



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110167938 B

(45) 授权公告日 2024.06.14

(21) 申请号 201880006261.0

(73) 专利权人 阿基利昂有限公司

(22) 申请日 2018.01.10

地址 瑞典赫尔辛堡

(65) 同一申请的已公布的文献号

(72) 发明人 J·拉森 M·拉森

申请公布号 CN 110167938 A

L·K·拉斯穆森 A·里岑

(43) 申请公布日 2019.08.23

T·M·杜斯

(30) 优先权数据

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

17151020.9 2017.01.11 EP

11247

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

专利代理人 杨春刚 黄革生

2019.07.09

(51) Int.CI.

C07D 471/04 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61K 31/437 (2006.01)

PCT/EP2018/050548 2018.01.10

(56) 对比文件

(87) PCT国际申请的公布数据

CN 104955824 A, 2015.09.30

W02018/130563 EN 2018.07.19

审查员 苏敬雷

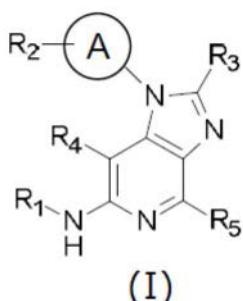
权利要求书3页 说明书44页

(54) 发明名称

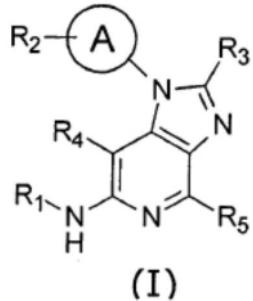
作为Janus激酶抑制剂的新的氨基-咪唑并
吡啶衍生物及其医药用途

(57) 摘要

本发明涉及式(I)化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物；其中R₁是C₁-烷基，R₂是C₁-烷基，R₃是C₂-烷基，R₄是氢，R₅是氢。本发明进一步涉及所述化合物用于疗法中、包含所述化合物的药物组合物、用于治疗自身免疫疾病的所述化合物及用于制备所述化合物的中间体。



1. 通式(I)化合物,



其中

A表示C₆-环烷基,其中所述C₆-环烷基任选被一个或多个氘取代;

R₁表示C₁-烷基,其中所述C₁-烷基任选被一个或多个氘取代;

R₂表示C₁-烷基,其中所述C₁-烷基被选自R₆的取代基取代;且其中所述C₁-烷基任选被一个或多个氘取代;

R₃表示C₂-烷基,其中所述C₂-烷基被选自R₇的取代基取代,且其中所述C₂-烷基任选被一个或多个氘取代;

R₄表示氢或氘;

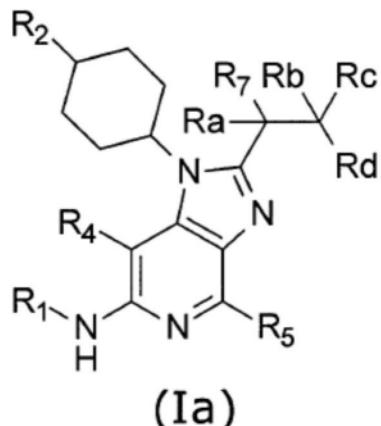
R₅表示氢或氘;

R₆表示氨基;

R₇表示羟基;

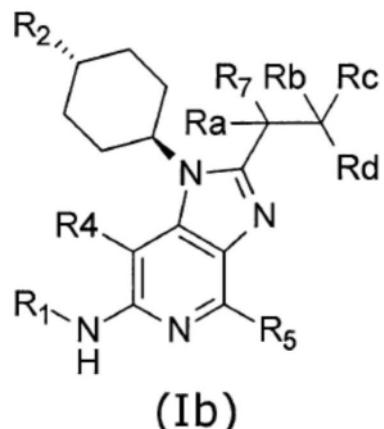
或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

2. 根据权利要求1所述的化合物,其中式(I)是通式(Ia)



其中R₁-R₂、R₄-R₇是如权利要求1中所定义,且其中Ra、Rb、Rc及Rd各自独立地选自氢及氘。

3. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中式(I)是通式(Ib)



其中R₁-R₂、R₄-R₇、Ra、Rb、Rc及Rd是如权利要求1或2中所定义。

4. 根据权利要求1所述的化合物,其选自

反式-2-[4-[2-[1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,

反式-2-[4-[2-[1S)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,

反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,

反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(三氘甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,

反式-2-[4-[2-[1,2,2,2-四氘-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,

顺式-2-[4-[2-[1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈和

顺式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈

或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

5. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物是

反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈

或其药学上可接受的盐。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的化合物在制备用于预防和/或治疗免疫系统疾病或与免疫系统失调有关的疾病的药物的用途。

7. 根据权利要求6的用途,其中免疫系统疾病是自身免疫疾病。

8. 根据权利要求6的用途,所述免疫系统疾病是异位性皮炎。

9. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1至5中任一项所述的化合物以及药学上可接受的溶媒或赋形剂或药学上可接受的载体。

10. 根据权利要求1至5中任一项所述的化合物在制备用于治疗疾病中的用途,所述疾病对JAK1激酶活性的抑制响应。

11. 根据权利要求1至5中任一项所述的化合物在制备用于预防、治疗或改善免疫系统疾病的方法的药物中的用途,该方法包括向患有至少一种所述疾病的人施用有效量的一种

或多种根据权利要求1至5中任一项所述的化合物,任选地以及药学上可接受的载体或一种或多种赋形剂。

12. 根据权利要求11的用途,所述免疫系统疾病是自身免疫疾病。

13. 一种化合物,其选自:

2-[反式-4-[(5-氨基-2-氯吡啶-4-基)氨基]环己基]乙腈

或其盐。

14. 一种化合物,其选自:

2-[反式-4-[6-氯-2-(1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]-乙腈,

2-[反式-4-[6-氯-2-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈
和

反式-2-[4-[6-氯-2-(1,2,2,2-四氘-1-羟基-乙基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈

或其盐。

作为Janus激酶抑制剂的新的氨基-咪唑并吡啶衍生物及其医药用途

【技术领域】

[0001] 本发明涉及为Janus激酶抑制剂的化合物及其衍生物、用于制备所述化合物的中间体、用于治疗的所述化合物及包含所述化合物的药物组合物。

【发明背景】

[0003] 本发明涉及为蛋白酪氨酸激酶抑制剂的新化合物,所述蛋白酪氨酸激酶例如为Janus激酶(JAK1、JAK2、JAK3及TYK2)且特别是Janus激酶1(JAK1)。

[0004] 蛋白酪氨酸激酶是催化三磷酸腺苷的末端磷酸转移至蛋白质底物中的酪氨酸残基的酶家族。蛋白质底物上的酪氨酸残基的磷酸化导致调节众多过程的细胞内信号的转导,所述过程例如为细胞生长分化及活化、代谢、造血、宿主防御及免疫调节。由于在多种炎性疾病及其他免疫系统病症(例如自身免疫疾病)中的分子机制的阐明,强调了所述细胞内信号通路的关键作用,所以调节蛋白酪氨酸激酶的活性似乎是管控炎性疾病的有吸引力的途径。已鉴别大量蛋白酪氨酸激酶,其可以是受体蛋白酪氨酸激酶(例如胰岛素受体)或非受体蛋白酪氨酸激酶。

[0005] 蛋白酪氨酸激酶JAK1、JAK2、JAK3及TYK2选择性地与多种细胞因子受体链的胞质结构域缔合,且在组织稳态的细胞因子依赖性调节、先天免疫的启动、成形适应性免疫反应及炎性过程中具有至关重要的作用。其在响应其经由通过刺激细胞因子受体的酪氨酸磷酸化的活化进行的信号转导中甚为关键。(1) Schindler C.等人,JAK-STAT signaling: from interferons to cytokines.J.Biol.Chem 2007;282(28):20059;(2) O' Shea J.J.Targeting the Jak/STAT pathway for immunosuppression;Ann.Rheum.Dis.2004;63Suppl 2:ii67;(3) Schindler C.Series introduction.JAK-STAT signaling in human disease;J.Clin.Invest.2002;109(9):1133;(4) O' Shea等人,Cell,第109卷,S121-S131,2002;(5) Schwartz D.M.等人,Nat.Rev.Rheumatol.,2016;12(1):25-36;(6) O' Shea等人,New.Eng.J.Med.2013;368(2):161-170。

[0006] 尽管JAK1、JAK2及TYK2遍在表达,但JAK3主要在造血细胞中表达。

[0007] JAK1在介导生物反应方面发挥关键作用,且JAK1广泛表达并与几种主要细胞因子受体家族缔合。其通过IL-2受体 γ 亚基家族(IL-2、IL-4、IL-7R、IL-9R、IL-15R及IL-21R)、IL-4受体家族(IL-4R、IL-13R)、gp130受体家族及包括IL-10受体家族以及I型及II型IFN受体家族的II类细胞因子受体的成员参与信号传导。

[0008] JAK2通过几种单链受体(包括Epo-R、GHR、PRL-R)、IL-3受体家族、gp130受体家族、IL-12受体家族(IL-12及IL-23)及一些II类受体细胞因子家族涉及信号传导。因此,JAK2在转导针对Epo、IL-3、GM-CSF、IL-5及IFN γ 的信号方面发挥关键作用。JAK2敲除小鼠展现胚胎致死表型。

[0009] JAK3通过采用I型细胞因子受体家族(亦称为IL-2受体家族)(例如IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15及IL-21)的共同 γ 链的受体参与信号转导。XSCID患者群体经鉴别具有降低的JAK3蛋白水平或具有共同 γ 链的遗传缺陷,此表明免疫抑制应由阻断经JAK3路径的信号

传导引起。动物研究已表明, JAK3不仅在B及T淋巴球成熟中发挥关键作用,而且JAK3对于维持T细胞功是在组成上必需的。可证实,通过此新机制调节免疫活性在T细胞增殖病症(例如免疫系统疾病、特别是自身免疫疾病)的治疗中有用。

[0010] TYK2涉及I型干扰素IL-6、IL-10、IL-12及IL-23信号传导。已阐述患有TYK2缺失的人类患者且此患者患有原发性免疫缺陷病症,其特征为具有许多由病毒、细菌及真菌所致的伺机性感染的高IgE类综合征。由于已发现IL-23在许多慢性炎性疾患中发挥重要作用,所以可设想TYK2抑制剂在治疗受IL-23影响的疾病方面极为有效。

[0011] 贫血及嗜中性白血球减少症可能分别与EPO及GM-CSF的抑制有关,因为该两种细胞因子的生物效应显然仅取决于JAK2活化。类似地,IL-12及IL-23参与针对病毒、细菌及真菌的先天性及适应性免疫防御。由于所述细胞因子在其信号传导级联中结合至募集JAK2及TYK2的受体,所以可设想选择性JAK1抑制剂将不影响它们的生物活性且因此与抑制JAK1、JAK2、JAK3及TYK2的化合物相比具有较安全的性质。

[0012] JAK的活化导致STAT分子的活化且因此导致JAK/STAT信号通路的引发,此被磷酸化事件高度调节。认为STAT分子的活化是JAK活性的有效药效学标记,且特定JAK分子的活性可通过优先募集的活性STAT分子的水平来评价。

[0013] 具体而言,由免疫细胞表达的IL-4受体是由两个不同链配体高亲和性及信号转导分子IL-4Ra及共同 γ 链构成,其在配体结合时分别活化JAK1及JAK3,这导致STAT6的募集及活化。类似地,IL-6受体是由IL-6高亲和性受体链(IL-6Ra)及JAK1优先缔合的信号转导分子糖蛋白130(gp130)链形成的异二聚体受体。gp130链在配体结合时活化JAK1及STAT3信号通路。因此,为研究JAK1的活性,可在免疫细胞中在分别利用IL-4或IL-6刺激后评价活性STAT6或STAT3的水平。

[0014] 此外,促红细胞生成素的受体(EPOR)是由两个相同受体链构成的同二聚体受体。因此,EPOR链是高亲和性配体结合及信号转导分子链二者,且在配体结合时仅活化缔合的JAK2分子,从而导致STAT5的募集及活化。GM-CSF的受体是由GM-CSF高亲和性受体链(GM-CSFR α)及JAK2特异性缔合的信号转导分子链(GM-CSFR β)构成的异二聚体受体。在配体结合时, α 受体链与 β 受体链的缔合导致JAK2及STAT5信号通路的活化。因此,为研究JAK2的活性,可在利用GM-CSF或促红细胞生成素(EPO)刺激后在免疫细胞中评价活性STAT5的水平。

[0015] Janus激酶的抑制剂预期在所述激酶参与其中的炎性及非感染性自身免疫疾病的治疗中显示效用。近来,已推出泛-JAK抑制剂托法替尼(tofacitinib)及鲁索替尼(ruxolitinib)分别用于治疗类风湿性关节炎及骨髓纤维化。JAK1抑制剂PF-04965842目前处于用于治疗异位性皮炎的III期临床试验中;JAK1抑制剂巴瑞替尼(baricitinib)已经推出用于治疗类风湿性关节炎,并处于用于治疗异位性皮炎的III期试验中;且JAK1抑制剂乌帕替尼(upadacitinib)目前处于用于治疗类风湿性关节炎及银屑病关节炎的III期临床试验中,并处于用于治疗异位性皮炎、克罗恩病(Crohn's disease)及溃疡性结肠炎的II期试验中。

[0016] 因此,JAK抑制剂此外可用于治疗与Janus激酶的活性有关的疾病,所述疾病包括例如皮肤病,如银屑病、异位性皮炎、硬皮病、酒渣鼻、皮肤癌、皮炎、疮疹样皮炎、皮肌炎、白癜风、斑秃、接触性皮炎、湿疹、干燥病、鱼鳞癣、荨麻疹、慢性特发性瘙痒症、坏疽性脓皮症、皮肤型红斑狼疮及扁平苔藓;呼吸疾病,如哮喘、慢性阻塞性肺病、肺纤维化、囊性纤维化、

鼻炎、细支气管炎、棉屑沉着病、尘肺病、支气管扩张症、过敏性肺炎、肺癌、间皮瘤及结节病；胃肠疾病，如炎性肠病、溃疡性结肠炎、克罗恩病、腹膜后纤维化、乳糜泻及癌症；眼疾病，如重症肌无力、肖格伦综合征 (Sjögren's syndrome)、结膜炎、巩膜炎、葡萄膜炎、干眼综合征、角膜炎、虹膜炎；全身性适应症，如狼疮、多发性硬化、类风湿性关节炎、I型糖尿病及糖尿病的并发症、癌症、强直性脊椎炎及银屑病关节炎；癌症，如骨和软组织肿瘤、头颈癌以及其他自身免疫疾病及适应症，其中例如在器官移植中免疫抑制是合乎需要的。

[0017] WO2013007768公开三环杂环化合物、组合物及其作为JAK抑制剂的使用方法。

[0018] WO2013007765公开用作Janus激酶抑制剂的稠合三环化合物。

[0019] WO2011086053公开三环杂环化合物、组合物及其使用方法。

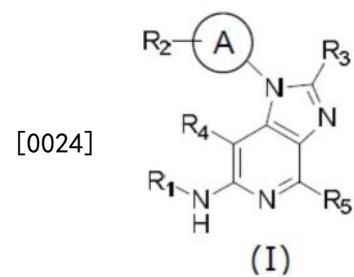
[0020] Zak, M. 等人, J. Med. Chem., (2013), 56, 4764-85公开作为JAK1抑制剂的咪唑并吡咯并吡啶。

[0021] 仍然需要有效且选择性抑制特定JAK酶的新化合物，特别是相对于JAK2选择性抑制JAK1的抑制剂，以在不影响总体抗炎性效能的情形下减少不良效应。

【发明内容】

[0022] 本发明的化合物展现对Janus激酶的抑制活性；且特别是本发明的化合物展现对JAK1的抑制活性。因此，本发明的化合物显示JAK激酶抑制选择性；特别是，所述化合物显示相对于JAK2的对JAK1的抑制选择性。由此可见，本发明的化合物亦可显示相对于STAT5的对STAT6或STAT3的抑制选择性。本发明的一些化合物具有对于全身性使用特别有利的药物动力学性质，例如高代谢稳定性及高水溶解度。本发明的一些化合物具有特别有利的毒物学性质，例如高激酶以及一般脱靶选择性、无CYP抑制、低或无CYP诱导、低细胞毒性；以及在重复剂量毒物学研究中耐受良好。

[0023] 因此，本发明涉及式(I)化合物



[0025] 其中

[0026] A表示C₆-环烷基，其中所述C₆-环烷基任选被一个或多个氘取代；

[0027] R₁表示C₁-烷基，其中所述C₁-烷基任选被一个或多个氘取代；

[0028] R₂表示C₁-烷基，其中所述C₁-烷基被选自R₆的取代基取代；且其中所述C₁-烷基任选被一个或多个氘取代；

[0029] R₃表示C₂-烷基，其中所述C₂-烷基被选自R₇的取代基取代且其中所述C₂-烷基任选被一个或多个氘取代；

[0030] R₄表示氢或氘；

[0031] R₅表示氢或氘；

[0032] R₆表示氰基；

[0033] R₇表示羟基；

[0034] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

[0035] 在另一方面中，本发明涉及药物组合物，其包含如本文所定义的通式(I)化合物以及药学上可接受的溶媒或赋形剂或药学上可接受的载体，任选以及一种或多种其他治疗活性化合物。

[0036] 在又一方面中，本发明涉及如本文所定义的通式(I)化合物，其用作药物。

[0037] 在又一方面中，本发明涉及如本文所定义的通式(I)化合物，其用于预防及/或治疗免疫系统的疾病(例如自身免疫疾病)或与免疫系统失调有关的疾病。

[0038] 在又一方面中，本发明涉及中间体，其可用于制备通式(I)化合物。

[0039] 【发明详述】

[0040] 定义

[0041] 术语“C_a-烷基”意欲指示当从支链或直链烃去除一个氢原子时所获得的基团。所述烷基包含1-2个碳原子，例如甲基及乙基。“烷基”中的碳原子数是由前缀“C_a”指示，其中a是烃基中的碳数。因此，C₁-烷基意欲指示包含1个碳原子的烷基，即甲基。C₂-烷基意欲指示包含2个碳原子的烷基，即乙基。

[0042] 术语“氰基”意欲指示通过碳原子连接至母体分子部分的-CN基团。

[0043] 术语“C₆-环烷基”意欲指示包含6个碳原子的饱和环烷烃基，即环己基。

[0044] 术语“烃基”意欲指示仅含有氢原子及碳原子的基团，其可含有一个或多个碳-碳双键及/或碳-碳三键，且其可包含与支链或直链部分组合的环状部分。所述烃包含1-10个碳原子且优选包含1-6个，例如1-4个、例如1-3个、例如1-2个、例如6个碳原子。该术语包括如本文所指示的烷基及环烷基。

[0045] 术语“羟基”或“羟基”意欲指示-OH基。

[0046] BrettPhos意欲指示2-(二环己基膦基)-3,6-二甲氧基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯。

[0047] tBuBrettPhos意欲指示2-(二-叔丁基膦基)-2',4',6'-三异丙基-3,6-二甲氧基-1,1'-联苯。

[0048] tBuXPhos意欲指示2-二-叔丁基膦基-2',4',6'-三异丙基联苯。

[0049] BrettPhos Pd G1意欲指示氯[2-(二环己基膦基)-3,6-二甲氧基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯][2-(2-氨基乙基)苯基]钯(II)。

[0050] BrettPhos Pd G3意欲指示甲磺酸[(2-二-环己基膦基-3,6-二甲氧基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)-2-(2'-氨基-1,1'-联苯)]钯(II)。

[0051] tBuBrettPhos Pd G3意欲指示甲磺酸[(2-二-叔丁基膦基-3,6-二甲氧基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)-2-(2'-氨基-1,1'-联苯)]钯(II)，

[0052] tBuXPhos Pd G1意欲指示[2-(二-叔丁基膦基)-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯][2-(2-氨基乙基)苯基]氯化钯(II)。

[0053] tBuXPhos Pd G3意欲指示甲磺酸[(2-二-叔丁基膦基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)-2-(2'-氨基-1,1'-联苯)]钯(II)。

[0054] 若将取代基阐述为独立地选自群组，则每一取代基独立于另一者选择。因此，每一取代基可与其他取代基相同或不同。

[0055] 术语“任选取代”意指“未被取代或被取代”，且因此本文所述通式涵盖含有指定任选的取代基的化合物以及不含有所述任选的取代基的化合物。

[0056] 术语“药学上可接受的盐”意欲指示通过使包含碱性部分的式(I)化合物与适宜的无机或有机酸反应所制备的盐，所述无机或有机酸例如盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、硝酸、磷酸、甲酸、乙酸、2,2-二氯乙酸、己二酸、抗坏血酸、L-天冬氨酸、L-谷氨酸、粘酸、乳酸、马来酸、L-苹果酸、邻苯二甲酸、柠檬酸、丙酸、苯甲酸、戊二酸、葡萄糖酸、D-葡萄糖醛酸、甲磺酸、水杨酸、琥珀酸、丙二酸、酒石酸、苯磺酸、乙烷-1,2-二磺酸、2-羟基乙磺酸、甲苯磺酸、氨基磺酸、富马酸、醋尿酸、L-乳酸、乙醇酸、草酸、糖二酸、DL-苦杏仁酸或L-酒石酸。药学上可接受的盐的其他实例列示于Berge, S.M.; J.Pharm.Sci.; (1977), 66(1), 1-19中，其是以引用方式并入本文中。

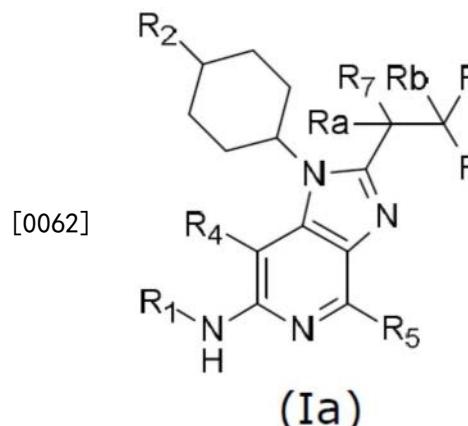
[0057] 术语“溶剂合物”意欲指示通过化合物(例如式(I)化合物)与溶剂(例如醇、甘油、二噁烷或水)之间的相互作用形成的物质，其中所述物质是结晶形式或无定型形式的。当水为溶剂时，所述物质称为水合物。

[0058] 如本文所用术语“治疗”意指出于抵抗疾病、病症或疾患的目的管控及照护患者。该术语意欲包括延迟疾病、病症或疾患的进展，改善、缓和或缓解症状及并发症及/或治愈或消除疾病、病症或疾患。该术语亦包括疾患的预防，其中预防应理解为出于抵抗疾病、疾患或病症的目的管控及照护患者，且包括施用活性化合物以防止症状或并发症的发作。然而，预防(预防性)及治疗性(治愈性)治疗是两个单独的方面。

[0059] 本文所引用的所有参考文献(包括出版物、专利申请案及专利)皆是以全文引用的方式并入本文中，且其并入程度如同将每一参考文献个别且特别指示以引用方式并入一般，不管在本文别处所做特定文件的任何单独提供的并入。

[0060] 本发明的实施方案

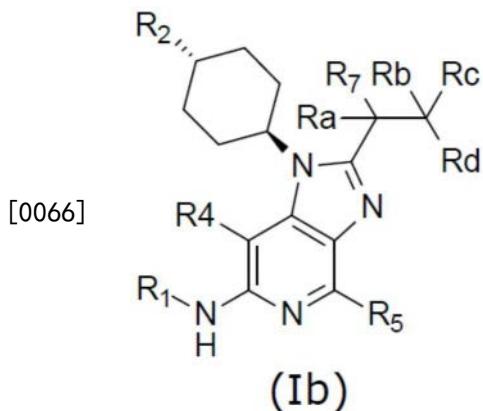
[0061] 在一实施方案中，本发明提供通式(I)化合物，其中式(I)是通式(Ia)



[0063] 其中R₁-R₂、R₄-R₇是如上文所定义，且其中Ra、Rb、Rc及Rd各自独立地选自氢及氘；

[0064] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

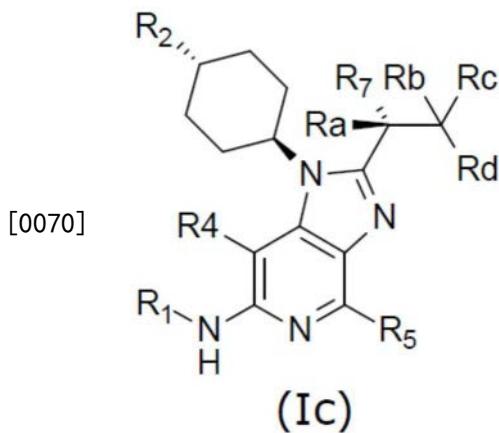
[0065] 在一实施方案中，本发明提供通式(I)化合物；其中式(I)是通式(Ib)



[0067] 其中R₁-R₂、R₄-R₇是如上文所定义,且其中Ra、Rb、Rc及Rd各自独立地选自氢及氘;

[0068] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

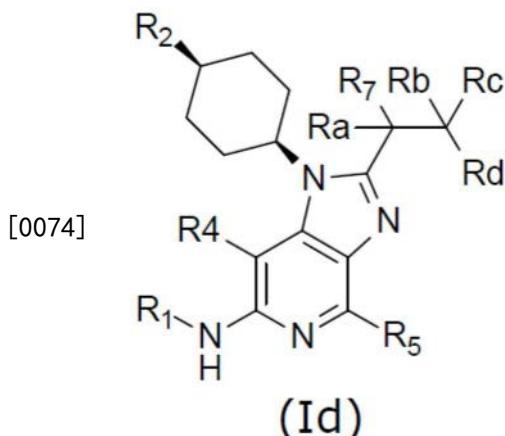
[0069] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中式(I)是通式(Ic)



[0071] 其中R₁-R₂、R₄-R₇是如上文所定义,且其中Ra、Rb、Rc及Rd各自独立地选自氢及氘;

[0072] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

[0073] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中式(I)是通式(Id)



[0075] 其中R₁-R₂、R₄-R₇是如上文所定义,且其中Ra、Rb、Rc及Rd各自独立地选自氢及氘;

[0076] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

[0077] 在一实施方案中,本发明提供如本文所定义的通式(I)化合物;其中

[0078] A表示C₆-环烷基;R₁表示C₁-烷基;R₂表示C₁-烷基,其中所述C₁-烷基被选自R₆的取代基取代;R₃表示C₂-烷基,其中所述C₂-烷基被选自R₇的取代基取代;R₄表示氢;R₅表示氢;R₆

表示氰基;R₇表示羟基;

[0079] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

[0080] 在一实施方案中,本发明提供如本文所定义的通式(I)化合物;其中

[0081] A表示C₆-环烷基;R₁表示任选被一个或多个氘取代的C₁-烷基;R₂表示C₁-烷基,其中所述C₁-烷基被选自R₆的取代基取代;R₃表示C₂-烷基,其中所述C₂-烷基被选自R₇的取代基取代;R₄表示氢;R₅表示氢;R₆表示氰基;R₇表示羟基;

[0082] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

[0083] 认为本文所述两个或更多个实施方案的任何组合皆在本发明的范围内。

[0084] 本发明包括其中R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆及R₇是以如本文别处所述的任何组合进行组合的所有实施方案。

[0085] 在一实施方案中,本发明提供如本文所定义的通式(I)化合物;所述化合物是选自:

[0086] 反式-2-[4-[2-[1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,

[0087] 反式-2-[4-[2-[(1S)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,

[0088] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,

[0089] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(三氘甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,

[0090] 反式-2-[4-[2-[1,2,2,2-四氘-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,

[0091] 顺式-2-[4-[2-[1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈和

[0092] 顺式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈

[0093] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

[0094] 在一实施方案中,本发明提供选自以下的如本文所定义的通式(I)化合物:

[0095] 反式-2-[4-[2-[1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,

[0096] 反式-2-[4-[2-[(1S)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈和

[0097] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈

[0098] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

[0099] 在一实施方案中,本发明提供如本文所定义的通式(I)化合物,其选自以下化合物的氘化形式:

[0100] 反式-2-[4-[2-[1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,

- [0101] 反式-2-[4-[2-[(1S)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈和
- [0102] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈
- [0103] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。
- [0104] 本发明的一实施方案提供式(I)化合物,所述化合物是反式-2-[4-[2-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈
- [0105] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。
- [0106] 本发明的一实施方案提供式(I)化合物,所述化合物是反式-2-[4-[2-[(1S)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。
- [0107] 本发明的一实施方案提供式(I)化合物,所述化合物是反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。
- [0108] 本发明的一实施方案提供式(I)化合物,所述化合物是反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(三氘甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。
- [0109] 本发明的一实施方案提供式(I)化合物,所述化合物是反式-2-[4-[2-[1,2,2,2-四氘-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。
- [0110] 本发明的一实施方案提供式(I)化合物,所述化合物是顺式-2-[4-[2-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。
- [0111] 本发明的一实施方案提供式(I)化合物,所述化合物是顺式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。
- [0112] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是:
- [0113] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,
- [0114] 或其药学上可接受的盐。
- [0115] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是:
- [0116] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,
- [0117] 或其水合物。
- [0118] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是:
- [0119] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,
- [0120] 或其溶剂合物。
- [0121] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是反式-2-[4-

[*(1R)*-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-*c*]吡啶-1-基]环己基]乙腈的氘化形式。

[0122] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是:

[0123] 反式-2-[4-[2-[*(1R)*-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-*c*]吡啶-1-基]环己基]乙腈。

[0124] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是:

[0125] 反式-2-[4-[2-[*(1R)*-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-*c*]吡啶-1-基]环己基]乙腈丙二酸盐。

[0126] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是:

[0127] 反式-2-[4-[2-[*(1R)*-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-*c*]吡啶-1-基]环己基]乙腈乙醇酸盐。

[0128] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是:

[0129] 反式-2-[4-[2-[*(1R)*-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-*c*]吡啶-1-基]环己基]乙腈L-酒石酸盐。

[0130] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是:

[0131] 反式-2-[4-[2-[*(1R)*-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-*c*]吡啶-1-基]环己基]乙腈L-苹果酸盐。

[0132] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是:

[0133] 反式-2-[4-[2-[*(1R)*-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-*c*]吡啶-1-基]环己基]乙腈硫酸盐。

[0134] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是:

[0135] 反式-2-[4-[2-[*(1R)*-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-*c*]吡啶-1-基]环己基]乙腈盐酸盐。

[0136] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是:

[0137] 反式-2-[4-[2-[*(1R)*-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-*c*]吡啶-1-基]环己基]乙腈琥珀酸盐。

[0138] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是:

[0139] 反式-2-[4-[2-[*(1R)*-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-*c*]吡啶-1-基]环己基]乙腈草酸盐。

[0140] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是:

[0141] 反式-2-[4-[2-[*(1R)*-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-*c*]吡啶-1-基]环己基]乙腈富马酸盐。

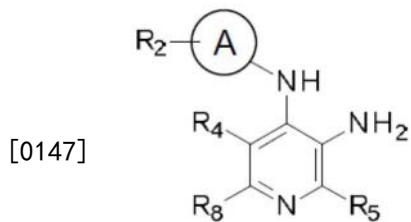
[0142] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是:

[0143] 反式-2-[4-[2-[*(1R)*-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-*c*]吡啶-1-基]环己基]乙腈1,5-萘二磺酸盐。

[0144] 在一实施方案中,本发明提供通式(I)化合物;其中所述化合物是:

[0145] 反式-2-[4-[2-[*(1R)*-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-*c*]吡啶-1-基]环己基]乙腈DL-苦杏仁酸盐。

[0146] 在一个或多个实施方案中,本发明提供通式(II)的中间体



(II)

[0148] 其中

[0149] A表示C₆-环烷基；

[0150] R₂表示C₁-烷基，其中所述C₁-烷基被选自R₆的取代基取代；且其中所述C₁-烷基任选被一个或多个氘取代；

[0151] R₄表示氢或氘；

[0152] R₅表示氢或氘；

[0153] R₆表示氰基；

[0154] R₈表示卤素；

[0155] 或其盐；

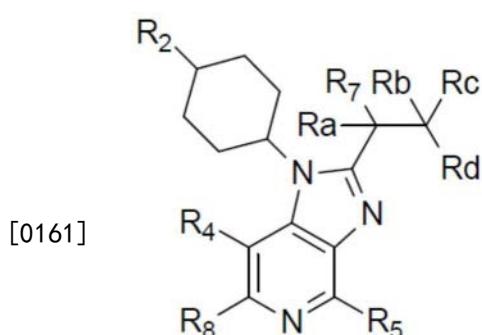
[0156] 其用于制备通式(I)化合物。

[0157] 在一实施方案中，本发明提供选自以下的中间体：

[0158] 2-[反式-4-[(5-氨基-2-氯吡啶-4-基)氨基]环己基]乙腈

[0159] 及其盐。

[0160] 在一个或多个实施方案中，本发明提供通式(III)的中间体：



(III)

[0162] 其中

[0163] R₂表示C₁-烷基，其中所述C₁-烷基被选自R₆的取代基取代；且其中所述C₁-烷基任选被一个或多个氘取代；

[0164] R₄表示氢或氘；

[0165] R₅表示氢或氘；

[0166] R₆表示氰基；

[0167] R₇表示羟基；

[0168] Ra、Rb、Rc及Rd各自独立地选自氢及氘；

[0169] R₈表示卤素；

- [0170] 或其盐；
- [0171] 其用于制备通式(Ia)的化合物。
- [0172] 在一实施方案中，本发明提供选自以下的中间体：
- [0173] 2-[反式-4-[6-氯-2-(1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]-乙腈，
- [0174] 2-[反式-4-[6-氯-2-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈和
- [0175] 反式-2-[4-[6-氯-2-(1,2,2,2-四氘-1-羟基-乙基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈
- [0176] 或其盐。
- [0177] 在一实施方案中，本发明涉及自化合物(III)制备化合物(Ia)的方法，其包含在钯催化剂的存在下胺化化合物(III)，
- [0178] 其中
- [0179] R₁表示C₁-烷基，其中所述C₁-烷基任选被一个或多个氘取代；
- [0180] R₂表示C₁-烷基，其中所述C₁-烷基被选自R₆的取代基取代；且其中所述C₁-烷基任选被一个或多个氘取代；
- [0181] R₄表示氢或氘；
- [0182] R₅表示氢或氘；
- [0183] R₆表示氰基；
- [0184] R₇表示羟基；
- [0185] Ra、Rb、Rc及Rd各自独立地选自氢及氘；
- [0186] R₈表示卤素；
- [0187] 或其盐。
- [0188] 在一实施方案中，本发明涉及自化合物(III)制备化合物(Ia)的方法，其包含在钯催化剂的存在下胺化化合物(III)，其中钯催化剂包括BrettPhos、tBuBrettPhos或tBuXPhos配体。
- [0189] 在一实施方案中，本发明涉及自化合物(III)制备化合物(Ia)的方法，其包含在钯催化剂的存在下胺化化合物(III)，其中钯催化剂选自BrettPhos Pd G1、BrettPhos Pd G3、tBuBrettPhos Pd G3、tBuXPhos Pd G1或tBuXPhos Pd G3。
- [0190] 在一实施方案中，本发明涉及自化合物(III)制备化合物(Ia)的方法，其包含在钯催化剂的存在下胺化化合物(III)，其中钯催化剂是自钯源(例如PdCl₂、Pd₂(dba)₃或Pd(OAc)₂)与BrettPhos、tBuBrettPhos或tBuXPhos配体的组合制备。
- [0191] 式(I)化合物可以直接通过自有机溶剂浓缩，或通过自有机溶剂或所述溶剂与可为有机或无机的共溶剂(例如水)的混合物结晶或重结晶以结晶形式获得。晶体可以基本上无溶剂形式或作为溶剂合物(例如水合物)分离。本发明覆盖所有结晶形式(例如多晶形物及假多晶形物)以及其混合物。
- [0192] 式(I)化合物包含不对称取代(手性)的碳原子，其导致异构形式(例如对映异构体及非对映异构体)的存在。本发明涉及所有此等异构体，其是呈光学纯形式或其混合物形式(例如外消旋混合物或部分纯化的光学混合物)。本发明的化合物及中间体的纯的立体异构

形式可通过本领域内已知的方法获得。不同异构形式可通过物理分离方法例如选择性结晶及色谱技术(例如使用手性固定相的高压液相色谱)分离。对映异构体可通过选择性结晶其可与光学活性酸形成的其非对映异构盐彼此分离。光学纯化化合物可随后自所述纯化非对映异构盐释放。对映异构体亦可通过形成非对映异构衍生物来拆分。或者,对映异构体可通过使用手性固定相的色谱技术来分离。纯立体异构形式亦可衍生自适当起始材料的相应纯立体异构形式,条件是反应以立体选择性或立体特异性方式进行。优选地,若期望特定立体异构体,则所述化合物将通过立体选择性或立体特异性制备方法合成。所述方法将有利地采用手性纯起始材料。

[0193] 此外,当分子中存在双键或完全或部分饱和的环系统时,可形成几何异构体。分离的、纯的或部分纯化的几何异构体或其混合物形式的任何几何异构体皆意欲包括在本发明的范围内。

[0194] 二取代环烷烃(例如二取代环己烷)可形成几何异构体;即顺式-及反式-异构体。顺式-异构体在环的同一侧具有两个取代基,反式-异构体在环的相对侧具有取代基。分离的、纯的或部分纯化的几何异构体或其混合物形式的任何几何异构体皆意欲包括在本发明的范围内。

[0195] 在通式(I)的化合物中,原子可展现其自然同位素丰度,或可以人工方式使一种或多种原子富集具有相同原子序数但原子质量或质量数不同于在自然界中发现的原子质量或质量数的特定同位素。本发明欲包括通式(I)化合物的所有适宜同位素变化形式。例如,氢的不同同位素形式包括¹H、²H及³H,碳的不同同位素形式包括¹²C、¹³C及¹⁴C且氮的不同同位素形式包括¹⁴N及¹⁵N。富集氘(²H)可例如增加活体内半衰期或减少剂量方案,或可提供用作表征生物样品的标准的化合物。同位素富集的通式(I)化合物可通过本领域技术人员熟知的常规技术或通过与本文一般方法及实施例中所述那些类似的方法使用适当同位素富集的试剂和/或中间体来制备。

[0196] 在本发明的一个或多个实施方案中,如上文所定义的式I化合物可用于疗法且特别是可用于治疗例如皮肤病,如增殖性及炎性皮肤病症、银屑病、异位性皮炎、硬皮病、酒渣鼻、皮肤癌、皮炎、疱疹样皮炎、皮肌炎、白癜风、斑秃、接触性皮炎、湿疹、干燥病、鱼鳞癣、荨麻疹、慢性特发性瘙痒症、坏疽性脓皮症、皮肤型红斑狼疮及扁平苔藓;呼吸疾病,如哮喘、慢性阻塞性肺病、肺纤维化、囊性纤维化、鼻炎、细支气管炎、棉屑沉着病、尘肺病、支气管扩张症、过敏性肺炎、肺癌、间皮瘤及结节病;胃肠疾病,如炎性肠病、溃疡性结肠炎、克罗恩病、腹膜后纤维化、乳糜泻及癌症;眼疾病,如重症肌无力、肖格伦综合征、结膜炎、巩膜炎、葡萄膜炎、干眼综合征、角膜炎、虹膜炎;全身性适应症,如狼疮、多发性硬化、类风湿性关节炎、I型糖尿病及糖尿病的并发症、癌症、强直性脊椎炎及银屑病关节炎;癌症,如骨和软组织肿瘤、头颈癌以及其他自身免疫疾病及适应症,其中例如在器官移植中免疫抑制是合乎需要的。

[0197] 在一实施方案中,本发明提供如上文所定义的式I化合物,其用于预防和/或治疗银屑病或异位性皮炎。

[0198] 在一实施方案中,本发明提供如上文所定义的式I化合物,其用于预防和/或治疗异位性皮炎。

[0199] 在一实施方案中,本发明提供预防、治疗或改善免疫系统疾病(例如自身免疫疾

病)的方法,所述方法包含向患有所述疾病中的至少一种的人施用有效量的一种或多种上文通式I化合物任选以及药学上可接受的载体或一种或多种赋形剂,任选与其他治疗活性化合物组合。

[0200] 在一实施方案中,本发明提供预防、治疗或改善银屑病或异位性皮炎的方法,所述方法包含向患有所述疾病中的至少一种的人施用有效量的一种或多种上文通式I化合物任选以及药学上可接受的载体或一种或多种赋形剂,任选与其他治疗活性化合物组合。

[0201] 在一实施方案中,本发明提供预防、治疗或改善异位性皮炎的方法,所述方法包含向患有所述疾病中的至少一种的人施用有效量的一种或多种上文通式I化合物任选以及药学上可接受的载体或一种或多种赋形剂,任选与其他治疗活性化合物组合。

[0202] 在一实施方案中,本发明提供式I的化合物,其用于制备用于预防和/或治疗免疫系统疾病的药物,所述疾病例如为自身免疫疾病,例如银屑病或异位性皮炎。

[0203] 在一实施方案中,本发明提供式I的化合物,其用于制备用于预防和/或治疗免疫系统疾病的药物,所述疾病例如为自身免疫疾病,例如异位性皮炎。

[0204] 在本发明的一个或多个实施方案中,如上文所定义的式I化合物可用作抗炎剂,其能够调节蛋白酪氨酸激酶的JAK家族的蛋白酪氨酸激酶(例如JAK1、JAK2、JAK3或TYK2蛋白酪氨酸激酶)的活性。

[0205] 在一个或多个实施方案中,本发明提供用于治疗疾病的通式(I)化合物,所述疾病对JAK1激酶活性的抑制响应。

[0206] 除可用于人类治疗以外,本发明的化合物亦可用于动物的兽医治疗,所述动物包括哺乳动物,例如马、牛、绵羊、猪、狗及猫。

[0207] 本发明的药物组合物

[0208] 对于在疗法中使用,本发明的化合物通常为药物组合物形式的。因此,本发明涉及包含式(I)化合物、任选以及一种或多种其他治疗活性化合物、以及药学上可接受的赋形剂、溶媒或载体的药物组合物。赋形剂在与组合物的其他成分兼容且对其接受者无害的意义上必须是“可接受的”。

[0209] 适宜地,活性成分占制剂重量的0.0001% - 99.9%。

[0210] 以剂量单位形式,化合物可以适当间隔一天施用一或多次,然而,此始终取决于患者的情况且根据由开业医师所开的处方。适宜地,制剂的剂量单位含有介于0.001mg与1000mg之间、优选介于0.1mg与300mg之间、更优选1-150mg、例如3-100mg的式(I)化合物。

[0211] 本发明化合物的适宜剂量将(尤其)取决于患者的年龄及情况、欲治疗疾病的严重程度及开业医师所熟知的其他因素。化合物可根据不同给药时间表(例如每天、每周或以每月间隔)以口服、非经肠、局部、经皮或真皮内及其他途径施用。一般而言,单一剂量将在0.001mg/kg体重至400mg/kg体重、例如0.1g-4mg/kg的范围内。化合物可以推注形式(即一次施用全部日剂量)或以分开剂量一天两次或更多次施用。

[0212] 在局部治疗的情况下,提及“使用单位”可能较适当,其表示能施用患者且可容易地操纵并包装的单一剂量,其保持为物理上及化学上稳定的单位剂量,包含活性材料本身或其与固体、半固体或液体医药稀释剂或载体的混合物。

[0213] 与局部用途有关的术语“使用单位”意指单位的,即单一剂量,其能以每平方厘米治疗面积0.001微克至1mg且优选0.05微克至0.5mg所关注活性成分的施用形式局部施用患

者。

[0214] 亦设想在某些治疗方案中,以较长间隔,例如每隔一天、每周或甚至以更长间隔施用是有益的。

[0215] 若治疗涉及施用其他治疗活性化合物,则建议在Goodman&Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics,第9版,J.G.Hardman及L.E.Limbird(编辑),McGraw-Hill 1995中查阅所述化合物的可用剂量。

[0216] 可同时或依序施用本发明的化合物与一种或多种其他活性化合物。

[0217] 制剂包括例如适于口服、直肠、非经肠(包括皮下、腹膜内、肌内、关节内及静脉内)、经皮、真皮内、经眼、局部、经鼻、舌下或经颊施用形式的那些。

[0218] 制剂可适宜地以剂量单位形式存在,并通过但不局限于医药业内所熟知的任一方法制备,例如如Remington,The Science and Practice of Pharmacy,第21版,2005中所公开。所有方法皆包括使活性成分与构成一种或多种辅助成分的载体联合的步骤。一般而言,制剂是通过使活性成分与液体载体、半固体载体或微细固体载体或所述的组合均匀且充分地联合,且然后(若需要)使产物成型为期望制剂来制备。

[0219] 适于口服及经颊施用的本发明制剂可呈以下形式:各自含有预定量活性成分的离散单位形式,如胶囊、小药囊、片剂、口香糖或锭剂;粉末剂、颗粒剂或丸剂形式;水性液体或非水性液体中的溶液剂或悬浮剂形式;或凝胶剂、纳米乳剂或微乳剂、水包油乳剂、油包水乳剂或其他分散系统形式。用于水性悬浮剂的适宜分散剂或助悬剂包括合成或天然表面活性剂及增粘剂。活性成分亦可以推注、舐剂(electuary)或糊剂形式施用。

[0220] 片剂可通过将活性成分任选与一种或多种辅助成分压制、模制或冻干来制得。压制片剂可通过在适宜机器中压制呈自由流动形式的活性成分(例如粉末或颗粒)来制备,所述活性成分任选与粘合剂和/或填充剂;润滑剂;崩解剂或分散剂混合。模制片剂可通过在适宜机器中模制经惰性液体稀释剂润湿的粉末状活性成分及适宜载体的混合物来制得。冻干片剂可在冻干机中自原料药的溶液形成。可包括适宜填充剂。

[0221] 用于直肠施用的制剂可呈栓剂形式,其中本发明的化合物与低熔点、水溶性或不可溶固体混合。

[0222] 适于非经肠施用的制剂适宜地包含活性成分的无菌油性或水性制剂,其优选与接受者的血液等渗,例如等渗盐水、等渗葡萄糖溶液或缓冲溶液。此外,制剂可含有共溶剂、增溶剂和/或复合剂。制剂可适宜地通过例如经细菌截留过滤器过滤,将灭菌剂添加至制剂,辐照制剂或加热制剂来灭菌。如例如Encyclopedia of Pharmaceutical Technology,第9卷,1994中所公开的脂质体制剂亦适于非经肠施用。

[0223] 或者,式(I)化合物可以无菌固体制剂形式存在,例如在即将使用之前可轻易地溶解于无菌溶剂中的冻干粉末。

[0224] 经皮制剂可呈硬膏剂、贴片、微针、脂质体或纳米颗粒递送系统或施加至皮肤的其他皮肤制剂的形式。

[0225] 适于经眼施用的制剂可呈活性成分(可为微晶形式的)的无菌水性制剂的形式,例如呈水性微晶悬浮液的形式。亦可使用例如如Encyclopedia of Pharmaceutical Technology,第2卷,1989中所公开的脂质体制剂或生物可降解聚合物系统来提供用于经眼施用的活性成分。

[0226] 适于局部(例如皮肤、真皮内或经眼)施用的制剂包括液体或半固体制剂,例如擦剂、洗剂、凝胶剂、施用物(applicants)、喷雾剂、泡沫剂、成膜系统、微针、微乳剂或纳米乳剂、水包油或油包水乳剂,例如乳膏、软膏剂或糊剂;或溶液剂或悬浮剂,例如滴剂。

[0227] 对于局部施用,式(I)化合物通常以组合物的0.001重量%至20重量%的量存在,例如0.01%至约10%,但也可以高达组合物的约100%的量存在。

[0228] 适于经鼻或经颊施用的制剂包括粉末剂、自抛射及喷雾制剂,例如气雾剂及雾化剂。此类制剂更详细地公开于例如以下各项中:Modern Pharmaceutics,第2版,G.S.Banker及C.T.Rhodes(编辑),第427-432页,Marcel Dekker,New York;Modern Pharmaceutics,第3版,G.S.Banker及C.T.Rhodes(编辑),第618-619页及第718-721页,Marcel Dekker,New York及Encyclopedia of Pharmaceutical Technology,第10卷,J.Swarbrick及J.C.Boylan(编辑),第191-221页,Marcel Dekker,New York。

[0229] 除上文所提及的成分以外,式(I)化合物的制剂可包括一种或多种额外成分,例如稀释剂、缓冲剂、矫味剂、着色剂、表面活性剂、增稠剂、渗透增强剂、增溶剂、防腐剂(例如羟苯甲酸甲酯(包括抗氧化剂))、乳化剂等。

[0230] 制备方法

[0231] 本发明化合物可以合成领域技术人员熟知的多种方式来制备。举例而言,式(I)化合物可使用下文所概述的反应及技术以及合成有机化学领域内已知的方法或如本领域技术人员所了解的其变化形式来制备。优选方法包括(但不限于)下文所述的那些。反应是在适合所采用的试剂及材料且适于实现转变的溶剂中实施。另外,在下文所述的合成方法中,应理解选择所有提出的反应条件(包括溶剂的选择、反应气氛、反应温度、实验的持续时间及后处理程序)为所述反应的标准条件,此应由本领域技术人员容易地认识到。并非落在给定类别中的所有化合物皆可与一些所述方法中需要的一些反应条件兼容。对与反应条件兼容的取代基的此等限制对于本领域技术人员将容易地显而易见的且可使用替代方法。若需要,可使用合成有机化学家所熟知的标准方法来纯化本发明的化合物或任何中间体,例如“Purification of Laboratory Chemicals”,第6版.2009,W.Amarego及C.Chai,Butterworth-Heinemann中所述的方法。起始材料是可商业购得的已知化合物,或其可通过本领域技术人员熟知的常规合成方法来制备。

[0232] 一般方法、制备及实施例

[0233] 起始材料可商业购得或在文献中已知。试剂及溶剂可商业购得且除非另有说明,否则未经纯化即使用。色谱纯化是使用具有预填充REVELERIS[®]二氧化硅快速柱的Grace REVELERIS[®]系统或Teledyne Isco CombiFlash[®]Rf系统或手动使用硅胶60来实施。以300MHz、400MHz或600MHz在Bruker仪器上记录¹H NMR光谱,其中四甲基硅烷($\delta=0.00\text{ppm}$)作为内标准品。化学位移值(δ ,以ppm计)是相对于内部四甲基硅烷($\delta=0.00$)标准引述。在定义双峰(d)、三重峰(t)、四重峰(q)或未定义(m)的情形中,除非已列举范围,否则多重峰的值大约取中间点。(br)指示宽峰,而(s)指示单峰。

[0234] 通篇使用以下缩写:

[0235] AcOH 乙酸

[0236] Boc 叔丁氧基羰基

[0237] Cbz 苯基氧基羰基

[0238]	DCM	二氯甲烷
[0239]	dba	二亚苄基丙酮
[0240]	DIPEA	N,N-二异丙基乙胺
[0241]	DMF	N,N-二甲基甲酰胺
[0242]	DMP	戴斯-马丁过碘烷 (Dess-Martin periodinane)
[0243]	DMSO	二甲基亚砜
[0244]	DSC	差示扫描量热法
[0245]	ee	对映异构体过量
[0246]	Et	乙基
[0247]	EtOAc	乙酸乙酯
[0248]	EtOH	乙醇
[0249]	h	小时
[0250]	HATU	1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐
[0251]		
[0252]	HPLC	高效液相色谱
[0253]	HRMS	高分辨率质谱
[0254]	L	公升
[0255]	m	毫
[0256]	MeCN	乙腈
[0257]	MeOH	甲醇
[0258]	min	分钟
[0259]	m.p.	熔点
[0260]	Ms	甲烷磺酰基
[0261]	MS	质谱法或质谱
[0262]	NMR	核磁共振波谱
[0263]	rt	室温,即18-30℃且通常20℃
[0264]	RuPhos	2-二环己基膦基-2',6'-二异丙氧基联苯
[0265]	SFC	超临界流体色谱
[0266]	TBS	叔丁基二甲基硅基
[0267]	TFA	三氟乙酸
[0268]	THF	四氢呋喃
[0269]	T _j	加热夹套的温度
[0270]	TLC	薄层色谱
[0271]	tr	保留时间
[0272]	Tr	反应混合物的温度
[0273]	UHPLC	超高效液相色谱
[0274]	UPLC	超高效液相色谱
[0275]	Xantphos	4,5-双(二苯基膦基)-9,9-二甲基咁吨
[0276]	制备型HPLC	

[0277] 酸性方法

[0278] 装置:具有Gilson UV/VIS-155检测器的Gilson HPLC系统

[0279] 柱:Waters SunFire™ Prep C18 5 μ m OBD 19×250mm

[0280] 试剂: (A) 0.1% 甲酸-水溶液; (B) MeCN

[0281] 泵:

[0282] -流速:30mL/min

时间[min]	[%]B
0.0	10
2.0	10
9.0	100
13.0	100

[0284] 碱性方法

[0285] 装置:具有Gilson UV/VIS-155检测器的Gilson HPLC系统

[0286] 柱:Waters XBridge® Prep C18 5 μ m OBD 19×250mm

[0287] 试剂: (A) 50mM NH₄HCO₃溶液; (B) MeCN

[0288] 泵:

[0289] -流速:30mL/min

时间[min]	[%]B
0.0	0
2.0	0
9.0	60
10.0	100
13.0	100

[0291] 分析型LC-MS

[0292] 方法A

[0293] 装置:Shimadzu UHPLC 2020

[0294] 柱:Acquity UPLC HSS C18, 1.8 μ m, 2.1×50mm

[0295] 试剂:-甲酸≥98%, Sigma-Aldrich

[0296] -用于HPLC UV/梯度级的乙腈,Baker

[0297] -纯二甲亚砜(DMSO), Chempur

[0298] -用于HPLC的纯化水

[0299] HPLC条件:-波长:214nm±4nm, 254nm±4nm

[0300] -流速:0.5ml/min

[0301] -柱温度:25°C

[0302] -自动取样器温度:20°C

[0303] -注射体积:3.0 μ l

[0304] -分析时间:6分钟

[0305] -洗脱:梯度

[0306]	时间[min]	流动相A[%]	流动相B[%]	流速[ml/min]
	0.0	95	5	0.5
	4.0	5	95	0.5
	5.0	5	95	0.5
	5.2	95	5	0.5
	6.0	95	5	0.5

[0307] 流动相A:0.1%v/v甲酸的水溶液

[0308] 流动相B:0.1%v/v甲酸的乙腈溶液

[0309] 用于注射器洗涤的溶液:20%MeOH

[0310] MS条件:

[0311] -质量范围:100-1000m/z

[0312] -离子化:交替

[0313] -扫描时间:0.5s

[0314] 方法B

[0315] 使用具有 $2.1 \times 50\text{mm}$ Acquity UPLC®HSS T3 $1.8\mu\text{m}$ 柱的Waters Acquity UPLC系统及以正离子化电喷雾模式操作的Acquity SQ检测器实施UPLC-MS分析。流动相由对于缓冲液A的在 10mM 乙酸铵水溶液中的0.1%甲酸和对于缓冲液B的乙腈中的0.1%甲酸组成。在 $1.2\text{mL}/\text{min}$ 的流速及 60°C 的柱温度下使用经1.4分钟的二元梯度(A:B 95:5→5:95)。

[0316] 方法C

[0317] 使用在 254nm 下具有UV检测的Waters Acquity UPLC系统及以正离子化电喷雾模式操作的Waters LCT Premier XE高分辨TOF质谱仪实施具有高分辨质谱的UPLC-MS分析。使用与方法B中相同的柱及流动相A及B,但具有较慢梯度(经4.8分钟A:B 99:1→1:99; $0.7\text{mL}/\text{min}$;柱温度 40°C)。

[0318] 方法D

[0319] LC-MS:使用电喷雾离子化及大气压化学离子化在Shimadzu LCMS-2010EV光谱仪上获得质谱;柱:Acquity BEH C18 ($50\text{mm} \times 2.1\text{mm}$, $1.7\mu\text{m}$) ;流动相:A:0.1%于水中的甲酸;B:0.1%于乙腈中的甲酸;梯度:时间(min)/%B:0/2、0.2/2、2.3/98、3.4/98、3.41/2、3.5/2;柱流速: $0.8\text{mL}/\text{min}$ 。

[0320] 方法E

[0321] LC-MS:使用电喷雾离子化及大气压化学离子化在Shimadzu LCMS-2010EV光谱仪上获得质谱;柱:Acquity BEH C18 ($50\text{mm} \times 2.1\text{mm}$, $1.7\mu\text{m}$) ;流动相:A:0.1%于水中的甲酸;B:0.1%于乙腈中的甲酸;梯度时间(min)/%B:0/3、0.4/3、2.5/98、3.4/98、3.5/3、4/3;柱温度: 35°C ,流速: $0.6\text{mL}/\text{min}$ 。

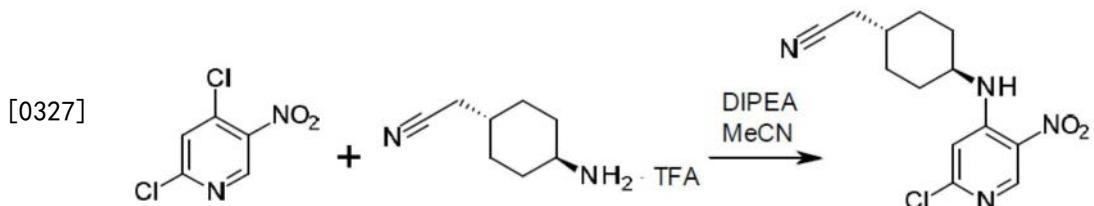
[0322] 分析型手性固定相SFC

[0323] 使用具有Phenomenex Lux® $3\mu\text{m}$ 纤维素-4 ($150 \times 4.6\text{mm}$) 柱的Waters UPC2 SFC仪器实施手性固定相SFC分析。使用等度条件,其中流动相由 $\text{CO}_2:\text{MeOH}$ 80:20组成且流速为 $3\text{mL}/\text{min}$ 。通过对UV峰面积进行积分测定分析物的对映异构比。

[0324] 中间体

[0325] 中间体1

[0326] 2-[反式-4-[(2-氯-5-硝基吡啶-4-基)氨基]环己基]乙腈



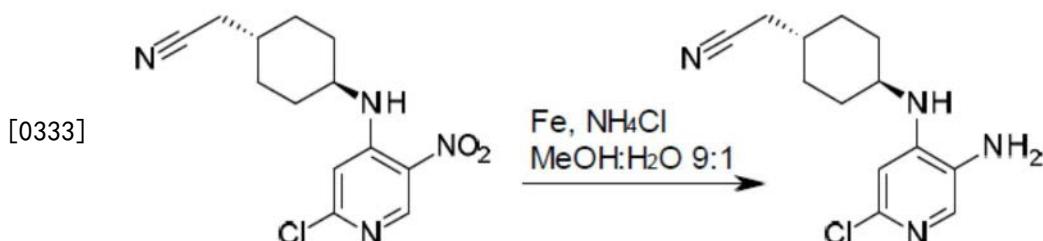
[0328] 将反式-4-(氰基甲基)环己基三氟乙酸铵(Li, Y.-L.等人, US2014/0121198)(26.7g, 105.8mmol)及2,4-二氯-5-硝基吡啶(22.4g, 116.3mmol)于无水乙腈中的溶液在冰浴中冷冻，并逐滴添加N,N-二异丙基乙胺(55.3mL, 317mmol)。将所得混合物在rt下搅拌20小时。将反应混合物用NaHCO₃饱和水溶液稀释并用DCM(3×500mL)萃取。经Na₂SO₄干燥合并的有机层，过滤，并在真空下蒸发。将粗产物与己烷、乙醚及水一起研磨，提供呈黄色固体状的标题化合物(29.8g, 95%)。

[0329] UPLC-MS(方法A): $t_R = 3.41$ 分钟, $m/z = 294.9$ ($M+H^+$)。

[0330] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 8.87(s, 1H), 8.03(d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.30(s, 1H), 3.73(dt, $J = 11.5, 7.7, 4.2$ Hz, 1H), 2.50(d, $J = 4.2$ Hz, 2H) 2.04-1.91(m, 2H), 1.86-1.75(m, 2H), 1.64(ddd, $J = 11.6, 5.7, 3.0$ Hz, 1H), 1.53-1.39(m, 2H), 1.31(ddd, $J = 25.4, 12.9, 4.2$ Hz, 2H)。

[0331] 中间体2

[0332] 2-[反式-4-[(5-氨基-2-氯吡啶-4-基)氨基]环己基]乙腈



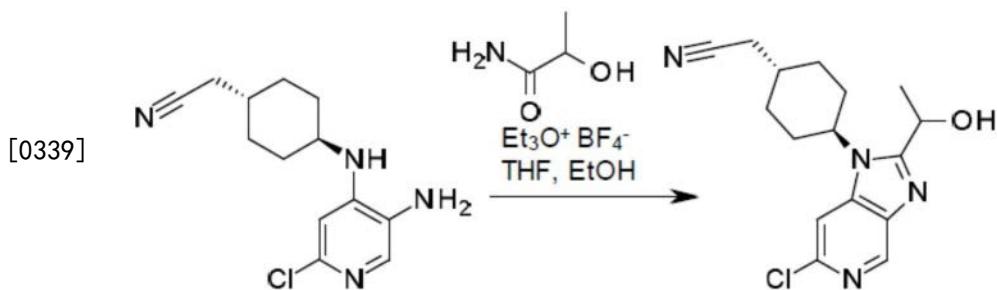
[0334] 向中间体1(3.5g, 11.9mmol)于MeOH:水9:1(99mL)中的溶液添加铁(1.86g, 33.2mmol)及氯化铵(1.91g, 35.6mmol)。将所得混合物在回流下搅拌5小时。冷却至rt后，通过经由硅藻土塞过滤去除固体。将滤饼用MeOH洗涤并将滤液浓缩以去除挥发物。用NaHCO₃饱和水溶液(50mL)稀释残余物并用EtOAc(3×30mL)萃取。经Na₂SO₄干燥有机相并在真空中浓缩，从而得到呈棕色固体状的标题化合物(3.0g, 95%)。

[0335] UPLC-MS(方法A): $t_R = 1.85$ 分钟, $m/z = 265$ ($M+H^+$)。

[0336] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 7.37(s, 1H), 6.37(s, 1H), 5.38(d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 4.74(s, 2H), 2.48(d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 2.06-1.92(m, 2H), 1.87-1.74(m, 2H), 1.71-1.57(m, 1H), 1.33-1.16(m, 5H)。

[0337] 中间体3

[0338] 2-[反式-4-[6-氯-2-(1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]-乙腈



[0340] 将三乙基氧鎓四氟硼酸盐 (9.3g, 49.1mmol) 及乳酰胺 (4.4g, 49.1mmol) 于THF (40mL) 中的混合物在rt下搅拌2小时 (澄清溶液)。将此溶液添加至中间体2 (2.6g, 9.8mmol) 于EtOH (70mL) 中的溶液。将所获得的混合物加热至回流保持18小时。将反应混合物浓缩并将残余物在水 (40mL) 与EtOAc (25mL) 之间分配。利用EtOAc ($3 \times 20\text{mL}$) 萃取水相。经 Na_2SO_4 干燥有机相并在真空中浓缩。柱色谱 (20% 于DCM中的EtOAc及10% 于DCM中的MeOH作为洗脱液) 提供半固体, 将其与乙醚一起研磨, 从而得到呈红色固体状的标题化合物 (2.3g, 73%)。

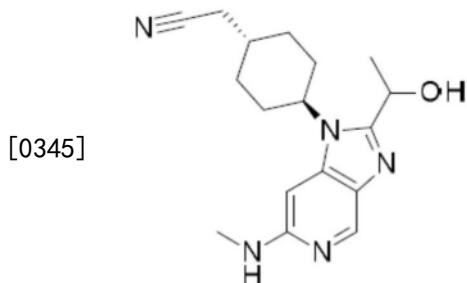
[0341] UPLC-MS (方法A) : $t_{\text{R}} = 2.52$ 分钟, $m/z = 319 (\text{M}+\text{H}^+)$ 。

[0342] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 8.70 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 5.81 (d, $J = 6.8\text{Hz}$, 1H), 5.10 (p, $J = 6.5\text{Hz}$, 1H), 4.74-4.60 (m, 1H), 2.55 (d, $J = 6.1\text{Hz}$, 2H), 2.39-2.17 (m, 2H), 2.16-2.03 (m, 1H), 1.98-1.84 (m, 4H), 1.60 (d, $J = 6.5\text{Hz}$, 3H), 1.38-1.22 (m, 2H)。

实施例

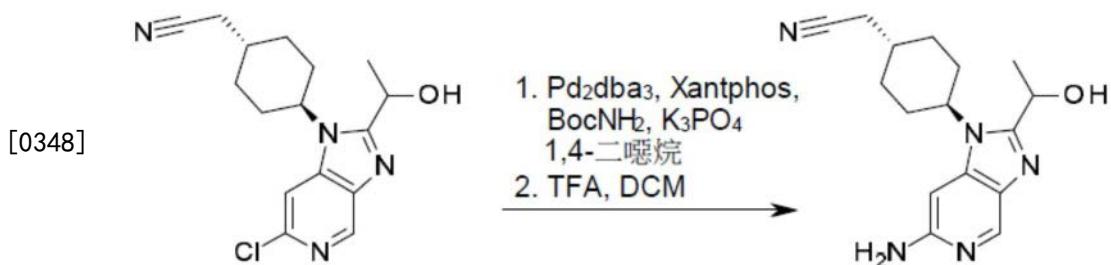
[0343] 实施例1

[0344] 反式-2-[4-[2-[1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈 (化合物1)



[0346] 步骤1:

[0347] 2-[反式-4-[6-氨基-2-(1-羟基乙基)-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]-乙腈



[0349] 将中间体3 (0.20g, 0.63mmol)、氨基甲酸叔丁酯 (0.15g, 1.25mmol)、三-(二亚苄基丙酮) 二钯 (0) (0.06g, 0.06mmol)、4,5-双(二苯基膦基)-9,9-二甲基呫吨 (0.11g,

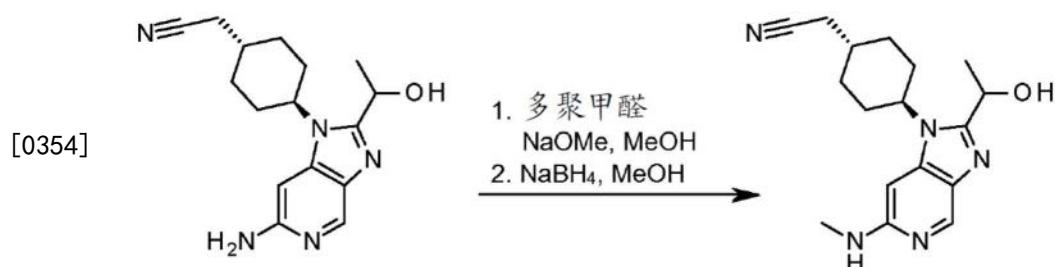
0.19mmol) 及磷酸三钾(0.31g, 1.44mmol) 在1,4-二噁烷(15mL) 中混合。用氩使所获得混合物脱气20分钟并然后在130℃下且在微波辐照下加热45分钟。将混合物通过硅藻土塞过滤, 用MeOH/DCM(1:9) 洗涤滤饼并将滤液浓缩。由于微波反应器的体积限制, 使用相同量及条件将此反应再重复四次。将所获得的残余物合并。短柱色谱(2%于DCM中的MeOH作为洗脱液) 提供粗混合物(0.7g), 将其溶解于DCM(15mL) 中。向溶液逐滴添加TFA(1.3mL, 17.5mmol)。在室温下将所获得的混合物搅拌24小时。在真空中浓缩混合物。将残留物溶解于DCM(15mL) 中并用NaHCO₃水溶液(5mL) 洗涤。利用DCM(5×15mL) 萃取水相。经Na₂SO₄干燥有机相并在真空中浓缩。柱色谱(梯度, 自MeOH:DCM 4:96至7.5M NH₃在MeOH:DCM 5:95中) 提供呈黄色泡沫状的标题化合物(0.195g, 21%)。

[0350] UPLC-MS(方法A): $t_R = 1.72$ 分钟, $m/z = 300$ ($M+H^+$)。

[0351] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ8.26(d, $J=0.9$ Hz, 1H), 6.66(d, $J=1.0$ Hz, 1H), 5.59(d, $J=6.7$ Hz, 1H), 5.39(s, 2H), 4.96(p, $J=6.6$ Hz, 1H), 4.62-4.47(m, 1H), 2.57(d, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.23-2.06(m, 2H), 2.01-1.72(m, 5H), 1.54(d, $J=6.5$ Hz, 3H), 1.40-1.22(m, 2H)。

[0352] 步骤2:

[0353] 反式-2-[4-[2-[1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈



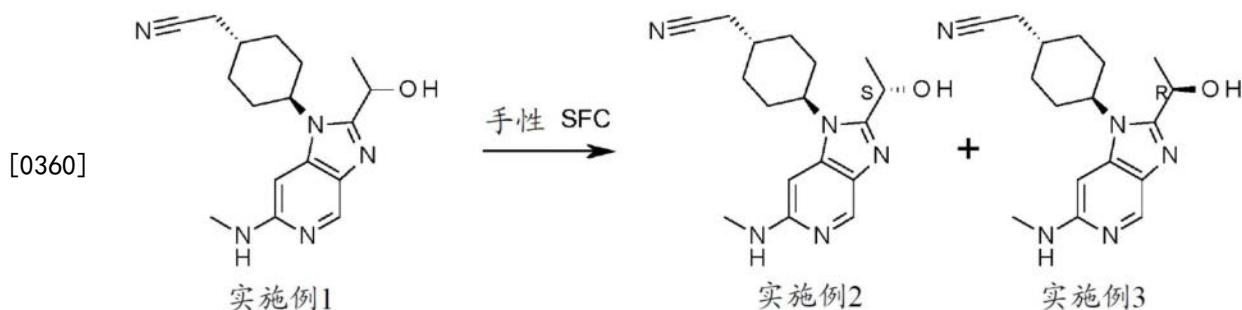
[0355] 向步骤1的产物(0.195g, 0.65mmol)于甲醇(5mL)中的溶液添加多聚甲醛(0.078g, 2.61mmol)及甲醇钠(0.176g, 3.26mmol)。将所获得的混合物加热至回流。2小时后, 将混合物冷却至0℃并添加硼氢化钠(0.099g, 2.61mmol)。将所得的混合物在回流下加热1小时。冷却至rt后, 通过小心地添加NaHCO₃饱和水溶液(10mL)将反应淬灭。用EtOAc(3×10mL)萃取水相。经Na₂SO₄干燥有机相并在真空中浓缩。柱色谱(4%至10%于DCM中的MeOH作为洗脱液) 提供呈白色泡沫固体状的标题化合物(0.152g, 76%)。

[0356] HPLC-MS(方法C): $t_R = 1.67$ 分钟, $m/z = 314.1939$ ($M+H^+$)。

[0357] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ8.34(d, $J=0.9$ Hz, 1H), 6.48(d, $J=0.9$ Hz, 1H), 5.90(q, $J=4.9$ Hz, 1H), 5.59(d, $J=6.6$ Hz, 1H), 4.96(p, $J=6.6$ Hz, 1H), 4.61-4.50(m, 1H), 2.80(d, $J=4.9$ Hz, 3H), 2.56(d, $J=6.2$ Hz, 2H), 2.30-2.11(m, 2H), 1.98-1.82(m, 5H), 1.55(d, $J=6.5$ Hz, 3H), 1.39-1.23(m, 2H)。

[0358] 实施例2及3

[0359] 反式-2-[4-[2-[(1S)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(化合物2)及反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(化合物3)



[0361] 使用以下条件通过手性固定相SFC分离实施例1的对映异构体(166mg)：

[0362]

柱	Amy-C (20×250mm, 5μm)
柱温度	40℃
流速	50mL/min
背压调节器	125巴 (bar)
检测器波长	228nm
注射体积/样品质量	300μL/12mg
洗脱液(等度)	30:70MeOH:CO ₂ +0.1% v/v NH ₃

[0363] 通过与自(R)-乳酰胺制备的(R)对映异构体的样品比较确立绝对构型,参见下文实施例3(替代制备)。

[0364] 实施例2(化合物2)

[0365] 产量:73mg,>98%ee

[0366] UPLC-MS(方法C): $t_R=1.67$ 分钟, $m/z=314.1908(M+H^+)$ 。

[0367] ^1H NMR(300MHz,DMSO-d₆) 88.33(d,J=0.8Hz,1H),6.47(d,J=1.0Hz,1H),5.89(q,J=5.0Hz,1H),5.58(d,J=6.7Hz,1H),4.96(p,J=6.5Hz,1H),4.63-4.47(m,1H),2.79(d,J=5.0Hz,3H),2.55(d,J=6.1Hz,2H),2.30-2.10(m,2H),2.01-1.76(m,5H),1.54(d,J=6.4Hz,3H),1.40-1.20(m,2H)。

[0368] 实施例3(化合物3)

[0369] 产量:67mg,>98%ee

[0370] UPLC-MS(方法C): $t_R=1.67$ 分钟, $m/z=314.1975(M+H^+)$ 。

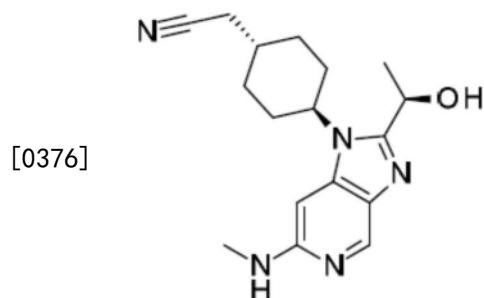
[0371] ^1H NMR(300MHz,DMSO-d₆) 88.33(d,J=0.9Hz,1H),6.47(d,J=1.1Hz,1H),5.89(q,J=4.9Hz,1H),5.58(d,J=6.5Hz,1H),4.96(p,J=6.4Hz,1H),4.63-4.46(m,1H),2.79(d,J=5.0Hz,3H),2.55(d,J=6.1Hz,2H),2.29-2.11(m,2H),2.00-1.77(m,5H),1.54(d,J=6.5Hz,3H),1.39-1.19(m,2H)。

[0372] ^1H NMR(600MHz,DMSO-d₆) 88.33(d,J=0.9Hz,1H),6.48(d,J=1.0Hz,1H),5.90(q,J=5.0Hz,1H),5.59(d,J=6.7Hz,1H),4.96(p,J=6.6Hz,1H),4.55(tt,J=12.3,4.0Hz,1H),2.79(d,J=5.0Hz,3H),2.55(d,J=6.4Hz,2H),2.20(qdd,J=12.8,10.4,3.7Hz,2H),1.93(ddd,J=13.1,6.3,3.2Hz,2H),1.89-1.86(m,2H),1.86-1.84(m,1H),1.54(d,J=6.5Hz,3H),1.30(qdt,J=12.3,7.6,3.6Hz,2H)。

[0373] ^{13}C NMR(151MHz,DMSO-d₆) δ155.5,155.4,141.3,139.2,133.3,119.5,86.4,61.9,54.0,32.9,30.7,29.1,28.8,28.8,22.9,21.5。

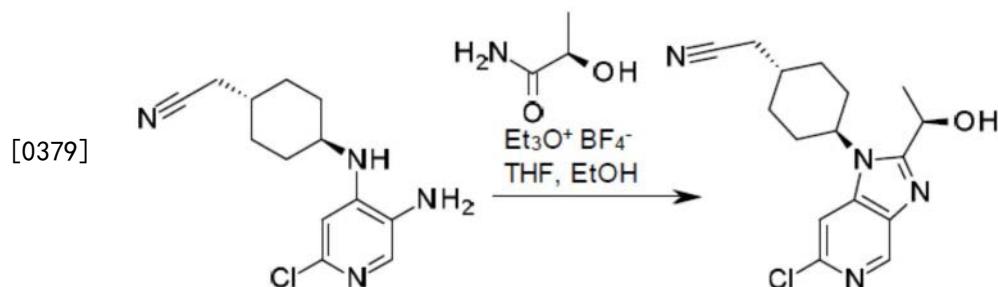
[0374] 实施例3(替代制备No.1)

[0375] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(化合物3)



[0377] 步骤1

[0378] 2-[反式-4-[6-氯-2-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈



[0380] 在氩下在100mL螺纹帽小瓶中装填三乙基氧鎓四氟硼酸盐(8.00g, 42.1mmol)及无水THF(30mL)。向白色悬浮液中一次性添加(R)-乳酰胺(3.87g, 42.1mmol)。在rt下搅拌所得溶液。约6分钟后,发生弱的放热反应并将反应容器在水浴中冷却。在rt下2小时后,将此溶液添加至中间体2(2.23g, 8.42mmol)于无水乙醇(45mL)中的悬浮液中,并将所得溶液在80℃下搅拌过夜。蒸发挥发物并用碳酸氢钠饱和水溶液(50mL)处理残余物。用EtOAc(3×80mL)萃取混合物,并将合并的有机相用盐水(50mL)洗涤,经硫酸钠干燥并过滤。蒸发挥发物提供残余物(13.5g),使用快速色谱(DCM:MeOH 98:2至95:5)将其纯化,提供棕色泡沫状物(1.92g)。将其与醚(20mL)一起研磨,提供呈固体状的标题化合物(1.62g, 57%)。

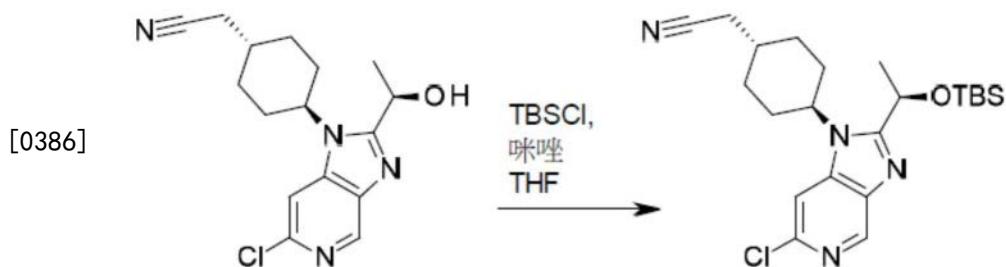
[0381] UPLC-MS(方法B): $t_R = 0.52$ 分钟, $m/z = 319.2$ ($M+H^+$)。

[0382] ^1H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 8.69 (d, $J = 0.8\text{Hz}$, 1H), 8.00 (d, $J = 0.9\text{Hz}$, 1H), 5.80 (d, $J = 6.8\text{Hz}$, 1H), 5.10 (p, $J = 6.5\text{Hz}$, 1H), 4.74-4.59 (m, 1H), 2.54 (d, $J = 6.4\text{Hz}$, 2H), 2.38-2.16 (m, 2H), 2.17-2.00 (m, 1H), 1.99-1.81 (m, 4H), 1.59 (d, $J = 6.5\text{Hz}$, 3H), 1.41-1.18 (m, 2H)。

[0383] 标题化合物的绝对构型通过单晶X-射线绕射来确认。

[0384] 步骤2

[0385] 2-[4-[2-[(1R)-1-[叔丁基(二甲基)硅基]氧基乙基]-6-氯-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈



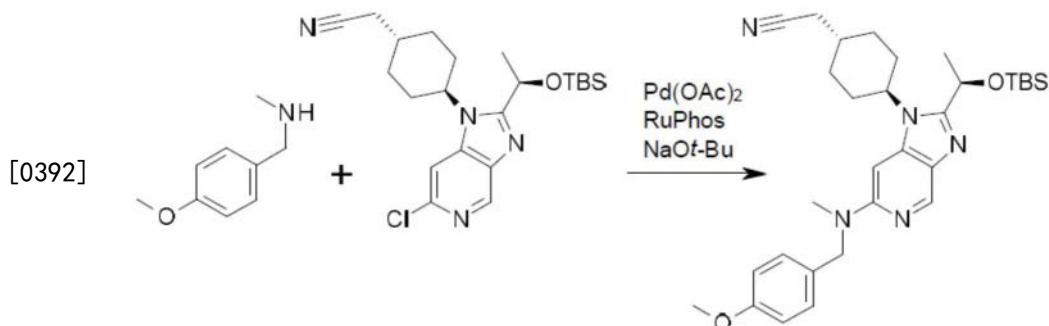
[0387] 将步骤1的产物(2.47g, 7.75mmol)于THF(35mL)中的溶液在冰浴中冷却并添加咪唑(791mg, 11.6mmol)。5分钟后, 添加TBSCl(1.28g, 8.52mmol)于THF(11mL)中的溶液并移除冰浴。在rt下5小时后, 使混合物升温至45°C, 并在此温度下搅拌过夜。为实现完全转化, 添加另一份咪唑(791mg, 11.6mmol)及TBSCl(1.28g, 8.52mmol)于THF(5mL)中的溶液。将混合物在45°C下再搅拌24小时并倾倒至盐水(35mL)及水(35mL)的混合物中。将其用EtOAc(2×80mL)萃取, 用盐水洗涤有机层, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并蒸发。通过快速色谱(DCM:EtOAc 90:10至80:20)纯化残余物, 提供呈固体状的标题化合物(2.95g, 83%)。

[0388] UPLC-MS(方法B): $t_R = 0.92$ 分钟, $m/z = 433.3$ (M+H⁺)。

[0389] ¹H NMR(600MHz, CDCl₃) δ 8.75(d, $J = 0.8$ Hz, 1H), 7.42(d, $J = 0.9$ Hz, 1H), 5.34(q, $J = 6.8$ Hz, 1H), 5.00(tt, $J = 12.5, 4.1$ Hz, 1H), 2.41(d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 2.31-2.19(m, 2H), 2.17-2.09(m, 2H), 2.09-2.03(m, 2H), 2.00-1.91(m, 1H), 1.62(d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.48-1.33(m, 2H), 0.91(s, 9H), 0.14(s, 3H), 0.03(s, 3H)。

[0390] 步骤3

[0391] 2-[4-[2-[(1R)-1-[叔丁基(二甲基)硅基]氧基乙基]-6-[(4-甲氧基苯基)甲基-甲基-氨基]咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈

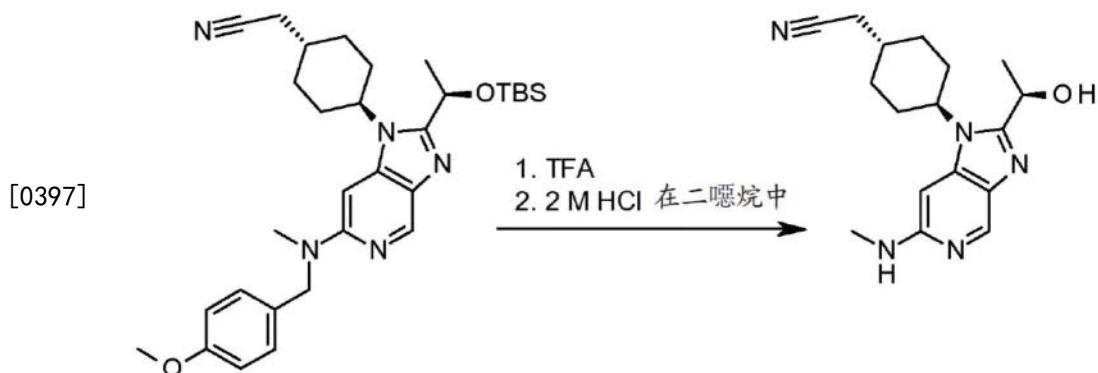


[0393] 在2mL螺纹帽小瓶中装填步骤2的产物(46.2mg, 0.107mmol)及4-甲氧基-N-甲基苄基胺(32.3mg, 0.213mmol)。用氩吹扫小瓶并添加叔丁醇钠(12.3mg, 0.128mmol)、RuPhos(3.0mg, 0.0064mmol)及乙酸钯(II)(0.72mg, 0.0032mmol)的混合物。在110°C下, 将混合物在氩下搅拌17小时。将其冷却至rt并添加二氯甲烷(0.45mL)。将混合物用盐水:水2:1(0.45mL)洗涤并用二氯甲烷(2×0.45mL)萃取水层。经Na₂SO₄干燥合并的有机层, 过滤并蒸发, 提供含有标题化合物的粗产物及相应脱TBS的类似物(75.3mg)。此物质未经纯化即用于下一步骤。

[0394] UPLC-MS(方法B): $t_R = 0.95$ 分钟, $m/z = 548.4$ (M+H⁺)。

[0395] 步骤4

[0396] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈



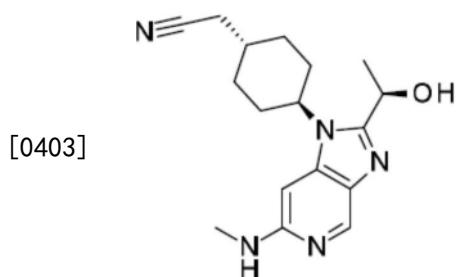
[0398] 在0℃下,将来自步骤3的粗产物溶解于TFA(0.25mL)中并将混合物在rt下搅拌1.5小时。在真空下去除挥发物并将残余物溶解于二噁烷中的4M氯化氢(0.25mL)中。将混合物在rt下搅拌18小时,蒸发挥发物并将残余物溶解于二氯甲烷(0.25mL)中。向其添加于甲醇(0.60mL)中的2M氨,以将pH调整至约10。在真空下去除挥发物,将残余物溶解于DCM:MeOH 95:5(2mL)中并过滤混合物。蒸发滤液并通过色谱(4g预填充硅胶柱,利用DCM:MeOH 96:4至94:6洗脱)纯化残余物,提供含有约30%4-甲氧基-N-甲基苄基胺的呈半固体状的标题化合物(37.7mg)。

[0399] UPLC-MS(方法B): $t_R = 0.38$ 分钟, $m/z = 314.3$ ($M+H^+$)。

[0400] 分析型手性固定相SFC: (S) 对映异构体(次要) $t_R = 5.37$ 分钟; (R) 对映异构体(主要) $t_R = 5.78$ 分钟。

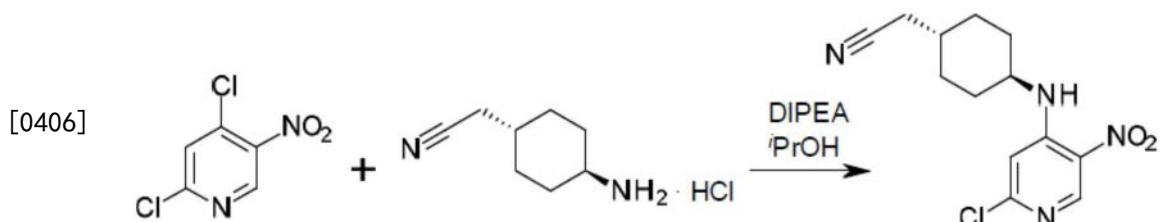
[0401] 实施例3(替代制备No.2)

[0402] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(化合物3)



[0404] 步骤1

[0405] 2-[反式-4-[(2-氯-5-硝基吡啶-4-基)氨基]环己基]乙腈



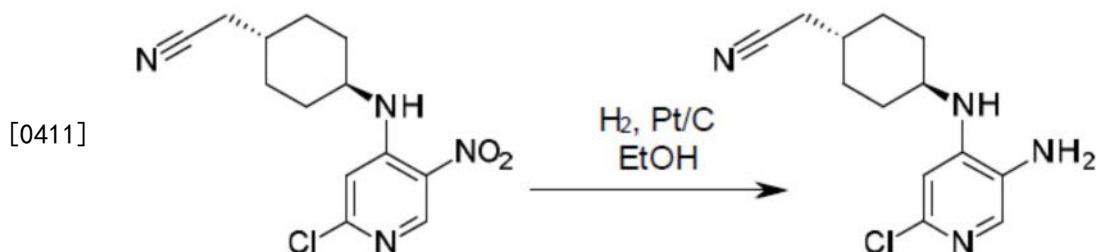
[0407] 将装配有机械搅拌器、回流冷凝器及氩入口的20L玻璃反应器抽真空并用氩吹扫两次。在反应器中装填700g 2,4-二氯-5-硝基吡啶(3.63mol,1.0当量)、665g反式-4-(氰基甲基)环己基]铵盐酸盐(3.81mol,1.05当量)及7.00L 2-丙醇。在25℃下搅拌所得浆液并添加1.90L二异丙基乙胺(1.41kg,10.9mol,3.0当量)。用0.100L 2-丙醇洗涤添加管并将浆液加热至回流(T_f 设定点=95℃)。将混合物在回流下搅拌15小时并然后冷却至25℃。在过程

控制 (LCMS) 中显示 99% 的转化率。

[0408] 通过过滤分离产物，并在过滤器上用 1.75L 2-丙醇及然后 3.80L 2-丙醇洗涤。将滤饼转移至玻璃杯中，并在真空中且在 50°C 下干燥直至恒重为止；产生 1.00kg (94%) 呈黄色固体状的标题化合物；HPLC 纯度：98.8 面积 %。

[0409] 步骤2

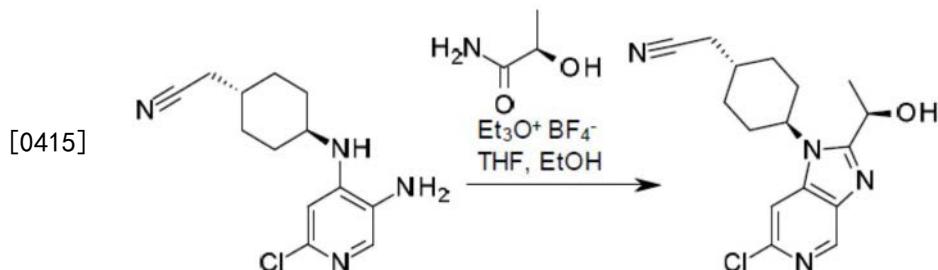
[0410] 2-[反式-4-[(5-氨基-2-氯吡啶-4-基)氨基]环己基]乙腈



[0412] 将 2.0L 帕尔 (Parr) 振荡器反应烧瓶用氩吹扫并装填 5.00g 5% Pt/C (具有 50% 水的糊状物, 0.05g/g, 1.3mmol)、100g 2-[反式-4-[(2-氯-5-硝基吡啶-4-基)氨基]环己基]乙腈 (339mmol) 及 1.00L 乙醇。将帕尔振荡器反应器烧瓶置于帕尔振荡器中，并抽真空且重新填充氩两次。接下来，将烧瓶抽真空并重新填充氢。将压力调整至 1.5 巴并启动震荡器。另外添加几次氢，但 2 小时后停止消耗氢。在过程控制 (HPLC) 中显示 >99% 的转化率，并添加 600mL 二氯甲烷以防止标题化合物沉淀。将所得混合物搅拌 10 分钟并经硅藻土过滤。用 250mL 二氯甲烷洗涤滤饼，并通过在减压下且在 50°C 下蒸发从合并滤液去除溶剂。将残余物转移至玻璃杯中，并在真空中且在 50°C 下干燥直至恒重为止，产生 85.1g (95%) 呈棕色固体状的标题化合物；HPLC 纯度：94 面积 %。

[0413] 步骤3

[0414] 2-[反式-4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基乙腈

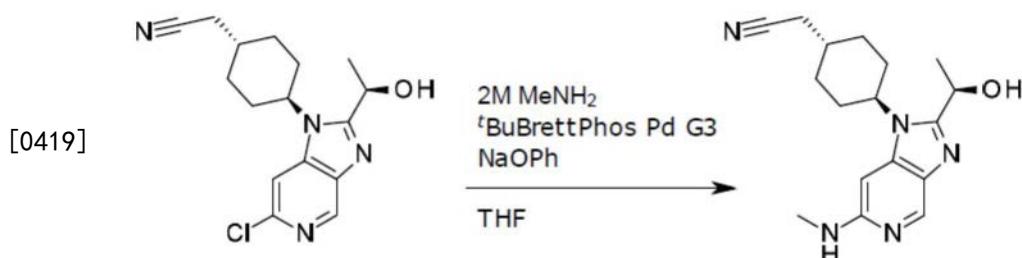


[0416] 将装配有机械搅拌器、回流冷凝器及氩入口的 20L 玻璃反应器抽真空并用氩吹扫两次。在反应器中装填 409g (R)-乳酰胺 (4.59mol, 2.5 当量) 及 4.90L 四氢呋喃。将温度调整至 23°C 并一次性添加 872g 三乙基氧鎓四氟硼酸盐 (4.59mol, 2.5 当量)。注意！反应是放热的且在添加后温度达到 43°C。将反应混合物冷却并在 23°C 下搅拌 90 分钟。将混合物转移至 10L 蓝盖烧瓶中并在氩下储存。用 2.7L 乙醇冲洗反应器并在干净反应器中装填 486g 2-[反式-4-[(5-氨基-2-氯吡啶-4-基)氨基]环己基]乙腈 (1.84mol, 1.0 当量) 及 7.3L 乙醇。将温度调整至 23°C，并经约 2-4 分钟的时期添加含有 (R)-乳酰胺及三乙基氧鎓四氟硼酸盐的四氢呋喃溶液。将反应混合物加热至回流 ($T_r = 70^\circ\text{C}$, T_j 设定点 = 85°C)。观察到白色盐的沉淀。反应混合物不澄清且是橙色的。6 小时后，在过程控制 (HPLC) 中显示 >95% 的转化率，并将反应

混合物冷却至23℃并再搅拌16小时。过滤混合物并用2.0L四氢呋喃洗涤滤饼。将滤液转移回反应器中，并在减压下且在50℃下通过蒸馏去除溶剂。7小时后当冷凝在Tr=31℃/17毫巴下停止时，停止蒸馏。用7.3L甲基叔丁基醚及7.3L 10% 碳酸钠水溶液稀释残余浆液。在23℃下将浆液搅拌14小时，此后通过过滤分离标题化合物。用5.0L水洗涤滤饼，吸干并转移回反应器中。接下来，将5.0L水添加至反应器中并将所得浆液在23℃下搅拌60分钟并过滤。用5.0L水洗涤滤饼并吸干。将所得灰白色固体转移至玻璃杯中，并在真空中且在50℃下干燥直至恒重为止；呈灰白色固体状的标题化合物的典型产率为70-90%；湿滤饼的HPLC纯度为95面积%。

[0417] 步骤4

[0418] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈



[0420] 用氩吹扫装配有机械搅拌器、回流冷凝器及氩入口的400mL EasyMax玻璃反应器。在反应器中装填5.43g叔丁醇钠(56.5mmol, 1.2当量)、5.54g苯酚(58.8mmol, 1.25当量)及195mL四氢呋喃。将混合物在25℃下搅拌20分钟，此后添加15.0g 2-[反式-4-[6-氯-2-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(47.1mmol, 1.0当量)。将加料漏斗用30mL四氢呋喃冲洗并添加94.1mL于四氢呋喃中的2M甲胺(188mmol, 4.0当量)。将所得混合物加热至55℃(Tj设定点=55℃)。在单独反应烧瓶中，将0.210g ^tBuBrettPhos Pd G3(0.235mmol, 0.005当量)溶解于4.0mL四氢呋喃中。在55℃下，将^tBuBrettPhos Pd G3溶液添加至反应混合物。23小时后，将深色均匀溶液冷却至23℃并转移至分液漏斗中。将反应混合物用2×225mL 2M氢氧化钠水溶液洗涤。通过在减压下且在50℃下蒸发将有机相浓缩至约50%的体积，并用125mL庚烷稀释。

[0421] 二氧化硅塞过滤；用250mL庚烷/乙酸乙酯(1:1)活化105g硅胶(7.0g/g)，并将其倾倒至玻璃过滤器(8cm直径)中。将含有粗标题化合物的有机相缓慢加载至二氧化硅塞上。将杂质用2×250mL庚烷/乙酸乙酯(1:1)及然后250mL乙酸乙酯洗脱。接下来，将标题化合物用5×200mL四氢呋喃洗脱。将含有标题化合物的流分汇集并通过在减压下蒸发去除溶剂，从而提供12.3g(83%)呈棕色固体状的粗标题化合物；HPLC纯度95面积%。

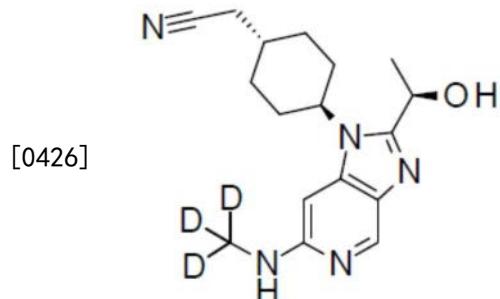
[0422] Pd清除；在100mL烧瓶中装填3.00g粗标题化合物(9.57mmol)及45mL甲醇。搅拌混合物，直至所有固体溶解为止，且然后添加0.30g SiliaMetS®DMT(10% w/w二巯基三嗪，40-63μm, 60A)。将浆液加热至50℃并搅拌4小时，此后使混合物冷却至23℃并经硅藻土过滤。用6.0mL甲醇洗涤滤饼，并通过在减压下蒸发自合并的滤液去除溶剂，从而产生2.75g(92%回收率)标题化合物。

[0423] 重结晶；在100mL烧瓶中装填3.00g(9.57mmol; HPLC纯度96面积%)标题化合物及20mL乙酸乙酯。将混合物加热至回流并搅拌直至所有固体溶解为止。使混合物冷却并然后

将10mL甲基叔丁基醚逐滴添加至温热溶液中。使混合物冷却至室温并搅拌17小时。通过过滤分离沉淀物，并在过滤器上用 $2 \times 1.0\text{mL}$ 甲基叔丁基醚洗涤并在真空中且在 50°C 下干燥直至恒重为止，从而产生1.81g (60%) 呈灰白色固体状的标题化合物(结晶, m.p. (DSC起始温度) $143 \pm 2^\circ\text{C}$) ; HPLC纯度98面积%。

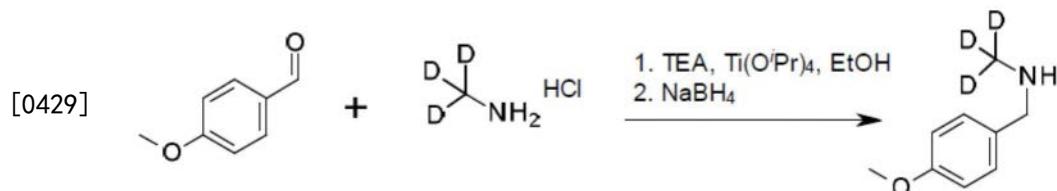
[0424] 实施例4

[0425] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(三氘甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(化合物4)



[0427] 步骤1

[0428] 1,1,1-三氘-N-[(4-甲氧基苯基)甲基]甲胺

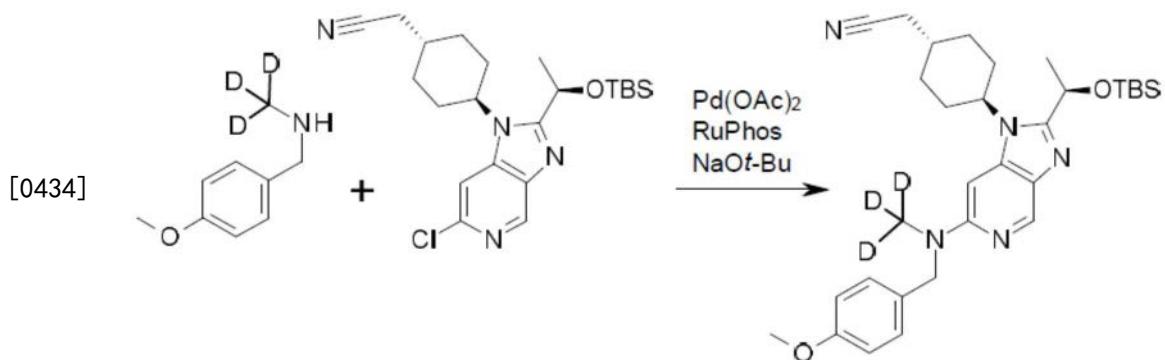


[0430] 在rt下且在氩下向4-甲氧基苯甲醛($0.243\text{mL}, 2.00\text{mmol}$)于无水乙醇(3.0mL)中的混合物添加三氘甲胺盐酸盐($282\text{mg}, 4.00\text{mmol}$)及TEA($0.558\text{mL}, 4.00\text{mmol}$)。将四异丙氧基钛(IV)经2分钟在轻微冷却下添加至悬浮液。然后将反应混合物在rt下搅拌过夜。在rt下，17小时后添加 NaBH_4 ($113\text{mg}, 3.00\text{mmol}$)。然后将悬浮液在rt下再搅拌6.5小时，然后在冷却下小心地添加2M氨水(6mL)。通过过滤去除固体部分并用二氯甲烷(10mL)洗涤滤饼。分离有机相。再次用二氯甲烷(10mL)洗涤滤饼。用水洗涤合并的滤液并然后用1M HCl 水溶液(5mL)处理。用二氯甲烷(10mL)洗涤酸性水相，然后通过添加2M NaOH 将pH调整至约11。然后用二氯甲烷($3 \times 10\text{mL}$)萃取水相。将合并的有机相用盐水洗涤，经硫酸钠干燥并过滤。在减压下(60 毫巴/ 35°C)蒸发提供呈无色液体形式的标题化合物($268\text{mg}, 83\%$)。

[0431] ^1H NMR ($600\text{MHz}, \text{CDCl}_3$) δ 7.25-7.21 (m, 2H), 6.89-6.84 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.68 (s, 2H)。

[0432] 步骤2

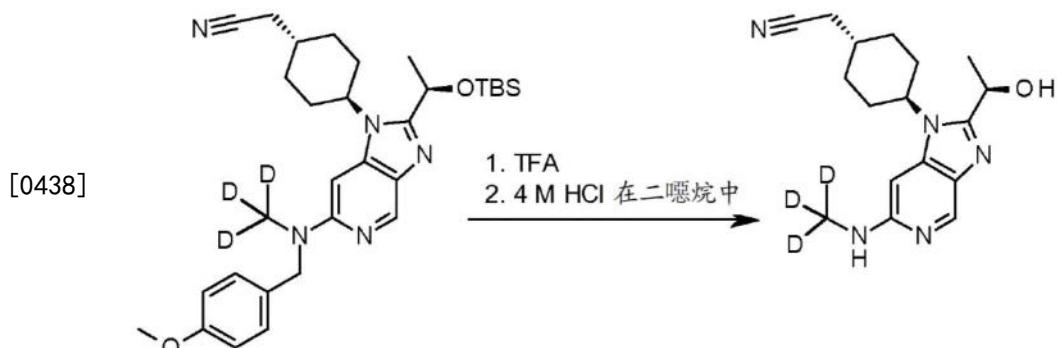
[0433] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-[叔丁基(二甲基)硅基]氧基乙基]-6-[(4-甲氧基苯基)甲基-三氘甲基-氨基]咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈



[0435] 在4mL螺纹帽小瓶中装填反式-2-[4-[2-[(1R)-1-[叔丁基(二甲基)硅基]氨基乙基]-6-氯-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(150mg, 0.346mmol)及1,1,1-三氘-N-[(4-甲氧基苯基)甲基]甲胺(107mg, 0.693mmol)。将小瓶用氩吹扫并添加叔丁醇钠(40mg, 0.416mmol)、RuPhos(9.7mg, 0.021mmol)及乙酸钯(II)(2.3mg, 0.010mmol)的混合物。在110℃下, 将混合物在氩下搅拌18小时。将其冷却至rt并添加二氯甲烷/EtOH 95:5溶液(1.5mL)。用盐水:水2:1(1.2mL)洗涤混合物并用二氯甲烷/EtOH 95:5溶液(2×1.5mL)萃取水层。将合并的有机层经Na₂SO₄干燥, 过滤并蒸发。柱色谱(1%至5%的于DCM中的MeOH作为洗脱液)提供呈黄色泡沫状的标题化合物及相应脱TBS的类似物(0.109g)。此材料未经进一步纯化即用于下一步骤中。

[0436] 步骤3

[0437] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(三氘甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈



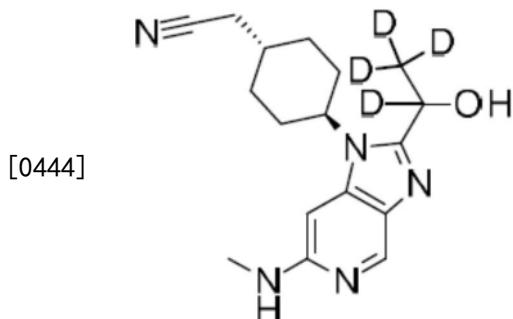
[0439] 在0℃下将来自步骤2的粗产物溶解于TFA(0.75mL)中并将混合物在rt下搅拌1.5小时。在真空下去除挥发物, 并在0℃下将残余物溶解于于二噁烷(0.75mL)中的4M氯化氢中。将混合物在rt下搅拌17小时, 然后通过蒸发去除挥发物。将水(0.5mL)添加至残余物中并用EtOAc(2×0.5mL)洗涤水相。用水(0.5mL)洗涤有机相。用碳酸钠饱和水溶液将合并水相的pH调整至约11。然后用DCM:MeOH 95:5(3×0.5mL)萃取水相并将合并的有机相经Na₂SO₄干燥、过滤并蒸发。柱色谱(3%至5%的于DCM中的MeOH作为洗脱液)提供呈灰白色泡沫状的标题化合物(48mg, 42%)。

[0440] UPLC-MS(方法B): t_R=0.38分钟, m/z=317.3(M+H⁺)。

[0441] ¹H NMR(600MHz, DMSO-d₆) δ 8.33(br s, 1H), 6.47(br s, 1H), 5.87(s, 1H), 5.59(d, J=6.8Hz, 1H), 4.96(p, J=6.5Hz, 1H), 4.59-4.49(m, 1H), 2.55(d, J=6.3Hz, 2H), 2.25-2.14(m, 2H), 1.96-1.80(m, 5H), 1.54(d, J=6.5Hz, 3H), 1.35-1.24(m, 2H)。

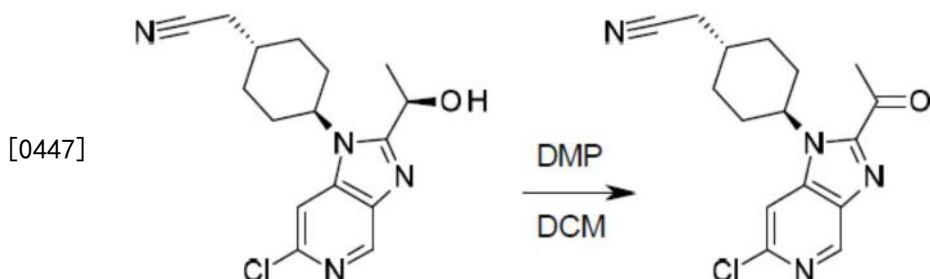
[0442] 实施例5

[0443] 反式-2-[4-[2-[1,2,2,2-四氘-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(化合物5)



[0445] 步骤1

[0446] 反式-2-[4-(2-乙酰基-6-氯-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基)环己基]乙腈



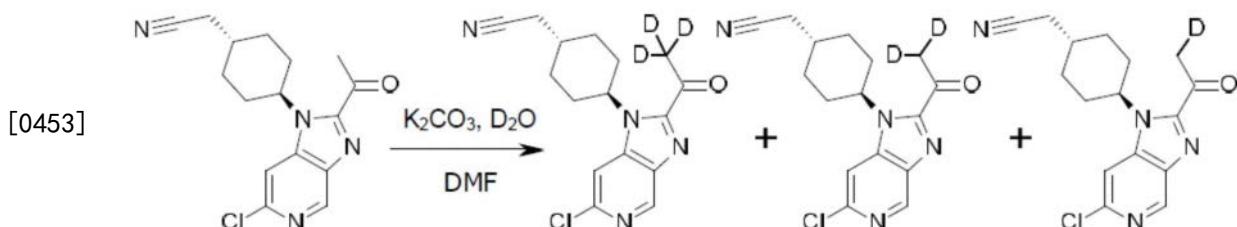
[0448] 在0℃至5℃至RT下,向2-[反式-4-[6-氯-2-[1R)-1-羟基乙基]-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基(5.0g,15.6mmol)于DCM(50mL)中的溶液逐份添加DMP(10g,23.5mmol)。将反应混合物在RT下搅拌16小时。完成时,将反应混合物通过硅藻土床过滤并用DCM洗涤。将滤液用饱和NaHCO₃(300mL)及盐水溶液洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,在减压下浓缩并通过硅胶(100-200目)柱色谱(10%至20%于石油醚中的EtOAc作为洗脱液)纯化,提供呈灰白色固体状的标题化合物(3.5g,71%)。

[0449] LC-MS(方法D): $t_R = 1.84$ 分钟, $m/z = 316.11 (M+H^+)$ 。

[0450] ¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ 8.98(s,1H), 8.21(s,1H), 5.23-5.18(m,1H), 2.75(s,3H), 2.54(d,J=6.5,2H), 2.31-2.23(m,2H), 2.08-2.05(m,1H), 1.94-1.89(m,4H), 1.30-1.27(m,2H)。

[0451] 步骤2

[0452] 反式-2-[4-[6-氯-2-(2,2,2-三氘乙酰基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈



[0454] 在RT下向反式-2-[4-(2-乙酰基-6-氯-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基)环己基]乙腈(3.5g,11.1mmol)于DMF(35mL)中的悬浮液添加K₂CO₃(4.5g,33.2mmol),并随后在所述温度

下搅拌16小时。将反应混合物用D₂O(10mL)淬灭并在RT下搅拌4小时,然后添加冰冷水。添加乙酸乙酯(70mL)。分离各相。用乙酸乙酯(2×35mL)萃取水相并用盐水洗涤合并的有机相,经无水Na₂SO₄干燥,在减压下浓缩并通过柱色谱使用硅胶(100-200目)(10至20%于石油醚中的EtOAc作为洗脱液)纯化,提供2.5g呈灰白色固体状的粗产物。所获得的材料是同位素的混合物。基于¹H NMR,同位素的分布为:未氘化(CH₃):7.6%,单氘化(CH₂D):26.33%,二氘化(CHD₂):32.34%及三氘化(CD₃):33.72%。

[0455] 利用所获得粗产物重复上述程序,提供1.8g呈灰白色固体状的新粗产物。基于¹H NMR,同位素的分布为:未氘化(CH₃):0.66%,单氘化(CH₂D):4.47%,二氘化(CHD₂):23.84%及三氘化(CD₃):71.02%。

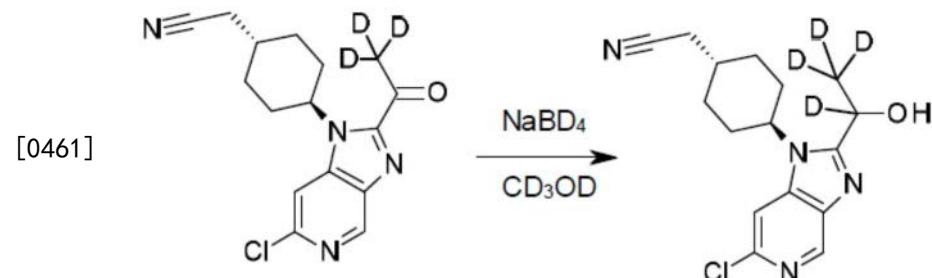
[0456] 利用所获得粗产物再一次重复上述程序,提供1.2g(35%总产率)呈灰白色固体状的“标题化合物”。同位素纯度:99.3%。基于¹H NMR,同位素的分布为:未氘化(CH₃):0.66%,单氘化(CH₂D):3.47%,二氘化(CHD₂):21.85%及三氘化(CD₃):74.02%。

[0457] LC-MS(方法E):t_R=1.79分钟,m/z=320.19(M+H⁺)。

[0458] ¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ8.98(s,1H),7.54(s,1H),5.40-5.45(m,1H),2.39(d,J=6.5,2H),2.27-2.219(m,2H),2.13-2.04(m,4H),1.96-1.90(m,1H),1.45-1.39(m,2H)。

[0459] 步骤3

[0460] 反式-2-[4-[6-氯-2-(1,2,2,2-四氘-1-羟基-乙基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈



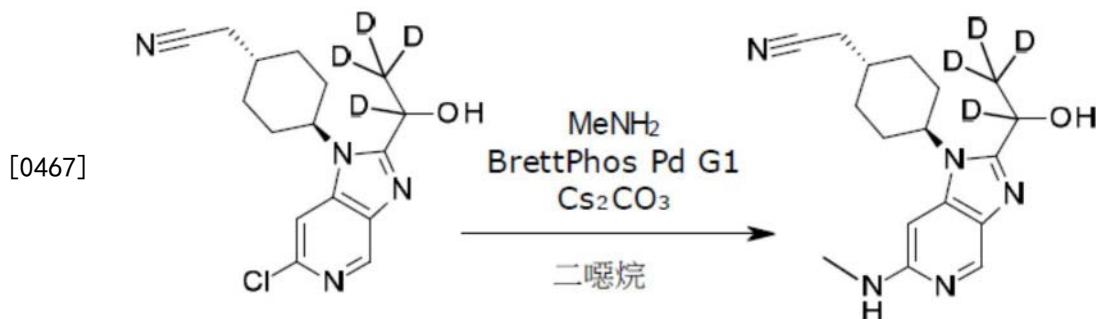
[0462] 在0℃至5℃下,向反式-2-[4-[6-氯-2-(2,2,2-三氘乙酰基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(1.5g,4.69mmol)于CD₃OD(15mL)中的悬浮液中添加NaBD₄(0.29g,7.04mmol)。将反应混合物在RT下搅拌1小时。完成时,将反应用D₂O淬灭并将混合物在减压下浓缩。将粗化合物溶解于H₂O中并用10%于DCM中的MeOH(2×15mL)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,在减压下浓缩并通过硅胶(100-200目)柱色谱(1%至3%于DCM中的MeOH作为洗脱液)纯化,提供呈灰白色固体状的标题化合物(1.2g,80%)。所获得的化合物是同位素的混合物。基于¹H NMR,同位素的分布为:单氘化(CDOHCH₃):0.66%,二氘化(CDOHCH₂D):3.47%,三氘化(CDOHCHD₂):21.85%及四氘化(CDOHCD₃):74.02%。

[0463] LC-MS(方法E):t_R=1.48分钟,m/z=323.23(M+H⁺)。

[0464] ¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ8.69(s,1H),8.01(s,1H),5.77(s,1H),4.68-4.63(m,1H),2.54(d,J=6,2H),2.27-2.21(m,2H),2.10-2.08(m,1H),1.93-1.86(m,4H),1.32-1.26(m,2H)。

[0465] 步骤4

[0466] 反式-2-[4-[2-[1,2,2,2-四氘-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈



[0468] 在密封管中,向反式-2-[4-[6-氯-2-(1,2,2,2-四氘-1-羟基-乙基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(0.10g,0.309mmol)于脱气1,4-二噁烷(5.0mL)中的溶液中添加 Cs_2CO_3 (0.302g,0.927mmol)、Brettphos Pd G1(0.037g,0.046mmol)并用氩吹扫10分钟,然后添加于THF中的2M CH_3NH_2 (0.60mL,1.24mmol)。将反应混合物在80℃下搅拌16小时。完成时,将反应混合物冷却至RT并通过硅藻土垫过滤且用EtOAc洗涤。在减压下浓缩滤液。将所获得的残余物溶解于水中并用DCM($2 \times 10\text{mL}$)萃取两次。将合并的有机相用盐水洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。通过硅胶(100-200目)柱色谱(3%的于DCM中的MeOH作为洗脱液)纯化粗产物,提供呈浅棕色固体状的标题化合物(0.04g,41%)。

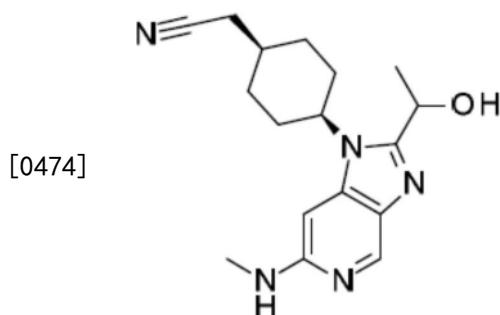
[0469] LC-MS(方法E): $t_{\text{R}} = 1.14$ 分钟, $m/z = 318 (\text{M}+\text{H}^+)$ 。

[0470] 以摩尔%估计氘同位素分布: $D_0, D_1, D_2, D_3, D_4 = 0, 0, 3, 21, 76$ 。

[0471] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6): δ (ppm) 8.32(s,1H), 6.47(s,1H), 5.93-5.89(m,1H), 5.58(s,1H), 4.57-4.51(m,1H), 2.78(d, $J=5.2\text{Hz}$,3H), 2.55(d, $J=6.4\text{Hz}$,2H), 2.24-2.17(m,2H), 1.94-1.86(m,5H), 1.31-1.23(m,2H)。

[0472] 实施例6

[0473] 顺式-2-[4-[2-[1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(化合物6)



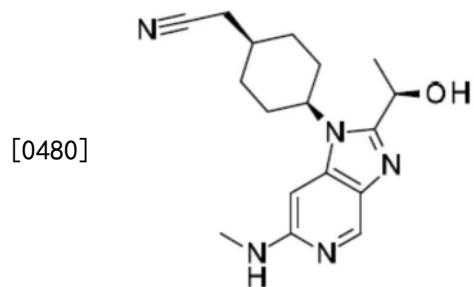
[0475] 遵循类似于实施例3的“替代制备No.2”中所概述者的小规模程序获得顺式-2-[4-[2-[1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,其中仅有的主要差异在于在步骤1中,反式-4-(氰基甲基)环己基铵盐酸盐由顺式-4-(氰基甲基)环己基铵盐酸盐(CAS登记号1461718-40-0)替代,且在步骤3中(R)-乳酰胺由乳酰胺替代。

[0476] UPLC-MS(方法C): $t_{\text{R}} = 1.62$ 分钟, $m/z = 314.4 (\text{M}+\text{H}^+)$ 。

[0477] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6): δ 8.34(s,1H), 6.51(s,1H), 5.97-5.88(m,1H), 5.56(d, $J=6.8\text{Hz}$,1H), 4.95(p, $J=6.5\text{Hz}$,1H), 4.60-4.46(m,1H), 2.85-2.77(m,5H), 2.27-2.08(m,3H), 1.89-1.62(m,6H), 1.54(d, $J=6.5\text{Hz}$,3H)。

[0478] 实施例7

[0479] 顺式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(化合物7)



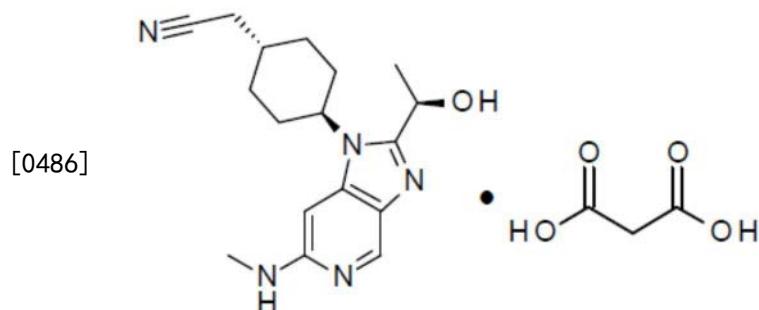
[0481] 遵循类似于实施例3的“替代制备No.2”中所概述的小规模程序获得顺式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈,其中仅有主要差异在于在反应序列的第一步骤中,反式-4-(氰基甲基)环己基]铵盐酸盐由顺式-4-(氰基甲基)环己基]铵盐酸盐(CAS登记号1461718-40-0)替代。

[0482] UPLC-MS(方法C): $t_R=1.62$ 分钟, $m/z=314.4(M+H^+)$ 。

[0483] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 8.35(s,1H), 6.53(s,1H), 5.98(br s,1H), 5.58(d,J=6.7Hz,1H), 4.95(p,J=6.5Hz,1H), 4.60-4.46(m,1H), 2.86-2.76(m,5H), 2.27-2.07(m,3H), 1.89-1.62(m,6H), 1.54(d,J=6.5Hz,3H)。

[0484] 实施例8

[0485] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈丙二酸盐(化合物8)



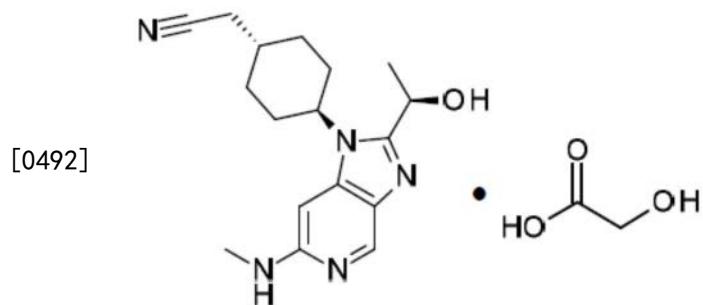
[0487] 在45°C下,将反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(1.40g,4.46mmol)溶解于异丙醇(50mL)中。添加于异丙醇(5.0mL)中的丙二酸(232mg,2.23mmol)。通过在减压下且在45°C下蒸发来减少反应混合物的体积(蒸馏出约30mL异丙醇)。添加标题化合物的少许参照晶体开始结晶。通过在减压下蒸发进一步减少反应混合物的体积(蒸馏出约15mL异丙醇)。将所获得的悬浮液在冰浴中冷却,且不久后将固体过滤出并用冰冷异丙醇(3×2 mL)洗涤。在减压下干燥提供呈灰白色晶体状的标题化合物(932mg,约100%)。

[0488] ^1H NMR(600MHz,DMSO- d_6) δ 8.37(s,1H), 6.54(s,1H), 6.10(br s,1H), 5.66(br s,1H), 4.98(q,J=6.5Hz,1H), 4.62-4.51(m,1H), 3.17(s,2H), 2.81(s,3H), 2.55(d,J=6.3Hz,2H), 2.25-2.14(m,2H), 1.97-1.81(m,5H), 1.55(d,J=6.5Hz,3H), 1.36-1.24(m,2H)。

[0489] M.p.(DSC起始温度) 109 ± 2 °C。

[0490] 实施例9

[0491] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈乙醇酸盐(化合物9)



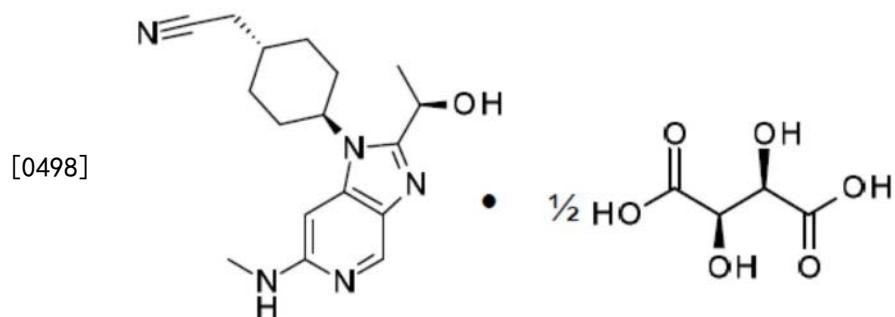
[0493] 在45°C下,将反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(1.80g,5.74mmol)溶解于异丙醇(65mL)中。添加于异丙醇(8.0mL)中的乙醇酸(437mg,5.74mmol)。通过在减压下且在45°C下蒸发来减少反应混合物的体积(蒸馏出约65mL异丙醇)。添加标题化合物的少许参照晶体缓慢地开始结晶。添加EtOAc(15mL)。将所获得的悬浮液在冰浴中冷却,且不久后将固体过滤出并用EtOAc:异丙醇的冰冷9:1混合物(2×2mL)洗涤。在减压下干燥提供呈灰白色晶体状的标题化合物(1.57g,70%)。

[0494] ^1H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ 8.33 (s, 1H), 6.47 (s, 1H), 5.90 (br s, 1H), 5.58 (d, J=6.6Hz, 1H), 4.96 (p, J=5.3Hz, 1H), 4.59-4.51 (m, 1H), 3.90 (s, 2H), 2.79 (s, 3H), 2.55 (d, J=6.2Hz, 2H), 2.25-2.14 (m, 2H), 1.97-1.80 (m, 5H), 1.54 (d, J=6.4Hz, 3H), 1.36-1.25 (m, 2H)。

[0495] M.p. (DSC起始温度) 100±2°C。

[0496] 实施例10

[0497] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈L-酒石酸盐(化合物10)



[0499] 在45°C下,将反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(1.50g,4.79mmol)溶解于甲醇(25mL)中。添加于甲醇(10mL)中的L-酒石酸(360mg,2.40mmol)。通过在减压下且在45°C下蒸发来减少反应混合物的体积(蒸馏出约10mL甲醇)。添加标题化合物的少许参照晶体开始结晶。添加异丙醇(30mL),并通过在减压下且在45°C下蒸发来减少反应混合物的体积(蒸馏出约20mL)。将所获得的悬浮液在冰浴中冷却,且不久后将固体过滤出并用冰冷异丙醇(4×4mL)洗涤。在减压下干燥提供为灰白色晶体的标题化合物(1.55g,83%)。

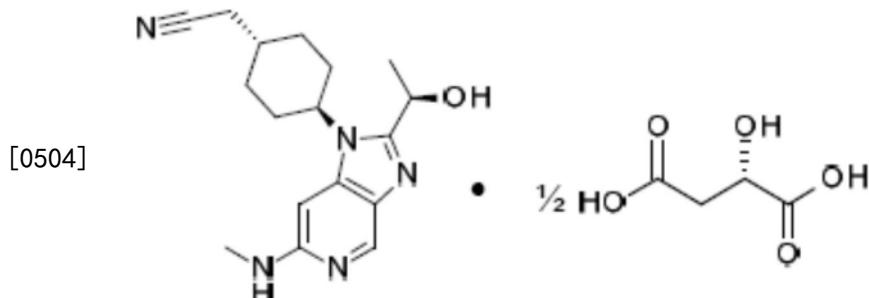
[0500] ^1H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ 8.34 (s, 1H), 6.49 (s, 1H), 5.98 (br s, 1H), 5.60 (br s, 1H), 4.96 (q, J=6.4Hz, 1H), 4.60-4.49 (m, 1H), 4.28 (s, 1H), 2.80 (s, 3H), 2.55 (d, J=

6.3Hz, 2H), 2.26-2.13(m, 2H), 1.97-1.80(m, 5H), 1.54(d, J=6.5Hz, 3H), 1.36-1.25(m, 2H)。

[0501] M.p. (DSC起始温度) 98±2°C。

[0502] 实施例11

[0503] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈L-苹果酸盐(化合物11)



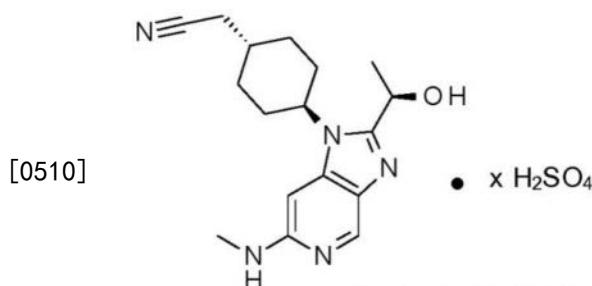
[0505] 在45°C下,将反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(1.50g, 4.79mmol)溶解于甲醇(25mL)中。添加于甲醇(10mL)中的L-苹果酸(332mg, 2.40mmol)。通过在减压下且在45°C下蒸发来减少反应混合物的体积(蒸馏出约20mL甲醇)。添加标题化合物的少许参照晶体开始结晶。添加异丙醇(30mL),并通过在减压下且在45°C下蒸发来减少反应混合物的体积(蒸馏出约10mL)。将所获得的悬浮液在冰浴中冷却,且不久后将固体过滤出并用冰冷异丙醇(4×4mL)洗涤。在减压下干燥提供为灰白色晶体的标题化合物(1.51g, 79%)。

[0506] ^1H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ 8.34(s, 1H), 6.49(s, 1H), 5.95(br s, 1H), 5.59(d, J=6.7Hz, 1H), 4.96(p, J=6.5Hz, 1H), 4.59-4.51(m, 1H), 4.23(dd, J=7.5, 5.3Hz, 0.5H), 2.79(s, 3H), 2.60(dd, J=15.6, 5.3Hz, 0.5H), 2.55(d, J=6.4Hz, 2H), 2.43(dd, J=15.6, 7.5Hz, 0.5H), 2.25-2.14(m, 2H), 1.96-1.81(m, 5H), 1.54(d, J=6.5Hz, 3H), 1.36-1.25(m, 2H)。

[0507] M.p. (DSC起始温度) 94°C±2°C。

[0508] 实施例12

[0509] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈硫酸盐(化合物12)



[0511] 在45°C下,将反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(1.50g, 4.79mmol)溶解于甲醇(10mL)中。添加于异丙醇(5.0mL)中的硫酸(1.0M, 4.79mL, 4.79mmol)。通过在减压下且在45°C下蒸发来减少反应混合物的体积(蒸馏出约7mL)。添加标题化合物的少许参照晶体开始结晶。将所获得的悬浮液在冰浴中冷

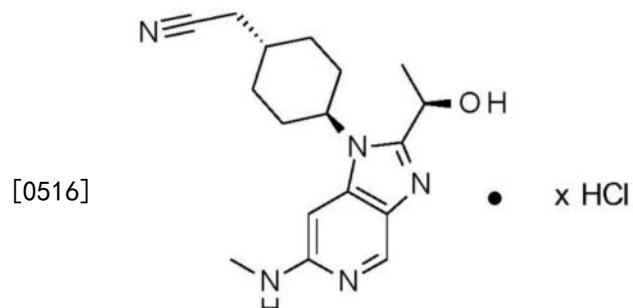
却,且不久后将固体过滤出并用冰冷异丙醇($2 \times 2\text{mL}$)洗涤。在减压下干燥提供为灰白色晶体的标题化合物(1.57g)。

[0512] ^1H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ 13.32 (br s, 1H), 8.61 (s, 1H), 7.49 (br s, 1H), 6.95 (s, 1H), 5.91 (br s, 1H), 5.07 (q, $J=6.5\text{Hz}$, 1H), 4.67-4.58 (m, 1H), 2.96 (s, 3H), 2.56 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 2H), 2.26-2.14 (m, 2H), 1.99-1.87 (m, 5H), 1.57 (d, $J=6.5\text{Hz}$, 3H), 1.38-1.27 (m, 2H)。

[0513] M.p. (DSC起始温度) $169 \pm 2^\circ\text{C}$ 。

[0514] 实施例13

[0515] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈盐酸盐(化合物13)



未知化学计量

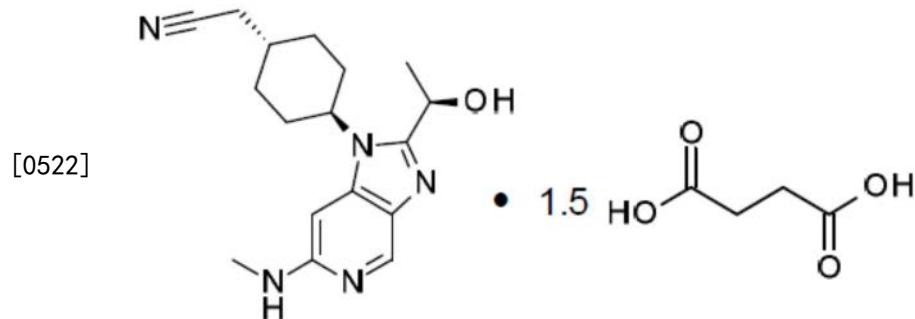
[0517] 在 45°C 下,将反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(2.00g, 6.38mmol)溶解于异丙醇(70mL)中。在rt下添加甲醇盐酸(3.0M, 6.38mL, 19.1mmol)。通过在减压下且在 45°C 下蒸发来减少反应混合物的体积(蒸馏出约45mL)。添加标题化合物的少许参照晶体开始结晶。通过在减压下蒸发进一步减少反应混合物的体积(蒸馏出约5mL)。将所获得的悬浮液在冰浴中冷却且不久后将固体过滤出并用冰冷异丙醇($4 \times 4\text{mL}$)洗涤。在减压下干燥提供为灰白色晶体的标题化合物(1.30g)。

[0518] ^1H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ 14.06 (br s, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.84 (br s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.16 (br s, 1H), 5.07 (q, $J=6.5\text{Hz}$, 1H), 4.69-4.60 (m, 1H), 2.98 (s, 3H), 2.56 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 2H), 2.27-2.16 (m, 2H), 2.01-1.86 (m, 5H), 1.57 (d, $J=6.5\text{Hz}$, 3H), 1.39-1.28 (m, 2H)。

[0519] M.p. (DSC起始温度) $148 \pm 2^\circ\text{C}$ 。

[0520] 实施例14

[0521] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈琥珀酸盐(化合物14)



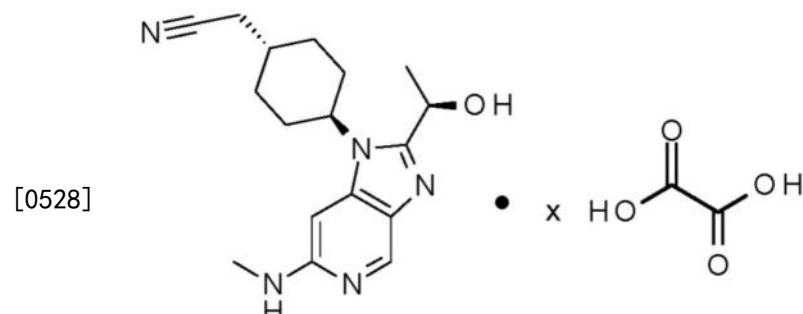
[0523] 在约50℃下,将反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(31.3mg,0.100mmol)溶解于乙醇(0.20mL)中。添加于乙醇(0.25mL)中的琥珀酸(11.8mg,0.100mmol)。通过在减压下且在45℃下蒸发来减少反应混合物的体积(蒸馏出约0.14mL乙醇)。结晶发生后添加乙醇(0.10mL)。将所获得的悬浮液在冰浴中冷却且不久后过滤,提供为灰白色晶体的标题化合物(16mg,33%)。

[0524] ^1H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ 12.16 (br s, 3H), 8.33 (s, 1H), 6.48 (s, 1H), 5.91 (br s, 1H), 5.59 (d, J=6.7Hz, 1H), 4.96 (p, J=6.5Hz, 1H), 4.59-4.50 (m, 1H), 2.79 (s, 3H), 2.55 (d, J=6.3Hz, 2H), 2.42 (s, 6H), 2.25-2.14 (m, 2H), 1.97-1.80 (m, 5H), 1.54 (d, J=6.5Hz, 3H), 1.35-1.24 (m, 2H)。

[0525] M.p. (DSC起始温度) 162±2℃。

[0526] 实施例15

[0527] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈草酸盐(化合物15)



未知化学计量

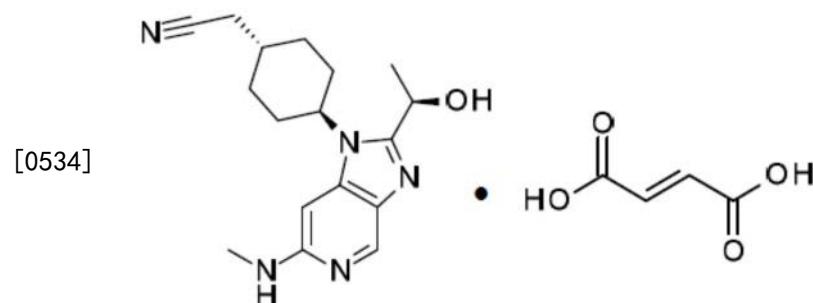
[0529] 在约50℃下,将反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(31.3mg,0.100mmol)溶解于乙醇(0.20mL)中。添加于乙醇(0.25mL)中的草酸(4.5mg,0.050mmol)。将反应混合物在冰浴中冷却且不久后过滤,提供为灰白色晶体的标题化合物(27mg)。

[0530] ^1H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ 8.39 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 4.98 (q, J=6.5Hz, 1H), 4.60-4.52 (m, 1H), 2.83 (s, 3H), 2.55 (d, J=6.3Hz, 2H), 2.25-2.14 (m, 2H), 1.97-1.82 (m, 5H), 1.55 (d, J=6.4Hz, 3H), 1.36-1.25 (m, 2H)。

[0531] M.p. (DSC起始温度) 134±2℃。

[0532] 实施例16

[0533] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈富马酸盐(化合物16)



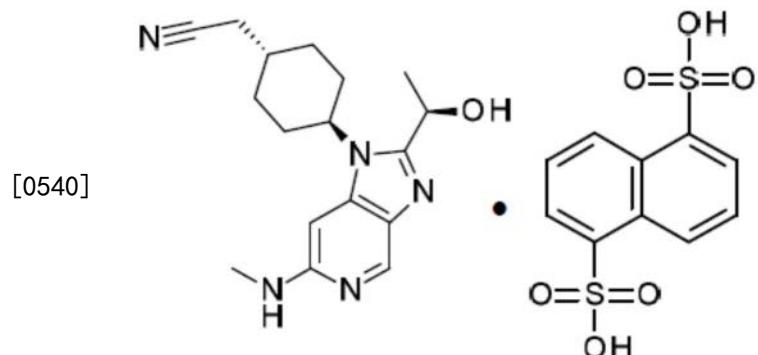
[0535] 将反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(3.00g, 9.57mmol)溶解于乙醇(6.0mL)中。缓慢添加在约50℃下溶解于乙醇(12mL)中的富马酸(1.11g, 9.57mmol)。结晶发生。使所获得的悬浮液达到rt,且不久后将固体过滤出并用乙醇(2×0.5mL)洗涤。在减压下干燥提供为灰白色晶体的标题化合物(3.26g, 79%)。

[0536] ^1H NMR (600MHz, DMSO- d_6) δ 8.34 (s, 1H), 6.63 (s, 2H), 6.49 (s, 1H), 4.97 (q, $J=6.5\text{Hz}$, 1H), 4.60-4.51 (m, 1H), 2.80 (s, 3H), 2.55 (d, $J=6.3\text{Hz}$, 2H), 2.26-2.14 (m, 2H), 1.97-1.80 (m, 5H), 1.54 (d, $J=6.5\text{Hz}$, 3H), 1.35-1.24 (m, 2H)。

[0537] M.p. (DSC起始温度) $111\pm2^\circ\text{C}$ 。

[0538] 实施例17

[0539] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈1,5-萘二磺酸盐(化合物17)



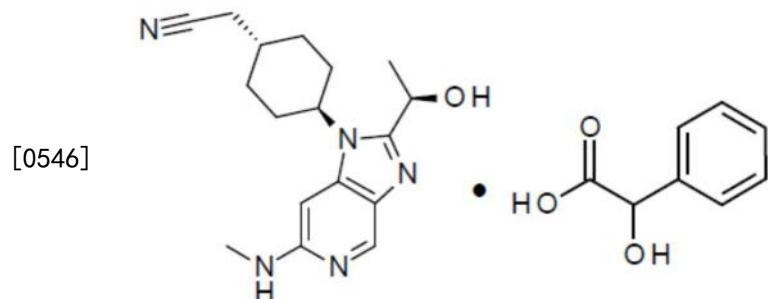
[0541] 在约50℃下,将反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(11.8mg, 0.037mmol)溶解于乙酸乙酯(1mL)中。添加于H₂O(150μL)中的1,5-萘二磺酸(四水合物)(15.0mg, 0.042mmol)。将溶液在磁力搅拌单元上极缓慢地搅拌大约3天,之后通过过滤分离灰白色晶体。

[0542] ^1H NMR (600MHz, DMSO- d_6) δ 8.88 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 2H), 8.60 (s, 1H), 7.95 (dd, $J=7.1, 1.2\text{Hz}$, 2H), 7.54 (br s, 1H), 7.42 (dd, $J=8.5, 7.1\text{Hz}$, 2H), 6.97 (s, 1H), 5.06 (q, $J=6.5\text{Hz}$, 1H), 4.63-4.56 (m, 3H), 2.95 (s, 3H), 2.51 (d, $J=5.4\text{Hz}$, 2H), 2.28-2.06 (m, 2H), 1.95-1.72 (m, 5H), 1.56 (d, $J=6.5\text{Hz}$, 3H), 1.38-1.18 (m, 2H)。

[0543] M.p. (DSC起始温度) $110\pm2^\circ\text{C}$ 。

[0544] 实施例18

[0545] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈DL-苦杏仁酸盐(化合物18)



[0547] 在约50°C下,将反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈(9.92mg,0.032mmol)及DL-苦杏仁酸(5.3mg,0.035mmol)溶解于乙酸乙酯(1mL)中。将溶液在磁力搅拌单元上极缓慢地搅拌大约3天,之后通过过滤分离灰白色晶体。

[0548] ^1H NMR (600MHz,DMSO-d₆) δ 8.33 (d,J=0.9Hz,1H), 7.45-7.37 (m,2H), 7.37-7.31 (m,2H), 7.31-7.25 (m,1H), 6.48 (d,J=1.0Hz,1H), 5.92 (br s,1H), 5.59 (br s,1H), 5.00 (s,1H), 4.96 (q,J=6.8Hz,1H), 4.63-4.47 (m,1H), 2.79 (s,3H), 2.55 (d,J=6.4Hz,2H), 2.27-2.11 (m,2H), 1.97-1.75 (m,5H), 1.54 (d,J=6.5Hz,3H), 1.38-1.21 (m,2H)。

[0549] M.p. (DSC起始温度) 153±2°C。

[0550] 实施例19

[0551] 反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈二噁烷溶剂合物(化合物19)

[0552] 在装配有小磁棒的封盖2.5mL小瓶中制得大约15mg反式-2-[4-[2-[(1R)-1-羟基乙基]-6-(甲基氨基)咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基]环己基]乙腈于0.4mL 1,4-二噁烷:庚烷(1:1)混合物中的悬浮液。在r.t下,将小瓶置于磁力搅拌单元上并以大约600rpm搅拌两周。通过过滤分离固体材料并干燥,然后进行熔点测定。

[0553] M.p. (DSC起始温度) 77±2°C。

[0554] JAK激酶分析

[0555] 自Carna Biosciences, Inc购买人类杆状病毒表达的Janus激酶(JAK)1、2、3及酪氨酸激酶(TYK)2(编号分别为08-144,-045,-046,-147)。全部四种纯化酶皆仅含有催化结构域。JAK1(aa 850-1154)及TYK2(aa871-1187)被表达有N-末端融合的GST-标签且JAK2及JAK3具有N-末端融合的His-标签。在基于HTRF的分析(CisBio编号62TK0PEC)中测量合成肽的磷酸化抑制。首先,使用Labcyte ECHO 550液体处置器,将75nL测试化合物溶液(100%DMSO)添加至白色浅384孔板(NUNC编号264706)中。此后,添加1μL化合物稀释缓冲液(50mM HEPES,0.05%牛血清白蛋白)及2μL TK溶液(于激酶缓冲液[来自HTRFKinEASE TK试剂盒的1×酶缓冲液,1mM DTT]中的TK底物-生物素)。然后,将5μL激酶-ATP混合物(于激酶缓冲液中制备)添加至孔并将板在RT下培育20分钟(JAK2、JAK3及TYK2)至40分钟(JAK1)。对于全部四种激酶皆使用对应于ATP的K_m的ATP浓度。缓冲液、底物、激酶及ATP的最终浓度为:JAK1:50mM Hepes缓冲液(pH 7.0)、0.01%BSA、10mM MgCl₂、1mM DTT、7μM ATP、50nM SEB、1μM TK底物-生物素及5ng/孔JAK1;JAK2:50mM Hepes缓冲液(pH 7.0)、0.01%BSA、5mM MgCl₂、1mM DTT、4μM ATP、1μM TK底物-生物素及0.1ng/孔JAK2;JAK3:50mM Hepes缓冲液(pH 7.0)、0.01%BSA、5mM MgCl₂、1mM DTT、2μM ATP、1μM TK底物-生物素及0.3ng/孔JAK3;TYK2:50mM Hepes缓冲液(pH 7.0)、0.01%BSA、5mM MgCl₂、1mM DTT、13μM ATP、50nM SEB、1μM TK底物-生物素及0.8ng/孔TYK2。此后,通过添加4μL检测混合物(最终浓度:50mM Hepes缓冲液(pH 7.0)、0.01%BSA、0.8M KF、20mM EDTA、42nM链霉抗生物素蛋白-XL665及1:400STK Ab Cryptate)使激酶反应停止并将板在黑暗中培育过夜。使用PerkinElmer Envision读取器使用以下滤光器来量化HTRF信号:320nm激发滤光器、665nm发射滤光器及615nm第2发射滤光器。计算每个孔的比率((665/615) × 10⁴)。

[0556] STAT6分析

[0557] 以30-40,000个细胞/孔的密度将25 μ L STAT6bla-RA1 (Invitrogen编号K1243) 细胞悬浮液接种于具有清澈底部的384孔Black View板 (PerkinElmer编号6007460) 中的含有550ng/mL CD40配体 (Invitrogen编号PHP0025) 的分析培养基 (Opti-MEM (Invitrogen编号11058-021)+0.5%热灭活的胎牛血清 (Invitrogen编号10082-147)+1%非必需氨基酸 (Invitrogen编号11140-050)+1%丙酮酸钠 (Invitrogen编号11360-070)+1%青霉素/链霉素 (Invitrogen编号15140-122)) 中。将细胞板在加湿37℃空气/CO₂ (95%/5%) 培育器中培育过夜。次日,使用Labcyte Echo 550液体处置器将125nL测试化合物及参照化合物的溶液转移至细胞板中。然后将板在加湿37℃空气/CO₂ (95%/5%) 培育器中培育1小时。此后,也使用Labcyte Echo 550将重组体人类白介素4 (Invitrogen编号PHC0045) 添加至板中,直至最终浓度为10ng/mL。然后将细胞在加湿37℃空气/CO₂ (95%/5%) 培育器中培育41/2-5小时。然后,将8 μ L LiveBLAzer底物混合物 (Invitrogen编号K1095) 添加至分析板,将其在RT下培育过夜。然后测量荧光:激发:405nm;发射:460nm(绿色通道)、发射:535nm(蓝色通道)。在两个发射通道中减去背景并计算每个孔的比率460/535nm。

[0558] STAT5分析

[0559] 以约10,000个细胞/孔的密度将25 μ L STAT5irf1-bla TF1 (Invitrogen编号K1219) 细胞悬浮液接种于具有清澈底部的384孔Black View板 (PerkinElmer编号6007460) 中的分析培养基 (Opti-MEM (Invitrogen编号11058-021)+0.5%热灭活的胎牛血清 (Invitrogen编号10082-147)+1%非必需氨基酸 (Invitrogen编号11140-050)+1%丙酮酸钠 (Invitrogen编号11360-070)+1%青霉素/链霉素 (Invitrogen编号15140-122)) 中。将细胞板在加湿37℃空气/CO₂ (95%/5%) 培育器中培育过夜。次日,使用Labcyte Echo 550液体处置器将125nL测试化合物及参照化合物的溶液转移至细胞板中。然后将板在加湿37℃空气/CO₂ (95%/5%) 培育器中培育1小时。此后,也使用Labcyte Echo 550将重组体人类促红细胞生成素(EPO) (Invitrogen编号PHC9634) 添加至板,直至最终浓度为10ng/mL。然后将细胞在加湿37℃空气/CO₂ (95%/5%) 培育器中培育41/2-5小时。然后将8 μ L LiveBLAzer底物混合物 (Invitrogen编号K1095) 添加至分析板,然后将其在RT下培育过夜。然后测量荧光:激发:405nm;发射:460nm(绿色通道)、发射:535nm(蓝色通道)。在两个发射通道中减去背景并计算每个孔的比率460/535nm。

[0560] 在JAK1、JAK2、JAK3及TYK2激酶分析以及STAT6及STAT5分析中测试本发明的化合物。结果公开于表1中。

[0561] 表1

化合物	JAK1 EC ₅₀ (nM)	JAK2 EC ₅₀ (nM)	JAK3 EC ₅₀ (nM)	TYK2 EC ₅₀ (nM)	STAT6 EC ₅₀ (nM)	STAT5 EC ₅₀ (nM)	JAK2/ JAK1 比率	JAK3/ JAK1 比率	STAT6/ STAT5 比率	
[0562]	实施例1	10.8	530	5260	111	237	14600	49	487	62
	实施例2	44.4	1130	9820	466	1160	>42600	25	221	>37
	实施例3	3.48	171	1700	32.0	94.5	6420	51	489	68
	实施例4	3.46	153	2310	43.0	141	7080	44	668	50
	实施例5	8.41	301	3200	102	270	9240	36	380	34
	实施例6	508	2640	2870	1110	8570	>49800	5.2	5.6	>5.8
[0563]	实施例7	129	981	1010	443	3460	>49800	7.6	7.8	>14
	WO2011086053 的实施例644*	0.34	3.34	13.1	3.32	10.5	123	9.8	39	12
	WO2011086053 的实施例641*	6.81	228	739	115	178	5740	33	109	32

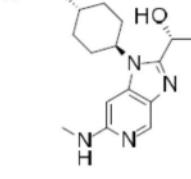
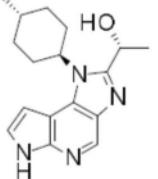
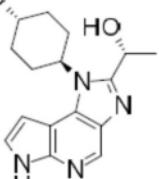
[0564] WO2011086053的*实施例641及实施例644是根据WO2011086053制备的

[0565] 相对于JAK2或JAK3的JAK1选择性计算为各自EC₅₀的JAK2:JAK1或JAK3:JAK1比率。相对于STAT5的针对STAT6的选择性进行类似计算。如自表1可见,本发明的化合物显示相对于JAK2及JAK3的对JAK1抑制的高选择性;及相对于STAT5(反映JAK2抑制)的对STAT6抑制(反映JAK1抑制)的高选择性。

[0566] 激酶选择性

[0567] 本发明实施例3以及WO2011086053的实施例644及641的激酶选择性概况是在CARNA Biosciences Inc.用由以下组成的群组来评估:23种酪氨酸激酶(包括JAK1(ABL、CSK、EGFR、EPHA2、EPHB1、EPHB4、FGFR1、FLT3、IGF1R、ITK、JAK1、JAK3、KDR、LCK、MET、PDGFR α 、PDGFR β 、PYK2、SRC、TIE2、TRKA及TYR03))以及68种丝氨酸及苏氨酸激酶(LCK、MET、AKT1、AMPK α 1/ β 1/ γ 1、AurA、AurB、AurC、BRSK2([ATP]=Km值)、CaMK1 α ([ATP]=Km值)、CaMK2 α ([ATP]=Km值)、CaMK4、CDC2/CycB1、CDC7/ASK、CDK2/CycA2、CDK2/CyE1、CDK3/CyE1([ATP]=Km值)、CDK4/CyD3、CDK6/CyD3、CDK7/CycH/MAT1、CDK9/CycT1、CHK1、CK1 ϵ 、CK2 α 1/ β 、CK2 α 2/ β 、CLK1、CLK2、DAPK1、DYRK1B、Erk2、GSK3 α 、GSK3 β 、HGK、IKK β 、IRAK4([ATP]=Km值)、JNK2、LOK([ATP]=Km值)、MAPKAP2、MLK1、MLK2、MNK2([ATP]=Km值)、MST1、MST2([ATP]=Km值)、NEK1、NEK2、NEK6、NEK7、NEK9、p38 α 、p70S6K、PAK1([ATP]=Km值)、PAK2、PAK5([ATP]=Km值)、PBK、PDK1、PIM1、PIM2、PKAC α 、PKC α 、OKD2、PKN1([ATP]=Km值)、PLK1、PLK2([ATP]=Km值)、ROCK1、RSK1、SGK、skMLCK([ATP]=Km值)及TSSK1)。评估通常是在1mM的ATP浓度下进行,然而对于某些激酶,使用接近相应Km值的ATP浓度(此在每一相关激酶的括号中说明)。抑制百分比是在大约1000倍JAK1 EC₅₀的抑制剂浓度下测量。结果汇总于表2中:

[0568] 表2

	实施例3 (4 μm) 	WO2011086053 的实施例644 (0.4 μm) 	WO2011086053 的实施例641 (9 μm) 
[0569]	在1 mM的ATP浓度下, 酪氨酸激酶被抑制50%或以上(n≥2)	JAK1 FGFR1 FLT3 KDR PDGFRα PDGFRβ	JAK1 FGFR1 FLT3 KDR PDGFRα PDGFRβ
	丝氨酸及苏氨酸激酶被抑制50%或以上(n≥2)	BRSK2, [ATP] = 50 μm LOK, [ATP] = 100 μm MST1, [ATP] = 1 mM MST2, [ATP] = 75 μm PKN1, [ATP] = 25 μm	BRSK2, [ATP] = 50 μm LOK, [ATP] = 100 μm MST1, [ATP] = 1 mM MST2, [ATP] = 75 μm PKN1, [ATP] = 25 μm

[0570] 如表2中所显示,本发明的实施例3展示对大组激酶的极高选择性程度;即除JAK1以外没有测试激酶被抑制超过50%。

[0571] WO2011086053的实施例644及641抑制除JAK1外的9种其他激酶50%或以上。

[0572] 抑制脱靶激酶增加不良效应的风险,即高激酶选择性可降低不良效应的风险。

[0573] CYP抑制及CYP诱导

[0574] 可逆CYP抑制、时间依赖性CYP抑制(TDI)及CYP诱导是根据权威指导在Cyprotex PLC测试。

[0575] 对于可逆CYP抑制,在对于实施例3在高达50μM且对于WO2011086053的实施例644及641高达25μM的底物浓度下测量IC50。

[0576] 可逆CYP抑制结果汇总于表3中。

[0577] 表3

	1A2 IC50 (μM)	2B6 IC50 (μM)	2C8 IC50 (μM)	2C9 IC50 (μM)	2C19 IC50 (μM)	2D6 IC50 (μM)	3A4 IC50 (μM)
[0578]	实施例3	>50	>50	>50	>50	>50	>50
	WO2011086053 的实施例644	>25	ND	ND	>25	>25	>25
	WO2011086053 的实施例641	>25	ND	ND	>25	>25	10.9

[0579] ND=未测定

[0580] 如自表3可见,实施例3在于最高50μM的底物浓度下测量时展示无CYP抑制。

[0581] WO2011086053的实施例644及641指示弱的CYP3A4抑制。

[0582] 对于实施例3指示无时间依赖性CYP抑制。

[0583] CYP3A4抑制可指示不期望的药物-药物相互作用。CYP抑制可影响血浆水平并增加共施用药物的暴露,且潜在地导致不利的药物反应或毒性。

[0584] CYP1A2、CYP2B6及CYP3A4基因表达的诱导分别可用作芳基烃受体(AhR)、孕甾烷X受体(PXR)及组成型雄甾烷受体(CAR)的活化的敏感性代表终点。通过分别在相关浓度下测量AhR、CAR及PXR的mRNA编码的增加来评价所述核受体的诱导。

[0585] >2倍的转变(shift)指示CYP诱导。

[0586] 来自三个最高培育浓度的结果汇总于表4中。

[0587] 表4:CYP诱导的与溶媒相比的平均倍数转变

	mRNA表达(CYP 1A2)的倍数转变	mRNA表达(CYP 2B6)的倍数转变	mRNA表达(CYP 3A4)的倍数转变
[0588]	实施例3 0.8(在0.1 μM下) 0.7(在1.0 μM下) 0.8(在10 μM下)	1.1(在0.1 μM下) 1.5(在1.0 μM下) 1.7(在10 μM下)	1.2(在5.0 μM下) 1.5(在20 μM下) 2.0(在50 μM下)
	WO2011086053 的实施例644 0.8(在0.1 μM下) 0.8(在1.0 μM下) 1.6(在10 μM下)	1.3(在0.1 μM下) 2.0(在1.0 μM下) 7.3(在10 μM下)	1.3(在0.1 μM下) 1.4(在1.0 μM下) 5.4(在10 μM下)
	WO2011086053 的实施例641 0.9(在0.1 μM下) 0.8(在1.0 μM下) 0.9(在10 μM下)	1.0(在0.1 μM下) 1.3(在1.0 μM下) 1.4(在10 μM下)	1.8(在5.0 μM下) 2.5(在20 μM下) 4.0(在50 μM下)

[0589] 如自表4可见,实施例3在最高至少50μM的浓度不引起CYP3A4诱导或最高至少10μM的浓度不引起CYP1A2及CYP2B6诱导。

[0590] WO2011086053的实施例644在10μM的浓度下引起CYP3A4诱导并在10μM的浓度下引起CYP2B6诱导,且WO2011086053的实施例641在20μM及以上的浓度下引起CYP3A4诱导。

[0591] CYP3A4诱导可指示不期望的药物-药物相互作用。CYP诱导可降低共施用药物的暴露,从而导致效能下降。另外,CYP诱导亦可因增加反应性代谢物形成而导致毒性。

[0592] 结晶材料的水溶解度

[0593] 评估结晶实施例3、WO2011086053的实施例644及641在不同pH下的水溶解度。溶解度(mg/mL)汇总于表5中：

[0594] 表5

[0595]	实施例3 [结晶形式, m.p.(DSC起始温 度)] 143 ± 2°C] 溶解度(mg/mL)	WO2011086053 的实施例644 [结晶形式, m.p. (DSC起始温度)] 244 ± 2°C] 溶解度(mg/mL)	WO2011086053的实施例 641 [两种结晶形式的混合物, m.p. (DSC起始温度)] 188 ± 2及195 ± 2°C] 溶解度(mg/mL)
	pH 2.0 >346	2.47	90.0
[0596]	pH 7.4 12.3	0.136	2.26
	pH 9.0 11.1	0.0099	2.28

[0597] 一般而言，水溶解度是影响口服制剂开发的关键方面之一，且口服生物利用度高度依赖于药物的溶解度。高溶解度将驱动化合物在GI道中的快速溶解，且所达到的高浓度将驱动穿过肠上皮吸收。因此，高溶解度可显著增加在相关剂量下达成高口服生物利用度及期望的全身性暴露的可能性。