



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 115279747 B

(45) 授权公告日 2024.11.05

(21) 申请号 202080095986.9

C·博维诺 F·马加拉奇

(22) 申请日 2020.12.07

B·布齐

(65) 同一申请的已公布的文献号

(74) 专利代理机构 广州嘉权专利商标事务所有
限公司 44205

申请公布号 CN 115279747 A

专利代理人 黄琳娟

(43) 申请公布日 2022.11.01

(51) Int.CI.

(30) 优先权数据

C07D 401/12 (2006.01)

PCT/EP2019/084287 2019.12.09 EP

C07D 401/14 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

C07D 403/12 (2006.01)

2022.08.08

C07D 413/14 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

C07D 417/12 (2006.01)

PCT/EP2020/084847 2020.12.07

A61P 35/00 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

C07D 417/14 (2006.01)

W02021/116005 EN 2021.06.17

A61K 31/506 (2006.01)

(73) 专利权人 罗达制药生物技术有限责任公司

(56) 对比文件

地址 意大利蒙扎

CN 107406428 A, 2017.11.28

(72) 发明人 L·C·罗瓦蒂 G·卡塞利

CN 108368494 A, 2018.08.03

R·阿尔图西 L·门努尼

审查员 汪国进

F·科拉切 S·曼代利

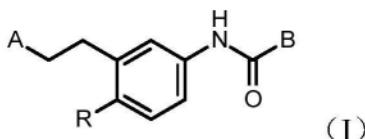
权利要求书5页 说明书67页 附图1页

(54) 发明名称

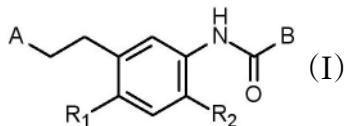
FYN和VEGFR2激酶抑制剂

(57) 摘要

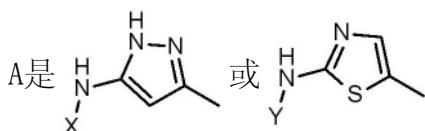
本发明涉及式(I)的N-苯基氨基甲酰基化合物或其药学上可接受的盐,其用于在治疗与一种或两种激酶有关的疾病和病症中抑制选自Fyn和VEGFR2中的至少一种酪氨酸激酶。



1. 式(I)的N-苯基氨基甲酰基化合物或其盐



其中



其中

X是选自由6-元杂芳基环、2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶基、(6-元杂芳基)CO-和(苯基)CO-组成的组中的任选取代的基团；

所述6-元杂芳基环选自吡嗪、吡啶或嘧啶，所述(6-元杂芳基)CO-选自(吡啶)CO-或(嘧啶)CO-；

Y是任选取代的吡嗪；

B是选自由任选取代的苯基、任选取代的5-或6-元杂芳基环、任选取代的吡咯烷、未取代的氮杂螺(C₇-C₁₀)烷基和未取代的饱和(C₃-C₆)环烷基-NH-组成的组中的基团；

所述5-或6-元杂芳基环选自吡啶和噁唑，所述氮杂螺(C₇-C₁₀)烷基选自氮杂螺[3,4]辛烷、氮杂螺[4,5]癸烷，所述饱和(C₃-C₆)环烷基-NH-选自4,4-(二甲基环己基)-NH-、环戊基-NH-；

R₁和R₂任选且不同时存在，且独立地选自氢、甲基、氟或氯；

其中，若所述6-元杂芳基环被取代，则其被选自由以下项组成的一个或多个取代基取代：(C₁-C₃)烷基、(吗啉基)甲基、(二甲基吗啉基)甲基、吡咯烷-1-基-甲基、4-乙基哌嗪-1-基、4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基、3-羟基氮杂环丁烷-1-基、3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、(2-羟乙基)-1H-吡唑-4-基、吗啉-1-基和氰基；

若X是被取代的2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶基，则其由选自由以下项组成的一个或多个取代基取代：(C₁-C₃)烷基、羟基(C₁-C₃)烷基、(C₁-C₃)烷基CO-；

若X是取代的(苯基)CO-，则其被选自由卤素、(1-异丙基氮杂环丁烷-3-基)氨基、4-甲基哌嗪-1-基和1-甲基哌啶-4-基组成的组中的一个或多个取代基取代；

若B是取代的苯基，则其被选自由(C₁-C₃)烷基、R'SO₂-、R'R"NH(C₁-C₃)烷基、三氟甲基、二氟甲基、卤素、R'R"NSO₂-、(C₃-C₆)环烷基、(C₃-C₆)环烷基-NH-、NR'(C₃-C₆)环烷基-组成的组中的一个或多个取代基取代，其中R'和R"彼此独立地为(C₁-C₃)烷基；

若B是取代的5-或6-元杂芳基环，则其被一个或多个羟基(C₁-C₃)烷基、CF₃、氟、(C₁-C₄)烷基、氰基(C₁-C₃)烷基和(C₃-C₆)环烷基-SO₂-取代；

若B是取代的吡咯烷，则其被一个或多个(C₁-C₃)烷基取代；

若Y是取代的吡嗪，则其被一个或多个(C₁-C₃)烷基取代。

2. 根据权利要求1所述的N-苯基氨基甲酰基化合物，其中X是被选自由以下项组成的一个或多个取代基取代的2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶基：乙基、乙酰基和2-羟乙基。

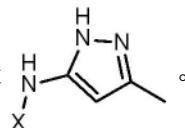
3. 根据权利要求1所述的N-苯基氨基甲酰基化合物,其中苯基被选自由 CH_3SO_2- 、 $-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 CH_3 、 CF_3 、 CHF_2 、氟、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、(N-乙基)氨基环丙基组成的组中的一个或多个取代基取代。

4. 根据权利要求1所述的N-苯基氨基甲酰基化合物,其中B是吡啶或噁唑,所述吡啶或噁唑被选自由2-氰丙基-2-基、2-羟丙基-2-基、 CH_3 、 CF_3 、氟、异丁基或环丙基磺酰基组成的组中的一个或多个取代基取代。

5. 根据权利要求1所述的N-苯基氨基甲酰基化合物,其中B是吡咯烷。

6. 根据权利要求1所述的N-苯基氨基甲酰基化合物,其中吡咯烷被一个或多个乙基取代。

7. 根据权利要求1所述的N-苯基氨基甲酰基化合物,其中A是



8. 根据权利要求7所述的N-苯基氨基甲酰基化合物,其中X是任选取代的6-元杂芳基环。

9. 根据权利要求8所述的N-苯基氨基甲酰基化合物,其中X是任选取代的吡嗪。

10. 根据权利要求7所述的N-苯基氨基甲酰基化合物,其中B是任选取代的苯基。

11. 根据权利要求10中所述的N-苯基氨基甲酰基化合物,其中苯基被 CF_3 取代。

12. 根据权利要求1所述的N-苯基氨基甲酰基化合物,其选自由以下项组成的组:

1) $\text{N}-(4\text{-甲基}-3\text{-}(2\text{-}(5\text{-}(吡嗪-2\text{-基氨基})-1\text{H-} \text{吡唑-3\text{-基})乙基)苯基)-3\text{-}(甲基磺酰基)苯甲酰胺,$

2) $2\text{-}(2\text{-氰基丙-2\text{-基})-N-(4\text{-甲基}-3\text{-}(2\text{-}(5\text{-}(吡嗪-2\text{-基氨基})-1\text{H-} \text{吡唑-3\text{-基})乙基)苯基} \text{异烟酰胺},$

3) $\text{N}-(4\text{-甲基}-3\text{-}(2\text{-}(5\text{-}(吡嗪-2\text{-基氨基})-1\text{H-} \text{吡唑-3\text{-基})乙基)苯基)-3\text{-}(三氟甲基)苯甲酰胺,$

4) $4\text{-}(1\text{-}(乙基氨基)环丙基)-N-(4\text{-甲基}-3\text{-}(2\text{-}(5\text{-}(吡嗪-2\text{-基氨基})-1\text{H-} \text{吡唑-3\text{-基})乙基)苯基} \text{苯甲酰胺},$

5) $2\text{-}(2\text{-羟基丙-2\text{-基})-N-(4\text{-甲基}-3\text{-}(2\text{-}(5\text{-}(吡嗪-2\text{-基氨基})-1\text{H-} \text{吡唑-3\text{-基})乙基)苯基} \text{异烟酰胺},$

6) $2\text{-甲基-N-(4\text{-甲基}-3\text{-}(2\text{-}(5\text{-}(吡嗪-2\text{-基氨基})-1\text{H-} \text{吡唑-3\text{-基})乙基)苯基)-5\text{-}(三氟甲基)噁唑-4\text{-甲酰胺},$

7) $2\text{-氟-N-(4\text{-甲基}-3\text{-}(2\text{-}(5\text{-}(吡嗪-2\text{-基氨基})-1\text{H-} \text{吡唑-3\text{-基})乙基)苯基)-5\text{-}(三氟甲基)苯甲酰胺},$

8) $4\text{-}(环丙基磺酰基)-N-(4\text{-甲基}-3\text{-}(2\text{-}(5\text{-}(吡嗪-2\text{-基氨基})-1\text{H-} \text{吡唑-3\text{-基})乙基)苯基} \text{吡啶酰胺},$

9) $\text{N}-(3\text{-}(2\text{-氟-5\text{-}(6\text{-异丁基烟酰基)苯乙基)-1\text{H-} \text{吡唑-5\text{-基})嘧啶-2\text{-甲酰胺},}$

10) $\text{N}-(4\text{-氟-3\text{-}(2\text{-}(5\text{-}((2\text{-}(2\text{-羟乙基)-2,3\text{-二氢-1\text{H-} \text{吡咯并[3,4-c]吡啶-6\text{-基)氨基})-1\text{H-} \text{吡唑-3\text{-基})乙基)苯基)-3\text{-}(三氟甲基)苯甲酰胺},$

11) $2\text{-}(2\text{-氰基丙-2\text{-基})-N-(4\text{-氟-3\text{-}(2\text{-}(5\text{-}(吡嗪-2\text{-基氨基})-1\text{H-} \text{吡唑-3\text{-基})乙基)苯基} \text{异烟酰胺},$

- 12) N- (4-氟-3- (2- (5- (吡嗪-2-基氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) -3- (甲基磺酰基) 苯甲酰胺，
13) N- (4-氟-3- (2- (5- (吡嗪-2-基氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，
14) N- (3- (2- (5- ((3,5-二甲基吡嗪-2-基) 氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) -4-氟苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，
15) N- (4-氟-3- (2- (5- ((3-甲基吡嗪-2-基) 氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，
16) N- (4-氯-3- (2- (5- (吡嗪-2-基氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，
17) N- (3- (2- (5- ((2-乙基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶-6-基) 氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) -4-甲基苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，
18) N- (5- (2-甲基-5- (3- (三氟甲基) 苯甲酰胺基) 苯乙基) -1H-吡唑-3-基) 吡啶酰胺，
19) N- (3- (2- (3- (4-氟苯甲酰胺基) -1H-吡唑-5-基) 乙基) -4-甲基苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，
20) N- (4-甲基-3- (2- (5- ((3-甲基吡嗪-2-基) 氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) -6-氮杂螺[3.4]辛烷-6-甲酰胺，
21) 3,3-二乙基-N- (4-甲基-3- (2- (5- ((3-甲基吡嗪-2-基) 氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) 吡咯烷-1-甲酰胺
22) 3,3-二乙基-N- (4-甲基-3- (2- (5- (吡嗪-2-基氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) 吡咯烷-1-甲酰胺
23) N- (3- (5- (3- (4,4-二甲基环己基) 脲基) -2-甲基苯乙基) -1H-吡唑-5-基) -4- ((1-异丙基氮杂环丁烷-3-基) 氧基) 苯甲酰胺，
24) N- (3- (5- (3- (环戊基脲基) -2-甲基苯乙基) -1H-吡唑-5-基) -4- (4-甲基哌嗪-1-基) 苯甲酰胺，
25) N- (3- (5- (3- (4,4-二甲基环己基) 脲基) -2-甲基苯乙基) -1H-吡唑-5-基) -4- (1-甲基哌啶-4-基) 苯甲酰胺，
26) N- (4-氟-3- (2- (3- ((2-甲基-6- (吗啉甲基) 噻啶-4-基) 氨基) -1H-吡唑-5-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，
27) N- (3- (2- (3- ((6- ((2S,6R)-2,6-二甲基吗啉基) 甲基) -2-甲基噻啶-4-基) 氨基) -1H-吡唑-5-基) 乙基) -4-氟苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，
28) N- (4-氟-3- (2- (3- ((2-甲基-6- (吡咯烷-1-基甲基) 噻啶-4-基) 氨基) -1H-吡唑-5-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，
29) N- (3- (2- (3- ((6- (4-乙基哌嗪-1-基) -2-甲基噻啶-4-基) 氨基) -1H-吡唑-5-基) 乙基) -4-氟苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，
30) N- (4-氟-3- (2- (3- ((6- (4- (2-羟乙基) 哌嗪-1-基) -2-甲基噻啶-4-基) 氨基) -1H-吡唑-5-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，
31) N- (4-氟-3- (2- (3- ((6- (3-羟基氮杂环丁烷-1-基) -2-甲基噻啶-4-基) 氨基) -1H-吡唑-5-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，

- 32) (S)-N-(3-(2-(3-((6-(3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基)-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)-4-氟苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，
- 33) 3-(二氟甲基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)苯甲酰胺，
- 34) N-(3-(2-(5-((2-乙酰基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶-6-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)-4-甲基苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，
- 35) 3-(异丙基磺酰基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-((3-甲基吡啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)苯甲酰胺，
- 36) 2-(2-氰基丙-2-基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-((3-甲基吡啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)异烟酰胺，
- 37) N-(3-(2-(5-((6-氰基-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)-4-甲基苯基)-3-(N,N-二甲基氨基磺酰基)苯甲酰胺，
- 38) N-(3-(2-(5-((6-氰基-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)-4-甲基苯基)-8-氮杂螺[4.5]癸烷-8-甲酰胺，
- 39) N-(3-(2-(5-((6-氰基-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)-4-氟苯基)-4-((二甲基氨基)甲基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，
- 40) N-(4-氟-3-(2-(5-((2-甲基嘧啶-5-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，
- 41) 4-(2-氰基丙-2-基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)吡啶酰胺，
- 42) N-(4-氟-3-(2-(3-((6-(1-(2-羟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，
- 43) N-(2-氟-5-(2-(5-((2-甲基-6-吗啉基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，
- 44) N-(2-氟-5-(2-(3-((6-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，
- 45) N-(5-(2-(3-((6-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)-2-氟苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，
- 46) N-(2-氟-5-(2-(3-((6-(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，
- 47) 4-((二甲氨基)甲基)-N-(3-(2-(5-(4-吗啉基苯甲酰胺基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)苯甲酰胺，
- 48) N-(4-甲基-3-(2-(2-(吡嗪-2-基氨基)噻唑-5-基)乙基)苯基)-3-(甲基磺酰基)苯甲酰胺，和
- 49) N-(4-甲基-3-(2-(2-(吡嗪-2-基氨基)噻唑-5-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，和
- 50) 2-(2-氰基丙-2-基)-N-(4-甲基-3-(2-(2-(吡嗪-2-基氨基)噻唑-5-基)乙基)苯基)异烟酰胺。

13. 根据权利要求12所述的N-苯基氨基甲酰基化合物，其选自由以下项组成的组：

3) N- (4-甲基-3- (2- (5- (吡嗪-2-基氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，

6) 2-甲基-N- (4-甲基-3- (2- (5- (吡嗪-2-基氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) -5- (三氟甲基) 噻唑-4-甲酰胺，

8) 4- (环丙基磺酰基) -N- (4-甲基-3- (2- (5- (吡嗪-2-基氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) 吡啶酰胺，

13) N- (4-氟-3- (2- (5- (吡嗪-2-基氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，

15) N- (4-氟-3- (2- (5- ((3-甲基吡嗪-2-基) 氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，

34) N- (3- (2- (5- ((2-乙酰基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶-6-基) 氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) -4-甲基苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺，和

49) N- (4-甲基-3- (2- (2- (吡嗪-2-基氨基) 嘧唑-5-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺。

14. 根据权利要求13所述的N-苯基氨基甲酰基化合物，其为化合物3) N- (4-甲基-3- (2- (5- (吡嗪-2-基氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺。

15. 一种药物组合物，其包含根据权利要求1所述的N-苯基氨基甲酰基化合物(I)或其药学上可接受的盐和药学上可接受的赋形剂。

16. 权利要求1所述的式(I)的N-苯基氨基甲酰基化合物或其药学上可接受的盐在制备用于在治疗与一种或两种激酶有关的疾病和病症中抑制选自Fyn和VEGFR2中的至少一种酪氨酸激酶的药物中的用途。

17. 根据权利要求16所述的式(I)的N-苯基氨基甲酰基化合物或其药学上可接受的盐的用途，其中所述用途是在治疗与两种激酶有关的疾病/病症/病理中抑制激酶Fyn和VEGFR2。

18. 根据权利要求17所述的式(I)的N-苯基氨基甲酰基化合物或其药学上可接受的盐的用途，其中所述用途是用于治疗病症/疾病/病理，所述病症/疾病/病理为骨关节炎、眼病、皮肤病症、急性或慢性疼痛、肺病、转移性结直肠癌、非鳞状非小细胞肺癌、转移性肾细胞癌、复发性多形性成胶质细胞瘤、妇科恶性肿瘤、转移性乳腺癌。

19. 根据权利要求18所述的用途，其中，所述眼病为眼内新生血管病症。

20. 根据权利要求19所述的用途，其中，所述眼内新生血管病症为老年性黄斑变性、糖尿病性黄斑水肿和其它缺血相关性视网膜病，或免疫介导的角膜移植排斥反应。

21. 根据权利要求18所述的用途，其中，所述皮肤病症为牛皮癣或红斑痤疮。

22. 根据权利要求18所述的用途，其中，所述急性或慢性疼痛为神经性疼痛、炎性疼痛、骨关节炎疼痛、眼部病理疼痛的疼痛。

23. 根据权利要求18所述的用途，其中，所述肺病为急性呼吸窘迫综合征、特发性肺纤维化、过敏性肺炎或系统性硬化症。

FYN和VEGFR2激酶抑制剂

技术领域

[0001] 本发明涉及作为FYN和VEGFR2激酶抑制剂的式(I)的N-苯基氨基甲酰基化合物。

背景技术

[0002] 蛋白激酶是治疗癌症、自身免疫性疾病、炎症或神经退行性疾病等多种病症的有前景的药物靶点。Fyn是Src家族激酶(SFK)中的细胞内酪氨酸激酶,参与多种生物学过程(例如生长因子和细胞因子受体信号传导、T细胞和B细胞受体信号传导、离子通道功能、血小板激活和自然杀伤细胞分化)。许多文献数据表明,Fyn在介导疼痛中起主要作用。NMDA受体磷酸化是维持神经性疼痛的必要条件,主要依赖于Fyn激活。Fyn的这种作用进一步加深,表明NMDA和AMPA的Fyn依赖性磷酸化也与炎性疼痛实验模型密切相关,并且对于在小鼠前驱糖尿病的神经病变状态下的触觉异常性疼痛的发展至关重要。

[0003] 最近的一项研究表明,在SFK家族中,只有Fyn是衰老小鼠的退化和损伤的关节软骨中最强的上调蛋白。此外,接受全膝关节置换术的受试者的实验性OA小鼠软骨和人OA软骨中的Fyn水平升高。(Li,K.et al.Tyrosine kinase Fyn promotes osteoarthritis by activating the β -catenin pathway. Ann.Rheum.Dis.annrheumdis-2017-212658,2018)。

[0004] 在受影响的患者的OA晚期,发现关节软骨、滑膜、滑液、软骨下骨和血清中的强效血管生成因子血管内皮生长因子(VEGF)的表达增加。作为OA患者的生物标志物的VEGF的评估表明,滑液VEGF增加不仅与OA严重程度分级相关,还与OA疼痛程度相关。VEGF信号传导由三种激酶插入结构域受体(受体酪氨酸激酶或RTK)VEGFR-1、VEGFR-2和VEGFR-3介导,VEGFA/VEGFR2是VEGF系统中最主要的配体-受体复合物,在血管生成中起关键作用。在内皮细胞中,VEGF/VEGFR2结合引起Fyn激活,进而引发一系列下游信号传导通路,结果是肌动蛋白聚合、应力纤维形成和内皮细胞迁移,这些对于促进新血管的生长至关重要。(Lamalice et al, Phosphorylation of Tyr1214 within VEGFR-2Triggers the Recruitment of Nck and Activation of Fyn Leading to SAPK2/p38 Activation and Endothelial Cell Migration in Response to VEGF, 281, 34009-34020, 2006)。

[0005] 此外,大量研究发现,软骨细胞的VEGF信号传导会影响促分解代谢介质(即基质金属蛋白酶、蛋白聚糖酶),VEGF和炎性细胞因子对软骨细胞的双重作用可能会加剧软骨变性。炎性通路与OA的进展有关,血管生成刺激炎症,并且炎症促进血管生成。(Hamilton, J.L.et al.Targeting VEGF and Its Receptors for the Treatment of Osteoarthritis and Associated Pain.J.Bone Miner.Res.31, 911-924(2016))。此外,炎症是细的无髓鞘感觉神经敏化的经典介质,其介导OA疼痛。

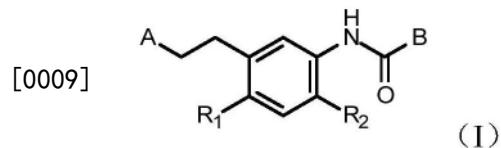
[0006] 血管生成是炎性肠病(IBD)中炎症和发病机制的重要组成部分,炎性肠病有溃疡性结肠炎(UC)和克罗恩病(Crohn's disease,CD)两大类。慢性炎症与血管生成是密切相关的进程,事实上免疫/炎性细胞分泌多种血管生成因子(即生长因子、细胞因子)。据发现IBD患者血清中的VEGF水平升高,其来源为炎性肠组织和外周血单核细胞。在IBD中,生理性血管生成在疾病早期转变为病理性血管生成,导致生理性血管生成转化为病理性血管生成的

一种或多种因素尚不清楚(Angiogenesis in Inflammatory Bowel Disease-C.Alkim et al.-International Journal of Inflammation,Volume 2015,Article ID 970890)。

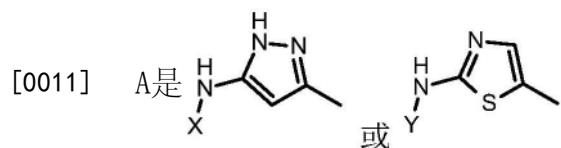
发明内容

[0007] 发明人惊奇地发现了一类新化合物,其在选择性抑制和强效抑制VEGF受体VEGFR-2(通常称为KDR受体)和Fyn(Src家族成员)方面表现出尚未描述的双重特征。

[0008] 因此,本发明涉及式(I)的N-苯基氨基甲酰基化合物或其盐



[0010] 其中



[0012] 其中

[0013] X是选自由5-或6-元杂芳基环、2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶基、(5-或6-元杂芳基)CO-、(苯基)CO-和5-或6-元饱和杂环组成的组中的任选取代的基团;

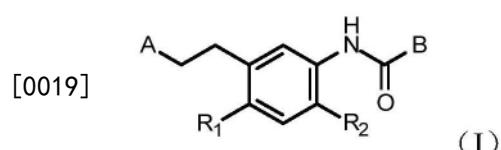
[0014] Y是任选取代的5-或6-元杂芳基环;

[0015] B是选自由苯基、5-或6-元杂芳基环、5-或6-元饱和杂环、氮杂螺(C₇-C₁₀)烷基和饱和(C₃-C₆)环烷基-NH-组成的组中的任选取代的基团;

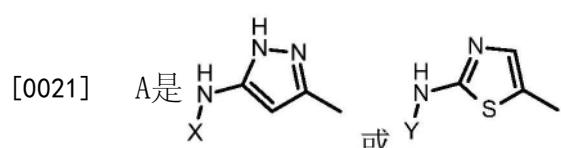
[0016] R₁和R₂任选且不同时存在,且独立地选自(C₁-C₃)烷基和卤素。

[0017] 这一前所未有的特征使本系列候选成为用于治疗疾病(例如骨关节炎和其他疾病,其中两种激酶协同作用具有不利的作用)的非常有前景的化合物。该系列具有独特且令人惊讶的药代动力学特征,有利于高剂量局部治疗,而不会平行增加血液或未受影响组织中的浓度,从而确保了前所未有的安全性特征。

[0018] 因此,本发明还涉及式(I)的N-苯基氨基甲酰基化合物或其药学上可接受的盐,其用作药物,



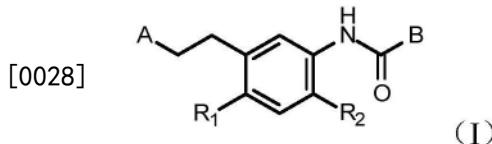
[0020] 其中



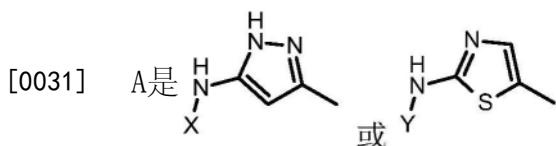
[0022] 其中

[0023] X是选自由5-或6-元杂芳基环、2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶基、(5-或6-元杂芳基)CO-、(苯基)CO-和5-或6-元饱和杂环组成的组中的任选取代的基团;

- [0024] Y是任选取代的(C₅-C₆)杂芳基环；
 [0025] B是选自由苯基、5-或6-元杂芳基环、5-或6-元饱和杂环、氮杂螺(C₇-C₁₀)烷基和饱和(C₃-C₆)环烷基-NH-组成的组中的任选取代的基团；
 [0026] R₁和R₂任选且不同时存在，且独立地选自(C₁-C₃)烷基或卤素。
 [0027] 另一方面，本发明还涉及式(I)



- [0029] 的N-苯基氨基甲酰基化合物或其药学上可接受的盐，其用于在治疗与一种或两种激酶有关的疾病和病症中抑制选自Fyn和VEGFR2的至少一种酪氨酸激酶，
 [0030] 其中



- [0032] 其中
 [0033] X是选自由5-或6-元杂芳基环、2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶基、(5-或6-元杂芳基)CO-、(苯基)CO-和5-或6-元饱和杂环组成的组中的任选取代的基团；
 [0034] Y是任选取代的(C₅-C₆)杂芳基环；
 [0035] B是选自由苯基、5-或6-元杂芳基环、5-或6-元饱和杂环、氮杂螺(C₇-C₁₀)烷基和饱和(C₃-C₆)环烷基-NH-组成的组中的任选取代的基团；
 [0036] R₁和R₂任选且不同时存在，且独立地选自(C₁-C₃)烷基或卤素。
 [0037] 因此，式(I)的化合物也可作为两种激酶(Fyn和VEGFR)的酪氨酸激酶抑制剂，因此是双重激酶抑制剂。这种多靶点治疗对于骨关节炎以及与两种激酶有关的其他病理和疾病的治疗具有治疗潜力。
 [0038] 具体地，公开了本发明的化合物用于治疗病症/疾病/病理，所述病症/疾病/病理选自由骨关节炎；眼病，例如眼内新生血管病症，例如老年性黄斑变性、糖尿病性黄斑水肿和其它缺血相关性视网膜病或免疫介导的角膜移植排斥反应；皮肤病症，例如牛皮癣或红斑痤疮；急性或慢性疼痛；肺病，例如急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、特发性肺纤维化(IPF)、过敏性肺炎(HP)和系统性硬化症(SSc)；癌症，例如转移性结直肠癌、非鳞状非小细胞肺癌、转移性肾细胞癌、复发性多形性成胶质细胞瘤、妇科恶性肿瘤、转移性乳腺癌组成的组。
 [0039] 在优选的方面，公开了本发明的化合物用于治疗急性和慢性疼痛，所述急性和慢性疼痛优选选自神经性疼痛、炎性疼痛、骨关节炎疼痛、眼部病理疼痛。

附图说明

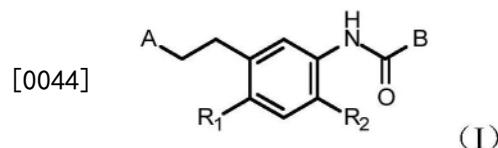
- [0040] 图1：化合物3在大鼠CFA试验中的局部镇痛疗效。以机械阈(CFA发炎的爪子承受的重量)报告活性。还示出了用载体和测试物质治疗的幼稚(naïve)动物的数据，以证明对正常痛阈无作用。
 [0041] 图2：大鼠CFA试验中不同剂量的化合物3的局部镇痛疗效的剂量响应曲线。以机械

阈(CFA发炎的爪子承受的重量)报告活性。

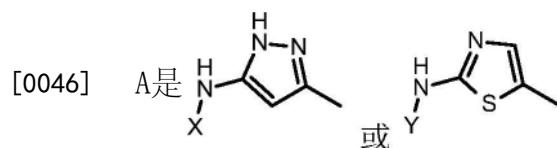
具体实施方式

[0042] 本发明涉及含有双重VEGF2/Fyn抑制剂的药物组合物,其能够局部作用于解决对其它药物有耐药性的疾病,而不产生一般的全身性毒性。

[0043] 因此,本发明涉及式(I)的N-苯基氨基甲酰基化合物或其盐



[0045] 其中



[0047] 其中

[0048] X是选自由5-或6-元杂芳基环、2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶基、(5-或6-元杂芳基)CO-、(苯基)CO-和5-或6-元饱和杂环组成的组中的任选取代的基团;

[0049] Y是任选取代的(C₅-C₆)杂芳基环;

[0050] B是选自由苯基、5-或6-元杂芳基环、5-或6-元饱和杂环、氮杂螺(C₇-C₁₀)烷基和饱和(C₃-C₆)环烷基-NH-组成的组中的任选取代的基团;

[0051] R₁和R₂任选且不同时存在,且独立地选自(C₁-C₃)烷基或卤素。

[0052] 在本发明中,当使用以下术语时:

[0053] -“本(the)发明的化合物”或“本(this)发明的化合物”是指如上定义的式(I)化合物,

[0054] 其为任何形式,即任何盐或非盐形式(例如作为游离酸或游离碱形式,或作为盐,特别是其药学上可接受的盐)及其任何物理形式(例如包括非固体状(例如液体或半固体状)和固体状(例如无定形或结晶形式,特定多晶型形式,溶剂化物形式,

[0055] 包括水合物形式(例如一水合物、二水合物和半水合物)以及各种形式的混合物;

[0056] -“任选取代的”是指未被取代的基团或环,或被一个或多个特定取代基取代的基团或环;

[0057] -“饱和5-或6-元杂环”是指饱和碳环,其中一个或两个碳原子被杂原子(例如氮、氧或硫)取代;非限制性实例是四氢吡喃、吡咯烷、咪唑烷、吡唑烷、噻唑烷、四氢呋喃、1,3-二氧戊环、哌啶、哌嗪和吗啉;

[0058] -“(C₁-C₃)烷基”是指含有1-3个碳原子的直链或支链饱和烃基;

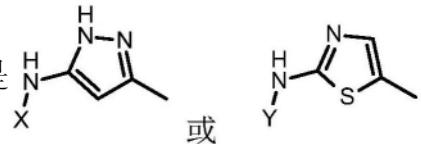
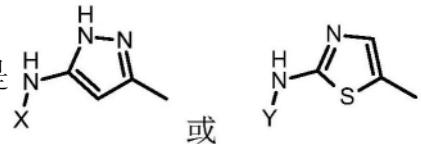
[0059] -“(C₁-C₄)烷基”是指含有1-4个碳原子的直链或支链饱和烃基;

[0060] -“饱和(C₃-C₆)环烷基”是指饱和的3-至6-元全碳单环;非限制性实例是环丙烷、环丁烷、环戊烷、环己烷;

[0061] -“氮杂螺(C₇-C₁₀)烷基”是指由碳原子和一个氮原子组成的饱和8-10-元环,与螺原子形成环;

[0062] - “卤素”是指氯原子、氟原子、溴原子和碘原子；

[0063] - “5-或6-元杂芳基环”是指其中1-3个碳原子被杂原子(例如氮、氧或硫)取代的不饱和碳环；非限制性实例是吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、吲哚基、咪唑基、噻唑基、吡咯基、呋喃基、噁唑基、异噁唑基、吡唑基、噻吩基、噻二唑基(thiadiazolyl)、异噁唑基、异噻唑基、噁二唑基(oxadiazolyl)、吲唑基。

[0064] 根据本发明,A是或。

[0065] X是选自由5-或6-元杂芳基环、2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶基、(5-或6-元杂芳基)CO-、(苯基)CO-和5-或6-元饱和杂环组成的组中任选取代的基团；

[0066] X可以是任选取代的5-或6-元杂芳基环。5-或6-元杂芳基环优选吡嗪或吡啶或嘧啶，任选被选自由(C₁-C₃)烷基、(吗啉基)甲基、(二甲基吗啉基)甲基、吡咯烷-1-基-甲基、4-乙基哌嗪-1-基、4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基、3-羟基氮杂环丁烷-1-基、3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、(2-羟乙基)-1H-吡唑-4-基、吗啉-1-基和氰基组成的组中的一个或多个取代基取代；更优选地，取代基(C₁-C₃)烷基是甲基。

[0067] X可以是任选取代的2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶基。当它被取代时，它优选被选自由(C₁-C₃)烷基、羟基(C₁-C₃)烷基和((C₁-C₃)烷基)CO-组成的组中的一个或多个取代基取代，更优选乙基、2-羟乙基和乙酰基。

[0068] X可以是任选取代的(5-或6-元杂芳基)CO-。优选地，(5-或6-元杂芳基)CO-是(吡啶)CO-或(嘧啶)CO-。当它被取代时，它优选被一个或多个(C₁-C₃)烷基取代。

[0069] X可以是任选取代的(苯基)CO-。当它被取代时，它优选被选自由卤素、(1-异丙基氮杂环丁烷-3-基)氨基、4-甲基哌嗪-1-基和1-甲基哌啶-4-基组成的组中的一个或多个取代基取代。当其是卤素时，更优选的是氟。

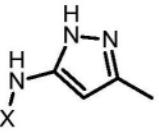
[0070] Y是任选取代的(C₅-C₆)杂芳基环。任选取代的(C₅-C₆)杂芳基环优选是任选取代的吡嗪，更优选未被取代的吡嗪。当吡嗪被取代时，它优选被一个或多个(C₁-C₃)烷基取代，还更优选是被甲基取代。

[0071] R₁和R₂任选且不同时存在，且独立地为(C₁-C₃)烷基或卤素。优选地，R₁是(C₁-C₃)烷基，更优选是甲基。优选地，R₂是H或卤素。当R₁是卤素时，优选氟或氯，更优选氟。当R₂是卤素时，优选氟。

[0072] B可以是任选取代的苯基。当B是取代的苯基时，它优选被选自由(C₁-C₃)烷基、R'SO₂-、R'R"N(C₁-C₃)烷基、R'NH(C₁-C₃)烷基、R'R"N-、三氟甲基、二氟甲基、卤素、R'R"NSO₂-、(C₃-C₆)环烷基、(C₃-C₆)环烷基-NH-、NR'(C₃-C₆)环烷基组成的组中的一个或多个取代基取代，其中R'和R"彼此独立地为(C₁-C₃)烷基，更优选为甲基。在苯基的优选取代基中，可以列举如下：CH₃SO₂-、-CH₂N(CH₃)₂、CH₃、CF₃、CHF₂、氟、-SO₂N(CH₃)₂、(N-乙基)氨基环丙基。

[0073] B可以是任选取代的5-或6-元杂芳基环。任选取代的5-或6-元杂芳基环优选是吡啶或噁唑。当(C₅-C₆)杂芳基环被取代时，它优选被一个或多个羟基(C₁-C₃)烷基、CF₃、(C₁-C₄)烷基、氰基(C₁-C₃)烷基和(C₃-C₆)环烷基-SO₂-取代。在(C₅-C₆)杂芳基环的优选取代基中，优选吡啶和噁唑，可以列举如下：2-氰基丙-2-基、2-氰基丙-2-基、CH₃、CF₃、氟、异丁基或环丙基磺酰基。

- [0074] B可以是氮杂螺(C_7-C_{10})烷基。优选地，它是氮杂螺[3,4]辛烷或氮杂螺[4,5]癸烷。
- [0075] B可以是任选取代的5-或6-元饱和杂环。优选地，它是吡咯烷，更优选被一个或多个(C_1-C_3)烷基取代，还更优选被乙基取代。
- [0076] B可以是任选取代的饱和(C_3-C_6)环烷基-NH-。优选地，它是4,4-(二甲基环己基)-NH-、环戊基-NH-。

[0077] 在优选的实施方案中，A是。

[0078] 在该优选实施方案中，X优选是任选取代的5-或6-元杂芳基环，更优选是任选取代的吡嗪。

[0079] B优选是任选取代的苯基，优选被 CF_3 取代。

[0080] 在优选的方面，式(I)化合物选自由以下项组成的组：

[0081] 1) N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(甲基磺酰基)苯甲酰胺，

[0082] 2) 2-(2-氟基丙-2-基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)异烟酰胺，

[0083] 3) N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，

[0084] 4) 4-(1-(乙基氨基)环丙基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)苯甲酰胺，

[0085] 5) 2-(2-羟基丙-2-基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)异烟酰胺，

[0086] 6) 2-甲基-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-5-(三氟甲基)噁唑-4-甲酰胺，

[0087] 7) 2-氟-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-5-(三氟甲基)苯甲酰胺，

[0088] 8) 4-(环丙基磺酰基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)吡啶酰胺，

[0089] 9) N-(3-(2-氟-5-(6-异丁基烟酰胺基(isobutylnicotinamido))苯乙基)-1H-吡唑-5-基)嘧啶-2-甲酰胺，

[0090] 10) N-(4-氟-3-(2-(5-((2-(2-羟乙基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶-6-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，

[0091] 11) 2-(2-氟基丙-2-基)-N-(4-氟-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)异烟酰胺，

[0092] 12) N-(4-氟-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(甲基磺酰基)苯甲酰胺，

[0093] 13) N-(4-氟-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，

[0094] 14) N-(3-(2-(5-((3,5-二甲基吡嗪-2-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)-4-氟苯

基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,

[0095] 15) N- (4-氟-3- (2- (5- ((3- 甲基吡嗪-2- 基) 氨基) -1H- 吡唑-3- 基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,

[0096] 16) N- (4-氯-3- (2- (5- (吡嗪-2- 基氨基) -1H- 吡唑-3- 基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,

[0097] 17) N- (3- (2- (5- ((2- 乙基-2,3- 二氢-1H- 吡咯并[3,4-c] 吡啶-6- 基) 氨基) -1H- 吡唑-3- 基) 乙基) -4- 甲基苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,

[0098] 18) N- (5- (2- 甲基-5- (3- (三氟甲基) 苯甲酰胺基) 苯乙基) -1H- 吡唑-3- 基) 吡啶酰胺,

[0099] 19) N- (3- (2- (3- (4- 氟苯甲酰胺基) -1H- 吡唑-5- 基) 乙基) -4- 甲基苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,

[0100] 20) N- (4- 甲基-3- (2- (5- ((3- 甲基吡嗪-2- 基) 氨基) -1H- 吡唑-3- 基) 乙基) 苯基) -6- 氮杂螺[3.4] 辛烷-6- 甲酰胺,

[0101] 21) 3,3- 二乙基-N- (4- 甲基-3- (2- (5- ((3- 甲基吡嗪-2- 基) 氨基) -1H- 吡唑-3- 基) 乙基) 苯基) 吡咯烷-1- 甲酰胺

[0102] 22) 3,3- 二乙基-N- (4- 甲基-3- (2- (5- (吡嗪-2- 基氨基) -1H- 吡唑-3- 基) 乙基) 苯基) 吡咯烷-1- 甲酰胺

[0103] 23) N- (3- (5- (3- (4,4- 二甲基环己基) 脲基) -2- 甲基苯乙基) -1H- 吡唑-5- 基) -4- ((1- 异丙基氮杂环丁烷-3- 基) 氧基) 苯甲酰胺,

[0104] 24) N- (3- (5- (3- 环戊基脲基) -2- 甲基苯乙基) -1H- 吡唑-5- 基) -4- (4- 甲基哌嗪-1- 基) 苯甲酰胺,

[0105] 25) N- (3- (5- (3- (4,4- 二甲基环己基) 脲基) -2- 甲基苯乙基) -1H- 吡唑-5- 基) -4- (1- 甲基哌啶-4- 基) 苯甲酰胺,

[0106] 26) N- (4- 氟-3- (2- (3- ((2- 甲基-6- (吗啉甲基) 噻啶-4- 基) 氨基) -1H- 吡唑-5- 基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,

[0107] 27) N- (3- (2- (3- ((6- ((2S,6R)-2,6- 二甲基吗啉基) 甲基) -2- 甲基噻啶-4- 基) 氨基) -1H- 吡唑-5- 基) 乙基) -4- 氟苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,

[0108] 28) N- (4- 氟-3- (2- (3- ((2- 甲基-6- (吡咯烷-1- 基甲基) 噻啶-4- 基) 氨基) -1H- 吡唑-5- 基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,

[0109] 29) N- (3- (2- (3- ((6- (4- 乙基哌嗪-1- 基) -2- 甲基噻啶-4- 基) 氨基) -1H- 吡唑-5- 基) 乙基) -4- 氟苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,

[0110] 30) N- (4- 氟-3- (2- (3- ((6- (4- (2- 羟乙基) 哌嗪-1- 基) -2- 甲基噻啶-4- 基) 氨基) -1H- 吡唑-5- 基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,

[0111] 31) N- (4- 氟-3- (2- (3- ((6- (3- 羟基氮杂环丁烷-1- 基) -2- 甲基噻啶-4- 基) 氨基) -1H- 吡唑-5- 基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,

[0112] 32) (S)-N- (3- (2- (3- ((6- (3- (二甲氨基) 吡咯烷-1- 基) -2- 甲基噻啶-4- 基) 氨基) -1H- 吡唑-5- 基) 乙基) -4- 氟苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,

[0113] 33) 3- (二氟甲基) -N- (4- 甲基-3- (2- (5- (吡嗪-2- 基氨基) -1H- 吡唑-3- 基) 乙基) 苯基) 苯甲酰胺,

- [0114] 34) N- (3- (2- (5- ((2-乙酰基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶-6-基) 氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) -4-甲基苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,
- [0115] 35) 3- (异丙基磺酰基) -N- (4-甲基-3- (2- (5- ((3-甲基吡啶-2-基) 氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) 苯甲酰胺,
- [0116] 36) 2- (2-氰基丙-2-基) -N- (4-甲基-3- (2- (5- ((3-甲基吡啶-2-基) 氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) 异烟酰胺,
- [0117] 37) N- (3- (2- (5- ((6-氰基-2-甲基嘧啶-4-基) 氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) -4-甲基苯基) -3- (N,N-二甲基氨基磺酰基) 苯甲酰胺,
- [0118] 38) N- (3- (2- (5- ((6-氰基-2-甲基嘧啶-4-基) 氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) -4-甲基苯基) -8-氮杂螺[4.5]癸烷-8-甲酰胺,
- [0119] 39) N- (3- (2- (5- ((6-氰基-2-甲基嘧啶-4-基) 氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) -4-氟苯基) -4- ((二甲基氨基) 甲基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,
- [0120] 40) N- (4-氟-3- (2- (5- ((2-甲基嘧啶-5-基) 氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,
- [0121] 41) 4- (2-氰基丙-2-基) -N- (4-甲基-3- (2- (5- (吡嗪-2-基氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) 吡啶酰胺,
- [0122] 42) N- (4-氟-3- (2- (3- ((6- (1- (2-羟乙基) -1H-吡唑-4-基) -2-甲基嘧啶-4-基) 氨基) -1H-吡唑-5-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,
- [0123] 43) N- (2-氟-5- (2- (5- ((2-甲基-6-吗啉基嘧啶-4-基) 氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,
- [0124] 44) N- (2-氟-5- (2- (3- ((6- (4- (2-羟乙基) 味嗪-1-基) -2-甲基嘧啶-4-基) 氨基) -1H-吡唑-5-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,
- [0125] 45) N- (5- (2- (3- ((6- (4-乙基味嗪-1-基) -2-甲基嘧啶-4-基) 氨基) -1H-吡唑-5-基) 乙基) -2-氟苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,
- [0126] 46) N- (2-氟-5- (2- (3- ((6- (3-羟基氮杂环丁烷-1-基) -2-甲基嘧啶-4-基) 氨基) -1H-吡唑-5-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,
- [0127] 47) 4- ((二甲氨基) 甲基) -N- (3- (2- (5- (4-吗啉基苯甲酰胺基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) 苯甲酰胺,
- [0128] 48) N- (4-甲基-3- (2- (2- (吡嗪-2-基氨基) 嘧唑-5-基) 乙基) 苯基) -3- (甲基磺酰基) 苯甲酰胺,
- [0129] 49) N- (4-甲基-3- (2- (2- (吡嗪-2-基氨基) 嘙唑-5-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺, 和
- [0130] 50) 2- (2-氰基丙-2-基) -N- (4-甲基-3- (2- (2- (吡嗪-2-基氨基) 嘙唑-5-基) 乙基) 苯基) 异烟酰胺。
- [0131] 更优选地, 式(I)化合物选自选自由以下项组成的组:
- [0132] 3) N- (4-甲基-3- (2- (5- (吡嗪-2-基氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺,
- [0133] 6) 2-甲基-N- (4-甲基-3- (2- (5- (吡嗪-2-基氨基) -1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) -5- (三氟甲基) 噻唑-4-甲酰胺,

[0134] 8) 4-(环丙基磺酰基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)吡啶酰胺，

[0135] 13) N-(4-氟-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，

[0136] 15) N-(4-氟-3-(2-(5-((3-甲基吡嗪-2-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，

[0137] 34) N-(3-(2-(5-((2-乙酰基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶-6-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)-4-甲基苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，

[0138] 49) N-(4-甲基-3-(2-(2-(吡嗪-2-基氨基)噻唑-5-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺，和

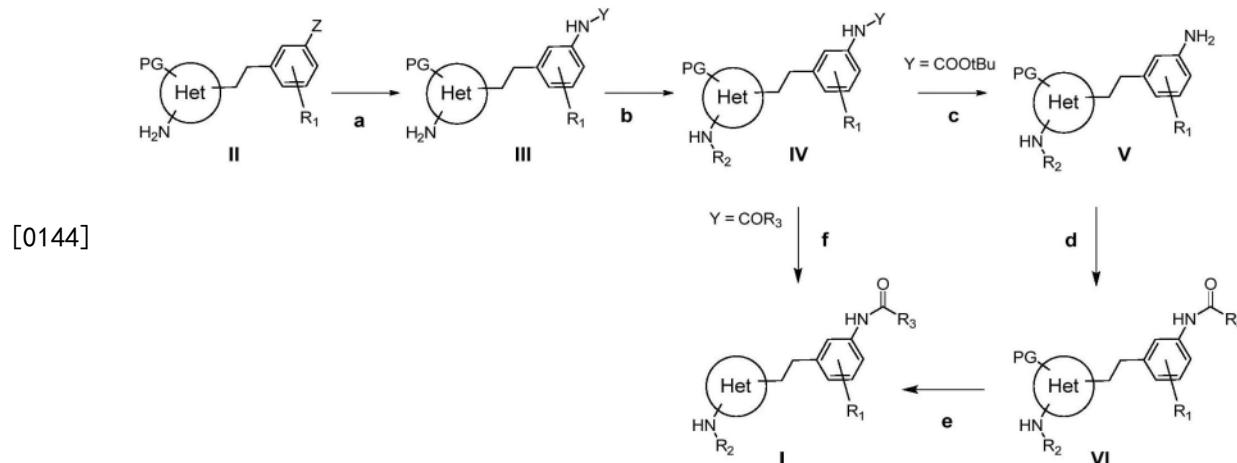
[0139] 更优选地，本发明的化合物是3)N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺。

[0140] 本发明的化合物可以是盐，优选药学上可接受的盐。因此，任何酸加成盐或与碱加成盐都包括在本发明中，只要它们是药学上可接受的盐。

[0141] 作为实例，可以列举源自自无机碱的盐，包括铝盐、铵盐、钙盐、铜盐、铁盐、亚铁盐、锂盐、镁盐、锰盐、二价锰(manganous)盐、钾盐、钠盐、锌盐等。优选铵盐、钙盐、镁盐、锂盐、钾盐和钠盐。源自自药学上可接受的有机无毒碱的盐也可以包括在内，例如伯胺、仲胺和叔胺的盐，取代的胺包括天然存在的取代的胺、环胺和碱性离子交换树脂，例如精氨酸、甜菜碱、咖啡因、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺、二乙胺、2-二乙基-氨基乙醇、2-二甲基氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基-吗啉、N-乙基哌啶、还原葡萄糖胺(glucamine)、葡萄糖胺(glucosamine)、组氨酸、海巴胺(hydramine)、异丙胺、赖氨酸、甲基-还原葡萄糖胺(methyl-glucamine)、吗啉、哌嗪、哌啶、聚胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、氨丁三醇等。

[0142] 药学上可接受的盐可以由药学上可接受的无毒酸制备，包括无机酸和有机酸。这样的酸包括乙酸、苯磺酸、苯甲酸、樟脑磺酸(camphorsulfonic)、柠檬酸、乙磺酸、富马酸、葡萄糖酸、谷氨酸、氢溴酸、盐酸、羟乙磺酸、乳酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲基磺酸、粘酸、硝酸、扑(pamoic)酸、泛酸、磷酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸、对甲苯磺酸等。特别优选的是柠檬酸、氢溴酸、盐酸、马来酸、磷酸、硫酸和酒石酸。

[0143] 制备本发明化合物的一般方案概述如下：



[0144]

[0145] 方案1中概述的过程包括以下步骤:

[0146] a) 通过在碘化铜存在下加入氨,将化合物II ($Z=Br$) 转化为化合物III ($Y=H$) ;或通过在有机金属催化剂(例如三(二亚苄基丙酮)二钯(0))的存在下加入苯甲酰胺 NH_2COR_3 ,将化合物II ($Z=Br$) 转化为化合物III ($Y=COR_3$) ;或在二氯甲烷溶剂中,通过加入二碳酸二叔丁酯,将化合物II ($Z=NH_2$) 转化为化合物III ($Y=C_00tBu$) ;

[0147] b) 通过在有机金属催化剂(例如三(二亚苄基丙酮)二钯(0))的存在下加入卤代杂环X- R_2 ,将化合物III转化为化合物IV;或在二氯甲烷溶剂中,使用标准偶联剂(例如N-乙基-N'--(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐和二甲基氨基吡啶)进行酰胺偶联,将化合物III转化为化合物IV;

[0148] c) 当 $Y=C_00tBu$ 时,在二氯甲烷溶剂中,使用HCl或三氟乙酸除去叔丁基氧羰基保护基;

[0149] d) 使用标准偶联剂进行酰胺偶联或使用试剂(例如溶于四氢呋喃的羰基二咪唑)形成脲,得到化合物VI;

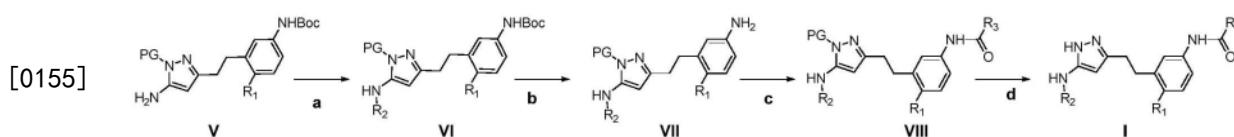
[0150] e) 使用甲酸除去保护基,得到化合物I;以及

[0151] f) 当 $Y=COR_3$ 时,用甲酸除去保护基,得到式(I)的化合物。

[0152] 具体地,用于制备式(I)化合物的一般合成在方案1至4中描述。

[0153] 方案1的步骤报告如下:

[0154] 方案1



[0156] 方案1中概述的过程包括以下步骤:

[0157] a1) 通过在有机金属催化剂(例如三(二亚苄基丙酮)二钯(0))的存在下加入卤代杂环,将化合物V转化为化合物VI;或在二氯甲烷溶剂中,使用标准偶联剂(例如N-乙基-N'-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐和二甲基氨基吡啶)进行酰胺偶联,将化合物V转化为化合物VI;

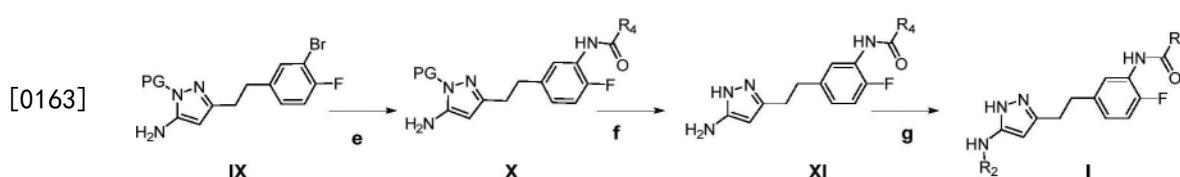
[0158] b1) 在二氯甲烷溶剂中,使用HCl或三氟乙酸除去叔丁基氧羰基保护基;

[0159] c1) 使用标准偶联剂进行酰胺偶联或使用试剂(例如溶于四氢呋喃的羰基二咪唑)形成脲,得到化合物VIII;以及

[0160] d1) 用甲酸除去保护基,得到化合物I。

[0161] 方案2的步骤报告如下:

[0162] 方案2



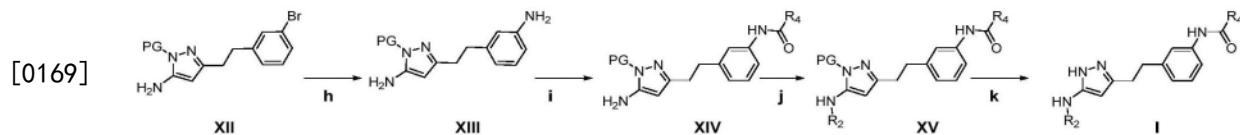
[0164] a2) 通过在有机金属催化剂(例如三(二亚苄基丙酮)二钯(0))的存在下加入苯甲酰胺,将化合物IX转化为化合物X;

[0165] b2) 用甲酸除去保护基,得到化合物XI;

[0166] c2) 通过在有机金属催化剂(例如三(二亚苄基丙酮)二钯(0))的存在下加入卤代杂环, 将化合物XI转化为化合物I。

[0167] 得到式(I)化合物的本发明的另一个实施方案在如下方案3中描述:

[0168] 方案3



[0170] 方案3中概述的过程包括以下步骤:

[0171] a3) 在密封管中, 在100℃下, 在作为催化剂的碘化铜的存在下, 使用氨将化合物XII转化为胺XIII;

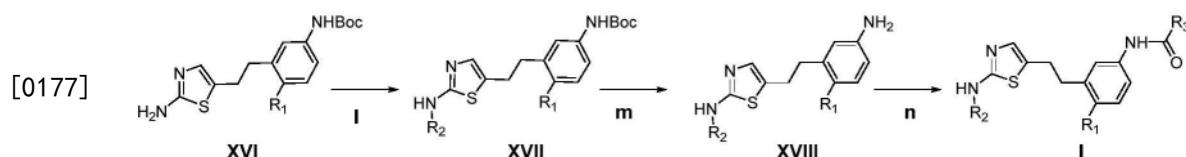
[0172] b3) 使用标准偶联剂进行酰胺偶联, 得到化合物XIV;

[0173] c3) 通过在有机金属催化剂(例如三(二亚苄基丙酮)二钯(0))的存在下加入卤代杂环将化合物XIV转化为化合物XV; 或在二氯甲烷溶剂中, 使用标准偶联剂(例如N-乙基-N'-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐和二甲基氨基吡啶)进行酰胺偶联, 将化合物XV转化为化合物XV;

[0174] d3) 用甲酸除去保护基, 得到化合物I。

[0175] 方案4的步骤报告如下:

[0176] 方案4



[0178] 方案4中概述的过程包括以下步骤:

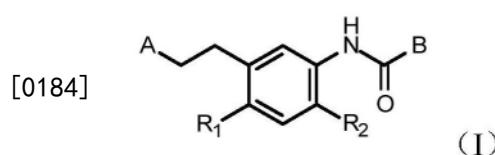
[0179] a4) 通过在有机金属催化剂(例如三(二亚苄基丙酮)二钯(0))的存在下加入卤代杂环将化合物XVI转化为化合物XVII; 或在二氯甲烷溶剂中, 使用标准偶联剂(例如N-乙基-N'-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐和二甲基氨基吡啶)进行酰胺偶联, 将化合物XVI转化为化合物XVII;

[0180] b4) 在二氯甲烷溶剂中, 使用HCl或三氟乙酸除去BOC保护基;

[0181] c4) 使用标准偶联剂进行酰胺偶联, 得到化合物I。

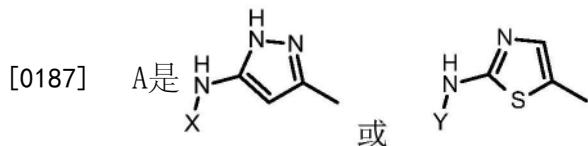
[0182] 如上所述的式(I)的化合物可用作药物。

[0183] 另一方面, 本发明涉及式(I)



[0185] 的N-苯基氨基甲酰基化合物或其药学上可接受的盐, 其用作药物。

[0186] 其中



[0188] 其中

[0189] X是选自由5-或6-元杂芳基环、2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶基、(5-或6-元杂芳基)CO-、(苯基)CO-和饱和(C₅-C₆)杂环组成的组中的任选取代的基团；

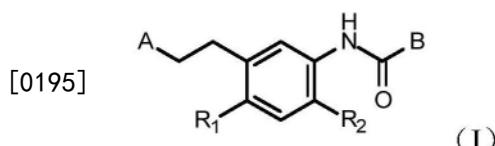
[0190] Y是任选取代的(C₅-C₆)杂芳基环；

[0191] B是选自由苯基、5-或6-元杂芳基环、5-或6-元饱和杂环、氮杂螺(C₇-C₁₀)烷基和饱和(C₃-C₆)环烷基-NH-组成的组中的任选取代的基团；

[0192] R₁和R₂任选且不同时存在，且独立地选自(C₁-C₃)烷基和卤素。

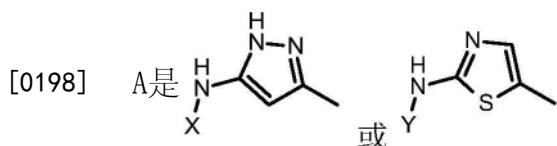
[0193] 开发酪氨酸激酶抑制剂的当前趋势是假设同时靶向多种信号通路的多靶向疗法比单一靶向疗法更有效。在癌症中，确定多种单一激酶抑制剂还是单一多激酶抑制剂更可取的因素是基于与疗效、耐药性、药代动力学、选择性和肿瘤环境有关的因素。OA的临床特征是症状(主要是疼痛)和关节结构的病理改变，二者共同决定了功能损伤，因此酪氨酸激酶抑制剂多靶点治疗对OA的治疗具有治疗潜力。

[0194] 因此，在另一方面，本发明还涉及式(I)



[0196] 的N-苯基氨基甲酰基化合物或其药学上可接受的盐，用于在治疗与一种或两种激酶有关的疾病和病症中抑制选自Fyn和VEGFR2中的至少一种酪氨酸激酶，

[0197] 其中



[0199] 其中

[0200] X是选自由5-或6-元杂芳基环、2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶基、(5-或6-元杂芳基)CO-、(苯基)CO-和5-或6-元饱和杂环组成的组中的任选取代的基团；

[0201] Y是任选取代的(C₅-C₆)杂芳基环；

[0202] B是选自由苯基、5-或6-元杂芳基环、5-或6-元饱和杂环、氮杂螺(C₇-C₁₀)烷基和饱和(C₃-C₆)环烷基-NH-组成的组中的任选取代的基团；

[0203] R₁和R₂任选且不同时存在，且独立地选自(C₁-C₃)烷基或卤素。

[0204] 具体地，令人惊讶的是，式(I)的化合物用于治疗骨关节炎。不受任何理论的束缚，本发明人认为靶向Fyn和VEGFR2两种激酶(这两种激酶似乎对确定OA的症状和进展都至关重要)的化合物似乎是理想的候选物，使之克服了结构和症状调节剂之间的古典二分法。此外，该化合物的关节内作用方式(在外周部位提供最大浓度)以及较差的全身性可利用性允许预测良好的疗效，而没有可能的全身性安全性问题。降低的全身性药物暴露可能与复杂

或严重的合并症患者特别相关。

[0205] 根据本发明，所述化合物用于治疗其中VEGF-和Fyn的局部和伴随抑制将产生益处的其它病状。特别地，它们包含眼病，例如眼内新生血管病症，例如老年性黄斑变性、糖尿病性黄斑水肿和其它缺血相关性视网膜病，或免疫介导的角膜移植排斥反应；皮肤病，例如牛皮癣（一种常见的自身免疫性疾病，其特征为表皮增生和真皮血管生成过多）；或红斑痤疮（一种常见的主要影响面部皮肤的慢性疾病，其特征为可见的血管、中央面部红斑和通常的丘疹和脓疱）；急性或慢性疼痛，肺病，例如急性呼吸窘迫综合征（ARDS）、特发性肺纤维化（IPF）、过敏性肺炎（HP）和系统性硬化症（SSc）；和某些癌症，例如转移性结直肠癌、非鳞状非小细胞肺癌、转移性肾细胞癌、复发性多形性成胶质细胞瘤、妇科恶性肿瘤、转移性乳腺癌。

[0206] 在优选的方面，公开了本发明的化合物用于治疗选自神经性疼痛、炎性疼痛、骨关节炎疼痛、眼部病理疼痛的急性和慢性疼痛。

[0207] 优选地，本发明的组合物与药学上可接受的载体和赋形剂一起用于药物组合物。

[0208] 因此，该组合物还可以包含药学上可接受的赋形剂，并且可以适合所需给药途径的药物形式给药。

[0209] 药学上可接受的添加剂可以是赋形剂、配体、分散剂、着色剂、湿润剂，通常用于制备口服给药的片剂、胶囊、丸剂、溶液、悬浮液、乳液。还考虑将可注射溶液用于肠胃外给药，包括皮下、脊柱和透皮给药。

[0210] 根据本发明的药物组合物优先用于关节内、静脉内、口服、透皮、鞘内、鼻内、腹膜内或肌肉内给药，更优先关节内给药。

[0211] 本发明的式(I)化合物优先的剂量范围是0.25mg/膝至500mg/膝，更优先的剂量范围是1mg/膝至200mg/膝。这些剂量可以溶于0.5mL/膝至6mL/膝范围内的体积中。根据本发明的药物组合物可单独使用，或与一种或多种其它药物组合使用，或可包含一种或多种其它药物。这些药物包括但不限于透明质酸、硫酸软骨素和葡糖胺、硫酸葡糖胺以及甾体或非甾体抗炎药。

[0212] 现在将参考本发明化合物的制备实施例和用于测试抑制活性的实施例详细描述本发明，这些实施例具有说明性而非限制性的目的。

[0213] 实验部分

[0214] 以下实施例中使用的试剂可从各种供应商处购得，无需进一步纯化即可使用。溶剂以干燥形式使用。无水环境中的反应在干燥N₂的正压下进行。

[0215] 在Bruker Avance 400MHz仪器上记录质子核磁共振(¹H NMR)光谱。使用残留溶剂线作为内标物，以ppm(δ)报告化学位移。分裂模式被指定为：s，单峰；d，双重峰；t，三重峰；q，四重峰；m，多重峰；b，宽信号。

[0216] 在Ion Trap Thermo LCQ经典光谱仪上运行质谱(MS)，在正ES(+)和负ES(-)电离模式下运作。

[0217] 使用Acquity UPLC-BEH C18柱(1.7μM, 50x2.1 mm)，在Waters Acquity UPLC-SQD仪器上，进行UPLC光谱分析。

[0218] 使用配有UV-Vis检测器的Agilent 1200仪器进行手性-HPLC光谱分析。

[0219] 在配有UV检测器的Waters GX-281HPLC系统上进行制备型HPLC。

[0220] 使用Biotage SNAP HP硅胶柱或Biotage SNAP KP-NH柱,在Biotage自动快速色谱系统(Sp1和Isolera系统)上进行快速硅胶色谱分析。

[0221] 使用RediSep Gold C-18Aq柱在Biotage自动快速色谱系统(Isolera系统)上进行反相色谱分析。

[0222] 使用Phenomenex Strata SCX色谱柱(55μm, 70A)对一些碱性化合物进行纯化。

[0223] 使用Merck薄层色谱板Kieselgel 60F-254进行薄层色谱分析,使用UV光、高锰酸钾水溶液、碘蒸气进行观察。

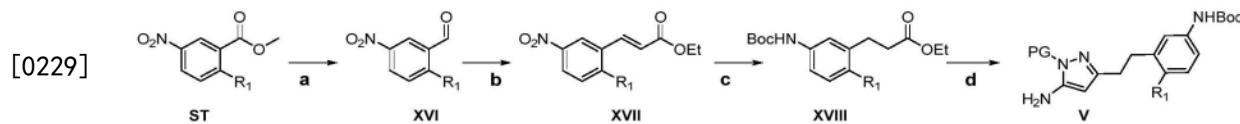
[0224] 在Biotage Initiator装置上进行微波反应。

[0225] 本文使用以下简称:CAN:乙腈;AcOH:乙酸;CDI:碳酸二咪唑;cHex:环己烷;DIAD:二异丙基(E)-二氮烯-1,2-二甲酸酯;Boc:叔丁氧羰基;Boc₂O:二碳酸二叔丁酯;DCM:二氯甲烷;DCE:1,2-二氯乙烷;TFA:三氟乙酸;DMF:二甲基甲酰胺;THF:四氢呋喃;RT:室温;DMAP:二甲氨基吡啶;AcOEt:乙酸乙酯;NaOH:氢氧化钠;KOH:氢氧化钾;DIPEA:N,N-二异丙基乙胺;TEA:三乙胺;NaHCO₃:碳酸氢钠;Na₂SO₄:硫酸钠;PdCl₂(PPh₃)₂:双(三苯基膦)氯化钯(II);Cs₂CO₃:碳酸铯;DIBAL-H:二异丁基氢化铝;LAH:氢化铝锂;tBuOK:叔丁醇钾;iPr₂O:二异丙醚;DIBAL-H:二异丁基氢化铝。

[0226] 在以下方案(5、6、7和8)中,描述了得到方案1、2、3和4的中间体(V、IX、XII、XVI)的一般合成途径。

[0227] 得到中间体(V)的方案5报告如下:

[0228] 方案5



[0230] 方案5提供了以下步骤:

[0231] a) 使用还原剂(例如溶于DCM溶剂的DIBAL-H)转化式XVI化合物中的起始物料;

[0232] R₁可以是=F、Cl、Me;

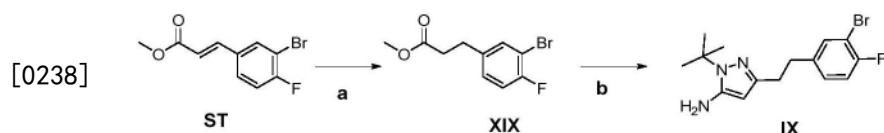
[0233] b) 在水中,使用2-(三苯基磷亚烷基)乙酸乙酯(ethyl 2-(triphenylphosphoranylidene)acetate)

[0234] 进行维蒂希(Wittig)反应,得到中间体XVII;

[0235] c) 在氢气氛和胺保护下还原双键和硝基,得到式XVIII的中间体;

[0236] d) 在极性溶剂例如乙醇中,使用叔丁基肼形成氨基吡唑衍生物(V)。

[0237] 方案6

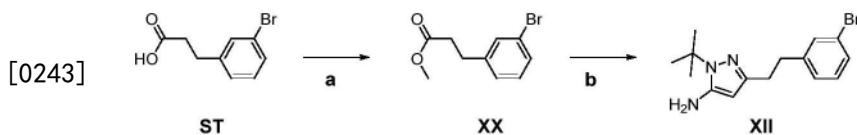


[0239] 方案6提供了以下步骤:

[0240] a) 在氢气氛下还原双键,得到中间体XIX;

[0241] b) 在极性溶剂例如乙醇中,使用叔丁基肼形成氨基吡唑衍生物IX。

[0242] 方案7

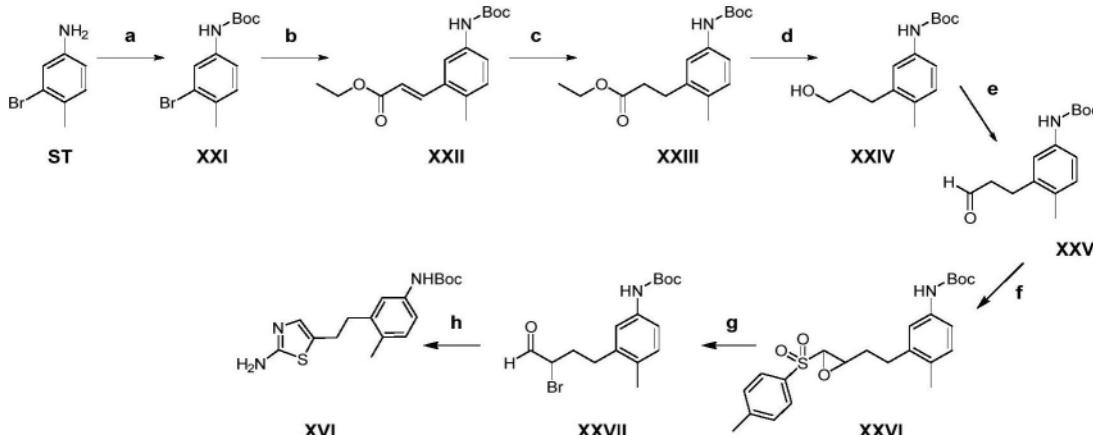


[0244] 方案7提供了以下步骤：

[0245] a) 在MeOH中, 使用氯化亚砜形成酯；

[0246] b) 在极性溶剂例如乙醇中, 使用叔丁基肼形成氨基吡唑衍生物(XII)。

[0247] 方案8



[0249] 方案8提供了以下步骤：

[0250] a) 进行起始原料胺保护, 得到中间体XXI;

[0251] b) 在钯催化剂和三苯基膦存在下, 使用丙烯酸乙酯将式XXI的中间体转化为化合物XXII;

[0252] c) 在EtOH/乙酸乙酯中, 在氢气氛下还原双键;

[0253] d) 使用还原剂(例如溶解于THF的LAH)还原酯基;

[0254] e) 使用氧化剂(例如MnO₂)氧化中间体XXIV, 得到醛XXV;

[0255] f) 在碱(例如溶于THF的tBuOK)中, 将中间体XXV与1-((氯甲基)磺酰基)-4-甲基苯反应, 得到中间体XXVI;

[0256] g) 使用MgBr₂形成溴醛XXVII;

[0257] h) 在THF/水中, 通过中间体XXVII与硫脲反应形成中间体XVI。

[0258] 实施例1:

[0259] 方案5的中间体(XVI)(中间体1-3)的制备

[0260] 一般程序1

[0261] 在-78℃下, 将溶于DCM(67.6mL, 67.6mmol)的1M DIBAL-H滴加到搅拌的硝基苯甲酸盐(nitrobenzoate)(56.4mmol)的DCM(300mL)溶液中。在-78℃下搅拌20min后, 加入DCM(150mL)和饱和罗谢尔(Rochelelle)盐溶液(250mL)的混合物。在室温下剧烈搅拌1小时后, 分离所得混合物。用盐水洗涤有机层, 用Na₂SO₄干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到澄清油状的标题化合物。

[0262] 表1

[0263] 中间体1-3:方案5的中间体(XVI)

| | 中间体 | 结构 | MS | 产率(%) |
|--------|-----|----|--------------------|-------|
| [0264] | 1 | | ESI + m/z 166[M+H] | 55 |
| | 2 | | ESI + m/z 170[M+H] | 72 |
| | 3 | | ESI + m/z 186[M+H] | 75 |

[0265] 实施例2:

[0266] 方案5的中间体(XVII) (中间体4-6)的制备

[0267] 一般程序2

[0268] 在90℃下,将在水中的2- (三苯基磷亚烷基)乙酸乙酯(21.09g, 60.6mmol)和硝基苯甲醛(60.6mmol)的混合物加热1h。

[0269] 将悬浮液冷却至室温,用DCM萃取,用Na₂SO₄干燥并浓缩。将粗产物悬浮在环己烷和DCM的混合物中,通过过滤去除沉淀,浓缩滤液,经硅胶柱(340g)和纯化,用环己烷至8/2环己烷/AcOEt洗脱,得到黄色固体状的标题化合物。

[0270] 表2

[0271] 中间体4-6:方案5的中间体(XVII)

| | 中间体 | 结构 | ¹ H NMR/MS | 产率(%) |
|--------|-----|----|--|-------|
| [0272] | 4 | | ESI + m/z 236[M+H] | 44 |
| | 5 | | ¹ H NMR (400MHz, CDCl ₃) δ ppm 8.55 (dd, J = 2.8, 6.3 Hz, 1 H), 8.49 (dd, J = 2.8, 6.3 Hz, 2 H), 8.31 - 8.20 (m, 3 H), 7.81 (d, J = 16.3 Hz, 2 H), 7.33 - 7.27 (m, 2 H), 7.23 (t, J = 9.0 Hz, 1 H), 7.00 (d, J = 12.3 Hz, 1 H), 6.68 (d, J = 16.3 Hz, 2 H), 6.24 (d, J = 12.3 Hz, 1 H), 4.32 (q, J = 7.2 Hz, 4 H), 4.20 (q, J = 7.2 Hz, 2 H), 1.38 (t, J = 7.1 Hz, 6 H), 1.26 (t, J = 7.1 Hz, 3 H). ESI + m/z 240[M+H] | 73 |
| [0273] | 6 | | ESI + m/z 256[M+H] | 62 |

[0274] 实施例3:

[0275] 方案5的中间体(XVIII) (中间体7-9)的制备

[0276] 一般程序3

[0277] 向中间体4-6 (17.00mmol)的THF (75ml)溶液中加入BOC₂O (4.45g, 20.41mmol)和

Pd/C (0.452g, 0.425mmol)。将所得溶液在氢气氛下搅拌16小时。

[0278] 过滤混合物以除去催化剂,然后浓缩滤液并在硅胶柱(100g)上纯化,7CV,仅cHex至9:1cHex/AcOEt洗脱,得到灰白色固体状的标题化合物。

[0279] 表3

[0280] 中间体7-9:方案5的中间体(XVIII)

| 中间体 | 结构 | ¹ H NMR/MS | 产率(%) |
|-----|----|---|-------|
| 7 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.12 (1 H, s), 7.27 (1 H, s), 7.08 - 7.19 (1 H, m), 7.00 (1 H, d), 4.06 (2 H, q), 2.71 - 2.83 (2 H, m), 2.19 (3 H, s), 1.47 (9 H, s), 1.18 (3 H, t). ESI + m/z 308[M+H] | 65 |
| 8 | | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.28 (s, 1 H), 7.41 (dd, J = 2.3, 6.7 Hz, 1 H), 7.30 - 7.20 (m, 1 H), 7.03 (t, J = 9.4 Hz, 1 H), 4.05 (q, J = 7.1 Hz, 2 H), 2.86 - 2.76 (m, 2 H), 2.60 - 2.53 (m, 2 H), 1.51 - 1.42 (m, 9H), 1.16 (t, J = 7.2 Hz, 3 H). ESI + m/z 312[M+H] | 70 |
| 9 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 1.13 - 1.22 (m, 3 H) 1.48 (s, 9 H) 2.54 - 2.61 (m, 2 H) 2.74 - 2.93 (m, 2 H) 4.01 - 4.11 (m, 2 H) 7.15 (d, J=7.83 Hz, 1 H) 7.29 (s, 1 H) 7.32 - 7.52 (m, 1 H) 9.14 - 9.47 (m, 1 H). ESI + m/z 328[M+H] | 47 |

[0282] 实施例4:

[0283] 方案5的中间体(V) (中间体10-14) 的制备

[0284] 一般程序4

[0285] 在-78℃下,在干燥THF(52.7ml)中,向nBuLi的己烷(11.06ml, 27.7mmol)溶液中滴加乙腈(1.444ml, 27.7mmol),保持温度低于-65℃。滴加完成后,将反应在-78℃下搅拌1小时。在此之后,再次滴加中间体7、8或9(11.06mmol)的THF(10ml)溶液,保持温度始终低于-65℃。滴加完成后,将反应在-78℃下搅拌1小时。在此之后,用10%w/v柠檬酸水溶液(20ml)猝灭反应,并将其加热至室温。然后加入1M HCl(20ml),直至pH为3,并用iPr₂O萃取产物两次。用盐水洗涤有机相,干燥,减压蒸发,得到黄色的油状物。将中间体溶于乙醇(105ml)中,然后加入肼盐酸盐或叔丁基肼盐酸盐(33.2mmol),并将所得混合物加热回流3h。

[0286] 将反应冷却至RT,真空蒸发乙醇。向剩余的残留物中加入DCM(40ml)和水/NaHCO₃。短暂混合后,分离两层,然后用无水硫酸钠干燥有机层并蒸发。将所得残留物装载在硅胶柱(100克;梯度:由DCM至9/1DCM/iPr₂O)上,得到灰白色固体状的标题化合物。

[0287] 表4

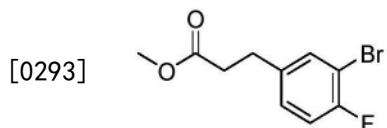
[0288] 中间体10-14:方案5的中间体(V)

| 中间体 | 结构 | ¹ H NMR/MS | 产率(%) |
|--------|----|--|-------|
| [0289] | 10 | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.13 (1 H, s), 7.31 (1 H, s), 7.10 - 7.20 (1 H, m), 7.00 (1 H, d), 5.24 (1 H, s), 2.73 (2 H, m), 2.62 (2 H, m), 2.19 (3 H, s), 1.47 (9 H, s) ESI + m/z 317 [M+H] | 71 |
| | 11 | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.10 (1 H, s), 7.30 (1 H, s), 7.15 (1 H, d), 6.98 (1 H, d), 5.24 (1 H, s), 4.71 (2 H, s), 2.68 (2 H, s), 2.18 (3 H, s), 1.50 (9 H, s), 1.47 (9 H, s) ESI + m/z 373 [M+H] | 75 |
| | 12 | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.28 (1 H, br. s.), 7.37 - 7.47 (1 H, m), 7.25 (1 H, d, J=2.93 Hz), 7.02 (1 H, t, J=9.29 Hz), 5.20 (1 H, s), 4.15 - 4.87 (1 H, m), 2.76 - 2.85 (2 H, m), 2.63 - 2.73 (2 H, m), 1.47 (9 H, s). ESI + m/z 321 [M+H] | 71 |
| | 13 | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.17 - 9.32 (1 H, m), 7.37 - 7.47 (1 H, m), 7.23 (1 H, d, J=3.42 Hz), 7.01 (1 H, t, J=9.29 Hz), 5.23 (1 H, s), 4.73 (2 H, s), 2.70 - 2.81 (2 H, m), 2.53 - 2.61 (2 H, m), 1.48 (18 H, d, J=8.80 Hz). ESI + m/z 377 [M+H] | 45 |
| | 14 | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.38 (1 H, s), 7.49 (1 H, s), 7.27 (2 H, s), 5.25 (1 H, s), 4.72 (2 H, s), 2.75 - 2.88 (2 H, m), 2.53 - 2.61 (2 H, m), 1.49 (18 H, d, J=9.78 Hz). ESI + m/z 394 [M+H] | 29 |

[0290] 实施例5:

[0291] 方案6的中间体(XIX) (中间体15) 的制备

[0292] 3-(3-溴-4-氟苯基)丙酸甲酯



[0294] 向(E)-3-(3-溴-4-氟苯基)丙烯酸甲酯(5.3g, 20.46mmol)的THF(30ml)溶液中加入5%的铑碳(1.179g, 0.573mmol)。将所得溶液置于氢气气氛(1bar; RT)中。

[0295] 过滤反应以除去催化剂。然后在真空下浓缩滤液以除去溶剂。产生5.34g(黄色油状物)。

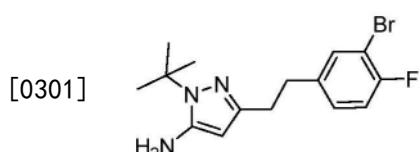
[0296] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7.55-7.64 (1H, m), 7.22-7.34 (2H, m), 3.53-3.65 (3H, m), 2.79-2.91 (2H, m), 2.59-2.72 (2H, m)。

[0297] ESI+m/z 262 [M+H]

[0298] 实施例6:

[0299] 方案6的中间体(IX) (中间体16) 的制备

[0300] 3-(3-溴-4-氟苯基)-1-(叔丁基)-1H-吡唑-5-胺



[0302] 在-78℃下,在干燥的THF(100ml)中,向正丁基锂的己烷(17.72ml,44.3mmol)溶液中滴加乙腈(2.314ml,44.3mmol),将温度保持在-65℃以下。滴加完成后,将反应在-78℃下搅拌1小时。此后,滴加3-(3-溴-4-氟苯基)丙酸甲酯(5.34g,22.15mmol),保持温度始终低于-65℃。滴加完成后,将反应在-78℃下搅拌1小时。之后,用1M HCl水溶液(5ml)猝灭反应。将反应升温至RT,然后在真空下脱除有机溶剂。

[0303] 向剩余溶液中加入1M HCl水溶液(15ml),随后加入DCM(50ml)。短暂混合后,分离有机层,用无水硫酸钠干燥,然后蒸发成黄色油状物。

[0304] 向该黄色油状物中加入乙醇(150ml),随后加入叔丁基肼盐酸盐(4.14g,33.2mmol)和氢氧化钠(1.240g,31.0mmol)。然后将所得混合物加热回流过夜。第二天,将反应冷却至RT,然后脱除乙醇。向剩余的残留物中加入水(50ml)、饱和碳酸氢钠水溶液(50ml)和DCM(100ml)。短暂混合后,分离有机层,用无水硫酸钠干燥,然后蒸发成棕色油状物。纯化:KP-NH硅胶柱(110g),用70:30cyHex/DCM洗脱。产生:6.64g(黄色固体)。

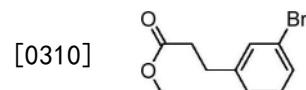
[0305] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ ppm 7.55(1H,dd), 7.21-7.28(2H,m), 5.20(1H,s), 4.72(2H,s), 2.74-2.86(2H,m), 2.54-2.65(2H,m), 1.49(9H,s)。

[0306] ESI+m/z 341[M+H]

[0307] 实施例7:

[0308] 方案7的中间体(XX)(中间体17)的制备

[0309] 3-(3-溴苯基)丙酸甲酯



[0311] 向3-(3-溴苯基)丙酸(5g,21.83mmol)的干燥甲醇(44ml)溶液中添加二氯化硫(4.75ml,65.5mmol)。添加完成后,将反应加热至RT,静置过夜。搅拌过夜后,将反应物蒸发并在高真空下干燥。产生5.35g(无色油状物)。

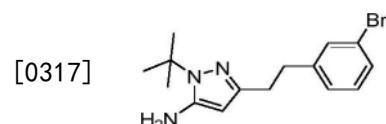
[0312] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ ppm 7.35-7.50(2H,m), 7.21-7.28(2H,m), 3.59(3H,s), 2.77-2.91(2H,m), 2.59-2.70(2H,m)。

[0313] ESI+m/z 245[M+H]

[0314] 实施例8

[0315] 方案7的中间体(XII)(中间体18)的制备

[0316] 3-(3-溴苯乙基)-1-(叔丁基)-1H-吡唑-5-胺



[0318] 在-78℃下,在干燥Et₂O(100ml)中,向nBuLi的己烷(17.90ml,44.8mmol)溶液中滴加乙腈(2.338ml,44.8mmol),将温度保持在-65℃以下。滴加完成后,将反应在-78℃下搅拌1小时。在此之后,滴加中间体17(5.44g,22.38mmol),保持温度始终低于-65℃。滴加完成后,将反应在-78℃下搅拌1小时。因此,用1M HCl水溶液(20ml)猝灭反应,加热至RT,然后在真空下脱除有机溶剂。

[0319] 向剩余水溶液中加入更多1M HCl水溶液(35ml),随后加入DCM(50ml)。然后用无水硫酸钠干燥有机相,并蒸发成黄棕色油状物。

[0320] 将该中间体溶于乙醇(200ml),然后加入叔丁基肼盐酸盐(4.18g,33.6mmol)和NaOH(1.253g,31.3mmol)。将所得混合物加热回流3h,然后冷却至RT,并在真空下蒸发乙醇。向剩余的残留物中加入DCM(100ml)和稀碳酸氢钠水溶液。短暂混合后,分离两层,然后用无水硫酸钠干燥有机层。纯化:KP-NH硅胶柱(110g),用9:1环己烷/DCM至1:1环己烷/DCM梯度洗脱。产生5.60g(灰白色固体)

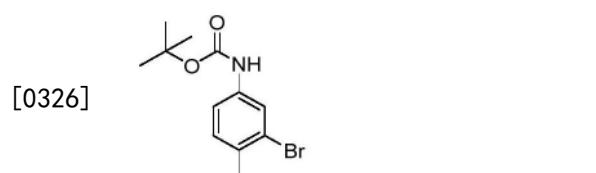
[0321] ^1H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 7.39(d,J=1.5Hz,1H),7.33(td,J=2.2,6.8Hz,1H),7.16(s,1H),7.15(s,1H),5.37(s,1H),2.94-2.88(m,2H),2.85-2.77(m,2H),1.65(s,9H)。

[0322] ESI+ m/z 323[M+H]

[0323] 实施例9

[0324] 方案8的中间体(XXI)(中间体19)的制备

[0325] (3-溴-4-甲基苯基)氨基甲酸叔丁酯



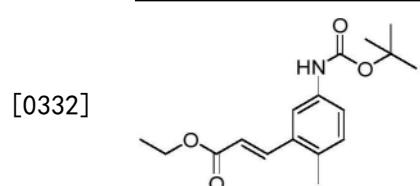
[0327] 在20-30℃下,向3-溴-4-甲基苯胺(50.0g,0.269mol)、NaHCO₃(45.2g,0.538mol)的MeOH(300mL)和H₂O(150mL)溶液中,缓慢加入Boc₂O(70.0g,0.322mol),并将混合物在室温下搅拌16h。然后将混合物浓缩,将粗产物用DCM(800mL)稀释,过滤并用H₂O(2*100mL)洗涤。将合并的有机物用Na₂SO₄干燥并浓缩,产生74.5g白色固体状的标题中间体。

[0328] ESI+ m/z 286[M+H]

[0329] 实施例10

[0330] 方案8的中间体(XXII)(中间体20)的制备

[0331] (E)-3-(5-((叔丁氧羰基)氨基)-2-甲基苯基)丙烯酸乙酯



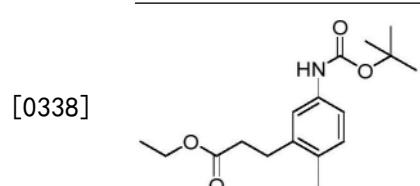
[0333] 在室温下,向中间体19(74.5g,0.26mol)、TEA(105.0g,1.04mol)和丙烯酸乙酯(260.0g,2.6mol)的甲苯(600ml)溶液中加入Pd(OAc)₂/PPh₃(5.0g/13.6g),然后将混合物在112℃下搅拌4天。将混合物浓缩,通过硅胶快速色谱法纯化(50:1至5:1的石油醚:AcOEt),产生白色固体状的标题中间体(75g)。

[0334] ESI+ m/z 306[M+H]

[0335] 实施例11

[0336] 方案8的中间体(XXIII)(中间体21)的制备

[0337] 3-(5-((叔丁氧羰基)氨基)-2-甲基苯基)丙酸乙酯



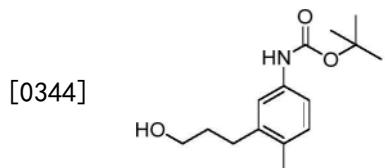
[0339] 向中间体20(75.0g,0.245mol)的乙酸乙酯(600mL)和乙醇(1200mL)溶液中加入Pd/C(6.0g,10%)，并将混合物在氢气气氛(50psi)下于35℃搅拌2天。过滤并浓缩混合物，产生浅灰色固体状的中间体21(65g)。

[0340] ESI+ m/z 308 [M+H]

[0341] 实施例12

[0342] 方案8的中间体(XXIV)(中间体22)的制备

[0343] (3-(3-羟丙基)-4-甲基苯基)氨基甲酸叔丁酯

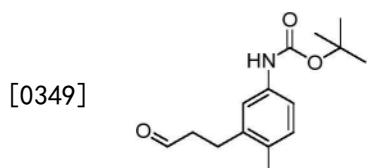


[0345] 在0-5℃下，向中间体21(8.0g,26.0mmol)的THF(30mL)溶液中加入LiAlH₄(1.0g,26.0mmol)的Et₂O(30mL)溶液，然后将混合物在RT下搅拌3小时。用1mL H₂O猝灭混合物，随后用1mL 15% NaOH和3mL H₂O猝灭，过滤，浓缩滤液，产生白色固体状的中间体22(6.9g)。ESI+ m/z 266 [M+H]

[0346] 实施例13

[0347] 方案8的中间体(XXV)(中间体23)的制备

[0348] (4-甲基-3-(3-氧代丙基)苯基)氨基甲酸叔丁酯



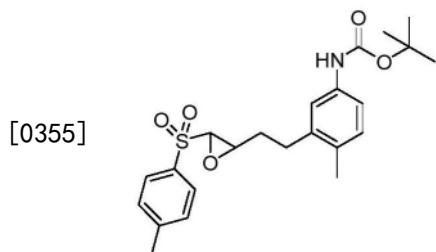
[0350] 向粗中间体22(6.9g,26.0mmol)的干燥DCM(100mL)溶液中加入PCC(1.2g,18.3mmol)，然后将混合物在RT下搅拌过夜。反应完成后，将混合物浓缩，并通过硅胶快速色谱法纯化(30:1至10:1的石油醚:AcOEt)，产生黄色油状物的标题中间体(3.5g)。

[0351] ESI+ m/z 264 [M+H]

[0352] 实施例14

[0353] 方案8的中间体(XXVI)(中间体24)的制备

[0354] (4-甲基-3-(2-(3-甲苯磺酰氧杂环己烷(tosyloxiran)-2-基)乙基)苯基)氨基甲酸叔丁酯



[0356] 向中间体23(20.0g,0.076mol)的THF(200mL)溶液中，加入1-((氯甲基)磺酰基)-4-甲苯(18.6g,0.09mol)。冷却至-65℃后，向溶液中分批加入t-BuOK(10.0g,0.09mol)。在此温度下搅拌反应0.5h，然后在0℃下搅拌0.5h。用AcOH/水猝灭反应，加入EtOAc(100mL)，

用水洗涤,随后用盐水洗涤。

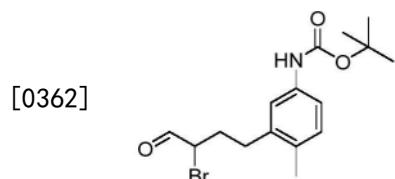
[0357] 纯化:硅胶快速色谱法(40:1石油醚:AcOEt),得到黄色固体状的标题中间体(13.0g)。

[0358] ESI+ m/z 432 [M+H]

[0359] 实施例15

[0360] 方案8的中间体(XXVII)(中间体25)的制备

[0361] (3-(3-溴-4-氧化丁基)-4-甲基苯基)氨基甲酸叔丁酯



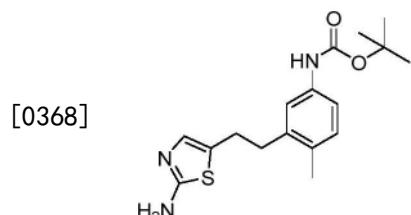
[0363] 向中间体24(8.0g,18.5mmol)的Et₂O(300mL)溶液中加入MgBr₂·Et₂O(6.0g,23.0mmol)。在RT下18小时后,加入水(50mL),并过滤反应液。分离滤液,用水、盐水洗涤有机相,用Na₂SO₄干燥并蒸发,产生黄色固体状的标题中间体(6.0g)。

[0364] ESI+ m/z 357 [M+H]

[0365] 实施例16

[0366] 方案8的中间体(XVI)(中间体26)的制备

[0367] (3-(2-(2-氨基噻唑-5-基)乙基)-4-甲基苯基)氨基甲酸叔丁酯



[0369] 向中间体25(6.0g,16.8mmol)的1,4-二恶烷(60mL)和水(12mL)溶液中加入硫脲(2.56g,33.7mmol)和Et₃N(4.6mL),然后将混合物在90℃下搅拌3h。将反应物蒸发至干,加入水(20mL),用AcOEt(3x 30mL)萃取,并用Na₂SO₄干燥。纯化:硅胶快速色谱法(DCM:MeOH=100:1),产生黄色固体状的标题中间体(2.5g)。

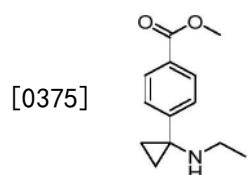
[0370] ¹H-NMR(300MHz,CDCl₃) δppm 7.20(s,1H), 7.06-7.05(m,2H), 6.74(s,1H), 6.55(s,1H), 4.87(bs,1H), 2.87-2.84(m,4H), 2.23(s,3H), 1.53(s,9H)。

[0371] ESI+ m/z 334 [M+H]

[0372] 实施例17

[0373] 中间体27的制备

[0374] 4-(1-(乙基氨基)环丙基)苯甲酸甲酯



[0376] 将4-(1-氨基环丙基)苯甲酸甲酯盐酸盐(1g,4.39mmol;如WO2008104055中所述制备)和乙酸(1.257mL,21.96mmol)的DCE(30mL)溶液搅拌30分钟,然后加入三乙酰氧基硼氢

化钠(1.396g,6.59mmol),并将所得混合物在RT下搅拌过夜。

[0377] 用饱和NaHCO₃处理反应,并用DCM(300ml)萃取。用水洗涤有机层,干燥并浓缩。将残留物通过反相色谱法(50g,水/0.1% AcOH至CH₃CN/0.1% AcOH)纯化,得到淡黄色油状物的标题化合物(得到0.8g)。

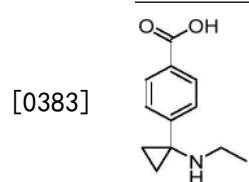
[0378] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7.87 (1H, d), 7.43 (1H, d), 3.84 (3H, s), 2.44 (2H, q), 0.91-1.05 (7H, m)。

[0379] ESI+m/z 220 [M+H]

[0380] 实施例18

[0381] 中间体28的制备

[0382] 4-(1-(乙基氨基)环丙基)苯甲酸



[0384] 向中间体27(0.8g,3.65mmol)的二恶烷(10ml)溶液中加入溶于水(10ml)的氢氧化锂水合物(0.184g,4.38mmol)。在RT下1小时后,浓缩反应物,将残留物用乙酸(0.47ml,8.21mmol)酸化,并通过反相色谱法(50g,水/AcOH 0.1%至ACN/AcOH 0.1%)纯化。产生235mg(白色固体)。

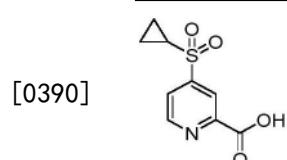
[0385] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7.91 (2H, d), 7.38 (2H, d), 2.14 (6H, s), 0.89 (2H, d), 0.78 (2H, d)。

[0386] ESI+m/z 206 [M+H]

[0387] 实施例19

[0388] 中间体29的制备

[0389] 4-(环丙基磺酰基)吡啶甲酸



[0391] 将4-氯吡啶甲酸甲酯(536mg,3.12mmol)、环丙烷亚磺酸钠(400mg,3.12mmol)、喹啉(40.3mg,0.312mmol)和氯化铜(I)(30.9mg,0.312mmol)混合物的NMP(5.5ml)溶液在150℃下加热1.5h。加入环丙烷亚磺酸钠(50mg,0.390mmol),将反应混合物在150℃下继续搅拌12小时。将反应物酸化并装载到反相柱(50g)上,用H₂O-AcOH(0.1%)/CH₃CN-AcOH(0.1%)洗脱。将残留物溶于水/EtOH中,并加入水合锂(131mg,3.12mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2小时。

[0392] 蒸发乙醇,将粗产物装载到反相柱(50g)上,用H₂O-AcOH(0.1%)/CH₃CN-AcOH(0.1%)洗脱。产生300mg灰白色固体。

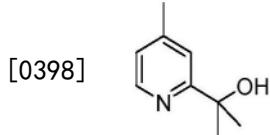
[0393] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 14.01-13.45 (m, 1H), 9.09-9.01 (m, 1H), 8.41-8.34 (m, 1H), 8.16-8.09 (m, 1H), 3.17-3.07 (m, 1H), 1.27-1.09 (m, J=4.4Hz, 4H)。

[0394] ESI+m/z 228 [M+H]

[0395] 实施例20

[0396] 中间体30的制备

[0397] 2-(4-甲基吡啶-2-基)丙-2-醇



[0399] 在2颈烧瓶中,在干燥的N₂气氛下,将1-(4-甲基吡啶-2-基)乙酮(1.9g,14.06mmol)溶于THF(40ml)中。将烧瓶在冰浴中冷却,并向其中滴加MeMgBr的叔丁基醚(45ml,45.0mmol)溶液。将溶液加热至40℃并搅拌3小时。然后将反应混合物在冰浴中冷却,加入饱和NH₄Cl水溶液(100ml)猝灭,然后用乙醚(5x 40ml)萃取;用饱和NaCl水溶液洗涤有机物,用无水Na₂SO₄干燥,并减压浓缩。将残留物通过硅胶色谱法(50g)纯化,用9/1环己烷/AcOEt至7/3环己烷/AcOEt洗脱。产生1.09g(浅黄色油状物)。

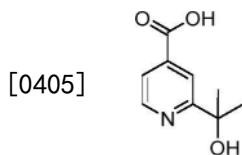
[0400] ¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δppm 8.37(1H,d),7.19(1H,d),6.97-7.07(1H,m),5.12(1H,br.s.),2.39(3H,s),1.54(6H,s)。

[0401] ESI+m/z 152[M+H]

[0402] 实施例21

[0403] 中间体31的制备

[0404] 2-(2-羟基丙-2-基)异烟酸



[0406] 在60℃下,将中间体30(500mg,3.31mmol)的水(15ml)溶液用KMnO₄(12mmol)处理。将反应加热回流20h。将悬浮液冷却至室温,然后通过硅藻土过滤。通过加入1N HCl将pH值调至2,用AcOEt洗涤水相。加入固体NaHCO₃中和水层,浓缩至最小体积,用AcOH酸化,装载到反相柱(50g)上,仅用水+0.1% AcOH至仅用乙腈+0.1% AcOH洗脱。产生322mg(白色固体)。

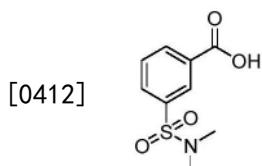
[0407] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δppm 8.51(1H,d),8.07(1H,s),7.57(1H,d),4.95-5.57(1H,m),1.44(6H,s)。

[0408] ESI+m/z 182[M+H]

[0409] 实施例22

[0410] 中间体32的制备

[0411] 3-(N,N-二甲基氨基磺酰基)苯甲酸



[0413] 在氮气下,向3-(氯磺酰基)苯甲酸(500mg,2.26mmol)的THF(6ml)溶液中加入二甲胺(5.6mL,11.3mmol)。将所得混合物在RT下搅拌过夜。然后脱除反应的溶剂,加入AcOH(0.5mL)和水(5mL),过滤所得的白色固体,并在50℃下真空干燥5h,得到3-(N,N-二甲基氨基磺酰基)苯甲酸(322mg,白色固体)。

磺酰基)苯甲酸(420mg)。

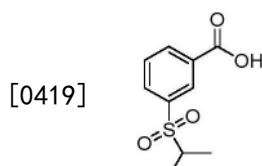
[0414] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 13.51 (1H, s), 8.25 (1H, d, $J=7.83\text{Hz}$), 8.21 (1H, s), 7.97-8.03 (1H, m), 7.78-7.84 (1H, m), 2.65 (6H, s)。

[0415] ESI+ m/z 230 [M+H]

[0416] 实施例23

[0417] 中间体33的制备

[0418] 3-(异丙基磺酰基)苯甲酸



[0420] 向3-亚磺酰基苯甲酸(500mg, 2.69mmol)和碳酸钾(1113mg, 8.06mmol)的DMF(10ml)溶液中缓慢加入2-碘丙烷(1.611ml, 16.1mmol)。在氮气下将反应在RT搅拌3天。

[0421] 为了水解中间体酯,加入NaOH(400mg, 10mmol),并将混合物在RT下搅拌过夜。脱除反应溶剂。然后向剩余的残留物中加入DMSO(0.5ml)和AcOH(0.8mL)。将所得溶液装载到反相柱(50g; 12CV, 仅水+0.1% AcOH至ACN+0.1% AcOH)。产生290mg(淡黄色固体)。

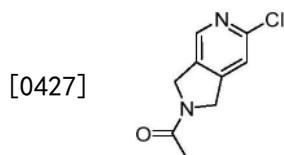
[0422] ^1H NMR (400MHz, 甲醇-d₄) δ ppm 8.49 (1H, t, $J=1.71\text{Hz}$), 8.34-8.41 (1H, m), 8.12 (1H, d, $J=7.83\text{Hz}$), 7.79 (1H, s), 3.35-3.45 (1H, m), 1.29 (6H, d, $J=6.85\text{Hz}$)。

[0423] ESI+ m/z 227 [M-H]

[0424] 实施例24

[0425] 中间体34的制备

[0426] 1-(6-氯-1,3-二氢-2H-吡咯并[3,4-c]吡啶-2-基)乙-1-酮



[0428] 将乙酰氯(0.345ml, 4.85mmol)加入冷却(0°C)的6-氯-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶(500mg, 3.23mmol, 如W02006082001中制备)和DIPEA(0.847ml, 4.85mmol)的DCM(50ml)溶液中。将所得混合物在RT下搅拌16小时,然后加入水并分离各相。浓缩有机层,装载到硅胶柱上(25g),用DCM/MeOH从10/0至9/1梯度洗脱。蒸发溶剂,得到标题化合物(538mg, 灰白色固体)。

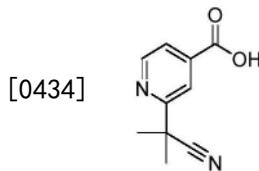
[0429] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.41 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.56 (d, $J=1.0\text{Hz}$, 1H), 4.86 (s, 2H), 4.63 (s, 2H), 2.06 (d, $J=3.4\text{Hz}$, 3H)。

[0430] ESI+ m/z 197 [M-H]

[0431] 实施例25

[0432] 中间体35的制备

[0433] 2-(2-氰基丙-2-基)异烟酸

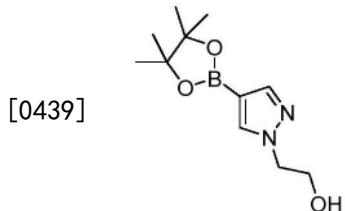


[0435] 如WO2014151616中所述制备。

[0436] 实施例26

[0437] 中间体36的制备

[0438] 42- (4- (4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼烷-2-基) -1H-吡唑-1-基) 乙-1-醇



[0440] 向4- (4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼烷-2-基) -1H-吡唑 (1g, 5.15mmol) 的干燥 DMF (5ml) 溶液中加入固体K₂CO₃ (2.137g, 15.46mmol) ,随后加入2-溴乙醇 (0.548ml, 7.73mmol) 。然后将所得混合物加热至80°C,持续48小时。蒸发DMF,向剩余残留物中加入DCM (20ml) ;然后过滤所得混合物以除去固体,蒸发,得到棕色油状物。纯化:硅胶柱 (25g) ,用1: 1cHex/AcOEt至100% AcOEt洗脱。产生150mg (浅黄色油状物) 。

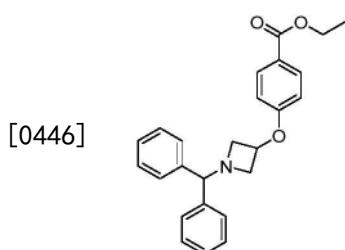
[0441] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 7.89 (1H, s) , 7.57 (1H, s) , 4.84 (1H, t) , 4.15 (2H, t) , 3.72 (2H, q) , 1.25 (12H, s) 。

[0442] ESI+m/z 239 [M+H]

[0443] 实施例27

[0444] 中间体37的制备

[0445] 4- ((1-二苯甲基氮杂环丁烷-3-基) 氧基) 苯甲酸乙酯



[0447] 将1-二苯甲基氮杂环丁烷-3-醇 (2.5g, 10.45mmol) 、4-羟基苯甲酸乙酯 (1.736g, 10.45mmol) 和三苯基膦 (2.74g, 10.45mmol) 的乙腈 (50ml) 溶液用(E)-二氮烯-1,2-二甲酸二乙酯 (4.76ml, 10.45mmol) 处理,并回流2小时。然后浓缩反应混合物,将所得残留物溶于DCM中,用水洗涤并浓缩。将残留物通过硅胶色谱法 (100g, cyHex至1/1cyHex/AcOEt) 纯化,得到标题化合物 (4g;无色油状物) 。

[0448] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d6) δppm 7.82-7.90 (2H, m) , 7.41-7.48 (4H, m) , 7.25-7.33 (4H, m) , 7.16-7.23 (2H, m) , 6.89-6.97 (2H, m) , 4.93 (1H, t) , 4.53 (1H, s) , 4.26 (2H, q) , 3.61-3.70 (2H, m) , 2.96-3.06 (2H, m) , 1.29 (3H, t) 。

[0449] ESI+m/z 388 [M+H]

[0450] 实施例28

[0451] 中间体38的制备

[0452] 4- (氮杂环丁烷-3-基氧基) 苯甲酸乙酯



[0454] 向4- ((1-二苯甲基氮杂环丁烷-3-基) 氧基) 苯甲酸乙酯(2g, 5.16mmol) 的1,2-二氯乙烷(25ml) 溶液中加入ACE-C1 (0.845ml, 7.74mmol), 并将反应混合物在70℃下搅拌2h。冷却至室温后, 加入乙醇(25ml), 并将反应混合物在70℃搅拌36h。

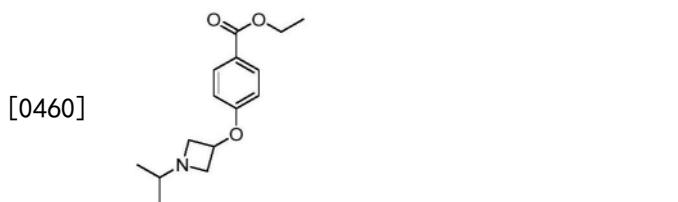
[0455] 将反应混合物浓缩并装载到SCX柱(10g)上, 用MeOH(3CV)和2.0NH₃的MeOH溶液(2CV)洗脱。蒸发氨组分, 并通过色谱法(55g NH-KP, CH₂Cl₂-AcOEt)纯化, 得到640mg标题化合物(无色油状物)。

[0456] ESI+ m/z 222 [M+H]⁺

[0457] 实施例29

[0458] 中间体39的制备

[0459] 4- ((1-异丙基氮杂环丁烷-3-基) 氧基) 苯甲酸乙酯



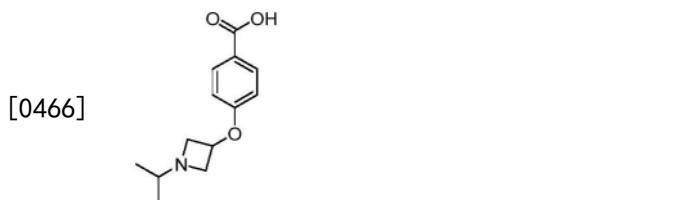
[0461] 将丙酮(0.637ml, 8.68mmol)加入4- (氮杂环丁烷-3-基氧基) 苯甲酸乙酯(640mg, 2.89mmol)的乙酸(15ml, 262mmol)溶液中。将反应混合物在室温下搅拌10min, 然后加入氰基三羟基硼酸钠(582mg, 9.26mmol)。将反应混合物在室温下搅拌5小时。蒸发溶剂, 得到粗品, 将其装载在SNAP-C18金(150g)柱上, 用H₂O-AcOH(0.1%) /CH₃CN-AcOH(0.1%)洗脱。产生750mg(浅黄色油状物)。

[0462] ESI+ m/z 264 [M+H]⁺

[0463] 实施例30

[0464] 中间体40的制备

[0465] 4- ((1-异丙基氮杂环丁烷-3-基) 氧基) 苯甲酸



[0467] 将中间体39(750mg, 2.85mmol)溶于MeOH(15ml)中, 并加入2N氢氧化钠(7.120ml, 14.24mmol)。将反应物搅拌16h。将反应物浓缩, 用乙酸酸化残留物, 然后装载到用MeOH填充的Phenomenex Strata SCX 20g柱上。然后用MeOH洗脱色谱柱, 然后用氨水/MeOH洗脱。合并含有所需产物的组分并蒸发, 得到标题化合物(380mg; 白色固体)。

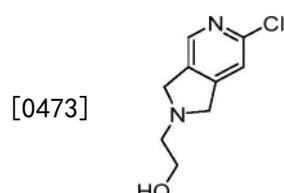
[0468] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7.79-7.95 (2H, m), 6.87-6.96 (2H, m), 4.81 (1H, t), 3.66-3.76 (2H, m), 2.90-3.02 (2H, m), 2.34 (1H, quin), 0.88 (6H, d)。

[0469] ESI+m/z 236 [M+H]

[0470] 实施例31

[0471] 中间体41的制备

[0472] 2-(6-氯-1,3-二氢-2H-吡咯并[3,4-c]吡啶-2-基)乙-1-醇



[0474] 向2-氯-4,5-双(氯甲基)吡啶(500mg, 2.375mmol, 如W02006082001中制备)的干燥DMF(50毫升)溶液中加入N-乙基-N-异丙基-2-胺(1.655ml, 9.50mmol), 随后立即加入固体状的2-氨基乙醇(0.143ml, 2.375mmol)。然后在氮气下, 将所得混合物加热至100℃, 持续18小时。然后脱除反应中的DMF, 向剩余的残留物中加入DMSO(1ml), 并在反相柱(50g; 12CV, 仅水+0.1% AcOH至ACN+0.1% AcOH)上纯化。产生330mg标题化合物(浅棕色油状物)。

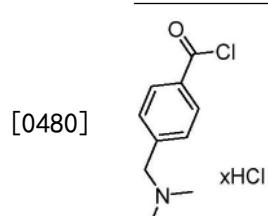
[0475] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.28 (1H, s), 7.44 (1H, s), 4.54 (1H, s), 3.91 (4H, s), 3.56 (2H, d, $J=5.38\text{Hz}$), 2.70-2.81 (2H, m)。

[0476] ESI+m/z 199 [M+H]

[0477] 实施例32

[0478] 中间体42的制备

[0479] 4-((二甲氨基)甲基)苯甲酰氯



[0481] 向4-((二甲氨基)甲基)苯甲酸(0.730g, 4.07mmol)的干燥DCM(30ml)溶液中加入草酰二氯(3.45ml, 40.7mmol), 随后加入N,N-二甲基甲酰胺(0.016ml, 0.204mmol)。将所得混合物在45℃下搅拌过夜, 然后蒸发。将一小份样品用MeOH处理并进行质谱分析。

[0482] ESI+m/z 194 [M+H] (甲酯)。

[0483] 实施例33

[0484] 方案1的中间体(VI)(中间体43-63)的制备

[0485] 一般程序5

[0486] 向中间体V(中间体10-14)(1mmol)的二恶烷(10ml)溶液中, 加入碳酸铯(2mmol)、(9,9-二甲基-9H-氧杂蒽-4,5-二基)双(二苯基膦)(0.05mmol)和三(二亚苄基丙酮)二钯(0)(0.0175mmol)。然后将所得混合物真空脱气, 然后加入相应的卤代杂环R₂X(1.05mmol)。将反应在90℃下加热3小时, 冷却并蒸发。向残留物中加入AcOEt(25mL)和DCM(25mL), 然后将所得混合物通过硅藻土过滤。然后蒸发滤液, 得到棕色残留物, 在硅胶柱(25g)上纯化, 用DCM至1:1DCM/AcOEt洗脱, 得到标题中间体。

[0487] 一般程序6

[0488] 向中间体V(中间体10-14) (1mmol) 的干燥DMSO (4ml) 溶液中加入相应的卤代杂环R₂X (1.05mmol) , 随后加入N-乙基-N-异丙基丙-2-胺 (2mmol) 。将所得混合物在70℃搅拌2-4h。然后将混合物滴加到水 (50mL) 中, 并用DCM萃取。将有机相用水洗涤, 干燥, 减压蒸发, 得到残留物, 在硅胶柱 (25g) 上纯化, 用1:1DCM至DCM/AcOEt洗脱, 得到标题中间体。

[0489] 一般程序7

[0490] 将羧酸R₂COOH (1mmol) 溶于甲苯 (5ml) 中。加入氯化亚砜 (80mmol) , 回流搅拌反应2h。

[0491] 蒸发溶剂, 将残留物加入到中间体V(中间体10-14) (1mmol) 的吡啶 (75mmol) 溶液中。室温下搅拌反应物13h, 然后加入水/DCM (20/20ml) 的混合物中。分离各相, 用DCM (2x 20ml) 萃取水层。蒸发合并的有机层, 将粗产物在硅胶柱 (25g) 上纯化, 用1:1环己烷/AcOEt至100% AcOEt洗脱, 得到标题中间体。

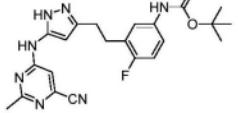
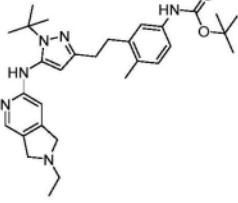
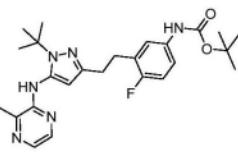
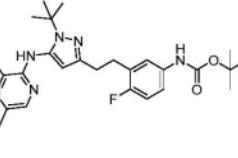
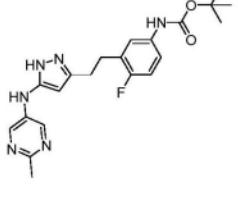
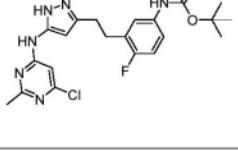
[0492] 表5

[0493] 中间体43-63:方案1的中间体 (VI)

| 中间体 | 结构 | 分析 | 程序 | 产率 (%) |
|-----|----|--|----|--------|
| 43 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.10 (1 H, s), 8.62 (1 H, s), 8.05 (1 H, dd, J=2.45, 1.47 Hz), 7.94 (1 H, d, J=1.47 Hz), 7.90 (1 H, d, J=2.93 Hz), 7.35 (1 H, s), 7.14 (1 H, dd, J=8.31, 1.96 Hz), 6.99 (1 H, d, J=7.83 Hz), 5.97 (1 H, s), 2.75 - 2.85 (2 H, m), 2.63 - 2.74 (2 H, m), 2.19 (3 H, s), 1.52 (9 H, s), 1.46 (9 H, s). ESI + m/z 451 [M+H] | 5 | 81 |
| 44 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.25 (1 H, s), 8.61 (1 H, s), 8.05 (1 H, dd, J=2.45, 1.47 Hz), 7.91 (2 H, dd, J=9.78, 1.96 Hz), 7.46 (1 H, d, J=4.89 Hz), 7.16 - 7.27 (1 H, m), 7.01 (1 H, t, J=9.29 Hz), 5.97 (1 H, s), 2.81 - 2.89 (2 H, m), 2.71 - 2.78 (2 H, m), 1.51 (9 H, s), 1.46 (9 H, s). ESI + m/z 455 [M+H] | 5 | 70 |
| 45 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.38 (1 H, s), 8.61 (1 H, s), 8.02 - 8.08 (1 H, m), 7.87 - 7.96 (1 H, m), 7.54 (1 H, s), 7.27 (2 H, s), 5.97 (1 H, s), 2.88 - 2.97 (2 H, m), 2.69 - 2.80 (2 H, m), 1.49 (18 H, d, J=19.56 Hz). ESI + m/z 473 [M+H] | 5 | 75 |

[0495]

| | | | | |
|----|--|---|---|----|
| 46 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.28 (1 H, br. s), 10.41 (1 H, br. s), 9.14 (1 H, br. s), 7.31 - 7.39 (1 H, m), 7.11 - 7.20 (1 H, m), 6.98 - 7.05 (1 H, m), 2.74 - 2.88 (4 H, m), 2.47 (3 H, s), 2.21 (3 H, s), 1.46 (9 H, s). ESI + m/z 434 [M+H] | 6 | 95 |
| 47 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.92 (1 H, br. s.), 9.13 (1 H, br. s.), 7.95 - 8.05 (1 H, m), 7.35 (2 H, br. s.), 7.12 - 7.22 (1 H, m), 7.01 (1 H, d), 6.60 - 6.72 (1 H, m), 6.34 (1 H, br. s.), 2.70 - 2.89 (4 H, m), 2.17 - 2.26 (6 H, m), 1.47 (9 H, s). ESI + m/z 408 [M+H] | 5 | 93 |
| 48 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.85 (br. s., 1H), 9.23 - 8.99 (m, 2H), 8.10 (d, J=4.4 Hz, 1H), 7.41 - 7.28 (m, 2H), 7.21 - 7.13 (m, 1H), 7.05 - 6.98 (m, 1H), 6.11 - 5.97 (m, 1H), 4.75 (d, J=18.1 Hz, 2H), 4.54 (d, J=10.8 Hz, 2H), 2.85 - 2.69 (m, 4H), 2.21 (s, 3H), 2.05 (d, J=2.0 Hz, 3H), 1.47 (s, 9H). ESI + m/z 477 [M+H] | 5 | 76 |
| 49 | | ESI + m/z 464 [M+H] | 5 | 60 |
| 50 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.26 (1 H, br. s.), 7.95 - 8.02 (1 H, m), 7.89 (1 H, s), 7.46 (1 H, d, J=4.89 Hz), 7.17 - 7.27 (1 H, m), 7.01 (1 H, t, J=9.29 Hz), 6.25 (1 H, s), 5.86 (1 H, s), 4.48 (1 H, t, J=5.38 Hz), 3.75 (4 H, d, J=5.38 Hz), 3.50 - 3.58 (2 H, m), 2.81 - 2.89 (2 H, m), 2.69 - 2.77 (4 H, m), 1.41 - 1.57 (18 H, m). ESI + m/z 539 [M+H] | 5 | 38 |
| 51 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.18 (1 H, br. s), 10.08 (1 H, br. s), 9.29 (1 H, br. s), 7.40 - 7.54 (1 H, m), 7.20 - 7.32 (1 H, m), 7.05 (1 H, t), 3.86 (3 H, s), 2.76 - 2.96 (4 H, m), 2.48 (3 H, s), 1.46 (9 H, s). ESI + m/z 471 [M+H] | 6 | 52 |

| | | | | |
|----|---|--|---|----|
| 52 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.20 - 12.31 (1 H, m), 10.39 (1 H, s), 9.28 (1 H, s), 7.39 - 7.51 (1 H, m), 7.20 - 7.30 (1 H, m), 7.04 (1 H, t, J=9.29 Hz), 2.88 (4 H, br. s.), 2.46 (3 H, s), 1.43 - 1.49 (9 H, m). ESI + m/z 438 [M+H] | 6 | 55 |
| 53 |  | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.10 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.14 (dd, J=1.7, 8.1 Hz, 1H), 6.99 (d, J=8.3 Hz, 1H), 6.27 (s, 1H), 5.85 (s, 1H), 3.70 (s, 4H), 2.85 - 2.76 (m, 2H), 2.72 - 2.61 (m, 4H), 2.18 (s, 3H), 1.54 - 1.44 (m, 18H), 1.08 (t, J=7.1 Hz, 3H). ESI + m/z 519 [M+H] | 5 | 69 |
| 54 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.26 (1 H, br. s.), 7.98 (1 H, s), 7.87 (1 H, d, J=2.93 Hz), 7.78 (1 H, d, J=2.93 Hz), 7.48 (1 H, d, J=5.38 Hz), 7.24 (1 H, dd, J=8.07, 3.67 Hz), 7.02 (1 H, t, J=9.29 Hz), 5.91 (1 H, s), 2.85 (2 H, d, J=8.80 Hz), 2.73 - 2.79 (2 H, m), 2.72 - 2.79 (2 H, m), 2.44 (3 H, s), 1.48 (18 H, d, J=6.36 Hz). ESI + m/z 469 [M+H] | 5 | 74 |
| 55 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.20 - 9.31 (1 H, m), 7.75 (2 H, d, J=7.82 Hz), 7.48 (2 H, d, J=5.38 Hz), 7.44 - 7.53 (2 H, m), 7.22 (1 H, d, J=3.91 Hz), 6.97 - 7.07 (1 H, m), 5.87 (1 H, s), 2.84 (2 H, d, J=8.31 Hz), 2.75 (2H, d, J=8.31 Hz), 2.40 (3 H, s), 2.27 (3 H, s), 1.48 (18 H, d, J=5.38 Hz). ESI + m/z 483 [M+H] | 5 | 93 |
| 56 |  | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.98 - 11.76 (m, 1H), 9.43 - 9.20 (m, 1H), 8.87 - 8.66 (m, 2H), 8.63 - 8.53 (m, 1H), 7.52 - 7.36 (m, 1H), 7.30 - 7.18 (m, 1H), 7.12 - 6.96 (m, 1H), 5.69 - 5.54 (m, 1H), 2.94 - 2.75 (m, 4H), 2.48 (s, 3H), 1.46 (s, 9H). ESI + m/z 413 [M+H] | 5 | 76 |
| 57 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.18 - 12.30 (1 H, m), 10.41 (1 H, s), 9.41(1 H, s), 7.36 - 7.50 (1 H, m), 7.22 - 7.30 (1 H, m), 7.10 (1 H, t, J=9.29 Hz), 2.91 (4 H, br. s.), 2.42 (3 H, s), 1.40 - 1.51 (9 H, m). ESI + m/z 447 [M+H] | 6 | 63 |

[0496]

| | | | | |
|----|--|--|---|----|
| | | | | |
| 58 | | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.88 (s, 1H), 9.11 (s, 1H), 7.89 (d, J=8.3 Hz, 2H), 7.41 (d, J=8.3 Hz, 2H), 7.36 (s, 1H), 7.19 - 7.11 (m, 1H), 7.00 (d, J=8.3 Hz, 1H), 6.02 (s, 1H), 2.92 - 2.84 (m, 2H), 2.80 (d, J=9.8 Hz, 2H), 2.73 - 2.68 (m, 2H), 2.23 - 2.18 (m, 6H), 2.03 - 1.93 (m, 2H), 1.79 - 1.66 (m, 4H), 1.54 (s, 9H), 1.47 (s, 9H). ESI + m/z 575 [M+H] | 7 | 48 |
| 59 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.60 - 9.64 (1 H, m), 9.11 (1 H, s), 7.84 (2 H, d), 7.32 - 7.39 (1 H, m), 7.12 - 7.20 (1 H, m), 6.96 - 7.04 (3 H, m), 5.99 (1 H, s), 2.75 - 2.85 (2 H, m), 2.64 - 2.74 (2 H, m), 2.45 (4 H, m), 2.23 (3 H, s), 2.21 (3 H, s), 1.52 (9 H, s), 1.47 (9 H, s). ESI + m/z 575 [M+H] | 7 | 70 |
| 60 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.80 (1 H, s), 9.11 (1 H, s), 7.92 (2 H, d), 7.31 - 7.39 (1 H, m), 7.12 - 7.19 (1 H, m), 6.93 - 7.03 (3 H, m), 5.98 - 6.03 (1 H, m), 4.77 - 4.87 (1 H, m), 3.67 - 3.76 (2 H, m), 2.91 - 2.98 (2 H, m), 2.75 - 2.84 (2 H, m), 2.64 - 2.74 (2 H, m), 2.21 (3 H, s), 1.53 (9 H, s), 1.47 (9 H, s), 0.88 (6 H, d). ESI + m/z 591 [M+H] | 7 | 45 |
| 61 | | ¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 9.03 (2 H, d, J=4.89 Hz), 7.73 (1 H, t, J=4.89 Hz), 7.25 (2 H, d, J=5.38 Hz), 6.95 (1 H, d, J=9.29 Hz), 6.27 (1 H, s), 2.88 - 2.99 (5 H, m), 1.66 (9 H, s), 1.52 (10 H, s). ESI + m/z 483 [M+H] | 7 | 40 |
| 62 | | ESI + m/z 478 [M+H] | 7 | 52 |
| 63 | | ESI + m/z 495 [M+H] | 7 | 68 |

[0497]

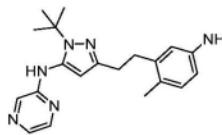
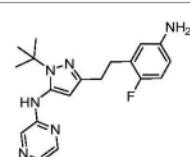
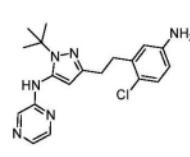
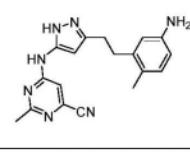
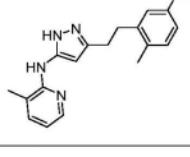
实施例34:[0499] 方案1的中间体(VII) (中间体64-84) 的制备[0500] 一般程序8

[0501] 向中间体43-63 (1mmol) 的DCM (10ml) 溶液中, 缓慢加入TFA (5ml)。在RT下3小时后, 将反应物在真空下脱除挥发物, 加入DCM (40ml) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (75ml); 分离有机

相,用无水硫酸钠干燥,蒸发,得到标题中间体。

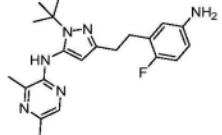
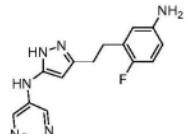
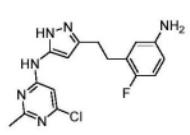
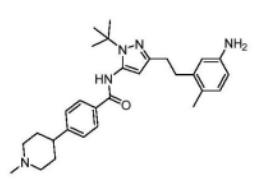
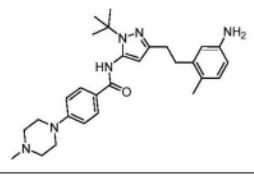
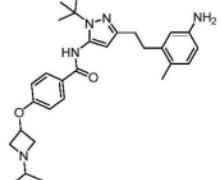
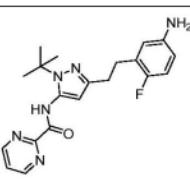
[0502] 表6

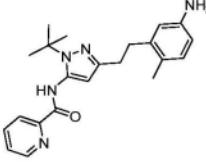
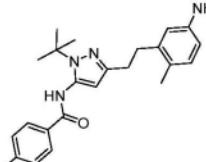
[0503] 中间体64-84:方案1的中间体 (VII)

| 中间体 | 结构 | 分析 | 产率 (%) | |
|--------|---|--|---|----|
| 64 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 8.62 (1 H, s), 8.05 (1 H, dd), 7.93 (2 H, dd), 6.77 (1 H, d), 6.46 (1 H, d), 6.32 (1 H, dd), 5.97 (1 H, s), 4.68 (2 H, s), 2.59 - 2.77 (4 H, m), 2.10 (3 H, s), 1.52 (9 H, s). ESI + m/z 351 [M+H] | 98 | |
| 65 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 8.61 (1 H, s), 8.06 (1 H, s), 7.92 (2 H, d), 6.78 (1 H, d), 6.45 - 6.57 (1 H, m), 6.32 - 6.43 (1 H, m), 5.97 (1 H, s), 4.73 - 4.87 (2 H, m), 2.74 (4 H, d), 1.51 (9 H, s). ESI + m/z 354 [M+H] | 86 | |
| [0504] | 66 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 8.62 (1 H, s), 8.05 (1 H, d, J=1.47 Hz), 7.87 - 7.98 (2 H, m), 7.00 (1 H, d, J=8.31 Hz), 6.57 (1 H, d, J=2.93 Hz), 6.42 (1 H, dd, J=8.56, 2.69 Hz), 5.98 (1 H, s), 5.11 (2 H, br. s.), 2.81 (2 H, s), 2.74 (2 H, s), 1.52 (9 H, s). ESI + m/z 371 [M+H] | |
| | 67 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.28 (1 H, br. s.), 10.40 (1 H, br. s.), 6.89 (1 H, t, J=9.05 Hz), 6.50 - 6.65 (2 H, m), 6.03 (2 H, br. s.), 2.84 (4 H, s), 2.47 (3 H, s). ESI + m/z 338 [M+H] | 75 |
| | 68 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.76 - 12.25 (1 H, m), 7.71 - 8.19 (2 H, m), 7.22 - 7.53 (1 H, m), 6.58 - 6.86 (2 H, m), 6.46 (3 H, m), 4.72 (2 H, br. s.), 2.73 (4 H, br. s.), 2.21 (3 H, s), 2.13 (3 H, s). ESI + m/z 308 [M+H] | 91 |

| | | | | |
|--------|----|--|---|----|
| | 69 | | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.83 (br. s., 1H), 9.06 (br. s., 1H), 8.10 (d, J=3.9 Hz, 1H), 7.33 (br. s., 1H), 6.79 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.44 (d, J=2.4 Hz, 1H), 6.34 (dd, J=2.2, 8.1 Hz, 1H), 6.06 (br. s., 1H), 4.76 (d, J=17.6 Hz, 4H), 4.54 (d, J=10.8 Hz, 2H), 2.73 (s, 4H), 2.12 (s, 3H), 2.06 (d, J=2.9 Hz, 3H). ESI + m/z 377 [M+H] | 94 |
| | 70 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 7.78 - 7.93 (1 H, m), 7.46 (1 H, s), 7.34 - 7.41 (1 H, m), 6.75 - 6.82 (1 H, m), 6.58 - 6.65 (1 H, m), 6.48 (1 H, d), 6.28 - 6.36 (1 H, m), 5.88 (1 H, s), 4.69 (2 H, s), 2.63 - 2.77 (4 H, m), 2.19 (3 H, s), 2.12 (3 H, s), 1.50 (8 H, s). ESI + m/z 364 [M+H] | 60 |
| | 71 | | ESI + m/z 439 [M+H] | 90 |
| [0505] | 72 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.15 (1 H, br. s.), 10.10 (1 H, br. s.), 6.80 (1 H, t), 6.47 (1 H, dd), 6.36 - 6.43 (1 H, m), 4.84 (2 H, s), 3.86 (3 H, s), 2.81 (4 H, m), 2.48 (3 H, s). ESI + m/z 371 [M+H] | 98 |
| | 73 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.28 (1 H, br. s.), 10.40 (1 H, br. s.), 6.89 (1 H, t, J=9.05 Hz), 6.50 - 6.65 (2 H, m), 6.03 (2 H, br. s.), 2.84 (4 H, s), 2.47 (3 H, s). ESI + m/z 338 [M+H] | 75 |
| | 74 | | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 7.99 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 6.77 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.45 (d, J=2.4 Hz, 1H), 6.35 - 6.29 (m, 2H), 5.86 (s, 1H), 4.85 - 4.57 (m, 2H), 3.72 (s, 4H), 2.75 - 2.60 (m, 6H), 2.09 (s, 3H), 1.51 (s, 9H), 1.08 (t, J=7.1 Hz, 3H). ESI + m/z 419 [M+H] | 94 |
| | 75 | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 7.99 (1 H, s), 7.87 (1 H, d, J=2.45 Hz), 7.78 (1 H, d, J=2.45 Hz), 6.78 (1 H, dd, J=9.78, 8.80 Hz), 6.51 (1 H, dd, J=6.60, 2.69 Hz), 6.34 - 6.41 (1 H, m), 5.90 (1 H, s), 4.81 (2 H, s), 2.68 - 2.80 (4 H, m), 2.44 (3 H, s), 1.49 (9 H, s). ESI + m/z 368 [M+H] | 98 |

[0506]

| | | | |
|----|---|---|----|
| 76 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 7.75 (2 H, d, J=9.78 Hz), 6.78 (1 H, dd, J=9.78, 8.80 Hz), 6.51 (1 H, dd, J=6.60, 2.69 Hz), 6.34 - 6.41 (1 H, m), 5.87 (1 H, s), 4.80 (2 H, s), 2.69 - 2.80 (4 H, m), 2.41 (3 H, s), 2.27 (3 H, s), 1.49 (9 H, s). ESI + m/z 383 [M+H] | 90 |
| 77 |  | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.88 (br. s., 1H), 8.74 (s, 2H), 8.65 - 8.51 (m, 1H), 6.88 - 6.70 (m, 1H), 6.51 - 6.43 (m, 1H), 6.43 - 6.30 (m, 1H), 5.68 - 5.54 (m, 1H), 4.90 (br. s, 2H), 2.79 (s, 4H), 2.48 (s, 3H). ESI + m/z 313 [M+H] | 90 |
| 78 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.13 (1 H, br. s.), 10.55 (1 H, br. s.), 6.96 (1 H, t, J=9.01 Hz), 6.40 - 6.62 (2H, m), 5.98 (2 H, br. s.), 2.92 (4 H, s), 2.41 (3 H, s). ESI + m/z 347 [M+H] | 88 |
| 79 |  | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.91 - 9.83 (m, 1H), 7.89 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.41 (d, J=7.8 Hz, 2H), 6.78 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.47 (d, J=2.0 Hz, 1H), 6.32 (dd, J=2.4, 8.3 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.63 (br. s, 2H), 2.94 - 2.81 (m, 2H), 2.77 - 2.64 (m, 4H), 2.22 (s, 3H), 2.14 - 2.07 (m, 3H), 2.00 (br. s., 2H), 1.74 (s, 4H), 1.58. - 1.49 (m, 9H). ESI + m/z 474 [M+H] | 93 |
| 80 |  | ESI + m/z 475 [M+H] | 98 |
| 81 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.80 (1 H, s), 8.49 (1 H, d), 7.82 - 8.02 (2 H, m), 7.22 - 7.32 (1 H, m), 6.88 - 7.03 (2 H, m), 6.74 - 6.82 (1 H, m), 6.44 - 6.52 (1 H, m), 6.24 - 6.40 (1 H, m), 5.96 - 6.03 (1 H, m), 4.78 - 4.88 (1 H, m), 4.63 - 4.75 (2 H, m), 3.64 - 3.84 (2 H, m), 2.88 - 3.02 (2 H, m), 2.61 - 2.78 (4 H, m), 2.27 - 2.40 (1 H, m), 2.12 (3 H, s), 1.53 (9 H, s), 0.81 - 0.96 (6 H, m). ESI + m/z 490 [M+H] | 48 |
| 82 |  | ¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 9.06 (2 H, d, J=4.89 Hz), 7.76 (1 H, s), 7.24 - 7.31 (2 H, m), 7.18 -7.23 (1 H, m), 6.16 (1 H, s), 2.94 - 3.12 (5 H, m), 1.67 (9 H, s). ESI + m/z 456 [M+H] | 94 |

| | | | | |
|--------|----|---|---------------------|----|
| | 83 |  | ESI + m/z 378 [M+H] | 90 |
| [0507] | 84 |  | ESI + m/z 395 [M+H] | 92 |

[0508] 实施例35:

[0509] 方案1的中间体(VIII) (中间体85-111) 的制备

[0510] 一般程序9

[0511] 向中间体(VII) (中间体65;66;67;71;72;75;76;77;80;81;82;83;84) (1mmol) 的吡啶 (24mmol) 溶液中加入酰基氯 (1.5mmol) ,将所得混合物在RT下搅拌1-4小时。

[0512] 蒸发溶剂,将残留物通过反相柱 (50g) 纯化,用H₂O-AcOH (0.1%) 至CH₃CN-AcOH (0.1%) 梯度洗脱。将含有所需产物的组分装载到Strata-XL-C 100μm SPE (2g) 柱上,用H₂O/MeOH和1M NH₃的MeOH溶液洗脱。蒸发氨组分,得到标题中间体。

[0513] 一般程序10

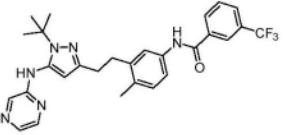
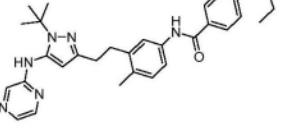
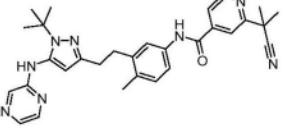
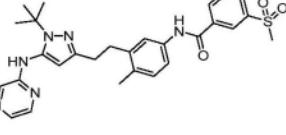
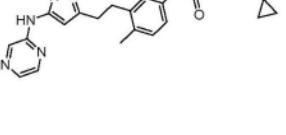
[0514] 在氮气下,将羧酸 (1.5mmol) 、HOBT (1.5mmol) 、EDC (1.5mmol) 和DIPEA (3mmol) 溶于DMF (10ml) 中。活化15分钟后,将该混合物加入到中间体(VII) (中间体65;66;67;71;72;75;76;77;80;81;82;83;84) (1mmol) 的DMF (7.5ml) 溶液中。将所得混合物在室温下搅拌5-7h。蒸发溶剂,将残留物通过反相色谱法 (50g) 纯化,用H₂O-AcOH (0.1%) 至CH₃CN-AcOH (0.1%) 梯度洗脱。

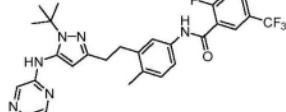
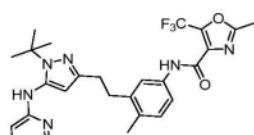
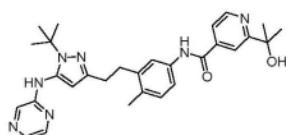
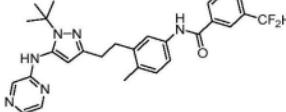
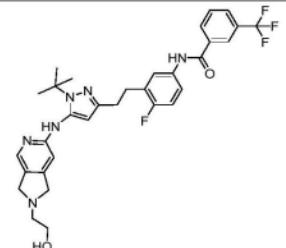
[0515] 将含有所需产物的组分装载到Strata-XL-C 100μm SPE (2g) 柱上,用H₂O/MeOH和1M NH₃的MeOH溶液洗脱。蒸发氨组分,得到标题中间体。

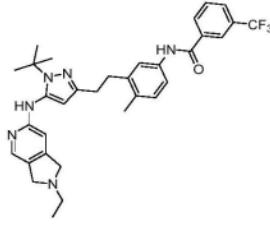
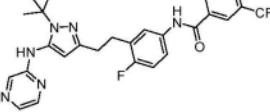
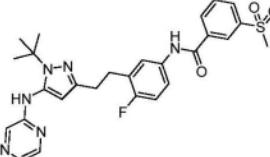
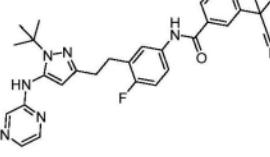
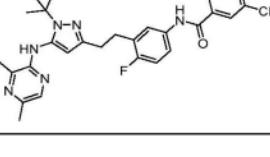
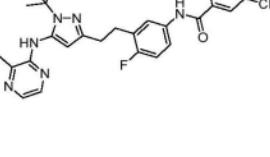
[0516] 一般程序11

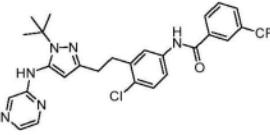
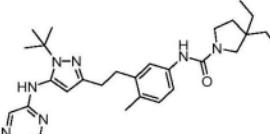
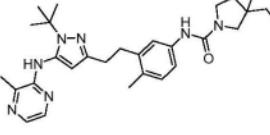
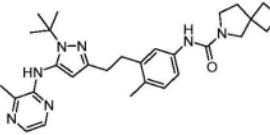
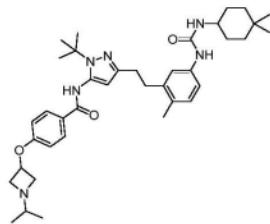
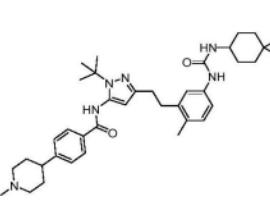
[0517] 向中间体(VII) (中间体65;66;67;71;72;75;76;77;80;81;82;83;84) (1mmol) 的DMF (8ml) 溶液中,加入CDI (2mmol) .3小时后,加入胺 (4mmol) ,将所得混合物在50℃下搅拌1h,然后装载到反相柱 (50g) 上,仅用水+0.1% AcOH至仅用乙腈+0.1% AcOH洗脱,得到标题中间体。

[0518] 表7中间体85-111:方案1的中间体(VIII)

| 中间体 | 结构 | 分析 | 程序 | 产率 (%) | |
|--------|---|---|--|--------|----|
| 85 |  | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 10.32 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.32 - 8.29 (m, 1H), 8.28 - 8.23 (m, 1H), 8.06 - 8.03 (m, 1H), 7.99 - 7.94 (m, 1H), 7.94 - 7.92 (m, 1H), 7.90 - 7.87 (m, 1H), 7.81 - 7.76 (m, 1H), 7.65 - 7.62 (m, 1H), 7.56 - 7.51 (m, 1H), 7.13 (d, J=8.3 Hz, 1H), 5.98 (s, 1H), 2.92 - 2.85 (m, 2H), 2.81 - 2.73 (m, 2H), 2.26 (s, 3H), 1.52 (s, 9H). ESI + m/z 523 [M+H] | 9 | 90 | |
| 86 |  | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 10.04 - 9.94 (m, 1H), 8.67 - 8.57 (m, 1H), 8.08 - 8.01 (m, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.91 - 7.82 (m, 3H), 7.70 - 7.62 (m, 1H), 7.56 - 7.47 (m, 1H), 7.43 (d, J=8.3 Hz, 2H), 7.13 - 7.05 (m, 1H), 5.99 (s, 1H), 2.90 - 2.83 (m, 2H), 2.79 - 2.71 (m, 2H), 2.49 - 2.39 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 1.52 (s, 9H), 1.00 (d, J=6.8 Hz, 7H). ESI + m/z 538 [M+H] | 10 | 68 | |
| [0519] | 87 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 10.41 (1 H, s), 8.80 (1 H, d, J=4.89 Hz), 8.62 (1 H, s), 8.04 (1 H, dd, J=2.45, 1.47 Hz), 8.00 (1 H, s), 7.93 (1 H, d, J=1.47 Hz), 7.89 (1 H, d, J=2.93 Hz), 7.86 (1 H, dd, J=4.89, 1.47 Hz), 7.61 (1 H, d, J=2.45 Hz), 7.51 (1 H, dd, J=8.07, 2.20 Hz), 7.15 (1 H, d, J=8.31 Hz), 5.97 (1 H, s), 2.84 - 2.94 (2 H, m), 2.71- 2.81 (2 H, m), 2.26 (3 H, s), 1.77 (6 H, s), 1.52 (9 H, s). ESI + m/z 523 [M+H] | 10 | 93 |
| | 88 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 10.37 (1 H, s), 8.62 (1 H, s), 8.48 (1 H, s), 8.26 - 8.31 (1 H, m), 8.11 - 8.15(1 H, m), 8.03 - 8.06 (1 H, m), 7.93 (1 H, d, J=1.47 Hz), 7.89 (1 H, d, J=2.45 Hz), 7.82 (1 H, s), 7.62 (1 H, s), 7.51 -7.55 (1 H, m), 7.09 - 7.17 (1 H, m), 5.98 (1 H, s), 2.84 - 2.93 (2 H, m), 2.71 - 2.80 (2 H, m), 2.26 (3 H, s), 1.52 (9H, s). ESI + m/z 533 [M+H] | 10 | 66 |
| | 89 |  | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 10.72 - 10.41 (m, 1H), 9.07 - 9.04 (m, 1H), 8.65 - 8.59 (m, 1H), 8.51 - 8.44 (m, 1H), 8.18 - 8.12 (m, 1H), 8.07 - 8.03 (m, 1H), 7.95 - 7.92 (m, 1H), 7.89 - 7.86 (m, 1H), 7.78 - 7.76 (m, 1H), 7.68 - 7.63 (m, 1H), 7.17 - 7.12 (m, 1H), 6.06 - 5.87 (m, 1H), 3.19 - 3.08 (m, 1H), 2.94 - 2.84 (m, 2H), 2.82 - 2.72 (m, 2H), 2.27 | 10 | 80 |

| | | | | |
|--------|---|---|----|----|
| | | (s, 3H), 1.52 (s, 9H), 1.26 - 1.20 (m, 2H), 1.20 - 1.11 (m, 2H). ESI + m/z 560 [M+H] | | |
| 90 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 10.42 (1 H, s), 8.62 (1 H, s), 8.62 - 8.08 (5 H, m), 7.54 - 7.66 (2 H, m), 7.44 (1 H, dd), 7.13 (1 H, d), 5.97 (1 H, s), 2.82 - 2.92 (2 H, m), 2.70 - 2.79 (2 H, m), 2.26 (3 H, s), 1.52 (9 H, s). ESI + m/z 541 [M+H] | 10 | 94 |
| 91 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 10.29 (1 H, s), 8.62 (1 H, s), 8.05 (1 H, dd), 7.93 (1 H, d), 7.89 (1 H, d), 7.70 (1 H, d), 7.51 (1 H, dd), 7.10 (1 H, d), 5.99 (1 H, s), 2.86 (2 H, d), 2.71 - 2.79 (2 H, m), 2.61 (3 H, s), 2.25 (3 H, s), 1.52 (9 H, s). ESI + m/z 528 [M+H] | 10 | 87 |
| 92 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 10.29 - 10.41 (1 H, m), 8.64 - 8.69 (1 H, m), 8.59 - 8.64 (1 H, m), 8.11 - 8.16 (1 H, m), 8.02 - 8.06 (1 H, m), 7.92 - 7.96 (1 H, m), 7.87 - 7.91 (1 H, m), 7.67 - 7.72 (1 H, m), 7.61 - 7.65 (1 H, m), 7.52 (1 H, s), 7.11 - 7.16 (1 H, m), 5.97 - 6.00 (1 H, m), 5.31 - 5.35 (1 H, m), 2.83 - 2.93 (2 H, m), 2.72 - 2.80 (2 H, m), 2.26 (3 H, s), 1.52 (9 H, s), 1.49 (6 H, s). ESI + m/z 514 [M+H] | 10 | 45 |
| [0520] | | ESI + m/z 505 [M+H] | 10 | 64 |
| 93 |  | ESI + m/z 611 [M+H] | 9 | 25 |
| 94 |  | ¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 9.03 (2 H, d, J=5.38 Hz), 9.01 (1 H, d, J=1.96 Hz), 8.30 (1 H, dd, J=8.07, 2.20 Hz), 7.73 (1 H, t, J=4.89 Hz), 7.54 - 7.60 (1 H, m), 7.52 (1 H, d, J=6.85 Hz), 7.43 (1 H, d, J=8.31 Hz), 7.07 (1 H, t, J=9.05 Hz), 6.25 (1 H, s), 3.01 (2 H, d, J=7.83 Hz), 2.95 (2 H, dd, J=6.85, 1.47 Hz), 2.76 (2 H, d, J=7.34 Hz), 2.09 - 2.17 (1 H, m), 1.65 (9 H, s), 0.98 (3 H, s), 0.96 (3 H, s). | 10 | 65 |

| | | | | |
|--------|-----|--|----|----|
| | | ESI + m/z 544 [M+H] | | |
| | 96 |  <p>¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10.32 (s, 1H), 8.33 - 8.23 (m, 2H), 7.95 (d, J=3.9 Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.82 - 7.75 (m, 1H), 7.62 (d, J=2.0 Hz, 1H), 7.54 (dd, J=2.2, 8.1 Hz, 1H), 7.13 (d, J=8.3 Hz, 1H), 6.28 (s, 1H), 5.87 (s, 1H), 3.68 (d, J=5.9 Hz, 4H), 2.89 - 2.84 (m, 2H), 2.80 - 2.75 (m, 2H), 2.62 (q, J=7.3 Hz, 2H), 1.51 (s, 9H), 1.06 (t, J=7.1 Hz, 3H).</p> <p>ESI + m/z 591 [M+H]</p> | 9 | 81 |
| [0521] | 97 |  <p>¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.67 (1 H, br. s.), 8.17 - 8.27 (2 H, m), 8.12 (1 H, d), 8.06 (1 H, s), 7.93 - 8.00 (1 H, m), 7.83 (1 H, s), 7.62 - 7.72 (1 H, m), 7.45 - 7.58 (2 H, m), 7.03 (2 H, t), 6.79 - 6.96 (1 H, m), 3.09 (4 H, dd), 1.59 - 1.70.</p> <p>ESI + m/z 527 [M+H]</p> | 9 | 98 |
| | 98 |  <p>¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10.48 (1 H, s), 8.60 (1 H, s), 8.48 (1 H, s), 8.28 (1 H, d), 8.14 (1 H, d), 8.02 - 8.06 (1 H, m), 7.92 (1 H, s), 7.88 (1 H, s), 7.83 (1 H, t), 7.74 (1 H, dd), 7.63 (1 H, d), 7.16 (2 H, t), 5.98 (1 H, s), 2.89 - 2.98 (3 H, m), 2.77 - 2.85 (2 H, m), 1.51 (10 H, s).</p> <p>ESI + m/z 537 [M+H]</p> | 10 | 66 |
| | 99 |  <p>¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10.52 (1 H, s), 8.81 (1 H, d, J=4.89 Hz), 8.62 (1 H, s), 8.04 (1 H, dd, J=2.45, 1.47 Hz), 8.00 (1 H, s), 7.82 - 7.94 (3 H, m), 7.56 - 7.75 (2 H, m), 7.11 - 7.23 (1 H, m), 5.98 (1 H, s), 2.93 (2 H, d, J=8.31 Hz), 2.75 - 2.85 (2 H, m), 1.77 (6 H, s), 1.50 (9 H, s).</p> <p>ESI + m/z 527 [M+H]</p> | 10 | 84 |
| | 100 |  <p>ESI + m/z 555 [M+H]</p> | 10 | 56 |
| | 101 |  <p>¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10.44 (1 H, s), 8.24 - 8.32 (2 H, m), 7.95 - 8.01 (2 H, m), 7.74 - 7.88 (4 H, m), 7.61 - 7.68 (1 H, m), 7.17 (1 H, t, J=9.29 Hz), 5.93 (1 H, s), 2.92 (2 H, d, J=8.31 Hz), 2.82 (2 H, d, J=8.80 Hz), 2.44 (3 H, s), 1.48 (9 H, s).</p> <p>ESI + m/z 541 [M+H]</p> | 10 | 79 |

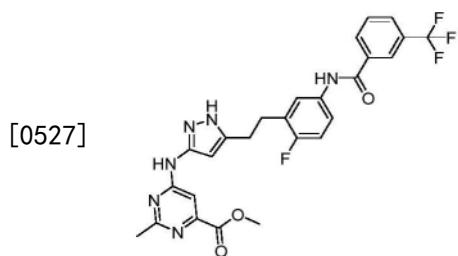
| | | | | |
|--------|---|--|----|----|
| 102 |  | ESI + m/z 545 [M+H] | 9 | 57 |
| 103 |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 8.61 (1 H, s), 8.05 (1 H, br. s.), 7.82 - 7.98 (3 H, m), 7.35 (1 H, br. s.), 7.26 (1 H, d), 6.96 (1 H, d), 5.96 (1 H, s), 3.39 (2 H, t), 3.14 (2 H, s), 2.78 (2 H, d), 2.71 (2 H, d), 2.18 (3 H, s), 1.66 (2 H, t), 1.46 - 1.58 (8 H, m), 1.38 (4 H, d), 0.83 (6 H, t). ESI + m/z 504 [M+H] | 11 | 97 |
| 104 |  | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 7.99 (s, 1H), 7.92 - 7.85 (m, 2H), 7.78 (d, J=1.0 Hz, 1H), 7.37 (d, J=1.0 Hz, 1H), 7.27 (t, J=1.0 Hz, 1H), 6.97 (d, J=1.0 Hz, 1H), 5.92 (s, 1H), 3.40 (t, J=1.0 Hz, 2H), 3.16 (s, 2H), 2.86 - 2.76 (m, 2H), 2.76 - 2.69 (m, 2H), 2.44 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 1.72 - 1.64 (m, 2H), 1.50 (s, 9H), 1.43 - 1.29 (m, 4H), 0.90 - 0.79 (m, 6H). ESI + m/z 518 [M+H] | 11 | 86 |
| [0522] |  | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 7.98 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.87 (d, J=2.9 Hz, 1H), 7.78 (d, J=1.0 Hz, 1H), 7.37 (d, J=1.0 Hz, 1H), 7.26 (t, J=1.0 Hz, 1H), 6.97 (d, J=1.0 Hz, 1H), 5.92 (s, 1H), 3.39 - 3.33 (m, 4H), 2.84 - 2.76 (m, 2H), 2.75 - 2.68 (m, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.02 - 1.85 (m, 8H), 1.50 (s, 9H). ESI + m/z 502 [M+H] | 11 | 54 |
| 106 |  | ESI + m/z 643 [M+H] | 11 | 88 |
| 107 |  | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 9.88 (s, 1H), 8.14 - 8.08 (m, 1H), 7.92 - 7.85 (m, 2H), 7.41 (d, J=8.3 Hz, 2H), 7.27 - 7.20 (m, 1H), 7.14 - 7.08 (m, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.02 (s, 2H), 3.47 - 3.36 (m, 1H), 2.96 - 2.87 (m, 2H), 2.84 - 2.76 (m, 2H), 2.72 (br. s., 2H), 2.26 - 2.16 (m, 6H), 2.02 (br. s., 2H), 1.84 - 1.61 (m, 6H), 1.54 (s, 9H), 1.40 - 1.18 (m, 6H), 0.91 (d, J=2.0 Hz, 6H). ESI + m/z 627 [M+H] | 11 | 38 |

| | | | | | |
|--------|-----|--|-------------------------|----|----|
| [0523] | 108 | | ESI + m/z 586 [M+H-tBu] | 11 | 93 |
| | 109 | | ESI + m/z 550 [M+H] | 9 | 84 |
| | 110 | | ESI + m/z 567 [M+H] | 9 | 78 |
| | 111 | | ESI + m/z 523 [M+H] | 10 | 87 |

[0524] 实施例36

[0525] 中间体112的制备

[0526] 6-((5-(2-氟-5-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯乙基)-1H-吡唑-3-基)氨基)-2-甲基嘧啶-4-羧酸甲酯



[0528] 将3-(三氟甲基)苯甲酰氯(0.098ml, 0.648mmol)加入到中间体72(160mg, 0.432mmol)的吡啶(1ml, 12.36mmol)溶液中, 并将所得混合物搅拌1h。蒸发溶剂, 将残留物溶于MeOH中, 并加入NaOMe(100mg)。将混合物在RT下搅拌过夜。

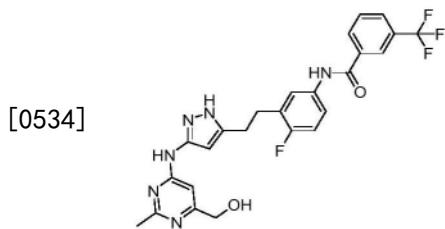
[0529] 蒸发溶剂, 残留物在AcOEt和稀HCl之间分配。浓缩分离的有机相, 将残留物通过硅胶柱(25g)纯化, 用100%环己烷至100% AcOEt洗脱, 得到标题中间体(155mg; 黄色固体)。

[0530] ESI+m/z 543 [M+H]

[0531] 实施例37

[0532] 中间体113的制备

[0533] N-(4-氟-3-(2-(3-((6-(羟甲基)-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺



[0535] 向中间体112 (155mg, 0.286mmol) 的THF (3ml) 溶液中加入LiBH₄的THF (0.179ml, 0.714mmol) 溶液, 并将混合物在RT下搅拌1h。

[0536] 加入AcOH, 蒸发溶液。将残留物溶于AcOH (2ml) 中, 再次蒸发。将残留物通过反相色谱法 (50g; 0.1% 水/AcOH至0.1% ACN/AcOH) 纯化。收集相关组分并浓缩, 用1N NaOH碱化, 用AcOEt萃取, 用盐水洗涤, 干燥并浓缩, 得到标题中间体 (70mg; 白色固体)。

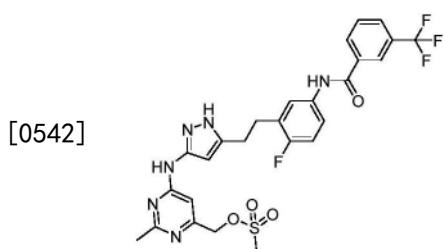
[0537] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 12.08 (1H, br.s.) , 10.47 (1H, s) , 9.57 (1H, br.s.) , 8.20-8.36 (2H, m) , 7.98 (1H, d) , 7.71-7.84 (2H, m) , 7.59-7.71 (1H, m) , 7.19 (2H, m) , 6.17 (1H, br.s.) , 5.23-5.40 (1H, m) , 4.33 (2H, d) , 2.83-3.03 (4H, m) , 2.37 (3H, s) 。

[0538] ESI+m/z 515 [M+H]

实施例38

中间体114的制备

[0541] (6-((5-(2-氟-5-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯乙基)-1H-吡唑-3-基)氨基)-2-甲基嘧啶-4-基)甲基甲磺酸酯

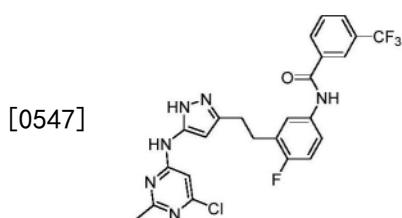


[0543] 在0℃下, 向中间体113 (70mg, 0.136mmol) 和N,N-二乙基乙烷胺 (N,N-Diethylethanamine) (0.038ml, 0.272mmol) 的THF (6ml) 溶液中加入甲磺酰氯 (0.016ml, 0.204mmol), 并将所得混合物在RT下搅拌3h。该溶液直接用于后续反应 (参见实施例46, 化合物26、27和28)。

实施例39

中间体115的制备

[0546] N-(3-(2-((6-氯-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)-4-氟苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺



[0548] 将3-(三氟甲基)苯甲酰氯 (0.098ml, 0.648mmol) 加入到中间体78 (150mg, 0.433mmol) 的吡啶 (1ml, 12.36mmol) 溶液中, 并将所得混合物搅拌1h。蒸发溶剂, 将残留物

溶于MeOH中，并加入NaOMe (100mg)。将混合物在RT下搅拌过夜。蒸发溶剂，将残留物在AcOEt和稀HCl之间分配。浓缩分离的有机相，将残留物通过硅胶柱 (25g) 纯化，用100%环己烷至100% AcOEt洗脱，得到标题中间体 (165mg；黄色固体)。

[0549] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12.21 (1H, br. s.) , 10.46 (1H, s) , 10.07 (1H, s) , 8.19-8.34 (2H, m) , 7.98 (1H, d) , 7.59-7.86 (3H, m) , 7.19 (1H, t) , 6.07 (1H, br. s.) , 2.83-3.01 (4H, m) , 2.40 (3H, s) 。

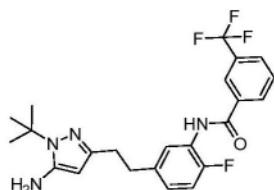
[0550] ESI+m/z 519 [M+H]

[0551] 实施例40：

[0552] 方案2的中间体(X) (中间体116) 的制备

[0553] N- (5- (2- (5-氨基-1- (叔丁基)-1H-吡唑-3-基) 乙基) -2-氟苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺

[0554]



[0555] 在氮气下，向中间体16 (500mg, 1.470mmol)、3- (三氟甲基) 苯甲酰胺 (834mg, 4.41mmol)、磷酸三钾 (936mg, 4.41mmol)、四甲基二-tBuXPhos (70.6mg, 0.147mmol)、三(二亚苄基丙酮) 钯(0) (60.6mg, 0.066mmol) 中加入干燥的二恶烷 (10ml)。将所得混合物加热至105°C，并在此温度下放置过夜。将反应冷却至RT，然后在真空下脱除二恶烷。向剩余的残留物中加入DCM (15ml) 和水 (20ml)。短暂混合后，分离有机层，用无水硫酸钠干燥，然后蒸发成棕色残留物。纯化：硅胶柱 (25g)，用DCM至1:1DCM/AcOEt洗脱，得到标题中间体 (597mg；棕色固体)。

[0556] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10.34 (1H, s) , 8.24-8.35 (2H, m) , 7.99 (1H, d) , 7.73-7.85 (1H, m) , 7.48 (1H, dd) , 7.08-7.23 (2H, m) , 5.25 (1H, s) , 4.72 (2H, s) , 2.77-2.87 (2H, m) , 2.57-2.66 (2H, m) , 1.49 (9H, s) 。

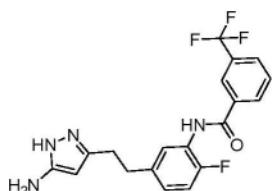
[0557] ESI+m/z 449 [M+H]

[0558] 实施例41：

[0559] 方案2的中间体(XI) (中间体117) 的制备

[0560] N- (5- (2- (5-氨基-1- (叔丁基)-1H-吡唑-3-基) 乙基) -2-氟苯基) -3- (三氟甲基) 苯甲酰胺

[0561]



[0562] 向中间体116 (590mg, 1.316mmol) 中加入甲酸 (24.8ml, 658mmol)。将所得溶液加热至100°C，持续24小时。然后脱除反应中的挥发物，将剩余的残留物溶于DMSO (2ml) 中，并通过反相色谱法 (50g; 0.1%水/AcOH至0.1%ACN/AcOH) 纯化。产生：495mg；黄色固体。

[0563] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 11.11 (1H, br. s.) , 10.36 (1H, s) , 8.22-8.37 (2H,

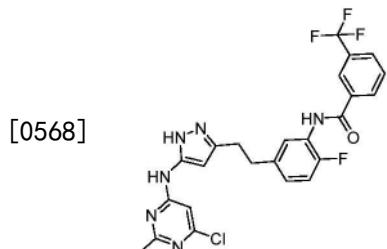
m) , 7.99 (1H, d) , 7.73-7.86 (1H, m) , 7.48 (1H, dd) , 7.08-7.27 (2H, m) , 5.21 (1H, br. s.) , 4.41 (2H, br. s.) , 2.64-2.92 (4H, m)。

[0564] ESI+ m/z 393 [M+H]

[0565] 实施例42:

[0566] 中间体118的制备

[0567] N- (5- (2- (5- ((6- 氯- 2- 甲基嘧啶- 4- 基) 氨基) - 1H- 吡唑- 3- 基) 乙基) - 2- 氟苯基) - 3- (三氟甲基) 苯甲酰胺



[0569] 向中间体117 (150mg, 0.382mmol) 的干燥DMSO (2mL) 溶液中加入固体4,6-二氯-2-甲基嘧啶 (68.6mg, 0.421mmol) , 随后加入N-乙基-N-异丙基丙-2-胺 (0.200mL, 1.147mmol) 。将所得混合物在60°C下搅拌24小时。然后脱除反应中的挥发物, 将剩余的残留物溶于乙酸 (0.3ml) 中, 并通过反相色谱法 (50g; 0.1% 水/AcOH至0.1% ACN/AcOH) 纯化。产生: 158mg; 黄色固体。

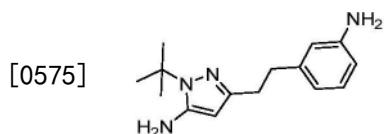
[0570] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 12.17 (1H, br. s.) , 10.36 (1H, s) , 10.07 (1H, s) , 8.19-8.36 (2H, m) , 7.99 (1H, d) , 7.80 (1H, t) , 7.52 (1H, dd) , 7.10-7.31 (2H, m) , 5.74-6.32 (1H, m) , 2.82-3.00 (4H, m) , 2.41 (3H, s) 。

[0571] ESI+ m/z 519 [M+H]

[0572] 实施例43:

[0573] 方案3的中间体(XIII) (中间体119)的制备

[0574] 3- (3-氨基苯甲基) - 1- (叔丁基) - 1H- 吡唑- 5- 胺



[0576] 向高压瓶中的单碘代铜 (0.259g, 1.358mmol) 、(S) - 吡咯烷-2-羧酸 (0.313g, 2.72mmol) 和碳酸钾 (2.252g, 16.29mmol) 中加入干燥并脱气的DMSO (8ml) 。将所得的紫色混合物搅拌10分钟。10分钟后, 立即加入固体状的中间体18 (1.75g, 5.43mmol) 。然后密封瓶, 密封后, 加入28%的氨水 (4ml, 59.0mmol) 。然后将所得混合物在微波下加热至100°C, 持续8小时。将反应物冷却至RT, 然后滴加水/DCM (20ml) 中。短暂混合后, 分离有机层, 用无水硫酸钠干燥, 然后蒸发成深蓝色油状物。纯化: 硅胶柱 (55g) , 用75:25cHex/DCM洗脱, 然后通过反相柱 (150g) , 用0.1% 水/AcOH至0.1% ACN/AcOH洗脱。产生1.178g灰白色固体状的标题中间体。

[0577] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 6.90 (1H, t) , 6.45 (1H, t) , 6.30-6.42 (2H, m) , 5.23 (1H, s) , 4.89 (2H, br. s.) , 4.70 (2H, s) , 2.59-2.67 (2H, m) , 2.53-2.58 (2H, m) , 1.50 (9H, s) 。

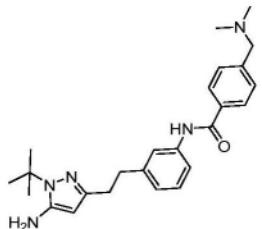
[0578] ESI+ m/z 259 [M+H]

[0579] 实施例44:

[0580] 方案3的中间体(XIV) (中间体120) 的制备

[0581] N- (3- (2- (5-氨基-1- (叔丁基)-1H-吡唑-3-基) 乙基) 苯基) -4- ((二甲基氨基) 甲基) 苯甲酰胺

[0582]



[0583] 向中间体119(150mg, 0.581mmol)的干燥DCM(4ml)溶液中加入干燥吡啶(0.235ml, 2.90mmol)。向所得溶液中滴加中间体42(163mg, 0.697mmol)。滴加完成后, 将反应物在RT下搅拌过夜。然后向反应物中加入饱和碳酸氢钠水溶液。短暂混合后, 分离有机层, 用无水硫酸钠干燥, 然后蒸发成棕色油状物。纯化: 硅胶柱(25g), 用1:1cHex/AcOEt至AcOEt洗脱。产生185mg(黄色固体)。

[0584] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10.12 (1H, s), 7.93 (2H, d), 7.68 (1H, s), 7.62 (1H, d), 7.45 (2H, d), 7.24 (1H, t), 6.98 (1H, d), 5.25 (1H, s), 4.72 (2H, s), 3.51 (2H, br.s.), 2.80 (2H, dd), 2.59-2.66 (2H, m), 2.20 (6H, s), 1.50 (9H, s)。

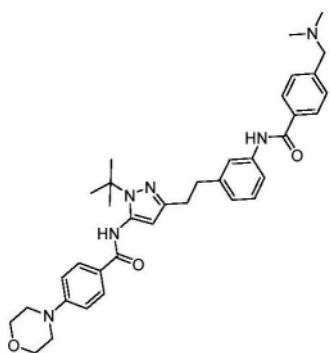
[0585] ESI+m/z 420 [M+H]

[0586] 实施例45:

[0587] 方案3的中间体(XV) (中间体121) 的制备

[0588] N- (1- (叔丁基) -3- (3- (4- ((二甲氨基) 甲基) 苯甲酰胺基) 苯乙基) -1H-吡唑-5-基) -4- 吗啉基苯甲酰胺

[0589]



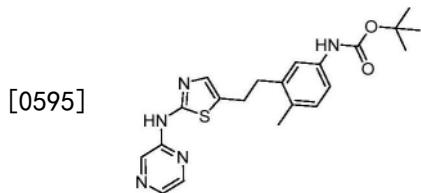
[0590] 向中间体120(80mg, 0.191mmol)的干燥DCM(4ml)溶液中加入吡啶(0.077ml, 0.953mmol), 随后加入4-吗啉基苯甲酰氯(86mg, 0.381mmol)。将所得混合物搅拌过夜。向反应物中加入饱和碳酸氢钠水溶液(2ml)和水(2ml); 分离有机层, 用无水硫酸钠干燥, 然后蒸发成深棕色残留物。纯化: 反相柱(150g), 用0.1%水/AcOH至0.1%ACN/AcOH洗脱。产生140mg(浅棕色油状物)。

[0591] ESI+m/z 609 [M+H]

[0592] 实施例46:

[0593] 方案4的中间体(XVII) (中间体122) 的制备

[0594] (4-甲基-3- (2- (2- (吡嗪-2-基氨基) 嘧唑-5-基) 乙基) 苯基) 氨基甲酸叔丁酯



[0596] 向配有磁力搅拌器的烘干的微波试管中加入4,5-双(二苯基膦基)-9,9-二甲基氧杂蒽(0.038g, 0.066mmol)和三(二亚苄基丙酮)二钯(0)(0.018g, 0.020mmol)、中间体26(0.22g, 0.660mmol)和2-溴吡嗪(0.066ml, 0.726mmol)。将容器排空，并用氮气回填(三次)。向该容器中加入二恶烷(5ml)，排空并使用氮气回填。将反应在95℃加热过夜，然后冷却至室温，蒸发掉挥发物，将粗产物溶于DMSO(3ml)和AcOH(2ml)中。纯化：反相柱(50g)，用0.1%水/AcOH至0.1%ACN/AcOH洗脱。产生262mg标题中间体(黄色固体)。

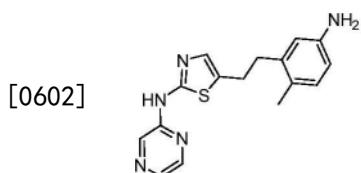
[0597] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 11.41-11.63 (1H, m), 9.13 (1H, s), 8.45 (1H, s), 8.28 (1H, dd), 8.09 (1H, d), 7.79 (1H, s), 7.43-7.53 (1H, m), 7.27-7.43 (3H, m), 7.11-7.21 (2H, m), 7.02 (1H, d), 2.78-3.01 (4H, m), 2.21 (3H, s), 1.46 (9H, s)。

[0598] ESI+m/z 412[M+H]

[0599] 实施例47：

[0600] 方案4的中间体(XVIII) (中间体123) 的制备

[0601] 5-(5-氨基-2-甲基苯乙基)-N-(吡嗪-2-基)噻唑-2-胺



[0603] 在RT下，向中间体122(369mg, 0.897mmol)的DCM(5ml)溶液中缓慢加入TFA(0.691ml, 8.97mmol)，并将反应在RT下搅拌2小时。蒸发挥发物，并将粗产物装载到SPE-SCX(5g)上。收集碱性组分并蒸发，得到标题中间体(196mg；黄色固体)。

[0604] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 11.38-11.59 (1H, m), 8.42-8.51 (1H, m), 8.22-8.33 (1H, m), 8.03-8.16 (1H, m), 7.16 (1H, s), 6.71-6.85 (1H, m), 6.44 (1H, d), 6.34 (1H, dd), 4.68-4.91 (2H, m), 2.86-2.98 (2H, m), 2.74 (2H, br. s.), 2.12 (3H, s)。

[0605] ESI+m/z 312[M+H]

[0606] 实施例48

[0607] 方案1的用于制备本发明化合物(式I)的一般程序：

[0608] 一般程序12：

[0609] 将中间体85-111(1mmol)溶于甲酸(100mmol)中。将所得混合物在95℃下加热2h。蒸发溶剂，将残留物在反相柱(25g)上纯化，用0.1%水/AcOH至0.1%ACN/AcOH洗脱。将含有所需产物的组分装载到Strata-XL-C 100μm SPE(2g)柱上，用H₂O/MeOH和1M NH₃的MeOH溶液洗脱。蒸发氨组分，得到标题化合物。

[0610] 一般程序13：

[0611] 在氮气下，将羧酸(1.5mmol)、HOBT(1.5mmol)、EDC(1.5mmol)和DIPEA(3mmol)溶于DMF(10ml)中。活化15分钟后，将该混合物加入到中间体(VII) (中间体67;68;69;77)的DMF

(7.5ml) 溶液中。将所得混合物在RT下搅拌5-7h。蒸发溶剂, 将残留物通过反相色谱法(50g)纯化, 用H₂O-AcOH(0.1%)至CH₃CN-AcOH(0.1%)梯度洗脱。

[0612] 将含有所需产物的组分装载到Strata-XL-C 100μm SPE (2g)柱上, 用H₂O/MeOH和1M NH₃的MeOH溶液洗脱。蒸发氨组分, 得到标题化合物。

[0613] 一般程序14:

[0614] 向中间体115(0.1mmol)的干燥DMSO(3ml)溶液中, 加入相应的胺(1mmol)。然后将所得溶液加热至80℃, 持续5-8小时, 冷却至RT, 加入乙酸(0.5ml), 将所得混合物通过反相色谱法(25g)纯化, 用H₂O-AcOH(0.1%)至CH₃CN-AcOH(0.1%)梯度洗脱。

[0615] 一般程序15:

[0616] 将含有中间体114(见实施例38)的THF溶液分成3份(每份含有0.045mmol), 然后加入相应的胺(0.18mmol)。然后将所得溶液加热至60℃, 过夜并蒸发; 加入MeOH(5ml)和MeONa(50mg), 将该混合物在RT下搅拌2小时, 然后蒸发。纯化: 反相色谱法(15g), 用H₂O-AcOH(0.1%)至CH₃CN-AcOH(0.1%)梯度洗脱。

[0617] 一般程序16:

[0618] 向中间体(VII)(中间体67)(1mmol)的DMF(8ml)溶液中, 加入CDI(2mmol)。3小时后, 加入胺(4mmol), 将所得混合物在50℃下搅拌1h, 然后装载到反相柱(50g)上, 仅用水+0.1% AcOH至仅用乙腈+0.1% AcOH洗脱, 得到标题化合物。

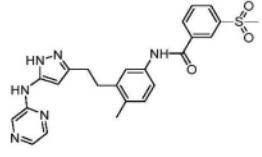
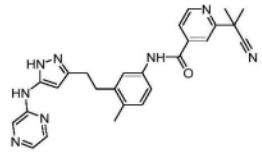
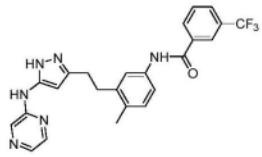
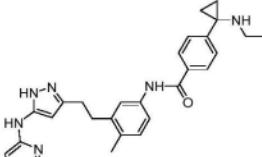
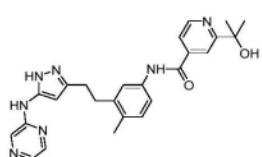
[0619] 参考下表8, 按照上述程序(表中第3栏), 从上述制备的中间体(下表第2栏所示)开始, 制备化合物1-41:

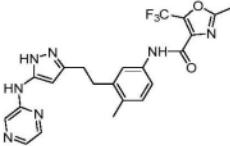
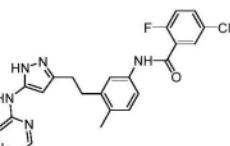
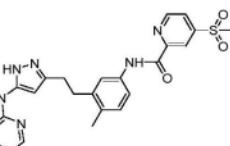
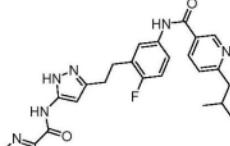
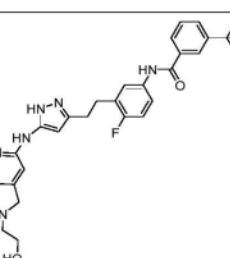
[0620] 表8

[0621] 化合物1-41

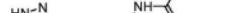
| [0622] | 化合物 | 中间体 | 程序 | 产率 |
|--------|-----|-----|----|----|
| | 1 | 85 | 12 | 71 |

[0623]

| | | | | |
|---|---|----|----|--|
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.03 - 12.09 (1 H, m), 10.39 - 10.44 (1 H, m), 9.54 - 9.60 (1 H, m), 8.53 - 8.58 (1 H, m), 8.46 - 8.50 (1 H, m), 8.27 - 8.31 (1 H, m), 8.12 - 8.16 (1 H, m), 8.06 - 8.10 (1 H, m), 7.80 - 7.89 (2H, m), 7.61 - 7.64 (1 H, m), 7.54 - 7.58 (1 H, m), 7.14 - 7.19 (1 H, m), 6.25 - 6.30 (1 H, m), 2.80 - 2.95 (4 H, m), 2.29 (3 H, s). CH3 在水下信号 ESI+ m/z 4747[M+H] ⁺ | | | |
| | N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(甲基磺酰基)苯甲酰胺 | | | |
| 2 | 84 | 12 | 58 | |
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.06 (1 H, br. s.), 10.45 (1 H, s), 9.58 (1 H, br. s.), 8.80 (1 H, d, J=4.89Hz), 8.53 (1 H, br. s.), 8.08 (1 H, dd, J=2.93, 1.47 Hz), 8.01 (1 H, s), 7.81 - 7.91 (2 H, m), 7.62 (1 H, d, J=1.96 Hz), 7.54 (1 H, d, J=6.36 Hz), 7.18 (1 H, d, J=8.31 Hz), 6.25 (1 H, s), 2.78 - 2.96 (4 H, m), 2.22 - 2.32 (3 H, m), 1.78 (6H, s) ESI+ m/z 467[M+H] ⁺ | | | |
| 2-(2-氰基丙-2-基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)异烟酰胺 | | | | |
| 3 | 82 | 12 | 77 | |
|  | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.06 (br s, 1H), 10.36 (s, 1H), 9.57 (br s, 1H), 8.54 (br s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.27 (d, J=7.8 Hz, 1H), 8.12 - 8.05 (m, 1H), 8.01 - 7.94 (m, 1H), 7.87 (d, J=2.9 Hz, 1H), 7.82 - 7.75 (m, 1H), 7.64 (d, J=2.0 Hz, 1H), 7.58 - 7.51 (m, 1H), 7.16 (d, J=8.3 Hz, 1H), 6.27 (br s, 1H), 2.87 (br d, J=12.2 Hz, 4H), 2.29 (s, 3H) ESI+ m/z 467[M+H] ⁺ | | | |
| N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | | |
| 4 | 83 | 12 | 66 | |
|  | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.17 - 11.95 (m, 1H), 10.03 (s, 1H), 9.70 - 9.46 (m, 1H), 8.64 - 8.44 (m, 1H), 8.16 - 8.03 (m, 1H), 7.90 - 7.83 (m, 3H), 7.70 - 7.64 (m, 1H), 7.55 - 7.49 (m, 1H), 7.44 (s, 2H), 7.16 - 7.09 (m, 1H), 6.34 - 6.17 (m, 1H), 2.93 - 2.79 (m, 4H), 2.49 - 2.43 (m, 2H), 2.27 (s, 3H), 1.04 - 0.90 (m, 7H). ESI+ m/z 482[M+H] ⁺ | | | |
| 4-(1-(乙基氨基)环丙基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)苯甲酰胺 | | | | |
| 5 | 89 | 12 | 63 | |
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.99 - 12.11 (1 H, m), 10.33 - 10.45 (1 H, m), 9.50 - 9.66 (1 H, m), 8.62 - 8.74 (1 H, m), 8.47 - 8.59 (1 H, m), 8.11 - 8.15 (1 H, m), 8.03 - 8.10 (1 H, m), 7.83 - 7.91 (1 H, m), 7.67 - 7.73 (1 H, m), 7.63 (1 H, s), 7.54 (1 H, s), 7.13 - 7.19 (1 H, m), 6.22 - 6.31 (1 H, m), 5.32 - 5.36 (1 H, m), 2.78 - 2.94 (4 H, m), 2.28 (3 H, s), 1.49 (6 H, s) ESI+ m/z 458[M+H] ⁺ | | | |
| 2-(2-羟基丙-2-基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)异烟酰胺 | | | | |
| 6 | 88 | 12 | 74 | |

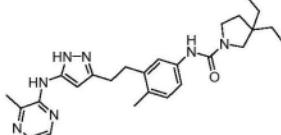
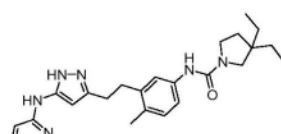
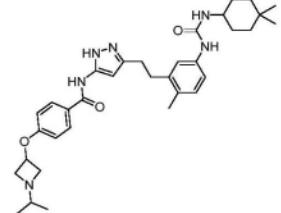
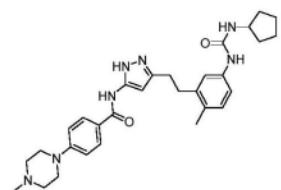
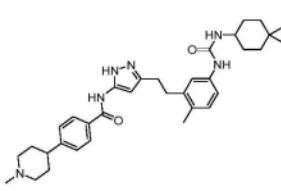
| | | | | |
|---|---|----|----|--|
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.03 (1 H, br. s.), 10.34 (1 H, br. s.), 9.58 (1 H, br. s.), 8.53 (1 H, s), 8.08 (1 H, dd), 7.87 (1 H, d), 7.71 (1 H, d), 7.53 (1 H, dd), 7.13 (1 H, d), 6.25 (1 H, s), 2.75 - 2.95 (4 H, m), 2.61 (3 H, s), 2.27 (3 H, s) ESI+ m/z 472[M+H] ⁺ | | | |
| | 2-甲基-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-5-(三氟甲基)噁唑-4-甲酰胺 | | | |
| 7 | 87 | 12 | 85 | |
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.04 (1 H, br. s.), 10.46 (1 H, s), 9.58 (1 H, s), 8.53 (1 H, s), 7.93 - 8.11 (3 H, m), 7.87 (1 H, d), 7.54 - 7.66 (2 H, m), 7.48 (1 H, dd), 7.16 (1 H, d), 6.25 (1 H, s), 2.75 - 2.96 (4 H, m), 2.28 (3 H, s). ESI+ m/z 485[M+H] ⁺ | | | |
| | 2-氟-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-5-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | |
| 8 | 86 | 12 | 73 | |
|  | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.08 (s, 1H), 10.65 (s, 1H), 9.57 (br. s, 1H), 9.15 - 9.01 (m, 1H), 8.60 - 8.51 (m, 1H), 8.49 - 8.45 (m, 1H), 8.19 - 8.13 (m, 1H), 8.12 - 8.04 (m, 1H), 7.91 - 7.83 (m, 1H), 7.81 - 7.75 (m, 1H), 7.73 - 7.65 (m, 1H), 7.23 - 7.14 (m, 1H), 6.28 (br. s, 1H), 3.19 - 3.10 (m, 1H), 2.97 - 2.81 (m, 4H), 2.29 (s, 3H), 1.29 - 1.12 (m, 4H). ESI+ m/z 504[M+H] ⁺ | | | |
| | 4-(环丙基磺酰基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)吡啶酰胺 | | | |
| 9 | 92 | 12 | 76 | |
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.31 (1 H, br. s.), 10.54 (1 H, br. s.), 10.36 (1 H, br. s.), 9.01 (3 H, br. s.), 8.19 (1 H, d, J=6.85 Hz), 7.74 (2 H, br. s.), 7.63 (1 H, br. s.), 7.39 (1 H, d, J=8.31 Hz), 7.18 (1 H, d, J=8.31 Hz), 6.50 (1 H, br. s.), 2.95 (4 H, d, J=8.31 Hz), 2.69 (2 H, d, J=5.87 Hz), 2.10 (1 H, br. s.), 0.90 (6 H, d, J=5.87 Hz). ESI+ m/z 488 [M+H] ⁺ | | | |
| | N-(3-(2-氟-5-(6-异丁基烟酰胺基)苯乙基)-1H-吡唑-5-基)嘧啶-2-甲酰胺 | | | |
| 10 | 91 | 12 | 40 | |
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.82 (1 H, br. s.), 10.46 (1 H, s), 8.98 (1 H, br. s.), 8.21 - 8.34 (2 H, m), 7.89 - 8.04 (2 H, m), 7.72 - 7.83 (2 H, m), 7.66 (1 H, ddd, J=8.93, 4.52, 2.69 Hz), 6.96 - 7.26 (2 H, m), 6.02 (1 H, br. s.), 4.42 - 4.57 (1 H, m), 3.78 (4 H, d, J=6.36 Hz), 3.50 - 3.60 (2 H, m), 2.90 - 2.98 (2 H, m), 2.83 - 2.90 (2 H, m), 2.73 (2 H, t, J=6.36 Hz). ESI+ m/z 555[M+H] ⁺ | | | |
| | N-(4-氟-3-(2-(5-((2-(2-羟乙基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶-6-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | |
| 11 | 96 | 12 | 45 | |

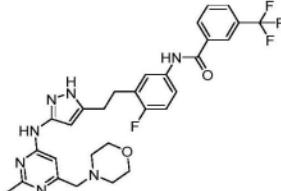
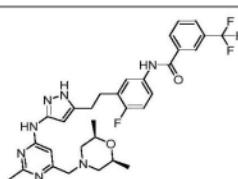
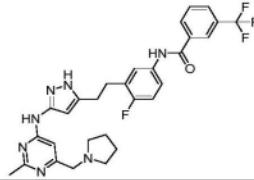
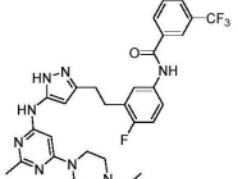
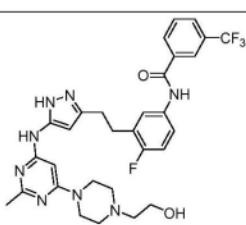
[0624]

| | | | | |
|---|--|---|----|----|
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.94 - 12.14 (1 H, m), 10.56 (1 H, s), 9.57 (1 H, s), 8.81 (1 H, d, J=4.89 Hz), 8.51 (1 H, s), 7.96 - 8.12 (2 H, m), 7.82 - 7.91 (2 H, m), 7.60 - 7.75 (2 H, m), 7.20 (1 H, t, J=9.29 Hz), 6.22 (1 H, s), 2.82 - 3.04 (4 H, m), 1.77 (6 H, s) ESI+ m/z 471 [M+H] ⁺ | | | |
| 2-(2-氰基丙-2-基)-N-(4-氟-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)异烟酰胺 | | | | |
|  | 12 | 95 | 12 | 72 |
|  | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.03 (1 H, s), 10.51 (1 H, s), 9.53 (1 H, s), 8.41 - 8.59 (2 H, m), 8.29 (1 H, s), 8.15 (1 H, d), 8.07 (1 H, s), 7.79 - 7.89 (2 H, m), 7.75 (1 H, dd), 7.66 (1 H, dt), 7.19 (1 H, t), 6.24 (1 H, s), 2.84 - 3.02 (4 H, m) ESI+ m/z 481 [M+H] ⁺ | | |
| N-(4-氟-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(甲基磺酰基)苯甲酰胺 | | | | |
|  | 13 | 94 | 12 | 59 |
|  | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.04 (1 H, s), 10.46 (1 H, s), 9.53 (1 H, s), 8.54 (1 H, s), 8.22 - 8.33 (2 H, m), 8.07 (1 H, s), 7.97 (1 H, d), 7.86 (1 H, d), 7.72 - 7.83 (2 H, m), 7.61 - 7.68 (1 H, m), 7.18 (1 H, t), 6.24 (1 H, s), 2.84 - 3.00 (4 H, m). ESI+ m/z 471 [M+H] ⁺ | | |
| N-(4-氟-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | | |
|  | 14 | 97 | 12 | 55 |
|  | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.00 (1 H, br. s.), 10.46 (1 H, s), 8.36 - 8.54 (1 H, m), 8.23 - 8.31 (2 H, m), 7.98 (1 H, d, J=7.83 Hz), 7.73 - 7.84 (3 H, m), 7.65 (1 H, ddd, J=8.80, 4.40, 2.93 Hz), 7.18 (1 H, t, J=9.29 Hz), 6.20 - 6.38 (1 H, m), 2.83 - 3.00 (4 H, m), 2.42 (3 H, s), 2.28 (3 H, s). ESI+ m/z 499 [M+H] ⁺ | | |
| N-(3-(2-(5-((3,5-二甲基吡嗪-2-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)-4-氟苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | | |
|  | 15 | 98 | 12 | 62 |
|  | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.91 - 12.23 (1 H, m), 10.47 (1 H, s), 8.63 (1 H, br. s.), 8.19 - 8.33 (2 H, m), 7.91 - 8.02 (2 H, m), 7.71 - 7.84 (3 H, m), 7.65 (1 H, dt, J=8.07, 3.79 Hz), 7.18 (1 H, t, J=9.29 Hz), 6.36 (1 H, br. s.), 2.83 - 3.02 (4 H, m), 2.46 (3 H, s). ESI+ m/z 485 [M+H] ⁺ | | |
| N-(4-氟-3-(2-(5-((3-甲基吡嗪-2-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | | |
|  | 16 | 99 | 12 | 51 |
|  | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.06 (1 H, br. s.), 10.54 (1 H, s), 9.59 (1 H, s), 8.52 (1 H, s), 8.24 - 8.31 (2 H, m), 8.08 (1 H, dd, J=2.45, 1.47 Hz), 7.98 (1 H, d, J=7.83 Hz), 7.76 - 7.88 (3 H, m), 7.71 (1 H, dd, J=8.56, 2.69 Hz), 7.45 (1 H, d, J=8.31 Hz), 6.25 (1 H, s), 3.00 - 3.08 (2 H, m), 2.85 - 2.93 (2 H, m). ESI+ m/z 487 [M+H] ⁺ | | |

| N-(4-氯-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | |
|---|-----|----|--|
| 17 | 93 | 12 | 60 |
| | | | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.26 (br. s., 1H), 10.36 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.33 - 8.24 (m, 2H), 8.17 (s, 1H), 7.99 - 7.93 (m, 2H), 7.81 - 7.76 (m, 1H), 7.64 (d, J=2.0 Hz, 1H), 7.56 (dd, J=2.2, 8.1 Hz, 1H), 7.18 - 7.11 (m, 2H), 6.06 (s, 1H), 3.75 (d, J=7.8 Hz, 4H), 2.93 - 2.77 (m, 4H), 2.68 (q, J=7.3 Hz, 2H), 2.28 (s, 3H), 1.10 (t, J=7.1 Hz, 3H). ESI+ m/z 535 [M+H] ⁺ |
| N-(3-(2-(5-(2-乙基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶-6-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)-4-甲基苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | |
| 18 | 106 | 12 | 21 |
| | | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.37 (1 H, br. s.), 10.37 (1 H, s), 10.28 (1 H, br. s.), 8.72 (1 H, d), 8.30 (1 H, s), 8.27 (1 H, d), 8.12 - 8.18 (1 H, m), 8.05 - 8.11 (1 H, m), 7.96 (1 H, d), 7.79 (1 H, t), 7.66 - 7.71 (1 H, m), 7.64 (1 H, d), 7.57 (1 H, dd), 7.17 (1 H, d), 6.55 (1 H, br. s.), 2.90 (4 H, d), 2.29 (3 H, s). ESI+ m/z 494 [M+H] ⁺ |
| [0626] N-(5-(2-甲基-5-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯乙基)-1H-吡唑-3-基)吡啶甲酰胺 | | | |
| 19 | 107 | 12 | 30 |
| | | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.30 (1 H, s), 10.80 (1 H, s), 10.37 (1 H, s), 8.22 - 8.35 (2 H, m), 7.95 (1 H, s), 7.85 (1 H, d), 7.76 - 7.83 (2 H, m), 7.64 (1 H, d), 7.56 (2 H, dd), 7.37 - 7.46 (1 H, m), 7.17 (1 H, d), 6.52 (1 H, s), 2.81 - 2.97 (4 H, m), 2.30 (3 H, s). ESI+ m/z 511 [M+H] ⁺ |
| N-(3-(2-(3-(4-氟苯甲酰胺基)-1H-吡唑-5-基)乙基)-4-甲基苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | |
| 20 | 102 | 12 | 86 |
| | | | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.04 (s, 1H), 8.52 (br s, 1H), 8.00 - 7.90 (m, 2H), 7.79 (br s, 1H), 7.42 - 7.35 (m, 1H), 7.29 - 7.22 (m, 1H), 6.99 (d, J=1.0 Hz, 1H), 6.45 (br s, 1H), 3.39 - 3.33 (m, 4H), 2.88 - 2.73 (m, 4H), 2.47 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 2.02 - 1.83 (m, 8H). ESI+ m/z 446 [M+H] ⁺ |
| N-(4-甲基-3-(2-(5-(3-甲基吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)-6-氮杂螺[3.4]辛烷-6-甲酰胺 | | | |
| 21 | 101 | 12 | 68 |

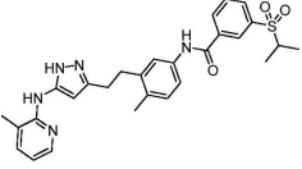
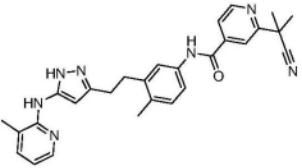
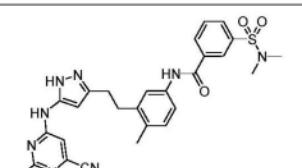
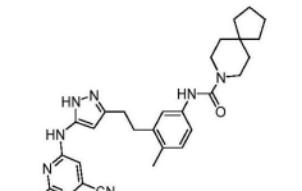
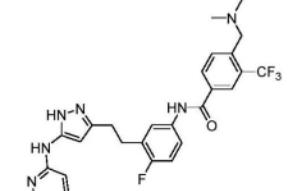
[0627]

| | | | | |
|---|--|------------|----|----|
|  | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.03 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 7.99 - 7.87 (m, 2H), 7.78 (br s, 1H), 7.38 (d, J=1.0 Hz, 1H), 7.27 (t, J=1.0 Hz, 1H), 7.01 (d, J=1.0 Hz, 1H), 6.46 (br s, 1H), 3.44 - 3.36 (m, 2H), 3.19 - 3.09 (m, 2H), 2.81 (br s, 4H), 2.47 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 1.75 - 1.63 (m, 2H), 1.46 - 1.32 (m, 4H), 0.91 - 0.78 (m, 6H) ESI+ m/z 462 [M+H]+ | | | |
| | 3,3-二乙基-N-(4-甲基-3-((3-甲基吡嗪-2-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)吡咯烷-1-甲酰胺 | | | |
|  | 22 | 100 | 12 | 32 |
| | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.02 (1 H, br. s.), 9.58 (1 H, s), 8.53 (1 H, d), 8.08 (1 H, dd), 7.91 (1 H, s), 7.87 (1 H, d), 7.37 (1 H, d), 7.27 (1 H, dd), 6.99 (1 H, d), 6.24 (1 H, s), 3.40 (2 H, t), 3.15 (2 H, s), 2.74 - 2.87 (4 H, m), 2.21 (3 H, s), 1.67 (2 H, t), 1.33 - 1.43 (4 H, m), 0.83 (6 H, t) ESI+ m/z [M+H]+ | | | |
| 3,3-二乙基-N-(4-甲基-3-((3-甲基吡嗪-2-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)吡咯烷-1-甲酰胺 | | | | |
|  | 23 | 103 | 12 | 35 |
| | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.18 (1 H, br. s.), 10.52 (1 H, br. s.), 8.13 (1 H, s), 7.97 (2 H, d), 7.21 (1 H, d), 7.13 (1 H, dd), 6.99 (1 H, d), 6.91 (2 H, d), 6.46 (1 H, br. s.), 6.00 (1 H, d), 4.81 (1 H, quin), 3.72 (2 H, m), 3.36 - 3.48 (1 H, m), 2.94 (2 H, dd), 2.74 - 2.88 (4 H, m), 2.28 - 2.37 (1 H, m), 2.21 (3 H, s), 1.62 - 1.73 (2 H, m), 1.34 (6 H, br. s.), 0.85 - 0.94 (12 H, m) ESI+ m/z 587 [M+H]+ | | | |
| N-(3-(5-(3-(4,4-二甲基环己基)脲基)-2-甲基苯乙基)-1H-吡唑-5-基)-4-((1-异丙基氮杂环丁烷-3-基)氧基)苯甲酰胺 | | | | |
|  | 24 | 105 | 12 | 27 |
| | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.14 (1 H, br. s.), 10.32 (1 H, br. s.), 8.07 (1 H, s), 7.90 (2 H, d), 7.20 (1 H, d), 7.13 (1 H, dd), 6.93 - 7.02 (3 H, m), 6.47 (1 H, br. s.), 6.06 (1 H, d), 3.87 - 3.97 (1 H, m), 3.28 (4 H, s), 2.73 - 2.89 (4 H, m), 2.41 - 2.48 (4 H, m), 2.23 (3 H, s), 2.21 (3 H, s), 1.78 - 1.89 (2 H, m), 1.46 - 1.69 (4 H, m), 1.30 - 1.41 (2 H, m) ESI+ m/z 530 [M+H]+ | | | |
| N-(3-(5-(3-环戊基脲基)-2-甲基苯乙基)-1H-吡唑-5-基)-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯甲酰胺 | | | | |
|  | 25 | 104 | 12 | 40 |
| | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.17 (br. s, 1H), 10.59 (br. s., 1H), 8.13 (s, 1H), 7.93 (d, J=8.3 Hz, 2H), 7.35 (d, J=8.3 Hz, 2H), 7.21 (d, J=2.0 Hz, 1H), 7.16 - 7.09 (m, 1H), 6.99 (d, J=8.3 Hz, 1H), 6.46 (br. s, 1H), 6.01 (d, J=7.3 Hz, 1H), 3.46 - 3.39 (m, 1H), 2.90 - 2.84 (m, 2H), 2.84 - 2.74 (m, 4H), 2.21 (d, J=2.0 Hz, 6H), 2.02 - 1.91 (m, 2H), 1.81 - 1.61 (m, 6H), 1.37 - 1.18 (m, 6H), 0.91 (d, J=2.0 Hz, 6H). ESI+ m/z 571 [M+H]+ | | | |

| N-(3-(5-(3-(4,4-二甲基环己基)脲基)-2-甲基苯乙基)-1H-吡唑-5-基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)苯甲酰胺 | | | | |
|---|--|----|----|--|
| 26 | 111 | 15 | 29 | |
|  | <p>¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12.21 (br. s., 1 H), 10.62 (s, 1 H), 9.72 (br. s., 1 H), 8.41 - 8.20 (m, 2 H), 7.97 (d, J = 7.8 Hz, 1 H), 7.87 - 7.75 (m, 2 H), 7.74 - 7.66 (m, 1 H), 7.33 - 6.96 (m, 2 H), 6.14 (br. s., 1 H), 3.62 (d, J = 8.8 Hz, 4 H), 3.43 (br. s., 2 H), 2.99 - 2.84 (m, 4 H), 2.48 (br. s., 4 H), 2.39 (s, 3 H)</p> <p>ESI+ m/z 584 [M+H]⁺</p> | | | |
| N-(4-氟-3-(2-(3-((2-甲基-6-(吗啉甲基)嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | | |
| 27 | 111 | 15 | 33 | |
|  | <p>¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12.03 (1 H, br. s.), 10.46 (1 H, s), 9.58 (1 H, br. s.), 8.21 - 8.34 (2 H, m), 7.97 (1 H, d), 7.72 - 7.85 (2 H, m), 7.65 (1 H, dt), 7.18 (2 H, t), 6.14 (1 H, br. s.), 3.53 - 3.66 (2 H, m), 2.85 - 3.00 (4 H, m), 2.73 (2 H, s), 2.38 (3 H, s), 1.72 (2 H, t), 0.99 - 1.08 (6 H, m)</p> <p>ESI+ m/z 612 [M+H]⁺</p> | | | |
| N-(3-(2-(3-((2S,6R)-2,6-二甲基吗啉基)甲基)-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)-4-氟苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | | |
| 28 | 111 | 15 | 40 | |
|  | <p>¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 11.99 (1 H, br. s.), 10.46 (1 H, s), 9.48 - 9.67 (1 H, m), 8.19 - 8.35 (2 H, m), 7.97 (1 H, d), 7.71 - 7.84 (2 H, m), 7.66 (1 H, ddd), 6.94 - 7.24 (2 H, m), 6.13 (1 H, br. s.), 3.49 (2 H, s), 2.82 - 3.04 (4 H, m), 2.34 (3 H, d), 1.92 (3 H, s), 1.60 - 1.78 (4 H, m)</p> <p>ESI+ m/z 568 [M+H]⁺</p> | | | |
| [0628] N-(4-氟-3-(2-(3-((2-甲基-6-(吡咯烷-1-基甲基)嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | | |
| 29 | 112 | 14 | 68 | |
|  | <p>¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 11.93 (1 H, br. s.), 10.46 (1 H, s), 9.07 (1 H, s), 8.19 - 8.34 (2 H, m), 7.97 (1 H, d), 7.59 - 7.86 (3 H, m), 7.18 (1 H, t), 6.54 (1 H, br. s.), 5.91 (1 H, s), 3.41 - 3.52 (4 H, m), 2.80 - 3.01 (4 H, m), 2.29 - 2.45 (6 H, m), 2.25 (3 H, s), 1.03 (3 H, t)</p> <p>ESI+ m/z 657 [M+H]⁺</p> | | | |
| N-(3-(2-(3-((6-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)-4-氟苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | | |
| 30 | 112 | 14 | 76 | |
|  | <p>¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 11.91 (1 H, br. s.), 10.46 (1 H, s), 9.07 (1 H, s), 8.20 - 8.35 (2 H, m), 7.97 (1 H, d), 7.58 - 7.86 (3 H, m), 7.18 (1 H, t), 6.53 (1 H, br. s.), 5.92 (1 H, s), 4.38 (1 H, br. s.), 3.53 (2 H, t), 3.43 - 3.48 (4 H, m), 2.82 - 2.98 (4 H, m), 2.39 - 2.49 (6 H, m), 2.25 (3 H, s)</p> <p>ESI+ m/z 673 [M+H]⁺</p> | | | |

| | | | | |
|--|---|---------------------------------|----|--|
| N-(4-氟-3-(2-(3-((6-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | | |
| 31 | 112 | 14 | 83 | |
| | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.89 (1 H, br. s.), 10.46 (1 H, s), 9.05 (1 H, s), 8.19 - 8.34 (2 H, m), 7.97 (1 H, d), 7.55 - 7.84 (3 H, m), 7.18 (1 H, t), 6.14 (1 H, br. s.), 5.89 (1 H, s), 5.64 (1 H, br. s.), 4.48 - 4.61 (1 H, m), 4.04 - 4.19 (2 H, m), 3.64 (2 H, dd), 2.79 - 3.00 (4 H, m), 2.23 (3 H, s) | ESI+ m/z 616 [M+H] ⁺ | | |
| N-(4-氟-3-(2-(3-((6-(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | | |
| 32 | 112 | 14 | 78 | |
| | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.89 (1 H, br. s.), 10.45 (1 H, s), 8.97 (1 H, s), 8.20 - 8.33 (2 H, m), 7.97 (1 H, d), 7.58 - 7.85 (3 H, m), 7.18 (1 H, t), 6.23 (1 H, br. s.), 5.90 (1 H, s), 3.65 (1 H, br. s.), 3.50 (1 H, br. s.), 3.02 - 3.09 (1 H, m), 2.82 - 2.98 (4 H, m), 2.73 (1 H, br. s.), 2.24 (3 H, s), 2.19 (5 H, s), 2.07 - 2.15 (1 H, m), 1.71 - 1.83 (1 H, m) | ESI+ m/z 597 [M+H] ⁺ | | |
| (S)-N-(3-(2-(3-((6-(3-二甲氨基)吡咯烷-1-基)-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)-4-氟苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | | |
| [0629] style="text-align: center;"> 33 | 90 | 12 | 57 | |
| | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.99 - 12.13 (1 H, m), 10.25 - 10.32 (1 H, m), 9.52 - 9.61 (1 H, m), 8.51 - 8.59 (1 H, m), 8.05 - 8.19 (3 H, m), 7.84 - 7.91 (1 H, m), 7.76 - 7.81 (1 H, m), 7.66 - 7.73 (1 H, m), 7.62 - 7.66 (1 H, m), 7.52 - 7.58 (1 H, m), 7.15 (2 H, s), 6.23 - 6.34 (1 H, m), 2.78 - 2.95 (4 H, m), 2.28 (3 H, s) | ESI+ m/z 449 [M+H] ⁺ | | |
| 3-(二氟甲基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)苯甲酰胺 | | | | |
| 34 | 66 | 13 | 20 | |
| | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.88 (br. s., 1H), 10.36 (s, 1H), 9.07 (br. s., 1H), 8.33 - 8.22 (m, 2H), 8.09 (d, J=3.9 Hz, 1H), 7.96 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.79 (t, J=7.8 Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.55 (dd, J=2.0, 8.3 Hz, 1H), 7.33 (br. s., 1H), 7.16 (d, J=8.3 Hz, 1H), 6.09 (br. s., 1H), 4.75 (d, J=18.6 Hz, 2H), 4.53 (d, J=12.2 Hz, 2H), 2.94 - 2.75 (m, 4H), 2.28 (s, 3H), 2.08 - 2.02 (m, 3H) | ESI+ m/z 549 [M+H] ⁺ | | |
| N-(3-(2-(5-((2-乙酰基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶-6-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)-4-甲基苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | | |
| 35 | 65 | 13 | 29 | |

[0630]

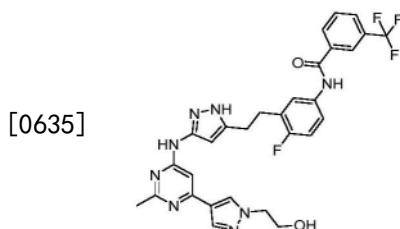
| | | | | |
|---|---|----|----|--|
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.07 (1 H, br. s.), 10.41 (1 H, s), 8.42 (1 H, s), 8.29 - 8.36 (1 H, m), 8.04 - 8.09 (1 H, m), 7.96 - 8.02 (1 H, m), 7.84 (1 H, t), 7.61 - 7.65 (1 H, m), 7.52 - 7.59 (1 H, m), 7.35 - 7.43 (1 H, m), 7.16 (1 H, d), 6.62 - 6.72 (1 H, m), 6.19 - 6.47 (1 H, m), 3.46 - 3.58 (1 H, m), 2.86 - 2.95 (2 H, m), 2.78 - 2.85 (2 H, m), 2.30 (3 H, s), 2.22 (3 H, s), 1.20 (6 H, d) ESI+ m/z 518 [M+H] ⁺ | | | |
| | 3-(isopropylsulfonyl)-N-(4-methyl-3-(5-(methylpyrimidin-2-ylmethyl)-1H-pyrazole-3-yl)butyl)benzylamine | | | |
| 36 | 65 | 13 | 31 | |
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.89 (1 H, br. s.), 10.45 (1 H, br. s.), 8.80 (1 H, d), 8.05 - 8.33 (1 H, m), 7.95 - 8.03 (2 H, m), 7.83 - 7.90 (1 H, m), 7.59 - 7.63 (1 H, m), 7.51 - 7.57 (1 H, m), 7.38 (1 H, d), 7.17 (1 H, d), 6.66 (1 H, dd), 6.29 (1 H, br. s.), 2.86 - 2.95 (2 H, m), 2.77 - 2.85 (2 H, m), 2.30 (3 H, s), 2.21 (3 H, s), 1.78 (6 H, s) ESI+ m/z 480 [M+H] ⁺ | | | |
| | 2-(2-氰基丙-2-基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-(3-甲基吡啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基异烟酰胺 | | | |
| 37 | 64 | 13 | 66 | |
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.32 (1 H, br. s.), 10.42 (2 H, br. s.), 8.26 - 8.33 (2 H, m), 7.95 (1 H, d), 7.82 (1 H, t), 7.62 - 7.66 (1 H, m), 7.51 - 7.57 (1 H, m), 7.16 (1 H, d), 2.80 - 2.96 (4 H, m), 2.67 (6 H, s), 2.46 (3 H, s), 2.28 (3 H, s) ESI+ m/z 545 [M+H] ⁺ | | | |
| | N-(3-(2-(5-((6-氰基-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)-4-甲基苯基)-3-(N,N-二甲基氨基磺酰基)苯甲酰胺 | | | |
| 38 | 64 | 16 | 40 | |
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.29 (1 H, br. s.), 10.41 (1 H, br. s.), 8.28 (1 H, s), 7.32 (1 H, d), 7.21 (1 H, dd), 6.99 (1 H, d), 3.35 - 3.43 (4 H, m), 2.81 (4 H, s), 2.46 (3 H, s), 2.21 (3 H, s), 1.54 - 1.65 (4 H, m), 1.32 - 1.48 (8 H, m) ESI+ m/z 499 [M+H] ⁺ | | | |
| | N-(3-(2-(5-((6-氰基-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)-4-甲基苯基)-8-氮杂螺[4.5]癸烷-8-甲酰胺 | | | |
| 39 | 64 | 13 | 36 | |
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.18 (1 H, br. s.), 10.34 (1 H, s), 10.21 (1 H, s), 8.18 - 8.33 (2 H, m), 7.94 (1 H, d), 7.73 (1 H, dd), 7.60 - 7.69 (1 H, m), 7.46 (1 H, br. s.), 7.16 (1 H, t), 6.19 (1 H, br. s.), 3.79 (2 H, br. s.), 2.88 - 3.04 (4 H, m), 2.05 - 2.48 (8 H, m, under the solvent peak). ESI+ m/z 567 [M+H] ⁺ | | | |
| | N-(3-(2-(5-((6-氰基-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)-4-氟苯基)-4-((二甲基氨基)甲基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | |

| | 40 | 74 | 13 | 51 |
|--|-----------|--|-----------|-----------|
| | | ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.97 - 11.88 (m, 1H), 10.54 - 10.37 (m, 1H), 8.73 (s, 2H), 8.65 - 8.52 (m, 1H), 8.34 - 8.18 (m, 2H), 8.03 - 7.89 (m, 1H), 7.84 - 7.70 (m, 2H), 7.68 - 7.58 (m, 1H), 7.25 - 7.11 (m, 1H), 5.64 (s, 1H), 3.01 - 2.83 (m, 4H), 2.47 (s, 3H) ESI+ m/z 485 [M+H] ⁺ | | |
| N-(4-氟-3-(2-(5-(2-甲基嘧啶-5-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | | |
| [0631] | 41 | 108 | 12 | 95 |
| | | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 12.05 (1H, s), 10.52 (1H, s), 9.53 - 9.65 (1H, m), 8.79 (1H, d), 8.48 - 8.61 (1H, m), 8.27 (1H, d), 8.08 (1H, d), 7.81 - 7.89 (2H, m), 7.77 (1H, d), 7.68 (1H, dd), 7.16 (1H, d), 6.22 - 6.31 (1H, m), 5.75 - 5.77 (1H, m), 2.80 - 2.98 (4H, m), 2.28 (3H, s), 1.90 - 1.92 (1H, m), 1.77 (6H, s) ESI+ m/z 467 [M+H] ⁺ | | |
| 4-(2-氟基丙-2-基)-N-(4-甲基-3-(2-(5-(吡嗪-2-基氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)吡啶酰胺 | | | | |

[0632] 实施例49:

[0633] 方案1的化合物(I) (化合物42) 的制备

[0634] N-(4-氟-3-(2-(3-((6-(1-(2-羟乙基)-1H-吡唑-4-基)-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺



[0636] 向中间体115 (25mg, 0.048mmol) 的THF (3.5ml) 溶液中加入中间体36 (28.7mg, 0.120mmol), 随后加入碳酸钠 (15.32mg, 0.145mmol) 的水 (1ml) 溶液。将所得溶液在真空下脱气, 然后置于氮气氛下。然后向该混合物中加入双(三苯基膦)二氯化钯(II) (6.76mg, 9.64μmol), 然后将反应物加热至80℃, 持续2小时, 然后蒸发。向剩余的残留物中加入水 (0.5ml)、乙酸 (0.5ml) 和DMSO (1.5ml)。纯化: 反相色谱法 (25g), 用H₂O-AcOH (0.1%) 至CH₃CN-AcOH (0.1%) 梯度洗脱。产生20mg标题化合物 (白色固体)。

[0637] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12.11 (1H, br.s.) , 10.47 (1H, s) , 9.57 (1H, br.s.) , 8.16-8.34 (3H, m) , 7.97 (1H, d) , 7.87 (1H, s) , 7.73-7.82 (2H, m) , 7.63-7.69 (1H, m) , 7.19 (2H, t) , 6.13 (1H, br.s.) , 4.91 (1H, br.s.) , 4.20 (2H, t) , 3.76 (2H, t) , 2.86-3.01 (4H, m) , 2.42 (3H, s)。

[0638] ESI+ m/z 595 [M+H]⁺

[0639] 实施例50

[0640] 方案2的用于制备本发明化合物(式I)的一般程序:

[0641] 一般程序17:

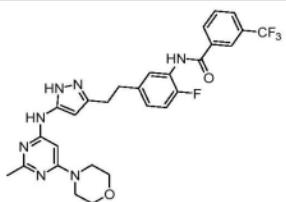
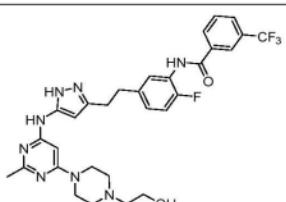
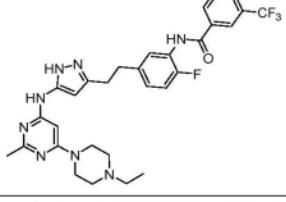
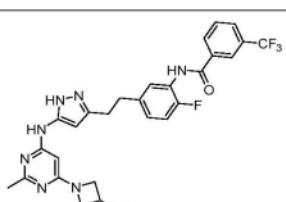
[0642] 向中间体118 (0.1mmol) 的干燥DMSO (3ml) 溶液中, 加入相应的胺 (1mmol)。然后将所得溶液加热至80℃, 持续5-8小时, 冷却至RT, 加入乙酸 (0.5ml), 所得混合物通过反相色

谱法(25g)纯化,用H₂O-AcOH(0.1%)至CH₃CN-AcOH(0.1%)梯度洗脱。

[0643] 参考下表9,按照上述程序(表中第3栏),从上述制备的中间体(下表第2栏所示)开始,制备化合物43-46:

[0644] 表9

[0645] 化合物43-46

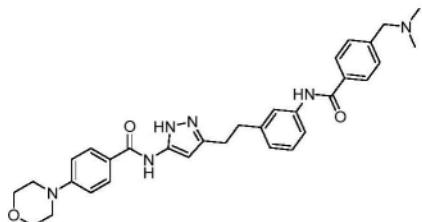
| | 化合物 | 中间体 | 程序 | 产率 |
|--------|---|--|----|----|
| | 43 | 115 | 17 | 90 |
| |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.95 (1 H, br. s.), 10.36 (1 H, s), 9.12 (1 H, br. s.), 8.20 - 8.39 (2 H, m), 7.99 (1 H, d), 7.80 (1 H, t), 7.51 (1 H, dd), 7.08 - 7.30 (2 H, m), 6.61 (1 H, br. s.), 5.93 (1 H, br. s.), 3.59 - 3.74 (4 H, m), 3.37 - 3.50 (4 H, m), 2.79 - 3.00 (4 H, m), 2.27 (3 H, s) | | |
| | | ESI+ m/z 570 [M+H] ⁺ | | |
| | N-(2-氟-5-(5-((2-甲基-6-吗啉基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | |
| [0646] | 44 | 115 | 17 | 77 |
| |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.82 (1 H, br. s.), 10.35 (1 H, s), 9.06 (1 H, s), 8.22 - 8.38 (2 H, m), 7.99 (1 H, d), 7.80 (1 H, t), 7.51 (1 H, dd), 7.08 - 7.29 (2 H, m), 6.55 (1 H, br. s.), 5.91 (1 H, s), 4.39 (1 H, br. s.), 3.53 (2 H, t), 3.42 - 3.49 (4 H, m), 2.81 - 2.97 (4 H, m), 2.37 - 2.49 (6 H, m), 2.25 (3 H, s) | | |
| | | ESI+ m/z 673 [M+H] ⁺ | | |
| | N-(2-氟-5-(2-(3-((6-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)苯基-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | |
| | 45 | 115 | 17 | 79 |
| |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.86 (1 H, br. s.), 10.35 (1 H, s), 9.06 (1 H, s), 8.22 - 8.37 (2 H, m), 7.99 (1 H, d), 7.80 (1 H, t), 7.51 (1 H, dd), 7.07 - 7.29 (2 H, m), 6.55 (1 H, br. s.), 5.90 (1 H, s), 3.43 - 3.49 (4 H, m), 2.81 - 2.97 (4 H, m), 2.30 - 2.45 (6 H, m), 2.25 (3 H, s), 1.03 (3 H, d) | | |
| | | ESI+ m/z 657 [M+H] ⁺ | | |
| | N-(5-(2-(3-((6-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)-2-氟苯基-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | |
| [0647] | 46 | 115 | 17 | 81 |
| |  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.94 (1 H, br. s.), 10.35 (1 H, s), 9.05 (1 H, s), 8.22 - 8.38 (2 H, m), 7.99 (1 H, d), 7.80 (1 H, t), 7.51 (1 H, dd), 7.09 - 7.29 (2 H, m), 6.16 (1 H, br. s.), 5.88 (1 H, s), 5.65 (1 H, br. s.), 4.55 (1 H, t), 4.03 - 4.20 (2 H, m), 3.64 (2 H, dd), 2.79 - 2.97 (4 H, m), 2.23 (3 H, s) | | |
| | | ESI+ m/z 616 [M+H] ⁺ | | |
| | N-(2-氟-5-(2-(3-((6-(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)-2-甲基嘧啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-5-基)乙基)苯基-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | |

[0648] 实施例51:

[0649] 方案3的化合物(I)(化合物47)的制备

[0650] 4-((二甲氨基)甲基)-N-(3-(2-(5-(4-吗啉基苯甲酰胺基)-1H-吡唑-3-基)乙基)苯基)苯甲酰胺

[0651]



[0652] 向中间体121 (80mg; 0.191mmol) 中加入甲酸 (1.798ml, 47.7mmol), 并将所得溶液加热至100℃, 持续1小时。在真空下除去甲酸, 向剩余的残留物中加入DMSO (1ml) 和乙酸 (0.25ml)。纯化: 反相色谱法 (15g), 用H₂O-AcOH (0.1%) 至CH₃CN-AcOH (0.1%) 梯度洗脱。产生28mg (灰白色固体)。

[0653] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 12.14 (1H, br.s.) , 10.37 (1H, br.s.) , 10.16 (1H, s) , 7.92 (4H, dd) , 7.57-7.78 (2H, m) , 7.44 (2H, d) , 7.27 (1H, t) , 6.88-7.06 (3H, m) , 6.42 (1H, br.s.) , 3.65-3.82 (4H, m) , 3.47 (2H, s) , 3.18-3.28 (4H, m) , 2.81-3.01 (4H, m) , 2.17 (6H, s)。

[0654] ESI+m/z 553 [M+H]

实施例52

[0656] 方案4的用于制备本发明化合物(式I)的一般程序:

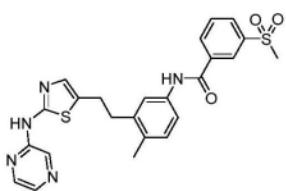
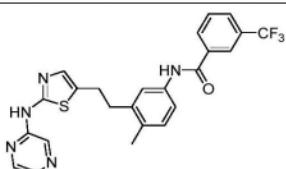
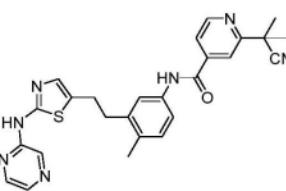
[0657] 一般程序18:

[0658] 在氮气下, 将羧酸 (1.5mmol)、HOBT (1.5mmol)、EDC (1.5mmol) 和DIPEA (3mmol) 溶于DMF (10ml) 中。活化15分钟后, 将该混合物加入到中间体 (XVIII) (中间体123) 的DMF (7.5ml) 溶液中。将所得混合物在RT下搅拌5-7h。蒸发溶剂, 将残留物通过反相色谱法 (50g) 纯化, 用H₂O-AcOH (0.1%) 至CH₃CN-AcOH (0.1%) 梯度洗脱。

[0659] 参考下表10, 按照上述程序 (表中第3栏), 从上述制备的中间体 (下表第2栏所示) 开始, 制备化合物48-50:

[0660] 表10

[0661] 化合物48-50

| 化合物 | 中间体 | 程序 | 产率 |
|--|--|----|----|
| 48 | 120 | 18 | 60 |
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.49 (1 H, br. s.), 10.40 (1 H, s), 8.39 - 8.55 (2 H, m), 8.24 - 8.33 (2 H, m), 8.05 - 8.19 (2 H, m), 7.82 (1 H, t), 7.52 - 7.67 (2 H, m), 7.12 - 7.23 (2 H, m), 5.76 (1 H, s), 3.30 (3 H, s), 2.93 (4 H, s), 2.28 (3 H, s) ESI+ m/z 494 [M+H] ⁺ | | |
| N-(4-甲基-3-(2-(2-(吡嗪-2-基氨基)噻唑-5-基)乙基)苯基)-3-(甲基磺酰基)苯甲酰胺 | | | |
| 49 | 120 | 18 | 74 |
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.43 - 11.56 (1 H, m), 10.35 (1 H, s), 8.43 - 8.49 (1 H, m), 8.23 - 8.34 (3 H, m), 8.06 - 8.12 (1 H, m), 7.93 - 8.00 (1 H, m), 7.75 - 7.84 (1 H, m), 7.54 - 7.66 (2 H, m), 7.19 (2 H, s), 2.86 - 3.06 (4 H, m), 2.28 (3 H, s), 2.06 - 2.10 (1 H, m) ESI+ m/z 484 [M+H] ⁺ | | |
| N-(4-甲基-3-(2-(2-(吡嗪-2-基氨基)噻唑-5-基)乙基)苯基)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺 | | | |
| 50 | 120 | 18 | 56 |
|  | ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11.39 - 11.58 (1 H, m), 10.44 (1 H, s), 8.80 (1 H, d), 8.45 (1 H, s), 8.28 (1 H, dd), 8.09 (1 H, d), 8.01 (1 H, s), 7.82 - 7.89 (1 H, m), 7.52 - 7.65 (2 H, m), 7.13 - 7.26 (2 H, m), 2.85 - 3.07 (4 H, m), 2.28 (3 H, s), 1.78 (6 H, s) ESI+ m/z 484 [M+H] ⁺ | | |
| 2-(2-氰基丙-2-基)-N-(4-甲基-3-(2-(2-(吡嗪-2-基氨基)噻唑-5-基)乙基)苯基)异烟酰胺 | | | |

[0663] 本发明化合物的药理学评估

[0664] 根据本发明,已经对许多式(I)的化合物进行了体外研究,以确定它们在某些细胞模型中的潜在的Fyn激酶和VEGFR2激酶抑制活性及其疗效,以及确定在大鼠中诱导的痛觉过敏和疼痛行为的实验中通过体外筛选得到的最佳化合物的疗效。

[0665] 以下表11-16汇总了获得的结果。

[0666] 实施例53:体外激酶活性分析

[0667] 式(I)化合物的代表性实施例的Fyn激酶抑制活性通过Z'-LYTE激酶检测平台(Invitrogen公司)进行评估。对化合物进行活性Fyn评估(全长活性,分子量87.1kD; Invitrogen公司)。将酶(1.2ng/μl)与合成肽-底物ATP(50M)和不同浓度(范围为10⁻⁹M至10⁻⁵M的最终浓度)的抑制剂在384小容量微孔板中孵育。表示0%抑制(或总酶活性)的样品存在于化合物稀释剂(在反应缓冲液50mM Hepes、10mM MgCl₂、1mM EGTA、0.01% Brij-35中的1%DMSO最终浓度,pH 7.5)中。在25℃下,以10μl的总体积进行激酶反应60分钟。每个板中包括0%磷酸化(即无ATP)分析对照和100%磷酸化分析对照,从而计算特定反应孔中达到的磷酸化百分比。结果以抑制百分比表示,使用GraphPadTM Prism软件(Windows版本6)通过非线性曲线拟合计算IC₅₀值。

[0668] 代表性式(I)化合物的Fyn激酶抑制活性在下表11中报告。

[0669] 表11:FYN激酶抑制

| 化合物 | IC ₅₀ (nM) | 化合物 | IC ₅₀ (nM) | 化合物 | IC ₅₀ (nM) |
|-----|-----------------------|-----|-----------------------|-----|-----------------------|
|-----|-----------------------|-----|-----------------------|-----|-----------------------|

| | | | | | |
|----|-----|----|----|----|-----|
| 1 | 36 | 18 | 15 | 35 | 88 |
| 2 | 10 | 19 | 69 | 36 | 32 |
| 3 | 9 | 20 | 18 | 37 | 24 |
| 4 | 21 | 21 | 5 | 38 | 2 |
| 5 | 6 | 22 | 7 | 39 | 1 |
| 6 | 112 | 23 | 5 | 40 | 99 |
| 7 | 63 | 24 | 2 | 41 | 8 |
| 8 | 20 | 25 | 3 | 42 | 13 |
| 9 | 16 | 26 | 12 | 43 | 19 |
| 10 | 4 | 27 | 10 | 44 | 8 |
| 11 | 21 | 28 | 17 | 45 | 22 |
| 12 | 24 | 29 | 15 | 46 | 18 |
| 13 | 26 | 30 | 6 | 47 | 10 |
| 14 | 31 | 31 | 10 | 48 | 27 |
| 15 | 18 | 32 | 9 | 49 | 143 |
| 16 | 24 | 33 | 16 | 50 | 8 |
| 17 | 8 | 34 | 6 | | |

[0671] 结果

[0672] 如表11所示,式(I)的化合物是强效的Fyn激酶抑制剂,IC₅₀值在中低纳摩尔范围内。只有化合物6和49在高纳摩尔范围(>100nM)内具有活性。

[0673] 实施例54:体外激酶活性分析

[0674] 在Eurofins Cerep(法国)中评估了式(I)化合物分析的代表性实施例的VEGFR2激酶抑制活性。研究中的抑制剂浓度范围为10⁻⁸M至10⁻⁵M的最终浓度。从10⁻⁹M开始,在浓度范围内重新测试了一些化合物。结果以对照活性百分比(在没有测试化合物的情况下)表示,通过对使用平均重复值生成的抑制/浓度曲线进行非线性回归分析来确定IC₅₀值。

[0675] 代表性式(I)化合物的VEGFR2激酶抑制活性在下表12中报告。

[0676] 表12:VEGFR2激酶抑制

[0677]

| 化合物 | IC ₅₀ (nM) | 化合物 | IC ₅₀ (nM) | 化合物 | IC ₅₀ (nM) |
|-----|-----------------------|-----|-----------------------|-----|-----------------------|
| 1 | <10 | 18 | 16 | 42 | 20 |
| 2 | <10 | 19 | 110 | 43 | 10 |
| 3 | 7 | 26 | <10 | 44 | <10 |
| 4 | <10 | 27 | 12 | 45 | <10 |
| 5 | <10 | 28 | <10 | 46 | <10 |
| 6 | <10 | 29 | <10 | 47 | 10 |
| 7 | <10 | 30 | <10 | 48 | 10 |
| 8 | <10 | 31 | 18 | | |
| 9 | <10 | 32 | <10 | | |
| 10 | <10 | 33 | <10 | | |
| 11 | <10 | 34 | <10 | | |

| | | | | | | |
|----|-----|----|-----|--|--|--|
| 12 | <10 | 35 | <10 | | | |
| 13 | <10 | 36 | <10 | | | |
| 14 | 10 | 37 | 35 | | | |
| 15 | <10 | 39 | 11 | | | |
| 16 | <10 | 40 | <10 | | | |
| 17 | <10 | 41 | <10 | | | |

[0678] 结果

[0679] 如表12所示,式(I)化合物是良好的VEGFR2激酶抑制剂($IC_{50}<10nM$) ,化合物1-17、20-30、32-36、38、40-48是强效的VEGFR2激酶抑制剂。

[0680] 实施例55:存在高ATP浓度时的体外激酶活性分析

[0681] 在ATP浓度固定(0.5mM)且接近细胞中存在的毫摩尔范围的情况下,评估了对Fyn和VEGFR2激酶活性的抑制作用。该分析由ADP-Glo™激酶检测(Promega)进行,监测激酶反应中产生的ADP。根据供应商的指示,在10μl的白色384孔板中进行激酶反应。在室温下,将DMSO/激酶缓冲液中的抑制剂溶液和激酶(在分析中,终浓度为2.5ng/μl Fyn和0.5ng/μl VEGFR2)预孵育15分钟。抑制剂浓度范围为 $10^{-10}M$ 至 $10^{-5}M$ (分析中的最终浓度)。为了开始反应,向每个样品中加入底物/ATP混合物(0.5mM的最终浓度,对应于 $10 \times ATP K_M$ 值)。室温孵育60分钟后,根据供应商指示依次加入ADP-Glo™试剂和激酶检测试剂并孵育,使得停止并进行激酶反应。通过非线性曲线拟合(GraphPad软件,Windows版本7)分析在不存在测试化合物的情况下针对酶活性计算的抑制百分比和相应的抑制曲线,从而计算 IC_{50} 值。

[0682] 结果

[0683] 存在高ATP浓度时,化合物3以浓度依赖性的方式抑制Fyn和VEGFR2, IC_{50} 值分别为6.8nM和58nM。

[0684] 实施例56:激酶选择性

[0685] 在46种人激酶的标准组中分析了一些代表性式(I)化合物的激酶选择性,确定了10种激酶受影响更频繁。因此,检测了化合物3对这10种激酶的激酶选择性。在Eurofins Cerep(法国)中进行分析。研究中化合物的浓度范围为 $10^{-9}M$ 至 $10^{-5}M$ 的最终浓度。表13汇总了结果。

[0686] 表13:激酶选择性

| [0687] | IC ₅₀ (nM) | | | | | | | |
|--------|-----------------------|-----|-----|------|-------|------|------|-------|
| | Lyn-A | Yes | Src | Jak3 | FGFR2 | CDK2 | AurA | AMPKa |
| | 59 | 17 | 370 | 1760 | 3000 | IN | IN | IN |

[0688] IN:在测试的最大浓度(10μM)下无活性

[0689] 结果

[0690] 如表12所示,化合物3在抑制Fyn和VEGFR2激酶活性方面表现出纳摩尔效力。除了对Src家族其他激酶(Src、Yes和Lyn-A)的作用外(但低于对Fyn和VEGFR2的作用),化合物3对所研究的其他激酶无活性(>1000nM)。

[0691] 实施例57:用于测试激酶抑制的细胞模型-基因报告(GR)分析

[0692] 为了确定本发明的化合物是否在细胞模型中也具有活性,在已知经由炎性刺激

(TNF α) 激活Fyn激酶的细胞系(JB6 C1 41-5a (P+))中建立了基因报告物分析。GR分析测量位于Fyn激活通路下游的核转录因子NF- κ B的激活。在该分析中具有活性的产物必须渗入细胞并抑制NF- κ B的激活通路。

[0693] 用pGL4.32[1uc2P/NFkB-RE/Hygro]载体(Promega)稳定转染小鼠上皮细胞系JB6 C1 41-5a (P+) (ATCC® 目录号#CRL-2010)。通过用80 μ g/ml潮霉素B限制来实现克隆选择性。测试克隆对TNF α 刺激的反应。

[0694] JB6 (P+) NFkB-RE-1uc2P转染的细胞用于分析TNF α 刺激后Fyn抑制剂对NF- κ B活性的调节。

[0695] 用不同化合物预处理细胞1h,然后用2ng/ml TNF α 刺激细胞4h。每种测试条件一式四份进行分析。

[0696] 采用ONE-Glo™+Tox荧光素酶报告和细胞活力测定试剂盒(Promega)进行荧光素酶分析。下表14汇总了通过CellTiter-Fluor™细胞活力测定评估的无毒浓度下获得的结果。

[0697] 表14:基因报告(GR)抑制

| 化合物 | IC ₅₀ (nM) 或 最大浓度时的 效应% | 化合物 | IC ₅₀ (nM) 或 最大浓度时的 效应% | 化合物 | IC ₅₀ (nM) 或 最大浓度时的 效应% |
|--------|--|----------------|--|----------------|--|
| 1 | 5081 | 16 | 321 | 34 | 958 |
| 2 | 312 | 17 | 352 | 35 | 1306 |
| 3 | 236 | 18 | 974 | 36 | 494 |
| 4 | 2233 | 19 | 883 | 37 | 2261 |
| 5 | 3255 | 20 | 3 μ M 45% | 38 | 10 μ M 25% |
| 6 | 2672 | 21 | 3 μ M 37% | 39 | 1065 |
| [0698] | 7 | 1158 | 22 | 1140 | 515 |
| | 8 | 233 | 23 | 1435 | 327 |
| | 9 | 10 μ M 47% | 24 | 2327 | 10 μ M 56% |
| | 10 | 1999 | 25 | 1421 | 2439 |
| | 11 | 785 | 26 | 3 μ M 50% | ne |
| | 12 | 4514 | 30 | ne | 275 |
| | 13 | 308 | 31 | 10 μ M 47% | 422 |
| | 14 | 487 | 32 | 3 μ M 29% | 50 |
| | 15 | 100 | 33 | 363 | 3 μ M 86% |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

[0699] ne:没有效果

[0700] 结果

[0701] 如表14所示,本发明的一些化合物被证明能够穿透细胞,并在亚微摩尔/微摩尔浓度下抑制由TNF- α 刺激诱导的Fyn激酶激活。特别是,化合物3、8和15显示出IC₅₀值<250nM。

[0702] 实施例58:HEK 293转染细胞中对FYN酶的细胞内靶接合(engagement)

[0703] 通过nanoBRET技术(Promega公司)证明了Fyn激酶的细胞内靶接合(TE),从而可以测量在完整细胞内选定靶蛋白处的化合物结合,并通过nanoBRETTM示踪剂的竞争替代来确定测试化合物的表观亲和力,所述示踪剂可逆地结合到细胞中的NanoLuc[®]荧光素酶融合蛋白。

[0704] 使用NanoBRETTM TE细胞内激酶分析K-4 (Promega, #N2520) 来测定被Fyn-NanoLuc[®]融合载体(Promega, #NV1411)瞬时转染的HEK293细胞(ATCC[®], 目录号CRL-1573) 中的Fyn激酶的细胞内靶接合,因此表达了 Fyn-NanoLuc[®]融合蛋白。使用最终浓度为0.33M的示踪剂,并用化合物处理细胞2小时。在450nm和610nm(GloMax[®] Discover, Promega) 测量了发光值,并测定了每个样品的原始BRET比值。特异性接合细胞内靶蛋白-NanoLuc[®]融合的化合物将导致BRET信号减少和BRET比值降低。

[0705] 结果

[0706] 化合物3对在HEK293细胞中瞬时表达的Fyn-NanoLuc[®]融合蛋白显示出的IC₅₀结合值为1.5M。

[0707] 实施例59:抑制FYNB诱导的TAU(Y18)-磷酸化(基于细胞的分析)

[0708] 将HEK293细胞(人胚胎肾293)以 6×10^5 接种于多聚D-赖氨酸12w微孔板中,并在5% CO₂、37℃下,在培养基DMEM/10% FBS中贴壁生长。24小时后,通过优化的Lipofectamine[®] 3000转染方案(Life TechnologiesTM),将细胞转染以过量表达组成型活性形式的人FynB和Tau蛋白(同工型ON4R)。每个实验中均包括未转染样品(阴性对照)。转染后24小时,通过添加含有稀释剂(0.1% DMSO的最终浓度)或测试化合物的新鲜培养基进行细胞处理。在5% CO₂、37℃下孵育6或24小时。在孵育结束时,取出培养基,将通过添加M-PER裂解/蛋白酶/磷酸酶抑制剂混合物获得的细胞裂解物转移至Eppendorf管中,超声处理,并在-80℃下储存。通过Bradford法测量蛋白质含量。通过针对Tau磷酸化(酪氨酸18残基-Fyn介导)的定制ELISA测定法和Tau-总量测定法分析裂解物。

[0709] 结果

[0710] 处理6小时后,化合物3以浓度依赖性方式(IC₅₀为0.131μM)抑制FynB诱导的Tau(Y18)-磷酸化。经过24小时处理后,该化合物仍保持其抑制活性,在1μM浓度下,平均抑制百分比为95%。观察到对Tau蛋白总量的显示出中等不显著的效应。

[0711] 实施例60:抑制VEGF诱导的VEGFR(Y1175)-磷酸化(基于细胞的分析)

[0712] 将HUVEC-C细胞(来自ATCC的人脐静脉内皮细胞)在24w微孔板中以 6×10^4 个细胞/孔铺板,并在5% CO₂、37℃下,在培养基F12K+0.1mg/ml肝素+0.05mg/ml ECGS+10% FBS中贴壁生长。24小时后,取出培养基,在培养基F12K+0.1mg/ml肝素+0.5% FBS中诱导饥饿过夜(中度饥饿)。在孵育结束时,通过更换培养基和添加含有或不含稀释剂(0.1% DMSO的最终浓度)或测试化合物(范围为10⁻⁸M-10⁻⁵M)的新鲜饥饿培养基进行细胞处理。1小时后,向每个样品中加入VEGF刺激物(50ng/ml的最终浓度),但“基础量-无刺激”样品除外;然后将平板在5% CO₂、37℃下孵育5min。在孵育结束时,取出培养基,并通过添加M-PER裂解/蛋白酶/磷酸酶抑制剂混合物获得细胞裂解物。然后,将裂解物转移至Eppendorf管中,超声处理,并在-80℃下储存。

[0713] 通过蛋白质印迹(Western blot)分析裂解物,以测定VEGFR磷酸化(酪氨酸1175)和受体总量。使用ImageQuant TL软件(通用电气医疗集团生命科学部(GE Healthcare Life Sciences))对样品泳道进行了光密度分析。通过各自的肌动蛋白对每个样品值进行标准化;所得数据用于计算化合物相对于刺激对照(不存在抑制剂)的抑制效应。

[0714] 结果

[0715] 从0.01μM的浓度开始,化合物3对Y1175残基处的VEGFR-磷酸化表现出完全抑制活性。

[0716] 实施例61:炎性症状(IL-1 β 刺激)下大鼠关节软骨细胞的基因表达分析

[0717] 按照Berenbaum及其同事使用的方案,从Sprague Dawley大鼠的下肢和上肢获得大鼠原代关节软骨细胞,((Berenbaum F, Thomas G, Poiraudou S, Bereziat G, Corvol MT, Masliah J. Insulin-like growth factors counteract the effect of interleukin 1 β on type II phospholipase A2 expression and arachidonic acid release by rabbit articular chondrocytes. FEBS Lett 1994; 340:51-55)。涉及动物的所有研究均按照美国国立卫生研究院通过并颁布的《实验动物护理和使用指南》进行。

[0718] 将纯化的软骨细胞重悬于10% DMEM谷氨酰胺(glutaMAX)溶液中,置于96X孔板中进行毒性分析,置于6X孔板中进行基因表达分析。

[0719] 为了进行毒性分析,然后用不同的化合物处理细胞24和48小时。孵育时间结束时,取出培养基,并在细胞培养箱中于37℃下用10% 10:1DMEM谷氨酰胺-MTT(2mg/ml)混合物取代1h。孵育后,用100μl DMSO溶解沉淀的盐,在540nm读取平板。进行毒性分析以确定基因表达分析中使用的每种化合物的最大无毒浓度。

[0720] 对于基因表达分析,平板孵育10天后,更换培养基并用0.4% DMEM谷氨酰胺I取代,以使细胞同步化。然后将细胞在0.4% DMEM谷氨酰胺I中与不同浓度的测试化合物和最终浓度为2ng/ml的IL-1 β 共处理6h和24h。已根据毒性数据选择了所用的测试化合物浓度。

[0721] 在孵育结束时,弃去上清液,用冷PBS1X洗涤细胞,并用200μl RNA裂解缓冲液1X(核酸纯化裂解液,应用生物系统公司(Applied Biosystems))刮除细胞。

[0722] 按照制造商的说明,使用ABI Prism™ 6100核酸样品准备站(PrepStation)(应用生物系统公司)纯化总RNA。

[0723] 按照制造商的说明,使用高容量cDNA库试剂盒(应用生物系统公司-赛默飞世尔科技公司)反转录总RNA。

[0724] 实时PCR的特异性探针和引物购买自应用生物系统公司(赛默飞世尔科技公司),商标为Assays-on-Demand™,而内源性对照18S的探针和引物是PDAR(预先开发的TaqMan®分析试剂-应用生物系统公司-赛默飞世尔科技公司)。

[0725] 分析了骨关节病中上调的最相关促炎标志物和基质降解酶的基因表达。

[0726] 该分析旨在扩增靶cDNA,而不扩增基因组DNA。

[0727] 在孵育6h时,进行IL-1 β 、IL-6、ADAMTS-5的基因表达分析,在孵育24h时,进行MMP3、MMP13、COX2的基因表达分析。对于每种化合物,所测试的最大浓度取决于在原代大鼠软骨细胞上获得的毒性结果。

[0728] 按照应用生物系统公司关于基因表达相对定量的具体说明,进行数据分析(18S扩增值的标准化)。

[0729] 表15:IL-1 β 刺激后诱导的最相关促炎标志物和基质降解标志物的基因表达分析($IC_{50}\mu M$ 或最高无毒浓度下的抑制效应百分比)

| 化合物 | IL-1 β | IL-6 | COX2 | ADAMTS-5 | MMP3 | MMP13 | 24 h时的首次毒性浓度 |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|--------------|
| 1 | 2,1 | 1,6 | 3,1 | 10 μM 38% | ne | 10 μM 38% | >10 μM |
| 2 | 10 μM 100% | 10 μM 100% | 10 μM 100% | 10 μM 94% | 10 μM 92% | 10 μM 99% | >10 μM |
| 3 | 0,002 | 0,018 | 0,187 | 0,034 | 0,323 | 0,477 | 10 μM |
| 4 | 1,7 | 10 μM 93% | 1,4 μM | 3 μM | 10 μM 55% | 10 μM 84% | >10 μM |
| 5 | 10 μM 84% | 10 μM 89% | 10 μM 43% | 5,5 | ne | 10 μM 32% | >10 μM |
| 6 | 1 μM 50% | 0,64 | ne | 1 μM 28% | ne | ne | 3 μM |
| 7 | 0,1 | 0,2 | 1 μM 41% | 1 μM 81% | ne | 1 μM 38% | 3 μM |
| 8 | 0,3 | 1 μM 99% | 1 μM 63% | ne | ne | ne | 3 μM |
| 11 | 10 μM 100% | 2,2 | 2,4 | >10 μM |
| 12 | 3,9 | 2,6 | 10 μM 63% | 10 μM 57% | ne | 10 μM 34% | >10 μM |
| 13 | 1 μM 96% | 1 μM 100% | 1 μM 96% | 1 μM 88% | 0,3 | 1 μM 94% | 3 μM |
| 14 | 3 μM 99% | 3 μM 100% | 3 μM 100% | 3 μM 99% | 3 μM 95% | 3 μM 99% | 10 μM |
| 15 | 3 μM 98% | 3 μM 100% | 3 μM 97% | 3 μM 96% | 3 μM 90% | 3 μM 99% | 10 μM |

| | | | | | | | |
|----|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|-------------|
| 17 | 10 μM 99% | 10 μM 100% | 10 μM 96% | 10 μM 62% | 10 μM 92% | 10 μM 100% | >10 μM |
| 19 | 0,1 | 3 μM 99% | 0,4 | 0,1 | 0,6 | 0,5 | 10 μM |
| 33 | 3 μM 93% | 3 μM 100% | 3 μM 89% | 3 μM 90% | 3 μM 81% | 3 μM 94% | 10 μM |
| 34 | 3 μM 99% | 3 μM 100% | 3 μM 76% | 3 μM 97% | 3 μM 58% | 3 μM 82% | 10 μM |
| 35 | 10 μM 74% | 10 μM 90% | 10 μM 90% | 3 | 10 μM 44% | 10 μM 88% | >10 μM |
| 37 | 1,6 | 10 μM 97% | 10 μM 97% | 4 | 10 μM 59% | 10 μM 95% | >10 μM |
| 39 | 3 μM 100% | 3 μM 100% | 3 μM 99% | 0,5 | 1,2 μM | 3 μM 90% | 10 μM |
| 40 | 10 μM 100% | 10 μM 100% | 10 μM 100% | 2,3 | 0,5 | 10 μM 100% | >10 μM |
| 48 | 0,6 | 0,2 | ne | 1 μM 70% | ne | ne | 3 μM |
| 49 | 1 μM 91% | 1 μM 100% | 1 μM 93% | 0,2 μM | 0,5 | 0,24 | 3 μM |

[0732] ne:没有效果

[0733] 结果

[0734] 如表15所示,本发明的大多数化合物经证明可抑制所研究的促炎性标志物(IL-1 β 、IL-6、COX2)和降解性标志物(ADAMTS-5、MMP3、MMP13)的基因表达,特别是化合物3在亚微摩尔浓度下抑制由IL-1 β 刺激诱导的基因表达。

[0735] 实施例62:在牛体外模型中抑制软骨降解

[0736] 从当地屠宰场的一只8个月大的雄性牛采集鼻中隔软骨。

[0737] 用70%乙醇喷洒组织，并立即将其置于含有抗生素-抗真菌稳定溶液(PBS-AASS)的无菌PBS中。对其进行切割，以获得小块头(punches)(直径2mm,1mm厚)。用无菌PBS-AASS洗涤，将切片转移到含有10% DMEM+AASS的96X孔板(每孔一片)中。48小时后，在不存在或存在所研究化合物的情况下，在含有10ng/ml IL-1 α 的白色DMEM+0.1% BSA+AASS中刺激软骨。

[0738] 根据在孵育48小时时在大鼠原代软骨细胞中获得的毒性结果，选择本分析中使用的化合物浓度。

[0739] 刺激48小时后，收集培养基，并将其储存在-80℃。在65℃下，在磷酸缓冲液(0.05M, pH 6.5, 含2mM N-乙酰-L-半胱氨酸和2mM EDTA)中，使用木瓜蛋白酶将软骨块头消解2h。

[0740] 采用1,9-二甲基亚甲蓝(DBM)比色法测定糖胺聚糖(GAG)。

[0741] 将消解的软骨样品在1% PBS-BSA中稀释。向100 μ l稀释样品或标准品中加入100 μ l DMB 2X。孵育5-20min后，在590nm(Titertek Multiscan Plus)读取样品。

[0742] IL-1 α 诱导软骨降解的表达式为：

[0743] GAG(培养基)/总GAG(培养基+软骨) x 100

[0744] 表16：对IL-1 α 诱导的牛软骨降解的抑制效应

| 化合物 | IC ₅₀ (nM) 或在最大浓度时的抑制 效应% | 48 h时大鼠原代软 骨细胞中的首次 毒性浓度 | 化合物 | IC ₅₀ (nM) 或在最 大浓度时的抑制 效应% | 48 h时大鼠原代 软骨细胞中的首 次毒性浓度 |
|-----|---|-------------------------------|-----|---|-------------------------------|
| 1 | 3 μ M 88% | 10 μ M | 19 | 3 μ M 83% | 10 μ M |
| 2 | 0.8 μ M | >10 μ M | 33 | 3 μ M 91% | 10 μ M |
| 3 | 1 μ M 100% | 3 μ M | 34 | 1 μ M 96% | 3 μ M |
| 4 | ne | 3 μ M | 35 | 1.5 μ M | >10 μ M |
| 5 | 3 μ M 79% | 10 μ M | 37 | 10 μ M 99% | >10 μ M |
| 6 | ne | 3 μ M | 40 | 3 μ M 49% | 10 μ M |
| 11 | 10 μ M 89% | >10 μ M | 48 | ne | 3 μ M |
| 12 | ne | 10 μ M | 49 | 1 μ M 35% | 3 μ M |
| 13 | 1 μ M 97% | 3 μ M | | | |
| 14 | 3 μ M 97% | 10 μ M | | | |
| 15 | 1 μ M 96% | 3 μ M | | | |
| 17 | 10 μ M 100% | >10 μ M | | | |

[0746] ne:没有效果

[0747] 结果

[0748] 如表16所示，本发明的大多数化合物经证明可抑制由IL-1 α 诱导的软骨降解，特别是化合物3、13、15和34能够完全抑制(抑制作用在95-100%之间)GAG释放。

[0749] 实施例63：本发明化合物的“体内”药理学活性的描述

[0750] 式(I)化合物已被证明是炎性、急性疼痛模型中的强效镇痛药。在以下炎性疼痛的体内动物模型中,已测试了式(I)化合物的镇痛疗效。

[0751] 完全弗氏佐剂(CFA)诱导的大鼠炎性疼痛。

[0752] 在大鼠后爪皮内注射CFA,诱导持续长时间的炎症和痛觉过敏。将化合物3以含有溶于100 μ L液体石蜡(CFA)的50 μ g结核分枝杆菌的相同丸剂(bolus)注射到雄性Wistar大鼠的右后爪中。激发十八小时后,使用Randall-Selitto装置测定机械痛阈,并将获得的值与注射CFA前获得的那些值进行比较。注射CFA后24、42和48小时重复进行痛觉过敏测定。

[0753] 结果

[0754] 图1和图2显示了化合物3在CFA诱导的炎性疼痛模型中获得的结果。结果证明,局部(真皮内,i.d.)给药施用的化合物3是CFA诱导的痛觉过敏的非常强效的抑制剂。以3 μ M最大浓度(即140ng/爪)注射的该化合物在CFA炎性动物中完全恢复了疼痛行为,并且在未接受CFA激发的幼稚动物中未改变正常的伤害感受。

[0755] 实施例64:药代动力学

[0756] 当通过全身途径给药时,化合物3的特征为次优药代动力学特征。从口服途径看,其绝对生物利用度在小鼠中约为12%,在大鼠中约为6%。然而,大鼠中缺乏重要的代谢和已描述的相关局部镇痛作用,使得化合物3特别适合于通过关节内注射来局部治疗OA。

[0757] 将化合物3以悬浮液(pH7的150mM磷酸盐缓冲液、0.5% HPMC、0.1% Tween 80)形式施用于大鼠膝关节,在滑液和关节组织(软骨和滑液脂肪)中表现出至少14天的贮库样的长期持久性。

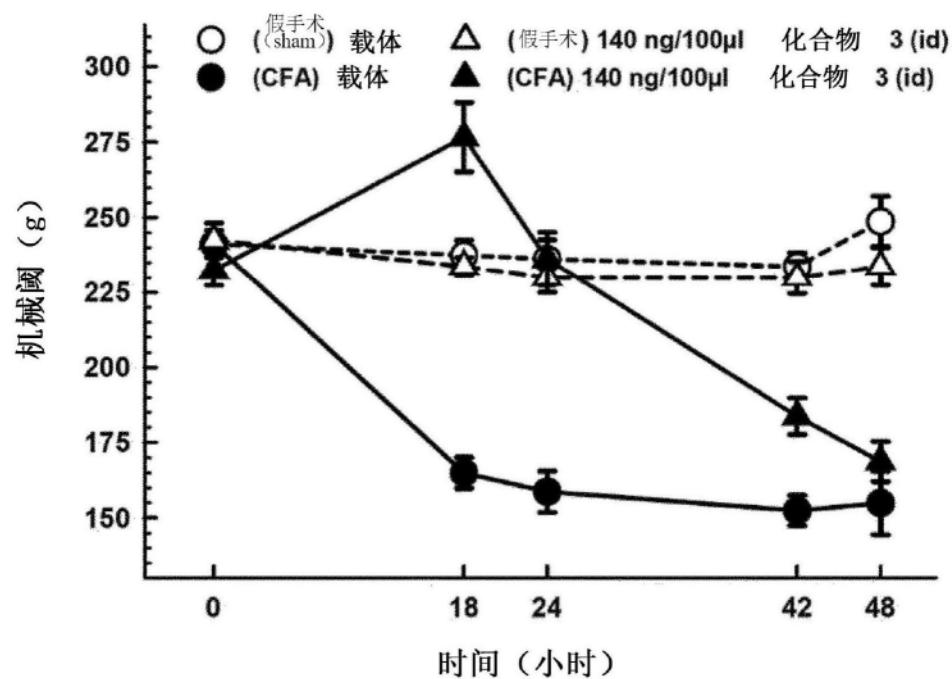


图1

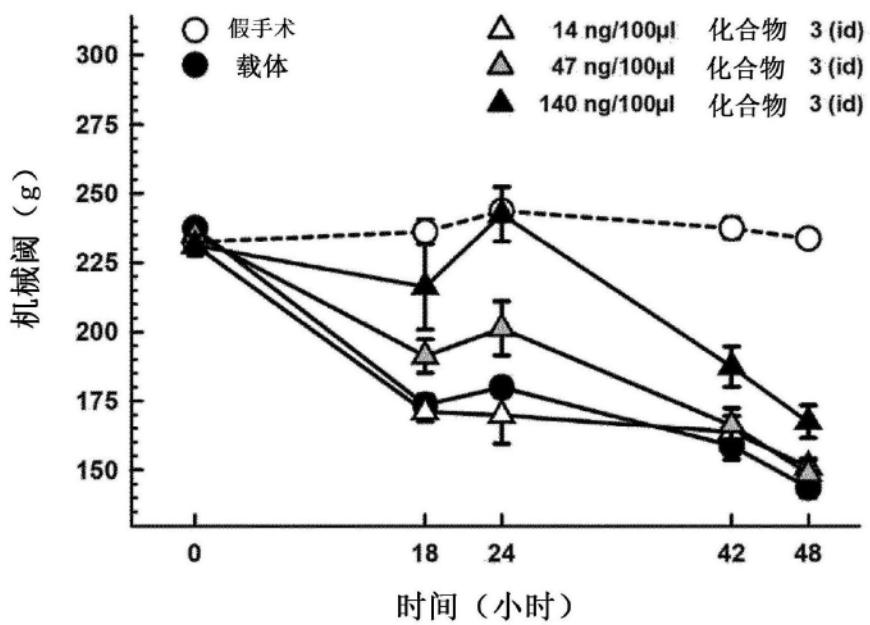


图2