



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103224497 A

(43) 申请公布日 2013. 07. 31

- (21) 申请号 201310082541. 9 *A61P 29/00* (2006. 01)
- (22) 申请日 2009. 04. 22 *A61P 37/02* (2006. 01)
- (30) 优先权数据 *A61P 7/02* (2006. 01)
- 61/047, 077 2008. 04. 22 US *A61P 25/00* (2006. 01)
- (62) 分案原申请数据 *A61P 11/06* (2006. 01)
200980122394. 5 2009. 04. 22 *A61P 37/08* (2006. 01)
- (71) 申请人 波托拉医药品公司 *A61P 35/00* (2006. 01)
- 地址 美国加利福尼亚州 *A61P 17/06* (2006. 01)
- (72) 发明人 宋永红 徐亲 S·M·鲍尔 *A61P 13/12* (2006. 01)
- Z·J·贾 M·梅赫罗特拉 A·潘迪 *A61P 35/02* (2006. 01)
- (74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所
- 11247
- 代理人 隋晓平 黄革生
- (51) Int. Cl.
- C07D 487/04* (2006. 01)
- A61K 31/519* (2006. 01)
- A61K 31/635* (2006. 01)
- A61P 9/00* (2006. 01)

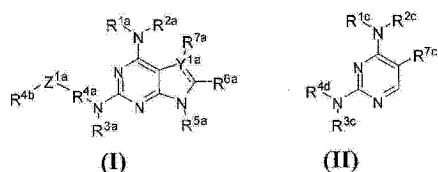
权利要求书4页 说明书159页 附图65页

(54) 发明名称

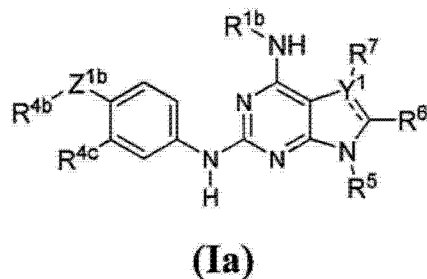
蛋白激酶抑制剂

(57) 摘要

本发明涉及蛋白激酶抑制剂。更具体而言，本发明涉及式 I-II 化合物及其可药用盐、酯和前药，它们为 syk 和 / 或 JAK 激酶抑制剂。本发明还涉及用于制备此类化合物的中间体、制备此类化合物的方法、含有此类化合物的药用组合物、抑制 syk 和 / 或 JAK 激酶活性的方法、抑制血小板凝集的方法以及预防或治疗至少部分由 syk 和 / 或 JAK 激酶活性介导的多种疾病的方法，所述疾病例如不期望的血栓形成和非霍奇金淋巴瘤。



1. 式 (Ia) 化合物、其互变异构体或可药用盐：



其中：

Y^{1b} 为 C；

Z^{1b} 为杂环基、 $-NR^{4d}SO_2-$ 、杂环基磺酰基或键；

R^{1b} 选自下列基团：

(a) H；

(b) C_{1-8} 烷基，该烷基任选被下列基团取代：氨基、氨基 C_{1-8} 烷基、氨基羰基、烷氧基、 C_{1-8} 烷基氨基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基 C_{1-8} 烷氧基、芳基、羟基或杂环基；

(c) C_{3-8} 环烷基，该环烷基任选被下列基团取代：烷基、氨基、羟基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷基氨基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基 C_{1-8} 烷氧基；

(d) 芳基，该芳基任选被下列基团取代：烷基、氨基、氨基磺酰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷基氨基羰基 C_{1-8} 烷氧基、羟基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷基氨基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基 C_{1-8} 烷氧基或卤素；

(e) 杂环基，该杂环基任选被下列基团取代： C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基、氨基、羟基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷基氨基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基 C_{1-8} 烷氧基、氧代或氰基 C_{1-8} 亚烷基羰基；

(f) 杂芳基，该杂芳基任选被下列基团取代：烷基、氨基、羟基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷基氨基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基或氨基 C_{1-8} 烷氧基；

R^{4b} 选自下列基团：H、羟基、 C_{1-8} 烷基羰基、 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基氨基、氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基、羟基羰基、羟基羰基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、羟基、羟基 C_{1-8} 亚烷基羰基氨基、 C_{1-8} 烷基氨基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷基氨基 C_{1-8} 亚烷基氨基羰基、氨基羰基氨基、 C_{1-8} 烷基磺酰基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{3-8} 环烷基羰基氨基和 C_{1-8} 烷基羰基氨基；并且

R^{4c} 为 H、氨基、 C_{1-8} 烷基羰基、氨基羰基 C_{1-8} 烷氧基；

R^{4d} 为 H 或 C_{1-8} 烷基；

R^5 为 H 或 C_{1-8} 烷基；

R^6 选自 H、 C_{1-8} 烷基、卤素、羟基和氧代；

R^7 选自氰基、 C_{1-8} 烷氧基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷基羰基、羟基、氧代、卤素、芳基和杂芳基；虚线表示双键或单键；

或者 $R^{4b}-Z^{1b}$ 部分与 R^{4c} 结合形成含有 1-3 个包括 N、O、S 的杂原子的 5-7 元杂环，该杂环任选被下列基团取代： C_{1-8} 烷基、卤素、氰基、氧代、 $=S$ 、氨基、羟基、 C_{1-8} 烷基羰基、 C_{1-8} 烷氧基或芳基氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基。

2. 权利要求 1 的化合物，所述化合物选自下列化合物：N2-(1H-吡唑-6-基)-N4-甲基-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺；1-(4-(4-(4-(甲基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；

N2-(1H-吡啶-6-基)-N4-甲基-5-(吡啶-3-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺; 1-(4-(4-(4-(环丙基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮; 2-(1H-吡啶-6-基氨基)-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈; 5-(1-丁氧基乙基)-N4-环丙基-N2-(1H-吡啶-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺; 1-(2-(1H-吡啶-6-基氨基)-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙酮; N4-环丙基-N2-(1H-吡啶-6-基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺; 1-(4-(4-(4-(哌啶-4-基甲基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮; 2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(哌啶-4-基甲基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈; N-(4-(4-(环丙基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺; 6-(4-(环丙基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮; 5-溴-N4-环丁基-N2-(1H-吡啶-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺; 5-氯代-N4-环丁基-N2-(1H-吡啶-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺; 和 2-(1H-吡啶-6-基氨基)-4-(环丁基氨基)-6,7-二氢吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-酮。

3. 权利要求1的化合物,所述化合物选自下列化合物:

N-(4-(4-(5-氨基戊基氨基)-5-溴-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺; N-(4-(4-(5-氨基戊基氨基)-5,6-二溴-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺; 4-(4-(环丙基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺; 4-(4-氨基-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酸; 4-(环丙基氨基)-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈; 4-(5-氰基-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺; N-(4-(5-氰基-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺; 4-(5-氰基-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯磺酰胺; 2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈; 4-(4-甲氧基苯基氨基)-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈; 6-(4-(4-氟苯基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-1-甲基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮; 6-(4-氨基-5-(4-氟苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-1-甲基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮; 6-(4-(苄基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-1-甲基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮; 和 4-(苄基氨基)-2-(1-甲基-2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈。

4. 权利要求1的化合物,其中 R^{1a} 为 C_{3-8} 环烷基。

5. 权利要求1的化合物,其中 R^{1a} 为环己基、环丙基或环丁基。

6. 权利要求1的化合物,其中 R^{2a} 为 H。

7. 权利要求1的化合物,其中 Y^{1a} 为 C。

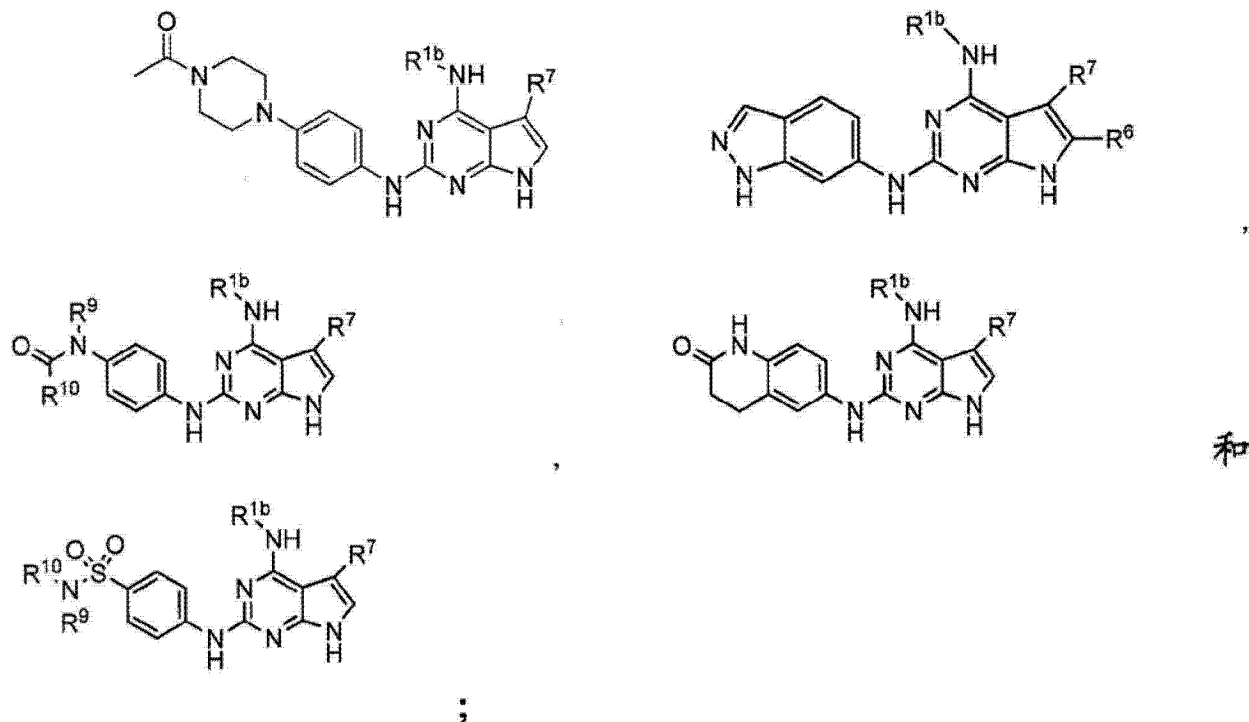
8. 权利要求1的化合物,其中 R^{2a} 为 H。

9. 权利要求1的化合物,其中 Z^1 为键。

10. 权利要求1的化合物,其中 R^{4b} 选自氢、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷基羰基、 C_{1-8} 烷基羰基氨基、 C_{1-8} 烷基磺酰基、 C_{1-8} 烷基亚磺酰基、 C_{1-8} 烷基磺酰基氨基、 C_{1-8} 烷基磺酰 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷

巯基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷氧基羰基氨基、 C_{1-8} 烷氧基羰基、 C_{1-8} 烷氧基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羰基、氨基磺酰基、 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基氨基磺酰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基氨基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基羰基、氨基羰基 C_{1-8} 烷氧基、氨基羰基、氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基氨基磺酰基、羧基、羧基 C_{1-8} 亚烷基氨基磺酰基、 C_{3-8} 环烷基羰基氨基、卤素、羟基、羟基 C_{1-8} 亚烷基、羟基 C_{1-8} 亚烷基羰基氨基、羟基 C_{1-8} 亚烷基氨基、羟基 C_{1-8} 亚烷基氨基磺酰基、羟基 C_{1-8} 亚烷基氨基羰基、氧代和杂环基。

11. 权利要求 1 的化合物、其互变异构体或可药用盐,所述化合物具有下式:



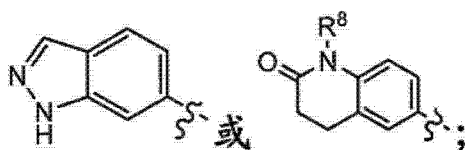
其中 R^{1b} 为任选被氨基、杂环基或氨基杂环基取代的 C_{1-8} 烷基,以及任选被氨基取代的 C_{3-8} 环烷基; R^7 为卤素、羟基、 C_{1-8} 烷氧基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷基羰基、氰基或苯基、吡啶基;且 R^6 为氢、 C_{1-8} 烷基或卤素; R^9 为氢或 C_{1-8} 烷基;且 R^{10} 为氢、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基、羧基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{3-8} 环烷基和羟基 C_{1-8} 亚烷基。

12. 权利要求 1 的化合物,其中 R^{1b} 为 C_{3-8} 环烷基,任选被取代。

13. 权利要求 1 的化合物,其中 R^{1b} 为环己基、环丙基或环丁基,各任选被取代。

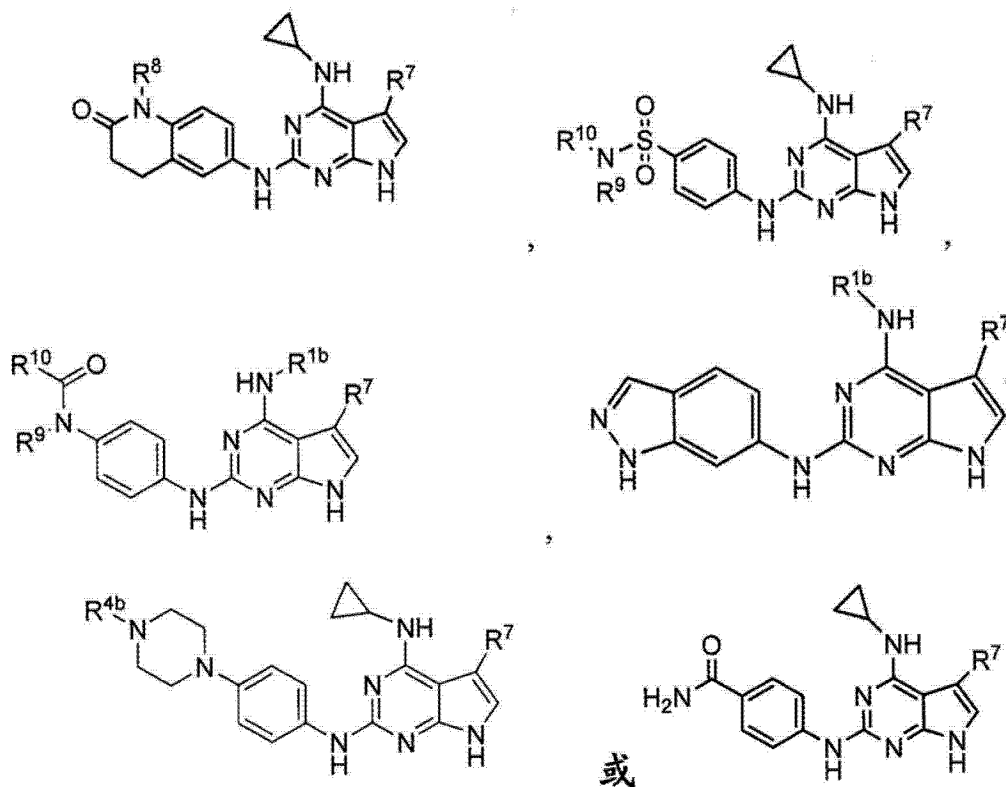
14. 权利要求 1 的化合物,其中 R^{4b} - Z^{1b} - R^{4c} 部分

选自:



其中 R^8 选自氢、 C_{1-8} 烷基、羟基羰基 C_{1-8} 亚烷基、烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基和 C_{1-8} 烷基氨基 C_{1-8} 亚烷基氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基。

15. 权利要求 1 的化合物,所述化合物具有下式:



其中 R^{1b} 为 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、芳基或杂芳基；各任选被羟基、 C_{1-8} 烷氧基或氨基 C_{1-8} 烷氧基取代； R^{4b} 为氢或 CH_3CO- ； R^7 为氢、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷基羰基、氨基羰基、氰基、苯基或吡啶基； R^9 为氢或 C_{1-8} 烷基；且 R^{10} 为氢、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基、羧基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{3-8} 环烷基和羟基 C_{1-8} 亚烷基。

16. 组合物，该组合物含有权利要求 1 的化合物以及可药用载体或稀释剂。

17. 权利要求 1 的化合物或权利要求 16 的组合物，用于抑制 syk、JAK 激酶或至少部分由 syk 或 JAK 激酶活性介导的信号转导通路，包括使细胞与权利要求 1 的化合物或权利要求 16 的组合物接触的步骤。

18. 权利要求 1 的化合物或权利要求 16 的组合物，用于生产治疗至少部分由 syk 或 JAK 激酶活性介导的病症或疾病的药物。

19. 药盒，所述药盒含有权利要求 16 的组合物、包装和使用说明书。

蛋白激酶抑制剂

[0001] 本申请为 2009 年 4 月 22 日提交的、发明名称为“蛋白激酶抑制剂”的 PCT 申请 PCT/US2009/002512 的分案申请,所述 PCT 申请进入中国国家阶段的日期为 2010 年 12 月 14 日,申请号为 200980122394.5。

[0002] 相关申请的交叉参考

[0003] 本申请要求 2008 年 4 月 22 日提交的美国临时专利申请号 61/047077 的权益,其全部内容引入本文作为参考。

技术领域

[0004] 本发明涉及用作脾酪氨酸激酶 (syk) 和 / 或 JAK 激酶抑制剂的嘧啶、吡咯并嘧啶以及嘌呤类生物。本发明还涉及含嘧啶化合物的药用组合物,以及用该化合物或组合物治疗特征在于不需要的血栓形成疾病的方法。本发明还涉及制备本文中所述化合物的方法。

背景技术

[0005] 蛋白激酶组成结构相关酶的大家族,这些酶负责调控细胞内多种信号转导过程 (参见例如 Hardie 和 Hanks, The Protein Kinase Facts Book, I and II, Academic Press, San Diego, Calif., 1995)。由于它们的结构和催化功能的保守性,蛋白激酶被认为是共有祖基因的进化产物。几乎所有激酶都含相似的 250-300 氨基酸催化域。可通过被它们磷酸化的底物将激酶划分为不同家族 (例如蛋白 - 酪氨酸、蛋白 - 丝氨酸 / 苏氨酸、脂质等)。已鉴定出通常对应于这些家族中各家族的序列基元 (参见例如 Hanks & Hunter, (1995), FASEB J. 9 :576-596 ;Knighton 等, (1991), Science 253 :407-414 ;Hiles 等, (1992), Cell 70 :419-429 ;Kunz 等, (1993), Cell 73 :585-596 ;Garcia-Bustos 等, (1994), EMBO J. 13 :2352-2361)。

[0006] 许多疾病与由蛋白激酶介导的事件触发的异常细胞反应有关。这些疾病包括自身免疫病、炎症疫病、骨病、代谢疾病、神经和神经变性疾病、癌症、心血管病、过敏、哮喘、早老性痴呆和激素相关疾病。因此,在药物化学领域,已对寻找用作治疗药物的蛋白激酶抑制剂做了大量工作。

[0007] 免疫受体酪氨酸激活基元 (ITAM) 介导的信号为信号通路中与人类疾病有关的主要事件。ITAM 介导的信号事件是使免疫细胞中传统免疫受体例如 T 细胞受体、B 细胞受体、Fc 受体和血小板中 GPVI 和 Fc γ RIIa 被引发的激活信号传递至下游细胞内分子例如 syk 和 ZAP-70 的关键因素 (Underhill, D. M and Goodridge, H. S., Trends Immunol., 28 :66-73, 2007)。

[0008] 配体与含 ITAM 的受体结合触发信号事件,这导致从称为 Src 家族的非受体酪氨酸激酶家族中募集蛋白。这些激酶将 ITAM 序列中酪氨酸残基磷酸化, ITAM 序列是与 syk 或 ZAP-70 上 SH2 域串联的区域。

[0009] Syk 与 Zap-70 一起为蛋白酪氨酸激酶 syk 家族的一员。syk 或 ZAP-70 与二磷酸化 ITAM 序列相互作用诱发激酶构象改变,该改变使激酶自身的酪氨酸磷酸化。磷酸化

的 Syk 家族成员将众多下游信号通路蛋白激活,此类蛋白包括含有 Src 同源 2(SH2) 域的 76kDa(SLP-76) 的白细胞特异性磷蛋白,激活的 T 细胞 (LAT) 和 PLC(磷酸酯酶 C) γ 2 的接头。

[0010] 归因于功能异常的 ITAM 介导的信号事件的人疾病包括自身免疫病,例如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化、溶血性贫血、免疫性血小板减少性紫癜、肝素引起的血小板减少症和动脉粥样硬化。有意义的是,据认为,通过抗体使 Fc 受体交联能够导致发生上述疾病中的很多疾病,所述抗体通过 syk 在肥大细胞、嗜碱性粒细胞和其它免疫细胞中激活信号级联,导致负责炎症反应的细胞介质释放。在依赖 IgE 刺激的过敏和炎症反应中,可通过抑制 syk 的酪氨酸激酶活性控制肥大细胞和嗜碱细胞中的介质释放和细胞因子产生 (Rossi, A. B 等, J Allergy Clin Immunol., 118 :749-755, 2006)。在免疫血小板减少症中,脾通过 Fc 受体 /ITAM/syk 介导的过程清除与血小板结合的抗体 (Crow, A. R 等, Blood, 106 :摘要 2165, 2005)。由肝素-血小板因子 4 免疫复合物造成的药物引起的血小板减少症还涉及受体参与 (engagement) 的 syk 信号事件下游,肝素-血小板因子 4 免疫复合物激活血小板 Fc γ RIIa (Reilly, M. P., Blood, 98 :2442-2447, 2001)。

[0011] 血小板激动剂诱导内向外 (inside-out) 整联蛋白信号,导致纤维蛋白原结合和血小板聚集。由此启动外向内 (outside-in) 信号,该信号进一步刺激血小板。syk 在整联蛋白信号的两个期间均被激活,表明 syk 的抑制可以抑制血小板与固定化蛋白的粘着 (Law, D. A 等, Blood, 93 :2645-2652, 1999)。由胶原引起花生四烯酸和 5-羟色胺释放以及聚集 syk 缺乏小鼠的血小板中血小板的显著抑制 (Poole, A 等, EMBO J., 16 :2333-2341, 1997)。因此, syk 抑制剂也具有抗凝作用。

[0012] 由于 syk 在 Ig 引起的血小板激活中起作用,所以,它可能在动脉粥样硬化和再狭窄中很重要。动脉粥样硬化是特征在于血管动脉壁增厚和硬化的一类疾病。尽管所有血管均对该严重变性疾病敏感,但服务于心脏的主动脉和冠状动脉通常受影响最大。因为动脉粥样硬化可增加心脏病发作、心肌梗塞、中风和主动脉瘤的风险,所以它具有深远的临床重要性。

[0013] 对动脉粥样硬化的传统治疗包括用于将阻滞不很严重的血管再通的方法和用于将较重阻滞的冠脉搭桥术。血管内方法的严重缺点是,在大量的治疗个体中某些或所有治疗的血管出现再狭窄 (即再缩窄)。例如,在 10-50% 的接受该方法的患者中出现 PTCA 后的动脉粥样硬化的冠状动脉再狭窄,随后需要再次血管成形术或冠状动脉分流移植。另外,植入支架后,在 10-20% 的接受该方法的患者中出现动脉粥样硬化的冠状动脉再狭窄,随后需要重复治疗,以维持适当血流通过受影响的动脉。再狭窄通常发生在治疗后的相对短暂时间期,例如约小于 6 个月。

[0014] 虽然尚未测定到促进再狭窄的确切的激素和细胞过程,但据认为,再狭窄的原因部分源于气囊导管或其它血管内装置对血管壁造成的机械性损伤。例如,除打通阻塞的动脉外, PTCA 过程还损伤冠状动脉平滑肌细胞 (SMC)。作为对于该损伤的响应,粘连血小板、浸润巨噬细胞、白细胞或平滑肌细胞自身释放细胞衍生 (cell-derived) 的生长因子,例如血小板衍生生长因子 (PDGF),随后中膜 SMC 增殖并通过内弹性层迁移到血管内膜的区域。内膜 SMC 进一步增殖和增生,而最重要的是,在 3-6 月期间产生大量细胞外基质从而导致血管空间填充和收缩至足以显著阻塞血流。

[0015] syk 除在 Ig 引起的血小板激活中起作用外, syk 还在胶原介导的信号中起极重要的作用。负责血小板粘着和激活的主要粘连蛋白是胶原。胶原为包含在粉瘤的纤维变性罩内的丝状蛋白,在噬斑破裂期间,丝状蛋白暴露于血液。胶原最初通过与 von Willebrand 因子结合起作用,该因子通过与血小板膜 GPIb 结合束缚血小板。然后,胶原通过连结血小板上的两个胶原受体 GPVI 和整联蛋白 $\alpha 2 \beta 1$ 起作用。

[0016] GPVI 以与 FcR γ 的复合物形式存在于血小板膜中,与 FcR γ 复合是 GPVI 表达所需要的相互作用。激活血小板上的 Fc γ RIIa 导致血小板形状改变、分泌和血栓形成。通过 FcR γ 的 ITAM 域的酪氨酸磷酸化,然后募集 syk,启动 GPVI/FcR γ 复合物发出信号。GPVI 激活导致诱发多种血小板功能,它们包括:激活整联蛋白 $\alpha 2 \beta 1$ 从而加固血小板粘着,激活能够介导血小板聚集和血栓生长的 GP IIb-IIIa;分泌血小板,以使炎性蛋白例如 CD40L、RANTES 和 TGF β 传递到血管壁;表达 P-选择蛋白,以募集白细胞。因此,人们认为 syk 抑制剂可抑制由血小板粘连、激活和聚集介导的血栓形成事件。

[0017] 据报道,通过刺激 IgG 抗体的受体 Fc γ R 而诱发的细胞内蛋白的酪氨酸磷酸化(激活)和由 Fc γ R 介导的吞噬在源自 syk 缺乏小鼠的巨噬细胞中均被显著抑制(Crowley, M. T. 等, J. Exp. Med., 186:1027-1039, 1997)。该结果说明, syk 在 Fc γ R 介导的巨噬细胞吞噬中具有显著重要作用。

[0018] 又据报道, syk 的反义寡核苷酸能够抑制由 GM-CSF 诱发的对嗜酸性粒细胞的凋亡抑制(Yousefi, S. 等, J. E. Med., 183:1407-1414, 1996),这说明 syk 对由 GM-CSF 等造成的嗜酸性粒细胞的生命延长信号至关重要。因为嗜酸性粒细胞的生命延长与过敏性疾病(例如哮喘)中疾病转变为慢性疾病紧密相关,所以 syk 抑制剂也可作为慢性嗜酸性炎症的治疗药物。

[0019] Syk 对通过 B 细胞抗原受体来激活 B 细胞而言很重要,它涉及磷脂酰肌醇代谢和由抗原受体刺激造成的细胞内钙浓度增加(Hutchcroft, J. E. 等, J. Biol. Chem., 267:8613-8619, 1992;和 Takata, M. 等, EMBO J., 13:1341-1349, 1994)。因此, syk 抑制剂可用于调节 B 细胞的功能,因此预计可用作与抗体相关的疾病的治疗药物。

[0020] Syk 与 T 细胞抗原受体结合,通过受体交联而迅速经历酪氨酸磷酸化,对由 Src 酪氨酸激酶例如 Lck 介导的细胞内信号起协同作用(Couture, C. 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91:5301-5305, 1994;和 Couture, C. 等, Mol. Cell. Biol., 14:5249-5258, 1994)。syk 存在于成熟 T 细胞群例如表皮内 $\gamma \delta$ T 细胞和原初 $\alpha \beta$ T 细胞,据报道,它可使 TCR 信号级联放大的若干组分磷酸化(Latour, S. 等, Mol Cell Biol., 17:4434-4441, 1997)。因此, syk 抑制剂可用作抑制由 T 细胞抗原受体介导的细胞免疫的药物。

[0021] 近期比较基因组杂交研究发现, syk 是在套细胞淋巴瘤(MCL)的发病机理中起作用的另一种重要基因(Chen, R. 等, Journal of Clinical Oncology, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings(Post-Meeting Edition). 第 25 卷, No18S(June20Supplement), 2007:8056)。MCL 占有非霍奇金淋巴瘤的 5-10%,它是一种难以治疗的淋巴瘤形式。在具有 3 年存活率中值的 B 细胞淋巴瘤中,它的预后最差。据报道, Syk 在 MCL 中过度表达(Rinaldi, A, 等, Br. J. Haematol., 2006:132:303-316),且 Syk 在滤泡细胞、套细胞、伯基特细胞和弥散性大 B 细胞非霍奇金淋巴瘤中介导 mTOR(雷帕霉素的哺乳动物靶标)存活信号(Leseux, L. 等, Blood, 2006:108:4156-4162)。

[0022] 若干条证据显示,多种 B 细胞淋巴瘤依赖于 B 细胞受体 (BCR) 介导的存活信号。通过 SRC 家族激酶,BCR 信号诱发 Ig α 和 β 免疫受体基于酪氨酸的激活基元的受体寡聚和磷酸化。ITAM 磷酸化导致 syk 的募集和激活,从而启动下游事件并放大原始 BCR 信号。鉴于紧张性 BCR 信号在正常 B 细胞中的作用和体外非霍奇金淋巴瘤细胞系依赖于 syk 的存活 (Chen, L. 等, Blood, 2006 ;108 :3428-3433),有人报道,对于某些 B 细胞淋巴瘤和慢性淋巴白血病 (CLL) 而言,抑制 syk 是有前途的合理的治疗靶标 (Stefania Gobessi, Luca Laurenti, Pablo Longo, Laura Carsetti, Giuseppe Leone, Dimitar G. Efremov, 慢性淋巴白血病 B 细胞中的蛋白酪氨酸激酶 Syk 的组成型激活 (Constitutive activation of the protein tyrosine kinase Syk in Chronic Lymphocytic Leukemia B-cells), Blood, 2007, 110, Abstract 1123)。近期发表的数据说明,在 CLL 患者中给予抑制 syk 的多激酶 (multikinase) 抑制剂可能具有显著临床活性 (Friedberg JW 等, Blood 2008 ;112(11), 摘要 3)。

[0023] 已有关于脾酪氨酸激酶 (Syk) 在多个不同环境中的致癌潜力的描述。据报道,在临床上, Syk 在套细胞淋巴瘤中过度表达 (Rinaldi, A 等, Br. J. Haematol., 2006 ;132 :303-316), 通过染色体易位 (t(9 ;12) (q22 ;p12)) 产生的 TEL-Syk 融合蛋白 (易位 ETS 白血病) 导致 Syk 活性增加,且与骨髓增生异常综合征有关 (Kuno, Y. 等, Blood, 2001 ;97 :1050-1055)。在小鼠中,通过过继转移表达人 TEL-Syk 的骨髓细胞能够诱发白血病 (Wossning, T., JEM, 2006 ;203 :2829-2840)。另外,在小鼠初级骨髓细胞中, Syk 的过度表达导致 IL-7 在培养基中独立生长 (Wossning, T. 等, JEM, 2006 ;203 :2829-2840)。

[0024] 有意义的是,在人和小鼠中, B 细胞发育和存活似乎需要 Syk 信号。B 细胞受体 (Lam, K. 等, Cell, 1997 ;90 :1073-1083) 或 Ig α (Kraus, M. 等, Cell, 2004 ;117 :787-800) 的诱发性损失 (inducible loss) 导致小鼠中外周 B 细胞损失。已知蛋白酪氨酸磷酸酶 PTP-RO 的过度表达能够负向调节 Syk 活性,这种表达在源自非霍奇金氏淋巴瘤的细胞系中抑制增殖并诱导凋亡 (Chen, L. 等, Blood, 2006 ;108 :3428-3433)。因此, B 细胞淋巴瘤很少出现 BCR 表达缺失,抗个体遗传型疗法 (idiotype therapy) 很少导致耐药 (Kuppers, R. Nat Rev Cancer, 2005 ;5 :251-262)。

[0025] 抗原特异性 B 细胞受体 (BCR) 的参与 (engagement) 能够激活多个信号通路,这些通路最终调节细胞激活状态、促进存活和克隆扩充。BCR 与免疫球蛋白超家族的两个其它成员 Ig α 和 Ig β 的结合使得通过 BCR 发出信号成为可能, Ig α 和 Ig β 各自携有基于免疫-酪氨酸的激活基元 (ITAM) (Jumaa, Hendriks 等, Annu Rev Immunol 23 :415-45 (2005))。ITAM 域被响应于 BCR 参与的 Src 家族激酶直接磷酸化。脾酪氨酸激酶 (Syk) 与 ITAM 对接并将其磷酸化,这是增强其激酶活性的过程,导致 Syk 自磷酸化以及多个下游底物的酪氨酸磷酸化 (Rolli, Gallwitz 等, Mol Cell 10(5) :1057-69 (2002))。当表达新形成的前 BCR 时,该信号通路对处于从原 B 细胞开始到转变为前 B 细胞的发育阶段中的 B 细胞有活性。事实上,在敲除 Syk 的小鼠中, B 细胞发育停止在原 B 细胞阶段 (Cheng, Rowley 等, 1995 ; Turner, Mee 等, Nature 378(6554) :303-6 (1995))。在小鼠中, B 细胞受体 (Lam, Kuhn 等, Cell 90(6) :1073-83 (1997)) 或 Ig α (Kraus, Alimzhanov 等, Cell 117(6) :787-800 (2004)) 的诱发性损失导致外周 B 细胞损失。人 B 细胞的增殖和存活似乎也需要 Syk。过度表达的蛋白酪氨酸磷酸酶 PTP-RO 为 Syk 活性的负性调节剂,它在源自非霍奇金氏淋巴瘤 (NHL) 的

细胞系中抑制增殖并诱导凋亡 (Chen, Juszczynski 等, Blood 108(10) :3428-33(2006))。通过 NHL 系 SUDHL-4 中的 siRNA 敲除 Syk 导致细胞周期的 G1/S 转变阻断 (Gururajan, Dasu 等, J Immunol 178(1) :111-21(2007))。这些数据结合表明人和小鼠 B 细胞发育、增殖、甚至存活需要 Syk 信号。

[0026] 相反,已经有关于 Syk 在多个不同环境中致癌潜力的描述。据报道,在临床上,Syk 在套细胞淋巴瘤中过度表达 (Rinaldi, Kwee 等, Br J Haematol 132(3) :303-16(2006)), 通过染色体易位 (t(9;12)(q22;p12)) 产生的 TEL-Syk 融合蛋白 (易位 ETS 白血病) 导致 Syk 活性增加,且与骨髓增生异常综合征有关 (Kuno, Abe 等, Blood 97(4) :1050-5(2001))。在小鼠中,通过表达人 TEL-Syk 的骨髓细胞的过继转移能够诱发白血病 (Wossning, Herzog 等, J Exp Med 203(13) :2829-40(2006))。另外,在小鼠初级骨髓细胞中, Syk 的过度表达导致 IL-7 在培养基中独立生长 (Wossning, Herzog 等, 2006)。同样,据报道, Syk 在滤泡细胞、套细胞、伯基特细胞和弥散性大 B 细胞 NHL 中介导 mTOR (雷帕霉素的哺乳动物靶标) 存活信号 (Leseux, Hamdi 等, Blood 108(13) :4156-62(2006))。其它近期研究也显示,依赖 Syk 的存活信号可能在 B 细胞恶性肿瘤中起作用, B 细胞恶性肿瘤包括 DLBCL、套细胞淋巴瘤和滤泡淋巴瘤 (Gururajan, Jennings 等, 2006; Irish, Czerwinski 等, J Immunol 176(10) :5715-9(2006))。鉴于紧张性 BCR 信号在正常 B 细胞中的作用和体外 NHL 细胞系依赖 syk 的存活,对于某些 B 细胞淋巴瘤的治疗而言,特异性抑制 Syk 是有前途的。

[0027] 据近期报道, R406 (Rigel Pharmaceuticals) 能够抑制响应于各种刺激 (包括 Fc ϵ R1 和 BCR 诱发的 Syk 激活) 的 ITAM 信号 (Brasemann, Taylor 等, J Pharmacol Exp Ther 319(3) :998-1008(2006))。有意义的是, Syk 的该 ATP 竞争性抑制剂对 Flt3、cKit 和 JAK 激酶也有活性,但对 Src 激酶无活性 (Brasemann, Taylor 等, 2006)。Flt3 的激活突变与 AML 有关,对该激酶的抑制目前正在临床开发研究 (Burnett and Knapper Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2007 :429-34(2007))。酪氨酸激酶 cKit 的过度激活还与血液恶性肿瘤有关,为癌症治疗的靶标 (Heinrich, Griffith 等, Blood 96(3) :925-32(2000))。同样, JAK3 信号与白血病和淋巴瘤有关,目前用作潜在治疗靶标 (Heinrich, Griffith 等, 2000)。重要的是, R406 的多激酶抑制活性能够减弱在淋巴瘤细胞系和原发人淋巴瘤样品中的 BCR 信号,导致前者凋亡 (Chen, Monti 等, Blood 111(4) :2230-7(2008))。另外, II 期临床试验报道了该化合物在顽固性 NHL 和慢性淋巴细胞白血病中的有利结果 (Friedberg JW 等, Blood 2008 ;112(11), 摘要 3)。尽管不清楚 R406 作用的精确机理,但数据显示,对在淋巴细胞中介导存活信号的激酶进行抑制在临床上有益。

[0028] 另外一些近期研究还提示,依赖 syk 的存活信号可能在 B 细胞恶性肿瘤中起作用, B 细胞恶性肿瘤包括 DLBCL、套细胞淋巴瘤和滤泡淋巴瘤 (参见例如 S. Linfengshen 等, Blood, Feb. 2008 ;111 :2230-2237; J. M. Irish 等, Blood, 2006 ;108 :3135-3142; A. Renaldi 等, Brit J. Haematology, 2006 ;132 :303-316; M. Gururajan 等, J. Immunol, 2006 ;176 :5715-5719; L. Leseux 等, Blood, 2006 ;108 :4156-4162)。

[0029] JAK 激酶 (Janus 激酶), 包括 JAK1、JAK2、JAK3 以及 TYK2, 为细胞质蛋白酪氨酸激酶家族。JAK 在细胞因子信号中起关键作用。尽管多个 JAK 激酶可能被特定的细胞因子或信号通路所影响,但每个 JAK 激酶对某些细胞因子的受体具有选择性。研究表明, JAK3 与各种细胞因子受体的固有细胞因子受体 γ 链 (Fc γ 或 γ c) 有关。JAK3 特别与受体选择性

结合,是 IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15 以及 IL-21 细胞因子信号通路的一部分,并被其激活。其中 JAK1 与细胞因子 IL-2、IL-4、IL-7、IL-9 以及 IL-21 的受体相互作用,而 JAK2 与 IL-9 和 TNF- α 受体相互作用。当某些细胞因子与其受体(例如,IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15 和 IL-21)结合时,发生受体低聚反应,导致相关 JAK 激酶的细胞质尾巴接近并促进 JAK 激酶上的酪氨酸残基发生磷酸根移转。该磷酸根移转反应导致 JAK 激酶的激活。

[0030] JAK 家族激酶的下游底物包含转录信号传感激活剂(STAT)蛋白。磷酸化的 JAK 激酶与各种 STAT(转录信号传感器和激活剂)蛋白结合。作为由酪氨酸残基磷酸化激活的 DNA 结合蛋白,STAT 蛋白具有信号分子和转录因子的双重功能,并最终与存在于响应细胞因子的基因的启动子上的特定的 DNA 序列结合(Leonard 等,(2000),*J. Allergy Clin. Immunol.* 105 :877-888)。

[0031] JAK/STAT 信号与多种异常免疫反应的介导有关,例如过敏、哮喘、自身免疫疾病例如移植(同种移植物)排斥反应、类风湿性关节炎、肌萎缩性侧索硬化症以及多发性硬化症,同样还与实体和血液的恶性肿瘤有关,例如白血病和淋巴瘤。关于作用于 JAK/STAT 通路的药物的综述参见 Frank,(1999),*Mol. Med.* 5 :432 :456 以及 Seidel 等,(2000),*Oncogene* 19 :2645-2656。

[0032] JAK3 尤其与各种生物过程有关。例如,报道显示,IL-4 和 IL-9 诱导的小鼠肥大细胞的增生和存活依赖于 JAK3-和 γ 链信号(Suzuki 等,(2000),*Blood* 96 :2172-2180)。JAK3 同样在 IgE 受体介导的肥大细胞的脱粒反应中起关键作用(Malaviya 等,(1999),*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 257 :807-813),报道还显示,JAK3 激酶的抑制能够阻止包括过敏反应 I 型超敏反应(Malaviya 等,(1999),*J. Biol. Chem.* 274 :27028-27038)。也已经显示,JAK3 的抑制反应能够导致同种异体移植物排斥反应的免疫抑制(Kirken,(2001),*Transpl. Proc.* 33 :3268-3270)。JAK3 激酶同样与下列疾病所包含的机制有关:早期和晚期类风湿性关节炎(Muller-Ladner 等,(2000),*J. Immunol.* 164 :3894-3901)、家族性肌萎缩性侧索硬化症(Trieu 等,(2000),*Biochem Biophys. Res. Commun.* 267 :22-25)、白血病(Sudbeck 等,(1999),*Clin. Cancer Res.* 5 :1569-1582)、作为一种 T 细胞淋巴瘤形式的蕈样肉芽肿(Nielsen 等,(1997),*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94 :6764-6769),以及异常的细胞生长(Yu 等,(1997),*J. Immunol.* 159 :5206-5210;Catlett-Falcone 等,(1999),*Immunity* 10 :105-115)。

[0033] JAK1、JAK2 和 TYK2 被广泛表达,而 JAK3 主要在造血干细胞中表达。包括 JAK3 的 JAK 激酶大量表达于急性成淋巴细胞白血病(最常见的儿童期癌症形式)患儿的原发性白血病细胞中。研究表明,某些细胞中的 STAT 激活与信号调节的细胞凋亡有关(Demoulin 等,(1996),*Mol. Cell. Biol.* 16 :4710-6;Jurlander 等,(1997),*Blood* 89 :4146-52;Kaneko 等,(1997),*Clin. Exp. Immun.* 109 :185-193;和 Nakamura 等,(1996),*J. Biol. Chem.* 271 :19483-8)。也已知它们对于淋巴细胞的分化、功能和存活非常重要。特别是 JAK3,在淋巴细胞、巨噬细胞和肥大细胞的功能中起重要作用。鉴于该 JAK 激酶的重要性,包括对 JAK3 具有选择性的能够调节 JAK 通路的化合物,可用于治疗与淋巴细胞、巨噬细胞或肥大细胞的功能有关的疾病或病症(Kudlacz 等,(2004)*Am. J. Transplant* 4 :51-57;Changelian(2003)*Science* 302 :875-878)。通过作用于 JAK 通路或调节 JAK 激酶、特别是 JAK3 可以治疗的病症,包括白血病、淋巴瘤、移植排斥反应(例如,胰岛移植排斥反应、骨髓移植排斥反应(例

如,移植物抗宿主病))、自身免疫性疾病(例如,糖尿病、类风湿性关节炎、狼疮、银屑病),以及炎症(例如,哮喘、过敏反应)。通过 JAK3 抑制作用获益的病症将在下面更详细讨论。近期报告的采用 CP-690,550 治疗的肾同种异体移植病人得到的关于 JAK 抑制作用的数据显示,同种异体反应的标记(干扰素 γ)可以减少(Van Gurp EA等,(2009)Transplantation 87:79-86)。

[0034] 考虑到通过调节 JAK 通路治疗获益的多种疾病,非常明显的是,调节 JAK 通路的新化合物和使用这些化合物的方法能够对广大患者提供重大的治疗益处。本文中提供的新的 2,4-嘧啶二胺、吡咯并嘧啶以及嘌呤类化合物可以用于治疗其中 JAK 通路为靶向或 JAK 激酶、尤其是 JAK3 的抑制有用的病症。

[0035] 与 JAK 通路调节有关的专利和专利申请包括:U. S. Pat. Nos. 5,728,536; 6,080,747;6,080,748;6,133,305;6,177,433;6,210,654;6,313,130;6,316,635;6,433,018;6,486,185;6,506,763;6,528,509;6,593,357;6,608,048;6,610,688;6,635,651;6,677,368;6,683,082;6,696,448;6,699,865;6,777,417;6,784,195;6,825,190;6,506,763;6,784,195;6,528,509;6,608,048;7,105,529;6,699,865;6,825,190;6,815,439;6,949,580;7,056,944;6,998,391;7,074,793;6,969,760;U. S. Pat. App. Pub. No. 2001/0007033A1;2002/0115173A1;2002/0137141A1;2003/0236244A1;2004/0102455A1;2004/0142404A1;2004/0147507A1;2004/0214817A1;国际专利申请 WO 95/03701A1;WO 99/15500A1;WO 00/00202A1;WO 00/10981A1;WO 00/47583A1;WO 00/51587A2;WO 00/55159A2;WO 01/42246A2;WO 01/45641A2;WO 01/52892A2;WO 01/56993A2;WO 01/57022A2;WO 01/72758A1;WO 02/00661A1;WO 02/43735A1;WO 02/48336A2;WO 02/060492A1;WO 02/060927A1;WO 02/096909A1;WO 02/102800A1;WO 03/020698A2;WO 03/048162A1;WO 03/101989A1;WO 2004/016597A2;WO 2004/041789A1;WO 2004/041810A1;WO 2004/041814A1;WO 2004/046112A2;WO 2004/046120A2;WO 2004/047843A1;WO 2004/058749A1;WO 2004/058753A1;WO 2004/085388A2;WO 2004/092154A1;WO 2005/009957A1;WO 2005/016344A1;WO 2005/028475A2;WO 2005/033107A1。

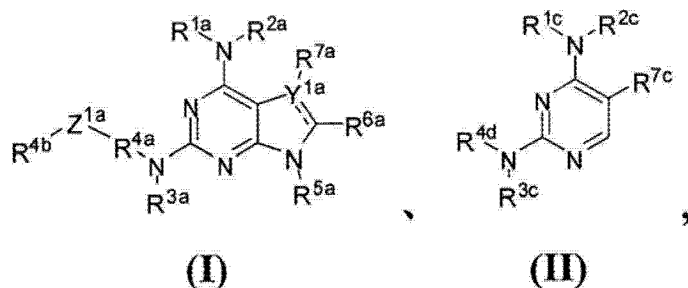
[0036] 关于取代的嘧啶二胺化合物的专利和专利申请包括:2003年1月31日提交的美国专利申请序列号 10/355,543(US2004/0029902A1)、2003年1月31日提交的国际专利申请序列号 PCT/US03/03022(WO 03/063794)、2003年7月29日提交的美国专利申请序列号 10/631,029、国际专利申请序列号 PCT/US03/24087(WO 04/014382)、2004年7月30日提交的美国专利申请序列号 10/903,263 和国际专利申请序列号 PCT/US2004/24716(WO 05/016893),以上公开引入本文作为参考。关于取代的嘧啶二胺化合物的论述还可参见国际专利申请公开号:WO 02/059110、WO 03/074515、WO 03/106416、WO 03/066601、WO 03/063794、WO 04/046118、WO 05/016894、WO 05/122294、WO 05/066156、WO 03/002542、WO 03/030909、WO 00/39101、WO 05/037800 和美国专利公布号 2003/0149064。

[0037] 虽然在本领域中已经取得了进展,但本领域中仍存在对抑制 syk 激酶以及/或 JAK 激酶的化合物的需求,也存在对可从这种抑制中受益的患者中治疗疾病例如再狭窄、血栓和/或炎症的方法的需求。另外,还需要相对于其它激酶而言能够选择性抑制这些激酶中的一种的化合物。本发明满足了该需求和其它需求。

发明内容

[0038] 本发明提供具有作为 syk 活性抑制剂（又称为“syk 抑制剂”）以及 / 或者 JAK 激酶活性抑制剂（在本文中又称为“JAK 抑制剂”）的新化合物；它们的制备和使用方法以及含所述化合物的药用组合物。此类化合物或其药学上可接受的盐具有以下结构 (I-II)：

[0039]



[0040] 其中 Y^{1a} 、 Z^{1a} 、 R^{1a} 、 R^{1c} 、 R^{2a} 、 R^{2c} 、 R^{3a} 、 R^{3c} 、 R^{4a} 、 R^{4b} 、 R^{4d} 、 R^{5a} 、 R^{6a} 、 R^{7a} 和 R^{7c} 定义如下。

[0041] 本发明还提供药用组合物，该组合物含治疗有效量的式 I 和式 II 化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体和 / 或稀释剂。

[0042] 本发明化合物具有多种治疗用途，通常而言，可用于在男人和妇女以及哺乳动物（在本文中又称为“患者”）中治疗多种至少部分由 syk 活性介导的病症。例如，此类病症包括但不限于与心血管疾病、炎症性疾病或自身免疫疾病有关的那些病症。更具体地说，本发明化合物可用于治疗疾病或病症，这些疾病或病症包括但不限于：再狭窄、血栓形成、炎症、肝素引起的血小板减少症、扩张型心肌炎、镰状细胞病、动脉粥样硬化症、心肌梗塞、血管炎、不稳定心绞痛、急性冠状动脉综合征、过敏、哮喘、类风湿性关节炎、B 细胞介导的疾病例如非霍奇金氏淋巴瘤、抗磷脂综合征、红斑狼疮、银屑病、多发性硬化、晚期肾病、溶血性贫血、免疫血小板减少性紫癜和慢性淋巴细胞白血病。因此，在一个实施方案中公开方法，该方法包括通常以药用组合物的形式将有效量的式 (I 和 II) 化合物给予有需要的患者。

[0043] 与心血管病相关的病症选自急性冠状动脉综合征、心肌梗塞、不稳定心绞痛、顽固性心绞痛、在血栓溶解治疗后或冠状动脉血管成形术后发生的闭塞性冠状动脉血栓形成、血栓形成介导的脑血管综合征、栓塞中风、血栓形成中风、一过性局部缺血发作、静脉血栓形成、深静脉血栓形成、肺栓塞、凝血病、弥散性血管内凝血、血栓形成性血小板减少性紫癜、血栓闭塞性脉管炎、与肝素引起的血小板减少症有关的血栓形成疾病、与体外循环有关的血栓形成并发症、与器械操作法例如心脏或其它血管内导管插入、主动脉内气囊泵、冠状动脉支架或人造心脏瓣膜有关的血栓形成并发症和需要安装假肢装置的病症。

[0044] 本发明还提供抑制血液样品中的 syk 激酶活性的方法，该方法包括使所述样品与本发明化合物接触。

[0045] 本发明还提供纯化形式的化合物和化学中间体。

[0046] 通过参考以下详述和附图，本发明的这些和其它方面、目的和优点显而易见。为此，在本文中列出各种参考文献，它们更详细地描述了一些背景信息、方法、化合物和 / 或组合物，各自通过引用全文结合到本文中。

[0047] 除另有说明外，本文中所述以下术语具有以下含义：

[0048] 1. 缩写和定义

[0049] 除另有定义外,本文中使用的缩写为常规术语。使用以下缩写:

[0050]	AcOH =	乙酸
[0051]	AIBN =	偶氮双异丁腈
[0052]	aq. =	含水的
[0053]	Boc =	叔丁氧基
[0054]	Bz =	苄基
[0055]	BOP =	苯并三唑-1-基氧基三(二甲氨基)-磷鎓六氟磷酸盐
[0056]	BPO =	过氧化苯甲酰
[0057]	nBuOH =	正丁醇
[0058]	CBr ₄ =	四溴甲烷
[0059]	mCPBA =	间-氯过苯甲酸
[0060]	CH ₂ Cl ₂ 或 DCM =	二氯甲烷
[0061]	Cs ₂ CO ₃ =	碳酸铯
[0062]	CuCl ₂ =	氯化亚铜
[0063]	DIBAL =	氢化二异丁基铝
[0064]	DIEA =	Hunig's 碱或二异丙基乙胺
[0065]	DME =	二甲醚
[0066]	DMF =	二甲基甲酰胺
[0067]	DMSO =	二甲亚砜
[0068]	DPPA =	二苯基磷酰叠氮
[0069]	Et ₃ N =	三乙胺
[0070]	EtOAc =	乙酸乙酯
[0071]	g =	克
[0072]	HATU =	2-(1H-7-氮杂苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脒鎓六氟磷酸盐
[0073]		六氟磷酸盐
[0074]	H ₂ =	氢气
[0075]	H ₂ O =	水
[0076]	HBr =	溴化氢
[0077]	HCl =	氯化氢
[0078]	HIV =	人免疫缺陷病毒
[0079]	HPLC =	高效液相色谱
[0080]	h =	小时
[0081]	IgE =	免疫球蛋白 E
[0082]	IC ₅₀ =	体外抑制 50%酶需要的抑制剂的浓度
[0083]	IPA =	异丙醇
[0084]	kg =	千克
[0085]	KCN =	氰化钾
[0086]	KOH =	氢氧化钾
[0087]	K ₂ PO ₄ =	磷酸钾

[0088]	LDA =	二异丙胺基锂 (lithium diisopropylamine)
[0089]	LiAlH_4 =	氢化铝锂
[0090]	LiOH =	氢氧化锂
[0091]	MeCN =	乙腈
[0092]	MS =	质谱
[0093]	m/z =	质量与电荷的比例
[0094]	MHz =	兆赫
[0095]	MeOH =	甲醇
[0096]	μM =	微摩尔
[0097]	μL =	微升
[0098]	mg =	毫克
[0099]	mm =	毫升
[0100]	mM =	毫摩尔
[0101]	mmol =	毫摩尔
[0102]	mL =	毫升
[0103]	mOD/min =	毫光密度单位 / 分钟
[0104]	min =	分钟
[0105]	M =	摩尔
[0106]	Na_2CO_3 =	碳酸钠
[0107]	ng =	纳克
[0108]	NaHCO_3 =	碳酸氢钠
[0109]	NaNO_2 =	亚硝酸钠
[0110]	NaOH =	氢氧化钠
[0111]	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ =	硫代亚硫酸钠
[0112]	Na_2SO_4 =	硫酸钠
[0113]	NBS =	N- 溴代琥珀酰胺
[0114]	NH_4Cl =	氯化铵
[0115]	NH_4OAc =	乙酸铵
[0116]	NaSMe =	甲硫醇钠
[0117]	NBS =	N- 溴代琥珀酰胺
[0118]	$n\text{-BuLi}$ =	正丁基锂
[0119]	nm =	纳米
[0120]	nM =	纳摩尔
[0121]	N =	当量 (Normal)
[0122]	NMP =	N- 甲基吡咯烷
[0123]	NMR =	核磁共振
[0124]	Pd/C =	披钯炭
[0125]	$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ =	四 (三苯基膦) 合钯
[0126]	pM	皮摩尔

[0127]	Pin =	戊酰 (pinacolato)
[0128]	PEG =	聚乙二醇
[0129]	PPh ₃ 或 Ph ₃ P =	三苯基膦
[0130]	RLV =	劳贝尔白血病病毒
[0131]	Ra-Ni =	Rainey 镍
[0132]	SOCl ₂ =	亚硫酸氯
[0133]	RT =	室温
[0134]	TEA =	三乙胺
[0135]	THF =	四氢呋喃
[0136]	TFA =	三氟乙酸
[0137]	TLC =	薄层层析
[0138]	TMS =	三甲基甲硅烷基
[0139]	Tf =	三氟甲基磺酰基
[0140]	TSC =	柠檬酸三钠

[0141] 在本文中应注意,除上下文中另有明确说明外,在本说明书及其权利要求中使用的单数形式“一”和“该”包括复数指代物。

[0142] 除另有说明外,单独或作为另一个取代基的一部分的“烷基”表示具有指定数目的碳原子的直链或支链全饱和脂族烃基。例如,“C₁₋₈ 烷基”是指含 1-8 个碳原子的通过除去母体烷的单个碳原子上的一个氢原子衍生的直链或支链烃基。短语“未取代的烷基”是指不含全饱和脂族烃基之外的基团的烷基。因此,该短语包括直链烷基,例如甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基等。该短语还包括支链烷基异构体,例如异丙基、叔丁基、异丁基、仲丁基等。代表性烷基包括具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 或 12 个碳原子的直链和支链烷基。其它代表性烷基包括具有 1、2、3、4、5、6、7 或 8 个碳原子的直链和支链烷基。

[0143] 单独或作为另一个取代基的一部分的“烯基”是指具有指定数目的碳原子的可为单或多不饱和度的直链或支链。例如,“C₂-C₈ 烯基”表示具有 2、3、4、5、6、7 或 8 个原子的通过除去母体烷的单个碳原子上的一个氢原子衍生的烯基。实例包括但不限于乙烯基、2-丙烯基即 $-\text{CH}=\text{C}(\text{H})(\text{CH}_3)$ 、 $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{C}(\text{H})_2$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{C}(\text{H})(\text{CH}_3)$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ 、丁二烯基例如 2-(丁二烯基)、戊二烯基例如 2,4-戊二烯基和 3-(1,4-戊二烯基),和己二烯基等,及其高级同系物和立体异构体。“取代的”烯基包括其中非碳或非氢原子与具有碳-碳双键的碳结合的烯基以及其中非碳或非氢原子中的一个与不与碳-碳双键连接的碳结合的那些烯基。各不饱和位点可为环绕双键的顺或反式构型。

[0144] 单独或作为另一个取代基的一部分的术语“炔基”表示具有标示数目的碳原子的可为单或多不饱和度的直链或支链烃基。例如“C₂-C₈ 炔基”表示具有 2-8 个碳原子的通过除去母体烷的单个碳原子上的一个氢原子衍生的炔基。“未取代的炔基”是指直链和支链基团,例如所述以上定义的未取代的烷基但在两个碳原子之间存在至少一个三键的那些基团。实例包括但不限于乙炔基例如 $-\text{C}\equiv\text{C}(\text{H})$ 、1-丙炔基例如 $-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_3)$ 、 $-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$ 、 $-\text{C}(\text{H}_2)\text{C}\equiv\text{C}(\text{H})$ 、 $-\text{C}(\text{H})_2\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_3)$ 和 $-\text{C}(\text{H})_2\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$ 等,及其高级同系物和立体异构体。“取代的”炔基包括其中非碳或非氢原子与具有碳-碳

三键的碳结合的炔基以及其中非碳或非氢原子中的一个与不与碳-碳三键连接的碳结合的那些炔基。

[0145] 单独或作为另一个取代基的一部分的“亚烷基”表示由烷衍生的二价基团，例如 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。通常，亚烷基具有 1、2、3、4、5、6、7 或 8 个碳原子，通过除去母体烷的单个碳原子上的一个氢原子衍生得到。

[0146] 除另有说明外，单独或与其它术语联合的“环烷基”或“碳环”代表环状形式的“烷基”、“烯基”和“炔基”，其中所有环原子为碳。“环烷基”或“碳环”是指单环或多环基团。当与环烷基取代基联用时，术语“多环”在本文中是指稠合和非稠合的烷基环结构。“环烷基”或“碳环”可形成桥接环或螺环。环烷基可具有一个或多个双键或三键。术语“环烯基”是指在环顶点之间具有至少一个烯基不饱和位点的环烷基。术语“环炔基”是指在环顶点之间具有至少一个炔基不饱和位点的环烷基。当“环烷基”与“烷基”联用时，例如在 C_{3-8} 环烷基 C_{3-8} 亚烷基-中，环烷基部分具有所述数目的碳原子（例如 3-8 个碳原子），而亚烷基部分具有 1-8 个碳原子。典型的环烷基取代基具有 3-8 个环原子。环烷基的实例包括环戊基、环己基、1-环己烯基、3-环己烯基、环庚基等。

[0147] 单独或作为另一个取代基的一部分的“芳基”是指含 6-14 个碳原子的多不饱和芳族烃基，该基团可为单环或稠合在一起或共价连接的多环（高达 3 环）。因此，该短语包括但不限于基团例如苯基、联苯基、蒽基、萘基。未取代的芳基的非限制性实例包括苯基、1-萘基、2-萘基和 4-联苯基。“取代的芳基”包括例如 $-\text{CH}_2\text{OH}$ （一个碳原子和一个置换碳原子的杂原子）和 $-\text{CH}_2\text{SH}$ 。单独或作为另一个取代基的一部分的术语“亚杂烷基”表示由杂烷基衍生的二价基团，例如 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 和 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 。对于亚杂烷基而言，杂原子也可占据链的任一或两个末端（例如亚烷氧基、亚烷二氧基、亚烷氨基、亚烷二氨基等）。再者，对于亚烷基和亚杂烷基连接基团，不指定连接基团的取向。

[0148] 术语“杂环”、“杂环基”或“杂环状”是指含至少一个杂原子的饱和或不饱和非芳族环基团。本文中使用的术语“杂原子”包括氧 (O)、氮 (N)、硫 (S) 和硅 (Si)。可在任何可利用的环碳或杂原子上使杂环连接。各杂环可具有一个或多个环。当存在多环时，它们可稠合在一起或共价连接。各杂环通常含 1、2、3、4 或 5 个独立选择的杂原子。优选，这些基团含 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个碳原子；0、1、2、3、4 或 5 个氮原子；0、1 或 2 个硫原子和 0、1 或 2 个氧原子。更优选，这些基团含 1、2 或 3 个氮原子；0-1 个硫原子和 0-1 个氧原子。杂环基团的非限制性实例包括吗啉-3-酮、哌嗪-2-酮、哌嗪-1-氧化物、吡啶-2-酮、哌啶、吗啉、哌嗪、异噁唑啉 (isoxazoline)、吡唑啉、咪唑啉、吡啶-5-酮、吡咯烷-2,5-二酮、咪唑烷-2,4-二酮、吡咯烷、四氢喹啉基、十氢喹啉基、四氢苯并氧氮杂茛菪基 (tetrahydrobenzooxazepinyl)、二氢二苯并氧氮杂茛菪基 (dihydrodibenzooxepin) 等。

[0149] “杂芳基”是指含选自 N、O 和 S 的 1-5 个杂原子的环状或多环状芳族基团，其中氮和硫原子任选被氧化，氮原子任选被季铵化。杂芳基可通过杂原子或碳原子与分子的其余部分连接，并可含 5-10 个碳原子。杂芳基的非限制性实例包括 1-吡咯基、2-吡咯基、3-吡咯基、1-吡唑基、3-吡唑基、2-咪唑基、4-咪唑基、吡嗪基、2-噁唑基、4-噁唑基、5-噁唑基、3-异噁唑基、4-异噁唑基、5-异噁唑基、2-噻唑基、4-噻唑基、5-噻唑基、2-呋喃基、3-呋喃基、2-噻吩基、3-噻吩基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-嘧啶基和 4-嘧

啶基。若未具体说明,各上述芳基和杂芳基环系统的取代基选自本文中所述的可接受的取代基。“取代的杂芳基”是指以上定义的未取代的杂芳基,其中一个或多个环原子与例如以上对取代的烷基和取代的芳基描述的非氢原子结合。代表性取代基包括直链和支链烷基 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{C}_2\text{H}_5$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{OC}_2\text{H}_5$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_3$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{NHSO}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{NHCOCCH}_3$ 、 $-\text{NHC}(=\text{O})\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NHSO}_2\text{CH}_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 和卤素。

[0150] “双环杂芳基”是指含选自 N、O 和 S 的 1-5 个杂原子的双环芳族基团,其中氮和硫原子任选被氧化,氮原子任选被季铵化。双环杂芳基可通过杂原子或碳原子与分子的其余部分连接,并可含 5-10 个碳原子。双环杂芳基的非限制性实例包括 5- 苯并噻唑基、嘌呤基、2- 苯并咪唑基、苯并吡唑基、5- 吡啶基、吡啶基 (azaindole)、1- 异喹啉基、5- 异喹啉基、2- 喹啉基、5- 喹啉基、3- 喹啉基和 6- 喹啉基。若未具体说明,各上述芳基和杂芳基环系统的取代基选自本文中所述的可接受的取代基。

[0151] 在标示原子数目以上各实施方案中,例如“ C_{1-8} ”是指包括具有少一个 (one fewer) 原子的所有可能的实施方案。非限制性实例包括 C_{1-7} 、 C_{2-8} 、 C_{2-7} 、 C_{3-8} 、 C_{3-7} 等。

[0152] 除另有说明外,本文中各术语 (例如“烷基”、“杂烷基”、“芳基”和“杂芳基”) 包括“未取代”和任选“取代”形式的所述基团。除另有说明外,通常,各基团可以被 0、1、2、3、4 或 5 个取代基取代。以下提供各类型基团的取代基的实例。

[0153] “取代的”是指其中连接碳或氢的一个或多个键被连接非氢和非碳原子“取代基”的键置换的本文中定义的基团,非氢和非碳原子为例如但不限于:卤素原子,例如 F、Cl、Br 和 I;基团例如羟基、烷氧基、芳氧基和酰氧基中的氧原子;基团例如硫醇基、烷基和芳基硫醚基团、砜基团、磺酰基和亚砜基团中的硫原子;基团例如氨基、烷基胺、二烷基胺、芳基胺、烷基芳基胺、二芳基胺、烷氧基氨基、羟基氨基、酰基氨基、磺酰基氨基、N- 氧化物、亚胺和烯胺中的氮原子;和各种其它基团中的其它杂原子。“取代基”还包括其中连接碳或氢的一个或多个键被被连接杂原子的高级键 (例如双键或三键) 置换的基团,杂原子为例如:氧代、酰基、酰氨基、烷氧基羰基、氨基羰基、羧基和酯基中的氧;基团例如亚胺、肟、肟和肟中的氮。“取代基”还包括其中连接碳或氢的一个或多个键被连接环烷基、杂环基、芳基和杂芳基的键置换的基团。代表性“取代基”包括但不限于其中连接碳或氢的一个或多个键被连接氟、氯或溴基团的键置换的基团。另一个代表性“取代基”是三氟甲基和含三氟甲基的其它基团。其它代表性“取代基”包括那些其中连接碳或氢的一个或多个键被连接氧原子的键置换的取代基,从而使取代的烷基含羟基、烷氧基或芳氧基。其它代表性“取代基”包括烷基,此类烷基具有胺,或取代或未取代的烷基胺、二烷基胺、芳基胺、(烷基)(芳基)胺、二芳基胺、杂环基胺、二杂环基胺、(烷基)(杂环基)胺或(芳基)(杂环基)胺基团。其它代表性“取代基”包括那些其中连接碳或氢的一个或多个键被连接烷基、环烷基、芳基、杂芳基或杂环基的键置换的取代基。

[0154] 本文中定义的基团可包括本领域中常用的前缀和 / 或后缀,以形成其它公认的取代基。例如,“烷基氨基”是指式 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 基团。除另有说明外,对于含 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 和 R^e 的基团而言, R^a 和 R^b 各自独立选自 H、烷基、烷氧基、硫代烷氧基、环烷基、芳基、杂芳基或杂环基,或任选与它们所连接的原子连接在一起形成环状基团。当 R^a 和 R^b 与同一个氮原子连接时,它们可与该氮原子一起形成 5 元、6 元或 7 元环。例如, $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 包括 1- 吡咯烷基和 4- 吗啉

基。

[0155] R^c 、 R^d 、 R^e 和 R^f 各自独立选自本文中定义的烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基或亚烷基芳基。

[0156] 通常,特定基团具有 0、1、2 或 3 个取代基,在本发明中,优选具有 2 个或更少取代基的那些基团。更优选,基团未被取代或一取代。最优选,基团未被取代。

[0157] 烷基和杂烷基(以及称为亚烷基、烯基、亚杂烷基、杂烯基、炔基、环烷基、杂环基的那些基团)的“取代基”可为选自以下的多种基团: $-OR^a$ 、 $=O$ 、 $=NR^a$ 、 $=N-OR^a$ 、 $-NR^aR^b$ 、 $-SR^a$ 、卤素、 $-SiR^aR^bR^c$ 、 $-OC(O)R^a$ 、 $-C(O)R^a$ 、 $-CO_2R^a$ 、 $-CONR^aR^b$ 、 $-OC(O)NR^aR^b$ 、 $-NR^bC(O)R^a$ 、 $-NR^aC(O)NR^bR^c$ 、 $-NR^a-SO_2NR^bR^c$ 、 $-NR^bCO_2R^a$ 、 $-NH-C(NH_2)=NH$ 、 $-NR^aC(NH_2)=NH$ 、 $-NH-C(NH_2)=NR^a$ 、 $-S(O)R^a$ 、 $-SO_2R^a$ 、 $-SO_2NR^aR^b$ 、 $-NR^bSO_2R$ 、 $-CN$ 和 $-NO_2$,取代基的数目为 0-3,尤其优选具有 0、1 和 2 个取代基的基团。

[0158] 在某些实施方案中,烷基和杂烷基的“取代基”选自: $-OR^a$ 、 $=O$ 、 $-NR^aR^b$ 、 $-SR^a$ 、卤素、 $-SiR^aR^bR^c$ 、 $-OC(O)R^a$ 、 $-C(O)R^a$ 、 $-CO_2R^a$ 、 $-CONR^aR^b$ 、 $-OC(O)NR^aR^b$ 、 $-NR^bC(O)R^a$ 、 $-NR^bCO_2R^a$ 、 $-NR^a-SO_2NR^bR^c$ 、 $-S(O)R^a$ 、 $-SO_2R^a$ 、 $-SO_2NR^aR^b$ 、 $-NR^bSO_2R$ 、 $-CN$ 和 $-NO_2$,其中 R^a 和 R^b 定义同上。在某些实施方案中,取代基选自: $-OR^a$ 、 $=O$ 、 $-NR^aR^b$ 、卤素、 $-OC(O)R^a$ 、 $-CO_2R^a$ 、 $-CONR^aR^b$ 、 $-OC(O)NR^aR^b$ 、 $-NR^bC(O)R^a$ 、 $-NR^bCO_2R^a$ 、 $-NR^a-SO_2NR^bR^c$ 、 $-SO_2R^a$ 、 $-SO_2NR^aR^b$ 、 $-NR^bSO_2R$ 、 $-CN$ 和 $-NO_2$ 。

[0159] 取代的烷基的实例为: $-(CH_2)_3NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NH(CH_3)$ 、 $-(CH_2)_3NH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2C(=CH_2)CH_2NH_2$ 、 $-CH_2C(=O)CH_2NH_2$ 、 $-CH_2S(=O)_2CH_3$ 、 $-CH_2OCH_2NH_2$ 、 $-CO_2H$ 。取代的烷基的取代基的实例为: CH_2OH 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OC_2H_5$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OC(=O)CH_3$ 、 $-OC(=O)NH_2$ 、 $-OC(=O)N(CH_3)_2$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-C(=O)CH_3$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2CH_3$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-NHSO_2CH_3$ 、 $-NHCOCCH_3$ 、 $-NHC(=O)OCH_3$ 、 $-NHSO_2CH_3$ 、 $-SO_2CH_3$ 、 $-SO_2NH_2$ 和 卤素。

[0160] 同样,芳基和杂芳基的“取代基”有多种,选自:卤素、 $-OR^a$ 、 $-OC(O)R^a$ 、 $-NR^aR^b$ 、 $-SR^a$ 、 $-R^a$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-CO_2R^a$ 、 $-CONR^aR^b$ 、 $-C(O)R^a$ 、 $-OC(O)NR^aR^b$ 、 $-NR^bC(O)R^a$ 、 $-NR^bC(O)_2R^a$ 、 $-NR^aC(O)NR^bR^c$ 、 $-NH-C(NH_2)=NH$ 、 $-NR^aC(NH_2)=NH$ 、 $-NH-C(NH_2)=NR^a$ 、 $-S(O)R^a$ 、 $-S(O)_2R^a$ 、 $-S(O)_2NR^aR^b$ 、 $-N_3$ 、 $-CH(Ph)_2$ 、全氟代 C_{1-8} 烷氧基和全氟代 C_{1-8} 烷基,取代基的数目为 0 至芳环系统上的开放价键总数;其中 R^a 、 R^b 和 R^c 独立选自氢、 C_{1-6} 烷基和杂烷基、未取代的芳基和杂芳基、(未取代的芳基)- C_{1-8} 烷基和(未取代的芳基)氧基- C_{1-8} 烷基。

[0161] 芳基或杂芳基环的相邻原子上的 2 个“取代基”可任选被式 $-T-C(O)-(CH_2)_q-U-$ 的取代基置换,其中 T 和 U 独立为 $-NH-$ 、 $-O-$ 、 $-CH_2-$ 或单键, q 为 0、1 或 2。或者,芳基或杂芳基环的相邻原子上的 2 个取代基任选被式 $-A-(CH_2)_r-B-$ 的取代基置换,其中 A 和 B 独立为 $-CH_2-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR^a-$ 或单键, r 为 1、2 或 3。由此形成的新环的单键中的一个任选被双键代替。或者,芳基或杂芳基环的相邻原子上的 2 个取代基任选被式 $-(CH_2)_s-X-(CH_2)_t-$ 的取代基置换,其中 s 和 t 独立为 0-3 的整数, X 为 $-O-$ 、 $-NR^a-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 或 $-S(O)_2NR^a-$ 。 $-NR^a-$ 和 $-S(O)_2NR^a-$ 中的取代基 R^a 选自氢或未取代的 C_{1-6} 烷基。另外, R' 定义同上。

[0162] 除另有说明外,通过依次命名官能团的末端部分和与连接点相邻的官能团对本文中未明确定义的取代基命名。例如,取代基“芳基烷基氧基羰基”是指基团(芳基)-(烷基)- $O-C(O)-$ 。

[0163] 术语“酰基”是指基团 $-C(=O)R^c$, 其中 R^c 为烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基或杂环基。酰基包括“乙酰基” $-C(=O)CH_3$ 。

[0164] “酰基氨基-”是指基团 $-NR^aC(=O)R^c$, 其中 R^c 为烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基或杂环基。

[0165] “酰氧基”是指 $-OC(=O)-R^c$, 其中 R^c 为烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基或杂环基。

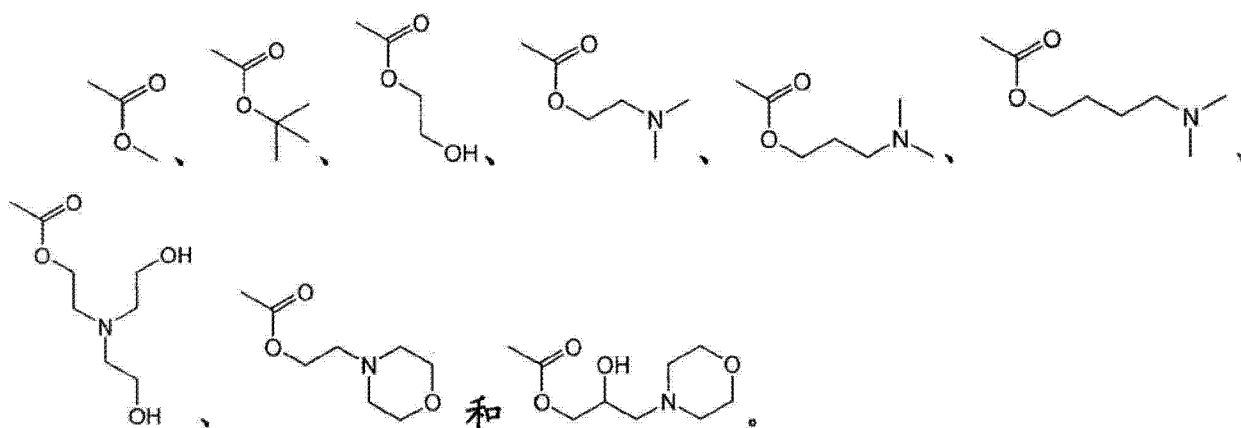
[0166] “烷氧基”是指 $-OR^d$, 其中 R^d 为本文中定义的烷基。烷氧基的代表实例包括甲氧基、乙氧基、叔丁氧基、三氟甲氧基等。

[0167] “烷氧基氨基”是指基团 $-NHOR^d$, 其中 R^d 为烷基。

[0168] “烷氧基亚烷基氨基”是指基团 $-NR^a-$ 亚烷基 $-OR^d$, 其中 R^d 为烷基, $-NR^a-$ 定义为氨基。

[0169] “烷氧基羰基”是指 $-C(=O)OR^d$, 其中 R^d 为烷基。代表性烷氧基羰基包括例如下示那些基团。

[0170]



[0171] 结合本文中的公开内容, 这些烷氧基羰基可被进一步取代对具有有机和药物化学技能的技术人员而言是显而易见的。

[0172] “烷氧基羰基亚烷基”是指基团 $-$ 亚烷基 $-C(=O)OR^d$, 其中 R^d 为烷基。

[0173] “烷氧基羰基氨基”是指 $-NR^aC(=O)OR^d$, 其中 R^d 为烷基。

[0174] “烷氧基羰基氨基亚烷基”是指 $-$ 亚烷基 $-NR^aC(=O)OR^d$, 其中 R^d 为烷基。

[0175] “烷氧基羰基亚烷基氨基磺酰基”是指 $-SO_2NR^a-$ 亚烷基 $-C(=O)OR^d$, 其中 R^d 为烷基。

[0176] “烷氧基磺酰基氨基”是指基团 $-NR^aS(=O)_2-OR^d$, 其中 R^d 为烷基。

[0177] “烷基羰基”是指基团 $-C(=O)R^c$, 其中 R^c 为烷基。

[0178] “烷基羰基氧基”是指 $-OC(=O)-R^c$, 其中 R^c 为烷基。

[0179] “烷基羰基氨基”是指 $-NR^aC(=O)R^c$, 其中 R^c 为烷基。代表性烷基羰基氨基包括例如 $-NHC(=O)CH_3$ 、 $-NHC(=O)CH_2CH_3$ 、 $-NHC(=O)CH_2NH(CH_3)$ 、 $-NHC(=O)CH_2N(CH_3)_2$ 或 $-NHC(=O)(CH_2)_3OH$ 。

[0180] “烷基杂环基”是指基团 $-$ 杂环基 $-R^d$, 其中 R^d 为烷基。

[0181] “烷基杂环基亚烷基”是指基团 $-$ 亚烷基 $-$ 杂环基 $-R^d$, 其中 R^d 为烷基。

[0182] “烷基硫烷基”、“烷基硫基”或“硫代烷氧基”是指基团 $S-R^d$, 其中 R^d 为烷基。

[0183] “烷基亚磺酰基”是指 $-S(=O)R^e$, 其中 R^e 为烷基。应用于本发明化合物的烷基磺

酰基基团通常为 C_{1-6} 烷基亚磺酰基。

[0184] “烷基磺酰基”是指 $-S(=O)_2R^e$ ，其中 R^e 为烷基。用于本发明化合物的烷基磺酰基通常为 C_{1-6} 烷基磺酰基。

[0185] “烷基磺酰基亚烷基”是指 - 亚烷基 $-S(=O)_2R^e$ ，其中 R^e 为烷基。应用于本发明化合物的烷基磺酰基通常为 C_{1-6} 烷基磺酰基。

[0186] “烷基磺酰基氨基”是指 $-NR^aS(=O)_2R^e$ ，其中 R^e 为烷基。

[0187] “炔氧基”是指 -O- 炔基，其中炔基定义同本文。炔氧基包括例如乙炔氧基、丙炔氧基等。

[0188] “脒基”是指基团 $-C(=NR^a)NR^bR^c$ ，其中 R^b 和 R^c 独立选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、炔基、芳基、环烷基、环烯基、杂芳基、杂环，其中 R^b 和 R^c 任选与它们连接的氮一起形成杂环或取代的杂环。 R^a 选自氢、烷基、烯基、炔基、环炔基、芳基、环烷基、环烯基、杂芳基、杂环、取代的杂环、硝基、亚硝基、羟基、烷氧基、氰基、 $-N=N-N-$ 烷基、 $-N(烷基)SO_2-$ 烷基、 $-N=N-N-$ 烷基、酰基和 $-SO_2-$ 烷基。

[0189] “氨基”是指一价基团 $-NR^aR^b$ 或二价基团 $-NR^a$ 。该术语包括“烷基氨基”，指基团 $-NR^aR^b$ ，其中 R^a 为烷基， R^b 为 H 或烷基。该术语也包括“芳基氨基”，指基团 $-NR^aR^b$ ，其中 R^a 或 R^b 中的至少一个为芳基。该术语同样包括“(烷基)(芳基)氨基”，指基团 $-NR^aR^b$ ，其中 R^a 为烷基， R^b 为芳基。另外，对于二烷基氨基而言，烷基部分可相同或不同，且也可和与它们各自连接的氮原子一起形成 3-7 元环。因此，以 $-NR^aR^b$ 代表的基团包括哌啶基、吡咯烷基、吗啉基、氮杂环丁烷基等。

[0190] “氨基烷氧基”是指 -O- 亚烷基 $-NR^aR^b$ 。

[0191] “氨基亚烷基”是指 - 亚烷基 $-NR^aR^b$ 。

[0192] “氨基亚烷基羰基”是指 $-C(=O)-$ 亚烷基 $-NR^aR^b$ 。

[0193] “氨基亚烷基氨基羰基”是指 $-C(=O)NR^a-$ 亚烷基 $-NR^aR^b$ 。

[0194] “氨基芳基”是指 - 芳基 $-NR^aR^b$ 。

[0195] “氨基羰基”或“氨基酰基”是指酰胺 $-C(=O)-NR^aR^b$ 。术语“烷基氨基羰基”在本文中是指基团 $-C(=O)-NR^aR^b$ ，其中 R^a 为烷基， R^b 为 H 或烷基。术语“芳基氨基羰基”在本文中是指基团 $-C(=O)-NR^aR^b$ ，其中 R^a 或 R^b 为芳基。代表性氨基羰基包括例如下示那些基团。结合本文中内容，这些氨基羰基可被进一步取代对具有有机和药物化学技能的技术人员而言是显而易见的。

[0196] “氨基羰基烷氧基”是指 -O- 亚烷基 $-C(=O)-NR^aR^b$ ，其中 R^a 为氢或烷基，并且 R^a 和 R^b 独立选自氢、烷基、烯基、炔基、芳基、环烷基、环烯基、杂芳基和杂环，其中 R^a 和 R^b 任选与它们连接的氮一起形成杂环或取代的杂环基团。

[0197] “氨基羰基亚烷基”是指 - 亚烷基 $-C(=O)-NR^aR^b$ ，其中 R^a 为氢或烷基，并且 R^a 和 R^b 独立选自氢、烷基、烯基、炔基、芳基、环烷基、环烯基、杂芳基和杂环，其中 R^a 和 R^b 任选与它们连接的氮一起形成杂环或取代的杂环基团。

[0198] “氨基羰基亚烷基氨基磺酰基”是指 $-S(O)_2NR^a-$ 亚烷基 $-C(=O)-NR^aR^b$ ，其中 R^a 为氢或烷基，并且 R^a 和 R^b 独立选自氢、烷基、烯基、炔基、芳基、环烷基、环烯基、杂芳基和杂环，其中 R^a 和 R^b 任选与它们连接的氮一起形成杂环或取代的杂环基团。

[0199] “氨基羰基氨基”是指基团 $-NR^aC(O)NR^aR^b$ ，其中 R^a 为氢或烷基， R^a 和 R^b 独立选自氢、

烷基、烯基、炔基、芳基、环烷基、环烯基、杂芳基、杂环,且其中 R^a 和 R^b 任选与它们连接的氮一起形成杂环或取代的杂环基。

[0200] “氨基羰基氨基亚烷基”是指基团 $-NR^aC(O)NR^bR^c$,其中 R^a 为氢或烷基,并且 R^a 和 R^b 独立选自氢、烷基、烯基、炔基、芳基、环烷基、环烯基、杂芳基和杂环基,其中 R^a 和 R^b 任选与它们连接的氮一起形成杂环基或取代的杂环基基团。

[0201] “氨基羧基亚烷基”是指基团 $-OC(O)NR^aR^b$,其中 R^a 为氢或烷基,并且 R^a 和 R^b 独立选自氢、烷基、烯基、炔基、芳基、环烷基、环烯基、杂芳基和杂环基,其中 R^a 和 R^b 任选与它们连接的氮一起形成杂环基或取代的杂环基基团。

[0202] “氨基磺酰基”是指 $-S(O)_2NR^aR^b$,其中 R 独立选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环、取代的杂环,且其中 R^a 和 R^b 任选与它们连接的氮一起形成杂环或取代的杂环基,烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环定义同本文。

[0203] “氨基磺酰基亚烷基”是指 $-S(O)_2NR^aR^b$,其中 R 独立选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环、取代的杂环,其中 R^a 和 R^b 任选与它们连接的氮一起形成杂环基或取代杂环基基团,烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环定义同本文。

[0204] 术语“烷基氨基磺酰基”在本文中是指基团 $-S(O)_2NR^aR^b$,其中 R^a 为氢, R^b 为氢或烷基。术语“烷基芳基磺酰基”在本文中是指基团 $-S(O)_2NR^aR^b$,其中 R^a 或 R^b 为烷基芳基。

[0205] “氨基磺酰氧基”是指基团 $-O-SO_2NR^aR^b$,其中 R^a 和 R^b 独立选自氢、烷基、烯基、炔基、芳基、环烷基、环烯基、杂芳基和杂环; R^a 和 R^b 任选与它们连接的氮一起形成杂环或取代的杂环基。

[0206] “氨基磺酰基氨基”是指基团 $-NR^a-SO_2NR^bR^c$,其中 R^a 为氢或烷基, R^b 和 R^c 独立选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环,且其中 R^b 和 R^c 任选与它们连接的氮一起形成杂环或取代的杂环基,且其中烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环定义同本文。

[0207] “氨基硫代羰基”是指基团 $-C(S)NR^aR^b$,其中 R^a 和 R^b 独立选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环,且其中 R^a 和 R^b 任选与它们连接的氮一起形成杂环或取代的杂环,且其中烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环定义同本文。

[0208] “氨基硫代羰基氨基”是指基团 $-NR^aC(S)NR^bR^c$,其中 R^a 为氢或烷基, R^b 和 R^c 任选与它们连接的氮一起形成杂环或取代的杂环。

- [0209] “芳基烷氧基羰基氨基”是指基团 $-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ 亚烷基 $-\text{R}^c$, 其中 R^c 为芳基。
- [0210] “芳基羰基”是指基团 $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^c$, 其中 R^c 为芳基。
- [0211] “芳基羰基氨基”是指 $-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{R}^c$, 其中 R^c 为芳基。
- [0212] “芳基羰基氧基”是指 $-\text{OC}(=\text{O})-\text{R}^c$, 其中 R^c 为芳基。
- [0213] “芳氧基”是指 $-\text{OR}^d$, 其中 R^d 为芳基。芳氧基的代表实例包括苯氧基、萘氧基等。
- [0214] “芳氧基羰基”是指 $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^d$, 其中 R^d 为芳基。
- [0215] “芳氧基羰基氨基”是指 $-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{OR}^d$, 其中 R^d 为芳基。
- [0216] “芳基硫烷基”、“芳硫基”或“硫代芳氧基”是指基团 $\text{S}-\text{R}^d$, 其中 R^d 为芳基。
- [0217] “芳基磺酰基”是指 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^e$, 其中 R^e 为芳基。
- [0218] “芳基磺酰基氨基”是指 $-\text{NR}^a\text{S}(=\text{O})_2-\text{R}^e$, 其中 R^e 为芳基。
- [0219] “芳硫基”是指基团 $-\text{S}-$ 芳基, 其中芳基定义同本文。在其它实施方案中, 硫可氧化为 $-\text{S}(\text{O})-$ 或 $-\text{SO}_2-$ 部分。亚砷可以一种或多种立体异构体形式存在。
- [0220] “叠氮基”是指 $-\text{N}_3$ 。
- [0221] 当在 Markush 组 (group) 中作为一个元素使用时, “键”表示相应的基团不存在, 位于两端的基团直接连接。
- [0222] “羰基”是指二价基团 $-\text{C}(=\text{O})-$ 。
- [0223] “羧基”是指基团 $-\text{CO}_2\text{H}$ 。
- [0224] “羧基亚烷基”是指基团 $-$ 亚烷基 $-\text{CO}_2\text{H}$ 。
- [0225] “羧基亚烷基磺酰基氨基”是指基团 $-\text{NR}^a\text{SO}_2-$ 亚烷基 $-\text{CO}_2\text{H}$ 。
- [0226] “羧基酯”或“羰基烷氧基”是指基团 $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^c$ 。
- [0227] “(羧基酯)氨基”是指基团 $-\text{NR}^a-\text{C}(\text{O})\text{OR}^c$, 其中 R^a 为烷基或氢。
- [0228] “(羧基酯)氧基”或“碳酸酯”是指基团 $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^c$ 。
- [0229] “氰基”是指 $-\text{CN}$ 。
- [0230] “氰基亚烷基羰基”是指 $-\text{C}(=\text{O})-$ 亚烷基 $-\text{CN}$ 。
- [0231] “环烷氧基”是指 $-\text{OR}^d$, 其中 R^d 为环烷基。
- [0232] “环烷氧基羰基”是指 $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^d$, 其中 R^d 为环烷基。
- [0233] “环烷氧基羰基氨基”是指 $-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{OR}^d$, 其中 R^d 为环烷基。
- [0234] “环烷基亚烷基”是指基团 $-\text{R}^x\text{R}^y$, 其中 R^x 为本文定义的亚烷基, R^y 为本文定义的环烷基, 例如环丙基甲基、环己烯基丙基、3-环己基-2-甲基丙基等。
- [0235] “环烷基羰基”是指基团 $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^c$, 其中 R^c 为环烷基。
- [0236] “环烷基羰基氨基”是指 $-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{R}^c$, 其中 R^c 为环烷基。
- [0237] “环烷基羰基氧基”是指 $-\text{OC}(=\text{O})-\text{R}^c$, 其中 R^c 为环烷基。
- [0238] “环烷基磺酰基氨基”是指 $-\text{NR}^a\text{S}(=\text{O})_2-\text{R}^e$, 其中 R^e 为环烷基。
- [0239] “环烷硫基”是指 $-\text{S}-$ 环烷基。在其它实施方案中, 硫可氧化为 $-\text{S}(\text{O})-$ 或 $-\text{SO}_2-$ 。亚砷可以一种或多种立体异构体形式存在。
- [0240] “环烯氧基”是指 $-\text{O}-$ 环烯基。
- [0241] “环烯硫基”是指 $-\text{S}-$ 环烯基。在其它实施方案中, 硫可氧化为亚磺酰基或磺酰基。亚砷可以一种或多种立体异构体形式存在。
- [0242] “酯”是指 $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^d$, 其中 R^d 为烷基、环烷基、芳基、杂芳基或杂环基。

[0243] “胍基”是指基团 $\text{-NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 。

[0244] 除另有说明外,单独或作为另一个取代基的一部分的“卤代”或“卤素”表示氟、氯、溴或碘原子。另外,术语例如“卤代烷基”指其中一个或多个氢被可相同或不同的卤素原子取代的烷基,卤素原子的数目为 1 至高达允许的卤素的数目,例如,对于烷基而言,数目为 $(2m' + 1)$,其中 m' 为烷基中碳原子的总数。例如,术语“卤代 C_{1-8} 烷基”包括三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、4-氯丁基、3-溴丙基等。除另有说明外,术语“全卤代烷基”表示被 $(2m' + 1)$ 卤素原子取代的烷基,其中 m' 为烷基中碳原子的总数。例如,术语“全卤代 C_{1-8} 烷基”包括三氟甲基、五氯乙基、1,1,1-三氟-2-溴-2-氯乙基等。另外,术语“卤代烷氧基”是指被一个或多个卤素原子取代的烷氧基。

[0245] “杂烷基”表示含 1、2 或 3 个取代基的本文中定义的烷基,所述取代基独立选自氰基、 -OR^w 、 $\text{-NR}^x\text{R}^y$ 和 $\text{-S(O)}_n\text{R}^z$ (其中 n 为 0-2 的整数),须理解,杂烷基的连接点通过杂烷基的碳原子。 R^w 为氢、烷基、环烷基、环烷基-烷基、芳基、芳烷基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、甲酰氨基或一或二烷基氨基甲酰基。 R^x 为氢、烷基、环烷基、环烷基-烷基、芳基或芳烷基。 R^y 为氢、烷基、环烷基、环烷基-烷基、芳基、芳烷基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、甲酰氨基、一或二烷基氨基甲酰基或烷基磺酰基。 R^z 为氢(前提是 n 为 0)、烷基、环烷基、环烷基-烷基、芳基、芳烷基、氨基、一烷基氨基、二烷基氨基或羟基烷基。代表性实例包括例如 2-羟基乙基、2,3-二羟基丙基、2-甲氧基乙基、苄氧基甲基、2-氰基乙基和 2-甲基磺酰基-乙基。对于以上各基团而言, R^w 、 R^x 、 R^y 和 R^z 可被以下基团进一步取代:氨基、氟、烷基氨基、二烷基氨基、OH 或烷氧基。另外,标示碳原子数目的前缀(例如 C_{1-10})是指除氰基、 -OR^w 、 $\text{-NR}^x\text{R}^y$ 或 $\text{-S(O)}_n\text{R}^z$ 部分外的杂烷基部分中的碳原子总数。

[0246] “杂芳基烯基”是指基团-烯基 -R^c ,其中 R^c 是指杂芳基。

[0247] “杂芳基羰基”是指基团 $\text{-C}(=\text{O})\text{R}^c$,其中 R^c 为杂芳基。

[0248] “杂芳基羰基氨基”是指 $\text{-NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{R}^c$,其中 R^c 为杂芳基。

[0249] “杂芳基羰基氧基”是指 $\text{-OC}(=\text{O})\text{-R}^c$,其中 R^c 为杂芳基。

[0250] “杂芳氧基”是指 -OR^d ,其中 R^d 为杂芳基。

[0251] “杂芳氧基羰基”是指 $\text{-C}(=\text{O})\text{OR}^d$,其中 R^d 为杂芳基。

[0252] “杂芳氧基羰基氨基”是指 $\text{-NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{OR}^d$,其中 R^d 为杂芳基。

[0253] “杂芳基磺酰基氨基”是指 $\text{-NR}^a\text{S}(=\text{O})_2\text{-R}^e$,其中 R^e 为杂芳基。

[0254] “杂芳硫基”是指 -S- 杂芳基。在其它实施方案中,硫可氧化为 -S(O)- 或 $\text{-SO}_2\text{-}$ 部分。亚砷可以一种或多种立体异构体形式存在。

[0255] “杂环基烷基”或“环杂烷基-烷基”表示基团 $\text{-R}^x\text{R}^y$,其中 R^x 为本文定义的亚烷基, R^y 为本文定义的杂环基,例如四氢吡喃-2-基甲基、4-(4-取代的-苯基)哌嗪-1-基甲基、3-哌啶基乙基等。

[0256] “杂环氧基羰基氨基”是指 $\text{-NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{OR}^d$,其中 R^d 为杂环基。

[0257] “杂环基羰基”是指 $\text{-C}(=\text{O})\text{R}^c$,其中 R^c 为杂环基。

[0258] “杂环基羰基氨基”是指 $\text{-NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{R}^c$,其中 R^c 为杂环基。

[0259] “杂环基羰基氧基”是指 $\text{-OC}(=\text{O})\text{-R}^c$,其中 R^c 为杂环基。

[0260] “杂环基氧基”是指 -OR^d ,其中 R^d 为杂环基。

[0261] “杂环基氧基羰基”是指 $\text{-C}(=\text{O})\text{OR}^d$,其中 R^d 为杂环基。

- [0262] “杂环基磺酰基”是指 $-S(=O)_2R^e$, 其中 R^e 为杂环基。
- [0263] “杂环基磺酰基氨基”是指 $-NR^aS(=O)_2-R^e$, 其中 R^e 为杂环基。
- [0264] “杂环硫基”是指基团 $-S-$ 杂环基。在其它实施方案中, 硫可氧化为 $-S(O)-$ 或 $-SO_2-$ 部分。亚砷可以一种或多种立体异构体形式存在。
- [0265] “羟基”是指基团 $-OH$ 。
- [0266] “羟基亚烷基”是指基团 $-$ 亚烷基 $-OH$ 。
- [0267] “羟基亚烷基氨基”是指基团 $-NR^a-$ 亚烷基 $-OH$ 。
- [0268] “羟基亚烷基氨基羰基”是指基团 $-C(=O)NR^a-$ 亚烷基 $-OH$ 。
- [0269] “羟基亚烷基氨基磺酰基”是指基团 $-SO_2NR^a-$ 亚烷基 $-OH$ 。
- [0270] “羟基氨基”是指基团 $-NHOH$ 。
- [0271] “羟基亚烷基羰基氨基”是指基团 $-NR^aC(=O)-$ 亚烷基 $-OH$ 。
- [0272] “亚胺基”是指基团 $=NR^a$ 。
- [0273] “硝基”是指 $-NO_2$ 。
- [0274] “亚硝基”是指基团 $-NO$ 。
- [0275] 在本说明书全文中使用的术语“任选的”或“任选”表示随后描述的事件或环境可发生但不一定发生, 该表述包括其中事件或环境发生的情况和其中事件或环境不发生的情况。例如, “任选被烷基一或二取代的杂环基表示烷基可以存在, 但不一定存在, 且该表述包括其中杂环基被烷基一或二取代的情况和其中杂环基未被烷基取代的情况。
- [0276] “任选取代的”表示任选独立被取代基取代的环。未取代的基团的位点可被氢取代。
- [0277] “氧代”是指二价基团 $=O$ 。
- [0278] “硫烷基”是指基团 $-SR^f$, 其中 R^f 定义同本文。
- [0279] “亚磺酰基”是指基团 $-S(=O)-R^e$, 其中 R^e 定义同本文。
- [0280] “磺酸”是指基团 $-S(O)_2-OH$ 。
- [0281] “磺酰基”是指基团 $-S(O)_2-R^e$, 其中 R^e 定义同本文。
- [0282] “磺酰基氨基”是指 $-NR^aS(=O)_2-R^e$, 其中 R^a 选自氢、烷基、烯基、炔基、芳基、环烷基、环烯基、杂芳基和杂环基, R^e 定义同本文。
- [0283] “磺酰氧基”是指基团 $-OSO_2-R^e$ 。
- [0284] 具有相同分子式但它们的性质或原子结合顺序或它们的原子在空间的排列不同的化合物称为“异构体”。它们的原子在空间排列不同的异构体称为“立体异构体”。“立体异构体”是指如果它们具有一个或多个不对称中心或不对称取代的双键从而可产生单个立体异构体或混合物, 以不同立体异构式存在的化合物。立体异构体包括对映体和非对映体。互不为镜像的立体异构体称为“非对映体”, 彼此镜像不叠加的那些立体异构体称为“对映体”。当化合物具有不对称中心时, 例如, 与 4 个不同基团结合时, 可存在对映体对。可通过其不对称中心的绝对构型表征对映体, 通过 Cahn 和 Prelog 的 R- 和 S- 定序规则或通过分子使偏振光平面旋转的方式描述对映体, 以右旋或左旋表示 (即分别为 (+) 或 (-) 异构体)。手性化合物可按单个对映体或其混合物的形式存在。含相等比例对映体的混合物称为“外消旋混合物”。除另有说明外, 该表述包括单个立体异构体和混合物。测定立体化学和分离立体异构体的方法在本领域中熟知 (参见在 Advanced Organic Chemistry 的第 4 章中的

论述,第4版,J. March, John Wiley and Sons, New York, 1992), 所述立体异构体在一个或多个立体中心上的手性不同。

[0285] “硫酰基”是指基团 $R^a-C(S)-$ 。

[0286] “硫醇”是指基团 $-SH$ 。

[0287] “互变异构体”是指质子位置不同的分子的变化形式例如烯醇-酮和亚胺-烯胺互变异构体,或含 $-N=C(H)-NH-$ 环原子排列的杂芳基的互变异构形式,例如吡咯、咪唑、苯并咪唑、三唑和四唑。本领域普通技术人员会认识到,可存在其它互变异构的环原子排列。

[0288] 可以理解,在以上定义的所有取代的基团中,通过对取代基的取代基进行定义获得的聚合形式(例如具有取代的芳基取代基的取代的芳基,该取代基本身被取代的芳基取代,取代的芳基又被取代的芳基等取代)不包括在本文中。在此类情况中,此类取代的最大数目为3。例如,取代的芳基的系列取代限于-取代的芳基-(取代的芳基)-取代的芳基。

[0289] “保护基团”是指当与分子中的反应性官能团连接时能够掩盖、减少或阻止官能团的反应性的原子基团。通常,在合成期间,可根据需要将保护基团选择性除去。保护基的实例可在 Greene and Wuts, 有机化学中的保护基团 (Protective Groups in Organic Chemistry), 第3版., 1999, John Wiley & Sons, NY and Harrison 等, 合成有机方法概要 (Compendium of Synthetic Organic Methods), Vols. 第1-8卷, 1971-1996, John Wiley & Sons, NY 中找到。代表性氨基保护基包括但不限于甲酰基、乙酰基、三氟乙酰基、苄基、苄氧基羰基 (“CBZ”)、叔丁氧基羰基 (“Boc”)、三甲基甲硅烷基 (“TMS”)、2-三甲基甲硅烷基-乙磺酰基 (“TES”)、三苯甲基和取代的三苯甲基、烯丙氧基羰基、9-苄基甲氧基羰基 (“FMOC”)、硝基-苄基氧基羰基 (“NVOC”)。代表性羟基保护基包括但不限于其中羟基被酰化或烷化的那些基团,例如苄基和三苯甲基醚以及烷基醚、四氢吡喃基醚、三烷基甲硅烷基醚(例如 TMS 或 TIPPS 基团)和烯丙基醚。

[0290] 术语“药学上可接受的盐”包括根据本文中所述化合物上存在的特定取代基采用相对无毒的酸或碱制备的活性化合物的盐。当本发明化合物含相对酸性的官能团时,可通过使中性形式的这种化合物与足量的需要的碱单独或在合适的惰性溶剂中接触得到碱加成盐。由药学上可接受的无机碱衍生的盐的实例包括铝、铵、钙、铜、三价铁、亚铁、锂、镁、锰、二价锰、钾、钠、锌等。由药学上可接受的有机碱衍生的盐包括伯、仲和叔胺的盐,它们包括取代的胺、环胺、天然胺等,例如精氨酸、甜菜碱、咖啡因、胆碱、N, N'-二苄基乙二胺、二乙胺、2-二乙基氨基乙醇、2-二甲基氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、葡萄糖胺、葡糖胺、组氨酸、哈胺 (hydrabamine)、异丙胺、赖氨酸、甲基葡糖胺、吗啉、哌嗪、聚胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、氨丁三醇等。当本发明化合物含相对碱性的官能团时,可通过使中性形式的这种化合物与足量的需要的酸单独或在合适的惰性溶剂中接触得到酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐的实例包括由无机酸衍生的那些盐,无机酸盐例如盐酸盐、氢溴酸盐、硝酸盐、碳酸盐、碳酸氢盐、磷酸盐、磷酸氢盐、磷酸二氢盐、硫酸盐、硫酸氢盐、氢碘酸盐或亚磷酸盐等;由相对无毒的有机酸衍生的盐,所述有机酸为例如乙酸、丙酸、异丁酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、富马酸、扁桃酸、苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸、甲磺酸等。还包括氨基酸例如精氨酸等的盐以及有机酸例如葡糖醛酸或半乳糖酸等的盐(参见例如 Berge, S. M 等, 药用盐 (“Pharmaceutical Salts,”) Journal of Pharmaceutical Science, 66:1-19, 1977)。本

发明某些特殊化合物含碱性和酸性官能团,这使得化合物可以转化为碱或酸加成盐。

[0291] 可通过使盐与碱或酸接触再按常规方式分离母体化合物,重新得到中性形式的化合物。化合物的母体形式的某些物理性质例如在极性溶剂中的溶解度与各种盐形式的不同,但对于本发明目的,盐等同于母体形式的化合物。

[0292] 除盐形式外,本发明提供前药酯形式的化合物。本文中所述化合物的“前药”是在生理环境下容易发生化学变化得到本发明化合物的那些化合物。另外,可通过在离体环境中用化学或生物化学方法将前药转化为本发明化合物。例如,当置于含合适的酶或化学试剂的透皮贴剂储库时,可将前药缓慢转化为本发明化合物。前药经常在转化为活性药物前是药理学惰性化合物,但这种情况并非必须。通常通过将药物中可能是活性所部分需要的官能团用“前体基团 (progroup)”(以下定义的)掩盖,形成可以经过转化(例如在特定使用条件下裂解)释放官能团从而得到活性药物的“前体部分 (promoiety)”,获得前药。可对前体部分例如通过水解反应,或通过另一种作用物(例如酶、光、酸或碱)或物理或环境参数改变(例如温度改变)或暴露于物理或环境参数将其催化或诱导,进行自发性裂解。作用物相对于使用环境可以是内源性的,例如存在于给予前药的细胞内的酶或胃的酸性环境,或可由外源提供。

[0293] “前体基团”是指当用于掩盖活性药物中的官能团形成“前体部分”时能够将药物转化为前药的一类保护基团。前体基团通常通过键与药物的官能团连接,所述键在特定使用条件下可裂解。因此,前体基团为前体部分的一部分,该前体部分在特定使用条件下裂解,释放官能团。作为特定实例,式 -NH-C(O)CH_3 的酰胺前体部分包含前体基团 -C(O)CH_3 。

[0294] 适合掩盖活性 syk 和 / 或 JAK 选择性抑制化合物中官能团以得到前药的很多种前体基团和得到的前体部分在本领域中熟知。例如,可将羟基官能团掩盖变为磺酸酯、酯(例如乙酸酯或马来酸酯)或碳酸酯前体部分,该前体部分可在体内水解,得到羟基。可将氨基官能团掩盖变为酰胺、氨基甲酸酯、亚胺、脲、苯膦基、磷酰基或氧硫基前体部分,它们可在体内水解,得到氨基。可将羧基掩盖成为酯(包括甲基、乙基、新戊酰氧基甲基、甲硅烷基酯和硫代酸酯)、酰胺或酰肼前体部分,它们可在体内水解得到羧基。本发明包括本领域中已知的用于改变溶解度或水解特性的那些酯和酰基,以用作缓释或前药制剂。合适的前体基团和它们的相应前体部分的特定实例对本领域技术人员而言是显而易见的

[0295] 本发明某些化合物可以非溶剂化形式和包括水合形式在内的溶剂化形式存在。“溶剂化物”是指由溶剂分子与溶质的分子或离子结合形成的复合物。溶剂可为有机化合物、无机化合物或二者的混合物。溶剂的某些实例包括但不限于甲醇、N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃、二甲亚砜和水。一般而言,溶剂化形式等同于非溶剂化形式,并包括在本发明范围内。本发明某些化合物可以多晶形或无定形形式存在。一般而言,对于本发明设想的用途,所有物理形式均相同并在本发明范围内。

[0296] 本发明某些化合物具有不对称碳原子(旋光中心)或双键;外消旋体、非对映体、几何异构体、区域异构体和单个异构体(例如分离的对映体)均包括在本发明范围内。可用常规方法将这些异构体拆分或不对称合成,以使异构体“旋光纯”,即基本上不含它的其它异构体。例如,如果需要本发明化合物的特定对映体,可通过不对称合成制备,或通过用手性助剂衍生化,其中将得到的非对映异构的混合物分离,再将助剂基团裂解得到纯的需要的对映体。或者,当分子含碱性官能团例如氨基或酸性官能团例如羧基时,用适当的旋光

活性酸或碱形成不对称异构的盐,然后通过本领域中熟知的分级结晶或色谱方法将由此形成的非对映体拆分,然后回收纯对映体。

[0297] 本发明化合物也可在构成该化合物的一个或多个原子中含非正常比例的原子同位素。例如,可将化合物用放射性同位素例如氚 (3H)、碘-125 (¹²⁵I) 或碳-14 (¹⁴C) 标记。无论是否具有放射性,本发明化合物的所有同位素形式均包括在本发明范围内。

[0298] 术语“给予”是指口服给药;以栓剂、局部接触、静脉内、腹膜内、肌内、病变内 (intralesional)、鼻内方式给药或皮下给药,或向患者体内植入缓释装置例如微型渗透泵。可以通过任何途径给药,所述途径包括肠胃外和透粘膜 (例如含服、舌下、腭、龈、鼻、阴道、直肠或透皮)。肠胃外给药包括例如静脉内、肌内、动脉内、皮内、皮下、腹膜内、心室内和颅内给药。递药的其它模式包括但不限于使用脂质体制剂、静脉内输注、透皮贴剂等。

[0299] “激动剂”或“活化剂”是指能够与本发明的受体结合的作用物或分子,能够刺激、增加、开通、激活、促进、增强酶的激活或活性,使本发明受体的活性致敏或上调的作用物或分子。

[0300] “拮抗剂”或“抑制剂”是指能够抑制本发明受体或与本发明受体结合的作用物或分子,能够部分或完全阻断刺激或活性,减少、封闭、阻止、延缓激活或酶活性,使本发明受体的活性失活、脱敏或下调。本文中使用的“拮抗剂”还包括反向或逆向激动剂。

[0301] 本文中使用的术语“响应调节 syk 和 / 或 JAK 的疾病或病症”和相关术语和短语是指与不适当的 (例如小于或大于正常) syk 和 / 或 JAK 活性有关的和至少部分响应于 syk 和 / 或 JAK 的调节或受 syk 和 / 或 JAK 调节影响 (例如 syk 和 / 或 JAK 拮抗剂或激动剂在至少一些患者的预后中产生一些改善) 的疾病或病症。不适当的 syk 和 / 或 JAK 的功能活性可因下列情况而产生:在通常不表达该受体的细胞中表达 syk 和 / 或 JAK、大于 syk 和 / 或 JAK 的正常生产或慢于 syk 和 / 或 JAK 或其活性代谢物的正常代谢失活或消除、syk 和 / 或 JAK 的表达或细胞内激活的程度增加 (导致例如炎性和免疫相关病症和疾病) 或 syk 和 / 或 JAK 表达减少。与 syk 和 / 或 JAK 有关的疾病或病症可包括“syk 和 / 或 JAK 介导的疾病或病症”。

[0302] 本文中使用的短语“至少部分由 syk 和 / 或 JAK 激酶活性介导的疾病或病症”是指特征在于不适当的例如大于正常 syk 和 / 或 JAK 活性的疾病或病症。不适当的 syk 和 / 或 JAK 的功能活性可因在通常不表达该受体的细胞中表达 syk 和 / 或 JAK 或表达 syk 和 / 或 JAK 或细胞内激活的程度增加 (导致例如炎性和免疫相关病症和疾病) 而产生。不适当的 syk 和 / 或 JAK 功能活性可完全或部分介导至少部分由 syk 和 / 或 JAK 激酶活性介导的疾病或病症。但是,至少部分由 syk 和 / 或 JAK 激酶活性介导的疾病或病症是其中调节 syk 和 / 或 JAK 导致对潜在疾病或病症产生某些作用 (例如 syk 和 / 或 JAK 拮抗剂在患者中的至少某些患者中导致某些改善) 的病症

[0303] 本文中使用的术语“炎症”是指白血细胞 (例如白细胞、单核细胞等) 浸润到因为再狭窄而治疗的区域。

[0304] 术语“介入”是指产生治疗效果或改变疾病过程进程的作用。例如,“血管介入”是指用血管内方法例如血管成形术或支架使阻塞的血管开通。

[0305] 术语“血管内装置”是指可用于血管再通使血流重新通过阻塞的血管的装置。血管内装置的实例包括但不限于支架、充气囊导管、自身静脉 / 动脉移植物、假体静脉 / 动脉

移植、血管导管和血管支架。

[0306] 本文中使用的术语“JAK”是指可在体外或体内介导基因表达的 Janus 激酶 (RefSeq 登录号 P-43408) 或其变种。JAK 变种包括基本上与天然 JAK 同源的蛋白,即具有一种或多种天然或非天然存在的氨基酸缺失、插入或取代的蛋白(例如 JAK 衍生物、同系物和片段)。JAK 变种的氨基酸序列优选为与天然 JAK 至少约 80% 相同,更优选至少约 90% 相同,最优选至少约 95% 相同。

[0307] 术语“白细胞”是指当将全血离心时分离到薄白色层的具有核和细胞质的各种血细胞中的任何细胞,这些细胞协助阻止感染和疾病影响身体。白细胞的实例包括但不限于嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞。

[0308] 术语“哺乳动物”包括但不限于人、家畜(例如狗或猫)、农场动物(母牛、马或猪)、猴子、兔子、小鼠和实验室动物。

[0309] 术语“调节”等是指化合物增加或减少 syk 和 / 或 JAK 功能和 / 或表达的能力,其中这种功能可包括转录调节性活性和 / 或蛋白结合。调节可在体外或体内发生。本文所述调节包括与 syk 和 / 或 JAK 有关的直接或间接被抑制、拮抗、部分拮抗、激活、激动或部分激动的功能或特性,和 / 或直接或间接上调或下调 syk 和 / 或 JAK 的表达。在优选的实施方案中,调节为直接调节。抑制剂或拮抗剂例如结合、部分或完全阻断刺激;减少、阻止、抑制、延缓激活;使信号转导失活、脱敏或下调的化合物。激动剂或活化剂是例如结合、刺激、增加、开通、激活、促进、增强激活;或使信号转导激活、致敏或上调的化合物。可在生物化学测定例如结合测定或基于细胞的测定例如瞬时转染测定中,证明化合物抑制 syk 和 / 或 JAK 功能的能力。

[0310] 活性的“调节剂”是指用体外和体内活性测定鉴定出的“配体”、“拮抗剂”和“激动剂”和它们的同源物和模拟物。调节剂包括天然和合成配体、拮抗剂、激动剂、分子等。鉴定拮抗剂和激动剂的测定方法包括例如在本发明受体的存在或不存在下,在细胞上施用公认的调节剂化合物,然后测定本发明活性的受体的功能作用。将含有用潜在活化剂、抑制剂或调节剂处理的本发明受体的样品或测定与不含抑制剂、活化剂或调节剂的对照样品对比,以检验作用的程度。将对照样品(未用调节剂处理)的相对活性值设为 100%。当相对于对照的本发明受体的活性值为约 80%,任选 50% 或 25-1% 时,实现抑制。当相对于对照的本发明受体的活性值为 110%,任选 150%,任选 200-500%,或 1000-3000% 更高时,实现激活。

[0311] “患者”是指人和非人动物,尤其是哺乳动物。患者的实例包括但不限于人、母牛、狗、猫、山羊、绵羊、猪和兔。

[0312] 就本发明组合物而言,术语“药学上可接受的载体或赋形剂”表示可用于制备药用组合物的载体或赋形剂,它们通常是安全、无毒和无生物活性及无害,包括兽医用和人药用的载体或赋形剂。用于本说明书和权利要求的“药学上可接受的载体或赋形剂”包括一种和大于一种的此类载体或赋形剂。

[0313] 术语“药学有效量”、“治疗有效量”或“治疗有效剂量”是指研究人员、兽医、医师或其它临床技师正在寻找的引起组织、系统、动物或人的生物或医学反应的主题化合物的量。术语“治疗有效量”包括给予后足以阻止正在治疗的疾病或病症的一种或多种症状发展或缓解至某种程度的化合物的量。治疗有效量须随化合物、病症或状态及其严重性以及所治

疗的哺乳动物的年龄、体重等而变。

[0314] 术语“血小板”是指存在于哺乳动物血浆中的微小无核碟状细胞,其作用为促使血液凝固。

[0315] 本文中使用的术语“阻止”、“预防”及其其它语法形式是指部分或完全延缓或排除病症或疾病和 / 或其一个或多个附带症状的发作或复发,或阻止患者获得或再获得病症或疾病或减少患者获得或再获得病症或疾病或其一个或多个附带症状风险的方法。

[0316] 术语“再通”是指恢复流动到破坏的身体渠道或使破坏的身体渠道例如血管再结合的方法。

[0317] 术语“再狭窄”是指在治疗例如进行血管成形术或支架植入的相同位置上动脉再狭窄或阻滞。

[0318] 当涉及与受体结合时,短语“选择性”或“特异性”是指通常在受体和其它生物体的异源种群中可检测到受体存在结合反应。因此,在设定条件下,化合物与特定受体的结合力至少为背景的 2 倍,更通常大于背景 10-100 倍。在此类条件下,化合物的特异性结合需要选择对特定受体具有特异性的化合物。例如,可筛选小有机分子,以仅得到特异性或选择性结合选择的受体且不与其它受体或蛋白结合的那些化合物。可用多种测定模式选择对特定受体有选择性的化合物。例如,按惯例,用高通量筛选测定法选择对特定受体有选择性的化合物。

[0319] 本文中使用的术语“镰状细胞贫血病”是指红血细胞遗传病,其中两个血红蛋白等位基因均编码镰状血红蛋白 (S) 蛋白,即 S/S 基因型。异常血红蛋白的存在导致产生异常形状的细胞,这种细胞在血液循环中的存活时间不能达到通常时间长度。因此,导致贫血病。“贫血病”是指血液中红血细胞和 / 或血红蛋白的数目减少。

[0320] 术语“镰状细胞病”是指红血细胞遗传病,其中一个血红蛋白等位基因编码镰状血红蛋白 (S) 蛋白,另一个等位基因编码另一种异常血红蛋白,例如血红蛋白 (S)、(C)、(D)、(E) 和 (β Thal)。镰状细胞病基因型的实例包括但不限于 S/S、S/C、S/D、S/E 和 S/ β Thal 基因型。最普通类型的镰状细胞病包括镰状细胞贫血病、镰状细胞血红蛋白 C 病、镰状细胞 β + (plus) 地中海贫血和镰状细胞 β 0 (zero) 地中海贫血。

[0321] 本文中定义的“患者”包括动物,例如哺乳动物,哺乳动物包括但不限于灵长类(例如人)、母牛、绵羊、山羊、马、狗、猫、兔、大鼠、小鼠等。在优选的实施方案中,患者为人。

[0322] 本文中使用的术语“syk”是指可在体外或体内调节对 T 细胞受体的细胞反应的脾酪氨酸激酶 (RefSeq 目录号 P-043405) 或其变种。syk 变种包括基本上与天然 syk 同源的蛋白,即具有一种或多种天然或非天然存在的氨基酸缺失、插入或取代的蛋白(例如 syk 衍生物、同系物和片段)。syk 变种的氨基酸序列优选为与天然 syk 至少约 80% 相同,更优选至少约 90% 相同,最优选至少约 95% 相同。

[0323] 术语“syk 抑制剂”是指抑制脾酪氨酸激酶的催化活性的任何物质。

[0324] 术语“血栓形成”是指由细胞结块造成的血管阻滞或阻塞,导致血流阻塞。术语“血栓形成”是指在血管中形成的凝块。

[0325] 本文中使用的术语“治疗”及其其它语法形式包括部分或完全延缓、缓解、减轻或减少病症或疾病的一种或多种附带症状和 / 或缓解、减轻或阻挡病症或疾病的一种或多种起因。本发明的治疗可以为防止性治疗、预防性治疗、缓解 (pallatively) 性治疗或改善性

治疗。

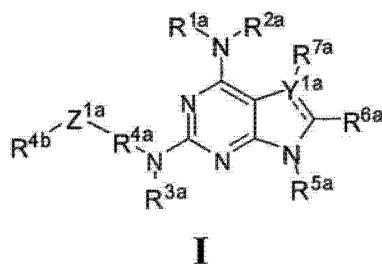
[0326] 术语“导管”是指传送流体的任何通道,例如动脉或静脉。例如,“血管”是指任何导管,通过其血液在身体中循环。血管内腔是指血管的内开放空间或腔室。

[0327] 2. 本发明的实施方案

[0328] a. 化合物

[0329] 在一组实施方案中,本发明提供具有式(I)的化合物、其互变异构体或药学上可接受的盐:

[0330]



[0331] 其中:

[0332] Y^{1a} 选自 N、CH 和 C;

[0333] Z^{1a} 选自键、-N(C₁₋₄ 烷基)-、-SO₂-、-CO-、-NR^{4d}SO₂-、杂环基、杂环羰基和杂环磺酰基;

[0334] R^{1a} 选自:

[0335] (a) 氢;

[0336] (b) C₁₋₈ 烷基,任选被 1-3 个选自氨基、羟基、C₁₋₈ 烷氧基、杂环基、氨基羰基、氨基 C₁₋₈ 烷氧基、芳基和杂芳基的基团取代;

[0337] (c) C₃₋₈ 环烷基,任选被 1-3 个氨基取代基取代;

[0338] (d) 芳基,任选被 1-3 个选自 C₁₋₈ 烷基、C₁₋₈ 烷氧基、C₁₋₈ 烷基氨基、C₁₋₈ 烷基羰基氨基、氨基羰基 C₁₋₈ 烷氧基、氨基磺酰基、氨基羰基、氨基 C₁₋₈ 亚烷基羰基 C₁₋₈ 烷氧基和卤素的取代基取代;

[0339] (e) 杂环基,卤素,氰基,任选被 1-3 个选自 C₁₋₈ 烷基、氧代和 C₁₋₈ 烷氧基羰基、氰基 C₁₋₈ 烷基羰基、氨基羰基、芳基 C₁₋₈ 烷氧基羰基、芳基氨基羰基基团的取代基取代;和

[0340] (f) 杂芳基,任选被 1-3 个选自 C₁₋₈ 烷基、C₁₋₈ 烷基磺酰基和氰基 C₁₋₈ 亚烷基羰基基团的取代基取代;

[0341] R^{2a} 为氢、C₁₋₈ 烷基,或与 R^{1a} 以及其各自连接的氮一起形成包含 1-3 个杂原子的并任选被 1-2 个取代基 R^b 取代的杂环基或杂芳基环,该杂原子包括 N、O 和 S, R^{2b} 独立选自 C₁₋₈ 烷氧基、C₁₋₈ 烷氧基羰基、C₁₋₈ 烷氧基羰基 C₁₋₈ 亚烷基、C₁₋₈ 烷氧基羰基氨基 C₁₋₈ 亚烷基、氨基、氨基 C₁₋₈ 亚烷基、氨基芳基、氨基羰基、氨基羰基氨基、氨基羰基 C₁₋₈ 亚烷基、氨基羰基氨基 C₁₋₈ 亚烷基、氨基羰基 C₁₋₈ 亚烷基、氨基磺酰基、氨基磺酰基 C₁₋₈ 亚烷基、C₁₋₈ 烷基、C₁₋₈ 烷基磺酰基、C₁₋₈ 烷基磺酰基 C₁₋₈ 亚烷基、C₁₋₈ 烷基杂环基、C₁₋₈ 亚烷基杂环基 C₁₋₈ 亚烷基、芳基、芳基 C₁₋₈ 烷氧基羰基氨基、羰基、羰基 C₁₋₈ 亚烷基、氰基、C₃₋₈ 环烷基、卤素、杂芳基、杂芳基 C₁₋₈ 亚烷基、杂环基、羟基、羟基 C₁₋₈ 亚烷基、羟基羰基 C₁₋₈ 亚烷基、亚胺基、氧代和 = S;

[0342] R^{3a} 为氢、C₁₋₈ 烷基,或与 R^{4a}-Z^{1a} 部分以及其各自连接的氮一起形成任选被 1-2 个 R^{2b} 和 R^{2c} 取代基取代的杂环基或杂芳基环,该取代基每个独立选自 C₁₋₈ 烷氧基、C₁₋₈ 烷氧基

羰基、 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基芳基、氨基羰基、氨基羰基氨基、氨基羰基氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羧基 C_{1-8} 亚烷基、氨基磺酰基、氨基磺酰基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷基磺酰基、 C_{1-8} 烷基磺酰基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷基杂环基、 C_{1-8} 烷基杂环基 C_{1-8} 亚烷基、芳基、芳基 C_{1-8} 烷氧基羰基氨基、羧基、羧基 C_{1-8} 亚烷基、氰基、 C_{3-8} 环烷基、卤素、杂芳基、杂芳基 C_{1-8} 亚烷基、杂环基、羟基、羟基 C_{1-8} 亚烷基、亚胺基、氧代和 = S；

[0343] R^{4a} 选自：

[0344] (a) 芳基，任选被 1-3 个各自独立选自下列基团的取代基 R^{4c} 取代： C_{1-8} 烷氧基、氨基、 C_{1-8} 烷基羰基和氨基羰基 C_{1-8} 烷氧基；

[0345] (b) 杂芳基、杂二环 C_{1-8} 烷基、卤素、羟基，任选被 1-3 个各自独立选自下列基团的取代基 R^{4c} 取代： C_{1-8} 烷基、卤素、羟基、氧代 C_{1-8} 烷氧基和 = S；

[0346] (c) 杂环基，各任选被 1-3 个各自独立选自下列基团的取代基 R^{4c} 取代： C_{1-8} 烷基和氧代；

[0347] R^{4b} 选自氢、 C_{1-8} 烷基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷基羰基、 C_{1-8} 烷基羰基氨基、 C_{1-8} 烷基磺酰基、 C_{1-8} 烷基亚磺酰基、 C_{1-8} 烷基磺酰基氨基、 C_{1-8} 烷基磺酰基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷基硫基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷氧基 C_{1-8} 亚烷基氨基、 C_{1-8} 烷氧基羰基氨基、 C_{1-8} 烷氧基羰基、 C_{1-8} 烷氧基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基、氨基、氨基羰基、氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基、氨基磺酰基、 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基氨基磺酰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基氨基羰基、氨基羰基 C_{1-8} 烷氧基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基 C_{1-8} 亚烷基羰基、氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基氨基磺酰基、羧基、羧基 C_{1-8} 亚烷基氨基磺酰基、羧基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{3-8} 环烷基羰基氨基、 C_{3-8} 环烷基羰基、卤素、羟基、羟基 C_{1-8} 亚烷基、氨基 C_{1-8} 亚烷基氨基、氨基 C_{1-8} 亚烷基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基、羟基 C_{1-8} 亚烷基羰基氨基、羟基 C_{1-8} 亚烷基羰基、羟基 C_{1-8} 亚烷基氨基、羟基 C_{1-8} 亚烷基氨基磺酰基、羟基 C_{1-8} 亚烷基氨基羰基、氧代和杂环基；

[0348] 如果 R^{4b} 为杂环基，则其任选被 1-3 个各自独立选自下列基团的取代基 R^{4d} 取代： C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基、羟基、氨基、卤素、氰基、氧代、= S、 C_{1-8} 烷氧基羰基、羧基、氨基羰基、氨基磺酰基、 C_{1-8} 烷基羰基和 C_{1-8} 烷基氨基羰基；

[0349] R^{5a} 选自氢、 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基和 C_{1-8} 烷基芳基磺酰基；

[0350] R^{6a} 选自氢、 C_{1-8} 烷基、卤素、羟基和氧代；

[0351] R^{7a} 选自氢、 C_{1-8} 烷基、氰基、 C_{1-8} 烷氧基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{2-8} 炔基、 C_{3-8} 环烷基、 C_{1-8} 烷基羰基、羟基、氧代、卤素和芳基，其中每个芳基和杂芳基可任选被卤素、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基、氰基、氨基、羟基、杂芳基取代；且虚线表示双键或单键。

[0352] 在另一组实施方案中， R^{1a} 为氢。在另一组实施方案中， R^{1a} 为 C_{1-8} 烷基。在另一组实施方案中， R^{1a} 为 C_{3-8} 环烷基。在另一组实施方案中， R^{1a} 为环己基、环丙基或环丁基。在另一组实施方案中， R^{1a} 为芳基。在另一组实施方案中， R^{1a} 为苯基。在另一组实施方案中， R^{1a} 为杂环基。在另一组实施方案中， R^{1a} 为杂芳基。

[0353] 在另一组实施方案中， R^{2a} 为氢。在另一组实施方案中， R^{2a} 为 C_{1-8} 烷基。在另一组实施方案中， R^{2a} 与 R^{1a} 以及其各自连接的氮一起形成选自哌啶、哌嗪、高哌嗪和吡咯烷的杂环。

[0354] 在另一组实施方案中，各 R^{2a} 独立选自 $-CH_2NH_2$ 、 $-CH_2NHCH_3$ 、 $-CH_2N(CH_3)_2$ 、 $-CH_2CH_2NH_2$ 、

$-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 和 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CO}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CHNH}_2)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$ 。

[0355] 在另一组实施方案中, Y^1 为氮。在另一组实施方案中, Y^{1a} 为 CH。在另一组实施方案中, Y^{1a} 为 C。

[0356] 在另一组实施方案中, R^{3a} 为氢。在另一组实施方案中, R^{3a} 为 C_{1-8} 烷基。在另一组实施方案中, R^{3a} 与 $\text{R}^{4a}-\text{Z}^{1a}$ 部分以及其连接的氮一起从而形成杂环。在另一组实施方案中, R^{3a} 为与 $\text{R}^{4a}-\text{Z}^{1a}$ 部分以及其连接的氮一起从而形成杂芳基环。

[0357] 在另一组实施方案中, R^{4a} 为芳基。在另一组实施方案中, R^{4a} 为苯基。在另一组实施方案中, R^{4a} 为杂芳基。在另一组实施方案中, R^{4a} 为杂环基。

[0358] 在另一组实施方案中, Z^1 为键。在另一组实施方案中, Z^1 为 $-\text{N}(\text{C}_{1-8}\text{烷基})-$ 。在另一组实施方案中, Z^1 为 $-\text{SO}_2-$ 。在另一组实施方案中, Z^1 为 $-\text{CO}-$ 。在另一组实施方案中, Z^1 为 $-\text{NR}^{4d}\text{SO}_2-$ 。在另一组实施方案中, Z^1 为杂环基。在另一组实施方案中, Z^1 为杂环基羰基。在另一组实施方案中, Z^1 为杂环基磺酰基。

[0359] 在另一组实施方案中, R^{5a} 为氢。

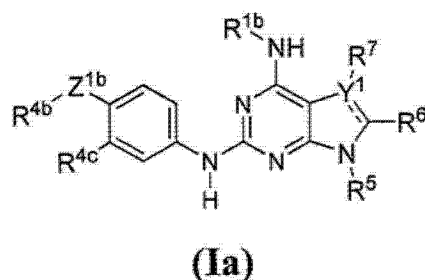
[0360] 在另一组实施方案中, R^{6a} 为氢。

[0361] 在另一组实施方案中, R^{7a} 选自氢、氰基、苯基和吡啶基。

[0362] 在另一组实施方案中, R^{4b} 选自氢、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷基羰基、 C_{1-8} 烷基羰基氨基、 C_{1-8} 烷基磺酰基、 C_{1-8} 烷基亚磺酰基、 C_{1-8} 烷基磺酰基氨基、 C_{1-8} 烷基磺酰基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷硫基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷氧基羰基氨基、 C_{1-8} 烷氧基羰基、 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羰基、氨基磺酰基、 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基氨基磺酰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基氨基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基氨基羰基、氨基羰基 C_{1-8} 烷氧基、氨基羰基、氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基氨基磺酰基、羧基、羧基 C_{1-8} 亚烷基氨基磺酰基、 C_{3-8} 环烷基羰基氨基、卤素、羟基、羟基 C_{1-8} 亚烷基、羟基 C_{1-8} 亚烷基羰基氨基、羟基 C_{1-8} 亚烷基氨基、羟基 C_{1-8} 亚烷基氨基磺酰基、羟基 C_{1-8} 亚烷基氨基羰基、氧代和杂环基。

[0363] 在另一实施方案中, 本发明提供具有式 (Ia) 的化合物、其互变异构体或药学上可接受的盐:

[0364]



[0365] 其中:

[0366] Y^{1b} 为 N、CH 或 C;

[0367] Z^{1b} 为杂环基、 $-\text{NR}^{4d}\text{SO}_2-$ 、杂环基磺酰基或键,

[0368] R^{1b} 选自

[0369] (a) 氢,

[0370] (b) C_{1-8} 烷基, 任选被氨基、氨基 C_{1-8} 烷基、氨基羰基、烷氧基、 C_{1-8} 烷基氨基羰基、氨

基 C_{1-8} 亚烷基、氨基 C_{1-8} 烷氧基、芳基、羟基或杂环基取代，

[0371] (c) C_{3-8} 环烷基，任选被烷基、氨基、羟基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷基氨基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基 C_{1-8} 烷氧基取代；

[0372] (d) 芳基，任选被烷基、氨基、氨基磺酰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷基氨基羰基 C_{1-8} 烷氧基、羟基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷基氨基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基 C_{1-8} 烷氧基或卤素取代；

[0373] (e) 杂环基，任选被 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基、氨基、羟基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷基氨基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基 C_{1-8} 烷氧基、氧代或氰基 C_{1-8} 亚烷基羰基取代；

[0374] (f) 杂芳基，任选被烷基、氨基、羟基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷基氨基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基或氨基 C_{1-8} 烷氧基取代；

[0375] R^{4b} 选自氢、羟基、 C_{1-8} 烷基羰基、 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基氨基、氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基、羟基羰基、羟基羰基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、羟基、羟基 C_{1-8} 亚烷基羰基氨基、 C_{1-8} 烷基氨基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷基氨基 C_{1-8} 亚烷基氨基羰基、氨基羰基氨基、 C_{1-8} 烷基磺酰基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{3-8} 环烷基羰基氨基和 C_{1-8} 烷基羰基氨基；并且

[0376] R^{4c} 为氢、氨基、 C_{1-8} 烷基羰基、氨基羰基 C_{1-8} 烷氧基；

[0377] R^{4d} 为氢或 C_{1-8} 烷基；

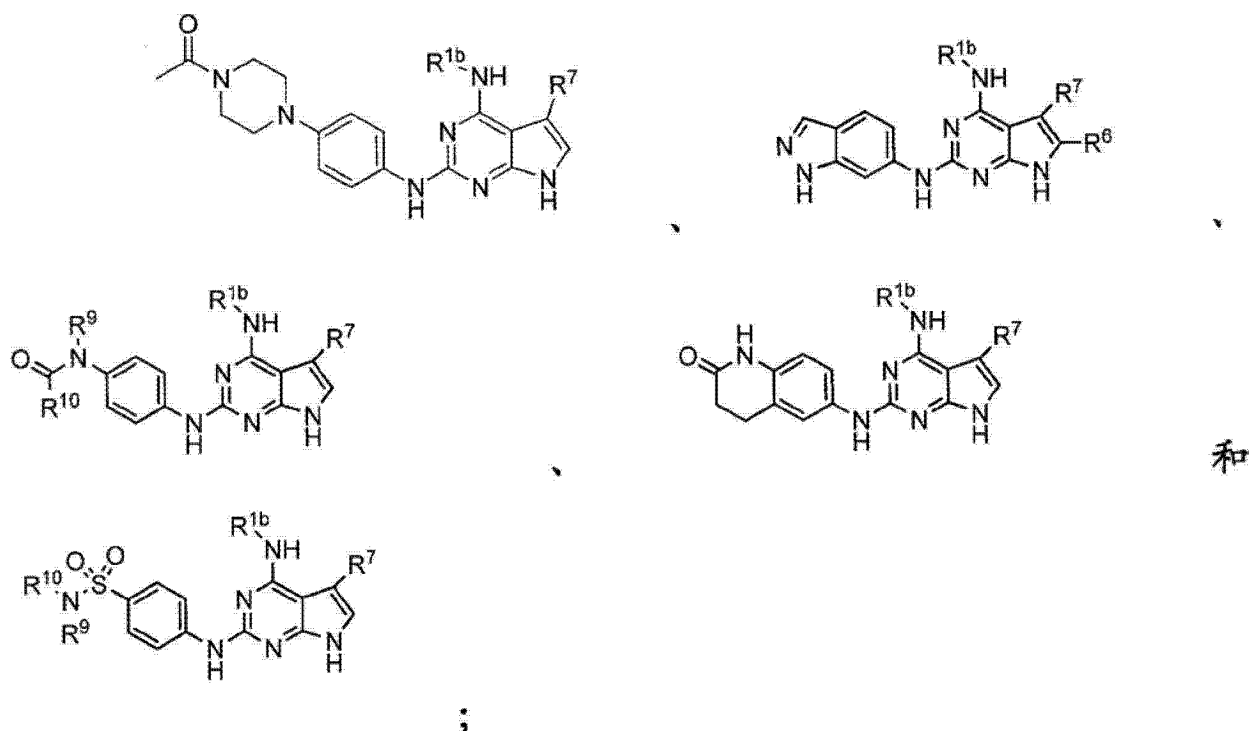
[0378] R^5 为氢或 C_{1-8} 烷基；

[0379] R^6 选自氢、 C_{1-8} 烷基、卤素、羟基和氧代；

[0380] R^7 选自氢、 C_{1-8} 烷基、氰基、 C_{1-8} 烷氧基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷基羰基、羟基、氧代、卤素、芳基和杂芳基；且虚线表示双键或单键；或者 R^{4b} - Z^{1b} 部分和 R^{4c} 结合形成 5-7 元含有 1-3 个杂原子的杂环，该杂原子包括 N、O、S，该杂环任选被 C_{1-8} 烷基、卤素、氰基、氧代、= S、氨基、羟基、 C_{1-8} 烷基羰基、 C_{1-8} 烷氧基或芳氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基取代。

[0381] 在另一实施方案中，本发明提供具有选自以下结构式的化合物、其互变异构体或药学上可接受的盐：

[0382]



[0383] 其中 R^{1b} 为任选被氨基、杂环基或氨基杂环基取代的 C_{1-8} 烷基, 以及任选被氨基取代的 C_{3-8} 环烷基; R^7 为卤素、羟基、 C_{1-8} 烷氧基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷基羰基、氰基或苯基、吡啶基; 且 R^6 为氢、 C_{1-8} 烷基或卤素; R^9 为氢或 C_{1-8} 烷基; 且 R^{10} 为氢、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基、羧基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{3-8} 环烷基和羟基 C_{1-8} 亚烷基。

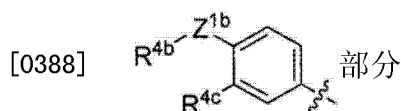
[0384] 在另一组实施方案中, R^{1b} 为 C_{1-8} 烷基, 任选被取代。在另一组实施方案中, R^{1b} 为 C_{3-8} 环烷基, 任选被取代。在另一组实施方案中, R^{1b} 为环己基、环丙基或环丁基, 各任选被取代。在另一组实施方案中, R^{1b} 为杂环基, 任选被取代。在另一组实施方案中, R^{1b} 为杂环基, 选自哌啶基、吗啉代和四氢噻吩基。在另一组实施方案中, R^{1b} 为芳基。在另一组实施方案中, R^{1b} 为单环杂芳基。在另一组实施方案中, R^{1b} 为吡唑。

[0385] 在另一组实施方案中, Z^{1b} 为杂环基, 选自:

[0386]

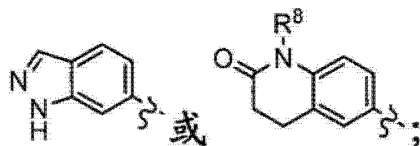


[0387] 在另一组实施方案中,



[0389] 选自:

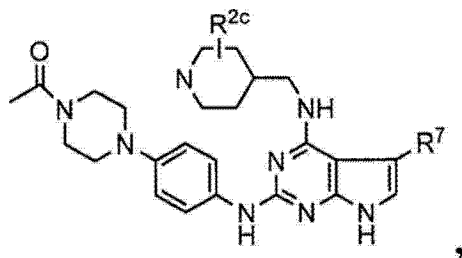
[0390]



[0391] 其中 R^8 选自氢、 C_{1-8} 烷基、羟基羰基 C_{1-8} 亚烷基、烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基和 C_{1-8} 烷基氨基 C_{1-8} 亚烷基氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基。

[0392] 在另一组实施方案中, 化合物具有下式:

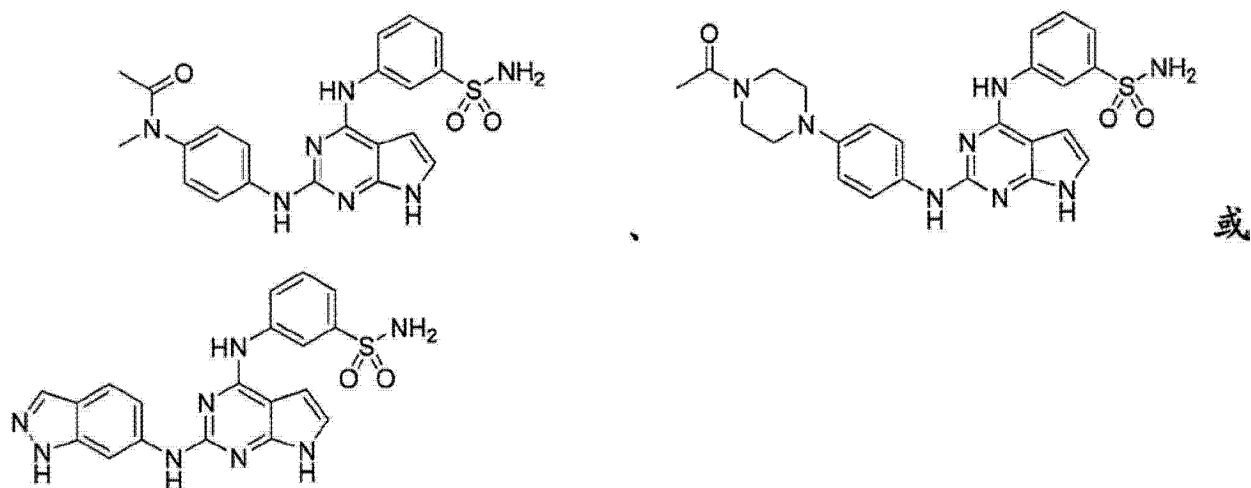
[0393]



[0394] 其中 R^{2c} 为氨基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基或羟基; 和 R^7 选自卤素、羟基、 C_{1-8} 烷氧基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷基羰基、氰基、苯基和吡啶基。

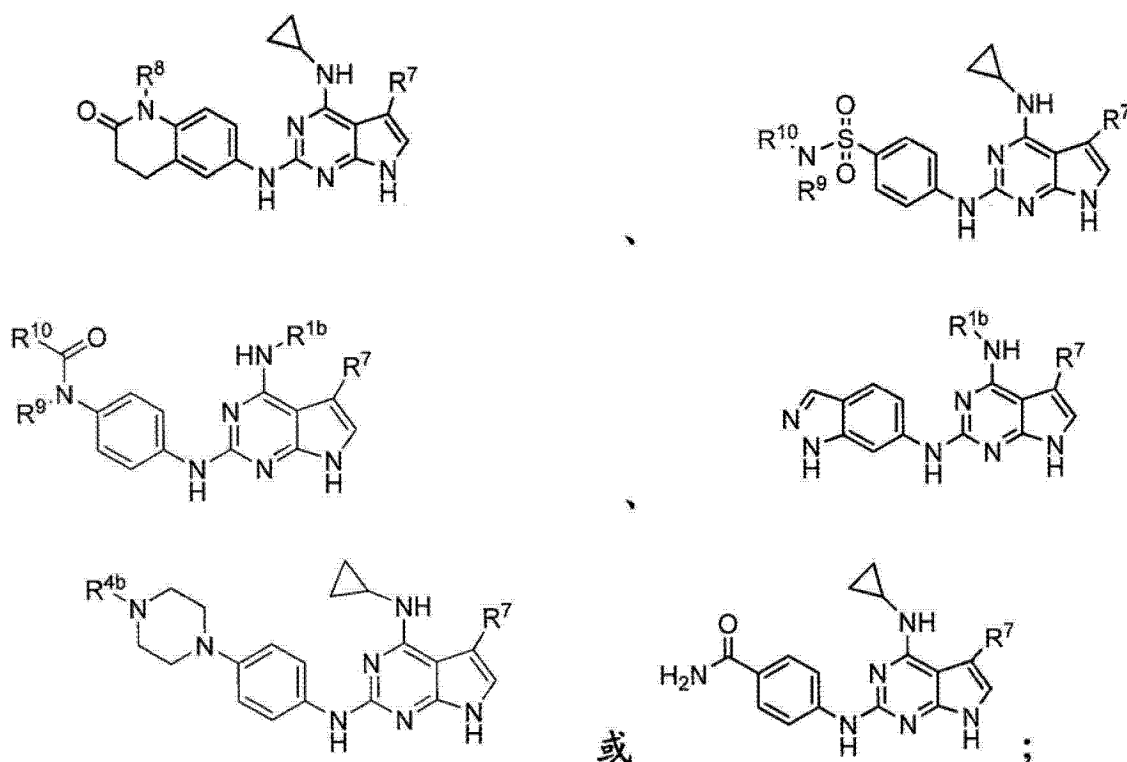
[0395] 在另一组实施方案中, 化合物具有下式:

[0396]



[0397] 在另一组实施方案中,化合物具有下式:

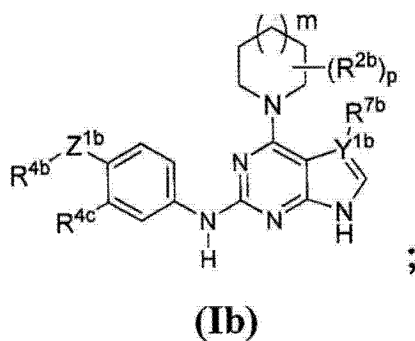
[0398]



[0399] 其中 R^{1b} 为 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、芳基或杂芳基;各任选被羟基、 C_{1-8} 烷氧基或氨基 C_{1-8} 烷氧基取代; R^{4b} 为氢或 CH_3CO- ; R^7 为氢、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷基羰基、氨基羰基、氰基、苯基或吡啶基; R^9 为氢或 C_{1-8} 烷基;且 R^{10} 为氢、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基、羧基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{3-8} 环烷基和羟基 C_{1-8} 亚烷基。

[0400] 在另一实施方案中,本发明提供具有式 (Ib) 的化合物、其互变异构体或药学上可接受的盐:

[0401]



[0402] 其中：

[0403] Y^{1b} 为 C 或 N；

[0404] 各 R^{2b} 独立选自氨基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羰基、氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基、羧基、羧基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基、 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基和羟基；

[0405] R^{4b} 为 C_{1-8} 烷基羰基；

[0406] Z^{1b} 为杂环基；

[0407] R^{4c} 为氢；

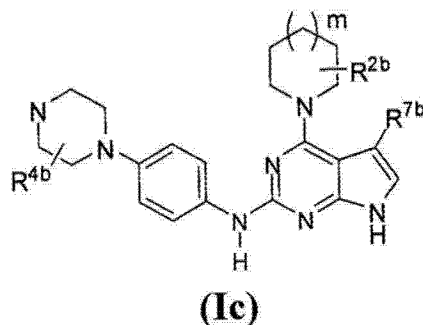
[0408] R^{7b} 为氢、氰基、吡啶基或无；

[0409] m 为 0 或 1；和

[0410] p 为 0 或 1。

[0411] 在另一实施方案中，本发明提供具有式 (Ic) 的化合物、其互变异构体或药学上可接受的盐：

[0412]



[0413] 其中：

[0414] R^{2b} 选自氢、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羰基、氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基、羟基、羟基羰基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基和 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基；

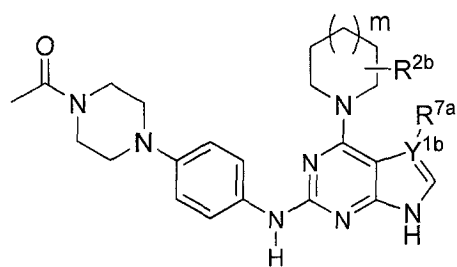
[0415] R^{4b} 为氢或 CH_3CO- ；

[0416] R^{7b} 为氢、氰基或吡啶基；且

[0417] m 为 0 或 1。

[0418] 在另一实施方案中，本发明提供具有式 (Id) 的化合物、其互变异构体或药学上可接受的盐：

[0419]



(Id)

[0420] 其中：

[0421] Y^{1b} 为 C 或 N；

[0422] R^{2b} 选自氢、氨基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羰基、氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基、羟基、羟基羰基 C_{1-8} 亚烷基、羧基、 C_{1-8} 羧基亚烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基和 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基；

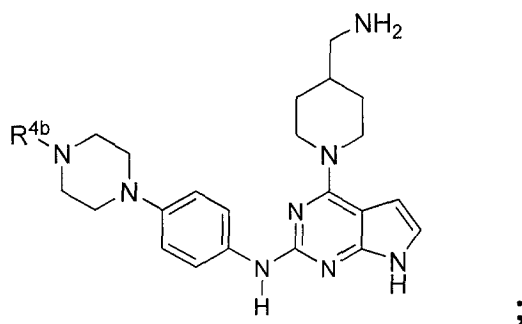
[0423] R^{7a} 为氢、 C_{1-8} 烷基、卤素、羟基、 C_{1-8} 烷氧基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷基羰基、氰基或吡啶基；且

[0424] m 为 0 或 1。

[0425] 在另一组实施方案中， m 为 0；且 R^{7a} 选自 H、氰基或吡啶基。在另一组实施方案中， m 为 1；且 R^{7a} 选自 H、氰基或吡啶基。

[0426] 在另一组实施方案中，化合物具有下式：

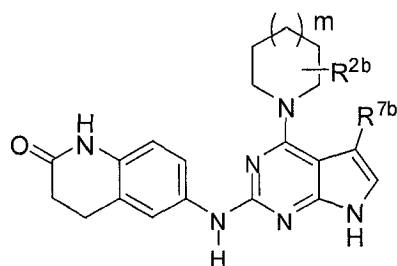
[0427]



[0428] 且 R^{4b} 为氢或 CH_3CO- 。

[0429] 在另一实施方案中，本发明提供具有式 (Ie) 的化合物、其互变异构体或药学上可接受的盐：

[0430]



(Ie)

[0431] 其中：

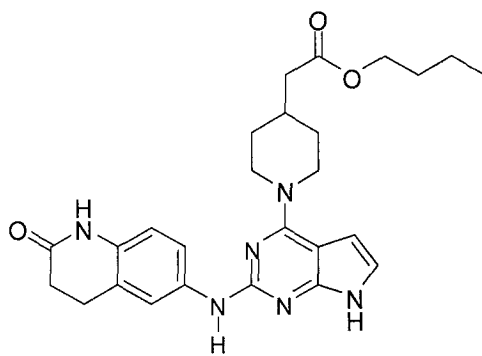
[0432] R^{2b} 选自氢、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羰基、氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基、羟基、羟基羰基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基和 C_{1-8} 烷氧基羰基 C_{1-8} 亚烷基；

[0433] R^{7b} 为氢、氰基、或吡啶基；且

[0434] m 为 0 或 1。

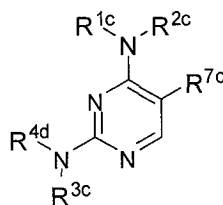
[0435] 在另一实施方案中,本发明提供具有下式的化合物、其互变异构体或药学上可接受的盐:

[0436]



[0437] 在另一实施方案中,本发明提供具有式 (II) 的化合物、其互变异构体或药学上可接受的盐:

[0438]



(II)

[0439] 其中:

[0440] R^{1c} 选自

[0441] (a) C_{3-8} 环烷基, 和

[0442] (b) 芳基, 各任选被 1-2 个选自 C_{1-8} 烷基、氨基和羟基基团的取代基取代; 或

[0443] 与 R^{2c} 一起形成含有 1-3 个杂原子的杂环, 该杂原子包括 N、O、S, 所述杂环任选被 1-2 个取代基取代, 该取代基各独立选自氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、羟基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基、氨基羰基氨基羰基氨基、芳基 C_{1-8} 烷氧基羰基氨基、氨基羰基氨基和氧代;

[0444] R^{2c} 为氢, 或与 R^{1c} 一起形成杂环, 氰基 C_{1-8} 烷基羰基、氰基 C_{1-6} 烷基羰基氨基, 任选被 1-2 个取代基取代, 该取代基独立选自氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、羟基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基、氨基羰基氨基羰基氨基、芳基 C_{1-8} 烷氧基羰基氨基、氨基羰基氨基和氧代;

[0445] R^{3c} 为氢, 或与 R^{4d} 一起形成杂环或杂芳基环, 各任选被 1-2 个取代基取代, 该取代基独立选自 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷基杂环基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基芳基、羟基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羰基、 C_{1-8} 烷氧基羰基、氨基、亚胺基、 C_{1-8} 烷基羰基氨基、氧代、卤素、芳基、杂环基、杂环基 C_{1-8} 亚烷基和 C_{1-8} 烷基杂环基 C_{1-8} 亚烷基;

[0446] R^{4d} 独立选自

[0447] (a) C_{3-8} 环烷基,

[0448] (b) 芳基,

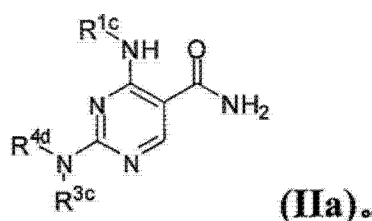
[0449] (c) 杂芳基, 和

[0450] (d) 杂环基; 各任选被 1-3 个 R^{4e} 、 R^{4f} 和 $-Z^{1c}R^{4g}$ 取代基取代, 该取代基各独立选自 C_{1-8} 烷基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、羟基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羰基、 C_{1-8} 烷氧基羰基、羧基、氨基、亚胺基、 C_{1-8} 烷基羰基氨基、氧代、卤素、芳基、杂环基和杂环基 C_{1-8} 亚烷基, 前提是 R^{1c} 和 R^{2c} 或 R^{3c} 和 R^{4d} 中至少一组与其各自连接的氮一起形成杂环基或杂芳基环; 且

[0451] R^{7c} 选自 H、 C_{1-8} 烷基、 C_{2-8} 炔基、氰基、氨基羰基、硝基、 C_{1-8} 烷氧基、卤素、芳基、杂芳基和 C_{3-8} 环烷基。

[0452] 在另一实施方案中, 本发明提供具有式 (IIa) 的化合物、其互变异构体或药学上可接受的盐:

[0453]



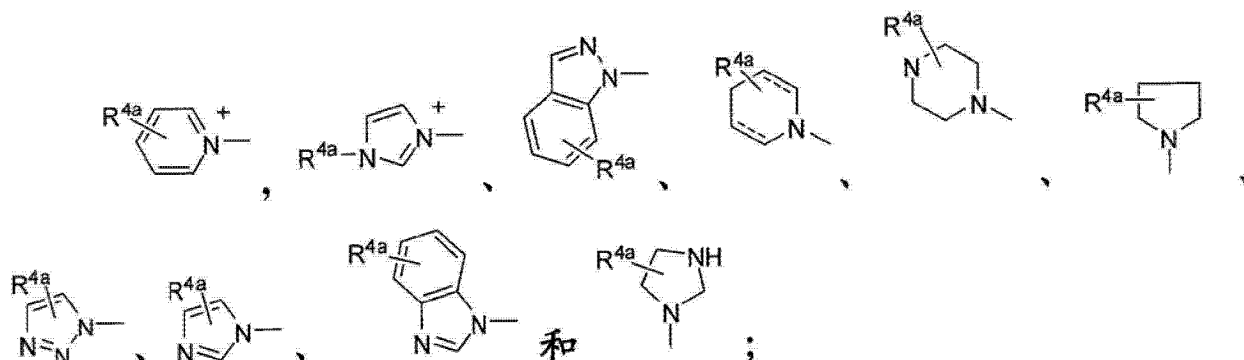
[0454] 在另一组实施方案中, R^{3c} 为氢。

[0455] 在另一组实施方案中, R^{4d} 为苯基。在另一组实施方案中, R^{4d} 为吡唑基 (indazolyl)。在另一组实施方案中, R^{4d} 为环己基。在另一组实施方案中, R^{4d} 为二氢吡唑基。

[0456] 在另一组实施方案中, R^{3c} 与 R^{4d} 及其各自连接的氮一起形成选自吡啶基、咪唑基、四氢咪唑基、吡唑基、哌啶基、哌嗪基、吡咯烷基、三唑基和苯并咪唑基的杂环。

[0457] 在另一组实施方案中, $R^{4d}R^{3c}N-$ 选自:

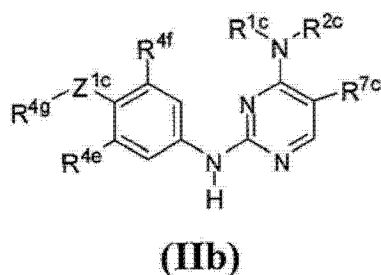
[0458]



[0459] 虚线表示单或双键; 且波浪线表示与分子其余部分的连接点。

[0460] 在另一实施方案中, 本发明提供具有式 (IIb) 的化合物、其互变异构体或药学上可接受的盐:

[0461]



[0462] 其中：

[0463] R^{7c} 为卤素；

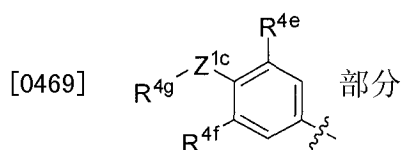
[0464] R^{1c} 和 R^{2c} 一起形成杂环，任选被 1-2 个取代基取代，该取代基独立选自：氨基羰基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基、氨基 C_{1-8} 亚烷基、羟基 C_{1-8} 亚烷基、 C_{1-8} 烷氧基羰基氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基、氨基羰基氨基羰基氨基、芳基 C_{1-8} 烷氧基羰基氨基、氨基羰基氨基和氧代；

[0465] Z^{1c} 为杂环基、 $-N(C_{1-4} \text{ 烷基})-$ 、 $-SO_2-$ 或 $-CO-$ ；

[0466] R^{4g} 选自氢、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷基羰基、 C_{1-8} 烷基羰基氨基、氨基、氨基羰基氨基 C_{1-8} 亚烷基、氨基羰基和氨基磺酰基；

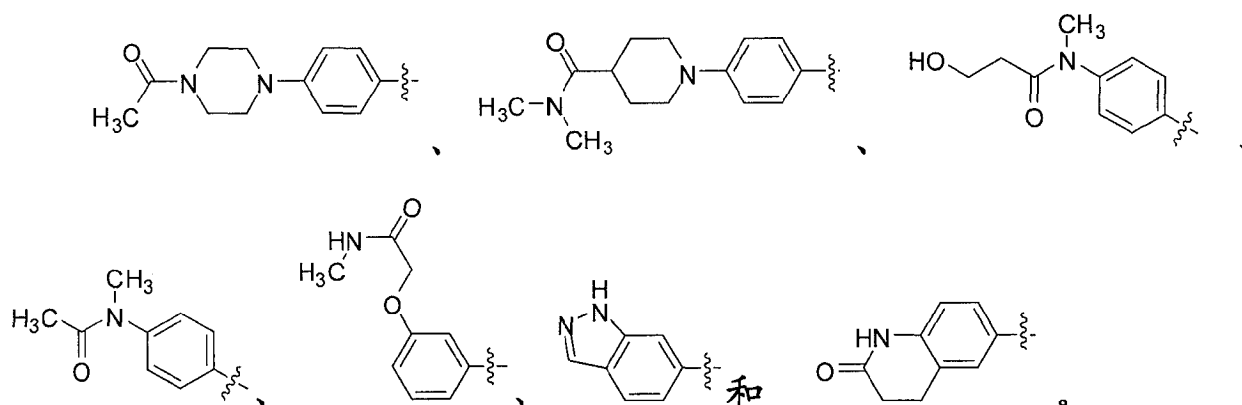
[0467] 各 R^{4e} 和 R^{4f} 独立选自 H-、 C_{1-8} 烷氧基和 C_{1-8} 烷基羰基；或可和 $-Z^{1c}-R^{4g}$ 及各自连接的苯环一起形成稠合的杂环系统，任选被 1-2 个取代基取代，该取代选自氧代、卤素、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷基。

[0468] 在另一组实施方案中，本发明提供化合物，其中



[0470] 选自：

[0471]

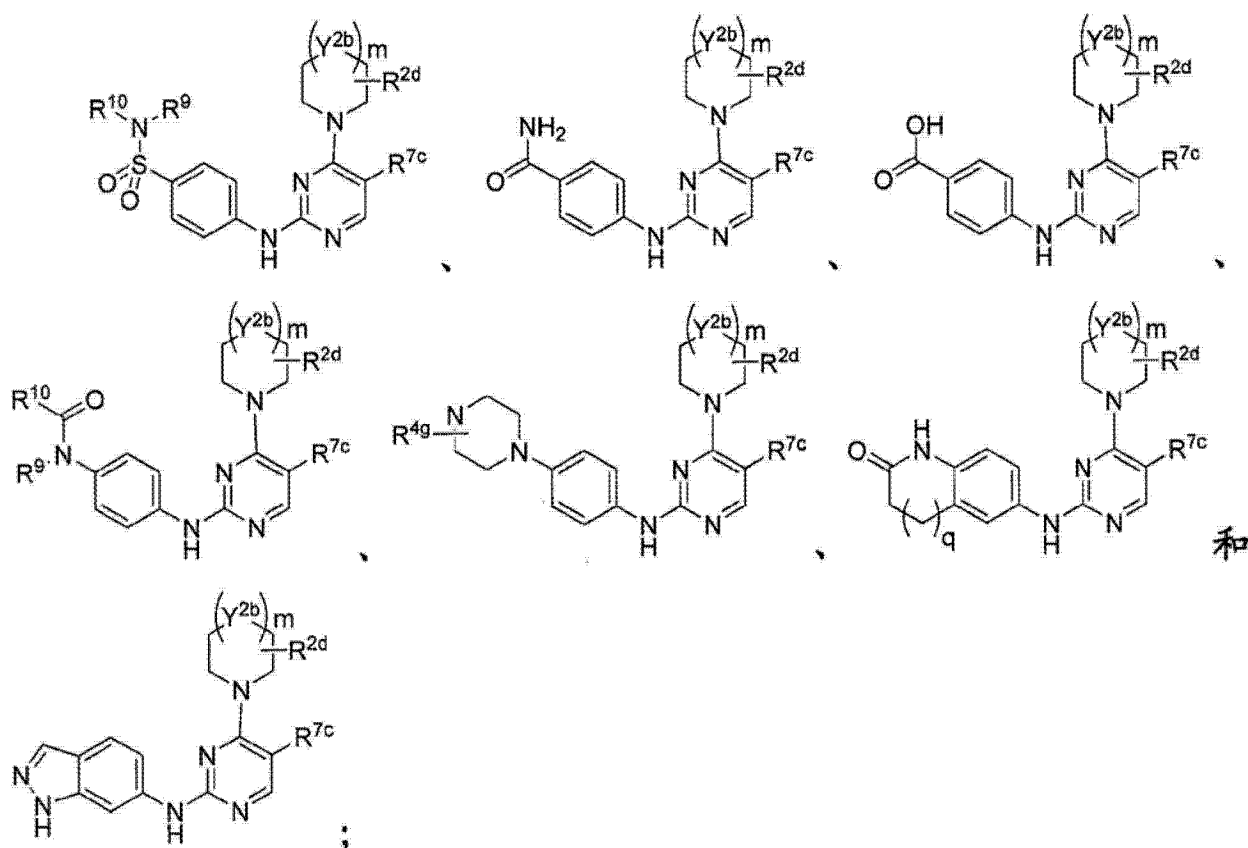


[0472] 在另一组实施方案中， R^{7c} 选自 F、Cl、Br、氰基和氨基羰基。在另一组实施方案中， R^{7c} 为 $CONH_2$ 或 F。在另一组实施方案中， R^{1c} 为 C_{3-8} 环烷基。在另一组实施方案中， R^{1c} 为环己基。在另一组实施方案中， R^{1c} 为环丙基。在另一组实施方案中， R^{1c} 为环丁基。在另一组实施方案中， R^{1c} 为芳基。在另一组实施方案中， R^{1c} 为苯基。

[0473] 在另一组实施方案中， R^{2c} 与 R^{1c} 及其各自连接氮一起形成吡咯烷基、哌啶基或哌嗪基、二氮杂环庚烯基 (diazapenyl)。

[0474] 在另一组实施方案中，本发明提供具有下式的化合物：

[0475]

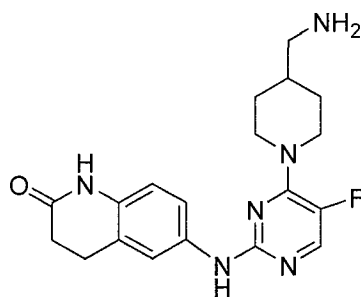


[0476] 其中 Y^{2b} 为 N、NH、C 或 CH；R^{2d} 为 H、C₁₋₈ 烷基氨基 C₁₋₈ 亚烷基、氨基羰基、氨基羰基氨基、氨基羰基氨基羰基氨基、氨基、氧代、氨基 C₁₋₈ 亚烷基、氨基羰基氨基 C₁₋₈ 亚烷基、羟基 C₁₋₈ 亚烷基、芳基烷氧基羰基氨基；氰基 C₁₋₈ 亚烷基羰基、氰基 C₁₋₈ 亚烷基羰基氨基、羟基、C₁₋₈ 烷氧基羰基、烷氧基羰基 C₁₋₈ 亚烷基，任选被氨基取代；且 R^{7c} 为 H、卤素、氨基羰基、环烷基、氰基或吡啶基；R⁹ 为 H 或 C₁₋₈ 烷基；R¹⁰ 为 H、C₁₋₈ 烷基、C₁₋₈ 烷氧基、C₁₋₈ 烷氧基羰基 C₁₋₈ 亚烷基、氨基 C₁₋₈ 亚烷基、氨基羰基 C₁₋₈ 亚烷基、羧基 C₁₋₈ 亚烷基、C₃₋₈ 环烷基和羟基 C₁₋₈ 亚烷基；m 为 0 或 1；且 q 为 0 或 1。

[0477] 在另一组实施方案中，R^{7c} 选自 F、Cl、Br、氰基和氨基羰基。在另一组实施方案中，R^{7c} 为 CONH₂ 或 F。

[0478] 在另一组实施方案中，本发明提供具有下式的化合物、其互变异构体或药学上可接受的盐：

[0479]



[0480] 在另一组实施方案中，本发明提供选自下列的化合物：

[0481] N2-(1H-吡唑-6-基)-N4-甲基-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺；

[0482] 1-(4-(4-(4-(甲基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0483] N2-(1H-吡唑-6-基)-N4-甲基-5-(吡啶-3-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺;

[0484] 1-(4-(4-(4-(环丙基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0485] 4-(4-氨基苯基)-1-(5-氨基甲酰基-4-(环丙基氨基)嘧啶-2-基)吡啶鎓;

[0486] 1-(4-氨基苯基)-3-(5-氨基甲酰基-4-(环丙基氨基)嘧啶-2-基)-1H-咪唑-3-鎓;

[0487] 2-(6-氨基-7-氯-1H-吡唑-1-基)-4-(环丙基氨基)嘧啶-5-甲酰胺;

[0488] 1-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺;

[0489] 1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺;

[0490] 4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺;

[0491] 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0492] (S)-1-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)吡咯烷-3-醇;

[0493] (S)-1-(4-(4-(4-(3-羟基吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0494] 2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈;

[0495] 1-(4-(4-(6-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-9H-嘌呤-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0496] N-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基)-1H-吡唑-6-胺;

[0497] 4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟-N-(3,4,5-三甲氧基苯基)嘧啶-2-胺;

[0498] 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0499] N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-4-(哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺;

[0500] 1-(4-(4-(4-(哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0501] N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-4-(吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺;

[0502] 1-(4-(4-(4-(吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0503] 1-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺;

[0504] 1-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌

啉-4-甲酰胺；

[0505] 2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺；

[0506] 1-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺；

[0507] 1-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺；

[0508] (1-(5-氟-2-(4-(N-甲基乙酰氨基)苯基氨基)嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔丁酯；

[0509] N-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺；

[0510] (1-(2-(4-氨基甲酰基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔丁酯；

[0511] 4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺；

[0512] 4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯磺酰胺；

[0513] 6-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮；

[0514] 1-(4-(4-(4-(2-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；

[0515] (1-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-2-基)甲基氨基甲酸叔丁酯；

[0516] N-(4-(2-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基)-1H-吡唑-6-胺；

[0517] 1-((1-(5-氟-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基)脲；

[0518] 1-(4-(4-(5-氟-4-(4-(羟基甲基)哌啶-1-基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；

[0519] 6-(5-氟-4-(4-(羟基甲基)哌啶-1-基)嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮；

[0520] 2-(1H-吡唑-6-基氨基)-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈；

[0521] 5-(1-丁氧基乙基)-N4-环丙基-N2-(1H-吡唑-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺；

[0522] 1-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙酮；

[0523] N4-环丙基-N2-(1H-吡唑-6-基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺；

[0524] 1-(4-(4-(4-(哌啶-4-基甲基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；

[0525] 2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(哌啶-4-基甲基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈；

[0526] 2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈；

- [0527] N-(4-(4-(环丙基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺；
- [0528] 6-(4-(环丙基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮；
- [0529] 5-溴-N4-环丁基-N2-(1H-吡唑-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺；
- [0530] 5-氯-N4-环丁基-N2-(1H-吡唑-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺；
- [0531] 2-(1H-吡唑-6-基氨基)-4-(环丁基氨基)-6,7-二氢吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-酮；
- [0532] 1-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺；
- [0533] 1-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺；
- [0534] 4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺；
- [0535] 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；
- [0536] (S)-4-(2-(氨基甲基)吡咯烷-1-基)-N-(1H-吡唑-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺；
- [0537] (S)-1-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)吡咯烷-3-醇；
- [0538] (S)-1-(4-(4-(4-(3-羟基吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；
- [0539] 2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈；
- [0540] 2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(3-(羟基甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺；
- [0541] 2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(2-(2-羟基乙基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺；
- [0542] 1-(4-(4-(6-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-9H-嘌呤-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；
- [0543] (S)-4-(3-氨基哌啶-1-基)-N-(1H-吡唑-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺；
- [0544] (S)-1-(4-(4-(4-(3-氨基哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；
- [0545] N-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基)-1H-吡唑-6-胺；
- [0546] 4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟-N-(3,4,5-三甲氧基苯基)嘧啶-2-胺；
- [0547] 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；
- [0548] N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-4-(哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺；

[0549] 1-(4-(4-(4-(哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；

[0550] N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-4-(吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺；

[0551] 1-(4-(4-(4-(吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；

[0552] 1-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺；

[0553] 1-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺；

[0554] 2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺；

[0555] 1-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺；

[0556] 1-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺；

[0557] 2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(4-(2-羟基乙基)-1,4-二氮杂环庚烷-1-基)嘧啶-5-甲酰胺；

[0558] (1-(5-氟-2-(4-(N-甲基乙酰氨基)苯基氨基)嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔丁酯；

[0559] (1-(2-(4-氨基甲酰基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔丁酯；

[0560] 4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺；

[0561] 4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯磺酰胺；

[0562] N-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺；

[0563] 6-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮；

[0564] 1-(4-(4-(4-(2-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；

[0565] (1-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-2-基)甲基氨基甲酸叔丁酯；和

[0566] N-(4-(2-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基)-1H-吡唑-6-胺。

[0567] 在另一实施方案中，本发明提供选自下列的化合物：

[0568] 1-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基磺酰基)哌啶-4-醇；

[0569] 2-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-N-甲基苯基磺酰氨基)乙酸丁酯；

[0570] 2-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基磺酰氨基)乙酰胺；

[0571] 2-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-N-甲基苯基磺酰氨基)乙酸；

[0572] 1-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-4-醇;

[0573] 4-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)哌啶-1-甲酸叔丁酯;

[0574] N2-(1H-吡唑-6-基)-N4-(哌啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺;

[0575] N4-环丁基-N2-(1H-吡唑-6-基)-6-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺;

[0576] N4-(3-氨基-2,2-二甲基丙基)-N2-(1H-吡唑-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺;

[0577] N2-(1H-吡唑-6-基)-N4-(3-吗啉代丙基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺;

[0578] N-(4-(4-(4-氨基丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺;

[0579] N-(4-(4-(2-氨基环己基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺;

[0580] N-(4-(4-(2-氨基乙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺;

[0581] N-(4-(4-(5-氨基戊基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺;

[0582] 1-(4-(4-(4-(4-氨基环己基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0583] N-(4-(4-(5-氨基戊基氨基)-5-溴-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺;

[0584] N-(4-(4-(5-氨基戊基氨基)-5,6-二溴-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺;

[0585] N-(4-(4-(3-氨基磺酰基-苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺;

[0586] 2-(6-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-2-氧代-3,4-二氢喹啉-1(2H)-基)乙酸乙酯;

[0587] 2-(6-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-2-氧代-3,4-二氢喹啉-1(2H)-基)乙酸;

[0588] 2-(6-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-2-氧代-3,4-二氢喹啉-1(2H)-基)-N-(2-(二甲基氨基)乙基)乙酰胺;

[0589] 4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基(甲基)氨基甲酸甲酯;

[0590] 4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基(甲基)氨基甲酸甲酯;

[0591] N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-2-羟基-N-甲基乙酰胺;

[0592] N-(4-(4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-2-羟基-N-甲基乙酰胺；

[0593] N⁴-环丁基-N²-(4-甲基磺酰基甲基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺；

[0594] N⁴-环丁基-N²-(3-甲基磺酰基甲基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺；

[0595] 2-(3-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)苯氧基)-N-甲基乙酰胺；

[0596] N²-(1H-吡唑-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺；

[0597] N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基环丙烷甲酰胺；

[0598] N-(4-(4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基环丙烷甲酰胺；

[0599] N-(4-(4-(甲基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基环丙烷甲酰胺；

[0600] 2-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)乙酰胺；

[0601] N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-2-(二甲基氨基)-N-甲基乙酰胺；

[0602] N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-N-(3-二甲基氨基丙基)苯甲酰胺；

[0603] N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-3-羟基-N-甲基丙酰胺；

[0604] N-(4-(4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-3-羟基-N-甲基丙酰胺；

[0605] N²-(1H-吡唑-6-基氨基)-N⁴-(1H-吡唑-5-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺；

[0606] N²-(1H-吡唑-6-基氨基)-N⁴-(2-甲氧基乙基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺；

[0607] 1-(4-(4-(4-(2-甲氧基乙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；

[0608] N²-(1H-吡唑-6-基氨基)-N⁴-(2-羟基乙基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺；

[0609] N⁴-(2-2-(氨基乙氧基)乙基)-N²-(1H-吡唑-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺；

[0610] 1-(4-(4-(4-(2-(2-氨基乙氧基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；

[0611] (S)-1-(4-(4-(2-(2-氨基乙氧基)乙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)吡咯烷-2-甲酰胺；

[0612] 3-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)

苯甲酰胺；

[0613] 3-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)苯甲酰胺；

[0614] 3-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)苯磺酰胺；

[0615] 3-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)苯磺酰胺；

[0616] N-(4-(4-(3-(氨基甲基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺；

[0617] (R)-1-(4-(4-(4-(1-羟基丙-2-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；

[0618] (R)-2-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)丙-1-醇；

[0619] (S)-1-(4-(4-(4-(1-羟基丙-2-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；

[0620] (S)-2-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)丙-1-醇；

[0621] 1-(4-(4-(4-(1,1-二氧基-四氢噻吩-3-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮；

[0622] N²-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-N⁴-(1,1-二氧基-四氢噻吩-3-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺；

[0623] 4-(4-(环丙基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺；

[0624] 4-(4-氨基-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酸；

[0625] 4-(环丙基氨基)-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈；

[0626] 4-(5-氰基-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺；

[0627] N-(4-(5-氰基-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺；

[0628] 4-(5-氰基-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯磺酰胺；

[0629] 2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈；

[0630] 4-(环丙基氨基)-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲酰胺；

[0631] 4-(4-(1-(2-氰基乙酰基)哌啶-4-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺；

[0632] 4-(4-(1-(2-氰基乙酰基)哌啶-3-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺；

[0633] 4-(4-甲氧基苯基氨基)-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯

并 [2,3-d] 嘧啶 -5- 甲腈 ;

[0634] 6-(4-(4- 氟苯基氨基)-5-(吡啶 -4- 基)-7H- 吡咯并 [2,3-d] 嘧啶 -2- 基氨基)-1- 甲基 -3,4- 二氢喹啉 -2(1H)- 酮 ;

[0635] 6-(4- 氨基 -5-(4- 氟苯基)-7H- 吡咯并 [2,3-d] 嘧啶 -2- 基氨基)-1- 甲基 -3,4- 二氢喹啉 -2(1H)- 酮 ;

[0636] 6-(4-(苄基氨基)-5-(吡啶 -4- 基)-7H- 吡咯并 [2,3-d] 嘧啶 -2- 基氨基)-1- 甲基 -3,4- 二氢喹啉 -2(1H)- 酮 ;

[0637] 4-(苄基氨基)-2-(1- 甲基 -2- 氧代 -1,2,3,4- 四氢喹啉 -6- 基氨基)-7H- 吡咯并 [2,3-d] 嘧啶 -5- 甲腈 ;

[0638] 1-(2-(4-(4- 乙酰哌嗪 -1- 基) 苯基氨基)-9H- 嘌呤 -6- 基) 哌啶 -3- 甲酸丁酯 ;

[0639] 1-(2-(4-(4- 乙酰哌嗪 -1- 基) 苯基氨基)-9H- 嘌呤 -6- 基) 哌啶 -3- 甲酸 ;

[0640] 1-(2-(4-(哌嗪 -1- 基) 苯基氨基)-9H- 嘌呤 -6- 基) 哌啶 -3- 甲酸 ;

[0641] 1-(2-(4-(4- 乙酰哌嗪 -1- 基) 苯基氨基)-9H- 嘌呤 -6- 基) 哌啶 -3- 甲酰胺 ;

[0642] 2-(1-(2-(2- 氧代 -1,2,3,4- 四氢喹啉 -6- 基氨基)-7H- 吡咯并 [2,3-d] 嘧啶 -4- 基) 哌啶 -4- 基) 乙酸丁酯 ;

[0643] 2-(1-(2-(2- 氧代 -1,2,3,4- 四氢喹啉 -6- 基氨基)-7H- 吡咯并 [2,3-d] 嘧啶 -4- 基) 哌啶 -4- 基) 乙酸 ;

[0644] 2-(1-(2-(2- 氧代 -1,2,3,4- 四氢喹啉 -6- 基氨基)-7H- 吡咯并 [2,3-d] 嘧啶 -4- 基) 哌啶 -4- 基) 乙酰胺 ;

[0645] 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基) 哌啶 -1- 基)-5- 氟嘧啶 -2- 基氨基) 苯基) 哌嗪 -1- 基) 乙酮 ;

[0646] 6-(5- 氟 -4-(3- 氧代哌嗪 -1- 基) 嘧啶 -2- 基氨基)-3,4- 二氢喹啉 -2(1H)- 酮 ;

[0647] 1-(4-(4-(5- 氟 -4-(哌嗪 -1- 基) 嘧啶 -2- 基氨基) 苯基) 哌嗪 -1- 基) 乙酮 ;

[0648] 4-(2-(4-(4- 乙酰哌嗪 -1- 基) 苯基氨基)-5- 氟嘧啶 -4- 基) 哌嗪 -1- 甲酰胺 ;

[0649] 2-(1-(2-(4-(4- 乙酰哌嗪 -1- 基) 苯基氨基)-5- 氟嘧啶 -4- 基) 哌啶 -4- 基) 乙酰胺 ;

[0650] 1-(2-(4-(4- 乙酰哌嗪 -1- 基) 苯基氨基)-5- 氟嘧啶 -4- 基) 哌啶 -4- 基氨基甲酸苄酯 ;

[0651] 1-(4-(4-(4-(4- 氨基哌啶 -1- 基)-5- 氟嘧啶 -2- 基氨基) 苯基) 哌嗪 -1- 基) 乙酮 ;

[0652] 1-(1-(2-(4-(4- 乙酰哌嗪 -1- 基) 苯基氨基)-5- 氟嘧啶 -4- 基) 哌啶 -4- 基) 脲 ;

[0653] 2-(4-(4- 乙酰哌嗪 -1- 基) 苯基氨基)-4-(4-(脲基甲基) 哌啶 -1- 基) 嘧啶 -5- 甲酰胺 ;

[0654] 4-(4-(4-(氨基甲基) 哌啶 -1- 基)-5- 氟嘧啶 -2- 基氨基) 苯甲酸 ;

[0655] 6-(4-(4-(氨基甲基) 哌啶 -1- 基)-5- 溴嘧啶 -2- 基氨基)-3,4- 二氢喹啉 -2(1H)- 酮 ;

[0656] 4-(4-(4-((二甲基氨基) 甲基) 哌啶 -1- 基)-5- 氟嘧啶 -2- 基氨基) 苯甲酰胺 ;

[0657] 3- 氨基 -3-(1-(5- 氟 -2-(2- 氧代 -1,2,3,4- 四氢喹啉 -6- 基氨基) 嘧啶 -4- 基)

哌啶-4-基)丙酸乙酯;

[0658] 2-氨基-2-(1-(5-氟-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)嘧啶-4-基)哌啶-4-基)乙酸甲酯;

[0659] N-(1-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-4-基)-2-氰基乙酰胺;

[0660] 3-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙腈;

[0661] 6-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-(吡啶-4-基)嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮;

[0662] 6-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-环丙基嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮;

[0663] 6-(4-((1s,4s)-4-氨基环己基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮;

[0664] 4-(4-((1s,4s)-4-氨基环己基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺;

[0665] 1-(4-(4-(4-((1s,4s)-4-氨基环己基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0666] 6-(4-((1s,4s)-4-氨基环己基氨基)-5-(吡啶-4-基)嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮;和

[0667] 6-(4-((1s,4s)-4-氨基环己基氨基)-5-环丙基嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮。

[0668] 在另一实施方案中,本发明提供具有实施例中所示结构的化合物。

[0669] 在另一实施方案中,本发明提供任一表格中所示结构的化合物。

[0670] 在另一实施方案中,本发明提供任一图中所示结构的化合物。

[0671] 可以理解,在另一组实施方案中,任一以上实施方案也可与本文中列举的其它实施方案结合,形成本发明其它实施方案。

[0672] b. 合成方法

[0673] 可按已知的有机合成技术制备本发明化合物,此类合成技术包括在实施例中更详细描述的方法。一般而言,可按以下图1制备以上结构(I)的化合物,其中除另有说明外,所有取代基定义同上。

[0674] 可按图1制备具有式I的化合物。2,4-二氯吡咯并嘧啶1.1被例如甲苯磺酰基的保护基保护。通过合适的胺例如 R^2-NH-R^1 (有市售或用本领域技术人员已知的方法合成),在碱性条件下例如二异丙胺(DIA),将2,4-二氯吡咯并嘧啶的4-氯选择性置换,得到式1.3的化合物。然后通过合适的胺例如 R^4-NH-R^3 (有市售或用本领域技术人员已知的方法合成),将氯置换,得到式1.4的化合物。使用在醇溶剂中的氢氧化物水解保护基得到所需的产物I,其中 R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 定义同前。

[0675] 可按图2制备具有式II的化合物。用类似于下述条件,通过一步法,采用氯化剂(例如亚硫酰氯)处理,将羧酸2.1转化为酰氯2.2,用醇例如乙醇酯化,形成化合物2.3。通过例如三氯化磷的氯化剂将酯2.3二氯化。通过合适的胺例如 R^2-NH-R^1 (有市售或用本领域技术人员已知的方法合成),在碱性条件下例如二异丙胺(DIA),将2,4-二氯嘧啶的

4-氯选择性置换,得到式 2.5 的化合物。然后将该酯水解,将第二个氯用 EDC 置换,用氨水处理,得到化合物 2.7。也可通过线性途径制备苯并三唑醚化合物 2.7。将苯并三唑醚基团用合适的胺例如 R^4-NH-R^3 (有市售或用本领域技术人员已知的方法合成) 置换,得到需要的产物 IIa,其中 R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 定义同前。

[0676] 可按图 3 制备具有式 II 的化合物。通过合适的胺例如 R^2-NH-R^1 (有市售或用本领域技术人员已知的方法合成),在碱性条件下例如二异丙胺 (DIA),将 2,4-二氯嘧啶的 4-氯选择性置换,得到式 3.2 的化合物。将氯用合适的胺例如 R^4-NH-R^3 (有市售或用本领域技术人员已知的方法合成) 置换,得到所需的产物 IIb,其中 R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 定义如前。

[0677] 本领域技术人员会认识到,在结构 (I-II) 的一些实施方案中,当 R^1 或 R^2 含端基杂原子时,使用保护基策略可能比较好。可将保护基用本领域技术人员已知的方法除去,得到结构 (I-II) 化合物。

[0678] 通常而言,可使用作为游离碱的本发明化合物。或者,可使用下述酸加成盐形式的本发明化合物。

[0679] c. syk 和 JAK 激酶抑制

[0680] 可在体外或体内评价作为 JAK 激酶抑制剂的给定化合物的活性。在某些实施方案中,可通过细胞测定法测试给定化合物的活性。也可通过生物化学测定法,用分离的激酶确定选择性。

[0681] 可用相似类型的测定方法评价相对于 syk 激酶的 JAK 激酶抑制活性并测定具体的化合物的选择性程度。测定这种抑制的方法之一为测定本发明化合物对下游基因产物上调的作用。在 Ramos/IL4 测定法中,用细胞因子白介素 -4 (IL-4) 刺激 B 细胞,导致通过 JAK 家族激酶 JAK1 和 JAK3 磷酸化的 JAK/Stat 途径激活,激活 JAK/Stat 途径又将转录因子 Stat-6 磷酸化并激活。被激活的 Stat-6 上调的基因之一为低亲和力 IgE 受体 CD23。为研究抑制剂 (例如本文中所述 2,4-取代的嘧啶二胺化合物) 对 JAK1 和 JAK3 激酶的作用,用人 IL-4 刺激人 Ramos B 细胞。刺激后 10',将细胞置于细胞内流式细胞计,测定 STAT-6 磷酸化的程度。刺激后 20-24 小时,为测定 CD23 上调,将细胞染色,用流式细胞计分析。与对照相比,减少的磷酸化的 STAT-6 和 / 或存在的细胞表面 CD23 的量证明试验化合物能有效抑制 JAK 激酶途径。

[0682] 另外, Ramos B 细胞的 IL-6 刺激还诱导 JAK1、2 和 Tyk2,导致 Stat-3 和 Erk 磷酸化。刺激后 10',将细胞置于细胞内流式细胞计,测定化合物抑制这些磷酸化事件的能力。为具体测定 JAK2 的活性,需使用由 Stat5 控制的表达 β -内酰胺酶报道基因的 CellSens 或 irf1-bla HEL 细胞系 (Invitrogen, Carlsbad, CA)。这些细胞表达组成型活性 JAK2 突变体 (JAK2V617F),该突变体自然存在于骨髓增生瘤中 (Constantinescu, S. 等, Trends Biochem. Sci., 2008 ;33 :122-31)。用减少的 β -内酰胺酶报道基因的量表示化合物的 JAK2 抑制活性的指标。

[0683] 还可通过测定本文中所述本发明化合物对 A549 肺上皮细胞和 U937 细胞的作用表征本发明化合物的活性。A549 肺上皮细胞和 U937 细胞上调 ICAM-1 (CD54) 表面表达,以响应多种不同刺激。因此,用 ICAM-1 表达作为示值读数,可在相同细胞类型中评价试验化合物对不同信号事件途径的作用。用通过 IL-1 β 受体的 IL-1 β 刺激可以激活 TRAF6/NF κ B 途径,导致 ICAM-1 上调。IFN γ 通过激活 JAK1/JAK2 途径诱导 ICAM-1 上调。可通过流式细

胞计得出的化合物剂量曲线定量 ICAM-1, 并计算 EC_{50} 值。

[0684] 还可通过测定本文中所述本发明化合物对 A549 肺上皮细胞和 U937 细胞的作用表征本发明化合物的活性。A549 肺上皮细胞和 U937 细胞上调 ICAM-1 (CD54) 表面表达, 以响应多种不同刺激。因此, 用 ICAM-1 表达作为示值读数, 可在相同细胞类型中评价试验化合物对不同信号事件途径的作用。用通过 IL-1 β 受体的 IL-1 β 刺激可激活 TRAF6/NF κ B 途径, 导致 ICAM-1 上调。IFN γ 通过激活 JAK1/JAK2 途径诱导 ICAM-1 上调。可通过流式细胞计得出的化合物剂量曲线定量 ICAM-1, 并计算 EC_{50} 值。该类型测定方法的举例在实施例中有更详细的描述。

[0685] 按本文中所述测定方法测定, 本文中所述活性化合物通常抑制 JAK 激酶途径, 它们的 IC_{50} 为约 1mM 或更小。当然, 有经验的技师会意识到, 显示较小 IC_{50} (在例如 100 μ M、75 μ M、50 μ M、40 μ M、30 μ M、20 μ M、15 μ M、10 μ M、5 μ M、1 μ M、500nM、100nM、10nM、1nM 或更小数量级) 的化合物尤其可用于治疗用途。在其中需要对特定细胞类型具有特异性活性的情况下, 测定化合物对需要的细胞类型的活性, 对其它细胞类型缺乏活性的化合物进行逆筛选 (counter-screened)。在此类逆筛选中, 所需要的“无活性”或需要的活性与无活性的比例可不同, 可由使用者选择。

[0686] 活性化合物通常也可抑制 IL-4 刺激的在 B- 细胞中的 CD23 的表达, 它们的 IC_{50} 为约 20 μ M 或更小, 通常为约 10 μ M、1 μ M、500nM、100nM、10nM、1nM 或更小。可使用的合适的测定方法为在实施例“用于用 IL-4 刺激的 Ramos B 细胞系的测定方法”中描述的测定方法。在一些实施方案中, 按实施例所述测定方法, 本发明活性化合物的 IC_{50} 小于或等于 5 μ M、大于 5 μ M 但小于 20 μ M、大于 20 μ M, 或大于 20 μ M 但小于 50 μ M。

[0687] 活性化合物通常还可抑制由 U937 或 A549 细胞暴露于 IFN γ 诱导的 ICAM1 (CD54) 表达, 活性化合物的 IC_{50} 为 20 μ M 或更小, 通常为约 10 μ M、1 μ M、500nM、100nM、10nM、1nM 或更小。可通过功能细胞测定方法, 用分离的 A549 或 U937 细胞系测定抗在 IFN γ 刺激的细胞中表达 ICAM(CD54) 的 IC_{50} 。可使用的合适的测定法为实施例中所述测定方法, 分别为“用 IFN γ 刺激的 A549 表皮细胞系”和“U937 IFN γ ICAM1 FACS 测定”。在一些实施方案中, 按实施例所述测定方法, 本发明活性化合物的 IC_{50} 小于或等于 20 μ M、大于 20 μ M 或大于 20 μ M 但小于 50 μ M。

[0688] d. 组合物和给予方法

[0689] 本发明还提供组合物, 该组合物含一种或多种式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐、酯或前药, 以及药学上可接受的载体或稀释剂。可以意识到, 在本发明中, 可使式 (I) 化合物中的官能团衍生, 得到前药衍生物, 该衍生物可在体内再转化为母体化合物。此类前药的实例包括生理学上可接受的和代谢易变酯衍生物, 例如由该化合物的羟基衍生的甲氧基甲酯、甲硫基甲酯或新戊酰氧基甲酯, 或由该化合物的氨基衍生的氨基甲酰基部分。另外, 可在体内产生母体式 (I) 化合物的类似于代谢易变酯或氨基甲酰基的式 (I) 化合物的任何生理上可接受的等价物也在本发明范围内。

[0690] 本文中使用的术语“药学上可接受的盐”是指任何酸或碱加成盐, 在药学剂量的盐中, 它们的相反离子对患者无毒。许多药学上可接受的盐在药学领域中熟知。如果本发明化合物的药学上可接受的盐用于这些组合物, 则优选那些由无机或有机酸和碱衍生的盐。此类酸式盐包括以下: 乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫

酸氢盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、lucoheptanoate、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2- 羟基乙磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、2- 萘磺酸盐、烟酸盐、草酸盐、扑酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3- 苯基 - 丙酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐、十一酸盐、氢卤酸盐（例如盐酸盐和氢溴酸盐）、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、氨基磺酸盐、丙二酸盐、水杨酸盐、亚甲基 - 双 -b- 羟基萘磺酸盐（naphthoate）、2,5 二羟基苯甲酸盐（gentisate）、羟乙磺酸盐、二 - 对甲苯酰酒石酸盐、乙磺酸盐、环己基氨基磺酸盐、奎尼酸盐等。药学上可接受的碱加成盐包括但不限于由碱或碱土金属碱或常用有机碱例如三乙胺、吡啶、哌啶、吗啉、N- 甲基吗啉衍生的那些盐；铵盐；碱金属盐例如钠和钾盐；碱土金属盐例如钙和镁盐；由有机碱形成的盐例如二环己基胺盐、N- 甲基 -D- 葡萄糖胺，以及由氨基酸例如精氨酸、赖氨酸等形成的盐。

[0691] 另外，还可使用试剂如低级烷基卤例如甲基、乙基、丙基和丁基的氯化物、溴化物和碘化物；硫酸二烷基酯例如硫酸二甲基、二乙基、二丁基和二戊基酯；长链烷基卤例如癸基、十二烷基、十四烷基和十八烷基的氯化物、溴化物和碘化物；芳烷基卤例如苄基溴和苯乙基溴等将含碱性氮的基团季铵化。由此得到水或油溶性或可分散产物。

[0692] 也可通过引入合适的官能团修饰用于本发明组合物和化合物的化合物以增加选择性生物性质。此类修饰在本领域中已知，包括使增加进入给定生物系统（例如血液、淋巴系统、中枢神经系统等）的生物渗透、增加口服利用度、增加溶解度以便通过注射给药、改变代谢和改变排泄速度的那些修饰。

[0693] 可通过本领域熟知的方法例如常规制粒、混合、溶解、包囊、冻干或乳化方法等制备本发明药用组合物。可以包括颗粒、沉淀或粒子、粉末在内的各种形式制备组合物，包括冻干、旋转干燥或喷雾干燥粉末、无定形粉末、片剂、胶囊剂、糖浆、栓剂、注射剂、乳剂、酏剂、混悬液或溶液。制剂可任选含稳定剂、pH 调节剂、表面活性剂、生物利用度改性剂和这些的组合。

[0694] 术语“单位剂量形式”是指适合人患者和其它哺乳动物用的单一剂量的物理上分离的单元，各单元含计算的产生需要的起效、耐受性和 / 或疗效的预定量的药物和药用赋形剂（例如安瓿）。另外，可制备较浓组合物，然后可由该浓组合物制备较稀的单位剂量组合物。因此，较浓组合物须基本上含大于一种或多种 syk 和 / 或 JAK 抑制剂的量，例如至少 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多倍。

[0695] 本领域技术人员已知制备此类剂型的方法（参见例如 Remington ' s Pharmaceutical Sciences, 第 18 版, Mack Publishing Co., Easton, PA(1990)）。另外，还可使用合成有机化学领域中的技术人员已知的标准方法，例如按照 J, March, Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure, 第 4 版 (New York: Wiley-Interscience, 1992) 制备本发明 syk 和 / 或 JAK 抑制剂的药学上可接受的盐（例如酸加成盐）并加入组合物中。

[0696] 组合物通常含常规药物载体或赋形剂，还可含其它药用物质、载体、辅料、稀释剂、组织渗透促进剂、稳定剂等。优选，组合物含约 0.01% - 约 90%，优选约 0.1% - 约 75%，更优选约 0.1% - 50%，还更优选约 0.1% - 10%（重量）的一种或多种 syk 和 / 或 JAK 抑制剂，其余部分由合适的药物载体和 / 或赋形剂组成。可通过本领域中熟知的方法例如

Remington's Pharmaceutical Sciences(同上),使合适的赋形剂与具体组合物和给药途径相匹配。

[0697] 可用于这些组合物的药理学上可接受的载体包括离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂;血清蛋白例如人血清白蛋白;缓冲物质例如磷酸盐;甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐或电解质例如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐;胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素类物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛酯。

[0698] 合适的赋形剂的实例包括但不限于乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、藻酸盐、黄芪胶、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、盐水、糖浆、甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素和聚丙烯酸,例如卡波普。组合物还可含润滑剂例如滑石粉、硬脂酸镁和矿物油;湿润剂;乳化剂;悬浮剂;防腐剂例如甲基-、乙基-和丙基-羟基-苯甲酸酯;pH调节剂例如无机和有机酸和碱;甜味剂;和矫味剂。

[0699] 有利的是,可通过任何可接受的给药模式给予含一种或多种 syk 和 / 或抑制剂和一种或多种合适的药物赋形剂的组合物。因此,给药可以是例如口服、局部、静脉内、皮下、经皮、透皮、肌内、关节内、肠胃外、动脉内、皮内、心室内、颅内、腹膜内、病变内、鼻内、直肠、阴道、吸入或通过植入储库。本文中使用的术语“肠胃外”包括皮下、静脉内、肌内、关节内、滑液内、胸骨内、鞘内、肝内、病变内和颅内注射或输注技术。优选,通过口服或静脉内给予组合物。可将本发明制剂设计为短效、速释或长效。再另外,可通过局部而非全身方式给予化合物,例如给予(例如注射)缓释制剂。按照代表性实施方案,将本发明组合物配制为给予哺乳动物优选人的药物。

[0700] 可重复给予含一种或多种 syk 和 / 或 JAK 抑制剂的本发明组合物,例如至少 2、3、4、5、6、7、8 或更多次,或可通过连续输注给予组合物。给药的合适部位包括但不限于皮肤、支气管、肠胃、肛门、阴道、眼睛和耳朵。制剂可采用固体、半固体、冻干粉末形式或液体剂型,例如片剂、丸剂、胶囊剂、散剂、溶液、混悬液、乳液、栓剂、滞留型灌肠剂、霜剂、软膏剂、洗剂、凝胶剂、气雾剂等,优选适合简单给予准确剂量的单位剂型。

[0701] 本发明药用组合物可以为任何口服可接受的剂型,它们包括片剂、胶囊剂、扁囊剂、乳液、混悬液、溶液、糖浆、酏剂、喷雾剂、大药丸剂(boluses)、锭剂、散剂、颗粒剂和缓释制剂。用于口服给药的合适的赋形剂包括药用级甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、滑石粉、纤维素、葡萄糖、明胶、蔗糖、碳酸镁等。在用于口服的片剂的情况下,常用的载体包括乳糖和玉米淀粉。通常还加入润滑剂例如硬脂酸镁。对于胶囊剂,有用的稀释剂包括乳糖和干燥玉米淀粉。当口服用药需要水混悬液时,将活性成分与乳化和悬浮剂混合。也可酌情加入一些甜味剂、矫味剂或着色剂。

[0702] 在某些实施方案中,组合物采用丸剂、片剂或胶囊剂形式,因此,组合物可含与一种或多种 syk 和 / 或 JAK 抑制剂联合一起的稀释剂,例如乳糖、蔗糖、磷酸氢二钙等;崩解剂,例如淀粉或其衍生物;润滑剂,例如硬脂酸镁等;和 / 或粘合剂,例如淀粉、阿拉伯胶、聚乙烯吡咯烷酮、明胶、纤维素及其衍生物。可通过本领域技术人员已知的任何压制或模塑方法制备片剂。可通过在合适的机器中压制任选与辅助成分(例如粘合剂、润滑剂、稀释剂、崩解剂或分散剂)混合的自由流动形式(例如粉末或颗粒)的 syk 和 / 或 JAK 抑制剂,制

备压制片剂。可通过在合适的机器中塑造 syk 和 / 或 JAK 抑制剂与任何合适的载体的粉末混合物制备模塑片剂。

[0703] 或者,本发明药用组合物可以为用于直肠给药的栓剂形式。可通过使药物与合适的在室温下为固体但在直肠温度下为液体并从而在直肠中释放药物的合适的非刺激性赋形剂混合,制备这些栓剂。此类材料包括可可豆脂、蜂蜡、聚乙二醇 (PEG)、硬化脂和 / 或氢化椰油甘油酯。适合直肠给药的组合物也可含直肠灌肠剂单位,该单位含一种或多种 syk 和 / 或 JAK 抑制剂和药学上可接受的溶媒(例如 50%乙醇水溶液或盐水溶液),此类溶媒与直肠和 / 或结肠在生理上相容。直肠灌肠剂单位含被惰性盖 (inert cover) 保护的涂药器尖端,该尖端优选由聚乙烯组成,用润滑剂例如白凡士林润滑,优选由单向阀保护,以阻止发出的药物回流。直肠灌肠剂单位还具有足够长度,优选 2 英寸,将其通过肛门插入结肠。

[0704] 可通过将一种或多种 syk 和 / 或 JAK 抑制剂和任选一种或多种药学上可接受的辅料溶于或分散在载体例如盐水溶液、葡萄糖水溶液、甘油、乙醇等中,形成例如用于口服、局部或静脉内给药的溶液或混悬液,制备液体组合物。可用无菌液体例如油、水、乙醇及其组合制备液体混悬液或溶液形式的药物制剂。对于口服或肠胃外给药,可加入可药用的表面活性剂、悬浮剂或乳化剂。混悬液可含油,例如花生油、芝麻油、棉籽油、玉米油和橄榄油。混悬液制剂也可含脂肪酸的酯,例如油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯;脂肪酸甘油酯和乙酰脂肪酸甘油酯。混悬液制剂可包含醇,例如乙醇、异丙醇、十六醇、甘油和丙二醇。醚例如聚(乙二醇);石油烃例如矿物油和凡士林,水也可用于混悬液制剂。

[0705] 本发明药用组合物也可作为局部给药形式,尤其是当治疗靶标包括通过局部施用容易进入的区域或器官时,这些器官的疾病包括眼睛、皮肤或下肠道的疾病。容易制备用于这些区域或器官中各区域或器官的合适的局部制剂。对于局部给药,含一种或多种 syk 和 / 或 JAK 抑制剂的组合物可为乳液、洗剂、凝胶剂、泡沫、霜剂、胶冻、溶液、混悬液、软膏剂和透皮贴剂形式。

[0706] 可通过直肠栓剂制剂(参见以上)或合适的灌肠剂制剂实现在下肠道局部施用。也可使用局部透皮贴剂。对于局部施用,可配制合适的软膏剂形式的药用组合物,该软膏剂含悬浮于或溶于一种或多种载体的活性成分。用于局部给予本发明化合物的载体包括但不限于矿物油、液体凡士林、白凡士林、丙二醇、聚氧乙烯、聚氧丙烯化合物、乳化蜡和水。或者,可配制合适的洗剂或霜剂形式的药用组合物,这些洗剂或霜剂含悬浮于或溶于一种或多种药学上可接受的载体的活性成分。合适的载体包括矿物油、司盘 -60、吐温 -60、鲸蜡酯、蜡、鲸蜡醇、2-辛基十二醇、苯甲醇和水。

[0707] 也可通过鼻气雾剂或吸入给予本发明药用组合物。对于通过吸入递药,可通过喷雾器递送干燥粉末或液体形式的组合物。按照药物制剂领域中已知技术制备此类组合物,且可在盐水中,用苯甲醇或其它合适的防腐剂、加强生物利用度的吸收促进剂、氟碳化合物和 / 或其它常规增溶剂或分散剂制备溶液形式的组合物。

[0708] 对于眼用,可在等渗调 pH 的无菌盐水中,配制微粉化混悬液形式的药用组合物,或优选在等渗调 pH 的无菌盐水中,用或不用防腐剂例如苯扎氯铵配制溶液形式的药用组合物。或者,对于眼用,可以配制膏剂形式的药用组合物,如石油蜡 (petrolatum)。

[0709] 对于肠胃外给药,组合物可为无菌注射液和无菌包装粉末形式。优选,在 pH 约 4.5- 约 7.5 中配制注射液。

[0710] 无菌注射形式的本发明组合物为水或油混悬液。可按本领域中已知技术,用合适的分散或湿润剂和悬浮剂配制这些混悬液。无菌注射制剂也可溶于或悬浮于无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂的无菌注射溶液或混悬液,例如溶于1,3-丁二醇的溶液。可使用的可接受的溶媒和溶剂包括水、林格氏液和等渗氯化钠溶液。另外,无菌非挥发油通常还用作溶剂或悬浮基质。为此,可使用包括合成的甘油单酯或二酯在内的任何品牌的非挥发油。与天然药学上可接受的油例如橄榄油或蓖麻油,尤其是它们的聚氧乙基化形式相同,脂肪酸例如油酸及其甘油酯衍生物可用于制备注射制剂。这些油溶液或混悬液也可含长链醇稀释剂或分散剂,例如羧甲基纤维素或通常用于包括乳液和混悬液在内的药学上可接受的剂型的制剂中的类似分散剂。其它常用的表面活性剂例如吐温、司盘和通常用于制备药学上可接受的固体、液体或其它剂型的其它乳化剂或生物利用度促进剂也可用于制剂目的。可配制通过注射例如大剂量注射或连续输注用于肠胃外给药的化合物。注射用单位剂型可以在安瓿或多剂量容器中。

[0711] 也可提供冻干形式的本发明组合物。此类组合物可包含给药前用于复溶的缓冲剂例如碳酸氢盐,或冻干组合物中可包含缓冲剂,用于用例如水复溶。冻干组合物还可含合适的血管收缩药,例如肾上腺素。可通过注射器提供冻干组合物,任选与用于复溶的缓冲剂包装在一起,以便可立即给予患者该复溶组合物。

[0712] 任何含有效量的化合物的以上剂型均在常规实验范围和本发明范围内。可根据给药途径和剂型调整治疗有效剂量。本发明代表性化合物为显示高治疗指数的制剂。治疗指数是毒性与疗效的剂量比例,可按 LD_{50} 与 ED_{50} 的比例表示该指数。 LD_{50} 为使50%种群致死的剂量, ED_{50} 为在50%种群中达到治疗有效的剂量。通过标准药学方法,在动物细胞培养基或实验动物中测定 LD_{50} 和 ED_{50} 。

[0713] 除上述那些代表性剂型外,本领域技术人员通常还知道其它药学上可接受的赋形剂和载体以及剂型,且包括在本发明中。应理解,任何具体患者的特定剂量和治疗方案要取决于多种因素,它们包括使用的具体化合物的活性、患者的年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食状况、给药时间、排泄速度、联合药物、治疗医师的判断和所治疗的具体疾病的严重性。活性成分的量还取决于具体化合物和(如果存在的话)组合物中的其它治疗药物。

[0714] e. 使用方法

[0715] 本发明提供在有需要的患者(例如人或非人)中抑制或减少syk和/或JAK活性和治疗或缓解syk和/或JAK相关状态、症状、状况、病症或疾病的方法。在一个实施方案中,syk和/或JAK相关状态、症状、状况、病症或疾病至少部分由syk和/或JAK激酶活性介导。在更具体的实施方案中,本发明提供治疗至少部分由syk和/或JAK激酶活性介导的疾病或病症的方法,所述疾病或病症为心血管病、炎性疾病或自身免疫疾病。

[0716] 在一个实施方案中,本发明提供在哺乳动物中预防或治疗特征在于不需要的血栓形成的疾病的方法,该方法包括给予所述哺乳动物治疗有效量的本发明化合物的步骤。此类疾病包括但不限于再狭窄、急性冠状动脉综合征、心肌梗塞、不稳定心绞痛、顽固性心绞痛、血栓溶解治疗后或冠状动脉血管成形术后发生的闭塞性冠状动脉血栓形成、血栓形成介导的脑血管综合征、栓塞性中风、血栓形成中风、一过性局部缺血发作、静脉血栓形成、深静脉血栓形成、肺栓塞、凝血病、弥散性血管内凝血、血栓形成性血小板减少性紫癜、血栓闭塞性脉管炎、与肝素引起的血小板减少症有关的血栓形成疾病、与体外循环有关的血栓形

成并发症、与器械操作法（例如心脏或其它血管内导管插入）有关的血栓形成并发症、主动脉内气囊泵、冠状动脉支架或人造心脏瓣膜、需要安装假体装置的情况等。

[0717] 在再一个实施方案中，本发明提供治疗以下疾病的方法：血栓形成、免疫性血小板减少性紫癜、肝素引起的血小板减少症、扩张型心肌病、镰状细胞病、动脉粥样硬化症、心肌梗塞、血管炎、不稳定心绞痛或急性冠状动脉综合征。

[0718] 在另一个实施方案中，本发明还提供治疗以下疾病的方法：过敏、哮喘、风湿性关节炎、B细胞介导的疾病（例如非霍奇金氏淋巴瘤）、抗磷脂综合征、红斑狼疮、银屑病、多发性硬化、晚期肾病或慢性淋巴细胞白血病。

[0719] 在另一个实施方案中，本发明提供治疗溶血性贫血或免疫血小板减少性紫癜的方法。

[0720] 本文中所述化合物还是 JAK 激酶的有效和 / 或选择性抑制剂。因为该活性，化合物可用于多种体外、体内和离体环境，以调节或抑制 JAK 激酶活性、其中 JAK 激酶起作用的信号事件级联以及受此类信号事件级联影响的生物反应。例如，在一个实施方案中，可用化合物在体外或体内、在基本上表达 JAK 激酶的任何细胞类型（例如，其中例如主要表达 JAK3 的造血细胞中）抑制 JAK 激酶。也可用它们调节其中 JAK 激酶，尤其是 JAK3 起作用的信号转导级联。此类依赖 JAK 的信号转导级联包括但不限于细胞因子受体的信号事件级联，细胞因子受体的信号事件级联涉及共有 γ 链，例如 IL-4、IL-7、IL-5、IL-9、IL-15 和 IL-21，或 IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15 和 IL-21 受体信号事件级联。也可在体外或体内使用化合物，以调节，尤其是抑制受此类依赖 JAK 的信号转导级联影响的细胞或生物反应。此类细胞或生物反应包括但不限于 IL-4/ramos CD23 上调和 IL-2 介导的 T 细胞增殖。重要的是，可用所述化合物在体内抑制 JAK 激酶作为用于治疗或预防全部或部分由 JAK 激酶活性介导的疾病（本文中称为“JAK 激酶介导的疾病”）的治疗方法。可用所述化合物治疗或预防的 JAK 激酶介导的疾病的非限制性实例包括但不限于以下：过敏；哮喘；自身免疫病例如移植排斥（例如肾、心脏、肺、肝脏、胰腺、皮肤、小肠、大肠、移植物抗宿主病（HVGR）和移植物抗宿主反应（GVHR））、类风湿性关节炎和肌萎缩性侧索硬化；T 细胞介导的自身免疫病，例如多发性硬化、银屑病和斯耶格伦综合征；II 型炎性疫病，例如血管炎症（包括脉管炎、动脉炎、动脉粥样硬化症和冠状动脉病）；中枢神经系统疾病，例如中风；肺病例如闭塞性支气管炎和原发性肺动脉高血压；实体瘤、迟发型 IV 过敏反应；以及血液系统恶性疾病例如，白血病和淋巴瘤。

[0721] 可按所述方法治疗或预防的至少部分由 JAK 激酶介导的疾病的实例包括但不限于过敏、哮喘、自身免疫病例如移植排斥（例如肾、心脏、肺、肝脏、胰腺、皮肤、移植物抗宿主病（HVGR）等）、类风湿性关节炎和肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、银屑病和斯耶格伦综合征、II 型炎性疾病例如血管炎（包括脉管炎、动脉炎（arteritis）、动脉粥样硬化症和冠状动脉病）或其它炎性疾病，例如骨关节炎、炎性肠疾病、溃疡性结肠炎、局限性回肠炎、自发性炎性肠疾病、过敏性肠综合征、痉挛性结肠、低度伤疤（例如硬皮病、增加的纤维变性、疤痕疙瘩、手术后疤痕、肺纤维变性、血管痉挛、偏头痛、再灌注损伤和心肌梗塞后），以及干燥复征或综合征；中枢神经系统疾病例如中风；肺病例如闭塞性支气管炎和原发性肺动脉高血压、迟发性或细胞介导的 IV 型过敏和实体癌，以及血液系统恶性疾病，例如白血病和淋巴瘤。

[0722] 在另一个实施方案中,本发明提供抑制 JAK 激酶活性的方法,该方法包括使 JAK 激酶与有效抑制 JAK 激酶活性的量的化合物接触,其中所述化合物选自本发明化合物。在本文中所述方法的一些实施方案中,在体内实施所述方法。

[0723] 在另一个实施方案中,本发明提供抑制 JAK 激酶活性的方法,该方法包括在体外使 JAK3 激酶与有效抑制 JAK 激酶活性的量的化合物接触,其中化合物选自本发明化合物。

[0724] 在特定实施方案中,可用所述化合物在接受者中治疗和 / 或预防器官和 / 或移植排斥 (即治疗和 / 或防止同种异体排斥)。可通过接受者的细胞介导的或体液免疫反应对存在于供体细胞膜上的移植物 (组织相容性) 抗原排斥同种异体移植物。最强的抗原受称为人 A 类白细胞 (HLA) 抗原的遗传 loci 的复合物的支配。与 ABO 血液类抗原一起,它们是在人中可检测到的主要移植抗原。

[0725] 移植后排斥通常可分为 3 类:超急性,发生在移植后数小时 - 数天;急性,发生在移植后数天 - 数月;和慢性,发生在移植后数月 - 数年。

[0726] 超急性排斥主要通过攻击移植组织的宿主抗体产生造成。在超急性排斥反应中,移植后,很快在移植血管中观察到抗体。随即,发生血管凝块,导致局部缺血,最后坏死和死亡。移植梗塞对已知的免疫抑制疗法不产生应答。因为 HLA 抗原可在体外鉴定,用移植前筛选显著减少超急性排斥。因为该筛选,超急性排斥目前相对少见。

[0727] 据认为,急性排斥由在移植组织中蓄积的抗原特异性细胞介导。由 T 细胞介导的对抗原的免疫反应 (即 HVGR 或 GVHR) 是急性排斥的主要机制。这些细胞蓄积导致对移植组织的损害。据信,CD4+ 辅助 T- 细胞和 CD8+ 细胞毒 T- 细胞参与了该过程,由供体和宿主树状细胞提供抗原。CD4+ 辅助 T- 细胞帮助使其它效应细胞例如巨噬细胞和嗜酸性粒细胞募集到移植物。也涉及接入 (accessing) T 细胞激活信号转导级联 (例如 CD28、CD40L 和 CD2 级联)。

[0728] 在多种情况下,细胞介导的急性排斥可通过强化免疫疗法反转。成功反转后,严重损害的移植物的元件通过纤维化愈合,移植物的其余部分似乎正常。急性排斥处理后,免疫抑制药物的剂量可减至极低水平。

[0729] 慢性排斥是在肾移植中存在的特殊问题,通常隐性进行,尽管增加免疫抑制治疗。据认为,其大部分由于细胞介导的 IV 型超敏所致。该病理特性不同于急性排斥的病理特性。动脉内皮主要涉及广泛增生,该增生可逐渐使血管腔闭塞,导致局部缺血、纤维化、内膜增厚和动脉粥样硬化改变。慢性排斥主要由于移植血管系统的进行性消失所致,象缓慢的血管炎过程。

[0730] 在 IV 型超敏中,当抗原分别与 I 类或 II 类 MHC 分子复合时,CD8 细胞毒 T- 细胞和 CD4 辅助 T 细胞识别细胞内或细胞外合成的抗原。巨噬细胞与提供抗原的细胞具有相同的功能并释放 IL-1, IL-1 促进辅助 T- 细胞增殖。辅助 T- 细胞释放干扰素 γ 和 IL-2, 干扰素 γ 和 IL-2 一起调节由巨噬细胞激活介导的迟发型活性过强反应 (hyperactivity) 和由 T 细胞介导的免疫。在器官移植的情况下,当接触时,细胞毒 T- 细胞摧毁移植物细胞。

[0731] 因为 JAK 激酶在 T 细胞激活中起关键作用,所以可用本文中所述化合物治疗和 / 或预防移植排斥的多个方面,尤其可用于治疗和 / 或预防至少部分由 T 细胞介导的排斥反应,例如 HVGR 或 GVHR。也可用所述化合物在移植物接受者,尤其是在肾移植物接受者中治疗和 / 或预防移植慢性排斥。也可在将组织或器官移植到接受移植者前,给予组织或器官

所述化合物。

[0732] 在另一个实施方案中,本发明提供治疗 T 细胞介导的自身免疫疾病的方法,该方法包括给予患这种自身免疫疾病的患者有效治疗自身免疫疾病的量的化合物,其中所述化合物选自本发明化合物。在一些方法实施方案中,自身免疫疾病为多发性硬化 (MS)、银屑病或斯耶格伦综合征。此类自身免疫疾病包括但不限于通常称为单器官或单细胞型自身免疫疾病的那些自身免疫病和通常称为涉及全身自身免疫疾病的那些自身免疫疾病。通常称为单器官或单细胞型自身免疫病的疾病的非限制性实例包括:桥本甲状腺炎、自身免疫溶血性贫血、恶性贫血病的自身免疫萎缩性胃炎、自身免疫脑脊髓炎、自身免疫睾丸炎、古德帕斯彻病、自身免疫血小板减少症、交感性眼炎、重症肌无力、格雷夫斯病、原发性胆汁性肝硬变、慢性活动性肝炎、溃疡性结肠炎和膜性肾小球肾炎。通常称为涉及全身性自身免疫病的疾病的非限制性实例包括:系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、斯耶格伦综合征、赖特综合征、多肌炎-皮肌炎、全身性硬皮病、结节性多动脉炎、多发性硬化和大疱性类天疱疮。可为 β -细胞(体液)类或 T 细胞类的其它自身免疫病包括科根综合征、关节强硬性脊髓炎、韦格纳肉芽肿病、自身免疫脱发、I 型或青少年糖尿病和甲状腺炎。

[0733] 可用此类前药治疗或预防的自身免疫病的类型包括涉及因对免疫原或对内源性和/或外源性来源的抗原的体液和/或细胞介导的反应发生组织损伤的那些病症。此类疾病通常称为与非致敏性(即 II 型、III 型和/或 IV 型)过敏反应有关的疾病。

[0734] I 型过敏反应通常是因与特异性外源性抗原接触后药理活性物质释放例如从肥大和/或嗜碱性细胞中释放组织胺所致。如上所述,此类 I 型反应在多种疾病中起作用,这些疾病包括过敏性哮喘、过敏性鼻炎等。

[0735] 当免疫球蛋白与细胞或组织的抗原成分或与细胞或组织紧密偶合的抗原或半抗原反应时,产生 II 型过敏反应(又称为细胞毒、依赖溶细胞补体或细胞刺激性过敏反应)。通常与 II 型过敏反应有关的疾病包括但不限于自身免疫溶血性贫血、新生儿溶血病和古德帕斯彻疾病。

[0736] III 型过敏反应(又称为毒性综合、可溶性综合或免疫综合过敏反应)是由在血管或组织中的可溶性循环抗原-免疫球蛋白复合物的沉淀所致,伴随在免疫复合物沉淀的位置发生急性炎症反应。原型 III 型反应疾病的非限制性实例包括阿图斯反应、类风湿性关节炎、血清病、系统性红斑狼疮、某些类型的肾小球性肾病、多发性硬化和大疱性类天疱疮。

[0737] IV 型过敏反应(通常称为细胞、细胞介导的、迟发型或结核菌素型过敏反应)通过与特定抗原接触导致的敏化的 T 淋巴细胞造成。与 IV 型反应有关的疾病的非限制性实例为接触性皮炎和同种异体移植排斥。

[0738] 可用结构式 (I) 和 (Ia) 前药治疗或预防与任何以上非致敏性过敏反应相关的自身免疫病。具体地说,可用所述方法治疗或预防通常特征为单器官或单细胞型自身免疫病的那些自身免疫病,它们包括但不限于:桥本甲状腺炎、自身免疫溶血性贫血、自身免疫萎缩性胃炎、恶性贫血病、自身免疫脑脊髓炎、自身免疫睾丸炎、古德帕斯彻疾病、自身免疫血小板减少症、交感性眼炎、重症肌无力、格雷夫斯疾病、原发性胆汁性肝硬变、慢性活动性肝炎、溃疡性结肠炎和膜性肾小球肾炎,以及通常特征为与全身性自身免疫病有关的那些自身免疫病,它们包括但不限于:系统性红斑狼疮 (SLE)、类风湿性关节炎、斯耶格伦综合征、赖特综合征、多肌炎-皮肌炎、全身性硬皮病、结节性多动脉炎、多发性硬化和大疱性类天

疮疮。

[0739] 本领域技术人员会意识到,许多上列自身免疫病与严重症状有关,甚至在其中所述自身免疫疾病未缓解的情况下,症状的缓解可提供重要的治疗利益。

[0740] 可单独应用使用本文中所述化合物的疗法,或可联合其它普通免疫抑制疗法,例如联合以下药物或方法:巯嘌呤;皮质类固醇,例如泼尼松;甲基泼尼松龙和泼尼松龙;烷化剂,例如环磷酰胺;神经钙蛋白抑制剂,例如环孢菌素、西罗莫司和他克莫司;肌苷一磷酸脱氢酶 (IMPDH) 的抑制剂,例如麦考酚酸、麦考酚酸莫酯和硫唑嘌呤;和设计的抑制细胞免疫但保留接受者体液免疫反应完整的物质,它们包括各种抗体(例如抗淋巴细胞球蛋白 (ALG)、抗胸腺细胞球蛋白 (ATG)、单克隆抗 T 细胞抗体 (OKT3)) 和放射。可按它们的标准或常用剂量,按市售形式的药物附带的处方信息(也可参见:2006 版 The Physician's Desk Reference 中的处方信息)说明使用这些物质,文献中的内容通过引用结合到本文中。目前可从 Salix Pharmaceuticals, Inc. 得到商标名为 AZASAN 的硫唑嘌呤;目前可从 Gate Pharmaceuticals, Inc. 得到商标名为 PURINETHOL 的巯嘌呤;目前可从 Roxane Laboratories, Inc. 得到泼尼松和泼尼松龙;目前可从 Pfizer 得到甲基泼尼松龙;目前可从 Wyeth-Ayerst 得到商标名为 RAPAMUNE 的西罗莫司(雷帕霉素);目前可从 Fujisawa 得到商标名为 PROGRAF 的他克莫司;目前可从 Novartis 得到商标名为 SANDIMUNE 和可从 Abbott 得到商标名为 GENGRAF 的环孢菌素;目前可从 Roche 得到商标名为 CELLCEPT 和从 Novartis 得到商标名为 MYFORTIC 的 IMPDH 抑制剂,例如麦考酚酸莫酯和麦考酚酸;目前可从 Glaxo Smith Kline 得到商标名为 IMURAN 的硫唑嘌呤;和目前可从 Ortho Biotech 得到商标名为 ORTHOCLONE、从 Novartis 得到商标名为 SIMULECT(巴利昔单抗)和从 Roche 得到商标名为 ZENAPAX(达珠单抗)的抗体。

[0741] 在另一个实施方案中,可将所述化合物与 syk 激酶抑制剂联合给予。syk 激酶为已知在 Fc γ 受体信号事件和其它信号事件级联例如涉及 B 细胞受体信号事件中起关键作用的酪氨酸激酶 (Turner 等, (2000), Immunology Today 21:148-154) 和中性粒细胞中的整联蛋白 β (1)、 β (2) 和 β (3) (Mocsai 等, (2002), Immunity 16:547-558)。例如, syk 激酶在肥大细胞中的高亲和力 IgE 受体信号事件中起关键作用,该信号事件导致引发过敏性攻击的多种化学介质激活并随后释放。但是,与协助调节涉及迟发型或细胞介导的 IV 型过敏反应的途径的 JAK 激酶不同, syk 激酶协助调节涉及速发型 IgE 介导的 I 型过敏反应的途径。影响 syk 途径的一些化合物可能影响也可能不影响 JAK 途径。

[0742] 有关合适的 syk 抑制性化合物的描述参见例如 2003 年 1 月 31 日提交的专利序列号 10/355,543(公布号 2004/0029902);WO 03/063794;2003 年 7 月 29 日提交的专利申请序列号 10/631,029;WO 2004/014382;2004 年 7 月 30 日提交的专利申请序列号 10/903,263;2004 年 7 月 30 日提交的 PCT/US2004/24716(W0005/016893);2004 年 7 月 30 日提交的专利申请序列号 10/903,870;2004 年 7 月 30 日提交的 PCT/US2004/24920;2004 年 11 月 24 日提交的专利申请序列号 60/630,808;2005 年 1 月 19 日提交的专利申请序列号 60/645,424;和 2005 年 2 月 18 日提交的专利申请序列号 60/654,620,这些文献公开的内容通过引用结合到本文中。可单独使用本文中所述和 syk 抑制性化合物,或与一种或多种上述常规移植排斥治疗联用。

[0743] 在一个特定实施方案中,可用所述化合物在患者中治疗或预防这些疾病,这些患

者对 syk 抑制性化合物治疗或目前对特定疾病进行的其它治疗方法之一初期不产生应答（耐药）或变为不应答。所述化合物也可与 syk 抑制性化合物联合用于对 syk- 化合物耐药或不应答的患者。在下文中提供与所述化合物联合给予的合适的 syk- 抑制化合物。

[0744] 在另一个实施方案中，本发明提供治疗 T 细胞介导的自身免疫疾病的方法，该方法包括给予患这种自身免疫疾病的患者有效治疗自身免疫疾病的量的化合物，其中所述化合物选自本发明化合物，且将该化合物与抑制 syk 激酶的化合物联合给予，抑制 syk 激酶的化合物的 IC_{50} 为至少 $10 \mu M$ 。

[0745] 在另一个实施方案中，本发明提供在移植物接受者中治疗或预防同种异体移植排斥的方法，该方法包括给予移植物接受者有效治疗或预防排斥的量的化合物，其中所述化合物选自本文中所述本发明化合物。在再一个实施方案中，在将组织或器官移植给接受移植者前，给予组织或器官所述化合物。

[0746] 在另一个实施方案中，本发明提供在接受移植者中治疗或预防同种异体移植排斥的方法，其中排斥为急性排斥，该方法包括给予接受移植者有效治疗或预防排斥的量的化合物，其中所述化合物选自本文中所述本发明化合物。

[0747] 在另一个实施方案中，本发明提供在接受移植者中治疗或预防同种异体移植排斥的方法，其中排斥为慢性排斥，该方法包括给予接受移植者有效治疗或预防排斥的量的化合物，其中所述化合物选自本文中所述本发明化合物。

[0748] 在另一个实施方案中，本发明提供在接受移植者中治疗或预防同种异体移植排斥的方法，其中排斥由 HVGR 或 GVHR 介导，该方法包括给予接受移植者有效治疗或预防排斥的量的化合物，其中所述化合物选自本文中所述本发明化合物。

[0749] 在另一个实施方案中，本发明提供在接受移植者中治疗或预防同种异体移植排斥的方法，其中所述同种异体移植物选自肾、心脏、肝脏和肺，该方法包括给予接受移植者有效治疗或预防排斥的量的化合物，其中所述化合物选自本文中所述本发明化合物。

[0750] 在另一个实施方案中，本发明提供在接受移植者中治疗或预防同种异体移植排斥的方法，其中所述同种异体移植物选自肾、心脏、肝脏和肺，该方法包括给予接受移植者有效治疗或预防排斥的量的化合物，其中所述化合物选自本文中所述本发明化合物，其中将该化合物与另一种免疫抑制剂联合给予。

[0751] 在另一个实施方案中，本发明提供在接受移植者中治疗或预防同种异体移植排斥的方法，其中所述同种异体移植物选自肾、心脏、肝脏和肺，该方法包括给予接受移植者有效治疗或预防排斥的量的化合物，其中所述化合物选自本文中所述本发明化合物，其中将该化合物与另一种免疫抑制剂联合给予，其中所述免疫抑制剂选自环孢菌素、他克莫司、西罗莫司、IMPDH 抑制剂、麦考酚酸、麦考酚酸莫酯、抗 T 细胞抗体和 OKT3。

[0752] 本文中所述化合物为 IL-4 信号事件的细胞因子调节剂。因此，所述化合物可延缓 I 型过敏反应的发生。因此，在一个特定实施方案中，可用化合物治疗此类反应，因此，可预防与这种过敏反应有关的、由这种过敏反应介导或造成的疾病（例如过敏）。例如，在预计暴露于抗原前，过敏患者可服用一种或多种本文中所述 JAK 选择性化合物，以延迟过敏反应发作或恶化或消除所有过敏反应。

[0753] 当用于治疗或预防此类疾病时，可以一种或多种化合物的混合物形式单独，或以与可用于治疗此类疾病和 / 或与此类疾病有关的症状的其它药物形成的混合物或联合药

物形式,给予所述化合物。也可按与可用于治疗其它病症或疾病的药物形成的混合物或联合药物的形式给予所述化合物,所述其它药物例如甾体类、膜稳定剂、5-脂氧化酶(5LO)抑制剂、白三烯合成和受体抑制剂、IgE 同工型开关或 IgE 合成的抑制剂、IgG 同工型开关或 IgG 合成的抑制剂,β-激动剂、类胰蛋白酶抑制剂、阿司匹林、环氧合酶(COX)抑制剂、甲氨蝶呤、抗 TNF 药物、抗 CD20 抗体、PD4 抑制剂、p38 抑制剂、PDE4 抑制剂和抗组织胺药物等,这些仅是示例的一小部分。可按前药或含活性化合物或前药的药用组合物的形式给予所述化合物。

[0754] 在另一个实施方案中,本发明提供治疗或预防 IV 型过敏反应的方法,该方法包括给予患者有效治疗或预防过敏反应的量的化合物,其中所述化合物选自本文中所述本发明化合物。

[0755] 在另一个实施方案中,本发明提供治疗或预防 IV 型过敏反应的方法,该方法实际上为预防性方法,该方法包括给予患者有效治疗或预防过敏反应的量的化合物,其中所述化合物选自本文中所述本发明化合物,且在暴露于过敏原前给予。

[0756] 在另一个实施方案中,本发明提供抑制其中 JAK3 激酶起作用的信号转导级联事件的方法,该方法包括使表达与这种信号级联事件有关的受体的细胞与化合物接触,其中所述化合物选自本文中所述本发明化合物。

[0757] 在另一个实施方案中,本发明提供治疗或预防 JAK 激酶介导的疾病的方法,该方法包括给予患者有效治疗或预防 JAK 激酶介导的疾病的量的化合物,其中所述化合物选自本文中所述本发明化合物。

[0758] 在另一个实施方案中,本发明提供治疗或预防 JAK 激酶介导的疾病的方法,其中所述 JAK 介导的疾病为 HVGR 或 GVHR,该方法包括给予患者有效治疗或预防 JAK 激酶介导的疾病的量的化合物,其中所述化合物选自本文中所述本发明化合物。

[0759] 在另一个实施方案中,本发明提供治疗或预防 JAK 激酶介导的疾病的方法,其中所述 JAK 介导的疾病为急性同种异体移植物排斥,该方法包括给予患者有效治疗或预防 JAK 激酶介导的疾病的量的化合物,其中所述化合物选自本文中所述本发明化合物。

[0760] 在另一个实施方案中,本发明提供治疗或预防 syk 和 / 或 JAK 激酶介导的疾病的方法,其中所述 JAK 介导的疾病为慢性同种异体移植物排斥,该方法包括给予患者有效治疗或预防 JAK 激酶介导的疾病的量的化合物,其中所述化合物选自本文中所述本发明化合物。

[0761] 本发明活性化合物通常抑制 syk 和 / 或 JAK/STAT 途径。可在体外或体内,评价所述化合物作为 syk 激酶抑制剂的活性。在某些实施方案中,可按细胞测定法测试所述化合物的活性。

[0762] “细胞增殖病症”是指特征在于细胞异常增殖的病症。增殖病不表示对细胞生长速度的任何限制,而是仅表示丧失对影响生长和细胞分裂的正常控制。因此,在某些实施方案中,增殖病的细胞可具有与正常细胞相同的细胞分裂速度,但不响应限制这种生长的信号。“细胞增殖病”在赘生物或肿瘤范围内,赘生物或肿瘤为组织的异常生长。癌症是指特征在于细胞增殖的各种恶性肿瘤中任意一种,这些肿瘤具有侵入周围组织和 / 或转移到新的定居部位的能力。

[0763] 通常,可用本文中公开的化合物治疗的细胞增殖病涉及特征在于异常细胞增殖的

任何病症。这些包括各种良性或恶性、转移或非转移的肿瘤和癌症。可用本文中所述方法对抗癌症的特殊性质,例如组织侵袭性或转移性。细胞增殖病包括多种癌症,它们包括但不限于卵巢癌、肾癌、肠胃癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌、肺鳞状细胞癌和腺癌。

[0764] 在某些实施方案中,所治疗的细胞增殖病是血液肿瘤,该肿瘤为造血系统的细胞畸形生长。造血系统恶性肿瘤的起源可位于与造血作用有关的多能性干细胞、多能性始祖细胞、低能定向始祖细胞、前体细胞和终末分化细胞。据信,某些造血系统恶性肿瘤疾病起源于具有自我更新能力的造血干细胞。例如,移植后可发展为特殊亚型的急性骨髓粒细胞白血病(AML)的细胞(Cynthia K. Hahn, Kenneth N. Ross, Rose M. Kakoza, Steven Karr, Jinyan Du, Shao-E Ong, Todd R. Golub, Kimberly Stegmaier, Sky 是 AML 分化的新靶标(Syk is a new target for AML differentiation), Blood, 2007, 110, 摘要 209) 出现造血干细胞的细胞表面标记,表明造血干细胞是白血病细胞的来源。没有造血干细胞的细胞标记特性的母细胞似乎在移植后不能产生肿瘤(Blaire 等, 1997, Blood 89 :3104-3112)。也能在一些造血系统恶性肿瘤疾病的干细胞起源中找到支持证据,该证据是可在造血细胞谱系的正常细胞和白血病母细胞中观察到与特定类型白血病有关的特殊染色体异常。例如,与约 95% 慢性髓细胞白血病有关的相互易位 $t(9q34;22q11)$ 似乎存在于髓细胞、类红细胞和淋巴谱系细胞中,表明染色体异常起源于造血干细胞。在一些类型的 CML 中的细胞亚型显示造血干细胞的细胞标记表型。

[0765] 尽管血液肿瘤通常起源于干细胞,但发育谱系的定向始祖细胞或更终末分化的细胞也可为某些白血病的来源。例如,在普通骨髓始祖细胞或粒细胞/巨噬细胞始祖细胞中强迫表达融合蛋白 Bcr/Ab1(与慢性骨髓粒细胞白血病有关)产生白血病样病症。另外,未在具有标记表型的造血干细胞的细胞群中发现与白血病亚型有关的某些染色体异常,但在显示造血细胞途径的更分化状态的标记表型的细胞群中发现所述异常(Turhan 等, 1995, Blood 85 :2154-2161)。因此,在模拟造血干细胞的自我更新的特性的某些情况下,尽管定向始祖细胞和其它分化的细胞可能对细胞分裂仅具有有限的潜力,但是白血病细胞可能已获得不受调控生长的能力(Passegue 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2003, 100 :11842-9)。

[0766] 在某些实施方案中,所治疗的血液肿瘤为淋巴瘤,其中异常细胞源自淋巴样细胞谱系细胞和/或显示淋巴样细胞谱系细胞的特征表型。淋巴瘤可细分为 B 细胞淋巴瘤、T 和 NK 细胞淋巴瘤,以及霍奇金淋巴瘤。B 细胞淋巴瘤可再细分为始祖 B 细胞淋巴瘤和成熟/外周 B 细胞淋巴瘤。举例说明的 B 细胞淋巴瘤为前体 B 淋巴性白血病/淋巴瘤(前体 B 细胞急性淋巴性白血病),而举例说明的成熟/外周 B 细胞淋巴瘤为 B 细胞慢性淋巴性白血病/小淋巴性淋巴瘤、B 细胞幼淋巴性白血病、淋巴浆性淋巴瘤、脾缘区 B 细胞淋巴瘤、多毛细胞白血病、浆细胞骨髓瘤/浆细胞瘤、MALT 型的泛域缘区 B 细胞淋巴瘤、节缘区 B 细胞淋巴瘤、滤泡淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、弥散性大 B 细胞淋巴瘤、纵隔大 B 细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤和伯基特淋巴瘤/伯基特细胞白血病。T 细胞和 NK 细胞淋巴瘤再细分为前体 T 细胞淋巴瘤和成熟(外周)T 细胞淋巴瘤。具有代表性的前体 T 细胞淋巴瘤为前体 T-淋巴细胞淋巴瘤/白血病(前体 T 细胞急性淋巴细胞白血病),而具有代表性的成熟(外周)T 细胞淋巴瘤为 T 细胞幼淋巴细胞白血病 T 细胞颗粒淋巴细胞白血病、攻击性 NK 细胞白血病、成人 T 细胞淋巴瘤/白血病(HTLV-1)、结外鼻型 NK/T 细胞淋巴瘤;鼻型、致病型 T 细胞淋巴瘤、肝脾 $\gamma-\delta$ T 细胞淋巴瘤、皮下脂膜炎样 T 细胞淋巴瘤、早样肉芽肿(Mycosis fungoides)/赛塞利综合征、退行性大细胞淋巴瘤;T/

无效细胞,初级皮肤型外周 T 细胞淋巴瘤、未另外表征的 (not otherwise characterized) 血管免疫母细胞性 T 细胞淋巴瘤、退行性大细胞淋巴瘤、T/ 无效细胞,初级全身型。淋巴样细胞瘤中的第三种是霍奇金淋巴瘤,又称为霍奇金病。可用所述化合物治疗的该类疾病的具有代表性的诊断包括但不限于节状淋巴细胞超优势霍奇金淋巴瘤以及各种经典形式的霍奇金病,其中具有代表性的疾病是节状硬化霍奇金淋巴瘤 (1 级和 2 级)、富集淋巴细胞的经典霍奇金淋巴瘤、混合型细胞构成霍奇金淋巴瘤和淋巴细胞耗竭霍奇金淋巴瘤。在各种实施方案中,可用 syk 和 / 或 JAK 抑制性化合物治疗与异常 JAK 活性有关的任何淋巴样细胞瘤。

[0767] 在某些实施方案中,所治疗的血液肿瘤为髓细胞瘤。该类瘤包括涉及或显示髓细胞谱系细胞的特征表型的一大类细胞增殖病。髓细胞瘤可细分为骨髓增生病、骨髓增生异常 / 骨髓增生疾病、骨髓增生异常综合征和急性髓细胞白血病。具有代表性的骨髓增生疾病为慢性骨髓粒细胞白血病 (例如 Philadelphia 染色体阳性 (t(9;22)(q34;q11))、慢性嗜中性粒细胞白血病、慢性嗜酸性粒细胞白血病 / 嗜酸细胞增多综合征、慢性自发性骨髓纤维变性、红细胞增多症和原发性血小板增多症。具有代表性的骨髓增生异常 / 骨髓增生疾病为慢性单核髓细胞白血病、非典型性慢性骨髓粒细胞白血病和青少年单核髓细胞白血病。具有代表性的骨髓增生异常综合征为有环纹成高铁红细胞和无环纹成高铁红细胞的顽固性贫血病、伴多系发育不良的顽固性血细胞减少症 (骨髓增生异常综合征)、伴过量胚细胞的顽固性贫血病 (骨髓增生异常综合征)、5q- 综合征和骨髓增生异常综合征。在各种实施方案中,可用所述 syk 和 / 或 JAK 抑制性化合物治疗与异常 syk 和 / 或 JAK 活性有关的任何髓细胞瘤。

[0768] 在某些实施方案中,可用所述化合物治疗急性髓细胞白血病 (AML), 该白血病代表具有可再细分病症的一大类髓细胞瘤。这些分支包括但不限于伴复发性细胞遗传易位的 AML、伴多系发育不良的 AML 和其它未分类的 AML。具有代表性的伴轮回细胞遗传易位的 AML 包括但不限于具有 t(8;21)(q22;q22) 的 AML, AML1 (CBF- α) / ETO、急性早幼粒细胞白血病 (具有 t(15;17)(q22;q11-12) 的 AML 和变型, PML/RAR- α)、伴异常骨髓嗜酸性粒细胞 (inv(16)(p13q22) 或 t(16;16)(p13;q11)、CBFb/MYH11X) 的 AML 以及和 11q23 (MLL) 异常的 AML。具有代表性的伴多系发育不良的 AML 是与前骨髓增生异常综合征有关或无关的那些 AML。未划分在任何可定义类的其它急性髓细胞白血病包括最小分化的 AML、未成熟的 AML、成熟 AML、急性单核髓细胞白血病、急性单核型白血病、急性类红细胞型白血病、急性巨核细胞型白血病、急性嗜碱细胞白血病以及和伴骨髓纤维变性的急性全髓白血病。

[0769] 本发明文中的“治疗”表示缓解与病症或疾病有关的症状,或终止那些症状进一步发展或恶化,或阻止或预防疾病或病症。

[0770] 术语“哺乳动物”包括表达 syk 和 / 或 JAK 的生物体。哺乳动物的实例包括小鼠、大鼠、母牛、绵羊、猪、山羊、马、熊、猴、狗、猫,优选人。表达 syk 和 / 或 JAK 的转基因生物体也包括在该定义中

[0771] 本发明方法包括给予哺乳动物或非人动物有效量的本文中所述化合物或组合物。本文中使用的本发明化合物或组合物的“有效量”包括拮抗或抑制 syk 和 / 或 JAK 的那些量。可通过例如可测定 syk 和 / 或 JAK 活性的任何测定方法检测拮抗或抑制 syk 和 / 或 JAK 的量,所述方法包括作为说明性试验方法的下述方法之一。有效量也可包括使与可通

过抑制 syk 和 / 或 JAK 治疗的病症有关的症状缓解的那些量。因此,“syk 拮抗剂”或“JAK 拮抗剂”包括分别与 syk 或 JAK 相互作用并调节例如抑制或减少第二种化合物例如另一种 syk 或 JAK 配体分别与 syk 或 JAK 相互作用的能力的化合物。结合 syk 或 JAK 的化合物优选分别为 syk 或 JAK 拮抗剂。术语“结合 syk 的化合物”和“结合 JAK 的化合物”(例如显示与受体结合的结合亲和力)包括与 syk 或 JAK 相互作用从而分别调节 syk 或 JAK 活性的那些化合物。可用体外(例如细胞和非细胞类)或体内方法鉴定结合 Syk 和 / 或 JAK 的化合物。以下提供体外方法说明

[0772] 用于本文中所述方法的化合物和组合物的量应在病症的严重程度中足以造成可按实施例所述任何测定方法测定的减少值。需要的 syk 和 / 或 JAK 调节剂的量取决于调节剂对给定细胞型的有效性和治疗该病症需要的时间长度。在一些实施方案中,本发明组合物还可含另一种治疗药物。当使用第二种药物时,可以独立的剂型或作为单一剂型的一部分的形式给予第二种药物和本发明化合物或组合物。虽然一种或多种本发明化合物可作为单一疗法治疗病症、疾病或症状,但它们也可用于联合疗法,其中使用本发明化合物或组合物(治疗药物)与使用一种或多种治疗相同和 / 或其它类型病症、症状和疾病的其它治疗药物相结合。联合疗法包括同时或顺序给予两种或多种治疗药物。可按任何顺序给予药物。或者,可将多种治疗药物结合到可给予患者的单一组合物中。例如,单一药用组合物可含式 I 化合物、其药学上可接受的盐、酯或前药;另一种治疗药物(例如甲氨蝶呤)或其互变异构体、药学上可接受的盐、酯或其前药;以及药学上可接受的赋形剂或载体。

[0773] 本发明包括具有式 I 的化合物、制备本发明化合物的方法、由至少一种本发明化合物和至少一种药学上可接受的载体或赋形剂制备药用组合物的方法,和用一种或多种本发明化合物治疗多种病症、症状和疾病(例如炎性、自身免疫性、神经、神经变性、肿瘤和心血管)的方法,此类疾病例如 RA、骨关节炎、过敏性肠疾病 IBD、哮喘、慢性阻塞性肺部疾病 COPD 和 MS。可将本发明化合物和它们的药学上可接受的盐和 / 或中性组合物与药学上可接受的赋形剂或载体配制在一起,得到的组合物可体内给予哺乳动物,例如男人、妇女和动物,治疗各种病症、症状和疾病。另外,可用本发明化合物制备可用治疗多种病症、症状和疾病的药物。

[0774] 所有本发明化合物为有效的 syk 和 / 或 JAK 激酶抑制剂,它们的 IC_{50} 在相应测定中显示小于 $5 \mu M$ 数量级,其中多数化合物的 IC_{50} 为纳摩尔数量级,若干化合物的 IC_{50} 为亚纳摩尔数量级。在某些实施方案中,本发明化合物可为 syk/JAK “双重”抑制剂,也就是说它们在一定程度上既抑制 syk 激酶,又抑制 JAK 激酶。在其它实施方案中,本发明化合物可选择性抑制 syk 激酶,但不显著抑制一种或多种 JAK 激酶。在其它实施方案中,本发明化合物可选择性抑制 JAK 激酶,但不显著抑制一种或多种 syk 激酶。

[0775] f. 药盒

[0776] 本发明的另一个方面是提供单一包装形式的药盒,该药盒包含独立的容器,其中本发明药用化合物、其组合物和 / 或盐与药学上可接受的载体联用,用于治疗其中 syk 和 / 或 JAK 起作用的状态、病症、症状和疾病。

附图说明

[0777] 图 1 显示 Syk 如何在细胞生物学和多种疾病中作为 Fc 受体介导的信号的关键介

质。

[0778] 图 2 显示如何对 Syk 进行基因靶向证明了 Syk 是动脉血小板生物学中的关键介质和治疗动脉血栓形成的选择性靶标。

[0779] 图 3-5 显示本发明化合物的通用合成方法。

[0780] 图 6 显示增加本发明化合物剂量对响应 B 拉莫斯细胞 IL4 刺激的 pSTAT6 形成的影响。

[0781] 图 7 提供说明本发明化合物以及 syk IC_{50} 的表 1。

[0782] 图 8 提供说明本发明化合物以及 syk IC_{50} 的表 2。

[0783] 图 9 显示了所选化合物的特异性数据。

[0784] 图 10 显示了所选双环化合物的选择性抑制。

具体实施方式

[0785] 实施例

[0786] 提供以下实施例,用于说明但不限制要求保护的本发明。

[0787] 用于制备这些化合物的原料和试剂通常可从产品供应商例如 Aldrich Chemical Co. 购得,或通过本领域技术人员已知方法,按照参考文献例如 Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis; Wiley & Sons: 纽约,1967-2004,第 1-22 卷; Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Elsevier Science Publishers, 1989, 第 1-5 卷和增补版; 和 Organic Reactions, Wiley & Sons: 纽约, 2005, 第 1-65 卷中列举的方法制备。

[0788] 如有需要,可用常规技术将原料和本合成反应流程的中间体分离,也可纯化,这些技术包括但不限于过滤、蒸馏、结晶、色谱等。可用常规方法表征此类材料,这些方法包括物理常数和光谱数据。

[0789] 除有不同说明外,优选在惰性气氛下,在常压下,在约 -78°C - 约 150°C 下,更优选约 0°C - 约 125°C 下,最优选且方便在约室温(环境)温度例如约 20°C - 约 75°C 下进行本文中所述反应。

[0790] 参考下面的实施例,采用本文中公开的方法或本领域熟知的其它方法合成本发明化合物。

[0791] 可用配备 2695 Separation Module 的 Waters Alliance 色谱系统 (Milford, Mass.), 通过高效液相色谱 (HPLC) 鉴定化合物和 / 或中间体。分析柱可以是 Merck KGaA (Darmstadt, 德国) 的 C-18 Speed ROD RP-18E 柱。或者,可用配备 Waters Acquity UPLC BEH C-182.1mm $\times$ 15mm 柱的 Waters Unity (UPLC) 系统特征。可用梯度洗脱,通常从 5% 乙腈 / 95% 水开始至 95% 乙腈为止,对于 Alliance 系统,该梯度变化时间 5 分钟;对于 Acquity 系统,该梯度变化时间 1 分钟。所有溶剂可含 0.1% 三氟乙酸 (TFA)。可通过在 220 或 254nm 的紫外线 (UV) 吸收检测化合物。HPLC 溶剂可从 EMD Chemicals, Inc. (Gibbstown, NJ) 得到。在某些情况下,可通过使用玻璃载体硅胶板例如 EMD Silica Gel 60 2.5cm $\times$ 7.5cm 板的薄层层析 (TLC) 评价纯度。可在紫外线下,或通过使用熟知的碘蒸汽和其它各种显色技术容易目检 TLC 结果。

[0792] 可在两种 Agilent 1100 系列 LCMS 仪器中的一种仪器上进行质谱分析,以乙腈 / 水作流动相。一个系统可用 TFA 作为调节剂,按正离子模式测定 [按 MH^{+} , $(M+1)^{+}$ 或 $(M+H)^{+}$]

报告],另一个系统可使用甲酸或乙酸铵盐,按正离子模式[按 MH^+ , $(M+1)$ 或 $(M+H)^+$ 报告]和负离子模式[按 M^- , $(M-1)$ 或 $(M-H)^-$ 报告]测定。

[0793] 可在 Varian 400MHz NMR(Palo Alto, Calif.) 上,对某些化合物进行核磁共振(NMR)分析。波谱对照可为 TMS 或已知化学位移的溶剂。

[0794] 可通过元素分析(Robertson Microlit, Madison NJ.) 评价某些本发明化合物的纯度。

[0795] 可在 Laboratory Devices Mel-Temp 仪(Holliston, Mass.) 上测定熔点。

[0796] 可根据需要,用均购自 Teledyne Isco, (Lincoln, NE) 的 Sq16x 或 Sg100c 色谱系统和预装硅胶柱进行制备型分离。或者,可通过使用硅胶(230-400 目)填充材料的闪柱层析或通过使用 C-18 反相柱的 HPLC,纯化化合物和中间体。用于 Isco 系统和闪柱层析的典型溶剂可为二氯甲烷、甲醇、乙酸乙酯、己烷、丙酮、羟胺水溶液和三乙胺。用于反相 HPLC 的典型溶剂可为各种浓度的含 0.1% 三氟乙酸的乙腈和水。

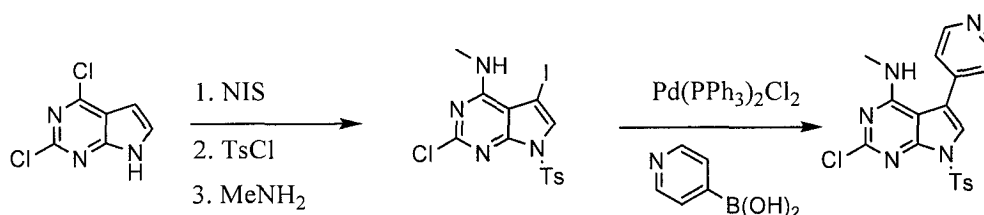
[0797] 通用方法

[0798] 下列合成反应流程仅仅用于对能够合成本发明化合物的某些方法进行说明,在参考本申请公开的内容后,本领域技术人员可对这些反应流程进行各种改进,并建议他们进行此类改进。

[0799] 实施例 1

[0800] N2-(1H-吡啶-6-基)-N4-甲基-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺

[0801]



[0802] 于室温下,向 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(2.0g,10.6mmol)的 DCM(32mL) 混悬液中加入 NIS(2.4g,10.6mmol)。搅拌 1 小时后,通过过滤收集获得的沉淀物,获得 2,4-二氯代-5-碘-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(1.8g)。

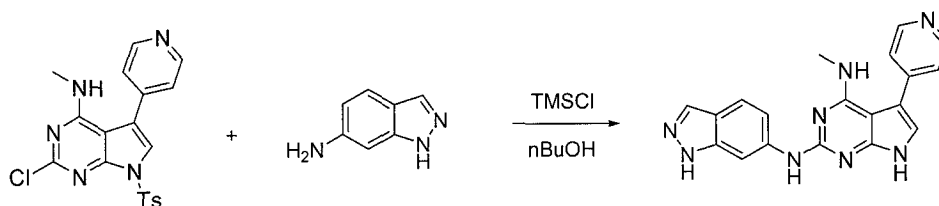
[0803] 向 2,4-二氯代-5-碘-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(1.80g,5.73mmol)的 DCM(20mL) 混合物中加入 TsCl(1.09g,5.73mmol) 和 TEA(1.60mL,11.46mmol),随后加入 DMAP(70mg, 0.573mmol)。于室温下搅拌 1h 后,浓缩溶液,残留物在 EtOAc 和 H₂O 之间分配,分离有机相,采用 1N HCl、5% NaHCO₃ 洗涤,干燥并浓缩获得 2,4-二氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(2.0g)。

[0804] 向 2,4-二氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(0.6g,1.28mmol) 的 nBuOH(2mL) 混合物中加入甲基胺(2M THF,0.77mL,1.54mmol) 和 DIPEA(0.274mL, 1.54mmol)。于室温下搅拌 1h 后,通过过滤收集获得的沉淀物,获得 2-氯代-N-甲基-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(0.275g)。

[0805] 向 2-氯代-N-甲基-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(0.05g,0.11mmol)、Pd(PPh₃)₂Cl₂(0.015g,0.022mmol) 和 吡啶-4-基硼酸(0.03g, 0.24mmol) 的对-二氧六环(0.7mL) 混合物中加入 Na₂CO₃(0.035g,0.33mmol) 的水溶液

(0.3mL)。脱气后,将混合物于100℃加热1.5h。混合物通过快速柱色谱纯化(己烷/EtOAc = 1 : 1),获得2-氯代-N-甲基-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(0.02g)。

[0806]

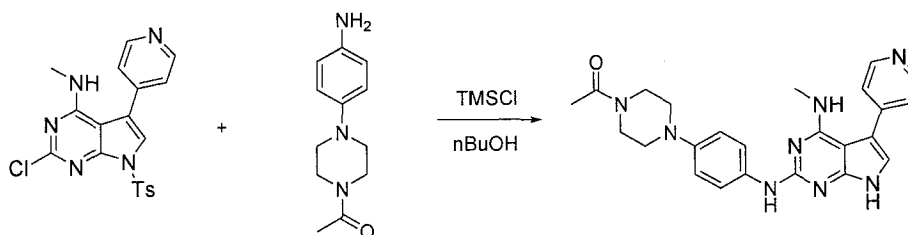


[0807] 向2-氯代-N-甲基-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(0.041g,0.091mmol)的nBuOH(0.8mL)混合物中加入6-氨基吡嗪(0.024g,0.18mmol)和TMSCl(0.03mL,0.23mmol)。于115℃加热48h后,混合物通过制备性HPLC纯化,获得N²-(1H-吡嗪-6-基)-N⁴-甲基-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺(0.011g),MS(MH 357.1), λ = 214.5,247.5,306.8。

[0808] 实施例2

[0809] 1-(4-(4-(4-(甲基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮

[0810]

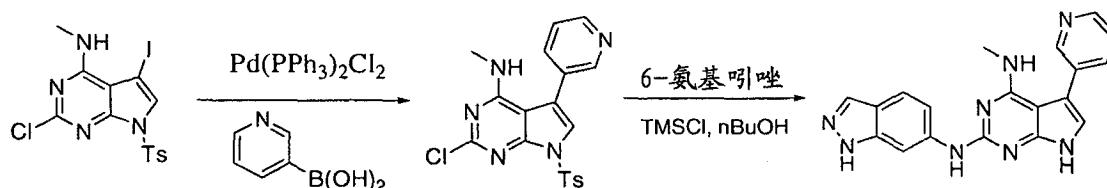


[0811] 向2-氯代-N-甲基-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(0.044g,0.11mmol)的nBuOH(0.6mL)混合物中加入1-(4-(4-(4-(甲基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮(0.047g,0.22mmol)和TMSCl(0.043mL,0.33mmol)。于115℃加热48h后,混合物通过制备性HPLC纯化,获得1-(4-(4-(4-(甲基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮(0.015g),MS(MH 443.3), λ = 259.4,302.1。

[0812] 实施例3

[0813] N²-(1H-吡嗪-6-基)-N⁴-甲基-5-(吡啶-3-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺

[0814]



[0815] 向2-氯代-N-甲基-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(0.175g,0.38mmol)、Pd(PPh₃)₂Cl₂(0.053g,0.076mmol)和吡啶-3-基硼酸(0.102g,0.83mmol)的二氧六环(2mL)混合物中加入Na₂CO₃(0.12g,1.14mmol)的水溶液(1mL)。脱

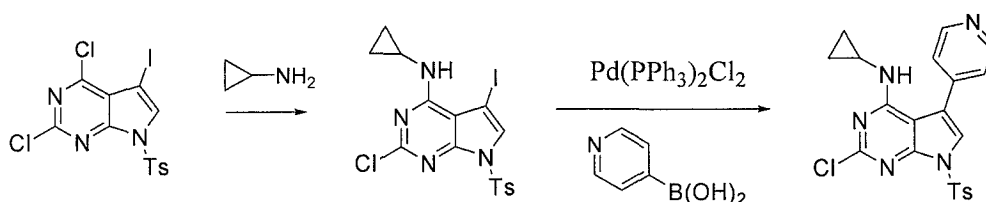
气后,混合物于 100℃加热 1.5h。混合物通过快速柱色谱纯化(己烷/EtOAc = 1 : 1),获得 2-氯代-N-甲基-5-(吡啶-3-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(0.084g)。

[0816] 向 2-氯代-N-甲基-5-(吡啶-3-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(0.075g, 0.182mmol)的 nBuOH(1mL)混合物中加入 6-氨基吲唑(0.048g, 0.36mmol)和 TMSCl(0.06mL, 0.46mmol)。于 115℃加热 72h 后,混合物通过制备性 HPLC 纯化,获得 N²-(1H-吲唑-6-基)-N⁴-甲基-5-(吡啶-3-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺(0.03g), MS(MH 357.2), λ = 203.9, 246.3, 305.6。

[0817] 实施例 4

[0818] 1-(4-(4-(4-(环丙基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮

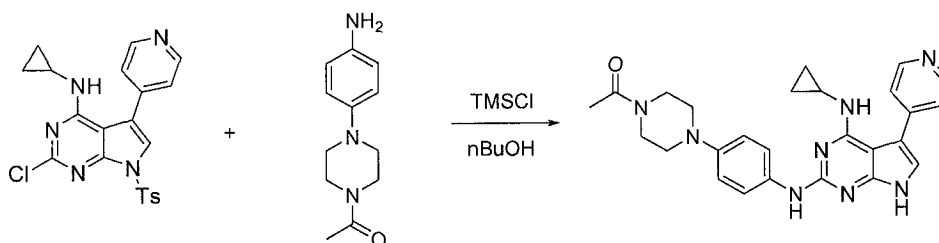
[0819]



[0820] 向 2,4-二氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(0.414g, 0.88mmol)的 nBuOH(1.5mL)混合物中加入环丙基胺(0.0674mL, 1.06mmol)和 DIPEA(0.188mL, 1.06mmol)。于室温下搅拌 15h 后,通过过滤收集获得的沉淀物,获得 2-氯代-N-环丙基-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(0.3g)。

[0821] 向 2-氯代-N-环丙基-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(0.3g, 0.61mmol)、Pd(PPh₃)₂Cl₂(0.086g, 0.122mmol)和吡啶-4-基硼酸(0.165g, 1.342mmol)的二氧六环(3mL)混合物中加入 Na₂CO₃(0.2g, 1.83mmol)的水溶液(1.5mL)。脱气后,将混合物于 100℃加热 1.5h。混合物通过快速柱色谱纯化(己烷/EtOAc = 1 : 1),获得 2-氯代-N-环丙基-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(0.241g)。

[0822]

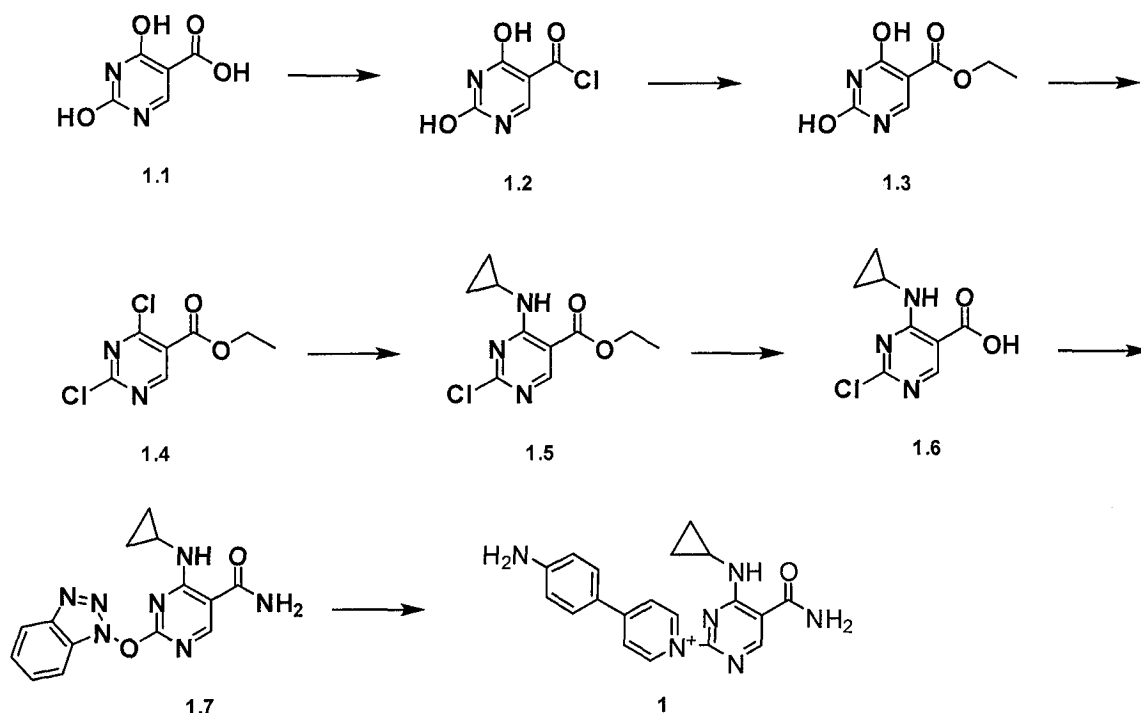


[0823] 向 2-氯代-N-环丙基-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(0.12g, 0.27mmol)的 nBuOH(1mL)混合物中加入 1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮(0.12g, 0.54mmol)和 TMSCl(0.087mL, 0.68mmol)。于 115℃48h 后,混合物通过制备性 HPLC 纯化,获得 1-(4-(4-(4-(环丙基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮(0.015g), MS(MH 469.4), λ = 203.9, 280.7nm。

[0824] 实施例 5

[0825] 4-(4-氨基苯基)-1-(5-氨基甲酰基-4-(环丙基氨基)嘧啶-2-基)吡啶鎓

[0826]



[0827] 步骤1:向搅拌的羧酸 1.1 (85g, 540mmol) 的亚硫酸氯 (425mL) 溶液中缓慢加入吡啶 (8.5mL, 0.11mmol)。将反应物于 75℃ 搅拌过夜, 此时将其浓缩, 真空干燥, 获得浅黄色粉末, 它可以立即用于下一步骤。

[0828] 步骤2:将获自步骤1的黄色固体用 750mL 乙醇缓慢稀释, 回流过夜。第二天, 通过 HPLC 确定反应完成, 然后在冰浴中冷却, 过滤固体, 用乙醚洗涤, 获得需要的乙基酯 1.3, 为类白色粉末 (91g, 两步收率 87%)。C₇H₈N₂O₄ 的 MS 实测值为 (M+H)⁺185.0。

[0829] 步骤3:将酯 1.3 (22g, 120mmol) 溶于磷酸氯 (60mL, 600mmol), 混合物采用 N,N-二乙基苯胺 (27mL, 167mmol) 处理, 将混合物加热至 105℃ 直到 HPLC 确定反应完成。然后将其冷却至室温, 缓慢加入 1L 的碎冰, 形成米色沉淀, 通过过滤收集沉淀, 真空干燥, 获得需要的二氯化物 (1.4), 为浅黄色粉末 (22.5g, 85%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz): δ 9.13 (s, 1H), 4.37 (q, 2H), 1.32 (t, 3H)。

[0830] 步骤4:将二氯嘧啶 1.4 (5.9g, 27mmol) 溶于乙腈 (50mL), 采用二异丙基胺 (5.2mL, 30mmol) 处理, 随后采用环丙基胺 (1.9g, 27mmol) 处理, 于室温下搅拌直到所有的原料消耗完毕。然后反应混合物用水稀释至总体积为 150mL, 过滤收集沉淀物, 获得需要的产物, 为浅黄色固体 (6.02g, 87%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz): δ 8.60 (s, 1H), 8.48 (d, 1H), 4.52 (m, 1H), 4.29 (q, 2H), 2.30 (m, 2H), 2.04 (m, 2H), 1.73 (m, 2H), 1.30 (t, 3H)。

[0831] 步骤5:乙基酯 1.5 (6.02g, 24mmol) 采用 1,4-二氧六环 (26mL) 稀释, 随后采用氢氧化锂水溶液 (1.0M, 26mL, 26mmol) 稀释, 于室温下搅拌直到所有的原料转化为羧酸。然后反应物用水稀释至总体积为 100mL, 采用 6M HCl 将其酸化至 pH = 2。然后过滤获得的混悬液, 抽吸干燥获得 3.51g 羧酸 (64%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz): δ 8.64 (d, 1H), 8.74 (s, 1H), 4.50 (m, 1H), 2.31 (m, 2H), 2.03 (m, 2H), 1.72 (m, 2H)。

[0832] 步骤6:将羧酸 1.6 (3.15g, 15mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (70mL), 采用 HOBt (3.13g, 23mmol) 和 EDC (4.4g, 23mmol) 处理。搅拌约 25 分钟后, 加入氨 (0.5M 的 1,4-二

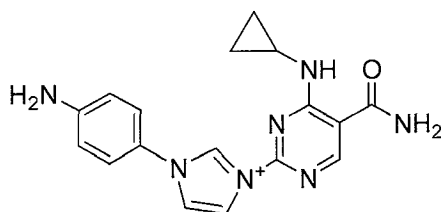
氧六环溶液, 72mL, 36mmol), 将反应物搅拌过夜。第二天早晨, 反应物用水稀释至总体积为 500mL, 过滤收集需要的产物, 获得浅米色固体 3.62g (74%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz): δ 9.30 (d, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.15 (d, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.74 (d, 1H), 7.64 (m, 2H), 7.51 (t, 1H), 3.77 (m, 1H), 1.79 (m, 2H), 1.74 (m, 2H), 1.53 (m, 1H), 1.41 (m, 1H)。

[0833] 步骤 7: 将苯并三唑基醚 1.7 (50mg, 0.17mmol)、4-(吡啶基)-苯胺 (0.26mmol) 和对甲苯磺酸 (30mg, 0.17mmol) 采用 1,4-二氧六环 (5mL) 稀释, 于 120℃ 搅拌直到所有的原料消耗完全。将反应物冷却至室温, 用水稀释, 直接通过制备性 HPLC 纯化, 冷冻干燥后获得需要的产物 1。C₁₉H₁₉N₆O 的 MS 实测值为 (M)⁺347.3。

[0834] 实施例 6

[0835] 1-(4-氨基苯基)-3-(5-氨基甲酰基-4-(环丙基氨基)嘧啶-2-基)-1H-咪唑-3-鎓

[0836]

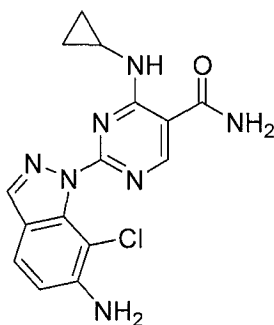


[0837] 根据实施例 5 步骤 7 中所述相似方法, 采用 4-(1H-咪唑-1-基)苯胺, 制备上述化合物。C₁₇H₁₈N₇O 的 MS 实测值为 (M)⁺336.0。

[0838] 实施例 7

[0839] 2-(6-氨基-7-氯代-1H-吡唑-1-基)-4-(环丙基氨基)嘧啶-5-甲酰胺

[0840]

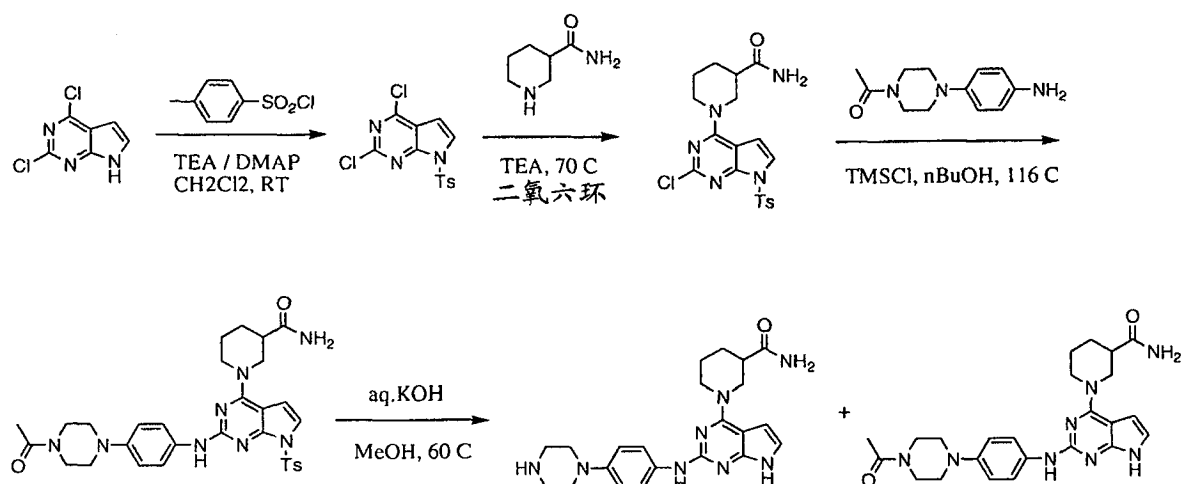


[0841] 根据实施例 5 步骤 7 中所述相似方法, 采用 7-氯代-1H-吡唑-6-胺 (自 6-氨基吡唑, 采用 N-氯代琥珀酰亚胺, 在一步反应中合成), 制备上述化合物。C₁₅H₁₇N₇OCl 的 MS 实测值为 (M+H)⁺344.2, 346.2。

[0842] 实施例 8 和 9

[0843] 1-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺和 1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺

[0844]



[0845] 向 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]咪唑 (1.67g, 8.88mmol)、对甲苯磺酰氯 (1.72g, 9.02mmol) 和三乙胺 (2.50mL, 18.0mmol) 的 CH_2Cl_2 (15mL) 混合物中加入二甲基氨基吡啶 (30mg, 0.24mmol)。将其于室温下搅拌 20h。加入水和 CH_2Cl_2 。分离有机相, 用 1N HCl 洗涤, 然后用 5% 碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得为固体的 2,4-二氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]咪唑 (3.03g)。

[0846] 将 2,4-二氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]咪唑 (200mg, 0.584mmol)、3-哌啶甲酰胺 (75mg, 0.586mmol) 和三乙胺 (0.130mL, 0.934mmol) 的二氧六环 (5mL) 于 70°C 搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 1-(2-氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]咪唑-4-基) 哌啶-3-甲酰胺 (250mg)。

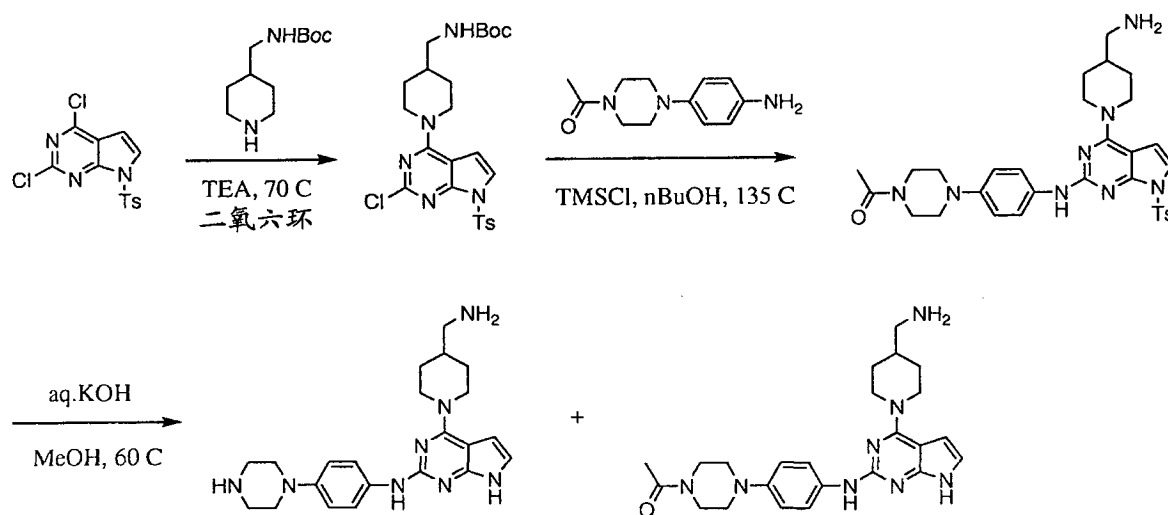
[0847] 将 1-(2-氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]咪唑-4-基) 哌啶-3-甲酰胺 (125mg, 0.288mmol)、1-(4-(4-氨基苯基) 哌嗪-1-基) 乙酮 (100mg, 0.456mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.100mL, 0.79mmol) 的 n-BuOH (3mL) 化合物于 116°C 搅拌 20h。真空除去 n-BuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基) 苯基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]咪唑-4-基) 哌啶-3-甲酰胺 (12mg)。

[0848] 向 1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基) 苯基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]咪唑-4-基) 哌啶-3-甲酰胺 (12mg, 0.019mmol) 的 MeOH (2mL) 溶液中加入 aq. 1N KOH (1mL)。将其于 60°C 搅拌 2h。真空浓缩后, 残留物采用 HOAc (1mL) 酸化。然后将混合物通过 HPLC 纯化, 获得 1-(2-(4-(哌嗪-1-基) 苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]咪唑-4-基) 哌啶-3-甲酰胺 (2mg) (MS 421.5 (M+H)) 和 1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基) 苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]咪唑-4-基) 哌啶-3-甲酰胺 (8mg) (MS 463.6 (M+H)); UV 202.6, 274.6nm)。

[0849] 实施例 10 和 11

[0850] 4-(4-(氨基甲基) 哌啶-1-基)-N-(4-(哌嗪-1-基) 苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]咪唑-2-胺和 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基) 哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]咪唑-2-基氨基) 苯基) 哌嗪-1-基) 乙酮

[0851]



[0852] 将 2,4-二氯代-7-甲磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (200mg, 0.584mmol)、4-N-Boc-氨基甲基哌啶 (125mg, 0.584mmol) 和三乙胺 (0.160mL, 1.15mmol) 的二氧六环 (5mL) 溶液于 70℃ 搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 (1-(2-氯代-7-甲磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (303mg)。

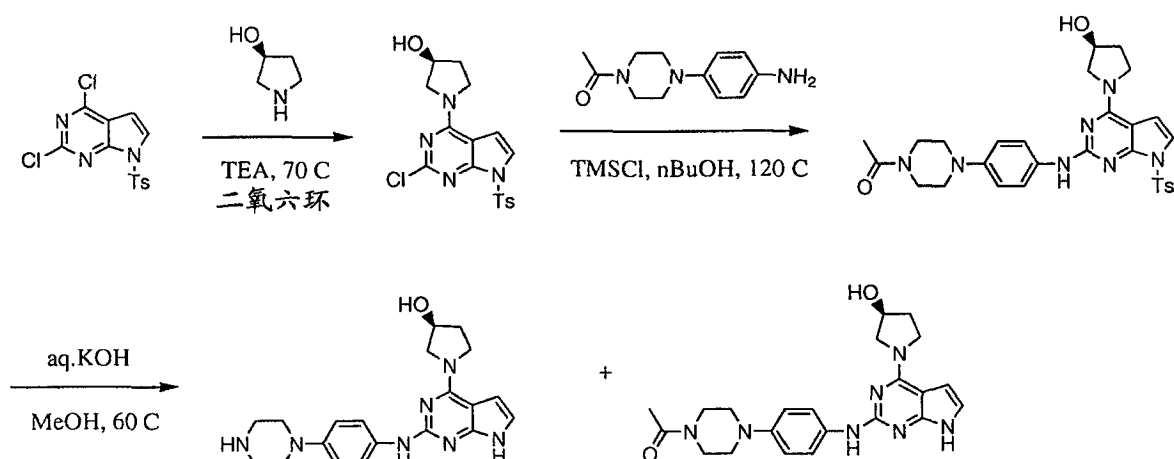
[0853] 将 (1-(2-氯代-7-甲磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (303mg, 0.583mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (191mg, 0.872mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.400mL, 3.16mmol) 的 n-BuOH (6mL) 混合物于 135℃ 搅拌 40h。真空除去 n-BuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-7-甲磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (60mg)。

[0854] 向 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-7-甲磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (60mg, 0.10mmol) 的 MeOH (3mL) 溶液中加入 aq. 1N KOH (1mL)。将其于 60℃ 搅拌 3h。真空浓缩后, 残留物采用 HOAc (1mL) 酸化。然后将混合物通过 HPLC 纯化, 获得 4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺 (3mg) (MS407.5 (M+H); UV 202.6, 269.9nm) 和 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (15mg) (MS449.5 (M+H); UV 202.6, 273.4nm)。

[0855] 实施例 12 和 13

[0856] (S)-1-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)吡咯烷-3-醇和 (S)-1-(4-(4-(4-(3-羟基吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮。

[0857]



[0858] 将 2,4-二氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (200mg, 0.584mmol)、(S)-3-羟基吡咯烷 (58mg, 0.667mmol) 和三乙胺 (0.160mL, 1.15mmol) 的二氧六环 (5mL) 溶液于 70℃ 搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 (S)-1-(2-氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基) 吡咯烷-3-醇 (201mg)。MS 393.3 和 395.3 (M+H, Cl 模式)。

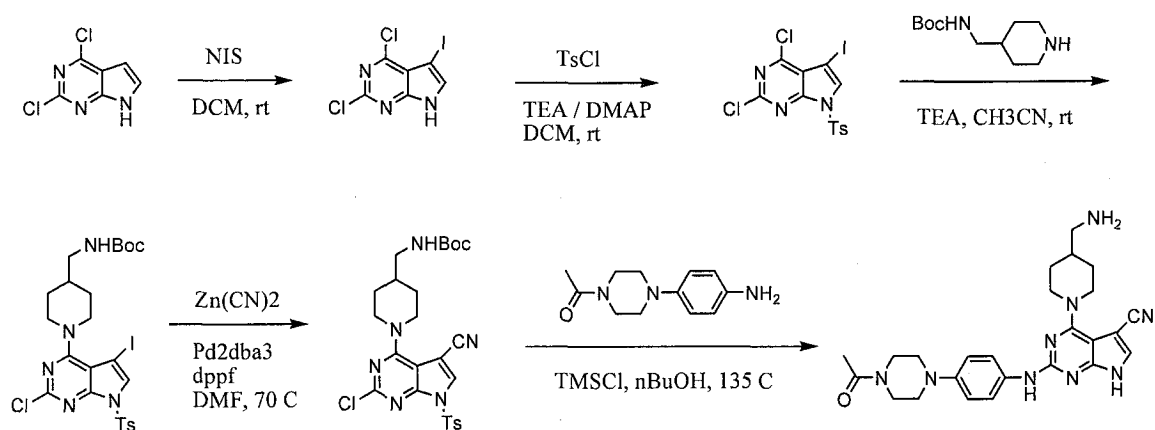
[0859] 将 (S)-1-(2-氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基) 吡咯烷-3-醇 (201mg, 0.512mmol)、1-(4-(4-氨基苯基) 哌嗪-1-基) 乙酮 (160mg, 0.730mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol) 的 n-BuOH (5mL) 混合物于 120℃ 搅拌 40h。真空除去 n-BuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 (S)-1-(4-(4-(4-(3-羟基吡咯烷-1-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基) 苯基) 哌嗪-1-基) 乙酮 (80mg)。MS 576.5 (M+H)

[0860] 向 (S)-1-(4-(4-(4-(3-羟基吡咯烷-1-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基) 苯基) 哌嗪-1-基) 乙酮 (80mg, 0.14mmol) 的 MeOH (3mL) 溶液中加入 aq. 1N KOH (1mL)。将其于 60℃ 搅拌 4h。真空浓缩后, 残留物采用 HOAc (1mL) 酸化。然后将混合物通过 HPLC 纯化, 获得 (S)-1-(2-(4-(哌嗪-1-基) 苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基) 吡咯烷-3-醇 (5mg) (MS 380.5 (M+H)) 和 (S)-1-(4-(4-(4-(3-羟基吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基) 苯基) 哌嗪-1-基) 乙酮 (20mg) (MS 422.5 (M+H))。

[0861] 实施例 14

[0862] 2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基) 苯基氨基)-4-(4-(氨基甲基) 哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈

[0863]



[0864] 向 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (3.00g, 16.0mmol) 的 CH_2Cl_2 (30mL) 混悬液中加入 N-碘代琥珀酰亚胺 (3.60g, 16.0mmol)。将其于室温下搅拌 20h。收集细沉淀, 真空干燥, 获得 2,4-二氯代-5-碘-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (2.80g)。MS 314.1 和 316.1 (M+H)。

[0865] 向 2,4-二氯代-5-碘-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (2.80g, 8.92mmol) 和对甲苯磺酰氯 (1.65g, 8.66mmol) 的 CH_2Cl_2 (30mL) 混悬液中加入三乙胺 (3.0mL, 21.6mmol) 和二甲基氨基吡啶 (0.047g, 0.38mmol)。将混合物于室温下搅拌 2h。加入水和 CH_2Cl_2 。分离有机相, 用 1N HCl 洗涤, 然后用 5% 碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得为固体的 2,4-二氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (4.00g)。MS 468.2 和 470.2 (M+H)。

[0866] 将 2,4-二氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (310mg, 0.662mmol)、4-N-Boc-氨基甲基哌啶 (142mg, 0.663mmol) 和三乙胺 (0.200mL, 1.44mmol) 的 CH_3CN (10mL) 混合物于室温下搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 用 1N HCl 洗涤, 然后用 5% 碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 (1-(2-氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (418mg)。MS 646.5 和 648.4 (M+H)。

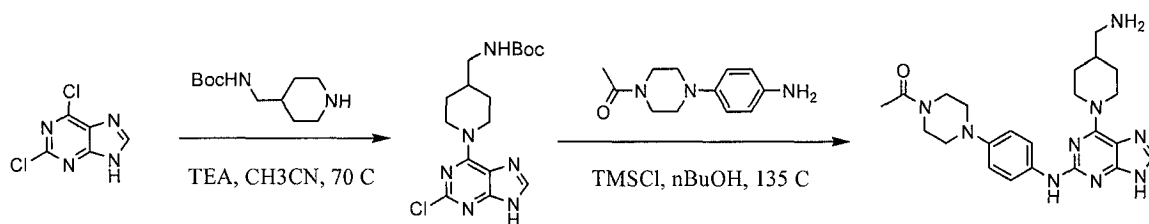
[0867] 将 (1-(2-氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (418mg, 0.647mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (60mg, 0.065mmol)、dppf (72mg, 0.130mmol) 和 $\text{Zn}(\text{CN})_2$ (91mg, 0.778mmol) 的 DMF (5mL) 混合物于 70°C 搅拌 20h。真空除去 DMF。将残留物上样于快速柱, 通过 10-30% EtOAc 的己烷溶液梯度洗脱, 获得 (1-(2-氯代-5-氰基-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (180mg)。

[0868] 将 (1-(2-氯代-5-氰基-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (180mg, 0.330mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (137mg, 0.625mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.300mL, 2.37mmol) 的 n-BuOH (5mL) 混合物于 135°C 搅拌 40h。真空除去 n-BuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (25mg)。MS 474.5 (M+H); UV 200.8, 277.8nm。

[0869] 实施例 15

[0870] 1-(4-(4-(6-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-9H-嘌呤-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮

[0871]



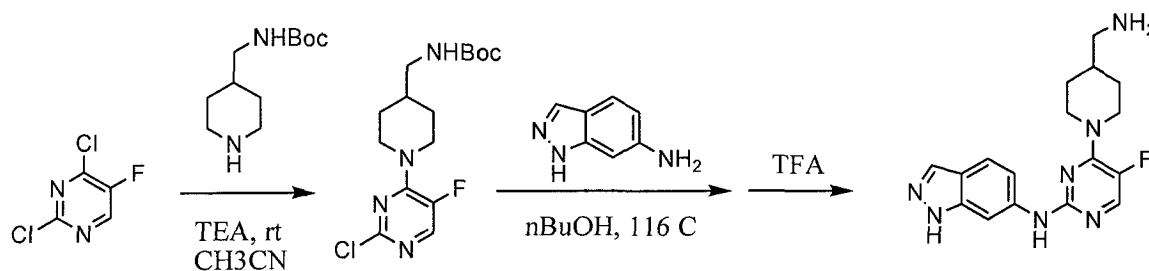
[0872] 将 2,6-二氯代嘌呤 (189mg, 1.00mmol)、4-N-Boc-氨基甲基哌啶 (214mg, 1.00mmol) 和三乙胺 (0.300mL, 2.15mmol) 的 CH_3CN (4mL) 混合物于 70°C 搅拌。最初它转变为澄清的溶液, 然后析出白色沉淀, 收集沉淀, 真空干燥, 获得 (1-(2-氯代-9H-嘌呤-6-基)哌啶-4-基) 甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (310mg)。MS 367.4 和 369.4 (M+H, CI 模式)。

[0873] 将 (1-(2-氯代-9H-嘌呤-6-基)哌啶-4-基) 甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (100mg, 0.272mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基) 乙酮 (120mg, 0.548mmol) 和三甲基硅烷基氯 (0.300mL, 2.37mmol) 的 *n*-BuOH (4mL) 混合物于 135°C 搅拌 70h。真空除去 *n*-BuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (12mg)。MS 450.6 (M+H); UV 200.0, 270.8nm。

[0874] 实施例 16

[0875] N-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基)-1H-吡唑-6-胺

[0876]

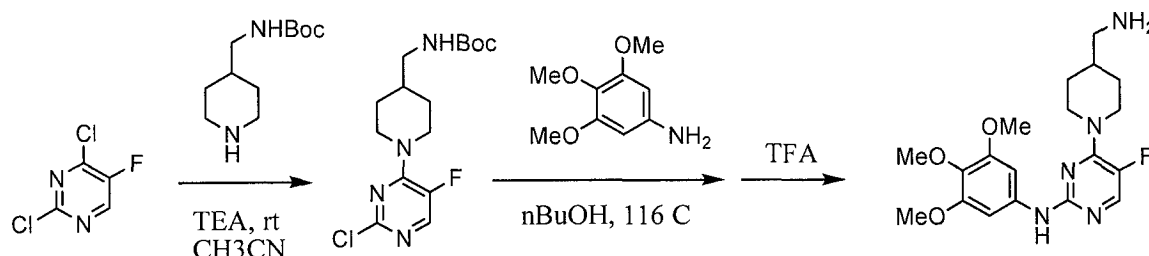


[0877] 将 2,4-二氯代-5-氟嘧啶 (167mg, 1.00mmol)、4-N-Boc-氨基甲基哌啶 (214mg, 1.00mmol) 和三乙胺 (0.300mL, 2.15mmol) 的 CH_3CN (4mL) 混合物于室温下搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物溶于 *n*BuOH (6mL)。向 2mL 的该 *n*BuOH 溶液中加入 6-氨基吡唑 (66mg, 0.49mmol)。将溶液于 116°C 搅拌 20h。真空除去 *n*BuOH。残留物溶于 TFA (2mL)。于室温下搅拌 2h 后, 真空除去 TFA。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (40mg)。MS 342.5 (M+H); UV 205.8, 246.8, 276.8nm。

[0878] 实施例 17

[0879] 4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟-N-(3,4,5-三甲氧基苯基)嘧啶-2-胺

[0880]



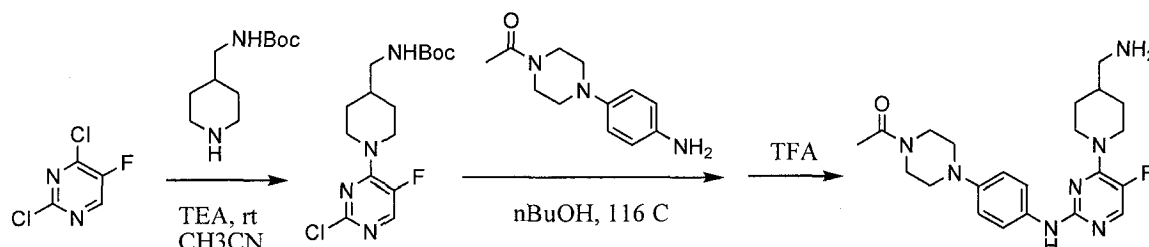
[0881] 将 2,4-二氯代-5-氟嘧啶 (167mg, 1.00mmol)、4-N-Boc-氨基甲基哌啶 (214mg, 1.00mmol) 和三乙胺 (0.300mL, 2.15mmol) 的 CH_3CN (4mL) 混合物于室温下搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物溶于 *n*BuOH (6mL)。向 2mL 该 *n*BuOH 溶液中加入 3,4,5-三甲氧基苯胺 (91mg,

0.50mmol)。将溶液于 116℃ 搅拌 20h。真空除去 nBuOH。残留物溶于 TFA (2mL)。于室温下搅拌 2h, 真空除去 TFA。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (42mg)。MS 392.5 (M+H); UV 223.8, 257.8nm。

[0882] 实施例 18

[0883] 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮

[0884]

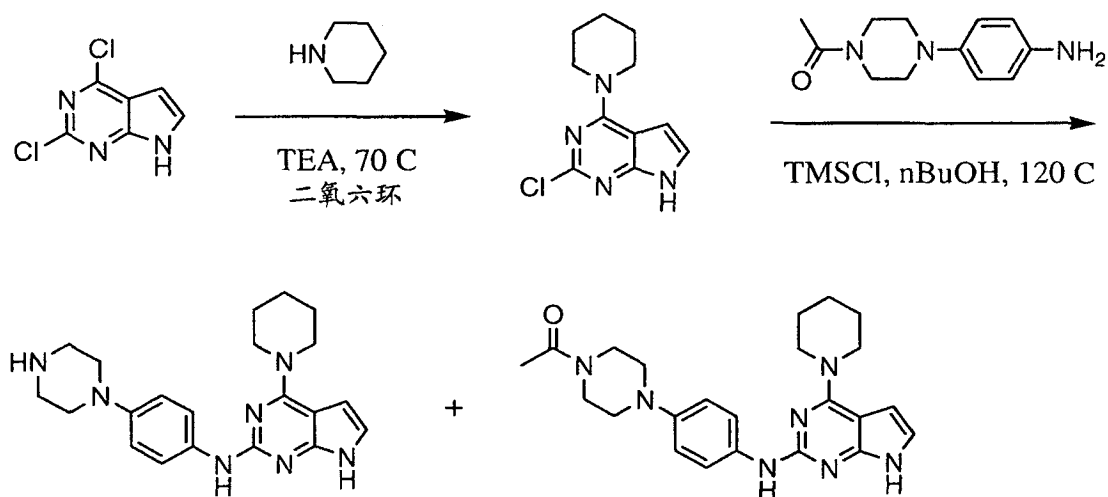


[0885] 将 2,4-二氯代-5-氟嘧啶 (167mg, 1.00mmol)、4-N-Boc-氨基甲基哌啶 (214mg, 1.00mmol) 和三乙胺 (0.300mL, 2.15mmol) 的 CH₃CN (4mL) 混合物于室温下搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物溶于 nBuOH (6mL)。向 2mL 该 nBuOH 溶液中加入 1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (108mg, 0.49mmol)。将溶液于 116℃ 搅拌 20h。真空除去 nBuOH。残留物溶于 TFA (2mL)。于室温下搅拌 2h 后, 真空除去 TFA。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (43mg)。MS 428.6 (M+H); UV 206.8, 265.8nm。

[0886] 实施例 19 和 20

[0887] N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-4-(哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺和 1-(4-(4-(4-(哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮

[0888]



[0889] 将 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (100mg, 0.531mmol)、哌啶 (0.060mL, 0.607mmol) 和三乙胺 (0.200mL, 1.43mmol) 的二氧六环 (4mL) 混合物于 70℃ 搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 2-氯代-4-(哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (123mg)。MS 237.3 和 239.3 (M+H, Cl 模式)。

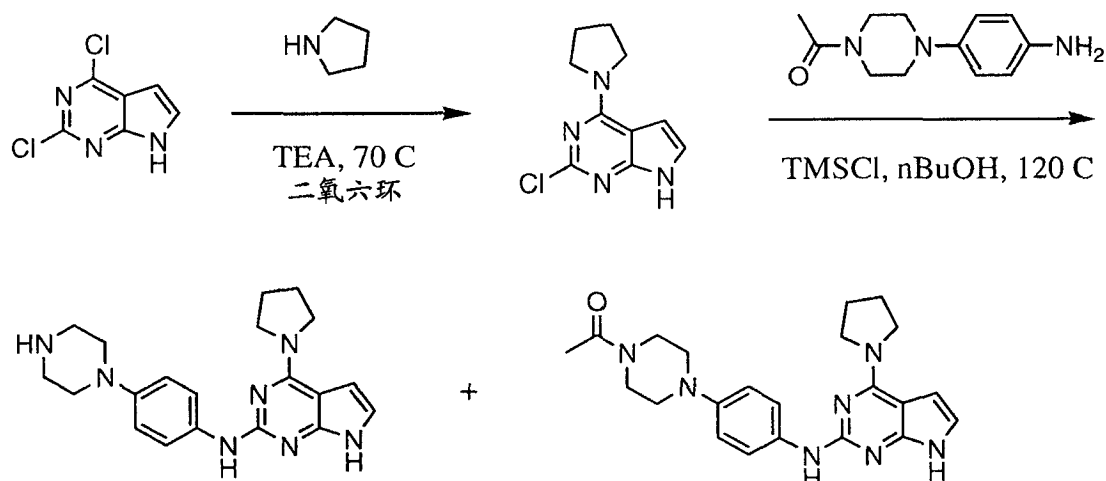
[0890] 将 2-氯代-4-(哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (123mg, 0.520mmol)、

1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (200mg, 0.913mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol) 的 n-BuOH (5mL) 混合物于 120℃ 搅拌 20h。真空除去 n-BuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-4-(哌啶-1-基)-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-2-胺 (5mg) (MS 378.5 (M+H)) 和 1-(4-(4-(4-(哌啶-1-基)-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (31mg) (MS 420.5 (M+H); UV 205.8, 275.8nm)。

[0891] 实施例 21 和 22

[0892] N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-4-(吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-2-胺和 1-(4-(4-(4-(吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮

[0893]



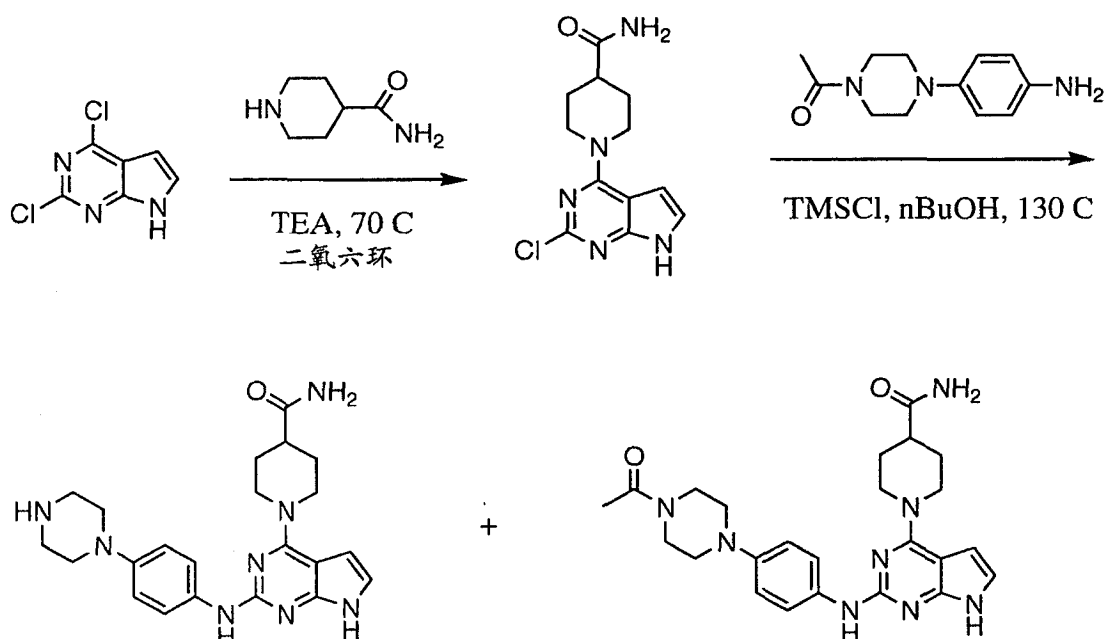
[0894] 将 2,4-二氯代-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶 (100mg, 0.531mmol)、吡咯烷 (0.050mL, 0.600mmol) 和三乙胺 (0.200mL, 1.43mmol) 的二氧六环 (4mL) 混合物于 70℃ 搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 2-氯代-4-(吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶 (116mg)。MS 223.3 和 225.3 (M+H, CI 模式)。

[0895] 将 2-氯代-4-(吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶 (116mg, 0.521mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (200mg, 0.913mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol) 的 n-BuOH (5mL) 混合物于 120℃ 搅拌 20h。真空除去 n-BuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-4-(吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-2-胺 (3mg) (MS 364.5 (M+H)) 和 1-(4-(4-(4-(吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (30mg) (MS 406.5 (M+H))。

[0896] 实施例 23 和 24

[0897] 1-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺和 1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺

[0898]



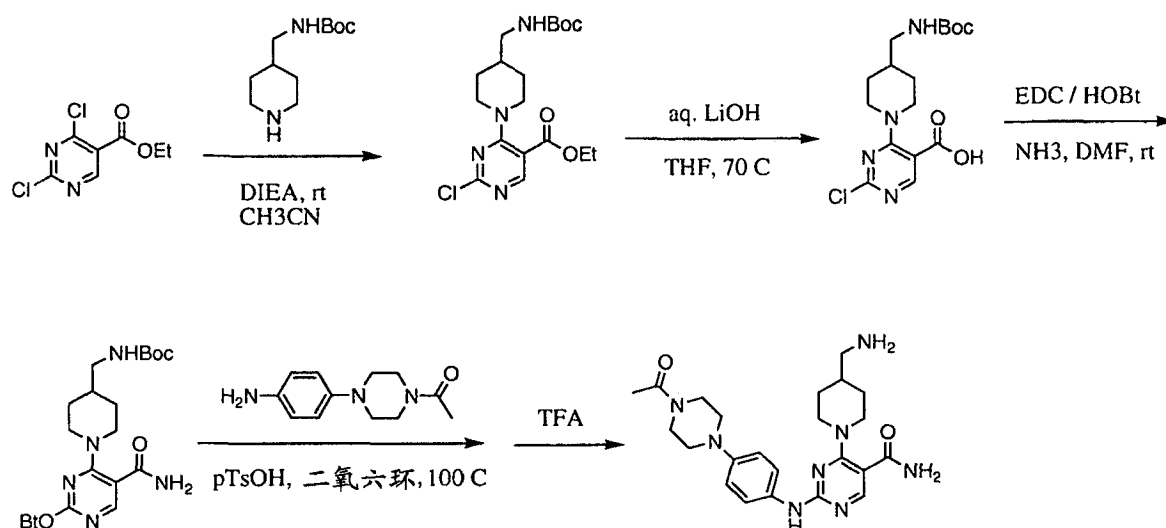
[0899] 将 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (140mg, 0.744mmol)、3-哌啶甲酰胺 (95mg, 0.742mmol) 和三乙胺 (0.300mL, 2.15mmol) 的二氧六环 (4mL) 混合物于 70℃ 搅拌 20h。收集沉淀物并真空干燥, 获得 1-(2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺 (205mg)。MS 280.3 和 282.3 (M+H, CI 模式)。

[0900] 将 1-(2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺 (80mg, 0.28mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (125mg, 0.57mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol) 的 n-BuOH (3mL) 混合物于 130℃ 搅拌 20h。真空除去 n-BuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 1-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺 (4mg) (MS 421.5 (M+H)) 和 1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺 (6mg) (MS 463.5 (M+H); UV 200.0, 272.8nm)。

[0901] 实施例 25

[0902] 2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺

[0903]



[0904] 向 2,4-二氯代嘧啶-5-甲酸乙酯 (221mg, 1.00mmol) 和 DIEA (0.347mL, 2.00mmol) 的 CH_3CN (4mL) 溶液中加入 4-N-Boc-氨基甲基哌啶 (214mg, 1.00mmol) 的 CH_3CN (4mL) 混悬液。将混合物于室温下搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 用 1N HCl 洗涤, 然后用 5% 碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 4-(4-((叔-丁氧基羰基)甲基)哌啶-1-基)-2-氯代嘧啶-5-甲酸乙酯 (368mg)。MS 399.5 和 401.5 (M+H, C1 模式)。

[0905] 向 4-(4-((叔-丁氧基羰基)甲基)哌啶-1-基)-2-氯代嘧啶-5-甲酸乙酯 (368mg, 0.923mmol) 的 THF (5mL) 溶液中加入 aq. 1M LiOH (2.20mL, 2.20mmol)。将其加热至回流 5h。真空除去 THF。采用 HOAc (2mL) 酸化后, 残留物通过 HPLC 纯化, 获得 4-(4-((叔-丁氧基羰基)甲基)哌啶-1-基)-2-氯代嘧啶-5-甲酸 (150mg)。MS 371.4 和 373.4 (M+H, C1 模式)。

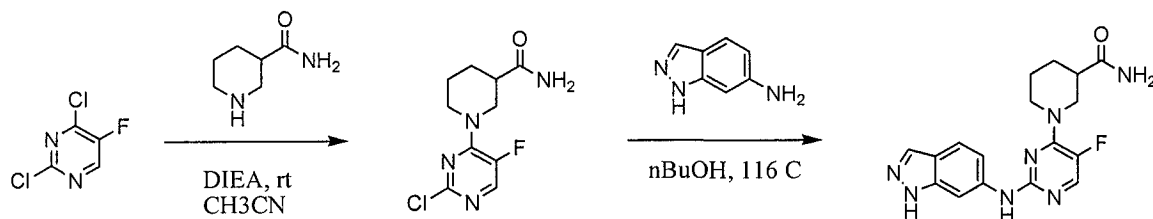
[0906] 向 4-(4-((叔-丁氧基羰基)甲基)哌啶-1-基)-2-氯代嘧啶-5-甲酸 (150mg, 0.40mmol) 和 HOBt (93mg, 0.61mmol) 的 DMF (2mL) 溶液中加入 EDC (116mg, 0.61mmol)。搅拌 90 分钟后, 加入 NH_3 (0.5M 的二氧六环溶液, 4.00mL, 2.00mmol)。将混合物于室温下搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 采用 5% 的碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 (1-(2-(1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基氧基)-5-氨基甲酰基嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (138mg)。MS 469.6 (M+H)。

[0907] 将 (1-(2-(1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基氧基)-5-氨基甲酰基嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (138mg, 0.294mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌啶-1-基)乙酮 (84mg, 0.38mmol) 和对甲苯磺酸 (56mg, 0.294mmol) 的二氧六环 (4mL) 混合物于 100°C 搅拌 3h。真空除去二氧六环。残留物溶于 CH_2Cl_2 (5mL) 和 TFA (5mL)。将溶液于室温下搅拌 30min。然后将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (15mg)。MS 453.6 (M+H); UV 222.8, 263.8nm。

[0908] 实施例 26

[0909] 1-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺

[0910]

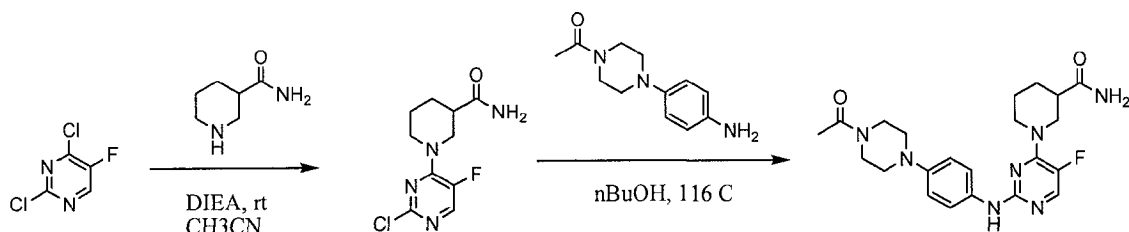


[0911] 将 2,4-二氯代-5-氟嘧啶 (167mg, 1.00mmol)、3-吡啶甲酰胺 (128mg, 1.00mmol) 和 DIEA (0.350mL, 2.01mmol) 的 CH₃CN (4mL) 混合物于室温下搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物溶于 nBuOH (4mL)。向 2mL 该 nBuOH 溶液中加入 6-氨基吲唑 (100mg, 0.75mmol)。将溶液于 116°C 搅拌 6h。真空除去 nBuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (63mg)。MS 356.3 (M+H)⁺; UV 206.8, 249.8, 276.8, 291.8nm。

[0912] 实施例 27

[0913] 1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺

[0914]

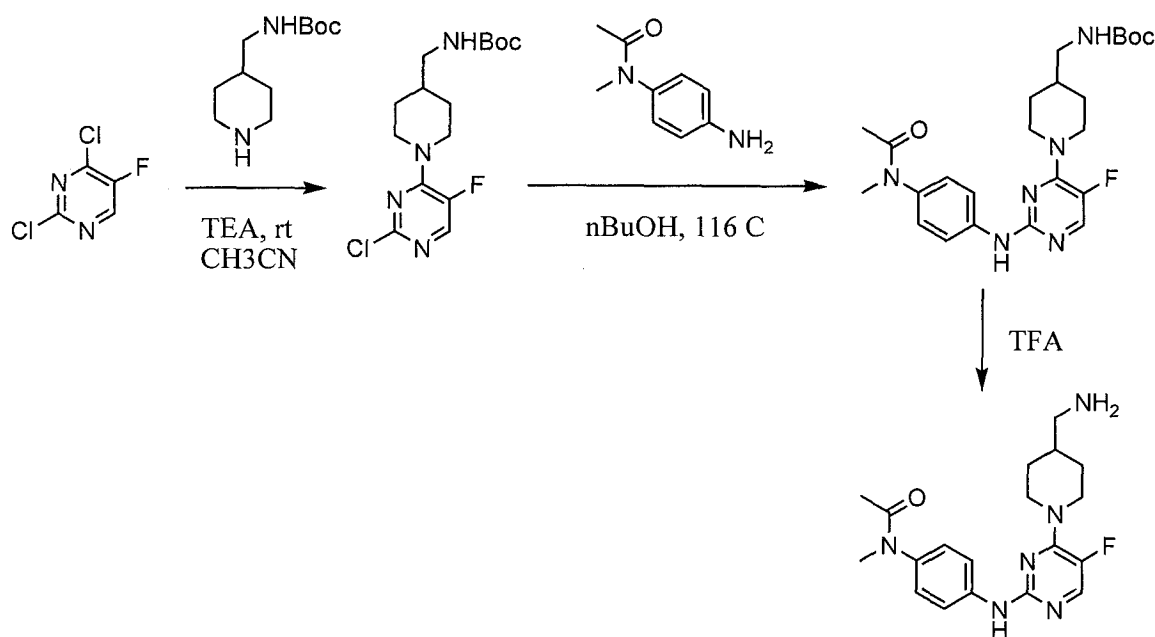


[0915] 将 2,4-二氯代-5-氟嘧啶 (167mg, 1.00mmol)、3-吡啶甲酰胺 (128mg, 1.00mmol) 和 DIEA (0.350mL, 2.01mmol) 的 CH₃CN (4mL) 混合物于室温下搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物溶于 nBuOH (4mL)。向 2mL 该 nBuOH 溶液中加入 1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (150mg, 0.68mmol)。将溶液于 116°C 搅拌 6h。真空除去 nBuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (75mg)。MS 442.4 (M+H)⁺; UV 208.8, 261.8nm。

[0916] 实施例 28 和 29

[0917] (1-(5-氟-2-(4-(N-甲基乙酰氨基)苯基氨基)嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯和 N-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺

[0918]



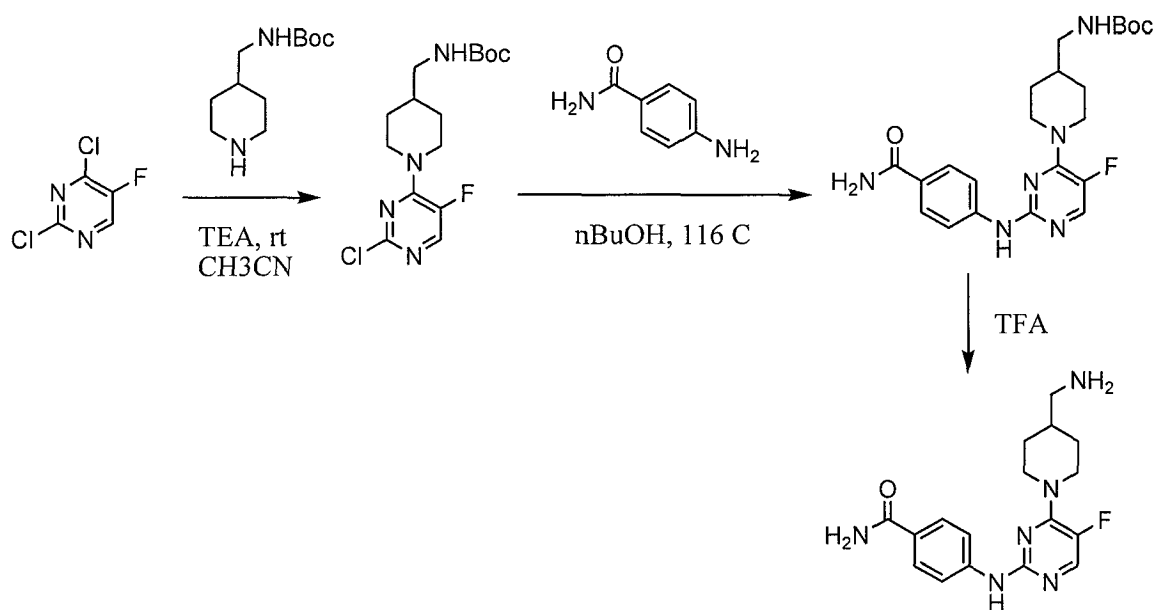
[0919] 将 2,4-二氯代-5-氟嘧啶 (334mg, 2.00mmol)、4-N-Boc-氨基甲基哌啶 (428mg, 2.00mmol) 和 DIEA (0.700mL, 4.02mmol) 的 CH₃CN (8mL) 混合物于室温下搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物溶于 nBuOH (12mL)。向 3mL 该 nBuOH 溶液中加入 N-(4-氨基苯基)-N-甲基乙酰胺 (98mg, 0.60mmol)。将溶液于 116℃ 搅拌 20h。真空除去 nBuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 (1-(5-氟-2-(4-(N-甲基乙酰氨基)苯基氨基)嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (65mg)。MS 473.4 (M+H)⁺; UV 205.8, 262.8nm。

[0920] 将 (1-(5-氟-2-(4-(N-甲基乙酰氨基)苯基氨基)嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (60mg, 0.13mmol) 的 TFA (2mL) 溶液于室温下搅拌 60min。真空除去 TFA。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 N-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺 (25mg)。MS 373.3 (M+H)⁺; UV 201.8, 266.8nm。

[0921] 实施例 30 和 31

[0922] (1-(2-(4-氨基甲酰基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯和 4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺

[0923]



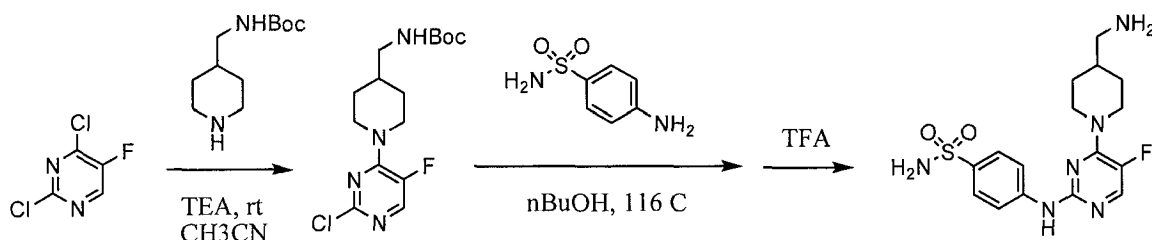
[0924] 将 2,4-二氯代-5-氟嘧啶 (334mg, 2.00mmol)、4-N-Boc-氨基甲基哌啶 (428mg, 2.00mmol) 和 DIEA (0.700mL, 4.02mmol) 的 CH_3CN (8mL) 混合物于室温下搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物溶于 nBuOH (12mL)。向 3mL 该 nBuOH 溶液中加入 4-氨基苯甲酰胺 (82mg, 0.60mmol)。将溶液于 116℃ 搅拌 20h。真空除去 nBuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 (1-(2-(4-氨基甲酰基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (15mg)。MS 445.4 (M+H)⁺; UV 212.0, 282.8nm。

[0925] 将 (1-(2-(4-氨基甲酰基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (10mg, 0.023mmol) 的 TFA (2mL) 溶液于室温下搅拌 60min。真空除去 TFA。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺 (5mg) MS 345.3 (M+H)⁺; UV 210.0, 281.8nm。

[0926] 实施例 32

[0927] 4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯磺酰胺

[0928]



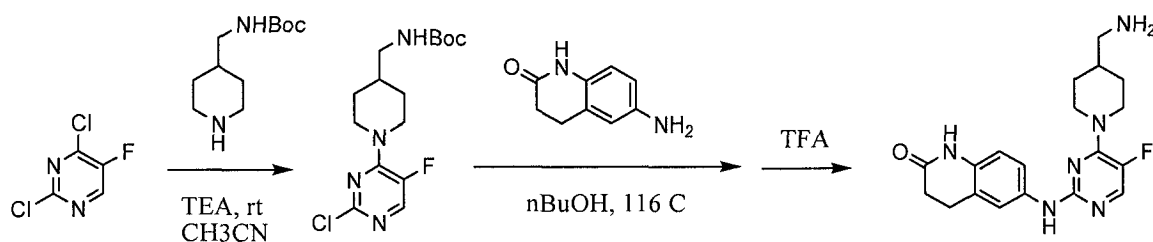
[0929] 将 2,4-二氯代-5-氟嘧啶 (334mg, 2.00mmol)、4-N-Boc-氨基甲基哌啶 (428mg, 2.00mmol) 和 DIEA (0.700mL, 4.02mmol) 的 CH_3CN (8mL) 混合物于室温下搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物溶于 nBuOH (12mL)。向 3mL 该 nBuOH 溶液中加入磺胺 (103mg, 0.60mmol)。将溶液于 116℃ 搅拌 20h。真空除去 nBuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 4-(4-(4-(N-tBoc-氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯磺酰胺 (10mg)。MS 481.3 (M+H)⁺。

[0930] 将 4-(4-(4-(N-tBoc-氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯磺酰胺 (10mg, 0.021mmol) 的 TFA (2mL) 溶液于室温下搅拌 60min。真空除去 TFA。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (5mg) MS 381.3 (M+H)⁺。

[0931] 实施例 33

[0932] 6-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮

[0933]



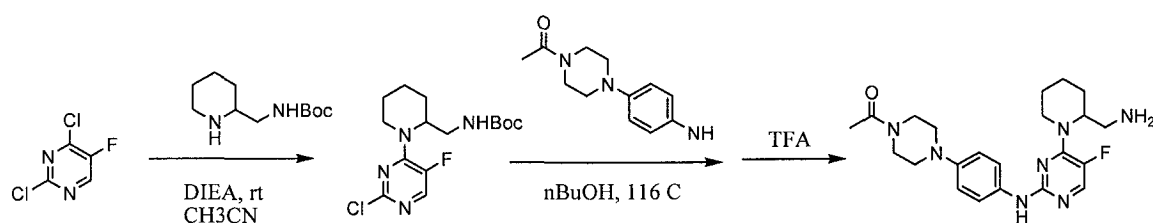
[0934] 将 2,4-二氯代-5-氟嘧啶 (334mg, 2.00mmol)、4-N-Boc-氨基甲基哌啶 (428mg, 2.00mmol) 和 DIEA (0.700mL, 4.02mmol) 的 CH₃CN (8mL) 混合物于室温下搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物溶于 nBuOH (12mL)。向 3mL 该 nBuOH 溶液中加入 6-氨基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮 (98mg, 0.60mmol)。将溶液于 116°C 搅拌 20h。真空除去 nBuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 (1-(5-氟-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (55mg)。MS 471.4 (M+H)。

[0935] 将 (1-(5-氟-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (55mg, 0.12mmol) 的 TFA (3mL) 溶液于室温下搅拌 60min。真空除去 TFA。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (30mg) MS 371.3 (M+H); UV 206.8, 274.8nm。

[0936] 实施例 34

[0937] 1-(4-(4-(4-(2-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮

[0938]



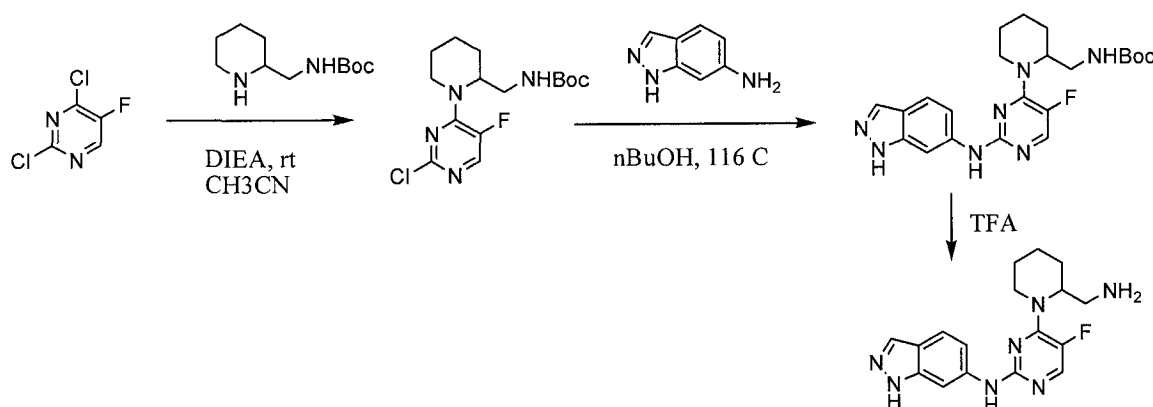
[0939] 将 2,4-二氯代-5-氟嘧啶 (167mg, 1.00mmol)、2-N-Boc-氨基甲基哌啶 (214mg, 1.00mmol) 和 DIEA (0.400mL, 2.30mmol) 的 CH₃CN (4mL) 混合物于室温下搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物溶于 nBuOH (6mL)。向 3mL 该 nBuOH 溶液中加入 1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (142mg, 0.65mmol)。将溶液于 116°C 搅拌 20h。真空除去 nBuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 (1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-2-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (56mg)。MS 528.4 (M+H)。

[0940] 将 (1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-2-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (56mg, 0.11mmol) 的 TFA (3mL) 溶液于室温下搅拌 60min。真空除去 TFA。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (35mg) MS 428.4 (M+H); UV 213.8, 258.8nm。

[0941] 实施例 35 和 36

[0942] (1-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-2-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯

叔-丁基酯和 N-(4-(2-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基)-1H-吡唑-6-胺
[0943]



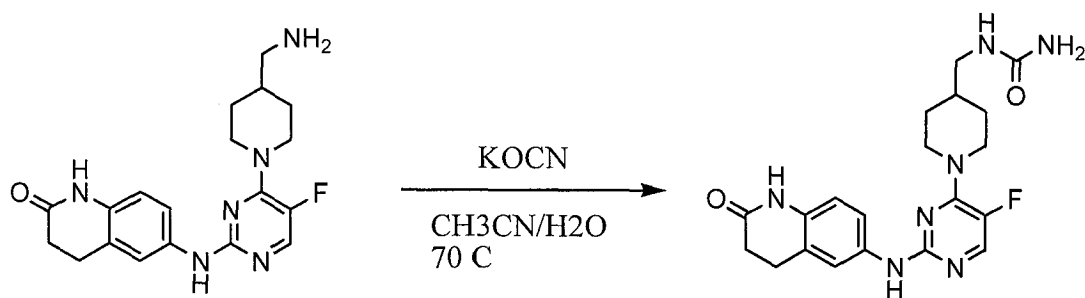
[0944] 将 2,4-二氯代-5-氟嘧啶 (167mg, 1.00mmol)、2-N-Boc-氨基甲基哌啶 (214mg, 1.00mmol) 和 DIEA (0.400mL, 2.30mmol) 的 CH₃CN (4mL) 混合物于室温下搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物溶于 nBuOH (6mL)。向 3mL 该 nBuOH 溶液中加入 6-氨基吡唑 (86mg, 0.65mmol)。将溶液于 116 °C 搅拌 20h。真空除去 nBuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 (1-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-2-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (41mg)。MS 442.3 (M+H)⁺; UV 201.8, 246.8, 281.8nm。

[0945] 将 (1-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-2-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (41mg, 0.093mmol) 的 TFA (4mL) 溶液于室温下搅拌 60min。真空除去 TFA。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 N-(4-(2-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基)-1H-吡唑-6-胺 (25mg) MS 342.3 (M+H)⁺; UV 201.8, 246.8, 278.8nm。

[0946] 实施例 37

[0947] 1-((1-(5-氟-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基)脒

[0948]

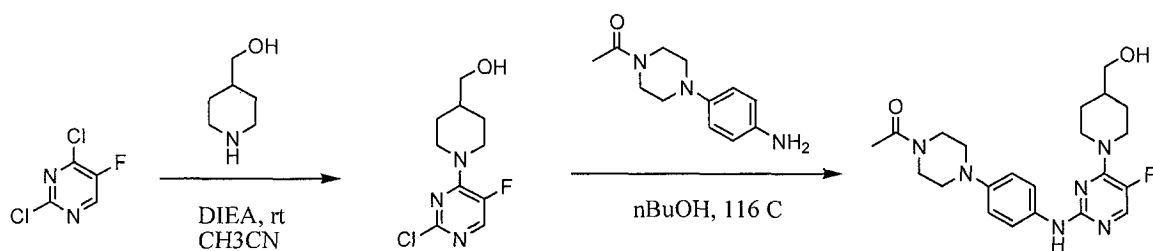


[0949] 向 6-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮 (26mg, 0.070mmol) 的 CH₃CN (1mL) 混悬液中加入氰酸钾 0.42mmol 的 H₂O (1mL) 水溶液。将溶液搅拌 1h。真空除去溶剂。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (8mg)。MS 414.3 (M+H)⁺; UV 205.8, 276.8nm。

[0950] 实施例 38

[0951] 1-(4-(4-(5-氟-4-(4-(羟基甲基)哌啶-1-基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-1-基)乙酮

[0952]

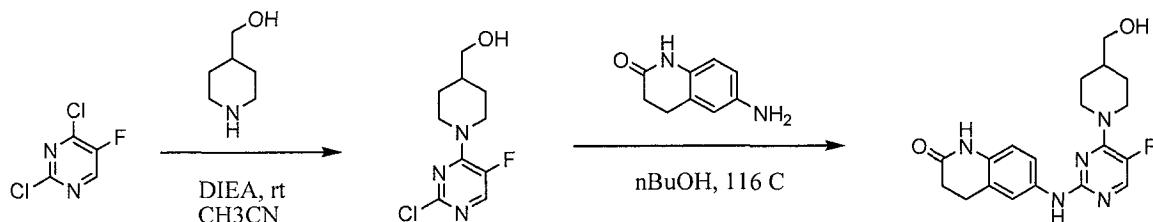


[0953] 将 2,4-二氯代-5-氟嘧啶 (167mg, 1.00mmol)、4-哌啶甲醇 (115mg, 1.00mmol) 和 DIEA (0.400mL, 2.30mmol) 的 CH_3CN (4mL) 混合物于室温下搅拌 2h。将其真空浓缩。残留物溶于 nBuOH (6mL)。向 3mL 该 nBuOH 溶液中加入 1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (120mg, 0.55mmol)。将溶液于 116°C 搅拌 20h。真空除去 nBuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (53mg)。MS 429.3 (M+H)⁺; UV 207.8, 266.8nm。

[0954] 实施例 39

[0955] 6-(5-氟-4-(4-(羟基甲基)哌啶-1-基)嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮

[0956]



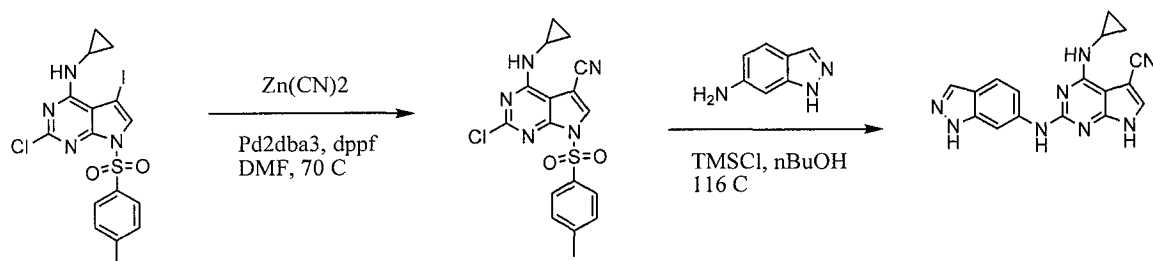
[0957] 将 2,4-二氯代-5-氟嘧啶 (167mg, 1.00mmol)、4-哌啶甲醇 (115mg, 1.00mmol) 和 DIEA (0.400mL, 2.30mmol) 的 CH_3CN (4mL) 混合物于室温下搅拌 2h。将其真空浓缩。残留物溶于 nBuOH (6mL)。向 3mL 该 nBuOH 溶液中加入 6-氨基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮 (88mg, 0.54mmol)。将溶液于 116°C 搅拌 20h。真空除去 nBuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (52mg)。MS 372.3 (M+H)⁺; UV 208.8, 275.8nm。

[0958] 下列化合物根据实施例 5 中所述相似方法制备, 但是在步骤 4 中采用试剂 A 代替环丁基胺。

[0959] 实施例 40

[0960] 2-(1H-吡唑-6-基氨基)-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈

[0961]



[0962] 将 2-氯代-N-环丙基-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (200mg, 0.409mmol)、Pd2dba3 (23mg, 0.025mmol) 和 dppf (45mg, 0.081mmol) 的 DMF (2mL) 溶液采用氩气脱气, 然后加入 $\text{Zn}(\text{CN})_2$ (28mg, 0.24mmol)。将混合物于 70°C 搅拌 2h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 硫酸钠干燥, 真空浓缩。残留物经快速硅胶柱纯化, 采用 EtOAc/己烷

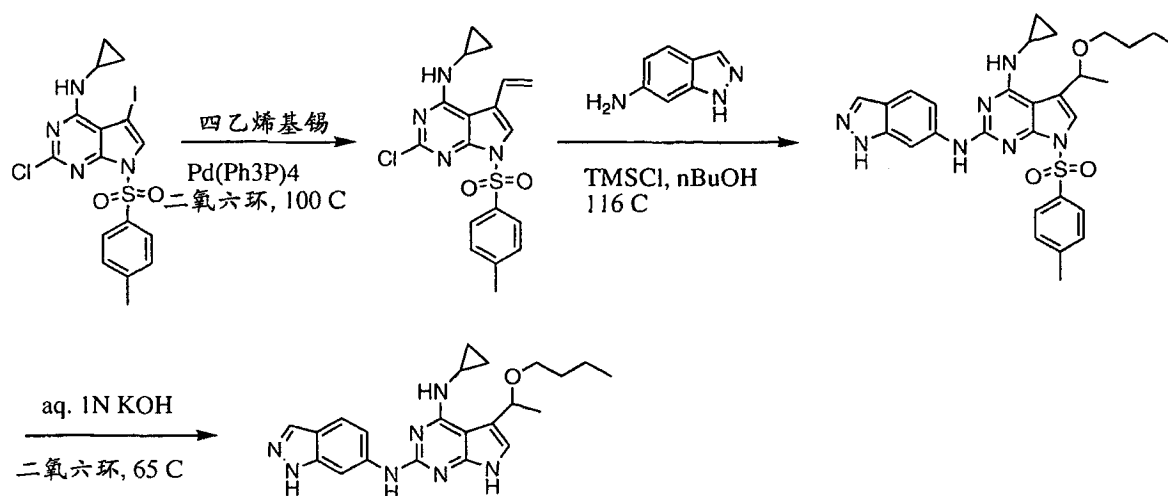
(0-15%) 洗脱, 获得 2-氯代-4-(环丙基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈 (110mg)。

[0963] 将 2-氯代-4-(环丙基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈 (109mg, 0.28mmol)、6-氨基吡啶 (75mg, 0.56mmol) 和 TMSCl (0.089mL, 0.70mmol) 的 nBuOH (4mL) 混合物于 116℃ 搅拌 18h。然后将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (6mg)。MS 331.1 (M+H)⁺; UV 246.2, 307.9nm。

[0964] 实施例 41

[0965] 5-(1-丁氧基乙基)-N4-环丙基-N2-(1H-吡啶-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺

[0966]



[0967] 将 2-氯代-N-环丙基-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (190mg, 0.389mmol) 的二氧六环 (3mL) 溶液采用氩气脱气, 然后加入四乙基锡 (0.105mL, 0.576mmol) 和 Pd(PPh₃)₄ (41mg, 0.035mmol)。将混合物于 100℃ 搅拌 3h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 硫酸钠干燥, 真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 2-氯代-N-环丙基-7-甲苯磺酰基-5-乙基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (39mg)。

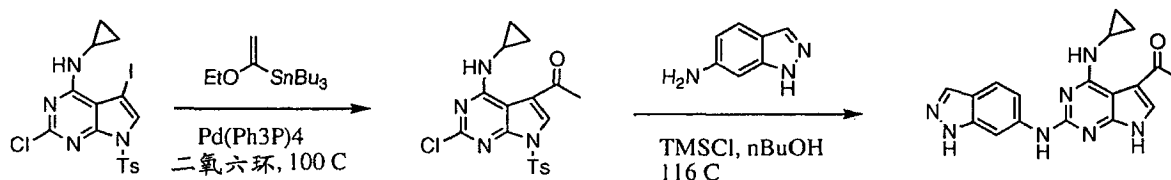
[0968] 将 2-氯代-N-环丙基-7-甲苯磺酰基-5-乙基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (39mg, 0.10mmol)、6-氨基吡啶 (40mg, 0.30mmol) 和 TMSCl (0.050mL, 0.40mmol) 的 nBuOH (1mL) 混合物于 116℃ 搅拌 18h。然后将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 5-(1-丁氧基乙基)-N4-环丙基-N2-(1H-吡啶-6-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺 (20mg)。

[0969] 向 5-(1-丁氧基乙基)-N4-环丙基-N2-(1H-吡啶-6-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺 (20mg, 0.036mmol) 的二氧六环 (2mL) 溶液中加入 aq. 1N KOH (1.0mL, 1.0mmol)。将混合物于 65℃ 搅拌 18h。真空浓缩后, 残留物采用 HOAc (1mL) 酸化; 然后将其通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (3mg)。MS 406.2 (M+H)⁺; UV 203.8, 223.8, 243.8, 315.0nm。

[0970] 实施例 42

[0971] 1-(2-(1H-吡啶-6-基氨基)-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基) 乙酮

[0972]



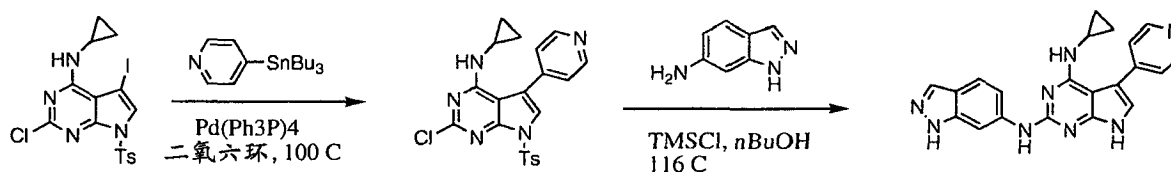
[0973] 将 2-氯代-N-环丙基-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(489mg, 1.00mmol)的二氧六环(6mL)溶液采用氩气脱气, 然后加入三丁基(乙氧基乙烯基)锡(0.371mL, 1.10mmol)和 $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (90mg, 0.078mmol)。将混合物于 100℃ 搅拌 18h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 硫酸钠干燥, 真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 1-(2-氯代-4-(环丙基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙酮(185mg)。

[0974] 将 1-(2-氯代-4-(环丙基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙酮(85mg, 0.21mmol)、6-氨基吡啶(56mg, 0.42mmol)和 TMSCl(0.070mL, 0.55mmol)的 nBuOH(3mL)混合物于 116℃ 搅拌 18h。然后将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物(30mg)。MS 348.1 (M+H)⁺; UV 248.7, 305.7nm。

[0975] 实施例 43

[0976] N4-环丙基-N2-(1H-吡啶-6-基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺

[0977]



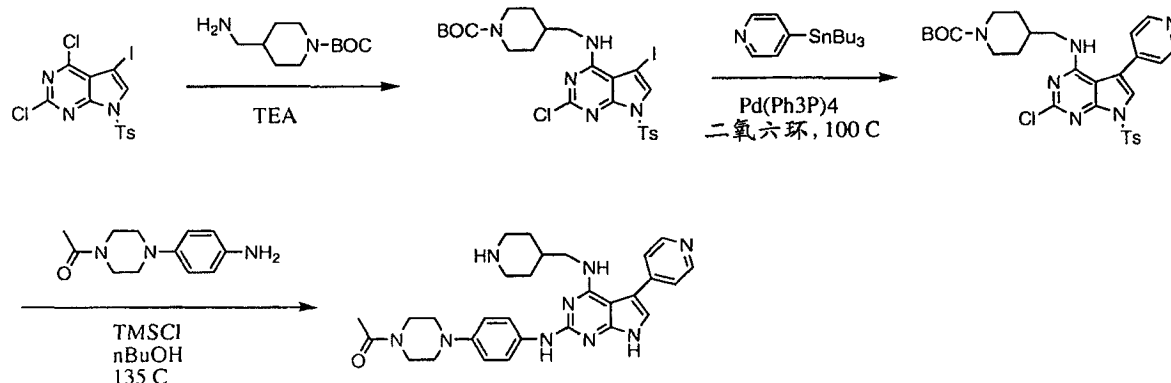
[0978] 将 2-氯代-N-环丙基-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(225mg, 0.460mmol)的二氧六环(3mL)溶液采用氩气脱气, 然后加入 4-三丁基甲锡烷基吡啶(371mg, 1.01mmol)和 $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (98mg, 0.085mmol)。将混合物于 100℃ 搅拌 18h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 硫酸钠干燥, 真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 2-氯代-N-环丙基-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(51mg)。

[0979] 将 2-氯代-N-环丙基-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(51mg, 0.12mmol)、6-氨基吡啶(31mg, 0.23mmol)和 TMSCl(0.040mL, 0.32mmol)的 nBuOH(2mL)混合物于 116℃ 搅拌 18h。然后将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物(12mg)。MS 383.2 (M+H)⁺; UV 204.9, 250.9, 307.9nm。

[0980] 实施例 44

[0981] 1-(4-(4-(4-(哌啶-4-基甲基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮

[0982]



[0983] 将 2,4-二氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(244mg, 0.520mmol)、1-N-BOC-4-氨基甲基哌啶盐酸盐(130mg, 0.520mmol)和 TEA(0.200mL, 1.44mmol)的 CH_3CN (6mL)混合物于室温下搅拌 16h。加入水和 EtOAc。分离有机相,用 1N HCl 洗涤,然后用 5%碳酸氢钠洗涤,硫酸钠干燥,真空浓缩,获得 4-((2-氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)甲基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(336mg)。

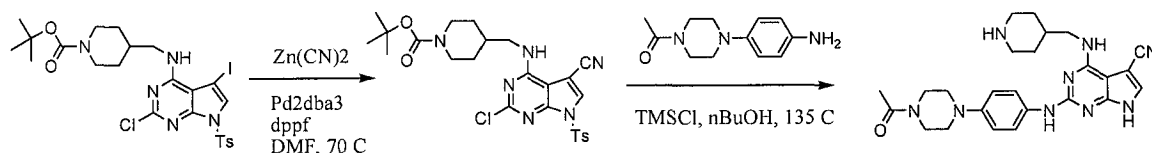
[0984] 将 4-((2-氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)甲基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(336mg, 0.520mmol)的二氧六环(4mL)溶液采用氩气脱气,然后加入 4-三丁基甲锡烷基吡啶(452mg, 1.23mmol)和 $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (110mg, 0.095mmol)。将混合物于 100℃搅拌 4h。加入水和 EtOAc。分离有机相,硫酸钠干燥,真空浓缩。残留物经快速柱色谱纯化,采用 EtOAc/己烷(0-100%)洗脱,获得 4-((2-氯代-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)甲基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(90mg)。

[0985] 将 4-((2-氯代-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)甲基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(90mg, 0.15mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮(66mg, 0.30mmol)和 TMSCl(0.100mL, 0.79mmol)的 nBuOH(4mL)混合物于 135℃搅拌 68h。然后将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化,获得目标化合物(26mg)。MS 526.47(M+H); UV 202.6, 259.2, 304.3nm。

[0986] 实施例 45

[0987] 2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(哌啶-4-基甲基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈

[0988]



[0989] 将 4-((2-氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)甲基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(360mg, 0.557mmol)、 Pd_2dba_3 (50mg, 0.055mmol)和 dppf(62mg, 0.11mmol)的 DMF(5mL)溶液采用氩气脱气,然后加入 $\text{Zn}(\text{CN})_2$ (80mg, 0.68mmol)。将混合物于 70℃搅拌 18h。加入水和 EtOAc。分离有机相,硫酸钠干燥,真空浓缩。残留物经快速硅胶柱纯化,采用 EtOAc/己烷(0-35%)洗脱,获得 4-((2-氯代-5-氰基-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)甲基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(127mg)。

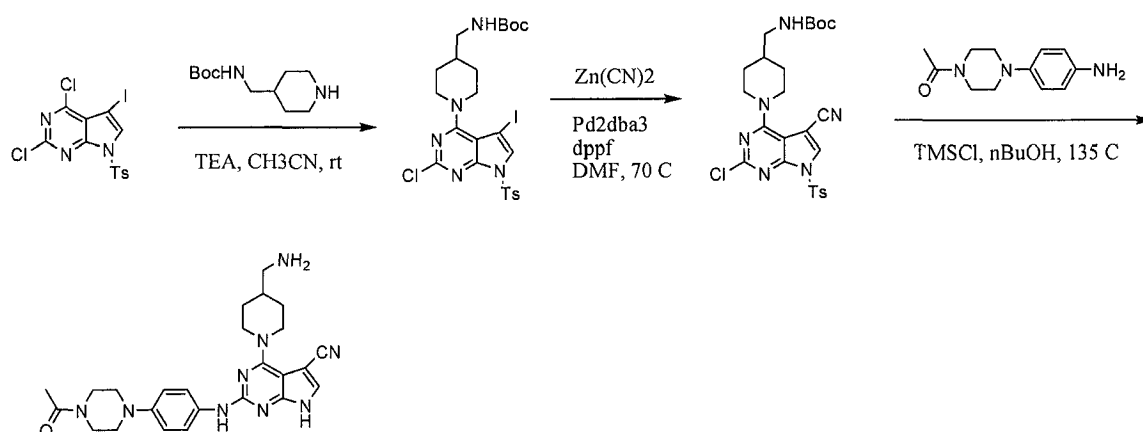
[0990] 将 4-((2-氯代-5-氰基-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)

甲基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(127mg, 0.233mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮(100mg, 0.456mmol)和 TMSCl (0.200mL, 1.58mmol) 的 nBuOH(5mL) 混合物于 135℃ 搅拌 68h。然后将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (25mg)。MS 475 (M+H); UV 204.9, 265.1, 297.2nm。

[0991] 实施例 46

[0992] 2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈

[0993]



[0994] 将 2,4-二氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (310mg, 0.662mmol)、4-N-BOC-氨基甲基哌啶 (142mg, 0.663mmol) 和 TEA (0.200mL, 1.44mmol) 的 CH₃CN (10mL) 混合物于室温下搅拌 16h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 用 1N HCl 洗涤, 然后用 5% 碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 (1-(2-氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (418mg)。

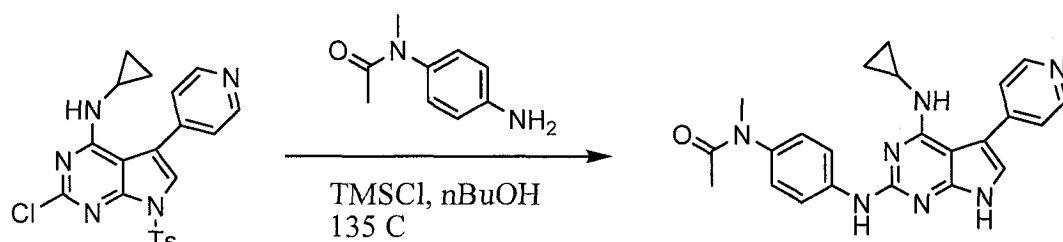
[0995] 将 (1-(2-氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (418mg, 0.647mmol)、Pd₂dba₃ (60mg, 0.065mmol) 和 dppf (72mg, 0.13mmol) 的 DMF (5mL) 溶液采用氩气脱气, 然后加入 Zn(CN)₂ (91mg, 0.78mmol)。将混合物于 70℃ 搅拌 18h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 硫酸钠干燥, 真空浓缩。残留物经快速硅胶柱纯化, 采用 EtOAc/己烷 (10-30%) 洗脱, 获得 (1-(2-氯代-5-氰基-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (180mg)。

[0996] 将 (1-(2-氯代-5-氰基-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (180mg, 0.330mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (137mg, 0.625mmol) 和 TMSCl (0.300mL, 2.37mmol) 的 nBuOH (5mL) 混合物于 135℃ 搅拌 48h。然后将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (25mg)。MS 474.5 (M+H)。

[0997] 实施例 47

[0998] N-(4-(4-(环丙基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺

[0999]

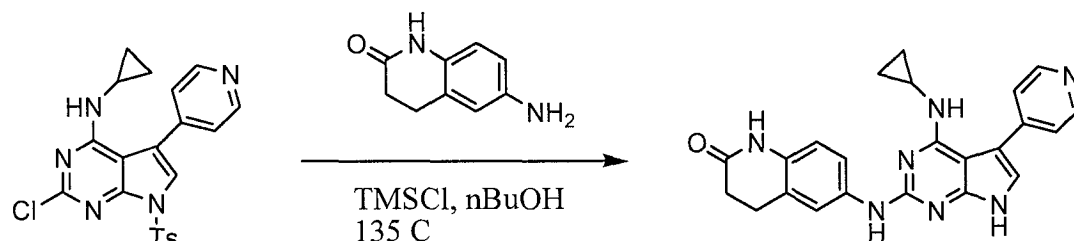


[1000] 将 2-氯代-N-环丙基-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (85mg, 0.19mmol)、N-(4-氨基苯基)-N-甲基乙酰胺 (72mg, 0.44mmol) 和 TMSCl (0.100mL, 0.79mmol) 的 nBuOH (3mL) 混合物于 135℃ 搅拌 18h。然后将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (25mg)。MS 414.3 (M+H)⁺; UV 202.8, 280.8nm。

[1001] 实施例 48

[1002] 6-(4-(环丙基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮

[1003]

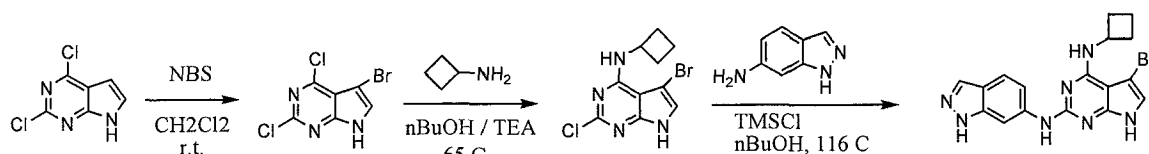


[1004] 将 2-氯代-N-环丙基-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (85mg, 0.19mmol)、6-氨基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮 (70mg, 0.43mmol) 和 TMSCl (0.100mL, 0.79mmol) 的 nBuOH (3mL) 混合物于 135℃ 搅拌 18h。加入更多的 TMSCl (0.200mL)。于 135℃ 再继续搅拌 68h。然后将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (5mg)。MS 412.3 (M+H)⁺; UV 201.8, 295.8nm。

[1005] 实施例 49

[1006] 5-溴-N4-环丁基-N2-(1H-吡唑-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺

[1007]



[1008] 于室温下, 向 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (105mg, 0.560mmol) 的 CH₂Cl₂ (7mL) 混悬液中加入 NBS (109mg, 0.610mmol)。将混合物于室温下搅拌 18h。真空除去 CH₂Cl₂。残留物在水和 EtOAc 之间分配。分离有机相, 采用 5% 的碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 5-溴-2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (142mg)。

[1009] 将 5-溴-2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (142mg, 0.530mmol)、环丁基胺 (0.090mL, 1.06mmol) 和 TEA (0.150mL, 1.08mmol) 的 nBuOH (6mL) 溶液于 70℃ 搅拌 18h。加入 CH₂Cl₂ 和 H₂O。分离有机相, 采用 5% 的碳酸氢钠洗涤, 然后采用 1N HCl 洗涤, 硫酸钠干

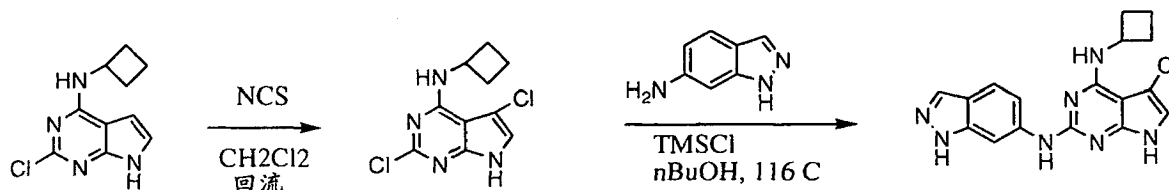
干燥,真空浓缩,获得 5-溴-2-氯代-N-环丁基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(154mg)。

[1010] 将 5-溴-2-氯代-N-环丁基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(64mg,0.21mmol)、6-氨基吲唑(56mg,0.42mmol)和 TMSCl(0.050mL,0.40mmol)的 nBuOH(2mL)混合物于 116℃ 搅拌 4h。然后将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化,获得样品,将其经制备性薄层色谱纯化,采用 CH₂Cl₂/MeOH(95/5)作为展开剂,获得目标化合物(1mg)。MS 398.3,400.3(M+H,Br 模式);UV 203.8,247.4,309.1nm。

[1011] 实施例 50

[1012] 5-氯代-N4-环丁基-N2-(1H-吲唑-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺

[1013]



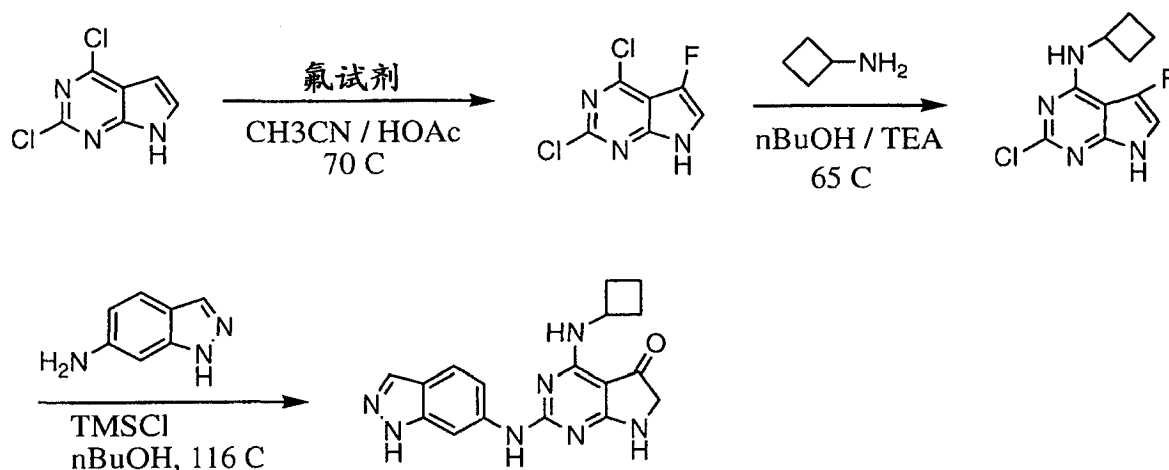
[1014] 于室温下,向 2-氯代-N-环丁基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(102mg,0.460mmol)的 CH₂Cl₂(5mL)混悬液中加入 NCS(68mg,0.51mmol)。将混合物回流 18h。真空浓缩后,残留物通过 HPLC 纯化,获得 2,5-二氯代-N-环丁基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(23mg)。

[1015] 将 2,5-二氯代-N-环丁基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(23mg,0.089mmol)、6-氨基吲唑(40mg,0.30mmol)和 TMSCl(0.040mL,0.32mmol)的 nBuOH(2mL)混合物于 116℃ 搅拌 18h。然后将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化,获得目标化合物(8mg)。MS 354.0,356.0(M+H,Cl 模式);UV 201.4,246.2,307.9nm。

[1016] 实施例 51

[1017] 2-(1H-吲唑-6-基氨基)-4-(环丁基氨基)-6,7-二氢吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-酮

[1018]



[1019] 将 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(200mg,1.06mmol)和氟试剂(SelectFluor)(560mg,1.58mmol)在 CH₃CN(5mL)和 HOAc(1mL)中的混合物于 70℃ 搅拌 18h。然后将混合物真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化,获得 2,4-二氯代-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(50mg)。

[1020] 将 2,4-二氯代-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(50mg,0.24mmol)、环丁基胺

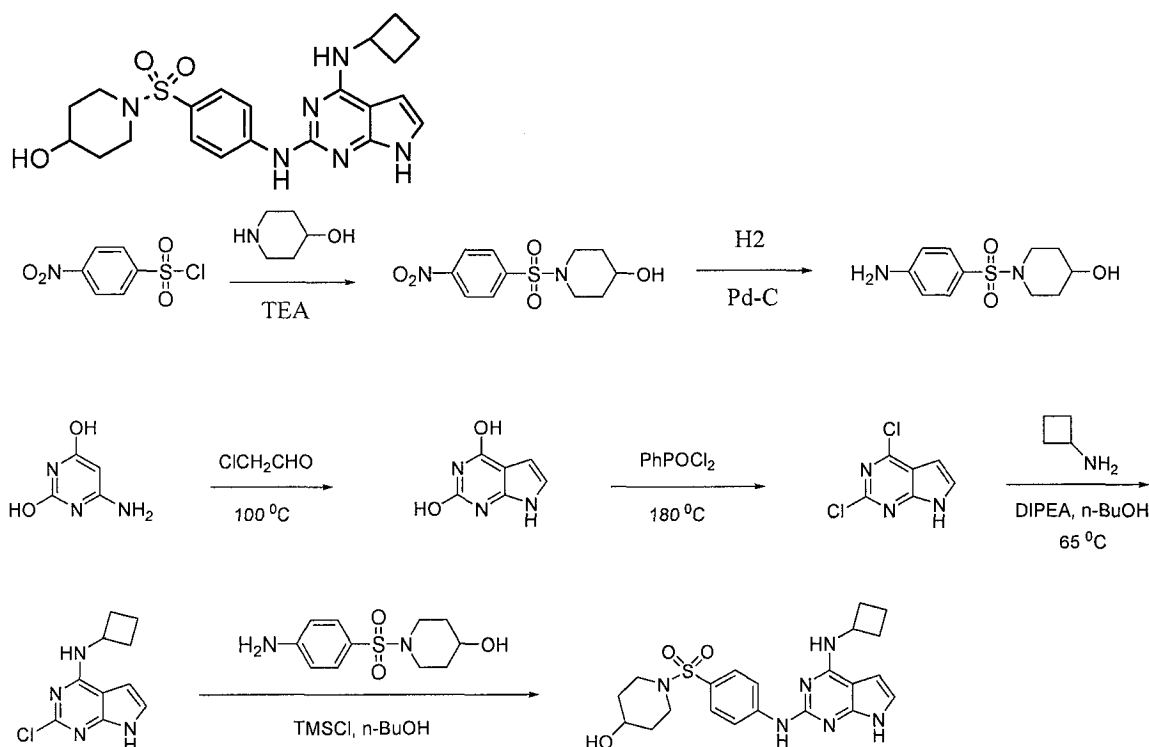
(0.041mL, 0.48mmol) 和 TEA (0.070mL, 0.50mmol) 的 nBuOH (2mL) 溶液于 70℃ 搅拌 5h。加入 CH_2Cl_2 和 H_2O 。分离有机相, 采用 5% 的碳酸氢钠洗涤, 然后采用 1N HCl 洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 2-氯代-N-环丁基-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (54mg)。

[1021] 将 2-氯代-N-环丁基-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (54mg, 0.22mmol)、6-氨基吡啶 (90mg, 0.68mmol) 和 TMSCl (0.090mL, 0.71mmol) 的 nBuOH (3mL) 混合物于 116℃ 搅拌 18h。然后将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得样品, 将其经制备性薄层色谱进一步纯化, 采用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (95/5) 作为展开剂, 获得目标化合物 (2mg)。MS 336.1 (M+H)。

[1022] 实施例 52

[1023] 1-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基磺酰基)哌啶-4-醇

[1024]



[1025] 于室温下, 向 4-硝基苯磺酰氯 (512mg, 2.31mmol) 的 CH_2Cl_2 (8mL) 溶液中加入 4-羟哌啶 (404mg, 4.00mmol)。再加入三乙基胺 (0.400mL, 2.88mmol)。将混合物于室温搅拌过夜。加入水和 EtOAc。分离有机相, 用 1N HCl 洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得为固体的 1-(4-硝基苯基磺酰基)哌啶-4-醇 (559mg)。

[1026] 将该固体 (559mg, 1.95mmol) 和 Pd-C (10%, 90mg) 的含有 HOAc (0.15mL) 的 MeOH (15mL) 溶液在氢气环境中氢化。通过硅藻土过滤。滤液真空浓缩, 获得为固体的 1-(4-氨基苯基磺酰基)哌啶-4-醇 (491mg)。

[1027] 向 6-氨基尿嘧啶 (15.0g, 0.118mol) 的 H_2O (600mL) 混悬液中加入 NaOAc (15.0g, 0.183mol) 和 ClCH_2CHO (50% 的 H_2O 溶液, 30mL)。将混合物于回流下加热 4h, 冷却至室温。过滤收集获得的深棕色沉淀物, 获得粗品 7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二醇 (14.4g, 收率 81%)。

[1028] 将 7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二醇 (2.25g, 0.015mol) 的 PhPOCl_2 混悬液于

165℃搅拌 3h, 于 180℃再搅拌 3h, 获得黑色浆状物缓慢倒入冰水中, 滤出黑色沉淀物, 滤液用乙醚萃取。合并醚层, 采用饱和 NaHCO_3 、盐水洗涤, 硫酸钠干燥并浓缩, 获得 2, 4-二氯代-7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶 (0.800g, 收率 28%)。

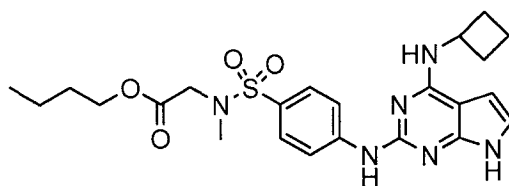
[1029] 向 2, 4-二氯代-7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶 (0.765g, 4.05mmol) 的 n-BuOH (7.5mL) 混悬液中加入环丁基胺 (0.415mL, 4.86mmol) 和 DIPEA (0.865mL, 4.86mmol)。将混合物于 65℃加热 4h, 然后将其冷却至室温。混合物采用 CHCl_3 稀释, 采用水、sat. NaHCO_3 、盐水洗涤, 干燥并浓缩, 获得粗品 2-氯代-N-环丁基-7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-胺 (0.800g, 88%), 它无需纯化可以直接用于下一步骤。

[1030] 最后偶合步骤的通用方法: 将 2-氯代-N-基-7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-胺 (80mg, 0.36mmol)、1-(4-氨基苯基磺酰基) 哌啶-4-醇 (138mg, 0.54mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.030mL, 0.24mmol) 的 nBuOH (2mL) 混合物于 116℃搅拌 4h。混合物通过反相 HPLC 纯化, 采用 10-55% CH_3CN 的水溶液作为洗脱液梯度洗脱 10 分钟, 获得粉末 (8mg)。MS 443.1 (M+H); UV 228.5, 306.7nm。

[1031] 实施例 53

[1032] 2-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-2-基氨基)-N-甲基苯基磺酰氨基) 乙酸丁基酯

[1033]

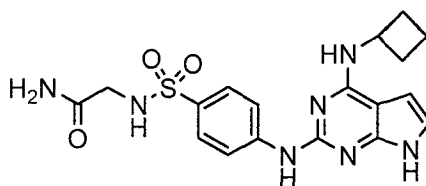


[1034] 根据实施例关于 1-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-2-基氨基) 苯基磺酰基) 哌啶-4-醇中所述相似方法, 制备目标化合物。MS 487.0 (M+H); UV 206.1, 311.5nm。

[1035] 实施例 54

[1036] 2-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-2-基氨基) 苯基磺酰氨基) 乙酰胺

[1037]

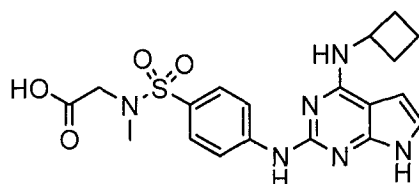


[1038] 根据实施例关于 1-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-2-基氨基) 苯基磺酰基) 哌啶-4-醇中所述相似方法, 制备目标化合物。MS 416.1 (M+H); UV 202.6, 227.3, 311.5nm。

[1039] 实施例 55

[1040] 2-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-2-基氨基)-N-甲基苯基磺酰氨基) 乙酸

[1041]

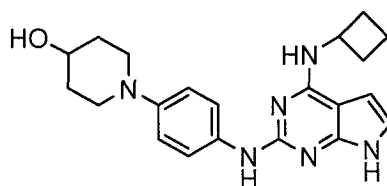


[1042] 向 2-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-N-甲基苯基磺酰氨基)乙酸丁基酯 (15mg, 0.031mmol) 的 MeOH (2mL) 溶液中加入 1N NaOH 水溶液 (1.00mL, 1.00mmol)。将混合物于室温下搅拌 3h。加入冰 HOAc (0.20mL) 中和 NaOH。当加入水时,析出沉淀,过滤收集沉淀,获得目标化合物 (3mg)。MS 431.0 (M+H)⁺; UV 206.1, 312.7nm。

[1043] 实施例 56

[1044] 1-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-4-醇

[1045]



[1046] 将 1-氟-4-硝基苯 (0.588mL, 5.55mmol)、4-羟基哌啶 (0.560g, 5.54mmol) 和 K₂CO₃ (1.50g, 10.9mmol) 的 DMF (10mL) 于室温搅拌过夜。加入水诱导沉淀生成。过滤收集黄色固体 (0.90g)。

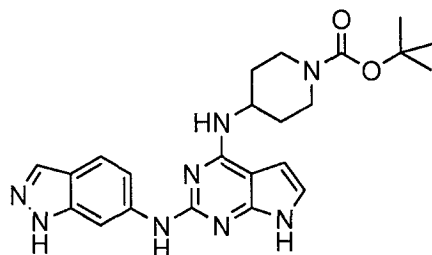
[1047] 将该黄色固体 (0.90g, 4.05mmol) 和 Pd-C (10%, 120mg) 的含有 6N HCl (0.20mL) 的 MeOH (20mL) 混合物在氢气环境中氢化过夜。通过硅藻土过滤。滤液真空浓缩,获得为固体的 1-(4-氨基苯基)哌啶-4-醇 (0.841g)。

[1048] 将 2-氯代-N-环丁基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (80mg, 0.36mmol)、1-(4-氨基苯基)哌啶-4-醇 (104mg, 0.54mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.030mL, 0.24mmol) 的 nBuOH (2mL) 混合物于 116℃ 搅拌 3h。混合物通过反相 HPLC 纯化,采用 5-40% CH₃CN 的水溶液作为洗脱液梯度洗脱 10min,获得粉末 (5mg)。MS 379.2 (M+H)⁺; UV 204.9, 229.6, 272.2, 305.5nm。

[1049] 实施例 57

[1050] 4-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)哌啶-1-甲酸叔丁基酯

[1051]



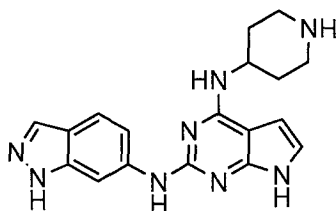
[1052] 将 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (220mg, 1.17mmol)、4-氨基-N-BOC-哌啶 (280mg, 1.40mmol) 和三乙胺 (0.400mL, 2.88mmol) 的 nBuOH (8mL) 混合物于 70℃ 搅拌过夜。混合物通过 HPLC 纯化,获得粉末 (87mg)。

[1053] 将该粉末 (40mg, 0.11mmol)、6-氨基吡唑 (40mg, 0.30mmol) 和三甲基甲硅烷基氯

(0.020mL, 0.16mmol) 的 nBuOH(2mL) 混合物于 116℃ 搅拌过夜。混合物通过反相 HPLC 纯化, 采用 20-65% CH₃CN 的水溶液作为洗脱液梯度洗脱 10min, 获得粉末 (5mg)。MS 449.0 (M+H)⁺; UV 204.9, 242.6, 307.9nm。

[1054] 实施例 58

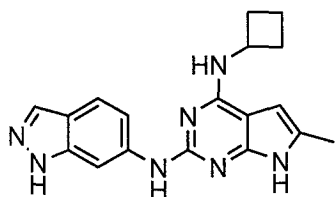
[1055] N2-(1H-吡啶-6-基)-N4-(哌啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺
[1056]



[1057] 将 4-(2-(1H-吡啶-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯 (4mg, 0.009mmol) 的 TFA(1mL) 溶液于室温下搅拌 2h。将其真空浓缩。残留物通过反相 HPLC 纯化, 采用 3-30% CH₃CN 的水溶液作为洗脱液梯度洗脱 10min, 获得粉末 (1mg)。MS 349.0 (M+H)⁺; UV 201.4, 242.6, 306.7nm。

[1058] 实施例 59

[1059] N4-环丁基-N2-(1H-吡啶-6-基)-6-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺
[1060]



[1061] 将 6-氨基尿嘧啶 (1.00g, 7.87mmol)、乙酸钠 (1.00g, 12.2mmol) 和氯代丙酮 (95%, 1.00mL, 11.9mmol) 的 H₂O(40mL) 混合物回流加热 72h。收集固体, 真空干燥, 获得 6-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺 (495mg)。

[1062] 将 6-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺 (490mg, 2.97mmol) 的苯膦酰二氯 (phenylphosphonic dichloride) (10mL) 混合物于 180℃ 加热 5h。将其倒入冰中。加入 Et₂O(100mL)。分离有机相, 采用 5% 的碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得为固体的 2,4-二氯代-6-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (380mg)。

[1063] 将 2,4-二氯代-6-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (190mg, 0.94mmol)、环丁基胺 (0.160mL, 1.88mmol) 和三乙胺 (0.200mL, 1.44mmol) 的 nBuOH(6mL) 溶液于 70℃ 搅拌过夜。然后将其通过 HPLC 纯化, 获得 2-氯代-N-环丁基-6-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (100mg)。

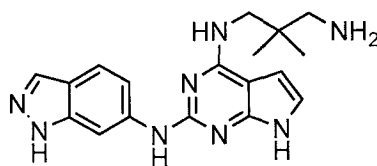
[1064] 将 2-氯代-N-环丁基-6-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (55mg, 0.23mmol)、6-氨基吡啶 (62mg, 0.46mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.040mL, 0.31mmol) 的 nBuOH(2mL) 混合物于 116℃ 加热过夜。然后将其通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (6mg)。MS 334.4 (M+H)⁺; UV 239.1, 316.2nm。

[1065] 实施例 60

[1066] N4-(3-氨基-2,2-二甲基丙基)-N2-(1H-吡啶-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧

啉-2,4-二胺

[1067]

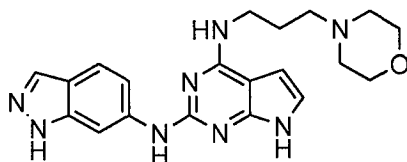


[1068] 向在圆底烧瓶中的固体形式的 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (170mg, 0.904mmol) 中加入 2,2-二甲基-1,3-丙二胺 (0.325mL, 2.71mmol) 和三乙胺 (0.150mL, 1.08mmol) 的 nBuOH(4mL) 溶液。将混合物于 70℃ 加热 3h。然后将其通过 HPLC 纯化, 获得为固体的 N-(3-氨基-2,2-二甲基丙基)-2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (212mg)。

[1069] 将 N-(3-氨基-2,2-二甲基丙基)-2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (70mg, 0.28mmol)、6-氨基吡啶 (93mg, 0.70mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.100mL, 0.72mmol) 的 nBuOH(2mL) 混合物于 116℃ 加热过夜。然后将其通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (15mg)。MS 351.4(M+H)⁺; UV 206.1, 242.6, 304.3nm。

[1070] 实施例 61

[1071] N2-(1H-吡啶-6-基)-N4-(3-吗啉代丙基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺
[1072]

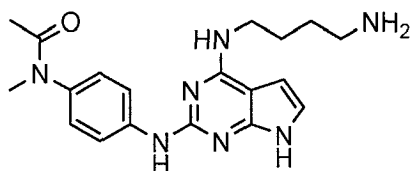


[1073] 将 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (105mg, 0.56mmol)、3-吗啉代丙基胺 (0.164mL, 1.12mmol) 和三乙胺 (0.150mL, 1.08mmol) 的 nBuOH(3mL) 溶液于 60℃ 搅拌过夜。然后将其通过 HPLC 纯化, 获得为固体的 2-氯代-N-(3-吗啉代丙基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (204mg)。

[1074] 将 2-氯代-N-(3-吗啉代丙基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (65mg, 0.22mmol)、6-氨基吡啶 (80mg, 0.60mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.100mL, 0.72mmol) 的 nBuOH(3mL) 混合物于 116℃ 加热过夜。然后将其通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (16mg)。MS 393.5(M+H)⁺; UV 217.9, 239.1, 309.1nm。

[1075] 实施例 62

[1076] N-(4-(4-(4-氨基丁基氨基))-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺
[1077]



[1078] 将 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (100mg, 0.53mmol)、1,4-二氨基丁烷 (0.125mL, 1.25mmol) 和三乙胺 (0.150mL, 1.08mmol) 的 nBuOH(4mL) 溶液于 70℃ 搅拌 4h。然后将其通过 HPLC 纯化, 获得为固体的 N-(4-氨基丁基)-2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶

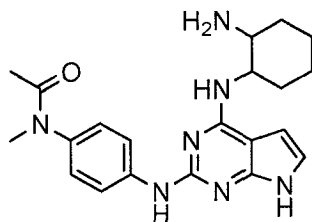
啉-4-胺 (63mg)。

[1079] 将N-(4-氨基丁基)-2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啉-4-胺 (63mg, 0.26mmol)、N-(4-氨基苯基)-N-甲基乙酰胺 (81mg, 0.49mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.067mL, 0.52mmol) 的nBuOH(3mL) 混合物于116℃加热4h。然后将其通过HPLC纯化, 获得目标化合物 (5mg)。MS 368.2(M+H); UV 203.8, 268.7, 301.9nm。

[1080] 实施例 63

[1081] N-(4-(4-(2-氨基环己基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啉-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺

[1082]



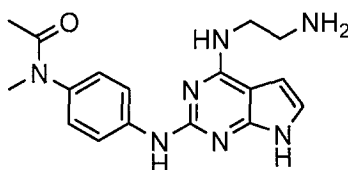
[1083] 将2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啉 (100mg, 0.53mmol)、顺式-1,2-二氨基环己烷 (0.107mL, 0.91mmol) 和三乙胺 (0.150mL, 1.08mmol) 的nBuOH(4mL) 溶液于70℃搅拌4h。然后将其通过HPLC纯化, 获得为固体的N1-(2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啉-4-基)环己烷-1,2-二胺 (89mg)。

[1084] 将N1-(2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啉-4-基)环己烷-1,2-二胺 (44mg, 0.17mmol)、N-(4-氨基苯基)-N-甲基乙酰胺 (56mg, 0.34mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.146mL, 1.15mmol) 的nBuOH(2mL) 混合物于116℃加热4h。然后将其通过HPLC纯化, 获得目标化合物 (6mg)。MS 394.2(M+H); UV 201.4, 262.7, 306.7nm。

[1085] 实施例 64

[1086] N-(4-(4-(2-氨基乙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啉-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺

[1087]



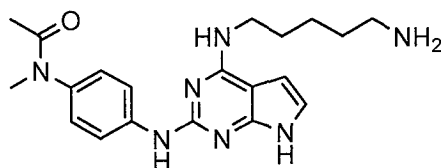
[1088] 将2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啉 (160mg, 0.85mmol)、乙二胺 (0.170mL, 2.55mmol) 和三乙胺 (0.100mL, 0.72mmol) 的nBuOH(4mL) 溶液于70℃搅拌4h。然后将其通过HPLC纯化, 获得为固体的N-(2-氨基乙基)-2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啉-4-胺 (71mg)。

[1089] 将N-(2-氨基乙基)-2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啉-4-胺 (71mg, 0.34mmol)、N-(4-氨基苯基)-N-甲基乙酰胺 (110mg, 0.67mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.085mL, 0.67mmol) 的nBuOH(2mL) 混合物于116℃加热3h。加入更多的三甲基甲硅烷基氯 (0.100mL, 0.79mmol)。于116℃再搅拌2h后, 将混合物通过HPLC纯化, 获得目标化合物 (28mg)。MS 340.2(M+H); UV 201.4, 262.7, 303.1nm。

[1090] 实施例 65

[1091] N-(4-(4-(5-氨基戊基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺

[1092]



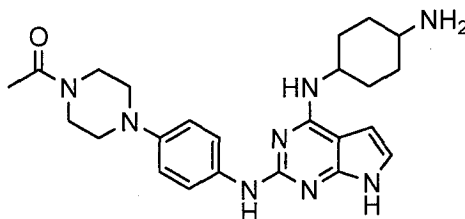
[1093] 将 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (70mg, 0.37mmol)、1,5-二氨基戊烷 (0.130mL, 1.11mmol) 和三乙胺 (0.150mL, 1.08mmol) 的 nBuOH(3mL) 溶液于 70℃ 搅拌 1h。然后将其通过 HPLC 纯化, 获得为固体的 N-(5-氨基戊基)-2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (79mg)。

[1094] 将 N-(5-氨基戊基)-2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (79mg, 0.31mmol)、N-(4-氨基苯基)-N-甲基乙酰胺 (100mg, 0.61mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.150mL, 1.19mmol) 的 nBuOH(2mL) 混合物于 116℃ 加热 4h。然后将混合物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (9mg)。MS 382.2 (M+H)⁺; UV 210.8, 267.5, 305.5nm。

[1095] 实施例 66

[1096] 1-(4-(4-(4-(4-氨基环己基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮

[1097]



[1098] 向 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (1.12g, 5.96mmol) 的 DMSO(8mL) 溶液中加入甲硫醇钠 (0.500g, 7.14mmol)。将混合物于室温下搅拌 2h。加入水诱导沉淀生成。收集沉淀物, 真空干燥, 获得为固体的 2-氯代-4-(甲硫基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (0.90g)。

[1099] 将 2-氯代-4-(甲硫基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (484mg, 2.43mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (645mg, 2.95mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.500mL, 3.95mmol) 的 nBuOH(10mL) 混合物于 116℃ 加热 48h。冷却后, 加入 H₂O 和 EtOAc。分离有机相, 采用 5% 的碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得为固体的 1-(4-(4-(4-(甲硫基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (453mg)。

[1100] 向 1-(4-(4-(4-(甲硫基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (451mg, 1.18mmol) 的 CH₂Cl₂(12mL) 溶液中加入 mCPBA(320mg, 65%, 1.20mmol)。将混合物于室温下搅拌 1h。然后将其真空浓缩, 残留物通过 HPLC 纯化, 获得为固体的 1-(4-(4-(4-(甲基亚磺酰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (136mg)。

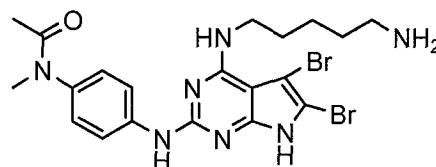
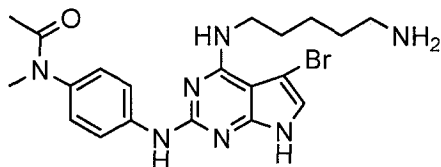
[1101] 向 1-(4-(4-(4-(甲基亚磺酰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (34mg, 0.085mmol) 的 DMSO(1mL) 溶液中加入 1,4-二氨基环己烷 (顺式和反式混合物, 35mg, 0.31mmol) 和二异丙基乙基胺 (0.060mL, 0.35mmol)。将混合物于 116℃

加热过夜。然后将其通过 HPLC 纯化,获得目标化合物 (5mg)。MS 449.3 (M+H)⁺; UV 208.5, 265.1, 305.5nm。

[1102] 实施例 67

[1103] N-(4-(4-(5-氨基戊基氨基)-5-溴-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺和 N-(4-(4-(5-氨基戊基氨基)-5,6-二溴-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺

[1104]

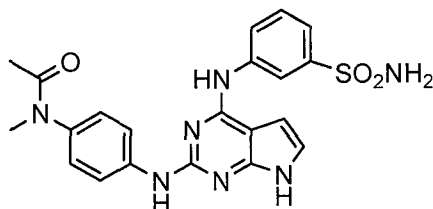


[1105] 向 N-(4-(4-(5-氨基戊基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺 (44mg, 0.12mmol) 的 DMF (1mL) 溶液中加入 N-溴代琥珀酰胺 (25mg, 0.14mmol)。将混合物于室温下搅拌 2h。然后将其通过 HPLC 纯化,获得单-溴代化合物 (3mg) 和二溴代化合物 (5mg)。MS 460.1 和 462.1 (单-溴代, M+H, Br 模式); UV 207.3, 228.5, 298.4nm; 539.0, 540.0, 541.0 和 542.0 (二溴代, M+H, 2Br 模式); UV 202.6, 232.0, 300.7nm。

[1106] 实施例 68

[1107] N-(4-(4-(3-氨基磺酰基-苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺

[1108]



[1109] 将 2,4-二氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (200mg, 0.58mmol)、3-氨基苯磺酰胺 (111mg, 0.65mmol) 和三乙胺 (0.200mL, 1.44mmol) 的 nBuOH (6mL) 混合物于 80℃ 加热过夜。然后将混合物于 110℃ 再加热 24h。冷却后,加入 H₂O 和 EtOAc。分离有机相,用 1N HCl 洗涤,然后用 5% 碳酸氢钠洗涤,硫酸钠干燥,真空浓缩,获得为固体的 2-氯代-N-(3-氨基磺酰基-苯基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (210mg)。

[1110] 将 2-氯代-N-(3-氨基磺酰基-苯基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (100mg, 0.21mmol)、N-(4-氨基苯基)-N-甲基乙酰胺 (100mg, 0.61mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.050mL, 0.40mmol) 的 nBuOH (2mL) 和二氧六环 (2mL) 混合物于 110℃ 加热 4h。加入更多的三甲基甲硅烷基氯 (0.100mL, 0.79mmol)。将混合物于 110℃ 再加热 72h。然后将其通过 HPLC 纯化,获得为固体的 N-(4-(4-(3-氨基磺酰基-苯基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺 (20mg)。

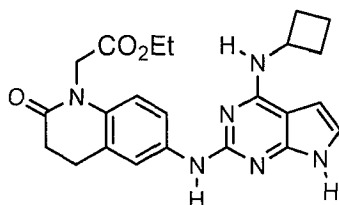
[1111] 向 N-(4-(4-(3-氨基磺酰基-苯基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺 (20mg, 0.033mmol) 的 MeOH (2mL) 溶液中加入 aq. 1N KOH (0.60mL, 0.60mmol)。将混合物于 60℃ 加热 3h。将其真空浓缩。残留物采用 HOAc (1mL)

酸化,然后通过 HPLC 纯化,获得目标化合物 (7mg)。MS 452.0 (M+H)⁺;UV 208.5, 284.1, 317.4nm。

[1112] 实施例 69

[1113] 2-(6-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-2-氧代-3,4-二氢喹啉-1(2H)-基)乙酸乙酯

[1114]



[1115] 向 6-硝基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮 (0.5g, 2.6mmol) 和 Cs₂CO₃ (1.70g, 5.2mmol) 的 DMF (5mL) 混合物中加入 2-溴乙酸乙酯 (0.317mL, 2.86mmol)。于 65℃ 搅拌 3h 后,混合物用 H₂O 和 EtOAc 稀释,分离有机相,水层再用 EtOAc 萃取,合并有机层,硫酸钠干燥,真空浓缩,获得 2-(6-硝基-2-氧代-3,4-二氢喹啉-1(2H)-基)乙酸乙酯,它可以直接用于下一步骤。

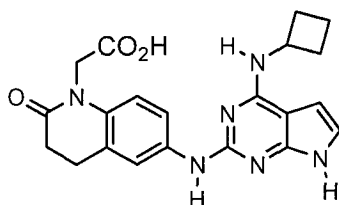
[1116] 向 2-(6-硝基-2-氧代-3,4-二氢喹啉-1(2H)-基)乙酸乙酯的 EtOH (10mL) 和 H₂O (5mL) 混悬液中加入甲酸铵 (1.5g, 23.8mmol) 和 Fe (0.3g, 5.4mmol)。回流下搅拌 2h 后,过滤黑色混合物,滤液采用 EtOAc 和水稀释,分离 EtOAc 层,水层采用 EtOAc 再次萃取,合并有机层,硫酸钠干燥,真空浓缩,获得 2-(6-氨基-2-氧代-3,4-二氢喹啉-1(2H)-基)乙酸乙酯 (0.2g, 31%)。

[1117] 根据合成 1-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基磺酰基)哌啶-4-醇的通用方法,采用 2-(6-氨基-2-氧代-3,4-二氢喹啉-1(2H)-基)乙酸乙酯和 2-氯代-N-环丁基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺,获得 2-(6-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-2-氧代-3,4-二氢喹啉-1(2H)-基)乙酸乙酯 (C₂₃H₂₆N₆O₃ 的 MS 计算值为 434.2, 实测值 [MH]⁺ 435.2;UV 209.8, 304.5nm)。

[1118] 实施例 70

[1119] 2-(6-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-2-氧代-3,4-二氢喹啉-1(2H)-基)乙酸

[1120]



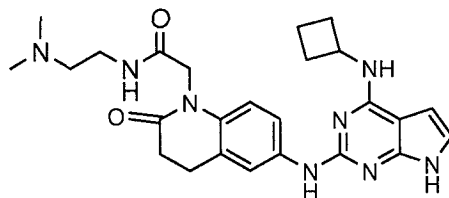
[1121] 向 2-(6-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-2-氧代-3,4-二氢喹啉-1(2H)-基)乙酸乙酯 (10mg, 0.023mmol) 的 THF (0.6mL) 和 H₂O (0.4mL) 溶液中加入 NaOH (5N, 2 滴)。于室温下搅拌 3h 后,反应混合物通过制备性 HPLC 纯化,得到 2-(6-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-2-氧代-3,4-二氢喹啉-1(2H)-基)乙酸 (C₂₁H₂₂N₆O₃ 的 MS 计算值为 406.2, 实测值 [MH]⁺ 407.0;UV 207.5,

304.5nm)。

[1122] 实施例 71

[1123] 2-(6-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-2-氧代-3,4-二氢喹啉-1(2H)-基)-N-(2-(二甲基氨基)乙基)乙酰胺

[1124]

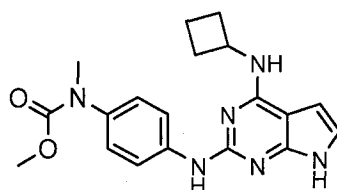


[1125] 向 2-(6-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-2-氧代-3,4-二氢喹啉-1(2H)-基)乙酸(4mg,0.01mmol)的DMF(0.3mL)溶液中加入HATU、DIPEA和N,N-二甲基氨基乙基胺。于室温下搅拌1h后,将其通过制备性HPLC纯化,获得2-(6-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-2-氧代-3,4-二氢喹啉-1(2H)-基)-N-(2-(二甲基氨基)乙基)乙酰胺($C_{25}H_{32}N_8O_2$ 的MS计算值为476.3,实测值[MH]477.0;UV 205.1,304.5nm)。

[1126] 实施例 72

[1127] 4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基(甲基)氨基甲酸甲酯

[1128]

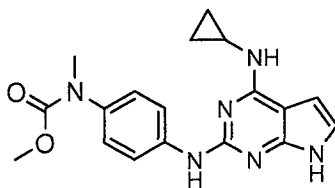


[1129] 根据合成1-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基磺酰基)哌啶-4-醇的通用方法,采用4-氨基苯基(甲基)氨基甲酸甲酯和2-氯代-N-环丁基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺,获得4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基(甲基)氨基甲酸甲酯($C_{19}H_{22}N_6O_2$ 的MS计算值为366.2,实测值[MH]368.0;UV 209.8,271.2,304.5nm)。

[1130] 实施例 73

[1131] 4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基(甲基)氨基甲酸甲酯

[1132]



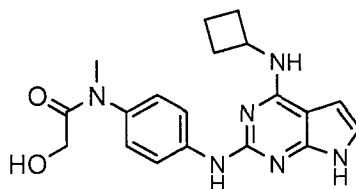
[1133] 根据合成1-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基磺酰基)哌啶-4-醇的通用方法,采用4-氨基苯基(甲基)氨基甲酸甲酯和2-氯代-N-环丙基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺,获得4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]

嘧啶-2-基氨基)苯基(甲基)氨基甲酸甲酯($C_{18}H_{20}N_6O_2$ 的MS计算值为352.2,实测值[MH]353.0;UV 227.5,292.6nm)。

[1134] 实施例 74

[1135] N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-2-羟基-N-甲基乙酰胺

[1136]



[1137] 于0℃,向4-硝基-N-甲基苯胺的DCM(10mL)混悬液中加入 Et_3N (0.63mL,4.5mmol)和2-苄氧基乙酰氯(0.513mL,3.3mmol)。于室温下搅拌15h后,反应混合物采用EtOAc稀释,采用饱和的碳酸氢钠、盐水洗涤,干燥并浓缩,获得2-苄氧基-N-甲基-N-(4-硝基苯基)乙酰胺(0.63g,70%)。

[1138] 向上述2-苄氧基-N-甲基-N-(4-硝基苯基)乙酰胺的EtOH(8mL)和 H_2O (4mL)混悬液中加入甲酸铵(1.3g,20mmol)和Fe(0.47g,8.4mmol)。回流加热2h后,将反应物冷却至室温,滤除铁,滤液用EtOAc和水稀释,分离EtOAc层,水层采用EtOAc再萃取,合并有机层,硫酸钠干燥并真空浓缩,获得2-苄氧基-N-甲基-N-(4-氨基苯基)乙酰胺(0.4g,53%)。

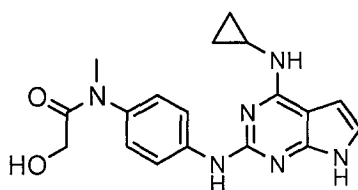
[1139] 根据合成1-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基磺酰基)哌啶-4-醇的通用方法,采用2-苄氧基-N-甲基-N-(4-氨基苯基)乙酰胺和2-氯代-N-环丁基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺,获得2-苄氧基-N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺($C_{26}H_{28}N_6O_2$ 的MS计算值为456.2,实测值[MH]457.0)。

[1140] 向2-苄氧基-N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺(0.012g,0.026mmol)的EtOH(0.4mL)溶液中加入Pd/C(10mg),充入 H_2 (1atm)。于室温下搅拌15h后,将其通过制备性HPLC纯化,获得N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-2-羟基-N-甲基乙酰胺($C_{19}H_{22}N_6O_2$ 的MS计算值为366.2,实测值[MH]367.0;UV 208.7,272.4,304.5nm)。

[1141] 实施例 75

[1142] N-(4-(4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-2-羟基-N-甲基乙酰胺

[1143]



[1144] 根据合成1-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基磺酰基)哌啶-4-醇的通用方法,采用2-苄氧基-N-甲基-N-(4-氨基苯基)乙酰胺和

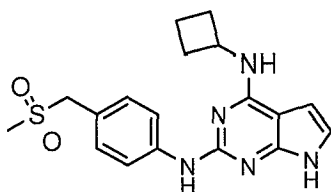
2-氯代-N-环丙基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺,获得2-苄氧基-N-(4-(4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺($C_{25}H_{26}N_6O_2$ 的MS计算值为442.2,实测值[MH]443.5)。

[1145] 向2-苄氧基-N-(4-(4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺(0.015g,0.034mmol)的EtOH(0.4mL)溶液中加入Pd/C(10mg),充入 H_2 (1atm)。于室温下搅拌15h后,将其通过制备性HPLC纯化,获得N-(4-(4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-2-羟基-N-甲基乙酰胺($C_{18}H_{20}N_6O_2$ 的MS计算值为352.2,实测值[MH]352.8;UV 206.3,228.7,297.3nm)。

[1146] 实施例76

[1147] N^4 -环丁基- N^2 -(4-甲基磺酰基甲基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺

[1148]



[1149] 向4-硝基苄基氯(1g,5.8mmol)和TBAI(0.11g,0.29mmol)的EtOH(12mL)混合物中加入 $NaOSO_2CH_3$ (0.77g,6.38mmol)。回流加热2h后,将混合物冷却至室温,过滤收集沉淀物,获得1-(甲基磺酰基甲基)-4-硝基苯(1.5g)。

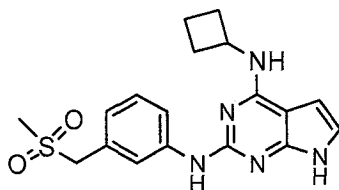
[1150] 向1-(甲基磺酰基甲基)-4-硝基苯(1.5g,7mmol)的EtOH(20mL)和 H_2O (10mL)混合物中加入铁(1.96g,35mmol)和甲酸铵(4.41g,70mmol)。于90℃加热2h,然后将其采用EtOAc稀释,采用饱和的 $NaHCO_3$ 、盐水洗涤,干燥并浓缩,获得4-(甲基磺酰基甲基)苯胺(0.5g)。

[1151] 根据合成1-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基磺酰基)哌啶-4-醇的通用方法,采用4-(甲基磺酰基甲基)苯胺和2-氯代-N-环丁基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺,获得 N^4 -环丁基- N^2 -(4-甲基磺酰基甲基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺($C_{18}H_{21}N_5O_2S$ 的MS计算值为371.5,实测值[MH]372.1;UV 205.1,273.6,304.5nm)。

[1152] 实施例77

[1153] N^4 -环丁基- N^2 -(3-甲基磺酰基甲基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺

[1154]



[1155] 向3-硝基苄基溴(1g,4.63mmol)的EtOH(12mL)混合物中加入 $NaOSO_2CH_3$ (0.61g,5.09mmol)。回流加热2h后,将混合物冷却至室温,过滤收集沉淀物,获得1-(甲基磺酰基甲基)-3-硝基苯(0.77g)。

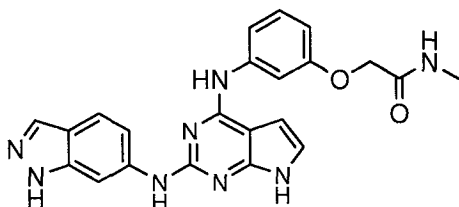
[1156] 向 1-(甲基磺酰基甲基)-4-硝基苯 (0.77g, 3.56mmol) 的 EtOH(10mL) 和 H₂O(5mL) 混合物中加入铁 (1.0g, 17.82mmol) 和甲酸铵 (2.25g, 35.6mmol)。于 90℃ 加热 2h, 将其采用 EtOAc 稀释, 采用饱和的 NaHCO₃、盐水洗涤, 干燥并浓缩, 获得 3-(甲基磺酰基甲基) 苯胺 (0.47g)。

[1157] 根据合成 1-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基) 苯基磺酰基) 哌啶-4-醇的通用方法, 采用 3-(甲基磺酰基甲基) 苯胺和 2-氯代-N-环丁基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺, 获得 N⁴-环丁基-N²-(3-甲基磺酰基甲基) 苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺 (C₁₈H₂₁N₅O₂S 的 MS 计算值为 371.5, 实测值 [MH] 372.1; UV 214.5, 267.6, 304.5nm)。

[1158] 实施例 78

[1159] 2-(3-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基) 苯氧基-N-甲基乙酰胺

[1160]



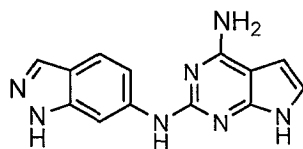
[1161] 向 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (0.062g, 0.33mmol) 的 DMSO(1mL) 溶液中加入 DIPEA(0.117mL, 0.66mmol) 和 2-(3-氨基苯氧基)-N-甲基乙酰胺 (0.095g, 0.49mmol)。于 100℃ 加热 15h 后, 采用 EtOAc 稀释, 用饱和的 NaHCO₃、盐水洗涤, 干燥并浓缩, 获得 2-(3-(2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基) 苯氧基-N-甲基乙酰胺 (0.062g)。

[1162] 向 2-(3-(2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基) 苯氧基-N-甲基乙酰胺 (0.062g) 的 nBuOH(0.6mL) 混合物中加入 6-氨基吡唑 (0.028g) 和 TMSCl(0.013mL)。于 115℃ 加热 15h 后, 将混合物通过 prep HPLC 纯化, 获得 2-(3-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基) 苯氧基-N-甲基乙酰胺 (0.007g, C₂₂H₂₀N₈O₂ 的 MS 计算值为 428.4, 实测值 [MH] 429.1; UV 238.1, 311.6nm)。

[1163] 实施例 79

[1164] N²-(1H-吡唑-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺

[1165]



[1166] 将 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (0.1g, 0.53mmol) 的氨 (7N 的 MeOH 溶液, 1mL) 混合物于 100℃ 加热 24h, 然后将其采用 EtOAc 稀释, 采用饱和的碳酸氢钠、盐水洗涤, 干燥并浓缩, 获得 2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (0.06g)。

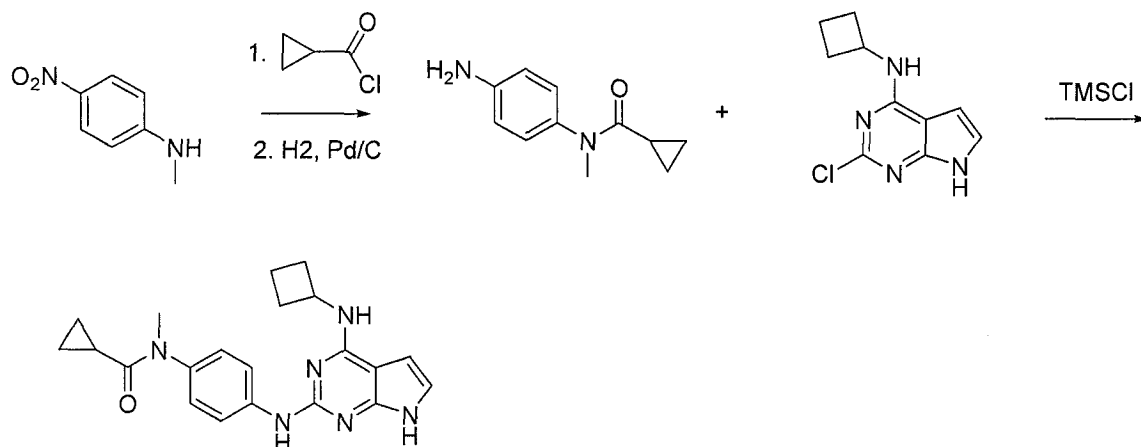
[1167] 向 2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (0.06g, 0.353mmol) 的 nBuOH(0.7mL) 混合物中加入 6-氨基吡唑 (0.094g, 0.70mmol) 和 TMSCl(0.023mL, 0.175mmol)。于 115℃ 加

热 8h 后,将其冷却,通过 prep HPLC 纯化,获得 N^2 -(1H-吡唑-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺 (0.012g, $C_{13}H_{11}N_7$ 的 MS 计算值为 265.3, 实测值 266.1; UV 216.9, 308.0nm)。

[1168] 实施例 80

[1169] N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基环丙烷甲酰胺

[1170]



[1171] 步骤 1:于室温下,向 N-甲基-4-硝基苯胺 (2g, 13.1mmol) 的 DCM (30mL) 混合物中加入 Et₃N (2.75mL, 20mmol) 和环丙烷碳酰氯 (1.32mL, 14.4mmol), 于室温下搅拌 1h 后, 混合物采用 EtOAc 稀释, 有机相采用饱和的碳酸氢钠、盐水洗涤, 干燥并浓缩, 获得 N-甲基-N-(4-硝基苯基)环丙烷甲酰胺的粗品产物 (3g)。

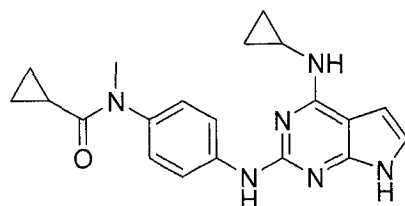
[1172] 向上述粗品产物 (3g) 的 EtOH (20mL) 和 H₂O (10mL) 的混悬液中加入铁 (3.67g, 65.5mmol) 和甲酸铵 (826g, 130mmol)。将混合物于 90℃ 加热 2h, 冷却至室温。混合物采用 EtOAc 稀释, 采用饱和的碳酸氢钠、盐水洗涤, 干燥并浓缩, 获得 N-(4-氨基苯基)-N-甲基环丙烷甲酰胺 (1.6g)。

[1173] 步骤 2:向 2-氯代-N-环丁基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (67mg, 0.3mmol) 的 nBuOH (0.8mL) 混合物中加入 N-(4-氨基苯基)-N-甲基环丙烷甲酰胺 (85mg, 0.45mmol) 和 TMSCl (0.02mL, 0.15mmol)。于 115℃ 加热 2h 后, 将混合物冷却, 通过制备性 HPLC 纯化, 获得 N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基环丙烷甲酰胺 (7mg)。C₂₁H₂₄N₆O 的 MS 实测值为 (M+H)⁺377.2。λ = 208.7, 272.4, 304.5。

[1174] 实施例 81

[1175] N-(4-(4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基环丙烷甲酰胺

[1176]



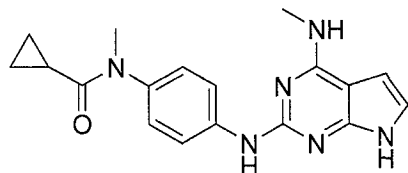
[1177] 根据实施例关于 N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基环丙烷甲酰胺中所述相同合成方法, 制备目标化合物。C₂₀H₂₂N₆O 的 MS 实测值

为 $(M+H)^+363.1$ 。 $\lambda = 211.0, 228.7, 296.1$ 。

[1178] 实施例 82

[1179] N-(4-(4-(甲基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基环丙烷甲酰胺

[1180]

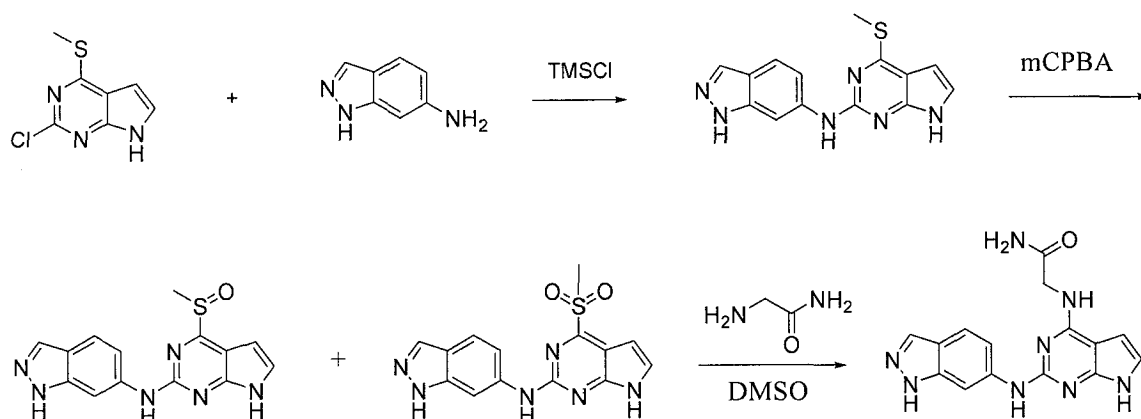


[1181] 根据实施例关于 N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基环丙烷甲酰胺中所述相同合成方法,制备目标化合物。 $C_{18}H_{20}N_6O$ 的 MS 实测值为 $(M+H)^+337.1$ 。 $\lambda = 212.2, 303.3$ 。

[1182] 实施例 83

[1183] 2-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)乙酰胺

[1184]



[1185] 步骤 1: 向 2-氯代-4-(甲硫基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (177mg, 0.88mmol) 的 nBuOH(2mL) 混悬液中加入 TMSCl (0.111mL, 0.88mmol)。于 115℃ 加热 24h, 将混合物冷却, 通过制备性 HPLC 纯化, 获得 2-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-4-(甲硫基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (53mg)。

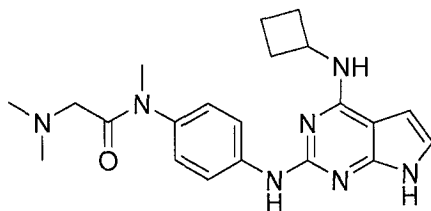
[1186] 步骤 2: 向 2-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-4-(甲硫基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (53mg, 0.18mmol) 的 DCM(1mL) 溶液中加入 mCPBA (50mg, 0.187mmol)。于室温下搅拌 2h 后, 混合物采用 EtOAc 稀释, 采用饱和的碳酸氢钠、盐水洗涤, 干燥并浓缩, 获得相应的砜和亚砜混合物 (100mg total)。

[1187] 步骤 3: 向上述砜和亚砜混合物 (100mg) 的 DMSO(1mL) 溶液中加入盐酸甘氨酸 (60mg, 0.534mmol) 和 DIPEA (0.16mL, 0.89mmol)。于 65℃ 加热 48h, 将混合物冷却, 通过制备性 HPLC 纯化, 获得 2-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)乙酰胺 (6mg)。 $C_{15}H_{14}N_8O$ 的 MS 实测值为 $(M+H)^+323.2$ 。 $\lambda = 244.0, 312.8$ 。

[1188] 实施例 84

[1189] N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-2-(二甲基氨基)-N-甲基乙酰胺

[1190]

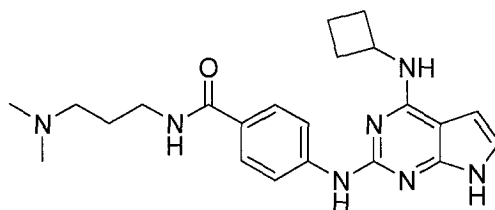


[1191] 根据实施例关于 N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基环丙烷甲酰胺中所述相同合成流程,制备目标化合物。C₂₁H₂₇N₇O 的 MS 实测值为 (M+H)⁺394.3。λ = 206.3, 273.6, 304.5。

[1192] 实施例 85

[1193] N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-N-(3-二甲基氨基丙基)苯甲酰胺

[1194]

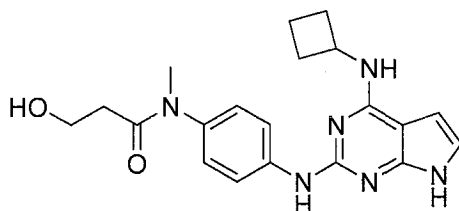


[1195] 根据实施例关于 N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基环丙烷甲酰胺中所述相同合成流程,制备目标化合物。C₂₂H₂₉N₇O 的 MS 实测值为 (M+H)⁺408.4。λ = 208.7, 227.5, 312.8。

[1196] 实施例 86

[1197] N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-3-羟基-N-甲基丙酰胺

[1198]

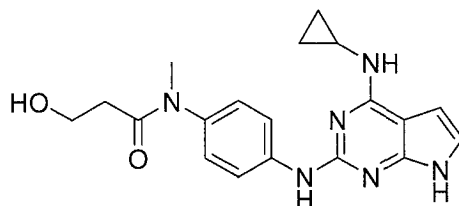


[1199] 根据实施例关于 N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基环丙烷甲酰胺中所述相同合成流程,制备目标化合物。C₂₀H₂₄N₆O₂ 的 MS 实测值为 (M+H)⁺381.2。λ = 229.8, 271.2, 304.5。

[1200] 实施例 87

[1201] N-(4-(4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-3-羟基-N-甲基丙酰胺

[1202]

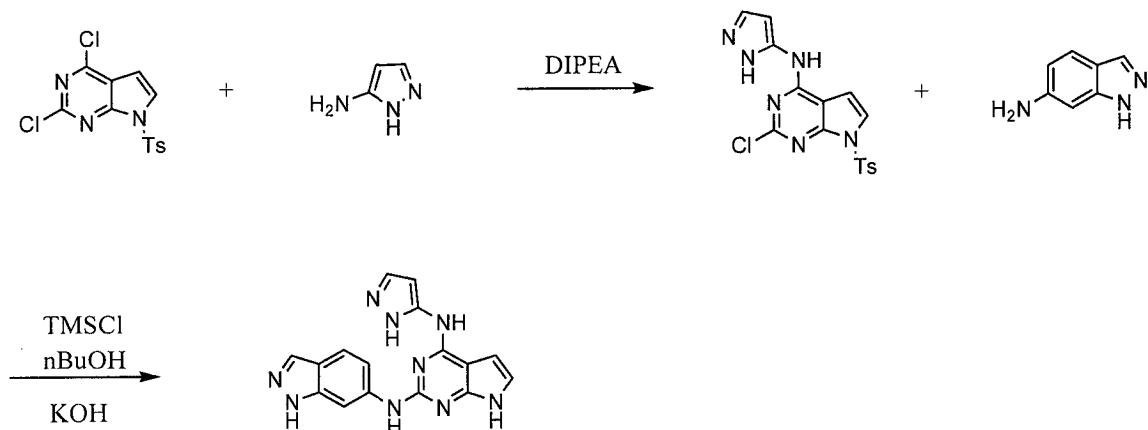


[1203] 根据实施例关于 N-(4-(4-(环丁基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基环丙烷甲酰胺中所述相同合成流程,制备目标化合物。C₁₉H₂₂N₆O₂ 的 MS 实测值为 (M+H)⁺367.2。λ = 229.8, 296.1。

[1204] 实施例 88

[1205] N²-(1H-吡唑-6-基氨基)-N⁴-(1H-吡唑-5-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺

[1206]



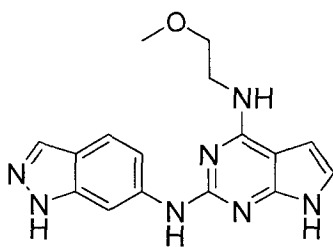
[1207] 步骤 1: 向 2,4-二氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (100mg, 0.29mmol) 的 nBuOH (1mL) 混悬液中加入 3-氨基吡唑 (26mg, 0.32mmol) 和 DIPEA (0.057mL, 0.32mmol)。于 90℃ 加热 3h 后, 混合物采用 EtOAc 稀释, 采用饱和的碳酸氢钠、盐水洗涤, 干燥并浓缩, 获得 2-氯代-N-(1H-吡唑-5-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺混合物 (100mg)。

[1208] 步骤 2: 向 2-氯代-N-(1H-吡唑-5-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (100mg, 0.26mmol) 的 nBuOH (1mL) 混合物中加入 6-氨基吡唑 (68mg, 0.512mmol) 和 TMSCl (0.016mL, 0.128mmol)。于 115℃ 搅拌 15h 后, 将混合物冷却, 加入 MeOH (1mL), 随后加入 KOH (100mg) 的 H₂O (0.5mL) 溶液。于 65℃ 加热 2h, 浓缩溶液, 残留物通过制备性 HPLC 纯化, 获得 N²-(1H-吡唑-6-基氨基)-N⁴-(1H-吡唑-5-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺 (7mg)。C₁₆H₁₃N₉ 的 MS 实测值为 (M+H)⁺332.1。λ = 209.8, 251.1, 310.4。

[1209] 实施例 89

[1210] N²-(1H-吡唑-6-基氨基)-N⁴-(2-甲氧基乙基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺

[1211]

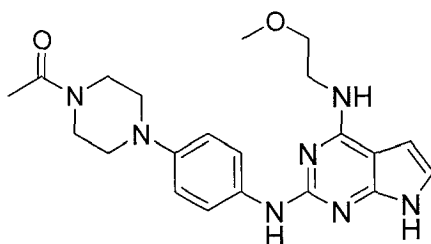


[1212] 根据实施例关于 N²-(1H-吡唑-6-基氨基)-N⁴-(1H-吡唑-5-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺中所述相同合成流程, 制备目标化合物。C₁₆H₁₇N₇O 的 MS 实测值为 (M+H)⁺324.2。λ = 246.4, 315.2。

[1213] 实施例 90

[1214] 1-(4-(4-(4-(2-甲氧基乙基氨基))-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮

[1215]

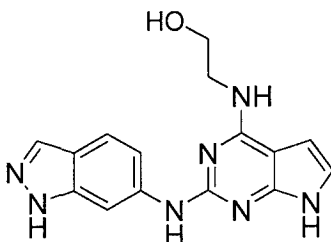


[1216] 根据实施例关于 N^2 -(1H-吡唑-6-基氨基)- N^4 -(1H-吡唑-5-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺中所述相同合成流程,制备目标化合物。 $C_{22}H_{28}N_6O_2$ 的 MS 实测值为 $(M+H)^+410.2$ 。 $\lambda = 231.0, 265.3, 302.1$ 。

[1217] 实施例 91

[1218] N^2 -(1H-吡唑-6-基氨基)- N^4 -(2-羟基乙基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺

[1219]

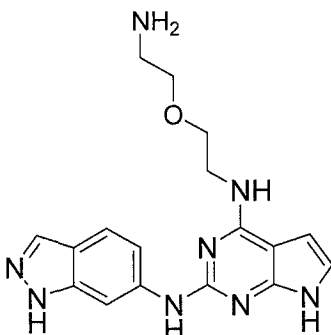


[1220] 根据实施例关于 N^2 -(1H-吡唑-6-基氨基)- N^4 -(1H-吡唑-5-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺中所述相同合成流程,制备目标化合物。 $C_{15}H_{15}N_7O$ 的 MS 实测值为 $(M+H)^+310.2$ 。 $\lambda = 241.6, 309.2$ 。

[1221] 实施例 92

[1222] N^4 -(2-(2-(氨基乙氧基)乙基))- N^2 -(1H-吡唑-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺

[1223]

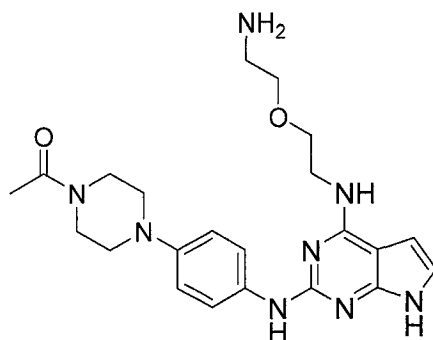


[1224] 根据实施例关于 N^2 -(1H-吡唑-6-基氨基)- N^4 -(1H-吡唑-5-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺中所述相同合成流程,制备目标化合物。 $C_{17}H_{20}N_8O$ 的 MS 实测值为 $(M+H)^+353.2$ 。 $\lambda = 241.6, 308.0$ 。

[1225] 实施例 93

[1226] 1-(4-(4-(4-(2-(2-氨基乙氧基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮

[1227]

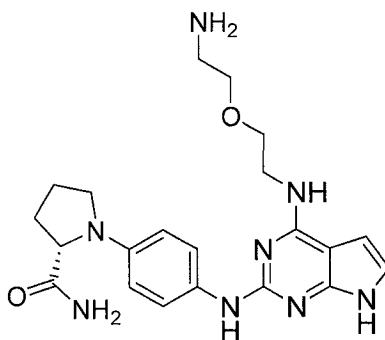


[1228] 根据实施例关于 N^2 -(1H-吡唑-6-基氨基)- N^4 -(1H-吡唑-5-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺中所述相同合成流程,制备目标化合物。 $C_{23}H_{31}N_7O_2$ 的 MS 实测值为 $(M+H)^+439.1$ 。 $\lambda = 266.5, 303.3$ 。

[1229] 实施例 94

[1230] (S)-1-(4-(4-(2-(2-氨基乙氧基)乙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)吡咯烷-2-甲酰胺

[1231]

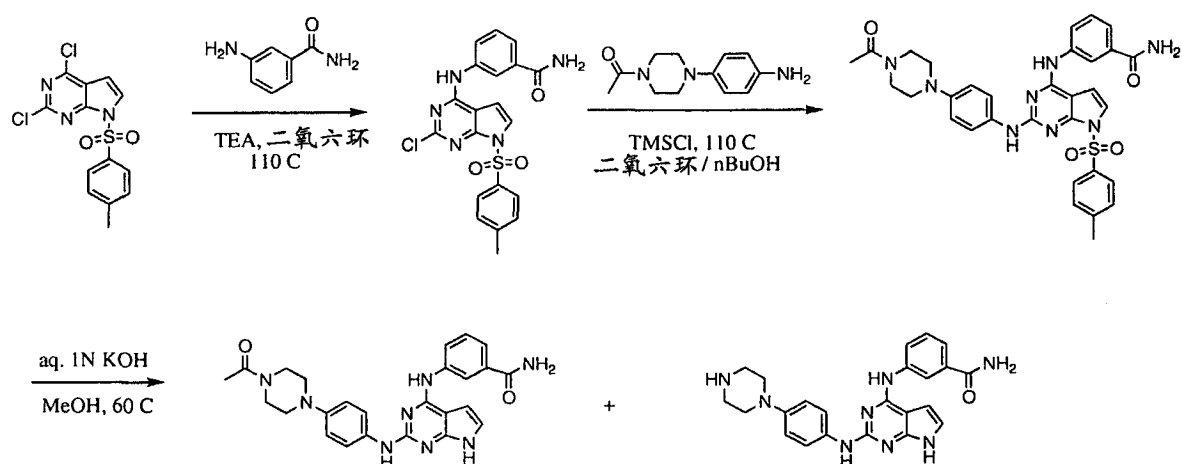


[1232] 根据实施例关于 N^2 -(1H-吡唑-6-基氨基)- N^4 -(1H-吡唑-5-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺中所述相同合成流程,制备目标化合物。 $C_{22}H_{29}N_7O_2$ 的 MS 实测值为 $(M+H)^+425.1$ 。 $\lambda = 239.3, 303.3$ 。

[1233] 实施例 95

[1234] 3-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)苯甲酰胺和 3-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)苯甲酰胺

[1235]



[1236] 将 2,4-二氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (200mg, 0.580mmol)、3-氨基苯甲酰胺 (83mg, 0.61mmol) 和三乙胺 (0.200mL, 1.44mmol) 的二氧六环 (5mL) 溶液于 110℃ 搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物采用 HOAc (1mL) 酸化后, 将其通过 HPLC 纯化, 获得 3-(2-氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基) 苯甲酰胺 (85mg)。

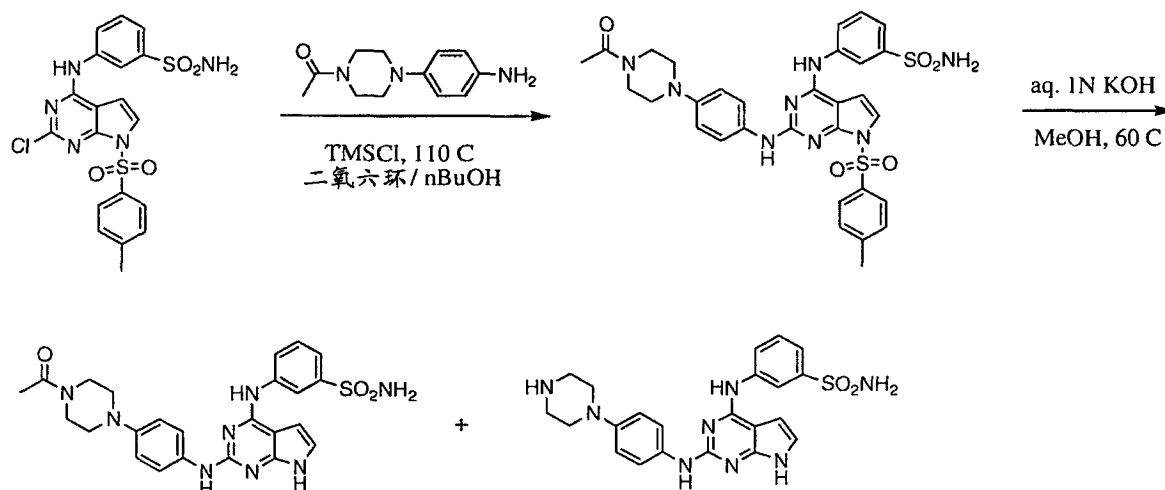
[1237] 将 3-(2-氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基) 苯甲酰胺 (85mg, 0.19mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基) 乙酮 (105mg, 0.480mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.030mL, 0.24mmol) 的二氧六环 (1mL) 和 nBuOH (1mL) 混合物于 110℃ 搅拌 72h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 3-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基) 苯基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基) 苯甲酰胺 (40mg)。

[1238] 向 3-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基) 苯基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基) 苯甲酰胺 (40mg, 0.064mmol) 的 MeOH (3mL) 溶液中加入 aq. 1N KOH (1.0mL, 1.0mmol)。将混合物于 60℃ 加热 3h。将其真空浓缩。残留物采用 HOAc (1mL) 酸化, 然后通过 HPLC 纯化, 获得 3-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基) 苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基) 苯甲酰胺 (15mg), MS 471.1 (M+H); UV 207.3, 284.1, 311.5nm; 和 3-(2-(4-(哌嗪-1-基) 苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基) 苯甲酰胺 (5mg), MS 429.1 (M+H); UV 202.6, 279.3nm。

[1239] 实施例 96

[1240] 3-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基) 苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基) 苯磺酰胺和 3-(2-(4-(哌嗪-1-基) 苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基) 苯磺酰胺

[1241]



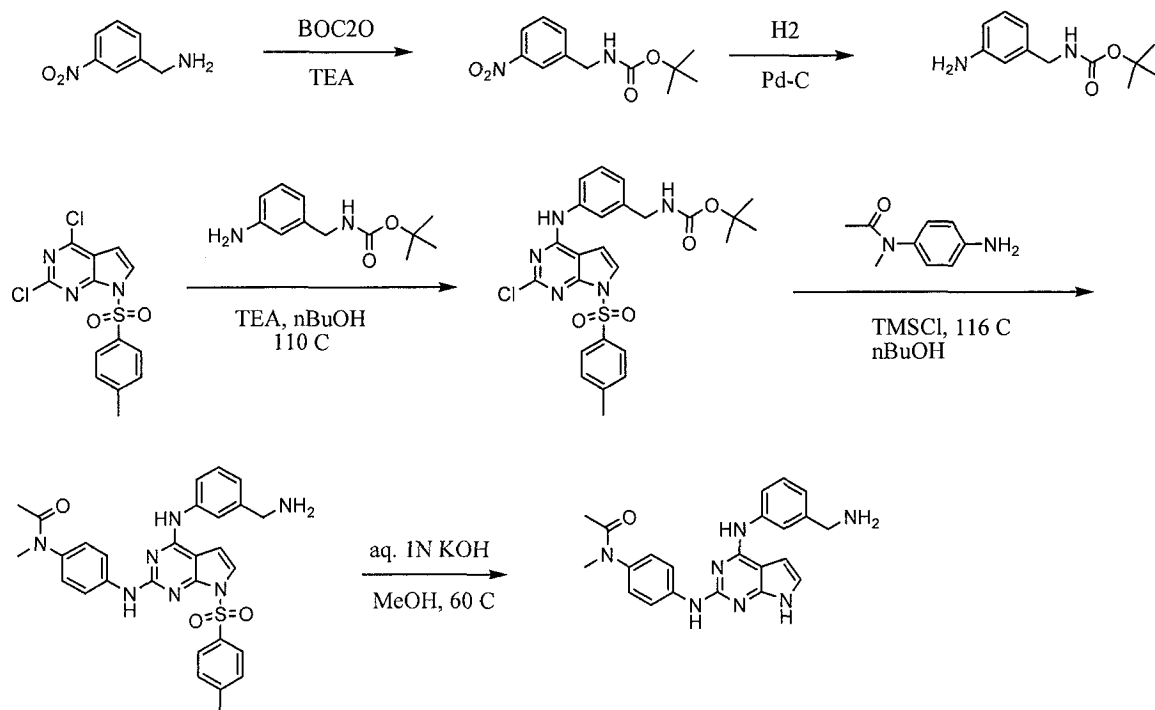
[1242] 将 2-氯代-N-(3-氨基磺酰基-苯基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (100mg, 0.210mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (92mg, 0.42mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol) 的 nBuOH (2mL) 和二氧六环 (2mL) 混合物于 110℃ 加热 72h。加入更多的 1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (92mg, 0.42mmol)。将混合物于 110℃ 再搅拌 72h。然后将其通过 HPLC 纯化, 获得 3-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)苯磺酰胺 (40mg)。

[1243] 向 3-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)苯磺酰胺 (40mg, 0.061mmol) 的 MeOH (3mL) 溶液中加入 aq. 1N KOH (1.0mL, 1.0mmol)。将混合物于 60℃ 加热 3h。将其真空浓缩。残留物采用 HOAc (1mL) 酸化, 然后通过 HPLC 纯化, 获得 3-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)苯磺酰胺 (14mg), MS 507.1 (M+H)⁺; UV 212.0, 282.9, 313.8nm; 和 3-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)苯磺酰胺 (4mg), MS 465.1 (M+H)⁺; UV 203.8, 281.7nm。

[1244] 实施例 97

[1245] N-(4-(4-(3-(氨基甲基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺

[1246]



[1247] 将 3-硝基苄基胺盐酸盐 (530mg, 2.81mmol)、二碳酸二-叔-丁基酯 (613mg, 2.81mmol) 和 TEA (0.800mL, 5.75mmol) 的 CH_2Cl_2 (8mL) 混合物于室温下搅拌 72h。将其真空浓缩, 残留物在水和 EtOAc 之间分配。有机相用 1N HCl 洗涤, 然后用 5% 碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 3-硝基苄基氨基甲酸叔-丁基酯, 为固体 (705mg)。

[1248] 将 3-硝基苄基氨基甲酸叔-丁基酯 (705mg, 2.80mmol) 和 Pd-C (10%, 125mg) 的 EtOAc (25mL) (含有 6 滴 HOAc) 混合物在氢气环境中氢化 20h。将其通过硅藻土过滤。滤液真空浓缩, 获得 3-硝基苄基氨基甲酸叔-丁基酯 (602mg)。

[1249] 将 2,4-二氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶 (200mg, 0.585mmol)、3-硝基苄基氨基甲酸叔-丁基酯 (137mg, 0.617mmol) 和 TEA (0.200mL, 1.44mmol) 的 nBuOH (5mL) 混合物于 110°C 搅拌 20h。加入水和 EtOAc。有机相用 1N HCl 洗涤, 然后用 5% 碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 3-(2-氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-4-基氨基) 苄基氨基甲酸叔-丁基酯 (306mg)。

[1250] 将 3-(2-氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-4-基氨基) 苄基氨基甲酸叔-丁基酯 (306mg, 0.580mmol)、N-(4-氨基苯基)-N-甲基乙酰胺 (190mg, 1.16mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.100mL, 0.791mmol) 的 nBuOH (5mL) 溶液于 116°C 搅拌 20h。然后将混合物通过 HPLC 纯化, 获得 N-(4-(4-(3-(氨基甲基) 苄基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-2-基氨基) 苯基)-N-甲基乙酰胺 (27mg)。

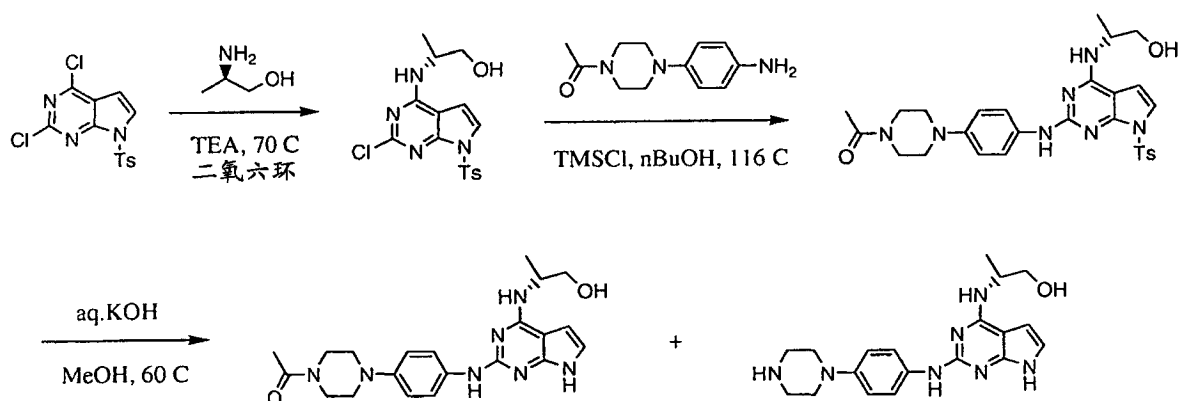
[1251] 向 N-(4-(4-(3-(氨基甲基) 苄基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-2-基氨基) 苯基)-N-甲基乙酰胺 (27mg, 0.049mmol) 的 MeOH (3mL) 溶液中加入 aq. 1N KOH (1.0mL, 1.0mmol)。将混合物于 60°C 搅拌 3h。将其真空浓缩。残留物采用 HOAc (1mL) 酸化, 通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (15mg)。MS 402.3 (M+H)⁺; UV 202.6, 282.9, 315.0nm。

[1252] 实施例 98

[1253] (R)-1-(4-(4-(4-(1-羟基丙-2-基氨基)-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-2-基氨基) 苯基) 哌嗪-1-基) 乙酮和 (R)-2-(2-(4-(哌嗪-1-基) 苄基氨基)-7H-吡咯并 [2,3-d]

嘧啶-4-基氨基)丙-1-醇

[1254]



[1255] 将 2,4-二氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (0.35g, 1.0mmol)、D-甘氨酸 (0.10mL, 1.3mmol) 和 TEA (0.20mL, 1.4mmol) 的二氧六环 (6mL) 溶液于 70℃ 搅拌 20h。加入水和 EtOAc。有机相用 1N HCl 洗涤, 然后用 5% 碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 (R)-2-(2-氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)丙-1-醇 (0.38g)。

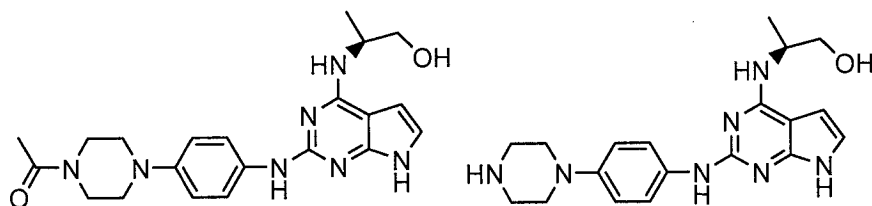
[1256] 将 (R)-2-(2-氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)丙-1-醇 (200mg, 0.525mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (140mg, 0.639mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.130mL, 1.03mmol) 的 nBuOH (4mL) 混合物于 116℃ 搅拌 48h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 (R)-1-(4-(4-(4-(1-羟基丙-2-基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (25mg)。

[1257] 向 (R)-1-(4-(4-(4-(1-羟基丙-2-基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (25mg, 0.044mmol) 的 MeOH (1mL) 和二氧六环 (1mL) 的溶液中加入 aq. 1N KOH (1.0mL, 1.0mmol)。于 60℃ 搅拌 3h 后, 将其真空浓缩。残留物采用 HOAc (1mL) 酸化, 然后通过 HPLC 纯化, 获得 (R)-1-(4-(4-(4-(1-羟基丙-2-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (7mg), MS 410.5 (M+H); UV 202.6, 267.5, 303.1nm; 和 (R)-2-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)丙-1-醇 (3mg), MS 368.5 (M+H); UV 229.6, 271.0, 301.9nm。

[1258] 实施例 99

[1259] (S)-1-(4-(4-(4-(1-羟基丙-2-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮和 (S)-2-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)丙-1-醇

[1260]



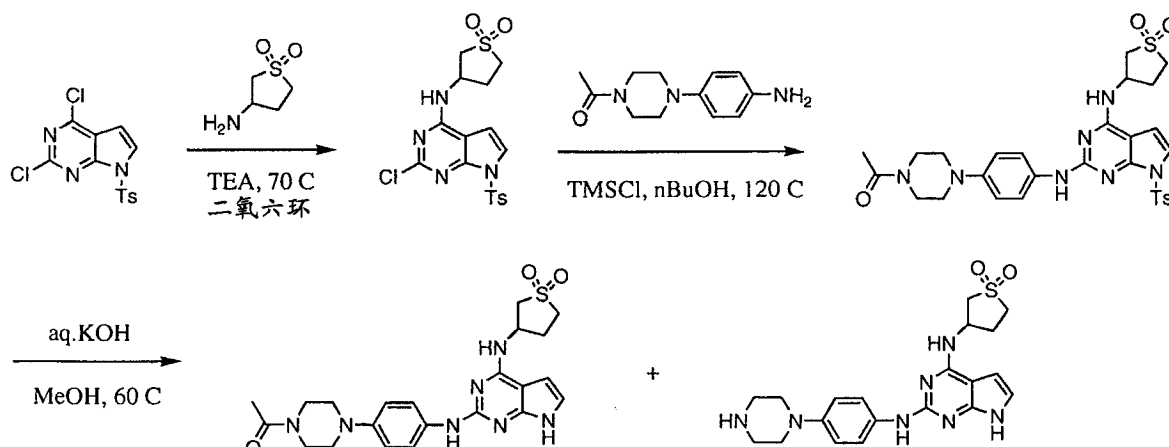
[1261] 根据合成 (R)-1-(4-(4-(4-(1-羟基丙-2-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮, MS 410.5 (M+H); UV 202.0, 266.3, 301.9 和

(R)-2-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)丙-1-醇的类似方法,合成目标化合物 MS 368.5(M+H);但是采用 L-甘氨酸代替 D-甘氨酸(alaninol)。

[1262] 实施例 100

[1263] 1-(4-(4-(4-(1,1-二氧基-四氢噻吩-3-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮和 N2-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-N4-(1,1-二氧基-四氢噻吩-3-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺

[1264]



[1265] 将 2,4-二氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (200mg, 0.584mmol)、3-氨基四氢-1H-噻吩-1,1-二酮盐酸盐 (100mg, 0.583mmol) 和 TEA (0.325mL, 2.34mmol) 的二氧六环 (5mL) 混合物于 70°C 搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相,硫酸钠干燥,真空浓缩,获得 2-氯代-N-(1,2-二氧基-四氢噻吩-3-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (208mg)。

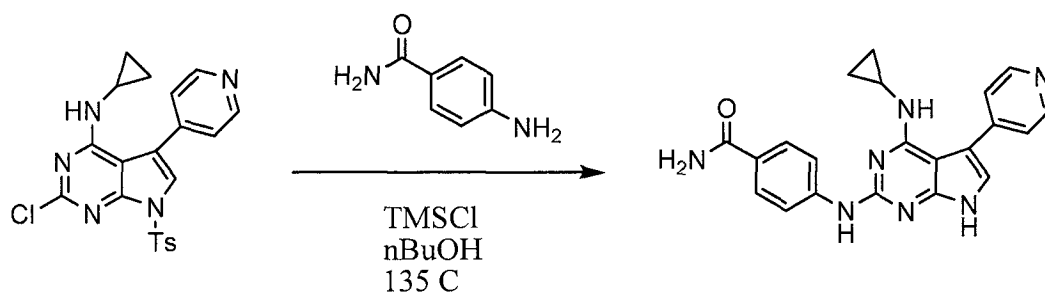
[1266] 将 2-氯代-N-(1,2-二氧基-四氢噻吩-3-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (208mg, 0.472mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (165mg, 0.753mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol) 的 nBuOH (5mL) 混合物于 120°C 搅拌 48h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化,获得 1-(4-(4-(4-(1,1-二氧基-四氢噻吩-3-基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (65mg)。

[1267] 向 1-(4-(4-(4-(1,1-二氧基-四氢噻吩-3-基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (65mg, 0.104mmol) 的 MeOH (3mL) 溶液中加入 aq. 1N KOH (1.0mL, 1.0mmol)。于 60°C 搅拌 4h 后,将其真空浓缩。残留物采用 HOAc (1mL) 酸化,然后通过 HPLC 纯化,获得 1-(4-(4-(4-(1,1-二氧基-四氢噻吩-3-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (15mg), MS 470.5(M+H); 和 N2-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-N4-(1,1-二氧基-四氢噻吩-3-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2,4-二胺 (3mg), MS 428.5(M+H)。

[1268] 实施例 101

[1269] 4-(4-(环丙基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺

[1270]

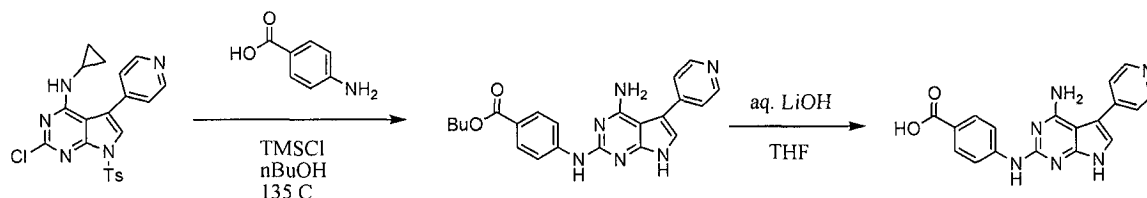


[1271] 将 2-氯代-N-环丙基-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (135mg, 0.307mmol)、4-氨基苯甲酰胺 (100mg, 0.735mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol) 的 nBuOH (3mL) 混合物于 135℃ 搅拌 48h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (9mg)。MS 386.2 (M+H); UV 201.8, 309.8nm。

[1272] 实施例 102

[1273] 4-(4-氨基-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酸

[1274]



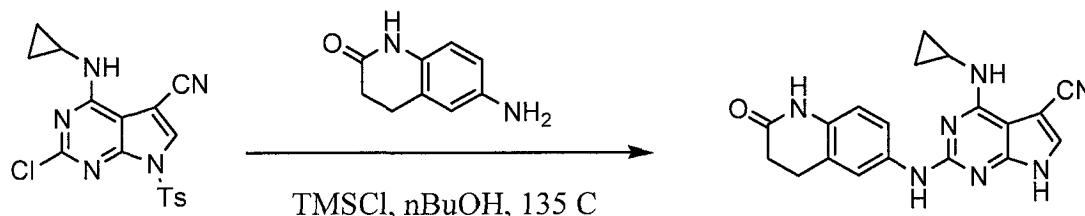
[1275] 将 2-氯代-N-环丙基-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (245mg, 0.557mmol)、4-氨基苯甲酸 (150mg, 1.09mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.300mL, 2.37mmol) 的 nBuOH (4mL) 混合物于 135℃ 搅拌 24h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 4-(4-氨基-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酸丁基酯 (137mg)。

[1276] 向 4-(4-氨基-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酸丁基酯 (137mg, 0.340mmol) 的 THF (3mL) 溶液中加入 aq. 1N LiOH (2.0mL, 2.0mmol)。将混合物于室温下搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物采用 HOAc (2mL) 酸化, 然后通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (55mg)。MS 347.2 (M+H); UV 203.8, 306.7nm。

[1277] 实施例 103

[1278] 4-(环丙基氨基)-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈

[1279]

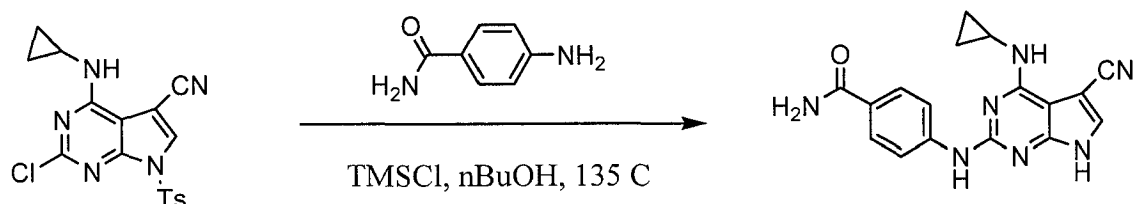


[1280] 将 2-氯代-4-(环丙基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈 (145mg, 0.374mmol)、6-氨基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮 (60mg, 0.370mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol) 的 nBuOH (4mL) 混合物于 135℃ 搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (50mg)。MS 360.3 (M+H); UV 202.2, 292.7nm。

[1281] 实施例 104

[1282] 4-(5-氰基-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺

[1283]

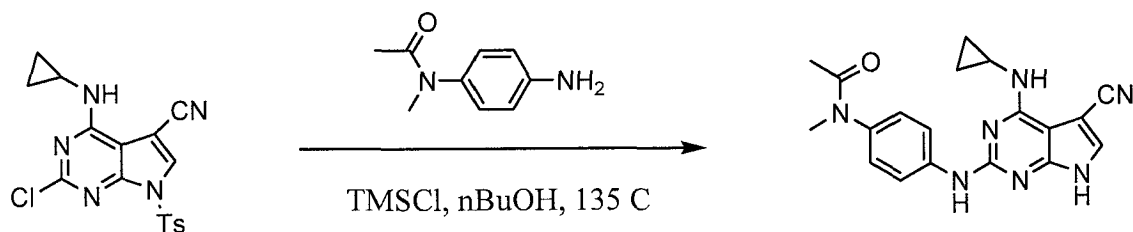


[1284] 将 2-氯代-4-(环丙基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈 (175mg, 0.451mmol)、4-氨基苯甲酰胺 (122mg, 0.897mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol) 的 nBuOH(4mL) 混合物于 135℃ 搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (43mg)。MS 334.3 (M+H)⁺; UV 204.6, 230.2, 308.1nm。

[1285] 实施例 105

[1286] N-(4-(5-氰基-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺

[1287]

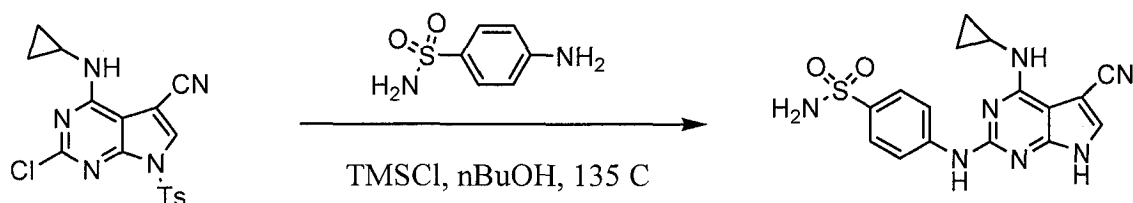


[1288] 将 2-氯代-4-(环丙基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈 (165mg, 0.425mmol)、N-(4-氨基苯基)-N-甲基乙酰胺 (107mg, 0.652mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol) 的 nBuOH(4mL) 混合物于 135℃ 搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (50mg)。MS 362.3 (M+H)⁺; UV 202.8, 254.0, 280.4nm。

[1289] 实施例 106

[1290] 4-(5-氰基-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯磺酰胺

[1291]

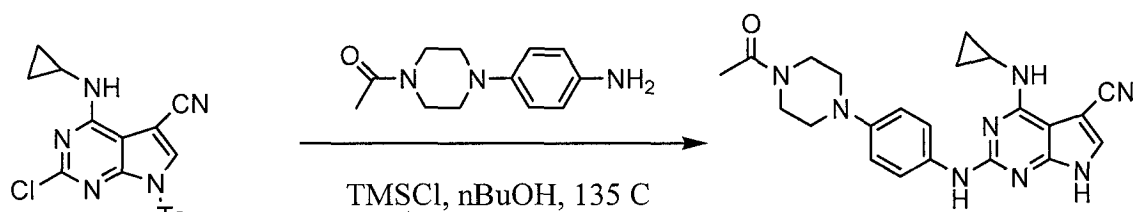


[1292] 将 2-氯代-4-(环丙基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈 (150mg, 0.387mmol)、4-氨基苯磺酰胺 (103mg, 0.599mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol) 的 nBuOH(4mL) 混合物于 135℃ 搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (45mg)。MS 370.3 (M+H)⁺; UV 202.8, 254.6, 305.0nm。

[1293] 实施例 107

[1294] 2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(环丙基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈

[1295]

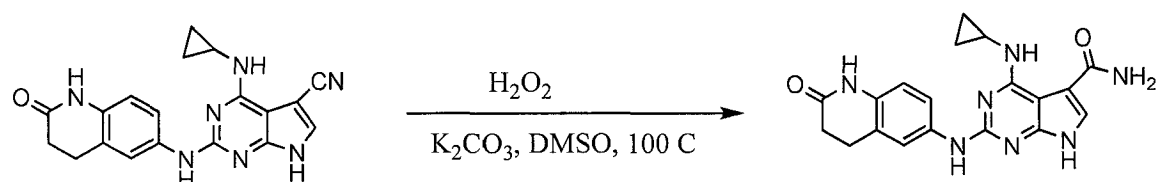


[1296] 将 2-氯代-4-(环丙基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈 (150mg, 0.387mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (132mg, 0.602mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol) 的 nBuOH(4mL) 混合物于 135℃ 搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (25mg)。MS 417.4 (M+H)⁺; UV 203.4, 254.0, 291.5nm。

[1297] 实施例 108

[1298] 4-(环丙基氨基)-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲酰胺

[1299]

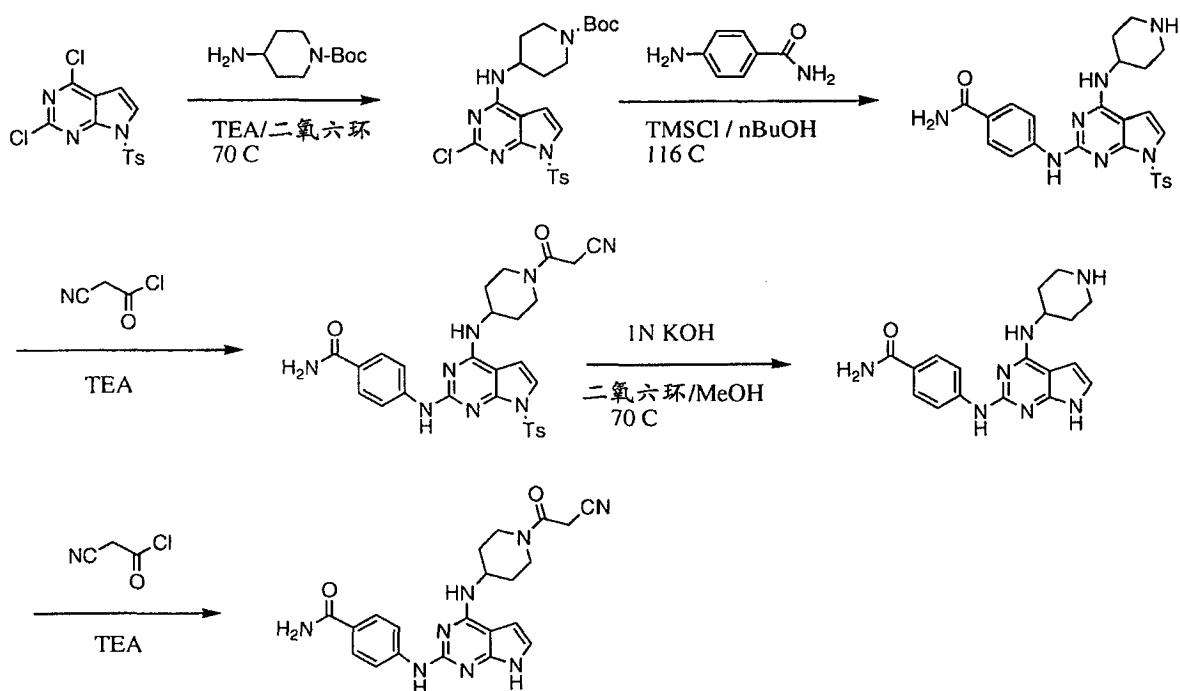


[1300] 将 4-(环丙基氨基)-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈 (30mg, 0.083mmol)、K₂CO₃ (100mg, 0.724mmol) 和 H₂O₂ (50% aq., 0.500mL) 的 DMSO(1mL) 溶液于 100℃ 加热 5min。气体剧烈逸出。冷却后, 混合物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (7mg)。MS 378.4 (M+H)⁺; UV 200.4, 241.8, 295.8nm。

[1301] 实施例 109

[1302] 4-(4-(1-(2-氰基乙酰基)哌嗪-4-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺

[1303]



[1304] 将 2,4-二氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (171mg, 0.500mmol)、4-氨基-1-N-Boc-哌啶 (100mg, 0.500mmol) 和 TEA (0.150mL, 1.08mmol) 的二氧六环 (4mL) 混合物于 70°C 搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 用 1N HCl 洗涤, 然后用 5% 碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 4-(2-氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基) 哌啶-1-甲酸叔-丁基酯 (202mg)。

[1305] 将 4-(2-氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基) 哌啶-1-甲酸叔-丁基酯 (202mg, 0.400mmol)、4-氨基苯甲酰胺 (82mg, 0.60mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol) 的 nBuOH (4mL) 混合物于 116°C 在密封的试管中加热 20h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 4-(4-(哌啶-4-基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基) 苯甲酰胺 (58mg)。

[1306] 向氰基乙酸 (85mg, 1.00mmol) 的 CH₂Cl₂ (2mL) (含有 2 滴 DMF) 混悬液中加入草酰氯 (0.082mL, 0.94mmol)。将混合物于室温下搅拌 50min。向在冰浴中冷却的上述溶液中加入 4-(4-(哌啶-4-基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基) 苯甲酰胺 (58mg, 0.11mmol) 和 TEA (0.450mL, 3.22mmol) 的 DMF (2mL) 溶液。将混合物搅拌 2h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 采用 5% 的碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 4-(4-(1-(2-氰基乙酰基) 哌啶-4-基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基) 苯甲酰胺 (45mg)。

[1307] 向 4-(4-(1-(2-氰基乙酰基) 哌啶-4-基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基) 苯甲酰胺 (45mg, 0.078mmol) 的二氧六环 (2mL) 和 MeOH (1mL) 的溶液中加入 aq. 1N KOH (1.0mL, 1.0mmol)。将混合物于 70°C 搅拌 4h。将其真空浓缩。残留物采用 HOAc (1mL) 酸化, 然后通过 HPLC 纯化, 获得 4-(4-(哌啶-4-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基) 苯甲酰胺 (20mg)。

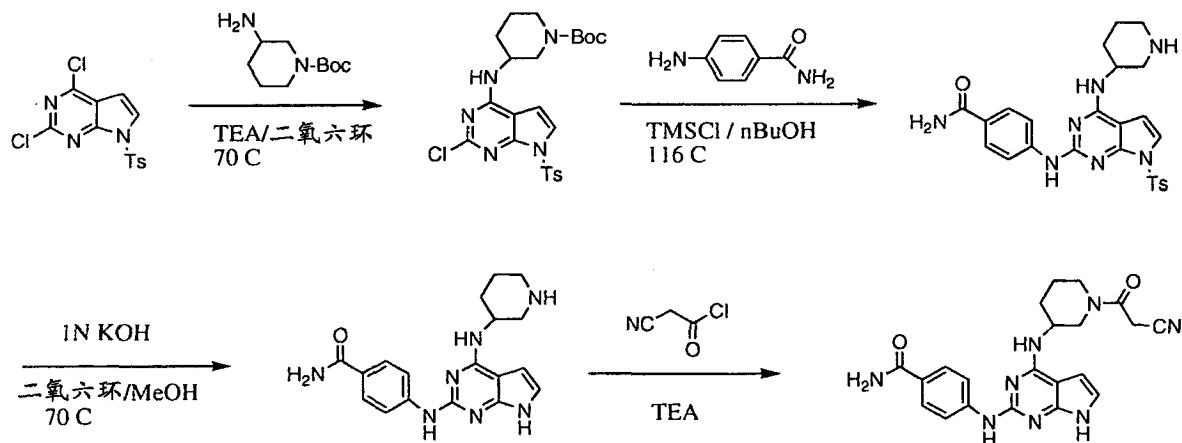
[1308] 向氰基乙酸 (85mg, 1.00mmol) 的 CH₂Cl₂ (2mL) (含有 2 滴 DMF) 的混悬液中加入草酰氯 (0.082mL, 0.94mmol)。将混合物于室温下搅拌 50min。向在冰浴中冷却的上述溶液中加入 4-(4-(哌啶-4-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基) 苯甲酰胺 (20mg,

0.057mmol) 和 TEA (0.450mL, 3.22mmol) 的 DMF (2mL) 溶液。将混合物于室温下搅拌 20h。加入水。真空除去 CH_2Cl_2 。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (10mg)。MS 419.3 (M+H); UV 200.0, 311.9nm。

[1309] 实施例 110

[1310] 4-(4-(1-(2-氰基乙酰基)哌啶-3-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺

[1311]



[1312] 将 2,4-二氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (233mg, 0.681mmol)、3-氨基-1-N-Boc-哌啶 (136mg, 0.680mmol) 和 TEA (0.200mL, 1.44mmol) 的二氧六环 (5mL) 混合物于 70°C 搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 用 1N HCl 洗涤, 然后用 5% 碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 3-(2-氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯 (251mg)。

[1313] 将 3-(2-氯代-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯 (251mg, 0.496mmol)、4-氨基苯甲酰胺 (102mg, 0.750mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol) 的 nBuOH (4mL) 混合物于 116°C 在密封的试管中加热 20h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 4-(4-(哌啶-3-基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺 (36mg)。

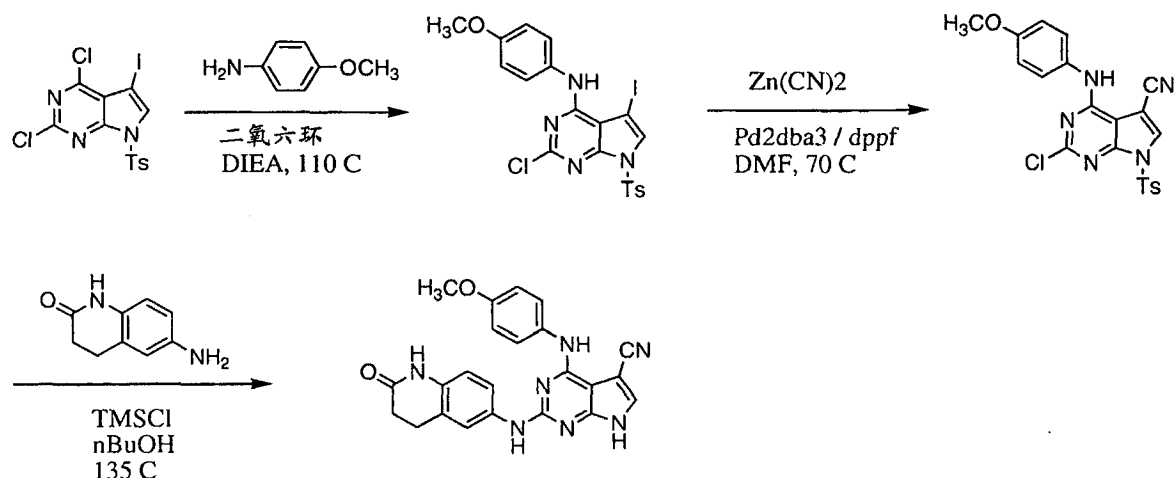
[1314] 向 4-(4-(哌啶-3-基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺 (36mg, 0.071mmol) 的二氧六环 (2mL) 和 MeOH (2mL) 的溶液中加入 aq. 1N KOH (1.0mL, 1.0mmol)。将混合物于 70°C 搅拌 3h。将其真空浓缩。残留物采用 HOAc (1mL) 酸化, 然后通过 HPLC 纯化, 获得需要的化合物, 为 TFA 盐, 然后将其溶于 MeOH (5mL), 加入 MP-碳酸盐 (0.10g, 0.31mmol)。缓慢震荡 30min 后, 过滤混合物。滤液真空浓缩, 获得 4-(4-(哌啶-3-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺 (18mg), 为游离碱。

[1315] 向氰基乙酸 (46mg, 0.54mmol) 的 CH_2Cl_2 (1mL) (含有 2 滴 DMF) 的混悬液中加入草酰氯 (0.047mL, 0.54mmol)。将混合物于室温下搅拌 40min。向在冰浴中冷却的上述溶液中加入 4-(4-(哌啶-3-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺 (18mg, 0.051mmol) 和 TEA (0.250mL, 1.80mmol) 的 DMF (2mL) 溶液。将混合物搅拌 2h。加入水。真空除去 CH_2Cl_2 。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (10mg)。MS 419.3 (M+H); UV 201.6, 311.9nm。

[1316] 实施例 111

[1317] 4-(4-甲氧基苯基氨基)-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈

[1318]



[1319] 将 2,4-二氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (260mg, 0.556mmol)、对氨基苯甲腈 (75mg, 0.610mmol) 和 DIEA (0.300mL, 1.72mmol) 的二氧六环 (5mL) 混合物于 110℃ 搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 用 1N HCl 洗涤, 然后用 5% 碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 2-氯代-5-碘-N-(4-甲氧基苯基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (257mg)。

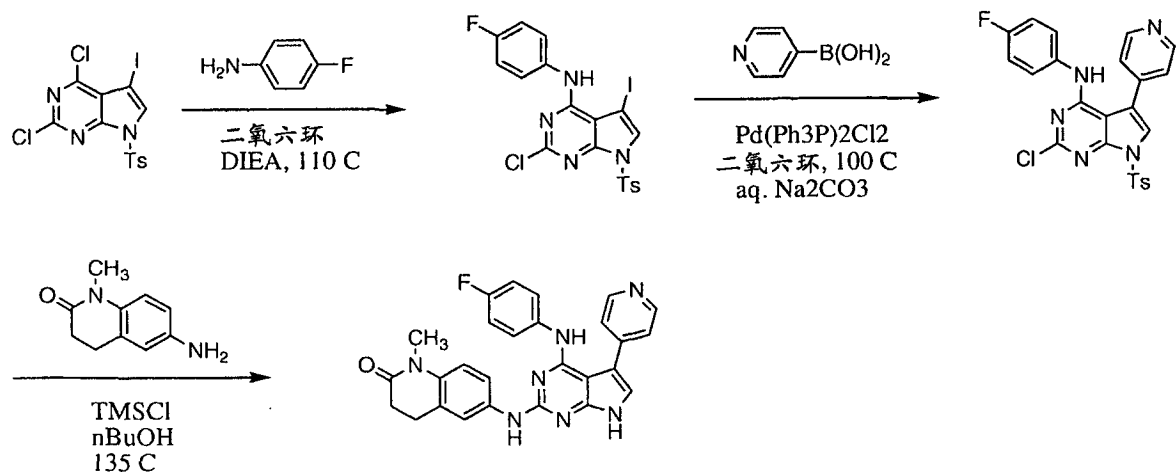
[1320] 将 2-氯代-5-碘-N-(4-甲氧基苯基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (257mg, 0.463mmol)、Pd₂dba₃ (25mg, 0.027mmol) 和 dppf (51mg, 0.092mmol) 的 DMF (4mL) 溶液采用氩气脱气, 然后加入 Zn(CN)₂ (65mg, 0.555mmol)。将混合物于 70℃ 搅拌 3h。真空除去 DMF。残留物溶于 CH₃CN。加入水诱导沉淀。收集沉淀物, 真空干燥, 获得 2-氯代-4-(4-甲氧基苯基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈 (68mg)。

[1321] 将 2-氯代-4-(4-甲氧基苯基氨基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈 (68mg, 0.15mmol)、6-氨基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮 (40mg, 0.24mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.100mL, 0.790mmol) 的 nBuOH (2mL) 混合物于 135℃ 搅拌 20h。加入更多的 6-氨基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮 (24mg, 0.15mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol)。将其于 135℃ 再搅拌 20h。真空除去 nBuOH。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (5mg)。MS 426.4 (M+H)⁺; UV 203.5, 290.3nm。

[1322] 实施例 112

[1323] 6-(4-(4-氟苯基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-1-甲基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮

[1324]



[1325] 将 2,4-二氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (260mg, 0.556mmol)、4-氟苯胺 (0.055mL, 0.581mmol) 和 DIEA (0.300mL, 1.72mmol) 的二氧六环 (4mL) 混合物于 110°C 搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 用 1N HCl 洗涤, 然后用 5% 碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 2-氯代-N-(4-氟苯基)-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (230mg)。

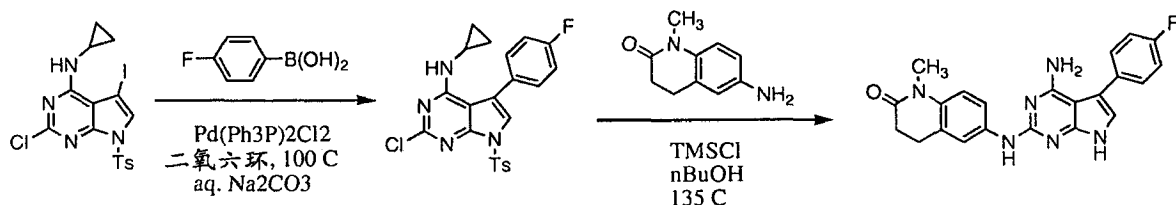
[1326] 向 2-氯代-N-(4-氟苯基)-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (230mg, 0.423mmol)、吡啶-4-硼酸 (57mg, 0.463mmol) 和 $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{Cl}_2$ (30mg, 0.042mmol) 的二氧六环 (4mL) 混合物中加入 aq. Na_2CO_3 (135mg, 1.27mmol) (1.0mL)。将混合物于 100°C 搅拌 2h。将其真空浓缩。研磨残留物。过滤收集固体 (86mg)。滤液通过 HPLC 纯化, 获得 2-氯代-N-(4-氟苯基)-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (31mg)。

[1327] 将 2-氯代-N-(4-氟苯基)-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (31mg, 0.062mmol)、6-氨基-1-甲基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮 (25mg, 0.14mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.100mL, 0.790mmol) 的 nBuOH (1mL) 溶液于 135°C 搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物。MS 480.5 (M+H)⁺; UV 204.7, 281.7, 314.3nm。

[1328] 实施例 113

[1329] 6-(4-氨基-5-(4-氟苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-1-甲基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮

[1330]



[1331] 向 2-氯代-N-环丙基-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺 (150mg, 0.307mmol)、4-氟苯基硼酸 (64mg, 0.457mmol) 和 $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{Cl}_2$ (22mg, 0.031mmol) 的二氧六环 (3mL) 混合物中加入 aq. Na_2CO_3 (100mg, 0.943mmol) (1.0mL)。将混合物于 100°C 搅拌 1h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 硫酸钠干燥, 真空浓缩。残留物经硅胶柱过滤, 将其采用 5-15% EtOAc 的己烷溶液洗脱, 获得 2-氯代-N-环丙基-5-(4-氟苯基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺。

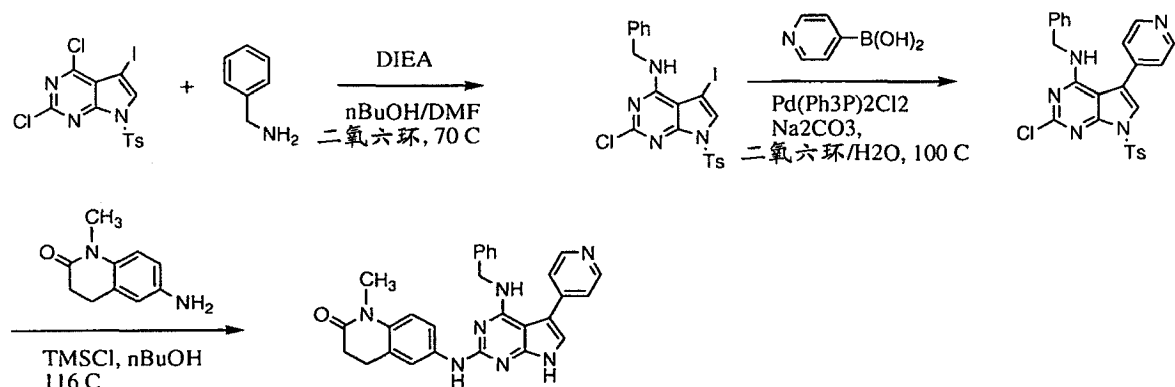
酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(121mg)。

[1332] 将2-氯代-N-环丙基-5-(4-氟苯基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(76mg, 0.17mmol)、6-氨基-1-甲基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮(60mg, 0.34mmol)和三甲基甲硅烷基氯(0.200mL, 1.58mmol)的nBuOH(2mL)溶液于135℃搅拌20h。将其真空浓缩。残留物通过HPLC纯化,获得目标化合物。MS 403.4(M+H)⁺;UV 205.3, 293.4nm。

[1333] 实施例 114

[1334] 6-(4-(苄基氨基)-5-(吡啶-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)-1-甲基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮

[1335]



[1336] 将2,4-二氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(1.00g, 2.13mmol)、苄基胺(0.233mL, 2.13mmol)和DIEA(0.750mL, 4.31mmol)的二氧六环(12mL)/nBuOH(12mL)/DMF(3mL)混合物于70℃搅拌2h。将其真空浓缩。残留物在水和EtOAc之间分配。分离有机相,用1N HCl洗涤,然后用5%碳酸氢钠洗涤,硫酸钠干燥,真空浓缩,获得N-苄基-2-氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(0.993g)。

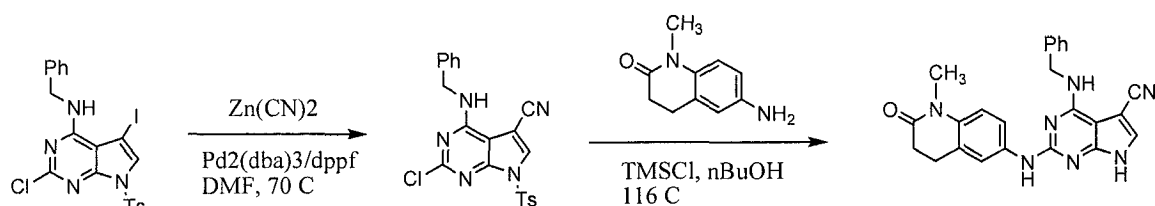
[1337] 向N-苄基-2-氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(300mg, 0.557mmol)、吡啶-4-硼酸(137mg, 1.11mmol)和Pd(PPh₃)₂Cl₂(40mg, 0.042mmol)的二氧六环(3mL)混合物中加入aq. Na₂CO₃(120mg, 1.13mmol)(1.0mL)。将混合物于100℃搅拌4h。将其真空浓缩。残留物通过HPLC纯化,获得N-苄基-2-氯代-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(27mg)。

[1338] 将N-苄基-2-氯代-5-(吡啶-4-基)-7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(27mg, 0.055mmol)、6-氨基-1-甲基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮(20mg, 0.11mmol)和三甲基甲硅烷基氯(0.070mL, 0.553mmol)的nBuOH(1.5mL)溶液于116℃搅拌20h。加入更多的三甲基甲硅烷基氯(0.100mL, 0.790mmol)。将其于116℃再搅拌40h。将其真空浓缩。残留物通过HPLC纯化,获得目标化合物。MS 476.4(M+H)⁺;UV 200.3, 268.7, 309.3nm。

[1339] 实施例 115

[1340] 4-(苄基氨基)-2-(1-甲基-2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈

[1341]



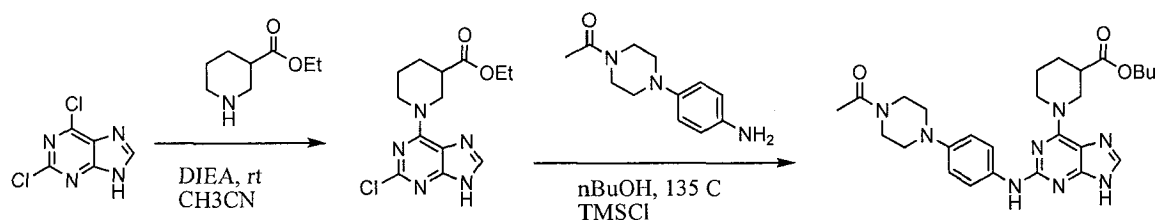
[1342] 将N-苄基-2-氯代-5-碘-7-甲苯磺酰基-9H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(386mg, 0.716mmol)、Pd₂(dba)₃(40mg, 0.043mmol)和dppf(80mg, 0.14mmol)的DMF(6mL)溶液采用氩气脱气, 然后加入Zn(CN)₂(100mg, 0.555mmol)。将混合物于70℃搅拌20h。真空除去DMF。残留物通过HPLC纯化, 获得4-(苄基氨基)-2-氯代-7-甲苯磺酰基-9H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈(54mg)。

[1343] 将4-(苄基氨基)-2-氯代-7-甲苯磺酰基-9H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈(54mg, 0.12mmol)、6-氨基-1-甲基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮(43mg, 0.24mmol)和三甲基甲硅烷基氯(0.200mL, 1.58mmol)的nBuOH(2.5mL)和二氧六环(1.5mL)的溶液于116℃搅拌20h。将其真空浓缩。残留物通过HPLC纯化, 获得目标化合物。MS 424.3(M+H)⁺; UV 207.7, 273.1nm。

[1344] 实施例 116

[1345] 1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-9H-嘌呤-6-基)哌啶-3-甲酸丁基酯

[1346]



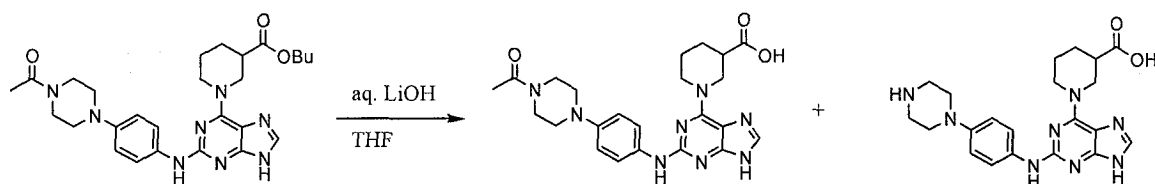
[1347] 将2,6-二氯代嘌呤(189mg, 1.00mmol)、3-哌啶甲酸乙酯(0.155mL, 1.00mmol)和DIEA(0.300mL, 1.72mmol)的CH₃CN(5mL)溶液于室温下搅拌20h, 在此期间析出白色固体, 收集固体, 获得1-(2-氯代-9H-嘌呤-6-基)哌啶-3-甲酸乙酯(108mg)。

[1348] 将1-(2-氯代-9H-嘌呤-6-基)哌啶-3-甲酸酯(108mg, 0.349mmol)、1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮(115mg, 0.525mmol)和三甲基甲硅烷基氯(0.300mL, 2.37mmol)的nBuOH(4mL)混合物于135℃搅拌20h。将其真空浓缩。残留物通过HPLC纯化, 获得目标化合物(86mg)。MS 521.4(M+H)⁺; UV 201.8, 272.8nm。

[1349] 实施例 117

[1350] 1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-9H-嘌呤-6-基)哌啶-3-甲酸和1-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-9H-嘌呤-6-基)哌啶-3-甲酸

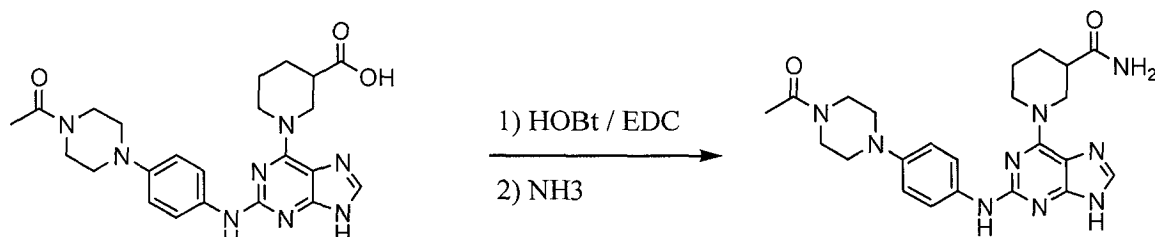
[1351]



[1352] 向 1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-9H-嘌呤-6-基)哌啶-3-甲酸丁基酯 (76mg, 0.15mmol) 的 THF (2mL) 溶液中加入 aq. 1N LiOH (1.00mL, 1.00mmol)。将混合物于室温下搅拌 68h。加入 HOAc (1mL) 中和 LiOH。然后将混合物通过 HPLC 纯化, 获得 1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-9H-嘌呤-6-基)哌啶-3-甲酸 (45mg), MS 465.3 (M+H)⁺; UV 205.8, 272.8nm; 和 1-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-9H-嘌呤-6-基)哌啶-3-甲酸 (8mg), MS 423.3 (M+H)⁺。

[1353] 实施例 118

[1354] 1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-9H-嘌呤-6-基)哌啶-3-甲酰胺
[1355]

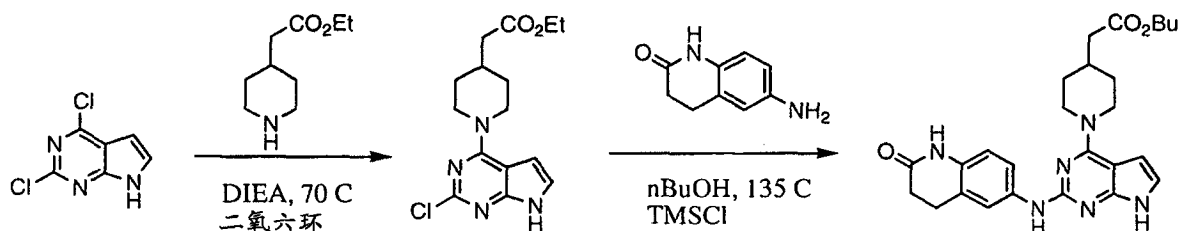


[1356] 向 1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-9H-嘌呤-6-基)哌啶-3-甲酸 (40mg, 0.086mmol) 和 HOBt (30mg, 0.196mmol) 的 DMF (2mL) 溶液中加入 EDC (35mg, 0.183mmol)。搅拌 90min 后, 加入 NH₃ (0.5M 的二氧六环溶液, 1.00mL, 0.500mmol)。将混合物搅拌 2h。加入更多的 EDC (52mg, 0.271mmol)。将其再搅拌 20h。然后将混合物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (30mg)。MS 464.3 (M+H)⁺; UV 204.8, 273.8nm。

[1357] 实施例 119

[1358] 2-(1-(2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)乙酸丁基酯

[1359]



[1360] 将 2,4-二氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 (188mg, 1.00mmol)、2-(4-哌啶基)乙酸乙基酯 (171mg, 1.00mmol) 和 DIEA (0.400mL, 2.30mmol) 的二氧六环 (6mL) 溶液于 70°C 搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 用 1N HCl 洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 2-(1-(2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)乙酸乙酯 (308mg)。

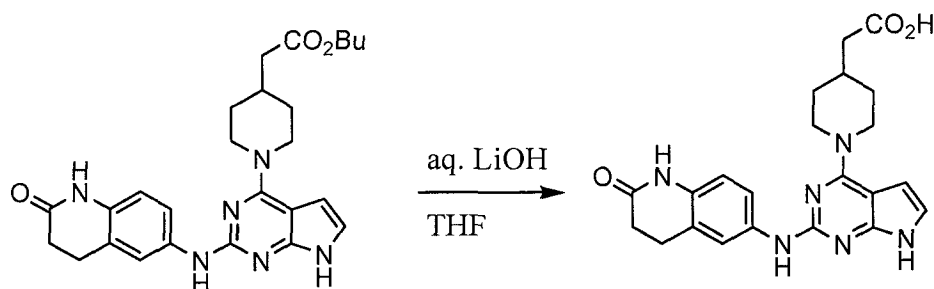
[1361] 将 2-(1-(2-氯代-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)乙酸乙酯 (135mg, 0.419mmol)、6-氨基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮 (97mg, 0.600mmol) 和三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol) 的 nBuOH (4mL) 混合物于 135°C 搅拌 20h。加入更多的三甲基甲硅烷基氯 (0.200mL, 1.58mmol)。将其于 135°C 再搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (54mg)。MS 477.3 (M+H)⁺; UV 200.0, 279.8nm。

[1362] 实施例 120

[1363] 2-(1-(2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧

啉-4-基)哌啶-4-基)乙酸

[1364]

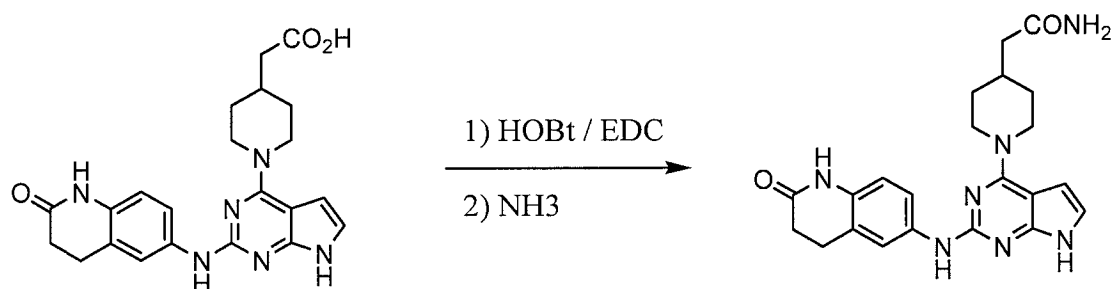


[1365] 向 2-(1-(2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)乙酸丁基酯(48mg, 0.101mmol) 的 THF(2mL) 溶液中加入 aq. 1N LiOH(1.00mL, 1.00mmol)。将混合物于室温下搅拌 20h。加入 HOAc(1mL) 中和 LiOH。然后将其通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物(32mg)。MS 421.3(M+H)⁺; UV 207.8, 279.8nm。

[1366] 实施例 121

[1367] 2-(1-(2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)乙酰胺

[1368]

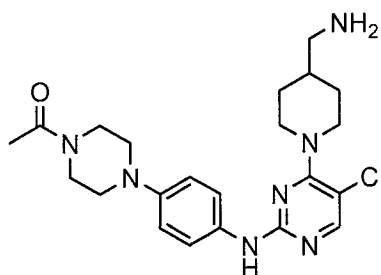


[1369] 向 2-(1-(2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-基)乙酸(26mg, 0.062mmol) 和 HOBt(35mg, 0.23mmol) 的 DMF(2mL) 溶液中加入 EDC(40mg, 0.21mmol)。搅拌 40min 后, 加入 NH₃(0.5M 的二氧六环溶液, 1.00mL, 0.500mmol)。将混合物搅拌 20h。然后将其通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物(20mg)。MS 420.3(M+H)⁺; UV 201.8, 279.8nm。

[1370] 实施例 122

[1371] 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氯代嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-1-基)乙酮

[1372]

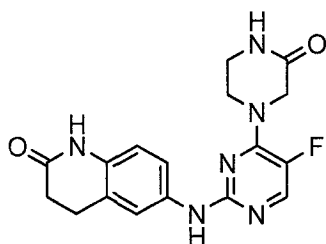


[1373] 根据合成化合物 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-1-基)乙酮的类似方法, 采用 2,4,5-三氯代嘧啶, 制备目标化合物。MS

444.3 和 446.3 (M+H, CI 模式); UV 210.7, 265.7nm。

[1374] 实施例 123

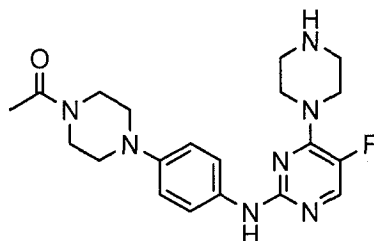
[1375] 6-(5-氟-4-(3-氧代哌嗪-1-基)嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮
[1376]



[1377] 根据合成化合物 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌嗪-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的类似方法,采用哌嗪-2-酮,制备目标化合物。MS 414.3 (M+H); UV 214.8, 252.8nm。

[1378] 实施例 124

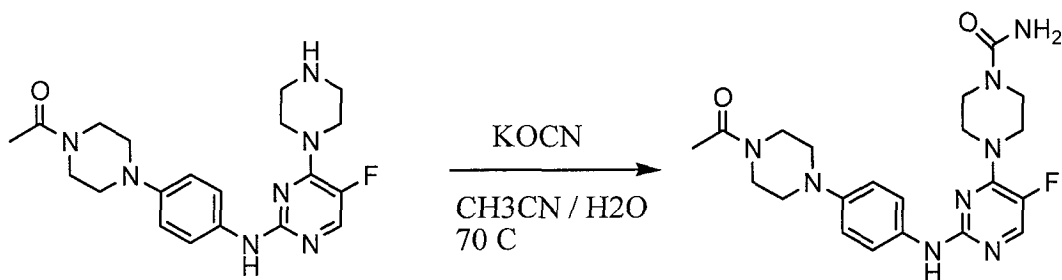
[1379] 1-(4-(4-(5-氟-4-(哌嗪-1-基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮
[1380]



[1381] 根据合成化合物 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌嗪-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的类似方法,采用 1-Boc-哌嗪,合成目标化合物。MS 400.3 (M+H); UV 203.8, 268.8nm。

[1382] 实施例 125

[1383] 4-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌嗪-1-甲酰胺
[1384]

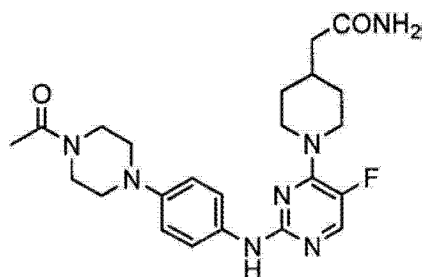


[1385] 向 1-(4-(4-(5-氟-4-(哌嗪-1-基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (53mg, 0.13mmol) 的 CH₃CN (2mL) 混悬液中加入 KCN (60mg, 0.74mmol) 的 H₂O (2mL) 溶液。混悬液变得澄清。将混合物于 70℃ 搅拌 3h。然后将其通过 HPLC 纯化,获得目标化合物 (15mg)。MS 443.3 (M+H); UV 201.8, 269.8nm。

[1386] 实施例 126

[1387] 2-(1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌嗪-4-基)乙酰胺

[1388]

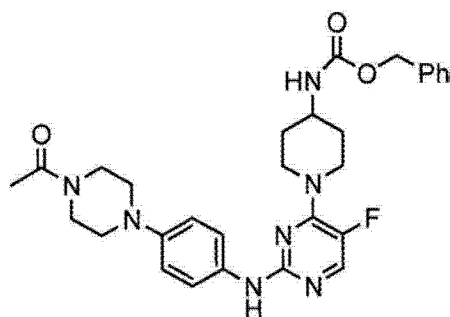


[1389] 根据合成化合物 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-1-基)乙酮的类似方法,采用 2-(哌啶-4-基)乙酰胺,合成目标化合物。MS 456.3(M+H)⁺;UV 203.8,269.8nm。

[1390] 实施例 127

[1391] 1-(2-(4-(4-乙酰基哌啶-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-4-基氨基甲酸苄基酯

[1392]

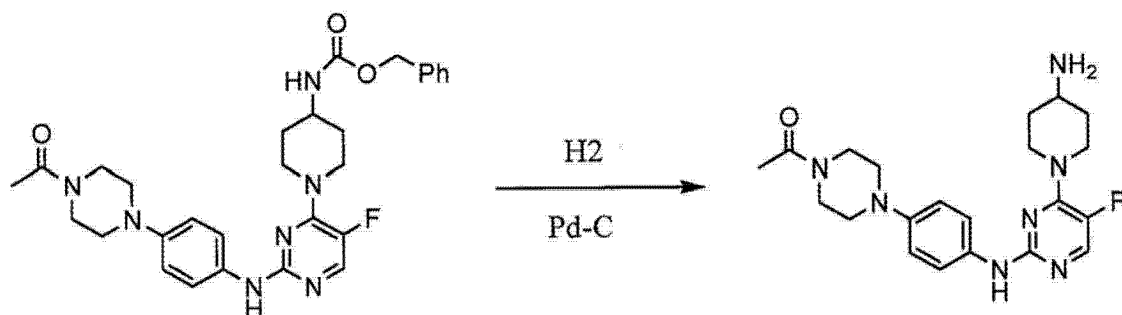


[1393] 根据合成化合物 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-1-基)乙酮的类似方法,采用哌啶-4-基氨基甲酸苄基酯,合成目标化合物。MS 548.4(M+H)⁺;UV 215.8,258.8,279.8nm。

[1394] 实施例 128

[1395] 1-(4-(4-(4-(4-氨基哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-1-基)乙酮

[1396]

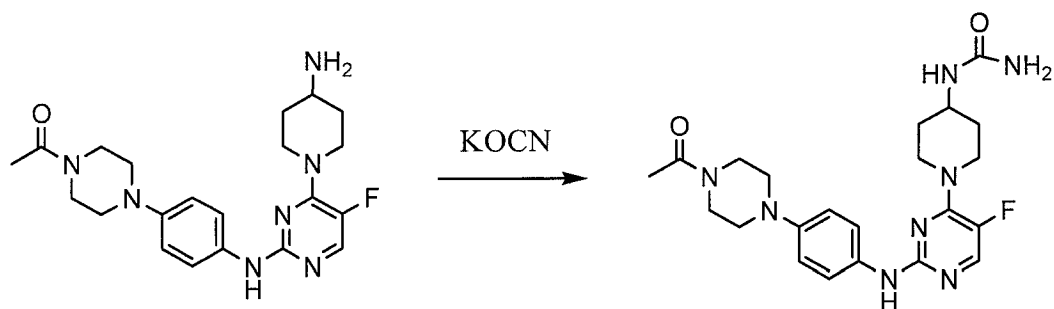


[1397] 将 1-(2-(4-(4-乙酰基哌啶-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-4-基氨基甲酸苄基酯 (370mg,0.676mmol) 和 Pd-C(10%,55mg) 的 MeOH(12mL) 溶液在氢气环境中氢化 20h。然后将其通过硅藻土过滤。滤液真空浓缩,获得目标化合物 (239mg)。MS 414.3(M+H)⁺;UV 202.8,268.8nm。

[1398] 实施例 129

[1399] 1-(1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-4-基)脲

[1400]

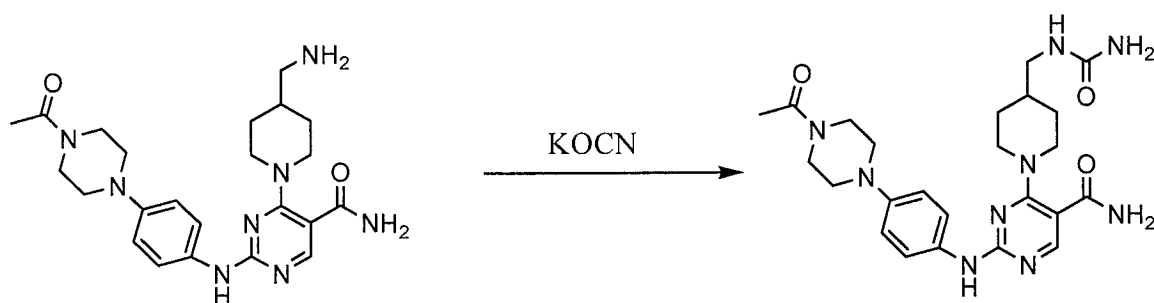


[1401] 向 1-(4-(4-(4-(4-氨基哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (48mg, 0.12mmol) 的 CH_3CN (2mL) 混悬液中加入 KCN (60mg, 0.74mmol) 的 H_2O (2mL) 溶液。混悬液变得澄清。将混合物于 70°C 搅拌 2h。然后将其通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (12mg)。MS 457.3 (M+H)⁺; UV 204.8, 266.8nm。

[1402] 实施例 130

[1403] 2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(4-(脲基甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺

[1404]

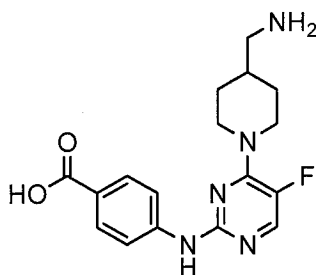


[1405] 向 2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺 (8mg, 0.018mmol) 的 CH_3CN (1mL) 混悬液中加入 KCN (18mg, 0.22mmol) 的 H_2O (1mL) 溶液。将混合物于 70°C 搅拌 20h。然后将其通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (6mg)。MS 496.5 (M+H)⁺; UV 200.8, 271.8nm。

[1406] 实施例 131

[1407] 4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯甲酸

[1408]



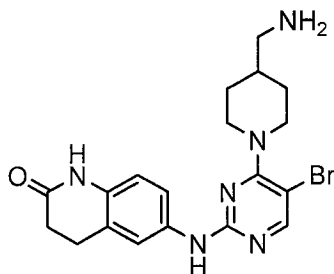
[1409] 根据合成化合物 1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的类似方法, 采用 4-氨基苯甲酸, 合成目标化合物。MS

346.2 (M+H)⁺; UV 215.8, 275.8, 292.8nm。

[1410] 实施例 132

[1411] 6-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-溴嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮

[1412]

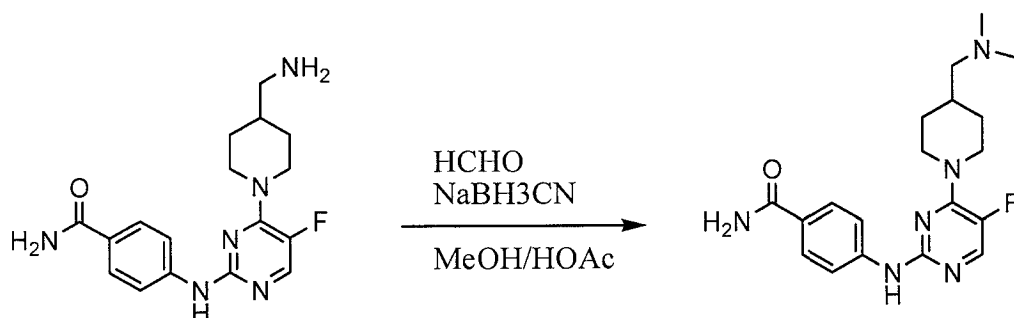


[1413] 根据合成化合物 6-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮的类似方法,采用 5-溴-2,4-二氯代嘧啶,合成目标化合物。MS 431.4 和 433.3 (M+H, Br 模式); UV 222.3, 263.9nm。

[1414] 实施例 133

[1415] 4-(4-(4-((二甲基氨基)甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺

[1416]

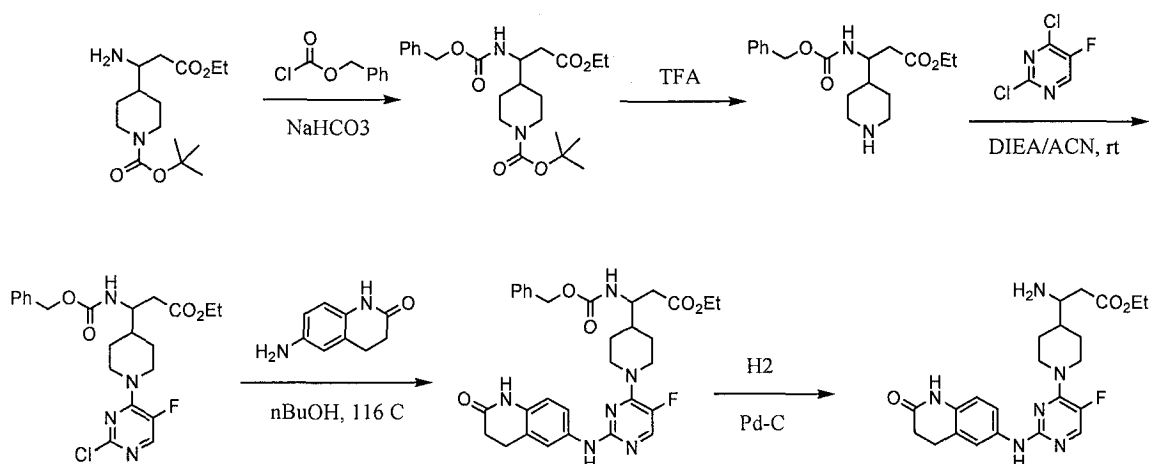


[1417] 向 4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺 (100mg, 0.291mmol) 和 HCHO (37% aq., 0.060mL, 0.807mmol) 的 MeOH (3mL) 和 HOAc (0.3mL) 的混合物中加入 NaBH₃CN (60mg, 0.952mmol)。将混合物于室温下搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化,获得目标化合物 (20mg)。MS 373.3 (M+H)⁺; UV 213.8, 269.8, 292.8nm。

[1418] 实施例 134

[1419] 3-氨基-3-(1-(5-氟-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)嘧啶-4-基)哌啶-4-基)丙酸乙酯

[1420]



[1421] 向 3-(1-Boc-哌啶-4-基)- β -DL-丙氨酸乙酯盐酸盐 (518mg, 1.54mmol) 的 CH_2Cl_2 (10mL) 混悬液中加入 NaHCO_3 (1.00g, 1.20mmol) 的 H_2O (15mL) 溶液。然后加入氯代甲酸苄基酯 (0.246mL, 95%, 1.66mmol)。将混合物于室温下搅拌 20h。分离 CH_2Cl_2 层, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 4-(1-(苄基氧基羰基氨基)-3-乙氧基-3-氧代丙基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯 (660mg)。

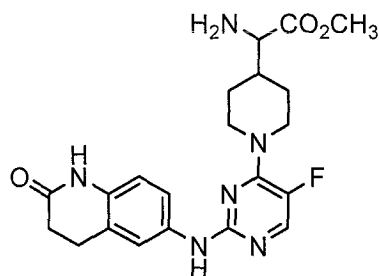
[1422] 向 4-(1-(苄基氧基羰基氨基)-3-乙氧基-3-氧代丙基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯 (660mg, 1.52mmol) 的 CH_2Cl_2 (5mL) 溶液中加入 TFA (5mL)。将混合物于室温下搅拌 3h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 3-(苄基氧基羰基氨基)-3-(哌啶-4-基)丙酸乙酯, 为 TFA 盐。将该盐溶于 EtOAc (50mL), 采用 5% 的碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 3-(苄基氧基羰基氨基)-3-(哌啶-4-基)丙酸乙酯, 为游离碱 (102mg)。

[1423] 向 3-(苄基氧基羰基氨基)-3-(哌啶-4-基)丙酸乙酯 (102mg, 0.305mmol) 和 2,4-二氯代-5-氟嘧啶 (51mg, 0.305mmol) 的 CH_3CN (2mL) 溶液中加入 DIEA (0.106mL, 0.610mmol)。将混合物于室温下搅拌 68h。然后将其真空浓缩。残留物溶于 $n\text{BuOH}$ (3mL), 加入 6-氨基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮 (82mg, 0.506mmol)。将溶液于 116°C 搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物溶于 MeOH (9mL)。向该溶液中加入 Pd-C (10%, 40mg)。然后将混合物在氢气环境中氢化 20h。将其通过硅藻土过滤。滤液真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (66mg)。MS 457.4 (M+H); UV 211.9, 277.3nm。

[1424] 实施例 135

[1425] 2-氨基-2-(1-(5-氟-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)嘧啶-4-基)哌啶-4-基)乙酸甲酯

[1426]



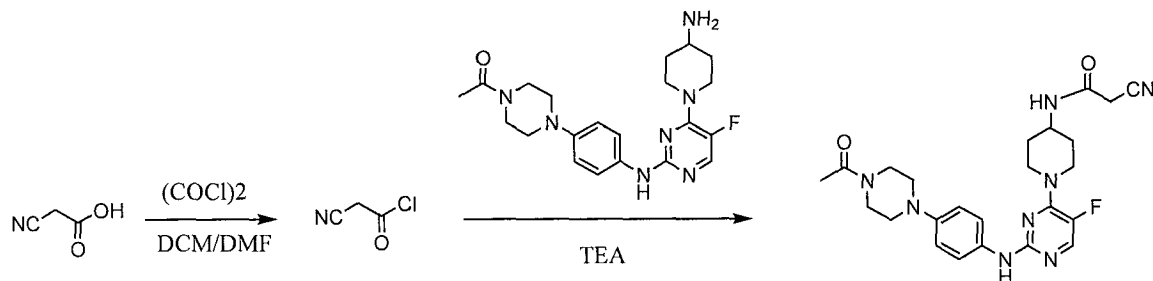
[1427] 根据合成化合物 6-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮的类似方法, 采用 2-(叔-丁氧基羰基氨基)-2-(哌啶-4-基)乙

酸甲酯,合成目标化合物。MS 429.3 (M+H)⁺;UV 207.0,274.2nm。

[1428] 实施例 136

[1429] N-(1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-4-基)-2-氰基乙酰胺

[1430]

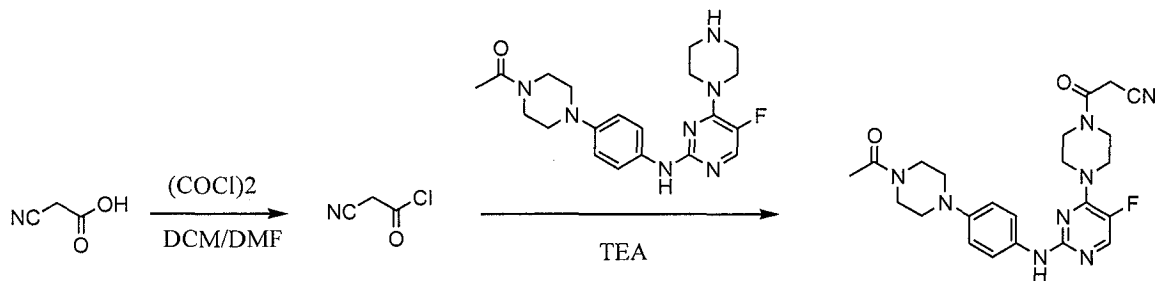


[1431] 于室温下,向氰基乙酸 (85mg,1.00mmol) 的 CH_2Cl_2 (2mL) (含有 2 滴 DMF) 混悬液中加入草酰氯 (0.082mL,0.94mmol)。有气体逸出,混悬液变得澄清。然后将其搅拌 30 分钟。向在冰浴中冷却的上述溶液中滴加 1-(4-(4-(4-氨基哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (70mg,0.17mmol) 和 TEA (0.478mL,3.43mmol) 的 DMF (2mL) 溶液。然后将混合物于室温下搅拌 3h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化,获得目标化合物 (12mg)。MS 481.5 (M+H)⁺;UV 204.7,266.3nm。

[1432] 实施例 137

[1433] 3-(4-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-1-基)-3-氧代丙腈

[1434]

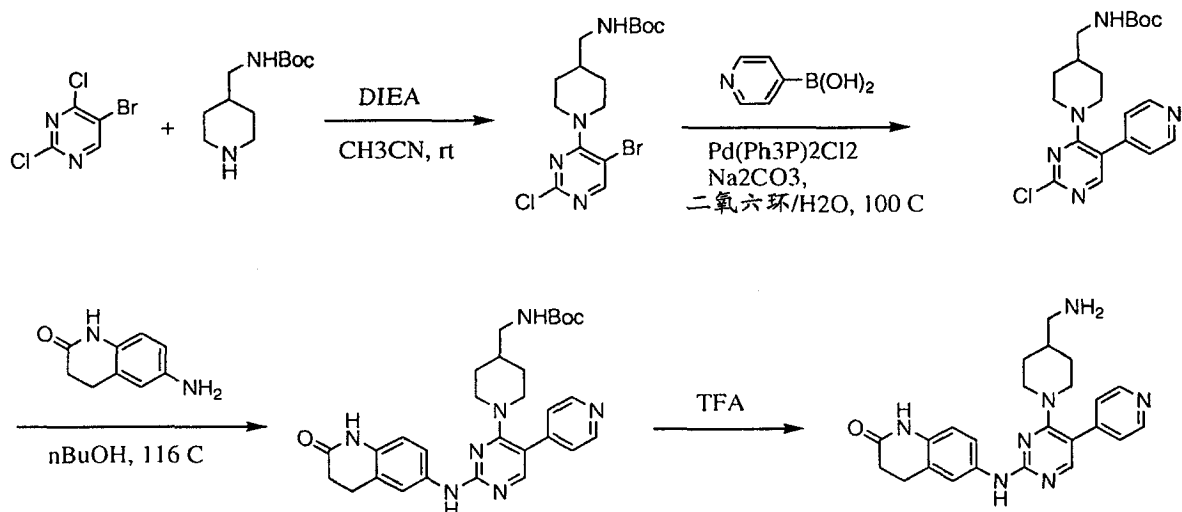


[1435] 于室温下,向氰基乙酸 (85mg,1.00mmol) 的 CH_2Cl_2 (2mL) (含有 2 滴 DMF) 的混悬液中加入草酰氯 (0.082mL,0.94mmol)。有气体逸出,混悬液变得澄清。然后将其搅拌 50min。向在冰浴中冷却的上述溶液中滴加 1-(4-(4-(5-氟-4-(哌嗪-1-基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮 (23mg,0.057mmol) 和 TEA (0.400mL,2.87mmol) 的 DMF (1mL) 溶液。然后将混合物于室温下搅拌 90min。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化,获得目标化合物 (17mg)。MS 467.5 (M+H)⁺;UV 201.0,269.4nm。

[1436] 实施例 138

[1437] 6-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-(吡啶-4-基)嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮

[1438]



[1439] 向 5-溴-2,4-二氯代嘧啶 (0.256mL, 2.00mmol) 和 4-N-Boc-氨基甲基哌啶 (428mg, 2.00mmol) 的 CH_3CN (5mL) 混合物中加入 DIEA (0.700mL, 4.02mmol)。将混合物于室温下搅拌 40h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 用 1N HCl 洗涤, 然后用 5% 碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 (1-(5-溴-2-氯代嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (610mg)。

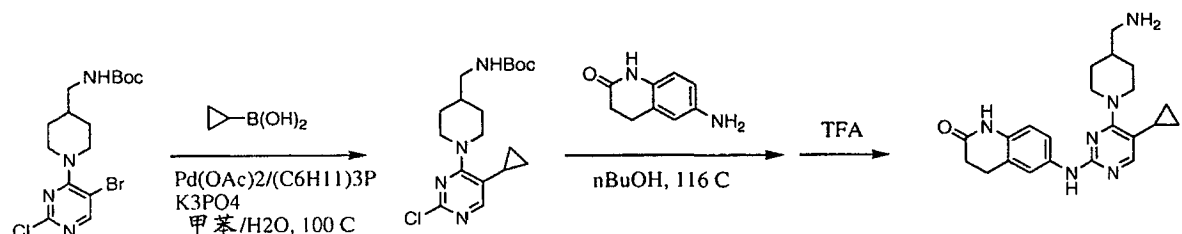
[1440] 向 (1-(5-溴-2-氯代嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (229mg, 0.564mmol)、吡啶-4-硼酸 (76mg, 0.618mmol) 和 $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{Cl}_2$ (40mg, 0.056mmol) 的二氧六环 (3mL) 混合物中加入 aq. Na_2CO_3 (180mg, 1.69mmol) (1.0mL)。将混合物于 100°C 搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 (1-(2-氯代-5-(吡啶-4-基)嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (80mg)。

[1441] 将 (1-(2-氯代-5-(吡啶-4-基)嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (80mg, 0.20mmol) 和 6-氨基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮 (50mg, 0.30mmol) 的 nBuOH (3mL) 溶液于 116°C 搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物溶于 TFA (4mL)。于室温下搅拌 30min 后, 真空除去 TFA。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物。MS 430.4 (M+H)⁺; UV 207.7, 264.5nm。

[1442] 实施例 139

[1443] 6-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-环丙基嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮

[1444]



[1445] 将 (1-(5-溴-2-氯代嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯 (112mg, 0.276mmol)、环丙基硼酸 (40mg, 0.465mmol)、 K_3PO_4 (200mg, 0.943mmol) 和三环己基膦 (20mg, 0.071mmol) 的甲苯 (3mL) 和 H_2O (0.2mL) 的混合物采用氩气脱气, 然后加入 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (10mg, 0.044mmol)。将混合物于 100°C 搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相,

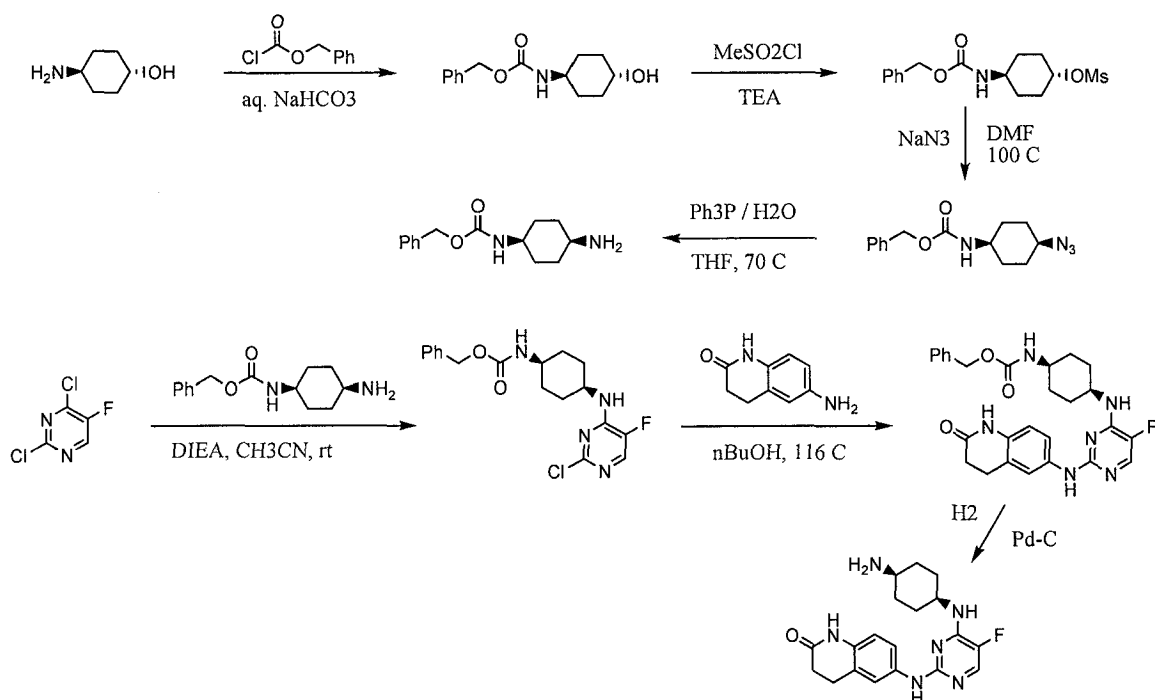
盐水洗涤,硫酸钠干燥,真空浓缩,获得(1-(2-氯代-5-环丙基嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯(130mg)。

[1446] 将(1-(2-氯代-5-环丙基嘧啶-4-基)哌啶-4-基)甲基氨基甲酸叔-丁基酯(99mg, 0.27mmol)和6-氨基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮(50mg, 0.30mmol)的nBuOH(3mL)溶液于116℃搅拌20h。然后将其于140℃再搅拌20h。将其真空浓缩。残留物通过HPLC纯化,获得粉末,然后将其溶于TFA(3mL)。于室温下搅拌20h后,真空除去TFA。残留物通过HPLC纯化,获得目标化合物(16mg)。MS 393.5(M+H)⁺;UV 208.9, 264.5nm。

[1447] 实施例 140

[1448] 6-(4-((1s,4s)-4-氨基环己基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮

[1449]



[1450] 于室温下,向反式-4-氨基环己醇(2.07g, 13.6mmol)和NaHCO₃(3.50g, 41.7mmol)的H₂O(20mL)混合物中加入氯代甲酸苄基酯(1.92mL, 13.6mmol)的二氧六环(15mL)的溶液。将混合物于室温下搅拌20h。收集白色沉淀物,为(1R,4R)-4-羟基环己基氨基甲酸苄基酯(3.37g)。

[1451] 于室温下,向(1R,4R)-4-羟基环己基氨基甲酸苄基酯(1.14g, 4.58mmol)和三乙胺(1.30mL, 9.34mmol)的CH₂Cl₂(15mL)混悬液中加入甲磺酰氯(0.425mL, 5.49mmol)。将混合物于室温下搅拌20h。加入更多的甲磺酰氯(0.425mL, 5.49mmol)和三乙胺(1.00mL)。继续搅拌48h。反应溶液采用5%的碳酸氢钠洗涤,然后采用1N HCl洗涤。分离有机相,硫酸钠干燥,真空浓缩,获得(1R,4R)-4-(苄基氧基羰基)环己基甲磺酸酯,为固体(1.13g)。

[1452] 将(1R,4R)-4-(苄基氧基羰基)环己基甲磺酸酯(1.13g, 3.46mmol)和NaN₃(0.674g, 10.4mmol)的DMF(10mL)混合物于100℃搅拌20h。加入水和EtOAc。分离有机相,用水洗涤,硫酸钠干燥,真空浓缩,获得(1s,4s)-4-叠氮基环己基氨基甲酸苄基酯(0.819g)。

[1453] 于室温下,向 (1s,4s)-4-叠氨基环己基氨基甲酸苄基酯 (0.410g,1.50mmol) 的 THF (8mL) 和 H₂O (0.100mL,5.56mmol) 的溶液中加入 Ph₃P (0.590g,2.25mmol)。将溶液于 70℃ 搅拌 20h。加入 EtOAc 和 1N HCl。分离水层,采用 EtOAc 洗涤。然后将其采用 5N NaOH 碱化至 pH12。游离胺产物采用 EtOAc 萃取。EtOAc 溶液经硫酸钠干燥,真空浓缩,获得 (1s,4s)-4-氨基环己基氨基甲酸苄基酯 (0.270g)。

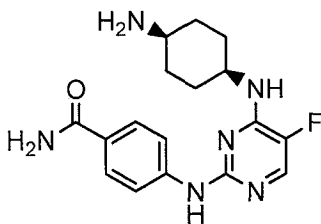
[1454] 向 2,4-二氯代-5-氟嘧啶 (226mg,1.35mmol) 和 (1s,4s)-4-氨基环己基氨基甲酸苄基酯 (335mg,1.35mmol) 的 CH₃CN (6mL) 混合物中加入 DIEA (0.600mL,3.45mmol)。将混合物于室温下搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相,用 1N HCl 洗涤,硫酸钠干燥,真空浓缩,获得 (1s,4s)-4-(2-氯代-5-氟嘧啶-4-基氨基)环己基氨基甲酸苄基酯 (511mg)。

[1455] 将 (1s,4s)-4-(2-氯代-5-氟嘧啶-4-基氨基)环己基氨基甲酸苄基酯 (170mg,0.450mmol) 和 6-氨基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮 (109mg,0.670mmol) 的 nBuOH (3mL) 溶液于 116℃ 搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物溶于 MeOH (4mL)。加入 Pd-C (10%,30mg)。然后将混合物在氢气环境中氢化 20h。将其通过硅藻土过滤,滤液真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化,获得目标化合物 (30mg)。MS 371.2 (M+H)⁺;UV 215.8,263.8nm。

[1456] 实施例 141

[1457] 4-(4-((1s,4s)-4-氨基环己基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺

[1458]

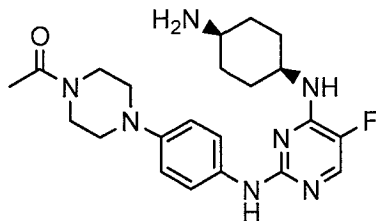


[1459] 根据合成化合物 6-(4-((1s,4s)-4-氨基环己基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮的类似方法,采用 4-氨基苯甲酰胺,合成目标化合物。MS 345.3 (M+H)⁺;UV 212.8,277.8nm

[1460] 实施例 142

[1461] 1-(4-(4-(4-((1s,4s)-4-氨基环己基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮

[1462]

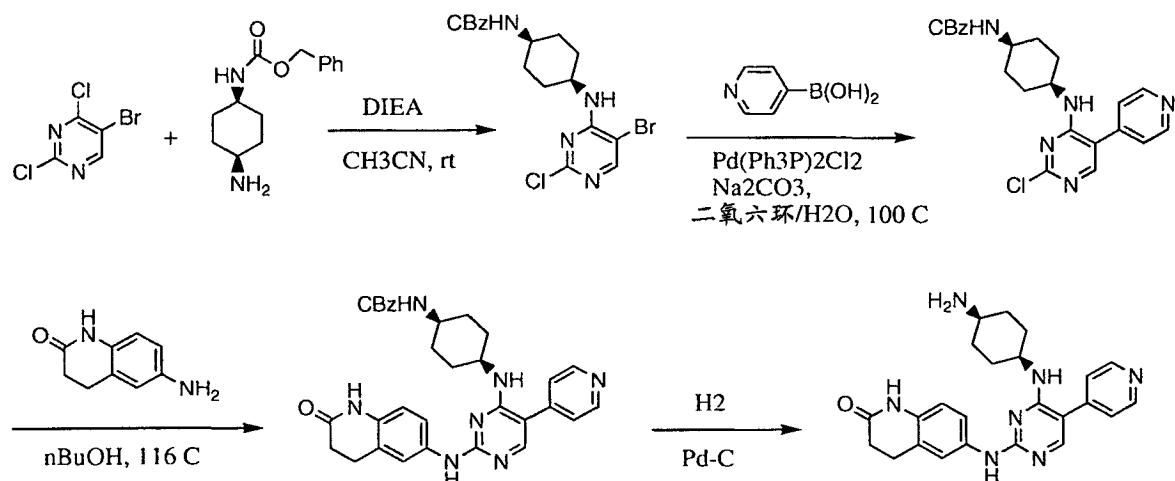


[1463] 根据合成化合物 6-(4-((1s,4s)-4-氨基环己基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮的类似方法,采用 1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮,合成目标化合物。MS 428.3 (M+H)⁺;UV 215.8,252.8nm。

[1464] 实施例 143

[1465] 6-(4-((1s,4s)-4-氨基环己基氨基)-5-(吡啶-4-基)嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮

[1466]



[1467] 向 2,4-二氯代-5-溴嘧啶 (244mg, 1.07mmol) 和 (1s,4s)-4-氨基环己基氨基甲酸苄基酯 (266mg, 1.07mmol) 的 CH_3CN (5mL) 混合物中加入 DIEA (0.373mL, 2.14mmol)。将混合物于室温下搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相, 用 1N HCl 洗涤, 然后用 5% 碳酸氢钠洗涤, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 获得 (1s,4s)-4-(5-溴-2-氯代嘧啶-4-基氨基) 环己基氨基甲酸苄基酯 (440mg)。

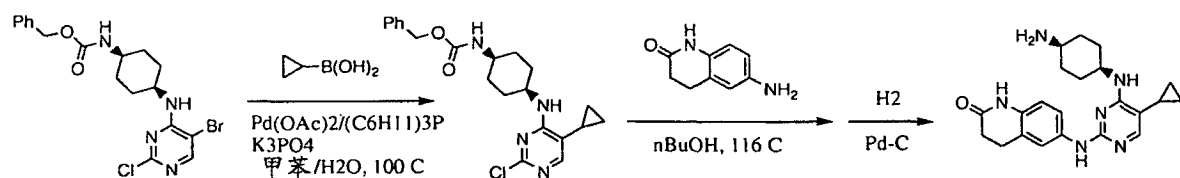
[1468] 向 (1s,4s)-4-(5-溴-2-氯代嘧啶-4-基氨基) 环己基氨基甲酸苄基酯 (220mg, 0.500mmol)、吡啶-4-硼酸 (68mg, 0.552mmol) 和 $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{Cl}_2$ (35mg, 0.050mmol) 的二氧六环 (3mL) 溶液中加入 aq. Na_2CO_3 (160mg, 1.50mmol) (1.0mL)。将混合物于 100°C 搅拌 20h。加入更多的吡啶-4-硼酸 (68mg, 0.552mmol) 和 $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{Cl}_2$ (35mg, 0.050mmol)。将其于 100°C 再搅拌 90min。然后将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得 (1s,4s)-4-(2-氯代-5-(吡啶-4-基)嘧啶-4-基氨基) 环己基氨基甲酸苄基酯 (93mg)。

[1469] 将 (1s,4s)-4-(2-氯代-5-(吡啶-4-基)嘧啶-4-基氨基) 环己基氨基甲酸苄基酯 (93mg, 0.21mmol) 和 6-氨基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮 (52mg, 0.32mmol) 的 nBuOH (4mL) 溶液于 116°C 搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物溶于 MeOH (6mL)。加入 Pd-C (10%, 44mg)。然后将混合物在氢气环境中氢化 2h。加入更多的 Pd-C (10%, 26mg)。将其在氢气环境中再氢化 20h。将其通过硅藻土过滤, 滤液真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化, 获得目标化合物 (70mg)。MS 430.4 (M+H); UV 210.1, 259.6, 324.8nm。

[1470] 实施例 144

[1471] 6-(4-((1s,4s)-4-氨基环己基氨基)-5-环丙基嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮

[1472]



[1473] 将 (1s,4s)-4-(5-溴-2-氯代嘧啶-4-基氨基) 环己基氨基甲酸苄基酯 (220mg, 0.500mmol)、环丙基硼酸 (52mg, 0.605mmol)、 K_3PO_4 (310mg, 1.46mmol) 和三环己基膦 (25mg, 0.089mmol) 的甲苯 (3mL) 和 H_2O (0.2mL) 的化合物采用氩气脱气, 然后加入 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (10mg,

0.044mmol)。将混合物于 100℃搅拌 20h。加入水和 EtOAc。分离有机相,用盐水洗涤,硫酸钠干燥,真空浓缩,获得 (1s,4s)-4-(2-氯代-5-环丙基嘧啶-4-基氨基)环己基氨基甲酸苄基酯 (200mg)。

[1474] 将 (1s,4s)-4-(2-氯代-5-环丙基嘧啶-4-基氨基)环己基氨基甲酸苄基酯 (200mg,0.500mmol) 和 6-氨基-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮 (105mg,0.648mmol) 的 nBuOH(4mL) 溶液于 116℃搅拌 20h。将其真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化,获得 (1s,4s)-4-(5-环丙基-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)嘧啶-4-基氨基)环己基氨基甲酸苄基酯 (97mg)。

[1475] 将 (1s,4s)-4-(5-环丙基-2-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基氨基)嘧啶-4-基氨基)环己基氨基甲酸苄基酯 (70mg,0.13mmol) 和 Pd-C(10%,30mg) 的 MeOH(5mL) 混合物在氢气环境中氢化 20h。将其通过硅藻土过滤。滤液真空浓缩。残留物通过 HPLC 纯化,获得目标化合物 (40mg)。MS393.4(M+H)⁺;UV 219.3,260.8nm。

[1476] 实施例 145

[1477] 本实施例说明评价本发明化合物的方法和由此类测定方法得到的结果。可通过本领域中已知的各种方法(例如测试化合物抑制人血浆 syk 活性的能力试验)测定本发明化合物在体外和体内抑制人 syk 的活性。可通过 IC₅₀ 值(以 nM 计)测定本发明化合物显示的抑制人 syk 的有效亲和力。IC₅₀ 值为使人 syk 蛋白水解活性抑制 50% 所需的化合物浓度(按 nM 计)。IC₅₀ 值越小,表示化合物抑制 syk 活性的活性(有效性)越高

[1478] 用于检测和测定抑制 syk 活性的体外测定方法如下:

[1479] 抑制 sky 酪氨酸磷酸化活性

[1480] 通过测定试验化合物抑制 syk 介导的 syk 特异性底物的酪氨酸磷酸化的能力,评价候选分子抑制 syk 酪氨酸磷酸化活性的效力。

[1481] 采用由 Perkin Elmer Life 和 Analytical Sciences(Boston,MA) 开发的 LANCE™ 技术,测定 SYK 酪氨酸磷酸化活性。LANCE™ 是指均相时间分辨荧光分析,该方法采用技术例如时间分辨荧光共振能量转移测定(TR-FRET)(通常参见 Perkin Elmer Application Note-如何优化用基于时间分辨荧光分析的 LANCE 检测的酪氨酸激酶测定,(How to Optimize a Tyrosine Kinase Assay Using Time Resolved Fluorescence-Based LANCE Detection) 中的方法, www.perkinelmer.com/lifesciences)。该测定主要涉及采用从磷酸特异性标记抗体转移到链亲和素-别藻蓝素作为受体的能量转移测定磷酸化底物。

[1482] 为测试候选分子抑制 SYK 酪氨酸磷酸化活性的能力,将分子在 30% 的 DMSO 中复溶,按 1:3 比例进行系列稀释,最终稀释液含 DMSO 但不含候选分子。在测定中,最终 DMSO 浓度为 3%。通过两部分反应进行激酶实验。第一部分反应为激酶反应,反应物含有候选分子、全长活性重组 SYK 酶(Millipore, CA) 和生物素标记的 SYK 特异性底物即生物素-DEEDYESP-OH。第二部分反应涉及激酶反应的终止且同时加入检测试剂-标记的抗磷酸酪氨酸试剂(Eu-W1024-PY100,Perkin Elmer,Boston,MA) 和链亲和素-别藻蓝素检测试剂(SA-APC,Prozyme,CA)。在黑色 U 形底 96 孔微量板中进行激酶反应。用含 50mM Tris pH 7.5、5mM MgCl₂ 和 1mM DTT 的缓冲液稀释至终反应体积为 50 μL,含 1nM 终浓度的活性 SYK 酶、550nM SYK 底物和 100 μM ATP。使反应在室温下进行 1 小时。淬灭缓冲液含有 100mM Tris pH 7.5、300mM NaCl₂、20mM EDTA、0.02% Brij35 和 0.5% BSA。按以下稀释度,将检测试剂

加入反应混合物：对于 Eu-W1024-PY100 而言按 1 : 500 加入，对于 SA-APC 而言按 1 : 250 加入。通过加入 50 μ L 含检测试剂的淬灭缓冲液将激酶反应终止。在室温下检测 1h。在抑制剂存在或不存在的条件下，在 TR-FRET 仪 Analyst HT (Molecular Probes, Sunnyvale, CA) 中检测磷酸化底物，用 CriterionHost Release 2.0 (Molecular Probes, Sunnyvale, CA) 设置测定条件。使用的参数设置如下：激发波长 360nm，发射波长 665-7.5nm，分束器 350nm50/50，闪光 100 脉冲，迟滞 60us，积分 400us，z-高度 2mm。与不存在抑制剂的情况相比，根据在抑制剂的存在下观察到的最大响应计算 SYK-酪氨酸激酶活性的抑制。通过非线性回归分析得出 IC_{50} 值。

[1483] 用细胞内磷酸-流式细胞计量法测试化合物对完整非霍奇金淋巴瘤细胞系 Ramos 和 SUDHL-6 中 Syk 活性的抑制。吸取处于 log 期生长的 10×10^6 细胞的等份试样；通过将细胞与 3 μ g/ml 的 B 细胞受体的特异性抗体温育 10 分钟激活 Syk 激酶。随后在室温下，将细胞在 1% 多聚甲醛中固化 5 分钟，在磷酸盐缓冲盐水中漂洗，然后通过冰冷甲醇中培育 2 小时将其透化。将细胞再在磷酸盐缓冲盐水中漂洗，然后与磷酸化的 Erk (Y204) 和 BLNK (Y84) 的特异性抗体一起温育 30 分钟，磷酸化的 Erk (Y204) 和 BLNK (Y84) 为 Syk 激酶活性的指示剂、磷酸化的 Syk (Y352) 为 Src 家族激酶活性的量度指标。使用的所有抗体均购自 BD Pharmingen (San Jose, CA)。与抗体一起温育后，再次漂洗细胞，通过流式细胞仪检测。

[1484] 也评价了化合物对非霍奇金淋巴瘤 B 细胞系 SUDHL-4、SUDHL-6 和 Toledo 的抗增生作用。SUDHL-4 和 SUDHL-6 的生长和存活均需要 B 细胞受体信号，而 Toledo 细胞系（在本文中用作阴性对照）不需要。将细胞等份试样加入 96 孔板的各孔中，与递增浓度的化合物一起温育 72 小时，然后根据厂商的说明，用 MTT 测定法 (Chemicon International, Inc., Temecula, CA) 测定细胞存活和增殖。

[1485] 通过测定凋亡标记半胱氨酸天冬氨酸酶 3 评价对非霍奇金淋巴瘤 B 细胞系 SUDHL-4、SUDHL-6 和 Toledo 凋亡的诱导。将细胞与 1、3 或 10 μ M 化合物一起温育 24、48 和 72 小时。在每个时间点，采用单克隆兔抗活性半胱氨酸天冬氨酸酶 -3 抗体试剂盒和相关方案 (BD Pharmingen) 对细胞进行流式细胞计分析。表 5A 和 5B 给出由两个独立实验得到的数据，它们代表在指定条件下与化合物一起温育后经历凋亡的总细胞百分比。

[1486] 如所示，不仅 B 细胞信号、增生和存活需要 Syk 活性，而且该活性对 B 细胞受体交联时细胞的激活也至关重要。B 细胞激活导致涉及细胞信号、抗原呈递和粘附的几种蛋白的细胞表面表达增加。其中，通常通过测定 CD80、CD86 和 CD69 以确定 B 细胞激活状态。因此，吸取从脾分离的初级小鼠 B 细胞的等份试样，在山羊抗小鼠 IgD (eBiosciences, Inc., San Diego, CA) 的存在下，将各试样与递增浓度的化合物 (0.05-2 μ M) 一起温育 20 小时，使其与 B 细胞受体交联。然后，将细胞漂洗，在冰上与 CD80、CD86 和 CD69B 细胞激活标记的特异性抗体一起培育 30 分钟。用 B 细胞标记 CD45RO 染色，鉴定合并的种群中的 B 细胞。所有抗体购自 BD Pharmingen。

[1487] 在下表中，化合物在 Syk 和 / 或 Jak 实验中的活性提供如下：

[1488] +++++ = $IC_{50} < 0.0010 \mu M$; +++++ = $0.0010 \mu M < IC_{50} < 0.010 \mu M$, +++ = $0.010 \mu M < IC_{50} < 0.10 \mu M$, ++ = $0.10 \mu M < IC_{50} < 1 \mu M$, + = $IC_{50} > 1 \mu M$ 。

[1489] 表 3：

[1490]

实施例	MW	MH+	Syk IC ₅₀
1	356.393	357.1, 358.1	+++
2	442.527	443.34, 444.47	++
3	356.393	357.2, 358.4	+++
4	468.565	469.36, 470.31	+++
5			+
6			+
7			++
28	472.565	473.4	+
37	413.457	414.3	++
38	428.512	429.3	+
39	371.416	372.3	++
40	330.355	331.1	+++
41	405.506	406.2	++
42	347.382	348.1	++
43	382.431	383.2	++
44	525.661	526.47	+
45	473.585	475	++
46	473.585	474.5	+++
47	413.485	414.3	+++
48	411.469	412.3	+++
49	398.273	398.3 ; 400.3 ; 溴模式	++++
50	353.817	354.0, 356.0	++++

51	335. 371	336. 1	++
52	442. 542	443. 1	+++
53	486. 595	487	++
54	415. 476	416. 1	+++
55	430. 487	431	+++
56	378. 48	379. 2	+++
57	448. 531	449	+
58	348. 414	349	++
59	333. 399	334. 4	+

[1491]

实施例	MW	MH+	Syk IC ₅₀
60	350. 43	351. 4	+
61	392. 467	393. 5	+
62	367. 457	368. 2	+++
63	393. 495	394. 2	+
64	339. 403	340. 2	++
65	381. 484	382. 2	++
66	448. 575	449. 3	+++
67	460. 385	460. 1, 462. 1	+
68	451. 509	452	++
69	434. 5	435. 2, 436. 2	+++
70	406. 446	407. 0, 408. 0	+++
71	476. 585	477. 0, 478. 0	++
72	366. 425	367. 0, 368. 0	++

73	352.398	352.9, 354.1	++
74	366.425	367.0, 368.0	+++
75	352.398	352.8, 353.8	+++
76	371.463	372.1, 373.1	++
77	371.463	372.2, 373.1	++
78	428.456	429.1, 430.2	+++
79	265.28	266.1, 267.1	++
80	376.464	377.2, 378.2	++
81	362.437	363.1, 364.1	++
82	336.399	337.1, 338.1	++
83	322.332	323.2, 324.2	++
84	393.495	394.3, 395.3	++
85	407.522	408.4, 409.4	++
86	380.452	381.2, 382.2	+++
87	366.425	367.2, 368.2	+++
88	331.343	332.1, 333.1	++
89	323.36	324.2, 325.2	++
90	409.494	410.2, 411.2	++
91	309.333	310.2, 311.1	+++
92	352.402	353.21	+++

[1492]

实施例	MW	MH+	Syk IC ₅₀
93	438.536	439.07, 440.49	++
94	424.509	425.07, 426.32	++

95B	428. 5	429. 1	++
95A	470. 537	471. 1	++
96B	464. 552	465. 1	+++
96A	506. 589	507. 1	++
97	401. 474	402. 3	++
98B	367. 457	368. 5	++
98A	409. 494	410. 5	++
99B	367. 457	368. 5	++
99A	409. 494	410. 5	++
100B	427. 531	428. 5	+
100A	469. 468	470. 5	+
101	385. 431	386. 2	+++
102	346. 35	347. 2	+
103	359. 393	360. 3	++++
104	333. 355	334. 3	+++
105	361. 409	362. 3	+++
106	369. 407	370. 3	++++
107	416. 489	417. 4	+++
108	377. 408	378. 4	+
109	418. 461	419. 3	+
110	418. 461	419. 3	+
111	425. 452	426. 4	++
112	479. 519	480. 5	++
113	402. 433	403. 4	+

114	475. 556	476. 4	++
115	423. 48	424. 3	++
15	449. 56	450. 6	+++
116	520. 64	521. 4	+
117B	422. 49	423. 3	+
117A	464. 53	465. 3	+
118	463. 55	464. 3	++

[1493]

实施例	MW	MH+	Syk IC ₅₀
119	476. 581	477. 3	+
120	420. 473	421. 3	+
121	419. 489	420. 3	++
122	443. 983	444. 3	+++
123	413. 457	414. 3	+
124	399. 474	400. 3	+
125	442, 499	443. 3	+
126	455, 538	456. 3	++
127	547, 635	548. 4	+
128	413, 501	414. 3	+
129	456, 526	457. 3	+
130	495, 588	496. 5	+
131	345, 378	346. 2	+++
132	431, 343	431. 4, 433. 3	+++
133	372, 448	373. 3	+

134	456,522	457.4	++
135	428,468	429.3	+
136	480,548	481.5	+
137	466,521	467.5	+
138	429,528	430.4	+
139	392,507	393.5	++
140	370,432	371.2	++
141	344,394	345.3	++
142	427,528	428.3	++
143	429,528	430.4	+
144	392,507	393.4	+++

[1494] 体外抑制 GPVI 介导的血小板功能

[1495] 通过测定对 GPVI 特异性激动剂凝集素蛋白原诱导的人血小板钙游走或聚集的抑制,测定候选分子抑制 syk 介导的血小板功能的能力。在 96 孔微量板模式中,在人洗涤的血小板中评价钙游走。通过 96 孔微量板测定评价血小板聚集(通常参见 Jantzen, H. M. 等(1999) Thromb. Hemost. 81:111-117 中的方法),或按标准比色池透光率集合度测定法,用人富含血小板血浆 (PRP) 评价凝集。

[1496] 体外抑制凝集素蛋白原介导的血小板钙游走

[1497] 用 FLIR 钙 3 测定试剂盒 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA), 在人洗涤的血小板中测定对凝集素蛋白原诱导的钙游走的抑制。为制备洗涤血小板, 将从健康志愿者中采集的不含药物的人静脉血加入含 PGI_2 的 ACD (85mM 柠檬酸钠, 111mM 葡萄糖, 71.4mM 柠檬酸) (最终 1.25ml ACD 含 $0.2 \mu\text{M}$ PGI_2 ; PGI_2 获自 Sigma, St. Louis, MO) 中。在室温下, 通过在 $160 \times g$ 下离心 20 分钟制备富含血小板血浆 (PRP)。通过在 $730g$ 下将 PRP 离心 10 分钟制备洗涤血小板, 将血小板沉淀再悬浮于 CGS (13mM 柠檬酸钠, 30mM 葡萄糖, 120mM NaCl; 2ml CGS/10ml 原始血液体积)。在 37°C 下温育 15 分钟后, 通过在 $730g$ 下离心 10 分钟收集血小板, 按 3×10^8 血小板/ml 浓度, 再悬浮于 Hepes-Tyrode' s 缓冲液 (10mM Hepes, 138mM NaCl, 5.5mM 葡萄糖, 2.9mM KCl, 12mM NaHCO_3 , pH7.4)。将该血小板悬浮液在室温下保持 >45 分钟, 然后用于钙游走测定。

[1498] 为进行 96 孔板钙游走试验, 将等体积 3×10^8 洗涤血小板/ml 与悬浮于 $1 \times \text{Hank}'\text{s}$ 平衡盐溶液 pH 7.4、20mM Hepes 缓冲液的等体积钙 -3 测定试剂 A 一起温育。总反应体积 0.2ml/孔中含 1.5×10^8 /ml 洗涤血小板/钙 -3 测定试剂 A 混合液、 $10 \mu\text{M}$ 埃替非巴肽 (Millennium Pharmaceuticals Inc, Cambridge, MA)、用 0.75% DMSO 系列稀释 (1:3)

的试验化合物溶液。按每 8 孔组加入 1 孔 (1well of each 8 set) 的方式, 仅加入 DMSO, 以便读取最大钙游走数。在室温下预温育 20 分钟后, 将 96 孔微量板读板器安装在 FlexStation (Molecular Devices, Sunnyvale, Calif) 上。用 SOFTMax Pro 设置测定钙游走的 FlexStation 实验条件。使用的参数设置详述如下。荧光参数 - 测定模式: 挠曲, 激发波长 485nm、525nm, 在 515nm 处遮光 (cut-off); 参数 - PMT 灵敏度 -6, 移液枪高度 230 μ l, 读板时间 2 分钟 40 秒, 读板间隔 2 秒, 温度 -23-25 $^{\circ}$ C。基线读板 18 秒后, 通过加入凝集素蛋白原至终浓度 125ng/ml 启动钙游走。与抑制剂不存在的情况相比, 根据在抑制剂存在下观察到的最大响应相对值计算钙游走抑制。通过非线性回归分析获得 IC_{50} 。

[1499] 体外抑制凝集素蛋白原介导的血小板聚集

[1500] 为制备用于聚集测定法的人富含血小板血浆 (PRP), 将从健康志愿者中采集的不含药物的人静脉血加入 0.38% 柠檬酸钠 (0.013M, 最终 pH7.0)。通过在室温下在 160 $\times$ g 下将全血离心 20 分钟制备富含血小板血浆。将 PRP 层取出, 转移到新试管中, 如果需要, 用贫血小板血浆 (PPP) 调节血小板计数, 以达到血小板浓度为 $\sim 3 \times 10^8$ 血小板 /ml。通过将剩余血液样品 (除去 PRP 后) 在 800 $\times$ g 下离心 20 分钟制备 PPP。然后该 PRP 制剂可用于 96 孔板或标准吸收池集合度测定的聚集测定。

[1501] 根据类似于 Frantantoni 等, Am. J. Clin. Pathol. 94, 613 (1990) 所述方法, 在 96 孔平底微量板中, 用微量板摇床和读板器测定凝集素蛋白原诱导的聚集的抑制。所有步骤均在室温下进行。对于用富含血小板血浆 (PRP) 进行 96 孔板聚集试验而言, 总反应体积 0.2ml/孔中含 190 μ l PRP ($\sim 3 \times 10^8$ 血小板 /ml, 参见上述) 和 5 μ l 的用 30% DMSO 系列稀释的试验化合物溶液或缓冲液 (用于对照孔)。在室温下预温育 20 分钟后, 将 5 μ l 320ng/ml 凝集素蛋白原激动剂溶液加入各孔中, 得到终浓度为 8ng/ml 的凝集素蛋白原。然后将板在微量板摇床上振摇 5 分钟, 在微量板读板器 (Softmax, Molecular Devices, Menlo Park, Calif.) 中记录 5 分钟读数。由 $t = 5$ 分钟时, 计算在 650nm 处减少的 OD 的聚集。通过非线性回归获得 IC_{50} 。

[1502] 也可用比色池透光率集合度测定法测定凝集素蛋白原诱导的聚集的抑制, 在 96 孔 V 形底板中, 在 30% DMSO 中制备系列稀释度 (1 : 2) 的试验化合物 (在小杯中的终 DMSO 浓度为 0.3%)。将试验化合物 (5 μ l 系列稀释度的 DMSO 溶液) 与 PRP 一起温育 20 分钟, 然后通过 ChronoLog 血凝计中将激动剂 (125-250ng/ml 凝集素蛋白原) 加入 37 $^{\circ}$ C 的 495 μ l PRP, 启动聚集反应。记录聚集反应 4 分钟, 通过在 4 分钟测定期间发生的最大聚集程度与基线的相对差异, 确定最大聚集程度。根据在抑制剂的存在下和不存在抑制剂下观察的最大反应相对值计算聚集的抑制。通过非线性回归分析获得 IC_{50} 。

[1503] 表 4 中给出 syk 和 PRP IC_{50} 值。

[1504] 在通过 BCR 交联诱导的 Ramos 细胞中进行的钙通量分析

[1505] 在实验前, 以 5×10^5 细胞 /ml 的浓度, 将 Ramos 细胞 (2G6.4C10, 伯基特淋巴瘤, ATCC 目录号: CRL-1923) 在新制培养基中培养 3 或 4 天。将细胞收获, 以 8×10^6 细胞 /ml 的浓度, 将细胞再悬浮于新制培养基中, 然后染色。加入等体积的钙 3 上样色素 (Molecular Device), 将其与细胞悬浮液混合。在 96 孔板中分配上样细胞, 温育 30 分钟。然后将化合物加入染色细胞中, 再温育 30 分钟。将细胞在 1000rpm 下离心 3 分钟, 然后在 FlexStation 中测定荧光。通过加入 5 μ g/ml 抗体 (AffiniPure F(ab')₂ 驴抗人 IgM 片段, Jackson

ImmunoResearch Laboraotries) 刺激 BCR。

[1506] 在通过 TCR 交联诱导的 Jurkat 细胞中进行的钙通量分析

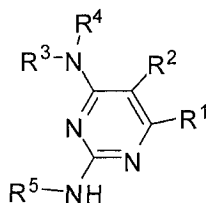
[1507] 该方案与前述章节中所述 B 细胞钙通量分析方案非常相似。唯一的区别是用 T 细胞 (克隆 E6-1, 急性 T 细胞白血病, ATCC 目录号 :Tib-152) 和抗人 CD3 (功能级纯化的抗人 CD3, 克隆 OKT3, eBioscience, 编号 16-0037) 代替 B 细胞和抗人 IgM。保持细胞密度不变, 但使用 100ng/ml 浓度的抗体。

[1508] TCR 交联诱导的 Jurkat 细胞中 IL-2 的分泌

[1509] Jurkat 细胞的繁殖和化合物温育方法与前述章节中 Jurkat 钙通量分析方案中所述相同。按 100ng/ 孔的浓度, 将抗体 (抗 CD3, OKT3) 涂在新板 (不含细胞) 上。以 8×10^6 细胞 /ml 的密度, 将细胞悬浮, 在另一个板中与化合物一起温育 30 分钟。在温育结束时, 将细胞转移到涂布抗体的板中, 温育 16 小时。取 100 μ l 温育后的细胞培养基用于测定温育后的 IL-2。用 IL-2ELISA 试剂盒 (人 IL-2ELISA 试剂盒 II, BD Bioscience, 编号 550611) 测定 IL-2 水平。

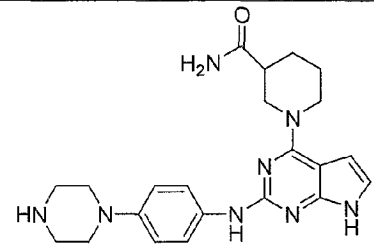
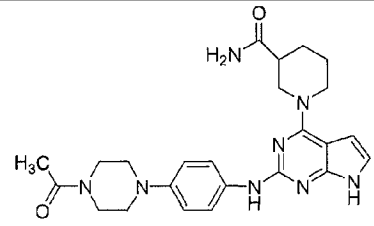
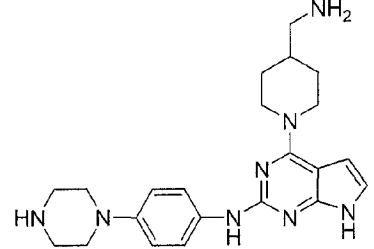
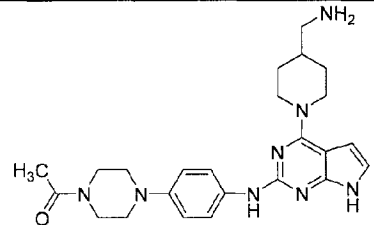
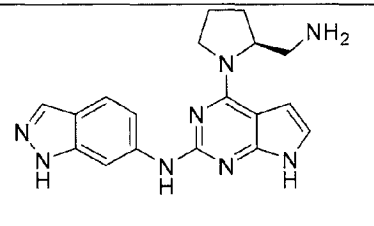
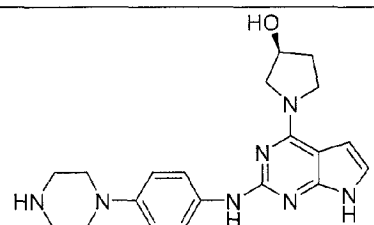
[1510] 表 4

[1511]

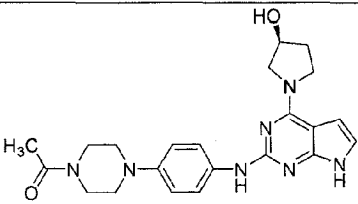
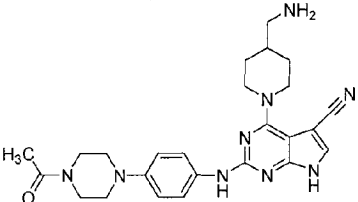
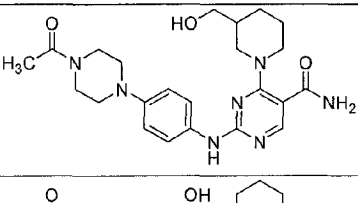
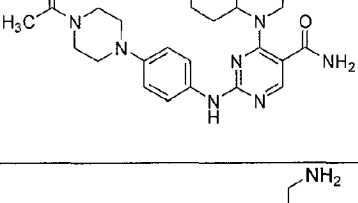
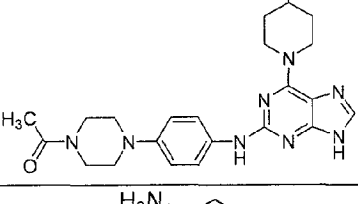
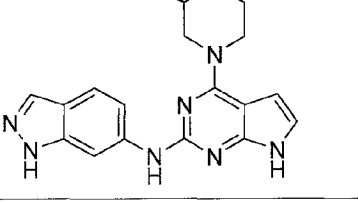
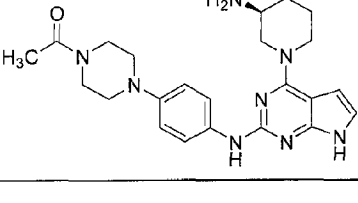


[1512]

[1513]

实施例编号	结构	MW	MS	syk	PRP	名称
8		420.52 1	421.5	++	25.26 75	1-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺
9		462.55 8	463.6	++	12.29 7	1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺
10		406.53 8	407.5	++++	33.16 7	4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺
11		448.57 5	449.5	++++	5.281	1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮
		348.41 4	349.4 , 350.4	+		(S)-4-(2-(氨基甲基)吡咯烷-1-基)-N-(1H-吡唑-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺
12		379.46 8	380.5	+		(S)-1-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)吡咯烷-3-醇

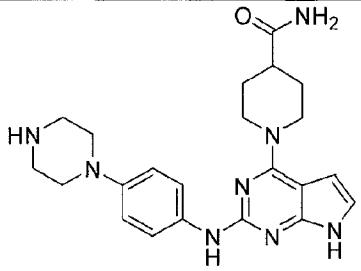
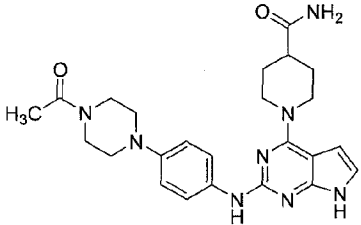
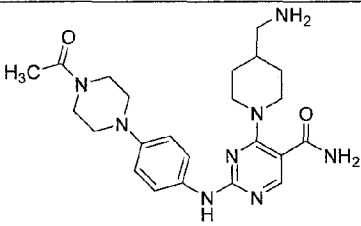
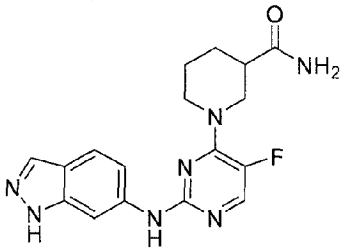
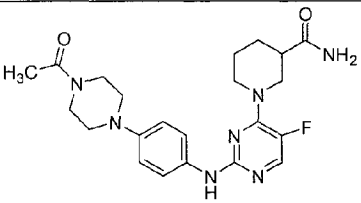
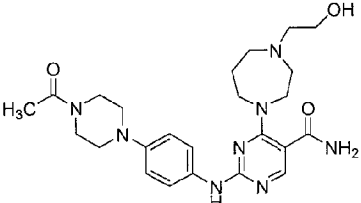
[1514]

13		421.50 5	422.5	+		(S)-1-(4-(4-(4-(3-羟基吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮
14		473.58 5	474.5	+++	50	2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈
		453.54 7	454.6	++		2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(3-(羟基甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺
		467.57 4	468.6	+		2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(2-(2-羟基乙基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺
15		449.56 3	450.6	+++	50	1-(4-(4-(6-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)-9H-嘌呤-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮
		348.41 4	349.4 , 350.4	++		(S)-4-(3-氨基哌啶-1-基)-N-(1H-吡唑-6-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺
		434.54 8	435.4 1, 436.5 4	++	13.75	(S)-1-(4-(4-(4-(3-氨基哌啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮

[1515]

16		341.39 4	342.5	+++	0.295 5	N-(4-(4-(氨基甲基)吡啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基)-1H-咪唑-6-胺
17		391.44 7	392.5	++		4-(4-(氨基甲基)吡啶-1-基)-5-氟-N-(3,4,5-三甲氧基苯基)嘧啶-2-胺
18		427.52 8	428.6	+++	0.195	1-(4-(4-(4-(4-(氨基甲基)吡啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮
19		377.49 6	378.5	+		N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-4-(吡啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺
20		419.53 3	420.5	+		1-(4-(4-(4-(吡啶-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮
21		363.46 9	364.5	++		N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-4-(吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺
22		405.50 6	406.5	++		1-(4-(4-(4-(吡咯烷-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮

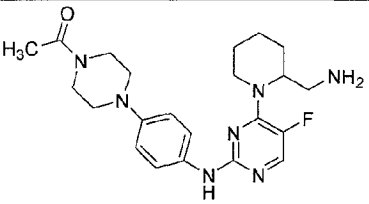
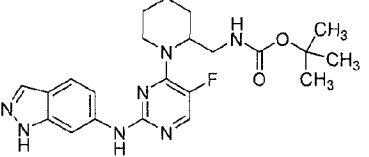
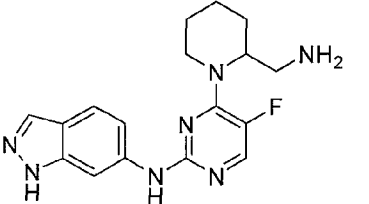
[1516]

23		420.52 1	421.5	+		1-(2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺
24		462.55 8	463.5	++		1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺
25		452.56 3	453.6	+		2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(4-(氨基甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰胺
26		355.37 7	356.3	++		1-(2-(1H-吲唑-6-基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺
27		441.51 1	442.4	+		1-(2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-3-甲酰胺
		482.58 9	483.6	++		2-(4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-(4-(2-羟基乙基)-1,4-二氮杂环庚-1-基)嘧啶-5-甲酰胺

[1517]

		472.56 5	473.4	+		(1-(5-氟-2-(4-(N-甲基乙酰氨基)苯基氨基)嘧啶-4-基)吡啶-4-基)甲基氨基甲酸叔丁酯
30		444.51 1	445.4	+		(1-(2-(4-氨基甲酰基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)吡啶-4-基)甲基氨基甲酸叔丁酯
31		344.39 4	345.3	+++	0.345 5	4-(4-(4-(氨基甲基)吡啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺
32		380.44 6	381.3	+++	4.670 5	4-(4-(4-(氨基甲基)吡啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯磺酰胺
29		372.44 8	373.3	+++	0.315 5	N-(4-(4-(4-(氨基甲基)吡啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-甲基乙酰胺
33		370.43 2	371.3	+++	0.335 5	6-(4-(4-(4-(氨基甲基)吡啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮

[1518]

34		427.53	428.4	+		1-(4-(4-(4-(2-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮
35		441.51	442.3	+		(1-(2-(1H-吡唑-6-基氨基)-5-氟嘧啶-4-基)哌啶-2-基)甲基氨基甲酸叔丁酯
36		341.39	342.3	+		N-(4-(2-(氨基甲基)哌啶-1-基)-5-氟嘧啶-2-基)-1H-吡唑-6-胺

[1519] 实施例 146 Millipore Upstate 激酶 Profiler™ 筛选

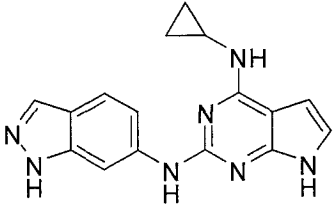
[1520] 该测定直接测定化合物对 JAK3 的催化活性的作用。从昆虫细胞中得到纯化的人 JAK3 (GenBank AF513860) 序列 (残基 781-C 末端)。用放射膜过滤法测定 ATP 的催化水解。将具有 ^{33}P ATP 的激酶与底物一起温育, 使得 ^{33}P 掺入底物, 然后可通过过滤将该底物与其它成分分离。在 1、0.3 或 0.1 μM 化合物存在或不存在下, 用 10 μM ATP 进行测定。活性以相对于对照抑制的 % 表示。

[1521] 在下表中, 化合物对 JAK 的活性测定提供如下:

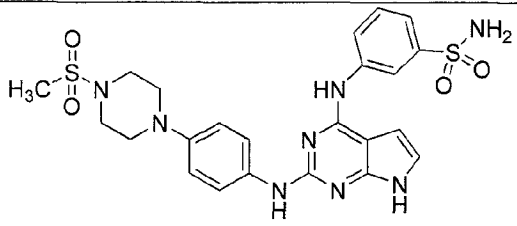
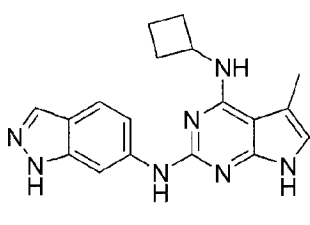
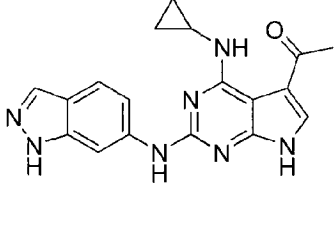
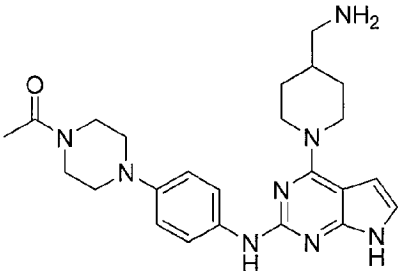
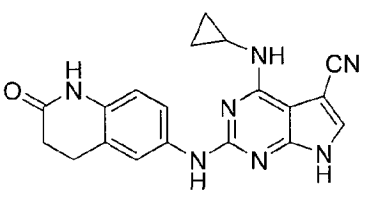
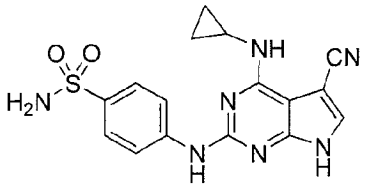
[1522] +++++ = $\text{IC}_{50} < 0.0010 \mu\text{M}$; ++++ = $0.0010 \mu\text{M} < \text{IC}_{50} < 0.010 \mu\text{M}$, +++ = $0.010 \mu\text{M} < \text{IC}_{50} < 0.10 \mu\text{M}$, ++ = $0.10 \mu\text{M} < \text{IC}_{50} < 1 \mu\text{M}$, + = $\text{IC}_{50} > 1 \mu\text{M}$ 。

[1523] 表 5A: 化合物对 JAK1、2 和 3 催化活性的抑制 ($\text{IC}_{50}\%$)

[1524]

化合物	浓度 (μM)		
	JAK 1	JAK 2	JAK 3
	++	++	++

[1525]

	+	++	++
	+	++	++
	+	+	+
	++	++	++
	+++	+++	+++
	+++	+++	+++

[1526]

	+	++	+
	+++	+++	+++

[1527] 表 5B :1、0.3 或 0.1 μM 的化合物对 JAK3 催化活性的抑制百分率 (%)

[1528]

化合物

浓度(μM)

1 μM

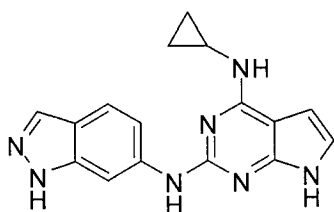
0.3 μM

0.1 μM

77

41

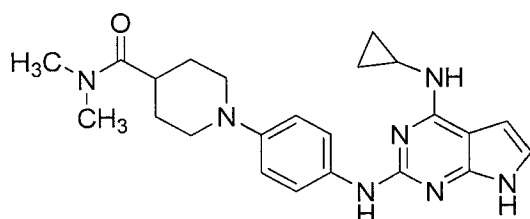
ND



ND

82

ND



[1529] ND :没有进行

[1530] 实施例 147Ambit KinomeScan 筛选

[1531] 该测定法为依赖 ATP 位点的竞争性结合测定法,其中将相关人激酶与专属标记(T7 噬菌体)融合。在试验化合物存在或不存在下,测定与固定化活性位点导向的配体结合的激酶量。Ambit's JAK 测定使用激酶域和非全长蛋白。用于 JAK1 结合的域为拟激酶域,而与 JAK3 结合的域为催化域 (Mazen W Karaman, Sanna Herrgard, Daniel K Treiber 等,对激酶抑制剂选择性的定量分析 (A Quantitative analysis of kinase inhibitor selectivity). Nature Biotechnology, 2008, 第 26 卷, 第 1 期, 第 127-132 页)。

[1532] 实施例 148 JAK3/STAT6 细胞测定

[1533] 通过白介素 4(IL4) 刺激 Ramos B 细胞诱导通过 JAK1/JAK3 的信号产生 STAT6(信号转导蛋白和转录活化剂)磷酸化。可通过测定磷酸化的 STAT6 的量评价化合物对 JAK3

和 / 或 JAK1 的抑制作用。可通过蛋白质印迹法,用特异性磷酸 -STAT6 抗体进行该测定。

[1534] 将 Ramos B 细胞悬浮于 10mM Hepes- 缓冲的 RPMI 培养基 (2×10⁷ 细胞 /ml)。将细胞 (90 μl) 与 10 μl 3.3 μg/ml 白介素 4(R&D Systems Inc, 目录号 #204-IL; 终浓度: 0.33 μg/ml) 一起温育。在 2 μl 用 30% DMSO 稀释的化合物存在或不存在下,在 37℃ 下温育 10 分钟。通过加入等体积 2× 溶胞缓冲液 (100mM TRIS-HCl pH 8.0, 2% Triton-X-100, 5mM EDTA, 250mM NaCl, 20% 甘油, 1.25mM PMSF, 5mM 原钒酸钠, 5mM β-甘油磷酸盐, 基本完全 EDTA 蛋白酶抑制剂混合物 (Sigma)) 将反应终止。

[1535] 将样品与 1 μl benzonase 核酸酶 (Novagen, 目录号 #71205-3) 一起在室温下温育 1 小时,然后加入 50 μl 5× 上样缓冲液 (330mM TRIS pH 6.8, 9.5% SDS, 34% 甘油, 0.01% 溴酚蓝, 10% β-巯基乙醇)。

[1536] 在减压条件下,使细胞裂解物 (15 μL) 通过 SDS-PAGE (Novex 4-12 % TRIS- 甘氨酸凝胶, Invitrogen), 然后经电印迹 - 转移到硝基纤维素膜上。然后在室温 (RT) 下,将膜在 Zymed 封闭缓冲液 (Invitrogen) 中温育 1h, 随后于 4℃ 在 Zymed 封闭缓冲液中与 1 : 500 抗磷酸酪氨酸 -STAT6 (Cell Signaling Technology, 目录号 #9364) 初级抗体一起放置过夜。用 Tris- 缓冲盐水、0.25% NP40 (TBSN) 漂洗 5×10 分钟后,在 1 : 10,000 的缀合 HRP 的驴抗兔二次抗体 (Amersham Biosciences, 目录号 #NA934V) 的存在下,在 Zymed 封闭缓冲液中,将印迹在室温下温育 1h。用 TBSN 漂洗 4×10 分钟后,通过 ECL (Pierce Western Lightening, Perkin Elmer 目录号 #NEL101) 使印迹显色。为测定总 β3 含量,将印迹剥离,用 TBSN 漂洗 4×, 用于 4℃ 在封闭缓冲液中过夜的 1 : 2000 的 C3A 抗体再探测 (re-probed)。用 TBSN 漂洗 4×10 分钟后,将印迹在封闭缓冲液中与 1 : 10,000 的山羊抗小鼠次生抗体温育,再用 TBSN 漂洗 4 次,然后暴露于 Western Lightening 试剂。

[1537] 通过光密度法测定大于背景的化合物的刺激水平和抑制程度。表 4 显示增加本发明化合物剂量对响应于 IL-4 刺激的 Ramos B- 细胞的 pSTAT6 的形成的影响。

[1538] 实施例 149 在用 IL-4 刺激的 Ramos B- 细胞系中测定 JAK 激酶活性抑制

[1539] 这些实施例说明用于体外和体内评价本发明化合物对人 JAK 激酶活性的作用的方法,可通过本领域中已知的各种方法 (例如测试化合物抑制人血浆 JAK 激酶活性的能力的试验) 测定本发明化合物对人 JAK 激酶活性的作用。可通过 IC₅₀ 值 (以 nM 计) 测定本发明化合物显示出的对人 JAK 激酶抑制的有效亲和力。IC₅₀ 值为抑制 50% 人 JAK 激酶活性需要的化合物浓度 (以 nM 计)。IC₅₀ 值越小,表示化合物抑制 JAK 激酶活性的活性越高 (强)。

[1540] 一种检测和测定抑制 JAK 激酶活性的体外测定法如下:

[1541] 用设计的测试 JAK 抑制程度的细胞分析确认化合物对 JAK 激酶的活性。简而言之,在用细胞因子白介素 -4 (IL-4) 激活的人 Ramos B- 细胞中测试 JAK 抑制。刺激后 20-24 小时,为测定 CD23 上调和进行 FACS 分析,将细胞染色。用 IL-4 刺激 B- 细胞,导致通过 JAK 激酶 JAK1 和 JAK3 磷酸化的 JAK/STAT 通路激活,激活该通路又导致因子 STAT-5 和 STAT-6 磷酸化并激活转录。低亲和力 IgE 受体 (CD23) 被激活的 STAT-5 上调。

[1542] 为进行该测定,根据与细胞一起提供的繁殖方案,将人 Ramos B- 细胞 (ATCC, 目录号 CRL-1596) 在含 10% 胎牛血清 (JRH, 目录号 12106-500M) 的 RPMI 1640 培养基 (Cellgro, 目录号 10-040-CM) 中培养,在约 3.5×10⁵ 细胞 /ml 密度下保存。在测定前一天,将细胞

稀释至 3.5×10^5 细胞 /ml, 确保它们处于对数生长期。将细胞离心, 使悬浮于含根据 ATCC 繁殖方案加热失活的 5-10% 胎牛血清 (FBS) (JRH Biosciences, Inc, Lenexa, Kans., 目录号 12106-500M) 的 RPMI1640 培养基 (Cellgro, MediaTech, Inc., Herndon, Va., 目录号 10-040-CM) 中。以 $3.5 \times 10^{4-5}$ 细胞 /ml 的密度保存细胞。在测定前一天, 将 Ramos B- 细胞稀释至 3.5×10^5 细胞 /ml, 确保它们处于对数生长期, 将其等份试样分配到 96 孔组织培养板中。将细胞与试验化合物 (溶于 DMSO) 或 DMSO (对照) 一起在 37°C 下温育 1h, 然后用 IL-4 (Pepotech, 目录号 200-04) 刺激 20-24 小时 (终浓度为 50 单位 /ml)。

[1543] 将细胞离心, 悬浮于含 5% 血清的 RPMI 中。在 96 孔组织培养板中, 每个点使用 5×10^4 细胞。在 37°C 培养箱中, 将细胞与化合物或 DMSO (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo., 目录号 D2650) 溶媒对照一起温育 1 小时。然后将细胞用终浓度为 50 单位 /ml 的 IL-4 (Peprotech Inc., Rocky Hill, N. J., 目录号 200-04) 刺激 20-24 小时。然后将细胞离心, 用抗 CD23-PE (BD Pharmingen, San Diego, Calif., 目录号 555711) 染色, 通过 FACS 分析。用购自 Becton Dickinson Biosciences of San Jose, Calif. 的 BD LSR I System 流式细胞计数器检测。

[1544] 用 Cell Titer-Glo RTM 发光细胞生存力测定法 (Promega) 测定增殖, 该方法通过定量存在的 ATP, 测定培养基中存活细胞数, ATP 为代谢活跃细胞的指示剂。将底物解冻, 使其恢复至室温。将 Cell Titer-Glo 试剂和稀释剂混合在一起后, 向各孔加入 100 μ L。将板在定轨摇床上振摇 2 分钟, 引起溶胞, 在室温下再温育 10 分钟, 使得信号达到平衡。用购自 Perkin Elmer, Shelton, Conn. 的 Wallac Victor21420 多标记计数器 (multilabelCounter) 进行检测。

[1545] 次日, 将 A549 细胞与 2,4- 嘧啶二胺试验化合物或 DMSO (对照) (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo., 目录号 D2650) 预温育 1 小时。然后将细胞采用 IFN γ (75ng/mL) (Peprotech Inc., Rocky Hill, N. J., 目录号 300-02) 刺激, 温育 24 小时。在 200 μ L 含 5% FBS、0.3% DMSO 的 F12K 培养基中, 最终试验化合物的剂量范围为 30 μ M-14nM。

[1546] 第 3 日, 将细胞培养基除去, 细胞用 200 μ L PBS (磷酸盐缓冲盐水) 漂洗。向各孔加入胰蛋白酶, 将细胞裂解, 然后通过加入 200 μ L 完全 F12K 培养基将溶液中和。将细胞离心, 用缀合 APC 的小鼠抗人 ICAM-1 (CD54) (BD Pharmingen, San Diego, Calif., 目录 #559771) 抗体于 4°C 染色 20 分钟。将细胞用冰冷的 FACS 缓冲液 (PBS+2% FBS) 漂洗, 通过流式细胞计量法分析表面 ICAM-1 表达。用购自 BD Biosciences of San Jose, Calif. 的 BD LSR I System 流式细胞计数器进行检测。将活散射体事件分类 (gated), 计算几何平均值 (Becton-Dickinson CellQuest 软件 3.3 版, Franklin Lakes, N. J.)。用几何平均值对化合物浓度作图, 生成剂量响应曲线。

[1547] 实施例 150: 在非霍奇金淋巴瘤细胞系中抑制 Syk 介导的通过 B 细胞受体的信号转导

[1548] 将细胞用或不用化合物 (0.02-2 μ M) 预处理 1 小时, 然后通过将细胞与 3 μ g/ml 抗 μ 抗体于 37°C 温育 10 分钟刺激 B 细胞受体信号。用钙 3 上样染料和 FlexStation (Molecular Device) 测定 Ca^{2+} 通量。根据 BD Pharmingen (San Jose, CA) 提供的方案, 通过细胞内磷酸流式细胞计量法分析 B 细胞受体信号。通过在 84 位氨基酸上诱导 BLNK 酪氨酸磷酸化 (pBLNK Y84) 和在 204 位氨基酸上诱导 ERK1/2 酪氨酸磷酸化 (pERK

Y204),测定 Syk 激活。通过在 352 位氨基酸上诱导 Syk 酪氨酸磷酸化 (pSykY352) 测定 Src 家族成员 Lyn 的激活。以 μM IC_{50} 给出数据。各化合物能够有效抑制 B 细胞受体诱导的 Ca^{2+} 流出并抑制 Syk 激活,但不抑制 Src 家族成员 Lyn 的激活。

[1549] 实施例 151 :抑制 Syk 导致对非霍奇金淋巴瘤细胞系的抗增生作用

[1550] 将细胞与递增浓度的各化合物一起温育,然后按厂商提供的方案,于 72 小时用 MTT 分析(公司,市,州)评价增生程度。按 μM IC_{50} 值提供数据,这些数据代表从 5 或 6 个独立实验得到的平均值 $\pm$ 标准差。各化合物在较低的 μM 范围内能够抑制 SUDHL-4 和 -6 细胞系增生,SUDHL-4 和 -6 细胞系的存活和生长信号依赖于 Syk。不需要 Syk 的 Toledo 细胞明显对 Syk 抑制导致的抗增生作用较不敏感。

[1551] 实施例 152 :抑制 Syk 诱发非霍奇金淋巴瘤细胞系凋亡

[1552] 数据代表两个独立实验的结果,用这些结果评价 Syk 和 Syk/JAK 抑制对弥散性大非霍奇金淋巴瘤 B 细胞系存活的作用。SUDHL-4 和 SUDHL-6 细胞系的存活依赖 Syk 介导的 B 细胞受体信号,而 Toledo 细胞不依赖该信号。将细胞与多种浓度的化合物一起在多个时间内温育;通过流式细胞计,用半胱氨酸天冬氨酸酶 3 检测试剂盒 (Sigma-Aldrich, Saint Luis, MO) 测定诱导的凋亡。按对凋亡标记物半胱氨酸天冬氨酸酶 3 呈阳性的总细胞百分率提供数据。

[1553] 实施例 153 :Syk 抑制剂抑制小鼠初级 B 细胞激活

[1554] 将小鼠初级脾细胞用递增浓度 (0.05-2 μM) 的各化合物预处理 1 小时,然后加入对照或山羊抗小鼠 IgD 血清。16 小时后,通过流式细胞计量法测定抗 IgD 诱导的 B 细胞激活,染色,检测激活标记物 CD80/86 和 CD69。数据代表对 B 细胞活性抑制的 IC_{50} 范围。

[1555] 实施例 154 :免疫介导的血小板减少症小鼠模型

[1556] 通过抗血小板表面糖蛋白的抗体、抗血小板表面上的含药复合物的抗体,或者通过与血小板表面相互作用的抗体包被的细胞或免疫复合物,造成免疫介导的血小板减少症。评价选择的化合物在抗体介导的血小板减少症小鼠模型中抑制血小板清除的能力。在该模型中,由静脉内给予大鼠抗小鼠 GPIIb (克隆 MWReg30) 抗体 (BD Biosciences, Pharmingen) 导致循环血小板的快速清除 (约 50%)。为评价抑制血小板清除的能力,将化合物悬浮于 0.5% 甲基纤维素的水溶液中,通过经口管饲给予 (100u1/ 小鼠),当化合物即将达到最大血浆浓度时 (通常 1-2 小时,取决于各化合物的不同的药物动力学实验),注射抗体。在注射抗体后 4 和 8 小时,通过心脏穿刺,从溶媒和试验品处理的小鼠组 ($n = 5-10$ 只小鼠 / 组) 得到末端血样。用柠檬酸三钠或 EDTA 抗凝血。在血液学分析仪 (Hemavet, Drew Scientific) 上测定全血样中的血小板数。将剩余血样进一步处理,得到血浆,通过质谱测定其中的化合物浓度。

[1557] 通过测定非抗体处理组与给予大鼠抗小鼠 GPIIb 抗体的动物组之间的血小板数之差的平均值确定血小板清除率。通过比较溶媒和化合物处理的动物间的血小板清除率差确定血小板清除率的抑制。

[1558] 实施例 155 :胶原抗体诱发的小鼠关节炎模型

[1559] 在胶原抗体诱发的小鼠关节炎 (CAIA) 模型中,研究选择的化合物的抑制活性。通过 II 型胶原和补体的自身抗体介导胶原诱发的关节炎,因此可通过给予 II 型胶原的多克隆抗体或单克隆抗体的混合物诱发关节炎。CAIA 模型 (Chondrex, Inc., Redmond, WA) 采

用 4 种克隆的混合物,这些克隆能够识别聚簇在 II 型胶原的 83 氨基酸肽片段内的各个表位。这些表位具有共同的包括鸡、小鼠、大鼠、牛、猪、猴和人在内的多种不同物种的 II 型胶原所含有的氨基酸序列。在该小鼠模型中依次给予单克隆抗体混合物、细菌脂多糖 (LPS) 7 天诱发严重和持续关节炎。根据通过肠胃道吸附的细菌毒素起协同和病理作用的学说,采用 II 型胶原的自身抗体触发类风湿性关节炎患者关节炎发作,产生该模型。

[1560] 为进行这些实验,在第 0 日,向 8 周龄雌性 Balb/C 小鼠 (Charles River, Inc.) 通过尾静脉以 4mg/小鼠 (40mg/ml) 的剂量静脉注射单克隆抗体混合物 (货号 #OC-708),然后以 25ug/小鼠的剂量,腹腔内注射用标准盐水稀释的 LPS。在 IV 注射抗体混合物前或后,开始给予试验品。将化合物悬浮于 0.5% 甲基纤维素的水溶液中,在 7-10 天的研究期间每日通过经口管饲 (100ul/小鼠) 给予。每日测评临床炎症分数。在实验结束时,根据溶媒和试验品处理的小鼠之间的差异,确定对临床炎症分数的抑制。血浆浓度代表在研究终止日给予最后剂量后 1 小时的峰浓度。

[1561] 实施例 156 :在 Ramos B 细胞中抑制 IL-4 诱导的 JAK1/3-Stat-6 磷酸化

[1562] 按所述,在加入 IL-4 前,将 Ramos B 细胞用递增浓度的化合物预处理 1 小时。将细胞与 IL-4 一起温育 10 分钟,然后通过细胞内流式细胞计,测定 IL-4 诱导的 Stat-6 的抑制百分率。

[1563] 实施例 157 :B 细胞信号分析 :

[1564] 人类非霍奇金淋巴瘤的 B 细胞系 SUDHL-4 (#ACC 495)、SUDHL-6 (#ACC572) 和 Karpas-422 (#ACC32) 获自 DSMZ (Braunschweig, Germany); Toledo (#CRL-2631) 和 Ramos (#CRL-1596) 获自美国典型培养物保藏中心 (the American Type Culture Collection) (ATCC; Manassas, VA)。所有细胞保存在补充有 10% 胎牛血清 (ATCC) 和青霉素 / 链霉素 (Invitrogen) 的 RPMI 培养基 (Invitrogen, Carlsbad, CA) 中,且该介质保存于 37℃ 的潮湿组织培养恒温箱中。在该研究中应用的抗体包含 :多克隆羊 F(ab)'₂ 抗人类 IgG (H+L) 和抗人类 IgM (BioSource, Camarillo, CA); 兔抗人类 Syk、兔抗人类磷酸 Syk (Y525/526)、兔抗人类磷酸 Syk (Y352)、抗人类 BLNK、抗人类磷酸 BLNK (Y84) 获自细胞信号技术 (Cell Signaling Technologies), Inc. (Danvers, MA)。用于磷酸流式细胞计量术的下列抗体获自 Becton Dickinson (San Jose, CA): Alexa fluor 488 共轭小鼠抗人类磷酸 STAT6 (Y641)、藻红素 (PE) 共轭小鼠抗人类磷酸 Zap70 (Y319)/Syk (Y352) 和异硫氰酸荧光素 (FITC) 共轭小鼠抗人类磷酸 ERK1/2 (T202/Y204)。

[1565] 基本上按另外文献 (Irish, Czerwinski 等 Blood 108 (9):3135-42 (2006)) 所述进行磷酸流式细胞计量术。用 1 μg/ml 的抗 μ-或抗-γ 抗体刺激在生长培养基中的 0.5 × 10⁶ 细胞 10 分钟。按照指定时间,通过立即加入低聚甲醛 (Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA) 至最终浓度为 1% 终止诱导信号。在室温下,用低聚甲醛培育细胞 5 分钟,用磷酸盐缓冲液盐水 (PBS) 洗涤一次,然后在预冷却的甲醇 (公司,地址) (-80℃) 中再悬浮,于 4℃ 培育过夜。接着在 PBS 中将固化和透化的细胞洗涤一次,第二次在含有 1% 牛血清白蛋白 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) 的 PBS 中洗涤,然后用以 1 : 20 稀释于 PBS+1% BSA 的指定抗体染色。30 分钟后,用 PBS 洗涤细胞一次并采用 FACS Calibur (Becton Dickinson) 在流式细胞仪中进行测定。为进行蛋白质印迹分析法,用 2 μg/ml 指定的 BCR- 特异抗体刺激 10⁶ 细胞 30 分钟。在溶胞缓冲液中再悬浮细胞并在冰中培育 1 小时终止信号。离心法

除去细胞残渣,通过 10% 的 SDS-PAGE 分离澄清的蛋白裂解液,按照制造厂商说明用指定的抗体探测。需要时,在 37℃ 下,用多种浓度的 Syk 抑制或溶媒对照 (0.5% DMSO) 预先处理细胞 1 小时,然后用抗 BCR 抗体刺激。

[1566] 实施例 158 :B 细胞信号分析:

[1567] 人非霍奇金淋巴瘤 B 细胞系 SUDHL-4(#ACC 495)、SUDHL-6(#ACC572) 和 Karpas-422(#ACC32) 获自 DSMZ(Braunschweig, 德国);Toledo(#CRL-2631) 和 Ramos(#CRL-1596) 获自美国典型培养物保藏中心(ATCC;Manassas, VA)。所有细胞保存在补充有 10% 胎牛血清(ATCC)和青霉素/链霉素(Invitrogen)的 RPMI 培养基(Invitrogen, Carlsbad, CA)中,于 37℃ 潮湿组织培养箱中保存。用于这些研究的抗体包括多克隆山羊 F(ab)'₂ 抗人 IgG(H+L) 和抗人 IgM(BioSource, Camarillo, CA);兔抗人 Syk、兔抗人磷酸 Syk(Y525/526)、兔抗人磷酸 Syk(Y352)、抗人 BLNK、抗人磷酸 BLNK(Y84) 获自 Cell Signaling Technologies, Inc. (Danvers, MA)。用于磷酸流式细胞计量的以下抗体获自 Becton Dickinson(San Jose, CA):Alexa fluor 488 共轭的小鼠抗人磷酸 STAT6(Y641)、Phycoerythrin(PE) 共轭的小鼠抗人磷酸 Zap70(Y319)/Syk(Y352) 和异硫氰酸荧光素(FITC) 共轭的小鼠抗人磷酸 ERK1/2(T202/Y204)。

[1568] 基本上按另外文献(Irish, Czerwinski 等 Blood108(9):3135-42(2006) 所述方法进行磷酸-流式细胞计量分析。在生长培养基中,将 0.5×10^6 细胞用 $1 \mu\text{g/ml}$ 抗- μ 或抗- γ 抗体刺激 10 分钟。按照规定时间,通过立即加入多聚甲醛(Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA) 至终浓度 1% 终止诱发的信号。将细胞与多聚甲醛在室温下一起温育 5 分钟,用磷酸缓冲盐水(PBS) 洗涤一次,然后在预冷却甲醇(公司,地址)(-80℃) 中再悬浮,于 4℃ 培育过夜。然后将固化和透化的细胞在 PBS 中洗涤一次,再在含 1% 牛血清白蛋白(BSA)(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) 的 PBS 中洗涤,然后用按 1:20 在 PBS+1% BSA 中稀释的指定抗体染色。30 分钟后,将细胞在 PBS 中洗涤一次,采用 FACSCalibur(Becton Dickinson) 的流式细胞计测定。为进行印迹分析,将 10^6 细胞用 $2 \mu\text{g/ml}$ 指定的 BCR 特异性抗体刺激 30 分钟。将细胞再悬浮于溶胞缓冲液,在冰上培养 1 小时,终止信号。通过离心将细胞残渣除去,通过 10% SDS-PAGE 分离澄清蛋白溶胞液,按照生产厂商的建议用指定抗体探测。如果需要,将细胞在 37℃ 下与多种浓度的 Syk 抑制剂或溶媒对照 (0.5% DMSO) 一起温育 1 小时,然后用抗 BCR 抗体刺激。

[1569] 实施例 159 :非霍奇金淋巴瘤 B 细胞系中 Syk 的钙通量分析和选择性抑制

[1570] 在实验前 3-4 天,将 Ramos 细胞在生长培养基中培养(保持约 0.5×10^6 细胞/ml)。将细胞收获,以 8×10^6 细胞/ml 的浓度再悬浮于新制培养基中,然后染色。将等体积的钙 3 上样色素(Molecular Device, Sunnyvale, CA) 加入细胞悬浮液中。将染色的细胞分配到 96 孔板中,温育 20 分钟。然后将 Syk 抑制剂加入染色的细胞中,再温育 30 分钟。将 B 细胞用 $5 \mu\text{g/ml}$ 抗 μ 抗体刺激。用 FlexSTATION(Molecular Devices, Sunnyvale, CA) 测定细胞内 Ca^{2+} 浓度变化。

[1571] 通过蛋白质印迹分析,测定 BCR 介导的 pSyk Y525/526 和 pBLNK Y84 的诱导(均为 Syk 激酶活性的度量)和 pSyk Y352 的诱导(为 Src 激酶活性的度量),首先检测 B 细胞中 Syk 抑制的选择性和效力。在各 Syk 抑制剂或溶媒对照存在或不存在下,将 SUDHL-6B 细胞用抗 BCR 特异性抗体刺激 30 分钟。采用光密度测定法评价(未提供数据),用 0.16 或

1 μ M 的各化合物处理,分别导致 BCR 诱导的 Syk 自磷酸化 (Y525/526) 减少约 40% 和 60%。采用扩大范围的浓度进一步评价这些化合物对 BCR 诱导的 Syk 和 Src 激酶活性的作用。

[1572] 还测定了各化合物抑制离 BCR 远端 (distal) 的信号事件的能力。在各种浓度的各 Syk 抑制剂存在或不存在下,用抗 BCR 抗体再次刺激细胞。测定对作为特异性对照的 pSyk Y352 的诱导,而采用对 pERK1/2/Y204 的诱导作为更远端的依赖 Syk 的信号的程度 (Jiang, Craxton 等, J Exp Med 188 (7) :1297-306 (1998))。重复该实验,其中测定此两种化合物对 Src 和 Syk 活性的作用 (图 10)。小于 125nM 的浓度足以抑制 BCR 诱导的向 ERK1/2 发出的 Syk 信号。相反,需要高得多的浓度才能导致 Src 活性的中等抑制;在蛋白质印迹法中未观察到对 Src 的作用。这些 Syk 抑制剂无一抑制 PMA 诱导的 ERK1/2 酪氨酸磷酸化,证明这些化合物不抑制 PKC 的下游信号事件。该结果显示,在 B 细胞中,选择性抑制 Syk 导致 BCR 诱导的 Ca^{2+} 通量的抑制, IC_{50} 值为约 100nM。这说明,通过抑制 Syk,这些化合物能够抑制信号通路,阻滞细胞响应。

[1573] 实施例 160 :半胱氨酸天冬氨酸酶 3 和增殖分析 :Syk 抑制能够破坏非霍奇金淋巴瘤 B 细胞系的增殖和存活

[1574] 根据供应商说明,用 PE 共轭的单克隆活性半胱氨酸天冬氨酸酶 -3 抗体凋亡试剂盒 (Becton Dickinson),测定凋亡的诱导。将细胞悬浮于生长培养基 (0.5×10^6 细胞 /ml) 中,用指定浓度的各 Syk 抑制剂或溶媒对照处理 24、48 或 72 小时,然后进行 FACS 分析。根据厂商提供的说明,用 MTT (3-(4,5- 二甲基噻唑 -2- 基)-2,5- 二苯基四唑鎓溴化物,一种四唑) (公司名) 分析法测定细胞存活力和生长。将细胞用指定浓度的各 Syk 抑制剂或溶媒对照处理 72 小时。

[1575] SUDHL-4 和 SUDHL-6 细胞已划分为“BCR 型” (Monti, Savage 等 Blood 105 (5) :1851-61 (2005) ;Polo, Juszczynski 等 Proc Natl Acad Sci U S A 104 (9) :3207-12 (2007),它们对被 R406 抑制的 Syk 敏感 (Chen, Monti 等 2008))。因此,分别缺乏 BCR 和 BLNK 表达的 Toledo 和 Karpas-422 细胞系 (Gabay, Ben-Bassat 等 Eur J Haematol 63 (3) :180-91 (1999) ;Sprangers, Feldhahn 等 Oncogene 25 (36) :5056-62 (2006) 已适合不依赖于 BCR 信号而存活,它们对 R406 不敏感 (Chen, Monti 等 2008)。在各种浓度的各 Syk 抑制剂存在或不存在下培养 72 小时后,测试这些细胞系的增殖。

[1576] Syk 的选择性抑制足以在“BCR 型”NHL 细胞系中诱发凋亡。在另一个实验中,发现 SUDHL-6 和 Toledo 细胞对用 1 μ M PMA 处理 72h 诱发的凋亡同等敏感。这些数据证明,某些 NHL 细胞系的存活特别需要 Syk。

[1577] 实施例 161 :异种移植 (Xenograft) 研究和肿瘤及血浆浓度分析

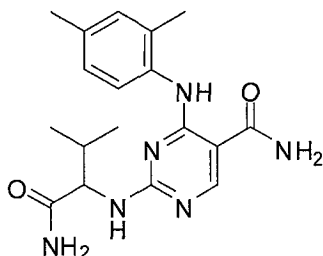
[1578] 抑制 Syk 可在异种移植小鼠模型中阻止肿瘤形成。小鼠获自 (公司),在临用前,使动物适应环境至少 3 天。用 27 号针头,将 Ramos 细胞 (3×10^6) 皮下注射到清醒小鼠的后侧腹区域,注射体积小于 0.5ml。注射后,将小鼠随机分为若干治疗组 ($n = 15$),通过经口管饲给予溶媒或 10、15 或 20mg/kg 的 syk 抑制剂,每日两次。每周称重体重至少一次,从肿瘤明显形成开始,每周用卡尺测定肿瘤两次直至研究结束。通过卡尺测定,采用公式 [最大长度 $\times$ 宽度 $\times$ 高度 $\times \pi / 6$] 评价肿瘤体积。持续每日两次给予溶媒或 syk 抑制剂直至溶媒或任何治疗组出现大小超过 1.5 克的肿瘤。研究终止时 (接种 Ramos 5 周后),将小鼠用氯胺酮混合物麻醉。通过心脏穿刺采集血样,用于 CBC 和血浆浓度测定,通过颈脱臼将小

鼠无痛处死。然后将肿瘤切除,称重。将一半肿瘤在液氮中快速冷冻,用于测定肿瘤组织中 syk 抑制剂的浓度,将另一半置于 10%缓冲甲醛液中,用于组织学研究。

[1579] 在异种移植小鼠模型中,评价 Syk 抑制对 Ramos 肿瘤形成的作用。从开始接种肿瘤细胞日起,每日两次给予小鼠 10、15 或 20mg/kg Sky 抑制剂或溶媒对照。当肿瘤开始形成时,肿瘤接种约 3 周后,开始卡尺测定,每 3 天重复测定直至研究终止。当肿瘤重量开始达到约 1.5mg 时,终止研究,此时将肿瘤切除,称重。对肿瘤和血浆样品进行药物动力学分析。

[1580] 采用 **Kontes®** Microtube Pellet **Pestle®** 棒和电机 (Kimble Chase, Vineland, NJ), 将各肿瘤样品以 3ml 盐水 / 克肿瘤的比例均化。用液相色谱串联质谱仪 (LC/MS/MS) 分析血浆和肿瘤样品中的 syk 抑制剂浓度。简而言之,将血浆和肿瘤样品在 96 孔 Captiva™ 滤板 (0.2 μm, Varian, Inc., Palo Alto, CA) 中处理。将血浆和均化肿瘤样品等份试样用乙腈沉淀,该乙腈溶液含 200ng/mL :

[1581]



[1582] 内标化合物 A。将混合物旋转离心,于 4℃ 冷冻 30 分钟,使蛋白沉淀完全。将混合物过滤到 96 孔收集板中。将滤液注射到配备湍流 - 离子喷雾源的 Sciex API3000 LC/MS/MS 中。在 Phenomenex Luna 5 μ HILIC 柱 (4.6 × 100mm, 5mm ; Phenomenex, Torrance, CA) 上分离 syk 抑制剂和化合物 A。10% 流动相 A (0.1% 甲酸 / 水) 和 90% 流动相 B (0.1% 甲酸 / 90% 乙腈, 10% 的水) 的流动相梯度混合物根据程序在 1.1 分钟内变为 65% 流动相 B, 然后流动相 B 在 0.01 分钟内从 65% 变为 90%。根据正离子模式,测定对应于 syk 抑制剂 (内标) 的 m/z357/295 产物离子的峰面积的 sky 抑制剂的 m/z394/360 产物离子的峰面积。分析范围为 2-5000ng/ml。

[1583] 药物动力学分析显示,在稳态时,肿瘤中 syk 抑制剂的浓度符合在 10、15 和 20mg/kg 剂量组血浆中所观察到的浓度 - 时间模式。观察到 C_{max}、AUC (0-8) 和肿瘤 C_{min} 按非线性方式随剂量增加而增加,但注意到血浆 C_{min} 增加按比例方式随剂量增加。对于所有实验剂量而言,血浆平均 C_{max} 和 AUC (0-8) 比肿瘤中的这两个参数大至少 2 倍 ;但是,肿瘤中药物的平均最低浓度 (C_{min}) 高于血浆中的该参数,这说明 syk 抑制剂在肿瘤室中蓄积。由 C_{max} 和 AUC (0-8) 测定的肿瘤 / 血浆比在各剂量组中是相似的。在整个给药期,在 10、15 和 20mg/kg syk 抑制剂的稳态下,肿瘤浓度分别持续大于 60、170 和 640nM。

[1584] 在给予所有 3 种浓度的 syk 抑制剂的小鼠体内 Ramos 肿瘤生长被抑制。这是由卡尺测定 (未提供数据) 得到的第一个证据,该卡尺测定显示在 Syk 抑制剂存在下肿瘤生长速度减慢。研究结束后,将小鼠无痛处死,将肿瘤切除,称重。与卡尺测定相符,相对于溶媒对照,所有给药组的平均肿瘤重量的减少具有统计学显著性。该数据显示, syk 抑制剂在亚微摩尔的浓度下通过小鼠中的进攻性 NHL 细胞系可以阻止肿瘤的形成。

[1585] 给予 syk 抑制剂的小鼠在任何白细胞的亚组中不存在数量减少。事实上,观察到

的唯一作用为,给予 15mg/kg 的 syk 抑制剂后,淋巴细胞的数量有所增加,但是在给予 10 或 20mg/kg syk 抑制剂的小鼠中,没有重复该结果。每个细胞亚类的相对比例不受 syk 抑制剂影响(数据未显示)。给予溶媒对照的小鼠体重平均增加 9.45%。另一方面,在整个实验期间,给予 10、15 和 20mg/kg syk 抑制剂的小鼠体重分别平均增长 0.27%、降低 1.67%和降低 2.27%。然而体重改变的%和肿瘤生长没有关系 ($R^2 = 0.27$)。该数据说明,肿瘤生长的抑制的确是由抑制 syk 活性介导的。

[1586] 还在 Ramos 肿瘤小鼠异种移植模型中测试了 Syk 特异性抑制剂 Syk 抑制剂的活性。在所有试验浓度下,在以 BID 给予 Syk 抑制剂的小鼠中,观察到具有统计学显著性的肿瘤生长减少。最低实验浓度为 10mg/kg,在全天中,达到的肿瘤浓度范围在 64-140nM 之间。在这些浓度下,体内肿瘤生长抑制与在 < 125nM 浓度下发现的抑制 BCR 诱导的 Ca^{2+} 通量和远端 BCR 向 pERK Y204 发出信号的结果相符。Syk 的选择性药理学抑制产生了对 NHL 细胞系的繁殖和存活的作用。这些数据说明,选择性靶向 Syk 同样可在多种 B- 细胞增殖疾病中具有临床效益。

[1587] 根据本文中的详述可知, Syk 与 B 细胞发育、繁殖和存活有关。另外, Syk 还可能是致癌基因。在过继性转移的骨髓细胞中,构成型活性 Syk 的表达能够在小鼠中诱发白血病, Syk 的过度活性与多种人淋巴瘤有关。鉴于 Syk 在 B 细胞生物学中的作用,其选择性抑制可在 B 细胞增殖疾病中足以提供临床效益,同时能够减少因其它非靶向 (off-target) 激酶抑制所导致的毒性。

[1588] 本发明提供了多种实施方案。很显然,可改变实施例以提供本发明的其它实施方案。因此可以理解,本发明范围由其权利要求而非作为示例的具体实施方案限定。

[1589] 本说明书中引用的和 / 或列在本申请数据单中的所有以上美国专利、美国专利申请公布、美国专利申请、外国专利、外国专利申请和非专利出版物以其全部内容引入本文作为参考。由上述应当理解,尽管本文中为了说明的目的描述了本发明的特定实施方案,但在不偏离本发明精神和范围的前提下,可进行各种改进。因此除其权利要求外,本发明不受其它限制。

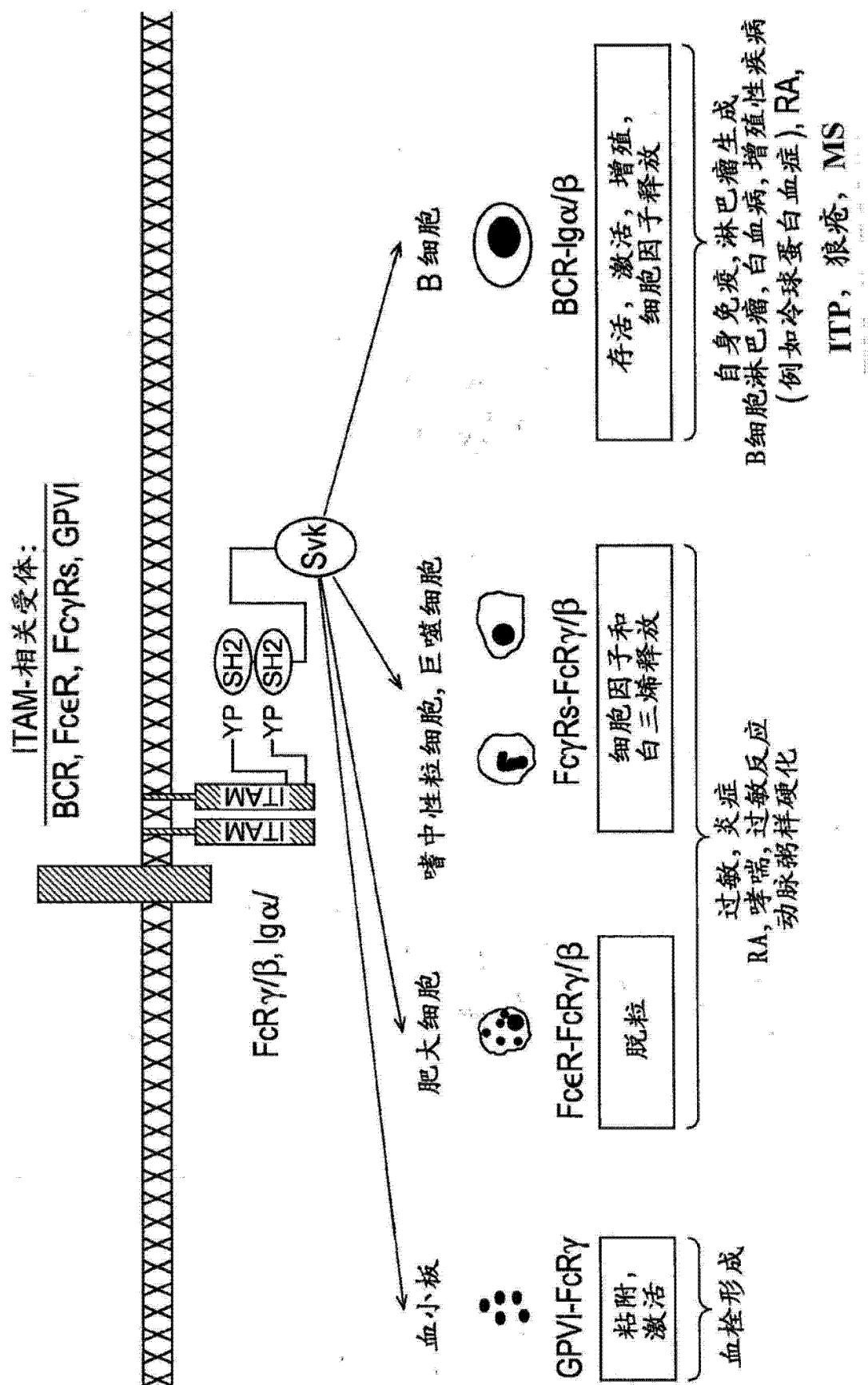


图 1

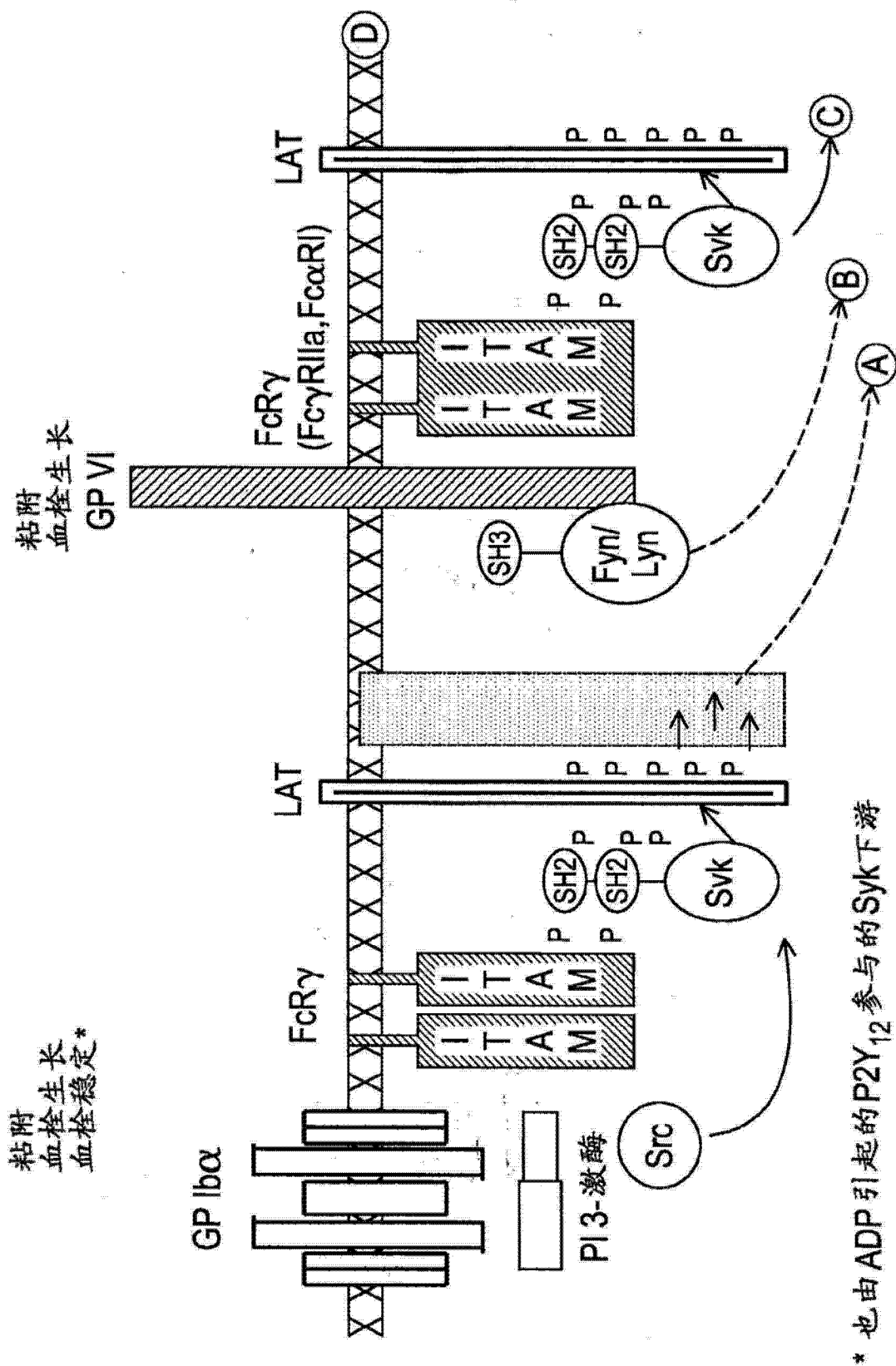


图2(第1页)

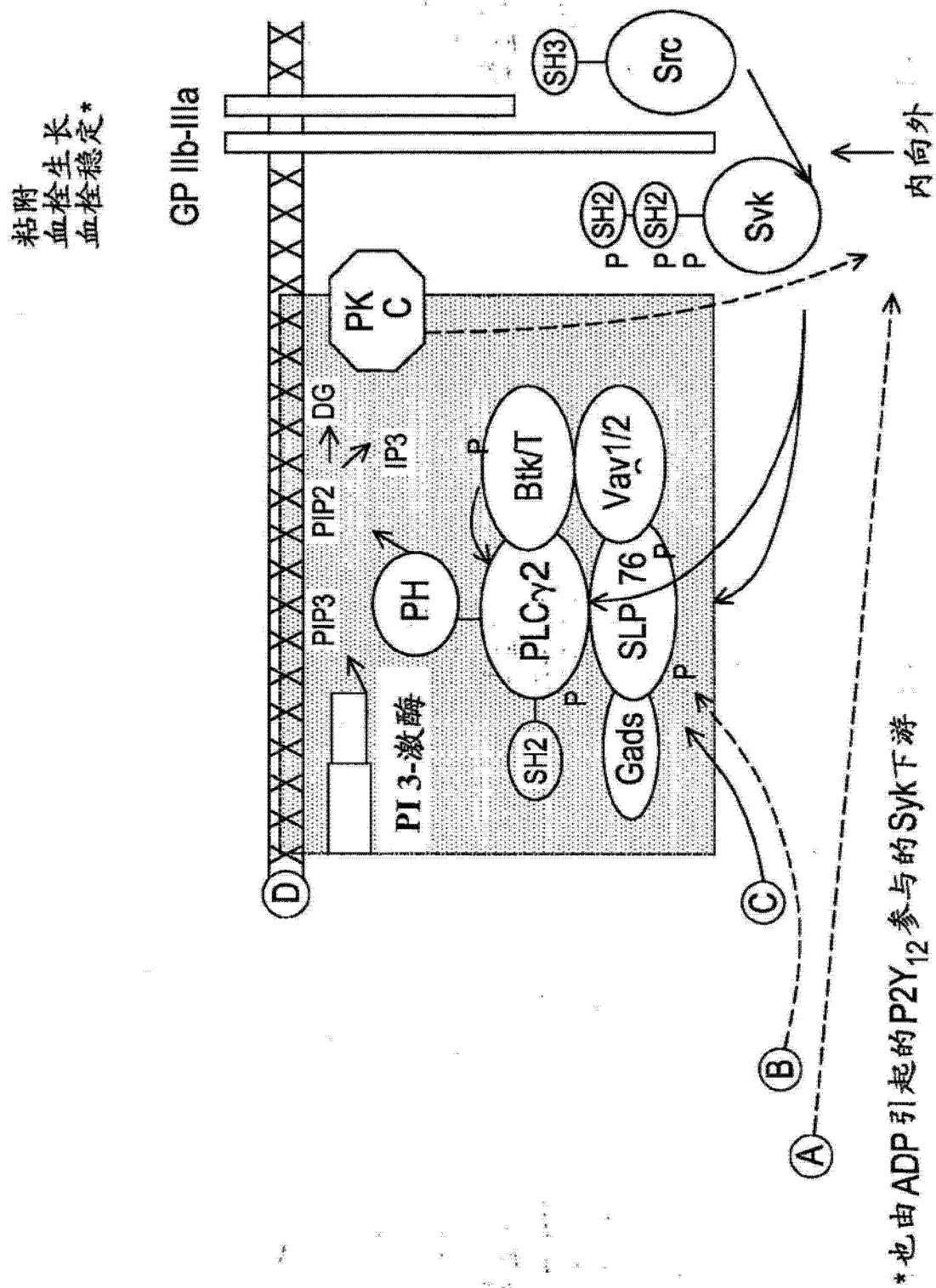


图2(第2页)

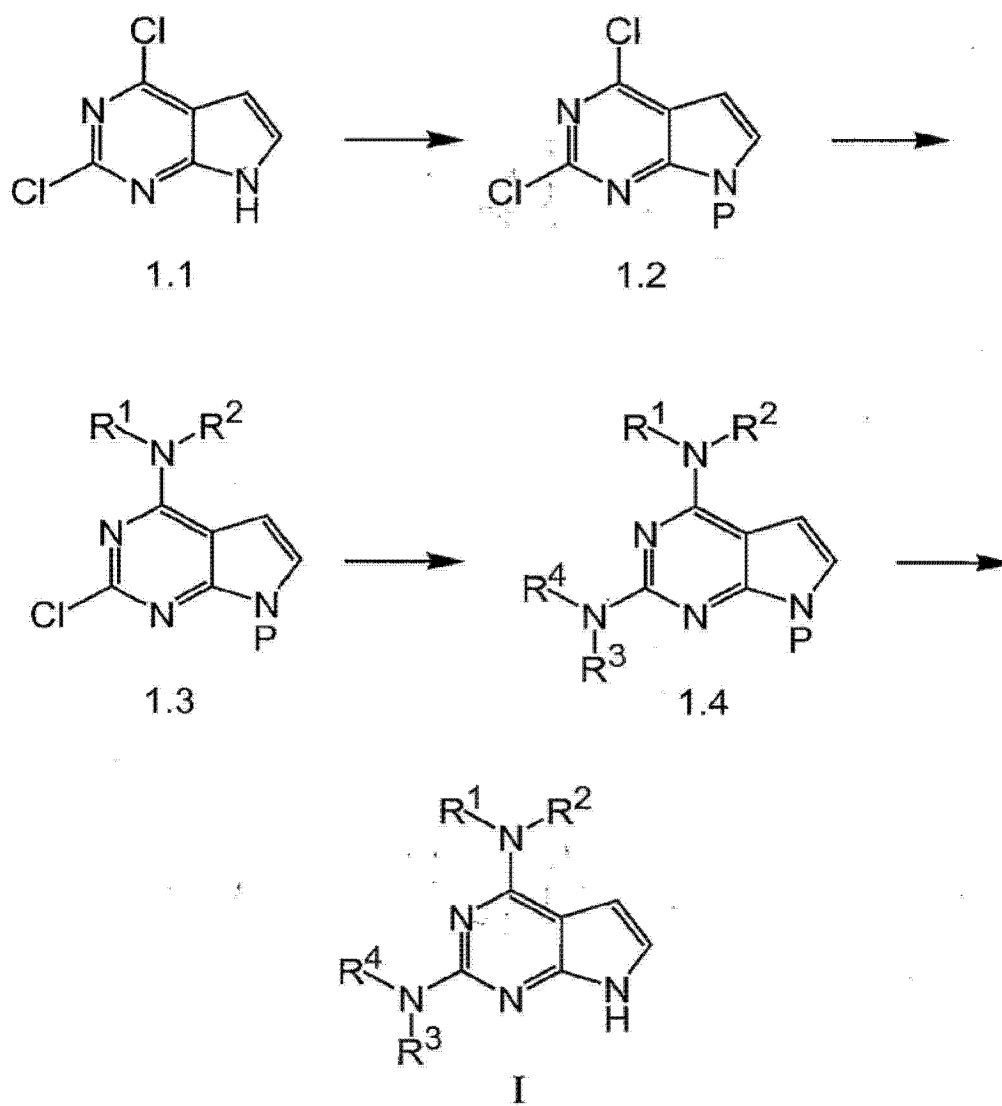


图 3

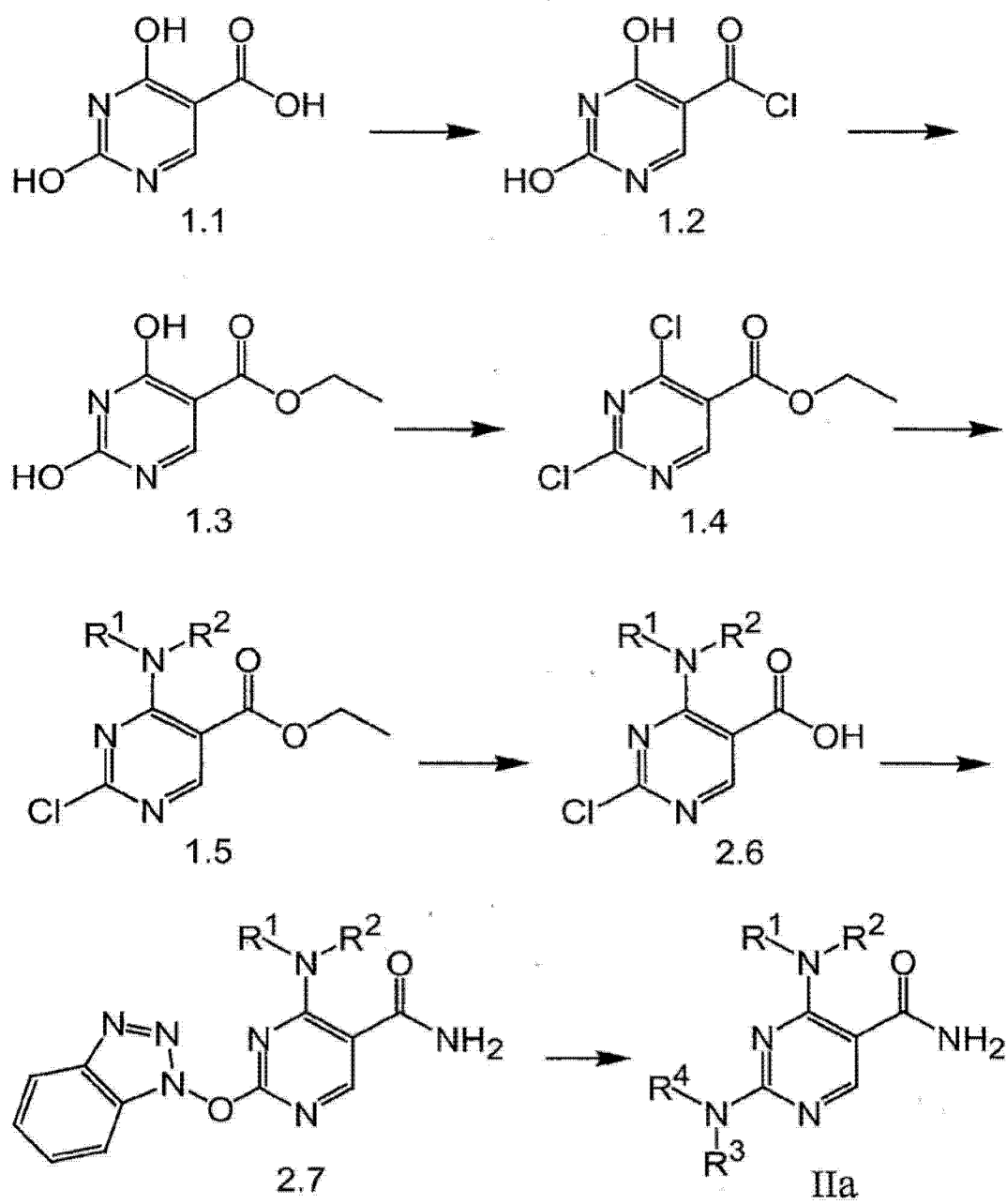


图 4

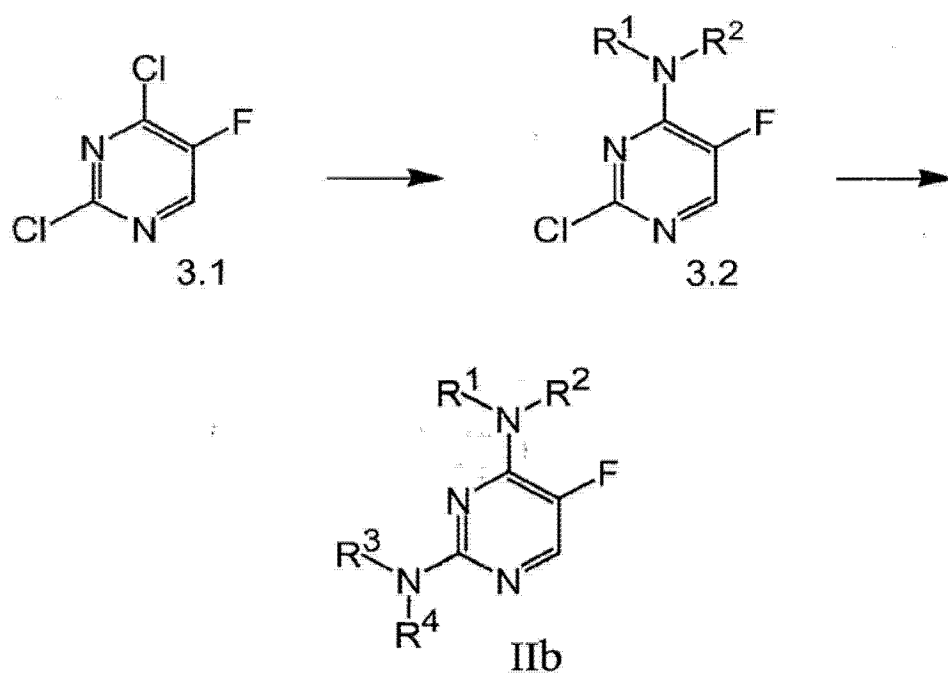
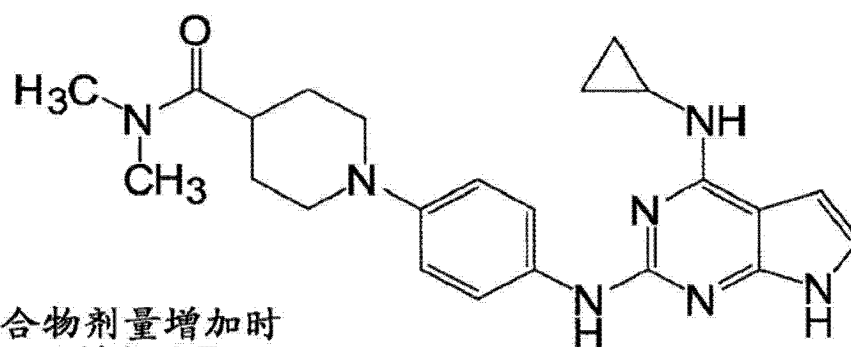


图 5



上式化合物剂量增加时
 响应于IL4刺激的B Ramos
 细胞对pSTAT6 形成的作用

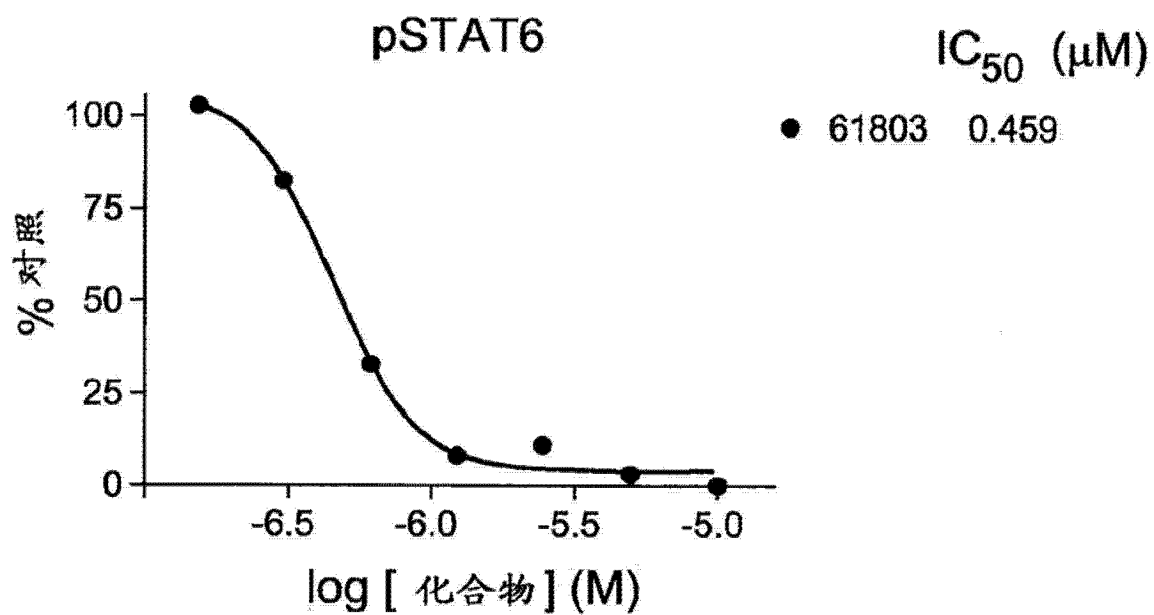


图 6

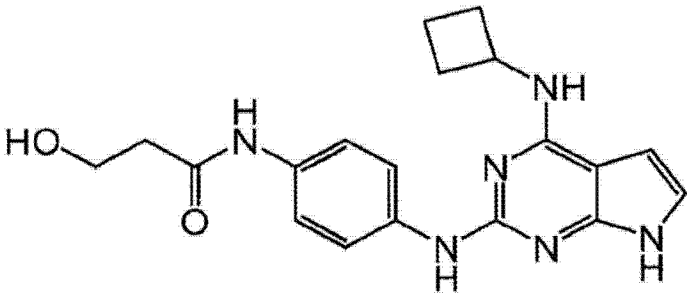
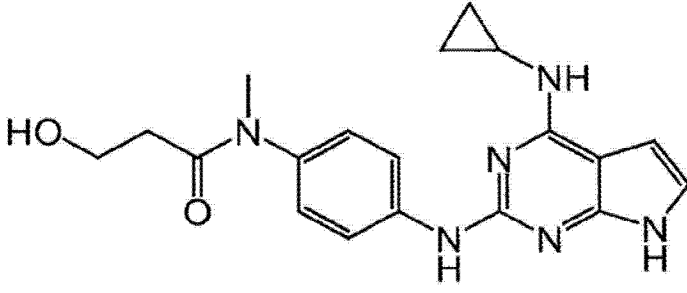
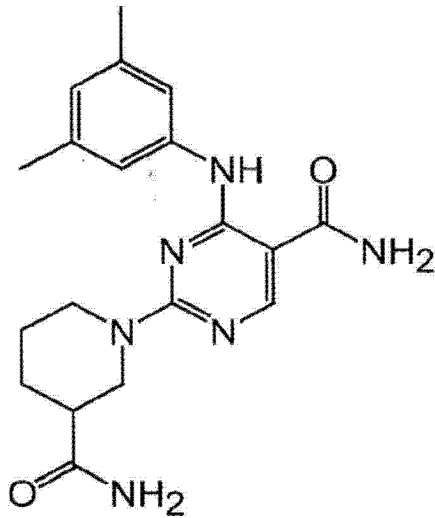
实施例 编号	化合物	Syk IC 50
200		+++
201		+++
202		++

图7(第1页)

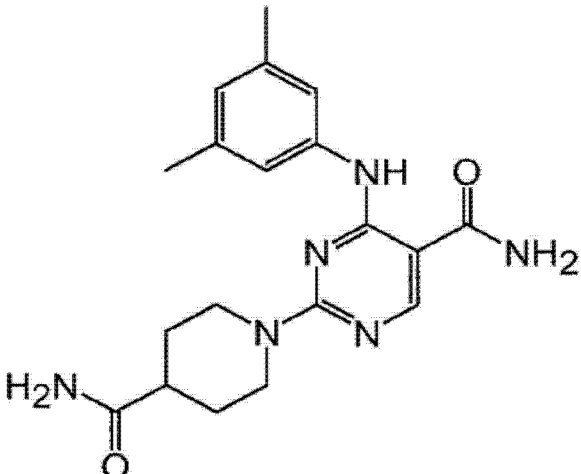
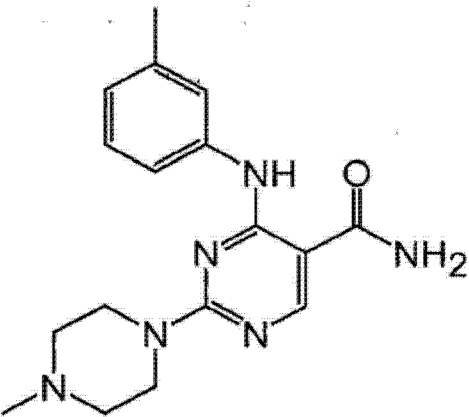
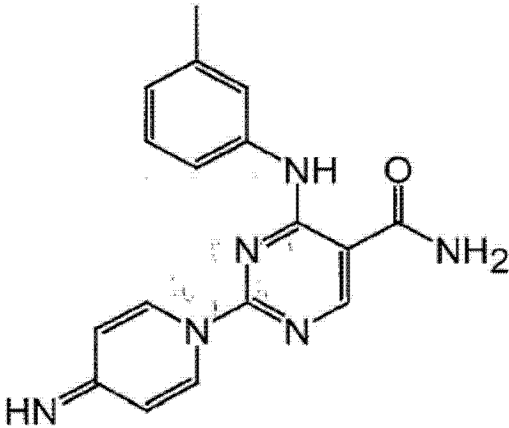
实施例 编号	化合物	Syk IC 50
203		+
204		+
205		+

图7(第2页)

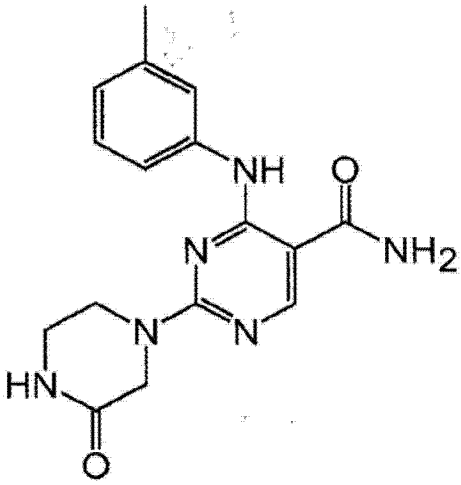
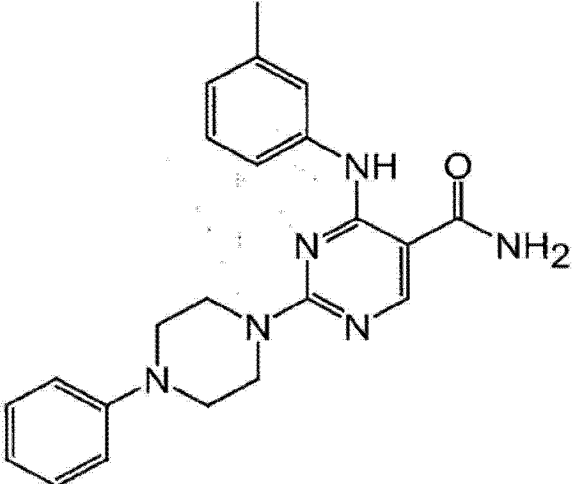
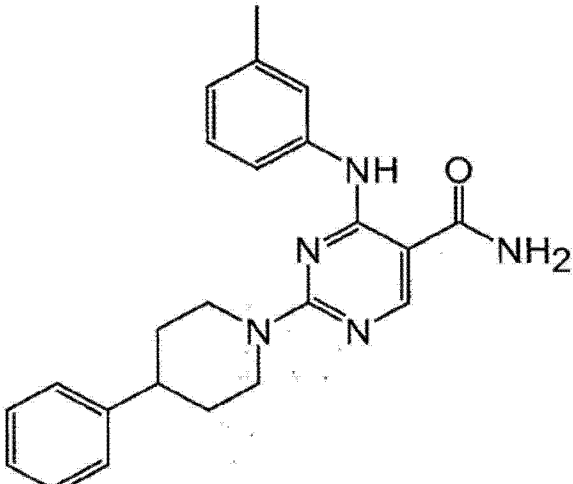
实施例 编号	化合物	Syk IC 50
206		+
207		+
208		+

图7(第3页)

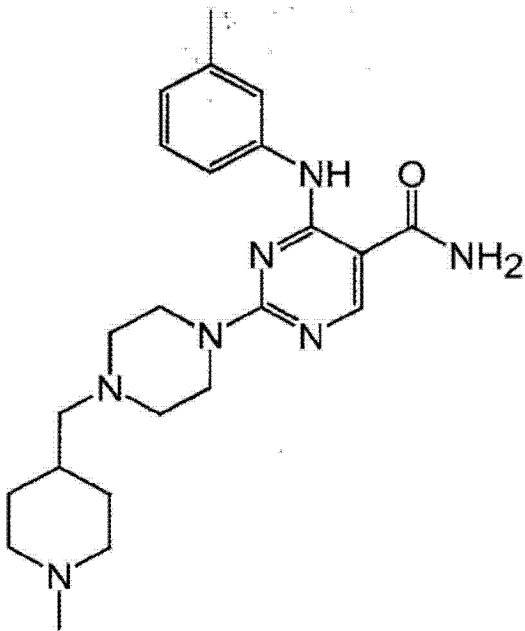
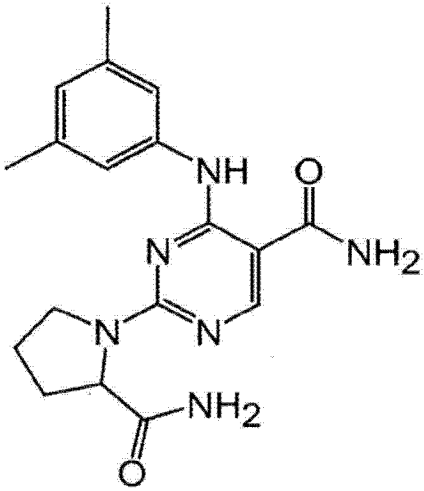
实施例 编号	化合物	Syk IC 50
209	 <chem>CN1CCN(CC1)CCN2C=CN(C(=N2)C(=O)N)Nc3ccc(C)cc3</chem>	+
210	 <chem>CN1CCN(C1C(=O)N)N2C=NC(=N2)Nc3cc(C)cc(C)c3C(=O)N</chem>	+

图7(第4页)

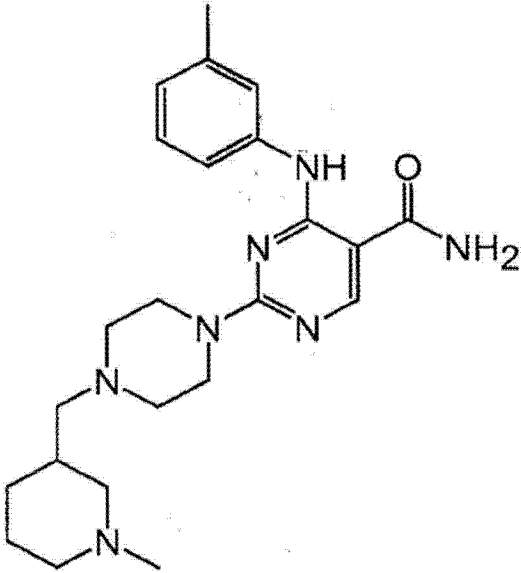
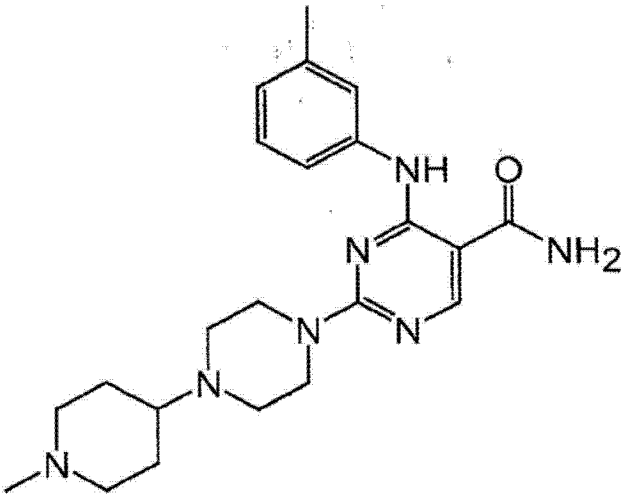
实施例 编号	化合物	Syk IC 50
211		+
212		+

图 7(第 5 页)

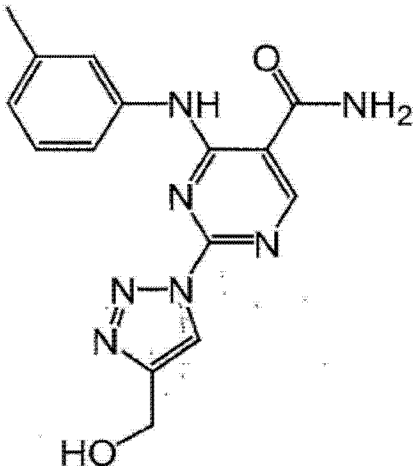
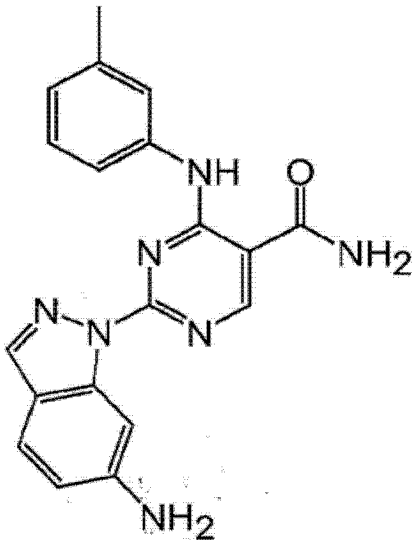
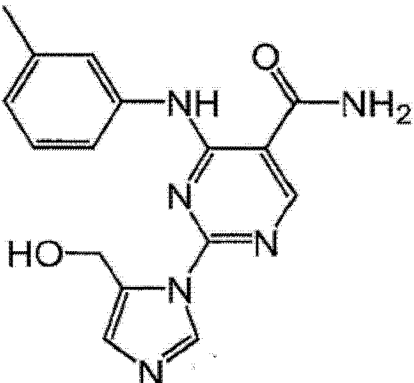
实施例 编号	化合物	Syk IC 50
213		+
214		+
215		+

图7(第6页)

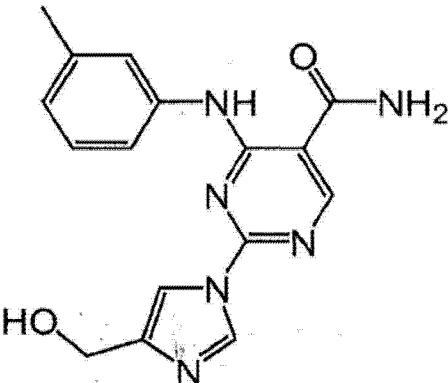
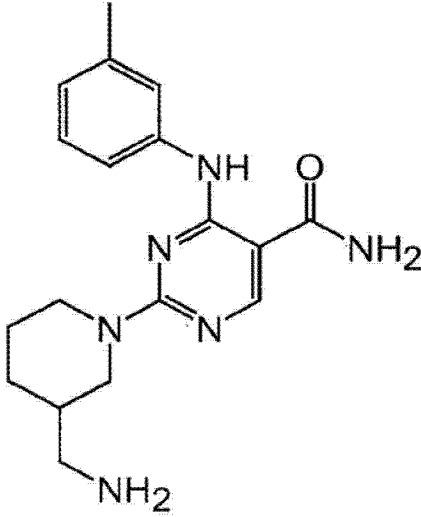
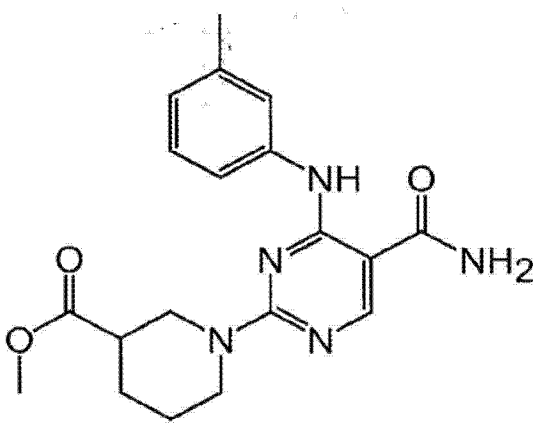
实施例 编号	化合物	Syk IC 50
216		+
217		+
218		+

图 7(第 7 页)

实施例 编号	化合物	Syk IC 50
219		+
220		+
221		+
222		+

图7(第8页)

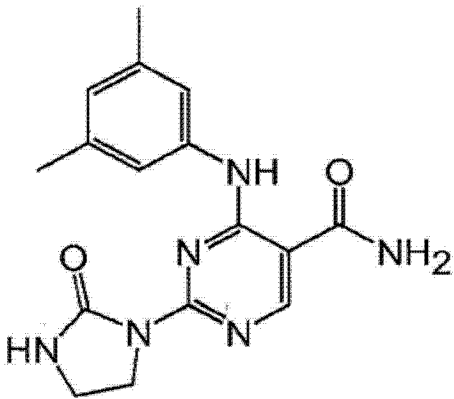
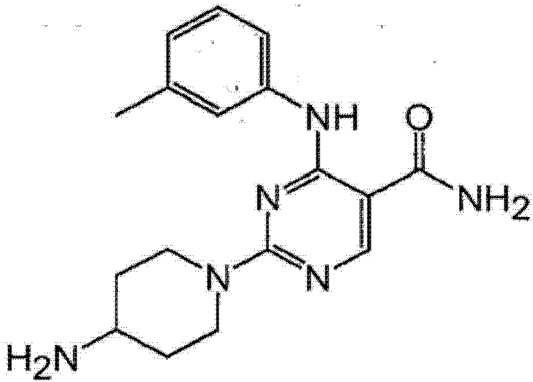
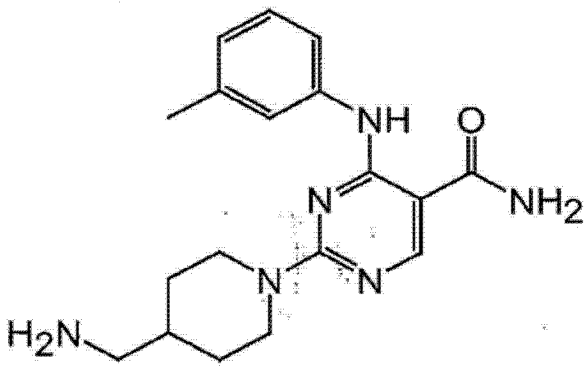
实施例 编号	化合物	Syk IC 50
223		+
224		+
225		+

图7(第9页)

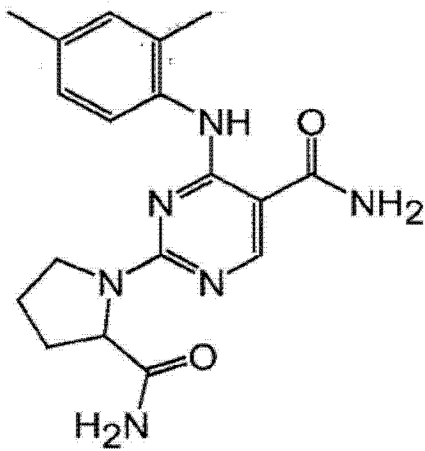
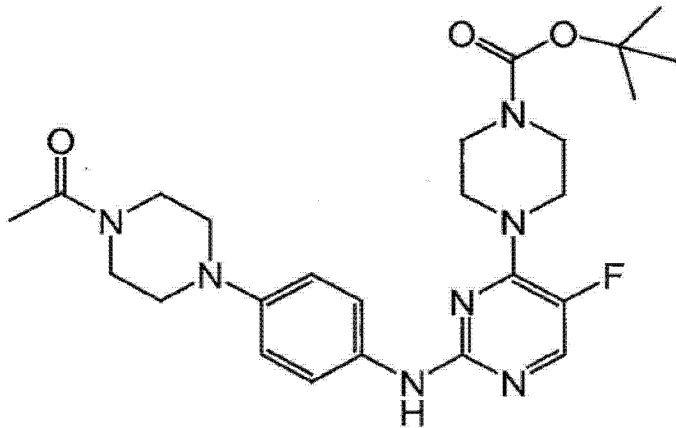
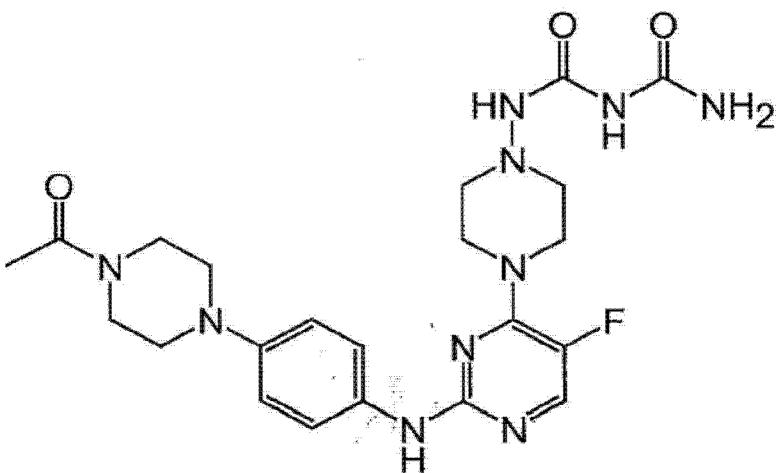
实施例 编号	化合物	Syk IC 50
226		+
228		+
235		+

图7(第10页)

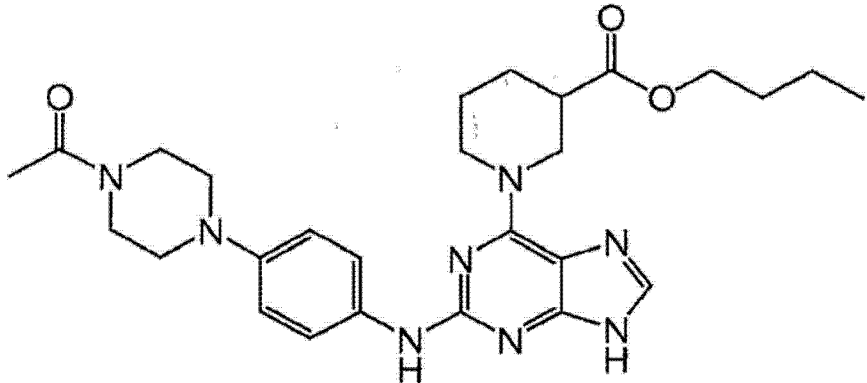
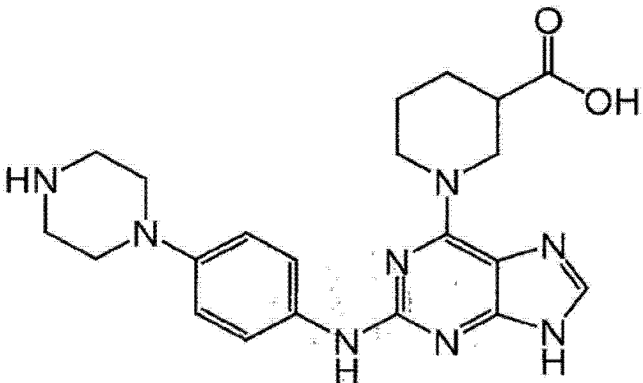
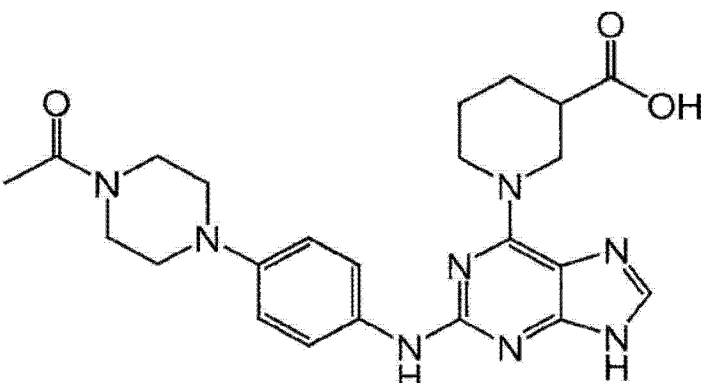
实施例 编号	化合物	Syk IC 50
237	 <chem>CCCCOC(=O)C1CCN(C1)c2nc3c(ncn3)nc(Nc4ccc(N5CCN(C5C(=O)C)cc4)cc2</chem>	+
238	 <chem>OC(=O)C1CCN(C1)c2nc3c(ncn3)nc(Nc4ccc(N5CCNCC5)cc4)cc2</chem>	+
239	 <chem>OC(=O)C1CCN(C1)c2nc3c(ncn3)nc(Nc4ccc(N5CCN(C5C(=O)C)cc4)cc2</chem>	+

图7(第11页)

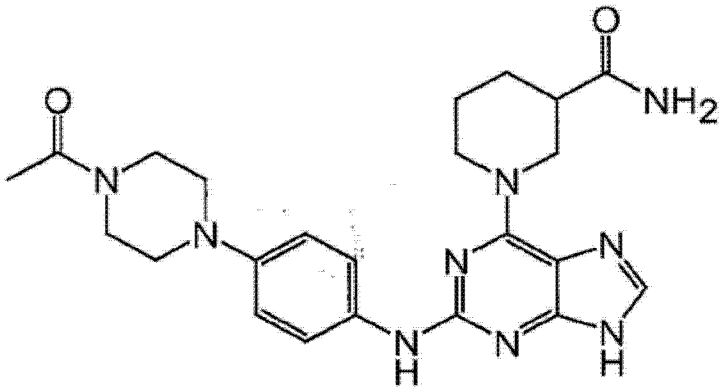
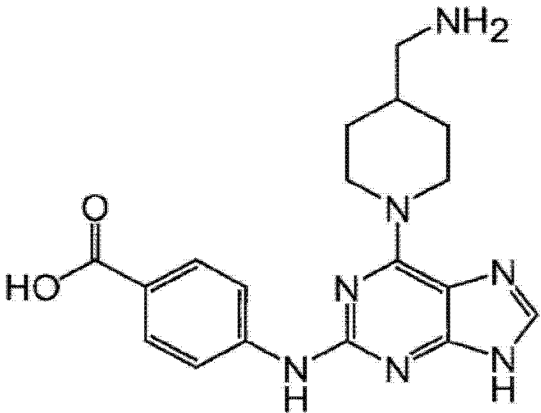
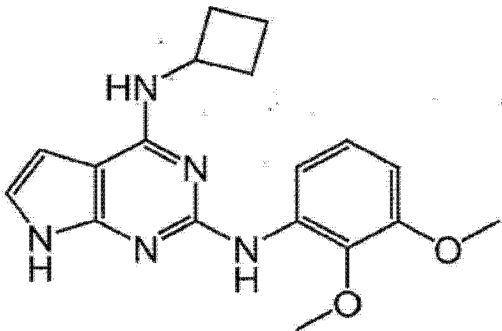
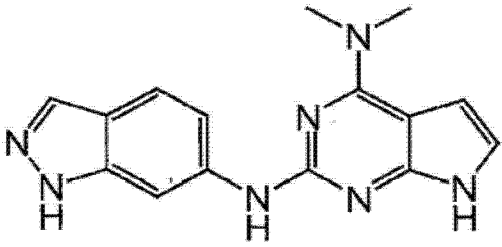
实施例 编号	化合物	Syk IC 50
241		++
246		+++
247		+
249		++

图7(第12页)

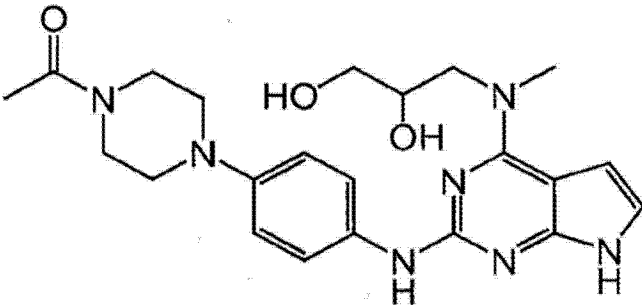
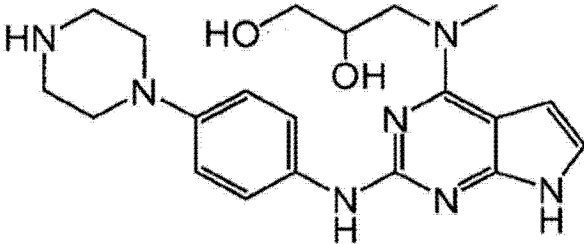
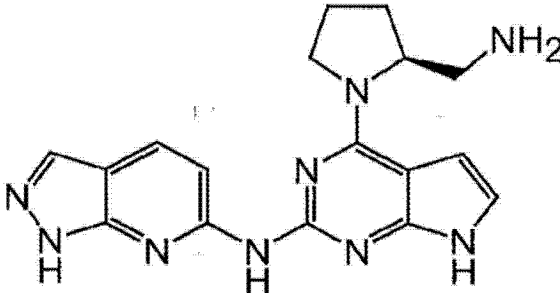
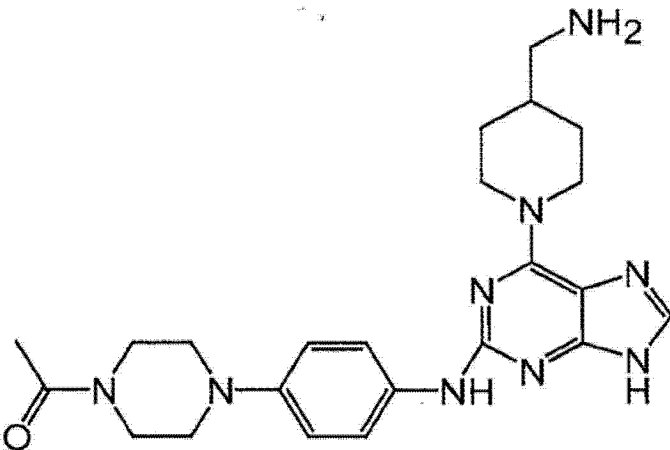
实施例 编号	化合物	Syk IC 50
250		++
251		+
252		+
253		+++

图7(第13页)

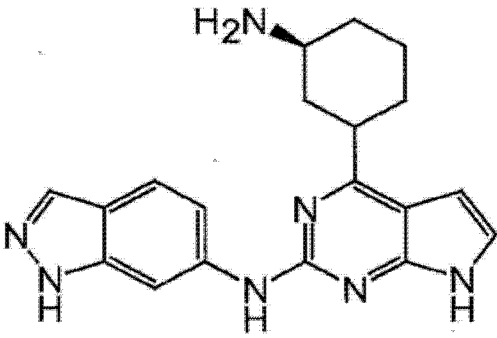
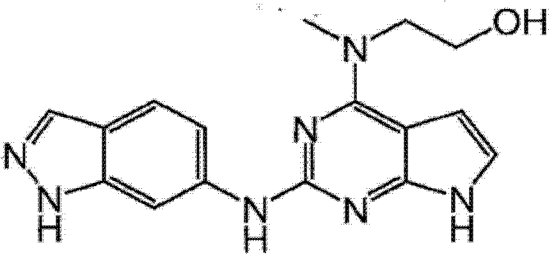
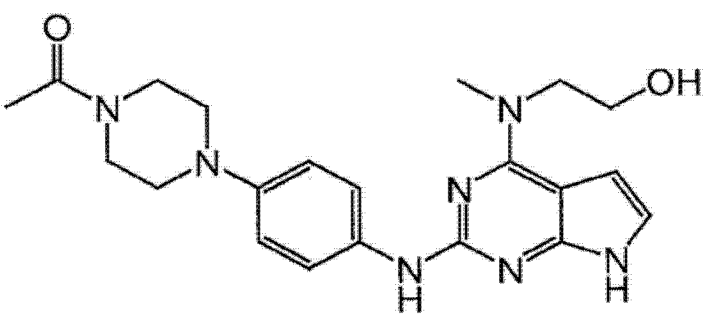
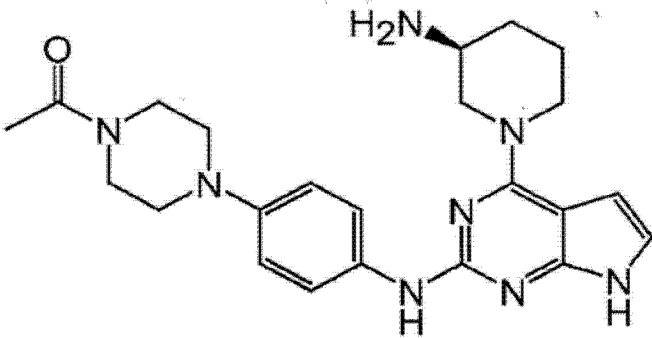
实施例 编号	化合物	Syk IC 50
254		++
255		++
256		++
257		++

图7(第14页)

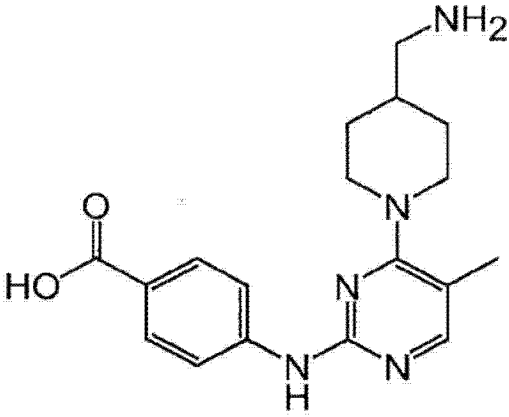
实施例 编号	化合物	Syk IC 50
258	 <chem>CC1=NC2=C(N1)N=CN=C2NC(=O)C3=CC=C(C=C3)C(=O)OCCN</chem>	++

图7(第15页)

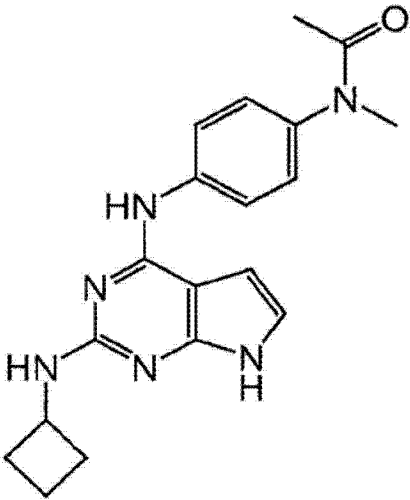
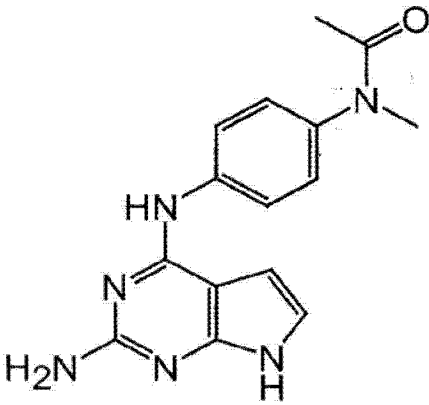
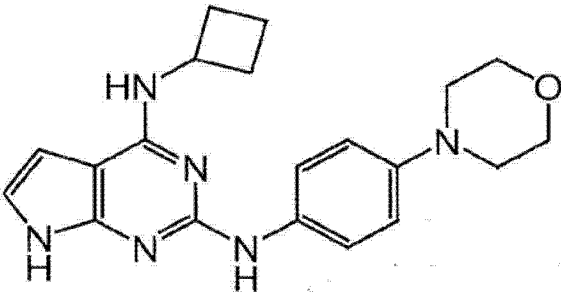
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
260		350.426	351.2 352.2	+
261		296.334		+
262		364.453		+

图8(第1页)

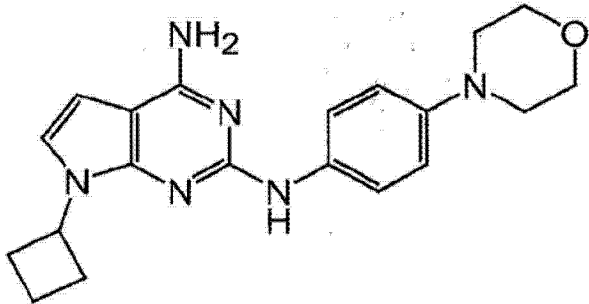
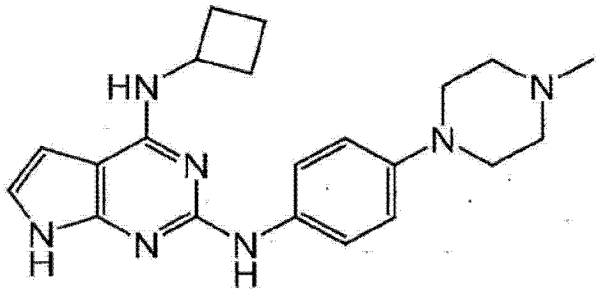
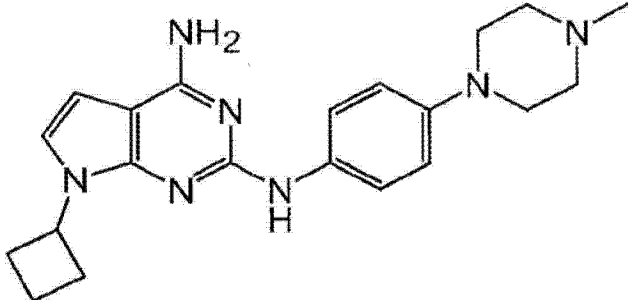
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
263		364.453		+
264		377.496		+
265		377.496		+

图 8(第 2 页)

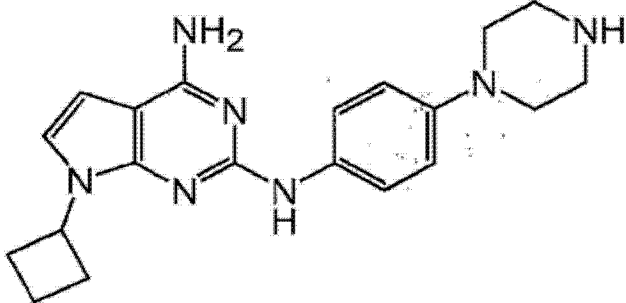
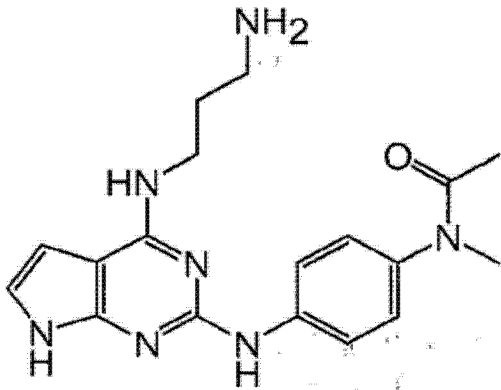
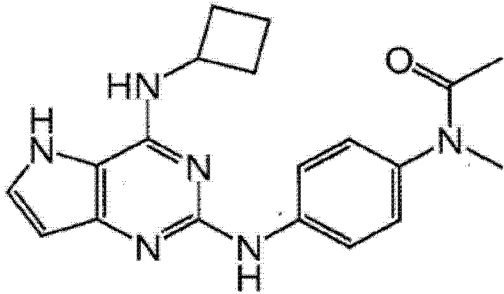
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
266		363.469		+
267		353.43		+
268		350.426		+

图8(第3页)

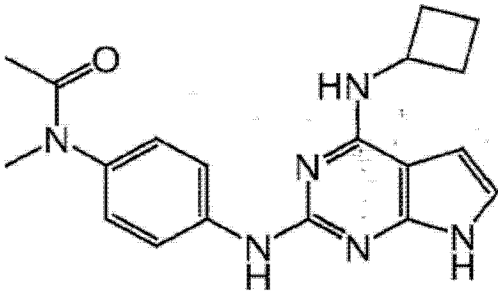
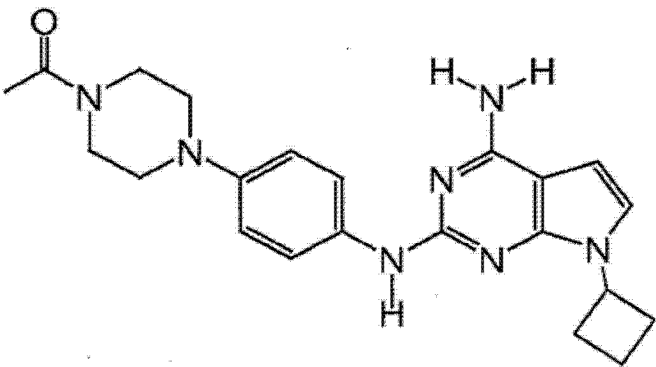
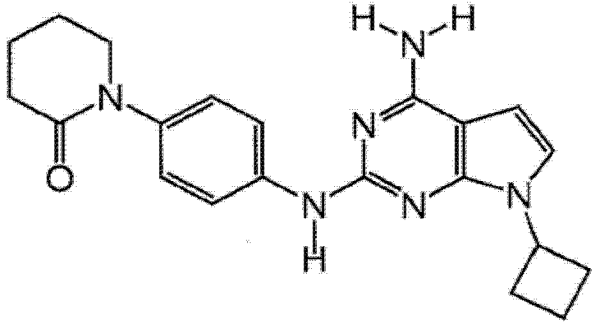
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
269		350.426	351.1 352.1 351.2 352.2	+++
270		405.506	406.2 407.2 406.2 407.3	++
271		376.464	377.2 378.2	+

图8(第4页)

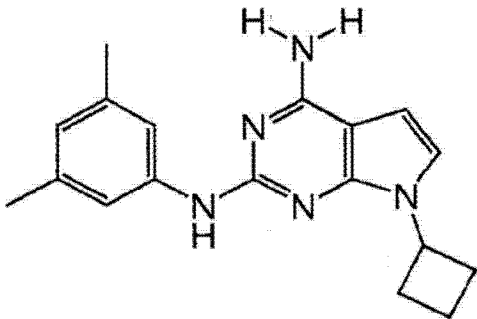
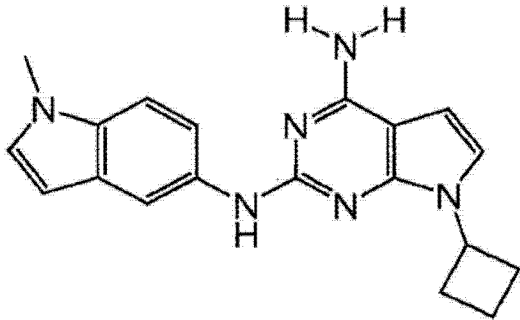
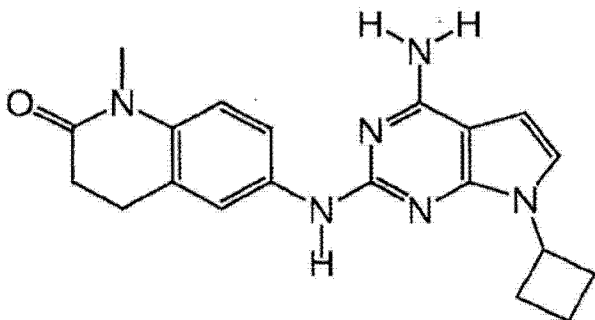
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
272		307.401	308.1 309.2	+
273		332.411	333.1 335.2	+
274		362.437	363.2 364.2	+

图 8(第 5 页)

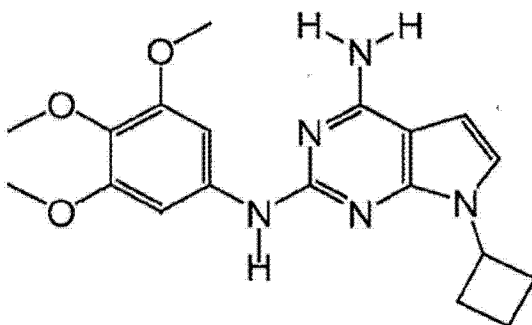
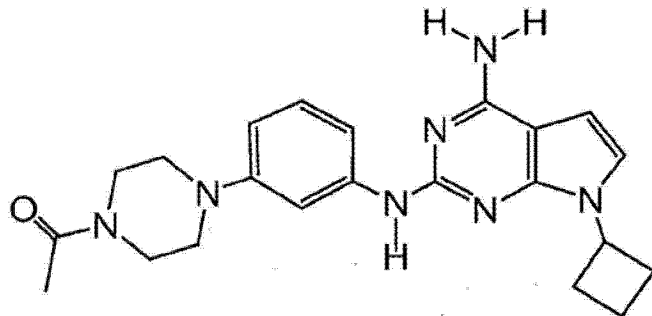
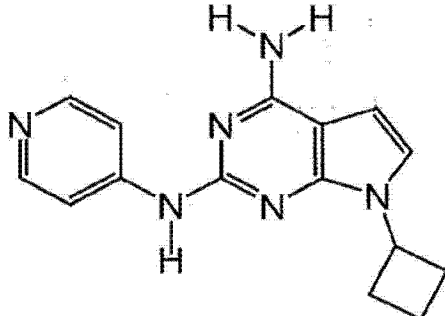
实施例 编号	化合物	MW	MH ⁺	Syk IC 50
275		369.425	370.2 371.2	+
276		405.506	406.2 407.3	+
277		280.335	281.1 282.2	+

图8(第6页)

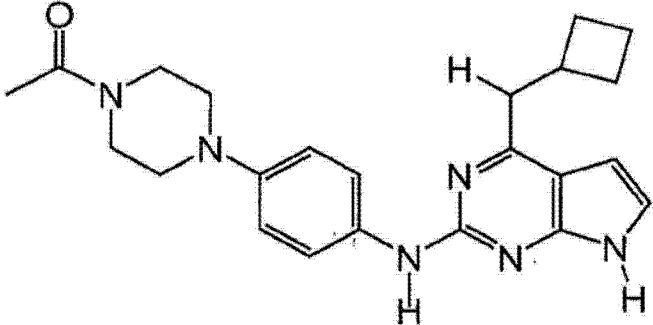
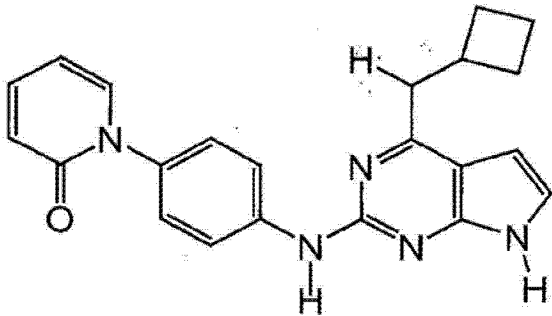
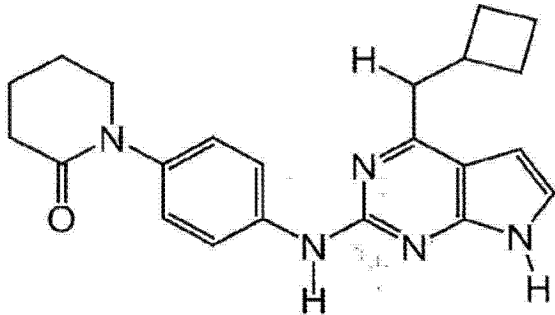
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
278		405.506	406.2 407.2	+++
279		372.432	373.2 374.2	++
280		376.464	377.2 378.2	++

图8(第7页)

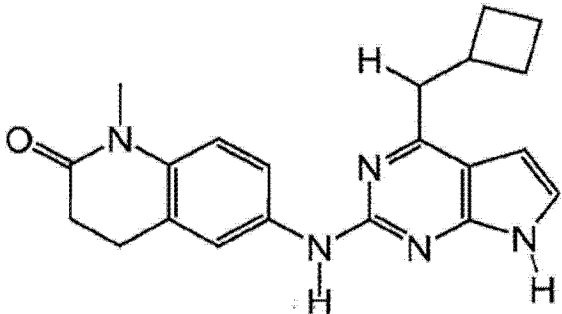
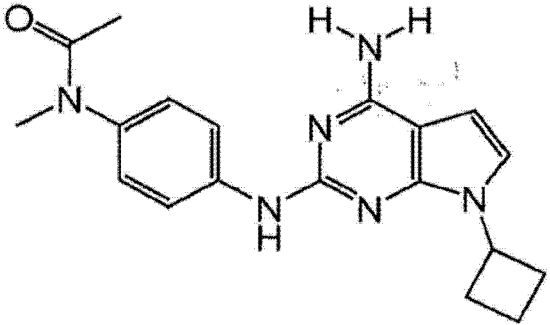
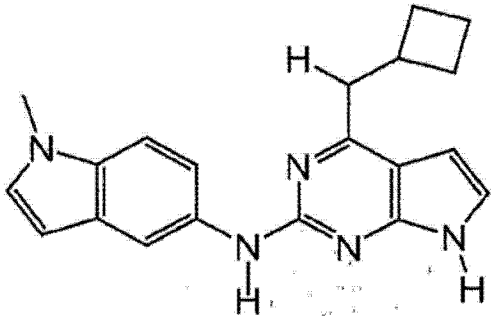
实施例 编号	化合物	MW	MH ⁺	Syk IC 50
281		362.437	363.2 364.2	+++
282		350.426	351.1 352.1	+
283		332.411	333.1 334.1	++

图8(第8页)

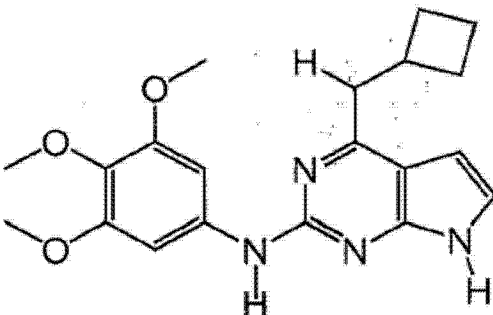
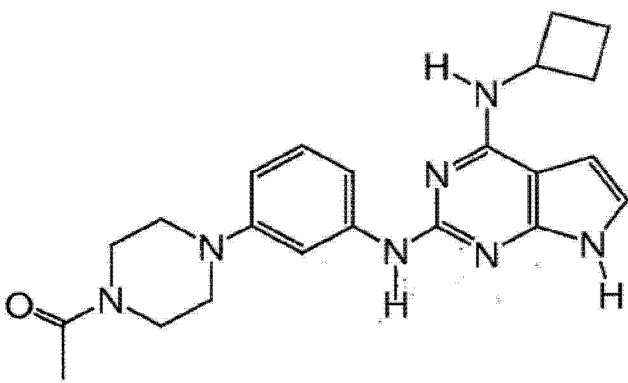
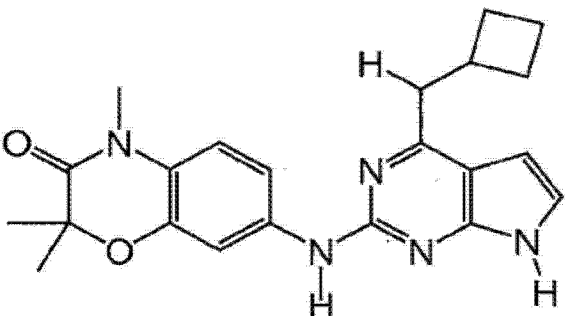
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
284		369.425	370.2 371.2	++
285		405.506	406.2 407.2 406.4 407.4	+
286		392.463	393.2 394.2	++

图8(第9页)

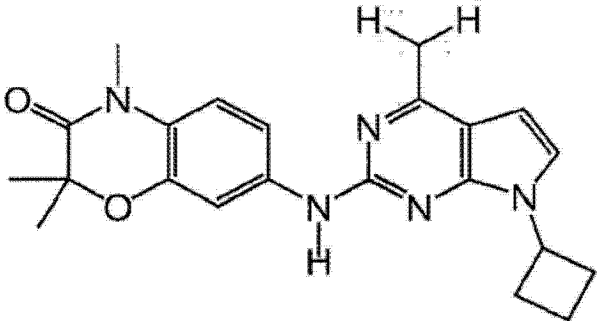
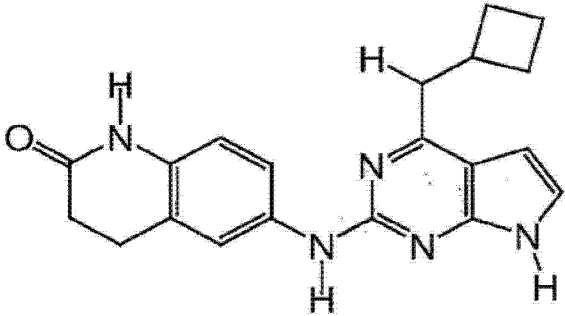
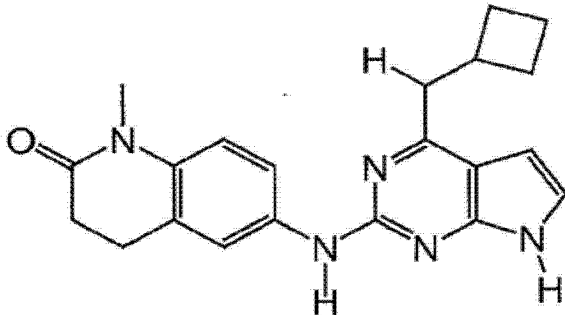
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
287		392.463	393.2 394.2	+
288		348.41	349.0 350.3 349.2 350.3	+++
289		364.409	365.2 366.3	+++

图8(第10页)

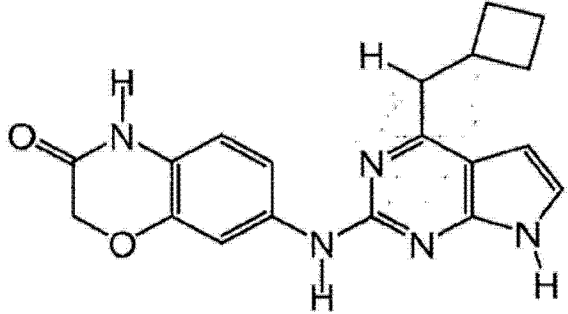
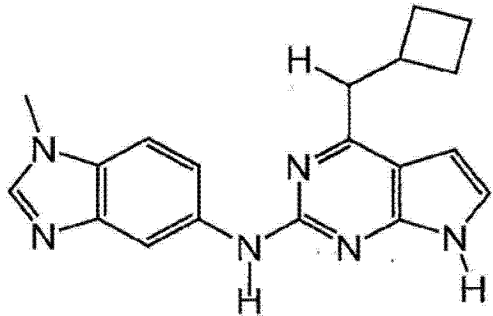
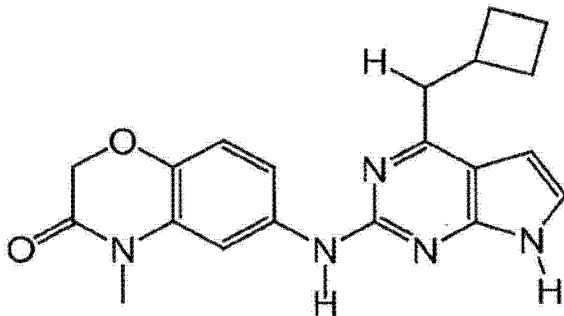
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
290		350.382	351.2 352.3	+++
291		333.399	334.2 335.2	++
292		364.409	365.2 366.1	++

图8(第11页)

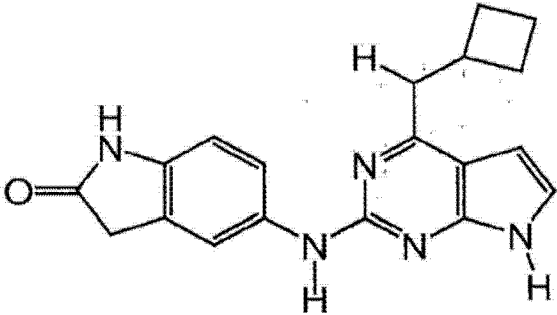
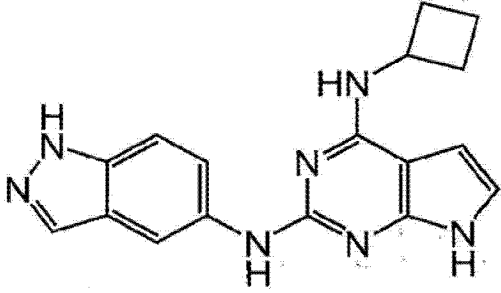
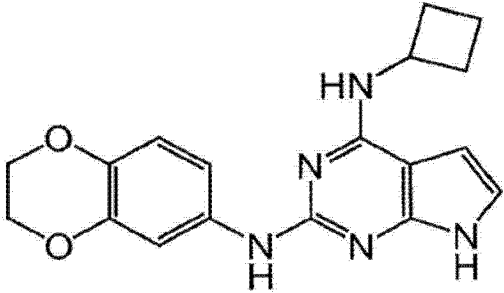
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
293		334.383	335.0 336.0 335.1 336.1	+++
294		319.372	320.1	+++
295		337.383	338.3	++

图 8(第 12 页)

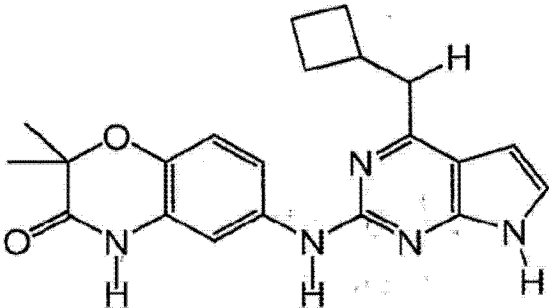
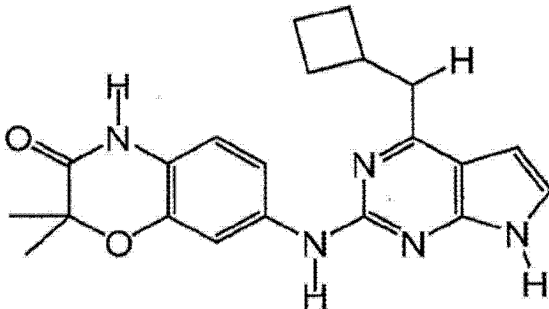
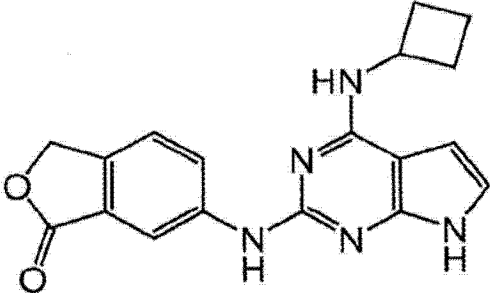
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
296		378.436	379.2 380.2	+++
297		378.436	379.2 380.2	++
298		335.367	336	+++

图8(第13页)

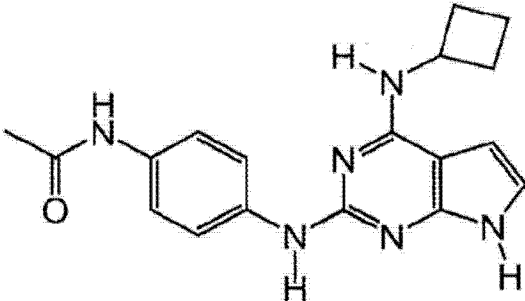
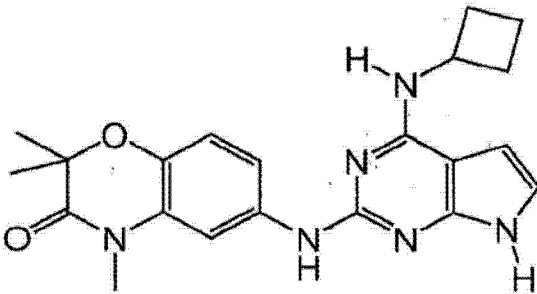
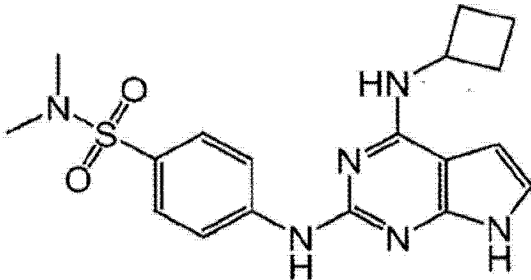
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
299		337.387	338.0 339.0	++
300		392.463	393.0 394.0	++
301		386.478	387	+++

图 8(第 14 页)

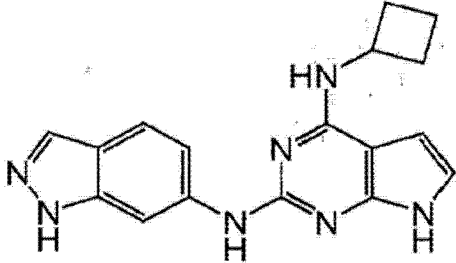
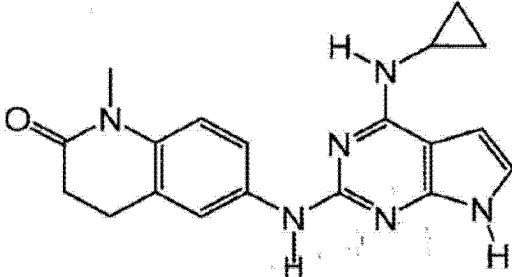
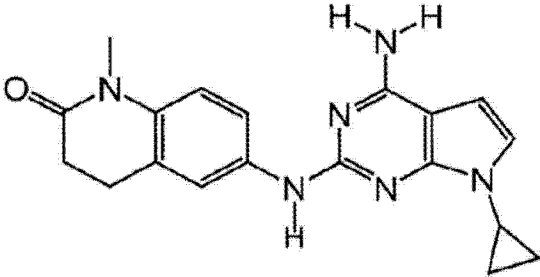
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
302		319.372	320	+++
303		348.41	349.2 350.2	+++
304		348.41	349.2 350.2	+

图 8(第 15 页)

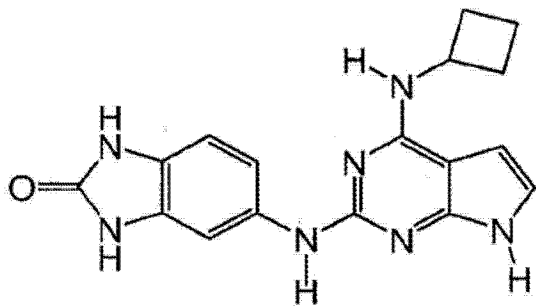
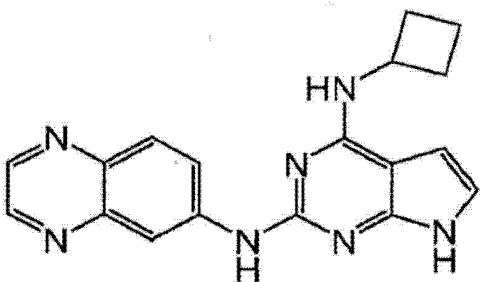
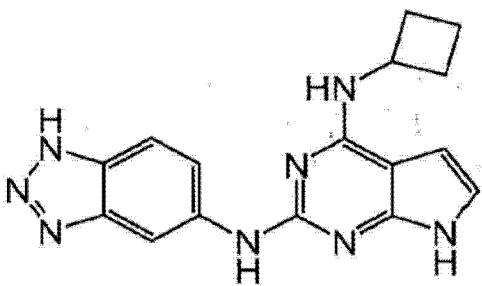
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
305		335.371	336.1 337.1	+++
306		331.383	332	++
307		320.26	321	+++

图 8(第 16 页)

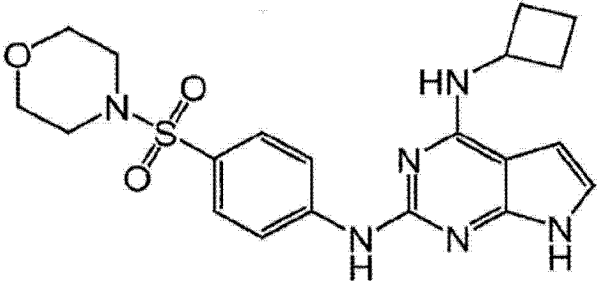
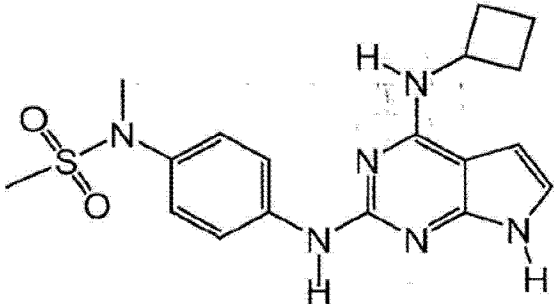
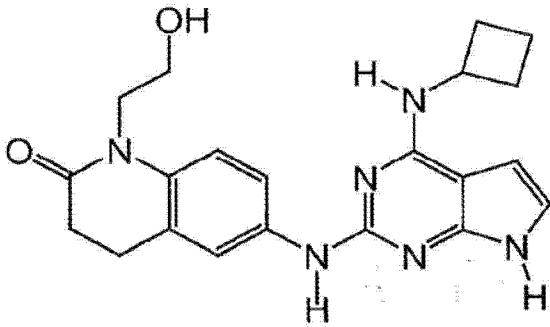
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
308		428.515	429.1	+++
309		386.478	387.0 388.0	+++
310		392.463	393.2 394.2	+++

图8(第17页)

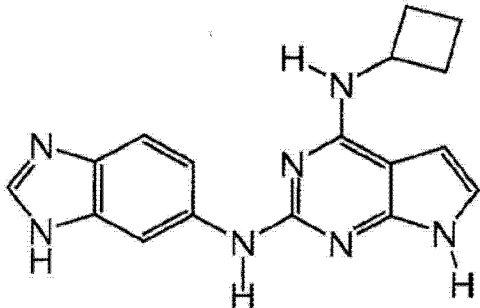
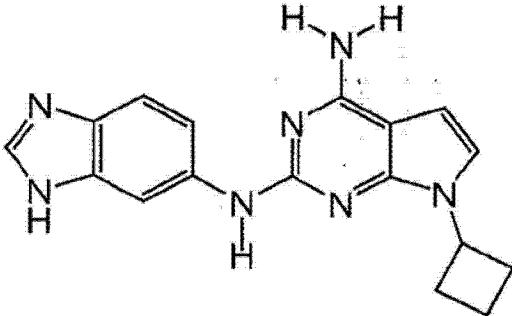
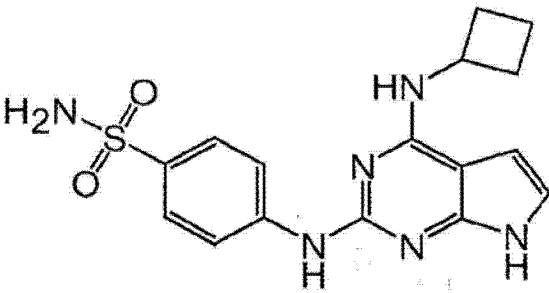
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
311		319.372	320.0 321.0	+++
312		319.372	320.0 321.0	++
313		358.424	359	+++

图8(第18页)

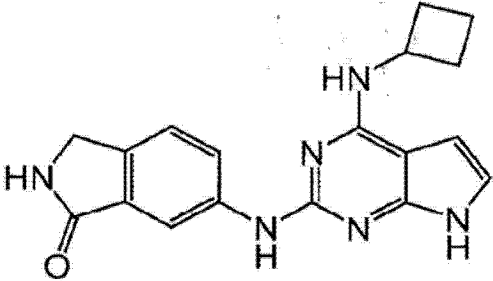
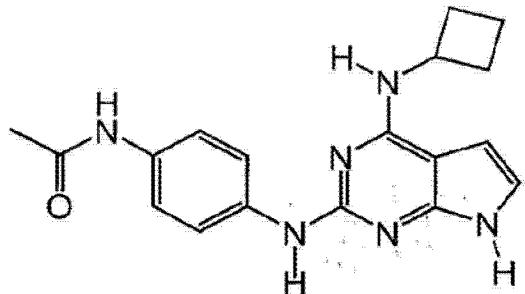
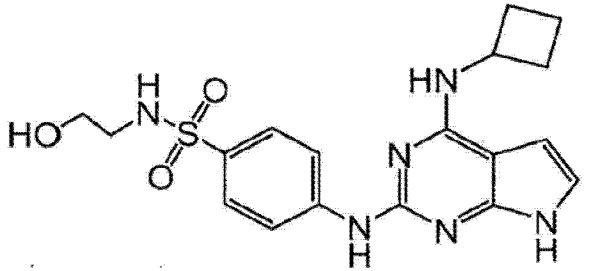
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
314		334.383	335	++
315		336.399	337.0 338.0	++
316		402.477	403	+++

图 8(第 19 页)

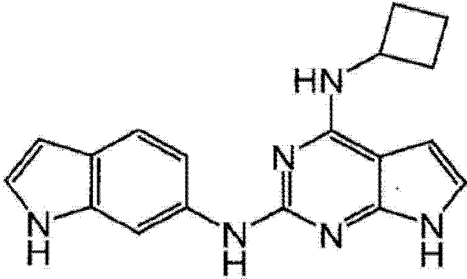
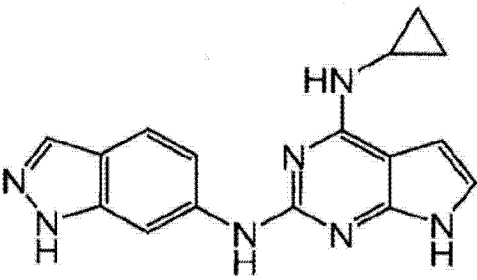
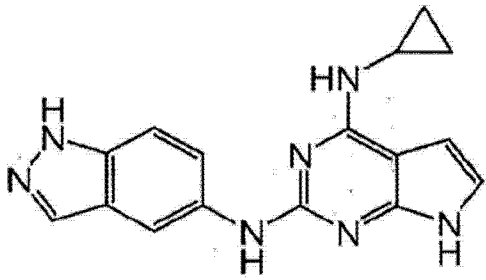
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
317		318.384	319.0 320.2	++
318		305.345	306.0 307.0 306.1 307.1	+++
319		305.345	306.0 307.0	+++

图8(第20页)

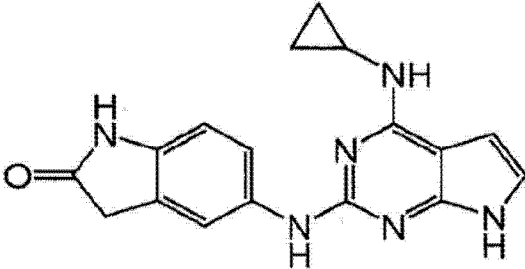
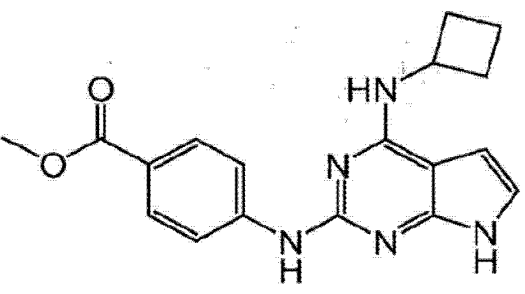
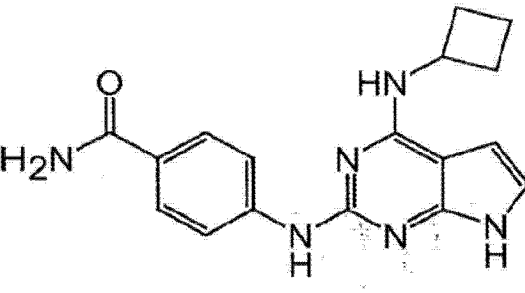
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
320		320.356	321.2 322.2	++
321		337.383	338	++
322		322.372	323.2	+++

图 8(第 21 页)

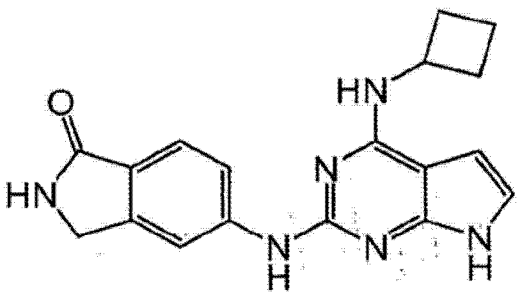
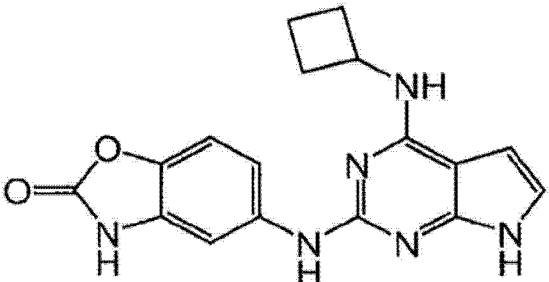
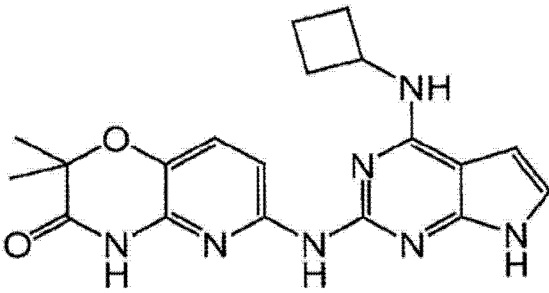
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
323		334.383	335.2	+++
324		336.355	337.2 338.2	++
325		379.424	380.2 381.2	+

图 8(第 22 页)

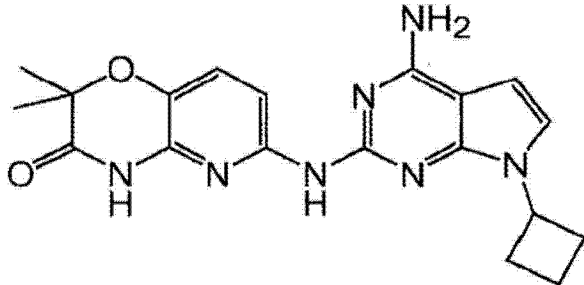
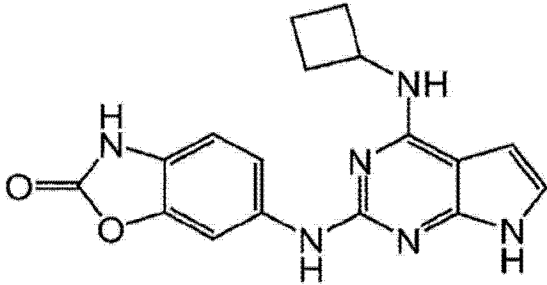
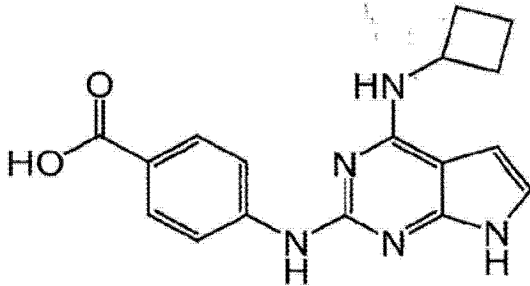
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
326		379.424	380.2 381.2	+
327		336.355	337.2 338.2	++
328		323.356	324	+++

图 8(第 23 页)

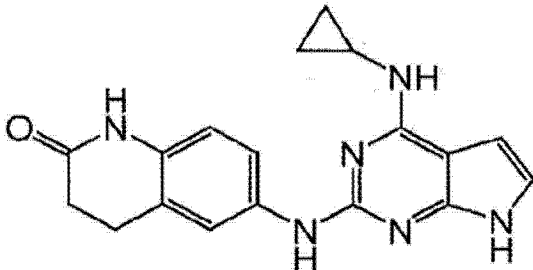
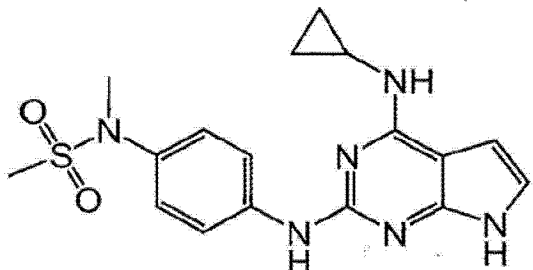
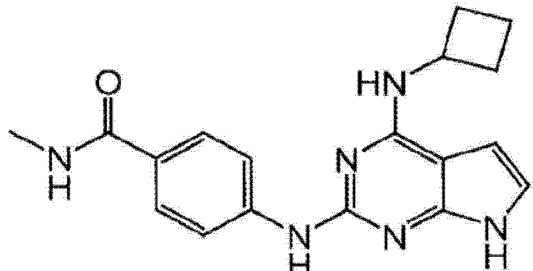
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
329		334.383	335.2 336.2	+++
330		372.451	373.2 374.2	+++
331		336.399	336.9	+++

图 8(第 24 页)

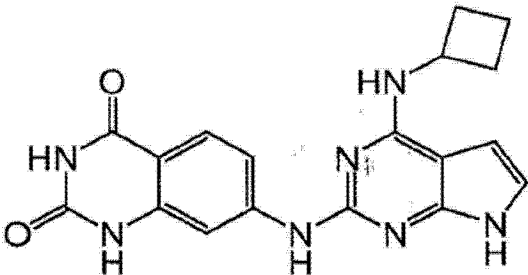
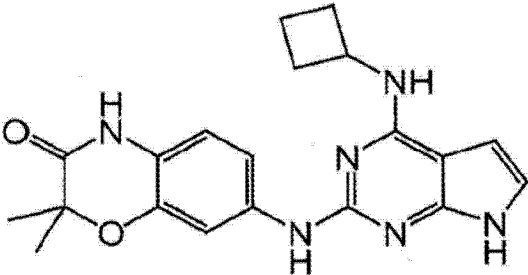
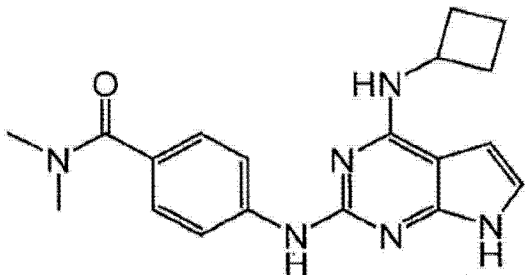
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
332		363.381	364	+++
333		379.424	380.1 381.2	+
334		350.426	350.9	++

图 8(第 25 页)

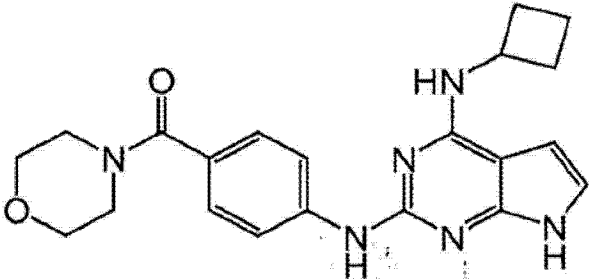
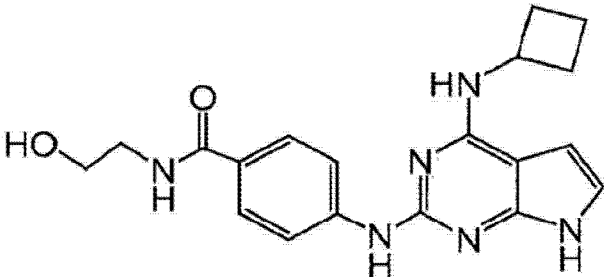
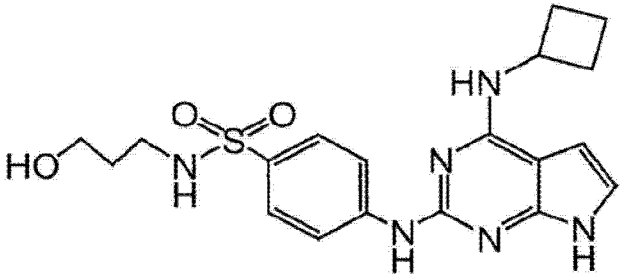
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
335		392.463	393	++
336		366.425	367	++
337		416.504	417	+++

图 8(第 26 页)

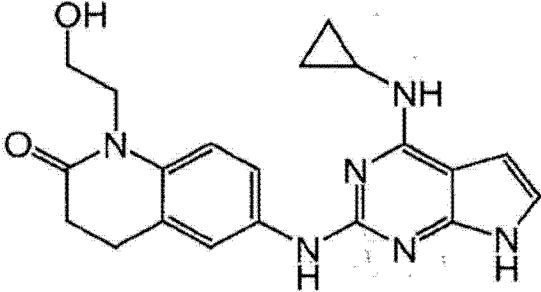
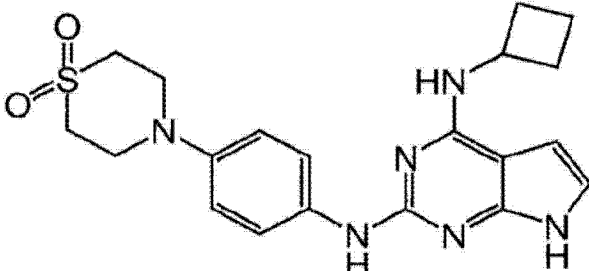
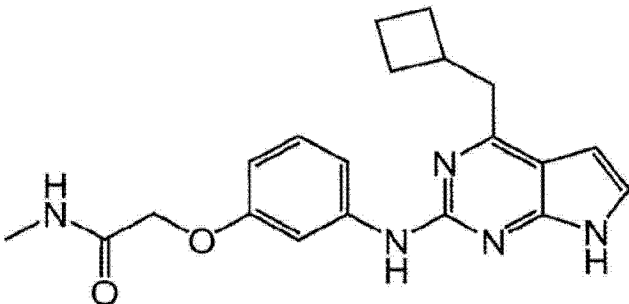
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
338		378.436	379.4 380.4	+++
339		412.516	413.4	+++
340		366.425	367.4 368.4	++

图8(第27页)

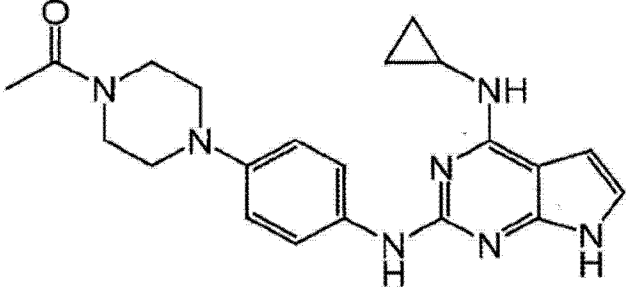
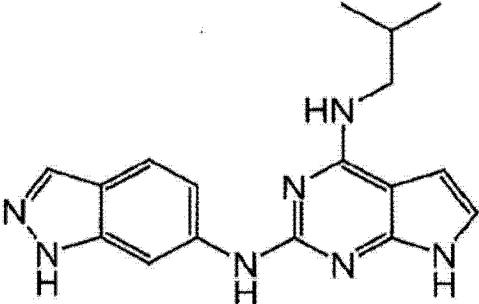
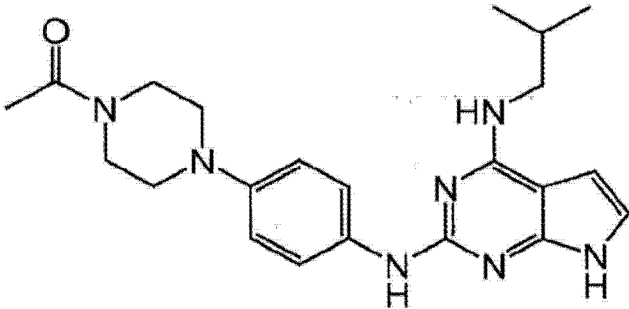
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
341		391.479	392.5 393.5	+++
342		321.388	322.4	++
343		407.522	408.5	++

图 8(第 28 页)

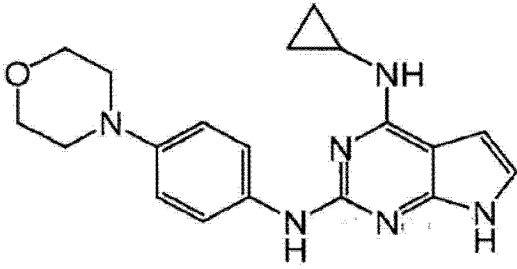
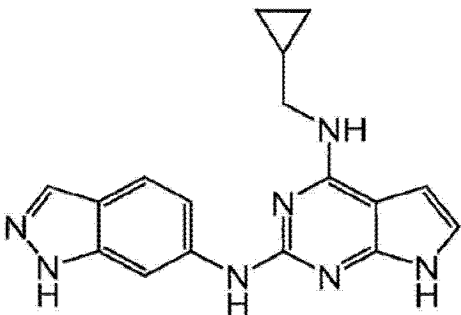
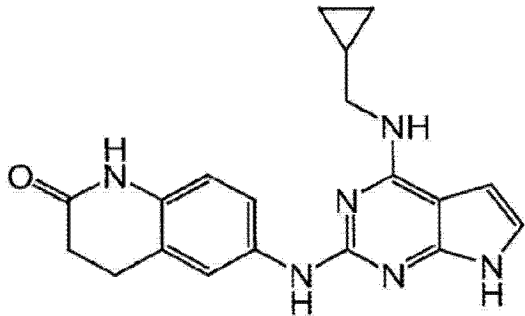
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
344		350.426	351.4 352.4	+++
345		319.372	320.4 321.4	+++
346		348.41	349.2 350.3	++

图8(第29页)

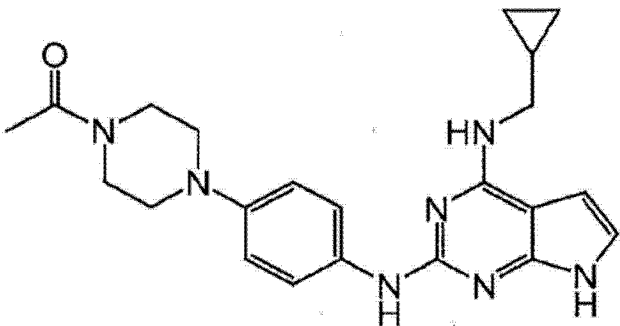
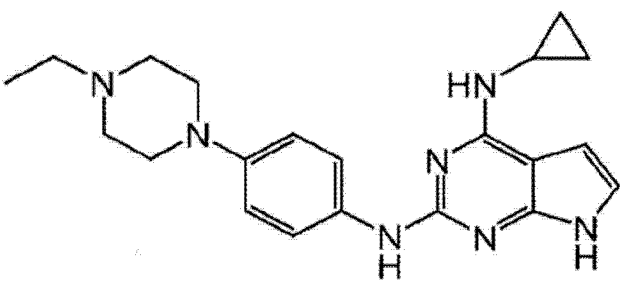
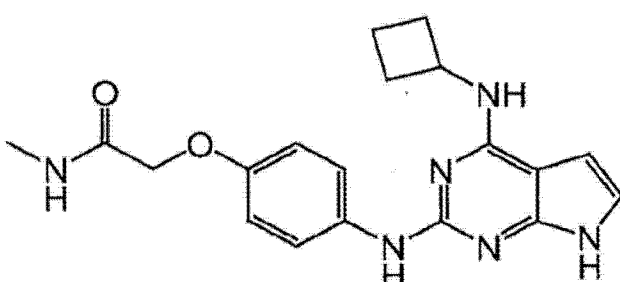
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
347		405.506	406.5 407.5	++
348		377.496	378.3	+++
349		366.425	367.2 368.2	++

图 8(第 30 页)

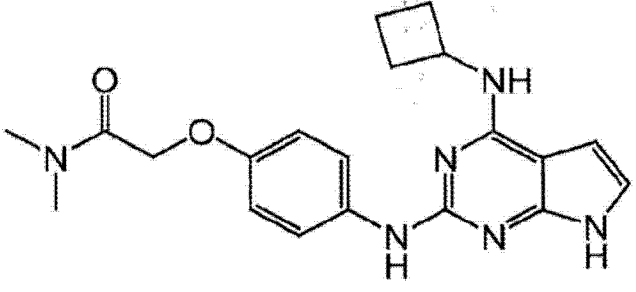
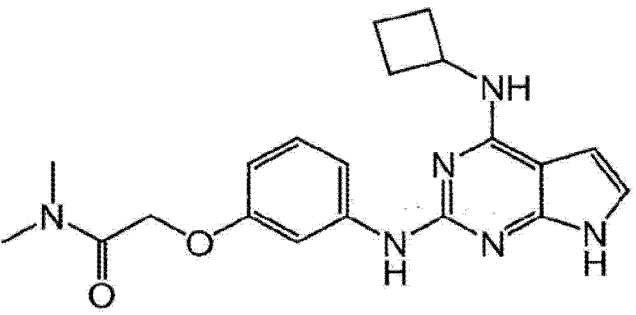
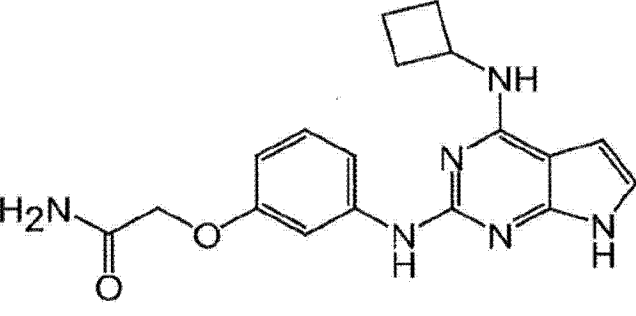
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
350		380.452	381.2 382.2	++
351		380.452	381.2 382.2	+
352		352.398	353.2 354.2	+++

图 8(第 31 页)

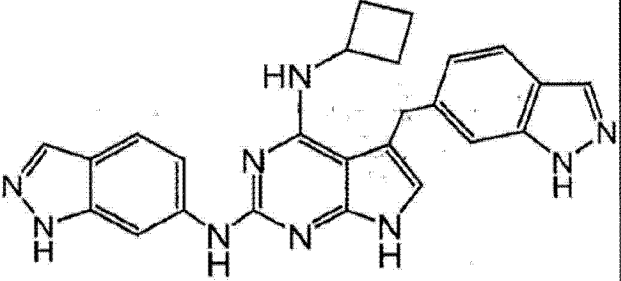
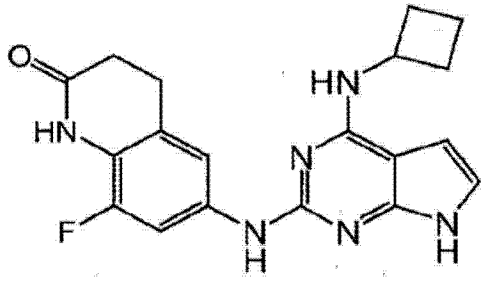
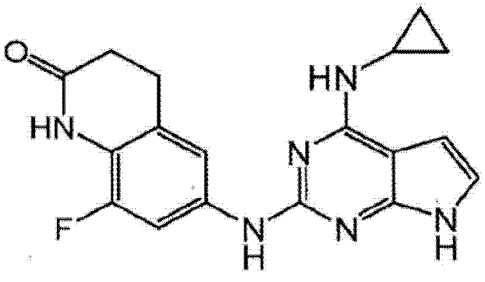
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
353		450.51	451.2	++
354		366.4	367.2 368.1	+++
355		352.373	353.1 354.1	+++

图 8(第 32 页)

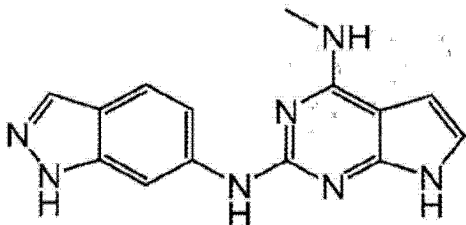
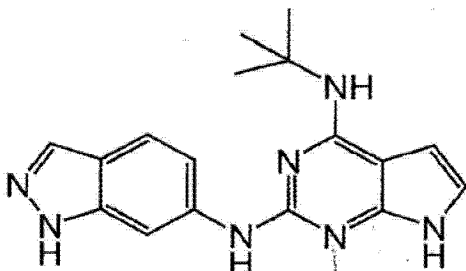
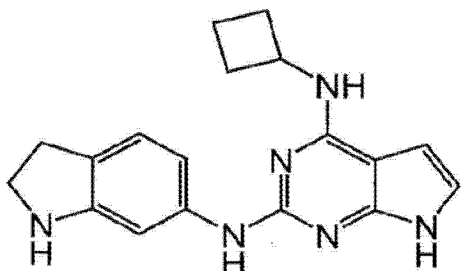
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
356		279.307	280 (M+H) 280.1, 281.1 ES(+) MS [M+H] = 280	+++
357		321.388	322.2 323.2	+++
358		320.4	321.2 322.2	++

图8(第33页)

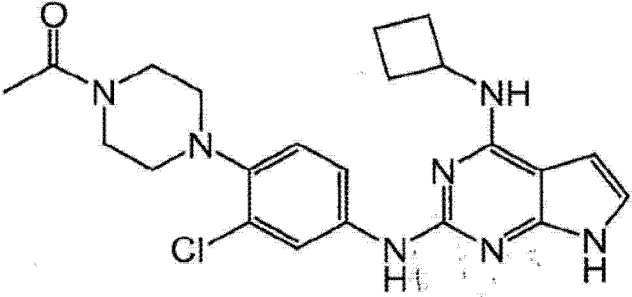
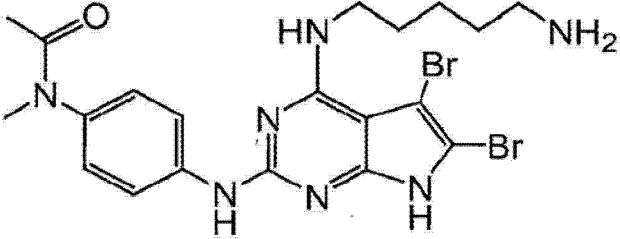
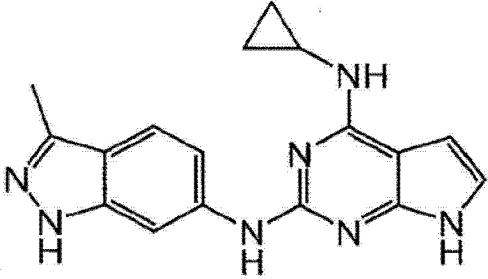
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
359		439.951	440.2 442.2 Chlorine pattern	+++
360		539.286	539.0 540.0 541.0 542.0	+
361		319.372	320	+++

图8(第34页)

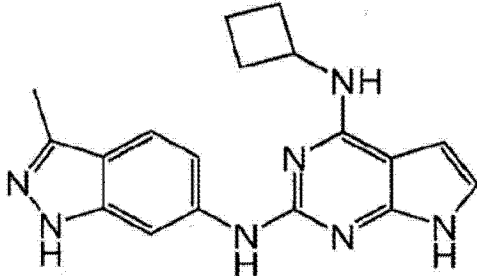
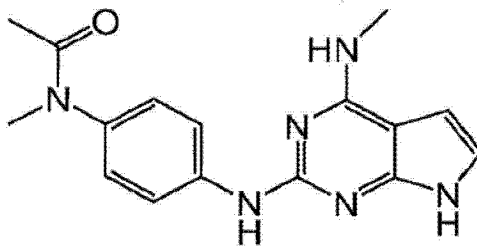
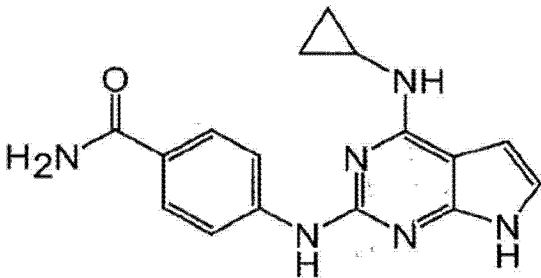
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
362		333.399	334.1 335.1	+++ +++
363		310.361	311.1	++
364		308.345	309.1 310.1	++

图 8(第 35 页)

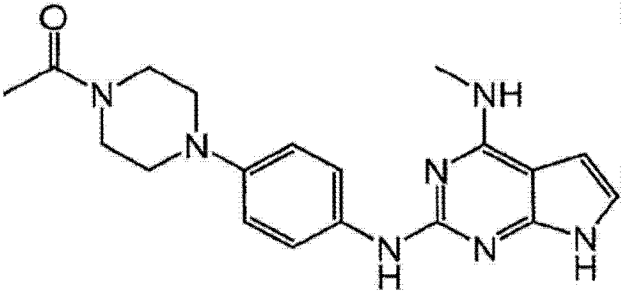
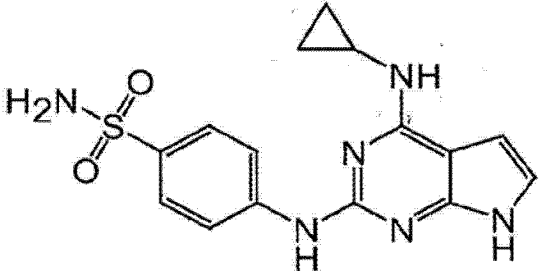
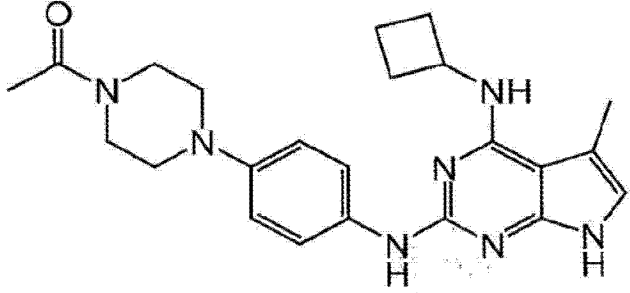
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
365		365.441	366.1 367.1	++
366		344.397	345.1 346.0	+++
367		419.533	420.2 421.2	++

图8(第36页)

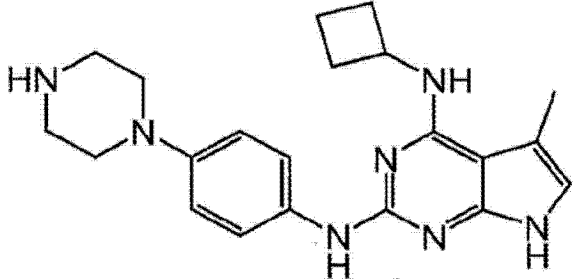
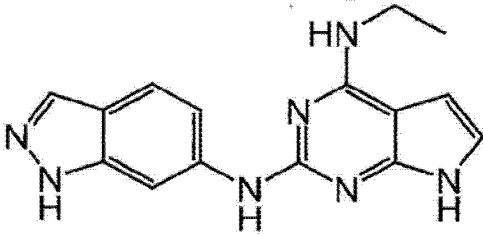
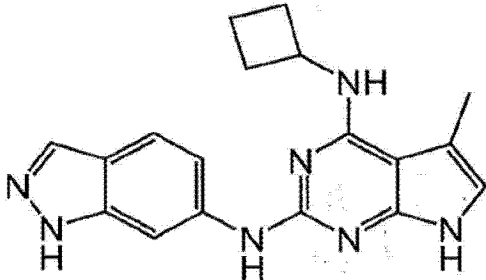
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
368		377.496	378.2 379.2	+++
369		293.334	294.3 295.2	+++
370		333.399	334.3 335.3	+++

图8(第37页)

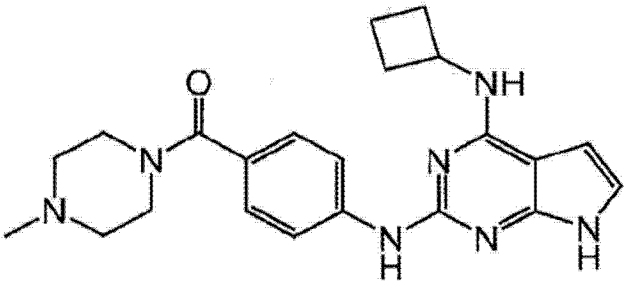
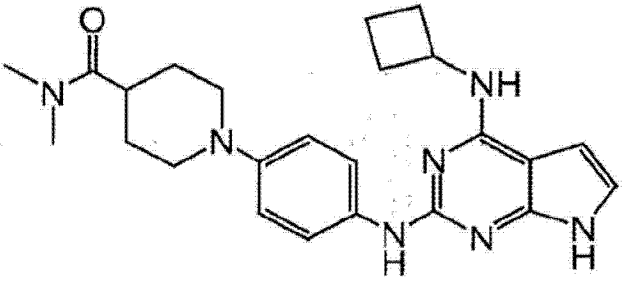
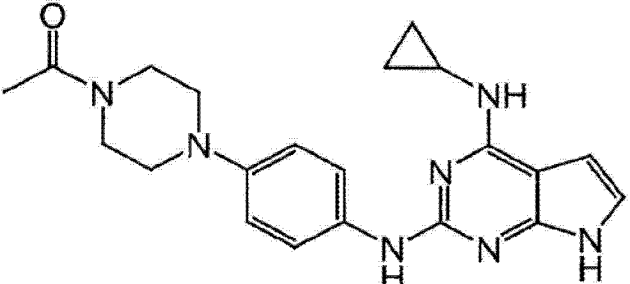
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
371		406.506	406.4 407.4	++
372		433.56	434.3 435.2	++
373		405.506	406.2 407.2	+++

图 8(第 38 页)

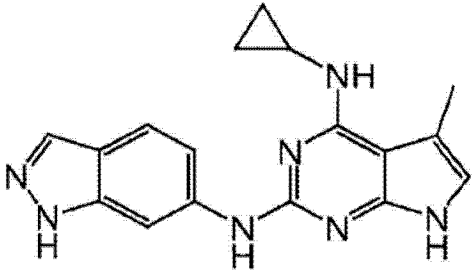
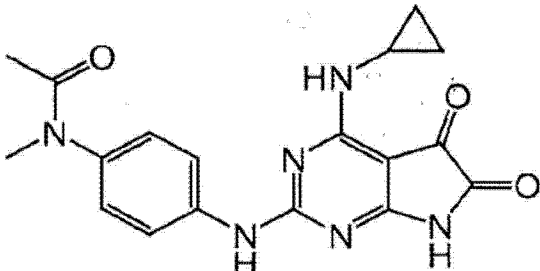
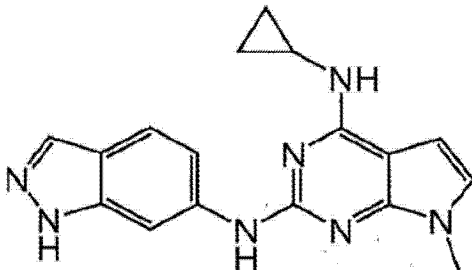
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
374		319.372	320.2 321.2	++++
375		366.381	367.2	+
376		319.372	320.2 321.2	+

图 8(第 39 页)

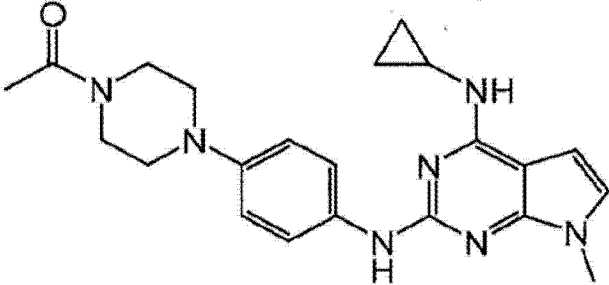
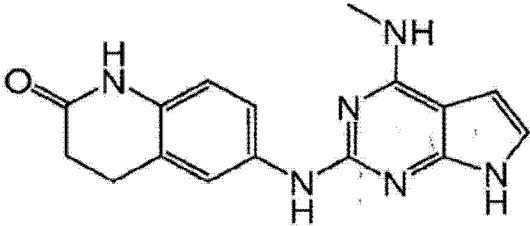
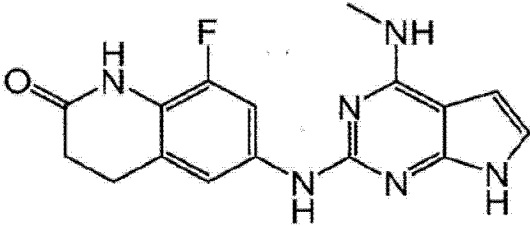
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
377		405.506	406.2 407.2	+
378		308.345	309.1 310.2	++
379		326.335	327.1 328.1	++

图8(第40页)

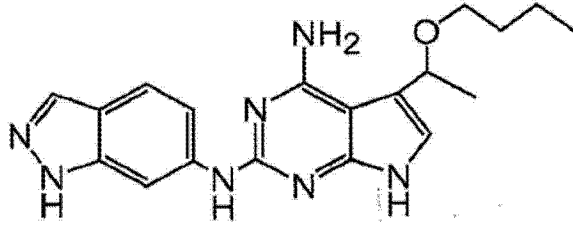
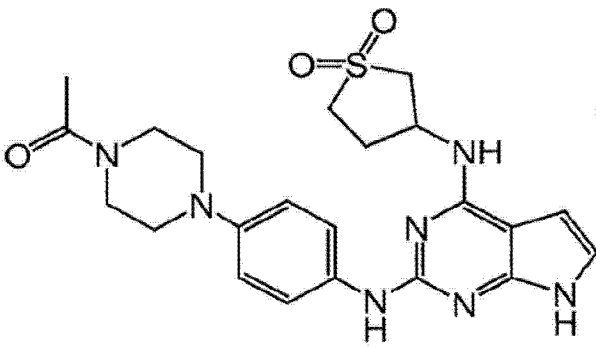
实施例 编号	化合物	MW	MH+	Syk IC 50
381		365.441	366.2	+
380		469.568	470.5	+

图 8(第 41 页)

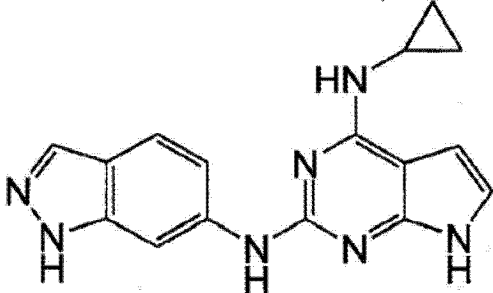
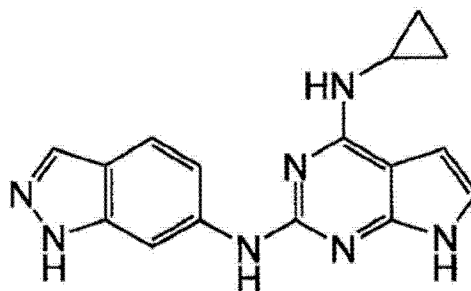
化合物	In-House IC50 (nM)	实验 浓度 (uM)	受抑制 的激酶 (>67%)
	46	1 0.3 0.1	62 21 8

图 9



>80% 抑制, 1 μ M (43)

Syk	CK1 γ 3
Reith	STK33
CK1 γ 2	GCK
JAK2	Fes
RIPK2	Aurora-A
TrkB	Axl
ARK5	CHK2
MLK1	EGFR(T790M,L858R)
Flt3	FGFR1(V561M)
Flt4	Itk
LOK	MST2
Mer	EGFR(T790M)
Rsk3	PAR-1B α
TrkA	Fer
TSSK1	PKC γ
CHK2(R145W)	CaMKII γ
TBK1	PAK5
CHK2(I157T)	Flt3(D835Y)
CK1 γ 1	
Rsk1	
Rsk1	
Rsk2	
RSK4	
IRAK4	
PDGFR α (D842V)	

图 10