



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103201277 B

(45) 授权公告日 2015. 11. 25

(21) 申请号 201180052493. 8

代理人 刘鸿林 张晓威

(22) 申请日 2011. 08. 31

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

61/378, 964 2010. 09. 01 US

C07D 403/14(2006. 01)

C07D 487/04(2006. 01)

C07D 495/04(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 04. 28

C07D 513/04(2006. 01)

A61K 31/501(2006. 01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2011/050013 2011. 08. 31

A61P 35/00(2006. 01)

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/030990 EN 2012. 03. 08

(56) 对比文件

W0 2009/053269 A1, 2009. 04. 30, 说明书第

1、25 页.

(73) 专利权人 吉利德康涅狄格有限公司

审查员 邱晓伟

地址 美国加利福尼亚州

专利权人 遗传技术研究公司

(72) 发明人 K·S·柯里 X·王 W·B·杨

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

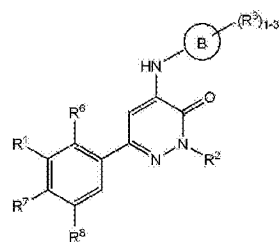
72002

权利要求书12页 说明书70页 附图2页

(54) 发明名称

哒嗪酮、其制备方法和使用方法

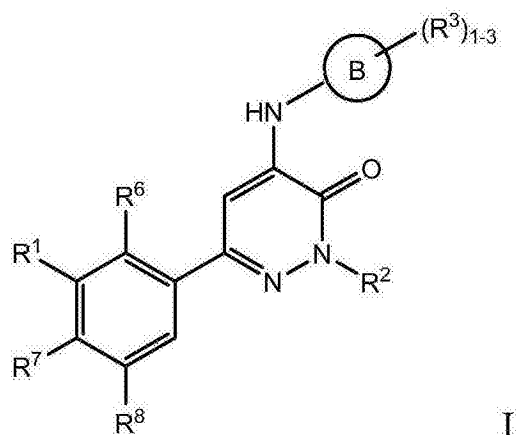
(57) 摘要



(式 I) 本发明提供式

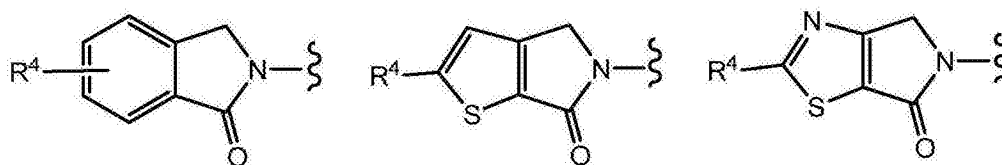
I 的哒嗪酮化合物, 包括其立体异构体、互变异构体和药学可接受的盐, 其用于抑制 Btk 激酶, 并用于治疗免疫性病症例如由 Btk 激酶介导的炎症。本发明公开使用式 I 化合物在体外、原位和体内诊断和治疗哺乳动物细胞中的此类病症或相关的病理状态的方法。

1. 化合物,其选自式 I:



及其立体异构体、互变异构体或药学可接受的盐,其中:

R^1 选自:



其中波浪线指示连接点;

R^4 选自 OH、CN、 NR^bR^c 、任选地被 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 卤代烷基取代的 C_3 - C_6 环烷基以及任选地被 OH 或 OC_1 - C_4 烷基取代的 C_1 - C_6 烷基;

R^2 是 H、 CH_3 或 CF_3 ;

环 B 选自苯基、具有至少一个氮环原子的 5-6 元杂芳基和具有至少一个氮环原子的 8-11 元杂环基;

R^3 独立地选自 H、 $-R^a$ 、 $-OR^b$ 、 $-SR^b$ 、 $-NR^bR^c$ 、卤素、氰基、硝基、 $-COR^b$ 、 $-CO_2R^b$ 、 $-CONR^bR^c$ 、 $-OCOR^b$ 、 $-OCO_2R^a$ 、 $-OCONR^bR^c$ 、 $-NR^cCOR^b$ 、 $-NR^cCO_2R^a$ 、 $-NR^cCONR^bR^c$ 、 $-CO_2R^b$ 、 $-CONR^bR^c$ 、 $-NR^cCOR^b$ 、 $-SOR^a$ 、 $-SO_2R^a$ 、 $-SO_2NR^bR^c$ 和 $-NR^cSO_2R^a$;或者两个相邻的 R^3 基团任选地一起形成具有 0-2 个选自 O、S 或 N 的杂原子的 5-6 元环,其中所述 5-6 元环与环 B 稠合;

R^a 是 C_1 - C_6 烷基、环烷基或杂环烷基,其中 R^a 的每个成员任选地被 1-3 个 R^{11} 基团取代;

R^b 是 H、 C_1 - C_6 烷基、环烷基或杂环烷基,其中 R^b 的除 H 以外的每个成员任选地被 1-3 个 R^{11} 基团取代;

R^c 是 H、或任选地被 1 或 3 个 R^{11} 基团取代的 C_1 - C_4 烷基;或者, R^b 和 R^c 与它们所连接的氮形成杂环烷基;

R^{11} 各自独立地选自 C_1 - C_4 烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基- C_1 - C_4 烷基-、杂环烷基- C_1 - C_4 烷基-、 C_1 - C_4 卤代烷基-、 $-OC_1$ - C_4 烷基-、 $-O$ -杂环烷基-、 $-OC_1$ - C_4 烷基苯基-、 $-C_1$ - C_4 烷基-OH、 $-OC_1$ - C_4 卤代烷基、卤素、-OH、 $-NH_2$ 、 $-C_1$ - C_4 烷基- NH_2 、 $-NH(C_1$ - C_4 烷基)、 $-N(C_1$ - C_4 烷基)(C_1 - C_4 烷基)、 $-N(C_1$ - C_4 烷基)(C_1 - C_4 烷基苯基)、 $-NH(C_1$ - C_4 烷基苯基)、氰基、硝基、氧代、 $-CO_2H$ 、 $-C(O)OC_1$ - C_4 烷基、 $-CON(C_1$ - C_4 烷基)(C_1 - C_4 烷基)、 $-CONH(C_1$ - C_4 烷基)、 $-CONH_2$ 、 $-NHC(O)(C_1$ - C_4 烷基)、 $-NHC(O)($ 苯基)、 $-N(C_1$ - C_4 烷基) $C(O)(C_1$ - C_4 烷基)、 $-N(C_1$ - C_4 烷基) $C(O)($ 苯基)、 $-C(O)C_1$ - C_4 烷基、 $-C(O)C_1$ - C_4 卤代烷基、 $-OC(O)C_1$ - C_4

烷基、 $-\text{SO}_2(\text{C}_1\text{-C}_4\text{烷基})$ 、 $-\text{SO}_2(\text{苯基})$ 、 $-\text{SO}_2(\text{C}_1\text{-C}_4\text{卤代烷基})$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}(\text{C}_1\text{-C}_4\text{烷基})$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}(\text{苯基})$ 、 $-\text{NHSO}_2(\text{C}_1\text{-C}_4\text{烷基})$ 、 $-\text{NHSO}_2(\text{苯基})$ 和 $-\text{NHSO}_2(\text{C}_1\text{-C}_4\text{卤代烷基})$ ；

其中

以上关于 R^a 、 R^b 和 R^{11} 所述的环烷基，无论是单独的还是作为其他基团的一部分，独立地为饱和的 $\text{C}_3\text{-C}_7$ 单环；并且

以上关于 R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^{11} 所述的杂环烷基，无论是单独的还是作为其他基团的一部分，独立地为饱和的 3- 至 7- 元含氮单环杂环；

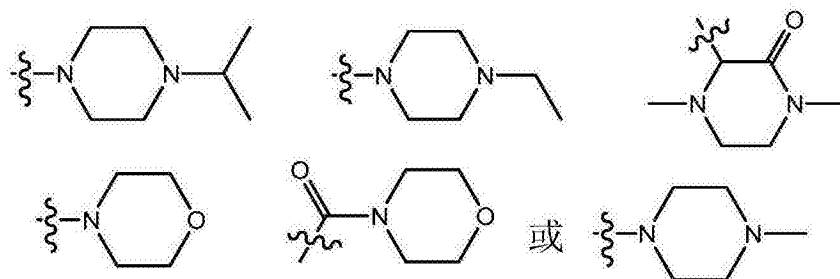
R^6 是 H 、 CH_3 、 F 、 Cl 、 CN 、 OCH_3 、 OH 、或被 OH 、 OCH_3 或者一个或多个卤素基团取代的甲基；

R^7 是 H 、 CH_3 、 F 、 Cl 、 CN 或 OCH_3 ；

R^8 是 H 、 CH_3 、 CF_3 、 F 、 Cl 、 CN 或 OCH_3 。

2. 权利要求 1 的化合物，其中 R^2 是 H 或 CH_3 。

3. 权利要求 1 的化合物，其中 R^3 是：



其中波浪线指示连接点。

4. 权利要求 1 的化合物，其中 R^3 选自任选地被 F 、 CH_3 或 COCH_3 取代的环丙基、氮杂环丁烷基、氮杂环丁烷基甲基、哌啶基、氧代哌啶基、哌嗪基和氧代哌嗪基。

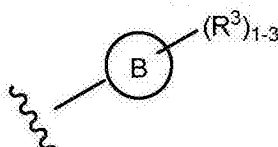
5. 权利要求 1 的化合物，其中 R^4 是叔丁基、 N -吡咯烷基、 N -哌啶基、 N -氮杂环庚烷基、2-羟基-2-甲基丙基、 $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{Et}$ 、异丙基、环戊基、环己基、3-甲基丁-2-基、 $-\text{N}(\text{CH}_3)(\text{i-Pr})$ 或 $-\text{NH}(\text{环丙基})$ 。

6. 权利要求 1 的化合物，其中 R^6 是 H 、 CH_3 、 F 或 CH_2OH 。

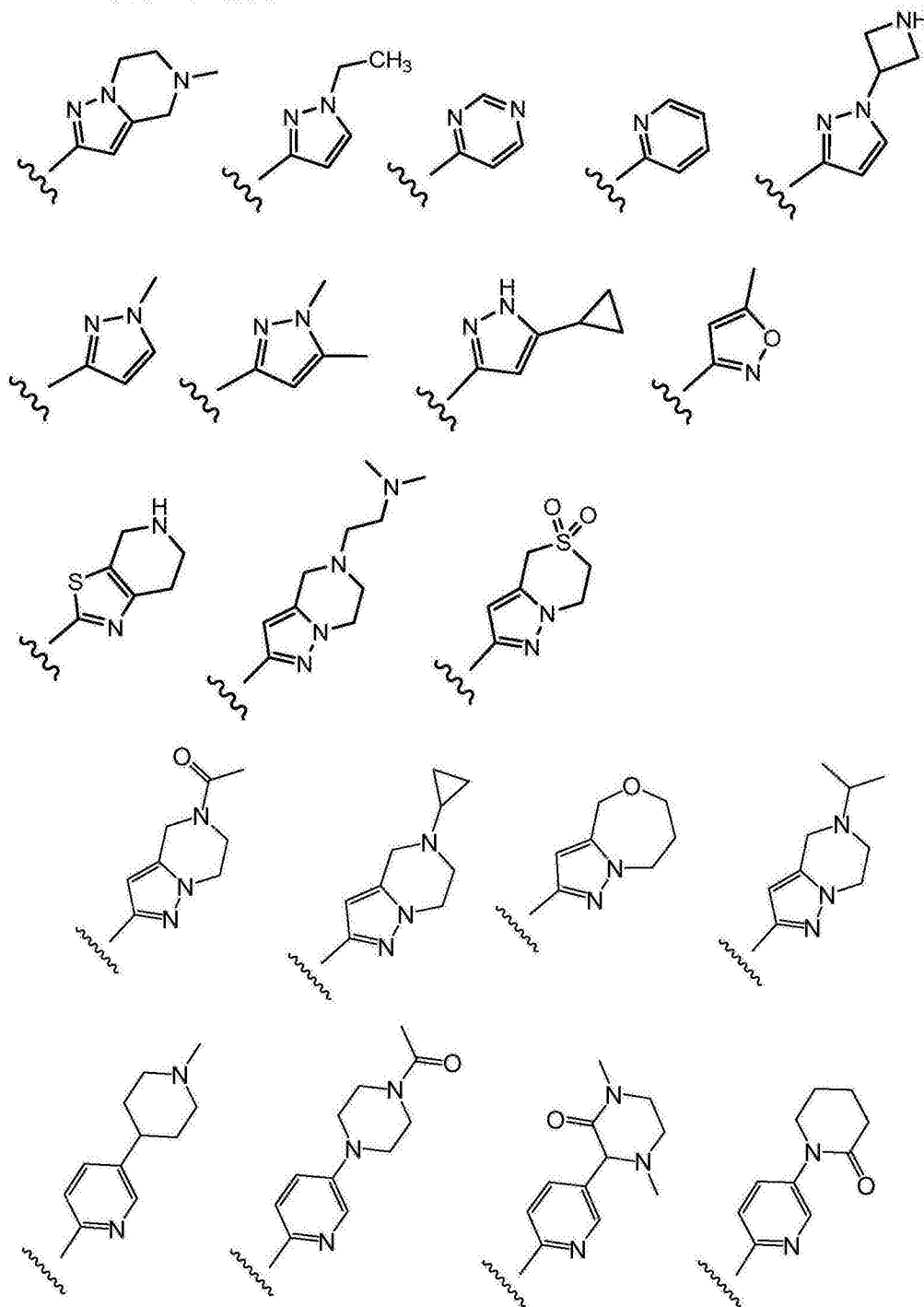
7. 权利要求 1 的化合物，其中 R^7 是 H 或 F 。

8. 权利要求 1 的化合物，其中 B 是吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基、吡唑-3-基、嘧啶-4-基或吡啶-2-基。

9. 权利要求 1 的化合物，其中：

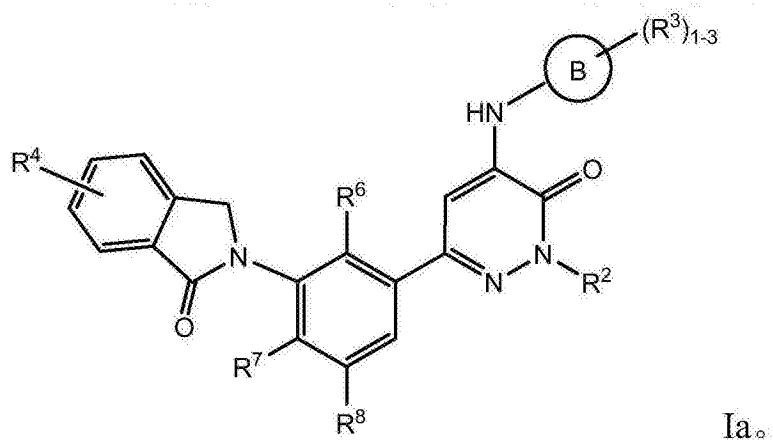


选自以下结构：

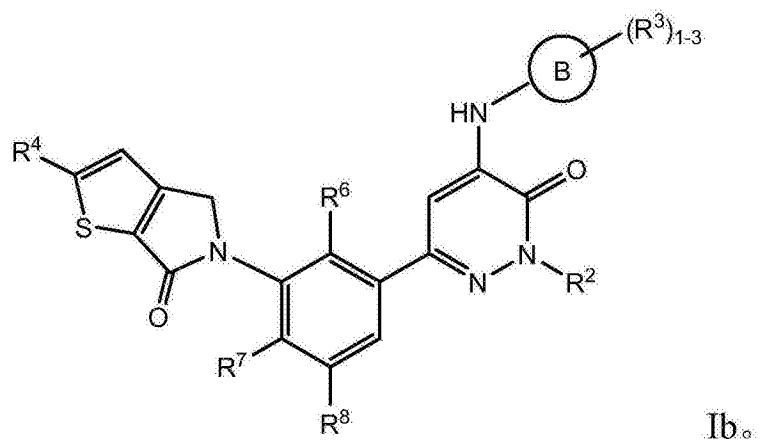


其中波浪线指示连接点。

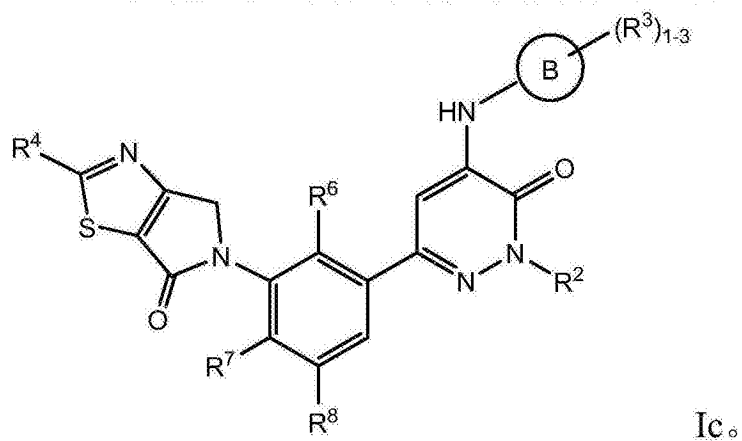
10. 权利要求 1 的化合物, 其具有式 Ia 的结构:



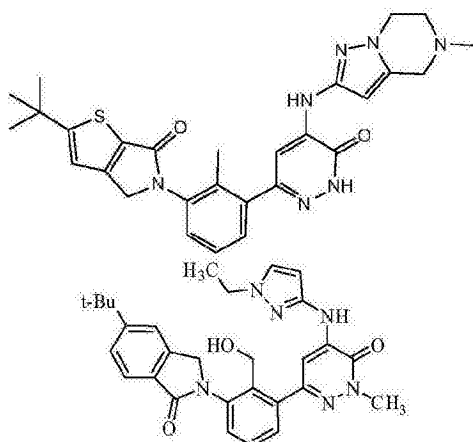
11. 权利要求 1 的化合物,其具有式 Ib 的结构:



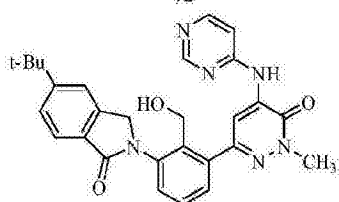
12. 权利要求 1 的化合物,其具有式 Ic 的结构:



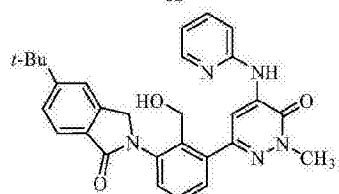
13. 权利要求 1 的化合物,其选自:



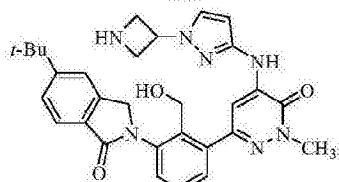
7d



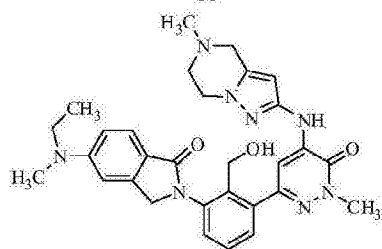
8b



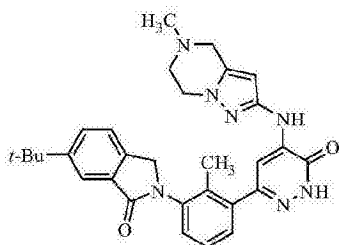
10e



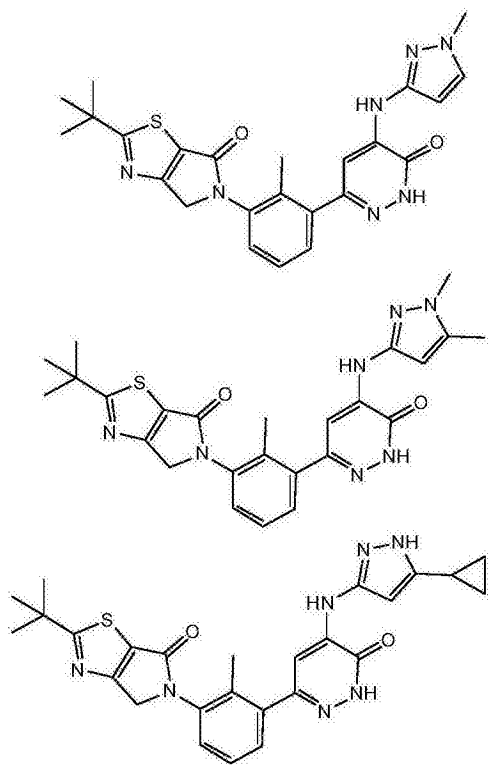
5c



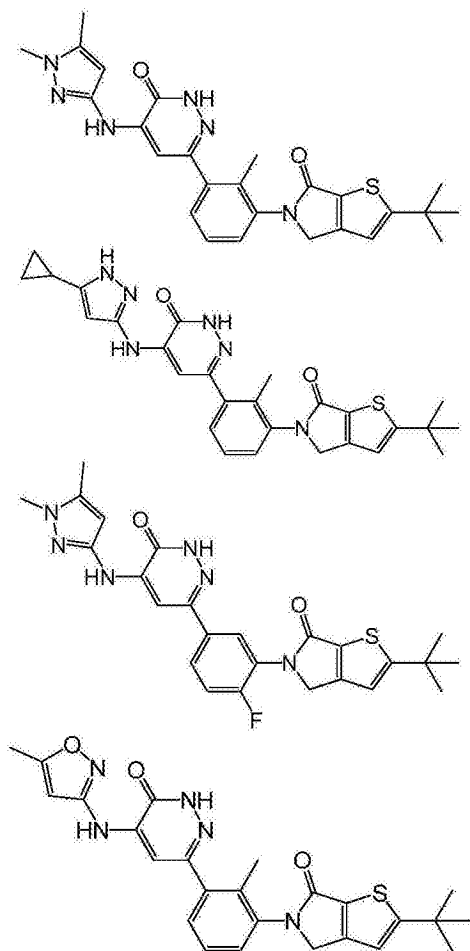
4b

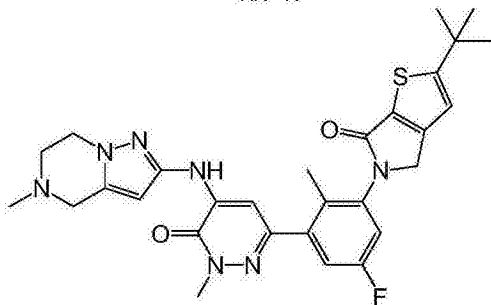
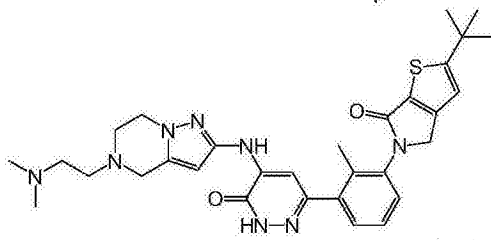
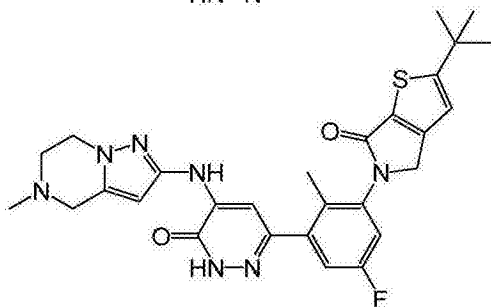
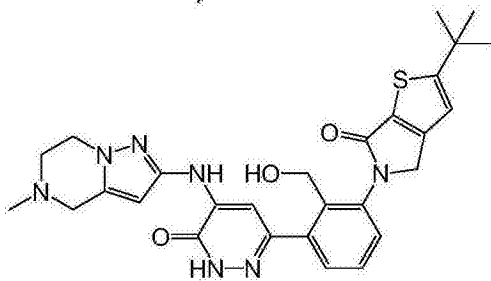
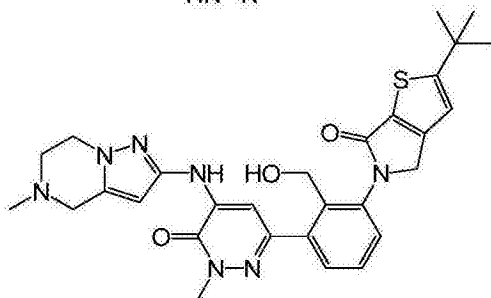
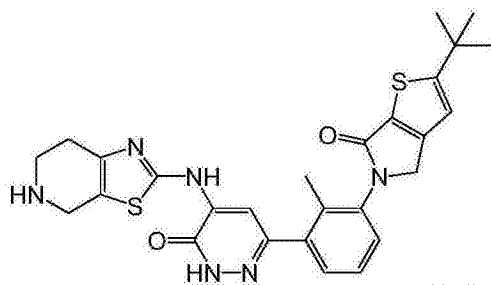


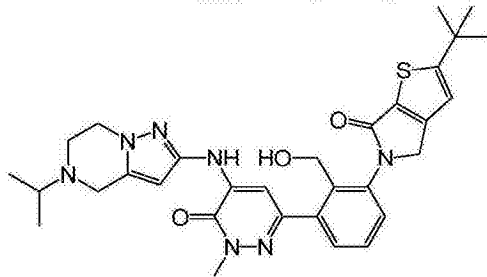
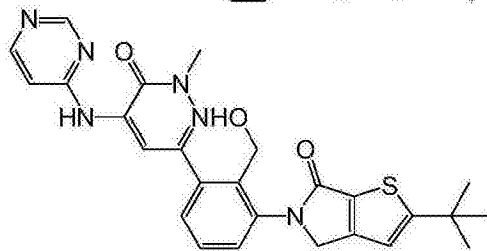
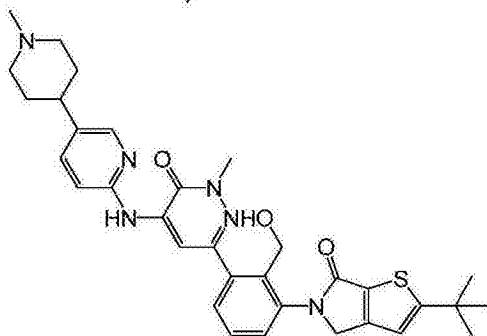
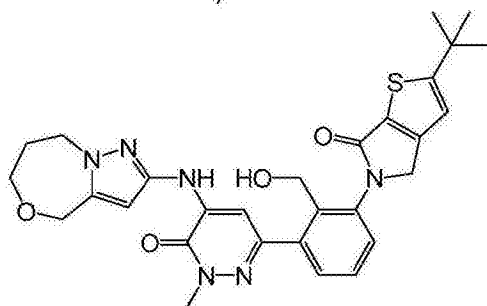
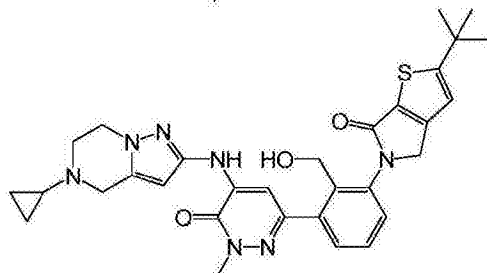
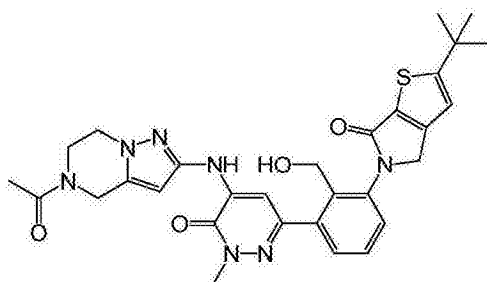
4h

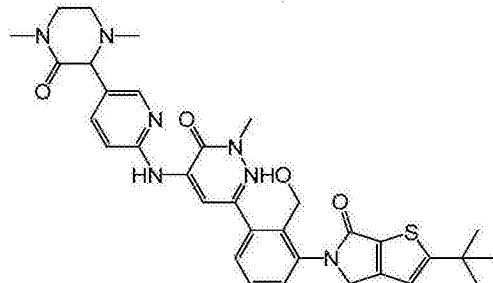
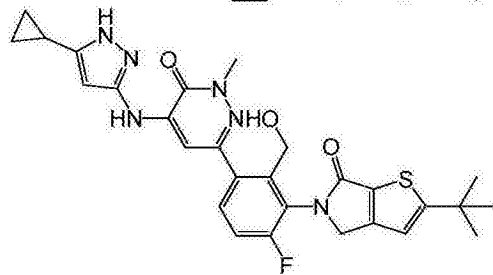
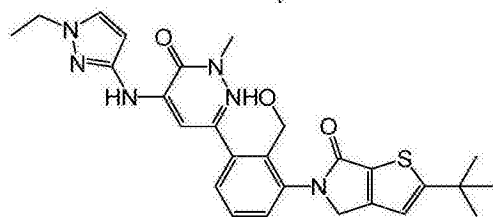
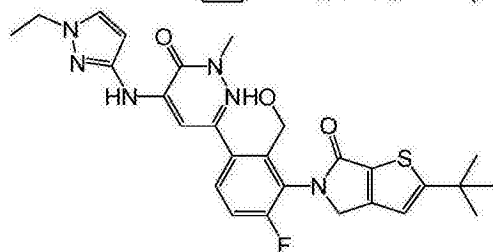
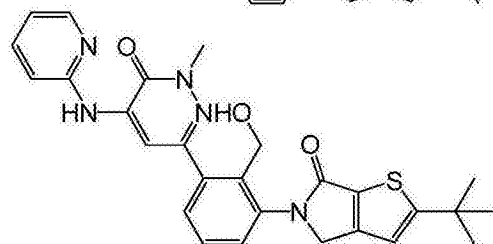
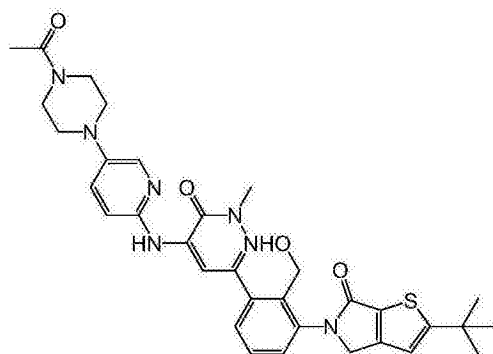


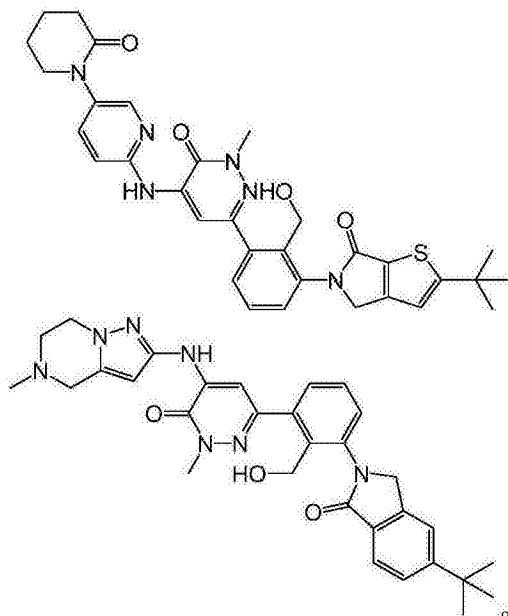
14. 权利要求 1 的化合物,其选自:











15. 药物组合物,其包含权利要求 1 - 14 中任一项的化合物,以及药学可接受的载体或赋形剂。

16. 权利要求 15 的药物组合物,其中所述赋形剂是稀释剂。

17. 药物组合物,其包含权利要求 1 - 14 中任一项的化合物,以及药学可接受的载体或助流剂。

18. 权利要求 15-17 中任一项的药物组合物,其还包含另一治疗剂。

19. 制备药物组合物的方法,其包括将权利要求 1-14 中任一项的化合物与药学可接受的载体混合。

20. 用于治疗由 Bruton 酪氨酸激酶介导的病症的药盒,其包含:

- a) 包含权利要求 1-14 中任一项的化合物的第一药物组合物;和
- b) 使用说明书。

21. 权利要求 1 - 14 中任一项的化合物在制备用于治疗疾病或病症的药物中的用途,其中所述疾病或病症选自免疫性病症、癌症、心血管疾病、病毒感染、炎症、代谢 / 内分泌功能障碍和神经病;并且其中所述药物调节 Bruton 酪氨酸激酶。

22. 权利要求 21 的用途,其中所述疾病或病症是免疫性病症。

23. 权利要求 21 的用途,其中所述疾病或病症是系统性和局部性炎症、关节炎、与免疫抑制相关的炎症、器官移植排斥、变态反应、溃疡性结肠炎、克罗恩病、皮炎、哮喘、系统性红斑狼疮、斯耶格伦综合征、多发性硬化、硬皮病 / 系统性硬化病、特发性血小板减少性紫癜 (ITP)、抗中性粒细胞胞质抗体 (ANCA) 型血管炎、慢性阻塞性肺病 (COPD)、银屑病。

24. 权利要求 23 的用途,其中所述疾病或病症是类风湿性关节炎。

25. 权利要求 21 的用途,其中所述疾病或病症是选自肺癌和腺瘤的癌症。

26. 权利要求 21 的用途,其中所述疾病或病症是腺癌。

27. 权利要求 21 的用途,其中所述疾病或病症是选自以下的癌症:乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、前列腺癌、睾丸癌、生殖泌尿道癌、食道癌、喉癌、成胶质细胞瘤、神经母细胞瘤、胃癌、皮肤癌、角化棘皮瘤、表皮样癌、大细胞癌、非小细胞肺癌 (NSCLC)、小细胞癌、肺腺癌、骨癌、

结肠癌、胰腺癌、甲状腺癌、滤泡性癌、未分化癌、乳头状癌、精原细胞瘤、黑素瘤、肉瘤、膀胱癌、肝癌和胆道癌、肾癌、胰腺癌、骨髓病症、淋巴瘤、毛细细胞癌、口腔癌、鼻咽癌、咽癌、唇癌、舌癌、口癌、小肠癌、结直肠癌、大肠癌、直肠癌、脑和中枢神经系统癌、何杰金淋巴瘤、白血病、支气管癌、甲状腺癌、肝和肝内胆管癌、肝细胞癌、胃癌、神经胶质瘤 / 成胶质细胞瘤、子宫内膜癌、黑素瘤、肾和肾盂癌、膀胱癌、子宫体癌、子宫颈癌、多发性骨髓瘤、急性髓性白血病、慢性髓性白血病、淋巴细胞白血病、髓样白血病、口腔和咽癌、非何杰金淋巴瘤、黑素瘤和结肠绒毛腺瘤。

28. 权利要求 21 的用途, 其中所述药物还包含选自以下的其它治疗剂: 抗炎剂、免疫调节剂、化疗剂、神经营养因子、治疗心血管疾病的药剂、治疗肝病的药剂、抗病毒剂、治疗血液疾病的药剂、治疗糖尿病的药剂以及治疗免疫缺陷病症的药剂。

29. 权利要求 28 的用途, 其中所述抗炎剂是抗关节炎药剂。

哒嗪酮、其制备方法和使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 根据 37CFR § 1.53(b) 提交的该非临时申请,根据 35USC § 119(e) 要求于 2010 年 9 月 1 日提交的美国临时申请 61/378,964 的利益,所述美国临时申请通过援引整体加入本文。

技术领域

[0003] 本发明概括地涉及用于治疗包括炎症、免疫性病症和癌症在内的由 Bruton 酪氨酸激酶 (Btk) 介导的病症的化合物,更具体地涉及抑制 Btk 活性的化合物。本发明还涉及利用所述化合物在体外、原位及体内诊断或治疗哺乳动物细胞或相关病理状态的方法。

背景技术

[0004] 蛋白激酶是最大的人类酶家族,包括超过 500 种蛋白质。Bruton 酪氨酸激酶 (Btk) 是酪氨酸激酶中的 Tec 家族的成员,并且是早期 B 细胞发育及成熟 B 细胞活化、信号转导和存活的调节剂。

[0005] 经 B 细胞受体 (BCR) 的 B 细胞信号转导能产生广泛的生物学输出信号 (biological output),而所述信号转而取决于 B 细胞的发育阶段。BCR 信号的强度和持续时间必须被精确地调节。异常的 BCR 介导的信号转导能造成失调的 B 细胞活化和 / 或形成导致多种自身免疫疾病和 / 或炎症疾病的致病性自身抗体。人体内 Btk 的突变导致 X 连锁无丙种球蛋白血症 (XLA)。这种疾病与 B 细胞成熟受损、免疫球蛋白产生减少、不依赖 T 细胞的免疫应答受损以及在 BCR 刺激时持续的钙信号的显著减弱有关。

[0006] Btk 在变态反应性疾病和 / 或自身免疫疾病和 / 或炎症疾病中起作用的证据已经在 Btk- 缺陷小鼠模型中得到确定。例如,在系统性红斑狼疮 (SLE) 的标准鼠类临床前模型中,已经表明 Btk 缺陷引起疾病进展的明显改善。而且,Btk 缺陷小鼠还能抵抗形成胶原诱发性关节炎并能对葡萄球菌诱发性关节炎更不易感。

[0007] 大量的证据支持 B 细胞和体液免疫系统在自身免疫疾病和 / 或炎症疾病的发病机制中的作用。已开发的为了耗竭 B 细胞的蛋白质系治疗剂 (诸如 Rituxan) 代表治疗许多自身免疫疾病和 / 或炎症疾病的方法。由于 Btk 在 B 细胞活化中的作用, Btk 抑制剂可以被用作 B 细胞介导的致病性活动 (例如产生自身抗体) 的抑制剂。

[0008] Btk 也在破骨细胞、肥大细胞和单核细胞中表达,并且显示其对于这些细胞的功能很重要。例如,小鼠 Btk 缺陷与 IgE 介导的肥大细胞活化受损 (显著减少 TNF- α 及其它炎症性细胞因子的释放) 有关,并且人 Btk 缺陷与激活的单核细胞产生 TNF- α 大大减少有关。

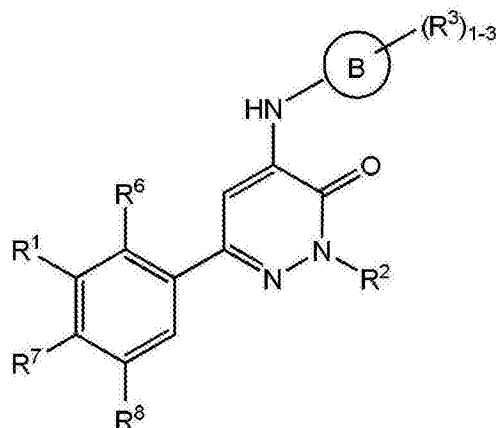
[0009] 因此,抑制 Btk 活性可以用于治疗变态反应性病症和 / 或自身免疫疾病和 / 或炎症疾病,例如: SLE、类风湿性关节炎、多血管炎、特发性血小板减少性紫癜 (ITP)、重症肌无力、变应性鼻炎和哮喘。此外,据报道, Btk 在凋亡中起作用;因此,抑制 Btk 活性可用于癌症以及治疗 B 细胞淋巴瘤和白血病。而且,考虑到 Btk 在破骨细胞功能方面的作用,抑制 Btk 活性可用于治疗骨病例如骨质疏松。

发明内容

[0010] 本发明概括地涉及具有 Bruton 酪氨酸激酶 (Btk) 调节活性的式 I 的化合物。

[0011] 式 I 的化合物具有以下结构：

[0012]



[0013] 包括其立体异构体、互变异构体或药学可接受的盐。各种取代基的定义如下。

[0014] 本发明的一方面是药物组合物，其包含式 I 化合物以及药学可接受的载体、助流剂、稀释剂或赋形剂。所述药物组合物还可包含另一治疗剂。

[0015] 本发明的另一方面是制备药物组合物的方法，其包括将式 I 化合物与药学可接受的载体混合。

[0016] 本发明包括治疗疾病或病症的方法，所述方法包括向患有疾病或病症的患者给药治疗有效量的式 I 化合物，所述疾病或病症选自免疫性病症、癌症、心血管疾病、病毒感染、炎症、代谢 / 内分泌功能障碍和神经病，并由 Bruton 酪氨酸激酶介导。

[0017] 本发明包括用于治疗由 Bruton 酪氨酸激酶介导的病症的药盒，其包含：a) 包含式 I 化合物的第一药物组合物；和 b) 使用说明书。

[0018] 本发明包括式 I 化合物，其用作药物并且用于治疗疾病或病症，所述疾病或病症选自免疫性病症、癌症、心血管疾病、病毒感染、炎症、代谢 / 内分泌功能障碍和神经病，并由 Bruton 酪氨酸激酶介导。

[0019] 本发明包括式 I 化合物在制备用于治疗免疫性病症、癌症、心血管疾病、病毒感染、炎症、代谢 / 内分泌功能障碍和神经病的药物中的用途，并且其中所述药物调节 Bruton 酪氨酸激酶。

[0020] 本发明包括制备式 I 化合物的方法。

[0021] 附图简要说明

[0022] 图 1 显示制备式 I 化合物 8 的示例性合成路线，其包括将双环 pyrolone 4 与甲基苯或羟甲基苯 5 偶联以得到中间体 6 的 Buchwald 偶联反应，随后进行连续的 Suzuki 反应以制备硼酸酯 (boronate) 7 并将其与溴吡啶酮或溴吡嗪酮 2 偶联，或者进行单次 Suzuki 反应以将 6 与吡啶酮硼酸酯或吡嗪酮硼酸酯 3 偶联。溴吡啶酮或溴吡嗪酮 2 可通过二溴吡啶酮或二溴吡嗪酮与杂环胺或苯胺化合物的 Buchwald 反应制备。吡啶酮硼酸酯或吡嗪酮硼酸酯 3 可以通过 2 与二硼酸酯的 Suzuki 反应制备。

[0023] 图 2 显示制备式 I 化合物 8 的示例性合成路线，其包括将所述双环 pyrolone 结合

在溴苯胺衍生物上,以得到溴化物,所述溴化物可用于图 1 所描绘的作用中。assemble

[0024] 图 3 显示制备式 I 化合物 8 的示例性合成路线,其包括将所述双环 pyrolone 结合在分子 12 的剩余部分的氨基衍生物上。

具体实施方式

[0025] 现详细描述本发明的某些实施方案,其实例在随附结构和分子式中说明。虽然结合列举的实施方案来描述本发明,但是应理解本发明并不限于那些实施方案。相反,本发明意在涵盖可包括在本发明的由权利要求书限定的范围内的所有替代方案、修改和等效。本领域技术人员会认识到,与本文中所述的那些相似或等同的许多方法和材料可用于实施本发明。本发明绝不限于所述的方法和材料。在所引的文献、专利及相似的材料中的一者或多者与本申请(包括但不限于定义的术语、术语用法、所述的技术等)不同或矛盾的情况下,以本申请为准。

[0026] 定义

[0027] 术语“烷基”用于本文中是指具有 1-12 个碳原子 (C_1-C_{12}) 的饱和的直链或支链一价烃基,其中所述烷基可任选地独立地被下述一种或多种取代基取代。在另一个实施方案中,烷基具有 1-8 个碳原子 (C_1-C_8),或者 1-6 个碳原子 (C_1-C_6)。烷基的实例包括但不限于:甲基 (Me, $-CH_3$)、乙基 (Et, $-CH_2CH_3$)、1-丙基 (n-Pr, 正丙基, $-CH_2CH_2CH_3$)、2-丙基 (i-Pr, 异丙基, $-CH(CH_3)_2$)、1-丁基 (n-Bu, 正丁基, $-CH_2CH_2CH_2CH_3$)、2-甲基-1-丙基 (i-Bu, 异丁基, $-CH_2CH(CH_3)_2$)、2-丁基 (s-Bu, 仲丁基, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$)、2-甲基-2-丙基 (t-Bu, 叔丁基, $-C(CH_3)_3$)、1-戊基 (正戊基, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$)、2-戊基 ($-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_3$)、3-戊基 ($-CH(CH_2CH_3)_2$)、2-甲基-2-丁基 ($-C(CH_3)_2CH_2CH_3$)、3-甲基-2-丁基 ($-CH(CH_3)CH(CH_3)_2$)、3-甲基-1-丁基 ($-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$)、2-甲基-1-丁基 ($-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_3$)、1-己基 ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$)、2-己基 ($-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2CH_3$)、3-己基 ($-CH(CH_2CH_3)(CH_2CH_2CH_3)$)、2-甲基-2-戊基 ($-C(CH_3)_2CH_2CH_2CH_3$)、3-甲基-2-戊基 ($-CH(CH_3)CH(CH_3)CH_2CH_3$)、4-甲基-2-戊基 ($-CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$)、3-甲基-3-戊基 ($-C(CH_3)(CH_2CH_3)_2$)、2-甲基-3-戊基 ($-CH(CH_2CH_3)CH(CH_3)_2$)、2,3-二甲基-2-丁基 ($-C(CH_3)_2CH(CH_3)_2$)、3,3-二甲基-2-丁基 ($-CH(CH_3)C(CH_3)_3$)、1-庚基、1-辛基等。

[0028] 术语“亚烷基”用于本文中是指具有 1-12 个碳原子 (C_1-C_{12}) 的饱和直链或支链二价烃基,其中所述亚烷基可任选地独立地被下述一种或多种取代基取代。在另一个实施方案中,亚烷基具有 1-8 个碳原子 (C_1-C_8),或者 1-6 个碳原子 (C_1-C_6)。亚烷基的实例包括但不限于亚甲基 ($-CH_2-$)、亚乙基 ($-CH_2CH_2-$)、亚丙基 ($-CH_2CH_2CH_2-$) 等。

[0029] 术语“碳环 (carbocycle)”、“碳环基”、“碳环 (carbocyclic ring)”和“环烷基”是指具有 3-12 个碳原子 (C_3-C_{12}) 的单环形式的、或具有 7-12 个碳原子的双环形式的一价非芳香性饱和或部分不饱和的环。具有 7-12 个原子的双环碳环可排列成例如双环 [4, 5]、[5, 5]、[5, 6] 或 [6, 6] 系统,具有 9 或 10 个环原子的双环碳环可排列成双环 [5, 6] 或 [6, 6] 系统或者可排列成桥环系统,例如双环 [2. 2. 1] 庚烷、双环 [2. 2. 2] 辛烷和双环 [3. 2. 2] 壬烷。单环碳环的实例包括但不限于:环丙基、环丁基、环戊基、1-环戊-1-烯基、1-环戊-2-烯基、1-环戊-3-烯基、环己基、1-环己-1-烯基、1-环己-2-烯基、1-环己-3-烯基、环己二烯基、环庚基、环辛基、环壬基、环癸基、环十一烷基、环十二烷基等。

[0030] “芳基”是指通过从母体芳香性环系统的单个碳原子除去一个氢原子而得的具有 6-20 个碳原子 (C_6-C_{20}) 的一价芳香性烃基。一些芳基在示例结构中表示为“Ar”。芳基包括包含与饱和的、部分不饱和的环或芳香性碳环稠合的芳香环的双环基团。典型的芳基包括但不限于由苯(苯基)、取代苯、萘、蒽、联苯基、茚基、茚满基、1,2-二氢萘、1,2,3,4-四氢萘基等得到的基团。芳基任选地独立地被本文所述的一种或多种取代基取代。

[0031] “亚芳基”是指通过从母体芳香性环系统的两个碳原子除去两个氢原子而得的具有 6-20 个碳原子 (C_6-C_{20}) 的二价芳香性烃基。一些亚芳基在示例结构中表示为“Ar”。亚芳基包括包含与饱和的、部分不饱和的环或芳香性碳环稠合的芳香环的双环基团。典型的亚芳基包括但不限于由苯(亚苯基)、取代苯、萘、蒽、亚联苯基、亚茚基、亚茚满基、1,2-二氢萘、1,2,3,4-四氢萘基等得到的基团。亚芳基任选地被取代。

[0032] 术语“杂环(heterocycle)”、“杂环基”和“杂环(heterocyclic ring)”在本文中可互换使用,并且是指具有 3-约 20 个环原子、其中至少一个环原子是选自氮、氧、磷、硫和硅的杂原子且其余环原子是 C 的饱和或部分不饱和的(即在环内具有一个或多个双键和/或三键)碳环基团,其中一个或多个环原子任选地独立地被下述一个或多个取代基取代。杂环可以是具有 3-7 个环成员(2-6 个碳原子和 1-4 个选自 N、O、P 和 S 的杂原子)的单环,或者具有 7-10 个环成员(4-9 个碳原子和 1-6 个选自 N、O、P 和 S 的杂原子)的双环,例如:双环[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]系统。杂环在 Paquette, Leo A.; “Principles of Modern Heterocyclic Chemistry”(W. A. Benjamin, New York, 1968), 特别是第 1、3、4、6、7 和 9 章; “The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs”(John Wiley & Sons, New York, 1950 发行), 特别是第 13、14、16、19 和 28 卷; 和 J. Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566 中有述。“杂环基”还包括其中杂环基与饱和的、部分不饱和的环或者芳香性碳环或杂环稠合的基团。杂环的实例包括但不限于:吗啉-4-基、哌啶-1-基、哌啶酮基、氧代哌嗪基、哌嗪基、哌嗪-4-基-2-酮、哌嗪-4-基-3-酮、吡咯烷-1-基、硫代吗啉-4-基、S-二氧代硫代吗啉-4-基、氮杂环辛烷-1-基、氮杂环丁烷-1-基、八氢吡啶并[1,2-a]吡嗪-2-基、[1,4]二氮杂环庚烷-1-基、吡咯烷基、四氢呋喃基、二氢呋喃基、四氢噻吩基、四氢吡喃基、二氢吡喃基、四氢噻喃基、哌啶子基、吗啉代、硫代吗啉代、噻噁烷基、哌嗪基、高哌嗪基、氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、硫杂环丁烷基、高哌啶基、氧杂环庚烷基、硫杂环庚烷基、氧氮杂茛基、二氮杂茛基、硫氮杂茛基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、吲哚啉基、2H-吡喃基、4H-吡喃基、二噁烷基、1,3-二氧戊环基、吡唑啉基、二噻烷基、二硫杂环戊烷基、二氢吡喃基、二氢噻吩基、二氢呋喃基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、3-氮杂双环[3.1.0]己基、3-氮杂双环[4.1.0]庚基、氮杂双环[2.2.2]己基、3H-吲哚基、喹啉基和 N-吡啶基脒。螺环基团也包括在此定义的范围。其中 2 个环原子被氧代(=O)基团替代的杂环基的实例是嘧啶酮基和 1,1-二氧代硫代吗啉基。本文中的杂环基团任选地独立地被本文所述的一个或多个取代基取代。

[0033] 术语“杂芳基”是指 5 元、6 元或 7 元环的一价芳香性基团,还包括具有 5-20 个原子的稠合环系统(至少其一是芳香性的),所述 5 元、6 元或 7 元环的一价芳香性基团和所述稠合环系统含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子。杂芳基的实例是:吡啶基(包括例如 2-羟基吡啶基)、咪唑基、咪唑并吡啶基、嘧啶基(包括例如 4-羟基嘧啶基)、吡唑基、三唑基、吡嗪基、四唑基、呋喃基、噻吩基、异噻唑基、噻唑基、噁二唑基、噁唑基、异噻唑

基、吡咯基、喹啉基、异喹啉基、四氢异喹啉基、吲哚基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、噻吩基、吲唑基、中氮茛基、酞嗪基、哒嗪基、三嗪基、异吲哚基、蝶啶基、嘌呤基、噁二唑基、三唑基、噻二唑基、噻二唑基、呋喃基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、噻唑啉基、噻啉基、茶啉基和呋喃并吡啶基。杂芳基任选地独立地被本文所述的一种或多种取代基取代。

[0034] 在可能的情况下,所述杂环或杂芳基可以是碳键合的(碳连接的)或氮键合的(氮连接)。作为示例而非限制,碳键合的杂环或杂芳基是在以下位置成键:吡啶的2、3、4、5或6位,哒嗪的3、4、5或6位,噻啶的2、4、5或6位,吡嗪的2、3、5或6位,呋喃、四氢呋喃、噻吩(thiofuran)、噻吩(thiophene)、吡咯或四氢吡咯的2、3、4或5位,噁唑、咪唑或噻唑的2、4或5位,异噁唑、吡唑或异噻唑的3、4或5位,氮丙啶的2或3位,氮杂环丁烷的2、3或4位,喹啉的2、3、4、5、6、7或8位,或者异喹啉的1、3、4、5、6、7或8位。

[0035] 作为示例而非限制,氮键合的杂环或杂芳基是在以下位置成键:氮丙啶、氮杂环丁烷、吡咯、吡咯烷、2-吡咯啉、3-吡咯啉、咪唑、咪唑烷、2-咪唑啉、3-咪唑啉、吡唑、吡唑啉、2-吡唑啉、3-吡唑啉、哌啶、哌嗪、吲哚、吲哚啉、1H-吲唑的1位,异吲哚或异吲哚啉的2位,吗啉的4位,以及呋唑或 β -呋啉的9位。

[0036] 术语“治疗(treat)”和“治疗(treatment)”是指治疗性的处置,其目的是减缓(减轻)不期望的生理学变化或病症,例如关节炎或癌症的形成或扩散。出于本发明的目的,有益或期望的临床结果包括但不限于,缓解症状、缩小疾病的范围、稳定疾病状态(即不恶化)、延迟或减缓疾病进展、改善或缓和疾病状态,以及缓解(无论部分或完全地缓解),无论是可检测的还是不可检测的。“治疗”还可以指与若不接受治疗时的预期存活时间相比延长存活时间。需要治疗的那些包括具有病患或病症的那些。

[0037] 短语“治疗有效量的”是指(i)治疗本文所述的特定的疾病、病况或病症,(ii)减轻、改善或消除所述特定的疾病、病况或病症的一种或多种症状,或者(iii)预防或延迟所述特定的疾病、病况或病症的一种或多种症状的发作的本发明的化合物的量。在癌症的情况下,药物的治疗有效量可以减少癌细胞数量;缩小肿瘤尺寸;抑制(即,在一定程度上减缓而且优选终止)癌细胞浸润进入周围器官中;抑制(即,在一定程度上减缓而且优选终止)肿瘤转移;在一定程度上抑制肿瘤生长;和/或在一定程度上缓解与癌症相关的一种或多种症状。只要药物可防止现存的癌细胞生长和/或杀死现存的癌细胞,它就可以是抑制细胞生长的和/或细胞毒性的。对于癌症治疗,可通过例如评估疾病进展的时间(TTP)和/或测定应答率(RR)来量度效力。

[0038] “炎性病症”用于本文中可以是指其中过度或失调的炎性反应造成过度的炎性症状、宿主组织损伤或者组织功能丧失的任何疾病、病症或综合征。“炎性病症”也指由白细胞流入和/或中性白细胞趋化介导的病理学状态。

[0039] “炎症”用于本文中是指由组织的损伤或破坏引发的局部保护性反应,其起到破坏、稀释或屏蔽(隔离)有害物质和受伤组织的作用。炎症明显与白细胞流入和/或中性白细胞趋化相关。炎症可起因于致病生物体和病毒导致的感染,以及诸如外伤或者在心肌梗塞或中风之后再灌注、对外来抗原的免疫反应和自身免疫性反应之类的非感染性途径。因此,顺应式I化合物治疗的炎性病症包括与特异性防御系统的反应以及非特异性防御系统的反应相关的病症。

[0040] “特异性防御系统”是指对特异性抗原的存在做出反应的免疫系统的组成部分。由特异性防御系统的应答所致的炎症的实例包括对外来抗原的常规应答、自身免疫疾病和由T细胞介导的迟发型超敏反应。特异性防御系统的炎性反应的其它实例还有慢性炎性疾病、对实体移植的组织和器官例如肾移植和骨髓移植的排斥,以及移植物抗宿主疾病 (GVHD)。

[0041] 术语“非特异性防御系统”用于本文中是指由不能够免疫记忆的白细胞 (例如粒细胞和巨噬细胞) 介导的炎性病症。至少部分起因于非特异性防御系统的反应的炎症的实例包括与诸如以下的病症相关的炎症:成人 (急性) 呼吸窘迫综合征 (ARDS) 或者多器官损伤综合征;再灌注损伤;急性肾小球肾炎;反应性关节炎;伴有急性炎性部分的皮肤病;急性化脓性脑膜炎或其它中枢神经系统炎性病症例如中风;热损伤;炎性肠疾病;粒细胞输血相关综合征;和细胞因子引发的中毒。

[0042] “自身免疫疾病”用于本文中是指其中组织损伤与由体液或细胞介导的对身体自身组成部分的反应相关的任一类病症。

[0043] “变态反应性疾病”用于本文中是指由变态反应产生的任何症状、组织损伤或组织功能丧失。“关节炎性疾病”用于本文中是指以可归因于各种病因学的关节炎性损伤为特征的任何疾病。“皮炎”用于本文中是指以可归因于各种病因学的皮肤炎症为特征的一大类疾病中的任一种。“移植排斥”用于本文中是指以移植的组织和周围组织功能丧失、疼痛、肿胀、白细胞增多和血小板减少为特征的针对移植的组织例如器官或细胞 (例如骨髓) 的任何免疫反应。本发明的治疗方法包括用于治疗与炎性细胞激活相关的病症的方法。

[0044] “炎性细胞激活”是指通过增生性细胞反应的刺激物 (包括但不限于细胞因子、抗原或自身抗体)、可溶性介质 (包括但不限于细胞因子、氧自由基、酶、前列腺素或血管活性胺) 的产生、或者在炎性细胞 (包括但不限于单核细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、粒细胞 (即多形核白细胞例如中性粒细胞、嗜碱性粒细胞和嗜酸性粒细胞)、肥大细胞、树突细胞、Langerhans 细胞和内皮细胞) 中新的或增量的介质 (包括但不限于主要的组织相容性抗原或细胞粘附分子) 的细胞表面表达来诱导。本领域技术人员可理解,在这些细胞中的这些表型中的一种或组合的激活可促进炎性病症的引发、永久化或恶化。

[0045] 术语“NSAID”是“非甾体抗炎药”的首字母缩略词,是具有止痛、退烧 (降低身体的高温并且缓解疼痛而不损及知觉) 并且在较高剂量下具有抗炎效力 (减轻炎症) 的治疗剂。术语“非甾体”用来将这些药物与具有相似的降低类二十烷酸、抗炎作用的甾体相区分。作为镇痛药,NSAID 的不寻常之处在于它们是非麻醉性的。NSAID 包括阿司匹林、布洛芬和萘普生。NSAID 通常指定用于治疗其中伴有疼痛和炎症的急性或慢性病症。NSAID 一般指定用于在症状上缓解以下病症:类风湿性关节炎、骨性关节炎、炎性关节病 (例如强直性脊柱炎、银屑病关节炎、莱特尔综合征、急性痛风、痛经、转移性骨痛、头痛和偏头痛、术后疼痛、因炎症和组织损伤所致的轻度至中度疼痛、发热、肠梗阻和肾绞痛。大多数 NSAID 用作环氧合酶的非选择性抑制剂,抑制环氧合酶 -1 (COX-1) 和环氧合酶 -2 (COX-2) 同功酶。环氧合酶催化由花生四烯酸 (其本身通过磷脂酶 A2 由细胞磷脂双层而得) 形成前列腺素和血栓素。前列腺素尤其在炎症过程中用作信使分子。COX-2 抑制剂包括塞来考昔、依托考昔、芦米考昔、帕瑞考昔、罗非考昔、罗非考昔和伐地考昔。

[0046] 术语“癌症”是指或描述哺乳动物中以细胞生长失调为典型特征的生理状况。“肿瘤”包括一种或多种癌细胞。癌症的实例包括但不限于:癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤和白血

病或淋巴恶性肿瘤。此类癌症的更具体的实例包括鳞状细胞癌（例如上皮鳞状细胞癌）、包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌（“NSCLC”）、肺腺瘤和肺鳞癌在内的肺癌、腹膜癌、肝细胞癌、包括胃肠癌在内的胃癌、胰腺癌、成胶质细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、子宫内膜癌或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、肛门癌、阴茎癌，以及头颈癌。

[0047] “化疗剂”是用于治疗癌症的化合物，无论作用机制如何。化疗剂的类别包括但不限于：烷化剂、抗代谢物、纺锤体毒素植物生物碱、细胞毒性 / 抗肿瘤抗生素、拓扑异构酶抑制剂、抗体、光敏剂和激酶抑制剂。化疗剂包括用于“靶向治疗”和常规化疗中的化合物。化疗剂的实例包括：厄洛替尼(TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.)、多西他赛(TAXOTERE®, Sanofi-Aventis)、5-FU(氟尿嘧啶, 5-氟尿嘧啶, CAS 号 51-21-8)、吉西他滨(GEMZAR®, Lilly)、PD-0325901(CAS 号 391210-10-9, Pfizer)、顺铂(顺-二胺, 二氯化铂(II), CAS 号 15663-27-1)、卡铂(CAS 号 41575-94-4)、紫杉醇(TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N. J.)、曲妥单抗(HERCEPTIN®, Genentech)、替莫唑胺(4-甲基-5-氧代-2,3,4,6,8-五氮杂双环[4.3.0]壬-2,7,9-三烯-9-甲酰胺, CAS 号 85622-93-1, TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough)、他莫昔芬((Z)-2-[4-(1,2-二苯基丁-1-烯基)苯氧基]-N,N-二甲基乙胺, NOLVADEX®, ISTUBAL®, VALODEX®)和多柔比星(ADRIAMYCIN®)、Akti-1/2、HPPD 和雷帕霉素。

[0048] 化疗剂的更多实例包括：奥沙利铂(ELOXATIN®, Sanofi)、硼替佐米(VELCADE®, Millennium Pharm.)、sunitinib(SUNITINIB®, SU11248, Pfizer)、来曲唑(FEMARA®, Novartis)、伊马替尼甲磺酸盐(GLEEVEC®, Novartis)、XL-518(Mek 抑制剂, Exelixis, W02007/044515)、ARRY-886(Mek 抑制剂, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca)、SF-1126(PI3K 抑制剂, Semaphore Pharmaceuticals)、BEZ-235(PI3K 抑制剂, Novartis)、XL-147(PI3K 抑制剂, Exelixis)、PTK787/ZK222584(Novartis)、氟维司群(FASLODEX®, AstraZeneca)、亚叶酸钙(亚叶酸)、雷帕霉素(西罗莫司, RAPAMUNE®, Wyeth)、拉帕替尼(TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline)、氯那法尼(SARASAR™, SCH66336, Schering Plough)、索拉非尼(NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs)、吉非替尼(IRESSA®, AstraZeneca)、伊立替康(CAMPTOSAR®, CPT-11, Pfizer)、替吡法尼(Tipifarnib)(ZARNESTRA™, Johnson&Johnson)、ABRAXANE™(Cremophor-free)、紫杉醇的白蛋白工程化纳米颗粒制剂(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, IL)、凡德他尼(rINN, ZD6474, ZACTIMA®, AstraZeneca)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、AG1478、AG1571(SU5271; Sugen)、坦罗莫司(TORISEL®, Wyeth)、帕唑帕尼(GlaxoSmithKline)、

坎磷酰胺 (TELCYTA®, Telik)、塞替派和环磷酰胺 (CYTOXAN®, NEOSAR®); 烷基磺酸酯例如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡; 氮丙啶例如苯佐替派 (benzodopa)、卡波醌、美妥替哌 (meturedopa) 和乌瑞替派 (uredopa); 乙烯亚胺和甲基三聚氰胺类 (methyldamelamine) 包括六甲蜜胺、三亚乙基蜜胺、三亚乙基磷酰胺、三亚乙基硫代磷酰胺和三羟甲基蜜胺; 己酸配质 (acetogenin) (特别是布拉它辛 (bullatacin) 和布拉它辛酮 (bullatacinone)); 喜树碱 (包括合成类似物托泊替康); 苔藓抑素; 海绵多烯酮类; CC-1065 (包括它的阿多来新、卡折来新和比折来新合成类似物); 隐藻素 (特别是隐藻素 1 和隐藻素 8); 多拉司他汀; duocarmycin (包括合成类似物, KW-2189 和 CB1-TM1); 艾榴素 (eleutherobin); pancratistatin; sarcodictyin; 海绵素; 氮芥例如苯丁酸氮芥、荼氮芥、氯磷酰胺 (chlorophosphamide)、雌莫司汀、异环磷酰胺、氮芥、盐酸氧氮芥、美法仑、新氮芥、苯芥胆甾醇、泼尼莫司汀、曲磷胺、尿嘧啶氮芥; 亚硝基脲类例如卡莫司汀、氯脲菌素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀和雷莫司汀 (ranimustine); 抗生素类例如烯二炔抗生素类 (例如刺孢霉素、刺孢霉素 γ II、刺孢霉素 ω II (Angew. Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186); dynemicin、dynemicin A; 二膦酸盐类例如氯膦酸盐; 埃斯波霉素; 以及新制癌菌素发色团和相关的色蛋白烯二炔抗生素发色团)、阿克拉霉素、放线菌素、authramycin、偶氮丝氨酸、博来霉素、放线菌素 c、carabycin、去甲柔红霉素、嗜癌霉素、色霉素 (chromomycinis)、放线菌素 d、柔红霉素、地托比星、6-重氮基-5-氧代-L-正亮氨酸、吗啉代-多柔比星、氰基吗啉代-多柔比星、2-吡咯啉-多柔比星和脱氧多柔比星)、表柔比星、依索比星、伊达比星、奈柔比星、马塞罗霉素、丝裂霉素类例如丝裂霉素 C、麦考酚酸、诺拉霉素、橄榄霉素、培洛霉素、泊非霉素、嘌罗霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑霉素、链佐星、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁、佐柔比星; 抗代谢物例如甲氨蝶呤和 5-氟尿嘧啶 (5-FU); 叶酸类似物例如二甲叶酸、甲氨蝶呤、蝶罗呤、三甲曲沙; 嘌呤类似物例如氟达拉滨、6-巯嘌呤、硫咪嘌呤、硫代鸟嘌呤; 嘧啶类似物例如安西他滨、阿扎胞苷、6-氮杂尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、双脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷; 雄性激素例如卡普睾酮、丙酸屈他雄酮、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯; 抗肾上腺类例如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦; 叶酸补充剂例如 frolinic acid; 醋葡醛内酯; 丙醛氧基磷酰胺糖苷; 氨基乙酰丙酸; 恩尿嘧啶; 安吡啶; bestabucil; 比生群; 依达曲沙; 地磷酰胺 (defofamine); 秋水仙胺; 地吡醌; elfornithine; 依利醋铵; 埃坡霉素; 依托格鲁; 硝酸镓; 羟基脲; 香菇多糖; 氯尼达明 (lonidainine); 美坦生类例如美坦生和安丝菌素; 米托胍脲; 米托蒽醌; 莫哌达醇; 尼曲吡啶 (nitraerine); 喷司他丁; 蛋氨酸氮芥; 吡柔比星; 洛索蒽醌; 鬼臼酸; 2-乙基酰肼; 丙卡巴肼; **PSK®** 多糖复合物 (JHS Natural Products, Eugene, OR); 雷佐生; 利索新; 西佐喃; 锆螺胺; 细交链孢菌酮酸; 三亚胺醌; 2, 2', 2''-三氯三乙胺; 单端孢霉烯类 (特别是 T-2 毒素、verracurin A、杆孢菌素 A 和蛇形菌素); 乌拉坦; 长春地辛; 达卡巴嗪; 甘露莫司汀; 二溴甘露醇; 二溴卫矛醇; 哌泊溴烷; gacytosine; 阿拉伯糖苷 ("Ara-C"); 环磷酰胺; 塞替派; 6-硫代鸟嘌呤; 巯嘌呤; 甲氨蝶呤; 铂类似物例如顺铂和卡铂; 长春碱; 依托泊苷 (VP-16); 异环磷酰胺; 米托蒽醌; 长春新碱; 长春瑞滨 (NAVELBINE®); 诺安托; 替尼泊苷; 依达曲沙; 道诺霉素; 氨蝶呤; 卡培他滨 (XELODA®, Roche); 伊班膦酸盐; CPT-11; 拓扑异构酶抑制剂 RFS2000; 二氟甲基鸟氨酸 (DMFO); 类维生素 A 例如视黄酸; 以及上述任一种的药

学可接受的盐、酸和衍生物。

[0049] “化疗剂”的定义还包括：(i) 用来调节或抑制激素对肿瘤的作用的抗激素药例如抗雌激素和选择性雌激素受体调节剂 (SERM)，包括例如他莫昔芬（包括 **NOLVADEX®**；他莫昔芬柠檬酸盐）、雷洛昔芬、屈洛昔芬、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、雷洛昔芬、LY117018、奥那司酮和 **FARESTON®**（枸橼酸托瑞米芬）；(ii) 抑制调节肾上腺中的雌激素生成的芳香酶的芳香酶抑制剂，例如 4(5)-咪唑、氨鲁米特、**MEGASE®**（醋酸甲地孕酮）、**AROMASIN®**（依西美坦；Pfizer）、福美坦、法罗唑、**RIVISOR®**（伏罗唑）、**FEMARA®**（来曲唑；Novartis）和 **ARIMIDEX®**（阿那罗唑；AstraZeneca）；(iii) 抗雄激素类，例如氟他胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、亮丙瑞林和戈舍瑞林；以及曲沙他滨（1,3-二氧戊环胞嘧啶核苷类似物）；(iv) 蛋白激酶抑制剂，例如 MEK 抑制剂 (W02007/044515)；(v) 脂质激酶抑制剂；(vi) 反义寡核苷酸，特别是抑制与异常的细胞增殖相关的信号转导途径中的基因例如 PKC- α 、Raf 和 H-Ras 的表达那些，例如奥利美生 (**GENASENSE®**, Genta Inc.)；(vii) 核酶，例如 VEGF 表达抑制剂（例如 **ANGIOZYME®**）和 HER2 表达抑制剂；(viii) 疫苗，例如基因治疗疫苗，例如 **ALLOVECTIN®**、**LEUVECTIN®** 和 **VAXID®**；**PROLEUKIN®** rIL-2；拓扑异构酶 1 抑制剂，例如 **LURTOTECAN®**；**ABARELIX®** rmRH；(ix) 抗血管生成剂，例如贝伐珠单抗 (**AVASTIN®**, Genentech)；以及上述任一种的药学可接受的盐、酸和衍生物。

[0050] “化疗剂”的定义还包括治疗性抗体，例如阿仑珠单抗 (Campath)、贝伐珠单抗 (**AVASTIN®**, Genentech)；西妥昔单抗 (**ERBITUX®**, Imclone)；帕木单抗 (**VECTIBIX®**, Amgen)、利妥昔单抗 (**RITUXAN®**, Genentech/Biogen Idec)、培妥珠单抗 (OMNITARG™, 2C4, Genentech)、曲妥珠单抗 (**HERCEPTIN®**, Genentech)、托西莫单抗 (Bexxar, Corixa)，以及抗体药物缀合物，吉妥珠单抗奥加米星 (**MYLOTARG®**, Wyeth)。

[0051] 与本发明的 Btk 抑制剂联用的、作为化疗剂的具有治疗效力的人源化单克隆抗体包括：阿仑珠单抗、阿泊珠单抗、阿塞珠单抗、atlizumab、巴匹珠单抗、贝伐珠单抗、比伐珠单抗美登素 (bivatuzumab mertansine)、美坎珠单抗美登素 (cantuzumab mertansine)、西利珠单抗、培舍珠单抗、cidfusituzumab、cidtuzumab、达克珠单抗、依库珠单抗、依法珠单抗、依帕珠单抗、厄利珠单抗、泛维珠单抗、芳妥珠单抗、吉妥珠单抗奥加米星、伊珠单抗奥佐米星、伊匹木单抗、拉贝珠单抗、林妥珠单抗、马妥珠单抗、美泊珠单抗、莫维珠单抗、motovizumab、那他珠单抗、尼妥珠单抗、nolovizumab、numavizumab、奥瑞珠单抗、奥马珠单抗、帕利珠单抗、帕考珠单抗、pecfusituzumab、pectuzumab、培妥珠单抗、培克珠单抗、ralivizumab、雷珠单抗、瑞利珠单抗 (reslivizumab)、瑞利珠单抗、resyvizumab、罗维珠单抗、卢利珠单抗、西罗珠单抗、西利珠单抗、松妥珠单抗、他珠单抗替塞坦、他度珠单抗、他利珠单抗、替非珠单抗、托珠单抗、托利珠单抗、曲司珠单抗、西莫白介素单抗、tucusatuzumab、umavizumab、乌珠单抗，以及维西珠单抗。

[0052] “代谢物”是特定的化合物或其盐通过体内代谢产生的产物。化合物的代谢物可利用本领域已知的常规技术进行鉴定并且可利用诸如本文中所述的那些试验测定它们的活性。这样的产物可由例如被给药的化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、脱酰胺化、酯化、脱脂化、酶解等产生。因此,本发明包括本发明的化合物的代谢物,包括通过包括使本发明的式 I 化合物与哺乳动物接触足以产生其代谢产物的时间段的方法产生的化合物。

[0053] 术语“包装说明书”用来指治疗性产品的商业包装中通常包含的说明书,其包含关于适应症、用途、剂量、给药、与此类治疗性产品的使用相关的禁忌症和 / 或警告的信息。

[0054] 术语“手性”是指具有镜像对的不可重叠性的分子,而术语“非手性”是指可在它们的镜像对上重叠的分子。

[0055] 术语“立体异构体”是指具有相同的化学组成但原子或基团的空间排列不同的化合物。

[0056] “非对映异构体”是指具有两个或多个手性中心并且其分子彼此不互为镜像的立体异构体。非对映异构体具有不同的物理性质,例如熔点、沸点、光谱性质和反应性。非对映异构体的混合物可通过高分辨率的分析方法例如电泳法和色谱法进行分离。

[0057] “对映异构体”是指化合物的彼此呈不可重叠的镜像的两种立体异构体。

[0058] 本文中所用的立体化学定义和规则一般遵循 S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; 和 Eliel, E. 和 Wilen, S., “Stereochemistry of Organic Compounds”, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994。本发明的化合物可包含非对称的或手性的中心,因此以不同的立体异构体形式存在。本发明的化合物的所有立体异构体形式,包括但不限于其非对映异构体、对映异构体和阻转异构体以及它们的混合物例如外消旋混合物,意在构成本发明的一部分。许多有机化合物以旋光形式存在,即,它们具有使平面偏振光的平面旋转的能力。在表述旋光化合物时,前缀 D 和 L, 或者 R 和 S, 用来表示分子的手性中心的绝对构型。前缀 d 和 l 或者 (+) 和 (-) 用来指示化合物使平面偏振光旋转的符号,其中 (-) 或 l 是指化合物是左旋的。具有前缀 (+) 或 d 的化合物是右旋的。对于特定的化学结构,这些立体异构体是相同的,只是它们彼此互为镜像。特定的立体异构体还可称为对映异构体,并且这样的异构体的混合物常称为对映异构体混合物。对映异构体的 50:50 混合物称为外消旋混合物或外消旋物,其可在化学反应或过程没有立体选择性或立体专一性的情况下出现。术语“外消旋混合物”和“外消旋物”是指两种对映异构体的等摩尔混合物,不具有旋光性。在一方面,本发明的立体异构体可以占主导的形式存在,例如,大于 50%ee (对映体过量), 大于 80%ee, 大于 90%ee, 大于 95%ee, 或者大于 99%ee。

[0059] 术语“互变异构体”或“互变异构体形式”是指可通过低能垒互相转化的能量不同的结构异构体。例如,质子互变异构体 (也称为质子转移互变异构体) 包括通过质子迁移互相转化,例如酮 - 烯醇和亚胺 - 烯胺异构化。价键互变异构体包括通过一些成键电子的重组互相转化。

[0060] 术语“非对映异构体”是指不是对映异构体的立体异构分子。非对映异构体包括具有相同的分子式但几何结构不同的顺 - 反异构体和构象异构体。

[0061] 术语“药学可接受的盐”用于本文中是指本发明的化合物的药学可接受的有机或无机盐。示例性的盐包括但不限于硫酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、草酸盐、氯化物、溴化物、碘化

物、硝酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、异烟酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、酸式柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、鞣酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐、富马酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、糖质酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐和扑酸盐（即 1, 1'-亚甲基-双(2-羟基-3-萘甲酸盐)）。药学可接受的盐可包括诸如乙酸根离子、琥珀酸根离子或其它反荷离子的另一种分子的包合。所述反荷离子可以是使母体化合物上的电荷稳定的任何有机或无机离子。此外, 药学可接受的盐在其结构中可具有多于一个带电荷的原子。多个带电荷的原子为药学可接受的盐的部分的情况可具有多个反荷离子。因此, 药学可接受的盐可具有一个或多个带电荷的原子和 / 或一个或多个反荷离子。

[0062] 若本发明的化合物是碱, 期望的药学可接受的盐可通过本领域中可利用的任何适合的方法制备, 例如, 用无机酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、甲磺酸、磷酸等或者用有机酸例如乙酸、三氟乙酸、马来酸、琥珀酸、扁桃酸、富马酸、丙二酸、丙酮酸、草酸、乙醇酸、水杨酸、吡喃糖苷基酸例如葡糖醛酸或半乳糖醛酸、 α -羟基酸例如柠檬酸或酒石酸、氨基酸例如天冬氨酸或谷氨酸、芳香酸例如苯甲酸或肉桂酸、磺酸例如对甲基苯磺酸或乙磺酸等处理游离的碱。

[0063] 若本发明的化合物是酸, 期望的药学可接受的盐可通过任何适合的方法制备, 例如, 用无机碱或有机碱例如胺（伯胺、仲胺或叔胺）、碱金属氢氧化物或碱土金属氢氧化物等处理游离的酸。适合的盐的示例性实例包括但不限于, 得自氨基酸例如甘氨酸和精氨酸、氨、伯胺、仲胺和叔胺以及环胺例如哌啶、吗啉和哌嗪的有机盐, 以及得自钠、钙、钾、镁、锰、铁、铜、锌、铝和锂的无机盐。

[0064] 术语“药学可接受的”是指物质或组合物必须与构成制剂的其它组分和 / 或用其治疗的哺乳动物在化学和 / 或毒理学上相容。

[0065] “溶剂化物”是指一个或多个溶剂分子与本发明的化合物的缔合或络合。形成溶剂化物的溶剂的实例包括但不限于水、异丙醇、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸和乙醇胺。

[0066] 术语“本发明的化合物”包括式 I 的化合物及其立体异构体、互变异构体、溶剂化物、代谢物和药学可接受的盐及前药。

[0067] 本文中所示的任何分子式或结构, 包括式 I 化合物在内, 还意在表示这些化合物的水合物、溶剂化物和多晶型物, 及其混合物。

[0068] 本文中所示的任何式或结构, 包括式 I 化合物在内, 还意在表示所述化合物的未标记形式和同位素标记的形式。同位素标记的化合物具有本文给出的分子式所示的结构, 除了一个或多个原子被具有选定原子质量或质量数的原子替代。本发明的化合物中可包含的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素, 例如, 但不限于 ^2H (氘, D)、 ^3H (氚)、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}F 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 和 ^{125}I 。各种同位素标记的本发明的化合物, 例如, 其中包含诸如 ^3H 、 ^{13}C 和 ^{14}C 的放射性同位素的那些。这样的同位素标记的化合物可用于代谢研究、反应动力学研究、检测或显像技术, 例如正电子发射断层摄影术 (PET) 或单光子发射断层摄影术 (SPECT), 包括药物或底物组织分布测定, 或者用于患者的放射性治疗。本发明的氘标记的或取代的治疗性化合物可具有改进的有关分布、代谢和排泄 (ADME) 的 DMPK (药物代谢和药物动力学) 性质。用较重的同位素例如氘取代可能由于较大的代谢稳定性而提供某些治疗优点, 例如, 体内半衰期增长, 或者剂量要求减小。 ^{18}F 标

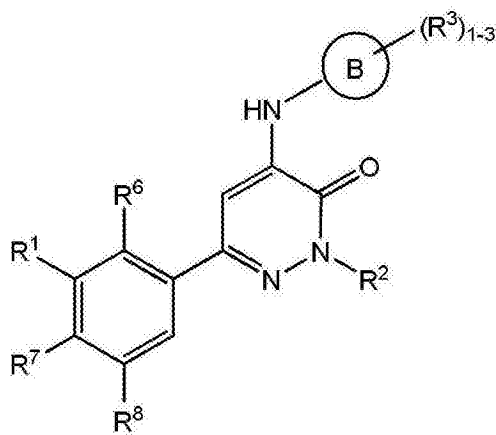
记的化合物可用于 PET 或 SPECT 研究。本发明的同位素标记的化合物及其前药一般可通过实施路线或实施例中公开的方法和下述制备方法,以易得的同位素标记的试剂替代非同位素标记的试剂进行制备。此外,用较重的同位素特别是氘(即 2H 或 D) 取代可由于较大的代谢稳定性而提供某些治疗优点,例如,体内半衰期增长或者剂量要求减小或者治疗指数改进。应理解,在此情况中氘被视为式 (I) 的化合物中的取代基。可通过同位素富集系数定义这样的较重的同位素特别是氘的浓度。在本发明的化合物中,未明确指明为特定同位素的任何原子意在表示该原子的任何稳定的同位素。除非另外说明,当明确以“H”或“氢”标明某位置时,应理解为该位置具有其天然丰度同位素组成的氢。因此,在本发明的化合物中,明确标明氘 (D) 的任何原子意在表示氘。

[0069] 吡嗪酮化合物

[0070] 本发明提供式 I 的吡嗪酮化合物及其药物制剂,其可用于治疗由 Btk 激酶调节的疾病、病患和 / 或病症。

[0071] 式 I 化合物具有以下结构:

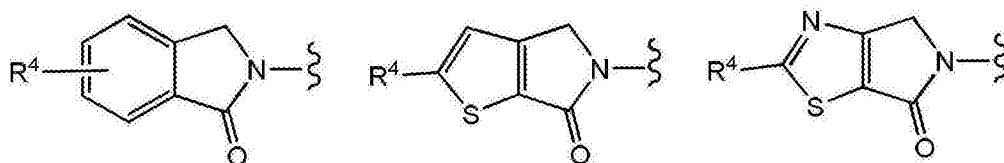
[0072]



[0073] 及其立体异构体、互变异构体或药学可接受的盐,其中:

[0074] R^1 选自:

[0075]



[0076] 其中波浪线指示连接点;

[0077] R^4 选自 OH 、 CN 、 NR^bR^c 、任选地被 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基或 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 卤代烷基取代的 $\text{C}_3\text{-C}_6$ 环烷基以及任选地被 OH 或 $\text{OC}_1\text{-C}_4$ 烷基取代的 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基;

[0078] R^2 是 H 、 CH_3 或 CF_3 ;

[0079] 环 B 选自苯基、具有至少一个氮环原子的 5-6 元杂芳基和具有至少一个氮环原子的 8-11 元杂环基;

[0080] R^3 独立地选自 H 、 $-\text{R}^a$ 、 $-\text{OR}^b$ 、 $-\text{SR}^b$ 、 $-\text{NR}^b\text{R}^c$ 、卤素、氰基、硝基、 $-\text{COR}^b$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^b$ 、 $-\text{CONR}^b\text{R}^c$ 、 $-\text{OCOR}^b$ 、 $-\text{OCO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{OCONR}^b\text{R}^c$ 、 $-\text{NR}^c\text{COR}^b$ 、 $-\text{NR}^c\text{CO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{NR}^c\text{CONR}^b\text{R}^c$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^b$ 、 $-\text{CONR}^b\text{R}^c$ 、 $-\text{NR}^c\text{COR}^b$ 、 $-\text{SOR}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^b\text{R}^c$ 和 $-\text{NR}^c\text{SO}_2\text{R}^a$;或者两个相邻的 R^3 基团任选地一起形成具有

0-2 个选自 O、S 或 N 的杂原子的 5-6 元环,其中所述 5-6 元环与环 B 稠合;

[0081] R^a 是 C_1 - C_6 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基,其中 R^a 的每个成员任选地被 1-3 个 R^{11} 基团取代;

[0082] R^b 是 H、 C_1 - C_6 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基,其中 R^b 的除 H 以外的每个成员任选地被 1-3 个 R^{11} 基团取代;

[0083] R^c 是 H、或任选地被 1 或 3 个 R^{11} 基团取代的 C_1 - C_4 烷基;或者, R^b 和 R^c 与它们所连接的氮形成任选地取代的杂环烷基;

[0084] R^{11} 各自独立地选自 C_1 - C_4 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、芳基- C_1 - C_4 烷基-、杂芳基- C_1 - C_4 烷基-、环烷基- C_1 - C_4 烷基-、杂环烷基- C_1 - C_4 烷基-、 C_1 - C_4 卤代烷基-、 $-OC_1$ - C_4 烷基-、 $-O$ -杂环烷基-、 $-OC_1$ - C_4 烷基苯基-、 $-C_1$ - C_4 烷基-OH、 $-OC_1$ - C_4 卤代烷基-、卤素-、-OH、-NH₂、- C_1 - C_4 烷基-NH₂、-NH(C_1 - C_4 烷基)、-N(C_1 - C_4 烷基)(C_1 - C_4 烷基)、-N(C_1 - C_4 烷基)(C_1 - C_4 烷基苯基)、-NH(C_1 - C_4 烷基苯基)、氰基、硝基、氧代、-CO₂H、-C(O)OC₁- C_4 烷基、-CON(C_1 - C_4 烷基)(C_1 - C_4 烷基)、-CONH(C_1 - C_4 烷基)、-CONH₂、-NHC(O)(C_1 - C_4 烷基)、-NHC(O)(苯基)、-N(C_1 - C_4 烷基)C(O)(C_1 - C_4 烷基)、-N(C_1 - C_4 烷基)C(O)(苯基)、-C(O) C_1 - C_4 烷基、-C(O) C_1 - C_4 苯基、-C(O) C_1 - C_4 卤代烷基、-OC(O) C_1 - C_4 烷基、-SO₂(C_1 - C_4 烷基)、-SO₂(苯基)、-SO₂(C_1 - C_4 卤代烷基)、-SO₂NH₂、-SO₂NH(C_1 - C_4 烷基)、-SO₂NH(苯基)、-NHSO₂(C_1 - C_4 烷基)、-NHSO₂(苯基)和 -NHSO₂(C_1 - C_4 卤代烷基);

[0085] R^5 是 H 或 F;

[0086] R^6 是 H、CH₃、F、Cl、CN、OCH₃、OH、或被 OH、OCH₃ 或者一个或多个卤素基团取代的甲基;

[0087] R^7 是 H、CH₃、F、Cl、CN 或 OCH₃;

[0088] R^8 是 H、CH₃、CF₃、F、Cl、CN 或 OCH₃;

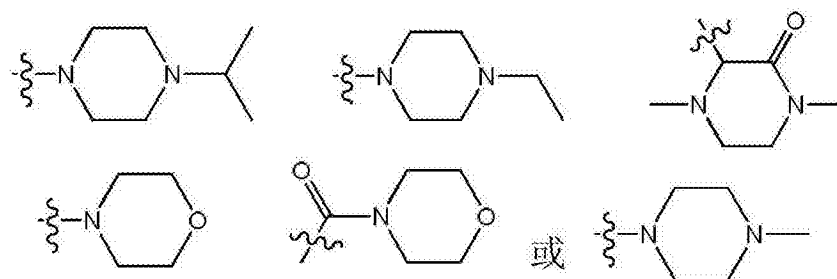
[0089] R^9 各自独立地是 C_1 - C_3 烷基;并且

[0090] R^{10} 各自独立地是 H 或 CH₃。

[0091] 式 I 化合物的示例性实施方案包括其中 R^2 是 H 或 CH₃。

[0092] 式 I 化合物的示例性实施方案包括其中 R^3 是:

[0093]



[0094] 其中波浪线指示连接点。

[0095] 式 I 化合物的示例性实施方案包括其中 R^3 选自任选地被 F、CH₃ 或 COCH₃ 取代的环丙基、氮杂环丁烷基、氮杂环丁烷基甲基、哌啶基、氧代哌啶基、哌嗪基和氧代哌嗪基。

[0096] 式 I 化合物的示例性实施方案包括其中 R^4 是 H、叔丁基、N-吡咯烷基、N-哌啶基、N-氮杂环庚烷基、2-羟基-2-甲基丙基、丙-1-烯-2-基、-N(CH₃)Et、异丙基、环戊基、环己基、3-甲基丁-2-基、-N(CH₃)(i-Pr) 或 -NH(环丙基)。

[0097] 式 I 化合物的示例性实施方案包括其中 R^5 是 H 或 F。

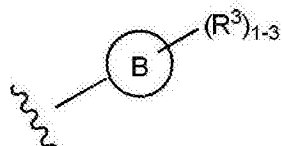
[0098] 式 I 化合物的示例性实施方案包括其中 R^6 是 H、 CH_3 、F 或 CH_2OH 。

[0099] 式 I 化合物的示例性实施方案包括其中 R^7 是 H 或 F。

[0100] 式 I 化合物的示例性实施方案包括其中 B 是吡唑并 [1,5-a] 吡嗪 -2- 基、吡唑 -3- 基、嘧啶 -4- 基或吡啶 -2- 基。

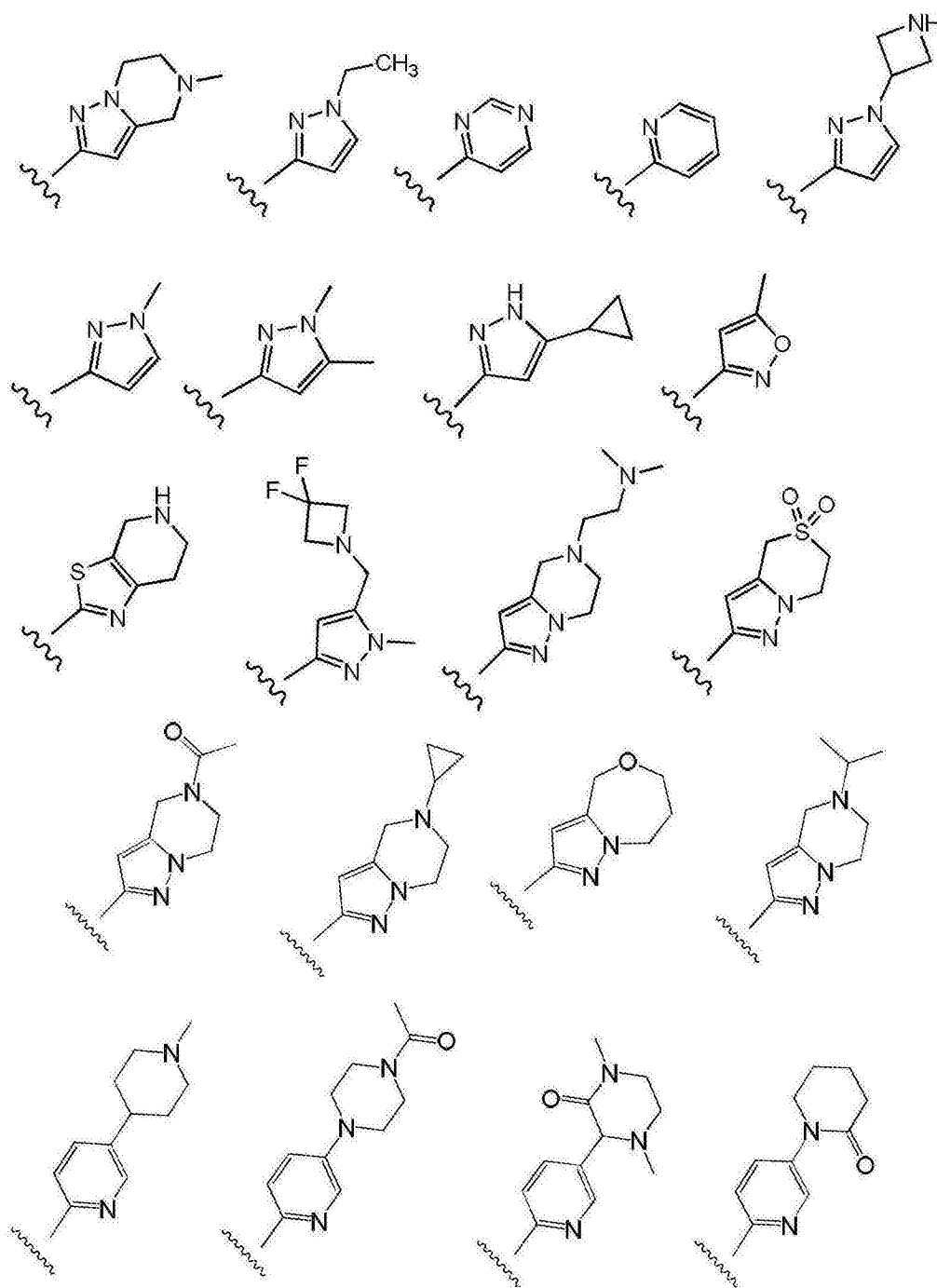
[0101] 式 I 化合物的示例性实施方案包括其中：

[0102]



[0103] 选自以下结构：

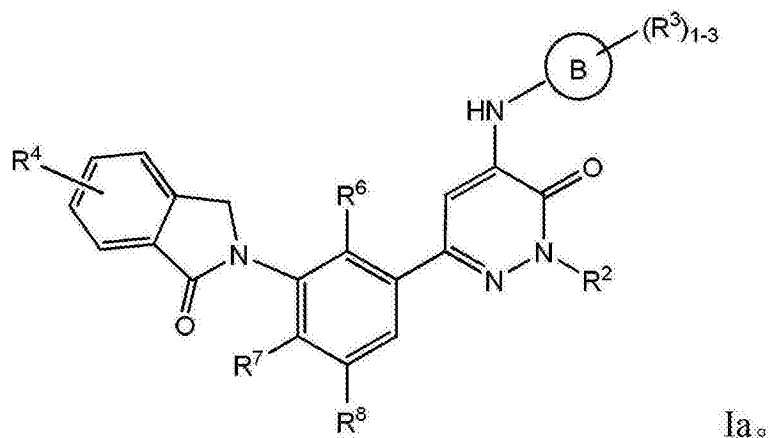
[0104]



[0105] 其中波浪线指示连接点。

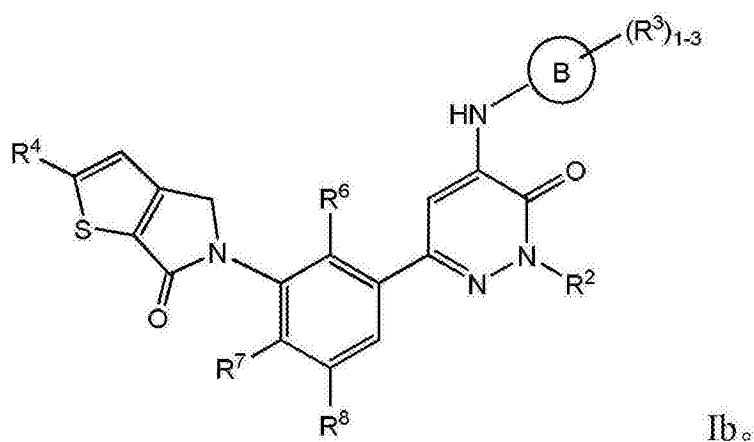
[0106] 式 I 化合物的示例性实施方案包括具有式 Ia 的结构化合物：

[0107]



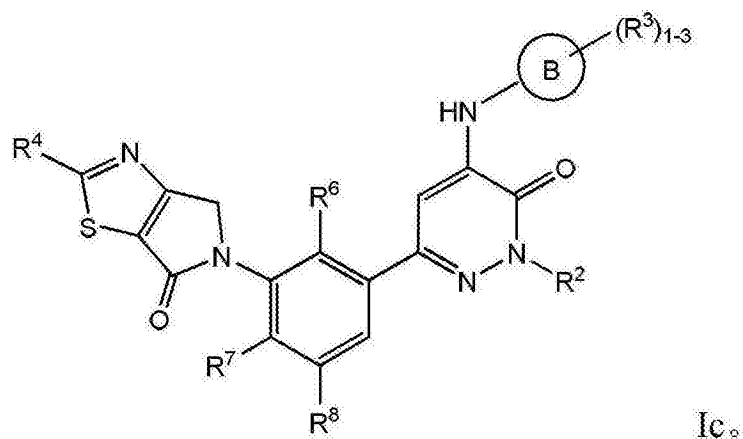
[0108] 式 I 化合物的示例性实施方案包括具有式 Ib 的结构化合物：

[0109]



[0110] 式 I 化合物的示例性实施方案包括具有式 Ic 的结构化合物：

[0111]



[0112] 式 I 化合物的示例性实施方案包括选自表 1 和表 2 的化合物。

[0113] 本发明的式 I 化合物可包含不对称中心或手性中心，因而以不同的立体异构体形式存在。本发明化合物的所有立体异构体形式，包括但不限于其非对映异构体、对映异构体和阻转异构体以及它们的混合物例如外消旋混合物，意在构成本发明的一部分。

[0114] 此外，本发明涵盖所有的非对映异构体，包括顺-反（几何）异构体和构象异构体。例如，若式 I 化合物包含双键或稠合环，则顺式和反式形式以及其混合物被涵盖在本发明的范围内。

[0115] 在本文所示的结构中,若未指明任何具体手性原子的立体化学,则所有的立体异构体被视为并被包含为本发明的化合物。若以表示具体构型的楔形实线或虚线指明立体化学,则如此指明和定义该立体异构体。

[0116] 本发明的化合物可以未溶剂化的形式、以及用药学可接受的溶剂例如水、乙醇等溶剂化的形式存在,并且本发明意在涵盖溶剂化的和未溶剂化的形式。

[0117] 本发明的化合物还可以不同的互变异构体形式存在,并且所有这样的形式都被涵盖在本发明的范围内。术语“互变异构体”或“互变异构体形式”是指通过低能垒可互相转变的能量不同的结构异构体。例如,质子互变异构体(也称为质子转移互变异构体)包括通过质子的迁移互相转化,例如酮-烯醇和亚胺-烯胺异构化。价键互变异构体包括通过一些成键电子的重组互相转化。

[0118] 生物学评价

[0119] 可通过测定每种化合物将活性抑制到预定程度时的浓度而后将结果对比来确定式 I 化合物作为酶活性(或其它生物活性)的抑制剂的相对效力。通常,优选测定的是在生化测定中抑制 50% 的活性时的浓度,即,50% 抑制浓度或“IC₅₀”。可利用本领域已知的常规技术完成 IC₅₀值的测定。一般可通过测量特定酶在一系列浓度的待研究的抑制剂存在下的活性来确定 IC₅₀。然后以实验获得的酶活性值对所用的抑制剂浓度作图。将显示 50% 酶活性(与不存在任何抑制剂时的活性相比)时的抑制剂浓度作为 IC₅₀值。类似地,可通过适当地测定活性来确定其它的抑制浓度。例如,在一些情况中可能期望确定 90% 抑制浓度,即 IC₉₀等。

[0120] 通过标准生化 Btk 激酶测定来测试式 I 化合物(实施例 901)。

[0121] 可用来测试式 I 化合物的标准细胞 Btk 激酶测定的一般方法是 Ramos 细胞 Btk 测定(实施例 902)。

[0122] 标准细胞 B 细胞增殖测定可用来以从 Balb/c 小鼠脾纯化的 B 细胞测试式 I 化合物(实施例 903)。

[0123] 标准 T 细胞增殖测定可用来以从 Balb/c 小鼠脾纯化的 T 细胞测试式 I 化合物(实施例 904)。

[0124] 为了抑制 B 细胞活性,可以用从 8-16 周龄的 Balb/c 小鼠脾纯化的全小鼠脾细胞对式 I 化合物进行 CD86 抑制测定(实施例 905)。

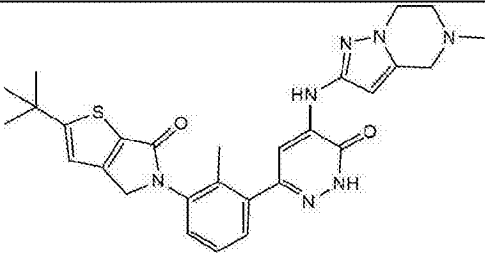
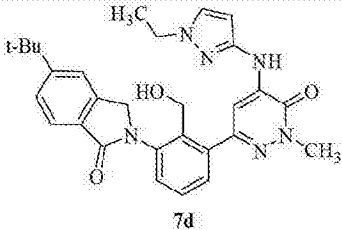
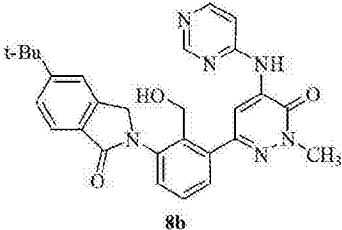
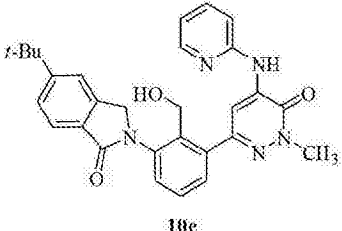
[0125] 为了测定在培养物中存活的 B-ALL 细胞的数量,可以对式 I 化合物对进行 B-ALL 细胞存活测定(实施例 906)。

[0126] 为了测定化合物抑制由人全血中受具有羊 F(ab')₂ 抗-人 IgM 的交联表面 IgM 激活的 B 淋巴细胞产生的 CD69 的能力,可以对式 I 化合物进行 CD69 全血测定(实施例 907)。

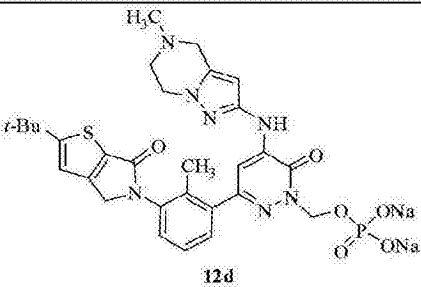
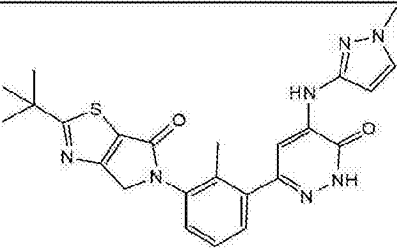
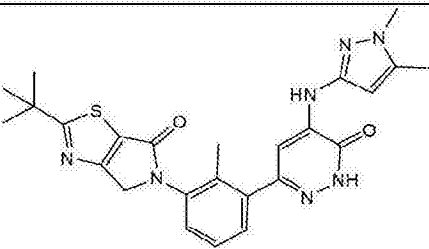
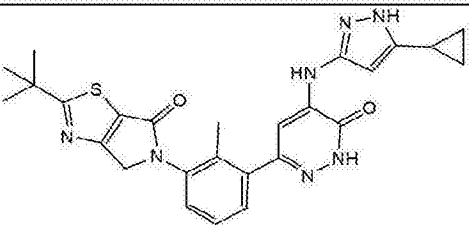
[0127] 按照本发明的方法制备和表征了表 1 和 2 中示例性的式 I 化合物,并且测试了它们对 Btk 的抑制,所述示例性的式 I 化合物其具有以下结构和相应的名称(ChemDraw Ultra, 9.0.1 版,和 ChemBioDraw, 11.0 版, CambridgeSoft Corp., Cambridge MA)。在多于一种名称与式 I 化合物或中间体相关的情况中,应以化学结构定义该化合物。

[0128] 表 1.

[0129]

No.	结构	名称	M+H m/z	Btk IC ₅₀ (μMol)
101		6-(3-(2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基)-2-甲基苯基)-4-((5-甲基-4H,5H,6H,7H-吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基)氨基)-2,3-二氢噻嗪-3-酮	530.2	=,==4
102	 7d	5-叔丁基-2-(3-(5-(1-乙基-1H-吡唑-3-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢噻嗪-3-基)-2-(羟基甲基)苯基)异吲哚啉-1-酮	513.3	
103	 8b	5-叔丁基-2-(2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-6-氧代-5-(嘧啶-4-基氨基)-1,6-二氢噻嗪-3-基)苯基)异吲哚啉-1-酮	497.2	
104	 10c	5-叔丁基-2-(2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-6-氧代-5-(吡啶-2-基氨基)-1,6-二氢	496.2	

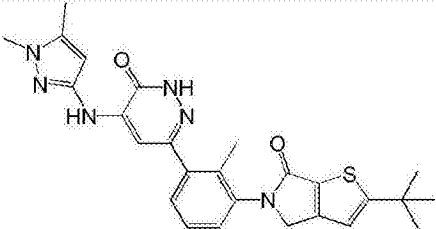
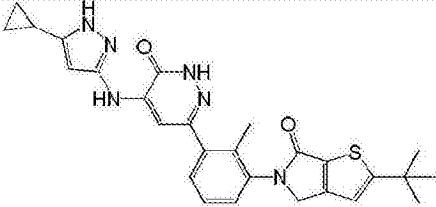
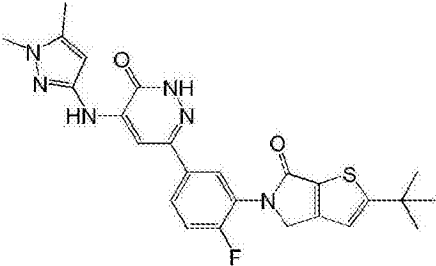
[0130]

108	 12d	(3-(3-(2-叔丁基-6-氧代-4H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5(6H)-基)-2-甲基苯基)-5-(5-甲基-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基氨基)-6-氧代哒嗪-1(6H)-基)甲基磷酸酯钠	684.2	
109		2-叔丁基-5-(3-(5-(1-甲基-1H-吡唑-3-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)-2-甲基苯基)-4H-吡咯并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮	476.2	
110		2-叔丁基-5-(3-(5-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)-2-甲基苯基)-4H-吡咯并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮	490.1	
111		2-叔丁基-5-(3-(5-(5-环丙基-1H-吡唑-3-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)-2-甲基苯基)-4H-吡咯并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮	501.7	

[0132] 使用与实施例 101-126 的方法类似的方法制备了表 2 中的实施例。

[0133] 表 2.

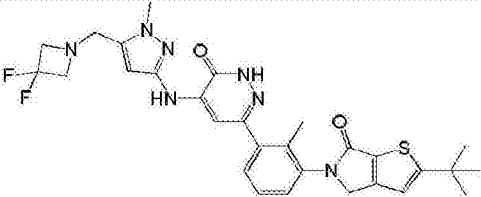
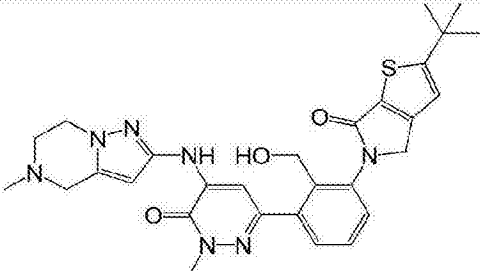
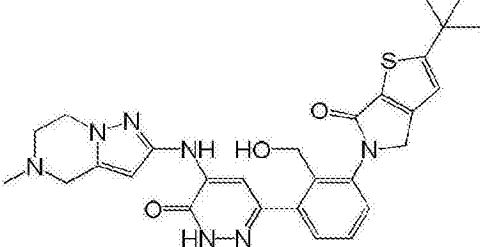
[0134]

No.	结构	名称	M+H m/z	Btk IC ₅₀ (μMol)
112		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-甲基苯基)-4-[(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基]-2,3-二氢噻嗪-3-酮	488.58	0.003
113		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-甲基苯基)-4-[(5-环丙基-1H-吡唑-3-基)氨基]-2,3-二氢噻嗪-3-酮	500.57	0.004
114		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-4-氟苯基)-4-[(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基]-2,3-二氢噻嗪-3-酮	491.3	0.009

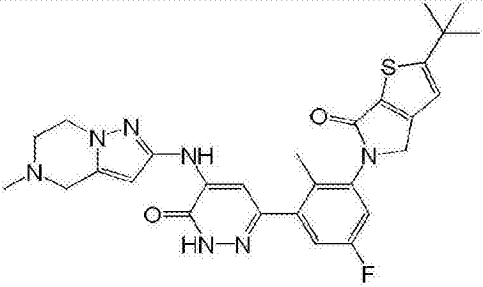
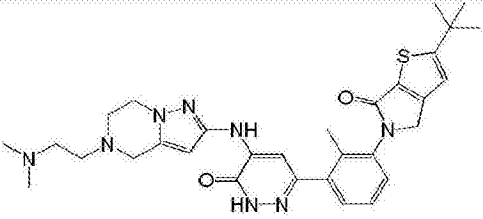
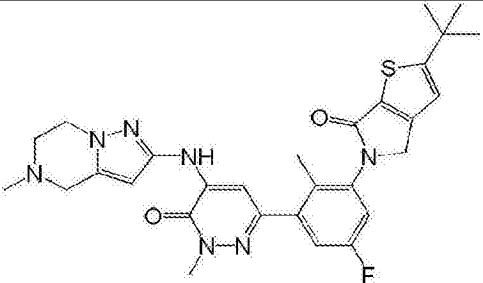
[0135]

115		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-甲基苯基)-4-[(5-甲基-1,2-噻唑-3-基)氨基]-2,3-二氢噻嗪-3-酮	476.1	0.018
116		6-(6-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-5-氟吡啶-2-基)-4-[(5-环丙基-1H-吡唑-3-基)氨基]-2,3-二氢噻嗪-3-酮		0.035
117		6-(6-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-5-氟吡啶-2-基)-4-[(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基]-2,3-二氢噻嗪-3-酮		0.045
118		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-甲基苯基)-4-{4H,5H,6H,7H-吡		0.065

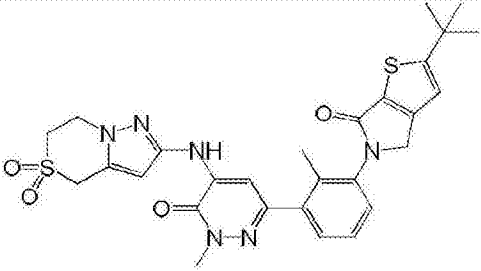
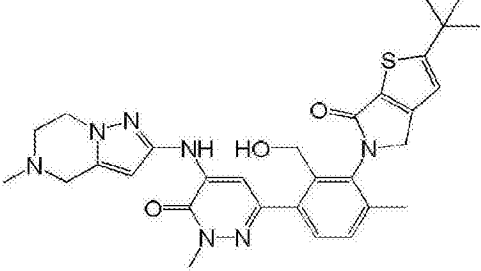
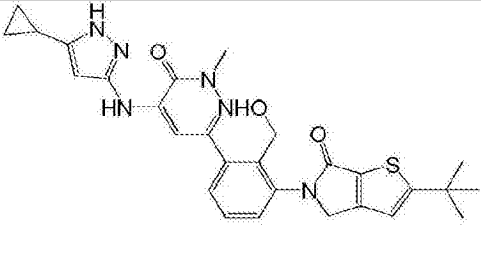
[0136]

		啶并[4,3-d][1,3]噻唑-2-基氨基}-2,3-二氢吡嗪-3-酮		
119		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-甲基苯基)-4-({5-[(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)甲基]-1-甲基-1H-吡唑-3-基}氨基)-2,3-二氢吡嗪-3-酮	580.17	0.005
120		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)苯基)-2-甲基-4-({5-甲基-4H,5H,6H,7H-吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基}氨基)-2,3-二氢吡嗪-3-酮	560.2	0.055
121		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)苯基)-4-({5-甲基-4H,5H,6H,7H-吡	546.3	0/048

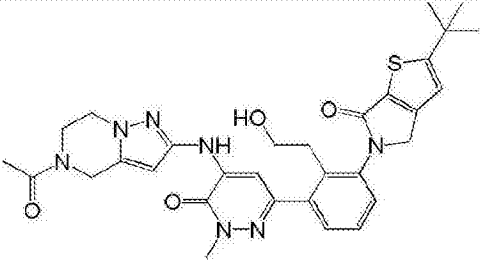
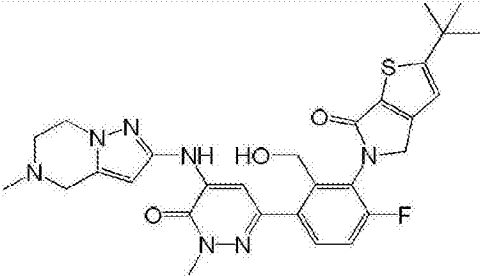
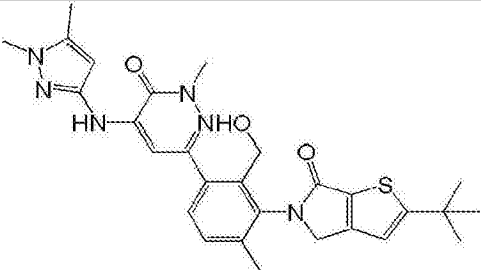
[0137]

		唑并[1,5-a]吡嗪-2-基}氨基)-2,3-二氢吡嗪-3-酮		
122		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-5-氟-2-甲基苯基)-4-({5-甲基-4H,5H,6H,7H-吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基}氨基)-2,3-二氢吡嗪-3-酮	548	
123		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-甲基苯基)-4-({5-[2-(二甲基氨基)乙基]-4H,5H,6H,7H-吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基}氨基)-2,3-二氢吡嗪-3-酮	587.3	
124		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-5-氟-2-甲基苯基)-2-甲基-4-({5-甲基-4H,5H,6H,7H-吡	562	

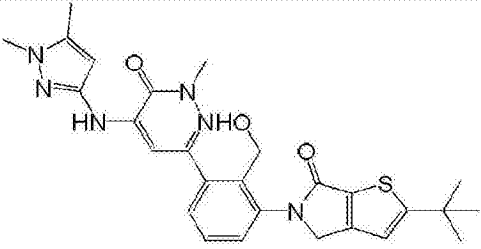
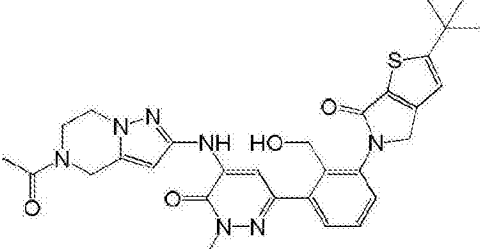
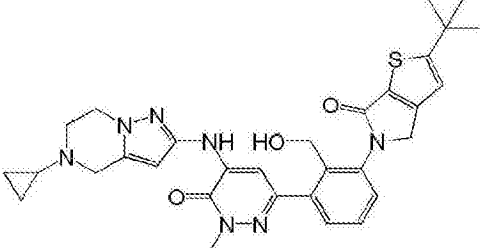
[0138]

		唑并[1,5-a]吡嗪-2-基}氨基)-2,3-二氢吡嗪-3-酮		
125		2-([6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-甲基苯基)-2-甲基-3-氧代-2,3-二氢吡嗪-4-基}氨基)-4H,6H,7H-吡唑并[3,2-c][1,4]噻嗪-5,5-二酮	579.22	
126		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)-4-甲基苯基)-2-甲基-4-((5-甲基-4H,5H,6H,7H-吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基}氨基)-2,3-二氢吡嗪-3-酮	574.3	
127		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)苯基)-4-[(5-环丙基-1H-吡唑-	531.3	

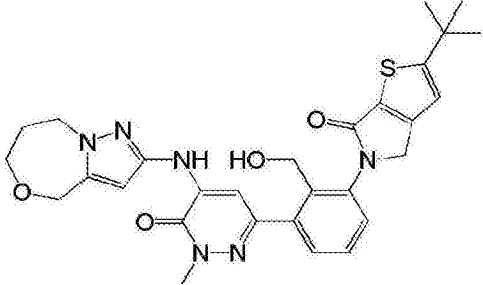
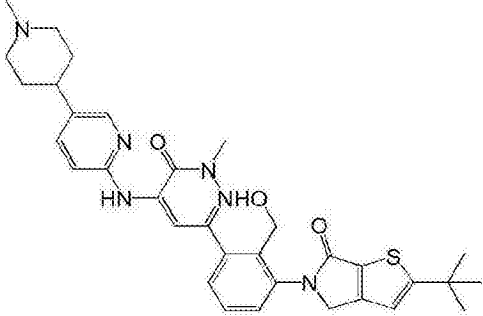
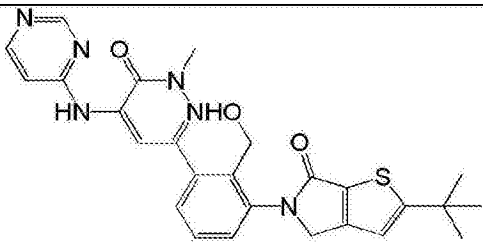
[0139]

		3-基)氨基]-2-甲基-2,3-二氢吡嗪-3-酮		
128		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(2-羟基乙基)苯基)-4-({5-乙酰基-4H,5H,6H,7H-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基}氨基)-2-甲基-2,3-二氢吡嗪-3-酮	602.3	
129		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-4-氟-2-(羟基甲基)苯基)-2-甲基-4-({5-甲基-4H,5H,6H,7H-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基}氨基)-2,3-二氢吡嗪-3-酮	578.1	
130		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)-4-甲基苯基)-4-[(1,5-二甲	533.3	

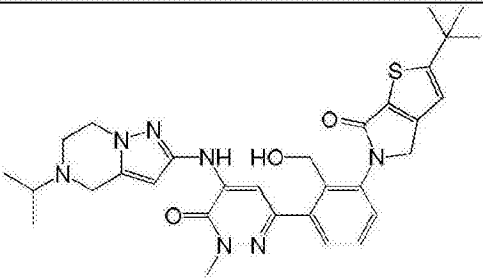
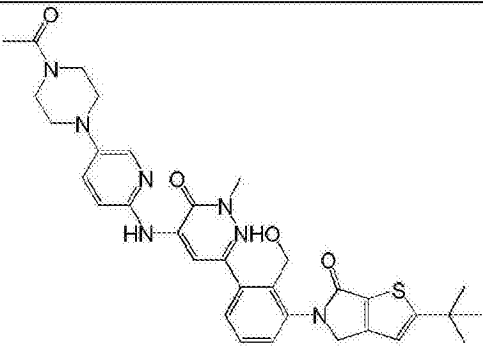
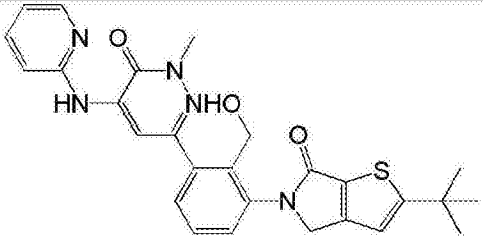
[0140]

		基-1H-吡唑-3-基)氨基]-2-甲基-2,3-二氢吡嗪-3-酮		
131		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)苯基)-4-[(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基]-2-甲基-2,3-二氢吡嗪-3-酮	519.2	
132		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)苯基)-4-((5-乙酰基-4H,5H,6H,7H-吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基)氨基)-2-甲基-2,3-二氢吡嗪-3-酮	588.2	
133		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)苯基)-4-((5-环丙基-4H,5H,6H,7H-吡	586.1	

[0141]

		唑并[1,5-a]吡嗪-2-基}氨基)-2-甲基-2,3-二氢哒嗪-3-酮		
134		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)苯基)-2-甲基-4-{4H,6H,7H,8H-吡唑并[3,2-c][1,4]氧氮杂萆-2-基氨基}-2,3-二氢哒嗪-3-酮	561.2	
135		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)苯基)-2-甲基-4-{[5-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-2-基]氨基}-2,3-二氢哒嗪-3-酮	599.2	
136		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)苯基)-2-甲基-4-(噻唑-4-基氨基)-2,3-二氢哒嗪-3-酮	503	

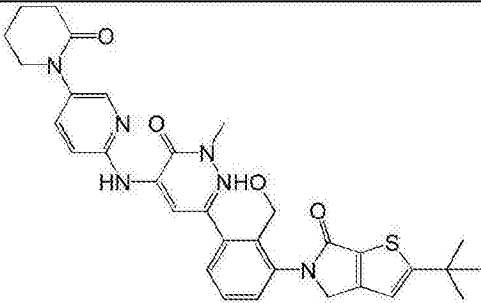
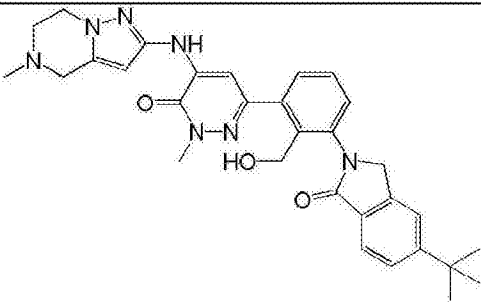
[0142]

137		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)苯基)-2-甲基-4-{[5-(丙-2-基)-4H,5H,6H,7H-吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基]氨基}-2,3-二氢噻嗪-3-酮	588.3	
138		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)苯基)-4-{[5-(4-乙酰基噻嗪-1-基)吡啶-2-基]氨基}-2-甲基-2,3-二氢噻嗪-3-酮	628.3	
139		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)苯基)-2-甲基-2-(吡啶-2-基氨基)-2,3-二氢噻嗪-3-酮	502.5	

[0143]

140		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-4-氟-2-(羟基甲基)苯基)-4-[(1-乙基-1H-吡唑-3-基)氨基]-2-甲基-2,3-二氢噻嗪-3-酮	537.2	
141		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)苯基)-4-[(1-乙基-1H-吡唑-3-基)氨基]-2-甲基-2,3-二氢噻嗪-3-酮	519.2	
142		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-4-氟-2-(羟基甲基)苯基)-4-[(5-环丙基-1H-吡唑-3-基)氨基]-2-甲基-2,3-二氢噻嗪-3-酮	549.2	
143		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基	628.2	

[0144]

		甲基)苯基)-4-{[5-(1,4-二甲基-3-氧代哌嗪-2-基)吡啶-2-基]氨基}-2-甲基-2,3-二氢噻嗪-3-酮		
144		6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-(羟基甲基)苯基)-2-甲基-4-{[5-(2-氧代哌啶-1-基)吡啶-2-基]氨基}-2,3-二氢噻嗪-3-酮	599.2	
145		5-叔丁基-2-[2-(羟基甲基)-3-[1-甲基-5-({5-甲基-4H,5H,6H,7H-吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基}氨基)-6-氧代-1,6-二氢噻嗪-3-基]苯基]-2,3-二氢-1H-异吲哚-1-酮	554.8	

[0145] 式 I 化合物的给药

[0146] 本发明的化合物可通过适合于要治疗的病症的任何途径给药。适合的途径包括口服、肠胃外（包括皮下、肌内、静脉内、动脉内、皮内、鞘内和硬脑膜外）、透皮、直肠、鼻、局部（包括含服和舌下）、阴道、腹膜内、肺内和鼻内。为了局部免疫抑制治疗，可通过损伤区内给药（包括灌注或者在移植前使抑制剂接触移植植物）来给药所述化合物。应理解，优选的途径可随着例如接受者的状况而改变。在口服给药所述化合物的情况中，可将其与药学可接受的载体或赋形剂一起制备成丸剂、胶囊剂、片剂等。在通过肠胃外给药所述化合物的情况

中,如下所详述的,可将其与药学可接受的肠胃外载体一起以单位剂量可注射形式配制。

[0147] 治疗人类患者的剂量可以为约 10mg 至约 1000mg 的式 I 化合物。典型的剂量可以是约 100mg 至约 300mg 的所述化合物。取决于具体化合物的包括吸收、分布、代谢和排泄在内的药物代谢动力学和药效学性质,剂量可以每天一次 (QID)、每天两次 (BID) 或更频繁地给药。此外,毒性因素可影响剂量和给药方案。当口服给药时,可每天或频度较小地吞服丸剂、胶囊或片剂,持续规定的时间段。可持续数个治疗周期地重复所述方案。

[0148] 用式 I 化合物治疗的方法

[0149] 本发明的式 I 化合物用于治疗患有起因于与 Btk 激酶相关的异常的细胞生长、功能或行为的疾病或病症的人或动物患者,所述疾病或病症是例如免疫性病症、心血管疾病、病毒感染、炎症、代谢 / 内分泌障碍或神经病,因此可通过包括向其给药如上定义的本发明的化合物的方法来治疗。患有癌症的人或动物患者还可通过包括向其给药如上定义的本发明的化合物的方法来治疗。由此可改进或改善所述患者的病况。

[0150] 式 I 化合物可用于在体外、原位或体内诊断或治疗哺乳动物细胞、生物体或相关的病理状态,例如系统性和局部性炎症、免疫炎症性疾病例如类风湿性关节炎、免疫抑制、器官移植排斥、变态反应、溃疡性结肠炎、克罗恩病、皮炎、哮喘、系统性红斑狼疮、斯耶格伦综合征、多发性硬化、硬皮病 / 系统性硬化病、特发性血小板减少性紫癜 (ITP)、抗中性粒细胞胞质抗体 (ANCA) 血管炎、慢性阻塞性肺病 (COPD)、银屑病,以及总体关节保护效力。

[0151] 本发明的方法还包括治疗疾病例如:关节疾病例如类风湿性关节炎、单关节关节炎、骨性关节炎、痛风性关节炎、脊椎炎;贝切特病;脓毒症、败血症性休克、内毒素性休克、革兰阴性脓毒症、革兰阳性脓毒症和中毒性休克综合征;败血病继发性多器官损伤综合征、外伤或出血;眼病例如变态反应性结膜炎、春季结膜炎、葡萄膜炎以及甲状腺相关的眼病;嗜酸性细胞肉芽肿;肺部或呼吸道病症例如哮喘、慢性支气管炎、变态反应性鼻炎、ARDS、慢性肺部炎症性疾病(例如慢性阻塞性肺病)、矽肺、肺结节病、胸膜炎、肺炎、血管炎、肺气肿、肺炎、支气管扩张和肺型氧中毒;心肌、脑或肢端的再灌注损伤;纤维化例如囊性纤维化;瘢痕疙瘩形成或疤痕组织形成;动脉粥样硬化;自身免疫性疾病例如系统性红斑狼疮 (SLE)、自身免疫性甲状腺炎、多发性硬化、糖尿病的一些形式和雷诺综合征;以及移植排斥性病症例如 GVHD 和同种异体移植排斥;慢性肾小球肾炎;炎性肠病例如慢性炎性肠病 (CIBD)、克罗恩病、溃疡性结肠炎和坏死性小肠结肠炎;炎性皮肤病例如接触性皮炎、特应性皮炎、银屑病或风疹;起因于感染的发烧和肌痛;中枢或周围神经系统炎症病症例如脑膜炎、脑炎以及起因于较轻外伤的脑或脊髓损伤;斯耶格伦综合征;涉及白细胞渗出的疾病;酒精性肝炎;细菌性肺炎;抗原-抗体复合物介导的疾病;低血容量性休克;I 型糖尿病;急性和迟发性超敏反应;起因于白细胞恶液质和转移的病况;热损伤;粒细胞输血相关的综合征;以及细胞因子诱导的中毒。

[0152] 本发明的方法还包括治疗选自以下的癌症:乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、前列腺癌、睾丸癌、生殖泌尿道癌、食道癌、喉癌、成胶质细胞瘤、神经母细胞瘤、胃癌、皮肤癌、角化棘皮瘤、肺癌、表皮样癌、大细胞癌、非小细胞肺癌 (NSCLC)、小细胞癌、肺腺癌、骨癌、结肠癌、腺瘤、胰腺癌、腺癌、甲状腺癌、滤泡性癌、未分化癌、乳头状癌、精原细胞瘤、黑素瘤、肉瘤、膀胱癌、肝癌和胆道癌、肾癌、胰腺癌、骨髓病症、淋巴瘤、毛细细胞瘤、口腔癌、鼻咽癌、咽癌、唇癌、舌癌、口癌、小肠癌、结直肠癌、大肠癌、直肠癌、脑和中枢神经系统癌、何杰金淋巴瘤、白

血病、支气管癌、甲状腺癌、肝和肝内胆管癌、肝细胞癌、胃癌、神经胶质瘤 / 成胶质细胞瘤、子宫内膜癌、黑素瘤、肾和肾盂癌、膀胱癌、子宫体癌、子宫颈癌、多发性骨髓瘤、急性髓性白血病、慢性髓性白血病、淋巴细胞白血病、髓样白血病、口腔和咽癌、非何杰金淋巴瘤、黑素瘤和结肠绒毛腺瘤。

[0153] 本发明的方法可用于治疗受到或可能受到再灌注损伤(即,由组织或器官经受一段时间的缺血而后再灌注的情形造成的损伤)的对象。术语“缺血”是指由阻塞动脉血的流入导致的局部组织贫血。短暂缺血而后再灌注特征性地导致中性粒细胞激活并移行经过受影响区域中的血管的内皮。被激活的中性粒细胞的积累转而导致产生反应性氧代谢物,其损害相关组织或器官的组成部分。“再灌注损伤”的这种现象通常与诸如血管中风(包括全脑缺血和病灶缺血)、出血性休克、心肌缺血或梗死形成、器官移植和脑血管痉挛之类的病症相关。举例说明,再灌注损伤发生在心脏搭桥手术结束时或者发生在心脏停搏的过程中(当曾被阻止接受血液的心脏开始再灌注时)。据预期,对 Btk 活性的抑制可导致在这样的情形中再灌注损伤的量减小。

[0154] 药物制剂

[0155] 为了将本发明的化合物用于治疗包括人在内的哺乳动物,通常遵照标准药学方法将其制备成药物组合物。根据本发明的此方面,提供药物组合物,其包含本发明的化合物和药学可接受的稀释剂或载体。

[0156] 典型的制剂是通过将本发明的化合物与载体、稀释剂或赋形剂混合进行制备的。适合的载体、稀释剂和赋形剂为本领域技术人员公知,并且包括例如糖类、蜡、水溶性和 / 或水溶胀性聚合物、亲水性或疏水性材料、明胶、油、溶剂、水等材料。所用的具体的载体、稀释剂或赋形剂取决于应用本发明的化合物的途径和目的。一般根据本领域技术人员公认为施用于哺乳动物是安全 (GRAS) 的溶剂来选择溶剂。一般安全的溶剂是无毒性的水性溶剂例如水及其它可溶于或混溶于水中的无毒性溶剂。适合的水性溶剂包括水、乙醇、丙二醇、聚乙二醇(例如 PEG400、PEG300)等,以及其混合物。所述制剂还可包含一种或多种缓冲剂、稳定剂、表面活性剂、湿润剂、润滑剂、乳化剂、助悬剂、防腐剂、抗氧化剂、避光剂、助流剂、加工助剂、着色剂、甜味剂、芳香剂、矫味剂及其它已知的添加剂,以赋予药物(即本发明的化合物或其药物组合物)雅致的外观或者有助于药学产品(即药品)的生产。

[0157] 所述制剂可利用常规的溶解和混合方法进行制备。例如,将大批药物物质(即本发明的化合物或该化合物的稳定形式(例如与环糊精衍生物或其它已知的络合剂形成的络合物))在一种或多种上述赋形剂存在下溶于适合的溶剂中。通常将本发明的化合物制备成药学剂型,以容易地控制药物剂量并且使患者能够顺从处方的治疗方案。

[0158] 施用的药物组合物(或制剂)可以多种方式包装,取决于给药该药物所采用的方法。通常用于分配的制品包括其中放置有适当形式的药物制剂的容器。适合的容器是本领域技术人员公知的,并且包括诸如瓶(塑料和玻璃)、小袋、安瓿、塑料袋、金属筒等之类的材料。所述容器还可包括防感染的装置以防不慎触及包装的内容物。此外,所述容器在其上置有说明该容器的内容物的标签。所述标签还可包括适当的警示。

[0159] 可针对各种给药途径和类型制备本发明化合物的药物制剂。例如,可将具有期望纯度的式 I 化合物任选地与药学可接受的稀释剂、载体、赋形剂或稳定剂 (Remington's Pharmaceutical Sciences(1980) 第 16 版, Osol, A. Ed.) 混合成冻干制剂、粉碎的散剂或水

溶液剂的形式。可通过在环境温度下,在适当的 pH 下,以期望的纯度与生理学可接受的载体(即在所用的剂量和浓度下对接受者无毒性的载体)一起混合进行制备。所述制备的 pH 主要取决于具体的用途和化合物的浓度,但是可以是约 3- 约 8。在 pH5 的乙酸盐缓冲剂中制备是一个适合的实施方案。

[0160] 所述化合物通常可以固体组合物、冻干制剂或水溶液的形式储藏。

[0161] 本发明的药物组合物可以遵循优质医疗规范的方式(即,给药的量、浓度、时间安排、疗程、载体以及途径)进行制备、服用和给药。在此情况中要考虑的因素包括:要治疗的具体病症、要治疗的具体哺乳动物、各个患者的临床状况、病症的起因、药剂的递送部位、给药方法、给药时间安排以及开业医生所知的其它因素。要给药的化合物的“治疗有效量”取决于这些的考虑因素,并且是改善或治疗过度增殖性病症所需的最小量。

[0162] 作为一般的建议,每剂肠胃外给药的抑制剂的初始药学有效量可以是约 0.01-100mg/kg,即每天约 0.1-20mg/kg 患者体重,其中所用化合物的一般初始范围是 0.3-15mg/kg/ 天。

[0163] 可接受的稀释剂、载体、赋形剂和稳定剂是在所用的剂量和浓度下对接受者无毒性的,并且包括缓冲剂例如磷酸盐、柠檬酸盐及其它有机酸;包括抗坏血酸和蛋氨酸在内的抗氧化剂;防腐剂(例如十八烷基二甲基苄基氯化铵;六甲氯铵;苯扎氯铵、苄索氯铵;苯酚、丁醇或苄醇;烷基对羟基苯甲酸酯例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3- 戊醇;和间甲酚);低分子量(小于约 10 个残基)多肽;蛋白质例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物例如聚乙烯基吡咯烷酮;氨基酸例如甘氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;包括葡萄糖、甘露糖或糊精在内的单糖、二糖以及其它糖类;螯合剂例如 EDTA;糖类例如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨糖醇;成盐的反荷离子例如钠;金属复合物(例如 Zn- 蛋白复合物);和/或非离子型表面活性剂例如 TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。在胶体药物递送系统(例如脂质体、白蛋白微球、微乳、纳米颗粒和纳米胶囊)或者粗乳液(macroemulsion)中,还可将所述活性药学成分分别包封在通过例如凝聚技术或界面聚合制得的微胶囊(例如羟甲基纤维素微胶囊或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊)中。这样的技术公开在 Remington's Pharmaceutical Sciences 第 16 版, Osol, A. Ed. (1980) 中。

[0164] 可以制备式 I 化合物的缓释制剂。缓释制剂的适合的实例包括含有式 I 化合物的固体疏水性聚合物的半透性基质,所述基质是成型的制品例如膜或微胶囊的形式。缓释基质的实例包括聚酯、水凝胶(例如聚(2- 羟基乙基甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚乳酸(US3773919)、L- 谷氨酸和 γ - 乙基-L- 谷氨酸酯的共聚物、不可降解的乙烯- 乙酸乙烯酯、可降解的乳酸- 乙醇酸共聚物例如 LUPRON DEPOT™(包含乳酸- 乙醇酸共聚物和亮丙瑞林乙酸盐的可注射的微球)和聚-D-(-)-3- 羟基丁酸。

[0165] 所述制剂包括适合于本文所述的给药途径的那些。所述制剂可以方便地采用单位剂量形式,并且可以通过药剂学领域公知的任何方法进行制备。技术和制剂一般在 Remington's Pharmaceutical Sciences(Mack Publishing Co., Easton, PA) 中查到。这样的方法包括使活性成分与构成一种或多种辅助成分的载体结合的步骤。通常通过使所述活性成分与液体载体、粉碎的固体载体或此二者均匀且紧密地结合而后任选地使产品成型来制备所述制剂。

[0166] 适合于口服给药的式 I 化合物的制剂可以制成各自含有预定量的式 I 化合物的分离的单元,例如丸剂、胶囊剂、扁囊剂或片剂。可通过在适合的机器中将自由流动的例如粉末或颗粒形式的活性成分压紧,任选地与粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、表面活性剂或分散剂混合来制备压片剂。可通过在适合的机器中对用惰性液体稀释剂润湿的粉碎的活性成分的混合物进行模塑来制备模制片剂。所述片剂可以任选地被包衣和划痕,并且任选地对其进行配制以从其中缓慢或受控地释放活性成分。可制备片剂、糖锭剂、锭剂、水性或油性混悬剂、可分散的散剂或颗粒剂、乳剂、硬或软胶囊剂例如明胶胶囊、糖浆剂或酞剂用于口服。用于口服的式 I 化合物的制剂可以按照药物组合物制备领域已知的任何方法进行制备,并且这样的组合物可以包含包括甜味剂、矫味剂、着色剂和防腐剂在内的一种或多种物质以提供可口的制剂。包含与适合于制备片剂的无毒性药学可接受的赋形剂混合的活性成分的片剂是可接受的。这些赋形剂可以是,例如:惰性稀释剂,例如碳酸钙或碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠;造粒剂和崩解剂例如玉米淀粉或藻酸;粘合剂例如淀粉、明胶或阿拉伯树胶;以及润滑剂例如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石。片剂可以是无包衣的,或者可以通过包括微囊化在内的已知技术包衣以延迟在胃肠道内崩解和吸收,由此在较长的时期提供持续的作用。可以单独使用例如延时材料例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯,或者与蜡一起使用。

[0167] 为了治疗眼或其它外部组织例如口和皮肤,所述制剂优选地以局部软膏剂或乳膏剂形式施用,并且包含例如 0.075%-20%w/w 的量的活性成分。在将活性成分制备成软膏剂时,活性成分可以与石蜡族的或水混溶性的软膏基质一起使用。或者,活性成分可以与水包油乳膏基质一起制备成乳膏剂。若期望,乳膏基质的水相可包含多元醇,即含有两个或多个羟基的醇,例如丙二醇、1,3-丁二醇、甘露醇、山梨糖醇、甘油和聚乙二醇(包括 PEG400)及其混合物。局部制剂可以适合地包含增强活性成分吸收或渗透过皮肤或其它受感染区域的化合物。这样的皮肤促渗剂的实例包括二甲亚砜和相关的类似物。本发明的乳剂的油相可以已知的方式由已知的成分形成。虽然该相可以仅包含乳化剂,但其适合地包含至少一种乳化剂与脂肪或油、或者与脂肪和油的混合物。优选包含亲水性乳化剂和亲脂性乳化剂作为稳定剂的。还优选包含油和脂肪。总之,所述乳化剂与任选存在的稳定剂一起组成所谓的乳化蜡,并且该蜡与油和脂肪一起组成所谓的乳化软膏基质,所述基质形成乳膏制剂的油性分散相。适合用于本发明的制剂中的乳化剂和乳剂稳定剂包括 Tween® 60、Span® 80、鲸蜡硬脂醇、苧醇、肉豆蔻醇和单硬脂酸甘油酯和十二烷基硫酸钠。

[0168] 式 I 化合物的水性混悬剂包含和适合于制备水性混悬剂的赋形剂混合的活性材料。这样的赋形剂包括:助悬剂例如羧甲基纤维素钠、交联羧甲基纤维素、聚维酮、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、黄蓍胶和阿拉伯树胶,以及分散剂或湿润剂例如天然存在的磷脂(例如卵磷脂)、烯化氧与脂肪酸的缩合产物(例如聚氧乙烯硬脂酸酯)、环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物(例如十七烯氧基鲸蜡醇)、环氧乙烷与衍生自脂肪酸和脱水己糖醇的偏酯的缩合产物(例如聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯)。水性混悬剂还可包含一种或多种防腐剂(例如对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸丙酯)、一种或多种着色剂、一种或多种矫味剂以及一种或多种甜味剂(例如蔗糖或糖精)。

[0169] 式 I 化合物的药物组合物可以是无菌注射剂的形式,例如无菌可注射的水性或油性混悬剂。可按照已知的技术利用上述那些适合的分散剂或湿润剂和助悬剂制备此混悬

剂。无菌注射剂还可以是在无毒性的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射的溶液剂或混悬剂,例如 1,3-丁二醇中的溶液剂,或者制备成冻干粉末。可使用的可接受的载体和溶剂包括水、林格氏液和等渗的氯化钠溶液。此外,无菌的不挥发性油通常可用作溶剂或混悬介质。为此目的,可使用任何温和的不挥发性油,包括合成的单酸甘油酯或甘油二酯。此外,脂肪酸例如油酸也可用于制备注射剂。

[0170] 可与载体材料组合以制备单一剂型的活性成分的量可随着要治疗的宿主和具体的给药模式而改变。例如,意在向人类口服给药的延时释放制剂可包含约 1-1000mg 的活性材料,并与可占总组合物的约 5 重量%-约 95 重量%的适当且合宜的量的载体材料混和。可制备药物组合物以容易地测定给药量。例如,预期用于静脉内输注的水溶液剂可包含约 3-500 μg 的活性成分/毫升溶液剂,从而可实现以约 30mL/hr 的速度输注适合的体积。

[0171] 适合于肠胃外给药的制剂包括:水性和非水性的无菌注射溶液剂,其可包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂以及使该制剂与预期接受者的血液等渗的溶质;以及可包含助悬剂和稠化剂的水性和非水性的无菌混悬剂。

[0172] 适合于向眼局部给药的制剂还包括滴眼剂,其中将活性成分溶于或悬浮于适合的载体中,特别是活性成分的水性溶剂。优选地,存在于这样的制剂中的活性成分的浓度为约 0.5%-20%w/w,例如约 0.5%-10%w/w,例如约 1.5%w/w。

[0173] 适合于在口中局部给药的制剂包括:锭剂,其包含在调味基质通常是蔗糖和阿拉伯树胶或黄蓍胶中的活性成分;糖锭剂,其包含在惰性基质例如明胶和甘油或者蔗糖和阿拉伯树胶中的活性成分;以及漱口液,其包含在适合的液体载体中的活性成分。

[0174] 用于直肠给药的制剂可以是栓剂,其包含含有例如可可脂或水杨酸酯的适合的基质。

[0175] 适合于肺内或鼻内给药的制剂的粒度是例如 0.1-500 微米(包括在 0.1-500 微米之间以微米增量的范围内的粒度,例如 0.5、1、30 微米,35 微米等),通过经鼻道快速吸入或者通过经口吸入进行给药以达到肺泡囊。适合的制剂包括活性成分的水性或油性溶液剂。适合于喷雾或干粉给药的制剂可按照常规方法进行制备,并且可与其它治疗剂例如上述用于治疗或预防下述病症的化合物一起递送。

[0176] 适合于阴道给药的制剂可以是阴道栓剂、卫生棉塞、乳膏剂、凝胶剂、糊剂、泡沫剂或喷雾剂,其除了活性成分之外还包含本领域已知的适合的载体。

[0177] 所述制剂可包装在单位剂量或多剂量容器中,例如,密封的安瓿和小瓶,并且可在冷冻干燥(冻干)的条件下储藏,为了在使用前立即注射,仅需要加入无菌液体载体例如水。临时注射用的溶液剂和混悬剂由上述种类的无菌的散剂、颗粒剂和片剂制得。优选的单位剂量制剂是包含上文所述的日剂量或单位日分剂量或其适当部分的活性成分的那些。

[0178] 本发明还提供兽医学组合物,其包含至少一种上述活性成分和兽医学载体。兽医学载体是用于给药所述组合物的目的的材料,并且可以是惰性的或兽医学可接受的并且与所述活性成分相容的固体、液体或气体物质。这些兽医学组合物可通过肠胃外、口服或通过任何其它期望的途径给药。

[0179] 组合治疗

[0180] 式 I 化合物可单独使用,或者与用于治疗本文所述的疾病或病症例如炎症或过度增殖性病症(例如癌症)的其它治疗剂组合使用。在一些实施方案中,在药学组合制剂或者

作为组合治疗的给药方案中,将式 I 化合物与具有抗炎性或抗过度增殖性或者用于治疗炎症、免疫反应性病症或过度增殖性病症(例如癌)的另一治疗性化合物组合。所述另一治疗剂可以是 NSAID 抗炎药。所述另一治疗剂可以是化疗剂。所述药学组合制剂或给药方法的第二化合物优选地具有与式 I 化合物互补的活性,从而它们不会不利地相互影响。这样的化合物适合地以对预期目的有效的量组合存在。在一个实施方案中,本发明的组合物包含式 I 化合物或其立体异构体、互变异构体、溶剂化物、代谢物或药学可接受的盐或前药,以及治疗剂例如 NSAID。

[0181] 联合治疗可以同时或依次的方案施用。当依次施用时,该组合可以在两次或多次给药中施用。组合给药包括,使用分开的制剂或者单一药物制剂同时给药,以及以任意顺序相继地给药,其中优选存在两种(或所有)活性剂同时发挥它们的生物活性的时间段。

[0182] 上述同时给药的药物中的任一种的适合的剂量是当前使用的那些,并且由于新鉴定的药物与其它治疗剂或治疗的组合(协同)作用,可以降低。

[0183] 组合治疗可提供“协同作用”并证明是“协同的”,即,活性成分在一起使用时所达到的效果大于分开使用所述化合物时所产生的效果之和。当所述活性成分:(1) 在组合的单位剂量制剂中共同配制并同时给药或者递送时;(2) 作为分开的制剂交替或平行地递送时;或者(3) 通过一些其它方案时,可达到协同效果。当在交替疗法中递送时,当所述化合物例如通过在分开的注射器中分别注射、通过分开的丸剂或胶囊剂、或通过分开的输注依次给药或递送时,可达到协同效果。通常在交替疗法中,相继地,即连续地,给药有效剂量的各活性成分,而在组合治疗中,一起给药有效剂量的两种或多种活性成分。

[0184] 在治疗的一个具体的实施方案中,式 I 化合物、其立体异构体、互变异构体、溶剂化物、代谢物、药学可接受的盐或前药可以与例如本文所述的那些的其它治疗剂、激素或抗体组合,还可与外科治疗和放疗组合。因此,本发明的组合治疗包括给药至少一种式 I 化合物、其立体异构体、互变异构体、溶剂化物、代谢物、药学可接受的盐或前药,以及使用至少一种其它癌症治疗方法。为了达到期望的组合治疗效果,选择式 I 化合物和其它药学活性治疗剂的量以及给药的相对时机。

[0185] 式 I 化合物的代谢物

[0186] 本文所述的式 I 化合物的体内代谢产物也在本发明的范围内。这样的产物可由例如被给药的化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、脱酰胺化、酯化、脱脂化、酶解等产生。因此,本发明包括式 I 化合物的代谢物,包括通过使本发明的化合物与哺乳动物接触足以产生其代谢产物的时间的方法制得的化合物。

[0187] 代谢产物通常通过制备本发明的放射性同位素(例如 ^{14}C 或 ^3H) 标记的化合物,将其以可检测的剂量(例如大于约 0.5mg/kg)向动物例如大鼠、小鼠、天竺鼠、猴或人肠胃外给药,代谢足够的时间(通常约 30 秒至 30 小时),然后从尿、血液或其它生物样品分离其转化产物进行鉴定。这些产物易于分离,因为它们是标记的(其它的通过使用能够结合代谢物中存余的表位的抗体进行分离)。代谢物结构以常规方法测定,例如通过 MS、LC/MS 或 NMR 分析。通过以与本领域技术人员公知的常规药物代谢研究相同的方式进行代谢物的分析。代谢产物,只要未在体内发现它们,可用于诊断测定中,以治疗性给药本发明的化合物。

[0188] 制品

[0189] 在本发明的另一个实施方案中,提供包含用于治疗上述疾病和病症的材料的制品

或“药盒”。在一个实施方案中,所述药盒包括包含式 I 化合物、其立体异构体、互变异构体、溶剂化物、代谢物、药学可接受的盐或前药的容器。所述药盒还可包括在所述容器上或伴随所述容器的标签或包装说明书。术语“包装说明书”是指治疗产品的商业包装中通常包含的说明书,其包含使用该治疗产品相关的适应征、用法、剂量、给药、禁忌和 / 或警示的信息。适合的容器包括,例如,瓶、小瓶、注射器、泡罩包装等。所述容器可以由各种材料例如玻璃和塑料制成。所述容器可容纳对治疗病症有效的式 I 化合物或其制剂,并且可具有无菌入口(例如,所述容器可以是静脉内溶液剂袋或者具有可被皮下注射针刺穿的瓶塞的小瓶)。所述组合物中的至少一种活性成分是式 I 化合物。标签或包装说明书指明所述组合物用于治疗所选的病症例如癌症。此外,标签或包装说明书可指明要治疗的患者是患有诸如过度增殖性病症、神经变性、心脏肥厚、疼痛、偏头痛或神经外伤性疾病或事件之类病症的患者。在一个实施方案中,标签或包装说明书指明包含式 I 化合物的组合物可用来治疗起因于异常细胞生长的病症。标签或包装说明书还可指明所述组合物可用来治疗其它病症。替代地,或者额外地,所述制品还可包括第二容器,其包含药学可接受的缓冲剂例如抑菌的注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏液和葡萄糖溶液。所述制品还可包括就商业和用户而言令人期望的其它材料,包括其它缓冲剂、稀释剂、填料、针和注射器。

[0190] 所述药盒还可包括给药式 I 化合物和第二药物制剂(若存在)的说明书。例如,若所述药盒包括含有式 I 化合物的第一组合物和第二药物制剂,则该药盒还可包括向有此需要的患者同时、相继或分开地给药第一药物组合物和第二药物组合物的说明书。

[0191] 在另一个实施方案中,所述药盒适合于递送式 I 化合物的固体口服形式例如片剂或胶囊剂。这样的药盒优选地包括多个单位剂量。这样的药盒可包括具有以它们的预期用途定位的剂量的卡片。这样的药盒的一个实例是“泡罩包装”。泡罩包装在包装工业中是公知的并且广泛用于包装药学单位剂量形式。若期望,可以例如指定在治疗时间表中可给药之日的数字、字母或其它标记或者日历插页的形式提供记忆辅助工具。

[0192] 根据一个实施方案,药盒可包括(a)其中容纳有式 I 化合物的第一容器;并任选地包括(b)其中容纳有第二药物制剂的第二容器,其中所述第二药物制剂包含具有抗过度增殖活性的第二化合物。替代地,或者额外地,所述药盒还可包括第三容器,其包含药学可接受的缓冲剂例如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏液和葡萄糖溶液。所述药盒还可包括就商业和用户而言令人期望的其它材料,包括其它缓冲剂、稀释剂、填料、针和注射器。

[0193] 在其中所述药盒包括式 I 化合物的组合物和另一治疗剂的一些其它实施方案中,所述药盒可包括用于容纳分开的组合物的容器例如分开的瓶或分开的箔包装,但是,分开的组合物还可容纳在单个的未分开的容器中。通常,所述药盒包括给药分开的组分的说明书。所述药盒形式在以下情形中特别有利:在分开的组分优选地以不同的剂型(例如口服和肠胃外)给药或者以不同的间隔给药时,或者在处方医师期望逐步增加组合中的 e 各个组分的剂量时。

[0194] 式 I 化合物的制备

[0195] 式 I 的化合物可通过包括与化学领域中公知的那些方法类似的方法在内的合成路线合成,具体地参见本文中的说明书,以及在 Comprehensive Heterocyclic Chemistry II, Katritzky 和 Rees 著, Elsevier, 1997, 例如 Volume 3; Liebigs Annalen der

Chemie, (9):1910-16, (1985); Helvetica Chimica Acta, 41:1052-60, (1958); Arzneimittel-Forschung, 40(12):1328-31, (1990) (分别通过援引明确地加入本文中) 中对其它杂环的那些描述。原料一般可从商业来源例如 Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI) 获得, 或者利用本领域技术人员公知的方法容易地制得 (例如通过在 Louis F. Fieser 和 Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis, v. 1-23, Wiley, N. Y. (1967-2006ed.), 或者 Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlin, 包括附录 (也可通过 Beilstein 在线数据库获得) 中概述的方法制得。

[0196] 用于合成式 I 化合物的合成化学转化和保护基团方法 (保护和脱保护) 以及所需的试剂和中间体是本领域已知的, 并且包括, 例如, 在 R. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers (1989); T. W. Greene 和 P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Ed., John Wiley and Sons (1999); 和 L. Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1995) 及其后续版本中所述的那些。

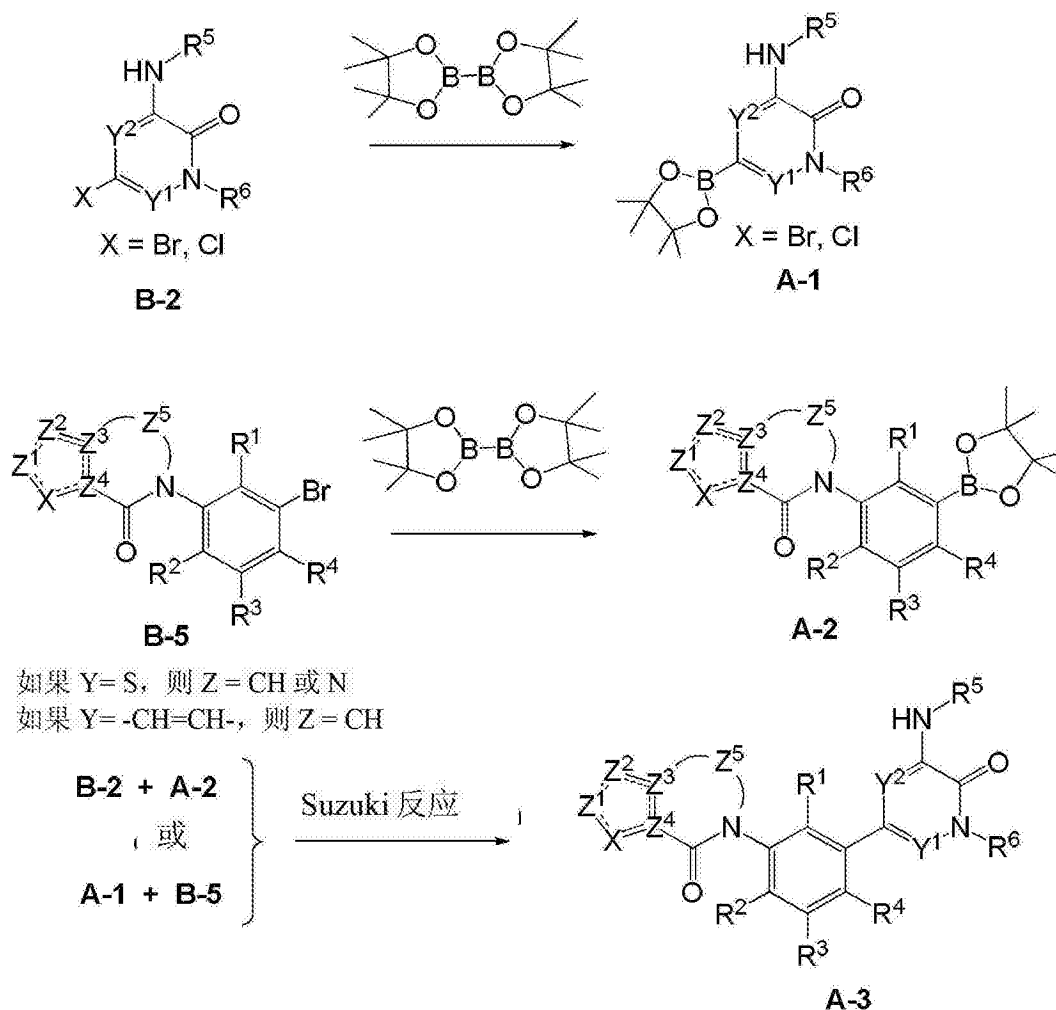
[0197] 式 I 化合物可单独地或者以包含至少 2 种例如 5-1,000 种化合物或者 10-100 种化合物的化合物库的形式进行制备。式 I 的化合物库可以按照本领域技术人员已知的方法通过组合的 '分开和混合' 方法, 或者通过多级平行合成, 利用液相或固相化学进行制备。因此, 根据本发明的另一方面, 提供包含至少 2 种化合物或其药学可接受的盐的化合物库。

[0198] 附图和实施例提供制备式 I 化合物的示例性方法。本领域技术人员会理解, 其它合成路线可用来合成式 I 化合物。虽然在附图和实施例中描述和讨论了具体的原料和试剂, 但是可容易地替换成其它原料和试剂以提供各种衍生物和 / 或反应条件。此外, 还可参考本公开, 利用本领域技术人员公知的常规化学对通过所述方法制得的许多实例化合物进一步进行修饰。

[0199] 在制备式 I 化合物时, 可能需要保护中间体的远端官能团 (例如伯胺或仲胺)。对这种保护的需要可随着远端官能团的性质以及制备方法的条件而改变。适合的氨基保护基包括乙酰基、三氟乙酰基、叔丁氧羰基 (BOC)、苄氧基羰基 (CBz) 和 9- 芴基亚甲基氧基羰基 (Fmoc)。本领域技术人员容易地确定这样保护的必要性。关于保护基的概述及它们的用途, 参见 T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 1991。

[0200] 一般方法 A Suzuki 偶联

[0201]



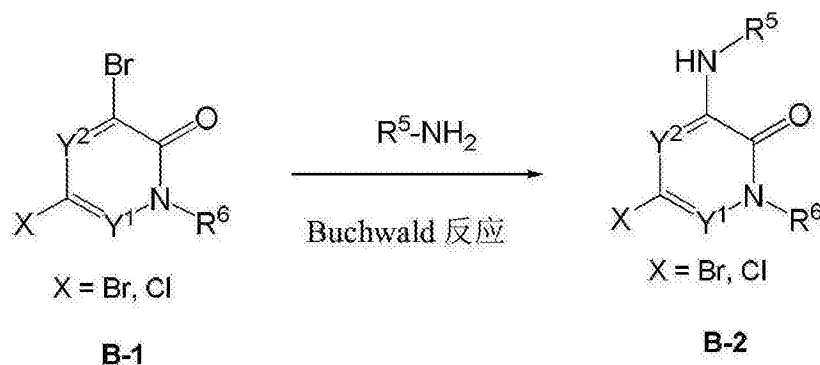
[0202] Suzuki 型偶联反应用来形成碳-碳键,以连接式 I 化合物和中间体例如 A-3 的环 (Suzuki (1991) Pure Appl. Chem. 63:419-422; Miyaura 和 Suzuki (1979) Chem. Reviews 95(7):2457-2483; Suzuki (1999) J. Organometal. Chem. 576:147-168)。Suzuki 偶联是钯介导的芳基卤例如 B-2 或 B-5 与硼酸例如 A-1 或 A-2 的交叉偶联反应。例如,可将 B-2 与约 1.5 当量的 4,4,4',4',5,5,5',5'-八甲基-2,2'-二(1,3,2-二氧杂环戊硼烷)混合,并且溶于约 3 当量的碳酸钠 (1M 水溶液) 和等体积的乙腈中。加入催化量或更多的低价钯试剂例如双(三苯基膦)二氯化钯 (II)。在一些情况中,用乙酸钾替代碳酸钠来调节水层的 pH。然后将反应在微波反应器例如 Biotage Optimizer (Biotage, Inc.) 中,在压力下加热至约 140-150° C 持续 10-30 分钟。用乙酸乙酯或另一种有机溶剂萃取内容物。在蒸发有机层后,可在硅胶上或通过反相 HPLC 纯化硼酸酯 A-1。取代基 Y^1 、 Y^2 、 R^5 和 R^6 是如所定义的那样,或者是其受保护形式或前体。同样,可将溴化物中间体 B-5 硼酸酯化得到 A-2。取代基 Y^1 、 Y^2 、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 Z^1 、 Z^2 、 Z^3 、 Z^4 和 X 是如所定义的那样,或是其被保护形式或前体。

[0203] B-2 和 A-2 或者 A-1 和 B-5 的 Suzuki 偶联产生式 I 化合物或中间体 A-3。将硼酸酯 (或硼酸) (1.5eq) A-1 或 A-2 和钯催化剂例如双(三苯基膦)二氯化钯 (II) (0.05eq) 加入到卤代中间体 (1eq) B-2 或 B-5 在乙腈和 1M 碳酸钠水溶液 (与乙腈等体积) 中的混合物中。将反应混合物在微波中加热至约 150° C 持续约 15min。LC/MS 指示何时反应完成。将水加入到混合物中,过滤沉淀的产物,然后通过 HPLC 纯化得到产物 A-3。取代基 R^1 、 R^2 、 R^4 可以是所定义的 R^1 、 R^2 、 R^4 , 或者是其被保护的形式或前体。

[0204] 在 Suzuki 偶联步骤中可使用各种钯催化剂。各种低价 Pd(II) 和 Pd(0) 催化剂可用于 Suzuki 偶联反应, 包括 $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ 、 $\text{Pd}(\text{t-Bu})_3$ 、 PdCl_2dppf 、 CH_2Cl_2 、 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ 、 $\text{Pd}(\text{OAc})/\text{PPh}_3$ 、 $\text{Cl}_2\text{Pd}[(\text{Pet}_3)]_2$ 、 $\text{Pd}(\text{DIPHOS})_2$ 、 $\text{Cl}_2\text{Pd}(\text{Bipy})$ 、 $[\text{PdCl}(\text{Ph}_2\text{PCH}_2\text{PPh}_2)]_2$ 、 $\text{Cl}_2\text{Pd}[\text{P}(\text{o-tol})_3]_2$ 、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3/\text{P}(\text{o-tol})_3$ 、 $\text{Pd}_2(\text{dba})/\text{P}(\text{furyl})_3$ 、 $\text{Cl}_2\text{Pd}[\text{P}(\text{furyl})_3]_2$ 、 $\text{Cl}_2\text{Pd}(\text{PMePh}_2)_2$ 、 $\text{Cl}_2\text{Pd}[\text{P}(4\text{-F-Ph})_3]_2$ 、 $\text{Cl}_2\text{Pd}[\text{P}(\text{C}_6\text{F}_5)_3]_2$ 、 $\text{Cl}_2\text{Pd}[\text{P}(2\text{-COOH-Ph})(\text{Ph})_2]_2$ 、 $\text{Cl}_2\text{Pd}[\text{P}(4\text{-COOH-Ph})(\text{Ph})_2]_2$, 以及包封的催化剂 $\text{Pd EnCat}^{\text{TM}}30$ 、 $\text{Pd EnCat}^{\text{TM}}\text{TPP}30$ 和 $\text{Pd}(\text{II}) \text{EnCat}^{\text{TM}}\text{BINAP}30$ (US2004/0254066)。

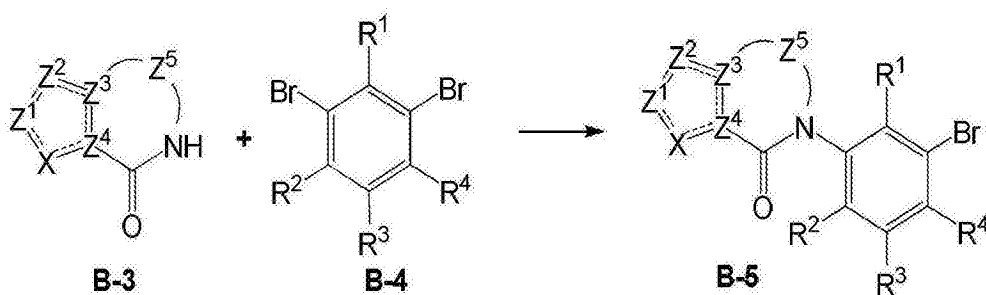
[0205] 一般方法 B Buchwald 反应

[0206]



[0207] Buchwald 反应用于氨化 6-溴中间体 B-1 (Wolf 和 Buchwald (2004) Org. Synth Coll. Vol. 10:423 ; Paul 等人 (1994) Jour. Amer. Chem. Soc. 116:5969-5970)。向卤代中间体 B-1 在 DMF 中的溶液中加入适合的胺 $\text{R}^5\text{-NH}_2$ (200mol%)、 Cs_2CO_3 (50mol%)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (5mol%) 和 XANTPHOS (10mol%)。将反应在 Biotage Optimizer 微波反应器中, 在压力下加热至约 110°C 持续约 30min。在真空中浓缩所得的溶液得到 B-2。可使用其它钯催化剂和膦配体。

[0208]



[0209] N-芳基酰胺中间体 B-5 也可用环酰胺中间体 B-3 和芳基溴 B-4 通过 Buchwald 反应进行制备。

[0210] 图 1 显示制备式 I 化合物 8 的示例性合成路线, 其包括将双环 pyrolone 4 与甲基苯或羟甲基苯 5 偶联以得到中间体 6 的 Buchwald 偶联反应, 随后进行连续的 Suzuki 反应以制备硼酸酯 (boronate) 7 并将其与溴吡啶酮或溴吡嗪酮 2 偶联, 或者进行单次 Suzuki 反应以将 6 与吡啶酮硼酸酯或吡嗪酮硼酸酯 3 偶联。溴吡啶酮或溴吡嗪酮 2 可通过二溴吡啶酮或二溴吡嗪酮与杂环胺或苯胺的 Buchwald 反应制备。吡啶酮硼酸酯或吡嗪酮硼酸酯 3 可以通过 2 与二硼酸酯的 Suzuki 反应制备。

[0211] 图 2 显示制备式 I 化合物 8 的示例性合成路线, 其包括将所述双环 pyrolone 结合在溴苯胺衍生物上, 以得到溴化物, 所述溴化物可用于图 1 所描绘的作用中。

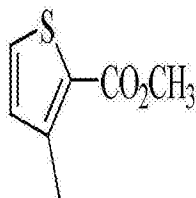
[0212] 图 3 显示制备式 I 化合物 8 的示例性合成路线,其包括将所述双环 pyrolone 结合在分子 12 的剩余部分的氨基衍生物上。

[0213] 实施例

[0214] 实施例 101

[0215] 实施例 101a 3-甲基噻吩-2-羧酸甲酯 101a

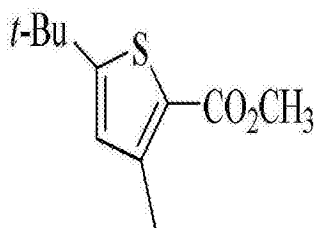
[0216]



[0217] 将在 30mL 甲醇中的 3-甲基噻吩-2-甲酰氯 (1) (10mL, 18mmol) 在回流下加热到沸腾持续 18 小时,然后真空浓缩。将残余物在乙醚和水之间分配。用 Na_2SO_4 干燥有机层并浓缩,得到 101a (12.12g, 100%),为澄清油,其不经进一步纯化加以使用。

[0218] 实施例 101b 5-叔丁基-3-甲基噻吩-2-羧酸甲酯 101b

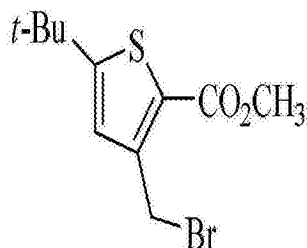
[0219]



[0220] 将 AlCl_3 (15.60g, 117mmol) 悬浮于 CH_2Cl_2 (18mL),并将混合物冷却至 -78°C 。在 5min 内滴加 12.28g (78mmol) 101a 在 CH_2Cl_2 (9mL) 中的溶液。将混合物搅拌 5 分钟。然后在 45min 内加入 8.9mL (82mmol) 2-氯-2-甲基丙烷在 CH_2Cl_2 (9mL) 中的溶液,并在 -78°C 搅拌所得混合物 1h。然后缓慢地将反应混合物温热至室温并搅拌 24h。然后将反应混合物倒在冰上并用 CH_2Cl_2 萃取。用 Na_2SO_4 干燥有机层并浓缩成油,将其在硅胶上纯化,用 CH_2Cl_2 在己烷中的梯度 (0-10%) 洗脱,得到 9.94g (60%) 101b。

[0221] 实施例 101c 3-(溴甲基)-5-叔丁基噻吩-2-羧酸甲酯 101c

[0222]

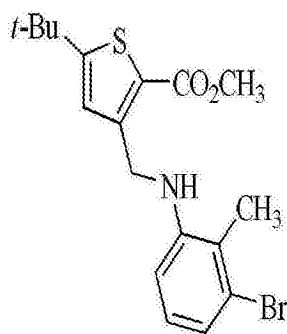


[0223] 将 3.15g (14.8mmol) 101b, 3.17g (17.8mmol) N-溴代琥珀酰亚胺和 0.122g (0.742mmol) 2,2'-偶氮二异丁腈在 40mL 四氯化碳中的混合物于 85°C 加热过夜。将反应混合物冷却至室温并过滤。真空浓缩滤液,并在硅胶上纯化所得残余物:ISC040g 柱,0-20% CH_2Cl_2 己烷溶液。分离出 3.0g (70%) 101c。

[0224] 实施例 101d 3-((3-溴-2-甲基苯基氨基)甲基)-5-叔丁基噻吩-2-羧酸甲酯

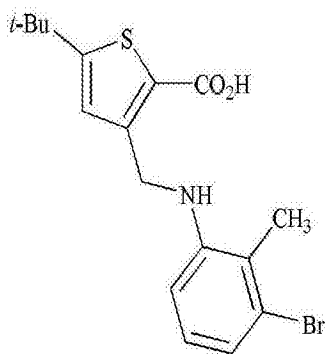
101d

[0225]



[0226] 用氮气吹扫安装了磁搅拌器的 250-mL 单颈圆底烧瓶并装入 101c (1.09g, 4.68mmol)、3-溴-2-甲基苯胺 (2.61g, 14.0mmol) 和乙腈 (25mL)。加入碳酸铯 (1.67g, 5.15mmol) 并在室温下搅拌混合物 16h。然后将反应混合物减压浓缩。通过柱色谱纯化所得残余物,得到 70% 收率 (1.30g) 的 101d,为黄色油:¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 6.92 (m, 2H), 6.85 (s, 1H), 6.57 (dd, 1H, J=4.8, 2.1Hz), 4.60 (s, 2H), 3.86 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 1.37 (s, 9H); MS (ESI⁺) m/z 396.2 (M+H)。

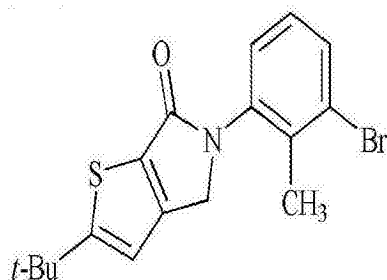
[0227] 实施例 101e 3-((3-溴-2-甲基苯基氨基)甲基)-5-叔丁基噻吩-2-羧酸 101e
[0228]



[0229] 在安装了磁搅拌器的 50-mL 单颈圆底烧瓶中装入 101d (1.30g, 3.28mmol)、THF (5.0mL)、甲醇 (5.0mL) 和水 (5.0mL)。加入氢氧化锂 (1.38g, 32.8mmol) 并将混合物置于 40° C 油浴中。16h 后,将反应混合物冷却至室温,并减压出去挥发物。用 2N 盐酸将所得水溶液酸化至 pH4。滤出所得固体并于 40° C 真空干燥,得到定量收率 (1.25g) 的 101e,为白色固体:mp 150 - 152° C;¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 6.85 (t, 1H, J=7.8Hz), 6.75 - 6.67 (m, 3H), 4.35 (s, 2H), 2.18 (s, 3H), 1.26 (s, 9H); MS (APCI⁻) m/z 380.2 (M-H)。

[0230] 实施例 101f 5-(3-溴-2-甲基苯基)-2-叔丁基-4H-噻吩并 [3,2-c] 吡咯-6(5H)-酮 101f

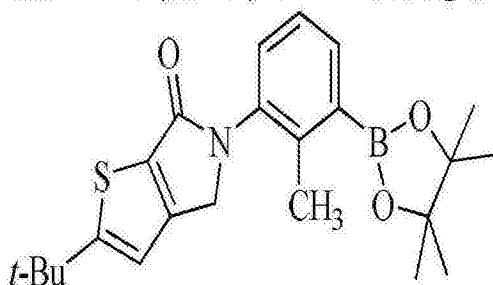
[0231]



[0232] 用氮气吹扫安装了磁搅拌器的 250-mL 单颈圆底烧瓶并装入 101e (1.12g, 2.93mmol) 和无水二氯甲烷 (50mL)。加入 (1.25g, 10.5mmol) 亚硫酰氯并在环境温度下搅拌反应。16h 后, 减压浓缩反应。通过柱色谱纯化所得残余物, 得到 65% 收率 (757mg) 的 101f, 为白色固体: mp 185 - 186° C; $^1\text{H NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ 7.56 (dd, 1H, $J=6.6, 1.2\text{Hz}$), 7.20 (dd, 1H, $J=6.3, 1.5\text{Hz}$), 7.11 (t, 1H, 7.8Hz), 6.87 (s, 1H), 4.56 (s, 2H), 2.33 (s, 3H), 1.45 (s, 9H); MS (ESI+) m/z 364.2 (M+H)。

[0233] 实施例 101g 2-叔丁基-5-(2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基)-4H-噻吩并[3,2-c]吡咯-6(5H)-酮 101g

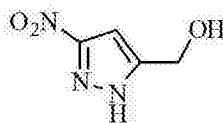
[0234]



[0235] 在安装了磁搅拌器的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 (7) (757mg, 2.08mmol)、双(戊酰)二硼 (554mg, 2.18mmol)、双(二亚苄基丙酮)钯 (191mg, 0.21mmol)、二环己基(2',4',6'-三异丙基联苯-2-基)膦 (X-Phos) (198mg, 0.42mmol)、乙酸钾 (306mg, 3.12mmol) 和无水二噁烷 (10mL)。然后密封烧瓶, 并通过三次抽空烧瓶和再充入氮气将混合物脱气。然后将反应置于 80° C 油浴中。16h 后, 将反应冷却至室温并减压浓缩成残余物。然后, 用乙酸乙酯 (300mL) 稀释所得残余物并用水 (120mL) 洗涤。然后分离有机层并用硫酸钠干燥。通过真空过滤除去干燥剂; 减压浓缩滤液, 并通过柱色谱纯化所得残余物, 得到 (8), 收率 63% (541mg), 为黄色泡沫: mp 102 - 104° C; $^1\text{H NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ 7.79 (dd, 1H, $J=5.4, 1.8\text{Hz}$), 7.29 (m, 1H), 7.23 (m, 1H), 6.86 (s, 1H), 4.53 (s, 2H), 2.45 (s, 3H), 1.41 (s, 9H), 1.27 (s, 12H); MS (APCI+) m/z 411.2 (M)。

[0236] 实施例 101h (3-硝基-1H-吡唑-5-基)甲醇 101h

[0237]



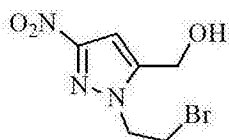
101h

[0238] 用氮气吹扫安装有机机械搅拌器、滴液漏斗和氮气入口的 3-L 三颈圆底烧瓶, 装入

3-硝基吡唑-5-羧酸 (28.0g, 178mmol) 和 THF (420mL) 并使用冰 / 丙酮浴冷却至 -5°C 。以维持内部反应温度低于 5°C 速度添加硼烷-THF 络合物 (1.0M, 535mL, 535mmol)。完成添加后, 除去冷却浴并在室温下搅拌反应 18h。然后, 使用冰 / 丙酮浴将反应冷却至 -5°C , 加入水 (70mL) 和 4N 盐酸 (70mL), 并于回流下搅拌反应 1h, 以用吡唑破坏硼烷络合物。将反应冷却至室温并减压浓缩到约 30mL 的体积。加入乙酸乙酯 (175mL) 并搅拌混合物 15min。分离水层并用乙酸乙酯 (4×200mL) 萃取。用饱和碳酸氢钠水溶液 (2×50mL)、盐水 (50mL) 洗涤合并的有机层并用硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 减压浓缩滤液, 得到 (3-硝基-1H-吡唑-5-基) 甲醇 (101h), 收率 94% (24.0g), 为浅黄色固体: $^1\text{H NMR}$ (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 13.90 (br s, 1H), 6.87 (s, 1H), 5.58 (t, 1H, $J=5.4\text{Hz}$), 4.53 (d, 2H, $J=5.1\text{Hz}$); $\text{MS (ESI}^+)$ m/z 144.0 (M+H)。

[0239] **实施例 101i** (1-(2-溴乙基)-3-硝基-1H-吡唑-5-基) 甲醇 101i

[0240]

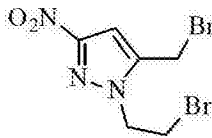


101i

[0241] 用氮气吹扫安装了机械搅拌器和温度调节器的 1-L 三颈圆底烧瓶并装入 (3-硝基-1H-吡唑-5-基) 甲醇 101h (25.0g, 175mmol)、DMF (250mL) 和碳酸铯 (70.0g, 215mmol), 于 104°C 加热 5min。然后使用冰 / 丙酮浴将反应混合物冷却至 0°C , 并分批加入二溴乙烷 (329g, 1.75mol) (无放热)。于 0°C 搅拌反应 1h, 然后在室温下搅拌 4h。然后, 缓慢地加入 KH_2PO_4 (40g) 在水 (400mL) 中的溶液。在室温下搅拌反应混合物 30min。加入乙酸乙酯 (450mL), 分离水层并用乙酸乙酯 (2×100mL) 萃取。用水 (200mL)、盐水 (200mL) 洗涤合并的有机层, 用硫酸钠干燥, 并过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液, 得到 86% 收率 (37.5g) 的粗品 (1-(2-溴乙基)-3-硝基-1H-吡唑-5-基) 甲醇 (101i), 为橙色油: $^1\text{H NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ 6.85 (s, 1H), 4.82 (d, 2H, $J=5.4\text{Hz}$), 4.66 (t, 2H, $J=6.3\text{Hz}$), 3.83 (t, 2H, $J=6.3\text{Hz}$); $\text{MS (ESI}^+)$ m/z 249.9 (M+H)。该材料直接用于下一步骤。

[0242] **实施例 101j** 1-(2-溴乙基)-5-(溴甲基)-3-硝基-1H-吡唑 101j

[0243]



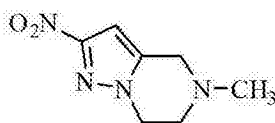
101j

[0244] 用氮气吹扫安装了磁搅拌器、氮气入口和回流冷凝器的 500-mL 三颈圆底烧瓶并装入 (1-(2-溴乙基)-3-硝基-1H-吡唑-5-基) 甲醇 101j (37.0g, 148mmol) 和氯仿 (160mL)。使用冰 / 丙酮浴将反应冷却至 -5°C 并滴加三溴化磷 (40.0g, 148mmol)。除去冷却浴并在回流下搅拌反应 2h。然后, 将反应冷却至 -5°C , 并加入饱和碳酸氢钠水溶液 (250mL), 直至达到 pH 8.5。用乙酸乙酯 (3×150mL) 萃取混合物, 并用饱和碳酸钠水溶液 (2×50mL)、盐水 (75mL) 洗涤合并的有机层, 用硫酸钠干燥, 并过滤除去干燥剂。减压浓缩

滤液,得到黄色残余物,在微热下将其溶于二氯甲烷(60mL)。加入己烷(约20mL),溶液变浑浊。加热混合物直至形成固体沉淀,加入二氯甲烷(9mL),溶液变澄清。使溶液冷却至室温,在4h后通过真空过滤收集所得的晶体。用冰冷的二氯甲烷:己烷的1:2混合物洗涤滤饼(2×20mL),得到1-(2-溴乙基)-5-(溴甲基)-3-硝基-1H-吡唑(101j)(19.7g)。蒸发合并的滤液,再进行该程序,得到额外9.70g 1-(2-溴乙基)-5-(溴甲基)-3-硝基-1H-吡唑。合并固体并在高真空下干燥18h,得到57%收率(26.0g)的1-(2-溴乙基)-5-(溴甲基)-3-硝基-1H-吡唑,为白色晶体:mp 95-97°C; ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ 6.93(s, 1H), 4.63(t, 2H, J=6.0Hz), 4.54(s, 2H), 3.86(t, 2H, J=6.0Hz)。

[0245] 实施例 101k 5-甲基-2-硝基-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪 101k

[0246]

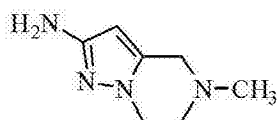


101k

[0247] 向安装了磁搅拌器和氮气入口的1-L单颈圆底烧瓶中装入THF(350mL)、1-(2-溴乙基)-5-(溴甲基)-3-硝基-1H-吡唑 101j(10.0g, 32.2mmol)、2M甲胺THF溶液(113mL, 225mmol),并在室温下搅拌72h。然后,减压浓缩反应至干燥,并用乙酸乙酯(75mL)和10%碳酸钾水溶液(75mL)搅拌所得固体。分离水层并用乙酸乙酯(2×75mL)萃取。用10%碳酸钾水溶液(75mL)、然后用盐水(50mL)洗涤合并的有机萃取液,并用硫酸钠干燥。过滤除去干燥剂,并减压浓缩滤液,得到5-甲基-2-硝基-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪 101k,收率97%(5.70g),为黄色固体: ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ 6.62(s, 1H), 4.28(t, 2H, J=5.4Hz), 3.67(s, 2H), 2.95(t, 2H, J=5.4Hz), 2.52(s, 3H); MS(ESI+) m/z 183.0(M+H)。

[0248] 实施例 101l 5-甲基-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-胺 101l

[0249]

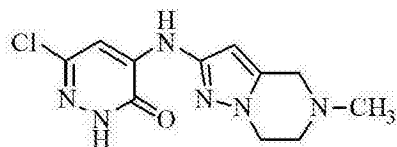


101l

[0250] 用氮气吹扫Parr反应器瓶并装入10%炭载钯(含水50%, 800mg干重)和5-甲基-2-硝基-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪 101k(4.00g, 2.20mmol)在乙醇(160mL)中的溶液。将瓶连接Parr氢化器,抽空,充入氢气至45psi的压力并摇晃2h。然后,抽空氢气,并向瓶中冲入氮气。加入Celite521(1.0g),并通过Celite521垫过滤混合物。用乙醇(2×75mL)洗涤滤饼,并减压浓缩合并的滤液至干燥,得到99%收率的5-甲基-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-胺(101l)(3.31g),为橙色固体: ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ 5.34(s, 1H), 3.98(t, 2H, J=5.4Hz), 3.52(s, 3H), 2.84(t, 2H, J=5.7Hz), 2.45(s, 3H); MS(ESI+) m/z 153.1(M+H)。

[0251] 实施例 101m 6-氯-4-(5-甲基-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基氨基)哒嗪-3(2H)-酮 101m

[0252]



101m

[0253] 向安装了磁搅拌器、回流冷凝器和氮气入口的 50-mL 单颈圆底烧瓶装入 1,4-二噁烷 (5.0mL)、5-甲基-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-胺 1011 (152mg, 1.00mmol)、4-溴-6-氯哒嗪-3(2H)-酮 (209mg, 1.00mmol)、和 LiHMDS 的 1M THF 溶液 (5.0mL, 5.00mmol)。向所得溶液通入氮气 30min, 然后加入 Xantphos (49mg, 0.05mmol) 和三(二亚苄基丙酮)二钯(0) (59mg, 0.085mmol), 并在回流下加热反应混合物 3h。然后, 将反应冷却至室温, 并加入水 (10mL)。用 2N 盐酸调节 pH 至 6.5。通过真空过滤收集所得沉淀, 用水洗涤 (2×25mL), 吸附在硅胶上并通过色谱纯化, 得到 74% 收率 (210mg) 的 6-氯-4-(5-甲基-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基氨基)哒嗪-3(2H)-酮 101m, 为浅棕色固体: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 12.94 (s, 1H), 9.55 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 5.96 (s, 1H), 4.04 (t, 1H, $J=5.7\text{Hz}$), 3.53 (s, 2H), 2.82 (t, 2H, $J=5.7\text{Hz}$), 2.36 (s, 3H); MS (ESI+) m/z 281.1 (M+H)。

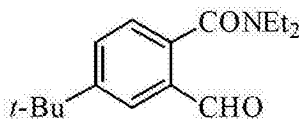
[0254] 实施例 101 6-(3-{2-叔丁基-6-氧代-4H,5H,6H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5-基}-2-甲基苯基)-4-({5-甲基-4H,5H,6H,7H-吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基}氨基)-2,3-二氢哒嗪-3-酮 101

[0255] 在干燥的耐压烧瓶中装入 0.968mmol 101m、1.065mmol 101g 和 56mg (5mol%) 四(三苯基膦)钯(0)。真空下抽空烧瓶, 然后充入氮气。再重复该操作两次, 然后加入 8mL 无水二噁烷和 2.4mL (2.5 当量) 1M 碳酸钠水溶液, 并在 100° 加热混合物 18h。将混合物冷却至室温, 然后用乙酸乙酯稀释, 用饱和 NaCl 水溶液洗涤 4 次, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 并通过在 Biotage 25M KP NH 柱上进行色谱来纯化, 得到 101。 ^1H NMR (400MHz, DMSO) δ 12.96 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.54 - 7.32 (m, 3H), 7.15 (s, 1H), 5.97 (s, 1H), 4.78 (s, 2H), 3.97 (t, $J=5.3$, 2H), 3.52 (s, 2H), 2.80 (t, $J=5.4$, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.11 (d, $J=12.1$, 3H), 1.42 (s, 9H)。ESIMS $m/z=530.2$ (M+1)。

[0256] 实施例 102

[0257] 实施例 102a 4-叔丁基-N,N-二乙基-2-甲酰基苯甲酰胺 102a

[0258]



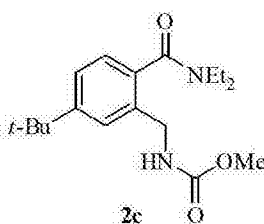
102a

[0259] 用氮气吹扫安装了磁搅拌器和回流冷凝器的 1-L 三颈圆底烧瓶并装入 TMEDA (11.6g, 100mmol) 和 THF (160mL)。将反应冷却至 -70° C, 滴加 *s*-BuLi (1.4M 己烷溶液, 69mL, 96.7mmol) 并在 -70° C 搅拌反应 25min。在氮气下向安装了磁搅拌器的单独的 100-mL 三颈圆底烧瓶加入 4-叔丁基-N,N-二乙基苯甲酰胺 (18.6g, 79.8mmol) 和 THF (50mL)。将溶液冷却至 -70° C, 并在保持温度在 -75 至 -70° C 的情况下在 8min 内

导入到 TMEDA/s-BuLi 的冷 (-75°C) 溶液中。完成加入后,在 -70°C 搅拌反应 20min。然后,在保持温度低于 -70°C 的情况下在 2min 内滴加 DMF (17.9g, 245mmol)。在 -70°C 搅拌 70min,然后除去冷却浴并使反应在 20min 内温热至 -30°C 。然后,加入 4M 盐酸 (80mL, 320mmol) (溶液 pH6.5)。搅拌 30min 后,分离有机层并减压浓缩至干燥。然后将残余物在己烷 (200mL) 和水 (200mL) 之间分配。分离有机层,用硫酸钠干燥,并过滤。减压浓缩滤液,并通过柱色谱纯化所得残余物,得到 88% 收率 (18.3g) 的 102a,为黄色油; ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 10.0 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.71 (d, 1H, $J=6.3\text{Hz}$), 7.28 (d, 1H, $J=6.4\text{Hz}$), 3.62 (m, 2H), 3.18 (m, 2H), 1.36 (s, 9H), 1.31 (t, 3H, $J=7.2\text{Hz}$), 1.07 (t, 3H, $J=7.1\text{Hz}$)。

[0260] 实施例 102b 5-叔丁基-2-(二乙基氨基甲酰基)苄基氨基甲酸甲酯 102b

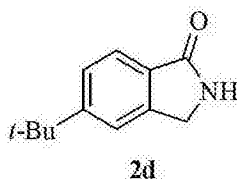
[0261]



[0262] 向安装了磁搅拌器的 25-mL 微波小瓶中装入 102a (1.00g, 3.83mmol)、氨基甲酸甲酯 (575mg, 7.66mmol)、三氟乙酸 (871mg, 7.66mmol)、三乙基甲硅烷 (888mg, 7.66mmol) 和乙腈 (10mL)。将小瓶加载到 Biotage 微波中并于 130°C 加热 1.5h。然后,真空浓缩溶液。将所得残余物在二氯甲烷 (100mL) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (30mL) 之间分配。用二氯甲烷 ($3\times 20\text{mL}$) 萃取水层。用盐水 (30mL) 洗涤合并的有机层,用硫酸钠干燥,并减压浓缩。将残余物通过柱色谱 (硅胶, 0%-60% 的乙酸乙酯/己烷) 纯化,得到 71% 收率 (858mg) 的 102b,为无色油; ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 7.42 (s, 1H), 7.29 (m, 1H), 7.12 (d, 1H, $J=7.7\text{Hz}$), 5.60 (br s, 1H), 4.27 (br s, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.57 (q, 2H, $J=6.8\text{Hz}$), 3.20 (q, 2H, $J=6.7\text{Hz}$), 1.31 (s, 9H), 1.26 (t, 3H, $J=6.7\text{Hz}$), 1.09 (t, 3H, $J=6.8\text{Hz}$); MS (ESI+) m/z 321.2 (M+H)。

[0263] 实施例 102c 5-叔丁基异吲哚啉-1-酮 102c

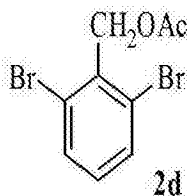
[0264]



[0265] 向安装了磁搅拌器的 25-mL 微波小瓶中装入 102b (858mg, 2.68mmol)、四氢呋喃 (5mL)、甲醇 (5mL) 和 2M 氢氧化锂水溶液 (5mL)。将小瓶加载到 Biotage 微波中并于 110°C 加热 2.5h。然后,用 2M 盐酸中和溶液至 pH7,并真空浓缩。将所得残余物在乙酸乙酯 (150mL) 和水 (30mL) 之间分配。用乙酸乙酯 ($3\times 20\text{mL}$) 萃取水层。用盐水 (30mL) 洗涤合并的有机层,用硫酸钠干燥,并减压浓缩。将残余物通过柱色谱 (硅胶, 50% 乙酸乙酯至 100% 乙酸乙酯/己烷) 纯化,得到 56% 收率 (285mg) 的 102c,为灰白色固体: mp= $132-134^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 7.80 (d, 1H, $J=7.8\text{Hz}$), 7.52 (m, 2H), 6.71 (br s, 1H), 4.44 (s, 2H), 1.37 (s, 9H); MS (ESI+) m/z 190.1 (M+H)。

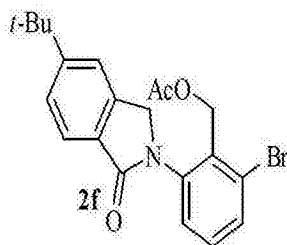
[0266] 实施例 102d 6-二溴苄基乙酸酯 102d

[0267]



[0268] 用氮气吹扫安装了磁搅拌器、回流冷凝器和氮气入口的 250-mL 单颈圆底烧瓶并装入 2,6-二溴甲苯 (2.50g, 10.0mmol)、N-溴代琥珀酰亚胺 (1.78g, 10.0mmol) 和四氯化碳 (40mL)。将溶液加热至 80° C (油浴温度), 并加入 2,2'-偶氮二异丁腈 (164mg, 1.00mmol)。将所得混合物回流 14h。然后, 将混合物冷却至室温并过滤。用四氯化碳 (2×20mL) 洗涤滤饼。用乙酸乙酯 (200mL) 稀释滤液并用水 (40mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (40mL) 和盐水 (40mL) 洗涤。用硫酸钠干燥有机层, 并减压浓缩得到定量收率 (3.28g) 的 1,3-二溴-2-(溴甲基)苯, 为黄色固体: mp 77 - 78° C; ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7.55 (d, 2H, J=8.1 Hz), 7.07 (t, 1H, J=8.1Hz), 4.83 (s, 2H)。用氮气吹扫安装了磁搅拌器、回流冷凝器和氮气入口的 250-mL 单颈圆底烧瓶并装入该残余物 (3.28g, 10.0mmol)、乙酸钾 (3.93g, 40.0mmol) 和 DMF (100mL)。在室温下搅拌溶液 14h。然后, 用水 (900mL) 稀释反应混合物并用乙酸乙酯 (3×200mL) 萃取。用盐水 (100mL) 洗涤合并的有机层, 用硫酸钠干燥, 并减压浓缩。将残余物通过柱色谱纯化, 得到 88% 收率 (2.70g) 的 102d, 为灰白色固体: mp 62 - 65° C; ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7.57 (d, 2H, J=8.0Hz), 7.07 (t, 1H, J=7.9Hz), 5.42 (s, 2H), 2.11 (s, 3H); MS (ESI+) m/z 306.9 (M+H)。

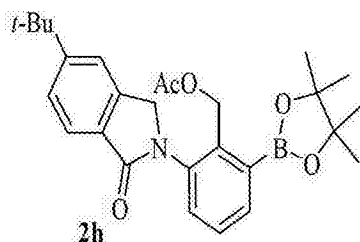
[0269] 实施例 102e 2-溴-6-(5-叔丁基-1-氧代异吲哚啉-2-基)苄基乙酸酯 102e [0270]



[0271] 用氮气吹扫安装了回流冷凝器、磁搅拌器的 100-mL 三颈圆底烧瓶并装入 102c (570mg, 3.02mmol)、102d (1.85g, 6.04mmol)、碳酸铯 (1.96g, 6.04mmol)、N,N'-二甲基-乙二胺 (266mg, 3.02mmol) 和 1,4-二噁烷 (27mL)。向所得悬浮液通入氮气 30min, 然后加入碘化铜 (287mg, 1.51mmol), 并于 105° C (油浴温度) 加热反应混合物 14h。然后, 将混合物冷却至室温并过滤。用乙酸乙酯 (150mL) 和水 (30mL) 稀释滤液。分离有机层, 并用乙酸乙酯 (3×50mL) 萃取水层。用硫酸钠干燥合并的有机层, 并减压浓缩。将残余物通过柱色谱 (硅胶, 0% 至 50% 乙酸乙酯 / 己烷) 纯化, 得到 41% 收率 (555mg) 的 102e, 为灰白色固体: mp 176 - 178° C; ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7.86 (d, 1H, J=8.1Hz), 7.66 (dd, 1H, J=7.9, 1.5Hz), 7.59 (dd, 1H, J=8.1, 1.5Hz), 7.52 (s, 1H), 7.29 (m, 2H), 5.20 (s, 2H), 4.77 (s, 2H), 1.99 (s, 3H), 1.40 (s, 9H); MS (ESI+) m/z 416.1 (M+H)。

[0272] 实施例 102f 2-(5-叔丁基-1-氧代异吲哚啉-2-基)-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苄基乙酸酯 102f

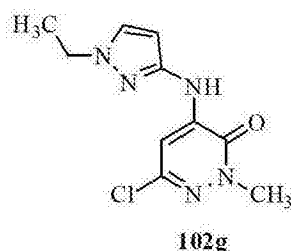
[0273]



[0274] 向安装了回流冷凝器、磁搅拌器和氮气入口的 100-mL 三颈圆底烧瓶中装入 102e (555mg, 1.34mmol)、4,4',4',5,5,5',5'-八甲基-2,2'-二(1,3,2-二氧杂环戊硼烷) (1.36g, 5.35mmol)、乙酸钾 (527mg, 5.35mmol) 和 1,4-二噁烷 (20mL)。向所得悬浮液通入氮气 30min, 然后加入 XPhos (128mg, 0.268mmol) 和三(二亚苄基丙酮)二钯 (0) (123mg, 0.134mmol), 并在 105°C (油浴温度) 下加热反应混合物 14h。然后, 将混合物冷却至室温并过滤。用乙酸乙酯 (3×20mL) 洗涤滤饼。用乙酸乙酯 (150mL) 和水 (40mL) 稀释滤液。分离有机层, 并用乙酸乙酯 (3×50mL) 萃取水层。用硫酸钠干燥合并的有机层, 并减压浓缩, 得到 74% 收率 (444mg) 的粗品 102f, 为黄色油。该材料不经进一步纯化用于下一步骤。

[0275] 实施例 102g 6-氯-4-(1-乙基-1H-吡唑-3-基氨基)-2-甲基哒嗪-3(2H)-酮 102g

[0276]



[0277] 使用与关于 101m 的制备所述相同的一般操作, 1-乙基-3-氨基-1H-吡唑 (500mg, 4.50mmol) 和 4-溴-6-氯哒嗪-3(2H)-酮 (1.00g, 4.50mmol) 的反应以 94% 收率 (1.07g) 得到 102g, 为无定形的黄色固体: mp 173 - 175°C; ¹HNMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 9.61 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.64 (d, J=2.4Hz, 1H), 6.19 (d, J=2.4Hz, 1H), 4.10 (q, J=7.2Hz, 2H), 3.65 (s, 3H), 1.37 (t, J=7.2Hz, 3H); δ MS (ESI+) m/z 254.0 (M+H)。

[0278] 实施例 102 5-叔丁基-2-(3-(5-(1-乙基-1H-吡唑-3-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)-2-(羟基甲基)苯基)异吲哚啉-1-酮 102

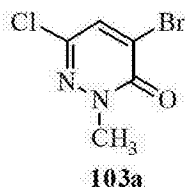
[0279] 向安装了磁搅拌器和氮气入口的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 102g (548mg, 1.18mmol)、102f (215mg, 0.848mmol)、碳酸钠 (306mg, 2.88mmol)、DMF (2mL)、水 (2mL) 和 1,4-二噁烷 (10mL)。向所得悬浮液通入氮气 30min, 然后加入四(三苯基膦)钯 (0) (222mg, 0.192mmol)。将回流冷凝器连接烧瓶, 并于 100°C 加热反应混合物 14h。然后, 用 90:10 二氯甲烷/甲醇 (100mL) 和水 (75mL) 稀释混合物, 并分离各层。用 90:10 二氯甲烷/甲醇 (2×30mL) 萃取水层, 并用盐水 (100mL) 洗涤合并的有机层, 用硫酸钠干燥。过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液, 并将所得残余物溶于 THF (5mL)、水 (5mL) 和甲醇 (5mL) 的混合物。加入氢氧化锂一水合物 (202mg, 4.81mmol) 并在室温下搅拌混合物 2h。然后,

用 90:10 二氯甲烷 / 甲醇 (150mL) 和水 (100mL) 稀释混合物, 并分离各层。用 90:10 二氯甲烷 / 甲醇 (2×100mL) 萃取水层, 并用盐水 (100mL) 洗涤合并的有机层, 用硫酸钠干燥。过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液, 并将所得残余物通过快速柱色谱 (硅胶, 90:10 二氯甲烷 / 甲醇) 纯化, 得到 102, 收率 31% (136mg), 为无定形的白色固体: mp174 - 176° C; ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 9.18 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.73 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.62 - 7.60 (m, 2H), 7.52 (t, J=3.0Hz, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.46 - 7.44 (m, 1H), 6.19 (d, J=2.5Hz, 1H), 4.92 (s, 2H), 4.66 (t, J=5.5Hz, 1H), 4.43 (d, J=5.5Hz, 2H), 4.04 (q, J=7.0Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 1.36 (s, 9H), 1.33 (t, J=7.0Hz, 3H); MS (ESI+) m/z 513.3 (M+H)。

[0280] 实施例 103

[0281] 实施例 103a 4-溴-6-氯-2-甲基吡嗪-3(2H)-酮 103a

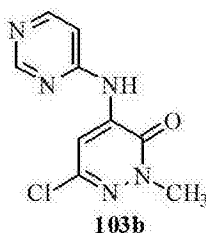
[0282]



[0283] 用氮气吹扫安装磁搅拌器的 250-mL 单颈圆底烧瓶并装入 4-溴-6-氯吡嗪-3(2H)-酮 (1.00g, 4.77mmol) 和 DMF (15mL)。一次性加入氢化钠 (在油中 60 重量 %, 229mg, 5.73mmol)。在室温下搅拌 10 分钟, 然后加入碘甲烷 (1.02g, 7.16mmol) 并在室温下搅拌反应 1.5h。然后用碳酸氢钠水溶液 (10mL) 终止反应, 并将所得溶液倒入水 (150mL) 中。然后用乙酸乙酯 (250mL) 萃取混合物。在硫酸钠上干燥有机层。然后过滤除去干燥剂, 并减压浓缩滤液成残余物。通过柱色谱纯化, 得到 103a, 收率 68% (722mg), 为白色固体: mp107 - 108° C; ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7.62 (s, 1H), 3.81 (s, 3H)。

[0284] 实施例 103b 6-氯-2-甲基-4-(嘧啶-4-基氨基)吡嗪-3(2H)-酮 103b

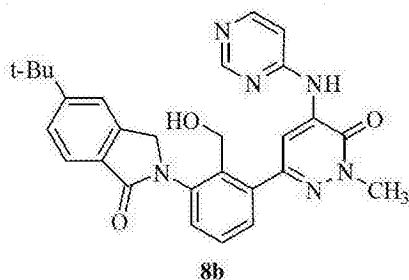
[0285]



[0286] 使用与关于 101m 的制备所述相同的一般操作, 2-氨基嘧啶 (450mg, 4.74mmol) 和 103a (1.06g, 4.74mmol) 的反应得到 103b, 收率 69% (745mg), 为无定形的黄色固体: mp233 - 235° C; ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 10.05 (s, 1H), 8.92 (d, J=1.0Hz, 1H), 8.54 (d, J=5.5Hz, 1H), 8.45 (s, 1H), 7.58 (dd, J=6.0, 1.0Hz, 1H), 3.70 (s, 3H); MS (ESI+) m/z 238.0 (M+H)。

[0287] 实施例 103 5-叔丁基-2-(2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-6-氧代-5-(嘧啶-4-基氨基)-1,6-二氢吡嗪-3-基)苯基)异吲哚啉-1-酮 103

[0288]

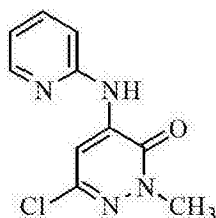


[0289] 使用与关于 102 的制备所述相同的一般操作, 103b (192mg, 0.810mmol) 和 102f (413mg, 0.891mmol) 的反应得到 103, 收率 49% (196mg), 为无定形的灰白色固体: mp 236 – 238 ° C; ^1H NMR (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.87 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.49 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 1H), 7.73 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 2H), 7.62 (dd, $J=8.0, 1.5\text{Hz}$, 1H), 7.55 – 7.53 (m, 3H), 7.52 – 7.47 (m, 1H), 4.93 (s, 2H), 4.73 (t, $J=5.0\text{Hz}$, 1H), 4.42 (d, $J=5.5\text{Hz}$, 2H), 3.80 (s, 3H), 1.36 (s, 9H); MS (ESI+) m/z 497.2 (M+H)。

[0290] 实施例 104

[0291] 实施例 104a 6-氯-2-甲基-4-(吡啶-2-基氨基)哒嗪-3(2H)-酮 104a

[0292]



[0293] 向安装了回流冷凝器、磁搅拌器和氮气入口的 250-mL 三颈圆底烧瓶中装入 2-氨基吡啶 (500mg, 5.31mmol)、103a (1.19g, 5.31mmol)、碳酸铯 (5.19g, 15.9mmol) 和 1,4-二噁烷 (75mL)。向所得悬浮液通入氮气 30min, 然后加入 Xantphos (261mg, 0.451mmol) 和三(二亚苺基丙酮)二钯(0) (243mg, 0.266mmol), 并在回流下加热反应混合物 3h。然后, 将混合物冷却至室温并用乙酸乙酯 (350mL) 和水 (40mL) 稀释。分离有机层, 并用甲醇在二氯甲烷中的 20% (v/v) 溶液 (3×100mL) 萃取水层。用硫酸钠干燥合并的有机层, 并减压浓缩。用甲醇 (30mL) 研磨残余物, 得到 92% 收率 (1.16g) 的 104a, 为灰白色固体: mp 201 – 202 ° C; ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.64 (s, 1H), 8.38 (m, 2H), 7.75 (m, 1H), 7.54 (d, 1H, $J=8.1\text{Hz}$), 7.03 (m, 1H), 3.67 (s, 3H); MS (ESI+) m/z 237.0 (M+H)。

[0294] 实施例 104 5-叔丁基-2-(2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-6-氧代-5-(吡啶-2-基氨基)-1,6-二氢哒嗪-3-基)苯基)异吲哚啉-1-酮 104

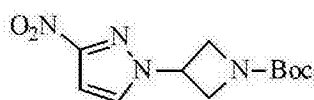
[0295] 向安装了回流冷凝器、磁搅拌器和氮气入口的 50-mL 三颈圆底烧瓶中装入 104a (236mg, 1.00mmol)、102f (536mg, 1.20mmol)、碳酸钠 (318mg, 3.00mmol)、DMF (5mL)、水 (2.5mL) 和 1,4-二噁烷 (8mL)。向所得悬浮液通入氮气 30min, 然后加入四(三苯基膦)钯(0) (116mg, 0.100mmol), 并在回流下加热反应混合物 14h。然后, 将混合物冷却至室温并用乙酸乙酯 (150mL) 和水 (30mL) 稀释。分离有机层, 并用乙酸乙酯 (3×50mL) 萃取水层。用硫酸钠干燥合并的有机层, 并减压浓缩。将残余物溶于 THF (8mL)、甲醇 (4mL) 和水 (4mL) 的混合物中。向所得溶液加入氢氧化锂一水合物 (420mg, 10.0mmol)。将混合物在室温下搅

拌 4h, 然后真空浓缩。将残余物在乙酸乙酯 (150mL) 和水 (30mL) 之间分配。分离有机层, 并用乙酸乙酯 (3×50mL) 萃取水层。用硫酸钠干燥合并的有机层, 并减压浓缩。将残余物通过柱色谱 (硅胶, 0% 至 10% 甲醇 / 二氯甲烷) 纯化, 得到 38% 收率 (187mg) 的 104, 为灰白色固体: mp 236 – 237° C; ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 9.40 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.28 (dd, 1H, J=5.0, 1.6Hz), 7.71 (m, 3H), 7.61 (dd, 1H, J=7.9, 1.5Hz), 7.50 (m, 4H), 6.96 (m, 1H), 4.93 (s, 2H), 4.68 (t, 1H, J=4.9Hz), 4.42 (d, 2H, J=5.0Hz), 3.79 (s, 3H), 1.36 (s, 9H); MS (ESI+) m/z 496.2 (M+H)。

[0296] 实施例 105

[0297] 实施例 105a 3-(3-硝基-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯 105a

[0298]

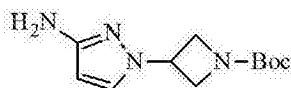


105a

[0299] 向安装了磁搅拌器和氮气入口的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 DMF (20mL)、3-硝基-1H-吡唑 (1.00g, 8.84mmol)、N-叔丁氧羰基-3-碘氮杂环丁烷 (3.00g, 10.6mmol) 和碳酸钾 (2.45g, 17.7mmol), 并将混合物于 60° C 搅拌 16h。然后, 减压浓缩反应至干燥, 并将所得残余物与二氯甲烷 (15mL) 和水 (15mL) 混合。分离水层并用二氯甲烷 (2×15mL) 萃取。用硫酸钠干燥合并的有机萃取液, 并减压浓缩。将残余物通过柱色谱纯化, 得到 80% 收率 (1.92g) 的 105a, 为黄色油: ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7.64 (d, 1H, J=2.4Hz), 6.97 (d, 1H, J=2.4Hz), 5.13 (m, 1H), 4.44 (m, 2H), 4.33 (m, 2H), 1.47 (s, 9H)。

[0300] 实施例 105b 3-(3-氨基-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯 105b

[0301]

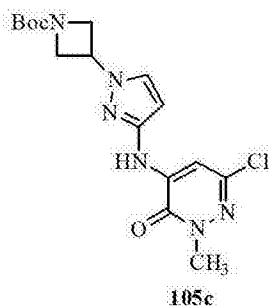


105b

[0302] 用氮气吹扫 500-mL Parr 反应器瓶并装入 10% 炭载钯 (含水 50%, 100mg 干重) 和 105a (1.91g, 7.23mmol) 在乙醇 (25mL) 中的溶液。将瓶连接 Parr 氢化器, 抽空, 充入氢气至 50psi 的压力并摇晃 4h。然后, 抽空氢气, 并向瓶中冲入氮气。加入 Celite 521 (5g), 并通过 Celite 521 垫过滤混合物。用乙醇 (2×25mL) 洗涤滤饼, 并减压浓缩合并的滤液至干燥, 得到 100% 收率的 105b (1.76g), 为浅黄色油: ¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.22 (d, 1H, J=2.5Hz), 5.61 (d, 1H, J=2.5Hz), 4.80 (quant, 1H, J=7.0Hz), 4.25 (d, 4H, J=7.0Hz), 3.77 (br s, 2H), 1.41 (s, 9H)。

[0303] 实施例 105c 3-(3-(6-氯-2-甲基-3-氧代-2,3-二氢哒嗪-4-基氨基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯 105c

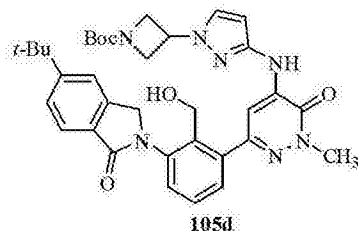
[0304]



[0305] 向安装了磁搅拌器和氮气入口的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 105b(677mg, 2.84mmol)、103a(635mg, 2.84mmol)、碳酸铯 (1.85g, 5.68mmol) 和 1,4-二噁烷 (14mL)。向所得悬浮液通入氮气 30min, 然后加入 Xantphos(246mg, 0.426mmol) 和三(二亚苄基丙酮)二钯(0)(260mg, 0.284mmol)。将回流冷凝器连接烧瓶, 并在回流下加热反应混合物 2.5h。然后, 将混合物冷却至室温并用乙酸乙酯 (200mL) 和水 (75mL) 稀释, 并分离各层。用乙酸乙酯 (50mL) 萃取水层, 用硫酸钠干燥合并的有机层。过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液, 并将所得残余物通过快速柱色谱(硅胶, 95:5 二氯甲烷/甲醇)纯化, 得到 105c(794mg), 收率 73%, 为无定形的白色固体: mp154 - 156° C; ^1H NMR(500MHz, CDCl_3) δ 7.95(s, 1H), 7.60(s, 1H), 7.43(d, J=2.5Hz, 1H), 6.01(d, J=2.5Hz, 1H), 5.00 - 4.95(m, 1H), 4.39 - 4.32(m, 4H), 3.79(s, 3H), 1.48(s, 9H); δ MS(ESI+) m/z403.1 (M+Na)。

[0306] **实施例 105d** 3-(3-(6-(3-(5-叔丁基-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-(羟基甲基)苯基)-2-甲基-3-氧代-2,3-二氢哒嗪-4-基氨基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯 105d

[0307]



[0308] 使用与关于 103 的制备所述相同的一般操作, 105c(150mg, 0.394mmol) 和 102f(201mg, 0.433mmol) 的反应得到粗品 105d, 其不经纯化用于下一步骤。

[0309] **实施例 105** 2-(3-(5-(1-(氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-3-基氨基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)-2-(羟基甲基)苯基)-5-叔丁基异吲哚啉-1-酮 105

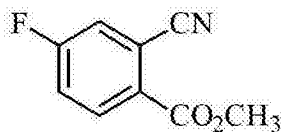
[0310] 向安装了磁搅拌器和氮气入口的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入以上制备的粗品 105d(0.394mmol, 假定定量收率)、无水二氯甲烷 (5mL) 和三氟乙酸 (5mL)。将反应混合物在室温下搅拌 3h。然后, 浓缩混合物至干燥; 用水 (50mL) 稀释残余物, 并将溶液的 pH 用饱和碳酸氢钠水溶液调节至 8.0。用 10% 甲醇/二氯甲烷 (100mL) 稀释混合物并分离各层。用 10% 甲醇/二氯甲烷 (2×50mL) 萃取水层, 用硫酸钠干燥合并的有机层。过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液, 并将所得残余物通过快速柱色谱(硅胶, 80:20 二氯甲烷/甲醇)纯化, 得到 105, 收率 9%(18mg), 为无定形的灰白色固体: mp202 - 204° C; ^1H NMR(500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.29(s, 1H), 8.07(s, 1H), 7.72 - 7.69(m, 3H), 7.63(d, J=8.0Hz, 1H), 7.53 - 7.48(m, 3H), 6.23(d, J=2.0Hz, 1H), 5.09 - 5.06(m, 1H), 4.94(s, 2H), 4.79(s, 1H), 4.52(s, 2H), 3.92(t, J

=8.0Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.64 (t, J=8.0Hz, 2H), 1.36 (s, 9H); MS (ESI+) m/z 540.3 (M+H)。

[0311] 实施例 106

[0312] 实施例 106a 2- 氰基 -4- 氟苯甲酸甲酯 106a

[0313]

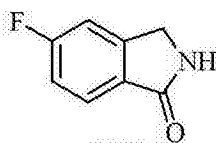


106a

[0314] 用氮气吹扫安装了磁搅拌器的 100-mL 单颈圆底烧瓶并装入 2- 氯 -4- 氟苯甲酸甲酯 (10.0g, 53.0mmol)、氰化铜 (I) (5.22g, 58.3mmol) 和 2- 甲基吡咯烷酮 (30mL)。于 195° C 加热 1.5h, 然后将反应混合物冷却至室温并倒入水 (600mL) 中。过滤所得悬浮液, 并用水 (100mL) 洗涤滤饼。然后, 向所得固体添加氰化钠 (3.00g, 61.2mmol) 在水 (110mL) 中的溶液, 并在室温下搅拌反应混合物 50min。然后, 加入乙酸乙酯 (500mL) 并分离各层。用乙酸乙酯 (2×10mL) 萃取水相, 合并有机萃取液, 用硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。将所得残余物通过快速色谱纯化, 得到 106a, 收率 73% (6.99g), 为白色固体: mp 92 - 93° C; ¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 8.18 (dd, 1H, J=9.0, 5.5Hz), 7.50 (dd, 1H, J=8.0, 2.5Hz), 7.38 (m, 1H), 4.01 (s, 3H)。

[0315] 实施例 106b 5- 氟异吲哚啉 -1- 酮 106b

[0316]

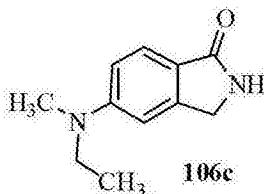


106b

[0317] 用氮气吹扫 250-mL Parr 反应器瓶并装入拉尼镍 (4.00g) 和 106a (2.00g, 11.2mmol) 在乙醇 (20mL) 中的溶液。将瓶连接 Parr 氢化器, 抽空, 充入氢气至 50psi 的压力并摇晃 16h。然后, 抽空氢气, 并向瓶中冲入氮气。加入 Celite521 (5.00g), 并通过 Celite521 垫过滤混合物。用乙醇 (2×75mL) 洗涤滤饼, 并减压浓缩合并的滤液至干燥, 得到 76% 收率的 106b (1.29g), 为无色油: ¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.85 (dd, 1H, J=8.5, 5.5Hz), 7.21 - 7.16 (m, 2H), 7.05 (br s, 1H), 4.56 (s, 2H)。

[0318] 实施例 106c 5-(乙基 (甲基) 氨基) 异吲哚啉 -1- 酮 106c

[0319]



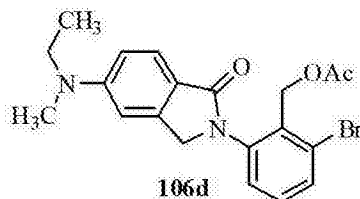
106c

[0320] 向 500-mL 高压弹式反应器中装入 106b (539mg, 3.57mmol)、乙醇 (30mL) 和过量 N, N- 乙基甲基胺 (50mL)。将混合物于 165° C 加热 36h。然后, 浓缩混合物并将所得残余物通过快速柱色谱 (硅胶, 98:2 乙酸乙酯 / 三乙胺) 纯化, 得到 106c, 收率 59% (397mg), 为黄色固体: mp 127 - 129° C; ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 7.93 (s, 1H), 7.42 (dd, J=7.0, 2.5Hz,

1H), 6.77 - 6.75 (m, 2H), 4.23 (s, 2H), 3.46 (q, J=7.0Hz, 2H), 2.94 (s, 3H), 1.06 (t, J=7.0Hz, 3H); MS (ESI+) m/z 191.1 (M+H)。

[0321] 实施例 106d 2-溴-6-(5-(乙基(甲基)氨基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)苄基乙酸酯 106d

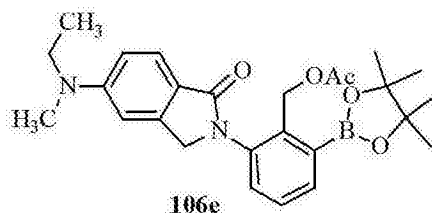
[0322]



[0323] 向安装了磁搅拌器和氮气入口的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 106c (390mg, 2.05mmol)、102d (1.26g, 4.10mmol)、碳酸铯 (1.34g, 4.10mmol)、N,N'-二甲基乙二胺 (181mg, 2.05mmol) 和 1,4-二噁烷 (12mL)。向所得悬浮液通入氮气 30min, 然后加入碘化铜 (195mg, 1.03mmol)。将回流冷凝器连接烧瓶, 并在 105°C 下加热反应混合物 16h。然后, 将混合物冷却至室温并过滤。用乙酸乙酯 (150mL) 和水 (75mL) 稀释滤液, 并分离各层。用乙酸乙酯 (2×50mL) 萃取水层, 并用盐水 (100mL) 洗涤合并的有机层, 用硫酸钠干燥。过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液, 并将所得残余物通过快速柱色谱 (硅胶, 70:30 己烷/乙酸乙酯) 纯化, 得到 106d, 收率 50% (427mg), 为白色固体; mp 97 - 99°C; ¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.74 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.63 (dd, J=8.0, 1.5Hz, 1H), 7.30 - 7.25 (m, 2H), 6.80 (dd, J=8.5, 2.0Hz, 1H), 6.66 (d, J=1.5Hz, 1H), 5.21 (s, 2H), 4.69 (s, 2H), 3.51 (q, J=7.0Hz, 2H), 3.21 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.19 (t, J=7.0Hz, 3H); MS (ESI+) m/z 417.1 (M+H)。

[0324] 实施例 106e 2-(5-(乙基(甲基)氨基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苄基乙酸酯 106e

[0325]

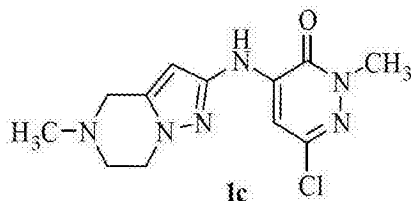


[0326] 向安装了磁搅拌器和氮气入口的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 106d (425mg, 1.02mmol)、4,4,4',4',5,5,5',5'-八甲基-2,2'-二(1,3,2-二氧杂环戊硼烷) (777mg, 3.06mmol)、乙酸钾 (400mg, 4.08mmol) 和 1,4-二噁烷 (15mL)。向所得悬浮液通入氮气 30min, 然后加入 XPhos (112mg, 0.235mmol) 和三(二亚苄基丙酮)二钯 (0) (215mg, 0.235mmol)。将回流冷凝器连接烧瓶, 并在回流下加热反应混合物 3h。然后, 用乙酸乙酯 (100mL) 和水 (75mL) 稀释混合物, 并分离各层。用乙酸乙酯 (50mL) 萃取水层, 并用盐水 (50mL) 洗涤合并的有机层, 用硫酸钠干燥。过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液, 并将所得残余物通过快速柱色谱 (硅胶, 50:50 己烷/乙酸乙酯) 纯化, 得到 106e, 收率 77% (366mg), 为黄色油; ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7.75 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.54 - 7.51 (m, 1H), 7.39 - 7.35 (m, 2H), 6.80 (dd, J=8.7, 2.1Hz, 1H), 6.68 (d, J=1.8Hz, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.72 (s, 2H), 3.51 (q, J=7.2Hz, 2H), 3.02 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.34 (s, 12H), 1.19 (t, J=7.2Hz, 3H); MS (ESI+) m/z

z465. 2(M+H)。

[0327] 实施例 106f 6-氯-2-甲基-4-(5-甲基-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基氨基)哒嗪-3(2H)-酮 106f

[0328]



[0329] 向安装了回流冷凝器、磁搅拌器和氮气入口的 250-mL 三颈圆底烧瓶中装入 103a(1.90g, 8.53mmol)、1011(1.18g, 7.75mmol) 和 1,4-二噁烷(40mL)。用氮气吹扫烧瓶并冷却 0° C。加入 1M 的六甲基二硅基氨基锂 THF 溶液(39mL, 39.0mmol)。向所得悬浮液通入氮气 30min, 然后加入 Xantphos(381mg, 0.659mmol) 和三(二亚苄基丙酮)二钯(0)(355mg, 0.388mmol), 并在回流下加热反应混合物 2h。然后, 将混合物冷却至室温并用水(10mL)稀释。用 2N 盐酸调节溶液的 pH 至 7.6。分离有机层, 并用乙酸乙酯(3×40mL)萃取水层。用硫酸钠干燥合并的有机层, 并减压浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱纯化, 得到 76% 收率(1.74g)的 106f, 为灰白色固体: mp184 - 186° C; ¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ 9.62(s, 1H), 7.72(s, 1H), 6.00(s, 1H), 4.04(t, 2H, J=5.1Hz), 3.65(s, 3H), 3.53(s, 2H), 2.82(t, 2H, J=5.1Hz), 2.37(s, 3H); MS(ESI+) m/z 295.1(M+H)。

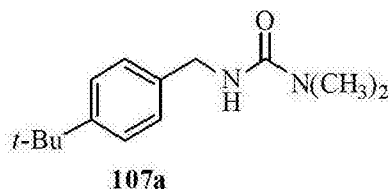
[0330] 实施例 1065-(乙基(甲基)氨基)-2-(2-(羟基甲基)-3-(1-甲基-5-(5-甲基-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)苯基)异吲哚啉-1-酮 106

[0331] 向安装了磁搅拌器和氮气入口的 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入 106e(366mg, 0.788mmol)、106f(194mg, 0.656mmol)、碳酸钠(348mg, 3.28mmol)、DMF(2mL)、水(2mL) 和 1,4-二噁烷(10mL)。向所得悬浮液通入氮气 30min, 然后加入四(三苯基膦)钯(0)(152mg, 0.131mmol)。将回流冷凝器连接烧瓶, 并在回流下加热反应混合物 16h。然后, 用乙酸乙酯(150mL) 和水(100mL) 稀释混合物, 并分离各层。用乙酸乙酯(2×100mL) 萃取水层, 并用盐水(100mL) 洗涤合并的有机层, 用硫酸钠干燥。过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液, 并将所得残余物溶于 THF(2mL)、水(2mL) 和甲醇(2mL)。加入氢氧化锂一水合物(138mg, 3.28mmol) 并在室温下搅拌混合物 16h。然后, 用乙酸乙酯(150mL) 和水(100mL) 稀释混合物, 并分离各层。用乙酸乙酯(2×100mL) 萃取水层, 并用盐水(100mL) 洗涤合并的有机层, 用硫酸钠干燥。过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液, 并将所得残余物通过快速柱色谱(硅胶, 90:10 二氯甲烷/甲醇)纯化, 得到 106, 收率 14%(51mg), 为无定形的灰白色固体: mp145 - 147° C; ¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ 9.20(s, 1H), 7.89(s, 1H), 7.55(d, J=8.5Hz, 1H), 7.49 - 7.47(m, 2H), 7.41(dd, J=7.0, 2.0Hz, 1H), 6.87 - 6.84(m, 2H), 5.99(s, 1H), 4.82(s, 2H), 4.62(t, J=5.5Hz, 1H), 4.40(d, J=5.5Hz, 2H), 3.96(t, J=5.5Hz, 2H), 3.75(s, 3H), 3.52 - 3.50(m, 4H), 2.98(s, 3H), 2.79(t, J=5.5Hz, 2H), 2.35(s, 3H), 1.09(t, J=7.0Hz, 3H); MS(ESI+) m/z 555.3(M+H)。

[0332] 实施例 107

[0333] 实施例 107a 3-(4-叔丁基苄基)-1,1-二甲基脲 107a

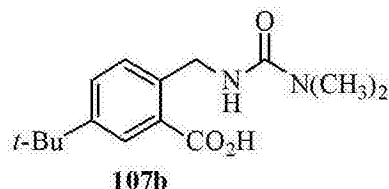
[0334]



[0335] 用氮气吹扫安装了磁搅拌器的 250-mL 圆底烧瓶并装入 4-叔丁基苄基 (9.77g, 59.9mmol) 和二氯甲烷 (100mL)。加入 N,N-二异丙基乙胺 (11.5g, 88.9mmol) 和 N,N-二甲基氨基甲酰氯 (6.08g, 56.6mmol), 然后加入 DMAP (730mg)。在环境温度下搅拌过夜, 然后将反应用水 (100mL) 和 10% 柠檬酸水溶液 (2×100mL) 洗涤。分离有机层, 用硫酸钠干燥并过滤, 并加压浓缩滤液。将所得残余物溶于甲基叔丁基醚 (50mL) 和庚烷 (200mL) 的混合物, 然后减压浓缩, 得到 97% 收率的 107a (12.8g), 为黄色固体: ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 7.35 (d, 2H, $J=8.3\text{Hz}$), 4.60 (br s, 1H), 4.39 (d, 2H, $J=5.4\text{Hz}$), 2.91 (s, 6H), 1.31 (s, 9H)。

[0336] 实施例 107b 5-叔丁基-2-((3,3-二甲基脲基)甲基)苯甲酸 107b

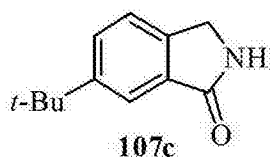
[0337]



[0338] 用氮气吹扫安装了磁搅拌器、滴液漏斗和热电偶的 500-mL 三颈圆底烧瓶并装入 107a (9.36g, 40.0mmol) 和 THF (120mL)。将反应冷却至 -70°C , 并滴加叔丁基锂 (1.7M 在庚烷中, 56mL, 95.2mmol)。使反应温热至 -45 至 -35°C , 保持 0.5h, 然后再冷却至 -78°C 。然后将反应导入 1-L 三颈圆底烧瓶, 在氮气流下向烧瓶中装入 ~ 100 -200g 干冰。将混合物温热至室温并减压浓缩至干燥。加入水 (250mL) 和己烷 (250mL) 并摇晃溶液。分离水层并用甲基叔丁基醚 (15mL) 萃取。分离水层, 然后通过 Cellpure P65 过滤使其澄清。用 20mL 12.1M 盐酸酸化含水滤液并在环境温度下搅拌过夜。然后, 倾析水溶液, 并在真空下干燥残余固体过夜, 得到 80% 收率的 107b (8.91g), 为褐色固体: ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.97 (br s, 1H), 7.80 (d, 1H, $J=2.1\text{Hz}$), 7.56 (dd, 1H, $J=6.0, 2.1\text{Hz}$), 7.32 (d, 1H, $J=8.1\text{Hz}$), 6.78 (t, 1H, $J=5.7\text{Hz}$), 4.46 (d, 2H, $J=5.7\text{Hz}$), 2.82 (s, 6H), 1.28 (s, 9H)。

[0339] 实施例 107c 6-叔丁基异吲哚啉-1-酮 107c

[0340]

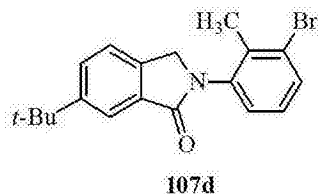


[0341] 向安装了磁搅拌器和回流冷凝器的 500-mL 圆底烧瓶中装入 107b (3.97g, 14.2mmol) 和 12.1N 盐酸 (100mL) 并加热至回流。加入三氟乙酸 (40mL) 并回流反应过夜。然后, 小心地用碳酸钾 (约 67g) 中和混合物至 pH7.5, 然后用甲基叔丁基醚 (100mL) 和乙酸乙酯 (3×50mL) 萃取。合并有机层, 用硫酸钠干燥, 并过滤。减压浓缩滤液,

并通过柱色谱纯化残余物,得到 29% 收率 (788mg) 的 107c,为白色固体 :mp142 - 144° C;¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.92 (d, J=1.5Hz, 1H), 7.64 (dd, J=8.5, 2.0Hz, 1H), 7.42 (dd, J=8.0, 0.5Hz, 1H), 6.58 (s, 1H), 4.42 (s, 2H), 1.37 (s, 9H); MS (ESI+) m/z 190.1 (M+H)。

[0342] 实施例 107d 2-(3-溴-2-甲基苯基)-6-叔丁基异吲哚啉-1-酮 107d

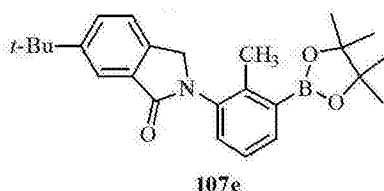
[0343]



[0344] 向安装了磁搅拌器和氮气入口的 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入 107c (775mg, 4.10mmol)、2,6-二溴甲苯 (2.05g, 8.19mmol)、碳酸铯 (2.67g, 8.19mmol)、N,N'-二甲基乙二胺 (361mg, 4.10mmol) 和 1,4-二噁烷 (15mL)。向所得悬浮液通入氮气 30min,然后加入碘化铜 (390mg, 2.05mmol)。将回流冷凝器连接烧瓶,并在 105° C 下加热反应混合物 16h。然后,将混合物冷却至室温并过滤。用乙酸乙酯 (100mL) 和水 (50mL) 稀释滤液,并分离各层。用乙酸乙酯 (50mL) 萃取水层,并用盐水 (50mL) 洗涤合并的有机层,用硫酸钠干燥。过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液,并将所得残余物通过快速柱色谱 (硅胶, 80:20 己烷/乙酸乙酯) 纯化,得到 107d,收率 66% (972mg),为无定形的白色固体 :mp120 - 122° C;¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.99 (d, J=1.5Hz, 1H), 7.68 (dd, J=8.0, 1.5Hz, 1H), 7.60 (dd, J=8.0, 1.5Hz, 1H), 7.46 (dd, J=8.0, 0.5Hz, 1H), 7.22 (dd, J=8.0, 1.0Hz, 1H), 7.14 (t, J=8.0Hz, 1H), 4.67 (s, 2H), 2.31 (s, 3H), 1.40 (s, 9H); MS (ESI+) m/z 358.1 (M+H)。

[0345] 实施例 107e 6-叔丁基-2-(2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基)异吲哚啉-1-酮 107e

[0346]



[0347] 向安装了磁搅拌器和氮气入口的 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入 107d (968mg, 2.70mmol)、4,4,4',4',5,5,5',5'-八甲基-2,2'-二(1,3,2-二氧杂环戊硼烷) (2.06g, 8.11mmol)、乙酸钾 (1.06g, 10.8mmol) 和 1,4-二噁烷 (20mL)。向所得悬浮液通入氮气 30min,然后加入 XPhos (296mg, 0.621mmol) 和三(二亚苄基丙酮)二钯 (0) (569mg, 0.621mmol)。将回流冷凝器连接烧瓶,并在 105° C 下加热反应混合物 3h。然后,用乙酸乙酯 (100mL) 和水 (50mL) 稀释混合物,并分离各层。用乙酸乙酯 (50mL) 萃取水层,并用盐水 (50mL) 洗涤合并的有机层,用硫酸钠干燥。过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液,并将所得残余物通过快速柱色谱 (硅胶, 70:30 己烷/乙酸乙酯) 纯化,得到 107e,收率 81% (900mg),为黄色油 :¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.99 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.81 (dd, J=7.0, 1.5Hz, 1H), 7.67 - 7.65 (m, 2H), 7.45 - 7.43 (m, 2H), 4.64 (s, 2H), 2.42 (s, 3H), 1.39 (s, 12H), 1.35 (s, 9H); MS (ESI+) m/z 406.2 (M+H)。

[0348] 实施例 107 6-叔丁基-2-(2-甲基-3-(5-(5-甲基-4,5,6,7-四氢吡唑并

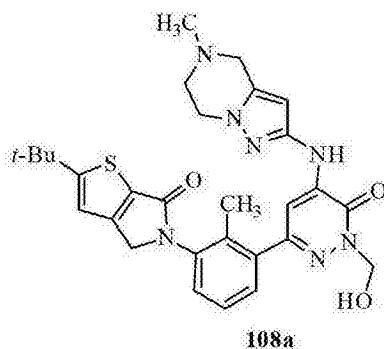
[1,5-a] 吡嗪 -2- 基氨基)-6- 氧代 -1,6- 二氢哒嗪 -3- 基) 苯基) 异吲哚啉 -1- 酮 107

[0349] 向安装了磁搅拌器和氮气入口的 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入 107e (890mg, 2.20mmol)、101m (441mg, 1.57mmol)、碳酸钠 (832mg, 7.85mmol)、DMF (5mL)、水 (5mL) 和 1,4- 二噁烷 (15mL)。向所得悬浮液通入氮气 30min, 然后加入四 (三苯基膦) 钯 (0) (363mg, 0.314mmol)。将回流冷凝器连接烧瓶, 并在回流下加热反应混合物 16h。然后, 用乙酸乙酯 (100mL) 和水 (50mL) 稀释混合物, 并分离各层。用乙酸乙酯 (2×100mL) 萃取水层, 并用盐水 (100mL) 洗涤合并的有机层, 用硫酸钠干燥。过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液, 并将所得残余物通过快速柱色谱 (硅胶, 95:5 二氯甲烷 / 甲醇) 纯化, 得到 107, 收率 27% (222mg), 为无定形的白色固体 : mp 208 - 210° C; ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 12.97 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.75 - 7.73 (m, 1H), 7.60 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.48 (dd, J=7.5, 2.0Hz, 1H), 7.40 - 7.38 (m, 2H), 5.96 (s, 1H), 4.84 (s, 2H), 3.97 (t, J=5.5Hz, 2H), 3.51 (s, 2H), 2.79 (t, J=6.0Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.36 (s, 9H); MS (ESI+) m/z 524.3 (M+H)。

[0350] 实施例 108

[0351] 实施例 108a 2- 叔丁基 -5-(3-(1-(羟基甲基)-5-(5- 甲基 -4,5,6,7- 四氢吡唑并 [1,5-a] 吡嗪 -2- 基氨基)-6- 氧代 -1,6- 二氢哒嗪 -3- 基)-2- 甲基苯基)-4H- 噻吩并 [2,3-c] 吡咯 -6(5H)- 酮 108a

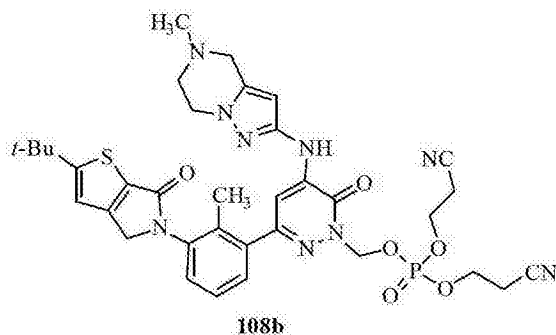
[0352]



[0353] 向安装了磁搅拌器和氮气入口的 250-mL 单颈圆底烧瓶中装入 101 (2.50g, 4.72mmol)、甲醇 (30mL) 和在甲醇中的 37% 甲醛溶液 (30mL, 100mmol)。将回流冷凝器连接烧瓶, 并在氮气氛下于 60° C 加热反应混合物 3h。然后, 在室温下搅拌混合物 1h 并通过 Buchner 漏斗过滤。用甲醇 (3×5mL) 洗涤滤饼并在真空下于 40° C 干燥 12h, 得到 108a, 收率 93% (2.45g), 为白色固体 : mp 185 - 187° C; ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 9.33 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.47 (m, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 6.77 (t, J=7.8Hz, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.43 (d, J=7.5Hz, 2H), 4.78 (s, 2H), 3.97 (t, J=5.0Hz, 2H), 3.51 (s, 2H), 2.79 (t, J=5.0Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 1.41 (s, 9H); MS (ESI+) m/z 530.2 (M+H)。

[0354] 实施例 108b (3-(3-(2- 叔丁基 -6- 氧代 -4H- 噻吩并 [2,3-c] 吡咯 -5(6H)- 基)-2- 甲基苯基)-5-(5- 甲基 -4,5,6,7- 四氢吡唑并 [1,5-a] 吡嗪 -2- 基氨基)-6- 氧代哒嗪 -1(6H)- 基) 甲基二 (2- 氰基乙基) 磷酸酯 108b

[0355]



[0356] 向安装了磁搅拌器和氮气入口的 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 108a (2.45g, 4.38mmol)、四唑 (1.22g, 17.5mmol) 和二氯甲烷 (20mL)。在室温下加入 5c (2.37g, 8.76mmol) 在二氯甲烷 (2mL) 中的溶液, 并在氮气氛下搅拌反应混合物 12h。然后, 将混合物冷却至 0° C。滴加叔丁基过氧化氢在癸烷 (4.8mL, 26.4mmol) 中的 5.5M 溶液, 并在室温下搅拌反应混合物 1h。用二氯甲烷 (200mL) 稀释混合物。用饱和硫代硫酸钠水溶液 (20mL) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (20mL) 洗涤有机相。分离有机层并用硫酸钠干燥。真空过滤除去干燥剂, 并减压浓缩滤液。将残余物通过快速色谱纯化, 得到 36% 收率 (1.20g) 的 108b, 为白色固体: mp 208 - 210° C; ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 9.55 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.49 (t, J=5.0Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 5.9 (d, J=2.5Hz, 2H), 5.97 (s, 1H), 4.78 (s, 2H), 4.22 (q, J=6.0Hz, 4H), 3.97 (t, J=5.5Hz, 2H), 3.52 (s, 2H), 2.92 (t, J=6.0Hz, 4H), 2.79 (t, J=5.5Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 1.41 (s, 9H); MS (ESI+) m/z 746.3 (M+H)。

[0357] **实施例 108** (3-(3-(2-叔丁基-6-氧代-4H-噻吩并[2,3-c]吡咯-5(6H)-基)-2-甲基苯基)-5-(5-甲基-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡嗪-2-基氨基)-6-氧代吡嗪-1(6H)-基) 甲基磷酸酯钠 108

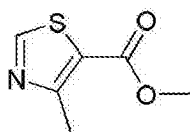
[0358] 在安装磁搅拌器的 25-mL 单颈圆底烧瓶中装入 108b (400mg, 0.356mmol)、乙腈 (5mL)、三甲胺 (2.5mL) 和 N, O-二(三甲基甲硅烷基)三氟乙酰胺 (2.5mL)。

[0359] 将所得混合物在室温下搅拌 12h。将混合物减压浓缩至干燥。向残余物中加入饱和碳酸氢钠溶液 (5mL), 并通过过滤收集所得白色沉淀。用甲醇 (5mL) 研磨滤饼, 得到 108, 收率 35% (130mg), 为浅黄色固体: mp 240 - 242° C; ¹H NMR (500MHz, CD₃OD) δ 7.71 (s, 1H), 7.40 (m, 3H), 7.07 (s, 1H), 5.90 (s, 1H), 5.84 (d, J=7.0Hz, 2H), 4.72 (d, J=10.0Hz, 2H), 4.06 (t, J=5.5Hz, 2H), 3.62 (s, 2H), 2.92 (t, J=5.5Hz, 2H), 2.46 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 1.45 (s, 9H); MS (ESI+) m/z 684.2 (M+H)。

[0360] **实施例 109**

[0361] **实施例 109a** 3-甲基噻吩-2-羧酸甲酯 109a

[0362]

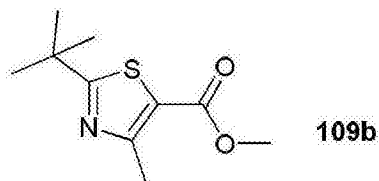


[0363] 向 100-mL 单颈圆底烧瓶中装入 4-甲基噻唑-5-甲酰氯 (13.1g, 10.0mmol) 在甲醇 (30mL) 中的溶液。使混合物回流过夜。将混合物冷却至室温并浓缩。将残余物在乙醚 (50mL) 和水 (50mL) 之间分配。用盐水洗涤有机层并用硫酸钠干燥。过滤除去干燥剂。减

压浓缩滤液,得到 3-甲基噻吩-2-羧酸甲酯 (101a) (12.8g, 95%), 为无色油, 其不经进一步纯化用于下一步骤。

[0364] 实施例 109b 5-叔丁基-3-甲基噻吩-2-羧酸甲酯 109b

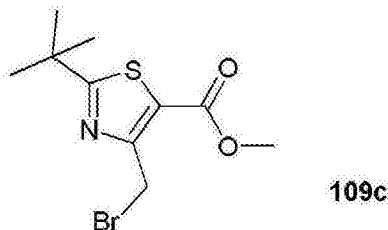
[0365]



[0366] 在 -78°C , 于氮气下, 将 3-甲基噻吩-2-羧酸甲酯 109a (33g, 0.211mol) 在无水 CH_2Cl_2 (30mL) 中的溶液滴加到氯化铝 (40g, 0.297mol) 和无水 CH_2Cl_2 (200mL) 的混合物中。将反应混合物于 -78°C 搅拌 10min, 并于 -78°C 滴加叔丁基氯 (23mL, 0.211mol) 在无水 CH_2Cl_2 (30mL) 中的溶液。将反应混合物于 -78°C 搅拌 1h, 逐渐温热至室温并在室温下搅拌 16h。将其倒在冰上并用 CH_2Cl_2 (2x200mL) 萃取。用无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 并真空蒸发溶剂。将所得残余物通过分馏纯化, 得到 5-叔丁基-3-甲基噻吩-2-羧酸甲酯 109b (19g, 43%), 为浅黄色液体。

[0367] 实施例 109c 3-(溴甲基)-5-叔丁基噻吩-2-羧酸甲酯 109c

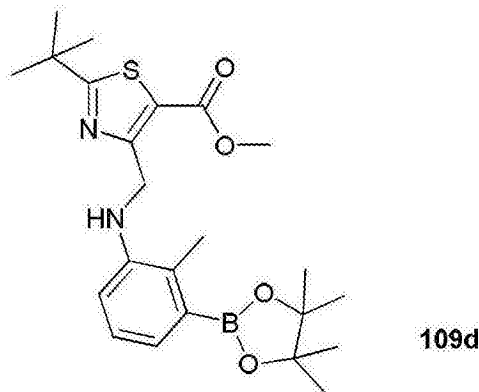
[0368]



[0369] 将 N-溴代琥珀酰亚胺 (18.5g, 0.103mol) 添加到 5-叔丁基-3-甲基噻吩-2-羧酸甲酯 (109b) (20g, 0.09mol) 和 AIBN (0.774g, 0.0047mol) 在 CCl_4 (200mL) 中的溶液中。回流混合物 2h, 冷却至室温并过滤。真空浓缩滤液, 并将所得残余物通过快速柱色谱 (硅胶, 95:5 己烷 / 二氯甲烷) 纯化, 得到 3-(溴甲基)-5-叔丁基噻吩-2-羧酸甲酯 (109c) (11g, 40%), 为浅黄色液体。

[0370] 实施例 109d 2-叔丁基-4-((2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基氨基)甲基)噻唑-5-羧酸甲酯 109d

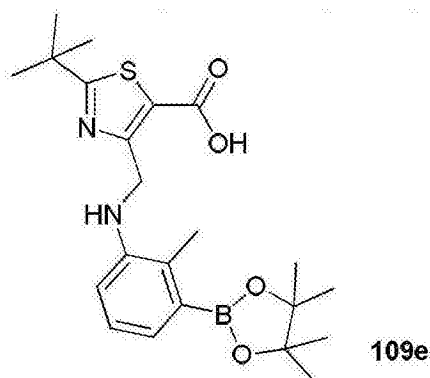
[0371]



[0372] 将 2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯胺 (466.2mg, 2.0mmol) 和碳酸铯 (782.0mg, 2.4mmol) 悬浮于无水乙腈 (20mL) 中, 并将混合物冷却至 0°C。然后加入 3-(溴甲基)-5-叔丁基噻吩-2-羧酸甲酯 (109c) (584.4mg, 2.0mmol)。是所得混合物逐渐温热至室温, 然后于 40°C 搅拌过夜。反应混合物经硅藻土 (Celite®) 过滤, 并浓缩滤液。在硅胶上纯化残余物, 用在庚烷中的 0-10% 乙酸乙酯梯度洗脱, 得到 2-叔丁基-4-((2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基氨基)甲基)噻唑-5-羧酸甲酯 (109d) (501.6mg, 56%)。

[0373] **实施例 109e** 2-叔丁基-4-((2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基氨基)甲基)噻唑-5-羧酸 109e

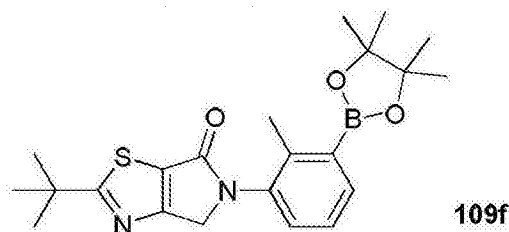
[0374]



[0375] 将 2-叔丁基-4-((2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基氨基)甲基)噻唑-5-羧酸甲酯 109d (1.80g, 4.05mmol) 和氢氧化锂 (970.0mg, 40.50mmol) 在异丙醇 (15mL) 和水 (15mL, 830mmol) 中的混合物于 40°C 搅拌过夜。将反应混合物浓缩至初始体积的 ~50%, 用浓盐酸酸化至 pH ~2, 并用 9:1 乙酸异丙酯 / 异丙醇萃取。用无水硫酸镁干燥萃取物。过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液, 得到 2-叔丁基-4-((2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基氨基)甲基)噻唑-5-羧酸 109e (1.74g, 92%), 其不经进一步纯化使用。

[0376] **实施例 109f** 2-叔丁基-5-(2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基)-4H-吡咯并 [3,4-d] 噻唑-6(5H)-酮 109f

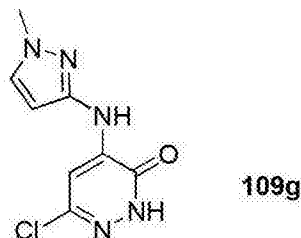
[0377]



[0378] 向 2-叔丁基-4-((2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基氨基)甲基)噻唑-5-羧酸 109e (430.37mg, 0.0010000mol) 在二氯甲烷 (10mL) 中的混合物加入 N,N-二异丙基乙胺 (870.91uL, 5.0mmol) 和 N,N,N',N'-四甲基-0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)脒六氟磷酸盐 (1.1407g, 0.0030000mol)。室温下搅拌混合物过夜。用水萃取反应混合物。分离有机层并用无水硫酸镁干燥。过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液。

在硅胶上纯化残余物,用在庚烷中的 0-20% 乙酸乙酯梯度洗脱,得到 2-叔丁基-5-(2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基)-4H-吡咯并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮 (163mg, 40%)。

[0379] 实施例 109g 6-氯-4-(1-甲基-1H-吡唑-3-基氨基)哒嗪-3(2H)-酮 109g
[0380]



[0381] 向 4-溴-6-氯哒嗪-3(2H)-酮 (838mg, 4.0mmol)、1-甲基-1H-吡唑-3-胺 (427mg, 4.4mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(0) (91.6mg, 0.1mmol) 和 97% 的 2-二叔丁基膦基-2',4',6'-三异丙基联苯 (170mg, 0.4mmol) 在 1,4-二噁烷 (12mL) 中的混合物加入 was added 叔丁醇钠 (845.7mg, 8.8mmol)。用氮气吹扫混合物,并密封在耐压管中。在 100°C 下加热反应混合物过夜。将混合物冷却至室温并通过硅藻土过滤。浓缩滤液。将残余物在硅胶上纯化,用在具有 1% 氢氧化铵的二氯甲烷中的 0-3.5% 甲醇梯度洗脱,得到 6-氯-4-(1-甲基-1H-吡唑-3-基氨基)哒嗪-3(2H)-酮 (109g) (230mg, 25%)。

[0382] 实施例 109 2-叔丁基-5-(2-甲基-3-(5-(1-甲基-1H-吡唑-3-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)苯基)-4H-吡咯并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮 109

[0383] 向 5mL 耐压管中装入 6-氯-4-(1-甲基-1H-吡唑-3-基氨基)哒嗪-3(2H)-酮 109g (20.0mg, 0.089mmol)、2-叔丁基-5-(2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基)-4H-吡咯并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮 109f (43.9mg, 0.11mmol)、1.27M 碳酸钾水溶液 (0.15mL, 0.20mmol)、三(二亚苄基)二钯(0) (4.1mg, 0.0044mmol)、S-Phos (4.4mg, 0.011mmol) 和 1,4-二噁烷 (1.4mL)。用氮气吹扫混合物,密封,并于 110°C 加热过夜。将反应混合物冷却至室温并通过硅藻土过滤。用二氯甲烷/甲醇 (~9:1) 洗涤滤饼。浓缩滤液。将残余物在硅胶上纯化,用在二氯甲烷中的 0-3.5% 甲醇梯度洗脱。将所得材料通过反相 HPLC 进一步纯化:C-18 柱,用在具有 0.05% 三氟乙酸的水中的 0-80% 乙腈梯度在 20min 内洗脱,得到 2-叔丁基-5-(2-甲基-3-(5-(1-甲基-1H-吡唑-3-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)苯基)-4H-吡咯并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮 (109) (13mg, 31%)。M+1476.2。¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 12.92 (s, 1H), 9.17 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.48 (d, J=2.2, 1H), 7.44 (dd, J=5.3, 3.9, 1H), 7.32 (dd, J=6.5, 2.7, 2H), 6.08 (d, J=2.3, 1H), 4.91 (s, 2H), 3.67 (s, 3H), 2.07 (s, 3H)。

[0384] 实施例 110

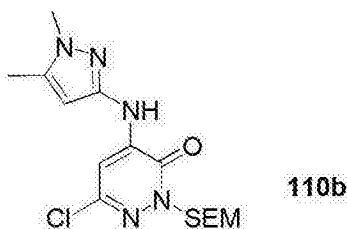
[0385] 实施例 110a 4-溴-6-氯-2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)哒嗪-3(2H)-酮 110a
[0386]



[0387] 用氮气吹扫安装了磁搅拌器的 500-mL 单颈圆底烧瓶并装入无水 DMF (150mL) 和 4-溴-6-氯哒嗪-3(2H)-酮 (10.0g, 47.8mmol)。将反应混合物冷却至 0° C 并加入氢化钠。于 0° C 搅拌反应 20min。然后, 加入 2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯 (11.9g, 71.6mmol) 并除去冷却浴, 在室温下搅拌反应 3h。然后用饱和碳酸氢钠水溶液 (30mL) 终止反应。用乙酸乙酯 (2×300mL) 萃取混合物。用硫酸钠干燥萃取液, 过滤并减压浓缩。将所得残余物通过快速色谱纯化, 得到 110a, 收率 56% (9.00g), 为黄色油: ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 8.02 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 3.79 (t, 2H, J=5.4Hz), 0.96 (t, 2H, J=5.4Hz), 0.01 (s, 9H)。

[0388] **实施例 110b** 6-氯-4-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基氨基)-2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)哒嗪-3(2H)-酮 110b

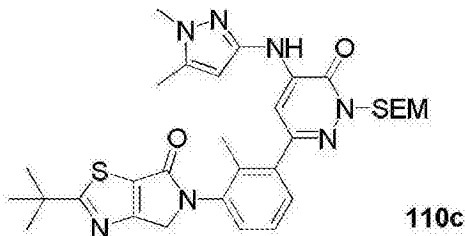
[0389]



[0390] 向在 100mL 单颈圆底烧瓶中在 1,4-二噁烷 (20mL) 中的 4-溴-6-氯-2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)哒嗪-3(2H)-酮 110a (1.19g, 3.50mmol)、1,5-二甲基-1H-吡唑-3-胺 (409mg, 3.68mmol) 的混合物加入碳酸铯 (3.42g, 10.5mmol)。用氮气吹扫混合物 30min。然后加入三(二亚苄基丙酮)二钯 (0) (321mg, 0.350mmol) 和 4,5-双(二苯基膦基)-9,9-二甲基咕吨 (344mg, 0.596mmol)。将烧瓶连接氮气吹扫的冷凝器, 并将混合物在氮气下回流 18h。将混合物冷却至室温并过滤。将滤饼悬浮于乙酸乙酯 (30mL) 和水 (10mL) 中并通过硅藻土过滤。分离各层。用无水硫酸镁干燥合并的有机层。过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液。将残余物在硅胶上纯化, 用在庚烷中的 0-50% 乙酸乙酯梯度洗脱得到 6-氯-4-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基氨基)-2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)哒嗪-3(2H)-酮 110b, 为黄色固体 (928mg, 72%)。

[0391] **实施例 110c** 2-叔丁基-5-(3-(5-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基氨基)-6-氧代-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1,6-二氢哒嗪-3-基)-2-甲基苯基)-4H-吡唑并 [3,4-d] 噻唑-6(5H)-酮 110c

[0392]



[0393] 按照实施例 109, 使 247.2mg (0.6mmol) 2-叔丁基-5-(2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基)-4H-吡咯并 [3,4-d] 噻唑-6(5H)-酮 109f、185mg (0.5mmol) 6-氯-4-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基氨基)-2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)哒嗪-3(2H)-酮 110b、45.8mg (0.05mmol) 三(二亚苄基丙酮)二钯 (0)、49.3mg (0.12mmol) 4,5-双(二苯基膦基)-9,9-二甲基咕吨 (0.596mmol)、

0.67mL (0.85mmol) 1.27M 磷酸钾水溶液和 10mL 1,4-二噁烷反应,得到 186mg (60%) 2-叔丁基-5-(3-(5-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基氨基))-6-氧代-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1,6-二氢哒嗪-3-基)-2-甲基苯基)-4H-吡唑并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮 110c。

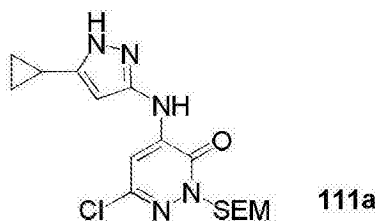
[0394] 实施例 110 2-叔丁基-5-(3-(5-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基氨基))-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)-2-甲基苯基)-4H-吡唑并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮 110

[0395] 在 0°C,向甲醇 (20mL) 中的 2-叔丁基-5-(3-(5-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基氨基))-6-氧代-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1,6-二氢哒嗪-3-基)-2-甲基苯基)-4H-吡唑并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮 110c (186mg, 0.30mmol) 和 茴香醚 (0.163mL, 1.50mmol) 中通入氯化氢 5min。使所得混合物温热至室温并继续搅拌 16h。浓缩反应混合物。通过反相 HPLC 纯化残余物: C-18 柱,用在具有 1% 氢氧化铵的水中的 20-60% 乙腈梯度在 14min 内洗脱,得到 2-叔丁基-5-(3-(5-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基氨基))-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)-2-甲基苯基)-4H-吡唑并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮 110 (40mg, 30%)。M+1490.1。¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 12.95 (s, 1H), 9.09 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.50 (dd, J=5.6, 3.6, 1H), 7.41-7.32 (m, 2H), 5.97 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 3.62 (s, 3H), 2.17 (d, J=19.6, 6H), 1.47 (s, 9H)。

[0396] 实施例 111

[0397] 实施例 111a 6-氯-4-(5-环丙基-1H-吡唑-3-基氨基)-2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)哒嗪-3(2H)-酮 111a

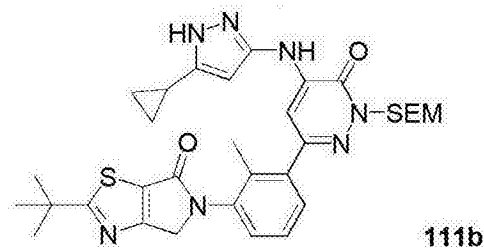
[0398]



[0399] 向在 100mL 单颈圆底烧瓶中在 1,4-二噁烷 (40mL) 中的 110a (2.38g, 7.00mmol)、5-环丙基-1H-吡唑-3-胺 (905mg, 7.35mmol) 的混合物中加入碳酸铯 (6.84g, 21.0mmol)。用氮气吹扫混合物 30min。然后加入三(二亚苄基丙酮)二钯(0) (641mg, 0.700mmol) 和 4,5-双(二苯基膦基)-9,9-二甲基咕吨 (688mg, 1.19mmol)。将烧瓶连接氮气吹扫的冷凝器,并将混合物在氮气下回流 6h。将混合物冷却至室温并过滤。将滤饼悬浮于乙酸乙酯 (30mL) 和水 (10mL) 中并通过硅藻土过滤。分离各层。用无水硫酸镁干燥合并的有机层。过滤除去干燥剂。减压浓缩滤液。将残余物在硅胶上纯化,用在庚烷中的 0-50% 乙酸乙酯梯度洗脱得到 6-氯-4-(5-环丙基-1H-吡唑-3-基氨基)-2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)哒嗪-3(2H)-酮 111a (1.58g, 59%)。

[0400] 实施例 111b 2-叔丁基-5-(3-(5-(5-环丙基-1H-吡唑-3-基氨基))-6-氧代-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1,6-二氢哒嗪-3-基)-2-甲基苯基)-4H-吡唑并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮 111b

[0401]



[0402] 按照实施例 109 的操作, 使 148.4mg (0.36mmol) 2-叔丁基-5-(2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基)-4H-吡咯并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮 109f、114.6mg (0.3mmol) 6-氯-4-(5-环丙基-1H-吡唑-3-基氨基)-2-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)哒嗪-3(2H)-酮 111a、27.5mg (0.03mmol) 三(二亚苄基丙酮)二钯(0)、29.6mg (0.072mmol) 4,5-双(二苯基膦基)-9,9-二甲基咕吨(0.596mmol)、0.71mL (0.9mmol) 1.27M 磷酸钾水溶液和 10mL 1,4-二噁烷反应, 得到 129mg (68%) 2-叔丁基-5-(3-(5-(5-环丙基-1H-吡唑-3-基氨基)-6-氧代-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1,6-二氢哒嗪-3-基)-2-甲基苯基)-4H-吡咯并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮 111b。

[0403] **实施例 111** 2-叔丁基-5-(3-(5-(5-环丙基-1H-吡唑-3-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)-2-甲基苯基)-4H-吡咯并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮 111

[0404] 向 2-叔丁基-5-(3-(5-(5-环丙基-1H-吡唑-3-基氨基)-6-氧代-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1,6-二氢哒嗪-3-基)-2-甲基苯基)-4H-吡咯并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮 111b 在二氯甲烷 (5mL) 和三氟乙酸 (5mL) 中的混合物加入茴香酐 (0.11mL, 1.0mmol) 和三氟甲磺酸 (0.054mL, 0.61mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 3h。浓缩混合物。通过反相 HPLC 纯化残余物。C-18 柱, 用在具有 1% 氢氧化铵的水中的 20-60% 乙腈梯度洗脱, 得到 2-叔丁基-5-(3-(5-(5-环丙基-1H-吡唑-3-基氨基)-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)-2-甲基苯基)-4H-吡咯并[3,4-d]噻唑-6(5H)-酮 111 (50mg, 50%)。M+1502.2。¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 12.94 (s, 1H), 12.02 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.50 (dd, J=5.8, 3.5, 1H), 7.38 (dd, J=8.0, 5.6, 2H), 5.87 (d, J=2.0, 1H), 4.96 (s, 2H), 2.13 (s, 3H), 1.84 (td, J=8.4, 4.2, 1H), 1.47 (s, 9H), 0.98 - 0.82 (m, 2H), 0.71 - 0.59 (m, 2H)。

[0405] **实施例 901** Btk 生化测定

[0406] 可用来测试式 I 化合物的 Btk 激酶标准生化测定的一般方法如下。制备无 Btk 酶的含有 1X 细胞信号转导激酶缓冲液 (25mM Tris-HCl, pH7.5、5mM β -甘油磷酸、2mM 二硫苏糖醇、0.1mM Na_3VO_4 、10mM MgCl_2)、0.5 μM Promega PTK 生物素化的肽底物 2 和 0.01%BSA 的预混试剂 (master mix)。制备加 Btk 酶的含有 1X 细胞信号转导激酶缓冲液、0.5 μM PTK 生物素化的肽底物 2、0.01%BSA 和 100ng/孔 (0.06mU/孔) Btk 酶的预混试剂。Btk 酶的制备如下: 使具有 C-末端 V5 和 6x His 标记的全长人野生型 Btk (登记号 NM-000061) 亚克隆到 pFastBac 载体中, 用于制备携带该表位标记的 Btk 的杆状病毒。根据 Invitrogen 在其出版的实验方案 “Bac-toBac Baculovirus Expression Systems” (Cat. Nos. 10359-016 和 10608-016) 中详述的使用说明制备杆状病毒。传代 3 病毒用于感染 Sf9 细胞以过量表达重组 Btk 蛋白。然后使用 Ni-NTA 柱将 Btk 蛋白纯化至同质。根据敏感的 Sypro-Ruby 染色法, 最终蛋白制备品的纯度大于 95%。在水中制备 200 μM ATP 溶液并且用 1N NaOH 调

节至 pH7.4。将量为 1.25 μ L 的化合物的 5%DMSO 溶液转移至 96 孔半区 Costar 聚苯乙烯板。逐一地并用 11 点剂量反应曲线(起始浓度是 10 μ M;1:2 稀释度)来测试化合物。将量为 18.75 μ L 的无酶预混试剂(作为阴性对照)和加酶预混试剂转移至 96 孔半区 Costar 聚苯乙烯板中的合适孔。将 5 μ L 200 μ M ATP 加入 96 孔半区 Costar 聚苯乙烯板中的混合物中,使最终 ATP 浓度是 40 μ M。使反应物在室温培养 1 小时。用含有 30mM EDTA、20nM SA-APC 和 1nM PT66Ab 的 Perkin Elmer1X 检测缓冲液使反应停止。用使用激发滤光片 330nm、发射滤光片 665nm 和第二发射滤光片 615nm 的 Perkin ElmerEnvision,使用时间分辨荧光读板。然后计算 IC₅₀值。或者,可以使用 Lanthascreen 测定,通过定量其磷酸化的肽产物来评价 Btk 活性。在肽产物上的荧光素和在检测抗体上的铽之间发生的 FRET(荧光共振能量跃迁)随着添加降低肽的磷酸化的 Btk 抑制剂而下降。在 25uL 的最终反应体积中,使 Btk(h)(0.1ng/25uL 反应)与 50mM Hepes pH7.5、10mM MgCl₂、2mM MnCl₂、2mM DTT、0.2mM NaVO₄、0.01%BSA 和 0.4uM 荧光素 poly-GAT 一起温育。通过添加 ATP 至 25uM(ATP 的 Km)引发反应。在室温下温育 60 分钟后,通过在室温下添加在 60mM EDTA 中终浓度为 2nM Tb-PY20 的检测抗体,持续 30 分钟,来终止反应。在 Perkin ElmerEnvision 上,使用在 340nm 激发以及在 495nm 和 520nm 发射进行检测。示例 Btk 抑制 IC₅₀ 值示于表 2 中。

[0407] 实施例 902 Ramos 细胞 Btk 测定

[0408] 可用于测试式 I 化合物的标准细胞 Btk 激酶测定的另一种一般方法如下。以 0.5 $\times 10^7$ 细胞/ml 的密度在供试化合物存在下在 37 $^{\circ}$ C 培养 Ramos 细胞 1hr。然后通过用 10 μ g/ml 抗人 IgM F(ab)₂在 37 $^{\circ}$ C 培养 5 分钟来刺激细胞。使细胞成丸(pelleted)、溶解,并且对澄清溶解液进行蛋白测定。对等蛋白量的各样品进行 SDS-PAGE 并且用抗磷酸 Btk(Tyr223)抗体(Cell Signaling Technology#3531;Epitomics, cat. #2207-1)或磷酸 Btk(Tyr551)抗体(BD Transduction Labs#558034)进行蛋白质印迹,以评估 Btk 自磷酸化或者用抗 Btk 抗体(BD Transduction Labs#611116)来控制各溶解液中 Btk 的总量。

[0409] 实施例 903 B 细胞增殖测定

[0410] 可用于测试式 I 化合物的标准细胞 B 细胞增殖测定的一般方法如下。使用 B 细胞分离试剂盒(Miltenyi Biotech, Cat#130-090-862)从 8-16 周龄 Balb/c 小鼠的脾纯化 B 细胞。将供试化合物稀释在 0.25%DMSO 中,与 2.5 $\times 10^5$ 纯化的小鼠脾 B 细胞培养 30 分钟,然后加入 10 μ g/ml 抗小鼠 IgM 抗体(Southern Biotechnology Associates Cat#1022-01),最终体积是 100 μ L。培养 24hr 后,加入 1 μ Ci³H-胸苷,将板培养另外 36hr,然后使用生产商的关于 SPA^{[3}H]胸苷吸收测定系统(Amersham Biosciences#RPNQ0130)的实验方案收集。在 microbeta 计数器(Wallace Triplex1450, Perkin Elmer)中计数基于 SPA 珠的荧光。

[0411] 实施例 904 T 细胞增殖测定

[0412] 可用于测试式 I 化合物的标准 T 细胞增殖测定的一般方法如下。使用全 T 细胞分离试剂盒(Miltenyi Biotech, Cat#130-090-861)从 8-16 周龄 Balb/c 小鼠的脾纯化 T 细胞。将供试化合物稀释在 0.25%DMSO 中并且与 2.5 $\times 10^5$ 纯化的小鼠脾 T 细胞以 100 μ L 最终体积在透明平底板中一起培养,所述板用各为 10 μ g/ml 的抗 CD3(BD#553057)和抗 CD28(BD#553294)抗体在 37 $^{\circ}$ C 预涂 90min。培养 24hr 后,加入 1 μ Ci³H-胸苷,将板培养另外 36hr,然后使用生产商的关于 SPA^{[3}H]胸苷吸收测定系统(Amersham Biosciences#RPNQ0130)的实验方案收集。在 microbeta 计数器(Wallace

Triplex1450, Perkin Elmer) 中计数基于 SPA 珠的荧光。

[0413] 实施例 905 CD86 抑制测定

[0414] 可用于测试式 I 化合物的抑制 B 细胞活性的标准测定的一般方法如下。通过红细胞裂解 (BD Pharmingen#555899), 从 8-16 周龄 Balb/c 小鼠的脾纯化总小鼠脾细胞。在透明平底板 (Falcon353072) 中, 使供试化合物稀释在 0.5%DMSO 中并且与 1.25×10^6 脾细胞在 200 μ l 最终体积中于 37 °C 培养 60 分钟。然后加入 15 μ g/ml IgM (Jackson ImmunoResearch115-006-020) 来刺激细胞, 并且细胞在 37 °C、5%CO₂ 中培养 24hr。培养 24hr 后, 使细胞转移至锥形底透明 96 孔板并且通过以 1200x g x5min 离心使细胞成丸。用 CD16/CD32 (BD Pharmingen#553142) 将细胞预封闭 (preblock), 随后用 CD19-FITC (BD Pharmingen#553785)、CD86-PE (BD Pharmingen#553692) 和 7AAD (BD Pharmingen#51-68981E) 进行三重染色。在 BD FACSCalibur 上将细胞分类并且对 CD19⁺/7AAD⁻ 群设门 (gated)。测量对应于供试化合物的浓度, 设门的群上的 CD86 表面表达的水平。示例性结果示于表 3 中。

[0415]

表 3.	
化合物	CD86 抑制 EC ₅₀ (δ M)
101	0.192
119	0.352

[0416]

120	0.189
122	0.211
124	1.1
127	0.178
131	0.139
132	0.113
134	0.206
136	0.704
142	1.2

[0417] 实施例 906 B-ALL 细胞存活测定

[0418] 以下是标准 B-ALL (急性淋巴细胞性白血病) 细胞存活研究的方法, 其使用 XTT 读数器来测量活细胞的数量。该测定可以用于测试式 I 化合物抑制培养物中 B-ALL 细胞的存活的能力。可以使用的一种人急性 B 细胞型淋巴细胞性白血病系是 SUP-B15, 其为一种可从 ATCC 获得的人前 B 细胞 ALL 系。

[0419] 以 5×10^5 细胞 /ml 的浓度将 SUP-B15 前 B-ALL 细胞接种在多个 96 孔微量滴定板的 100 μ l Iscove 培养基 +20%FBS 中。然后加入供试化合物, 使最终浓度是 0.4%DMSO。细胞在 37 °C 和 5%CO₂ 下培养至多 3 天。三天后, 将细胞按 1:3 分到含有供试化合物的新鲜 96 孔板中并允许生长另外 3 天。每 24h 的时间段后, 向一个复制 96 孔板加入 50 μ l XTT 溶液,

并且按照生产商的指示在 2、4 和 20 小时采集吸光度读数。然后采集仅用 DMSO 处理的细胞在本测定的线性范围 (0.5–1.5) 内的 OD 读数, 并且测量化合物处理的孔中的活细胞相对于仅 DMSO 处理的细胞的百分率。

[0420] 实施例 907 CD69 全血测定

[0421] 从具有以下限制的健康志愿者获得人血: 1 周末药物、不抽烟。通过静脉穿刺入含有肝素钠的 Vacutainer® (Becton, Dickinson and Co.) 管收集血液 (约 20ml 测试 8 种化合物)。

[0422] 将式 I 化合物在 DMSO 中的 10mM 溶液以 1:10 在 100%DMSO 中稀释, 然后为了 10 点剂量-反应曲线, 在 100%DMSO 中以三倍系列稀释比进行稀释。将化合物以 1:10 在 PBS 中进一步稀释, 然后将 5.5 μ l 等分量的各化合物一式两份地加入到 2ml 96 孔板; 加入 5.5 μ l 的 10%DMSO/PBS 作为对照和无刺激孔。将人全血 - HWB (100 μ l) 加入到各孔。在混合后, 将板在 37° C、5%CO₂、100% 湿度下培养 30 分钟。将山羊 F(ab')₂ 抗人 IgM (10 μ l 500 μ g/ml 溶液, 50 μ g/ml 最终) 加入到各孔 (除了无刺激孔之外) 并且混合, 将板再培养 20 小时。在 20 小时培养结束时, 使样品与荧光标记的抗体在 37° C、5%CO₂、100% 湿度下一起培养 30 分钟。包括诱导的对照、用于补偿调节的未染色的和单染色的、以及初始电压设定。然后按照生产商的说明书用 PharM Lyse™ (BD Biosciences Pharmingen) 溶解样品。而后将样品转移至适合于在 LSRII 仪上的 BD Biosciences HTS96 孔系统上工作的 96 孔板。利用 BD Biosciences DIVA 软件获得采集的数据和平均荧光强度。通过 FACS 分析软件 (Flow Jo) 初步分析结果。供试化合物的 IC₅₀ 定义为使经抗-IgM 刺激也呈 CD20 阳性的 CD69 阳性细胞降低 50% 时的浓度 (在减去无刺激背景的 8 个孔的平均值后, 8 个对照孔的平均值)。利用非线性回归曲线拟合, 通过 Prism 第 5 版计算 IC₅₀ 值。

[0423] 在 CD69 全血测定中, 选自表 1 和 2 中的化合物的示例性 IC₅₀ 值包括:

[0424] 表 4.

[0425]

化合物编号	IC ₅₀ (微摩尔)
107	0.461
113	0.213
116	2.5
122	0.101
128	0.568
133	0.147
142	0.41
145	0.091

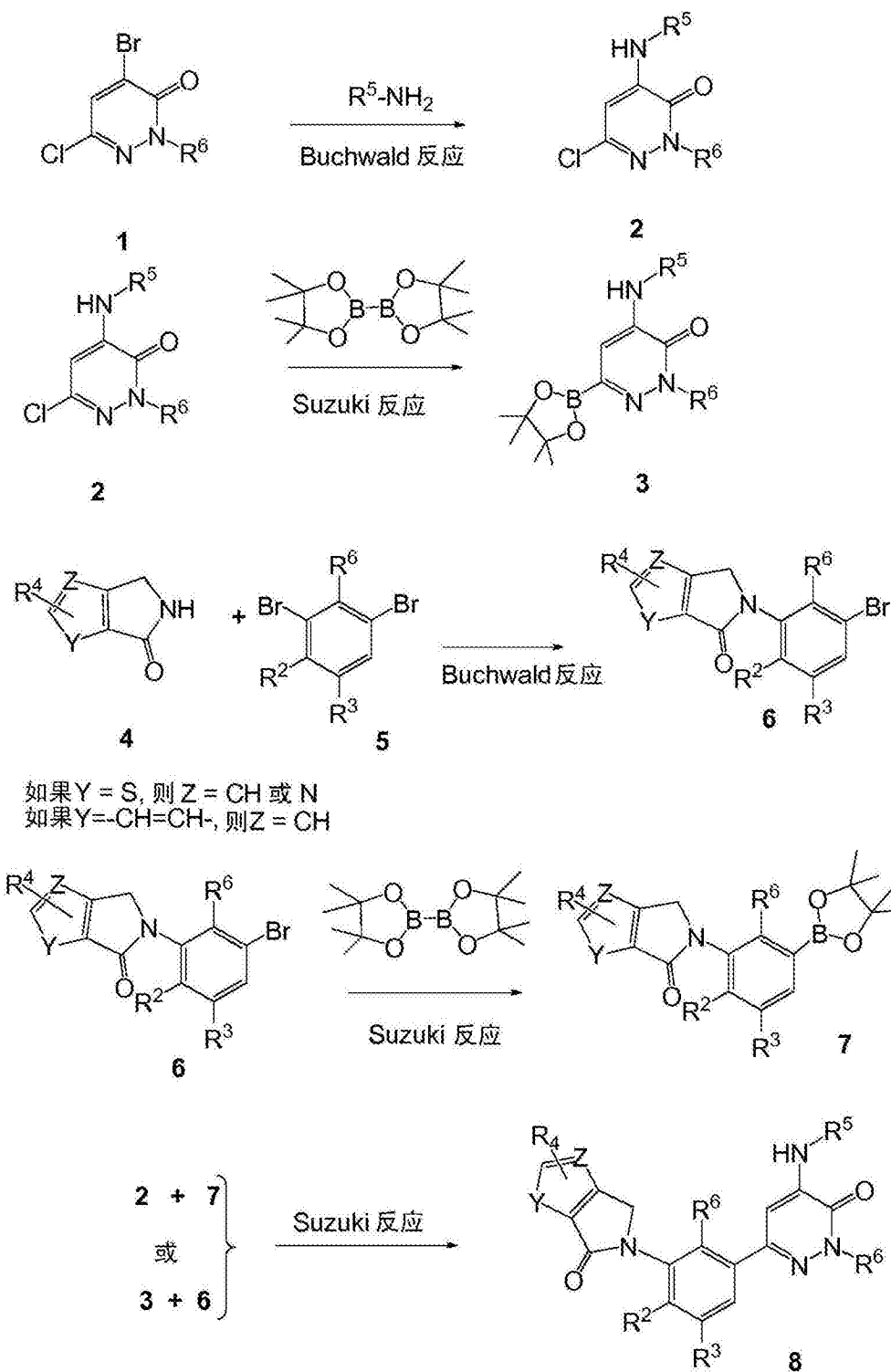


图 1

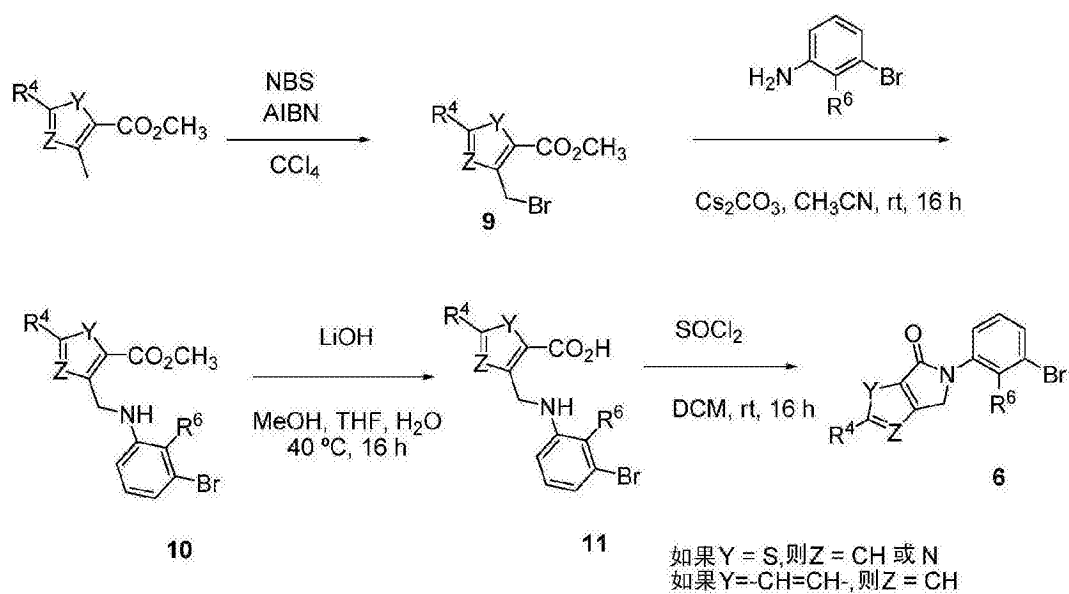


图 2

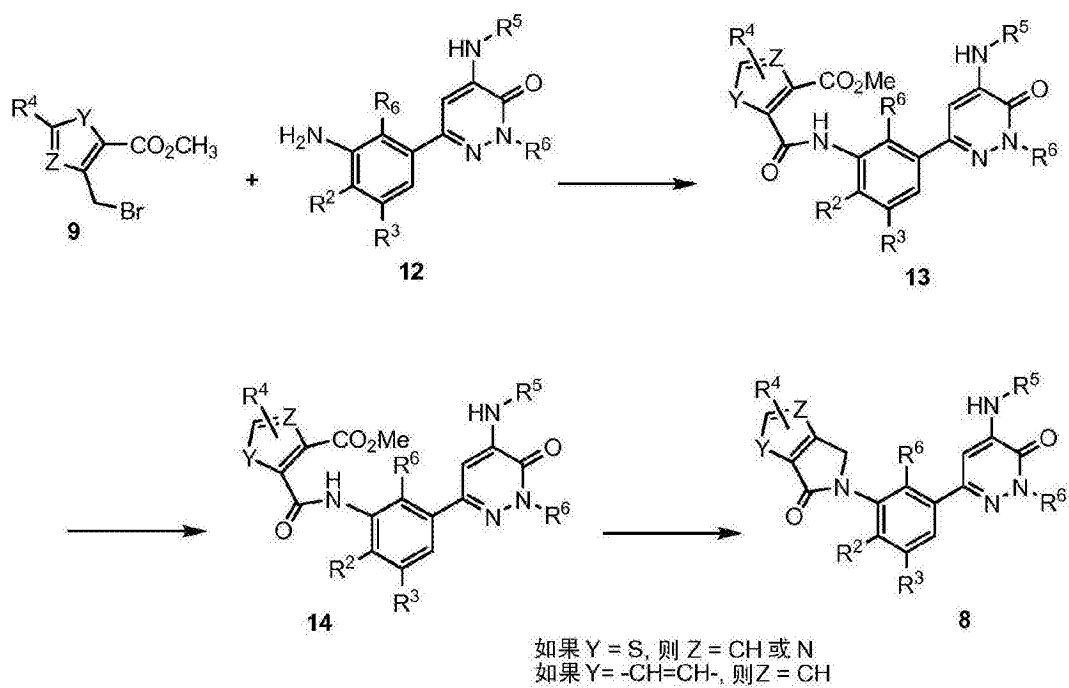


图 3