



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101146532 B

(45) 授权公告日 2012. 05. 09

(21) 申请号 200680009180. 3

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

(22) 申请日 2006. 01. 20

11247

代理人 黄革生 隗永良

(30) 优先权数据

60/646, 113 2005. 01. 21 US

60/645, 976 2005. 01. 21 US

60/645, 975 2005. 01. 21 US

60/645, 987 2005. 01. 21 US

60/645, 986 2005. 01. 21 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2007. 09. 21

(86) PCT申请的申请数据

PCT/GB2006/000204 2006. 01. 20

(87) PCT申请的公布数据

W02006/077424 EN 2006. 07. 27

(73) 专利权人 阿斯泰克斯治疗有限公司

地址 英国剑桥

(72) 发明人 J·E·库里 J·F·莱昂斯

M·S·斯奎雷斯 N·T·汤普森

K·M·汤普森 P·G·怀亚特

(51) Int. Cl.

A61K 31/415(2006. 01)

A61K 31/4155(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

A61K 33/24(2006. 01)

A61K 31/70(2006. 01)

A61K 31/047(2006. 01)

A61K 31/505(2006. 01)

A61K 31/337(2006. 01)

A61K 38/01(2006. 01)

A61K 39/395(2006. 01)

A61K 31/4745(2006. 01)

A61K 31/475(2006. 01)

(56) 对比文件

W0 02062804 A1, 2002. 08. 15, 摘要.

W0 2005012256 A, 2005. 02. 10, 说明书第  
106 页第 2 段.

审查员 吴亚男

权利要求书 16 页 说明书 191 页 附图 11 页

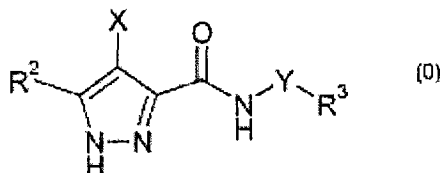
(54) 发明名称

药物化合物

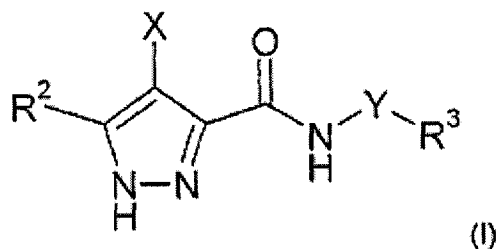
(57) 摘要

本发明提供了细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (0) 化合物或其盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物的组合; 其中 X 是基团  $R^1-A-NR^4$  或者 5 或 6 元碳环或杂环; A 是键、 $SO_2$ 、 $C=O$ 、 $NR^g$  ( $C=O$ ) 或  $O(C=O)$ , 其中  $R^g$  是氢或任选被羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷基; Y 是键或长度为 1、2 或 3 个碳原子的亚烷基链;  $R^1$  是氢; 具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团; 或任选被一个或多个选自卤素 (例如氟)、羟基、 $C_{1-4}$  烷基氧基、氨基、单或二- $C_{1-4}$  烷基氨基和具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环的取代基取代的  $C_{1-8}$  烷基, 并且其中烷基的 1 或 2 个碳原子可以任选被选自 O、S、NH、SO、 $SO_2$  的原子或基团代替;  $R^2$  是氢; 卤素;  $C_{1-4}$  烷

氧基 (例如甲氧基) 或任选被卤素 (例如氟)、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基 (例如甲氧基) 取代的  $C_{1-4}$  烷基;  $R^3$  选自氢和具有 3 至 12 个环原子的碳环和杂环基团; 并且  $R^4$  是氢或任选被卤素 (例如氟)、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基 (例如甲氧基) 取代的  $C_{1-4}$  烷基。



1. 组合,其包含细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (I) 化合物或其盐或互变异构体:



其中

X 是基团  $R^1-A-NR^4-$ ;

A 是键、 $C=O$ 、 $NR^8$  ( $C=O$ ) 或  $O(C=O)$ , 其中  $R^8$  是氢或任选被羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷基;

Y 是键或长度为 1、2 或 3 个碳原子的亚烷基链;

$R^1$  是氢;具有 3 至 7 个环原子的单环碳环或杂环基团,其中碳环或杂环基团是未取代的或者被一个或多个取代基  $R^{10}$  取代;或任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-8}$  烷基:卤素、羟基、 $C_{1-4}$  烷基氧基、氨基、单或二  $-C_{1-4}$  烷基氨基和具有 3 至 7 个环原子的单环碳环或杂环基团,其中碳环或杂环基团是未取代的或者被一个或多个取代基  $R^{10}$  取代,并且其中烷基的 1 或 2 个碳原子可以任选被选自 O、S、NH、SO、 $SO_2$  的原子或基团代替;

$R^2$  是氢;卤素; $C_{1-4}$  烷氧基;或任选被卤素、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷基;

$R^3$  选自氢和具有 3 至 7 个环原子的单环碳环和杂环基团,其中碳环或杂环基团是未取代的或者被一个或多个取代基  $R^{10}$  取代;并且

$R^4$  是氢或任选被卤素、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷基;并且

$R^{10}$  选自卤素、羟基、三氟甲基、氰基、硝基、羧基、氨基、单-或二  $-C_{1-4}$  烷基氨基、具有 3 至 7 个环原子的单环碳环和杂环基团;基团  $R^a-R^b$ , 其中  $R^a$  是键、O、CO、 $X^1C(X^2)$ 、 $C(X^2)X^1$ 、 $X^1C(X^2)X^1$ 、S、SO、 $SO_2$ 、 $NR^c$ 、 $SO_2NR^c$  或  $NR^cSO_2$ ; 并且  $R^b$  选自氢、具有 3 至 7 个环原子的单环碳环和杂环基团以及任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-8}$  烷基:羟基、氧代、卤素、氰基、硝基、羧基、氨基、单-或二  $-C_{1-4}$  烷基氨基、具有 3 至 7 个环原子的单环碳环和杂环基团,并且其中  $C_{1-8}$  烷基的一个或多个碳原子可以任选被 O、S、SO、 $SO_2$ 、 $NR^c$ 、 $X^1C(X^2)$ 、 $C(X^2)X^1$  或  $X^1C(X^2)X^1$  代替;

$R^c$  选自氢和  $C_{1-4}$  烷基;并且

$X^1$  是 O、S 或  $NR^c$  并且  $X^2$  是  $=O$ 、 $=S$  或  $=NR^c$ ;

并且条件是其中取代基  $R^{10}$  包含或包括碳环或杂环基团,所述碳环或杂环基团可以是未取代的或可以自身被一个或多个另外的取代基  $R^{10}$  取代,并且其中 (a) 此类另外的取代基  $R^{10}$  包括碳环或杂环基团,它们自身不被进一步取代;或者 (b) 所述的另外的取代基不包括碳环或杂环基团,而是另外选自在上文  $R^{10}$  的定义中列出的基团;

其中细胞毒化合物选自下列组:

喜树碱化合物,其中喜树碱化合物选自喜树碱和托泊替康;

抗代谢物;其中抗代谢物选自吉西他滨、卡培他滨、阿糖胞苷、雷替曲塞、培美曲塞和甲氨蝶呤;或 6- 巯基嘌呤、6- 硫代鸟嘌呤、克拉屈滨、2'- 脱氧考福霉素和羟基脲;

长春花生物碱,其中长春花生物碱选自长春地辛、vinvesir、长春碱、长春新碱和长春

瑞滨；

紫杉烷类，其中紫杉烷类选自紫杉醇和多西他赛；

铂化合物，其中铂化合物选自氯（二亚乙基二氨基）-合铂（II）氯化物；二氯（亚乙基二氨基）-合铂（II）、螺铂；异丙铂；二氨基（2-乙基丙二酸根）合铂（II）；（1,2-二氨基环己烷）丙二酸根合铂（II）；（4-羧基邻苯二甲酸根）-（1,2-二氨基环己烷）合铂（II）；（1,2-二氨基环己烷）-（异柠檬酸根）合铂（II）；（1,2-二氨基环己烷）-顺-（丙酮酸根）合铂（II）；onnaplatin；四铂、卡铂或奥沙利铂；

拓扑异构酶 II 抑制剂，其中拓扑异构酶 II 抑制剂选自柔红霉素、伊达比星、表柔比星；或者选自依托泊苷和替尼泊苷；或者是米托蒽醌；或者选自洛索蒽醌和放线菌素 D；和

两种或多种前述种类的组合；

并且信号抑制剂选自

靶向 EGFR 的抗体；

EGFR 酪氨酸激酶抑制剂；

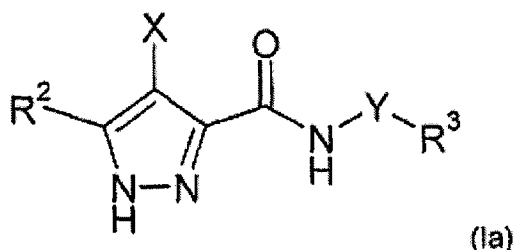
靶向 VEGF/VEGF 受体系统的抗体；

PDGFR 抑制剂；

Raf 抑制剂；和

PKB 途径抑制剂。

2. 权利要求 1 的组合，其包含细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (Ia) 化合物或其盐或互变异构体：



其中

X 是基团  $R^1-A-NR^4-$ ；

A 是键、 $C=O$ 、 $NR^8$  ( $C=O$ ) 或  $O(C=O)$ ，其中  $R^8$  是氢或任选被羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷基；

Y 是键或长度为 1、2 或 3 个碳原子的亚烷基链；

$R^1$  是具有 3 至 7 个环原子的单环碳环或杂环基团，其中碳环或杂环基团是未取代的或者被一个或多个取代基  $R^{10}$  取代；或任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-8}$  烷基：氟、羟基、 $C_{1-4}$  烷基氧基、氨基、单或二- $C_{1-4}$  烷基氨基和具有 3 至 7 个环原子的单环碳环或杂环基团，其中碳环或杂环基团是未取代的或者被一个或多个取代基  $R^{10}$  取代，并且其中烷基的 1 或 2 个碳原子可以任选被选自 O、S、NH、SO、SO<sub>2</sub> 的原子或基团代替；

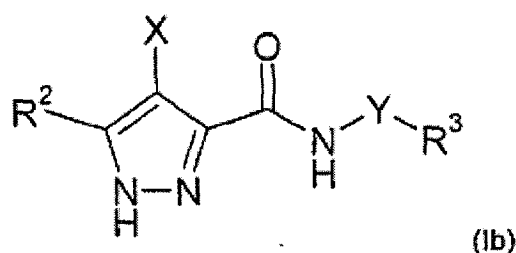
$R^2$  是氢；卤素； $C_{1-4}$  烷氧基；或任选被卤素、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷基；

$R^3$  选自氢和具有 3 至 7 个环原子的单环碳环和杂环基团，其中碳环或杂环基团是未取代的或者被一个或多个取代基  $R^{10}$  取代；并且

$R^4$  是氢或任选被卤素、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷基；并且

$R^{10}$  如权利要求 1 中定义。

3. 权利要求1的组合,其包含细胞毒化合物或信号抑制剂和式(Ib)化合物或其盐或互变异构体:



其中

X 是基团  $R^1-A-NR^4-$ ;

A 是键、 $C=O$ 、 $NR^6$  ( $C=O$ ) 或  $O(C=O)$ , 其中  $R^6$  是氢或任选被羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷基;

Y 是键或长度为 1、2 或 3 个碳原子的亚烷基链;

$R^1$  是具有 3 至 7 个环原子的单环碳环或杂环基团, 其中碳环或杂环基团是未取代的或者被一个或多个取代基  $R^{10}$  取代; 或任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-8}$  烷基: 氟、羟基、 $C_{1-4}$  烷基氧基、氨基、单或二- $C_{1-4}$  烷基氨基和具有 3 至 7 个环原子的单环碳环或杂环基团, 其中碳环或杂环基团是未取代的或者被一个或多个取代基  $R^{10}$  取代, 并且其中烷基的 1 或 2 个碳原子可以任选被选自 O、S、NH、SO、 $SO_2$  的原子或基团代替;

$R^2$  是氢; 卤素;  $C_{1-4}$  烷氧基; 或任选被卤素、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷基;

$R^3$  选自具有 3 至 7 个环原子的单环碳环和杂环基团, 其中碳环或杂环基团是未取代的或者被一个或多个取代基  $R^{10}$  取代; 并且

$R^4$  是氢或任选被卤素、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷基; 并且

$R^{10}$  如权利要求 1 中定义。

4. 权利要求 3 的组合, 其中 A 是  $C=O$ 。

5. 前述权利要求中任意一项的组合, 其中  $R^4$  是氢。

6. 前述权利要求中任意一项的组合, 其中  $R^2$  是氢或甲基。

7. 权利要求 6 的组合, 其中  $R^2$  是氢。

8. 权利要求 1 的组合, 其中 Y 是键。

9. 权利要求 1 的组合, 其中  $R^1$  是具有 3 至 7 个环原子的单环碳环或杂环基团。

10. 权利要求 9 的组合, 其中单环碳环和杂环基团是芳基。

11. 权利要求 10 的组合, 其中芳基是取代或未取代的苯基。

12. 前述权利要求中任意一项的组合, 其中取代基  $R^{10}$  选自基团  $R^{10a}$ , 包括卤素、羟基、三氟甲基、氰基、硝基、羧基、基团  $R^a-R^b$ , 其中  $R^a$  是键、O、CO、 $X^3C(X^4)$ 、 $C(X^4)X^3$ 、 $X^3C(X^4)X^3$ 、S、SO 或  $SO_2$ , 并且  $R^b$  选自氢和任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-8}$  烷基: 羟基、氧代、卤素、氰基、硝基、羧基和具有 3 至 6 个环原子的单环非芳族碳环或杂环基团; 并且其中  $C_{1-8}$  烷基的一个或多个碳原子可以任选被 O、S、SO、 $SO_2$ 、 $X^3C(X^4)$ 、 $C(X^4)X^3$  或  $X^3C(X^4)X^3$  代替;  $X^3$  是 O 或 S; 并且  $X^4$  是  $=O$  或  $=S$ 。

13. 权利要求 12 的组合, 其中取代基选自卤素、羟基、三氟甲基、基团  $R^a-R^b$ , 其中  $R^a$  是键或 O, 并且  $R^b$  选自氢和任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-4}$  烷基: 羟基、卤素和 5 和 6 元饱和的碳环和杂环基团。

14. 权利要求 11 的组合, 其中  $R^1$  是在环的 2、3、4、5 或 6 位具有 1、2 或 3 个取代基的苯环。

15. 权利要求 14 的组合, 其中苯基是 2- 单取代的、3- 单取代的、2,6- 二取代的、2,3- 二取代的、2,4- 二取代的、2,5- 二取代的、2,3,6- 三取代的或 2,4,6- 三取代的。

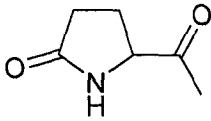
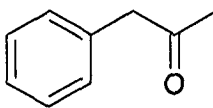
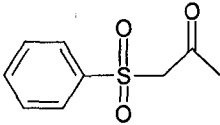
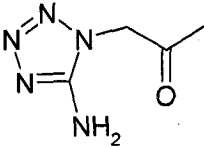
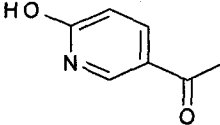
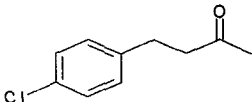
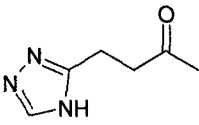
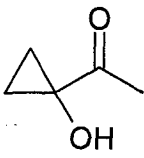
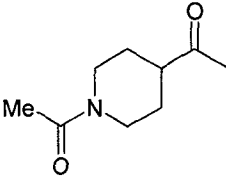
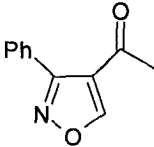
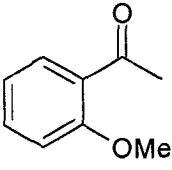
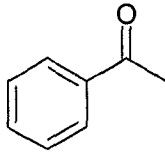
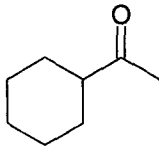
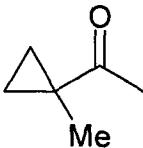
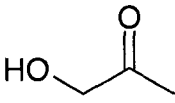
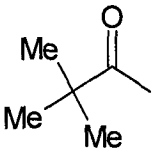
16. 权利要求 15 的组合, 其中苯基是:

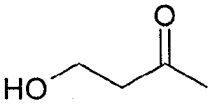
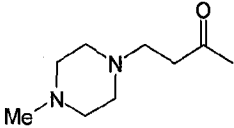
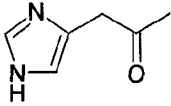
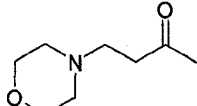
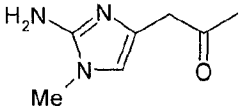
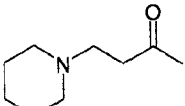
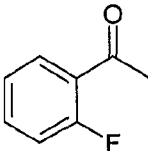
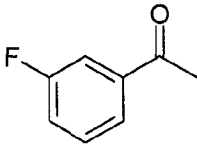
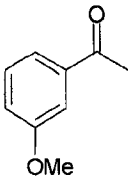
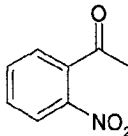
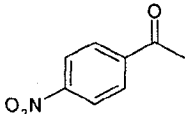
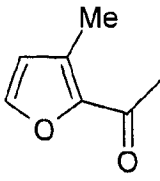
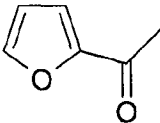
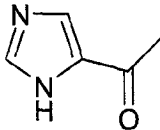
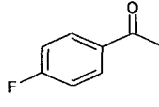
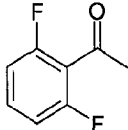
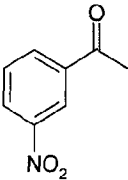
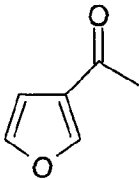
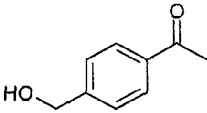
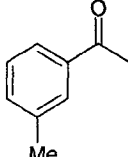
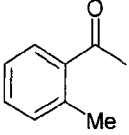
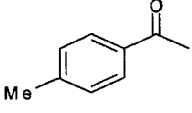
(i) 被选自氟、氯和其中  $R^a$  是 O 并且  $R^b$  是  $C_{1-4}$  烷基的  $R^a-R^b$  的取代基在 2 位单取代的, 或在 2 和 3 位二取代的, 或在 2 和 6 位二取代的; 或

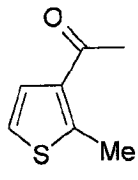
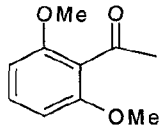
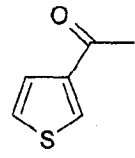
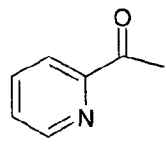
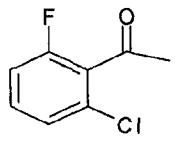
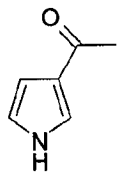
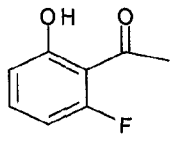
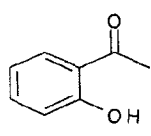
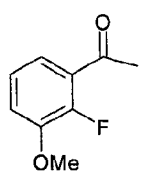
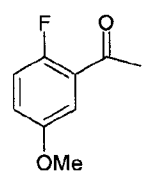
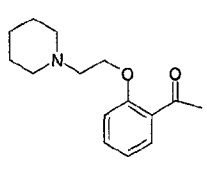
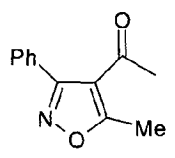
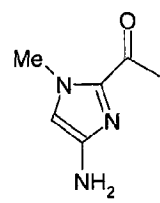
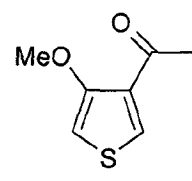
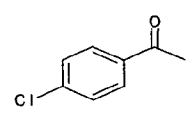
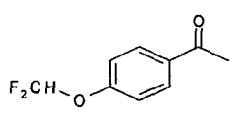
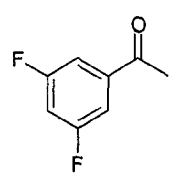
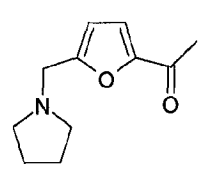
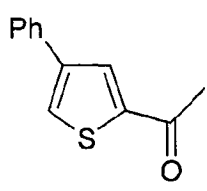
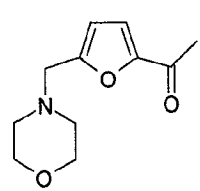
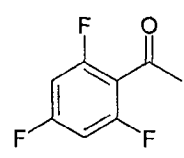
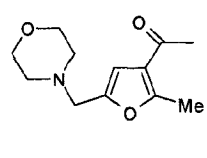
(ii) 被选自氟、氯和任选被一个或多个氟原子取代的  $C_{1-4}$  烷氧基的取代基在 2 位单取代的; 或被选自氟、氯和甲氧基的取代基在 2 和 5 位二取代的。

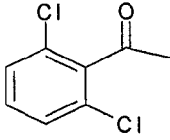
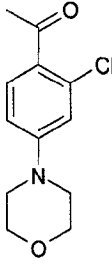
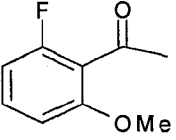
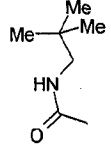
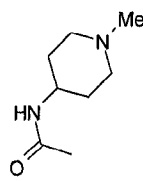
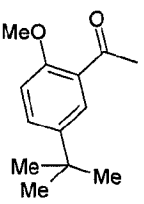
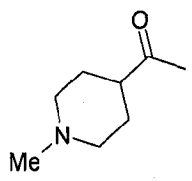
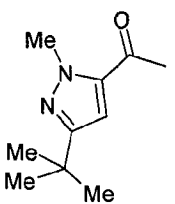
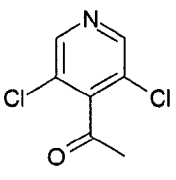
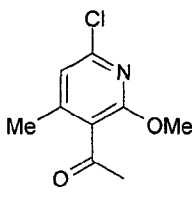
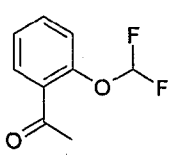
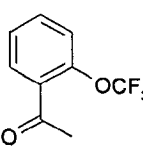
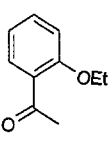
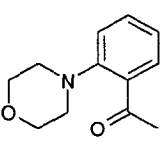
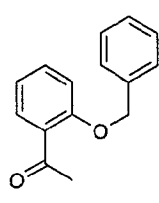
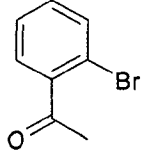
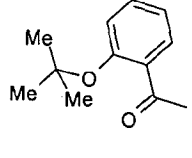
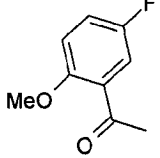
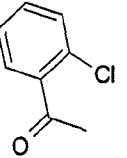
17. 权利要求 1 的组合, 其中 A 是 CO 并且  $R^1-CO-$  选自下表 1 中列出的基团:

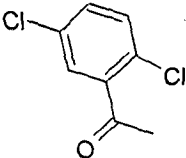
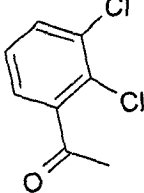
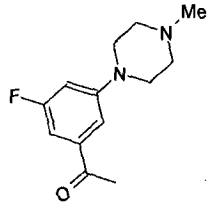
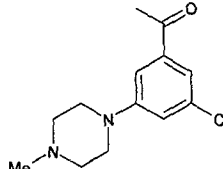
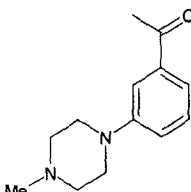
表 1-基团  $R^1$ -CO 的实例

|                                                                                          |                                                                                          |                                                                                           |                                                                                            |
|------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| $\text{CH}_3\text{-C(=O)-}$<br>A                                                         | $\text{CF}_3\text{-C(=O)-}$<br>B                                                         | <br>C   | <br>D   |
|                                                                                          | <br>F   | <br>G   | <br>H   |
| <br>I   | <br>J   |                                                                                           | <br>L   |
| <br>M | <br>N | <br>O | <br>P |
| <br>Q | <br>R | <br>S | <br>T |

|                                                                                           |                                                                                           |                                                                                            |                                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| <br>U    | <br>V    | <br>W    | <br>X    |
| <br>Y    | <br>Z    | <br>AA   | <br>AB   |
| <br>AC   | <br>AD   | <br>AE   | <br>AF   |
| <br>AG | <br>AH | <br>AI | <br>AJ |
| <br>AK | <br>AL |                                                                                            | <br>AN |
|                                                                                           | <br>AP | <br>AQ | <br>AR |

|                                                                                           |                                                                                           |                                                                                            |                                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| <br>AS   | <br>AT   |                                                                                            | <br>AV   |
| <br>AW   | <br>AX   | <br>AY   | <br>AZ   |
| <br>BA   | <br>BB   | <br>BC   | <br>BD   |
| <br>BE | <br>BF | <br>BG |                                                                                             |
| <br>BI | <br>BJ | <br>BK | <br>BL |
| <br>BM | <br>BN | <br>BO | <br>BP |

|                                                                                            |                                                                                            |                                                                                             |                                                                                              |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| <br>BQ    | <br>BR    | <br>BS    | <br>BT    |
| <br>BU    | <br>BV    | <br>BW    | <br>BX    |
|                                                                                            | <br>BZ   | <br>BAA  | <br>BAB  |
| <br>BAC | <br>BAD | <br>BAE | <br>BAF |
| <br>BAG | <br>BAH | <br>BAI | <br>BAJ |

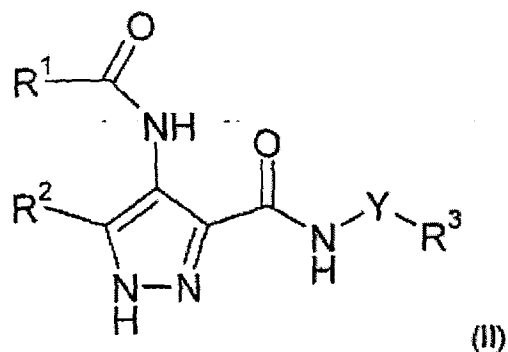
|                                                                                              |                                                                                              |                                                                                               |                                                                                                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>BAK</p> |  <p>BAL</p> |  <p>BAM</p> |  <p>BAN</p> |
|  <p>BAO</p> |                                                                                              |                                                                                               |                                                                                                |

18. 权利要求 17 的组合, 其中  $R^1$ -CO 选自表 1 中的基团 J、AB、AH、AJ、AL、AS、AX、AY、AZ、BA、BB、BD、BL、BQ 和 BS。

19. 权利要求 17 的组合, 其中  $R^1$ -CO 选自表 1 中的基团 AJ、AX、BQ、BS 和 BAI。

20. 权利要求 17 的组合, 其中  $R^1$ -CO 选自表 1 中的基团 AJ 和 BQ。

21. 权利要求 1 的组合, 其包含细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (II) 化合物:



其中  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  和 Y 如权利要求 1 中定义的。

22. 权利要求 21 的组合, 其中  $R^1$  选自:

(i) 任选被一个或多个选自下列的取代基取代的苯基: 氟; 氯; 羟基; 包含 1 或 2 个选自 O、N 和 S 的杂原子的 5 和 6 元饱和的杂环基团, 该杂环基团任选被一个或多个  $C_{1-4}$  烷基取代;  $C_{1-4}$  烷基氧基和  $C_{1-4}$  烷基; 其中  $C_{1-4}$  烷基和  $C_{1-4}$  烷基氧基任选被一个或多个选自下列的取代基取代: 羟基、氟、 $C_{1-2}$  烷基氧基、氨基、单或二- $C_{1-4}$  烷基氨基、苯基、卤苯基、具有 3 至 7 个环原子的饱和的碳环基团或者具有 5 或 6 个环原子并且包含至多 2 个选自 O、S 和 N 的杂原子的饱和的杂环基团; 或 2,3-二氢-苯并[1,4]二噁烯; 或

(ii) 包含 1 或 2 个选自 O、S 和 N 的杂原子的单环杂芳基; 或包含 1 个选自 O、S 和 N 的杂原子的二环杂芳基; 各自任选被一个或多个选自下列的取代基取代的单环和二环杂芳基: 氟; 氯;  $C_{1-3}$  烷基氧基; 和  $C_{1-3}$  烷基, 该  $C_{1-3}$  烷基任选被羟基、氟、甲氧基或包含至多 2 个选自 O、S 和 N 的杂原子的 5 或 6 元饱和的碳环或杂环基团取代;

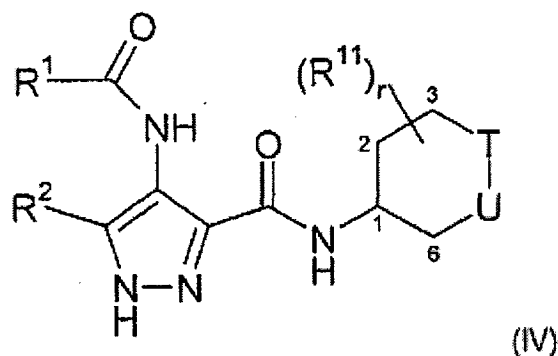
(iii) 具有 3 至 6 个环原子的取代或未取代的环烷基 ; 以及

(iv) 任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-4}$  烷基 : 氟 ; 羟基 ;  $C_{1-4}$  烷基氧基 ; 氨基 ; 单 - 或二 -  $C_{1-4}$  烷基氨基 ; 和具有 3 至 7 个环原子的单环碳环或杂环基团, 并且其中烷基的碳原子之一可以任选被选自 O、NH、SO 和  $SO_2$  的原子或基团代替。

23. 权利要求 22 的组合,  $R^1$  选自未取代的苯基、2-氟苯基、2-羟基苯基、2-甲氧基苯基、2-甲基苯基、2-(2-(吡咯烷-1-基)乙氧基)-苯基、3-氟苯基、3-甲氧基苯基、2,6-二氟苯基、2-氟-6-羟基苯基、2-氟-3-甲氧基苯基、2-氟-5-甲氧基苯基、2-氯-6-甲氧基苯基、2-氟-6-甲氧基苯基、2,6-二氯苯基和 2-氯-6-氟苯基 ; 并且任选进一步选自 5-氟-2-甲氧基苯基。

24. 权利要求 23 的组合, 其中  $R^1$  选自 2,6-二氟苯基、2-氟-6-甲氧基苯基、2,6-二氯苯基和 2-氯-6-氟苯基。

25. 权利要求 1 的组合, 其包含细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (IV) 化合物或其盐或互变异构体 :



其中  $R^1$  和  $R^2$  如权利要求 1 中定义的 ;

在碳原子 1 和 2 之间可以存在任选的第二个键 ;

U 和 T 中的一个选自  $CH_2$ 、 $CHR^{13}$ 、 $CR^{11}R^{13}$ 、 $NR^{14}$ 、 $N(O)R^{15}$ 、O 和  $S(O)_t$  ; 并且 U 和 T 中的另一个选自  $NR^{14}$ 、O、 $CH_2$ 、 $CHR^{11}$ 、 $C(R^{11})_2$  和  $C=O$  ; r 是 0、1、2、3 或 4 ; t 是 0、1 或 2 ;

$R^{11}$  选自氢、卤素、 $C_{1-3}$  烷基和  $C_{1-3}$  烷氧基 ;

$R^{13}$  选自氢、 $NHR^{14}$ 、 $NOH$ 、 $NOR^{14}$  和  $R^a-R^b$  ;

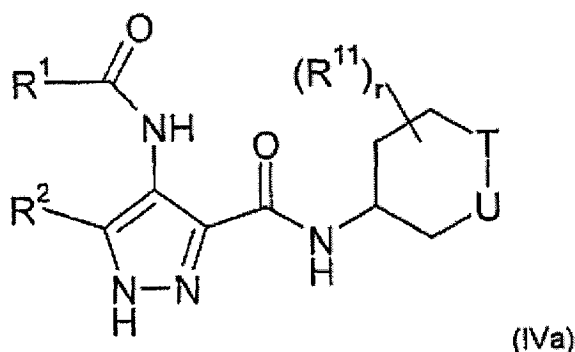
$R^{14}$  选自氢和  $R^d-R^b$  ;

$R^d$  选自键、CO、 $C(X^2)X^1$ 、 $SO_2$  和  $SO_2NR^c$  ;

$R^a$ 、 $R^b$  和  $R^c$  如权利要求 1 中定义的 ; 并且

$R^{15}$  选自任选被羟基、 $C_{1-2}$  烷氧基、卤素或单环 5 或 6 元碳环或杂环基团取代的  $C_{1-4}$  饱和的烷基, 条件是 U 和 T 不能同时是 O。

26. 权利要求 25 的组合, 其包含细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (IVa) 化合物或其盐或互变异构体 :



其中

U 和 T 中的一个选自  $\text{CH}_2$ 、 $\text{CHR}^{13}$ 、 $\text{CR}^{11}\text{R}^{13}$ 、 $\text{NR}^{14}$ 、 $\text{N}(\text{O})\text{R}^{15}$ 、O 和  $\text{S}(\text{O})_t$ ；并且 U 和 T 中的另一个选自  $\text{CH}_2$ 、 $\text{CHR}^{11}$ 、 $\text{C}(\text{R}^{11})_2$  和  $\text{C}=\text{O}$ ；r 是 0、1 或 2；t 是 0、1 或 2；

$\text{R}^{11}$  选自氢和  $\text{C}_{1-3}$  烷基；

$\text{R}^{13}$  选自氢和  $\text{R}^a\text{-R}^b$ ；

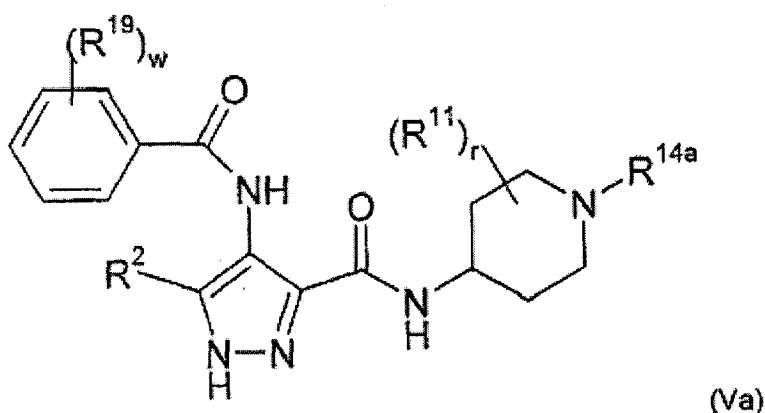
$\text{R}^{14}$  选自氢和  $\text{R}^d\text{-R}^b$ ；

$\text{R}^d$  选自键、CO、 $\text{C}(\text{X}^2)\text{X}^1$ 、 $\text{SO}_2$  和  $\text{SO}_2\text{NR}^c$ ；

$\text{R}^{15}$  选自任选被羟基、 $\text{C}_{1-2}$  烷氧基、卤素或单环 5 或 6 元碳环或杂环基团取代的  $\text{C}_{1-4}$  饱和的烃基；并且

$\text{R}^1$ 、 $\text{R}^2$ 、 $\text{R}^a$ 、 $\text{R}^b$  和  $\text{R}^c$  如权利要求 1 中定义的。

27. 权利要求 26 的组合，其包含细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (Va) 化合物或其盐或互变异构体：



其中

$\text{R}^{14}$  选自氢、任选被氟取代的  $\text{C}_{1-4}$  烷基、环丙基甲基、苯基- $\text{C}_{1-2}$  烷基、 $\text{C}_{1-4}$  烷氧基羰基、苯基- $\text{C}_{1-2}$  烷氧基羰基、 $\text{C}_{1-2}$  烷氧基- $\text{C}_{1-2}$  烷基和  $\text{C}_{1-4}$  烷基磺酰基，其中当苯基存在时，其任选被 1 至 3 个选自下列的取代基取代：氟、氯、任选被氟或  $\text{C}_{1-2}$  烷氧基取代的  $\text{C}_{1-4}$  烷氧基和任选被氟或  $\text{C}_{1-2}$  烷氧基取代的  $\text{C}_{1-4}$  烷基；

w 是 0、1、2 或 3；

$\text{R}^2$  是氢或甲基；

$\text{R}^{11}$  和 r 如权利要求 26 中定义的；并且

$\text{R}^{19}$  选自氟；氯；任选被氟或  $\text{C}_{1-2}$  烷氧基取代的  $\text{C}_{1-4}$  烷氧基和任选被氟或  $\text{C}_{1-2}$  烷氧基取代的  $\text{C}_{1-4}$  烷基。

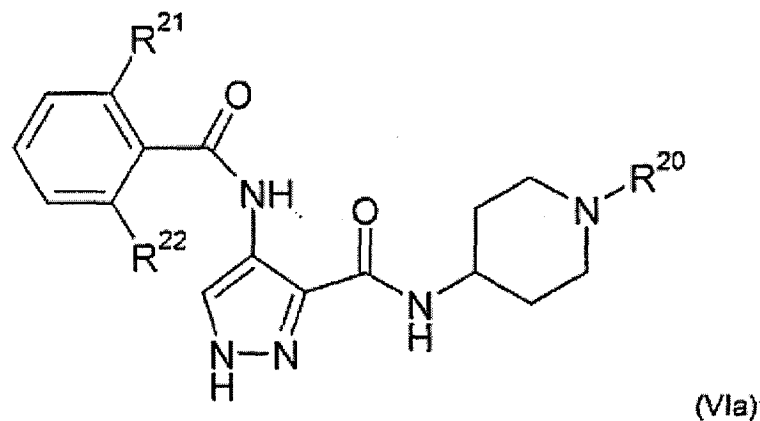
28. 权利要求 27 的组合，其中苯环是被选自氟、氯和甲氧基的取代基在 2 位和 6 位二取

代的。

29. 权利要求 27 的组合, 其中  $R^{11}$  是氢。

30. 权利要求 27 的组合, 其中  $R^{14a}$  是氢或甲基。

31. 权利要求 30 的组合, 其包含细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (VIa) 化合物或其盐或互变异构体:



其中

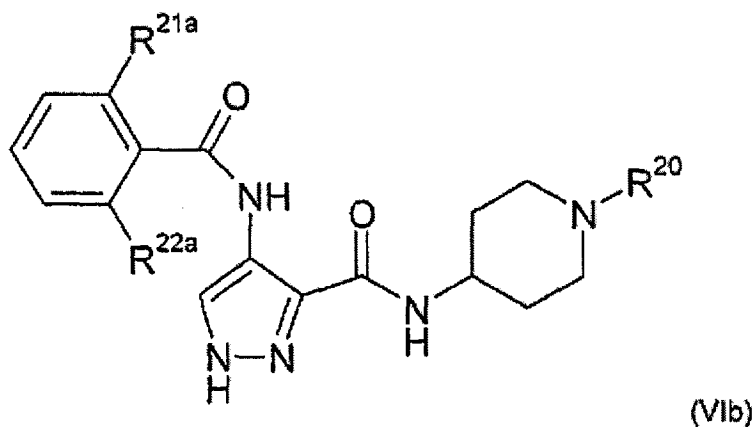
$R^{20}$  选自氢和甲基;

$R^{21}$  选自氟和氯; 并且

$R^{22}$  选自氟、氯和甲基; 或

$R^{21}$  和  $R^{22}$  中的一个为氢并且另一个选自氯、甲氧基、乙氧基、二氟甲氧基、三氟甲氧基和苄氧基。

32. 权利要求 31 的组合, 其包含细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (VIb) 化合物或其盐或互变异构体:



其中

$R^{20}$  选自氢和甲基;

$R^{21a}$  选自氟和氯; 并且

$R^{22a}$  选自氟、氯和甲氧基。

33. 权利要求 32 的组合, 其中式 (VIb) 化合物选自:

4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺;

4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(1-甲基-哌啶-4-基)-酰胺;

4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺; 和

4-(2- 氟 -6- 甲氧基 - 苯甲酰基氨基 )-1H- 吡唑 -3- 甲酸哌啶 -4- 基酰胺。

34. 权利要求 33 的组合,其中式 (VIb) 化合物是 4-(2,6-二氯 - 苯甲酰基氨基 )-1H- 吡唑 -3- 甲酸哌啶 -4- 基酰胺。

35. 前述权利要求中任意一项的组合,其中式 (I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(IVa)、(Va)、(VIa) 或 (VIb) 化合物是盐形式。

36. 权利要求 34 的组合,其中 4-(2,6-二氯 - 苯甲酰基氨基 )-1H- 吡唑 -3- 甲酸哌啶 -4- 基酰胺是盐形式。

37. 权利要求 34 的组合,其中 4-(2,6-二氯 - 苯甲酰基氨基 )-1H- 吡唑 -3- 甲酸哌啶 -4- 基酰胺是酸加成盐形式。

38. 权利要求 37 的组合,其中 4-(2,6-二氯 - 苯甲酰基氨基 )-1H- 吡唑 -3- 甲酸哌啶 -4- 基酰胺是选自与盐酸、甲磺酸和乙酸形成的酸加成盐的盐形式。

39. 权利要求 37 的组合,其中 4-(2,6-二氯 - 苯甲酰基氨基 )-1H- 吡唑 -3- 甲酸哌啶 -4- 基酰胺的盐是与盐酸形成的盐。

40. 权利要求 37 的组合,其中 4-(2,6-二氯 - 苯甲酰基氨基 )-1H- 吡唑 -3- 甲酸哌啶 -4- 基酰胺的盐是与甲磺酸形成的盐。

41. 权利要求 36 的组合,其中 4-(2,6-二氯 - 苯甲酰基氨基 )-1H- 吡唑 -3- 甲酸哌啶 -4- 基酰胺的盐是与乙酸形成的盐。

42. 前述权利要求中任意一项的组合,其中细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(IV)、(IVa)、(Va)、(VIa) 或 (VIb) 化合物是物理关联的。

43. 权利要求 42 的组合,其中细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(IV)、(IVa)、(Va)、(VIa) 或 (VIb) 化合物是:(a) 混合的;(b) 化学 / 物理化学连接的;(c) 化学 / 物理化学共包装的;或(d) 未混合但共包装或共存的。

44. 权利要求 1 至 41 中任意一项的组合,其中细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(IV)、(IVa)、(Va)、(VIa) 或 (VIb) 化合物是 非物理关联的。

45. 权利要求 44 的组合,其中组合包含:(a) 两种或多种化合物中至少一种化合物以及用于临时关联至少一种化合物以形成两种或多种化合物的物理关联的说明书;或(b) 两种或多种化合物中至少一种化合物以及用于用两种或多种化合物组合治疗的说明书;(c) 两种或多种化合物中至少一种化合物以及用于给患者群体施用的说明书,其中两种或多种化合物中另外的化合物已经被(或正被)施用;(d) 两种或多种化合物中至少一种化合物,所述的化合物的量或形式是特别适用于与两种或多种化合物中另外的化合物组合应用的。

46. 前述权利要求中任意一项定义的组合,其是药包、药盒或患者包形式。

47. 权利要求 1 至 45 中任意一项的组合在制备用于减轻或降低疾病或病症的发生的药物中的用途,所述的疾病或病症包括或源于哺乳动物的异常细胞生长。

48. 权利要求 1 至 45 中任意一项的组合在制备用于治疗疾病或病症的药物中的用途,所述的疾病或病症包括或源于哺乳动物的异常细胞生长。

49. 权利要求 1 至 45 中任意一项的组合在制备用于抑制哺乳动物的肿瘤生长的药物中的用途。

50. 权利要求 1 至 45 中任意一项的组合在制备用于抑制肿瘤细胞生长的药物中的用途。

51. 药物组合物,该药物组合物包含权利要求1至45中任意一项的组合和可药用载体。

52. 权利要求1至45中任意一项的组合,其用于医药。

53. 权利要求1至45中任意一项的组合在制备用于治疗哺乳动物患者的癌症的药物中的用途,其中患者被筛选以确定该患者所患或可能患有的癌症是否是对用具有对抗细胞周期蛋白依赖性激酶活性的化合物和细胞毒化合物或信号抑制剂治疗敏感的癌症;和表明患者的疾病或病症对此是敏感的。

54. 权利要求1至45中任意一项的组合在制备药物中的用途,所述的 药物用于治疗或预防已经被筛选并且已经确定患有或有患有危险的患者的癌症,所述的癌症将对用权利要求1至45中任意一项定义的组合的治疗敏感。

55. 权利要求1至45中任意一项的组合在制备用于预防、治疗或处理需要的患者的癌症的药物中的用途。

56. 权利要求1至45中任意一项的组合在制备用于在温血动物、例如人类中产生抗癌作用的药物中的用途。

57. 药包、药盒或患者包,所述的药包、药盒或患者包包含权利要求1至45中任意一项的组合。

58. 用于抗癌治疗的药包、药盒或患者包,所述的药包、药盒或患者包包含剂型的权利要求1中定义的细胞毒化合物或信号抑制剂和也为剂型的权利要求1至45中任意一项的式(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(IV)、(IVa)、(Va)、(VIa)或(VIb)化合物。

59. 权利要求1至45中任意一项定义的式(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(IV)、(IVa)、(Va)、(VIa)或(VIb)化合物在制备用于与权利要求1中定义的细胞毒化合物或信号抑制剂进行抗癌组合治疗的药物中的用途。

60. 权利要求1至45中任意一项定义的式(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(IV)、(IVa)、(Va)、(VIa)或(VIb)化合物在制备用于与权利要求1中定义的细胞毒化合物或信号抑制剂组合治疗以减轻或降低疾病或病症的发生的药物中的用途,所述的疾病或病症包括或源于哺乳动物的异常细胞生长。

61. 权利要求1至45中任意一项定义的式(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(IV)、(IVa)、(Va)、(VIa)或(VIb)化合物在制备用于与权利要求1中定义的细胞毒化合物或信号抑制剂组合治疗以抑制哺乳动物的肿瘤生长的药物中的用途。

62. 权利要求1至45中任意一项定义的式(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(IV)、(IVa)、(Va)、(VIa)或(VIb)化合物在制备用于与权利要求1中定义的细胞毒化合物或信号抑制剂组合治疗以预防、治疗或处理需要的患者的癌症的药物中的用途。

63. 权利要求1至45中任意一项定义的式(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(IV)、(IVa)、(Va)、(VIa)或(VIb)化合物在制备用于增加或提高患有癌症的患者的响应率的药物中的用途,其中患者是正在用权利要求1中定义的细胞毒化合物或信号抑制剂治疗的。

64. 权利要求1中定义的细胞毒化合物或信号抑制剂在制备药物中的用途,该药物用于治疗或预防正在接受权利要求1至45中任意一项定义的式(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(IV)、(IVa)、(Va)、(VIa)或(VIb)化合物治疗的患者。

65. 权利要求1至45中任意一项定义的式(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(IV)、(IVa)、(Va)、(VIa)或(VIb)化合物在制备药物中的用途,该药物用于治疗或预防正在接受权利要求1中

定义的细胞毒化合物或信号抑制剂治疗的患者。

66. 权利要求 1 至 45 中任意一项的组合,其中抗代谢化合物、紫杉烷化合物或信号抑制剂选自吉西他滨、卡培他滨、阿糖胞苷、雷替曲塞、培美曲塞、甲氨蝶呤、紫杉醇、多西他赛、曲妥单抗、西妥昔单抗、吉非替尼、埃罗替尼、贝伐单抗、甲磺酸伊马替尼和索拉非尼。

67. 权利要求 66 的组合,其中抗代谢化合物选自吉西他滨、卡培他滨、阿糖胞苷、雷替曲塞、培美曲塞和甲氨蝶呤。

68. 权利要求 66 的组合,其中信号抑制剂选自曲妥单抗、西妥昔单抗、吉非替尼、埃罗替尼、贝伐单抗、甲磺酸伊马替尼和索拉非尼。

69. 权利要求 66 的组合,其中抗代谢化合物、紫杉烷化合物或信号抑制剂是紫杉醇、吉西他滨或吉非替尼(易瑞沙)。

70. 权利要求 1 至 45 中任意一项的组合,其中喜树碱化合物是喜树碱。

71. 权利要求 70 的组合,其中喜树碱化合物是托泊替康。

72. 权利要求 1 至 45 中任意一项的组合,其中细胞毒药物是长春花生物碱化合物。

73. 权利要求 1 至 72 中任意一项的组合,其中长春花生物碱化合物选自长春瑞滨、长春碱和长春新碱。

74. 权利要求 73 的组合,其中长春花生物碱化合物是长春瑞滨。

75. 权利要求 73 的组合,其中长春花生物碱化合物是长春碱。

76. 权利要求 73 的组合,其中长春花生物碱化合物是长春新碱。

77. 权利要求 1 至 45 中任意一项的组合,其中细胞毒药物是铂化合物。

78. 权利要求 1 至 77 中任意一项的组合,其中铂化合物选自氯(二亚乙基二氨基)-合铂(II)氯化物;二氯(亚乙基二氨基)-合铂(II);螺铂;异丙铂;二氨基(2-乙基丙二酸根)合铂(II);(1,2-二氨基环己烷)丙二酸根合铂(II);(4-羧基邻苯二甲酸根)-(1,2-二氨基环己烷)合铂(II);(1,2-二氨基环己烷)-(异柠檬酸根)合铂(II);(1,2-二氨基环己烷)-顺-(丙酮酸根)合铂(II);onnaplatin;四铂;卡铂或奥沙利铂。

79. 权利要求 78 的组合,其中铂化合物是卡铂或奥沙利铂。

80. 权利要求 79 的组合,其中铂化合物是卡铂。

81. 权利要求 1 至 45 中任意一项的组合,其中拓扑异构酶 2 抑制剂是米托蒽醌。

82. 权利要求 1 至 45 中任意一项的组合,其中拓扑异构酶 2 抑制剂选自柔红霉素、伊达比星和表柔比星。

83. 权利要求 1 至 45 中任意一项的组合,其中拓扑异构酶 2 抑制剂选自依托泊苷和替尼泊苷。

84. 权利要求 83 的组合,其中拓扑异构酶 2 抑制剂是依托泊苷。

85. 权利要求 1 至 45 和 66 至 84 中的任意一项的组合,其中式(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(IV)、(IVa)、(Va)、(VIa)或(VIb)化合物是4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺的甲磺酸盐。

86. 权利要求 85 的组合,其中4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺的甲磺酸盐是结晶形式。

87. 根据权利要求 1 至 45 中任意一项的组合在制备用于预防或者治疗癌症的药物中的用途。

88. 根据权利要求 87 的用途,其中癌症是膀胱癌、乳腺癌、结肠癌、肾癌、表皮癌、肝癌、肺癌、食道癌、胆囊癌、卵巢癌、胰腺癌、胃癌、宫颈癌、甲状腺癌、前列腺癌或皮肤癌;淋巴谱系的造血肿瘤;骨髓谱系的造血肿瘤;甲状腺滤泡癌;间充质起源的肿瘤;中枢或外周神经系统的肿瘤;黑素瘤;精原细胞瘤;恶性畸胎瘤;骨肉瘤;着色性干皮病;keratoctanthoma;或卡波西肉瘤。

89. 根据权利要求 87 的用途,其中癌症选自乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌、食管癌、鳞状癌和非小细胞肺癌。

90. 根据权利要求 88 的用途,其中癌症是白血病。

91. 权利要求 88 的用途,其中癌症是选自慢性淋巴细胞白血病和 B-细胞淋巴瘤的淋巴谱系的造血肿瘤。

92. 权利要求 88 的用途,其中癌症是套细胞淋巴瘤。

## 药物化合物

[0001] 本发明涉及抑制或调节细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 和 / 或糖原合酶激酶 (GSK, 例如 GSK-3) 的活性的吡唑化合物与细胞毒化合物或信号抑制剂的组合, 以及涉及此类组合的治疗用途。

[0002] 发明背景

[0003] 在申请人早期的国际专利申请号 PCT/GB2004/003179 (公开号: W02005/012256) 中公开了作为细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK 激酶) 和糖原合酶激酶 (GSK-3) 的抑制剂的式 I 化合物及其亚组和化合物 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺及其盐酸加成盐。

[0004] 在申请人早期的申请 USSN 60/645,973 和 GB 0501475.8 中公开了化合物 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺的甲磺酸加成盐和乙酸加成盐及其晶体以及制备它们的方法。

[0005] 蛋白激酶构成了在结构上相关的酶的大家族, 此类酶与细胞内多种信号转导过程的控制有关 (Hardie, G. 和 Hanks, S. (1995) The Protein Kinase Facts Book. I 和 II, Academic Press, San Diego, CA)。可以通过将底物磷酸化 (例如蛋白质-酪氨酸、蛋白质-丝氨酸 / 苏氨酸、脂质等) 而将激酶分类到家族中。已经鉴定了通常相应于每个激酶家族的序列模体 (例如 Hanks, S. K., Hunter, T., FASEB J., 9:576-596 (1995); Knighton 等人, Science, 253:407-414 (1991); Hiles 等人, Cell, 70:419-429 (1992); Kunz 等人, Cell, 73:585-596 (1993); Garcia-Bustos 等人, EMBO J., 13:2352-2361 (1994))。

[0006] 蛋白激酶的特征在于它们的调节机制。这些机制包括例如自磷酸化、通过其它激酶的转磷酸作用、蛋白质-蛋白质相互作用、蛋白质-脂类相互作用以及蛋白质-多核苷酸相互作用。单一的蛋白激酶可以由多于一种机制调节。

[0007] 激酶通过在靶蛋白上添加磷酸基团而调节很多不同的细胞过程, 所述的细胞过程包括但不限于增殖、分化、凋亡、运动、转录、翻译和其它信号过程。这些磷酸化事件用作分子 (开 / 关) 开关, 可以调节或调控靶蛋白生物学功能。靶蛋白的磷酸化因响应于多种细胞外信号 (激素、神经递质、生长和分化因子等)、细胞周期事件、环境或营养应激等而发生。适合的蛋白激酶在 (直接或间接) 活化或钝化例如代谢酶、调节蛋白、受体、细胞骨架蛋白、离子通道或泵或者转录因子的信号传导途径中发挥作用。由于蛋白磷酸化控制缺陷造成的信号传导失控与多种疾病有关, 所述的疾病包括例如炎症、癌症、变态反应 / 哮喘、免疫系统的疾病和病症、中枢神经系统的疾病和病症以及血管生成。

[0008] 细胞周期蛋白依赖性激酶

[0009] 真核细胞分裂的过程可以广义地分成被称为 G1、S、G2 和 M 的一系列的顺序期。已经显示正确进行细胞周期的各期必须取决于称为细胞周期蛋白依赖性激酶 (cdk) 的蛋白质家族和多种它们的被称为细胞周期蛋白的关联蛋白对的空间和时间调节。cdk 是 cdc2 (也称为 cdk1) 同源性丝氨酸-苏氨酸激酶蛋白, 在序列依赖性环境中其在多种多肽的磷酸化中能够利用 ATP 作为底物。细胞周期蛋白是以同源区域为特征的蛋白家族, 所述同源区域含有约 100 个氨基酸, 称为“细胞周期蛋白盒 (cyclin box)”, 其用于与特定 cdk 对

蛋白结合并且确定对其的选择性。

[0010] 在整个细胞周期中,多种 cdk 和细胞周期蛋白的表达水平、降解速率和活化水平的调节导致一系列 cdk/ 细胞周期蛋白复合体的周期性形成,其中 cdk 是具有酶活性的。这些复合体的形成控制了通过离散的细胞周期关卡并且因此使得细胞分裂过程得以继续。在给定的细胞周期关卡不能满足必要的生物化学标准、即不能形成需要的 cdk/ 细胞周期复合体可以导致细胞周期停止和 / 或细胞凋亡。异常的细胞增殖(在癌症中出现)常常可能是由于正确的细胞周期控制的丧失。因此,抑制 cdk 酶活性提供了能够停止异常分裂的细胞分裂和 / 或将其杀死的方法。基于确定的生物化学基本原理,多种 cdk 和 cdk 复合体以及它们在调节细胞周期中的重要作用提供了广谱的潜在治疗靶标。

[0011] 从细胞周期的 G1 期到 S 期的进程主要是由 cdk2、cdk3、cdk4 和 cdk6 通过与 D 及 E 型细胞周期蛋白联合而调节的。D 型细胞周期蛋白在使通道远离 G1 限制点中是有帮助的,而 cdk2/ 细胞周期蛋白 E 复合体对于从 G1 到 S 期的过渡是很关键的。接下来通过 G2 并且进入 S 期的进程被认为是需要 cdk2/ 细胞周期蛋白 A 复合体的。有丝分裂以及触发其 G2 到 M 期的过渡是由 cdk1 以及 A 和 B 型细胞周期蛋白的复合体调节的。

[0012] 在 G1 期期间,视网膜母细胞瘤蛋白(Rb)和相关的口袋蛋白、例如 p130 是 cdk(2、4 和 6)/ 细胞周期蛋白复合体的底物。通过 G1 的进程部分是由过度磷酸化推动的,并且因此通过 cdk(4/6)/ 细胞周期蛋白 -D 复合体钝化了 Rb 和 p130。Rb 和 p130 的过度磷酸化引起了转录因子、例如 E2F 的释放,并且因此通过 G1 并且进入 S 期的进程中需要的基因(例如细胞周期蛋白 E 的基因)表达。细胞周期蛋白 E 的表达推动了 cdk2/ 细胞周期蛋白 E 复合体的形成,该复合物通过 Rb 的进一步磷酸化增加或保持 E2F 的水平。cdk2/ 细胞周期蛋白 E 复合体也磷酸化在 DNA 复制中需要的其它蛋白,例如在组蛋白的生物合成中涉及的 NPAT。G1 进程和 G1/S 过渡也通过促细胞分裂原刺激的 Myc 途径调节,该途径通向 cdk2/ 细胞周期蛋白 E 途径。cdk2 也通过 p21 水平的 p53 调节与 p53 介导的 DNA 损伤响应途径连接。p21 是 cdk2/ 细胞周期蛋白 E 的蛋白抑制剂并且因此能够阻断或延缓 G1/S 过渡。因此 cdk2/ 细胞周期蛋白 E 复合体可以表示来自 Rb、Myc 和 p53 途径的生物化学刺激在一定程度上结合的点。因此在异常分裂细胞中,cdk2 和 / 或 cdk2/ 细胞周期蛋白 E 复合体代表在细胞周期的停止或恢复控制中设计的很好的治疗靶标。

[0013] cdk3 在细胞周期中的确切作用是不清楚的。虽然还没有鉴定出相关的细胞周期蛋白对,但是 cdk3 的显性负调控形式延缓了细胞的 G1,因此提示 cdk3 在调节 G1/S 过渡中起作用。

[0014] 虽然在细胞周期的调节中涉及了大多数 cdk,但是有证据表明 cdk 家族的某些成员参与了其它生物化学过程。这可以由 cdk5 举例说明,cdk5 在正确的神经元发展中是必需的并且其也涉及数种神经元蛋白(例如 Tau、NUDE-1、突触蛋白 1、DARPP32 和 Munc18/ 突触融合蛋白 1A 复合体)的磷酸化。神经元 cdk5 通常是通过与 p35/p39 蛋白结合而活化的。但是,cdk5 的活性可以通过与 p25(p35 的截短形式)的结合而失调。p35 至 p25 的转化以及接下来 cdk5 活性的失调可以由局部缺血、兴奋性中毒和  $\beta$ -淀粉样肽诱导。因此,p25 已经涉及神经变性疾病(例如阿尔茨海默病)的发病机制,并且因此其被关注作为直接治疗这些疾病的靶标。

[0015] cdk7 是具有 cdc2 CAK 活性并且与细胞周期蛋白 H 结合的核蛋白。已经表明 cdk7

是具有 RNA 聚合酶 II C-末端结构域 (CTD) 活性的 TFIIH 转录复合体的组分。其通过 Tat-介导的生物化学途径而与 HIV-1 转录的调节有关。Cdk8 与细胞周期蛋白 C 结合并且涉及 RNA 聚合酶 II 的 CTD 的磷酸化。类似地, cdk9/ 细胞周期蛋白 -T1 复合体 (P-TEFb 复合体) 涉及 RNA 聚合酶 II 的延长控制。PTEF-b 也需要 HIV-1 基因组通过与细胞周期蛋白 T1 相互作用而被病毒反式激活蛋白 Tat 转录活化。因此, cdk7、cdk8、cdk9 和 P-TEFb 复合体是抗病毒治疗的潜在靶标。

[0016] 在分子水平调节 cdk/ 细胞周期蛋白复合体的活性需要一系列刺激的和抑制的磷酸化或去磷酸化事件。cdk 磷酸化是通过一组 cdk 活化激酶 (CAK) 和 / 或激酶例如 weel、Myt1 和 Mik1 而进行的。去磷酸化是通过磷酸酶例如 cdc25 (a 和 c)、pp2a 或 KAP 进行的。

[0017] 可以通过两个家族的内源性细胞蛋白抑制剂 :Kip/Cip 家族或 INK 家族进一步调节 cdk/ 细胞周期蛋白复合体的活性。INK 蛋白特异性结合 cdk4 和 cdk6。p16<sup>ink4</sup> (也称为 MTS1) 是潜在的肿瘤抑制基因, 该基因在很多原发性癌症中突变或缺失。Kip/Cip 家族包含蛋白例如 p21<sup>Cip1, Waf1</sup>、p27<sup>Kip1</sup> 和 p57<sup>Kip2</sup>。如前所述, p21 被 p53 诱导并且能够钝化 cdk2/ 细胞周期蛋白 (E/A) 和 cdk4/ 细胞周期蛋白 (D1/D2/D3) 复合体。在乳腺癌、结肠癌和前列腺癌中已经观察到异常的低水平的 p27 表达。而相反已经表明实体瘤中细胞周期蛋白 E 的过度表达与患者预后不良有关。细胞周期蛋白 D1 的过度表达与食管癌、乳腺癌、鳞状癌和非小细胞肺癌有关。

[0018] 上文已经概括了 cdk 及其相关蛋白在增殖细胞中协调和推动细胞周期中的关键性作用。也描述了 cdk 发挥重要作用的某些生物化学途径。因此, 用于增殖性障碍例如癌症治疗 (应用通常靶向 cdk 或特异性 cdk 的疗法) 的单一疗法的发展是很有潜在希望的。相信 cdk 抑制剂可以用于治疗其它病症例如病毒感染、自身免疫疾病和神经变性疾病等。当与存在的或新的治疗剂组合用于治疗时, cdk 靶向治疗也可以在前面描述的疾病的治疗中提供临床益处。与许多目前的抗肿瘤剂相比, cdk 靶向抗癌治疗具有潜在的优势, 因为它们不直接与 DNA 相互作用并且因此可以降低继发性肿瘤发生的危险。

#### [0019] 糖原合酶激酶

[0020] 糖原合酶激酶 -3 (GSK-3) 是丝氨酸 - 苏氨酸激酶, 该酶在人体中以两种普遍存在的表达的同种型 (GSK3  $\alpha$  和  $\beta$  GSK3  $\beta$ ) 存在。GSK3 涉及在胚胎发育、蛋白质合成、细胞增殖、细胞分化、微管动力学、细胞运动和细胞凋亡中起作用。同样 GSK3 涉及疾病状态的进程, 所述的疾病状态例如糖尿病、癌症、阿尔茨海默病、中风、癫痫、运动神经元疾病和 / 或头部创伤。在系统发育方面, GSK3 与细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 是最相关的。

[0021] GSK3 识别的共有肽底物序列是 (Ser/Thr)-X-X-X-(pSer/pThr), 其中 X 是任何氨基酸 (在 (n+1)、(n+2)、(n+3) 位) 并且 pSer 和 pThr 分别是磷酸丝氨酸和磷酸苏氨酸, 在 (n+4) 位。GSK3 在 n 位磷酸化第一个丝氨酸或苏氨酸。在 (n+4) 位的磷酸丝氨酸或磷酸苏氨酸对于引发 GSK3 以产生最大的底物转换是必须的。在 Ser21 的 GSK3  $\alpha$  或在 Ser9 的 GSK3  $\beta$  的磷酸化引起了 GSK3 的抑制。诱变和肽竞争研究已经得到了 GSK3 的磷酸化 N-末端能够通过自身抑制机制与磷酸肽底物 (S/TXXXpS/pT) 竞争的模型。也有数据表明 GSK3  $\alpha$  和 GSK3  $\beta$  可能通过酪氨酸 279 和 216 的磷酸化分别精细调节。这些残基突变为 Phe 引起了体内激酶活性的降低。GSK3  $\beta$  的 X-射线晶体学结构已经帮助清楚显示了 GSK3 活化或调节的所有方面。

[0022] GSK3 形成了哺乳动物胰岛素响应途径的一部分并且能够磷酸化,并且因此钝化糖原合酶。通过 GSK3 的抑制,糖原合酶活性增量调节并且因此糖原合成已经因此被认为是对抗 II 型或非胰岛素依赖性糖尿病 (NIDDM) (其中机体组织对胰岛素刺激变得有抗性的病症) 的潜在的方法。在肝、脂肪或肌肉组织中的细胞胰岛素的响应是通过胰岛素与细胞外的胰岛素受体结合而被引发的。这引起了胰岛素受体底物 (IRS) 蛋白的磷酸化和接下来向质膜的募集。IRS 蛋白的进一步磷酸化引发磷酸肌醇-3 (PI3K) 激酶向质膜的募集,在那里它能释放第二信使磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸 (PIP3)。这就促进了 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 (PDK1) 和蛋白激酶 B (PKB 或 Akt) 到膜的共定位,在那里 PDK1 活化 PKB。PKB 能够磷酸化并且因此通过 Ser9 或 Ser21 分别抑制 GSK3 $\alpha$  和 / 或 GSK3 $\beta$ 。然后 GSK3 的抑制引发了糖原合酶活性的增量调节。因此,能够抑制 GSK3 的治疗剂可以诱导类似于在胰岛素刺激中观察到的细胞响应。GSK3 进一步的体内底物是真核蛋白合成起始因子 2B (eIF2B)。eIF2B 通过磷酸化被钝化并且因此能够抑制蛋白生物合成。因此,抑制 GSK3 (例如通过“哺乳动物雷帕霉素靶标”蛋白 (mTOR) 的钝化) 可以增量调节蛋白的生物合成。最后,通过促细胞分裂原活化的蛋白激酶 (MAPK) 途径通过激酶 (例如促细胞分裂原活化的蛋白激酶活化的蛋白激酶 1 (MAPKAP-K1 或 RSK)) 磷酸化 GSK3 来调节 GSK3 活性已经有一些证据。这些数据表明 GSK3 的活性可以由促细胞分裂的、胰岛素 / 或氨基酸刺激来调节。

[0023] 也已经表明 GSK3 $\beta$  在脊椎动物 Wnt 信号传导途径中是关键组分。已经表明该生物化学途径对于正常的胚胎发育是关键的并且调节正常组织中的细胞增殖。在对 Wnt 刺激响应中 GSK3 变为抑制的。这可以引起 GSK3 底物 (例如 Axin、腺瘤性结肠息肉 (APC) 基因产物和  $\beta$ -联蛋白) 的去磷酸化。Wnt 途径的异常调节与许多癌症有关。APC 和 / 或  $\beta$ -联蛋白中的突变在结肠直肠癌和其它肿瘤中是很普遍的。也表明  $\beta$ -联蛋白在细胞粘附中很重要。因此,GSK3 也可以在某种程度上调节细胞粘附过程。除了已经描述的生物化学途径,也有涉及 GSK3 在通过细胞周期蛋白-D1 的磷酸化来调节细胞分裂中的数据、GSK3 在转录因子 (例如 c-Jun、CCAAT/增强子结合蛋白  $\alpha$  (C/EBP $\alpha$ )、c-Myc 和 / 或其它底物,例如活化的 T-细胞的核因子 (NFATc)、热休克因子 (HSF-1) 和 c-AMP 响应元件结合蛋白 (CREB)) 的磷酸化的数据。虽然具有组织特异性,但是 GSK3 也在调节细胞凋亡中发挥作用。GSK3 在通过前凋亡机制调节细胞凋亡中的作用可能与可以发生神经元凋亡的医学病症特别有关。这些病症的实例是头部创伤、中风、癫痫、阿尔茨海默病和运动神经元疾病、进行性核上麻痹、皮质基底节变性 (corticobasal degeneration) 和皮克病。体外已经表明 GSK3 能够过度磷酸化与蛋白 Tau 有关的微管。Tau 的过度磷酸化破坏了其与微管的正常结合并且也可以引起细胞内 Tau 纤维的形成。相信这些纤维的逐步富集引起了最终的神经元功能障碍和变性。因此,通过抑制 GSK3 而抑制 Tau 磷酸化可以提供限制和 / 或预防神经变性作用的方法。

#### [0024] 弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL)

[0025] 细胞周期进程是通过细胞周期蛋白、细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 和负细胞周期调节剂 CDK 抑制剂 (CDKi) 的组合作用调节的。在细胞周期调节中,p27KIP1 是 CDKi 的关键,它的降解需要 G1/S 转换。虽然在增殖性淋巴细胞中没有 p27KIP1 表达,但是已经报道了某些侵袭性 B 细胞淋巴瘤显示出异常的 p27KIP1 染色。在此类淋巴瘤中发现了 p27KIP1 的异常高表达。与这些发现相关的临床分析表明在此类肿瘤中高水平的 p27KIP1 表达在单变量和多变量分析中均是不利的预后标志。这些结果表明在弥漫性大 B 细胞淋巴

瘤 (DLBCL) 中存在具有不利的临床意义的异常的 p27KIP1 表达,表明这种异常的 p27KIP1 蛋白可以通过与其它细胞周期调节蛋白相互作用而导致无功能 (Br. J. Cancer. 1999 Jul ; 80(9) :1427-34. p27KIP1 is abnormally expressed in Diffuse Large B-cell Lymphomas and is associated with an adverse clinical outcome (p27KIP1 在弥漫性大 B 细胞淋巴瘤中异常表达并且与不利的临床结果有关). Saez A, Sanchez E, Sanchez-Beato M, Cruz MA, Chacon I, Munoz E, Camacho F, Martinez-Montero JC, Mollejo M, Garcia JF, Piris MA. Department of Pathology, Virgen de la Salud Hospital, Toledo, Spain.)。

#### [0026] 慢性淋巴细胞白血病

[0027] 在西半球, B- 细胞慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 是最普遍的白血病, 每年诊断出约 10,000 个新病例 (Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA: Cancer statistics, 1997. Ca. Cancer. J. Clin. 47 :5, (1997))。相对于其它形式的白血病, CLL 的总的预后是好的, 甚至最晚期的患者也有 3 年的生存中值。

[0028] 对于症状性的 CLL 患者, 加入氟达拉滨作为初始治疗与以前使用的基于烷化剂的治疗相比达到了更高速率的完全响应 (27% 对 3%) 以及自由存活进程的持续时间 (33 对 17 月)。虽然在治疗后获得完全的临床响应是改善 CLL 存活的第一步, 但是大部分患者或者没有获得完全好转或者对氟达拉滨没有响应。另外, 所有用氟达拉滨治疗的 CLL 患者最后会复发, 使得它作为单一药物的作用被纯粹减轻了 (Rai KR, Peterson B, Elias L, Shepherd L, Hines J, Nelson D, Cheson B, Kolitz J, Schiffer CA: A randomized comparison of fludarabine and chlorambucil for patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia (在从前没有治疗过慢性淋巴细胞白血病的患者中进行的氟达拉滨和苯丁酸氮芥的随机比较. A CALGB SWOG, CTG/NCI-C and ECOG Inter-Group Study. Blood 88 :141a, 1996 (abstr 552, suppl 1)。因此, 如果认识到此类疾病治疗的进一步改善, 那么将需要确定具有新作用机制的新药物以补充氟达拉滨的细胞毒性并且消除由内在的 CLL 药物抗性因子诱导的抗性。

[0029] 对于 CLL 患者对治疗的低响应和低生存最广泛、统一的预言因素是异常 p53 功能, 其特征在于点突变或染色体 17p13 缺失。的确, 对于那些具有异常 p53 功能的 CLL 患者, 实际上已经在多重单个机构病例组中证明了对烷化剂或嘌呤类似物治疗都没有响应。在 CLL 中, 引进具有与 p53 突变有关的药物抗性的能力的治疗剂将潜在地是治疗此类疾病的主要改善。

[0030] 黄素匹多 (Flavopiridol) 和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 CYC202 体外诱导来自 B 细胞慢性淋巴细胞白血病的恶性细胞的凋亡。

[0031] 黄素匹多在胱天蛋白酶 3 活性的刺激和 p27(kip1) (在 B-CLL 中过表达的细胞周期的负调节剂) 的胱天蛋白酶依赖性剪切中显示出结果 (Blood. 1998 Nov 15 ; 92(10) : 3804-16 Flavopiridol induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells via activation of caspase-3 without evidence of bcl-2 modulation or dependence on functional p53 (黄素匹多通过活化胱天蛋白酶来诱导慢性淋巴细胞白血病细胞凋亡而没有 bcl-2 调节或依赖功能性 p53 的迹象). Byrd JC, Shinn C, Wasilenko JK, Fuchs EJ, Lehman TA, Nguyen PL, Flinn IW, Diehl LF, Sausville E, Grever MR)。

#### [0032] 细胞毒化合物和信号抑制剂

[0033] 如下文详细描述,在本发明的组合中发现多种细胞毒化合物和信号抑制剂的应用。

[0034] 本发明的目的是提供抑制或调节(特别是抑制)细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)和糖原合酶激酶(例如GSK-3)的吡唑化合物和细胞毒化合物或信号抑制剂的治疗组合。与组合中单一组分表现出的各自的作用比较,该组合在对抗肿瘤细胞生长中可能具有有利的有效作用。

#### [0035] 现有技术

[0036] Du Pont 的 WO 02/34721 公开了作为细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂的一类茛并[1,2-c]吡唑-4-酮。

[0037] Bristol Myers Squibb 的 WO 01/81348 描述了 5-硫代-、亚磺酰基-和磺酰基吡唑并[3,4-b]吡啶作为细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂的用途。

[0038] Bristol Myers Squibb 的 WO 00/62778 公开了一类蛋白酪氨酸激酶抑制剂。

[0039] Cyclacel 的 WO 01/72745A1 描述了 2-取代的 4-杂芳基-嘧啶及其制备、包含它们的药物组合物和它们作为细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)抑制剂的用途以及因此它们在治疗增殖性障碍(例如癌症、白血病、银屑病等)中的用途。

[0040] Agouron 的 WO 99/21845 描述了用于抑制细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)(例如 CDK1、CDK2、CDK4 和 CDK6)的 4-氨基噻唑衍生物。该发明也涉及包含此类化合物的药物组合物的治疗或预防用途以及通过施用有效剂量的此类化合物治疗恶性和其它障碍的方法。

[0041] Agouron 的 WO 01/53274 公开了作为 CDK 激酶抑制剂的一类化合物,该类化合物可以包含与含 N 杂环基相连的酰胺取代的苯环。

[0042] WO 01/98290 (Pharmacia & Upjohn) 公开了作为蛋白激酶抑制剂的一类 3-氨基羰基-2-酰胺基噻吩衍生物。

[0043] Agouron 的 WO 01/53268 和 WO 01/02369 公开了通过抑制蛋白激酶(例如细胞周期蛋白依赖性激酶或酪氨酸激酶)而介导或抑制细胞增殖的化合物。Agouron 的化合物具有直接或通过 CH=CH 或 CH=N 基团与吡唑环的 3-位相连的芳基或杂芳基环。

[0044] WO 00/39108 和 WO 02/00651(均是 Du Pont Pharmaceuticals)描述了作为胰蛋白酶样丝氨酸蛋白酶抑制剂(特别是因子 Xa 和凝血酶)的杂环化合物。该化合物被证明可以用作抗凝剂或用于预防血栓栓塞障碍。

[0045] US 2002/0091116(Zhu 等人)、WO 01/19798 和 WO 01/64642 各自公开了作为因子 Xa 的抑制剂的不同杂环化合物组。某些 1-取代的吡唑甲酰胺被公开并且被例证。

[0046] US 6,127,382、WO 01/70668、WO 00/68191、WO 97/48672、WO97/19052 和 WO 97/19062(均是 Allergan)各自描述了具有类视色素样(retinoid-like)活性用于治疗多种过渡增殖疾病(包括癌症)的化合物。

[0047] WO 02/070510(Bayer)描述了用于治疗心血管疾病的一类氨基-二羧酸化合物。尽管吡唑通常被提及,但是在该专利中没有吡唑的特别实例。

[0048] WO 97/03071(Knoll AG)公开了用于治疗中枢神经系统障碍的一类杂环基-甲酰胺衍生物。吡唑通常作为杂环基的实例被提及,但是没有特别的吡唑化合物被公开或被例证。

[0049] WO 97/40017(Novo Nordisk)描述了作为蛋白酪氨酸磷酸酶调节剂的化合物。

[0050] WO 03/020217 (Univ. Connecticut) 公开了作为大麻素受体调节剂治疗神经病学病症的一类吡唑 3- 甲酰胺。文中 (第 15 页) 表明此类化合物可以用于癌症的化疗, 但是没有清楚此类化合物是否用作抗癌药物或者它们是否为了其它目的施用。

[0051] WO 01/58869 (Bristol Myers Squibb) 公开了可以特别用于治疗多种疾病的大麻素受体调节剂。构想的主要用途是治疗呼吸疾病, 虽然参考用于治疗癌症。

[0052] WO 01/02385 (Aventis Crop Science) 公开了作为杀真菌剂的 1-( 喹啉-4- 基 )-1H- 吡唑衍生物。1- 未取代的吡唑被公开作为合成中间体。

[0053] WO 2004/039795 (Fujisawa) 公开了作为脱脂载脂蛋白 B 分泌抑制剂的包含 1- 取代的吡唑基的酰胺。表明该化合物可以用于治疗例如高脂血症的病症。

[0054] WO 2004/000318 (Cellular Genomics) 公开了作为激酶调节剂的多种氨基- 取代的单环。没有实例的化合物是吡唑。

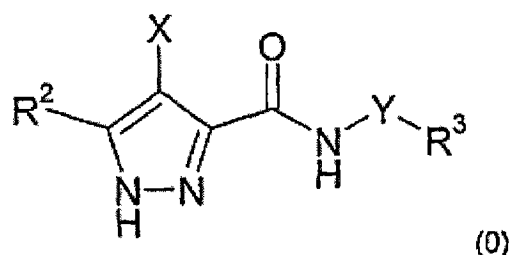
[0055] 发明概述

[0056] 本发明提供了具有细胞周期蛋白依赖性激酶抑制或调节活性的细胞毒化合物或信号抑制剂和吡唑化合物的组合, 其中该组合具有对抗异常细胞生长的作用。本发明进一步提供了上文描述的组合进一步与如下文中详细描述的一起 (同时或在不同的时间间隔) 施用的其它种类的治疗剂或治疗组合的上述组合。

[0057] 因此, 例如构想本发明的组合将用于减轻或降低癌症的发生。

[0058] 因此, 一方面, 本发明提供了细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (0) 化合物或其盐或互变异构体或 N- 氧化物或溶剂化物的组合:

[0059]



[0060] 其中

[0061] X 是基团  $R^1-A-NR^4$  或者 5 或 6 元碳环或杂环;

[0062] A 是键、 $SO_2$ 、 $C=O$ 、 $NR^5$  ( $C=O$ ) 或  $O$  ( $C=O$ ), 其中  $R^5$  是氢或任选被羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷基;

[0063] Y 是键或长度为 1、2 或 3 个碳原子的亚烷基链;

[0064]  $R^1$  是氢; 具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团; 或任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-8}$  烷基: 卤素 (例如氟)、羟基、 $C_{1-4}$  烷基氧基、氨基、单或二- $C_{1-4}$  烷基氨基和具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团, 并且其中烷基的 1 或 2 个碳原子可以任选被选自 O、S、NH、SO、 $SO_2$  的原子或基团代替;

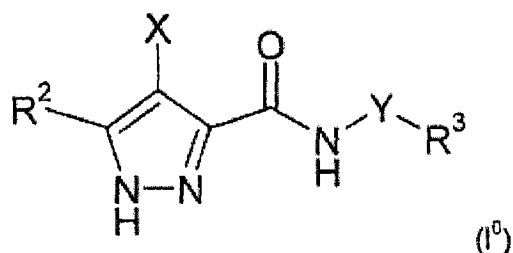
[0065]  $R^2$  是氢; 卤素;  $C_{1-4}$  烷氧基 (例如甲氧基); 或任选被卤素 (例如氟)、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基 (例如甲氧基) 取代的  $C_{1-4}$  烷基;

[0066]  $R^3$  选自氢和具有 3 至 12 个环原子的碳环和杂环基团; 并且

[0067]  $R^4$  是氢或任选被卤素 (例如氟)、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基 (例如甲氧基) 取代的  $C_{1-4}$  烷基。

[0068] 在一个实施方案中,本发明提供了细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (I<sup>0</sup>) 化合物或其盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物的组合:

[0069]



[0070] 其中

[0071] X 是基团 R<sup>1</sup>-A-NR<sup>4</sup>- 或者 5 或 6 元碳环或杂环;

[0072] A 是键、C=O、NR<sup>6</sup>(C=O) 或 O(C=O), 其中 R<sup>6</sup> 是氢或任选被羟基或 C<sub>1-4</sub> 烷氧基取代的 C<sub>1-4</sub> 烷基;

[0073] Y 是键或长度为 1、2 或 3 个碳原子的亚烷基链;

[0074] R<sup>1</sup> 是氢;具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团;或任选被一个或多个选自下列的取代基取代的 C<sub>1-8</sub> 烷基:卤素(例如氟)、羟基、C<sub>1-4</sub> 烷基氧基、氨基、单或二-C<sub>1-4</sub> 烷基氨基和具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团,并且其中烷基的 1 或 2 个碳原子可以任选被选自 O、S、NH、SO、SO<sub>2</sub> 的原子或基团代替;

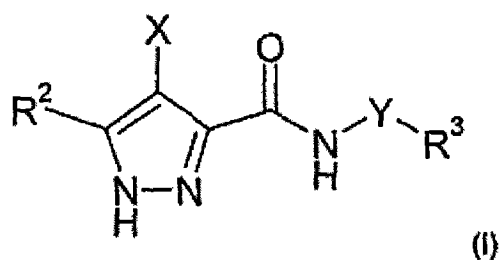
[0075] R<sup>2</sup> 是氢;卤素;C<sub>1-4</sub> 烷氧基(例如甲氧基);或任选被卤素(例如氟)、羟基或 C<sub>1-4</sub> 烷氧基(例如甲氧基)取代的 C<sub>1-4</sub> 烷基;

[0076] R<sup>3</sup> 选自氢和具有 3 至 12 个环原子的碳环和杂环基团;并且

[0077] R<sup>4</sup> 是氢或任选被卤素(例如氟)、羟基或 C<sub>1-4</sub> 烷氧基(例如甲氧基)取代的 C<sub>1-4</sub> 烷基。

[0078] 在另外的实施方案中,本发明提供了细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (I) 化合物或其盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物的组合:

[0079]



[0080] 其中

[0081] X 是基团 R<sup>1</sup>-A-NR<sup>4</sup>-;

[0082] A 是键、C=O、NR<sup>6</sup>(C=O) 或 O(C=O), 其中 R<sup>6</sup> 是氢或任选被羟基或 C<sub>1-4</sub> 烷氧基取代的 C<sub>1-4</sub> 烷基;

[0083] Y 是键或长度为 1、2 或 3 个碳原子的亚烷基链;

[0084] R<sup>1</sup> 是氢;具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团;或任选被一个或多个选自下列的取代基取代的 C<sub>1-8</sub> 烷基:卤素(例如氟)、羟基、C<sub>1-4</sub> 烷基氧基、氨基、单或二-C<sub>1-4</sub> 烷基氨基和具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团,并且其中烷基的 1 或 2 个碳原子可以任选被

选自 O、S、NH、SO、SO<sub>2</sub> 的原子或基团代替；

[0085] R<sup>2</sup> 是氢；卤素；C<sub>1-4</sub> 烷氧基（例如甲氧基）；或任选被卤素（例如氟）、羟基或 C<sub>1-4</sub> 烷氧基（例如甲氧基）取代的 C<sub>1-4</sub> 烃基；

[0086] R<sup>3</sup> 选自氢和具有 3 至 12 个环原子的碳环和杂环基团；并且

[0087] R<sup>4</sup> 是氢或任选被卤素（例如氟）、羟基或 C<sub>1-4</sub> 烷氧基（例如甲氧基）取代的 C<sub>1-4</sub> 烃基。

[0088] 任何一个或多个以下任选条件、在任何组合中，可以应用于式 (O)、(I<sup>0</sup>)、(I) 化合物及其亚组中：

[0089] (a-i) 当 A 是键并且 Y-R<sup>3</sup> 是烷基、环烷基、任选取代的苯基或任选取代的苯基烷基时，那么 R<sup>1</sup> 不是取代的或未取代的二氢萘、二氢苯并二氢吡喃、二氢二氢苯并噻喃、四氢喹啉或四氢苯并呋喃基。

[0090] (a-ii) X 和 R<sup>3</sup> 都不是包含马来酰亚胺的基团，其中马来酰亚胺具有与其 3 或 4 位连接的氮原子。

[0091] (a-iii) R<sup>1</sup> 不是包含嘌呤核苷的基团。

[0092] (a-iv) X 和 R<sup>3</sup> 都不是包含环丁烯-1,2-二酮的基团，其中环丁烯-1,2-二酮具有与其 3 或 4 位连接的氮原子。

[0093] (a-v) R<sup>3</sup> 不是包含 4-单取代的或 4,5-二取代的 2-吡啶基或 2-嘧啶基或 5-单取代的或 5,6-二取代的 1,2,4-三嗪-3-基或 3-哒嗪基的基团。

[0094] (a-vi) X 和 R<sup>3</sup> 都不是与取代或未取代的吡啶、二嗪或三嗪连接的取代或未取代的吡啶-3-基胺。

[0095] (a-vii) 当 A 是 C=O 并且 Y-R<sup>3</sup> 是烷基、环烷基、任选取代的苯基或任选取代的苯基烷基时，那么 R<sup>1</sup> 不是取代或未取代的四氢萘、四氢喹啉基、四氢苯并二氢吡喃基、四氢二氢苯并噻喃基。

[0096] (a-viii) 当 R<sup>3</sup> 是 H 并且 A 是键时，R<sup>1</sup> 不是包含联芳基、联杂芳基或芳基杂芳基的基团。

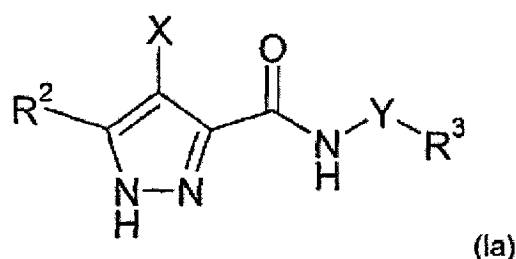
[0097] (a-ix) R<sup>3</sup> 不是包含 1,2,8,8a-四氢-7-甲基-环丙烷并[c]吡咯并[3,2,e]吲哚-4-(5H)-酮的基团。

[0098] (a-x) 当 Y 是键，R<sup>3</sup> 是氢，A 是 CO 并且 R<sup>1</sup> 是取代的苯基时，在苯基上的每一个取代基都不是 CH<sub>2</sub>-P(O)R<sup>x</sup>R<sup>y</sup>，其中 R<sup>x</sup> 和 R<sup>y</sup> 各自选自烷氧基和苯基。

[0099] (a-xi) X 不是 4-(叔丁氧基羰基氨基)-3-甲基咪唑-2-基羰基氨基。

[0100] 在另一个实施方案中，本发明提供了细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (Ia) 化合物或其盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物的组合：

[0101]



[0102] 其中

[0103] X 是基团  $R^1-A-NR^4-$ ;

[0104] A 是键、 $C=O$ 、 $NR^8(C=O)$  或  $O(C=O)$ , 其中  $R^8$  是氢或任选被羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷基;

[0105] Y 是键或长度为 1、2 或 3 个碳原子的亚烷基链;

[0106]  $R^1$  是具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团;或任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-8}$  烷基:氟、羟基、 $C_{1-4}$  烷基氧基、氨基、单或二- $C_{1-4}$  烷基氨基和具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团,并且其中烷基的 1 或 2 个碳原子可以任选被选自 O、S、NH、SO、 $SO_2$  的原子或基团代替;

[0107]  $R^2$  是氢;卤素; $C_{1-4}$  烷氧基(例如甲氧基);或任选被卤素(例如氟)、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基(例如甲氧基)取代的  $C_{1-4}$  烷基;

[0108]  $R^3$  选自氢和具有 3 至 12 个环原子的碳环和杂环基团;并且

[0109]  $R^4$  是氢或任选被卤素(例如氟)、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基(例如甲氧基)取代的  $C_{1-4}$  烷基;

[0110] 任何一个或多个以下任选条件、在任何组合中,可以应用于式 (Ia) 化合物及其亚组中:

[0111] 以上条件 (a-i) 至 (a-xi)。

[0112] (b-i)  $R^3$  不是桥连的氮杂二环基。

[0113] (b-ii) 当 A 是键时,那么  $R^3$  不是包含未取代或取代的苯基(与其邻位连接)的基团,取代或未取代的氨基甲酰基或硫代氨基甲酰基。

[0114] (b-iii) 当 A 是键时,那么  $R^3$  不是包含异喹啉或喹啉(各自与取代或未取代的哌啶或哌嗪环连接)的基团。

[0115] (b-iv) 当 A 是键并且  $R^1$  是烷基时,那么  $R^3$  不是包含噻三嗪的基团。

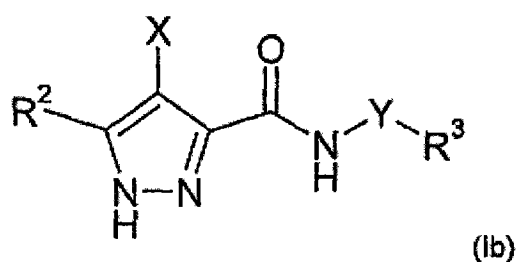
[0116] (b-v) 当  $R^1$  或  $R^3$  包含其中具有  $S(=O)_2$  环原子的杂环基与碳环稠合的基团,所述的碳环不是取代或未取代的苯环。

[0117] (b-vi) 当 A 是键时,  $R^1$  不是芳基烷基、杂芳基烷基或哌啶基烷基(各自与选自氰基和取代或未取代的氨基、氨基烷基、脒基、胍基及氨基甲酰基的取代基连接)。

[0118] (b-vii) 当 X 是基团  $R^1-A-NR^4-$ , A 是键并且  $R^1$  是非芳族基团时,那么  $R^3$  不是 6 元单环芳基或杂芳基(直接与 5,6-稠合的二环杂芳基连接)。

[0119] 在另一个实施方案中,本发明提供了细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (Ib) 化合物或其盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物的组合:

[0120]



[0121] 其中

[0122] X 是基团  $R^1-A-NR^4-$ ;

[0123] A 是键、 $C=O$ 、 $NR^8(C=O)$  或  $O(C=O)$ , 其中  $R^8$  是氢或任选被羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基

取代的  $C_{1-4}$  烃基；

[0124] Y 是键或长度为 1、2 或 3 个碳原子的亚烷基链；

[0125]  $R^1$  是具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团；或任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-8}$  烃基：氟、羟基、 $C_{1-4}$  烷基氧基、氨基、单或二  $-C_{1-4}$  烷基氨基和具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团，并且其中烃基的 1 或 2 个碳原子可以任选被选自 O、S、NH、SO、 $SO_2$  的原子或基团代替；

[0126]  $R^2$  是氢；卤素； $C_{1-4}$  烷氧基（例如甲氧基）；或任选被卤素（例如氟）、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基（例如甲氧基）取代的  $C_{1-4}$  烃基；

[0127]  $R^3$  选自具有 3 至 12 个环原子的碳环和杂环基团；并且

[0128]  $R^4$  是氢或任选被卤素（例如氟）、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基（例如甲氧基）取代的  $C_{1-4}$  烃基；

[0129] 任何一个或多个以下任选条件、在任何组合中，可以应用于式 (Ib) 化合物及其亚组中：

[0130] 条件 (a-i) 至 (a-vii)、(a-ix) 和 (a-xi)。

[0131] 条件 (b-i) 至 (b-vii)。

[0132] (c-i) 当 A 是键时， $R^1$  不是取代的芳基烷基、杂芳基烷基或哌啶基烷基。

[0133] (c-ii) 当 X 是氨基或烷基氨基并且 Y 是键时， $R^3$  不是二取代的噻唑基，其中取代基之一选自氰基和氟烷基。

[0134] 在条件 (a-iii) 中涉及的嘌呤核苷基团指的是取代或未取代的嘌呤基团（与单糖基团例如戊糖或己糖连接，或与单糖基团衍生物例如脱氧单糖基团或取代的单糖基团连接）。

[0135] 在条件 (b-i) 中涉及的桥连的氮杂二环基团指的是二环烷桥连的环系，其中二环烷的碳原子之一被氮原子代替。在桥连的环系中，两个环共有多个原子，参见例如 Advanced Organic Chemistry, Jerry March, 4<sup>th</sup> Edition, Wiley Interscience, 131-133 页, 1992。

[0136] 以上式 (I)、(Ia) 和 (Ib) 中的条件 (a-i) 至 (a-x)、(b-i) 至 (b-vii)、(c-i) 和 (c-ii) 指的是在以下现有技术文献中公开的内容。

[0137] (a-i) US 2003/0166932、US 6,127,382、US 6,093,838

[0138] (a-ii) WO 03/031440

[0139] (a-iii) WO 03/014137

[0140] (a-iv) WO 02/083624

[0141] (a-v) WO 02/064586

[0142] (a-vi) WO 02/22608、WO 02/22605、WO 02/22603 和 WO 02/22601

[0143] (a-vii) WO 97/48672、WO 97/19052

[0144] (a-viii) WO 00/06169

[0145] (a-ix) US 5,502,068

[0146] (a-x) JP 07188269

[0147] (b-i) WO 03/040147

[0148] (b-ii) WO 01/70671

[0149] (b-iii) WO 01/32626

[0150] (b-iv) WO 98/08845

[0151] (b-v) WO 00/59902

[0152] (b-vi) US 6,020,357、WO 99/32454 和 WO 98/28269

[0153] (b-vii) WO 2004/012736

[0154] (c-i) US 6,020,357、WO 99/32454 和 WO 98/28269

[0155] (c-ii) US 2004/0082629

[0156] 任何一个或多个前述任选条件 (a-i) 至 (a-xi)、(b-i) 至 (b-vii)、(c-i) 和 (c-ii)、在任何组合中,也可以应用于式 (Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组或本文定义的其盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物中。

[0157] 在本发明的以下方面和实施方案中,涉及的“根据本发明的组合”指的是细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物的组合。在本部分,如在本申请的其它部分一样,除非上下文中另外指出,涉及的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物包括本文定义的所有其它亚组。术语“亚组”包括本文定义的所有优选、实例和特别的化合物。

[0158] 另外,涉及的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组包括下文所述的其离子、盐、溶剂化物、异构体、互变异构体、N-氧化物、酯、前药、同位素和保护的形式。优选其盐或互变异构体或异构体或 N-氧化物或溶剂化物。更优选其盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物。

[0159] 本发明还提供:

[0160] ● 本发明的组合,其用于减轻或降低疾病或病症的发生,所述的疾病或病症包括或源于哺乳动物的异常细胞生长。

[0161] ● 本发明的组合,其用于预防或治疗疾病状态或病症,所述的疾病状态或病症是由细胞周期蛋白依赖性激酶或糖原合酶激酶-3 介导的。

[0162] ● 预防或治疗疾病状态或病症的方法,所述的疾病状态或病症是由细胞周期蛋白依赖性激酶或糖原合酶激酶-3 介导的,该方法包括给需要的个体施用本发明的组合。

[0163] ● 减轻或降低疾病状态或病症发生的方法,所述的疾病状态或病症是由细胞周期蛋白依赖性激酶或糖原合酶激酶-3 介导的,该方法包括给需要的个体施用本发明的组合。

[0164] ● 减轻或降低疾病或病症发生的方法,所述的疾病或病症包括或源于哺乳动物的异常细胞生长,该方法包括以有效抑制异常细胞生长的量给哺乳动物施用本发明的组合。

[0165] ● 治疗疾病或病症的方法,所述的疾病或病症包括或源于哺乳动物的异常细胞生长,该方法包括以有效抑制异常细胞生长的量给哺乳动物施用本发明的组合。

[0166] ● 本发明的组合,其用于抑制哺乳动物的肿瘤生长。

[0167] ● 抑制哺乳动物肿瘤生长的方法,该方法包括给哺乳动物施用有效抑制肿瘤生长的量的本发明的组合。

[0168] ● 本发明的组合,其用于抑制肿瘤细胞生长。

[0169] ● 抑制肿瘤细胞生长的方法,该方法包括将肿瘤细胞与给哺乳动物施用有效抑制

肿瘤细胞生长的量的本发明的组合相关联。

[0170] ● 药物组合物,该药物组合物包含本发明的组合和可药用载体。

[0171] ● 本发明的组合,其用于药物。

[0172] ● 本发明的组合在制备用于预防或治疗本文公开的任意一种疾病状态或病症的药物中的用途。

[0173] ● 治疗或预防本文公开的任意一种疾病状态或病症的方法,该方法包括给患者(例如需要的患者)施用本发明的组合。

[0174] ● 减轻或降低本文公开的疾病状态或病症的发生的方法,该方法包括给患者(例如需要的患者)施用本发明的组合。

[0175] ● 诊断和治疗哺乳动物患者的癌症的方法,该方法包括(i) 筛选患者以确定该患者所患或可能患有的癌症是否是对用具有对抗细胞周期蛋白依赖性激酶活性的化合物和细胞毒化合物或信号抑制剂治疗敏感的癌症;和(ii) 如果表明患者的疾病或病症对此是敏感的,那么给该患者施用本发明的组合。

[0176] ● 本发明的组合在制备药物中的用途,所述的药物用于治疗或预防已经被筛选并且已经确定患有或有患有危险的患者的癌症,该癌症将会对用细胞毒化合物或信号抑制剂和具有对抗细胞周期蛋白依赖性激酶的活性的化合物的组合治疗敏感。

[0177] ● 治疗患者的癌症的方法,该方法包括以在所述癌症的治疗中是治疗有效的量和施用方案给所述患者施用本发明的组合。

[0178] ● 预防、治疗或处理需要的患者的癌症的方法,所述的方法包括给所述患者施用预防或治疗有效量的本发明的组合。

[0179] ● 本发明的组合在制备用于在温血动物(例如人类)中产生抗癌作用的药物中的用途。

[0180] ● 药盒,该药盒包含本发明的组合。

[0181] ● 治疗温血动物(例如人类)的癌症的方法,该方法包括给所述动物顺序(例如前或后)或同时施用有效量的细胞毒化合物或信号抑制剂以及有效量的上文定义式(0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或(VIII) 化合物及其亚组。

[0182] ● 药盒,该药盒用于抗癌治疗,该药盒包含剂型的细胞毒化合物或信号抑制剂和也为剂型的上文定义的有效量的式(0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或(VIII) 化合物及其亚组(例如其中剂型被一起包装在共同的外包装中)。

[0183] ● 哺乳动物中组合癌症治疗的方法,该方法包括施用治疗有效量的细胞毒化合物或信号抑制剂和上文定义的式(0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或(VIII) 化合物及其亚组。

[0184] ● 上文定义的式(0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或(VIII) 化合物及其亚组,其用于与细胞毒化合物或信号抑制剂组合治疗以减轻或降低疾病或病症的发生,所述的疾病或病症包括或源于哺乳动物的异常细胞生长。

[0185] ● 上文定义的式(0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、

(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组,其用于与细胞毒化合物或信号抑制剂组合治疗以抑制哺乳动物的肿瘤生长。

[0186] ●上文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组,其用于与细胞毒化合物或信号抑制剂组合治疗以预防、治疗或处理需要的患者的癌症。

[0187] ●上文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组,其用于增加或提高患有癌症的患者的响应率,其中患者是正在用细胞毒化合物或信号抑制剂治疗的。

[0188] ●增加或提高患有癌症的患者的响应率的方法,其中患者是正在用细胞毒化合物或信号抑制剂治疗的,该方法包括给患者施用上文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组以及细胞毒化合物或信号抑制剂。

[0189] ●本发明的组合在制备用于本文定义的任何治疗用途的药物中的用途。

[0190] 在前述本发明的每个用途、方法和其它方面以及下面列出的本发明的任何方面和实施方案中,涉及的本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组包括在它们范围内的该化合物的盐或溶剂化物或互变异构体或 N-氧化物。

[0191] 本发明也提供了在下文的权利要求中列出的进一步的组合、用途、方法、化合物和过程。

#### [0192] 通用优选和定义

[0193] 本文所用的术语“调节”,如用于细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 和糖原合酶激酶 (GSK,例如 GSK-3) 的活性,旨在定义激酶的生物学活性水平的变化。因此,调节包括影响相关激酶活性增加或降低的生理学变化。在后面的情况中,调节可以描述为“抑制”。调节可以直接或间接进行并且可以由任何机制和在任何生理学水平上介导,生理学水平包括例如基因表达水平(包括例如转录、翻译和/或翻译后修饰)、直接或间接作用于细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 和/或糖原合酶激酶-3 (GSK-3) 活性的基因编码调节元件的表达水平,或酶(例如细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 和/或糖原合酶激酶-3 (GSK-3)) 活性水平(例如通过变构机制、竞争抑制、活性位点钝化、反馈抑制途径混乱等)。因此,调节可以表示细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 和/或糖原合酶激酶-3 (GSK-3) 升高/抑制的表达或者过渡或低表达,包括基因扩增(例如多基因复制)和/或通过转录作用增加或降低表达,以及高(或低)活性以及通过突变活化(钝化)细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 和/或糖原合酶激酶-3 (GSK-3) (包括活化(钝化))。术语“调节的”和“调节”也被相应的解释。

[0194] 本文所用的术语“介导”,如例如与本文描述的细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 和/或糖原合酶激酶-3 (GSK-3) 结合使用(并且用于例如多种生理学过程、疾病、状态、病症、处理或介入)旨在限制性的操作以使该应用术语的多种生理学过程、疾病、状态、病症、处理、治疗和介入是其中细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 和/或糖原合酶激酶-3 (GSK-3) 起生物学作用的那些。在将该术语应用于疾病、状态或病症的情况中,细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 和/或糖原合酶激酶-3 (GSK-3) 所起的生物学作用可以是直接的或间接的并且对于表现疾病、状态或病症(或其病因学或进程)可以是所需的和/或充分的。因此,细胞周

期蛋白依赖性激酶 (CDK) 和 / 或糖原合酶激酶 -3 (GSK-3) 活性 ( 并且特别是细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 和 / 或糖原合酶激酶 -3 (GSK-3) 活性的异常水平, 例如细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 和 / 或糖原合酶激酶 -3 (GSK-3) 过表达 ) 不需要是疾病、状态或病症最接近的起因, 更确切的是, 关注的是 CDK 和 / 或 GSK ( 例如 GSK-3 ) 介导的疾病、状态或病症包括具有多因素病因学和复杂进程的那些疾病、状态或病症, 其中 CDK 和 / 或 GSK 仅是部分涉及。在将术语应用于治疗、预防或介入 ( 例如在本发明的“CDK 介导的治疗”和“GSK-3 介导的预防”中 ) 的情况下, CDK 和 / 或 GSK 所起的作用可以是直接的或间接的并且对于治疗、预防或介入结果的操作是必须的和 / 或充分的。

[0195] 术语“介入”是本文使用的领域术语以定义在任何水平影响生理学变化的任何手段。因此, 介入可以包括任何生理学过程、事件、生物化学途径或细胞 / 生物化学事件的诱导或抑制。本发明的介入典型地影响 ( 或促成 ) 疾病或病症的治疗、处理或预防。

[0196] 本发明的组合是细胞毒化合物或信号抑制剂和产生治疗有效作用的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组。

[0197] 术语“有效”包括有利作用, 例如相加作用、协同作用、减小副作用、减小毒性、增加至疾病进程的时间、增加存活的时间、一种药物对另一种的敏化作用或再敏化作用或者提高响应率。有利的是, 有效作用可以使给患者施用更低剂量的每种或任一种组分, 因此减小了化疗的毒性, 同时产生和 / 或保持了相同的治疗作用。

[0198] 在本发明的上下文中的“协同”作用指的是由组合产生的治疗作用, 该作用大于当组合中的组分单独存在时的治疗作用的和。

[0199] 在本发明的上下文中的“相加”作用指的是由组合产生的治疗作用, 该作用大于当组合中的任何组分单独存在时的治疗作用。

[0200] 本文所用的术语“响应率”在实体瘤的情况中指的是在给定的时间点 ( 例如 12 周 ) 肿瘤大小的减小程度。因此, 例如 50% 响应率表示肿瘤大小减小 50%。本文涉及的“临床响应”指的是响应率为 50% 或更大。本文定义的“部分响应”为响应率小于 50%。

[0201] 本文所用的术语“组合”, 如应用于两种或多种化合物, 可以定义其中两种或多种化合物是关联的材料。在上下文中, 术语“组合的”和“组合”相应地被解释。

[0202] 组合中两种或多种化合物的关联可以是物理的或非物理的。物理关联组合的化合物的实例包括:

[0203] ● 包含两种或多种混合 ( 例如在相同的单位剂量内 ) 化合物的组合物 ( 例如单位制剂 );

[0204] ● 包含其中两种或多种化合物是化学或物理化学连接 ( 例如通过交联、分子凝聚或与通用载体部分结合 ) 的材料组合物;

[0205] ● 包含其中两种或多种化合物是化学或物理化学共包装 ( 例如置于脂质囊、颗粒 ( 例如微粒或纳米粒 ) 或乳滴上或在脂质囊、颗粒 ( 例如微粒或纳米粒 ) 或乳滴中 ) 的材料组合物;

[0206] ● 其中两种或多种化合物是共包装或共存 ( 例如作为单位剂量排列的一部分 ) 的药盒、药包或患者包;

[0207] 非物理关联组合的化合物的实例包括:

[0208] ●包含两种或多种化合物中至少一种（例如非单位制剂）以及用于临时关联至少一种化合物以形成两种或多种化合物的物理关联的说明书的材料；

[0209] ●包含两种或多种化合物中至少一种化合物（例如非单位制剂）以及用于用两种或多种化合物组合治疗的说明书的材料；

[0210] ●包含两种或多种化合物中至少一种化合物（例如非单位制剂）以及用于给患者群体施用的说明书的材料，其中两种或多种化合物中另外的化合物已经被（或正被）施用；

[0211] ●包含两种或多种化合物中至少一种化合物的材料，所述的化合物的量或形式是特别适用于与两种或多种化合物中另外的化合物组合应用的。

[0212] 本文所用的术语“组合治疗”旨在定义包含应用两种或多种化合物（上文定义的）的组的治疗。因此，在本申请中涉及的“组合治疗”、“组合”和化合物在“组合”中的用途可以指作为相同的全部治疗方案的一部分施用的化合物。因此，两种或多种化合物中每一种的剂量学可以不同：各自可以在相同的时间或不同的时间施用。因此，可以理解的是组合的化合物可以顺序施用（例如前或后）或同时施用，在相同的药物制剂中（即一起）或不同的药物制剂中（即分开）。在相同的制剂中同时施用是作为单位制剂，而在不同的药物制剂中同时施用是非单位制剂。在施用途方面，组合治疗中的两种或多种化合物中的每一种的剂量学也可以不同。

[0213] 本文所用的术语“药盒”定义一种或多种单位剂量的药物组合物以及剂量方式（例如测量装置）和/或传递方式（例如吸入或注射），任选所有包含在普通外包装里的排列。在包含两种或多种化合物的组合的药盒中，单个化合物可以是单位或非单位制剂。单位剂量可以包含在泡眼包装中。药盒可以任选进一步包括使用说明书。

[0214] 本文所用的术语“药包”定义一种或多种单位剂量的药物组合物，任选包含在普通外包装里的排列。在包含两种或多种化合物的药包中，单个化合物可以是单位或非单位制剂。单位剂量可以包含在泡眼包装中。药包可以任选进一步包含使用说明书。

[0215] 本文所用的术语“患者包”定义给患者开出的包装，该包装包含用于整个治疗过程的药物组合物。患者包通常包含一种或多种泡眼包装。患者包与传统的处方相比具有优势，其中药剂师从大量供应中分出患者的药物供应，这样患者总是有权使用患者包中包含的物质，通常不用患者处方。包装物的包含物已经表明改善了患者对医师说明的顺应性。

[0216] 相对于单独施用单一化合物的治疗作用而言，本发明的组合可以产生治疗有效的作用。

[0217] 除非上下文特别指出，以下的通用优选和定义可以应用于 X、Y、R<sup>g</sup>、R<sup>1</sup> 至 R<sup>4</sup> 的每个基团及其任何亚定义、亚组或实施方案中。

[0218] 在本说明书中，除非上下文特别指出，涉及的式 (I) 包括式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 和亚组、式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 的实例或实施方案。

[0219] 因此，例如涉及特别是治疗用途、药物制剂和制备化合物的方法，其中涉及的式 (I)，也指式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 和亚组、式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、

(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 的实例或实施方案。

[0220] 除非上下文需要,类似地,式 (I) 化合物的优选、实施方案和实例也应用于式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 和亚组、式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 的实例或实施方案。

[0221] 除非上下文特别指出,涉及的本文所用的“碳环”和“杂环”基团包括芳族和非芳族环系。因此,例如术语“碳环和杂环基团”包括其范围内的芳族、非芳族、不饱和、部分饱和以及完全饱和的碳环和杂环环系。通常,该基团可以是单环或二环的并且可以包含例如 3 至 12 个环原子,更通常包含 5 至 10 个环原子。单环基团的实例是包含 3、4、5、6、7 和 8 个环原子的基团,更通常包含 3 至 7 个并且优选包含 5 或 6 个环原子的基团。二环基团的实例是那些包含 8、9、10、11 和 12 个环原子的基团并且更通常包含 9 或 10 个环原子的基团。

[0222] 碳环或杂环基团可以是具有 5 至 12 个环原子、更通常具有 5 至 10 个环原子的芳基或杂芳基。本文所用的术语“芳基”指的是具有芳族特征的碳环基团并且本文所用的术语“杂芳基”表示具有芳族特征的杂环基团。术语“芳基”和“杂芳基”包括其中一个或多个环是非芳族的多环(例如二环)环系,条件是至少一个环是芳族的。在该多环系中,基团可以通过芳族环或非芳族环连接。芳基或杂芳基可以是单环或二环基团并且可以是未取代的或被一个或多个取代基(例如一个或多个本文定义的基团 R<sup>10</sup>)取代。

[0223] 术语“非芳族基团”包括不具有芳族特征的不饱和环系、部分饱和和完全饱和的碳环和杂环环系。术语“不饱和”和“部分饱和”指的是其中环结构包含共有多于一个价键的原子的环(即环包含至少一个重键,例如 C=C、C≡C 或 N=C 键)。术语“完全饱和”指的是其中环原子之间没有重键的环。饱和的碳环基团包括下文定义的环境基。部分饱和的碳环基团包括下文定义的环境基,例如环戊烯基、环庚烯基和环辛烯基。环烯基的另外的实例是环己烯基。

[0224] 杂芳基的实例是包含 5 至 12 个环原子并且更通常包含 5 至 10 个环原子的单环和二环基团。杂芳基可以是例如由稠合的 5 和 6 元环或两个稠合的 6 元环或通过进一步的实例两个稠合的 5 元环形成的 5 元或 6 元单环或二环结构。每个环可以包含至多约 4 个典型地选自氮、硫和氧的杂原子。典型地,杂芳基环包含至多 4 个杂原子,更典型地包含至多 3 个杂原子,更通常包含至多 2 个,例如 1 个杂原子。在一个实施方案中,杂芳基环包含至少一个环氮原子。杂芳基环中的氮原子可以是碱性的(如在咪唑或吡啶的情况中)或主要是非碱性的(例如在吡咯或吡咯氮的情况中)。通常杂芳基中存在的碱性氮原子(包括环的任何氨基取代基)少于 5 个。

[0225] 5 元杂芳基的实例包括但不限于吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、呋咱、噁唑、噁二唑、噁三唑、异噁唑、噻唑、异噻唑、吡唑、三唑和四唑基团。

[0226] 6 元杂芳基的实例包括但不限于吡啶、吡嗪、哒嗪、嘧啶和三嗪。

[0227] 二环杂芳基可以是例如选自以下的基团:

[0228] a) 与包含 1、2 或 3 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的苯环;

[0229] b) 与包含 1、2 或 3 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的吡啶环;

[0230] c) 与包含 1 或 2 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的嘧啶环;

[0231] d) 与包含 1、2 或 3 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的吡咯环;

- [0232] e) 与包含 1 或 2 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的吡唑环；
- [0233] f) 与包含 1 或 2 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的咪唑环；
- [0234] g) 与包含 1 或 2 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的噁唑环；
- [0235] h) 与包含 1 或 2 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的异噁唑环；
- [0236] i) 与包含 1 或 2 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的噻唑环；
- [0237] j) 与包含 1 或 2 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的异噻唑环；
- [0238] k) 与包含 1、2 或 3 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的噻吩环；
- [0239] l) 与包含 1、2 或 3 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的呋喃环；
- [0240] m) 与包含 1 或 2 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的噁唑环；
- [0241] n) 与包含 1 或 2 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的异噁唑环；
- [0242] o) 与包含 1、2 或 3 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的环己基环；以及
- [0243] p) 与包含 1、2 或 3 个环杂原子的 5 或 6 元环稠合的环戊基环。
- [0244] 包含与另外的 5 元环稠合的 5 元环的二环杂芳基的特别实例包括但不限于咪唑并噻唑（例如咪唑并 [2,1-b] 噻唑）和咪唑并咪唑（例如咪唑并 [1,2-a] 咪唑）。
- [0245] 包含与 5 元环稠合的 6 元环的二环杂芳基的特别实例包括但不限于苯并呋喃、苯并噻吩、苯并咪唑、苯并噁唑、异苯并噁唑、苯并异噁唑、苯并噻唑、苯并异噻唑、异苯并呋喃、吲哚、异吲哚、中氮茛、二氢吲哚、异二氢吲哚、嘌呤（例如腺嘌呤、鸟嘌呤）、吡唑并嘧啶（例如吡唑并 [1,5-a] 嘧啶）、三唑并嘧啶（例如 [1,2,4] 三唑并 [1,5-a] 嘧啶）、苯并间二氧杂环戊烯和吡唑并嘧啶（例如吡唑并 [1,5-a] 嘧啶）基团。
- [0246] 包含两个稠合的 6 元环的二环杂芳基的特别实例包括但不限于喹啉、异喹啉、苯并二氢吡喃、二氢苯并噻喃、苯并吡喃、异苯并吡喃、苯并二氢吡喃、异苯并二氢吡喃、苯并二噁烷、喹啉、苯并噁啉、苯并二噁啉、吡啶并吡啶、喹啉、喹啉、噻吩、2,3-二氮杂萘、1,5-二氮杂萘和蝶啶基团。
- [0247] 杂芳基的亚组包括吡啶基、吡咯基、呋喃基、噻吩基、咪唑基、噁唑基、噁二唑基、噁三唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、吡唑基、吡嗪基、哒嗪基、嘧啶基、三嗪基、三唑基、四唑基、喹啉基、异喹啉基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并二氢吡喃基、二氢苯并噻喃基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、苯并异噁唑基、苯并噻唑基和苯并异噻唑、异苯并呋喃基、吲哚基、异吲哚基、中氮茛基、二氢吲哚基、异二氢吲哚基、嘌呤基（例如腺嘌呤、鸟嘌呤）、吡唑基、苯并间二氧杂环戊烯基、苯并吡喃基、异苯并吡喃基、异苯并二氢吡喃基、苯并二噁烷基、喹啉基、苯并噁啉基、苯并二噁啉基、吡啶并吡啶基、喹啉基、喹啉基、噻吩基、2,3-二氮杂萘基、1,5-二氮杂萘基和蝶啶基。
- [0248] 包含芳环和非芳环的多环芳基和杂芳基的实例包括四氢萘、四氢异喹啉、四氢喹啉、二氢苯并噻吩、二氢苯并呋喃、2,3-二氢-苯并 [1,4] 二噁烯、苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯、4,5,6,7-四氢苯并呋喃、二氢吲哚和 1,2-二氢化茛基团。
- [0249] 碳环芳基的实例包括苯基、萘基、茛基和四氢萘基。
- [0250] 非芳族杂环基团的实例包括具有 3 至 12 个环原子，典型地具有 4 至 12 个环原子并且更通常具有 5 至 10 个环原子的未取代或取代的（被一个或多个基团  $R^{10}$  取代的）杂环

基团。例如,该基团可以是单环或二环的并且典型地具有 1 至 5 个典型地选自氮、氧和硫的杂原子环原子(更通常具有 1、2、3 或 4 个杂原子环原子)。

[0251] 当存在硫时,其可以在相邻原子和基团的性质允许时以  $-S-$ 、 $-S(O)-$  或  $-S(O)_2-$  存在。

[0252] 杂环基可以包括例如环醚基团(例如在四氢呋喃和二噁烷中)、环硫醚基团(例如在四氢噻吩和二噻烷中)、环胺基团(例如在吡咯烷中)、环酰胺基团(例如在吡咯烷酮中)、环硫代酰胺、环硫代酸酯、环酯基团(例如在丁内酯中)、环砜(例如在环丁砜和环丁烯砜中)、环亚砜、环磺酰胺以及它们的组合(例如吗啉和硫代吗啉及其  $S-$  氧化物和  $S, S-$  二氧化物)。杂环基的进一步的实例是那些包含环脲基团的基团(例如在咪唑啉-2-酮中)。

[0253] 在杂环基的亚组中,杂环基包括环醚基团(例如在四氢呋喃和二噁烷中)、环硫醚基团(例如在四氢噻吩和二噻烷中)、环胺基团(例如在吡咯烷中)、环砜(例如在环丁砜和环丁烯砜中)、环亚砜、环磺酰胺以及它们的组合(例如硫代吗啉)。

[0254] 单环非芳族杂环基的实例包括 5、6 和 7 元单环杂环基。特别的实例包括吗啉、哌啶(例如 1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基和 4-哌啶基)、吡咯烷(例如 1-吡咯烷基、2-吡咯烷基和 3-吡咯烷基)、吡咯烷酮、吡喃(2H-吡喃或 4H-吡喃)、二氢噻吩、二氢吡喃、二氢呋喃、二氢噻唑、四氢呋喃、四氢噻吩、二噁烷、四氢吡喃(例如 4-四氢吡喃基)、咪唑啉、咪唑啉酮、噁唑啉、噻唑啉、2-吡唑啉、吡唑啉、哌嗪和  $N-$  烷基哌嗪(例如  $N-$  甲基哌嗪)。进一步的实例包括硫代吗啉及其  $S-$  氧化物及  $S, S-$  二氧化物(特别是硫代吗啉)。再进一步的实例包括氮杂环丁烷、哌啶酮、哌嗪酮和  $N-$  烷基哌啶(例如  $N-$  甲基哌啶)。

[0255] 非芳族杂环基的一个优选亚组包括饱和的基团例如氮杂环丁烷、吡咯烷、哌啶、吗啉、硫代吗啉、硫代吗啉  $S, S-$  二氧化物、哌嗪、 $N-$  烷基哌嗪和  $N-$  烷基哌啶。

[0256] 非芳族杂环基的另一个亚组包括吡咯烷、哌啶、吗啉、硫代吗啉、硫代吗啉  $S, S-$  二氧化物、哌嗪和  $N-$  烷基哌嗪(例如  $N-$  甲基哌嗪)。

[0257] 杂环基的一个特别的亚组包括吡咯烷、哌啶、吗啉和  $N-$  烷基哌嗪(例如  $N-$  甲基哌嗪)和任选的硫代吗啉。

[0258] 非芳族碳环基团的实例包括环烷基(例如环己基和环戊基)、环烯基(例如环戊烯基、环己烯基、环庚烯基和环辛烯基以及环己二烯基、环辛四烯、四氢萘次甲基和萘烷基)。

[0259] 优选的非芳族碳环基团是单环并且最优选饱和的单环。

[0260] 典型的实例是 3、4、5 或 6 元饱和的碳环,例如任选取代的环戊基和环己基环。

[0261] 非芳族碳环基团的一个亚组包括未取代或取代的(被一个或多个基团  $R^{10}$  取代的)单环基团并且特别是饱和的单环基团,例如环烷基。该环烷基的实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基;更典型地是环丙基、环丁基、环戊基和环己基,特别是环己基。

[0262] 非芳族环基团的进一步实例包括桥连的环系(例如二环烷和氮杂二环烷),尽管该桥连的环系通常是很少优选的。“桥连的环系”是表示其中两个环共有多个原子的环系,参见例如 Advanced Organic Chemistry, Jerry March, 4<sup>th</sup> Edition, Wiley Interscience, 131-133 页, 1992。桥连的环系的实例包括二环 [2.2.1] 庚烷、氮杂-二环 [2.2.1] 庚烷、二环 [2.2.2] 辛烷、氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷、二环 [3.2.1] 辛烷和氮杂-二

环 [3. 2. 1] 辛烷。桥连的环系的特别实例是 1- 氮杂 - 二环 [2. 2. 2] 辛 -3- 基。

[0263] 除非上下文另外指出, 本文中涉及的碳环和杂环基团, 碳环或杂环可以是未取代的或被一个或多个取代基基团  $R^{10}$  取代,  $R^{10}$  选自卤素、羟基、三氟甲基、氰基、硝基、羧基、氨基、单 - 或二 -  $C_{1-4}$  烷基氨基、具有 3 至 12 个环原子的碳环和杂环基团; 基团  $R^a-R^b$ , 其中  $R^a$  是键、O、CO、 $X^1C(X^2)$ 、 $C(X^2)X^1$ 、 $X^1C(X^2)X^1$ 、S、SO、 $SO_2$ 、 $NR^c$ 、 $SO_2NR^c$  或  $NR^cSO_2$ ; 并且  $R^b$  选自氢、具有 3 至 12 个环原子的碳环和杂环基团以及任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-8}$  烷基; 羟基、氧代、卤素、氰基、硝基、羧基、氨基、单 - 或二 -  $C_{1-4}$  烷基氨基、具有 3 至 12 个环原子的碳环和杂环基团并且, 其中  $C_{1-8}$  烷基的一个或多个碳原子可以任选被 O、S、SO、 $SO_2$ 、 $NR^c$ 、 $X^1C(X^2)$ 、 $C(X^2)X^1$  或  $X^1C(X^2)X^1$  代替;  $R^c$  选自氢和  $C_{1-4}$  烷基; 并且  $X^1$  是 O、S 或  $NR^c$  并且  $X^2$  是 = O、= S 或 =  $NR^c$ 。

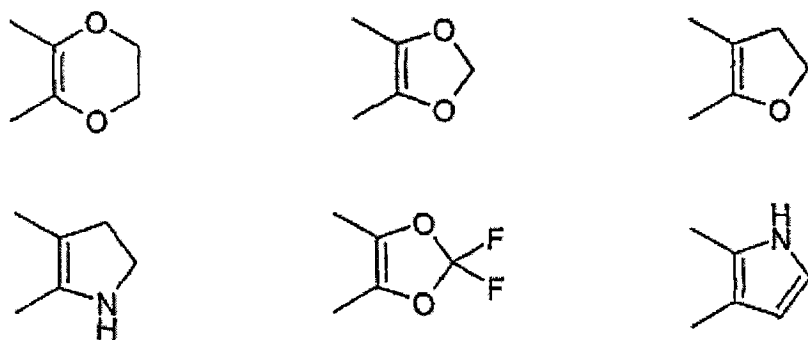
[0264] 其中取代基基团  $R^{10}$  包含或包括碳环或杂环基团, 所述碳环或杂环基团可以是未取代的或可以自身被一个或多个另外的取代基基团  $R^{10}$  取代。在式 (I) 化合物的一个亚组中, 此类另外的取代基基团  $R^{10}$  可以包括碳环或杂环基团, 典型地它们自身不被进一步取代。在式 (I) 化合物的另一个亚组中, 所述的另外的取代基不包括碳环或杂环基团, 而是另外选自在上文  $R^{10}$  的定义中列出的基团。

[0265] 取代基  $R^{10}$  可以选自包含不多于 20 个非氢原子, 例如不多于 15 个非氢原子, 例如不多于 12 或 11 或 10 或 9 或 8 或 7 或 6 或 5 个非氢原子的基团。

[0266] 其中碳环和杂环基团在相邻的环原子上具有一对取代基, 这两个取代基可以相连以形成环基团。因此, 两个相邻的基团  $R^{10}$  和它们所连接的碳原子或杂原子一起形成 5 元杂芳基环或者 5 或 6 元非芳族碳环或杂环, 其中所述的杂芳基和杂环基包含至多 3 个选自 N、O 和 S 的杂原子环原子。例如, 在环的相邻碳原子上的相邻的取代基对可以通过一个或多个杂原子和任选取代的亚烷基连接以形成稠合的氧杂 -、二氧杂 -、氮杂 -、二氮杂 - 或氧杂 - 氮杂 - 环烷基。

[0267] 此类相连的取代基的实例包括:

[0268]



[0269] 卤素取代基的实例包括氟、氯、溴和碘。特别优选氟和氯。

[0270] 除非另外指出, 在上文和下文中应用的式 (I) 化合物的定义中, 术语“烷基”是通用术语, 其包括具有全碳骨架并且含有碳和氢原子的脂族、脂环族和芳族基团。

[0271] 在某些情况中, 如本文定义的, 组成碳骨架的一个或多个碳原子可以被特别的原子或原子组代替。

[0272] 烷基的实例包括烷基、环烷基、环烯基、碳环芳基、链烯基、炔基、环烷基烷基、环烯基烷基和碳环芳烷基、芳烯基和芳炔基。此类基团可以是未取代的或 (指出的) 被一个或

多个本文定义的取代基取代。除非上下文特别指出,在式(I)化合物的取代基的多种定义中,下文所述的实例和优选应用于涉及的每一个烃基取代基或包含烃基的取代基。

[0273] 优选的非芳族烃基是饱和的基团,例如烷基和环烷基。

[0274] 除非上下文另有需要,通常通过实例的方式,烃基可以具有至多8个碳原子。在具有1至8个碳原子的烃基的亚组中,特别的实例是 $C_{1-6}$ 烃基,例如 $C_{1-4}$ 烃基(例如 $C_{1-3}$ 烃基或 $C_{1-2}$ 烃基),任何单个值或组合值的特殊的实例选自 $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 、 $C_4$ 、 $C_5$ 、 $C_6$ 、 $C_7$ 和 $C_8$ 烃基。

[0275] 术语“烷基”包括直链和支链烷基。烷基的实例包括甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、2-戊基、3-戊基、2-甲基丁基、3-甲基丁基和正己基及其异构体。在具有1至8个碳原子的烷基的亚组中,特别的实例是 $C_{1-6}$ 烷基,例如 $C_{1-4}$ 烷基(例如 $C_{1-3}$ 烷基或 $C_{1-2}$ 烷基)。

[0276] 环烷基的实例是那些衍生自环丙烷、环丁烷、环戊烷、环己烷和环庚烷的基团。在环烷基的亚组中,环烷基具有3至8个碳原子,特别的实例是 $C_{3-6}$ 环烷基。

[0277] 链烯基的实例包括但不限于乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基(烯丙基)、异丙烯基、丁烯基、丁-1,4-二烯基、戊烯基和己烯基。在链烯基的亚组中,链烯基具有2至8个碳原子,特别的实例是 $C_{2-6}$ 链烯基,例如 $C_{2-4}$ 链烯基。

[0278] 环烯基的实例包括但不限于环丙烯基、环丁烯基、环戊烯基、环戊二烯基和环己烯基。在环烯基的亚组中,环烯基具有3至8个碳原子,并且特别的实例是 $C_{3-6}$ 环烯基。

[0279] 炔基的实例包括但不限于乙炔基和2-丙炔基(炔丙基)。在具有2至8个碳原子的炔基的亚组中,特别的实例是 $C_{2-6}$ 炔基,例如 $C_{2-4}$ 炔基。

[0280] 碳环芳基的实例包括取代的和未取代的苯基。

[0281] 环烷基烷基、环烯基烷基、碳环芳烷基、芳烯基和环炔基的实例包括苯乙基、苄基、苯乙烯基、苯基乙炔基、环己基甲基、环戊基甲基、环丁基甲基、环丙基甲基和环戊烯基甲基。

[0282] 当存在并且指出的话,烃基可以任选被一个或多个选自下列的取代基取代:羟基、氧代、烷氧基、羧基、卤素、氰基、硝基、氨基、单-或二- $C_{1-4}$ 烃基氨基和具有3至12个(典型地具有3至10个并且更通常具有5至10个)环原子的单环或二环碳环和杂环基团。优选的取代基包含卤素,例如氟。因此,例如取代的烃基可以是部分氟化或全氟化的基团,例如二氟甲基或三氟甲基。在一个实施方案中,优选的取代基包括具有3至7个环原子(更通常具有3、4、5或6个环原子)的单环碳环和杂环基团。

[0283] 当指出时,烃基的一个或多个碳原子可以被O、S、SO、 $SO_2$ 、 $NR^c$ 、 $X^1C(X^2)$ 、 $C(X^2)X^1$ 或 $X^1C(X^2)X^1$ (或其亚组)代替,其中 $X^1$ 和 $X^2$ 如上文定义的,条件是烃基的至少一个碳原子保留。例如,烃基的1、2、3或4个碳原子可以被列出的原子或基团之一代替并且代替的原子或基团可以是相同的或不同的。通常,被代替的直链或骨架碳原子数与代替它们的基团中的直链或骨架碳原子数是相对应的。其中烃基的一个或多个碳原子被上文定义代替原子或基团所代替的基团的实例包括醚和硫醚(C被O或S代替)、酰胺、酯、硫代酰胺和硫代酸酯(C-C被 $X^1C(X^2)$ 或 $C(X^2)X^1$ 代替)、砜和亚砜(C被SO或 $SO_2$ 代替)、胺(C被 $NR^c$ 代替)。进一步的实例包括脲、碳酸酯和氨基甲酸酯(C-C-C被 $X^1C(X^2)X^1$ 代替)。

[0284] 其中氨基具有两个烃基取代基,它们可以和与它们所连接的氮原子,并且任选与杂原子(例如氮、硫或氧)一起形成4至7个环原子(更通常是5或6个环原子)的环结

构。

[0285] 本文所用的术语“氮杂-环烷基”指的是其中碳环原子之一被氮原子代替的环烷基。因此,氮杂-环烷基的实例包括哌啶和吡咯烷。本文所用的术语“氧杂-环烷基”指的是其中碳环原子之一被氧原子代替的环烷基。因此,氧杂-环烷基的实例包括四氢呋喃和四氢吡喃。类似的是,术语“二氮杂-环烷基”、“二氧杂-环烷基”和“氮杂-氧杂-环烷基”分别指的是其中两个碳环原子被两个氮原子或被两个氧原子或被一个氮原子和一个氧原子代替的环烷基。

[0286] 本文所用的定义“ $R^a-R^b$ ”,既考虑到碳环或杂环基团上存在的取代基也考虑到在式(I)化合物中的其它位置上存在的取代基,特别包括其中  $R^a$  选自下列的化合物:键、O、CO、OC(O)、SC(O)、 $NR^cC(O)$ 、OC(S)、SC(S)、 $NR^cC(S)$ 、OC( $NR^c$ )、SC( $NR^c$ )、 $NR^cC(NR^c)$ 、C(O)O、C(O)S、C(O) $NR^c$ 、C(S)O、C(S)S、C(S) $NR^c$ 、C( $NR^c$ )O、C( $NR^c$ )S、C( $NR^c$ ) $NR^c$ 、OC(O)O、SC(O)O、 $NR^cC(O)$ O、OC(S)O、SC(S)O、 $NR^cC(S)$ O、OC( $NR^c$ )O、SC( $NR^c$ )O、 $NR^cC(NR^c)$ O、OC(O)S、SC(O)S、 $NR^cC(O)$ S、OC(S)S、SC(S)S、 $NR^cC(S)$ S、OC( $NR^c$ )S、SC( $NR^c$ )S、 $NR^cC(NR^c)$ S、OC(O) $NR^c$ 、SC(O) $NR^c$ 、 $NR^cC(O)$  $NR^c$ 、OC(S) $NR^c$ 、SC(S) $NR^c$ 、 $NR^cC(S)$  $NR^c$ 、OC( $NR^c$ ) $NR^c$ 、SC( $NR^c$ ) $NR^c$ 、 $NR^cC(NR^cNR^c)$ 、S、SO、SO<sub>2</sub>、 $NR^c$ 、SO<sub>2</sub> $NR^c$ 和 $NR^cSO_2$ ,其中  $R^c$  如上文定义的。

[0287] 基团  $R^b$  可以是氢或它可以是选自具有 3 至 12 个(典型地是 3 至 10 个并且更通常是 5 至 10 个)环原子的碳环和杂环基团以及上文定义的任选被取代的 C<sub>1-8</sub> 烃基的基团。烃基、碳环和杂环基的实例如上文列出的。

[0288] 当  $R^a$  是 O 并且  $R^b$  是 C<sub>1-8</sub> 烃基时,  $R^a$  和  $R^b$  一起形成烃基氧基。优选的烃基氧基包括饱和的烃基氧基,例如烷氧基(例如 C<sub>1-6</sub> 烷氧基,更通常是 C<sub>1-4</sub> 烷氧基,例如乙氧基和甲氧基,特别是甲氧基)、环烷氧基(例如 C<sub>3-6</sub> 环烷氧基,例如环丙氧基、环丁氧基、环戊氧基和环己氧基)和环烷基烷氧基(例如 C<sub>3-6</sub> 环烷基-C<sub>1-2</sub> 烷氧基,例如环丙基甲氧基)。

[0289] 烃基氧基可以被本文定义的多种取代基取代。例如,烷氧基可以被卤素(例如在二氟甲氧基和三氟甲氧基中)、羟基(例如在羟基乙氧基中)、C<sub>1-2</sub> 烷氧基(例如在甲氧基乙氧基中)、羟基-C<sub>1-2</sub> 烷基(例如在羟基乙氧基乙氧基中)或环基团(例如在上文定义的环境基或非芳族杂环基中)取代。具有非芳族杂环基团作为取代基的烷氧基的实例是其中杂环基是饱和的环胺(例如吗啉、哌啶、吡咯烷、哌嗪、C<sub>1-4</sub>-烷基-哌嗪、C<sub>3-7</sub>-环烷基-哌嗪、四氢吡喃或四氢呋喃)并且烷氧基是 C<sub>1-4</sub> 烷氧基,更典型地是 C<sub>1-3</sub> 烷氧基,例如甲氧基、乙氧基或正丙氧基。

[0290] 烷氧基被单环基团(例如吡咯烷、吡啶、吗啉和哌嗪)及其 N-取代的衍生物(例如 N-苄基、N-C<sub>1-4</sub> 酰基和 N-C<sub>1-4</sub> 烷氧基羰基)取代。特别的实例包括吡咯烷子基乙氧基、哌啶子基乙氧基和哌嗪子基乙氧基。

[0291] 当  $R^a$  是键并且  $R^b$  是 C<sub>1-8</sub> 烃基时,烃基  $R^a-R^b$  的实例如上文定义的。烃基可以是饱和的基团例如环烷基和烷基并且该基团的特别实例包括甲基、乙基和环丙基。烃基(例如烷基)可以被本文定义的多种基团和原子取代。取代的烷基的实例包括被下列基团取代的烷基:一个或多个卤原子例如氟和氯(特别的实例包括溴乙基、氯乙基和三氟甲基)或羟基(例如羟基甲基和羟基乙基)、C<sub>1-8</sub> 酰氧基(例如乙酰氧基甲基和苄氧基甲基)、氨基和单-和二烷基氨基(例如氨基乙基、甲基氨基乙基、二甲基氨基甲基、二甲基氨基乙基和叔丁基氨基甲基)、烷氧基(例如 C<sub>1-2</sub> 烷氧基,例如甲氧基-如在甲氧基乙基中)和环基团

(例如上文定义的环境基、芳基、杂芳基和非芳族杂环基)。

[0292] 被环基团取代的烷基的特别实例是其中环基团是饱和的环胺(例如吗啉、哌啶、吡咯烷、哌嗪、 $C_{1-4}$ -烷基-哌嗪、 $C_{3-7}$ -环烷基-哌嗪、四氢吡喃或四氢呋喃)并且烷基是 $C_{1-4}$ 烷基(更典型地是 $C_{1-3}$ 烷基,例如甲基、乙基或正丙基)的基团。被环基团取代的烷基的特别实例包括吡咯烷子基甲基、吡咯烷子基丙基、吗啉代甲基、吗啉代乙基、吗啉代丙基、哌啶基甲基、哌嗪子基甲基及其如本文定义的N-取代的形式。

[0293] 被芳基和杂芳基取代的烷基的特别实例包括苄基和吡啶基甲基。

[0294] 当 $R^a$ 是 $SO_2NR^c$ 时, $R^b$ 可以是例如氢或任选取代的 $C_{1-8}$ 烃基或碳环或杂环基团。其中 $R^a$ 是 $SO_2NR^c$ 的 $R^a-R^b$ 的实例包括氨基磺酰基、 $C_{1-4}$ 烷基氨基磺酰基和二- $C_{1-4}$ 烷基氨基磺酰基和由环氨基(例如哌啶、吗啉、吡咯烷或任选N-取代的哌嗪,例如N-甲基哌嗪)形成的磺酰胺。

[0295] 其中 $R^a$ 是 $SO^2$ 的基团 $R^a-R^b$ 的实例包括烷基磺酰基、杂芳基磺酰基和芳基磺酰基,特别是单环芳基和杂芳基磺酰基。特别的实例包含甲基磺酰基、苯基磺酰基和甲苯磺酰基。

[0296] 当 $R^a$ 是 $NR^c$ 时, $R^b$ 可以是例如氢或任选取代的 $C_{1-8}$ 烃基或碳环或杂环基团。其中 $R^a$ 是 $NR^c$ 的 $R^a-R^b$ 的实例包括氨基、 $C_{1-4}$ 烷基氨基(例如甲基氨基、乙基氨基、丙基氨基、异丙基氨基、叔丁基氨基)、二- $C_{1-4}$ 烷基氨基(例如二甲基氨基和二乙基氨基)和环烷基氨基(例如环丙基氨基、环戊基氨基和环己基氨基)。

[0297] 基团X、Y、A、 $R^g$ 、 $R^1$ 至 $R^4$ 和 $R^{10}$ 的特别的实施方案和优选

[0298] X

[0299] 在式(I)中,X是基团 $R^1-A-NR^4$ -或者5或6元碳环或杂环。

[0300] 在一个实施方案中,X是基团 $R^1-A-NR^4$ -。

[0301] 在另一个实施方案中,X是5或6元碳环或杂环。

[0302] A

[0303] 在式(I)中,A是键、 $C=O$ 、 $NR^g(C=O)$ 或 $O(C=O)$ 。因此,应该理解的是与吡啶环的4-位连接的基团 $R^1-A-NR^4$ 可以是胺 $R^1-NR^4$ 、酰胺 $R^1-C(=O)-NR^4$ 、脲 $R^1-NR^gC(=O)-NR^4$ 或氨基甲酸酯 $R^1-OC(=O)NR^4$ 的形式。

[0304] 在本发明化合物的一个优选的组中,A是 $C=O$ 并且因此基团 $R^1-A-NR^4$ 是酰胺 $R^1-C(=O)-NR^4$ 的形式。在本发明化合物的另一个组中,A是键并且因此基团 $R^1-A-NR^4$ 是胺 $R^1-NR^4$ 的形式。

[0305]  $R^4$

[0306]  $R^4$ 是氢或任选被卤素(例如氟)、羟基或 $C_{1-4}$ 烷氧基(例如甲氧基)取代的 $C_{1-4}$ 烃基。

[0307] 烃基上的任选取代基的数目典型地将根据取代基的性质而不同。例如,取代基是卤素时,可以有1至3个(优选2个或3个)卤原子存在。取代基是羟基或烷氧基时,典型地将仅有单一的该取代基存在。

[0308]  $R^4$ 优选氢或 $C_{1-3}$ 烷基,更优选氢或甲基并且最优选氢。

[0309]  $R^g$

[0310]  $R^g$ 是氢或任选被羟基或 $C_{1-4}$ 烷氧基(例如甲氧基)取代的 $C_{1-4}$ 烃基。

[0311] 当 $R^g$ 是被羟基或 $C_{1-4}$ 烷氧基取代的 $C_{1-4}$ 烃基时,典型地仅仅有一个该取代基存在。

[0312]  $R^6$  优选氢或  $C_{1-3}$  烷基,更优选氢或甲基并且  $R^6$  最优选氢。

[0313]  $R^2$

[0314]  $R^2$  是氢、卤素、 $C_{1-4}$  烷氧基或任选被卤素、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烃基。

[0315] 当  $R^2$  是卤素时,其优选选自氯和氟并且更优选氟。

[0316] 当  $R^2$  是  $C_{1-4}$  烷氧基时,其可以是例如  $C_{1-3}$  烷氧基,更优选  $C_{1-2}$  烷氧基并且最优选甲氧基。

[0317] 当  $R^2$  是任选取代的  $C_{1-4}$  烃基时,烃基优选  $C_{1-3}$  烃基,更优选  $C_{1-2}$  烃基,例如任选取代的甲基。任选取代的烃基的任取代基优选选自氟、羟基和甲氧基。

[0318] 烃基上的任取代基的数目典型地将根据取代基的性质而不同。例如,取代基是卤素时,可以有 1 至 3 个(优选 2 个或 3 个)卤原子存在。取代基是羟基或甲氧基时,典型地将仅有单一的该取代基存在。

[0319] 包含  $R^2$  的烃基优选是饱和的烃基。饱和的烃基的实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基和环丙基。

[0320] 在一个实施方案中, $R^2$  是氢、卤素、 $C_{1-4}$  烷氧基或任选被卤素、羟基或  $C_{1-4}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烃基。

[0321] 在另一个实施方案中, $R^2$  是氢、氟、氯、甲氧基或任选被氟、羟基或甲氧基取代的  $C_{1-3}$  烃基。

[0322] 在优选的实施方案中, $R^2$  是氢或甲基,最优选氢。

[0323]  $R^1$

[0324]  $R^1$  是氢、具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团,或任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-8}$  烃基:卤素(例如氟)、羟基、 $C_{1-4}$  烷基氧基、氨基、单-或二- $C_{1-4}$  烷基氨基和具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团并且其中烃基的 1 或 2 个碳原子可以任选被选自 O、S、NH、SO、SO<sub>2</sub> 的原子或基团代替。碳环或杂环基团和烃基的实例以及此类基团的通用优选如上文在通用优选和定义部分列出的以及在下文中列出的。

[0325] 在一个实施方案中, $R^1$  是芳基或杂芳基。

[0326] 当  $R^1$  是杂芳基时,特别的杂芳基包括包含至多 3 个选自 O、S 和 N 的杂原子环原子的单环杂芳基,以及包含至多 2 个选自 O、S 和 N 的杂原子环原子的二环杂芳基并且其中两个环都是芳族的。

[0327] 此类基团的实例包括呋喃基(例如 2-呋喃基或 3-呋喃基)、吡啶基(例如 3-吡啶基、6-吡啶基)、2,3-二氢-苯并[1,4]二噁烯基(例如 2,3-二氢-苯并[1,4]二噁烯-5-基)、吡唑基(例如吡唑-5-基)、吡唑并[1,5-a]吡啶基(例如吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)、噁唑基(例如)、异噁唑基(例如异噁唑-4-基)、吡啶基(例如 2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基)、喹啉基(例如 2-喹啉基)、吡咯基(例如 3-吡咯基)、咪唑基和噻吩基(例如 2-噻吩基、3-噻吩基)。

[0328] 杂芳基  $R^1$  的一个亚组包括呋喃基(例如 2-呋喃基或 3-呋喃基)、吡啶基、噁唑基、异噁唑基、吡啶基、喹啉基、吡咯基、咪唑基和噻吩基。

[0329]  $R^1$  杂芳基的优选亚组包括 2-呋喃基、3-呋喃基、吡咯基、咪唑基和噻吩基。

[0330] 优选的芳基  $R^1$  是苯基。

[0331] 基团  $R^1$  可以是未取代或取代的碳环或杂环基团, 其中一个或多个取代基可以选自上文定义的基团  $R^{10}$ 。在一个实施方案中,  $R^1$  上的取代基可以选自基团  $R^{10a}$ , 包括卤素、羟基、三氟甲基、氰基、硝基、羧基、基团  $R^a-R^b$ , 其中  $R^a$  是键、O、CO、 $X^3C(X^4)$ 、 $C(X^4)X^3$ 、 $X^3C(X^4)X^3$ 、S、SO 或  $SO_2$ , 并且  $R^b$  选自氢和任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-8}$  烷基: 羟基、氧代、卤素、氰基、硝基、羧基和具有 3 至 6 个环原子的单环非芳族碳环或杂环基团; 并且其中  $C_{1-8}$  烷基的一个或多个碳原子可以任选被 O、S、SO、 $SO_2$ 、 $X^3C(X^4)$ 、 $C(X^4)X^3$  或  $X^3C(X^4)X^3$  代替;  $X^3$  是 O 或 S; 并且  $X^4$  是 = O 或 = S。

[0332] 碳环或杂环基团在相邻环原子上具有取代基对时, 这两个取代基可以相连以形成环基团。因此, 两个相邻的基团  $R^{10}$  和它们所连接的碳原子或杂原子一起可以形成 5 元杂芳基环或者 5 或 6 元非芳族碳环或杂环, 其中所述的杂芳基和杂环基包含至多 3 个选自 N、O 和 S 的杂原子环原子。特别是这两个相邻的基团  $R^{10}$  和它们所连接的碳原子或杂原子一起可以形成包含至多 3 个 (特别是 2 个) 选自 N、O 和 S 的杂原子环原子的 6 元非芳族杂环。更特别的是, 这两个相邻的基团  $R^{10}$  可以形成包含 2 个选自 N 或 O 的杂原子环原子的 6 元非芳族杂环, 例如二噁烷 (例如 [1,4-二噁烷])。在一个实施方案中,  $R^1$  是在相邻的环原子上具有取代基对以形成环基团 (例如, 形成 2,3-二氢-苯并[1,4]二噁烯) 的碳环基团 (例如苯基)。

[0333] 更特别的是,  $R^1$  上的取代基可以选自卤素、羟基、三氟甲基、基团  $R^a-R^b$ , 其中  $R^a$  是键或 O, 并且  $R^b$  选自氢和任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-4}$  烷基: 羟基、卤素 (优选氟) 和 5 和 6 元饱和的碳环和杂环基团 (例如包含至多 2 个选自 O、S 和 N 的杂原子的基团, 例如未取代的哌啶、吡咯烷基、吗啉代、哌嗪基和 N-甲基哌嗪基)。

[0334] 基团  $R^1$  可以被多于一个的取代基取代。因此, 例如可以有 1 或 2 或 3 或 4 个取代基。在一个实施方案中,  $R^1$  是 6 元环 (例如碳环, 例如苯环) 时, 可以有 1、2 或 3 个取代基并且这些取代基可以位于环的 2、3、4 或 6 位。通过实例的方式, 苯基  $R^1$  可以是 2-单取代的、3-单取代的、2,6-二取代的、2,3-二取代的、2,4-二取代的、2,5-二取代的、2,3,6-三取代的或 2,4,6-三取代的。更特别的是, 苯基  $R^1$  可以是在 2 位单取代的或在 2 和 6 位二取代的, 其中取代基选自氟、氯和  $R^a-R^b$ , 其中  $R^a$  是 O 并且  $R^b$  是  $C_{1-4}$  烷基 (例如甲基或乙基)。在一个实施方案中, 氟是优选的取代基。在另一个实施方案中, 优选的取代基选自氟、氯和甲氧基。

[0335] 非芳族基团  $R^1$  的特别的实例包括未取代或取代 (例如被一个或多个基团  $R^{10}$  取代) 的单环环烷基。此类环烷基的实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基; 更典型地包括环丙基、环丁基、环戊基和环己基, 特别是环己基。

[0336] 非芳族基团  $R^1$  的进一步实例包括具有 3 至 12 个环原子 (典型地具有 4 至 12 个环原子并且更通常是 5 至 10 个环原子) 的未取代或取代 (例如被一个或多个基团  $R^{10}$  取代) 的杂环基。此类基团可以是单环或二环的, 例如并且典型地具有 1 至 5 个典型地选自氮、氧和硫的杂原子环原子 (更通常是 1、2、3 或 4 个杂原子环原子)。

[0337] 当存在硫时, 其可以在相邻原子和基团的性质允许时以  $-S-$ 、 $-S(O)-$  或  $-S(O)_2-$  存在。

[0338] 杂环基可以包括例如环醚基团 (例如在四氢呋喃和二噁烷中)、环硫醚基团 (例

如在四氢噻吩和二噻烷中)、环胺基团(例如在吡咯烷中)、环酰胺(例如在吡咯烷酮中)、环酯(例如在丁内酯中)、环硫代酰胺和硫代酸酯、环砜(例如在环丁砜和环丁烯砜中)、环亚砜、环磺酰胺和它们的组合(例如吗啉和硫代吗啉及其 S-氧化物和 S, S- 二氧化物)。

[0339] 在杂环基  $R^1$  的一个亚组中,杂环基包括环醚基团(例如在四氢呋喃和二噁烷中)、环硫醚基团(例如在四氢噻吩和二噻烷中)、环胺基团(例如在吡咯烷中)、环砜(例如在环丁砜和环丁烯砜中)、环亚砜、环磺酰胺和它们的组合(例如硫代吗啉)。

[0340] 单环非芳族杂环基团  $R^1$  的实例包括 5、6 和 7 元单环杂环基,例如吗啉、哌啶(例如 1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基和 4-哌啶基)、吡咯烷(例如 1-吡咯烷基、2-吡咯烷基和 3-吡咯烷基)、吡咯烷酮、吡喃(2H-吡喃或 4H-吡喃)、二氢噻吩、二氢吡喃、二氢呋喃、二氢噻唑、四氢呋喃、四氢噻吩、二噁烷、四氢吡喃(例如 4-四氢吡喃基)、咪唑啉、咪唑啉酮、噁唑啉、噻唑啉、2-吡唑啉、吡唑啉、哌嗪和 N-烷基哌嗪(例如 N-甲基哌嗪)。进一步的实例包括硫代吗啉及其 S-氧化物和 S, S- 二氧化物(特别是硫代吗啉)。再进一步的实例包括 N-烷基哌啶(例如 N-甲基哌啶)。

[0341] 非芳族杂环基团  $R^1$  的一个亚组包括未取代的或取代的(被一个或多个基团  $R^{10}$  取代的)5、6 和 7 元单环杂环基团,例如吗啉、哌啶(例如 1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基和 4-哌啶基)、吡咯烷(例如 1-吡咯烷基、2-吡咯烷基和 3-吡咯烷基)、吡咯烷酮、哌嗪和 N-烷基哌嗪(例如 N-甲基哌嗪),其中特别的亚组包括吡咯烷、哌啶、吗啉、硫代吗啉和 N-甲基哌嗪。

[0342] 通常,优选的非芳族杂环基包括吡咯烷、哌啶、吗啉、硫代吗啉、硫代吗啉 S, S- 二氧化物、哌嗪、N-烷基哌嗪和 N-烷基哌啶。

[0343] 杂环基团另一个特别的亚组包括吡咯烷、哌啶、吗啉和 N-烷基哌嗪以及任选的 N-甲基哌嗪和硫代吗啉。

[0344] 当  $R^1$  是被碳环或杂环基团取代的  $C_{1-8}$  烃基时,碳环和杂环基团可以是芳族的或非芳族的并且可以选自上文中列出的此类基团的实例。取代的烃基典型地是饱和的  $C_{1-4}$  烃基,例如烷基,优选  $CH_3$  或  $CH_2CH_3$  基团。取代的烃基是  $C_{2-4}$  烃基时,碳原子之一以及与其相关联的氢原子可以被磺酰基代替,例如在基团  $SO_2CH_3$  中。

[0345] 当与  $C_{1-8}$  烃基连接的碳环或杂环基团是芳族的时,此类基团的实例包括包含至多 4 个选自 O、S 和 N 的杂原子环原子的单环芳基和单环杂芳基以及包含至多 2 个选自 O、S 和 N 的杂原子环原子的二环杂芳基并且其中的两个环都是芳族的。

[0346] 在以上“通用优选和定义”部分列出了此类基团的实例。

[0347] 此类基团的特别实例包括呋喃基(例如 2-呋喃基或 3-呋喃基)、吡啶基、噁唑基、异噁唑基、吡啶基、喹啉基、吡咯基、咪唑基和噻吩基。作为  $C_{1-8}$  烃基的取代基的芳基和杂芳基的特别的实例包括苯基、咪唑基、四唑基、三唑基、吡啶基、2-呋喃基、3-呋喃基、吡咯基和噻吩基。此类基团可以被一个或多个本文定义的取代基  $R^{10}$  或  $R^{10a}$  取代。

[0348] 当  $R^1$  是被非芳族的碳环或杂环基团取代的  $C_{1-8}$  烃基时,该非芳族或杂环基团可以选自上文列出的此类基团。例如,该非芳族基团可以是具有 4 至 7 个环原子(例如 5 至 7 个环原子)的单环基团,并且典型地包含 0 至 3 个,更通常是 0、1 或 2 个选自 O、S 和 N 的杂原子。当环基团是碳环基团时,其另外可以选自具有 3 个环原子的单环基团。特别的实例包

括单环烷基例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基,以及 5、6 和 7 元单环杂环基团例如吗啉、哌啶(例如 1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基和 4-哌啶基)、吡咯烷(例如 1-吡咯烷基、2-吡咯烷基和 3-吡咯烷基)、吡咯烷酮、哌嗪和 N-烷基哌嗪(例如 N-甲基哌嗪)。通常,优选的非芳族杂环基团包括吡咯烷、哌啶、吗啉、硫代吗啉和 N-甲基哌嗪。

[0349] 当  $R^1$  是任选取代的  $C_{1-8}$  烃基时,烃基可以如上文定义的,并且优选长度为至多 4 个碳原子,更通常为至多 3 个碳原子,例如 1 或 2 个碳原子。

[0350] 在一个实施方案中,烃基是饱和的并且可以是无环的或环的,例如无环的。无环的饱和的烃基(即烷基)可以是直链或支链的烷基。

[0351] 直链烷基  $R^1$  的实例包括甲基、乙基、丙基和丁基。

[0352] 支链烷基  $R^1$  的实例包括异丙基、异丁基、叔丁基和 2,2-二甲基丙基。

[0353] 在一个实施方案中,烃基是具有 1-6 个碳原子(更通常具有 1-4 个碳原子,例如 1-3 个碳原子,例如 1、2 或 3 个碳原子)的直链饱和的基团。当烃基被取代时,此类基团的特别实例是取代的(例如被碳环或杂环基团取代的)甲基和乙基。

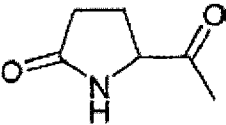
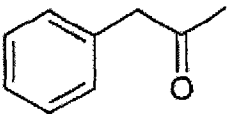
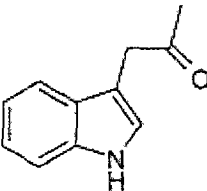
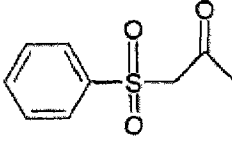
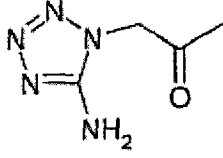
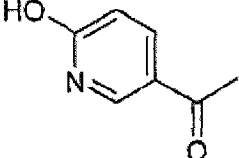
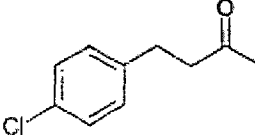
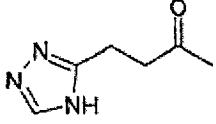
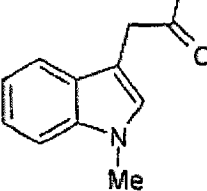
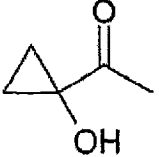
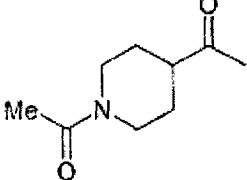
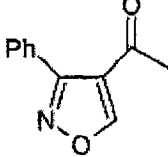
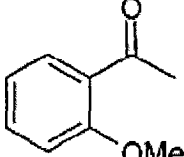
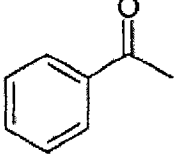
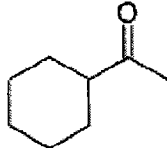
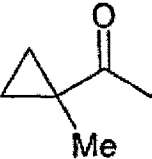
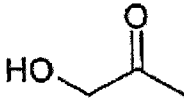
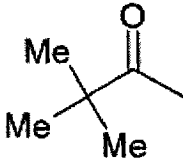
[0354]  $C_{1-8}$  烃基  $R^1$  可以任选被一个或多个选自下列的取代基取代:卤素(例如氟)、羟基、 $C_{1-4}$  烃基氧基、氨基、单-或二- $C_{1-4}$  烃基氨基和具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团并且其中烃基的 1 或 2 个碳原子可以任选被选自 O、S、NH、SO、SO<sub>2</sub> 的原子或基团代替。烃基的特别取代基包括羟基、氯、氟(例如在三氟甲基中)、甲氧基、乙氧基、氨基、甲基氨基和二甲基氨基,优选的取代基是羟基和氟。

[0355] 当 A 是  $C=O$  时,特别的基团  $R^1-CO$  是下面的表 1 中列出的基团。

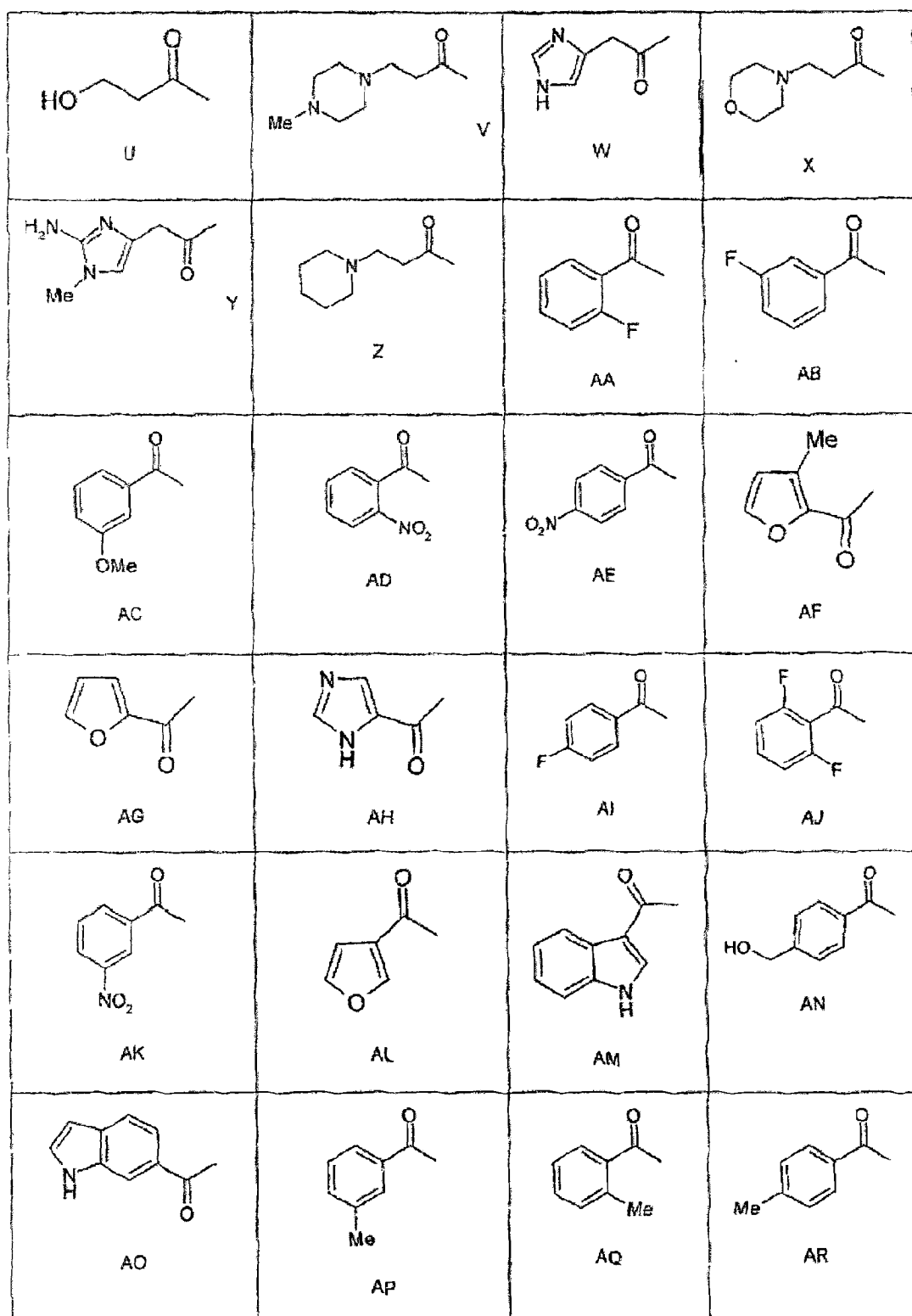
[0356] 在表 1 中,基团与吡唑-4-氨基中的氮原子的连接点是通过从羰基中伸出的末端单键表示的。因此,通过说明的方式,表中的基团 B 是三氟乙酰基,表中的基团 D 是苯基乙酰基并且表中的基团 I 是 3-(4-氯苯基)丙酰基。

[0357]

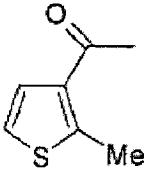
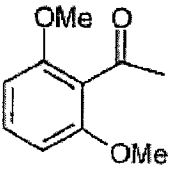
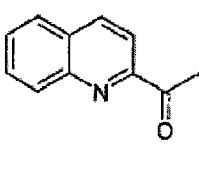
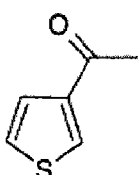
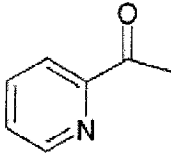
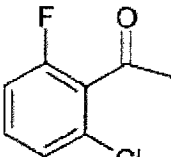
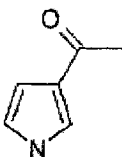
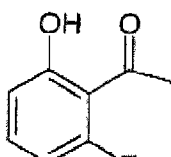
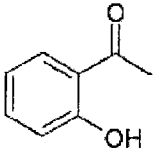
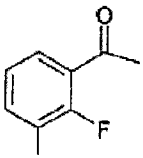
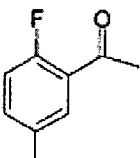
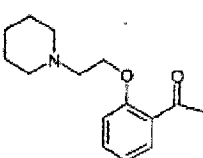
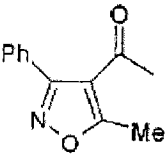
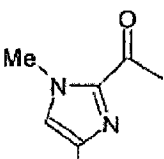
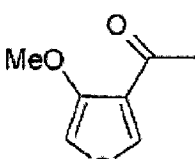
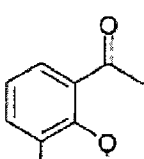
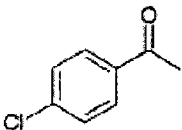
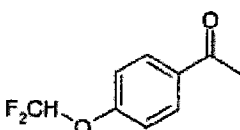
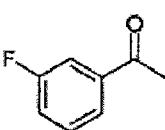
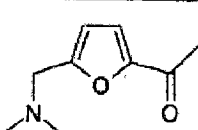
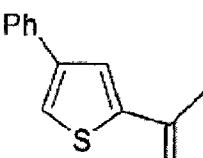
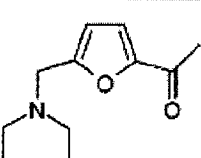
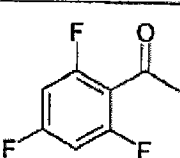
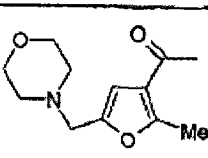
表 1-基团 R<sup>1</sup>-CO 的实例

|                                                                                          |                                                                                          |                                                                                           |                                                                                            |
|------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| $\text{CH}_3\text{-C(=O)-}$<br>A                                                         | $\text{CF}_3\text{-C(=O)-}$<br>B                                                         | <br>C   | <br>D   |
| <br>E   | <br>F   | <br>G   | <br>H   |
| <br>I   | <br>J   | <br>K  | <br>L   |
| <br>M | <br>N | <br>O | <br>P |
| <br>Q | <br>R | <br>S | <br>T |

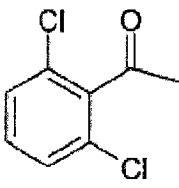
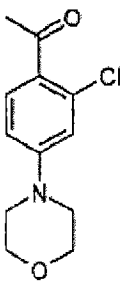
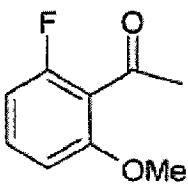
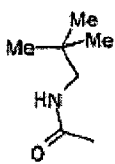
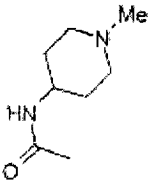
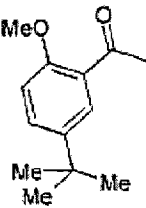
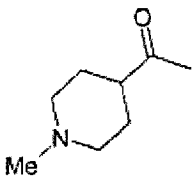
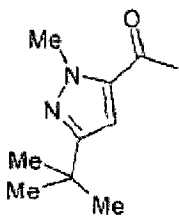
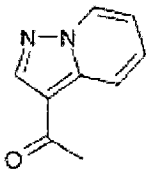
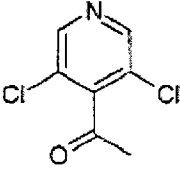
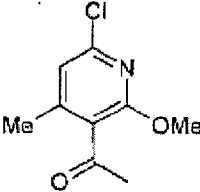
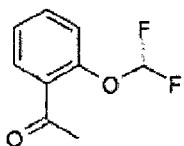
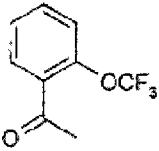
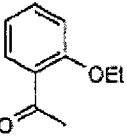
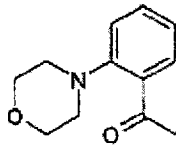
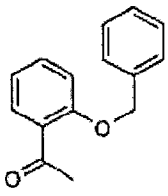
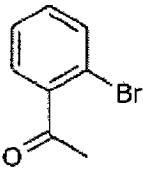
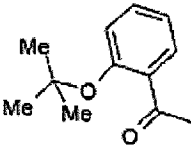
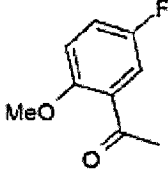
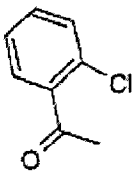
[0358]



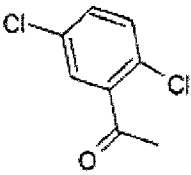
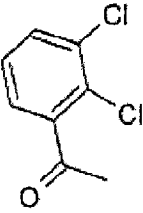
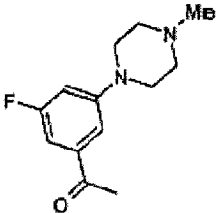
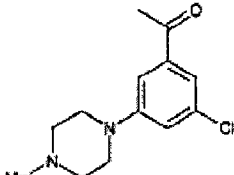
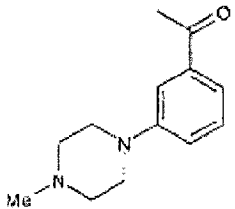
[0359]

|                                                                                           |                                                                                           |                                                                                            |                                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| <br>AS   | <br>AT   | <br>AU   | <br>AV   |
| <br>AW   | <br>AX   | <br>AY   | <br>AZ   |
| <br>BA   | <br>BB   | <br>BC   | <br>BD   |
| <br>BE | <br>BF | <br>BG | <br>BH |
| <br>BI | <br>BJ | <br>BK | <br>BL |
| <br>BM | <br>BN | <br>BO | <br>BP |

[0360]

|                                                                                            |                                                                                            |                                                                                             |                                                                                              |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| <br>BQ    | <br>BR    | <br>BS    | <br>BT    |
| <br>BU    | <br>BV    | <br>BW    | <br>BX    |
| <br>BY   | <br>BZ   | <br>BAA  | <br>BAB  |
| <br>BAC | <br>BAD | <br>BAE | <br>BAF |
| <br>BAG | <br>BAH | <br>BAI | <br>BAJ |

[0361]

|                                                                                              |                                                                                              |                                                                                               |                                                                                                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>BAK</p> |  <p>BAL</p> |  <p>BAM</p> |  <p>BAN</p> |
|  <p>BAO</p> |                                                                                              |                                                                                               |                                                                                                |

[0362]  $R^1$ -CO 的一个亚组包括以上表 1 中的基团 A 至 BF。

[0363]  $R^1$ -CO 的另一个亚组包括以上表 1 中的基团 A 至 BS。

[0364] 一组优选的基团  $R^1$ -CO 包括基团 J、AB、AH、AJ、AL、AS、AX、AY、AZ、BA、BB、BD、BH、BL、BQ、BS 和 BAI。

[0365] 另一组优选的基团  $R^1$ -CO 包括基团 J、AB、AH、AJ、AL、AS、AX、AY、AZ、BA、BB、BD、BH、BL、BQ 和 BS。

[0366] 更优选的基团  $R^1$ -CO- 是 AJ、AX、BQ、BS 和 BAI。

[0367] 基团  $R^1$ -CO- 的一个特别优选的亚组包括 AJ、BQ 和 BS。

[0368] 基团  $R^1$ -CO- 的另一个特别优选的亚组包括 AJ 和 BQ。

[0369] 当 X 是  $R^1$ -A-NR<sup>4</sup> 并且 A 是 C=O, 并且  $R^1$  是在 4 位上具有取代基的苯基时, 4 位的取代基优选不是在邻位具有基团 SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> 或 SO<sub>2</sub>Me 的苯基。

[0370] 在一个通用实施方案中,  $R^1$  可以不是取代或未取代的四氢喹啉、苯并二氢吡喃、苯并吡喃、二氢苯并噻喃、苯并噻喃、二氢-萘或四氢萘基团。更特别的是,  $R^1$  可以不是通过其芳环与基团 A-NR<sup>4</sup>- 连接的取代或未取代的四氢喹啉、苯并二氢吡喃、苯并吡喃、二氢苯并噻喃、苯并噻喃、二氢-萘或四氢萘。

[0371] 在另一个通用实施方案中, 当  $R^1$  是取代或未取代苯基时, 基团 Y-R<sup>3</sup> 可以不是氢、未取代的 C<sub>1-10</sub> 烷基、未取代的 C<sub>5-10</sub> 环烷基、未取代的苯基、未取代 C<sub>1-10</sub> 烷基苯基或未取代的苯基 -C<sub>1-10</sub> 烷基。

[0372] 在上下文的基团  $R^1$ -A-NR<sup>4</sup>- 中, 当  $R^1$  是任选取代的烃基并且烃基包含或包括取代的或未取代的烯基, 烯基中的碳-碳双键优选不是直接与基团 A 连接的。

[0373] 也在上下文的基团  $R^1$ -A-NR<sup>4</sup>- 中, 当  $R^1$  是任选取代的烃基时, 烃基可以不是烯基。

[0374] 在另一个通用实施方案中, 当 Y 是键, R<sup>3</sup> 是氢, A 是 CO 并且  $R^1$  是取代的苯基时, 苯基上的每一个取代基可以不是基团 CH<sub>2</sub>-P(O)R<sup>x</sup>R<sup>y</sup>, 其中 R<sup>x</sup> 和 R<sup>y</sup> 各自选自烷氧基和苯基。

[0375] Y

[0376] 在式 (I) 化合物中, Y 是键或长度为 1、2 或 3 个碳原子的亚烷基链。

[0377] 术语“亚烷基”具有其通用含义并且指的是二价饱和的无环烃链。烃链可以是支链或直链的。亚烷基链是支链时,其可以具有一个或多个甲基侧链。亚烷基的实例包括  $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$  和  $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 。

[0378] 在一个实施方案中, Y 是键。

[0379] 在另一个实施方案中, Y 是亚烷基链。

[0380] 当 Y 是亚烷基链时,其优选是直链的并且更特别包含 1 或 2 个碳原子,优选 1 个碳原子。因此,优选的基团 Y 是  $-\text{CH}_2-$  和  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ,最优选的基团是  $(\text{CH}_2)-$ 。

[0381] Y 是支链时,其优选具有不多于两个的甲基侧链。例如,其可以具有单个甲基侧链。在一个实施方案中, Y 是基团  $-\text{CH}(\text{Me})-$ 。

[0382] 在化合物的一个亚组中, Y 是键、 $\text{CH}_2$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2$  或  $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)$ 。

[0383]  $\text{R}^3$

[0384] 基团  $\text{R}^3$  选自氢和具有 3 至 12 个环原子的碳环和杂环基团。

[0385] 在化合物的一个亚组中, Y 是键并且  $\text{R}^3$  是氢。

[0386] 在化合物的另一个亚组中, Y 是如上文定义的亚烷基链并且  $\text{R}^3$  是氢。

[0387] 在化合物的另一个亚组中, Y 是键或亚烷基链 (例如基团  $-(\text{CH}_2)-$ ) 并且  $\text{R}^3$  是碳环或杂环基团。

[0388] 在化合物的进一步的亚组中, Y 是键并且  $\text{R}^3$  是碳环或杂环基团。

[0389] 在化合物的进一步的亚组中, Y 是亚烷基链 (例如基团  $-(\text{CH}_2)-$ ) 并且  $\text{R}^3$  是碳环或杂环基团。

[0390] 碳环和杂环基团  $\text{R}^3$  可以是芳基、杂芳基、非芳族碳环或非芳族杂环并且此类基团的实例如在上文的通用优选和定义部分详细列出的以及下文列出的。

[0391] 优选的芳基基团  $\text{R}^3$  是未取代和取代的苯基。

[0392] 杂芳基  $\text{R}^3$  的实例包括包含至多 3 个 (并且更优选最多 2 个) 选自 O、S 和 N 的杂原子环原子的单环杂芳基。优选的杂芳基包括包含 1 或 2 个杂原子环原子的 5 元环和包含一个杂原子环原子 (最优选氮) 的 6 元环。杂芳基的特别的实例包括未取代或取代的吡啶基、咪唑、吡唑、噻唑、异噻唑、异噁唑、噁唑、呋喃基和噻吩基团。

[0393] 特别的杂芳基是未取代和取代的吡啶基,例如 2-吡啶基、3-吡啶基和 4-吡啶基,特别是 3-和 4-吡啶基。当吡啶基是取代的时,它们可以具有一个或多个取代基,典型地具有不多于 2 个,并且最通常具有 1 个取代基,该取代基选自例如  $\text{C}_{1-4}$  烷基 (例如甲基)、卤素 (例如氟或氯,优选氯) 和  $\text{C}_{1-4}$  烷氧基 (例如甲氧基)。吡啶基上的取代基可以进一步选自氨基、单  $-\text{C}_{1-4}$  烷基氨基和二  $-\text{C}_{1-4}$  烷基氨基,特别是氨基。

[0394] 在一个实施方案中,当  $\text{R}^3$  是芳基 (例如苯基) 或杂芳基时,碳环或杂环基团上的取代基可以选自基团  $\text{R}^{10a}$ ,所述的基团  $\text{R}^{10a}$  包括卤素、羟基、三氟甲基、氰基、具有 3 至 7 个 (典型地是 5 或 6 个) 环原子的单环碳环和杂环基团以及基团  $\text{R}^a-\text{R}^b$ ,其中  $\text{R}^a$  是键、O、CO、 $\text{X}^1\text{C}(\text{X}^2)$ 、 $\text{C}(\text{X}^2)\text{X}^1$ 、 $\text{X}^1\text{C}(\text{X}^2)\text{X}^1$ 、S、SO、 $\text{SO}_2$ 、 $\text{NR}^c$ 、 $\text{SO}_2\text{NR}^c$  或  $\text{NR}^c\text{SO}_2$ ; 并且  $\text{R}^b$  选自氢、具有 3 至 7 个环原子的碳环或杂环基团和任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $\text{C}_{1-8}$  烷基:羟基、氧代、卤素、氰基、硝基、羧基、氨基、单-或二- $\text{C}_{1-4}$  烷基氨基、具有 3 至 7 个环原子的碳环或杂环基团并且其中  $\text{C}_{1-8}$  烷基的一个或多个碳原子可以任选被 O、S、SO、 $\text{SO}_2$ 、 $\text{NR}^c$ 、 $\text{X}^1\text{C}(\text{X}^2)$ 、 $\text{C}(\text{X}^2)$

$X^1$  或  $X^1C(X^2)X^1$  代替 ; 并且  $R^c$ 、 $X^1$  和  $X^2$  如上文定义的。

[0395] 非芳族基团  $R^3$  的实例包括任选取代的 ( 被  $R^{10}$  或  $R^{10a}$  取代 ) 环烷基、氧杂 - 环烷基、氮杂 - 环烷基、二氮杂 - 环烷基、二氧杂 - 环烷基和氮杂 - 氧杂环烷基。进一步的实例包括  $C_{7-10}$  氮杂 - 二环烷基, 例如 1- 氮杂 - 二环 [2.2.2] 辛 -3- 基。

[0396] 此类基团的特别的实例包括未取代或取代的环丙基、环丁基、环戊基、环己基、四氢吡喃、吗啉、四氢呋喃、哌啶和吡咯烷基团。

[0397] 非芳族基团  $R^3$  的一个亚组包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、四氢吡喃、四氢呋喃、哌啶和吡咯烷基团。

[0398] 优选的非芳族基团  $R^3$  包括未取代或取代的环戊基、环己基、四氢吡喃、四氢呋喃、哌啶和吡咯烷基团。

[0399] 非芳族基团可以是未取代的或被上文定义的一个或多个基团  $R^{10}$  或  $R^{10a}$  取代。

[0400]  $R^3$  ( 例如 (i) 当  $R^3$  是芳基或杂芳基时或 (ii) 当  $R^3$  是非芳族基团时 ) 的特别的取代基选自基团  $R^{10a}$ , 所述的基团  $R^{10a}$  包括卤素 ; 羟基 ; 具有 3 至 6 个环原子并且包含至多 2 个选自 O、N 和 S 的杂原子环原子的单环碳环和杂环基团 ; 以及基团  $R^a-R^b$ , 其中  $R^a$  是键、O、CO、 $CO_2$ 、 $SO_2$ 、NH、 $SO_2NH$  或  $NHSO_2$  ; 并且  $R^b$  选自氢、具有 3 至 6 个环原子并且包含至多 2 个选自 O、N 和 S 的杂原子环原子的碳环或杂环基团以及任选被一个或两个选自下列的取代基取代的  $C_{1-6}$  烷基 ; 羟基、氧代、卤素、羧基、氨基、单 - 或二 -  $C_{1-4}$  烷基氨基、具有 3 至 6 个环原子并且包含至多 2 个选自 O、N 和 S 的杂原子环原子的碳环或杂环基团并且其中  $C_{1-6}$  烷基的 1 或 2 个碳原子可以任选被 O、S、SO 或  $SO_2$  或 NH 代替。

[0401] 在一个实施方案中,  $R^3$  上优选的  $R^{10a}$  取代基 ( 例如 (i) 当  $R^3$  是芳基或杂芳基时或 (ii) 当  $R^3$  是非芳族基团时 ) 包括卤素、基团  $R^a-R^b$ , 其中  $R^a$  是键、O、CO、 $C(X^2)X^1$ , 并且  $R^b$  选自氢、具有 3 至 7 个环原子杂环基团和任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-4}$  烷基 ; 羟基、羧基、氨基、单 - 或二 -  $C_{1-4}$  烷基氨基和具有 3-7 个环原子的杂环基团。

[0402]  $R^3$  上特别优选的取代基  $R^{10a}$  ( 例如 (i) 当  $R^3$  是芳基或杂芳基时或 (ii) 当  $R^3$  是非芳族基团时 ) 包括卤素 ( 特别是氟 )、 $C_{1-3}$  烷氧基 ( 例如甲氧基 ) 和任选被氟、羟基 ( 例如羟基甲基 )、 $C_{1-2}$  烷氧基或 5 或 6 元饱和的杂环 ( 例如哌啶子基、吗啉代、哌嗪子基和 N- 甲基哌嗪子基 ) 取代的  $C_{1-3}$  烷基。

[0403] 在另一个实施方案中,  $R^3$  ( 芳族或非芳族的 ) 的取代基选自 :

[0404] ● 卤素 ( 例如氟和氯 ) ;

[0405] ● 任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-4}$  烷氧基 ( 例如甲氧基和乙氧基 ) : 卤素、羟基、 $C_{1-2}$  烷氧基以及包含 1 或 2 个选自 O、N 和 S 的杂原子的 5 和 6 元饱和的杂环, 其中杂环进一步任选被一个或多个  $C_{1-4}$  基团 ( 例如甲氧基 ) 取代并且其中当存在 S 时, S 可以是以 S、SO 或  $SO_2$  存在 ;

[0406] ● 任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-4}$  烷基 : 卤素、羟基、 $C_{1-4}$  烷氧基、氨基、 $C_{1-4}$  烷基磺酰基氨基、3 至 6 元环烷基 ( 例如环丙基 )、苯基 ( 任选被一个或多个选自卤素、甲基、甲氧基和氨基的取代基取代 ) 以及包含 1 或 2 个选自 O、N 和 S 的杂原子的 5 和 6 元饱和的杂环, 其中杂环进一步任选被一个或多个  $C_{1-4}$  基团 ( 例如甲氧基 ) 取代并且其中当存在 S 时, S 可以是以 S、SO 或  $SO_2$  存在 ;

[0407] ● 羟基 ;

[0408] ●氨基、单- $C_{1-4}$ 烷基氨基、二- $C_{1-4}$ 烷基氨基、苄氧基羰基氨基和  $C_{1-4}$ 烷氧基羰基氨基；

[0409] ●羧基和  $C_{1-4}$ 烷氧基羰基；

[0410] ● $C_{1-4}$ 烷基氨基磺酰基和  $C_{1-4}$ 烷基磺酰基氨基；

[0411] ● $C_{1-4}$ 烷基磺酰基；

[0412] ●基团  $O\text{-Het}^s$  或  $NH\text{-Het}^s$ ，其中  $\text{Het}^s$  是包含 1 或 2 个选自 O、N 或 S 的杂原子的 5 或 6 元饱和的杂环，该杂环进一步任选被一个或多个  $C_{1-4}$  基团（例如甲基）取代并且其中当存在 S 时，S 可以是以 S、SO 或  $SO_2$  存在；

[0413] ●包含 1 或 2 个选自 O、N 或 S 的杂原子的 5 和 6 元饱和的杂环，该杂环进一步任选被一个或多个  $C_{1-4}$  基团（例如甲基）取代并且其中当存在 S 时，S 可以是以 S、SO 或  $SO_2$  存在；

[0414] ●氧代；和

[0415] ●包含至多 2 个氮原子环原子并且任选被一个或多个选自下列的取代基取代的 6 元芳基和杂芳基环：卤素、甲基和甲氧基。

[0416] 在化合物的一个优选的亚组中， $R^3$  是碳环或杂环基团  $R^{3a}$ ，其选自苯基； $C_{3-6}$  环烷基；包含至多 2 个选自 N、O、S 和  $SO_2$  的杂原子环原子的 5 和 6 元饱和的非芳族杂环；包含 1、2 或 3 个氮环原子的 6 元杂芳基环；以及具有至多 3 个选自 N、O 和 S 的杂原子环原子的 5 元杂芳基环；

[0417] 其中每个碳环或杂环基团  $R^{3a}$  任选被至多 4 个、优选至多 3 个并且更优选至多 2 个（例如 1 个）取代基取代，所述的取代基选自氨基；羟基；氧代；氟；氯； $C_{1-4}$  烷基- $(O)_q$ ，其中 q 是 0 或 1 并且  $C_{1-4}$  烷基任选被氟、羟基或  $C_{1-2}$  烷氧基取代；单- $C_{1-4}$  烷基氨基；二- $C_{1-4}$  烷基氨基； $C_{1-4}$  烷氧基羰基；羧基；基团  $R^e\text{-}R^{16}$ ，其中  $R^e$  是键或  $C_{1-3}$  亚烷基链并且  $R^{16}$  选自  $C_{1-4}$  烷基磺酰基； $C_{1-4}$  烷基氨基磺酰基； $C_{1-4}$  烷基磺酰基氨基-；氨基；单- $C_{1-4}$  烷基氨基；二- $C_{1-4}$  烷基氨基； $C_{1-7}$  烷基氧基羰基氨基；包含至多 3 个氮环原子的 6 元芳族基团； $C_{3-6}$  环烷基；包含 1 或 2 个选自 N、O、S 和  $SO_2$  的杂原子环原子的 5 和 6 元饱和的非芳族杂环基团，当基团  $R^{16}$  是饱和的非芳族基团时，其任选被一个或多个甲基取代，并且当基团  $R^{16}$  是芳族基团时，其任选被一个或多个选自下列的基团取代：氟、氯、羟基、 $C_{1-2}$  烷氧基和  $C_{1-2}$  烷基。

[0418] 在进一步的实施方案中， $R^3$  选自：

[0419] ●任选被 1-4 个（例如 1-2 个，例如 1 个）取代基  $R^{10}$  或  $R^{10a}$  取代的单环芳基；

[0420] ●任选被 1-4 个（例如 1-2 个，例如 1 个）取代基  $R^{10}$  或  $R^{10a}$  取代的  $C_3\text{-}C_7$  环烷基；

[0421] ●包含 1 个选自 O、N 和 S 的环杂原子并且任选被氧代基团和 / 或被 1-4 个（例如 1-2 个，例如 1 个）取代基  $R^{10}$  或  $R^{10a}$  取代的饱和的 5 元杂环；

[0422] ●包含 1 或 2 个选自 O、N 和 S 的环杂原子并且任选被氧代基团和 / 或被 1-4 个（例如 1-2 个，例如 1 个）取代基  $R^{10}$  或  $R^{10a}$  取代的饱和的 6 元杂环；

[0423] ●包含 1 或 2 个选自 O、N 和 S 的环杂原子并且任选被 1-4 个（例如 1-2 个，例如 1 个）取代基  $R^{10}$  或  $R^{10a}$  取代的 5 元杂芳基环；

[0424] ●包含 1 或 2 个氮环原子（优选是 1 个氮环原子）并且任选被 1-4 个（例如 1-2 个，例如 1 个）取代基  $R^{10}$  或  $R^{10a}$  取代的 6 元杂芳基环；

[0425] ●各自具有 7 至 9 个环原子并且任选被 1-4 个（例如 1-2 个，例如 1 个）取代基

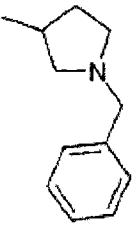
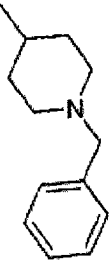
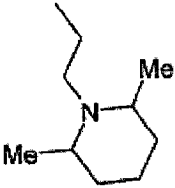
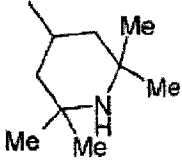
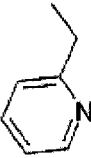
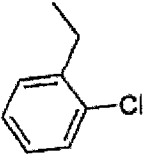
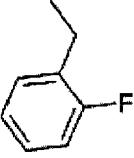
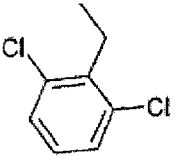
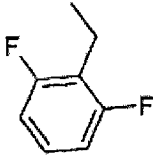
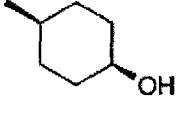
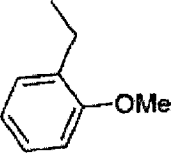
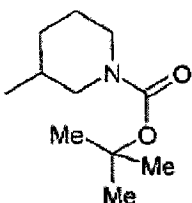
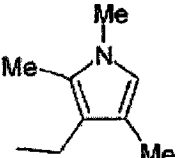
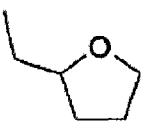
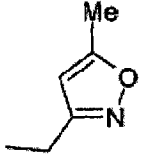
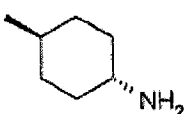
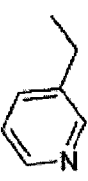
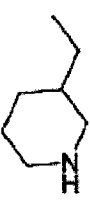
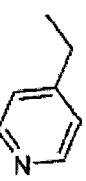
$R^{10}$  或  $R^{10a}$  取代的单-氮杂二环烷基和二氮杂二环烷基。

[0426] 表 2 中列出了基团  $Y-R^3$  的特别的实例。在表 2 中,基团与吡唑-3-甲酰胺基团中的氮原子的连接点是通过从基团中伸出的末端单键表示的。因此,通过说明的方式,表中的基团 CA 是 4-氟苯基,表中的基团 CB 是 4-甲氧基苄基并且表中的基团 CC 是 4-(4-甲基哌嗪基)-苯基甲基。

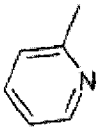
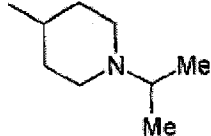
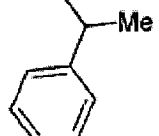
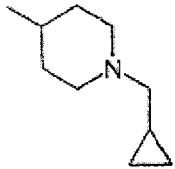
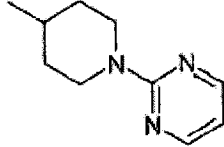
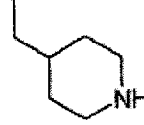
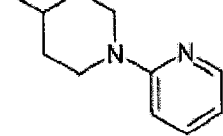
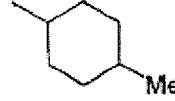
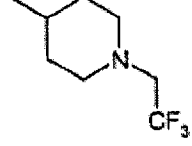
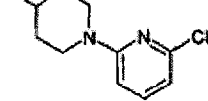
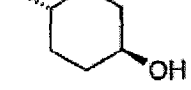
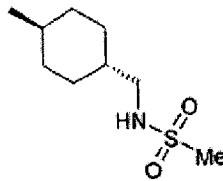
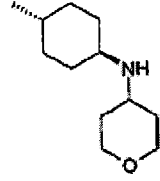
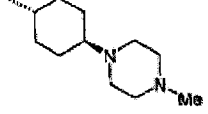
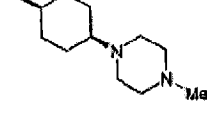
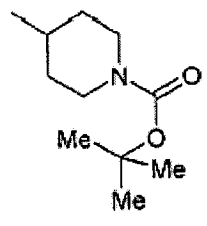
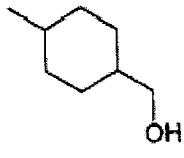
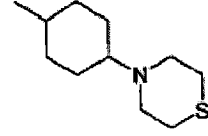
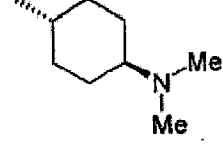
[0427]

| 表 2-基团 $Y-R^3$ 的实例 |    |    |    |
|--------------------|----|----|----|
|                    |    |    |    |
| CA                 | CB | CC |    |
|                    |    |    |    |
| CD                 | CE | CF | CG |
| H                  |    |    |    |
| CH                 | CI | CJ | CK |
|                    |    |    |    |
| CL                 | CM | CN | CO |
|                    |    |    |    |
| CP                 | CQ | CR | CS |
|                    |    |    |    |
| CT                 | CU | CV | CW |

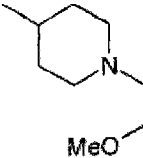
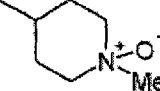
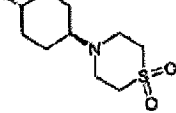
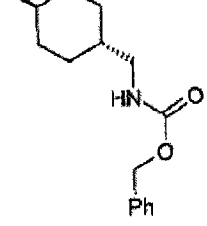
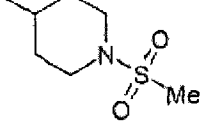
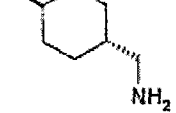
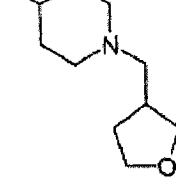
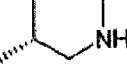
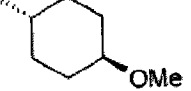
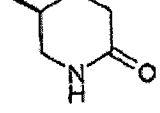
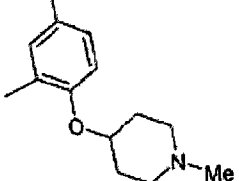
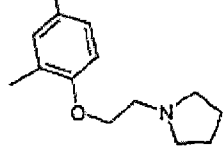
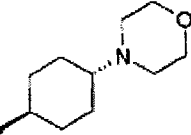
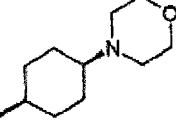
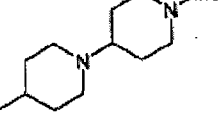
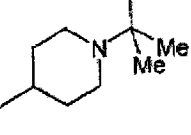
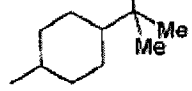
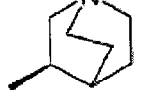
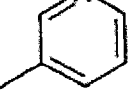
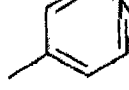
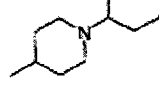
[0428]

|                                                                                           |                                                                                           |                                                                                            |                                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| <br>CX   | <br>CY   | <br>CZ   | <br>DA   |
| <br>DB   | <br>DC   | <br>DD   | <br>DE   |
| <br>DF  | <br>DG  | <br>DH   | <br>DI  |
| <br>DJ | <br>DK | <br>DL | <br>DM |
| <br>DN | <br>DO | <br>DP  | <br>DQ |

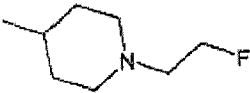
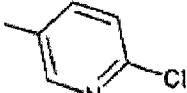
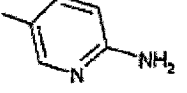
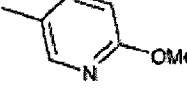
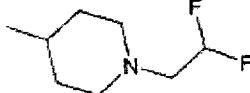
[0429]

|                                                                                           |                                                                                           |                                                                                            |                                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| <br>DR   | <br>DS   | <br>DT    | <br>DU   |
| <br>DV   | <br>DW   | <br>DX   | <br>DY   |
| <br>DZ   | <br>EA   | <br>EB   | <br>EC   |
| <br>ED | <br>EE | <br>EF | <br>EG |
| <br>EH | <br>EI | <br>EJ | <br>EK |

[0430]

|                                                                                           |                                                                                           |                                                                                            |                                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| <br>EL   | <br>EM   | <br>EN   | <br>EO   |
| <br>EP   | <br>EQ   | <br>ER   | <br>ES   |
| <br>ET   | <br>EU   | <br>EV  | <br>EW  |
| <br>EX | <br>EY | <br>EZ | <br>FA |
| <br>FB | <br>FC | <br>FD | <br>FE |
| <br>FF | <br>FG | <br>FH | <br>FI |

[0431]

|                                                                                   |                                                                                   |                                                                                    |                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  |  |  |
|  |                                                                                   |                                                                                    |                                                                                     |

[0432] 选自表 2 的基团的一个亚组包括基团 CA 至 EU。

[0433] 选自表 2 的基团的另一个亚组包括基团 CA 至 CV。

[0434] 选自表 2 的优选的基团包括基团 CL、CM、ES、ET、FC、FG 和 FH。

[0435] 选自表 2 的特别优选的基团包括基团 CL、CM 和 ES, 并且最优选 CL 和 CM。

[0436] 在另一个通用实施方案中, 当  $R^3$  是氮杂-环烷基时, 式 (I) 化合物中的基团 X 优选  $R^1-A-NR^4$ , 其中 A 是  $CO$ 、 $NR^g(C=O)$  或  $O(C=O)$ 。另外, 或可选择地, 当  $R^3$  是氮杂-环烷基时, 该氮杂-环烷基的氮原子优选没有被与 2,3-二氢-苯并[1,4]二噁烯或四氢萘基团连接的亚烷基链取代。

[0437] 在另一个通用实施方案中, 当 Y 是长度为 1 个碳原子的亚烷基链时,  $R^3$  不是具有取代或未取代的环己基氧基或环己基硫代基团的任选取代的苯基。

[0438] 在另一个通用实施方案中,  $R^3$  不是包含通过单键直接与单环或二环芳基连接的 5 元杂芳基环的基团或  $R^3$  不是包含二杂芳基 (包含通过单键连接在一起的两个 5 元杂芳基环) 的基团。

[0439] 在进一步的通用实施方案中,  $R^1$  不是包含通过单键直接与单环或二环芳基连接的 5 元杂芳基环的基团或  $R^1$  不是包含二杂芳基 (包含通过单键连接在一起的两个 5 元杂芳基环) 的基团。

[0440] 在另一个通用实施方案中, 当  $Y-R^3$  是烷基、环烷基、任选取代的苯基或任选取代的苯基烷基时,  $R^1-A-NR^4$  不是任选取代的烟碱基-氨基或苯甲酰基-氨基。

[0441] 当 A 是键 (和任选当 A 是  $CO$ 、 $NR^g(C=O)$  或  $O(C=O)$ ) 时,  $Y-R^3$  可以不是在 1 位被烃链取代同时具有氧代取代基 (例如羟基)、芳基取代基和二唑或三唑取代基的环烷基。

[0442] 优选  $R^1$  或  $R^3$  各自不是包含取代的苯基 (在苯环的 3 和 4 位都具有硫代和 / 或氧代的取代基, 例如羟基、烷氧基和烷硫基) 的基团。

[0443] 在进一步的通用实施方案中, 当  $Y-R^3$  是未取代的或取代的苄基或苯乙基或萘基甲基时, X 可以不是  $C_{1-5}$  烷基氨基或  $C_{1-7}$  酰基氨基。

[0444] 基团  $Y-R^3$  优选不包括苯并稠合的内酰胺基团, 该苯并稠合的内酰胺基团具有与其连接的未取代的或取代的咪唑基团。

[0445] 基团  $Y-R^3$  优选不包括其中  $R^q$  是氢或烷基的  $-CH=C(CO_2R^q)-S-$  基团。

[0446] 在另一个通用实施方案中,  $R^1$  和  $R^3$  都不包括以下基团: 其中 5 元含氮杂芳基直接或通过亚烷基、氧杂-亚烷基、硫杂-亚烷基或氮杂-亚烷基与未取代的吡啶基或取代的芳

基、杂芳基或哌啶环连接,每个所述的环具有与其连接的选自氰基和取代或未取代的氨基、氨基烷基、脒基、胍基和氨基甲酰基的取代基。

[0447] 在进一步的通用实施方案中,  $R^1$  和  $R^3$  各自不是不饱和的含氮杂环基或含氮杂芳基,或苯并呋喃或苯并噻吩基团,其中所述的含氮杂环基、含氮杂芳基、二环苯并呋喃或苯并噻吩通过单键直接与取代的吡啶基或苯基连接。

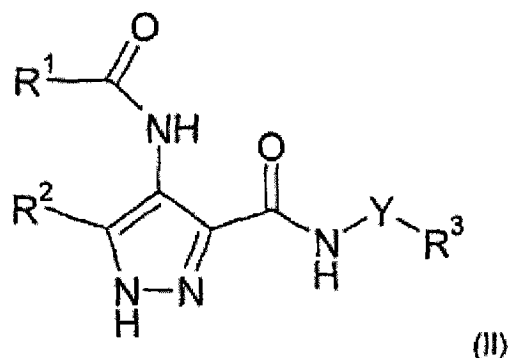
[0448] 在另一个通用实施方案中,  $R^1$  和  $R^3$  都不包括以下基团:其中 5 元含氮杂芳基直接或通过亚烷基、氧杂-亚烷基、硫杂-亚烷基或氮杂-亚烷基与取代的芳基、杂芳基或哌啶基团或未取代的吡啶基团连接。

[0449] 通常,优选本发明化合物,其中包含羧酸基团,包含不多于一个该基团。

[0450] 式 (I)、(Ia) 和 (Ib) 的特别的和优选的亚组

[0451] 本发明化合物的一个特别的组是通过式 (II) 或其盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物表示的:

[0452]



[0453] 其中  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  和 Y 彼此独立地选自本文定义的  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  和 Y。

[0454] 在式 (II) 中,  $R^2$  优选是氢或  $C_{1-4}$  烷基 (例如  $C_{1-3}$  烷基) 并且  $R^2$  更优选是氢。

[0455] 在式 (II) 化合物的一个亚组中,  $R^1$  是:

[0456] (i) 任选被一个或多个 (例如 1、2 或 3 个) 选自下列的取代基取代的苯基:氟;氯;羟基;包含 1 或 2 个选自 O、N 和 S 的杂原子的 5 和 6 元饱和的杂环基团,该杂环基团任选被一个或多个  $C_{1-4}$  烷基取代; $C_{1-4}$  烷基氧基和  $C_{1-4}$  烷基;其中  $C_{1-4}$  烷基和  $C_{1-4}$  烷基氧基任选被一个或多个选自下列的取代基取代:羟基、氟、 $C_{1-2}$  烷基氧基、氨基、单或二- $C_{1-4}$  烷基氨基、苯基、卤苯基、具有 3 至 7 个环原子 (更优选具有 4、5 或 6 个环原子,例如 5 或 6 个环原子) 的饱和的碳环基团或者具有 5 或 6 个环原子并且包含至多 2 个选自 O、S 和 N 的杂原子的饱和的杂环基团;或 2,3-二氢-苯并[1,4]二噁烯;或

[0457] (ii) 包含 1 或 2 个选自 O、S 和 N 的杂原子的单环杂芳基;或包含 1 个选自 O、S 和 N 的杂原子的二环杂芳基;各自任选被一个或多个选自下列的取代基取代的单环和二环杂芳基:氟;氯; $C_{1-3}$  烷基氧基;和  $C_{1-3}$  烷基,该  $C_{1-3}$  烷基任选被羟基、氟、甲氧基或包含至多 2 个选自 O、S 和 N 的杂原子的 5 或 6 元饱和的碳环或杂环基团取代;或

[0458] (iii) 具有 3 至 6 个环原子的取代或未取代的环烷基;或

[0459] (iv) 任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-4}$  烷基:氟;羟基; $C_{1-4}$  烷基氧基;氨基;单-或二- $C_{1-4}$  烷基氨基;和具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团,并且其中烷基的碳原子之一可以任选被选自 O、NH、SO 和  $SO_2$  的原子或基团代替。

[0460] 在基团 (i) 中, 基团  $R^1$  的亚组包含任选被一个或多个选自下列的取代基取代的苯基: 氟; 氯; 羟基;  $C_{1-3}$  烷基氧基; 和  $C_{1-3}$  烷基, 其中  $C_{1-3}$  烷基任选被一个或多个选自下列的取代基取代: 羟基、氟、 $C_{1-2}$  烷氧基、氨基、单或二- $C_{1-4}$  烷基氨基、具有 3 至 7 个环原子 (更优选具有 4、5 或 6 个环原子, 例如 5 或 6 个环原子) 的饱和的碳环基团或者具有 5 或 6 个环原子并且包含至多 2 个选自 O、S 和 N 的杂原子的饱和的杂环基团。

[0461] 在式 (II) 化合物的另一个亚组中,  $R^1$  选自以上的 (i) 和 (iii) 并且另外选自亚组 (a ii), 其中亚组 (a ii) 包括 2- 呋喃基、3- 呋喃基、咪唑基、2- 吡啶基、吡咯基、2- 噻吩基和 3- 噻吩基, 各自任选被一个或多个选自氟、氯、 $C_{1-3}$  烷基氧基和  $C_{1-3}$  烷基 (被任选羟基、氟或甲氧基取代) 的取代基取代。

[0462] 在用式 (II) 化合物定义的化合物的组中, 其中  $R^1$  是 (i) 任选取代的苯基, 其可以是例如未取代的苯基或 2- 单取代的、3- 单取代的、2, 3- 二取代的、2, 5- 二取代的或 2, 6- 二取代的苯基或 2, 3- 二氢- 苯并 [1, 4] 二噁烯, 其中取代基选自卤素; 羟基;  $C_{1-3}$  烷氧基; 和  $C_{1-3}$  烷基, 其中  $C_{1-3}$  烷基任选被羟基、氟、 $C_{1-2}$  烷氧基、氨基、单和二- $C_{1-4}$  烷基氨基或具有 3 至 6 个环原子的饱和的碳环和 / 或包含具有 5 或 6 个环原子并且包含 1 或 2 个选自 N 和 O 的杂原子的饱和的杂环基团。

[0463] 在一个实施方案中,  $R^1$  选自未取代的苯基、2- 氟苯基、2- 羟基苯基、2- 甲氧基苯基、2- 甲基苯基、2- (2- (吡咯烷-1-基) 乙氧基)- 苯基、3- 氟苯基、3- 甲氧基苯基、2, 6- 二氟苯基、2- 氟-6- 羟基苯基、2- 氟-3- 甲氧基苯基、2- 氟-5- 甲氧基苯基、2- 氯-6- 甲氧基苯基、2- 氟-6- 甲氧基苯基、2, 6- 二氯苯基和 2- 氯-6- 氟苯基, 并且任选进一步选自 5- 氟-2- 甲氧基苯基。

[0464] 在另一个实施方案中,  $R^1$  选自未取代的苯基、2- 氟苯基、2- 羟基苯基、2- 甲氧基苯基、2- 甲基苯基、2- (2- (吡咯烷-1-基) 乙氧基)- 苯基、3- 氟苯基、3- 甲氧基苯基、2, 6- 二氟苯基、2- 氟-6- 羟基苯基、2- 氟-3- 甲氧基苯基和 2- 氟-5- 甲氧基苯基。

[0465] 特别的基团  $R^1$  是 2, 6- 二氟苯基、2- 氟-6- 甲氧基苯基和 2, 6- 二氯苯基。

[0466] 一个特别优选的基团  $R^1$  是 2, 6- 二氟苯基。

[0467] 另一个特别优选的基团  $R^1$  是 2, 6- 二氯苯基。

[0468] 当  $R^1$  是 (ii) 包含 1 或 2 个选自 O、S 和 N 的杂原子的单环杂芳基或包含 1 个杂原子的二环杂芳基时, 单环和二环杂芳基的实例包括呋喃基 (例如 2- 呋喃基和 3- 呋喃基)、咪唑基、吡啶基 (例如 2- 吡啶基)、吡咯基、噻吩基 (例如 2- 噻吩基和 3- 噻吩基)。该基团的任选取代基可以包括氯、氟、甲基、甲氧基、羟基甲基、甲氧基甲基、吗啉代甲基、哌嗪子基甲基、N- 甲基哌嗪子基甲基和哌啶基甲基。基团 (ii) 的特别实例包括未取代的 2- 呋喃基、3- 甲基-2- 呋喃基、未取代的 4- (1H)- 咪唑基、未取代的 5- (1H)- 咪唑基、未取代的 3- 呋喃基、未取代的 3- 噻吩基、2- 甲基-3- 噻吩基和未取代的 3- 吡咯基, 并且进一步的实例包括 4- 甲氧基-3- 噻吩基、5- (1- 吡咯烷基) 甲基-2- 呋喃基和 5- (4- 吗啉代) 甲基-2- 呋喃基。

[0469] 当  $R^1$  是 (iii) 任选取代的环烷基时, 其可以是例如取代或未取代的环丙基、环丁基、环戊基或环己基。当环烷基是取代的时, 优选的取代基包括甲基、氟和羟基。环烷基的特别实例包括 1- 甲基环丙基、1- 羟基环丙基, 和未取代的环己基、环戊基和环丁基。

[0470] 在上下文的式 (II) 和基团  $R^1$  中, 任选取代的烷基的实例是任选取代的甲基、乙基

和丙基,其中烃基的碳原子之一任选被 O、NH、SO 或 SO<sub>2</sub> 代替。此类基团的特别实例包括甲基、乙基、三氟甲基、被具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团取代的甲基和乙基、被具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团取代的磺酰基甲基、羟基甲基、羟基乙基、3-羟基-2-丙基、丙基、异丙基、丁基和叔丁基。烃基以及碳环和杂环的实例如上文在此类基团的通用定义中列出的。特别的碳环和杂环基团包括未取代的或取代的苯基、吡啶基、四唑基、三唑基、哌啶基、吗啉基、哌嗪基、N-甲基哌嗪基、咪唑基,其中任选的取代基可以选自本文定义的基团 R<sup>10</sup> 及其亚组。

[0471] 在式 (II) 化合物的另一个亚组中, R<sup>1</sup> 是任选被一个或多个选自下列的取代基取代的 C<sub>1-4</sub> 烃基: 氟、羟基、C<sub>1-4</sub> 烷基氧基、氨基、单-或二-C<sub>1-4</sub> 烷基氨基和具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团并且其中烃基的 1 个碳原子可以任选被选自 O、NH、SO 或 SO<sub>2</sub> 的原子或基团代替。

[0472] 在一个实施方案中, R<sup>1</sup> 是基团 R<sup>1a</sup>-(V)<sub>n</sub>-, 其中:

[0473] n 是 0 或 1;

[0474] V 选自 CH<sub>2</sub>、CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> 和 SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>; 并且

[0475] R<sup>1a</sup> 是碳环或杂环基团, 其选自苯基;

[0476] 具有至多 4 个选自 O、N 和 S 的杂原子环原子的 5 元杂芳基环;

[0477] 包含 1 或 2 个氮环原子的 6 元杂芳基环;

[0478] 包含 1 或 2 个选自 N、O、S 和 SO<sub>2</sub> 的杂原子环原子的 5 或 6 元饱和的非芳族杂环。

[0479] C<sub>3-6</sub> 环烷基; 吡啶; 和喹啉;

[0480] 其中碳环或杂环基团 R<sup>1a</sup> 各自可以任选被一个或多个选自下列的取代基取代: 包含至多 2 个选自 N、O、S 和 SO<sub>2</sub> 的杂原子环原子的 5 或 6 元饱和的非芳族碳环和杂环基团; 羟基; 氨基; 氧代; 单-C<sub>1-4</sub> 烷基氨基; 二-C<sub>1-4</sub> 烷基氨基; 氟; 氯; 硝基; C<sub>1-4</sub> 烷基-(O)<sub>q</sub>-, 其中 q 是 0 或 1 并且 C<sub>1-4</sub> 烷基任选被氟、羟基、C<sub>1-2</sub> 烷基氧基或包含至多 2 个选自 N、O、S 和 SO<sub>2</sub> 的杂原子环原子的 5 或 6 元饱和的非芳族碳环或杂环基团取代; 苯基和 C<sub>1-2</sub>-亚烷基二氧基。

[0481] 在以上的表 1 中列出了式 (II) 中基团 R<sup>1</sup>-CO- 的特别实例。

[0482] 优选的基团 R<sup>1</sup>-CO 的一个亚组包括基团 J、AB、AH、AJ、AL、AS、AX、AY、AZ、BA、BB、BD、BH、BL、BQ 和 BS。

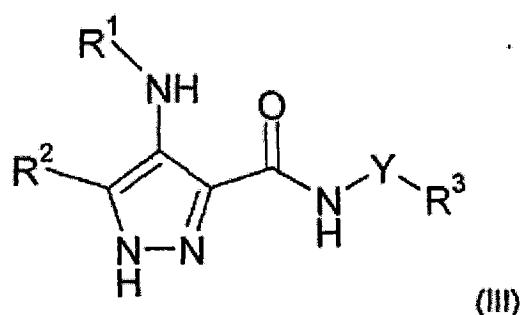
[0483] 基团 R<sup>1</sup>-CO 的另一个亚组包括基团 A 至 BF。

[0484] 基团 R<sup>1</sup>-CO 的进一步的亚组包括基团 A 至 BS。

[0485] 特别优选的基团是表 1 中的基团 AJ、BQ 和 BS, 例如包含 AJ 和 BQ 的亚组。

[0486] 另一组本发明的化合物是通过式 (III) 或其盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物表示:

[0487]



[0488] 其中  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  及 Y 如本文中定义的。

[0489] 除非上下文另外指出,基团  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  和 Y 的实例和优选如上文在式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib) 和 (II) 化合物中列出的。

[0490] 式 (III) 化合物的特别的亚组包括:

[0491] (i) 其中  $R^1$  是包含 1、2 或 3 个选自 N、O 和 S 的杂原子环原子的杂芳基的化合物;

[0492] (ii) 其中  $R^1$  是任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $C_{1-6}$  烷基:氟、羟基、 $C_{1-4}$  烷基氧基、氨基、单-或二- $C_{1-4}$  烷基氨基和具有 3 至 12 个环原子的碳环或杂环基团并且其中烷基的 1 个碳原子可以任选被选自 O、NH、SO 或  $SO_2$  的原子或基团代替的化合物;和

[0493] (iii) 其中  $R^1$  是具有 3 至 12 个环原子的非芳族碳环或杂环基团的化合物。

[0494] 其中  $R^1$  是 (i) 杂芳基的式 (III) 化合物的实例包括 5 和 6 元单环杂芳基,例如,包含 1 或 2 个选自 O、N 和 S 的杂原子环原子的 5 和 6 元单环杂芳基。在一个实施方案中,杂芳基是包含 1 或 2 个氮环原子的单环基团。在另一个实施方案中,杂芳基选自包含 1 或 2 个氮环原子 6 元环,例如吡啶、嘧啶、吡嗪和哒嗪基团,一个特别的亚组包括吡嗪基和吡啶基。

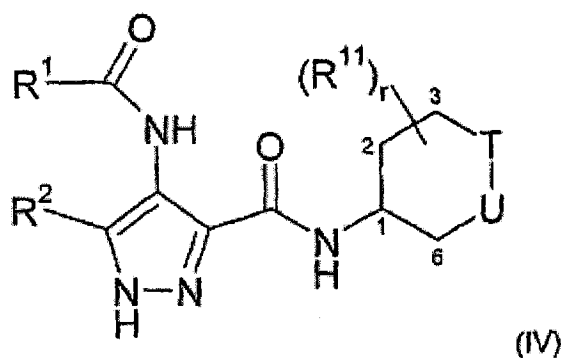
[0495] 杂芳基可以是未取代的或被本文定义的一个或多个基团  $R^{10}$  取代。

[0496] 其中  $R^1$  是 (ii) 任选取代的  $C_{1-6}$  烷基的式 (III) 化合物的实例包括其中烷基是未取代的烷基(例如未取代的烷基,例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、1-戊基、2-戊基和 3-戊基)的化合物。

[0497] 其中  $R^1$  是非芳族碳环或杂环基团的式 (III) 化合物的实例包括其中碳环或杂环是单环并且包含至多 2 个选自氧和氮的杂原子的化合物。此类基团的特别实例是环己基和哌啶子基。

[0498] 式 (I) 化合物的另一个亚组可以通过式 (IV) 或其盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物表示:

[0499]



[0500] 其中  $R^1$  和  $R^2$  如本文中定义的;

[0501] 在碳原子 1 和 2 之间可以存在任选的第二个键;

[0502] U 和 T 中的一个选自  $CH_2$ 、 $CHR^{13}$ 、 $CR^{11}R^{13}$ 、 $NR^{14}$ 、 $N(O)R^{15}$ 、O 和  $S(O)_t$ ;并且 U 和 T 中的另一个选自  $NR^{14}$ 、O、 $CH_2$ 、 $CHR^{11}$ 、 $C(R^{11})_2$  和  $C=O$ ;r 是 0、1、2、3 或 4;t 是 0、1 或 2;

[0503]  $R^{11}$  选自氢、卤素(特别是氟)、 $C_{1-3}$  烷基(例如甲基)和  $C_{1-3}$  烷氧基(例如甲氧基);

[0504]  $R^{13}$  选自氢、 $NHR^{14}$ 、 $NOH$ 、 $NOR^{14}$  和  $R^a-R^b$ ;

[0505]  $R^{14}$  选自氢和  $R^d-R^b$ ;

[0506]  $R^d$  选自键、CO、C( $X^2$ ) $X^1$ 、SO<sub>2</sub> 和 SO<sub>2</sub>NR<sup>c</sup>；

[0507]  $R^a$ 、 $R^b$  和  $R^c$  如上文中定义的；并且

[0508]  $R^{15}$  选自任选被羟基、C<sub>1-2</sub> 烷氧基、卤素或单环 5 或 6 元碳环或杂环基团取代的 C<sub>1-4</sub> 饱和的烃基，条件是 U 和 T 不能同时是 0。

[0509] 除非上下文中另外指出，基团  $R^1$  和  $R^2$  的实例和优选如上文在式 (I)、(Ia)、(Ib) 和 (II) 化合物中列出的。

[0510] 式 (IV) 中， $r$  可以是 0、1、2、3 或 4。在一个实施方案中， $r$  是 0。在另一个实施方案中， $r$  是 2，并且在进一步的实施方案中， $r$  是 4。

[0511] 式 (IV) 中，优选化合物的一个亚组是其中在碳原子 1 和 2 之间仅有一个单键的化合物组。

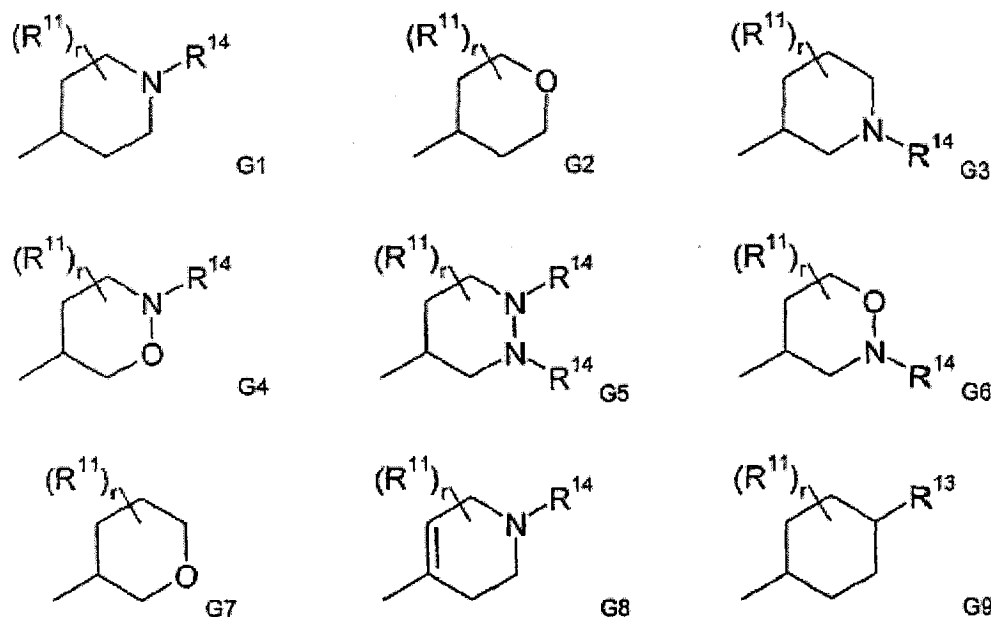
[0512] 但是，在化合物的另一个亚组中，在碳原子 1 和 2 之间有一个双键。

[0513] 化合物的另一个亚组的特征在于在 2- 碳（当在碳原子 1 和 2 之间具有一个单键）和 / 或 6 碳上是偕二取代的。优选的偕二取代基包括二氟和二甲基。

[0514] 化合物的进一步的亚组的特征在于烷氧基的存在，例如在碳原子 3 上的甲氧基，即在基团 T 的  $\alpha$  位。

[0515] 式 (IV) 是其中例如  $R^3$  选自下列任何环系的化合物：

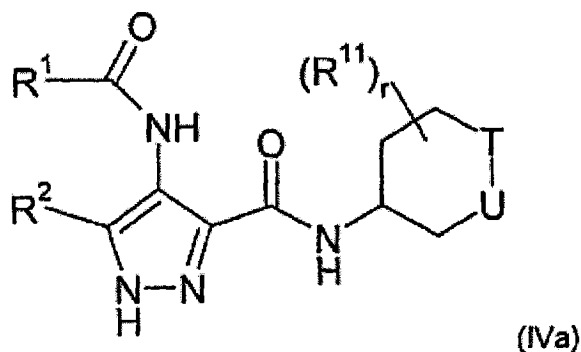
[0516]



[0517] 优选的环系包括 G1 和 G3。

[0518] 式 (IV) 化合物的优选的亚组可以通过式 (IVa) 或其盐或互变异构体或 N- 氧化物或溶剂化物表示：

[0519]



[0520] 其中  $R^1$  和  $R^2$  如上文中定义的；

[0521] U 和 T 中的一个选自  $\text{CH}_2$ 、 $\text{CHR}^{13}$ 、 $\text{CR}^{11}\text{R}^{13}$ 、 $\text{NR}^{14}$ 、 $\text{N}(\text{O})\text{R}^{15}$ 、O 和  $\text{S}(\text{O})_t$ ；并且 U 和 T 中的另一个选自  $\text{CH}_2$ 、 $\text{CHR}^{11}$ 、 $\text{C}(\text{R}^{11})_2$  和  $\text{C}=\text{O}$ ；r 是 0、1 或 2；t 是 0、1 或 2；

[0522]  $R^{11}$  选自氢和  $\text{C}_{1-3}$  烷基；

[0523]  $R^{13}$  选自氢和  $\text{R}^a\text{-R}^b$ ；

[0524]  $R^{14}$  选自氢和  $\text{R}^d\text{-R}^b$ ；

[0525]  $\text{R}^d$  选自键、CO、 $\text{C}(\text{X}^2)\text{X}^1$ 、 $\text{SO}_2$  和  $\text{SO}_2\text{NR}^c$ ；

[0526]  $\text{R}^a$ 、 $\text{R}^b$  和  $\text{R}^c$  如上文中定义的；并且

[0527]  $\text{R}^{15}$  选自任选被羟基、 $\text{C}_{1-2}$  烷氧基、卤素或单环 5 或 6 元碳环或杂环基团取代的  $\text{C}_{1-4}$  饱和的烃基。

[0528] 除非上下文中另外指出，基团  $R^1$  和  $R^2$  的实例和优选如上文中式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib) 和 (II) 化合物中列出的。

[0529] 式 (IVa) 中，T 优选选自  $\text{CH}_2$ 、 $\text{CHR}^{13}$ 、 $\text{CR}^{11}\text{R}^{13}$ 、 $\text{NR}^{14}$ 、 $\text{N}(\text{O})\text{R}^{15}$ 、O 和  $\text{S}(\text{O})_t$ ；并且 U 优选选自  $\text{CH}_2$ 、 $\text{CHR}^{11}$ 、 $\text{C}(\text{R}^{11})_2$  和  $\text{C}=\text{O}$ 。

[0530] 在取代基  $R^{11}$  和  $R^{14}$  的定义中， $\text{R}^b$  优选选自氢；具有 3 至 7 个环原子的单环碳环和杂环基团；和任选被一个或多个选自下列的取代基取代的  $\text{C}_{1-4}$  烃基（更优选是无环饱和的  $\text{C}_{1-4}$  基团）：羟基、氧代、卤素、氨基、单-或二- $\text{C}_{1-4}$  烷基氨基和具有 3 至 7 个环原子（更优选具有 3 至 6 个环原子）的单环碳环和杂环基团并且其中  $\text{C}_{1-4}$  烃基的一个或多个碳原子可以任选被 O、S、SO、 $\text{SO}_2$ 、 $\text{NR}^c$ 、 $\text{X}^1\text{C}(\text{X}^2)$ 、 $\text{C}(\text{X}^2)\text{X}^1$  代替；

[0531]  $\text{R}^c$  选自氢和  $\text{C}_{1-4}$  烷基；并且

[0532]  $\text{X}^1$  是 O、S 或  $\text{NR}^c$  并且  $\text{X}^2$  是  $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$  或  $=\text{NR}^c$ 。

[0533]  $R^{11}$  优选选自氢和甲基并且最优选氢。

[0534]  $R^{13}$  优选选自氢；羟基；卤素；氰基；氨基；单- $\text{C}_{1-4}$  饱和的烷基氨基；二- $\text{C}_{1-4}$  饱和的烷基氨基；单环 5-或 6-原子的碳环和杂环基团；任选被下列取代的  $\text{C}_{1-4}$  饱和的烷基：羟基、 $\text{C}_{1-2}$  烷氧基、卤素或单环 5 或 6 元碳环或杂环基团。

[0535]  $R^{13}$  的特别的实例是氢、羟基、氨基、 $\text{C}_{1-2}$  烷基氨基（例如甲基氨基）、 $\text{C}_{1-4}$  烷基（例如甲基、乙基、丙基和丁基）、 $\text{C}_{1-2}$  烷氧基（例如甲氧基）、 $\text{C}_{1-2}$  烷基磺酰氨基（sulphonamido）（例如甲磺酰氨基）、羟基- $\text{C}_{1-2}$  烷基（例如羟基甲基）、 $\text{C}_{1-2}$ -烷氧基- $\text{C}_{1-2}$  烷基（例如甲氧基甲基和甲氧基乙基）、羧基、 $\text{C}_{1-4}$  烷氧基羰基（例如乙氧基羰基）和氨基- $\text{C}_{1-2}$ -烷基（例如氨基甲基）。

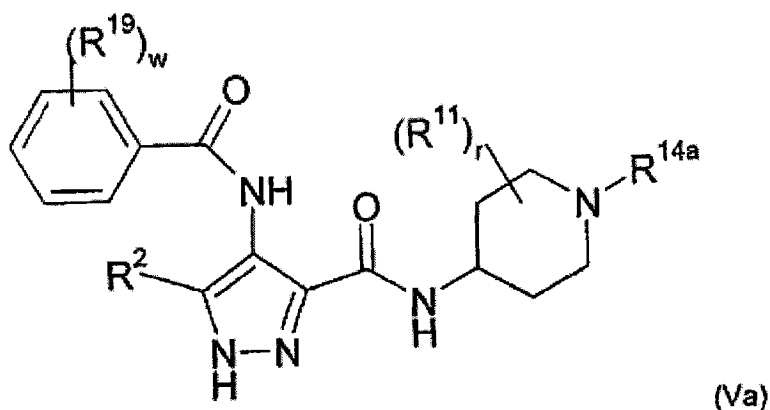
[0536]  $R^{14}$  的特别的实例是氢；任选被下列基团取代的  $\text{C}_{1-4}$  烷基：氟或 5 或 6 元饱和的杂环基团（例如选自 (i) 甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、2,2,2-三氟乙基和四氢呋喃基甲基；

和 / 或 (ii) 2- 氟乙基和 2,2- 二氟乙基的基团) ; 环丙基甲基 ; 取代或未取代的吡啶基 -C<sub>1-2</sub> 烷基 (例如 2- 吡啶基甲基) ; 取代或未取代的苯基 -C<sub>1-2</sub> 烷基 (例如苄基) ; C<sub>1-4</sub> 烷氧基羰基 (例如乙氧基羰基和叔丁氧基羰基) ; 取代和未取代的苯基 -C<sub>1-2</sub> 烷氧基羰基 (例如苄氧基羰基) ; 取代和未取代的 5 和 6 元杂芳基, 例如吡啶基 (例如 2- 吡啶基和 6- 氯 -2- 吡啶基) 和嘧啶基 (例如 2- 嘧啶基) ; C<sub>1-2</sub> 烷氧基 -C<sub>1-2</sub> 烷基 (例如甲氧基甲基和甲氧基乙基) ; C<sub>1-4</sub> 烷基磺酰基 (例如甲磺酰基)。

[0537] 优选的化合物包括其中 (i) U 是 CHR<sup>13</sup> (更优选是 CH<sub>2</sub>) 并且 T 是 NR<sub>14</sub>, 和 (ii) T 是 CHR<sup>13</sup> (更优选是 CH<sub>2</sub>) 并且 U 是 NR<sup>14</sup> 的化合物。

[0538] 式 (IV) 化合物的一个特别优选的亚组可以通过式 (Va) 或其盐或互变异构体或 N- 氧化物或溶剂化物表示 :

[0539]



[0540] 其中 R<sup>14</sup> 选自氢、任选被氟取代的 C<sub>1-4</sub> 烷基 (例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基和 2,2,2- 三氟乙基)、环丙基甲基、苯基 -C<sub>1-2</sub> 烷基 (例如苄基)、C<sub>1-4</sub> 烷氧基羰基 (例如乙氧基羰基和叔丁氧基羰基)、苯基 -C<sub>1-2</sub> 烷氧基羰基 (例如苄氧基羰基)、C<sub>1-2</sub> 烷氧基 -C<sub>1-2</sub> 烷基 (例如甲氧基甲基和甲氧基乙基) 和 C<sub>1-4</sub> 烷基磺酰基 (例如甲磺酰基), 其中当苯基存在时, 其任选被 1 至 3 个选自下列的取代基取代 : 氟、氯、任选被氟或 C<sub>1-2</sub> 烷氧基取代的 C<sub>1-4</sub> 烷氧基和任选被氟或 C<sub>1-2</sub> 烷氧基取代的 C<sub>1-4</sub> 烷基 ;

[0541] w 是 0、1、2 或 3 ;

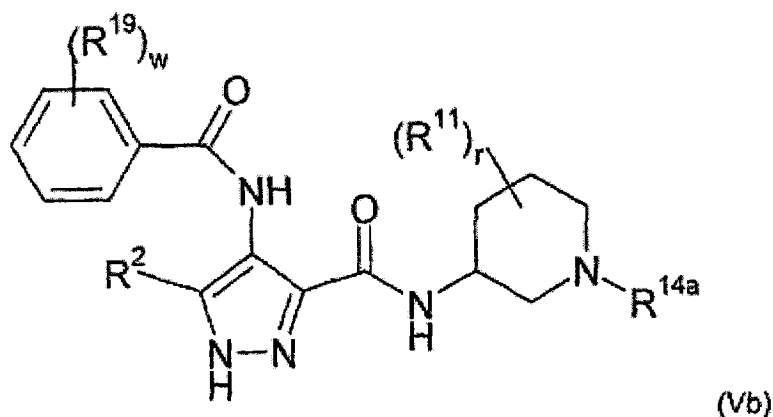
[0542] R<sup>2</sup> 是氢或甲基, 最优选氢 ;

[0543] R<sup>11</sup> 和 r 如上文中定义的 ; 并且

[0544] R<sup>19</sup> 选自氟 ; 氯 ; 任选被氟或 C<sub>1-2</sub> 烷氧基取代的 C<sub>1-4</sub> 烷氧基和任选被氟或 C<sub>1-2</sub> 烷氧基取代的 C<sub>1-4</sub> 烷基。

[0545] 式 (IV) 化合物的另一个特别优选的亚组可以通过式 (Vb) 或其盐或互变异构体或 N- 氧化物或溶剂化物表示 :

[0546]



[0547] 其中  $R^{14a}$  选自氢、任选被氟（例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基和 2,2,2-三氟乙基）取代的  $C_{1-4}$  烷基、环丙基甲基、苯基- $C_{1-2}$  烷基（例如苄基）、 $C_{1-4}$  烷氧基羰基（例如乙氧基羰基和叔丁氧基羰基）、苯基- $C_{1-2}$  烷氧基羰基（例如苄氧基羰基）、 $C_{1-2}$  烷氧基- $C_{1-2}$  烷基（例如甲氧基甲基和甲氧基乙基）和  $C_{1-4}$  烷基磺酰基（例如甲磺酰基），其中当苯基存在时，其任选被 1 至 3 个选自下列的取代基取代：氟、氯、任选被氟或  $C_{1-2}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷氧基和任选被氟或  $C_{1-2}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷基；

[0548]  $w$  是 0、1、2 或 3；

[0549]  $R^2$  是氢或甲基，最优选氢；

[0550]  $R^{11}$  和  $r$  如上文中定义的；并且

[0551]  $R^{19}$  是选自氟、氯；任选被氟或  $C_{1-2}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷氧基和任选被氟或  $C_{1-2}$  烷氧基取代的  $C_{1-4}$  烷基。

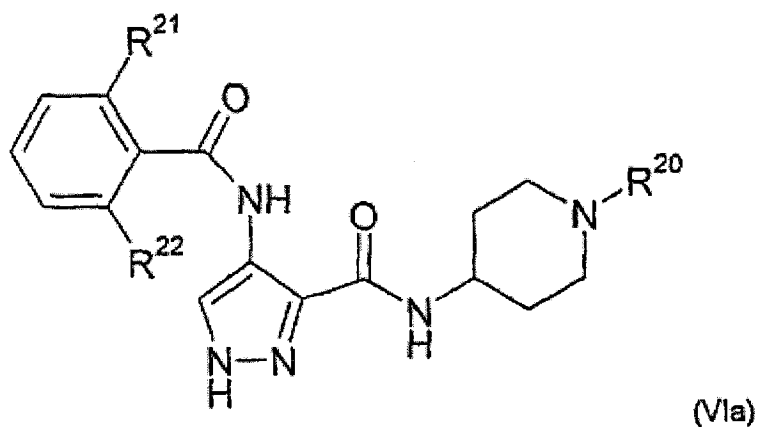
[0552] 在式 (Va) 和 (Vb) 中，当  $w$  是 1、2 或 3 时，苯基环优选是 2-单取代的、3-单取代的、2,6-二取代的、2,3-二取代的、2,4-二取代的、2,5-二取代的、2,3,6-三取代的或 2,4,6-三取代的。最优选的苯基环是被选自氟、氯和甲氧基的取代基在 2 和 6 位二取代。

[0553]  $R^{11}$  优选氢（或  $r$  是 0）。

[0554]  $R^{14a}$  最优选氢或甲基。

[0555] 式 (Va) 化合物的一个优选的亚组可以通过式 (VIa) 或其盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物表示：

[0556]



[0557] 其中  $R^{20}$  选自氢和甲基；

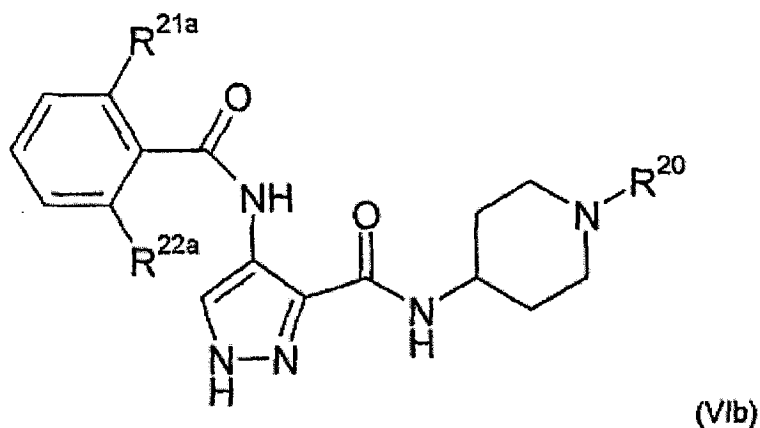
[0558]  $R^{21}$  选自氟和氯；并且

[0559]  $R^{22}$  选自氟、氯和甲基 ;或

[0560]  $R^{21}$  和  $R^{22}$  中的一个为氢并且另一个选自氯、甲氧基、乙氧基、二氟甲氧基、三氟甲氧基和苄氧基。

[0561] 式 (Va) 化合物的另一个优选的亚组可以通过式 (Vib) 或其盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物表示 :

[0562]



[0563] 其中  $R^{20}$  选自氢和甲基 ;

[0564]  $R^{21a}$  选自氟和氯 ;并且

[0565]  $R^{22a}$  选自氟、氯和甲氧基。

[0566] 式 (Vib) 的特别的化合物包括 :

[0567] 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺 ;

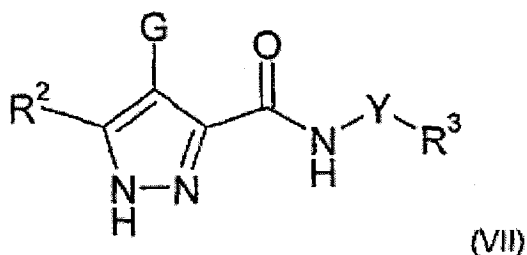
[0568] 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(1-甲基-哌啶-4-基)-酰胺 ;

[0569] 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺 ;和

[0570] 4-(2-氟-6-甲氧基-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺 ;或其盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物。

[0571] 本发明化合物的进一步的组通过式 (VII) 或其盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物表示 :

[0572]



[0573] 其中  $R^2$ 、 $R^3$  和 Y 如上文中定义的并且 G 是 5 或 6 元碳环或杂环。

[0574] 基团 G 可以是未取代的碳环或杂环或其可以是具有一个或多个选自上文定义的基团  $R^{10}$  和  $R^{10a}$  的取代基的取代的碳环或杂环。

[0575] 碳环或杂环可以是芳族的或非芳族的并且在上文中列出了此类杂环的实例。在上文基团 G 中,优选的杂环是包含氮原子并且基团 G 通过该氮原子与吡唑环连接的基团。特别的杂环是包含至多 3 个氮原子(更通常包含至多 2 个,例如 1 个)和任选的氧原子的

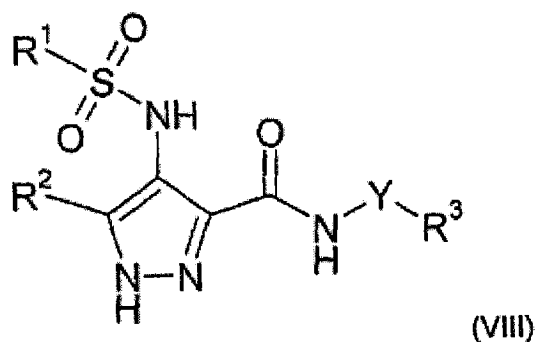
饱和的杂环。此类环的特别的实例是 6 元环,例如哌啶、哌嗪、N- 甲基哌嗪和吗啉。

[0576] 当基团 G 是碳环基团时,其可以是例如 6 元芳基环。例如,基团 G 可以是未取代的苯基或可以是具有一个或多个选自上文定义的基团  $R^{10}$  和  $R^{10a}$  的取代基的取代的苯基。当取代基存在时,该取代基更典型地是小取代基,例如羟基、卤素(例如氟和氯)和任选被氟(例如三氟甲基)或羟基(例如羟基甲基)取代的  $C_{1-4}$  烷基(甲基、乙基和环丙基)。

[0577] 在一个通用的实施方案中,当 X 是非芳族杂环基团时,那么  $R^3$  可以不是直接与 5, 6- 稠合的二环杂芳基连接的 6 元单环芳基或杂芳基。

[0578] 本发明化合物进一步的组通过式 (VIII) 或其盐或互变异构体或 N- 氧化物或溶剂化物表示:

[0579]



[0580] 其中  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  和 Y 如本文中定义的。

[0581] 优选的基团  $R^1$ 、 $R^2$ 、Y 和  $R^3$  如上文在标题为“通用优选和定义”部分列出的并且与上文定义的式 (I) 和式 (II) 化合物及其亚组相关。

[0582] 为了避免疑问,应该理解的是基团  $R^1$  的每一个通用的和特别的优选、实施方案和实例可以与本文定义的基团  $R^2$  和 / 或  $R^3$  和 / 或  $R^4$  和 / 或  $R^{10}$  和 / 或 Y 和 / 或  $R^8$  和 / 或其亚组的每一个通用的和特别的优选、实施方案和实例组合并且所有这些组合包含在本申请中。

[0583] 典型地选择组成式 (I) 化合物的多种官能团和取代基以使式 (I) 化合物的分子量不超过 1000。更通常是,化合物的分子量小于 750,例如小于 700,或小于 650,或小于 600,或小于 550。更优选的是,分子量小于 525 并且例如是 500 或更小。

[0584] 特别的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组如下文在实例中说明的。

[0585] 一个特别优选的化合物是 4-(2,6- 二氯 - 苯甲酰基氨基)-1H- 吡唑-3- 甲酸哌啶-4- 基酰胺及其盐,特别是酸加成盐,例如甲磺酸盐、乙酸盐和盐酸盐。

[0586] 盐、溶剂化物、互变异构体、异构体、N- 氧化物、酯、前药和同位素

[0587] 涉及的特别的细胞毒化合物或信号抑制剂或式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组时也包括它们的离子、盐、溶剂化物、异构体、互变异构体、N- 氧化物、酯、前药、同位素和保护形式,例如如前所述。优选它们的盐或互变异构体或异构体或 N- 氧化物或溶剂化物。更优选它们的盐或互变异构体或 N- 氧化物或溶剂化物。

[0588] 很多式 (I) 化合物可以以盐形成存在,例如酸加成盐或在某些情况中的有机和无机碱的盐,例如羧酸盐、磺酸盐和磷酸盐。所有此类盐是在本发明的范围内,并且涉及的式

(I) 化合物包括化合物的盐形式。如在本申请的前部分中,所有涉及的式 (I) 化合物也指式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 或其亚组,除非上下文中另外指出。

[0589] 可以根据 Pharmaceutical Salt :Properties, Selection, and Use, P.Heinrich Stahl(编者), Camille G.Wermuth(编者), ISBN :3-90639-026-8, Hardcover, 388 页, August 2002 中描述的方法选择和制备盐形式。

[0590] 可以与多种酸(无机的和有机的)形成酸加成盐。酸加成盐的实例包括与酸形成的盐,所述的酸选自乙酸、2,2-二氯乙酸、己二酸、藻酸、抗坏血酸(例如 L-抗坏血酸)、L-天冬氨酸、苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰氨基苯甲酸、丁酸、(+)-樟脑酸、樟脑磺酸、(+)-(1S)-樟脑-10-磺酸、癸酸、己酸、辛酸、碳酸、肉桂酸、柠檬酸、环己烷氨基磺酸、十二烷基硫酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、2-羟基乙磺酸、甲酸、富马酸、粘酸、2,5-二羟基苯甲酸、葡庚糖酸、D-葡萄糖酸、葡萄糖醛酸(例如 D-葡萄糖醛酸)、谷氨酸(例如 L-谷氨酸)、 $\alpha$ -氧代戊二酸、羟基乙酸、马尿酸、氢溴酸、盐酸、氢碘酸、羟乙磺酸、(+)-L-乳酸、(+)-DL-乳酸、乳糖酸、马来酸、苹果酸、(-)-L-苹果酸、丙二酸、(±)-DL-扁桃酸、甲磺酸、萘-2-磺酸、萘-1,5-二磺酸、1-羟基-2-萘甲酸、烟酸、硝酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、双羧萘酸(pamoic acid)、磷酸、丙酸、L-焦谷氨酸、水杨酸、4-氨基-水杨酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、硫酸、鞣酸、(+)-L-酒石酸、硫氰酸、对甲苯磺酸、十一烯酸和戊酸,以及酰化的氨基酸和阳离子交换树脂。

[0591] 一组特别的盐包括与酸形成的盐,所述的酸选自乙酸、己二酸、藻酸、抗坏血酸(例如 L-抗坏血酸)、天冬氨酸(例如 L-天冬氨酸)、苯磺酸、苯甲酸、樟脑酸(例如 (+)-樟脑酸)、癸酸、辛酸、碳酸、柠檬酸、环己烷氨基磺酸、十二烷酸、十二烷基硫酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、富马酸、粘酸、2,5-二羟基苯甲酸、葡庚糖酸、D-葡萄糖酸、葡萄糖醛酸(例如 D-葡萄糖醛酸)、谷氨酸(例如 L-谷氨酸)、 $\alpha$ -氧代戊二酸、羟基乙酸、马尿酸、盐酸、羟乙磺酸、异丁酸、乳酸(例如 (+)-L-乳酸和 (+)-DL-乳酸)、乳糖酸、十二烷基磺酸、马来酸、苹果酸、(-)-L-苹果酸、丙二酸、甲磺酸、粘酸、萘磺酸(例如萘-2-磺酸)、萘-1,5-二磺酸、烟酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、双羧萘酸、磷酸、丙酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸(例如 (+)-L-酒石酸)、硫氰酸、甲苯磺酸(例如对甲苯磺酸)、戊酸和 xinafoic acid。

[0592] 另一组特别的盐包括从下列酸形成的盐:盐酸、氢碘酸、磷酸、硝酸、硫酸、柠檬酸、乳酸、琥珀酸、马来酸、苹果酸、羟乙磺酸、富马酸、苯磺酸、甲苯磺酸、甲磺酸、乙磺酸、萘磺酸、戊酸、乙酸、丙酸、丁酸、丙二酸、葡萄糖醛酸和乳糖酸。

[0593] 一组优选的盐包括从下列酸形成的盐:甲磺酸、盐酸、乙酸、己二酸、L-天冬氨酸和 DL-乳酸。

[0594] 特别的盐是与盐酸、甲磺酸和乙酸形成的盐。

[0595] 一个优选的盐是与甲磺酸形成的盐。

[0596] 另一个优选的盐是与乙酸形成的盐。

[0597] 进一步优选的盐是与盐酸形成的盐。

[0598] 例如,如果化合物是阴离子的,或具有可以是阴离子的官能团(例如 -COOH 可以是 -COO<sup>-</sup>),那么可以与适合的阳离子形成盐。适合的无机阳离子的实例包括但不限于碱金属离子(例如 Na<sup>+</sup> 和 K<sup>+</sup>)、碱土金属阳离子(例如 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup>)和其它阳离子(例如 Al<sup>3+</sup>)。

适合的有机阳离子的实例包括但不限于铵离子（即  $\text{NH}_4^+$ ）和取代的铵离子（例如  $\text{NH}_3\text{R}^+$ 、 $\text{NH}_2\text{R}_2^+$ 、 $\text{NHR}_3^+$ 、 $\text{NR}_4^+$ ）。某些适合的取代的铵离子的实例是衍生自下列的取代的铵离子：乙基胺、二乙基胺、二环己基胺、三乙基胺、丁基胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪、苄胺、苯基苄胺、胆碱、葡甲胺（meglumine）和氨丁三醇（tromethamine），以及氨基酸（例如赖氨酸和精氨酸）。通用的季铵离子的实例是  $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ 。

[0599] 本发明的化合物包含胺官能团时，其可以形成季铵盐，例如根据本领域技术人员众所周知的方法通过与烷化剂反应而形成。此类季铵化合物在上文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 及其亚组的范围内。

[0600] 本发明化合物的盐形式典型地是可药用盐，并且在 Berge 等人, 1977, “Pharmaceutically Acceptable Salts”, J. Pharm. Sci., Vol. 66, pp. 1-19 中讨论了可药用盐的实例。但是，不可药用的盐也可以作为中间体性质制备，然后该中间体形式可以转化为可药用盐。此类不可药用盐形式可以用于例如本发明化合物的纯化或分离，也形成了本发明的部分。

[0601] 用于制备本文描述的式 (I) 化合物及其亚组和实例的液体（例如水）组合物的特别的盐是在给定的液体载体（例如水）中溶解度大于 25mg/mL 液体载体（例如水）的盐，更典型地大于 50mg/mL 并且优选大于 100mg/mL。

[0602] 在本发明的一个实施方案中，本文定义的式 (I) 化合物是以药物组合物的形式提供的，该药物组合物包含水溶液，该水溶液包含浓度大于 25mg/mL，典型地大于 50mg/mL 并且优选大于 100mg/mL 的盐形式的所述化合物。

[0603] 包含胺官能团的式 (I) 化合物也可以形成 N-氧化物。本文涉及的包含胺官能团的式 (I) 化合物也包括 N-氧化物。

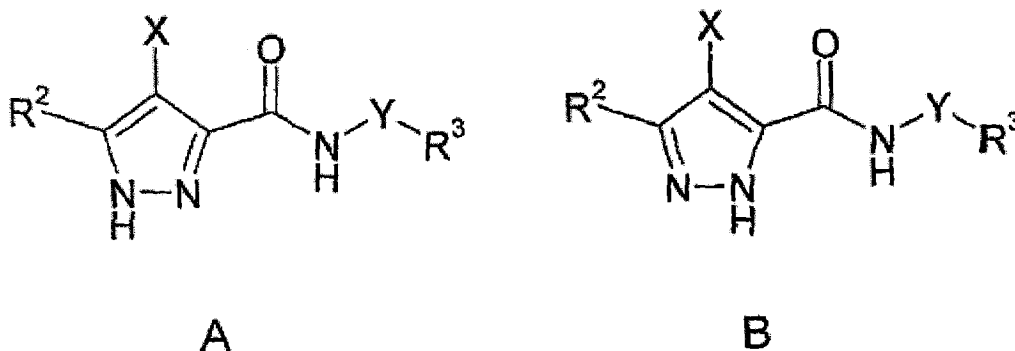
[0604] 当化合物包含多个胺官能团时，一个或多于一个的氮原子可以被氧化以形成 N-氧化物。N-氧化物的特别的实例是叔胺或含氮杂环的氮原子的 N-氧化物。

[0605] 通过用氧化剂（例如过氧化氢或过酸，例如过氧甲酸）处理相应的胺可以形成 N-氧化物，参见例如 Advanced Organic Chemistry, Jerry March, 4<sup>th</sup> Edition, Wiley Interscience, 页。更特别的是，可以通过 L. W. Deady (Syn. Comm. 1977, 7, 509-514) 的方法制备 N-氧化物，其中胺化合物例如在惰性溶剂（例如二氯甲烷）中与间氯过苯甲酸 (MCPBA) 反应。

[0606] 式 (I) 化合物可以以多种不同的几何异构体和互变异构体形式存在并且涉及的式 (I) 化合物包括所有的此类形式。为了避免疑问，化合物可以以多种几何异构体或互变异构体形式之一存在并且仅有一种是特别描述或展示的，但是所有其它的也包含在式 (I) 中。

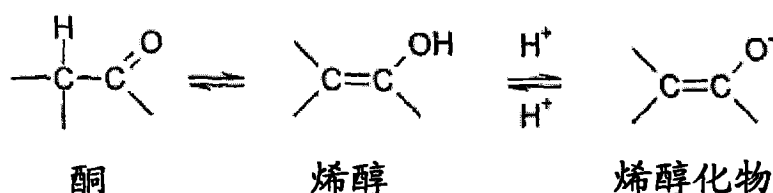
[0607] 例如，在式 (I) 化合物中，吡唑基团可以是下列两种互变异构体形式 A 和 B 中的任何一种。简而言之，通用的式 (I) 说明了形式 A，但是该式包含两种互变异构体形式。

[0608]



[0609] 互变异构体形式的其它实例包括例如酮 -、烯醇 - 和烯醇化物 - 形式, 如例如在下列互变异构体对中: 酮 / 醇 (以下说明的)、亚胺 / 烯胺、酰胺 / 亚胺醇、脒 / 脒、亚硝基 / 肟、硫酮 / 烯硫醇以及硝基 / 酸式 - 硝基中。

[0610]



[0611] 除非上下文另外需要, 式 (I) 化合物包含一个或多个手性中心并且可以以两种或多种旋光异构体形式存在, 涉及的式 (I) 化合物包括其所有的旋光异构体形式 (例如对映异构体、差向异构体和非对映异构体), 作为单一旋光异构体或两种或多种旋光异构体的混合物 (例如外消旋混合物)。

[0612] 旋光异构体可以通过它们的光学活性 (即 + 和 - 异构体, 或 d 和 l 异构体) 表征和鉴定或者它们可以根据它们的绝对立体化学应用“R 和 S”命名法表征, 该命名法是 Cahn, Ingold 和 Prelog 发展的, 参见 Advanced Organic Chemistry, Jerry March, 4<sup>th</sup> Edition, John Wiley & Sons, New York, 1992, 第 109-114 页以及参见 Cahn, Ingold & Prelog, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1966, 5, 385-415。

[0613] 旋光异构体可以通过包括手性色谱法 (在手性支持物上的色谱) 的多种技术进行分离并且这些技术是本领域技术人员众所周知的。

[0614] 作为手性色谱法的选择, 旋光异构体可以通过以下方法分离: 与手性酸 (例如 (+)-酒石酸、(-)-焦谷氨酸、(-)-二-甲苯酰-L-酒石酸、(+)-扁桃酸、(-)-苹果酸和 (-)-樟脑磺酸) 形成非对映异构体盐, 通过优选的结晶分离非对映异构体, 然后除去盐以得到游离碱的单一对映异构体。

[0615] 当式 (I) 化合物以两种或多种旋光异构体形式存在时, 一对对映异构体中的一个对映异构体与另一个对映异构体相比具有优势, 例如, 在生物学活性方面。因此, 在某种环境中, 仅一对对映异构体中的一个或者仅多个非对映异构体中的一个可以预期用作治疗剂。因此, 本发明提供了包含具有一个或多个手性中心的式 (I) 化合物的组合物, 其中式 (I) 化合物的至少 55% (例如至少 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90% 或 95%) 以单一的旋光异构体 (例如对映异构体或非对映异构体) 存在。在一个通用实施方案中, 式 (I) 化合物总量的 99% 或更多 (例如几乎全部) 可以作为单一的旋光异构体存在 (例如对映异构体或非对映异构体)。

[0616] 本发明化合物包括具有一个或多个同位素取代基的化合物, 并且涉及的特别的元

素包括其范围内的元素的所用同位素。例如,涉及的氢包括其范围内的  $^1\text{H}$ 、 $^2\text{H}(\text{D})$  和  $^3\text{H}(\text{T})$ 。类似地,涉及的碳和氧包括其范围内的  $^{12}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$  和  $^{14}\text{C}$  和  $^{16}\text{O}$  和  $^{18}\text{O}$ 。

[0617] 同位素可以是放射性的或非放射性的。在本发明的一个实施方案中,化合物不包含放射性的同位素。此类化合物优选用于治疗用途。但是,在另一个实施方案中,化合物可以包含一种或多种放射性同位素。包含此类放射性同位素的化合物可以用于诊断。

[0618] 酯例如具有甲酸基团或羟基的上文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 或其亚组的羧酸酯和酰氧基酯也包含在式 (I) 中。酯的实例是包含基团  $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}$  的化合物,其中 R 是酯取代基,例如  $\text{C}_{1-7}$  烷基、 $\text{C}_{3-20}$  杂环基或  $\text{C}_{5-20}$  芳基,优选  $\text{C}_{1-7}$  烷基。酯基团的特别的实例包括但不限于  $-\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_3$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$  和  $-\text{C}(=\text{O})\text{OPh}$ 。酰氧基(逆酯)的实例是通过  $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}$  表示的,其中 R 是酰氧基取代基,例如  $\text{C}_{1-7}$  烷基、 $\text{C}_{3-20}$  杂环基或  $\text{C}_{5-20}$  芳基,优选  $\text{C}_{1-7}$  烷基。酰氧基的特别的实例包括但是不限于  $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_3$ (乙酰氧基)、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{Ph}$  和  $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{Ph}$ 。

[0619] 式 (I) 还包括任何多晶型形式的化合物、溶剂化物(例如水合物)、化合物的复合物(例如包括与化合物例如环糊精的络合物或包合物,或与金属的络合物)和化合物的前药。“前药”表示例如在体内转化为生物学活性的式 (I) 化合物的任何化合物。

[0620] 例如,一些前药是活性化合物的酯(例如生理学可接受的代谢不稳定酯)。在代谢过程中,将酯基团  $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}$  裂解以产生活性药物。此类酯可以通过酯化形成,例如将母体化合物中的任何羧酸基团  $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$  进行酰化,适当的时将母体化合物中存在的任何其它反应基团优先保护,然后如果需要再进行脱保护。

[0621] 此类代谢不稳定酯的实例包括式  $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}$ , 其中 R 是:

[0622]  $\text{C}_{1-7}$  烷基

[0623] (例如 - 甲基、- 乙基、- 正丙基、- 异丙基、- 正丁基、- 仲丁基、- 异丁基、- 叔丁基);

[0624]  $\text{C}_{1-7}$  氨基烷基

[0625] (例如氨基乙基; 2-(N, N- 二乙基氨基) 乙基; 2-(4- 吗啉代) 乙基); 和

[0626] 酰氧基  $-\text{C}_{1-7}$  烷基

[0627] (例如酰氧基甲基;

[0628] 酰氧基乙基;

[0629] 新戊酰氧基甲基;

[0630] 乙酰氧基甲基;

[0631] 1- 乙酰氧基乙基;

[0632] 1-(1- 甲氧基 -1- 甲基) 乙基 - 羰基氧基乙基;

[0633] 1-( 苯甲酰基氧基) 乙基; 异丙氧基 - 羰基氧基甲基;

[0634] 1- 异丙氧基 - 羰基氧基乙基; 环己基 - 羰基氧基甲基;

[0635] 1- 环己基 - 羰基氧基乙基;

[0636] 环己基氧基 - 羰基氧基甲基;

[0637] 1- 环己基氧基 - 羰基氧基乙基;

[0638] (4- 四氢吡喃基氧基) 羰基氧基甲基;

[0639] 1-(4- 四氢吡喃基氧基) 羰基氧基乙基；

[0640] (4- 四氢吡喃基) 羰基氧基甲基；

[0641] 1-(4- 四氢吡喃基) 羰基氧基乙基)。

[0642] 一些前药也是酶活化的以产生活性化合物, 或化合物通过进一步化学反应产生活性化合物(例如在 ADEPT、GDEPT、LIDEPT 等中)。例如, 前药可以是糖衍生物或其它的糖苷甾合物或可以是氨基酸酯衍生物。

[0643] 化合物 4-(2,6- 二氯 - 苯甲酰基氨基)-1H- 吡唑-3- 甲酸哌啶-4- 基酰胺的甲磺酸和乙酸加成盐

[0644] 本发明的组合可以包括下文描述的任何化合物、盐、溶剂化物、互变异构体和同位素以及(如果上下文允许)N- 氧化物、其它的离子形式和前药。

[0645] 涉及的化合物 4-(2,6- 二氯 - 苯甲酰基氨基)-1H- 吡唑-3- 甲酸哌啶-4- 基酰胺及其酸加成盐包括其范围内的它们的所有溶剂化物、互变异构体和同位素以及(如果上下文允许)N- 氧化物、其它的离子形式和前药。

[0646] 酸加成盐可以选自与酸形成的盐, 所述的酸选自乙酸、己二酸、藻酸、抗坏血酸(例如 L- 抗坏血酸)、天冬氨酸(例如 L- 天冬氨酸)、苯磺酸、苯甲酸、樟脑酸(例如 (+) 樟脑酸)、癸酸、辛酸、碳酸、柠檬酸、环己烷氨基磺酸、十二烷酸、十二烷基硫酸、乙烷-1, 2- 二磺酸、乙磺酸、富马酸、粘酸、2,5- 二羟基苯甲酸、葡庚糖酸、D- 葡萄糖酸、葡萄糖醛酸(例如 D- 葡萄糖醛酸)、谷氨酸(例如 L- 谷氨酸)、 $\alpha$ - 氧代戊二酸、羟基乙酸、马尿酸、羟乙磺酸、异丁酸、乳酸(例如 (+)-L- 乳酸、(+)-DL- 乳酸)、乳糖酸、十二烷基磺酸、马来酸、苹果酸、(-)-L- 苹果酸、丙二酸、甲磺酸、粘酸、萘磺酸(例如萘-2- 磺酸)、萘-1,5- 二磺酸、烟酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、双羟萘酸、磷酸、丙酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸(例如 (+)-L- 酒石酸)、硫氰酸、甲苯磺酸(例如对甲苯磺酸)、戊酸和 xinafoic acid。

[0647] 酸加成盐的一个亚组包括与酸形成的盐, 所述的酸选自乙酸、己二酸、抗坏血酸(例如 L- 抗坏血酸)、天冬氨酸(例如 L- 天冬氨酸)、己酸、碳酸、柠檬酸、十二烷酸、富马酸、粘酸、葡庚糖酸、葡萄糖酸(例如 D- 葡萄糖酸)、葡萄糖醛酸(例如 D- 葡萄糖醛酸)、谷氨酸(例如 L- 谷氨酸)、羟基乙酸、马尿酸、乳酸(例如 (+)-L- 乳酸和 (+)-DL- 乳酸)、马来酸、棕榈酸、磷酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸(例如 (+)-L- 酒石酸)和硫氰酸。

[0648] 盐更特别是与选自甲磺酸和乙酸及其混合物的酸形成的酸加成盐。

[0649] 在一个实施方案中, 盐是与甲磺酸形成的酸加成盐。

[0650] 在另一个实施方案中, 盐是与乙酸形成的酸加成盐。

[0651] 为方便起见, 从甲磺酸和乙酸形成的盐在本文可以分别指的是甲磺酸盐和乙酸盐。

[0652] 在固体状态, 盐可以是结晶的或无定形的或它们的混合物。

[0653] 在一个实施方案中, 盐是无定形的。

[0654] 在无定形的固体中不存在晶体形式中通常存在的三维结构并且在无定形形式中分子相对于彼此的位置基本上是随机的, 参见例如 Hancock 等人, J. Pharm. Sci. (1997), 86, 1)。

[0655] 在另一个实施方案中, 盐基本上是结晶的; 即, 它们 50% 至 100% 是结晶的, 并且更特别的是它们可以至少 50% 是结晶的, 或至少 60% 是结晶的, 或至少 70% 是结晶的, 或

至少 80% 是结晶的,或至少 90% 是结晶的,或至少 95% 是结晶的,或至少 98% 是结晶的,或至少 99% 是结晶的,或至少 99.5% 是结晶的或至少 99.9% 是结晶的,例如 100% 是结晶的。

[0656] 在进一步实施方案中,盐选自 50% 至 100% 是结晶的盐、至少 50% 是结晶的盐、至少 60% 是结晶的盐、至少 70% 是结晶的盐、至少 80% 是结晶的盐、至少 90% 是结晶的盐、至少 95% 是结晶的盐、至少 98% 是结晶的盐、至少 99% 是结晶的盐、至少 99.5% 是结晶的盐和至少 99.9% 是结晶的盐,例如 100% 是结晶的盐。

[0657] 更优选的盐可以是(或可以选自)95% 至 100% 是结晶的盐,例如至少 98% 是结晶的盐或至少 99% 是结晶的盐或至少 99.5% 是结晶的盐或至少 99.6% 是结晶的盐或至少 99.7% 是结晶的盐或至少 99.8% 是结晶的盐或至少 99.9% 是结晶的盐,例如 100% 是结晶的盐。

[0658] 基本结晶的盐的一个实例是与甲磺酸形成的结晶的盐。

[0659] 基本结晶的盐的另一个实例是与乙酸形成的结晶的盐。

[0660] 固体形式的盐可以是溶剂化的(例如水合的)或非溶剂化的(例如无水的)。

[0661] 在一个实施方案中,盐是非溶剂化的(例如无水的)。非溶剂化的盐的实例是本文定义的与甲磺酸形成的结晶的盐。

[0662] 本文所用的术语“无水的”不排除盐(例如盐的晶体)上或其中存在某些水的可能性。例如,在盐(例如盐的晶体)的表面可能存在某些水或在盐(例如晶体)内存在少量的水。典型地,无水形式每分子化合物包含少于 0.4 分子的水,并且更优选每分子化合物包含少于 0.1 分子水,例如 0 分子水。

[0663] 在另一个实施方案中,盐是溶剂化的。当盐是水合的时,其可以包含例如至多 3 分子的结晶水,更通常包含至多 2 分子的结晶水,例如 1 分子水或 2 分子水。也可以形成其中存在的水分子的数目小于 1 或是非整数的非化学当量的水合物。例如,当少于 1 分子的水存在时,可以是每分子化合物中存在例如 0.4 或 0.5 或 0.6 或 0.7 或 0.8 或 0.9 分子水。

[0664] 其它的溶剂化物包括醇化物,例如乙醇化物和异丙醇物。

[0665] 可以通过常规的化学方法从母体化合物 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺合成盐,所述的方法例如在 Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Heinrich Stahl(编者), Camille G. Wermuth(编者), ISBN: 3-90639-026-8, Hardcover, 388 页, August 2002 中描述的方法。通常,可以通过将母体化合物 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺与适合的酸在水中或在有机溶剂中或在两者的混合物中反应而制备此类盐;通常,应用非水介质例如醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈。

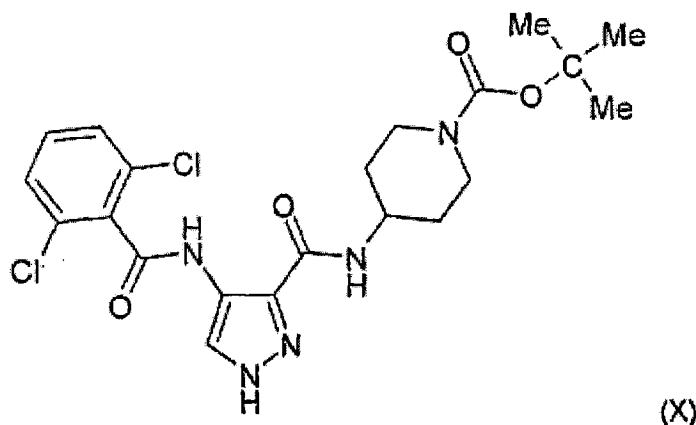
[0666] 制备 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺的酸加成盐的一个方法包括形成 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺游离碱在溶剂(典型地是有机溶剂)或溶剂混合物中的溶液,并且用酸处理该溶液以形成酸加成盐的沉淀。

[0667] 酸可以作为溶液加入至溶剂中,该溶剂与溶解游离碱的溶剂可混溶。最初溶解游离碱的溶剂可以是不溶解酸加成盐的溶剂。另外,最初溶解游离碱的溶剂可以是至少部分溶解酸加成盐的溶剂,随后加入酸加成盐溶解更少的不同的溶剂以便盐从溶液中沉淀出来。

[0668] 在形成酸加成盐的另外的方法中,将 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺溶于包含挥发酸和任选的共溶剂的溶剂中,因此形成酸加成盐和挥发酸的溶液,然后将产生的溶液浓缩或蒸发以分离盐。可以在该方法中制备的酸加成盐的实例是乙酸盐。

[0669] 另一方面,本发明的组合包括本文定义的 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺的酸加成盐,该盐通过以下方法获得(或可得到):用本文定义的有机或无机酸(盐酸除外)在有机溶剂中处理式(X)化合物以除去叔丁氧基羰基并且与有机或无机酸形成 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺的酸加成盐,并且任选将因而形成的酸加成盐分离。

[0670]



[0671] 盐典型地从形成该盐的有机溶剂中沉淀并且因此可以通过例如过滤从溶液中分离固体而分离。

[0672] 通过本领域技术人员众所周知的方法可以将一种盐形式转化为游离碱并且任选转化为另一种盐形式。例如,通过将盐溶液通过包含胺固定相的柱子(例如 Strata-NH<sub>2</sub> 柱)可以形成游离碱。另外,可以用碳酸氢钠处理盐的水溶液以分解盐并且沉淀出游离碱。然后通过上文或本文的其它地方描述的方法之一将游离碱和另外的酸组合。

[0673] 甲磺酸盐形式由于在高温和高相对湿度中稳定性好、非吸湿性(如本文定义的)、没有多晶型物和水合物形成并且在水环境中稳定,因此特别具有优势。另外,相对于其它的盐来说,它的水溶性非常好并且具有更好的物物理化学性质(例如高熔点)。

[0674] 本文所用的术语“稳定的”和“稳定性”包括化学稳定性和固态(物理)稳定性。术语“化学稳定性”表示在正常的贮存条件下,化合物可以以分离的形式或以制剂(以例如与本文描述的可药用载体、稀释剂或辅料混合形式提供)的形式贮存而有少量或没有化学降解和分解。“固态稳定性”表示在正常的贮存条件下,化合物可以以分离的固体形式或以固体制剂(以例如与本文描述的可药用载体、稀释剂或辅料混合形式提供)的形式贮存而有少量或没有固态转化(例如水合、脱水、溶剂化、脱溶剂化、结晶、重结晶或固态相变)。

[0675] 术语“非吸湿的”和“非吸湿性”以及本文所用的相关术语指的是当暴露于高相对湿度的环境中、例如 90% 的相对湿度时,吸收少于 5% 重量(相对于它们的自身重量)的水,和/或高相对湿度环境中晶体形式不改变和/或高相对湿度环境中不会将水吸收至晶体中(内水)的物质。

[0676] 在本发明的组合中应用的优选的盐是酸加成盐例如本文定义的甲磺酸盐和乙酸

盐及其混合物), 该酸加成盐在给定的液体载体 (例如水) 中具有大于 15mg/mL 液体载体 (例如水), 更典型地大于 20mg/mL, 优选大于 25mg/mL 并且更优选大于 30mg/mL 的溶解度。

[0677] 另一方面, 本文提供了包括水溶液的组合, 水溶液中包含浓度大于 15mg/mL, 典型地大于 20mg/mL, 优选大于 25mg/mL 并且更优选大于 30mg/mL 的 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺的酸加成盐 (例如本文定义的甲磺酸盐和乙酸盐及其混合物并且优选甲磺酸盐)。

[0678] 在优选的实施方案中, 组合包括水溶液, 该水溶液中包含浓度大于 15mg/mL, 典型地大于 20mg/mL, 优选大于 25mg/mL 并且更优选大于 30mg/mL 的 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺的酸加成盐, 该酸加成盐选自乙酸盐或甲磺酸盐或它们的混合物。

[0679] 另一个方面, 本发明的组合包括 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺的酸加成盐 (例如本文定义的甲磺酸盐和乙酸盐以及它们的混合物) 的水溶液, 其中水溶液的 pH 为 2 至 12, 例如 2 至 9 并且更特别是 4 至 7。

[0680] 在上文定义的水溶液中, 酸加成盐可以是本文描述的任何盐, 但是在一个优选的实施方案中, 酸加成盐是本文定义的甲磺酸盐和乙酸盐并且特别是甲磺酸盐。

[0681] 本发明的组合可以包括质子化形式的 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺与一种或多种相反离子以及任选的一种或多种进一步的相反离子的水溶液。在一个实施方案中, 一种相反离子选自甲磺酸盐和乙酸盐。在另一个实施方案中, 一种相反离子选自本文描述的制剂缓冲液 (例如乙酸盐)。在进一步的实施方案中, 可以有一种或多种进一步的相反离子, 例如氯离子 (例如来自盐水)。

[0682] 本发明的组合可以包括质子形式的 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺和选自甲磺酸盐和乙酸盐的一种或多种相反离子以及任选的一种或多种进一步的相反离子 (例如氯离子) 的水溶液。

[0683] 在具有多于一种的相反离子的情况中, 质子形式的 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺的水溶液将潜在地包含相反离子混合物, 例如甲磺酸盐和乙酸盐相反离子以及任选一种或多种进一步的相反离子 (例如氯离子) 的混合物。

[0684] 本发明的组合可以包括质子形式的 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺和选自甲磺酸盐和乙酸盐的一种或多种相反离子以及任选的一种或多种进一步的相反离子 (例如氯离子) 以及它们的混合物的水溶液。

[0685] 特别可以通过将甲磺酸盐溶于乙酸盐离子 (例如乙酸缓冲液) 的溶液中或通过将乙酸盐溶于甲磺酸盐离子的溶液中形成水溶液。甲磺酸盐和乙酸盐离子在溶液中可以以 10 : 1 或更小, 例如 10 : 1 至 1 : 10, 更优选小于 8 : 1, 或小于 7 : 1, 或小于 6 : 1, 或小于 5 : 1 或小于 4 : 1 或小于 3 : 1 或小于 2 : 1 或小于 1 : 1, 更特别是 1 : 1 至 1 : 10 的甲磺酸盐 / 乙酸盐比例存在。在一个实施方案中, 甲磺酸和乙酸离子在溶液中以 1 : 1 至 1 : 10, 例如 1 : 1 至 1 : 8, 或 1 : 1 至 1 : 7, 或 1 : 1 至 1 : 6, 或 1 : 1 至 1 : 5, 例如约 1 : 4.8 的甲磺酸 / 乙酸比例存在。

[0686] 盐的水溶液可以是缓冲的或非缓冲的, 但是在一个实施方案中是缓冲的。

[0687] 在上下文的与甲磺酸形成的酸加成盐中, 优选的缓冲液是乙酸和乙酸钠形成的缓冲液, 例如 pH 约为 4.6 的溶液。在该 pH 和乙酸缓冲液中, 甲磺酸盐的溶解度约为 35mg/mL。

[0688] 本发明的组合中应用的盐典型地是可药用盐,并且可药用盐的实例在 Berge 等人,1977,“Pharmaceutically Acceptable Salts”J. Pharm. Sci., Vol. 66, pp. 1-19 中讨论。但是,也可以将不可药用盐制备成中间体形式,然后将该中间体形式转化为可药用盐。因此,此类不可药用盐形式也形成了本发明的部分。

[0689] 生物学活性

[0690] 如上文所述,本发明组合的细胞毒化合物和信号抑制剂干扰对于癌症细胞的生理学和增殖极其重要的代谢过程并且具有对抗多种癌症的活性。式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组是一种或多种细胞周期蛋白依赖性激酶和 / 或糖原合酶激酶的抑制剂或调节剂 (特别是抑制剂),并且特别是选自 CDK1、CDK2、CDK3、CDK4、CDK5、CDK6 和 CDK9,并且更优选选自 CDK1、CDK2、CDK3、CDK4、CDK5 和 CDK9 的一种或多种细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂或调节剂 (特别是抑制剂)。

[0691] 优选的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组是抑制一种或多种选自 CDK1、CDK2、CDK4 和 CDK9,例如 CDK1 和 / 或 CDK2 的 CDK 激酶的化合物。

[0692] 式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组可以调节或抑制 GSK,例如糖原合酶激酶 -3 (GSK3)。

[0693] 由于它们在调节或抑制 CDK 激酶和 / 或糖原合酶激酶中的活性以及本文描述的细胞毒化合物及信号抑制剂的活性,在异常分裂的细胞中,预期本发明的组合可以用于提供细胞周期停止或恢复控制的方法。因此,预期该化合物将用于治疗或预防增殖障碍 (例如癌症)。

[0694] CDK 在细胞周期、凋亡、转录、分化和 CNS 功能调节中发挥作用。因此,CDK 抑制剂可以用于治疗具有增殖、凋亡或分化障碍的疾病 (例如癌症)。特别是 RB+ve 肿瘤可能对 CDK 抑制剂特别敏感。RB-ve 肿瘤也可能对 CDK 抑制剂敏感。

[0695] 可以被抑制的癌症的实例包括但是不限于癌症,例如膀胱癌、乳腺癌、结肠癌 (例如结肠直肠癌,例如结肠腺癌和结肠腺瘤)、肾癌、表皮癌、肝癌、肺癌 (例如腺癌、小细胞肺癌和非小细胞肺癌)、食道癌、胆囊癌、卵巢癌、胰腺癌 (例如外分泌胰腺癌)、胃癌、宫颈癌、甲状腺癌、前列腺癌或皮肤癌 (例如鳞状细胞癌);淋巴谱系的造血肿瘤 (例如白血病、急性淋巴性白血病、B- 细胞淋巴瘤、T- 细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、多毛细胞淋巴瘤或伯基特淋巴瘤);骨髓谱系的造血肿瘤 (例如急性或慢性髓性白血病、骨髓发育不良综合症或早幼粒细胞白血病);甲状腺滤泡癌;间充质起源的肿瘤 (例如纤维肉瘤或横纹肌肉瘤),中枢或外周神经系统的肿瘤 (例如星形细胞瘤、神经母细胞瘤、神经胶质瘤或神经鞘瘤);黑素瘤;精原细胞瘤;恶性畸胎瘤;骨肉瘤;着色性干皮病;keratoctanthoma;甲状腺滤泡癌;卡波西肉瘤,B- 细胞淋巴瘤和慢性淋巴细胞白血病。

[0696] 癌症可以是对任何一种或多种细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制敏感的癌症,所述的细胞周期蛋白依赖性激酶选自 CDK1、CDK2、CDK3、CDK4、CDK5 和 CDK6,例如一种或多种 CDK 激酶选自 CDK1、CDK2、CDK4 和 CDK5,例如 CDK1 和 / 或 CDK2。

[0697] 可以通过在以下实例中列出的细胞生长试验的方法或通过标题“诊断方法”中列出的方法确定特别的癌症是不是对细胞周期蛋白激酶的抑制敏感的癌症。

[0698] 因此,在治疗包括异常细胞生长的疾病或病症的本发明的药物组合物、用途或方法中,在一个实施方案中的包含异常细胞生长的疾病或病症是癌症。

[0699] 一组癌症包括人乳腺癌(例如原发性乳腺肿瘤、结阴性乳腺癌、胸腺的侵入性导管腺癌、非子宫内膜样乳腺癌);和套细胞淋巴瘤。另外,其它癌症是结肠直肠癌和子宫内膜癌。

[0700] 癌症的另外的亚组包括乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌、食道癌、鳞状癌和非小细胞肺癌。

[0701] 癌症的进一步的亚组包括非小细胞肺癌、结肠癌、乳腺癌、非霍奇金淋巴瘤、多发性骨髓瘤和慢性淋巴细胞白血病。

[0702] 癌症的进一步的亚组包括乳腺癌、结肠直肠癌、卵巢癌和非小细胞肺癌。

[0703] 癌症的进一步的亚组包括结肠直肠癌、卵巢癌和非小细胞肺癌。

[0704] 癌症的另外的亚组包括淋巴谱系的造血肿瘤,例如白血病、慢性淋巴细胞白血病、套细胞淋巴瘤和 B- 细胞淋巴瘤(例如弥散性大 B 细胞淋巴瘤)。

[0705] 一种特别的癌症是慢性淋巴细胞白血病。

[0706] 另一种特别的癌症是套细胞淋巴瘤。

[0707] 另一种特别的癌症是弥散性大 B 细胞淋巴瘤。

[0708] 可以应用在以下实例中列出的试验测定本发明化合物作为细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶和 / 或糖原合酶激酶(例如 GSK-3) 抑制剂或调节剂的活性并且给定化合物的活性水平可以以  $IC_{50}$  值的方式定义。优选的本发明化合物是  $IC_{50}$  值小于  $1 \mu\text{mol}$  的化合物,更优选小于  $0.1 \mu\text{mol}$  的化合物。

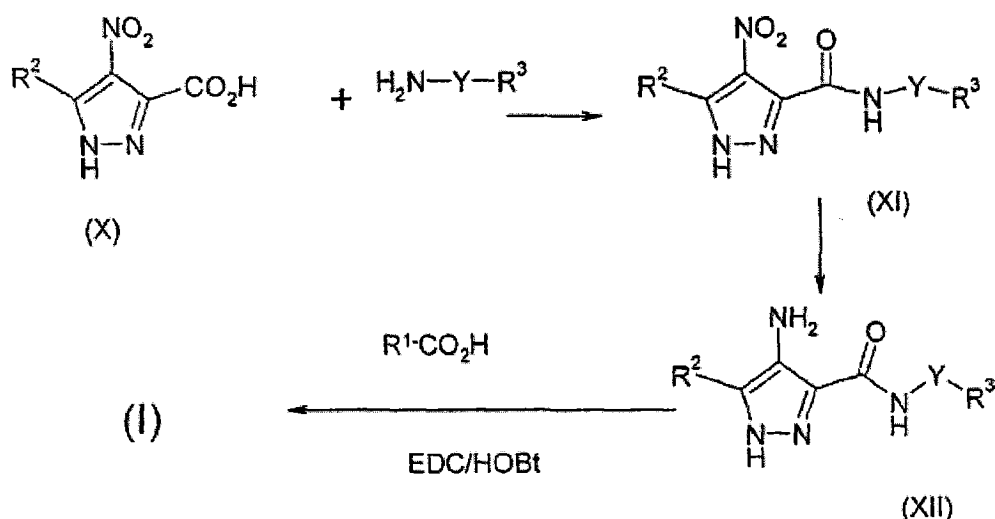
[0709] 制备本发明的式 (I) 化合物的方法

[0710] 可以根据本领域技术人员众所周知的合成方法制备式 (I) 化合物及其多种亚组。除非另外指出,  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、Y、X 和 A 如上文定义的。

[0711] 除非上下文中另外指出,在本部分,如在本申请的所有其它部分,涉及的式 (I) 应该也指式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物或其亚组。

[0712] 可以通过将式  $R^1\text{-CO}_2\text{H}$  的羧酸或其活性衍生物与适合的取代的 4-氨基-吡唑反应而制备式 (I) 化合物,其中  $R^1\text{-A-}$  形成酰基  $R^1\text{-CO-}$ ,如流程图 1 所示。

[0713]



[0714] 流程图 1

[0715] 流程图 1 中所示的合成路线的原料是 4-硝基-吡唑-3-甲酸 (X), 该原料可商购获得或者可以通过将相应的 4-未取代的吡唑羧基化合物硝化而制备。

[0716] 4-硝基甲酸 (X) 或其活性衍生物与胺  $\text{H}_2\text{N}-\text{Y}-\text{R}^3$  反应得到 4-硝基-酰胺 (XI)。羧酸 (X) 和胺之间的偶联反应优选在肽键形成中经常应用的试剂类型的存在下进行。此类试剂的实例包括 1,3-二环己基碳二亚胺 (DCC) (Sheehan 等人, J. Amer. Chem. Soc. 1955, 77, 1067)、1-乙基-3-(3'-二甲基氨基丙基)-碳二亚胺 (本文指的是 EDC 或 EDAC, 但是在本领域中也称为 EDCI 和 WSCDI) (Sheehan 等人, J. Org. Chem., 1961, 26, 2525)、基于脒鎓的偶联剂例如 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N',N'-四甲基脒鎓六氟磷酸酯 (HATU) 以及基于磷鎓的偶联剂例如 1-苯并-三唑基三-(吡咯烷基)磷鎓六氟磷酸酯 (PyBOP) (Castro 等人, Tetrahedron Letters, 1990, 31, 205)。基于碳二亚胺的偶联剂有利地用于与 1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (HOAt) (L. A. Carpino, J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 4397) 或 1-羟基苯并三唑 (HOBt) (Konig 等人, Chem. Ber., 103, 708, 2024-2034) 组合应用。优选的偶联试剂包括 EDC (EDAC) 和与 HOAt 或 HOBt 组合的 DCC。

[0717] 偶联反应典型地是在非水、非质子溶剂 (例如乙腈、二噁烷、二甲亚砜、二氯甲烷、二甲基甲酰胺或 N-甲基吡咯烷) 或在水溶剂中 (任选与一种或多种可混溶的共溶剂一起) 进行的。反应可以在室温下进行或者对于反应物活性较小的反应 (例如在具有吸电子基团例如磺酰胺基团的缺电子的苯胺中) 在适合的高温下进行。反应可以在非干扰碱 (例如叔胺, 例如三乙胺或 N,N-二异丙基乙基胺) 的存在下进行。

[0718] 另外, 可以应用羧酸的反应衍生物, 例如酸酐或酰氯。与反应衍生物 (例如酸酐) 的反应典型地是通过在室温下、在碱 (例如吡啶) 的存在下将胺和酸酐搅拌而完成的。

[0719] 式  $\text{H}_2\text{N}-\text{Y}-\text{R}^3$  的胺是可商购获得的或可以通过本领域技术人员众所周知的大量标准合成方法中的任何一种制备获得, 参见例如 Advanced Organic Chemistry, Jerry March, 4<sup>th</sup> Edition, John Wiley & Sons, 1992 和 Organic Syntheses, Volumes 1-8, John Wiley, Jeremiah P. Freeman 编 (ISBN: 0-471-31192-8), 1995, 并且也可以参见在下面的实验部分中描述的方法。

[0720] 将硝基-吡唑酰胺 (XI) 还原得到相应的式 (XII) 的 4-氨基化合物。该还原可以

通过标准方法进行,所述的标准方法例如催化氢化,例如在钨炭的存在下、在极性溶剂(例如乙醇或二甲基甲酰胺)中、在室温下进行。另外,可以应用还原剂(例如在乙醇中的氯化锡(II)),典型地在加热下,例如加热至溶剂的回流温度而起作用。

[0721] 然后,应用上文在酰胺(XI)的形成中描述的方法和条件将4-氨基-吡唑化合物(XII)与式 $R^1-CO_2H$ 的羧酸或其反应衍生物反应以得到式(I)化合物。

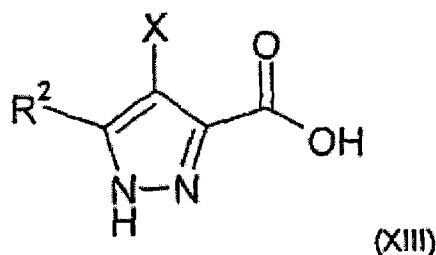
[0722] 式 $R^1-CO_2H$ 的羧酸是可商购获得的或可以根据本领域技术人员众所周知的方法合成获得,参见例如Advanced Organic Chemistry and Organic Syntheses,该文献的详细内容在上文给出。

[0723] 其中X是基团 $R^1-A-NR^4$ 并且A是键的式(I)化合物可以从式(XII)的4-氨基化合物通过多种方法制备。用适合的取代的醛或酮的还原性胺化可以在多种还原剂的存在下进行(参见Advanced Organic Chemistry, Jerry March, 4<sup>th</sup> Edition, John Wiley & Sons, 1992, pp898-900)。例如,还原性胺化可以在三乙酰氧基硼氢化钠和质子惰性溶剂(例如二氯甲烷)的存在下、在或接近环境温度下进行。

[0724] 其中X是基团 $R^1-A-NR_4$ 并且A是键的化合物可以通过将4-氨基吡唑化合物(XII)与式 $R^1-L$ 化合物在亲核取代反应中反应而制备,其中L是离去基团,例如卤素。

[0725] 在可选择的合成路线中,式(I)化合物可以通过将式(XIII)化合物与式 $R^3-Y-NH_2$ 反应而制备。反应可以应用上文描述的酰胺偶联反应条件进行。

[0726]



[0727] 其中A是 $NH(C=O)$ 的式(I)化合物可以应用合成脲的标准方法制备。

[0728] 例如,该化合物可以通过将式(XII)的氨基吡唑化合物与适合的取代的异氰酸苯酯在极性溶剂(例如DMF)中反应而制备。反应最佳在室温下进行。

[0729] 其中A是 $O(C=O)$ 的式(I)化合物可以应用合成氨基甲酸酯的标准方法制备。例如,通过将式(XII)的氨基吡唑化合物与式 $R^1-O-C(O)-Cl$ 的氯甲酸酯衍生物在技术人员众所周知的条件下反应而制备。

[0730] 其中A是 $SO_2$ 的式(I)化合物可以通过形成磺酰胺的标准方法从式(XII)的氨基化合物制备。例如,式(XII)化合物可以与式 $R^1SO_2Cl$ 的磺酰氯或式 $(R^1SO_2)_2O$ 的酸酐反应。该反应典型地在质子惰性溶剂例如乙腈或氯化烃(例如二氯甲烷)中、在非干扰碱例如叔胺(例如三乙胺)或吡啶或二异丙基乙基胺(Hunigs碱)的存在下进行。另外,其中碱是液体,如在吡啶的情况中,碱本身可以用作反应溶剂。

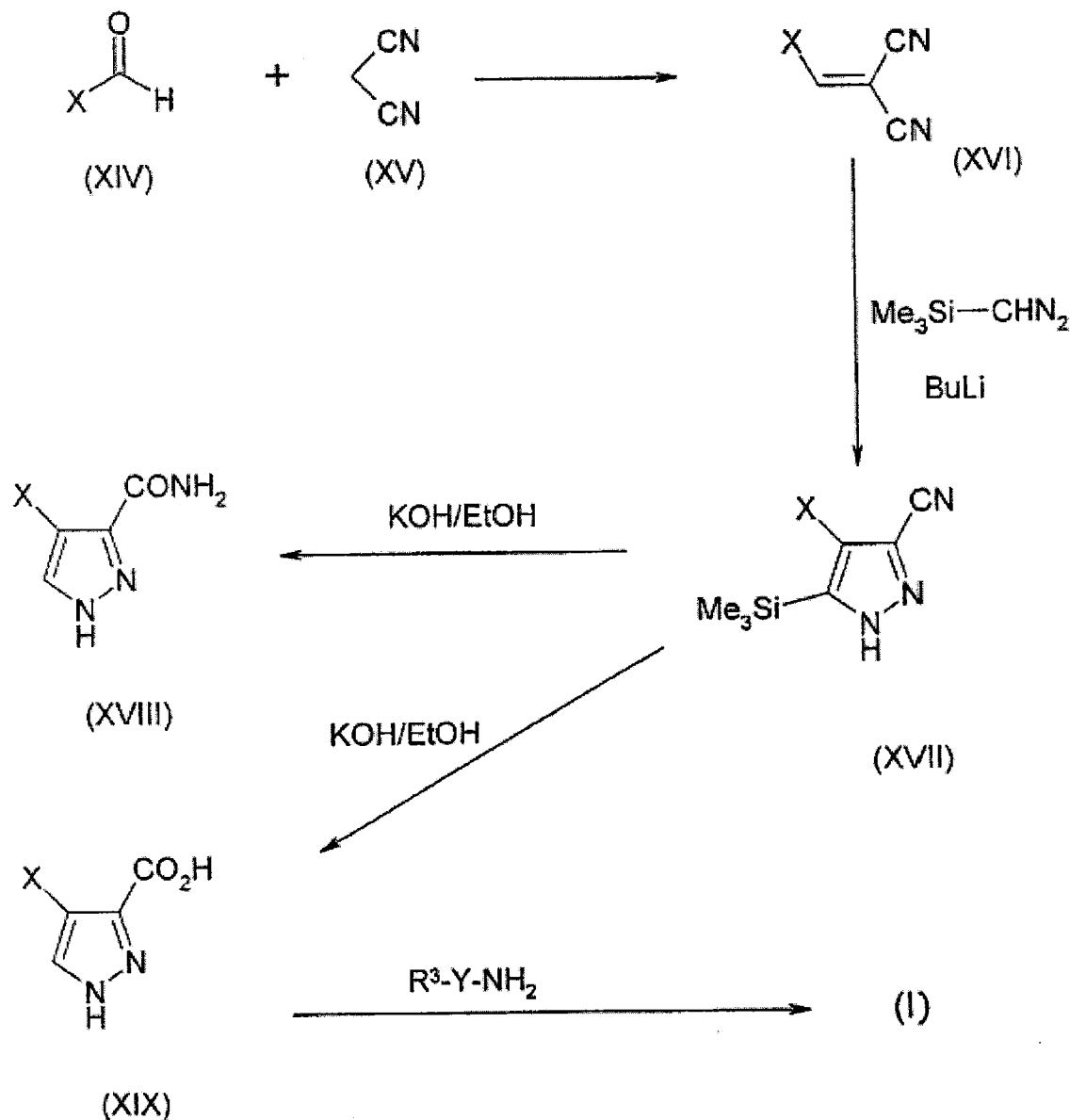
[0731] 其中X是包含与吡唑基团连接的碳原子环原子的5或6元环的化合物可以通过流程图2中列出的反应顺序制备。

[0732] 如流程图2所示,将醛(XIV)(其中X是C-连接的芳基或杂芳基,例如苯基)与丙二腈缩合得到炔(XVI)。该反应典型地在极性溶剂(例如乙醇)中、在碱(例如吡啶)的存在下、通常在加热下进行。然后,将炔(XVI)与三甲基甲硅烷基二氮杂甲烷在烷基锂(例如

丁基锂)的存在下反应得到 5-三甲基甲硅烷基吡唑-3-腈(XVII)。反应在干燥的质子惰性溶剂(例如 THF)中、在保护气氛(例如氮气)下、在低温(例如  $-78^{\circ}\text{C}$ )下进行。

[0733] 用碱金属氢氧化物(例如氢氧化钾)水解腈(XVII)得到酸(XIX)和/或酰胺(XVIII)。其中形成了酸和酰胺的混合物,它们可以根据标准方法(例如色谱法)进行分离。然后,在此类型的典型的酰胺偶联条件下可以将酸(XIX)与式  $\text{R}^3\text{-Y-NH}_2$  的胺偶联以得到式(I)化合物。

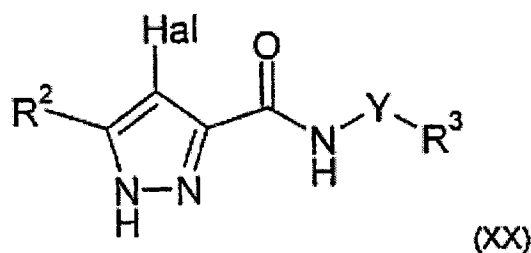
[0734]



[0735] 流程图 2

[0736] 另外,其中 X 是 C-连接的芳基或杂芳基(例如苯基)的式(I)化合物可以从式(XX)化合物制备:

[0737]



[0738] 其中“Hal”是卤素（例如氯、溴或碘），通过与适合的芳基或杂芳基硼酸酯发生 Suzuki 偶联反应而得到。该反应可以在典型的 Suzuki 偶联的条件下、在钯催化剂（例如二（三-叔丁基膦）钯）和碱（例如碳酸盐，例如碳酸钾）的存在下进行。该反应可以在水溶剂体系（例如水乙醇）中并且反应混合物典型地加热，例如加热至超过 100℃ 的温度而进行。

[0739] 式 (XX) 化合物可以通过 Sandmeyer 反应（参见 Advanced Organic Chemistry, 4<sup>th</sup> edition, Jerry March, John Wiley & Sons, 1992, 第 723 页）从式 (XII) 的氨基吡唑化合物制备，其中通过与亚硝酸反应将氨基转化为重氮基团，然后将该重氮化合物与卤化铜 (I)（例如 Cu(I)Cl 或 Cu(I)I）反应。

[0740] 一旦形成，可以应用本领域众所周知的标准化学方法将一个式 (I) 化合物转化为另一个式 (I) 化合物。以官能团互变为例，参见例如 Fiesers' Reagents for Organic Synthesis, Volumes 1-17, John Wiley, Mary Fieser 编 (ISBN:0-471-58283-2) 和 Organic Syntheses, Volumes 1-8, John Wiley, Jeremiah P. Freeman 编 (ISBN:0-471-31192-8), 1995。

[0741] 在以上流程图所示的合成路线的原料（例如式 (X) 的吡唑）可以商购获得或可以通过本领域技术人员已知的方法制备。可以应用已知的方法，例如从酮，例如在 EP308020 (Merck) 中描述的方法或 Schmidt 在 Helv. Chim. Acta., 1956, 39, 986-991 和 Helv. Chim. Acta., 1958, 41, 306-309 中讨论的方法得到。另外，它们可以应用本领域技术人员已知的标准方法通过将可商购的吡唑（例如包含卤素、硝基、酯或酰胺官能团的吡唑）转化为包含所需官能团的吡唑而获得。例如，在 3-羧基-4-硝基吡唑中，通过标准方法可以将硝基还原为胺。4-硝基-吡唑-3-甲酸 (XII) 可以商购获得或可以通过将相应的 4-未取代的吡唑羧基化合物硝化得到，并且含有卤素的吡唑可以应用于与锡或钯的偶联反应化学中。

#### [0742] 保护基

[0743] 在以上描述的很多反应中，需要保护一个或多个基团以防止在分子中不期望的位置上发生反应。在 Protective Groups in Organic Synthesis (T. Green 和 P. Wuts; 3rd Edition; John Wiley and Sons, 1999) 中有保护基的实例以及官能团的保护和脱保护的方法。

[0744] 可以将羟基保护为例如醚 (-OR) 或酯 (-OC(=O)R)，例如叔丁基醚；四氢吡喃基 (THP) 醚；苄基、二苯甲基（二苯基甲基）或三苯甲基（三苯基甲基）醚；三甲基甲硅烷基或叔丁基二甲基甲硅烷基醚；或乙酰基酯 (-OC(=O)CH<sub>3</sub>, -OAc)。

[0745] 可以将醛或酮基分别保护为例如缩醛 (R-CH(OR)<sub>2</sub>) 或缩酮 (R<sub>2</sub>C(OR)<sub>2</sub>)，其中羰基 (>C=O) 通过与例如伯醇反应而被转化为二醚 (>C(OR)<sub>2</sub>)。在酸的存在下，通过应用过量的水水解可以很容易地将醛或酮基团再生。

[0746] 可以将氨基保护为例如酰胺 ( $-\text{NRCO}-\text{R}$ ) 或氨基甲酸乙酯 ( $-\text{NRCO}-\text{OR}$ ), 例如甲基酰胺 ( $-\text{NHCO}-\text{CH}_3$ ); 苄氧基酰胺 ( $-\text{NHCO}-\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $-\text{NH}-\text{Cbz}$  或  $\text{NH}-\text{Z}$ ); 叔丁氧基酰胺 ( $-\text{NHCO}-\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ,  $-\text{NH}-\text{Boc}$ ); 2- 联苯基-2- 丙氧基酰胺 ( $-\text{NHCO}-\text{OC}(\text{CH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $-\text{NH}-\text{Bpoc}$ ); 9- 芴基甲氧基酰胺 ( $-\text{NH}-\text{Fmoc}$ ); 6- 硝基藜芦基氧基酰胺 ( $-\text{NH}-\text{Nvoc}$ ); 2- 三甲基甲硅烷基乙氧基酰胺 ( $-\text{NH}-\text{Teoc}$ ); 2,2,2- 三氯乙氧基酰胺 ( $-\text{NH}-\text{Troc}$ ); 烯丙基氧基酰胺 ( $-\text{NH}-\text{Alloc}$ ) 或 2-( 苯基磺酰基 ) 乙氧基酰胺 ( $-\text{NH}-\text{Psec}$ )。

[0747] 例如, 在以上流程图 1 中, 当在胺  $\text{H}_2\text{N}-\text{Y}-\text{R}^3$  中的基团  $\text{R}^3$  包含第二个氨基时, 例如环氨基 (例如哌啶或吡咯烷基团), 那么可以通过上文定义的保护基的方法将第二个氨基保护, 优选的基团是叔丁氧基羰基 (Boc)。第二个氨基不需要后面的修饰时, 保护基可以在反应顺序中带着以得到 N 保护形式的式 (I) 化合物, 该 N 保护形式的式 (I) 化合物可以通过标准的方法 (例如在 Boc 的情况中用酸处理) 脱保护以得到本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组。

[0748] 胺 (例如环胺和杂环 N-H 基团) 的其它的保护基团包括甲苯磺酰基和甲磺酰基、苄基 (例如对甲氧基苄基 (PMB)) 和四氢吡喃基 (THP)。

[0749] 可以将羧酸基团保护为酯, 例如  $\text{C}_{1-7}$  烷基酯 (例如甲基酯; 叔丁基酯);  $\text{C}_{1-7}$  卤烷基酯 (例如  $\text{C}_{1-7}$  三卤烷基酯); 三  $\text{C}_{1-7}$  烷基甲硅烷基- $\text{C}_{1-7}$  烷基酯; 或  $\text{C}_{5-20}$  芳基- $\text{C}_{1-7}$  烷基酯 (例如苄基酯; 硝基苄基酯); 或酰胺 (例如甲基酰胺)。可以将硫醇保护为例如硫醚 ( $-\text{SR}$ ) (例如苄基硫醚); 乙酰氨基甲基醚 ( $-\text{S}-\text{CH}_2\text{NHC}(=\text{O})\text{CH}_3$ )。

#### [0750] 本发明化合物的分离和纯化

[0751] 本发明化合物可以根据本领域技术人员众所周知的标准技术分离和纯化。在化合物的纯化中, 特别有用的技术是制备液相色谱, 应用质谱作为检测从色谱柱中流出的纯化的化合物的方法。

[0752] 制备 LC-MS 在小有有机分子的纯化 (例如本文描述的化合物) 中是标准并且有效的方法。液相色谱 (LC) 和质谱 (MS) 的方法可以不同以提供粗材料的更好分离并且改善样品被 MS 的检测。制备梯度 LC 方法的优化包括不同的柱子、挥发性洗脱剂和改性剂以及梯度。优选制备 LC-MS 的方法是本领域众所周知的方法, 然后应用该方法纯化化合物。在 Rosentreter U, Huber U. ;Optimal fraction collecting in preparative LC/MS; J CombChem. ;2004 ;6(2), 159-64 和 Leister W, Strauss K, Wisnoski D, Zhao Z, Lindsley C, Development of a custom high-throughput preparative liquid chromatography/mass spectrometer platform for the preparative purification and analytical analysis of compound libraries; J Comb Chem. ;2003 ;5(3) ;322-9 中描述了该方法。

[0753] 通过制备 LC-MS 纯化化合物的该系统的实例在下文中本申请的实施例部分 (标题为 “大量直接纯化 LC-MS 系统”) 中进行描述。但是, 应该理解的是可以应用描述的另外的系统和方法。特别的是, 可以应用基于正相制备 LC 方法代替本文描述的反相方法。大多数制备 LC-MS 系统应用反相 LC 和挥发性酸改性剂, 因为该方法对于小分子的纯化是很有效的并且因为洗脱剂和正离子电喷雾质谱相容。另外, 可以应用在下文描述的分析方法中列出的其它的色谱溶液 (例如正相 LC)、另外的缓冲流动相、碱性改性剂等纯化化合物。

#### [0754] 根据本发明应用细胞毒化合物和信号抑制剂

[0755] 多种细胞毒化合物和信号抑制剂中的任何一种可以用于本发明的组合。可以应用本领域技术人员众所周知的多种技术中的任何一种试验或确定细胞毒性。本发明的组合的细胞毒化合物或信号抑制剂具有对抗多种癌症的活性。

[0756] 用于本文描述的本发明的组合中的细胞毒化合物优选选自下列组：

[0757] 1. 喜树碱化合物；

[0758] 2. 抗代谢物；

[0759] 3. 长春花生物碱；

[0760] 4. 紫杉烷类；

[0761] 5. 铂化合物；

[0762] 6. DNA 结合剂和 Topo II 抑制剂（包括蒽环霉素衍生物）；

[0763] 7. 两种或多种前述种类的组合。

[0764] 适合的信号抑制剂在下文的部分 7 讨论。

[0765] 本文中涉及的特别的细胞毒化合物或信号抑制剂（例如涉及的喜树碱化合物、抗代谢物、长春花生物碱、紫杉烷类、铂化合物、DNA 结合剂、Topo II 抑制剂（包含蒽环霉素衍生物））旨在包括它们的离子、盐、溶剂化物、异构体、互变异构体、N-氧化物、酯、前药、同位素和保护形式（优选它们的盐或互变异构体或异构体或 N-氧化物或溶剂化物，并且更优选它们的盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物）。

[0766] 1. 喜树碱化合物

[0767] 在本发明的一个实施方案中，细胞毒化合物是喜树碱化合物。

[0768] 定义：本文所用的术语“喜树碱化合物”指的是喜树碱本身或本文描述的喜树碱类似物，包括上文描述的它们的离子、盐、溶剂化物、异构体、互变异构体、N-氧化物、酯、前药、同位素和保护形式（优选它们的盐或互变异构体或异构体或 N-氧化物或溶剂化物，并且更优选它们的盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物）。

[0769] 技术背景：喜树碱化合物是涉及或衍生自母体化合物喜树碱的化合物，该化合物是衍生自中国树 *Camptothecin acuminata* 和印度树 *Nothapodytes foetida* 的水不溶性生物碱。在多种实验系统中，喜树碱对 DNA 的生物合成具有潜在的抑制活性并且表现出很高的对抗肿瘤细胞生长的活性。但是，它的临床用途被它的高毒性显著限制，因此发展了多种类似物以试图减小喜树碱的毒性而同时保持它的抗肿瘤作用的潜能。此类类似物的实例包括伊立替康和托泊替康。

[0770] 已经发现这些化合物是 DNA 拓扑异构酶 I 的特异性抑制剂。拓扑异构酶是在真核细胞中能够改变 DNA 拓扑结构的酶。它们对重要的细胞功能和细胞增殖至关重要。真核细胞中有两种拓扑异构酶，命名为 I 型和 II 型。拓扑异构酶 I 是分子量约 100,000 的单体酶。该酶与 DNA 结合并且导致短暂的单链断裂，解开双螺旋（或允许它解开）并且随后在从 DNA 链解离前再重连接断裂。

[0771] 已经发现伊立替康（命名为 7-乙基-10-(4-(1-哌啶子基)-1-哌啶子基)-羰基氧基-(20S)-喜树碱）及其盐酸盐（也称为 CPT11）具有改善的潜能和减小的毒性以及较高的水溶性。已经发现伊立替康在多种癌症（特别是结肠直肠癌）的治疗中具有临床功效。另一种重要的喜树碱化合物是托泊替康，命名为 (S)-9-二甲基氨基甲基-10-羟基-喜树碱，该化合物在临床试验中已经表现出对抗多种实体瘤（特别是卵巢癌和非小细胞肺癌）

的功效。

[0772] 典型制剂：通过注射施用并且包含喜树碱化合物的非肠道药物制剂可以通过将 100mg 喜树碱化合物的水溶性盐（例如在 EP 0321122 中描述的化合物并且特别是在其中的实施例中描述的化合物）溶于 10mL 无菌的 0.9% 生理盐水中，然后将溶液灭菌并且将溶液装入适合的容器而制备。

[0773] 生物学活性：如上文描述的，本发明组合的喜树碱化合物是 DNA 拓扑异构酶 I 的特异性抑制剂并且具有对抗多种癌症的活性。

[0774] 现有的技术参考：WO 01/64194 (Janssen) 公开了法呢基转移酶抑制剂和喜树碱化合物的组合。EP 137145 (Rhone Poulenc Rorer) 公开了包括伊立替康的喜树碱化合物。EP 321122 (SmithKline Beecham) 公开了包括托泊替康的喜树碱化合物。

[0775] 问题：尽管喜树碱化合物在人类中已经被广泛用作化疗剂，但是它们不是对所有患者或对抗所有类型的肿瘤都是治疗有效的。因此，需要提高喜树碱化合物对抗肿瘤生长的抑制作用并且也需要提供使用更低剂量的喜树碱化合物以减小对患者潜在的不利的毒性副作用的方法。

[0776] 优选：根据本发明优选应用的喜树碱化合物包括上文涉及的伊立替康和托泊替康。伊立替康是可商购的，例如以商品名“Campto”从 Rhone-Poulenc Rorer 获得并且可以制备得到，例如通过在欧洲专利说明书 No. 137145 中描述的或与其类似的方法制备。托泊替康是可商购的，例如以商品名“Hycamtin”从 SmithKline Beecham 获得并且可以制备得到，例如通过在欧洲专利号 321122 中描述的或与其类似的方法制备。其它的喜树碱化合物可以通过常规方法制备，例如通过类似于上文在伊立替康和托泊替康中描述的方法制备。

[0777] 特别的实施方案：在一个实施方案中，喜树碱化合物是伊立替康。在另一个实施方案中，喜树碱化合物是非伊立替康的喜树碱化合物，例如喜树碱化合物例如托泊替康。

[0778] 剂量学：在每个疗程中，喜树碱化合物有利地以 0.1 至 400mg/平方米 (mg/m<sup>2</sup>) 身体表面积、例如 1 至 300mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用，特别是对于伊立替康以约 100 至 350mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用并且对于托泊替康以约 1 至 2mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用。在每个疗程治疗中这些剂量可以施用例如一次、两次或多次，可以重复，例如每 7、14、21 或 28 天。

## [0779] 2. 抗代谢物

[0780] 在本发明的另一个实施方案中，细胞毒化合物是抗代谢物。

[0781] 定义：术语“抗代谢化合物”和“抗代谢物”是作为同义词使用的并且定义了本文描述的抗代谢化合物或抗代谢化合物的类似物，包括如上所述的它们的离子、盐、溶剂化物、异构体、互变异构体、N-氧化物、酯、前药、同位素和保护形式（优选它们的盐或互变异构体或异构体或 N-氧化物或溶剂化物，并且更优选它们的盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物）。因此，本文涉及的抗代谢化合物（另外称为抗代谢物）组成了一大组干扰对癌症细胞的生理学和增殖都很重要的代谢过程的抗癌药物。此类化合物包括抑制 DNA 合成的核苷衍生物（嘧啶或嘌呤核苷类似物）和胸苷酸合成酶和 / 或二氢叶酸还原酶的抑制剂。

[0782] 技术背景：抗代谢物（或抗代谢化合物）组成了一大组干扰对癌症细胞的生理学和增殖至关重要的代谢过程的抗癌药物。此类化合物包括抑制 DNA 合成的核苷衍生物（嘧啶或嘌呤核苷类似物）和胸苷酸合成酶和 / 或二氢叶酸还原酶的抑制剂。抗肿瘤核苷衍生物已经使用多年用于多种癌症的治疗。在这些衍生物中使用最久并且最广泛的是已经用于

治疗多种癌症（例如结肠直肠癌、乳腺癌、肝癌和头颈肿瘤）的 5- 氟尿嘧啶（5-FU）。

[0783] 为了提高 5-FU 的细胞毒性作用，已经将亚叶酸与此类药物一起使用以调节胸苷酸合成酶的水平，胸苷酸合成酶的水平对确保恶性细胞对 5-FU 作用的敏感是至关重要的。但是，多种因素限制了 5-FU 的应用，例如肿瘤抗性、毒性、包括胃肠和血液作用，并且需要静脉施用。已经采取了多种方法克服这些缺点，所述的方法包括克服 5-FU 的低生物利用度和提高 5-FU 的治疗指数（通过减小全身毒性或通过提高到达肿瘤的活性药物的量）的建议。

[0784] 与 5-FU 相比提供了改善的治疗优势的化合物是卡培他滨，其化学名为 [1-(5- 脱氧- $\beta$ -D- 呋喃核糖基)-5- 氟-1,2- 二氢-2- 氧代-4- 嘧啶基]- 氨基甲酸戊酯。卡培他滨是 5-FU 的前药，该化合物口服施用后吸收很好并且将药理学活性浓度的 5-FU 递送至肿瘤，具有很少活性药物的全身暴露。与 5-FU 相比，也提供了潜在的优势活性，它也可以用于具有延长施用的口服治疗。另一种抗肿瘤核苷衍生物是吉西他滨，其化学名为 2'- 脱氧-2', 2'- 二氟- 胞苷，其用于多种癌症（包括非小细胞肺癌和胰腺癌）的治疗。进一步的抗肿瘤核苷包括阿糖胞苷和氟达拉滨。已经发现阿糖胞苷（也称为 ara-C，化学名为 1- $\beta$ -D- 阿拉伯呋喃糖基胞嘧啶）用于急性粒细胞白血病、慢性粒细胞白血病（粒细胞期）、急性淋巴细胞白血病和红白血病的治疗。

[0785] 氟达拉滨是 DNA 合成酶抑制剂，它的化合物名为 9- $\beta$ -D- 阿拉伯呋喃糖基-2- 氟- 腺嘌呤，并且用于顽固性 B 细胞慢性淋巴细胞白血病的治疗。在抗癌化疗中应用的其它抗代谢药物包括酶抑制剂雷替曲塞、培美曲塞和甲氨蝶呤。

[0786] 雷替曲塞是基于叶酸酯的胸苷合成酶抑制剂，其化学名为 N-[5-[N-[(3,4- 二氢-2- 甲基-4- 氧代-6- 嘧啶基)]- 甲基-N- 甲基氨基]-2- 噻吩甲酰基]-L- 谷氨酸，并且用于晚期结肠直肠癌的治疗。

[0787] 培美曲塞是胸苷合成酶和转移酶抑制剂，其化学名为 N-[4-[2-(2- 氨基-4,7- 二氢-4- 氧代-1H- 吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-5- 基) 乙基] 苯甲酰基]-L- 谷氨酸二钠盐，并且用于以前治疗过的患者中的间皮瘤和局部的晚期或转移的非小细胞肺癌（SCLC）的治疗。

[0788] 甲氨蝶呤是通过二氢叶酸还原酶的抑制而抑制 DNA 的复制进而阻断细胞分裂，导致细胞死亡的抗代谢物，并且其化学名为 N-[4-[(2,4- 二氨基-6- 蝶啶基) 甲基]- 乙基氨基] 苯甲酰基]-L- 谷氨酸，并且可以用于急性淋巴细胞白血病的治疗，也用于乳腺癌、头颈的表皮样癌和肺癌（特别是鳞状细胞和小细胞型肺癌）和晚期非霍奇金淋巴瘤的治疗。

[0789] 生物学活性：如上文描述，本发明组合的抗代谢物干扰对癌细胞的生理学和增殖至关重要的代谢过程并且具有对抗多种癌症的活性。

[0790] 问题：这些抗癌剂具有很多副作用，特别是骨髓抑制和在某些情况中的恶性和腹泻。因此，需要提供应用更少的剂量以减小对患者的潜在的副作用的方法。

[0791] 优选：根据本发明优选应用的抗代谢化合物包括本文指出的抗肿瘤核苷（例如 5- 氟尿嘧啶、吉西他滨、卡培他滨、阿糖胞苷和氟达拉滨）和酶抑制剂（例如雷替曲塞、培美曲塞和甲氨蝶呤）。因此，根据本发明优选应用的抗代谢化合物是包括本文指出的 5- 氟尿嘧啶、吉西他滨、卡培他滨、阿糖胞苷和氟达拉滨的抗肿瘤核苷衍生物。本发明其它优选应用的抗代谢化合物是包括雷替曲塞、培美曲塞和甲氨蝶呤的酶抑制剂。

[0792] 5- 氟尿嘧啶可以很容易商购的，或可以制备得到，例如通过在美国专利说明书

No. 2802005 中描述的制备。吉西他滨是可商购的,例如从 EIl Lilly 和商标为 Gemzar 的公司获得,或可以制备得到,例如通过在欧洲专利说明书 No. 122707 中描述的或与其类似的方法制备。卡培他滨是可商购的,例如以商标名 Xeloda 从 Hoffman-La Roche 公司获得,或可以制备得到,例如通过在欧洲专利说明书 No. 698611 中描述的或与其类似的方法制备。阿糖胞苷是可商购的,例如以商标名 Cytosar 从 Pharmacia and Upjohn 公司获得,或可以制备得到,例如通过在美国专利说明书 No. 3116282 中描述的或与其类似的方法制备。氟达拉滨是可商购的,例如以商标名 Fludara 从 Schering AG 获得,或可以制备得到,例如通过在美国专利说明书 No. 4357324 中描述的或与其类似的方法制备。雷替曲塞是可商购的,例如以商标名 Tomudex 从 AstraZeneca pic 获得,或可以制备得到,例如在通过欧洲专利说明书 No. 239632 中描述的或与其类似的方法制备。培美曲塞是可商购的,例如从 EIl Lilly 和商标为 Alimta 的公司获得,或可以制备得到,例如通过在欧洲专利说明书 No. 432677 中描述的或与其类似的方法制备。甲氨蝶呤是可商购的,例如以商标名 Methotrexate-Lederle 从 Lederle 实验室获得,或可以制备得到,例如通过在美国专利说明书 No. 2512572 中描述的或与其类似的方法制备。在本发明的组合中应用的其它抗代谢物包括 6- 巯基嘌呤、6- 硫代鸟嘌呤、g 拉屈滨、2' - 脱氧考福霉素和羟基脲。

[0793] 特别的实施方案:在一个实施方案中,抗代谢化合物是吉西他滨。在另一个实施方案中,抗代谢化合物是非 5- 氟尿嘧啶或氟达拉滨的抗代谢化合物,例如抗代谢化合物例如吉西他滨、卡培他滨、阿糖胞苷、雷替曲塞、培美曲塞或甲氨蝶呤。

[0794] 剂量学:抗代谢化合物将以一定剂量施用,该剂量取决于以上指出的因素。下文通过实例的方式给出了特别优选的抗代谢物的剂量实例。关于抗肿瘤核苷,有利地以 10 至 2500mg/ 平方米 ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) 身体表面积、例如 700 至 1500 $\text{mg}/\text{m}^2$  的日剂量施用,特别是对于 5-FU,以 200 至 500 $\text{mg}/\text{m}^2$  的剂量施用,对于吉西他滨,以 800 至 1200 $\text{mg}/\text{m}^2$  的剂量施用,对于卡培他滨,以 1000 至 1200 $\text{mg}/\text{m}^2$  的剂量施用,对于阿糖胞苷,以 100 至 200 $\text{mg}/\text{m}^2$  的剂量施用,并且对于氟达拉滨,以 10 至 50 $\text{mg}/\text{m}^2$  的剂量施用。

[0795] 对于下面的酶抑制剂,给出了可能剂量的实例。因此,雷替曲塞可以以约 3 $\text{mg}/\text{m}^2$  的剂量施用,培美曲塞以 500 $\text{mg}/\text{m}^2$  的剂量施用并且甲氨蝶呤是以 30-40 $\text{mg}/\text{m}^2$  的剂量施用。

[0796] 上文给出的剂量通常可以每个疗程施用例如一次、两次或多次,可以重复,例如每 7、14、21 或 28 天。

### [0797] 3. 长春花生物碱

[0798] 在本发明的另一个实施方案中,细胞毒化合物是长春花生物碱。

[0799] 定义:本文所用的术语“长春花生物碱”指的是本文描述的长春花生物碱化合物或长春花生物碱化合物类似物,包括如上所述的它们的离子、盐、溶剂化物、异构体、互变异构体、N- 氧化物、酯、前药、同位素和保护形式(优选它们的盐或互变异构体或异构体或 N- 氧化物或溶剂化物,并且更优选它们的盐或互变异构体或 N- 氧化物或溶剂化物)。

[0800] 技术背景:在本发明的组合中应用的长春花生物碱是类似于或衍生自长春花属植物(长春花)提取液的抗肿瘤长春花生物碱。在这些化合物中,长春碱和长春新碱是治疗白血病、淋巴瘤和睾丸癌的重要的临床药物,并且长春瑞滨具有对抗肺癌和乳腺癌的活性。

[0801] 生物学活性:本发明组合的长春花生物碱是微管蛋白靶向剂并且具有对抗多种癌症(特别是包括白血病、淋巴瘤、睾丸癌、肺癌和乳腺癌的癌症的亚组)的活性。

[0802] 问题：长春花生物碱具有毒理学作用。例如，长春碱引起白细胞减少，该疾病在施用药物后的 7 至 10 天达到最低点，然后紧跟着在 7 天内恢复，同时长春新碱具有某些神经毒性，例如四肢的麻木和震颤、深的腱反射的丧失和远肢肌肉组织的衰弱。长春瑞滨具有某些粒细胞减少形式的毒性，但是与其它长春花生物碱相比具有适度的血小板减少和更小的神经毒性。因此，需要提高抗肿瘤长春花生物碱对抗肿瘤生长的抑制作用并且也需要提供应用更低剂量的抗肿瘤长春花生物碱以减小对患者的潜在的副作用的方法。

[0803] 优选：根据本发明优选应用的抗肿瘤长春花生物碱化合物包括长春地辛、vinorelbine、长春碱、长春新碱和长春瑞滨。根据本发明特别优选应用的抗肿瘤长春花生物碱化合物包括以上涉及的长春碱、长春新碱和长春瑞滨。长春碱是可商购的，例如以注射用的硫酸盐形式从 Eli Lilly 和以商标名为 Velban 的公司获得，并且可以制备得到，例如通过在德国专利说明书 No. 2124023 中描述的或与其类似的方法制备。长春新碱是可商购的，例如以注射用的硫酸盐形式从 Eli Lilly 和以商标名为 Oncovin 的公司获得，并且可以制备得到，例如通过在上文的德国专利说明书 No. 2124023 中描述的或与其类似的方法制备。长春新碱也可以以脂质体制剂以 Onco-TCS™ 获得。长春瑞滨是可商购的，例如以注射用的酒石酸盐形式从 GlaxoWellcome 以商标名为 Navelbine 获得，并且可以制备得到，例如通过在美国专利说明书 No. 4307100 中描述的或与其类似的方法制备。其它的抗肿瘤长春花生物碱可以通过常规方法制备，例如通过类似于上文在长春碱、长春新碱和长春瑞滨中描述的方法制备。

[0804] 另一种优选的长春花生物碱是长春地辛。长春地辛是二聚的长春花属生物碱长春碱的合成衍生物，可以从 Lilly 以商标名 Eldisine 和从 Shionogi 以商标名 Fildesin 得到。在 Lilly 专利 DE 2415980 (1974) 和 C. J. Burnett 等人, J. Med. Chem. 21, 88 (1978) 中描述了长春地辛的详细合成。

[0805] 特别的实施方案：在一个实施方案中，长春花生物碱选自长春碱、长春新碱和长春瑞滨。在另一个实施方案中，长春花生物碱是长春碱。

[0806] 剂量学：在每个疗程中，抗肿瘤长春花生物碱有利地以 2 至 30mg/平方米 (mg/m<sup>2</sup>) 身体表面积的量施用，特别是对于长春碱以约 3 至 12mg/m<sup>2</sup> 的量施用，对于长春新碱以约 1 至 2mg/m<sup>2</sup> 的量施用，并且对于长春瑞滨以约 10 至 30mg/m<sup>2</sup> 的量施用。这些剂量可以每个疗程施用例如一次、两次或多次，可以重复，例如每 1、14、21 或 28 天。

#### [0807] 4. 紫杉烷类

[0808] 在本发明的另一个实施方案中，细胞毒化合物是紫杉烷。

[0809] 定义：本文所用的术语“紫杉烷类”指的是本文描述的紫杉烷类化合物或紫杉烷类化合物的类似物，包括如上所述的它们的离子、盐、溶剂化物、异构体、互变异构体、N-氧化物、酯、前药、同位素和保护形式（优选它们的盐或互变异构体或异构体或 N-氧化物或溶剂化物，并且更优选它们的盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物）。

[0810] 技术背景：紫杉烷类是一类具有紫杉环系并且涉及或衍生自某些紫杉（紫杉属）属树的提取液的化合物。已经发现这些化合物具有抗肿瘤细胞生长的活性并且在此种情况中的某些化合物已经在临床上用于多种癌症的治疗。因此，例如紫杉醇是从紫杉树、短叶紫杉树的树皮中分离的二萜，并且可以通过从 10-乙酰基巴卡丁 (baccatin)（从紫杉树的针叶和小树枝得到的前体）开始的半合成制备，或者通过全合成制备，参见 Holton

等人, J. Am. Chem. Soc. 116 :1597-1601(1994) 和 Nicholau 等人, Nature 367 :630(1994)。紫杉醇具有抗肿瘤活性并且最近已经确定了它的抗肿瘤活性是由于微管聚合作用的增强, Kumar N. J., Biol. Chem. 256 :1035-1041(1981) ;Rowinsky 等人, J. Natl. Cancer Inst. 82 :1247-1259(1990) 和 Schiff 等人, Nature 277 :655-667(1979)。紫杉醇现在临床试验的数种人类肿瘤中已经表现出了作用, McGuire 等人, Ann. Int. Med., 111 :273-279(1989) ;Holmes 等 人, J. Natl. Cancer Inst. 83 :1797-1805(1991) ;Kohn 等 人, J. Natl. Cancer Inst. 86 :18-24(1994) 和 Kohn 等 人, American Society for Clinical Oncology, 12(1993)。紫杉醇已经例如用于卵巢癌和乳腺癌的治疗。

[0811] 在临床中已经被应用的另一种紫杉烷类化合物是多西他赛, 该化合物在晚期乳腺癌的治疗中表现出了特别的作用。多西他赛在赋形剂系统中表现出比紫杉醇更好的溶解性, 因此提高了其可以在药物组合中处理或使用容易性。

[0812] 生物学活性: 本发明组合的紫杉烷类化合物是微管蛋白靶向剂并且具有对抗多种癌症的活性。

[0813] 问题: 紫杉烷类的临床应用已经表现出了窄的治疗指数, 很多患者不能耐受与其应用相关的副作用。因此, 需要提高紫杉烷类化合物对抗肿瘤生长的抑制作用并且也需要提供应用更低剂量的紫杉烷化合物以减小对患者的潜在的有利的副作用的方法。

[0814] 优选: 根据本发明优选应用的紫杉烷类化合物包括本文涉及的紫杉醇或多西他赛。紫杉醇是可商购的, 例如以商品名 Taxol 从 Bristol MyersSquibb 得到, 并且多西他赛是可商购的, 例如以商品名 Taxotere 从 Rhone-Poulenc Rorer 得到。两种化合物和其它的紫杉烷类化合物可以用常规的方法制备, 例如通过在 EP 253738、EP 253739 和 WO 92/09589 中描述的方法或与其类似的方法制备。

[0815] 特别的实施方案: 在一个实施方案中, 紫杉烷类化合物是紫杉醇。在另一个实施方案中, 紫杉烷类化合物是多西他赛。

[0816] 剂量学: 在每个疗程中, 紫杉烷类化合物有利地以 50 至 400mg/平方米 (mg/m<sup>2</sup>) 身体表面积剂量、例如以 75 至 250mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用, 特别是对于紫杉醇以约 175 至 250mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用并且对于多西他赛以约 75 至 150mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用。这些剂量可以每个疗程施用例如一次、两次或多次, 可以重复, 例如每 7、14、21 或 28 天。

#### [0817] 5. 铂化合物

[0818] 在另一个实施方案中, 细胞毒化合物是铂化合物。

[0819] 定义: 本文所用的术语“铂化合物”指的是任何抑制肿瘤生长的铂化合物, 该化合物包括铂配位化合物、以离子形式提供铂的化合物、本文描述的铂化合物的类似物, 包括如上所述的它们的离子、盐、溶剂化物、异构体、互变异构体、N-氧化物、酯、前药、同位素和保护形式(优选它们的盐或互变异构体或异构体或N-氧化物或溶剂化物, 并且更优选它们的盐或互变异构体或N-氧化物或溶剂化物)。

[0820] 技术背景: 在癌症的化疗中, 顺铂(顺-二氨基二氯铂(II))在多种人类实体恶性肿瘤(例如睾丸癌、卵巢癌和头颈癌、膀胱癌、食道癌和肺癌)的治疗中已经被成功使用多年。

[0821] 最近, 其它的二氨基-铂络合物, 例如卡铂(二氨基(1,1-环丁烷-二羧酸根)合铂(II)), 在多种人类实体恶性肿瘤的治疗中也已经表现出了作为化疗剂的作用, 卡铂已经

被批准用于卵巢癌的治疗。进一步的抗肿瘤铂化合物是奥沙利铂 (L-OHP), 该化合物是第三代基于二氨基-环己烷铂的细胞毒药物, 该化合物的名称为 (1,2-二氨基环己烷) 草酸根合铂 (II)。基于它没有肾毒性并且与顺铂相比在癌症的临床前模型中具有更高的功效, 奥沙利铂用于例如转移性结肠直肠癌的治疗。

[0822] 生物学活性: 本发明组合的铂化合物具有对抗多种癌症的活性, 特别是对抗包括实体恶性肿瘤 (例如睾丸癌)、卵巢癌、转移性结肠直肠癌和头颈癌、膀胱癌、食道癌和肺癌的癌症亚组。

[0823] 问题: 尽管顺铂和其它的铂化合物在人类中已经被广泛用作化疗剂, 但是它们不是在所有的患者中或对抗所有类型的肿瘤中都是治疗有效的。另外, 此类化合物需要在相对高剂量水平施用, 这样可以导致毒性问题, 例如肾损伤。并且特别是顺铂, 该化合物引起患者不同程度的恶心和呕吐, 以及白细胞减少、贫血和血小板减少。因此, 需要提高作用并且也需要提供使用更低剂量以减小对患者的潜在的副作用的方法。

[0824] 优选: 根据本发明优选应用的铂化合物包括顺铂、卡铂和奥沙利铂。其它的铂化合物包括氯 (二亚乙基二氨基)-合铂 (II) 氯化物; 二氯 (亚乙基二氨基)-合铂 (II)、螺铂; 异丙铂; 二氨基 (2-乙基丙二酸根) 合铂 (II); (1,2-二氨基环己烷) 丙二酸根合铂 (II); (4-羧基邻苯二甲酸根)-(1,2-二氨基环己烷) 合铂 (II); (1,2-二氨基环己烷)-(异柠檬酸根) 合铂 (II); (1,2-二氨基环己烷)-顺-(丙酮酸根) 合铂 (II); onnaplatin 和四铂。顺铂是可商购的, 例如以商标名 Platinol 从 Bristol-Myers Squibb 公司获得, 其是用于与水、无菌生理盐水或其它适合的载体组合的粉末。顺铂也可以制备得到, 例如通过 G. B. Kauffman 和 D. O. Cowan, Inorg. Synth. 7, 239 (1963) 中描述的或与其类似的方法制备。卡铂是可商购的, 例如以商标名 Paraplatin 从 Bristol-Myers Squibb 公司获得, 或可以制备得到, 例如通过美国专利说明书 No. 4140707 中描述的或与其类似的方法制备。奥沙利铂是可商购的, 例如以商标名 Eloxatin 从 Sanofi-Synthelabo 公司获得, 或可以制备得到, 例如通过美国专利说明书 No. 4169846 中描述的或与其类似的方法制备。其它的铂化合物和他们的药物组合物可商购的和 / 或可以通过常规技术制备。

[0825] 特别的实施方案: 在一个实施方案中, 铂化合物选自氯 (二亚乙基二氨基)-合铂 (II) 氯化物; 二氯 (亚乙基二氨基)-合铂 (II); 螺铂; 异丙铂; 二氨基 (2-乙基丙二酸根) 合铂 (II); (1,2-二氨基环己烷) 丙二酸根合铂 (II); (4-羧基邻苯二甲酸根)-(1,2-二氨基环己烷) 合铂 (II); (1,2-二氨基环己烷)-(异柠檬酸根) 合铂 (II); (1,2-二氨基环己烷)-顺-(丙酮酸根) 合铂 (II); onnaplatin; 四铂; 顺铂; 卡铂和奥沙利铂。在另一个实施方案中, 铂化合物是非顺铂的铂化合物, 例如铂化合物例如氯 (二亚乙基二氨基)-合铂 (II) 氯化物; 二氯 (亚乙基二氨基)-合铂 (II); 螺铂; 异丙铂; 二氨基 (2-乙基丙二酸根) 合铂 (II); (1,2-二氨基环己烷) 丙二酸根合铂 (II); (4-羧基邻苯二甲酸根)-(1,2-二氨基环己烷) 合铂 (II); (1,2-二氨基环己烷)-(异柠檬酸根) 合铂 (II); (1,2-二氨基环己烷)-顺-(丙酮酸根) 合铂 (II); onnaplatin; 四铂; 卡铂或奥沙利铂, 优选选自卡铂和奥沙利铂。

[0826] 剂量学: 铂配位化合物有利地以 1 至 500mg/平方米 ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) 身体表面积、例如以 50 至 400 $\text{mg}/\text{m}^2$  的剂量施用, 特别是对于顺铂以约 75 $\text{mg}/\text{m}^2$  的剂量施用, 对于卡铂以约 300 $\text{mg}/\text{m}^2$  的剂量施用并且对于奥沙利铂以约 50-100 $\text{mg}/\text{m}^2$  的剂量施用。这些剂量可以每个

疗程施用例如一次、两次或多次,可以重复,例如每 7、14、21 或 28 天。

#### [0827] 6. 拓扑异构酶 2 抑制剂

[0828] 在本发明的另一个实施方案中,细胞毒化合物是拓扑异构酶 2 抑制剂。

[0829] 定义:本文所用的术语“拓扑异构酶 2 抑制剂”指的是上文描述的拓扑异构酶 2 抑制剂或拓扑异构酶 2 抑制剂类似物,包括如上所述的它们的离子、盐、溶剂化物、异构体、互变异构体、N-氧化物、酯、前药、同位素和保护形式(优选它们的盐或互变异构体或异构体或 N-氧化物或溶剂化物,并且更优选它们的盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物)。

[0830] 技术背景:一类重要的抗癌药物是酶拓扑异构酶 2 抑制剂,其在 DNA 转录和翻译中引起双链断裂以释放压力积累(stress build-up)。因此,抑制该酶功能的化合物是细胞毒化合物并且用作抗癌药物。

[0831] 在癌症的化疗中已经被发展和应用的拓扑异构酶 2 抑制剂是鬼臼毒素。这些药物通过下述作用机制起作用,该机制涉及通过与 DNA 拓扑异构酶 2 作用或形成自由基诱导 DNA 链断裂。从欧伤牛草根植物中提取出的鬼臼毒素是两种苷类发展的母体化合物,这两种苷类在多种人类肿瘤(包含儿科白血病、小细胞肺癌、睾丸肿瘤、霍奇金病和大细胞淋巴瘤)中表现了显著的治疗活性。这些衍生物是依托泊苷(VP-16),其化学名为 4'-去甲基表鬼臼毒素 9-[4,6-O-(R)-亚乙基-β-D-吡喃葡萄糖苷],和替尼泊苷,其化学名为 4'-去甲基表鬼臼毒素 9-[4,6-O-(R)-2-噻吩亚甲基-β-D-吡喃葡萄糖苷]。

[0832] 但是,依托泊苷和替尼泊苷都具有某些毒副作用,特别是骨髓抑制。另一类重要的拓扑异构酶 2 抑制剂是蒽环霉素衍生物,其是重要的抗肿瘤药物并且包括从真菌 *Streptomyces peuticus* var. *caesius* 及其衍生物中得到的抗生素,其特征在于具有四环结构和通过糖苷键连接的不普通的糖六碳氨糖。在这些化合物中,应用最广的包括柔红霉素(化学名为 7-(3-氨基-2,3,6-三脱氧-L-来苏己糖基氧基(lyxohexosyloxy))-9-乙酰基-7,8,9,10-四氢-6,9,11-三羟基-4-甲氧基-5,12-并四苯醌)、多柔比星(化学名为 10-[(3-氨基-2,3,6-三脱氧-α-L-来苏己糖(lyxohexo)吡喃糖基)氧基]-7,8,9,10-四氢-6,8,11-三羟基-8-(羟基乙酰基)-1-甲氧基-5,12-并四苯二酮)和伊达比星(化学名为 9-乙酰基-[(3-氨基-2,3,6-三脱氧-α-L-来苏己糖吡喃糖基)氧基]-7,8,9,10-四氢-6,9,11-三羟基-5,12-并四苯二酮)。

[0833] 柔红霉素和伊达比星已经被主要用于急性白血病的治疗,而多柔比星在对抗人类肿瘤(包括多种实体瘤,特别是乳腺癌)中显示了更大的活性。在癌症化疗中应用的另一种蒽环霉素衍生物是表柔比星。表柔比星的化学名为 (8S-顺)-10-[(3-氨基-2,3,6-三脱氧-α-L-阿拉伯糖基-己糖吡喃糖基)氧基]-7,8,9,10-四氢-6,8,11-三羟基-8-(羟基乙酰基)-1-甲氧基-5,12-并四苯二酮,其为多柔比星类似物,具有涉及通过肝中尿苷二磷酸葡萄糖醛酸基转移酶进行葡萄糖醛酸化的分解代谢途径(与多柔比星不同),认为这是由于该化合物具有更短的半衰期和更小的心脏毒性。该化合物已经被用于多种癌症(包括宫颈癌、子宫内膜癌、晚期乳腺癌和膀胱癌)的治疗,但是具有骨髓抑制和心脏毒性的副作用。后一种副作用是典型的蒽环霉素衍生物的副作用,在较高剂量下蒽环霉素衍生物通常表现出严重的心肌病,这就限制了这些化合物可以施用的剂量。拓扑异构酶 2 抑制剂的进一步的类型是以米托蒽醌为代表,其化学名为 1,4-二羟基-5,8-二[[2-[(2-羟基乙基)氨基]乙基]氨基]-9,10-蒽二酮,并且其用于多发性硬化、非霍奇金淋巴瘤、急性髓性白

血病和乳腺肿瘤、前列腺肿瘤和肝肿瘤的治疗。其它包括洛索蒽醌和放线菌素 D。

[0834] 施用盐酸米托蒽醌的副作用包括骨髓抑制、恶心、呕吐、口炎、脱发,但是心脏毒性小于蒽环类。

[0835] 生物学活性:本发明组合中的拓扑异构酶 2 抑制剂具有对抗上述多种癌症的活性。特别是,它们具有对抗包括白血病(例如急性白血病)、小细胞肺癌、睾丸癌、霍奇金病、大细胞淋巴瘤、乳腺癌、宫颈癌、子宫内膜癌、晚期乳腺癌和膀胱癌的癌症亚组的活性。

[0836] 问题:如以上提及的,此类细胞毒化合物与副作用相关。因此,需要提供应用更低剂量以减小对患者的潜在的有利的副作用的方法。

[0837] 优选:根据本发明优选施用的拓扑异构酶 2 抑制剂包括本文定义的蒽环霉素衍生物、米托蒽醌和鬼臼毒素衍生物。

[0838] 根据本发明优选应用的抗肿瘤蒽环霉素衍生物包括上文涉及的柔红霉素、多柔比星、伊达比星和表柔比星。柔红霉素是可商购的,例如以商标名 Cerubidine 从 Bedford 实验室以盐酸盐形式获得,或可以制备得到,例如通过美国专利说明书 No. 4020270 中描述的或与其类似的方法制备。多柔比星是可商购的,例如以商标名 Adriamycin 从 Pharmacia and Upjohn 公司获得,或可以制备得到,例如通过美国专利说明书 No. 3803124 中描述的或与其类似的方法制备。多柔比星衍生物包括聚乙二醇化(pegylated)的多柔比星盐酸盐和脂质体包囊的多柔比星柠檬酸盐。聚乙二醇化的多柔比星盐酸盐是可商购获得的,以商标名 Caelyx 从 Schering-Plough Pharmaceuticals 获得;脂质体包囊的多柔比星柠檬酸盐是可商购的,例如以商品名 Myocet 从 Elan 公司获得。伊达比星是可商购的,例如以商标名 Idamycin 从 Pharmacia & Upjohn 以盐酸盐获得,或可以制备得到,例如通过美国专利说明书 No. 4046878 中描述的或与其类似的方法制备。表柔比星是可商购的,例如以商标名 Pharmorubicin 从 Pharmacia and Upjohn 公司获得,或可以制备得到,例如通过美国专利说明书 No. 4058519 中描述的或与其类似的方法制备。米托蒽醌是可商购的,例如以商标名 Novantrone 从 OSI Pharmaceuticals 获得,或可以制备得到,例如通过美国专利说明书 No. 4197249 中描述的或与其类似的方法制备。

[0839] 可以通过常规方法制备其它的抗肿瘤蒽环霉素衍生物,例如通过类似于上文在特别的蒽环霉素衍生物中描述的方法制备。

[0840] 根据本发明优选应用的抗肿瘤鬼臼毒素衍生物包括上文涉及的依托泊苷和替尼泊苷。依托泊苷是可商购的,例如以商标名 VePesid 从 Bristol-Myers Squibb 公司获得,或可以制备得到,例如通过欧洲专利说明书 No. 111058 中描述的或与其类似的方法制备。替尼泊苷是可商购的,例如以商标名 Vumon 从 Bristol-Myers Squibb 公司获得,或可以制备得到,例如通过 PCT 专利说明书 No. WO 93/02094 中描述的或与其类似的方法制备。可以通过常规方法制备其它的抗肿瘤鬼臼毒素衍生物,例如通过类似于上文在依托泊苷和替尼泊苷中描述的方法制备。

[0841] 特别的实施方案:在一个实施方案中,拓扑异构酶 2 抑制剂是蒽环霉素衍生物、米托蒽醌或鬼臼毒素衍生物。在另一个实施方案中,拓扑异构酶 2 抑制剂选自柔红霉素、多柔比星、伊达比星和表柔比星。在进一步的实施方案中,拓扑异构酶 2 抑制剂选自依托泊苷和替尼泊苷。因此,在优选的实施方案中,拓扑异构酶 2 抑制剂是依托泊苷。在另一个实施方案中,拓扑异构酶 2 抑制剂是非多柔比星的蒽环霉素衍生物,例如拓扑异构酶 2 抑制剂例如

柔红霉素、伊达比星和表柔比星。

[0842] 剂量学：抗肿瘤蒽环霉素衍生物有利地以 10 至 150mg/平方米 (mg/m<sup>2</sup>) 身体表面积、例如 15 至 60mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用，特别的是对于多柔比星以约 40 到 75mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用，对于柔红霉素以约 25 至 45mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用，对于伊达比星以约 10 至 15mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用并且对于表柔比星以约 100 至 120mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用。

[0843] 米托蒽醌有利地以约 12 至 14mg/m<sup>2</sup> 的剂量作为约每 21 天短的静脉输注施用。

[0844] 抗肿瘤鬼臼毒素衍生物有利地以 30 至 300mg/平方米 (mg/m<sup>2</sup>) 身体表面积、例如 50 至 250mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用，特别的是对于依托泊苷以约 35 至 100mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用并且对于替尼泊苷以约 50 至 250mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用。

[0845] 上文指出的剂量通常可以每个疗程施用例如一次、两次或多次，可以重复，例如每 7、14、21 或 28 天。

[0846] 根据本发明，抗生素博来霉素也可以作为辅助化合物用作细胞毒药物。

#### [0847] 7. 信号抑制剂

[0848] 在本发明的另一个实施方案中，组合包含信号抑制剂。

[0849] 定义：本文所用的术语“信号抑制剂”指的是本文描述的信号抑制剂或信号抑制剂类似物，包括如上所述的它们的离子、盐、溶剂化物、异构体、互变异构体、N-氧化物、酯、前药、同位素和保护形式（优选它们的盐或互变异构体或异构体或 N-氧化物或溶剂化物，并且更优选它们的盐或互变异构体或 N-氧化物或溶剂化物）。

[0850] 技术背景：恶性肿瘤是细胞增殖失控的产物。通过生长促进和生长抑制因子之间微妙的平衡控制细胞生长。在正常的组织中，这些因子的产生和活性引起受控和调节方式的分化细胞生长，这样就保持了器官正常的完整性和功能性。恶性细胞失去了这种控制；自然平衡被扰乱（通过多种机制）并且失去调节，异常细胞生长发生。

[0851] 表皮生长因子 (EGF) 是生长的动力之一，并且 EGF 的受体 (EGFR) 已经涉及多种人类实体瘤（包括肺、乳腺、前列腺、结肠、卵巢、头和颈的实体瘤）的发展和进程。EGFR 是称为 EGFR (HER1 或 ErbB1)、ErbB2 (HER2/neu)、ErbB3 (HER3) 和 ErbB4 (HER4) 的四种受体家族的成员。这些受体是存在于细胞膜上的大蛋白，各自具有特别的外部配体结合域、跨膜区和内部域并且具有酪氨酸激酶活性。当 EGF 和 EGFR 接触时，其活化了酪氨酸激酶，触发了导致细胞生长和增殖反应。在多种类型癌细胞的表面发现了异常高水平的 EGFR，在 EGF 的存在下其可以过度分化。因此，在癌症治疗中 EGFR 活性的抑制成为化疗研究的靶标。通过在细胞表面直接干扰靶标 EGFR 而影响这种抑制，例如通过应用抗体，或通过抑制酪氨酸激酶的活性以及活化的受体。

[0852] 靶标 EGFR 的抗体的实例是单克隆抗体曲妥单抗和西妥昔单抗。

[0853] 对于某些患者，已经表明原发性乳腺癌中人类表皮生长因子受体 2 蛋白 (HER2) 的扩增与临床预后差有关。曲妥单抗是高度纯化的重组 DNA 衍生化的人源化单克隆 IgG1 κ 抗体，该抗体高亲和并且高特异地与 HER2 受体的细胞外区域结合。体外和体内临床前研究表明单独或与紫杉醇或卡铂组合施用曲妥单抗显著抑制了乳腺肿瘤的生长，乳腺肿瘤衍生自 HER2 基因产物过表达的细胞系。在临床研究中表明曲妥单抗在乳腺癌的治疗中具有临床活性。曲妥单抗最普通的副作用是发热和寒战、疼痛、无力、恶心、呕吐、腹泻、头痛、呼吸困难、鼻炎和失眠。曲妥单抗已经被批准用于转移性乳腺癌的治疗，该乳腺癌涉及在已经接

受一种或多种化疗方案的患者中 HER2 蛋白的过表达。

[0854] 西妥昔单抗已经被用于 irotecan- 顽固性结肠直肠癌的治疗。它作为单一药物和与其它药物组合用于多种其它癌症（例如头颈癌、转移性胰腺癌和非小细胞肺癌）的治疗也正在评估。西妥昔单抗的施用可以引起严重的副作用，包括呼吸困难和低血压。

[0855] 靶标是 EGFR 酪氨酸激酶活性的药物的实例包括酪氨酸激酶抑制剂吉非替尼 (gefitinib) 和埃罗替尼 (erlotinib)。吉非替尼的化学名为 4-(3-氯-4-氟苯胺基)-7-甲氧基-6-(3-吗啉代丙氧基)喹唑啉，该药物用于治疗非小细胞肺癌，并且也正发展用于 EGF 受体过表达的其它实体瘤（例如乳腺癌和结肠直肠癌）的治疗。已经发现接受吉非替尼的患者可能发生引起肺部炎症的间质性肺病。在接受吉非替尼的患者中也观察到了眼刺激。埃罗替尼的化学名为 N-(3-乙炔基-苯基)-6,7-二(2-甲氧基乙氧基)-4-喹唑啉，该药物已经用于治疗非小细胞肺癌，并且也正发展用于多种其它的实体瘤（例如胰腺癌）的治疗，最普遍的副作用是疹、食欲不振和疲劳；已经被报道的更严重的副作用是间质性肺病。

[0856] 作为抗癌研究的靶标引起注意的另一种生长因子是血管内皮生长因子 (VEGF)。VEGF 通过与细胞表面受体家族相关联而起作用并且在血管生成过程中（包括创伤愈合、视网膜病变、银屑病、炎症障碍、肿瘤生长和转移）是重要的血管发生调节剂。研究已经表明在人类恶性疾病中 VEGF 的过表达与侵入和转移是非常相关的。

[0857] 靶标是 VEGF/VEGF 受体系统的抗体的实例是单克隆抗体贝伐单抗，其是重组的人源化单克隆 IgG1 抗体，该抗体与生长因子 VEGF 结合并且抑制生长因子 VEGF。贝伐单抗已经被用于治疗结肠直肠癌，例如与 5-氟尿嘧啶组合。贝伐单抗作为潜在的其它实体瘤（例如转移性乳腺癌、转移性非小细胞肺癌和肾细胞癌）的治疗也被发展。与贝伐单抗相关的最严重的副作用包括胃肠穿孔、高血压危象、肾病综合征和充血性心力衰竭。发展中的其它治疗剂（该治疗剂由该生长因子起始的信号转导级联中在不同点靶向 VEGF 的作用）包括舒尼替尼 (sunitinib)，该药物由 Sugen/Pfizer 以商标名 Sutent 销售并且抑制 VEGF 受体激酶活性。在胃肠肿瘤的 III 期试验中已经表明了 Sutent 的功效。

[0858] 在肿瘤发展中另一种重要的生长因子是血小板衍生的生长因子 (PDGF)，该生长因子包括通过细胞表面酪氨酸激酶受体 (PDGFR) 发信号并且刺激多种细胞功能（包括生长、增殖和分化）的肽生长因子家族。已经在多种不同的实体瘤（包括成胶质细胞瘤和前列腺癌）中表明了 PDGF 的表达。酪氨酸激酶抑制剂甲磺酸伊马替尼的化学名为 4-[(4-甲基-1-哌嗪基)甲基]-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-基吡啶基]氨基]-苯基]苯甲酰胺甲磺酸盐，其阻断 Bcr-Abl 癌蛋白质和细胞表面酪氨酸激酶受体 c-Kit 的活性，并且其被批准用于治疗慢性髓样白血病和胃肠基质瘤。甲磺酸伊马替尼也是潜在的 PDGFR 激酶抑制剂并且基于在这些疾病中在 PDGFR 中活化突变的证据，正在被评估用于慢性粒-单核细胞白血病和多形性成胶质细胞瘤的治疗。最常被报道的药物相关的副作用是水肿、恶心、呕吐、痛性痉挛和肌与骨骼痛。

[0859] 靶向癌症化疗的进一步的生长因子是 Raf 的抑制，Raf 在触发细胞生长的信号转导途径中是关键酶。在大多数癌症（包含三分之二的黑素瘤）的发生中该途径的异常活化是共同的因素。通过阻断 Raf 激酶的作用可能逆转这些肿瘤的进程。此类抑制剂之一是索拉非尼 (sorafenib)，其化学名为 4-(4-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯氧基)-N2-甲基吡啶-2-甲酰胺。索拉非尼靶向 Raf 信号传导途径以抑制细胞增殖并且靶向

VEGFR/PDGFR 信号级联以抑制肿瘤血管发生。在 Ras 途径中 Raf 激酶是特别的酶。在所有人类癌症中约 20%（包括 90%胰腺癌, 50%结肠癌和 30%非小细胞肺癌）发生 Ras 基因的突变。索拉非尼正被研究用于包括肝和肾癌的多种癌症的治疗。索拉非尼最共同的副作用是疼痛、肿胀、手和 / 或脚发红和疹、疲劳和腹泻。

[0860] 生物学活性: 本发明组合的信号抑制剂是上文描述的细胞信号蛋白的特异的抑制剂并且具有对抗多种癌症的活性。式 I 化合物与信号抑制剂的组合在治疗和诊断多种类型的癌症中可能是有益的。与分子靶向药物（例如信号抑制剂, 例如易瑞沙 (Iressa)、阿瓦斯丁 (Avastin)、曲妥单抗或 Gleevec™) 的组合将会发现与癌症有关的特别的应用, 此类癌症表达或活化相关的分子靶标, 例如 EGF 受体、VEGF 受体、ErbB2、BCRab1、c-kit 和 PDGF。应用本领域技术人员已知的和本文描述例如 RT-PCR 和 FISH 的技术诊断此类肿瘤。

[0861] 问题: 需要提高信号抑制剂对抗肿瘤生长的抑制作用并且也需要提供应用更低剂量的信号抑制剂以减小对患者的潜在的有利的副作用的方法。

[0862] 优选: 根据本发明优选应用的信号抑制剂包括本文涉及的靶向 EGFR 的抗体（例如单克隆抗体曲妥单抗和西妥昔单抗）、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂（例如吉非替尼和埃罗替尼）、VEGF 靶向抗体贝伐单抗、PDGFR 抑制剂（例如甲磺酸伊马替尼）和 Raf 抑制剂（例如索拉非尼）。

[0863] 优选的靶向 EGFR 的抗体包括单克隆抗体曲妥单抗和西妥昔单抗。曲妥单抗是可商购的, 以商标名 Herceptin 从 Genentech 公司获得, 或可以通过美国专利说明书 No. 5821337 中描述的方法获得。西妥昔单抗是可商购的, 以商标名 Erbitux 从 Bristol-Myers Squibb 公司获得, 或可以通过 PCT 专利说明书 No. WO 96/40210 中描述的方法获得。

[0864] 优选的 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂包括吉非替尼和埃罗替尼。吉非替尼是可商购的, 以商标名 Iressa 从 AstraZeneca pic 获得, 或可以通过 PCT 专利说明书 No. WO 96/33980 中描述的方法获得。埃罗替尼是可商购的, 以商标名 Tarceva 从 Pfizer 公司获得, 或可以通过 PCT 专利说明书 No. WO96/30347 中描述的方法获得。

[0865] 优选的靶向 VEGF 的抗体是贝伐单抗, 其是可商购的, 以商品名 Avastin 从 Genentech 公司获得, 或可以通过 PCT 专利说明书 No. WO94/10202 中描述的方法获得。

[0866] 优选的 PDGFR 抑制剂是甲磺酸伊马替尼, 其是可商购的, 以商品名 Gleevec™ (a. k. a. Glivec ®) 从 Novartis AG 获得, 或可以通过欧洲专利说明书 No. 564409 中描述的方法获得。

[0867] 优选的 Raf 抑制剂是索拉非尼, 其是可商购的, 从 Bayer AG 获得, 或可以通过 PCT 专利说明书 No. WO 00/42012 中描述的方法获得。

[0868] 特别的实施方案: 在一个实施方案中, 信号抑制剂是吉非替尼（易瑞沙）。在另一个实施方案中, 信号抑制剂选自曲妥单抗、西妥昔单抗、吉非替尼、埃罗替尼、贝伐单抗、甲磺酸伊马替尼和索拉非尼。

[0869] 剂量学: 关于 EGFR 抗体, 它们通常以 1 至 500mg/平方米 (mg/m<sup>2</sup>) 身体表面积的剂量施用, 曲妥单抗有利地以 1 至 5mg/m<sup>2</sup> 身体表面积、特别是 2 至 4mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用; 西妥昔单抗有利地以约 200 至 400mg/m<sup>2</sup>、优选约 250mg/m<sup>2</sup> 的剂量施用。

[0870] 关于 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂, 它们通常以 100 至 500mg 的日口服剂量施用, 例如

吉非替尼以约 250mg 的剂量施用并且埃罗替尼以约 150mg 的剂量施用。

[0871] 关于 VEGF 单克隆抗体贝伐单抗,它通常以约 1 至 10mg/kg、例如约 5mg/kg 的剂量施用。

[0872] 关于 PDGF 抑制剂伊马替尼,它通常以每天约 400 至 800mg/kg、优选每天约 400mg 的剂量施用。

[0873] 关于 Raf 抑制剂索拉非尼,它仍在评价中,但是可能的剂量是每天约 800mg。

[0874] 这些剂量通常可以每个疗程施用例如一次、两次或多次,可以重复,例如每 7、14、21 或 28 天。

[0875] PKB 途径抑制剂

[0876] 在本发明组合中应用的另一类优选的信号抑制剂是 PKB 途径抑制剂。PKB 途径抑制剂是抑制 PKB 活化、激酶自身的活性或调节下游靶标、阻断途径的增殖性和细胞存活作用的那些化合物。途径中的靶向酶包括磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K)、PKB 自身、雷帕霉素的哺乳动物靶标 (MTOR)、PDK-1 和 p70 S6 激酶和 forkhead 易位。

[0877] PI 3- 激酶 /PKB/PTEN 途径的多种组分涉及瘤形成。除生长因子受体酪氨酸激酶外,整合蛋白-依赖性细胞粘附和 G- 蛋白偶联受体通过衔接分子直接或间接活化 PI 3- 激酶。在很多恶性中都表现出了 PTEN(在癌症中 p53 后最普遍的突变的肿瘤抑制基因)功能丧失、PI 3 激酶中的致癌性突变、PI 3 激酶的扩增和 PKB 的过表达。另外,通过刺激胰岛素样生长因子受体而通过 PI 3- 激酶 /PKB 途径持续发信号是对抗表皮细胞生长因子抑制剂的机制。

[0878] 在多种人类肿瘤中编码 p110 $\alpha$  的基因中发现非随机的、体细胞突变,表明突变的 PI 3- 激酶的致癌作用 (Samuels 等人,Science,304 554, April2004)。在下列人类肿瘤中已经检测到了 p110 $\alpha$  的突变:结肠癌 (32%)、肝细胞癌 (36%) 和子宫内膜癌和明细胞癌 (20%)。现在 p110 $\alpha$  在乳腺肿瘤中是最常见的突变基因 (25-40%)。Forkhead 家族易位通常发生在急性白血病中。

[0879] 由于在癌细胞中预计此类药物将会抑制增殖并且超越对细胞毒药物的抗性,因此 PI 3- 激酶 /PKB/PTEN 途径在癌症药物的发展中是关注的靶标。PKB 途径抑制剂的实例包括 PI3K 抑制剂 (例如 Semaphore)、SF1126 和 MTOR 抑制剂 (例如雷帕霉素类似物)。来自 Novartis 的 RAD 001(依维莫司)是口服有效的化合物雷帕霉素的衍生物。该化合物是新的 大环内酯。其正在被发展为作为免疫抑制剂和抗癌剂应用的抗增殖药物。RAD001 通过它对细胞内受体蛋白 FKBP-12 的高亲和力在生长因子依赖性细胞增殖中发挥它的活性。然后产生的 FKBP-12/RAD001 复合体与 mTOR 结合以抑制下游信号事件。目前该化合物在多种肿瘤学适应症的临床发展中。来自 Wyeth Pharmaceuticals 的 CCI 779(temsirolemus) 和来自 AriadPharmaceuticals 的 AP23573 也是雷帕霉素类似物。来自 AriadPharmaceutical 的 AP23841 和 AP23573 也靶向 mTOR。来自 Harvard 的钙调蛋白抑制剂是 forkhead 易位抑制剂 (Nature Reviews drug discovery,Exploiting the PI3K/AKT Pathway for Cancer Drug Discovery ;Bryan T.Hennessy,Debra L.Smith,Prahlad T.Ram,Yiling Lu 和 Gordon B.Mills ;December 2005, Volume 4 ;pages 988-1004)。

[0880] 本发明组合中优选应用的 PKB 途径抑制剂包括下文更详细描述 PKB 抑制剂。

[0881] 定义:本文所用的术语“PKB 抑制剂”定义了抑制或调节蛋白激酶 B(PKB) 的化合

物,包括如上所述的它们的离子、盐、溶剂化物、异构体、互变异构体、N-氧化物、酯、前药、同位素和保护形式(优选它们的盐或互变异构体或异构体或N-氧化物或溶剂化物,并且更优选它们的盐或互变异构体或N-氧化物或溶剂化物)。

[0882] 技术背景:KRX-0401(哌立福辛/NSC 639966)是合成的取代的杂环烷基胆碱磷酸,其主要在靶向信号转导途径(包括PKA磷酸化的抑制)的细胞膜中起作用。在I期研究中已经将KRX-0401评价为潜在的口服抗癌药物。剂量限制的毒性包括恶性、呕吐和疲劳。更高的剂量增大了胃肠毒性。已经计划了顽固性肉瘤的II期试验。

[0883] API-2/TCN是肿瘤细胞中PKB信号传导途径的小分子抑制剂。已经在晚期肿瘤中进行了API-2/TCN的I和II期临床试验,API-2/TCN表现出了某些副作用,包括肝毒性、高甘油三酯血症、血小板减小和高血糖症。由于在高剂量时的严重的副作用,已经在临床中限制了API-2/TCN。

[0884] 在实体瘤的治疗中,RX-0201正被发展为AKT蛋白激酶抑制剂。在2004年7月,I期试验已经在患有晚期或转移性癌症的患者中开始了。来自该试验的数据表明RX-0201抑制了Akt的过表达并且抑制了脑、乳腺、宫颈、肝、肺、卵巢、前列腺和胃肿瘤中的癌症生长并且具有很好的耐受性。2005年3月,US Orphan Drug status通过了RX-0201用于某些实体瘤的治疗。

[0885] enzastaurin HCl(LY317615)抑制血管发生并且基于抗血管发生活性提前用于临床研究。它被描述为选择性的PKC $\beta$ 抑制剂。它也具有直接的抗肿瘤作用并且抑制GSK3 $\beta$ 磷酸化。

[0886] SR-13668要求是口服有效的特异的AKT抑制剂,其在体外和体内的乳腺癌细胞中显著抑制磷酸-AKT。小鼠的体内评估表明比抗肿瘤活性所需剂量多10倍剂量时没有副作用。

[0887] PX-316是D-3-脱氧-磷脂酰基-肌-肌醇,其与PKB的PH域结合,在细胞质中诱捕它,并且因此阻止了PKA的活化。在早期的异种移植物中观察到抗肿瘤活性并且具有很好的耐受性。

[0888] 基于2,3-二苯基喹喔啉母核或5,6-二苯基吡嗪-2(1H)-酮母核的PKB的变构选择性抑制剂已经被发展了(Merck)。

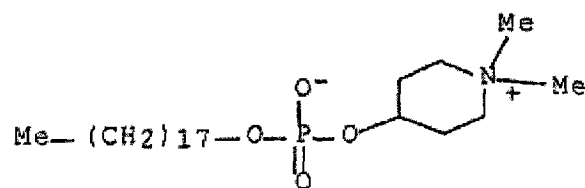
[0889] KRX-0401:在欧洲进行的I期周剂量研究中,推荐的II期剂量是600mg/周。随后在美国进行的研究表明当剂量被分开并且在4至6小时间隔施用更高剂量是很好耐受的。另外,已经表明KRX-0401的半衰期长达100小时。这就使得相对无毒、间歇的施用方案的可能性看似可能。

[0890] API-2的I期试验是应用5天的连续输注方案进行的。剂量水平在10mg/sq m/天 $\times$ 5天至40mg/sq m/天 $\times$ 5天的范围内。开始,每3至4周重复一次疗程。当出现累计毒性时,将疗程之间的间隔变为每6周。II期研究中推荐的方案是20mg/sq m/天达5天,每6周一次。TCN-P的II期试验是在宫颈的转移性或复发性鳞状细胞癌中应用5天连续输注方案进行的。起始剂量是35mg/m<sup>2</sup> $\times$ 5天并且每6周重复一次疗程。

[0891] 进一步的PKB抑制剂包括来自Keryx Biopharmaceuticals的哌立福辛。哌立福辛是口服Akt抑制剂,其在人类肿瘤细胞系中产生了显著的胞毒作用,并且目前正在多种主要人类癌症治疗的II期试验中对其进行试验。KRX-0401(哌立福辛/NSC 639966)的结

构为：

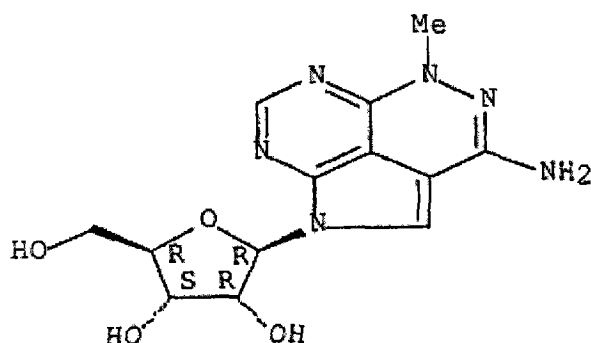
[0892]



[0893] 可以根据 Aste Medica 专利公开 DE4222910 或 Xenoport 专利公开 US2003171303 制备该化合物。

[0894] API-2/TCN(曲西立滨)的结构为：

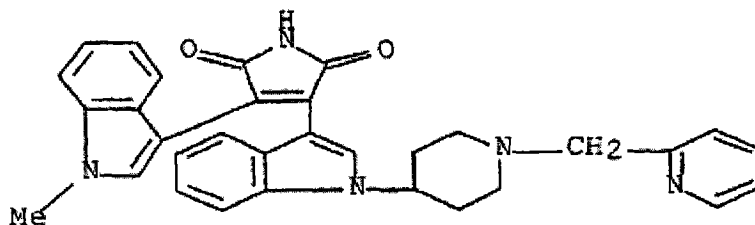
[0895]



[0896] 可以根据 Bodor 专利公开 W09200988 或 Ribapharm 专利公开 W02003061385 制备该化合物。

[0897] 盐酸 enzastaurin 的结构为：

[0898]

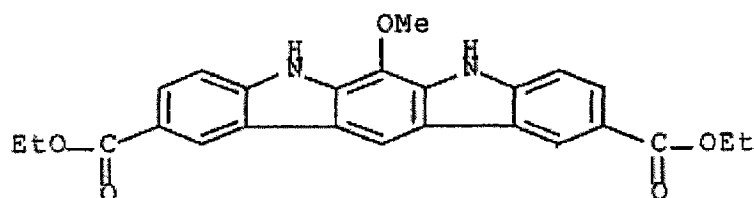


● HCl

[0899] 可以根据 Eli Lilly 专利公开 W02004006928 制备该化合物。

[0900] SR 13668 的结构为：

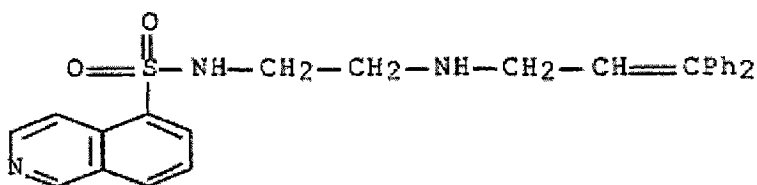
[0901]



[0902] 可以根据 SRI 国际专利公开 US2004043965 制备该化合物。

[0903] NL-71-101 的结构为：

[0904]

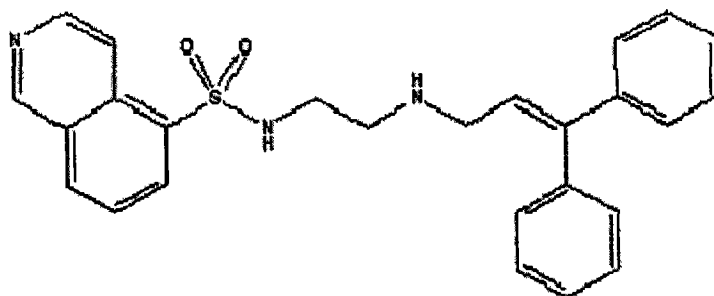


[0905] 可以根据 Biochemistry(2002), 41(32), 10304-10314 或 Peptor 专利公开 W02001091754 制备该化合物。

[0906] DeveloGen(从前的 Peptor)正在研究 NL-71-101, 该化合物是蛋白激酶 B(PKB) 抑制剂, 用于癌症潜在的治疗 [466579]、[539004]。在 2003 年初, 该化合物经历了先导物优选 [495463]。在 2004 年 2 月, 该公司寻求为它的蛋白激酶 B 计划列出某些发展权利 [523638]。

[0907] 2002 年, 出版的数据表明 NL-71-101 抑制 PKB 的活性超过 PKA、PKG 和 PKC, 它们的 IC<sub>50</sub> 值分别为 3.7、9、36 和 104 μM。在 OVCAR-3 肿瘤细胞中, NL-71-101 诱导细胞凋亡, 其中 PKB 的浓度被扩增至 50 和 100 μM [466579]。该化合物的结构为:

[0908]



[0909] 特别的实施方案: 预期的实施方案包括其中抗癌剂是 PKB 抑制剂的组合, 所述的 PKB 抑制剂选自一种或多种上文描述的特别的化合物。

[0910] 药物制剂

[0911] 对于本发明组合中的活性化合物可能没有任何附加的药物赋形剂或载体而被施用的, 它们优选以药物组合物(例如制剂)的形式存在。因此, 它们可以配制为用于同时或顺序施用。

[0912] 当它们旨在顺序施用时, 它们将典型地被配制为分开的组合物, 这些组合可以是相同类型或不同类型。因此, 例如, 本发明的组合的组分可以配制为用于通过相同的途径(例如通过口服途径和注射)传递或者它们可以配制为用于不同途径(例如一种通过口服途径并且另一种通过非肠道途径, 例如通过静脉内注射或输注)施用。在优选的实施方案中, 化合物 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺及其盐、特别是酸加成盐, 例如甲磺酸盐、乙酸盐和盐酸盐与辅助化合物顺序(前或后)或同时施用。优选的化合物 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺及其盐、特别是酸加成盐, 例如甲磺酸盐、乙酸盐和盐酸盐是应用本文定义的静脉内注射剂施用的。

[0913] 当它们旨在同时施用时, 它们可以一起配制或分开配制并且如以上可以配制为用于相同途径或不同途径施用。

[0914] 组合物典型地包含至少一种组合的活性化合物以及一种或多种可药用载体、附加剂、赋形剂、稀释剂、填充剂、缓冲剂、稳定剂、防腐剂、润滑剂或本领域技术人员众所周知的其它物质。组合物也可以包含其它的治疗或预防药物, 例如减少或减轻与化疗有关的某些

副作用药物。此类药物的特别的实例包括止吐药和预防或减少化疗过程中相关的中性白细胞减少症并且预防由于红细胞或白细胞水平降低的并发症的药物,例如促红细胞生成素(EPO)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和粒细胞集落刺激因子(G-CSF)。

[0915] 也包括抑制骨再吸收的药物,例如二膦酸盐药物(例如唑来膦酸盐、帕米膦酸盐和伊班膦酸盐),以及抑制炎症反应的药物(例如地塞米松、泼尼松和泼尼松龙)。也包括用于降低肢端肥大患者的血中生长激素和 IGF-I 水平的药物,例如脑激素生长抑素的合成形式,包括醋酸奥曲肽,其为长效的八肽,具有与天然激素生长抑素类似的药理学性质。进一步包括的药物例如甲酰四氢叶酸,其用作降低叶酸或亚叶酸本身水平的药物的解毒药。在一个特别的实施方案中是 5FU 和甲酰四氢叶酸或 5FU 和亚叶酸的组合。另外,醋酸甲地孕酮可以用于副作用(包括水肿和血栓栓塞(thromboembolic)发作)的治疗。

[0916] 因此,在一个实施方案中,组合进一步包括另外的药物,该药物选自促红细胞生成素(EPO)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、唑来膦酸盐、帕米膦酸盐、伊班膦酸盐、地塞米松、泼尼松、泼尼松龙、甲酰四氢叶酸、亚叶酸和醋酸甲地孕酮。

[0917] 特别是组合进一步包括另外的药物,该药物选自促红细胞生成素(EPO)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、唑来膦酸、帕米膦酸、地塞米松、泼尼松、泼尼松龙、甲酰四氢叶酸和亚叶酸,例如促红细胞生成素(EPO)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和粒细胞集落刺激因子(G-CSF)。

[0918] 唑来膦酸可以以商标名 Zometa<sup>®</sup> 从 Novartis 得到。它用于多种肿瘤类型中骨转移的治疗并且用于血钙过多的治疗。

[0919] 帕米膦酸二钠(APD)可以以商标名 Aredia 从 Novartis 得到。其是骨再吸收抑制剂并且已经用于中度或重度的血钙过多的治疗。帕米膦酸二钠用于静脉内注射。

[0920] 醋酸奥曲肽可以以 Sandostatin LAR<sup>®</sup> (用于注射混悬剂的醋酸奥曲肽)和 Sandostatin<sup>®</sup> (用于注射安瓿或小瓶的醋酸奥曲肽)从 Novartis 得到。已知奥曲肽的化学名为 L-半胱氨酰-D-苯丙氨酰-1-L-半胱氨酰-L-苯基氨酰-D-色氨酰-L-赖氨酰-L-苏氨酰-N-[2-羟基-1-(羟基-甲基)丙基]-环(2,7)-二硫化物;[R-(R\*,R\*)]。脑激素生长抑素的合成形式(例如奥曲肽)在肿瘤位点作用。它们与 sst-2/sst-5 受体结合以调节胃肠激素分泌并且影响肿瘤生长。

[0921] 因此,本发明进一步提供了上文定义的药物组合物和制备药物组合物的方法,该方法包括将上文定义的至少一种活性化合物与本文定义的一种或多种可药用载体、赋形剂、缓冲剂、辅料、稳定剂或其它物质混合。

[0922] 本文所用的术语“可药用的”指的是在医学判断范围内形成的,适合与个体(例如人类)的组织接触,没有过度毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症,具有合理的益处/危险比例的化合物、物质、组合物和/或剂型。与制剂中的其它成分相容的各种载体、辅料等也一定是“可接受的”。

[0923] 因此,另一方面,本发明提供了细胞毒化合物或信号抑制剂和本文定义的式(0)化合物或其亚组例如式(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII)或(VIII)及其亚组的组合(药物组合物形式)。

[0924] 药物组合物可以是适合口服、非肠道、局部、鼻内、眼、耳、直肠、阴道内或经皮施用的任何形式。当组合物旨在用于非肠道施用时，它们可以被配制为用于静脉内、肌内、腹膜内、皮下施用或通过注射、输注或其它的传递方式直接传递至靶器官的组合物。可以通过静快速浓注、短期注射或长期输注并且可以通过被动传递或通过使用适合的输注泵进行传递。

[0925] 适于非肠道施用的药物制剂包括水和非水无菌注射溶液，所述的溶液中可以包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂、共溶剂、有机溶剂混合物、环糊精络合剂、乳化剂（用于形成和稳定乳剂）、用于形成脂质体的脂质体组分、用于形成聚合凝胶的凝胶聚合物、冻干保护剂和特别是用于稳定溶液形式的活性成分并且调节制剂与目标受试者血液等渗的试剂的组合。用于非肠道施用的药物制剂也可以是非水无菌混悬液的形式，其可以包括混悬剂和增稠剂 (R. G. Strickly, Solubilizing Excipients in oral and injectable formulations, Pharmaceutical Research, Vol 21(2) 2004, p 201-230)。

[0926] 如果药物的 pKa 与制剂的 pH 值相差足够远，那么可以通过调节 pH 将可电离的药物分子溶解至所需的浓度。对于静脉内和肌内施用可以接受的范围是 pH2-12，但是皮下施用的范围是 pH2.7-9.0。通过药物的盐形式、强酸 / 碱（例如盐酸和氢氧化钠）或通过缓冲溶液（包括但不限于从甘氨酸、柠檬酸盐、乙酸盐、马来酸盐、琥珀酸盐、组氨酸盐、磷酸盐、三（羟基甲基）氨基甲烷 (TRIS) 或碳酸盐形成的缓冲溶液）控制溶液的 pH。

[0927] 在注射剂中经常使用水溶液和水溶性有机溶剂 / 表面活性剂（即共溶剂）的组合。在注射剂中使用的水溶性有机溶剂和表面活性剂包括但不限于丙二醇、乙醇、聚乙二醇 300、聚乙二醇 400、甘油、二甲基乙酰胺 (DMA)、N- 甲基 -2- 吡咯烷酮 (NMP; Pharmasolve)、二甲亚砜 (DMSO)、Solutol HS15、Cremophor EL、Cremophor RH 60 和聚山梨酯 80。此类制剂可以通常，但不是总是在注射前稀释。

[0928] 丙二醇、PEG 300、乙醇、Cremophor EL、Cremophor RH 60 和聚山梨酯 80 是用于可商购注射剂的完全的有机水可混溶溶剂和表面活性剂并且可以互相组合使用。静脉内快速浓注和静脉内输注前通常将产生的有机制剂至少稀释两倍。

[0929] 另外，可以通过与环糊精的分子络合提高水溶性。

[0930] 脂质体是包含外类脂双分子层膜和内部水核心并且直径  $< 100 \mu m$  的密闭球状的囊泡。取决于疏水性的水平，如果药物被包裹或插入脂质体内，通过脂质体可以使适度的疏水药物增溶。如果药物分子变成类脂双分子层膜完整部分，疏水性药物也可以通过脂质体增溶，并且在此种情况中，疏水性药物溶于类脂双分子层的类脂部分。典型的脂质体制剂包含水以及 5-20mg/mL 磷脂、等渗剂、pH5-8 缓冲液和任选的胆固醇。

[0931] 制剂可以存在于单位剂量或多剂量容器中，例如密封的安瓶和小瓶，并且可以贮存在冷冻干燥（冻干）条件下，在使用前仅需要立即加入无菌液体载体，例如注射用水。

[0932] 可以通过将本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组或酸它们的酸加成盐冻干来制备药物制剂。冻干指的是冷冻 - 干燥组合物的方法。本文所用的冷冻 - 干燥和冻干是同义词。典型的方法是溶解化合物并且将产生的制剂澄清、无菌过滤并且无菌转移至适合冻干的容器中（例如小瓶）。在小瓶的情况中，它们部分用冻干塞塞住。可以将制剂冷却至冷冻并且使其在标准条件下冻干，然后将其密封盖好形成稳定、干燥的冻干制剂。组合物将典型

地具有低的残留水含量,例如占冻干物重量的少于 50%,例如少于 1% (重量)。

[0933] 冻干制剂可以包含其它赋形剂,例如增稠剂、分散剂、缓冲剂、抗氧化剂、防腐剂和张力调节剂。典型的缓冲剂包括磷酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐和甘氨酸。抗氧化剂的实例包括抗坏血酸、亚硫酸氢钠、偏亚硫酸氢钠、一硫代甘油、硫脲、丁基化的羟基甲苯、丁基化的羟基苯甲醚和乙二胺四乙酸盐。防腐剂可以包括苯甲酸及其盐、山梨酸及其盐、对羟基苯甲酸的烷基酯、苯酚、氯丁醇、苄醇、硫柳汞、苯扎氯铵和西吡氯铵。如果需要的话,上文提及的缓冲剂以及葡萄糖和氯化钠可以用于张力调节。

[0934] 通常在冻干技术中使用填充剂以方便该方法和/或向冻干饼提供体积和/或机械完整性。当与化合物或其盐共冻干时填充剂表示自由水溶性的固体颗粒稀释剂,提供了物理稳定的冻干饼,更优选的冷冻-干燥方法和快速并且完全的重构。填充剂也可以用于使溶液等渗。

[0935] 水溶性填充剂可以是典型地用于冻干的任何可药用惰性固体物质。此类填充剂包括例如糖(例如葡萄糖、麦芽糖、蔗糖和乳糖);多元醇(例如山梨醇和甘露醇);氨基酸(例如甘氨酸);聚合物(例如聚乙烯吡咯烷);和多糖(例如右旋糖酐)。

[0936] 填充剂重量与活性化合物重量的比例典型地是在约 1 至约 5 的范围内,例如约 1 至约 3,例如在约 1 至 2 的范围内。

[0937] 另外,它们可以以溶液形式提供,该溶液形式可以是浓的并且密封在适合的小瓶中。剂型的灭菌可以通过过滤或通过小瓶及其内容物在制剂制备的适合时期高压灭菌进行。提供的制剂在传递前可能需要进一步稀释或制备,例如稀释至适合的无菌输注袋中。

[0938] 可以从无菌粉末、颗粒和片剂制备临时的注射溶液剂和混悬液。

[0939] 在本发明的一个优选的实施方案中,药物组合物是适合静脉内施用、例如通过注射或输注的静脉内施用的形式。

[0940] 用于非肠道注射的本发明药物组合物也可以包括可药用无菌水或非水溶液剂、分散剂、混悬液或乳剂以及仅在使用前重构至无菌注射溶液剂或分散剂的无菌粉末。适合的水或非水载体、稀释剂、溶剂或赋形剂的实例包括水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)、羧甲基纤维素和它们适合的混合物、植物油(例如橄榄油)和可注射有机酯(例如油酸乙酯)。例如,可以通过使用包衣材料(例如卵磷脂)、在分散剂的情况下通过保持所需颗粒大小以及通过使用表面活性剂可以保持适合的流动性。

[0941] 本发明的组合物也可以包含辅料,例如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。也可以通过加入多种抗菌剂和抗真菌剂(例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚山梨酸等)确保防止微生物的作用。也需要包括等渗剂,例如糖、氯化钠等。可以通过加入延缓吸收的试剂(例如单硬脂酸铝和明胶)可以得到可注射的药物形式的延长吸收。

[0942] 如果化合物在水性介质中不稳定或在水性介质中的溶解度低,可以将其配制为在有机溶剂中的浓缩液。然后,可以将该浓缩液在水体系中稀释至更低的浓度,并且在施用的短期内可以足够稳定。因此,另一方面,本发明提供了一种药物组合物,该药物组合物包含非水溶液(完全包含一种或多种有机溶剂),其可以以其本身直接施用或更通常是在施用前用适合的静脉内赋形剂(生理盐水、葡萄糖;缓冲或非缓冲的)稀释(Solubilizing excipients in oral and injectable formulations, Pharmaceutical Research, 21 (2), 2004, p201-230)。溶剂和表面活性剂的实例是丙二醇、PEG300、PEG400、乙

醇、二甲基乙酰胺 (DMA)、N- 甲基 -2- 吡咯烷酮 (NMP, Pharmasolve)、甘油、Cremophor EL、Cremophor RH 60 和聚山梨酯。特别的非水溶液包含 70-80% 丙二醇和 20-30% 乙醇。一种特别的非水溶液包含 70% 丙二醇和 30% 乙醇。另一个是 80% 丙二醇和 20% 乙醇。正常地, 这些溶剂用于组合中并且通常在静脉内快速浓注或静脉内输注之前至少稀释 2 倍。静脉内快速浓注制剂的典型的量为 ~ 50% 甘油、丙二醇、PEG300、PEG400 和 ~ 20% 乙醇。静脉内输注制剂的典型的量为 ~ 15% 甘油、3% DMA 和 ~ 10% 丙二醇、PEG300、PEG400 和乙醇。

[0943] 在本发明的一个优选的实施方案中, 药物组合物是适于静脉内施用例如通过注射或输注静脉内施用的形式。对于静脉内施用, 可以将溶液以其本身的形式施用或者可以在施用前注入输注袋 (含有可药用赋形剂, 例如 0.9% 盐水或 5% 葡萄糖) 内。

[0944] 在另一个优选的实施方案中, 药物组合物是适于皮下 (s. c.) 施用的形式。

[0945] 适于口服施用的药物剂型包括片剂、胶囊剂、小胶囊剂、丸剂、锭剂、糖浆剂、溶液剂、散剂、颗粒剂、酏剂和混悬剂、舌下片、糯米纸囊剂或贴剂和口腔贴剂。

[0946] 含有式 (I) 化合物的药物组合物可以根据已知技术配制, 参见例如 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, USA。

[0947] 因此, 片剂组合物可以含有单位剂量的活性化合物以及惰性稀释剂或载体例如糖或糖醇, 例如乳糖、蔗糖、山梨醇或甘露醇; 和 / 或非糖衍生的稀释剂如碳酸钠、磷酸钙、碳酸钙或纤维素或其衍生物例如甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素和淀粉例如玉米淀粉。片剂也可以含有此类标准成分例如粘合剂和制粒剂例如聚乙烯吡咯烷酮、崩解剂 (例如可膨胀的交联聚合物如交联羧甲基纤维素)、润滑剂 (例如硬脂酸盐)、防腐剂 (例如对羟基苯甲酸酯)、抗氧化剂 (例如 BHT)、缓冲剂 (例如磷酸盐或柠檬酸盐缓冲剂) 和泡腾剂例如柠檬酸盐 / 碳酸氢盐混合物。此类赋形剂是已知的并且无需在此详细讨论。

[0948] 胶囊剂可以是各种硬明胶或软明胶形式并且可含有固体、半固体或液体形式的活性组分。明胶胶囊可由动物明胶或其合成的或植物衍生的等价物形成。

[0949] 固体剂型 (例如片剂、胶囊剂等) 可以被包衣或不包衣, 但是典型地具有包衣, 例如保护性薄膜包衣 (例如蜡或漆膜) 或控制释放的包衣。包衣 (例如 Eudragit™ 型聚合物) 可以被设计用于在胃肠道内的所需位置释放活性组分。因此, 可以对包衣进行选择以便在胃肠道内某 pH 条件下降解, 从而选择性地胃中或在回肠或十二指肠中释放化合物。

[0950] 代替包衣或除了包衣之外, 药物可以存在于固体基质中, 该固体基质包含控制释放的物质, 例如适合在胃肠道内于不同的酸性或碱性条件下选择性地释放化合物的延迟释放的物质。另外, 基质材料或阻滞释放的包衣可以采用溶蚀性聚合物 (例如马来酸酐聚合物) 的形式, 当剂型通过胃肠道时其基本上被连续溶蚀。作为另一种替代选择, 可以将活性化合物配制在提供化合物释放渗透控制的传递系统中。渗透释放和其它延迟释放或缓释制剂可以根据本领域技术人员众所周知的方法制备。

[0951] 局部应用的组合物包括软膏剂、乳膏剂、喷雾剂、贴剂、凝胶剂、液体滴剂或植入剂 (insert) (例如眼内植入剂)。此类组合物可以根据已知的方法制备。

[0952] 用于非肠道施用的组合物典型地以无菌水或油溶液或细粒混悬液的形式提供, 或者可以以研细的无菌粉末形式 (临时用无菌注射用水处理) 提供。

[0953] 用于直肠或阴道内施用的制剂的实例包括阴道栓和栓剂, 其可以例如由含有活性

化合物的成形的可塑性或蜡状物质形成。

[0954] 用于吸入施用的组合物可以采用可吸入粉末组合物或液体或粉末喷雾剂的形式，并且可以应用粉末吸入装置或气雾剂分散装置以标准形式施用。此类装置是众所周知的。为了通过吸入施用，粉末制剂典型地包含活性化合物以及惰性固体粉末状稀释剂例如乳糖。

[0955] 式 (I) 化合物通常以单位剂型存在，这样以来，其典型地含有足够的化合物以提供所需水平的生物学活性。例如，制剂可以含有 1ng 至 2g 的活性成分，例如 1ng 至 2mg 的活性成分。在此范围内，化合物特别的亚范围是 0.1mg 至 2g 的活性成分（更通常是 10mg 至 1g，例如 50mg 至 500mg），或 1  $\mu$ g 至 20mg（例如 1  $\mu$ g 至 10mg，例如 0.1mg 至 2mg 的活性成分）。

[0956] 活性化合物将以足够达到所需治疗作用的量施用于需要的患者（例如人或动物患者）。

[0957] 当本发明组合的化合物一起存在时，可以将它们一起配制为片剂、胶囊剂、输注或注射用溶液剂或上文描述的任何其它的固体或液体剂型。例如，当将它们一起配制时，在相同制剂中它们可以被紧密混合或物理分开，例如由于在片剂中存在不同的层或颗粒中，或在胶囊剂中存在分开的珠或颗粒中。但，更典型的是它们被分别制备以用于分开或同时施用。

[0958] 在一个实施方案中，组合单个组分可以分别制备或以药盒（任选有普通的外包装并且任选具有它们的使用说明书）的形式一起存在。

[0959] 现在更通常以“患者包”的形式将药物制剂给患者开出，所述的“患者包”含有在单一包装（通常为泡罩包装）中的整个疗程。与其中药剂师从大批量供应中分出患者的药物供应的传统处方相比，患者包具有优点，因为患者总能使用包含在患者包中的药品说明书，而在患者处方中通常没有该说明书。已经证明药品说明书可改善患者对医师指示的依从性。

[0960] 因此，在进一步的实施方案中，本发明提供了包含分开剂量单位的包装，其中包含一种或多种上文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(Vib)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组以及一种或多种细胞毒化合物或信号抑制剂。包含上文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(Vib)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组和细胞毒化合物或信号抑制剂的剂量单位具有上文定义的适量的活性成分。包装中包含在前确定期（例如 2 周、1 个月或 3 个月）治疗患者的足够的片剂、胶囊剂等。

#### [0961] 治疗方法

[0962] 预计包含细胞毒化合物或信号抑制剂和式 (0) 化合物及其亚组例如本文定义的式 (I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(Vib)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组的组合将用于预防或治疗由细胞周期蛋白依赖性激酶和 / 或 GSK（例如 GSK-3）介导的一定范围的疾病状态或病症。在本文列出了此类疾病状态或病症的实例。

[0963] 通常将组合施用于需要该施用的患者，例如人或动物患者，优选人。

[0964] 通常以治疗或预防有效的并且通常无毒的量施用化合物。但是，在某些情况（例

如在威胁生命的疾病的情况)中,施用式(I)化合物的益处可能比任何毒性作用或副作用的缺点更重要,在该情况中,可以认为需要以与毒性程度有关的量施用化合物。

[0965] 可以长期施用化合物以维持有益的治疗作用或者可以仅短期施用。另外,可以以脉冲方式或连续方式施用它们。

[0966] 组合的化合物可以同时或顺序施用。当顺序施用时,它们可以以近距离的时间间隔(例如历经5-10分钟的时间)或以更长的时间间隔(例如间隔1、2、3、4或更多小时,或者如果需要间隔更长时间,例如1、2、3、4、5、6或7天)施用,精确的剂量方案与治疗剂的性质相称。在顺序施用中,在施用第二种(或另外的)活性成分中的延迟不应该例如失去组合中活性成分的有效作用的有利益处。另外,在施用第二种(或另外的)活性成分中的延迟典型地具有一定时间以允许第一种化合物的任何副作用在施用第二种化合物前减退至可接受水平,而没有丧失活性成分的组合的有效作用的有利益处。

[0967] 两种或多种治疗可以以单独不同的剂量方案并且通过相同或不同的途径给出。

[0968] 例如,一种化合物可以通过口服途径施用并且另一种化合物通过非肠道施用,例如通过注射(例如静脉内注射)或输注施用。另外,两种化合物都可以通过注射或输注施用。进一步可选的是,两种化合物都可以口服施用。在一个特别的实施方案中,式(I)化合物是通过注射或输注施用的并且细胞毒化合物或信号抑制剂是口服施用的。

[0969] 当在不同的时间施用时,组合一种组分的施用可以与组合其它组分的施用交替或插入,可以在治疗的顺序阻断中施用。如上所述,组合的组分的施用可以在时间上隔开,例如一个或多个小时或天或甚至周,条件是它们形成了相同的全部治疗的一部分。在本发明的一个实施方案中,本文定义的式(0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII)或(VIII)化合物及其亚组与细胞毒化合物或信号抑制剂顺序或同时施用。

[0970] 在本发明的另一个实施方案中,本文定义的式(0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII)或(VIII)化合物及其亚组与细胞毒化合物或信号抑制剂以任何顺序顺序施用。

[0971] 在进一步的实施方案中,细胞毒化合物或信号抑制剂在本文定义的式(0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII)或(VIII)化合物及其亚组之前施用。

[0972] 在进一步的实施方案中,紫杉烷化合物(例如紫杉醇)本文定义的式(0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII)或(VIII)化合物及其亚组之前施用。

[0973] 在另一个实施方案中,细胞毒化合物或信号抑制剂在本文定义的式(0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII)或(VIII)化合物及其亚组之后施用。

[0974] 在另一个实施方案中,本文定义的式(0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII)或(VIII)化合物及其亚组与细胞毒化合物或信号抑制剂同时施用。

[0975] 在另一个实施方案中,本文定义的式(0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII)或(VIII)化合物及其亚组与信号抑制剂同

时施用。

[0976] 在另一个实施方案中本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组与细胞毒化合物或信号抑制剂是同时施用的。

[0977] 在另一个实施方案中, 本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组和细胞毒化合物或信号抑制剂各自以单一组分的治疗有效量施用; 换言之, 如果组分没有组合施用, 本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组和细胞毒化合物或信号抑制剂以治疗有效量施用。

[0978] 在另一个实施方案中, 本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组和细胞毒化合物或信号抑制剂各自以单一组分的亚治疗量施用; 换言之, 如果组分没有组合施用, 本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组和细胞毒化合物或信号抑制剂以治疗无效的剂量施用。

[0979] 优选的是, 细胞毒化合物或信号抑制或和本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组以协同或相加方式相互作用。

[0980] 优选的是, 细胞毒化合物或信号抑制剂 (例如吉西他滨) 和本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组以协同或相加方式相互作用。

[0981] 优选的是, 紫杉烷化合物 (例如紫杉醇) 和本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组以协同或相加方式相互作用, 并且特别是以协同方式相互作用。

[0982] 优选的是, 信号抑制剂 (例如易瑞沙) 和本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组以协同或相加方式相互作用, 并且特别是以协同方式相互作用。

[0983] 本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组的典型的日剂量可以在 100pg 至 100mg 每 kg 体重的范围内, 更典型的是 5ng 至 25mg 每 kg 体重, 并且更通常是 10ng 至 15mg 每 kg (例如 10ng 至 10mg, 并且更典型的是 1 μg 每 kg 至 20mg 每 kg, 例如 1 μg 至 10mg 每 kg) 体重, 尽管如果需要的话可以施用更高或更低剂量。式 (I) 化合物可以基于日或基于重复施用, 例如每 2 或 3 或 4 或 5 或 6 或 7 或 10 或 14 或 21 或 28 天。

[0984] 对于 60kg 的人的剂量实例包括以起始剂量 4.5-10.8mg/60kg/天 (等同于 75-180 μg/kg/天) 施用本文定义的式 (I) 化合物, 例如化合物 4-(2,6-二氯-苯甲酰氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺的游离碱并且随后以有效剂量 44-97mg/60kg/天 (等同于 0.7-1.6mg/kg/天) 或有效剂量 72-274mg/60kg/天 (等同于 1.2-4.6mg/kg/天) 施用该化合物。对于任何给定的体重, mg/kg 剂量是按比例划定的。

[0985] 甲磺酸盐的剂量的实例是起始剂量为 5.6-13.5mg/60kg/天 (等同于 93-225 μg/kg/天/人) 并且随后的有效剂量为 55-122mg/60kg/天 (等同于 0.9-2.0mg/kg/天/人)

或有效剂量为 90-345mg/60kg/ 天（等同于 1.5-5.8mg/kg/ 天 / 人）。

[0986] 在一个特别的剂量方案中，将给患者每天输注 1 小时式 (I) 化合物，持续至多 10 天，特别是至多每周 5 天，并且在需要的间隔（例如 2 至 4 周，特别是每 3 周）重复治疗。

[0987] 更特别的是，可以给患者每天输注 1 小时式 (I) 化合物，持续 5 天并且每三周重复治疗。

[0988] 在另一个特别的施用方案中，历经 30 分钟至 1 小时给患者输注，然后保持多种时间间隔例如 1 至 5 小时、例如 3 小时的输注。

[0989] 在进一步特别的施用方案中，给患者连续输注 12 小时至 5 天，特别是连续输注 24 小时至 72 小时。

[0990] 但是，最终施用化合物的数量、所用化合物的类型和两种组分施用的时间和频率将与被治疗的疾病或生理条件的性质是相当的并且将会是药师的慎重考虑的。

[0991] 因此，本领域技术人员将通过他们的普通通用知识而知道应用的施用方案和组合治疗。应该理解的是，对于组合的各组分，优选的施用方法和顺序和各自的剂量以及各自的剂量和方案将取决于被施用的特别的细胞毒化合物或信号抑制剂和本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组、它们的施用途径、被治疗的特别的肿瘤和被治疗的特别的宿主。本领域技术人员应用常规的方法并且考虑本文列出的信息可以很容易地确定优选的施用方法和顺序以及剂量和方案。

[0992] 如下文描述的，在组合治疗中式 (I) 化合物与一种或多种其它细胞毒化合物一起施用，例如在治疗特别的疾病状态（例如肿瘤疾病，例如上文定义的癌症）中。上文详细描述了可以在本发明组合中应用的适合的细胞毒化合物的实例。

[0993] 但是，本发明的组合也可以进一步与其它类的可以与本发明的组合一起（同时或在不同的时间间隔）施用的治疗剂或治疗组合，包括但不限于：

[0994] 1. 激素、激素激动剂、激素拮抗剂和激素调节剂（包括抗雄激素、抗雌激素和 GNRAs）；

[0995] 2. 单克隆抗体（例如细胞表面抗原的单克隆抗体）；

[0996] 3. 烷化剂（包括吡丙啶、氮芥和亚硝基脲烷化剂）；

[0997] 4. CDK 抑制剂；

[0998] 5. COX-2 抑制剂；

[0999] 6. HDAC 抑制剂；

[1000] 7. DNA 甲基化酶抑制剂；

[1001] 8. 蛋白酶体抑制剂；

[1002] 9. 其它的治疗或预防药物，例如减轻或降低与化疗有关的某些副作用的药物。此类药物的特别的实例包括止吐剂和预防或降低与化疗相关的中性白细胞减少症的持续时间并且预防红细胞或白细胞水平降低引起的并发症的药物，例如促红细胞生成素 (EPO)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)。在其它的实施方案中，其它的治疗或预防药物可以是如下描述的。

[1003] 另外，本发明的组合也可以进一步与与其它类的可以与本发明的组合一起（同时或在不同的时间间隔）施用的治疗剂或治疗组合，包括（但不限于）：

- [1004] 1. 激素、激素激动剂、激素拮抗剂和激素调节剂（包括抗雄激素、抗雌激素和 GNRAs）；
- [1005] 2. 单克隆抗体（例如细胞表面抗原的单克隆抗体）；
- [1006] 3. 喜树碱化合物；
- [1007] 4. 抗代谢物；
- [1008] 5. 长春花生物碱；
- [1009] 6. 紫杉烷；
- [1010] 7. 铂化合物；
- [1011] 8. DNA 结合剂和 TopoII 抑制剂（包括蒽环霉素衍生物）；
- [1012] 9. 烷化剂（包括吡丙啶、氮芥和亚硝基脲烷化剂）；
- [1013] 10. 前面 (1)–(9) 类中两种或多种的组合；
- [1014] 11. 信号抑制剂（包括 PKB 信号传导途径抑制剂）；
- [1015] 12. CDK 抑制剂；
- [1016] 13. COX-2 抑制剂；
- [1017] 14. HDAC 抑制剂；
- [1018] 15. DNA 甲基化酶抑制剂；
- [1019] 16. 蛋白酶体抑制剂；
- [1020] 17. 前面 (11)–(16) 类中两种或多种的组合；
- [1021] 18. 前面 (1)–(17) 类中两种或多种的组合；
- [1022] 19. 其它的治疗或预防药物，例如减轻或降低与化疗有关的某些副作用的药物。此类药物的特别的实例包括止吐剂和预防或降低与化疗相关的中性白细胞减少症的持续时间并且预防血红细胞或白细胞水平降低引起的并发症的药物，例如促红细胞生成素 (EPO)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)。在其它的实施方案中，其它的治疗或预防药物可以是如下描述的。

[1023] 其它的治疗或预防药物

[1024] 组合物也可以包含其它的治疗或预防药物，例如减轻或降低与化疗有关的某些副作用的药物。此类药物的特别的实例包括止吐剂和预防或降低与化疗相关的中性白细胞减少症的持续时间并且预防血红细胞或白细胞水平降低引起的并发症的药物，例如促红细胞生成素 (EPO)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)。

[1025] 也包括抑制骨再吸收的药物，例如二膦酸盐药物（例如唑来膦酸盐、帕米膦酸盐和伊班膦酸盐），以及抑制炎症反应的药物（例如地塞米松、泼尼松和泼尼松龙）。也包括用于降低肢端肥大患者的血中生长激素和 IGF-I 水平的药物，例如脑激素生长抑素的合成形式，包括醋酸奥曲肽，其为长效的八肽，具有与天然激素生长抑素类似的药理学性质。进一步包括的药物例如甲酰四氢叶酸，其用作降低叶酸或亚叶酸本身水平的药物的解毒药。在一个特别的实施方案中是 5FU 和甲酰四氢叶酸或 5FU 和亚叶酸的组合。另外，醋酸甲地孕酮可以用于副作用（包括水肿和血栓栓塞 (thromboembolic) 发作）的治疗。

[1026] 因此，在一个实施方案中，组合进一步包括另外的药物，该药物选自促红细胞生成素 (EPO)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)、唑来膦酸盐、帕米膦酸盐、伊班膦酸盐、地塞米松、泼尼松、泼尼松龙、甲酰四氢叶酸、亚叶酸和醋酸

甲地孕酮。

[1027] 特别是组合进一步包括另外的药物,该药物选自促红细胞生成素 (EPO)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)、唑来膦酸、帕米膦酸、地塞米松、泼尼松、泼尼松龙、甲酰四氢叶酸和亚叶酸,例如促红细胞生成素 (EPO)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 和粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)。

[1028] 唑来膦酸可以以商标名 Zometa<sup>®</sup> 从 Novartis 得到。它用于多种肿瘤类型中骨转移的治疗并且用于血钙过多的治疗。

[1029] 帕米膦酸二钠 (APD) 可以以商标名 Aredia 从 Novartis 得到。其是骨再吸收抑制剂并且已经用于中度或重度的血钙过多的治疗。帕米膦酸二钠用于静脉内注射。

[1030] 醋酸奥曲肽可以以 Sandostatin LAR<sup>®</sup> (用于注射混悬剂的醋酸奥曲肽) 和 Sandostatin<sup>®</sup> (用于注射安瓿或小瓶的醋酸奥曲肽) 从 Novartis 得到。已知奥曲肽的化学名为 L- 半胱氨酰 -D- 苯丙氨酰 -1-L- 半胱氨酰 -L- 苯基氨酰 -D- 色氨酰 -L- 赖氨酰 -L- 苏氨酰 -N-[2- 羟基 -1-( 羟基 - 甲基 ) 丙基 ]- 环 (2,7)- 二硫化物 ;[R-(R\*, R\*)]。脑激素生长抑素的合成形式 (例如奥曲肽) 在肿瘤位点作用。它们与 sst-2/sst-5 受体结合以调节胃肠激素分泌并且影响肿瘤生长。

[1031] 本发明组合中存在的各化合物可以以单独的不同的施用方案并且以不同的途径给出。

[1032] 因此,在与一种或多种细胞毒化合物组合治疗中,式 (I) 化合物的施用可以包括同时或顺序施用。当顺序施用时,它们可以以近距离的时间间隔 (例如历经 5-10 分钟的时间) 或以更长的时间间隔 (例如间隔 1、2、3、4 或更多小时,或者如果需要间隔更长时间) 施用,精确的剂量方案与治疗剂的性质相称。

[1033] 本发明的组合也可以与非化疗治疗联合施用,所述的非化疗治疗例如放疗、光动力学治疗、基因治疗、外科手术和控制饮食。

[1034] 因此,组合治疗可以涉及式 (I) 化合物与 1、2、3、4 或多种其它治疗剂 (包括至少一种细胞毒化合物或信号抑制剂) 的制剂。此类制剂可以是例如包含 2、3、4 或多种治疗剂的剂型。另外,单个治疗剂可以分别制备并且以药盒的形式一起存在,任选与它们的使用说明书一起存在。

[1035] 本领域技术人员通过它们的普通通用知识将知道应用的施用方案和组合治疗。

#### [1036] 诊断方法

[1037] 在施用式 (I) 化合物之前,筛选患者以确定该患者正在患有或可能患有的疾病或病症是否是对使用具有抗细胞周期蛋白依赖性激酶和 / 或 GSK (例如 GSK-3) 活性化合物的治疗或使用细胞毒化合物或信号抑制剂的敏感的疾病或病症。

[1038] 例如,可分析取自患者的生物样本以确定该患者正在患有或可能患有的病症或疾病如癌症是否是以导致 CDK 过度活化或导致正常 CDK 活性途径增敏的基因异常或蛋白质表达异常为特征的病症或疾病。导致 CDK2 信号的活化或增敏的此类异常的实例包括细胞周期蛋白 E 的上调 (Harwell RM, Mull BB, Porter DC, Keyomarsi K. ; J Biol Chem. 2004 年 3 月 26 日 ; 279 (13) : 12695-705) 或者 p21 或 p27 缺失,或者存在 CDC4 变体 (Rajagopalan H, Jallepalli PV, Rago C, Velculescu VE, Kinzler KW, Vogelstein B, Lengauer C. ;

Nature. 2004 年 3 月 4 日 ;428(6978) :77-81)。术语上调包括表达升高或过度表达,包括基因扩增(即多个基因拷贝)和转录效应以及高活性和活化(包括突变导致的活化)导致的表达增加。因此,可对患者进行诊断试验以检测细胞周期蛋白 E 上调或者 p21 或 p27 缺失或者存在 CDC4 变体的标记性特点。术语诊断包括筛选。申请人用标记一词包括基因标记,包括例如测定 DNA 组成以鉴定 CDC4 的突变。术语标记还包括特征为细胞周期蛋白 E 上调的标记,包括酶活性、酶水平、酶状态(例如是否磷酸化)和前述蛋白质的 mRNA 水平。

[1039] 具有细胞周期蛋白 E 上调或者 p21 或 p27 缺失的肿瘤可能对 CDK 抑制剂特别敏感。可在治疗之前优先对肿瘤针对细胞周期蛋白 E 的上调或者 p21 或 p27 的缺失进行筛选。因此,可对患者进行诊断性试验以检测细胞周期蛋白 E 上调或者 p21 或 p27 缺失的标记性特点。诊断试验典型地用选自肿瘤活组织检查样品、血液样品(脱落的肿瘤细胞的分离和富集)、粪便活组织检查、痰、染色体分析、胸膜液、腹膜液或尿的生物样本上进行。

[1040] Rajagopalan 等人(Nature. 2004 年 3 月 4 日 ;428(6978) :77-81)已经发现在人结肠直肠癌和子宫内膜癌中 CDC4(也称为 Fbw7 或 Archipelago)存在突变(Spruck 等人, Cancer Res. 2002 年 8 月 15 日 ;62(16) :4535-9)。携带 CDC4 突变的个体的鉴定可以意味着该患者特别适于用 CDK 抑制剂进行治疗。可在治疗之前优先针对 CDC4 变体的存在对肿瘤进行筛选。筛选方法典型地涉及直接测序、寡核苷酸微阵列分析或突变体特异性抗体。

[1041] 鉴定和分析蛋白质的突变和上调的方法是本领域技术人员已知的。筛选方法将包括但不限于标准方法例如逆转录酶聚合酶链反应(RT-PCR)或原位杂交。

[1042] 在通过 RT-PCR 进行的筛选中,肿瘤中的 mRNA 水平是通过产生 mRNA 的 cDNA 拷贝随后通过 PCR 扩增 cDNA 来评价的。PCR 扩增的方法、引物的选择和扩增条件是本领域技术人员已知的。核酸操作和 PCR 根据标准方法进行,如例如 Ausubel, F. M. 等人, Current Protocols in Molecular Biology, 2004, John Wiley & Sons Inc., 或 Innis, M. A. 等人, PCR Protocols: a guide to methods and applications, 1990, Academic Press, San Diego 中所述。涉及核酸技术的反应和操作在 Sambrook 等人, 2001, 第 3 版, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press 中也有描述。另外,可以应用 RT-PCR 的可商购试剂盒(例如 Roche Molecular Biochemicals), 或美国专利 4,666,828 ; 4,683,202 ; 4,801,531 ; 5,192,659 ; 5,272,057 ; 5,882,864 和 6,218,529 中所述的方法,将它们并入本文作为参考。

[1043] 评价 mRNA 表达的原位杂交技术的实例是荧光原位杂交(FISH)(参见 Angerer, 1987 Meth. Enzymol, 152 :649)。

[1044] 通常,原位杂交包括下列主要步骤:(1)固定待分析的组织;(2)对样品进行预杂交处理以增加靶核酸的可接近性并且减少非特异性结合;(3)将核酸混合物与生物结构或组织中的核酸杂交;(4)进行杂交后洗涤以除去杂交中未结合的核酸片段,和(5)检测杂交的核酸片段。在此类应用中使用的探针是典型标记的,例如用放射性同位素或荧光报道分子进行标记。优选的探针应足够长,例如,约 50、100 或 200 个核苷酸至约 1000 或更多个核苷酸,以使得能在严格条件下与靶核酸进行特异性杂交。进行 FISH 的标准方法在 Ausubel, F. M. 等人, Current Protocols in Molecular Biology, 2004, John Wiley & Sons Inc 和 Fluorescence In Situ Hybridization: Technical Overview by John M. S. Bartlett in Molecular Diagnosis of Cancer, Methods and Protocols, 第 2 版 ; ISBN : 1-59259-760-2 ;

2004 年 3 月,第 077-088 页;Series:Methods in Molecular Medicine 中描述。

[1045] 另外,可通过肿瘤样品的免疫组织化学、使用微量滴定板的固相免疫分析、蛋白质印迹法、二维 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳、ELISA、流式细胞术和本领域用于检测特异性蛋白质的其它已知方法分析由 mRNA 表达的蛋白质产物。检测方法将包括使用位点特异性抗体。本领域技术人员应了解所有此类众所周知的用于检测细胞周期蛋白 E 的上调或者 p21 或 p27 的缺失或者检测 CDC4 变体的技术均可适用于本情况。

[1046] 因此,所有这些技术也可用于鉴定特别适合用 CDK 抑制剂和细胞毒化合物活信号抑制剂的组合治疗的肿瘤。可以用本文概述的诊断试验选择患有套细胞淋巴瘤 (MCL) 的患者以用 CDK 抑制剂进行治疗。MCL 是非霍奇金淋巴瘤的特殊的临床病理学实体,其特征在于具有 CD5 和 CD20 共表达的小至中等大小的淋巴细胞增殖、侵袭性的和不可治愈的临床病程和频繁的 t(11;14)(q13;q32) 易位。在套细胞淋巴瘤 (MCL) 中发现的细胞周期蛋白 D1 mRNA 的过度表达是重要的诊断标记。Yatabe 等人 (Blood. 2000 年 4 月 1 日;95(7):2253-61) 提议应包括细胞周期蛋白 D1-阳性作为 MCL 的标准之一,并提议应以该新标准为基础探究这种不能治愈的疾病的创新疗法。Jones 等人 (J Mol Diagn. 2004 年 5 月;6(2):84-9) 开发了用于细胞周期蛋白 D1 (CCND1) 表达的实时定量逆转录 PCR 分析以帮助诊断套细胞淋巴瘤 (MCL)。Howe 等人 (Clin Chem. 2004 年 1 月;50(1):80-7) 使用实时定量 RT-PCR 评估细胞周期蛋白 D1 mRNA 的表达并且发现标准化至 CD19mRNA 的细胞周期蛋白 D1 mRNA 的定量 RT-PCR 可用于在血液、骨髓和组织中诊断 MCL。另外,可以应用上文概述的诊断试验选择患有乳腺癌的患者以用 CDK 抑制剂进行治疗。肿瘤细胞通常过度表达细胞周期蛋白 E 并且已经显示细胞周期蛋白 E 在乳腺癌中过度表达 (Harwell 等人, Cancer Res, 2000, 60, 481-489)。因此,特别是乳腺癌可以用 CDK 抑制剂进行治疗。

#### [1047] 实施例

[1048] 现参照在下列实施例中所述描述的特别实施方案阐述本发明,但不限制本发明。

[1049] 在实施例中,应用下文所述的系统和操作条件借助液相色谱法与质谱法 (LC-MS) 表征所制备的化合物。如果存在氯并且给出了单一质量,所给出化合物的质量为 <sup>35</sup>Cl。将两个系统安装上相同的色谱柱并且设定以便在相同的操作条件下运行。所用的操作条件也在下面描述。在实施例中,保留时间以分钟计。

#### [1050] 平台系统

[1051] 系统:Waters 2790/Platform LC

[1052] 质谱检测器:Micromass Platform LC

[1053] PDA 检测器:Waters 996 PDA

#### [1054] 分析条件

[1055] 洗脱液 A:5% 在 95% H<sub>2</sub>O(0.1% 甲酸) 中的 CH<sub>3</sub>CN

[1056] 洗脱液 B:CH<sub>3</sub>CN(0.1% 甲酸)

[1057] 梯度:10-95% 洗脱液 B

[1058] 流速:1.2mL/min

[1059] 柱子:Synergi 4 μm Max-RP C<sub>12</sub>, 80A, 50 × 4.6mm (Phenomenex)

#### [1060] MS 条件:

[1061] 毛细管电压:3.5kV

- [1062] 锥孔电压 :30V
- [1063] 源温度 :120℃
- [1064] FractionLynx 系统
- [1065] 系统 :Waters FractionLynx ( 二元分析 / 制备 )
- [1066] 质谱检测器 :Waters-Micromass ZQ
- [1067] PDA 检测器 :Waters 2996 PDA
- [1068] 分析条件 :
- [1069] 洗脱液 A :H<sub>2</sub>O (0.1% 甲酸)
- [1070] 洗脱液 B :CH<sub>3</sub>CN (0.1% 甲酸)
- [1071] 梯度 :5-95% 洗脱液 B
- [1072] 流速 :1.5mL/min
- [1073] 柱子 :Synergi 4 μm Max-RP C<sub>12</sub>, 80A, 50 × 4.6mm (Phenomenex)
- [1074] MS 条件 :
- [1075] 毛细管电压 :3.5kV
- [1076] 锥孔电压 :30V
- [1077] 源温度 :120℃
- [1078] 脱溶剂温度 :300℃
- [1079] 分析的 LC-MS 系统
- [1080] 应用下文描述的多种系统, 并且它们被安装并且在非常类似的操作条件下运行。  
下面列出了应用的操作条件。
- [1081] HPLC 系统 :Waters 2795
- [1082] 质谱检测器 :Micromass Platform LC
- [1083] PDA 检测器 :Waters 2996 PDA
- [1084] 酸性分析条件 :
- [1085] 洗脱液 A :H<sub>2</sub>O (0.1% 甲酸)
- [1086] 洗脱液 B :CH<sub>3</sub>CN (0.1% 甲酸)
- [1087] 梯度 :5-95% 洗脱液 B 历经 3.5 分钟
- [1088] 流速 :0.8mL/min
- [1089] 柱子 :Phenomenex Synergi 4 μm Max-RP 80A, 2.0 × 50mm
- [1090] 碱性分析条件 :
- [1091] 洗脱液 A :H<sub>2</sub>O ( 用 NH<sub>4</sub>OH 将 pH 调至 9.5 的 10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 缓冲液 )
- [1092] 洗脱液 B :CH<sub>3</sub>CN
- [1093] 梯度 :05-95% 洗脱液 B 历经 3.5 分钟
- [1094] 流速 :0.8mL/min
- [1095] 柱子 :Thermo Hypersil-Keystone BetaBasic-18 5 μm 2.1 × 50mm
- [1096] 或
- [1097] 柱子 :Phenomenex Luna C18(2) 5 μm 2.0 × 50mm
- [1098] 极性分析条件 :
- [1099] 洗脱液 A :H<sub>2</sub>O (0.1% 甲酸)

- [1100] 洗脱液 B :CH<sub>3</sub>CN(0.1% 甲酸)
- [1101] 梯度 :00-50%洗脱液 B 历经 3 分钟
- [1102] 流速 :0.8mL/min
- [1103] 柱子 :Thermo Hypersil-Keystone HyPurity Aquastar,5 μ ,2.1×50mm
- [1104] 或
- [1105] 柱子 :Phenomenex Synergi 4 μ MAX-RP 80A,2.0×50mm 或
- [1106] 更长的分析条件 :
- [1107] 洗脱液 A :H<sub>2</sub>O(0.1% 甲酸)
- [1108] 洗脱液 B :CH<sub>3</sub>CN(0.1% 甲酸)
- [1109] 梯度 :05-95%洗脱液 B 历经 15 分钟
- [1110] 流速 :0.4mL/min
- [1111] 柱子 :Phenomenex Synergi 4 μ MAX-RP 80A,2.0×150mm
- [1112] 质谱条件 :
- [1113] 毛细管电压 :3.6kV
- [1114] 锥孔电压 :30V
- [1115] 源温度 :120℃
- [1116] 扫描范围 :165-700amu
- [1117] 离子化模式 :电喷雾正或
- [1118] 电喷雾负或
- [1119] 电喷雾正 & 负
- [1120] 质量直接纯化 LC-MS 系统
- [1121] 可以使用下面的制备色谱系统纯化本发明化合物。
- [1122] ●硬件 :
- [1123] Waters Fractionlynx 系统 :
- [1124] 2767 二元自动进样 / 级分收集器
- [1125] 2525 制备泵
- [1126] 用于柱选择的 CFO(柱流体组织器)
- [1127] 作为补充泵的 RMA(Waters 试剂管理器)
- [1128] Waters ZQ 质谱仪
- [1129] Waters 2996 二极管阵列检测器
- [1130] ●软件 :Masslynx 4.0
- [1131] ●柱子 :
- [1132] 1. 低 pH 色谱 :Phenomenex Synergy MAX-RP,10 μ 150×15mm(可选择地使用 100×21.2mm 直径的相同的柱子类型)。
- [1133] 2. 高 pH 色谱 :Phenomenex Luna C18(2),10 μ ,100×21.2mm(可选择地使用 Thermo Hypersil Keystone BetaBasie C18,5 μ ,100×21.2mm)。
- [1134] ●洗脱液 :
- [1135] 1. 低 pH 色谱 :
- [1136] 洗脱液 A :H<sub>2</sub>O+0.1% 甲酸, pH1.5

[1137] 洗脱液 B:CH<sub>3</sub>CN+0.1% 甲酸

[1138] 2. 高 pH 色谱:

[1139] 洗脱液 A:H<sub>2</sub>O+10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>+NH<sub>4</sub>OH, pH9.5

[1140] 洗脱液 B:CH<sub>3</sub>CN

[1141] 3. 补充溶剂:MeOH+0.1% 甲酸(用于两个色谱类型)

[1142] ● 方法:

[1143] 使用制备色谱法分离和纯化产物化合物前,首先可以用分析 LC-MS(参见上文)确定制备色谱法最适合的条件。典型的程序是用最适合化合物结构的色谱类型(低或高 pH)运行分析 LC-MS。一旦分析痕量物表现出好的色谱,可以选择相同类型的制备方法。低和高 pH 色谱法的典型的运行条件是:

[1144] 流速:24mL/min

[1145] 梯度:通常所有的梯度是用 95% A+5% B 进行 0.4min 步骤。然后,为了得到好的分离根据,分析痕量选择 3.6min 的梯度(例如对于早保留的化合物从 5%至 50% B;对于中间保留的化合物从 35%至 80%等)

[1146] 洗涤:梯度结束后进行 1 分钟的洗涤步骤

[1147] 再平衡:进行 2.1 分钟的再平衡步骤以使系统为下一步运行准备

[1148] 补充流速:1mL/min

[1149] ● 溶剂:

[1150] 通常将所有的化合物溶于 100% MeOH 或 100% DMSO 中

[1151] ● MS 运行条件:

[1152] 毛细管电压:3.2kV

[1153] 锥孔电压:25V

[1154] 源温度:120℃

[1155] 倍增器:500V

[1156] 扫描范围:125-800amu

[1157] 离子化模式:电喷雾正

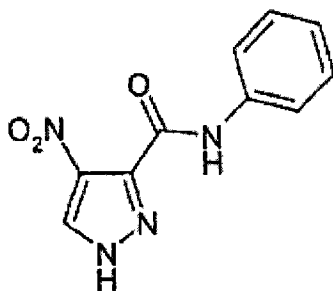
[1158] 除非另外说明,每个实施例中的原料是可商购的。

[1159] 实施例 1

[1160] 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺

[1161] 1A. 4-硝基-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺

[1162]

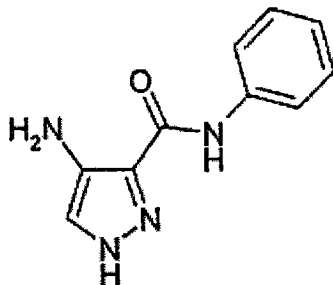


[1163] 将 4-硝基吡唑-3-甲酸(2.5g;15.9mmol)加入至苯胺(1.6mL;17.5mmol)、EDC(3.7g;19.1mmol)和 HOBt(2.6g;19.1mmol)的 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)(25mL)的搅

拌的溶液中,然后在室温下搅拌过夜。减压蒸发去除溶剂并且将残留物用乙酸乙酯 / 饱和  $\text{NaHCO}_3$  溶液研磨。过滤收集产生的固体,用水和乙醚洗涤,然后真空干燥,得到 2.85g 黄色 / 棕色固体标题化合物 (钠盐)。(LC/MS : $R_t$  2.78,  $[\text{M}+\text{H}]^+232.95$ )。

[1164] 1B:4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺

[1165]



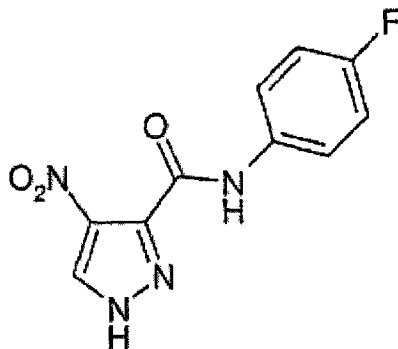
[1166] 将 4-硝基-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺 (100mg ;0.43mmol) 溶于乙醇 (5mL) 中,用二水合氯化锡 (II) (500mg ;2.15mmol) 处理,然后在回流下加热过夜。将反应混合物冷却并且蒸发。将残留物在乙酸乙酯和盐水之间分配,并且将乙酸乙酯层分离,干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ),过滤并且蒸发。将粗产物通过快速柱色谱法纯化,用 1 : 1 乙酸乙酯 / 石油醚洗脱,然后用 5% 甲醇 / 二氯甲烷洗脱。蒸发包含馏分的产物,然后通过制备 LC/MS 得到 15mg 类白色固体产物。(LC/MS : $R_t$  1.40,  $[\text{M}+\text{H}]^+202.95$ )。

[1167] 实施例 2:

[1168] 4-乙酰基氨基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1169] 2A:4-硝基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

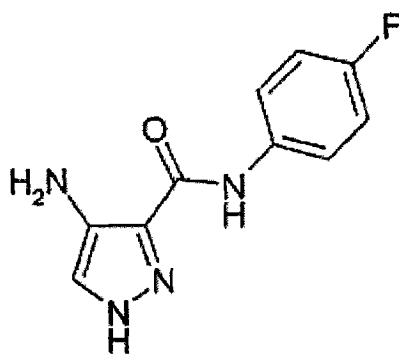
[1170]



[1171] 将 4-硝基吡唑-3-甲酸 (10g ;63.66mmol) 加入至 4-氟苯胺 (6.7mL ;70mmol)、EDC(14.6g ;76.4mmol) 和 HOBt (10.3g ;76.4mmol) 的 DMF (25mL) 搅拌的溶液中,然后在室温下搅拌过夜。减压蒸发去除溶剂并且将残留物用乙酸乙酯 / 饱和盐水溶液研磨。过滤收集产生的黄色固体,用 2M 盐酸洗涤,然后真空干燥,得到 15.5g 标题化合物。(LC/MS : $R_t$  2.92,  $[\text{M}+\text{H}]^+250.89$ )。

[1172] 2B:4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

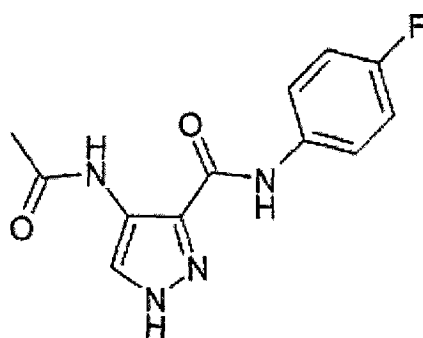
[1173]



[1174] 将 4-硝基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺(15g)溶于 200mL 乙醇中,在氮气气氛下,用 1.5g 10% 钯炭处理,然后在室温和压力下氢化过夜。通过硅藻土过滤去除催化剂并且蒸发滤液。将粗产物溶于丙酮/水(100mL : 100mL)中并且缓慢蒸发丙酮后过滤收集棕色结晶固体产物(8.1g)。(LC/MS : $R_t$  1.58,  $[M+H]^+$ 220.95)。

[1175] 2C:4-乙酰基氨基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1176]

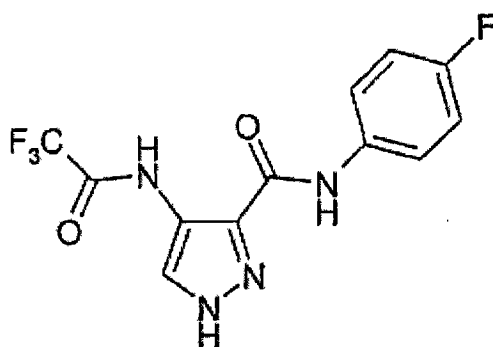


[1177] 将 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟苯基)-酰胺(500mg ;2.27mmol)溶于 5mL 吡啶中,用乙酸酐(240  $\mu$ L, 2.5mmol)处理,然后在室温下搅拌过夜。蒸发去除溶剂,然后加入二氯甲烷(20mL)和 2M 盐酸(20mL)。过滤收集不溶解的固体,用更多的二氯甲烷和水洗涤,然后真空干燥。分离得到类白色固体产物(275mg)。(LC/MS : $R_t$  2.96,  $[M+H]^+$ 262.91)。

[1178] 实施例 3:

[1179] 4-(2,2,2-三氟-乙酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1180]



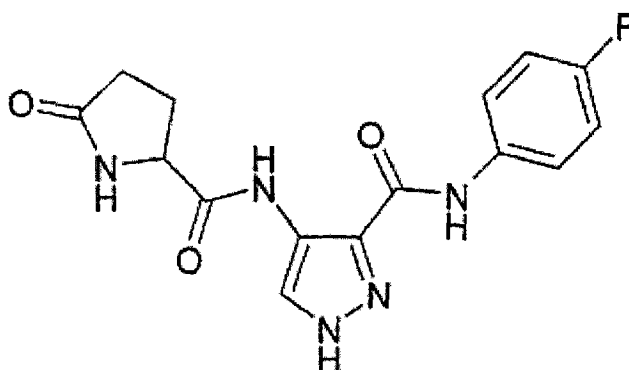
[1181] 将 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟苯基)-酰胺(实施例 2B)(500mg ;2.27mmol)溶于 5mL 的吡啶中,用三氟乙酸酐(320  $\mu$ L, 2.5mmol)处理,然后在室温下搅拌过夜。蒸发去除溶剂,将残留物在乙酸乙酯(50mL)和 2M 盐酸(50mL)之间分配,并且将乙酸乙酯层分离,用盐水(50mL)洗涤,干燥( $MgSO_4$ ),过滤并且蒸发,得到 560mg 棕色固体产物。(LC/MS :

[M+H]<sup>+</sup>317)。

[1182] 实施例 4:

[1183] 4-[(5-氧代-吡咯烷-2-羰基)-氨基]-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1184]

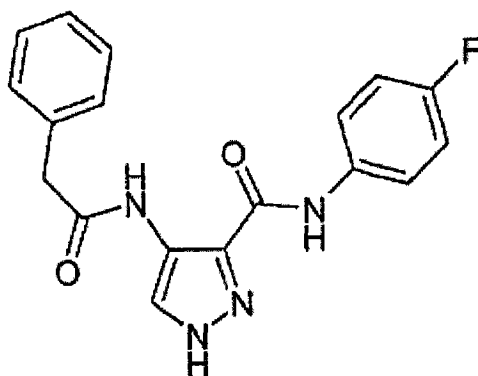


[1185] 将 2-氧代脯氨酸 (33mg ;0.25mmol) 加入至 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟苯基)-酰胺 (实施例 2B) (50mg ;0.23mmol)、EDAC (52mg ;0.27mmol) 和 HOBt (37mg ;0.27mmol) 的 5mL DMF 搅拌的溶液中,然后将混合物在室温下放置过夜。蒸发反应混合物并且将残留物通过制备 LC/MS 纯化,得到 24mg 白色固体产物。(LC/MS :R<sub>t</sub> 2.27, [M+H]<sup>+</sup>332)。

[1186] 实施例 5:

[1187] 4-苯基乙酰基氨基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1188]

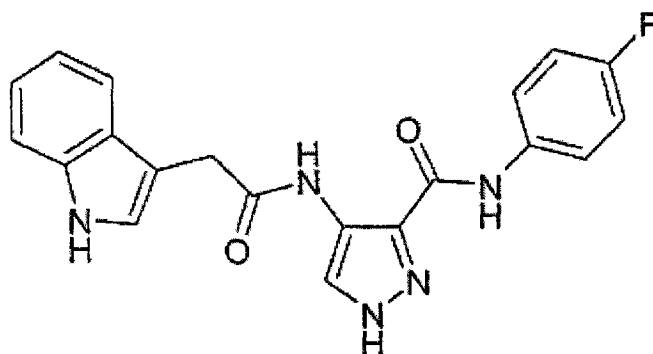


[1189] 通过与实施例 4 类似的方法进行反应,但是应用苯基乙酸 (34mg ;0.23mmol) 作为原料。分离得到白色固体标题化合物 (14mg)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 3.24, [M+H]<sup>+</sup>339)。

[1190] 实施例 6

[1191] 4-(2-1H-吡唑-3-基-乙酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1192]

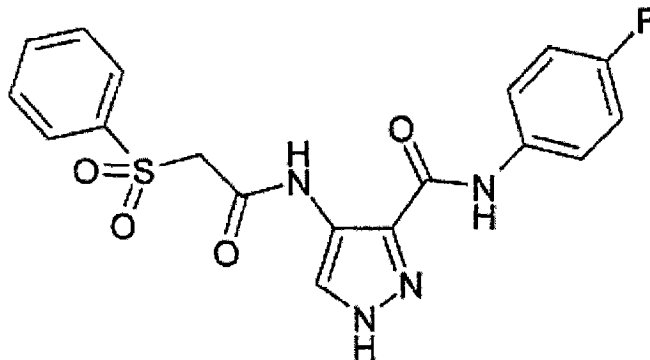


[1193] 通过与实施例 4 类似的方法进行反应,但是应用吡啶-3-乙酸 (44mg ;0.23mmol) 作为原料。分离得到白色固体标题产物 (14mg)。(LC/MS : $R_t$  3.05,  $[M+H]^+$  378)。

[1194] 实施例 7

[1195] 4-(2-(苯磺酰基-乙酰基氨基)-1H-吡唑-3-基)-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1196]

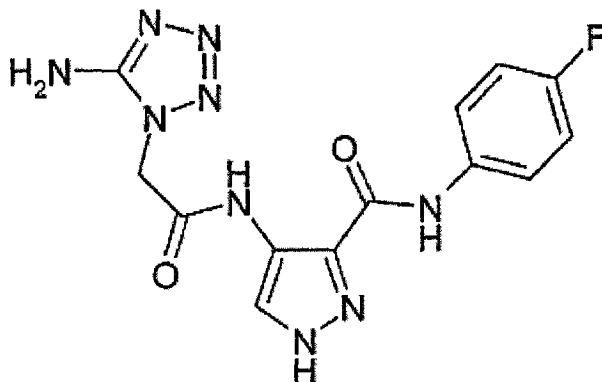


[1197] 通过与实施例 4 类似的方法进行反应,但是应用 2-(苯磺酰基)乙酸 (50mg ; 0.23mmol) 作为原料。分离得到白色固体标题化合物 (29mg)。(LC/MS : $R_t$  3.00,  $[M+H]^+$  403)。

[1198] 实施例 8

[1199] 4-[2-(5-氨基-四唑-1-基)-乙酰基氨基]-1H-吡唑-3-基)-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1200]

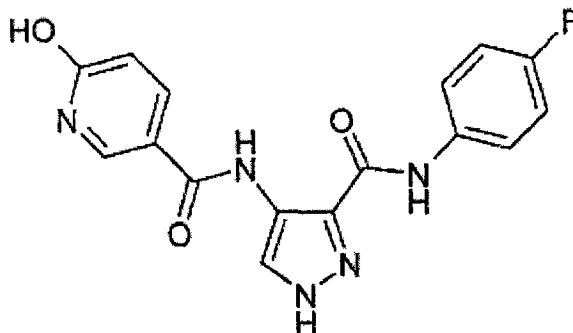


[1201] 通过与实施例 4 类似的方法进行反应,但是应用 5-氨基四唑-1-乙酸 (36mg ; 0.23mmol) 作为原料。分离得到白色固体标题化合物 (23mg)。(LC/MS : $R_t$  2.37,  $[M+H]^+$  346)。

[1202] 实施例 9

[1203] N-[3-(4-氟-苯基氨基甲酰基)-1H-吡唑-4-基]-6-羟基-烟酰胺

[1204]

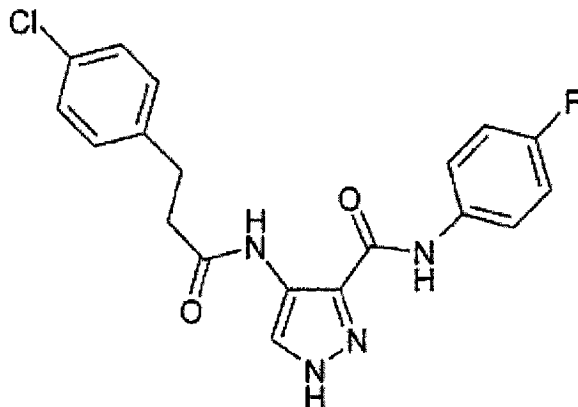


[1205] 通过与实施例 4 类似的方法进行反应,但是应用 6-羟基烟酸 (38mg ;0.23mmol) 作为原料。分离得到白色固体标题化合物 (17mg)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 2.32, [M+H]<sup>+</sup>342)。

[1206] 实施例 10

[1207] 4-[3-(4-氯-苯基)-丙酰基氨基]-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1208]

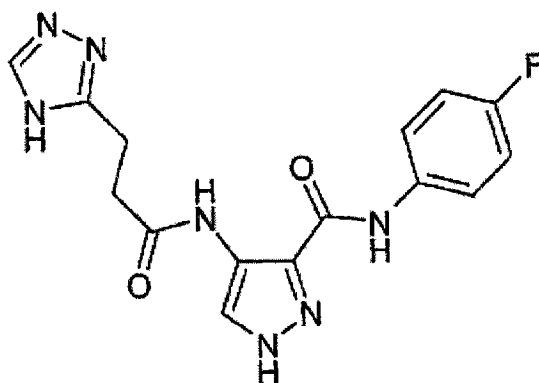


[1209] 通过与实施例 4 类似的方法进行反应,但是应用 3-(4-氯苯基)丙酸 (46mg ;0.23mmol) 作为原料。分离得到白色固体标题化合物 (40mg)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 3.60, [M+H]<sup>+</sup>388)。

[1210] 实施例 11

[1211] 4-(3-4H-[1,2,4]三唑-3-基-丙酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1212]

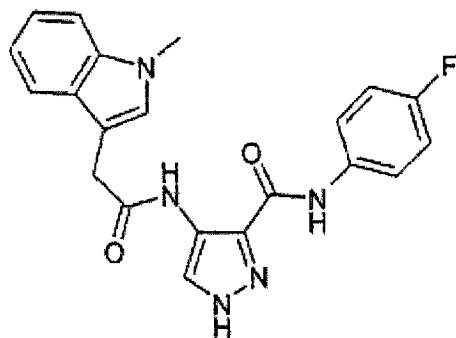


[1213] 通过与实施例 4 类似的方法进行反应,但是应用 3-三唑-3-基丙酸 (36mg ;0.23mmol) 作为原料。分离得到白色固体标题化合物 (18mg)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 2.39, [M+H]<sup>+</sup>344)。

[1214] 实施例 12

[1215] 4-[2-(1-甲基-1H-咪唑-3-基)-乙酰基氨基]-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1216]

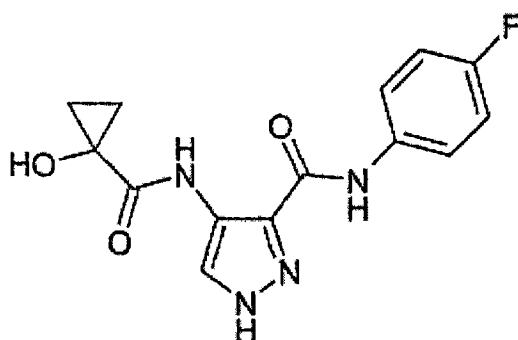


[1217] 通过与实施例 4 类似的方法进行反应,但是应用 N- 甲基吲哚 -3- 乙酸 (48mg ; 0.23mmol) 作为原料。分离得到白色固体标题化合物 (20mg)。(LC/MS : $R_t$  3.34,  $[M+H]^+$ 392)。

[1218] 实施例 13

[1219] 4-[(1-羟基-环丙烷羰基)-氨基]-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1220]

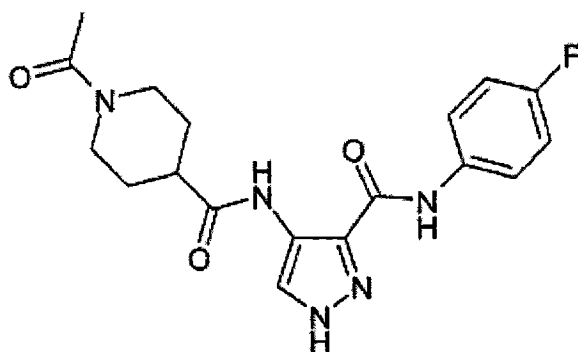


[1221] 通过与实施例 4 类似的方法进行反应,但是应用 1- 羟基环丙烷甲酸 (26mg ; 0.23mmol) 作为原料。分离得到白色固体标题化合物 (24mg)。(LC/MS : $R_t$  2.55,  $[M+H]^+$ 305)。

[1222] 实施例 14

[1223] 1-乙酰基-哌啶-4-甲酸[3-(4-氟-苯基氨基甲酰基)-1H-吡唑-4-基]-酰胺

[1224]

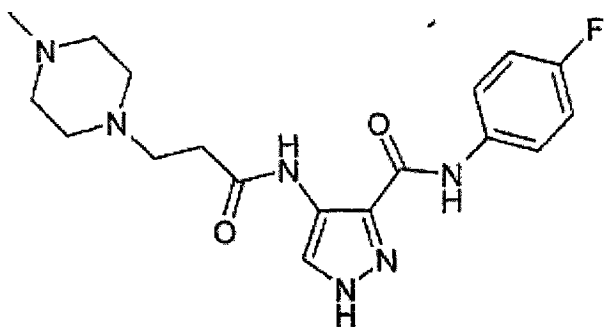


[1225] 通过与实施例 4 类似的方法进行反应,但是应用 N- 乙酰基哌啶乙酸 (43mg ; 0.23mmol) 作为原料。分离得到白色固体标题化合物 (19mg)。(LC/MS : $R_t$  2.49,  $[M+H]^+$ 374)。

[1226] 实施例 15

[1227] 4-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-丙酰基氨基]-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1228]

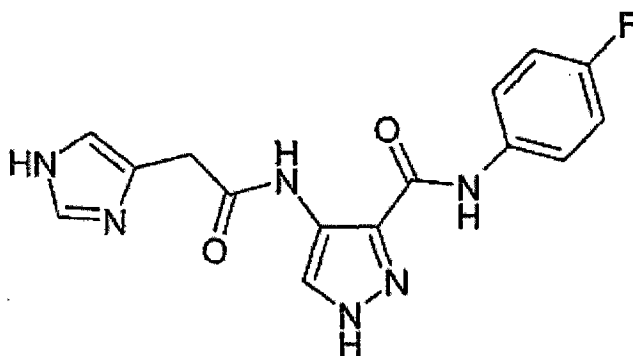


[1229] 通过与实施例 4 类似的方法进行反应,但是应用 4-N- 甲基哌嗪-1-N- 丙酸 (31mg ; 0.23mmol) 作为原料。分离得到白色固体标题化合物 (19mg)。(LC/MS : $R_t$  1.77,  $[M+H]^+$ 375)。

[1230] 实施例 16

[1231] 4-(2-1H-咪唑-4-基-乙酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟苯基)-酰胺

[1232]

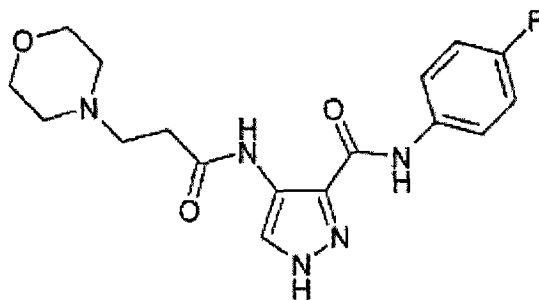


[1233] 通过与实施例 4 类似的方法进行反应,但是应用咪唑-4-乙酸 (32mg ;0.23mmol) 作为原料。分离得到白色固体标题化合物 (35mg)。(LC/MS : $R_t$  1.82,  $[M+H]^+$ 329)。

[1234] 实施例 17

[1235] 4-(3-吗啉-4-基-丙酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1236]

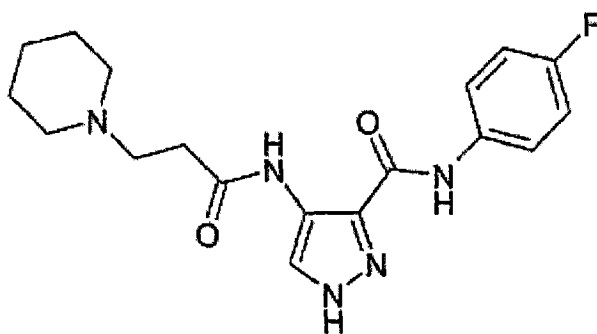


[1237] 通过与实施例 4 类似的方法进行反应,但是应用 3-吗啉-4-基-丙酸 (40mg ; 0.23mmol) 作为原料。分离得到白色固体标题化合物 (15mg)。(LC/MS : $R_t$  1.84,  $[M+H]^+$ 362)。

[1238] 实施例 18

[1239] 4-(3-哌啶-1-基-丙酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1240]

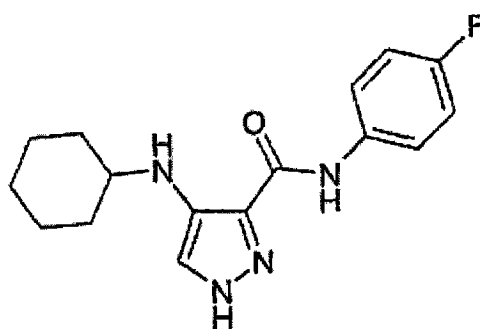


[1241] 通过与实施例 4 类似的方法进行反应,但是应用 3-哌啶-4-基-丙酸 (39mg ; 0.23mmol) 作为原料。分离得到白色固体标题化合物 (19mg)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 1.92, [M+H]<sup>+</sup>360)。

[1242] 实施例 19

[1243] 4-环己基氨基-1H-吡啶-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1244]

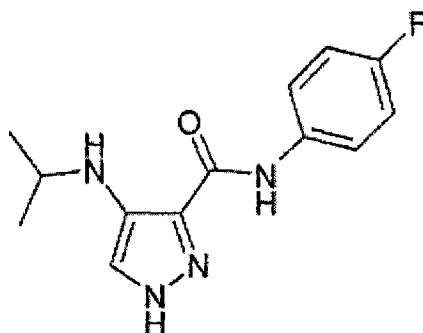


[1245] 将 3 Å 分子筛 (1g) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (315mg ; 1.5mmol) 加入至 4-氨基-1H-吡啶-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺 (200mg ; 1mmol) 和环己酮 (107mg ; 1.1mmol) 的二氯甲烷 (10mL) 溶液中,然后将混合物在室温下搅拌过周末。将反应混合物通过硅藻土过滤,用乙酸乙酯稀释,用盐水洗涤,干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并且蒸发,得到 48mg 灰色胶状产物。(LC/MS :R<sub>t</sub> 2.95, [M+H]<sup>+</sup>285)。

[1246] 实施例 20

[1247] 4-异丙基氨基-1H-吡啶-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1248]

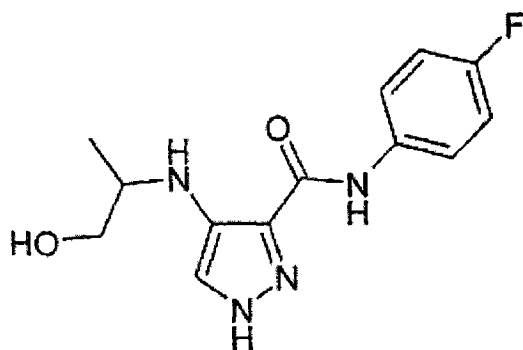


[1249] 通过与实施例 19 类似的方法制备标题化合物,但是应用丙酮代替环己烷。(LC/MS :R<sub>t</sub> 2.08, [M+H]<sup>+</sup>245)。

[1250] 实施例 21

[1251] 4-(2-羟基-1-甲基-乙基氨基)-1H-吡啶-3-甲酸(4-氟苯基)-酰胺

[1252]

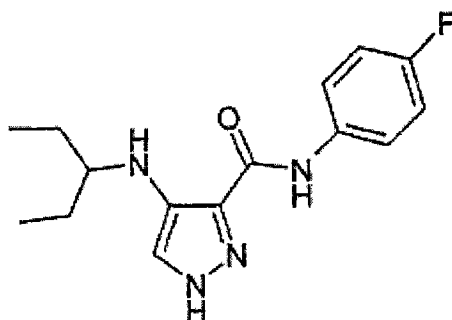


[1253] 通过与实施例 19 类似的方法制备化合物,但是应用羟基丙酮代替环己烷。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, D<sub>6</sub>-DMSO):9.9(1H, br s),7.8(2H, dd),7.3(1H, s),7.15(2H, t),5.15(1H, d),4.7(1H, brs),3.4(2H, m),3.2(1H, m),1.1(3H, d)。

[1254] 实施例 22

[1255] 4-(1-乙基-丙基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1256]

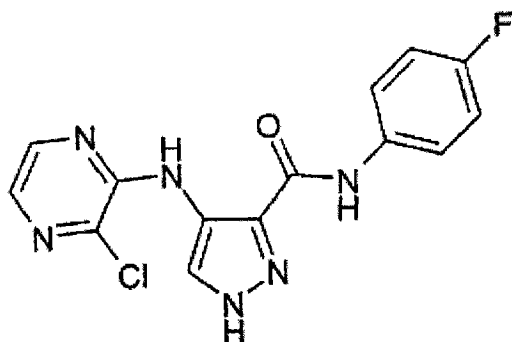


[1257] 通过与实施例 19 类似的方法制备化合物,但是应用 3-戊酮代替环己烷。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, D<sub>6</sub>-DMSO):12.85(1h, brs),9.9(1H, brs),7.8(2H, brt),7.3(1H, s),7.15(2H, t),5.0(1H, d),2.9(1H, brm),1.5(4H, m),3.2(1H, m),0.9(6H, t)。

[1258] 实施例 23

[1259] 4-(3-氯-吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1260]

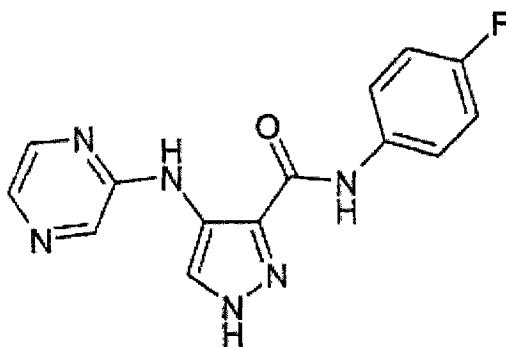


[1261] 在 150℃ (50W) 下,将 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺(50mg; 0.23mmol) 和 2,3-二氯吡嗪(140mg;0.92mmol) 的混合物在 CEMDiscover™ 微波合成仪中加热 20 分钟。粗反应混合物通过快速柱色谱纯化,用乙酸乙酯/己烷(1:3 然后 1:2) 洗脱。合并包含产物的级分并且蒸发得到 15mg 白色固体标题化合物。(LC/MS:R<sub>t</sub> 4.06, [M+H]<sup>+</sup>332)。

[1262] 实施例 24

[1263] 4-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1264]

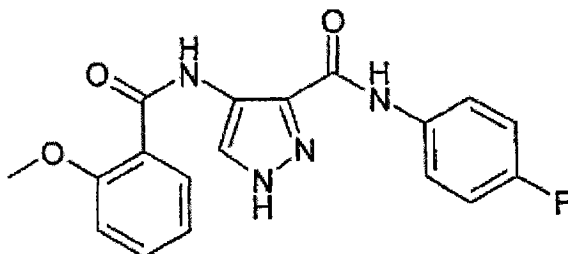


[1265] 通过与实施例 23 类似的方法制备化合物,但是应用 2-氯吡嗪代替 2,3-二氯吡嗪。(LC/MS:  $R_t$  3.28,  $[M+H]^+$ 299)。

[1266] 实施例 25

[1267] 4-(2-甲氧基-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1268]

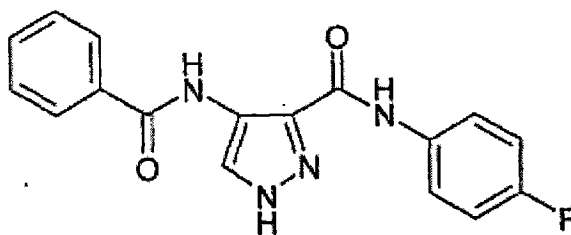


[1269] 将 2-甲氧基-苯甲酸 (38mg, 0.25mmol) 加入至 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺 (50mg, 0.23mmol)、EDC (53mg, 0.27mmol) 和 HOBt (37mg, 0.27mmol) 的 DMF (5mL) 溶液中。将反应混合物在室温下搅拌 24 小时。减压除去溶剂。将残留物通过制备 LC/MS 纯化并且蒸发包含产物的级分后产生略带粉红色固体产物 (12mg, 15%)。(LC/MS:  $R_t$  4.00,  $[M+H]^+$ 354.67)。

[1270] 实施例 26

[1271] 4-苯甲酰基氨基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1272]

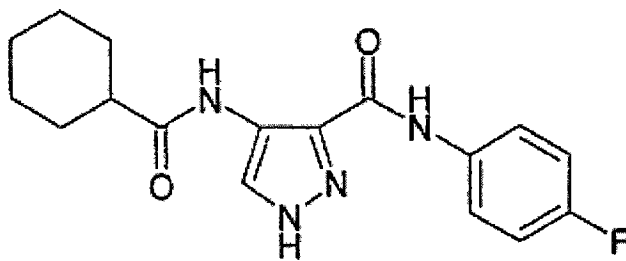


[1273] 通过与实施例 25 类似的方法进行实验,应用苯甲酸 (31mg, 0.25mmol) 作为起始酸。分离得到粉红色固体产物 (26mg, 35%)。(LC/MS:  $R_t$  3.96,  $[M+H]^+$ 324.65)。

[1274] 实施例 27

[1275] 4-(环己烷羧基-氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1276]

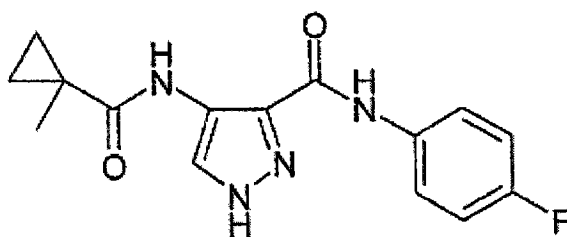


[1277] 通过与实施例 25 类似的方法进行实验,应用环己烷甲酸 (32mg, 0.25mmol) 作为起始酸。分离得到粉红色固体产物 (28mg, 35%)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 4.16, [M+H]<sup>+</sup>330.70)。

[1278] 实施例 28

[1279] 4-[(1-甲基-环丙烷羰基)-氨基]-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1280]

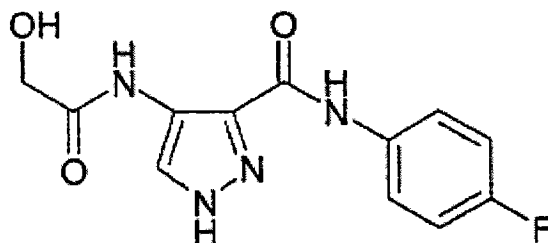


[1281] 通过与实施例 25 类似的方法进行实验,应用 1-甲基-环丙烷甲酸 (25mg, 0.25mmol) 作为起始酸。分离得到粉红色固体产物 (24mg, 35%)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 3.72, [M+H]<sup>+</sup>302.68)。

[1282] 实施例 29

[1283] 4-(2-羟基-乙酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1284]

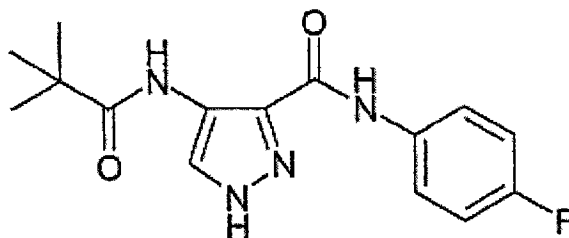


[1285] 通过与实施例 25 类似的方法进行实验,应用羟基乙酸 (19mg, 0.25mmol) 作为起始酸。分离得到白色固体产物 (26mg, 41%)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 2.65, [M+H]<sup>+</sup>278.61)。

[1286] 实施例 30

[1287] 4-(2,2-二甲基-丙酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1288]



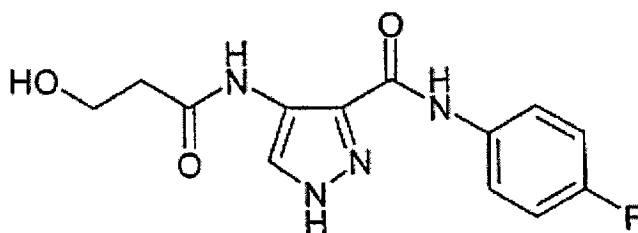
[1289] 通过与实施例 25 类似的方法进行实验,应用 2,2-二甲基-丙酸 (26mg, 0.25mmol)

作为起始酸。分离得到粉红色固体产物 (21mg, 30%)。 (LC/MS :R<sub>t</sub> 3.83, [M+H]<sup>+</sup>304.68)。

[1290] 实施例 31

[1291] 4-(3-羟基-丙酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1292]

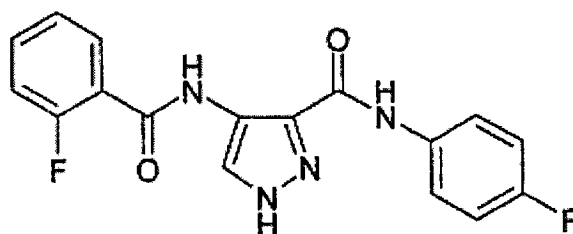


[1293] 通过与实施例 25 类似的方法进行实验,应用 3-羟基-丙酸 (75.1mg, 0.25mmol) 作为起始酸。分离得到米色固体产物 (5mg, 8%)。 (LC/MS :R<sub>t</sub> 2.58, [M+H]<sup>+</sup>292.65)。

[1294] 实施例 32

[1295] 4-(2-氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1296]

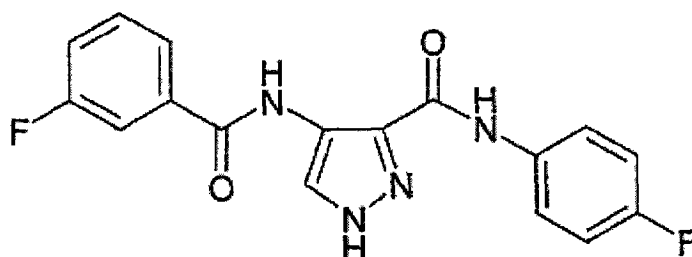


[1297] 将 2-氟苯甲酸 (36mg, 0.25mmol) 加入至 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺 (50mg, 0.23mmol)、EDC (53mg, 0.27mmol) 和 HOBT (37mg, 0.27mmol) 的 DMSO (1mL) 溶液中。将反应混合物在室温下搅拌 24 小时并且通过制备 LC/MS 纯化。蒸发包含产物的级分得到白色固体产物 (15mg, 19%)。 (LC/MS :R<sub>t</sub> 3.91, [M+H]<sup>+</sup>342.66)。

[1298] 实施例 33

[1299] 4-(3-氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1300]

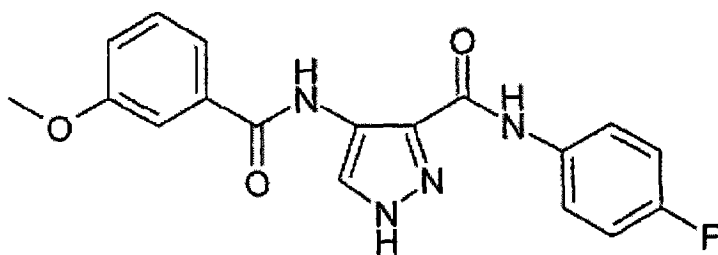


[1301] 通过与实施例 32 类似的方法进行实验,应用 3-氟苯甲酸 (36mg, 0.25mmol) 作为起始酸。分离得到白色固体产物 (19mg, 24%)。 (LC/MS :R<sub>t</sub> 4.03, [M+H]<sup>+</sup>342.67)。

[1302] 实施例 34

[1303] 4-(3-甲氧基-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1304]

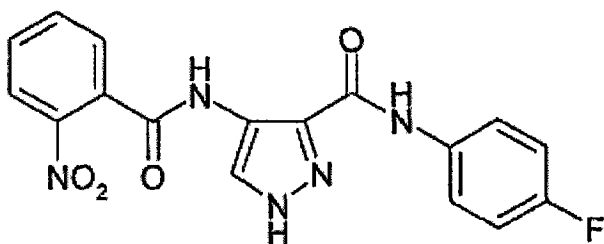


[1305] 通过与实施例 32 类似的方法进行实验,应用 3- 甲氧基 - 苯甲酸 (39mg, 0.25mmol) 作为起始酸。分离得到白色固体产物 (20mg, 25%)。 (LC/MS :R<sub>t</sub> 3.97, [M+H]<sup>+</sup>354.68)。

[1306] 实施例 35

[1307] 4-(2- 硝基 - 苯甲酰基氨基)-1H- 吡唑-3- 甲酸 (4- 氟 - 苯基)- 酰胺的合成

[1308]

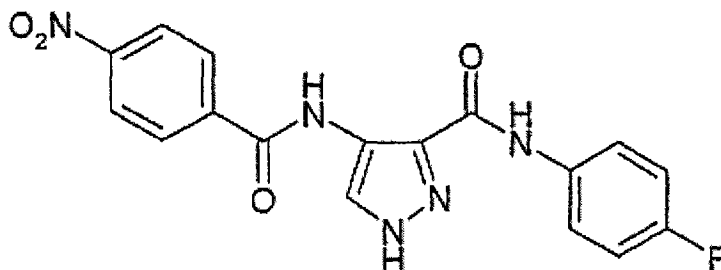


[1309] 通过与实施例 32 类似的方法进行实验,应用 2- 硝基苯甲酸 (43mg, 0.25mmol) 作为起始酸。分离得到白色固体产物 (17mg, 20%)。 (LC/MS :R<sub>t</sub> 3.67, [M+H]<sup>+</sup>369.66)。

[1310] 实施例 36

[1311] 4-(4- 硝基 - 苯甲酰基氨基)-1H- 吡唑-3- 甲酸 (4- 氟 - 苯基)- 酰胺的合成

[1312]

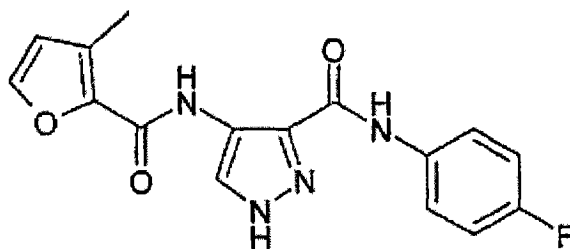


[1313] 通过与实施例 32 类似的方法进行实验,应用 4- 硝基苯甲酸 (43mg, 0.25mmol) 作为起始酸。分离得到白色固体产物 (15mg, 18%)。 (LC/MS :R<sub>t</sub> 3.98, [M+H]<sup>+</sup>369.63)。

[1314] 实施例 37

[1315] 4-[(3- 甲基 - 呋喃-2- 羰基)- 氨基]-1H- 吡唑-3- 甲酸 (4- 氟 - 苯基)- 酰胺的合成

[1316]

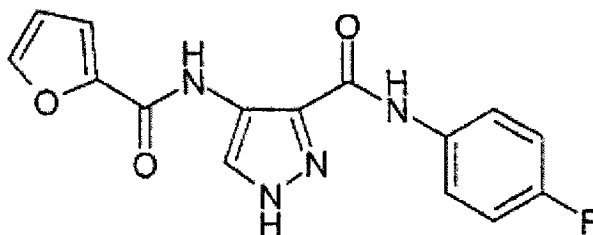


[1317] 通过与实施例 32 类似的方法进行实验,应用 3- 甲基 -2- 糠酸 (32mg, 0.25mmol) 作为起始酸。分离得到白色固体产物 (15mg, 20%)。 (LC/MS :R<sub>t</sub> 3.86, [M+H]<sup>+</sup>328.68)。

## [1318] 实施例 38

[1319] 4-[(呋喃-2-羧基)-氨基]-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1320]

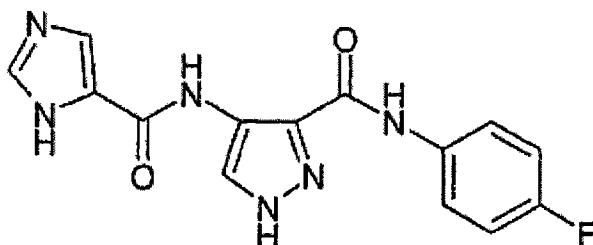


[1321] 通过与实施例 32 类似的方法进行实验,应用 2-糠酸(29mg,0.25mmol)作为起始酸。分离得到白色固体产物(18mg,25%)。(LC/MS:R<sub>t</sub> 3.56, [M+H]<sup>+</sup>314.64)。

## [1322] 实施例 39

[1323] 4-[(3H-咪唑-4-羧基)-氨基]-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1324]

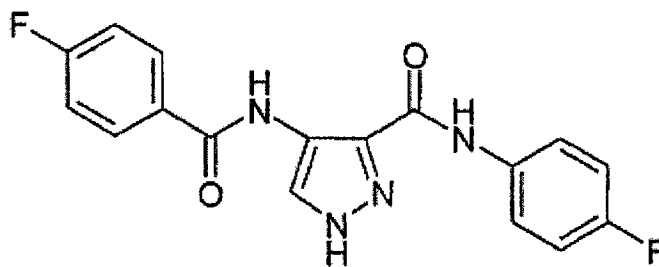


[1325] 通过与实施例 32 类似的方法进行实验,应用 1H-咪唑-4-甲酸(29mg,0.25mmol)作为起始酸。分离得到白色固体产物(16mg,22%)。(LC/MS:R<sub>t</sub> 2.59, [M+H]<sup>+</sup>314.65)。

## [1326] 实施例 40

[1327] 4-(4-氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1328]

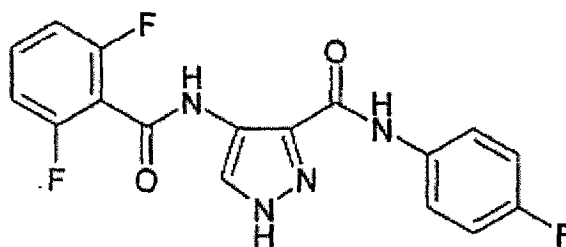


[1329] 通过与实施例 32 类似的方法进行实验,应用 4-氟苯甲酸(36mg,0.25mmol)作为起始酸。分离得到乳白色固体产物(23mg,29%)。(LC/MS:R<sub>t</sub> 4.00, [M+H]<sup>+</sup>342.67)。

## [1330] 实施例 41

[1331] 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1332]

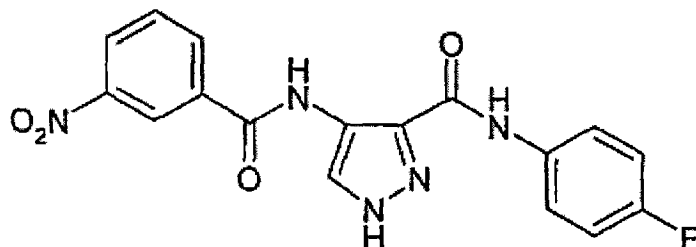


[1333] 通过与实施例 32 类似的方法进行实验,应用 2,6- 二氟苯甲酸 (40mg,0.25mmol) 作为起始酸。分离得到乳白色固体产物 (25mg,30%)。(LC/MS : $R_t$  3.76,  $[M+H]^+$ 360.66)。

[1334] 实施例 42

[1335] 4-(3- 硝基 - 苯甲酰基氨基)-1H- 吡唑 -3- 甲酸 (4- 氟 - 苯基)- 酰胺的合成

[1336]

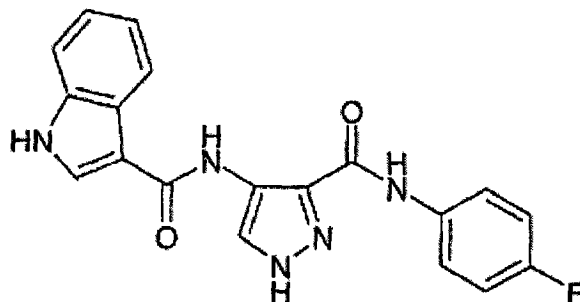


[1337] 通过与实施例 32 类似的方法进行实验,应用 3- 硝基苯甲酸 (43mg,0.25mmol) 作为起始酸。分离得到乳白色固体产物 (15mg,18%)。(LC/MS : $R_t$  3.94,  $[M+H]^+$ 369.65)。

[1338] 实施例 43

[1339] 1H- 吡唑 -3- 甲酸 [3-(4- 氟 - 苯基氨基甲酰基)-1H- 吡唑 -4- 基]- 酰胺的合成

[1340]

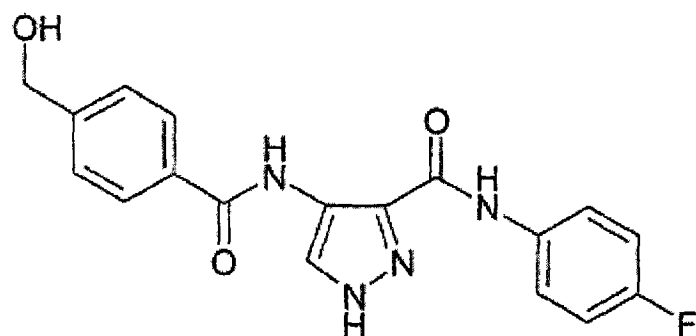


[1341] 通过与实施例 32 类似的方法进行实验,应用吡唑 -3- 甲酸 (41mg,0.25mmol) 作为起始酸。分离得到铁锈色固体产物 (14mg,17%)。(LC/MS : $R_t$  3.60,  $[M+H]^+$ 363.66)。

[1342] 实施例 44

[1343] 4-(4- 羟基甲基 - 苯甲酰基氨基)-1H- 吡唑 -3- 甲酸 (4- 氟 - 苯基)- 酰胺的合成

[1344]

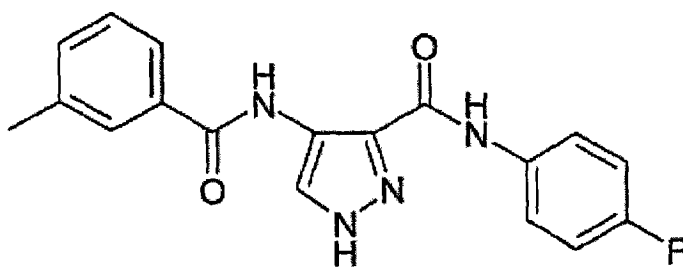


[1345] 通过与实施例 32 类似的方法进行实验,应用 4- 羟基甲基苯甲酸 (39mg,0.25mmol) 作为起始酸。分离得到白色固体产物 (19mg,23%)。(LC/MS : $R_t$  3.12,  $[M+H]^+$ 354.68)。

[1346] 实施例 45

[1347] 4-(3- 甲基 - 苯甲酰基氨基)-1H- 吡唑 -3- 甲酸 (4- 氟 - 苯基)- 酰胺的合成

[1348]

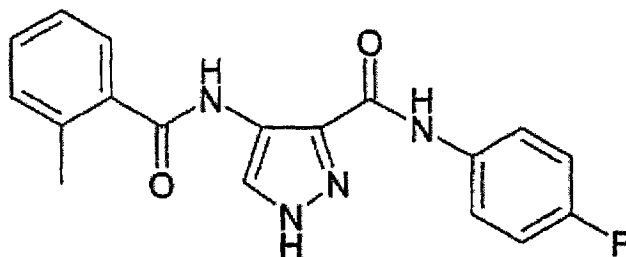


[1349] 通过与实施例 32 类似的方法进行实验,应用 3- 甲基苯甲酸 (35mg,0.25mmol) 作为起始酸。分离得到类白色固体产物 (21mg,27%)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 4.13, [M+H]<sup>+</sup>338.71)。

[1350] 实施例 46

[1351] 4-(2- 甲基 - 苯甲酰基氨基 )-1H- 吡唑 -3- 甲酸 (4- 氟 - 苯基 )- 酰胺的合成

[1352]

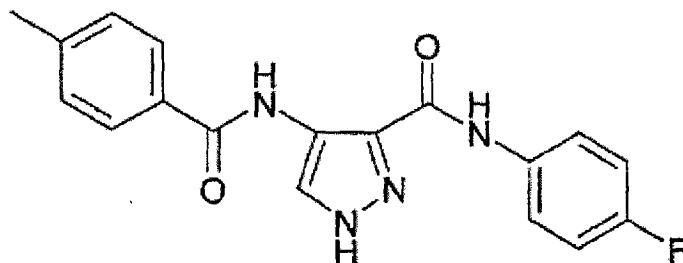


[1353] 通过与实施例 32 类似的方法进行实验,应用 2- 甲基苯甲酸 (35mg,0.25mmol) 作为起始酸。分离得到类白色固体产物 (20mg,26%)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 4.05, [M+H]<sup>+</sup>338.69)。

[1354] 实施例 47

[1355] 4-(4- 甲基 - 苯甲酰基氨基 )-1H- 吡唑 -3- 甲酸 (4- 氟 - 苯基 )- 酰胺的合成

[1356]

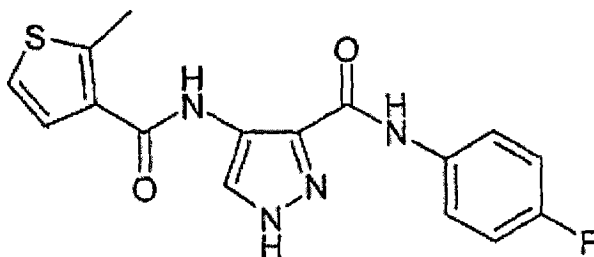


[1357] 通过与实施例 32 类似的方法进行实验,应用 4- 甲基苯甲酸 (35mg,0.25mmol) 作为起始酸。分离得到类白色固体产物 (19mg,24%)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 4.16, [M+H]<sup>+</sup>338.70)。

[1358] 实施例 48

[1359] 4-[(2- 甲基 - 噻吩 -3- 羰基 )- 氨基 ]-1H- 吡唑 -3- 甲酸 (4- 氟 - 苯基 )- 酰胺的合成

[1360]



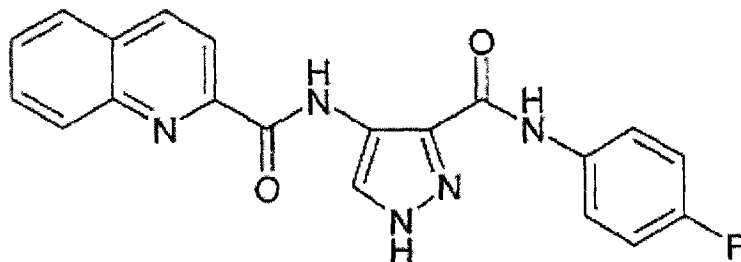
[1361] 将 2- 甲基 -3- 噻吩甲酸 (36mg,0.25mmol) 加入至 4- 氨基 -1H- 吡唑 -3- 甲酸

(4-氟-苯基)-酰胺(实施例 2B)(50mg, 0.23mmol)、EDC(53mg, 0.27mmol) 和 HOBt(37mg, 0.27mmol) 的 DMSO(1mL) 溶液中。将反应混合物在室温下搅拌 24 小时。将反应混合物滴加至水(30mL)中并且将产生的固体过滤收集、用水洗涤并且吸干。得到米色固体标题化合物(15mg, 19%)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 4.08, [M+H]<sup>+</sup>344.67)。

[1362] 实施例 49

[1363] 喹啉-2-甲酸[3-(4-氟-苯基氨基甲酰基)-1H-吡唑-4-基]-酰胺的合成

[1364]

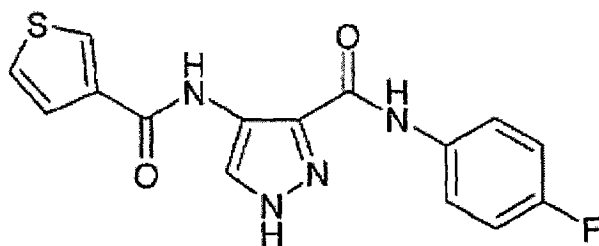


[1365] 通过与实施例 48 类似的方法进行实验,应用喹哪啶酸(44mg, 0.25mmol) 作为起始酸。分离得到棕色固体产物(16mg, 19%)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 4.29, [M+H]<sup>+</sup>375.66)。

[1366] 实施例 50

[1367] 4-[(噻吩-3-羧基)-氨基]-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1368]

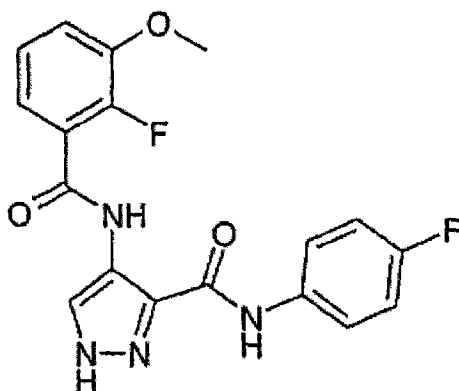


[1369] 通过与实施例 48 类似的方法进行实验,应用噻吩-3-甲酸(33mg, 0.25mmol) 作为起始酸。分离得到米色固体产物(15mg, 20%)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 3.77, [M+H]<sup>+</sup>330.61)。

[1370] 实施例 51

[1371] 4-(2-氟-3-甲氧基-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1372]



[1373] 在室温下,将 2-氟-3-甲氧基苯甲酸(0.047g, 0.28mmol)、4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺(实施例 2B)(0.055g, 0.25mmol)、EDC(0.58g, 0.30mmol) 和 HOBt(0.041g, 0.30mmol) 在 DMSO(1.25mL) 中搅拌 5 小时。

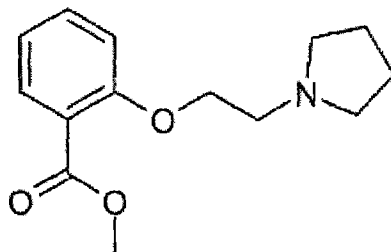
[1374] 将反应混合物倾倒入水 (30mL) 中并且过滤收集产生的固体并且将其在真空箱内干燥, 得到灰色固体标题化合物 (0.058g, 63%)。 (LC/MS :R<sub>t</sub> 3.99, [M+H]<sup>+</sup>372.98)。

[1375] 实施例 52

[1376] 4-[2-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯甲酰基氨基]-1H-吡唑-3-甲酸 4-氟苯基酰胺的合成

[1377] 52A 2-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯甲酸甲酯

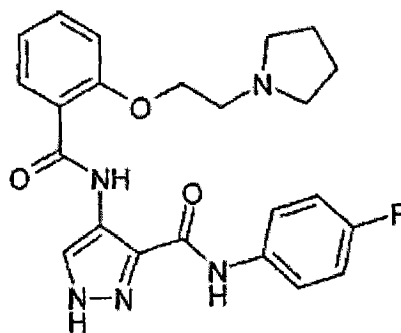
[1378]



[1379] 将二异丙基偶氮二甲酸酯 (0.404g, 2mmol) 滴加至三苯膦 (0.524g, 2mmol) 的 THF 溶液 (10mL) 中。滴加水杨酸甲酯 (0.304g, 2mmol) 并且将产生的混合物在室温下搅拌 1 小时。滴加 1,2-羟基乙基吡咯烷 (0.230g, 2mmol) 并且将反应混合物在室温下再搅拌 1.5 小时。将产生的溶液减压浓缩并且进行快速柱色谱法, 用己烷: 乙酸乙酯 (5 : 1, 1 : 1) 洗脱, 然后用乙酸乙酯: 甲醇 (4 : 1) 洗脱, 得到澄清黄色油状产物 (0.104g, 21%)。 (LC/MS : R<sub>t</sub> 0.69, 1.62, [MH]<sup>+</sup>250.02)。

[1380] 52B. 4-[2-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯甲酰基氨基]-1H-吡唑-3-甲酸 4-氟苯基酰胺

[1381]

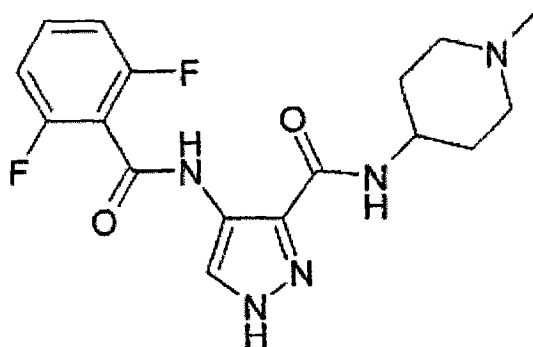


[1382] 将 2-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯甲酸甲酯 (0.104g, 0.42mmol) 用 2MNaOH 水溶液 (20mL) 和水 (20mL) 处理。将反应混合物在室温下搅拌 20 小时, 然后真空浓缩并且和甲苯 (3×5mL) 共沸。加入水 (50mL) 并且用 1MHC1 水溶液将混合物的 pH 调至 5。将产生的溶液真空浓缩并且和甲苯 (3×5mL) 共沸得到白色固体, 将其与 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸 (4-氟-苯基)-酰胺 (实施例 2B) (0.055g, 0.25mmol)、EDC (0.058g, 0.3mmol) 和 HOBt (0.041g, 0.3mmol) 合并并且在 DMSO (3mL) 中在室温下搅拌 20 小时。将反应混合物倾倒入水 (30mL) 中并且过滤收集产生的固体并且在真空箱内干燥得到灰色固体标题化合物 (0.015g, 14%)。 (LC/MS :R<sub>t</sub> 2.18, [MH]<sup>+</sup>438.06)。

[1383] 实施例 53

[1384] 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 (1-甲基-哌啶-4-基) 酰胺的合成

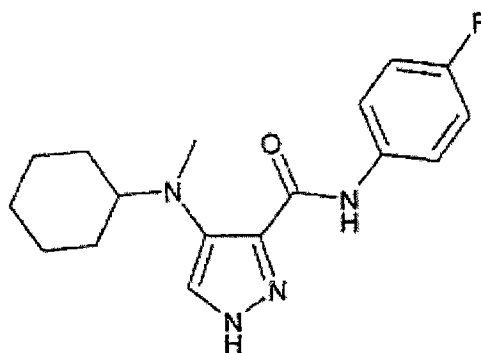
[1385]



[1386] 将 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 (134mg, 0.50mmol)、4-氨基-N-甲基哌啶 (50.0  $\mu$ L, 0.45mmol)、EDAC (104mg, 0.54mmol) 和 HOBt (73.0mg, 0.54mmol) 在 DMF (3mL) 中的混合物在环境温度下搅拌 16 小时。将混合物真空浓缩, 将残留物溶于 EtOAc 中并且依次用饱和碳酸氢钠水溶液、水和盐水洗涤。将有机部分干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) 并且真空浓缩得到白色固体 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 (1-甲基-哌啶-4-基) 酰胺 (113mg, 69%)。 (LC/MS:  $R_t$  2.52,  $[\text{M}+\text{H}]^+$  364.19)。

[1387] 实施例 54[1388] 4-(环己基-甲基-氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 (4-氟-苯基)-酰胺的合成

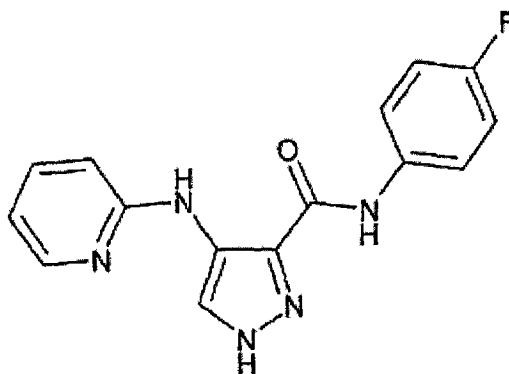
[1389]



[1390] 通过与实施例 19 化合物类似的方法, 通过先用环己酮、然后用甲醛依次还原烷基化制备该化合物。 (LC/MS:  $R_t$  2.77,  $[\text{MH}]^+$  316.71)。

[1391] 实施例 55[1392] 4-(吡啶-2-基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 (4-氟-苯基)-酰胺的合成

[1393]



[1394] 通过与实施例 23 化合物类似的方法制备标题化合物。 (LC/MS:  $R_t$  2.07,  $[\text{M}+\text{H}]^+$  298.03)。

[1395] 实施例 56-81

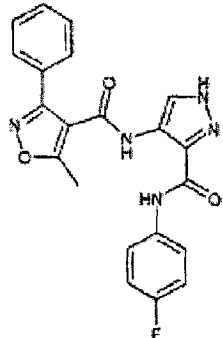
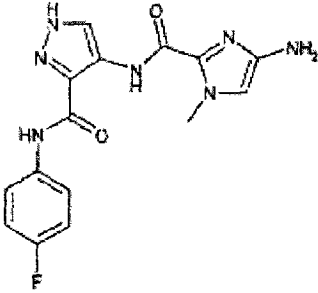
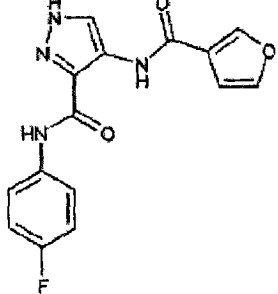
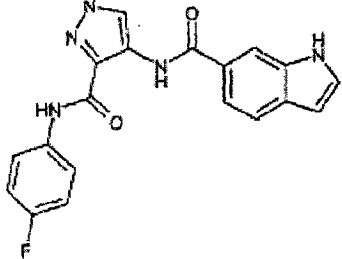
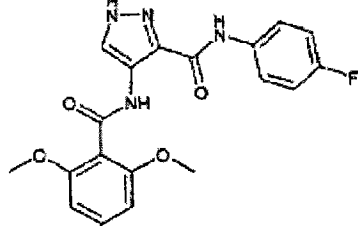
[1396] 通过在以上实施例中描述的方法或与其类似的方法,或通过应用在以上实施例中描述的化合物和本领域技术人员众所周知的合成方法进行化学转化,制备表 3 中列出的化合物。

[1397] 表 3

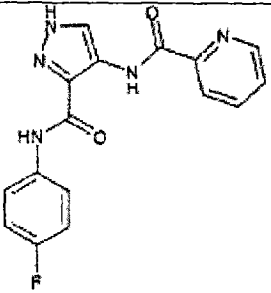
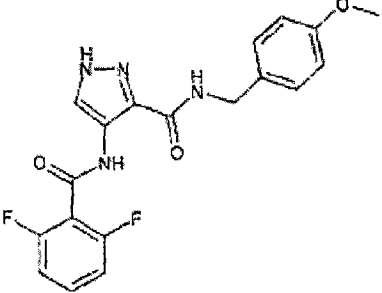
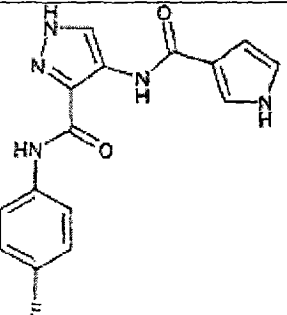
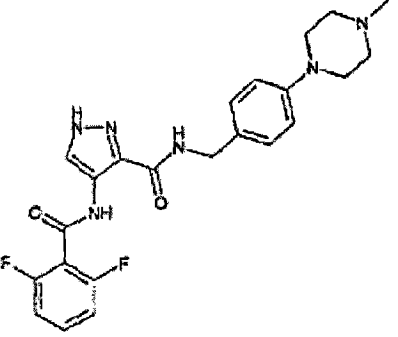
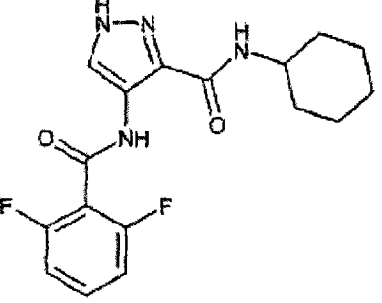
[1398]

| 实施例号 | 结构 | 应用类似于以下实施例号的方法制备 | 与实施例的差别 | LCMS |
|------|----|------------------|---------|------|
|      |    |                  |         |      |

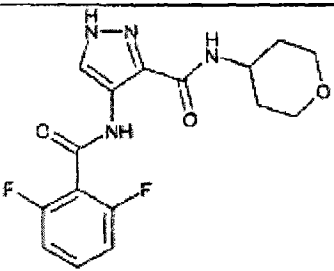
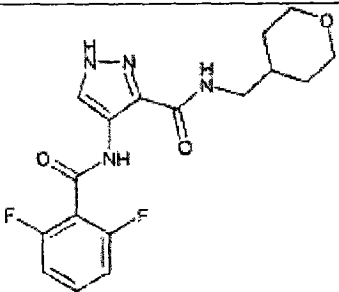
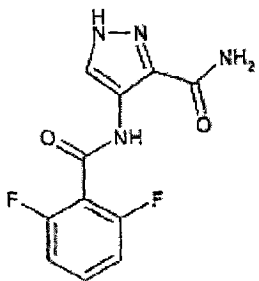
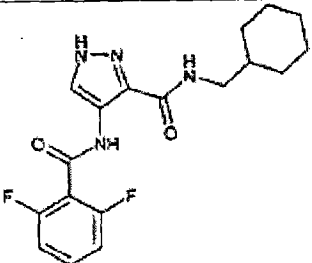
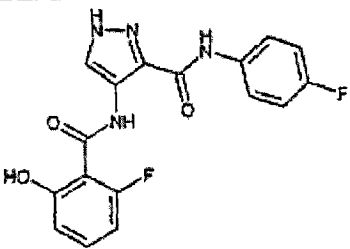
[1399]

|    |                                                                                     |    |                                        |                                       |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|----|----------------------------------------|---------------------------------------|
| 56 |    | 4  |                                        | $R_t$ 3.20 min<br>$[M+H]^+$<br>406.07 |
| 57 |    | 4  | 然后如实施例 82<br>描述的用 TFA 除<br>去 t-Boc 保护基 | $R_t$ 2.35 min<br>$m/z$ 343.72        |
| 58 |   | 4  | 用 DMSO 代替<br>DMF 作为溶剂                  | $R_t$ 3.51 min<br>$m/z$ 314.62        |
| 59 |  | 4  | 用 DMSO 代替<br>DMF 作为溶剂                  | $R_t$ 3.79 min<br>$m/z$ 363.67        |
| 60 |  | 48 | 通过柱色谱纯化,<br>应用 EtOAc:石<br>油醚洗脱         | $R_t$ 3.68 min<br>$m/z$ 384.69        |

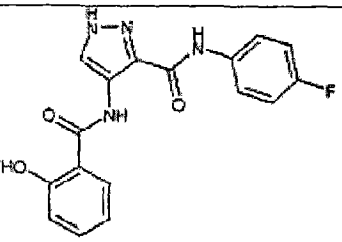
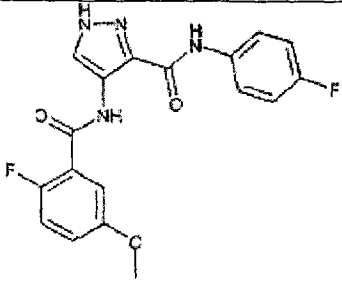
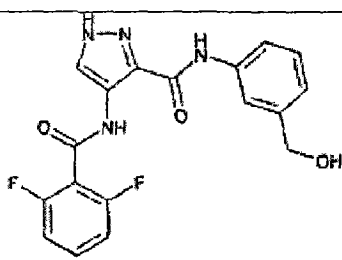
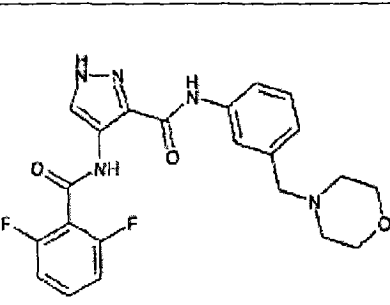
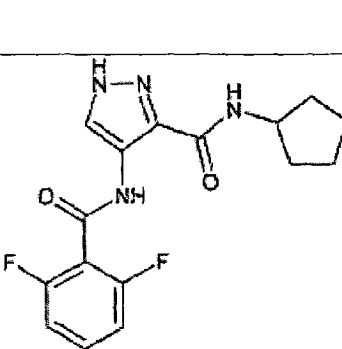
[1400]

|    |                                                                                     |    |                                |                                |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|----|--------------------------------|--------------------------------|
| 61 |    | 48 | 通过柱色谱纯化,<br>应用 EtOAC:石<br>油醚洗脱 | $R_t$ 3.61 min<br>$m/z$ 326.10 |
| 62 |    | 48 | 通过柱色谱纯化,<br>应用 EtOAC:石<br>油醚洗脱 | $R_t$ 3.51 min<br>$m/z$ 387.11 |
| 63 |   | 48 |                                | $R_t$ 3.11 min<br>$m/z$ 313.65 |
| 64 |  | 48 | 通过柱色谱纯化,<br>应用 EtOAC:石<br>油醚洗脱 | $R_t$ 2.20 min<br>$m/z$ 455.19 |
| 65 |  | 53 |                                | $R_t$ 3.95 min<br>$m/z$ 349.09 |

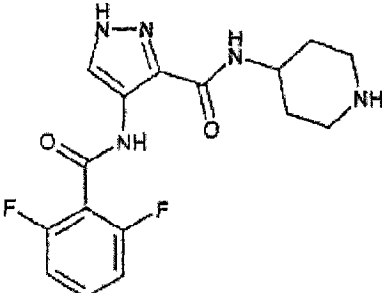
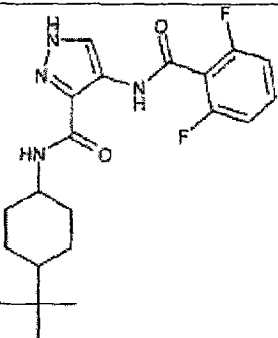
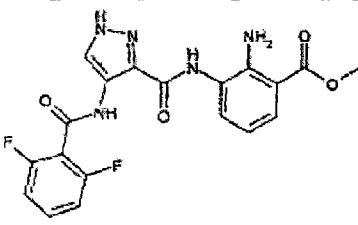
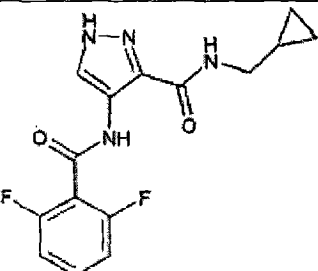
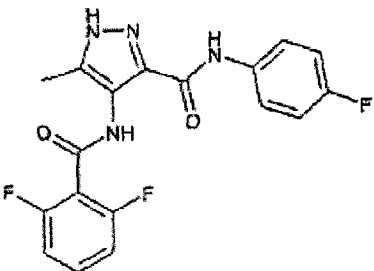
[1401]

|    |                                                                                     |                                                      |                                |                                |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 66 |    | 48                                                   | 通过柱色谱纯化,<br>应用 EtOAc:石<br>油醚洗脱 | $R_t$ 2.39 min<br>$m/z$ 351.07 |
| 67 |    | 48                                                   | 通过柱色谱纯化,<br>应用 EtOAc:石<br>油醚洗脱 | $R_t$ 2.83 min<br>$m/z$ 365.13 |
| 68 |   | 应用<br>TFA- 茴<br>香醚从实<br>施例 62<br>化合物除<br>去 PMB<br>基团 |                                | $R_t$ 2.10 min<br>$m/z$ 266.97 |
| 69 |  | 48                                                   | 用 DMF 代替<br>DMSO 作为溶剂          | $R_t$ 3.22 min<br>$m/z$ 363.10 |
| 70 |  | 48                                                   |                                | $R_t$ 4.48 min<br>$m/z$ 358.96 |

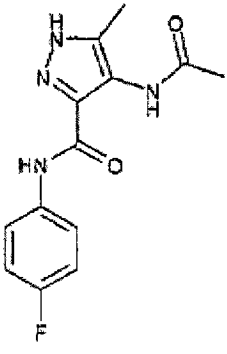
[1402]

|    |                                                                                     |                                               |                                              |                                |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------|
| 71 |    | 48                                            |                                              | $R_t$ 3.93 min<br>$m/z$ 340.96 |
| 72 |    | 48                                            |                                              | $R_t$ 4.11 min<br>$m/z$ 373.01 |
| 73 |    | 48                                            | 用 DMF 代替<br>DMSO 作为溶剂                        | $R_t$ 2.56 min<br>$m/z$ 373.05 |
| 74 |   | 通过将实<br>施例 73<br>氧化, 然<br>后进行还<br>原性胺化<br>而获得 |                                              | $R_t$ 1.99 min<br>$m/z$ 442.09 |
| 75 |  | 53                                            | 通过柱色谱纯化,<br>应 用<br>DCM:MeOH(1:0<br>至 19:1)洗脱 | $R_t$ 3.65 min<br>$m/z$ 335.03 |

[1403]

|    |                                                                                     |               |                                                                                 |                                |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| 76 |    | 25            | 通过柱色谱纯化,<br>然后用饱和的乙<br>酸乙酯/HCl 除去<br>t-Boc 保护基                                  | $R_t$ 1.57 min<br>$m/z$ 350.10 |
| 77 |    | 53            |                                                                                 | $R_t$ 5.05 min<br>$m/z$ 405.14 |
| 78 |   | 53            |                                                                                 | $R_t$ 2.87 min<br>$m/z$ 416.07 |
| 79 |  | 53            | 通过柱色谱纯化,<br>应用 EtOAc:石<br>油醚(1:1)洗脱                                             | $R_t$ 3.41 min<br>$m/z$ 321.03 |
| 80 |  | 2A、2B<br>和 53 | 可商购获得的 5-<br>甲基-吡唑-1H-3-<br>甲酸用作原料,通<br>过柱色谱纯化,应<br>用 EtOAc:己烷<br>(1:3 至 1:1)洗脱 | $R_t$ 3.42 min<br>$m/z$ 375.05 |

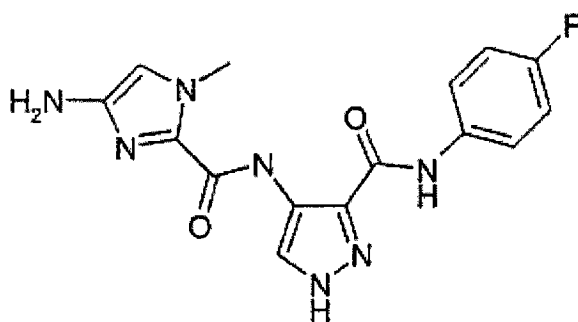
[1404]

|    |                                                                                   |    |                                               |                                       |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------|----|-----------------------------------------------|---------------------------------------|
| 81 |  | 2C | 通过柱色谱纯化,<br>应用 EtOAc: 己<br>烷(1:1 至 1:0)洗<br>脱 | R <sub>t</sub> 2.37 min<br>m/z 277.04 |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------|----|-----------------------------------------------|---------------------------------------|

[1405] 实施例 82

[1406] 4-[(4-氨基-1-甲基-1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1407]



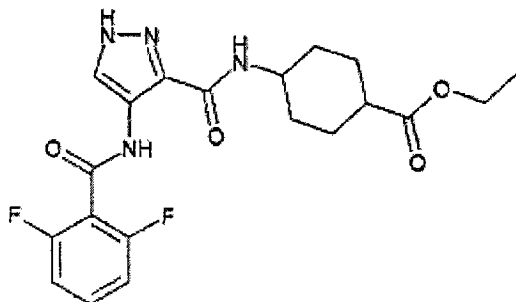
[1408] 将三氟乙酸 (200  $\mu$ L) 加入至搅拌的 {2-[3-(4-氟-苯基氨基甲酰基)-1H-吡唑-4-基氨基甲酰基]-1-甲基-1H-咪唑-4-基}-氨基甲酸叔丁酯 (30mg) 的二氯甲烷 (5mL) 混悬液中, 然后在室温下搅拌 2 小时。蒸发溶剂, 然后用甲苯 (2 $\times$ 10mL) 再蒸发。将残留物用乙醚研磨并且过滤收集产生的固体。将固体用乙醚洗涤, 然后真空干燥, 得到 15mg 类白色固体 4-[(4-氨基-1-甲基-1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺。(LC/MS: [M+H]<sup>+</sup>343.72)。

[1409] 实施例 83

[1410] 4-{[4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-羰基]-氨基}-环己烷甲酸的合成

[1411] 83A. 4-{[4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-羰基]-氨基}-环己烷甲酸乙酯

[1412]



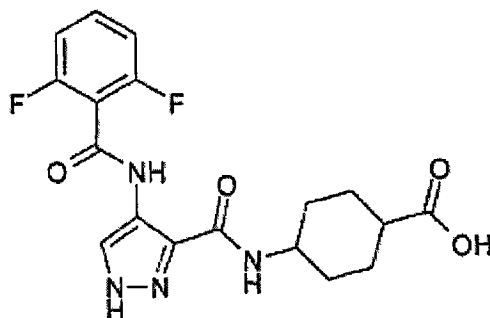
[1413] 将亚硫酸氯 (0.32mL, 4.40mmol) 缓慢加入至 4-氨基环己烷甲酸 (572mg, 4.00mmol) 在 EtOH(10mL) 中的混合物中并且在环境温度下搅拌 16 小时。将混合物真空浓

缩,和甲苯共沸,得到苍白色固体相应的乙酯 (650mg)。

[1414] 将乙酯 (103mg, 0.60mmol)、4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 (134mg, 0.50mmol)、EDC (115mg, 0.60mmol) 和 HOBt (81mg, 0.60mmol) 在 DMF (5mL) 中的混合物在环境温度下搅拌 16 小时。将混合物真空浓缩,将残留物溶于 EtOAc 中并且依次用饱和碳酸氢钠水溶液、水和盐水洗涤。将有机部分干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) 并且真空浓缩,得到 4-([4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-羰基]-氨基)-环己烷甲酸乙酯 (112mg)。

[1415] 83B. 4-([4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-羰基]-氨基)-环己烷甲酸

[1416]



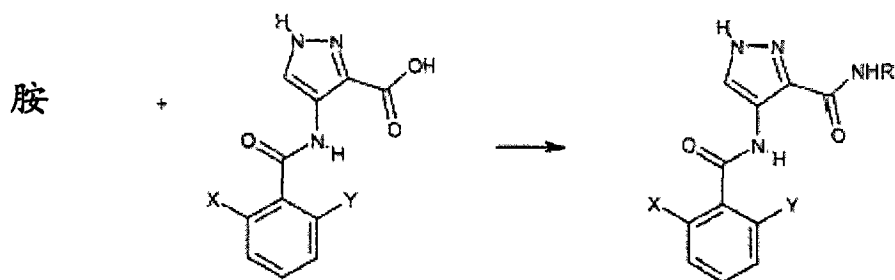
[1417] 将酯 (45mg) (来自 83A) 在 MeOH (2.5mL) 和 2M NaOH 水溶液 (2.5mL) 中的混合物在环境温度下搅拌 16 小时。真空除去挥发物,加入水 (10mL) 并且应用 1M 的 HCl 水溶液将混合物的 pH 调至 5。过滤收集形成的沉淀并且通过柱色谱纯化,应用 EtOAc/MeOH (1 : 0 至 9 : 1) 得到白色固体 4-([4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-羰基]-氨基)-环己烷甲酸 (11mg) 和顺 / 反异构体混合物。(LC/MS :  $R_t$  2.78 和 2.96,  $[M+H]^+$  393.09)。

[1418] 实施例 84-152

[1419] 通用方法 A

[1420] 从吡唑羧酸制备酰胺

[1421]



[1422] 将适合的苯甲酰基氨基-1H-吡唑-3-甲酸 (0.50mmol)、EDAC (104mg, 0.54mmol)、HOBt (73.0mg, 0.54mmol) 和相应的胺 (0.45mmol) 在 DMF (3mL) 中混合物在环境温度下搅拌 16 小时。将混合物真空浓缩,将残留物溶于 EtOAc 中并且依次用饱和碳酸氢钠水溶液、水和盐水洗涤。将有机部分干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) 并且真空浓缩,得到目标产物。

[1423] 通用方法 B

[1424] 从氨基吡唑制备酰胺

[1425]



[1426] 将相应的羧酸 (0.25mmol) 加入至适合的 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸酰胺 (0.23mmol)、EDAC (52mg ; 0.27mmol) 和 HOBt (37mg ; 0.27mmol) 的 5mL N,N-二甲基甲酰胺的搅拌的溶液中,然后将混合物在室温下放置过夜。蒸发反应混合物并且将残留物通过制备 LC/MS 纯化得到产物。

[1427] 通用方法 C

[1428] 通过除去叔丁氧基羰基将吡啶环氮脱保护

[1429] 将包含具有 N-叔丁氧基羰基 (t-Boc) 保护基的吡啶基团的方法 A 或方法 B 的产物 (40mg) 用饱和乙酸乙酯/HCl 处理,并且在室温下搅拌 1 小时。将从反应混合物中沉淀出的固体过滤,用醚洗涤,然后干燥,得到 25mg 产物。(LC/MS : [M+H]<sup>+</sup>364)。

[1430] 方法 L

[1431] 胺原料的制备

[1432] 应用以下方法制备下面的胺：

[1433] 4-硫代吗啉-4-基-环己基胺；

[1434] 4-(1,1-二氧化-硫代吗啉-4-基)-环己基胺；

[1435] N-(四氢-吡喃-4-基)-环己烷-1,4-二胺；

[1436] 4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-环己基胺；

[1437] 1'-甲基-[1,4']联吡啶-4-基胺；和

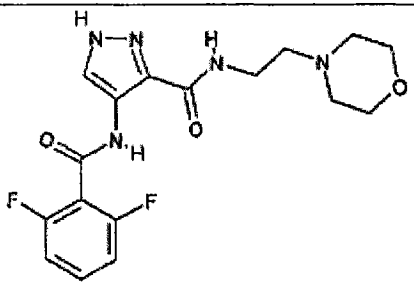
[1438] 4-吗啉-4-基-环己基胺。

[1439] 用适合的胺 (例如硫代吗啉 (0.236g, 2.3mmol)) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (0.715g, 2.76mmol) 和乙酸 (0.182mL) 处理 N-4-Boc-氨基环己酮 (0.5g, 2.3mmol) 的 THF (10mL) 溶液。将反应液在室温下搅拌过夜,然后用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 稀释并且用饱和碳酸钠洗涤。将有机层经 MgSO<sub>4</sub> 干燥并且蒸发,得到白色固体,该固体无需进一步纯化而用于下步。将白色固体用饱和 HCl/EtOAc 处理,在室温下搅拌 1 小时,蒸干,然后用甲苯再蒸发。将产生的胺分离得到盐酸盐。(LC/MS : R<sub>t</sub> 1.75, [M+H]<sup>+</sup>201)。

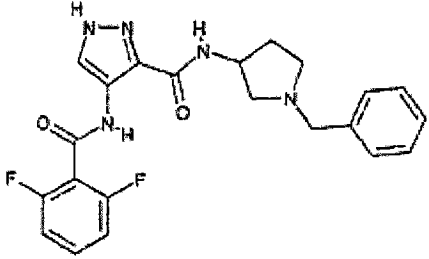
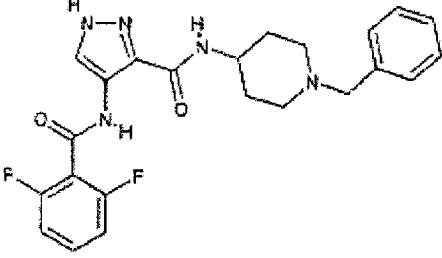
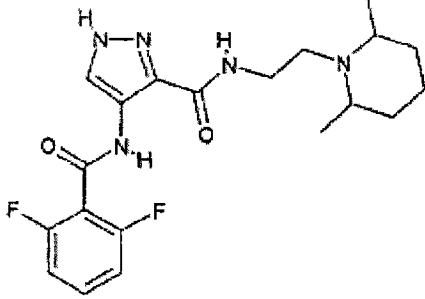
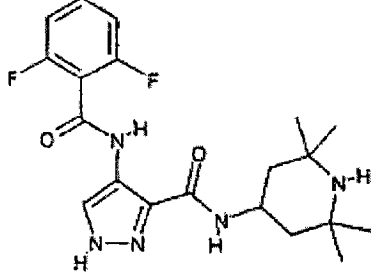
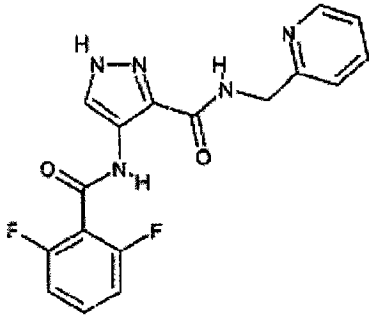
[1440] 按照通用方法 A、B、C 和 L (说明的地方进行了修改) 制备表 4 中列出的化合物。

[1441] 表 4

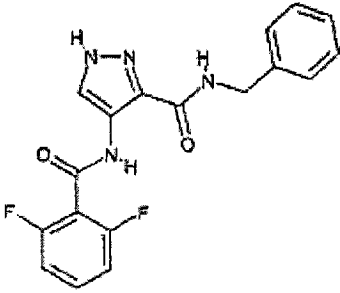
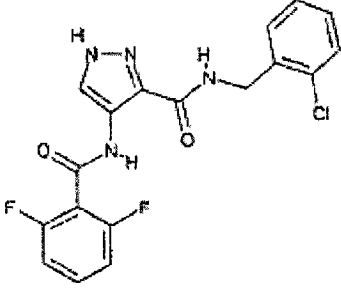
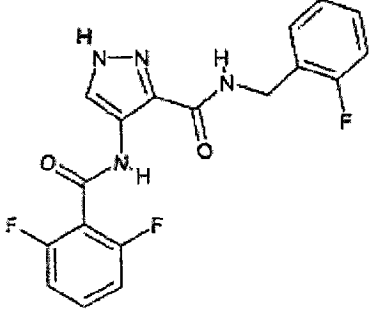
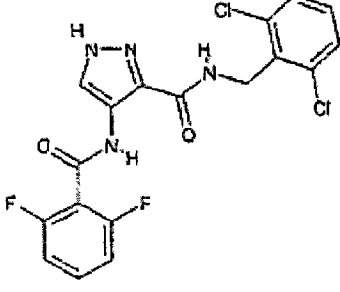
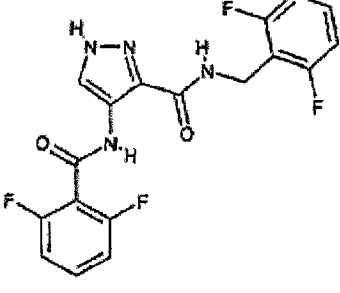
[1442]

| 实施例号 |                                                                                                                                                  | 制备方法 | LCMS                        |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-----------------------------|
| 84   | <br><chem>O=C(Nc1c[nH]nn1C(=O)NCCN2CCOCC2)c3cc(F)cc(F)c3</chem> | 方法 A | $[M+H]^+$ 380<br>$R_t$ 1.42 |

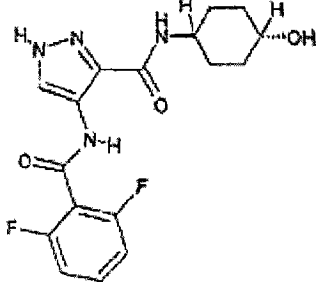
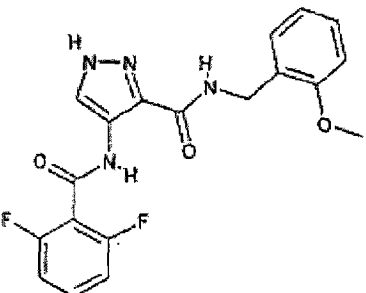
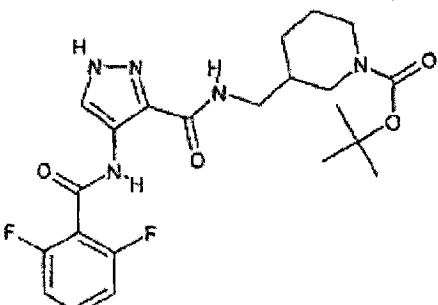
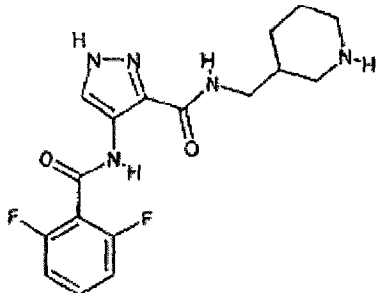
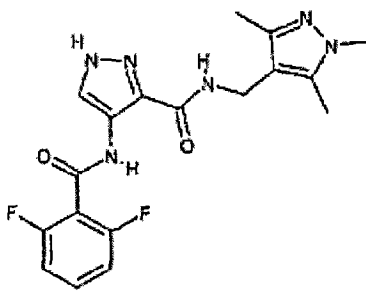
[1443]

|    |                                                                                     |                     |                             |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-----------------------------|
| 85 |    | 方法 A                | $[M+H]^+$ 426<br>$R_t$ 1.93 |
| 86 |    | 方法 A                | $[M+H]^+$ 440<br>$R_t$ 1.87 |
| 87 |   | 方法 A                | $[M+H]^+$ 406<br>$R_t$ 2.78 |
| 88 |  | 方法 A                | $[M+H]^+$ 406<br>$R_t$ 2.55 |
| 89 |  | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF | $[M+H]^+$ 358<br>$R_t$ 1.98 |

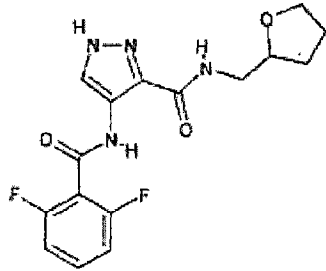
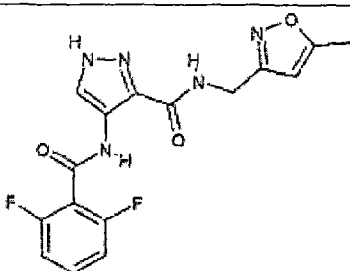
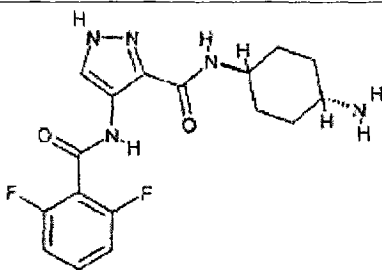
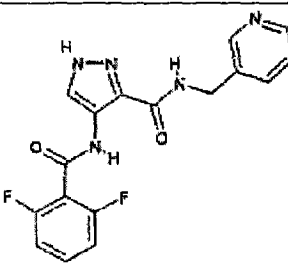
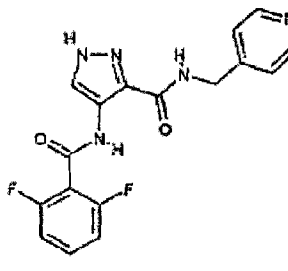
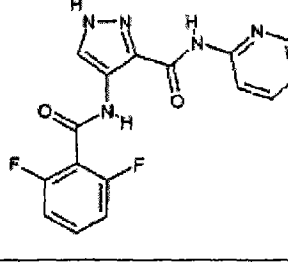
[1444]

|    |                                                                                     |                     |                             |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-----------------------------|
| 90 |    | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF | $[M+H]^+$ 357<br>$R_t$ 3.37 |
| 91 |    | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF | $[M+H]^+$ 391<br>$R_t$ 3.16 |
| 92 |   | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF | $[M+H]^+$ 375<br>$R_t$ 3.02 |
| 93 |  | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF | $[M+H]^+$ 425<br>$R_t$ 3.27 |
| 94 |  | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF | $[M+H]^+$ 393<br>$R_t$ 3.01 |

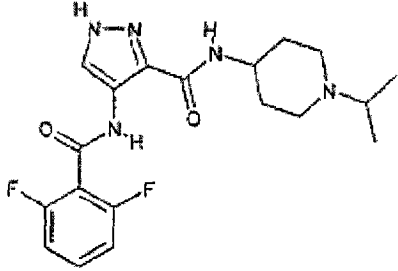
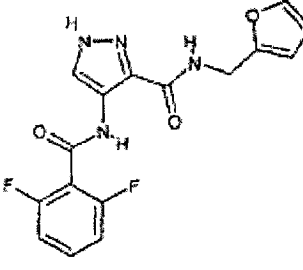
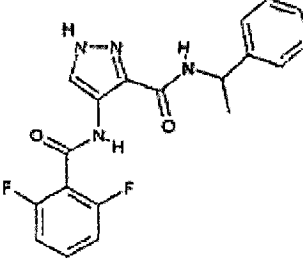
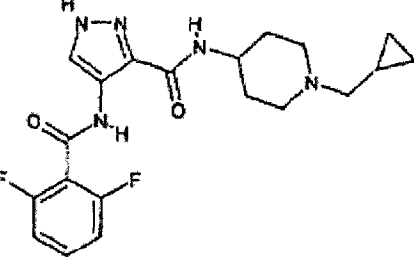
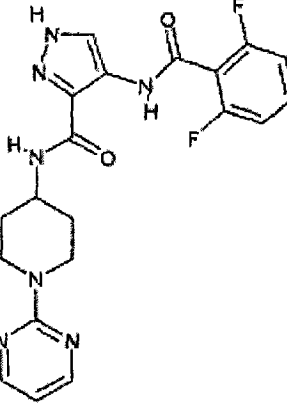
[1445]

|    |                                                                                     |                        |                             |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-----------------------------|
| 95 |    | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF    | $[M+H]^+$ 365<br>$R_t$ 2.22 |
| 96 |    | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF    | $[M+H]^+$ 387<br>$R_t$ 3.05 |
| 97 |   | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF    | $[M+H]^+$ 464<br>$R_t$ 3.17 |
| 98 |  | 方法 C, 应用实施例 97 的产物作为原料 | $[M+H]^+$ 364<br>$R_t$ 1.76 |
| 99 |  | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF    | $[M+H]^+$ 389<br>$R_t$ 2.36 |

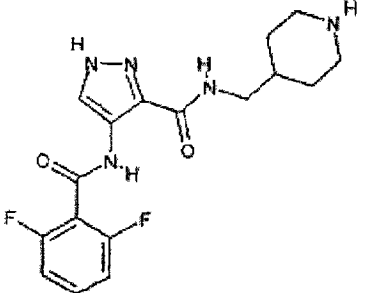
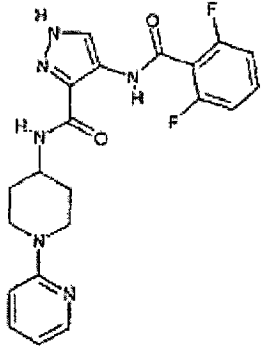
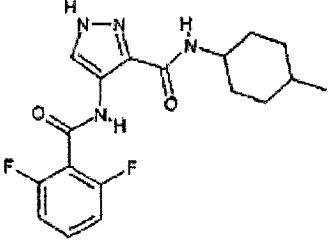
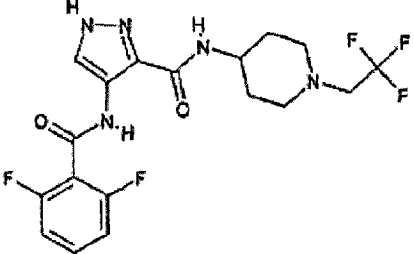
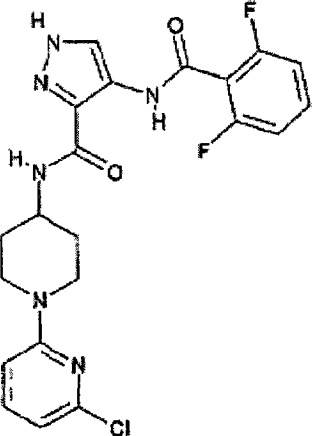
[1446]

|     |                                                                                     |                                           |                             |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------|
| 100 |    | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF                       | $[M+H]^+$ 351<br>$R_t$ 2.55 |
| 101 |    | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF                       | $[M+H]^+$ 362<br>$R_t$ 2.63 |
| 102 |   | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF,<br>根据方法 L 制备起<br>始的胺 | $[M+H]^+$ 364<br>$R_t$ 1.75 |
| 103 |  | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF                       | $[M+H]^+$ 358<br>$R_t$ 3.2  |
| 104 |  | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF                       | $[M+H]^+$ 358<br>$R_t$ 1.77 |
| 105 |  | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF                       | $[M+H]^+$ 344<br>$R_t$ 2.71 |

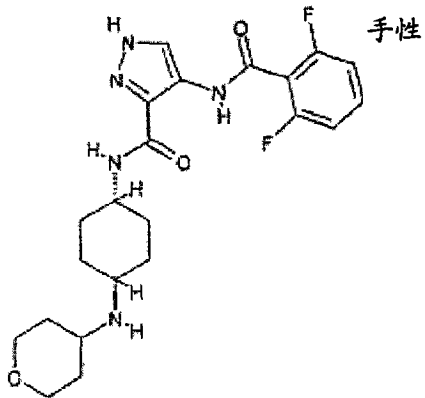
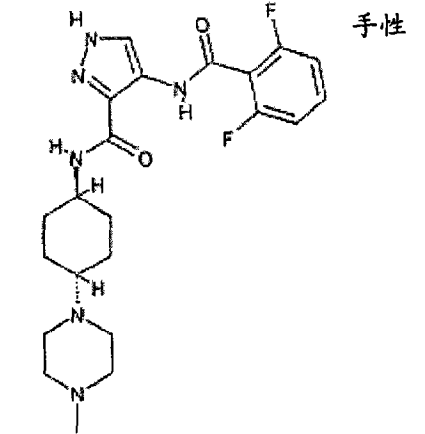
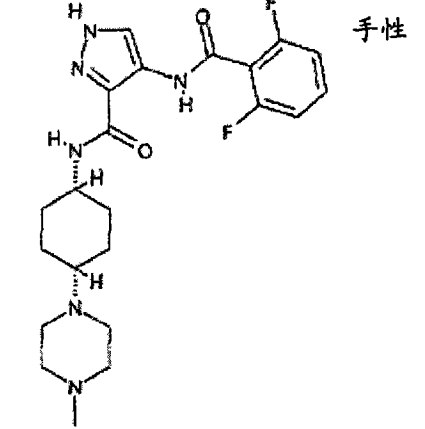
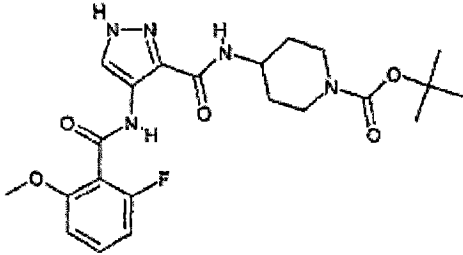
[1447]

|     |                                                                                     |                                                                 |                             |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| 106 |    | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF                                             | $[M+H]^+$ 392<br>$R_t$ 2.57 |
| 107 |    | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF                                             | $[M+H]^+$ 347<br>$R_t$ 2.8  |
| 108 |   | 方法 A<br>DMSO 代替 DMF                                             | $[M+H]^+$ 371<br>$R_t$ 3.1  |
| 109 |  | 方法 A<br>Et <sub>3</sub> N 1 当量,<br>DMSO 代替 DMF                  | $[M+H]^+$ 404<br>$R_t$ 2.7  |
| 110 |  | 方法 A<br>Et <sub>3</sub> N 2 当量, HOAt<br>代替 HOBt, DMSO<br>代替 DMF | $[M+H]^+$ 428<br>$R_t$ 2.63 |

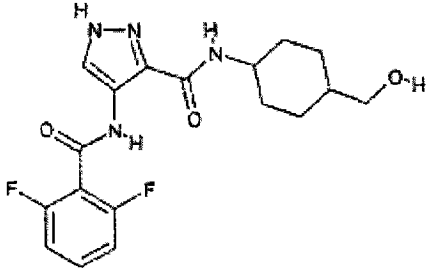
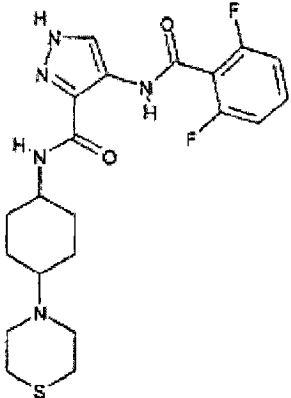
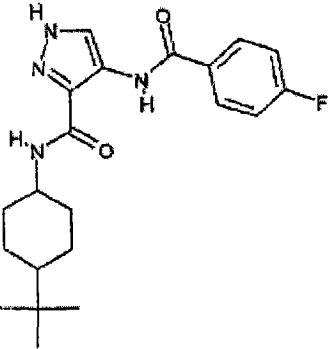
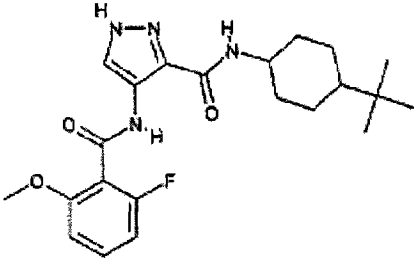
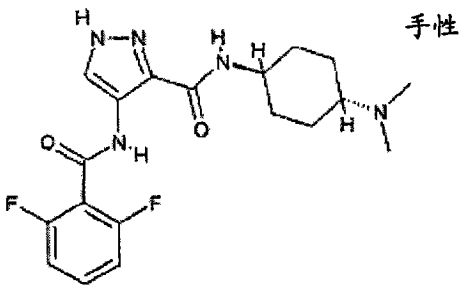
[1448]

|     |                                                                                     |                                                                         |                                      |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| 111 |    | 方法 A, 然后方法 C<br>Et <sub>3</sub> N 2 当量, HOAt<br>代替 HOBt, DMSO<br>代替 DMF | $[M+H]^+$ 364<br>R <sub>t</sub> 1.75 |
| 112 |    | 方法 A<br>Et <sub>3</sub> N 2 当量, HOAt<br>代替 HOBt, DMSO<br>代替 DMF         | $[M+H]^+$ 427<br>R <sub>t</sub> 2.71 |
| 113 |   | 方法 A<br>HOAt 代替 HOBt,<br>DMSO 代替 DMF                                    | $[M+H]^+$ 363<br>R <sub>t</sub> 3.34 |
| 114 |  | 方法 A<br>Et <sub>3</sub> N 2 当量, HOAt<br>代替 HOBt, DMSO<br>代替 DMF         | $[M+H]^+$ 432<br>R <sub>t</sub> 2.63 |
| 115 |  | 方法 A                                                                    | $[M+H]^+$ 461<br>R <sub>t</sub> 3.3  |

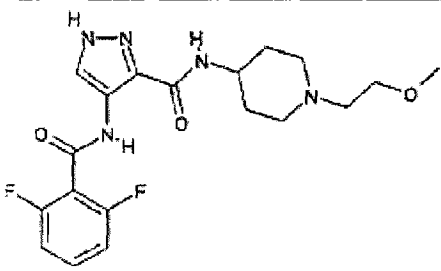
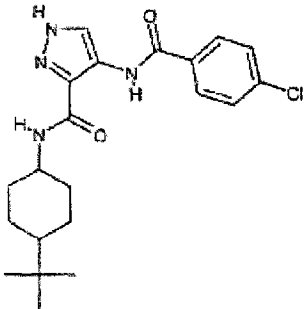
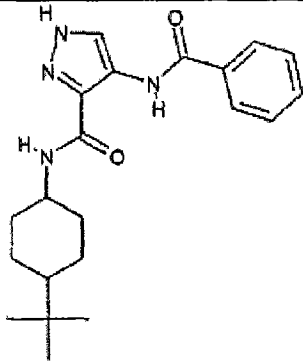
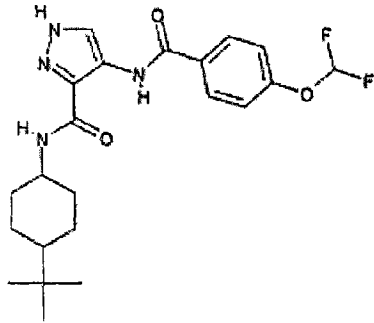
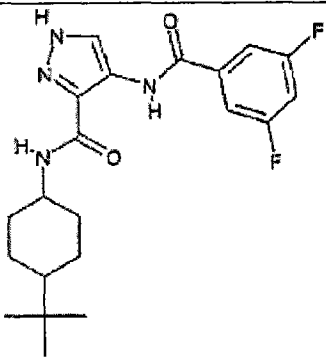
[1449]

|     |                                                                                     |                                                                                   |                                                     |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 116 |    | <p>方法 A</p> <p>DMSO 代替 DMF,<br/>Et<sub>3</sub>N 2 当量, 根据<br/>方法 L 制备起始的<br/>胺</p> | <p>[M+H]<sup>+</sup> 448<br/>R<sub>t</sub> 1.87</p> |
| 117 |   | <p>方法 A</p> <p>DMSO 代替 DMF,<br/>Et<sub>3</sub>N 2 当量, 根据<br/>方法 L 制备起始的<br/>胺</p> | <p>[M+H]<sup>+</sup> 447<br/>R<sub>t</sub> 1.65</p> |
| 118 |  | <p>方法 A</p> <p>DMSO 代替 DMF,<br/>Et<sub>3</sub>N 2 当量, 根据<br/>方法 L 制备起始的<br/>胺</p> | <p>[M+H]<sup>+</sup> 447<br/>R<sub>t</sub> 1.72</p> |
| 119 |  | <p>方法 B</p>                                                                       | <p>[M+H]<sup>+</sup> 462<br/>R<sub>t</sub> 2.97</p> |

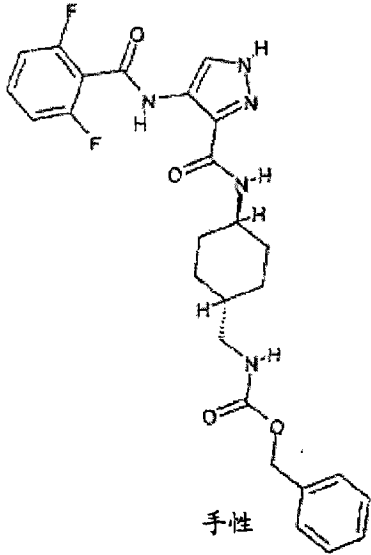
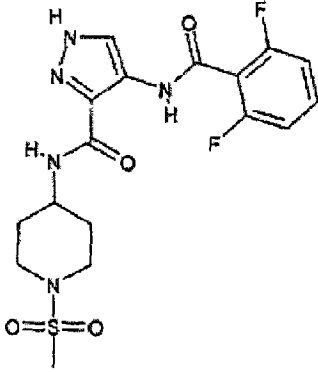
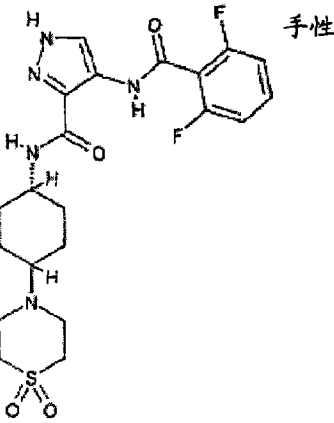
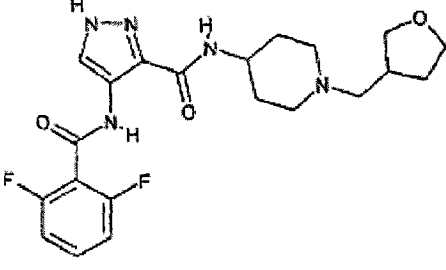
[1450]

|     |                                                                                        |                                                                        |                             |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| 120 |       | 方法 A<br>N- 乙基 - 吗 啉<br>(NEM)2 当量                                       | $[M+H]^+$ 379<br>$R_t$ 2.45 |
| 121 |       | 方法 A<br>HOAt 代替 HOBt,<br>Et <sub>3</sub> N 2 当量, 根据<br>方法 L 制备起始的<br>胺 | $[M+H]^+$ 450<br>$R_t$ 1.97 |
| 122 |      | 方法 B                                                                   | $[M+H]^+$ 387<br>$R_t$ 3.83 |
| 123 |     | 方法 B                                                                   | $[M+H]^+$ 417<br>$R_t$ 3.65 |
| 124 |  手性 | 方法 A<br>HOAt 代替 HOBt,<br>Et <sub>3</sub> N 2 当量                        | $[M+H]^+$ 392<br>$R_t$ 1.85 |

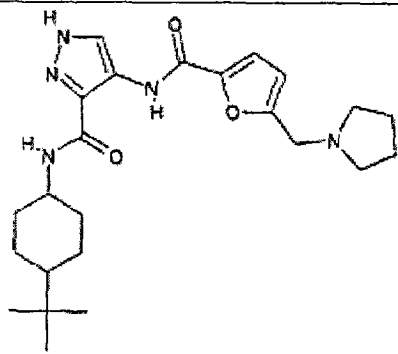
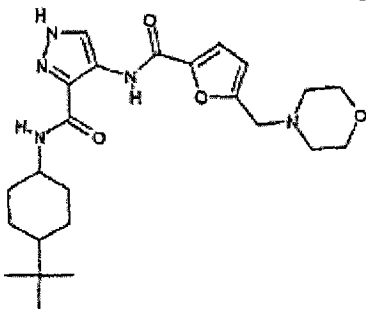
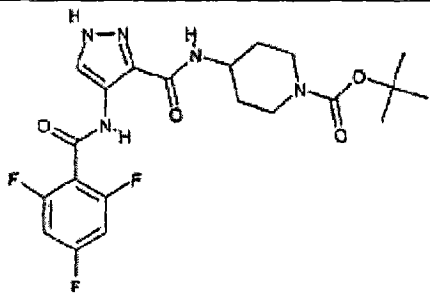
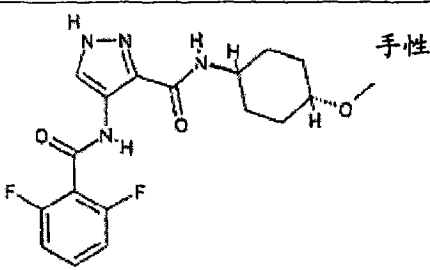
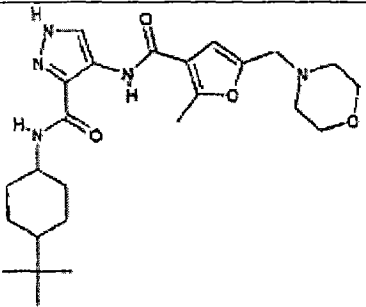
[1451]

|     |                                                                                     |                                                 |                                               |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 125 |    | 方法 A<br>HOAt 代替 HOBt,<br>Et <sub>3</sub> N 2 当量 | [M+H] <sup>+</sup> 408<br>R <sub>t</sub> 1.82 |
| 126 |    | 方法 B                                            | [M+H] <sup>+</sup> 403<br>R <sub>t</sub> 4.02 |
| 127 |   | 方法 B                                            | [M+H] <sup>+</sup> 369<br>R <sub>t</sub> 3.78 |
| 128 |  | 方法 B                                            | [M+H] <sup>+</sup> 435<br>R <sub>t</sub> 3.83 |
| 129 |  | 方法 B                                            | [M+H] <sup>+</sup> 405<br>R <sub>t</sub> 3.96 |

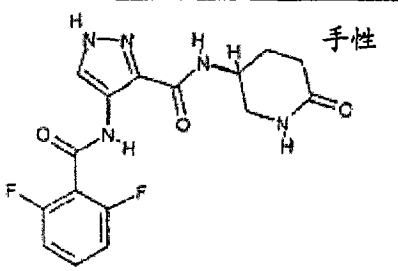
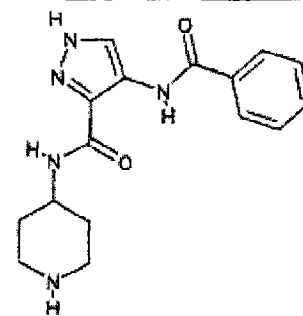
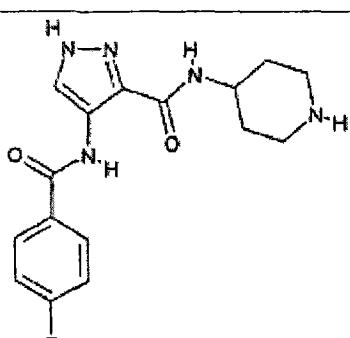
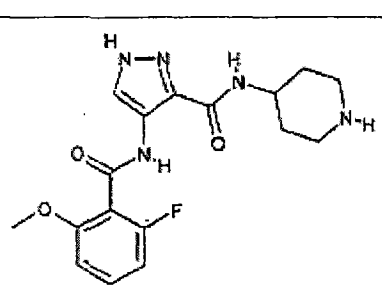
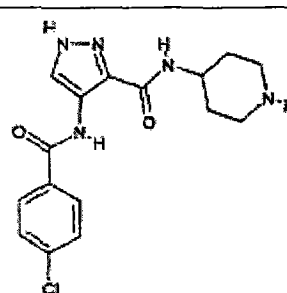
[1452]

|     |                                                                                               |                                                                                                                                 |                                                              |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| 130 |  <p>手性</p>   | <p>方法 A</p> <p>HOAt 代替 HOBt</p>                                                                                                 | <p><math>[M+H]^+</math> 512</p> <p><math>R_t</math> 3.1</p>  |
| 131 |             | <p>方法 A</p> <p>HOAt 代替 HOBt</p>                                                                                                 | <p><math>[M+H]^+</math> 428</p> <p><math>R_t</math> 2.45</p> |
| 132 |  <p>手性</p> | <p>方法 A</p> <p>HOAt 代替 HOBt,</p> <p>Et<sub>3</sub>N 2 当量, 酰胺</p> <p>偶联步骤之后分离</p> <p>顺式和反式异构</p> <p>体, 根据方法 L 制</p> <p>备起始的胺</p> | <p><math>[M+H]^+</math> 482</p> <p><math>R_t</math> 1.96</p> |
| 133 |            | <p>方法 A</p> <p>HOAt 代替 HOBt,</p> <p>DMSO 代替 DMF</p>                                                                             | <p><math>[M+H]^+</math> 434</p> <p><math>R_t</math> 2.3</p>  |

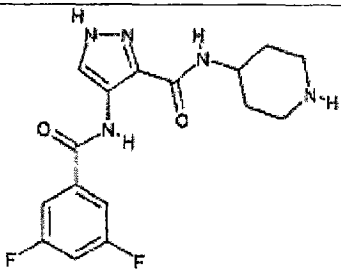
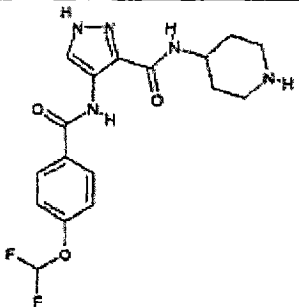
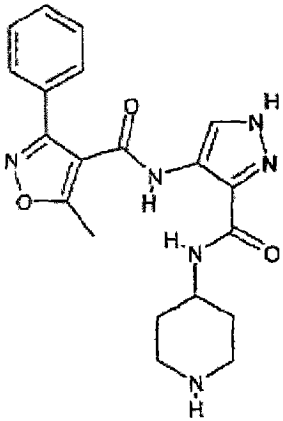
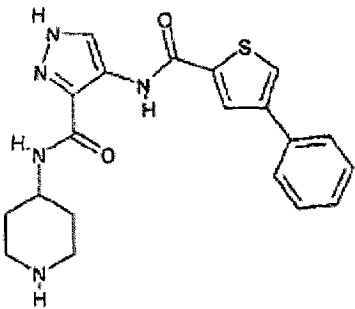
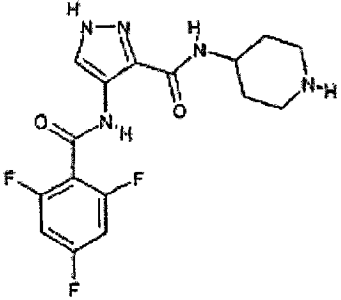
[1453]

|     |                                                                                     |                                              |                             |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------|
| 134 |    | 方法 B                                         | $[M+H]^+$ 442<br>$R_t$ 2.39 |
| 135 |    | 方法 B                                         | $[M+H]^+$ 458<br>$R_t$ 2.26 |
| 136 |   | 方法 B<br>HOAt 代替 HOBt                         | $[M+H]^+$ 468<br>$R_t$ 3.07 |
| 137 |  | 方法 A<br>Et <sub>3</sub> N 2 当量, HOAt 代替 HOBt | $[M+H]^+$ 379<br>$R_t$ 2.6  |
| 138 |  | 方法 B                                         | $[M+H]^+$ 472<br>$R_t$ 2.40 |

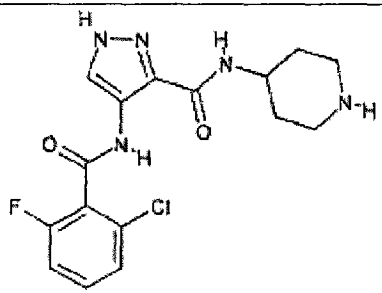
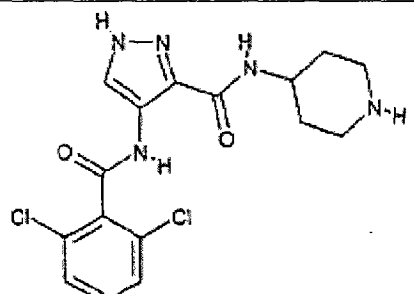
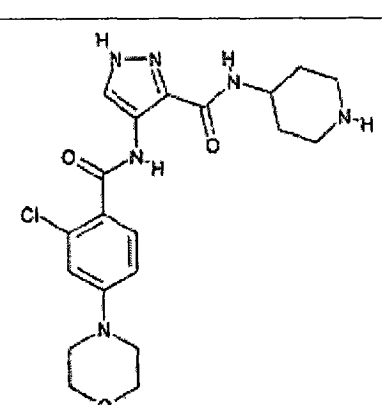
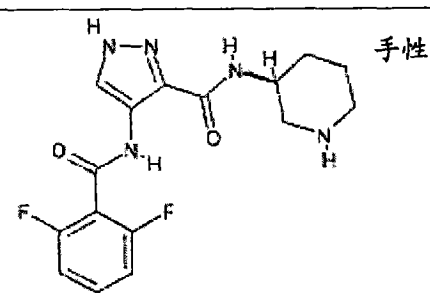
[1454]

|     |                                                                                             |                                                                 |                                               |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 139 |  <p>手性</p> | 方法 A<br>Et <sub>3</sub> N 2 当量, HOAt<br>代替 HOBt, DMSO<br>代替 DMF | [M+H] <sup>+</sup> 364<br>R <sub>t</sub> 2.1  |
| 140 |            | 方法 B, 然后方法 C                                                    | [M+H] <sup>+</sup> 314<br>R <sub>t</sub> 1.78 |
| 141 |           | 方法 B, 然后方法 C                                                    | [M+H] <sup>+</sup> 332<br>R <sub>t</sub> 1.89 |
| 142 |          | 方法 B, 然后方法 C                                                    | [M+H] <sup>+</sup> 362<br>R <sub>t</sub> 1.78 |
| 143 |          | 方法 B, 然后方法 C                                                    | [M+H] <sup>+</sup> 348<br>R <sub>t</sub> 2.01 |

[1455]

|     |                                                                                     |                                 |                             |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| 144 |    | 方法 B, 然后方法<br>C                 | $[M+H]^+$ 350<br>$R_t$ 1.97 |
| 145 |    | 方法 B, 然后方法<br>C                 | $[M+H]^+$ 380<br>$R_t$ 2.01 |
| 146 |   | 方法 B, 然后方法<br>C                 | $[M+H]^+$ 395<br>$R_t$ 1.94 |
| 147 |  | 方法 B, 然后方法<br>C                 | $[M+H]^+$ 396<br>$R_t$ 2.11 |
| 148 |  | 方法 B, 然后方法<br>C<br>HOAt 代替 HOBt | $[M+H]^+$ 368<br>$R_t$ 1.76 |

[1456]

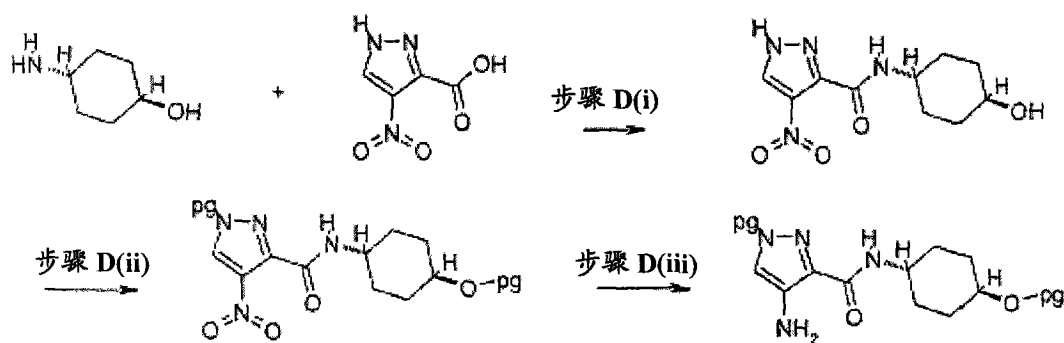
|     |                                                                                     |                              |                             |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| 149 |    | 方法 B, 然后方法 C                 | $[M+H]^+$ 366<br>$R_t$ 1.78 |
| 150 |    | 方法 B, 然后方法 C                 | $[M+H]^+$ 383<br>$R_t$ 1.87 |
| 151 |   | 方法 B, 然后方法 C                 | $[M+H]^+$ 433<br>$R_t$ 1.89 |
| 152 |  | 方法 A, 然后方法 C<br>HOAt 代替 HOBt | $[M+H]^+$ 350<br>$R_t$ 1.76 |

[1457] 实施例 153-165

[1458] 通用方法 D

[1459] 保护的 4-氨基-吡唑-3-基甲酸 4-羟基-环己基酰胺的制备

[1460]



[1461] pg = 保护基

[1462] 步骤 D(i) :

[1463] 将 4-硝基-3-吡啶甲酸 (4.98g, 31.7mmol)、反式 4-氨基环己醇 (3.65g, 31.7mmol)、EDAC (6.68g, 34.8mmol) 和 HOBt (4.7g, 34.8mmol) 在 DMF (120mL) 中的混合物在环境温度下搅拌 16 小时。将混合物真空浓缩, 将残留物溶于  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中并且依次用 5% 柠檬酸、饱和碳酸氢钠水溶液、水和盐水洗涤。发现产物主要在柠檬酸洗涤液中, 将其碱化并且用 EtOAc 萃取。将有机层经  $\text{MgSO}_4$  干燥、过滤并且蒸发, 得到白色固体, 将其用  $\text{CHCl}_3$  研磨, 得到 1.95g 4-硝基-1H-吡啶-3-甲酸 4-羟基-环己基酰胺。(LC/MS :  $R_t$  1.62,  $[\text{M}+\text{H}]^+255$ )。

[1464] 步骤 D(ii) :

[1465] 四氢-吡喃-2-基保护基的引入

[1466] 将 4-硝基-1H-吡啶-3-甲酸 4-羟基-环己基酰胺 (1.95g ; 7.67mmol) 在 THF (50mL) 和氯仿 (100mL) 混合液中的溶液用 3,4-二氢-2H-吡喃 (1.54mL, 15.34mmol) 和对甲苯磺酸一水合物 (100mg) 处理。将反应液在室温下搅拌过夜, 然后加入总量过量的吡喃 (0.9mL) 使反应完全。将反应混合物用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释并且依次用饱和碳酸氢钠水溶液、水和盐水洗涤。将产生的溶液真空浓缩并且进行 Biotage 柱色谱, 用己烷 (2 柱长) 洗脱, 然后用 30% 乙酸乙酯 : 己烷 (10 柱长), 70% 乙酸乙酯 : 己烷 (10 柱长) 洗脱, 得到 1.25g 4-硝基-1-(四氢-吡喃-2-基)-1H-吡啶-3-甲酸 [4-(四氢-吡喃-2-烷氧基)-环己基] 酰胺。(LC/MS :  $R_t$  2.97,  $[\text{M}+\text{H}]^+423$ )。

[1467] 步骤 D(iii) :

[1468] 用 10% 钯炭 (30mg) 处理 4-硝基-1-(四氢-吡喃-2-基)-1H-吡啶-3-甲酸 [4-(四氢-吡喃-2-基氧基)-环己基] 酰胺 (0.3g ; 0.71mmol) 的甲醇溶液 (25mL), 然后在室温和压力下氢化过夜。过滤去除催化剂并且用甲醇洗涤三次。蒸发滤液得到 0.264g 所需的产物。(LC/MS :  $R_t$  2.39,  $[\text{M}+\text{H}]^+393$ )。

[1469] 通用方法 E

[1470] 除去四氢吡喃-2-基保护基的方法

[1471] 将对甲苯磺酸水合物 (90mg, 0.46mmol) 加入至 4-(2-甲氧基-苯甲酰基氨基)-1-(四氢-吡喃-2-基)-1H-吡啶-3-甲酸 [4-(四氢-吡喃-2-基氧基)-环己基] 酰胺 (0.125g, 0.23mmol) 的 EtOH (10mL) 混悬液中。将反应混合物在 70°C 下加热 30 分钟。将反应液用 EtOAc 稀释并且依次用饱和碳酸氢钠水溶液、水和盐水洗涤。将产生的溶液真空浓缩得到白色固体, 该固体中包含痕量的对甲苯磺酸水合物。然后将固体溶于 EtOAc 中并且用 1M NaOH 洗涤, 然后用盐水洗涤。将产生的溶液真空浓缩, 然后用醚 / 己烷研磨, 得到 10mg 所需的产物。(LC/MS :  $R_t$  2.29,  $[\text{M}+\text{H}]^+359$ )。

[1472] 通用方法 F

[1473] 从 4-氨基-吡唑-3-甲酸酰胺制备脲

[1474] 将异氰酸苯酯 (929mg, 0.24mmol) 加入至 4-氨基-1-(四氢-吡喃-2-基-1H-吡唑-3-甲酸 [4-(四氢-吡喃-2-基氧基)-环己基]-酰胺 (80mg, 0.2mmol) 的甲苯 (2mL) 溶液中。将反应混合物在 70℃ 下加热 1 小时。将反应液用 EtOAc 稀释并且依次用水和盐水洗涤。将产生的溶液真空浓缩, 得到黄色油状物。该产物无需进一步纯化而使用。(LC/MS:  $R_t$  2.28,  $[M+H]^+$ 344)。

[1475] 通用方法 G

[1476] 4-氨基-吡唑基团向 4-(吗啉-4-羰基氨基)-吡唑基团的转化

[1477] 在 -10℃ 下, 将 20% 光气的甲苯溶液滴加至 4-氨基-1-(四氢-吡喃-2-基-1H-吡唑-3-甲酸 [4-(四氢-吡喃-2-基氧基)-环己基]-酰胺 (0.1g, 0.255mmol) 的  $CH_2Cl_2$  (5mL) 溶液中。将反应混合物在 -10℃ 下搅拌 15 分钟, 然后加入吗啉 (0.765mmol)。历经 1 小时将反应混合物温至室温, 然后在室温下搅拌过夜。将反应液用  $CH_2Cl_2$  稀释并且依次用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤。将产生的溶液真空浓缩得到黄色油状物, 该产物无需进一步纯化而使用。(LC/MS:  $R_t$  1.68,  $[M+H]^+$ 338)。

[1478] 通用方法 H

[1479] N-氧化物的制备

[1480] 将间氯过苯甲酸 (MCPBA) (3.6mg, 0.02mmol) 加入至实施例 53 化合物 (7.7mg, 0.02mmol) 的  $CH_2Cl_2$  (0.5mL) 混悬液中。将反应混合物在室温下搅拌过夜, 然后蒸发。将残留物通过制备 LC/MS 纯化, 得到 3mg 所需的产物。(LC/MS:  $R_t$  1.83,  $[M+H]^+$ 380)。

[1481] 通用方法 I

[1482] 苄基氧基羰基保护基的除去

[1483] 将实施例 130 化合物 (0.2g; 0.39mmol) 的 EtOAc (40mL) 溶液用 10% 的钯炭 (20mg) 处理, 然后在室温和压力下氢化 3 小时。过滤去除催化剂并且用 EtOAc 洗涤三次。蒸发滤液并且将残留物进行色谱, 应用 10% MeOH- $CH_2Cl_2$ , 然后应用 20% MeOH- $CH_2Cl_2$ , 得到 80mg 所需的产物。(LC/MS:  $R_t$  1.88,  $[M+H]^+$ 378)。

[1484] 通用方法 J

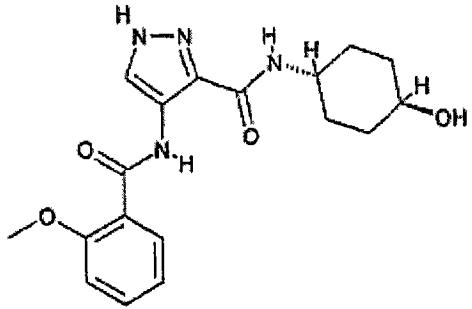
[1485] 胺的甲磺酰化

[1486] 将甲磺酰氯 (0.0045mL, 0.058mmol) 加入至实施例 163 化合物 (20mg, 0.05mmol) 的  $CH_3CN$  (3mL) 溶液中, 然后加入 Hunig 碱 (0.018mL, 0.1mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 2 小时, 然后蒸发。将残留物通过制备 LC/MS 纯化, 得到 8mg 所需的产物。(LC/MS:  $R_t$  2.54,  $[M+H]^+$ 456)。

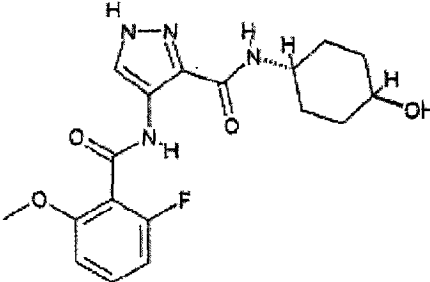
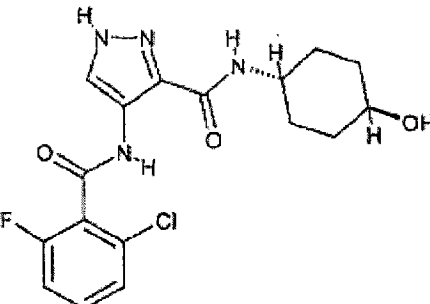
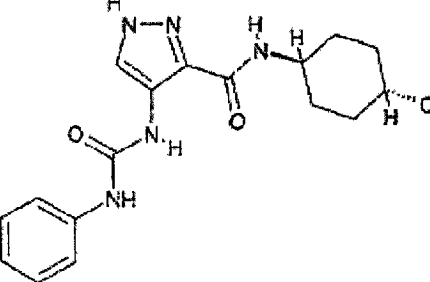
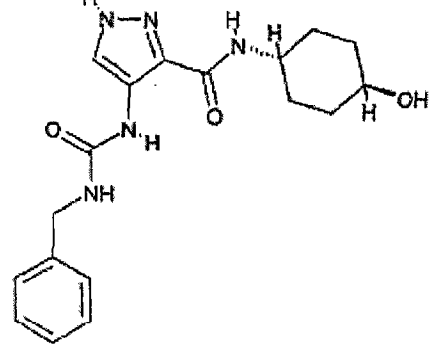
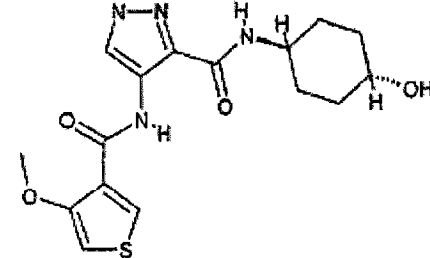
[1487] 按照方法 A 至 L, 制备表 5 中列出的化合物。

[1488] 表 5

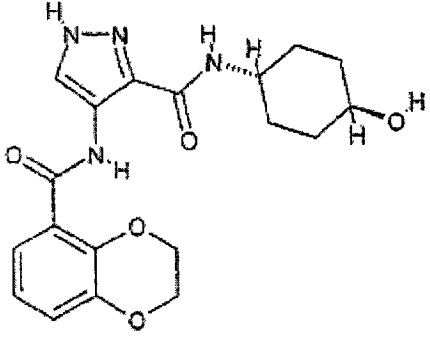
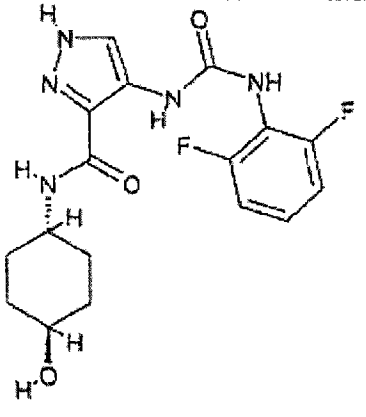
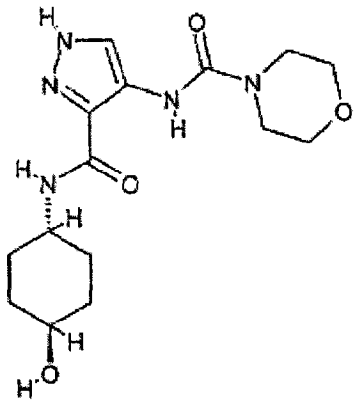
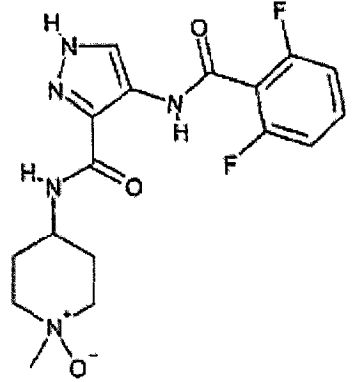
[1489]

| 实施<br>例号 |                                                                                   | 制备方法                                                                               | LCMS                                          |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 153      |  | 方法 D, 然后方法<br>B, 然后方法 E<br>HOAt 代替 HOBt,<br>CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 代替 DMF | [M+H] <sup>+</sup> 359<br>R <sub>t</sub> 2.29 |

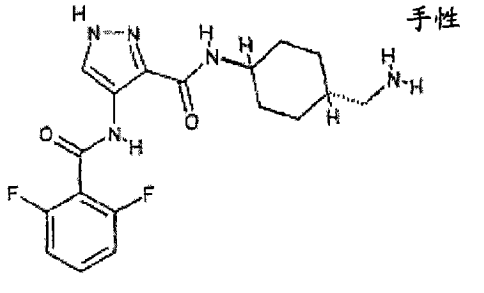
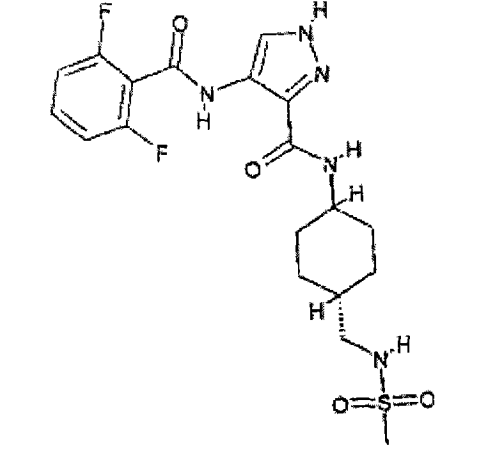
[1490]

|     |                                                                                     |                                                                                 |                                               |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 154 |    | 方法 D, 然后方法 B, 然后方法 E<br>HOAt 代替 HOBt,<br>CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 代替 DMF | [M+H] <sup>+</sup> 377<br>R <sub>t</sub> 2.22 |
| 155 |    | 方法 D, 然后方法 B, 然后方法 E<br>HOAt 代替 HOBt,<br>CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 代替 DMF | [M+H] <sup>+</sup> 381<br>R <sub>t</sub> 2.34 |
| 156 |   | 方法 D, 然后方法 F, 然后方法 E                                                            | [M+H] <sup>+</sup> 344<br>R <sub>t</sub> 2.28 |
| 157 |  | 方法 D, 然后方法 F, 然后方法 E                                                            | [M+H] <sup>+</sup> 358<br>R <sub>t</sub> 2.22 |
| 158 |  | 方法 D, 然后方法 B, 然后方法 E<br>HOAt 代替 HOBt,<br>CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 代替 DMF | [M+H] <sup>+</sup> 365<br>R <sub>t</sub> 2.21 |

[1491]

|     |                                                                                     |                                                                                       |                                                     |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 159 |    | <p>方法 D, 然后方法 B, 然后方法 E<br/>HOAt 代替 HOBt,<br/>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 代替 DMF</p> | <p>[M+H]<sup>+</sup> 387<br/>R<sub>t</sub> 2.29</p> |
| 160 |    | <p>方法 D, 然后方法 F, 然后方法 E</p>                                                           | <p>[M+H]<sup>+</sup> 380<br/>R<sub>t</sub> 2.17</p> |
| 161 |   | <p>方法 D, 然后方法 G, 然后方法 E</p>                                                           | <p>[M+H]<sup>+</sup> 338<br/>R<sub>t</sub> 1.68</p> |
| 162 |  | <p>方法 H</p>                                                                           | <p>[M+H]<sup>+</sup> 380<br/>R<sub>t</sub> 1.83</p> |

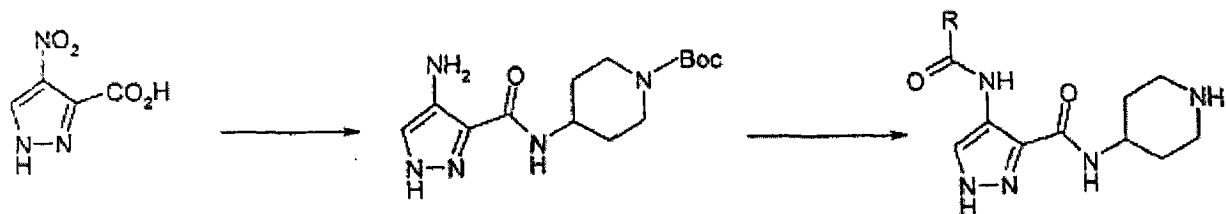
[1492]

|     |                                                                                   |                                               |                             |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------|
| 163 |  | 方法 A(HOAt 代替 HOBt)得到实施例 130 化合物, 然后方法 I       | $[M+H]^+$ 378<br>$R_t$ 1.78 |
| 164 |  | 方法 A(HOAt 代替 HOBt)和方法 I 得到实施例 163 化合物, 然后方法 J | $[M+H]^+$ 456<br>$R_t$ 2.54 |

[1493] 通用方法 M

[1494] 吡唑 4- 酰胺基团的形成

[1495]



[1496] 将 4-硝基吡唑-3-甲酸 (7.3g, 15.9mmol) 加入至搅拌的 4-氨基-1-Boc-哌啶 (10.2mg, 51mmol)、EDC (10.7g, 55.8mmol) 和 HOAt (55.8g, 19.1mmol) 的 DMF (100mL) 溶液中, 然后在室温下搅拌过夜。减压蒸发除去溶剂并且将残留物用水 (250mL) 研磨。过滤收集产生的乳白色固体, 用水洗涤, 然后真空干燥, 得到 13.05g 4-[(4-硝基-1H-吡唑-3-羧基)-氨基]-哌啶-1-甲酸叔丁酯。(LC/MS:  $R_t$  2.50,  $[M+H]^+$  340)。

[1497] 将 4-[(4-硝基-1H-吡唑-3-羧基)-氨基]-哌啶-1-甲酸叔丁酯 (13.05g) 溶于乙醇/DMF (300mL/75mL) 中, 用 10% 钯炭 (500mg) 处理, 然后在室温和压力下氢化过夜。通过硅藻土过滤除去催化剂并且蒸发滤液并且用甲苯再蒸发。粗产物通过快速柱色谱纯化, 用 EtOAc 洗脱, 然后用 2% MeOH/EtOAc 洗脱, 然后用 5% MeOH/EtOAc 洗脱。合并包含产物的级分并且蒸发, 得到 8.78g 棕色泡沫状 4-[(4-氨基-1H-吡唑-3-羧基)-氨基]-哌啶-1-甲酸叔丁酯。(LC/MS:  $R_t$  1.91,  $[M+H]^+$  310)。

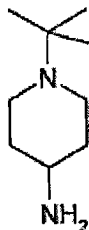
[1498] 将相应的羧酸 (0.25mmol) 加入至搅拌的 4-[(4-氨基-1H-吡唑-3-羧基)-氨基]-哌啶-1-甲酸叔丁酯 (200mg; 0.65mmol)、EDAC (150mg; 0.78mmol) 和 HOBt (105mg;

0.78mmol) 的 5mL 的 N,N-二甲基甲酰胺溶液中,然后将混合物在室温下放置过夜。将反应混合物用饱和碳酸氢钠水溶液稀释并且通过过滤收集产物并且真空干燥。将 Boc 保护的化合物溶于饱和 HCl/EtOAc 中并且在室温下搅拌 3 小时。过滤收集产物,用乙醚洗涤并且真空干燥。

[1499] 通用方法 N

[1500] 1-叔丁基-哌啶-4-基胺的制备

[1501]



[1502] 步骤 N(i)

[1503] 在室温水浴下,将碘甲烷 (15.5mL, 0.25mol) 以保持温度低于 30°C 的速率加入至 1-乙基-4-氧代哌啶 (25g, 0.197mol) 的丙酮溶液 (250mL) 中。将混合物过滤并且将沉淀用丙酮洗涤并且干燥,得到 1-乙基-1-甲基-4-氧代哌啶碘化物 (45g)。 (LC/MS :R<sub>t</sub> 0.38, [M+H]<sup>+</sup>143)。

[1504] 步骤 N(ii)

[1505] 将 1-乙基-1-甲基-4-氧代哌啶碘化物 (40g, 0.148mol) 和碳酸氢钠 (1.245g, 0.014mol) 的水 (60mL) 溶液加入至叔丁基胺 (78.2mL, 0.74mol) 的甲苯 (400mL) 溶液中。将反应混合物在 78°C 下加热 6 小时,然后冷却至环境温度。分离层并且将水层用 EtOAc 洗涤。将有机层合并并且用盐水洗涤,干燥 (MgSO<sub>4</sub>),过滤并且真空浓缩,得到 1-叔丁基-4-氧代哌啶 (14g)。 (LC/MS :R<sub>t</sub> 0.39, [M+H]<sup>+</sup>156)。

[1506] 步骤 N(iii)

[1507] 将 1-叔丁基-4-氧代哌啶 (3.6g, 23.1)、苄基胺 (5.1mL, 46.8mmol)、乙酸 (1.5mL) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (7.38g, 34.8mmol) 的溶液在环境温度下搅拌 2 天。将反应混合物真空浓缩,将残留物在 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 水溶液和 EtOAc 之间分配。将有机部分干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>),过滤并且真空浓缩。残留物进行色谱,应用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH (87/12/1) 作为洗脱剂,得到 N-苄基-1-叔丁基哌啶-4-胺 (15g)。 (LC/MS :R<sub>t</sub> 0.45, [M+H]<sup>+</sup>247)。

[1508] 步骤 N(iv)

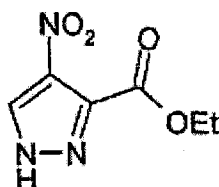
[1509] 在 50psi 下,将 N-苄基-1-叔丁基哌啶-4-胺 (1.56g) 和 10% 钯炭 (2g) 的 MeOH (250mL) 溶液在 Parr 振荡器中氢化 16 小时。将溶液过滤并且将反应混合物真空浓缩,得到 1-叔丁基哌啶-4-胺 (0.64g)。 (LC/MS :R<sub>t</sub> 2.31, 没有 [M+H]<sup>+</sup>)。

[1510] 实施例 165

[1511] 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 [5-氟-2-(1-甲基-哌啶-4-基氧基)-苯基]-酰胺的合成

[1512] 165A. 4-硝基-1H-吡唑-3-甲酸乙酯的合成

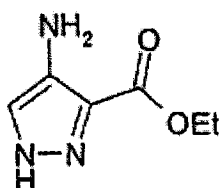
[1513]



[1514] 在环境温度下,将亚硫酸氯(2.90mL,39.8mmol)缓慢加入至4-硝基-3-吡唑甲酸(5.68g,36.2mmol)在EtOH(100mL)中的混合物中并且将混合物搅拌48小时。将混合物真空浓缩并且通过与甲苯共沸干燥,得到白色固体4-硝基-1H-吡唑-3-甲酸乙酯(6.42g,96%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)14.4(s,1H),9.0(s,1H),4.4(q,2H),1.3(t,3H)。

[1515] 165B. 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸乙酯的合成

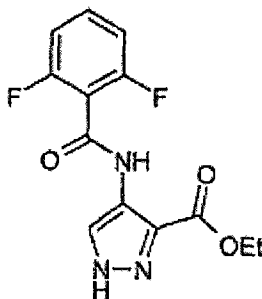
[1516]



[1517] 将4-硝基-1H-吡唑-3-甲酸乙酯(6.40g,34.6mmol)和10% Pd/C(650mg)在EtOH(150mL)中的混合物在氢气气氛下搅拌20小时。将混合物通过硅藻土填料过滤、真空浓缩并且通过与甲苯共沸干燥,得到粉色固体4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸乙酯(5.28g,98%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)12.7(s,1H),7.1(s,1H),4.8(s,2H),4.3(q,2H),1.3(t,3H)。

[1518] 165C. 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸乙酯的合成

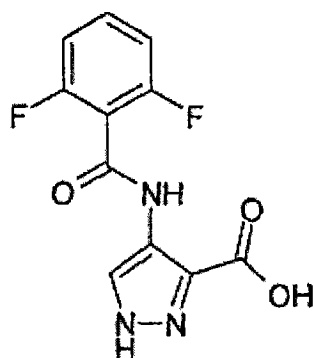
[1519]



[1520] 将2,6-二氟苯甲酸(6.32g,40.0mmol)、4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸乙酯(5.96g,38.4mmol)、EDC(8.83g,46.1mmol)和HOBt(6.23g,46.1mmol)在DMF(100mL)中的混合物在环境温度下搅拌6小时。将混合物真空浓缩,加入水并且过滤收集形成的固体并且空气干燥,得到4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸乙酯,为混合物(15.3g)的主要组分。(LC/MS:R<sub>t</sub> 3.11, [M+H]<sup>+</sup>295.99)。

[1521] 165D. 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸的合成

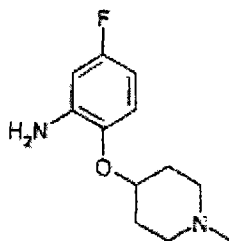
[1522]



[1523] 将 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸乙酯 (10.2g) 在 2M 的 NaOH/MeOH(1 : 1, 250mL) 水溶液中的混合物在环境温度下搅拌 14 小时。真空去除挥发物质, 加入水 (300mL) 并且用 1M 的 HCl 水溶液将混合物的 pH 调至 5。过滤收集产生的沉淀并且通过与甲苯共沸干燥, 得到粉色固体 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 (5.70g)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 2.33, [M+H]<sup>+</sup>267.96)。

[1524] 165E. 5-氟-2-(1-甲基-哌啶-4-基氧基)-苯基胺的合成

[1525]

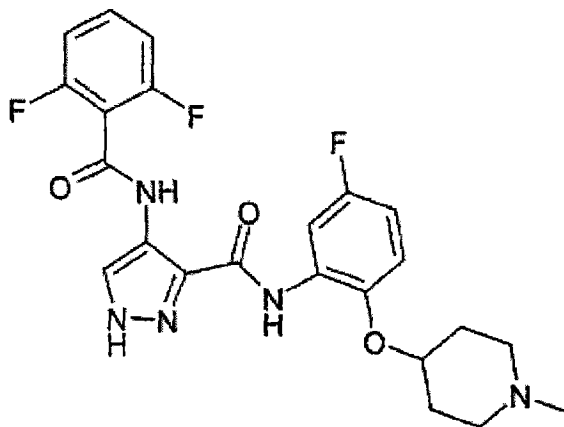


[1526] 将 3,4-二硝基氟苯 (1.86g, 10mmol) 和 4-羟基-1-甲基哌啶 (1.38g, 12mmol) 溶于 THF (20mL) 中并且在环境温度下搅拌, 同时将氢化钠 (60% 分散于矿物油中, 0.40g, 10mmol) 分数个小部分加入。将反应混合物搅拌 1 小时, 然后真空浓缩, 在乙酸乙酯和水之间分配并且将有机相用盐水洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并且真空浓缩。将产生的残留物进行柱色谱, 用 5% MeOH/DCM 洗脱, 得到黄色固体 (1.76g, 4-(3,4-二硝基-苯氧基)-1-甲基-哌啶和 4-(4-氟-2-硝基-苯氧基)-1-甲基-哌啶 2 : 1)。

[1527] 在氮气气氛下, 将获得产物的混合物样品 (0.562g) 溶于 DMF (10mL) 中。加入钯炭 (10%, 0.056g) 并且将反应混合物在氢气气氛下振摇 40 小时。过滤除去固体并且将滤液真空浓缩, 溶于乙酸乙酯中, 洗涤 (饱和氯化铵水溶液, 然后饱和盐水水溶液) 并且真空浓缩, 得到棕色油状 5-氟-2-(1-甲基-哌啶-4-基氧基)-苯基胺。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOD-d<sub>4</sub>) 6.6 (m, 2H), 6.4 (m, 1H), 4.3 (m, 1H), 2.7 (m, 2H), 2.3 (m, 2H), 1.9 (m, 2H), 1.7 (m, 2H)。

[1528] 165F. 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 [5-氟-2-(1-甲基-哌啶-4-基氧基)-苯基]-酰胺的合成

[1529]

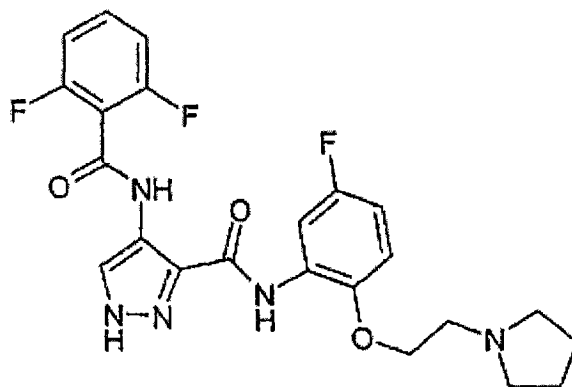


[1530] 将 5-氟-2-(1-甲基-哌啶-4-基氧基)-苯基胺 (0.049g, 0.22mmol) 与 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 (0.053g, 0.20mmol)、EDC (0.048g, 0.25mmol)、HOBt (0.034g, 0.25mmol) 和 DMF (1mL) 合并并且将产生的反应混合物在环境温度下搅拌 18 小时。将反应混合物真空浓缩并且通过制备 LC/MS 纯化, 得到浅黄色固体 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 [5-氟-2-(1-甲基-哌啶-4-基氧基)-苯基]-酰胺 (0.010g, 11%)。 (LC/MS :R<sub>t</sub> 2.19, [M+H]<sup>+</sup>474.27)。

[1531] 实施例 166

[1532] 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 [5-氟-2-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯基]-酰胺的合成

[1533]



[1534] 将 3,4-二硝基氟苯 (0.93g, 5mmol) 和 1-(2-羟基乙基吡咯烷) (0.69g, 6mmol) 溶于 THF (10mL) 中并且在环境温度下搅拌, 同时将氢化钠 (60% 分散于矿物油中, 0.24g, 6mmol) 分数个小部分加入。将反应混合物搅拌 5 小时, 用乙酸乙酯稀释并且将合并的有机层用水和盐水洗涤、干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并且真空浓缩。将产生的残留物进行柱色谱, 用 5% MeOH/DCM 洗脱, 得到橙色油状物 (0.94g, 1-[2-(3,4-二硝基-苯氧基)-乙基]-吡咯烷和 1-[2-(4-氟-2-硝基-苯氧基)-乙基]-吡咯烷 1 : 1)。

[1535] 在氮气气氛下, 将获得的混合物样品 (0.281g) 溶于 DMF (5mL) 中。加入钯炭 (10%, 0.028g) 并且将反应混合物在氢气气氛下振摇 20 小时。过滤除去固体并且将滤液真空浓缩并且将其与 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 (0.134g, 0.50mmol)、EDC (0.116g, 0.60mmol)、HOBt (0.081g, 0.60mmol) 和 DMF (2.5mL) 合并并且将产生的反应混合物在环境温度下搅拌 18 小时。将反应混合物真空浓缩并且将残留物在乙酸乙酯 (50mL) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (50mL) 之间分配。将有机层用盐水洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并且真空

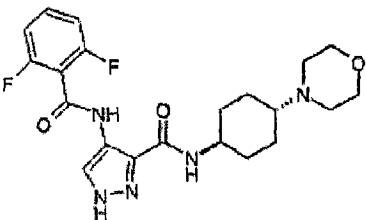
浓缩,得到中间体酰胺。将乙酸 (50mL) 加入至粗酰胺中并且将混合物在回流下加热 3 小时,然后真空浓缩。通过制备 LC/MS 从残留物中分离类白色固体 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 [5-氟-2-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯基] 酰胺 (0.040g, 5.6%)。(LC/MS :R<sub>t</sub> 2.38, [M+H]<sup>+</sup>474.33)。

[1536] 实施例 167-223

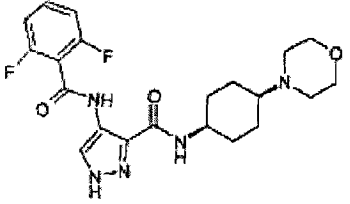
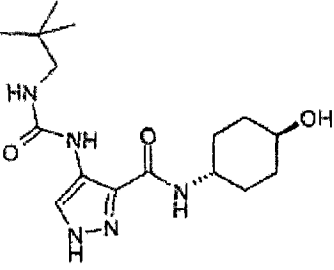
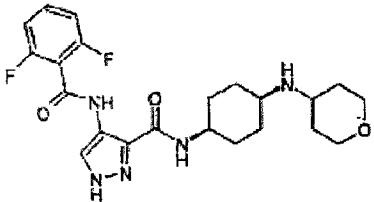
[1537] 通过上文描述的方法,制备表 6 中列出的化合物。

[1538] 表 6

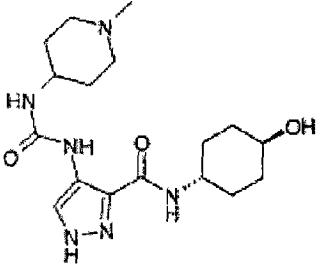
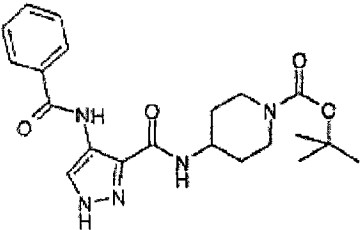
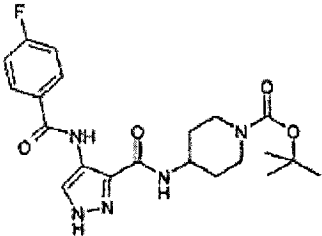
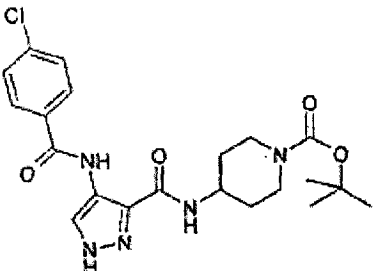
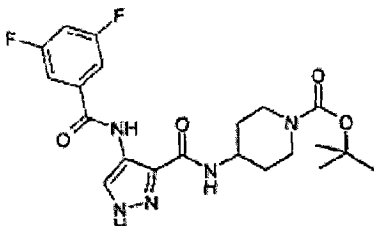
[1539]

| 实施例号 | 结构                                                                                | 方法                | 差别                                                                                  | LCMS                                          |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 167  |  | A<br>根据方法 L 制备起始胺 | HOAt 代替 HOBt, DMSO 作为溶剂代替 DMF, Et <sub>3</sub> N 2 当量, 通过 HPLC 纯化, 胺制备(L) 后分离顺/反异构体 | [M+H] <sup>+</sup> 434<br>R <sub>t</sub> 1.97 |

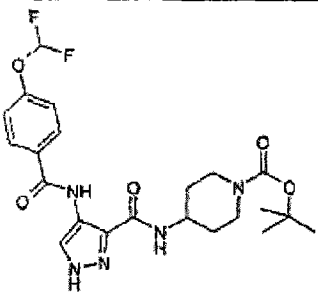
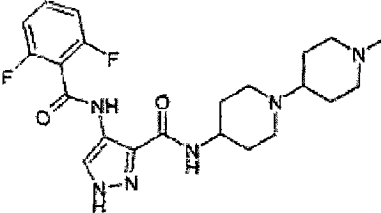
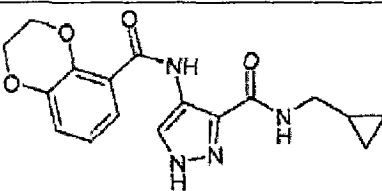
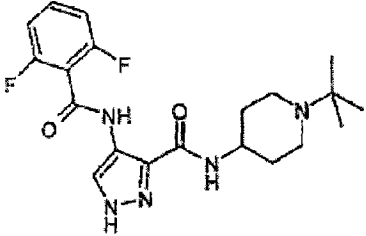
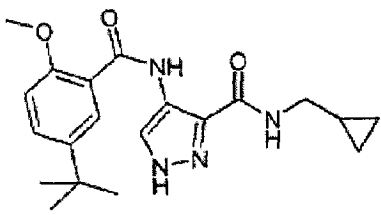
[1540]

|     |                                                                                     |                                          |                                                                                                                                                            |                                                   |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 168 |    | A<br>根据方<br>法 L 制<br>备起始<br>胺            | HOAt 代 替<br>HOBt , DMSO<br>作为溶剂代替<br>DMF, Et <sub>3</sub> N 2 当<br>量, 通过色谱纯<br>化 ,<br>10%MeOH/CH <sub>2</sub><br>Cl <sub>2</sub> , 胺制备(L)<br>后分离顺/反异<br>构体 | [M+H] <sup>+</sup> 434<br><br>R <sub>t</sub> 2.03 |
| 169 |   | 方 法<br>D, 然后<br>方 法<br>G , 然<br>后方法<br>E |                                                                                                                                                            | [M+H] <sup>+</sup> 338<br><br>R <sub>t</sub> 2.28 |
| 170 |  | A<br>根据方<br>法 L 制<br>备起始<br>胺            | DMSO 作为溶剂<br>代替 DMF, Et <sub>3</sub> N<br>当量, 80℃加热 4<br>小时, 然后室温<br>O/N, 通过 HPLC<br>纯化, 最后一步<br>后分离顺/反异<br>构体                                             | [M+H] <sup>+</sup> 448<br><br>R <sub>t</sub> 1.97 |

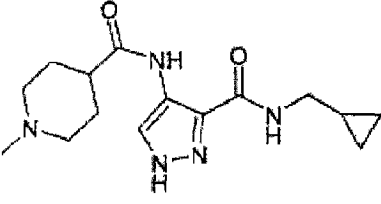
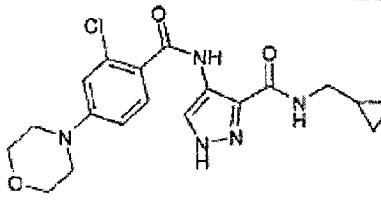
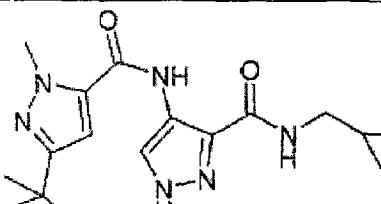
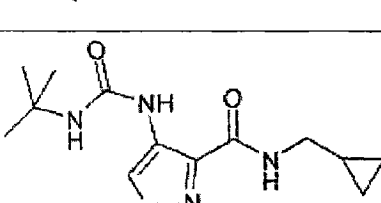
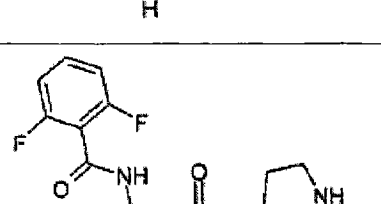
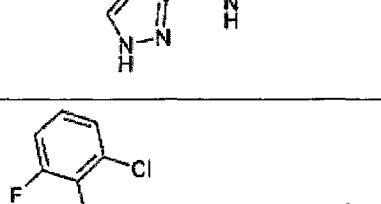
[1541]

|     |                                                                                     |                                         |                                    |                                |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|
| 171 |    | 方 法<br>D, 然后<br>方 法<br>G, 然<br>后方法<br>E |                                    | $[M+H]^+$ 365<br>$R_t$ 0.34    |
| 172 |    | B                                       | 通过柱色谱纯化<br>( 石 油 醚<br>-EtOAc(1:1)) | $[M+H]^+$ 414.13<br>$R_t$ 3.05 |
| 173 |   | B                                       | 通过柱色谱纯化<br>( 石 油 醚<br>-EtOAc(1:1)) | $[M+H]^+$ 432.12<br>$R_t$ 3.12 |
| 174 |  | B                                       | 通过柱色谱纯化<br>( 石 油 醚<br>-EtOAc(1:1)) | $[M+H]^+$ 448.06<br>$R_t$ 3.33 |
| 175 |  | B                                       | 通过柱色谱纯化<br>( 石 油 醚<br>-EtOAc(1:1)) | $[M+H]^+$ 450.08<br>$R_t$ 3.29 |

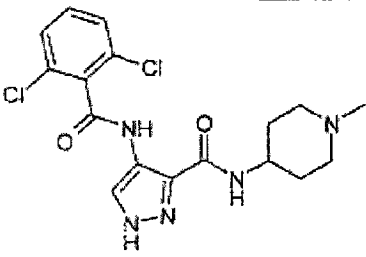
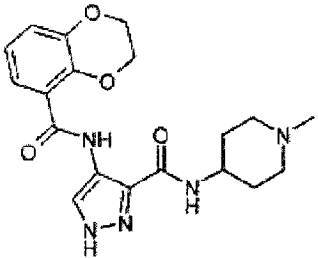
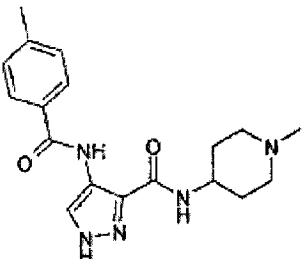
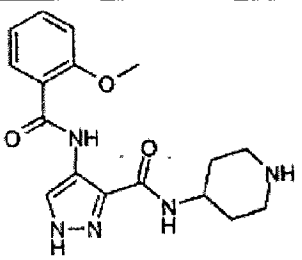
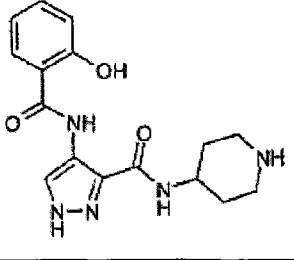
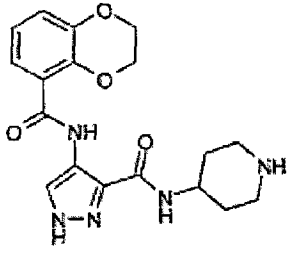
[1542]

|     |                                                                                     |                          |                                                                                                |                                          |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| 176 |    | B                        | 通过柱色谱纯化<br>(石油醚<br>-EtOAc(1:1))                                                                | $[M+H]^+$ 480.05<br>$R_t$ 3.18           |
| 177 |    | A<br>根据方法 L 制备起始胺        | HOAt 代替<br>HOBt, DMSO<br>作为溶剂代替<br>DMF, Et <sub>3</sub> N 2 当<br>量, 通过 HPLC<br>纯化并且形成<br>HCl 盐 | $[M+H]^+$ 447<br>$R_t$ 2.01              |
| 178 |   | B                        |                                                                                                | $[M+H]^+$ 343.05<br>$R_t$ 3.38<br>(极性方法) |
| 179 |  | A<br>通过方法 N 制备丁基-哌啶-4-基胺 | HOAt 代替<br>HOBt, 通过用<br>MeOH 研磨纯化                                                              | $[M+H]^+$ 406<br>$R_t$ 1.85              |
| 180 |  | B                        |                                                                                                | $[M+H]^+$ 371.09<br>$R_t$ 3.27<br>(极性方法) |

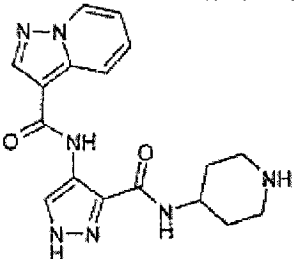
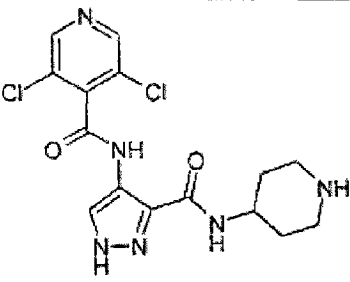
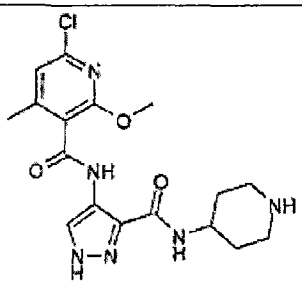
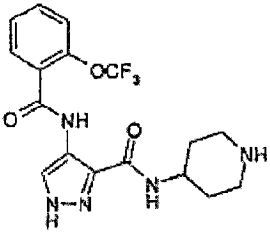
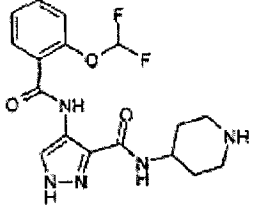
[1543]

|     |                                                                                     |   |                                           |                                          |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|---|-------------------------------------------|------------------------------------------|
| 181 |    | B |                                           | $[M+H]^+$ 306.06<br>$R_t$ 1.53           |
| 182 |    | B |                                           | $[M+H]^+$ 403.98<br>$R_t$ 2.78           |
| 183 |    | B |                                           | $[M+H]^+$ 345.05<br>$R_t$ 3.03           |
| 184 |   | B |                                           | $[M+H]^+$ 280.05<br>$R_t$ 3.75<br>(碱性方法) |
| 185 |  | A | HOAt 代替<br>HOBt, 然后用<br>EtOAc/HCl 脱保<br>护 | $[M+H]^+$ 336<br>$R_t$ 1.67              |
| 186 |  | A |                                           | $[M+H]^+$ 380.05<br>$R_t$ 1.78           |

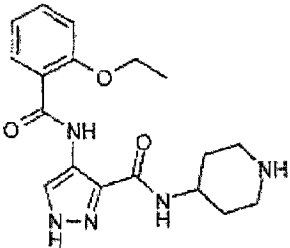
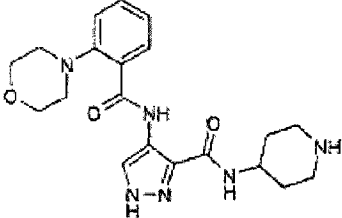
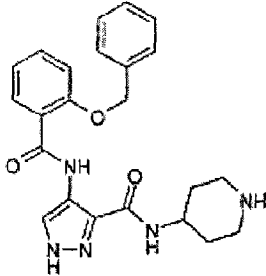
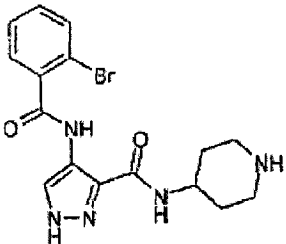
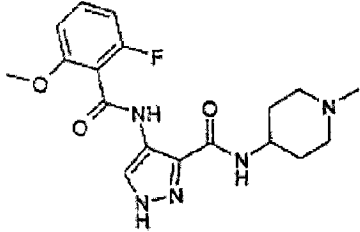
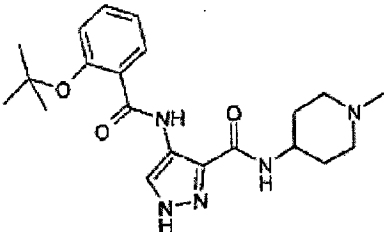
[1544]

|     |                                                                                     |   |  |                                 |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|---|--|---------------------------------|
| 187 |    | A |  | $[M+H]^+$ 396.02<br>$R_t$ 1.86  |
| 188 |    | A |  | $[M+H]^+$ 386.10<br>$R_t$ 1.88  |
| 189 |   | A |  | $[M+H]^+$ 342.10<br>$R_t$ 1.95  |
| 190 |  | M |  | $[M+H]^+$ = 344<br>$R_t$ = 1.87 |
| 191 |  | M |  | $[M+H]^+$ = 330<br>$R_t$ = 1.80 |
| 192 |  | M |  | $[M+H]^+$ = 372<br>$R_t$ = 1.87 |

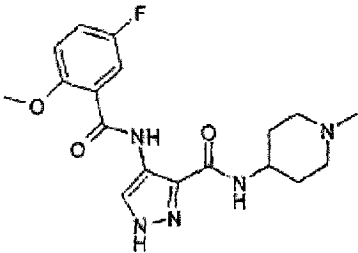
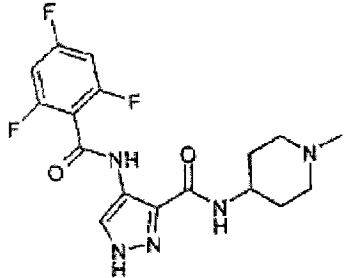
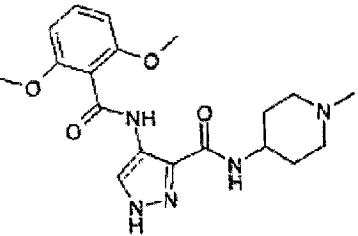
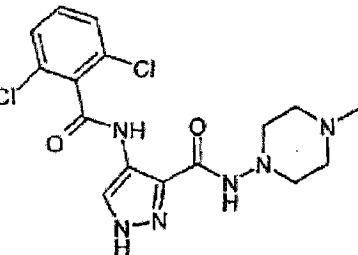
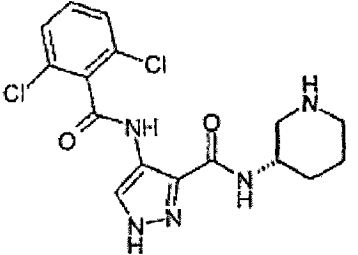
[1545]

|     |                                                                                     |   |                                                            |                                       |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|---|------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| 193 |    | M |                                                            | $[M+H]^+ = 354$<br>$R_t = 1.77$       |
| 194 |    | M | 通过快速色谱纯化, 用二氯甲烷 120 mL、甲醇 15 mL、乙酸 3 mL、水 2 mL(DMAW 120)洗脱 | $[M+H]^+ = 383 / 385$<br>$R_t = 1.72$ |
| 195 |   | M | 通过快速色谱纯化, 用 DMAW 120 洗脱                                    | $[M+H]^+ = 393 / 395$<br>$R_t = 1.86$ |
| 196 |  | M |                                                            | $[M+H]^+ = 398$<br>$R_t = 1.94$       |
| 197 |  | M |                                                            | $[M+H]^+ = 330$<br>$R_t = 1.80$       |

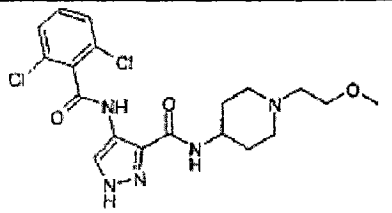
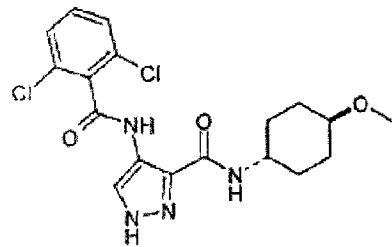
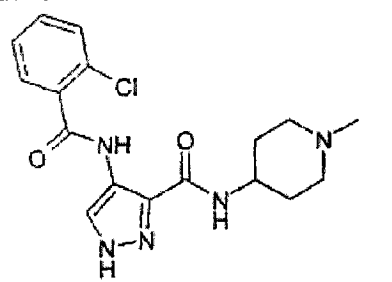
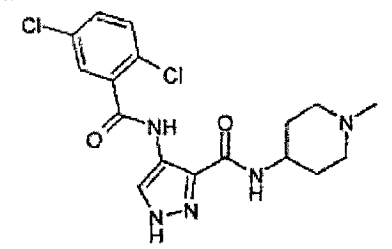
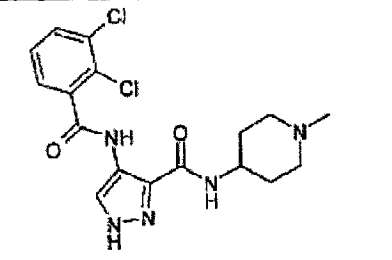
[1546]

|     |                                                                                     |   |                                                                                       |                                       |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|---|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| 198 |    | M |                                                                                       | $[M+H]^+ = 358$<br>$R_t = 1.89$       |
| 199 |    | M |                                                                                       | $[M+H]^+ = 399$<br>$R_t = 1.88$       |
| 200 |    | M |                                                                                       | $[M+H]^+ = 420$<br>$R_t = 2.13$       |
| 201 |  | M |                                                                                       | $[M+H]^+ = 392 / 394$<br>$R_t = 1.84$ |
| 202 |  | B | 应用快速色谱纯化<br>(CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -MeOH-AcOH-H <sub>2</sub> O(90:1 8:3:2)) | $[M+H]^+ 376.14$<br>$R_t 1.78$        |
| 203 |  | B | 应用快速色谱纯化<br>(CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -MeOH-AcOH-H <sub>2</sub> O(90:1 8:3:2)) | $[M+H]^+ 400.17$<br>$R_t 2.08$        |

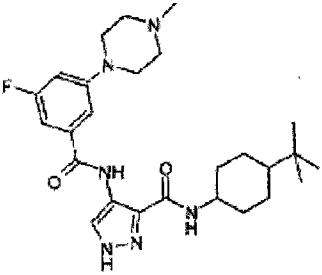
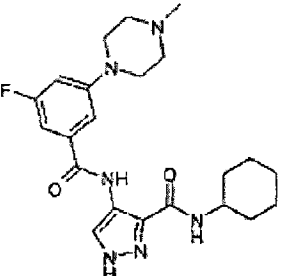
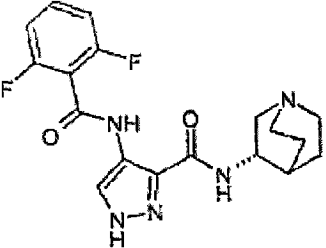
[1547]

|     |                                                                                     |   |                                                                                                                            |                                                         |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|---|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| 204 |    | B | 应用快速色谱纯化<br>(CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -MeOH-AcOH-H <sub>2</sub> O(90:18:3:2))                                       | [M+H] <sup>+</sup> 376.15<br>R <sub>t</sub> 1.92        |
| 205 |    | B | 应用快速色谱纯化<br>(CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -MeOH-AcOH-H <sub>2</sub> O(90:18:3:2))                                       | [M+H] <sup>+</sup> 382.12<br>R <sub>t</sub> 1.77        |
| 206 |   | B | 应用快速色谱纯化<br>(CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -MeOH-AcOH-H <sub>2</sub> O(90:18:3:2))                                       | [M+H] <sup>+</sup> 388.18<br>R <sub>t</sub> 1.73        |
| 207 |  | A | 通过快速色谱纯化, 用 DMAW 120 洗脱                                                                                                    | [M+H] <sup>+</sup> = 397 / 399<br>R <sub>t</sub> = 1.83 |
| 208 |  | A | 应用 (S)-3-氨基-1-N-BOC-哌啶进行偶联, 如方法 M 脱保护, 应用柱色谱纯化<br>(CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -MeOH-AcOH-H <sub>2</sub> O(90:18:3:2)) | [M+H] <sup>+</sup> 382.02<br>R <sub>t</sub> 1.82        |

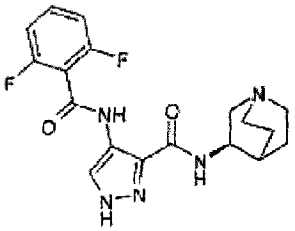
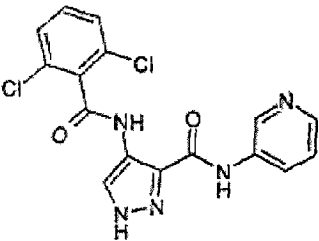
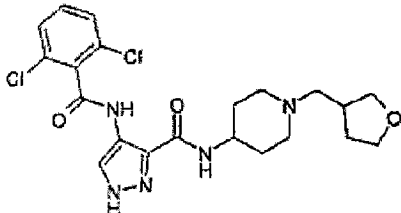
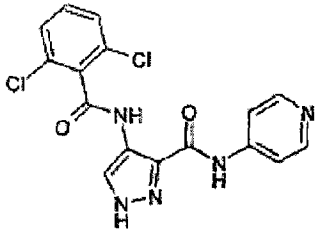
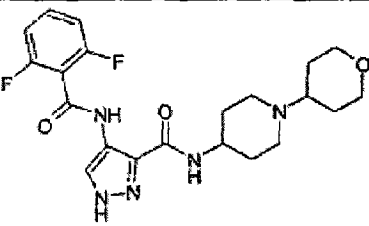
[1548]

|     |                                                                                     |   |                    |                                |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|---|--------------------|--------------------------------|
| 209 |    | A |                    | $[M+H]^+$ 440.22<br>$R_t$ 1.92 |
| 210 |    | A |                    | $[M+H]^+$ 411.20<br>$R_t$ 2.97 |
| 211 |    | A | 处理后通过制备<br>LCMS 纯化 | $[M+H]^+$ 362.11<br>$R_t$ 1.91 |
| 212 |   | A | 处理后通过制备<br>LCMS 纯化 | $[M+H]^+$ 396.08<br>$R_t$ 2.06 |
| 213 |  | A | 处理后通过制备<br>LCMS 纯化 | $[M+H]^+$ 396.06<br>$R_t$ 2.04 |

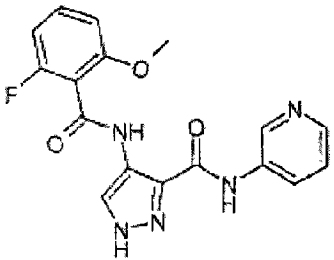
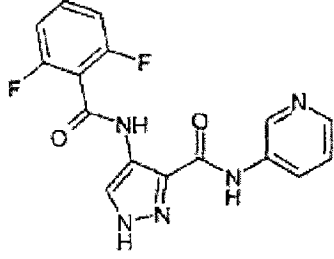
[1549]

|     |                                                                                     |   |                                                                                     |                                                   |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|---|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 214 |    | B | 将混合物真空浓缩，将残留物溶于EtOAc中并且依次用饱和碳酸氢钠水溶液、水和盐水洗涤，将有机部分干燥(MgSO <sub>4</sub> )并且真空浓缩，得到预期产物 | [M+H] <sup>+</sup> 485<br>R <sub>t</sub> 2.59     |
| 215 |   | B | 将混合物真空浓缩，将残留物溶于EtOAc中并且依次用饱和碳酸氢钠水溶液、水和盐水洗涤，将有机部分干燥(MgSO <sub>4</sub> )并且真空浓缩，得到预期产物 | [M+H] <sup>+</sup> 429<br>R <sub>t</sub> 2.25     |
| 216 |  | A | 通过快速色谱纯化，用DMAW 120洗脱                                                                | [M+H] <sup>+</sup> = 376<br>R <sub>t</sub> = 1.85 |

[1550]

|     |                                                                                     |                   |                                             |                                       |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------|
| 217 |    | A                 | 通过快速色谱纯化，用 DMAW 120 洗脱                      | $[M+H]^+ = 376$<br>$R_t = 1.87$       |
| 218 |    | A                 | 通过快速色谱纯化，用 5%MeOH/DCM 洗脱，然后用 10%MeOH/DCM 洗脱 | $[M+H]^+ = 376 / 378$<br>$R_t = 2.23$ |
| 219 |    | A<br>根据方法 L 制备起始胺 | 通过快速色谱纯化，用 DMAW 90 洗脱                       | $[M+H]^+ = 466 / 468$<br>$R_t = 1.98$ |
| 220 |  | A                 | 通过快速色谱纯化，用 5%MeOH/DCM 洗脱，然后用 10%MeOH/DCM 洗脱 | $[M+H]^+ = 376 / 378$<br>$R_t = 2.09$ |
| 221 |  | A<br>根据方法 L 制备起始胺 | 通过快速色谱纯化，用 DMAW 90 洗脱                       | $[M+H]^+ = 434$<br>$R_t = 1.82$       |

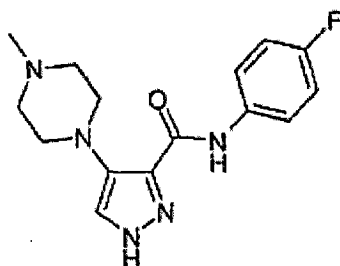
[1551]

|     |                                                                                   |   |                                         |                                 |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------|---|-----------------------------------------|---------------------------------|
| 222 |  | A | 通过快速色谱纯化，用5%MeOH/DCM洗脱，然后用10%MeOH/DCM洗脱 | $[M+H]^+ = 356$<br>$R_t = 2.11$ |
| 223 |  | A | 通过快速色谱纯化，用5%MeOH/DCM洗脱，然后用10%MeOH/DCM洗脱 | $[M+H]^+ = 344$<br>$R_t = 2.09$ |

[1552] 实施例 224

[1553] 4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1554]

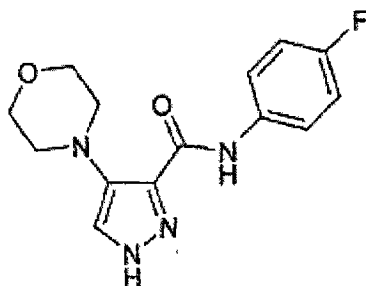


[1555] 将二(2-氯乙基)甲基胺盐酸盐(97mg;0.5mmol)加入至4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)胺(100mg;0.45mmol)、四丁基碘化铵(20mg;0.045mmol)和二异丙基乙胺(200  $\mu$ L,1.13mmol)的搅拌的DMF(5mL)溶液中,并且将产生的混合物在200℃下在CEM Discover™微波合成仪中加热30分钟。将DMF真空除去,然后通过快速柱色谱纯化,用二氯甲烷/甲醇/乙酸/水(90:18:3:2)洗脱。将包含产物的级分合并并且蒸发,用在乙酸乙酯中的HCl处理,然后用甲苯(2×20mL)再蒸发,得到类白色固体(27mg)。(LC/MS: $R_t$  1.64,  $[M+H]^+$ 378)。

[1556] 实施例 225

[1557] 4-吗啉-4-基-1H-吡唑-3-甲酸(4-氟-苯基)-酰胺

[1558]

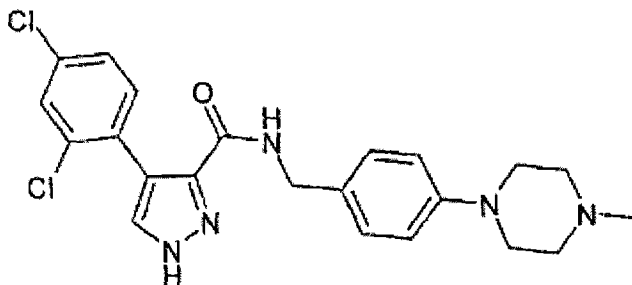


[1559] 通过与实施例 224 类似的方法制备化合物,但是应用二(2-氯乙基)醚代替二(2-氯乙基)甲基胺盐酸盐。(LC/MS : $R_t$  2.48,  $[M+H]^+$ 291)。

[1560] 实施例 226

[1561] 4-(2,4-二氯-苯基)-1H-吡唑-3-甲酸 4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苄基酰胺

[1562]



[1563] 226A. 4-(2,4-二氯-苯基)-1H-吡唑-3-甲酸的制备

[1564] 将 4-(2,4-二氯-苯基)-1H-吡唑-3-甲酸乙酯 (205mg ;0.72mmol) 和一水合氢氧化锂 (125mg ;2.9mmol) 的 1 : 1 的 THF/ 水 (10mL) 溶液在 60℃ 下加热过夜。将 THF 蒸发除去,将水相用 1M 盐酸酸化,然后用乙酸乙酯 (20mL) 萃取。将乙酸乙酯层干燥 ( $MgSO_4$ ),过滤并且蒸发,得到 200mg 4-(2,4-二氯-苯基)-1H-吡唑-3-甲酸。(LC/MS : $[M+H]^+$ 256.85)。

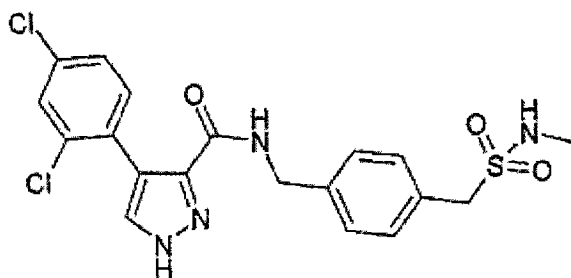
[1565] 226B. 4-(2,4-二氯-苯基)-1H-吡唑-3-甲酸 4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苄基酰胺的制备

[1566] 将 4-(2,4-二氯-苯基)-1H-吡唑-3-甲酸 (70mg ;0.27mmol)、4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苄基胺 (62mg ;0.3mmol)、EDAC (63mg ;0.33mmol) 和 HOBt (45mg ;0.33mmol) 的 5mL 的 DMF 溶液在室温下搅拌 48 小时。蒸发反应液并且将残留物在乙酸乙酯和盐水之间分配。将乙酸乙酯层分离,干燥 ( $MgSO_4$ ),过滤,蒸发,然后进一步真空干燥,得到 34mg 4-(2,4-二氯-苯基)-1H-吡唑-3-甲酸 4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苄基酰胺。(LC/MS : $R_t$  2.42,  $[M+H]^+$ 444)。

[1567] 实施例 227

[1568] 4-(2,4-二氯-苯基)-1H-吡唑-3-甲酸 4-甲基氨磺酰基甲基-苄基酰胺

[1569]

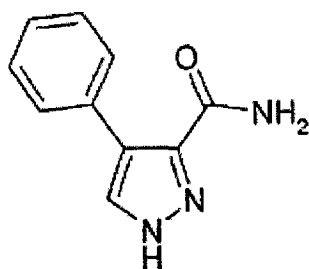


[1570] 通过与实施例 226 类似的方法制备标题化合物,但是应用 (4-氨基甲基-苯基)-N-甲基-甲磺酰胺作为原料。分离得到 6mg 白色固体产物。(LC/MS : $R_t$  3.56,  $[M+H]^+$ 440)。

[1571] 实施例 228

[1572] 4-苯基-1H-吡唑-3-甲酸酰胺

[1573]



[1574] 228A. 2-亚苄基-丁-3-炔腈

[1575] 将 5 滴哌啶滴加至苯甲醛 (2g ;18.9mmol) 和丙二腈 (1.37g ;20.7mmol) 的乙醇 (40mL) 溶液中并且将混合物在回流下加热过夜。将反应液冷却,蒸发,然后通过快速柱色谱纯化,用 1 : 9 乙酸乙酯 / 己烷洗脱并且将含有产物的级分合并并且蒸发,得到 930mg 2-亚苄基-丁-3-炔腈

[1576] 228B. 4-苯基-5-三甲基硅烷基-1H-吡唑-3-腈

[1577] 在 -78℃ 和氮气气氛下,将正丁基锂 (2.7M 的庚烷溶液) (3.3mL, 9mmol) 滴加至三甲基硅烷基重氮甲烷 (2M 的乙醚溶液) (4.5mL, 9mmol) 的搅拌的无水 THF (10mL) 溶液中,然后再搅拌 30 分钟。向其中滴加 2-亚苄基-丁-3-炔腈 (920mg ;6mmol) 的无水 THF (5mL) 溶液,将混合物在 -78℃ 下搅拌 30 分钟,然后使其逐渐温至室温过夜。将反应混合物用乙酸乙酯 (30mL) 稀释,然后用饱和氯化铵溶液洗涤,然后用盐水洗涤。将乙酸乙酯层分离,干燥 (MgSO<sub>4</sub>),过滤并且蒸发。将粗产物通过快速柱色谱纯化,用 1 : 8 乙酸乙酯 / 己烷洗脱,然后用 1 : 4 乙酸乙酯 / 己烷洗脱并且将包含产物的级分合并并且蒸发,得到 1.0g 4-苯基-5-三甲基硅烷基-1H-吡唑-3-腈。

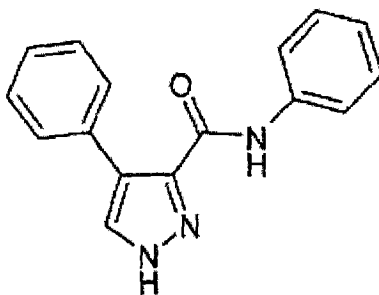
[1578] 228C. 4-苯基-1H-吡唑-3-甲酸酰胺

[1579] 将 4-苯基-5-三甲基硅烷基-1H-吡唑-3-腈 (500mg ;2.1mmol) 溶于 1mL 的乙醇中,用在水 (3mL) 中的氢氧化钾 (600mg) 处理,然后在 CEMDiscover™ 微波合成仪中在 150℃ (100W) 下加热 30 分钟,然后在 170℃ (100W) 下加热 20 分钟。用浓盐酸将反应混合物酸化至 pH1,用水 (40mL) 稀释,然后用乙酸乙酯 (2×40mL) 萃取。将合并的乙酸乙酯层分离,干燥 (MgSO<sub>4</sub>),过滤并且蒸发,得到 3 : 1 的 4-苯基-1H-吡唑-3-甲酸和 4-苯基-1H-吡唑-3-甲酸酰胺的混合物。将一批 50mg 的粗物质通过快速柱色谱纯化,用 5% 甲醇 / 二氯甲烷洗脱,并且合并包含产物的级分并且蒸发,得到 15mg 白色固体 4-苯基-1H-吡唑-3-甲酸酰胺。(LC/MS :R<sub>t</sub> 2.15, [M+H]<sup>+</sup>188)。

[1580] 实施例 229

[1581] 4-苯基-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺

[1582]



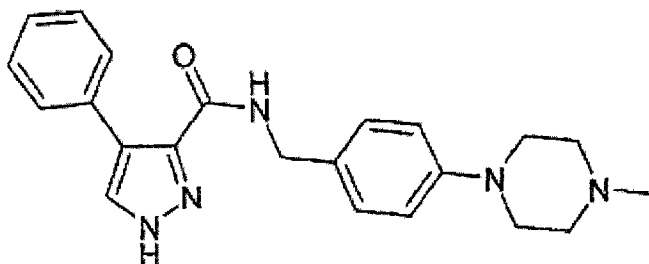
[1583] 将 4-苯基-1H-吡唑-3-甲酸 (75mg ;0.4mmol) (根据实施例 228C 制备)、苯胺

(45  $\mu$  L ;0.48mmol)、EDAC(92mg ;0.48mmol) 和 HOBT(65mg ;0.48mmol) 的 5mL DMF 溶液在室温下搅拌过夜。将反应液蒸发,然后通过快速柱色谱纯化,用 1 : 3 乙酸乙酯 / 己烷洗脱,然后用 1 : 2 乙酸乙酯 / 己烷洗脱。合并包含产物的级分并且蒸发,得到 30mg 白色固体 4- 苯基 -1H- 吡唑 -3- 甲酸苯基酰胺。(LC/MS : $R_t$  3.12,  $[M+H]^+$ 264)。

[1584] 实施例 230

[1585] 4- 苯基 -1H- 吡唑 -3- 甲酸 4-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基) - 苄基酰胺

[1586]

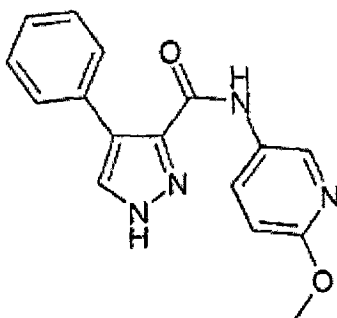


[1587] 通过与实施例 229 类似的方法制备化合物,但是应用 4-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基) - 苄基酰胺作为原料。分离得到 6mg 白色固体产物。(LC/MS : $R_t$  2.05,  $[M+H]^+$ 376)。

[1588] 实施例 231

[1589] 4- 苯基 -1H- 吡唑 -3- 甲酸 (6- 甲氧基 - 吡啶 -3- 基) 酰胺

[1590]

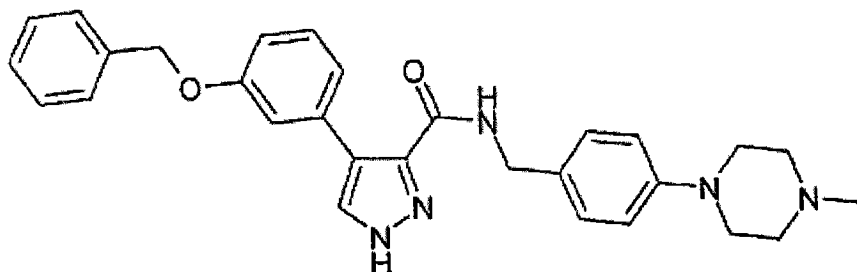


[1591] 通过与实施例 230 类似的方法制备化合物,但是应用 3- 氨基 -6- 甲氧基吡啶作为胺部分。分离得到 100mg 淡棕色固体产物。(LC/MS : $R_t$  3.17,  $[M+H]^+$ 295)。

[1592] 实施例 232

[1593] 4-(3- 苄基氧基 - 苯基) -1H- 吡唑 -3- 甲酸 4-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基) - 苄基酰胺

[1594]

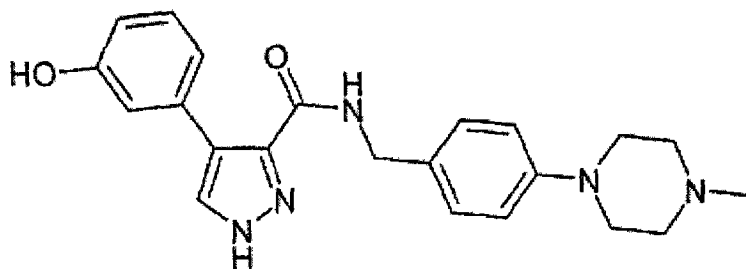


[1595] 通过与实施例 226 类似的方法制备化合物。分离得到白色固体产物。(LC/MS : $R_t$  2.65,  $[M+H]^+$ 482)。

[1596] 实施例 233

[1597] 4-(3- 羟基 - 苯基) -1H- 吡唑 -3- 甲酸 4-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基) - 苄基酰胺

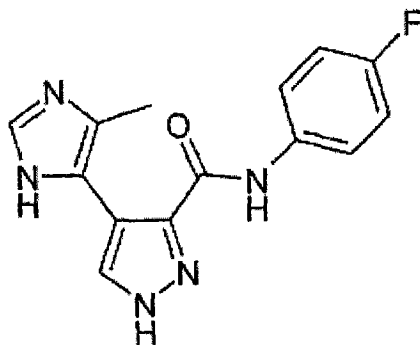
[1598]



[1599] 将 4-(3-苄基氧基-苯基)-1H-吡唑-3-甲酸 4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苄基酰胺 (25mg ; 0.05mmol) 的甲醇 (5mL) 溶液用 10% 钯炭 (10mg) 处理, 然后在室温和压力下氢化过夜。通过硅藻土过滤除去催化剂并且将滤液蒸发。通过制备 LC/MS 纯化, 得到 8mg 乳白色固体所需产物。(LC/MS :  $R_t$  1.67,  $[M+H]^+$  392)。

[1600] 实施例 234[1601] 4-(5-甲基-3H-咪唑-4-基)-1H-吡唑-3-甲酸 (4-氟-苯基)-酰胺

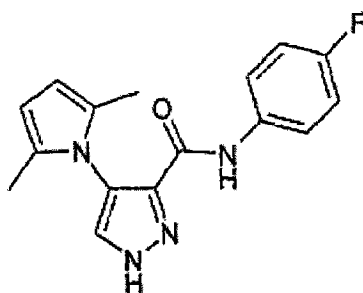
[1602]



[1603] 通过与实施例 226 类似的方法制备化合物, 但是在缩合步骤中应用 4-甲基-5-甲酰基咪唑作为原料。分离得到白色固体产物 (6mg)。(LC/MS :  $R_t$  2.00,  $[M+H]^+$  286)。

[1604] 实施例 235[1605] 4-(2,5-二甲基-吡咯-1-基)-1H-吡唑-3-甲酸 (4-氟-苯基)-酰胺

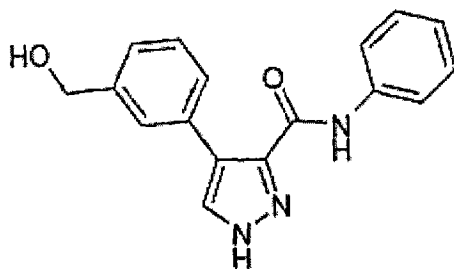
[1606]



[1607] 在 120°C (50W) 下, 将 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸 (4-氟-苯基)-酰胺 (100mg) 和蒙脱石 KSF 粘土 (100mg) 在丙酮基丙酮 (1mL) 中的混合物在 CEMdiscover 微波合成仪中加热 15 分钟。将反应混合物用 5% 甲醇 / 二氯甲烷稀释, 过滤并且蒸发。将粗产物通过快速柱色谱纯化, 用 1 : 2 乙酸乙酯 / 己烷洗脱, 并且将包含产物的级分合并并且蒸发, 得到 65mg 淡棕色固体目标分子。(LC/MS :  $R_t$  3.75,  $[M+H]^+$  299)。

[1608] 实施例 236[1609] 4-(3-羟基甲基-苯基)-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺

[1610]

[1611] 236A. 4-碘-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺

[1612] 在 0℃ 下,将亚硝酸钠 (760mg) 的 2mL 水溶液滴加至搅拌的 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺 (2g; 10mmol) 的浓盐酸 (20mL) 混悬液中,然后在 0℃ 下再搅拌 60 分钟。将反应混合物用丙酮 (10mL) 稀释,然后用碘化钾 (1.8g) 和碘化铜 (i) (2.1g) 处理并且在室温下搅拌 90 分钟。将反应混合物用盐水和乙酸乙酯稀释,然后用饱和硫代硫酸钠溶液洗涤。将乙酸乙酯层分离,干燥 (MgSO<sub>4</sub>),过滤并且蒸发,得到 680mg 4-碘-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺。

[1613] 236B. 4-碘-1-(4-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺

[1614] 将 4-碘-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺 (670mg; 2.14mmol) 的乙腈 (10mL) 溶液用碳酸钾 (360mg; 2.57mmol) 处理,然后用 4-甲氧基苄基氯 (320 μL; 2.35mmol) 处理。将混合物在室温下搅拌过夜,然后减压蒸发。将残留物在乙酸乙酯和盐水之间分配;将乙酸乙酯层分离,干燥 (MgSO<sub>4</sub>),过滤并且蒸发。将粗物质通过快速柱色谱纯化,用 1 : 3 乙酸乙酯 / 己烷洗脱并且合并包含产物的级分并且蒸发,得到 660mg 4-碘-1-(4-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺。

[1615] 236C. 4-(3-羟基甲基-苯基)-1-(4-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺

[1616] 在 120℃ (50W) 下,将 4-碘-1-(4-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺 (50mg; 0.11mmol)、二(三-叔丁基膦)钯 (12mg)、碳酸钾 (100mg; 0.66mmol) 和 3-(羟基甲基)-苯硼酸 (21mg; 0.14mmol) 在乙醇 / 甲苯 / 水 (4mL : 1mL : 1mL) 中的混合物在 CEM Discover 微波合成仪中加热 15 分钟。将反应液蒸发并且将残留物在乙酸乙酯和盐水之间分配。将乙酸乙酯层分离,干燥 (MgSO<sub>4</sub>),过滤并且蒸发,并且将粗产物通过快速柱色谱纯化,用 1 : 2 乙酸乙酯 / 己烷洗脱,然后用 2 : 1 乙酸乙酯 / 己烷洗脱。将包含产物的级分合并并且蒸发,得到 60mg 4-(3-羟基甲基-苯基)-1-(4-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺。

[1617] 236D. 4-(3-羟基甲基-苯基)-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺

[1618] 在 120℃ (50W) 下,将 4-(3-羟基甲基-苯基)-1-(4-甲氧基-苄基)-1H-吡唑-3-甲酸苯基酰胺 (20mg) 和茴香醚 (20 μL) 在三氟乙酸 (1mL) 中的混合物在 CEM Discover 微波合成仪中加热 15 分钟。将反应液蒸发,然后通过快速柱色谱纯化,用 2 : 1 乙酸乙酯 / 己烷洗脱。将包含产物的级分合并并且蒸发,得到 5mg 产物。(LC/MS : R<sub>t</sub> 2.55, [M+H]<sup>+</sup>294)。

[1619] 实施例 237[1620] 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺盐酸盐的制备[1621] 237A. 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸

[1622] 将 2,6-二氯苯甲酰基氯 (8.2g ;39.05mmol) 小心加入至 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸甲酯 (通过与 165B 类似的方法制备) (5g ;35.5mmol) 和三乙胺 (5.95mL ;42.6mmol) 的二噁烷溶液 (50mL) 中,然后在室温下搅拌 5 小时。将反应混合物过滤并且将滤液用甲醇 (50mL) 和 2M 氢氧化钠溶液 (100mL) 处理,在 50℃ 下加热 4 小时,然后蒸发。将 100mL 水加入至残留物中,然后用浓盐酸酸化。过滤收集固体,用水 (100mL) 洗涤并且吸干,得到 10.05g 淡紫色固体 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸。

[1623] 237B. 4-[[4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-羰基]-氨基]-哌啶-1-甲酸叔丁酯

[1624] 将 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 (6.5g, 21.6mmol)、4-氨基-1-BOC-哌啶 (4.76g, 23.8mmol)、EDC (5.0g, 25.9mmol) 和 HOBT (3.5g, 25.9mmol) 在 DMF (75mL) 中的混合物在室温下搅拌 20 小时。将反应混合物真空浓缩并且将残留物在乙酸乙酯 (100mL) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (100mL) 之间分配。将有机层用盐水洗涤,干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并且真空浓缩。将残留物溶于 5% MeOH-DCM (~ 30mL) 中。过滤除去不溶物并且用 DCM 洗涤并且真空干燥,得到白色固体 4-[[4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-羰基]-氨基]-哌啶-1-甲酸叔丁酯 (5.38g)。将滤液真空浓缩并且将残留物通过柱色谱纯化,应用 1 : 2 EtOAc/ 己烷至 EtOAc 梯度洗脱,进一步得到白色固体 4-[[4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-羰基]-氨基]-哌啶-1-甲酸叔丁酯 (2.54g)。

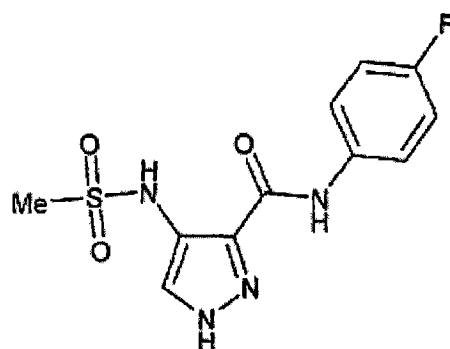
[1625] 237C. 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺

[1626] 将 4-[[4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-羰基]-氨基]-哌啶-1-甲酸叔丁酯 (7.9g) 的 MeOH (50mL) 和 EtOAc (50mL) 溶液用饱和 HCl-EtOAc (40mL) 处理,然后在室温下搅拌过夜。由于甲醇存在产物没有结晶,因此将反应混合物蒸发并且将残留物用 EtOAc 研磨。过滤收集产生的类白色的固体,用 EtOAc 洗涤并且在多孔状淀粉土上吸干,得到 6.3g 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺盐酸盐。(LC/MS :R<sub>t</sub> 5.89, [M+H]<sup>+</sup>382/384)。

[1627] 实施例 238

[1628] 4-甲磺酰基氨基-1H-吡唑-3-甲酸 (4-氟-苯基)-酰胺

[1629]



[1630] 将 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸 (4-氟-苯基)-酰胺 (50mg) (实施例 2B) 和甲磺酸酐 (45mg) 的吡啶 (1mL) 溶液在室温下搅拌过夜,然后蒸发并且通过快速柱色谱纯化,用 2 : 1 EtOAc/ 己烷洗脱。蒸发包含产物的级分得到 20mg 标题化合物。(LC/MS :R<sub>t</sub> 2.87, [M+H]<sup>+</sup>299)。

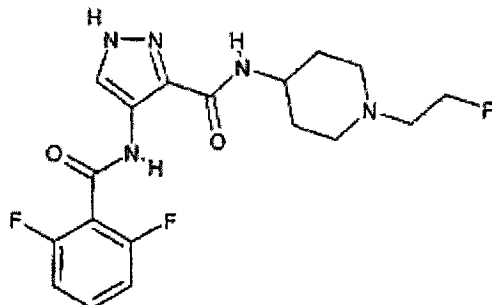
[1631] 实施例 239 至 245

[1632] 应用上文描述的方法或与其类似的方法制备实施例 239 至 245 的化合物。

[1633] 实施例 239

[1634] 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸[1-(2-氟-乙基)-哌啶-4-基]-酰胺

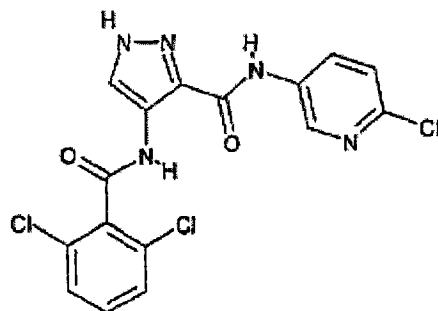
[1635]



[1636] 实施例 240

[1637] 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(6-氯-吡啶-3-基)-酰胺

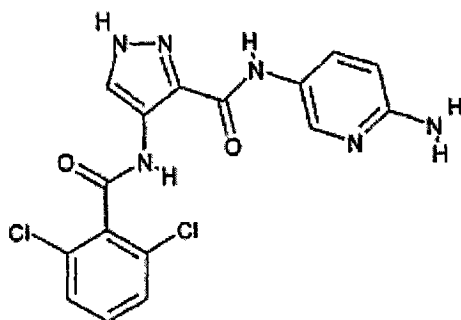
[1638]



[1639] 实施例 241

[1640] 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(6-氨基-吡啶-3-基)-酰胺

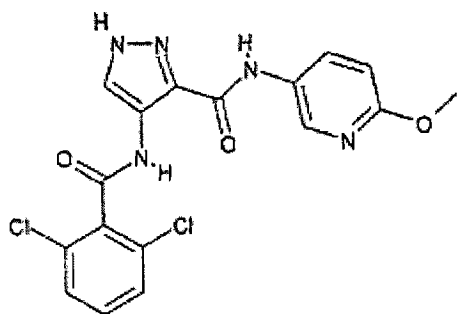
[1641]



[1642] 实施例 242

[1643] 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(6-甲氧基-吡啶-3-基)-酰胺

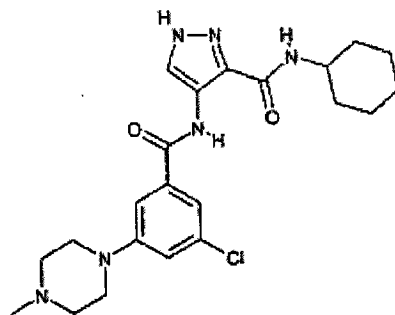
[1644]



[1645] 实施例 243

[1646] 4-[3-氨基-5-(4-甲基-吡嗪-1-基)-苯甲酰基氨基]-1H-吡唑-3-甲酸环己基酰胺

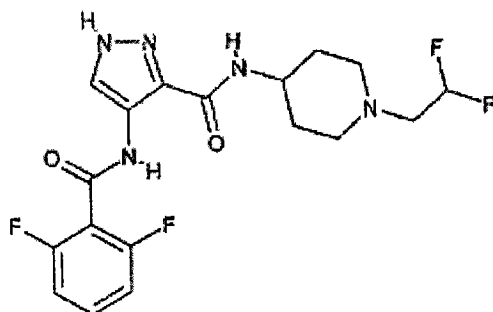
[1647]



[1648] 实施例 244

[1649] 4-(2,6-二氟-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸[1-(2,2-二氟-乙基)-哌啶-4-基]-酰胺

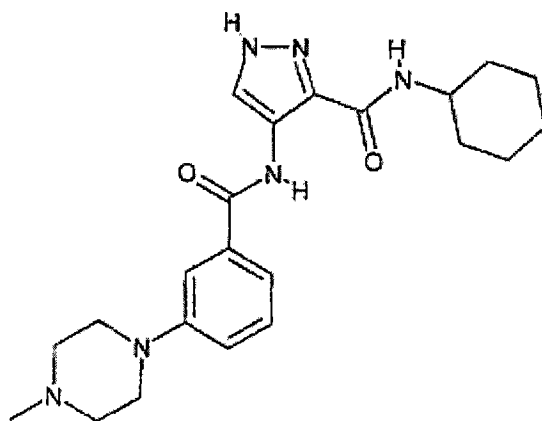
[1650]



[1651] 实施例 245

[1652] 4-[3-(4-甲基-吡嗪-1-基)-苯甲酰基氨基]-1H-吡唑-3-甲酸环己基酰胺

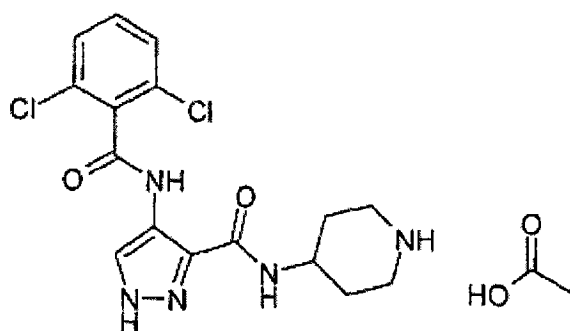
[1653]



[1654] 实施例 246

[1655] 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺乙酸盐的制备

[1656]



[1657] 将碳酸氢钠 (4.5g, 53.5mmol) 加入至 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺盐酸盐 (实施例 (237C) 20.6g, 50mmol) 的在环境温度下搅拌的水 (500mL) 溶液中。将混合物搅拌 1 小时并且过滤收集形成的固体并且通过与甲苯 (×3) 共沸真空干燥, 得到 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺的相应的游离碱。

[1658]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ) 10.20 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.25 (d, 1H), 7.60-7.50 (m, 3H), 3.70 (m, 1H), 3.00 (d, 2H), 2.50 (m, 2H), 1.70 (d, 2H), 1.50 (m, 2H)。

[1659] 在环境温度下, 将冰乙酸 (15mL, 262mmol) 加入至搅拌的 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺 (10.0g, 26.2mmol) 的甲醇 (150mL) 混悬液中。1 小时后, 得到澄清溶液, 将该溶液通过与甲苯 (×2) 共沸真空浓缩。然后将残留用乙腈 (2×100mL) 研磨并且将固体真空干燥, 得到白色固体 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺乙酸盐 (10.3g)。

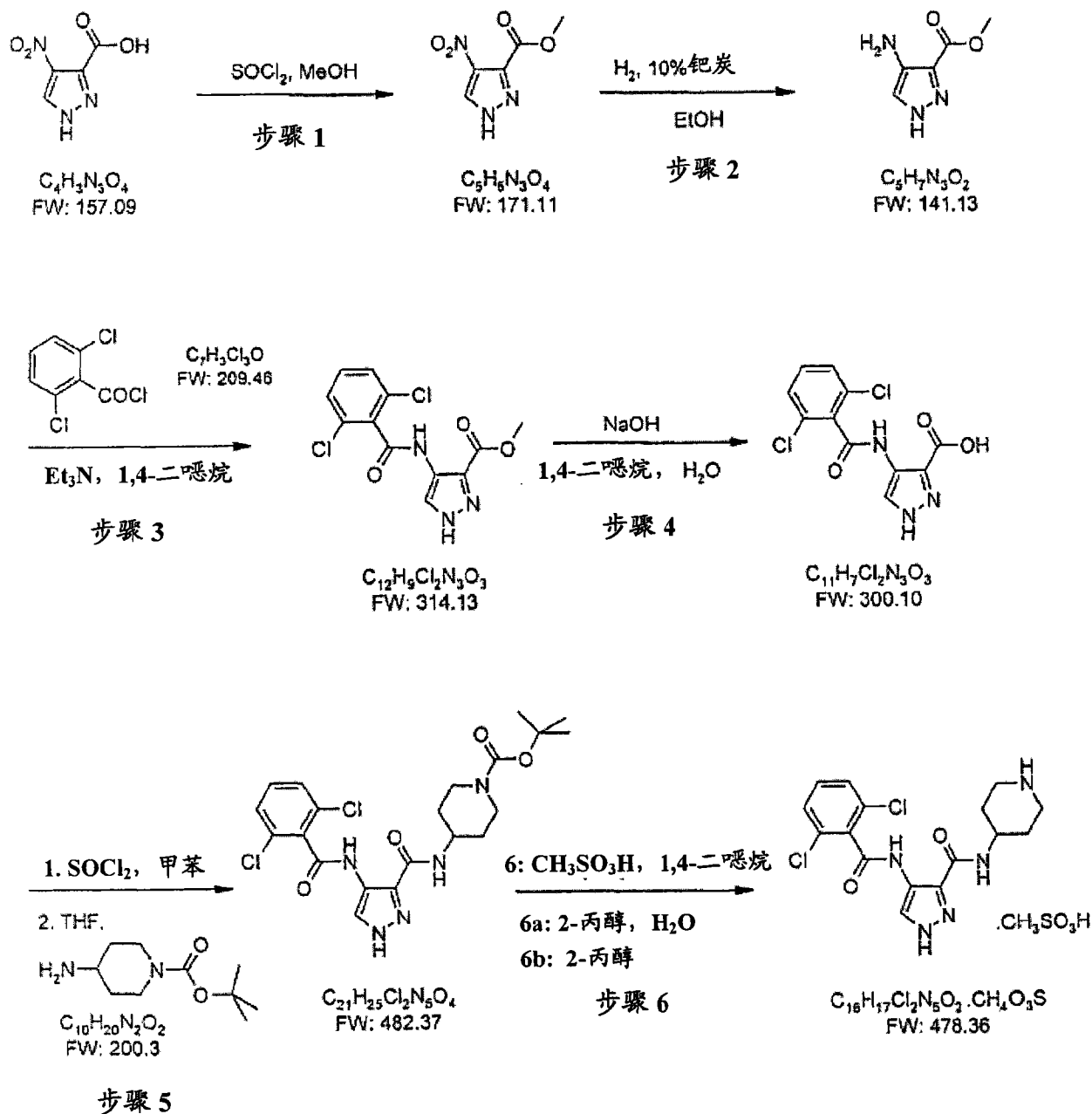
[1660]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ) 10.20 (s, 1H), 8.40 (d, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.60-7.50 (m, 3H), 3.85 (m, 1H), 3.00 (d, 2H), 2.60 (t, 2H), 1.85 (s, 3H), 1.70 (d, 2H), 1.55 (m, 2H)。

[1661] 实施例 247

[1662] 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺甲磺酸盐的合成

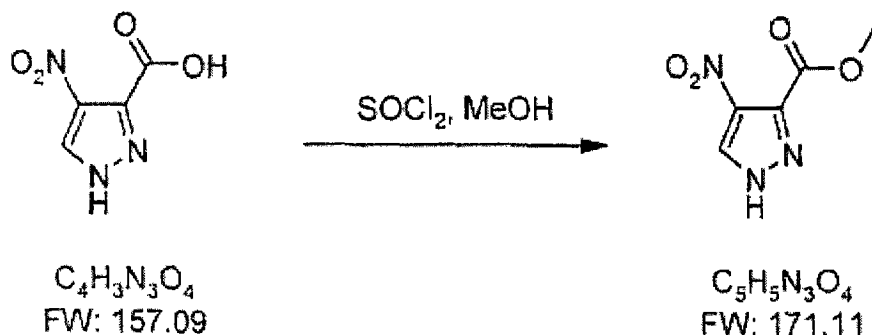
[1663] 可以通过以下流程图中的合成路线制备 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺的甲磺酸盐。

[1664]



[1665] 步骤 1: 4-硝基-1H-吡唑-3-甲酸甲酯的制备

[1666]

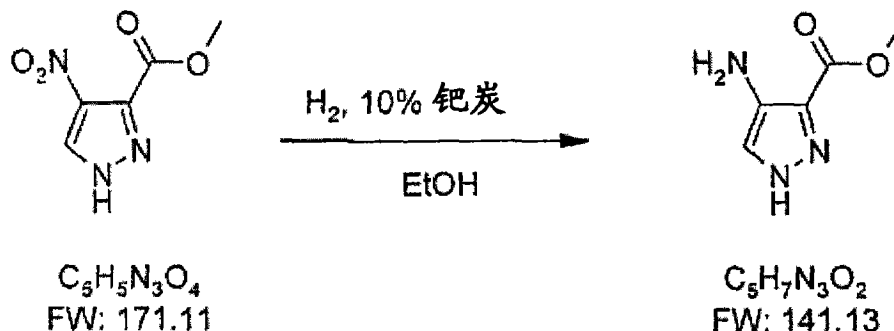


[1667] 将 4-硝基-1H-吡唑-3-甲酸 (1.117kg, 7.11mol, 1wt) 和甲醇 (8.950L, 8 体积) 加入至装有数字温度计和搅拌器的 20L 反应器中。将反应混合物在氮气下搅拌, 冷却至 0 至 5℃, 历经 180 分钟加入亚硫酰氯 (0.581L, 8.0mol, 0.52 体积) 并且将产生的混合物温

至 18 至 22℃ 并且在该温度下搅拌过夜, 搅拌后  $^1\text{H}$  NMR 分析 ( $d_6$ -DMSO) 表明反应完成。将反应混合物在 40 至 50℃ 下减压浓缩, 将残留物用甲苯处理并且在 40 至 50℃ 下减压再浓缩 ( $3 \times 2.250\text{L}$ ,  $3 \times 2$  体积), 得到类白色固体 4-硝基-1H-吡唑-3-甲酸甲酯 (1.210kg, 99.5%)。

[1668] 步骤 2: 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸甲酯的制备

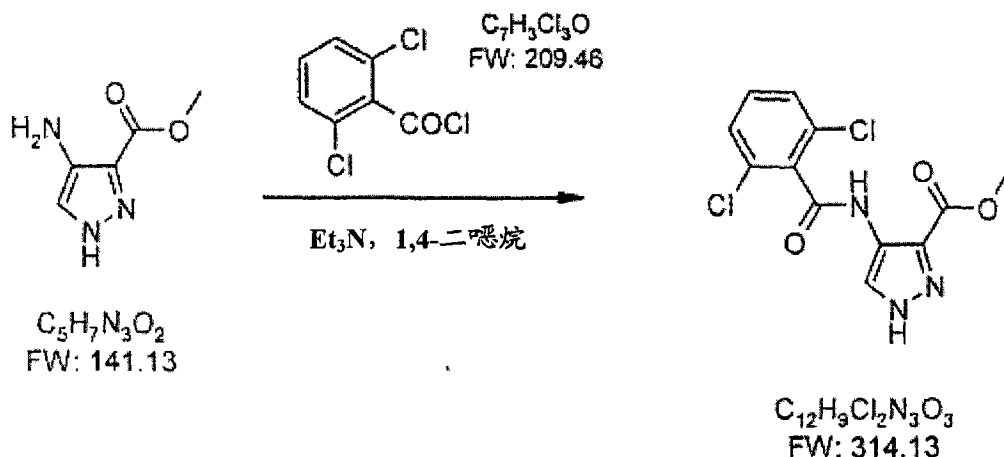
[1669]



[1670] 在氮气下, 将钯炭 (10% 湿糊, 0.170kg, 0.14wt) 加入至装有数字温度计和搅拌器的 20L 反应器中。将 4-硝基-1H-吡唑-3-甲酸甲酯 (1.210kg, 7.07mol, 1wt) 的乙醇 (12.10L, 10 体积) 浆液在另外的容器中温至 30 至 35℃ 以影响溶解度并且在氮气下将溶液加入至催化剂中。氮气-氢气吹扫顺序后引入氢气气氛并且将反应混合物保持在 28 至 30℃ 直至  $^1\text{H}$  NMR 分析 ( $d_6$ -DMSO) 表明反应完成 (5 至 10 小时)。吹扫循环后, 将反应混合物在氮气下过滤并且将溶液减压浓缩, 得到 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸甲酯 (0.987kg, 98.9%)。

[1671] 步骤 3: 4-(2,6-二氯苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸甲酯的制备

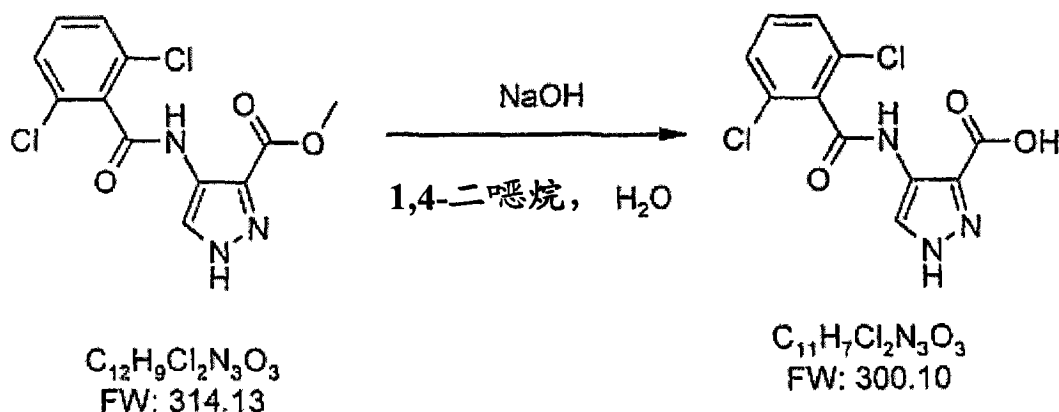
[1672]



[1673] 在氮气下, 将 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸甲酯 (0.634kg, 4.49mol, 1wt) 的 1,4-二噁烷 (8.90L, 9 体积) 溶液用三乙胺 (0.761L, 5.46mol, 1.2 体积) 处理, 然后用 2,6-二氯苯甲酰基氯化物 (0.710L, 4.96mol, 0.72 体积) 处理, 保持内部温度在 20 至 25℃。用一系列的 1,4-二噁烷 (0.990L, 1 体积) 将残留的 2,6-二氯苯甲酰基氯化物洗涤并且将反应混合物在 18 至 25℃ 下搅拌直至通过 TLC 分析 (洗脱: 乙酸乙酯: 庚烷 3:1;  $R_f$  胺 0.25,  $R_f$  产物 0.65) 反应完全 (16 小时)。将反应混合物过滤, 将滤饼用 1,4-二噁烷溶液 ( $2 \times 0.990\text{L}$ ,  $2 \times 1$  体积) 洗涤并且合并的滤液 (红色) 无需进一步分离用于步骤 4。

[1674] 步骤 4: 4-(2,6-二氯苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸的制备

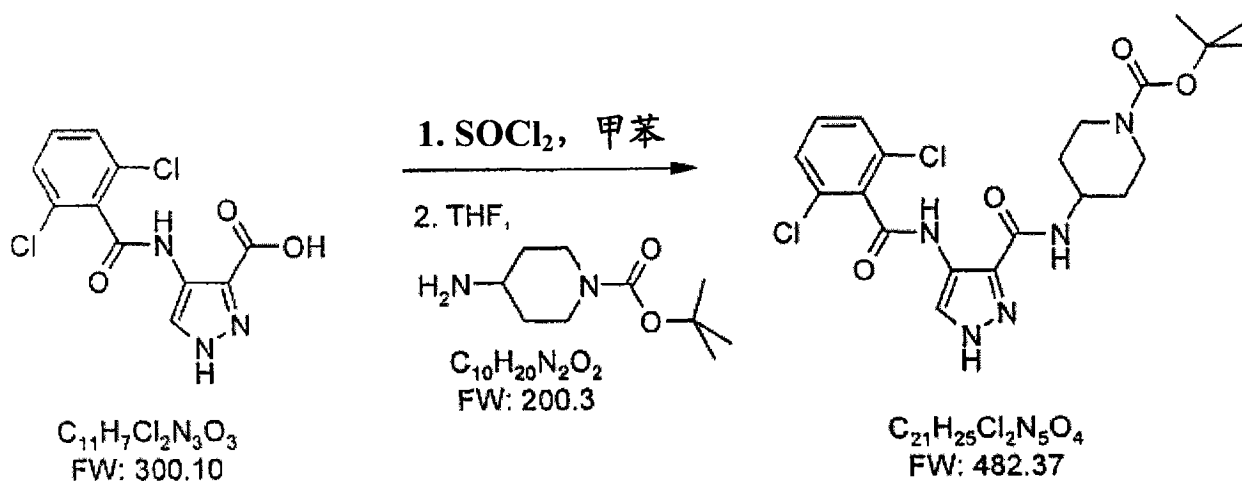
[1675]



[1676] 将一部分步骤3中的酯(1.099kg, 3.50mol 在6.00L中)加入至氢氧化钠(0.484kg, 12.1mol)的水(6.05L)溶液中。在20至25℃下搅拌反应混合物直至通过TLC分析(洗脱:乙酸乙酯:庚烷3:1;  $R_{\text{F}}$ 酯0.65,  $R_{\text{F}}$ 步骤4基线)反应完全。将反应混合物在45至50℃下减压浓缩,将油状残留物用水(9.90L)稀释并且用浓盐酸酸化至pH1,保持温度低于30℃。过滤收集产生的沉淀,用水(5.00L)洗涤,在过滤器上干燥并且随后用庚烷(5.00L)洗涤。将滤饼放置于20L旋转蒸发瓶中并且通过与甲苯(2×4.50L)共沸使其完全干燥,得到黄色固体4-(2,6-二氯苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸(1.044kg, 约99.5%)。

[1677] 步骤5:4-[[4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-羰基]氨基]哌啶-1-甲酸叔丁酯的制备

[1678]



[1679] 将步骤4的产物(1.0wt)和甲苯(10.0体积)加入至装有机械搅拌器、滴液漏斗和温度计的适合大小的法兰烧瓶中。在氮气和16至25℃下搅拌内容物并且缓慢加入亚硫酸氯(0.3体积)。然后,将内容物加热至80至100℃并且在该温度下搅拌直至通过<sup>1</sup>H NMR判断反应完全。如果内容物太稠而难以搅拌可以在该步骤中进一步加入甲苯(至多10体积)。一旦完全,将混合物冷却至40至50℃,然后在45至50℃下真空浓缩干燥。然后将残留物与甲苯(3×2.0体积)共沸干燥。

[1680] 将分离的固体转移至适合大小的烧瓶中并且加入四氢呋喃(5.0体积)。在氮气和16至25℃下搅拌内容物并且加入三乙胺(0.512体积)。将4-氨基-哌啶-1-甲酸叔丁酯(0.704wt)和四氢呋喃(5.0体积)加入至另外的烧瓶中。搅拌内容物直至完全溶解,然后

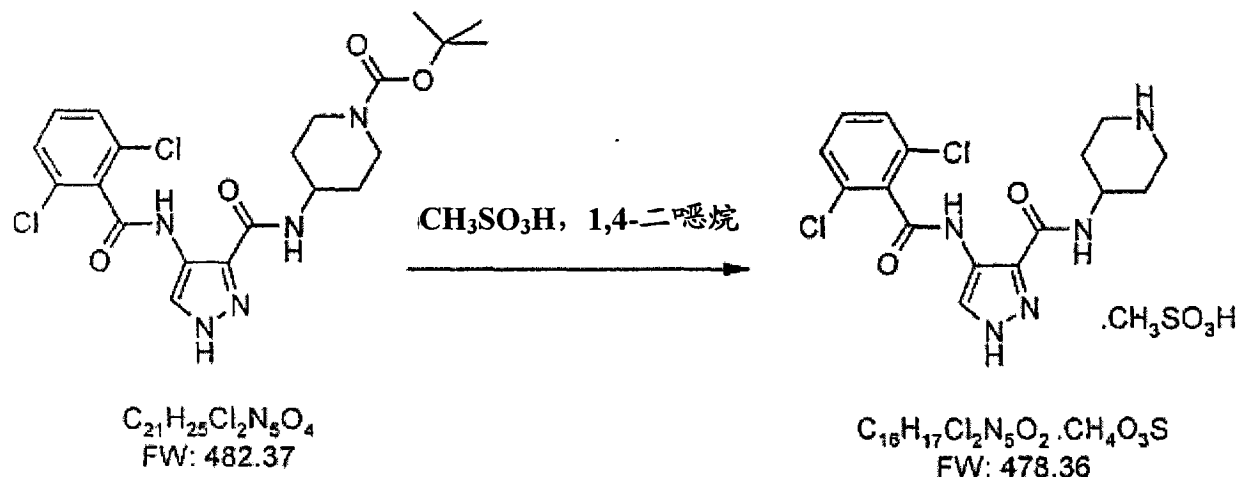
将溶液加入至反应烧瓶中,保持温度为 16 至 30℃。然后将反应混合物加热至 45 到 50℃ 并且搅拌内容物直至通过  $^1\text{H}$ NMR 判断反应完全。然后将内容物冷却至 16 至 25℃ 并且加入水 (5.0 体积)。加入混合的庚烷 (0.5 体积),将内容物搅拌至多 10 分钟并且分层。然后将水相用四氢呋喃:混合庚烷 [(9 : 1),  $3 \times 5.0$  体积] 萃取。将有机相合并,用水 (2.5 体积) 洗涤,然后在 40 至 45℃ 下真空浓缩。将残留物与甲苯 ( $3 \times 5.0$  体积) 共沸并且浓缩干燥,得到粗的步骤 5 产物。

[1681] 将固体转移至适合大小的烧瓶中,加入甲醇:甲苯 [(2.5 : 97.5), 5.0 体积] 并且将浆液在氮气下搅拌 3 至 18 小时。过滤内容物,将滤饼用甲苯 ( $2 \times 0.7$  体积) 洗涤,然后将固体在 40 至 50℃ 下真空干燥,得到类白色固体 4-[[4-(2,6-二氯苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-羰基]氨基]哌啶-1-甲酸叔丁酯。

[1682] 通过该方法将两批步骤 4 产物 (每批 0.831kg) 处理,得到 2.366kg (88.6% 产率) 的 4-[[4-(2,6-二氯苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-羰基]氨基]哌啶-1-甲酸叔丁酯。

[1683] 步骤 6: 4-(2,6-二氯苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺甲磺酸盐的制备

[1684]



[1685] 将步骤 5 的产物 (1.0wt) 和 1,4-二噁烷 (30.0 体积) 加入至装有机械搅拌器、滴液漏斗和温度计的适合大小的法兰烧瓶中。在氮气下搅拌内容物并且加热至 80 至 90℃。历经 30 至 60 分钟加入甲磺酸 (0.54 体积),然后将内容物加热至 95 至 105℃ 并且在该温度范围内搅拌直至通过  $^1\text{H}$  NMR 判断反应完全。一旦完全,将内容物冷却至 20 至 30℃ 并且过滤收集产生的沉淀。将滤饼用 2-丙醇 ( $2 \times 2.0$  体积) 洗涤并且在过滤器上干燥 3 至 24 小时,得到粗的自由流动类白色固体 4-(2,6-二氯苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺甲磺酸盐 (80.0 至 120.0% w/w, 没有校正杂质和溶剂)。

[1686] 通过该方法将数批步骤 5 产物处理并且在下表 1 中详细列出了每批原料和产物的量。

[1687] 表 1- 从脱保护步骤 - 步骤 6 得到的产率

[1688]

| 批次 | (4-[[4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-羰基]氨基}哌啶-1-甲酸叔丁酯)的投入量(g) | [4-(2,6-二氯苯甲酰基-氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺甲磺酸盐]的产出量(g) | 化学纯度<br>(HPLC%面积) |
|----|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------|
| 1  | 590.0                                                   | 579.6<br>99.1% th, 98.2% w/w                      | 97.88             |
| 2  | 521.0                                                   | 532.7<br>103.1% th, 102.2% w/w                    | 98.09             |
| 3  | 523.8                                                   | 511.7<br>98.5% th, 97.7% w/w                      | 98.17             |
| 4  | 518.4                                                   | 596.3<br>116.0% th, 115.0% w/w                    | 98.24             |
| 5  | 563.2                                                   | 600.1<br>107.4% th, 106.6% w/w                    | 98.16             |
| 6  | 563.1                                                   | 565.2<br>101.2% th, 100.4% w/w                    | 98.49             |
| 7  | 560.4                                                   | 553.9<br>99.7% th, 98.8% w/w                      | 98.70             |
| 8  | 569.7                                                   | 560.6<br>99.2% th, 98.4% w/w                      | 98.41             |

[1689] 步骤 6a: 4-(2,6-二氯苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺甲磺酸盐的重结晶

[1690] 将步骤 6 中的产物重结晶以保证 Boc 保护的步骤 5 的产物的任何残留物的水平不高于 0.25%。用以下方法将四批步骤 6 的产物重结晶。

[1691] 将粗步骤 6 的产物和 2-丙醇 (10.0 体积) 加入至装有机械搅拌器、滴液漏斗和温度计的适合大小的烧瓶中。在氮气下搅拌内容物并且加热至 75 至 85°C。在内容物中加入水 (至多 2.5 体积) 直至获得澄清溶液。然后将内容物冷却至 40 至 60°C 并且在 40 至 50°C 下真空浓缩直至反应体积减少至约 50%。将 2-丙醇 (3.0 体积) 加入至烧瓶中并且将内容物在 40 至 50°C 下浓缩直至除去约 3.0 体积的溶剂。然后, 将该过程用 2-丙醇 (2×3.0 体积) 重复两次并且检查水内容物。然后将产生的浆液冷却至 0 至 5°C 并且在该温度下搅拌 1 至 2 小时。将内容物过滤, 将滤饼用 2-丙醇 (2×1.0 体积) 洗涤并且在过滤器上干燥 24 小时。将固体转移至干燥盘中并且在 45 至 50°C 下真空干燥至恒重, 得到类白色固体 4-(2,6-二氯苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺甲磺酸盐 (60.0 至 100.0% w/w)。

[1692] 四批的重结晶产率的范围为 85.6% 至 90.4% 并且重结晶产物的纯度范围为 99.29% 至 99.39%。第二次重结晶进一步提高了纯度。

[1693] 通过该路线制备的 4-(2,6-二氯苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺甲磺酸盐的熔点 (通过 DSC) 为 379.8°C。

[1694] 除去步骤 5 的残留 Boc 保护的产物

[1695] 在某些情况中, 将甲磺酸盐溶于乙酸盐缓冲液中, 观察到了包含残留的痕量 Boc 保护的游离碱的细沉淀。可以应用数种技术除去或防止沉淀的形成, 例如下面列出的技术。

[1696] (a) 过滤

[1697] 将甲磺酸盐在 200mM 乙酸盐缓冲液中的混合物用无菌针头从小瓶中转移至 20mL 一次性注射器中, 然后将临床级的 0.2 μm 过滤器 (Sartorius Minisart 无菌一次性过滤单位) 连接到注射器上。缓慢下压注射器的活塞并且用干净、澄清的玻璃小瓶收集滤液。小瓶中的内容物是没有特别物质的甲磺酸盐的澄清、无色溶液。

[1698] (b) 在含水酸中加热

[1699] 将甲磺酸盐和甲磺酸 (0.4 当量) 在水 (10 体积) 中的混合物在 100°C 下加热 4 小时, 然后冷却至 60°C。TLC 分析表明甲磺酸盐是以单组分存在的。加入 2-丙醇 (10 体积) 并且将混合物冷却至 40°C。将混合物真空浓缩至约 10 体积, 然后加入另一部分 2-丙醇 (10 体积) 并且再次将混合物浓缩至 10 体积。将此循环再重复 3 次。将混合物在冰浴中冷却并且过滤收集形成的固体, 用 2-丙醇 (5 体积) 洗涤并且真空干燥, 得到白色至类白色固体甲磺酸盐。

[1700] (c) 有机-水萃取

[1701] 将甲磺酸盐和甲磺酸 (0.4 当量) 在水 (10 体积) 中的混合物在 100°C 下加热 3 小时, 然后冷却到环境温度。将 THF-庚烷 (9 : 1, 10 体积) 加入至混合物中并且剧烈搅拌产生的混合物以得到溶液。分层并且将水相用 THF-庚烷 (9 : 1, 2×10 体积) 洗涤, 然后用乙酸乙酯 (2×10 体积) 洗涤。将 2-丙醇 (10 体积) 加入至水相中并且将溶液真空浓缩至约 5 体积, 然后加入另一部分 2-丙醇 (10 体积) 并且将混合物再次浓缩至 5 体积。将此循环再重复 3 次。将形成的固体过滤收集, 用 2-丙醇 (5 体积) 洗涤并且真空干燥, 得到白色至类白色固体甲磺酸盐。

[1702] (d) 色谱法

[1703] 色谱法的应用可以提供从甲磺酸盐中除去非极性杂质的方法。表明应用反相方法将会特别有用。

[1704] 生物学活性

[1705] 通过以下列出的实施例说明本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组作为 CDK 激酶、GSK-3 激酶抑制剂和作为细胞生长抑制剂的生物学活性。

[1706] 实施例 248

[1707] CDK2 激酶抑制活性的测定 (IC<sub>50</sub>)

[1708] 应用下面的方法或在实施例 250 中描述的活化的 CDK2/ 细胞周期蛋白 A 激酶的方法测定本发明化合物的激酶抑制活性。

[1709] 用试验缓冲液 (250 μL 的 10× 浓试验缓冲液 (200mM MOPS pH7.2、250mM β-甘油磷酸、50mM EDTA、150mM MgCl<sub>2</sub>)、11.27 μL 10mM ATP、2.5 μL 1M DTT、25 μL 100mM 原钒酸钠、708.53 μL H<sub>2</sub>O) 稀释 1.7 μL 活性 CDK2/ 细胞周期蛋白 (Upstate Biotechnology, 10U/μL), 并且将 10 μL 与 10 μL 组蛋白底物混合物 (60 μL 牛组蛋白 H1 (Upstate Biotechnology, 5mg/mL), 940 μL H<sub>2</sub>O、35 μCi γ-<sup>33</sup>P-ATP) 混合并且将其与 5 μL 多种稀释的在 DMSO (至多 2.5%) 中的试验化合物一起加入至 96 孔板上。使反应进行 5 小时, 然后用正磷酸 (30 μL, 2%) 将其停止。

[1710] 在 Millipore MAPH 过滤板上将没有参入组蛋白 H1 的 γ-<sup>33</sup>P-ATP 从磷酸化的组蛋白中分离出来。将 MAPH 板的孔用 0.5% 正磷酸润湿, 然后将得到的反应物用 Millipore 真空过滤单元过滤通过孔。过滤后, 将残留物用 200 μL 0.5% 正磷酸洗涤两次。一旦过滤器干燥, 加入 25 μL Microscint 20 闪烁液, 然后在 Packard Topcount 上计数 30 秒。

[1711] 计算并且画出 CDK2 活性的 % 抑制以确定抑制 50% 的 CDK2 活性所需的试验化合物的浓度 (IC<sub>50</sub>)。

[1712] 通过以上列出的方法, 发现实施例 2C 至 87、89-92、94、96-101、104-105、165、166、224、225、227、229、231、233、234 和 236 的化合物各自的 IC<sub>50</sub> 值都小于 20 μM 或在浓度为 10 μM 时提供了至少 50% 的 CDK2 活性抑制。实施例 88、93、226、228、230 和 235 的化合物各自的 IC<sub>50</sub> 值都小于 750 μM。

[1713] 实施例 249

[1714] CDK 选择性试验

[1715] 应用实施例 247 中描述的通用方法测定本发明的化合物对抗多种不同激酶的激酶抑制活性, 但是如以下列出的进行了修改。

[1716] 将激酶在 20mM MOPS pH7.0、1mM EDTA、0.1% γ-巯基乙醇、0.01% Brij-35、5% 甘油、1mg/mL BSA 中稀释至 10× 工作储备液。一个单位等于在 30°C 和 ATP 的终浓度为 100 μM 时, 每分钟将 1nmol 磷酸酯参入至 0.1mg/mL 组蛋白 H1 或 CDK7 底物肽中的激酶的量。

[1717] 所有 CDK 试验 (CDK7 除外) 的底物都是组蛋白 H1, 使用前稀释至 10× 工作储备液 (在 20mM MOPS pH7.4 中)。CDK7 的底物是从 Upstate 得到的特别的肽, 稀释至 10× 工作储备液 (在去离子水中)。

[1718] CDK1/ 细胞周期蛋白 B、CDK2/ 细胞周期蛋白 A、CDK2/ 细胞周期蛋白 E、CDK3/ 细胞

### 周期蛋白 E、CDK5/p35、CDK6/ 细胞周期蛋白 D3 的试验方法

[1719] 在 25  $\mu$  L 的终反应体积中,将酶 (5–10mU) 和 8mM MOPS pH7.0、0.2mM EDTA、0.1mg/mL 组蛋白 H1、10mM 乙酸镁和 [  $\gamma$ - $^{33}$ P-ATP ] ( 特异活性约 500cpm/pmol,所需浓度 ) 培养。通过加入  $Mg^{2+}$ [  $\gamma$ - $^{33}$ P-ATP ] 使反应开始。在室温下培养 40 分钟后,通过加入 5  $\mu$  L 的 3% 的磷酸溶液使反应停止。将 10mL 的反应液置于 P30 过滤垫上并且在干燥和计数前在 75mM 磷酸中洗涤 3 次 ( 达 5 分钟 ) 并且在甲醇中洗涤一次。

[1720] 在 CDK3/ 细胞周期蛋白 E 试验中,实施例 150 化合物的  $IC_{50}$  小于 20  $\mu$  M。

[1721] 在 CDK5/p35 试验中,实施例 41 和 150 化合物的  $IC_{50}$  小于 20  $\mu$  M。

[1722] 在 CDK3/ 细胞周期蛋白 D3 试验中,实施例 150 化合物的  $IC_{50}$  小于 20  $\mu$  M。

### [1723] CDK7/ 细胞周期蛋白 H/MAT1 的试验方法

[1724] 在 25  $\mu$  L 的终反应体积中,将酶 (5–10mU) 和 8mM MOPS pH7.0、0.2mM EDTA、500  $\mu$  M 肽、10mM 乙酸镁和 [  $\gamma$ - $^{33}$ P-ATP ] ( 特异活性约 500cpm/pmol,所需浓度 ) 培养。通过加入  $Mg^{2+}$ [  $\gamma$ - $^{33}$ P-ATP ] 使反应开始,在室温下培养 40 分钟后,通过加入 5  $\mu$  L 3% 的磷酸溶液使反应停止。将 10mL 的反应液置于 P30 过滤垫上并且在干燥和计数前在 75mM 磷酸中洗涤 3 次 ( 达 5 分钟 ) 并且在甲醇中洗涤一次。

### [1725] 实施例 250

[1726] A. 活化的 CDK2/ 细胞周期蛋白 A 激酶抑制活性试验 ( $IC_{50}$ ) 方法

[1727] 应用以下方法测定本发明化合物的激酶抑制活性。

[1728] 将活化的 CDK2/ 细胞周期蛋白 A (Brown 等人, Nat. Cell Biol., 1, 438–443 页, 1999; Lowe, E. D 等人, Biochemistry, 41, 15625–15634 页, 2002) 在  $2.5\times$  浓试验缓冲液 (50mM MOPS pH7.2、62.5mM  $\beta$ -甘油磷酸、12.5mM EDTA、37.5mM  $MgCl_2$ 、112.5mM ATP、2.5mM DTT、2.5mM 原钒酸钠、0.25mg/mL 牛血清白蛋白) 中稀释至 125pM, 并且将 10  $\mu$  L 与 10  $\mu$  L 组蛋白底物混合物 (60  $\mu$  L 牛组蛋白 H1 (Upstate Biotechnology, 5mg/mL), 940  $\mu$  L  $H_2O$ 、35  $\mu$  Ci  $\gamma$ - $^{33}$ P-ATP) 混合并且将其和 5  $\mu$  L 多种稀释的在 DMSO (至多 2.5%) 中的试验化合物一起加入至 96 孔板上。使反应进行 2 到 4 小时,然后用过量的正磷酸 (5  $\mu$  L, 2%) 使其停止。

[1729] 在 Millipore MAPH 过滤板上将没有参入至组蛋白 H1 中的  $\gamma$ - $^{33}$ P-ATP 从磷酸化的组蛋白 H1 中分离出来。将 MAPH 的孔用 0.5% 正磷酸润湿,然后将得到的反应物用 Millipore 真空过滤单元过滤通过孔。过滤后,将残留物用 200  $\mu$  L 0.5% 正磷酸洗涤两次。一旦过滤器干燥,加入 20  $\mu$  L Microscint 20 闪烁液,然后在 Packard Topcount 上计数 30 秒。

[1730] 计算并且画出 CDK2 活性的 % 抑制以确定抑制 50% 的 CDK2 活性所需的试验化合物的浓度 ( $IC_{50}$ )。

[1731] 通过以上方法,发现实施例 95、96、99–104、106–121、123–125、130–137、139、142–145、147–150、152–156、158–160、162–164、167–173、177–179、181–182、184–190、194、196–204、208–213 和 215 化合物的  $IC_{50}$  值小于 20  $\mu$  M。实施例 122、126–129、140、141、146、157 和 161 化合物各自的  $IC_{50}$  值小于 750  $\mu$  M 并且大多数  $IC_{50}$  值小于 100  $\mu$  M。

### [1732] B. CDK1/ 细胞周期蛋白 B 试验

[1733] 除了应用 CDK1/ 细胞周期蛋白 B 并且将酶稀释值 6.25nM 外,CDK1/ 细胞周期蛋白 B 试验与以上的 CDK2/ 细胞周期蛋白 A 试验相同。

[1734] 在如以上描述的或通过在实施例 240 中列出的方法进行 CDK1 试验中,发现实施例 2C、41、48、53、64、65、66、73、76、77、91、95、102、106、117、123、125、133、137、142、150、152、154、167、186、187、189、190、193、194、196、199、202-204、207、208-213、215 和 218-223 的化合物的  $IC_{50}$  值小于  $20 \mu M$ , 并且发现实施例 188 和 206 的化合物的  $IC_{50}$  值小于  $100 \mu M$ 。

[1735] 实施例 251

[1736] CDK4 的试验方法

[1737] 通过 ProQinase GmbH, Freiburg, Germany 应用他们所有的 33PanQinase<sup>®</sup> 活性试验对 CDK4 抑制活性进行试验。该试验在 96 孔 FlashPlates<sup>™</sup> (PerkinElmer) 上进行。在各种情况中,反应混合物(终体积  $50 \mu L$ ) 包含  $20 \mu L$  试验缓冲液(最终包含  $60mM$  HEPES-NaOH,  $pH7.5$ 、 $3mM$   $MgCl_2$ 、 $3 \mu M$  原钒酸钠、 $1.2mM$  DTT、 $50 \mu g/mL$  PEG<sub>2000</sub>、 $50 \mu L$  ATP 溶液(终浓度  $1 \mu M$  [ $\gamma$ -<sup>33</sup>P]-ATP(约  $5 \times 10^5 cpm/\text{孔}$ ))、 $5 \mu L$  试验化合物(在  $10\%$  DMSO 中)、 $10 \mu L$  底物/ $10 \mu L$  酶溶液(预混合)。在下表中列出了酶和底物的最终量。

[1738]

| 激酶         | 激酶 ng/ $50 \mu L$ | 底物                                  | 底物 ng/ $50 \mu L$ |
|------------|-------------------|-------------------------------------|-------------------|
| CDK4/CycD1 | 50                | 聚(Ala、Glu、Lys、Tyr)<br>6 : 2 : 5 : 1 | 500               |

[1739] 将反应混合物在  $30^\circ C$  下培养 80 分钟。用  $50 \mu L$   $2\%$   $H_3PO_4$  使反应停止,将板抽吸并且用  $200 \mu L$   $0.9\%$  NaCl 洗涤两次。用微量板闪烁计数器测定参入的 <sup>33</sup>P。计算每个孔的残留活性前从数据中减去背景值。用 Prism 3.03 计算  $IC_{50}$ 。

[1740] 在该试验中,实施例 150 的化合物的  $IC_{50}$  小于  $5 \mu M$ 。

[1741] 实施例 252

[1742] 对抗糖原合酶激酶-3(GSK-3)抑制活性的测定

[1743] 应用以下方法 A 或方法 B 测定本发明化合物作为 GSK-3 抑制剂的活性。

[1744] 方法 A

[1745] 将 GSK3- $\beta$  (Upstate Discovery) 在  $25mM$  MOPS,  $pH7.00$ 、 $25mg/mL$  BSA、 $0.0025\%$  Brij-35<sup>RTM</sup>、 $1.25\%$  甘油、 $0.5mM$  EDTA、 $25mM$   $MgCl_2$ 、 $0.025\%$   $\beta$ -巯基乙醇、 $37.5mM$  ATP 中稀释至  $7.5nM$ , 并且将  $10 \mu L$  与  $10 \mu L$  底物混合物混合。底物混合物是  $12.5 \mu M$  在  $1mL$  水中的磷酸-糖原合酶肽-2(Upstate Discovery), 其中含有  $35 \mu Ci$   $\gamma$ -<sup>33</sup>P-ATP。将酶、底物与  $5 \mu L$  多种稀释的在 DMSO(至多  $2.5\%$ ) 中的试验化合物加入至 96 孔板中。使反应进行 3 小时,然后用过量的正磷酸( $5 \mu L$ ,  $2\%$ )使其停止。过滤方法如以上活化的 CDK2/细胞周期蛋白 A 试验。

[1746] 方法 B:

[1747] 将 GSK3 $\beta$  (人类) 在  $50mM$  Tris,  $pH7.5$ 、 $0.1mM$  EGTA、 $0.1mM$  钒酸钠、 $0.1\%$   $\beta$ -巯基乙醇、 $1mg/mL$  BSA 中稀释至  $10 \times$  工作储备液。一个单位等于每分钟将  $1nmol$  磷酸酯参入至磷酸-糖原合酶肽 2 中的激酶的量。

[1748] 在  $25 \mu L$  的终反应体积中,将 GSK3 $\beta$  ( $5-10u$ ) 与  $8mM$  MOPS  $7.0$ 、 $0.2mM$  EDTA、 $20 \mu M$  YRRAAVPPSPSLSRHSSPHQS(p)EDEE(磷酸 GS2 肽)、 $10mM$  乙酸镁和 [ $\gamma$ -<sup>33</sup>P-ATP](特

异活性约 500cpm/pmol,所需浓度)培养。通过加入  $Mg^{2+}[\gamma-^{33}P-ATP]$  使反应开始,在室温下培养 40 分钟后,通过加入 5  $\mu$ L 3%的磷酸溶液使反应停止。将 10  $\mu$ L 的反应液置于 P30 过滤垫上并且并且在干燥和计数前在 50mM 磷酸中洗涤 3 次(达 5 分钟)并且在甲醇中洗涤一次。

[1749] 从应用上文列出的两种方法进行的 GSK3- $\beta$  试验结果中发现实施例 2C、26、48、53、65、76、77、84、86、95、102、106、119、122、123、126、127、128、129、131、134、135、138、140、141、142、143、144、145、146、147、149、150 和 151 的化合物各自的  $IC_{50}$  值小于 10  $\mu$ M。

[1750] 实施例 253

[1751] 抗增殖活性

[1752] 通过测定化合物在多种细胞系中抑制细胞生长的能力测定本发明组合以及组合中每个组分的抗增殖活性。应用 Alamar Blue 试验 (Nociari, M. M, Shalev, A., Benias, P., Russo, C. Journal of Immunological Methods 1998, 213, 157-167) 测定细胞生长的抑制。该方法基于活细胞可以将刃天青还原为它的荧光产物试卤灵。对于每个增殖试验,将细胞接种于 96 孔板上并且使其恢复 16 小时,然后加入抑制化合物再进行 72 小时。在培养周期结束时,加入 10% (v/v) Alamar Blue 并且再培养 6 小时,然后在 535nm 激发 /590 发射下测定荧光产物。在非增殖性细胞的试验中,将细胞保持汇合 96 小时然后加入抑制化合物再进行 72 小时。如上通过 Alamar Blue 试验确定活细胞的数量。所有的细胞系从 ECACC(European Collection of cell Cultures) 得到。

[1753] HCT-116 细胞系

[1754] 在对抗人类结肠癌细胞系 HCT-116 (ECACC No. 91091005) 的试验中,实施例 10、25-27、41、44、46、48、50、52、53、60、62、64-67、69、73-77、79、80、83A、86、90-93、95-98、100-104、106、107、109-121、123-125、131-134、136-143、147-155、158、159、162-164、166、167、178、179、185-190、192-205、207-215 和 218-223 的化合物的  $IC_{50}$  值小于 20  $\mu$ M 并且实施例 2C、3、29、38、39、49、51、85、89、99、108、135、160、182、183、206 和 216 的化合物的  $IC_{50}$  值小于 100  $\mu$ M。

[1755] 实施例 254

[1756] 化合物 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺(“化合物 I”)与 5FU、吉西他滨、紫杉醇和易瑞沙(化合物 II)组合的作用应用以下技术评价:

[1757]  $IC_{50}$  变化试验

[1758] 将人类结肠癌细胞系 HT29 (ECACC No. 91072201) 细胞以  $5 \times 10^3$  个细胞/孔的浓度接种于 96 孔组织培养板上。将细胞恢复过夜,然后如下加入化合物或载体对照 (0.2% DMSO);

[1759]

| 浓度 | 化合物 I |   |   |   |   |    | 化合物 I |   |   |   |   |    |
|----|-------|---|---|---|---|----|-------|---|---|---|---|----|
|    | a     | b | c | d | e | 对照 | a     | b | c | d | e | 对照 |
| a  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
| b  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
| c  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
| d  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
| e  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
| f  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
| g  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
| 对照 |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |

[1760] 根据以下顺序加入化合物；

[1761] a) 同时 72 小时。

[1762] b) 化合物 I 24 小时, 然后化合物 II 48 小时。

[1763] c) 化合物 II 24 小时, 然后化合物 I 48 小时。

[1764] 将化合物培养共 72 小时后, 加入 Alamar Blue™ 使其终浓度为 10% (v/v) 并且在 37℃ 下培养 6 小时。在 Fusion Reader (Perkin Elmer) 上通过在 d535/25x (激发) 和 d590/20m (发射) 处读数定量荧光产物。在多种剂量的化合物 I 存在下确定化合物 II 的 IC<sub>50</sub>。在亚有效剂量的化合物 I 存在下当 IC<sub>50</sub> 向下变化时确定协同作用。当对化合物 II 和化合物 I 一起的响应引起了与两种化合物单独的总和相等的作用时确定相加作用。拮抗作用定义为引起 IC<sub>50</sub> 向上变化的作用, 即对两种化合物的响应小于两种化合物单独的作用总和。

#### [1765] 1. 吉西他滨

[1766] 化合物 I 和吉西他滨的组合在用 A2780 细胞进行的 IC<sub>50</sub> 变化试验中表现出相加作用。当将化合物同时加入 72 小时或当将吉西他滨加入 24 小时然后将化合物 I 再加入 48 小时观察到此作用。在下面的图 1 和 2 中应用同时加入的 0.3 μM 的化合物 I 存在和不存在下对吉西他滨的 IC<sub>50</sub> 响应曲线的实例总结了获得的数据。

#### [1767] 2. 紫杉醇

[1768] 化合物 I 和紫杉醇的组合在上述顺序的 IC<sub>50</sub> 变化试验中表现出相加作用或协同作用。该研究在 A2780 细胞中进行。当将化合物同时加入 72 小时观察到相加作用并且当将紫杉醇加入 24 小时然后将化合物 I 再加入 48 小时观察到协同作用。在下面的图 3、4、5 和 6 中应用 0.3 μM 的化合物 I 存在或不存在下对紫杉醇的 IC<sub>50</sub> 响应曲线的实例总结了获得的数据。

#### [1769] 3. 5FU

[1770] 化合物 I 和 5FU 的组合在用 A2780 细胞进行的 IC<sub>50</sub> 变化试验中表现出轻度的协同作用。当将化合物同时加入 72 小时观察到此作用。在下面的图 7 和 8 中应用同时加入的 0.15 μM 的化合物 I 存在或不存在下对 5-FU 的 IC<sub>50</sub> 响应曲线的实例总结了获得的数据。

## [1771] 4. 易瑞沙

[1772] 化合物 I 和易瑞沙的组合在用 A2780 细胞进行的  $IC_{50}$  变化试验中表现出协同作用。当将化合物同时加入 72 小时时观察到此作用。在下面应用  $0.2 \mu M$  的化合物 I 存在或不存在下对易瑞沙的  $IC_{50}$  响应曲线的实例总结了得到的数据。在 HCT116 和 SkBR3 细胞系中证实了这些数据。

## [1773] 实施例 255

[1774] 化合物 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺(“化合物 I”)与喜树碱组合的作用应用以下技术评价：

[1775] 1.  $IC_{50}$  变化试验

[1776] 将人类结肠癌细胞系 HT29 (ECACC No. 91072201) 细胞以  $5 \times 10^3$  个细胞 / 孔的浓度接种于 96 孔组织培养板上。将细胞恢复过夜, 然后如下加入化合物或载体对照 (0.2% DMSO) ;

|            | 浓度 | 化合物 I |   |   |   |   | 对照 | 化合物 I |   |   |   |   | 对照 |
|------------|----|-------|---|---|---|---|----|-------|---|---|---|---|----|
|            |    | a     | b | c | d | e |    | a     | b | c | d | e |    |
| [1777] 喜树碱 | a  | +     |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   | →  |
|            | b  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
|            | c  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
|            | d  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
|            | e  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
|            | f  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
|            | g  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
|            | 对照 | ↓     |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |

[1778] 根据以下顺序加入化合物；

[1779] a) 同时 72 小时。

[1780] b) 化合物 I 24 小时, 然后喜树碱 48 小时。

[1781] c) 喜树碱 24 小时, 然后化合物 I 48 小时。

[1782] 将化合物培养共 72 小时后, 加入 Alamar Blue™ 使其终浓度为 10% (v/v) 并且在 37°C 下培养 6 小时。在 Fusion Reader (Perkin Elmer) 上通过在 d535/25x (激发) 和 d590/20m (发射) 处读数定量荧光产物。在多种剂量的化合物 I 存在下确定喜树碱的  $IC_{50}$ 。在亚有效剂量的化合物 I 存在下当  $IC_{50}$  向下变化时确定协同作用。当对喜树碱和化合物 I 一起的响应引起了与两种化合物单独的总和相等的作用时确定相加作用。拮抗作用定义为引起  $IC_{50}$  向上变化的作用, 即对两种化合物的响应小于两种化合物单独的作用总和。

[1783] 化合物 I 和喜树碱的组合在用 HT29 细胞进行的  $IC_{50}$  变化试验中表现出相加作用。当将化合物同时加入 72 小时时或当将喜树碱加入 24 小时然后将化合物 I 再加入 48 小时时观察到此作用。当化合物 I 先于喜树碱加入时观察到类似的相加作用。在下面的图 11 和 12 中应用顺序 (b) (加入化合物 I 后加入喜树碱) 的  $0.1 \mu M$  的化合物 I 存在或不存在

下对喜树碱的  $IC_{50}$  响应曲线的实例总结了获得的数据。

[1784] 实施例 256

[1785] 化合物 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺 (“化合物 I”) 与长春碱组合的作用应有以下技术评价：

[1786] 1.  $IC_{50}$  变化试验

[1787] 将人类结肠癌细胞系 HT29 (ECACC No. 91072201) 细胞以  $5 \times 10^3$  个细胞 / 孔的浓度接种于 96 孔组织培养板上。将细胞恢复过夜, 然后如下加入化合物或载体对照 (0.2% DMSO) ;

|            | 浓度 | 化合物 I |   |   |   |   | 对照 | 化合物 I |   |   |   |   | 对照 |
|------------|----|-------|---|---|---|---|----|-------|---|---|---|---|----|
|            |    | a     | b | c | d | e |    | a     | b | c | d | e |    |
| [1788] 长春碱 | a  | ↓     |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   | →  |
|            | b  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
|            | c  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
|            | d  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
|            | e  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
|            | f  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
|            | g  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
|            | 对照 | ↓     |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |

[1789] 根据以下顺序加入化合物；

[1790] d) 同时 72 小时。

[1791] e) 化合物 I 24 小时, 然后长春碱 48 小时。

[1792] f) 长春碱 24 小时, 然后化合物 I 48 小时。

[1793] 将化合物培养共 72 小时后, 加入 Alamar Blue™ 使其终浓度为 10% (v/v) 并且在 37°C 下培养 6 小时。在 Fusion Reader (Perkin Elmer) 上通过在 d535/25x (激发) 和 d590/20m (发射) 处读数定量荧光产物。在多种剂量的化合物 I 存在下确定长春碱的  $IC_{50}$ 。在亚有效剂量的化合物 I 存在下当  $IC_{50}$  向下变化时确定协同作用。当对长春碱和化合物 I 一起的响应引起了与两种化合物单独的总和相等的作用时确定相加作用。拮抗作用定义为引起  $IC_{50}$  向上变化的作用, 即对两种化合物的响应小于两种化合物单独的作用总和。

[1794] 化合物 I 和长春碱的组合在用 A2780 细胞进行的  $IC_{50}$  变化试验中表现出相加作用。当将化合物同时加入 72 小时或当将长春碱加入 24 小时然后将化合物 I 再加入 48 小时观察到此作用。在下面的图 13 和 14 中应用同时加入的  $0.3 \mu M$  的化合物 I 存在或不存在下对长春碱的  $IC_{50}$  响应曲线的实例总结了获得的数据。

[1795] 实施例 257

[1796] 化合物 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺 (“化合物 I”) 与顺铂组合的作用应有以下技术评价：

[1797] 1.  $IC_{50}$  变化试验

[1798] 将人类结肠癌细胞系 HT29 (ECACC No. 91072201) 细胞以  $5 \times 10^3$  个细胞 / 孔的浓度接种于 96 孔组织培养板上。将细胞恢复过夜, 然后如下加入化合物或载体对照 (0.2% DMSO) ;

|           |    |       |   |   |   |   |       |   |   |   |   |   |    |
|-----------|----|-------|---|---|---|---|-------|---|---|---|---|---|----|
| [1799] 顺铂 |    | 化合物 I |   |   |   |   | 化合物 I |   |   |   |   |   |    |
|           | 浓度 | a     | b | c | d | e | 对照    | a | b | c | d | e | 对照 |
|           | a  | →     |   |   |   |   |       |   |   |   |   |   |    |
|           | b  |       |   |   |   |   |       |   |   |   |   |   |    |
|           | c  |       |   |   |   |   |       |   |   |   |   |   |    |
|           | d  |       |   |   |   |   |       |   |   |   |   |   |    |
|           | e  |       |   |   |   |   |       |   |   |   |   |   |    |
|           | f  |       |   |   |   |   |       |   |   |   |   |   |    |
|           | g  |       |   |   |   |   |       |   |   |   |   |   |    |
|           | 对照 | ↓     |   |   |   |   |       |   |   |   |   |   |    |

[1800] 根据以下顺序加入化合物 ;

[1801] g) 同时 72 小时。

[1802] h) 化合物 I 24 小时, 然后顺铂 48 小时。

[1803] i) 顺铂 24 小时, 然后化合物 I 48 小时。

[1804] 将化合物培养共 72 小时后, 加入 Alamar Blue™ 使其终浓度为 10% (v/v) 并且在 37°C 下培养 6 小时。在 Fusion Reader (Perkin Elmer) 上通过在 d535/25x (激发) 和 d590/20m (发射) 处读数定量荧光产物。在多种剂量的化合物 I 存在下确定顺铂的  $IC_{50}$ 。在亚有效剂量的化合物 I 存在下当  $IC_{50}$  向下变化时确定协同作用。当对顺铂和化合物 I 一起的响应引起了与两种化合物单独的总和相等的作用时确定相加作用。拮抗作用定义为引起  $IC_{50}$  向上变化的作用, 即对两种化合物的响应小于两种化合物单独的作用总和。

[1805] 化合物 I 和顺铂的组合在用 A2780 细胞进行的  $IC_{50}$  变化试验中表现出相加作用。当将化合物同时加入 72 小时或当将顺铂加入 24 小时然后将化合物 I 再加入 48 小时时观察到此作用。在下面的图 15 和 16 中应用同时加入的  $0.3 \mu M$  的化合物 I 存在或不存在下对顺铂的  $IC_{50}$  响应曲线的实例总结了获得的数据。

[1806] 实施例 258

[1807] 化合物 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺 (“化合物 I”) 与依托泊苷组合的作用应有以下技术评价 :

[1808] 1.  $IC_{50}$  变化试验

[1809] 将人类结肠癌细胞系 HT29 (ECACC No. 91072201) 细胞以  $5 \times 10^3$  个细胞 / 孔的浓度接种于 96 孔组织培养板上。将细胞恢复过夜, 然后如下加入化合物或载体对照 (0.2% DMSO) ;

[1810]

| 浓度 | 化合物 I |   |   |   |   |    | 化合物 I |   |   |   |   |    |
|----|-------|---|---|---|---|----|-------|---|---|---|---|----|
|    | a     | b | c | d | e | 对照 | a     | b | c | d | e | 对照 |
| a  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
| b  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
| c  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
| d  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
| e  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
| f  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
| g  |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |
| 对照 |       |   |   |   |   |    |       |   |   |   |   |    |

[1811] 根据以下顺序加入化合物；

[1812] j) 同时 72 小时。

[1813] k) 化合物 I 24 小时, 然后依托泊苷 48 小时。

[1814] l) 依托泊苷 24 小时, 然后化合物 I 48 小时。

[1815] 将化合物培养共 72 小时后, 加入 Alamar Blue™ 使其终浓度为 10% (v/v) 并且在 37°C 下培养 6 小时。在 Fusion Reader (Perkin Elmer) 上通过在 d535/25x (激发) 和 d590/20m (发射) 处读数定量荧光产物。在多种剂量的化合物 I 存在下确定依托泊苷的 IC<sub>50</sub>。在亚有效剂量的化合物 I 存在下当 IC<sub>50</sub> 向下变化时确定协同作用。当对依托泊苷和化合物 I 一起的响应引起了与两种化合物单独的总和相等的作用时确定相加作用。拮抗作用定义为引起 IC<sub>50</sub> 向上变化的作用, 即对两种化合物的响应小于两种化合物单独的作用总和。

[1816] 化合物 I 和依托泊苷的组合在用 A2780 细胞进行的 IC<sub>50</sub> 变化试验中表现出相加作用。当将化合物同时加入 72 小时或当将依托泊苷加入 24 小时然后将化合物 I 再加入 48 小时时观察到此作用。在下面的图 17 和 18 中应用同时加入的 0.075 μM 的化合物 I 存在或不存在下对依托泊苷的 IC<sub>50</sub> 响应曲线的实例总结了获得的数据。

[1817] 药物制剂[1818] 实施例 259[1819] i) 冻干制剂 I

[1820] 将等量配制的本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 的化合物及其亚组放入 50mL 小瓶中并且冻干。在冻干期间, 在 -45°C 下应用一步冷冻方法冷冻组合物。将温度升至 -10°C 退火, 然后降低至 -45°C 冷冻, 随后在 25°C 进行第一步干燥约 3400 分钟, 随后升温至 50°C 进行第二步干燥。第一步干燥和第二步干燥过程中的压力设为 80 毫托。

[1821] ii) 注射剂 II

[1822] 通过将本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组 (例如以盐形式) 以 20mg/mL 溶于水

中来制备通过注射和输注而静脉内注射传递的制剂。然后将小瓶密封并且通过高压灭菌器灭菌。

[1823] iii) 注射剂 III

[1824] 通过将本文定义的式 (0)、(I<sup>0</sup>)、(I)、(Ia)、(Ib)、(II)、(III)、(IV)、(IVa)、(Va)、(Vb)、(VIa)、(VIb)、(VII) 或 (VIII) 化合物及其亚组 (例如以盐形式) 以 20mg/mL 溶于包含缓冲液 (例如 0.2M 乙酸盐 pH4.6) 的水中来制备通过注射和输注而静脉内注射传递的制剂。然后将小瓶密封并且通过高压灭菌器灭菌。

[1825] iv) 注射剂 IV

[1826] 通过将式 (I) 化合物 (例如以盐形式) 溶于包含 10% 丙二醇的水中使活性化合物的浓度为 1.5% (重量) 制备通过注射施用的非肠道组合物。然后将溶液通过过滤灭菌, 装入安瓿中并且密封。

[1827] v) 注射剂 V

[1828] 通过将式 (I) 化合物 (例如以盐形式) (2mg/mL) 和甘露醇 (50mg/mL) 溶于水中, 无菌过滤溶液并且装入密封的 1mL 小瓶或安瓿中制备用于注射的非肠道组合物。

[1829] (vi) 皮下注射剂 VI

[1830] 通过将式 (I) 化合物与药用级玉米油混合使其浓度为 5mg/mL 制备皮下施用的组合物。将组合物灭菌并且装入适合的容器中。

[1831] (vii) 片剂

[1832] 通过将 50mg 化合物或其盐与 197mg 稀释剂乳糖 (BP) 和 3mg 润滑剂硬脂酸镁混合并且用已知的方法压制成片剂而制备包含本文定义的式 (I<sup>0</sup>) 或 (I) 化合物或其酸加成盐的片剂组合物。

[1833] (viii) 胶囊剂

[1834] 通过将 100mg 本文定义的式 (I<sup>0</sup>) 或 (I) 化合物或其酸加成盐与 100mg 乳糖混合并且将产生的混合物装入标准的不透明的硬明胶囊中制备胶囊剂。

[1835] (ix) 冻干剂

[1836] 将等量配制的本文定义的式 (I<sup>0</sup>) 或 (0) 化合物或其酸加成盐置于 50mL 小瓶中并且冻干。在冻干期间, 在 -45°C 下应用一步冷冻方法冷冻组合物。将温度升至 -10°C 退火, 然后降低至 -45°C 冷冻, 随后在 25°C 进行第一步干燥约 3400 分钟, 随后升温至 50°C 进行第二步干燥。第一步干燥和第二步干燥过程中的压力设为 80 毫托。

[1837] (x) 用于静脉内施用的浓缩物

[1838] 通过将 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺甲磺酸盐以 20mg/mL 的浓度溶于 pH 为 4.6 的 0.2M 乙酸钠 / 乙酸缓冲液中而制备缓冲水溶液。

[1839] 过滤除去颗粒后, 将缓冲溶液装入容器 (例如 1 类的玻璃小瓶) 中, 然后将其密封 (例如通过 Florotec stopper 方法) 并且保证安全 (例如用铝带)。如果化合物和制剂足够稳定, 那么通过在 121°C 下高压灭菌适合的一段时间将制剂灭菌。如果制剂对高压灭菌不稳定, 可以用适合的过滤器灭菌并且在无菌条件下装入无菌小瓶中。用于静脉内施用, 溶液可以以其本身施用或可以在施用前将其注射至输注袋 (包含可药用赋形剂, 例如 0.9% 生理盐水或 5% 葡萄糖) 中。

[1840] (xi) 喜树碱化合物的注射剂

[1841] 可以通过将 100mg 喜树碱化合物（例如 EP 0321122 并且特别是其中的实施例中描述的化合物）的水溶性盐溶于 10mL 无菌 0.9% 生理盐水中，然后将溶液灭菌并且将溶液装入适合的容器中而制备通过注射施用并且包含喜树碱化合物的非肠道药物制剂。

[1842] 实施例 256

[1843] 通过 X-射线衍射确定 4-(2,6-二氯苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺甲磺酸盐的晶体结构

[1844] 如实施例 1 中的描述制备 4-(2,6-二氯苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺甲磺酸盐。用于衍射实验的晶体是通过 2-丙醇从水溶液中沉淀出来而获得的尺寸为  $0.05 \times 0.08 \times 0.14 \text{ mm}^3$  的无色片状物。应用  $\text{CuK}\alpha$  放射 ( $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$ )，从 Rigaku 旋转阳极 RU3HR、钨蓝共焦光学镜 (Osmic blueconfocal optics) 和 Rigaku Jupiter CCD 检测器在 93K 下收集结晶学数据。在  $2\theta = 15$  和  $90^\circ$  并且检测器至晶体距离 67mm 的两  $\omega$  扫描中采集图像。通过 CrystalClear 软件控制数据采集并且通过 Dtrek 处理并且按比例绘制图像。由于吸收系数高 ( $\mu = 4.01 \text{ mm}^{-1}$ ) 必须用 4 级傅立叶吸收校正校正数据。发现晶体属于斜方晶系空间群  $\text{Pbca}(\#61)$ ，在 93K 的晶格参数为  $a = 8.90(10)$ 、 $b = 12.44(10)$ 、 $c = 38.49(4) \text{ \AA}$ ， $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ 。括号内的数表示偏差 (s. u.，标准不确定度)。

[1845] 上文描述的晶体和晶体结构形成本发明的另一方面。

[1846] 应用在 SHELXS-97 中实现的直接方法解析晶体结构。在通过 SHELXL-97 精修 271 个结晶学参数时使用了总计 2710 个单一反射的强度数据，分辨率范围为  $20-0.9 \text{ \AA}$  ( $2.3 < \theta < 58.87$ )。最终的统计参数是： $wR2 = 0.2115$  (所有数据)， $R1 = 0.0869$  ( $I > 2\sigma(I)$  的数据) 和拟合优度  $S = 1.264$ 。

[1847] 在不对称单元中发现了一分子质子化的游离碱和一分子甲磺酸根阴离子。不对称单元的元素组成是  $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  并且计算的晶体密度是  $1.49 \text{ mg/m}^3$ 。在几何学基础上产生氢原子，但与氢原子连接的杂原子的位置通过检查  $\text{Fo}-\text{Fc}$  差值图来确定。氢原子的位置和热参数仅根据相应的非氢原子而定。借助各向异性的热学因素建立非氢原子的热运动模型 (参见图 19)。

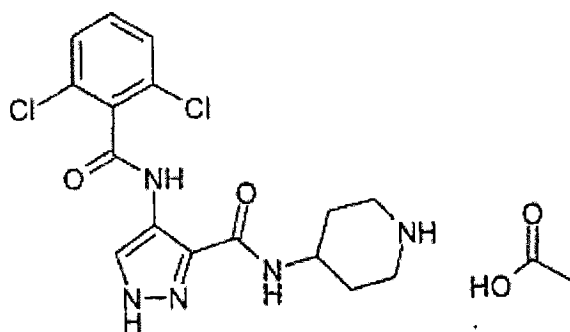
[1848] 晶体结构包括一个分子内 ( $\text{N15H} \dots \text{O7} \ 2.690 \text{ \AA}$ ) 和五个分子间氢键 (参见堆积图图 20)。它们中的三个将质子化的哌啶氮与两个甲磺酸根阴离子相连。第一个甲磺酸根阴离子是通过单个 H-键  $\text{N12H12A} \dots \text{O2M} \ 2.771 \text{ \AA}$  相连的，而第二个涉及具有  $\text{N12H12B} \dots \text{O1M} \ 2.864 \text{ \AA}$  和  $\text{N12H12B} \dots \text{O2M} \ 3.057 \text{ \AA}$  相互作用的分叉 H-键。剩余的甲磺酸氧  $\text{O3M}$  涉及氢键  $\text{N8H8} \dots \text{O3M} \ 2.928 \text{ \AA}$ 。临近的质子化的游离碱分子是通过 H-键  $\text{N15H15} \dots \text{O7} \ 2.876 \text{ \AA}$  以及通过相对长的接触  $\text{N15H15} \dots \text{N2} \ 3.562 \text{ \AA}$  和苯基和吡唑环的堆积连接到一起的。这些相互作用沿着 b 轴无限传播。晶体堆积包含夹在带电 H-键与两层质子化游离碱阳离子的广泛网络之间的甲磺酸根阴离子的 2D 层 (在 ab 平面中)。紧密的 2D 夹心层沿 c 轴通过苯基环的堆积和参与具有  $\text{C12} \dots \text{C18} \ 3.341 \text{ \AA}$  的氯...苯基相互作用连接在一起。

[1849] 图 20 中提供了 X-射线衍射研究产生的结构的代表图。

[1850] 在表 2 中列出了组成 4-(2,6-二氯苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺甲磺酸盐结构的原子的坐标。

[1851] 表 2  
[1852] space group :Pbca  
[1853] unit cell at 93K with a,b s c having 5% s.u. :  
[1854] a = 8.9  
[1855] b = 12.4  
[1856] c = 38.5  
[1857] alpha = beta = gamma = 90  
[1858] Coordinates in cif format :  
[1859] loop\_  
[1860] \_atom\_site\_label  
[1861] \_atom\_site\_type\_symbol  
[1862] \_atom\_site\_fract\_x  
[1863] \_atom\_site\_fract\_y  
[1864] \_atom\_site\_fract\_z  
[1865] \_atom\_site\_U\_iso\_or\_equiv  
[1866] \_atom\_site\_adp\_type  
[1867] \_atom\_site\_occupancy  
[1868] \_atom\_site\_symmetry\_multiplicity  
[1869] \_atom\_site\_calc\_flag  
[1870] \_atom\_site\_refinement\_flags  
[1871] \_atom\_site\_disorder\_assembly  
[1872] \_atom\_site\_disorder\_group  
[1873] S1M S 0.13517(17) 0.18539(13) 0.03193(5) 0.0286(5) Uani 1 1 d ...  
[1874] O1M O 0.1193(5) 0.2208(3) -0.00409(14) 0.0326(13) Uani 1 1 d ...  
[1875] O2M O 0.1551(5) 0.0681(3) 0.03330(13) 0.0331(13) Uani 1 1 d ...  
[1876] O3M O 0.0151(5) 0.2217(4) 0.05453(14) 0.0368(13) Uani 1 1 d ...  
[1877] C4M C 0.3036(8) 0.2420(6) 0.0475(2) 0.0355(19) Uani 1 1 d ...  
[1878] H4M1 H 0.3855 0.2197 0.0329 0.053 Uiso 1 1 calc R ..  
[1879] H4M2 H 0.3212 0.2181 0.0708 0.053 Uiso 1 1 calc R ..  
[1880] H4M3 H 0.2959 0.3189 0.0471 0.053 Uiso 1 1 calc R ..  
[1881] C11 C1 0.26158(17)0.18137(12) 0.34133(5) 0.0325(5) Uani 1 1 d ...  
[1882] C12 C1 0.75698(19)0.16766(13) 0.26161(5) 0.0366(6) Uani 1 1 d ...  
[1883] N1 N 0.6277(6) -0.2419(4) 0.34903(16) 0.0276(14) Uani 1 1 d ...  
[1884] H1 H 0.5932 -0.3064 0.3484 C.033 Uiso 1 1 calc R . .  
[1885] N2 N 0.7505(5) -0.2150(4) 0.36663(16) 0.0286(15) Uani 1 1 d ...  
[1886] C3 C 0.7635(7) -0.1082(5) 0.36163(19) 0.0265(17) Uani 1 1 d ...  
[1887] C4 C 0.6453(7) -0.0708(5) 0.34039(18) 0.0211(16) Uani 1 1 d ...  
[1888] C5 C 0.5616(7) -0.1594(5) 0.3322(2) 0.0277(18) Uani 1 1 d ...  
[1889] H5 H 0.4770 -0.1623 0.3181 0.033 Uiso 1 1 calc R ..

- [1890] C6 C 0.8878(7) -0.0454(5) 0.3760(2) 0.0269(17) Uani 1 1 d ...
- [1891] O7 O 0.9037(5) C.0506(3) 0.36722(14) 0.0368(13) Uanl 1 1 d ...
- [1892] N8 N 0.9821(6) -0.0939(4) 0.39821(15) 0.0267(14) Uani 1 1 d ...
- [1893] H8 H 0.9626 -0.1584 0.4048 0.032 Uiso 1 1 calc R ..
- [1894] C9 C 1.1147(7) -0.0417(5) 0.41139(19) 0.0253(17) Uani 1 1 d ...
- [1895] H9 H 1.1272 0.0261 0.3987 0.030 Uiso 1 1 calc R ..
- [1896] C10 C 1.1019(8) -0.0148(5) 0.4502(2) 0.0330(18) Uani i 1 d ...
- [1897] H10A H 1.0156 0.0315 0.4540 0.040 Uiso 1 1 calc R ..
- [1898] H10B H 1.0866 -0.0804 0.4633 0.040 Uiso 1 1 calc R ..
- [1899] C11 C 1.2429(7) 0.0412(5) 0.4630(2) 0.0349(19) Uani 1 1 d ...
- [1900] H11A H 1.2533 0.1102 0.4515 0.042 Uiso 1 1 calc R ..
- [1901] H11B H 1.2355 0.0538 0.4878 0.042 Uiso 1 1 calc R ..
- [1902] N12 N 1.3784(6) -0.0279(4) 0.45532(16) 0.0258(14) Uani 1 1 d ...
- [1903] H12A H 1.4618 0.0069 0.4623 0.031 Uiso 1 1 calc R ..
- [1904] H126 H 1.3716 -0.0892 0.4676 0.031 Uiso 1 1 calc R ..
- [1905] C13 C 1.3929(7) -0.0546(6) 0.4181(2) 0.0314(18) Uani 1 1 d ...
- [1906] H13A H 1.4790 -0.1013 0.4147 0.038 Uiso 1 1 calc R ..
- [1907] H138 H 1.4098 0.0107 0.4049 0.038 Uiso 1 1 calc R ..
- [1908] C14 C 1.2538(7) -0.1097(6) 0.4049(2) 0.0356(19) Uani 1 1 d ...
- [1909] H14A H 1.2425 -0.1785 0.4165 0.043 Uiso 1 1 calc R ..
- [1910] H143 H 1.2639 -0.1231 0.3802 0.043 Uiso 1 1 calc R ..
- [1911] N15 N 0.6215(5) 0.0371(4) 0.33108(16) 0.0256(14) Uani 1 1 d ...
- [1912] H15 H 0.6768 0.0852 0.3408 0.031 Uiso 1 1 calc R ..
- [1913] C16 C 0.5183(7) 0.0697(5) 0.30805(18) 0.0213(15) Uani 1 1 d ...
- [1914] O17 O 0.4336(5) 0.0082(3) 0.29260(13) 0.0309(12) Uani 1 1 d ...
- [1915] C18 C 0.5120(6) 0.1890(5) 0.30170(17) 0.0195(15) Uani 1 1 d ...
- [1916] C19 C 0.3923(7) 0.2486(5) 0.31620(19) 0.0252(16) Uani 1 1 d ...
- [1917] C20 C 0.3785(7) 0.3569(5) 0.30904(19) 0.0267(17) Uani 1 1 d...
- [1918] H20 H 0.2991 0.3957 0.3185 0.032 Uiso 1 1 calc R ..
- [1919] C21 C 0.4814(7) 0.4078(5) 0.28805(19) 0.0270(17) Uani 1 1 d ...
- [1920] H21 H 0.4708 0.4808 0.2834 0.032 Uiso 1 1 calc R ..
- [1921] C22 C 0.6005(7) 0.3518(5) 0.27375(19) 0.0294(18) Uani 1 1 d ...
- [1922] H22 H 0.6702 0.3865 0.2597 0.035 Uiso 1 1 calc R ..
- [1923] C23 C 0.6142(7) 0.2425(5) 0.2807(2) 0.0286(17) Uani 1 1 d...
- [1924] 实施例 257
- [1925] 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺乙酸盐的制备
- [1926]



[1927] 将碳酸氢钠 (4.5g, 53.5mmol) 加入至在环境温度下搅拌的 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺盐酸盐 (20.6g, 50mmol) 的水 (500mL) 溶液中。将混合物搅拌 1 小时并且过滤收集形成的固体, 并且与甲苯 (×3) 共沸真空干燥, 得到 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺的相应的游离碱。

[1928]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  10.20 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.25 (d, 1H), 7.60-7.50 (m, 3H), 3.70 (m, 1H), 3.00 (d, 2H), 2.50 (m, 2H), 1.70 (d, 2H), 1.50 (m, 2H)。

[1929] 在环境温度下, 将冰乙酸 (15mL, 262mmol) 加入至 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺 (10.0g, 26.2mmol) 的搅拌的乙醇混悬液中。1 小时后, 得到了澄清溶液, 将其与甲苯 (×2) 共沸真空浓缩。然后将残留物用乙腈 (2×100mL) 研磨并且将固体真空干燥, 得到白色固体 4-(2,6-二氯-苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸哌啶-4-基酰胺乙酸盐 (10.3g)。

[1930]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  10.20 (s, 1H), 8.40 (d, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.60-7.50 (m, 3H), 3.85 (m, 1H), 3.00 (d, 2H), 2.60 (t, 2H), 1.85 (s, 3H), 1.70 (d, 2H), 1.55 (m, 2H)。

#### [1931] 等价方式

[1932] 前述实施例的目的是用于说明本发明并且不应该解释为在本发明的范围上加入任何限制。显而易见的是可以对上文描述的和在实施例中说明的本发明的特别实施方案进行多种修改和改变而没有背离本发明的原则。所用的这些修改和改变也包含在本申请内。

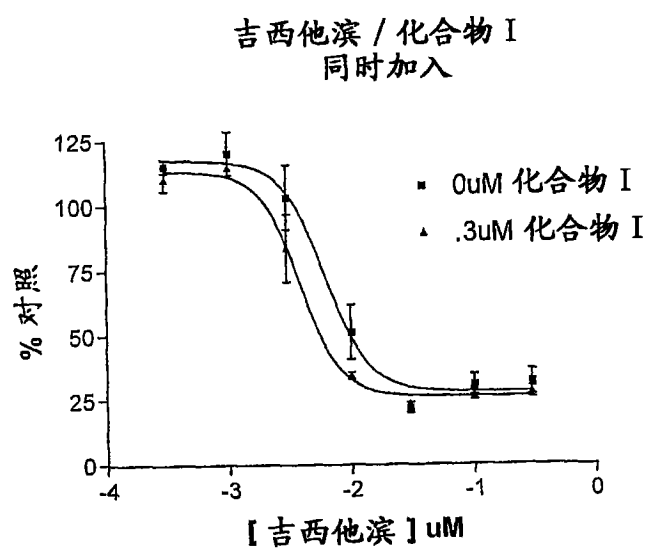


图 1

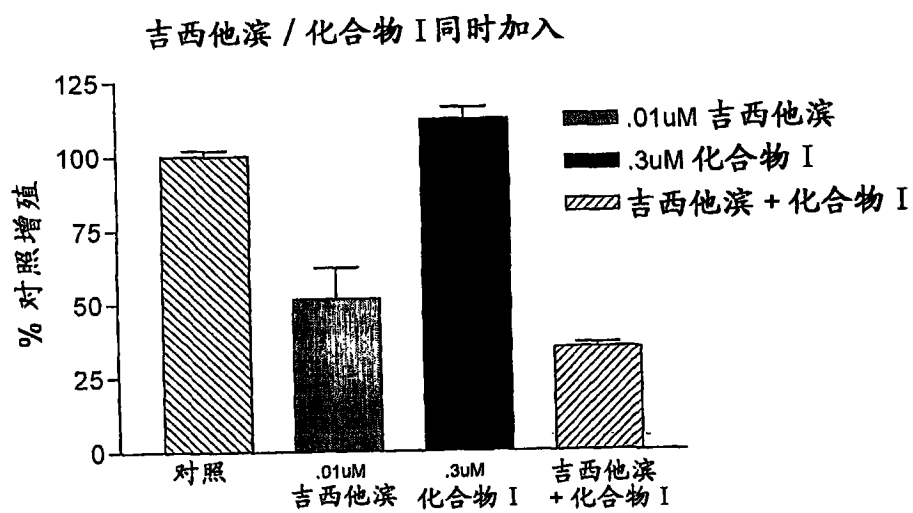


图 2

紫杉醇 / 化合物 I 同时加入

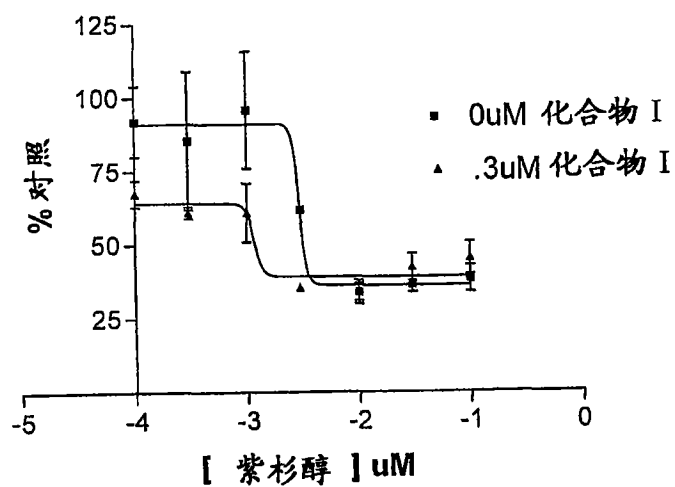


图 3

紫杉醇 / 化合物 I 同时加入

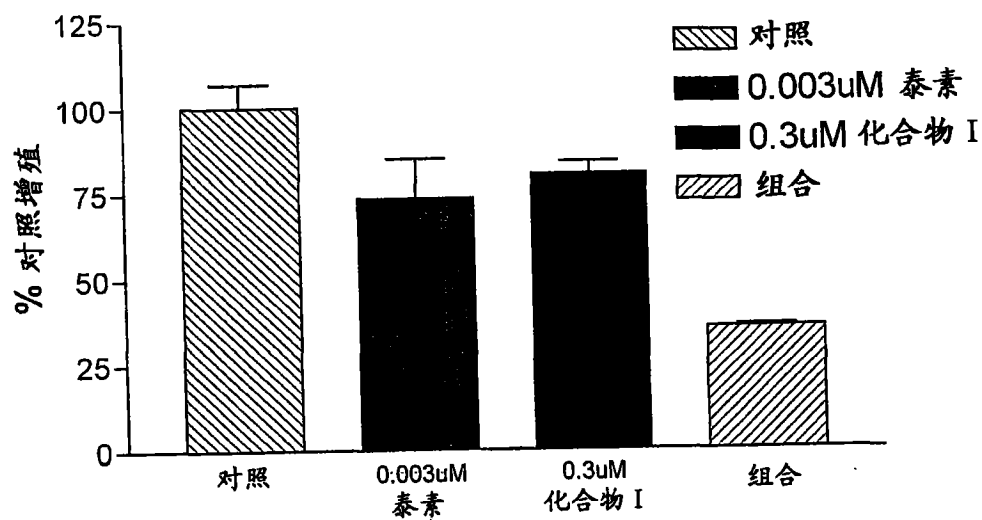


图 4

先加入紫杉醇，然后加入化合物 I

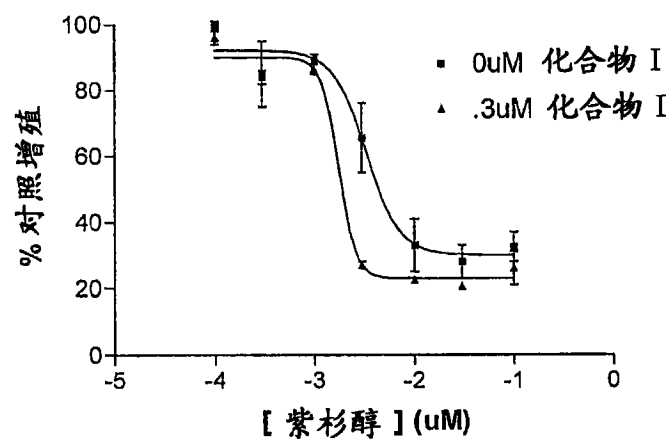


图 5

先加入紫杉醇，然后加入化合物 I

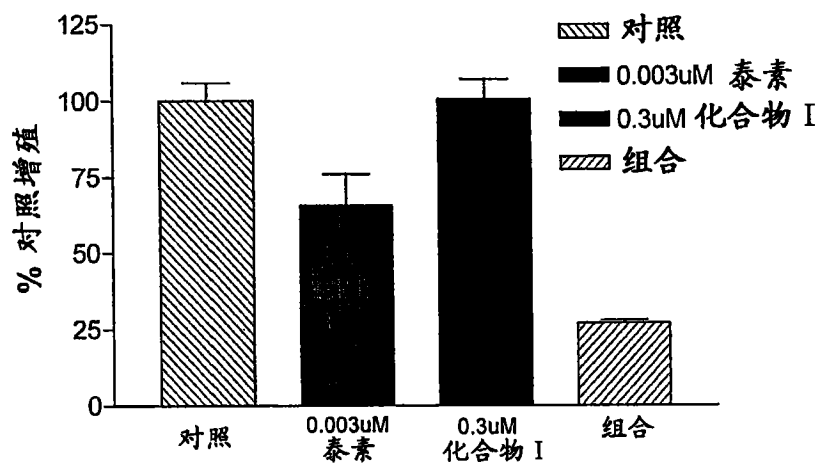


图 6

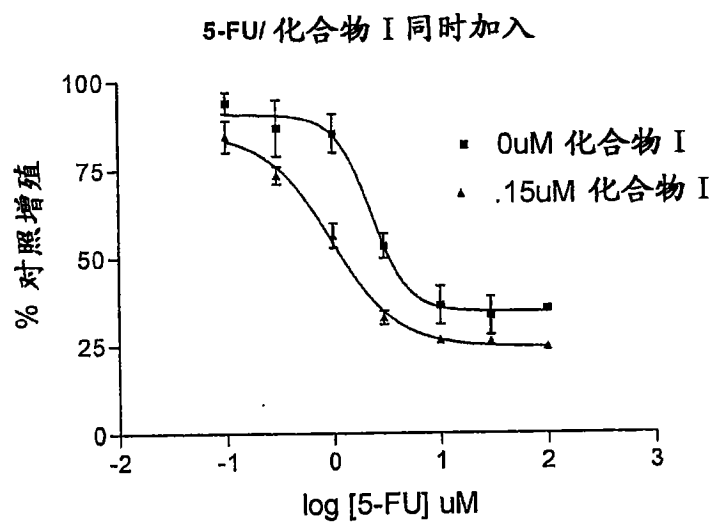


图 7

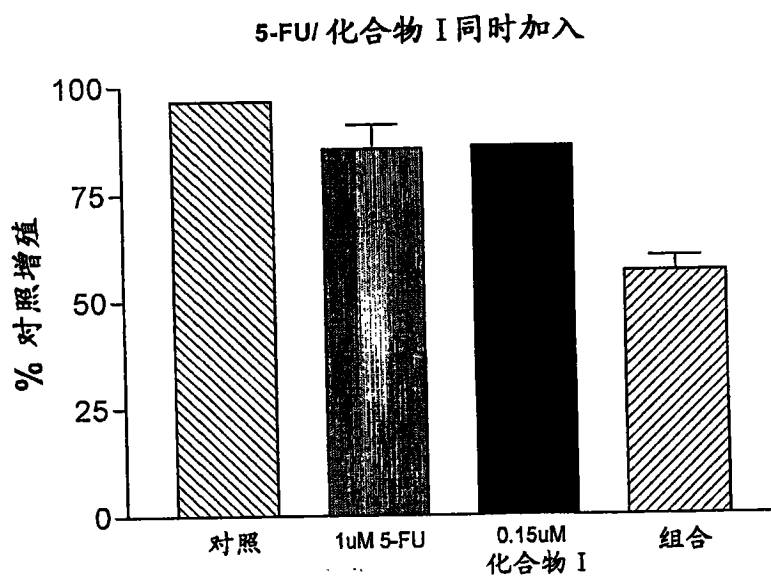


图 8

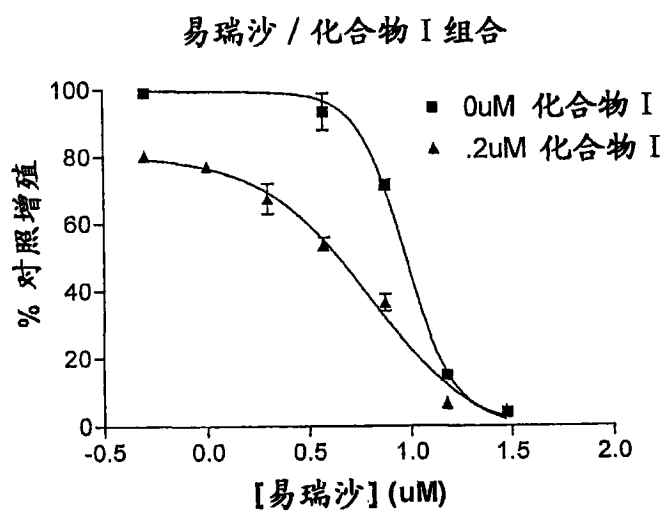


图 9

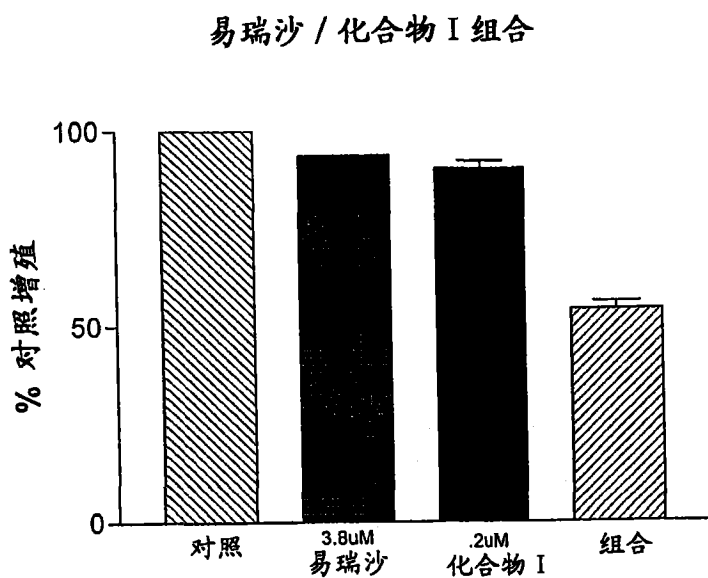


图 10

先加入化合物 I，然后加入喜树碱

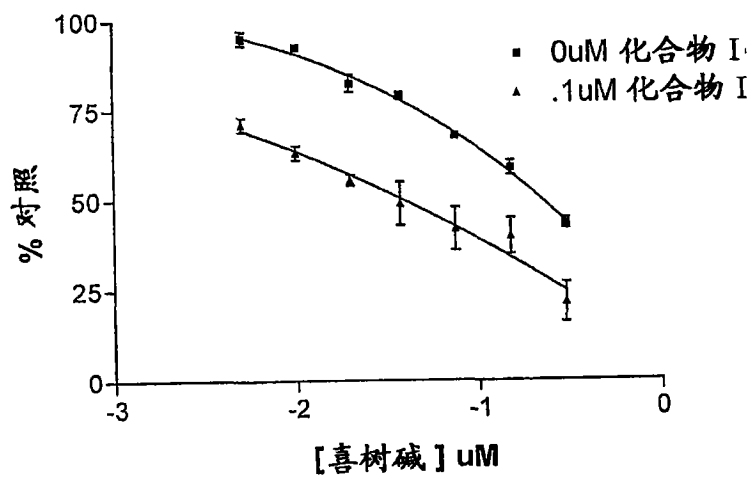


图 11

先加入化合物 I，然后加入喜树碱

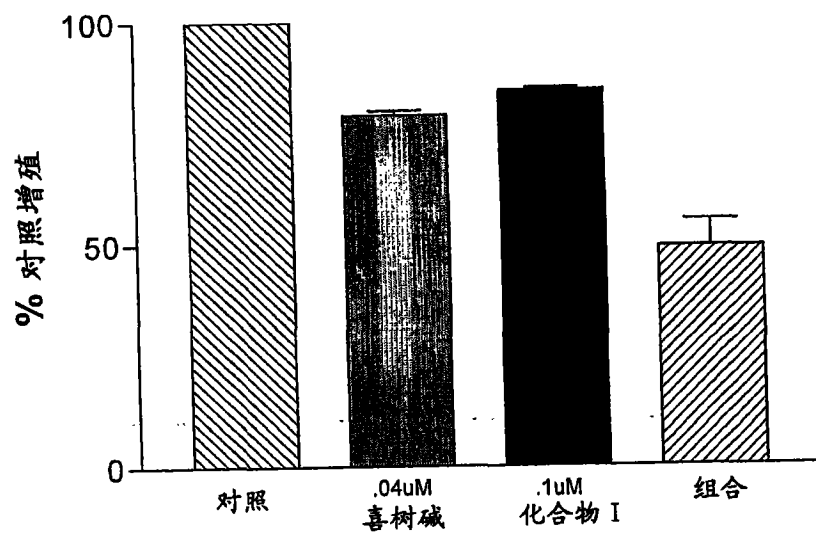


图 12

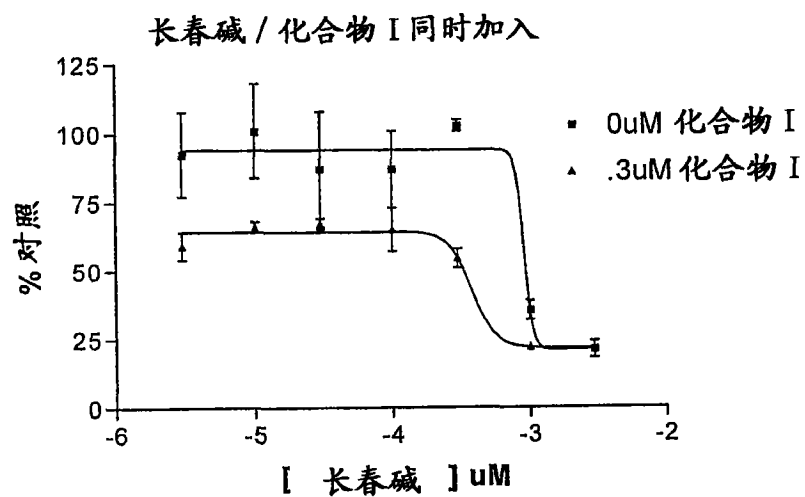


图 13

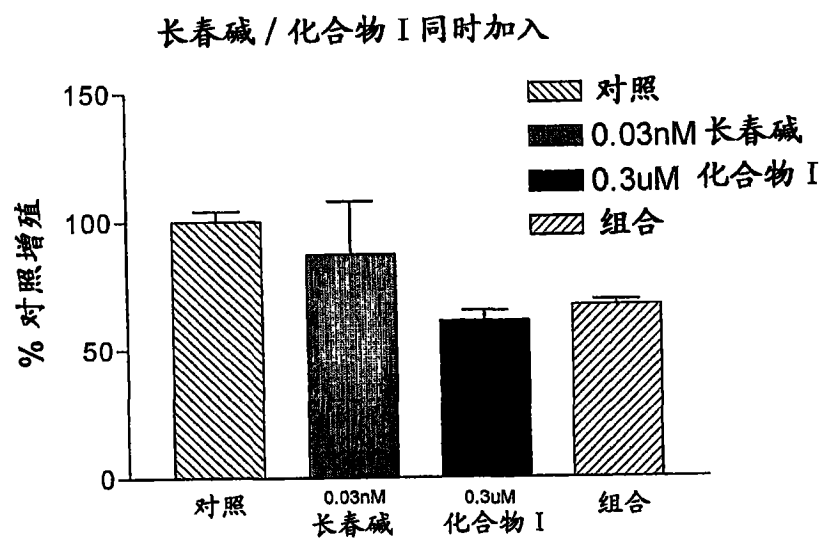


图 14

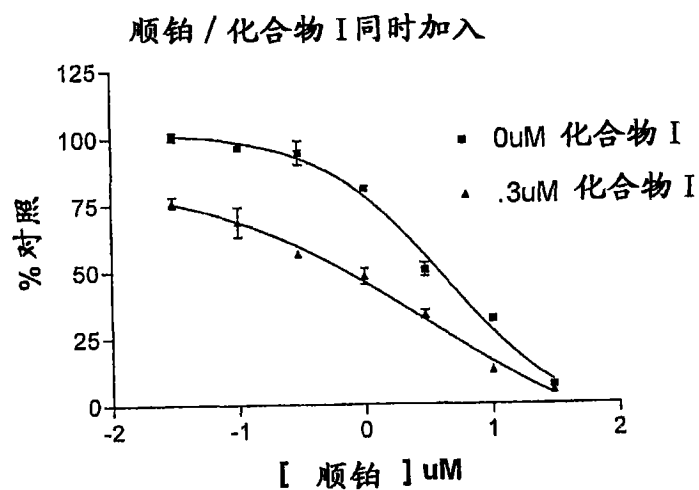


图 15

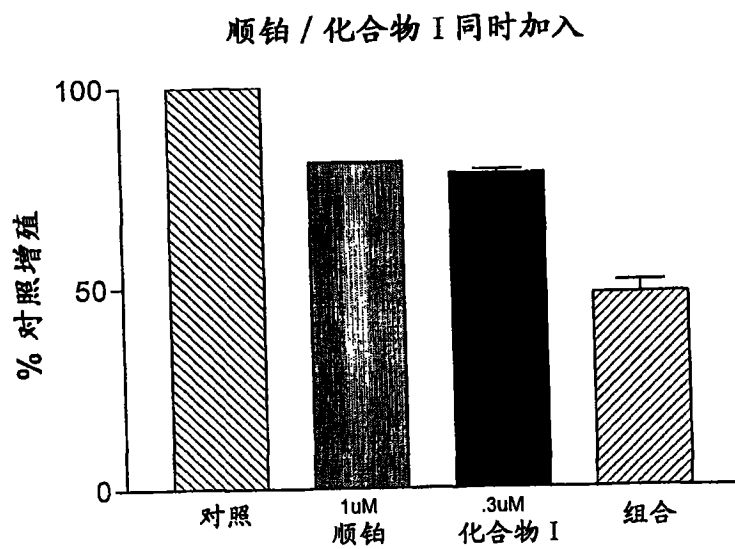


图 16

依托泊苷 / 化合物 I 同时加入

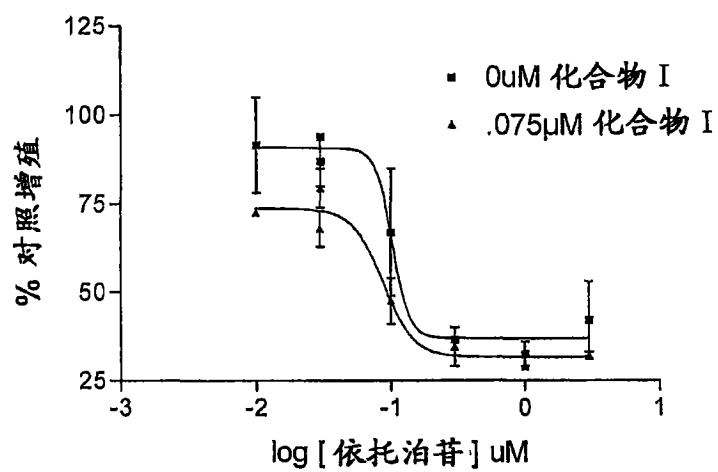


图 17

化合物 I / 依托泊苷组合

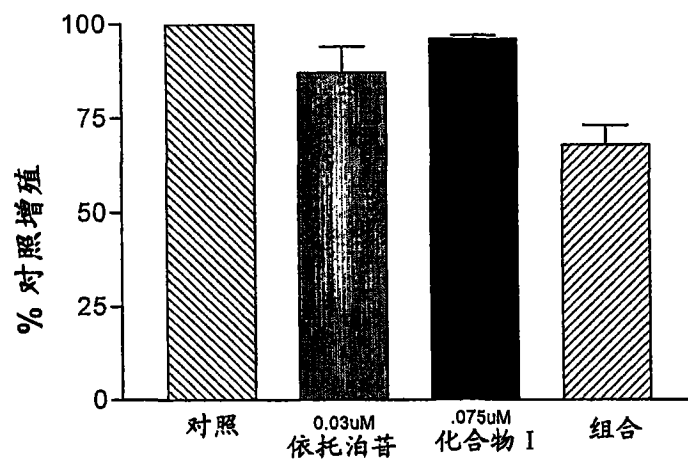


图 18

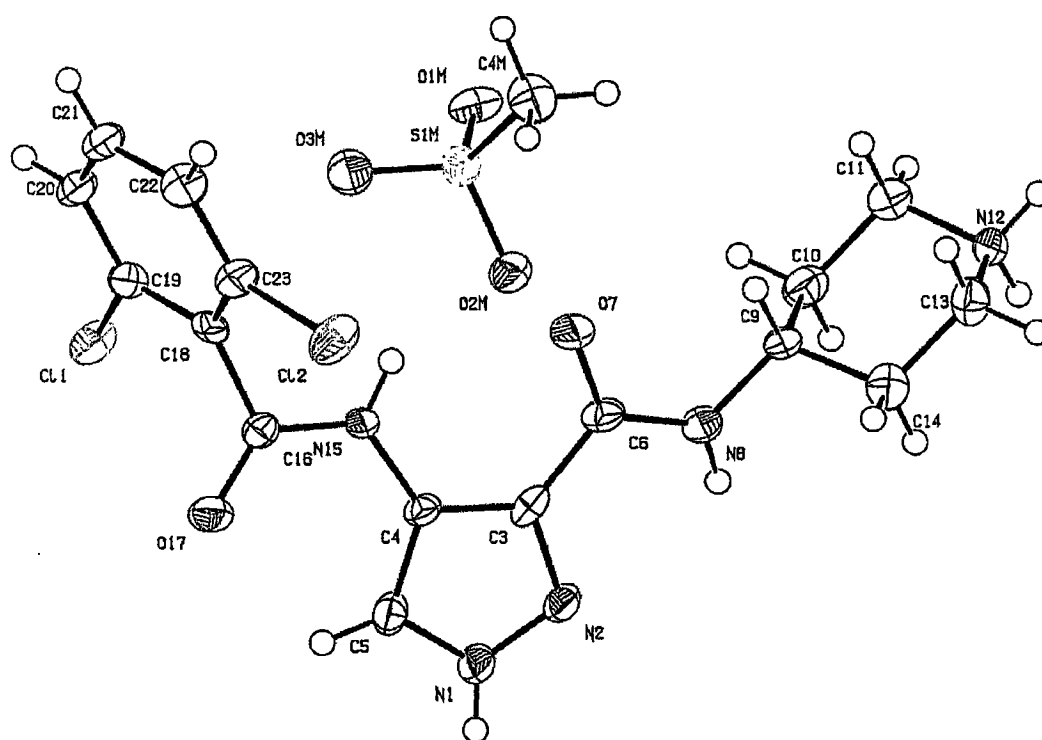


图 19

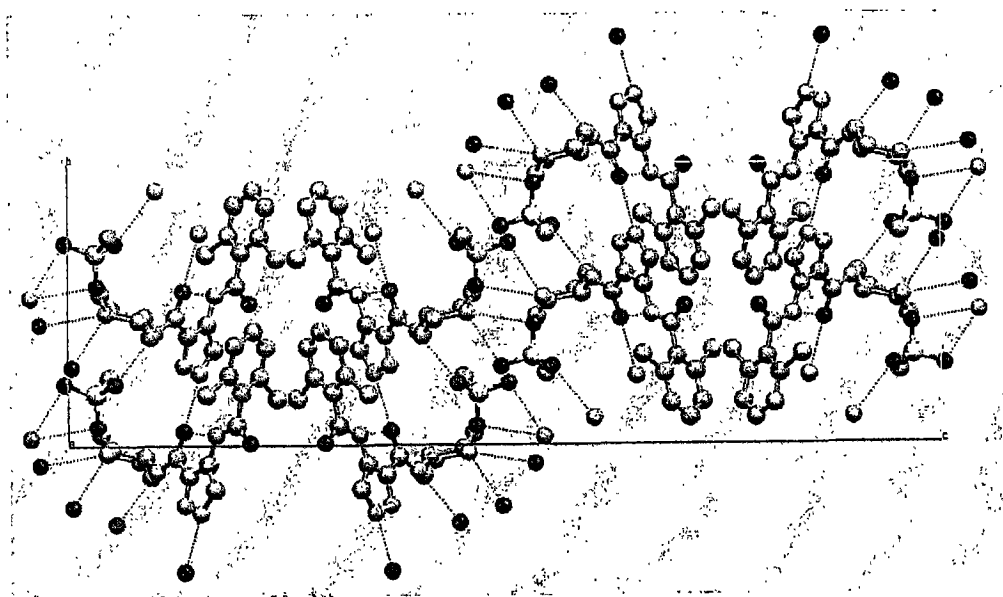


图 20