



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105367503 A

(43) 申请公布日 2016. 03. 02

(21) 申请号 201510792304. 0 *C07D 417/12*(2006. 01)
 (22) 申请日 2008. 10. 17 *C07D 403/12*(2006. 01)
 (30) 优先权数据 *C07D 413/12*(2006. 01)
 60/981, 432 2007. 10. 19 US *C07D 405/14*(2006. 01)
 61/052, 002 2008. 05. 09 US

(62) 分案原申请数据
200880121536. 1 2008. 10. 17

(71) 申请人 阿维拉制药公司
地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 里奇兰德·W·特斯特
尤斯温德·辛格 绍莫尔·高希
阿尔胡尔·F·克卢格
拉塞尔·C·彼得

(74) 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限
责任公司 11287
代理人 林斯凯

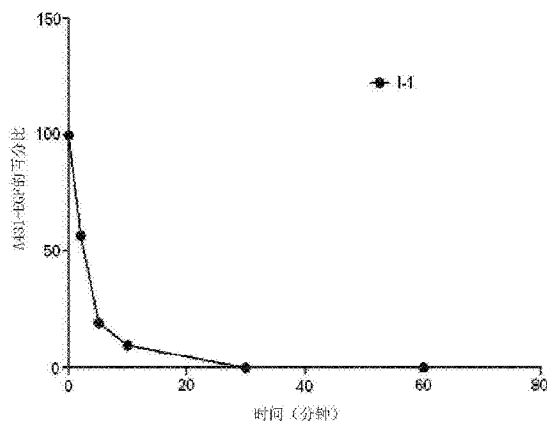
(51) Int. Cl.
C07D 239/48(2006. 01)
C07D 401/12(2006. 01)
C07D 471/04(2006. 01)

权利要求书8页 说明书125页
序列表26页 附图14页

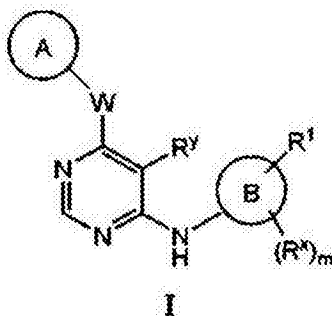
(54) 发明名称
杂芳基化合物和其用途

(57) 摘要

本申请涉及杂芳基化合物和其用途。本发明涉及适用作蛋白激酶抑制剂的化合物。本发明也提供包含本发明化合物的医药学上可接受的组合物和使用所述组合物治疗各种病症的方法。



1. 一种式 I 化合物,



或其医药学上可接受的盐,其中:

环 A 为选自以下的任选取代的基团:苯基、8-10 元双环部分不饱和环或芳基环、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元单环杂芳基环、或具有 1-5 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 8-10 元双环杂芳基环;

环 B 为苯基、具有 1-3 个独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 5-6 元杂芳基环、具有 1-2 个独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 5-6 元饱和杂环、或具有 1-3 个独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 8-10 元双环部分不饱和环或芳基环;

R^1 为弹头基;

R^y 为氢、卤素、CN、低碳数烷基或低碳数卤烷基;

G 为 CH 或 N;

W 为二价 C_{1-3} 亚烷基链,其中 W 的一个亚甲基单元任选经 $-NR^2-$ 、 $-N(R^2)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^2)-$ 、 $-N(R^2)SO_2-$ 、 $-SO_2N(R^2)-$ 、 $-O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S-$ 、 $-SO-$ 或 $-SO_2-$ 置换;

R^2 为氢或任选取代的 C_{1-6} 脂族基,或:

R^2 和环 A 上的取代基连同其插入原子一起形成 4-6 元饱和环,或:

R^2 和 R^y 连同其插入原子一起形成 4-7 元碳环;

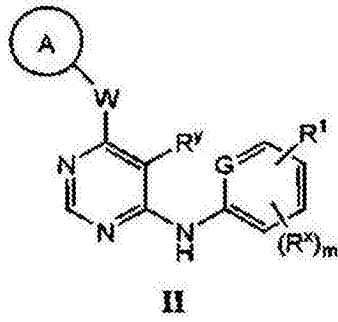
m 为 0-4;

R^x 各自独立地选自 $-R$ 、卤素、 $-OR$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-SO_2R$ 、 $-SOR$ 、 $-C(O)R$ 、 $-CO_2R$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-NRC(O)R$ 、 $-NRC(O)NR_2$ 、 $-NRSO_2R$ 或 $-N(R)_2$;或:

R^x 和 R^1 连同其插入原子一起形成具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-7 元饱和环、部分不饱和环或芳基环,其中所述环经弹头基和 0-3 个独立地选自氧代基、卤素、CN 或 C_{1-6} 脂族基的基团取代;且

R 基团各自独立地为氢,或选自以下的任选取代的基团: C_{1-6} 脂族基、苯基、具有 1-2 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 4-7 元杂环、或具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元单环杂芳基环。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物,其中所述化合物具有式 II:



其中：

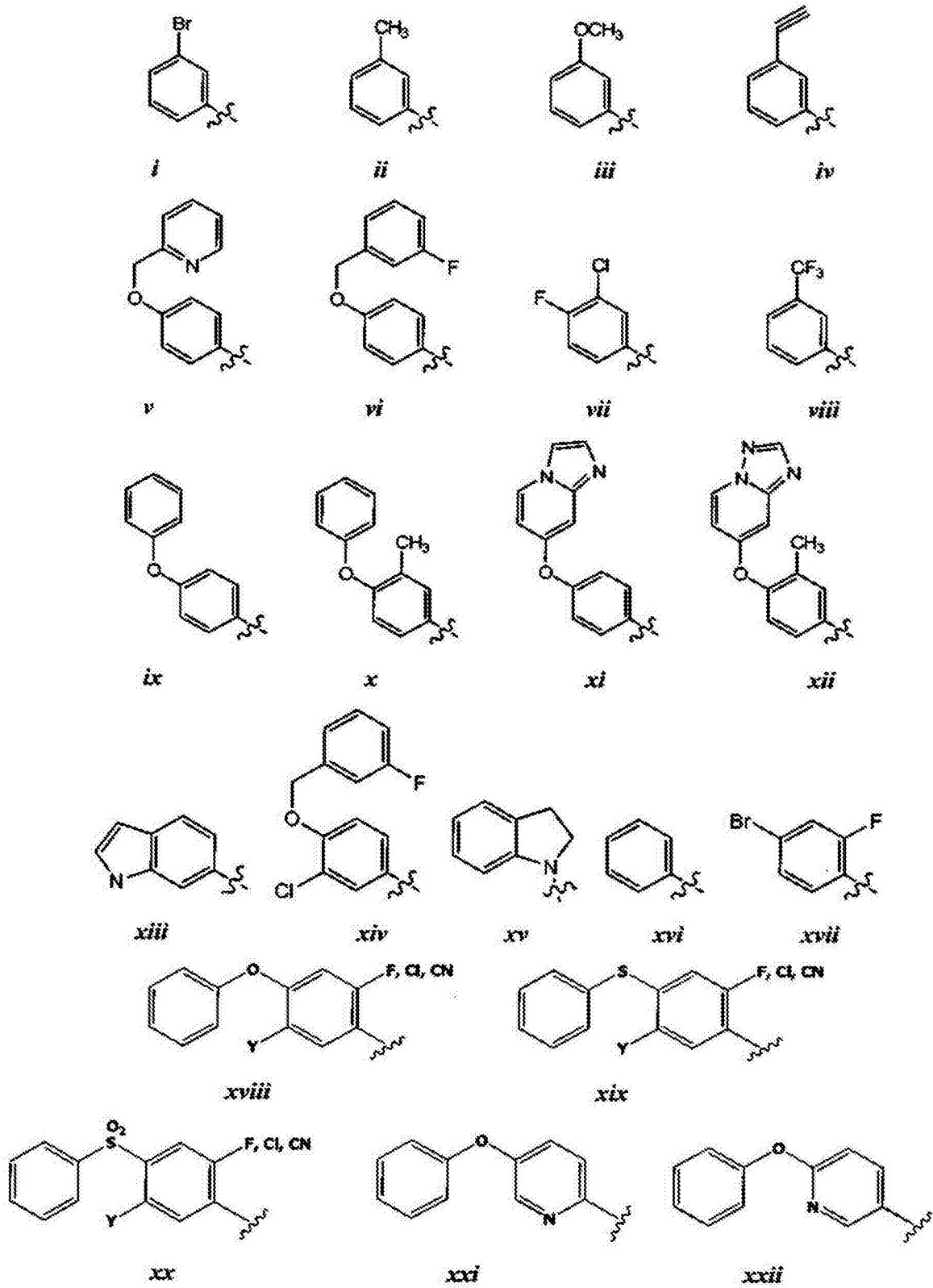
W 为 $-NR^2-$ 、 $-S-$ 或 $-O-$ ；

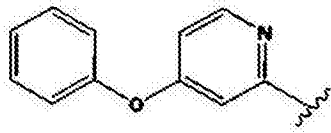
R^2 为氢或任选取代的 C_{1-6} 脂族基，或：

R^2 和环 A 上的取代基连同其插入原子一起形成 4-6 元饱和环；且

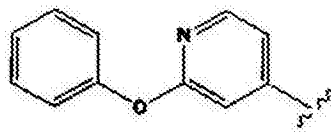
G 为 CH 或 N。

3. 根据权利要求 2 所述的化合物，其中环 A 是选自：

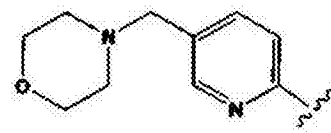




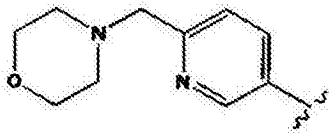
xxiii



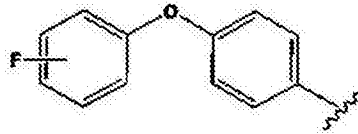
xxiv



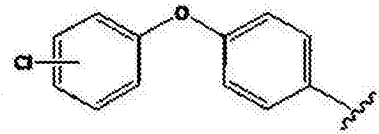
xxv



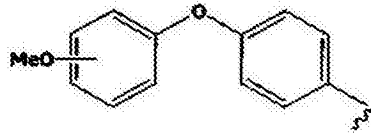
xxvi



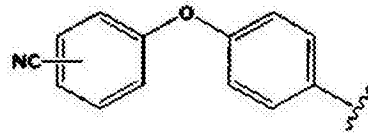
xxvii



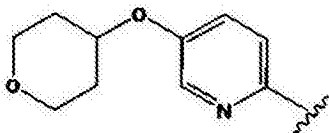
xxviii



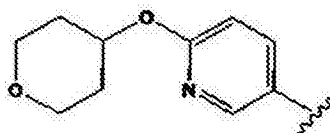
xxix



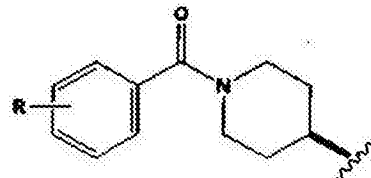
xxx



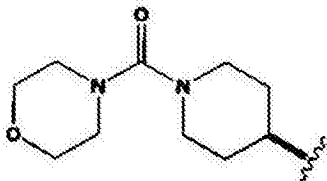
xxxi



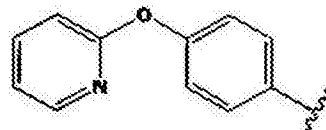
xxxii



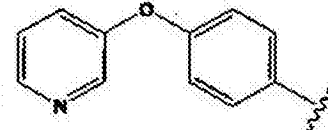
xxxiii



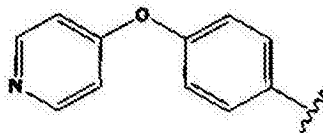
xxxiv



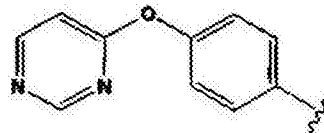
xxxv



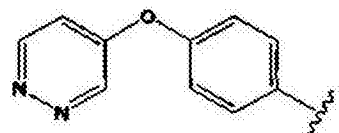
xxxvi



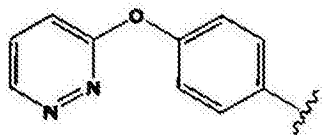
xxxvii



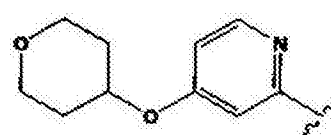
xxxviii



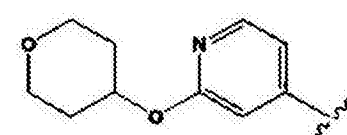
xxxix



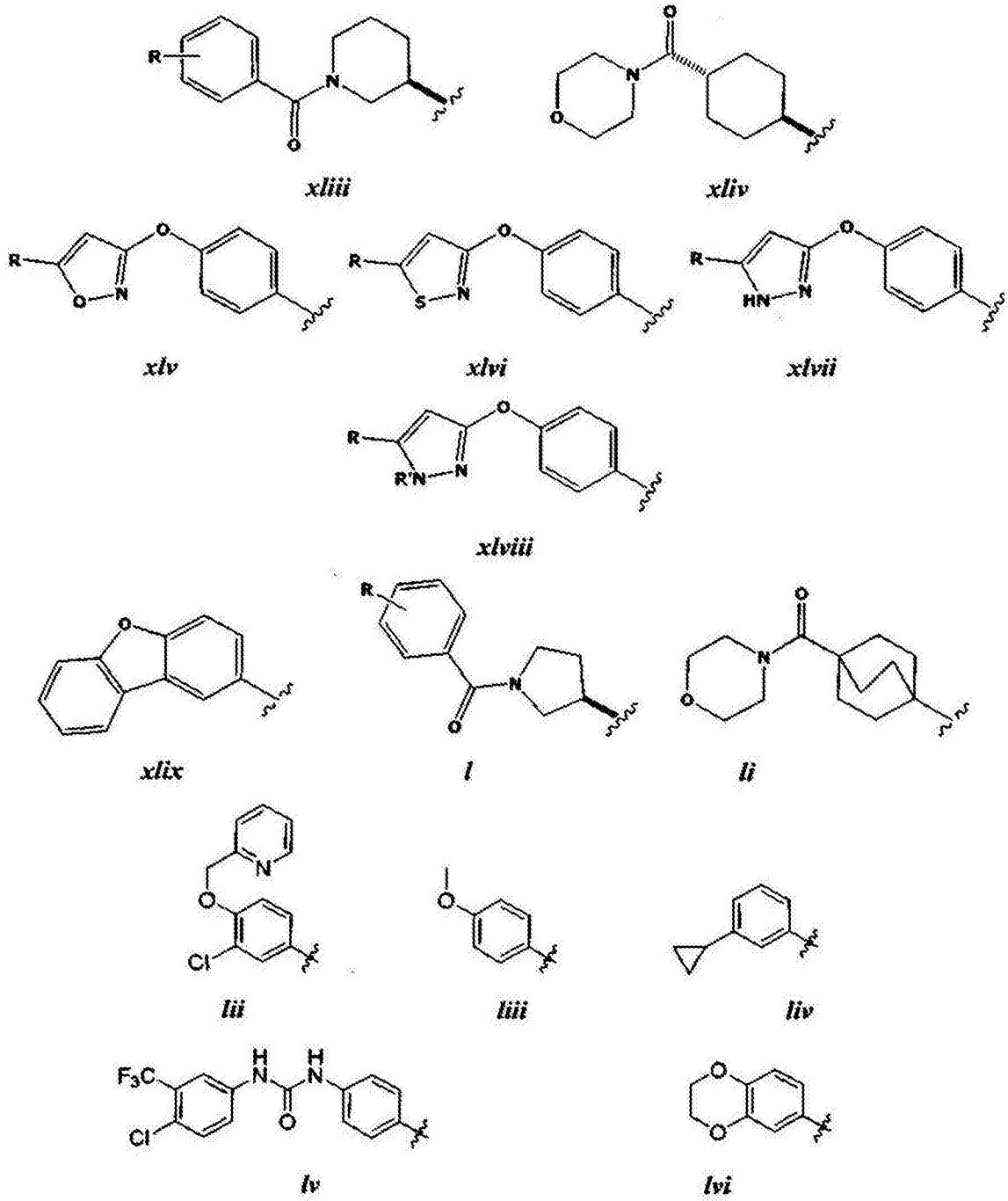
xli



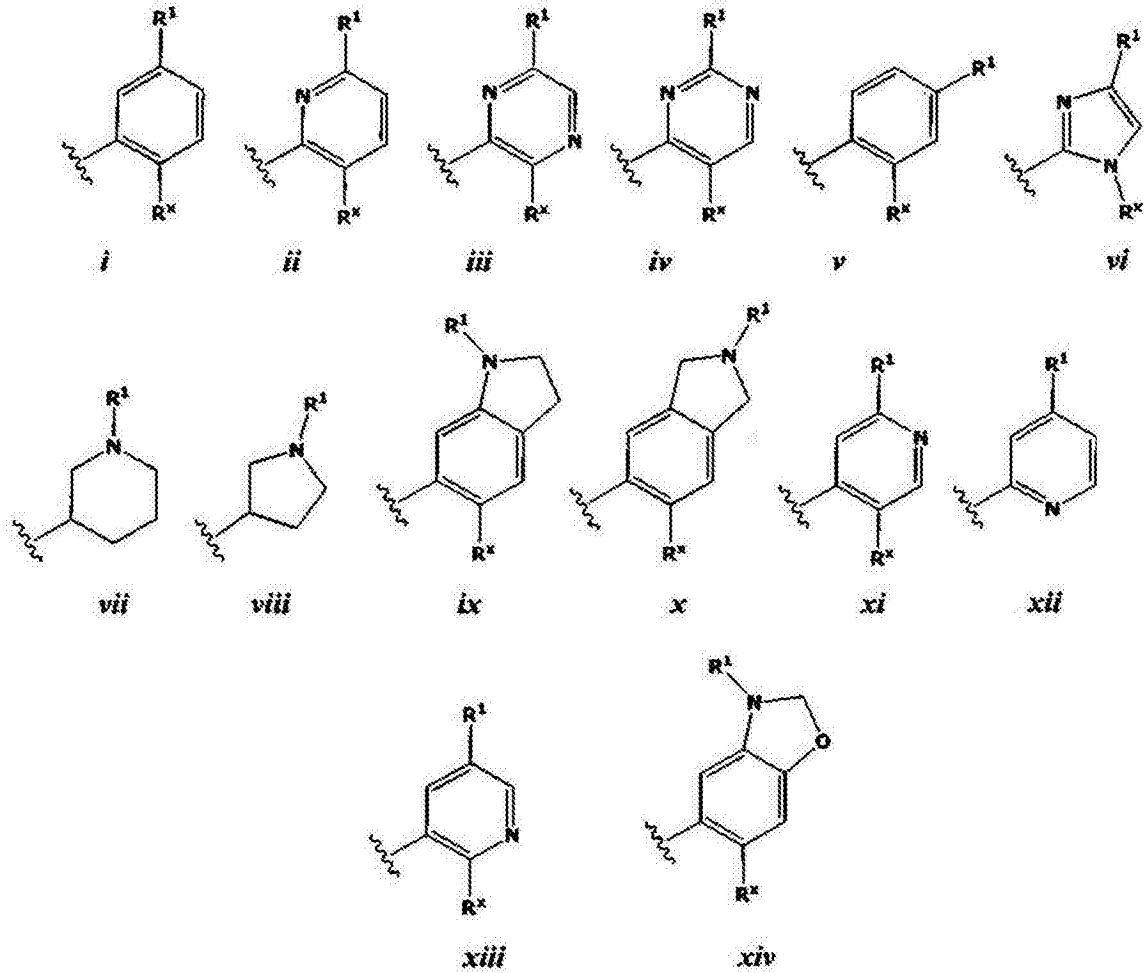
xlii



xliii

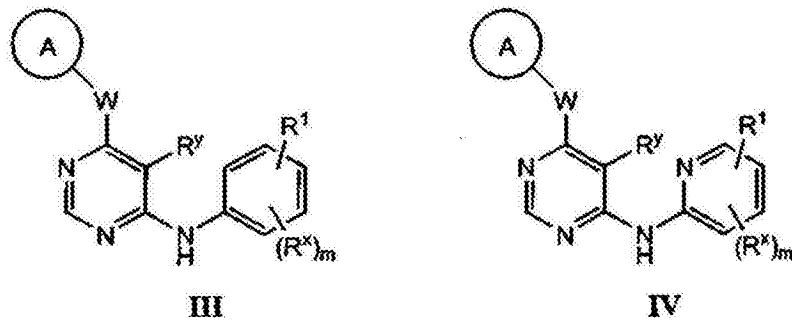


4. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中环 B 是选自:



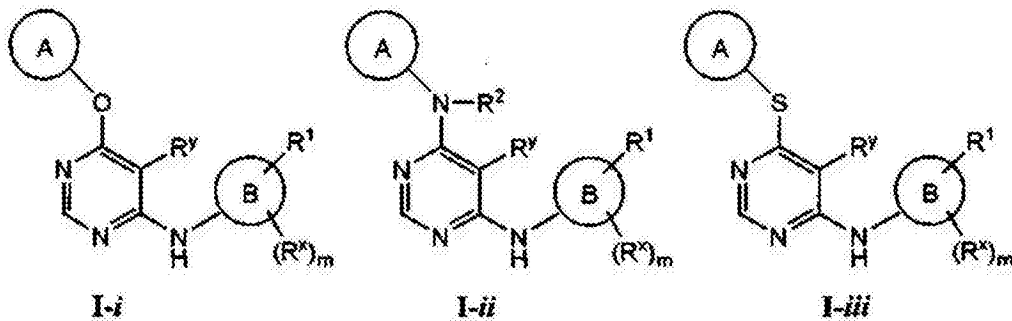
5. 根据权利要求 2 所述的化合物, 其中 m 为 1、2、3 或 4。

6. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中所述化合物具有式 III 或 IV:



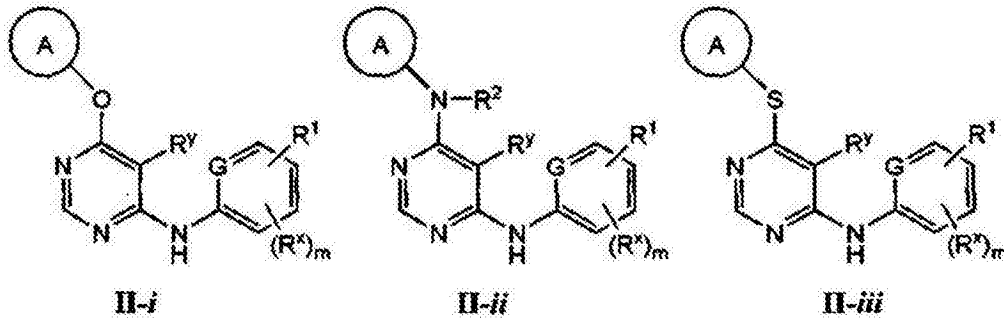
或其医药学上可接受的盐。

7. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中所述化合物具有式 I-i、I-ii 或 I-iii:



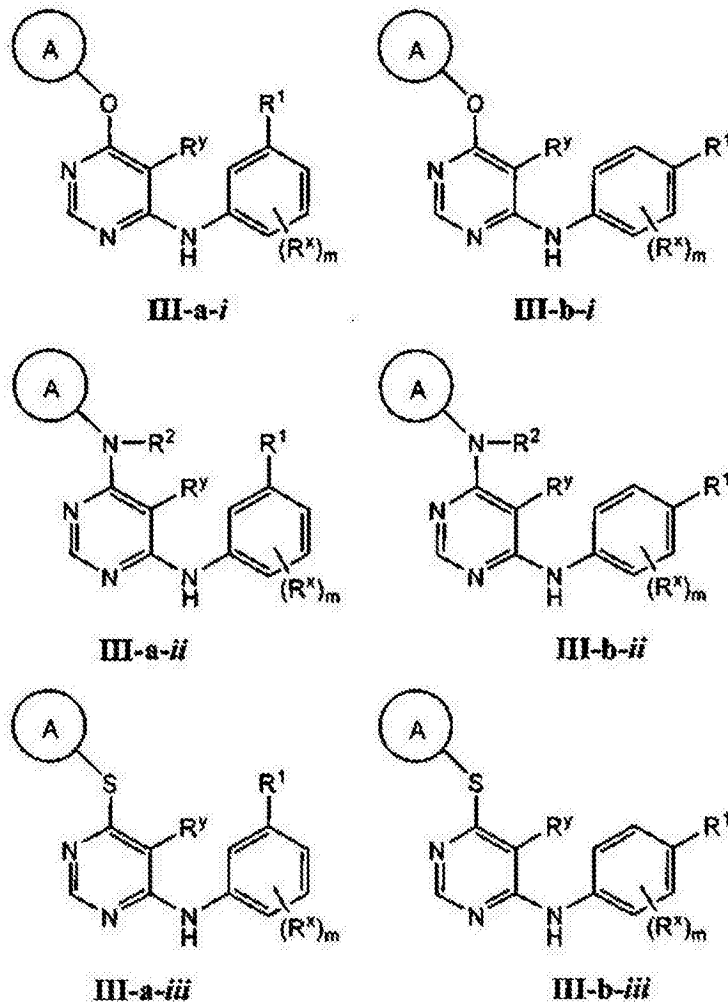
或其医药学上可接受的盐。

8. 根据权利要求 1 所述的化合物,其中所述化合物具有式 II-i、II-ii 或 II-iii:



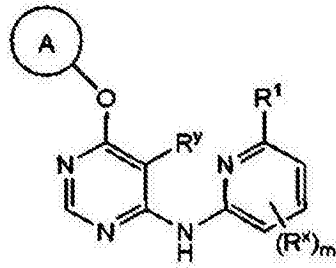
或其医药学上可接受的盐。

9. 根据权利要求 1 所述的化合物,其中所述化合物具有式 III-a-i、III-b-i、III-a-ii、III-b-ii、III-a-iii 或 III-b-iii:

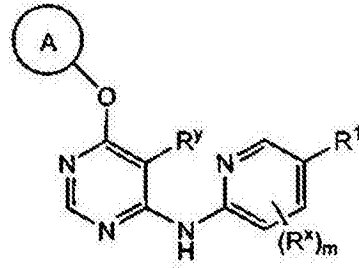


或其医药学上可接受的盐。

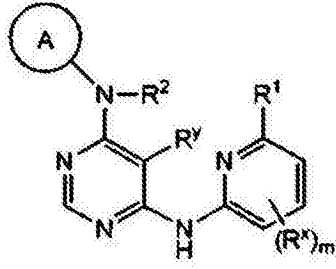
10. 根据权利要求 1 所述的化合物,其中所述化合物具有式 IV-a-i、IV-b-i、IV-a-ii、IV-b-ii、IV-a-iii 或 IV-b-iii:



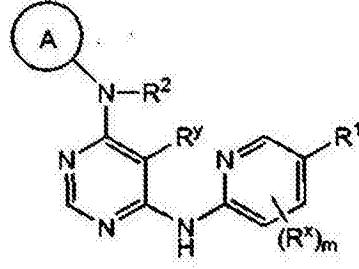
IV-a-i



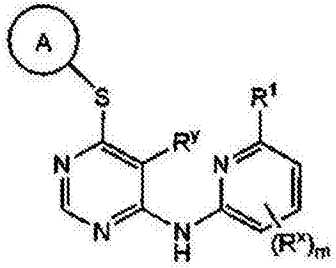
IV-b-i



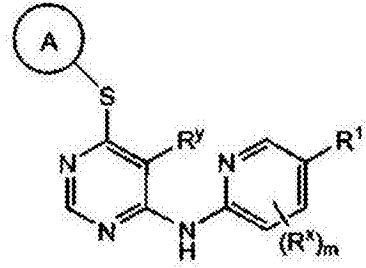
IV-a-ii



IV-b-ii



IV-a-iii



IV-b-iii

或其医药学上可接受的盐。

杂芳基化合物和其用途

[0001] 本申请是申请日为2008年10月17日,申请号为200880121536.1、发明名称为“杂芳基化合物和其用途”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请案的交叉引用

[0003] 本发明主张2007年10月19日申请的美国临时申请案第60/981,432号和2008年5月9日申请的美国临时申请案第61/052,002号的优先权,各案的全部内容都以引用的方式并入本文中。

技术领域

[0004] 本发明涉及适用作蛋白激酶抑制剂的化合物。本发明也提供包含本发明化合物的医药学上可接受的组合物和使用所述组合物治疗各种病症的方法。

背景技术

[0005] 近年来,通过更好地了解与疾病有关的酶和其它生物分子的结构,已极大地帮助寻找新的治疗剂。一类已成为广泛研究主题的重要的酶是蛋白激酶。

[0006] 蛋白激酶构成一大家族负责控制细胞内多种信号转导过程的结构相关酶。由于蛋白激酶的结构和催化功能保守,故认为蛋白激酶从共同的祖先基因进化而来。几乎所有的激酶都含有相似的含250-300个氨基酸的催化结构域。激酶可按其磷酸化的底物分成各家族(例如蛋白质-酪氨酸、蛋白质-丝氨酸/苏氨酸、脂质等)。

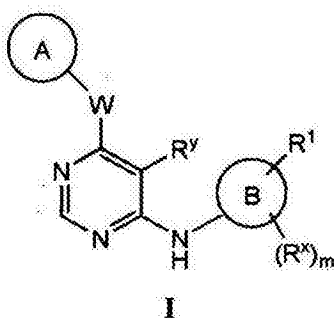
[0007] 一般说来,蛋白激酶通过将磷酸基从三磷酸核苷转移到涉及信号传导通路的蛋白质受体来介导细胞内的信号传导。这些磷酸化事件充当可调控或调节靶蛋白质生物功能的分子打开/关闭开关。最终对多种细胞外和其它刺激有所反应,从而引发这些磷酸化事件。所述刺激的实例包括环境和化学应力信号(例如渗透压休克、热休克、紫外线辐射、细菌内毒素和 H_2O_2)、细胞因子(例如白介素-1(IL-1)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α))和生长因子(例如粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和成纤维细胞生长因子(FGF))。细胞外刺激可以影响一种或一种以上与细胞生长、迁移、分化、激素分泌、转录因子活化、肌肉收缩、葡萄糖代谢、蛋白质合成控制和细胞周期调节相关的细胞反应。

[0008] 多种疾病与由如上所述的蛋白激酶介导的事件引发的异常细胞反应相关联。这些疾病包括(但不限于)自身免疫疾病、发炎性疾病、骨病、代谢疾病、神经病和神经退化性疾病、癌症、心血管病、过敏症和哮喘、阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease)和激素相关疾病。因此,仍然需要找到适用作治疗剂的蛋白激酶抑制剂。

发明内容

[0009] 现已发现,本发明化合物和其医药学上可接受的组合物有效地为一种或一种以上蛋白激酶的抑制剂。所述化合物具有通式I:

[0010]



[0011] 或其医药学上可接受的盐,其中环 A、环 B、m、R^x、R^y、W 和 R¹如本文中所定义。

[0012] 本发明化合物和其医药学上可接受的组合物适用于治疗多种与由蛋白激酶介导的事件引发的异常细胞反应有关的疾病、病症或病状。这些疾病、病症或病状包括本文所述的疾病、病症或病状。

[0013] 本发明所提供的化合物也适用于研究生物和病理现象中的激酶、研究由这些激酶介导的细胞内信号转导通路以及比较性评估新的激酶抑制剂。

附图说明

[0014] 图 1 描绘化合物 I-1 的 EGF 抑制活性。

[0015] 图 2 描绘“冲洗”实验中化合物 I-1 与化合物 I-93 相比较的结果。

[0016] 图 3 描绘 A431 细胞中化合物 I-16 和 I-17 对 EGFR 磷酸化和 p42/p44Erk 磷酸化的剂量反应抑制。

[0017] 图 4 描绘 A431 细胞中化合物 I-19 对 EGFR 磷酸化和 p42/p44Erk 磷酸化的剂量反应抑制。

[0018] 图 5 描绘 A431 细胞中化合物 I-1 与其“可逆对照”化合物 (I^R-3) 相比较,对 EGFR 磷酸化的剂量反应抑制。

[0019] 图 6 描绘“冲洗”实验中化合物 I-1 与其“可逆对照”化合物 (I^R-3) 相比较的结果。

[0020] 图 7 描绘 MS 分析,证实 ErbB4 经化合物 I-1 共价修饰。

[0021] 图 8 描绘 MS 分析,证实 ErbB1 的 Cys797 处经化合物 I-1 共价修饰。

[0022] 图 9 描绘拉莫斯细胞 (Ramos cell) 中化合物 I-13 对 BTK 信号传导的抑制。

[0023] 图 10 描绘“冲洗”实验中化合物 I-13 针对拉莫斯细胞中的 BTK 的结果。

[0024] 图 11 描绘胰蛋白酶消化液的 MS 分析,证实 TEC 激酶经化合物 I-13 共价修饰。

[0025] 图 12 描绘 MS 分析,证实 BTK 经化合物 I-63 共价修饰。

[0026] 图 13 描绘 MS 分析,证实 BTK 经化合物 I-66 共价修饰。

[0027] 图 14 描绘 BTK 的氨基酸序列 (SEQ ID 1)。

[0028] 图 15 描绘 TEC 的氨基酸序列 (SEQ ID 2)。

[0029] 图 16 描绘 ITK 的氨基酸序列 (SEQ ID 3)。

[0030] 图 17 描绘 BMX 的氨基酸序列 (SEQ ID 4)。

[0031] 图 18 描绘 JAK3 的氨基酸序列 (SEQ ID 5)。

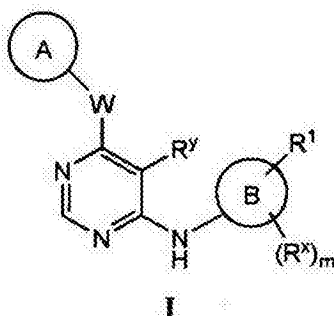
[0032] 图 19 描绘 TXK 的氨基酸序列 (SEQ ID 6)。

具体实施方式

[0033] 1. 本发明化合物的概述

[0034] 在某些实施例中,本发明提供一种式 I 化合物:

[0035]



[0036] 或其医药学上可接受的盐,其中:

[0037] 环 A 为选自以下的任取代的基团:苯基、8-10 元双环部分不饱和环或芳基环、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元单环杂芳基环、或具有 1-5 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 8-10 元双环杂芳基环;

[0038] 环 B 为苯基、具有 1-3 个独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 5-6 元杂芳基环、具有 1-2 个独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 5-6 元饱和杂环、或具有 1-3 个独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 8-10 元双环部分不饱和环或芳基环;

[0039] R^1 为弹头基 (warhead group);

[0040] R^y 为氢、卤素、CN、低碳数烷基或低碳数卤烷基;

[0041] W 为二价 C_{1-3} 亚烷基链,其中 W 的一个亚甲基单元任选经 $-NR^2-$ 、 $-N(R^2)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^2)-$ 、 $-N(R^2)SO_2-$ 、 $-SO_2N(R^2)-$ 、 $-O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S-$ 、 $-SO-$ 或 $-SO_2-$ 置换;

[0042] R^2 为氢或任取代的 C_{1-6} 脂族基,或:

[0043] R^2 和环 A 上的取代基连同其插入原子一起形成 4-6 元饱和环,或:

[0044] R^2 和 R^y 连同其插入原子一起形成 4-7 元碳环;

[0045] m 为 0-4;

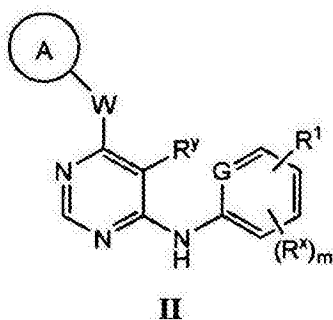
[0046] R^x 各自独立地选自 $-R$ 、卤素、 $-OR$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-SO_2R$ 、 $-SOR$ 、 $-C(O)R$ 、 $-CO_2R$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-NRC(O)R$ 、 $-NRC(O)NR_2$ 、 $-NRSO_2R$ 或 $-N(R)_2$;或:

[0047] R^x 和 R^1 连同其插入原子一起形成具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-7 元饱和环、部分不饱和环或芳基环,其中所述环经弹头基和 0-3 个独立地选自氧代基、卤素、CN 或 C_{1-6} 脂族基的基团取代;且

[0048] R 基团各自独立地为氢,或选自以下的任取代的基团: C_{1-6} 脂族基、苯基、具有 1-2 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 4-7 元杂环、或具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元单环杂芳基环。

[0049] 在某些实施例中,本发明提供一种式 II 化合物:

[0050]



[0051] 或其医药学上可接受的盐,其中:

[0052] 环 A 为选自以下的任选取代的基团:苯基、8-10 元双环部分不饱和环或芳基环、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元单环杂芳基环、或具有 1-5 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 8-10 元双环杂芳基环;

[0053] R^1 为弹头基;

[0054] R^y 为氢、卤素、CN、低碳数烷基或低碳数卤烷基;

[0055] G 为 CH 或 N;

[0056] W 为 $-NR^2-$ 、 $-S-$ 或 $-O-$;

[0057] R^2 为氢或任选取代的 C_{1-6} 脂族基,或:

[0058] R^2 和环 A 上的取代基连同其插入原子一起形成 4-6 元饱和环;

[0059] m 为 0-4;

[0060] R^x 各自独立地选自 $-R$ 、卤素、 $-OR$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-SO_2R$ 、 $-SOR$ 、 $-C(O)R$ 、 $-CO_2R$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-NRC(O)R$ 、 $-NRC(O)NR_2$ 、 $-NRSO_2R$ 或 $-N(R)_2$;或:

[0061] R^x 和 R^1 连同其插入原子一起形成具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-7 元饱和环、部分不饱和环或芳基环,其中所述环经弹头基和 0-3 个独立地选自氧代基、卤素、CN 或 C_{1-6} 脂族基的基团取代;且

[0062] R 基团各自独立地为氢,或选自以下的任选取代的基团: C_{1-6} 脂族基、苯基、具有 1-2 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 4-7 元杂环、或具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元单环杂芳基环。

[0063] 2. 化合物和定义

[0064] 本发明化合物包括上文所概述的化合物,且按本文中所揭示的类别、子类和种类进一步加以说明。除非另外指示,否则如本文所用的以下定义应适用。为达成本发明的目的,化学元素是根据元素周期表 (the Periodic Table of the Elements) (化学文摘社版本 (CAS version), 化学与物理手册 (Handbook of Chemistry and Physics), 第 75 版) 来确定。另外,有机化学的一般原理描述于“有机化学 (Organic Chemistry)” (托马斯·索瑞尔 (Thomas Sorrell), 大学自然科学图书公司 (University Science Books), 索萨利托 (Sausalito):1999) 和“马奇高等有机化学 (March's Advanced Organic Chemistry)” (第 5 版, 编辑:史密斯 (Smith, M. B.) 和马奇 (March, J.), 约翰威立父子出版公司 (John Wiley&Sons), 纽约 (New York):2001) 中,这些书籍的全部内容都以引用的方式并入本文中。

[0065] 如本文所用的术语“脂族基”意指完全饱和或含有一个或一个以上不饱和单元的经取代或未经取代的直链 (即无支链) 或支链烃链、或完全饱和或含有一个或一个以上不

饱和单元但不为芳族的单环烃或二环烃（本文中也称为“碳环”、“环脂族基”或“环烷基”），其具有单个连接点与分子的其余部分相连接。除非另外说明，否则脂族基含有 1-6 个脂族碳原子。在一些实施例中，脂族基含有 1-5 个脂族碳原子。在其它实施例中，脂族基含有 1-4 个脂族碳原子。在其它实施例中，脂族基含有 1-3 个脂族碳原子，且在其它实施例中，脂族基含有 1-2 个脂族碳原子。在一些实施例中，“环脂族基”（或“碳环”或“环烷基”）是指完全饱和或含有一个或一个以上不饱和单元但非芳族的单环 C_3 - C_6 烃，其具有单个连接点与分子的其余部分相连接。合适的脂族基包括（但不限于）经取代或未经取代的直链或支链烷基、烯基、炔基和其混杂基，例如（环烷基）烷基、（环烯基）烷基或（环烷基）烯基。

[0066] 术语“低碳数烷基”是指 C_{1-4} 直链或支链烷基。例示性低碳数烷基为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基和叔丁基。

[0067] 术语“低碳数卤烷基”是指经一个或一个以上卤素原子取代的 C_{1-4} 直链或支链烷基。

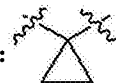
[0068] 术语“杂原子”意指氧、硫、氮、磷或硅中的一者或一者以上（包括氮、硫、磷或硅的任何氧化形式；任何碱性氮的季铵化形式或；杂环的可取代氮，例如 N（如 3, 4-二氢-2H-吡咯基中）、NH（如吡咯烷基中）或 NR^+ （如 N 上经取代的吡咯烷基中））。

[0069] 如本文所用的术语“不饱和”意指具有一个或一个以上不饱和单元的部分。

[0070] 如本文所用的术语“二价 C_{1-6} （或 C_{1-8} ）饱和或不饱和的直链或支链烃链”是指如本文中所定义为直链或支链的二价亚烷基、亚烯基和亚炔基链。

[0071] 术语“亚烷基”是指二价烷基。“亚烷基链”是聚亚甲基，即 $-(CH_2)_n-$ ，其中 n 为正整数，优选为 1 至 6、1 至 4、1 至 3、1 至 2、或 2 至 3。经取代的亚烷基链是一个或一个以上亚甲基氢原子经取代基置换的聚亚甲基。合适的取代基包括下文关于经取代的脂族基所描述的取代基。

[0072] 术语“亚烯基”是指二价烯基。经取代的亚烯基链是含有至少一个双键并且一个或一个以上氢原子经取代基置换的聚亚甲基。合适的取代基包括下文关于经取代的脂族基所描述的取代基。

[0073] 如本文所用的术语“环丙烯基”是指具有以下结构的二价环丙基：

[0074] 术语“卤素”意指 F、Cl、Br 或 I。

[0075] 单独使用或如“芳烷基”、“芳烷氧基”或“芳氧基烷基”中作为较大部分的一部分使用的术语“芳基”是指总共具有 5 至 14 个环成员的单环和双环系统，其中所述系统中的至少一个环是芳环且其中系统中的每个环都含有 3 至 7 个环成员。术语“芳基”与术语“芳基环”可互换使用。在本发明的某些实施例中，“芳基”是指包括（但不限于）苯基、联苯、萘基、蒽基等的芳环系统，其可能具有一个或一个以上取代基。如本文中所用，术语“芳基”的范围内也包括芳环与一个或一个以上非芳环稠合而成的基团，例如茚满基、邻苯二甲酰亚胺基、萘二甲酰亚胺基 (naphthimidyl)、菲啶基或四氢萘基等。

[0076] 单独使用或作为例如“杂芳烷基”或“杂芳烷氧基”等较大部分的一部分使用的术语“杂芳基”和“杂芳”是指如下基团，其具有 5 至 10 个环原子，优选 5、6 或 9 个环原子；环系 (cyclic array) 中共享 6、10 或 14 个 π 电子；并且除碳原子外，还具有 1 至 5 个杂原子。术语“杂原子”是指氮、氧或硫，并包括氮或硫的任何氧化形式和碱性氮的任何季铵化

$C(O)OR^{\circ}$; $-N(R^{\circ})N(R^{\circ})C(O)R^{\circ}$; $-N(R^{\circ})N(R^{\circ})C(O)NR^{\circ}_2$; $-N(R^{\circ})N(R^{\circ})C(O)OR^{\circ}$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)R^{\circ}$; $-C(S)R^{\circ}$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^{\circ}$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR^{\circ}$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR^{\circ}_3$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R^{\circ}$; $-OC(O)(CH_2)_{0-4}SR-$; $SC(S)SR^{\circ}$; $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R^{\circ}$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR^{\circ}_2$; $-C(S)NR^{\circ}_2$; $-C(S)SR^{\circ}$; $-SC(S)SR^{\circ}$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR^{\circ}_2$; $-C(O)N(OR^{\circ})R^{\circ}$; $-C(O)C(O)R^{\circ}$; $-C(O)CH_2C(O)R^{\circ}$; $-C(NOR^{\circ})R^{\circ}$; $-(CH_2)_{0-4}SSR^{\circ}$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^{\circ}$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR^{\circ}$; $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R^{\circ}$; $-S(O)_2NR^{\circ}_2$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)R^{\circ}$; $-N(R^{\circ})S(O)_2NR^{\circ}_2$; $-N(R^{\circ})S(O)_2R^{\circ}$; $-N(OR^{\circ})R^{\circ}$; $-C(NH)NR^{\circ}_2$; $-P(O)_2R^{\circ}$; $-P(O)R^{\circ}_2$; $-OP(O)R^{\circ}_2$; $-OP(O)(OR^{\circ})_2$; SiR°_3 ; $-(C_{1-4}$ 直链或支链亚烷基) $O-N(R^{\circ})_2$; 或 $-(C_{1-4}$ 直链或支链亚烷基) $C(O)O-N(R^{\circ})_2$, 其中各 R° 可如下文所定义经取代并独立地为氢、 C_{1-6} 脂族基、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 、 $-CH_2-$ (5-6元杂芳基环) 或具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元饱和环、部分不饱和环或芳基环, 或不管以上定义, 两个独立存在的 R° 连同其插入原子一起形成具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 3-12 元饱和、部分不饱和或芳基单环或双环, 此环可如下文所定义经取代。

[0082] R° (或由两个独立存在的 R° 连同其插入原子一起形成的环) 上的合适单价取代基独立地为卤素、 $-(CH_2)_{0-2}R^{\bullet}$ 、 $-(\text{卤基 } R^{\bullet})$ 、 $-(CH_2)_{0-2}OH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}OR^{\bullet}$ 、 $-(CH_2)_{0-2}CH(OR^{\bullet})_2$; $-O(\text{卤基 } R^{\bullet})$ 、 $-CN$ 、 $-N_3$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)R^{\bullet}$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)OR^{\bullet}$ 、 $-(CH_2)_{0-2}SR^{\bullet}$ 、 $-(CH_2)_{0-2}SH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NH_2$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NHR^{\bullet}$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NR^{\bullet}_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SiR^{\bullet}_3$ 、 $-OSiR^{\bullet}_3$ 、 $-C(O)SR^{\bullet}$ 、 $-(C_{1-4}$ 直链或支链亚烷基) $C(O)OR^{\bullet}$ 或 $-SSR^{\bullet}$, 其中各 R^{\bullet} 未经取代或在前面有“卤基”的情况下仅经一个或一个以上卤素取代, 并独立地选自 C_{1-4} 脂族基、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 或具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元饱和环、部分不饱和环或芳基环。 R° 的饱和碳原子上的合适二价取代基包括 $=O$ 和 $=S$ 。

[0083] “任选取代”的基团的饱和碳原子上的合适二价取代基包括以下: $=O$ 、 $=S$ 、 $=NNR^*_2$ 、 $=NNHC(O)R^*$ 、 $=NNHC(O)OR^*$ 、 $=NNHS(O)_2R^*$ 、 $=NR^*$ 、 $=NOR^*$ 、 $-O(C(R^*_2))_{2-3}O-$ 或 $-S(C(R^*_2))_{2-3}S-$, 其中每一个独立存在的 R^* 是选自氢、可如下文所定义经取代的 C_{1-6} 脂族基或具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未经取代的 5-6 元饱和环、部分不饱和环或芳基环。与“任选取代”的基团的邻位可取代碳结合的合适二价取代基包括: $-O(CR^*_2)_{2-3}O-$, 其中每一个独立存在的 R^* 是选自氢、可如下文所定义经取代的 C_{1-6} 脂族基或具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未经取代的 5-6 元饱和环、部分不饱和环或芳基环。

[0084] R^* 的脂族基上的合适取代基包括卤素、 $-R^{\bullet}$ 、 $-(\text{卤基 } R^{\bullet})$ 、 $-OH$ 、 $-OR^{\bullet}$ 、 $-O(\text{卤基 } R^{\bullet})$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OR^{\bullet}$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^{\bullet}$ 、 $-NR^{\bullet}_2$ 或 $-NO_2$, 其中各 R^{\bullet} 未经取代或在前面有“卤基”的情况下仅经一个或一个以上卤素取代, 并独立地为 C_{1-4} 脂族基、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 或具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元饱和环、部分不饱和环或芳基环。

[0085] “任选取代”的基团的可取代氮上的合适取代基包括 $-R^{\dagger}$ 、 $-NR^{\dagger}_2$ 、 $-C(O)R^{\dagger}$ 、 $-C(O)OR^{\dagger}$ 、 $-C(O)C(O)R^{\dagger}$ 、 $-C(O)CH_2C(O)R^{\dagger}$ 、 $-S(O)_2R^{\dagger}$ 、 $-S(O)_2NR^{\dagger}_2$ 、 $-C(S)NR^{\dagger}_2$ 、 $-C(NH)NR^{\dagger}_2$ 或 $-N(R^{\dagger})S(O)_2R^{\dagger}$, 其中 R^{\dagger} 各自独立地为氢、可如下文所定义经取代的 C_{1-6} 脂族基、未经取代的 $-OPh$ 或具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未经取代的 5-6 元饱和环、部分不饱和环或芳基环, 或不管以上定义, 两个独立存在的 R^{\dagger} 连同其插入原子一起形成具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未经取代的 3-12 元饱和、部分不饱和或芳基单环

或双环。

[0086] R^* 的脂族基上的合适取代基独立地为卤素、 $-R^\bullet$ 、 $-(\text{卤基 } R^\bullet)$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}^\bullet$ 、 $-\text{O}(\text{卤基 } R^\bullet)$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}^\bullet$ 、 $-\text{NR}^\bullet_2$ 或 $-\text{NO}_2$ ，其中各 R^\bullet 未经取代或在前面有“卤基”的情况下仅经一个或一个以上卤素取代，并独立地为 C_{1-4} 脂族基、 $-\text{CH}_2\text{Ph}$ 、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$ 或具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元饱和环、部分不饱和环或芳基环。

[0087] 如本文所用的术语“医药学上可接受的盐”是指在可靠医学判断的范围内，适于与人类和低等动物的组织接触使用而没有不当毒性、刺激、过敏反应等，并且与合理的效益 / 风险比相称的盐。医药学上可接受的盐为所属领域中所熟知。举例来说，本治 (S. M. Berge) 等人在以引用的方式并入本文中的药物科学杂志 (J. Pharmaceutical Sciences), 1977, 66, 1-19 中详细描述医药学上可接受的盐。本发明化合物的医药学上可接受的盐包括衍生自合适的无机酸和有机酸以及无机碱和有机碱的盐。医药学上可接受的无毒的酸加成盐的实例是氨基与例如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和高氯酸等无机酸形成的盐，或者与例如乙酸、草酸、顺丁烯二酸、酒石酸、柠檬酸、丁二酸或丙二酸等有机酸形成的盐，或使用所属领域中所使用的其它方法（例如离子交换）形成的盐。其它医药学上可接受的盐包括己二酸盐、海藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙烷磺酸盐、甲酸盐、反丁烯二酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、葡糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙烷磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、十二酸盐、十二烷基硫酸盐、苹果酸盐、顺丁烯二酸盐、丙二酸酯、甲烷磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、特戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、丁二酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一酸盐、戊酸盐等。

[0088] 衍生自适当碱的盐包括碱金属、碱土金属、铵和 $\text{N}^+(\text{C}_{1-4}\text{烷基})_4$ 盐。代表性的碱金属盐或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁等。适当时，其它医药学上可接受的盐包括无毒的铵、季铵和使用例如卤离子、氢氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、低碳数烷基磺酸根和芳基磺酸根等平衡离子所形成的铵阳离子。

[0089] 除非另外说明，否则本文中所描绘的结构也意欲包括此结构的所有异构（例如对映异构、非对映异构和几何（或构象））形式；例如针对每一个不对称中心的 R 和 S 构型、Z 和 E 双键异构体以及 Z 和 E 构象异构体。因此，本发明化合物的单一立体化学异构体以及对映异构体、非对映异构体和几何（或构象）混合物在本发明的范围内。除非另外说明，否则本发明化合物的所有互变异构体形式都在本发明的范围内。另外，除非另外说明，否则本文所描绘的结构也意欲包括不同之处仅在于存在一个或一个以上同位素富集原子的化合物。举例来说，具有本发明结构且包括以氘或氚置换氢或以 ^{13}C - 或 ^{14}C - 富集碳置换碳的化合物在本发明的范围内。所述化合物适用作例如分析工具、生物分析中的探针或本发明的治疗剂。在一些实施例中，式 I 的 R^1 基团包含一个或一个以上氘原子。所述化合物包括如表 5 中所描绘的化合物 I-61。

[0090] 如本文所用的术语“不可逆”或“不可逆抑制剂”是指能够以实质上不可逆的方式与靶蛋白激酶共价键结的抑制剂（即化合物）。也就是说，可逆抑制剂能够与靶蛋白

激酶结合（但一般无法形成共价键）且因此可与靶蛋白激酶分离，而不可逆抑制剂一旦形成共价键将保持实质上与靶蛋白激酶结合。不可逆抑制剂通常显示时间相关性，由此抑制程度随着抑制剂与酶接触的时间而增加。所属领域的技术人员已知确定化合物是否充当不可逆抑制剂的方法。这些方法包括（但不限于）化合物对蛋白激酶靶的抑制概况的酶动力学分析；对在抑制剂化合物存在下改质的蛋白质药物靶使用质谱分析；间断暴露（也称作“冲洗（washout）”）实验；和使用标记，例如放射性标记的抑制剂，以显示酶的共价修饰；以及所属领域的技术人员已知的其它方法。

[0091] 所属领域的技术人员应认识到，某些反应性官能团可以充当“弹头”。如本文所用的术语“弹头”或“弹头基”是指存在于本发明化合物上的官能团，其中此官能团能够与存在于靶蛋白质的结合袋中的氨基酸残基（例如半胱氨酸、赖氨酸、组氨酸或其它能够经共价修饰的残基）共价结合，从而不可逆地抑制所述蛋白。应了解，如本文所定义且描述的 -L-Y 基团提供所述共价并且不可逆地抑制蛋白质的弹头基团。

[0092] 如本文所用的术语“抑制剂”定义为以可测量的亲和力结合和 / 或抑制靶蛋白激酶的化合物。在某些实施例中，抑制剂的 IC_{50} 和 / 或结合常数小于约 $50 \mu M$ ，小于约 $1 \mu M$ ，小于约 $500 nM$ ，小于约 $100 nM$ 或小于约 $10 nM$ 。

[0093] 本发明化合物可系栓至可检测的部分。所属领域的技术人员应认识到，可检测的部分可以通过环 A 上的合适取代基或合适 R^x 取代基连接至所提供的化合物。如本文所用的术语“合适取代基”是指能够共价连接至可检测的部分的部分。这些部分为所属领域的技术人员所熟知，并包括含有例如羧酸酯基部分、氨基部分、硫醇部分或羟基部分等的基团。应了解，这些部分可直接连接至所提供的化合物（即直接连接至环 A 或苯胺环），或通过系栓基团（例如二价饱和或不饱和烃链）连接至所提供的化合物。

[0094] 如本文所用的术语“可检测的部分”与术语“标记”可互换使用，并且指的是任何能够进行检测的部分，例如第一标记和第二标记。第一标记例如放射性同位素（例如氘、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{35}S 或 ^{14}C ）、质量标签和荧光标记，是产生信号的报告基团，其可在无进一步修饰的情况下进行检测。

[0095] 如本文所用的术语“第二标记”是指需要有产生可检测信号的第二中间物存在的部分，例如生物素和各种蛋白抗原。对于生物素来说，第二中间物可以包括抗生物素蛋白-生物素-酶结合物。对于抗原标记来说，第二中间物可以包括抗体-酶结合物。一些荧光基团充当第二标记是因为其在非辐射荧光共振能量转移（FRET）的过程中将能量转移至另一基团，并且所述第二个基团会产生所检测的信号。

[0096] 如本文所用的术语“荧光标记”、“荧光染料”和“荧光团”是指吸收界定的激发波长下的光能并发射不同波长下的光能的部分。荧光标记的实例包括（但不限于）：亚历克荧光染料（Alexa Fluor dye）（亚历克荧光 350、亚历克荧光 488、亚历克荧光 532、亚历克荧光 546、亚历克荧光 568、亚历克荧光 594、亚历克荧光 633、亚历克荧光 660 和亚历克荧光 680）、AMCA、AMCA-S、BODIPY 染料（BODIPY FL、BODIPY R6G、BODIPY TMR、BODIPY TR、BODIPY 530/550、BODIPY 558/568、BODIPY 564/570、BODIPY 576/589、BODIPY 581/591、BODIPY 630/650、BODIPY 650/665）、羧基若丹明 6G（Carboxyrhodamine 6G）、羧基-X-若丹明（carboxy-X-rhodamine, ROX）、瀑布蓝（Cascade Blue）、瀑布黄（Cascade Yellow）、香豆素（Coumarin）343、花青染料（Cyanine dye）（Cy3、Cy5、Cy3.5、Cy5.5）、丹酰（Dansyl）、

达坡 (Dapoxyl)、二烷基氨基香豆素 (Dialkylaminocoumarin)、4', 5'-二氯-2', 7'-二甲氧基-荧光素、DM-NERF、曙红 (Eosin)、藻红 (Erythrosin)、荧光素、FAM、羟基香豆素 (Hydroxycoumarin)、IRDyes (IRD40、IRD 700、IRD 800)、JOE、丽丝胺若丹明 B (Lissamine rhodamine B)、马里那蓝 (Marina Blue)、甲氧基香豆素 (Methoxycoumarin)、萘并荧光素 (Naphthofluorescein)、俄勒冈绿 (Oregon Green) 488、俄勒冈绿 500、俄勒冈绿 514、太平洋蓝 (Pacific Blue)、PyMP0、苾、若丹明 B、若丹明 6G、若丹明绿、若丹明红、对甲氨基酚绿 (Rhodol Green)、2', 4', 5', 7'-四溴砒-荧光素、四甲基-若丹明 (TMR)、羧基四甲基若丹明 (TAMRA)、得克萨斯红 (Texas Red)、得克萨斯红-X。

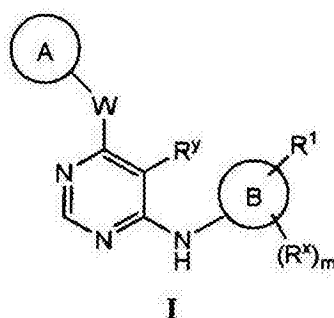
[0097] 如本文所用的术语“质量标签”是指任何能够使用质谱分析法 (MS) 检测技术根据质量独特地检测到的部分。质量标签的实例包括电泳释放标签, 例如 N-[3-[4'-(对甲氧基四氟苯甲基)氧基]苯基]-3-甲基甘油基 (glyceronyl)] 异哌啶甲酸、4'-[2, 3, 5, 6-四氟-4-(五氟苯氧基)] 甲基苯乙酮和其衍生物。这些质量标签的合成和效用描述于美国专利 4, 650, 750、4, 709, 016、5, 360, 8191、5, 516, 931、5, 602, 273、5, 604, 104、5, 610, 020 和 5, 650, 270 中。质量标签的其它实例包括 (但不限于) 核苷酸、双脱氧核苷酸、具有不同的长度和碱基组成的寡核苷酸、寡肽、寡糖和其它具有不同的长度和单体组成的合成聚合物。多种在适当质量范围 (100-2000 道尔顿 (Dalton)) 内的中性与带电的有机分子 (生物分子或合成化合物) 也可以用作质量标签。

[0098] 如本文所用的术语“可测量的亲和力”和“可测量地抑制”意指在包含本发明化合物或其组合物和 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC-激酶和 / 或 JAK3 中的至少一者的样品与在缺乏所述化合物或其组合物的情况下包含 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC-激酶和 / 或 JAK3 中的至少一者的等效样品之间, ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC-激酶和 / 或 JAK3 活性中的至少一者的可测量的变化。

[0099] 3. 例示性化合物的描述

[0100] 根据一个方面, 本发明提供一种式 I 化合物,

[0101]



[0102] 或其医药学上可接受的盐, 其中:

[0103] 环 A 为选自以下的任取代的基团: 苯基、8-10 元双环部分不饱和环或芳基环、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元单环杂芳基环、或具有 1-5 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 8-10 元双环杂芳基环;

[0104] 环 B 为苯基、具有 1-3 个独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 5-6 元杂芳基环、具有 1-2 个独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 5-6 元饱和杂环、或具有 1-3 个独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 8-10 元双环部分不饱和环或芳基环;

[0105] R^1 为 $-L-Y$, 其中:

[0106] L 为共价键或二价 C_{1-8} 饱和或不饱和的直链或支链烃链, 其中 L 的一个、两个或三个亚甲基单元任选且独立地经亚环丙基、 $-NR-$ 、 $-N(R)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R)-$ 、 $-N(R)SO_2-$ 、 $-SO_2N(R)-$ 、 $-O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-C(=NR)-$ 、 $-N=N-$ 或 $-C(=N_2)-$ 置换;

[0107] Y 为氢、任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基、或具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 3-10 元单环或双环饱和环、部分不饱和环或芳基环, 并且其中所述环经 1-4 个 R^e 基团取代; 且

[0108] R^e 各自独立地选自 $-Q-Z$ 、氧代基、 NO_2 、卤素、 CN 、合适离去基或任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基, 其中:

[0109] Q 为共价键或二价 C_{1-6} 饱和或不饱和的直链或支链烃链, 其中 Q 的一个或两个亚甲基单元任选且独立地经 $-N(R)-$ 、 $-S-$ 、 $-O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-SO-$ 或 $-SO_2-$ 、 $-N(R)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R)-$ 、 $-N(R)SO_2-$ 或 $-SO_2N(R)-$ 置换; 且

[0110] Z 为氢或任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基;

[0111] R^y 为氢、卤素、 CN 、低碳数烷基或低碳数卤烷基;

[0112] W 为二价 C_{1-3} 亚烷基链, 其中 W 的一个亚甲基单元任选经 $-NR^2-$ 、 $-N(R^2)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^2)-$ 、 $-N(R^2)SO_2-$ 、 $-SO_2N(R^2)-$ 、 $-O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S-$ 、 $-SO-$ 或 $-SO_2-$ 置换;

[0113] R^2 为氢或任选取代的 C_{1-6} 脂族基, 或:

[0114] R^2 和环 A 上的取代基连同其插入原子一起形成 4-6 元饱和环, 或:

[0115] R^2 和 R^y 连同其插入原子一起形成 4-7 元碳环;

[0116] m 为 0-4;

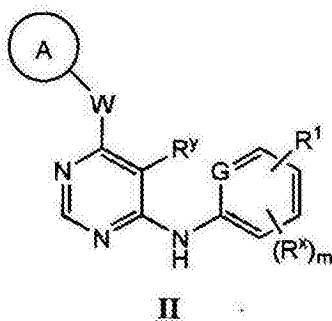
[0117] R^x 各自独立地选自 $-R$ 、卤素、 $-OR$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-SO_2R$ 、 $-SOR$ 、 $-C(O)R$ 、 $-CO_2R$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-NRC(O)R$ 、 $-NRC(O)NR_2$ 、 $-NRSO_2R$ 或 $-N(R)_2$; 或:

[0118] R^x 和 R^1 连同其插入原子一起形成具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-7 元饱和环、部分不饱和环或芳基环, 其中所述环经弹头基和 0-3 个独立地选自氧代基、卤素、 CN 或 C_{1-6} 脂族基的基团取代; 且

[0119] R 基团各自独立地为氢, 或选自以下的任选取代的基团: C_{1-6} 脂族基、苯基、具有 1-2 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 4-7 元杂环、或具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元单环杂芳基环。

[0120] 在某些实施例中, 本发明提供一种式 II 化合物:

[0121]



[0122] 或其医药学上可接受的盐, 其中:

[0123] 环 A 为选自以下的任选取代的基团：苯基、8-10 元双环部分不饱和环或芳基环、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元单环杂芳基环、或具有 1-5 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 8-10 元双环杂芳基环；

[0124] R^1 为 $-L-Y$ ，其中：

[0125] L 为共价键或二价 C_{1-8} 饱和或不饱和的直链或支链烃链，其中 L 的一个、两个或三个亚甲基单元任选且独立地经亚环丙基、 $-NR-$ 、 $-N(R)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R)-$ 、 $-N(R)SO_2-$ 、 $-SO_2N(R)-$ 、 $-O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-C(=NR)-$ 、 $-N=N-$ 或 $-C(=N_2)-$ 置换；

[0126] Y 为氢、任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基、或具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 3-10 元单环或双环饱和环、部分不饱和环或芳基环，并且其中所述环经 1-4 个 R^e 基团取代；且

[0127] R^e 各自独立地选自 $-Q-Z$ 、氧代基、 NO_2 、卤素、CN、合适离去基或任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基，其中：

[0128] Q 为共价键或二价 C_{1-6} 饱和或不饱和的直链或支链烃链，其中 Q 的一个或两个亚甲基单元任选且独立地经 $-N(R)-$ 、 $-S-$ 、 $-O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-SO-$ 或 $-SO_2-$ 、 $-N(R)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R)-$ 、 $-N(R)SO_2-$ 或 $-SO_2N(R)-$ 置换；且

[0129] Z 为氢或任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基；

[0130] R^y 为氢、卤素、CN、低碳数烷基或低碳数卤烷基；

[0131] G 为 CH 或 N；

[0132] W 为 $-NR^2-$ 、 $-S-$ 或 $-O-$ ；

[0133] R^2 为氢或任选取代的 C_{1-6} 脂族基，或：

[0134] R^2 和环 A 上的取代基连同其插入原子一起形成 4-6 元饱和环；

[0135] m 为 0-4；

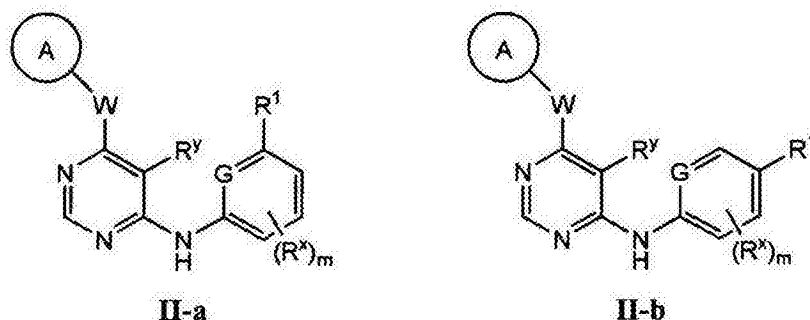
[0136] R^x 各自独立地选自 $-R$ 、卤素、 $-OR$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-SO_2R$ 、 $-SOR$ 、 $-C(O)R$ 、 $-CO_2R$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-NRC(O)R$ 、 $-NRC(O)NR_2$ 、 $-NRSO_2R$ 或 $-N(R)_2$ ；或：

[0137] R^x 和 R^1 连同其插入原子一起形成具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-7 元饱和环、部分不饱和环或芳基环，其中所述环经弹头基和 0-3 个独立地选自氧代基、卤素、CN 或 C_{1-6} 脂族基的基团取代；且

[0138] R 基团各自独立地为氢，或选自以下的任选取代的基团： C_{1-6} 脂族基、苯基、具有 1-2 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 4-7 元杂环、或具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元单环杂芳基环。

[0139] 根据一个方面，本发明提供一种式 II-a 或 II-b 化合物：

[0140]



[0141] 或其医药学上可接受的盐,其中环 A、W、R¹、G、R^y、R^x和 m 各自如上文针对式 II 所定义并如本文所述。

[0142] 在某些实施例中,本发明提供一种式 II-b 化合物,其中所述化合物不是 N⁶-间甲苯基-N⁴-对甲苯基嘧啶-4,6-二胺。

[0143] 在某些实施例中,本发明提供一种式 II-a 化合物,其中所述化合物不是 N⁴-(3-氨基苯基)-N⁶-(3-溴苯基)嘧啶-4,6-二胺、N-(3-(6-(3-(三氟甲基)苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯基)环丙烷-甲酰胺、N-(3-(6-(3-溴苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯基)丙酰胺、N⁴-(3-氨基苯基)-N⁶-间甲苯基嘧啶-4,6-二胺或 N⁴-(3-氨基苯基)-N⁶-甲基-N6-苯基-嘧啶-4,6-二胺。

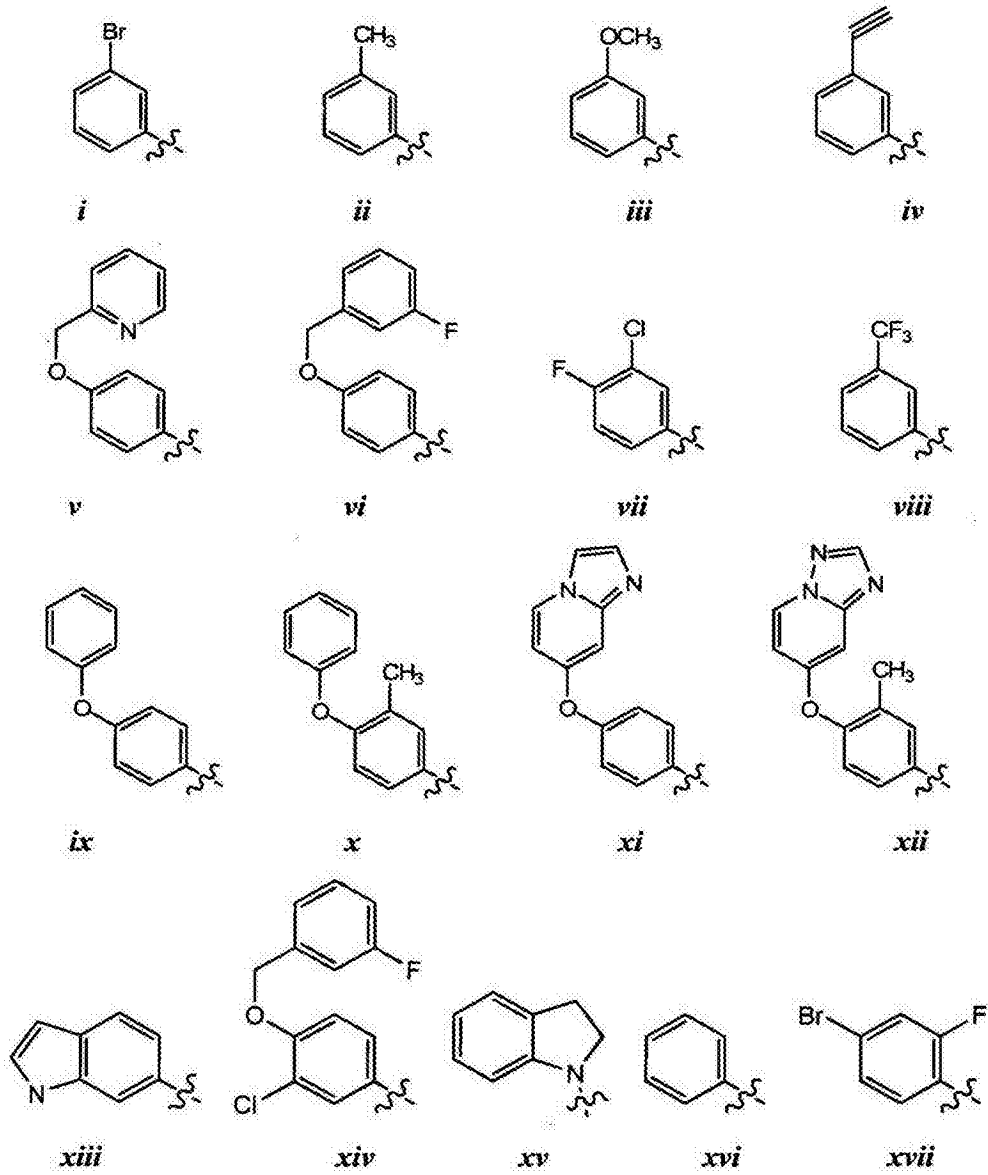
[0144] 如上文一般所定义,式 I 和 II 的环 A 基团为选自以下的任选取代的基团:苯基、8-10 元双环部分不饱和环或芳基环、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元单环杂芳基环、或具有 1-5 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 8-10 元双环杂芳基环。在某些实施例中,环 A 为任选取代的苯基。在一些实施例中,环 A 为任选取代的萘环或具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的双环 8-10 元杂芳基环。在一些实施例中,环 A 为任选取代的二苯醚。在一些实施例中,环 A 为任选取代的苯基苄基醚。在其它实施例中,环 A 为任选取代的吡啶甲氧基苯基。

[0145] 在某些实施例中,式 I 和 II 的环 A 基团如本文中所定义经取代。在一些实施例中,环 A 经一个、两个或三个独立地选自卤素、R^o或 -(CH₂)₀₋₄OR^o或 -O(CH₂)₀₋₄R^o的基团取代,其中各 R^o如本文中所定义。环 A 上的例示性取代基包括 Br、I、Cl、甲基、-CF₃、-C≡CH、-OCH₂苯基、-OCH₂(氟苯基)或 -OCH₂吡啶基。

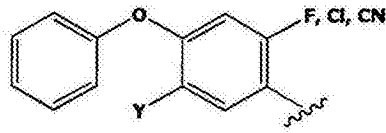
[0146] 式 I 和 II 的例示性环 A 基团阐述于表 1 中。

[0147] 表 1. 例示性环 A 基团

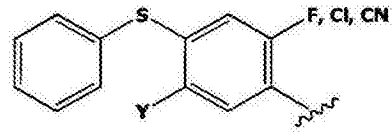
[0148]



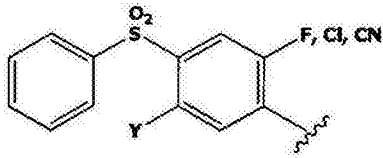
[0149]



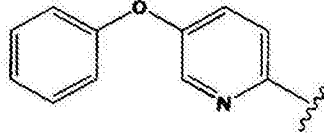
xviii



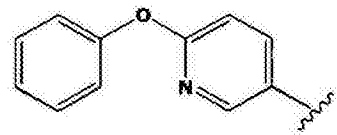
xix



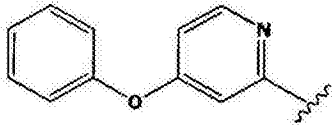
xx



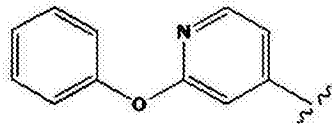
xxi



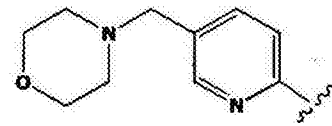
xxii



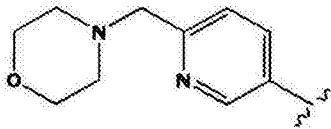
xxiii



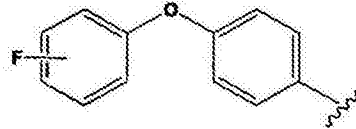
xxiv



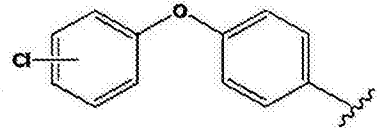
xxv



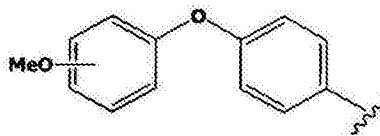
xxvi



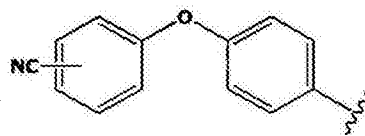
xxvii



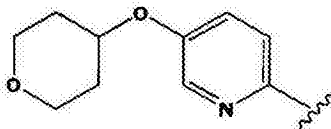
xxviii



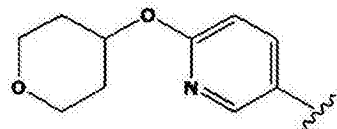
xxix



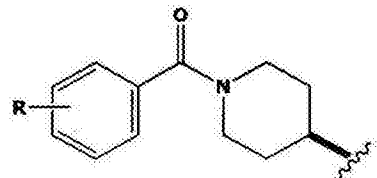
xxx



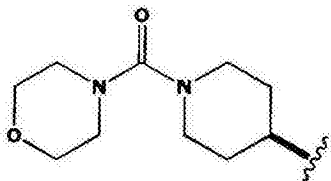
xxxi



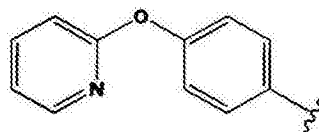
xxxii



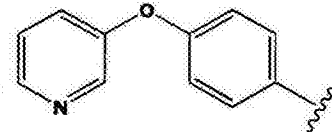
xxxiii



xxxiv

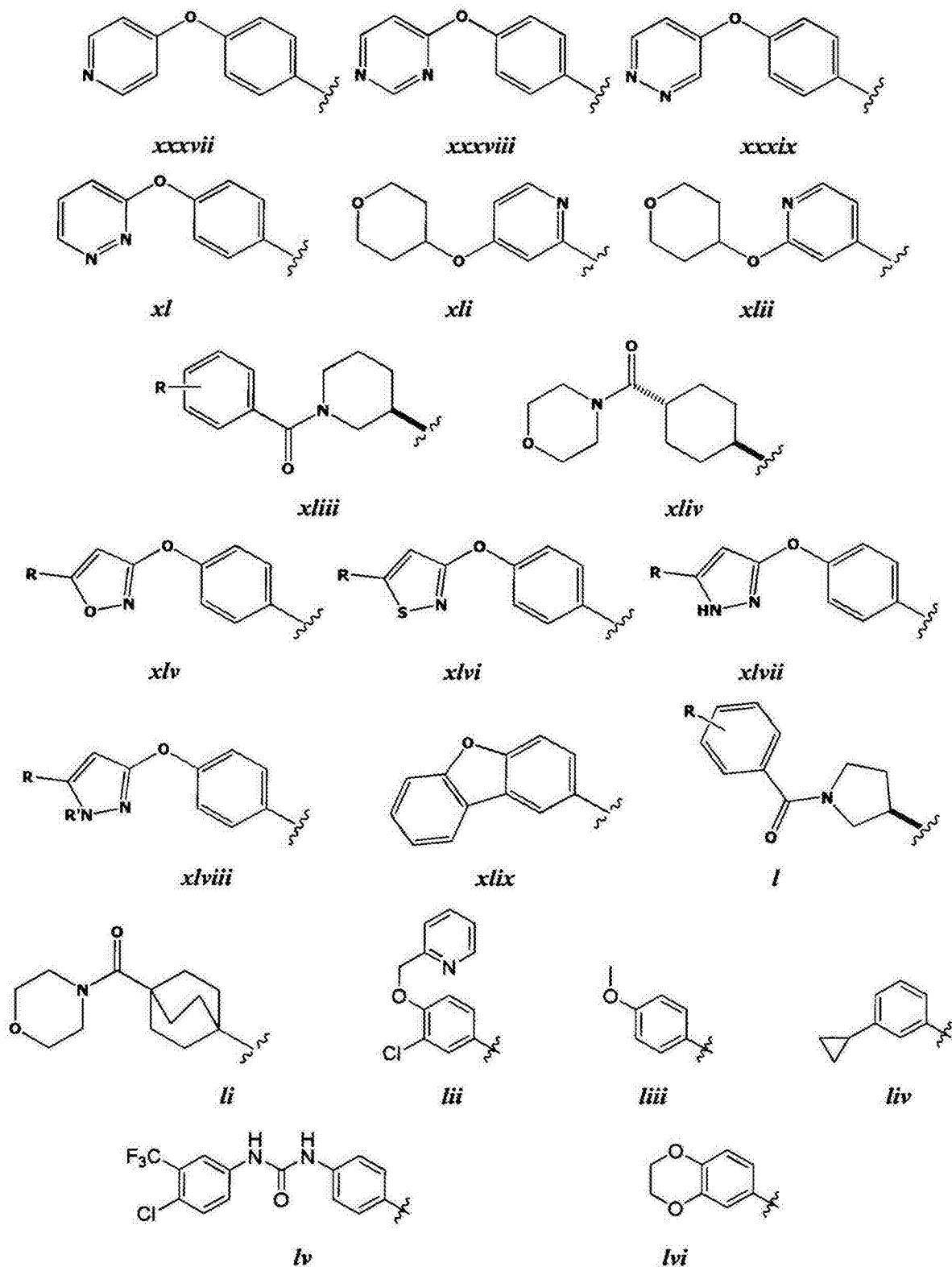


xxxv



xxxvi

[0150]



[0151] 如上文一般所定义,式 I 的环 B 基团为苯基、具有 1-3 个独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 5-6 元杂芳基环、具有 1-2 个独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 5-6 元饱和杂环、或具有 1-3 个独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 8-10 元双环部分不饱和环或芳基环。

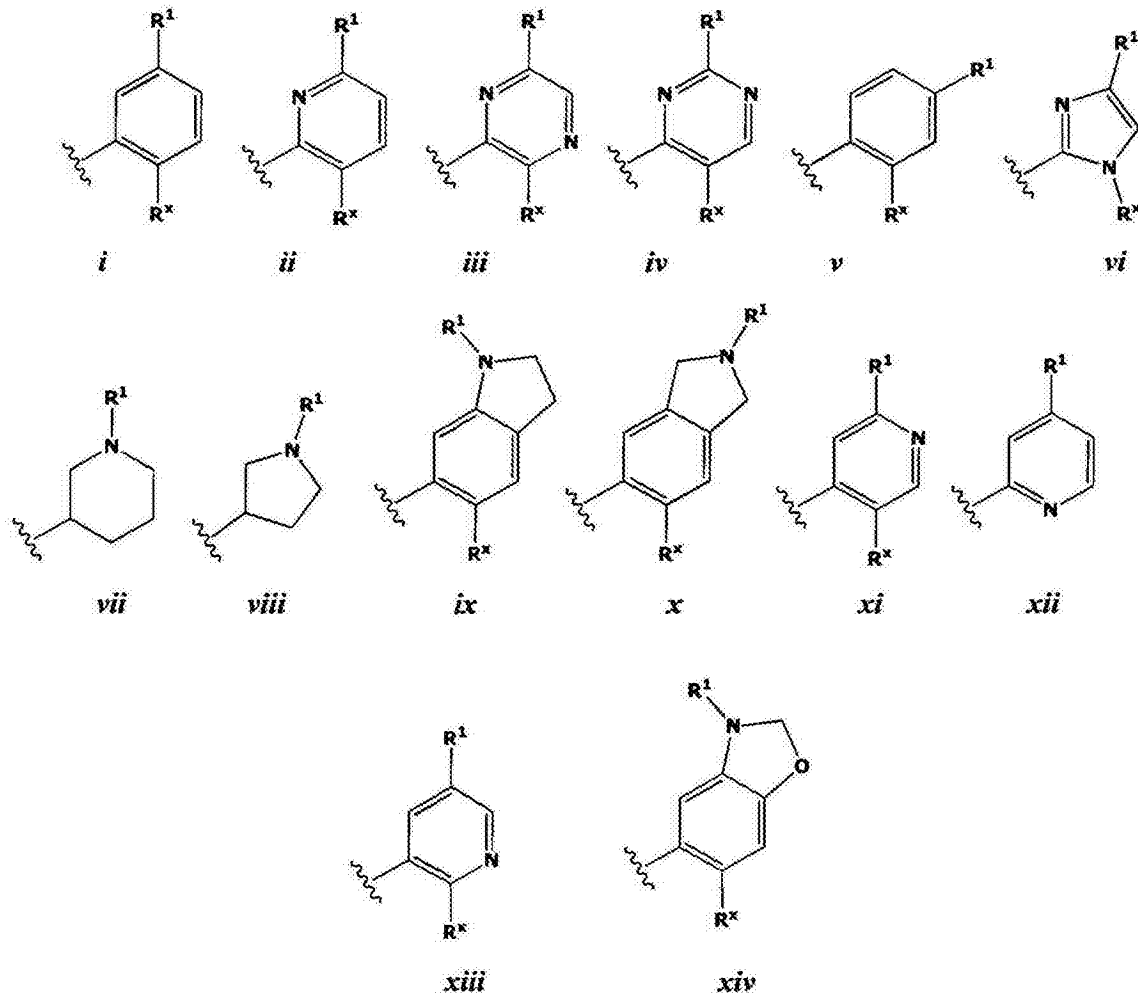
[0152] 在一些实施例中,式 I 的环 B 基团为苯基。在一些实施例中,环 B 为具有 1-3 个氮的 6 元杂芳基环。在一些实施例中,环 B 为具有 1 个或 2 个或 3 个独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 5 元杂芳基环。

[0153] 在一些实施例中,式 I 的环 B 基团为具有 1 个氮的 5-6 元饱和杂环。在一些实施例中,环 B 为具有 1-3 个氮的 9-10 元双环部分饱和的杂芳基环。在一些实施例中,环 B 为具有 1 个氮的 9-10 元双环部分饱和的杂芳基环。

[0154] 例示性环 B 基团阐述于表 2 中。

[0155] 表 2. 环 B 基团

[0156]



[0157] 在一些实施例中,式 I、II、IIa 或 IIb 的 m 部分为 1、2、3 或 4。在一些实施例中, m 为 1。在其它实施例中, m 为 0。

[0158] 如上文一般所定义,式 I 或 II 的 R^x基团各自独立地选自 -R、卤素、-OR、-CN、-NO₂、-SO₂R、-SOR、-C(O)R、-CO₂R、-C(O)N(R)₂、-NRC(O)R、-NRC(O)NR₂、-NRSO₂R 或 -N(R)₂, 或

[0159] R^x和 R¹连同其插入原子一起形成具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-7 元饱和环、部分不饱和环或芳基环,其中所述环经弹头基取代,其中所述弹头基为 -Q-Z,且所述环另外经 0-3 个独立地选自氧代基、卤素、CN 或 C₁₋₆脂族基的基团取代。

[0160] 在一些实施例中,R^x的每个实例都独立地选自 -R、-OR 或卤素。在某些实施例中,R^x为低碳数烷基、低碳数烷氧基或卤素。例示性 R^x基团包括甲基、甲氧基和氯。在一些实施例中,R^x为氢。

[0161] 在一些实施例中,式 II、II-a 或 II-b 中的任一者的 G 基团都为 CH。在其它实施

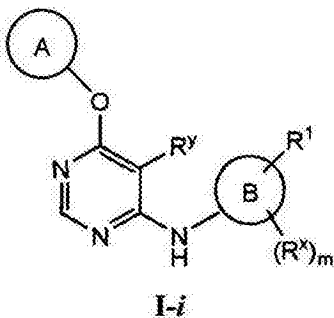
例中,式 II、II-a 或 II-b 中的任一者的 G 基团都为 N。

[0162] 如上文一般所定义,式 I 的 W 基团为二价 C_{1-3} 亚烷基链,其中 W 的一个亚甲基单元任选经 $-NR^2-$ 、 $-N(R^2)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^2)-$ 、 $-N(R^2)SO_2-$ 、 $-SO_2N(R^2)-$ 、 $-O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S-$ 、 $-SO-$ 或 $-SO_2-$ 置换。

[0163] 在某些实施例中,式 I 的 W 基团为 $-NH-$ 、 $-S-$ 或 $-O-$ 。在一些实施例中,式 I 的 W 基团为 $-CH_2O-$ 、 $-CH_2S-$ 或 $-CH_2NH-$ 。在一些方面中,W 为 $-OCH_2-$ 、 $-SCH_2-$ 、 $-NHCH_2-$ 或 $-CH_2CH_2-$ 。

[0164] 在一些实施例中,式 I 的 W 基团为 $-O-$,因此形成式 I-i 化合物:

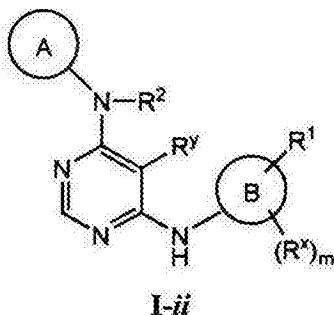
[0165]



[0166] 或其医药学上可接受的盐,其中环 A、 R^1 、 R^x 、 R^y 和 m 各自如上文所定义并描述于上文和本文中的类别和子类中。

[0167] 在一些实施例中,W 为 $-NR^2-$,因此形成式 I-ii 化合物:

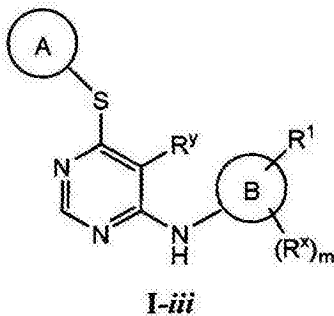
[0168]



[0169] 或其医药学上可接受的盐,其中环 A、 R^1 、 R^2 、 R^x 、 R^y 和 m 各自如上文所定义并描述于上文和本文中的类别和子类中。

[0170] 在一些实施例中,W 为 $-S-$,因此形成式 I-iii 化合物:

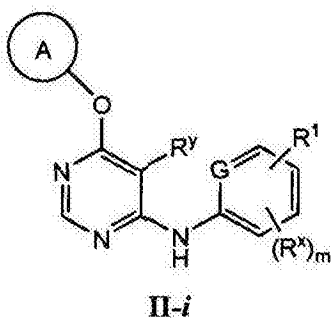
[0171]



[0172] 或其医药学上可接受的盐,其中环 A、 R^1 、 R^x 、 R^y 和 m 各自如上文所定义并描述于上文和本文中的类别和子类中。

[0173] 在一些实施例中,式 II 的 W 基团为 -O-,因此形成式 II-i 化合物:

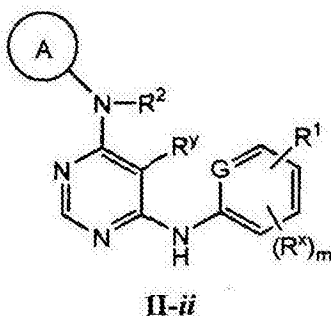
[0174]



[0175] 或其医药学上可接受的盐,其中环 A、R¹、R^x、R^y和 m 各自如上文所定义并描述于上文和本文中的类别和子类中。

[0176] 在一些实施例中,式 II 的 W 基团为 -NR²-,因此形成式 II-ii 化合物:

[0177]

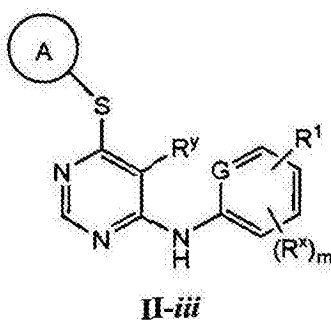


[0178] 或其医药学上可接受的盐,其中环 A、R¹、R²、R^x、R^y和 m 各自如上文所定义并描述于上文和本文中的类别和子类中。

[0179] 在某些实施例中,R²为氢。在一些实施例中,R为甲基。在其它实施例中,R²为低碳数烷基。

[0180] 在一些实施例中,式 II 的 W 基团为 -S-,因此形成式 II-iii 化合物:

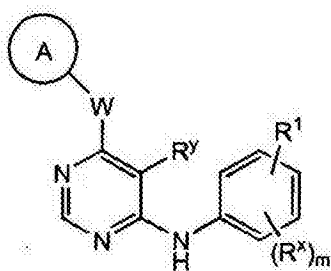
[0181]



[0182] 或其医药学上可接受的盐,其中环 A、R¹、R^x、R^y和 m 各自如上文所定义并描述于上文和本文中的类别和子类中。

[0183] 在某些实施例中,式 II 的 G 基团为 CH,因此形成式 III 化合物:

[0184]

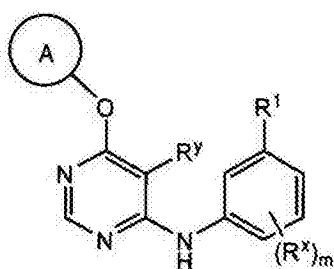


III

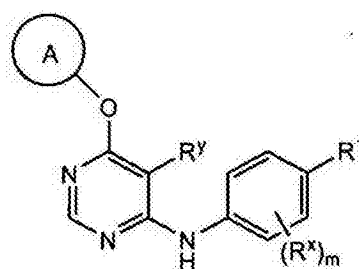
[0185] 或其医药学上可接受的盐,其中环 A、W、R¹、R^x、R^y和 m 各自如上文所定义并描述于上文和本文中的类别和子类中。

[0186] 在某些实施例中,式 III 化合物具有式 III-a-i、III-b-i、III-a-ii、III-b-ii、III-a-iii 或 III-b-iii:

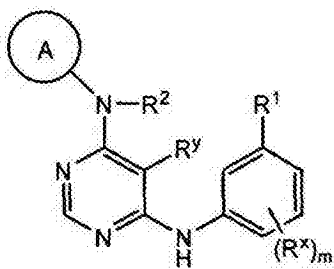
[0187]



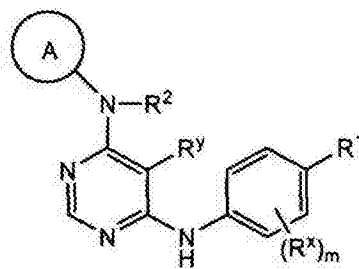
III-a-i



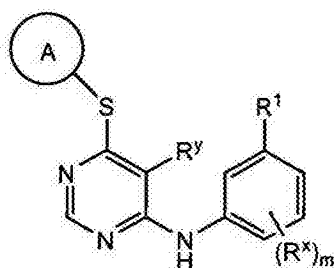
III-b-i



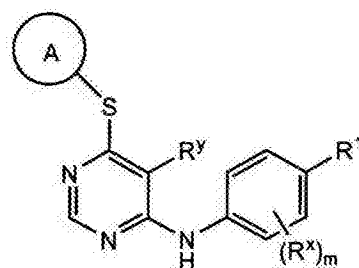
III-a-ii



III-b-ii



III-a-iii

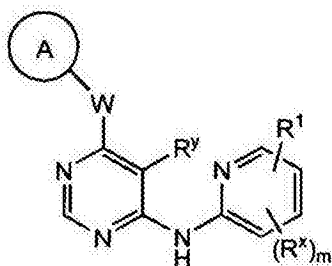


III-b-iii

[0188] 或其医药学上可接受的盐,其中环 A、R¹、R²、R^x、R^y和 m 各自如上文所定义并描述于上文和本文中的类别和子类中。

[0189] 在某些实施例中,式 II 的 G 基团为 N,因此形成式 IV 化合物:

[0190]

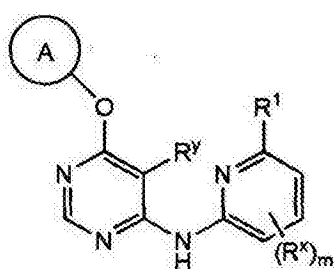


IV

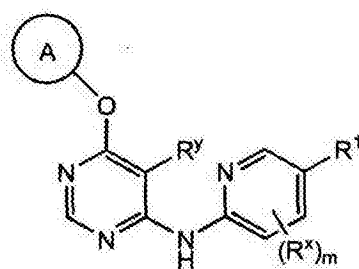
[0191] 或其医药学上可接受的盐,其中环 A、W、R¹、R^x、R^y和 m 各自如上文所定义并描述于上文和本文中的类别和子类中。

[0192] 在某些实施例中,式 IV 化合物具有式 IV-a-i、IV-b-i、IV-a-ii、IV-b-ii、IV-a-iii 或 IV-b-iii:

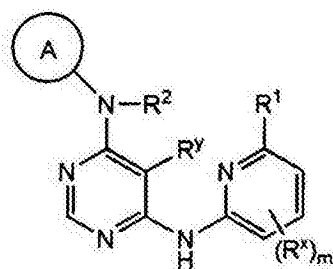
[0193]



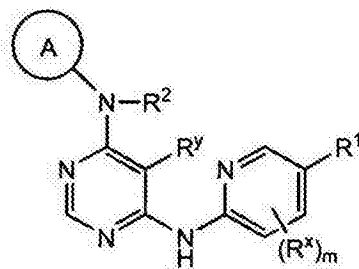
IV-a-i



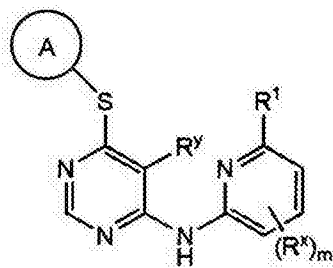
IV-b-i



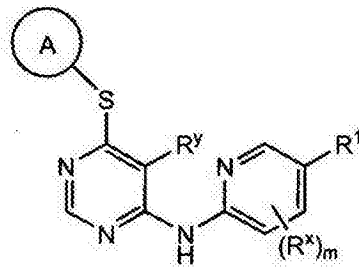
IV-a-ii



IV-b-ii



IV-a-iii

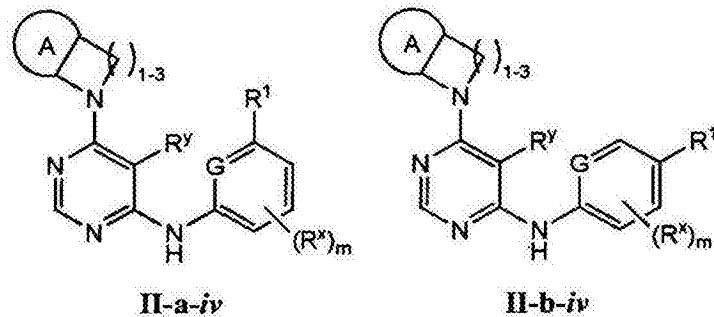


IV-b-iii

[0194] 或其医药学上可接受的盐,其中环 A、R¹、R²、R^x、R^y和 m 各自如上文所定义并描述于上文和本文中的类别和子类中。

[0195] 根据一些方面, R²和环 A 上的取代基连同其插入原子一起形成 4-7 元饱和或部分不饱和的环,因此形成式 II-a-iv 或 II-b-iv 化合物:

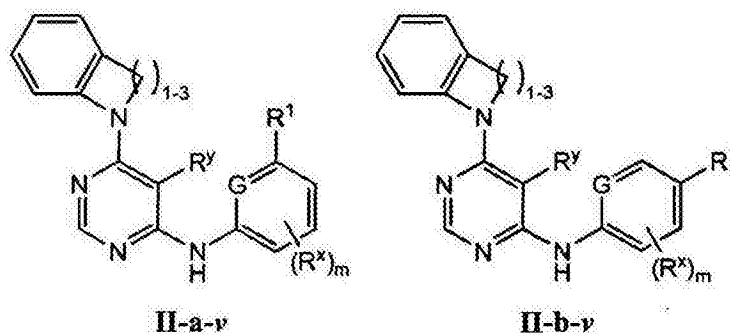
[0196]



[0197] 或其医药学上可接受的盐,其中环 A、 R^1 、 R^x 和 m 各自如上文所定义并描述于上文和本文中的类别和子类中。

[0198] 在某些实施例中,本发明提供一种式 II-a-v 或 II-b-v 化合物,其中环 A 为苯基且所述化合物具有式 II-a-v 或 II-b-v:

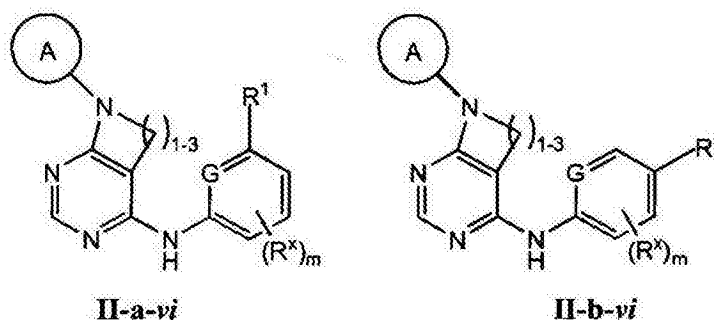
[0199]



[0200] 或其医药学上可接受的盐,其中环 A 的苯基部分任选经取代,并且 R^1 、 R^x 、 R^y 和 m 各自如上文所定义并描述于上文和本文中的类别和子类中。

[0201] 在一些实施例中, R^2 为氢。在其它实施例中, R^2 和 R^y 连在一起,从而形成式 II-a-vi 或 II-b-vi 化合物:

[0202]



[0203] 如上文一般所定义,式 I 和 II 的 R^1 基团为 $-L-Y$,其中:

[0204] L 为共价键或二价 C_{1-8} 饱和或不饱和的直链或支链烃链,其中 L 的一个、两个或三个亚甲基单元任选且独立地经亚环丙基、 $-NR-$ 、 $-N(R)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R)-$ 、 $-N(R)SO_2-$ 、 $-SO_2N(R)-$ 、 $-O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-C(=NR)-$ 、 $-N=N-$ 或 $-C(=N_2)-$ 置换;

[0205] Y 为氢、任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-8} 脂族基、或具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 3-10 元单环或双环饱和环、部分不饱和环或芳基环,并且其中所述环经 1-4 个 R^x 基团取代;且

[0206] R^o各自独立地选自 -Q-Z、氧代基、NO₂、卤素、CN、合适离去基或任选经氧代基、卤素、NO₂或 CN 取代的 C₁₋₆脂族基,其中:

[0207] Q 为共价键或二价 C₁₋₆饱和或不饱和的直链或支链烃链,其中 Q 的一个或两个亚甲基单元任选且独立地经 -N(R)-、-S-、-O-、-C(O)-、-OC(O)-、-C(O)O-、-SO- 或 -SO₂-、-N(R)C(O)-、-C(O)N(R)-、-N(R)SO₂- 或 -SO₂N(R)- 置换;且

[0208] Z 为氢或任选经氧代基、卤素、NO₂或 CN 取代的 C₁₋₆脂族基。

[0209] 在某些实施例中,L 为共价键。

[0210] 在某些实施例中,L 为二价 C₁₋₈饱和或不饱和的直链或支链烃链。在某些实施例中,L 为 -CH₂-。

[0211] 在某些实施例中,L 为共价键、-CH₂-、-NH-、-CH₂NH-、-NHCH₂-、-NHC(O)-、-NHC(O)CH₂OC(O)-、-CH₂NHC(O)-、-NHSO₂-、-NHSO₂CH₂-、-NHC(O)CH₂OC(O)- 或 -SO₂NH-。

[0212] 在一些实施例中,L 为二价 C₂₋₈直链或支链烃链,其中 L 具有至少一个双键且 L 的一个或两个另外的亚甲基单元任选且独立地经 -NRC(O)-、-C(O)NR-、-N(R)SO₂-、-SO₂N(R)-、-S-、-S(O)-、-SO₂-、-OC(O)-、-C(O)O-、亚环丙基、-O-、-N(R)- 或 -C(O)- 置换。

[0213] 在某些实施例中,L 为二价 C₂₋₈直链或支链烃链,其中 L 具有至少一个双键且 L 的至少一个亚甲基单元经 -C(O)-、-NRC(O)-、-C(O)NR-、-N(R)SO₂-、-SO₂N(R)-、-S-、-S(O)-、-SO₂-、-OC(O)- 或 -C(O)O- 置换,并且 L 的一个或两个另外的亚甲基单元任选且独立地经亚环丙基、-O-、-N(R)- 或 -C(O)- 置换。

[0214] 在一些实施例中,L 为二价 C₂₋₈直链或支链烃链,其中 L 具有至少一个双键且 L 的至少一个亚甲基单元经 -C(O)- 置换,并且 L 的一个或两个另外的亚甲基单元任选且独立地经亚环丙基、-O-、-N(R)- 或 -C(O)- 置换。

[0215] 如上所述,在某些实施例中,L 为二价 C₂₋₈直链或支链烃链,其中 L 具有至少一个双键。所属领域的技术人员应认识到此类双键可以存在于烃链主链内,或可以在主链“外”并且因此形成次烷基(alkylidene)。举例来说,此类具有次烷基支链的 L 基团包括 -CH₂C(=CH₂)CH₂-。因此,在一些实施例中,L 为二价 C₂₋₈直链或支链烃链,其中 L 具有至少一个次烷基双键。例示性 L 基团包括 -NHC(O)C(=CH₂)CH₂-。

[0216] 在某些实施例中,L 为二价 C₂₋₈直链或支链烃链,其中 L 具有至少一个双键并且 L 的至少一个亚甲基单元经 -C(O)- 置换。在某些实施例中,L 为 -C(O)CH=CH(CH₃)-、-C(O)CH=CHCH₂NH(CH₃)-、-C(O)CH=CH(CH₃)-、-C(O)CH=CH-、-CH₂C(O)CH=CH-、-CH₂C(O)CH=CH(CH₃)-、-CH₂CH₂C(O)CH=CH-、-CH₂CH₂C(O)CH=CHCH₂-、-CH₂CH₂C(O)CH=CHCH₂NH(CH₃)- 或 -CH₂CH₂C(O)CH=CH(CH₃)- 或 -CH(CH₃)OC(O)CH=CH-。

[0217] 在某些实施例中,L 为二价 C₂₋₈直链或支链烃链,其中 L 具有至少一个双键并且 L 的至少一个亚甲基单元经 -OC(O)- 置换。

[0218] 在一些实施例中,L 为二价 C₂₋₈直链或支链烃链,其中 L 具有至少一个双键并且 L 的至少一个亚甲基单元经 -NRC(O)-、-C(O)NR-、-N(R)SO₂-、-SO₂N(R)-、-S-、-S(O)-、-SO₂-、-OC(O)- 或 -C(O)O- 置换,并且 L 的一个或两个另外的亚甲基单元任选且独立地经亚环丙基、-O-、-N(R)- 或 -C(O)- 置换。在一些实施例中,L 为 -CH₂OC(O)CH=CHCH₂-、-CH₂-OC(O)CH=CH- 或 -CH(CH=CH₂)OC(O)CH=CH-。

[0219] 在某些实施例中,L 为 -NRC(O)CH=CH-、-NRC(O)CH=CHCH₂N(CH₃)-、-NRC(O)

CH = CHCH₂O-、-CH₂NRC(O)CH = CH-、-NRSO₂CH = CH-、-NRSO₂CH = CHCH₂-、-NRC(O)(C = N₂)C(O)-、-NRC(O)CH = CHCH₂N(CH₃)-、-NRSO₂CH = CH-、-NRSO₂CH = CHCH₂-、-NRC(O)CH = CHCH₂O-、-NRC(O)C(=CH₂)CH₂-、-CH₂NRC(O)-、-CH₂NRC(O)CH = CH-、-CH₂CH₂NRC(O)-或-CH₂NRC(O)亚环丙基-,其中R各自独立地为氢或任选取代的C₁₋₆脂族基。

[0220] 在某些实施例中,L为-NHC(O)CH = CH-、-NHC(O)CH = CHCH₂N(CH₃)-、-NHC(O)CH = CHCH₂O-、-CH₂NHC(O)CH = CH-、-NHSO₂CH = CH-、-NHSO₂CH = CHCH₂-、-NHC(O)(C = N₂)C(O)-、-NHC(O)CH = CHCH₂N(CH₃)-、-NHSO₂CH = CH-、-NHSO₂CH = CHCH₂-、-NHC(O)CH = CHCH₂O-、-NHC(O)C(=CH₂)CH₂-、-CH₂NHC(O)-、-CH₂NHC(O)CH = CH-、-CH₂CH₂NHC(O)-或-CH₂NHC(O)亚环丙基-。

[0221] 在一些实施例中,L为二价C₂₋₈直链或支链烃链,其中L具有至少一个三键。在某些实施例中,L为二价C₂₋₈直链或支链烃链,其中L具有至少一个三键并且L的一个或两个另外的亚甲基单元任选且独立地经-NRC(O)-、-C(O)NR-、-S-、-S(O)-、-SO₂-、-C(=S)-、-C(=NR)-、-O-、-N(R)-或-C(O)-置换。在一些实施例中,L具有至少一个三键并且L的至少一个亚甲基单元经-N(R)-、-N(R)C(O)-、-C(O)-、-C(O)O-或-OC(O)-或-O-置换。

[0222] 例示性L基团包括-C≡C-、-C≡CCH₂N(异丙基)-、-NHC(O)C≡CCH₂CH₂-、-CH₂-C≡C-CH₂-、-C≡CCH₂O-、-CH₂C(O)C≡C-、-C(O)C≡C-或-CH₂OC(=O)C≡C-。

[0223] 在某些实施例中,L为二价C₂₋₈直链或支链烃链,其中L的一个亚甲基单元经亚环丙基置换并且L的一个或两个另外的亚甲基单元独立地经-C(O)-、-NRC(O)-、-C(O)NR-、-N(R)SO₂-或-SO₂N(R)-置换。例示性L基团包括-NHC(O)-亚环丙基-SO₂-和-NHC(O)-亚环丙基-。

[0224] 如上文一般所定义,Y为氢、任选经氧代基、卤素、NO₂或CN取代的C₁₋₆脂族基、或具有0-3个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的3-10元单环或双环饱和环、部分不饱和环或芳基环,且其中所述环经1-4个R^o基团取代,R^o各自独立地选自-Q-Z、氧代基、NO₂、卤素、CN、合适离去基或C₁₋₆脂族基,其中Q为共价键或二价C₁₋₆饱和或不饱和的直链或支链烃链,其中Q的一个或两个亚甲基单元任选且独立地经-N(R)-、-S-、-O-、-C(O)-、-OC(O)-、-C(O)O-、-SO-或-SO₂-、-N(R)C(O)-、-C(O)N(R)-、-N(R)SO₂-或-SO₂N(R)-置换;并且Z为氢或任选经氧代基、卤素、NO₂或CN取代的C₁₋₆脂族基。

[0225] 在某些实施例中,Y为氢。

[0226] 在某些实施例中,Y为任选经氧代基、卤素、NO₂或CN取代的C₁₋₆脂族基。在一些实施例中,Y为任选经氧代基、卤素、NO₂或CN取代的C₂₋₆烯基。在其它实施例中,Y为任选经氧代基、卤素、NO₂或CN取代的C₂₋₆炔基。在一些实施例中,Y为C₂₋₆烯基。在其它实施例中,Y为C₂₋₄炔基。

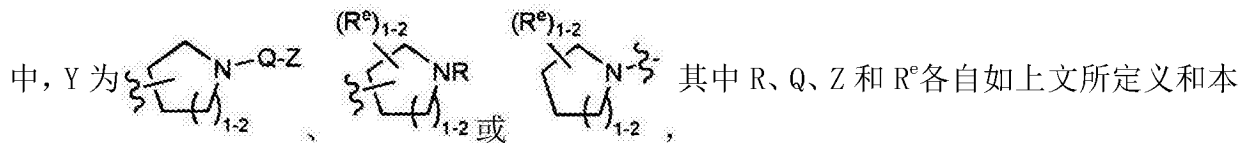
[0227] 在其它实施例中,Y为经氧代基、卤素、NO₂或CN取代的C₁₋₆烷基。这些Y基团包括-CH₂F-、-CH₂Cl-、-CH₂CN和-CH₂NO₂。

[0228] 在某些实施例中,Y为具有0-3个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的饱和3-6元单环,其中Y经1-4个R^o基团取代,其中各R^o如上文所定义和本文所描述。

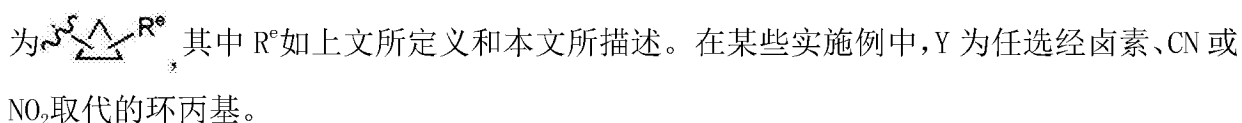
[0229] 在一些实施例中,Y为具有1个选自氧或氮的杂原子的饱和3-4元杂环,其中所述环经1-2个R^o基团取代,其中各R^o如上文所定义和本文所描述。例示性的这些环为环氧化

物和氧杂环丁烷环,其中各环经 1-2 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述。

[0230] 在其它实施例中,Y 为具有 1-2 个选自氧或氮的杂原子的饱和 5-6 元杂环,其中所述环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述。这些环包括哌啶和吡咯烷,其中各环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述。在某些实施例中

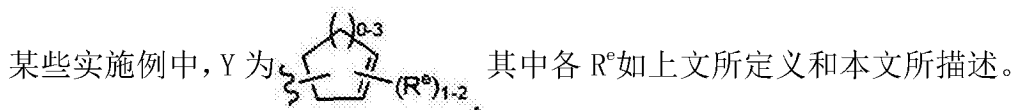


[0231] 在一些实施例中,Y 为饱和 3-6 元碳环,其中所述环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述。在某些实施例中,Y 为环丙基、环丁基、环戊基或环己基,其中各环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述。在某些实施例中,Y 为



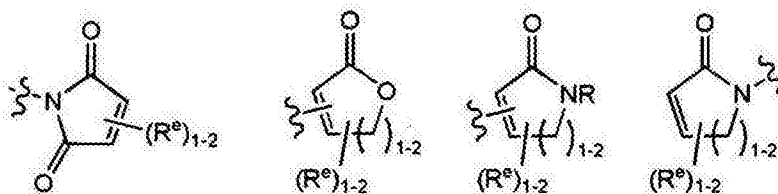
[0232] 在某些实施例中,Y 为具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的部分不饱和 3-6 元单环,其中所述环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述。

[0233] 在一些实施例中,Y 为部分不饱和的 3-6 元碳环,其中所述环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述。在某些实施例中,Y 为环丙烯基、环丁烯基、环戊烯基或环己烯基,其中各环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述。在



[0234] 在某些实施例中,Y 为具有 1-2 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的部分不饱和 4-6 元杂环,其中所述环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述。在某些实施例中,Y 是选自:

[0235]

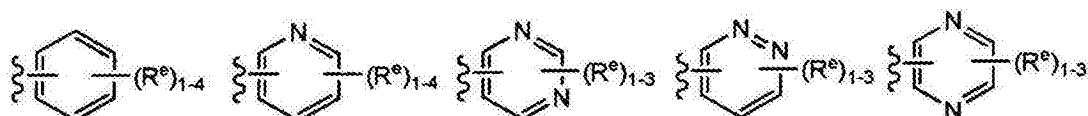


[0236] 其中 R 和 R°各自如上文所定义和本文所描述。

[0237] 在某些实施例中,Y 为具有 0-2 个氮的 6 元芳环,其中所述环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°基团如上文所定义和本文所描述。在某些实施例中,Y 为苯基、吡啶基或嘧啶基,其中各环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述。

[0238] 在一些实施例中,Y 是选自:

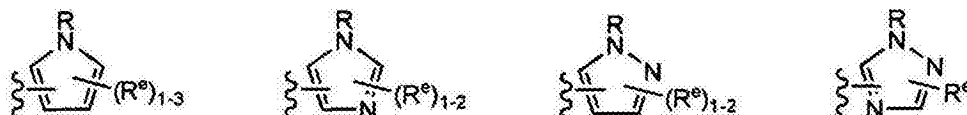
[0239]



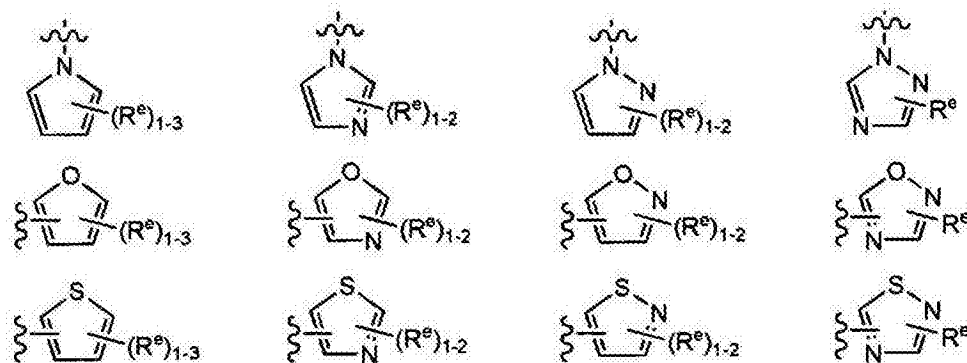
[0240] 其中各 R°如上文所定义和本文所描述。

[0241] 在其它实施例中, Y 为具有 1-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5 元杂芳基环, 其中所述环经 1-3 个 R°基团取代, 其中各 R°基团如上文所定义和本文所描述。在一些实施例中, Y 为具有 1-3 个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元部分不饱和环或芳基环, 其中所述环经 1-4 个 R°基团取代, 其中各 R°基团如上文所定义和本文所描述。例示性的这些环为异噁唑基、噁唑基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、吡咯基、呋喃基、噻吩基、三唑、噻二唑和噁二唑, 其中各环经 1-3 个 R°基团取代, 其中各 R°基团如上文所定义和本文所描述。在某些实施例中, Y 是选自:

[0242]



[0243]



[0244] 其中 R 和 R°各自如上文所定义和本文所描述。

[0245] 在某些实施例中, Y 为具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 8-10 元双环饱和环、部分不饱和环或芳基环, 其中所述环经 1-4 个 R°基团取代, 其中 R°如上文所定义和本文所描述。根据另一方面, Y 为具有 1-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 9-10 元双环部分不饱和环或芳基环, 其中所述环经 1-4 个 R°基团取代, 其中 R°如上文所定义和本文所描述。例示性的这些双环包括 2, 3-二氢苯并[d]异噁唑, 其中所述环经 1-4 个 R°基团取代, 其中 R°如上文所定义和本文所描述。

[0246] 如上文一般所定义, R°基团各自独立地选自 -Q-Z、氧代基、NO₂、卤素、CN、合适离去基或任选经氧代基、卤素、NO₂或 CN 取代的 C₁₋₆脂族基, 其中 Q 为共价键或二价 C₁₋₆饱和或不饱和的直链或支链烃链, 其中 Q 的一个或两个亚甲基单元任选且独立地经 -N(R)-、-S-、-O-、-C(O)-、-OC(O)-、-C(O)O-、-SO- 或 -SO₂-、-N(R)C(O)-、-C(O)N(R)-、-N(R)SO₂- 或 -SO₂N(R)- 置换; 并且 Z 为氢或任选经氧代基、卤素、NO₂或 CN 取代的 C₁₋₆脂族基。

[0247] 在某些实施例中, R°为任选经氧代基、卤素、NO₂或 CN 取代的 C₁₋₆脂族基。在其它实施例中, R°为氧代基、NO₂、卤素或 CN。

[0248] 在一些实施例中, R°为 -Q-Z, 其中 Q 为共价键且 Z 为氢 (即 R°为氢)。在其它实施例中, R°为 -Q-Z, 其中 Q 为二价 C₁₋₆饱和或不饱和的直链或支链烃链, 其中 Q 的一个或两个亚甲基单元任选且独立地经 -NR-、-NRC(O)-、-C(O)NR-、-S-、-O-、-C(O)-、-SO- 或 -SO₂- 置换。在其它实施例中, Q 为具有至少一个双键的二价 C₂₋₆直链或支链烃链, 其中 Q 的一个或两个

亚甲基单元任选且独立地经 $-\text{NR}-$ 、 $-\text{NRC}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{SO}-$ 或 $-\text{SO}_2-$ 置换。在某些实施例中， R° 基团的 Z 部分为氢。在一些实施例中， $-\text{Q}-\text{Z}$ 为 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}_2$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}_2$ 。

[0249] 在某些实施例中， R° 各自独立地选自氧代基、 NO_2 、 CN 、氟、氯、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CH}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{F}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{CN}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{F}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CN}$ 或 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 。

[0250] 在某些实施例中， R° 为合适离去基，即经历亲核置换 (nucleophilic displacement) 的基团。“合适离去”是易于由需要引入的化学部分（例如所关注的半胱氨酸的硫醇部分）置换的化学基团。合适离去基为所属领域中所熟知，例如参见“高等有机化学 (Advanced Organic Chemistry)”，杰瑞·马奇 (Jerry March)，第 5 版，第 351-357 页，约翰威立父子出版公司，纽约。这些离去基包括（但不限于）卤素、烷氧基、磺酰氧基、任取代的烷基磺酰氧基、任取代的烯基磺酰氧基、任取代的芳基磺酰氧基、酰基和重氮部分。合适离去基的实例包括氯、碘、溴、氟、乙酰氧基、甲烷磺酰氧基（甲磺酰氧基）、甲苯磺酰氧基、三氟甲磺酰氧基、硝基-苯基磺酰氧基（硝基苯磺酰氧基）和溴-苯基磺酰氧基（溴苯磺酰氧基）。

[0251] 在某些实施例中， $-\text{L}-\text{Y}$ 的以下实施例和组合适用：

[0252] (a) L 为二价 C_{2-8} 直链或支链烃链，其中 L 具有至少一个双键并且 L 的一个或两个另外的亚甲基单元任选且独立地经 $-\text{NRC}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{N}(\text{R})\text{SO}_2-$ 、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R})-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{SO}_2-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、亚环丙基、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{N}(\text{R})-$ 或 $-\text{C}(\text{O})-$ 置换；且 Y 为氢或任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基；或

[0253] (b) L 为二价 C_{2-8} 直链或支链烃链，其中 L 具有至少一个双键且 L 的至少一个亚甲基单元经 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NRC}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{N}(\text{R})\text{SO}_2-$ 、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R})-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{SO}_2-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 置换，且 L 的一个或两个另外的亚甲基单元任选且独立地经亚环丙基、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{N}(\text{R})-$ 或 $-\text{C}(\text{O})-$ 置换；且 Y 为氢或任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基；或

[0254] (c) L 为二价 C_{2-8} 直链或支链烃链，其中 L 具有至少一个双键且 L 的至少一个亚甲基单元经 $-\text{C}(\text{O})-$ 置换，并且 L 的一个或两个另外的亚甲基单元任选且独立地经亚环丙基、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{N}(\text{R})-$ 或 $-\text{C}(\text{O})-$ 置换；且 Y 为氢或任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基；或

[0255] (d) L 为二价 C_{2-8} 直链或支链烃链，其中 L 具有至少一个双键且 L 的至少一个亚甲基单元经 $-\text{C}(\text{O})-$ 置换；且 Y 为氢或任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基；或

[0256] (e) L 为二价 C_{2-8} 直链或支链烃链，其中 L 具有至少一个双键且 L 的至少一个亚甲基单元经 $-\text{OC}(\text{O})-$ 置换；且 Y 为氢或任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基；或

[0257] (f) L 为 $-\text{NRC}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{NRC}(\text{O})\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{N}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{NRC}(\text{O})\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NRC}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{NRSO}_2\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{NRSO}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$ 、 $-\text{NRC}(\text{O})(\text{C}=\text{N}_2)-$ 、 $-\text{NRC}(\text{O})(\text{C}=\text{N}_2)\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NRC}(\text{O})\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{N}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{NRSO}_2\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{NRSO}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$ 、 $-\text{NRC}(\text{O})\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{NRC}(\text{O})\text{C}(=\text{CH}_2)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NRC}(\text{O})-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NRC}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NRC}(\text{O})-$ 或 $-\text{CH}_2\text{NRC}(\text{O})$ 亚环丙基；其中 R 为 H 或任取代的 C_{1-6} 脂族基；且 Y 为氢或任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基；或

[0258] (g) L 为 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{N}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{NHSO}_2\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{NHSO}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})(\text{C}=\text{N}_2)-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})(\text{C}=\text{N}_2)\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{N}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{NHSO}_2\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{NHSO}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{C}(=\text{CH}_2)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})-$ 或 $-\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})$ 亚环丙基-；且 Y 为氢或任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基；或

[0259] (h) L 为二价 C_{2-8} 直链或支链烃链，其中 L 具有至少一个次烷基双键且 L 的至少一个亚甲基单元经 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NRC}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{N}(\text{R})\text{SO}_2-$ 、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R})-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{SO}_2-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 置换，并且 L 的一个或两个另外的亚甲基单元任选且独立地经亚环丙基、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{N}(\text{R})-$ 或 $-\text{C}(\text{O})-$ 置换；且 Y 为氢或任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基；或

[0260] (i) L 为二价 C_{2-8} 直链或支链烃链，其中 L 具有至少一个三键且 L 的一个或两个另外的亚甲基单元任选且独立地经 $-\text{NRC}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{N}(\text{R})\text{SO}_2-$ 、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R})-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{SO}_2-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 置换，且 Y 为氢或任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基；或

[0261] (j) L 为 $-\text{C}\equiv\text{C}-$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CCH}_2\text{N}(\text{异丙基})-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{C}\equiv\text{CCH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CCH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{C}\equiv\text{C}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}\equiv\text{C}-$ 或 $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{C}\equiv\text{C}-$ ；且 Y 为氢或任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基；或

[0262] (k) L 为二价 C_{2-8} 直链或支链烃链，其中 L 的一个亚甲基单元经亚环丙基置换且 L 的一个或两个另外的亚甲基单元独立地经 $-\text{NRC}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{N}(\text{R})\text{SO}_2-$ 、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R})-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{SO}_2-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 置换；且 Y 为氢或任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 脂族基；或

[0263] (l) L 为共价键且 Y 是选自：

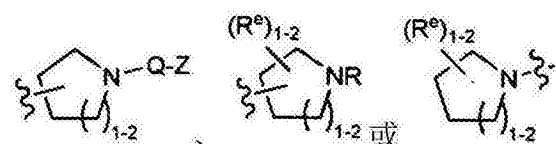
[0264] (i) 经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 烷基；

[0265] (ii) 任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{2-6} 烯基；或

[0266] (iii) 任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{2-6} 炔基；或

[0267] (iv) 具有 1 个选自氧或氮的杂原子的饱和 3-4 元杂环，其中所述环经 1-2 个 R° 基团取代，其中各 R° 如上文所定义和本文所描述；或

[0268] (v) 具有 1-2 个选自氧或氮的杂原子的饱和 5-6 元杂环，其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代，其中各 R° 如上文所定义和本文所描述；或

[0269] (vi)  其中 R、Q、Z 和 R° 各自如上文所定义和本文所描述；或

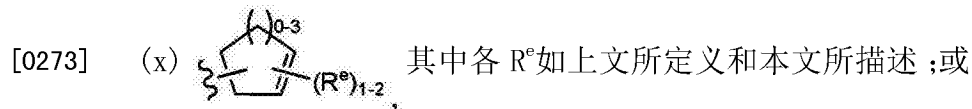
和本文所描述；或

[0270] (vii) 饱和 3-6 元碳环，其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代，其中各 R° 如上文所定义和本文所描述；或

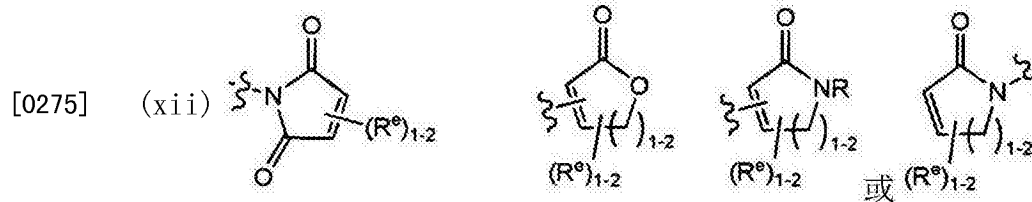
[0271] (viii) 具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的部分不饱和 3-6 元单环，其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代，其中各 R° 如上文所定义和本文所描述；或

[0272] (ix) 部分不饱和 3-6 元碳环，其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代，其中各 R° 如上文

所定义和本文所描述 ;或

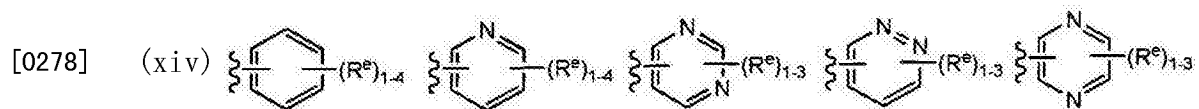


[0274] (xi) 具有 1-2 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的部分不饱和 4-6 元杂环,其中所述环经 1-4 个 R^e基团取代,其中各 R^e如上文所定义和本文所描述 ;或



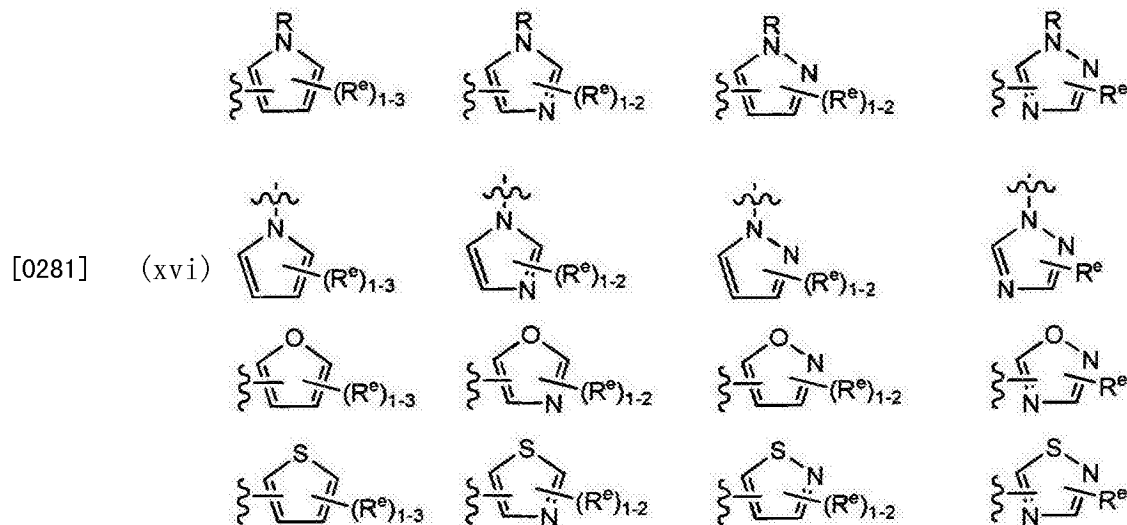
[0276] 其中 R 和 R^e各自如上文所定义和本文所描述 ;或

[0277] (xiii) 具有 0-2 个氮的 6 元芳环,其中所述环经 1-4 个 R^e基团取代,其中各 R^e基团如上文所定义和本文所描述 ;或



[0279] 其中各 R^e如上文所定义和本文所描述 ;或

[0280] (xv) 具有 1-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5 元杂芳基环,其中所述环经 1-3 个 R^e基团取代,其中各 R^e基团如上文所定义和本文所描述 ;或



[0282] 其中 R 和 R^e各自如上文所定义和本文所描述 ;或

[0283] (xvii) 具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 8-10 元双环饱和环、部分不饱和环或芳基环,其中所述环经 1-4 个 R^e基团取代,其中 R^e如上文所定义和本文所描述 ;

[0284] (m)L 为 -C(O)- 且 Y 是选自 :

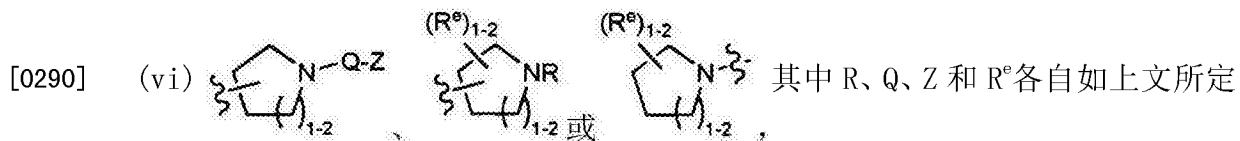
[0285] (i) 经氧代基、卤素、NO₂或 CN 取代的 C₁₋₆烷基 ;或

[0286] (ii) 任选经氧代基、卤素、NO₂或 CN 取代的 C₂₋₆烯基 ;或

[0287] (iii) 任选经氧代基、卤素、NO₂或 CN 取代的 C₂₋₆炔基 ;或

[0288] (iv) 具有 1 个选自氧或氮的杂原子的饱和 3-4 元杂环,其中所述环经 1-2 个 R^e基团取代,其中各 R^e如上文所定义和本文所描述 ;或

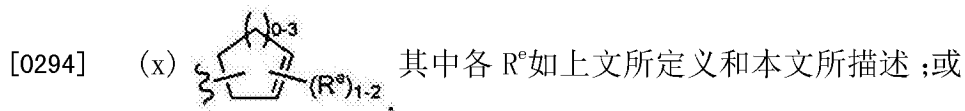
[0289] (v) 具有 1-2 个选自氧或氮的杂原子的饱和 5-6 元杂环, 其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代, 其中各 R° 如上文所定义和本文所描述; 或



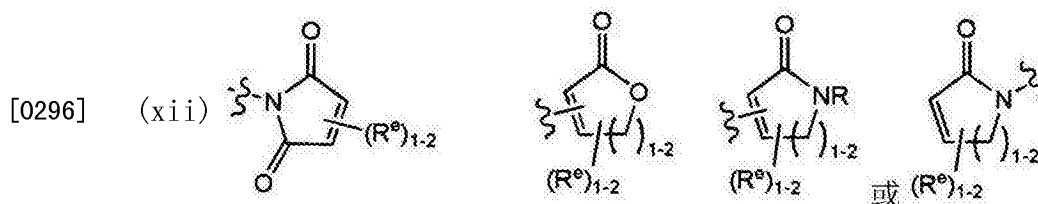
[0291] (vii) 饱和 3-6 元碳环, 其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代, 其中各 R° 如上文所定义和本文所描述; 或

[0292] (viii) 具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的部分不饱和 3-6 元单环, 其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代, 其中各 R° 如上文所定义和本文所描述; 或

[0293] (ix) 部分不饱和 3-6 元碳环, 其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代, 其中各 R° 如上文所定义和本文所描述; 或

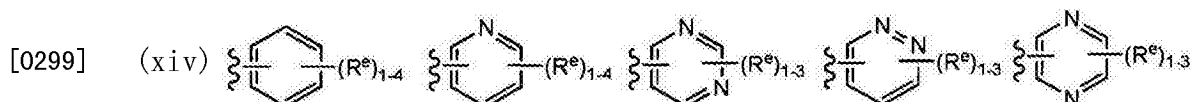


[0295] (xi) 具有 1-2 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的部分不饱和 4-6 元杂环, 其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代, 其中各 R° 如上文所定义和本文所描述; 或



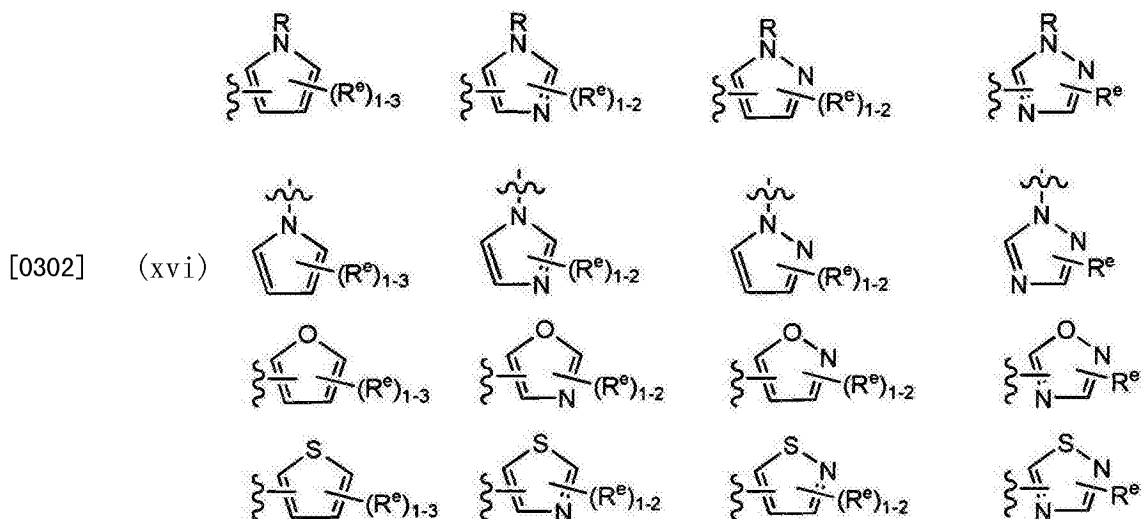
[0297] 其中 R 和 R° 各自如上文所定义和本文所描述; 或

[0298] (xiii) 具有 0-2 个氮的 6 元芳环, 其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代, 其中各 R° 基团如上文所定义和本文所描述; 或



[0300] 其中各 R° 如上文所定义和本文所描述; 或

[0301] (xv) 具有 1-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5 元杂芳基环, 其中所述环经 1-3 个 R° 基团取代, 其中各 R° 基团如上文所定义和本文所描述; 或



[0303] 其中 R 和 R^e 各自如上文所定义和本文所描述 ;或

[0304] (xvii) 具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 8-10 元双环饱和环、部分不饱和环或芳基环,其中所述环经 1-4 个 R^e 基团取代,其中 R^e 如上文所定义和本文所描述 ;

[0305] (n)L 为 $-N(R)C(O)-$ 且 Y 是选自 :

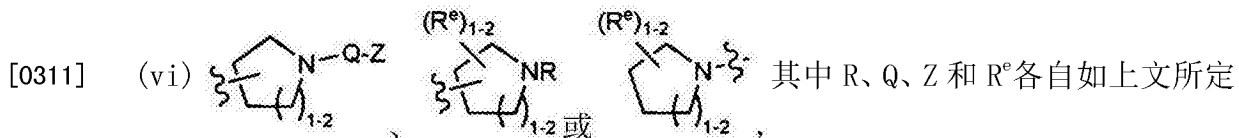
[0306] (i) 经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 烷基 ;或

[0307] (ii) 任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{2-6} 烯基 ;或

[0308] (iii) 任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{2-6} 炔基 ;或

[0309] (iv) 具有 1 个选自氧或氮的杂原子的饱和 3-4 元杂环,其中所述环经 1-2 个 R^e 基团取代,其中各 R^e 如上文所定义和本文所描述 ;或

[0310] (v) 具有 1-2 个选自氧或氮的杂原子的饱和 5-6 元杂环,其中所述环经 1-4 个 R^e 基团取代,其中各 R^e 如上文所定义和本文所描述 ;或

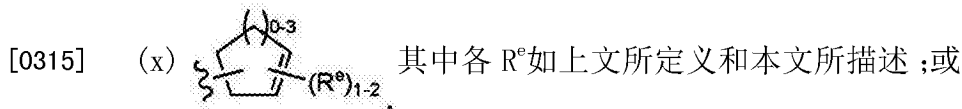


义和本文所描述 ;或

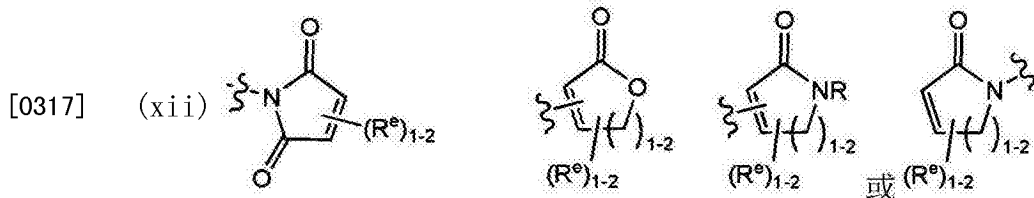
[0312] (vii) 饱和 3-6 元碳环,其中所述环经 1-4 个 R^e 基团取代,其中各 R^e 如上文所定义和本文所描述 ;或

[0313] (viii) 具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的部分不饱和 3-6 元单环,其中所述环经 1-4 个 R^e 基团取代,其中各 R^e 如上文所定义和本文所描述 ;或

[0314] (ix) 部分不饱和 3-6 元碳环,其中所述环经 1-4 个 R^e 基团取代,其中各 R^e 如上文所定义和本文所描述 ;或

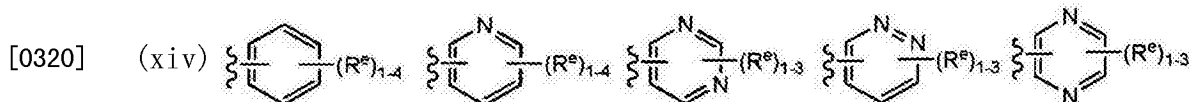


[0316] (xi) 具有 1-2 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的部分不饱和 4-6 元杂环,其中所述环经 1-4 个 R^e 基团取代,其中各 R^e 如上文所定义和本文所描述 ;或



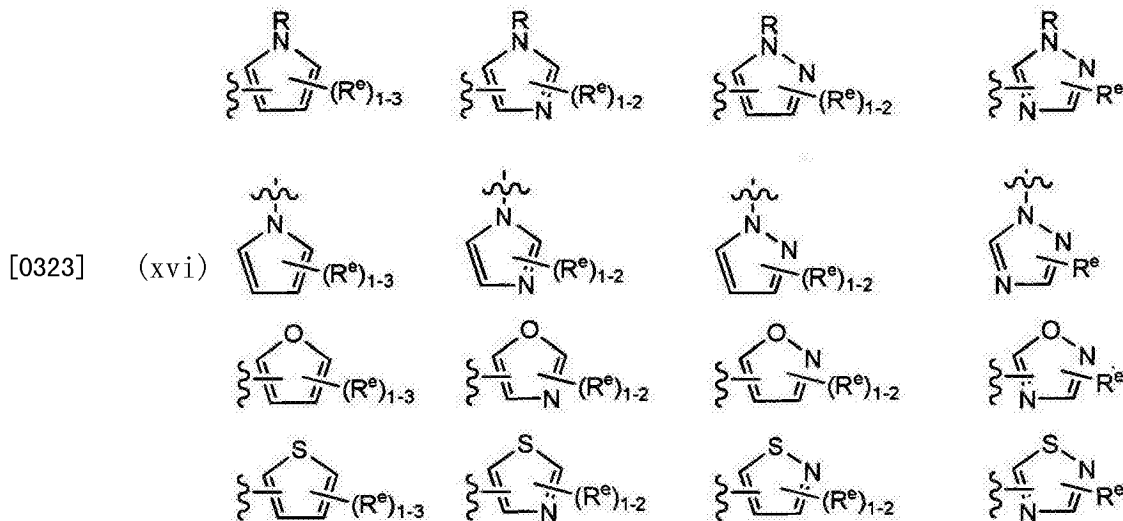
[0318] 其中 R 和 R°各自如上文所定义和本文所描述 ;或

[0319] (xiii) 具有 0-2 个氮的 6 元芳环,其中所述环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°基团如上文所定义和本文所描述 ;或



[0321] 其中各 R°如上文所定义和本文所描述 ;或

[0322] (xv) 具有 1-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5 元杂芳基环,其中所述环经 1-3 个 R°基团取代,其中各 R°基团如上文所定义和本文所描述 ;或



[0324] 其中 R 和 R°各自如上文所定义和本文所描述 ;或

[0325] (xvii) 具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 8-10 元双环饱和环、部分不饱和环或芳基环,其中所述环经 1-4 个 R°基团取代,其中 R°如上文所定义和本文所描述 ;

[0326] (o)L 为二价 C₁₋₈饱和或不饱和的直链或支链烃链 ;且 Y 是选自 :

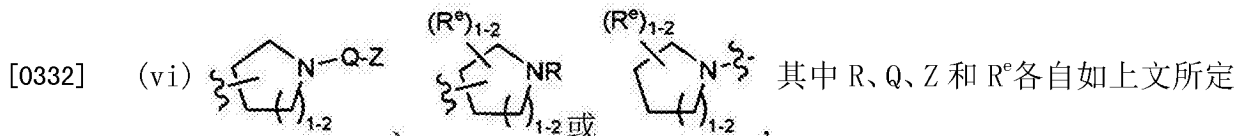
[0327] (i) 经氧代基、卤素、NO₂或 CN 取代的 C₁₋₆烷基 ;

[0328] (ii) 任选经氧代基、卤素、NO₂或 CN 取代的 C₂₋₆烯基 ;或

[0329] (iii) 任选经氧代基、卤素、NO₂或 CN 取代的 C₂₋₆炔基 ;或

[0330] (iv) 具有 1 个选自氧或氮的杂原子的饱和 3-4 元杂环,其中所述环经 1-2 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述 ;或

[0331] (v) 具有 1-2 个选自氧或氮的杂原子的饱和 5-6 元杂环,其中所述环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述 ;或

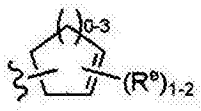


义和本文所描述 ;或

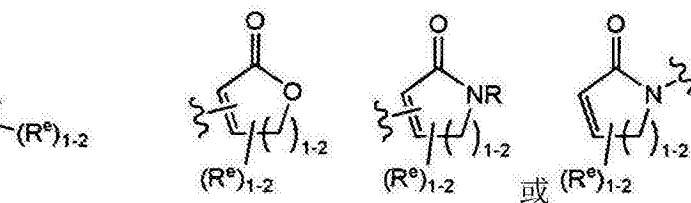
[0333] (vii) 饱和 3-6 元碳环,其中所述环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述 ;或

[0334] (viii) 具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的部分不饱和 3-6 元单环,其中所述环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述 ;或

[0335] (ix) 部分不饱和 3-6 元碳环,其中所述环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述 ;或

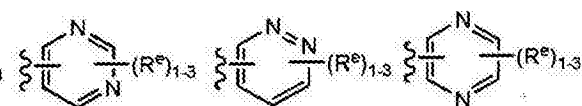
[0336] (x)  其中各 R°如上文所定义和本文所描述 ;或

[0337] (xi) 具有 1-2 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的部分不饱和 4-6 元杂环,其中所述环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°如上文所定义和本文所描述 ;或

[0338] (xii)  或 (R°)₁₋₂

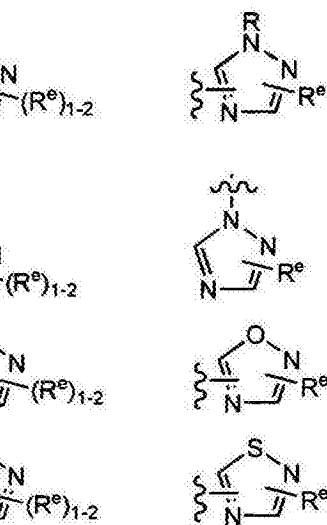
[0339] 其中 R 和 R°各自如上文所定义和本文所描述 ;或

[0340] (xiii) 具有 0-2 个氮的 6 元芳环,其中所述环经 1-4 个 R°基团取代,其中各 R°基团如上文所定义和本文所描述 ;或

[0341] (xiv) 

[0342] 其中各 R°如上文所定义和本文所描述 ;或

[0343] (xv) 具有 1-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5 元杂芳基环,其中所述环经 1-3 个 R°基团取代,其中各 R°基团如上文所定义和本文所描述 ;或

[0344] (xvi) 

[0345] 其中 R 和 R°各自如上文所定义和本文所描述 ;或

[0346] (xvii) 具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 8-10 元双环饱和环、部分不饱和环或芳基环,其中所述环经 1-4 个 R°基团取代,其中 R°如上文所定义和本文所描述 ;

[0347] (p) L 为共价键、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{NHCH}_2-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})-$ 、 $-\text{NHSO}_2-$ 、 $-\text{NHSO}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})-$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}-$; 且 Y 是选自 :

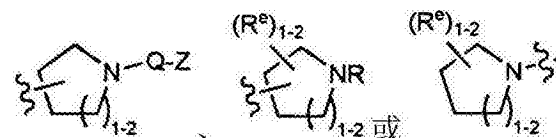
[0348] (i) 经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{1-6} 烷基 ; 或

[0349] (ii) 任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{2-6} 烯基 ; 或

[0350] (iii) 任选经氧代基、卤素、 NO_2 或 CN 取代的 C_{2-6} 炔基 ; 或

[0351] (iv) 具有 1 个选自氧或氮的杂原子的饱和 3-4 元杂环, 其中所述环经 1-2 个 R° 基团取代, 其中各 R° 如上文所定义和本文所描述 ; 或

[0352] (v) 具有 1-2 个选自氧或氮的杂原子的饱和 5-6 元杂环, 其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代, 其中各 R° 如上文所定义和本文所描述 ; 或


[0353] (vi)  其中 R、Q、Z 和 R° 各自如上文所定

义和本文所描述 ; 或

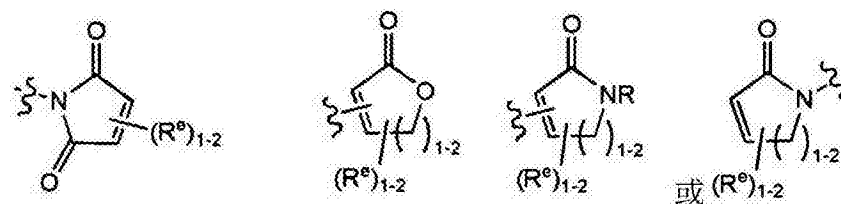
[0354] (vii) 饱和 3-6 元碳环, 其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代, 其中各 R° 如上文所定义和本文所描述 ; 或

[0355] (viii) 具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的部分不饱和 3-6 元单环, 其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代, 其中各 R° 如上文所定义和本文所描述 ; 或

[0356] (ix) 部分不饱和 3-6 元碳环, 其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代, 其中各 R° 如上文所定义和本文所描述 ; 或

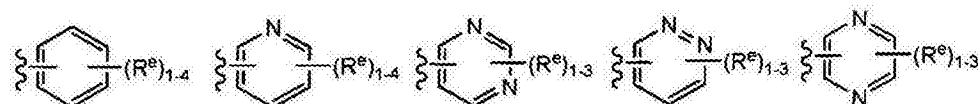
[0357] (x)  其中各 R° 如上文所定义和本文所描述 ; 或

[0358] (xi) 具有 1-2 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的部分不饱和 4-6 元杂环, 其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代, 其中各 R° 如上文所定义和本文所描述 ; 或

[0359] (xii)  或 $(\text{R}^\circ)_{1-2}$

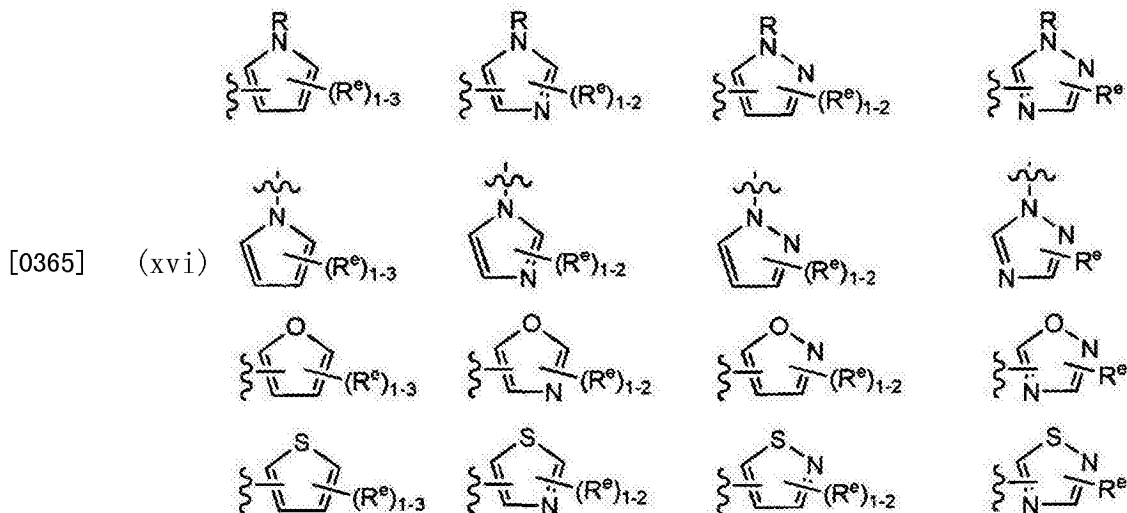
[0360] 其中 R 和 R° 各自如上文所定义和本文所描述 ; 或

[0361] (xiii) 具有 0-2 个氮的 6 元芳环, 其中所述环经 1-4 个 R° 基团取代, 其中各 R° 基团如上文所定义和本文所描述 ; 或

[0362] (xiv)  $(\text{R}^\circ)_{1-4}$ $(\text{R}^\circ)_{1-4}$ $(\text{R}^\circ)_{1-3}$ $(\text{R}^\circ)_{1-3}$ $(\text{R}^\circ)_{1-3}$

[0363] 其中各 R° 如上文所定义和本文所描述 ; 或

[0364] (xv) 具有 1-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5 元杂芳基环, 其中所述环经 1-3 个 R° 基团取代, 其中各 R° 基团如上文所定义和本文所描述 ; 或



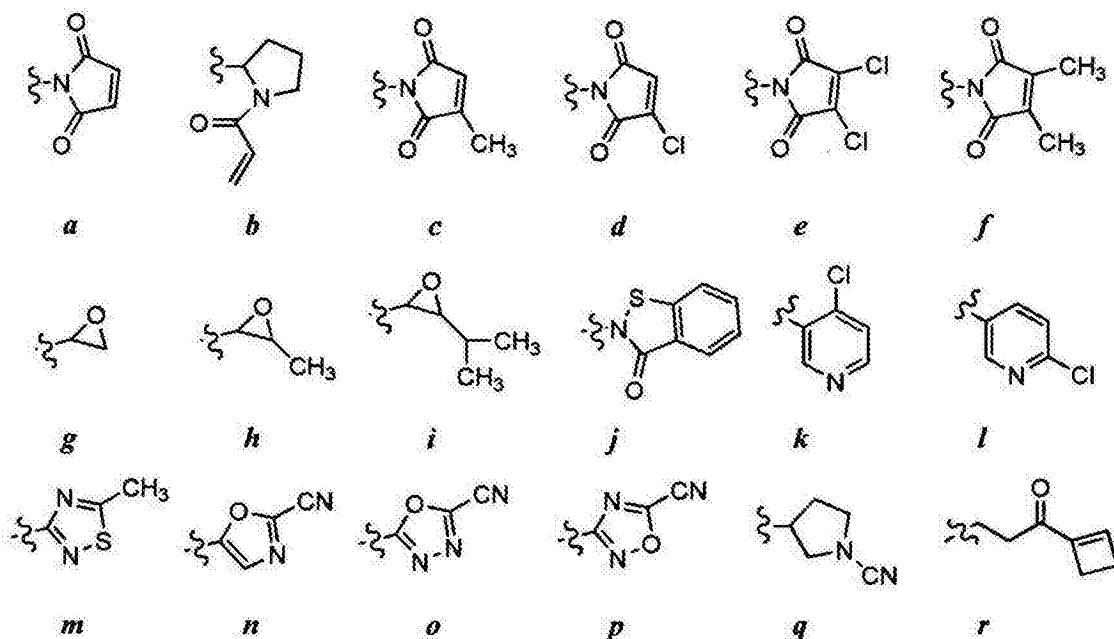
[0366] 其中 R 和 R^e各自如上文所定义和本文所描述 ;或

[0367] (xvii) 具有 0-3 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 8-10 元双环饱和环、部分不饱和环或芳基环,其中所述环经 1-4 个 R^e基团取代,其中 R^e如上文所定义和本文所描述。

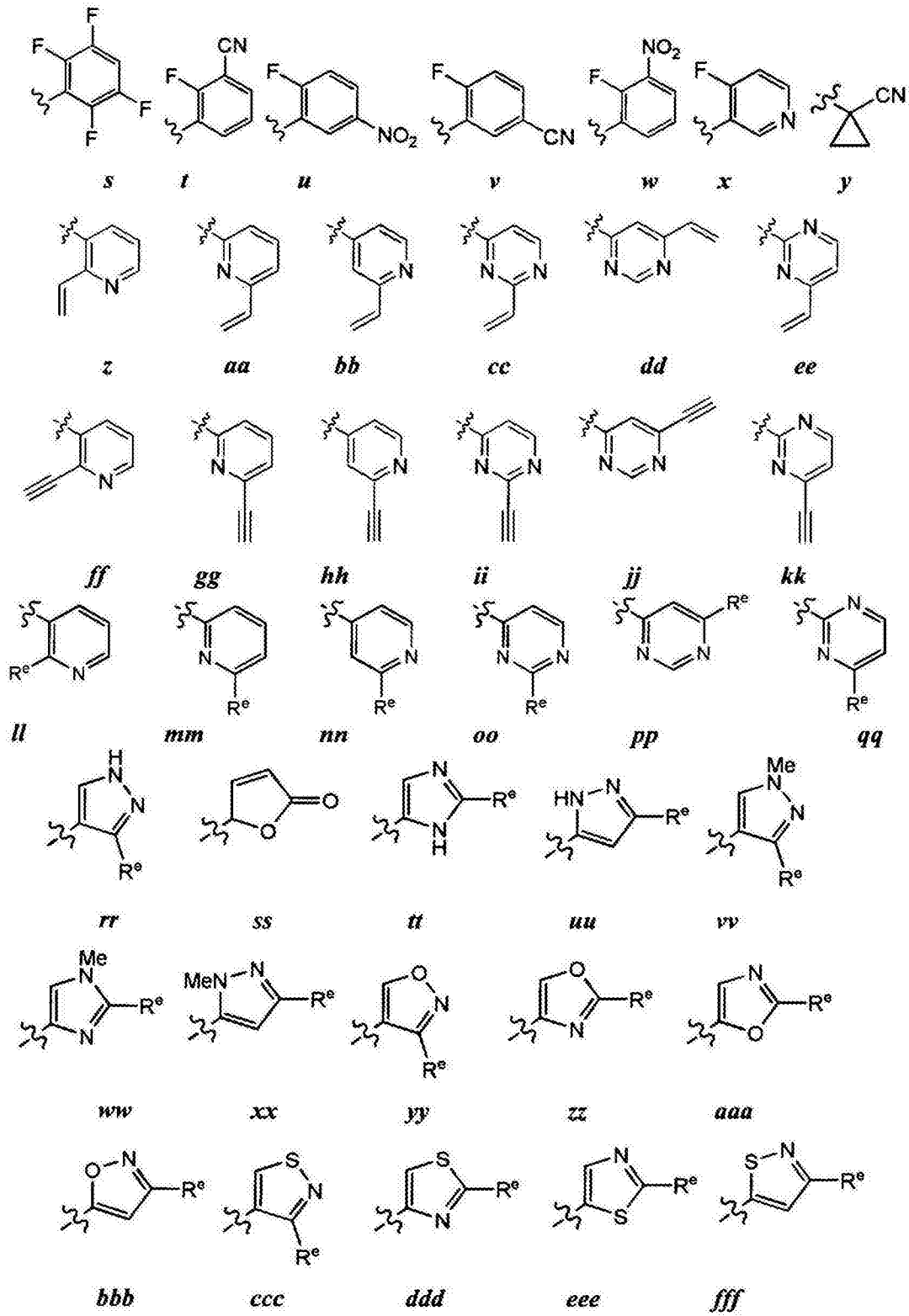
[0368] 在某些实施例中,式 I 的 Y 基团是选自下表 3 中所述的基团,其中每一条波形线都指示与分子其余部分的连接点。

[0369] 表 3. 例示性 Y 基团 :

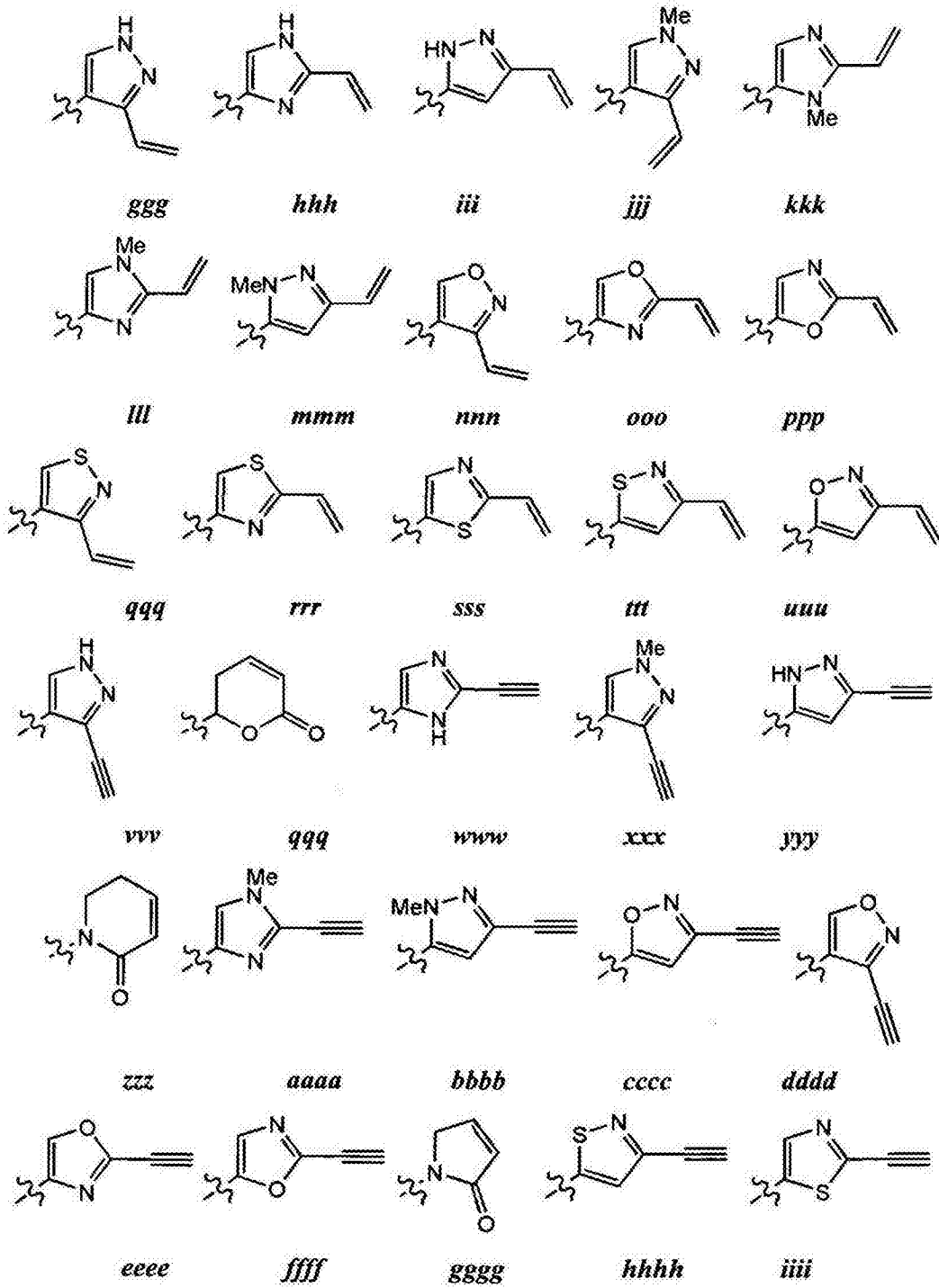
[0370]



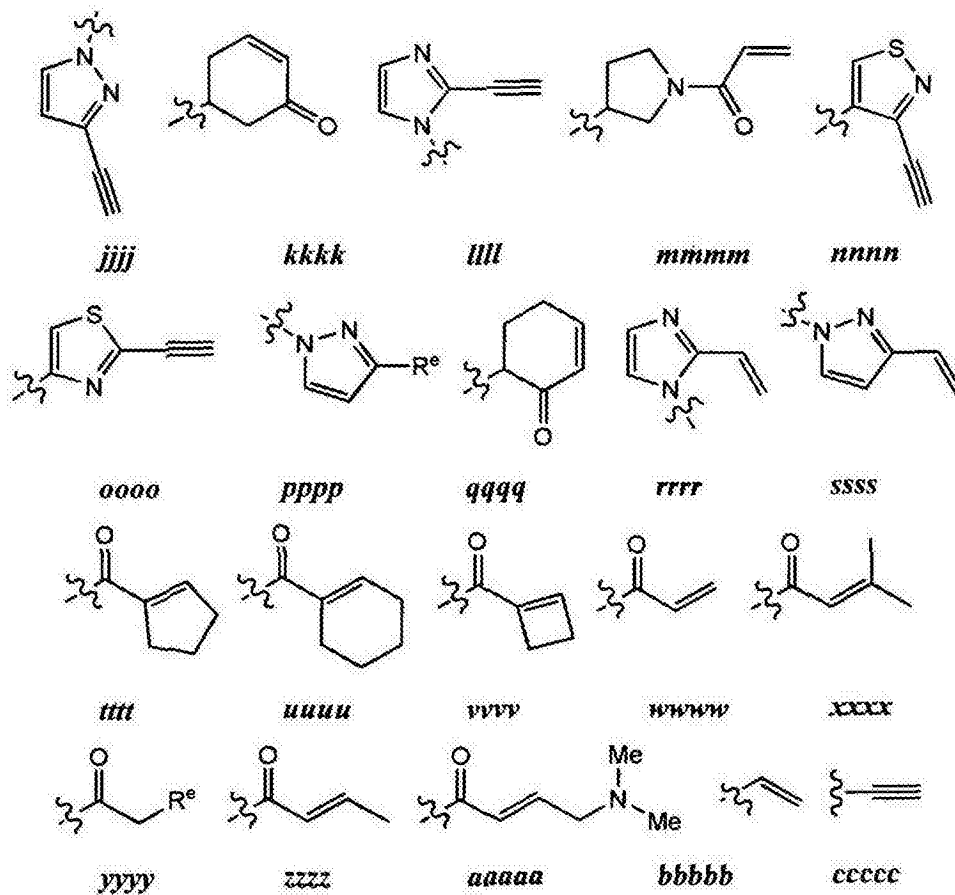
[0371]



[0372]



[0373]



[0374] 其中 R^e各自独立地为合适离去基、NO₂、CN 或氧代基。

[0375] 在某些实施例中, R¹为 -C≡CH、-C≡CCH₂NH(异丙基)、-NHC(O)C≡CCH₂CH₃、-CH₂-C≡C-CH₃、-C≡CCH₂OH、-CH₂C(O)C≡CH、-C(O)C≡CH 或 -CH₂OC(=O)C≡CH。在一些实施例中, R¹是选自 -NHC(O)CH=CH₂、-NHC(O)CH=CHCH₂N(CH₃)₂或 -CH₂NHC(O)CH=CH₂。

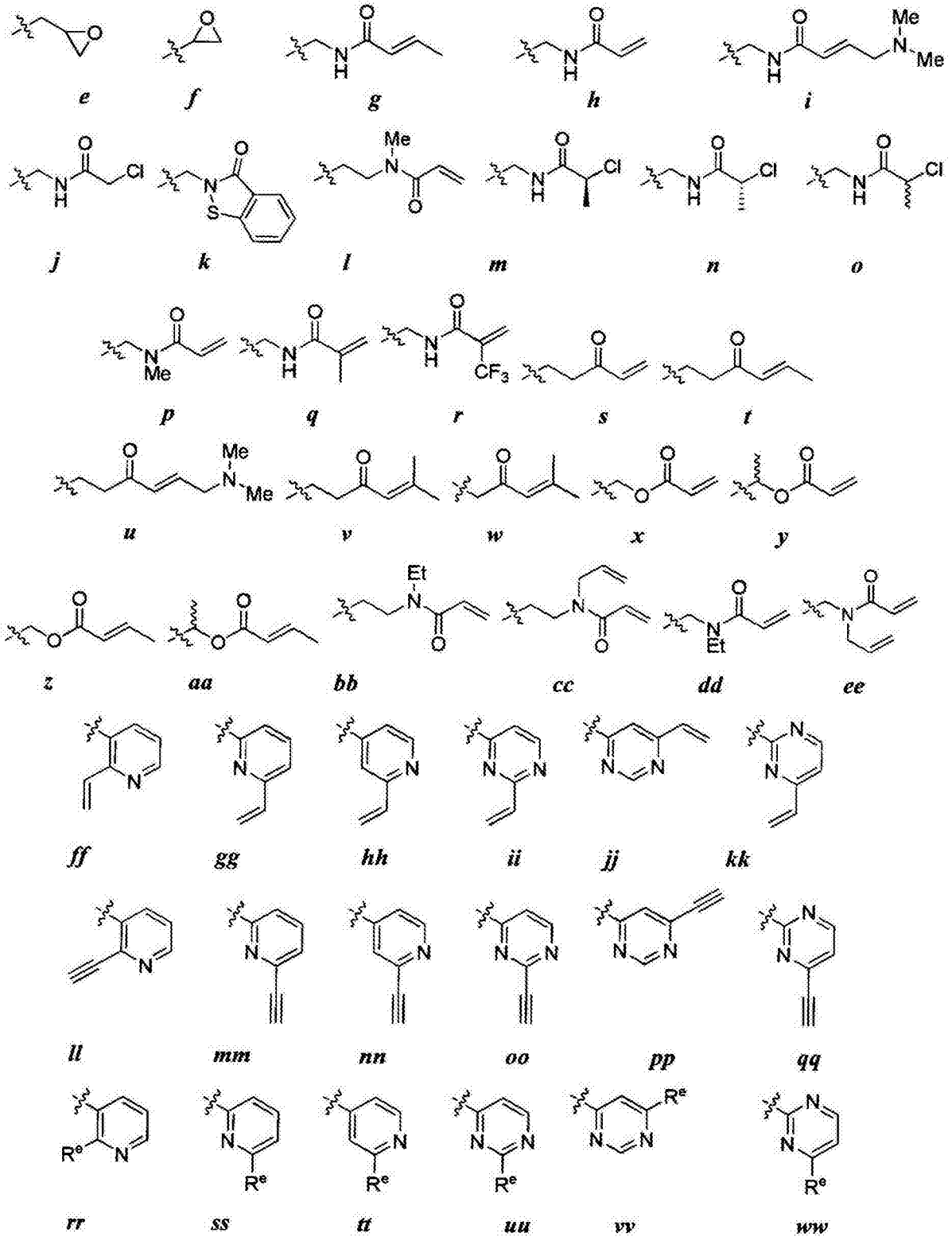
[0376] 在某些实施例中, R¹是选自下表 4 中所述的基团, 其中每一条波形线都指示与分子其余部分的连接点。

[0377] 表 4: 例示性 R¹基团

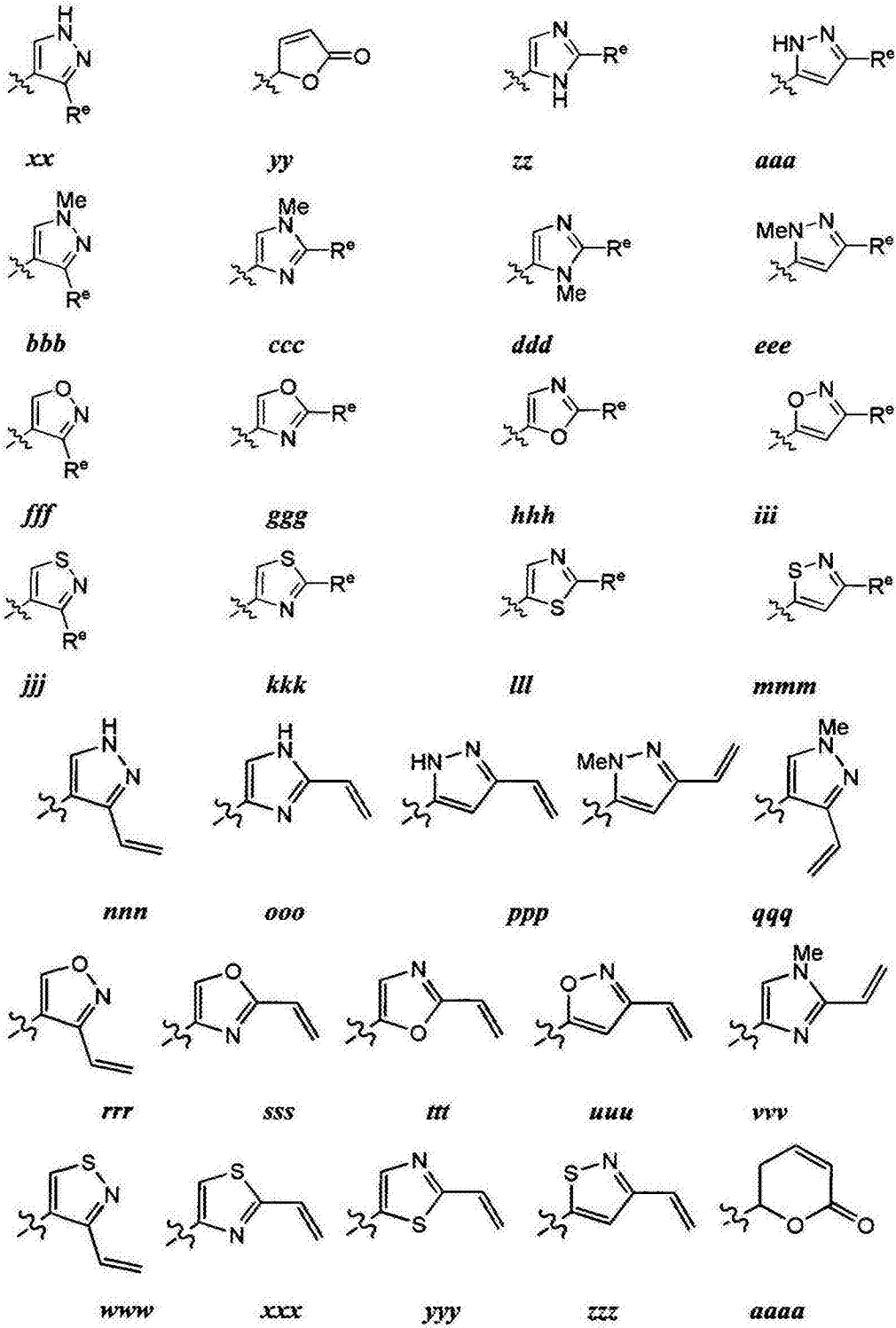
[0378]



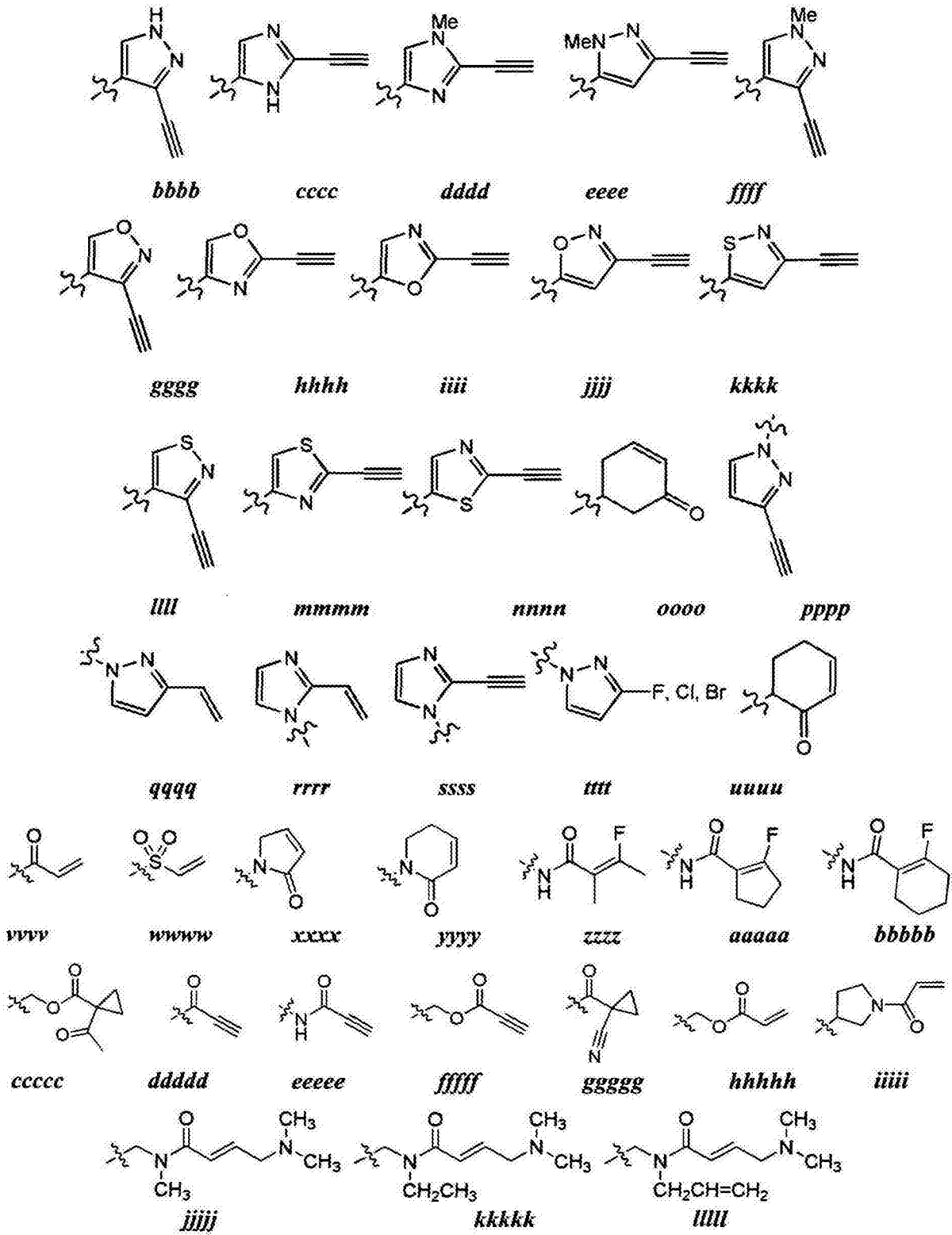
[0379]



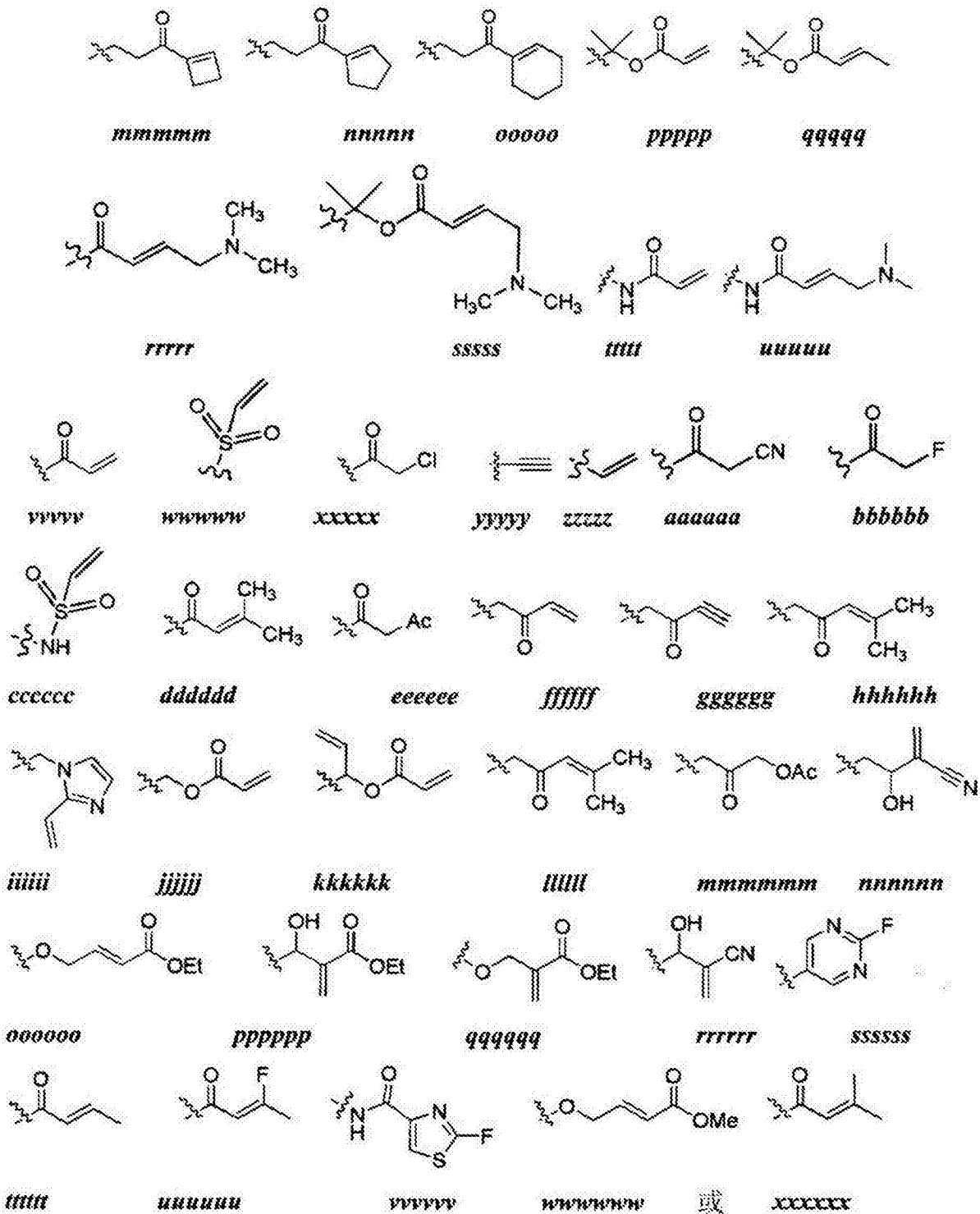
[0380]



[0381]



[0382]



[0383] 其中 R^e各自独立地为合适离去基、NO₂、CN 或氧代基。

[0384] 如上文一般所定义，R¹为弹头基，或在 R¹和 R^x成环时，此时 -Q-Z 为弹头基。不希望受任何特定的理论束缚，相信这些 R¹基团（即弹头基）特别适于与某些蛋白激酶的结合结构域中关键的半胱氨酸残基共价结合。结合结构域中具有半胱氨酸残基的蛋白激酶为所属领域的技术人员所知，并包括 ErbB1、ErbB2 和 ErbB4 或其突变体。在某些实施例中，本发明化合物的弹头基的特征在于本发明化合物靶向一种或一种以上的以下半胱氨酸残基：

[0385] ERBB1 SEQ ID 7:ITQLMPFGCLLDYVREH

[0386] ERBB2 SEQ ID 8:VTQLMPYGCLLDHVREN

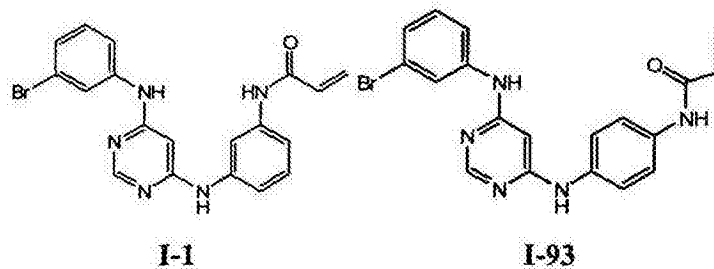
[0387] ERBB4 SEQ ID 9:VTQLMPHGCLLEYVHEH。

[0388] 因此,在一些实施例中, R^1 的特征在于-L-Y部分能够与半胱氨酸残基共价结合,从而不可逆地抑制此酶。在某些实施例中,半胱氨酸残基是 ErbB1 的 Cys797、ErbB2 的 Cys805 和 ErbB4 的 Cys803 或其突变体,其中所提供的残基编号是根据优泊特(Uniprot)(ErbB1 的编码是 P00533;ErbB2 的编码是 P04626,且 ErbB4 的编码是 Q15303)。应了解 ErbB1(EGFR)的 Cys 不定地称为 773 或 797,这取决于亲本序列是否含有信号肽。因此,根据本发明,ErbB1 的相关半胱氨酸残基可描述为 Cys 773 或 Cys 797,并且这些术语可互换使用。

[0389] 所属领域的技术人员应认识到,多种如本文中定义的弹头基适于此共价键结。这些 R^1 基团包括(但不限于)本文中描述且下表 4 中描绘的基团。所属领域的技术人员应认识到 ErbB3 不具有对应的残基,并且如相关领域中所公认,其不具有催化活性。

[0390] 如上文式 I 中所描绘, R^1 弹头基可以处于邻位、间位或者对位。在某些实施例中, R^1 弹头基相对于分子的其余部分处于苯环的间位。不希望受到任何特定的理论束缚,相信在 R^1 处于此类间位时,弹头基的位置更利于共价修饰半胱氨酸残基,因此实现酶的不可逆抑制。实际上,已经意外地发现,弹头基在间位的化合物(化合物 I-1)不可逆地与 ErbB1 结合,而弹头基在对位的化合物(化合物 I-93)可逆地与 ErbB1 结合。这些化合物具有以下结构:

[0391]



[0392] 这一现象是通过使用下文实例 42 中详细描述的方案进行冲洗实验来确定。此实验的结果描绘于图 2 中,其中表明化合物 I-1 在“冲洗”后维持酶的抑制,而化合物 I-93 在实验中被洗掉,从而使酶活性再活化。

[0393] 在某些实施例中, R^1 的特征在于-L-Y部分能够与 TEC 的半胱氨酸残基共价结合,从而不可逆地抑制此酶。在一些实施例中,半胱氨酸残基是 Cys 449。

[0394] 在某些实施例中, R^1 的特征在于-L-Y部分能够与 BTK 的半胱氨酸残基共价结合,从而不可逆地抑制此酶。在一些实施例中,半胱氨酸残基是 Cys 481。

[0395] 在某些实施例中, R^1 的特征在于-L-Y部分能够与 ITK 的半胱氨酸残基共价结合,从而不可逆地抑制此酶。在一些实施例中,半胱氨酸残基是 Cys 442。

[0396] 在某些实施例中, R^1 的特征在于-L-Y部分能够与 BMX 的半胱氨酸残基共价结合,从而不可逆地抑制此酶。在一些实施例中,半胱氨酸残基是 Cys 496。

[0397] 在某些实施例中, R^1 的特征在于-L-Y部分能够与 JAK3 的半胱氨酸残基共价结合,从而不可逆地抑制此酶。在一些实施例中,半胱氨酸残基是 Cys 909。

[0398] 在某些实施例中, R^1 的特征在于-L-Y部分能够与 TXK 的半胱氨酸残基共价结合,从而不可逆地抑制此酶。在一些实施例中,半胱氨酸残基是 Cys 350。

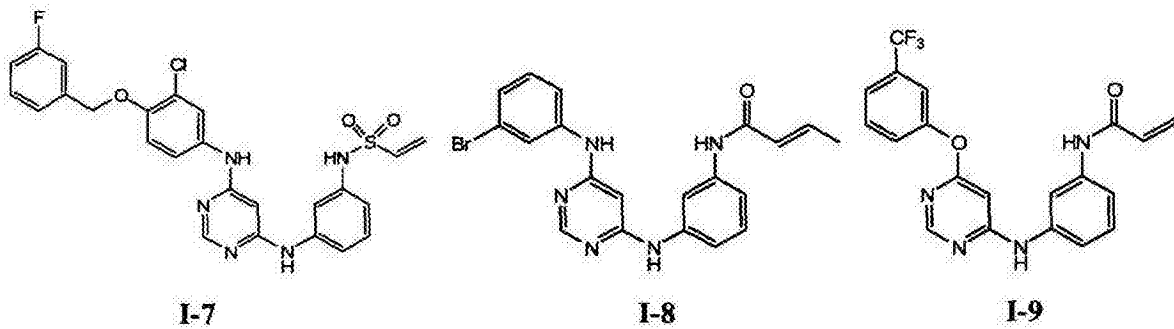
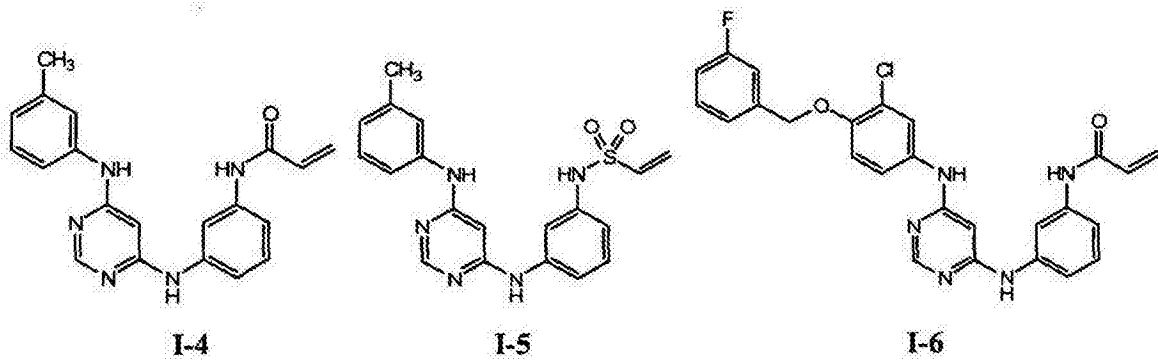
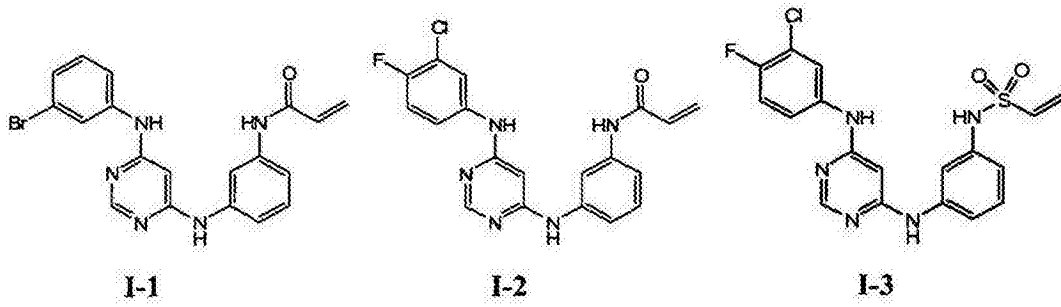
[0399] 所属领域的技术人员应认识到,多种如本文中定义的弹头基适于此共价键结。

这些 R¹ 基团包括（但不限于）本文中描述且下表 3 中描绘的基团。

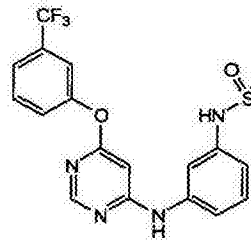
[0400] 例示性的式 I 化合物阐述于下表 5 中。

[0401] 表 5. 例示性的式 I 化合物

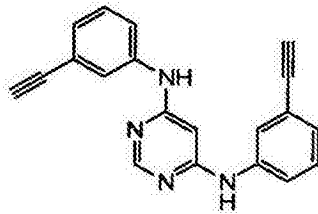
[0402]



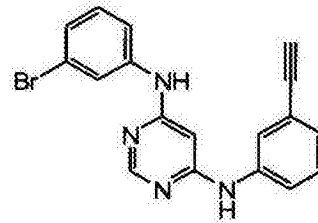
[0403]



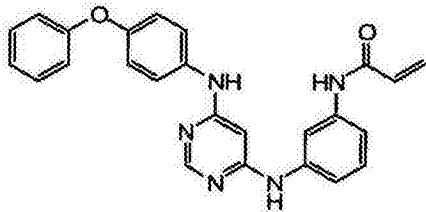
I-10



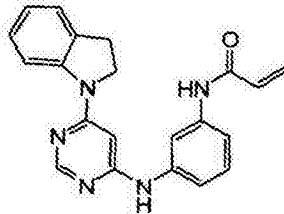
I-11



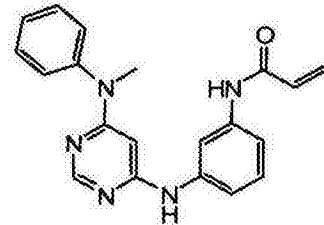
I-12



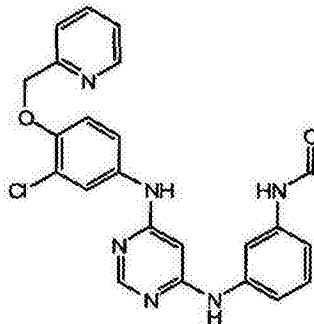
I-13



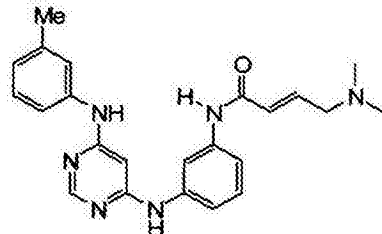
I-14



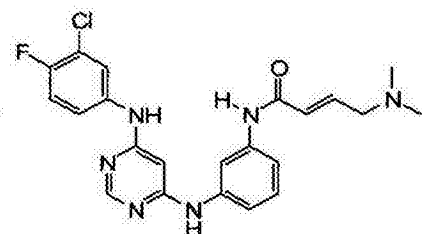
I-15



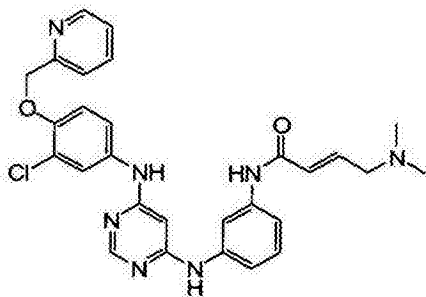
I-16



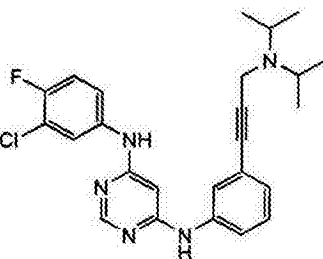
I-17



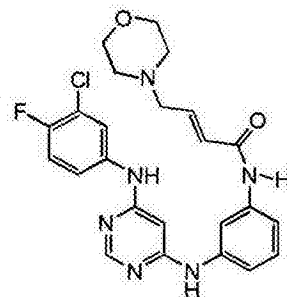
I-18



I-19

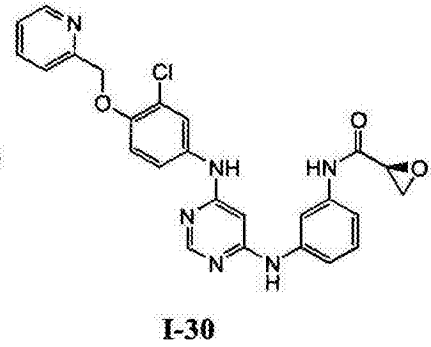
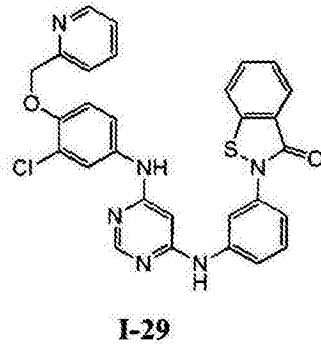
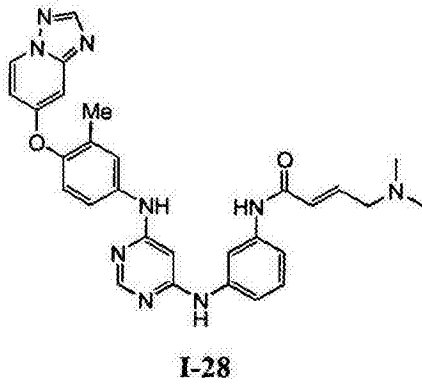
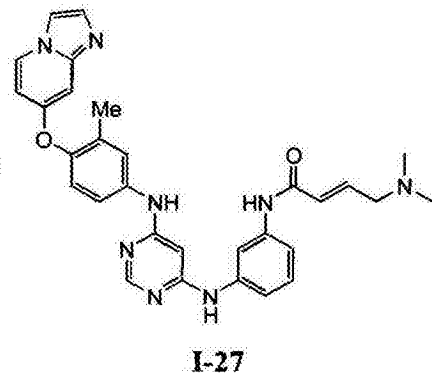
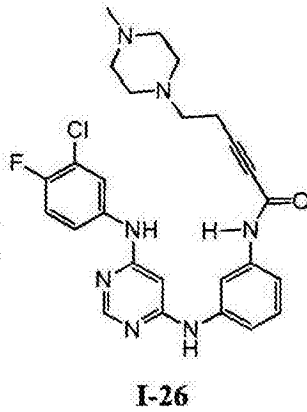
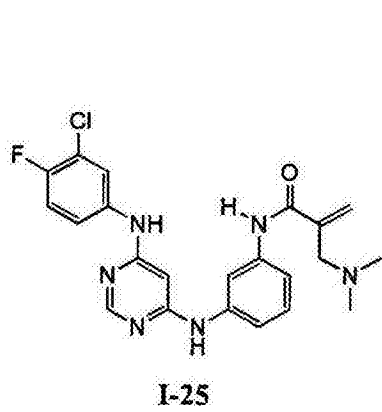
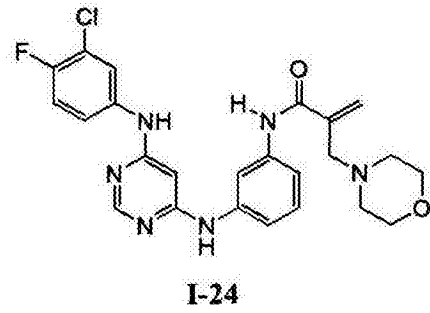
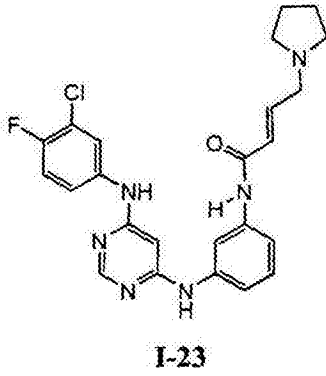
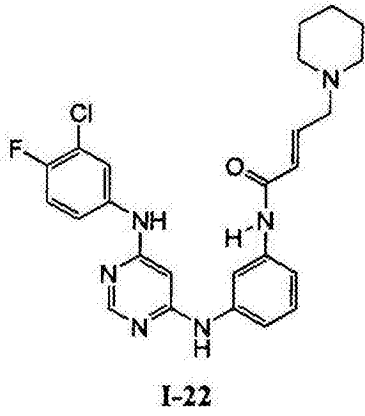


I-20

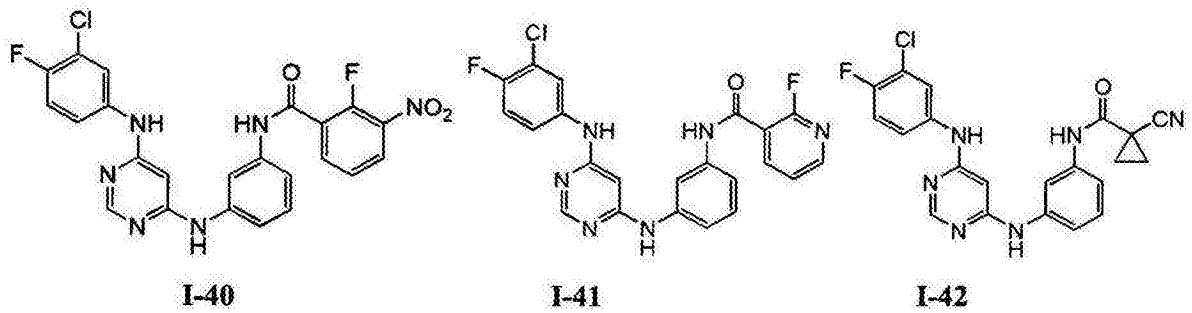
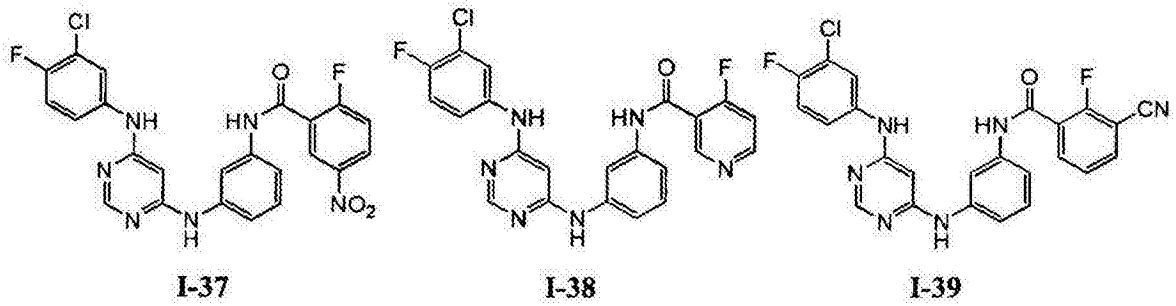
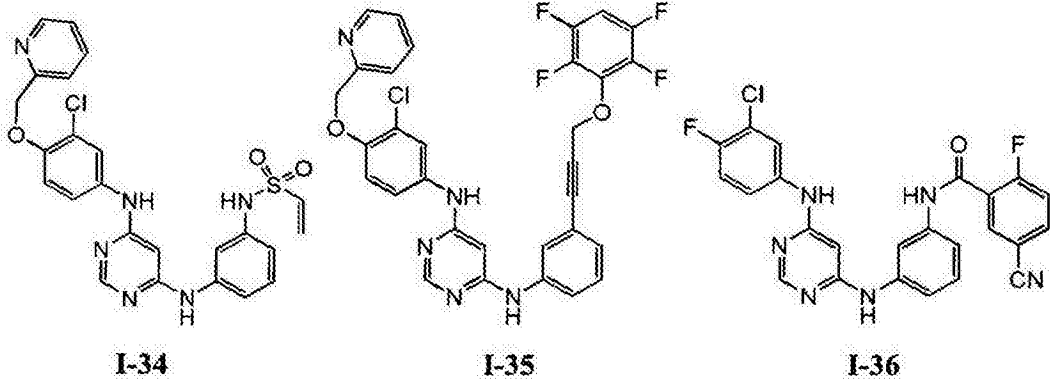
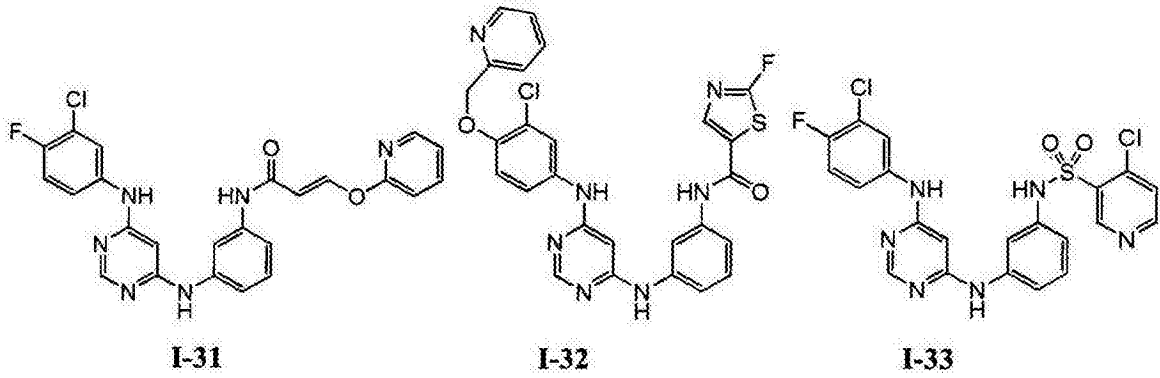


I-21

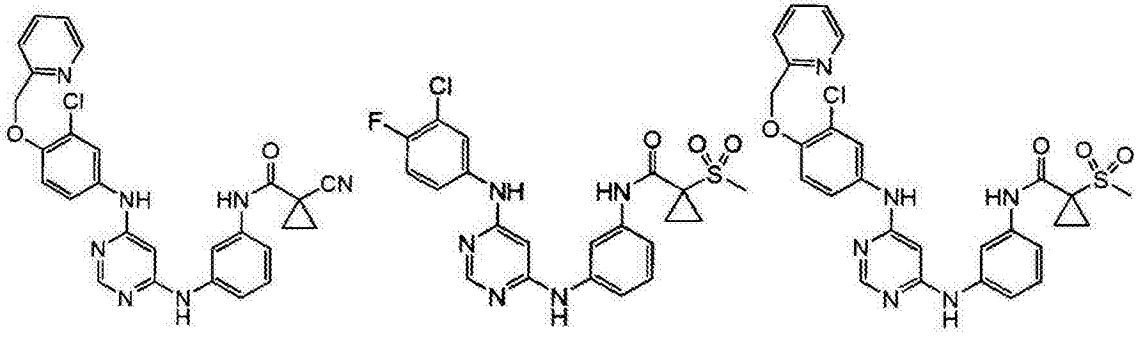
[0404]



[0405]



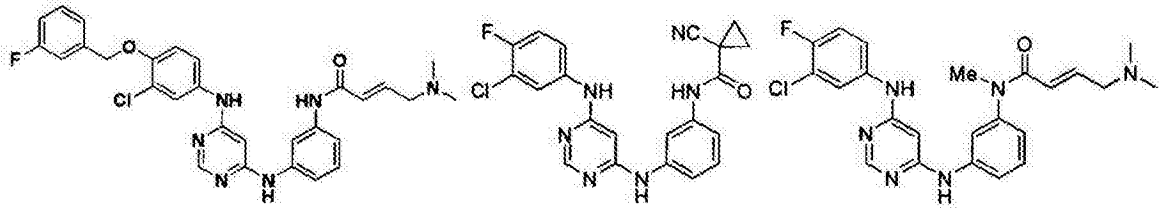
[0406]



I-43

I-44

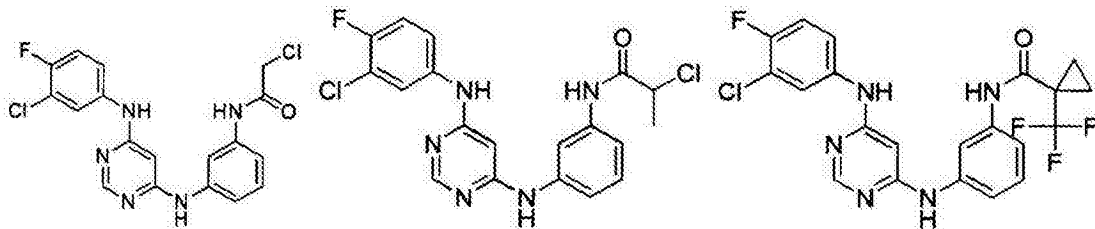
I-45



I-46

I-47

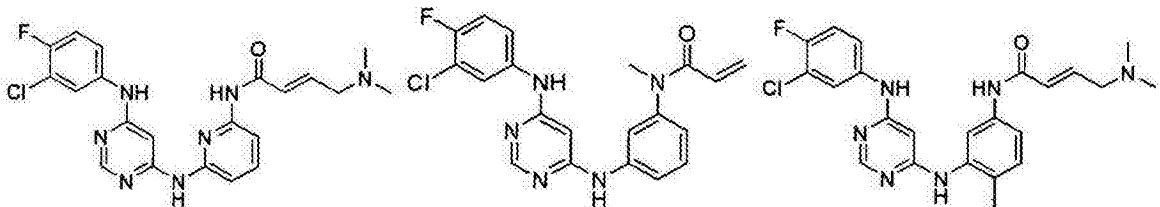
I-48



I-49

I-50

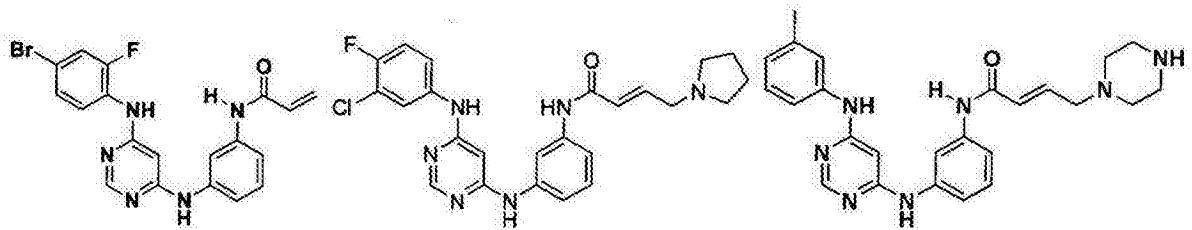
I-51



I-52

I-53

I-54

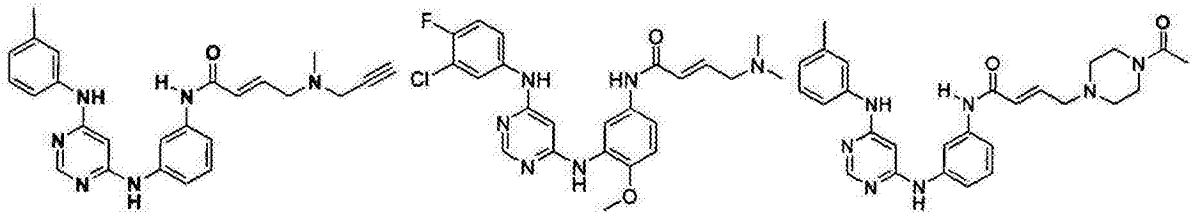


I-55

I-56

I-57

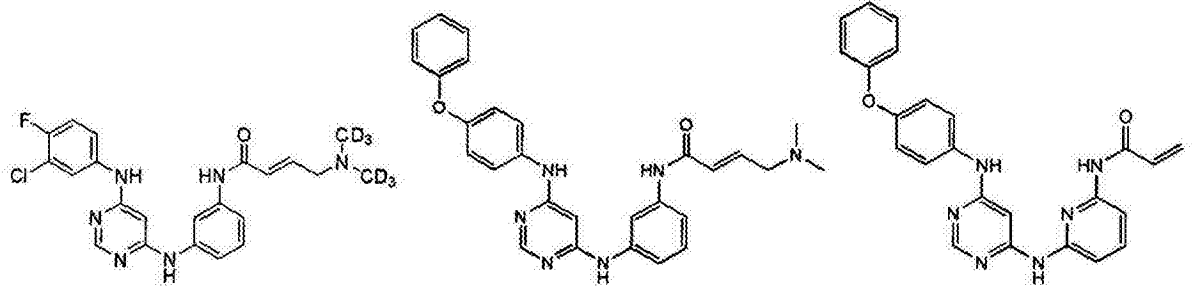
[0407]



I-58

I-59

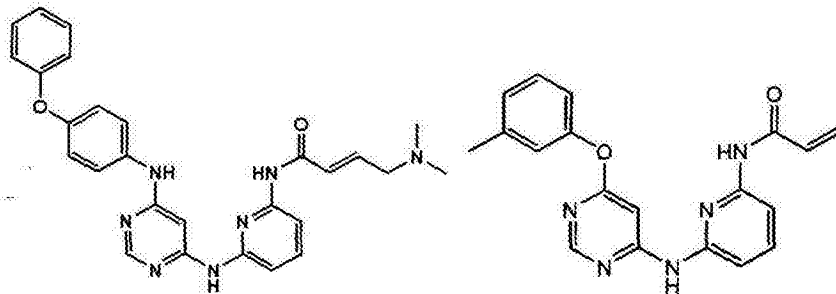
I-60



I-61

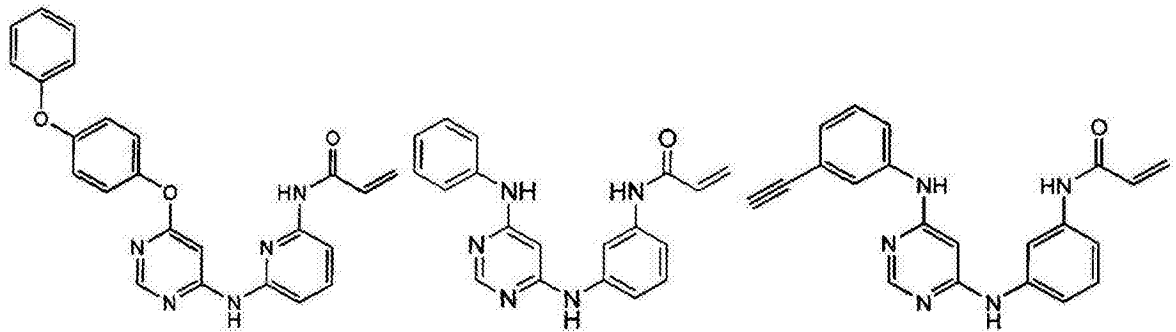
I-62

I-63



I-64

I-65

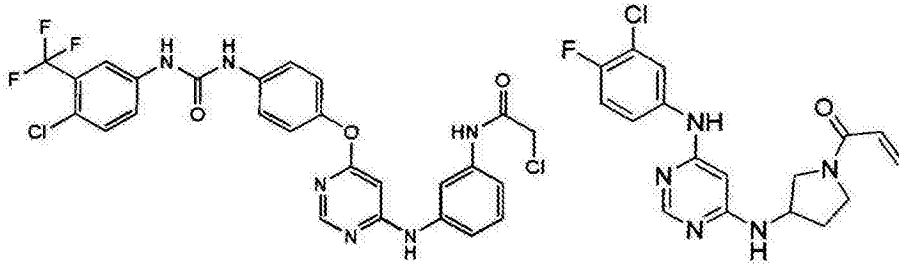


I-66

I-67

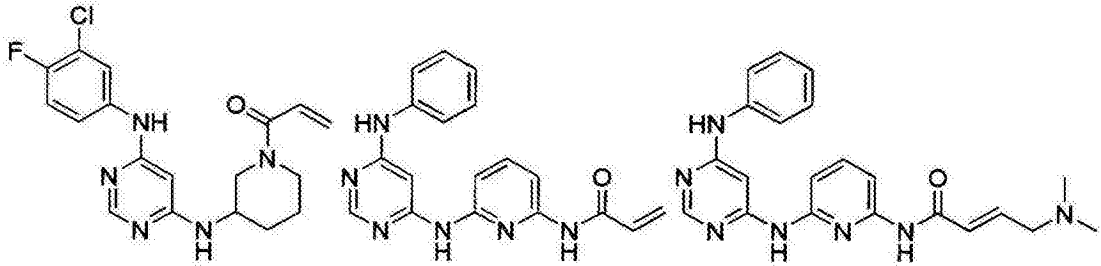
I-68

[0408]



I-69

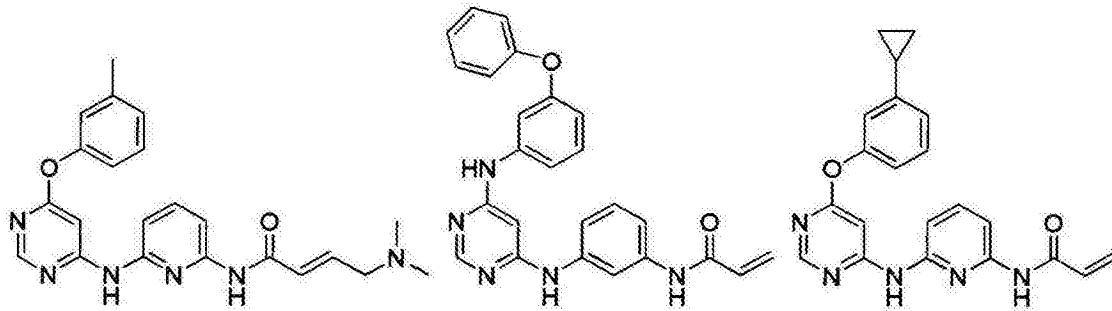
I-70



I-71

I-72

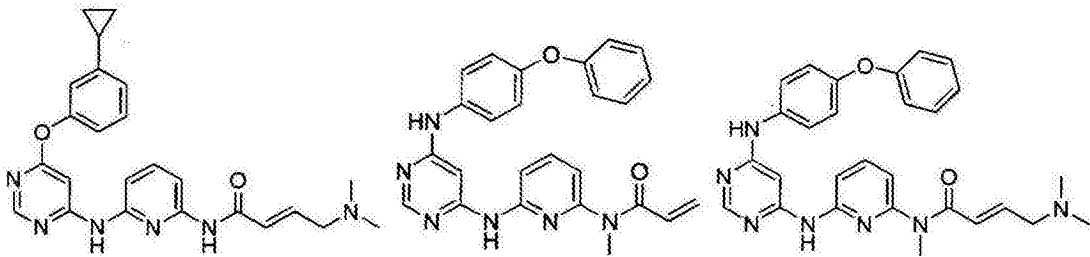
I-73



I-74

I-75

I-76

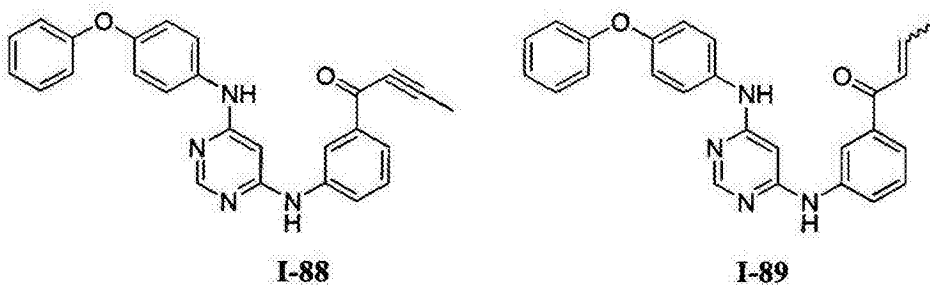
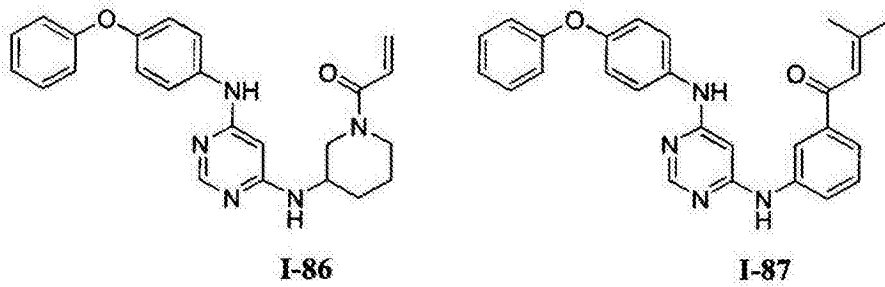
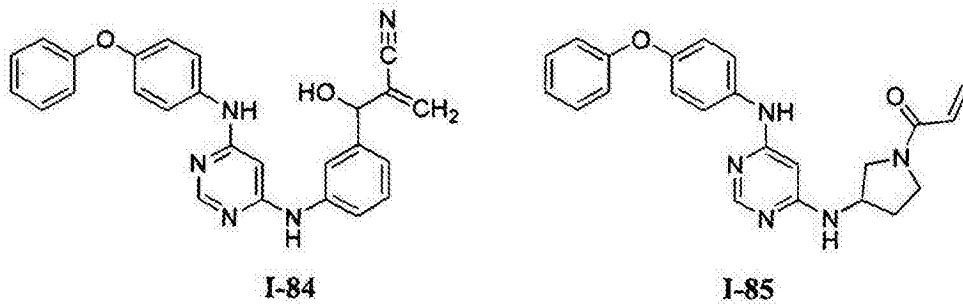
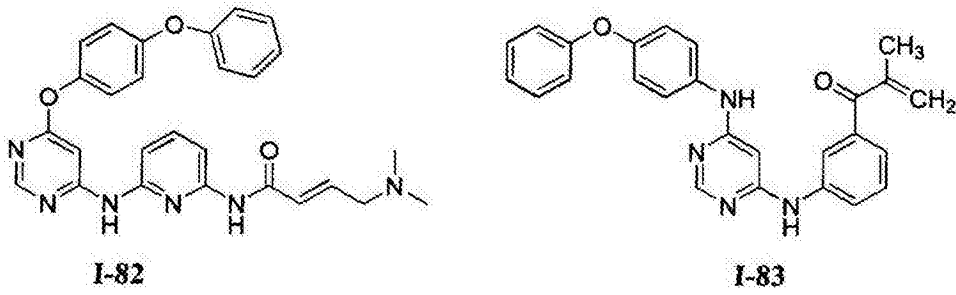
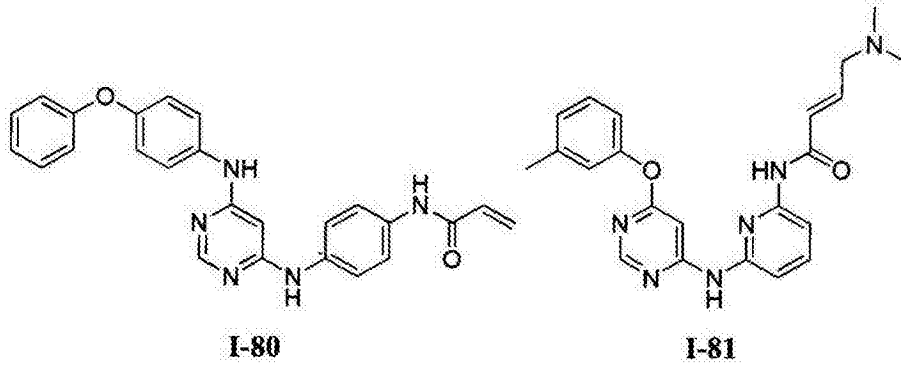


I-77

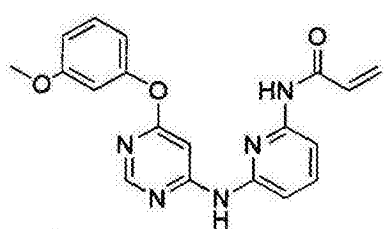
I-78

I-79

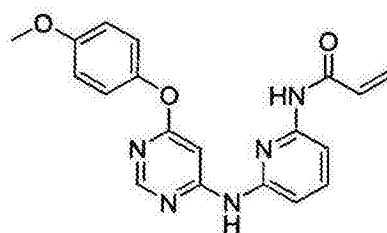
[0409]



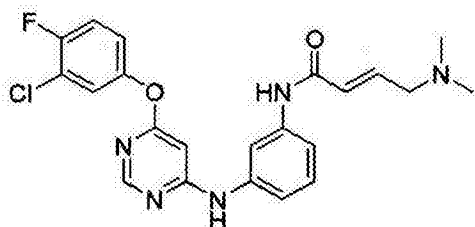
[0410]



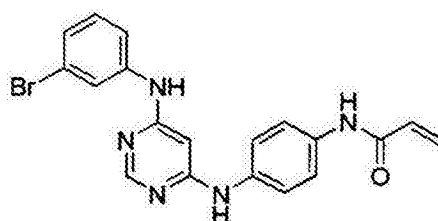
I-90



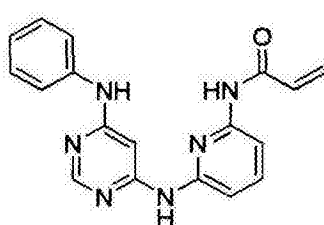
I-91



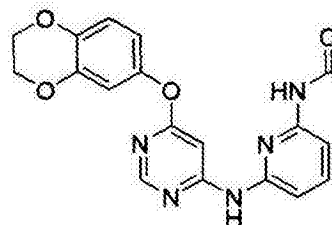
I-92



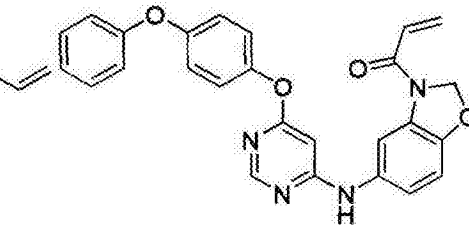
I-93



I-94



I-95

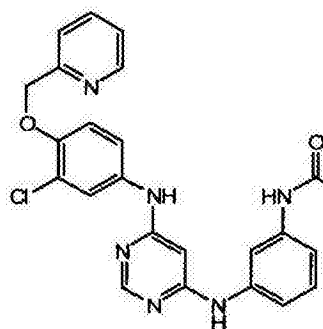


I-96

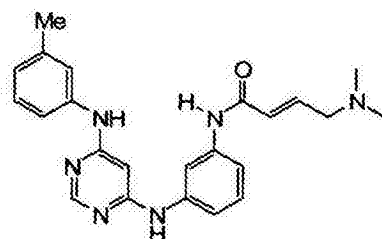
[0411] 在某些实施例中,本发明提供上文表 5 中所描绘的任何化合物或其医药学上可接受的盐。

[0412] 在某些实施例中,本发明提供一种选自以下的化合物:

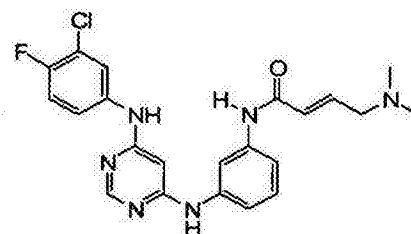
[0413]



I-16

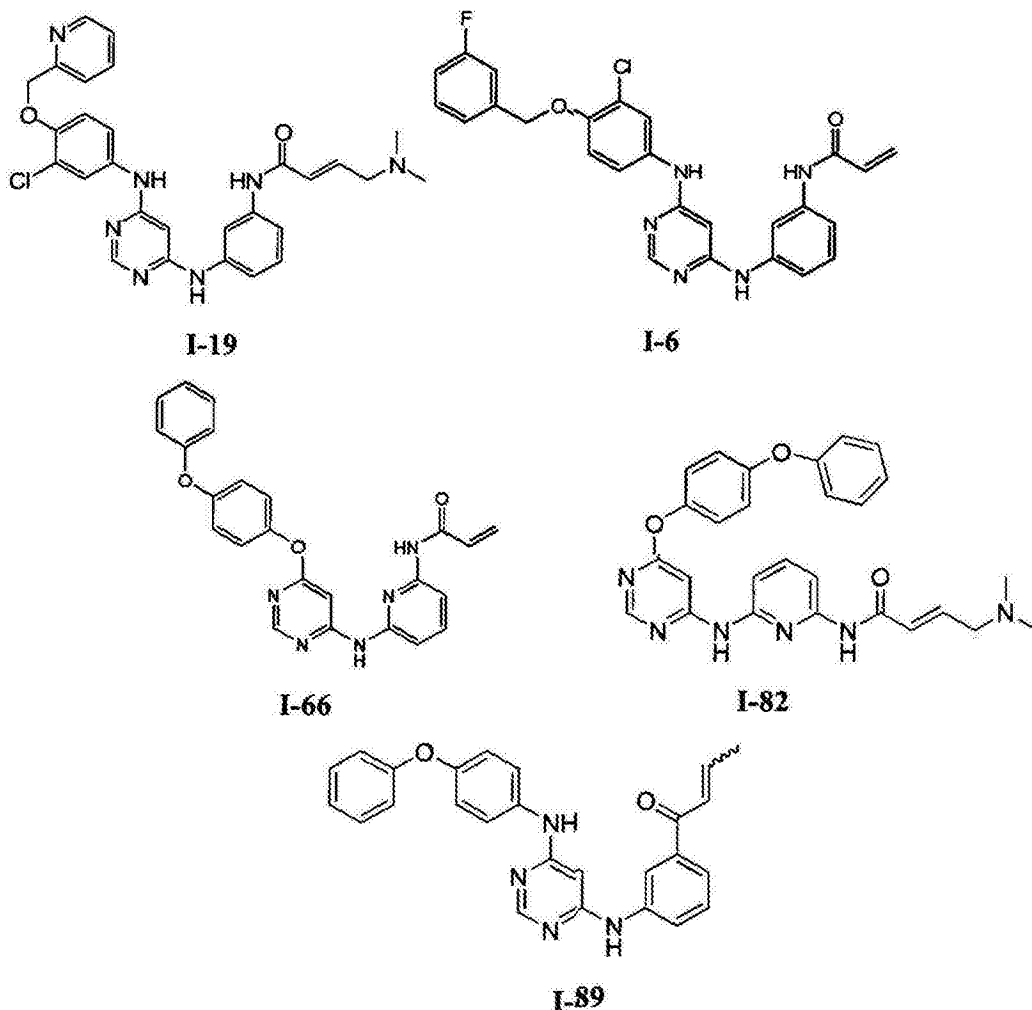


I-17



I-18

[0414]

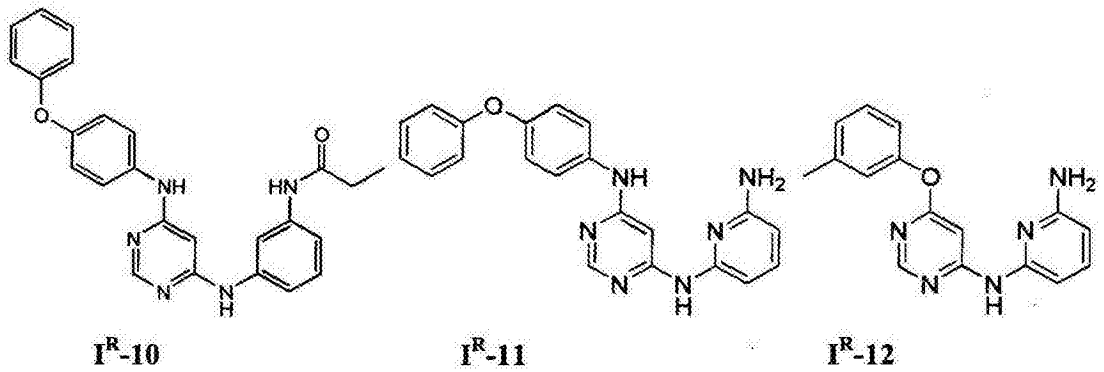
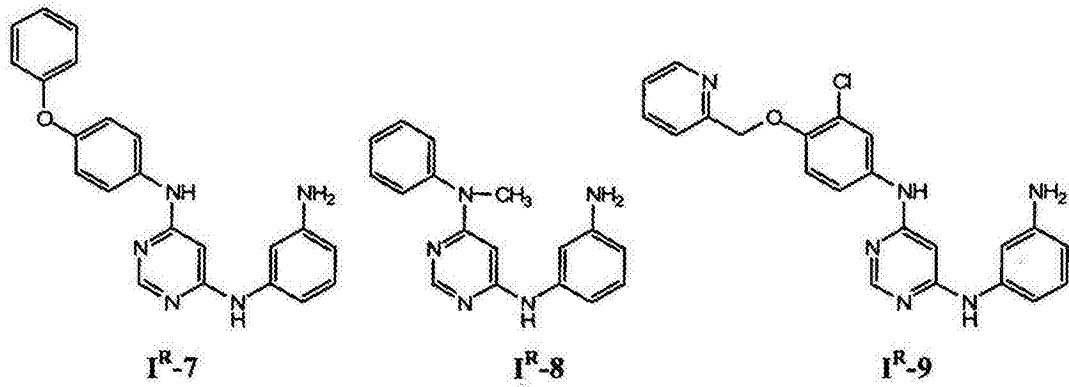
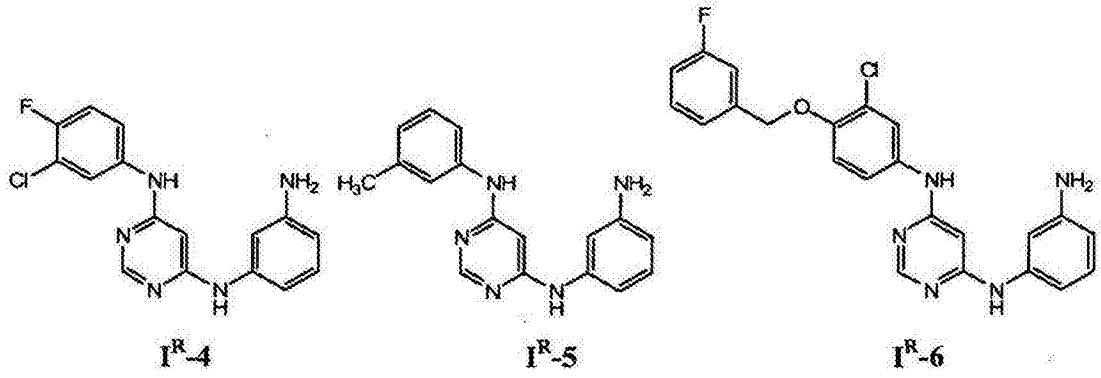
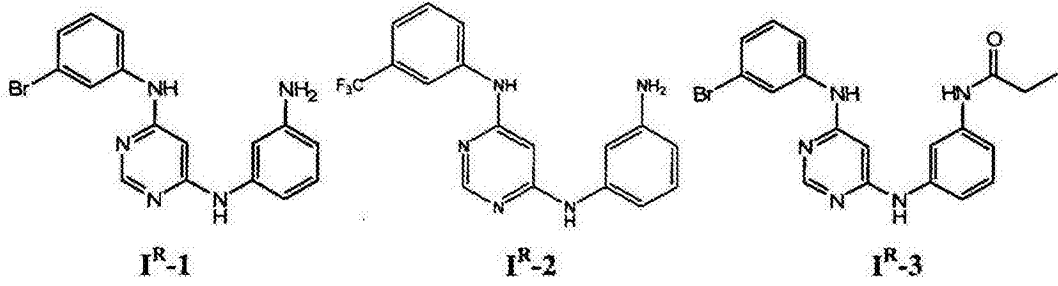


[0415] 或其医药学上可接受的盐。

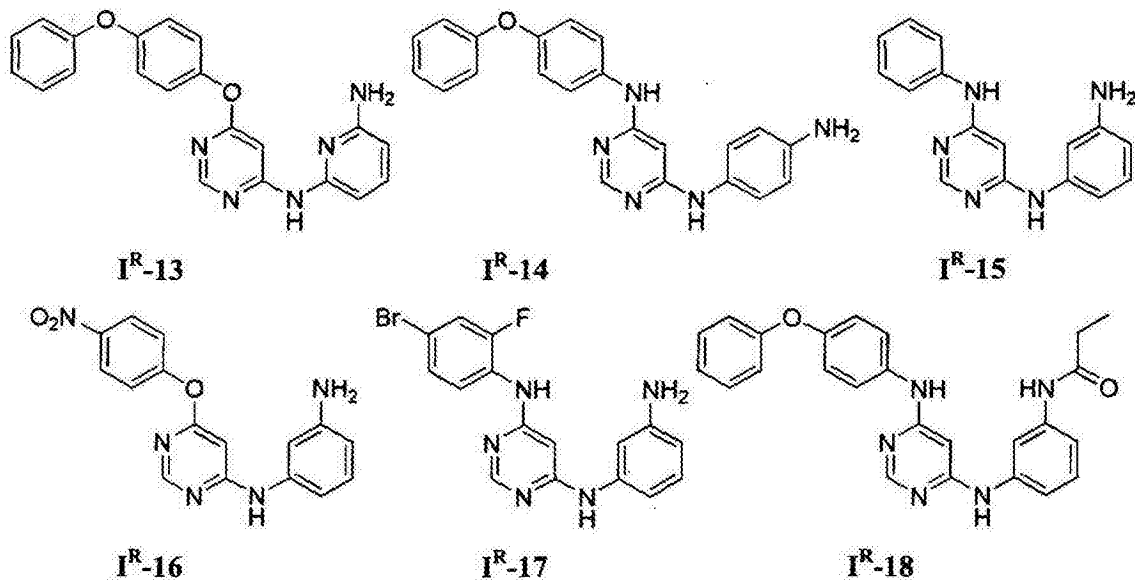
[0416] 如本文所述,本发明化合物是 ErbB1、ErbB2、ErbB3 和 ErbB4 中至少一者或其突变体的不可逆抑制剂。在一些实施例中,所提供的化合物是 TEC- 激酶(例如 BTK)和 JAK3 的不可逆抑制剂。所属领域的技术人员应认识到,某些本发明化合物是可逆抑制剂。在某些实施例中,这些化合物适用作分析的比较化合物。在其它实施例中,这些可逆化合物适用作 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 或其突变体的抑制剂,并因此适用于治疗如本文所述的一种或病症。例示性的可逆的本发明化合物阐述于下表 6 中。

[0417] 表 6. 可逆抑制剂

[0418]



[0419]



[0420] 或其医药学上可接受的盐。

[0421] 4. 用途、调配和投药

[0422] 医药学上可接受的组合物

[0423] 根据另一实施例,本发明提供一种包含本发明化合物或其医药学上可接受的衍生物和医药学上可接受的载剂、佐剂或媒剂的组合物。本发明组合物中化合物的量是有效地可测量地抑制生物样品或患者中的蛋白激酶、特别是 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 中至少一者或其突变体的量。在某些实施例中,本发明组合物中化合物的量是有效地可测量地抑制生物样品或患者中的 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 中至少一者或其突变体的量。在某些实施例中,本发明组合物经调配以投与需要此组合物的患者。在一些实施例中,本发明组合物经调配以经口投与患者。

[0424] 如本文所用的术语“患者”意指动物,优选是哺乳动物,且最优选是人类。

[0425] 术语“医药学上可接受的载剂、佐剂或媒剂”是指不会破坏一起调配的化合物的药理活性的无毒载剂、佐剂或媒剂。可用于本发明组合物中的医药学上可接受的载剂、佐剂或媒剂包括(但不限于)离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白(例如人类血清白蛋白)、缓冲物质(例如磷酸盐)、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐或电解质(例如硫酸鱼精蛋白)、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯基吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧化丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。

[0426] “医药学上可接受的衍生物”意指本发明化合物的任何无毒的盐、酯、酯的盐或者其它衍生物,其在投与接受者后能够直接或间接地提供本发明化合物或者抑制活性代谢物或其残留物。

[0427] 如本文所用的术语“抑制活性代谢物或其残留物”意指代谢物或其残留物也是 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 中至少一者或其突变体的抑制剂。

[0428] 本发明组合物可经口、不经肠、通过吸入喷雾、局部、经直肠、经鼻、经颊、经阴道或通过植入式贮器(implanted reservoir)投与。如本文所用的术语“不经肠”包括皮下、静脉内、肌肉内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、病灶内和颅内注射或输注技术。所述组合物优选经口、腹膜内或静脉内投与。本发明组合物的无菌可注射形式可以是水性或油性

悬浮液。这些悬浮液可以根据所属领域中已知的技术,使用合适的分散剂或湿润剂和悬浮剂来调配。无菌可注射制剂也可以是无毒的不经肠可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液,例如 1,3-丁二醇中的溶液。可采用的可接受的媒剂和溶剂为水、林格氏溶液(Ringer's solution)和等渗氯化钠溶液。此外,无菌的不挥发性油常规用作溶剂或悬浮介质。

[0429] 为此,可采用任何无刺激性的不挥发性油,包括合成甘油一酸酯或甘油二酸酯。例如油酸和其甘油酯衍生物等脂肪酸适用于制备注射剂,天然的医药学上可接受的油也是如此,例如橄榄油或蓖麻油,特别是其聚氧乙烯化形式。这些油性溶液或悬浮液也可以含有长链醇稀释剂或分散剂,例如羧甲基纤维素或通常用于调配医药学上可接受的剂型(包括乳液和悬浮液)的类似分散剂。其它通常使用的表面活性剂例如吐温类(Tweens)、司盘类(Spans)和其它通常用于制造医药学上可接受的固体、液体或其它剂型的乳化剂或生物利用率增强剂,也可以用于达成调配目的。

[0430] 医药学上可接受的本发明组合物可以呈任何经口可接受的剂型经口投与,所述剂型包括(但不限于)胶囊、片剂、水性悬浮液或溶液。在经口使用的片剂的情形下,通常使用的载剂包括乳糖和玉米淀粉。通常也加入润滑剂,例如硬脂酸镁。对于以胶囊形式经口投与来说,适用的稀释剂包括乳糖和干玉米淀粉。当需要经口使用的水性悬浮液时,将活性成分与乳化剂和悬浮剂组合。必要时也可以加入某些甜味剂、调味剂或着色剂。

[0431] 或者,医药学上可接受的本发明组合物可以呈用于直肠投药的栓剂形式投与。这些组合物可以通过将药剂与合适的无刺激性赋形剂混合来制备,所述赋形剂在室温下为固体,但在直肠温度下为液体且因此将在直肠中熔化,从而释放药物。这些物质包括可可脂、蜂蜡和聚乙二醇。

[0432] 医药学上可接受的本发明组合物也可以局部投与,尤其在治疗目标包括局部施用可易于达到的区域或器官(包括眼睛、皮肤或下肠道的疾病)时更是如此。易于针对这些区域或器官中的每一者制备合适的局部调配物。

[0433] 下肠道的局部施用可用直肠栓剂调配物(参见上文)或合适的灌肠剂调配物来实现。也可以使用局部经皮贴片。

[0434] 对于局部施用来说,所提供的医药学上可接受的组合物可以调配成含有活性组分悬浮或溶解于一种或一种以上载剂中的合适软膏。供局部投与本发明化合物的载剂包括(但不限于)矿物油、液体矿脂、白矿脂、丙二醇、聚氧化乙烯、聚氧化丙烯化合物、乳化蜡和水。或者,所提供的医药学上可接受的组合物可调配成含有活性组分悬浮或溶解于一种或一种以上医药学上可接受的载剂中的合适洗剂或乳膏。合适载剂包括(但不限于)矿物油、山梨醇酐单硬脂酸酯、聚山梨醇酯 60、十六烷基酯蜡(cetyl esters wax)、鲸蜡硬脂醇(cetearyl alcohol)、2-辛基十二醇、苯醇和水。

[0435] 对于眼科使用来说,所提供的医药学上可接受的组合物可以调配成等渗的 pH 值经调节的无菌生理盐水中的微粉化悬浮液,或优选调配成等渗的 pH 值经调节的无菌生理盐水中的溶液,其含或不含例如氯苄烷铵(benzylalkonium chloride)等防腐剂。或者,对于眼科使用来说,医药学上可接受的组合物可调配成软膏,例如矿脂。

[0436] 医药学上可接受的本发明组合物也可以通过鼻气雾剂或吸入来投与。这些组合物是根据医药调配领域中所熟知的技术来制备,并可以采用苯醇或其它合适的防腐剂、增强

生物利用率的吸收促进剂、碳氟化合物和 / 或其它常规增溶剂或分散剂制成生理盐水中的溶液。

[0437] 最优选地, 医药学上可接受的本发明组合物经调配以经口投与。

[0438] 可与载体物质组合制成呈单一剂型的组合物的本发明化合物的量将视所治疗的主体、特定投药模式而变化。优选地, 所提供的组合物应经调配, 以便每天可向接受这些组合物的患者投与每公斤体重 0.01-100mg 之间的抑制剂的剂量。

[0439] 也应了解, 任何特定患者的具体剂量和治疗方案都将取决于多种因素, 包括所用的具体化合物的活性、年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、投药时间、排泄率、药物组合和治疗医师的判断以及所治疗的特定疾病的严重程度。组合物中本发明化合物的量也应取决于组合物中的特定化合物。

[0440] 化合物和医药学上可接受的组合物的用途

[0441] 本文所述的化合物和组合物一般适用于抑制一种或一种以上酶的蛋白激酶活性。

[0442] 药物抗性正作为针对靶向治疗的重大挑战出现。举例来说, 已报导格列卫® (Gleevec®) 和易瑞沙® (Iressa®) 以及开发中的若干其它激酶抑制剂的药物抗性。另外, 已经报导 cKit 和 PDGFR 受体的药物抗性。据报导, 不可逆抑制剂可以有效地针对蛋白激酶的抗药形式 (快客 (Kwak, E. L.), 索德拉 (R. Sordella) 等人 (2005). "EGF 受体的不可逆抑制剂可以避免吉非替尼获得性抗性 (Irreversible inhibitors of the EGF receptor may circumvent acquired resistance to gefitinib)" PNAS 102(21):7665-7670.)。不希望受到任何特定的理论束缚, 相信本发明化合物可以为抗药形式的蛋白激酶的有效抑制剂。

[0443] 如本文所用的术语“临床药物抗性”是指由于药物标靶发生突变, 致使药物标靶对药物治疗丧失敏感性。

[0444] 如本文所用的术语“抗性”是指编码标靶蛋白质的野生型核酸序列和 / 或标靶的蛋白质序列发生变化, 从而改变、降低或消除抑制剂对标靶蛋白质的抑制作用。

[0445] 本文所述的化合物和组合物所抑制并且本文所述的方法适于针对的激酶的实例包括 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 或其突变体。

[0446] 本发明中用作 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 或其突变体的抑制剂的化合物的活性可以在活体外、活体内或细胞系中进行分析。活体外分析包括测定磷酸化活性和 / 或随后的功能结果或者活化的 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 或其突变体的 ATP 酶活性的抑制作用的分析。替代活体外分析定量抑制剂与 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 结合的能力。抑制剂的结合可以通过放射性标记抑制剂, 接着使其结合, 分离抑制剂 / ErbB1、抑制剂 / ErbB2、抑制剂 / ErbB3、抑制剂 / ErbB4、抑制剂 / TEC- 激酶或抑制剂 / JAK3 络合物并测定所结合的放射性标记的量来测量。或者, 抑制剂的结合可以通过进行将新的抑制剂与结合已知的放射性配体的 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 一起培育的竞争实验来测定。下文实例中阐述用于分析本发明中用作 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 或其突变体的抑制剂的化合物的详细条件。

[0447] 蛋白酪氨酸激酶是一类催化磷酸酯基从 ATP 或 GTP 转移到位于蛋白质底物上的酪氨酸残基的酶。受体酪氨酸激酶通过磷酸化事件活化第二通信效应子 (messaging effector), 从而用以从细胞外部传递信号到内部。这些信号促进多种细胞过程, 包括增殖、

碳水化合物的使用、蛋白质合成、血管生成、细胞生长和细胞存活。

[0448] ErbB 受体是受体酪氨酸激酶的大家族,由细胞外配体结合结构域、单个跨膜结构域和具有酪氨酸激酶活性的细胞内结构域构成。ErbB 家族包含 ErbB1(通常称为 EGFR)、ErbB2(通常称为 HER2 或 neu)、ErbB3(通常称为 HER3)和 ErbB4(通常称为 HER4)。已针对各种受体家族成员确定 10 种以上配体(包括 EGF、TGF α 、AR、BTC、EPR、HB-EGF、NRG-1、NRG-2、NRG-3、NRG-4)。在配体结合后,细胞外结构域经历构象变化,从而与 ErbB 家族的其它成员形成同二聚体或异二聚体。二聚作用诱发细胞内结构域中用作衔接蛋白和下游效应子的停泊位点的具体残基发生酪氨酸磷酸化。在一些情况下,磷脂酰基-肌醇 3-激酶(PI3K)和有丝分裂原活化蛋白激酶通路发生活化,从而引起细胞增殖和存活(林(Lin, N. U.);维纳(Winer, E. P.), 乳癌研究(Breast Cancer Res)6:204-210, 2004)。

[0449] 无已知配体的 ErbB2 和激酶死亡的 ErbB3 的缺陷迫使家族成员之间发生相互作用。EGFR、ErbB3 和 ErbB4 结合配体,从而诱发 ErbB 受体同二聚或异二聚,而 ErbB2 充当优选的二聚搭配物。成对组合的组成对于信号多样化来说是重要的,因为二聚体的身份决定哪些下游通路受到活化。ErbB 信号转导通路中代表性的下游基因产物包括 Shc、Grb2、SOS1、Ras、Raf1、Mek、ERK1、ERK2、ER α 、Akt、mTOR、FKHR、p27、细胞周期素 D1、FasL、GSK-3、Bad 和 STAT3。

[0450] 有强大的先例表明 EGFR 和 ErbB 家族的其它成员与人类癌症有关,因为所有实体肿瘤中的 60%以上过度表达这些蛋白质或其配体中的至少一者。组成性活性的致癌 EGFR vIII 是一种具有截短的细胞外结构域的突变体,据报导其存在于高达 78%的乳癌中并且也已发现于胶质母细胞瘤中。通常在乳房、肺、头和颈部、膀胱的肿瘤中发现 EGFR 过度表达,而 ErbB2 表达常常在上皮来源的人类肿瘤中有所提高。已经在患有非小细胞肺癌的患者中确定酪氨酸激酶结构域中的活化突变(林(Lin, N. U.);维纳(Winer, E. P.), 乳癌研究 6:204-210, 2004)。ErbB1 和/或 ErbB2 的扩增也会导致鳞状细胞癌、唾液腺癌、卵巢癌和胰腺癌(库珀(Cooper, G. C.), 癌基因(Oncogenes.), 第 2 版, 萨德伯里(Sudbury): 约翰和巴特利特出版社(Jones and Barlett), 1995;张(Zhang, Y.) 等人, 癌症研究(Cancer Res)66:1025-32, 2006)。ErbB2 的过度表达具有有效的转化活性,这可能是因为它能够与其它 ErbB 受体合作(舍曼(Sherman, L.) 等人, 癌基因 18:6692-99, 1999)。实际上,一些过度表达 EGFR 与 ErbB2 的人类癌症的预后比过度表达单独任一种受体的癌症差。

[0451] ErbB 信号传导网络通常是乳癌的发病机理中的关键组分。ErbB2 的扩增会导致侵袭性肿瘤表型,此肿瘤表型的特征是相对快速的肿瘤生长、转移扩散至内脏部位和药物抗性。已展示,ErbB2 在 20%的腋淋巴结阴性(“ANN”)乳癌病例中扩增,并且已经确定此扩增为 ANN 乳癌复发风险的独立的预后因子。(安德利思(Andrulis, I. L.) 等人, 临床肿瘤学杂志(J Clin Oncol)16:1340-9, 1998)。

[0452] 已展示,用一种针对 ErbB2 的单克隆抗体,即曲妥珠单抗(trastuzumab)(赫赛汀(Herceptin))靶向阻断 ErbB 信号传导会改善患 ErbB2 阳性晚期乳癌的女性的存活率。其它针对 ErbB 受体的单克隆抗体包括西妥昔单抗(cetuximab)(艾比特思(Erbitux))和盘尼图单抗(panitumumab)(维克替比(Vectibix))。

[0453] 已经发现一些小分子酪氨酸激酶抑制剂(TKI)选择性地作用于 ErbB 家族成员。著名的实例包括吉非替尼(易瑞沙)和埃罗替尼(erlotinib)(特罗凯(Tarceva)),这两者都

靶向 EGFR。这些小分子与 ATP 竞争与受体的激酶结构域结合。相较于单克隆抗体, TKI 具有一些优势, 因为其为经口生物可利用的, 耐受性良好, 并且似乎在活体外对 ErbB2 和 EGFR 受体的截短形式 (例如 EGFR vIII) 具有活性。另外, 小分子 TKI 的尺寸小, 使其可渗入例如中枢神经系统等庇护部位。最后, ErbB 受体的激酶结构域之间的同源性允许开发同时靶向一种以上 ErbB 家族成员的 TKI, 本文描述这些 TKI 的优势。

[0454] 虽然某些恶性肿瘤与个别受体的过度表达有关, 但有效的信号转导依赖于 ErbB 受体家族成员的共表达。信号转导和恶性转化中 ErbB 受体家族成员的合作可能会限制癌症治疗中药剂成功地靶向个别受体; 抵抗靶向单个 ErbB 受体的药剂的可能机制是其它受体家族成员的上调 (布里顿 (Britten, C. D.), 分子癌症治疗学 (Mol Cancer Ther) 3:1335-42, 2004)。

[0455] 靶向两种或两种以上 ErbB 受体的药剂被称作泛 ErbB (pan-ErbB) 调节剂。ERRP 是一种泛 ErbB 阴性调节剂, 其在大多数良性胰腺导管上皮细胞和胰岛细胞中表达。已经发现肿瘤会遭遇到 ERRP 表达的逐渐丧失。相较于仅靶向一种 ErbB 受体的化合物, 泛 ErbB 调节剂治疗肿瘤更加成功。艾比特思和赫赛汀展示在有限的患者群 (EGFR 或 ErbB2 表达增加的肿瘤) 中的成功, 这可能部分归因于缺乏泛 ErbB 活性。

[0456] 在活体外与活体内模型中, 采用双重 ErbB 方法的策略似乎比靶向单个 ErbB 受体的药剂的抗肿瘤活性大。因此, 靶向多个 ErbB 家族成员的药剂可能为更广泛的患者群体提供治疗益处 (张 (Zhang, Y.) 等人, 癌症研究 66:1025-32, 2006)。在某些实施例中, 所提供的化合物抑制 ErbB1、ErbB2、ErbB3 和 ErbB4 中的一者或一者以上。在一些实施例中, 所提供的化合物抑制 ErbB1、ErbB2、ErbB3 和 ErbB4 中的两者或两者以上或其突变体, 且因此是泛 ErbB 抑制剂。

[0457] 无疑地, 越来越多的证据支持癌症疗法中并发抑制两种或两种以上 ErbB (即泛 erbB) 受体。使用小分子的可能的泛 ErbB 方法包括使用靶向个别 ErbB 受体的药剂的组合、使用靶向多个 ErbB 受体的单个药剂或使用干扰 ErbB 受体相互作用 (例如二聚作用) 的药剂。其它策略包括利用小分子与抗体组合的疗法或者化学预防疗法 (林 (Lin, N. U.); 维纳 (Winer, E. P.), 乳癌研究 6:204-210, 2004)。

[0458] 小分子泛 ErbB 抑制的实例是 CI-1033, 它是一种与细胞内激酶结构域的 ATP 结合位点共价结合的不可逆的泛 ErbB 抑制剂。另一种不可逆的泛 ErbB 受体酪氨酸激酶抑制剂是 HKI-272, 它在培养物和异种移植物中抑制表达 ErbB-1 (EGFR) 和 ErbB-2 (HER-2) 的肿瘤细胞生长, 并在 HER-2 阳性乳癌中具有抗肿瘤活性 (安德利思 (Andrulis, I. L.) 等人, 临床肿瘤学杂志 16:1340-9, 1998)。与可逆抑制剂相比, 不可逆抑制剂具有已证实的优良抗肿瘤活性。

[0459] 神经纤维瘤病 I 型 (NF1) 是一种显性遗传的人类疾病, 每 2500-3500 个个体中有一个患此病。一些器官系统受到影响, 包括骨、皮肤、虹膜和中枢神经系统, 如学习障碍和神经胶质瘤中所表现。NF1 的标志是周围神经系统形成良性肿瘤 (神经纤维瘤), 患者中肿瘤的数目与尺寸变化极大。神经纤维瘤是由施旺细胞 (Schwann cell)、神经元、成纤维细胞和其它细胞构成的非均质肿瘤, 其中施旺细胞是主要的 (60-80%) 细胞类型。

[0460] EGFR 的异常表达与 NF1 和 NF1 动物模型中肿瘤的形成相关联, 表明在发病机理中的作用并代表一种新颖的可能的治疗标靶。在 EGF 不是推动细胞生长的主要因子的情况

下, EGFR 的表达影响从 NF1 患者获得的肿瘤细胞系的生长。这些资料表明 EGFR 在 NF1 肿瘤生成和施旺细胞转化中可能起重要作用(德克鲁(DeClue, J. E.) 等人, 临床研究杂志(J Clin Invest)105:1233-41, 2000)。

[0461] 患 NF1 的患者会形成侵袭性施旺细胞肿瘤, 这些肿瘤被称为恶性周围神经鞘膜瘤(MPNST)。施旺细胞是周围神经系统中主要的支持细胞群体。这些肿瘤内的肿瘤性施旺细胞不定地表达调节 NRG-1 反应的 ErbB 酪氨酸激酶(ErbB2、ErbB3、ErbB4)。神经调节素-1(NRG-1) 蛋白质推动发育中的神经系统中许多细胞类型的分化、存活和 / 或增殖, 并且形成髓鞘的施旺细胞中 NRG-1 的过度表达会诱发恶性周围神经鞘膜瘤(MPNST) 形成(法伦(Fallon, K. B.) 等人, 神经肿瘤杂志(J Neuro Oncol)66:273-84, 2004)。

[0462] 施旺细胞生长的反常是推动神经纤维瘤病 I 型(NF1) 患者中形成良性神经纤维瘤与 MPNST 的主要缺陷。活体外 MPNST 和转化的小鼠施旺细胞的生长高度依赖于 EGF, 并且在 EGF 是主要生长因子的情况下可由 EGFR 抑制剂阻断。已经发现一些人类 MPNST 细胞系证实组成性 ErbB 磷酸化。虽然在这些细胞系中用 ErbB 抑制剂治疗会消除 ErbB 磷酸化并减少 DNA 合成, 但针对 MPNST 的有效的化学治疗方案仍然难以找到(斯通赛芬(Stonecypher, M. S.) 等人, 癌基因 24:5589-5605, 2005)。

[0463] 神经鞘瘤是几乎完全包含施旺样细胞的周围神经肿瘤, 并且通常具有神经纤维瘤病 II 型(NF2) 肿瘤抑制基因突变。90% 的 NF2 患者会形成双侧前庭神经鞘瘤和 / 或脊髓神经鞘瘤。扩大的神经鞘瘤可挤压相邻的结构, 从而引起耳聋和其它神经问题。通过外科手术去除这些肿瘤存在困难, 常常会引起患者的发病率增加。

[0464] 正常的人类施旺细胞与神经鞘瘤细胞都表达神经调节素受体(即 ErbB 受体), 且神经鞘瘤细胞对神经调节素作出反应而增殖。异常的神经调节素产生或反应有可能促进异常的神经鞘瘤细胞增殖(佩尔顿(Pelton, P. D.) 等人, 癌基因 17:2195-2209, 1998)。

[0465] NF2 肿瘤抑制剂梅林(Merlin) 是一种与膜 / 细胞骨架相关的蛋白质, 其与酪氨酸激酶活性的调节有关。梅林突变与 EGFR 通路突变之间的遗传相互作用已经在果蝇(Drosophila) 中得到证实(拉朱妮丝(LaJeunesse, D. R.) 等人, 遗传学(Genetics)158:667-79, 2001)。其它证据表明梅林可以通过将 EGFR 限制于其既不可以进行信号传导也不可以内化的膜区室中, 来抑制细胞-细胞接触后的 EGFR 内化和信号传导(麦克拉奇(McClatchey, A. I.) 等人, 基因与发育(Genes and Development)19:2265-77, 2005; 库托(Curto, M. C.) 等人, 细胞生物学杂志(J Cell Biol)177:893-903, 2007)。

[0466] 如本文所用的术语“治疗”是指逆转、减轻如本文所述的疾病或病症或其一种或一种以上症状、延迟其发作或抑制其进展。在一些实施例中, 可以在出现一种或一种以上症状后予以治疗。在其它实施例中, 可以在缺乏症状的情况下予以治疗。举例来说, 可以在症状发作之前对易患病的个体予以治疗(例如根据症状史, 和 / 或根据遗传或其它敏感因素)。也可以在症状消除后予以治疗, 例如以预防或延迟其复发。

[0467] 所提供的化合物是 ErbB1、ErbB2、ErbB3 和 ErbB4 中一者或一者以上的抑制剂, 并因此适用于治疗一种或一种以上与 ErbB1、ErbB2、ErbB3 和 ErbB4 中一者或一者以上的活性有关的病症。因此, 在某些实施例中, 本发明提供一种治疗 ErbB1 介导、ErbB2 介导、ErbB3 介导和 / 或 ErbB4 介导的病症的方法, 其包含向有需要的患者投与本发明化合物或其医药

学上可接受的组合物的步骤。

[0468] 如本文所用的术语“ErbB1 介导”、“ErbB2 介导”、“ErbB3 介导”和 / 或“ErbB4 介导”的病症或病状如本文所用,意指已知 ErbB1、ErbB2、ErbB3 和 / 或 ErbB4 中一者或一者以上或其突变体起作用的任何疾病或其它有害病状。因此,本发明的另一实施例涉及治疗一种或一种以上已知 ErbB1、ErbB2、ErbB3 和 / 或 ErbB4 中一者或一者以上或其突变体起作用的疾病或减轻其严重程度。明确地说,本发明涉及一种治疗选自增生性病状的疾病或病状或减轻其严重程度的方法,其中所述方法包含向有需要的患者投与本发明化合物或组合物。

[0469] 在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上选自癌症的病症或减轻其严重程度的方法。在一些实施例中,癌症与实体肿瘤相关。在某些实施例中,癌症是乳癌、胶质母细胞瘤、肺癌、头颈部癌、结肠直肠癌、膀胱癌或非小细胞肺癌。在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上选自鳞状细胞癌、唾液腺癌、卵巢癌或胰腺癌的病症或减轻其严重程度的方法。

[0470] 在某些实施例中,本发明提供一种治疗神经纤维瘤病 I 型 (NF1)、神经纤维瘤病 II 型 (NF2)、施旺细胞肿瘤 (例如 MPNST) 或神经鞘瘤或减轻其严重程度的方法。

[0471] 非受体酪氨酸激酶的 TEC 家族在本文中称为“TEC- 激酶”,其在通过抗原 - 受体 (例如 TCR、BCR 和 Fee 受体) 进行信号传导中起重要作用 (米勒 (Miller A) 等人,免疫学新见 (Current Opinion in Immunology) 14 ;331-340(2002) 中综述)。TEC- 激酶对 T 细胞活化来说是必不可少的。此家族的三个成员 Itk、Rlk 和在 T 细胞中抗原受体接合的下游受到活化,并将信号传递至包括 PLC-g 的下游效应子。小鼠中 Itk 与 Rlk 的组合缺失会极度地抑制包括增殖、细胞因子产生和对细胞内寄生物 (刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*)) 的免疫反应的 TCR 反应 (雪弗尔 (Schaeffer) 等人,科学 (Science) 284 ;638-641(1999))。在缺乏 ITK/RLK 的 T 细胞中,在 TCR 接合后实现细胞内信号传导 ;三磷酸肌醇产生、钙动员和 MAP 激酶活化都有所减少。Tec- 激酶对 B 细胞发育和活化来说也是必不可少的。

[0472] TEC- 激酶包括五个家族成员,它们主要在造血细胞中表达 :TEC、BTK、ITK (又称作 TSK 和 EMT)、RLK (又称作 TXK) 和 BMX (又称作 ETK)。其它相关的 TEC- 激酶已经在黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*)、斑马鱼 (斑马担尼鱼 (*Danio rerio*))、鳕鱼 (晶吻鳕 (*Raja eglanteria*)) 和海胆 (紫海胆 (*Anthocidaris crassispina*)) 中发现。

[0473] 所提供的化合物是一种或一种以上 TEC- 激酶的抑制剂,并因此适用于治疗一种或一种以上与一种或一种以上 TEC- 激酶的活性有关的病症。因此,在某些实施例中,本发明提供一种治疗 TEC 介导的病症的方法,其包含向有需要的患者投与本发明化合物或其医药学上可接受的组合物的步骤。

[0474] 如本文所用的术语“TEC 介导的病状”意指已知 TEC- 激酶起作用的任何疾病或其它有害病状。所述病状包括本文和麦歇尔 (Melcher, M) 等人,“TEC 家族激酶在发炎过程中的作用 (The Role of TEC Family Kinases in Inflammatory Processes)”,医药化学中的消炎与抗过敏药剂 (Anti-Inflammatory&Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry), 第 6 卷, 第 1 期, 第 61-69 页 (2007 年 2 月) 中所描述的病状。因此,本发明的另一实施例涉及治疗一种或一种以上已知 TEC- 激酶起作用的疾病或减轻其严重程度。明确地说,本发明涉及一种治疗选自自身免疫、发炎性、增生性和过度增生性疾病、和免疫

介导的疾病的疾病或病状或减轻其严重程度的方法,所述免疫介导的疾病包括移植器官或组织排斥反应和获得性免疫缺陷综合症 (AIDS),其中所述方法包含向有需要的患者投与本发明组合物。

[0475] 在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 TEC- 激酶有关的疾病和病状或减轻其严重程度的方法,所述疾病和病状包括呼吸道疾病,包括(但不限于)可逆性阻塞性气道疾病,包括例如支气管哮喘、过敏性哮喘、内源性哮喘、外源性哮喘和尘埃性哮喘等哮喘,特别是慢性或长期性哮喘(例如迟发型哮喘气道高反应性),和支气管炎。在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 Tec- 激酶有关的疾病和病状或减轻其严重程度的方法,所述疾病和病状包括特征是鼻粘膜发炎的病状,包括急性鼻炎、过敏性鼻炎、萎缩性鼻炎和慢性鼻炎,包括干酪性鼻炎、肥厚性鼻炎、化脓性鼻炎、干燥性鼻炎和药物性鼻炎;膜性鼻炎,包括格鲁布性鼻炎、纤维蛋白性鼻炎和假膜性鼻炎,和结核性鼻炎;季节性鼻炎,包括神经性鼻炎(枯草热)和血管运动性鼻炎;肉状瘤病;农夫肺和相关疾病;纤维性肺和特发性间质性肺炎。

[0476] 在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 TEC- 激酶有关的疾病和病状或减轻其严重程度的方法,所述疾病和病状包括骨和关节的疾病,包括(但不限于)类风湿性关节炎(其中形成血管翳)、血清阴性脊柱关节病(包括强直性脊柱炎、牛皮癣关节炎和莱特氏病(Reiter's disease))、白塞氏病(Behcet's disease)、修格连氏综合症(Sjogren's syndrome)和系统性硬化症。

[0477] 在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 TEC- 激酶有关的疾病和病状或减轻其严重程度的方法,所述疾病和病状包括皮肤的疾病和病症,包括(但不限于)牛皮癣、系统性硬化症、异位性皮炎、接触性皮炎和其它湿疹性皮炎、脂溢性皮炎、扁平苔癣、天疱疮、大疱性天疱疹、大疱性表皮松解、荨麻疹、血管性皮炎(angiodermas)、血管炎、红斑、皮肤嗜酸粒细胞增多症、葡萄膜炎、脱发、斑秃和春季结膜炎。

[0478] 在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 TEC- 激酶有关的疾病和病状或减轻其严重程度的方法,所述疾病和病状包括胃肠道的疾病和病症,包括(但不限于)乳糜泻(celiac disease)、直肠炎、嗜酸细胞性胃肠炎、肥大细胞病、胰腺炎、克罗恩氏病(Crohn's disease)、溃疡性结肠炎、与食物有关的过敏症(其效应远离肠,例如偏头痛、鼻炎和湿疹)。

[0479] 在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 TEC- 激酶有关的疾病和病状或减轻其严重程度的方法,所述疾病和病状包括其它组织的疾病和病症、和全身性疾病,包括(不限于)多发性硬化症、动脉粥样硬化、红斑狼疮、全身性狼疮、红斑、桥本氏甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、重症肌无力、一型糖尿病、肾病综合症、嗜酸细胞性筋膜炎(eosinophilia fasciitis)、高 IgE 综合症、瘤型麻风、赛谢综合症(sezary syndrome)和特发性血小板减少性紫癜、血管成形术后再狭窄、肿瘤(例如白血病、淋巴瘤(包括前列腺癌))、动脉粥样硬化和全身性红斑狼疮。

[0480] 在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 TEC- 激酶有关的疾病和病状或减轻其严重程度的方法,所述疾病和病状包括同种异体移植排斥反应,包括(但不限于)例如肾、心脏、肝、肺、骨髓、皮肤和角膜移植后出现的急性和慢性同种异体移植排斥反应;和慢性移植物抗宿主疾病。

[0481] 在一些实施例中,本发明涉及一种治疗一种或一种以上如上所述的与 TEC- 激酶有关的疾病或病状或减轻其严重程度的方法,其中所述方法包含向有需要的患者投与本发明化合物或组合物。

[0482] 布鲁顿氏酪氨酸激酶 (Bruton's tyrosine kinase,“BTK”)是一种 TEC- 激酶成员,其是在除 T 淋巴细胞和自然杀伤细胞外的所有造血细胞类型中表达的关键的信号传导酶。BTK 在连接细胞表面 B 细胞受体 (BCR) 的刺激与下游细胞内反应的 B 细胞信号传导通路中起主要作用。

[0483] BTK 是 B 细胞发育、活化、信号传导和存活的关键调节因子 (黑崎 (Kurosaki), 免疫学新见 (Curr Op Imm), 2000, 276-281 ;雪弗尔和施瓦茨伯格 (Schwartzberg), 免疫学新见 2000, 282-288)。另外, BTK 在例如巨噬细胞中 Toll 样受体 (TLR) 和细胞因子受体介导的 TNF- α 产生、肥大细胞中 IgE 受体 (Fc ϵ RI) 的信号传导、B 系淋巴样细胞中 Fas/APO-1 细胞凋亡信号传导的抑制、和胶原蛋白刺激的血小板凝集等大量其它的造血细胞信号传导通路中起作用。参见例如杰弗里斯 (C. A. Jeffries) 等人, (2003), 生物化学杂志 (Journal of Biological Chemistry) 278:26258-26264 ;霍尔伍德 (N. J. Horwood) 等人, (2003), 实验医学杂志 (The Journal of Experimental Medicine) 197:1603-1611 ;易威奇 (Iwaki) 等人 (2005), 生物化学杂志 280 (48):40261-40270 ;瓦西列夫 (Vassilev) 等人 (1999), 生物化学杂志 274 (3):1646-1656 ;和郭 (Quek) 等人 (1998), 当代生物学 (Current Biology) 8 (20):1137-1140。

[0484] 具有 BTK 突变的患者极度地阻断 B 细胞的发育,从而导致 B 淋巴细胞和浆细胞几乎完全不存在,极大地降低 Ig 含量,并极度地抑制体液对回忆抗原的反应 (维希宁 (Vihinen) 等人, 生物科学前沿 (Frontiers in Bioscience) 5:d917-928 中综述)。同样,缺乏 BTK 的小鼠的周围 B 细胞数目降低并且 IgM 和 IgG3 的含量大大降低。小鼠中的 BTK 缺失对由抗 IgM 诱发的 B 细胞增殖具有深远影响,并抑制对非胸腺依赖性 II 型抗原的免疫反应 (艾尔梅尔 (Ellmeier) 等人, 实验医学杂志 (J Exp Med) 192:1611-1623 (2000))。BTK 在通过高亲和力 IgE 受体 (FceRI) 活化肥大细胞中也起关键作用。缺乏 BTK 的鼠类肥大细胞在 FceRI 交联后脱粒减少,并且促炎性细胞因子的产生也减少 (川上 (Kawakami) 等人, 白血球生物学杂志 (Journal of leukocyte biology) 65:286-290)。

[0485] 所提供的化合物是 BTK 的抑制剂,并因此适用于治疗一种或一种以上与 BTK 活性有关的病症。因此,在一些实施例中,本发明提供一种治疗 BTK 介导的病症的方法,其包含向有需要的患者投与本发明化合物或其医药学上可接受的组合物的步骤。

[0486] 如本文所用的术语“BTK 介导”的病症或病状如本文所用,意指已知 BTK 或其突变体起作用的任何疾病或其它有害病状。因此,本发明的另一实施例涉及治疗一种或一种以上已知 BTK 或其突变体起作用的疾病或减轻其严重程度。明确地说,本发明涉及一种治疗选自增生性病症的疾病或病状或减轻其严重程度的方法,其中所述方法包含向有需要的患者投与本发明化合物或组合物。

[0487] 在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 BTK 有关的疾病和病状或减轻其严重程度的方法。在一些实施例中,所述疾病或病状是自身免疫疾病,例如发炎性肠病、关节炎、狼疮、类风湿性关节炎、牛皮癣关节炎、骨关节炎、斯蒂尔病 (Still's disease)、幼年型关节炎、糖尿病、重症肌无力、桥本氏甲状腺炎、奥德氏甲状腺

炎 (Ord's thyroiditis)、格雷夫斯氏病 (Graves' disease)、修格连氏综合症、多发性硬化症、格林-巴利综合症 (Guillain-Barre syndrome)、急性播散性脑脊髓炎、阿狄森氏病 (Addison's disease)、眼阵挛-肌阵挛综合症、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合症、再生障碍性贫血、自身免疫性肝炎、乳糜泻、古德帕斯丘综合症 (Goodpasture's syndrome)、特发性血小板减少性紫癜、视神经炎、硬皮病、原发性胆汁性肝硬化、莱特氏综合症、高安动脉炎 (Takayasu's arteritis)、颞动脉炎、温抗体型自身免疫性溶血性贫血 (warm autoimmune hemolytic anemia)、韦格纳肉芽肿 (Wegener's granulomatosis)、牛皮癣、全身脱毛、白塞氏病、慢性疲劳、家族性自主神经异常 (dysautonomia)、子宫内膜异位、间质性膀胱炎、神经性肌强直、硬皮病或外阴痛。

[0488] 在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 BTK 有关的疾病和病状或减轻其严重程度的方法,其中所述疾病或病状是选自异种免疫病状或疾病,其包括(但不限于)移植物抗宿主疾病、移植、输血、过敏反应、过敏症(例如植物花粉、乳胶、药物、食物、昆虫毒素、动物毛发、动物皮屑、尘螨或蟑螂萼 (cockroach calyx) 的过敏症)、I 型超敏反应、过敏性结膜炎、过敏性鼻炎和异位性皮炎。

[0489] 在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 BTK 有关的疾病和病状或减轻其严重程度的方法,其中所述疾病或病状是选自发炎性疾病,例如哮喘、阑尾炎、睑炎、细支气管炎、支气管炎、滑囊炎、子宫颈炎、胆管炎、胆囊炎、结肠炎、结膜炎、膀胱炎、泪腺炎、皮炎、皮肤炎、脑炎、心内膜炎、子宫内膜炎、肠炎、小肠结肠炎、上髌炎、附睾炎、筋膜炎、纤维组织炎、胃炎、胃肠炎、肝炎、化脓性汗腺炎、喉炎、乳腺炎、脑膜炎、脊髓炎、心肌炎、肌炎、肾炎、卵巢炎、睾丸炎、骨炎、耳炎、胰腺炎、腮腺炎、心包炎、腹膜炎、咽炎、胸膜炎、静脉炎、肺炎 (pneumonitis/pneumonia)、直肠炎、前列腺炎、肾盂肾炎、鼻炎、输卵管炎、窦炎、口腔炎、滑膜炎、肌腱炎、扁桃体炎、葡萄膜炎、阴道炎、血管炎或外阴炎。

[0490] 在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 BTK 有关的疾病和病状或减轻其严重程度的方法,其中所述疾病或病状是选自癌症。在一个实施例中,癌症是 B 细胞增生性病,例如弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、慢性淋巴细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病、B 细胞前淋巴细胞白血病、淋巴浆细胞淋巴瘤 / 瓦氏巨球蛋白血症 (Waldenstrom macroglobulinemia)、脾边缘区淋巴瘤、浆细胞骨髓瘤、浆细胞瘤、结外边缘区 B 细胞淋巴瘤、结边缘区 B 细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、纵隔(胸腺)大 B 细胞淋巴瘤、血管内大 B 细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤 (burkitt lymphoma) / 白血病或淋巴瘤样肉芽肿病。在一些实施例中,癌症是乳癌或前列腺癌。

[0491] 在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 BTK 有关的疾病和病状或减轻其严重程度的方法,其中所述疾病或病状是选自血栓栓塞性病,例如心肌梗塞、心绞痛、血管成形术后再闭塞、血管成形术后再狭窄、主动脉冠状动脉分流后再闭塞、主动脉冠状动脉分流后再狭窄、中风、短暂性局部缺血、周边动脉闭塞病症、肺栓塞或深静脉血栓形成。

[0492] 在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 BTK 有关的疾病和病状或减轻其严重程度的方法,所述疾病和病状包括感染和非感染性发炎事件和自身免疫以及其它发炎性疾病。这些自身免疫和发炎性疾病、病症和综合症包括发炎性盆腔疾病、尿道炎、皮肤晒伤、窦炎、肺炎、脑炎、脑膜炎、心肌炎、肾炎、骨髓炎、肌炎、肝炎、胃炎、肠炎、皮

炎、牙龈炎、阑尾炎、胰腺炎、胆囊炎、无丙种球蛋白血症、牛皮癣、过敏症、克罗恩氏病、肠易激综合症、溃疡性结肠炎、修格连氏病、组织移植排斥反应、移植器官超急性排斥反应、哮喘、过敏性鼻炎、慢性阻塞性肺病 (COPD)、自身免疫性多腺体病 (又称作自身免疫性多腺体综合症)、自身免疫性脱发、恶性贫血、肾小球肾炎、皮炎、多发性硬化症、硬皮病、血管炎、自身免疫性溶血和血小板减少状态、古德帕斯丘综合症、动脉粥样硬化、阿狄森氏病、帕金森氏病 (Parkinson's disease)、阿尔茨海默氏病、一型糖尿病、感染性休克、全身性红斑狼疮 (SLE)、类风湿性关节炎、牛皮癣关节炎、幼年型关节炎、骨关节炎、慢性特发性血小板减少性紫癜、瓦氏巨球蛋白血症、重症肌无力、桥本氏甲状腺炎、异位性皮炎、退化性关节病、白癜风、自身免疫性垂体机能减退、格林 - 巴利综合症、白塞氏病、硬皮病、蕈样真菌病、急性发炎反应 (例如急性呼吸窘迫综合症和局部缺血 / 再灌注损伤) 和格雷夫斯氏病。

[0493] 在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 BTK 有关的疾病和病状或减轻其严重程度方法,所述疾病和病状是选自类风湿性关节炎、多发性硬化症、B 细胞慢性淋巴细胞白血病、毛细胞白血病、非霍奇金氏淋巴瘤 (non-Hodgkin's lymphoma)、肠易激综合症、克罗恩氏病、狼疮和肾移植。

[0494] 白介素 -2 酪氨酸激酶 (“ITK”) 是在 T 细胞、肥大细胞和自然杀伤细胞中表达。其在 T 细胞中在 T 细胞受体 (TCR) 受到刺激后活化,且在肥大细胞中在高亲和力 IgE 受体活化后活化。在 T 细胞中受体受到刺激后,src 酪氨酸激酶家族成员 Lck 使 Itk 的激酶结构域活化环中的 Y511 磷酸化 (海伊克 (S. D. Heyeck) 等人,1997, 生物化学杂志 (J. Biol. Chem), 272, 25401-25408)。PLC- γ 的磷酸化和活化需要活化的 Itk 以及 Zap-70 (布内尔 (S. C. Bunnell) 等人,2000, 生物化学杂志, 275, 2219-2230)。PLC- γ 催化 1, 4, 5-三磷酸肌醇和二酰基甘油形成,分别导致钙动员和 PKC 活化。这些事件使许多下游通路活化并最终引起脱粒 (肥大细胞) 和细胞因子基因表达 (T 细胞) (川上 (Y. Kawakami) 等人,1999, 白血球生物学杂志 (J. Leukocyte Biol.), 65, 286-290)。

[0495] 已经在 ITK 敲除小鼠中证实 ITK 在 T 细胞活化中的作用。来自 ITK 敲除小鼠的 CD4⁺T 细胞在混合淋巴细胞反应中或在 Con A 或者抗 CD3 刺激后具有减弱的增生性反应。(廖 (X. C. Liao) 和李特曼 (D. R. Littman), 1995, 免疫学 (Immunity), 3, 757-769)。同样,来自 ITK 敲除小鼠的 T 细胞在 TCR 刺激后产生很少的 IL-2, 导致这些细胞的增殖减少。在另一项研究中,缺乏 ITK 的 CD4⁺T 细胞在 TCR 刺激后产生的细胞因子 (包括 IL-4、IL-5 和 IL-13) 含量降低,即使用诱发条件引发后还是如此。(福威尔 (D. J. Fowell), 1999, 免疫学, 11, 399-409)。

[0496] 也在这些敲除小鼠的 T 细胞中证实 ITK 在 PLC- γ 活化和钙动员中的作用,在 TCR 刺激后 IP₃ 的产生严重受损并且无细胞外钙流入 (刘 (K. Liu) 等人,1998, 实验医学杂志, 187, 1721-1727)。这些研究支持 ITK 在 T 细胞和肥大细胞的活化中的关键作用。因此,ITK 的抑制剂在由这些细胞的不当活化所介导的疾病中将具有治疗益处。

[0497] 已充分确定,T 细胞在免疫反应的调节中起重要作用 (鲍里 (Powrie) 和卡夫曼 (Coffman), 1993, 今日免疫学 (Immunology Today), 14, 270-274)。实际上,T 细胞的活化常常是免疫病症中的引发事件。在 TCR 活化后有钙流入,这为 T 细胞活化所需。T 细胞在活化后产生包括 IL-2、IL-4、IL-5、IL-9、IL-10 和 IL-13 的细胞因子,从而引起 T 细胞增殖、分化和效应功能。关于 IL-2 抑制剂的临床研究表明,干扰 T 细胞的活化和增殖有效地抑制

活体内免疫反应(沃尔德曼(Waldmann), 1993, 今日免疫学, 14, 264-270)。因此,抑制 T 淋巴细胞活化和随后的细胞因子产生的药剂在治疗学上适用于选择性地抑制需要免疫抑制的患者中的免疫反应。

[0498] 肥大细胞通过释放促炎性介体和细胞因子,在哮喘和过敏性病症中起关键作用。抗原介导的 Fc. ϵ . RI (IgE 的高亲和力受体) 聚集会活化肥大细胞(柯瑞(D. B. Corry) 等人, 1999, 自然(Nature), 402, B18-23)。此引发一系列信号传导事件,导致包括组胺、蛋白酶、白细胞三烯和细胞因子的介体被释放(戈登(J. R. Gordon) 等人, 1990, 今日免疫学, 11, 458-464。)。这些介体引起血管通透性增加、粘液产生、支气管收缩、组织退化和发炎,因此在哮喘和过敏性病症的病源和症状中起关键作用。

[0499] 使用 ITK 敲除小鼠的公开资料表明在缺乏 ITK 功能的情况下,产生的记忆 T 细胞的数目增加(米勒(A. T. Miller) 等人, 2002 免疫学杂志(The Journal of Immunology), 168, 2163-2172)。一种改善接种法的策略是增加所产生的记忆 T 细胞的数目(柯奇(S. M. Kaech) 等人, 自然综述. 免疫学(Nature Reviews Immunology), 2, 251-262)。另外,小鼠中 ITK 的缺失会引起 T 细胞受体(TCR) 诱发的增殖和细胞因子 IL-2、IL-4、IL-5、IL-10 和 IFN- γ 的分泌减少(雪弗尔等人, 科学 284 :638-641(1999)), 福威尔等人, 免疫(Immunity) 11, 399-409(1999), 雪弗尔等人, 自然免疫学(Nature Immunology) 2(12):1183-1188(2001))。ITK^{-/-}小鼠中过敏性哮喘的免疫症状有所减弱。ITK^{-/-}小鼠中,对过敏原 OVA 的激发作出反应,肺炎症、嗜酸性粒细胞浸润和粘液产生急剧降低(慕乐(Mueller) 等人, 免疫学杂志(Journal of Immunology) 170:5056-5063(2003))。ITK 也与异位性皮炎有关。据报导,相较于对照组或患轻度异位性皮炎的患者,此基因在来自患中度和 / 或严重异位性皮炎的患者的外周血 T 细胞中高度表达(松本(Matsumoto) 等人, 国际变态反应学与免疫学文献(International archives of Allergy and Immunology) 129:327-340(2002))。

[0500] 对 TCR 接合作出反应,来自 RLK^{-/-}小鼠的脾细胞分泌的 IL-2 是野生型动物所产生的 IL-2 的一半(雪弗尔等人, 科学 284:638-641(1999)),而小鼠中 ITK 与 RLK 的组合缺失则极度地抑制 TCR 诱发的反应,所述反应包括增殖和细胞因子 IL-2、IL-4、IL-5 和 IFN- γ 的产生(雪弗尔等人, 自然免疫学 2(12):1183-1188(2001)), 雪弗尔等人, 科学 284:638-641(1999)。在缺乏 ITK/RLK 的 T 细胞中,在 TCR 接合后实现细胞内信号传导;三磷酸肌醇产生、钙动员、MAP 激酶活化和转录因子 NFAT 和 AP-1 的活化都有所减少(雪弗尔等人, 科学 284:638-641(1999), 雪弗尔等人, 自然免疫学 2(12):1183-1188(2001))。

[0501] 所提供的化合物是 ITK 的抑制剂,并因此适用于治疗一种或一种以上与 ITK 活性有关的病症。因此,在一些实施例中,本发明提供一种治疗 ITK 介导的病症的方法,其包含向有需要的患者投与本发明化合物或其医药学上可接受的组合物的步骤。

[0502] 如本文所用的术语“ITK 介导”的病症或病状如本文所用,意指已知 ITK 或其突变体起作用的任何疾病或其它有害病状。因此,本发明的另一实施例涉及治疗一种或一种以上已知 ITK 或其突变体起作用的疾病或减轻其严重程度。明确地说,本发明涉及一种治疗选自肥大细胞介导的病状、嗜碱细胞介导的病症、免疫或过敏性病症的疾病或病状或减轻其严重程度的方法,其中所述方法包含向有需要的患者投与本发明化合物或组合物。

[0503] 在一些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 ITK 有关的疾病和病状

或减轻其严重程度的方法,其中所述疾病或病状是免疫病症,包括发炎性疾病、自身免疫疾病、器官和骨髓移植排斥反应和其它与 T 细胞介导的免疫反应或肥大细胞介导的免疫反应有关的病症。

[0504] 在某些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 ITK 有关的疾病和病状或减轻其严重程度的方法,其中所述疾病或病状是急性或慢性炎症、过敏症、接触性皮炎、牛皮癣、类风湿性关节炎、多发性硬化症、一型糖尿病、发炎性肠病、格林-巴利综合症、克罗恩氏病、溃疡性结肠炎、癌症、移植物抗宿主疾病(和其它形式的器官或骨髓移植排斥反应)或红斑狼疮。

[0505] 在某些实施例中,本发明提供一种治疗一种或一种以上与 ITK 有关的疾病和病状或减轻其严重程度的方法,其中所述疾病或病状是肥大细胞驱动的病状、嗜碱细胞介导的病症、可逆性阻塞性气道疾病、哮喘、鼻炎、慢性阻塞性肺病(COPD)、外周 T 细胞淋巴瘤或 HIV。这些病状包括瑞丁格(Readinger, J. A.)等人,“选择性靶向 ITK 会阻断 HIV 复制的多个步骤(Selective Targeting of ITK Blocks Multiple Steps of HIV Replication)”,PNAS 2008, 第 105 卷, 第 18 期(2008 年 5 月 6 日)中所描述的病状。

[0506] 杰纳斯激酶(Janus kinase, JAK)是由 JAK1、JAK2、JAK3 和 TYK2 组成的酪氨酸激酶家族。JAK 在细胞因子信号传导中起关键作用。激酶 JAK 家族的下流底物包括信号转导子和转录活化因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)蛋白质。JAK/STAT 信号传导会介导例如过敏症、哮喘、自身免疫疾病(例如移植排斥反应、类风湿性关节炎、肌萎缩性侧索硬化和多发性硬化症)等多种异常免疫反应,以及会导致例如白血病和淋巴瘤等实体和血液恶性肿瘤。已经综述 JAK/STAT 通路中的药物干预[弗兰克(Frank)分子医学(Mol. Med.)5:432-456(1999)和赛德(Seidel)等人,癌基因 19:2645-2656(2000)]。

[0507] JAK1、JAK2 和 TYK2 的表达到处存在,而 JAK3 主要是在造血细胞中表达。JAK3 仅与共同的细胞因子受体 γ 链(γc)结合,并由 IL-2、IL-4、IL-7、IL-9 和 IL-15 活化。

[0508] 实际上,已展示 IL-4 和 IL-9 诱发的鼠类肥大细胞的增殖和存活依赖于 JAK3 和 γc 信号传导[铃木(Suzuki)等人,血液(Blood)96:2172-2180(2000)]。

[0509] 致敏肥大细胞的高亲和力免疫球蛋白(Ig)E 受体的交联导致释放包括多种具有血管活性的细胞因子的促炎性介质,从而引起急性过敏反应或即时(I 型)超敏反应[戈登等人,自然 346:274-276(1990)和嘎利(Galli),新英格兰医学杂志(N. Engl. J. Med.), 328:257-265(1993)]。已经确定活体外和活体内 JAK3 在 IgE 受体介导的肥大细胞反应中的关键作用[马拉维亚(Malaviya)等人,生物化学与生物物理学研究通讯(Biochem. Biophys. Res. Commun.)257:807-813(1999)]。另外,也已报导通过抑制 JAK3 来预防肥大细胞活化所介导的 I 型超敏反应,包括过敏反应[马拉维亚等人,生物化学杂志 274:27028-27038(1999)]。用 JAK3 抑制剂靶向肥大细胞调控活体外肥大细胞的脱粒,并预防活体内 IgE 受体/抗原介导的过敏反应。

[0510] 新近研究描述 JAK3 的成功靶向,实现免疫抑制和同种异体移植物接受。这项研究证实,在投与 JAK3 的抑制剂后,水牛心脏同种异体移植物在维斯塔福斯(Wistar Furth)接受者中依赖于剂量而存活,表明有可能在移植物抗宿主疾病中调节不需要的免疫反应[柯肯(Kirken),移植学会会报(transpl. proc.)33:3268-3270(2001)]。

[0511] 已推断 IL-4 介导的 STAT 磷酸化是早期和晚期类风湿性关节炎 (RA) 所涉及的机理。RA 滑膜和滑液中的促炎性细胞因子上调是所述疾病的特征。已经证实, IL-4 介导的 IL-4/STAT 通路活化是通过杰纳斯激酶 (JAK 1 和 3) 来介导, 并且与 IL-4 相关的 JAK 激酶是在 RA 滑膜中表达 [穆勒-拉德纳 (Muller-Ladner) 等人, 免疫学杂志 (J. Immunol.) 164:3894-3901 (2000)]。

[0512] 家族性肌萎缩性侧索硬化 (FALS) 是一种致命的神经退化性病症, 它影响大约 10% 的 ALS 患者。在用 JAK3 特异性抑制剂治疗后, FALS 小鼠的存活率增加。这证实 JAK3 在 FALS 中起作用 [赵 (Trieu) 等人, 生物化学与生物物理学研究通讯 267:22-25 (2000)]。

[0513] 信号转导子和转录活化因子 (STAT) 蛋白质尤其是由 JAK 家族激酶活化。新近研究的结果表明通过用特异性抑制剂靶向 JAK 家族激酶, 有可能干预 JAK/STAT 信号传导通路, 从而治疗白血病 [苏布克 (Sudbeck) 等人, 临床癌症研究 (Clin. Cancer Res.) 5:1569-1582 (1999)]。已展示, JAK3 特异性化合物抑制表达 JAK3 的细胞系 DAUDI、RAMOS、LC1 ;19、NALM-6、MOLT-3 和 HL-60 的克隆源性生长。JAK3 和 TYK 2 的抑制会消除 STAT3 的酪氨酸磷酸化, 并抑制蕈样真菌病 (一种皮肤 T 细胞淋巴瘤形式) 的细胞生长。

[0514] 根据另一实施例, 本发明提供一种治疗患者的 JAK3 介导的疾病或病状或减轻其严重程度度的方法, 其包含向所述患者投与本发明组合物的步骤。

[0515] 如本文所用的术语“JAK3 介导的疾病”意指已知 JAK3 激酶起作用的任何疾病或其它有害病状。因此, 本发明的另一实施例涉及治疗一种或一种以上已知 JAK3 起作用的疾病或减轻其严重程度度的方法: 免疫反应, 例如过敏或 I 型超敏反应、哮喘、自身免疫疾病 (例如移植排斥反应、移植物抗宿主疾病、类风湿性关节炎、肌萎缩性侧索硬化和多发性硬化症); 神经退化性病症, 例如家族性肌萎缩性侧索硬化 (FALS); 以及实体和血液恶性肿瘤, 例如白血病和淋巴瘤, 其中所述方法包含向有需要的患者投与本发明组合物。

[0516] 根据本发明方法的化合物和组合物可使用有效治疗癌症、自身免疫病症、神经退化性病症或神经系统紊乱、精神分裂症、骨相关病症、肝病或心脏病或减轻其严重程度度的任何量和任何投药途径来投与。所需要确切量在不同个体之间有所变化, 取决于个体的物种、年龄和全身情况、感染的严重程度、特定的药剂、其投药模式等。本发明化合物优选调配为单位剂型以便于投药和剂量均一。如本文所用的表述“单位剂型”是指适用于有待治疗的患者的药剂的物理离散单位。然而, 应了解本发明化合物和组合物的总日用量应由主治医师在可靠医学判断的范围内决定。针对任何特定的患者或生物体的具体有效剂量将取决于多种因素, 包括所治疗的病症和此病症的严重程度; 所用的具体化合物的活性; 所用的具体组合物; 患者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食; 所用的具体化合物的投药时间、投药途径和排泄率; 治疗的持续时间; 与所用的具体化合物组合或同时使用的药物, 和医学领域中熟知的类似因素。如本文所用的术语“患者”意指动物, 优选是哺乳动物, 且最优选是人类。

[0517] 医药学上可接受的本发明组合物可经口、经直肠、不经肠、脑池内、阴道内、腹膜内、局部 (以散剂、软膏或滴剂形式)、经颊 (以经口或经鼻喷雾形式) 等投与人类和其它动物, 取决于所治疗的感染的严重程度。在某些实施例中, 本发明化合物可以每天每公斤个体的体重约 0.01mg 至约 50mg 并且优选为约 1mg 至约 25mg 的剂量经口或不经肠投与, 每天投

与一次或一次以上,以获得所需治疗作用。

[0518] 供经口投药的液体剂型包括(但不限于)医药学上可接受的乳液、微乳液、溶液、悬浮液、糖浆和酞剂。除活性化合物外,所述液体剂型还可含有所属领域中通常使用的惰性稀释剂,例如水或其它溶剂、增溶剂和乳化剂,例如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺、油类(尤其是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇和山梨醇酞脂肪酸酯和其混合物。除惰性稀释剂外,经口组合物还可以包括例如湿润剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、调味剂和芳香剂等佐剂。

[0519] 例如无菌可注射的水性或油性悬浮液等可注射制剂可以根据已知的技术,使用合适的分散剂或湿润剂和悬浮剂来调配。无菌可注射制剂也可以是无毒的不经肠可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液、悬浮液或乳液,例如1,3-丁二醇中的溶液。可采用的可接受的媒剂和溶剂是水、林格氏溶液、U.S.P.和等渗氯化钠溶液。此外,无菌的不挥发性油常规用作溶剂或悬浮介质。为此,可采用任何无刺激性的不挥发性油,包括合成甘油一酸酯或甘油二酸酯。此外,例如油酸等脂肪酸用于制备注射剂。

[0520] 可注射调配物可例如通过经由细菌截留过滤器过滤或者通过并入杀菌剂来杀菌,呈无菌固体组合物形式,所述组合物可以在使用前溶解或分散于无菌水或其它无菌可注射的介质中。

[0521] 为延长本发明化合物的作用,常常需要减慢从皮下或肌肉内注射的化合物的吸收。这可以使用水溶性差的结晶或非晶形物质的液体悬浮液来实现。化合物的吸收速率接着取决于它的溶解速率,而溶解速率又可能取决于晶体大小和结晶形态。或者,通过将化合物溶解或悬浮于油性媒剂中来延迟不经肠投与的化合物形式的吸收。可注射的储槽形式是通过在例如聚丙交酯-聚乙交酯等生物可降解的聚合物中形成化合物的微胶囊基质而制得。视化合物与聚合物的比率和所用的特定聚合物的性质而定,可控制化合物的释放速率。其它生物可降解的聚合物的实例包括聚(原酸酯)和聚(酸酐)。储槽式可注射调配物也通过将化合物裹入与身体组织可相容的脂质体或微乳液中来制备。

[0522] 供直肠或阴道投药的组合物优选是栓剂,其可以通过将本发明化合物与合适的无刺激性赋形剂或载剂(例如可可脂、聚乙二醇或栓剂蜡)混合来制备,这些赋形剂或载剂在周围温度下是固体,但在体温下是液体,因此在直肠或阴道腔中融化并释放活性化合物。

[0523] 供经口投药的固体剂型包括胶囊、片剂、丸剂、散剂和颗粒。在这些固体剂型中,活性化合物与至少一种医药学上可接受的惰性赋形剂或载剂混合,所述赋形剂或载剂例如柠檬酸钠或磷酸二钙,和/或a)例如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅酸等填充剂或增量剂,b)例如羧甲基纤维素、海藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶等粘合剂,c)例如甘油等保湿剂,d)例如琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠等崩解剂,e)例如石蜡等溶液阻滞剂,f)例如季铵化合物等吸收促进剂,g)例如十六醇和单硬脂酸甘油酯等湿润剂,h)例如高岭土和膨润土等吸附剂,和i)例如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠等润滑剂,和其混合物。在胶囊、片剂和丸剂的情况下,剂型也可以包含缓冲剂。

[0524] 使用例如乳糖以及高分子量聚乙二醇等赋形剂,类似类型的固体组合物也可以用作软质和硬质填充明胶胶囊中的填料。片剂、糖衣药丸、胶囊、丸剂和颗粒等固体剂型可用

例如肠溶衣和医药调配领域中熟知的其它包衣等包衣和外壳来制备。其可任选含有乳浊剂,并且还可以具有仅或优先在肠道的某一部分任选以延迟方式释放活性成分的组成。可使用的包埋组合物的实例包括聚合物和蜡。使用例如乳糖以及高分子量聚乙二醇等赋形剂,类似类型的固体组合物也可以用作软质和硬质填充明胶胶囊中的填料。

[0525] 使用一种或一种以上如上所述的赋形剂,活性化合物还可以呈微囊封的形式。片剂、糖衣药丸、胶囊、丸剂和颗粒等固体剂型可用例如肠溶衣、释放控制包衣和医药调配领域中熟知的其它包衣等包衣和外壳来制备。在这些固体剂型中,活性化合物可以与至少一种例如蔗糖、乳糖或淀粉等惰性稀释剂混合。如在正常作业中,这些剂型也可以包含除惰性稀释剂以外的其它物质,例如制片润滑剂和其它制片助剂,例如硬脂酸镁和微晶纤维素。在胶囊、片剂和丸剂的情况下,剂型也可以包含缓冲剂。其可任选含有乳浊剂,并且还可以具有仅或优先在肠道的某一部分任选以延迟方式释放活性成分的组成。可使用的包埋组合物的实例包括聚合物和蜡。

[0526] 供本发明化合物局部或经皮投药的剂型包括软膏、糊剂、乳膏、洗剂、凝胶、散剂、溶液、喷雾、吸入剂或贴片。活性组分在无菌条件下与医药学上可接受的载剂和任何需要的防腐剂或可能需要的缓冲液混合。眼用调配物、滴耳剂和滴眼剂也涵盖于本发明的范围内。另外,本发明涵盖使用经皮贴片,这些经皮贴片的附加优势在于控制化合物传递至体内。这些剂型可通过将化合物溶解或分配于适当介质中而制得。还可以使用吸收增强剂来增加化合物穿过皮肤的通量。可以通过提供速率控制膜或通过化合物分散在聚合物基质或凝胶中来控制速率。

[0527] 根据一个实施例,本发明涉及一种抑制生物样品中蛋白激酶的活性的方法,其包含使所述生物样品与本发明化合物或包含所述化合物的组合物接触的步骤。

[0528] 根据另一实施例,本发明涉及一种抑制生物样品中 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 或其突变体的活性的方法,其包含使所述生物样品与本发明化合物或包含所述化合物的组合物接触的步骤。在某些实施例中,本发明涉及一种不可逆地抑制生物样品中 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 或其突变体的活性的方法,其包含使所述生物样品与本发明化合物或包含所述化合物的组合物接触的步骤。

[0529] 如本文所用的术语“生物样品”包括(但不限于)细胞培养物或其提取物;从哺乳动物获得的活组织检查物质或其提取物;和血液、唾液、尿、粪便、精液、眼泪或其它体液或其提取物。

[0530] 抑制生物样品中蛋白激酶或者选自 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 的蛋白激酶或其突变体的活性适用于达成所属领域的技术人员已知的多个目的。这些目的的实例包括(但不限于)输血、器官移植、生物标本储存和生物分析。

[0531] 本发明的另一实施例涉及一种抑制患者中蛋白激酶的活性的方法,其包含向所述患者投与本发明化合物或包含所述化合物的组合物的步骤。

[0532] 根据另一实施例,本发明涉及一种抑制患者中 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 中一者或一者以上或其突变体的活性的方法,其包含向所述患者投与本发明化合物或包含所述化合物的组合物的步骤。根据某些实施例,本发明涉及一种不可逆地抑制患者中 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 中一者或一者以上或其突变体的活性的方法,其包含向所述患者投与本发明化合物或包含所述化合物的组合

物的步骤。在其它实施例中,本发明提供一种治疗有需要的患者中由 ErbB1、ErbB2、ErbB3、ErbB4、TEC- 激酶和 / 或 JAK3 中一者或一者以上或其突变体介导的病症的方法,其包含向所述患者投与本发明化合物或其医药学上可接受的组合物的步骤。这些病症详细描述于本文中。

[0533] 视待治疗的特定病状或疾病而定,通常投与以便治疗此病状的其它治疗剂也可以存在于本发明组合物中。如本文所用,将通常投与以便治疗特定疾病或病状的其它治疗剂称为“适合于所治疗的疾病或病状”。

[0534] 举例来说,本发明化合物或其医药学上可接受的组合物与化学治疗剂组合投与以治疗增生性疾病和癌症。已知的化学治疗剂的实例尤其包括(但不限于)阿霉素(Adriamycin)、地塞米松(dexamethasone)、长春新碱(vincristine)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、氟尿嘧啶(flourouracil)、拓扑替康(topotecan)、紫杉醇(taxol)、干扰素(interferon)、铂衍生物、紫杉烷(taxane)(例如太平洋紫杉醇(paclitaxel))、长春花生物碱(例如长春碱(vinblastine))、蒽环类(anthracyclines)(例如多柔比星(doxorubicin))、表鬼臼毒素(epipodophyllotoxin)(例如依托泊苷(etoposide))、顺铂(cisplatin)、mTOR 抑制剂(例如雷帕霉素(rapamycin))、甲氨蝶呤(methotrexate)、放线菌素 D(actinomycin D)、海兔毒素 10(dolastatin 10)、秋水仙碱(colchicine)、吐根碱(emetine)、三甲曲沙(trimetrexate)、氯苯氨啉(metoprine)、环孢素(cyclosporine)、柔红霉素(daunorubicin)、替尼泊苷(teniposide)、两性霉素(amphotericin)、烷基化剂(例如苯丁酸氮芥(chlorambucil))、5- 氟尿嘧啶、喜树碱(camptothecin)、顺铂、甲硝哒唑(metronidazole) 和格列卫™。在其它实施例中,本发明化合物与例如阿瓦斯汀(Avastin)或维克替比(VECTIBIX) 等生物药剂组合投与。

[0535] 在某些实施例中,本发明化合物或其医药学上可接受的组合物与选自以下任一者或一者以上的抗增生剂或化学治疗剂组合投与:阿巴瑞克(Abarelix)、阿地白介素(aldesleukin)、阿地白介素(Aldesleukin)、阿伦单抗(Alemtuzumab)、阿利维 A 酸(Alitretinoin)、别嘌呤醇(Allopurinol)、六甲蜜胺(Altretamine)、氨磷汀(Amifostine)、阿那曲唑(Anastrozole)、三氧化二砷、天冬酰胺酶(Asparaginase)、阿扎胞苷(Azacitidine)、活卡介苗(BCG Live)、贝伐单抗(Bevacuzimab)、氟尿嘧啶、蓓萨罗丁(Bexarotene)、博来霉素(Bleomycin)、硼替佐米(Bortezomib)、白消安(Busulfan)、二甲睾酮(Calusterone)、卡培他滨(Capecitabine)、喜树碱(Camptothecin)、卡铂(Carboplatin)、卡莫司汀(Carmustine)、塞内昔布(Celecoxib)、西妥昔单抗(Cetuximab)、苯丁酸氮芥、克拉屈滨(Cladribine)、克罗拉滨(Clofarabine)、环磷酰胺、阿糖胞苷(Cytarabine)、放线菌素 D、 α 达贝泊汀(Darbepoetin alfa)、柔红霉素、地尼白介素(Denileukin)、右雷佐生(Dexrazoxane)、多烯紫杉醇(Docetaxel)、多柔比星(中性)、盐酸多柔比星(Doxorubicin hydrochloride)、丙酸屈他雄酮(Dromostanolone Propionate)、表柔比星(Epirubicin)、 α 依伯汀(Epoetin alfa)、埃罗替尼(Erlotinib)、雌莫司汀(Estramustine)、磷酸依托泊苷(Etoposide Phosphate)、依托泊苷、依西美坦(Exemestane)、非格司亭(Filgrastim)、氟尿苷氟达拉滨(floxuridine fludarabine)、氟维司群(Fulvestrant)、吉非替尼(Gefitinib)、吉西他滨(Gemcitabine)、吉妥单抗(Gemtuzumab)、乙酸戈舍瑞林(Goserelin Acetate)、乙酸组

氨瑞林 (Histrelin Acetate)、羟基脲 (Hydroxyurea)、替伊莫单抗 (Ibritumomab)、伊达比星 (Idarubicin)、异环磷酰胺 (Ifosfamide)、甲磺酸伊马替尼 (Imatinib Mesylate)、干扰素 α -2a (Interferon Alfa-2a)、干扰素 α -2b、伊立替康 (Irinotecan)、来那度胺 (Lenalidomide)、来曲唑 (Letrozole)、甲酰四氢叶酸 (Leucovorin)、乙酸亮丙瑞林 (Leuprolide Acetate)、左旋咪唑 (Levamisole)、洛莫司汀 (Lomustine)、乙酸甲地孕酮 (Megestrol Acetate)、美法仑 (Melphalan)、巯基嘌呤 (Mercaptopurine)、6-MP、美司钠 (Mesna)、甲氨蝶呤、甲氧沙林 (Methoxsalen)、丝裂霉素 C (Mitomycin C)、米托坦 (Mitotane)、米托蒽醌 (Mitoxantrone)、诺龙 (Nandrolone)、奈拉滨 (Nelarabine)、诺非单抗 (Nofetumomab)、奥普瑞白介素 (Oprelvekin)、奥沙利铂 (Oxaliplatin)、太平洋紫杉醇、帕利芬敏 (Palifermin)、帕米膦酸盐 (Pamidronate)、培加酶 (Pegademase)、培门冬酶 (Pegasparase)、聚乙二醇化非格司亭 (Pegfilgrastim)、培美曲塞二钠 (Pemetrexed Disodium)、喷司他丁 (Pentostatin)、哌泊溴烷 (Pipobroman)、普卡霉素 (Plicamycin)、吡吩姆钠 (Porfimer Sodium)、丙卡巴肼 (Procarbazine)、奎纳克林 (Quinacrine)、拉布立酶 (Rasburicase)、利妥昔单抗 (Rituximab)、沙格司亭 (Sargramostim)、索拉非尼 (Sorafenib)、链脲霉素 (Streptozocin)、顺丁烯二酸舒尼替尼 (Sunitinib Maleate)、滑石、他莫昔芬 (Tamoxifen)、替莫唑胺 (Temozolomide)、替尼泊苷、VM-26、睾内酯 (Testolactone)、硫鸟嘌呤 (Thioguanine)、6-TG、噻替派 (Thiotepa)、拓扑替康、托瑞米芬 (Toremifene)、托西莫单抗 (Tositumomab)、曲妥珠单抗 (Trastuzumab)、维 A 酸 (Tretinoin)、ATRA、乌拉莫司汀 (Uracil Mustard)、戊柔比星 (Valrubicin)、长春碱、长春新碱、长春瑞滨 (Vinorelbine)、唑来膦酸盐 (Zoledronate) 或唑来膦酸 (Zoledronic acid)。

[0536] 本发明抑制剂也可以组合的其它药剂的实例包括 (但不限于): 例如安理申® (Aricept®) 和埃克斯隆® (Exelon®) 等治疗阿尔茨海默氏病的药剂; 例如左旋多巴 (L-DOPA)/ 卡比多巴 (carbidopa)、恩他卡朋 (entacapone)、罗毗尼洛 (ropinrole)、普拉克索 (pramipexole)、溴麦角环肽 (bromocriptine)、培高利特 (pergolide)、三己芬迪 (trihexphenidyl) 和金刚烷胺 (amantadine) 等治疗帕金森氏病的药剂; 例如 β 干扰素 (例如阿沃尼斯® (Avonex®) 和利比® (Rebif®))、克帕松® (Copaxone®) 和米托蒽醌等治疗多发性硬化症 (MS) 的药剂; 例如舒喘宁 (albuterol) 和欣流 (Singulair)® 等治疗哮喘的药剂; 例如再普乐 (zyprexa)、维思通 (risperdal)、思瑞康 (seroquel) 和氟哌啶醇 (haloperidol) 等治疗精神分裂症的药剂; 例如皮质类固醇 (corticosteroid)、TNF 阻断剂、IL-1RA、硫唑嘌呤 (azathioprine)、环磷酰胺和柳氮磺吡啶 (sulfasalazine) 等消炎剂; 例如环孢素 (cyclosporin)、他克莫司 (tacrolimus)、雷帕霉素、霉酚酸酯 (mycophenolate mofetil)、干扰素、皮质类固醇、环磷酰胺、硫唑嘌呤和柳氮磺吡啶等免疫调节和免疫抑制剂; 例如乙酰胆碱酯酶抑制剂、MAO 抑制剂、干扰素、抗惊厥药、离子通道阻断剂、利鲁唑 (riluzole) 和抗似帕金森氏病药剂等神经营养因子; 例如 β -阻断剂、ACE 抑制剂、利尿剂、硝酸盐、钙通道阻断剂和斯达汀 (statin) 等治疗心血管疾病的药剂; 例如皮质类固醇、消胆胺 (cholestyramine)、干扰素和抗病毒剂等治疗肝病的药剂; 例如皮质类固醇、抗白血病剂和生长因子等治疗血液病症的药剂; 和例如 γ 球蛋白等治疗免疫缺陷病

症的药剂。

[0537] 在某些实施例中,本发明化合物或其医药学上可接受的组合物与单克隆抗体或 siRNA 治疗剂组合投与。

[0538] 那些其它的药剂可以作为多次给药方案的一部分,与含有本发明化合物的组合物分开投与。或者,那些药剂可以作为单一剂型的一部分,与本发明化合物一起混合在单一组合物中。如果两种活性剂作为多次给药方案的一部分投与,那么其可以同时、依序或彼此间隔一段时间(通常彼此间隔在 5 小时内)提供。

[0539] 如本文所用的术语“组合”和相关术语是指本发明治疗剂同时或依序投药。举例来说,本发明化合物可以与另一种治疗剂以分开的单位剂型同时或依序投与,或者以单一单位剂型一起投与。因此,本发明提供包含式 I 化合物、另一种治疗剂和医药学上可接受的载剂、佐剂或媒剂的单一单位剂型。

[0540] 可与载剂物质组合产生单一剂型的本发明化合物与另一种治疗剂(在包含如上所述的另一种治疗剂的那些组合物中)的量都将视所治疗的主体和特定的投药模式而变化。优选地,本发明组合物应经调配,以便每天可投与每公斤体重 0.01-100mg 之间的本发明物质的剂量。

[0541] 在包含另一种治疗剂的组合物中,所述另一种治疗剂和本发明化合物可起协同作用。因此,这些组合物中另一种治疗剂的量将小于仅仅利用此治疗剂的单一疗法中所需的量。在这些组合物中,每天可投与每公斤体重 0.01-1,000 μ g 之间的另一种治疗剂的剂量。

[0542] 本发明组合物中所含的另一种治疗剂的量将不超过包含此治疗剂作为唯一活性剂的组合物中通常所投与的量。本发明组合物中另一种治疗剂的量优选将在包含此药剂作为唯一治疗活性剂的组合物中通常所含的量的约 50% 至 100% 的范围内。

[0543] 本发明化合物或其医药组合物也可以并入组合物中,以涂布例如假体、人工瓣膜、血管移植物、支架和导管等植入式医疗装置。举例来说,已使用血管支架来解决再狭窄(损伤后血管壁再狭窄)。然而,使用支架或其它植入式装置的患者存在血块形成或血小板活化的风险。这些不需要的作用可通过用包含激酶抑制剂的医药学上可接受的组合物预先涂布此装置来预防或减轻。经本发明化合物涂布的植入式装置是本发明的另一实施例。

[0544] 范例

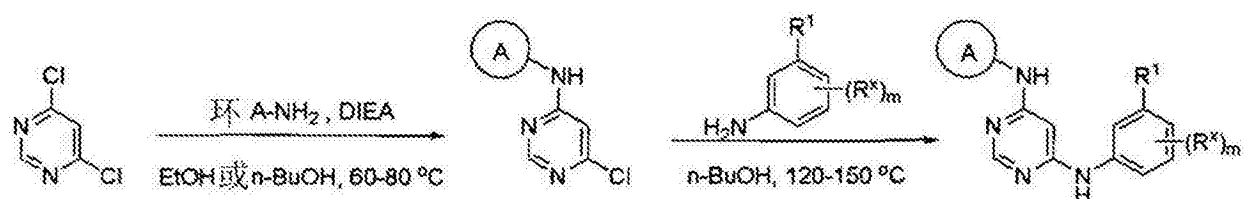
[0545] 如下文实例中所描绘,在某些例示性实施例中,根据以下一般程序制备化合物。应了解,虽然一般方法描绘某些本发明化合物的合成,但以下一般方法和所属领域的技术人员已知的其它方法可适用于如本文所述的所有化合物和这些化合物中每一者的子类 and 种类。

[0546] 实例 1

[0547] 方案 1a

[0548] 合成式 II-a 化合物

[0549]



[0550] 合成 (6-氯-嘧啶-4-基)-(3-溴-苯基)-胺:在 80°C 下,将 4,6-二氯嘧啶 (5g, 33.6mmol)、3-溴苯胺 (5.8g, 33.7mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (DIEA) (5.2g, 40.2mmol) 于乙醇 (40mL) 中的溶液加热 16 小时。反应混合物冷却至周围温度,加入二乙醚 (35mL),同时搅拌混合物。产物沉淀,过滤,用水洗涤并干燥,得到 5.9g 浅色固体 (产率是 62%)。MS(m/z):MH⁺ = 284, 286, 288。

[0551] 合成 3-[6-(3-溴苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]-苯胺:在密封管中,将 (6-氯-嘧啶-4-基)-(3-溴-苯基)-胺 (300mg, 1.1mmol) 和 苯-1,3-二胺 (300mg, 2.75mmol) 于 3mL n-BuOH 中的混合物加热到 150°C 并维持 16 小时。通过真空蒸发去除溶剂,并且通过使用 EtOAc/DCM 溶剂系统的硅胶快速色谱法来纯化粗产物,得到 255mg 呈黄色固体状的标题化合物 (产率是 65%)。MS(m/z):MH⁺ = 356, 358。

[0552] 以实质上类似于方案 1a 和以上实例中所述的方式制备以下化合物:

[0553] (a) 从 3-溴苯胺和 苯-1,4-二胺得到 4-[6-(3-溴苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺:MS(m/z):MH⁺ = 356, 358。

[0554] (b) 从 3-氯-4-氟苯胺和 苯-1,3-二胺得到 3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺 (I^R-4)。MS(m/z):MH⁺ = 330, 332。

[0555] (c) 从 3-甲基苯胺和 苯-1,3-二胺得到 3-[6-(3-甲基苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺 (I^R-5)。MS(m/z):MH⁺ = 292。

[0556] (d) 从 3-氯-4-(3-氟苯基)甲氧基苯胺和 苯-1,3-二胺得到 3-{6-[3-氯-4-(3-氟苯基)甲氧基苯基氨基]-嘧啶-4-基氨基}苯胺 (I^R-6)。MS(m/z):MH⁺ = 436, 438。

[0557] (e) 从 3-溴苯胺和 3-乙炔基苯胺得到 N⁴-(3-溴苯基)-N⁶-(3-乙炔基苯基)嘧啶-4,6-二胺 (I-12)。MS(M+H⁺) 365, 367; ¹H NMR(400MHz, d⁶-DMSO) δ 9.73(s, 1H), 9.60(s, 1H), 8.67(s, 1H), 7.95(t, 1H), 7.76(s, 1H), 7.50(d, 1H), 7.46(d, 1H), 7.55(t, 1H), 7.40(t, 1H), 7.20(d, 1H), 7.10(d, 1H), 6.30(s, 1H), 4.25(s, 1H) ppm。

[0558] (f) 从 3-乙炔基苯胺得到 N⁴, N⁶-双(3-乙炔基苯基)嘧啶-4,6-二胺 (I-11)。MS(M+H⁺) 311, 312; ¹H NMR(400MHz, d⁶-DMSO) δ 9.24(s, 2H), 8.32(s, 1H), 7.78(s, 2H), 7.52(d, 2H), 7.25(t, 2H), 7.02(d, 2H), 6.13(s, 1H), 4.12(s, 2H) ppm。

[0559] (g) 从 4-苯氧基苯胺和 2,6-二氨基吡啶得到 2-[6-(4-苯氧基苯基)-氨基嘧啶-4-基]氨基-6-氨基吡啶 (I^R-11) MS(m/z):MH⁺ = 372, 371。

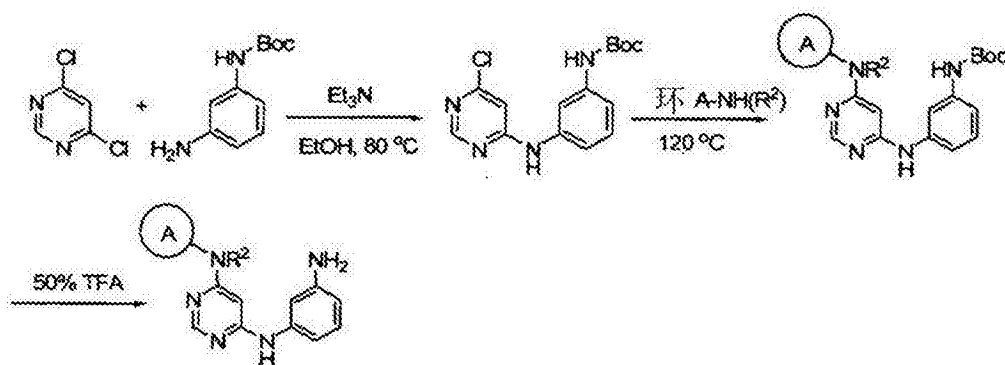
[0560] (h) 从 4-苯氧基苯胺和 1,4-二氨基苯得到 4-[6-(4-苯氧基苯基)氨基-嘧啶-4-基]氨基-氨基苯 (I^R-14) MS(m/z):MH⁺ = 370

[0561] 实例 2

[0562] 方案 2a

[0563] 合成 3-(6-单取代或二取代的氨基)嘧啶-4-基氨基)-苯胺的顺序 A

[0564]



[0565] 虽然以上方案 2a 和以下的后续方案中描绘 BOC 保护基,但所属领域的技术人员应认识到,其它的胺保护基也可用于制备本发明化合物。因此,涵盖多种胺保护基。

[0566] 合成 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)苯基氨基甲酸叔丁酯将 4,6-二氯嘧啶 (1.5g, 10mmol)、3-氨基苯基氨基甲酸叔丁酯 (2.1g, 10mmol) 和三乙胺 (2.2g, 20mmol) 混合于乙醇 (20mL) 中,在 80°C 下加热 16 小时。反应混合物冷却至室温,并在真空中去除溶剂。将胶状粗产物与 20mL DCM 混合并在室温下搅拌,得到灰白色固体,过滤并在真空下干燥 (1.6g, 5mmol)。MS(m/z):MH⁺ = 321, 323。

[0567] 合成 3-(6-[N-甲基-N-苯基氨基]嘧啶-4-基氨基)苯基-氨基甲酸叔丁酯在密封管中,将 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)苯基氨基甲酸叔丁酯 (1.6g, 5mmol) 与 N-甲基苯胺 (1.07g, 10mmol) 的混合物在 120°C 下加热 2 小时。反应混合物冷却至室温,与 1mL 1N NaOH 和 5mL DCM 混合,搅拌 30 分钟,过滤产物并在真空下干燥,得到固体产物。MS(m/z):MH⁺ = 392。

[0568] 合成 3-[6-(N-甲基-N-苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺 (I^R-8) 将 3-(6-[N-甲基-N-苯基氨基]嘧啶-4-基氨基)苯基氨基甲酸叔丁酯 (1.17g, 3mmol) 与 TFA(50%的 DCM 溶液, 10mL) 的混合物在室温下搅拌 4 小时。在真空下去除反应溶剂。将粗产物与 1mL 2N NaOH 和 5mL EtOAc 混合,搅拌 30 分钟,过滤,并在真空下干燥,得到 0.65g 标题化合物,其为灰白色固体 (75%)。(I^R-8)MS(m/z):MH⁺ = 292。

[0569] 以实质上类似于方案 2a 中所述的方式制备以下化合物:

[0570] (a) 从 4-苯氧基苯胺得到 3-[6-(4-苯氧基苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺。(I^R-7)MS(m/z):MH⁺ = 370。

[0571] (b) 从 3-氯-4-(2-吡啶基)甲氧基苯胺得到 3-[6-(3-氯-4-(2-吡啶基)甲氧基苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺。(I^R-9)MS(m/z):MH⁺ = 419, 421。

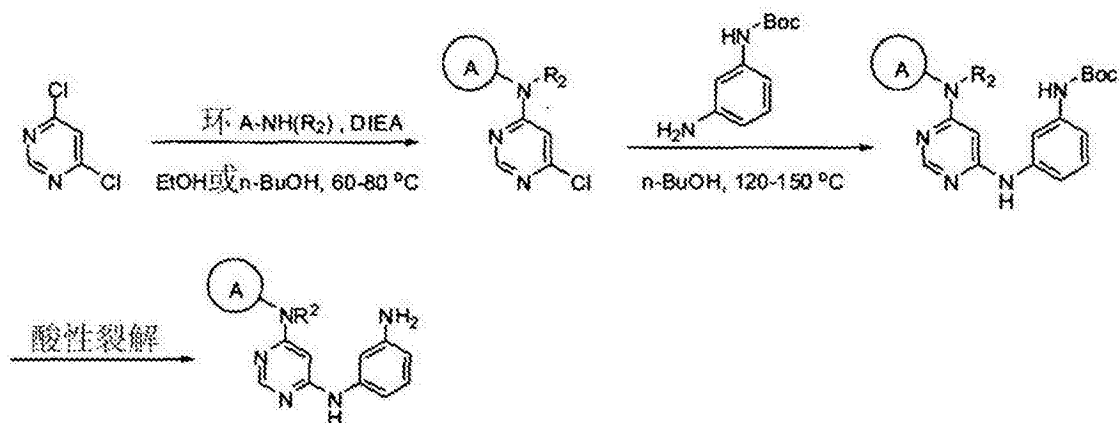
[0572] (c) 从 3-氯-4-(3-氟苄氧基)苯胺得到 3-[6-(3-氯-4-{3-氟苄氧基}苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]-苯胺。(I^R-6)MS(m/z):M⁺ = 436, 438。

[0573] (d) 从苯胺得到 3-[6-(苯基氨基)-嘧啶-4-基]氨基苯胺。(I^R-15)MS(m/z):MH⁺ = 278。

[0574] 方案 2b

[0575] 合成 3-(6-单取代或二取代的氨基嘧啶-4-基)氨基-苯胺的顺序 B

[0576]

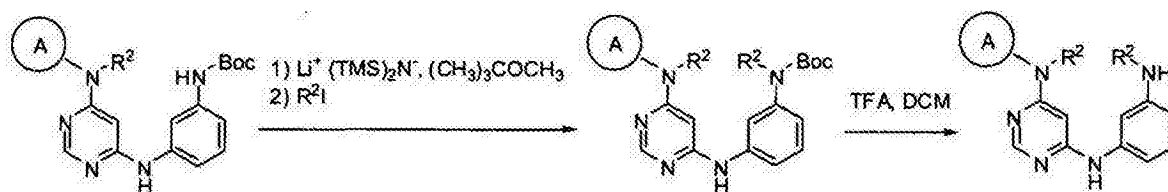


[0577] 合成 3-[6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基-氨基]-苯胺 (I^R-17)。将 4-溴-2-氟苯胺 (701mg, 3.69mmol)、二异丙基乙胺 (0.70mL, 4.03mmol) 和 4,6-二氯嘧啶 (500mg, 3.36mmol) 于 EtOH(10mL) 中的溶液在 85°C 油浴中加热 5 天。对残留物进行快速色谱法 (2% MeOH/CHCl₃), 得到 380mg 呈浅黄色固体状的 N-(4-溴-2-氟苯基)-6-氯嘧啶-4-胺 (37%)。MS(m/z): 304, 302。将 N-(4-溴-2-氟苯基)-6-氯嘧啶-4-胺 (0.37g, 1.22mmol) 和 3-氨基苯基氨基甲酸叔丁酯 (0.28g, 1.35mmol) 于 n-BuOH(4mL) 中的悬浮液在 120-130°C 的油浴中加热 6 小时。冷却并浓缩反应混合物, 得到 0.68g 棕色泡沫状物。进行快速色谱法, 得到 0.16g 呈白色固体状的 3-(6-[4-溴-2-氟苯基]氨基嘧啶-4-基)氨基苯基氨基甲酸叔丁酯 (28%)。MS(m/z): (M+H) 476, 474。将 3-(6-[4-溴-2-氟苯基]氨基嘧啶-4-基)氨基苯基氨基甲酸叔丁酯 (0.15g, 0.32mmol) 溶解于 4M HCl 的二噁烷 (5mL) 溶液中。数分钟后, 白色固体开始沉淀。使混合物静置 3 小时并通过旋转蒸发加以浓缩。加入饱和碳酸氢钠水溶液 (5mL), 并对混合物进行数分钟声波处理。通过过滤来收集固体, 用水 (5mL) 洗涤, 并在真空下干燥过夜, 得到 0.12g 呈白色粉末状的 3-[6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基-氨基]-苯胺 (I^R-17) (100%)。MS(m/z): (M+H) 376, 374。

[0578] 方案 2c

[0579] 合成 3-(6-单取代或二取代的氨基嘧啶-4-基)氨基-N 上经取代的苯胺

[0580]



[0581] 合成 N-3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)苯基-N-甲基氨基甲酸叔丁酯在 N₂ 下, 在 0°C 下, 向 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)苯基氨基甲酸叔丁酯 (2.000g, 6.235mmol) 于 10mL THF 中的搅拌溶液中逐滴加入 1.0M 双(三甲基甲硅烷基)胺化锂的叔丁基甲基醚 (6.23mL, 6.23mmol) 溶液。在 0°C 下搅拌淡黄色溶液 30 分钟, 接着加入碘甲烷 (0.43mL, 6.892mmol, 1.1 当量)。使溶液缓慢升温至室温过夜, 浓缩, 接着分配于 EtOAc 与饱和 KH₂PO₄ 溶液之间。用盐水溶液洗涤有机萃取物, 干燥 (MgSO₄), 过滤, 在真空中浓缩并进行色谱法 (硅胶, 2% MeOH 的 CH₂Cl₂ 溶液), 得到 0.904g 呈灰白色固体状的 N-3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)苯基-N-甲基氨基甲酸叔丁酯。MS(m/z) M+1 = 335/337 (100/44%), ¹H NMR(CDCl₃) δ 8.48 (s, 1H), 7.49 (bs, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.24 (m, 1H), 6.91 (m, 1H), 6.71 (bs, 1H), 6.30 (s, 1H), 3.48

(s, 3H), 1.53(s, 9H)。

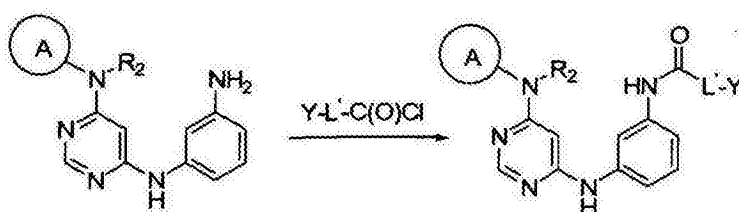
[0582] 合成 N-3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基-N-甲基胺 (Int-C) 用三氟乙酸 (5mL) 处理 N-3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)苯基-N-甲基氨基甲酸叔丁酯 (0.486g, 1.095mmol) 于 25mL CH_2Cl_2 中的溶液。在 N_2 下在室温下搅拌溶液 2 小时, 浓缩并分配于 CHCl_3 与 10% NH_4OH 水溶液之间。用盐水溶液洗涤有机萃取物, 干燥 (MgSO_4), 过滤, 并浓缩, 得到 0.630g 呈黄色油状的 N-3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基-N-甲基胺 (Int-C)。MS(m/z): 344/346 (M+1, 100/68%)。TLC(SiO_2 , 10% MeOH 的 CHCl_3 溶液): R_f 0.44。

[0583] 实例 3

[0584] 方案 3a

[0585] 合成 3-(6-单取代或二取代的氨基嘧啶-4-基)氨基-苯胺的顺序 B

[0586]



[0587] 其中 L' 为如本文中定义的 L 的子集, 使得 $Y-L'C(O)Cl$ 可形成所提供的化合物, 其中 R^1 为 $-L-Y$, 其中 L 的末端亚甲基单元经 $-NHC(O)-$ 置换。

[0588] 合成 N-{3-[6-(3-溴苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]-苯基}-2-丙烯酰胺 (I-1) 在室温下搅拌 3-[6-(3-溴苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺 (250mg, 0.7mmol) 和三乙胺 (180mg, 1.75mmol) 于 5mL THF 中的溶液。向反应混合物中加入丙烯酰氯 (80mg, 0.9mmol) 并在室温下搅拌 1 小时。通过真空蒸发去除溶剂, 并通过使用 EtOAc/DCM 溶剂系统的硅胶快速色谱法来纯化粗产物, 得到 115mg 呈浅色固体状的标题化合物 (产率是 40%)。MS(m/z): MH^+ = 410, 412。 ^1H NMR(DMSO): 10.15(s, 1H), 9.36(s, 1H), 9.28(s, 1H), 8.34(s, 1H), 8.02(s, 1H), 8.00(s, 1H), 7.51-7.11(m, 5H), 6.47(dd, 1H, $J_1 = 10.1\text{Hz}$, $J_2 = 17.0\text{Hz}$), 6.27(dd, 1H, $J_1 = 1.9\text{Hz}$, $J_2 = 17.0\text{Hz}$), 6.20(s, 1H), 5.76(dd, 1H, $J_1 = 10.1\text{Hz}$, $J_2 = 1.9\text{Hz}$) ppm。

[0589] 以实质上类似于方案 3a 中所述的方式制备以下化合物:

[0590] (a) 从 4-[6-(3-溴苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺和丙烯酰氯得到 N-{4-[6-(3-溴苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基}-2-丙烯酰胺 (I-93)。MS(m/z): MH^+ = 410, 412。 ^1H NMR(DMSO): 10.10(s, 1H), 9.33(s, 1H), 9.17(s, 1H), 8.30(s, 1H), 8.02(s, 1H), 7.62(m, 2H), 7.46(m, 3H), 7.22(t, 1H, $J = 8.0\text{Hz}$), 7.10(d, 1H, $J = 8.0\text{Hz}$), 6.43(dd, 1H, $J_1 = 10.0\text{Hz}$, $J_2 = 17.0\text{Hz}$), 6.24(d, 1H, $J = 17.0\text{Hz}$), 6.13(s, 1H), 5.73(d, 1H, $J = 10.0\text{Hz}$) ppm。

[0591] (b) 从 3-[6-(3-溴苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺和丙酰氯得到 N-{3-[6-(3-溴苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基}-丙酰胺 (I^R-3)。MS(m/z): MH^+ = 412, 414。 ^1H NMR(DMSO): 9.78(s, 1H), 9.28(s, 1H), 9.16(s, 1H), 8.26(s, 1H), 7.96(s, 1H), 7.76(s, 1H), 7.43(d, 1H, $J = 8.2\text{Hz}$), 7.20(m, 2H), 7.05(m, 3H), 6.12(s, 1H), 2.27(q, 2H, $J = 7.6\text{Hz}$), 1.03(t, 3H, $J = 7.6\text{Hz}$) ppm。

[0592] (c) 从 3-[6-(3-溴苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺和 (E)-2-丁烯酰氯得到

(E)-N-{3-[6-(3-溴苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]-苯基}-2-丁烯酰胺 (I-8)。MS(m/z): $M+H^+$ = 424, 426。 1H NMR(DMSO): 9.87(s, 1H), 9.29(s, 1H), 9.18(s, 1H), 8.27(s, 1H), 7.96(s, 1H), 7.82(s, 1H), 7.44(d, 1H, $J = 8.2\text{Hz}$), 7.20(m, 4H), 7.05(dd, 1H, $J_1 = 1.0\text{Hz}$, $J_2 = 7.8\text{Hz}$), 6.75(m, 1H), 6.15(m, 2H), 1.81(d, 3H, $J = 7.8\text{Hz}$) ppm。

[0593] (d) 从 3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺 (I^R-4) 和丙烯酰氯得到 N-{3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基}-2-丙烯酰胺 (I-2)。MS(m/z): MH^+ = 384, 386。 1H NMR(DMSO): 9.29(s, 1H), 9.20(s, 1H), 8.27(s, 1H), 7.93(m, 1H), 7.86(s, 1H), 7.41(m, 1H), 7.25(m, 5H), 6.42(dd, 1H, $J_1 = 10.1\text{Hz}$, $J_2 = 17.0\text{Hz}$), 6.22(dd, 1H, $J_1 = 1.9\text{Hz}$, $J_2 = 17.0\text{Hz}$), 6.09(d, 1H, $J_1 = 0.7\text{Hz}$), 5.69(dd, 1H, $J_1 = 10.1\text{Hz}$, $J_2 = 1.9\text{Hz}$) ppm。

[0594] (e) 从 3-[6-(3-甲基苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺和丙烯酰氯得到 N-{3-[6-(3-甲基苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基}-2-丙烯酰胺 (I-4)。MS(m/z): $M+H^+$ = 346。 1H NMR(DMSO): 9.11(s, 1H), 9.00(s, 1H), 8.21(s, 1H), 7.86(d, 1H, $J = 1.7\text{Hz}$), 7.31-7.05(m, 7H), 6.74(d, 1H, $J = 7.6\text{Hz}$), 6.41(dd, 1H, $J_1 = 10.0\text{Hz}$, $J_2 = 17.0\text{Hz}$), 6.20(dd, 1H, $J_1 = 2.0\text{Hz}$, $J_2 = 17.0\text{Hz}$), 6.14(s, 1H), 5.69(dd, 1H, $J_1 = 10.1\text{Hz}$, $J_2 = 2.0\text{Hz}$), 2.23(s, 3H) ppm。

[0595] (f) 从 3-{6-[3-氯-4-(3-氟苯基)甲氧基苯基氨基]-嘧啶-4-基氨基}苯胺 (I^R-6) 和丙烯酰氯得到 N-{3-[6-(3-氯-4-(3-氟苯基)甲氧基苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基}-2-丙烯酰胺 (II-6)。MS(m/z): $M+H^+$ = 490, 492。 1H NMR(DMSO): 9.13(s, 1H), 9.07(s, 1H), 8.22(s, 1H), 7.85(d, 1H, $J = 1.5\text{Hz}$), 7.40-7.10(m, 10H), 6.41(dd, 1H, $J_1 = 10.0\text{Hz}$, $J_2 = 17.0\text{Hz}$), 6.20(dd, 1H, $J_1 = 2.0\text{Hz}$, $J_2 = 17.0\text{Hz}$), 6.05(s, 1H), 5.70(dd, 1H, $J_1 = 10.1\text{Hz}$, $J_2 = 2.0\text{Hz}$), 5.14(s, 2H) ppm。

[0596] (g) 从 4-苯氧基苯胺得到 3-[6-(4-苯氧基苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺 (I^R-7) 和丙烯酰氯得到 N-{3-[6-(4-苯氧基苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基}-2-丙烯酰胺 (I-13)。MS(m/z): MH^+ = 424。 1H NMR(DMSO): 9.14(s, 1H), 9.10(s, 1H), 8.22(s, 1H), 7.89(s, 1H), 7.52(d, 2H, $J = 9.0\text{Hz}$), 7.35-6.92(m, 11H), 6.42(dd, 1H, $J_1 = 10.1\text{Hz}$, $J_2 = 16.9\text{Hz}$), 6.22(dd, 1H, $J_1 = 1.9\text{Hz}$, $J_2 = 16.9\text{Hz}$), 6.12(s, 1H), 5.70(dd, 1H, $J_1 = 1.9\text{Hz}$, $J_2 = 10.1\text{Hz}$) ppm。

[0597] (h) 从 3-[6-(N-甲基-N-苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺 (I^R-8) 和丙烯酰氯得到 N-{3-[6-(N-甲基-N-苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基}-2-丙烯酰胺 (I-15): 灰白色固体; 70mg; 20%; MS(m/z): MH^+ = 346。 1H NMR(DMSO): 10.02(s, 1H), 9.00(s, 1H), 8.25(s, 1H), 7.85(s, 1H), 7.45-7.12(m, 6H), 6.45(dd, 1H), 6.20(d, 1H), 5.70(m, 1H), 3.35(s, 3H) ppm。

[0598] (i) 从 3-{[6-(3-氯-4-(2-吡啶基)甲氧基苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基}苯胺 (I^R-9) 和丙烯酰氯得到 N-(3-(6-(3-氯-4-(吡啶-2-基甲氧基)苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯基)-2-丙烯酰胺 (I-16)。MS(m/z): MH^+ = 473, 475(3:1)。 1H NMR(DMSO): 10.10(s, 1H), 9.17(s, 1H), 9.08(s, 1H), 8.55(m, 1H), 8.24(s, 1H), 7.92-7.73(m, 4H), 7.57(d, 1H), 7.38-7.06(m, 5H), 6.45(dd, 1H), 6.23(dd, 1H), 6.08(s, 1H), 5.72(dd, 1H), 5.20(s, 2H) ppm。

[0599] (j) 从 3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺 (I^R-4) 和 1-氰基环丙烷羰基氯得到 N-[3-(6-{3-氯-4-氟苯基氨基}嘧啶-4-基)氨基]苯基-1-氰基环

丙烷甲酰胺 (I-47)。MS(m/z): M+1 = 423/425, $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 10.04(s, 1H), 9.18(s, 1H), 9.12(s, 1H), 8.27(d, 1H), 7.88(s, 1H), 7.8(s, 1H), 7.47-7.16(m, 9H), 6.74(b, 1H), 6.28(d, 1H), 6.1(s, 1H), 5.19(s, 2H), 3.05(s, 2H), 2.18(s, 6H)。

[0600] (k) 从 3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺 (I^R -4) 和氯乙酰氯得到 2-氯-N-[3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]-苯基]-乙酰胺 (I-49)。MS(ES^+): (M+1) $^+$ = 406(100%), (M+3) $^+$ = 408(75%)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ 10.31(s, 1H), 9.37(s, 1H), 9.30(s, 1H), 8.33(s, 1H), 8.00(m, 1H), 7.87(s, 1H), 7.47-7.24(m, 5H), 6.15(s, 1H), 4.26(s, 2H)。

[0601] (l) 从 3-[6-(3-氯-4-氟苯基)氨基嘧啶-4-基]氨基苯胺 (I^R -4) 和 2-氯丙酰氯得到 2-氯-N-[3-(6-{3-氯-4-氟苯基}氨基嘧啶-4-基)氨基苯基]丙酰胺 (I-50)。MS(ES^+): (M+1) $^+$ = 420(100%), (M+3) $^+$ = 422(75%)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ 10.32(s, 1H), 9.37(s, 1H), 9.28(s, 1H), 8.33(s, 1H), 8.00-7.98(m, 1H), 7.87(s, 1H), 7.47-7.26(m, 5H), 6.14(s, 1H), 4.69(四重峰, 1H), 1.61(d, 3H)。

[0602] (m) 从 3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)嘧啶-4-基氨基]苯胺 (I^R -4) 和 1-三氟甲基环丙烷羰基氯得到 N-[3-(6-{3-氯-4-氟苯基}氨基嘧啶-4-基)氨基苯基]-1-三氟甲基环丙烷甲酰胺 (I-51)。MS(ES) (m/z): 466/468 [M+1, 100/45%]。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 9.61(m, 1H), 9.07-9.18(m, 2H), 8.14(m, 1H), 7.63-7.8(m, 2H), 7.03-7.21(m, 5H), 5.94(bs, 1H), 1.12-1.27(m, 4H)。

[0603] (n) 从 N-3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基-N-甲基胺 (Int-D) 和丙烯酰氯得到 N-3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)嘧啶-4-基]氨基苯基-N-甲基-2-丙烯酰胺 (I-53)。MS(m/z): 398/400 (M+1, 100/63%)。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 10.32(s, 1H), 9.21(s, 1H), 8.33(s, 1H), 7.99(bs, 1H), 7.25-7.68(m, 5H), 7.06(bs, 1H), 6.41-6.47(m, 1H), 6.26-6.29(m, 1H), 5.71-5.80(m, 2H)。

[0604] (o) 从 3-[6-(4-溴-2-氟苯基)氨基嘧啶-4-基]氨基苯胺 (I^R -17) 和丙烯酰氯得到 N-3-[6-(4-溴-2-氟苯基氨基)嘧啶-4-基]氨基苯基-2-丙烯酰胺 (I-55)。MS(M+H $^+$) 430, 428。 $^1\text{H NMR}$ (d^6 -DMSO) δ 10.13(s, 1H), 9.25(s, 1H), 9.02(s, 1H), 8.26(s, 1H), 7.91(m, 2H), 7.57(d, J = 11Hz, 1H), 7.45-7.15(m, 4H), 6.46(dd, J = 12 和 10Hz, 1H), 6.26(d, J = 12Hz, 1H), 6.23(s, 1H), 5.75(d, J = 10Hz, 1H)。

[0605] (p) 从 2-[6-(4-苯氧基苯基)氨基-嘧啶-4-基]氨基-6-氨基吡啶 (I^R -11) 和丙烯酰氯得到 N-6-[6-(4-苯氧基苯基)氨基-嘧啶-4-基]氨基吡啶-2-基丙烯酰胺 (I-63) $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ ppm: 5.75(d, J = 10.20Hz, 1H), 6.29(d, J = 17.04Hz, 1H), 6.62(dd, J = 10.08 和 16.92Hz, 1H), 6.96-7.00(m, 4H), 7.07-7.11(m, 1H), 7.18(bd, J = 3.28Hz, 1H), 7.33-7.38(m, 3H), 7.62-7.69(m, 4H), 8.29(s, 1H), 9.13(s, 1H), 9.66(s, 1H), 10.15(s, 1H); MS:m/z 425.3 (M+1)。

[0606] (q) 从 2-[6-(3-甲基苯氧基)-嘧啶-4-基]氨基-6-氨基吡啶 (I^R -12) 和丙烯酰氯得到 N-6-[6-(3-甲基苯氧基)-嘧啶-4-基]氨基吡啶-2-基丙烯酰胺 (I-65) $^1\text{H NMR}$ (CDCl $_3$) δ ppm: 2.40(s, 3H), 5.86(d, J = 9.44Hz, 1H), 6.49-6.61(m, 2H), 6.83(bs, 1H), 6.95-7.05(m, 3H), 7.15(d, J = 7.48Hz, 1H), 7.34(t, J = 15.08Hz, 2H), 7.54(bd, J = 5.56Hz, 1H), 8.78(s, 1H), 10.78(s, 1H); LCMS:m/z 348.8 (M+1)。

[0607] (r) 从 2-[6-(4-苯氧基苯氧基)-嘧啶-4-基]氨基-6-氨基吡啶 (I^R-13) 和丙烯酰氯得到 N-6-[6-(4-苯氧基苯氧基)-嘧啶-4-基]氨基吡啶-2-基]丙烯酰胺 ($I-66$) 1H NMR(MeOD) δ ppm: 5.92(dd, $J = 11.60$, Hz, 1H), 6.50-6.54(m, 2H), 6.75-7.28(m, 10H), 7.37-7.41(m, 2H), 7.91(t, $J = 16.08$ Hz, 1H), 8.63(s, 1H); LCMS: m/z 426 (M+1)。

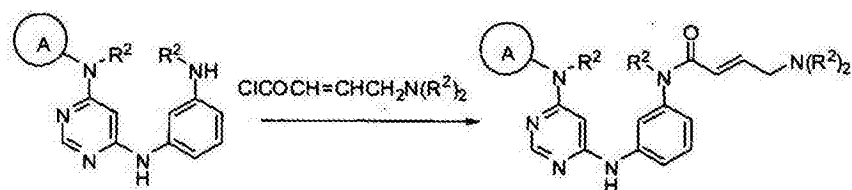
[0608] (s) 从 3-[6-(苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺 (I^R-15) 丙烯酰氯得到 N-3-[6-(苯基氨基)-嘧啶-4-基]氨基苯基丙烯酰胺 ($I-67$) 1H NMR(DMSO- d_6) δ ppm: 5.72(dd, $J = 2.04$ 和 10.04 Hz, 1H), 6.19(s, 1H), 6.25(dd, $J = 2$ 和 16.92 Hz, 1H), 6.46(dd, $J = 10.04$ 和 16.88 Hz, 1H), 6.96(t, $J = 7.36$ Hz, 1H), 7.19-7.31(m, 4H), 7.54(d, $J = 7.68$ Hz, 2H), 7.91(s, 1H), 8.26(s, 1H), 9.13(s, 1H), 9.18(s, 1H), 10.11(s, 1H); MS: m/z 332.8 (M+1)。

[0609] 实例 4

[0610] 方案 4a

[0611] 合成 N-3-(6-单取代或二取代的氨基嘧啶-4-基)氨基-N 上经单取代或未经取代的苯基-4-经取代的氨基-2-丁烯酰胺的顺序 A

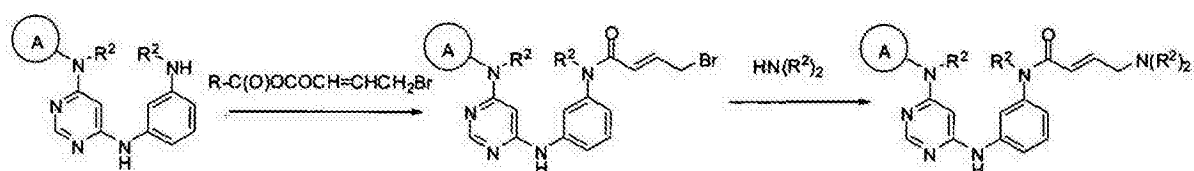
[0612]



[0613] 方案 4b

[0614] 合成 N-3-(6-单取代或二取代的氨基嘧啶-4-基)氨基-N 上经单取代或未经取代的苯基-4-经取代的氨基-2-丁烯酰胺的顺序 B

[0615]



[0616] 合成 (E)-N-(3-(6-(3-氯-4-(吡啶-2-基甲氧基)苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基)苯基)-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰胺 ($I-19$)。将 3-[[6-(3-氯-4-(2-吡啶基)甲氧基苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺 (I^R-9) 溶解于 N-甲基吡咯烷酮 (1.2mL) 中, 并经 10 分钟逐滴加入 (E)-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰氯盐酸盐于乙腈中的冰冷溶液中。在冰浴中搅拌反应物 2 小时。向混合物中加入碳酸氢钠, 达到 9 以上的 pH 值。用 EtOAc (3×25mL) 萃取所形成的油状物。一部分物质不可溶, 搁置一旁。干燥 ($MgSO_4$) 有机层, 过滤且蒸发, 形成暗红色油状物。如 TLC: $SiO_2:CHCl_3:MeOH/NH_4OH$ (8:1) 19:1 所示, 两种油状物都含有大量产物。合并这些油状物, 并通过硅胶快速柱色谱 (25×300mm) 纯化, 其中首先用 8/15% 甲醇/氢氧化铵洗脱来去除非极性杂质, 接着用 8/110% 甲醇/氢氧化铵洗脱得到 59mg 产物。通过第二硅胶快速柱色谱 (25×250mm), 用 8/110% 甲醇/氢氧化铵洗脱, 来进一步纯化样品, 得到标题化合物 (16.3mg, 0.03mmol, 产率是 6.4%)。MS(ES+) 530 (M+): 552, (M+Na); 1H NMR(DMSO- d_6 , 500MHz) δ (ppm): 10.04(s, 1H), 9.19(s, 1H), 9.14(s, 1H), 8.60(s, 1

H), 8.27 (s, 1H), 7.88 (s, 2H), 7.57 (s, 1H), 7.36 (d, 1H, J = 7.4Hz), 7.29 (d, 2H, J = 7.8Hz), 7.22 (d, 2H, J = 7.9Hz), 7.18 (m, 2H), 6.74 (m, 1H), 6.30 (d, 1H, J = 15Hz) 6.10 (s, 1H), 5.24 (s, 2H), 3.06 (s, 2H), 2.18 (s, 6H) ppm; HPLC: t_R = 5.15min, 97.5 % (YMC-Pack ODS-A4. 6×100mm, 80%水 / 20%乙腈至 5%水 / 95%乙腈, 历经 5.5 分钟, 保持 9 分钟)。

[0617] 合成 (E)-N-3-(6-[3-甲基苯基]氨基嘧啶-4-基)氨基苯基-4-溴-2-丁烯酰胺 (Int-D) 向在氮气氛围下在 0℃ 下的 4-溴-丁-2-烯酸 (0.72g)、和三乙胺 (0.61mL, 4.38mmol) 于 5mL THF 中的搅拌溶液中加入氯甲酸异丁酯 (0.56mL, 4.32mmol)。搅拌混合物 15 分钟, 接着逐滴加入 N-(3-氨基-苯基)-N'-3-甲基苯基氨基-嘧啶-4,6-二胺 (1.015g, 3.483mmol) 于 50mL THF 中的溶液。使反应物升温至室温过夜。接着浓缩样品, 分配于 EtOAc 与饱和 NaHCO₃ 溶液之间。用盐水溶液洗涤有机萃取物, 干燥 (MgSO₄), 过滤并浓缩。用二乙醚洗涤所得棕色泡沫状固体并真空干燥, 得到 0.960g 呈砖棕色固体状的粗 (E)-N-3-(6-[3-甲基苯基]氨基嘧啶-4-基)氨基苯基-4-溴-2-丁烯酰胺 (Int-D)。MS(m/z): (M+1) 438/440 (71/75%)。

[0618] 合成 (E)-N-3-(6-[3-甲基苯基]氨基嘧啶-4-基)氨基苯基-4-(甲基-丙-2-炔基)氨基-2-丁烯酰胺 (I-58) 在 N₂ 下, 在 0℃ 下, 向 N-[3-(6-{3-甲基苯基}氨基-嘧啶-4-基氨基)-4-溴-2-丁烯酰胺 (Int-D) (0.492g, 1.122mmol) 和三乙胺 (0.20mL, 1.44mmol) 于 10mL THF 中的搅拌溶液中加入 (通过注射器) N-甲基-炔丙胺 (0.11mL, 1.173mmol)。使溶液升温至室温过夜, 浓缩, 接着分配于 EtOAc 与饱和 NaHCO₃ 溶液之间。用盐水溶液洗涤有机萃取物, 干燥 (MgSO₄), 过滤并浓缩。对残留物进行色谱法 (硅胶, 10% MeOH 的 CHCl₃ 溶液), 得到 0.110g (E)-N-3-(6-[3-甲基苯基]氨基嘧啶-4-基)氨基苯基-4-(甲基-丙-2-炔基)氨基-2-丁烯酰胺 (I-58)。MS(APCI)m/z 427 (M+1, 100%)。¹H NMR(DMSO-d₆) δ 10.06 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 9.17 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.16-7.36 (m, 6H), 6.70-6.73 (m, 1H), 6.79 (d, 1H), 6.20 (s, 1H), 6.32 (d, 1H), 3.30-3.49 (m), 3.14-3.27 (m, 3H), 2.18-2.39 (m, 7H, 在 δ 2.25[3H] 和 δ 2.29[3H] 处含有单峰)。

[0619] 合成 (E)-N-3-(6-[3-甲基苯基]氨基嘧啶-4-基)氨基苯基-4-哌嗪基-2-丁烯酰胺 (I-57) 在 N₂ 下, 在 0℃ 下, 向 N-[3-(6-{3-甲基苯基}氨基-嘧啶-4-基氨基)-4-溴-2-丁烯酰胺 (Int-D) (2.15g, 4.91mmol) 和三乙胺 (0.86mL, 6.17mmol) 于 10mL THF 中的搅拌溶液中逐滴加入 1-Boc-哌嗪 (0.92g, 4.91mmol) 于 10mL THF 中的溶液。使溶液升温至室温过夜, 浓缩, 接着分配于 EtOAc 与饱和 NaHCO₃ 溶液之间。用盐水溶液洗涤有机萃取物, 干燥 (MgSO₄), 过滤并浓缩, 得到 2.76g 呈胶状棕色固体状的 4-{3-[3-(6-{3-甲基苯基}氨基-嘧啶-4-基氨基)-苯基氨基]-炔丙基}-哌嗪-1-甲酸叔丁酯。将此物质溶解于 100mL CH₂Cl₂ 中。加入 20mL 三氟乙酸并在 N₂ 下在室温下搅拌混合物 2 小时。在真空中浓缩混合物, 用饱和 NaHCO₃ 溶液碱化并用 EtOAc (2×100mL) 萃取。干燥合并的有机萃取物 (MgSO₄), 过滤并在真空中浓缩。对残留物进行色谱法 (硅胶, 5% MeOH 的 CHCl₃ 溶液 [500mL], 接着 1% NH₄OH-10% MeOH 的 CHCl₃ 溶液), 得到 0.404g (E)-N-3-(6-[3-甲基苯基]氨基嘧啶-4-基)氨基苯基-4-哌嗪基-2-丁烯酰胺。(I-57) MS(m/z): 444 (M+1, 100%)。¹H NMR(DMSO-d₆) δ 10.03 (s, 1H), 9.17 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.17-7.36 (m, 6H), 6.79-6.80 (d, 1H), 6.72-6.75 (m, 1H), 6.29 (d, 1H), 6.20 (s, 1H), 3.08-3.39 (m, 含有水和约 3H), 2.70-2.72 (m, 4H), 2.30-2.42 (m, 4H), 2.29 (s, 3H)。

[0620] 以实质上类似于上文方案 4a 中所述的方式制备以下化合物：

[0621] (a) 从 3-(6-[3-氯-4-{3-氟苄氧基}]苯基氨基)-嘧啶-4-基)氨基苯胺 (I^R-6) 和 4-二甲基氨基-2-丁烯酰氯得到 (E)-N-3-([6-(3-氯-4-{3-氟苄氧基})苯基氨基)-嘧啶-4-基)氨基苯基-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰胺 (I-46)。MS(m/z): M^+ = 547, 549 (3:1), 1H -NMR(DMSO- d_6) δ 10.04(s, 1H), 9.18(s, 1H), 9.12(s, 1H), 8.27(d, 1H), 7.88(s, 1H), 7.8(s, 1H), 7.47-7.16(m, 9H), 6.74(b, 1H), 6.28(d, 1H), 6.1(s, 1H), 5.19(s, 2H), 3.05(s, 2H), 2.18(s, 6H)。

[0622] (b) 从 3-[6-(3-甲基苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺 (I^R-5) 和 4-(二甲基氨基)-2-丁烯酰氯得到 (E)-N-{3-[6-(3-甲基苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基}-4-二甲基氨基-2-丁烯酰胺 (I-17)。MS(m/z): MH^+ = 403。

[0623] (c) 从 3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺 (I^R-4) 和 4-(二甲基氨基)-2-丁烯酰氯得到 (E)-N-{3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基}-4-二甲基氨基-2-丁烯酰胺 (I-18)。MS($M+H^+$) 441, 443; 1H NMR(400MHz, d^6 -DMSO) δ 10.01(s, 1H), 9.30(s, 1H), 9.20(s, 1H), 8.28(s, 1H), 7.95(dd, $J = 7$ 和 3Hz, 1H), 7.86(s, 1H), 7.41(m, 1H), 7.35-7.10(m, 3H), 6.69(dt, $J = 15$ 和 5Hz, 1H), 6.26(d, $J = 15$ Hz, 1H), 6.11(s, 1H), 3.02(d, $J = 5$ Hz, 2H), 2.14(s, 6H) ppm。

[0624] (d) 从 N-3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基-N-甲基胺 (Int-C) 和 4-二甲基氨基-2-丁烯酰氯得到 (E)-N-(3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基)-N-甲基-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰胺 (I-48) MS(ES) (m/z): 455/457 ($M+1$, 37/13%) 和 228 (100%)。 1H NMR(DMSO- d_6) δ 10.22(s, 1H), 9.20(s, 1H), 8.33(s, 1H), 7.99(bs, 1H), 7.25-7.68(m, 5H), 7.05(bs, 1H), 6.73-6.76(m, 1H), 6.26-6.29(m, 1H), 5.71(s, 1H), 3.06(bs, 2H), 1.99(s, 6H)。

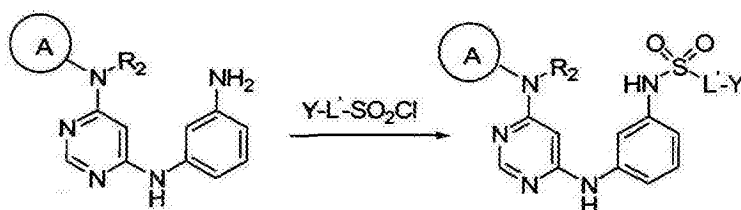
[0625] (e) 从 3-[6-(4-苯氧基苯基氨基)-嘧啶-4-基]氨基苯胺 (I^R-7) 和 4-二甲基氨基-2-丁烯酰氯得到 (E)-N-3-[6-(4-苯氧基苯基)氨基-嘧啶-4-基]氨基苯基-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰胺 (I-62) 1H NMR(DMSO- d_6) δ ppm: 2.19(s, 6H), 3.07(d, $J = 5.36$ Hz, 2H), 6.16(s, 1H), 6.29(d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 6.68-6.75(m, 1H), 6.95-6.98(m, 4H), 7.06-7.10(m, 1H), 7.20(dd, $J = 7.88$ 和 8.12Hz, 1H), 7.24(d, $J = 8.32$ Hz, 2H), 7.36(dd, $J = 7.52$ 和 7.84Hz, 2H), 7.55(d, $J = 8.76$ Hz, 2H), 7.90(s, 1H), 8.24(s, 1H), 9.15(d, $J = 8.84$ Hz, 2H), 10.04(s, 1H); LCMS: m/z 481 ($M+1$)。

[0626] 实例 5

[0627] 方案 5a

[0628] 合成 N-{3-[6-(芳基氨基)-嘧啶-4-基氨基]-苯基}-乙烯磺酰胺

[0629]



[0630] 其中 L' 为如本文中定义的 L 的子集, 使得 $Y-L'SO_2Cl$ 可形成所提供的化合物, 其

中 R^1 为 $-L-Y$, 其中 L 的末端亚甲基单元经 $-NHSO_2-$ 置换。

[0631] 合成 N -{3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基}-乙烯磺酰胺 (I-3) 在室温下搅拌 3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺 (I^R-4) (300mg, 0.9mmol) 和三乙胺 (500mg, 5mmol) 于 10mL THF 中的溶液。向反应混合物中加入 2-氯乙烷磺酰氯 (360mg, 2.25mmol) 并在室温下继续搅拌 1 小时。通过使用 EtOAc/庚烷溶剂系统的硅胶快速色谱法来纯化粗产物, 得到 35mg 标题化合物, 棕色固体 (9%)。MS(m/z): $MH^+ = 420, 422$ 。 1H NMR(DMSO): 9.92(s, 1H), 9.29(s, 1H), 9.21(s, 1H), 8.26(s, 1H), 7.92(m, 1H), 7.40-7.22(m, 4H), 7.14(m, 1H), 6.20(m, 2H), 6.05(m, 3H) ppm。

[0632] 以实质上类似于方案 5a 的方式制备以下化合物:

[0633] (a) 从 3-{6-[3-氯-4-(3-氟苯基)甲氧基苯基氨基]-嘧啶-4-基氨基}苯胺 (I^R-6) 得到 N -{3-[6-(3-氯-4-(3-氟苯基)甲氧基-苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基}-乙烯磺酰胺 (I-7)。MS(m/z): $M+H^+ = 526, 528$ (2:1)。MS(m/z): $M+H^+ = 490, 492$ (2:1)。 1H NMR(DMSO): 9.91(s, 1H), 9.16(s, 1H), 9.07(s, 1H), 8.22(s, 1H), 7.73(s, 1H), 7.40-7.10(m, 9H), 6.70(m, 2H), 6.12(d, 1H, $J = 17.0$ Hz), 6.02(m, 2H), 5.14(s, 2H) ppm。

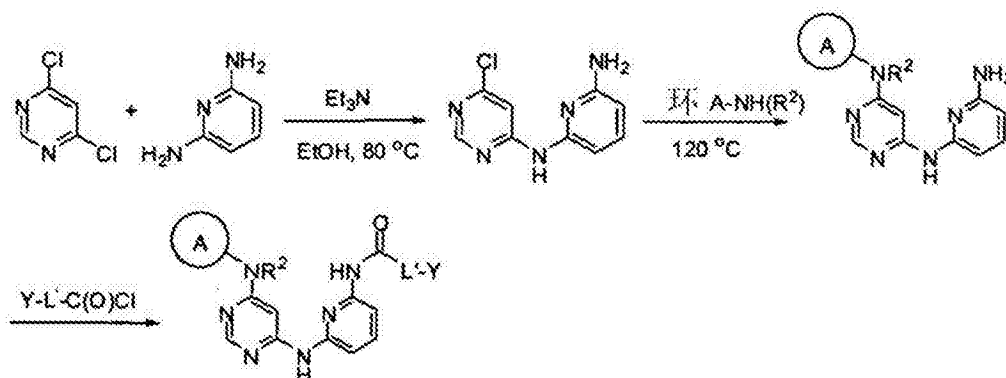
[0634] (b) 从 3-[6-(3-甲基苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯胺 (I^R-5) 得到 N -{3-[6-(3-甲基苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基}-乙烯磺酰胺 (II-5)。MS(m/z): $M+H^+ = 382$ 。 1H NMR(DMSO): 9.90(s, 1H), 9.12(s, 1H), 9.00(s, 1H), 8.21(s, 1H), 7.37(d, 1H, $J = 1.7$ Hz), 7.26(m, 3H), 7.13(m, 2H), 6.70(m, 3H), 6.13(m, 2H), 6.00(d, 1H, $J = 10.0$ Hz), 2.24(s, 3H) ppm。

[0635] 实例 6

[0636] 方案 6a

[0637] 合成 N^2 -酰化 6-(6-单取代或二取代的氨基嘧啶-4-基)氨基-2-氨基吡啶

[0638]



[0639] 合成 N -(6-氯-嘧啶-4-基)-吡啶-2,6-二胺在密封小瓶中, 将 2,6-二氨基吡啶 (1.530g, 14.020mmol) 和 4,6-二氯嘧啶 (2.610g, 17.519mmol) 于 15mL 正丁醇中的混合物在 $100^\circ C$ 下加热 72 小时。冷却深棕色样品, 浓缩以去除大部分正丁醇, 接着分配于 EtOAc 与饱和 $NaHCO_3$ 溶液之间。形成乳液, 通过硅藻土垫过滤样品并分离各层。用饱和 KH_2PO_4 和盐水溶液洗涤有机萃取物, 干燥 ($MgSO_4$), 过滤并浓缩, 得到棕色油状固体。将样品悬浮于 50mL CH_2Cl_2 中, 冷却并过滤, 得到 1.017g 呈黄橙色固体状的 N -(6-氯-嘧啶-4-基)-吡啶-2,6-二胺。MS(ES) (m/z) 222/224 ($M+1, 100/63\%$)。TLC($SiO_2, 50\%$ EtOAc 的己烷溶液): $R_f 0.33$ 。

[0640] 合成 N-(6-氨基-吡啶-2-基)-N'-(3-氯-4-氟苯基)-嘧啶-4,6-二胺 (Int-E) 在密封小瓶中, 将 N-(6-氯-嘧啶-4-基)-吡啶-2,6-二胺 (1.000g, 4.512mmol) 和 3-氯-4-氟苯胺 (1.380mmol) 于 10mL 正丁醇中的混合物在 120°C 下加热 24 小时。冷却样品, 浓缩以去除大部分正丁醇, 接着用 EtOAc 和饱和 NaHCO₃ 溶液稀释。在室温下搅拌样品 30 分钟并过滤。用新鲜 EtOAc 和水洗涤固体并真空干燥, 得到 1.063g 呈棕褐色固体状的 N-(6-氨基-吡啶-2-基)-N'-(3-氯-4-氟苯基)-嘧啶-4,6-二胺 (Int-E)。MS(ES) (m/z) 331/333 (M+1, 100/65%)。TLC(SiO₂, 10% MeOH 的 CHCl₃ 溶液): R_f 0.25。

[0641] 合成 (E)-N-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)嘧啶-4-基氨基吡啶-2-基]-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰胺 (I-52)

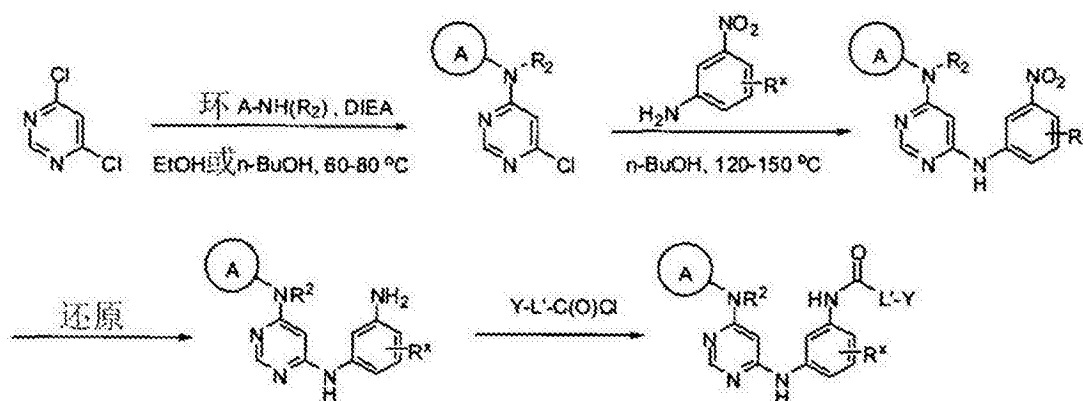
[0642] 在 N₂ 下, 在 0°C 下, 向 4-二甲基氨基-丁-2-烯酸盐酸盐 (0.500g, 3.019mmol) 于 15mL 含 5 滴 DMF 的 THF 中的搅拌悬浮液中逐滴加入 (通过注射器) 草酰氯 (0.28mL, 3.210mmol)。立即开始形成气体。在 0°C 下搅拌样品约 30 分钟, 在室温下搅拌约 2 小时, 再冷却至 0°C, 接着通过逐滴加入 N-(6-氨基-吡啶-2-基)-N'-(3-氯-4-氟-苯基)-嘧啶-4,6-二胺 (Int-E) (0.500g, 1.512mmol) 于 15mL THF 和 3mL NMP 中的溶液来处理。移除冰浴, 在室温下搅拌样品 2 小时, 接着分配于 EtOAc 与饱和 NaHCO₃ 溶液之间。用盐水溶液洗涤有机萃取物, 干燥 (MgSO₄), 过滤并浓缩, 得到黄色固体。将固体悬浮于 EtOAc (约 25mL) 中, 在室温下搅拌约 12 小时, 过滤并真空干燥, 得到 0.459g 呈淡黄色固体状的 (E)-N-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)嘧啶-4-基氨基吡啶-2-基]-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰胺 (I-52) (69%)。MS(m/z): 442/444 (M+1, 100/37%)。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 10.19 (s, 1H), 9.78 (s, 1H), 9.43 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.05-8.07 (m, 1H), 7.54-7.72 (m, 4H), 7.32-7.35 (m, 1H), 7.10 (bs, 1H), 6.79-6.82 (m, 1H), 6.54-6.57 (m, 1H), 3.14 (bs, 2H), 2.23 (bs, 6H)。

[0643] 实例 7

[0644] 方案 7a

[0645] 合成 N-酰化 3-(6-单取代或二取代的氨基嘧啶-4-基)氨基经单取代的苯胺

[0646]



[0647] 合成 N-(5-氨基-2-甲基苯基)-N'-(3-氯-4-氟苯基)-嘧啶-4,6-二胺 (Int-F) 将 4-(3-氯-4-氟苯基)-6-氯嘧啶-4-基胺 (I^R-4) (1.2g, 4.6mmol)、2-甲基-5-硝基苯胺 (0.85g, 5.5mmol) 和 1mL 浓盐酸于 10mL 正丁醇中的混合物在 120°C 下加热 16 小时。在搅拌下, 向反应混合物中加入 5mL EtOAc。过滤所沉淀的淡黄色产物并在真空下干燥, 得到 N-(3-氯-4-氟苯基)-N'-(2-甲基-5-硝基苯基)嘧啶-4,6-二胺。MS(APCI) (m/z): 374/376 (M+1)。将 N-(3-氯-4-氟苯基)-N'-(2-甲基-5-硝基苯基)嘧啶-4,6-二

胺 (0.55g, 1.5mmol) 和铁粉 (35 目, 0.5g, 5 当量) 于 5mL HOAc 和 2mL MeOH 中的混合物回流加热 2 小时。在真空中去除溶剂, 并将深色残留物与 150mL CH_2Cl_2 和 15mL 饱和 K_2CO_3 溶液混合, 且在室温下搅拌 30 分钟。干燥有机层 (MgSO_4), 浓缩, 接着通过快速色谱法 (硅胶, $\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) 来纯化, 得到 0.115g 呈浅色固体状的 N-(5-氨基-2-甲基苯基)-N'-(3-氯-4-氟苯基) 嘧啶-4,6-二胺。(Int-F)MS(m/z):344/346(M+1)。

[0648] 以实质上类似于上文所述的方式, 从 4-(3-氯-4-氟苯基氨基)-6-氯嘧啶和 2-甲氧基-5-硝基苯胺得到 N-(5-氨基-2-甲氧基苯基)-N'-(3-氯-4-氟苯基) 嘧啶-4,6-二胺。(Int-G)MS(m/z):360/362(M+1)。

[0649] 合成 (E)-N-[3-(6-{3-氯-4-氟苯基}氨基)-嘧啶-4-基氨基]-4-甲基苯基]-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰胺 (I-54) 以类似于方案 4a 中所述的方式, 合并 N-(5-氨基-2-甲基苯基)-N'-(3-氯-4-氟苯基) 嘧啶-4,6-二胺 (Int-F) 与 4-二甲基氨基-2-丁烯酰氯, 得到 (E)-N-[3-(6-{3-氯-4-氟苯基}氨基)-嘧啶-4-基氨基]-4-甲基苯基]-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰胺 (I-54)。MS(m/z):455/457(M+1, 100/39%)。 ^1H NMR($\text{DMSO}-d_6$) δ 11.02(bs, 1H), 10.66(bs, 1H), 9.92(bs, 1H), 9.39(bs, 1H), 7.92-7.94(m, 1H), 7.75(bs, 1H), 7.27-7.56(m, 4H), 6.80(m, 1H), 6.54(d, 1H), 5.89(bs, 1H), 3.92(bs, 2H), 2.75(bs, 6H), 2.17(bs, 3H)。

[0650] 以实质上类似于针对合成 (I-54) 所述的方式, 从 N-(5-氨基-2-甲氧基苯基)-N'-(3-氯-4-氟苯基) 嘧啶-4,6-二胺 (Int-G) 和 4-二甲基氨基-2-丁烯酰氯得到 (E)-N-[3-(6-{3-氯-4-氟苯基}氨基)-嘧啶-4-基氨基]-4-甲氧基苯基]-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰胺 (I-59)。MS(m/z):471/473(M+1, 100/41%)。 ^1H NMR($\text{DMSO}-d_6$) δ 9.97(s, 1H), 9.28(s, 1H), 8.46(s, 1H), 8.26(s, 1H), 7.93-7.98(m, 2H), 7.44-7.51(m, 2H), 7.30-7.33(m, 1H), 7.02(d, 1H), 6.69-6.72(m, 1H), 6.26(d, 1H), 6.03(s, 1H), 3.80(s, 3H), 3.05(m, 2H), 2.17(s, 6H)。

[0651] 实例 8

[0652] 合成 2-[6-(3-甲基苯氧基)-嘧啶-4-基]氨基-6-氨基吡啶 ($\text{I}^{\text{R}}-12$)

[0653] 在密封小瓶中, 将 2,6-二氨基吡啶 (1.530g, 14.020mmol) 和 4,6-二氯嘧啶 (2.610g, 17.519mmol) 于 15mL 正丁醇中的混合物在 100°C 下加热 72 小时。冷却深棕色样品并在减压下浓缩以去除大部分正丁醇。接着, 残留物分配于 EtOAc 与饱和 NaHCO_3 溶液之间。形成乳液, 通过硅藻土垫过滤样品并分离各层。用饱和 KH_2PO_4 和盐水溶液洗涤有机萃取物, 干燥 (MgSO_4), 过滤并浓缩, 得到棕色油状固体。将样品悬浮于约 50mL CH_2Cl_2 中, 冷却且过滤, 得到 1.017g 呈黄橙色固体状的 N-(6-氯-嘧啶-4-基)-吡啶-2,6-二胺 (36%)。MS:m/z 222/224(M+1, 100/63%)。向 N-(6-氯-嘧啶-4-基)-吡啶-2,6-二胺 (100mg, 0.45mmol) 于 DMF (1mL) 中的溶液中加入 3-甲基苯酚 (88mg, 0.8mmol) 和无水 K_2CO_3 (93mg, 0.6mmol)。在 145°C 下加热反应混合物 16 小时。接着冷却, 并在减压下去除 DMF, 得到黄色胶状残留物。将残留物溶解于 EtOAc (20mL) 中, 依序用水 (5mL) 和盐水 (5mL) 洗涤, 并经 Na_2SO_4 干燥。过滤, 接着在减压下浓缩, 得到黄色胶状物, 通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, EtOAc/己烷, 5/5) 进一步纯化, 得到 100mg 呈浅黄色固体状的 2-[6-(3-甲基苯氧基)-嘧啶-4-基]氨基-6-氨基吡啶 ($\text{I}^{\text{R}}-12$)。MS:m/z 294(M+H)

[0654] 以实质上类似于上述程序的方式制备以下化合物:

[0655] (a) 从 4- 苯氧基苯酚和 2,6- 二氨基吡啶得到 2-[6-(4- 苯氧基苯氧基)- 嘧啶 -4- 基] 氨基 -6- 氨基吡啶 (I^R-13)MS(m/z):MH⁺ = 372。

[0656] (b) 从 4- 硝基苯酚和 1,3- 二氨基苯得到 3-[6-(4- 硝基苯氧基)- 嘧啶 -4- 基] 氨基 - 氨基苯 (I^R-16)MS(m/z):MH⁺ = 324

[0657] 实例 9

[0658] 合成 N-3-[6-(3- 乙炔基苯基氨基)- 嘧啶 -4- 基] 氨基苯基 -2- 丙烯酰胺 (I-68) 在 N₂ 下, 向 I^R-1 (150mg, 0.42mmol) 于无水 DMF (4.0mL) 中的搅拌溶液中加入 Pd(PPh₃)₂Cl₂ (14.7mg, 0.021mmol)、CuI (3.9mg, 0.021mmol)、PPh₃ (22.07mg, 0.08mmol) 和二乙胺 (94.8mg, 6.3mmol)。再用 N₂ 冲洗反应混合物 10 分钟, 加入三甲基甲硅烷基乙炔 (45.5mg, 0.46mmol), 接着使其经受 120°C 微波照射达 30 分钟。冷却混合物, 用 5mL 水稀释, 通过硅藻土® 过滤, 并用 EtOAc (2×10mL) 萃取。依序用水、盐水洗涤合并的 EtOAc 萃取物, 并经 Na₂SO₄ 干燥。在减压下浓缩, 得到粗产物, 通过柱色谱法 (SiO₂, MeOH/CHCl₃, 1/99) 来纯化, 得到 100mg 棕色固体。在室温下, 在氮气氛围下, 将此物质于 2mL 含有无水 K₂CO₃ (73.9mg, 0.53mmol) 的无水甲醇中的溶液搅拌 16 小时。过滤反应混合物并在减压下浓缩滤液, 得到残留物, 通过柱色谱法 (SiO₂, 230-400, MeOH/CHCl₃, 1/99) 进一步纯化, 得到 70mg 浅棕色固体。在 0°C 下, 向此物质于 NMP (1.0mL) 中的搅拌溶液中加入丙烯酰氯 (105mg, 1.16mmol), 并在 0°C 下搅拌反应混合物 1 小时。接着用水淬灭反应混合物, 用 10% NaHCO₃ 溶液碱化并用 EtOAc 萃取。依序用水和盐水洗涤合并的 EtOAc 萃取物, 经 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩。通过制备型 HPLC 进一步纯化所得残留物, 得到 8mg 呈灰白色固体状的 N-3-[6-(3- 乙炔基苯基) 氨基嘧啶 -4- 基] 氨基 - 苯基 -2- 丙烯酰胺 (I-68)。¹H NMR(DMSO-d₆) δ ppm: 4.15 (s, 1H), 5.73-5.76 (m, 1H), 6.19 (s, 1H), 6.25 (dd, J = 1.96 和 17.00Hz, 2H), 6.46 (dd, J = 10.2 和 16.96Hz, 1H), 7.05 (d, J = 7.64Hz, 1H), 7.21-7.33 (m, 3H), 7.54 (d, J = 7.96Hz, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 9.28 (d, J = 11.08Hz, 2H), 10.13 (s, 1H); MS:m/z 356.8 (M+1)。

[0659] 实例 10

[0660] 合成 N-3-[6-(4-[4-[4- 氯 -3-(三氟甲基) 苯基] 氨基]- 羰基] 氨基) 苯氧基嘧啶 -4- 基] 氨基苯基氯乙酰胺 (I-69)

[0661] 步骤 1: 在 N₂ 氛围下, 向 3-[6-(4- 硝基苯氧基)- 嘧啶 -4- 基] 氨基 - 氨基苯 (I^R-16) (650mg, 2.01mmol) 于 THF (10mL) 中的溶液中加入 Et₃N (305mg, 3.01mmol) 和 (Boc)₂O (525mg, 2.4mmol)。进一步在 60°C 下加热反应混合物 16 小时。冷却至室温并在真空下去除溶剂后, 获得残留物。将残留物溶解于 EtOAc (10mL) 中。依序用水 (5mL) 和盐水 (2mL) 洗涤 EtOAc 萃取物, 经 Na₂SO₄ 干燥。在减压下浓缩, 接着通过柱色谱法 (SiO₂, 60-120, CHCl₃/MeOH, 9/1) 纯化, 得到 400mg 呈黄色固体状的 Boc 衍生物。

[0662] 步骤 2: 在 N₂ 氛围下, 将来自步骤 1 的物质溶解于 MeOH (8mL) 中并加入 10% Pd/C (40mg)。在帕尔装置 (Parr apparatus) 中使反应混合物氢化 (H₂, 3Kg, 室温, 16 小时)。通过硅藻土® 过滤反应混合物并在减压下去除溶剂, 得到 250mg 呈黄色固体状的胺。

[0663] 步骤 3: 向来自步骤 2 的物质中加入 4- 氯 -3- 三氟甲基苯基异氰酸酯的甲苯溶液, 此溶液是通过在氮气氛围下在 0°C 下使 10mL 甲苯中的 24mg 4- 氯 -3- 三氟甲基苯胺与 0.08mL 20% 光气的甲苯溶液反应, 接着加入 Et₃N (0.07mL) 并在 110°C 下维持 16 小时而制

得。将胺与异氰酸酯的反应混合物在 110°C 下进一步加热 4 小时,接着用水 (mL) 淬灭并用 EtOAc (2×20mL) 萃取。用水 (5mL)、盐水 (2mL) 洗涤 EtOAc 萃取物并经 Na₂SO₄ 干燥。过滤,接着在真空下浓缩,得到残留物,通过柱色谱法 (SiO₂, 230-400, 己烷 /EtOAc, 9/1) 纯化,得到 20mg 呈黄色固体状的 Boc/ 脲中间物。

[0664] 步骤 4:在 N₂ 氛围下,于 0°C 下,向 45mg 此中间物于 CH₂Cl₂ (2mL) 中的溶液中加入 TFA (0.01mL)。在室温下搅拌反应混合物 4 小时,依序用 10% NaHCO₃ 溶液 (1mL) 和盐水 (1mL) 洗涤并经 Na₂SO₄ 干燥。在减压下浓缩,得到 25mg 呈微褐色固体状的胺 / 脲中间物。

[0665] 步骤 5:在 N₂ 氛围下,在 0°C 下,向来自步骤 4 的胺 / 脲中间物 (45mg, 0.05mmol) 于 THF (2mL) 和 Et₃N (10mg, 0.1mmol) 中的溶液中加入氯乙酰氯 (55mg, 0.1mmol)。使反应混合物达到室温并搅拌 2 小时。在减压下浓缩反应混合物,并且残留物分配于 EtOAc (4mL) 与水 (1mL) 之间。分离 EtOAc 层,用盐水 (2mL) 洗涤并经 Na₂SO₄ 干燥。过滤,接着在减压下浓缩,得到残留物,通过柱色谱法 (SiO₂, 230-400, CHCl₃/MeOH, 9/1) 进一步纯化,得到呈浅黄色固体状的 N-3-[6-(4-[4-[[[4-氯-3-(三氟甲基)苯基]氨基]羰基]氨基]苯氧基]苯基]氨基-嘧啶-4-基]氨基苯基氯乙酰胺 (I-69)。¹H NMR (MeOD) δ ppm: 4.19 (s, 2H), 6.61 (s, 1H), 7.13 (d, J = 6.92Hz, 2H), 7.14-7.23 (m, 3H), 7.50-7.55 (m, 3H), 7.63-7.66 (m, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 8.30 (s, 1H); MS: m/z 593 (M+1)。

[0666] 实例 11

[0667] 合成 (E)-N-3-(6-[3-甲基苯基氨基]-嘧啶-4-基)氨基苯基-4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)-2-丁烯酰胺 (I-60)

[0668] 在 N₂ 下,在 0°C 下,向 (E)-N-3-(6-[3-甲基苯基]氨基嘧啶-4-基)氨基苯基-4-哌嗪基-2-丁烯酰胺 (I-57) (0.291g, 0.655mmol) 和三乙胺 (0.14mL, 1.004mmol) 于 10mL THF 中的搅拌溶液中加入 (通过注射器) 乙酰氯 (0.05mL, 0.70mmol)。使样品升温至室温过夜,浓缩,接着分配于 EtOAc 与饱和 NaHCO₃ 溶液之间。用盐水溶液洗涤有机萃取物,干燥 (MgSO₄),过滤,浓缩并进行色谱法 (硅胶, 1% NH₄OH-10% MeOH 的 CHCl₃ 溶液),得到 0.0705g (E)-N-3-(6-[3-甲基苯基]氨基嘧啶-4-基)氨基苯基-4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)-2-丁烯酰胺 (I-60), 白色固体。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 2.00 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.35-2.41 (m, 4H), 3.15-3.16 (m, 2H), 3.31-3.46 (m, 含有水和约 4H), 6.19 (s, 1H), 6.32 (d, 1H), 6.73-6.80 (m, 2H), 7.16-7.35 (m, 6H), 7.90 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 9.17 (s, 1H) 和 10.05 (s, 1H); MS: m/z 486 (M+1, 100%)。

[0669] 实例 12

[0670] 合成 (E)-N-(3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基氨基]苯基-N-甲基-4-(二甲基-d₆-氨基)丁-2-烯酰胺 (I-61)

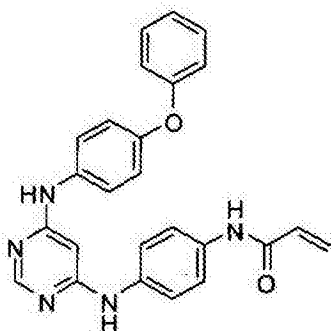
[0671] 向在氮气氛围下在 0°C 下的 4-溴-丁-2-烯酸 (0.28g)、和三乙胺 (0.25mL) 于 3mL THF 中的搅拌溶液中加入氯甲酸异丁酯 (0.22mL)。搅拌混合物 15 分钟,接着逐滴加入 3-[6-(3-氯-4-氟苯基)氨基嘧啶-4-基]氨基苯胺 (I^R-4) (0.46g) 于 50mL THF 中的溶液。使反应物升温至室温过夜。浓缩样品,接着分配于 EtOAc 与饱和 NaHCO₃ 溶液之间。用盐水溶液洗涤有机萃取物,干燥 (MgSO₄),过滤并浓缩。用二乙醚洗涤所得棕色泡沫状固体并真空干燥,得到 0.378g (E)-N-3-(6-[3-氯-4-氟苯基氨基]嘧啶-4-基氨基苯基-4-溴-2-丁烯酰胺 (Int-E)。MS (m/z): 480, 478, 476 (25/100/80%)。在 N₂ 下,于 0°C 下,向 Int-E (0.378g,

0.794mmol) 和三乙胺 (0.28mL, 2.01mmol) 于 10mL THF 中的搅拌溶液中整份加入二甲基- d_6 -胺盐酸盐 (0.070g, 0.799mmol)。使样品升温至室温过夜,接着分配于 EtOAc 与饱和 NaHCO_3 溶液之间。用盐水溶液洗涤有机萃取物,干燥 (MgSO_4),过滤并浓缩。对残留物进行色谱法 (硅胶, 1% NH_4OH -10% MeOH 的 CHCl_3 溶液), 得到 0.0582g (E)-N-(3-[6-(3-氯-4-氟苯基氨基)-嘧啶-4-基]氨基苯基-4-(二甲基- d_6 -氨基)丁-2-烯酰胺 (I-61) (16%), 棕褐色固体。 $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 3.05-3.07 (m, 2H), 6.16 (s, 1H), 6.29-6.32 (m, 1H), 6.72-6.75 (m, 1H), 7.21-7.47 (m, 5H), 7.90 (s, 1H), 7.92-8.01 (m, 1H), 8.32 (s, 1H), 9.26 (s, 1H), 9.36 (s, 1H) 和 10.06 (s, 1H); MS: m/z 447/449 (M+1, 100/49%)。

[0672] 实例 13

[0673] 以实质上类似于上文方案 4a 中所述的方式制备 1-80:

[0674]



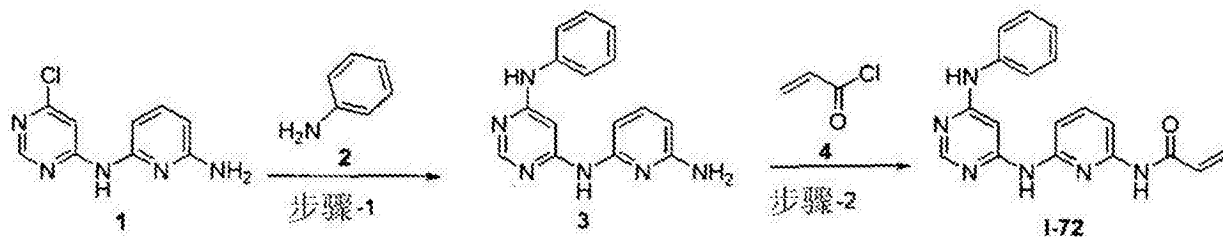
I-80

[0675] 从 4-[6-(4-苯氧基苯基)氨基-嘧啶-4-基]氨基-氨基苯 (I^R-14) 和丙烯酰氯得到 N-4-[6-(4-苯氧基苯基)氨基-嘧啶-4-基]氨基苯基丙烯酰胺 (I-80), 灰白色固体。 $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ ppm: 5.73 (dd, $J = 1.6$ 和 10.0Hz , 1H), 6.08 (d, $J = 5.6\text{Hz}$, 1H), 6.24 (dd, $J = 2$ 和 16.8Hz , 1H), 6.43 (dd, $J = 10$ 和 16.8Hz , 1H), 6.95-6.70 (m, 4H), 7.09 (t, $J = 7.6\text{Hz}$, 1H), 7.35-7.39 (m, 2H), 7.45-7.49 (m, 2H), 7.55-7.61 (m, 4H), 8.23 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 9.1 (s, 1H), 10.1 (s, 1H); LCMS: m/e 423.8 (M+).

[0676] 实例 14

[0677] 方案 14a

[0678]



[0679] 合成 N-6-(6-(苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丙烯酰胺 (I-72)

[0680] 步骤-1 在压力管中,将 N^2 -(6-氯嘧啶-4-基)吡啶-2,6-二胺 (1) (0.25g, 1.1mmol) 和苯胺 (2) (0.16g, 1.7mmol) 于 n-BuOH (25mL) 中的溶液在 120°C 下加热 12 小时。冷却反应混合物,溶解于甲醇 (10mL) 中并在减压下浓缩。将残留物溶解于乙酸乙酯 (35mL) 中并依序用 10% 碳酸氢钠溶液 (20mL)、水 (20mL) 和饱和盐水 (20mL) 洗涤。乙酸乙酯萃

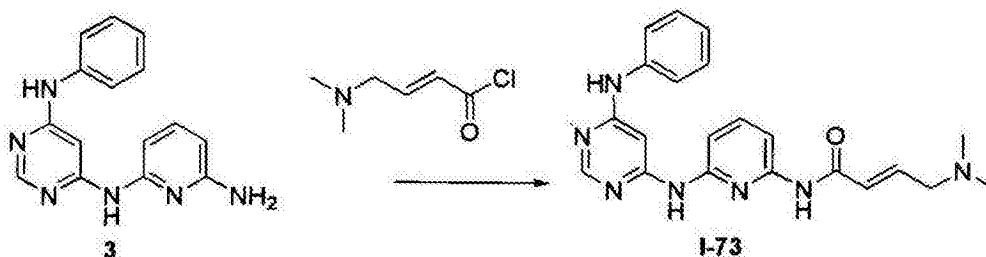
取物经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩, 得到残留物, 用二乙醚湿磨, 得到呈灰白色固体状的 N^4 -(6-氨基吡啶-2-基)- N^6 -苯基嘧啶-4,6-二胺 (3) (260mg, 83%)。

[0681] 步骤-2在 0°C 下, 向 3 (0.2g, 0.7mmol) 于 NMP (10mL) 中的搅拌溶液中逐滴加入丙烯酰氯 (0.097g, 1mmol)。在相同温度下搅拌反应混合物 20 分钟, 接着升温至室温并维持 1.5 小时。用 10% 碳酸氢钠溶液 (4mL) 淬灭, 并用乙酸乙酯 ($2 \times 35\text{mL}$) 萃取。用水 (20mL)、饱和盐水 (20mL) 洗涤合并的乙酸乙酯层, 经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 石油醚/EtOAc:90/10) 进一步纯化残留物, 得到呈棕色固体状的 N^6 -(6-(苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丙烯酰胺 (I-72)。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ ppm: 5.80 (dd, $J = 1.84$ 和 10.12Hz , 1H), 6.31 (dd, $J = 1.8$ 和 16.96Hz , 1H), 6.64 (dd, $J = 10.08$ 和 16.88Hz , 1H), 6.96 (t, $J = 7.32\text{Hz}$, 1H), 7.15-7.20 (m, 1H), 7.28 (t, $J = 7.52\text{Hz}$, 2H), 7.34 (s, 1H), 7.60-7.70 (m, 4H), 8.30 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 9.66 (s, 1H), 10.06 (s, 1H); LCMS: m/e 332.6 (M^+)。

[0682] 实例 15

[0683] 方案 15a

[0684]



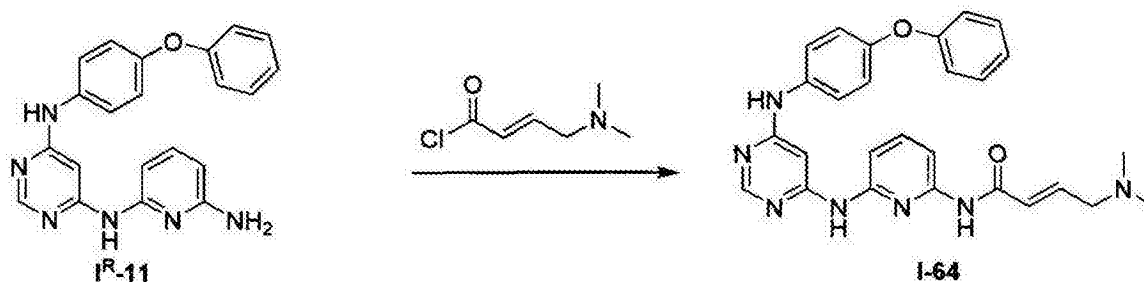
[0685] 合成 (E)-4-(二甲基氨基)-N-(6-(6-(苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丁-2-烯酰胺 (I-73)

[0686] 在 N_2 下, 向乙腈 (20mL) 和 DMF (0.05mL) 的搅拌溶液中加入 N,N -二甲基氨基巴豆酸盐 (0.47g, 2.8mmol)。10 分钟后, 此溶液冷却至 $0-5^\circ\text{C}$ 。加入草酰氯 (0.44g, 3.5mmol) 并使反应混合物在 $0-5^\circ\text{C}$ 下维持 30 分钟。使其升温至室温并继续搅拌 2 小时。接着加热至 40°C 并维持 5 分钟, 再次达到室温且搅拌 10 分钟, 得到浅绿色的二甲基氨基巴豆酰氯溶液, 原样用于下一步骤。在 N_2 氛围下, 在 0°C 下, 向 N^4 -(6-氨基吡啶-2-基)- N^6 -苯基嘧啶-4,6-二胺 (0.2g, 0.7mmol) 于 NMP (10mL) 中的搅拌溶液中逐滴加入二甲基氨基巴豆酰氯溶液。使反应混合物在此温度下维持 30 分钟, 并升温至室温且搅拌 2 小时。用碳酸氢钠溶液 (1mL) 淬灭混合物, 并用 EtOAc ($2 \times 35\text{mL}$) 萃取。用水 (20mL) 和盐水 (20mL) 洗涤合并的乙酸乙酯萃取物, 经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 用 4-6% 甲醇的氯仿溶液洗脱产物) 纯化残留物, 得到呈微黄色固体状的 (E)-4-(二甲基氨基)-N-(6-(6-(苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丁-2-烯酰胺 (I-73)。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ ppm: 2.24 (s, 6H), 3.13 (d, $J = 5.76\text{Hz}$, 2H), 6.56 (d, $J = 15.52\text{Hz}$, 1H), 6.80 (d, $J = 15.36\text{Hz}$, 1H), 6.95 (t, $J = 7.36\text{Hz}$, 1H), 7.11 (t, $J = 1.16\text{Hz}$, 1H), 7.29 (t, $J = 7.56\text{Hz}$, 2H), 7.58 (s, 1H), 7.65-7.7 (m, 4H), 8.31 (d, $J = 2.44\text{Hz}$, 1H), 9.23 (s, 1H), 9.68 (s, 1H), 10.16 (s, 1H); LCMS: m/e 390.3 ($\text{M}+1$)。

[0687] 实例 16

[0688] 方案 16a

[0689]



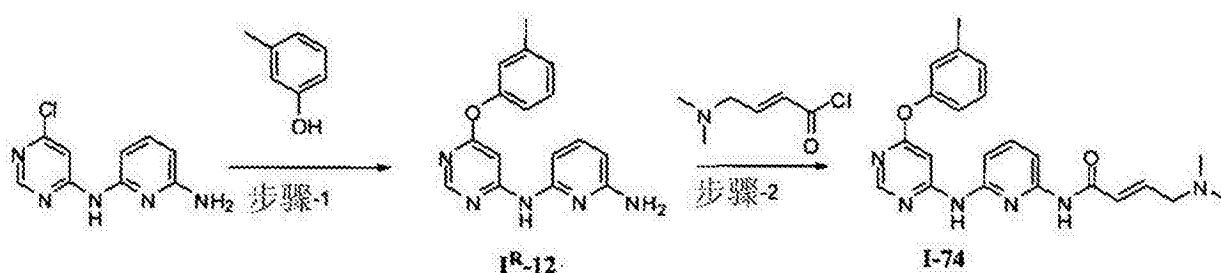
[0690] 合成 (E)-4-(二甲基氨基)-N-(6-(6-(4-苯氧基苯基氨基)吡啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丁-2-烯酰胺 (I-64)

[0691] 根据实例 15a 中的程序,通过使含有 DMF(1 滴)的 CH_3CN (4mL) 中的二甲基氨基巴豆酸盐 (0.36g, 2.16mmol) 与草酰氯 (0.34g, 2.70mmol) 反应,制得二甲基氨基巴豆酰氯溶液。在 0°C 下,向 N^4 -(6-氨基吡啶-2-基)- N^6 -4-苯氧基苯基吡啶-4,6-二胺 (I^R-H) (0.2g, 0.54mmol) 于 NMP(8mL) 中的搅拌溶液中逐滴加入此酰基氯。在 0°C 下搅拌反应物 1 小时,用 EtOAc(5mL) 稀释,并用 10% NaHCO_3 (2mL)、水(2mL) 和盐水(2mL) 洗涤。经 Na_2SO_4 干燥,接着在减压下浓缩,得到残留物,通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 氯仿/甲醇, 9/1) 进一步纯化,得到呈黄色固体状的 (E)-4-(二甲基氨基)-N-(6-(6-(4-苯氧基苯基氨基)吡啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丁-2-烯酰胺 (I-64)。 ^1H NMR($\text{DMSO}-d_6$) δ ppm: 2.18(s, 6H), 3.05(d, $J = 5.2\text{Hz}$, 2H), 6.48(d, $J = 15.2\text{Hz}$, 1H), 6.79(d, $J = 6$ 和 15.6Hz , 1H), 6.96-6.99(m, 4H), 7.07-7.15(m, 2H), 7.36(t, $J = 7.6\text{Hz}$, 2H), 7.42(s, 1H), 7.64-7.7(m, 4H), 8.30(s, 1H), 9.12(s, 1H), 9.69(s, 1H), 10.07(s, 1H); LCMS: m/e 482.4(M+1)。

[0692] 实例 17

[0693] 方案 17a

[0694]



[0695] 合成 (E)-4-(二甲基氨基)-N-(6-(6-(3-甲基苯氧基)吡啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丁-2-烯酰胺 (I-74)

[0696] 步骤 1

[0697] 向 N^2 -(6-氯吡啶-4-基)吡啶-2,6-二胺 (100mg, 0.45mmol) 于 DMF(1mL) 中的溶液中加入 3-甲基苯酚 (88mg, 0.8mmol) 和无水 K_2CO_3 (93mg, 0.6mmol)。在 145°C 下加热反应混合物 16 小时。接着冷却,并在减压下去除 DMF,得到黄色胶状残留物。将残留物溶解于 EtOAc(20mL) 中,并用水(5mL)、盐水(5mL) 洗涤且经 Na_2SO_4 干燥。过滤,接着在减压下浓缩,得到黄色胶状物,通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, EtOAc/己烷, 5/5) 进一步纯化,得到呈浅黄

色固体状的 N^2 -(6-(3-甲基苯氧基)嘧啶-4-基)吡啶-2,6-二胺 (I^R -12) (100mg, 75%)。

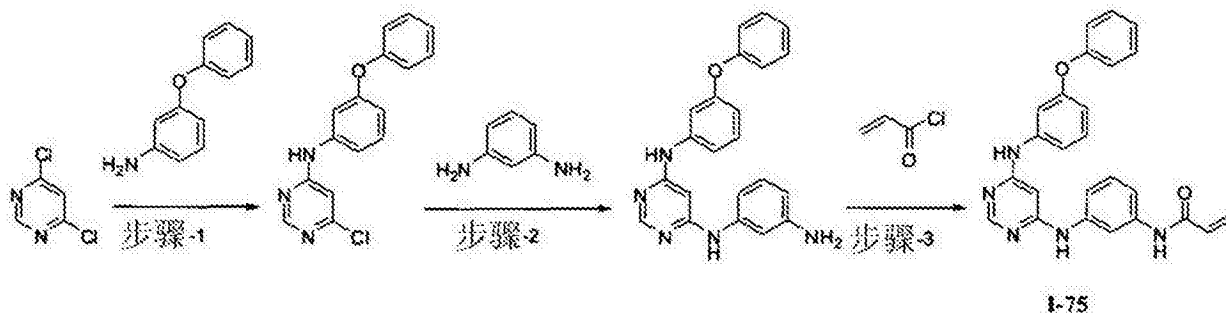
[0698] 步骤 2

[0699] 在 0°C 下, 向 I^R -12 (75mg, 0.25mmol) 于 NMP (2mL) 中的溶液中加入二甲基氨基巴豆酰氯 (168mg, 1.02mmol)。在室温下搅拌反应混合物 1 小时, 接着用 NaHCO_3 溶液 (2mL) 淬灭。用 EtOAc (3×5mL) 萃取混合物, 并用水 (5mL)、盐水 (5mL) 洗涤合并的 EtOAc 萃取物且经 Na_2SO_4 干燥。在减压下浓缩, 得到黄色油状物, 通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 氯仿/甲醇, 9/1) 进一步纯化, 得到呈浅棕色固体状的 (E)-4-(二甲基氨基)-N-(6-(6-(3-甲基苯氧基)嘧啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丁-2-烯酰胺 (I -74)。 ^1H NMR (CD_3OD) δ ppm: 2.35 (s, 6H), 2.38 (s, 3H), 3.25 (dd, $J = 1.2$ 和 6.6Hz, 2H), 6.40 (d, $J = 13.16\text{Hz}$, 1H), 6.92-7.01 (m, 3H), 7.12 (t, $J = 8.12\text{Hz}$, 2H), 7.34 (t, $J = 7.84\text{Hz}$, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.69 (t, $J = 6.24\text{Hz}$, 1H), 7.79 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 8.30 (s, 1H); LCMS: m/e 404.8 (M+).

[0700] 实例 18

[0701] 方案 18a

[0702]



[0703] 合成 N-(3-(6-(3-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯基)丙烯酰胺 (I -75)

[0704] 步骤 1

[0705] 使 4,6-二氯嘧啶 (0.5g, 3.3mmol)、3-苯氧基苯胺 (0.75g, 4mmol) 和 DIPEA (0.65g, 5mmol) 于正丁醇 (5mL) 中的溶液经受微波照射 (110°C , 30 分钟)。冷却反应混合物, 在减压下浓缩, 并将残留物溶解于 EtOAc (10mL) 中。用水 (5mL) 和盐水 (5mL) 洗涤此溶液, 并经 Na_2SO_4 干燥。在减压下浓缩, 得到残留物, 通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 己烷/乙酸乙酯, 8/2) 纯化, 得到呈灰白色固体状的 6-氯-N-(3-苯氧基苯基)嘧啶-4-胺 (0.56g, 56%)。

[0706] 步骤 2

[0707] 使 6-氯-N-(3-苯氧基苯基)嘧啶-4-胺 (0.25g, 0.8mmol)、1,3-二氨基苯 (0.36g, 3.3mmol)、正丁醇 (10mL) 和浓盐酸 (61mg, 1.6mmol) 的溶液经受微波照射 (160°C , 15 分钟)。冷却反应混合物, 在减压下浓缩, 并将残留物溶解于 EtOAc (10mL) 中。用水 (5mL) 和盐水 (5mL) 洗涤 EtOAc 溶液, 并经 Na_2SO_4 干燥。在减压下浓缩, 得到残留物, 通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 己烷/乙酸乙酯, 6/4) 纯化, 得到呈棕色固体状的 N^4 -(3-氨基苯基)- N^6 -(3-苯氧基苯基)嘧啶-4,6-二胺 (0.1g, 32%)。

[0708] 步骤 3

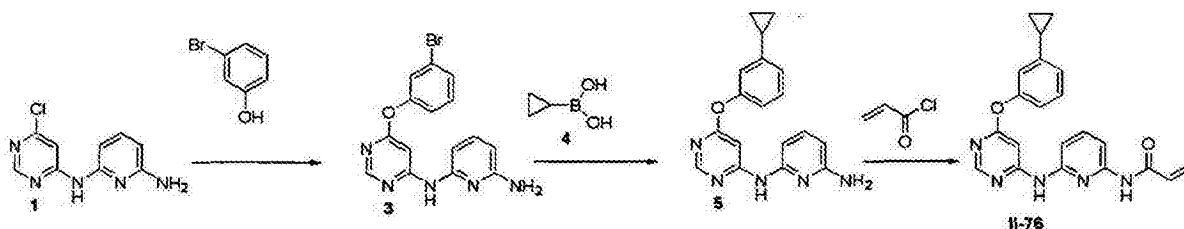
[0709] 在 0°C 下, 向 N^4 -(3-氨基苯基)- N^6 -(3-苯氧基苯基)嘧啶-4,6-二胺 (40mg, 0.1mmol)、 Et_3N (0.03mL, 0.2mmol) 和 NMP (0.4mL) 于 CH_2Cl_2 (2mL) 中的搅拌溶液中加入丙

烯酰氯 (6) (29mg, 0.3mmol)。使反应混合物达到室温并在此温度下搅拌 3 小时。用 10% NaHCO₃ 溶液 (2mL)、水 (2mL)、盐水 (2mL) 洗涤并经 Na₂SO₄ 干燥。过滤, 接着在减压下浓缩, 得到残留物, 通过柱色谱法 (SiO₂, 230-400, 氯仿 / 甲醇, 9/1) 纯化, 得到呈浅棕色固体状的 N-(3-(6-(3- 苯氧基苯基氨基) 嘧啶-4-基氨基) 苯基) 丙烯酰胺 (I-75)。¹H NMR(DMSO-d₆) δ ppm: 5.73(dd, J = 1.72 和 10Hz, 1H), 6.18(s, 1H), 6.24(dd, J = 1.92 和 17Hz, 1H), 6.45(dd, J = 10.04 和 16.88Hz, 1H), 6.54-6.57(m, 1H), 7.01-7.05(m, 2H), 7.11-7.15(dd, J = 0.88 和 7.48Hz, 1H), 7.19-7.32(s, 4H), 7.35-7.41(m, 4H), 7.89(s, 1H), 8.26(s, 1H), 9.2(s, 1H), 9.25(s, 1H), 10.26(s, 1H); LCMS:m/e 423.8(M+1)。

[0710] 实例 19

[0711] 方案 19a

[0712]

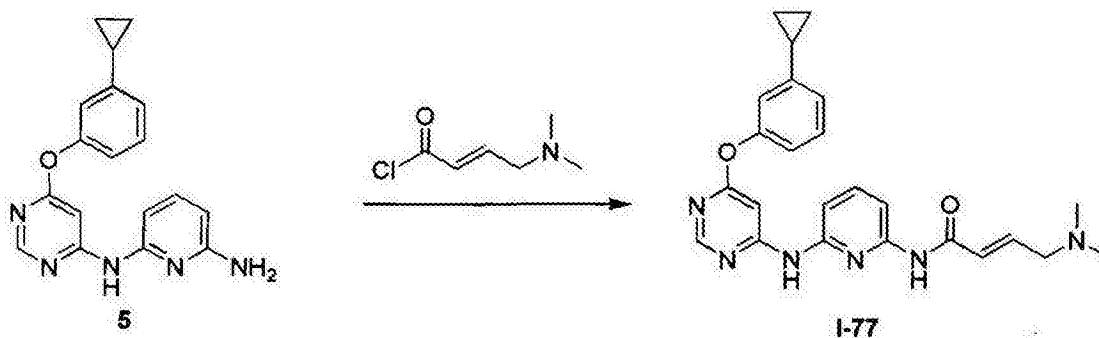


[0713] 根据方案 19a, 通过使中间物 1 与 3- 溴苯酚偶合, 接着使中间物 3 与 4 进行硼酸偶合, 得到中间物 5, 来制备化合物 I-76。接着可以使用类似于实例 6 中的方案, 用丙烯酰氯处理中间物 5, 得到化合物 I-76。

[0714] 实例 20

[0715] 方案 20a

[0716]

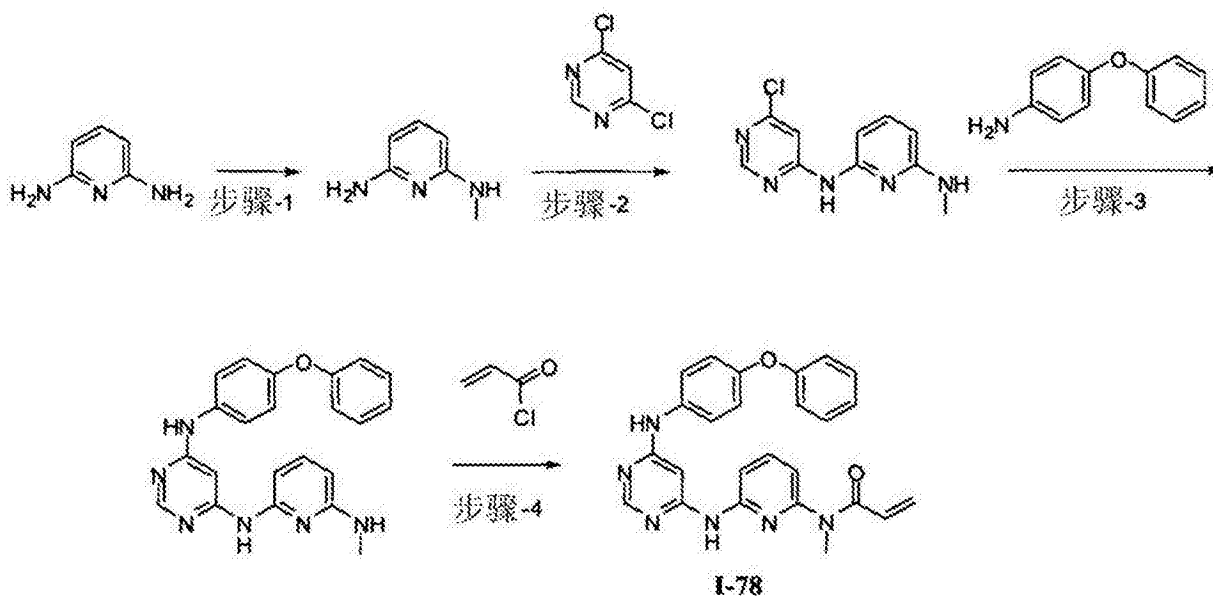


[0717] 根据方案 20a, 可以使用类似于实例 6 中的方案, 通过用 (E)-4-(二甲基氨基) 丁-2-烯酰氯处理中间物 5, 来制备化合物 I-77。

[0718] 实例 21

[0719] 方案 21a

[0720]



[0721] 合成N-甲基-N-(6-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丙烯酰胺 (I-78)

[0722] 步骤 1

[0723] 向 2,6-二氨基吡啶 (10g, 91.63mmol) 于无水 THF (100mL) 中的溶液中加入 K_2CO_3 (18.8g, 136.23mmol) 和 CH_3I (13g, 91.63mmol), 并在室温下搅拌反应混合物 16 小时。加入水 (10mL) 并用 EtOAc (100mL) 萃取混合物。干燥 EtOAc 层并在减压下浓缩。通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 氯仿) 进一步纯化残留物, 得到呈棕色固体状的 2-甲基氨基-6-氨基吡啶 (1.1g, 10%)。

[0724] 步骤 2

[0725] 将 2-甲基氨基-6-氨基吡啶 (0.5g, 4.04mmol)、4,6-二氯嘧啶 (1.51g, 10.13mmol)、DIPEA (1.5g, 12.17mmol) 于正丁醇 (5mL) 中的混合物在 $120^\circ C$ 下加热 16 小时。冷却反应混合物, 在减压下浓缩, 并将残留物溶解于二氯甲烷 (25mL) 中。用 $NaHCO_3$ 溶液 (2mL)、水 (2mL) 和盐水 (2mL) 洗涤二氯甲烷溶液, 经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 石油醚/乙酸乙酯, 6/4) 纯化残留物, 得到呈黄色固体状的 N^2 -(6-氯嘧啶-4-基)- N^6 -甲基吡啶-2,6-二胺 (0.3g, 33%)。

[0726] 步骤 3

[0727] 使 N^2 -(6-氯嘧啶-4-基)- N^6 -甲基吡啶-2,6-二胺 (0.3g, 1.27mmol)、4-苯氧基苯胺 (0.28g, 1.52mmol) 和浓盐酸 (2 滴) 于正丁醇 (2mL) 中的溶液经受微波照射 ($120^\circ C$, 1 小时)。冷却反应混合物, 在减压下浓缩, 并用 CH_2Cl_2 (5mL) 稀释残留物。用 $NaHCO_3$ (2mL)、水 (2mL) 和盐水 (2mL) 洗涤二氯甲烷溶液, 并经 Na_2SO_4 干燥。过滤, 接着在减压下浓缩, 得到残留物, 通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 氯仿/甲醇, 9/1) 纯化, 得到呈浅棕色固体状的 N^4 -(6-(甲基氨基)吡啶-2-基)- N^6 -(4-苯氧基苯基)嘧啶-4,6-二胺 (0.2g, 41%)。

[0728] 步骤 4

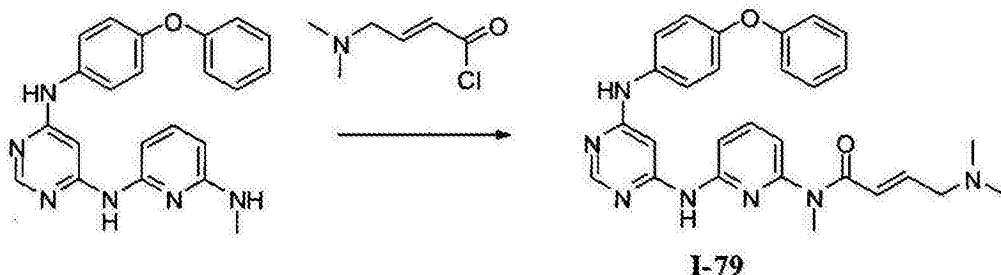
[0729] 在 $0^\circ C$ 下, 向 N^4 -(6-(甲基氨基)吡啶-2-基)- N^6 -(4-苯氧基苯基)嘧啶-4,6-二胺 (0.07g, 0.18mmol) 于 NMP (1mL) 中的溶液中加入丙烯酰氯 (0.032g, 0.36mmol), 并在室温下搅拌反应混合物 1 小时。用二氯甲烷 (2mL) 稀释反应混合物, 用 $NaHCO_3$ (1mL)、水 (1mL)

和盐水 (1mL) 洗涤。二氯甲烷溶液经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 氯仿 / 甲醇, 9/1) 纯化残留物, 得到呈黄色固体状的 N-甲基-N-(6-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丙烯酰胺 (I-78)。 ^1H NMR (DMSO-d_6) δ ppm: 3.22 (s, 3H), 5.60 (dd, $J = 2.56$ 和 9.76Hz , 1H), 6.12-6.16 (m, 2H), 6.79 (d, $J = 7.56\text{Hz}$, 1H), 6.96 (d, $J = 8.64\text{Hz}$, 5H), 7.09 (t, $J = 7.32\text{Hz}$, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.33-7.37 (m, 4H), 7.45 (d, $J = 8.2\text{Hz}$, 2H), 7.32 (t, $J = 7.8\text{Hz}$, 1H), 8.24 (s, 1H); LCMS: m/e 439.3 (M+1)。

[0730] 实例 22

[0731] 方案 22a

[0732]



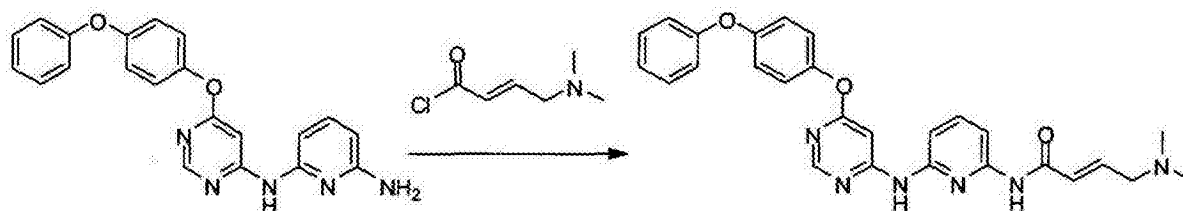
[0733] 合成 (E)-4-(二甲基氨基)-N-甲基-N-(6-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丁-2-烯酰胺 (I-79)

[0734] 在氮气氛围下, 在 0°C 下, 向二甲基氨基巴豆酸盐 (0.120g, 0.72mmol) 于 CH_3CN (1.4mL) 中的溶液中加入 DMF (1 滴), 接着加入草酰氯 (0.07mL, 0.91mmol)。在此温度下搅拌反应物 30 分钟且接着在室温下搅拌 2 小时。在 0°C 下, 向 N^4 -(6-(甲基氨基)吡啶-2-基)- N^6 -(4-苯氧基苯基)嘧啶-4,6-二胺 (0.07g, 0.18mmol) 于 NMP (2.8mL) 中的搅拌溶液中逐滴加入此酰基氯。在 0°C 下搅拌反应物 1 小时, 用 EtOAc (5mL) 稀释, 并用 10% NaHCO_3 (2mL)、水 (2mL) 和盐水 (2mL) 洗涤。经 Na_2SO_4 干燥, 接着在减压下浓缩, 得到残留物, 通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 氯仿 / 甲醇, 9/1) 进一步纯化, 得到呈黄色固体状的 (E)-4-(二甲基氨基)-N-甲基-N-(6-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丁-2-烯酰胺 (I-79)。 ^1H NMR (DMSO-d_6) δ ppm: 2.05 (s, 6H), 2.91 (d, $J = 6\text{Hz}$, 2H), 3.27 (s, 3H), 6.08 (d, $J = 15.2\text{Hz}$, 1H), 6.65 (dd, $J = 5.6$ 和 14.8Hz , 1H), 6.82 (d, $J = 7.6\text{Hz}$, 1H), 6.97-7.00 (m, 4H), 7.10 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.35-7.39 (m, 2H), 7.46 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 7.53 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.75 (t, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 8.30 (s, 1H), 9.30 (s, 1H), 9.95 (s, 1H); LCMS: m/e 496 (M+1)。

[0735] 实例 23

[0736] 方案 23a

[0737]



[0738] 合成 (E)-4-(二甲基氨基)-N-(6-(6-(4-苯氧基苯氧基)嘧啶-4-基氨基)吡

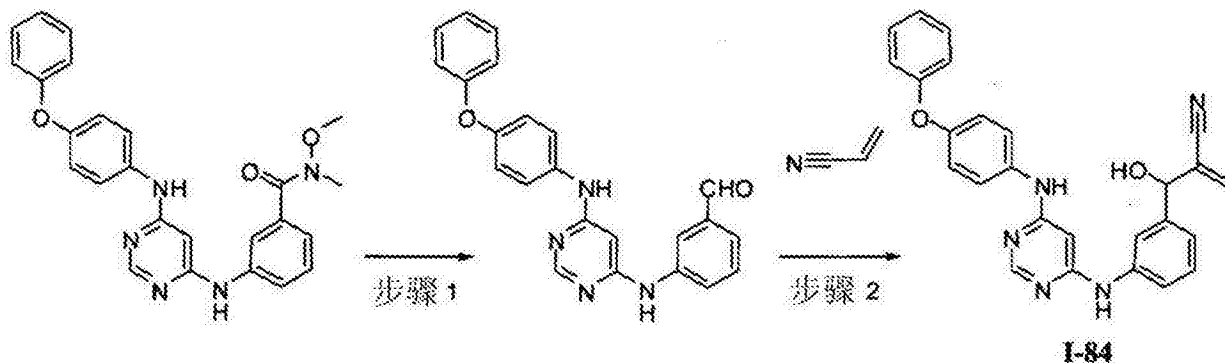
啶-2-基)丁-2-烯酰胺 (I-82)

[0739] 在 0°C 下, 向 N²-(6-(4-苯氧基苯氧基)嘧啶-4-基)吡啶-2,6-二胺 (0.65g, 1.75mmol) 于 NMP (10mL) 中的搅拌溶液中加入二甲基氨基巴豆酰氯 (1.026g, 7mmol)。使反应混合物达到室温并在室温下保持 1 小时。用二氯甲烷 (10mL) 稀释, 用 NaHCO₃ 溶液 (2mL) 和水 (2mL) 洗涤, 并经 Na₂SO₄ 干燥。过滤二氯甲烷溶液并在减压下浓缩, 得到残留物, 通过柱色谱法 (SiO₂, 60-120, 氯仿/甲醇, 9/1) 纯化, 得到呈灰白色固体状的 (E)-4-(二甲基氨基)-N-(6-(6-(4-苯氧基苯氧基)嘧啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丁-2-烯酰胺 (I-82)。¹H NMR (DMSO-d₆) δ ppm: 2.19 (s, 6H), 3.08 (d, J = 5.52Hz, 2H), 6.50 (d, J = 15.4Hz, 1H), 6.77 (td, J = 5.92 和 15.4Hz, 1H), 7.00-7.07 (m, 5H), 7.15 (t, J = 7.36Hz, 1H), 7.21 (dd, J = 2.2 和 8.92Hz, 2H), 7.41 (t, J = 7.52Hz, 2H), 7.68 (t, J = 7.96Hz, 1H), 7.77 (d, J = 7.96Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 10.20 (s, 1H), 10.40 (s, 1H); LCMS: m/e 483 (M+1)。

[0740] 实例 24

[0741] 方案 24a

[0742]



[0743] 合成 2-(羟基(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯基)甲基)丙烯酰胺 (I-84)

[0744] 步骤 1

[0745] 在 -60°C 下, 向 N-甲氧基-N-甲基-3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯甲酰胺 (0.75g, 1.7mmol) 于 THF (10mL) 中的搅拌溶液中加入 LAH (3.4mL, 3.4mmol, THF 中的 1M 溶液)。在 -60°C 下搅拌反应混合物 1 小时, 用 Na₂SO₄ 溶液 (2mL) 淬灭并用乙酸乙酯 (10mL) 萃取。分离有机层并用水 (2mL) 和盐水溶液 (2mL) 洗涤, 且经无水 Na₂SO₄ 干燥。过滤, 接着在减压下浓缩, 得到残留物, 通过柱色谱法 (SiO₂, 60-120, 氯仿/甲醇, 9/1) 纯化, 得到呈微黄色固体状的 3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯甲醛 (0.6g, 92%)。

[0746] 步骤 2

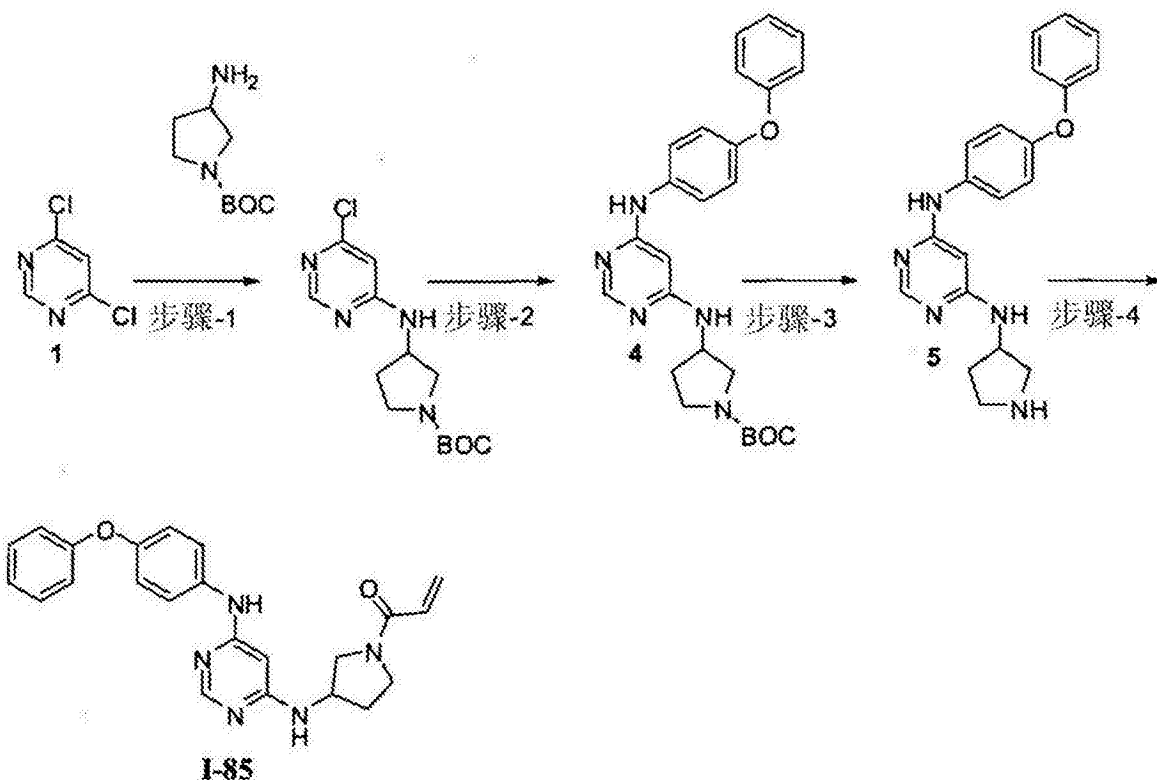
[0747] 在室温下, 向 3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯甲醛 (100mg, 0.26mmol) 和丙烯腈 (36mg, 0.52mmol) 于 1,4-二噁烷/H₂O (0.5mL/0.5mL) 中的搅拌溶液中加入 DABCO (29mg, 0.26mmol)。在室温下继续搅拌 48 小时, 接着在减压下浓缩反应混合物。通过柱色谱法 (SiO₂, 60-120, 石油醚/乙酸乙酯, 6/4) 进一步纯化所得残留物, 得到呈白色固体状的 2-(羟基(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯基)甲基)丙烯酰胺

(I-84)。¹H NMR(DMSO-d₆) δ ppm:5.33(s, 1H), 6.06(s, 1H), 6.20(s, 1H), 6.25(s, 1H), 6.80(s, 1H), 6.88(s, 1H), 6.95-7.05(m, 4H), 7.09-7.13(m, 2H), 7.16(bd, J = 7.92Hz, 1H), 7.32-7.39(m, 5H), 7.47(s, 1H), 8.31(s, 1H); LCMS:m/e 436 (M+1)。

[0748] 实例 25

[0749] 方案 25a

[0750]



[0751] 合成 1-(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)吡咯烷-1-基)丙-2-烯-1-酮 (I-85)

[0752] 步骤 1

[0753] 在压力管中加热 4,5-二氯嘧啶 (0.6g, 4.02mmol)、3-氨基-Boc-吡咯烷 (0.5g, 2.6mmol) 和 DIPEA (1.73g, 13.3mmol) 于正丁醇 (5.0mL) 中的溶液 (120°C, 12 小时)。冷却, 用水 (10mL) 淬灭, 并用 EtOAc (2×25mL) 萃取。用水 (5mL)、盐水 (5mL) 洗涤合并的 EtOAc 萃取物, 经 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩, 得到呈黄色固体状的 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (0.4g, 50%)。

[0754] 步骤 2

[0755] 向 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (0.5g, 1.6mmol) 和 4-苯氧基苯胺 (0.309g, 1.6mmol) 于乙醇 (4mL) 中的搅拌溶液中加入乙酸 (0.1mL), 并在 100°C 下加热反应混合物 36 小时。冷却反应混合物, 在减压下去除乙醇, 并将残留物溶解于乙酸乙酯 (10mL) 中。用 NaHCO₃ 溶液 (2mL)、盐水 (2mL) 洗涤, 经 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩。通过柱色谱法 (SiO₂, 60-120, 氯仿/甲醇, 9/1) 进一步纯化残留物, 得到呈白色固体状的 3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (0.3g, 42.8%)。

[0756] 步骤 3

[0757] 在 0°C 下, 向 3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)吡咯烷-1-甲酸叔丁

酯 (0.1g, 0.2mmol) 于无水 CH_2Cl_2 (2.0mL) 中的搅拌溶液中加入 CF_3COOH (2mL, 20 体积), 并使反应混合物在此温度下保持 30 分钟。使其达到室温并在此温度下搅拌 3 小时。在减压下浓缩反应混合物并用水 (2mL) 淬灭残留物, 用 NaHCO_3 溶液碱化, 且用乙酸乙酯 ($2 \times 8\text{mL}$) 萃取。用水 (2mL) 和盐水 (2mL) 洗涤合并的乙酸乙酯萃取物, 经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩, 得到呈浅棕色固体状的 N^4 -(4-苯氧基苯基)- N^6 -(吡咯烷-3-基) 嘧啶-4,6-二胺 (0.025g, 32.4%)。

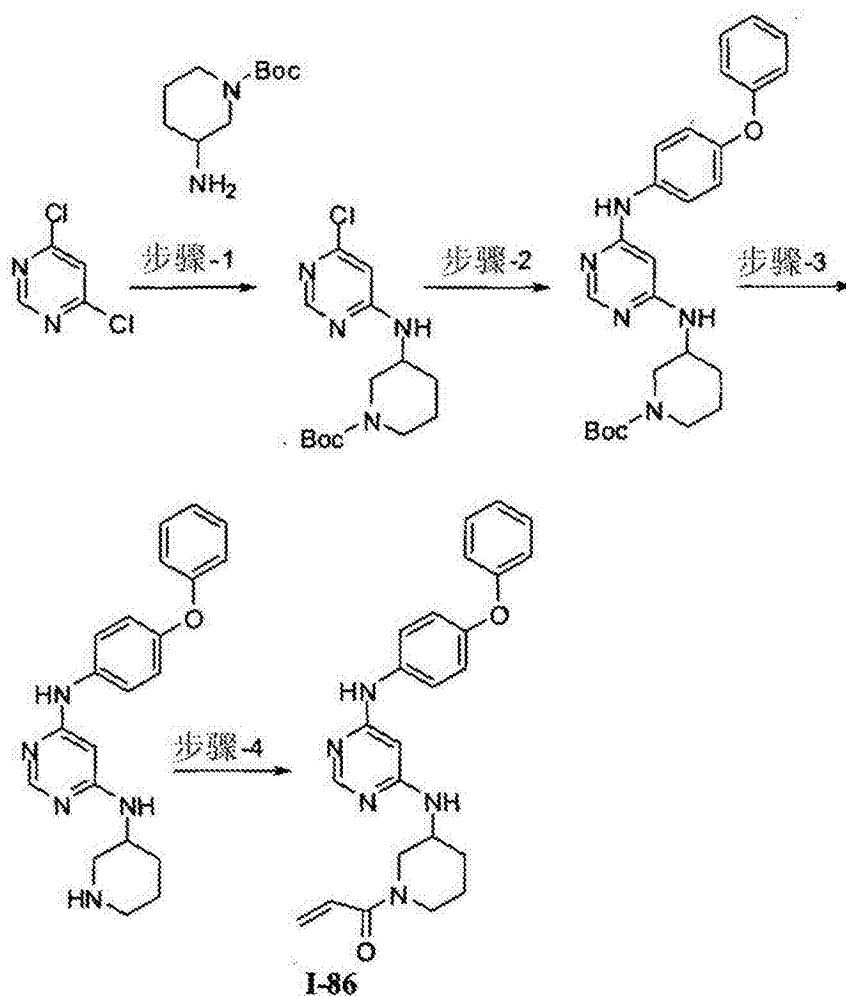
[0758] 步骤 4

[0759] 在 -60°C 下, 向 N^4 -(4-苯氧基苯基)- N^6 -(吡咯烷-3-基) 嘧啶-4,6-二胺 (0.13g, 0.3mmol) 于 THF (1.5mL) 中的搅拌溶液中加入 DIPEA (0.07g, 0.5mmol) 和丙烯酰氯 (THF 中的 1M 溶液, 0.3mL, 0.3mmol), 并在 -60°C 下搅拌反应混合物 5 分钟。通过加入水来淬灭反应混合物并用 EtOAc ($2 \times 5\text{mL}$) 萃取。用盐水 (3mL) 洗涤合并的 EtOAc 萃取物, 经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。通过柱色谱法 (SiO_2 , 230-400, 氯仿 / 甲醇 : 98/2) 纯化所得残留物, 得到呈浅绿色固体状的 1-(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基) 嘧啶-4-基氨基) 吡咯烷-1-基) 丙-2-烯-1-酮 (I-85)。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ ppm: 1.83-1.86 和 1.90-1.94 (m, 1H), 2.07-3.0 和 2.16-2.20 (m, 1H), 3.38-3.86 (m, 4H), 4.2-4.75 和 4.35-4.5 (bs, 1H), 5.65 (dt, $J = 2$ 和 10Hz, 1H), 5.78 (d, $J = 3.6\text{Hz}$, 1H), 6.11 和 6.15 (dd, $J = 2.4$ 和 7.0Hz 以及 dd, $J = 2.4$ 和 7.2Hz, 1H), 6.51-6.64 (m, 总共 1H), 6.93-7.00 (m, 4H), 7.07-7.18 (m, 2H), 7.36 (t, $J = 8\text{Hz}$, 2H), 7.51 (d, $J = 8\text{Hz}$, 2H), 8.12 (s, 1H), 8.93 (s, 1H); LCMS: m/e 401.8 (M+1)。

[0760] 实例 26

[0761] 方案 26a

[0762]



[0763] 合成 1-(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)哌啶-1-基)丙-2-烯-1-酮 (I-86)

[0764] 步骤 1

[0765] 在压力管中加热 4,6-二氯嘧啶 (0.1g, 0.671mmol)、3-氨基-Boc-哌啶 (0.16g, 0.80mmol) 和 DIPEA (0.086g, 0.671mmol) 于正丁醇 (5.0mL) 中的溶液 (120℃, 12 小时)。冷却溶液, 用水 (2mL) 淬灭并用 EtOAc (2×15mL) 萃取。用水 (5mL)、盐水 (5mL) 洗涤合并的 EtOAc 萃取物, 经 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩, 得到 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)哌啶-1-甲酸叔丁酯, 在高真空下干燥并在无进一步纯化的情况下原样用于下一步骤。

[0766] 步骤 2

[0767] 在 N₂ 氛围下, 于 100℃ 下加热 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 (0.15g, 0.48mmol)、4-苯氧基苯胺 (0.089g, 0.48mmol)、Pd(OAc)₂ (0.010g, 0.048mmol)、BINAP (0.014g, 0.024mmol) 和 Cs₂CO₃ (0.39g, 1.2mmol) 于脱气甲苯 (用 N₂ 冲洗甲苯 15 分钟) 中的溶液 12 小时。冷却反应混合物, 用 EtOAc (20mL) 稀释, 并用水 (4mL) 和盐水 (2mL) 洗涤且经 Na₂SO₄ 干燥。通过柱色谱法 (SiO₂, 230-400, 氯仿/甲醇:99/1) 纯化所得粗产物, 得到呈浅黄色固体状的 3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 (90mg, 40.9%)。

[0768] 步骤 3

[0769] 在 0℃ 下, 向 3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)哌啶-1-甲酸叔丁酯

(110mg, 0.238mmol) 于无水 CH_2Cl_2 (1.0mL) 中的搅拌溶液中加入 CF_3COOH (0.5mL, 5 体积), 并使反应混合物在此温度下保持 30 分钟。使其达到室温并在此温度下搅拌 3 小时。在减压下浓缩反应混合物并用水 (2mL) 淬灭残留物, 用 NaHCO_3 溶液碱化, 且用乙酸乙酯 ($2 \times 8\text{mL}$) 萃取。用水 (2mL)、盐水 (2mL) 洗涤合并的乙酸乙酯萃取物, 经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩, 得到呈浅黄色固体状的 N^4 -(4-苯氧基苯基)- N^6 -(哌啶-3-基) 嘧啶-4,6-二胺 (0.07g, 81%)。

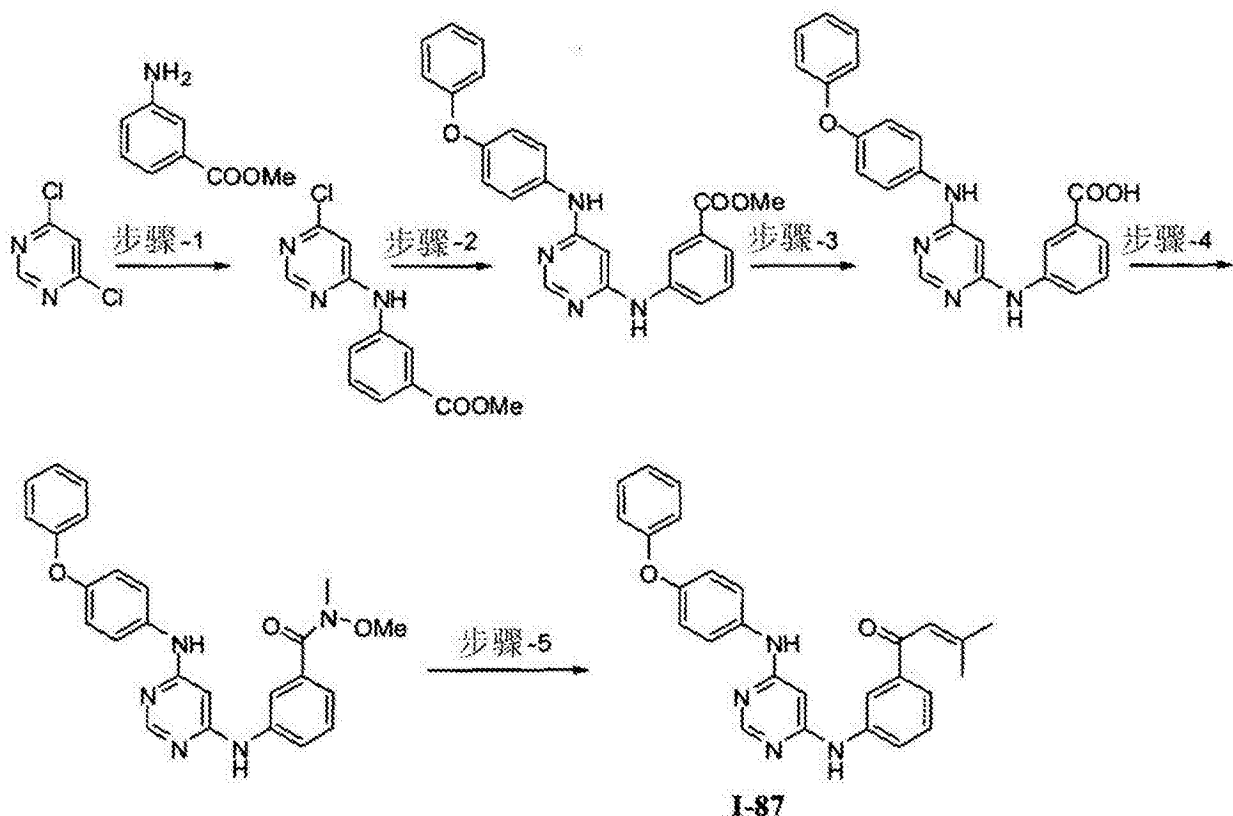
[0770] 步骤 4

[0771] 在 0°C 下, 向 N^4 -(4-苯氧基苯基)- N^6 -(哌啶-3-基) 嘧啶-4,6-二胺 (0.025g, 0.069mmol) 于 NMP (0.5mL) 中的搅拌溶液中加入丙烯酰氯 (0.007g, 0.083mmol), 并在 0°C 下搅拌反应混合物 5 分钟。通过加入 10% NaHCO_3 溶液来淬灭反应混合物并用 EtOAc ($2 \times 5\text{mL}$) 萃取。用水 (3mL) 和盐水 (3mL) 洗涤合并的 EtOAc 萃取物, 经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。通过柱色谱法 (SiO_2 , 230-400, 氯仿/甲醇:98/2) 纯化所得残留物, 得到呈灰白色固体状的 1-(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基) 嘧啶-4-基氨基) 哌啶-1-基) 丙-2-烯-1 酮 (I-86)。 ^1H NMR (MeOD) δ ppm: 1.5-1.75 (m, 2H), 1.80-2.00 (m, 1H), 2.0-2.20 (m, 1H), 2.70-2.90 (m, 1H), 2.90-3.05 (m, 1H), 3.80-4.00 (m, 2H), 4.30-4.45 (m, 1H), 5.65 和 5.75 (分别是 d, $J = 10.8\text{Hz}$ 和 d, $J = 10.8\text{Hz}$, 总共 1H), 5.81 (d, $J = 10.8\text{Hz}$, 1H), 6.14 和 6.18 (分别是 d, $J = 17.2\text{Hz}$ 和 d, $J = 19.2\text{Hz}$, 总共 1H), 6.60-6.70 和 6.70-6.85 (m, 总共 1H), 6.97-7.00 (m, 4H), 7.04 (t, $J = 7.6\text{Hz}$, 1H), 7.32-7.38 (m, 4H), 8.04 和 8.07 (s, 总共 1H); LCMS: m/e 416.1 (M+1)。

[0772] 实例 27

[0773] 方案 27a

[0774]



[0775] 合成 3-甲基-1-(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯基)丁-2-烯-1-酮 (I-87)

[0776] 步骤 1

[0777] 向 4,6-二氯嘧啶 (0.5g, 3.7mmol) 于正丁醇 (10mL) 中的搅拌溶液中加入 3-氨基苯甲酸甲酯 (0.498g, 3.7mmol) 和 DIPEA (0.65g, 5.0mmol), 并在 110°C 下加热反应混合物 12 小时。冷却并在减压下去除过量正丁醇。用 EtOAc (2×30mL) 萃取残留物, 且用水 (5mL)、盐水 (2.5mL) 洗涤合并的 EtOAc 萃取物, 经 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩。将残留物与石油醚 (30mL) 一起搅拌 30 分钟, 通过倾析来去除石油醚并在高真空下干燥所得固体, 得到呈浅棕色固体状的 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)苯甲酸甲酯 (0.3g, 34%)。

[0778] 步骤 2

[0779] 向 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)苯甲酸甲酯 (1.0g, 3.8mmol) 和 4-苯氧基苯胺 (0.703g, 3.8mmol) 于乙醇 (5mL) 中的搅拌溶液中加入乙酸 (0.22mL), 并在 100°C 下加热反应混合物 48 小时。冷却反应混合物, 在减压下去除乙醇, 并将残留物溶解于乙酸乙酯 (50mL) 中。用 NaHCO₃ 溶液 (5mL) 和盐水 (5mL) 洗涤, 经 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩。通过柱色谱法 (SiO₂, 60-120, 氯仿/甲醇, 9/1) 纯化残留物, 得到呈灰白色固体状的 3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯甲酸甲酯 (1g, 66%)。

[0780] 步骤 3

[0781] 向 3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯甲酸甲酯 (0.3g, 0.72mmol) 于甲醇/THF (2/2, 4mL) 中的搅拌溶液中加入 LiOH (0.122g, 2.9mmol) 的 H₂O (4mL) 溶液, 并在室温下搅拌反应混合物 2 小时。在减压下浓缩。用水 (2mL) 稀释残留物并用二氯甲烷 (5mL) 萃取。分离水层并用 1.5N HCl 酸化 (pH 值为约 5-6), 得到白色沉淀, 通过过滤来收集并在真空下干燥, 得到呈白色固体状的 3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯甲酸 (0.2g, 69%)。

[0782] 步骤 4

[0783] 向 3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯甲酸 (0.05g, 0.12mmol) 于 DMF (2mL) 中的搅拌溶液中加入 MeNH-OMe·HCl (0.0084g, 0.12mmol)、EDCI·HCl (0.0361g, 0.18mmol)、HOBT (0.0084g, 0.062mmol) 和 DIPEA (0.023g, 0.18mmol)。在室温下搅拌反应混合物 1 小时并用水淬灭。通过过滤分离出白色固体, 并在真空下干燥, 得到呈白色固体状的 N-甲氧基-N-甲基-3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯甲酰胺 (0.025g, 44.5%)。

[0784] 步骤 5

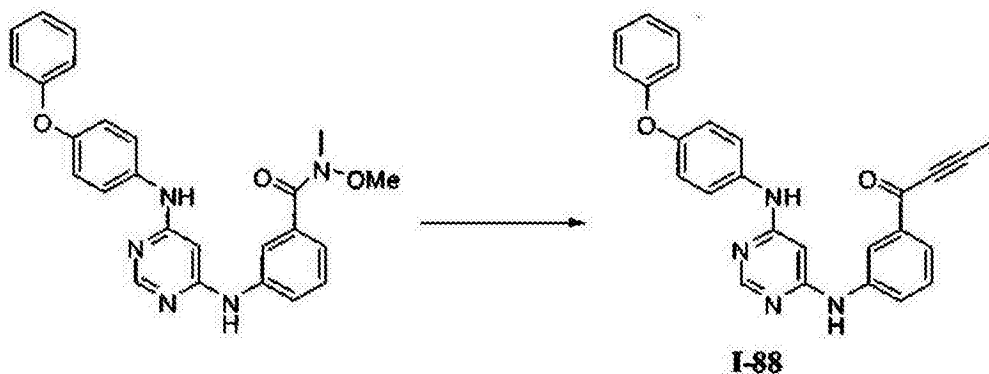
[0785] 在 0°C 下, 向 N-甲氧基-N-甲基-3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯甲酰胺 (50mg, 0.11mmol) 于 THF (0.5mL) 中的搅拌溶液中加入溴化 2-甲基丙基镁 (1.1mL, 0.55mmol, THF 中 0.5M)。在室温下搅拌反应混合物 30 分钟。用饱和 NH₄Cl 溶液 (0.5mL) 淬灭并用 EtOAc (3×2mL) 萃取。用盐水洗涤合并的有机层, 经无水 Na₂SO₄ 干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到白色固体, 通过柱色谱法 (SiO₂, 60-120, 氯仿/甲醇, 9/1) 进一步纯化, 得到呈灰白色固体状的 3-甲基-1-(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯基)丁-2-烯-1-酮 (I-87)。¹H NMR (CDCl₃) δ ppm: 2.01 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 6.14 (s, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.99-7.02 (m, 5H), 7.11 (t, J = 7.36Hz, 1H), 7.26-7.28 (m, 2H), 7

. 34 (t, $J = 7.56\text{Hz}$, 2H), 7.40-7.53 (m, 2H), 7.65 (d, $J = 7\text{Hz}$, 1H), 7.86 (s, 1H), 8.32 (s, 1H);
LCMS:m/e 437.2 (M+1)。

[0786] 实例 28

[0787] 方案 28a

[0788]



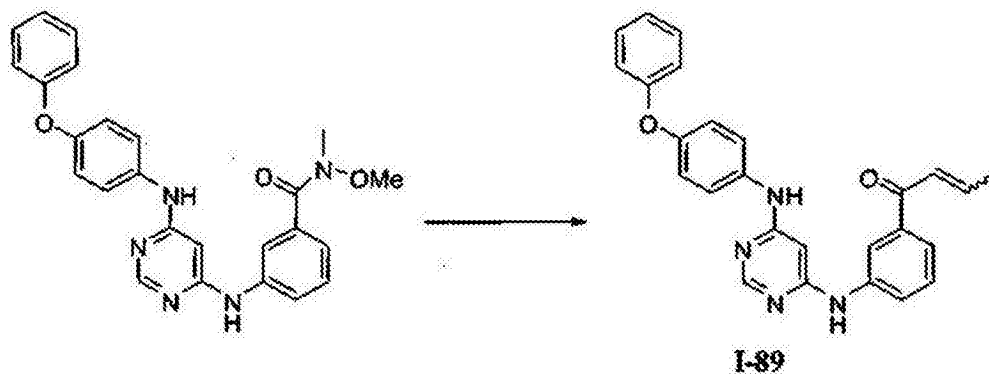
[0789] 合成 1-(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯基)丁-2-炔-1-酮 (I-88)

[0790] 在 0°C 下, 向 N-甲氧基-N-甲基-3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯甲酰胺 (50mg, 0.11mmol) 于 THF (0.5mL) 中的搅拌溶液中加入溴化 1-丁炔基镁的 THF 溶液 (1.1mL, 1.1mmol)。使反应混合物达到室温并在室温下搅拌 30 分钟。用饱和 NH_4Cl 溶液 (0.5mL) 淬灭反应混合物并用 EtOAc (2×3mL) 萃取。用盐水洗涤合并的 EtOAc 层, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到白色固体, 通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 氯仿/甲醇, 9/1) 进一步纯化, 得到呈微黄色固体状的 1-(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯基)丁-2-炔-1-酮 (I-88)。 ^1H NMR (DMSO-d_6) δ ppm: 2.22 (s, 3H), 6.16 (s, 1H), 6.97 (d, $J = 8.6\text{Hz}$, 2H), 7.01 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.1 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 7.35-7.39 (m, 2H), 7.48 (t, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 7.56 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.66 (d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 7.95 (d, $J = 7.6\text{Hz}$, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 9.47 (s, 1H); LCMS:m/e 421.1 (M+1)。

[0791] 实例 29

[0792] 方案 29a

[0793]



[0794] 合成 (E,Z)-1-(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯基)丁-2-烯-1-酮 (I-89)

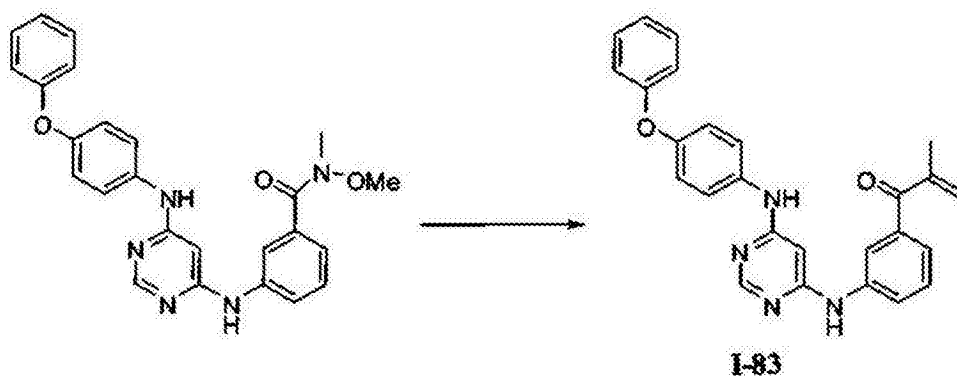
[0795] 在 0°C 下, 向 N-甲氧基-N-甲基-3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)

苯甲酰胺 (50mg, 0.11mmol) 于 THF (0.5mL) 中的搅拌溶液中加入溴化丙烯基镁的 THF 溶液 (2.2mL, 1.1mL, THF 中的 0.5M 溶液)。在室温下搅拌反应混合物 30 分钟。用饱和 NH_4Cl 溶液 (0.5mL) 淬灭并用 EtOAc (2×3mL) 萃取。用盐水洗涤合并的有机层, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到白色固体, 通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 氯仿 / 甲醇, 9/1) 进一步纯化, 得到呈浅黄色固体状的 (E, Z)-1-(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基) 嘧啶-4-基氨基) 苯基) 丁-2-烯-1-酮 (I-89)。 ^1H NMR (DMSO-d_6) δ ppm: 1.98 (dd, $J = 1.6$ 和 6.8Hz, 3H) 和 2.13 (dd, $J = 1.6$ 和 7.2Hz, 3H), 6.10-6.13 (m, 1H), 6.75-6.90 (m, 1H), 6.90-7.13 (m, 7H), 7.25-7.27 (m, 1H), 7.32-7.34 (m, 2H), 7.34-7.50 (m, 2H), 7.63-7.65 (m, 1H), 7.86-7.88 (m, 1H), 8.32 (s, 1H); LCMS: m/e 423 (M+1)。

[0796] 实例 30

[0797] 方案 30a

[0798]



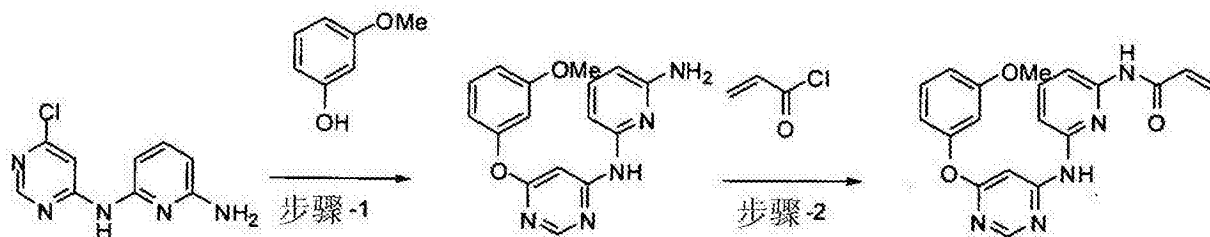
[0799] 合成 2-甲基-1-(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基) 嘧啶-4-基氨基) 苯基) 丙-2-烯-1-酮 (I-83)

[0800] 在 0°C 下, 向 N-甲氧基-N-甲基-3-(6-(4-苯氧基苯基氨基) 嘧啶-4-基氨基) 苯甲酰胺 (0.150g, 0.340mmol) 中加入溴化 2-甲基丙烯基镁 (6.8mL, 3.4mmol, THF 中的 0.5M 溶液)。在室温下搅拌反应混合物 30 分钟。用饱和 NH_4Cl 溶液 (0.5mL) 淬灭并用 EtOAc (2×3mL) 萃取。用盐水洗涤合并的有机层, 经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到白色固体, 通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 用 2/98 的甲醇 / 氯仿洗脱得到的产物) 进一步纯化, 得到呈白色固体状的 2-甲基-1-(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基) 嘧啶-4-基氨基) 苯基) 丙-2-烯-1-酮 (I-83)。 ^1H NMR (DMSO-d_6) δ ppm: 1.99 (s, 3H), 5.64 (s, 1H), 6.03 (s, 1H), 6.14 (s, 1H), 6.96-7.02 (m, 4H), 7.10 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.35-7.43 (m, 3H), 7.56 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.88 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.92 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 9.38 (s, 1H); LCMS: 423m/e (M+1)。

[0801] 实例 31

[0802] 方案 31a

[0803]



I-90

[0804] 合成N-(6-(6-(3-甲氧基苯氧基)吡啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丙烯酰胺 (I-90)

[0805] 步骤 1

[0806] 向N²-(6-氯吡啶-4-基)吡啶-2,6-二胺 (200mg, 0.90mmol) 于无水 DMF (2mL) 中的溶液中加入 3-甲氧基苯酚 (112mg, 0.90mmol) 和无水 K₂CO₃ (186mg, 1.353mmol)。在 N₂ 氛围下, 于 100℃ 下加热反应混合物 16 小时。接着冷却并在减压下去除 DMF, 得到微黄色胶状残留物, 将其溶解于 EtOAc (10mL) 中。用水 (5mL)、盐水 (5mL) 洗涤, 经 Na₂SO₄ 干燥且接着在减压下浓缩, 得到粗产物。通过柱色谱法 (SiO₂, 60-120, 己烷/EtOAc, 5/5) 进一步纯化, 得到呈浅黄色固体状的 N²-(6-(3-甲氧基苯氧基)吡啶-4-基)吡啶-2,6-二胺 (110mg, 40.7%)。

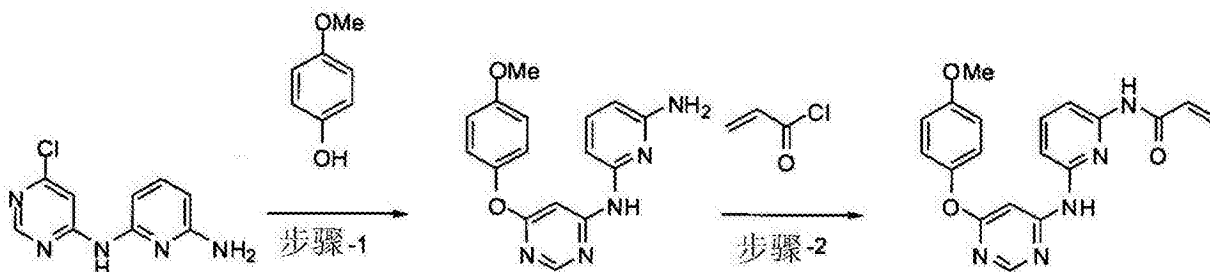
[0807] 步骤 2

[0808] 在 N₂ 氛围下, 在 -10℃ 下, 向 N²-(6-(3-甲氧基苯氧基)吡啶-4-基)吡啶-2,6-二胺 (100mg, 0.323mmol) 于 THF/NMP (1mL/0.5mL) 中的搅拌溶液中加入丙烯酰氯 (0.029g, 0.3mmol)。在相同温度下继续搅拌 2 小时并在减压下浓缩反应混合物, 得到残留物, 通过柱色谱法 (SiO₂, 60-120, 氯仿/甲醇) 进一步纯化, 得到呈浅黄色固体状的 N-(6-(6-(3-甲氧基苯氧基)吡啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丙烯酰胺 (I-90)。¹H NMR (DMSO-d₆) δ ppm: 3.75 (s, 3H), 5.79 (dd, J = 1.8 和 10.08Hz, 1H), 6.30 (dd, J = 1.8 和 16.96Hz, 1H), 6.65 (dd, J = 10.12 和 16.96Hz, 1H), 6.74-6.76 (m, 2H), 6.82 (td, J = 1.52 和 9.24Hz, 1H), 7.04 (d, J = 7.92Hz, 1H), 7.33 (t, J = 8.28Hz, 1H), 7.70 (t, J = 7.96Hz, 1H), 7.76 (d, J = 8Hz, 1H), 7.90 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 10.20 (s, 1H), 10.48 (s, 1H); LCMS: m/e 364 (M+1)。

[0809] 实例 32

[0810] 方案 32a

[0811]



I-91

[0812] 合成N-(6-(6-(4-甲氧基苯氧基)吡啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丙烯酰胺 (I-91)

[0813] 步骤 1

[0814] 向 N^2 -(6-氯嘧啶-4-基)吡啶-2,6-二胺 (200mg, 0.90mmol) 于无水 DMF (2mL) 中的溶液中加入 4-甲氧基苯酚 (168mg, 1.3mmol) 和无水 K_2CO_3 (179mg, 1.3mmol)。在 N_2 氛围下, 在 $100^\circ C$ 下加热反应混合物 16 小时。接着冷却并在减压下去除 DMF, 得到微黄色胶状残留物, 将其溶解于 EtOAc (10mL) 中。用水 (5mL) 和盐水 (5mL) 洗涤溶液, 经 Na_2SO_4 干燥并且接着在减压下浓缩, 得到粗产物。通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 己烷/EtOAc, 5/5) 进一步纯化此粗产物, 得到呈浅黄色固体状的 N^2 -(6-(4-甲氧基苯氧基)嘧啶-4-基)吡啶-2,6-二胺 (160mg, 59.2%)。

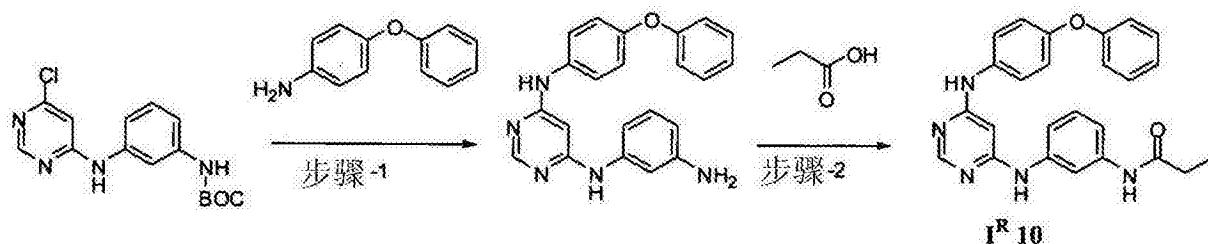
[0815] 步骤 2

[0816] 在 N_2 氛围下, 在 $-10^\circ C$ 下, 向 N^2 -(6-(4-甲氧基苯氧基)嘧啶-4-基)吡啶-2,6-二胺 (150mg, 0.474mmol) 于 THF/NMP (1mL/0.5mL) 中的搅拌溶液中加入丙烯酰氯 (64mg, 0.712mmol)。在此温度下搅拌 30 分钟后, 停止反应并且反应混合物缓慢加入 $NaHCO_3$ 溶液 (10mL) 中。白色固体沉淀, 通过过滤来分离此固体并将其溶解于乙酸乙酯 (5mL) 与 Et_3N (0.5mL) 的混合物中。用水 (2mL) 和盐水 (2mL) 洗涤溶液。经 Na_2SO_4 干燥, 接着过滤并在减压下浓缩, 得到黄色固体。通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 氯仿/甲醇, 9/1) 进一步纯化, 得到呈灰白色固体状的 N -(6-(6-(4-甲氧基苯氧基)嘧啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丙烯酰胺 (I-91)。 1H NMR ($DMSO-d_6$) δ ppm: 3.76 (s, 3H), 5.79 (dd, $J = 1.84$ 和 10.16 Hz, 1H), 6.30 (dd, $J = 1.84$ 和 17 Hz, 1H), 6.65 (dd, $J = 10.12$ 和 16.92 Hz, 1H), 6.96-6.99 (m, 2H), 7.02 (d, $J = 7.88$ Hz, 1H), 7.09-7.13 (m, 2H), 7.69 (t, $J = 7.96$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 7.44$ Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 8.30 (d, $J = 0.88$ Hz, 1H), 10.17 (s, 1H), 10.17 (s, 1H); LCMS: m/e 364 (M+1)。

[0817] 实例 33

[0818] 方案 33a

[0819]



[0820] 合成 N -(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯基)丙酰胺 (I^R-10)

[0821] 步骤 1

[0822] 使 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)苯基氨基甲酸叔丁酯 (200mg, 0.6mmol)、4-苯氧基苯胺 (346mg, 1.8mmol) 和浓盐酸 (45mg, 1.2mmol) 于正丁醇 (8mL) 中的溶液经受微波照射 ($160^\circ C$, 20 分钟)。用 $NaHCO_3$ 溶液 (2mL) 淬灭反应混合物并用 EtOAc (2×10 mL) 萃取。用水 (5mL)、盐水 (5mL) 洗涤合并的 EtOAc 萃取物, 经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。通过柱色谱法 (SiO_2 , 60-120, 氯仿/甲醇, 9/1) 进一步纯化残留物, 得到呈棕色固体状的 N^4 -(3-氨基苯基)- N^6 -(4-苯氧基苯基)嘧啶-4,6-二胺 (87mg, 37.8%)。

[0823] 步骤 2

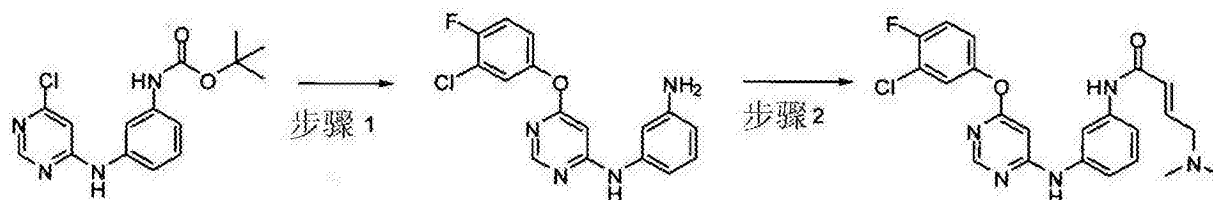
[0824] 向丙酸 (12mg, 0.1mmol) 于 DMF (0.6mL) 中的溶液中加入 HATU (92mg, 0.2mmol), 并在室温下搅拌反应混合物 30 分钟。向其中加入 N^4 -(3-氨基苯基)- N^6 -(4-苯氧基苯基)

嘧啶-4,6-二胺 (60mg, 0.1mmol), 接着加入 DIPEA (41mg, 0.3mmol), 并在此温度下搅拌反应混合物 16 小时。在减压下浓缩。用 CH_2Cl_2 (5mL) 稀释残留物并用 NaHCO_3 溶液 (2mL)、水 (2mL) 和盐水 (2mL) 洗涤。经 Na_2SO_4 干燥, 接着在减压下浓缩, 得到残留物, 通过柱色谱法 (SiO_2 , 230-400, 氯仿/甲醇:9/1) 纯化, 得到呈棕色固体状的 N-(3-(6-(4-苯氧基苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯基)丙酰胺 ($\text{I}^{\text{R}}-10$)。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ ppm: 1.06 (t, $J = 7.56\text{Hz}$, 3H), 2.30 (q, $J = 7.48\text{Hz}$, 2H), 6.13 (s, 1H), 6.94-6.99 (m, 4H), 7.08 (t, $J = 7.36\text{Hz}$, 1H), 7.16-7.24 (m, 3H), 7.36 (t, $J = 7.44\text{Hz}$, 2H), 7.54 (d, $J = 8.88\text{Hz}$, 2H), 7.81 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 9.12 (s, 2H), 9.81 (s, 1H); LCMS: m/e 426.3 (M+1)。

[0825] 实例 34

[0826] 方案 34a

[0827]



[0828] 合成 (E)-N-(3-(6-(3-氯-4-氟苯氧基)嘧啶-4-基氨基)苯基)-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰胺 ($\text{I}-92$)

[0829] 步骤 1

[0830] 将 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)苯基氨基甲酸叔丁酯 (1.6g, 5mmol)、3-氯-4-氟苯酚 (1.4g, 10mmol) 和碳酸钾 (1.4g, 10mmol) 于 15mL DMF 中的溶液加热至 120°C 并维持 16 小时。将反应混合物混合于 15mL 水中, 粗产物沉淀, 过滤, 通过使用 MeOH/DCM 溶剂系统的硅胶快速色谱法纯化, 得到 750mg 呈灰白色固体状的 N^1 -(6-(3-氯-4-氟苯氧基)嘧啶-4-基)苯-1,3-二胺 (产率是 45%)。MS (m/z): $\text{MH}^+ = 331$ 。

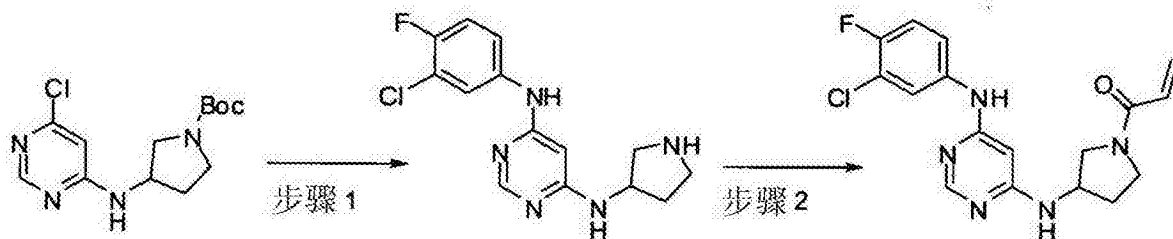
[0831] 步骤 2

[0832] 在 0°C 下, 将草酰氯 (155mg, 1.2mmol) 逐滴加入 4-N,N-二甲基氨基巴豆酸盐 (200mg, 1.2mmol) 于 5mL THF 中的混合物中。向此混合物中加入 3 滴 DMF/THF 溶液 (由 5 滴 DMF 于 1mL THF 中制得)。在室温下搅拌反应混合物 2 小时, 接着冰浴冷却至 0°C 。在 0°C 下, 将 N^1 -(6-(3-氯-4-氟苯氧基)嘧啶-4-基)苯-1,3-二胺 (200mg, 0.6mmol) 于 2mL NMP) 中的溶液加入二甲基氨基巴豆酰氯溶液中, 并搅拌所得混合物 3 小时。用 3mL 1N NaOH 淬灭反应, 并用 EtOAc ($2 \times 25\text{mL}$) 萃取。通过使用 MeOH/ NH_4OH /DCM 溶剂系统的硅胶快速色谱法纯化粗产物混合物, 得到呈浅色固体状的 (E)-N-(3-(6-(3-氯-4-氟苯氧基)嘧啶-4-基氨基)苯基)-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰胺 ($\text{I}-92$)。MS (m/z): $\text{MH}^+ = 442, 444$ (3:1), ^1H -NMR (DMSO) δ 10.08 (s, 1H), 9.67 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.59 (d, 1H), 7.57 (t, 1H), 7.53-7.24 (m, 4H), 6.29 (b, 1H), 6.23 (s, 1H), 3.51 (d, 2H), 2.21 (s, 6H)。

[0833] 实例 35

[0834] 方案 35a

[0835]



[0836] 合成 1-(3-(6-(3-氯-4-氟苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)吡咯烷-1-基)丙-2-烯-1-酮 (I-70)

[0837] 步骤 1

[0838] 将 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (354mg, 1.18mmol) 与 3-氯-4-氟苯胺 (3.03g, 20.8mmol) 的无溶剂 (neat) 混合物在 140°C 下加热 21 小时。冷却至周围温度后,用 EtOAc 稀释熔化物并搅拌混合物 1 小时。收集米色非晶形沉淀,用水洗涤并在 50-60°C 下在真空中干燥,得到 292mg N^4 -(3-氯-4-氟苯基)- N^6 -(吡咯烷-3-基)嘧啶-4,6-二胺 (80%)。MS(APCI): (M+1) = 308, (M-1) = 306。

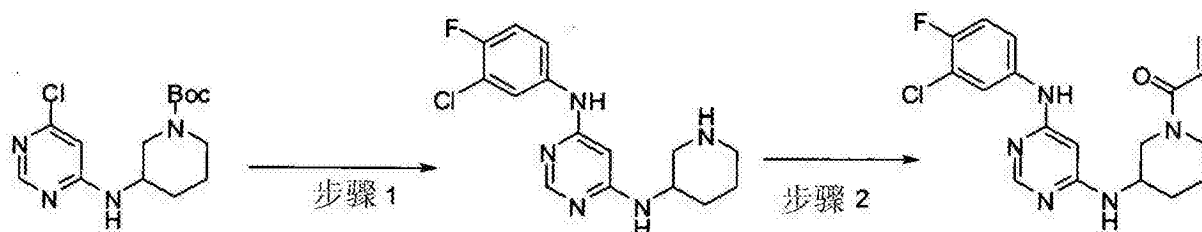
[0839] 步骤 2

[0840] 在氮气下,向 N^4 -(3-氯-4-氟苯基)- N^6 -(吡咯烷-3-基)嘧啶-4,6-二胺 (287mg, 0.93mmol) 和三乙胺 (0.32ml, 2.33mmol) 于无水 THF (5ml) 中的溶液中加入丙烯酰氯 (91 μ l, 1.12mmol)。在室温下搅拌反应混合物 1 小时并在减压下浓缩。通过闪蒸塔 (硅胶 60, 230-400 目, 5% MeOH 的 EtOAc 溶液至 10% MeOH 的 EtOAc 溶液) 洗脱残留物,得到两种产物。发现极性较小的产物 (1:9MeOH:EtOAc 中 R_f = 0.24) 是二丙烯酸化类似物。极性较大的产物 (1:9MeOH:EtOAc 中 R_f = 0.14) 是 1-(3-(6-(3-氯-4-氟苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)吡咯烷-1-基)丙-2-烯-1-酮 (I-70)。MS(APCI) (M+1)⁺ = 362, (M-1)⁺ = 360: ¹H-NMR DMSO- d_6 δ 9.11 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.92 (d, 1H), 7.38-7.23 (m, 3H), 6.58-6.48 (m, 1H), 6.13-6.08 (m, 1H), 5.75 (d, 1H), 5.63-5.59 (m, 1H), 3.64-3.59 (m, 2H), 2.17-1.81 (m, 6H)。

[0841] 实例 36

[0842] 方案 36a

[0843]

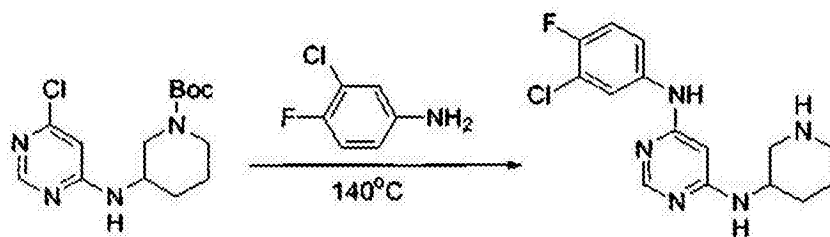


[0844] 合成 1-(3-(6-(3-氯-4-氟苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)哌啶-1-基)丙-2-烯-1-酮 (I-71)

[0845] 步骤 1

[0846] N -(3-氯-4-氟苯基)- N' -哌啶-3-基嘧啶-4,6-二胺

[0847]



[0848] 将 3-(6-氯嘧啶-4-基氨基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 (295mg, 0.94mmol) 与 3-氯-4-氟苯胺 (2.83g, 19.4mmol) 的混合物在无溶剂下在 140℃ 下加热 19 小时。冷却后, 在 EtOAc 中搅拌熔化物并在室温下静置 1 小时。收集沉淀, 用 EtOAc 洗涤并干燥, 得到 256mg N^4 -(3-氯-4-氟苯基)- N^6 -(哌啶-3-基)嘧啶-4,6-二胺 (85%), 灰蓝紫色非晶形固体。MS(APCI): $(M+1)^+ = 322$ 。

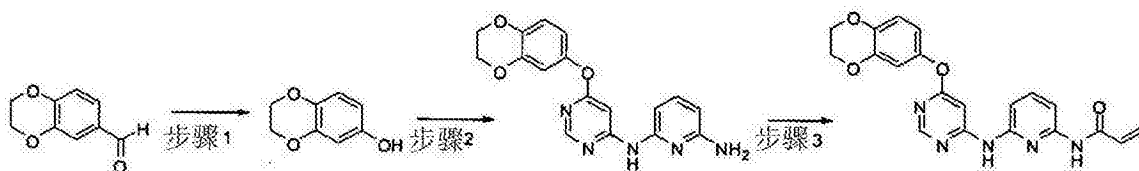
[0849] 步骤 2

[0850] 在氮气下, 向 N^4 -(3-氯-4-氟苯基)- N^6 -(哌啶-3-基)嘧啶-4,6-二胺 (251mg, 0.78mmol) 和三乙胺 (0.27ml, 1.95mmol) 于无水 THF (7ml) 中的溶液中加入丙烯酰氯 (76 μ l, 0.94mmol)。在室温下搅拌反应混合物 1 小时并在减压下浓缩。通过闪蒸塔 (硅胶 60, 230-400 目, 使用 5% MeOH 的 EtOAc 溶液洗脱残留物, 得到两种产物。发现极性较小的产物 (1:9MeOH:EtOAc 中 $R_f = 0.33$) 是二丙烯酸化类似物。极性较大的产物 (1:9MeOH:EtOAc 中 $R_f = 0.24$) 是 1-(3-(6-(3-氯-4-氟苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)哌啶-1-基)丙-2-烯-1-酮 (I-71)。MS(APCI) $(M+1)^+ = 376$, $(M-1)^+ = 374$; $^1\text{H-NMR}$ DMSO- d_6 , δ 9.15 (br s, 1H), 8.18 (d, 1H), 7.95 (br s, 1H), 7.43-7.20 (m, 2H), 7.03-6.48 (m, 3H), 6.26-5.97 (m, 2H), 5.86-5.51 (m, 3H), 3.90-3.66 (m, 2H), 1.98-1.66 (m, 2H), 1.59-1.12 (m, 2H)。

[0851] 实例 37

[0852] 方案 37a

[0853]



[0854] 合成 N -(6-(6-(2,3-二氢苯并 [b][1,4] 二氧杂环己二烯-6-基氧基)嘧啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丙烯酰胺 (I-95)

[0855] 步骤 1

[0856] 向 2,3-二氢苯并 [b][1,4] 二氧杂环己二烯-6-甲醛 (1g, 6.09mmol) 于 CH_2Cl_2 (16mL) 中的搅拌溶液中加入 m -CPBA (4.204g, 24.36mmol)。在 50℃ 下加热悬浮液 2 天, 冷却到室温, 用饱和 NaHCO_3 溶液淬灭, 并用 CH_2Cl_2 (3×10mL) 萃取。在减压下浓缩合并的萃取物, 接着将其溶解于含有 NaOH 的 MeOH 中。在室温下搅拌溶液 2 小时, 用 HCl 酸化并用乙酸乙酯 (3×10mL) 萃取。用饱和 NaHCO_3 溶液和盐水洗涤合并的萃取物, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残留物溶解于 CH_2Cl_2 中并过滤。DCM 溶液经无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到呈红棕色油性液体状的 2,3-二氢苯并 [b][1,4] 二氧杂环己二烯-6-醇 (0.591g, 63%)。

[0857] 步骤 2

[0858] 将 2,3-二氢苯并[b][1,4]二氧杂环己二烯-6-醇(0.137g,0.90mmol)、 Cs_2CO_3 (0.734g,2.25mmol)、CuI(0.02g,10% w/w)和 N^2 -(6-氯嘧啶-4-基)吡啶-2,6-二胺(0.29g,0.90mmol)于NMP(1mL)中的搅拌混合物在100℃下加热16小时。反应混合物冷却到室温,并缓慢加入软化水中。通过过滤来收集沉淀的固体并通过柱色谱法(SiO_2 ,60-120,石油醚/乙酸乙酯,7/3)进一步纯化,得到呈黄色固体状的 N^2 -(6-(2,3-二氢苯并[b][1,4]二氧杂环己二烯-6-基氧基)嘧啶-4-基)吡啶-2,6-二胺(0.088g,29%)。

[0859] 步骤3

[0860] 在0℃下,向 N^2 -(6-(2,3-二氢苯并[b][1,4]二氧杂环己二烯-6-基氧基)嘧啶-4-基)吡啶-2,6-二胺(0.080g,0.23mmol)和碳酸钾(0.065g,0.47mmol)于NMP(0.8mL)中的搅拌溶液中加入丙烯酰氯(0.026g,0.29mmol),并在0℃下搅拌反应混合物30分钟。将反应混合物逐滴加入冷的10% NaHCO_3 搅拌溶液中并在0℃下搅拌30分钟。通过过滤分离出白色固体。用冷水和己烷洗涤固体并将其溶解于2mL 甲醇/二氯甲烷(1/1)中。在减压下浓缩此溶液。将所得残留物悬浮于冷水(5mL)中,加入 Et_3N ,并用乙酸乙酯(2×5mL)萃取。用水(2mL)和盐水(2mL)洗涤合并的乙酸乙酯萃取物,经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩,得到呈浅黄色固体状的 N -(6-(6-(2,3-二氢苯并[b][1,4]二氧杂环己二烯-6-基氧基)嘧啶-4-基氨基)吡啶-2-基)丙烯酰胺(I-95)。 ^1H NMR(DMSO-d_6) δ ppm:4.25(s,4H),5.79(dd, $J = 1.84$ 和10.08Hz,1H),6.30(dd, $J = 1.84$ 和16.96Hz,1H),6.62-6.72(m,3H),6.88(d, $J = 8.72$ Hz,1H),7.03(d, $J = 7.84$ Hz,1H),7.69(t, $J = 7.96$ Hz,1H),7.70(d, $J = 7.84$ Hz,1H),7.85(s,1H),8.32(d, $J = 0.4$ Hz,1H),10.16(s,1H),10.47(s,1H);LCMS:m/e 392。

[0861] 以下描述用以测量作为ErbB1(EGFR)、ErbB2、ErbB4、TEC、BTK、ITK、BMX和JAK3的抑制剂而提供的化合物的生物活性的分析。

[0862] 实例38

[0863] 使用杆状病毒(Baculovirus)和昆虫细胞克隆、表达和纯化EGFR-WT和EGFR C797S突变体

[0864] (i) 亚克隆EGFR-WT和突变激酶结构域

[0865] 将EGFR-WT激酶结构域的氨基酸696至1022(NM_005228、NP_005219.2)亚克隆到pFastHTa载体(英杰(Invitrogen),加利福尼亚州(CA)卡尔斯巴德(Carlsbad))的NcoI和HindIII位点中。为制得EGFR突变蛋白质,使用斯杰快杰试剂盒(Stratagene QuikChange kit)(斯杰,德克萨斯州(TX)锡达魁克(Cedar Creek)),根据制造商的说明书,将位置797处的半胱氨酸转变为丝氨酸。

[0866] (ii) 表达

[0867] 通过蓝天生物技术(Blue Sky Biotech)的悬浮液转染方案(麻省(MA)伍斯特(Worcester)),在SF9细胞中产生P1杆状病毒原液。每100ml细胞悬浮液使用0.1ml病毒的病毒负荷量,在125ml SF21昆虫细胞的培养物(在SF900I SFM(英杰目录号10902-088)中生长,补充有10mg/L庆大霉素(gentamicin)(英杰,加利福尼亚州卡尔斯巴德,目录号15710-064))中进行表达分析。使用蓝天生物技术的感染动力学监测系统(麻省伍斯特)使表达最优化。

[0868] (iii) 纯化

[0869] 使感染的昆虫细胞成团块。以每克湿细胞浆 10ml 的比率,将细胞团再悬浮于蓝天生物技术的裂解缓冲液(麻省伍斯特,1X WX;溶解缓冲液,其含有亮肽素、抑胃肽、PMSF、抑肽酶和 EDTA 的蛋白酶抑制剂混合液)中。通过声波处理使细胞裂解,并通过在 GSA 转子中以 9,000RPM 离心 30 分钟使裂解液澄清。将 500 μ l 床体积的 NiNTA 树脂(凯杰(Qiagen),加利福尼亚州巴伦西亚(Valencia))加入上清液中,并在恒定搅动下分批结合 2 小时。靠重力将此物质转移到空的 2ml 色谱柱中。用 2ml 洗涤缓冲液(蓝天生物技术,麻省伍斯特,1X WX、25mM 咪唑)洗涤色谱柱。用 1X WX+ 不同浓度的咪唑洗脱蛋白质:洗脱 1:75mM 咪唑(2 个洗脱份,1 个柱体积);洗脱 2:150mM 咪唑(2 个洗脱份,1 个柱体积);洗脱 3:300mM 咪唑(2 个洗脱份,1 个柱体积)。所有的洗脱份都通过 SDS page,接着考马斯染色(Coomassie staining)和西方印迹(Western Blotting),使用抗 5-his 抗体(anti-penta-his antibody)(凯杰,加利福尼亚州巴伦西亚)来分析。使用 AcTEV 蛋白酶试剂盒(英杰,加利福尼亚州卡尔斯巴德,目录号 12575-015),根据制造商的说明书,从一些纯化的蛋白质去除羧基端的 6 个组氨酸的“标签”。如上所述,所有样品(Tev 切割前和 Tev 切割后)都通过 SDS page,接着考马斯染色和西方印迹来分析。

[0870] 实例 39

[0871] EGFR 的质谱分析

[0872] 用 10 倍过量的化合物 I-1 培育 EGFR 野生型和 EGFR 突变体(C797S)达 1 小时和 3 小时。用 10 μ l 0.1% TFA 稀释 1 μ l 样品的等分试样(总体积是 5-8 μ l),接着使用芥子酸作为脱附基质(50:500.1% TFA:乙腈中为 10mg/ml),经微量 C4 吸管尖(micro C4 ZipTipping)直接移至 MALDI 标靶上。完整的质量测量显示野生型的标称质量为约 37557 并且突变体略低,为 37500。仅观测到野生型 EGFR 的反应性,其中一个新的峰出现在与质量为 410Da 的化合物 I-1 进行单一位点共价修饰一致的质量下。(参见图 8)。突变 EGFR(C797S)即使在 3 小时后也未展示显著反应性,证实相关的半胱氨酸 Cys797 经修饰。

[0873] 实例 40

[0874] 评估针对 EGFR(WT) 和 EGFR(T790M/L858R) 活性酶的效力的欧尼亚(Omnia)分析方案

[0875] 以下方案描述连续读取激酶分析,用以测量化合物针对活性形式的 EGFR(WT) 和 EGFR(T790M/L858R) 酶的内在效力。此分析平台的机理最佳由供应商(英杰,加利福尼亚州卡尔斯巴德)在其网站上的以下 URL 下描述:<http://www.invitrogen.com/content.cfm?pageid=11338>或 <http://www.invitrogen.com/site/us/en/home/Products-and-Services/Applications/Drug-Discovery/Target-and-Lead-Identification-and-Validation/KinaseBiology/KB-Misc/Biochemical-Assays/Omnia-Kinase-Assays.html>。

[0876] 简单地说,在由 20mM Tris(pH 7.5)、5mM MgCl₂、1mM EGTA、5mM β -甘油磷酸酯、5% 甘油(10X 原液,KB002A)和 0.2mM DTT(DS001A)组成的 1X 激酶反应缓冲液中制备来自英杰的 EGFR-WT(PV3872)和来自 BPS 生物科学(BPS Bioscience)(加利福尼亚州圣地亚哥(San Diego))的 EGFR-T790M/L858R(40350)、1.13X ATP(AS001A)和适当 Tyr-Sox 结合的肽底物(KCZ1001)的 10X 原液。在 27°C 下,在康宁(Corning)(#3574)384 孔的白色非结合表面微量滴定板(康宁,纽约(NY))中,5 μ l 各酶与 0.5 μ l 体积的 50% DMSO 和在 50% DMSO 中制备的连续稀释的化合物一起预先培育 30 分钟。通过加入 45 μ l ATP/Tyr-Sox 肽底物混合

物,开始激酶反应,并在来自伯腾 (BioTek) (佛蒙特州 (VT) 威努斯基 (Winooski)) 的斯能杰⁴(Synergy⁴) 板式读数器中在 $\lambda_{\text{ex}}360/\lambda_{\text{em}}485$ 下每 30-90 秒进行监测,持续 60 分钟。在每个分析结束时,检查来自每个孔的进展曲线的线性反应动力学和拟合统计资料 (R^2 、95% 置信区间、绝对平方和)。从相对荧光单位对时间 (分钟) 的图中的斜率确定每个反应的起始速度 (0 分钟至约 30 分钟),接着针对抑制剂浓度绘图,在来自格拉夫帕特软件 (GraphPad Software) (加利福尼亚州圣地亚哥) 的格拉夫帕特普瑞姆 (GraphPad Prism) 中由 $\log[\text{抑制剂}]$ 对反应的可变斜率模型估算 IC_{50} 。

[0877] EGFR-WT 和 EGFR T790M/L858R 修饰的最优化试剂条件是:

[0878] [EGFR-WT] = 5nM, [ATP] = 15mM, [Y12-Sox] = 5mM (ATP K_{Mapp} 为约 12mM); 且 [EGFR-T790M/L858R] = 3nM, [ATP] = 50mM, [Y12-Sox] = 5mM (ATP K_{Mapp} 为约 45mM)。

[0879] 实例 41

[0880] 表 7 展示 EGFR 抑制分析中所选择的本发明化合物的活性。化合物编号对应于表 5 中的化合物编号。活性指定为“A”的化合物提供 $IC_{50} \leq 10\text{nM}$; 活性指定为“B”的化合物提供 10-100nM 的 IC_{50} ; 活性指定为“C”的化合物提供 10-1000nM 的 IC_{50} ; 活性指定为“D”的化合物提供 1000-10,000nM 的 IC_{50} ; 且活性指定为“E”的化合物提供 $IC_{50} \geq 10,000\text{nM}$ 。

[0881] 表 7. EGFR 野生型和 EGFR (突变 C797S) 的抑制资料

[0882]

化合物编号	EGFR 抑制	EGFR (T790M/L858R) 抑制
I-1	A	A
I-2	A	A
I-3	A	A
I-4	A	B
I-5	A	A
I-6	B	B
I-7	A	B
I-8	A	D
I-9	A	C
I-10	A	C
I-11	B	E
I-12	B	E

I-13	A	B
I-14	A	B
I-15	A	B
I-16	A	B

[0883]

化合物编号	EGFR 抑制	EGFR (T790M/L858R) 抑制
I-17	A	B
I-18	A	A
I-19	A	A
I-46	A	A
I-47	A	E
I-48	C	C
I-49	A	A
I-50	A	B
I-51	A	D
I-52	A	A
I-53	B	C
I-54	A	A
I-55	A	A
I-56	A	A
I-57	-	C
I-58	-	C
I-59	A	A
I-60	D	C

I-61	-	A
I-63	A	A
I-65	A	B
I-66	A	C
I-67	A	A
I-68	A	-
I-69	B	-
I-70	A	-
I-71	A	-
I-73	A	-
I-75	A	-
I-78	A	-
I-79	A	-
I-80	C	-
I-81	A	-
I-82	A	-
I-83	B	-
I-84	B	-
I-85	B	-
I-86	B	-
I-87	B	-
I-88	A	-
I-89	A	-
I-90	A	-

I-91	A	-
I-92	A	-
I-93	A	-
I-94	A	A

[0884] 实例 42

[0885] EGFR 活性的细胞分析

[0886] 使用实质上类似于福莱 (Fry) 等人, 美国国家科学院院刊 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA) 第 95 卷, 第 12022-12027 页, 1998 中所述的方法, 在 A431 人类表皮样癌细胞中分析化合物。明确地说, 使 A431 人类表皮样癌细胞在 6 孔板中生长至 90% 汇合, 接着在无血清的培养基中培育 18 小时。用 1 μ M 指定化合物处理双重复组的细胞达 2、5、10、30 或 60 分钟。用温的无血清培养基从细胞洗去化合物, 培育 2 小时, 再次洗涤, 再培育 2 小时, 再次洗涤, 且接着再培育 2 小时, 再次洗涤并再培育 2 小时, 并且接着用 100ng/ml EGF 刺激 5 分钟。如福莱等人所述, 制备提取物。图 1 描绘化合物 I-1 的 EGFR 抑制活性。

[0887] 使用实质上类似于福莱等人中所述的方法, 在 A431 人类表皮样癌细胞中分析化合物。明确地说, 使 A431 人类表皮样癌细胞在 6 孔板中生长至 90% 汇合, 接着在无血清培养基中培育 18 小时。接着用 10、1、0.1、0.01 或 0.001 μ M 测试化合物处理细胞 1 小时。接着用 100ng/ml EGF 刺激细胞 5 分钟, 并如福莱等人中所述制备提取物。将来自裂解液的 20 μ g 总蛋白质负荷在凝胶上, 并针对 EGFR 磷酸化或 p42/p44Erk 磷酸化探测印迹。

[0888] 图 3 中描绘 A431 细胞中化合物 I-16 和 I-17 对 EGFR 磷酸化和 p42/p44Erk 磷酸化的剂量反应抑制。图 4 中描绘 A431 细胞中化合物 I-19 对 EGFR 磷酸化和 p42/p44Erk 磷酸化的剂量反应抑制。图 5 中描绘 A431 细胞中化合物 I-1 与其“可逆对照”化合物 (I^R-3) 相比较, 对 EGFR 磷酸化的剂量反应抑制。

[0889] 实例 43

[0890] EGFR 活性的冲洗实验

[0891] 使 A431 人类表皮样癌细胞在 6 孔板中生长至 90% 汇合, 接着在无血清的培养基中培育 18 小时。用 1 μ M 指定化合物处理双重复组的细胞 1 小时。接着用 100ng/ml EGF 刺激一组细胞 5 分钟, 并如所述来制备提取物。用温的无化合物的培养基从另一组细胞洗去化合物, 培育 2 小时, 再次洗涤, 再培育 2 小时, 再次洗涤, 接着再培育 2 小时, 再次洗涤并再培育 2 小时, 并且接着用 EGF 刺激。此实验的结果描绘于图 6 中, 其中表明化合物 I-1 在“冲洗”后维持酶的抑制, 而它的“可逆对照”化合物 (I^R-3) 在实验中被洗掉, 从而使酶活性再活化。

[0892] 实例 44

[0893] ErbB4 的质谱分析

[0894] ErbB4 激酶结构域 (阿普赛特 (Upstate)) 与化合物一起培育 90 分钟, 化合物 I-1 相对于蛋白质过量 10 倍。用 10 μ l 0.1% TFA 稀释 1 μ l 样品的等分试样 (总体积是 4.24 μ l), 接着使用芥子酸作为脱附基质 (50:500.1% TFA: 乙腈中为 10mg/ml), 经微量 C4

吸管尖直接移至 MALDI 标靶上。为进行完整的蛋白质质量测量,仪器设为线性模式,对用以校正仪器(岛津阿斯玛 TOF²(Shimadzu Axima TOF²))的肌红蛋白标准物使用 16,952 的脉冲提取设置。

[0895] 完整的 ErbB4 蛋白质出现在 35850 的 MH⁺ 下,对应的芥子酸(基质)加合物出现在高约 200Da 处。化合物 I-1(Mw 为 410Da)的化学计量合并产生一个新的质量峰,其高约 410Da(MH⁺ 为 36260)。如图 7 中所描绘,此与 ErbB4 经化合物 I-1 共价修饰一致。

[0896] 实例 45

[0897] ErbB1、ErbB2 和 / 或 ErbB4 激酶抑制

[0898] 以实质上类似于英杰公司所述的方法(英杰公司,加利福尼亚(California, CA)卡尔斯巴德法拉第大街(Faraday Avenue)1600号;http://www.invitrogen.com/downloads/Z-LYTE_Brochure_1205.pdf)的方式,使用 Z'-LYTETM生物化学分析程序或类似的生物化学分析,分析作为 ErbB1、ErbB2 和 / 或 ErbB4 中一者或一者以上的抑制剂的本发明化合物。Z'-LYTETM生物化学分析采用以荧光为基础的酶联格式并基于磷酸化和非磷酸化肽对蛋白质分裂的差示灵敏性。

[0899] 实例 46

[0900] 表 8 展示 ErbB 抑制分析中所选的本发明化合物的活性。化合物编号对应于表 5 中的化合物编号。

[0901] 表 8. ErbB1、ErbB2 和 / 或 ErbB4 的抑制资料

[0902]

化合物编号	ErbB1 的抑制%	ErbB2 的抑制%	ErbB4 的抑制%
I-1	10 nM 下 99%	1 μM 下 76% 100 nM 下 61%	1 μM 下 86% 100 nM 下 64%
I-2	100 nM 下 98% 10 nM 下 75%	1 μM 下 96% 100 nM 下 39%	1 μM 下 75%
I-3	100 nM 下 96% 10 nM 下 56%	1 μM 下 89%	1 μM 下 95%
I-4	10 nM 下 100%	1 μM 下 86%	1 μM 下 78%
I-5	10 nM 下 100%	1 μM 下 86%	1 μM 下 95%
I-6	100 nM 下 100% 10 nM 下 49%	1 μM 下 84%	1 μM 下 97%

[0903]

化合物编号	ErbB1 的抑制%	ErbB2 的抑制%	ErbB4 的抑制%
I-7	100 nM 下 100% 10 nM 下 53%	1 μ M 下 89%	1 μ M 下 100%
I-8	10 nM 下 83%	-	1 μ M 下 57%
I-9	1 μ M 下 100%	-	1 μ M 下 75%
I-10	1 μ M 下 96%	-	-
I-11	1 μ M 下 79%	-	-
I-12	1 μ M 下 82%	-	-
I-13	1 μ M 下 92%	1 μ M 下 98%	-
I-14	1 μ M 下 96%	-	-
I-15	1 μ M 下 98%	-	-
I-16	1 μ M 下 98%	100 nM 下 87% 10 nM 下 24%	100 nM 下 93% 10 nM 下 26%
I-17	1 μ M 下 95%	1 μ M 下 89%	1 μ M 下 94%
I-18	-	1 μ M 下 91%	1 μ M 下 94%
I-19	1 μ M 下 96%	1 μ M 下 98%	1 μ M 下 97%

[0904] 实例 47

[0905] TEC 激酶的质谱分析

[0906] 在进行胰蛋白酶消化前,将 TEC 激酶 (45pmol ;英杰) 与 10 倍过量的 (I-13) (450pmol) 一起培育 3 小时。在化合物培育后,使用碘乙酰胺作为烷基化剂。此外制备未加入 (I-13) 的对照样品 (45pmol)。对于胰蛋白酶消化液,用 15 μ l 0.1% TFA 稀释 5 μ l 等分试样 (7.5pmol),接着使用 α 氰基 -4- 羟基肉桂酸作为基质 (50:500.1% TFA: 乙腈中为 5mg/ml),经微量 C18 吸管尖直接移至 MALDI 标靶上。

[0907] 如图 11 中所描绘,待修饰的预期肽 (GCLLNFLR) 在 1358.65 的 MH⁺ 下立即变得明显。这正是加合质量为 423.17 的化合物 I-13 加入 935.51 的肽质量中时所预期的质量。此肽在碘乙酰胺所修饰的对照样品中,在 992.56 的 MH⁺ 下也是非常明显的。有趣的是,经碘乙酰胺修饰的肽在与化合物 I-13 反应的消化液中并不明显,说明反应完全。未有证据表明任何其它经修饰的肽。

[0908] 在谱图的低质量范围内,在 424.20 的 MH⁺ 下观测到存在化合物 I-13 的证据。424.20 峰的碎裂谱展示许多诊断碎片,这些碎片在经修饰的肽的 PSD 谱图中在 1358.65 下明显 (参见图 11)。

[0909] 为进一步确定经化合物 I-13 修饰的肽的存在,使 1358.65 的 MH⁺ 下的肽经历 PSD (MS/MS) 分析。智人资料库的相关分析确定经 I-13 修饰的正确肽。

[0910] 仪器:

[0911] 对于胰蛋白酶消化液,将仪器设为反射模式,脉冲提取设置为 2200。使用激光生物实验室制备混合标准物 (Laser Biolabs Pep Mix standard) (1046.54、1296.69、1672.92、2093.09、2465.20) 进行校正。对于 CID/PSD 分析,使用指针设定离子门定时 (ion gate timing) 且在高约 20% 的激光功率下且 He 用作 CID 的碰撞气体,发生碎裂,由此来选择肽。使用针对曲线场反射 (Curved field Reflectron) 的 P14R 碎裂校正对碎片进行校正。

[0912] 实例 48

[0913] 评估针对 BTK 的效力的欧尼亚分析方案

[0914] 以实质上类似于以上实例 25 中所述的方式, 进行评估针对 BTK 的效力的欧尼亚分析方案, 除了经修饰的 BTK 的最优化试剂条件如下:

[0915] $[BTK] = 5nM$, $[ATP] = 40mM$, $[Y5-Sox] = 10mM$ (ATP K_{Mapp} 为约 36mM)。

[0916] 实例 49

[0917] 表 9 展示 BTK 抑制分析中所选的本发明化合物的活性。化合物编号对应于表 5 中的化合物编号。活性指定为“A”的化合物提供 $IC_{50} \leq 10nM$; 活性指定为“B”的化合物提供 10-100nM 的 IC_{50} ; 活性指定为“C”的化合物提供 10-1000nM 的 IC_{50} ; 活性指定为“D”的化合物提供 1000-10,000nM 的 IC_{50} ; 且活性指定为“E”的化合物提供 $IC_{50} \geq 10,000nM$ 。

[0918] 表 9. BTK 的抑制资料

[0919]

化合物编号	BTK 抑制
I-1	B
I-2	B
I-3	B
I-4	A
I-5	A
I-6	C
I-7	B
I-8	E
I-9	C
I-10	C
I-11	E
I-12	E
I-13	A
I-14	C
I-15	B
I-16	B

I-17	A
I-18	B
I-19	B

[0920]

化合物编号	BTK 抑制
I-46	C
I-47	E
I-48	B
I-49	A
I-50	D
I-51	E
I-52	A
I-53	B
I-54	C
I-55	B
I-56	B
I-57	D
I-58	D
I-59	C
I-60	D
I-61	B
I-62	A
I-63	A
I-64	A

I-65	A
I-66	A
I-67	B
I-68	B
I-69	C
I-70	C
I-71	D
I-73	A
I-75	A
I-78	A
I-79	A
I-80	D
I-81	A
I-82	A
I-83	B
I-84	D
I-85	B
I-86	B
I-87	E
I-88	A
I-89	A
I-90	A
I-91	A
I-92	B

I-93	D
I-94	A

[0921] 实例 50

[0922] BTK 拉莫斯细胞分析

[0923] 在拉莫斯人类伯基特淋巴瘤细胞中分析化合物 I-13 和 (I-52)。拉莫斯细胞生长在含悬浮液的 T225 烧瓶中,短暂离心 (spin down),再悬浮于 50ml 无血清培养基中并培育 1 小时。将化合物加入无血清培养基中的拉莫斯细胞中,达到 1、0.1、0.01 或 0.001 μM 的最终浓度。将拉莫斯细胞与化合物一起培育 1 小时,再次洗涤并再悬浮于 100 μl 无血清培养基中。接着用 1 μg 山羊 F(ab')₂ 抗人类 IgM 刺激细胞,并在冰上培育 10 分钟以活化 B 细胞受体信号传导通路。10 分钟后,用 PBS 洗涤细胞一次且接着用英杰细胞提取缓冲液在冰上使其裂解。将 16 μg 来自裂解液的总蛋白质负荷于凝胶上,并针对 BTK 底物 PLC γ 2 的磷酸化探测印迹。1 μM 的 I-13 展示拉莫斯细胞中 BTK 信号传导的 85% 抑制,且 (I-52) 展示 50% 抑制。I-13 对 BTK 信号传导的其它剂量反应抑制描绘于图 9 中。

[0924] 表 10 提供拉莫斯细胞中所选化合物的抑制资料。化合物编号对应于表 5 中的化合物编号。活性指定为“A”的化合物提供 $\text{IC}_{50} \leq 10\text{nM}$;活性指定为“B”的化合物提供 10-100nM 的 IC_{50} ;活性指定为“C”的化合物提供 10-1000nM 的 IC_{50} ;活性指定为“D”的化合物提供 $\text{IC}_{50} \geq 1000\text{nM}$ 。

[0925] 表 10. BTK 拉莫斯细胞的抑制资料

[0926]

化合物编号	BTK 抑制 (nM)
I-5	C
I-13	B
I-17	D
I-63	A
I-64	B
I-65	A
I-66	A
I-78	A
I-79	A
I-81	A

I-82	A
------	---

[0927] 实例 51

[0928] 使用拉莫斯细胞针对 BTK 活性的冲洗实验

[0929] 在 RPMI 培养基 +1% 谷氨酰胺中, 在 37°C 下使拉莫斯细胞血清饥饿达 1 小时。饥饿后, 用 100nM 经无血清 RPMI 培养基稀释的化合物处理拉莫斯细胞 1 小时。进行化合物处理后, 移出培养基并用无化合物的培养基洗涤细胞。随后, 每 2 小时洗涤拉莫斯细胞并且再悬浮于无化合物的新鲜培养基中。在指定时间点收集细胞, 用 1 μg 抗人类 IgM (南方生物技术 (Southern Biotech) 目录号 2022-01) 在冰上处理 10 分钟以诱发 BCR 信号传导, 接着在 PBS 中洗涤。接着, 拉莫斯细胞在补充有罗氏完全蛋白酶抑制剂片 (Roche complete protease inhibitor tablet) (罗氏 11697498001) 和磷酸酶抑制剂 (罗氏 04906837001) 的细胞提取缓冲液 (英杰 FNN0011) 中裂解, 将 18 μg 总蛋白质裂解液负载到每个泳道中。通过使用来自细胞信号传导技术 (Cell Signaling Technologies) 目录号 3871 的磷酸化特异性抗体进行西方印迹法, 来测量 Btk 激酶底物 (PLC γ 2) 的磷酸化, 借此分析 Btk 激酶活性的抑制。图 10 描绘冲洗实验中化合物 I-13 在 0 小时、4 小时、6 小时和 8 小时时间点的结果。如图 10 中所示, 化合物 I-13 维持 BTK 的抑制达 8 小时。

[0930] 表 11 提供拉莫斯冲洗分析中所选化合物的资料。

[0931] 表 11. BTK 冲洗资料

[0932]

化合物编号	BTK 抑制类型
I-13	不可逆
I-63	不可逆
I-64	不可逆
I-65	可逆
I-66	不可逆
I-82	不可逆

[0933] 实例 52

[0934] BTK 的质谱分析

[0935] 以相对于蛋白质 10 倍过量的化合物 I-63 或 I-66 培育完整的 BTK 达 1 小时。用 10 μl 10.1% TFA 稀释样品的等分试样 (2 μl), 接着使用芥子酸作为脱附基质 (20:800.1% TFA: 乙腈中为 10mg/ml), 经微量 C4 吸管尖直接移至 MALDI 靶上。质谱分析描绘图展示于图 12 和图 13 中。图 12 和 13 的顶图展示完整的 BTK 蛋白质 (m/z 81, 169Da) 的质谱描绘图。图 12 和 13 中的底图分别展示在 BTK 与化合物 I-63 (mw 424.5) 或化合物 I-66 (mw 425.5) 一起培育时的质谱描绘图。图 12 的底图中的质心质量 (m/z 81, 593kDa) 展示约 424Da 的正向移动, 表明 BTK 经化合物 I-63 完全修饰。图 13 的底图中的质心质量 (m/z 81, 593kDa)

展示约 407Da 的正向移动,表明 BTK 经化合物 I-66 完全修饰。

[0936] 实例 53

[0937] 评估针对活性形式的 ITK 激酶的效力的欧尼亚分析方案

[0938] 此实例描述如上文实例 10 中所述的连续读取激酶分析,其用以测量化合物针对活性形式的 ITK 酶的内在效力,除了经修饰的 ITK 的最优化试剂条件如下:

[0939] $[ITK] = 10\text{nM}$, $[ATP] = 25\ \mu\text{M}$, $[Y6\text{-Sox}] = 10\ \mu\text{M}$ ($ATP\ K_{\text{MapD}} = 33\ \mu\text{M}$)。

[0940] 实例 54

[0941] 表 12 展示 ITK 抑制分析中所选的本发明化合物的活性。化合物编号对应于表 5 中的化合物编号。活性指定为“A”的化合物提供 $IC_{50} \leq 10\text{nM}$;活性指定为“B”的化合物提供 10-100nM 的 IC_{50} ;活性指定为“C”的化合物提供 10-1000nM 的 IC_{50} ;活性指定为“D”的化合物提供 1000-10,000nM 的 IC_{50} ;且活性指定为“E”的化合物提供 $IC_{50} \geq 10,000\text{nM}$ 。

[0942] 表 12. ITK 的抑制资料

[0943]

化合物编号	ITK 抑制
I-10	E
I-13	D
I-14	D
I-15	D
I-63	D
I-64	B
I-65	B
I-66	D
I-78	B
I-79	A
I-81	B
I-88	B
I-89	C
I-90	C
I-94	B

[0944] 实例 55

[0945] 评估针对活性形式的 BMX 激酶的效力的欧尼亚分析方案

[0946] 此实例描述如上文实例 10 中所述的连续读取激酶分析,其用以测量化合物针对活性形式的 BMX 酶的内在效力,除了经修饰的 BMX 的最优化试剂条件如下:

[0947] $[BMX] = 2.5nM$, $[ATP] = 100 \mu M$, $[Y5-Sox] = 7.5 \mu M$ ($ATP K_{Mapp} = 107 \mu M$)。

[0948] 实例 56

[0949] 表 13 展示 BMX 抑制分析中所选的本发明化合物的活性。化合物编号对应于表 5 中的化合物编号。活性指定为“A”的化合物提供 $IC_{50} \leq 10nM$;活性指定为“B”的化合物提供 10-100nM 的 IC_{50} ;活性指定为“C”的化合物提供 10-1000nM 的 IC_{50} ;活性指定为“D”的化合物提供 1000-10,000nM 的 IC_{50} ;且活性指定为“E”的化合物提供 $IC_{50} \geq 10,000nM$ 。

[0950] 表 13. BMX 的抑制资料

[0951]

化合物编号	BMX 抑制
I-10	-
I-13	A
I-14	-
I-15	-
I-63	A
I-64	B
I-65	A
I-66	A
I-78	B
I-79	A
I-81	A
I-94	A

[0952] 实例 57

[0953] 评估针对活性形式的杰纳斯-3 激酶 (JAK3) 的效力的欧尼亚分析方案:

[0954] 以实质上类似于以上实例 25 中所述的方式,进行评估针对 JAK3 的效力的欧尼亚分析方案,除了经修饰的 JAK3 的最优化试剂条件如下:

[0955] $[JAK3] = 5nM$, $[ATP] = 5 \mu M$, $[Y12-Sox] = 5 \mu M$ ($ATP K_{Mapp}$ 为约 $5 \mu M$)。

[0956] 实例 58

[0957] 表 14 展示 JAK3 抑制分析中所选的本发明化合物的活性。化合物编号对应于表 5 中的化合物编号。活性指定为“A”的化合物提供 $IC_{50} \leq 10nM$;活性指定为“B”的化合物提供 10-100nM 的 IC_{50} ;活性指定为“C”的化合物提供 10-1000nM 的 IC_{50} ;活性指定为“D”的化合物提供 1000-10,000nM 的 IC_{50} ;且活性指定为“E”的化合物提供 $IC_{50} \geq 10,000nM$ 。

[0958] 表 14. JAK3 的抑制资料

[0959]

化合物编号	JAK3 抑制
I-1	A
I-2	A
I-3	A
I-4	A
I-5	A
I-6	D
I-7	C
I-8	D

[0960]

化合物编号	JAK3 抑制
I-9	C
I-10	C
I-11	E
I-12	E
I-13	C
I-14	A
I-15	B
I-16	B
I-17	B
I-18	B

I-19	C
I-46	D
I-47	E
I-48	E
I-49	A
I-50	C
I-51	E
I-52	A
I-53	C
I-54	D
I-55	B
I-56	B
I-57	E
I-58	C
I-59	D
I-60	D
I-61	B
I-62	C
I-63	B
I-64	A
I-65	A
I-66	C
I-67	A
I-68	A

I-69	C
I-70	C
I-71	D
I-73	A
I-75	C
I-78	A
I-79	A
I-80	E
I-81	A
I-82	B
I-83	B
I-84	E
I-85	D
I-86	E

[0961]

化合物编号	JAK3 抑制
I-92	B
I-93	E
I-94	A

[0962] 虽然已描述多个本发明实施例,但很明显,基础实例可以改变以提供利用本发明的化合物和方法的其它实施例。因此,应了解本发明的范围应由随附权利要求书界定,而非由通过实例说明的特定实施例界定。

[0001]

序列表

<110> 阿维拉制药公司

<120> 杂芳基化合物和其用途

<130> 2007878-0047

<160> 9

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 540

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Met Ala Ala Val Ile Leu Glu Ser Ile Phe Leu Lys Arg Ser Gln Gln
 1 5 10 15

Lys Lys Lys Thr Ser Pro Leu Asn Phe Lys Lys Arg Leu Phe Leu Leu
 20 25 30

Thr Val His Lys Leu Ser Tyr Tyr Glu Tyr Asp Phe Glu Arg Gly Arg
 35 40 45

Arg Gly Ser Lys Lys Gly Ser Ile Asp Val Glu Lys Ile Thr Cys Val
 50 55 60

Glu Thr Val Val Pro Glu Lys Asn Pro Pro Pro Glu Arg Gln Ile Pro
 65 70 75 80

Arg Arg Gly Glu Glu Ser Ser Glu Met Glu Gln Ile Ser Ile Ile Glu
 85 90 95

Arg Phe Pro Tyr Pro Phe Gln Val Val Tyr Asp Glu Gly Pro Leu Tyr

[0002]

	100	105	110
Val Phe Ser Pro Thr Glu Glu Leu Arg Lys Arg Trp Ile His Gln Leu			
	115	120	125
Lys Asn Val Ile Arg Tyr Asn Ser Asp Leu Val Gln Lys Tyr His Pro			
	130	135	140
Cys Phe Trp Ile Asp Gly Gln Tyr Leu Cys Cys Ser Gln Thr Ala Lys			
145	150	155	160
Asn Ala Met Gly Cys Gln Ile Leu Glu Asn Arg Asn Gly Ser Leu Lys			
	165	170	175
Pro Gly Ser Ser His Arg Lys Thr Lys Lys Pro Leu Pro Pro Thr Pro			
	180	185	190
Glu Glu Asp Gln Ile Leu Lys Lys Pro Leu Pro Pro Glu Pro Ala Ala			
	195	200	205
Ala Pro Val Ser Thr Ser Glu Leu Lys Lys Val Val Ala Leu Tyr Asp			
	210	215	220
Tyr Met Pro Met Asn Ala Asn Asp Leu Gln Leu Arg Lys Gly Asp Glu			
225	230	235	240
Tyr Phe Ile Leu Glu Glu Ser Asn Leu Pro Trp Trp Arg Ala Arg Asp			
	245	250	255
Lys Asn Gly Gln Glu Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Thr Glu Ala			
	260	265	270
Glu Asp Ser Ile Glu Met Tyr Glu Trp Tyr Ser Lys His Met Thr Arg			

[0003]

	275	280	285	
Ser Gln Ala Glu Gln Leu Leu Lys Gln Glu Gly Lys Glu Gly Gly Phe				
	290	295	300	
Ile Val Arg Asp Ser Ser Lys Ala Gly Lys Tyr Thr Val Ser Val Phe				
	305	310	315	320
Ala Lys Ser Thr Gly Asp Pro Gln Gly Val Ile Arg His Tyr Val Val				
	325	330		335
Cys Ser Thr Pro Gln Ser Gln Tyr Tyr Leu Ala Glu Lys His Leu Phe				
	340	345		350
Ser Thr Ile Pro Glu Leu Ile Asn Tyr His Gln His Asn Ser Ala Gly				
	355	360		365
Leu Ile Ser Arg Leu Lys Tyr Pro Val Ser Gln Gln Asn Lys Asn Ala				
	370	375		380
Pro Ser Thr Ala Gly Leu Gly Tyr Gly Ser Trp Glu Ile Asp Pro Lys				
	385	390	395	400
Asp Leu Thr Phe Leu Lys Glu Leu Gly Thr Gly Gln Phe Gly Val Val				
	405	410		415
Lys Tyr Gly Lys Trp Arg Gly Gln Tyr Asp Val Ala Ile Lys Met Ile				
	420	425		430
Lys Glu Gly Ser Met Ser Glu Asp Glu Phe Ile Glu Glu Ala Lys Val				
	435	440		445
Met Met Asn Leu Ser His Glu Lys Leu Val Gln Leu Tyr Gly Val Cys				

[0004]

450 455 460
 Thr Lys Gln Arg Pro Ile Phe Ile Ile Thr Glu Tyr Met Ala Asn Gly
 465 470 475 480
 Cys Leu Leu Asn Tyr Leu Arg Glu Met Arg His Arg Phe Gln Thr Gln
 485 490 495
 Gln Leu Leu Glu Met Cys Lys Asp Val Cys Glu Ala Met Glu Tyr Leu
 500 505 510
 Glu Ser Lys Gln Phe Leu His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Leu
 515 520 525
 Val Asn Asp Gln Gly Val Val Lys Val Ser Asp Phe
 530 535 540
 <210> 2
 <211> 631
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 2
 Met Asn Phe Asn Thr Ile Leu Glu Glu Ile Leu Ile Lys Arg Ser Gln
 1 5 10 15
 Gln Lys Lys Lys Thr Ser Pro Leu Asn Tyr Lys Glu Arg Leu Phe Val
 20 25 30
 Leu Thr Lys Ser Met Leu Thr Tyr Tyr Glu Gly Arg Ala Glu Lys Lys
 35 40 45
 Tyr Arg Lys Gly Phe Ile Asp Val Ser Lys Ile Lys Cys Val Glu Ile
 50 55 60

[0005]

Val Lys Asn Asp Asp Gly Val Ile Pro Cys Gln Asn Lys Tyr Pro Phe
65 70 75 80

Gln Val Val His Asp Ala Asn Thr Leu Tyr Ile Phe Ala Pro Ser Pro
85 90 95

Gln Ser Arg Asp Leu Trp Val Lys Lys Leu Lys Glu Glu Ile Lys Asn
100 105 110

Asn Asn Asn Ile Met Ile Lys Tyr His Pro Lys Phe Trp Thr Asp Gly
115 120 125

Ser Tyr Gln Cys Cys Arg Gln Thr Glu Lys Leu Ala Pro Gly Cys Glu
130 135 140

Lys Tyr Asn Leu Phe Glu Ser Ser Ile Arg Lys Ala Leu Pro Pro Ala
145 150 155 160

Pro Glu Thr Lys Lys Arg Arg Pro Pro Pro Pro Ile Pro Leu Glu Glu
165 170 175

Glu Asp Asn Ser Glu Glu Ile Val Val Ala Met Tyr Asp Phe Gln Ala
180 185 190

Ala Glu Gly His Asp Leu Arg Leu Glu Arg Gly Gln Glu Tyr Leu Ile
195 200 205

Leu Glu Lys Asn Asp Val His Trp Trp Arg Ala Arg Asp Lys Tyr Gly
210 215 220

Asn Glu Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Thr Gly Lys Lys Ser Asn
225 230 235 240

[0006]

Asn Leu Asp Gln Tyr Glu Trp Tyr Cys Arg Asn Met Asn Arg Ser Lys
 245 250 255

Ala Glu Gln Leu Leu Arg Ser Glu Asp Lys Glu Gly Gly Phe Met Val
 260 265 270

Arg Asp Ser Ser Gln Pro Gly Leu Tyr Thr Val Ser Leu Tyr Thr Lys
 275 280 285

Phe Gly Gly Glu Gly Ser Ser Gly Phe Arg His Tyr His Ile Lys Glu
 290 295 300

Thr Thr Thr Ser Pro Lys Lys Tyr Tyr Leu Ala Glu Lys His Ala Phe
 305 310 315 320

Gly Ser Ile Pro Glu Ile Ile Glu Tyr His Lys His Asn Ala Ala Gly
 325 330 335

Leu Val Thr Arg Leu Arg Tyr Pro Val Ser Val Lys Gly Lys Asn Ala
 340 345 350

Pro Thr Thr Ala Gly Phe Ser Tyr Glu Lys Trp Glu Ile Asn Pro Ser
 355 360 365

Glu Leu Thr Phe Met Arg Glu Leu Gly Ser Gly Leu Phe Gly Val Val
 370 375 380

Arg Leu Gly Lys Trp Arg Ala Gln Tyr Lys Val Ala Ile Lys Ala Ile
 385 390 395 400

Arg Glu Gly Ala Met Cys Glu Glu Asp Phe Ile Glu Glu Ala Lys Val
 405 410 415

[0007]

Met Met Lys Leu Thr His Pro Lys Leu Val Gln Leu Tyr Gly Val Cys
 420 425 430

Thr Gln Gln Lys Pro Ile Tyr Ile Val Thr Glu Phe Met Glu Arg Gly
 435 440 445

Cys Leu Leu Asn Phe Leu Arg Gln Arg Gln Gly His Phe Ser Arg Asp
 450 455 460

Val Leu Leu Ser Met Cys Gln Asp Val Cys Glu Gly Met Glu Tyr Leu
 465 470 475 480

Glu Arg Asn Ser Phe Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Leu
 485 490 495

Val Ser Glu Ala Gly Val Val Lys Val Ser Asp Phe Gly Met Ala Arg
 500 505 510

Tyr Val Leu Asp Asp Gln Tyr Thr Ser Ser Ser Gly Ala Lys Phe Pro
 515 520 525

Val Lys Trp Cys Pro Pro Glu Val Phe Asn Tyr Ser Arg Phe Ser Ser
 530 535 540

Lys Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Met Trp Glu Val Phe Thr
 545 550 555 560

Glu Gly Arg Met Pro Phe Glu Lys Tyr Thr Asn Tyr Glu Val Val Thr
 565 570 575

Met Val Thr Arg Gly His Arg Leu Tyr Gln Pro Lys Leu Ala Ser Asn
 580 585 590

[0008]

Tyr Val Tyr Glu Val Met Leu Arg Cys Trp Gln Glu Lys Pro Glu Gly
 595 600 605

Arg Pro Ser Phe Glu Asp Leu Leu Arg Thr Ile Asp Glu Leu Val Glu
 610 615 620

Cys Glu Glu Thr Phe Gly Arg
 625 630

<210> 3

<211> 620

<212> PRT

<213> 智人

<400> 3

Met Asn Asn Phe Ile Leu Leu Glu Glu Gln Leu Ile Lys Lys Ser Gln
 1 5 10 15

Gln Lys Arg Arg Thr Ser Pro Ser Asn Phe Lys Val Arg Phe Phe Val
 20 25 30

Leu Thr Lys Ala Ser Leu Ala Tyr Phe Glu Asp Arg His Gly Lys Lys
 35 40 45

Arg Thr Leu Lys Gly Ser Ile Glu Leu Ser Arg Ile Lys Cys Val Glu
 50 55 60

Ile Val Lys Ser Asp Ile Ser Ile Pro Cys His Tyr Lys Tyr Pro Phe
 65 70 75 80

Gln Val Val His Asp Asn Tyr Leu Leu Tyr Val Phe Ala Pro Asp Arg
 85 90 95

[0009]

Glu Ser Arg Gln Arg Trp Val Leu Ala Leu Lys Glu Glu Thr Arg Asn
 100 105 110

Asn Asn Ser Leu Val Pro Lys Tyr His Pro Asn Phe Trp Met Asp Gly
 115 120 125

Lys Trp Arg Cys Cys Ser Gln Leu Glu Lys Leu Ala Thr Gly Cys Ala
 130 135 140

Gln Tyr Asp Pro Thr Lys Asn Ala Ser Lys Lys Pro Leu Pro Pro Thr
 145 150 155 160

Pro Glu Asp Asn Arg Arg Pro Leu Trp Glu Pro Glu Glu Thr Val Val
 165 170 175

Ile Ala Leu Tyr Asp Tyr Gln Thr Asn Asp Pro Gln Glu Leu Ala Leu
 180 185 190

Arg Arg Asn Glu Glu Tyr Cys Leu Leu Asp Ser Ser Glu Ile His Trp
 195 200 205

Trp Arg Val Gln Asp Arg Asn Gly His Glu Gly Tyr Val Pro Ser Ser
 210 215 220

Tyr Leu Val Glu Lys Ser Pro Asn Asn Leu Glu Thr Tyr Glu Trp Tyr
 225 230 235 240

Asn Lys Ser Ile Ser Arg Asp Lys Ala Glu Lys Leu Leu Leu Asp Thr
 245 250 255

Gly Lys Glu Gly Ala Phe Met Val Arg Asp Ser Arg Thr Ala Gly Thr
 260 265 270

[0010]

Tyr Thr Val Ser Val Phe Thr Lys Ala Val Val Ser Glu Asn Asn Pro
 275 280 285

Cys Ile Lys His Tyr His Ile Lys Glu Thr Asn Asp Asn Pro Lys Arg
 290 295 300

Tyr Tyr Val Ala Glu Lys Tyr Val Phe Asp Ser Ile Pro Leu Leu Ile
 305 310 315 320

Asn Tyr His Gln His Asn Gly Gly Gly Leu Val Thr Arg Leu Arg Tyr
 325 330 335

Pro Val Cys Phe Gly Arg Gln Lys Ala Pro Val Thr Ala Gly Leu Arg
 340 345 350

Tyr Gly Lys Trp Val Ile Asp Pro Ser Glu Leu Thr Phe Val Gln Glu
 355 360 365

Ile Gly Ser Gly Gln Phe Gly Leu Val His Leu Gly Tyr Trp Leu Asn
 370 375 380

Lys Asp Lys Val Ala Ile Lys Thr Ile Arg Glu Gly Ala Met Ser Glu
 385 390 395 400

Glu Asp Phe Ile Glu Glu Ala Glu Val Met Met Lys Leu Ser His Pro
 405 410 415

Lys Leu Val Gln Leu Tyr Gly Val Cys Leu Glu Gln Ala Pro Ile Cys
 420 425 430

Leu Val Phe Glu Phe Met Glu His Gly Cys Leu Ser Asp Tyr Leu Arg
 435 440 445

[0011]

Thr Gln Arg Gly Leu Phe Ala Ala Glu Thr Leu Leu Gly Met Cys Leu
450 455 460

Asp Val Cys Glu Gly Met Ala Tyr Leu Glu Glu Ala Cys Val Ile His
465 470 475 480

Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Leu Val Gly Glu Asn Gln Val Ile
485 490 495

Lys Val Ser Asp Phe Gly Met Thr Arg Phe Val Leu Asp Asp Gln Tyr
500 505 510

Thr Ser Ser Thr Gly Thr Lys Phe Pro Val Lys Trp Ala Ser Pro Glu
515 520 525

Val Phe Ser Phe Ser Arg Tyr Ser Ser Lys Ser Asp Val Trp Ser Phe
530 535 540

Gly Val Leu Met Trp Glu Val Phe Ser Glu Gly Lys Ile Pro Tyr Glu
545 550 555 560

Asn Arg Ser Asn Ser Glu Val Val Glu Asp Ile Ser Thr Gly Phe Arg
565 570 575

Leu Tyr Lys Pro Arg Leu Ala Ser Thr His Val Tyr Gln Ile Met Asn
580 585 590

His Cys Trp Lys Glu Arg Pro Glu Asp Arg Pro Ala Phe Ser Arg Leu
595 600 605

Leu Arg Gln Leu Ala Glu Ile Ala Glu Ser Gly Leu
610 615 620

[0012]

<210> 4
 <211> 675
 <212> PRT
 <213> 智人

 <400> 4

 Met Asp Thr Lys Ser Ile Leu Glu Glu Leu Leu Lys Arg Ser Gln
 1 5 10 15

 Gln Lys Lys Lys Met Ser Pro Asn Asn Tyr Lys Glu Arg Leu Phe Val
 20 25 30

 Leu Thr Lys Thr Asn Leu Ser Tyr Tyr Glu Tyr Asp Lys Met Lys Arg
 35 40 45

 Gly Ser Arg Lys Gly Ser Ile Glu Ile Lys Lys Ile Arg Cys Val Glu
 50 55 60

 Lys Val Asn Leu Glu Glu Gln Thr Pro Val Glu Arg Gln Tyr Pro Phe
 65 70 75 80

 Gln Ile Val Tyr Lys Asp Gly Leu Leu Tyr Val Tyr Ala Ser Asn Glu
 85 90 95

 Glu Ser Arg Ser Gln Trp Leu Lys Ala Leu Gln Lys Glu Ile Arg Gly
 100 105 110

 Asn Pro His Leu Leu Val Lys Tyr His Ser Gly Phe Phe Val Asp Gly
 115 120 125

 Lys Phe Leu Cys Cys Gln Gln Ser Cys Lys Ala Ala Pro Gly Cys Thr
 130 135 140

[0013]

Leu Trp Glu Ala Tyr Ala Asn Leu His Thr Ala Val Asn Glu Glu Lys
 145 150 155 160

His Arg Val Pro Thr Phe Pro Asp Arg Val Leu Lys Ile Pro Arg Ala
 165 170 175

Val Pro Val Leu Lys Met Asp Ala Pro Ser Ser Ser Thr Thr Leu Ala
 180 185 190

Gln Tyr Asp Asn Glu Ser Lys Lys Asn Tyr Gly Ser Gln Pro Pro Ser
 195 200 205

Ser Ser Thr Ser Leu Ala Gln Tyr Asp Ser Asn Ser Lys Lys Ile Tyr
 210 215 220

Gly Ser Gln Pro Asn Phe Asn Met Gln Tyr Ile Pro Arg Glu Asp Phe
 225 230 235 240

Pro Asp Trp Trp Gln Val Arg Lys Leu Lys Ser Ser Ser Ser Glu
 245 250 255

Asp Val Ala Ser Ser Asn Gln Lys Glu Arg Asn Val Asn His Thr Thr
 260 265 270

Ser Lys Ile Ser Trp Glu Phe Pro Glu Ser Ser Ser Ser Glu Glu Glu
 275 280 285

Glu Asn Leu Asp Asp Tyr Asp Trp Phe Ala Gly Asn Ile Ser Arg Ser
 290 295 300

Gln Ser Glu Gln Leu Leu Arg Gln Lys Gly Lys Glu Gly Ala Phe Met
 305 310 315 320

[0014]

Val Arg Asn Ser Ser Gln Val Gly Met Tyr Thr Val Ser Leu Phe Ser
 325 330 335

Lys Ala Val Asn Asp Lys Lys Gly Thr Val Lys His Tyr His Val His
 340 345 350

Thr Asn Ala Glu Asn Lys Leu Tyr Leu Ala Glu Asn Tyr Cys Phe Asp
 355 360 365

Ser Ile Pro Lys Leu Ile His Tyr His Gln His Asn Ser Ala Gly Met
 370 375 380

Ile Thr Arg Leu Arg His Pro Val Ser Thr Lys Ala Asn Lys Val Pro
 385 390 395 400

Asp Ser Val Ser Leu Gly Asn Gly Ile Trp Glu Leu Lys Arg Glu Glu
 405 410 415

Ile Thr Leu Leu Lys Glu Leu Gly Ser Gly Gln Phe Gly Val Val Gln
 420 425 430

Leu Gly Lys Trp Lys Gly Gln Tyr Asp Val Ala Val Lys Met Ile Lys
 435 440 445

Glu Gly Ser Met Ser Glu Asp Glu Phe Phe Gln Glu Ala Gln Thr Met
 450 455 460

Met Lys Leu Ser His Pro Lys Leu Val Lys Phe Tyr Gly Val Cys Ser
 465 470 475 480

Lys Glu Tyr Pro Ile Tyr Ile Val Thr Glu Tyr Ile Ser Asn Gly Cys
 485 490 495

[0015]

Leu Leu Asn Tyr Leu Arg Ser His Gly Lys Gly Leu Glu Pro Ser Gln
 500 505 510

Leu Leu Glu Met Cys Tyr Asp Val Cys Glu Gly Met Ala Phe Leu Glu
 515 520 525

Ser His Gln Phe Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Leu Val
 530 535 540

Asp Arg Asp Leu Cys Val Lys Val Ser Asp Phe Gly Met Thr Arg Tyr
 545 550 555 560

Val Leu Asp Asp Gln Tyr Val Ser Ser Val Gly Thr Lys Phe Pro Val
 565 570 575

Lys Trp Ser Ala Pro Glu Val Phe His Tyr Phe Lys Tyr Ser Ser Lys
 580 585 590

Ser Asp Val Trp Ala Phe Gly Ile Leu Met Trp Glu Val Phe Ser Leu
 595 600 605

Gly Lys Gln Pro Tyr Asp Leu Tyr Asp Asn Ser Gln Val Val Leu Lys
 610 615 620

Val Ser Gln Gly His Arg Leu Tyr Arg Pro His Leu Ala Ser Asp Thr
 625 630 635 640

Ile Tyr Gln Ile Met Tyr Ser Cys Trp His Glu Leu Pro Glu Lys Arg
 645 650 655

Pro Thr Phe Gln Gln Leu Leu Ser Ser Ile Glu Pro Leu Arg Glu Lys
 660 665 670

[0016]

Asp Lys His

675

<210> 5

<211> 1124

<212> PRT

<213> 智人

<400> 5

Met Ala Pro Pro Ser Glu Glu Thr Pro Leu Ile Pro Gln Arg Ser Cys

1 5 10 15

Ser Leu Leu Ser Thr Glu Ala Gly Ala Leu His Val Leu Leu Pro Ala

20 25 30

Arg Gly Pro Gly Pro Pro Gln Arg Leu Ser Phe Ser Phe Gly Asp His

35 40 45

Leu Ala Glu Asp Leu Cys Val Gln Ala Ala Lys Ala Ser Gly Ile Leu

50 55 60

Pro Val Tyr His Ser Leu Phe Ala Leu Ala Thr Glu Asp Leu Ser Cys

65 70 75 80

Trp Phe Pro Pro Ser His Ile Phe Ser Val Glu Asp Ala Ser Thr Gln

85 90 95

Val Leu Leu Tyr Arg Ile Arg Phe Tyr Phe Pro Asn Trp Phe Gly Leu

100 105 110

Glu Lys Cys His Arg Phe Gly Leu Arg Lys Asp Leu Ala Ser Ala Ile

115 120 125

Leu Asp Leu Pro Val Leu Glu His Leu Phe Ala Gln His Arg Ser Asp

[0017]

130	135	140	
Leu Val Ser Gly Arg Leu Pro Val Gly Leu Ser Leu Lys Glu Gln Gly			
145	150	155	160
Glu Cys Leu Ser Leu Ala Val Leu Asp Leu Ala Arg Met Ala Arg Glu			
	165	170	175
Gln Ala Gln Arg Pro Gly Glu Leu Leu Lys Thr Val Ser Tyr Lys Ala			
	180	185	190
Cys Leu Pro Pro Ser Leu Arg Asp Leu Ile Gln Gly Leu Ser Phe Val			
	195	200	205
Thr Arg Arg Arg Ile Arg Arg Thr Val Arg Arg Ala Leu Arg Arg Val			
	210	215	220
Ala Ala Cys Gln Ala Asp Arg His Ser Leu Met Ala Lys Tyr Ile Met			
225	230	235	240
Asp Leu Glu Arg Leu Asp Pro Ala Gly Ala Ala Glu Thr Phe His Val			
	245	250	255
Gly Leu Pro Gly Ala Leu Gly Gly His Asp Gly Leu Gly Leu Leu Arg			
	260	265	270
Val Ala Gly Asp Gly Gly Ile Ala Trp Thr Gln Gly Glu Gln Glu Val			
	275	280	285
Leu Gln Pro Phe Cys Asp Phe Pro Glu Ile Val Asp Ile Ser Ile Lys			
290	295	300	
Gln Ala Pro Arg Val Gly Pro Ala Gly Glu His Arg Leu Val Thr Val			

[0018]

305	310	315	320
Thr Arg Thr Asp Asn Gln Ile Leu Glu Ala Glu Phe Pro Gly Leu Pro			
	325	330	335
Glu Ala Leu Ser Phe Val Ala Leu Val Asp Gly Tyr Phe Arg Leu Thr			
	340	345	350
Thr Asp Ser Gln His Phe Phe Cys Lys Glu Val Ala Pro Pro Arg Leu			
	355	360	365
Leu Glu Glu Val Ala Glu Gln Cys His Gly Pro Ile Thr Leu Asp Phe			
	370	375	380
Ala Ile Asn Lys Leu Lys Thr Gly Gly Ser Arg Pro Gly Ser Tyr Val			
385	390	395	400
Leu Arg Arg Ser Pro Gln Asp Phe Asp Ser Phe Leu Leu Thr Val Cys			
	405	410	415
Val Gln Asn Pro Leu Gly Pro Asp Tyr Lys Gly Cys Leu Ile Arg Arg			
	420	425	430
Ser Pro Thr Gly Thr Phe Leu Leu Val Gly Leu Ser Arg Pro His Ser			
	435	440	445
Ser Leu Arg Glu Leu Leu Ala Thr Cys Trp Asp Gly Gly Leu His Val			
	450	455	460
Asp Gly Val Ala Val Thr Leu Thr Ser Cys Cys Ile Pro Arg Pro Lys			
465	470	475	480
Glu Lys Ser Asn Leu Ile Val Val Gln Arg Gly His Ser Pro Pro Thr			

[0019]

	485	490	495
Ser Ser Leu Val Gln Pro Gln Ser Gln Tyr Gln Leu Ser Gln Met Thr			
	500	505	510
Phe His Lys Ile Pro Ala Asp Ser Leu Glu Trp His Glu Asn Leu Gly			
	515	520	525
His Gly Ser Phe Thr Lys Ile Tyr Arg Gly Cys Arg His Glu Val Val			
	530	535	540
Asp Gly Glu Ala Arg Lys Thr Glu Val Leu Leu Lys Val Met Asp Ala			
545	550	555	560
Lys His Lys Asn Cys Met Glu Ser Phe Leu Glu Ala Ala Ser Leu Met			
	565	570	575
Ser Gln Val Ser Tyr Arg His Leu Val Leu Leu His Gly Val Cys Met			
	580	585	590
Ala Gly Asp Ser Thr Met Val Gln Glu Phe Val His Leu Gly Ala Ile			
	595	600	605
Asp Met Tyr Leu Arg Lys Arg Gly His Leu Val Pro Ala Ser Trp Lys			
	610	615	620
Leu Gln Val Val Lys Gln Leu Ala Tyr Ala Leu Asn Tyr Leu Glu Asp			
625	630	635	640
Lys Gly Leu Pro His Gly Asn Val Ser Ala Arg Lys Val Leu Leu Ala			
	645	650	655
Arg Glu Gly Ala Asp Gly Ser Pro Pro Phe Ile Lys Leu Ser Asp Pro			

[0020]

	660	665	670	
Gly Val Ser Pro Ala Val Leu Ser Leu Glu Met Leu Thr Asp Arg Ile				
	675	680	685	
Pro Trp Val Ala Pro Glu Cys Leu Arg Glu Ala Gln Thr Leu Ser Leu				
	690	695	700	
Glu Ala Asp Lys Trp Gly Phe Gly Ala Thr Val Trp Glu Val Phe Ser				
705	710	715	720	
Gly Val Thr Met Pro Ile Ser Ala Leu Asp Pro Ala Lys Lys Leu Gln				
	725	730	735	
Phe Tyr Glu Asp Arg Gln Gln Leu Pro Ala Pro Lys Trp Thr Glu Leu				
	740	745	750	
Ala Leu Leu Ile Gln Gln Cys Met Ala Tyr Glu Pro Val Gln Arg Pro				
	755	760	765	
Ser Phe Arg Ala Val Ile Arg Asp Leu Asn Ser Leu Ile Ser Ser Asp				
	770	775	780	
Tyr Glu Leu Leu Ser Asp Pro Thr Pro Gly Ala Leu Ala Pro Arg Asp				
785	790	795	800	
Gly Leu Trp Asn Gly Ala Gln Leu Tyr Ala Cys Gln Asp Pro Thr Ile				
	805	810	815	
Phe Glu Glu Arg His Leu Lys Tyr Ile Ser Gln Leu Gly Lys Gly Asn				
	820	825	830	
Phe Gly Ser Val Glu Leu Cys Arg Tyr Asp Pro Leu Gly Asp Asn Thr				

[0021]

	835	840	845	
Gly Ala Leu Val Ala Val Lys Gln Leu Gln His Ser Gly Pro Asp Gln				
	850	855	860	
Gln Arg Asp Phe Gln Arg Glu Ile Gln Ile Leu Lys Ala Leu His Ser				
865	870	875	880	
Asp Phe Ile Val Lys Tyr Arg Gly Val Ser Tyr Gly Pro Gly Arg Gln				
	885	890	895	
Ser Leu Arg Leu Val Met Glu Tyr Leu Pro Ser Gly Cys Leu Arg Asp				
	900	905	910	
Phe Leu Gln Arg His Arg Ala Arg Leu Asp Ala Ser Arg Leu Leu Leu				
	915	920	925	
Tyr Ser Ser Gln Ile Cys Lys Gly Met Glu Tyr Leu Gly Ser Arg Arg				
	930	935	940	
Cys Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Val Glu Ser Glu				
945	950	955	960	
Ala His Val Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Pro Leu				
	965	970	975	
Asp Lys Asp Tyr Tyr Val Val Arg Glu Pro Gly Gln Ser Pro Ile Phe				
	980	985	990	
Trp Tyr Ala Pro Glu Ser Leu Ser Asp Asn Ile Phe Ser Arg Gln Ser				
	995	1000	1005	
Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Val Leu Tyr Glu Leu Phe Thr Tyr				

[0022]

1010	1015	1020
Cys Asp Lys Ser Cys Ser Pro	Ser Ala Glu Phe Leu	Arg Met Met
1025	1030	1035
Gly Cys Glu Arg Asp Val Pro	Ala Leu Cys Arg Leu	Leu Glu Leu
1040	1045	1050
Leu Glu Glu Gly Gln Arg Leu	Pro Ala Pro Pro Ala	Cys Pro Ala
1055	1060	1065
Glu Val His Glu Leu Met Lys	Leu Cys Trp Ala Pro	Ser Pro Gln
1070	1075	1080
Asp Arg Pro Ser Phe Ser Ala	Leu Gly Pro Gln Leu	Asp Met Leu
1085	1090	1095
Trp Ser Gly Ser Arg Gly Cys	Glu Thr His Ala Phe	Thr Ala His
1100	1105	1110
Pro Glu Gly Lys His His Ser	Leu Ser Phe Ser	
1115	1120	
<210> 6		
<211> 527		
<212> PRT		
<213> 智人		
<400> 6		
Met Ile Leu Ser Ser Tyr Asn Thr Ile Gln Ser Val Phe Cys Cys Cys		
1	5	10
		15
Cys Cys Cys Ser Val Gln Lys Arg Gln Met Arg Thr Gln Ile Ser Leu		
	20	25
		30

[0023]

Ser Thr Asp Glu Glu Leu Pro Glu Lys Tyr Thr Gln Arg Arg Arg Pro
 35 40 45

Trp Leu Ser Gln Leu Ser Asn Lys Lys Gln Ser Asn Thr Gly Arg Val
 50 55 60

Gln Pro Ser Lys Arg Lys Pro Leu Pro Pro Leu Pro Pro Ser Glu Val
 65 70 75 80

Ala Glu Glu Lys Ile Gln Val Lys Ala Leu Tyr Asp Phe Leu Pro Arg
 85 90 95

Glu Pro Cys Asn Leu Ala Leu Arg Arg Ala Glu Glu Tyr Leu Ile Leu
 100 105 110

Glu Lys Tyr Asn Pro His Trp Trp Lys Ala Arg Asp Arg Leu Gly Asn
 115 120 125

Glu Gly Leu Ile Pro Ser Asn Tyr Val Thr Glu Asn Lys Ile Thr Asn
 130 135 140

Leu Glu Ile Tyr Glu Trp Tyr His Arg Asn Ile Thr Arg Asn Gln Ala
 145 150 155 160

Glu His Leu Leu Arg Gln Glu Ser Lys Glu Gly Ala Phe Ile Val Arg
 165 170 175

Asp Ser Arg His Leu Gly Ser Tyr Thr Ile Ser Val Phe Met Gly Ala
 180 185 190

Arg Arg Ser Thr Glu Ala Ala Ile Lys His Tyr Gln Ile Lys Lys Asn
 195 200 205

[0024]

Asp Ser Gly Gln Trp Tyr Val Ala Glu Arg His Ala Phe Gln Ser Ile
 210 215 220

Pro Glu Leu Ile Trp Tyr His Gln His Asn Ala Ala Gly Leu Met Thr
 225 230 235 240

Arg Leu Arg Tyr Pro Val Gly Leu Met Gly Ser Cys Leu Pro Ala Thr
 245 250 255

Ala Gly Phe Ser Tyr Glu Lys Trp Glu Ile Asp Pro Ser Glu Leu Ala
 260 265 270

Phe Ile Lys Glu Ile Gly Ser Gly Gln Phe Gly Val Val His Leu Gly
 275 280 285

Glu Trp Arg Ser His Ile Gln Val Ala Ile Lys Ala Ile Asn Glu Gly
 290 295 300

Ser Met Ser Glu Glu Asp Phe Ile Glu Glu Ala Lys Val Met Met Lys
 305 310 315 320

Leu Ser His Ser Lys Leu Val Gln Leu Tyr Gly Val Cys Ile Gln Arg
 325 330 335

Lys Pro Leu Tyr Ile Val Thr Glu Phe Met Glu Asn Gly Cys Leu Leu
 340 345 350

Asn Tyr Leu Arg Glu Asn Lys Gly Lys Leu Arg Lys Glu Met Leu Leu
 355 360 365

Ser Val Cys Gln Asp Ile Cys Glu Gly Met Glu Tyr Leu Glu Arg Asn
 370 375 380

[0025]

Gly Tyr Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Leu Val Ser Ser
 385 390 395 400

Thr Cys Ile Val Lys Ile Ser Asp Phe Gly Met Thr Arg Tyr Val Leu
 405 410 415

Asp Asp Glu Tyr Val Ser Ser Phe Gly Ala Lys Phe Pro Ile Lys Trp
 420 425 430

Ser Pro Pro Glu Val Phe Leu Phe Asn Lys Tyr Ser Ser Lys Ser Asp
 435 440 445

Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Met Trp Glu Val Phe Thr Glu Gly Lys
 450 455 460

Met Pro Phe Glu Asn Lys Ser Asn Leu Gln Val Val Glu Ala Ile Ser
 465 470 475 480

Glu Gly Phe Arg Leu Tyr Arg Pro His Leu Ala Pro Met Ser Ile Tyr
 485 490 495

Glu Val Met Tyr Ser Cys Trp His Glu Lys Pro Glu Gly Arg Pro Thr
 500 505 510

Phe Ala Glu Leu Leu Arg Ala Val Thr Glu Ile Ala Glu Thr Trp
 515 520 525

<210> 7
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 7

[0026]

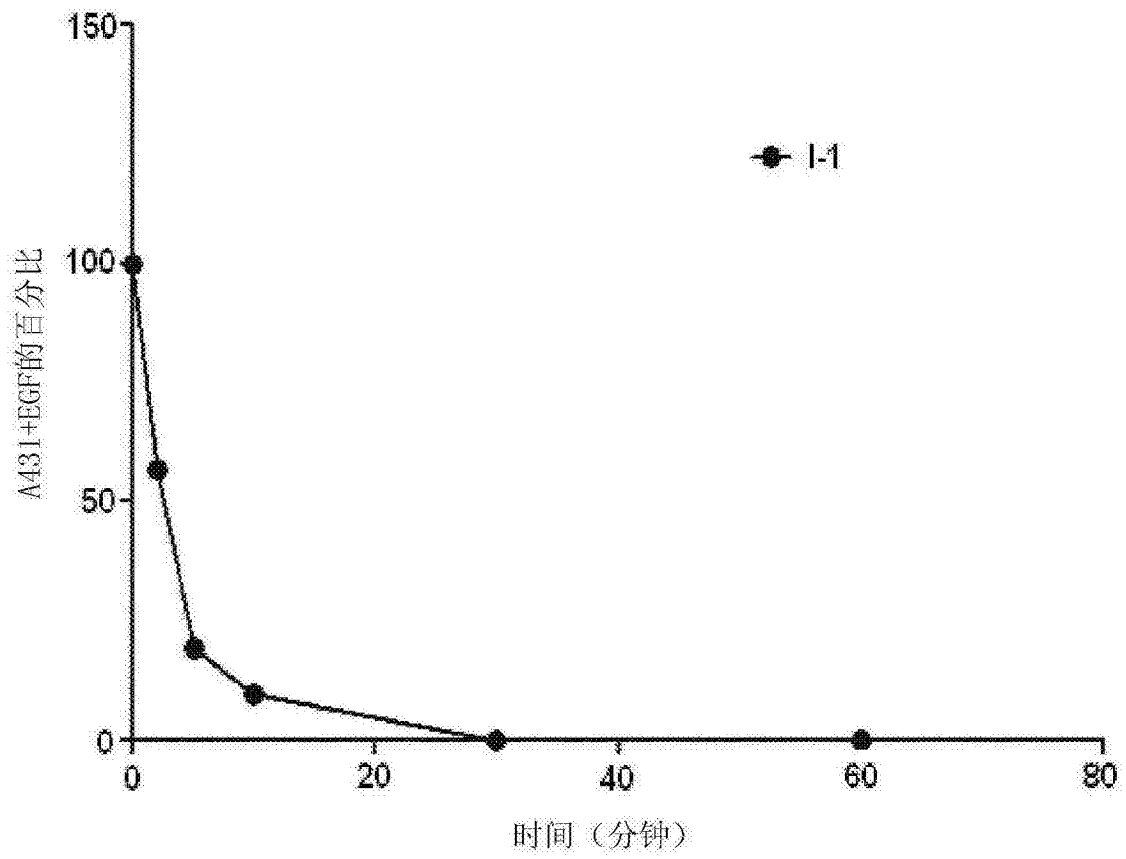


图 1

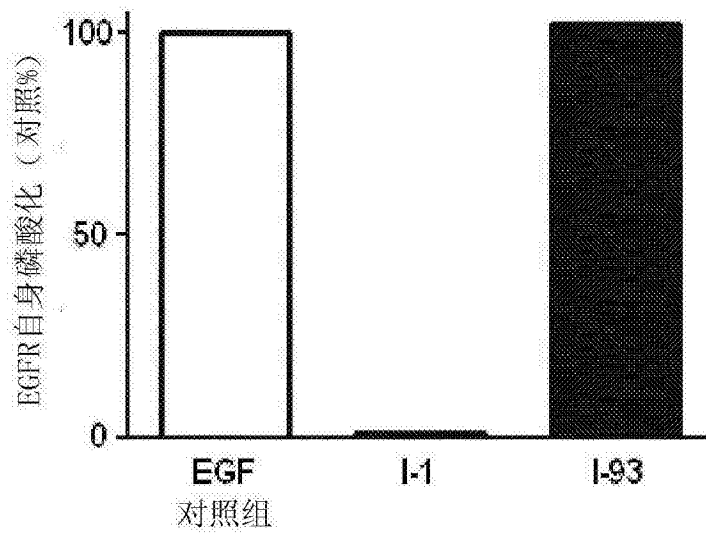
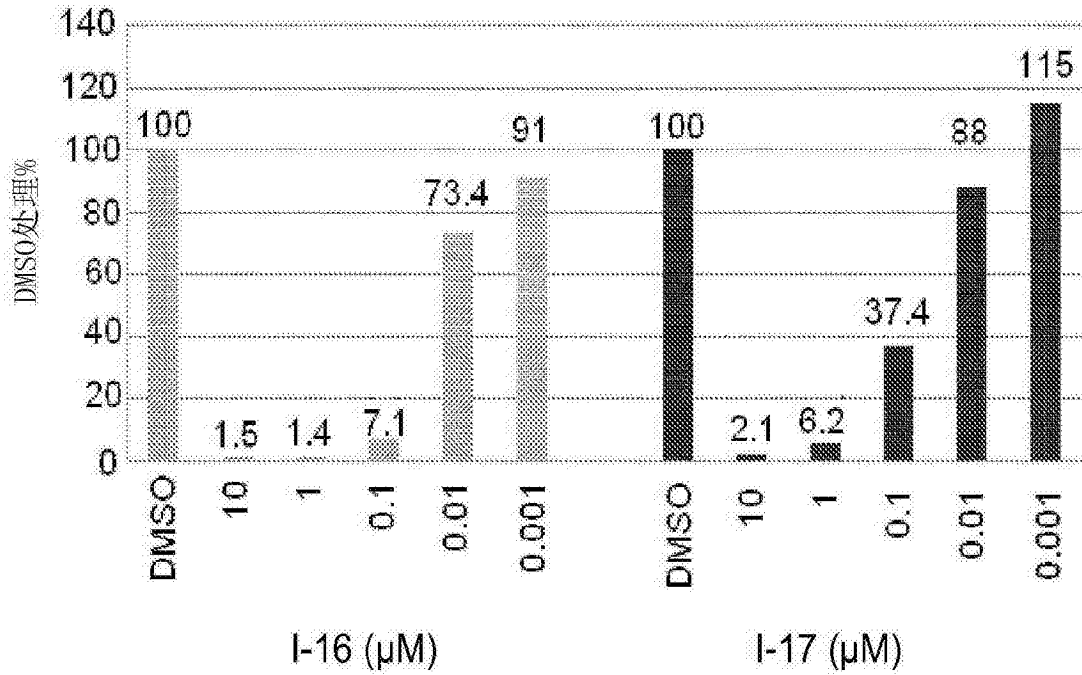


图 2

A431细胞中I-16和I-17的剂量反应

EGFR Y1068磷酸化



p42/p44 Erk磷酸化

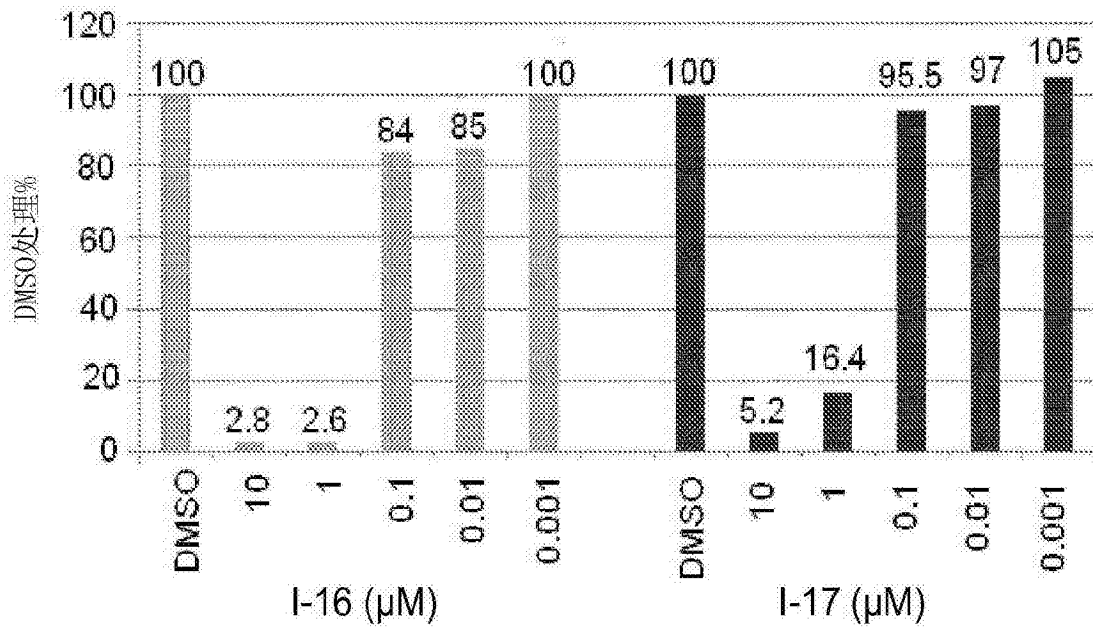
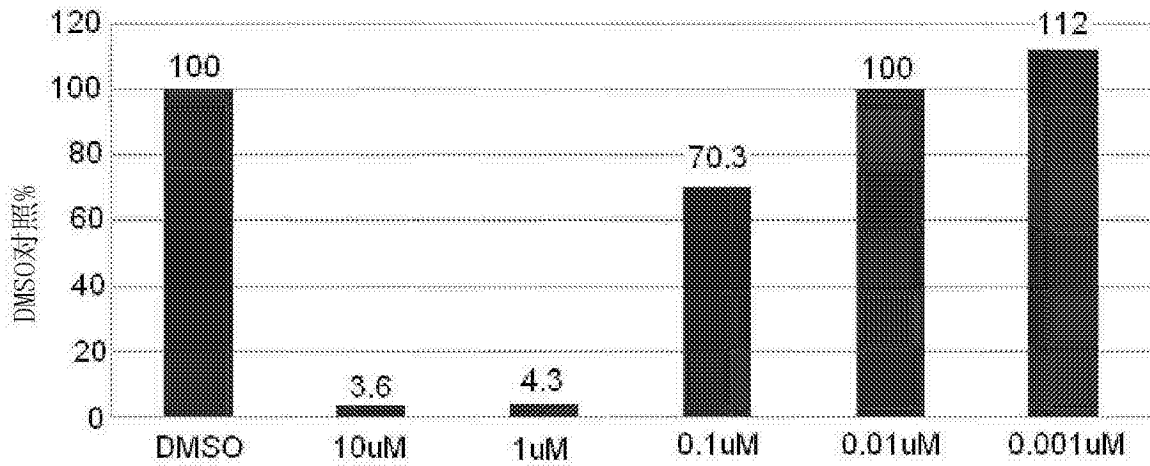


图 3

A431细胞中I-19的剂量反应
EGFR磷酸化Y1068的I-19剂量反应



p42. p44 Erk磷酸化的I-19剂量反应

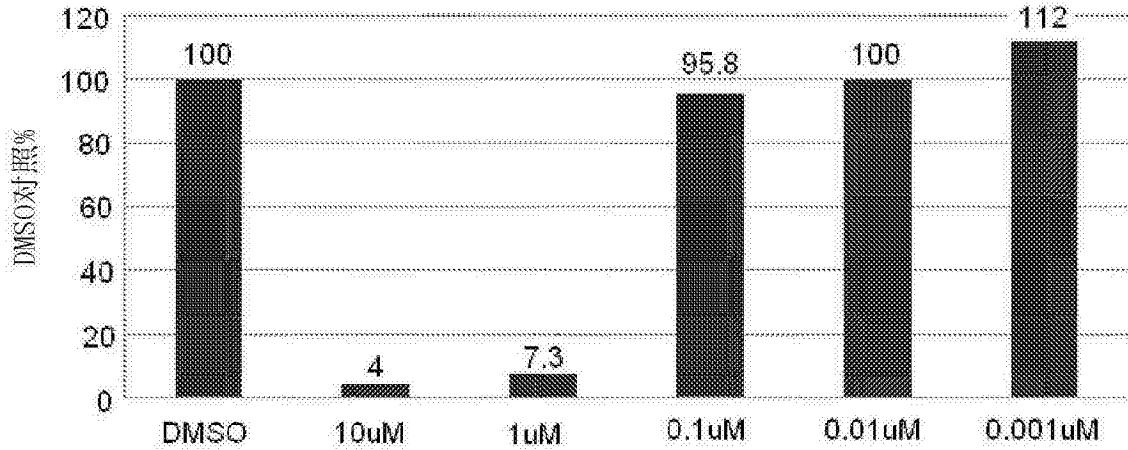


图 4

A431细胞中的EGFR (Y1064) 磷酸化

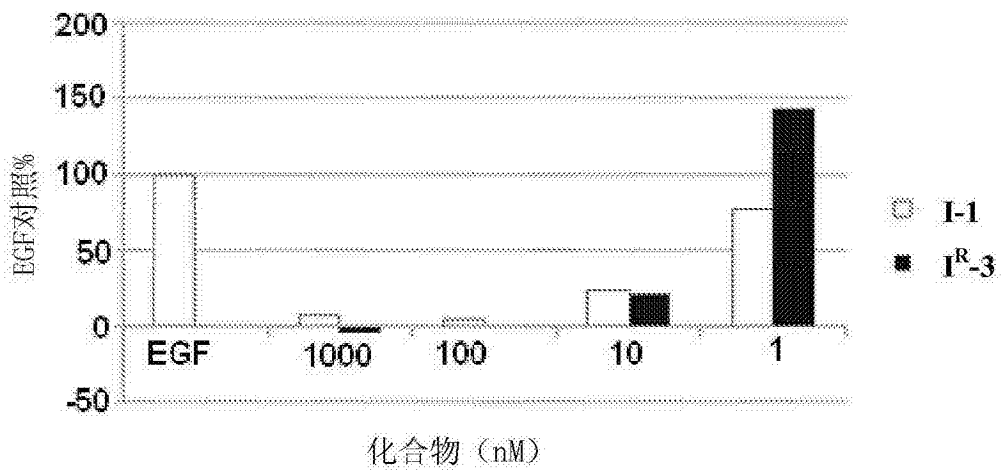


图 5

A431细胞中的EGFR (Y1064) 磷酸化

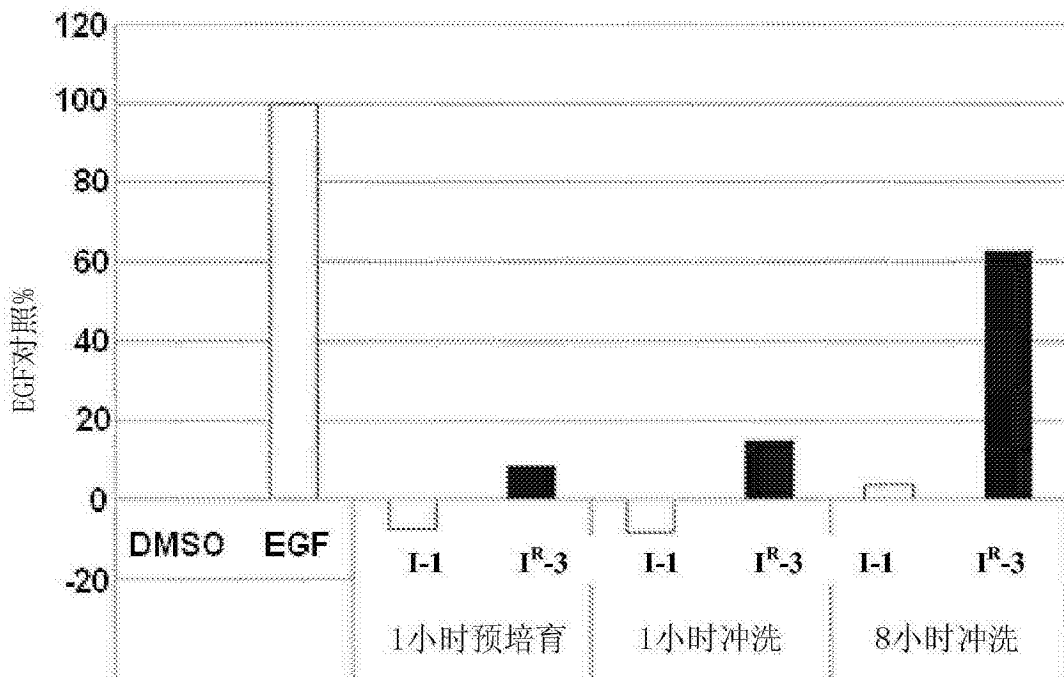


图 6

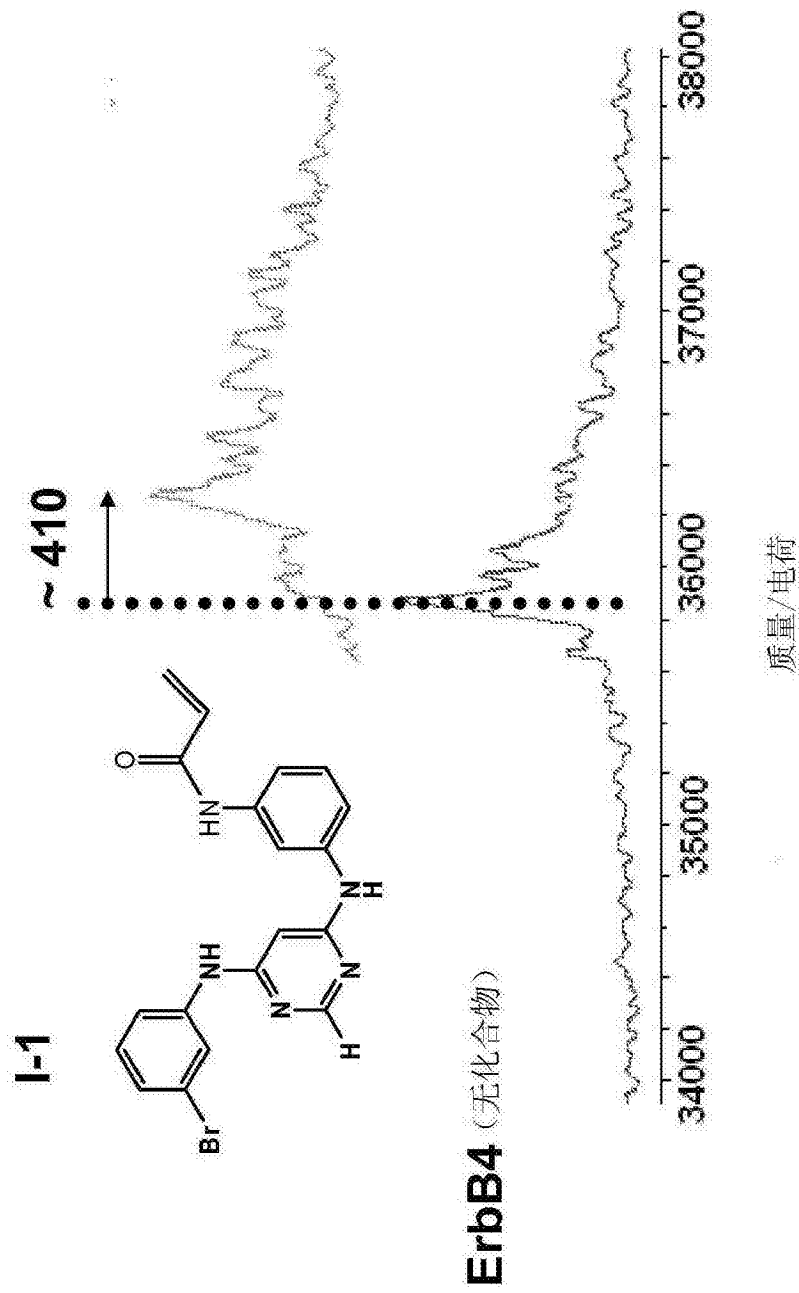


图 7

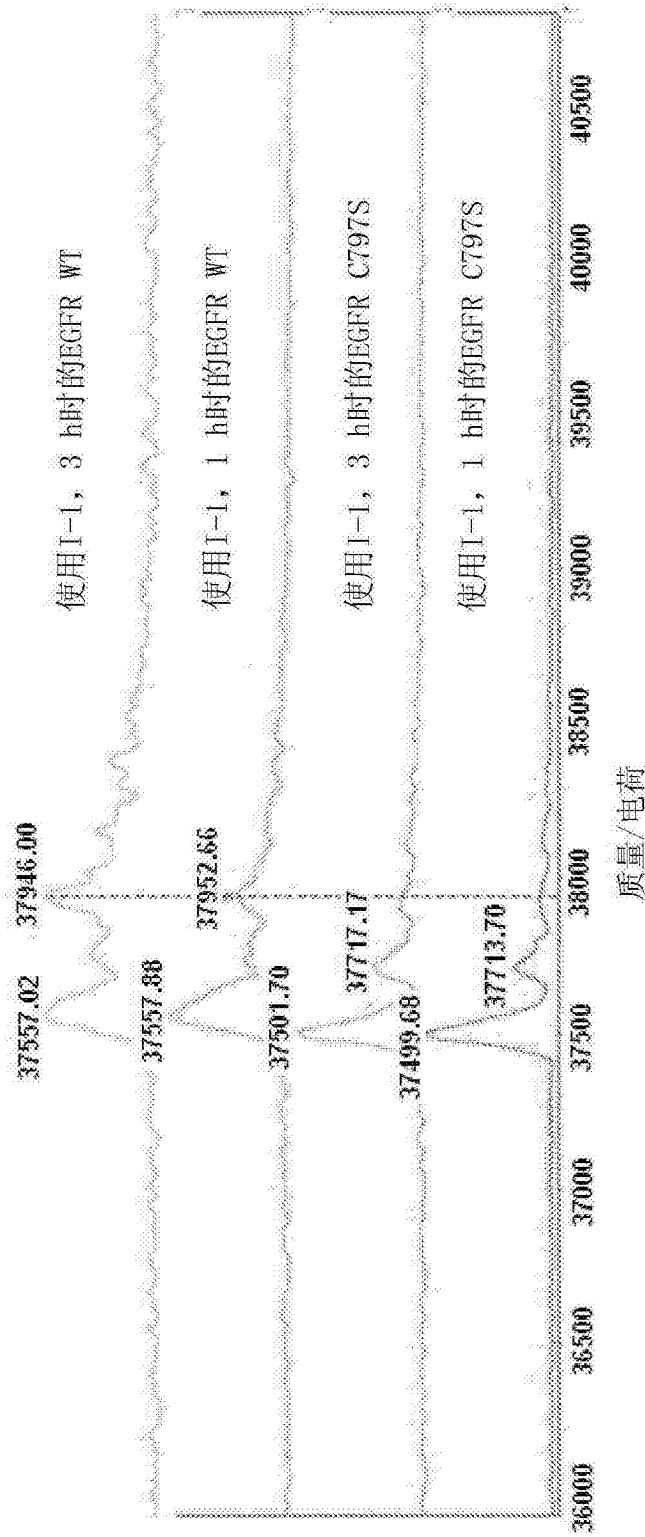


图 8

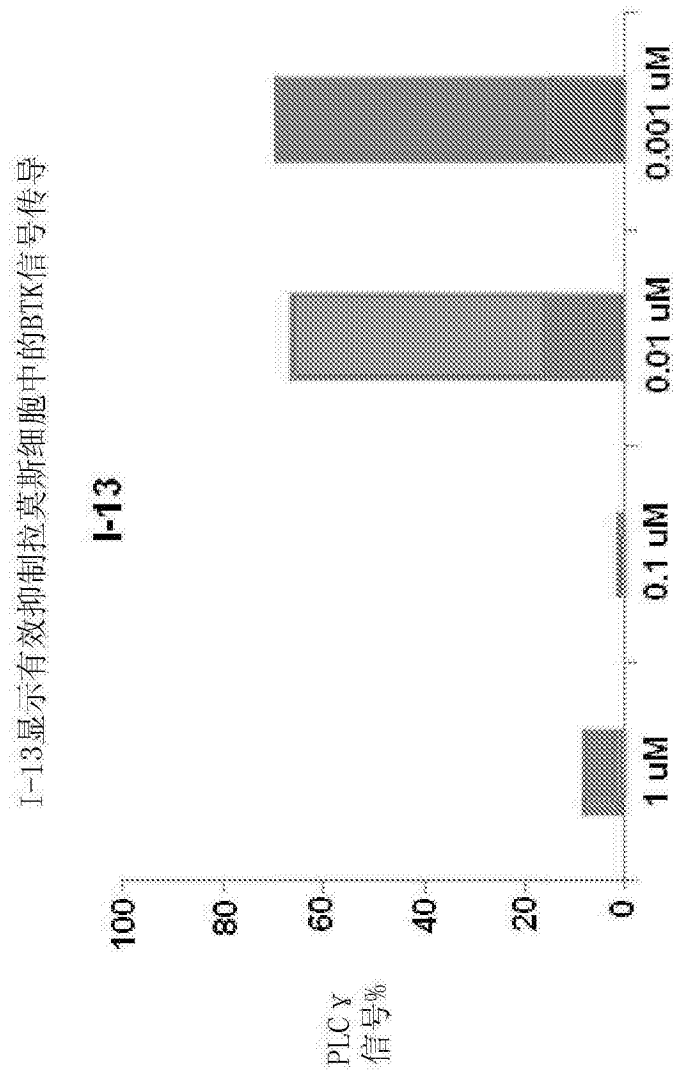


图 9

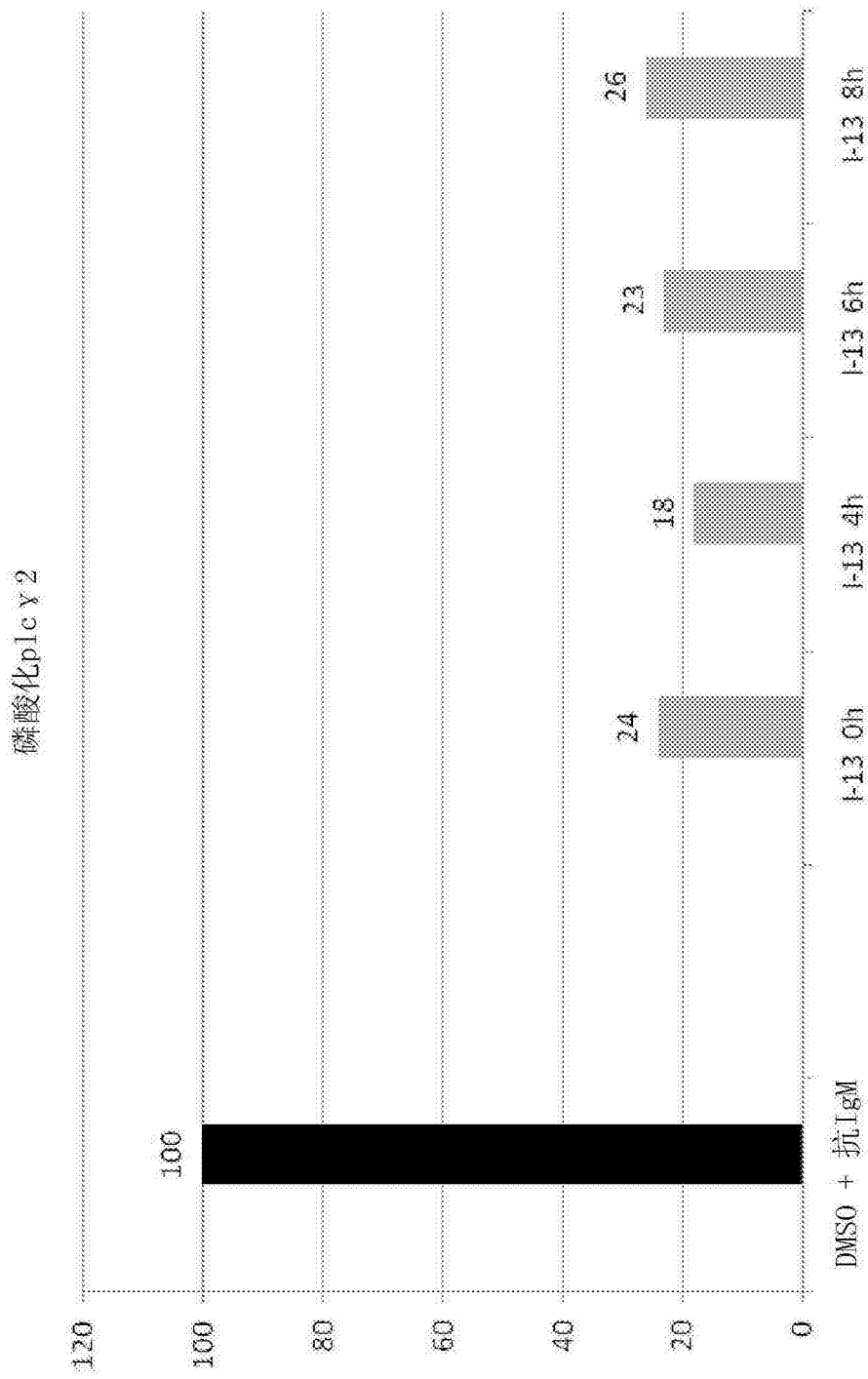


图 10

TEK 激酶 (I-13) 胰蛋白酶消化的结果

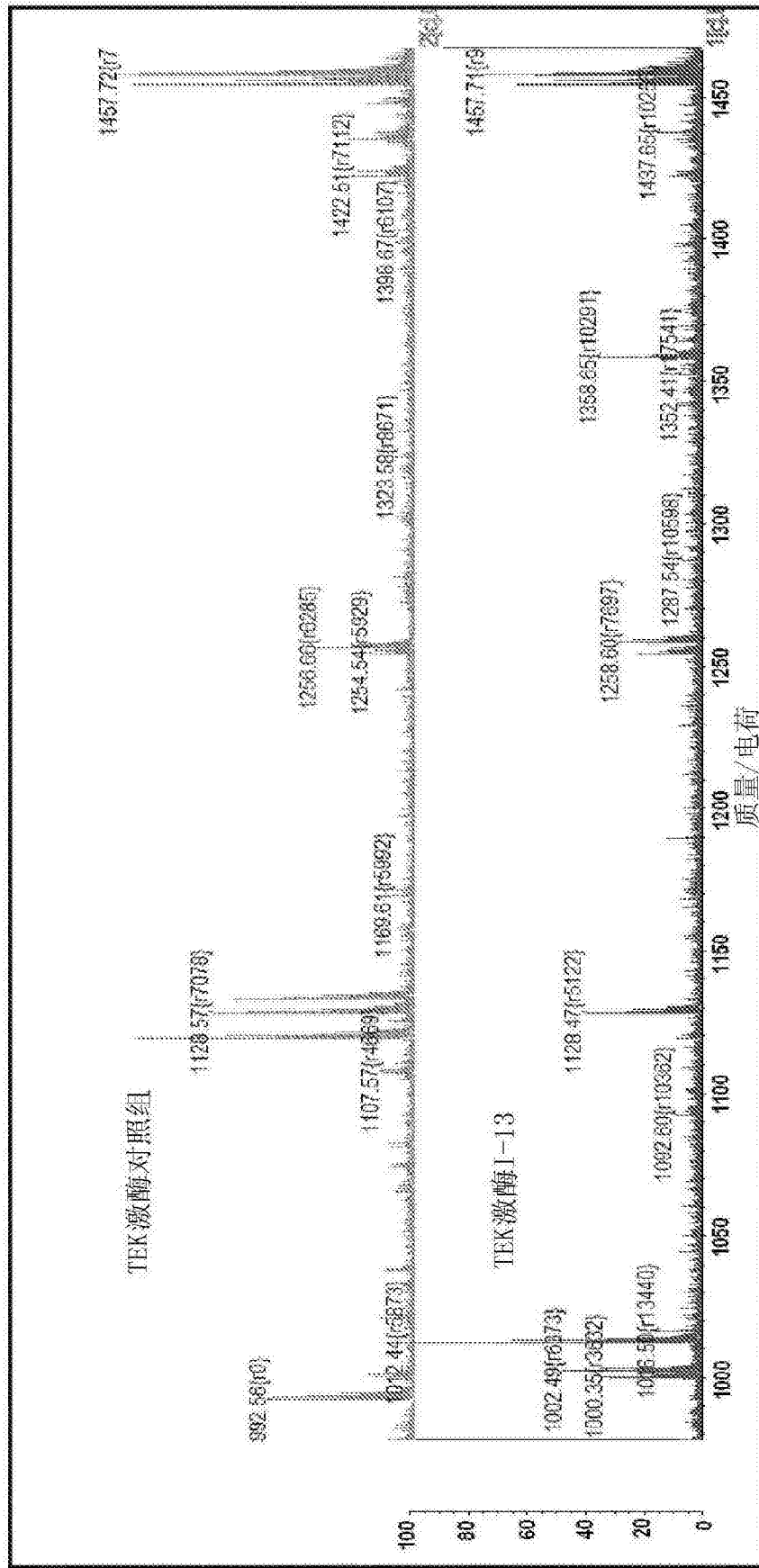


图 11

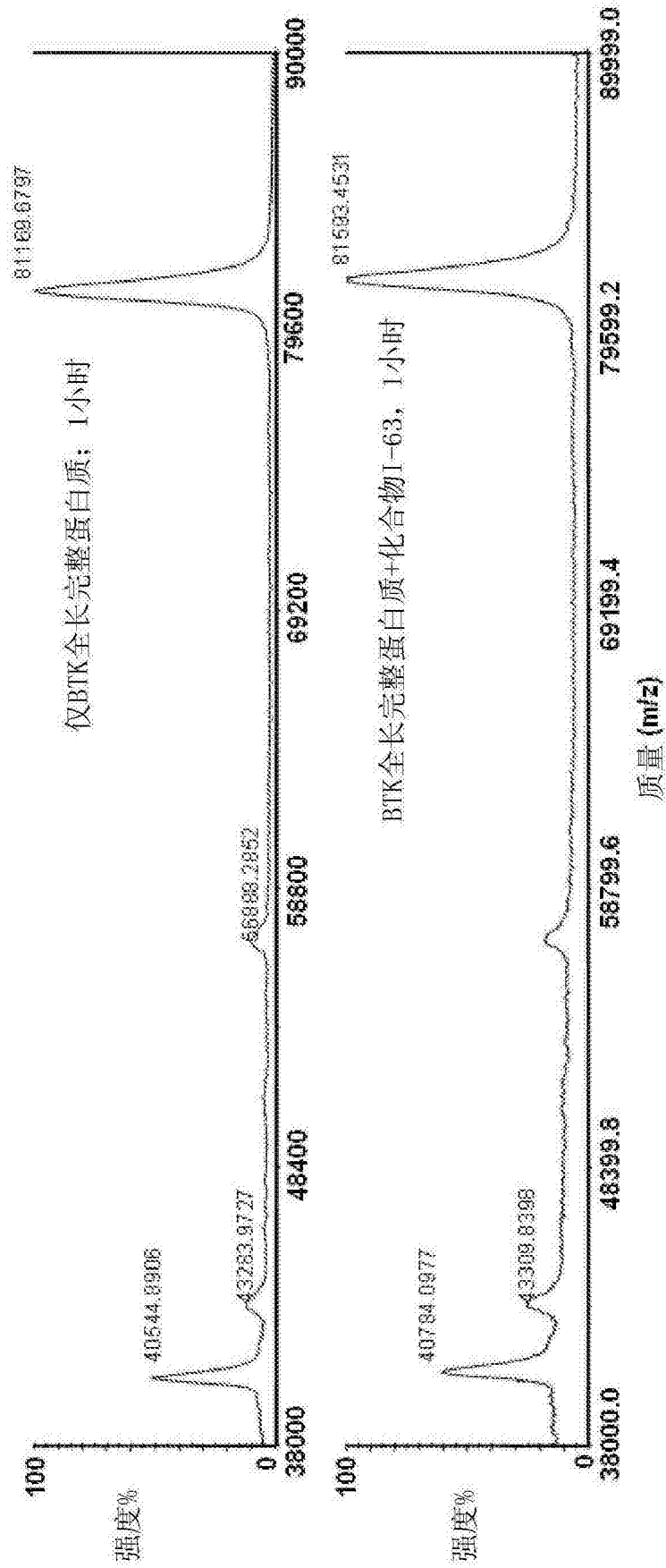


图 12

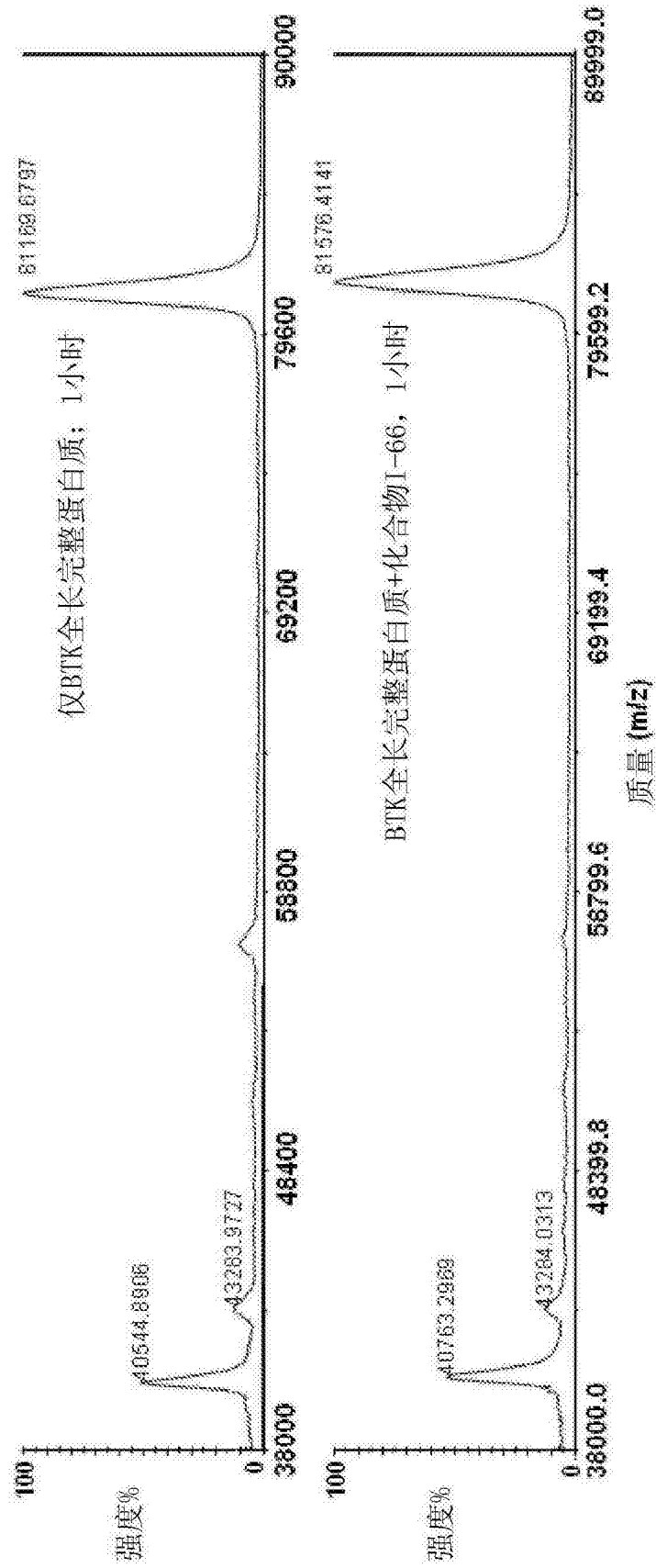


图 13

SEQ ID 1: 全长BTK蛋白质:

MAAVILESIFLKRSQQKKKTSPLNFKKRLFLLTVHKLSYYEYDFERGRRGSKKKGSIDVEK
ITCVETVVPEKNPPPERQIPRRGEESSEMEQISIIERFPYPFQVVYDEGPLYVFSPTTEL
RKRWIHQKLVIRYNSDLVQKYHPCFWIDGQYLCCSQTAKNAMGCQILENRNGSLKPG
SSHRKTKKPLPPTPEEDQILKKPLPPEPAAAPVSTSELKKVVALYDYMPMNANDLQLRK
GDEYFILEESNLPWWRARDKNGQEGYIPSNYVTEAEDSIEMYEWYSKHMTRSQAQQLL
KQEGKEGGFIVRDSSKAGKYTVSVFAKSTGDPQGVRHYVVCSTPQSQYYLAEKHLFST
IPELINYHQHNSAGLISRLKYPVSQQNKNAPSTAGLGYGSWEIDPKDLTFLKELGTGQFG
VVKYKGRGQYDVAIKMIKEGSMSEDEFIEEAKVMMNLSHEKLVQLYGVCTKQRPIFII
TEYMANGLLNLYLREMRHRFQTQQLLEMCKDVCEAMEYLESKQFLHRDLAARNCLVN
DQGVVKVSDF

Cys=481

图 14

SEQ ID 2: 全长TEC蛋白质 NP_003206_631 aa

MNFNTILEEILIKRSQQKKKTSPLNYKERLFVLTKSMLTYEYEGRAEKKYRKGFDVSKIK
CVEIVKNDDGVIPCQNKYPFQVVHDANTLYIFAPSPQSRDLWVKKLKEEIKNNNNIMIK
YHPKFWTDGSYQCCRQTEKLAPGCEKYNLFESSIRKALPPAPETKKRRPPPIPLEEEDNS
EEIVVAMYDFQAAEGHDLRLERQYELILEKNDVHWWWRARDKYGNEGYIPSNYVTGK
KSNNDQYEWYCRNMNRSKAEQLLRSEDKEGGFMVRDSSQPGLYTVSLYTKFGGEGS
SGFRHYHIKETTTPKKYYLAEKHAFGSIPETIEYHKHNAAGLVTRLRYPVSVKGGK
NAPTTAGFSYEKWEINPSELTFMRELGSGLFGVVRLGKWRAQYKVAIKAIREGAMCEE
DFIEEAKVMMKLTHPKLVQLYGVCTQQKPIYIVTEFMERGCLLNFLRQRQGHFSRDVLL
SMCQDVCEGMEYLERNSFIHRDLAARNCLVSEAGVVKVSDFGMARYVLDDQYTSSSG
AKFPVKWCPPEVFENYSRFSSKSDVWSFGVLMWEVVFTEGRMPFEKYTNIEVVTMVTRG
HRLYQPKLASNYVYEVMLRCWQEKPEGRPSFEDLLRTIDELVECEETFGR

Cys=449

图 15

SEQ ID 3: 全长ITK蛋白质 NP 005537 620aa

MNMFILLEEQLIKKSQQRRTSPSNFKVRFVLTkasLAYFEDRHGKKRTLKGSIELSRIKCV
IVKSDISIPCHYKYPFQVVHDNYLLYVFAPDRESRQRWVLALKEETRNNNSLVPKYHPNEWMDG
KWRCCSQLEKLATGCAQYDPTKNASKKPLPPTPEDNRRPLWEPEETVVIALLYDYQTNDPQELAL
RRNEEYCLLDSSEIHWWRVQDRNGHEGYVPS SYLVEKSPNNLETYEWYNKSI SRDKAEKLLLD
GKEGAFMVRDSRTAGTYTVSVFTKAVVSENNPCIKHYHIKETNDNPKRYYVAEKYVFDSIPLLI
NYHQHNGGGLVTRLRYPVCFGRQKAPVTAGLRYGKWVIDPSELTFVQEIGSGQFGLVHLGYWLN
KDKVAIKTIREGAMSEEDFIEEA^{EV}MMKLSHPKLVQLYGVCLEQAPICLVFEFMEHGCLSDYLR
TQRGLFAAETLLGMCLDVCEGMAYLEEACVIHRDLAARNCLVGENQVIKVSDFGMTRFVLDQY
TSSTGTFKFPVKWASPEVFSFSRYSSKSDVWSFGVLMWEVVFSEGKIPYENRSNSEVVEDISTGFR
LYKPRLASTHVYQIMNHCWKERPEDRPAFSRLLRQLAEIAESGL

Cys=442

图 16

SEQ ID 4: 全长BMX蛋白质 NP 001712 675aa

MDTKSILEELLLKRSQQKKMSPNNYKERLFVLTkTNLSYYEYDKMKRGSRKGSIEIKK
IRCVEKVNLEEQTTPVERQYPFQIVYKDGLLYVYASNEESRSQWLKALQKEIRGNPHLLV
KYHSGFFVDGKFLCCQQSCKAAPGCTLWEAYANLHTAVNEEKHRVPTFPDRVLKIPRA
VPVLKMDAPSSSTTLAQYDNESKKNYGSQPPSSSTSLAQYDSNSKKIYGSQPNFNMQYIP
REDFPDWWQVRKLLKSSSSSE^{ED}VASSNQKERNVNHTTSKISWEFPSSSSEEEENLDDYD
WFAGNISRSQSEQLLRQKKGKEGAFMVRN^{SS}QVGM^YTVSLFSKAVNDKKGTVKHYH
VHTNAENKLYLAENYCFDSIPKLIHYHQHNSAGMITRLRHPVSTKANKVPDSVSLGNGI
WELKREEITLLKELGSGQFGVVQLGKWK^{GQY}DVAVKMIKEGSMSEDEFFQEAQTM^{MK}
LSHPKLVKFGVCSKEYPIYIVTEYISNGCLLN^{YLR}SHGKGLEPSQLLEM^{CYD}VCEGMA
FLESHQFIHRDLAARNCLVDRDLCVKVSDFGMTRYVLDQYVSSVGT^{KFPVK}WASPEV
FH^{YFKY}SSKSDVWAFGILMWEVFS^{LGKQ}PYDLYDNSQVVLKVSQGHRLYRPHLASDTI
YQIMYSCWHELPEKRPTFQQLLSSIEPLREKDKH

Cys=496

图 17

SEQ ID 5: 全长JAK3蛋白质 NP_000206_1124 aa

MAPPSEETPLIPQRSCSLLSTEAGALHVLLPARGPGPPQRLSFSFGDHLAEDLCVQAAKASGIL
 PVYHSLFALATEDLSCWFPPSHIFSVEDASTQVLLYRIRFYFPNWFGLEKCHREGLRKDLASAI
 LDLPVLEHLFAQHRSDLVSGRLPVGLSLKEQGECLSLAVLDLARMAREQAQRPGELLKTVSYKA
 CLPPSLRDLIQGLSFVTRRRIRRTVRRALRRVAACQADRHSMAKYIMDLERLDPAGAAETFHV
 GLPGALGGHDGLGLLRVAGDGGIAWTQGEQEVLPFCDFPEIVDISIKQAPRVGPAGEHRLVTV
 TRTDNQILEAEFPGLPEALSFVALVDGYFRLTTDSQHFFCKEVAPPRLLEEVAEQCHGPITLDF
 AINKLKTGGSRPGSYVLRSPQDFDSFLLTVCVQNPLGPDYKGCILRRSPTGTFLLVGLSRPHS
 SLRELLATCWDGGLHVDGVAVTLTSCCIPRPKEKSNLIVVQRGHSPPTSSLVQPQSQYQLSQMT
 FHKIPADSLEWHENLGHGSFTKIYRGCHEVVDGEARKTEVLLKVMDAKHKNCMESFLEAASLM
 SQVSYRHLVLLHGVCMAGDSTMVQEFVHLGAIDMYLRKRGLVLPASWKLQVVKQLAYALNYLED
 KGLPHGNVSARKVLLAREGADGSPPIKLSDPGVSPAVLSLEMLTDRIPWVAPECLREAQTLSSL
 EADKWGFGATVWEVFSGVTMPI SALDPAKKLQFYEDRQQLPAPKWTELALLIQOCMAYEPVQRP
 SFRAVIRDLNLSLSSDYELLSDPTPGALAPRDGLWNGAQLYACQDPTIFEERHLKYISQLGKGN
 FGSVELCRYDPLGDNTGALVAVKQLQHSQDPDQORDFQREIQILKALHSDFIVKYRGVSYGPGRQ
 SLRLVMEYLPSCGLRDFLQRHRARLDASRLLLYSSQICKGMEYLGSRRCVHRDLAARNILVESE
 AHVKIADFLAKLLPLDKDYVREPGQSPIFWYAPESLSDNIFSRQSDVWSFGVVLVELFTYC
 DKSCSPSAEFLRMMGCERDVPALCRLLELLEEGQRLPAPPACPAEVHELMKLCWAPSPQDRPSF
 SALGPQLDMLWSGSRGCETHAFTAHPGKHHSLSFS

Cys=909

图 18

SEQ ID 6: 全长TXK蛋白质 NP_003319_527 aa

MILSSYNTIQSVFCCCCCSVQKRQMRTOISLSTDEELPEKYTQRRRPWLSQLSNKKQSN
 TGRVQPSKRKPLPPLPPSEVAEEKIQVKALYDFLPREPCNLALRRAEYLLILEKYNPHWW
 KARDRLGNEGLIPSNYVTENKITNLEIYEWYHRNITRNQAEHLLRQESKEGAFIVRDSRH
 LGSYTISVFMGARRSTEAAIKHYQIKKNDGQWYVAERHAFQSIPELIWYHQHNAAGL
 MTRLRYPVGLMGSCLPATAGFSYEKWEIDPSELAFIKEIGSGQFGVVHLGEWRSHIQVAI
 KAINEGSMSEEDFIEEAKVMMKLSHSLVQLYGVCIQRKPLYIVTEFMENGCLLNYLRE
 NKGKLRKEMLLSVCQDICEGMEYLERNGYIHRDLAARNCLVSSTCIVKISDFGMTRYVL
 DDEYVSSFGAKFPIKWSPPEVFLFNKYSSKSDVWSFGVLMWEVFTGKMPFENKSNLQ
 VVEAISEGFRLYRPHLAPMSIYEVMYSCWHEKPEGRPTFAELLRAVTEIAETW

Cys 350

图 19