的途径例如多药物耐受性基因疗法; 以及

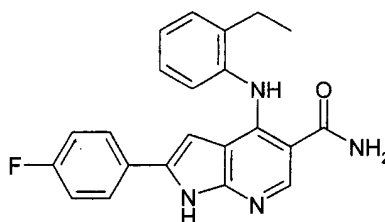
- (ix) 免疫治疗途径, 包括例如提高患者肿瘤细胞免疫原性的体外和体内
10 途径, 例如使用细胞因子如白介素 2、白介素 4 或粒细胞-巨噬细胞群体刺激因子进行转染, 降低 T 细胞无反应性的途径, 利用被转染的免疫细胞例如被细胞因子转染的树突细胞的途径, 利用被细胞因子转染的肿瘤细胞系的途径以及利用抗独特型抗体(anti-idiotypic antibodies)的途径。

下列实施例举例说明本发明。

- 15 通用方法: 所有反应在干燥玻璃器皿中氩气氛和室温下进行, 除非另外说明。所有溶剂和试剂是公认使用的。Merck 硅胶 60 (0.040-0.063 mm)用于制备型硅胶色谱。Kromasil KR-100-5-C18 柱(250 x 20 mm, Akzo Nobel)和流量 10 ml/min 的乙腈/水用于制备型 HPLC。反应是在 254nm 下通过分析型 HPLC、利用 Kromasil C-18 柱(150 x 4.6 mm)和(含有 0.1% 三氟乙酸)5 -
20 100%乙腈的水溶液的梯度、以 1 ml/min 的流速监测。溶剂的蒸发是在减压下利用旋转蒸发仪在 40°C 的最高温度下进行。产物在减压和 40 °C 下干燥。

- ¹H-NMR 光谱记录在 Varian Inova-400 或 Unity-500+ 仪器上。氯仿-*d* (δ_{H} 7.27 ppm)、二甲基亚砜-*d*₆ (δ_{H} 2.50 ppm)或甲醇-*d*₄ (δ_{H} 3.35 ppm)的中央溶剂峰用作内参考物。在安装有 APCI 电离室的 Hewlett Packard 1100 LC-MS 系
25 统上得到低分辨质谱。

- Merck 硅胶 60 (0.040-0.063 mm)用于制备硅胶色谱。Kromasil KR-100-5-C18 柱(250 x 20 mm, Akzo Nobel)和流量 10 ml/min 的乙腈/水用于制备型 HPLC。反应是在 254nm 下通过分析型 HPLC、利用 Kromasil C-18 柱(150 x 4.6 mm)和(含有 0.1% 三氟乙酸)5 - 100%乙腈的水溶液的梯度、以
30 1 ml/min 的流速监测。溶剂的蒸发是在减压下利用旋转蒸发仪在 40°C 的最高温度下进行。产物在减压和 40 °C 下干燥。

实施例 1**4-(2-乙基-苯基氨基)-2-(4-氟苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺****a) 6-氨基-5-碘-4-甲氧基-烟酸甲酯**

- 5 在 250ml 圆底烧瓶中将 6-氨基-4-甲氧基烟酸甲酯 (1.5 g, 8.28 mmol, 按照文献方法制备)溶解在 165ml 甲醇中。向该搅拌溶液中加入碘(6.3 g, 24.8 mmol)和三氟醋酸银(4.91 g, 22.3 mmol)。该混合物在黑暗室温下搅拌 48 小时, 并且观察到起始原料几乎完全转化。加入甲醇使该混合物稀释至 2 倍体积, 并且经 Celite®过滤, 滤饼用甲醇洗涤。合并所有滤液, 并真空蒸发,
- 10 得到深红褐色残余物。将该残余物吸收到 CH₂Cl₂ (300 ml)中, 并用硫代硫酸钠的水溶液(10%的水溶液)洗涤, 并且脱色有机相。此后将有机相用盐水洗涤, 并经 Na₂SO₄ 干燥。最后真空除去有机溶剂。硅胶提纯 (庚烷: EtOAc 3:1 - 2:1)得到 1.5 g (59 %)的小标题化合物。

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.33 (s, 1H), 6.89 (bs, 2H), 3.76 (s, 3H),
15 3.75 (s, 3H)

b) 6-氨基-5-(4-氟-苯基乙炔基)-4-甲氧基-烟酸甲酯

- 在 250ml 圆底烧瓶中将 a 中所得化合物(1.9g, 6.16 mmol)溶解在 THF (14 ml)和三乙胺(85 ml)中。该溶液通过向溶液吹入 5 分钟的氮气流来脱气。随后向该溶液加入 Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0.14 g, 0.2 mmol)、CuI (0.05 g, 0.26 mmol)和
- 20 4-乙炔基-氟苯(0.85 g, 7.07 mmol)。密封该烧瓶且在 60°C 下加热搅拌 30 分钟。通过 LC-MS 分析证实转化率为 80%。加入另外量的 4-乙炔基-氟苯(0.05 g, 0.4 mmol)和 Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0.02 g, 0.03 mmol), 并且将该反应继续搅拌 30 分钟, 并且观察到完全转化。令该混合物冷却, 并且随后真空浓缩得到粗产物。该物质用硅胶纯化(庚烷: EtOAc 2:1), 得到 1.7 g (92%)的小标题化合物,
- 25 物, 其为浅黄色固体。

H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.37 (s, 1H), 7.72 (dd, 2H, *J* 8.96 Hz), 7.27 (t, 2H, *J* 8.96 Hz), 7.13 (bs, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.75 (s, 3H)

c) 2-(4-氟-苯基)-4-甲氧基-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸甲酯

在 25 ml 圆底烧瓶中将 b 中所得化合物(0.46 g, 1.53 mmol)溶解在 NMP (15 ml, 经分子筛干燥)中。向该搅拌溶液中加入 KOBu^t (0.56 g, 4.68 mmol), 并且密封该烧瓶, 加热 (40°C)并搅拌 4 小时, 随后将反应用 TLC (DCM : MeOH 99:1 在硅胶板上)监测。当观察到反应完全时, 令该反应冷却, 随后
5 在 EtOAc (100 ml)和 0.5M 盐酸水溶液(100 ml)之间分配。收集有机相, 水相用另一部分的 EtOAc (50 ml)萃取。合并的有机相用水(5 x 40 ml)和盐水 (20 ml)洗涤且随后用 Na_2SO_4 干燥。过滤且随后蒸发得到固体。向该固体加入醚 (50 ml)且将该非均相混和物搅拌 10 分钟, 该固体产物随后通过过滤分离得到 0.39 g (86%)的浅黄色固体。

10 H-NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 12.49 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.02 (dd, 2H J 8.90 Hz), 7.40 (d, 1H, J 2.04 Hz), 7.30 (t, 2H, J 8.90 Hz), 4.34 (s, 3H), 3.80 (s, 3H)

d) 2-(4-氟-苯基)-4-羟基-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸

在加压安全玻璃容器中加入 c 中得到的化合物(0.91 g, 3.03 mmol)和氢
15 溴酸水溶液 (10 ml, 48%的水溶液)和磁搅拌子。密封该容器且将该混和物加热(120°)并搅拌 4 小时。LC-MS 证实起始原料完全转化, 令该混合物冷却。加入水使该混和物稀释至 2 倍。通过过滤分离不溶性产物, 并且该固体用水在滤纸上洗涤, 随后风干, 得到 0.74 g (90%)的小标题化合物, 其为白色粉末。

20 H-NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 12.57 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.90 (dd, 2H J 8.77 Hz), 7.31 (t, 2H J 8.80 Hz), 7.06 (d, 1H J 2.18 Hz)

e) 4-氟-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

在加压安全玻璃容器中加入 d 中所得化合物(0.74 g, 2.72 mmol)和
25 POCl_3 和磁搅拌子。密封该容器, 且搅拌下加热(100°C)2 小时。通过从蒸发且随后用甲醇终止的溶液中采集 1 滴, 在 LC-MS 上监测该反应。该产物被分析确定为甲酯。当观察到转化完全时, 真空除去挥发性组分, 得到黄色固体。将该固体溶解在干燥 1,4-二噁烷(10 ml)中, 并且在冰浴上冷却该搅拌溶液。立刻加热氨水(32%水溶液, 2 ml)导致放热反应。将所得混和物搅拌 5 分钟, 并沉淀产物。粗混和物被蒸发至干, 得到固体。向该固体中加入水(10
30 ml), 将混和物搅拌 10 分钟。通过过滤分离不溶性产物并且用水在滤纸上洗涤, 最后风干, 得到 0.67 g (85%)的小标题化合物, 其为灰白色固体。

H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.64 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.07 (dd, 2H *J* 8.80 Hz), 7.92 (bs, 1H), 7.63 (bs, 1H), 7.35 (t, 2H *J* 8.86 Hz), 7.06 (d, 1H *J* 2.11 Hz)

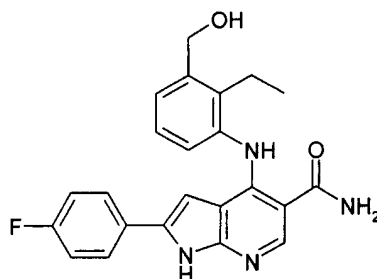
4-(2-乙基-苯基氨基)-2-(4-氟苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

- 5 在微波样本容器中加入 e 中得到的化合物(0.05 g, 0.173 mmol)、2-乙基苯胺(0.10 g, 0.83 mmol)和 NMP (2 ml)和磁搅拌子。密封该容器且在微波反应器中加热(170°C, 40 分钟)。分析所得混和物证实化合物 e 转化完全。该溶液用水和 1,4-二噁烷稀释, 随后在制备型 HPLC 上纯化。将纯级分(fractions)冷冻干燥得到 0.03 g 的标题化合物的三氟乙酸盐。在 EtOAc 和碱性水溶液
- 10 之间萃取得到中性形式的标题化合物, 0.025 g (39%), 它是白色固体。

H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.05 (s, 1H), 11.09 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.05 (bs, 1H), 7.49 (dd, 2H *J* 8.44 Hz), 7.38 (d, 1H *J* 7.33 Hz), 7.33-7.17 (m, 6H), 5.39 (d, 1H *J* 2.00 Hz), 2.61 (q, 2H *J* 7.41 Hz), 1.13 (t, 3H *J* 7.50 Hz)

实施例 2

- 15 4-(2-乙基-3-羟基甲基-苯基氨基)-2-(4-氟苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺三氟乙酸盐



- 在微波样本容器中加入实施例 1e 得到的化合物(0.10 g, 0.348 mmol)和 (3-氨基-2-乙基-苯基)-甲醇 (0.104 g, 0.692 mmol)。向固体的这种混和物中加入乙氧基乙醇 (2 ml)和吡啶盐酸盐(0.04 g, 0.346 mmol)。当观察到含氯起始原料几乎完全转化时, 密封该容器, 并且在微波反应器中加热(170°C, 45 分钟)。真空除去挥发性溶剂, 将残余物溶解在 1,4-二噁烷 (2.5 ml)和水(1.5 ml)和 5 滴 TFA 的混和物中。将该混和物在制备型 HPLC 上纯化, 将纯级分冷冻干燥后得到 0.04 g (22%)的白色固体。
- 20

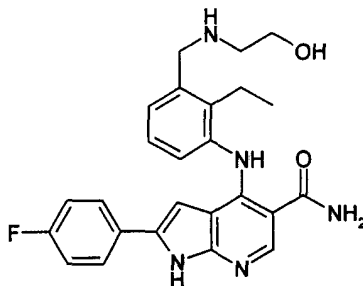
- 25 H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.03 (s, 1H), 11.14 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.03 (bs, 1H), 7.49 (dd, 2H *J* 8.97 Hz), 7.36 (d, 1H *J* 7.43 Hz), 7.30 (bs, 1H), 7.24-7.16 (m, 3H), 7.09 (d, 1H *J* 7.69 Hz), 5.45 (d, 1H *J* 2.05 Hz), 5.20 (t, 1H *J*

5.32 Hz), 4.61 (d, 2H J 4.94 Hz), 2.66 (q, 2H J 7.82 Hz), 1.07 (t, 3H J 7.66 Hz)

APCI-MS m/z 405.3 [MH⁺]

实施例 3

4-{2-乙基-3-[(2-羟基-乙基氨基)-甲基]-苯基氨基}-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺三氟乙酸盐



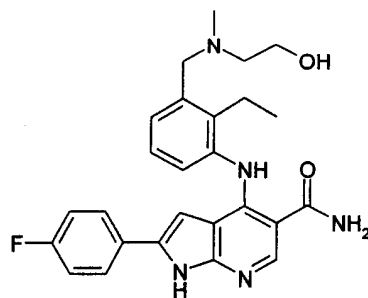
在 10 ml 圆底烧瓶中将实施例 2 中得到的化合物 (0.01g, 19.3 μ mol) 溶解在 CH₂Cl₂ (5 ml, 用分子筛干燥) 中。向该溶液中加入 SOCl₂ (0.03g, 0.25 mmol) 和磁搅拌子。密封该烧瓶并在室温下搅拌 1 小时, LC-MS 证实完全转化为 10 苄氯。真空除去挥发物, 残余物溶解在 NMP (1.5 ml) 中, 并且转移到微波反应容器中。向该溶液中加入 2-氨基乙醇 (0.03, 0.5 mmol) 和磁搅拌子, 并且该混和物在微波反应器中加热 (90°C, 15 分钟)。所得混和物的 LC-MS 证实完全转化为所需产物。该混和物用水稀释至 2 倍体积并用 TFA 酸化, 随后在制备型 HPLC 上纯化。将纯级分冷冻干燥得到 0.01g (92%) 的标题化合物。

15 H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.03 (s, 1H), 11.14 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.03 (bs, 1H), 7.49 (dd, 2H J 8.83 Hz), 7.34 (d, 1H J 7.68 Hz), 7.30 (bs, 1H), 7.23-7.16 (m, 3H), 7.09 (d, 1H J 7.68 Hz), 5.39 (d, 1H J 1.51 Hz), 4.52 (t, 1H J 5.47 Hz), 3.80 (s, 2H), 3.49 (q, 2H J 5.53 Hz), 2.72 (q, 2H J 7.62 Hz), 2.65 (t, 2H J 5.75 Hz), 1.09 (t, 3H J 7.65 Hz)

20 APCI-MS m/z 448.3 [MH⁺]

实施例 4

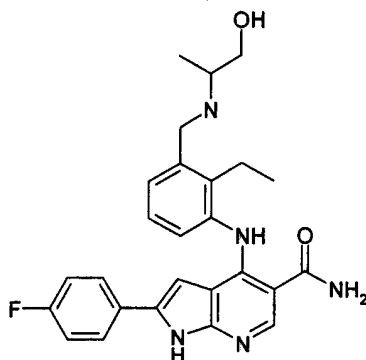
4-(2-乙基-3-[(2-羟基-乙基)-甲基-氨基]-甲基)-苯基氨基)-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺三氟乙酸盐



该化合物按照实施例 3 的方法制备, 得到 0.005 g (75%) 的标题化合物。
游离胺的 APCI-MS m/z 462.3 $[MH^+]$ 。

实施例 5

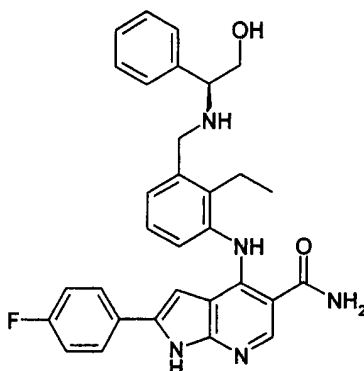
- 5 4-{2-乙基-3-[(2-羟基-1-甲基-乙基氨基)-甲基]-苯基氨基}-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺三氟乙酸盐



该化合物按照实施例 3 的方法制备, 得到 0.004 g (60%) 的标题化合物。
游离胺的 APCI-MS m/z 462.3 $[MH^+]$ 。

10 实施例 6

- 4-{2-乙基-3-[(*S*)-(2-羟基-1-苯基-乙基氨基)-甲基]-苯基氨基}-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺三氟乙酸盐

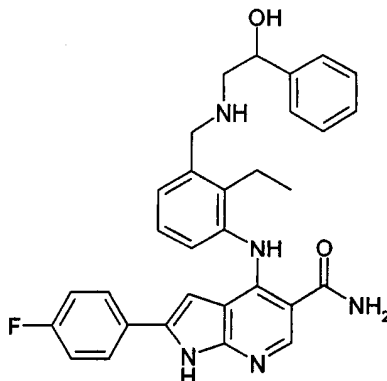


该化合物按照实施例 3 的方法制备, 得到 0.004 g (65%) 的标题化合物。
游离胺 APCI-MS m/z 524.3 $[MH^+]$ 。

15

实施例 7

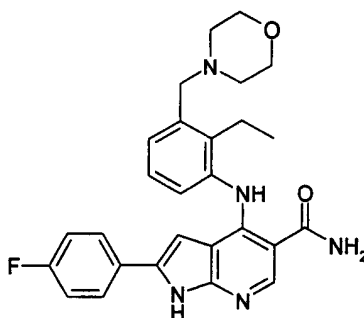
4-{2-乙基-3-[(2-羟基-2-苯基-乙基氨基)-甲基]-苯基氨基}-2-(4-氟-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺三氟乙酸盐



5 该化合物按照实施例 3 的方法制备, 得到 0.005 g (67%) 的标题化合物。
游离胺的 APCI-MS m/z 524.3 [MH⁺].

实施例 8

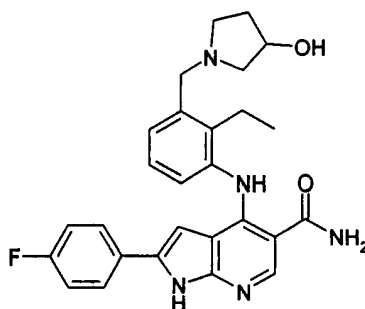
4-(2-乙基-3-吗啉-4-基甲基-苯基氨基)-2-(4-氟-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺三氟乙酸盐



10 该化合物按照实施例 3 的方法制备, 得到 0.003 g (53%) 的标题化合物。
游离胺的 APCI-MS m/z 474.2 [MH⁺].

实施例 9

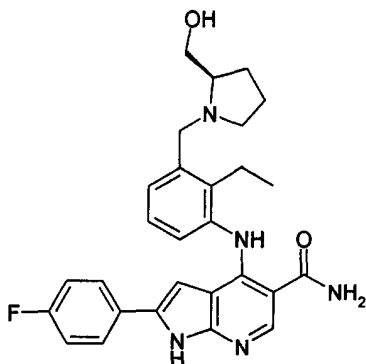
4-[2-乙基-3-(3-羟基-吡咯烷-1-基甲基)-苯基氨基]-2-(4-氟-苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-羧酸酰胺三氟乙酸盐



15 该化合物按照实施例 3 的方法制备, 得到 0.004 g (71%) 的标题化合物。
游离胺的 APCI-MS m/z 474.2 [MH⁺].

实施例 10

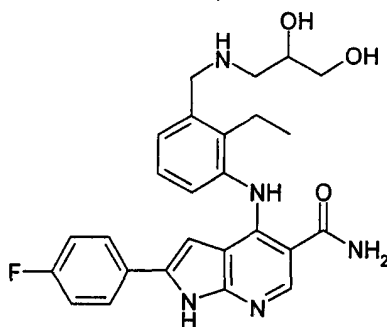
4-[2-乙基-3-((*R*)-2-羟基甲基-吡咯烷-1-基甲基)-苯基氨基]-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺三氟乙酸盐



- 5 该化合物按照实施例 3 的方法制备, 得到 0.003 g (52%) 的标题化合物。
游离胺的 APCI-MS m/z 488.4 [MH⁺].

实施例 11

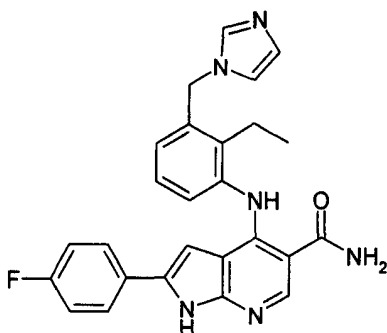
4-{3-[(2,3-二羟基-丙基氨基)-甲基]-2-乙基-苯基氨基}-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺三氟乙酸盐



- 10 该化合物按照实施例 3 的方法制备, 得到 0.005 g (87%) 的标题化合物。
游离胺的 APCI-MS m/z 478.3 [MH⁺].

实施例 12

- 15 4-(2-乙基-3-咪唑-1-基甲基-苯基氨基)-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺三氟乙酸盐



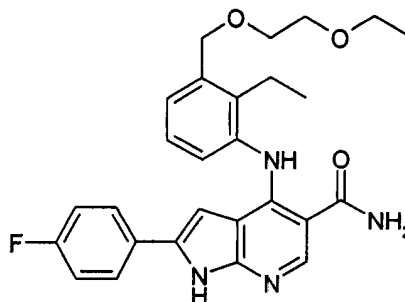
除了温度为 110°C 并且反应时间为 30 分钟之外, 该化合物按照实施例

3 的方法制备。合成的产物为 0.004 g (73%)的标题化合物。

游离胺的 APCI-MS m/z 455.3 $[MH^+]$ 。

实施例 13

4-[3-(2-乙氧基-乙氧基甲基)-2-乙基-苯基氨基]-2-(4-氟-苯基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

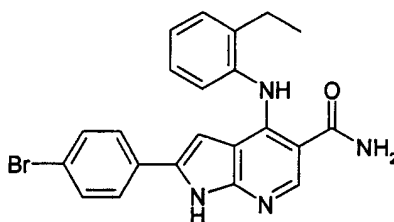


该物质在实施例 2 所述反应中作为副产物得到。该产物通过制备型 HPLC 分离。冷冻干燥纯级分,得到 TFA 盐,其为淡黄色固体。通过在 EtOAc 和 1M NaOH 之间萃取得到游离胺。干燥有机相并蒸发,得到 0.035 g (21%) 的黄色固体。

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 12.05 (s, 1H), 11.17 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.05 (bs, 1H), 7.50 (dd, 2H J 8.62 Hz), 7.33 (d, 1H J 7.58 Hz), 7.32 (bs, 1H), 7.26-7.14 (m, 4H), 5.42 (d, 1H J 2.10 Hz), 4.60 (s, 2H), 3.63-3.59 (m, 2H), 3.55-3.51 (m, 2H), 3.42 (q, 2H J 6.82 Hz), 2.74-2.64 (m, 2H), 1.13-1.06 (m, 6H)

实施例 14

2-(4-溴-苯基)-4-(2-乙基-苯基氨基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

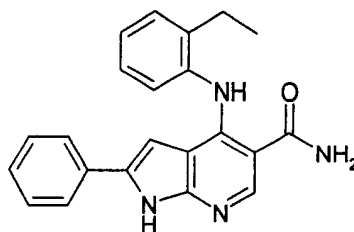


该化合物按照实施例 1 所述的方法制备,除该产物在硅胶上纯化 (CH_2Cl_2 : MeOH 99:1 - 98:2 - 97:3)-之外,得到 0.04 g。

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 12.10 (s, 1H), 11.13 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.05 (bs, 1H), 7.55 (d, 2H J 8.88 Hz), 7.43-7.37 (m, 3H), 7.33-7.23 (m, 2H), 7.30 (bs, 1H), 7.21 (d, 1H J 7.54 Hz), 5.46 (d, 1H J 2.0 Hz), 2.61 (q, 2H J 7.46 Hz), 1.13 (t, 3H J 7.45 Hz)

实施例 15

4-(2-乙基-苯基氨基)-2-苯基-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺



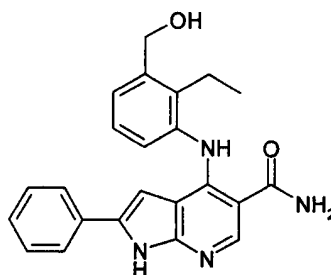
该化合物按照实施例 1 所述的方法制备, 并且按照实施例 14 所述方法纯化, 得到 0.007g 的标题化合物, 其为白色固体。

- 5 H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.04 (s, 1H), 11.09 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.03 (bs, 1H), 7.47 (d, 2H *J* 8.19 Hz), 7.41-7.20 (m, 8H), 5.44 (d, 1H *J* 2.10 Hz), 2.61 (q, 2H *J* 7.62 Hz), 1.14 (t, 3H *J* 7.70)

APCI-MS *m/z* 357.3 [MH⁺]

实施例 16

- 10 **4-(2-乙基-3-羟基甲基-苯基氨基)-2-苯基-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺三氟乙酸盐**

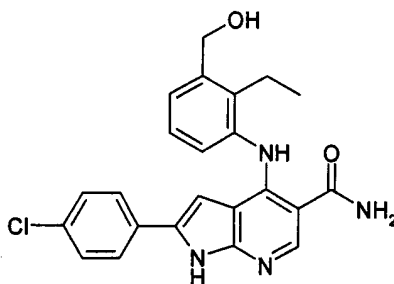


该化合物按照实施例 2 所述的方法制备。

APCI-MS *m/z* 387.2 [MH⁺]

- 15 **实施例 17**

2-(4-氯-苯基)-4-(2-乙基-3-羟基甲基-苯基氨基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺三氟乙酸盐



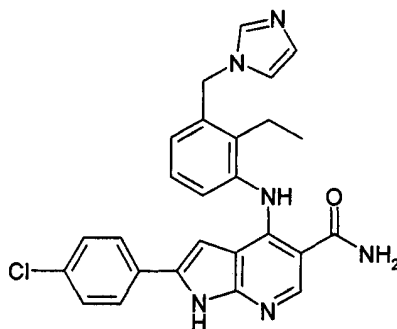
- 20 该标题化合物按照实施例 2 所述的方法制备。对 TFA 盐进行 NMR, 它由于酸性质子产生其它位移。

H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.40 (bs, 1H), 11.44 (bs, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.19 (bs, 1H), 7.57-7.40 (m, 7H), 7.27 (t, 1H *J* 7.68 Hz), 7.15 (d, 1H *J* 7.70 Hz), 5.46 (d, 1H *J* 1.90 Hz), 4.63 (s, 2H), 2.71-2.60 (m, 2H), 1.07 (t, 3H *J* 7.63 Hz)

5 APCI-MS *m/z* 421.2 [MH⁺]

实施例 18

2-(4-氯-苯基)-4-(2-乙基-3-咪唑-1-基甲基-苯基氨基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺三氟乙酸盐

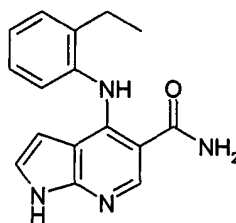


10 该标题化合物按照实施例 12 的方法制备。

APCI-MS *m/z* 471.0 [MH⁺]

实施例 19

4-(2-乙基-苯基氨基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺



15 a) 1-苄基-5-硝基-1*H*-吡咯-2-羧酸苄酯

在烧瓶中将 5-硝基-1*H*-吡咯-2-羧酸 (0.86 g, 5.51 mmol) 溶解在 NMP (5 ml) 中。向该溶液加入 Cs₂CO₃ (3.76 g, 11.5 mmol) 和苄基溴 (1.88 g, 11.02 mmol) 和磁搅拌子。该混和物在室温下搅拌 1.5 小时, 并且通过 TLC 监测, 其证实起始原料全部转化。令该混和物在 EtOAc (25 ml) 和水 (25 ml) 之间分配。

20 收集有机相且水相用另一部分的 EtOAc (20 ml) 萃取。合并的有机相用水 (2 x 20 ml) 和盐水 (20 ml) 洗涤。有机相随后真空浓缩, 得到粗产物, 将其在硅胶上纯化, 得到 0.52 g (28%) 的小标题化合物, 其为油状物, 放置后结晶为白色固体。

H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.50 (d, 1H *J* 2.0 Hz), 7.44 (d, 1H *J* 2.0 Hz), 7.39-7.27 (m, 8H), 7.19-7.14 (m, 2H), 5.62 (s, 2H), 5.25 (s, 2H)

b) 2-[(1-苄基-5-苄氧基羰基-1*H*-吡咯-2-基氨基)-亚甲基]-丙二酸二乙酯

- 5 在 100 ml 圆底烧瓶中将 a 中得到的化合物(0.50 g, 1.48 mmol)溶解在冰醋酸(20 ml)中。向该溶液加入 2-乙氧基亚甲基丙二酸二乙酯(0.32 g, 1.48 mmol)和铁粉(1.5 g, 26.8 mmol)。密封该烧瓶且在室温下搅拌过夜。得到红色溶液和白色沉淀。该混悬液在 EtOAc (200 ml)和水(150 ml)之间分配。收集有机相, 用另一部分的 EtOAc (150 ml) 萃取水相。合并的有机相用水(2 x 100 ml)和盐水 (50 ml)洗涤。有机溶液真空浓缩, 得到油状物。该油状物在硅胶上纯化(庚烷: EtOAc 7:1 - 5:1), 得到 0.38 g (54%)的小标题化合物, 其为油状物, 放置后结晶为黄色固体。

15 H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 10.91 (d, 1H *J* 13.2 Hz), 8.12 (d, 1H *J* 12.9 Hz), 7.41-7.23 (m, 8H), 7.14-7.08 (m, 3H), 6.02 (d, 1H *J* 4.35 Hz), 5.65 (s, 2H), 5.27 (s, 2H), 4.25 (q, 2H *J* 7.22 Hz), 4.21 (q, 2H *J* 7.20), 1.33 (t, 3H *J* 7.20 Hz), 1.29 (t, 3H *J* 7.20)

c) 2-[(1-苄基-5-羧基-1*H*-吡咯-2-基氨基)-亚甲基]-丙二酸二乙酯

- 20 在烧瓶中将 b 中得到的化合物(0.35 g, 0.74 mmol)溶解在乙醇(25 ml, 99.5%)中。向该溶液加入 Pd 催化剂 (0.08 g, 10% Pd/碳)。该物质在正常大气压和室温下氢化 1 小时, LC-MS 证实该苄酯完全裂解。经 Celite®过滤除去催化剂, 蒸发滤液, 得到小标题化合物, 其为黄色固体。

25 H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 10.99 (d, 1H *J* 13.2 Hz), 8.15 (d, 1H *J* 13.2 Hz), 7.36-7.25 (m, 3H), 7.20-7.14 (m, 3H), 6.07 (d, 1H *J* 4.21 Hz), 5.66 (s, 2H), 4.27 (q, 2H *J* 7.4 Hz), 4.23 (q, 2H *J* 7.4 Hz), 1.35 (t, 3H *J* 7.1 Hz), 1.31 (t, 3H *J* 7.1 Hz)

d) 1-苄基-4-羧基-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸乙酯

- 30 在瓶(10 ml)中加入 c 中得到的化合物 (0.32 g, 0.83 mmol)和二苯基甲烷(3 ml)和磁搅拌子。搅拌下将该开口瓶于 240°C 加热 10 分钟, 在前 1 - 2 分钟内观察到放出气体 (CO₂, 脱羧作用)。加热 10 分钟后, 令该混和物冷却。LC-MS 证实起始原料转化为具有正确质量的化合物。粗溶液用 CHCl₃ (5 ml) 稀释, 并且加入到硅胶柱上, 且用庚烷: EtOAc 6:1 洗脱, 得到 0.15 (64%)的

小标题化合物，其为淡黄色固体。

H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 11.87 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 7.35-7.25 (m, 3H), 7.24-7.19 (m, 2H), 7.05 (d, 1H J 3.60 Hz), 6.70 (d, 1H J 3.60), 5.49 (s, 2H), 4.47 (q, 2H J 7.12 Hz), 1.45 (t, 3H J 7.12 Hz)

5 **e) 1-苄基-4-氯-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺**

在烧瓶中将 d 中得到的化合物(0.42 g, 1.4 mmol)溶解在 THF (7 ml)中。向该溶液加入 2M NaOH (7 ml, 14 mmol)和水(7 ml)。将该混和物在搅拌下加热(60°C)，并且通过 LC-MS 监测。当观察到反应完全时，使该混和物冷却，并且真空除去 THF。残余物水溶液通过加入 1M H₂SO₄ (8 ml)酸化，并且沉淀该羧酸。通过过滤收集物质，在滤纸上洗涤，最后用气流经滤纸干燥，得到 0.35 g (93%)的该酸。

将该酸与 SOCl₂(15 ml)和 DMF (10 滴)一起加入到圆底烧瓶中。在室温下密封该烧瓶并搅拌，通过 LC-MS 以实施例 1e 所述的相似方式监测。当观察到反应完全时，真空除去挥发物，得到固体中间体，将其溶解在 1,4-二噁烷 (15 ml, 经分子筛干燥)中，并且加入氨水(5 ml, 25%的水溶液)终止。室温下将该混和物搅拌 5 分钟，并且真空除去挥发物，得到白色固体。该固体用水在玻璃过滤器上洗涤，随后风干，得到 0.29 g (73%)的小标题化合物，其为白色固体。

H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.84 (s, 1H), 7.36-7.29 (m, 4H), 7.25-7.21 (m, 2H), 6.68 (d, 1H J 3.56 Hz), 6.53 (bs, 1H), 5.95 (bs, 1H), 5.53 (s, 2H)

20 **f) 1-苄基-4-(2-乙基-苯基氨基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺**

在瓶中将 e 中得到的化合物 (0.095 g, 0.33 mmol)溶解在 NMP (2 ml)中。向该溶液加入 2-乙基苯胺 (0.16 g, 1.3 mmol)和对甲苯磺酸 (1 mg)和磁搅拌子。密封该瓶且搅拌下加热(160°C)过夜，由此使起始原料完全转化。该混和物随后被冷却，在 EtOAc (25 ml)和水(25 ml)之间分配。收集有机相且水相用另一部分的 EtOAc (15 ml)萃取。合并的有机相用水(2 x 20 ml)和盐水 (15 ml)洗涤。真空浓缩该有机相，残余物在硅胶上纯化(CH₂Cl₂ : MeOH 97:3)，得到 0.06 g (50%)的近白色固体。

H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 10.95 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 7.36-7.16 (m, 9H), 6.64 (d, 1H, J 3.75 Hz), 6.04 (bs, 2H), 5.45 (s, 2H), 5.20 (d, 1H J 3.67 Hz), 2.67 (q, 2H, J 7.85 Hz), 1.19 (t, 3H, J 7.85 Hz)

4-(2-乙基-苯基氨基)-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-羧酸酰胺

向在干冰/乙醇浴中冷却的烧瓶内加入浓氨(气)至约 15 ml 的体积。向该冷却液体中加入钠(15 mg, 0.6 mmol), 得到深蓝色液体。在惰性气氛下使其放置 10 分钟。向该液体中加入 f 中得到的化合物(0.01 g, 20 μ mol), 并且使该混和物放置 15 分钟, 该反应通过加入 NH_4Cl 终止, 并且撤去冷却浴, 使该溶液升至反应室温。将残余物吸收于 EtOAc (20 ml)和水(15 ml)中。收集有机相, 并且用水(10 ml)和盐水 (10 ml)洗涤, 随后真空浓缩。残余物在硅胶上纯化(CH_2Cl_2 :MeOH 97:3), 洗脱出产物。合成的产物为 0.005 g (89%)的标题化合物, 其为淡黄色固体。

10 H-NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 10.80 (s, 1H), 10.18 (bs, 1H), 8.56 (s, 1H), 7.38-7.31 (m, 2H), 7.26-7.21 (m, 2H), 6.73 (d, 1H J 3.67 Hz), 6.24 (bs, 2H), 5.18 (d, 1H J 3.62 Hz), 2.64 (q, 2H J 7.64 Hz), 1.17 (t, 3H J 7.60 Hz)

药理学数据**15 JAK3 HTRF 实验**

JAK3 激酶实验采用融合蛋白质(Jak3 激酶结构域融合到谷胱甘肽 S-转移酶, GST), 该融合蛋白质与 GroEL/S 共同表达在 E.Coli 中, 并且通过亲和色谱在谷胱甘肽琼脂糖上纯化。该酶在 10 mM Tris-HCl、150 mM NaCl、5%甘露醇、2 mM 2-巯基乙醇和 30% 甘油中稀释。该激酶反应中的底物是以 2 μ M 使用的 JAK3 的自磷酸化位点的生物素化肽(生物素-LPDKDYYVVREPG)。实验条件如下: JAK3, 化合物和底物在 25 mM Trizma 碱、5 mM MgCl_2 、5 mM MnCl_2 、0.05% TritonX-100 和 2 μ M ATP 中室温下培养 45 分钟。反应体积为 20 μ M。加入停止溶液至终浓度为 100 μ M EDTA。最后将 0.065 mg/ml PT66-K 和 10.42 μ M SA-XL665 加入到 50 mM Hepes、0.5 M KF 和 0.1% BSA 中。平板在 60 分钟培养后在 Discovery 仪器中读取。

实施例的化合物具有小于 25 μ M 的 IC_{50} 。